[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl[7]
C07D403/06
A61K 31/404 A61P 43/00
C07D403/14 C07D401/14

[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 01807269.0

[43] 公开日 2003 年 8 月 27 日

[11] 公开号 CN 1439005A

[22] 申请日 2001.2.15 [21] 申请号 01807269.0

[30] 优先权

[32] 2000. 2.15 [33] US [31] 60/182,710

[32] 2000. 7. 6 [33] US [31] 60/216,422

[32] 2000.10.27 [33] US [31] 60/243,532

[86] 国际申请 PCT/US01/04813 2001.2.15

[87] 国际公布 WO01/60814 英 2001.8.23

[85] 进入国家阶段日期 2002.10.15

[71] 申请人 苏根公司

地址 美国加利福尼亚州

共同申请人 法马西亚及厄普约翰公司

[72] 发明人 唐彭出 托德·米勒 李小元
孙 利 魏忠臣
萨赫扎德·舍拉齐安 梁崇新
托马斯·沃科夫斯基

阿萨德 S·尼马塔拉 M·豪利

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

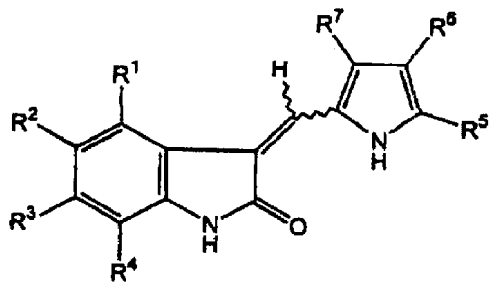
代理人 关立新 杨九昌

权利要求书 12 页 说明书 178 页

[54] 发明名称 吡咯取代的 2 - 二氢吲哚酮蛋白激酶抑制剂

[57] 摘要

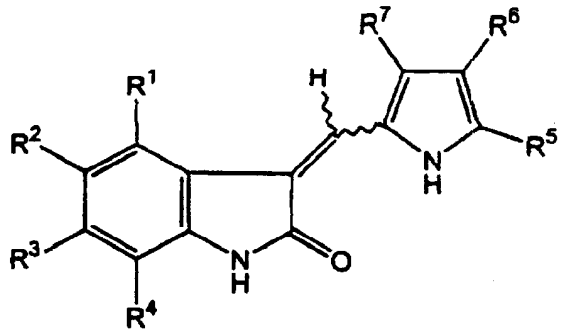
本发明涉及式 I 的吡咯取代的 2 - 二氢吲哚酮化合物及其可药用的盐，它们调节蛋白激酶的活性，因此预期可用于预防和治疗与蛋白激酶有关的疾病，例如癌症。



(I)

ISSN1008-4274

1．式（I）化合物或其可药用的盐：



（I）

其中：

R^1是选自氢，卤素，烷基，环烷基，芳基，杂芳基，杂脂环基，羟基，烷氧基，$-(CO)R^{15}$，$-NR^{13}R^{14}$，$-(CH_2)_rR^{16}$和$-C(O)NR^8R^9$；

R^2是选自氢，卤素，烷基，三卤甲基，羟基，烷氧基，氰基，$-NR^{13}R^{14}$，$-NR^{13}C(O)R^{14}$，$-C(O)R^{15}$，芳基，杂芳基，和$-S(O)_2NR^{13}R^{14}$和$-SO_2R^{20}$（其中R^{20}是烷基、芳基、芳烷基、杂芳基和杂芳烷基）；

R^3是选自氢，卤素，烷基，三卤甲基，羟基，烷氧基，$-(CO)R^{15}$，$-NR^{13}R^{14}$，芳基，杂芳基，$-NR^{13}S(O)_2R^{14}$，$-S(O)_2NR^{13}R^{14}$，$-NR^{13}C(O)R^{14}$，$-NR^{13}C(O)OR^{14}$和$-SO_2R^{20}$（其中R^{20}是烷基、芳基、芳烷基、杂芳基和杂芳烷基）；

R^4选自氢，卤素，烷基，羟基，烷氧基和$-NR^{13}R^{14}$；

R^5选自氢，烷基和$-C(O)R^{10}$；

R^6选自氢，烷基和$-C(O)R^{10}$；

R^7选自氢，烷基，芳基，杂芳基，$-C(O)R^{17}$和$-C(O)R^{10}$；或者

R^6和R^7可以合起来形成基团$-(CH_2)_4-$，$-(CH_2)_5-$和$-(CH_2)_6-$；

条件是，R^5、R^6或R^7中至少一个必须是$-C(O)R^{10}$；

R^8和R^9独立地选自氢，烷基和芳基；

R^{10}选自羟基，烷氧基，芳氧基，$-N(R^{11})(CH_2)_nR^{12}$和$-NR^{13}R^{14}$；

R^{11}选自氢和烷基；

R^{12}选自－$NR^{13}R^{14}$，羟基，－$C(O)R^{15}$，芳基，杂芳基，－$N^{+}(O^{-})R^{13}R^{14}$，－$N(OH)R^{13}$和－$NHC(O)R^{a}$（其中 R^{a}是未被取代的烷基、卤烷基或芳烷基）；

R^{13}和 R^{14}独立地选自氢，烷基，被羟基烷氨基取代的低级烷基，氰烷基，环烷基，芳基和杂芳基；或者

R^{13}和R^{14}可以合起来形成一个杂环基；

R^{15}选自氢，羟基，烷氧基和芳氧基；

R^{16}选自羟基，－$C(O)R^{15}$，－$NR^{13}R^{14}$和－$C(O)NR^{13}R^{14}$；

R^{17}选自烷基，环烷基，芳基和杂芳基；

R^{20}是烷基、芳基、芳烷基或杂芳基；

n和r独立地是1、2、3或4。

2．权利要求1的化合物或其可药用盐，其中：

R^{1}选自氢，卤素，烷基，环烷基，芳基，杂芳基，杂脂环基，羟基，烷氧基，－$C(O)R^{15}$，－$NR^{13}R^{14}$，－$(CH_2)_rR^{16}$和－$C(O)NR^{8}R^{9}$；

R^{2}选自氢，卤素，烷基，三卤甲基，羟基，烷氧基，－$NR^{13}R^{14}$，－$NR^{13}C(O)R^{14}$，－$C(O)R^{15}$，芳基，杂芳基和－$S(O)_2NR^{13}R^{14}$；

R^{3}选自氢，卤素，烷基，三卤甲基，羟基，烷氧基，－$(CO)R^{15}$，－$NR^{13}R^{14}$，芳基，杂芳基，－$NR^{13}S(O)_2R^{14}$，－$S(O)_2NR^{13}R^{14}$，－$NR^{13}C(O)R^{14}$和－$NR^{13}C(O)R^{14}$；

R^{4}选自氢，卤素，烷基，羟基，烷氧基和－$NR^{13}R^{14}$；

R^{5}选自氢，烷基和－$C(O)R^{10}$；

R^{6}选自氢，烷基和－$C(O)R^{10}$；

R^{7}选自氢，烷基，芳基，杂芳基，－$C(O)R^{17}$和－$C(O)R^{10}$；

R^{6}和R^{7}可以合起来形成基团－$(CH_2)_4$－，－$(CH_2)_5$－和－$(CH_2)_6$－；条件是，R^{5}、R^{6}或R^{7}中至少一个必须是－$C(O)R^{10}$；

R^{8}和R^{9}独立地选自氢，烷基和芳基；

R^{10}选自羟基，烷氧基，芳氧基，－$N(R^{11})(CH_2)_nR^{12}$和－$NR^{13}R^{14}$；

R^{11}选自氢和烷基；

R^{12}选自－$NR^{13}R^{14}$，羟基，－$C(O)R^{15}$，芳基和杂芳基；

R^{13}和R^{14}独立地选自氢，烷基，环烷基，芳基和杂芳基；

R^{13}和R^{14}可以合起来形成基团－$(CH_2)_4$－，－$(CH_2)_5$－，－$(CH_2)_2O(CH_2)_2$－和－$(CH_2)_2N(CH_3)(CH_2)_2$－；

R^{15}选自氢，羟基，烷氧基和芳氧基；

R^{16}选自羟基，$-C(O)R^{15}$，$-NR^{13}R^{14}$和$-C(O)NR^{13}R^{14}$；

R^{17}选自烷基，环烷基，芳基和杂芳基；

n和r独立地是1、2、3或4。

3．权利要求1的化合物或盐，其中R^5是$-COR^{10}$，R^{10}是$-NR^{11}(CH_2)_nR^{12}$，其中：

R^{11}是氢或未取代的低级烷基；

n是2或3；

R^{12}是$-NR^{13}R^{14}$，其中R^{13}和R^{14}独立地是未取代的低级烷基。

4．权利要求1的化合物或盐，其中R^5是$-COR^{10}$，R^{10}是$-NR^{11}(CH_2)_nR^{12}$，其中：

R^{11}是氢或未取代的低级烷基；

n是2或3；

R^{12}是$-NR^{13}R^{14}$，其中R^{13}和R^{14}合起来形成一个选自$-(CH_2)_4-$、$-(CH_2)_5-$、$-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-$或$-(CH_2)_2N(CH_3)(CH_2)_2-$的基团。

5．权利要求1的化合物，其中R^5是N－（2－二甲基氨乙基）氨基羰基、N－（2－二乙基氨乙基）－N－甲基氨基羰基、N－（3－二甲基氨丙基）氨基羰基、N－（2－二乙基氨乙基）氨基羰基、N－（3－乙基氨丙基）氨基羰基、N－（2－乙基氨乙基）氨基羰基或N－（3－二乙基氨丙基）氨基羰基。

6．权利要求1的化合物，其中R^5是N－（2－二乙基氨乙基）氨基羰基或N－（2－乙基氨乙基）氨基羰基。

7．权利要求1的化合物，其中R^5是3－吡咯烷－1－基丙氨基羰基、3－吗啉－4－基丙氨基羰基、2－吡咯烷－1－基乙氨基羰基、2－吗啉－4－基乙氨基羰基、2－（4－甲基哌嗪－1－基）乙基氨基羰基、2－（3,5－二甲基哌嗪－1－基）乙氨基羰基、3－（4－甲基哌嗪－1－基）丙氨基羰基或3－（3,5－二甲基哌嗪－1－基）丙氨基羰基。

8．权利要求1的化合物或盐，其中R^6是$-COR^{10}$，R^{10}是$-NR^{11}(CH_2)_nR^{12}$，其中：

R^{11}是氢或未取代的低级烷基；

n是2或3；

R^{12}是$-NR^{13}R^{14}$，其中R^{13}和R^{14}独立地是未取代的低级烷基。

9. 权利要求 1 的化合物或盐，其中 R^6 是 $-COR^{10}$，R^{10} 是 $-NR^{11}(CH_2)_nR^{12}$，其中：

R^{11} 是氢或未取代的低级烷基；

n 是 2 或 3；

R^{12} 是 $-NR^{13}R^{14}$，其中 R^{13} 和 R^{14} 合起来形成一个选自 $-(CH_2)_4-$、$-(CH_2)_5-$、$-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-$ 或 $-(CH_2)_2N(CH_3)(CH_2)_2-$ 的基团。

10. 权利要求 1 的化合物或盐，其中 R^6 是 N-（2-二甲基氨乙基）氨基羰基、N-（2-二乙基氨乙基）-N-甲基氨基羰基、N-（3-二甲基氨丙基）氨基羰基、N-（2-二乙基氨乙基）氨基羰基、N-（3-乙基氨丙基）氨基羰基、N-（2-乙基氨乙基）氨基羰基或 N-（3-二乙基氨丙基）氨基羰基。

11. 权利要求 1 的化合物或盐，其中 R^6 是 N-（2-二乙基氨乙基）氨基羰基或 N-（2-乙基氨乙基）氨基羰基。

12. 权利要求 1 的化合物或盐，其中 R^6 是 3-吡咯烷-1-基丙氨基羰基、3-吗啉-4-基丙氨基羰基、2-吡咯烷-1-基乙氨基羰基、2-吗啉-4-基乙氨基羰基、2-（4-甲基哌嗪-1-基）乙基氨基羰基、2-（3,5-二甲基哌嗪-1-基）乙氨基羰基、3-（4-甲基哌嗪-1-基）丙氨基羰基或 3-（3,5-二甲基哌嗪-1-基）丙氨基羰基。

13. 权利要求 1 的化合物或盐，其中 R^5 是 $-COR^{10}$，R^{10} 是 $-NR^{13}R^{14}$，其中 R^{13} 是氢，R^{14} 是被羟基、芳基、杂脂环基、杂芳基或羧基取代的低级烷基。

14. 权利要求 1 的化合物或盐，其中 R^5 是 3-三嗪-1-基丙氨基羰基、2-三嗪-1-基乙氨基羰基、3-咪唑-1-基丙氨基羰基、吡啶-4-基甲氨基羰基、2-吡啶-2-基乙氨基羰基或 2-咪唑-1-基乙氨基羰基。

15. 权利要求 1 的化合物或盐，其中 R^6 是 $-COR^{10}$，R^{10} 是 $-NR^{13}R^{14}$，其中 R^{13} 是氢，R^{14} 是被羟基、芳基、杂脂环基、杂芳基或羧基取代的低级烷基。

16. 权利要求 1 的化合物或盐，其中 R^6 是 2-三嗪-1-丙氨基羰基、2-三嗪-1-基乙氨基羰基、3-咪唑-1-基丙氨基羰基、吡啶-4-基甲氨基羰基、2-吡啶-2-基乙氨基羰基或 2-咪唑-1-基乙氨基羰基。

17. 权利要求 1 的化合物或盐，其中 R^5 是 $-COR^{10}$，R^{10} 是 $-NR^{11}(CH_2)_nR^{12}$，其中：

R^{11} 是氢或未取代的低级烷基；

n 是 2 或 3；

R^{12} 是 $-NR^{13}R^{14}$，其中 R^{13} 和 R^{14} 合起来形成一个杂环。

18. 权利要求 1 的化合物或盐，其中 R^5 是 $-COR^{10}$，R^{10} 是 $-NR^{11}(CH_2)_nR^{12}$，其中：

R^{11} 是氢或未取代的低级烷基；

n 是 2 或 3；

R^{12} 是 $-NR^{13}R^{14}$，其中 R^{13} 和 R^{14} 合起来形成一个含有羰基和一或二个环内氮原子的 5、6 或 7 原子杂环。

19. 权利要求 1 的化合物或盐，其中 R^5 是 2-（3-氧代哌嗪-1-基）乙氨基羰基、2-（咪唑烷-1-基-2-酮）乙氨基羰基、2-（四氢嘧啶-1-基-2-酮）乙氨基羰基、2-（2-氧代吡咯烷-1-基）乙氨基羰基、3-（3-氧代哌嗪-1-基）丙氨基羰基、3-（咪唑烷-1-基-2-酮）丙氨基羰基、3-（四氢嘧啶-1-基-2-酮）丙氨基羰基或 3-（2-氧代吡咯烷-1-基）丙氨基羰基。

20. 权利要求 1 的化合物或盐，其中 R^6 是 $-COR^{10}$，R^{10} 是 $-NR^{11}(CH_2)_nR^{12}$，其中：

R^{11} 是氢或未取代的低级烷基；

n 是 2 或 3；

R^{12} 是 $-NR^{13}R^{14}$，其中 R^{13} 和 R^{14} 合起来形成一个杂环。

21. 权利要求 1 的化合物或盐，其中 R^6 是 $-COR^{10}$，R^{10} 是 $-NR^{11}(CH_2)_nR^{12}$，其中：

R^{11} 是氢或未取代的低级烷基；

n 是 2 或 3；

R^{12} 是 $-NR^{13}R^{14}$，其中 R^{13} 和 R^{14} 合起来形成一个含有羰基和 1 或 2 个环内氮原子的 5、6 或 7 原子杂环。

22. 权利要求 1 的化合物或盐，其中 R^6 是 2-（3-氧代哌嗪-1-基）乙氨基羰基、2-（咪唑烷-1-基-2-酮）乙氨基羰基、2-（四氢嘧啶-1-基-2-酮）乙氨基羰基、2-（2-氧代吡咯烷-1-基）乙氨基羰基、3-（3-氧代哌嗪-1-基）丙氨基羰基、3-（咪

唑烷－1－基－2－酮）丙氨基羰基、3－（四氢嘧啶－1－基－2－酮）丙氨基羰基或3－（2－氧代吡咯烷－1－基）丙氨基羰基。

23. 权利要求3－7、13－14或17－19中任一项的化合物或盐，其中：

R^6是选自氢和未取代的低级烷基；

R^7是选自氢、烷基、芳基、杂芳基和－C(O)R^{17}，其中R^{17}是羟基、未取代的低级烷基或芳基。

24. 权利要求23的化合物或盐，其中：

R^6是选自氢或甲基；

R^7是选自甲基、氢或苯基。

25. 权利要求8－12、15、16或20－22中任一项的化合物或盐，其中：

R^5是选自氢和未取代的低级烷基；

R^7是选自氢、烷基、芳基、杂芳基和－C(O)R^{17}，其中R^{17}是羟基、未取代的低级烷基或芳基。

26. 权利要求25的化合物或盐，其中：

R^6是选自氢或甲基；

R^7是选自甲基、氢或苯基。

27. 权利要求23的化合物或盐，其中：

R^1是氢、未取代的低级烷基、－C(O)NR^8R^9、未取代的环烷基或芳基；

R^2是氢、卤素、低级烷氧基、氰基、芳基或－$S(O)_2NR^{13}R^{14}$、其中R^{13}是氢，R^{14}是氢、芳基或烷基；R^3是选自氢，低级烷氧基，－C(O)R^{15}，－NR^{13}C(O)R^{14}，任意被1或2个选自低级烷基、卤素或低级烷氧基的基团取代的芳基，及杂芳基；

R^4是氢。

28. 权利要求23的化合物或盐，其中：

R^1是氢或苯基；

R^2是氢、氯、溴、氟、甲氧基、乙氧基、苯基、氰基、二甲基氨磺酰基、3－氯苯基氨磺酰基、羧基、甲氧基、氨磺酰基、甲基氨磺酰基、甲磺酰基、乙磺酰基、苄基磺酰基、苯基氨磺酰基、吡啶－3－基氨磺酰基、二甲基氨磺酰基或异丙氨基磺酰基；

R^3 是氢、甲氧基、羧基、苯基、吡啶－3－基、3,4－二氯苯基、2－甲氧基－5－异丙基苯基、4－正丁基苯基或 3－异丙基苯基；

R^4 是氢。

29. 权利要求 23 的化合物或盐，其中：

R^1 是氢；

R^2 是氢、氰基、氟、氯或溴；

R^3 是氢；

R^4 是氢。

30. 权利要求 25 的化合物或盐，其中：

R^1 是氢、未取代的低级烷基、－$C(O)NR^8R^9$、未取代的环烷基或芳基；

R^2 是氢、卤素、低级烷氧基、氰基、芳基、－SO_2R^{20}，或－$S(O)_2NR^{13}R^{14}$，其中 R^{13} 是氢，R^{14} 是氢、芳基或烷基；

R^3 选自氢、低级烷氧基、－$C(O)R^{15}$，－$NR^{13}C(O)R^{14}$、芳基和杂芳基；

R^4 是氢。

31. 权利要求 25 的化合物或盐，其中：

R^1 是氢或苯基；

R^2 是氢、氯、溴、氟、甲氧基、乙氧基、苯基、二甲基氨磺酰基、氰基、甲磺酰基、乙磺酰基、苄基磺酰基、3－氯苯基氨磺酰基、羧基、甲氧基、氨磺酰基、甲基氨磺酰基、苯基氨磺酰基、吡啶－3－基氨磺酰基、二甲基氨磺酰基或异丙基氨基磺酰基；

R^3 是氢、甲氧基、羧基、苯基、吡啶－3－基、3,4－二氯苯基、2－甲氧基－5－异丙基苯基、4－正丁基苯基、3－异丙基苯基；

R^4 是氢。

32. 权利要求 25 的化合物或盐，其中：

R^1 是氢；

R^2 是氢、氰基、氟、氯或溴；

R^3 是苯基；

R^4 是氢。

33. 权利要求 1 的化合物或盐，其中：

R^1 是氢、未取代的低级烷基、－$C(O)NR^8R^9$、未取代的环烷基或

芳基;

R^2 是氢、卤素、低级烷氧基、氰基、芳基或 $-S(O)_2NR^{13}R^{14}$,其中 R^{13} 是氢,R^{14} 是氢、芳基或烷基;

R^3 选自氢、低级烷氧基、$-C(O)R^{15}$,$-NR^{13}C(O)R^{14}$、芳基和杂芳基;

R^4 是氢。

34. 权利要求 1 的化合物或盐,其中:

R^1 是氢或甲基;

R^2 是氢、氰基、氯、氟或溴;

R^3 选自氢或苯基;

R^4 是氢。

35. 权利要求 33 或 34 的化合物或盐,其中:

R^5 是 $-COR^{10}$;

R^6 选自氢和未取代的低级烷基;

R^7 选自氢、烷基、芳基、杂芳基和 $-C(O)R^{17}$,其中 R^{17} 是羟基、未取代的低级烷基或芳基。

36. 权利要求 33 或 34 的化合物或盐,其中:

R^6 是 $-COR^{10}$;

R^5 选自氢和未取代的低级烷基;

R^7 选自氢、烷基、芳基、杂芳基和 $-C(O)R^{17}$,其中 R^{17} 是羟基、未取代的低级烷基或芳基。

37. 权利要求 1 的化合物或盐,其中 R^5 是 $-COR^{10}$;R^{10} 是 $-NR^{13}R^{14}$,其中 R^{13} 是氢,R^{14} 是被羟基、羟基烷氨基取代的低级烷基、羧基或 $-NR^{18}R^{19}$ 取代的低级烷基,其中 R^{18} 和 R^{19} 独立地是氢或未取代的低级烷基。

38. 权利要求 1 的化合物或盐,其中 R^5 是 2-〔(二乙基氨基)-2-羟乙基〕氨基羰基、2-(N-乙基-N-2-羟乙基氨基)乙氨基羰基、羧甲基氨基羰基或 2-羟乙基氨基羰基。

39. 权利要求 1 的化合物或盐,其中 R^6 是 $-COR^{10}$;R^{10} 是 $-NR^{13}R^{14}$,其中 R^{13} 是氢,R^{14} 是被羟基、羟基烷氨基取代的低级烷基、羧基或 $-NR^{18}R^{19}$ 取代的低级烷基,其中 R^{18} 和 R^{19} 独立地是氢或未取代的低级烷基。

40. 权利要求 1 的化合物或盐，其中 R^6 是〔2－（二乙基氨基）－2－羟基〕乙氨基羰基、2－（N－乙基－N－2－羟乙基氨基）乙氨基羰基、羧甲基氨基羰基或 2－羟乙基氨基羰基。

41. 权利要求 1 的化合物，其中 R^5 是 $-COR^{10}$，R^{10} 是 $-NR^{11}(CH_2)_nR^{12}$，其中 R^{12} 是 $-N^+(O^-)NR^{13}R^{14}$ 或 $-N(OH)R^{13}$，其中 R^{13} 和 R^{14} 独立地选自未取代的低级烷基。

42. 权利要求 1 的化合物，其中 R^5 是 2－（N－羟基－N－乙氨基）乙氨基羰基或 2－〔$N^+(O^-)(C_2H_5)_2$〕乙氨基羰基。

43. 权利要求 1 的化合物，其中 R^6 是 $-COR^{10}$，R^{10} 是 $NR^{11}(CH_2)_nR^{12}$，其中 R^{12} 是 $-N^+(O^-)NR^{13}R^{14}$ 或 $-N(OH)R^{13}$，其中 R^{13} 和 R^{14} 独立地选自未取代的低级烷基。

44. 权利要求 1 的化合物，其中 R^6 是 2－（N－羟基－N－乙氨基）乙氨基羰基或 2－〔$N^+(O^-)(C_2H_5)_2$〕乙氨基羰基。

45. 权利要求 37、38、41 或 42 的化合物或盐，其中：

R^6 是选自氢或甲基；

R^7 选自甲基、氢或苯基。

46. 权利要求 39、40、43、44 或 20－22 中任一项的化合物或盐，其中：

R^5 是选自氢或甲基；

R^7 是选自甲基、氢或苯基。

47. 权利要求 45 的化合物或盐，其中：

R^1 是氢；

R^2 是氢、氰基、氯、氟或溴；

R^3 是氢；

R^4 是氢。

48. 权利要求 46 的化合物或盐，其中：

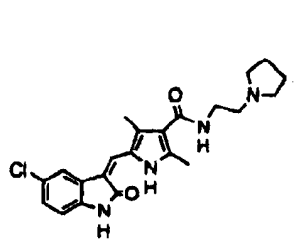
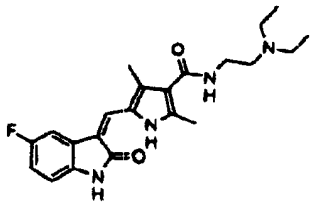
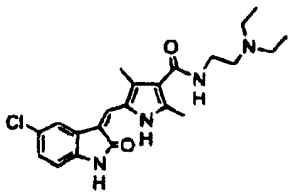
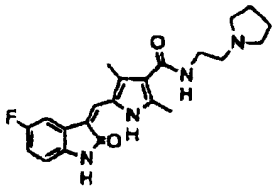
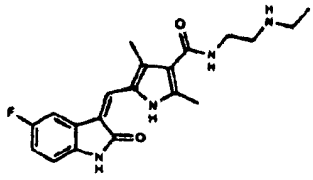
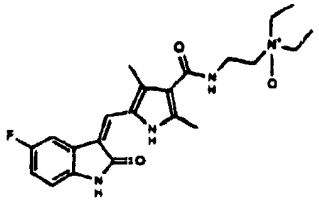
R^1 是氢；

R^2 是氰基、氯、氟或溴；

R^3 是氢；

R^4 是氢。

49. 权利要求 1 的化合物或盐，其中化合物是选自以下化合物或其 L－苹果酸盐：


；

；

；

；

；和

；

50. 一种药物组合物，其中含有权利要求 1 的化合物或盐，以及一种可药用的载体或赋形剂。

51. 一种药物组合物，其中含有权利要求 49 的化合物或盐，以及一种可药用的载体或赋形剂。

52. 一种调节蛋白质激酶的催化活性的方法，包括使该蛋白质激酶与权利要求 1 或 49 的化合物或盐接触。

53. 权利要求 52 的方法，其中该蛋白质激酶是选自受体酪氨酸激酶、非受体酪氨酸激酶和丝氨酸－苏氨酸激酶。

54. 一种治疗和预防有机体中与蛋白质激酶有关的疾病的方法，包括对该有机体施用治疗有效量的药物组合物，该组合物中含有权利要求 50 或 51 的化合物或盐，以及可药用的载体或赋形剂。

55. 权利要求 54 的方法，其中与蛋白质激酶有关的疾病是选自与受体酪氨酸激酶有关的疾病，与非受体酪氨酸激酶有关的疾病，及与丝氨酸－苏氨酸激酶有关的疾病。

56. 权利要求 54 的方法，其中与蛋白质激酶有关的疾病是选自与 EGFR 有关的疾病，与 PDGFR 有关的疾病，与 IGFR 有关的疾病和与

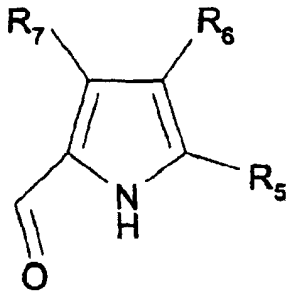
flk 有关的疾病。

57. 权利要求 54 的方法，其中与蛋白质激酶有关的疾病是癌症，选自鳞状细胞癌、星形细胞瘤、Kaposi 肉瘤、成胶质细胞瘤、肺癌、膀胱癌、头颈癌、黑素瘤、卵巢癌、前列腺癌、乳房癌、小细胞肺癌、神经胶质瘤、结肠直肠癌、生殖泌尿道癌和胃肠癌。

58. 权利要求 54 的方法，其中与蛋白质激酶有关的疾病是选自糖尿病、自免疫病、过度增生病、再狭窄、纤维变性病、牛皮癣、von Heppel-Lindau 氏病、骨关节炎、类风湿性关节炎、血管生成、炎症、免疫性疾病和心血管病。

59. 权利要求 54 的方法，其中的有机体是人。

60. 一种式（II）中间体：



(II)

其中：

R^5选自氢，烷基和 $-C(O)R^{10}$；

R^6选自氢，烷基和 $-C(O)R^{10}$；

R^7选自氢，烷基，芳基，杂芳基，$-C(O)R^{17}$和 $-C(O)R^{10}$；

R^6和 R^7可以合起来形成基团 $-(CH_2)_4-$，$-(CH_2)_5-$和 $-(CH_2)_6-$；条件是，R^5、R^6或 R^7中至少一个必须是 $-C(O)R^{10}$；

R^{10}选自羟基，烷氧基，芳氧基，$-N(R^{11})(CH_2)_nR^{12}$和 $-NR^{13}R^{14}$；

R^{11}选自氢和烷基；

R^{12}选自 $-NR^{13}R^{14}$，羟基，$-C(O)R^{15}$，芳基和杂芳基；

R^{13}和 R^{14}独立地选自氢，烷基，氰烷基、环烷基，芳基和杂芳基；或者

R^{13}和 R^{14}可以合起来形成一个杂环基；

R^{15}选自氢，羟基，烷氧基和芳氧基；

R^{17}选自烷基，环烷基，芳基和杂芳基；

n是1、2、3或4。

5

吡咯取代的2－二氢吲哚酮蛋白激酶抑制剂

交叉参考信息

本申请根据35 U.S.C.119(e)提出对2000年2月15日提交的美国专利临时申请60/182,710、2000年7月6日提交的60/216,422和2000年10月27日提交的60/243,532的优先权，它们的公开全部结合在本申请中作为参考。

发明背景

发明领域

本发明涉及某些调节蛋白激酶（“PK”）活性的3－吡咯取代的2－二氢吲哚酮。本发明化合物因此可用于治疗与PK活性反常有关的疾病。还公开了含这些化合物的药物组合物，使用含这些化合物的药物组合物治疗疾病的方法及它们的制备方法。

技术状况

以下只作为背景信息提供，不认为是本发明的先有技术。

PK是对蛋白质的酪氨酸、丝氨酸和苏氨酸残基上的羟基的磷酸化起催化作用的酶。这种看起来简单的活性的后果惊人：细胞生长、分化和增殖，即，实际上细胞生命的所有方面都以这样或那样的方式与PK活性有关。另外，PK活性反常与许多疾病有关，包括相对无生命威胁的疾病，如牛皮癣，到极其致命的疾病，例如成胶质细胞瘤（脑癌）。

PK可以方便地分成两类：蛋白酪氨酸激酶（PTK）和丝氨酸－苏氨酸激酶（STK）。

PTK活性的一个主要方面是它们与生长因子受体有关。生长因子受体是细胞表面蛋白质。当与生长因子配体结合时，生长因子受体被转化成活性形式，它与细胞膜内表面上的蛋白质相互作用。这导致受体和其它蛋白质的酪氨酸残基上的磷酸化，并导致细胞内部形成与多种胞质信号分子的复合物，这反过来又影响许多种细胞相应，例如细胞分裂（增殖）、细胞分化、细胞生长、代谢作用对胞外微环境的表达等。更完全的讨论请参阅Schlessinger和Ullrich，Neuron，9：303－391（1992），该文包括所有附图都象本申请中充分陈述的一样，被引

用作为参考。

具有 PTK 活性的生长因子受体被称作受体酪氨酸激酶（“RTK”）。它们包含一大族具有不同生物活性的跨膜受体。目前，已经确定了至少 19 种不同的 RTK 亚族。一个实例是称作“HER” RTK 的亚族，它包括 EGFR（上皮生长因子受体）、HER2、HER3 和 HER4。这些 RTK 组成一个胞外糖基化配体结合域、一个跨膜域和一个胞内胞质催化域，它能将蛋白质上的酪氨酸残基磷酸化。

另一个 RTK 亚族包括胰岛素受体（IR）、胰岛素样生长因子 I 受体（IGF－1R）和与胰岛素受体有关的受体（IRR）。IR 和 IGF－1R 与胰岛素、IGF－1 和 IGF－II 相互作用，形成由两个完全胞外糖基化的α亚基和两个穿过细胞膜并包含酪氨酸激酶域的β亚基构成的异四聚体。

第三个 RTK 亚族被称作血小板源性生长因子受体（“PDGFR”）组，其中包括 PDGFRα、PDGFRβ、CSFIR、c－kit 和 c－fms。这些受体由含数目不定的免疫球蛋白样环的糖基化胞外域和一个胞内域构成，胞内域中的酪氨酸激酶域被无关的氨基酸序列间断。

另一组因为和 PDGFR 亚族类似，有时被纳入该组，此组是胎肝激酶“flk”受体亚族。这一组据信是由激酶插入域－受体胎肝激酶－1（KDR/FLK－1，VEGF－R2）、flk－1R，flk－4 和 fms-样酪氨酸激酶 1（flt－1）组成。

酪氨酸激酶生长因子受体族的另一成员是成纤维细胞生长因子（“FGF”）受体亚组。这一组包括四种受体，FGFR1－4，和七种配体，FGF1－7。虽然尚未完全确定，但这些受体象是由含有数目不定的免疫球蛋白样环的一个糖基化胞外域和一个其中酪氨酸激酶序列被无关的氨基酸序列区间断的胞内域组成。

酪氨酸激酶生长因子受体族的又一成员是血管内皮生长因子（VEGF“）受体亚组。VEGF 是与 PDGF 相似的二聚的糖蛋白，但在体内有不同的生物功能和靶细胞特异性。特别是，目前认为 VEGF 在血管生成和血管发展中起主要作用。

在 Plowman 等，DN&P，7（6）：334－339（1994）中描述了已知的 RTK 亚族的更全面的名单，该文献连同所有附图，如同本申请充分说明的一样，被引用作为参考。

除了 RTK 之外，还存在一族完全胞内的 PTK，称作“非受体酪氨酸激酶”或“细胞酪氨酸激酶”。本申请中将使用后一名称，缩写为“CTK”。CTK 不含胞外和跨膜域。目前已确定了 11 个亚族（Src、Frk、Btk、Csk、Abl、Zap70、Fes、Fps、Fak、Jak 和 Ack）中的 24 种以上的 CTK。Src 亚族至今为止象是最大的 CTK 组，包括 Src、Yes、Fyn、Lyn、Lck、Blk、Hck、Fgr 和 Yrk。关于 CTK 的更详细的讨论，参看 Bolen，Oncogene，8：2025－2031（1993），该文献连同所有附图，就像本申请充分说明的一样，被引用作为参考。

丝氨酸/苏氨酸激酶（STK）像 CTK 一样，主要是胞内激酶，尽管有几个 STK 型的受体激酶。STK 是最普通的胞质激酶，即，在细胞器和细胞骨架之外的胞质部分发挥功能的激酶。细胞溶质是细胞内细胞中间代谢和生物合成活性的主要发生地，例如，蛋白质是在细胞溶质内于核糖体上被合成。

RTK、CTK 和 STK 都与多种致病状态有关，其中重要的是包括癌症。与 PTK 有关的其它致病状态包括但不限于：牛皮癣、肝硬变、糖尿病、血管发展、再狭窄、眼病、类风湿性关节炎和其它炎症、免疫性疾病如自身免疫病、心血管病如动脉粥样硬化，以及多种肾病。

关于癌症，为解释促使肿瘤发展的细胞过量增殖而提出的主要假设中的两个与已知是受 PK 调节的功能有关。即，已经提出，恶性细胞生长起因于控制细胞分裂和/或分化的机制的破坏。业已表明，许多原癌基因的蛋白质产物参与了调节细胞生长和分化的信号转导途径。原癌基因的这些蛋白质产物包括以上讨论的胞外生长因子、跨膜生长因子 PTK 受体（RTK）、胞质 PTK（CTK）和胞液 STK。

由于和 PK 有关的细胞活性与多种人类疾病之间有明显的联系，因此在确定调节 PK 活性的方法方面作了大量努力就毫不足奇了。这些努力的一部分涉及利用以参与实际细胞过程的大分子为样本进行生物模拟的方法（如，突变配体（美国专利申请 4,966,849）；可溶性受体和抗体（申请号 WO94/10202，Kendall 和 Thomas，Proc.Nat'l Acad. Sci.，90：10705－09（1994），Kim 等，Nature，362：841－844（1993））；RNA 配体（Jelinek 等，Biochemistry，33：10450－56）；Takano 等，Mol.Bio.Cell，4：358A（1993）；Kinsella 等，Exp.Cell.Res.，199：56－62（1992）；Wright 等，J.Cellular Phys.，152：448－57）和酪氨酸激

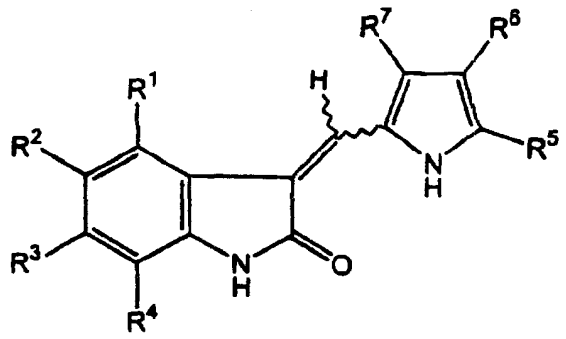
酶抑制剂（WO 94/03427；WO 92/21660；WO 91/15495；WO 94/14808；美国专利 5,330,992；Mariani 等，Proc.Am.Assoc.Cancer.Res.，35：2268（1994））。

除上述之外，还曾试图确定作为 PK 抑制剂起作用的小分子。例如，已经提到双－单环、双环和杂环芳族化合物（PCT WO 92/20642）、亚乙烯基氮杂吲哚衍生物（PCT WO 94/14808）和 1－环丙基－4－吡啶基喹诺酮（美国专利 5,330,992）是酪氨酸激酶抑制剂。苯乙烯基化合物（美国专利 5,217,999）、苯乙烯基取代的吡啶基化合物（美国专利 5,302,606）、喹唑啉衍生物（欧洲专利申请 0 566 266 A1）、硒吲哚和硒化物（PCT WO 94/03427）、三环的多羟基化合物（PCT WO 92/21660）和苄基膦酸化合物（PCT WO 91/15495）都被描述为可用于癌症治疗的 PTK 抑制剂。

发明概要

本发明涉及某些 3－吡咯取代的 2－二氢吲哚酮化合物，它们具有 PK 调节能力，因此可用于治疗和 PK 活性反常有关的疾病。

因此，本发明的一个方面涉及式（I）的 3－吡咯取代的 2－二氢吲哚酮或其可药用的盐：



（I）

其中：

R^1 是选自氢，卤素，烷基，环烷基，芳基，杂芳基，杂脂环基，羟基，烷氧基，$-(CO)R^{15}$，$-NR^{13}R^{14}$，$-(CH_2)_rR^{16}$ 和 $-C(O)NR^8R^9$；

R^2 是选自氢，卤素，烷基，三卤甲基，羟基，烷氧基，氰基，$-NR^{13}R^{14}$，$-NR^{13}C(O)R^{14}$，$-C(O)R^{15}$，芳基，杂芳基，$-S(O)_2NR^{13}R^{14}$

和 $-SO_2R^{20}$（其中 R^{20} 是烷基、芳基、芳烷基、杂芳基和杂芳烷基）；

R^3 是选自氢，卤素，烷基，三卤甲基，羟基，烷氧基，$-(CO)R^{15}$，$-NR^{13}R^{14}$，芳基，杂芳基，$-NR^{13}S(O)_2R^{14}$，$-S(O)_2NR^{13}R^{14}$，$-NR^{13}C(O)R^{14}$，$-NR^{13}C(O)OR^{14}$ 和 $-SO_2R^{20}$（其中 R^{20} 是烷基、芳基、芳烷基、杂芳基和杂芳烷基）；

R^4 选自氢，卤素，烷基，羟基，烷氧基和 $-NR^{13}R^{14}$；

R^5 选自氢，烷基和 $-C(O)R^{10}$；

R^6 选自氢，烷基和 $-C(O)R^{10}$；

R^7 选自氢，烷基，芳基，杂芳基，$-C(O)R^{17}$ 和 $-C(O)R^{10}$；或者

R^6 和 R^7 可以合起来形成基团 $-(CH_2)_4-$，$-(CH_2)_5-$ 和 $-(CH_2)_6-$；条件是，R^5、R^6 或 R^7 中至少一个必须是 $-C(O)R^{10}$；

R^8 和 R^9 独立地选自氢，烷基和芳基；

R^{10} 选自羟基，烷氧基，芳氧基，$-N(R^{11})(CH_2)_nR^{12}$ 和 $-NR^{13}R^{14}$；

R^{11} 选自氢和烷基；

R^{12} 选自 $-NR^{13}R^{14}$，羟基，$-C(O)R^{15}$，芳基，杂芳基，$-N^+(O^-)R^{13}R^{14}$，$-N(OH)R^{13}$ 和 $-NHC(O)R^a$（其中 R^a 是未被取代的烷基、卤烷基或芳烷基）；

R^{13} 和 R^{14} 独立地选自氢，烷基,氰烷基，环烷基，芳基和杂芳基；或者

R^{13} 和 R^{14} 可以合起来形成一个杂环基；

R^{15} 选自氢，羟基，烷氧基和芳氧基；

R^{16} 选自羟基，$-C(O)R^{15}$，$-NR^{13}R^{14}$ 和 $-C(O)NR^{13}R^{14}$；

R^{17} 选自烷基，环烷基，芳基和杂芳基；

R^{20} 是烷基、芳基、芳烷基或杂芳基；

n 和 r 独立地是 1、2、3 或 4。

优选的是，R^1 选自氢，卤素，烷基，环烷基，芳基，杂芳基，杂脂环基，羟基，烷氧基，$-C(O)R^{15}$，$-NR^{13}R^{14}$，$-(CH_2)_rR^{16}$ 和 $-C(O)NR^8R^9$；

R^2 选自氢，卤素，烷基，三卤甲基，羟基，烷氧基，$-NR^{13}R^{14}$，$-NR^{13}C(O)R^{14}$，$-C(O)R^{15}$，芳基，杂芳基和 $-S(O)_2NR^{13}R^{14}$；

R^3 选自氢，卤素，烷基，三卤甲基，羟基，烷氧基，$-(CO)R^{15}$，$-NR^{13}R^{14}$，芳基，杂芳基，$-NR^{13}S(O)_2R^{14}$，$-S(O)_2NR^{13}R^{14}$，$-$

$NR^{13}C(O)R^{14}$和－$NR^{13}C(O)R^{14}$;

R^4选自氢，卤素，烷基，羟基，烷氧基和－$NR^{13}R^{14}$;

R^5选自氢，烷基和－$C(O)R^{10}$;

R^6选自氢，烷基和－$C(O)R^{10}$;

R^7选自氢，烷基，芳基，杂芳基，－$C(O)R^{17}$和－$C(O)R^{10}$;

R^6和R^7可以合起来形成基团－$(CH_2)_4$－，－$(CH_2)_5$－和－$(CH_2)_6$－;

条件是，R^5、R^6或R^7中至少一个必须是－$C(O)R^{10}$;

R^8和R^9独立地选自氢，烷基和芳基;

R^{10}选自羟基，烷氧基，芳氧基，－$N(R^{11})(CH_2)_nR^{12}$和－$NR^{13}R^{14}$;

R^{11}选自氢和烷基;

R^{12}选自－$NR^{13}R^{14}$，羟基，－$C(O)R^{15}$，芳基和杂芳基;

R^{13}和R^{14}独立地选自氢，烷基，环烷基，芳基和杂芳基;

R^{13}和R^{14}可以合起来形成基团－$(CH_2)_4$－，－$(CH_2)_5$－，－$(CH_2)_2O(CH_2)_2$－和－$(CH_2)_2N(CH_3)(CH_2)_2$－;

R^{15}选自氢，羟基，烷氧基和芳氧基;

R^{16}选自羟基，－$C(O)R^{15}$，－$NR^{13}R^{14}$和－$C(O)NR^{13}R^{14}$;

R^{17}选自烷基，环烷基，芳基和杂芳基;

n和r独立地是1、2、3或4;

或是其可药用的盐。

在本发明的第二方面，涉及一种药物组合物，其中包含一种或多种式（I）化合物或其可药用盐及可药用的赋形剂。

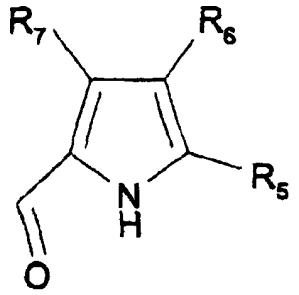
在第三方面，本发明涉及一种治疗有机体中，特别是人体中，由反常的蛋白激酶活性，特别是由受体酪氨酸激酶（RTK）、非受体蛋白质酪氨酸激酶（CTK）和丝氨酸/苏氨酸蛋白质激酶所介导的疾病的方法，该方法包括使有机体服用含式（I）化合物的药物组合物。这些疾病包括但不限于：癌症，糖尿病，肝硬变，心血管病如动脉粥样硬化，血管发展，免疫性疾病如自身免疫病，以及肾病。

在第四方面，本发明涉及一种在体内或体外用本发明化合物调节PK 的催化活性，特别是受体酪氨酸激酶（RTK）、非受体蛋白酪氨酸激酶（CTK）和丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶（STK）的催化活性的方法。具体地说，催化活性受本发明化合物调节的受体蛋白激酶是选自 EGF，HER2，HER3，HER4，IR，IGF－1R，IRR，PDGFRα，PDGFRβ，CSFIR，

C－Kit，C-fms，Flk-1R，Flk4，KDR/Flk－1，Flt－1，FGFR-1R，FGFR－2R，FGFR－3R 和 FGFR－4R。催化活性受本发明化合物调节的细胞酪氨酸激酶是选自 Src，Frk，Btk，Csk，Abl，ZAP70，Fes/Fps，Fak，Jak，Ack，Yes，Fyn，Lyn，Lck，Blk，Hck，Fgr 和 Yrk。催化活性受本发明化合物调节的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶是选自 CDK2 和 Raf。

在第五方面，本发明涉及使用式（I）化合物制备可用于治疗由反常 PK 活性介导的疾病的药物。

在第六方面，本发明涉及一种式（II）中间体



(II)

其中：

R^5选自氢，烷基和－C(O)R^{10}；

R^6选自氢，烷基和－C(O)R^{10}；

R^7选自氢，烷基，芳基，杂芳基，－C(O)R^{17}和－C(O)R^{10}；

R^6和R^7可以合起来形成基团－$(CH_2)_4$－，－$(CH_2)_5$－和－$(CH_2)_6$－；

条件是，R^5、R^6或R^7中至少一个必须是－C(O)R^{10}；

R^{10}选自羟基，烷氧基，芳氧基，－N(R^{11})$(CH_2)_n R^{12}$和－N$R^{13}R^{14}$；

R^{11}选自氢和烷基；

R^{12}选自－N$R^{13}R^{14}$，羟基，－C(O)R^{15}，芳基和杂芳基；

R^{13}和R^{14}独立地选自氢，烷基，氟烷基、环烷基，芳基和杂芳基；

或者

R^{13}和R^{14}可以合起来形成一个杂环基；

R^{15}选自氢，羟基，烷氧基和芳氧基；

R^{17}选自烷基，环烷基，芳基和杂芳基；

n 是 1、2、3 或 4；

优选的是，式 II 化合物中的 R^5 或 R^6 是 $-C(O)R^{10}$；

R^6 选自氢和烷基，更优选是氢或甲基；

R^5 选自氢和烷基，更优选是氢，或者当 R^6 是 $-COR^{10}$ 时为甲基；

R^6 选自氢和烷基，更优选是氢，或者当 R^5 是 $-COR^{10}$ 时为甲基；

R^7 选自氢，烷基和芳基，更优选是氢、甲基或苯基；

R^{10} 选自羟基，烷氧基，$-N(R^{11})(CH_2)_nR^{12}$ 和 $-NR^{13}R^{14}$；

R^{11} 选自氢和烷基，更优选是氢或甲基；

R^{12} 选自基团 $-NR^{13}R^{14}$；

R^{13} 和 R^{14} 独立地选自氢或烷基；或者

R^{13} 和 R^{14} 可以合起来形成一个杂环基；

n 是 1，2 或 3。

在以上的优选基团中，更优选的中间体化合物基团是其中 R^5、R^6、R^{11}、R^{12}、R^{13} 或 R^{14} 独立地是下面题为“优选实施方案”部分中所述的基团。

在第七方面，本发明涉及制备式（I）化合物的方法。

最后，本发明还涉及通过用本发明的化合物或其盐与表达蛋白质激酶的细胞接触，并监测对该细胞的作用，来确定对该蛋白质激酶的催化活性有调节作用的化合物。

发明详述

定义

除非另外说明，在说明书和权利要求中使用的以下术语具有下面讨论的含义：

“烷基”指 1－20 个碳原子的饱和的脂烃基，包括直链和支链基团（本申请书中提到的数字范围，例如“1－20”，是指该基团，此时为烷基，可以含 1 个碳原子、2 个碳原子、3 个碳原子等，最多到并包括 20 个碳原子）。含 1－4 个碳原子的烷基称为低级烷基。当低级烷基没有取代基时，称其为未取代的低级烷基。更优选的是，烷基是有 1－10 个碳原子的中等大小的烷基，例如甲基、乙基、丙基、2－丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、戊基等。最好是，烷基为有 1－4 个碳原子的低级烷基，例如甲基、乙基、丙基、2－丙基、正丁基、异丁基或叔丁基等。烷基可以是取代的或未取代的。当是取代的烷基时，该取代基优选是一或多个，更优选 1－3 个，最优选 1 或 2 个取代基，它们独立地

选自卤素，羟基，未取代的低级烷氧基；任意被一或多个基团、优选1、2或3个基团取代的芳基，所述基团彼此独立地选自卤素、羟基、未取代的低级烷基或未取代的低级烷氧基；任意被一或多个基团、优选被1、2或3个基团取代的芳氧基，所述基团彼此独立地选自卤素、羟基、未取代的低级烷基或未取代的低级烷氧基；环中有1－3个氮原子的6元杂芳基，环中的碳可任意地被一个或多个、优选被1、2或3个彼此独立地是卤素、羟基、未取代的低级烷基或未取代的低级烷氧基的基团取代；有1－3个选自氮、氧和硫的杂原子的5元杂芳基，其中的碳和氮原子可任意地被一个或多个、优选被1、2或3个彼此独立地是卤素、羟基、未取代的低级烷基或未取代的低级烷氧基的基团取代；有1－3个选自氮、氧和硫的杂原子的5或6元杂脂环基，其中的碳和氮（如果存在）可任意地被一个或多个、优选被1、2或3个彼此独立地是卤素、羟基、未取代的低级烷基或未取代的低级烷氧基的基团取代；巯基；（未被取代的低级烷基）硫基；芳硫基，它可任意地被一个或多个、优选被1、2或3个彼此独立地是卤素、羟基、未取代的低级烷基或未取代的低级烷氧基的基团取代；氰基，酰基，硫代酰基，O－氨基甲酰基，N－氨基甲酰基，O－硫代氨基甲酰基，N－硫代氨基甲酰基，C－酰氨基，N－酰氨基，硝基，N－磺酰氨基，S－磺酰氨基，$R^{18}S(O)-$，$R^{18}S(O)_2-$，$-C(O)OR^{18}$，$R^{18}C(O)O-$和$-NR^{18}R^{19}$，其中R^{18}和R^{19}独立地选自氢，未被取代的低级烷基、三卤甲基、未被取代的（C_3-C_6）环烷基、未被取代的低级链烯基、未被取代的低级炔基以及芳基，该芳基可任意地被一个或多个、优选被1、2或3个彼此独立地是卤素、羟基、未取代的低级烷基或未取代的低级烷氧基的基团取代。

优选的是，该烷基被1或2个独立地选自以下基团的取代基取代：羟基；有1－3个选自氮、氧和硫的杂原子的5或6元杂脂环基，其中碳和氮（如果存在）可任意地被一个或多个、优选被1、2或3个彼此独立地是卤素、羟基、未取代的低级烷基或未取代的低级烷氧基的基团取代；有1－3个选自氮、氧和硫的杂原子的5元杂芳基，基团中的碳和氮原子可任意地被一个或多个、优选被1、2或3个彼此独立地是卤素、羟基、未取代的低级烷基或未取代的低级烷氧基的基团取代；环中有1－3个氮原子的6元杂芳基，环中的碳原子可任意地被一个或多个、优选被1、2或3个彼此独立地是卤素、羟基、未取代的低级烷

基或未取代的低级烷氧基的基团取代；或－$NR^{18}R^{19}$，其中 R^{18} 和 R^{19} 各自独立地选自氢、未取代的低级烷基。更优选该烷基被 1 或 2 个取代基取代，这些取代基彼此独立地是羟基、二甲基氨基、乙氨基、二乙基氨基、二丙基氨基、吡咯烷基、哌啶基、吗啉基、哌嗪基、4－低级烷基哌嗪基、苯基、咪唑基、吡啶基、哒嗪基、嘧啶基、噁唑基、三嗪基等。

“环烷基”指 3－8 元的全碳单环、全碳 5 元/6 元或 6 元/6 元稠合双环或多环稠合环（“稠合的”环系是指体系中的各环彼此共有一对相邻的碳原子）基，其中一个或多个环可以含一个或多个双键，但没有一个环具有完全共轭的π电子体系。

环烷基的非限制性实例是环丙烷、环丁烷、环戊烷、环戊烯、环已烷、环已二烯、金刚烷、环庚烷、环庚三烯等。环烷基可以是取代的或未取代的。当被取代的，取代基优选是 1 或多个，更优选 1 或 2 个取代基，它们独立地选自以下基团：未取代的低级烷基，三卤烷基，卤素，羟基，未取代的低级烷氧基；可任意被 1 或多个、优选 1 或 2 个彼此独立地选自卤素、羟基、未取代的低级烷基或未取代的低级烷氧基的基团取代的芳基；可任意被 1 或多个、优选 1 或 2 个彼此独立地选自卤素、羟基、未取代的低级烷基或未取代的低级烷氧基的基团取代的芳氧基；环中有 1－3 个氮原子的 6 元杂芳基，环中的碳原子可任意被 1 或多个、优选 1 或 2 个彼此独立地选自卤素、羟基、未取代的低级烷基或未取代的低级烷氧基的基团取代；有 1－3 个选自氮、氧和硫的杂原子的 5 元杂芳基，其中碳和氮原子可任意被 1 或多个、优选 1 或 2 个彼此独立地选自卤素、羟基、未取代的低级烷基或未取代的低级烷氧基的基团取代；有 1－3 个选自氮、氧和硫的杂原子的 5 或 6 元杂脂环基，其中的碳和氮（如果存在）原子可任意被 1 或多个、优选 1 或 2 个彼此独立地选自卤素、羟基、未取代的低级烷基或未取代的低级烷氧基的基团取代；巯基，（未取代的低级烷基）硫基，可任意被 1 或多个、优选 1 或 2 个彼此独立地选自卤素、羟基、未取代的低级烷基或未取代的低级烷氧基的基团取代的芳硫基；氰基，酰基，硫代酰基，O－氨基甲酰基，N－氨基甲酰基，O－硫代氨基甲酰基，N－硫代氨基甲酰基，C－酰氨基，N－酰氨基，硝基，N－磺酰氨基，S－磺酰氨基，$R^{18}S(O)-$，$R^{18}S(O)_2-$，$-C(O)OR^{18}$，$R^{18}C(O)O-$ 和－

$NR^{18}R^{19}$，R^{18}和R^{19}与以上的定义相同。

“链烯基”是指本申请中定义的低级烃基，其中含至少两个碳原子和至少一个碳－碳双键。代表性的实例包括但不限于：乙烯基、1－丙烯基、2－丙烯基、1－，2－，或3－丁烯基等。

“炔基”是指本申请中定义的低级烃基，其中含至少两个碳原子和至少一个碳－碳三键。代表性实例包括但不限于：乙炔基、1－丙炔基、2－丙炔基、1－，2－，或3－丁炔基等。

“芳基”是指1－12个碳原子的全碳单环或稠合多环（即，多个环共有相邻的碳原子对）基团，具有完全共轭的π电子体系。芳基的非限制性实例是苯基、萘基和蒽基。芳基可以是取代的或未取代的。当被取代时，取代基团优选是1或多个、更优选1、2或3个，最优选1或2个独立地选自以下基团的取代基：未取代的低级烷基、三卤烷基、卤素、羟基、未取代的低级烷氧基、巯基、（未取代的低级烷基）硫基、氰基，酰基，硫代酰基，O－氨基甲酰基，N－氨基甲酰基，O－硫代氨基甲酰基，N－硫代氨基甲酰基，C－酰氨基，N－酰氨基，硝基，N－磺酰氨基，S－磺酰氨基，$R^{18}S(O)-$，$R^{18}S(O)_2-$，$-C(O)OR^{18}$，$R^{18}C(O)O-$和$-NR^{18}R^{19}$，其中R^{18}和R^{19}的定义同上。最好是，芳基被独立地选自以下基团的一或二个取代基任意取代：卤素，未取代的低级烷基，三卤烷基，羟基，巯基，氰基，N－酰氨基，一或二烷基氨基，羧基或N－磺酰氨基。

“杂芳基”是指有5－12个环原子的单环或稠环（即，共用一对相邻原子的几个环），其中含1、2或3个选自N、O或S的环杂原子，其余的环原子是C，此外，还有完全共轭的π电子体系。未取代的杂芳基的非限制实例是吡咯、呋喃、噻吩、咪唑、噁唑、噻唑、吡唑、吡啶、嘧啶、喹啉、异喹啉、噁呤和咔唑。杂芳基可以是取代的或未取代的。若是被取代的，取代基优选是一或多个，更优选是1、2或3个，最好是1或2个独立地选自以下基团的取代基：未取代的低级烷基、三卤烷基、卤素、羟基、未取代的低级烷氧基、巯基、（未取代的低级烷基）硫基、氰基，酰基，硫代酰基，O－氨基甲酰基，N－氨基甲酰基，O－硫代氨基甲酰基，N－硫代氨基甲酰基，C－酰氨基，N－酰氨基，硝基，N－磺酰氨基，S－磺酰氨基，$R^{18}S(O)-$，$R^{18}S(O)_2-$，$-C(O)OR^{18}$，$R^{18}C(O)O-$和$-NR^{18}R^{19}$，其中R^{18}和R^{19}的定义同上。优

选的是，该杂芳基可任意地被一或二个独立地选自以下基团的取代基取代：卤素，未取代的烷基，三卤烷基，羟基，巯基，氰基，N－酰胺基，一或二烷基氨基，羧基或N－磺酰氨基。

“杂脂环基”是指环中有5－9个环原子的单环或稠环基团，其中1或2个环原子是选自N、O或$S(O)_n$（其中n是由0到2的整数）的杂原子，其余的环原子是碳。该环也可以有一或多个双键。但是，该环没有完全共轭的π电子体系。未取代的杂脂环基的非限制性实例有吡咯烷基、哌啶基、哌嗪基、吗啉基、硫代吗啉基、高哌嗪基等。杂脂环基可以是取代的或是未取代的。若是取代的，取代基优选是一或多个、更优选1、2或3个，最好是1或2个独立地选自以下基团的取代基：未取代的低级烷基、三卤烷基、卤素、羟基、未取代的低级烷氧基、巯基、（未取代的低级烷基）硫基、氰基，酰基，硫代酰基，O－氨基甲酰基，N－氨基甲酰基，O－硫代氨基甲酰基，N－硫代氨基甲酰基，C－酰氨基，N－酰氨基，硝基，N－磺酰氨基，S－磺酰氨基，$R^{18}S(O)-$，$R^{18}S(O)_2-$，$-C(O)OR^{18}$，$R^{18}C(O)O-$和$-NR^{18}R^{19}$，其中R^{18}和R^{19}的定义同上。最好是，该杂脂环基任选地被独立地选自以下基团的1或2个取代基取代：卤素，未取代的低级烷基，三卤烷基，羟基，巯基，氰基，N－酰氨基，一或二烷基氨基，羧基或N－磺酰胺基。

最好是，该杂脂环基任选地被独立地选自以下基团的1或2个取代基取代：卤素，未取代的低级烷基，三卤烷基，羟基，巯基，氰基，N－酰氨基，一或二烷基氨基，羧基或N－磺酰胺基。

“杂环”是指3－8个环原子的饱和环基，其中一或二个环原子是选自N、O或$S(O)_n$（其中n是从0到2的整数）的杂原子，其余的原子是C，其中1或2个碳原子可任意地被羰基取代。这种杂环基可任意和独立地被选自以下基团的1、2或3个取代基取代：任意取代的低级烷基（被1或2个独立选自羧基或酯基的取代基取代），卤烷基，氰烷基，卤素，硝基，氰基，羟基，烷氧基，氨基，一烷基氨基，二烷基氨基，芳烷基，杂芳烷基，－COR（其中R是烷基）或－COOR（其中R是氢或烷基）。更具体地说，术语杂环基包括但不限于：四氢吡喃基，2,2－二甲基－1,3－二氧杂环戊烷，哌啶基，N－甲基哌啶－3－基，哌嗪基，N－甲基吡咯烷－3－基，3－吡咯烷基，吗啉基，

硫代吗啉基，硫代吗啉基－1－氧化物，硫代吗啉基－1,1－二氧化物，4－乙氧羰基哌嗪基，3－氧代哌嗪基，2－咪唑烷酮，2－吡咯烷酮，2－氧代高哌嗪基，四氢嘧啶－2－酮，以及它们的衍生物。优选该杂环基任意地被独立地选自以下基团的 1 或 2 个取代基取代：卤素，未取代的低级烷基，被羧基取代的低级烷基，酯羟基，一或二烷基氨基。

“羟基”指－OH 基团。

“烷氧基”指基团－O－（未取代的烷基）和－O－（未取代的环烷基）。代表性的实例包括但不限于：甲氧基、乙氧基、丙氧基、丁氧基、环丙氧基、环丁氧基。环戊氧基、环己氧基等。

“芳氧基”指本申请中定义的－O－芳基和－O－杂芳基。代表性实例包括但不限于：苯氧基，吡啶氧基，呋喃氧基，噻吩氧基，嘧啶氧基，吡嗪氧基等，及它们的衍生物。

“巯基”指－SH 基团

“烷硫基”指－S－（未取代的烷基）和－S－（未取代的环烷基）。代表性的实例包括但不限于甲硫基、乙硫基、丙硫基、丁硫基、环丙硫基、环丁硫基、环戊硫基、环己硫基等。

“芳硫基”代表本申请中定义的－S－芳基和－S－杂芳基。代表性实例包括但不限于：苯硫基、吡啶硫基、呋喃硫基、噻吩硫基、嘧啶硫基等及它们的衍生物。

“酰基”代表－C(O)-R″基团，其中 R″是选自以下基团：氢，未取代的低级烷基，三卤甲基，未取代的环烷基，任意被一或多个、优选被 1、2 或 3 个选自未取代的低级烷基、三卤甲基、未取代的低级烷氧基、卤素和－$NR^{18}R^{19}$ 基团的取代基取代的芳基，任意被一或多个、优选被 1、2 或 3 个选自未取代的低级烷基、三卤甲基、未取代的低级烷氧基、卤素和－$NR^{18}R^{19}$ 基团的取代基取代的杂芳基（通过环碳原子键合），以及任意被一或多个、优选被 1、2 或 3 个选自未取代的低级烷基、三卤甲基、未取代的低级烷氧基、卤素和－$NR^{18}R^{19}$ 基团的取代基取代的杂脂环基（通过环碳原子键合）。代表性的酰基包括但不限于乙酰基、三氟乙酰基、苯甲酰基等。

“醛”是指其中 R″是氢的酰基。

“硫代酰基”是指－C(S)－R″基团，其中 R″同本申请中的定义。

“酯”指－C(O)O－R″基团，其中 R″的定义同上，但不能是氢。

“乙酰基”代表 $-C(O)CH_3$ 基团。

“卤”基代表氟、氯、溴或碘，优选氟或氯。

“三卤甲基”是指 $-CX_3$ 基团，其中 X 是本申请中定义的卤基。

“三卤甲磺酰基”代表基团 $X_3CS(=O)_2-$，其中 X 同以上定义。

“氰基”代表基团 $-C\equiv N$。

“亚甲二氧基”代表基团 $-OCH_2O-$，其中两个氧原子与相邻的碳原子结合。

“亚乙二氧基”代表基团 $-OCH_2CH_2O-$，其中两个氧原子与相邻的碳原子结合。

“S－磺酰胺基”代表基团 $-S(O)_2NR^{18}R^{19}$，R^{18} 和 R^{19} 同本申请中的定义。

“N－磺酰胺基”代表 $-NR^{18}S(O)_2R^{19}$，其中 R^{18} 和 R^{19} 同本申请中的定义。

“O－氨基甲酰基”代表基团 $-OC(O)NR^{18}R^{19}$，其中 R^{18} 和 R^{19} 同本申请中的定义。

“N－氨基甲酰基”代表 $R^{18}OC(O)NR^{19}$ 基团，其中 R^{18} 和 R^{19} 同本申请中的定义。

“O－硫代氨基甲酰基”代表基团 $-OC(S)NR^{18}R^{19}$，其中 R^{18} 和 R^{19} 同本申请中的定义。

“N－硫代氨基甲酰基”代表基团 $R^{18}OC(S)NR^{19}-$，其中 R^{18} 和 R^{19} 同本申请中的定义。

“氨基”代表基团 $-NR^{18}R^{19}$，其中 R^{18} 和 R^{19} 都是氢。

“C－酰胺基”代表基团 $-C(O)NR^{18}R^{19}$，其中 R^{18} 和 R^{19} 同本申请中的定义。

“N－酰胺基”代表基团 $R^{18}C(O)NR^{19}-$，其中 R^{18} 和 R^{19} 同本申请中的定义。

“硝基”指 $-NO_2$ 基团。

“卤烷基”是指如上定义的未被取代的烷基，优选未被取代的低级烷基，在被 1 或多个相同或不同的卤原子取代后形成的基团，例如 $-CH_2Cl$、$-CF_3-$、CH_2CF_3、$-CH_2CCl_3$ 等。

“芳烷基”是指被一个如上定义的芳基取代的如上定义的未取代的烷基，优选未取代的低级烷基，例如，$-CH_2-$苯基、$-(CH_2)_2-$苯

基、－$(CH_2)_3$－苯基、－$CH_3CH(CH_3)CH_2$－苯基等及其衍生物。

“杂芳烷基”是指被杂芳基取代的如上定义的未被取代的烷基。优选未被取代的低级烷基，例如，－CH_2－吡啶基、－$(CH_2)_2$－嘧啶基、－$(CH_2)_3$－咪唑基等及其衍生物。

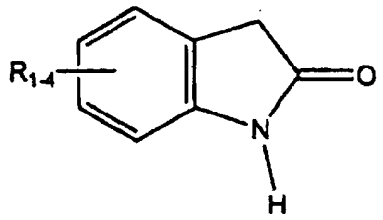
“一烷基氨基”代表基团－NHR，其中 R 是如上定义的未被取代的烷基或未被取代的环烷基，例如甲氨基、（1－甲基乙基）氨基、环己基氨基等。

“二烷基氨基”是指基团－NRR，其中 R 独立地是如上定义的未取代的烷基或未取代的环烷基，例如，二甲基氨基、二乙基氨基、（1－甲基乙基）乙氨基、环己基甲氨基、环戊基甲氨基等。

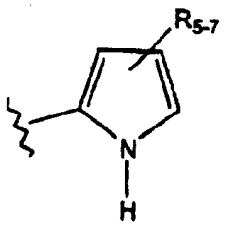
“氰烷基”是指被 1 或 2 个氰基取代的如上定义的未取代的烷基，优选未取代的低级烷基。

“任意的”或“任意地”是指随后描述的事件或情况可以但不必须发生，而且这种描述包括了该事件或情况发生和不发生的情形。例如，“杂环基可任意地被一个烷基取代”是指该烷基可以存在，但不必须存在，并且该描述包括了杂环基被烷基取代和不被烷基取代两种情形。

术语“2－二氢吲哚酮”、“二氢吲哚－2－酮”和“2－氧代吲哚”在本申请中可互换使用，代表化学结构如下的分子:



术语“吡咯”代表化学结构如下的分子:



术语“吡咯取代的2－二氢吲哚酮”和“3－吡咯亚基－2－二氢吲哚酮”在本申请中可互换使用代表具有式（1）所示一般结构的化合物。

分子式相同、但其原子成键的本质或顺序或者原子的空间排列不同的化合物被称为“异构体”。原子空间排列不同的异构体称作“立体异构体”。彼此不成镜像的立体异构体称作“非对映体”，而彼此是不能重叠的镜像的异构体被称作“对映体”。当化合物有一个不对称中心时，例如，它与四个不同的基团键合时，可能有一对对映体。对映体可以用其不对称中心的绝对构型表征，并按照Cahn和Prelog的R－和S－排序规则或者分子使偏振光平面偏转的方式来描述，分成右旋或左旋（即，分别作为（+）或（－）异构体）。手性化合物可以以个别对映体或其混合物的形式存在。含等比例的对映体的混合物被称作“外消旋混合物”。

本发明化合物可以有一个或多个不对称中心，因此这些化合物可以被制备成个别的（R）－或（S）－立体异构体或它们的混合物。例如，如果式（I）化合物中的R^6取代基是2－羟基乙基，则该羟基所连接的碳是一个不对称中心，因此式（I）化合物可以以（R）或（S）型立体异构体形式存在。除非另外指明，申请书和权利要求中具体化合物的描述或命名都打算包括个别的对映体及它们的混合物（外消旋的或非消旋的）。立体化学结构的测定和立体异构体的分离方法是本领域熟知的（参见“Advanced Organic Chemistry”（高等有机化学）第4章的讨论，第4版，J.March, John Wiley & Sons, New York, 1992）。

式（I）化合物可以显示出互变异构和结构异构化作用。例如，本发明所述的化合物可以对于连接2－二氢吲哚酮部分和吡咯部分的双键采取E或者Z构型，或者可以是E型和Z型的混合物。本发明包括具有调节RTK、CTK和/或STK活性能力的任何互变异构或结构异构形

式及其混合物，而且不限于任何一种互变异构或结构异构形式。

“药物组合物”是指本申请所述的一种或多种化合物或其生理上/药学上可接受的盐或前药，与其它化学组分，例如生理上/药学上可接受的载体和赋形剂形成的混合物。药物组合物的目的是有利于对有机体施用化合物。

式（I）化合物也可以作为前药起作用。“前药”是指在体内转化成母体药物的试剂。前药常常有用，因为在某些情形它们比母体药物更容易服用。例如，它们可能是以口服方式生物可利用的，而母体药物则不是。前药也可能比母体药物有更高的在药物组合物中的溶解度。前药的一个非限制性实例是本发明的一种化合物，它以酯的形式（“前药”）给药以有利于对细胞膜的穿透，此时水溶性对于迁移率不利，而后则经过代谢水解成羧酸，这种活性实体一旦在细胞之内，水溶性是有利的。

前药的另一实例可以是短的多肽，例如但不限于 2－10 个氨基酸的多肽，它经由末端氨基与本发明化合物的羧基结合，其中该多肽在体内水解或代谢，释放出活性分子。式（I）化合物的前药是在本发明的范围之内。

另外，还考虑式（I）化合物在有机体内，例如人体内，会被酶代谢，产生出能调节蛋白激酶活性的代谢物。这些代谢物是在本发明的范围之内。

这里所说的“生理上/药学上可接受的载体”是指对有机体无明显刺激作用，而且不会损害所服用化合物的生物活性及性能的那些载体和稀释剂。

“可药用的赋形剂”是指加到药物组合物中进一步有利于化合物的服用的惰性物质。赋形剂的非限制性实例包括碳酸钙、磷酸钙、各种糖和各类淀粉、纤维素衍生物、明胶、植物油和聚乙二醇。

这里所用的“可药用盐”一词是指保留了母体化合物的生物效力和性质的那些盐。这些盐包括：

（1）通过母体化合物的游离碱与无机酸或有机酸反应得到的酸加成盐，无机酸的实例包括盐酸、氢溴酸、硝酸、磷酸、硫酸和高氯酸等，有机酸的实例包括乙酸、草酸、（D）或（L）苹果酸、马来酸、甲磺酸、乙磺酸、对甲苯磺酸、水杨酸、酒石酸、柠檬酸、琥珀酸或

丙二酸等。优选盐酸或（L）－苹果酸，例如 5－（5－氟－2－氧代－1,2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－2,4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二乙基氨基乙基）酰胺的 L－苹果酸盐；或

（2）当母体化合物中存在的酸质子被金属离子（例如碱金属离子，碱土离子或铝离子）置换形成的盐，或与有机碱（如乙醇胺，二乙醇胺、三乙醇胺、三羟甲基氨基甲烷、N－甲基葡糖胺等）形成的配位化合物。

“PK”是指受体蛋白酪氨酸激酶（RTK）、非受体或“细胞”酪氨酸激酶（CTK）及丝氨酸－苏氨酸激酶（STK）。

“方法”是指实现指定任务的方式、手段、技术和步骤，包括但不限于，化学、药学、生物、生物化学及医学领域的实践者已知的，或容易根据已知的方式、手段、技术和步骤发展的那些方式、手段、技术和步骤。

“调节作用”或“调节”是指 RTK、CTK 和 STK 的催化活性的变化。具体地说，调节是指 RTK、CTK 和 STK 的催化活性的活化，优选 RTK、CTK 和 STK 的催化活性以与它们所接触的化合物的浓度有关的方式被活化或抑制，或者更优选地，RTK、CTK 和 STK 的催化活性的抑制。

“催化活性”指酪氨酸在 RTK 和/或 CTK 的直接或间接影响下的磷酸化速率，或丝氨酸与苏氨酸在 STK 的直接或间接影响下的磷酸化速率。

“接触”是指本发明化合物与靶物 PK 以这样的方式会聚在一起，使得化合物能够直接地，即通过与激酶本身的相互作用，或者间接地，即，通过与激酶的催化活性所依赖的另一分子的相互作用，影响 PK 的催化活性。这种“接触”可以“在活体外”于试管、培养皿或类似物中完成。在试管中，接触可以只涉及要考虑的一种化合物和一种 PK，也可以涉及整个细胞。细胞也可以保持或生长在细胞培养皿中并在该环境下与化合物接触。在这一方面，具体的化合物影响与 PK 有关的疾病的能力，即，下面定义的化合物 IC_{50} 值，可以在试图将化合物用于更复杂的生命体体内之前先作测定。对于有机体外的细胞，有许多实现 PK 与化合物接触的方法，它们是本领域技术人员所熟知的，包括但不限于直接的细胞显微注射和许多跨膜载体技术。

“体外”是指在人工环境中，例如但不限于，在试管或培养基中进行的步骤。

“体内”指在生命体内，例如但不限于，在小鼠、大鼠或兔内进行的步骤。

“与 PK 有关的疾病”、“PK 驱动病”和“反常的 PK 活性”均指以不适当的，即过低或者更常见的过高 PK 催化活性为特征的病症，其中具体的 PK 可以是 RTK、CTK 或 STK。不适当的催化活性可以由以下任一原因造成：（1）在通常不表达 PK 的细胞中表达 PK，（2）PK 表达增高导致不良的细胞增殖、分化和/或生长，或（3）PK 表达减弱导致不良的细胞增殖、分化和/或生长减小。PK 活性过高是指编码特定 PK 的基因的扩增或者可能与细胞增殖、分化和/或生长紊乱有关的 PK 活性水平的产生（即，随着 PK 水平增高，细胞性疾病的一种或多种症状的严重性增加）。过低活性当然是其反面，这时细胞性疾病的一种或多种症状随 PK 活性水平减小而增加。

“治疗”是指减轻或消除 PK 介导的细胞性疾病和/或其附带症状。特别是关于癌，这些名词直接意味着癌症患者的预期寿命将会增加，或者一种或多种疾病症状将会减少。

“有机体”是指包含至少一个细胞的任何生命实体。一个生命体可以简单到是例如单个的真核细胞，或者复杂到是哺乳动物，包括人。

“治疗有效数量”是指能将要治疗的疾病的一种或多种症状减轻到一定程度的化合物服用量。就癌症治疗而言，治疗有效量是指具有以下效果的服药量：

（1）减小肿瘤的尺寸；

（2）抑制（即，减慢至某种程度，最好是停止）肿瘤转移；

（3）将肿瘤生长抑制至某种程度（即，减慢至某种程度，最好是停止）；和/或

（4）将与癌症有关的一种或多种症状减轻至某种程度（或者最好是消除）。

“监测”意味着观察或检测化合物与表达特定 PK 的细胞相接触的效果。观察或检测的效果可以是细胞表型、PK 催化活性或 PK 与天然结合伙伴相互作用的变化。观察或检测这些效果的技术是本领域所熟知的。

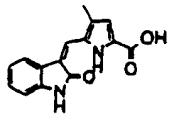
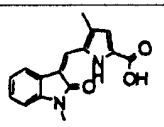
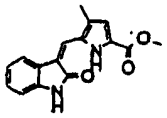
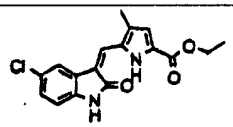
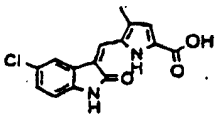
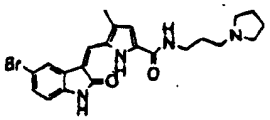
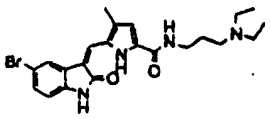
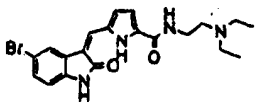
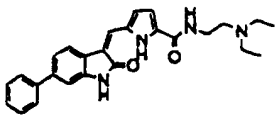
上面提到的效果是选自本发明最后一方面中细胞表型的变化或不变化，蛋白激酶的催化活性的变化或不变化，或是该蛋白激酶与天然结合伙伴的相互作用的变化或不变化。

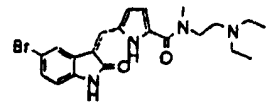
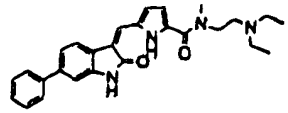
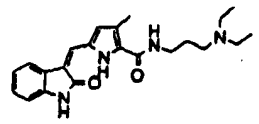
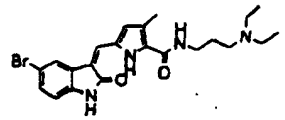
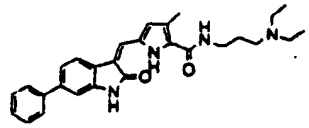
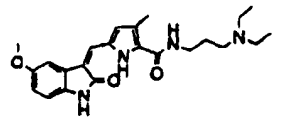
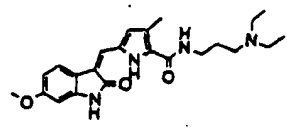
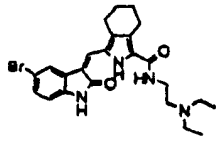
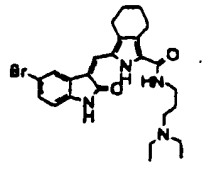
“细胞表型”是指细胞或组织的外观，或者细胞或组织的生物学功能。细胞表型的非限制性实例是细胞尺寸、细胞生长、细胞增殖、细胞分化、细胞存活、编程性细胞死亡，以及营养的摄入和利用。这些表型特征是可以用本领域熟知的技术测量的。

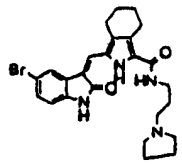
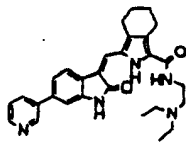
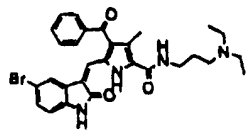
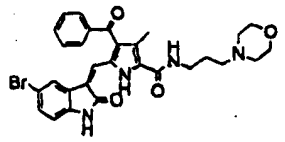
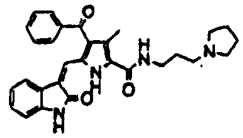
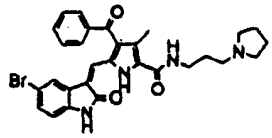
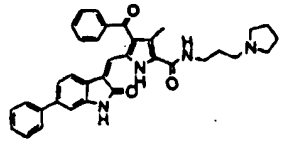
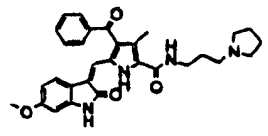
“天然结合伙伴”指细胞中与特定 PK 结合的多肽。天然结合伙伴可以在 PK 介导的信号转导过程中起传播信号的作用。天然结合伙伴与 PK 的相互作用的变化可显示为 PK/天然结合伙伴复合物的浓度增高或减小，并因此造成 PK 介导信号转导的能力有可观察到的变化。

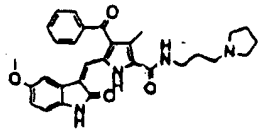
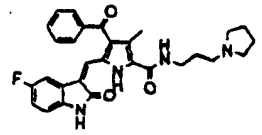
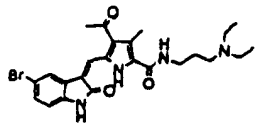
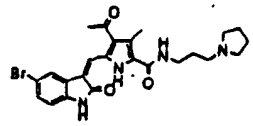
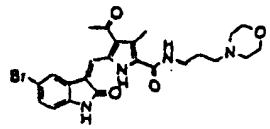
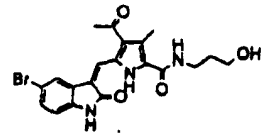
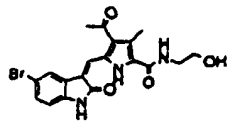
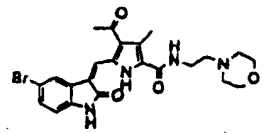
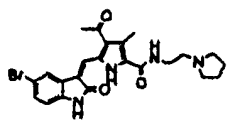
本发明的代表性化合物示于下面表 1 中。

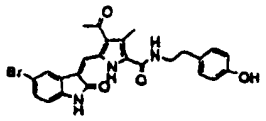
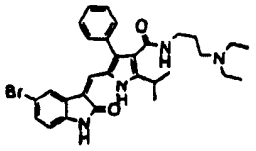
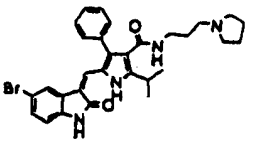
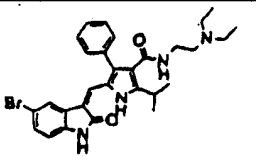
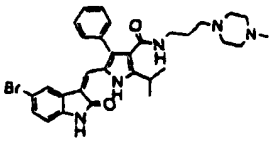
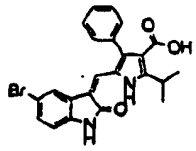
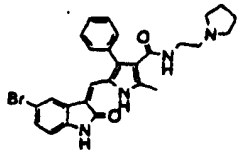
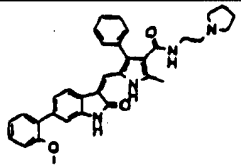
表 1

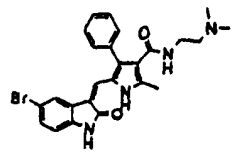
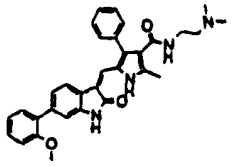
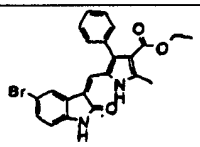
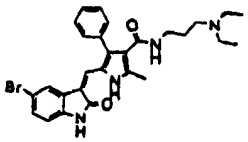
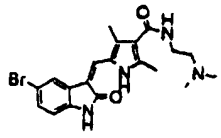
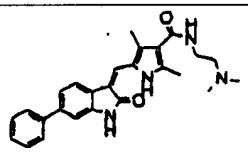
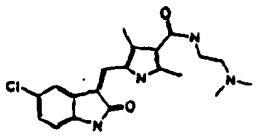
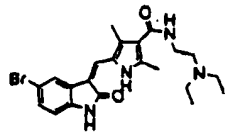
实施例	结构	名称
1		4-甲基-5-(2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-1H-吡咯-2-羧酸
2		4-甲基-5-(1-甲基-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-1H-吡咯-2-羧酸
3		4-甲基-5-(2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-1H-吡咯-2-羧酸甲酯
4		5-(5-氯-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-4-甲基-1H-吡咯-2-羧酸乙酯
5		5-(5-氯-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-4-甲基-1H-吡咯-2-羧酸
6		5-(5-溴-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-4-甲基-1H-吡咯-2-羧酸(3-吡咯烷-1-基丙基)酰胺
7		5-(5-溴-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-4-甲基-1H-吡咯-2-羧酸(3-二乙基氨基丙基)酰胺
8		5-(5-溴-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-1H-吡咯-2-羧酸(2-二乙基氨乙基)酰胺
9		5-(2-氧代-6-苯基-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-1H-吡咯-2-羧酸(2-二乙基氨乙基)酰胺

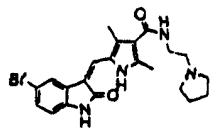
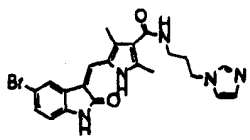
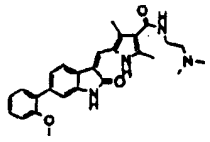
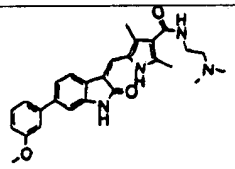
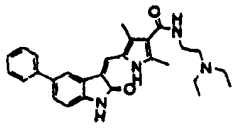
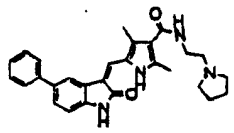
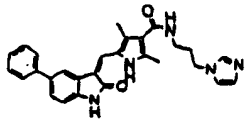
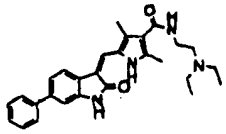
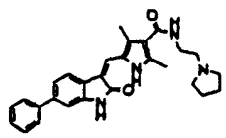
10		5-(5-溴-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-1H-吡咯-2-羧酸(2-二乙基氨乙基)甲基酰胺
11		5-(2-氧代-6-苯基-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-1H-吡咯-2-羧酸(2-二乙基氨乙基)甲基酰胺
12		3-甲基-5-(2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-1H-吡咯-2-羧酸(3-二乙基氨基丙基)酰胺
13		5-(5-溴-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-3-甲基-1H-吡咯-2-羧酸(3-二乙基氨丙基)酰胺
14		3-甲基-5-(2-氧代-6-苯基-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-1H-吡咯-2-羧酸(3-二乙基氨丙基)酰胺
15		5-(5-甲氧基-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-3-甲基-1H-吡咯-2-羧酸(3-二乙基氨丙基)酰胺
16		5-(6-甲氧基-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-3-甲基-1H-吡咯-2-羧酸(3-二乙基氨丙基)酰胺
17		3-(5-溴-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-4,5,6,7-四氢-2H-异吲哚-1-羧酸(2-二乙基氨乙基)酰胺
18		3-(5-溴-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-4,5,6,7-四氢-2H-异吲哚-1-羧酸(3-二乙基氨丙基)酰胺

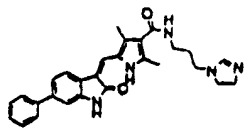
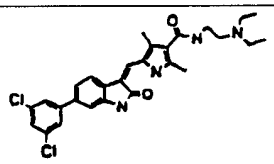
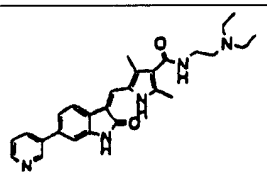
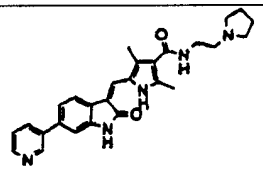
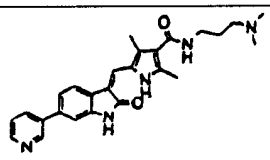
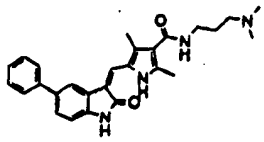
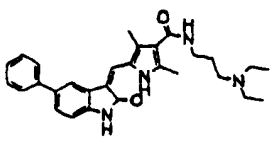
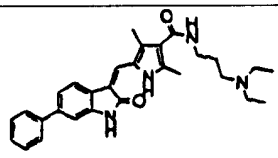
19		3-(5-溴-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-4,5,6,7-四氢-2H-异吲哚-1-羧酸(3-吡咯烷-1-基丙基)酰胺
20		3-(2-氧代-6-吡啶-3-基-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-4,5,6,7-四氢-2H-异吲哚-1-羧酸(2-二乙基氨乙基)酰胺
21		4-苯甲酰-5-(5-溴-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-3-甲基-1H-吡咯-2-羧酸(3-二乙基氨丙基)酰胺
22		4-苯甲酰-5-(5-溴-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-3-甲基-1H-吡咯-2-羧酸(3-吗啉-4-基丙基)酰胺
23		4-苯甲酰-3-甲基-5-(2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-1H-吡咯-2-羧酸(3-吡咯烷-1-基丙基)酰胺
24		4-苯甲酰-5-(5-溴-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-3-甲基-1H-吡咯-2-羧酸(3-吡咯烷-1-基丙基)酰胺
25		4-苯甲酰-3-甲基-5-(2-氧代-6-苯基-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-1H-吡咯-2-羧酸(3-吡咯烷-1-基丙基)酰胺
26		4-苯甲酰-5-(6-甲氧基-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-3-甲基-1H-吡咯-2-羧酸(3-吡咯烷-1-基丙基)酰胺

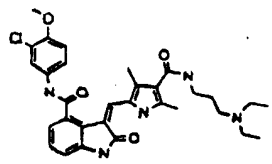
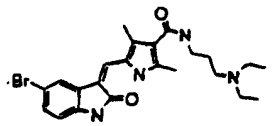
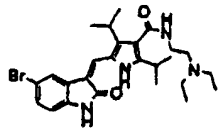
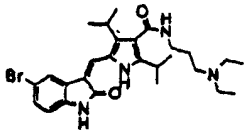
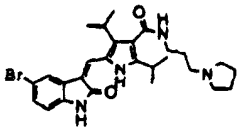
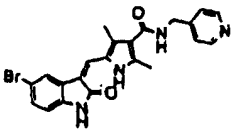
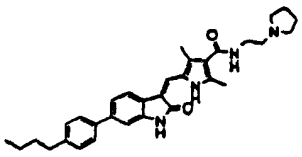
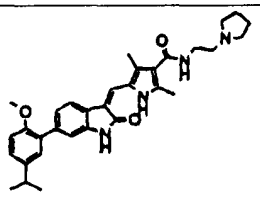
27		4-苯甲酰-5-(5-甲氧基-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-3-甲基-1H-吡咯-2-羧酸(3-吡咯烷-1-基丙基)酰胺
28		4-苯甲酰-5-(5-氟-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-3-甲基-1H-吡咯-2-羧酸(3-吡咯烷-1-基丙基)酰胺
29		4-乙酰基-5-(5-溴-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-3-甲基-1H-吡咯-2-羧酸(3-二乙基氨丙基)酰胺
30		4-乙酰基-5-(5-溴-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-3-甲基-1H-吡咯-2-羧酸(3-吡咯烷-1-基丙基)酰胺
31		4-乙酰基-5-(5-溴-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-3-甲基-1H-吡咯-2-羧酸(3-吗啉-4-基丙基)酰胺
32		4-乙酰基-5-(5-溴-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-3-甲基-1H-吡咯-2-羧酸(3-羟基丙基)酰胺
33		4-乙酰基-5-(5-溴-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-3-甲基-1H-吡咯-2-羧酸(2-羟基乙基)酰胺
34		4-乙酰基-5-(5-溴-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-3-甲基-1H-吡咯-2-羧酸(2-吗啉-4-基乙基)酰胺
35		4-乙酰基-5-(5-溴-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-3-甲基-1H-吡咯-2-羧酸(2-吡咯烷-1-基乙基)酰胺

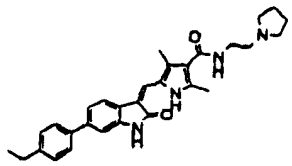
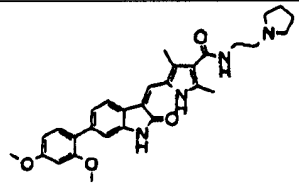
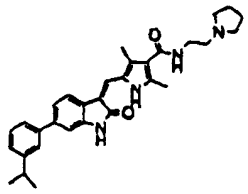
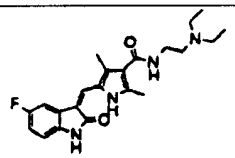
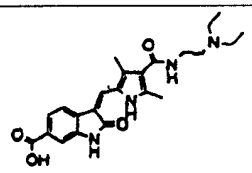
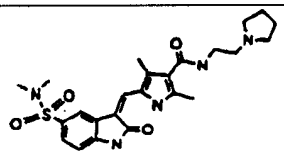
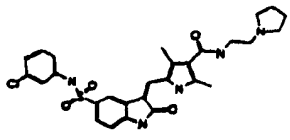
36		4-乙酰基-5-(5-溴-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-3-甲基-1H-吡咯-2-羧酸[2-(4-羟苯基)乙基]酰胺
37		5-(5-溴-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-2-异丙基-4-苯基-1H-吡咯-3-羧酸(3-二乙基氨丙基)酰胺
38		5-(5-溴-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-2-异丙基-4-苯基-1H-吡咯-3-羧酸[3-吡咯烷-1-基丙基]酰胺
39		5-(5-溴-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-2-异丙基-4-苯基-1H-吡咯-3-羧酸(2-二乙基氨乙基)酰胺
40		5-(5-溴-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-2-异丙基-4-苯基-1H-吡咯-3-羧酸[3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙基]酰胺
41		5-(5-溴-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-2-异丙基-4-苯基-1H-吡咯-3-羧酸
42		5-(5-溴-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-2-甲基-4-苯基-1H-吡咯-3-羧酸(2-吡咯烷-1-基乙基)酰胺
43		5-[6-(2-甲氧基苯基)-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-2-甲基-4-苯基-1H-吡咯-3-羧酸(2-吡咯烷-1-基乙基)酰胺

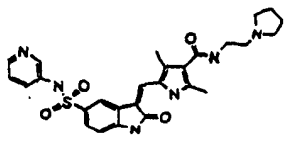
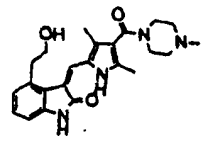
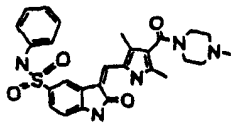
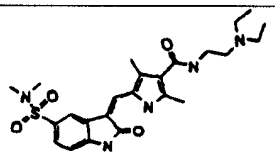
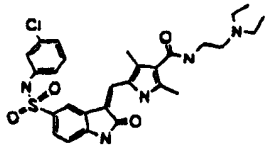
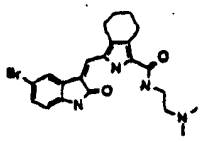
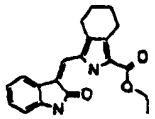
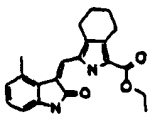
44		5-(5-溴-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-2-甲基-4-苯基-1H-吡咯-3-羧酸(2-二甲基氨基乙基)酰胺
45		5-[6-(2-甲氧基苯基)-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-2-甲基-4-苯基-1H-吡咯-3-羧酸(2-二甲基氨基乙基)酰胺
46		5-(5-溴-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-2-甲基-4-苯基-1H-吡咯-3-羧酸乙酯
47		5-(5-溴-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-2-甲基-4-苯基-1H-吡咯-3-羧酸(3-二乙基氨丙基)酰胺
48		5-(5-溴-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸(2-二甲基氨基乙基)酰胺
49		2,4-二甲基-5-(2-氧代-6-苯基-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-1H-吡咯-3-羧酸(2-二甲基氨基乙基)酰胺
50		5-(5-氯-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸(2-二甲基氨基乙基)酰胺
51		5-(5-溴-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸(2-二乙基氨乙基)酰胺

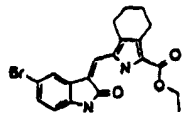
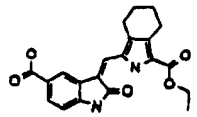
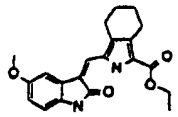
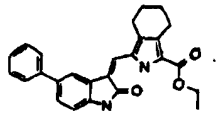
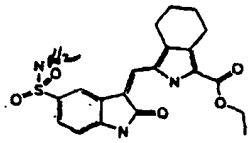
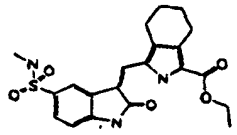
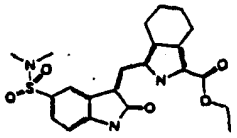
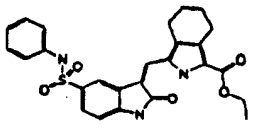
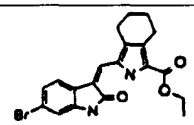
52		5-(5-溴-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸(2-吡咯烷-1-基乙基)酰胺
53		5-(5-溴-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸(3-咪唑-1-基丙基)酰胺
54		5-[6-(2-甲氧基苯基)-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸(2-二甲基氨基乙基)酰胺
55		5-[6-(3-甲氧基苯基)-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸(2-二甲基氨基乙基)酰胺
56		2,4-二甲基-5-(2-氧代-5-苯基-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-1H-吡咯-3-羧酸(2-二乙基氨乙基)酰胺
57		2,4-二甲基-5-(2-氧代-5-苯基-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-1H-吡咯-3-羧酸(2-吡咯烷-1-基乙基)酰胺
58		2,4-二甲基-5-(2-氧代-5-苯基-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-1H-吡咯-3-羧酸(3-咪唑-1-基丙基)酰胺
59		2,4-二甲基-5-(2-氧代-6-苯基-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-1H-吡咯-3-羧酸(2-二乙基氨乙基)酰胺
60		2,4-二甲基-5-[2-氧代-6-苯基-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-1H-吡咯-3-羧酸(2-吡咯烷-1-基乙基)酰胺

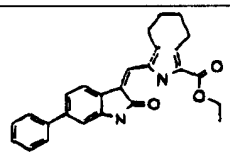
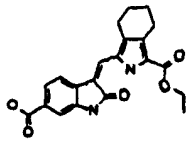
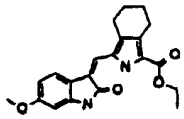
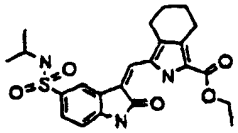
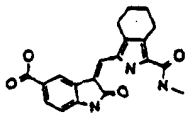
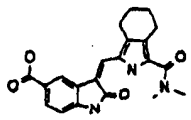
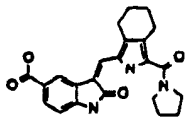
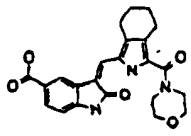
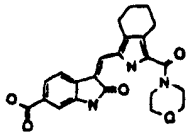
61		2,4-二甲基-5-(2-氧代-6-苯基-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-1H-吡咯-3-羧酸(3-咪唑-1-基丙基)酰胺
62		5-[6-(3,5-二氯苯基)-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸(2-二乙基氨乙基)酰胺
63		2,4-二甲基-5-(2-氧代-6-吡啶-3-基-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-1H-吡咯-3-羧酸(2-二乙基氨乙基)酰胺
64		2,4-二甲基-5-(2-氧代-6-吡啶-3-基-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-1H-吡咯-3-羧酸(2-吡咯烷-1-基乙基)酰胺
65		2,4-二甲基-5-(2-氧代-6-吡啶-3-基-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-1H-吡咯-3-羧酸(3-二甲基氨丙基)酰胺
66		2,4-二甲基-5-(2-氧代-5-苯基-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-1H-吡咯-3-羧酸(3-二甲基氨丙基)酰胺
67		2,4-二甲基-5-(2-氧代-5-苯基-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-1H-吡咯-3-羧酸(3-二乙基氨丙基)酰胺
68		2,4-二甲基-5-(2-氧代-6-苯基-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-1H-吡咯-3-羧酸(3-二乙基氨丙基)酰胺

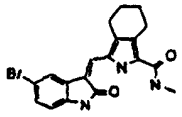
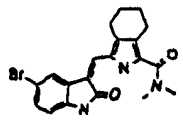
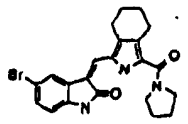
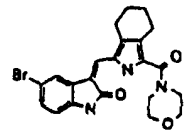
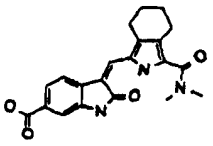
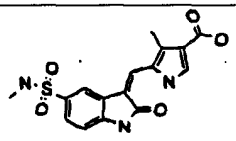
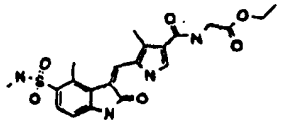
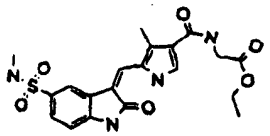
69		3-[4-(3-二乙基氨基丙基氨甲酰基)-3,5-二甲基-1H-吡咯-2-基亚甲基-2-氧代-2,3-二氢-1H-吲哚-4-羧酸(3-氯-4-甲氧基苯基)酰胺
70		5-(5-溴-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸(3-二乙基氨基丙基)酰胺
71		5-(5-溴-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-2,4-二异丙基-1H-吡咯-3-羧酸(2-二乙基氨乙基)酰胺
72		5-(5-溴-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-2,4-二异丙基-1H-吡咯-3-羧酸(3-二乙基氨丙基)酰胺
73		5-(5-溴-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-2,4-二异丙基-1H-吡咯-3-羧酸(3-吡咯烷-1-基丙基)酰胺
74		5-(5-溴-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸(吡啶-4-基甲基)酰胺
75		5-[6-(4-丁基苯基)-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸(2-吡咯烷-1-基乙基)酰胺
76		5-[6-(5-异丙基-2-甲氧基苯基)-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸(2-吡咯烷-1-基乙基)酰胺

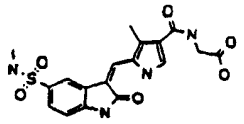
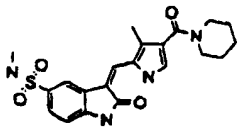
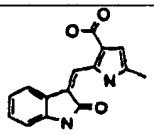
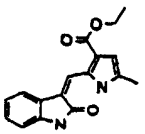
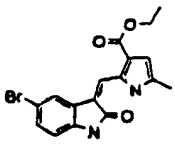
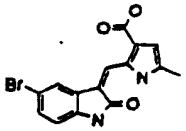
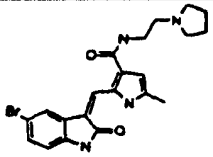
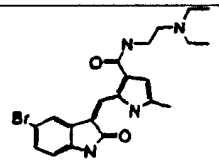
77		5-[6-(4-乙基苯基)-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸(2-吡咯烷-1-基乙基)酰胺
78		5-[6-(2,4-二甲氧基苯基)-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸(2-吡咯烷-1-基乙基)酰胺
79		5-[6-(3-异丙基苯基)-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸(2-吡咯烷-1-基乙基)酰胺
80		5-(5-氟-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸(2-二乙基氨乙基)酰胺
81		3-[4-(2-二乙基氨乙基氨甲酰)-3,5-二甲基-1H-吡咯-2-基亚甲基]-2-氧代-2,3-二氢-1H-吲哚-6-羧酸
82		5-(5-二甲基氨磺酰-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸(2-吡咯烷-1-基乙基)酰胺
83		5-[5-(3-氯苯基氨磺酰)-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸(2-吡咯烷-1-基乙基)酰胺

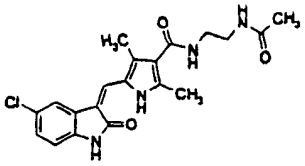
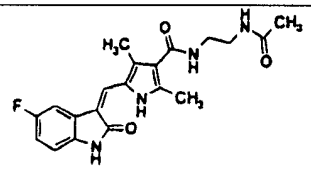
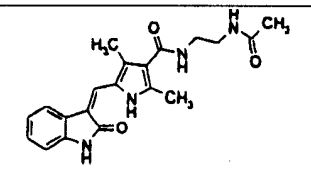
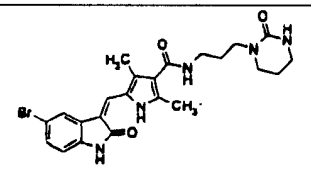
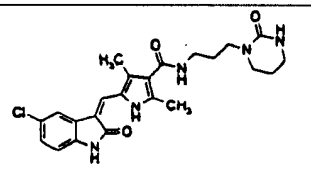
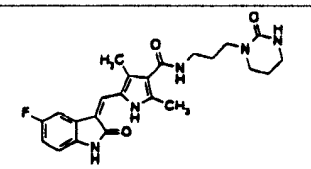
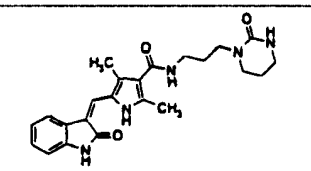
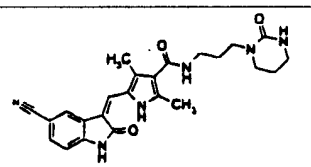
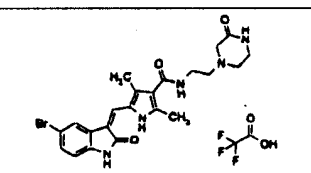
84		2,4-二甲基-5-[2-氧代-5-(吡啶-3-基氨磺酰)-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-1H-吡咯-3-羧酸(2-吡咯烷-1-基乙基)酰胺
85		3-[3,5-二甲基-4-(4-甲基哌嗪-1-羰基)-1H-吡咯-2-基亚甲基]-4-(2-羟基乙基)-1,3-二氢吲哚-2-酮
86		3-[3,5-二甲基哌嗪-1-羰基)-1H-吡咯-2-基亚甲基]-2-氧代-2,3-二氢-1H-吲哚-5-磺酸苯酰胺
87		5-(5-二甲基氨磺酰-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸(2-二乙基氨乙基)酰胺
88		5-[5-(3-氯苯基氨磺酰)-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸(2-二乙基氨乙基)酰胺
89		3-[5-溴-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-4,5,6,7-四氢-2H-异吲哚-1-羧酸(2-二甲基氨乙基)酰胺
90		3-(2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-4,5,6,7-四氢-2H-异吲哚-1-羧酸乙酯
91		3-(4-甲基-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-4,5,6,7-四氢-2H-异吲哚-1-羧酸乙酯

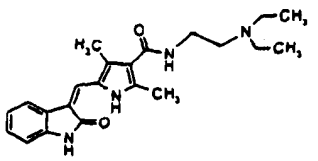
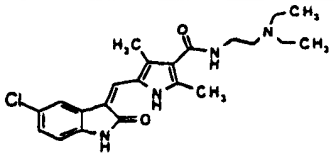
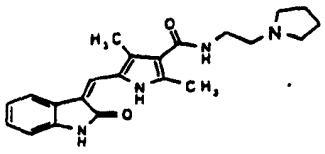
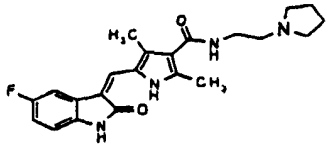
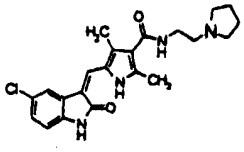
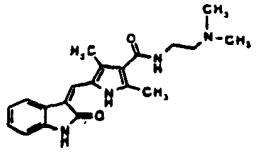
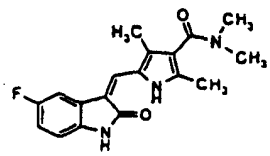
92		3-(5-溴-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-4,5,6,7-四氢-2H-异吲哚-1-羧酸乙酯
93		3-(3-乙氧羰基-4,5,6,7-四氢-2H-异吲哚-1-基亚甲基)-2-氧代-2,3-二氢-1H-吲哚-5-羧酸
94		3-(5-甲氧基-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-4,5,6,7-四氢-2H-异吲哚-1-羧酸乙酯
95		3-(2-氧代-5-苯基 1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-4,5,6,7-四氢-2H-异吲哚-1-羧酸乙酯
96		3-(2-氧代-5-氨磺酰-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-4,5,6,7-四氢-2H-异吲哚-1-羧酸乙酯
97		3-(5-甲基氨磺酰-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-4,5,6,7-四氢-2H-异吲哚-1-羧酸乙酯
98		3-(5-二甲基氨磺酰-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-4,5,6,7-四氢-2H-异吲哚-1-羧酸乙酯
99		3-(2-氧代-5-苯基氨磺酰-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-4,5,6,7-四氢-2H-异吲哚-1-羧酸乙酯
100		3-(6-溴-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-4,5,6,7-四氢-2H-异吲哚-1-羧酸乙酯

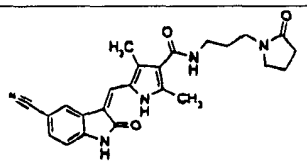
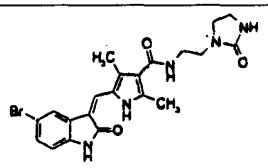
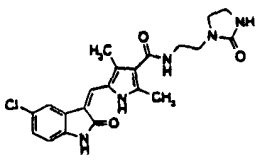
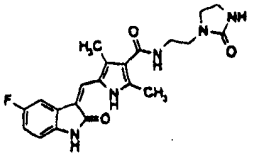
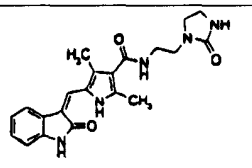
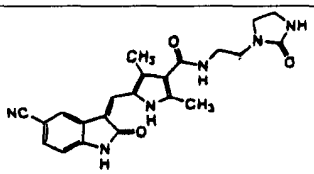
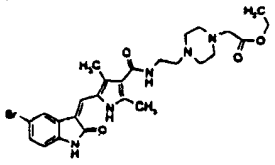
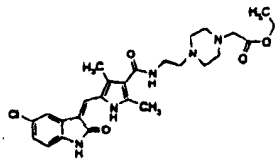
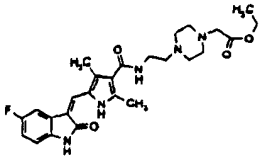
101		3-(2-氧代-6-苯基-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-4,5,6,7-四氢-2H-异吲哚-1-羧酸乙酯
102		3-(3-乙氧羰基-4,5,6,7-四氢-2H-异吲哚-1-基亚甲基)-2-氧代-2,3-二氢-1H-吲哚-6-羧酸
103		3-(6-甲氧基-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-4,5,6,7-四氢-2H-异吲哚-1-羧酸乙酯
104		3-(5-异丙基氨磺酰-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-4,5,6,7-四氢-2H-异吲哚-1-羧酸乙酯
105		3-(3-甲基氨甲酰-4,5,6,7-四氢-2H-异吲哚-1-基亚甲基)-2-氧代-2,3-二氢-1H-吲哚-5-羧酸
106		3-(3-二甲基氨甲酰-4,5,6,7-四氢-2H-异吲哚-1-基亚甲基)-2-氧代-2,3-二氢-1H-吲哚-5-羧酸
107		3-[3-(吡咯烷-1-羰基)-4,5,6,7-四氢-2H-异吲哚-1-基亚甲基)-2-氧代-2,3-二氢-1H-吲哚-5-羧酸
108		3-[3-(吗啉-4-羰基)-4,5,6,7-四氢-2H-异吲哚-1-基亚甲基)-2-氧代-2,3-二氢-1H-吲哚-5-羧酸
109		3-[3-(吗啉-4-羰基)-4,5,6,7-四氢-2H-异吲哚-1-基亚甲基)-2-氧代-2,3-二氢-1H-吲哚-6-羧酸

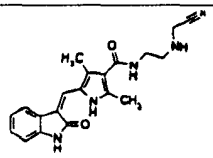
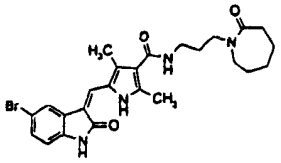
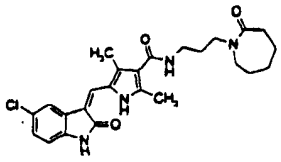
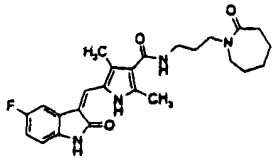
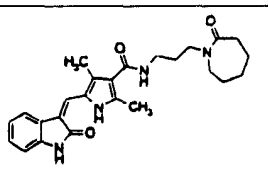
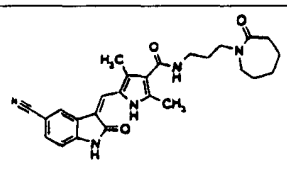
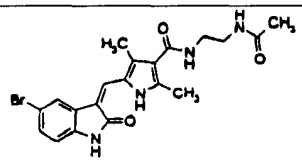
110		3-[5-溴-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-4,5,6,7-四氢-2H-异吲哚-1-羧酸甲酰胺
111		3-(5-溴-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-4,5,6,7-四氢-2H-异吲哚-1-羧酸二甲基酰胺
112		5-溴-3-[3-(吡咯烷-1-羰基)-4,5,6,7-四氢-2H-异吲哚-1-基亚甲基]-1,3-二氢吲哚-2-酮
113		5-溴-3-[3-(吗啉-4-羰基)-4,5,6,7-四氢-2H-异吲哚-1-基亚甲基]-1,3-二氢吲哚-2-酮
114		3-(3-二甲基氨甲酰-4,5,6,7-四氢-2H-异吲哚-1-基亚甲基)-2-氧代-2,3-二氢-1H-吲哚-6-羧酸
115		4-甲基-5-(5-甲基氨磺酰-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-1H-吡咯-3-羧酸
116		{[4-甲基-5-(4-甲基-5-甲基氨磺酰-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-1H-吡咯-3-羰基]氨基}乙酸乙酯
117		{[4-甲基-5-(5-甲基氨磺酰-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-1H-吡咯-3-羰基]氨基}乙酸乙酯

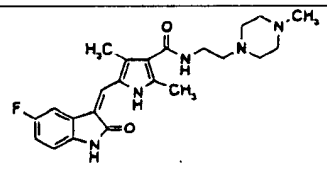
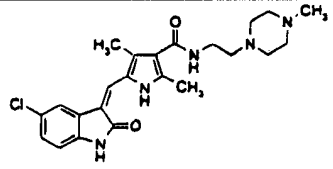
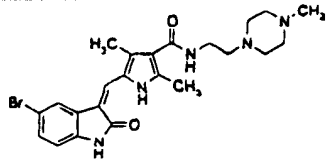
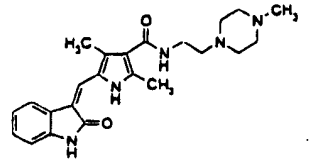
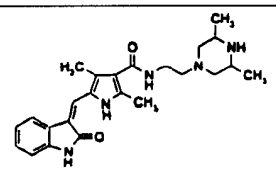
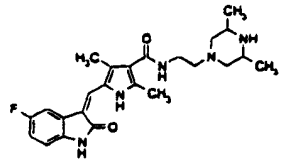
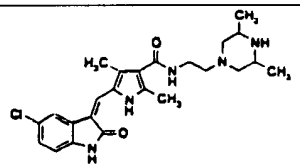
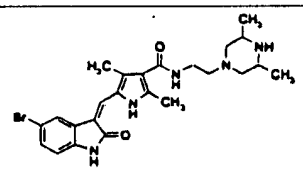
118		{[4-甲基-5-(5-甲基氨磺酰-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-1H-吡咯-3-羰基]氨基}乙酸
119		3-[3-甲基-4-(哌啶-1-羰基)-1H-吡咯-2-基亚甲基]-2-氧代-2,3-二氢-1H-吲哚-5-磺酸甲酰胺
120		5-甲基-2-(2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-1H-吡咯-3-羧酸
121		5-甲基-2-(2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-1H-吡咯-3-羧酸乙酯
122		2-(5-溴-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-5-甲基-1H-吡咯-3-羧酸乙酯
123		2-(5-溴-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-5-甲基-1H-吡咯-3-羧酸
124		2-(5-溴-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-5-甲基-1H-吡咯-3-羧酸(2-吡咯烷-1-基乙基)酰胺
125		2-(5-溴-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-5-甲基-1H-吡咯-3-羧酸(2-二乙基氨乙基)酰胺

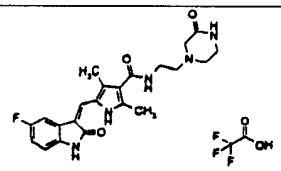
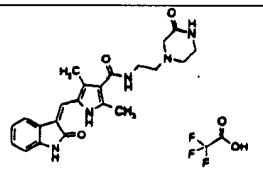
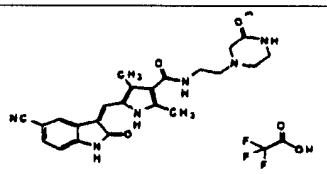
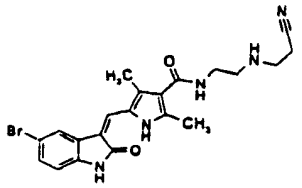
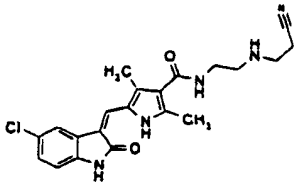
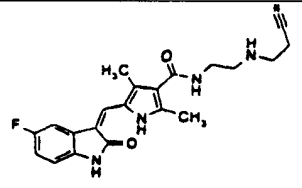
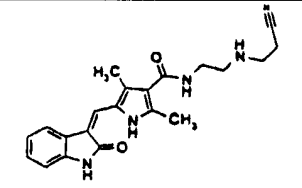
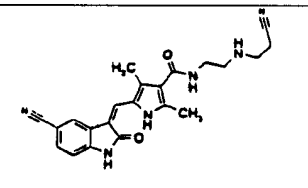
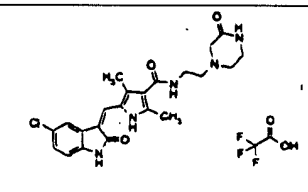
133		5-[5-氯-2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸(2-乙酰胺基乙基)酰胺	399 [M-1]	
134		5-[5-氟 2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸(2-乙酰胺基乙基)酰胺	383 [M-1]	
135		5-[2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸(2-乙酰胺基乙基)酰胺	365 [M-1]	
136		5-[5-溴 2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸[3-(2-氧代-四氢嘧啶-1-基)丙基]酰胺	500 [M+1] 502 [M+1]	
137		5-[5-氯-2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸[3-(2-氧代-四氢嘧啶-1-基)丙基]酰胺	454 [M-1]	
138		5-[5-氟 2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸[3-(2-氧代-四氢嘧啶-1-基)丙基]酰胺	438 [M-1]	
139		5-[2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸[3-(2-氧代-四氢嘧啶-1-基)丙基]酰胺	422 [M+1]	
140		5-[5-氰基 2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸[3-(2-氧代-四氢嘧啶-1-基)丙基]酰胺	447 [M+1]	
141		三氟乙酸 4-[2-({5-[5-溴-2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羰基}氨基)乙基]-2-氧代哌嗪-1-鎓盐	486 [M+1] 488 [M+1]	

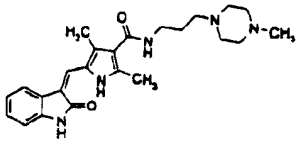
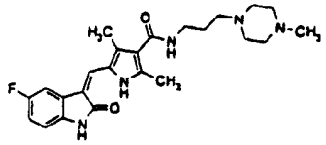
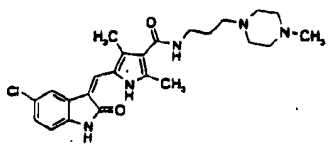
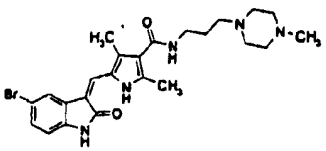
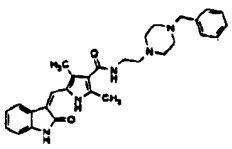
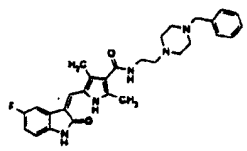
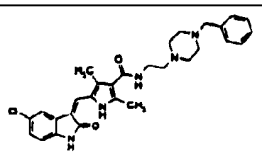
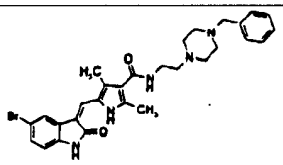
126		5-[2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸(2-二乙基氨乙基)酰胺	381 [M+1]	
127		5-[5-氯-2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸(2-二乙基氨乙基)酰胺	415 [M+1]	
128		5-[2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸(2-吡咯烷-1-基乙基)酰胺	379 [M+1]	
129		5-[5-氟-2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸(2-吡咯烷-1-基乙基)酰胺	397 [M+1]	
130		5-[5-氯-2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸(2-吡咯烷-1-基乙基)酰胺	413 [M+1]	
131		5-[2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸(2-二甲基氨乙基)酰胺	353 [M+1]	
132		5-[5-氟-2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸(2-二甲基氨乙基)酰胺	371 [M+1]	

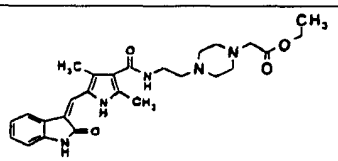
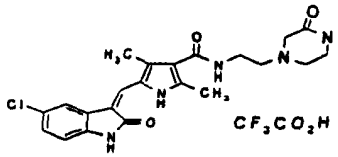
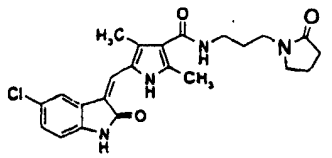
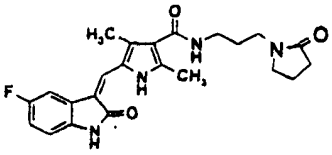
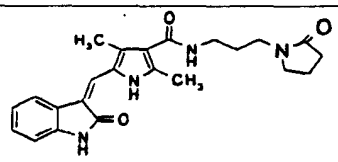
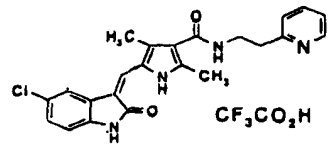
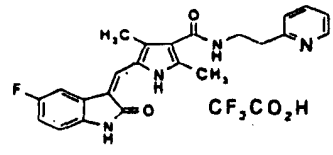
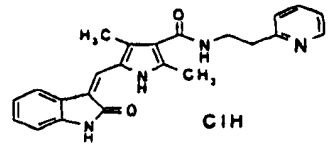
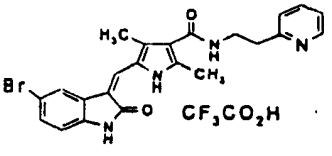
142		5-[5-氰基-2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸[3-(2-氧代吡咯烷-1-基)丙基]酰胺	430 [M-1]
143		5-[5-溴-2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸[2-(2-氧代咪唑烷-1-基)乙基]酰胺	470 [M-1] 472 [M-1]
144		5-[5-氯-2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸[2-(2-氧代咪唑烷-1-基)乙基]酰胺	428 [M+1]
145		5-[5-氟-2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸[2-(2-氧代咪唑烷-1-基)乙基]酰胺	412 [M+1]
146		5-[2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸[2-(2-氧代咪唑烷-1-基)乙基]酰胺	392 [M-1]
147		5-[5-氰基-2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸[2-(2-氧代咪唑烷-1-基)乙基]酰胺	419 [M+1]
148		{4-[2-({5-[5-溴-2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羰基}氨基)乙基]哌嗪-1-基}乙酸乙酯	558 [M+1] 560 [M+1]
149		{4-[2-({5-[5-氯-2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羰基}氨基)乙基]哌嗪-1-基}乙酸乙酯	514 [M+1]
150		{4-[2-({5-[5-氟-2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羰基}氨基)乙基]哌嗪-1-基}乙酸乙酯	498 [M+1]

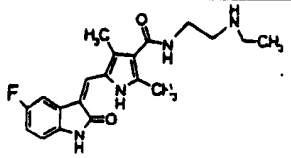
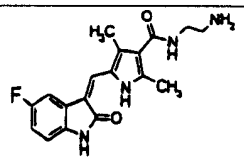
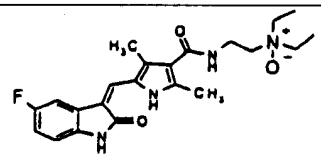
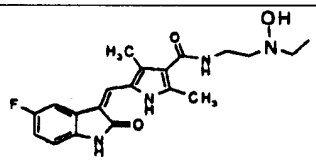
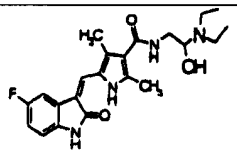
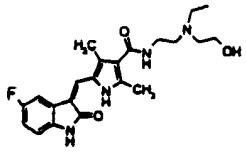
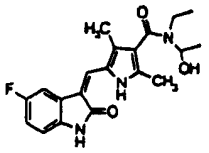
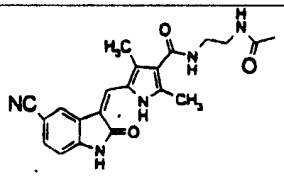
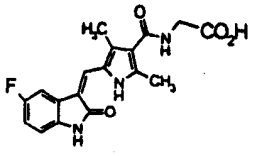
153		5-[2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸[2-(氰甲基氨基)乙基]酰胺	362 [M-1]
154		5-[5-溴-2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸[3-(2-氧代氮杂环庚烷-1-基)丙基]酰胺	511 [M-1] 513 [M-1]
155		5-[5-氯-2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸[3-(2-氧代氮杂环庚烷-1-基)丙基]酰胺	469 [M+1]
156		5-[5-氟-2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸[3-(2-氧代氮杂环庚烷-1-基)丙基]酰胺	453 [M+1]
157		5-[2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸[3-(2-氧代氮杂环庚烷-1-基)丙基]酰胺	435 [M+1]
158		5-[5-氰基-2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸[3-(2-氧代氮杂环庚烷-1-基)丙基]酰胺	460 [M+1]
159		5-[5-溴-2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸(2-乙酰氨基乙基)酰胺	443 [M-1] 445 [M-1]

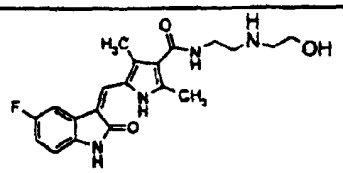
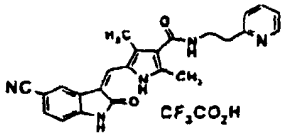
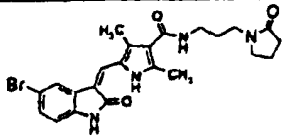
168		5-[5-氟-2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸[2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙基]酰胺	424 [M-1]	
169		5-[5-氯-2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸[2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙基]酰胺	440 [M-1]	
170		5-[5-溴-2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸[2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙基]酰胺	484 [M-1] 486 [M-1]	
171		5-[2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸[2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙基]酰胺	406 [M-1]	
172		5-[2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸[2-(3,5-二甲基哌嗪-1-基)乙基]酰胺	422 [M+1]	
173		5-[5-氟-2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸[2-(3,5-二甲基哌嗪-1-基)乙基]酰胺	438 [M-1]	
174		5-[5-氯-2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸[2-(3,5-二甲基哌嗪-1-基)乙基]酰胺	456 [M+1]	
175		5-[5-溴-2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸[2-(3,5-二甲基哌嗪-1-基)乙基]酰胺	498 [M-1] 500 [M-1]	

160		三氟乙酸 4-[2-({5-[5-氟-2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧基}氨基)乙基]-2-氧代哌嗪-1-鎓盐	426 [M+1]
161		三氟乙酸 4-[2-({2,4-二甲基-5-[2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-1H-吡咯-3-羰基}氨基)乙基]-2-氧代哌嗪-1-鎓盐	408 [M+1]
162		三氟乙酸-[2-({5-[5-氰基-2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧基}氨基)乙基]-2-氧代哌嗪-1-鎓盐	433 [M+1]
163		5-[5-溴-2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸[2-(2-氰基乙氨基)乙基]酰胺	454 [M-1] 456 [M-1]
164		5-[5-氯-2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸[2-(2-氰基乙氨基)乙基]酰胺	410 [M-1]
165		5-[5-氟-2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸[2-(2-氰基乙氨基)乙基]酰胺	394 [M-1]
166		5-[2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸[2-(2-氰基乙氨基)乙基]酰胺	376 [M-1]
167		5-[5-氰基-2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸[2-(2-氰基乙氨基)乙基]酰胺	401 [M-1]
168		三氟乙酸 4-[2-({5-[5-氯-2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧基}氨基)乙基]-2-氧代哌嗪-1-鎓盐	440 [M-1]

176		5-[2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸[3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙基]酰胺	422 [M+1]	
177		5-[5-氟-2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸[3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙基]酰胺	438 [M-1]	
178		5-[5-氯-2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸[3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙基]酰胺	454 [M-1]	
179		5-[5-溴-2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸[3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙基]酰胺	498 [M-1] 500 [M-1]	
180		5-[2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸[2-(4-苄基哌嗪-1-基)乙基]酰胺	482 [M-1]	
181		5-[5-氟-2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸[2-(4-苄基哌嗪-1-基)乙基]酰胺	500 [M-1]	
182		5-[5-氯-2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸[2-(4-苄基哌嗪-1-基)乙基]酰胺	517 [M-1]	
183		5-[5-溴-2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸[2-(4-苄基哌嗪-1-基)乙基]酰胺	560 [M-1] 562 [M-1]	

184		5-[5-氯-2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸(3-吡咯烷-1-基-2-酮)酰胺	480 [M+1]
185		三氟乙酸 4-[2-({5-[5-氯-2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧基}氨基)乙基]-2-氧代哌嗪-1-鎓盐	440 [M-1]
186		5-[5-氯-2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸(3-吡咯烷-1-基-2-酮)酰胺	
187		5-[5-氟-2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸(3-吡咯烷-1-基-2-酮)酰胺	
188		5-[2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸(3-吡咯烷-1-基-2-酮)酰胺	
189		5-[5-氯-2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸(2-吡咯烷-2-基乙基)酰胺	
190		5-[5-氟-2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸(2-吡啶-2-基乙基)酰胺三氟乙酸盐	
191		5-[2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸(2-吡啶-2-基乙基)酰胺盐酸盐	
192		5-[5-溴-2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸(2-吡啶-2-基乙基)酰胺三氟乙酸盐	

193		5-[5-氟-2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸(2-乙基氨乙基)酰胺
194		5-[5-氟-2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸(2-氨乙基)酰胺
195		5-[5-氟-2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸(2-二乙基-N-氧代氨乙基)酰胺
196		5-[5-氟-2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸(2-乙基-N-羟基氨乙基)酰胺
197		5-[5-氟-2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸(2-二乙基氨基-2-羟基乙基)酰胺
198		5-[5-氟-2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸[2-乙基-2-(2-羟乙基)氨乙基]酰胺
199		5-[5-氟-2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸[2-乙基-2-(1-羟乙基)氨乙基]酰胺
200		5-[5-氰基-2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸(2-N-乙酰基氨乙基)酰胺
201		5-[5-氟-2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸(羧甲基)酰胺

202		5－〔5－氟－2－氧代－1，2－二氢吲哚－（3Z）－亚基甲基〕－2，4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸〔2－（2－羟乙基氨基）乙基〕酰胺
203		5－〔5－氰基－2－氧代－1，2－二氢吲哚－－（3Z）－亚基甲基〕－2，4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－吡啶－2－基乙基）酰胺三氟乙酸盐
204		5－〔5－溴－2－氧代－1，2－二氢吲哚－（3Z）－亚基甲基〕－2，4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（3－吡咯烷－1－基－2－酮丙基）酰胺三氟乙酸盐

化合物的编号与实施例部分中的实施例号相对应。即，表 1 中化合物 1 的合成在实施例 1 中说明。表 1 中列出的化合物只是示例性化合物，不应被认为是以任何方式对本发明的限制。

优选实施方案

虽然在本发明概要部分陈述了最广泛的定义，但是以下的式（I）化合物是优选化合物。

（1）一组优选的式（I）化合物是其中 R^1、R^3和 R^4为氢的化合物。

（2）另一组优选的式（I）化合物中 R^1、R^2和 R^4为氢的化合物。

（3）再一组优选的式（I）化合物中 R^1、R^2和 R^3为氢。

（4）又一组优选的式（I）化合物中 R^2、R^3和 R^4为氢。

（5）另一组优选的式（I）化合物中 R^1、R^2、R^3和 R^4为氢。

（6）再一组优选的式（I）化合物中，R^5、R^6或 R^7，优选 R^5或 R^6，更优选 R^6是 $-COR^{10}$，其中 R^{10}是 $-NR^{11}(CH_2)_nR^{12}$，其中：

R^{11}是氢或未取代的低级烷基，优选是氢或甲基；

n 是 2、3 或 4，优选 2 或 3；

R^{12}是 $-NR^{13}R^{14}$，其中 R^{13}和 R^{14}各自独立地是烷基，更优选是未取代的低级烷基，或者 R^{13}和 R^{14}合起来形成一个选自 $-(CH_2)_4-$、$-(CH_2)_5-$、$-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-$或 $-(CH_2)_2N(CH_3)(CH_2)_2-$的基团，优选 R^{13}和 R^{14}独立地是氢、甲基、乙基，或者合起来形成吗啉－4－基、吡咯烷－1－基、哌嗪－1－基或 4－甲基哌嗪－1－基。

更优选的是，上述（6）中的R^5或R^6是N－（2－二甲基氨乙基）氨基羰基、N－（2－乙基氨乙基）－N－甲基氨基羰基、N－（3－二甲基氨丙基）氨基羰基、N－（2－二乙基氨乙基）氨基羰基、N－（3－乙基氨丙基）氨基羰基、N－（3－二乙基氨丙基）氨基羰基、3－吡咯烷－1－基－丙基氨基羰基、3－吗啉－4－基丙基氨基羰基、2－吡咯烷－1－基乙氨基羰基、2－吗啉－4－基乙氨基羰基、2－（4－甲基哌嗪－1－基）乙氨基羰基、2－（4－甲基哌嗪－1－基）丙氨基羰基、2－（3,5－二甲基哌嗪－1－基）乙氨基羰基或2－（3,5－二甲基哌嗪－1－基）丙氨基羰基，更为优选的是N－（2－二乙基氨乙基）氨基羰基或N－（2－乙基氨乙基）氨基羰基。

（7）另一组优选的式（I）化合物中，R^5、R^6或R^7，优选R^5或R^6，更优选R^6是$-COR^{10}$，其中R^{10}是$-NR^{13}R^{14}$，R^{13}是氢，R^{14}是烷基，优选是被羟基、芳基、杂芳基、杂脂环基或羧基取代的低级烷基，更优选是被羟基、芳基、杂脂环基（如哌啶、哌嗪、吗啉等）、杂芳基或羧基取代的甲基、乙基、丙基或丁基。在这一第（7）组内，更为优选的是，R^5和R^6是2－乙氧羰基甲基氨基羰基、羧甲基氨基羰基、3－羟基丙基氨基羰基、2－羟基乙基氨基羰基、3－三嗪－1－基丙氨基羰基、三嗪－1－基乙氨基羰基、4－羟基苯基乙氨基羰基、3－咪唑－1－基丙基氨基羰基、吡啶－4－基甲氨基羰基、2－吡啶—2—基乙氨基羰基或2－咪唑－1－基乙氨基羰基。

（8）另一组优选的式（I）化合物中，R^5、R^6或R^7，优选R^5或R^6，更优选R^6是$-COR^{10}$，其中R^{10}是$-NR^{11}(CH_2)_nR^{12}$，其中：

R^{11}是氢或烷基，优选是氢或甲基；

n是2、3或4，优选是2或3；

R^{12}是$-NR^{13}R^{14}$，其中R^{13}和R^{14}合起来形成一个杂环，优选含羰基和1或2个氮原子的5、6或7元杂环。R^5或R^6优选是2－（3－乙氧羰基甲基哌嗪－1－基）乙氨基羰基，2－（3－氧代哌嗪－1－基）乙氨基羰基，2－（咪唑烷－1－基－2－酮）乙氨基羰基，2－（四氢嘧啶－1－基－2－酮）乙氨基羰基，2－（2－氧代吡咯烷－1－基）乙氨基羰基、3－（4－甲基哌嗪－1－基）丙氨基羰基、3－（3－乙氧羰基甲基哌嗪－1－基）丙氨基羰基、3－（3－氧代哌嗪－1－基）丙氨基羰基，3－（咪唑烷－1－基－2－酮）丙氨基羰基，3－（四氢嘧啶

－1－基－2－酮）丙氨基羰基，3－（2－氧代吡咯烷－1－基）丙氨基羰基，2－（2－氧代高哌啶－1－基）乙氨基羰基或3－（2－氧代高哌啶－1－基）丙氨基羰基。

（9）另一组优选的式（I）化合物中，R^5、R^6或R^7，优选R^5或R^6，更优选R^6是$-COR^{10}$，其中：

（a）R^{10}是$-NR^{11}(CH_2)_nR^{12}$，其中：

R^{11}是氢或烷基，优选是氢或甲基；

n是2、3或4，优选是2或3；

R^{12}是$-NR^{13}R^{14}$，其中R^{13}是氢，R^{14}是氰烷基或$-NHCOR^a$，R^a是烷基；或者

（b）R^{10}是$-NR^{13}R^{14}$，其中R^{13}和R^{14}合起来形成一个环中不含羰基的杂环。最好是，R^5或R^6是2－（2－氰基乙氨基）乙氨基羰基，2－（乙酰氨基）乙氨基羰基，吗啉羰基，哌啶－1－基羰基，2－氰甲基氨乙基氨基羰基或哌啶－1－基羰基。

（10）另一组优选的式（I）化合物中，R^5是$-COR^{10}$，其中R^{10}是$-NR^{13}R^{14}$，R^{13}是氢，R^{14}是被羟基取代的低级烷基、被羟基烷氨基取代的低级烷基、羧基或$-NR^{18}R^{19}$，其中R^{18}和R^{19}独立地是氢或未取代的低级烷基，更优选R^5是2－〔（二乙基氨基）—2－羟基乙基〕氨基羰基、2－（N－乙基－N－2－羟基乙氨基）乙氨基羰基、羧甲基氨基羰基或2－（2－羟基乙氨基）乙氨基羰基。

（11）另一组优选的式（I）化合物中，R^6是$-COR^{10}$，其中R^{10}是$-NR^{13}R^{14}$，R^{13}是氢，R^{14}是被羟基取代的低级烷基、羟烷基氨基取代的低级烷基、羧基或$-NR^{18}R^{19}$，其中R^{18}和R^{19}独立地是氢或未取代的低级烷基，更优选R^6是〔2－（二乙基氨基）—2－羟基〕乙氨基羰基、2－（N－乙基－N－2－羟乙基氨基）乙氨基羰基、羧甲基氨基羰基或2－（2－羟乙基氨基）乙氨基羰基。

（12）另一组优选的式（I）化合物中，R^5是$-COR^{10}$，其中R^{10}是$-NR^{11}(CH_2)_nR^{12}$，R^{12}是$-N^+(O^-)NR^{13}R^{14}$或$-N(OH)R^{13}$，其中R^{13}和R^{14}独立地选自氢和未取代的低级烷基，优选R^5是2－（N－羟基－N－乙氨基）乙氨基羰基或2－〔$N^+(O^-)(C_2H_5)_2$〕乙氨基羰基。

（13）另一组优选的式（I）化合物中，R^6是$-COR^{10}$，其中R^{10}是$-NR^{11}(CH_2)_nR^{12}$，R^{12}是$-N^+(O^-)NR^{13}R^{14}$或$-N(OH)R^{13}$，其中R^{13}和

R^{14} 独立地选自氢和未取代的低级烷基，优选 R^6 是 2－（N－羟基－N－乙氨基）乙氨基羰基或 2－〔$N^+(O^-)(C_2H_5)_2$〕乙氨基羰基。

（14）在以上的优选组（6）－（13）中，当 R^5 是 $-COR^{10}$ 时，则更优选的一组化合物是其中：

R^6 选自氢和烷基，优选氢、甲基、乙基、异丙基、叔丁基、异丁基或正丁基，更优选氢或甲基；和

R^7 选自氢、烷基、芳基、杂芳基和 $-C(O)R^{17}$，其中 R^{17} 是羟基、烷基或芳基，更优选是氢、甲基、乙基、异丙基、正、异或叔丁基、苯基、苯甲酰、乙酰基或羧基，更优选是甲基、氢或苯基。

（15）在以上的优选组（6）－（13）中，当 R^5 是 $-COR^{10}$ 时，则更优选的一组化合物是其中 R^6 和 R^7 合起来形成 $-(CH_2)_4-$ 的化合物。

（16）在以上的优选组（6）－（13）中，当 R^6 是 $-COR^{10}$ 时，则更优选的一组化合物是其中：

R^5 选自氢和烷基，优选氢、甲基、乙基、异丙基、叔丁基、异丁基或正丁基，更优选氢或甲基；和

R^7 选自氢、烷基、芳基、杂芳基和 $-C(O)R^{17}$，其中 R^{17} 是羟基、烷基或芳基，更优选是氢、甲基、乙基、异丙基、正、异或叔丁基、苯基、苯甲酰、乙酰基或羧基，更优选是甲基、氢或苯基。

（17）在以上的优选和更优选组（6）－（16）中，一组更为优选的化合物是其中：

R^1 是氢、烷基、$-C(O)NR^8R^9$、未取代的环烷基或芳基，优选是氢、苯基、3,4－二甲氧基苯氨基羰基、4－甲氧基－3－氯苯基氨基羰基，更优选是氢或甲基，最优选是氢；

R^2 是氰基、氢、卤素、低级烷氧基、芳基或 $-S(O)_2NR^{13}R^{14}$，其中 R^{13} 是氢，R^{14} 是氢、芳基或烷基，优选 R^2 是氢、氯、溴、氟、甲氧基、乙氧基、苯基、二甲基氨基磺酰基、3－氯苯基氨基磺酰基、羧基、甲氧基、氨基磺酰基、甲基氨基磺酰基、苯基氨基磺酰基、吡啶－3－基氨基磺酰基、二甲基氨基磺酰基、异丙基氨基磺酰基，更优选是氢、氟或溴；

R^3 是选自氢、低级烷氧基、$-C(O)R^{15}$、$-NR^{13}R^{14}$、芳基（优选任意被 1 或 2 个选自低级烷基、卤素或低级烷氧基的取代基取代的芳基）和杂芳基（优选任意被 1 或 2 个选自低级烷基、卤素或低级烷氧基的

取代基取代的杂芳基），优选是氢、甲氧基、羧基、苯基、吡啶－3－基、3,4－二氯苯基、2－甲氧基－5－异丙基苯基、4－正丁基苯基、3－异丙基苯基，更优选是氢或苯基；和

R^4是氢。

（18）另一组更优选的式（I）化合物是其中：

R^1是氢、烷基、$-C(O)NR^8R^9$、未取代的环烷基或芳基，优选是氢、3,4－二甲氧基苯氨基羰基、4－甲氧基－3－氯苯氨基羰基，更优选是氢或甲基，特别是氢；

R^2是氰基、氢、卤素、低级烷氧基、芳基或$-S(O)_2NR^{13}R^{14}$，其中R^{13}是氢，R^{14}是氢、芳基或烷基，优选R^2是氢、氯、溴、氟、甲氧基、乙氧基、苯基、二甲基氨基磺酰基、3－氯苯基氨基磺酰基、羧基、甲氧基、氨基磺酰基、甲基氨基磺酰基、苯基氨基磺酰基、吡啶－3－基氨基磺酰基、二甲基氨基磺酰基、异丙基氨基磺酰基，更优选是氢、氟或溴；

R^3是选自氢、低级烷氧基、$-C(O)R^{15}$、$-NR^{13}R^{14}$、芳基（优选任意被1或2个选自低级烷基、卤素或低级烷氧基的取代基取代的芳基）和杂芳基（优选任意被1或2个选自低级烷基、卤素或低级烷氧基的取代基取代的杂芳基），优选是氢、甲氧基、羧基、苯基、吡啶－3－基、3,4－二氯苯基、2－甲氧基－5－异丙基苯基、4－正丁基苯基、3－异丙基苯基，更优选是氢或苯基；和

R^4是氢。

在以上的优选组（18）中，更优选的一组化合物是其中：

R^5是$-COR^{10}$，其中R^{10}与发明概述中的定义相同，优选是发明概述中定义的$-NR^{11}(CH_2)_nR^{12}$或$-NR^{13}R^{14}$；

R^6是选自氢和烷基，优选是氢、甲基、乙基、异丙基、叔丁基、异丁基或正丁基，更优选是氢或甲基；和

R^7选自氢、烷基、芳基、杂芳基和$-C(O)R^{17}$，其中R^{17}是羟基、烷基或芳基，R^7优选是氢、甲基、乙基、异丙基、正、异或叔丁基、苯基、苯甲酰、乙酰基或羧基，更优选是甲基、氢或苯基。

在以上的优选组（18）中，另一组更优选的化合物是其中：

R^6是$-COR^{10}$，其中R^{10}与发明概述中的定义相同，优选是发明概述中定义的$-NR^{11}(CH_2)_nR^{12}$或$-NR^{13}R^{14}$；

R^5 是选自氢和烷基，优选是氢、甲基、乙基、异丙基、叔丁基、异丁基或正丁基，更优选是氢或甲基；和

R^7 选自氢、烷基、芳基、杂芳基和 $-C(O)R^{17}$，其中 R^{17} 是羟基、烷基或芳基，R^7 优选是氢、甲基、乙基、异丙基、正、异或叔丁基、苯基、苯甲酰、乙酰基或羧基，更优选是甲基、氢或苯基。

（19）另一组优选的式（I）化合物中：

R^1 和 R^4 是氢；

R^2 是选自氢、卤素、低级烷氧基、$-C(O)R^{15}$ 和 $-S(O)_2NR^{13}R^{14}$；

R^3 选自氢、低级烷氧基、$-C(O)R^{15}$、$-S(O)_2NR^{13}R^{14}$、芳基和杂芳基；

R^5 是 $-C(O)R^{10}$；

R^6 选自氢和低级烷基；

R^7 选自氢、低级烷基和 $-C(O)R^{17}$。

本发明的另一优选的实施方案是，在结构如（15）中所述的化合物中：

R^{10} 是选自羟基、低级烷基和 $-NR^{11}(CH_2)_nR^{12}$，其中：

n 是 2 或 3；

R^{11} 选自氢和低级烷基；

R^{12} 选自芳基和 $-NR^{13}R^{14}$。

本发明的又一优选的实施方案是，在结构如前两段所述的化合物中，R^{13} 和 R^{14} 独立地选自氢、低级烷基、以及合起来构成 $-(CH_2)_4-$、$-(CH_2)_5-$、$-(CH_2)_2O(CH_2)_2-$ 或 $-(CH_2)_2N(CH_3)(CH_2)_2-$。

（20）本发明的另一优选的实施方案是一种化合物，其中：

R^1 选自氢、低级烷基、$-(CH_2)_rR^{16}$ 和 $-C(O)NR^8R^9$；

R^2 选自氢、卤素、芳基和 $-S(O)_2NR^{13}R^{14}$；

R^3 选自氢、低级烷基、低级烷氧基、芳基、杂芳基和 $-C(O)R^{15}$；

R^4 是氢；

R^5 选自氢和低级烷基；

R^6 是 $-C(O)R^{10}$；

R^7 选自氢、低级烷基和芳基；

R^{16} 选自羟基和 $-C(O)R^{15}$；

r 是 2 或 3。

本发明的一项优选实施方案是结构如上段所述的化合物，其中 R^3 是任意被一或多个选自低级烷基、低级烷氧基和卤素的基团取代的芳基。

（21）同样，本发明一项优选的化合物中：

R^1 选自氢、低级烷基、$-(CH_2)_rR^{16}$ 和 $-C(O)NR^8R^9$；

R^2 选自氢、卤素、芳基和 $-S(O)_2NR^{13}R^{14}$；

R^3 选自氢、低级烷基、低级烷氧基、芳基、杂芳基和 $-C(O)R^{15}$；

R^4 是氢；

R^5 选自氢和低级烷基；

R^6 是 $-C(O)R^{10}$；

R^7 选自氢、低级烷基和芳基；

R^{16} 选自羟基和 $-C(O)R^{15}$；

r 是 2 或 3。

R^{10} 是选自羟基、低级烷氧基、$-NR^{13}R^{14}$ 和 $-NR^{11}(CH_2)_nR^{12}$，其中 n 是 1、2 或 3，R^{11} 是氢，R^{12} 选自羟基、低级烷氧基、$-C(O)R^{15}$、杂芳基和 $-NR^{13}R^{14}$。

（22）本发明的另一优选实施方案是其中结构如上段所述的化合物，其中 R^{13} 和 R^{14} 独立地选自氢、低级烷基、杂芳基以及合起来形成 $-(CH_2)_4-$、$-(CH_2)_5-$、$-(CH_2)_2O(CH_2)_2-$ 或 $-(CH_2)_2N(CH_3)(CH_2)_2-$。

（23）本发明的另一优选实施方案是这样一种化合物，其中：

R^1 是 $-C(O)NR^8R^9$，其中 R^8 是氢，R^9 是任意被一个或多个选自卤素、羟基和低级烷氧基的基团取代的芳基；

R^2 选自氢、卤素、芳基和 $-S(O)_2NR^{13}R^{14}$；

R^3 选自氢、低级烷基、低级烷氧基、芳基、杂芳基和 $-C(O)R^{15}$；

R^4 是氢；

R^5 选自氢和低级烷基；

R^6 是 $-C(O)R^{10}$；

R^7 选自氢、低级烷基和芳基；

R^{16} 选自羟基和 $-C(O)R^{15}$；和

r 是 2 或 3。

（24）本发明的又一优选实施方案是这样一种化合物，其中：

R^1 是选自氢和低级烷基；

R^2选自氢、卤素、低级烷氧基、芳基、$-C(O)R^{15}$和$-S(O)_2NR^{13}R^{14}$;

R^3选自氢、卤素、芳基、杂芳基和$-C(O)R^{15}$;

R^4是氢;

R^5是$-C(O)R^{10}$;

R^6和R^7合起来形成一个$-(CH_2)_4-$基团。

在结构如上段所述的化合物中，优选的实施方案是，R^{10}选自羟基、烷氧基、$-NR^{13}R^{14}$和$-NH(CH_2)_nNR^{13}R^{14}$，其中n是2或3。

本发明的优选实施方案是，在具有以上两段所述结构的化合物中，R^{13}和R^{14}独立地选自氢、低级烷基以及合起来形成$-(CH_2)_4-$、$-(CH_2)_5-$、$-(CH_2)_2O(CH_2)_2-$或$-(CH_2)_2N(CH_3)(CH_2)_2-$。

应用

催化活性受本发明化合物调节的 PK 包括两类蛋白质酪氨酸激酶：受体酪氨酸激酶（RTK）和细胞酪氨酸激酶（CTK），以及丝氨酸-苏氨酸激酶（STK）。RTK 介导的信号转导是通过与特异的生长因子（配体）的胞外相互作用引发的，继之以受体二聚化，内在蛋白酪氨酸激酶活性的瞬时激发和磷酸化。这样就产生了用于胞内信号转导分子的结合位并导致与一大类促进合适的细胞响应（例如，细胞分裂，对胞外微环境的代谢作用等）的胞质信号分子的复合物的形成。参见，Schlessinger 和 Ullrich，1992，Neuron 9：303－391。

已经指出，生长因子受体上的酪氨酸磷酸化位点对于信号分子的SH_2（src 同源性）域起着高亲合性结合位的作用。Fantl 等，1992，Cell，69：413－423；Songyang 等，1994，Mol.Cell.Biol. 14：2777－2785；Songyang 等，1993，Cell，72：767－778；及 Koch 等，1991，Science，252：668－678。已经确定了与 RTK 结合的几种胞内底物蛋白。它们可以分成两大组：（1）有催化域的底物，和（2）缺少该域，但作为衔接子起作用并与催化活性分子结合的底物。Songyang 等，1993，Cell，72：767－778。受体与其底物的SH_2域之间的相互作用的特异性由紧靠在磷酸化酪氨酸残基四周的氨基酸残基决定。SH_2域和包围着特定受体的磷酸酪氨酸残基的氨基酸序列之间的结合亲和性差异与在其底物磷酸化型式中观察到的差异是一致的。Songyang 等，1993，Cell，72：767－778。这些观察指示，各 RTK 的功能不仅由其表达型式和配体可利用性决定，而且还由受到被特定受体激活的下游信号转导途径的阵

列决定。因此，磷酸化提供了一个决定信号途径选择性的重要的调节步骤，该途径中充实了特异生长因子受体及分化因子受体。

由于主要是细胞溶质性的，STK 影响细胞的内部生化过程，常常是作为 PTK 活动的下行响应。STK 参与信号传递过程，它引发 DNA 合成和随后的有丝分裂，导致细胞分化。

因此，PK 信号转导引起的响应中包括细胞增殖、分化、生长和代谢。反常的细胞增殖会造成多种失调和疾病，包括肿瘤（如癌、肉瘤、成胶质细胞瘤和血管瘤）的发展，疾病（如白血病、牛皮癣、动脉粥样硬化、关节炎和糖尿病性视网膜病）及与血管生成和/或血管发展失控有关的其它病症。

为实施本发明，并不需要准确地了解本发明化合物抑制 PK 的机制。但是，虽然不打算受限于任何特定的机制或理论，据信这些化合物是与 PK 的催化域中的氨基酸相互作用。PK 通常具有两叶结构。其中 ATP 似乎结合在两叶之间裂缝中的某个区域，该处氨基酸保存在 PK 之中。PK 的抑制剂据信是通过非共价相互作用，例如氢键、范德华力和离子相互作用结合在与上述的 ATP 和 PK 结合相同的通用区域。更具体地说，认为本发明化合物的 2－二氢吲哚酮组分结合在通常被 ATP 的腺嘌呤占据的空间里。随后由于 2－二氢吲哚核上的各种取代基和对于特定 PK 是特异性的氨基酸域之间的附加相互作用，可以产生特定分子对特定 PK 的特异性。于是，不同的二氢吲哚酮取代基可能导致与特定 PK 的择优结合。这种选择在不同的 ATP（或其它核苷酸）结合位上具有活性的化合物的能力，使本发明化合物可以用来把具有此种位点的任何蛋白质作为特定目标。本发明公开的化合物由于与这些蛋白质的相互作用而能够用于这类蛋白质的体外试验并显示出体内治疗效果。

另外，本发明化合物对于很多类固体肿瘤，包括但不限于癌、肉瘤（包括 Koposi 肉瘤）、成红细胞瘤、成胶质细胞瘤、脑膜瘤、星形细胞瘤、黑素瘤和成肌细胞瘤的治疗提供了一种治疗方法。本发明也考虑非固体肿瘤癌（例如白血病）的治疗或预防。适应症可以包括但不限于：脑癌、膀胱癌、卵巢癌、胃癌、胰腺癌、结肠癌、血癌、肺癌和骨癌。

本发明化合物可以用来预防、治疗和研究的与 PK 活性不当有关

的其它非限制性疾病实例有细胞增生病、纤维变性病和代谢失调症。

本发明可以预防、治疗或进一步研究的细胞增生病包括癌症、血管增生病和胃小球膜细胞增生病。

血管增生病是指与反常的血管生成（血管形成）和血管发展（血管扩展）有关的病症。虽然血管生成和血管发展在许多正常的生理过程例如胚胎发育、黄体形成、伤口愈合和器官再生中起着重要作用，但它们也造成保持肿瘤存活的新毛细血管形成，从而在癌的发展中起着关键的作用。血管增生病的其它实例包括关节炎，此时新的毛细血管侵入关节并破坏软骨，以及眼病，例如糖尿病视网膜病，此时视网膜中的新毛细血管侵入玻璃体，出血并造成失明。

已经确定两种结构上相关的 RTK 以高亲合性与 VEGF 结合：fms 样的酪氨酸 1（fit－1）受体（Shibuya 等，1990，Oncogene，5：519－524；De Vries 等，1992，Science，255：989－991）和 KDR/FLK－1 受体，也称作 VEGF－R2。已报道说，血管内皮生长因子（VEGF）是具有在体外促进内皮细胞生长活性的一种内皮细胞特异性有丝分裂原。Ferrara 和 Henzel，1989，Biochein. Biophys. Res. Comm.，161：851－858；Vaisman 等，1990，J. Biol. Chem.，265：19461－19566。美国专利申请 08/193,829，08/038,596 和 07/975,750 中所述的信息强烈地表明 VEGF 不仅是内皮细胞增殖的原因，而且是正常的和病态的血管发展的主要调节物。参见，Klagsburn & Soker，1993，Current Biology，3（10）699－702；Houck 等，1992，J. Biol. Chem.，267：26031－26037。

正常的血管生成和血管发展在许多生理过程（例如胚胎发育，伤口愈合，器官再生和女性生殖过程，如排卵期间黄体内的滤卵发育和怀孕后的胎盘生长）中起着重要作用。Folkman & Shing，1992，J. Biological Chem.，267（16）：10931－34。失控的血管生成和/或血管发展与许多疾病例如糖尿病以及依赖于血管生成实现生长的恶性固体肿瘤有关。Klagsburn & Soker，1993，Current Biology，3（10）：699－702；Folkham，1991，J. Natl. Cancer Inst.，82：4－6；Weidner 等，1991，New Engl. J. Med.，324：1－5。

所推测的 VEGF 在内皮细胞增殖中的作用及在血管生成与血管发展期间的迁移，表明了 KDR/FLK－1 受体在这些过程中的重要作用。诸如糖尿病（Folkman，198，在 Xlth Congress of Thrombosis and

Haemostasis（第七届血栓形成和止血会议）（Verstraeta 等编），P. 583－596，Leuven University Press，Leuven）和关节炎等疾病以及恶性肿瘤生长，可能是失控的血管发展造成的。参见 Folkman，1971，N Engl. J. Med.，285：1182－1186。对于血管生成和/或血管发展以及涉及由这些过程引起的反常细胞生长的许多严重的疾病，VEGF 与其特异结合的受体是重要而有力的治疗对象。Plowman 等，1994，DN&P，7（6）：334－339。更具体地说，KDR/FLK－1 受体在新血管生成中的高度特异性的作用，使其成为治疗与血管形成失控有关的癌症和其它疾病的治疗方法的选择目标。

因此，本发明提供了能调节和/或调制酪氨酸激酶信号转导，包括 KDR/FLK－1 受体信号转导的化合物，以便抑制或促进血管生成和/或血管发展，也就是说，提供了抑制、阻止或干扰由 KDR/FLK－1 在受配体（如 VEGF）激活时转导的信号的化合物。虽然设想本发明化合物是作用在沿着酪氨酸激酶信号转导途径的受体或其它组分上，但它们也可以直接作用在由失控的血管发展产生的肿瘤细胞上。

虽然人和鼠对应物的通用的“flk－1”受体的命名不同，但在很多方面它们是可互换的。鼠受体 FLK－1 及其人的对应物 KDR 共有胞内域中 93.4％的序列同源性。同样，鼠 FLK－1 与人 VEGF 的结合和与鼠 VEGF 的结合有相同的亲和性，因此，会被来自任何一个物种的配体活化。Millauer 等，1993，Cell，72：835－846；Quinn 等，1993，Proc. Natl. Acad. Sci. USA，90：7533－7537。FLK－1 在 293 个细胞（人胚胎肾成纤维细胞）中共表达时，也与人 RTK 底物，（例如，PLC－γ或 P85）结合并随后将其酪氨酸磷酸化。

因此，依赖 FLK－1 受体的模型可直接用于了解 KDR 模型。例如，在鉴定调节鼠信号转导途径的化合物的方法中使用鼠 FLK－1 受体，可以直接用于鉴定可能用于调节人信号转导途径的化合物，即，调节与 KDR 受体有关的活性的那些化合物。因此，在体外试验中被确定为 KDR/ FLK－1 的抑制剂的化合物，可以在合适的体内模型中得到证实。体内试验的小鼠和大鼠动物模型对于检验作用于 KDR/ FLK－1 诱发的信号转导途径的试剂的临床效力都显示出优异的价值。

因此，本发明提供了通过影响 KDR/ FLK－1 受体的酶活性和干扰 KDR/ FLK－1 转导的信号对血管生成和血管发展进行调节、调制和/或

抑制的化合物。本发明因此提供了治疗多种固体肿瘤的治疗方法，这些肿瘤包括但不限于：成胶质细胞瘤、黑素瘤和 Kaposi 肉瘤，以及卵巢癌、肺癌、乳房癌、前列腺癌、胰腺癌、结肠癌和表皮样癌。此外，数据表明，服用抑制 KDR/ FLK－1 介导的信号转导途径的化合物还可用于治疗血管瘤、再狭窄和糖尿病视网膜病。

再者，本发明还涉及通过其它受体介导的途径，包括含 flt－1 受体的途径，对血管生成和血管发展进行抑制。

受体酪氨酸激酶介导的信号转导是被与特异性生长因子（配体）的胞外相互作用诱发的，随后是受体二聚化，内在蛋白酪氨酸激酶活性的瞬时激发和自磷酸化。从而为胞内信号转导分子产生了结合位点，这导致了与多种胞质信号分子形成复合物，这促进了适当的细胞响应，例如细胞分裂和对胞外微环境的代谢作用。参见 Schlessinger 和 Ullrich，1992，Neuron，9：1－20。

KDR/ FLK－1 的胞内区域与 PDGF－β受体（50.3％同源性）和/或相关的 flk－1 受体的紧密同源性指示重叠的信号转导途径的诱发。例如，对于 PDGF－β受体，已经表明许多 src 家族（Twamley 等，1993，Proc. Natl. Acad. Sci. USA，90：7696－7700），磷脂酰肌醇－3′－激酶（Hu 等，1992，Mol. Cell. Biol.，12：981－990），磷脂酶 cγ（Kashishian & Cooper，1993，Mol. Cell. Biol.，4：49－51），ras－GTPase－活化的蛋白质（Kashishian 等，1992，EMBO J.，11：1373－1382），PTP－ID/SYP（Kazlauskas 等，1993，Proc. Natl. Acad. Sci. USA.，10 90：6939－6943），Grb2（Arvidsson 等，1994，Mol. Cell. Biol.，14：6715－6726）和衔接子分子 Shc 及 Nck（Nishimura 等，1993，Mol. Cell. Biol.，13：6889－6896）是结合在包含不同的自磷酸化位点的区域上。一般说明参见，Claesson－Welsh，1994，Prog. Growth Factor Res.，5：37－54。因此，很可能被 KDR/ FLK－1 活化的信号转导途径包括 ras 途径（Rozakis 等，1992，Nature，360：689－692），PI－3′－激酶，src－介导的和 PIC γ－介导的途径。这些途径中每一个都可能在内皮细胞中对 KDR/ FLK－1 的血管生成和/或血管发展作用起关键作用。因此，本发明的再一方面涉及本发明所述的有机化合物对于调节血管生成和血管发展的应用，因为这类过程受这些途径的控制。

反之，与血管的缩小、挛缩或闭合有关的疾病（例如再狭窄）也

被涉及，并且可以利用本发明的方法治疗或预防。

纤维变性病是指胞外基质的反常形成。纤维变性病的实例包括肝硬变和肾小球膜细胞增生病。肝硬变的特征是胞外基质成分的增加导致肝疤的形成。导致肝疤形成的胞外基质增多也可以由病毒感染（如肝炎）引起。脂细胞似乎在肝硬变中起重要作用。涉及的其它纤维变性病包括动脉粥样硬化。

肾小球膜细胞增生病是指由于肾小球膜细胞的反常增殖造成的疾病。肾小球膜增生病包括各种人类肾病，如肾小球性肾炎、糖尿病性肾病和恶性肾硬变，以及诸如血栓形成性微血管病综合症、移植物排斥和肾小球病等病症 RTK PDGFR 与肾小球膜细胞增殖的维持有关。Floege 等，1993，Kidney International 43：47S－54S。

很多癌症是细胞增生病，如前所述，PK 与细胞增生病有关。因此，PK。例如 RTK 家族的成员，与癌症的发展有关就不令人惊奇了。这些受体中有一些，例如 EGFR（Tuzi 等，1991，Br. J. Cancer 63：227－233，Torp 等，1992，APMIS 100：713－719），HER2/neu（Slamon 等，1989，Science 244：707－712）和 FDGF－R（Kumabe 等，1992，Oncogene，7：627－633）和很多肿瘤中被超量表达，并且/或持续地被自分泌环激活。事实上，在最常见和最严重的癌症中，已显示了这些受体超量表达（Akbasak & Suner-Akbasak 等，1992，J. Neurol. Sci.，111：119－133，Dickson 等，1992，Cancer Treatment Res.，61：249－273，Korc 等，1992，J. Clin. Invest.，90：1352－1360）和自分泌环（Lee and Donoghue，1992，J. Cell. Biol.，118：1057－1070，Korc 等，同前刊物，Akbasak & Suner－Akbasak 等，同前刊物）。例如，EGFR 已发现与鳞状细胞癌、星形细胞瘤、成胶质细胞瘤、头颈癌、肺癌和膀胱癌有关。HER2 与乳房癌、卵巢癌、胃癌、肺癌、胰腺癌和膀胱癌有关。PDGFR 与成胶质细胞瘤和黑素瘤以及肺癌、卵巢癌和前列腺癌有关。RTK c-met 与恶性肿瘤形成有关，例如，c-met 与包括结肠直肠癌，甲状腺癌、胰腺癌、胃癌及肝细胞癌的各种癌症及淋巴瘤有关。另外，c-met 与白血病有关。在患有霍奇森病和 Burkitts 病的患者中已检测出 c-met 基因的超量表达。

IGF－IR 除了与营养支持及 II 型糖尿病有关之外，还与几种癌症有关。例如，已经暗示 IGF－1 作为自分泌生长刺激子与几类肿瘤有关，例如人乳房癌癌细胞（Arteaga 等，1989，J. Clin. Invest. 84：1418－1423）

和肺小肿瘤细胞（Macauley 等，1990，Cancer Res.，50：2511－2517）。此外，IGF－1 虽然在神经系统的正常生长和分化中是必不可少的，但似乎是人类神经胶质瘤的自分泌刺激子。Sandberg-Nordgvist 等，1993，Cancer Res.，53：2475－2478。很多种类的细胞（成纤维细胞、表皮细胞、平滑肌细胞、T－淋巴细胞、骨髓细胞、软骨细胞和成骨细胞（骨髓的干细胞））在培养基中受 IGF－1 的激发生长，这一事实进一步支持了 IGF－IR 及其配体在细胞增殖中的重要性。Goldring 和 Goldring，1991，Eukaryotic Gene Expression，1：301－326。Baserga 和 Coppola 指出，IGF－IR 在转化的机制中起关键作用，并因此是对多种人类恶性肿瘤进行医疗介入的优选靶物。Baserga，1995，Cancer Res.，55：249－252，Baserga，1994，Cell，79：927－930，Coppola 等，1994，Mol. Cell. Biol，14：4588－4595。

已暗示 STK 与很多种癌症有关，主要包括乳房癌（Cance 等，Int. J. Cancer，54：571－577（1993））。

反常的 PK 活性与疾病的联系不限于癌症。例如，RTK 与例如牛皮癣、糖尿病、子宫内膜异位、血管发展、动脉粥样化斑发展、早老性痴呆、再狭窄、Von Hippel-Lindau 病、表皮增生过多、神经变性病、与年龄有关的斑状变性和血管瘤等疾病有关。例如，在角膜和皮肤伤口愈合中需要 EGFR。在 II 型糖尿病中显示了胰岛素－R 和 IGF－IR 的缺乏。在 Plowman 等，1994，DN&P 7：334－339 中陈述了特定的 RTK 与其治疗适应症之间的更复杂的相关关系。

如前所述，不仅 RTK，而且 CTK，这包括但不限于 src、abl、fps、yes、fyn、lyn、lck、blk、hck、fgr 和 yrk（Bolen 等的评述，1992，FASEB J，6：3403－3409），都参与增殖和代谢信号转导途径，因此可以预期，而且已经表明，会与本发明涉及的很多 PTK 介导的疾病有关。例如，突变的 src（v-src）已经表明是鸡中的一种癌基因蛋白质（$PP60^{v\text{-}src}$）。另外，它的细胞同系物，原癌基因 $PP60^{c\text{-}src}$ 传送很多受体的致癌信号。肿瘤中 EGFR 或 HER2/neu 的超量表达导致 $PP60^{c\text{-}src}$ 的组成性活化，这是恶性细胞的特征，但在正常细胞中不存在。另一方面，在 c-src 的表达中有缺陷的小鼠显示出骨硬化表型，表明 c-src 在破骨细胞功能中的关键性参与并可能与相关疾病有关。

类似地，Zap 70 参与了 T 细胞信号发送，这可能与自免疫失调有

关。

STK 与炎症、自免疫病、免疫响应和过度增生病有关，例如再狭窄、纤维变性、牛皮癣、骨关节炎和类风湿性关节炎。

PK 还与胚胎植入有关。因此，本发明化合物可以提供一种防止这种胚胎植入的有效方法并因此可用作生育控制剂。用本发明化合物可以治疗或防止的另外的疾病是免疫失调症，例如自免疫病、艾滋病和心血管病，例为动脉粥样硬化。

最后，RTK 和 CTK 目前都被怀疑与超免疫失调症有关。

下面的表 2 中列出了本发明的一些示例化合物对几种 PTK 的作用的实例。所示的化合物和数据不要理解为是以任何方式对本发明范围的限制。

给药和药物组合物

本发明化合物或其可药用盐，可以原样对人类患者施用，也可以以上述物质与合适的载体或赋形剂混合形成的药物组合物形式施用。药物的配制和施用方法可以在“Remington's Pharmacological Sciences”（Remington 药物科学），Mack Publishing Co.,Easton, PA.，最新版本中查到。

这里所说的“给药”是指为了预防或治疗与 PK 有关的疾病而向有机体投送式（I）化合物或其可药用盐，或含式（I）化合物或其可药用盐的药物组合物。

给药的合适途径可以包括但不限于：口服、直肠、透粘膜或经肠给药，或者肌内、皮下、髓内、鞘内、直接在心室内、静脉、玻璃体内、腹膜内、鼻内或眼内注射。优选的给药途径是口服和肠道外给药。

或者是，可以局部而非全身方式服用化合物，例如，将化合物直接注射到固体肿瘤中，通常以储存剂或持续释放剂的形式。

另外，可以以靶向药物释放体系，例如以肿瘤特异性抗体包覆的脂质体的形式施药。这些脂质体将以肿瘤为目标并被其选择性摄取。

本发明的药物组合物可以用本领域众所周知的方法制造，例如用常规的混合法、溶解法、成粒法、制糖衣药丸法、磨细法、乳化法、包封法、夹裹法或冷冻干燥法制造。

根据本发明使用的药物组合物可以按照常规方式使用一种或多种生理上可接受的载体配制，载体中含有有利于将活性化合物加工成能

够在药学上使用的制剂的赋形剂和辅剂，合适的配方取决于所选择的服药途径。

对于注射，本发明化合物可以配制成水溶液，优选配制在生理上相容的缓冲液中，例如 Hanks 溶液、Ringer 溶液或生理盐水缓冲液。对于透皮给药，在配方中使用适合要穿透的屏障的渗透剂。这些渗透剂通常是本领域所知道的。

对于口服给药，可以通过将活性化合物与本领域熟知的可药用载体混合，配制该化合物。这些载体能使本发明化合物被配制成片剂、丸剂、锭剂、糖衣剂、胶囊、液体、凝胶、浆剂、糖浆剂、悬浮剂等，用于病人经口吸收。用于口服的药物制剂可以使用固体赋形剂，任意地将形成的混合物磨细。如果需要则加入其它合适的辅剂，然后将颗粒的混合物加工，得到药片或糖衣剂的核心。适用的赋形剂特别包括：填料，例如糖，包括乳糖、蔗糖、甘露糖或山梨糖；纤维素制品，例如玉米淀粉、小麦淀粉、大米淀粉和土豆淀粉；以及其它物质，例如明胶、黄蓍胶、甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、羧甲基纤维素钠和/或聚乙烯吡咯烷酮（PVP）。如果需要，可以加入崩解剂，例如交联的聚乙烯吡咯烷酮、琼脂或藻酸。也可以使用盐，例如藻酸钠。

糖衣剂核心要配上合适的涂层。为此可以使用浓的糖溶液，其中可任意地含有阿拉伯胶、滑石、聚乙烯吡咯烷酮、丙烯酸聚合物凝胶、聚乙二醇，以及/或二氧化钛、漆料溶液，和合适的有机溶剂或溶剂混合物。可以向片剂或糖衣剂涂层中加入染料或颜料以便区分和鉴别活性化合物剂量的不同组合。

可以口服使用的药物组合物包括明胶制成的推合式胶囊，以及由明胶和增塑剂（例如甘油或山梨醇）制成的密封的软胶囊。推合式胶囊可以装有活性组分与填料（例如乳糖）、粘合剂（如淀粉）和/或润滑剂（如滑石或硬脂酸镁）以及任意加入的稳定剂的混合物。在软胶囊中，活性化合物可以溶解或悬浮于合适的液体，例为脂肪油、液体石蜡或液体聚乙二醇中。这些制剂中也可以加入稳定剂。

可以使用的药物组合物还包括硬明胶胶囊。作为非限制性的实例，活性化合物胶囊口服药物产品配方可以是 50 和 200mg 剂量强度（配方编号分别是 J－011248－AA－00 和 J－011248－AA－01）。两种剂量强度均由同一颗粒装入不同尺寸的硬明胶胶囊构成，3 号用于 50mg 胶

囊，0 号用于 200mg 胶囊。配方的成分可以是例如表 2 中所示。

表 2

组分名称/等级	粒化中的浓度（%w/w）	50mg 胶囊中的数量(mg)	200mg 胶囊中的数量(mg)
配方编号	J-011248-AA	J-011248-AA-00	J-011248-AA-01
活性化合物 NF	65.0	50.0	200.0
山梨醇 NF	23.5	18.1	72.4
交联的羧甲基纤维素钠 NF	6.0	4.6	18.4
聚乙烯吡咯烷酮 K30NF	5.0	3.8	15.2
硬脂酸镁 NF	0.5	0.38	1.52
胶囊，瑞典黄 NF		Size 3	Size 0

可以将胶囊装入棕色的玻璃或塑料瓶中以保护活性化合物免遭光照。装有活性化合物胶囊剂的容器必须在受控的室温（15－30℃）下贮存。

为了吸入给药，本发明化合物使用加压容器或喷雾器及合适的推进剂，例如但不限于，二氯二氟甲烷、三氯一氟甲烷、二氯四氟乙烷或二氧化碳，以气溶胶喷雾的形式方便地释药。在加压的气溶胶形式，剂量单位可以通过装上释放计量数量的阀门来控制。在吸入器或喷药器中使用的例如明胶的胶囊和筒可以配制成装有化合物与合适的粉末基料（如乳糖或淀粉）的粉末混合物。

也可以将化合物配制成肠道外给药，例如，以快速浓注或连续输注方式给药。注射制剂可以是单位剂型，例如在安瓿瓶中或在多剂量的小瓶中，并加有防腐剂。组合物可以采取在油基或水基载体中的悬浮液，溶液或乳状液的形式，并可含有例如悬浮剂、稳定剂和/或分散剂等配制添加物。

用于肠道外给药的药物组合物包括活性化合物的水溶性形式（例如但不限于盐类）的水溶液。另外，活性化合物的悬浮液可以配制在亲油性载液中。合适的亲油性载液包括脂肪油，例如芝麻油，合成的脂肪酸酯，例如油酸乙酯和甘油三酯，或例如脂质体等物质。水基可注射悬浮液可包括增加悬浮液粘度的物质，例如羧甲基纤维素钠、山

梨醇或葡聚糖。悬浮液中还可任意地含有合适的稳定剂和/或增加化合物的溶解度的试剂，以便能制备高浓度的溶液。

或者是，活性成分可以是用来在使用前与合适的载液（例如灭菌的无热原水）组合的粉末形式。

本发明化合物也可以利用常规的栓剂基料，例如可可脂或其它甘油脂，配制成直肠组合物，例如栓剂或保留性灌肠剂。

除了上述制剂以外，还可以将化合物配制成存储式制剂。这种长效制剂可以以植入（例如，皮下或肌内植入）或肌内注射方式给药。本发明化合物可以用合适的聚合物或疏水物质（例如在乳状液情形用可药用的油），离子交换树脂，或者作为难溶的衍生物（例如但不限于难溶的盐），配制成用于此给药途径。

本发明的疏水性化合物的药用载体的非限制性实例是含有苯甲醇、非极性表面活性剂、与水可混溶的有机聚合物及一个水相的共溶剂体系，例如 VPD 共溶剂体系。VPD 是 3% w/v 苯甲醇、8% w/v 非极性表面活性剂 Polysorbate 80 和 65% w/v 聚乙二醇 300 的无水乙醇溶液。VPD 共溶剂体系（VPD: D5W）由用 5%的葡萄糖水溶液按 1：1 稀释的 VPD 构成。此共溶剂体系对疏水化合物的溶解性能好，而且在全身性给药时自身产生的毒性低。自然，这样一种共溶剂体系的比例可以有相当大的变化而不破坏其溶解和毒性特点。再者，此共溶剂组分的特性可以改变：例如，可以用其它的低毒性非极性表面活性剂代替 Polysorbate 80，聚乙二醇所占比例的大小可以变化，可以用其它的生物相容的聚合物代替聚乙二醇（例如聚乙烯吡咯烷酮），以及用其它的糖或多糖代替葡萄糖。

或者，可以使用其它的用于疏水性药物化合物的释放体系。脂质体和乳状液是用于疏水性药物的载液或载体的众所周知的实例。此外，一些有机溶剂，例如二甲基亚砜，也可以使用，虽然其代价是毒性较高。

另外，本发明化合物可以使用持续释放体系来释放，例如含治疗药物的疏水性固体聚合物的半透性基质。已经确立了很多种持续释放材料，它们是本领域技术人员所熟知的。依其化学本性的不同，持续释放胶囊可以释放化合物几周至 100 天以上。根据治疗药物的化学本性和生物稳定性，可以采用其它的用于蛋白质稳定的方法。

本发明的药物组合物还可以含合适的固体或凝胶相载体或赋形剂。这些载体或赋形剂的实例包括但不限于：碳酸钙、磷酸钙、各种糖、淀粉、纤维素衍生物、明胶和聚合物（如聚乙二醇）。

本发明的 PK 调节化合物有很多可以形成生理上可接受的盐，其中所述化合物可以构成带负电或带正电的部分。本发明化合物于其中形成带正电部分的盐的实例包括但不限于：季铵（本申请中另处定义）盐，例如盐酸盐、硫酸盐、碳酸盐、乳酸盐、酒石酸盐、苹果酸盐、马来酸盐、琥珀酸盐，其中季铵基团的氮原子是所选择的与合适的酸反应的本发明化合物的氮原子。本发明化合物于其中形成带负电部分的盐包括但不限于：通过化合物中的羧酸基团与合适的碱（例如，氢氧化钠（NaOH）、氢氧化钾（KOH）、氢氧化钙（$Ca(OH)_2$ 等）反应形成的钠、钾、钙和镁盐。

适合用于本发明的药物组合物包括其中的活性成分的含量足以达到预期目的（例如，调节 PK 活性或者治疗或预防与 PK 有关的疾病）的组合物。

更具体地说，治疗有效量意味着化合物的数量对于防止，减轻或者改善疾病症状或延长所治疗对象的生存期有效。

治疗有效量的测定完全在本领域技术人员的能力之内，尤其是根据本申请提供的详细内容。

对于在本发明方法中使用的任何化合物，治疗有效量或剂量可以首先由细胞培养试验估计。于是，可以将剂量配制成用于动物模型以达到将细胞培养中确定的 IC_{50} 包括在内的循环浓度范围（即，达到对 PK 活性 50％抑制的试验化合物浓度）。这些信息随后可用于更准确地确定适用于人的剂量。

本发明所述化合物的毒性和治疗效力可以在细胞培养物或实验动物中用标准的药学步骤测定，例如，测定所研究化合物的 IC_{50} 和 LD_{50}（二者均在本文中另处讨论）。由这些细胞培养试验和动物研究得到的数据可以用来配制一系列剂量在人类使用。该剂量可以随所用剂型和采用的给药途径变化。准确的配方、给药途径和剂量可以由各别医师根据患者状况作出选择（例如参见 Fingl 等，1975，在“The Pharmacological Basis of Therapeutics”（治疗的药学基础），第一章 P.1）。

投药量和间隔可以个别地调节，以便使活性物质的血浆浓度足以维持调节激酶的作用。这些血浆浓度被称作最低有效浓度（MEC）。MEC 将随各化合物而变，但可以根据体外试验数据估计，例如，为实现对激酶的 50－90％抑制所必需的浓度可以利用本申请所述的试验确定。为达到 MEC 所需的剂量取决于个体的特点和给药途径。可以使用 HPLC 分析和生物试验来确定血浆浓度。

投药间隔也可以利用 MEC 值确定。化合物的服用方案应该使血浆浓度高于 MEC 的时间保持在 10－90％，优选占 30－90％，最好是 50－90％。

目前，式（I）化合物的治疗有效量可以是每天约 25mg/m^2 至 1500mg/m^2，优选为约 3mg/m^2/天。更优选为 50－400mg/qm qd。

在局部给药或选择性摄入的情形，药物的有效局部浓度可能与血浆浓度无关，并且可以用本领域已知的其它方法确定合适的投药量和投药间隔。

服用的组合物的数量当然与所治疗的对象、病痛的严重性、服药方式和处方医师的判断有关。

如果需要，组合物可以装在包装或分送装置中，例如 FDA 批准的药盒中，其中可以包含一个或多个含活性组分的单位剂型。该包装可以含例如金属或塑料箔，如泡状包装。包装和分送装置可以伴有服药说明。该包装或分送装置还可以在容器上伴有管理药物的制造、使用或销售的政府机构规定的通告，该通告反映了政府机构批准该形式的组合物或者人类或兽医施用。这种通告可以是美国食品和药物管理局对于处方药物的批准签章或是批准的产品插页。含有配制在相容的药物载体中的本发明化合物的组合物，也可以配制和放置在合适的容器中，并标明用于治疗所示的病症。标签上指示的合适病症可以包括肿瘤的治疗、血管发展的抑制、纤维变性的治疗、糖尿病等。

本发明的另一方面是，所述化合物或其盐或前药可以与用来治疗上述疾病和失调的其它化学治疗药物结合。例如，本发明的化合物、盐或前药可以单独与烷基化试剂如氟尿嘧啶（5－FU）组合或进一步与亚叶酸组合；或与其它的烷基化试剂组合，例如但不限于：其它的嘧啶类似物，例如 UFT、Capecitabine、吉西他滨和阿糖胞苷；烷基硫酸酯，例如白消安（用于治疗慢性粒细胞白血病）、胺丙磺酯和嗪消安；

氮丙啶类，例如，苯替哌、卡波醌、四甲尿烷亚胺和尿烷亚胺；亚乙基亚胺和甲基蜜胺类，例如，六甲蜜胺、三亚乙基蜜胺、三亚乙基磷酰胺、三亚乙基硫代磷酰胺和三羟甲基蜜胺；以及氮芥类，例如，苯丁酸氮芥（用于治疗慢性淋巴细胞白血病、原发性巨球蛋白血症和非Hodgkin氏淋巴瘤）、环磷酰胺（用于治疗Hodgkin氏病、多发性骨髓瘤、成神经细胞瘤、乳房癌、卵巢癌、肺癌、维尔姆斯瘤和横纹肌肉瘤）、雌氮芥、异环磷酰胺、新氮芥、松龙苯芥和尿嘧啶氮芥（用于治疗原发性血小板增多症、非Hodgkin氏淋巴瘤、Hodgkin氏病和卵巢癌）；和三嗪类，例如，达卡巴嗪（用于治疗软组织肉瘤）。

本发明的化合物、盐或前药也可以与其它的抗代谢物化学治疗药物相组合使用，例如但不限于：叶酸类似物，例如甲氨蝶呤（用于治疗急性淋巴细胞白血病、绒毛膜癌、蕈样真菌病乳房癌、头颈癌和骨肉瘤）和蝶酰三谷氨酸；以及嘌呤类似物，例如巯基嘌呤和硫鸟嘌呤，它们可用于治疗急性粒细胞性、急性淋巴细胞性和慢性粒细胞性白血病。

本发明的化合物、盐或前药还被考虑用来和基于天然产物的治疗药剂组合，例如但不限于：长春花生物碱，例如，长春碱（用于治疗乳房癌和睾丸癌）、长春新碱和长春地辛；表鬼臼毒素，例如，伊托泊苷和鬼臼噻吩苷，二者均可用于治疗睾丸癌和Kaposi肉瘤；抗生素化学治疗剂，例如，柔红霉素、阿霉素、表阿霉素、丝裂霉素（用于治疗胃、子宫颈、结肠、乳房、膀胱和胰腺癌）、更生霉素、Temozolomde、普卡霉素、博来霉素（用于治疗皮肤、食道和生殖泌尿道癌）；以及酶类化学治疗剂，例如L－天冬酰胺酶。

除上述以外，本发明的化合物、盐或前药还可以与铂配位络合物（顺铂等），取代的脲（如羟基脲）、甲肼衍生物（如甲基苄肼）、肾上腺素皮质抑制剂（如邻氯苯对氯苯二氯乙烷、氨基乙哌啶酮）以及激素和激素拮抗剂，如肾上腺素皮质类固醇（例如泼尼松）、孕酮（如，己酸孕酮）。雌激素（如己烯雌酚）、抗雌激素（如三苯氧胺）、雄激素（如丙酸睾酮）和芳香酶抑制剂（如阿纳托唑）等组合使用。

最后，还预期本发明化合物和米托蒽醌或紫杉醇组合会对治疗固体肿瘤癌或白血病，例如但不限于急性髓细胞性（非淋巴细胞性）白血病有效。

一般合成步骤

以下的通用方法可以用来制备本发明化合物：

将适当取代的 2－氧代吲哚（1 当量）、适当取代的醛（1.2 当量）和碱（0.1 当量）在溶剂（每 mmol 2－氧代吲哚用 1－2ml）中混合，然后将混合物加热约 2－12 小时。冷却后，滤出形成的沉淀，用冷乙醇和乙醚洗，真空干燥得到固体产物。如果无沉淀形成，则将反应混合物浓缩，残余物用二氯甲烷/乙醚研制，过滤收集形成的固体，然后干燥。该产物可任意地用色谱法进一步纯化。

上述的碱可以是有机碱或无机碱。如果使用有机碱，优选是含氮碱。有机含氮碱的实例包括但不限于：二异丙基胺、三甲胺、三乙胺、苯胺、吡啶、1,8－二氮杂双环〔5.4.1〕十一碳－7－烯、吡咯烷和哌啶。

无机碱的实例包括但不限于：碱金属或碱土金属氢氧化物，磷酸盐，碳酸盐，碳酸氢盐，硫酸氢盐和酰胺。碱金属包括锂、钠和钾，而碱土金属包括钙、镁和钡。

在本发明目前优选的实施方案中，当溶剂是质子溶剂（例如水或醇）时，该碱是碱金属或碱土金属无机碱，优选是碱金属或碱土金属氢氧化物。

本领域技术人员根据已知的有机合成的一般原理及本发明的公开内容，应该清楚何种碱最合适于所考虑的反应。

反应于其中进行的溶剂可以是质子溶剂或非质子溶剂，优选是质子溶剂。“质子溶剂”是这样一种溶剂，它具有和氧或氮原子共价结合的氢原子，这使该氢原子带有明显的酸性，从而能通过氢键与溶质“共享”。质子溶剂的实例包括但不限于水和醇类。

“非质子溶剂”可以是极性的或非极性的，但每种情形都不含酸性的氢，因此不能与溶质成氢键。非极性的非质子溶剂的非限制实例包括戊烷、己烷、苯、甲苯、二氯甲烷和四氯化碳。极性的非质子溶剂的实例有氯仿、四氢呋喃、二甲基亚砜和二甲基甲酰胺。

在一项目前优选的本发明实施方案中，溶剂是一种质子溶剂，优选是水或醇，例如乙醇。

反应在高于室温的温度下进行。温度一般为约 30－150℃，优选为约 80－100℃，最优选为约 75－85℃，这大约是乙醇的沸点。“大约”意味着温度范围优选在所示温度的 10℃之内，更优选在所示温度

的5℃之内，最优选在所示温度的2℃之内。例如，“大约75℃”意味着75±10℃，优选75±5℃，最优选75±2℃。

2-氧代吲哚和醛容易用化学领域众所周知的方法合成。本领域技术人员应该理解，还有形成本发明化合物的其它合成途径。下面提供的是非限制性的实施例。

实施例

给出以下的制备例和实施例，以使本领域的技术人员能更清楚地理解和实施本发明。它们不应被认为是对本发明范围的限制，而只是本发明的示例说明和典型代表。

合成实施例

方法A：吡咯的甲酰化

在-10℃向二甲基甲酰胺（3当量）逐滴加入$POCl_3$（1.1当量），随后加入溶在二甲基甲酰胺中的合适的吡咯。搅拌2小时后，反应混合物用水稀释，并用10 N KOH碱化至pH 11。过滤收集形成的沉淀，用水洗，在真空烘箱中干燥，得到所要的醛。

方法B：吡咯羧酸酯的皂化

将吡咯羧酸酯和KOH（2-4当量）的混合物在乙醇中回流，直到薄层色谱（TLC）指示反应完全。用1 N HCl将冷却的反应混合物酸化至pH 3。过滤收集形成的沉淀，用水洗，在真空烘箱中干燥，得到所要的吡咯羧酸。

方法C：酰胺化

在搅拌下向吡咯羧酸的二甲基甲酰胺溶液（0.3M）中加入1-乙基-3-（3-二甲基氨基丙基）碳化二亚胺（1.2当量）、1-羟基苯并三唑（1.2当量）和三乙胺（2当量）。加入合适的胺（1当量），搅拌反应混合物直至TLC指示反应完全。然后向反应混合物中加入乙酸乙酯，溶液用饱和碳酸钠及盐水（含过量盐）洗，用无水$MgSO_4$干燥，浓缩后得到所要的酰胺。

方法D：醛和含羧酸取代基的氧代吲哚的缩合

将氧代吲哚（1当量）、1当量醛和1-3当量哌啶（或吡咯烷）在乙醇中的混合物（0.4M）于90-100℃搅拌，直到TLC指示反应完全。然后将混合物浓缩，残余物用2N HCl酸化。形成的沉淀用水和乙醇洗，然后在真空烘箱中干燥，得到产物。

方法 E：醛和不含羧酸取代基的氧代吲哚的缩合

将氧代吲哚（1 当量）、1 当量醛和 1－3 当量哌啶（或吡咯烷）在乙醇中的混合物（0.4M）于 90－100℃搅拌，直到 TLC 指示反应完全。将该混合物冷却至室温，真空过滤收集形成的固体，用乙醇洗，干燥，得到产物。如果反应混合物冷却时不形成沉淀，将该混合物浓缩并用柱色谱法纯化。

C. 氧代吲哚合成实施例

以下的典型氧代吲哚的合成实施不要看作是对本发明范围的任何方式的限制。根据以下的说明，对于本领域技术人员，合成所示的氧代吲哚及制备本发明化合物时要用的其它氧代吲哚的其它方法将变得显而易见。这些合成方法和氧代吲哚是在本发明的范围和精神之内。

5－氨基－2－氧代吲哚

5－硝基－2－氧代吲哚（6.3g）在甲醇中于 10％钯/碳上氢化，得到 3.0g（产率 60％）标题化合物，为白色固体。

5－溴－2－氧代吲哚

将 2－氧代吲哚（1.3g）在 20ml 乙腈中冷却到－10℃，在搅拌下慢慢加入 2.0g N－溴丁二酰胺。将反应混合物在－10℃搅拌 1 小时，0℃搅拌 2 小时。收集沉淀，用水洗，干燥，得到 1.9g（产率 90％）标题化合物。

4－甲基－2－氧代吲哚

在搅拌下向 19g 乙醇钾在 50ml 无水乙醚中的悬浮液加入草酸二乙酯（30ml）在 20ml 无水乙醚中的溶液。将混合物在冰浴中冷却，慢慢加入 20ml 3－硝基邻二甲苯在 20ml 无水乙醚中的溶液。将该粘稠的深红色混合物加热回流 0.5 小时，浓缩得到深红色固体，用 10％氢氧化钠处理，直到几乎所有固体都溶解。用 30％过氧化氢处理该深红色混合物，直到红色变黄。将该混合物交替地用 10％氢氧化钠和 30％过氧化氢处理，直至深红色消失。滤除固体，滤液用 6N 盐酸酸化。抽气过滤收集形成的沉淀，用水洗，真空干燥，得到 9.8g（产率 45％）2－甲基－6－硝基苯乙酸，为灰白色固体。将该固体在甲醇中于 10％钯/碳上氢化，得到 9.04g 标题化合物，为白色固体。

7－溴－5－氯－2－氧代吲哚

将 5－氯－2－氧代吲哚（16.8g）和 19.6g N－溴丁二酰亚胺悬

浮在 140ml 乙腈中并回流 3 小时。在回流 2 小时时薄层色谱法（硅胶，乙酸乙酯）显示 5－氯－2－氧代吲哚或 N－溴丁二酰亚胺（Rf 0.8）、产物（Rf 0.85）和第二产物（Rf 0.9），它们的比例在又回流一小时后没有变化。将混合物冷却至 10℃，抽气过滤收集沉淀，用 25ml 乙醇洗，在漏斗中抽气干燥 20 分钟，得到 14.1g 湿产物（产率 56％）。将该固体悬浮在 200ml 变性乙醇中，利用搅拌和回流 10 分钟进行浆化洗涤。将混合物在冰浴中冷却至 10℃。抽气过滤收集固体产物，用 25ml 乙醇洗，40℃真空干燥，得到 12.7g（产率 51％）7－溴－5－氯－2－氧代吲哚。

5－氟－2－氧代吲哚

将 5－氟靛红（8.2g）溶在 50ml 水合肼中并回流 1.0 小时。然后将反应混合物倒入冰水中。将沉淀过滤，用水洗，在真空烘箱中干燥，得到标题化合物。

5－硝基－2－氧代吲哚

将 2－氧代吲哚（6.5g）溶在 25ml 浓硫酸中，将其保持在－10 至－15℃，同时滴加 2.1ml 发烟硝酸。加完硝酸后将反应混合物在 0℃搅拌 0.5 小时，倒入冰水中。过滤收集沉淀，用水洗，自 50％乙酸中结晶。过滤收集结晶产物，用水洗，真空干燥，得到 6.3g（70％）5－硝基－2－氧代吲哚。

5－氨基磺酰－2－氧代吲哚

向装有 27ml 氯磺酸的 100ml 烧瓶中慢慢加入 13.3g 2－氧代吲哚。在加料期间保持反应温度低于 30℃。加完后，将反应混合物在室温下搅拌 1.5 小时，在 68℃加热 1 小时，冷却，倒入水中。沉淀用水洗，在真空烘箱中干燥，得到 11.0g 5－氯磺酰－2－氧代吲哚（产率 50％），它在使用前不再纯化。

将 5－氯磺酰－2－氧代吲哚（2.1g）加到含 10ml 氨水的 10ml 乙醇中并在室温下搅拌过夜。将混合物浓缩，抽气过滤收集固体，得到 0.4g（产率 20％）标题化合物，为灰白色固体。

5－异丙基氨磺酰－2－氧代吲哚

向装有 27ml 氯磺酸的 100ml 烧瓶中加入 13.3g 2－氧代吲哚。加料期间保持反应温度低于 30℃。将反应混合物在室温下搅拌 1.5 小时，在 68℃加热 1 小时，冷却，倒入水中。滤出形成的沉淀，用水洗，在

真空烘箱中干燥，得到 11.0g（50％）5－氯磺酰－2－氧代吲哚，它在使用前不再纯化。

将 3g 5－氯磺酰－2－氧代吲哚、1.15g 异丙胺和 1.2ml 吡啶在 50ml 二氯甲烷中的悬浮液于室温下搅拌 4 小时，在此期间形成了白色固体。抽气过滤收集固体，用热乙醇浆化洗涤，冷却，抽气过滤收集固体，在 40℃真空干燥过夜，得到 1.5g（45％）5－异丙基氨磺酰－2－氧代吲哚。

^{1}HNMR (360 MHz, DMSO-d6) δ 10.69 (s, br, 1H, NH), 7.63 (dd, *J* = 2 和 8 Hz, 1H), 7.59 (d, *J* = 2 Hz, 1H), 7.32 (d, *J* = 7 Hz, 1H, N*H*-SO_2-), 6.93 (d, *J* = 8 Hz, 1H), 3.57 (s, 2H), 3.14-3.23 (m, 1H, C*H*-$(CH_3)_2$), 0.94 (d, *J* = 7 Hz, 6H, 2xCH_3).

5－苯基氨磺酰－2－氧代吲哚

将 5－氯磺酰－2－氧代吲哚（1.62g, 7mmol）、苯胺（0.782ml, 8.4mmol）和吡啶（1 ml）在二氯甲烷（20ml）中的悬浮液于室温下搅拌 4 小时。反应混合物用 300ml 乙酸乙酯稀释，用 1 N 盐酸（16ml）酸化。有机层用碳酸氢钠和盐水洗，干燥并浓缩。残余物用乙醇（3ml）洗，然后在硅胶上色谱分离，用甲醇/二氯甲烷（1：9）洗脱，得到 5－苯基氨磺酰－2－氧代吲哚。

^{1}HNMR (360 MHz, DMSO-d6) δ 10.71 (s, br, 1H, NH), 10.10 (s, br, 1H, NH), 7.57-7.61 (m, 2H), 7.17-7.22 (m, 2H), 7.06-7.09 (m, 2H), 6.97-7.0 (m, 1H), 6.88 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 3.52 (s, 2H).

2－氧代－2,3－二氢－1H－吲哚－5－磺酸吡啶－3－基酰胺

将 5－氯磺酰－2－氧代吲哚（3g）和 3－氨基吡啶（1.46g）在吡啶（15ml）中的溶液在室温下搅拌过夜，此时形成棕色固体。将固体过滤，用乙醇洗，真空干燥，得到 1.4g（38％）2－氧代－2,3－二氢－1H－吲哚－5－磺酸吡啶－3－基酰胺。

^{1}HNMR (360 MHz, DMSO-d6) δ 10.74 (s, 1H, NH), 10.39 (s, 1H, SO_2NH), 8.27-8.28 (d, 1H), 8.21-8.23 (m, 1H), 7.59-7.62 (m, 2H), 7.44-7.68 (m, 1H), 7.24-7.28 (m, 1H), 6.69-6.71 (d, 1H), 3.54 (s, 2H).

MS *m/z* (APCI+) 290.2.

5－苯基氧代吲哚

在搅拌和轻微加热下将 5－溴－2－氧代吲哚（5g, 23.5mmol）溶于 110ml 甲苯和 110ml 乙醇中。依次加入四（三苯膦）合钯（O）（1.9g, 1.6mmol）和 40ml（80mmol）2M 碳酸钠水溶液。向此混合物中加入苯基硼酸（3.7g, 30.6mmol），将混合物在 100℃油浴中加热 12 小时。将反应混合物冷却，用乙酸乙酯稀释（500ml），用饱和碳酸氢钠（200ml）、水（200ml）、1 N HCl（200ml）和盐水（200ml）洗。有机层用硫酸镁干燥，浓缩，得到棕色固体。用二氯甲烷研制，得到 3.8g（77％）5－苯基－2－氧代吲哚，为棕黄色固体。

^{1}H NMR (360 MHz, DMSO-d6) δ 10.4 (br s, 1H, NH), 7.57 (dd, *J* = 1.8 和 7.2 Hz, 1H), 7.5 to 7.35 (m, 5H), 7.29 (m, 1H), 6.89 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 3.51 (s, 2H, CH_2CO).

MS m/z 209 [M^+].

按照类似方式，可得到以下氧代吲哚：

6－（3,5－二氯苯基）－1,3－二氢吲哚－2－酮

^{1}H NMR (360 MHz, DMSO-d6) δ 10.46 (br, 1H, NH), 7.64 (d, *J* = 1.8 Hz, 2H), 7.57 (m, 1H), 7.27 (m, 2H), 7.05 (d, J = 1.1 Hz, 1H), 3.5 (s, 2H).

6－（4－丁基苯基）－1,3－二氢吲哚－2－酮

^{1}H NMR (360 MHz, DMSO-d6) δ 10.39 (s, 1H, NH), 7.49 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.25 (d, *J* = 8 Hz, 3H), 7.17 (dd, *J* = 1.5 和

7.8 Hz, 1H), 6.99 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 3.48 (s, 2H, CH_2CO), 2.60 (t, J = 7.5 Hz, 2Hz, CH_2CH_3), 1.57 (m, 2H, CH_2), 1.32 (m, 2H, CH_2), 0.9 (t, J = 7.5 Hz, 3H, CH_3).

6-（5-异丙基-2-甲氧基苯基）-1,3-二氢吲哚-2-酮

^{1}H NMR (360 MHz, DMSO-d6) δ 10.29 (br s, 1H, NH), 7.16-7.21 (m, 2H), 7.08 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 6.97-7.01 (m, 2H), 6.89 (d, J = 0.8 Hz, 1H), 3.71 (s, 3H, OCH_3), 3.47 (s, 2H, CH_2CO), 2.86 (m, 1H, $CH(CH_3)_2$), 1.19 (d, J = 6.8 Hz, 6H, $CH(CH_3)_2$).

MS-EI m/z 281 $[M]^+$.

6-（4-乙基苯基）-1,3-二氢吲哚-2-酮

^{1}H NMR (360 MHz, DMSO-d6) δ 10.39 (br s, 1H, NH), 7.50 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.28 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.25 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 7.17 (dd, J = 1.6 & 7.5 Hz, 1H), 6.99 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 3.48 (s, 2H, CH_2CO), 2.63 (q, J = 7.6 Hz, 2H, CH_2CH_3), 1.20 (t, J = 7.6 Hz, 3H, CH_2CH_3).

MS-EI m/z 237 $[M]^+$.

6-（3-异丙基苯基）-1,3-二氢吲哚-2-酮

^{1}H NMR (360 MHz, DMSO-d6) δ 10.37 (br s, 1H, NH), 7.43 (m, 1H), 7.35-7.39 (m, 1H), 7.17-7.27 (m, 3H), 7.01 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 3.49 (s, 2H, CH_2CO), 2.95 (m, 1H, $CH(CH_3)_2$), 1.24 (d, J = 6.8 Hz, 6H, $CH(CH_3)_2$).

MS-EI m/z 251 $[M]^+$.

6-（2,4-二甲氧基苯基）-1,3-二氢吲哚-2-酮

^{1}H NMR (360 MHz, DMSO-d6) δ 10.28 (br s, 1H, NH), 7.17 (m, 2H), 6.93 (dd, J = 1.6 & 7.6 Hz, 1H), 6.86 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 6.63 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 6.58 (dd, J = 2.4 & 8.5 Hz, 1H), 3.79 (s, 3H, OCH_3), 3.74 (s, 3H, OCH_3), 3.45 (s, 2H, CH_2CO).

MS-EI m/z 269 $[M]^+$.

6－吡啶－3－基－1,3－二氢吲哚－2－酮

^{1}H NMR (360 MHz, DMSO-d6) δ 10.51 (s, 1H, NH), 8.81 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 8.55 (dd, J = 1.8 and 5.7 Hz, 1H), 8 (m, 1H), 7.45 (dd, J = 5.7 和 9.3 Hz, 1H), 7.3 (m, 2H), 7.05 (s, 1H), 3.51 (s, 2H, CH_2CO).

MS m/z 210 $[M]^+$。

2－氧代－2,3－二氢－1H－吲哚－4－羧酸（3－氯－4－乙氧基苯基）酰胺

在室温下向4－羧基－2－氧代吲哚（200mg, 1.13mmol）和3－氯－4－甲氧基苯胺（178mg, 1.13mmol）在二甲基甲酰胺（15ml）中的溶液依次加入六氟磷酸苯并三唑－1－基氧基三（二甲基氨基）鏻盐（BOP 试剂，997mg, 2.26mol）和 4－二甲基氨基吡啶（206mg, 1.69mmol）。将该混合物在室温下搅拌 72 小时。然后用乙酸乙酯（300ml）稀释反应混合物，用饱和碳酸氢钠（100ml）、水、2N 盐酸（100ml）、水（3×200ml）和盐水洗。随后用硫酸镁干燥并浓缩。残余物用乙酸乙酯研制，得到 2－氧代－2,3－二氢－1H－吲哚－4－羧酸（3－氯－4－甲氧基苯基）酰胺，为粉红色固体。

^{1}HNMR (360 MHz, DMSO-d6) δ 10.50 (s, br, 1H, NH), 10.12 (s, br, 1H, NH), 7.9 (s, J = 2.5 Hz, 1H), 7.62 (dd, J = 2.5 & 9 Hz, 1H), 7.38 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.32 (t, J = 7.6 Hz, 1H), 7.13 (d, J = 9 Hz, 1H), 6.98 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 3.83 (s, 3H, OCH_3), 3.69 (s, 2H, CH_2).

MS-EI m/z 316 $[M]^+$.

4－羧基－2－氧代吲哚

室温下向 2.01g 2－氯－3－羧基硝基苯在 20ml 甲醇中的溶液滴加三甲硅烷基重氮甲烷的己烷溶液（2M），直到不再放出气体。然后加入乙酸以消除多余的三甲硅烷基重氮甲烷。将反应混合物减压蒸发，残余物在烤箱中干燥过夜。得到的 2－氯－3－甲氧基羰基硝基苯的纯度足以用于后继反应。

向冰冷的 2.1g 氢化钠在 15ml DMSO 中的悬浮液加入丙二酸二甲酯（6.0ml）。将反应混合物在 100℃搅拌 1 小时，然后冷却至室温。一次加入 2.15g 2－氯－3－甲氧羰基硝基苯，将混合物在 100℃加热 1.5 小时。然后将反应混合物冷却至室温，倒入冰水中，酸化至 pH 5，用乙酸乙酯萃取。有机层用盐水洗，用无水硫酸钠干燥并浓缩，得到 3.0g 2－甲氧羰基－6－硝基苯基丙二酸二甲酯。

将 2－甲氧羰基－6－硝基苯基丙二酸二甲酯（3.0g）在 50ml 6N 盐酸中回流过夜。将混合物浓缩至干，加入 20ml 乙醇和 1.1g 氯化锡（II），将混合物回流 2 小时，以硅藻土过滤，浓缩，在硅胶上色谱分离，用乙酸乙酯：己烷：乙酸作为洗脱剂，得到 0.65g（37％）4－羧基－2－氧代吲哚，为白色固体。

^{1}HNMR (360 MHz, DMSO-d6) δ 12.96 (s, br, 1H, COOH), 10.74 (s, br, 1H, NH), 7.53 (d, *J* = 8Hz, 1H), 7.39 (t, *J* = 8Hz, 1H), 7.12 (d, *J* = 8Hz, 1H), 3.67 (s, 2H).

D．吡咯取代的 2－二氢吲哚酮的合成

实施例 1

4－甲基－5－（2－氧代－1,2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－1H－吡咯－2－羧酸

4－甲基－2－吡咯羧酸乙酯（市售品）用方法 A 甲酰化，得到（73％）5－甲酰－4－甲基－2－吡咯羧酸乙酯。然后将其用方法 B 水解，得到 5－甲酰－4－甲基－1H－吡咯－2－羧酸（58％）。

氧代吲哚（133mg, 1mmol）与 5－甲酰－4－甲基－1H－吡咯－2－羧酸（153mg）按照方法 D 缩合，得到 268mg（100％）标题化合物，为橙红色固体。

^{1}HNMR (360 MHz, DMSO-d6) δ 13.84 (s, br, 1H, NH), 12.84 (s, br, 1H, COOH), 10.98 (s, br, 1H, NH), 7.82 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 7.67 (s, 1H, H-乙烯基), 7.18 (t, J = 7.5 Hz, 1H), 7.01 (t, J = 7.5 Hz, 1H), 6.88 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 6.71 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 2.32 (s, 3H, CH_3)。

MS（负离子质谱）266.8 $[M-1]^+$。

实施例 2

4－甲基－5－（1－甲基－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－1H－吡咯－2－羧酸

1－甲基－1, 3－二氢吲哚－2－酮（147mg, 1 mmol）与 5－甲酰－4－甲基－1H－吡咯－2－羧酸（153mg）按方法 D 缩合，得到 250mg（86％）标题化合物。

^{1}HNMR (360 MHz, DMSO-d6) δ 13.82 (s, br, 1H, NH), 12.88 (s, br, 1H, 7.83 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 7.65 (s, 1H, H-乙烯基), 7.26 (t, J = 7.5 Hz, 1H), 7.02-7.09 (m, 2H), 6.70 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 2.32 (s, 3H, CH_3).

MS m/z 283.0 $[M+1]^+$.

实施例 3

4－甲基－5－（2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－1H－吡咯－2－羧酸甲酯

氧代吲哚（105mg, 0.79mmol）与 5－甲酰－4－甲基－1H－吡咯－2－羧酸甲酯（110mg, 0.67mmol）按方法 E 缩合，得到 153.2mg（81％）标题化合物。

^{1}HNMR (360 MHz, DMSO-d6) δ 13.98 (s, br, 1H, NH), 10.97 (s, br, 1H, NH), 7.82 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.67 (s, 1H, H-乙烯基),7.2 (dt, J= 1.2 & 7.7 Hz, 1H), 7.01 (dt, J = 1.2, 7.7 Hz, 1H), 6.90 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 6.77 (d, J = 2 Hz, 1H).

MS (ES) m/z 283 $[M^+ +1]$.

实施例 4

5－（5－氯－2－氧代－1,2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－4－甲基－1H－吡咯－2－羧酸乙酯

5－氯－1,3－二氢吲哚－2－酮（2.22g, 13.2mmol）与 5－甲酰－4－甲基－1H－吡咯－2－羧酸乙酯（2.43g）按方法 E 缩合，得到 41.g（94％）标题化合物，为橙色固体。

^{1}HNMR (360 MHz, DMSO-d6) δ 13.95 (s, br, 1H, NH), 7.98 (d, J = 2.2 Hz, 1H, H-4), 7.78 (s, 1H, H-乙烯基), 7.18 (dd, J= 2.2 & 8.3 Hz, 1H, H-6), 6.87 (d, J = 8.3 Hz, 1H, H-7), 7.34 (d, J = 1.8 Hz, 1H, H-3'), 4.27 (q, J = 7.2 Hz, 2H, OCH_2CH_3), 2.33 (s, 3H, CH_3), 1.29 (t, J = 7.2 Hz, 3H, OCH_2CH_3).

MS-EI m/z 330 [M^+].

实施例 5

5－（5－氯－2－氧代－1,2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－4－甲基－1H－吡咯－2－羧酸

将 5－（5－氯－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－4－甲基－1H－吡咯－2－羧酸乙酯（1.3g, 4mmol）和氢氧化钾在甲醇（25ml）和乙醇（25ml）中的混合物加热回流过夜。过滤除去不溶性物质，将混合物用 6N 盐酸中和，得到 0.876g（70％）标题化合物。

^{1}HNMR (360 MHz, DMSO-d6) δ 13.80 (s, br, 1H, NH), 12.90 (s, br, 1H, COOH), 11.06 (s, br, 1H, NH), 8.02 (d, J = 1.8 Hz, 1H, H-4), 7.81 (s, 1H, H-乙烯基), 7.20 (dd, J= 1.8 & 8.3 Hz, 1H, H-6), 6.89 (d, J = 8.3 Hz, 1H, H-7), 6.72 (d, J = 1.8 Hz, 1H, H-3'), 2.35 (s, 3H, CH_3).

MS-EI m/z 302 [M^+].

实施例 6

5－（5－溴－2－氧代－1,2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－4－甲基－1H－吡咯－2－羧酸（3－吡咯烷－1－基丙基）酰胺

^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d6) δ 13.53 (s, br, 1H, N*H*), 11.06 (s, br, 1H, N*H*), 8.37 (t, 1H, CON*H*CH_2), 7.89 (m, 2H), 7.32 (dd, *J* = 2.0 Hz, 1H), 6.96 (s, 1H), 6.80-6.84 (m, 2H), 3.3 (m, 2H, CH_2), 2.45-2.55 (m, 6H, N($C\mathit{H}_2CH_3$)$_2$ & $C\mathit{H}_2$), 0.95 (t, *J* = 7.2 Hz, 6H, N($CH_2C\mathit{H}_3$)$_2$).

MS-EI *m/z* 430 和 432 [M^+-1 和 M^++ 1].

实施例 9

5－（2－氧代－6－苯基－1,2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－1H－吡咯－2－羧酸（2－二乙基氨乙基）酰胺

6－苯基－1,3－二氢吲哚－2－酮（209mg, 1mmol）与 5－甲酰－1H－吡咯－2－羧酸（2－二乙基氨乙基）酰胺缩合，得到 182mg（42％）标题化合物。

^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d6) δ 13.56 (s, br, 1H, N*H*), 11.06 (s, br, 1H, N*H*), 8.36 (t, 1H, CON*H*CH_2), 7.77 (s, 1H, H-乙烯基), 7.73 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.64 (d, *J* = 7.2 Hz, 2H), 7.46 (m, 2H), 7.32 (m, 2H), 7.11 (s, 1H), 6.96 (m, 1H), 6.80 (m, 1H), 3.31-3.32 (m, 2H, $C\mathit{H}_2$), 2.46-2.53 (m, 6H, N($C\mathit{H}_2CH_3$)$_2$ & $C\mathit{H}_2$), 0.96 (t, *J* = 6.9 Hz, 6H, N($CH_2C\mathit{H}_3$)$_2$).

MS-EI *m/z* 428 [M^+].

实施例 10

5－（5－溴－2－氧代－1,2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－1H－吡咯－2－羧酸（2－二乙基氨乙基）甲基酰胺

5－溴－1,3－二氢吲哚－2－酮（212mg, 1mmol）与 5－甲酰－1H－吡咯－2－羧酸（2－二乙基氨乙基）甲酰胺缩合，得到 246mg（55％）标题化合物。

5－溴－1,3－二氢吲哚－2－酮（0.16g, 0.76mmol）与5－甲酰－4－甲基－1H－吡咯－2－羧酸（3－吡咯烷－1－基丙基）酰胺（0.2g，用方法C制备）缩合，得到60mg（17％）标题化合物，为橙色固体。

^{1}HNMR (300 MHz, DMSO-d6) δ 13.61 (s, br, 1H, NH), 11.02 (s, br, 1H, NH), 8.42 (t, J = 5.8 Hz, 1H, CONHCH$_2$), 8.12 (d, J = 1.8 Hz, 1H, H-4), 7.78 (s, 1H, H-乙烯基), 7.30 (dd, J = 1.8 & 8.4 Hz, 1H, H-6), 6.82 (d, J = 8.4 Hz, 1H, H-7), 6.77 (d, J = 2.4 Hz, 1H, H-3'), 3.22-3.31 (m, 2H, CH$_2$), 2.38-2.43 (m, 6H, 3xCH$_2$), 2.35 (s, 3H, CH$_3$), 1.62-1.71 (m, 6H, 3xCH$_2$).

MS-EI m/z 456 和 458 [M$^+$-1 和 M$^+$+2].

实施例7

5－（5－溴－2－氧代－1,2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－4－甲基－1H－吡咯－2－羧酸（3－二乙基氨基丙基）酰胺

5－溴－1,3－二氢吲哚－2－酮（0.16g, 0.75mmol）与5－甲酰－4－甲基－1H－吡咯－2－羧酸（3－二乙基氨基丙基）酰胺（0.2g，用方法C制备）缩合，得到30mg（8％）标题化合物，为橙色固体。

^{1}HNMR (300 MHz, DMSO-d6) δ 13.61 (s, br, 1H, NH), 11.02 (s, br, 1H, NH), 8.40 (m, 1H CONHCH$_2$), 8.12 (d, J = 1.5 Hz, 1H, H-4), 7.78 (s, 1H, H-乙烯基), 7.30 (dd, J = 1.5 & 8.2 Hz, 1H, H-6), 6.82 (d, J = 8.2 Hz, 1H, H-7), 6.78 (d, J = 2.4 Hz, 1H, H-3'), 3.23 (m, 2H, CH$_2$), 2.38-2.45 (m, 6H, CH$_2$ & N(CH$_2$CH$_3$)$_2$), 2.35 (s, 3H, CH$_3$), 1.61 (m, 2H, CH$_2$), 0.93 (t, J = 7.1 Hz, 6H, N(CH$_2$CH$_3$)$_2$).

MS-EI m/z 458 和 460 [M$^+$-1 和 M$^+$+2].

实施例8

5－（5－溴－2－氧代－1,2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－1H－吡咯－2－羧酸（2－二乙基氨乙基）酰胺

5－溴－1,3－二氢吲哚－2－酮（212mg, 1mmol）与5－甲酰－1H－吡咯－2－羧酸（2－二乙基氨乙基）酰胺（由吡咯－2－羧酸乙酯按方法A、B和C制备）缩合，得到162mg（38％）标题化合物。

^{1}H NMR (360 MHz, DMSO-d6) δ 13.54 (s, br, 1H, NH), 11.06 (s, br, 1H, NH), 7.90 (m, 2H), 7.33 (dd, J = 1.8 & 8.4 Hz, 1H), 6.82-6.85 (m, 3H), 3.55 (s, br, 2H, CH_2), 3.25 (s, br, 3H, NCH_3), 2.57 (t, J = 6.5 Hz, 2H, CH_2), 2.45 (m, 4H, $N(CH_2CH_3)_2$), 0.91 (m, 6H, $N(CH_2CH_3)_2$).

MS-EI m/z 444 和 446 [M^+-1 和 M^++1].

实施例 11

5－（2－氧代－6－苯基－1,2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－1H－吡咯－2－羧酸（2－二乙基氨乙基）甲酰胺

6－苯基－1,3－二氢吲哚－2－酮（209mg, 1mmol）与 5－甲酰－1H－吡咯－2－羧酸（2－二乙基氨乙基）甲酰胺缩合，得到 277mg（63％）标题化合物。

^{1}H NMR (360 MHz, DMSO-d6) δ 13.58 (s, br, 1H, NH), 11.04 (s, br, 1H, NH), 7.78 (s, 1H, H-乙烯基), 7.73 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.64 (d, J = 7.5 Hz, 2H), 7.46 (m, 2H), 7.33-7.36 (m, 2H), 7.11 (s, 1H), 6.84 (m, 1H), 6.78 (m, 1H), 3.55 (s, br, 2H, CH_2), 3.25 (s, br, 3H, NCH_3), 2.58 (t, 2H, CH_2), 2.44 (m, 4H, $N(CH_2CH_3)_2$), 0.92 (m, 6H, $N(CH_2CH_3)_2$).

实施例 12

3－甲基－5－（2－氧代－1,2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－1H－吡咯－2－羧酸（3－二乙基氨丙基）酰胺

氧代吲哚（66.5mg, 0.5mmol）与 5－甲酰－3－甲基－1H－吡咯－2－羧酸（3－二乙基氨基丙基）酰胺（由 3－甲酰－3－甲基－1H－吡咯－2－羧酸乙酯依次按方法 B 和 C 制备）缩合，得到 39mg（21％）标题化合物。

^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d6) δ 13.34 (s, br, 1H, NH), 10.88 (s, br, 1H, NH), 7.62-7.67 (m, 3H), 7.17 (m, 1H), 6.99 (m, 1H), 6.87 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 6.63 (d, J = 1 Hz, 1H), 3.26-3.32 (m, 2H, CH_2), 2.41-2.48 (m, 6H, CH_2 & $N(CH_2CH_3)_2$), 2.29 (s, 3H, CH_3), 1.63 (m, 2H, CH_2), 0.93 (t, J = 7.2 Hz, 6H, $N(CH_2CH_3)_2$).

MS-EI m/z 380 [M^+].

实施例 13

5－（5－溴－2－氧代－1,2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－3－甲基－1H－吡咯－2－羧酸（3－二乙基氨基丙基）酰胺

5－溴－1,3－二氢吲哚－2－酮（106mg, 0.5mmol）与 5－甲酰－3－甲基－1H－吡咯－2－羧酸（3－二乙基氨丙基）酰胺缩合，得到 35mg（15％）标题化合物。

^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d6) δ 13.35 (s, br, 1H, NH), 11.00 (s, br, 1H, NH), 7.89 (d, J = 1.9 Hz, 1H, H-4), 7.80 (s, 1H, H-乙烯基),7.74 (t, J = 5.3 Hz, 1H, CONHCH$_2$), 7.31 (dd, J = 1.9 & 8.4 Hz, 1H, H-6), 6.83 (d, J = 8.4 Hz, 1H, H-7), 6.63 (s,1H, H-3'), 3.26 (m, 2H, CH_2), 2.41-2.48 (m, 6H, CH_2 & $N(CH_2CH_3)_2$), 2.29 (s, 3H, CH_3), 1.63 (m, 2H, CH_2), 0.93 (t, J = 7.1 Hz, 6H, $N(CH_2CH_3)_2$).

MS-EI m/z 458 和 460 [M^+-1 和 M^++1].

实施例 14

3－甲基－5－（2－氧代－6－苯基－1,2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－1H－吡咯－2－羧酸（3－二乙基氨丙基）酰胺

6－苯基－1,3－二氢吲哚－2－酮（105mg, 0.5mmol）与 5－甲酰－3－甲基－1H－吡咯－2－羧酸（3－二乙基氨丙基）酰胺缩合，得到 67.8（30％）标题化合物。

^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d6) δ 13.37 (s, br, 1H, NH), 11.02 (s, br, 1H, NH), 7.23-7.73 (m, 11H), 3.29 (m, 2H, CH_2), 2.41-2.48 (m, 6H, CH_2 & $N(CH_2CH_3)_2$), 2.29 (s, 3H, CH_3), 1.64 (m, 2H, CH_2), 0.94 (t, J = 7.0 Hz, 6H, $N(CH_2CH_3)_2$).

MS-EI m/z 456 [M^+].

实施例 15

5－（5－甲氧基－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－3－甲基－1H－吡咯－2－羧酸（3－二乙基氨基丙基）酰胺

5－甲氧基－1, 3－二氢吲哚－2－酮（82.5mg, 0.5mmol）与 5－甲酰－3－甲基－1H－吡咯－2－羧酸（3－二乙基氨丙基）酰胺缩合，得到 80mg（39％）标题化合物。

^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d6) δ 13.45 (s, br, 1H, NH), 10.70 (s, br, 1H, NH), 7.68-7.70 (m, 2H), 7.32 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 6.72-6.79 (m, 2H), 6.60 (s, 1H), 3.73 (s, 3H, OCH_3), 3.28 (m, 2H, CH_2), 2.41-2.48 (m, 6H, CH_2 & $N(CH_2CH_3)_2$), 2.29 (s, 3H, CH_3), 1.63 (m, 2H, CH_2), 0.93 (t, J = 7.0 Hz, 6H, $N(CH_2CH_3)_2$).

MS m/z 410 [M^+].

实施例 16

5－（6－甲氧基－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－3－甲基－1H－吡咯－2－羧酸（3－二乙基氨基丙基）酰胺

6－甲氧基－1, 3－二氢吲哚－2－酮（82.5mg, 0.5mmol）与 5－甲酰－3－甲基－1H－吡咯－2－羧酸（3－二乙基氨丙基）酰胺缩合，得到 63mg（31％）标题化合物。

^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d6) δ 13.22 (s, br, 1H, NH), 10.86 (s, br, 1H, NH), 7.39-7.63 和 6.37-6.55 (m, 6H), 3.73 (s, 3H, OCH_3), 3.3 (m, 2H, CH_2), 2.45 (m, 6H, CH_2 & $N(CH_2CH_3)_2$), 2.28 (s, 3H, CH_3), 1.63 (m, 2H, CH_2), 0.93 (m, 6H, $N(CH_2CH_3)_2$).

MS m/z 410 [M^+].

实施例 17

3－（5－溴－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－4, 5, 6, 7－四氢－2H－异吲哚－1－羧酸（2－二乙基氨基乙基）酰胺

4, 5, 6, 7－四氢－2H－异吲哚－1－羧酸乙酯（May, D. A.; Lash, T. D.; J. Org. Chem., 1992, 57: 18, 4820－4828）依次用方法 A 和 B 甲酰化，得到 3－甲酰－4, 5, 6, 7－四氢－2H－异吲哚－1－羧酸。

5－溴－1, 3－二氢吲哚－2－酮（1.43g, 6.8mmol）与 3－甲酰－4, 5, 6, 7－四氢－2H－异吲哚－1－羧酸（2－二乙基氨乙基）酰胺（1.97g）缩合，得到 2.2g（67％）标题化合物，为黄橙色固体。

^{1}H NMR (360 MHz, DMSO-d6) δ 13.47 (s, 1H, NH), 11.0 (s, 1H, NH), 8.0 (d, 1H, NH), 7.70 (s, 1H, CH), 7.28 (dd, J = 2.1 and 8.2 Hz, 1H, ArH), 7.16 (m, 1H, ArH), 6.8 (d, J = 8.3Hz, 1H, ArH), 3.3 (s, 2H, CONH), 2.5 (m, 6H, 3xNCH$_2$), 2.78 (br m, 2H, 吡咯 CH$_2$), 2.72 (br m, 2H, 吡咯 CH$_2$), 1.7 (br m, 4H, N(CH$_2$CH$_3$)$_2$), 1.74 (br s, 4H, CH$_2$CH$_2$CH$_2$CH$_2$), 0.96 (t, J = 7.4 Hz, 6H, N(CH$_2$CH$_3$)$_2$).

MS-EI m/z 484 和 486 [M$^+$-1 和 M$^+$+1].

实施例 18

3－（5－溴－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－4, 5, 6, 7－四氢－2H－异吲哚－1－羧酸（3－二乙基氨丙基）酰胺

5－溴－1, 3－二氢吲哚－2－酮（20mg, 0.1mmol）与 3－甲酰－4, 5, 6, 7－四氢－2H－异吲哚－1－羧酸（3－二乙基氨丙基）酰胺（30mg）缩合，得到 33mg（46％）标题化合物，为橙色固体。

^{1}H NMR (360 MHz, DMSO-d6) δ 10.9 (s, 1H, NH), 8.0 (m, 1H, NH), 7.68 (m, 1H, ArH), 7.4 (m, 1H, ArH), 7.29 (d, J = 1.9和 8.5Hz, 1H, ArH), 6.8 (d, J = 8 Hz, 1H, ArH), 2.7 (br m, 4H, 2xNCH$_2$), 2.4 (m, 8H, 4xNCH$_2$), 1.7 (br m, 4H, N(CH$_2$CH$_3$)$_2$), 1.6 (br m, 2H, CH$_2$CH$_2$CH$_2$), 0.93 (t, J = 7.4 Hz, 6H, N(CH$_2$CH$_3$)$_2$).

MS-EI m/z 499 和 501 [M$^+$ 和 M$^+$+2].

实施例 19

3－（5－溴－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－4, 5, 6, 7－四氢－2H－异吲哚－1－羧酸（3－吡咯烷－1－基丙基）酰胺

5－溴－1, 3－二氢吲哚－2－酮（80mg, 0.4mmol）与 3－甲酰－4, 5, 6, 7－四氢－2H－异吲哚－1－羧酸（3－吡咯烷－1－基丙基）酰胺（120mg）缩合，得到 43mg（22％）标题化合物，为棕橙色固体。

^{1}H NMR (360 MHz, DMSO-d6) δ 13.4 (s, 1H, NH), 10.9 (s, 1H, NH), 8.0 (m, 1H, NH), 7.69 (m, 1H, ArH), 7.49 (m, 1H, ArH), 7.28 (d, J = 1.7 和 7.8 Hz, 1H, ArH), 6.8 (d, J = 8 Hz, 1H, ArH), 3.3 (br m, 2H, 2xNCH$_2$), 2.8 (m, 4H, 2x 吡咯 CH$_2$), 2.5 (br m, 4H, N(CH$_2$CH$_3$)$_2$), 1.6 (br m, 8H, 2x 吡咯 CH$_2$CH$_2$, CH$_2$CH$_2$CH$_2$ 和 CONHCH$_2$).

MS-EI m/z 497 和 499 [M$^+$ 和 M$^+$+2].

实施例 20

3－(2－氧代－6－吡啶－3－基－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基)－4, 5, 6, 7－四氢－2H－异吲哚－1－羧酸（2－二乙基氨乙基）酰胺

6－吡啶－3－基－1, 3－二氢吲哚－2－酮（60mg, 0.4mmol）与 3－甲酰－4, 5, 6, 7－四氢－2H－异吲哚－1－羧酸（2－二乙基氨乙基）酰胺（80mg）缩合，得到 50mg（38％）标题化合物，为浅红色固体。

^{1}H NMR (360 MHz, DMSO-d6) δ 13.4 (s, 1H, NH), 11 (s, 1H, NH), 8.9 (d, 1H, NH), 8.7 (dd, 1H, ArH), 8.1 (dd, 1H, ArH), 7.9 (d, 1H, ArH), 7.6 (s, 1H, CH), 7.5 (dd, 1H, ArH), 7.3 (dd, 1H, ArH), 7.1 (m, 2H, ArH), 3.35 (m, 2H, CONHCH$_2$), 2.8 (m, 4H, 2x 吡咯 CH$_2$), 2.5 (br m, 6H, N(CH$_2$CH$_3$)$_2$ 和 NCH$_2$), 1.75 (br s, 4H, 2x 吡咯 CH$_2$CH$_2$), 0.9 (t, 6H, N(CH$_2$CH$_3$)$_2$).

MS-EI m/z 484 [M$^+$].

实施例 21

4－苯甲酰－5－（5－溴－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－3－甲基－1H－吡咯－2－羧酸（3－二乙基氨基丙基）酰胺

在 0℃下向苯甲酰氯（1 当量）和氯化铝（1 当量）在二氯乙烷中的混合物加入 3, 5－二甲基－2－吡咯羧酸乙酯（1 当量）。将该混合物在 80℃搅拌 4 小时，然后用乙酸乙酯（EtOAc）和水萃取。合并的有机萃取液用饱和碳酸氢钠溶液和盐水洗，干燥并浓缩，得到（51％）4－苯甲酰－3, 5－二甲基－1H－吡咯－2－羧酸。

将 4－苯甲酰－3, 5－二甲基－1H－吡咯－2－羧酸乙酯（4.13g, 15.2mmol）和硝酸铈铵（33g，4 当量）在 50ml 四氢呋喃（THF）:乙酸（HOAc）：H_2O（1：1：1）中的混合物回流过夜。将反应混合物冷却，用 EtOAc 萃取，然后用碳酸氢钠碱化至 pH 9。有机层随后用盐水洗，干燥（$MgSO_4$）和浓缩，接着进行色谱分离，得到 3.25g（75％）4－苯甲酰－5－甲酰－3－甲基－1H－吡咯－2－羧酸乙酯，为黄色固体。

将 5－溴－1, 3－二氢吲哚－2－酮与 4－苯甲酰－5－甲酰－3－甲基－1H－吡咯－2－羧酸按方法 D 缩合，得到 4－苯甲酰－5－（5－溴－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－3－甲基－1H－吡咯－2－羧酸。

以上羧酸随后与 N, N－二乙基－1, 3－丙二胺按方法 C 缩合，得到标题化合物。

^{1}H NMR (360 MHz, DMSO-d6) δ 7.96 (m, 1H, CONHCH$_2$), 7.76 (d, *J* = 7.0 Hz, 2H), 7.68 (t, 1H), 7.56 (m, 2H), 7.40 (s, 2H) 7.33 (dd, *J* = 1.6 & 8.3 Hz, 1H, H-6), 6.84 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H, H-7), 3.33 (m, 2H, CH$_2$), 2.42-2.46 (m, 6H, 3xCH$_2$), 2.10 (s, 3H, CH$_3$), 1.65 (m, 2H, CH$_2$), 0.94 (t, *J* = 7.0 Hz, 6H, N(CH$_2$CH$_3$)$_2$).

MS 电子轰击 *m/z* 564 [M$^+$+1].

实施例 22

4－苯甲酰－5－（5－溴－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－3－甲基－1H－吡咯－2－羧酸（3－吗啉－4－基丙基）酰胺

^{1}H NMR (360 MHz, DMSO-d6) δ 14.10 (s, 1H, NH), 11.14 (br s, 1H, NH), 7.92 (m, 1H, CONHCH$_2$), 7.75 (m, 2H), 7.69 (t, 1H), 7.56 (m, 2H), 7.42 (m, 2H), 7.33 (dd, *J* = 1.9 & 8.3 Hz, 1H, H-

6), 6.85 (d, J = 8.3 Hz, 1H, H-7), 3.56 (m, 4H, 2xCH_2), 3.33 (m, 2H, CH_2), 2.35 (m, 6H, 3xCH_2), 2.10 (s, 3H, CH_3), 1.70 (m, 2H, CH_2).

实施例 23

4－苯甲酰－3－甲基－5－（2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－1H－吡咯－2－羧酸（3－吡咯烷－1－基丙基）酰胺

^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d6) δ 14.18 (s, 1H, NH), 11.14 (br s, 1H, NH), 8.01 (m, 1H, CONHCH_2), 7.74 (m, 1H), 7.67 (m, 1H), 7.55 (m, 1H), 7.32 (s, 1H, H-乙烯基),7.17 (m, 1H), 6.92 (m, 1H), 3.36 (m, 2H, CH_2), 2.44 (m, 6 H, 3xCH_2), 2.11 (s, 3H, CH_3), 1.65-1.75 (m, 6H, 3xCH_2).

MS 电子轰击 m/z 482 [M$^+$].

实施例 24

4－苯甲酰－5－（5－溴－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－3－甲基－1H－吡咯－2－羧酸（3－吡咯烷－1－基丙基）酰胺

^{1}H NMR (360 MHz, DMSO-d6) δ 14.01 (s, 1H, NH), 11.18 (br s, 1H, NH), 7.98 (m, 1H, CONHCH_2), 7.75 (m, 2H), 7.68 (m, 1H), 7.55 (m, 2H), 7.40 (m, 2H), 7.33 (dd, J = 2.0 & 8.2 Hz, 1H, H-6), 6.84 (d, J = 8.2 Hz, 1H, H-7), 3.34 (m, 2H, CH_2), 2.42-2.47 (m, 6 H, 3xCH_2), 2.09 (s, 3H, CH_3), 1.70 (m, 2H, CH_2), 1.64 (m, 4H, 2xCH_2).

实施例 25

4－苯甲酰－3－甲基－5－（2－氧代－6－苯基－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－1H－吡咯－2－羧酸（3－吡咯烷－1－基丙基）酰胺

^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d6) δ 14.15 (s, 1H, N*H*), 11.16 (br s, 1H, N*H*), 7.98 (m, 1H, CON*H*CH$_2$), 7.77 (d, *J* = 7.7 Hz, 2H), 7.69 (m, 1H), 7.53-7.63 (m, 4H), 7.44 (m, 2H), 7.33-7.37 (m, 2H), 7.24 (s, 2H), 7.12 (s, 1H), 3.36 (m, 2H, C*H*$_2$), 2.43-2.48 (m, 6 H, 3xC*H*$_2$), 2.12 (s, 3H, C*H*$_3$), 1.74 (m, 2H, C*H*$_2$), 1.69 (m, 4H, 2xC*H*$_2$).

MS 电子轰击 *m/z* 558 [M$^+$].

实施例 26

4－苯甲酰－5－（6－甲氧基－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－3－甲基－1H－吡咯－2－羧酸（3－吡咯烷－1－基丙基）酰胺

^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d6) δ 13.99 (s, 1H, N*H*), 11.05 (br s, 1H, N*H*), 7.93 (m, 1H, CON*H*CH$_2$), 7.72 (m, 2H), 7.65 (m, 1H), 7.54 (m, 2H), 7.15 (s, 1H, H-乙烯基), 7.04 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H, H-4), 6.51 (dd, *J* = 2.3 & 8.4 Hz, 1H, H-5), 6.44 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H, H-7), 3.74 (s, 3H, OC*H*$_3$), 3.35 (m, 2H, C*H*$_2$), 2.42-2.46 (m, 6 H, 3xC*H*$_2$), 2.10 (s, 3H, C*H*$_3$), 1.72 (m, 2H, C*H*$_2$), 1.65 (m, 4H, 2xC*H*$_2$).

MS 电子轰击 *m/z* 512 [M$^+$].

实施例 27

4－苯甲酰－5－（5－甲氧基－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－3－甲基－1H－吡咯－2－羧酸（3－吡咯烷－1－基丙基）酰胺

^{1}H NMR (360 MHz, DMSO-d6) δ 14.24 (s, 1H, N*H*), 10.90 (br s, 1H, N*H*), 7.97 (m, 1H, CON*H*CH$_2$), 7.75 (d, *J* = 7.2 Hz, 2H), 7.69 (m, 1H), 7.56 (m, 2H), 7.24 (s, 1H, H-乙烯基), 6.79 (m, 2H), 6.66 (m, 1H), 3.67 (s, 3H, OC*H*$_3$), 3.34 (m, 2H, C*H*$_2$), 2.43-2.48 (m, 6 H, 3xC*H*$_2$), 2.14 (s, 3H, C*H*$_3$), 1.71 (m, 2H, C*H*$_2$), 1.66 (m, 4H, 2xC*H*$_2$).

MS 电子轰击 *m/z* 512 [M$^+$].

实施例 28

4－苯甲酰－5－（5－氟－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－3－甲基－1H－吡咯－2－羧酸（3－吡咯烷－1－基丙基）酰胺

^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d6) δ 14.20 (s, 1H, NH), 11.14 (br s, 1H, NH), 8.03 (m, 1H, CONHCH$_2$), 7.75 (m, 2H), 7.68 (m, 1H), 7.55 (m, 2H), 7.38 (s, 1H, H-乙烯基), 7.08 (m, 1H), 7.01 (m, 1H), 6.87 (m, 1H), 3.34 (m, 2H, CH$_2$), 2.42-2.48 (m, 6 H, 3xCH$_2$), 2.09 (s, 3H, CH$_3$), 1.70 (m, 2H, CH$_2$), 1.65 (m, 4H, 2xCH$_2$).

MS 电子轰击 *m/z* 500 [M$^+$].

实施例 29

4－乙酰基－5－（5－溴－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－3－甲基－1H－吡咯－2－羧酸（3－二乙基氨丙基）酰胺

5－溴－1, 3－二氢吲哚－2－酮与 4－乙酰基－5－甲酰－3－甲基－1H－吡咯－2－羧酸（3－二乙基氨丙基）酰胺（由 4－乙酰基－5－甲酰－3－甲基－1H－吡咯－2－羧酸乙酯按方法 B 和 C 制备）缩合，得到标题化合物。

^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d6) δ 14.19 (s, 1H, NH), 11.19 (br s, 1H, NH), 8.15 (m, 1H, CONHCH$_2$), 8.11 (s, 1H, H-乙烯基), 7.72 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H, H-4), 7.38 (dd, *J* = 1.8 & 8.2 Hz, 1H, H-6), 6.87 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, H-7), 3.27 (m, 2H, CH$_2$), 2.57 (s, 3H, CH$_3$CO), 2.46 (m, 9 H, CH$_3$ & 3xCH$_2$), 1.64 (m, 2H, CH$_2$), 0.93 (t, *J* = 7.1 Hz, 6H, N(CH$_2$CH$_3$)$_2$).

实施例 30

4－乙酰基－5－（5－溴－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－3－甲基－1H－吡咯－2－羧酸（3－吡咯烷－1－基丙基）酰胺

^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d6) δ 8.14 (m, 1H, CONHCH$_2$), 8.10 (s, 1H, H-乙烯基), 7.70 (d, 1H, H-4), 7.36 (dd, *J* = 1.6 & 8.1 Hz, 1H, H-6), 6.85 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H, H-7), 3.32 (m, 2H, CH$_2$), 2.57 (s, 3H, CH$_3$CO), 2.44 (s, 3H, CH$_3$), 2.35-2.48 (m, 6H, 3xCH$_3$), 1.65-1.71 (m, 6H, 3xCH$_2$).

MS *m/z* 499 & 501 [M$^+$] & [M$^+$+2].

实施例 31

4－乙酰基－5－（5－溴－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－3－甲基－1H－吡咯－2－羧酸（3－吗啉－4－基丙基）酰胺

^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d6) δ 14.20 (s, 1H, NH), 11.26 (br s, 1H, NH), 8.09 (m, 2H, H-乙烯基 & CONHCH$_2$), 7.73 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H, H-4), 7.38 (dd, *J* = 1.5 & 8.3 Hz, 1H, H-6), 6.87 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H, H-7), 3.55 (m, 4H, 2xCH$_2$), 3.26 (m, 2H, CH$_2$), 2.57 (s, 3H, CH$_3$CO), 2.44 (s, 3H, CH$_3$), 2.35 (m, 6H, 3xCH$_3$), 1.68 (m, 2H, CH$_2$).

MS-EI m/z 514 & 516 [M$^+$-1] & [M$^+$+1]。

实施例 32

4－乙酰基－5－（5－溴－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－3－甲基－1H－吡咯－2－羧酸（3－羟基丙基）酰胺

^{1}H NMR (360 MHz, DMSO-d6) δ 14.17 (s, 1H, NH), 11.25 (br s, 1H, NH), 8.10 (s, 1H, H-乙烯基), 8.03 (m, 1H, CONHCH$_2$), 7.71 (br s, 1H, H-4), 7.37 (br d, *J* = 8.4 Hz, 1H, H-6), 6.87 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H, H-7), 4.51 (br s, 1H, OH), 3.51 (br s, 2H, CH$_2$), 3.36 (m, 2H, CH$_2$), 2.57 (s, 3H, CH$_3$CO), 2.43 (s, 3H, CH$_3$), 1.70 (m, 2H, CH$_2$).

MS-EI *m/z* 445 & 447 [M$^+$-1] & [M$^+$+1].

实施例 34

4－乙酰基－5－（5－溴－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）

-3-甲基-1H-吡咯-2-羧酸（2-吗啉-4-基乙基）酰胺

^{1}H NMR (360 MHz, DMSO-d6) δ 14.19 (s, 1H, NH), 11.14 (br s, 1H, NH), 8.10 (s, 1H, H-乙烯基), 7.84 (m, 1H, CONHCH$_2$), 7.71 (d, J = 1.8 Hz, 1H, H-4), 7.38 (dd, J = 1.8 & 8.2 Hz, 1H, H-6), 6.87 (d, J = 8.2 Hz, 1H, H-7), 3.58 (m, 4H, 2xCH$_2$), 3.40 (m, 2H, CH$_2$), 2.57 (s, 3H, CH$_3$CO), 2.49 (m, 4H, 2xCH$_2$), 2.45 (m, CH$_3$ & CH$_2$).

MS-EI m/z 500 & 502 [M$^+$-1] & [M$^+$+1].

实施例35

4-乙酰基-5-（5-溴-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基）-3-甲基-1H-吡咯-2-羧酸（2-吗啉-1-基乙基）酰胺

^{1}H NMR (360 MHz, DMSO-d6) δ 14.17 (s, 1H, NH), 11.23 (s, 1H, NH), 8.11 (s, 1H, H-乙烯基), 7.91 (m, 1H, CONHCH$_2$), 7.73 (d, J = 1.9 Hz, 1H, H-4), 7.39 (dd, J = 1.9 & 8.3 Hz, 1H, H-6), 6.88 (d, J = 8.3 Hz, 1H, H-7), 3.40 (m, 2H, CH$_2$), 2.62 (m, 2H, CH$_2$), 2.57 (s, 3H, CH$_3$CO), 2.49 (m, 4H, 2xCH$_2$), 2.44 (s, 3H, CH$_3$), 1.69 (m, 4H, 2xCH$_2$).

实施例36

4-乙酰基-5-（5-溴-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基）-3-甲基-1H-吡咯-2-羧酸〔2-（4-羟基苯基）乙基〕酰胺

^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d6) δ 14.21 (s, 1H, NH), 11.18 (s, 1H,OH), 9.09 (s, 1H, NH), 8.06-8.10 (m, 2H), 7.73 (s, 1H), 7.38 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.04 (d, J = 7.1 Hz, 2H), 6.88 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 6.67 (d, J = 7.1 Hz, 2H), 3.42 (m, 2H, CH$_2$), 2.72 (m, 2H, CH$_2$), 2.56 (s, 3H, CH$_3$CO), 2.37 (s, 3H, CH$_3$).

MS-EI m/z 507 & 509 [M$^+$-1] & [M$^+$+1].

实施例37

5-（5-溴-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基）-2-异丙基

－4－苯基－1H－吡咯－3－羧酸（3－二乙基氨丙基）酰胺

将2－氨基乙酰苯盐酸盐（1当量）、异丁酰乙酸乙酯（1.2当量）和乙酸钠（2.4当量）在水中的混合物于100℃搅拌18小时，然后冷却至室温。倒掉水层，将油溶在乙酸乙酯中，然后用水和盐水洗，干燥，得到（93％）2－异丙基－4－苯基－1H－吡咯－3－羧酸乙酯，为红棕色油。

^{1}HNMR (300 MHz, DMSO-d6) δ 11.21 (s, br, 1H, NH), 7.14-7.27 (m, 5H), 6.70 (d, J = 2.7 Hz, 1H), 4.02 (q, J = 7.1 Hz, 2H, OCH_2CH_3), 3.65 (m, 1H, $CH(CH_3)_2$), 1.22 (d, J = 7.5 Hz, 6H, $CH(CH_3)_2$), 1.04 (t, J = 7.1 Hz, 3H, OCH_2CH_3).

MS-EI m/z 257 [M^+].

将以上的吡咯用方法A甲酰化，得到（41％）5－甲酰－2－异丙基－4－苯基－1H－吡咯－3－羧酸乙酯，为浅红色固体。

^{1}HNMR (300 MHz, DMSO-d6) δ 12.35 (s, br, 1H, NH), 9.14 (s, 1H, CHO), 7.36 (s, 5H), 3.96 (q, J = 7.1 Hz, 2H, OCH_2CH_3), 3.74 (m, 1H, $CH(CH_3)_2$), 1.29 (d, J = 6.9 Hz, 6H, $CH(CH_3)_2$), 0.90 (t, J = 7.1 Hz, 3H, OCH_2CH_3).

MS-EI m/z 285 [M^+].

用方法B将吡咯羧酸酯水解，得到（57％）5－甲酰－2－异丙基－4－苯基－1H－吡咯－3－羧酸，为米黄色固体。

^{1}HNMR (300 MHz, DMSO-d6) δ 12.28 (s, br, 1H, COOH), 12.02 (s, br, 1H, NH), 9.10 (s, 1H, CHO), 7.35 (s, 5H), 3.81 (m, 1H, $CH(CH_3)_2$), 1.28 (d, J = 6.9 Hz, 6H, $CH(CH_3)_2$).

MS-EI m/z 257 [M^+].

5－溴－1,3－二氢吲哚－2－酮（120mg, 0.31mmol）与5－甲酰－2－异丙基－4－苯基－1H－吡咯－3－羧酸（3－二乙基氨丙基）酰胺（用方法C制备）缩合，得到120mg（71％）标题化合物。

^{1}HNMR (300 MHz, DMSO-d6) δ 14.23 (s, br, 1H, N*H*), 11.08 (s, br, 1H, N*H*), 7.38-7.55 (m, 7H, Ar-H & CON*H*CH_2), 7.30 (s, 1H, H-乙烯基), 7.26 (dd, *J* = 1.8 & 7.8 Hz, 1H), 6.85 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 3.36 (m, 1H, C*H*$(CH_3)_2$), 3.07 (m, 2H, CH_2), 2.34 (q, *J* = 7.1 Hz, 4H, N$(CH_2CH_3)_2$), 2.22 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H, CH_2), 1.40 (m, 2H, CH_2), 1.31 (d, *J* = 6.9 Hz, 6H, CH$(CH_3)_2$), 0.86 (t, *J* = 7.1 Hz, 6H, N$(CH_2CH_3)_2$).

MS *m/z* 565.1 [M^++1].

实施例 38

5－（5－溴－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－2－异丙基－4－苯基－1H－吡咯－3－羧酸（3－吡咯烷－1－基丙基）酰胺

5－（5－溴－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－2－异丙基－4－苯基－1H－吡咯－3－羧酸（127mg, 0.28mmol）与 3－吡咯烷－1－基丙胺（43mg, 0.336mmol）缩合，得到 140mg（66％）标题化合物。

^{1}HNMR (300 MHz, DMSO-d6) δ 14.40 (s, br, 1H, N*H*), 7.38-7.47 (m, 7H), 7.23-7.27 (m, 2H), 6.84 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 3.36 (m, 1H, C*H*$(CH_3)_2$), 3.08 (m, 2H, CH_2), 2.30 (m, 4H, 2xCH_2), 2.20 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H, CH_2), 1.62 (m, 4H, 2xCH_2), 1.42 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H, CH_2), 1.31 (d, *J* = 7.2 Hz, 6H, CH$(CH_3)_2$).

MS-EI *m/z* 560 和 562 [M^+-1 和 M^++1].

实施例 39

5－（5－溴－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－2－异丙基－4－苯基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二乙基氨乙基）酰胺

5－溴－1, 3－二氢吲哚－2－酮（57g, 0.27mmol）与 5－甲酰－2－异丙基－4－苯基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二乙基氨乙基）酰胺（120mg）缩合，得到 78mg（53％）标题化合物，为黄色固体。

^{1}HNMR (300 MHz, DMSO-d6) δ 14.23 (s, br, 1H, N*H*), 11.09 (s, br, 1H, NH), 7.38-7.51 (m, 6H), 7.25-7.28 (m, 2H), 7.19 (t, 1H, CON*H*CH_2), 6.85 (d, *J* = 7.8 Hz,1H), 3.43 (m, 1H, $CH(CH_3)_2$), 3.11 (m, 2H, CH_2), 2.28-2.39 (m, 6H, $N(CH_2CH_3)_2$ & CH_2, 1.31 (d, *J* = 6.9 Hz, $CH(CH_3)_2$), 0.85 (t, *J* = 7.0 Hz, 6H, $N(CH_2CH_3)_2$.

MS-EI *m/z* 548 和 550 [M^+ -1 和 M^++1].

实施例 40

5－（5－溴－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－2－异丙基－4－苯基－1H－吡咯－3－羧酸〔3－（4－甲基哌嗪－1－基）丙基〕酰胺

5－溴－1, 3－二氢吲哚－2－酮（53mg, 0.25mmol）与 5－甲酰－2－异丙基－4－苯基－1H－吡咯－3－羧酸〔3－（4－甲基哌嗪－1－基）丙基〕酰胺（300mg）缩合，得到 65mg 标题化合物。

^{1}HNMR (300 MHz, DMSO-d6) δ 14.22 (s, br, 1H, N*H*), 11.08 (s, br, 1H, N*H*), 7.23-7.50 (m, 9H), 6.85 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 3.37 (m, 1H, $CH(CH_3)_2$), 3.05 (m, 2H, CH_2), 2.24 (m, 8H, 4xCH_2), 2.11 (m, 5H, CH_2 & CH_3),1.42 (m, 2H, CH_2), 1.31 (d, *J* = 7.2 Hz, 6H, $CH(CH_3)_2$).

MS-EI m/z 589 和 591 [M^+ -1 和 M^++1].

实施例 41

5－（5－溴－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－2－异丙基－4－苯基－1H－吡咯－3－羧酸

5－溴－1, 3－二氢吲哚－2－酮（170mg, 0.8mmol）与 5－甲酰－2－异丙基－4－苯基－1H－吡咯－3－羧酸（205mg）按方法 D 缩合，得到 210mg（58％）标题化合物，为黄色固体。

^{1}HNMR (300 MHz, DMSO-d6) δ 14.31 (s, br, 1H, NH), 11.16 (s, br, 1H, NH), 7.26-7.44 (m, 7H), 7.11 (s, 1H, H-乙烯基), 6.85 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 3.78 (m, 1H, CH(CH$_3$)$_2$), 1.34 (d, J = 6.9 Hz, 6H, CH(CH$_3$)$_2$).

MS-EI m/z 452 [M$^+$+1].

实施例 42

5－（5－溴－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－2－甲基－4－苯基－1H－吡咯－3－羧酸（2－吡咯烷－1－基乙基）酰胺

5－溴－1, 3－二氢吲哚－2－酮（44mg, 0.21mmol）与 5－甲酰－2－甲基－4－苯基－1H－吡咯－3－羧酸（2－吡咯烷－1－基乙基）酰胺（70mg，用以上对异丙基类似物采用的相同方法制备）缩合，得到 0.03g（27％）标题化合物，为黄色固体。

^{1}HNMR (300 MHz, DMSO-d6) δ 13.87 (s, br, 1H, NH), 11.11 (s, br, 1H, NH), 7.36-7.51 (m, 6H), 7.26 (dd, J = 1.8 & 8.1 Hz, 1H), 7.2 (s, 1H, H-乙烯基),7.09 (m, 1H, CONHCH$_2$), 6.83 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 3.17 (m, 2H, NCH$_2$), 2.48 (m, CH$_3$), 2.29-2.35 (m, 6H, 3xNCH$_2$), 1.59 (m, 4H, 2xCH$_2$).

MS-EI m/z 518 和 520 [M$^+$ -1 和 M$^+$+1].

实施例 43

5－〔6－（2－甲氧基苯基）－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基〕－2－甲基－4－苯基－1H－吡咯－3－羧酸（2－吡咯烷－1－基乙基）酰胺

6－（2－甲氧基苯基）－1, 3－二氢吲哚－2－酮（50mg, 0.21mmol）与 5－甲酰－2－甲基－4－苯基－1H－吡咯－3－羧酸（2－吡咯烷－1－基乙基）酰胺（70mg）缩合，得到 0.04g（35％）标题化合物，为黄橙色固体。

^{1}HNMR (300 MHz, DMSO-d6) δ 13.82 (s, br, 1H, NH), 11.02 (s, br, 1H, NH), 7.48 (m, 2H), 7.43 (m, 1H), 7.38 (m, 2H), 7.32 (m, 1H), 7.24 (m, 2H), 7.16 (s, 1H, H-乙烯基), 7.08 (m, 2H), 7.03 (m, 1H), 7.0 (m, 2H), 3.74 (s, 3H, OCH_3), 3.19 (m, 2H, NCH_2), 2.49 (m, CH_3), 2.32-2.38 (m, 6H, 3xNCH_2), 1.59 (m, 4H, 2xCH_2)。

MS-EI m/z 546 [M^+]。

实施例 44

5－（5－溴－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－2－甲基－4－苯基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二甲基氨乙基）酰胺

5－溴－1, 3－二氢吲哚－2－酮（46mg, 0.22mmol）与 5－甲酰－2－甲基－4－苯基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二甲基氨乙基）酰胺（65mg）缩合，得到 60mg（55％）标题化合物，为黄色固体。

^{1}HNMR (360 MHz, DMSO-d6) δ 13.86 (s, br, 1H, NH), 11.09 (s, br, 1H, NH), 7.47-7.49 (m, 2H), 7.38-7.41 (m, 4H), 7.26 (dd, J = 2.2 & 8.3 Hz, 1H), 7.21 (s, 1H, H-乙烯基), 7.04 (m, 1H, $CONHCH_2$), 6.77 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 3.15 (m, 2H, NCH_2), 2.48 (m, CH_3), 2.16 (t, J = 6.8 Hz, 2H, 3xNCH_2), 2.02 (s, 6H, 2xNCH_3).

MS m/z 493 和 494.8 [M^+ 和 M^++2].

实施例 45

5－〔6－（2－甲氧基苯基）－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基〕－2－甲基－4－苯基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二甲基氨乙基）酰胺

6－（2－甲氧基苯基）－1, 3－二氢吲哚－2－酮（53mg, 0.22mmol）与 5－甲酰－2－甲基－4－苯基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二甲基氨乙基）酰胺（65mg）缩合，得到 0.05g（44％）标题化合物，为橙色胶状物。

^{1}HNMR (300 MHz, DMSO-d6) δ 13.82 (s, br, 1H, N*H*), 11.02 (s, br, 1H, N*H*), 7.37-7.52 (m, 5H), 7.32 (m, 1H), 7.22-7.27 (m, 2H), 7.16 (s, 1H), 7.08 (m, 2H), 7.03 (m, 1H), 7.0 (m, 2H), 3.74 (s, 3H, OCH_3), 3.15 (m, 2H, NCH_2), 2.49 (m, CH_3), 2.16 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H, NCH_2), 2.02 (s, 6H, 2xNCH_3).

MS *m/z* 521 [M^++1].

实施例 46

5－（5－溴－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－2－甲基－4－苯基－1H－吡咯－3－羧酸乙酯

5－溴－1, 3－二氢吲哚－2－酮（60mg, 0.29mmol）与 5－甲酰－2－甲基－4－苯基－1H－吡咯－3－羧酸乙酯（75mg）缩合，得到 78mg（60％）标题化合物，为橙色固体。

^{1}HNMR (360 MHz, DMSO-d6) δ 14.01 (s, br, 1H, N*H*), 11.13 (s, br, 1H, N*H*), 7.42-7.46 (m, 3H), 7.27-7.34 (m, 4H), 7.12 (s, 1H), 6.84 (dd, *J* = 2.2 & 8.3 Hz, 1H), 3.99-4.03 (m, 2H, OCH_2CH$_3$), 2.61 (s, 3H, CH_3), 0.98-1.03 (m, 3H, OCH$_2$CH_3).

MS-EI *m/z* 450 和 452 [M^+ -1 和 M^++1].

实施例 47

5－（5－溴－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－2－甲基－4－苯基－1H－吡咯－3－羧酸（3－二乙基氨丙基）酰胺

5－溴－1, 3－二氢吲哚－2－酮（0.47g, 2.2mmol）与 5－甲酰－2－甲基－4－苯基－1H－吡咯－3－羧酸（3－二乙基氨丙基）酰胺（0.75g）缩合，得到 0.11g（42％）标题化合物，为橙色固体。

^{1}HNMR (300 MHz, DMSO-d6) δ 13.86 (s, br, 1H, NH), 7.42-7.46 (m, 3H), 7.37-7.50 (m, 7H), 7.24-7.28 (m, 2H), 6.83 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 3.09 (m, 2H, NCH_2), 2.45 (s, 3H, CH_3), 2.38 (q, *J* = 7.1 Hz, 4H, 2xNCH_2CH$_3$), 2.26 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H, NCH_2), 1.42 (m, 2H, NCH_2), 0.87 (t, *J* = 7.1 Hz, 6H, 2xNCH$_2$CH_3).

MS-EI *m/z* 535.0 和 537 [M^+ 和 M^++2].

实施例 48

5－（5－溴－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二甲基氨乙基）酰胺

将 3－氧代丁酸叔丁酯和亚硝酸钠（1 当量）的在乙酸中混合物于室温下搅拌，得到 2－肟基－3－氧代丁酸叔丁酯。

将 3－氧代丁酸乙酯（1 当量）、锌粉（3.8 当量）和粗制的 2－肟基－3－氧代丁酸叔丁酯在乙酸中于 60℃搅拌 1 小时。将反应混合物倒入水中，过滤收集得到（65％）2－叔丁氧基羰基－3, 5－二甲基－4－乙氧羰基吡咯。

将 2－叔丁氧羰基－3, 5－二甲基－4－乙氧羰基吡咯和原甲酸三乙酯（1.5 当量）在三氟乙酸中的混合物于 15℃搅拌 1 小时。将反应混合物浓缩，残余物纯化后得到（64％）2, 4－二甲基－3－乙氧羰基－5－甲酰吡咯，为黄色针形物。

2, 4－二甲基－3－乙氧羰基－5－甲酰吡咯用方法 B 水解，得到（90％）5－甲酰－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸。

^{1}H NMR (360 MHz, DMSO-d6) δ 12 (br s, 2H, *NH* and CO_2H), 9.58 (s, 1H, CHO), 2.44 (s, 3H, CH_3), 2.40 (s, 3H, CH_3).

MS *m/z* 267 [M^+].

5－溴－1, 3－二氢吲哚－2－酮（0.17g, 0.8mmol）与 5－甲酰－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二甲基氨乙基）酰胺（0.2g，按方法 C 制备）按方法 B 缩合，得到 0.3g（83％）标题化合物，为黄色固体。

^{1}HNMR (360 MHz, DMSO-d6) δ 13.60 (s, br, 1H, *NH*), 10.94 (s, br, 1H, *NH*), 8.07 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H, H-4), 7.75 (s, 1H, H-乙烯基),7.44 (t, *J* = 5.2 Hz, 1H, CON*H*CH_2), 7.24 (dd, *J* = 1.8 & 8.4 Hz, 1H, H-6), 6.82 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H, H-7), 3.26-3.33 (m, 2H, NCH_2), 2.42 (s, 3H, CH_3), 2.41 (s, 3H, CH_3), 2.38 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H, NCH_2), 2.18 (s, 6H, N(CH_3)$_2$).

MS-EI *m/z* 430 和 432 [M^+-1 和 M^++1].

实施例 49

2, 4－二甲基－5－（2－氧代－6－苯基－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－1H－吡咯－3－羧酸（2－二甲基氨乙基）酰胺

6－苯基－1, 3－二氢吲哚－2－酮（0.17g, 0.8mmol）与 5－甲酰－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二甲基氨乙基）酰胺（0.2g）缩合，得到 0.13g（36％）标题化合物，为黄橙色固体。

^{1}H NMR (360 MHz, DMSO-d_6) δ 13.59 (s, br, 1H, NH), 10.93 (, br, 1H, NH), 7.85 (d, *J* = 7.92 Hz, 1H, H-4), 7.63-7.65 (m, 3H), 7.40-7.47 (m, 3H,), 7.32-7.36 (m, 1H, Ar-*H*), 7.30 (dd, *J* = 1.6 & 7.9 Hz, 1H, H-5), 7.11 (d, *J* = 1.6 Hz, 1H, H-7), 3.28-3.34 (m, 2H, NCH_2), 2.43 (s, 3H, CH_3), 2.41 (s, 3H, CH_3), 2.38 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H, NCH_2), 2.18 (s, 6H, $N(CH_3)_2$).

MS-EI *m/z* 428 [M^+].

实施例 50

5－（5－氯－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二甲基氨乙基）酰胺

5－氯－1, 3－二氢吲哚－2－酮（0.1g, 0.6mmol）与 5－甲酰－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二甲基氨乙基）酰胺（0.15g）缩合，得到 0.22g（90％）标题化合物，为黄色固体。

^{1}HNMR (300 MHz, DMSO-d6) δ 13.61 (s, br, 1H, NH), 10.98 (, br, 1H, NH), 7.96 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H, H-4), 7.75 (s, 1H, H-乙烯基),7.50 (t, *J* = 5.5 Hz, 1H, CONHCH$_2$), 7.12 (dd, *J* = 2.0 & 8.3 Hz, 1H, H-6), 6.86 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H, H-7), 3.26-3.31 (m, 2H, NCH_2), 2.42 (s, 3H, CH_3), 2.40 (s, 3H, CH_3), 2.36 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H, NCH_2), 2.17 (s, 6H, $N(CH_3)_2$).

MS-EI *m/z* 386 [M^+].

实施例 51

5－（5－溴－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二乙基氨乙基）酰胺

5－溴－1,3－二氢吲哚－2－酮（0.17g,0.8mmol）与5－甲酰－2,4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二乙基氨乙基）酰胺（0.2g）缩合，得到0.09g（26％）标题化合物，为黄色固体。

^{1}HNMR (360 MHz, DMSO-d6) δ 13.61 (s, br, 1H, NH), 10.98 (, br, 1H, NH), 8.09 (d, J = 1.7 Hz, 1H, H-4), 7.76 (s, 1H, H-乙烯基),7.42 (t, J = 5.5 Hz, 1H, CONHCH$_2$), 7.24 (dd, J = 1.7 & 8.0 Hz, 1H, H-6), 6.82 (d, J = 8.0 Hz, 1H, H-7), 3.23-3.32 (m, 2H, NCH$_2$), 2.46-2.55 (m, 6H, 3xNCH$_2$), 2.43 (s, 3H, CH$_3$), 2.42 (s, 3H, CH$_3$), 0.96 (t, J = 7.2 Hz, 6H, 2xNCH$_2$CH$_3$).

MS-EI m/z 458和460 [M^+-1 和 M^++1]。

实施例52

5－（5－溴－2－氧代－1,2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－2,4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－吡咯烷－1－基乙基）酰胺

5－溴－1,3－二氢吲哚－2－酮（0.09g,0.4mmol）与5－甲酰－2,4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－吡咯烷－1－基乙基）酰胺（0.1g）缩合，得到0.14g（81％）标题化合物，为黄橙色固体。

^{1}HNMR (300 MHz, DMSO-d6) δ 13.61 (s, br, 1H, NH), 10.98 (, br, 1H, NH), 8.09 (d, J = 1.9 Hz, 1H, H-4), 7.76 (s, 1H, H-乙烯基),7.53 (t, J = 5.5 Hz, 1H, CONHCH$_2$), 7.24 (dd, J = 1.9 & 8.5 Hz, 1H, H-6), 6.81 (d, J = 8.5 Hz, 1H, H-7), 3.29-3.35 (m, 2H, NCH$_2$), 2.54 (t, J = 6.9 Hz, 2H, NCH$_2$), 2.47 (m, 在DMSO 中), 2.42 (s, 3H, CH$_3$), 2.40 (s, 3H, CH$_3$), 1.66-1.69 (m, 4H, 2xCH$_2$).

MS-EI m/z 456 和 458 [M^+-1 和 M^++1].

实施例53

5－（5－溴－2－氧代－1,2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－2,4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（3－咪唑－1－基丙基）酰胺

5－溴－1,3－二氢吲哚－2－酮（0.09g,0.4mmol）与5－甲酰－2,4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（3－咪唑－1－基丙基）酰胺（0.1g）

缩合，得到0.1g（59%）标题化合物，为橙色固体。

^{1}HNMR (300 MHz, DMSO-d6) δ 13.63 (s, br, 1H, NH), 10.99 (, br, 1H, NH), 8.09 (d, J = 2.2 Hz, 1H, H-4), 7.77 (s, 1H, H-乙烯基), 7.71 (t, J = 5.7 Hz, 1H, CONHCH$_2$), 7.65 (s, 1H, Ar-H), 7.25 (dd, J = 2.2 & 8.4 Hz, 1H, H-6), 7.20 (s, 1H, Ar-H), 6.89 (s, 1H, Ar-H), 6.81 (d, J = 8.4 Hz, 1H, H-7), 4.02 (t, J = 6.7 Hz, 2H, NCH$_2$), 3.18 (q, J = 6.7 Hz, 2H, NCH$_2$), 2.43 (s, 3H, CH$_3$), 2.41 (s, 3H, CH$_3$), 1.93 (m, 2H, CH$_2$).

MS-EI m/z 467 和 469 [M$^+$-1 和 M$^+$+1].

实施例54

5-〔6-（2-甲氧基丙基）-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基〕-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸（2-二甲基氨乙基）酰胺

6-（2-甲氧基苯基）-1,3-二氢吲哚-2-酮（30mg, 0.13mmol）与5-甲酰-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸（2-甲基氨乙基）酰胺（30mg）缩合，得到0.06g（100%）标题化合物，为黄橙色胶状物。

^{1}HNMR (300 MHz, DMSO-d6) δ 13.60 (s, br, 1H, NH), 10.89 (s, br, 1H, NH), 7.79 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.63 (s, 1H, H-乙烯基), 7.46 (t, J = 5.5 Hz, 1H, CONHCH$_2$), 7.28-7.35 (m, 2H), 6.99-7.11 (m, 4H), 3.76 (s, 3H, OCH$_3$), 3.27-3.31 (m, 2H, NCH$_2$), 2.43 (s, 3H, CH$_3$), 2.39 (s, 3H, CH$_3$), 2.37 (m, 2H, NCH$_2$), 2.18 (s, 6H, N(CH$_3$)$_2$).

MS-EI m/z 458 [M$^+$].

实施例55

5-〔6-（3-甲氧基苯基）-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基〕-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸（2-二甲基氨乙基）酰胺

6-（3-甲氧基苯基）-1,3-二氢吲哚-2-酮（30mg, 0.13mmol）与5-甲酰-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸（2-二甲基氨乙基）酰胺（30mg）缩合，得到8mg（14%）标题化合物，为黄橙色固体。

^{1}HNMR (360 MHz, DMSO-d6) δ 13.59 (s, br, 1H, NH), 10.92 (s, br, 1H, NH), 7.84 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.65 (s, 1H, H-乙烯基), 7.42 (m, 1H, CONHCH$_2$), 7.36 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.29 (dd, J = 1.6 & 7.6 Hz, 1H), 7.20 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.14 (d, J = 2.8 Hz, 1H), 7.11 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 6.91 (dd, J = 2.8 & 7.8 Hz, 1H), 3.82 (s, 3H, OCH$_3$), 3.21-3.33 (m, 2H, NCH$_2$), 2.43 (s, 3H, CH$_3$), 2.40 (s, 3H, CH$_3$), 2.36-2.40 (m, 2H, NCH$_2$), 2.18 (s, 6H, N(CH$_3$)$_2$).

MS-EI m/z 458 [M$^+$].

实施例 56

2, 4－二甲基－5－（2－氧代－5－苯基－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－1H－吡咯－3－羧酸（2－二乙基氨乙基）酰胺

5－苯基－1, 3－二氢吲哚－2－酮（80mg, 0.4mmol）与 5－甲酰－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二乙基氨乙基）酰胺（0.1g）按方法 B 缩合，得到 79mg（46％）标题化合物。

^{1}HNMR (300 MHz, DMSO-d6) δ 13.66 (s, br, 1H, NH), 10.95 (, br, 1H, NH), 8.15 (d, J = 1.2 Hz, 1H), 7.81 (s, 1H, H-乙烯基), 7.71 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 7.40-7.47 (m, 4H), 7.31 (m, 1H), 6.95 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 3.2-3.31 (m, 2H, NCH$_2$), 2.46-2.55 (m, 6H, 3xNCH$_2$), 2.44 (s, 6H, 2xCH$_3$), 0.96 (t, J = 7.4 Hz, 6H, 2xNCH$_2$CH$_3$).

MS-EI m/z 456 [M$^+$].

实施例 57

2, 4－二甲基－5－（2－氧代－5－苯基－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－1H－吡咯－3－羧酸（2－吡咯烷－1－基乙基）酰胺

5－苯基－1, 3－二氢吲哚－2－酮（0.04g, 0.2mmol）与 5－甲酰－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－吡咯烷－1－基乙基）酰胺（0.04g）缩合，得到黄橙色固体标题化合物。

^{1}HNMR (300 MHz, DMSO-d6) δ 13.61 (s, br, 1H, NH), 10.99 (, br, 1H, NH), 7.86 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.62-7.66 (m, 3H), 7.40-7.47 (m, 3H), 7.28-7.36 (m, 2H), 7.10 (d, J = 1.2 Hz, 1H), 3.26 (m, 2H, NCH_2), 2.46-2.55 (m, 6H, 3xNCH_2), 2.44 (s, 3H, CH_3), 2.41 (s, 3H, CH_3), 0.97 (t, J = 7.2 Hz, 6H, 2xNCH_2CH_3).

MS-EI m/z 456 [M$^+$].

实施例 60

2, 4－二甲基－5－（2－氧代－6－苯基－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－1H－吡咯－3－羧酸（2－吡咯烷－1－基乙基）酰胺

6－苯基－1, 3－二氢吲哚－2－酮（30mg, 0.15mmol）与 5－甲酰－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－吡咯烷－1－基乙基）酰胺（40mg）缩合，得到 5.9mg（8.5％）标题化合物，为黄橙色固体。

^{1}HNMR (300 MHz, DMSO-d6) δ 13.60 (s, br, 1H, NH), 10.99 (, br, 1H, NH), 7.86 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.63-7.66 (m, 3H), 7.51 (m, 1H, CONHCH_2), 7.45 (m, 2H), 7.28-7.36 (m, 2H), 7.10 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 3.31 (m, 6H, 3xNCH_2), 2.55 (t, J = 6.6 Hz, 2H, NCH_2), 2.43 (s, 3H, CH_3), 2.40 (s, 3H, CH_3), 1.67 (m, 4H, 2xCH_2).

MS-EI m/z 454 [M$^+$].

实施例 61

2, 4－二甲基－5－（2－氧代－6－苯基－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－1H－吡咯－3－羧酸（3－咪唑－1－基丙基）酰胺

6－苯基－1, 3－二氢吲哚－2－酮（8mg, 0.04mmol）与 5－甲酰－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（3－咪唑－1－基丙基）酰胺（10mg）缩合，得到 7.3mg（43％）标题化合物，为橙色固体。

^{1}HNMR (300 MHz, DMSO-d6) δ 13.65 (s, br, 1H, NH), 10.96 (, br, 1H, NH), 8.15 (d, J = 1.0 Hz, 1H), 7.80 (s, 1H, H-乙烯基), 7.71 (d, J = 7.2 Hz, 2H), 7.49 (t, J = 6.3 Hz, 1H, CONHCH$_2$), 7.41-7.46 (m, 3H), 7.31 (m, 1H), 6.95 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 4.08 (m, 4H, 2x NCH$_2$), 3.32 (m, 2H, NCH$_2$), 2.55 (t, J = 7.1 Hz, 2H, NCH$_2$), 2.47 (m,在 DMSO 中), 2.43 (s, 6H, 2xCH$_3$), 1.66 (m, 4H, 2xCH$_2$).

MS-EI m/z 454 [M$^+$].

实施例 58

2, 4－二甲基－5－（2－氧代－5－苯基－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－1H－吡咯－3－羧酸（3－吲哚－1－基乙基）酰胺

5－苯基－1, 3－二氢吲哚－2－酮（8mg, 0.04mmol）与 5－甲酰－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（3－咪唑－1－基丙基）酰胺（10mg）缩合，得到 10mg（59％）标题化合物，为橙色固体。

^{1}HNMR (300 MHz, DMSO-d6) δ 13.67 (s, br, 1H, NH), 10.96 (, br, 1H, NH), 8.16 (d, J = 1.2 Hz, 1H), 7.81 (s, 1H, H-乙烯基), 7.65-7.72 (m, 4H), 7.44 (m, 3H), 7.31 (m, 1H, CONHCH$_2$), 7.21 (s, 1H, Ar-H), 4.02 (t, J = 6.5 Hz, 2H, NCH$_2$), 3.19 (q, J = 6.5 Hz, 2H, CONHCH$_2$), 2.44 (s, 6H, 2xCH$_3$), 1.93 (m, 2H, CH$_2$CH$_2$ CH$_2$).

MS-EI m/z 465 [M$^+$].

实施例 59

2, 4－二甲基－5－（2－氧代－6－苯基－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－1H－吡咯－3－羧酸（2－二乙基氨乙基）酰胺

6－苯基－1, 3－二氢吲哚－2－酮（0.08g, 0.4mmol）与 5－甲酰－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二乙基氨乙基）酰胺（0.1g）缩合，得到 65mg（38％）标题化合物，为黄色固体。

^{1}HNMR (300 MHz, DMSO-d6) δ 13.62 (s, br, 1H, NH), 10.99 (, br, 1H, NH), 7.86 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.62-7.70 (m, 5H), 7.45 (m, 2H), 7.35 (m, 1H), 7.30 (dd, J = 1.4 & 8.2 Hz, 1H), 7.21 (s, 1H), 7.10 (d, J = 1.4 Hz, 1H), 6.89 (s, 1H), 4.02 (t, J = 6.9 Hz, 2H, CH_2), 3.19 (m, 2H, NCH_2 CH_2), 2.43 (s, 3H, CH_3), 2.41 (s, 3H, CH_3), 1.93 (t, J = 6.9 Hz, 2H, NCH_2).

MS-EI m/z 465 [M^+].

实施例 62

5－〔6－（3, 5－二氯苯基）－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基〕－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二乙基氨乙基）酰胺

6－（3, 5－二氯苯基）－1, 3－二氢吲哚－2－酮（64mg, 0.23mmol）与 5－甲酰－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二乙基氨乙基）酰胺（60mg）缩合，得到 53mg（44％）标题化合物，为浅棕色固体。

^{1}HNMR (360 MHz, DMSO-d6) δ 13.62 (s, br, 1H, NH), 10.99 (s, 1H, NH), 7.89 (d, J = 7.9 Hz, 1H, H-4), 7.69-7.71 (m, 3H), 7.55 (m, 1H, $CONHCH_2$), 7.37 (m, 2H), 7.14 (d, J = 1.4 Hz, 1H, H-7), 3.27 (m, 2H, NCH_2), 2.48-2.58 (m, 6H, 3xNCH_2), 2.45 (s, 3H, CH_3), 2.42 (s, 3H, CH_3), 0.97 (t, J = 6.8 Hz, 6H, 3xNCH_2CH_3).

MS m/z 526.9 [M^++1].

实施例 63

2, 4－二甲基－5－（2－氧代－6－吡啶－3－基－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－1H－吡咯－3－羧酸（2－二乙基氨乙基）酰胺

6－吡啶－3－基－1, 3－二氢吲哚－2－酮（40mg, 0.19mmol）与 5－甲酰－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二乙基氨乙基）酰胺（50mg）缩合，得到 29mg（33％）标题化合物，为浅橙色固体。

^{1}HNMR (300 MHz, DMSO-d6) δ 13.62 (s, br, 1H, N*H*), 11.05 (s, br, 1H, N*H*), 8.86 (s, br, 1H), 8.53 (d, *J* = 5.8 Hz, 1H), 8.04 (m, 1H), 7.91 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.70 (s, 1H, H-乙烯基), 7.40-7.48 (m, 2H), 7.35 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.14 (s, 1H), 3.26 (m, 2H, NC*H*$_2$), 2.48-2.55 (m, 3xNC*H*$_2$), 2.42 (s, 3H, C*H*$_3$), 2.38 (s, 3H, C*H*$_3$), 0.96 (t, *J* = 6.9 Hz, 6H, 2xNCH$_2$C*H*$_3$).

MS-EI *m/z* 457 [M$^+$].

实施例 64

2, 4－二甲基－5－（2－氧代－6－吡啶－3－基－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－1H－吡咯－3－羧酸（2－吡咯烷－1－基乙基）酰胺

6－吡啶－3－基－1, 3－二氢吲哚－2－酮（60mg, 0.28mmol）与 5－甲酰－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－吡咯烷－1－基乙基）酰胺（75mg）缩合，得到 90mg（71％）标题化合物，为浅橙色固体。

^{1}HNMR (300 MHz, DMSO-d6) δ 13.61 (s, br, 1H, N*H*), 11.05 (s, br, 1H, N*H*), 8.86 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H), 8.54 (dd, *J* = 1.5 & 4.8 Hz, 1H), 8.05 (m, 1H), 7.91 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.70 (s, 1H, H-乙烯基), 7.44-7.53 (m, 2H), 7.36 (dd, *J* = 1.5 & 8.1 Hz, 1H), 7.15 (d, *J* = 1.2 Hz, 1H), 3.33 (m, 2H, NC*H*$_2$), 2.47-2.57 (m, 6H, 3xNC*H*$_2$), 2.43 (s, 3H, C*H*$_3$), 2.41 (s, 3H, C*H*$_3$), 1.67 (m, 4H, 2xC*H*$_2$).

MS-EI *m/z* 455 [M$^+$].

实施例 65

2, 4－二甲基－5－（2－氧代－6－吡啶－3－基－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－1H－吡咯－3－羧酸（3－二甲基氨丙基）酰胺

6－吡啶－3－基－1, 3－二氢吲哚－2－酮（42mg, 0.2mmol）与 5－甲酰－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（3－二甲基氨丙基）酰胺（50mg）缩合，得到 67mg（75％）标题化合物，为黄棕色固体。

^{1}HNMR (360 MHz, DMSO-d6) δ 13.61 (s, br, 1H, N*H*), 11.00 (s, br, 1H, N*H*), 8.86 (s, br, 1H), 8.54 (s, br, 1H), 8.04 (m, 1H), 7.90 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.69 (s, 1H, H-乙烯基), 7.63 (m, 1H), 7.45-7.48 (m, 1H), 7.35 (dd, *J* = 1.7 & 8.0 Hz, 1H), 7.15 (d, *J* = 1.7 Hz, 1H), 3.21-3.27 (m, 2H, NC*H*$_2$), 2.43 (s, 3H, C*H*$_3$), 2.41 (s, 3H, C*H*$_3$), 2.28 (m, 2H, NC*H*$_2$), 2.14 (s, 6H, 2xNC*H*$_3$), 1.64 (m, 2H, C*H*$_2$).

MS-EI *m/z* 443 [M$^+$].

实施例 66

2, 4－二甲基－5－（2－氧代－5－苯基－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－1H－吡咯－3－羧酸（3－二甲基氨丙基）酰胺

5－苯基－1, 3－二氢吲哚－2－酮（67mg, 0.32mmol）与 5－甲酰－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（3－二甲基氨丙基）酰胺（81mg）缩合，得到 40mg（28％）标题化合物，为橙色固体。

^{1}HNMR (360 MHz, DMSO-d6) δ 13.66 (s, br, 1H, NH), 10.92 (s, br, 1H, NH), 8.14 (s, 1H), 7.79 (s, 1H), 7.71 (m, 2H), 7.62 (m, 1H), 7.44 (m, 3H), 7.32 (m, 1H), 6.95 (m, 1H), 3.33 (m, 2H, NC*H*$_2$), 2.43 (s, 6H, 2xC*H*$_3$), 2.27 (m, 2H, NC*H*$_2$), 2.13 (s, 6H, 2xNC*H*$_3$), 1.63 (m, 2H, C*H*$_2$).

MS-EI *m/z* 442 [M$^+$].

实施例 67

2, 4－二甲基－5－（2－氧代－5－苯基－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－1H－吡咯－3－羧酸（3－二乙基氨丙基）酰胺

5－苯基－1, 3－二氢吲哚－2－酮（1.5g, 7.16mmol）与 5－甲酰－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（3－二乙基氨丙基）酰胺（2g）缩合，得到 1.3g（40％）标题化合物，为黄橙色固体。

^{1}HNMR (360 MHz, DMSO-d6) δ 13.64 (s, 1H, NH), 10.91 (s, 1H, NH), 8.14 (d, *J* = 1.4 Hz, 1H, Ar*H*), 7.8 (s, 1H, Ar*H*), 7.7 (dd, *J* = 1.2 and 8.5 Hz, 2H, Ar*H*), 7.6 (t, *J* = 5.3 Hz, 1H, CONHCH_2), 7.4 (m, 3H, Ar*H*), 7.3 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H, Ar*H*), 6.9 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, Ar*H*), 3.2 (m, 2H, CONHC$\underline{H_2}$), 2.5 (m, 12H, 3xNC$\underline{H_2}$ 和 2xC$\underline{H_3}$), 1.61 (m, 2H, $CH_2C\underline{H_2}CH_2$), 0.93 (t, *J* = 6.7 Hz, 6H, $NCH_2C\underline{H_3}$).

MS-EI *m/z* 470 [M^+].

实施例 68

2, 4－二甲基－5－（2－氧代－6－苯基－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－1H－吡咯－3－羧酸（3－二乙基氨丙基）酰胺

6－苯基－1, 3－二氢吲哚－2－酮（1.5g, 7.16mmol）与 5－甲酰－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（3－二乙基氨丙基）酰胺（2g）缩合，得到 1.9g（57％）标题化合物，为橙色固体。

^{1}HNMR (360 MHz, DMSO-d6) δ 13.58 (s, 1H, NH), 10.94 (s, 1H, NH), 7.8 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H, Ar*H*), 7.6 (m, 4H, Ar*H*), 7.4 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H, Ar*H*), 7.3 (m, 2H), 7.1 (d, *J* = 1.4 Hz, 1H, Ar*H*), 3.2 (m, 2H, CONHCH_2), 2.5 (m, 12H, 3xNCH_2 和 2xCH_3), 1.61 (m, 2H, $CH_2CH_2CH_2$), 0.93 (t, *J* = 6.7 Hz, 6H, NCH_2CH_3).

MS-EI *m/z* 470 [M^+].

实施例 69

3－〔4－（3－二乙基氨丙基氨甲酰）－3, 5－二甲基－1H－吡咯－2－基亚甲基〕－2－氧代－2, 3－二氢－1H－吲哚－4－羧酸（3－氯－4－甲氧基苯基）酰胺

2－氧代－2, 3－二氢－1H－吲哚－4－羧酸（3－氯－4－甲氧基苯基）酰胺（1 g, 3.16mmol）与 5－甲酰－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（3－二乙基氨丙基）酰胺（1 g, 3.58mmol）缩合，得到 1.7g（85％）标题化合物，为黄橙色固体。

MS－EI m/z 578.2 [M^+]。

实施例 70

5－（5－溴－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（3－二乙基氨丙基）酰胺

5－溴－1, 3－二氢吲哚－2－酮（0.5g, 2.36mmol）与 5－甲酰－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（3－二乙基氨丙基）酰胺（0.51g）缩合，得到 0.84g 标题化合物，为红橙色固体。

^{1}HNMR (360 MHz, DMSO-d6) δ 13.61 (s, 1H, NH), 10.99 (s, 1H, NH), 8.09 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H, Ar*H*), 7.7 (m, 4H), 7.2 (dd, *J* = 1.8 和 8.3 Hz, 2H, Ar*H*), 6.8 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, Ar*H*), 3.3 (br s, 4H, 2xNCH_2), 3.2 (m, 2H, CONHCH_2), 2.6 (br s, 2H, NCH_2 和 2xCH_3), 2.4 (s, 6H, 2xCH_3), 1.66 (m, 2H, $CH_2CH_2CH_2$), 0.98 (t, *J* = 7.1 Hz, 6H, NCH_2CH_3).

MS-EI *m/z* 472 和 474 [M^+-1 和 M^++1].

实施例 71

5－（5－溴－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－2, 4－二异丙基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二乙基氨乙基）酰胺

5－溴－1, 3－二氢吲哚－2－酮（100mg, 0.47mmol）与 5－甲酰－2, 4－二异丙基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二乙基氨乙基）酰胺（150mg）缩合，得到 0.15g（62％）标题化合物，为黄橙色固体。

^{1}HNMR (300 MHz, DMSO-d6) δ 13.97 (s, 1H, NH), 10.95 (s, 1H, NH), 8.09 (d, *J* = 1.3 Hz, 1H, Ar*H*), 7.84 (m, 1H), 7.79 (s, 1H), 7.23 (dd, *J* = 1.3 和 8.1 Hz, 1H, Ar*H*), 6.8 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H, Ar*H*), 3.5 (m, 1H, C*H*), 3.3 (m, 3H, C*H* 和 NHCH_2), 2.5 (br m, 6H, 3xNCH_2), 1.28 (d, *J* = 6.9 Hz, 6H, 2xCH_3), 1.23 (d, *J* = 6.6 Hz, 6H, 2xCH_3), 0.96 (m, 6H, 2xCH_2CH_3).

MS-EI *m/z* 514 和 516 [M^+-1 和 M^++1].

实施例 72

5－（5－溴－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－2, 4－二异丙基－1H－吡咯－3－羧酸（3－二乙基氨丙基）酰胺

5－溴－1,3－二氢吲哚－2－酮（90mg, 0.42mmol）与 5－甲酰－2,4－二异丙基－1H－吡咯－3－羧酸（3－二乙基氨丙基）酰胺（140mg）缩合，得到 54mg（25％）标题化合物，为红棕色固体。

^{1}HNMR (300 MHz, DMSO-d6) δ 13.98 (s, 1H, NH), 10.96 (s, 1H, NH), 8.09 (d, *J* = 1.7 Hz, 2H), 7.78 (s, 1H, H-乙烯基), 7.23 (dd, *J* = 1.7 and 8.1 Hz, 1H, Ar*H*), 6.82 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H, Ar*H*), 3.5 (m, 1H, C*H*), 3.25 (m, 2H, NHCH_2), 3.15 (m, 1H, C*H*), 2.7 (br s, 6H, 3xNCH_2), 1.7 (br m, 2H, $CH_2CH_2CH_2$), 1.28 (d, *J* = 6.9 Hz, 6H, 2xCH_3), 1.24 (d, *J* = 5.9 Hz, 6H, 2xCH_3), 1.06 (m, 6H, 2xCH_2CH_3).

MS-EI *m/z* 528 和 530 [M^+-1 和 M^++1].

实施例 73

5－（5－溴－2－氧代－1,2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－2,4－二异丙基－1H－吡咯－3－羧酸（3－吡咯烷－1－基乙基）酰胺

5－溴－1,3－二氢吲哚－2－酮（130mg, 0.6mmol）与 5－甲酰－2,4－二异丙基－1H－吡咯－3－羧酸（3－吡咯烷－1－基丙基）酰胺（150mg, 0.45mmol）缩合，得到 36mg（15％）标题化合物，为棕橙色固体。

^{1}HNMR (300 MHz, DMSO-d6) δ 13.98 (s, 1H, NH), 10.97 (s, 1H, NH), 8.10 (d, *J* = 1.6 Hz, 2H), 7.78 (s, 1H, H-乙烯基), 7.23 (dd, *J* = 1.6 和 7.6 Hz, 1H, Ar*H*), 6.82 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H, Ar*H*), 3.5 (m, 1H, C*H*), 3.25 (m, 2H, NHCH_2), 3.15 (m, 1H, C*H*), 2.7 (br s, 6H, 3xNCH_2), 1.7 (br m, 6H, 3xNCH_2CH_2), 1.28 (d, *J* = 5.6 Hz, 6H, 2xCH_3), 1.24 (d, *J* = 5.7 Hz, 6H, 2xCH_3).

MS-EI *m/z* 526 和 528 [M^+-1 和 M^++1].

实施例 74

5－（5－溴－2－氧代－1,2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－2,4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（吡啶－4－基甲基）酰胺

5－溴－1,3－二氢吲哚－2－酮（170mg, 0.8mmol）与 5－甲酰－2,4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（吡啶－4－基甲基）酰胺（200mg）

缩合，得到 14mg（4％）标题化合物，为黄色固体。

^{1}HNMR (300 MHz, DMSO-d6) δ 13.67 (s, 1H, NH), 11.01 (s, br, 1H, NH), 8.51 (dd, *J* = 1.6 & 4.3 Hz, 2H), 8.23 (t, *J* = 6.0 Hz, 1H, CONHCH_2), 8.11 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 7.78 (s, 1H, H-乙烯基),7.31 (d, *J* = 6.0 Hz, 2H), 7.25 (dd, *J* = 1.9 & 8.1 Hz, 1H), 6.82 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 4.45 (d, *J* = 6.0 Hz, 2H, NCH_2), 2.46 (s, 6H, 2xCH_3).

MS-EI *m/z* 450 和 452 [M^+-1 和 M^++1].

实施例 75

5－〔6－（4－丁基苯基）－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基〕－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－吡咯烷－1－基乙基）酰胺

5－〔6－（4－丁基苯基）〕－1, 3－二氢吲哚－2－酮（50mg, 0.19mmol）与 5－甲酰－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－吡咯烷－1－基乙基）酰胺（50mg）缩合，得到 74mg（76％）标题化合物，为橙色固体。

^{1}HNMR (360 MHz, DMSO-d6) δ 13.58 (s, 1H, NH), 10.93 (s, br, 1H, NH), 7.82 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.63 (s, 1H, H-乙烯基), 7.54 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H), 7.46 (m, 1H, CONH), 7.26 (m, 3H), 7.09 (s, 1H), 3.30 (m, 2H, CH_2), 2.52-2.63 (m, 4H, 2xCH_2), 2.49 (m, 4H, 2xCH_2), 2.43 (s, 3H, CH_3), 2.40 (s, 3H, CH_3), 1.68 (m, 4H, 2xCH_2), 1.58 (m, 2H, CH_2), 1.34 (m, 2H, CH_2), 0.91 (t, *J*= 7.2 Hz, 3H, CH_2CH_3).

MS-EI *m/z* 510 [M^+].

实施例 76

5－〔6－（5－异丙基－2－甲氧基苯基）－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基〕－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－吡咯烷－1－基乙基）酰胺

6－（5－异丙基－2－甲氧基苯基）－1, 3－二氢吲哚－2－酮（50mg, 0.17mmol）与 5－甲酰－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－吡咯烷－1－基乙基）酰胺（45mg）缩合，得到 67mg（75％）标题化合物，

为橙色固体。

^{1}HNMR (360 MHz, DMSO-d6) δ 13.60 (s, 1H, NH), 10.82 (s, br, 1H, NH), 7.77 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.61 (s, 1H, H-乙烯基), 7.45 (m, 1H, CONH), 7.0-7.19 (m, 5H), 3.73 (s, 3H, OCH_3), 3.32 (m, 2H, CH_2), 2.87 (m, 1H, $CH(CH_3)_2$), 2.56 (m, 2H, CH_2), 2.48 (m, 4H, 2xCH_2), 2.43 (s, 3H, CH_3), 2.40 (s, 3H, CH_3), 1.68 (m, 4H, 2xCH_2), 1.21 (d, *J* = 6.8 Hz, 6H, $CH(CH_3)_2$).

MS *m/z* 527.2 [M^++1].

实施例 77

5-〔6-（4-乙基苯基）-2-氧代-1, 2-二氢吲哚-3-亚基甲基〕-2, 4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸（2-吡咯烷-1-基乙基）酰胺

6-（4-乙基苯基）-1, 3-二氢吲哚-2-酮（45mg, 0.19mmol）与 5-甲酰-2, 4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸（2-吡咯烷-1-基乙基）酰胺（50mg）缩合，得到 60mg（65％）标题化合物，为黄橙色固体。

^{1}HNMR (300 MHz, DMSO-d6) δ 13.59 (s, 1H, NH), 10.96 (s, br, 1H, NH), 7.83 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.64 (s, 1H, H-乙烯基), 7.51-7.56 (m, 3H), 7.25-7.30 (m, 3H), 7.08 (d, *J* = 1 Hz, 1H), 3.31 (m, 2H, CH_2), 2.63 (m, 2H, CH_2CH_3), 2.55 (m, 2H, CH_2), 2.49 (m, 4H, 2xCH_2), 2.42 (s, 3H, CH_3), 2.40 (s, 3H, CH_3), 1.67 (m, 4H, 2xCH_2), 1.20 (t, *J*= 7.5 Hz, 3H, CH_2CH_3).

MS-EI *m/z* 482 [M^+].

实施例 78

5-〔6-（2, 4-二甲氧基苯基）-2-氧代-1, 2-二氢吲哚-3-亚基甲基〕-2, 4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸（2-吡咯烷-1-基乙基）酰胺

6-（2, 4-二甲氧基苯基）-1, 3-二氢吲哚-2-酮（51mg, 0.19mmol）与 5-甲酰-2, 4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸（2-吡咯烷-1-基乙基）酰胺（50mg）缩合，得到 30mg（31％）标题化合物，为橙色固体。

^{1}HNMR (300 MHz, DMSO-d6) δ 13.59 (s, 1H, NH), 10.86 (s, br, 1H, NH), 7.75 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.60 (s, 1H, H-乙烯基), 749 (m, 1H, CONH), 7.22 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.03 (m, 1H), 6.97 (s, 1H), 6.58-6.65 (m, 2H), 3.79 (s, 3H, OCH_3), 3.76 (s, 3H, OCH_3), 3.33 (m, 2H, CH_2), 2.55 (m, 2H, CH_2), 2.50 (m, 4H, 2xCH_2), 2.42 (s, 3H, CH_3), 2.39 (s, 3H, CH_3), 1.67 (m, 4H, 2xCH_2).

MS-EI *m/z* 514 [M$^+$].

实施例 79

5－〔6－（3－异丙基苯基）－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基〕－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－吡咯烷－1－基乙基）酰胺

6－（3－异丙基苯基）－1, 3－二氢吲哚－2－酮（48mg, 0.19mmol）与 5－甲酰－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－吡咯烷－1－基乙基）酰胺（50mg）缩合，得到 59mg（63％）标题化合物，为橙色固体。

^{1}HNMR (300 MHz, DMSO-d6) δ 13.63 (s, 1H, NH), 10.97 (s, br, 1H, NH), 7.87 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.68 (s, 1H, H-乙烯基), 7.24-7.55 (m, 6H), 7.13 (s, 1H), 3.34 (m, 2H, CH_2), 3.30 (m, 1H, $CH(CH_3)_2$), 2.60 (m, 2H, CH_2), 2.50 (m, 4H, 2xCH_2), 2.45 (s, 3H, CH_3), 2.43 (s, 3H, CH_3), 1.70 (m, 4H, 2xCH_2), 1.27 (d, *J* = 6.9 Hz, 6H, $CH(CH_3)_2$).

MS-EI *m/z* 496 [M$^+$].

实施例 80

5－（5－氟－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二乙基氨乙基）酰胺

5－氟－1, 3－二氢吲哚－2－酮（0.54g, 3.8mmol）与 5－甲酰－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二乙基氨乙基）酰胺缩合，得到 0.83g（55％）标题化合物，为黄绿色固体。

^{1}HNMR (360 MHz, DMSO-d6) δ 13.66 (s, 1H, NH), 10.83 (s, br, 1H, NH), 7.73 (dd, J = 2.5 & 9.4 Hz, 1H), 7.69 (s, 1H, H-乙烯基),7.37 (t, 1H, CONHCH$_2$CH$_2$), 6.91 (m, 1H), 6.81-6.85 (m, 1H), 3.27 (m, 2H, CH$_2$), 2.51 (m, 6H, 3xCH$_2$), 2.43 (s, 3H, CH$_3$), 2.41 (s, 3H, CH$_3$), 0.96 (t, J = 6.9 Hz, 6H, N(CH$_2$CH$_3$)$_2$).

MS-EI m/z 398 [M$^+$].

实施例 80（另一合成方法）

5－〔5－氟－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－（3Z）－亚基甲基〕－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二乙基氨乙基）酰胺

将水合肼（55％，3000ml）和 5－氟靛红（300g）加热至 100℃。在搅拌下于 120 分钟内分批（100g）加入另一份 5－氟靛红（500g）。将混合物加热至 110℃，搅拌 4 小时。将混合物冷却到室温，抽气过滤收集固体，得到粗制的（2－氨基－5－氟苯基）乙酸酰肼（748g）。将该酰肼悬浮在水（700ml）中，用 12N 盐酸将混合物的 pH 调节到<pH 3，室温下搅拌 12 小时。抽气过滤收集固体，用水洗二次。将产物真空干燥，得到 5－氟－1, 3－二氢吲哚－2－酮（600g, 产率 73％），为棕色粉末。^{1}H－NMR（二甲基亚砜－d$_6$）δ 3.46 (s, 2H, CH$_2$), 6.75, 6.95, 7.05 (3×m, 3H, 芳族), 10.35 (s, 1H, NH)。MS m/z 152 [M+1]。

将 3, 5－二甲基－1H－吡咯－2, 4－二羧酸 2－叔丁酯 4－乙酯（2600g）和乙醇（7800ml）激烈搅拌，同时慢慢加入 10 N 盐酸（3650ml）。将温度由 25℃升至 35℃并开始有气体放出。将混合物温热至 54℃，搅拌并再加热 1 小时，此时温度为 67℃。将混合物冷却到 5℃，在搅拌下慢慢加入 32 升冰水。抽气过滤收集固体，用水洗 3 次。将固体空气干燥至恒重，得到 2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸乙酯（1418g，产率 87％），为浅红色固体。^{1}H－NMR（二甲基亚砜－d$_6$）δ 2.10, 2.35 (2×s, 2×3H, 2×CH$_3$), 4.13 (q, 2H, CH$_2$), 6.37 (s, 1H, CH), 10.85 (s, 1H, NH)。MS m/z 167 [M+1]。

将二甲基甲酰胺（322g）和二氯甲烷（3700ml）在冰浴中冷却到 4℃，在搅拌下加入磷酰氯（684g）。在 15 分钟内分小份慢慢加入固体的 2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸乙酯（670g）。最高温度达到

18℃。将混合物加热回流 1 小时，在冰浴中冷却到 10℃，在激烈搅拌下快速加入 1.6 升冰水。温度升至 15℃，在激烈搅拌下加入 10 N 盐酸（1.6 升）。温度升高至 22℃。将该混合物放置 30 分钟，使其得以分层。温度达到 40℃的最高值。水层用 10 N 氢氧化钾（3.8 L）调节至 pH 12－13，其加入速度应使加入期间温度达到和保持在 55℃。加完后将该混合物冷却至 10℃并搅拌 1 小时。抽气过滤收集固体，用水洗 4 次，得到 5－甲酰－2,4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸乙酯（778g，产率 100％），为黄色固体。

^{1}H-NMR (DMSO-d_6) δ 1.25 (t, 3H, CH_3), 2.44, 2.48 (2xs, 2x3H, 2xCH_3), 4.16 (q, 2H, CH_2), 9.59 (s, 1H, CHO), 12.15 (br s, 1H, NH). MS m/z 195 [M+1].

将 5－甲酰－2,4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸乙酯（806g）、氢氧化钾（548g）、水（2400ml）和甲醇（300ml）在搅拌下回流 2 小时，然后冷却至 8℃。用二氯甲烷萃取该混合物 2 次。水层用 1000ml 10 N 盐酸调节至 pH 4，保持温度低于 15℃。加水以促进搅拌。抽气过滤收集固体，用水洗 3 次，在 50℃真空干燥，得到 5－甲酰－2,4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（645g，产率 93.5％），为黄色固体。

NMR (DMSO-d_6) δ 2.40, 2.43 (2xs, 2x3H, 2xCH_3), 9.57 (s, 1H, CHO), 12.07 (br s, 2H, NH+COOH). MS m/z 168 [M+1].

将 5－甲酰－2,4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（1204g）和 6020ml 二甲基甲酰胺在室温下搅拌，同时加入 1－（3－二甲基氨丙基－3－乙基碳化二亚胺盐酸盐（2071g）、羟基苯并三唑（1460g）、三乙胺（2016ml）和二乙基乙二胺（1215ml）。在室温下搅拌该混合物 20 小时。用 3000ml 水、2000ml 盐水和 3000ml 饱和碳酸氢钠溶液稀释，并用 10 N 氢氧化钠将 pH 调节到高于 10。该混合物用 10％的甲醇/二氯甲烷萃取 2 次，每次用 5000ml，将萃取液合并，在无水硫酸镁上干燥，用旋转蒸发仪蒸发至干。将残余物用 1950ml 甲苯稀释，再次旋转蒸发至干。残余物

用 3：1 的己烷：乙醚（4000ml）研制。抽气过滤收集固体，用 400ml 乙酸乙酯洗 2 次，在 34℃真空干燥 21 小时，得到 5－甲酰－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二乙基氨基乙基）酰胺（819g，产率 43％），为浅棕色固体。

^{1}H-NMR(DMSO -d_6) δ 0.96 (t, 6H, 2xCH_3), 2.31, 2.38 (2xs, 2 x CH_3), 2.51 (m, 6H 3xCH_2), 3.28 (m, 2H, CH_2), 7.34 (m, 1H, 酰胺 NH), 9.56 (s, 1H, CHO), 11.86 (s, 1H, 吡咯 NH). MS m/z 266 [M+1].

将 5－甲酰－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二乙基氨乙基）酰胺（809g）、5－氟－1, 3－二氢吲哚－2－酮（438g）、乙醇（8000ml）和吡咯烷（13ml）在 78℃加热 3 小时。将混合物冷却至室温，抽气过滤收集固体，用乙醇洗。将该固体和乙醇（5900ml）在 72℃下搅拌 30 分钟。将混合物冷却至室温。抽气过滤收集固体，用乙醇洗，在 54℃真空干燥 130 小时，得到 5－〔5－氟－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－（3Z）－亚基甲基〕－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二乙基氨基乙基）酰胺（1013g，产率 88％），为橙色固体。

^{1}H-NMR (DMSO -d_6) δ 0.98 (t, 6H, 2xCH_3), 2.43, 2.44 (2xs, 6H, 2xCH_3), 2.50 (m, 6H, 3xCH_2), 3.28 (q, 2H, CH_2), 6.84, 6.92, 7.42, 7.71, 7.50 (5xm, 5H, 芳族，乙烯基, CONH), 10.88 (s, 1H, CONH), 13.68 (s, 1H, 吡咯 NH). MS m/z 397 [M-1].

实施例 81

3－〔4－（2－二乙基氨乙基氨甲酰）－3, 5－二甲基－1H－吡咯－2－基亚甲基〕－2－氧代－2, 3－二氢－1H－吲哚－6－羧酸

2－氧代－2, 3－二氢－1H－吲哚－6－羧酸（80mg, 0.45mmol）与 5－甲酰－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二乙基氨乙基）酰胺缩合，得到 210mg（92％）标题化合物，为黄橙色固体。

^{1}HNMR (360 MHz, DMSO-d6) δ 13.6 (s, 1H, NH), 7.76 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.66 (s, 1H, H-乙烯基), 7.57 (dd, J = 1.5 & 8.0 Hz, 1H), 7.40-7.42 (m, 2H), 3.28 (m, 2H, CH_2), 2.88 (m, H-哌啶), 2.54 (m, 6H, 3xCH_2), 2.44 (s, 3H, CH_3), 2.40 (s, 3H, CH_3), 1.56 (m, H- 哌啶), 0.97 (t, J = 6.98 Hz, 6H, $N(CH_2CH_3)_2$).

MS m/z 424 [M^+].

实施例 82

5－（5－二甲基氨磺酰－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－吡咯烷－1－基乙基）酰胺

2－氧代－2, 3－二氢－1H－吲哚－5－磺酸二甲基酰胺（90mg, 0.38mmol）与 5－甲酰－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－吡咯烷－1－基乙基）酰胺（100mg）缩合，得到 100mg（54％）标题化合物，为黄色固体。

^{1}HNMR (360 MHz, DMSO-d6) δ 13.65 (s, 1H, NH), 11.30 (s, br, 1H, NH), 8.25 (d, 1H), 7.92 (s, 1H,H-乙烯基), 7.48-7.53 (m, 2H), 7.07 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 3.33 (m, 2H, CH_2), 2.61 (s, 6H, $N(CH_3)_2$), 2.56 (t, 2H, CH_2), 2.49 (m, 4H, 2xCH_2), 2.45 (s, 3H, CH_3), 2.44 (s, 3H, CH_3), 1.67 (m, 4H, 2xCH_2).

MS-EI m/z 485 [M^+].

实施例 83

5－〔5－（3－氯苯基氨磺酰）－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基〕－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－吡咯烷－1－基乙基）酰胺

2－氧代－2, 3－二氢－1H－吲哚－5－磺酸（3－氯苯基）酰胺（120mg, 0.38mmol）与 5－甲酰－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－吡咯烷－1－基乙基）酰胺（100mg）缩合，得到 150mg（69％）标题化合物，为黄橙色固体。

^{1}HNMR (360 MHz, DMSO-d6) δ 13.55 (s, 1H, N*H*), 11.26 (br s, 1H, N*H*), 10.30 (br s,1H, N*H*), 8.26 (d, 1H), 7.79 (s, 1H, H-乙烯基, 7.51-7.57 (m, 2H), 7.22 (t, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.15 (m, 1H), 7.07 (m, 1H), 7.0 (m, 2H), 3.44 (m, 2H, C*H*$_2$), 2.57 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H, C*H*$_2$), 2.49 (m, 4H, 2xCH$_2$), 2.44 (s, 3H, C*H*$_3$), 2.43 (s, 3H, C*H*$_3$), 1.68 (m, 4H, 2xC*H*$_2$).

MS *m/z* 568 [M$^+$].

实施例 84

2, 4－二甲基－5－〔2－氧代－5－（吡啶－3－基氨磺酰）－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基〕－1H－吡咯－3－羧酸（2－吡咯烷－1－基乙基）酰胺

2－氧代－2, 3－二氢－1H－吲哚－5－磺酸吡啶－3－基酰胺（110mg, 0.38mmol）与 5－甲酰－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－吡咯烷－1－基乙基）酰胺（100mg）缩合，得到 150mg（74％）标题化合物，为橙色固体。

^{1}HNMR (360 MHz, DMSO-d6) δ 13.58 (s, 1H, N*H*), 8.21 (d, *J* = 2.0 Hz, 2H), 8.04 (m, 1H), 7.76 (s, 1H, H-乙烯基),7.49-7.54 (m, 2H), 7.41 (m, 1H), 7.14 (m, 1H), 6.94 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 3.33 (m, 2H, C*H*$_2$), 2.56 (t, *J* = 7.06 Hz, 2H, C*H*$_2$), 2.49 (m, 4H, 2xCH$_2$), 2.43 (s, 6H, 2xC*H*$_3$), 1.68 (m, 4H, 2xC*H*$_2$).

MS *m/z* 535 [M$^+$].

实施例 85

3－〔3, 5－二甲基－4－（4－甲基哌嗪－1－羰基）－1H－吡咯－2－基亚基〕－4－（2－羟乙基）－1, 3－二氢吲哚－2－酮

4－（2－羟乙基）－1, 3－二氢吲哚－2－酮（71mg, 0.4mmol）与 3, 5－二甲基－4－（4－甲基哌嗪－1－羰基）－1H－吡咯－2－甲醛缩合，得到 90mg（55％）标题化合物，为橙色固体。

^{1}HNMR (300 MHz, DMSO-d6) δ 14.25(s, 1H, NH), 10.88 (s, 1H, NH), 7.57 (s, 1H, H-乙烯基), 7.03 (m, 1H), 6.75-6.82 (m, 2H), 4.86 (m, 1H, OH), 3.70 (m, 2H, CH_2), 3.04 (m, 2H, CH_2), 2.48 (m, 4H, 2xCH_2), 2.28 (br s, 7H), 2.19 (s, 3H, CH_3), 2.18 (s, 3H, CH_3).

MS m/z (+ve) 4.09.3 [M^+].

实施例 86

3-〔3, 5-二甲基-4-（4-甲基哌嗪-1-羰基）-1H-吡咯-2-基亚甲基〕-2-氧代-2, 3-二氢-1H-吲哚-5-磺酸苯酰胺

2-氧代-2, 3-二氢-1H-吲哚-5-磺酸苯酰胺（110mg, 0.4mmol）与 3, 5-二甲基-4-（4-甲基哌嗪-1-羰基）-1H-吡咯-2-甲醛（100mg）缩合，得到 50mg（24%）标题化合物，为黄色固体。

^{1}HNMR (300 MHz, DMSO-d6) δ 13.52(s, 1H, NH), 11.26 (s, 1H, NH), 10.08 (s, 1H, NH), 8.21 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 7.75 (s, 1H, H-乙烯基), 7.50 (dd, J = 1.6 & 8.3 Hz, 1H), 7.19 (m, 2H), 7.10 (m, 2H), 6.97 (m, 2H), 2.49 (m, 4H, 2xCH_2), 2.28 (m, 10H, 2xCH_3 & 2xCH_2), 2.18 (s, 3H, CH_3).

MS-EI m/z 519 [M^+].

实施例 87

5-（5-二甲基氨磺酰-2-氧代-1, 2-二氢吲哚-3-亚基甲基）-2, 4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸（2-二乙基氨乙基）酰胺

2-氧代-2, 3-二氢-1H-吲哚-5-磺酸二甲基酰胺（90mg, 0.38mmol）与 5-甲酰-2, 4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸（2-二乙基氨乙基）酰胺（100mg）缩合，得到 80mg（43%）标题化合物，为黄色固体。

^{1}HNMR (300 MHz, DMSO-d6) δ 11.30 (s, 1H, NH), 8.27 (d, J = 1.7 Hz, 1H), 7.94 (s, 1H, H-乙烯基), 7.49 (dd, J = 1.7 & 8.0 Hz, 1H), 7.44 (m, 1H, CONHCH$_2$CH$_2$), 7.07 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 3.26 (m, 2H, CH$_2$), 2.60 (s, 6H, N(CH$_3$)$_2$), 2.53 (m, 2H, CH$_2$), 2.45-2.50 (m, 10H, 2xCH$_3$ & N(CH$_2$CH$_3$)$_2$, 0.96 (t, J = 7.2 Hz, 6H, N(CH$_2$CH$_3$)$_2$).

MS-EI m/z 487 [M$^+$].

实施例 88

5－〔5－（3－氯苯基氨磺酰）－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基〕－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二乙基氨乙基）酰胺

2－氧代－2, 3－二氢－1H－吲哚－5－磺酸（3－氯苯基）酰胺（120mg, 3.8mmol）与 5－甲酰－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二乙基氨乙基）酰胺（100mg）缩合，得到 80mg（37％）标题化合物，为黄色固体。

^{1}HNMR (360 MHz, DMSO-d6) δ 13.55 (s, 1H, NH), 11.24 (s, 1H, NH), 10.29 (s, 1H, NH), 8.25 (d, J = 1.87 Hz, 1H), 7.79 (s, 1H, H-乙烯基), 7.52 (dd, J = 1.87 & 8.3 Hz, 1H), 7.42 (m, 1H, CONHCH$_2$CH$_2$), 7.22 (t, J = 8.02 Hz, 1H), 7.15 (t, J = 2 Hz, 1H), 7.08 (m, 1H), 7.0 (m, 2H), 3.27 (m, 2H, CH$_2$), 2.48-2.57 (m, 6H, 3xCH$_2$), 2.45 (s, 3H, CH$_3$), 2.44 (s, 3H, CH$_3$), 0.97 (t, J = 7.0 Hz, 6H, N(CH$_2$CH$_3$)$_2$).

MS m/z 570.1 [M$^+$].

实施例 95

3－（2－氧代－5－苯基－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－4, 5, 6, 7－四氢－2H－异吲哚－1－羧酸乙酯

^{1}HNMR (360 MHz, DMSO-d6) δ 13.74 (s, 1H, NH), 11.00 (s, 1H, NH), 8.13 (d, *J* = 1.7 Hz, 1H), 7.74 (s, 1H, H-乙烯基), 7.70 (d, *J* = 7.7 Hz, 2H), 7.49 (dd, *J* = 1.7 & 8.0 Hz, 1H), 7.44 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H), 7.32 (m, 1H), 6.96 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 4.26 (q, *J* = 7.0 Hz, 2H, OCH_2CH_3), 2.79 (m, 2H, CH_2), 2.72 (m, 2H, CH_2), 1.73 (m, 4H, 2xCH_2), 1.30 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H, OCH_2CH_3).

MS-EI *m/z* 412 [M^+].

实施例 99

3－（2－氧代－5－苯基氨磺酰－1,2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－4,5,6,7－四氢－2H－异吲哚－1－羧酸乙酯

^{1}HNMR (360 MHz, DMSO-d6) δ 13.64 (s, 1H, NH), 11.33 (s, 1H, NH), 10.07 (s, 1H, NH), 8.24 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 7.74 (s, 1H, H-乙烯基), 7.57 (dd, *J* = 1.8 & 8.0 Hz, 1H), 7.21 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H), 7.11 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H), 6.99 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 6.98 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 4.27 (q, *J* = 7.0 Hz, 2H, OCH_2CH_3), 2.80 (m, 2H, CH_2), 2.73 (m, 2H, CH_2), 1.73 (m, 4H, 2xCH_2), 1.30 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H, OCH_2CH_3).

MS-EI m/z 491 [M^+].

实施例 109

3－〔3－（吗啉－4－羰基）－4,5,6,7－四氢－2H－异吲哚－1－基亚甲基〕－2－氧代－2,3－二氢－1H－吲哚－6－羧酸

^{1}HNMR (360 MHz, DMSO-d6) δ 13.60 (s, 1H, NH), 12.75 (br s, 1H, COOH), 11.08 (s, 1H, NH), 7.85 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.71 (s, 1H, H-乙烯基), 7.62 (dd, *J* = 1.4 & 7.8 Hz, 1H), 7.41 (d, *J* = 1.4 Hz, 1H), 3.65 (m, 4H, 2xCH_2), 3.55 (m, 4H, 2xCH_2), 2.81 (m, 2H, CH_2), 2.54 (m, 2H, CH_2).1.73 (m, 4H, 2xCH_2).

MS-EI m/z 421 [M^+].

实施例 112

5－溴－3－〔3－（吡咯烷－1－羰基）－4,5,6,7－四氢－2H－异吲哚－1－基亚甲基〕－1,3－二氢吲哚－2－酮

^{1}HNMR (360 MHz, DMSO-d6) δ 13.56 (s, 1H, NH), 11.00 (s, 1H, NH), 8.05 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 7.74 (s, 1H, H-乙烯基), 7.28 (dd, *J* = 1.3 & 8.3 Hz, 1H), 6.83 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 3.57 (m, 4H, 2xCH_2), 2.79 (m, 2H, CH_2), 2.65 (m, 2H, CH_2), 1.88 (m, 4H, 2xCH_2), 1.71 (m, 4H, 2xCH_2).

MS-EI *m/z* 439 & 441 [M^+-1] & [M^++1].

实施例 114

3－（3－二甲基氨甲酰－4,5,6,7－四氢－2H－异吲哚－1－基亚甲基）－2－氧代－2,3－二氢－1H－吲哚－6－羧酸

^{1}HNMR (360 MHz, DMSO-d6) δ 13.60 (s, 1H, NH), 12.72 (br s, 1H, COOH), 11.05 (s, 1H, NH), 7.85 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.72 (s, 1H, H-vinyl), 7.62 (dd, *J* = 1.3 & 7.9 Hz, 1H), 7.42 (d, *J* = 1.3 Hz, 1H), 3.03 (s, 6H, N(CH_3)$_2$), 2.81 (m, 2H, CH_2), 2.55 (m, 2H, CH_2), 1.73 (m, 4H, 2xCH_2).

实施例 115

4－甲基－5－（5－甲基氨磺酰－2－氧代－1,2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－1H－吡咯－3－羧酸

^{1}HNMR (300 MHz, DMSO-d6) □ 13.56 (br s, 1H, NH), 8.24 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H), 7.86 (s, 1H, H-乙烯基), 7.74 (d, *J* = 2.96 Hz, 1H), 7.56 (dd, *J* = 1.5 & 8.1 Hz, 1H), 7.20 (br m, 1H, N*H*CH_3), 7.03 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 2.57 (s, 3H, CH_3), 2.41 (s, 3H, CH_3).

MS-EI *m/z* 361 [M^+].

实施例 116

{[4－甲基－5－（4－甲基－5－甲基氨磺酰－2－氧代－1,2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－1H－吡咯－3－羰基]氨基}乙酸乙酯

将 4－甲基－1H－吡咯－3－羧酸乙酯（参考文献：D. O. Cheng, T.

L. Bowman 和 E. LeGoff；J. Heterocyclic Chem., 1976，13，1145－1147）用方法 A 甲酰化，用方法 B 水解，随后用方法 C 酰胺化，得到{[5－甲酰－4－甲基－1H－吡咯－3－羰基]氨基}乙酸乙酯

4－甲基－5－甲基氨基氨磺酰－2－氧代吲哚（50mg, 0.21mmol）与〔（5－甲酰－4－甲基－1H－吡咯－3－羰基）氨基〕乙酸乙酯（100mg, 0.42mmol）和哌啶（0.1ml）在乙醇（2ml）中缩合，得到 50mg（52％）标题化合物。

^{1}HNMR (360 MHz, DMSO-d6) δ 13.59 (s, 1H, NH), 11.29 (v.br. s, 1H, N*H*-CO), 8.33 (t, *J* = 5.8 Hz, 1H, CONHCH_2), 7.83 (d, *J* = 3.11 Hz, 1H), 7.80 (s, 1H, H-乙烯基), 7.71 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.34 (br m, 1H, N*H*CH_3), 6.89 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 4.11 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, OCH_2CH_3), 3.92 (d, *J* = 5.8 Hz, 2H, GlyCH_2), 2.86 (s, 3H, CH_3), 2.48 (s, 3H, CH_3), 2.42 (d, *J* = 4.71 Hz, 3H, HNCH_3), 1.20 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, OCH_2CH_3).

MS-EI *m/z* 460 [M$^+$].

实施例 117

{[4－甲基－5－（5－甲基氨磺酰－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－1H－吡咯－3－羰基]氨基}乙酸乙酯

将 5－甲基氨基氨磺酰－2－氧代吲哚（0.06g, 0.22mmol）、〔（5－甲酰－4－甲基－1H－吡咯－3－羰基）氨基〕乙酸乙酯（0.075g, 0.27mmol）和哌啶（2 滴）在乙醇（5ml）中的混合物于封管中在 90℃加热 12 小时，冷却后，抽气过滤收集沉淀，用乙醇洗，用二氯甲烷/乙醚研制并干燥，得到 0.035g（36％）标题化合物，为浅黄棕色固体。

^{1}H NMR (360 MHz, DMSO-d6) δ 13.6 (s, 1H, NH), 11 (v.br. s, 1H, NH-CO), 8.30 (t, *J* = 5.7 Hz, 1H, CONHCH_2), 8.25 (d, *J* = 1.2 Hz, 1H), 7.88 (s, 1H, H-乙烯基), 7.84 (d, *J* = 3.3 Hz, 1H), 7.57 (dd, *J* = 1.9 & 8.5 Hz, 1H), 7.14 (br m, 1H, N*H*CH_3), 7.04 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 4.11 (q, *J* = 6.7 Hz, 2H, OCH_2CH_3), 3.92 (d, *J* = 5.7 Hz, 2H, GlyCH_2), 2.55 (s, 3H, CH_3), 2.41 (m, 3H, NCH_3), 1.20 (t, *J* = 6.7 Hz, 3H, OCH_2CH_3).

MS *m/z* 446 [M$^+$].

实施例 118

{[4－甲基－5－（5－甲基氨磺酰－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－1H－吡咯－3－羰基]氨基}乙酸

将〔（5－甲酰－4－甲基－1H－吡咯－3－羰基）氨基〕乙酸乙酯（0.142g, 0.59mmol）和 1 N NaOH（1.2ml）在甲醇（10ml）中的混合物在室温下搅拌 1 小时。将反应混合物浓缩，残余物与 5－甲基氨基磺酰基－2－氧代吲哚（0.13g, 0.48mmol）和哌啶（0.12ml）在乙醇（12ml）中缩合，得到 0.11g（52％）标题化合物。

^{1}HNMR (300 MHz, DMSO-d6) δ 13.98 (br s, 1H, NH), 8.17 (s, 1H), 7.80 (s, 1H), 7.75 (d, *J* = 3.1Hz, 1H), 7.51 (dd, *J* = 2 & 8.2 Hz, 1H), 7.21 (m on br.s, 2H), 6.97 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 3.41 (d, *J* = 4.2 Hz, 2H, CH_2NH), 2.54 (s, 3H, 吡咯 $-CH_3$), 2.39 (s, 3H, Ar$C\underline{H}_3$).

MS *m/z* 417 $[M-1]^+$.

实施例 120

5－甲基－2－（2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－1H－吡咯－3－羧酸

^{1}HNMR (300 MHz, DMSO-d6) δ 13.77 (br s, 1H, NH), 12.49 (s, 1H, COOH), 11.07 (s, 1H, NH), 8.39 (s, 1H, H-乙烯基), 7.43 (d, *J* = 7.47 Hz, 1H), 7.20 (t, *J* = 7.47 Hz, 1H), 7.03 (t, *J* = 7.47 Hz, 1H), 6.91 (d, *J* = 7.47 Hz, 1H), 6.49 (d, *J* = 1.53 Hz, 1H), 2.34 (s, 3H, CH_3).

MS *m/z* 269 $[M+H]^+$.

实施例 121

5－甲基－2－（2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－1H－吡咯－3－羧酸乙酯

^{1}HNMR (300 MHz, DMSO-d6) δ 13.79 (s, 1H, NH), 11.08 (s, 1H, NH), 8.31 (s, 1H, H-乙烯基), 7.45 (d, *J* = 7.52 Hz, 1H), 7.20 (t, *J* = 7.52 Hz, 1H), 7.03 (t, *J* = 7.52 Hz, 1H), 6.91 (d, *J* = 7.52 Hz, 1H), 6.50 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H), 4.26 (q, *J* = 7.2 Hz, 2H, OCH_2CH_3), 2.33 (s, 3H, CH_3), 1.32 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H, OCH_2CH_3).

MS *m/z* 297.1 $[M+H]^+$.

实施例 122

2－（5－溴－2－氧代－1,2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－5－甲基－1H－吡咯－3－羧酸乙酯

^{1}HNMR (360 MHz, DMSO-d6) δ 13.72(s, 1H, NH), 11.16 (s, 1H, NH), 8.29 (s, 1H, H-乙烯基), 7.53 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 7.35 (dd, *J* = 2.0 & 8.05 Hz, 1H), 6.87 (t, *J* = 8.05 Hz, 1H), 6.53 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 4.28 (q, *J* = 7.03 Hz, 2H, OCH_2CH_3), 2.35 (s, 3H, CH_3), 1.33 (t, *J* = 7.03 Hz, 3H, OCH_2CH_3).

MS *m/z* 375 & 377 $[M+H]^+$.

实施例 123

2－（5－溴－2－氧代－1,2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－5－甲基－1H－吡咯－3－羧酸

^{1}HNMR (300 MHz, DMSO-d6) δ 13.72(s, 1H, NH), 12.57 (s, 1H, COOH), 11.19 (s, 1H, NH), 8.36 (s, 1H, H-乙烯基), 7.51 (d, *J* = 1.4 Hz, 1H), 7.34 (dd, *J* = 1.4 & 8.17 Hz, 1H), 6.87 (t, *J* = 8.17 Hz, 1H), 6.52 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 2.35 (s, 3H, CH_3).

MS *m/z* 347 & 349 $[M+H]^+$.

实施例 124

2－（5－溴－2－氧代－1,2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－5－甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－吡咯烷－1－基乙基）酰胺

向 2－甲酰－5－甲基－1H－吡咯－3－羧酸（250mg, 1.63mmol）的二甲基甲酰胺（3ml）溶液中加入 1－乙基－3－（3－二甲基氨丙基）碳化二亚胺（376mg, 1.2 当量）、1－羟基苯并三唑（265mg, 1.2 当量）、三乙胺（0.45ml, 2 当量）和 1－（2－氨乙基）吡咯烷（0.23ml, 1.1 当量）。在室温下搅拌过夜后，反应混合物用饱和碳酸氢钠溶液和盐水（含过量盐）洗，用 10％甲醇/二氯甲烷萃取。合并的有机层用盐水洗，用无水硫酸钠干燥，浓缩，得到 130mg 2－甲酰－5－甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－吡咯烷－1－基乙基）酰胺。

将 5－溴－2－氧代吲哚（106mg, 0.5mmol）、2－甲酰－5－甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－吡咯烷－1－基乙基）酰胺（125mg，1 当量）和哌啶（0.2ml）在乙醇（2ml）中的混合物于封管中在 80℃加热 1 小时，然后冷却。抽气过滤收集形成的沉淀，用乙醇和乙酸乙酯洗，干燥，得到橙色固体标题化合物。

^{1}H－NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 13.62 (s, 1H, NH), 11.06 (br, s, 1H, NH), 8.56 (s, 1H, H-乙烯基), 8.15 (m, 1H, CONHCH$_2$), 7.48 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 7.31 (dd, J = 1.8 & 7.9 Hz, 1H), 6.86 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 6.60 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 3.35 (m, 2H, HNCH$_2$CH$_2$), 2.56 (t, J = 6.91 Hz, 2H, HNCH$_2$CH$_2$), 2.35 (s, 3H, CH$_3$), 1.67 (m, 4H, 2xCH$_2$).

MS m/z 443/ 445 [M$^+$ 和 M$^+$+2].

实施例 125

2－（5－溴－2－氧代－1,2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－5－甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二乙基氨乙基）酰胺

向 2－甲酰－5－甲基－1H－吡咯－3－羧酸（320mg, 2.1mmol）的二甲基甲酰胺（3ml）溶液中加入 1－乙基－3－（3－二甲基氨丙基）碳化二亚胺（483mg, 1.2 当量）、1－羟基苯并三唑（340mg, 1.2 当量）、三乙胺（0.59ml, 2 当量）和 N, N－二乙基乙二胺（0.32ml, 1.1 当量）。室温下搅拌过夜后，反应混合物用饱和碳酸氢钠溶液和盐水（含过量盐）稀释，用 10％甲醇/二氯甲烷萃取。合并的有机层用盐水洗，用无水硫酸钠干燥，浓缩，得到 2－甲酰－5－甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二乙基氨乙基）酰胺。

将 5－溴－2－氧代吲哚（106mg, 0.5mmol）、2－甲酰－5－甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二乙基氨基乙基）酰胺（126mg，1 当量）和哌啶（0.2ml）在乙醇（2ml）中的混合物在封管中于 80℃加热 1 小时后冷却。抽气过滤收集沉淀，用乙醇和乙酸乙酯洗，干燥，得到标题化合物，为橙色固体。

^{1}HNMR (360 MHz, DMSO-d6) δ 13.62 (s, 1H, N*H*), 11.11 (br s, 1H, N*H*), 8.54 (s, 1H, H-乙烯基),8.1 (m, 1H, CON*H*CH_2), 7.49 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H), 7.31 (dd, *J* = 2.2 & 8.3 Hz, 1H), 6.86 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 6.58 (d, *J* = 2.24 Hz, 1H), 3.31 (m, 2H, HNC$H_2$$CH_2$), 2.59 (m, 6H, 3x$CH_2$), 2.36 (s, 3H, CH_3), 0.99 (t, *J* = 6.8 Hz, 6H, N($CH_2$$CH_3$)$_2$).

MS *m/z* 445/ 447 [M^+ 和 M^++2].

实施例 126

2,4－二甲基－5－（2－氧代－1,2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－1H－吡咯－3－羧酸（2－二乙基氨乙基）酰胺

将 1,3－二氢吲哚－2－酮（266mg, 2mmol）、5－甲酰－2,4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二乙基氨基乙基）酰胺（530mg, 2mmol）和哌啶（1 滴）在乙醇中的混合物在 90℃加热 2 小时。将反应混合物冷却至室温，抽气过滤收集形成的沉淀，用乙醇洗，干燥，得到 422mg（55％）标题化合物，为浅黄色固体。

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 13.7 (s, 1H, NH), 10.9 (s, 1H, NH), 7.88 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.64 (s, 1H, H-乙烯基),7.41 (t, *J* = 5.4 Hz, 1H, NH), 7.13 (dt, *J* = 1.2 & 7.6 Hz, 1H), 6.99 (dt, *J* = 1.2 & 7.6 Hz, 1H), 6.88 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 3.28 (m, 2H), 2.48-2.55 (m, 6H), 2.44 (s, 3H, CH_3), 2.41 (s, 3H, CH_3), 0.97 (t, *J* = 7.2 Hz, 6H, N($CH_2$$CH_3$)$_2$).
MS + ve APCI 381 [M^+ + 1].

实施例 127

5－（5－氯－2－氧代－1,2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－2,4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二乙基氨基乙基）酰胺

将 5－氯－1,3－二氢吲哚－2－酮（335mg, 2mmol）、5－甲酰－2,4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二乙基氨基乙基）酰胺（530mg,

2mmol）和哌啶（1 滴）在乙醇中的混合物在 90℃加热 2 小时。将反应混合物冷却至室温，抽气过滤收集形成的沉淀，用乙醇洗，干燥，得到 565mg（68％）标题化合物，为橙色固体。

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 13.65 (s, 1H, NH), 11.0 (s, 1H, NH), 7.98 (d, J = 2.1 Hz, 1H) 7.77 (s, 1H H-乙烯基), 7.44 (t, NH), 7.13 (dd, J = 2,1 & 8.4 Hz, 1H) 6.87 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 3.28 (q, 2H), 2.48-2.53 (m, 6H), 2.44 (s, 3H, CH_3), 2.43 (s, 3H, CH_3), 0.97 (t, J = 7.0 Hz, 6H, $N(CH_2CH_3)_2$)
MS + ve APCI 415 [M^+ + 1].

实施例 128

2,4－二甲基－5－（2－氧代－1,2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－1H－吡咯－3－羧酸（2－吡咯烷－1－基乙基）酰胺

1,3－二氢吲哚－2－酮与 5－甲酰－2,4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－吡咯烷－1－基乙基）酰胺缩合，得到标题化合物。

MS + ve APCI 379 [M^++1]。

实施例 129

5－（5－氟－2－氧代－1,2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－2,4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－吡咯烷－1－基乙基）酰胺

5－氟－1,3－二氢吲哚－2－酮与 5－甲酰－2,4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－吡咯烷－1－基乙基）酰胺缩合，得到标题化合物。

MS + ve APCI 397 [M^++1]。

放大步骤：

5－甲酰－2,4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（61g）、5－氟－1,3－二氢吲哚－2－酮（79g）、乙醇（300ml）和吡咯烷（32ml）回流 4.5 小时。向该混合物中加入乙酸（24ml），继续回流 30 分钟。将混合物冷却至室温，抽气过滤收集固体，用乙醇洗 2 次。将该固体在含 12N 盐酸（6.5ml）的 40％丙醇/水（400ml）中搅拌 130 分钟。抽气过滤收集固体，用 40％丙酮/水洗二次。将固体真空干燥，得到 5－〔5－氟－2－氧代－1,2－二氢吲哚－（3Z）－亚基甲基〕－2,4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（86g，产率 79％），为橙色固体。

^{1}H-NMR(DMSO -d_6) δ 2.48, 2.50 (2xs, 6H, 2xCH_3), 6.80, 6.88, 7.68, 7.72 (4xm, 4H, 芳族和乙烯基), 10.88 (s, 1H, CONH), 12.12 (s, 1H, COOH), 13.82 (s, 1H, 吡咯 NH). MS *m/z* 299 [M-1].

将5-〔5-氟-2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基〕-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸(100g)和二甲基甲酰胺(500ml)搅拌，加入六氟磷酸苯并三唑-1-基氧基三(二甲基氨基)鏻盐(221g)、1-(2-氨乙基)吡咯烷(45.6g)和三乙胺(93ml)。将混合物在室温下搅拌2小时。抽气过滤收集固体产物，用乙醇洗。将固体在乙醇(500ml)中于64℃搅拌，浆化洗涤1小时，然后冷却至室温。抽气过滤收集固体，用乙醇洗，真空干燥，得到5-〔5-氟-2-氧代-1,2-二氢吲哚-(3Z)-亚基甲基〕-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸(2-吡咯烷-1-基乙基)酰胺(101.5g，产率77%)。

^{1}H-NMR(DMSO -d_6) δ 1.60 (m, 4H, 2xCH_2), 2.40, 2.44 (2xs, 6H, 2xCH_3), 2.50 (m, 4H, 2xCH_2), 2.57, 3.35 (2xm, 4H, 2XCH_2), 7.53, 7.70, 7.73, 7.76 (4xm, 4H, 芳族和乙烯基), 10.88 (s, 1H, CONH), 13.67 (s, 1H, 吡咯 NH). MS *m/z* 396 [M+1].

实施例130

5-(5-氯-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸(2-吡咯烷-1-基乙基)酰胺

5-氯-1,3-二氢吲哚-2-酮与5-甲酰-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸(2-吡咯烷-1-基乙基)酰胺缩合，得到标题化合物。MS + ve APCI 413 [M^++1]。

实施例131

2,4-二甲基-5-(2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-1H-吡咯-3-羧酸(2-二甲基氨乙基)酰胺

1, 3－二氢吲哚－2－酮与 5－甲酰－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二甲基氨基乙基）酰胺缩合，得到标题化合物。

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 13.63 (s, 1H, NH), 10.90 (s, 1H, NH), 7.78 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.63 (s, 1H H-乙烯基), 7.48 (t, 1H, NH), 7.13 (dt, 1H), 6.98 (dt, 1H), 6.88 (d, J=7.7 Hz, 1H), 3.31 (q, J=6.6 Hz, 2H), 2.43 (s, 3H, CH_3), 2.40 (s, 3H, CH_3), 2.38 (t, J=6.6 Hz, 2H), 2.19 (s, 6H, $N(CH_2CH_3)_2$)
MS + ve APCI 353 [M^+ + 1].

实施例 132

5－（5－氟－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二甲基氨乙基）酰胺

5－氟－1, 3－二氢吲哚－2－酮与 5－甲酰－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二甲基氨乙基）酰胺缩合，得到标题化合物。

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 13.68 (s, 1H, NH), 10.90 (s, 1H, NH), 7.76 (dd, *J* = 2.4 & 9.4 Hz, 1H), 7.71 (s, 1H H-乙烯基), 7.51 (t, 1H, NH), 6.93 (m, 1H), 6.84 (dd, J=4.6 & 8.4 Hz, 1H), 3.31 (q, J=6.6 Hz, 2H), 2.43 (s, 3H, CH_3), 2.41 (s, 3H, CH_3), 2.38 (t, J=6.6 Hz, 2H), 2.19 (s, 6H, $N(CH_2CH_3)_2$)
MS + ve APCI 371 [M^+ + 1].

实施例 193

5－〔5－氟－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－（3Z）－亚基甲基〕－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－乙基氨基乙基）酰胺

5－甲酰－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－乙氨基乙基）酰胺（99g）、乙醇（400ml）、5－氟－2－氧代吲哚（32g）和吡咯烷（1.5g）一起在搅拌下回流 3 小时。将混合物冷却至室温，抽气过滤收集固体。将固体在 60℃的乙醇中搅拌，冷却到室温，抽气过滤收集。将产物真空干燥，得到 5－〔5－氟－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－（3Z）－亚基甲基〕－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－乙氨基乙基）酰胺（75g，产率 75％）。

^{1}H-NMR(DMSO -d_6) δ 1.03 (t, 3H, CH_3), 2.42, 2.44 (2xs, 6H, 2xCH_3), 2.56 (q, 2H, CH_2), 2.70, 3.30 (2xt, 4H, 2xCH_2), 6.85, 6.92, 7.58, 7.72, 7.76 (5xm, 5H, 芳族、乙烯基和 CONH), 10.90 (br s, 1H, CONH), 13.65 (br s, 1H, 吡咯 NH). MS *m/z* 369 [M-1].

实施例 195

5－〔5－氟－2－氧代－1,2－二氢吲哚－（3Z）－亚基甲基〕－2,4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二乙基－N－氧代氨基乙基）酰胺

方法 A：

5－〔5－氟－2－氧代－1,2－二氢吲哚－（3Z）－亚基甲基〕－2,4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二乙基氨乙基）酰胺（598mg）和二氯甲烷（60ml）在冰浴中用 3－氯过苯甲酸（336mg）处理，将该混合物在室温下搅拌过夜。旋转蒸发除去溶剂，残余物悬浮在 20ml 甲醇中，加入含氢氧化钾（240mg）的水（20ml），将混合物搅拌 1 小时。抽气过滤收集沉淀，用 5ml 水洗，真空干燥，得到 5－〔5－氟－2－氧代－1,2－二氢吲哚－（3Z）－亚基甲基〕－2,4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二乙基－N－氧代氨基乙基）酰胺（510mg，产率 82％），为橙色固体。^{1}H－NMR (DMSO-d_6) δ

13.72 (br s, 1H, NH), 11.02 (br s, 1H, CONH), 9.81 (br s, 1H, CONH), 7.75 (dd, 1H, 芳族), 7.70 (s, 1H, 芳族), 6.93 (td, 1H, 芳族), 6.84 (m, 1H, 芳族), 3.63 (m, 2H, CH_2), 3.29 (m, 2H, CH_2), 3.14 (m, 4H, 2xCH_2), 2.47 (s, 1H, CH_3), 2.45 (s, 3H, CH_3), 1.64 (t, 6H, 2xCH_3). MS *m/z* 415 [M+1].

方法 B：

5－甲酰－2,4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二乙基氨基乙基）酰胺（10g）悬浮在二氯甲烷（100ml）中，在冰浴中冷却。在搅拌下加入 3－氯过苯甲酸（13.1g），将混合物温热至室温，然后搅拌过夜。将该混合物旋转蒸发至干，在硅胶柱上色谱分离，用 20％甲醇/二氯甲烷洗脱。将含产物的级分合并，旋转蒸发至干，得到 5－甲酰－

2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二乙基－N－氧代氨基乙基）酰胺（9g，产率 83％）。

将 5－甲酰－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二乙基－N－氧代氨基乙基）酰胺（9g）、5－氟－1, 3－二氢吲哚－2－酮（9g，产率 83％）和吡咯烷（9g，产率 83％（0.1g））在乙醇（30ml）中回流 4 小时。将混合物在冰浴中冷却，抽气过滤收集沉淀，用乙醇洗。将固体在乙酸乙酯（30ml）中搅拌，抽气过滤收集产物，用乙酸乙酯洗，真空干燥，得到 5－〔5－氟－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－（3Z）－亚基甲基〕－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二乙基－N－氧代氨基乙基）酰胺（10.3g，产率 80％），为橙色固体。

^{1}H－NMR (DMSO-d_6) δ 13.72 (br s, 1H, NH), 11.02 (br s, 1H, CONH), 9.81 (br s, 1H, CONH), 7.75 (dd, 1H, 芳族), 7.70 (s, 1H, 芳族), 6.93 (td, 1H, 芳族), 6.84 (m, 1H, 芳族), 3.63 (m, 2H, CH_2), 3.29 (m, 2H, CH_2), 3.14 (m, 4H, 2xCH_2), 2.47 (s, 1H, CH_3), 2.45 (s, 3H, CH_3), 1.64 (t, 6H, 2xCH_3). MS m/z 415 [M+1].

实施例 190

5－〔5－氟－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－（3Z）－亚基甲基〕－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸〔2－（吡啶－1－基）乙基〕酰胺

5－〔5－氟－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－（3Z）－亚基甲基〕－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（120mg, 0.4mmol）与 EDC、HCl（96mg, 0.5mmol）、无水 1－羟基苯并三唑（68mg, 0.5mmol）和 2－（2－氨基乙基吡啶）（Aldrich 产品）在无水 DMF（3ml）中于室温下摇荡 2－3 天。反应混合物用 1 N $NaHCO_3$（1.5ml）稀释，然后加 8ml 水。过滤收集沉淀的粗产物，用水洗，干燥，用结晶法或色谱法纯化，得到 5－〔5－氟－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－（3Z）－亚基甲基〕－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸〔2－（吡啶－1－基）乙基〕酰胺。

实施例 189

5－〔5－氯－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－（3Z）－亚基甲基〕－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸〔2－（吡啶－1－基）乙基〕酰胺

如前一实施例所述进行反应，但是用 5－〔5－氯－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－（3Z）－亚基甲基〕－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（127mg）代替 5－〔5－氟－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－（3Z）－亚基甲基〕－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸，得到 5－〔5－氯－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－（3Z）－亚基甲基〕－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸〔2－（吡啶－1－基）乙基〕酰胺。

实施例 192

5－〔5－溴－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－（3Z）－亚基甲基〕－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸〔2－（吡啶－1－基）乙基〕酰胺

如以上实施例 190 所述进行反应，但是用 5－〔5－溴－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－（3Z）－亚基甲基〕－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（145mg）代替 5－〔5－氟－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－（3Z）－亚基甲基〕－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸，得到 5－〔5－溴－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－（3Z）－亚基甲基〕－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸〔2－（吡啶－1－基）乙基〕酰胺。

实施例 191

5－〔2－氧代－1, 2－二氢吲哚－（3Z）－亚基甲基〕－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸〔2－（吡啶－1－基）乙基〕酰胺

如以上实施例 190 所述进行反应，但是用 5－〔2－氧代－1, 2－二氢吲哚－（3Z）－亚基甲基〕－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（113mg）代替 5－〔5－氟－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－（3Z）－亚基甲基〕－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸，得到 5－〔2－氧代－1, 2－二氢吲哚－（3Z）－亚基甲基〕－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸〔2－（吡啶－1－基）乙基〕酰胺。

实施例 203

5－〔5－氰基－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－（3Z）－亚基甲基〕－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸〔2－（吡啶－1－基）乙基〕酰胺

如以上实施例 190 所述进行反应，但是用 5－〔5－氰基－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－（3Z）－亚基甲基〕－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（123mg）代替 5－〔5－氟－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－（3Z）－亚基甲基〕－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸，得到 5－〔5－氰基－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－（3Z）－亚基甲基〕－2, 4－二甲基－

1H－吡咯－3－羧酸〔2－（吡啶－1－基）乙基〕酰胺。

实施例 142，186，187，188 和 204

如以上实施例 190、189、191、192 和 203 中所述进行反应，但是用 1－（2－氨乙基）吡咯烷（购自 Aldrich Chemical Company, Inc.）代替 2－（2－氨乙基）吡啶，得到所要的化合物。

实施例 143－147

如以上实施例 190、189、191、192 和 203 中所述进行反应，但是用 1－（2－氨乙基）咪唑啉－2－酮（按照美国专利 2613212（1950 年，Rohm & Haas Co.）所述方法，由碳酸二甲酯与二（2－氨基乙基）胺（2 当量）在封闭的烧瓶中于 150℃加热 30 分钟制备，粗产物在硅胶上用氯仿：甲醇：氨水 80：25：2 混合物洗脱纯化）代替 2－（2－氨乙基）吡啶，得到所要的化合物。

实施例 148－151 及 184

如以上实施例 190、189、191、192 和 203 所述进行反应，但是用 4－（2－氨乙基）哌嗪－1－乙酸乙酯代替 2－（2－氨乙基）哌啶，得到所要的化合物。前者的制备方法如下：哌嗪－1－乙酸乙酯（11.22g）和碘乙腈（5.0ml）在碳酸钾（6.9g）存在下于乙酸乙酯（260ml）中在 0℃下反应。在完成碘乙腈加成反应（45 分）后，将反应混合物在室温下搅拌 11 小时。将反应混合物过滤，滤液蒸发。残余物在硼化钴（由 $CoCl_2$ 和硼氢化钠制备）存在下在乙醇中于室温和 50 psi 下加氢 2 天。过滤，蒸发，用氯仿/甲醇/氨水（80/25/2）的混合洗涤剂纯化，得到所要的胺（3.306g），为浅黄色油状物。

实施例 152－153

如以上实施例 190、189、191、192 和 203 中所述进行反应，但是用 2－〔（2－氨基乙氨基）〕乙腈代替 2－（2－氨基乙基）吡啶，得到所要的化合物。前者的制备方法是：在 0℃下于 30 分钟内向乙二胺（150ml）的乙醇（60ml）溶液中加入碘乙腈（50mmol）的乙醇（80ml）溶液，在 0℃继续搅拌 1 小时，然后在室温搅拌 14 小时。加入 55mmol 碳酸钾，搅拌 30 分钟，过滤，滤液在室温下浓缩。残余物在硅胶上纯化，用氯仿/甲醇/氨水（80：15：1.5）混合洗脱剂洗脱，得到 2－〔（2－氨基乙氨基）〕乙腈（3.550g），它立即使用。

实施例 154－158

如以上实施例 190、189、191、192 和 203 中所述进行，但是用 1－（3－氨丙基）氮杂草－2－酮代替 2－（2－氨乙基）吡啶，得到所要的化合物。前者的制备方法是按照 Kraft A：J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1，6，1999，705－14 中的方法，只是 DBU 的水解是在 145℃在氢氧化锂存在下进行（1 小时，5ml DBU，2ml 水，420mg 氢氧化锂水合物）。粗产物在硅胶上纯化，用氯仿/甲醇/氨水（80：40：4）混合物作洗脱剂，得到 1－（3－氨丙基）氮杂草－2－酮（4.973g，产率 87％）。

实施例 133－135，159 和 200

如以上实施例 190、189、191、192 和 203 所述进行，但是用 N－乙酰乙二胺代替 2－（2－氨乙基）吡啶，得到所要的化合物。N－乙酰乙二胺的制备方法是：将乙酸乙酯与乙二胺（1.5 当量）的混合物在封闭的容器内于 160℃加热 1 小时。真空蒸馏得到所要的产物，产率 56％。N－乙酰乙二胺也可由 Aldrich 购得。

实施例 146－140

如以上实施例 190、189、191、192 和 203 中所述进行，但是用 1－（3－氨丙基）四氢嘧啶－2－酮代替 2－（2－氨乙基）吡啶。前者的制备方法是：按 Kraft A 在 J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1，6，1999，705－14 中对 1－（3－氨丙基）氮杂草－2－酮所述的相同方法，简言之，将 1, 3, 4, 6, 7, 8－六氢－2H－嘧啶并[1, 2-a]嘧啶（4.939g）、水合氢氧化锂(918mg)和 2ml 水在不加溶剂的情形下于封闭容器中在 145℃加热 1 小时。粗产物在硅胶柱上纯化，用氯仿/甲醇/氨水（80：40：4）洗脱纯化，得到纯的胺（5.265g，产率 94％）。

实施例 141，160－162 和 185

如以上实施例 190、189、191、192 和 203 中所述进行，但是用 1－（2－氨乙基）哌嗪－2－酮代替 2－（2－氨乙基）吡啶，得到所要的化合物。该哌嗪酮的制备方法是：在室温和水浴冷却下，于 5 分钟内向 DBU（19.5ml, 130mmol）和二（2－氨乙基）胺（4.32ml, 40mmol）在无水二甲基乙酰胺（80ml）中的溶液滴加纯的叔丁基二苯基氯硅烷（25ml, 97.7mmol）。将混合物搅拌 5 小时，在冷却到室温的条件下加入溴乙酸乙酯（6.70ml, 60mmol）。将反应混合物搅拌 25 分钟，然后

在高真空下蒸发。残余物溶在甲醇（200ml）中，加入 $KHCO_3$（10g）和 KF（12g, 200mmol），将混合物在 60℃搅拌 5 小时。加入 10g Na_2CO_3，搅拌 10 分钟，冷却后过滤。将滤液蒸发，残余物用己烷萃取（2 次，250ml）。将己烷不溶物溶于乙醇（60ml），过滤和蒸发。残余物在硅胶上纯化，用氯仿/甲醇/氨水（80 : 40 : 4）洗脱，得到纯的胺（4.245g，产率 74％）。

实施例 163 - 167

如以上实施例 190、189、191、192 和 203 中所述进行，但是用 3 - 〔（2 - 氨基乙基）氨基〕丙腈（按 Israel, M 等在 J. Med. Chem. 7, 1964, 710 - 16 中所述，由乙二胺（150mmol）和丙烯腈（50mmol）在室温下于 THF 中反应得到所要的胺（4.294g））代替 2 - （2 - 氨基乙基）吡啶，得到所要的化合物。

实施例 168

5 - （5 - 氟 - 2 - 氧代 - 1, 2 - 二氢吲哚 - 3 - 亚基甲基）- 2, 4 - 二甲基 - 1H - 吡咯 - 3 - 羧酸〔2 - （4 - 甲基哌嗪 - 1 - 基）乙基〕酰胺

在搅拌下向 5 - 〔5 - 氟 - 2 - 氧代 - 1, 2 - 二氢吲哚 - （3Z）- 亚基甲基〕- 2, 4 - 二甲基 - 1H - 吡咯 - 3 - 羧酸（90mg）、DMF（0.8ml）和 TEA（0.084ml）在 20ml 反应管中的浆状混合物加入 BOP 试剂（199mg）。该混合物在 5 分钟内变透明。向此透明混合物中加入 2 - （4 - 甲基哌嗪 - 1 - 基）乙胺 [1]（51mg）。形成的溶液在室温下搅拌过夜。由反应体系中沉淀出黄色固体产物。薄层色谱法（10％甲醇/二氯甲烷）指示所有起始物都已转化成产物。抽气过滤分离出固体，用乙醇（1ml）洗一次。将该固体在乙醚（2ml）中超声 20 分，抽气过滤收集之。经真空干燥后，得到 5 - （5 - 氟 - 2 - 氧代 - 1, 2 - 二氢吲哚 - 3 - 亚基甲基）- 2, 4 - 二甲基 - 1H - 吡咯 - 3 - 羧酸（4 - 甲基哌嗪 - 1 - 基乙基）酰胺（79mg，产率 62％）。

^{1}H NMR (DMSO-d_6) δ 2.13 (s, 3H, CH_3), 2.40, 2.42 (2xs, 6H, 2x CH_3), 2.41 (m, 2H, CH_2), 2.47 (m, 8H, 4xCH_2), 3.30 (m, 2H, CH_2), 6.82 (dd, J=4.5, 8.7Hz, 1H), 6.91(td, ^{2}J=2.4, ^{3}J=8.8Hz, 1H), 7.43 (t, J=5.6Hz, 1H), 7.70 (s, 1H), 7.75 (dd, J=2.8, 9.6Hz, 1H) (芳族和乙烯基), 10.88 (s, 1H, CONH), 13.67 (s, 1H, NH). LC-MS (m/z) 424.4 (M-1).

实施例 169

5－（5－氯－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（4－甲基哌嗪－1－基乙基）酰胺

按照以上实施例 168 中的步骤，但是用 5－〔5－氯－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－（3Z）－亚基甲基〕－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（95mg, 0.3mmol）代替 5－〔5－氟－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－（3Z）－亚基甲基〕－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸，得到 5－（5－氯－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（4－甲基哌嗪－1－基乙基）酰胺（76mg，58％）。

^{1}H NMR (DMSO-d_6) δ 2.13 (s, 3H, CH_3), 2.41, 2.42 (2xs, 6H, 2x CH_3), 2.42 (m, 2H, CH_2), 2.48 (m, 8H, 4xCH_2), 3.30 (m, 2H, CH_2), 6.84 (d, J=8.0Hz, 1H), 7.11 (dd, J=2.0, 8.0Hz,1H), 7.44 (t, J=5.6Hz, 1H), 7.76 (s, 1H), 7.97 (d, J=2.0Hz, 1H) (芳族和乙烯基), 10.98 (s, 1H, CONH), 13.62 (s, 1H, NH). LC-MS (m/z) 440.2 (M-1).

实施例 170

5－（5－溴－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（4－甲基哌嗪－1－基乙基）酰胺

按照实施例 168 中所述步骤，但是用 5－（5－溴－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸代替 5－（5－氯－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸，由 SU 011670（54mg, 0.15mmol）得到 5－（5－溴－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（4－甲基哌嗪－1－基乙基）酰胺（39mg，54％）。

^{1}H NMR (DMSO-d_6) δ 2.14 (s, 3H, CH_3), 2.41, 2.42 (2xs, 6H, 2x CH_3), 2.42 (m, 2H, CH_2), 2.48 (m, 8H, 4xCH_2), 3.31 (m, 2H, CH_2), 6.80 (d, J=8.0Hz, 1H), 7.23 (dd, J=2.0, 8.0Hz, 1H), 7.44 (t, J=5.6Hz, 1H), 7.76 (s, 1H), 8.09 (d, J=2.0Hz, 1H) (芳族和乙烯基), 10.99 (s, 1H, CONH), 13.61 (s, 1H, NH). LC-MS (m/z) 486.6 (M).

实施例 172

5－（2－氧代－1,2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－2,4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（4－甲基哌嗪－1－基乙基）酰胺

按照以上实施例 168 中所述步骤，但是用 5－（2－氧代－1,2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－2,4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸代替 5－（5－氟－2－氧代－1,2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－2,4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸 SU 014900，得到 5－（2－氧代－1,2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－2,4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（4－甲基哌嗪－1－基乙基）酰胺，SU 014903（136mg，84％）是由 SU 012120（112.8mg，0.4mmol）得到。

^{1}H-NMR (DMSO-d_6) δ 2.13 (s, 3H, CH_3), 2.39, 2.42 (2xs, 6H, 2x CH_3), 2.42 (m, 2H, CH_2), 2.48 (m, 8H, 4xCH_2), 3.30 (t, 2H, CH_2), 6.86 (d, J=8.0Hz, 1H), 6.96 (t, J=7.4 Hz, 1H), 7.10 (t, J=7.8Hz, 1H), 7.41 (t, J=5.4Hz, 1H), 7.62 (s, 1H), 7.76 (d, J=7.6Hz, 1H) (芳族和乙烯基), 10.88 (s, 1H, CONH), 13.61 (s, 1H, NH). LC-MS (m/z) 406.6 (M-1).

实施例 171

5－〔2－氧代－1,2－二氢吲哚－（3Z）－亚基甲基〕－2,4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸〔2－（3,5－二甲基哌嗪－1－基）乙基〕酰胺

在搅拌下向 20m 反应管中的 5－〔2－氧代－1,2－二氢吲哚－（3Z）－亚基甲基〕－2,4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（112.8mg，0.4mmol）、DMF（0.5ml）和三乙胺（0.111ml）的黄色浆状混合物中加入 BOP 试剂（265mg）。该混合物在 5 分钟内变透明。向此透明混合物中加入 2－（2,6－二甲基哌嗪－1－基）乙胺（68.6mg）（见，Tapia, L. Alonso-Cires, P. Lopez-Tudanca, R. Mosquera, L. Labeaga, A. Innerarity, A. Orjales, J. Med. Chem., 1999，42，2870－2880）。形成的溶液在室温下搅拌过夜。薄层色谱法（10％甲醇/二氯甲烷）指示所有的起始物均已转化成产物。将反应混合物蒸发至干，然后用快速色谱法（CH_2Cl_2/CH_3OH = 20/1～15/1）纯化。随后重结晶，得到 5－〔2－氧代－1,2－二氢吲哚－（3Z）－亚基甲基〕－2,4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸〔2－（3,5－二甲基哌嗪－1－基）乙基〕酰胺（83mg，产

率 50％）。

^{1}H NMR (DMSO-d_6) δ 1.15, 1.16 (2xs, 6H, 2xCH_3), 1.95 (t, J=11.6Hz, 2H, CH_2), 2.41, 2.47 (2xs, 6H, 2xCH_3), 2.50 (m, 2H, CH_2), 3.03 (d, J=10Hz, 2H), 3.19 (m, 2H), 3.30 (m, 2H, CH_2), 6.86 (d, J=8.0Hz, 1H), 6.97 (t, J=7.2 Hz, 1H), 7.11 (t, J=7.8Hz, 1H), 7.48 (t, J=5.6 Hz, 1H), 7.61 (s, 1H), 7.75 (d, J=7.6 Hz, 1H) (芳族和乙烯基), 10.88 (s, 1H, CONH), 13.62 (s, 1H, NH). LC-MS (m/z) 422.2 (M+1).

实施例 173

5－〔5－氟－2－氧代－1,2－二氢吲哚－（3Z）－亚基甲基〕－2,4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸〔2－（3,5－二甲基哌嗪－1－基）乙基）酰胺

按照实施例 168 中所述步骤得到所要的化合物（60mg, 0.2mmol）。

^{1}H NMR (DMSO-d_6) δ 0.891, 0.907 (2xs, 6H, 2xCH_3), 1.49 (t, J=10.4Hz, 2H), 2.40, 2.42 (2xs, 6H, 2x CH_3), 2.41 (m, 2H, CH_2), 2.74 (m, 4H), 3.30 (m, 2H), 6.82 (dd, J=4.5, 8.7Hz, 1H), 6.90 (td, ^{2}J=2.4, ^{3}J=8.4Hz, 1H), 7.42 (t, J=5.6Hz, 1H), 7.70 (s, 1H), 7.74 (dd, J=4.6, 8.4Hz, 1H) (芳族和乙烯基), 10.88 (s, 1H, CONH), 13.65 (s, 1H, NH). LC-MS (m/z) 438.4 (M-1).

实施例 174

5－〔5－氯－2－氧代－1,2－二氢吲哚－（3Z）－亚基甲基〕－2,4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸〔2－（3,5－二甲基哌嗪－1－基）乙基）酰胺

按照实施例 171 中所述步骤，由 5－〔5－氯－2－氧代－1,2－二氢吲哚－(3Z)－亚基甲基〕－2,4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸(63mg, 0.2mmol）得到所要的化合物（31.2mg，34％）。

^{1}H NMR (DMSO-d_6) δ 1.15, 1.16 (2xs, 6H, 2xCH_3), 1.95 (t, J=11.6Hz, 2H, CH_2), 2.40, 2.42 (2xs, 6H, 2xCH_3), 2.50 (m, 2H, CH_2), 3.03 (d, J=11.2Hz, 2H), 3.19 (m, 2H), 3.30 (m, 2H, CH_2), 6.85 (d, J=8.4Hz, 1H), 7.11 (dd, J=2.0, 8.0Hz,1H), 7.52 (t, J=5.6Hz, 1H), 7.76 (s, 1H), 7.97 (d, J=2.0Hz, 1H) (芳族和乙烯基), 10.99 (s, 1H, CONH), 13.63 (s, 1H, NH). LC-MS (m/z) 456.2 (M+1).

实施例 175

5－〔5－溴－2－氧代－1,2－二氢吲哚－（3Z）－亚基甲基〕－2,4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸〔2－（3,5－二甲基哌嗪－1－基）乙基）酰胺

按照实施例 171 中所述步骤，由 5－〔5－溴－2－氧代－1,2－二氢吲哚－(3Z)－亚基甲基〕－2,4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸(74mg, 0.2mmol）得到所要的化合物（40mg，40％）。

^{1}H NMR (DMSO-d_6) δ 1.15, 1.16 (2xs, 6H, 2xCH_3), 1.95 (t, J=11.6Hz, 2H, CH_2), 2.40, 2.42 (2xs, 6H, 2xCH_3), 2.50 (m, 2H, CH_2), 3.03 (d, J=10.4Hz, 2H), 3.19 (m, 2H), 3.30 (m, 2H, CH_2), 6.81 (d, J=8.4Hz, 1H), 7.24 (dd, J=2.0, 8.4Hz, 1H), 7.51 (t, J=5.6Hz, 1H), 7.76 (s, 1H), 8.10 (d, J=2.0Hz, 1H) (芳族和乙烯基), 10.99 (s, 1H, CONH), 13.62 (s, 1H, NH). LC-MS (m/z) 498.4 (M-1).

生物实施例

以下试验用于寻找具有最佳程度所要活性的那些化合物。

A．试验步骤

以下试验可以用来测定本发明各种化合物对于一种或多种 PK 的活性和作用的水平。按照同一原理可以用本领域众所周知的方法对于任何 PK 设计类似的试验。

这里所述的试验中有几种是按照 ELISA（酶联免疫吸附测定）方式完成的（Voller 等，1980，“Enzyme-Linked Immunosorbent Assay”

（酶联免疫吸附测定），Manual of Clinincal Immunology，第 2 版，Rose 和 Friedman, Am. Soc. of Microbiology, Washington, D. C. pp 359－371）。其通用步骤如下：将化合物引入到以自然或重组的方式表达试验激酶的细胞一段选定的时间，随后，如果所试激酶是一种受体，则加入已知会激活该受体的配体。将该细胞裂解，裂解物转移到 ELISA 板的孔中，该板预先涂敷能识别酶促磷酸化反应的底物的特异性抗体。将细胞裂解物中的非底物组分洗掉，底物上的磷酸化量用特异识别磷酸酪氨酸的抗体检测，并与未和试验化合物接触的对照细胞比较。

下面是对于特定的 PK 进行 ELISA 实验的优选方案。但是，对于这些方案进行修改以便测定化合物对其它 RTK 以及 CTK 和 STK 的活性完全属于本领域技术人员的知识范围。这里所述的其它试验测量了因响应所试激酶的活化而产生的 DNA 的数量，它是增殖反应的一般量度。此试验的通用步骤如下：将化合物引入到以自然方式或重组方式表达试验激酶的细胞一段时间，随后，如果激酶是一种受体，则加入已知会激活该受体的配体。在培养至少过夜后，加入 DNA 标记试剂如 5－溴脱氧尿苷（BrdU）或 H^3－胸苷。标记的 DNA 的数量用抗 BrdU 抗体检测，或者用测定放射性方法检测，并与未和试验化合物接触的对照细胞比较。

GST－FLK－1 生物测定

此试验分析了在聚（glu, tyr）多肽上的 GST－Flkl 的酪氨酸激酶活性。

材料和试剂:

1. Corning 96 孔 ELISA（Corning 产品目录号：5805－96）。

2. 聚（glu, tyr）4:1，冷冻干燥物（Sigma 产品目录号# p 0275）。

3. 聚（glu, tyr）（pEY）涂敷试验板的制备：每孔涂敷 2μg 聚（glu, tyr）（pEY）/100μl PBS，在室温下保持 2 小时或在 4℃下过夜。盖好板以防止蒸发。

4. PBS 缓冲液：对于每 1 升，将 0.2g KH_2PO_4、1.15g Na_2HPO_4、0.2g KCl 和 8g NaCl 在约 900ml dH_2O 中混合。当所有试剂都溶解后，用 HCl 将 pH 调节到 pH 7.2。用 dH_2O 将总体积调节到 1 升。

5. PBST 缓冲液：每 1 升 PBS 缓冲液中加 1.0ml Tween-20。

6. TBB－封阻缓冲剂：对于每 1 升，将 1.21g Tris、8.77g NaCl、1ml Tween－20 在约 900ml dH_2O 中混合。用 HCl 调节至 pH 7.2。加 10g BSA，搅拌至溶解。用 dH_2O 调节总体积至 1 升，过滤除去颗粒物。

7. 1％BSA/PBS：为制备 1 倍的工作溶液，向约 990ml PBS 缓冲液中加 10g BSA，搅拌至溶解。用 PBS 缓冲液调节总体积至 1 升，过滤除去颗粒物。

8. 50mM Hepes，pH 7.5。

9. 由 sf9 重组杆状病毒转化纯化的 GST－Flkkcd（SUGEN, Inc.）

10. 4％DMSO 的 dH_2O 溶液。

11. 10 mM ATP 的 dH_2O 溶液。

12. 40mM $MnCl_2$。

13. 激酶稀释缓冲液（KDB）：将 10ml Hepes（pH 7.5）、1 ml 5M NaCl、40μl 100mM 原钒酸钠和 0.4ml 5％BSA/dH_2O 与 88.56ml dH_2O 混合。

14. NUNC 96 孔 V 形底聚丙烯板，Applied Scientific 产品目录 # AS－72092。

15. EDTA：将 14.12g 乙二胺四乙酸（EDTA）与约 70ml dH_2O 混合，加 10 N NaOH 直至 EDTA 溶解。调节 pH 至 8.0。用 dH_2O 调节总体积至 100ml。

16. 1°抗体稀释缓冲液：将 10ml 5％BSA/PBS 缓冲液与 89.5ml TBST 混合。

17. 与辣根过氧化物酶缀合的抗磷酸酪氨酸单克隆抗体（PY 99 HRP，Santa Cruz Biotech）。

18. 2, 2′－连氮基二（3－乙基苯并噻唑啉－6－磺酸（ABTS，MOSS，产品目录 ABST）。

19. 10％SDS。

步骤

1. 如材料和试剂中步骤 3 所述，用 2μg 聚 EY 多肽/无菌的 PBS 涂覆 Corning 96 孔 ELISA 板。

2. 将板倒置，除去孔中未结合的液体。用 TBST 洗一次。在纸巾上拍打该板以除去多余的液体。

3. 每孔中加 100μl 的 1％BSA/PBS。在搅拌下于室温培养 1 小时。

4. 重复步骤 2。

5. 用 50mM HEPES（pH 7.5）浸泡各孔，每孔 150μl。

6. 用 dH_2O/4％DMSO 将试验化合物稀释至 96 孔中最终要求浓度的 4 倍。

7. 向 ELISA 板中加 25μl 稀释过的试验化合物。在对照孔中放置 25μl 的 dH_2O/4％DMSO。

8. 每孔中加 25μl 含 4×ATP（2μm）的 40mM $MnCl_2$。

9. 在阴性对照孔中加 25μl 0.5M EDTA。

10. 用 KDB 将 GST－Flk1 稀释至 0.005μg（5ng）/孔。

11. 每孔加 50μl 稀释过的酶。

12. 在室温下摇动培养 15 分钟。

13. 加入 50μl 250mM EDTA（pH 8.0）以停止反应。

14. 用 TBST 洗板三次，并在纸巾上拍打以除去多余液体。

15. 每孔中加 100μl 在抗体稀释缓冲液中按 1∶5000 稀释的抗磷酸酪氨酸 HRP 缀合物。在室温下摇动培养 90 分。

16. 如步骤 14 一样洗涤。

17. 每孔中加 100μl 室温的 ABTS 溶液。

18. 在摇动下培养 10－15 分。除去任何气泡。

19. 每孔中加 20μl 的 10％SDS 以停止反应。

20. 在 Dynatech MR 7000 ELISA 读数器上读出结果，试验滤板在 410nM，参考滤板在 630nM。

PYK2 生物测定

此试验用于测定已附加 HA 表位的全长 pyk2（FL. Pyk2－HA）在 ELISA 试验中的体外激酶活性。

材料和试剂

1. Corning 96 孔 ELISA 板。

2. 12CA5 单克隆抗 HA 抗体（SUGEN, Inc.）

3. PBS（Dulbecco 磷酸盐缓冲盐水，Gibco 产品目录＃450－1300EB）

4. TBST 缓冲液：对于 1 升，将 8.766g NaCl、6.057g Tris 和 1 ml 0.1％Triton X－100 在约 900ml dH_2O 中混合。调节 pH 至 7.2，

调节体积至 1 升。

5. 封阻缓冲液：对于 1 升，将 100g 10％BSA、12.1g 100mM Tris、58.44g 1M NaCl 和 10ml 1％ Tween－20 混合。

6. 自 sf 9 细胞裂解物得到的 Fl, pyk 2－HA（SUGEN, Inc.）。

7. 4％DMSO 在 Milli－Q 水中溶液。

8. 10mM ATP/dH_2O

9. 1 M $MnCl_2$

10. 1 M $MgCl_2$

11. 1 M 二硫苏糖醇（DTT）。

12. 10 倍浓度的激酶磷酸化缓冲液：将 5.0ml 1M Hepes（pH 7.5）、0.2ml 1M $MnCl_2$、1.0ml 1M $MgCl_2$、1.0ml 10％Triton X－100 在 2.8ml dH_2O 中混合，使用前加 0.1ml 1M DTT。

13. NUNC 96 孔 V 形底聚丙烯板。

14. 500mM EDTA / dH_2O

15. 抗体稀释缓冲液：对于 100ml，1 ml 5％BSA/PBS 和 1ml 10％Tween－20 在 88ml TBS 中混合。

16. HRP 缀合的抗－ptyr py 99，Santa Cruz Biotech 产品目录号 SC－7020。

17. ABTS，Moss，产品目录号 ABST－2000。

18. 10％ SDS。

步骤

1. Corning 96 孔 ELISA 板的每个孔用 0.5μg 12CAS 抗－HA 抗体/ 100μl PBS 涂覆。在 4℃贮存过夜。

2. 将板倒转，除掉孔中未结合的 HA 抗体。用 dH_2O 洗板。在纸巾上拍打该板以除掉多余的液体。

3. 每孔中加 150μl 封阻缓冲液。在室温和摇动下培养 30 分钟。

4. 用 TBS－T 洗板 4 次。

5. 在 PBS 中稀释裂解物（1.5μg 裂解物/ 100μl PBS）。

6. 每孔中加 100μl 稀释过的裂解物。室温下摇动 1 小时。

7. 如步骤 4 一样洗。

8. 向含捕获的 pyk 2－HA 的 ELISA 板加 50μl 2x 激酶缓冲液。

9. 各孔中加 25μl 的 400μM 试验化合物/ 4％DMSO。对照的孔中

只用 4％DMSO。

10. 向阴性对照孔中加 25μl 0.5M EDTA。

11. 所有孔中均加 25μl 的 20μM ATP。摇动下培养 10 分钟。

12. 各孔中均加入 25μl 500mM EDTA（pH 8.0）以停止反应。

13. 如步骤 4 一样洗。

14. 各孔中加 100μl 缀合了 HRP、并用抗体稀释缓冲液按 1∶6000 稀释的抗－ptyr。在室温下摇动培养 1 小时。

15. 用 TBST 洗板 3 次，用 PBS 洗 1 次。

16. 各孔中加 100μl ABST 溶液。

17. 如有必要，向各孔中加 20μl 10％SDS 以停止发育反应。

18. 在 ELISA 读数器上读板，试验滤板在 410nm，参考滤板在 630nm。

FGFR 1 生物测定

此试验用于测定 FGF1－R 在 ELISA 试验中的体外激酶活性。

材料和试剂

1. Costar 96 孔 ELISA 板（Corning 产品目录＃3369）。

2. 聚（Glu－Tyr）（Sigma 产品目录＃PO275）。

3. PBS（Gibco 产品目录＃450－1300 EB）

4. 50mM Hepes 缓冲液

5. 封阻缓冲液（5％BSA/PBS）。

6. 纯化过的 GST－FGFR1（SUGEN，Inc.）

7. 激酶稀释缓冲液。将 500μl 1M Hepes（GIBCO）、20μl 5％BSA/PBS、10μl 100mM 原钒酸钠和 50μl 5M NaCl 混合。

8. 100mM ATP。

9. ATP/$MnCl_2$ 磷酸化混合物：将 20μl ATP、400μl 1M $MnCl_2$ 和 9.56ml dH_2O 混合。

10. NUNC 96 孔 V 形底聚丙烯板（Applied Scientific Catalog＃AS－72092）。

11. 0.5 M EDTA。

12. 0.05％TBST。向 1 升 TBS 中加 500μl Tween。

13. 兔多克隆抗磷酸酪氨酸血清（SUGEN，Inc.）。

14. 羊抗兔 IgG 过氧化物酶缀合物（Biosource，产品目录＃ALI

0404）。

15. ABTS 溶液。

16. ABTS/H_2O_2 溶液。

步骤：

1. 涂覆 Costar 96 孔 ELISA 板，每孔用 1μg 聚(Glu, Tyr)/100μl PBS。在 4℃存放过夜。

2. 用 PBS 洗涂覆过的板一次。

3. 向各孔中加 150μl 5％BSA/PBS 封阻缓冲液。在摇动下于室温培养 1 小时。

4. 用 PBS 洗板 2 次，然后用 50mM Hepes 洗 1 次。在纸巾上拍打板以除掉多余的液体 和气泡。

5. 向板中加 25μl 的 0.4mM 试验化合物/4％DMSO，或只加 4％DMSO（对照孔）。

6. 用激酶稀释缓冲液稀释纯化过的 GST－FGFR1（每孔 5ng 激酶/50μl KDB）。

7. 向各孔中加 50μl 稀释过的激酶。

8. 加入 25μl/孔的刚制备的 ATP/Mn^{++}（0.4ml 1 M $MnCl_2$、40μl 10mM ATP、9.56ml dH_2O，新鲜制得），开始激酶反应。

9. 这是一个快激酶反应，必须以和加入 ATP 相似的方式用 25μl 0.5M EDTA 停止反应。

10. 用新制得的 TBST 洗板 4 次。

11. 制备抗体稀释缓冲液。每 50ml：将 5ml 5％BSA、250μl 5％牛奶和 50μl 100mM 钒酸钠混合，加 0.05％TBST 至最终体积。

12. 每孔加 100μl 抗磷酸酪氨酸（在 ADB 中按 1 ：10000 稀释）。在室温和摇动下培养 1 小时。

13. 如步骤 10 一样洗涤。

14. 每孔中加 100μl Biosource 羊抗兔 IgG 过氧化物酶缀合物（在 ADB 中按 1：6000 稀释）。室温下摇动培养 1 小时。

15. 如步骤 10 中一样洗，然后用 PBS 洗以除去气泡和多余的 Tween。

16. 向各孔中加 100μl ABTS/H_2O_2 溶液。

17. 在摇动下培养 10－20 分，除去任何气泡。

18. 在 Dynatech MR 7000 ELISA 读数器上读数：试验滤板在 410nM，参考滤板 630nM。

EGFR 生物测定

此试验用于测定 FGF1－R 在 ELISA 试验中的体外激酶活性

材料和试剂

1. Corning 96 孔 ELSIA 板

2. SUMO1 单克隆抗 EGFR 抗体（SUGEN，Inc.）

3. PBS

4. TBST 缓冲液

5. 封阻缓冲液：对于 100ml，将 5.0g Cornation 速溶脱脂奶与 100ml PBS 混合。

6. A431 细胞裂解物（SUGEN，Inc.）。

7. TBS 缓冲液

8. TBS + 10％DMSO：对于每升，将 1.514g Tris、2.192g NaCl 和 25ml DMSO 混合，用 dH_2O 加至总体积 1 升。

9. ATP（腺苷－5′－三磷酸，得自马肌肉（Sigma 产品目录号 A－5394），1.0mM 的 dH_2O 溶液。此试剂应在用前即时配制并在冰上保存。

10. 1.0mM $MnCl_2$。

11. ATP/$MnCl_2$ 磷酸化混合物：为制备 10ml，将 300μl 1mM ATP、500μl $MnCl_2$ 和 9.2ml dH_2O 混合。在用前即时配制，保存在冰上。

12. NUNC 96 孔 V 形底聚丙烯板。

13. EDTA。

14. 兔多克隆抗磷酸酪氨酸血清（SUGEN，Inc.）。

15. 羊抗兔 IgG 过氧化物酶缀合物（Biosource 产品目录号 ALI 0404）。

16. ABTS

17. 30％过氧化氢

18. ASTS/H_2O_2

19. 0.2M HCl。

步骤

1. 涂覆 Corning 96 孔 ELISA 板，每孔用 0.5μg SUMO1/100μl PBS，在 4℃贮存过夜。

2. 将板倒转以去掉孔中未结合的 SUMO1。用 dH_2O 洗 1 次。在纸巾上拍打板以除去多余的液体。

3. 各孔中加入 150μl 封阻缓冲液。在室温和摇动下培养 30 分。

4. 用去离子水洗板 3 次，然后用 TBST 洗 1 次。在纸巾上拍打该板以除去多余的液体和气泡。

5. 用 PBS 稀释裂解物（7μg 裂解物/100μl PBS）。

6. 向各孔中加 100μl 稀释过的裂解物。室温下摇动 1 小时。

7. 如步骤 4 一样洗板。

8. 向含捕获的 EGFR 的 ELISA 板中加 120μl TBS。

9. 用 TBS 稀释试验化合物（1：10），置于板中。

10. 向 ELISA 板中加 13.5μl 稀释的试验化合物。对照的孔中则加 13.5μl TBS / 10％DMSO。

11. 在室温和摇动下培养 30 分。

12. 向除了阴性对照孔以外的所有孔中各加 15μl 磷酸化混合物。最终的孔体积应约为 150μl，每孔中的最终浓度为 3μM ATP/5mM $MnCl_2$。在摇动下培养 5 分钟。

13. 在摇动下加入 16.5μl EDTA 溶液以停止反应。再摇 1 分钟。

14. 用去离子水洗 4 次，TBST 洗 2 次。

15. 每孔中加 100μl 抗磷酸酪氨酸（按 1：3000 用 TBST 稀释）。在室温和摇动下培养 30－45 分。

16. 如以上步骤 4 一样洗板。

17. 各孔中均加 100μl Biosource 羊抗兔 IgG 过氧化物酶缀合物（按 1：2000 用 TBST 稀释）。在室温和摇动下培养 30 分。

18. 如以上步骤 4 一样洗板。

19. 各孔中加 100μl ABTS/H_2O_2 溶液。

20. 在摇动下培养 5－10 分钟。去掉任何气泡。

21. 如有必要，加入 100μl 0.2M HCl/孔以停止反应。

22. 在 Dynatech MR 7000 ELISA 读数器上读取数据：试验滤板在 410nM，对照滤板在 630nM。

PDGFR 生物测定

此试验用于测定 FGF1－R 在 ELISA 试验中的体外激酶活性。

材料和试剂

1. Corning 96 孔 ELISA 板

2. 28D4C10 单克隆抗－PDGFR 抗体（SUGEN，Inc.）

3. PBS

4. TBST 缓冲液

5. 封阻缓冲液（与 EGFR 生物测定中相同）。

6. PDGFR－β表达的 NIH 3T3 细胞裂解物（SUGEN，Inc.）。

7. TBS 缓冲液

8. TBS + 10％DMSO

9. ATP

10. $MnCl_2$

11. 激酶磷酸化缓冲液混合物：对于 10ml，将 250μl 1M Tris、200μl 5M NaCl、100μl 1 M $MnCl_2$ 和 50μl 100mM Triton X－100 在足量的 dH_2O 中混合，得到 10ml。

12. NUNC 96 孔 V 形底聚丙烯板。

13. EDTA。

14. 兔多克隆抗磷酸酪氨酸血清（SUGEN，Inc.）

15. 羊抗兔 IgG 过氧化物酶缀合物（Biosource 产品目录 ALI 0404）。

16. ABTS。

17. 过氧化氢，30％溶液。

18. ABTS/H_2O_2。

19. 0.2 M HCl。

步骤

1. 涂覆 Corning 96 孔 ELISA 板，每孔用 0.5μg/28D4C10/100μl PBS，在 4℃贮存过夜。

2. 将板倒转除掉液体，从各孔除去未结合的 28D4C10。用 dH_2O 洗 1 次。在纸巾上拍打该板以除掉多余的液体。

3. 向每孔中加入 150μl 封阻缓冲液。在室温和摇动下培养 30 分钟。

4. 用去离子水洗板 3 次，然后用 TBST 洗 1 次。在纸巾上拍打该

板以除去多余的液体和气泡。

5. 用 HNTG 稀释裂解物（10μg 裂解物/100μl HNTG）。

6. 向每孔中加入 100μl 稀释过的裂解物。室温下摇动 60 分。

7. 如步骤 4 中所述洗板。

8. 向含捕获 PDGFR 的 ELISA 板中加 80μl 激酶缓冲液。

9. 在 96 孔聚丙烯板中按 1：10 用 TBS 稀释试验化合物。

10. 向 ELISA 板中加 10μl 稀释的试验化合物。对照孔中加 10μl TBS + 10％DMSO。在室温和摇动下培养 30 分钟。

11. 向除了阴性对照孔之外的所有孔中直接加 10μl ATP（每孔中的最终体积应为约 100μl，含 20μM ATP）摇动下培养 30 分。

12. 向各孔中加 10μl EDTA 停止反应。

13. 用去离子水洗 4 次，用 TBST 洗 2 次。

14. 每孔中加 100μl 抗磷酸酪氨酸（在 TBST 中按 1：3000 稀释）。在室温下摇动培养 30－45 分钟。

15. 如步骤 4 一样洗板。

16. 每孔中加 100μl Biosource 羊抗兔 IgG 过氧化物酶缀合物（在 TBST 中按 1：2000 稀释）。室温下摇动培养 30 分。

17. 如步骤 4 一样洗板。

18. 每孔中加 100μl ABTS/H_2O_2 溶液。

19. 摇动下培养 10－30 分。去除任何气泡。

20. 必要时每孔加 100μl 0.2M HCl 以停止反应。

21. 在 Dynatech MR 7000 ELISA 读取器上读数测定，试验滤板在 410nm，参考滤板在 630nm。

细胞 HER－2 激酶测定

此试验用于以 ELISA 方式测定全细胞中 HER－2 激酶活性。

材料和试剂：

1. DMEM（GIBCO 产品目录＃11965－092）。

2. 胎牛血清（FBS，GIBCO 产品目录＃16000－044），在 56℃下于水浴中加热失活 30 分钟。

3. 胰蛋白酶（GIBCO 产品目录＃25200－056）。

4. L－谷氨酰胺（GIBCO 产品目录＃25030－081）。

5. HEPES（GIBCO 产品目录＃15630－080）。

6. 生长培养基：将 500ml DMEM、55ml 热失活的 FBS、10ml HEPES 和 5.5ml L－谷氨酰胺混合。

7. 饥饿培养基：将 500ml DMEM、2.5ml 热失活的 FBS、10ml HEPES 和 5.5ml L－谷氨酰胺混合。

8. PBS。

9. 平底 96 孔组织培养微量滴板（Corning 产品目录＃25860）。

10. 15cm 组织培养皿（Corning 产品目录＃08757148）。

11. Corning 96 孔 ELISA 板。

12. NUNC 96 孔 V 形底聚丙烯板。

13. Transtar 96 用的 Costar 转移元件（Costar＃7610）。

14. SUMO 1：单克隆抗 EGFR 抗体（SUGEN，Inc.）。

15. TBST 缓冲液

16. 封阻缓冲液：5％的 Carnation 速溶牛奶在 FBS 中。

17. EGF 配体：EGF－201，Shinko American, Japan。悬浮在 100μl 10mM HCl 中的粉末。加 100μl 10mM NaOH。加 800μl PBS 并转移到微量离心管中，在－20℃下贮存直至准备使用。

18. HNTG 裂解缓冲液：

对于 5 倍 HNTG 储备液，将 23.83g HEPES，43.83g NaCl、500ml 甘油和 100ml Triton X－100 及足量的 dH_2O 混合，制得 1 升溶液。

对于 1 倍 HNTG*，将 2ml HNTG、100μl 0.1M Na_3VO_4、250ml 0.2M $Na_4P_2O_7$ 和 100μl EDTA 混合。

19. EDTA

20. Na_3VO_4，为制备储备液，将 1.84g Na_3VO_4 与 90ml dH_2O 混合，调节 pH 至 10，在微波炉内煮沸 1 分钟（溶液变透明），冷却至室温。调节 pH 至 10。重复加热/冷却循环，直至 pH 保持在 10。

21. 200mM $Na_4P_2O_7$。

22. 对磷酸酪氨酸特异的兔多克隆抗血清（抗 ptyr 抗体，SUGEN，Inc.）。

23. 亲和纯化的抗血清，羊抗兔 IgG 抗体，过氧化物酶缀合物（Biosource 产品目录＃ALI0404）。

24. ABTS 溶液。

25. 30％过氧化氢溶液。

26. ABTS/H_2O_2。

27. 0.2M HCl。

步骤

1. 涂覆 Corning 96 孔 ELISA 板，每孔用 1.0μg SUMO1/PBS，最终孔体积为每孔 100μl。在 4℃贮存过夜。

2. 在使用的当天，去掉涂布缓冲液，用 dH_2O 洗板 3 次，用 TBST 缓冲液洗 1 次。除非另外指明，此试验中所有洗涤均应以这种方式进行。

3. 向各孔中加 100μl 封阻缓冲液。在室温和摇动下将板培养 30 分。在使用前的即刻洗板。

4. 对于此试验，使用 EGFr/HER－2 嵌合体/3T3－C7 细胞系。

5. 选择有 80－90％融合的培养皿。通过胰蛋白酶消化和在室温下于 1000 rpm 离心 5 分钟，收集细胞。

6. 将细胞再悬浮于饥饿培养基中，用台盼蓝计数。要求生存力在 90％以上。在 96 孔微量板中接种饥饿培养基中的细胞，密度为每孔 90μl，2500 个细胞。接种的细胞在 5％CO_2下于 37℃培养过夜。

7. 接种 2 天后开始测定。

8. 将试验化合物溶在 4％DMSO 中。然后用饥饿 DMEM 在板上直接稀释。通常，此稀释比为 1：10 或更高。然后将所有各孔都在细胞板上转移，作进一步的 1：10 稀释（10μl 样品和培养基转移到 90μl 饥饿培养基中）。最终 DMSO 浓度应为 1％或更低。也可以采用标准的系列稀释。

9. 在 5％CO_2和 37℃下培养 2 小时。

10. 将 EGF 储备液（16.5μM）在温热的 DMEM 中稀释至 150nM，制备 EGF 配体。

11. 准备数量足以每孔 100μl 的新鲜的 HNTG*，放在冰上。

12. 与试验化合物一起培养 2 小时后，向细胞中加入配制的 EGF 配体，每孔 50μl，最终浓度为 50nM。阳性对照孔中加相同数量的 EGF。阴性对照孔中不加 EGF。在 37℃培养 10 分钟。

13. 去掉试验化合物、EGF 和 DMEM。用 PBS 洗细胞一次。

14. 将 HNTG*转移至细胞，每孔 100μl。在冰上放 5 分钟。同时去除 ELISA 板中的封阻缓冲液并洗涤。

15. 用微量移液管刮取板上的细胞，通过反复抽吸和分散 HNTG* 裂解缓冲液将细胞材料均化。将裂解物转移到一只涂覆、封阻和洗过的 ELISA 板上。或者，使用 Costar 转移器将裂解物转移到板上。

16. 在室温和摇动下培养 1 小时。

17. 除去裂解物、洗涤。向 ELISA 板上加新稀释的抗 ptyr 抗体（在 TBST 中以 1：3000 稀释），每孔 100μl。

18. 在室温和摇动下培养 30 分钟。

19. 除去抗 ptyr 抗体，洗涤。向 ELISA 板中加刚稀释的 Biosource 抗体（在 TBST 中以 1：8000 稀释，每孔 100μl）。

20. 在室温和摇动下培养 30 分钟。

21. 除去 Biosource 抗体，洗涤。向 ELISA 板中转移刚制备的 ABTS/H_2O_2 溶液，每孔 100μl。

22. 在摇动下培养 5－10 分钟。除掉任何气泡。

23. 加入 100μl 0.2M HCl/孔以停止反应。

24. 在 Dynatech MR 7000 ELISA 读数器上读取数据，试验滤板在 410nM，参考滤板在 630nm。

CDK2/Cyclin（细胞周期调节蛋白）A 试验

此试验用于以闪烁亲近测定法测定人 cdk2/cyclin A 的体外丝氨酸/苏氨酸激酶活性

材料和试剂

1. Wallac 96 孔聚对苯二甲酸乙二醇酯（flexi）板（Wallac 产品目录＃1450－401）。

2. Amersham Redivue [γ^{33}P] ATP（Amersham 产品目录＃AH 9968）。

3. Amersham 链霉抗生物素蛋白包覆的聚乙烯基甲苯 SPA 珠（Amersham 产品目录＃RPNQ 0007）。此珠应在不含镁或钙的 PBS 中重组，20mg/ml。

4. 自 sf 9 细胞纯化得到的活化的 cdk2/cyclin A 酶络合物（SUGEN, Inc.）。

5. 生物素酰化的肽底物（Debtide）。将肽生物素-X-PKTPKKAKKL 溶于 dH_2O 中，浓度为 5mg/ml。

6. 肽/ATP 混合物：对于 10ml，将 9.979ml dH_2O、0.00125ml “冷”

ATP、0.010ml Debtide 和 0.010ml $\gamma^{33}P$ ATP 混合。每孔的最终浓度为 0.5μM "冷" ATP、0.1μg Debtide 和 0.2 μCi $\gamma^{33}P$ ATP。

7. 激酶缓冲液：对于 10ml，将 8.85ml dH_2O、0.625ml Tris（pH 7.4）、0.25ml 1M $MgCl_2$、0.25ml 10% NP40 和 0.025ml 1M DTT 混合，在使用前的即刻加入。

8. 10mM ATP /dH_2O。

9. 1 M Tris，用盐酸调节至 pH 7.4。

10. 1 M $MgCl_2$。

11. 1 M DTT。

12. PBS（Gibco 产品目录 #14190－144）

13. 0.5M EDTA.

14. 停止溶液：对于 10ml，将 9.25ml PBS、0.005ml 100mM ATP、0.1ml 0.5M EDTA、0.1ml 10% Triton X－100 和 1.25ml 20mg/ml SPA 珠混合。

步骤

1. 配制试验化合物在 5%DMSO 中的溶液，其浓度为所要求的最终浓度的 5 倍。向各孔中加 10μl。对于阴性对照孔中只使用 10μl 5% DMSO。

2. 用 2.1ml 2x 激酶缓冲液稀释 5μl cdk2/cyclin A 溶液。

3. 向各孔中加 20μl 酶。

4. 向阴性对照孔中加 10μl 0.5M EDTA。

5. 为起始激酶反应，向各孔中加 20μl 肽/ATP 混合物。

6. 向各孔加 200μl 停止溶液。

7. 保持至少 10 分钟。

8. 以约 2300 rpm 旋转板 3－5 分钟。

9. 用 Trilux 或类似的读数器对板计数。

MET 转磷酸化作用

此试验用来测量聚（谷氨酸：酪氨酸（4：1））底物上的磷酸酪氨酸水平，作为鉴定该底物的 met 转磷酸化作用的激动剂/拮抗剂的一种方法

材料和试剂

1. Corning 96 孔 Elisa 板，Corning 产品目录 #25805－96。

2. 聚（glu, tyr）4：1，Sigma，产品目录 No: p 0275。

3. PBS，Gibco 产品目录号 #450－1300 EB

4. 50mM HEPES

5. 封阻缓冲剂：在 500ml PBS 中溶解 25g 牛血清蛋白，Sigma 产品目录号 A－7888，经 4μm 滤器过滤。

6. 含 met 激酶域的纯化的 GST 融合蛋白标记物，Sugen, Inc.

7. TBST 缓冲液。

8. 10％DMSO 水（Milli－Q 水）溶液。

9. 10mM 腺苷－5′－三磷酸水溶液（dH_2O），Sigma 产品目录号 A－5394。

10. 2x 激酶稀释缓冲液：对于 100ml，将 10ml 1M Hepes（pH 7.5）与 0.4ml 5％BSA/PBS、0.2ml 0.1M 原钒酸钠和 1ml 5M 氯化钠在 88.4ml dH_2O 中混合。

11. 4x ATP 反应混合物：对于 10ml，将 0.4ml 1M 氯化锰和 0.02ml 0.1M ATP 在 9.56ml dH_2O 中混合。

12. 4x 阴性对照混合物：对于 10ml，将 0.4ml 1M 氯化锰与 9.6ml dH_2O 混合。

13. NUNC 96 孔 V 形底聚丙烯板，Applied Scientific 产品目录号 #S－72092。

14. 500mM EDTA

15. 抗体稀释缓冲液：对于 100ml，将 10ml 5％BSA/PBS、0.5ml 5％Carnation 速溶奶/PBS 和 0.1ml 0.1M 原钒酸钠在 88.4ml TBST 中混合。

16. 兔多克隆抗磷酸酪氨酸抗体，Sugen, Inc.

17. 羊抗兔辣根过氧化物酶缀合的抗体，Biosource，Inc.

18. ABTS 溶液：对于 1 L，将 19.21g 柠檬酸、35.49g Na_2HPO_4 和 500mg ABTS 与足以达到 1 升的 dH_2O 混合。

19. ABTS/H_2O_2：在使用前 5 分钟将 15ml ABTS 溶液与 2μl H_2O_2 混合。

20. 0.2M HCl。

步骤

1. 用 2μg 聚（Glu - Tyr）/100μl PBS 涂覆 ELISA 板，在 4℃贮

存过夜。

2. 用 150μl 5%BSA/PBS 封阻该板 60 分钟。

3. 用 PBS 洗板 2 次，用 50mM Hepes 缓冲液（pH 7.4）洗 1 次。

4. 向所有的孔中加 50μl 稀释的激酶（纯化的激酶用激酶稀释缓冲液稀释。最终浓度应为 10ng/孔）。

5. 向板中加 25μl 试验化合物（在 4%DMSO 中），对于对照孔只加 DMSO（4% dH_2O）溶液

6. 将激酶/化合物混合物培养 15 分。

7. 向阴性对照孔中加 25μl 40mM $MnCl_2$。

8. 向所有其它孔中（除阴性对照孔外）加 25μl ATP/$MnCl_2$ 混合物，培养 5 分钟。

9. 加入 25μl 500mM EDTA 以停止反应。

10. 用 TBST 洗板 3 次。

11. 向各孔中加 100μl 兔多克隆抗 ptyr（在抗体稀释缓冲液中按 1：10,000 稀释）。在室温和摇动下培养 1 小时。

12. 用 TBST 洗板 3 次。

13. 用抗体稀释缓冲液按 1：6000 稀释 Biosource HRP 缀合的抗兔抗体。各孔中加 100μl，在摇动下于室温培养 1 小时。

14. 用 PBS 洗板一次。

15. 向各孔中加 100μl ABTS/H_2O_2 溶液。

16. 必要时加入 100μl/孔的 0.2M HCl 以停止此显色反应。

17. 在 Dynatech MR 7000 ELISA 读数器上读板，试验滤板在 410nm，参考滤板在 630nm。

IGF－1 转磷酸化作用试验

此试验用来测定聚（谷氨酸：酪氨酸）（4：1）中的磷酸酪氨酸水平，用以鉴定底物 gst－IGF－1 转磷酸化作用的激动剂/拮抗剂。

材料和试剂:

1. Corning 96 孔 ELISA 板。

2. 聚（Glu－tyr）（4：1），Sigma 产品目录号 p 0275。

3. PBS，Gibco 产品目录号 # 450－1300 EB。

4. 50mM HEPES

5. TBB 封阻缓冲液: 对于 1 升，将 100g BSA、12.1g Tris(pH 7.5)、

58.44g 氯化钠和 10ml 1% Tween－20 混合。

6. 含 IGF－1 激酶域的纯化的 GST 融合蛋白标记物（Sugen, Inc.）

7. TBST 缓冲液：对于 1 升，将 6.057g Tris、8.766g 氯化钠和 0.5ml Tween－20 混合，加足量 dH_2O 至 1 升。

8. 4%DMSO 的 Milli－Q 水溶液。

9. 10mM ATP 的 dH_2O 溶液。

10. 2X 激酶稀释缓冲液：对于 100ml，将 10ml 1M Hepes（pH 7.5）、0.4ml 5%BSA/dH_2O、0.2ml 0.1M 原钒酸钠和 1ml 5M 氯化钠混合，加足量水至 100ml。

11. 4X ATP 反应混合物：对于 10ml，将 0.4ml 1M $MnCl_2$ 和 0.008ml 0.01M ATP 及 9.56ml dH_2O 混合。

12. 4X 阴性对照混合物：将 0.4ml 1M 氯化锰与 9.60ml dH_2O 混合。

13. NUNC 96 孔 V 形底聚丙烯板。

14. 500mM EDTA/dH_2O。

15. 抗体稀释缓冲液：对于 100ml，将 10ml 5%BSA/PBS、0.5ml 5% Carnation 速溶脱脂奶/PBS 和 0.1ml 0.1M 原钒酸钠在 88.4ml TBST 中混合。

16. 兔多克隆抗磷酸酪氨酸抗体，Sugen, Inc.

17. 羊抗兔 HRP 缀合抗体，Biosource。

18. ABTS 溶液

20. ABTS/H_2O_2：将 15ml ABTS 与 2μl H_2O_2 于使用前 5 分钟混合。

21. 0.2M HCl 的 dH_2O 溶液。

步骤：

1. 涂覆 ELISA 板，每孔用 2.0μg 聚（Glu, Tyr）（4：1）（Sigma p 0275）/100μl PBS。该板在 4℃下贮存过夜。

2. 用 PBS 洗板一次。

3. 每孔中加 100μl TBB 封阻缓冲液。在室温和摇动下将板培养 1 小时。

4. 用 PBS 洗板一次，然后用 50mM Hepes 缓冲液（pH 7.5）洗 2 次。

5. 向板中加 25μl 试验化合物在 4％DMSO 中的溶液（用 dH_2O 稀释 10mM 的试验化合物在 100％DMSO 中的储备液得到）。

6. 向所有孔中加 10.0ng gst－IGF－1 激酶/50μl 激酶稀释缓冲液。

7. 向所有试验孔和阳性对照孔中加入 25μl 4X ATP 反应混合物以开始激酶反应。向所有阴性对照孔中加 25μl 4X 阴性对照混合物。在室温和摇动下培养 10 分钟。

8. 向所有孔中加 25μl 0.5M EDTA（pH 8.0）

9. 用 TBST 缓冲液洗板 4 次。

10. 向所有孔中加以 1：10,000 在 100μl 抗体稀释缓冲液中稀释的兔多克隆抗磷酸酪氨酸抗血清。在室温和摇动下培养 1 小时。

11. 如步骤 9 中一样洗板。

12. 向所有孔中加以 1：10,000 在抗体稀释缓冲液中稀释的 100μl Biosource 抗兔 HRP。在室温和摇动下培养 1 小时。

13. 象步骤 9 中一样洗板，随后用 PBS 洗一次以减少气泡和多余的 Tween－20。

14. 向每孔中加 100μl 的 ABTS/H_2O_2 显色。

15. 约 5 分钟后，在 ELISA 读数器上读数，试验滤板在 410nm，参考滤板在 630nm。

BRDU 并入试验

以下试验使用经过人工改造以表达所选择受体的细胞，然后通过测定 BrdU 在 DNA 中的并入，评价所研究的化合物对配体诱发的 DNA 合成的活性的影响。

以下的材料、试剂和步骤是以下各项 BrdU 并入试验都通用的。具体试验中的变动将会指出。

材料和试剂：

1. 合适的配体。

2. 合适的人工改造细胞。

3. BrdU 标记试剂：10mM，在 PBS（pH 7.4）中（Boehringer Mannheim, Germany）。

4. FixDenat：固定溶液（配好备用）（Boehringer Mannheim, Germany）。

5. 抗－BrdU－POD：与过氧化物酶缀合的小鼠单克隆抗体

（Boehringer Mannheim, Germany）。

6. TMB 底物溶液：四甲基联苯胺（TMB，Boehringer Mannheim, Germany）。

7. PBS 洗液：1X PBS，pH 7.4。

8. Albumin, Bovine（BSA），级分 V 粉末（Sigma Chemical Co., USA）。

通用步骤

1. 按照每孔 8000 个细胞，将细胞接种在 96 孔板的 10％CS、2mM Gln/DMEM 中。将细胞在 5％CO_2 里于 37℃培养过夜。

2. 24 小时后，用 PBS 洗细胞，然后在无血清培养基（％CS DMEM，含 0.1％BSA）中缺血清培养 24 小时。

3. 在第 3 天，向细胞中同时加入合适的配体和试验化合物。阴性对照孔中只加含 0.1％BSA 的无血清 DMEM；阳性对照细胞接受配体，但不加试验化合物。试验化合物配制在 96 孔板的含配体的无血清 DMEM 中，系列稀释用于 7 个试验浓度。

4. 配体活化 18 小时后，加入稀释的 BrdU 标记试剂（1：100 在 DMEM 中，0.1％BSA），将细胞用 BrdU（最终浓度 = 10μM）培养 1.5 小时。

5. 在用标记的试剂培养后，倾倒掉介质，在纸巾上轻拍倒转的板。加入 FixDenat 溶液（50μl/孔），将板在摇板器上于室温培养 45 分钟。

6. 利用倾倒和在纸巾上轻拍倒转的板，彻底除掉 FixDenat 溶液。加入作为封阻溶液的牛奶（5％奶粉/PBS，200μl/孔），将板在摇板器上于室温培养 30 分。

7. 利用倾倒除掉封阻溶液，用 PBS 洗孔一次。加入抗－BrdU－POD 溶液（在 PBS 中 1：200 稀释，1％BSA），每孔 50μl，将板在摇板机上于室温培养 90 分。

8. 利用倾倒和用 PBS 淋洗孔 5 次，彻底清除抗体缀合物，将板倒转并在纸巾上拍打，使其干燥。

9. 加入底物溶液（100μl/孔），在摇板器上于室温培养 20 分，直到颜色发展得足以进行光度检测。

10. 在 Dynatech ELISA 板读数器上于 410nm 测定样品的吸光度（以“双波长”模式，以 490nm 作为参考波长读取滤板读数）。

EGF－诱导的 BrdU 并入试验

材料和试剂

1．鼠 EGF，201（Toyobo Co., Ltd., Japan）。

2．3T3/EGFRc7。

EGF－诱导的 Her－2－驱动的 BrdU 并入试验

材料和试剂

1．鼠 EGF，201（Toyobo Co., Ltd., Japan）。

2．3T3/EGFr/Her2/EGFr（含 Her－2 激酶域的 EGFr）。

EGF－诱导的 Her－4－驱动的 BrdU 并入试验

材料和试剂：

1．鼠 EGF，201（Toyobo Co., Ltd., Japan）。

2．3T3/EGFr/Her 4/EGFr（含 Her－4 激酶域的 EGFr）

PDGF－诱导的 BrdU 并入试验

材料和试剂：

1．人 PDGF B/B（Boehringer Mannheim, Germany）

2．3T3/EGFRc 7

FGF－诱导的 BrdU 并入试验

材料和试剂：

1．人 FGF2/bFGF（Gibco BRL, USA）

2．3T3c7/EGFr

IGF1－诱导的 BrdU 并入试验

材料和试剂

1．人，重组的 G511（Promega Corp. USA）

2．3T3/IGF1r。

胰岛素诱导的 BrdU 并入试验

材料和试剂

1．胰岛素，晶态，牛，锌（13007，Gibco BRL, USA）。

2．3T3/H25。

HGF－诱导的 BrdU 并入试验

材料和试剂

1．重组的人 HGF（产品目录号 249－HG，R & D Systems, Inc. USA）。

2. BxPC－3 细胞（ATCC CRL－1687）。

步骤

1. 在 96 孔板中以每孔 9000 个将细胞接种在含 10％FBS 的 RPMI 中。在 5％CO_2 中于 37℃培养细胞过夜。

2. 24 小时后，用 PBS 洗细胞，然后在 100μl 无血清培养基（含 0.1％BSA 的 RPMI）中缺血清培养 24 小时。

3. 在第 3 天，向细胞中加入含配体（按 1μg/ml 配制在含 0.1％BSA 的 RPMI 中；最终 HGF 浓度为 200ng/ml）和试验化合物的 25μl 溶液。阴性对照孔只接受 25μl 含 0.1％BSA 的无血清 RPMI；阳性对照细胞中加配体（HGF），但无试验化合物。试验化合物以其 5 倍最终浓度配制在 96 孔板中含配体的无血清 RPMI 中，系列稀释得到 7 个试验浓度。通常，试验化合物的最高最终浓度为 100μM，采用 1：3 稀释方式（即，最终试验化合物浓度范围为 0.137－100μM）。

4. 配体活化、18 小时后，向各孔中加 12.5μl 稀释的 BrdU 标记试剂（1：100 在 RPMI 中，0.1％BSA），将细胞用 BrdU（最终浓度 10μM）培养 1 小时。

5. 与通用步骤相同。

6. 与通用步骤相同。

7. 利用倾倒除掉封阻溶液，将孔用 PBS 洗一次。加入抗－BrdU－POD 溶液（在 PBS 中 1：100 稀释，1％BSA），每孔 100μl，将板在摇板机上于室温下培养 90 分。

8. 与通用步骤相同。

9. 与通用步骤相同。

10. 与通用步骤相同。

HUV－EC－C 试验

此试验用来测定化合物对于 PDGF-R、FGF-R、VEGF、aFGF 或 Flk－1/KDR 的活性，它们全是被 HUV－EC 细胞自然表达。

第 0 天

1. 洗涤和胰蛋白酶消化 HUV－EC－C 细胞（人脐静脉内皮细胞，American Type Culture Collection，编号 1730 CRL）。在大约 1ml/10cm^2 的组织培养瓶中用 Dulbecco 磷酸盐缓冲液（D－PBS，得自 Gibco BRL，产品号 14190－029）洗 2 次。用 0.05％胰蛋白酶－EDTA

在非酶细胞解离液（Sigma Chemical Company，产品号 C－1544）中进行胰蛋白酶消化。0.05％胰蛋白酶由 0.25％胰蛋白酶/1mM EDTA（Gibco，产品号 25200－049）在细胞解离液中稀释得到。胰蛋白酶消化用约 1ml/25－30cm^2 的组织培养瓶在 37℃进行约 5 分钟。在细胞脱离烧瓶后，加入等体积的试验培养基并转移到 50ml 无菌离心管（Fisher Scientific，产品号 05－539－6）中。

2. 在 50ml 无菌离心管中用约 35ml 试验培养基洗细胞，其作法是：加入试验培养基，在约 200xg 下离心 10 分钟，抽吸上清液，用 35ml D－PBS 使沉淀再悬浮。用 D－PBS 再重复洗 2 次，将细胞再悬浮于约 1ml 试验培养基/15cm^2 的组织培养瓶中。试验培养基由 F12K 培养基（Gibco BRL，产品号 21127－014）和 0.5％热失活胎牛血清组成。用 Counter® 计数器（Coulter Electronics, Inc.）计数细胞，向细胞中加试验培养基，达到浓度为 0.8－1.0×10^5 细胞/ml。

3. 向 96 孔平底板中加细胞，每孔 100μl 或 0.8－1.0×10^4 细胞，在 37℃、5％CO_2 下培养约 24 小时。

第 1 天

1. 在另一 96 孔板上配制 2 倍浓度的试验化合物滴定液，通常为 50μM 至 0μM。使用在以上第 0 天步骤 2 中所述的相同的试验培养基。向板中特定行的最上孔加入 90μl 试验化合物，进行滴定，其浓度为 200μM（最终孔浓度的 4 倍）。因为试验化合物的储备液常为 20mM 的 DMSO 溶液，所以 200μM 药物浓度中含 2％DMSO。

使用 2％DMSO/试验培养基（F12K＋0.5％胎牛血清）作为试验化合物滴定用的稀释剂，以便稀释试验化合物但保持 DMSO 浓度恒定。将此稀释剂加到该行的其余孔中，每孔 60μl。由该行最上孔中 120μl 的 200μM 试验化合物稀释液中取 60μl，与该行第 2 个孔中的 60μl 混合。由此孔中取 60μl，与该行第 3 孔的 60μl 混合。如此继续，直至完成两倍滴定。当最后孔的前一孔混合时，由此孔的 120μl 中取 60μl 并丢弃，留下最后孔中 60μl DMSO/培养基稀释剂作为不含试验化合物的对照样。准备 9 行要滴定的试验化合物，足以用于重复三次的试验孔，每组用于：（1）VEGF（得自 Pepro Tech Inc.，产品号 100－200），（2）内皮细胞生长因子（ECGF）（也称作酸性或纤维细胞生长因子，或 aFGF）（得自 Boehringer Mannheim Biochemica，产品号 1439

600），或（3）人 PDGF B/B（1276－956，Boehringer Mannheim，Germany）和试验培养基对照样。ECGF 为含肝素钠的制剂。

2. 将试验化合物稀释液以 50μl/孔转移到 96 孔试验板中，板中含第 0 天的 HUV－EC－C 细胞，每孔 100μl，0.8－1.0×10^4 细胞。在 37℃和 5％CO_2 下培养约 2 小时。

3. 在三份重复试验中，向各试验化合物中加 50μl/孔的 80μg/ml VEGF、20ng/ml ECGF 或培养基对照样。与试验化合物一样，生长因子浓度是所要求的最终浓度的 4 倍。使用第 0 天步骤 2 的试验培养基调节生长因子的浓度。在 37℃和 5％CO_2 下培养约 24 小时。每孔中有 50μl 试验化合物稀释液，50μl 生长因子或培养基，和 100μl 细胞，这相当于每孔总计 200μl。因此，一旦将各组分都加到孔中后，4 倍浓度的试验化合物和生长因子都变成 1 倍浓度。

第 2 天

1. 以 1μCi/孔加入 ^3H－胸苷（Amersham，产品号 TRK－686）（配制在含 10％热失活胎牛血清的 RPMI 培养基中的每孔 10μl 的 100μCi/ml 溶液），在 37℃和 5％CO_2 下培养约 24 小时。RPMI 是由 Gibco BRL 得到，产品号 11875－051。

第 3 天

1. 将板在－20℃冷冻过夜。

第 4 天

解冻该板，用 96 孔板收取器（Tomtec Harvester 96）收取在滤器垫上（Wallac，产品号 1205－401），在 Wallac Betaplate 液体闪烁计数器上读数。

表 3 列出了本发明的一些典型化合物的生物试验结果。该结果按照 IC_{50} 列出，即，与不加试验化合物的对照样中的 PTK 活性相比，引起靶物 PKT 的活性改变 50％时的所试化合物的微摩尔（μM）浓度。具体地说，所列结果表明了引起靶物 PTK 的活性降低 50％所需的试验化合物浓度。下面详细说明用于或者可以用于评价化合物的生物测定方法。

表 3

实施例	bio flkGST IC_{50} (μM)	bio FGFR1 IC_{50} (μM)	bio PDGF IC_{50} (μM)	bio EGF IC_{50} (μM)	cell EGF IC_{50} (μM)	Her2 激酶 IC_{50} (μM)	cdk2 spa C_{50} (μM)	bio pyk2 IC_{50} (μM)
1	57.68	15.16	>100	>100	>100			>100
2	>100		>100	>100	>100			
3	9.85	9.62	>100	>100	>!00			>100
4	3.57	>20	>100	>100	>100	>100		
5	8.3	16.06	>100	>100	>100	>100		
6	4.04		>100	3.26	7.82	2.43		
7	7.74		>100	5.07	9.8	4.24		
8	12.1		>100	51.34	20.08	5.5		
9	0.96		>100	>100	>100	16.38		
10	5.72		>100	94.04	15.86	8.06		

实施例	bio flkGST IC50 (μM)	bio FGFR1 IC50 (μM)	bio PDGF IC50 (μM)	bio EGF IC50 (μM)	cell EGF IC50 (μM)	Hex2 激酶 IC50 (μM)	cdk2spa C50 (μM)	bio pyk2 IC50 (μM)
11	9.77		>100	>100	>100	>100		
12	>20		21.46	>100		27.73		
13	>20		81.92	8.17		2.66		
14	13.01		42.41	>100		66.02		
15	>20		>100	>100		98.61		
16	>20		98.06	>100		23.32		
17	8.25	2.47	94.35	0.83	11.47	15.94	>10	
18	2.67			2.57	9.23	4.99		
19	7.5			6.86	34.18	8.37		
20	11.53			>100	41.16	8		
21	7.18		>100	40.34		27.69		
22	>20		>100	>100		87.67		
23	>20		>100	36.64		4.05		
24			>100	16.84		5.31		
25	12.55		>100	23.48		7.9		
26	16.03		66.87	34.67		10.04		
27			>100	26.5		3.91		
28	4.5		71.27	53.66		2.67		
29	10.12		>100	26.72		3.98		
30	9.4		>100	18.69		4.1		
31	>50		>100	9.83		47.19		
32	45.74		5.94	>100		>100		
34	>50		>100	>100		>100		
35	>20		>100	80.4		54.14		
36	>20		>100	>100		>100		
37	0.22		3.06	10.78	9.84	1.4		
38	4.17		3.06	6.04	8.97	2.16		
39	3.38		4.69	3.67	14.54	3.53		
40	4.5		7.9	6.52		6.27		
42	0.1		0.12	11.95	74.55	20.43		
43	1.12		8.38	>100	37.33	53.37		
44	<0.05		0.02	20.73	67.46	6.99		
45	1.71		>100	>100	29.95	>100		
46	30.62		6.18	>100	>100	>100		
47	0.08	1.56	0.06	11.42	41.54	8.4	>20	1.05
48	0.006	0.3	<0.78	17.88	21.58	7.93		0.09
49			<0.78	>100	43.86	>100		
50			<0.78	>100	20.34	>100		

实施例	bio flkGST IC_{50} (μM)	bio FGFR1 IC_{50} (μM)	bio PDGF IC_{50} (μM)	bio EGF IC_{50} (μM)	cell EGF IC_{50} (μM)	Her2 激酶 IC_{50} (μM)	cdk2 spa C_{50} (μM)	bio pyk2 IC_{50} (μM)
89	7.84		47.58	8.53	9.67	15.97		
115	7.3		7.48	>100		>100	0.006	
116	>20		>100	>100		>100	<0.0005	
117	0.91		12.9	>100		>100	0.006	
118	1.93		1.2	>100		>100	0.002	
119	1.38		61.63	>100		>100	<0.0005	

体内动物试验模型

异种移植物模型

人类肿瘤作为无胸腺小鼠（例如 Balb/c、nu/nu）的异种移植物的生长能力为研究对于人类肿瘤疗法的生物响应提供了有用的体内试验模型。自从首次成功地将人类肿瘤异种移植到无胸腺小鼠中以来（Rygaard 和 Povlsen，1969，Acta Pathol. Microbial. Scand. 77：758－760），很多不同的人类肿瘤细胞系（例如，乳房、肺、生殖泌尿、胃肠、头颈、成胶质细胞瘤、骨和恶性黑素瘤）已被移植到裸鼠中并成功地生长。以下测定方法可用来确定本发明各种化合物的活性、专一性和作用的水平。三类试验可用于评价化合物：细胞/催化、细胞/生物和体内测定。细胞/催化试验的目的是确定化合物对于 TK 将细胞中已知底物上的酪氨酸磷酸化的能力的影响。细胞/生物试验的目的是确定化合物对于 TK 在细胞中激发的生物响应的影响。体内测定的目的是确定化合物在特定疾病（例如癌）的动物模型中的作用。

适合用于皮下异种移植试验的细胞系包括 C6 细胞（神经胶质瘤，ATCC＃CCL 107），A375 细胞（黑素瘤，ATCC＃CRL 1619），A431 细胞（表皮样癌，ACTT＃CRL 1555），Calu 6 细胞（肺，ATCC ＃ HTB 56），PC3 细胞（前列腺，ATCC ＃ CRL 1435），SKOV3TP5 细胞和经遗传工程改造后超量表达 EGFR、PDGFR、IGF－IR 或任何其它试验激酶的 NIH 3T3 成纤维细胞。可以采用以下方案进行异种移植实

实施例	bio flkGST IC50 (μM)	bio FGFR1 IC50 (μM)	bio PDGF IC50 (μM)	bio EGF IC50 (μM)	cell EGF IC50 (μM)	Her2 激酶 IC50 (μM)	cdk2spa C50 (μM)	bio pyk2 IC50 (μM)
51	0.006	1.66	0.01	18.1	21.61	23.24	16.69	0.35
52	0.08	1.26	<0.78	12.53	>100	>100	10.66	0.45
53			<0.78	>100	>100	>100		
54	1.98		<0.78	23.88	9.76	7.02		
55	0.27		0.53	6.03	35.99	77.82		
56	2.32		3.19	>100	10.03	7.11		
57	0.06		7.98	>100	9.97	6.94		
58			21.14	>100	>100	>100		
59			<0.78	>100	>100	>100		
60			<0.78	>100	>100	>100		
61			<0.78	>100	>100	>100		
62	8.00		8.32	>100	>100	>100		
63	0.21		<0.78	8.59	>100	>100		
64	0.55		<0.78	30.49	>100	>100		
65	0.37		<0.05	>100	74.36	15.97		
66	<0.05			>100	11.84	2.76		
67	0.39		24.77	31.38	19.79	2.56		
68	1.16		0.03	>100	23.52	34.13		
69	0.3		56.55	>100	97.54	>100		
70	0.09	1.50	0.0030	10.57	6.42	7.99	12.62	0.63
71	15.21		22.5	>100		9.91		
72	6.06		10.54	>100	39.94	9.65		
73	5.95		14.12	>100	39.5	8.59		
74	1.2		0.09	46.75		>100		
75	2.7		61.55	>100		>100		
76	3.33		19.18	5.11		3.01		
77	0.49		25.01	>100		>100		
78	1.94		70.62	9.33		4.25		
79	1.49		>100	27.39		>100		
80	0.13	4.29	0.001	>100		50.19	17.19	0.28
81	0.21		0.18	>100		>100		
82	2.03	7.69	6.88	>100		>100		0.31
83	0.34	0.41	9.46	2.18		86.9		0.008
84	1.38		12.51	67.2		5.86		0.006
85	0.2	0.8	2.59	>100		3.76		
86	1.45	1.3	19.6	41.8		>100		3.58
87	3.27	7.56	6.46	>100		9.1		0.17
88	0.35	1.18	8.06	2.36		>100		0.09

验:

雌性无雄腺小鼠(BALB/C, nu/nu)得自 Simonsen 实验室(Gilroy, CA)。所有动物均在净室条件下于微隔离笼中喂养,备有 Alpha-dri 垫草。它们随意接受无菌的啮齿目动物食物和水。

细胞系在合适的培养基(例如,MEM、DMEM、Ham's F10 或 Ham's F12 + 5 - 10% 胎牛血清(FBS)和 2mM 谷氨酰胺(GLN))中生长。除非另外说明,所有的细胞培养基、谷氨酰胺和胎牛血清都购自 Gibco Life Technologies(Grand Island, NY)。所有的细胞均在 90 - 95% 空气和 5 - 10% CO_2 的潮湿气氛中于 37℃生长。各细胞系均以常规方式一周传代培养 2 次,由 Mycotech 方法(Gibco)测得对于支原体呈阴性。

在用 0.05% 胰蛋白酶 - EDTA 融合或接近融合时收取细胞,并在 450xg 下沉淀 10 分钟。将沉淀物于无菌的 PBS 或培养基(无 FBS)中再悬浮至特定浓度,将细胞植入小鼠的后胁(每组 8 - 10 只鼠,每只动物 $2 - 10 \times 10^6$ 细胞)。用游标卡尺测量肿瘤生长 3 - 6 周。除非另外说明,肿瘤体积按长 × 宽 × 高的积计算。P 值用 Student t 试验法计算。可以用腹膜内注射法释放不同浓度的在 50 - 100μl 赋形剂中(DMSO,或 VPD : D5W)的试验化合物,通常在植入后一天开始。

肿瘤侵染模型

建立了以下的肿瘤侵染模型,并可用于评价已被确认选择性抑制 KDR/FLK - 1 受体的化合物的治疗价值和效力。

步骤

使用 8 周龄的裸鼠(雌性)(Simonsen Inc.)作为实验动物。肿瘤细胞的植入可以在层流橱中进行。为进行麻醉,腹膜内施用甲苯噻唑/氯胺酮混合物(100mg/kg 氯胺酮和 5mg/kg 甲苯噻唑)。作一正中切口以暴露腹腔(长约 1.5cm),注射在 100μl 培养基中的 10^7 个肿瘤细胞。将细胞注射到胰腺的十二指肠叶中或是结肠的浆膜之下。用一根 6 - 0 丝质连续缝线缝合腹膜和肌肉,用伤口夹闭合皮肤。逐日观察动物。

分析

2 - 6 周后,根据对动物的大体观察,将小鼠宰杀,检查和分析向各器官(肺、肝、脑、胃、脾、心、肌肉)的局部肿瘤转移(测定肿

瘤尺寸、侵染等级、免疫化学、原位杂交测定等）。

C－KIT 测定

此试验用来检测 c－kit 酪氨酸磷酸化的程度。

将 MO7E（人急性骨髓性白血病）细胞在 0.1％血清中缺血清培养过夜。在配体激发之前，将细胞用化合物预处理（与缺血清培养同时）。细胞用 250ng/ml 的 rh－SCF 激发 15 分钟。激发后，将细胞裂解，并用抗－c－kit 抗体免疫沉淀。用蛋白质印迹法确定磷酸酪氨酸和蛋白质含量。

MTT 增殖测定

如对磷酸化实验所述，将 MO7E 细胞进行缺血清培养并用化合物预处理。将细胞以每孔 4×10^5 细胞加到 96 孔板的 100μl RPMI＋10％血清中。加 rh－SCF（100ng/ml），将板培养 48 小时。48 小时后，加入 10μl 的 5mg/ml MTT〔溴化 3－（4,5－二甲基噻唑－2－基）－2,5－二苯基四唑 盐〕,培养 4 小时。加入酸性异丙醇(100μl 0.04N HCl 在异丙醇中），在 550nm 的波长下测定光密度。

编程性细胞死亡试验

MO7E 细胞在含 rh－GM－CSF（10ng/ml）和 rh－IL－3（10ng/ml）的 10％FBS 中＋/－SCF 和+/－化合物培养。在 24 和 48 小时测定样品。为测定活化的 caspase－3（天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶）将样品用 PBS 洗，并用冰冷的 70％乙醇透化处理。然后将细胞用 PE 缀合的多克隆兔抗活性 Caspase－3 并用 FACC 分析。为测定裂解的 PARP，将样品裂解，用抗 PARP 抗体进行蛋白质印迹分析。

附加试验

可以用来评价本发明化合物的附加试验包括但不限于：bio－flk－1 试验，全细胞中 EGF 受体－HER2 嵌合受体试验，bio－src 试验，bio－lck 试验和测定 raf 的磷酸化功能的试验。这些试验的方案均可在美国专利申请 09/099,842 中查到，该申请包括所有附图均在本文引用作为参考。

细胞毒性测定

治疗用的化合物应当在抑制受体酪氨酸激酶活性方面比产生细胞毒性作用方面更有效力。化合物的效率和细胞毒性的量度可以通过测定治疗指数，即，IC_{50}/LD_{50} 得到。IC_{50} 是为实现 50％抑制作用所需的

剂量，可以用标准方法，例如本申请所述的方法测定。LD_{50} 是产生 50％毒性的剂量，也可用标准方法测定（Mossuman，1983，J. Immunol. Methods，65：55－63），通过测量释放出的 LDH 数量测定（Korzeniewski 和 Callewaert，1983，J. Immunol. Methods，64：313；Decker 和 Lohmann－Matthes，1988，J. Immunol. Methods，115：61），或通过测定动物模型的致死剂量来确定。具有大的治疗指数的化合物是优选化合物。治疗指数应大于 2，优选至少为 10，更优选至少为 50。

B. 使用 5－（5－氟－2－氧代－1,2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－2,4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二乙基氨基乙基）酰胺的细胞试验结果实例

为证实在生化试验（参看下文）中检测的 5－（5－氟－2－氧代－1,2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－2,4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二乙基氨基乙基）酰胺（化合物 80）的效力，在基于细胞的试验中用经人工改造成超量表达 Flk－1 或人 PDGFRβ的 NIH－3T3 小鼠细胞来评价该化合物抑制依赖于配体的 RTK 磷酸化的能力。5－（5－氟－2－氧代－1,2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－2,4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二乙基氨基乙基）酰胺（化合物 80）抑制 VEGF 依赖性 Flk－1 酪氨酸磷酸化的 IC_{50} 值约为 0.03μM。此值与在生化试验中测定的 5－（5－氟－2－氧代－1,2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－2,4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二乙基氨基乙基）酰胺（化合物 80）对 Flk－1 抑制作用的 K_i 值 0.009μM 相似。这说明 5－（5－氟－2－氧代－1,2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－2,4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二乙基氨基乙基）酰胺（化合物 80）容易穿透到细胞中。与生化数据（见下文）的一致表明 5－（5－氟－2－氧代－1,2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－2,4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二乙基氨基乙基）酰胺（化合物 80）对于 Flk－1 和 PDGFRβ的活性相近，还发现它抑制细胞中 PDGF 依赖性受体磷酸化的 IC_{50} 值约为 0.03μM。5－（5－氟－2－氧代－1,2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－2,4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二乙基氨基乙基）酰胺（化合物 80）抑制 c－kit（一种与干细胞因子（SCF）结合的紧密相关的 RTK）的能力是用表达该受体的 MO7E 细胞测定的。在这些细胞中，5－（5－氟－2－氧代－1,2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－2,4－二甲基－1H

－吡咯－3－羧酸（2－二乙基氨基乙基）酰胺（化合物 80）抑制 SCF 依赖性 c－kit 磷酸化的 IC_{50} 值为 0.01－0.1μM。此化合物还抑制由患者外周血中分离出的急性骨髓性白血病（AML）胚细胞内的 SCF 激发的 c－kit 磷酸化作用。

除了试验 5－（5－氟－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二乙基氨基乙基）酰胺（化合物 80）抑制细胞内依赖于配体的受体磷酸化作用之外，还在体外试验中检验了它对细胞的配体依赖性增殖反应的影响（表 4）。在这些研究中，向利用缺血清培养过夜而静息的细胞加入合适的促细胞分裂配体，诱发进行 DNA 合成。如表 4 所示，5－（5－氟－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二乙基氨基乙基）酰胺（化合物 80）抑制了超量表达 PDGFRβ或 PDGFRα 的 NIH－3T3 细胞由 PDGF 诱发的增殖，IC_{50} 值分别为 0.031 和 0.069μM，并抑制了 MO7E 细胞由 SCF 诱发的增殖，IC_{50} 值为 0.007μM。

表 4

	生化试验	细胞的 IC_{50}	
受体	K_i[1] (μM)	受体磷酸化 (μM)	配体依赖性增殖 (μM)
Flk-1/KDR	0.009	0.03[2]	0.004[3]
PDGFRα	0.008	0.03[4]	0.031[4]
PDGFRβ	ND	ND	0.069[5]
FGFR	0.83	ND	0.7[3]
c－kit	ND	0.01-0.1[6]	0.007[6]

ND = 未测定

[1] 用重组酶测定

[2] 用表达 Flk－1 的缺血清培养的 NIH－3T3 细胞测定

[3] 用缺血清培养的 HUVECs 测定

[4] 用表达 PDGFR 的缺血清培养的 NIH－3T3 细胞测定

[5] 用表达 PDGFR 的缺血清培养的 NIH－3T3 细胞测定

[6] 用缺血清培养的 MO7E 细胞测定

如表 4 所示，5－（5－氟－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二乙基氨基乙基）酰胺（化合物 80）的生化活性和细胞活性之间的普遍一致支持该化合物穿过细胞膜的结论。另外，可以断定，细胞响应是化合物 80 对所示靶物的活性的结果。相反，在体外于完全生长培养基存在下试验时，为抑制各种人肿瘤细胞生长所需的 5－（5－氟－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二乙基氨基乙基）酰胺（化合物 80）的浓度要高得多（>10μM）。这说明此化合物在为抑制配体依赖性受体磷酸化和细胞增殖所需的浓度，不直接抑制这些细胞的生长。

表 5

细胞系	来源	IC_{50}（μM）	LD_{50}（μM）
HT29	结肠癌	10	22
A549	肺癌	9.5	22
NCI－H460	NSC 肺癌	8.9	20
SF767T	神经胶质瘤	7.9	14
A431	表皮样癌	6.0	18

简言之，表 5 所示结果是在系列稀释的 5－（5－氟－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二乙基氨基乙基）酰胺（化合物 80）存在下在完全生长培养基中培养细胞 48 小时得到的。在生长期结束时，测定细胞的相对数目。IC_{50} 值被计算成与未处理细胞相比，抑制细胞生长 50％时的化合物浓度。LD_{50} 值则是与实验开始时相比，造成细胞数目减少 50％的化合物浓度。

一种评价 5－（5－氟－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二乙基氨基乙基）酰胺（化合物 80）的抗血管发展效力的更为相关的基于细胞的试验，是体外细胞分裂试验，使用人脐静脉内皮细胞（HUVEC）作为对于血管发展过程内皮细胞增殖标准的模型体系。在此试验中，在缺血清的 HUVEC 中加入 VEGF 或 FGF，测定诱发的细胞分裂响应，作为 DNA 合成的增加。在这些细胞中，5－（5－氟－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二乙基氨基乙基）酰胺（化合物 80）以与剂量有关的方式抑制 VEGF 和 FGF 诱发的细胞

分裂响应，当化合物在48小时试验中一直存在时，IC_{50}值分别为0.004μM和0.7μM。

简言之，上述结果是用缺血清培养的 HUVEC 得到的，它们在系列稀释的 5－（5－氟－2－氧代－1,2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－2,4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二乙基氨基乙基）酰胺（化合物80）存在下用促细胞分裂浓度的 VEGF（100ng/ml）或 FGF（30ng/ml）培养 24 小时。根据溴脱氧尿苷在细胞 DNA 中的并入测定 DNA 的合成，定量确定在随后 24 小时内在配体和抑制剂存在下的细胞分裂响应。

在另外的实验中，化合物 80 以依赖于剂量的方式抑制 Flk－1/KDR 的早期下游靶物－ERK ½（P42/44MAP 激酶）的 VEGF 依赖性磷酸化。化合物 80 在此体系中的抑制活性也显示为持久性，在与微摩尔浓度的化合物接触短时间（2 小时）后从培养基中除去 5－（5－氟－2－氧代－1,2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－2,4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二乙基氨基乙基）酰胺（化合物 80），对 ERK ½ 的依赖于 VEGF 的磷酸化作用的抑制仍可长达 48 小时。

VEGF 被认为是内皮细胞的重要的生存因子。因为 5－（5－氟－2－氧代－1,2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－2,4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二乙基氨基乙基）酰胺（化合物 80）抑制 HUVEC 的依赖于 VEGF 的细胞分裂响应，所以研究了该化合物对 HUVEC 生存的影响。在这些实验中，使用 caspase 3 底物聚 ADP－核糖基聚合酶（PARP）的裂解作为编程性细胞死亡的读出值。根据对 23 kDa PARP 裂解片段的累积检测。在无血清条件下培养 24 小时的 HUVEC 显示出大量的 PARP 裂解。向细胞培养基中加入 VEGF 可以在很大程度上防止这一现象，表明 VEGF 在此试验中起着生存因子的作用。5－（5－氟－2－氧代－1,2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－2,4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二乙基氨基乙基）酰胺（化合物 80）已显示能抑制 KDR 信号发送。因此，5－（5－氟－2－氧代－1,2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－2,4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二乙基氨基乙基）酰胺（化合物 80）以依赖于剂量的方式抑制 VEGF 介导的 HUVEC 存活。于是，这些数据表明，化合物 80 诱发在 VEGF 存在下培养基中内皮细胞的编程性细胞死亡。

C．体内效力研究

1．对抗已形成的肿瘤异种移植物的效力

利用植入到无胸腺小鼠后胁区中的人肿瘤细胞，在皮下（SC）异种移植物模型中研究5－（5－氟－2－氧代－1,2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－2,4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二乙基氨基乙基）酰胺（化合物 80）的体内效力。在植入后，令肿瘤形成至 100－550mm^3 的大小，然后开始用化合物口服治疗。

在肿瘤生长到 400mm^3 后开始治疗时，每日口服化合物 80 产生对 A431 肿瘤生长的剂量依赖性抑制作用。在 40mg/kg/天（74％抑制）和 80mg/kg/天（84％抑制）的剂量观察到对肿瘤生长的统计显著性（P <0.05）抑制作用（见表 6）。在预备性实验中，更高剂量（160mg/kg/天）的化合物在对抗已形成的 A431 肿瘤方面不比 80mg/kg/天剂量更有效。另外，用 160mg/kg/天的剂量治疗的小鼠体重减小，表明该较高剂量不能被很好忍受。在 A431 肿瘤只达到尺寸为 100mm^3 的实验中得到了类似的结果（见表 5）。在这个第二项实验中，用 80mg/kg/天治疗 21 天的 8 只动物中的 6 只，肿瘤完全消退。在这 6 只动物中，在治疗结束后的 110 天观察期间，肿瘤未重新生长。在肿瘤重新生长至较大尺寸（2000－3000mm^3）的两只动物中，用化合物 80 进行第二轮治疗使肿瘤消退。重要的是，在所有的效力试验中，80mg/kg/天的 5－（5－氟－2－氧代－1,2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－2,4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二乙基氨基乙基）酰胺（化合物 80）都能很好的忍受，即使连续给药 100 天以上。

表 6

初始肿瘤体积 (mm^3)	化合物[1] (mg/kg/天)	抑制％ (天)	P－值
400	80	84（36）	0.001
	40	74（36）	0.003
	20	51（36）	0.130
100	80	93（40）	0.002
	40	75（40）	0.015
	10	61（40）	0.059

[1]化合物 80。

简言之，表 6 中所示结果是利用植入到无胸腺小鼠的后肋区中的 A431 细胞（0.5×106 细胞/鼠）得到的。当肿瘤达到所示的平均体积时，开始每日口服在 Cremophore（一种聚烃氧化合物）基的载体中的 5－（5－氟－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二乙基氨基乙基）酰胺（化合物 80）或载体对照物。用游标卡尺测量肿瘤，肿瘤体系计算成长×宽×高之积。在实验的最后一天，将用化合物治疗的动物（n = 8）的肿瘤大小和用载体处理的动物（n = 16）的肿瘤大小比较，用双侧检验的 Student t－试验法计算 P 值。

化合物 80 对于已形成的不同来源的人肿瘤的效力用 Colo 205（结肠癌）、SF 763 T（神经胶质瘤）和 NCI－H460（非小细胞肺癌）异种移植物测定（见表 7）。这些试验是用口服 80mg/kg/天的 5－（5－氟－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二乙基氨基乙基）酰胺（化合物 80）进行，这是有效和能很好忍受的剂量。

表 7

	肿瘤类型	初始肿瘤体积（mm^3）	抑制 %（天数）	P－值
A431[1]	表皮样癌	100	93 (40)	0.002
A431[1]	表皮样癌	400	84 (36)	0.001
Colo 205	结肠	370	77 (54)	0.028
NCI-H460	肺	300	61 (54)	0.003
SF763T	神经胶质瘤	550	53 (30)	0.001
[1]数据得自表 5 中报道的实验。				

在上述实验中，一旦肿瘤达到指定的大小，就每天一次服用 80mg/kg 在 Cremophor 基的载体中的化合物 80。在实验结束时计算出与载体处理组相比的抑制百分数。将用化合物治疗的动物的肿瘤大小与用载体处理的动物相比，利用双侧检验的 Student 氏 t 试验，计算出 P 值。

虽然 5－（5－氟－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－2, 4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二乙基氨基乙基）酰胺（化合物 80）抑制表 7 所示的所有各类肿瘤，但不同的异种移植物模型的响应不同。具体地说，当用 5－（5－氟－2－氧代－1, 2－二氢吲哚－3－亚

基甲基）－2,4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二乙基氨基乙基）酰胺（化合物 80）处理时，NCI－H460 和 SF763T 肿瘤的生长受到抑制或者大大减慢，而 Colo 205 肿瘤，象 A431 肿瘤一样，则消退。

为了确定各异种移植物模型之间响应差异的分子基础，研究了 SF763T 肿瘤。为此，利用免疫组织学技术在分子水平上研究了对于用 5－（5－氟－2－氧代－1,2－二氢吲哚－3－亚基甲基）－2,4－二甲基－1H－吡咯－3－羧酸（2－二乙基氨基乙基）酰胺（化合物 80）治疗响应较小的 SF763T 肿瘤，以便确定用该化合物治疗的作用。这些研究最初在这类肿瘤中进行是因为 SF763T 肿瘤高度血管化，有强烈表达内皮细胞标志物 CD31 的微血管，因此很适合肿瘤微血管密度（MVD）的研究。SF763T 肿瘤的免疫组织学评价表明，与用载体处理的对照样相比，治疗过的动物的肿瘤的 MVD 减小，与化合物 80 的抗血管发展作用机制一致；在用化合物 80 治疗的动物中，MVD 为 24.2±4.1，而只用载体处理的动物则为 39.3±5.7。由相关的肿瘤生长的减速可以预期，在用化合物 80 治疗的肿瘤中肿瘤细胞增殖显然受到显著的抑制。这些肿瘤的有丝分裂指数是用载体处理的肿瘤的一半（数据未列出）。化合物 80 对 MVD 和肿瘤细胞增殖的作用表明，化合物 80 具有显著的抗血管发展和抗肿瘤作用，即使是在肿瘤没有消退的情况下。

化合物 80 在体内抑制 PDGFR 磷酸化和随继的信号发送的能力也在表达高水平 PDGFRβ的 SF763T 肿瘤中评价。用化合物 80 治疗 SF763T 肿瘤强烈地抑制已形成的 SF763T 肿瘤中的 PDGFRβ酪氨酸磷酸化。化合物 80 还降低磷酸化（活化）的磷脂酶 C－γ（PLC－γ）含量，该酶是 PDGFR 活化的一种立即下游指示物。这些数据表明，口服化合物 80 在体内对肿瘤中靶物（PDGFR）活性产生直接作用。

由于化合物 80 抑制体内 HUVEC 的 VEGF 依赖性信号发送的能力显示为长期持续（参看上文），所以在 Colo 205 肿瘤模型中以偶尔服用的方式评价该化合物的效力。如表 8 所示，当每日服用 80mg/kg（91％抑制）和 40mg/kg（84％抑制）时有效，但当每周服药 2 次时无效。相反，较高剂量的化合物 80（160mg/kg）在每周服用 2 次时抑制（52％抑制）已形成的 Colo 205 肿瘤的生长，说明此化合物在以较高剂量偶尔服用时显示出效力。应当指出，投药方案可以由本领域普通技术人员决定，无需过多的实验。

表 8

Dose (mg/kg)	频率	抑制%	P－值
160	每周2次	52	0.085
	每周1次	17	NS
80	每日	91	0.039
	每周2次	19	NS
	每周1次	0	NS
40	每日	84	0.028
	每周2次	36	NS
NS: 无显著性（P＞0.05）			

简言之，表8中所示结果是用皮下植入到无胸腺小鼠后胁区的Colo 205细胞（0.5×10^6细胞/鼠）得到的。当肿瘤达到400mm^{3}时按照所列的时间表口服化合物80。用游标卡尺测量肿瘤，肿瘤体积计算为长×宽×高的积。在实验的最后一天，将用化合物80治疗的动物的肿瘤大小与用载体治疗的动物相比较，利用双侧检验Student t－试验，计算出P值。

ii. 化合物80在弥散性疾病模型中的效力。

除了支持固体原发性肿瘤的持续生长以外，血管发展还是支持由于原发性肿瘤的转移而造成的弥散性疾病的发展的主要因素。在B16－F1小鼠黑素瘤肺移生模型中检验了化合物80对弥散性疾病发展的影响。在此模型中，通过无胸腺小鼠尾静脉以静脉内方式接种的B16－F1细胞移生在肺中并形成肿瘤。如表8所示，以80mg/kg/天口服化合物80有效地减小肺中B16－F1细胞的积存量，这由测定肺的总重量可以检验。这些数据表明，化合物80能在体内抑制弥散性疾病。

表9

	肺重量(g)	抑制%	P－值
载体	0.83±0.07	-	-
化合物[1]	0.41±0.04	50	<0.001
[1]化合物80			

简言之，表9中所示结果是用经尾静脉接种了B16－F1肿瘤细胞（5×10^5细胞/小鼠）的无胸腺小鼠得到的。小鼠在接种肿瘤细胞后逐

日口服 80mg/kg/天的化合物 80（n = 10）或载体（n = 18）24 天。在实验期结束时，宰杀小鼠，取出肺称重。将用化合物 80 治疗过的动物的肺重与只用载体治疗的动物的肺重比较，计算出抑制百分数。P 值用双侧 Student t－试验法确定。

D. 生物活性实例

本发明化合物的体外试验效力的实例列在表 2 中。

结论

在关于本发明优选实施方案的化合物的药物动力学特性的研究中，已经显示出口服单剂量的所述化合物在小鼠中产生高的口服生物利用度。良好的口服生物利用度和线性的药物动力学表明本发明优选实施方案的化合物具有有利的药物动力学特性。

此外，本发明优选实施方案的化合物是参与血管发展的分裂激酶域 RTK Flk－1/KDR 和 PDGFR 以及与某些血癌有关的一种干细胞（SCF）受体 RTK C－kit 的酪氨酸激酶活性的有效抑制剂。在更高的浓度，本发明优选实施方案的化合物还抑制 FGFR－1 的酪氨酸激酶活性，它是与血管发展有关的第三种 RTK。与其生化活性一致，本发明优选实施方案的化合物抑制靶物 RTK 的依赖于配体的酪氨酸磷酸化，以及受 VEGF 或 EGF 激发的人脐静脉内皮细胞（HUVEC）、受 PDGF 激发的表达 PDGFR 的 NIH－3T3 细胞和受 SCF 激发的 MO7E 急性骨髓性白血病细胞的体外有丝分裂响应。相反，本发明优选实施方案的化合物不直接抑制在完全生长培养基中的肿瘤细胞的增殖，除非浓度比抑制配体依赖性有丝分裂响应所需的高 2－3 个数量级。在小鼠异种移植物研究中，本发明优选实施方案的化合物以依赖于剂量的方式在即使长期用药（>100 天）也能完全忍受的浓度下抑制已形成的各种来源的人类肿瘤。在 80mg/kg/天时，本发明优选实施方案的化合物引起已形成的 A431 和 Colo 205 大肿瘤的消退，并对 SF 763T 和 NCI－H460 肿瘤产生显著的生长抑制作用或停滞作用。在带有 SF763T 肿瘤的小鼠中，本发明优选实施方案的化合物引起微血管密度、肿瘤中 PDGFR 的磷酸化以及肿瘤细胞中有丝分裂指数的减小。在这一剂量，本发明优选实施方案的化合物还抑制肿瘤转移模型中 B16－F1 肿瘤细胞的肺移生。用药方案的研究表明，本发明优选实施方案的化合物在每日给药时最有效。本发明优选实施方案的化合物的抗血管发展活性的直接证

据已在 SF763T 肿瘤中检测出来，该肿瘤中微血管密度降低。在 SF763T 肿瘤中还得到了本发明优选实施方案化合物抑制体内 PDGFR 磷酸化和信号发送的直接证据。

总之，这些数据支持下述观点：口服给药的本发明优选实施方案的化合物对于癌症治疗，包括血管发展和/或经由 c－kit 的信号发送在疾病病理中起重要作用的那些固体肿瘤和血癌的治疗，是抗血管发展剂。

应该理解，本发明的化合物、方法和药物组合物在调节 PK 活性方面有效，因此预期对于和 RTK、CTK 及 STK 有关的疾病是有效的治疗药物。

本领域技术人员还容易理解，本发明完全适合于实现所述目标，达到目的和发挥上述的及本发明固有的优点。这里提到的分子络合物以及方法、步骤、处理、分子、具体化合物是优选实施方案的目前代表，它们是示例性的，不要看作是对本发明范围的限制。本领域技术人员会想到各种变化及其它应用，它们都被包括在本发明的精神之内，由权利要求的范围限定。

本领域技术人员显然可以对这里公开的本发明作出各种各样的替换和变动而不偏离本发明的范围和精神。

说明书中提到的所有专利和出版物是本发明所属领域的技术人员水平的标志。所有专利和出版物，如同各个出版物被专门地和个别地指出要引用作为参考一样，都在相同的程度上被引用作为参考。

本申请中示例说明的本发明可以适当地在本文未专门说明的一种或多种要素和限制不存在下实施。例如，在各种情形下，术语“含有”、“基本上包括”和“包括”中的任何一个均可用其它两个中的任何一个代替。所使用的术语和表述是作为描述词，而不是作为限制。在使用某些术语和表述时，并非是要排除表现和说明其特性或部分特性的任何等价物，而是认为在本发明的权利要求范围内可以有各种变化。因此，应当清楚，虽然已经通过优选的实施方案和可供选择的特征具体地公开了本发明，但本领域技术人员可以对这里公开的概念采取修改和变动，这些修改和变动被认为是在由所附权利要求限定的本发明的范围之内。

此外，在本发明的特点或情况是依据 Markush 基团表达式描述的

场合，本领域技术人员会认识到，本发明也因此被依据 Markush 基团成员中的任何个别成员或子群描述。例如，如果 X 被描述成选自溴、氯和碘，则关于 X 是溴的权利要求和 X 是溴和氯的权利要求也被充分描述了。

其它的实施方案在以下的权利要求之内。