

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 01815539.1

[51] Int. Cl.

C07D 401/04 (2006.01)

A61K 31/506 (2006.01)

C07D 401/14 (2006.01)

[45] 授权公告日 2008 年 7 月 30 日

[11] 授权公告号 CN 100406452C

[22] 申请日 2001.9.11 [21] 申请号 01815539.1

[30] 优先权

[32] 2000.9.13 [33] GB [31] 0022438.6

[86] 国际申请 PCT/EP2001/010503 2001.9.11

[87] 国际公布 WO2002/022597 英 2002.3.21

[85] 进入国家阶段日期 2003.3.12

[73] 专利权人 诺瓦提斯公司

地址 瑞士巴塞尔

[72] 发明人 H·M·比格尔 G·卡拉瓦提

J·齐默尔曼 P·W·曼利

W·布赖滕施泰因 M·A·库德

[56] 参考文献

CN1077713A 1993.10.27

审查员 胡 振

[74] 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

代理人 刘金辉 林柏楠

权利要求书 3 页 说明书 31 页

[54] 发明名称

N-苯基-2-嘧啶胺衍生物

[57] 摘要

本发明涉及式(I)的 N-苯基-2-嘧啶-胺衍生物(其中各取代基如说明书所定义)、其制备方法、包含这些化合物的药物及其在药物组合物制备中的用途,该药物组合物用于包括人在内的温血动物的治疗性处理。

1、N-[4-甲基-3-(4-吡啶-3-基-嘧啶-2-基氨基)苯基]-4-哌嗪-1-基甲基苯甲酰胺或其药学上可接受的盐。

2、根据权利要求1的化合物，它是N-[4-甲基-3-(4-吡啶-3-基-嘧啶-2-基氨基)苯基]-4-哌嗪-1-基甲基苯甲酰胺甲磺酸盐。

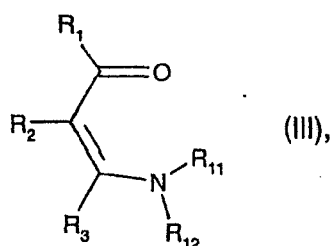
3、一种药物组合物，包含治疗有效量的根据权利要求1的N-[4-甲基-3-(4-吡啶-3-基-嘧啶-2-基氨基)苯基]-4-哌嗪-1-基甲基苯甲酰胺或其药学上可接受的盐以及药物载体。

4、根据权利要求1的N-[4-甲基-3-(4-吡啶-3-基-嘧啶-2-基氨基)苯基]-4-哌嗪-1-基甲基苯甲酰胺或其药学上可接受的盐在制备治疗响应于PDGF刺激的受体酪氨酸激酶活性的抑制作用的增殖性障碍的药物组合物中的用途。

5、根据权利要求2的化合物在制备治疗响应于PDGF刺激的受体酪氨酸激酶活性的抑制作用的增殖性障碍的药物组合物中的用途。

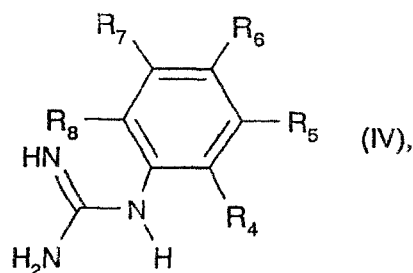
6、一种制备根据权利要求1的N-[4-甲基-3-(4-吡啶-3-基-嘧啶-2-基氨基)苯基]-4-哌嗪-1-基甲基苯甲酰胺或其药学上可接受的盐的方法，包括

i)使式III化合物



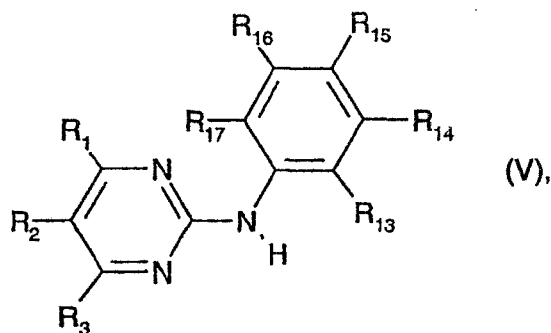
其中 R_{11} 和 R_{12} 彼此独立地是低级烷基， R_1 是 3-吡啶基， R_2 和 R_3 均为氢，式 III 化合物中的官能团除了参与反应的基团以外，如果必要的话其余为被保护的形式，

或这样一种化合物的盐与式 IV 化合物反应



其中 R_4 为甲基, R_5 、 R_6 和 R_8 均为氢, 和 R^7 为 4-(哌嗪-1-基-甲基)苯甲酰基氨基, 式 IV 化合物中的官能团除了参与反应的胍基以外, 如果必要的话其余为被保护的形式,

或者与这样一种化合物的盐反应, 再除去所有存在的保护基团, 或者
ii)使式 V 化合物



其中基团 R_{13} 、 R_{14} 、 R_{15} 、 R_{16} 和 R_{17} 之一是式-NH₂ 基团, 其余基团 R_{13} 、 R_{14} 、 R_{15} 、 R_{16} 和 R_{17} 彼此独立地是氢; 低级烷基, 它是未取代的或者被游离或烷基化的氨基、哌嗪基、哌啶基、吡咯烷基或吗啉基取代; 低级链烷酰基; 三氟甲基; 游离、醚化或酯化的羟基; 游离、烷基化或酰化的氨基; 或游离或酯化的羧基, 其余取代基定义同上, 式 V 化合物中的官能团除了参与反应的氨基以外, 如果必要的话其余为被保护的形式,

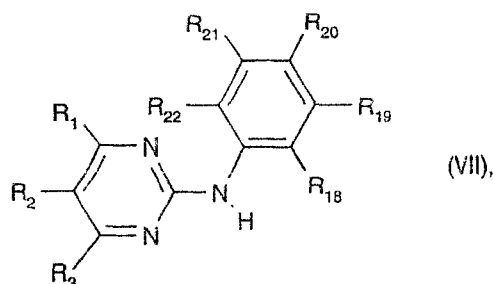
与式 VI 化合物反应



其中 R_{10} 为 4-(哌嗪-1-基-甲基)苯基, 式 VI 化合物中的官能团除了参与反应的 HO-C(=O)基团以外, 如果必要的话其余为被保护的形式,

或者与式 VI 化合物的反应性衍生物反应, 再除去所有存在的保护基团, 或者

iv)对于如下式 I 化合物的制备: 其中 R_{10} 是 4-(哌嗪-1-基-甲基)苯基, 使式 VII 化合物



其中 R_1 、 R_2 和 R_3 定义同上，基团 R_{18} 、 R_{19} 、 R_{20} 、 R_{21} 和 R_{22} 之一是式 VIII 基团



其中 R_{23} 是卤素低级烷基苯基，它可选地被一个或多个选自下组的基团取代：氰基；低级烷基；羟基-或氨基取代的低级烷基；三氟甲基；羟基；低级烷氧基；低级链烷酰氧基；氨基；单-或二低级烷基氨基；低级链烷酰氨基；苯甲酰氨基；羧基；低级烷氧羰基和卤素，其余基团 R_{18} 、 R_{19} 、 R_{20} 、 R_{21} 和 R_{22} 彼此独立地是氢；低级烷基，它是未取代的或者被游离或烷基化的氨基、哌嗪基、哌啶基、吡咯烷基或吗啉基取代；低级链烷酰基；三氟甲基；游离、醚化或酯化的羟基；游离、烷基化或酰化的氨基；或游离或酯化的羧基，式 VII 化合物中的官能团除了参与反应的基团以外，如果必要的话其余为被保护的形式，

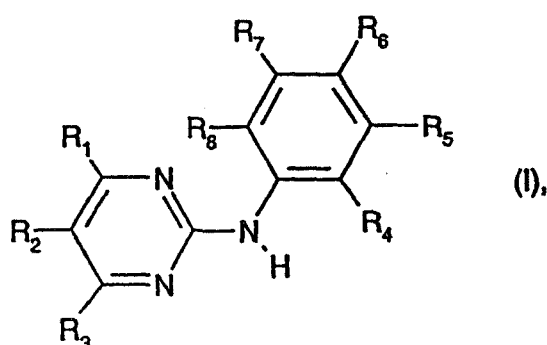
与选自单-或二低级烷基胺和低级链烷酰胺的反应物反应，或者与选自下组的未取代或取代的反应物反应：苄胺、苯甲酰胺、吡咯烷、哌啶、哌嗪和吗啉，其中取代基选自氰基、低级烷基、羟基-或氨基取代的低级烷基、三氟甲基、羟基、低级烷氧基、低级链烷酰氧基、氨基、单-或二低级烷基氨基、低级链烷酰氨基、苯甲酰氨基、羧基、低级烷氧羰基和卤素，其前提条件是若 R_{23} 是未取代的卤素甲基苯基，则该反应物不是 4-甲基哌嗪，反应物中的官能团除了参与反应的基团以外，如果必要的话其余为被保护的形式，再除去所有存在的保护基团，

如果需要的话，使可由方法 i)、ii) 和 iv) 任意一种得到的 N-[4-甲基-3-(4-吡啶-3-基-嘧啶-2-基氨基)苯基]-4-哌嗪-1-基甲基苯甲酰胺转化为它的盐，或者使可得到的 N-[4-甲基-3-(4-吡啶-3-基-嘧啶-2-基氨基)苯基]-4-哌嗪-1-基甲基苯甲酰胺的盐转化为游离化合物。

N-苯基-2-嘧啶胺衍生物

本发明涉及 N-苯基-2-嘧啶胺衍生物、其制备方法、包含这些化合物的药物及其在药物组合物制备中的用途，该药物组合物用于包括人在内的温血动物的治疗性处理。

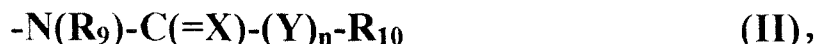
本发明涉及式 I 的 N-苯基-2-嘧啶胺衍生物



其中

R_1 是吡嗪基；1-甲基-1H-吡咯基；氨基-或氨基低级烷基取代的苯基，其中该氨基在每种情况中都是游离的、烷基化的或酰化的；键合在五元环碳原子上的 1H-咪唑基或 1H-咪唑基；或未取代的或低级烷基取代的吡啶基，它键合在环碳原子上，并且在氮原子上是未取代的或者被氧取代， R_2 和 R_3 彼此独立地是氢或低级烷基，

基团 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_7 和 R_8 之一是式 II 基团



其中

R_9 是氢或低级烷基，

X 是氧代、硫代、亚氨基、N-低级烷基亚氨基、肟基或 O-低级烷基肟基，

Y 是氧或基团 NH ，

n 是 0 或 1，以及

R_{10} 是苯基，它

a)被选自下组的基团取代：氨基；单-或二低级烷基氨基；低级链烷酰氨基；甲酰基；低级烷氧羰基；和被氨基、单-或二低级烷基氨基或低级链烷酰氨基取代的低级烷基，或者

b)被选自下组的未取代或取代的基团取代：苄氨基；苯甲酰氨基；吡咯烷基；哌啶基；哌嗪基；哌嗪基羰基；吗啉基；和被苄氨基、苯甲酰氨基、吡咯烷基、哌啶基、哌嗪基或吗啉基取代的低级烷基，其中所述取代的基团的取代基选自氰基、低级烷基、羟基-或氨基取代的低级烷基、三氟甲基、羟基、低级烷氧基、低级链烷酰氧基、氨基、单-或二低级烷基氨基、低级链烷酰氨基、苯甲酰氨基、羧基、低级烷氧羰基和卤素，并且

c)可选地进一步被一个或多个选自下组的基团取代：氰基；低级烷基；羟基-或氨基取代的低级烷基；三氟甲基；羟基；低级烷氧基；低级链烷酰氧基；氨基；单-或二低级烷基氨基；低级链烷酰氨基；苯甲酰氨基；羧基；低级烷氧羰基和卤素，

其前提条件是 R_{10} 不是(4-甲基哌嗪基)甲基苯基，

其余基团 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_7 和 R_8 彼此独立地是氢；低级烷基，它是未取代的或者被游离或烷基化的氨基、哌嗪基、哌啶基、吡咯烷基或吗啉基取代；低级链烷酰基；三氟甲基；游离、醚化或酯化的羟基；游离、烷基化或酰化的氨基；或游离或酯化的羧基，

或具有至少一个成盐基团的这样一种化合物的盐。

1-甲基-1H-吡咯基 R_1 优选是 1-甲基-1H-吡咯-2-基或 1-甲基-1H-吡咯-3-基。

氨基-或氨基低级烷基取代的苯基 R_1 —其中该氨基在每种情况下都是游离的、烷基化的或酰化的一是在任意所需位置(邻、间或对位)被取代的苯基，其中烷基化的氨基优选是单-或二低级烷基氨基，例如二甲氨基，氨基低级烷基的低级烷基部分优选是线性 C_1 - C_3 烷基，尤其例如甲基或乙基。

键合在五元环碳原子上的 1H-吡啶基 R_1 是 1H-吡啶-2-基或 1H-吡啶-3-基。

键合在环碳原子上的未取代或低级烷基取代的吡啶基 R_1 是低级烷基取代的或优选未取代的 2-、4-或优选 3-吡啶基, 例如 3-吡啶基、2-甲基-3-吡啶基或 4-甲基-3-吡啶基。在氮原子上被氧取代的吡啶基是从吡啶 N-氧化物衍生的基团, 也就是 N-氧化-吡啶基。

当 X 是氧代、硫代、亚氨基、N-低级烷基亚氨基、肟基或 O-低级烷基肟基时, 基团 $C=X$ 按上述顺序分别是基团 $C=O$ 、 $C=S$ 、 $C=N-H$ 、 $C=N$ -低级烷基、 $C=N-OH$ 或 $C=N-O$ -低级烷基。X 优选是氧代。

n 优选是 0, 也就是说, 基团 Y 不存在。

Y 如果存在的话, 优选是基团 NH 。

术语“低级”在本文范围内表示具有至多 7 个、包括 7 个碳原子, 优选至多 4 个、包括 4 个碳原子的基团。

低级烷基 R_2 、 R_3 和 R_9 优选是甲基或乙基。

选自上述列表 a) 或 b) 的基团优选与苯基 R_{10} 键合在该苯基环的 3 位或 4 位上。

被未取代或取代的吡咯烷基-、哌啶基-、哌嗪基-或吗啉基低级烷基取代的苯基 R_{10} 优选是分别被未取代或取代的 1-吡咯烷基-、1-哌啶基-、哌嗪-1-基-或吗啉-4-基低级烷基取代的苯基 R_{10} 。

被未取代或取代的吡咯烷基-、哌啶基-、哌嗪基-或吗啉基低级烷基取代的苯基 R_{10} 优选是分别被未取代或取代的吡咯烷基-、哌啶基-、哌嗪基-或吗啉基甲基取代的苯基 R_{10} 。

醚化的羟基优选是低级烷氧基。酯化的羟基优选是被有机羧酸如低级链烷酸或无机酸如氢卤酸酯化的羟基, 例如低级链烷酰氧基, 或者尤其是卤素如碘、溴或尤其是氟或氯。

烷基化的氨基例如是低级烷基氨基如甲氨基, 或二低级烷基氨基如二甲氨基。酰化的氨基例如是低级链烷酰氨基或苯甲酰氨基。

酯化的羧基例如是低级烷氧羰基, 例如甲氧羰基。

式 I 化合物中的成盐基团是碱性或酸性基团。具有至少一个碱性基团如游离氨基团、吡嗪基或吡啶基的化合物可以例如与下列酸生成酸加成盐: 无机酸, 例如盐酸、硫酸或磷酸; 或者适合的有机羧酸或磺酸,

例如脂族单-或二羧酸如三氟乙酸、乙酸、丙酸、乙醇酸、琥珀酸、马来酸、富马酸、羟基马来酸、苹果酸、酒石酸、柠檬酸或草酸；或氨基酸，例如精氨酸或赖氨酸；芳族羧酸，例如苯甲酸、2-苯氧基苯甲酸、2-乙酰氧基苯甲酸、水杨酸、4-氨基水杨酸；芳族脂族羧酸，例如扁桃酸或肉桂酸；杂芳族羧酸，例如烟酸或异烟酸；脂族磺酸，例如甲磺酸、乙磺酸或 2-羟基乙磺酸；或芳族磺酸，例如苯磺酸、对甲苯磺酸或萘-2-磺酸。当存在若干碱性基团时，可以生成单-或多酸加成盐。

基团 R_{10} 中具有酸性基团如游离羧基的式 I 化合物可以生成金属盐或铵盐，例如碱金属盐或碱土金属盐，例如钠盐、钾盐、镁盐或钙盐，或者与氨或适合的有机胺或杂环碱生成的铵盐，有机胺如叔单胺，例如三乙胺或三(2-羟乙基)胺，杂环碱例如 N-乙基哌啶或 N,N'-二甲基哌嗪。

具有酸性和碱性基团的式 I 化合物可以生成内盐。

对于分离或纯化而言，以及在化合物进一步用作中间体的情况下，也可使用药学上不可接受的盐。不过只有药学上可接受的、无毒的盐才可用于治疗目的，因此优选这些盐。

由于新颖化合物的游离形式与它们的盐形式一包括可用作中间体的那些盐，例如在新颖化合物的纯化中或者用于其鉴别一之间的密切关系，如果适当并且方便的话，在上下文中任意对游离化合物的引用都应当理解为包括其对应的盐。

式 I 化合物具有宝贵的药理性质，例如可以用作抗肿瘤剂、治疗动脉粥样硬化的药物、治疗再狭窄的药物、用于移植诱发的障碍如闭塞性细支气管炎的预防和/或用于预防温血动物细胞受某些细菌如牙龈卟啉单胞菌(*Porphyromonas gingivalis*)的侵袭。

蛋白质的磷酸化作用长久以来公知为细胞分化和分裂中的必要步骤。磷酸化作用受蛋白激酶的催化，后者细分为丝氨酸/苏氨酸和酪氨酸激酶。酪氨酸激酶包括 PDGF(血小板源生长因子)受体酪氨酸激酶。

PDGF 是一种非常常见的生长因子，它在正常生长和病理性细胞增殖中起着重要的作用，例如在癌发生和血管平滑肌细胞的疾病，例如动脉粥样硬化和血栓形成中见到。

PDGF 刺激的受体酪氨酸激酶活性的体外抑制作用在 A431 细胞的 PDGF 受体免疫复合物中测量, 如 E. Andrejauskas-Buchdunger 和 U. Regenass, *Cancer Research*(癌症研究), 第 52 期, 第 5353-5358 页(1992) 所述。式 I 化合物抑制 PDGF 依赖性无细胞受体磷酸化作用。PDGF 受体酪氨酸激酶的抑制作用在微量滴定 ELISA 测定法中测量, 参见 Trinks 等人, *J. Med. Chem.*(药物化学杂志)第 37 期, 第 1015-1027 页(1994)。式 I 化合物抑制 PDGF 受体酪氨酸激酶活性, IC_{50} (与对照相比活性被抑制 50%时的浓度)在 1nM 至 1 μ M 之间, 尤其在 3nM 至 300nM 之间。

PDGF 受体酪氨酸激酶的抑制作用使式 I 化合物还适合治疗肿瘤疾病, 例如神经胶质瘤、肉瘤、前列腺肿瘤和结肠、乳腺与卵巢的肿瘤。

式 I 化合物还抑制涉及所谓干细胞生长因子(SCF, 也已知为 c-kit 配体或青灰因子)的细胞进程, 例如 SCF 受体(kit)自磷酸化作用和 SCF 刺激的 MAPK 激酶(促分裂原活化蛋白激酶)活化作用。

式 I 化合物因而还抑制 SCF 受体(和 c-kit, 原癌基因)的自磷酸化作用。MO7e 细胞是人体前巨核细胞性白血病细胞系, 后者的增殖依赖于 SCF。它们是从 Grover Bagby, Oregon Health Sciences University, USA 获得的。将细胞培养在补充有 10 FBS 和 2.5ng/ml GC-CMF 的 RPMI 1649 培养基中。GM-SCF 和 SCF 可市购。制备无血清 MO7e 细胞, 并与供试物质在 37°C 下培育 90 分钟, 然后在 37°C 下用重组 SCF 刺激 10 分钟。利用抗磷酸酪氨酸抗体通过蛋白质印迹来分析等量细胞裂解产物(Buchdunger 等人, *Proc. Natl. Acad. Sci.*(国家科学院学报)(USA)第 92 期, 第 2558-2562 页(1995))。借助来自 Amersham(Amersham, UK)的 ECL 蛋白质印迹体系检测免疫修饰的蛋白质。式 I 化合物在微摩尔浓度范围内抑制 SCF 受体的自磷酸化作用。

在所述性质的基础上, 式 I 化合物不仅可以用作肿瘤抑制物质, 例如在小细胞肺癌中, 而且还可以用作药物, 以治疗非恶性增殖性障碍如动脉粥样硬化、血栓形成、牛皮癣、硬皮病和纤维样变性, 以及保护干细胞, 例如对抗化疗剂如 5-氟尿嘧啶的毒血性后果, 以及用于气喘。它尤其可以用于治疗响应于 PDGF 受体激酶抑制作用的疾病。

另外，式 I 化合物预防使用其它化疗剂的癌症疗法中发展多种抗药性，或者消除现有的对其它化疗剂的抗药性。而且与上述效果无关的是，式 I 化合物可有利地与其它抗肿瘤剂联合使用。

abl 激酶、尤其是 v-abl 激酶也受式 I 化合物抑制。v-abl 酪氨酸激酶的抑制作用通过 N. Lydon 等人，Oncogene Research(致癌基因研究) 第 5 期，第 161-173 页(1990)和 J. F. Geissler 等人，Cancer Research，第 52 期，第 4492-4498 页(1992)的方法测定。在这些方法中，使用[Val⁵]-血管紧张素 II 和[γ-³²P]-ATP 作为底物。

用类推的方法，式 I 化合物还抑制 BCR-abl 激酶(见 Nature Medicine (自然药物)，第 2 期，第 561-566 页(1996))，因而适合治疗 BCR-abl-阳性癌症和肿瘤疾病，例如白血病(尤其是慢性骨髓性白血病和急性淋巴细胞性白血病，其中尤其发现了细胞程序死亡的作用机理)，还显示出对白血病性干细胞亚群的效果以及对在除去所述细胞(例如骨髓除去)后体外纯化这些细胞和一旦清除癌细胞再植入细胞(例如纯化骨髓细胞的再植入)的潜力。

另外，式 I 化合物对由移植如同种异体移植引起的障碍，尤其是组织排斥，尤其例如闭塞性支气管炎(OB)，也就是同种异体肺移植物的慢性排斥的治疗中显示出有用的效果。与没有患 OB 的患者相反，患有 OB 的患者经常表现出支气管肺泡灌洗液中 PDGF 浓度升高。如果将式 I 化合物对具有气管异体移植物的大鼠给药，剂量例如为 50mg/kg i.p.，那么在 10 和 30 天后每组取出 10 只移植物之后所进行的可能的上皮损伤和气道闭合的形态测定分析和免疫组织化学作用途径的研究可以表明，尽管式 I 化合物对上皮坏死或炎性细胞渗入没有显著效果，不过与对照相比它的确明显减少纤维增生和管腔闭合。与其它免疫调节性或抗炎物质的协同效果是可能的，例如当与下列药物联合使用时：环孢菌素 A(CsA)、雷帕霉素或子囊霉素，或它们的免疫抑制性类似物，例如环孢菌素 G、FK-506 或类似化合物；皮质类固醇；环磷酰胺；硫唑嘌呤；氮甲蝶呤；布喹那；来氟米特；咪唑立宾；霉酚酸；麦考酚酸酯(mycophenolate mofetil)；15-脱氧精脒菌素；免疫抑制性抗体，尤其是

白细胞受体的单克隆抗体,例如 MHC、CD2、CD3、CD4、CD7、CD25、CD28、B7、CD45、CD58 或它们的配体;或其它免疫调节性化合物,例如 CTLA4Ig。例如,如果将 CsA(1mg/kg s.c.)与式 I 化合物(50mg/kg)联用使用,那么可以观察到协同作用。

式 I 化合物在与血管平滑肌细胞移行和增殖有关的疾病,例如再狭窄和动脉粥样硬化中也是有效的(其中 PDGF 和 PDGF 受体经常也起一定作用)。体外和体内对血管平滑肌细胞增殖或移行的这些效果及其后果可由式 I 化合物的给药和研究它对机械损伤继发血管内膜增厚的体内效果来证明。

在体外研究中,将式 I 化合物溶于 0.1N HCl 或 DMSO 中,浓度为 10mM。将储备溶液进一步用细胞培养基稀释,以 10 至 0.1 μ M 的浓度用于实验。对于体内给药,将式 I 化合物例如溶于 DMSO,浓度为 200mg/ml,然后用含 1%吐温的 0.9%盐水溶液稀释至 1:20。声波处理后,得到澄清的溶液。储备溶液在每天给药前新近制备。(还可以将式 I 化合物简单地溶于去离子水中,以口服给药,或者溶于 0.9%的盐水溶液中,以肠胃外给药。)给药在手术前 24 小时进行。将式 I 化合物对大鼠给药,每天一次,剂量为 50mg/kg i.p.,持续整个观察期。向对照大鼠给以相同的制剂,但该制剂不含式 I 化合物。也可口服给药。

利用 Thyberg 等人所述方法的改进,从 9 至 11 日龄 DA(AG-B4, RT1a)大鼠主动脉分离平滑肌主动脉细胞的原代培养物(见 Differentiation(分化),第 25 期,第 156-167 页(1983))。通过纵向切开打开主动脉,小心地除去内皮。分离外膜和中膜,在 37°C 下将中膜用含 0.1%胶原酶和 DNA 酶的磷酸盐缓冲生理盐水消化 30 分钟。将细胞离心,悬浮在培养基中,然后让其在塑料小瓶上生长。将经过第 2 至 6 代后的初级细胞用于实验。在 DMEM(Dulbecco 改性的 Eagle 培养基)中保持传代培养物,其中补充有 10%胎牛血清、2mmol/ml 谷氨酰胺、100mmol/ml 链霉素和 100IU/ml 青霉素。出于鉴别的目的,使细胞生长在盖玻片上,并利用从平滑肌细胞得到的抗- α -肌动蛋白抗体进行免疫组织化学染色(见下)。

平滑肌细胞的移行利用 Transwell 细胞培养插件 (Costar, Cambridge, MA) 体外量化, 该插件的上下区室由孔度为 $8\mu\text{m}$ 的聚碳酸酯膜分开。使细胞 ($100\mu\text{l}$, 浓度为 1×10^6 细胞/ml) 暴露在上区室内。2 小时后, 向下区室加入 60ng/ml PDGF-BB 或 PDGF-AA (Upstate Biotechnology Inc., Lake Placid, NY), 该区室补充有 0.5% 胎牛血清和 0.1% 牛血清清蛋白, 加入式 I 供试化合物, 浓度为 3、1、0.3、0.1、0.03、0.01 和 $0.003\mu\text{M}$ 。为了测量纤连蛋白依赖性移行, 用纤连蛋白覆盖 Transwell 区室, 浓度为 $10\mu\text{g/ml}$, 在 4°C 下持续 24 小时 (人体细胞纤连蛋白, Upstate Biotechnology Inc.)。移行 24 小时后, 除去过滤器, 固定在甲醇中, 用 Mayer 苏木精和曙红染色。借助放大率为 $400\times$ 的光学显微镜计数过滤器上特定部分的视野, 测定在滤膜下侧上移行的细胞。移行抑制作用以相对于对照的细胞百分率而量化。为了排除毒性作用的可能性, 在补充有 10% 胎牛血清的 DMEM 中掺入 3H-胸苷, 试验细胞的生存力。利用式 I 化合物, 观察到由 PDGF-AA, 尤其是 PDGF-BB 诱导的移行抑制作用。

实验动物: 剥脱雄性 Wistar 大鼠 (购自 Laboratory Animal Center of the University of Helsinki, 芬兰) 的主动脉和颈动脉。用 240mg/kg 水合氯醛 i.p. 将大鼠麻醉, 给以丁丙诺啡 (Temgesic, Reckitt & Coleman, Hull, UK), 以减轻手术期间和术后的疼痛。全部动物都给予人员护理, 并遵照 NIH 的 “Principles of Laboratory Animal Care” 和 “Guide for the Care and Use of Laboratory Animals” (NIH 出版物, 第 86-23 页, 修订版, 1985)。使用体重 200-300g 的大鼠进行剥脱操作。通过 2F 栓子切除术导管 (Baxter Healthcare Corporation, Santa Ana, CA, 27) 的管腔内通道剥脱左颈总动脉的内皮。为了除去内皮, 使导管穿过管腔三次, 充以 0.2ml 空气。取出导管后结扎颈外动脉, 闭合伤口。在剥脱后 4 天参照颈中动脉部分评价组织变化。利用 2F Fogarty 动脉栓子切除术导管剥脱胸主动脉的内皮。将导管经由左侧髂动脉插入胸主动脉, 充以 0.2ml 空气, 穿过管腔五次, 以除去内皮。然后结扎髂动脉。选择三次 (3、7 和 14 天) 以评价组织变化。

为了量化增殖细胞,在剥脱大鼠颈动脉后利用三种不同的操作将细胞用溴脱氧尿苷(BrdU)标记。在这种模型中,中层细胞于剥脱后 24 小时开始增殖;内膜细胞在 72-96 小时后首次出现。为了量化内膜细胞出现之前平滑肌细胞的增殖,在 0-72 小时的剥脱术后期间静脉内给以 0.1ml BrdU 标记试剂(ZYMED, San Francisco, CA),分 6 次进行,共计 0.1ml。为了量化初期移行波期间的增殖,在手术后 72-96 小时内每隔 8 小时向大鼠给以 $3 \times 0.1\text{ml}$ BrdU 标记试剂。为了量化初期移行波结束时的增殖,在处死前三小时向第三组大鼠给以脉冲剂量的 0.3ml BrdU。

将组织样本在 3%低聚甲醛中固定 4 小时,以包埋在石蜡中。从用 Mayer 苏木精-曙红染色的石蜡部分评价形态学变化。在 $400\times$ 放大率下计算不同血管部分的细胞数。为了鉴别培养物中的细胞和在剥脱损伤四天内出现在新生内膜中的细胞,利用从平滑肌细胞得到的抗- α -肌动蛋白抗体(Bio-Makor, Rehovot, 以色列)进行丙酮固定的样本的免疫组织化学染色。利用相同的染色方法在丙酮固定的盖玻片上鉴别原代平滑肌细胞。将这些部分用原代抗体(稀释比 1:2000)培育,洗涤,连续用过氧化物酶缀合的兔-抗小鼠-Ig 和山羊-抗兔-Ig 培育,然后用含有色原 3-氨基-9-乙基吡唑和过氧化氢的底物溶液处理。利用原代小鼠抗体(Bu20a, Dako, A/S, Denmark)和 Vectastain Elite ABC-Kit(Vector Laboratories, Burlingame, CA),从石蜡部分制备 BrdU 染剂。将这些部分脱石蜡,用 500W 微波处理(2×5 分钟, 0.1M 柠檬酸盐缓冲液, pH6),然后在 70°C 下用含 95%甲酰胺的 0.15M 柠檬酸三钠溶液处理 45 分钟。按照厂商的说明制备抗体稀释液。将这些部分用 Mayer 苏木精和曙红复染色,分别计数内膜、中层和外膜的阳性细胞。

在所处理动物的颈动脉中,发现平滑肌细胞数量显著降低。外膜和中层显示细胞数量显著降低。作为式 I 化合物的结果,在前两个标记阶段(0-72 和 72-96 小时),在内膜、中层和外膜中见到 BrdU 标记的细胞的绝对数量稍微降低,93-96 小时后在所有区室内见到标记的细胞的数量降低。同样发现主动脉剥脱的动物中平滑肌细胞数量降低。

按照这些发现，式 I 化合物因而能够抑制血管平滑肌细胞的增殖，尤其是移行。

式 I 化合物还能够抑制血管生成。这可以证明如下：将含有或不含有生长因子(VEGF 3 μ g/ml, PDGF 1 μ g/ml 或 bFGF 0.3 μ g/ml)的含有琼脂(0.8%)和肝素(2U/ml)的小室皮下植入正常小鼠(C57 BL/6)。将式 I 化合物口服给药，剂量为使在裸鼠异种移植模型中显示出良好抗肿瘤活性的剂量。给药于小室植入前一天开始。5 天后取出小室。通过测量已经生长在植入物周围的血管化组织和该组织的血液含量(外部血液)来量化血管生成效率。通过测量血红蛋白来测定血液。尽管血管不生长到琼脂中，但如果存在抗血管生成效果，那么琼脂也变得鲜红。如果化合物抑制生长因子诱导的血液增加，那么这说明该化合物阻滞有关生长因子的血管生成效果。对血液重量而非体积的抑制作用表明了对成纤维细胞增殖的效果。对照响应的抑制表明了对伤口愈合的抑制。在每日一次 50mg/kg 的口服剂量下，式 I 化合物抑制全部三种生长因子(VEGF, PDGF, bFGF)的血管生成效果。

有趣的是，N-[4-甲基-3-(4-吡啶-3-基-嘧啶-2-基氨基)苯基]-4-哌嗪-1-基甲基苯甲酰胺代表 N-[4-甲基-3-(4-吡啶-3-基-嘧啶-2-基氨基)苯基]-4-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)苯甲酰胺(STI571)的 N-脱甲基代谢产物。STI571 描述在 EP 0 564 409 中，其甲磺酸盐形式描述在 WO 99/03854 中。STI571 的 N-脱甲基代谢产物是活性代谢产物，它在人血浆中的浓度是 STI571 的 30 至 50%，半衰期略长于 STI571。而且，该 N-脱甲基代谢产物当与 STI571 相比时，它对某些细胞色素 P450 酶表现出更弱的抑制作用(见下段)。细胞色素 P450 是主要的肝外生物代谢酶，细胞色素 P450 的弱抑制作用减少化合物用于临床药物-药物相互作用的潜力。在式 I 化合物中，尤其优选的因而是 STI571 的 N-脱甲基代谢产物，也就是 N-[4-甲基-3-(4-吡啶-3-基-嘧啶-2-基氨基)苯基]-4-哌嗪-1-基甲基苯甲酰胺。

为了评价式 I 化合物对细胞色素 P450(CYP)的效果，例如照例利用 cDNA-表达的酶或人肝微粒体进行体外抑制作用研究来评估酶抑制作

用(Parkinson, A., Toxicol. Pathol.(毒物病理学)第 24 期, 第 45-57 页(1996))。根据 Tucker 等人, Clin. Pharmacol. Ther.(临床药理学和治疗学)第 70 期,第 103-114 页(2001)的特异性药物标记物底物试验可用于测定式 I 化合物对主要的药物-代谢性 P450 酶的 50%抑制浓度(IC₅₀), 这些酶例如是 CYP1A2、CYP2A6、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、CYP2E1、CYP3A4/5 和 CP4A9/11。

通过这些体外试验得出的抑制常数 Ki 或 IC₅₀ 值提供了所试验的药物化合物的抑制能力量度, 根据血浆中药物浓度与各自抑制常数 Ki 之比, 其中不同的比例范围导致不同危险程度的代谢药物相互作用: >1.0 导致高度危险, 1.0-0.1 导致中度危险, <0.1 导致低度危险。在此基础上, 当与 STI571 相比时, N-[4-甲基-3-(4-吡啶-3-基-嘧啶-2-基氨基)苯基]-4-哌嗪-1-基甲基苯甲酰胺在人药物代谢作用中与 2 种最重要的 P450 酶(CYP2D6 和 CYP3A4/5)具有低得多的药物-药物相互作用危险(参见美国食品与药品管理局的指导文件)。

优选这样的式 I 化合物, 其中

R₁ 是未取代的或低级烷基取代的吡啶基, 它键合在环碳原子上, 并且在氮原子上是未取代的或者被氧取代,

R₂ 和 R₃ 彼此独立地是氢或低级烷基,

基团 R₄、R₅、R₆、R₇ 和 R₈ 之一是式 II 基团, 其中

R₉ 是氢或低级烷基,

X 是氧代、硫代、亚氨基、N-低级烷基亚氨基、肟基或 O-低级烷基肟基,

n 是 0, 以及

R₁₀ 是苯基, 它

a)被选自下组的基团取代: 氨基; 单-或二低级烷基氨基; 低级链烷酰氨基; 甲酰基; 低级烷氧羰基; 和被氨基、单-或二低级烷基氨基或低级链烷酰氨基取代的低级烷基, 或者

b)被选自下组的未取代或取代的基团取代: 苄氨基; 苯甲酰氨基; 吡咯烷基; 哌啶基; 哌嗪基; 哌嗪基羰基; 吗啉基; 和被苄氨基、苯甲

酰氨基、吡咯烷基、哌啶基、哌嗪基或吗啉基取代的低级烷基，其中所述取代的基团的取代基选自氰基、低级烷基、羟基-或氨基取代的低级烷基、三氟甲基、羟基、低级烷氧基、低级链烷酰氧基、氨基、单-或二低级烷基氨基、低级链烷酰氨基、苯甲酰氨基、羧基、低级烷氧羰基和卤素，并且

c)可选地进一步被一个或多个选自下组的基团取代：氰基；低级烷基；羟基-或氨基取代的低级烷基；三氟甲基；羟基；低级烷氧基；低级链烷酰氧基；氨基；单-或二低级烷基氨基；低级链烷酰氨基；苯甲酰氨基；羧基；低级烷氧羰基和卤素，

其前提条件是 R_{10} 不是(4-甲基哌嗪基)甲基苯基，

其余基团 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_7 和 R_8 彼此独立地是氢；低级烷基，它是未取代的或者被游离或烷基化的氨基、哌嗪基、哌啶基、吡咯烷基或吗啉基取代；低级链烷酰基；三氟甲基；游离、醚化或酯化的羟基；游离、烷基化或酰化的氨基；或游离或酯化的羧基，

或具有至少一个成盐基团的这样一种化合物的盐。

还优选这样的式 I 化合物，其中

R_1 是未取代的或低级烷基取代的吡啶基，它键合在环碳原子上，并且在氮原子上是未取代的或者被氧取代，

R_2 和 R_3 彼此独立地是氢或低级烷基，

R_5 或 R_7 是式 II 基团，其中

R_9 是氢，

X 是氧代，

n 是 0，以及

R_{10} 是苯基，它

a)被选自下组的基团取代：氨基；单-或二低级烷基氨基；低级链烷酰氨基；甲酰基；低级烷氧羰基；和被氨基、单-或二低级烷基氨基或低级链烷酰氨基取代的低级烷基，或者

b)被选自下组的未取代或取代的基团取代：苄氨基；苯甲酰氨基；吡咯烷基；哌啶基；哌嗪基；哌嗪基羰基；吗啉基；和被苄氨基、苯甲

酰氨基、吡咯烷基、哌啶基或吗啉基取代的低级烷基，其中所述取代的基团的取代基选自氰基、低级烷基、羟基-或氨基取代的低级烷基、三氟甲基、羟基、低级烷氧基、低级链烷酰氧基、氨基、单-或二低级烷基氨基、低级链烷酰氨基、苯甲酰氨基、羧基、低级烷氧羰基和卤素，或者

c)被哌嗪基低级烷基取代，后者可选地被一个或多个选自下组的基团取代：氰基；C₃-C₇低级烷基；羟基-或氨基取代的低级烷基；三氟甲基；羟基；低级烷氧基；低级链烷酰氧基；氨基；单-或二低级烷基氨基；低级链烷酰氨基；苯甲酰氨基；羧基；低级烷氧羰基和卤素，并且

d)可选地进一步被一个或多个选自下组的基团取代：氰基；低级烷基；羟基-或氨基取代的低级烷基；三氟甲基；羟基；低级烷氧基；低级链烷酰氧基；氨基；单-或二低级烷基氨基；低级链烷酰氨基；苯甲酰氨基；羧基；低级烷氧羰基和卤素，

其余基团 R₄、R₅、R₆、R₇和 R₈彼此独立地是氢；低级烷基，它是未取代的或者被游离或烷基化的氨基、哌嗪基、哌啶基、吡咯烷基或吗啉基取代；低级链烷酰基；三氟甲基；游离、醚化或酯化的羟基；游离、烷基化或酰化的氨基；或游离或酯化的羧基，
或具有至少一个成盐基团的这样一种化合物的盐。

特别优选这样的式 I 化合物，其中

R₁ 是未取代的或低级烷基取代的吡啶基，它键合在环碳原子上，并且在氮原子上是未取代的或者被氧取代，

R₂ 和 R₃ 都是氢，

R₄ 是低级烷基，

R₅ 和 R₆ 都是氢，

R₇ 是式 II 基团，其中

R₉ 是氢，

X 是氧代，

n 是 0，以及

R_{10} 是苯基, 它

a)被选自下组的基团取代: 氨基; 单-或二低级烷基氨基; 低级链烷酰氨基; 甲酰基; 低级烷氧羰基; 和被氨基、单-或二低级烷基氨基或低级链烷酰氨基取代的低级烷基, 或者

b)被选自下组的未取代或取代的基团取代: 苄氨基; 苯甲酰氨基; 吡咯烷基; 哌啶基; 哌嗪基; 哌嗪基羰基; 吗啉基; 和被苄氨基、苯甲酰氨基、吡咯烷基、哌啶基或吗啉基取代的低级烷基, 其中所述取代的基团的取代基选自氰基、低级烷基、羟基-或氨基取代的低级烷基、三氟甲基、羟基、低级烷氧基、低级链烷酰氧基、氨基、单-或二低级烷基氨基、低级链烷酰氨基、苯甲酰氨基、羧基、低级烷氧羰基和卤素, 或者

c)被哌嗪基低级烷基取代, 后者可选地在哌嗪环中被一个或多个选自下组的基团取代: 氰基; C_3-C_7 低级烷基; 羟基-或氨基取代的低级烷基; 三氟甲基; 羟基; 低级烷氧基; 低级链烷酰氧基; 氨基; 单-或二低级烷基氨基; 低级链烷酰氨基; 苯甲酰氨基; 羧基; 低级烷氧羰基和卤素,

R_8 是氢,

或具有至少一个成盐基团的这样一种化合物的盐。

尤其特别优选这样的式 I 化合物, 其中

R_1 是未取代的或低级烷基取代的吡啶基, 它键合在环碳原子上, 并且在氮原子上是未取代的或者被氧取代,

R_2 和 R_3 都是氢,

R_4 是低级烷基,

R_5 和 R_6 都是氢,

R_7 是式 II 基团, 其中

R_9 是氢,

X 是氧代,

n 是 0, 以及

R_{10} 是苯基, 它

a)被低级烷基取代, 后者被氨基、单-或二低级烷基氨基或低级链烷

酰氨基取代, 或者

b)被选自下组的未取代或取代的基团取代: 苄氨基; 苯甲酰氨基; 吡咯烷基; 哌啶基; 哌嗪基; 哌嗪基羰基; 吗啉基; 和被苄氨基、苯甲酰氨基、吡咯烷基、哌啶基或吗啉基取代的低级烷基, 其中所述取代的基团的取代基选自氰基、低级烷基、羟基-或氨基取代的低级烷基、三氟甲基、羟基、低级烷氧基、低级链烷酰氧基、氨基、单-或二低级烷基氨基、低级链烷酰氨基、苯甲酰氨基、羧基、低级烷氧羰基和卤素, 或者

c)被哌嗪基低级烷基取代, 后者可选地在哌嗪环中被一个或多个选自下组的基团取代: 氰基; C_3-C_7 低级烷基; 羟基-或氨基取代的低级烷基; 三氟甲基; 羟基; 低级烷氧基; 低级链烷酰氧基; 氨基; 单-或二低级烷基氨基; 低级链烷酰氨基; 苯甲酰氨基; 羧基; 低级烷氧羰基和卤素,

R_8 是氢,

或具有至少一个成盐基团的这样一种化合物的盐。

非常特别优选这样的式 I 化合物, 其中

R_1 是键合在环碳原子上的吡啶基,

R_2 和 R_3 都是氢,

R_4 是低级烷基,

R_5 和 R_6 都是氢,

R_7 是式 II 基团, 其中

R_9 是氢,

X 是氧代,

n 是 0, 以及

R_{10} 是苯基, 它

a)被选自下组的基团取代: 二低级烷基氨基; 低级链烷酰氨基; 和被二低级烷基氨基取代的低级烷基, 或者

b)被吡咯烷基低级烷基、哌啶基低级烷基或吗啉基低级烷基取代, 或者

c)被哌嗪基低级烷基取代, 后者可选地在哌嗪环中被 C_3-C_7 低级烷基

取代, 或者被 2 至 5 个低级烷基取代,

R_8 是氢,

或具有至少一个成盐基团的这样一种化合物的盐。

还非常特别优选这样的式 I 化合物, 其中

R_1 是键合在环碳原子上的吡啶基,

R_2 和 R_3 都是氢,

R_4 是低级烷基,

R_5 和 R_6 都是氢,

R_7 是式 II 基团, 其中

R_9 是氢,

X 是氧代,

n 是 0, 以及

R_{10} 是苯基, 它

a) 被低级烷基取代, 后者被单-或二低级烷基氨基取代, 或者

b) 被选自下组的未取代或低级烷基取代的基团取代: 吡咯烷基低级烷基、哌啶基低级烷基和吗啉基低级烷基, 或者

c) 被哌嗪基低级烷基取代, 后者可选地在哌嗪环中被 C_3 - C_7 低级烷基取代,

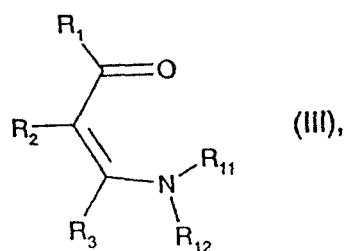
R_8 是氢,

或具有至少一个成盐基团的这样一种化合物的盐。

最特别优选的是实施例中所所述的式 I 化合物和具有至少一个成盐基团的这类化合物的药学上可接受的盐。

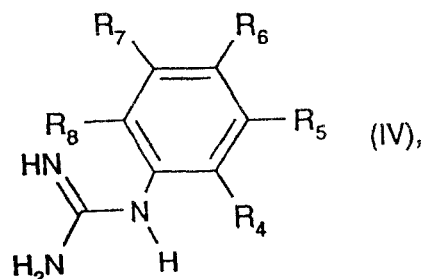
式 I 化合物和具有至少一个成盐基团的这类化合物的盐按照本身已知的方法制备。本发明方法的特征在于:

i) 使式 III 化合物



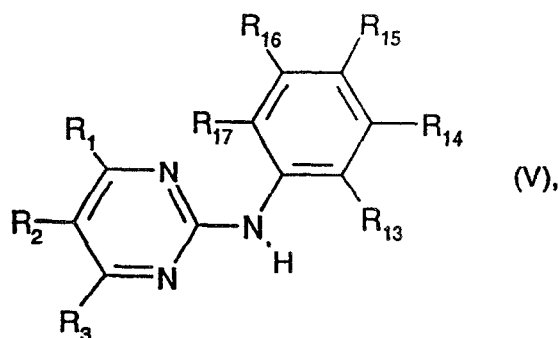
其中 R_{11} 和 R_{12} 彼此独立地是低级烷基, R_1 、 R_2 和 R_3 定义同上, 式 III 化合物中的官能团除了参与反应的基团以外, 如果必要的话其余为被保护的形式,

或这样一种化合物的盐与式 IV 化合物反应



其中各取代基定义同上, 式 IV 化合物中的官能团除了参与反应的胍基以外, 如果必要的话其余为被保护的形式,

或者与这样一种化合物的盐反应, 再除去所有存在的保护基团, 或者
ii)使式 V 化合物



其中基团 R_{13} 、 R_{14} 、 R_{15} 、 R_{16} 和 R_{17} 之一是式 $-N(R_9)-H$ 基团, 其中 R_9 定义同上, 其余基团 R_{13} 、 R_{14} 、 R_{15} 、 R_{16} 和 R_{17} 彼此独立地是氢; 低级烷基, 它是未取代的或者被游离或烷基化的氨基、哌嗪基、哌啶基、吡咯烷基或吗啉基取代; 低级链烷酰基; 三氟甲基; 游离、醚化或酯化的羟基; 游离、烷基化或酰化的氨基; 或游离或酯化的羧基, 其余取代基定义同上, 式 V 化合物中的官能团除了参与反应的氨基以外, 如果必要的话其余为被保护的形式,

与式 VI 化合物反应



其中各取代基和符号定义同上, 式 VI 化合物中的官能团除了参与反应

的 HO-C(=X) 基团以外，如果必要的话其余为被保护的形式，或者与式 VI 化合物的反应性衍生物反应，再除去所有存在的保护基团，或者

iii) 对于其中 R_1 是在氮原子上被氧取代的吡啶基以及其它取代基和符号定义同上的式 I 化合物的制备，将其中 R_1 是吡啶基的式 I 化合物用适合的氧化剂转化为 N-氧化化合物，或者

iv) 对于如下式 I 化合物的制备：其中 R_{10} 是苯基，它

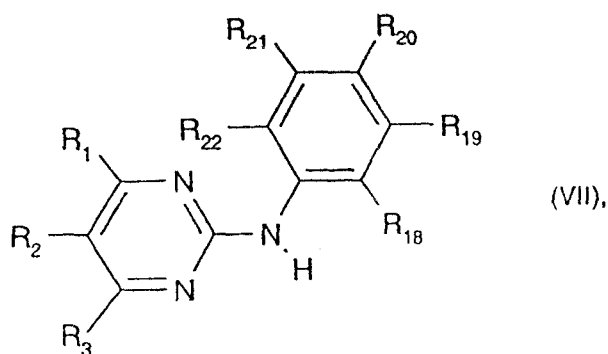
a) 被低级烷基取代，后者本身被单-或二低级烷基氨基或低级链烷酰氨基取代，或者

b) 被选自下组的未取代或取代的基团取代：苄氨基-、苯甲酰氨基-、吡咯烷基-、哌啶基-、哌嗪基-和吗啉基低级烷基，其中所述取代的基团的取代基选自氰基、低级烷基、羟基-或氨基取代的低级烷基、三氟甲基、羟基、低级烷氧基、低级链烷酰氧基、氨基、单-或二低级烷基氨基、低级链烷酰氨基、苯甲酰氨基、羧基、低级烷氧羰基和卤素，并且

c) 可选地进一步被一个或多个选自下组的基团取代：氰基；低级烷基；羟基-或氨基取代的低级烷基；三氟甲基；羟基；低级烷氧基；低级链烷酰氧基；氨基；单-或二低级烷基氨基；低级链烷酰氨基；苯甲酰氨基；羧基；低级烷氧羰基和卤素，

其前提条件是 R_{10} 不是(4-甲基哌嗪基)甲基苯基，

使式 VII 化合物



其中 R_1 、 R_2 和 R_3 定义同上，基团 R_{18} 、 R_{19} 、 R_{20} 、 R_{21} 和 R_{22} 之一是式 VIII 基团



其中 R_{23} 是卤素低级烷基苯基，它可选地被一个或多个选自下组的基团取代：氰基；低级烷基；羟基-或氨基取代的低级烷基；三氟甲基；羟基；低级烷氧基；低级链烷酰氧基；氨基；单-或二低级烷基氨基；低级链烷酰氨基；苯甲酰氨基；羧基；低级烷氧羰基和卤素， n 、 R_9 、 X 和 Y 定义同上，其余基团 R_{18} 、 R_{19} 、 R_{20} 、 R_{21} 和 R_{22} 彼此独立地是氢；低级烷基，它是未取代的或者被游离或烷基化的氨基、哌嗪基、哌啶基、吡咯烷基或吗啉基取代；低级链烷酰基；三氟甲基；游离、醚化或酯化的羟基；游离、烷基化或酰化的氨基；或游离或酯化的羧基，式 VII 化合物中的官能团除了参与反应的基团以外，如果必要的话其余为被保护的形式，

与选自单-或二低级烷基胺和低级链烷酰胺的反应物反应，或者与选自下组的未取代或取代的反应物反应：苄胺、苯甲酰胺、吡咯烷、哌啶、哌嗪和吗啉，其中取代基选自氰基、低级烷基、羟基-或氨基取代的低级烷基、三氟甲基、羟基、低级烷氧基、低级链烷酰氧基、氨基、单-或二低级烷基氨基、低级链烷酰氨基、苯甲酰氨基、羧基、低级烷氧羰基和卤素，其前提条件是若 R_{23} 是未取代的卤素甲基苯基，则该反应物不是 4-甲基哌嗪，反应物中的官能团除了参与反应的基团以外，如果必要的话其余为被保护的形式，再除去所有存在的保护基团，

如果需要的话，使可由方法 i) 至 iv) 中任意一种得到的式 I 化合物转化为它的盐，或者使可得到的式 I 化合物的盐转化为游离化合物。

下面详细解释上述方法变体的程序：

一般性注解：

式 I 终产物可以含有取代基，这些取代基也可以作为原料中的保护基团用于制备其它式 I 终产物。因而，在本文范围内，只有可容易除去的并且不是特定所需的式 I 终产物成分的基团才称为“保护基团”，除非上下文另有说明。

保护基团和它们被引入和除去的方式例如描述在“Protective Groups in Organic Chemistry”(《有机化学中的保护基团》)，Plenum

出版社, 伦敦, 纽约 1973 和“Methoden der organischen Chemie”(《有机化学方法》), Houben-Weyl, 第四版, 第 15/1 卷, Georg-Thieme-Verlag, Stuttgart 1974 和 Theodora W. Greene, “Protective Groups in Organic Synthesis”(《有机合成中的保护基团》), John Wiley & Sons, 纽约 1981 中。保护基团的特征是它们可例如通过溶剂解、还原、光解或者在生理条件下容易被除去, 也就是不会发生所不需要的副反应,

方法 i):

R_{11} 和 R_{12} 优选各自是甲基。

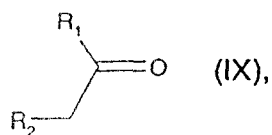
式 III 化合物中有利地被可容易除去的保护基团所保护的游离官能团尤其是基团 R_1 中的氨基和 1H-咪唑基中的亚氨基。后者例如可以被苄基保护。

式 IV 化合物中有利地被可容易除去的保护基团所保护的游离官能团尤其是氨基, 但也尤其是羟基和羧基。

式 IV 化合物的盐优选是酸加成盐, 例如硝酸盐或对式 I 终产物所提到的酸加成盐之一。

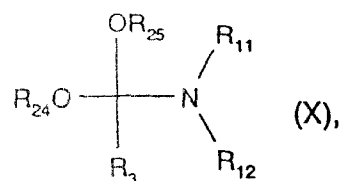
反应在适合的溶剂或分散剂, 例如适合的醇如 2-甲氧基乙醇, 或适合的低级链烷醇, 例如异丙醇中在室温(约 20°C)至 150°C 的温度下, 例如在回流下进行。尤其当式 IV 化合物以盐形式使用时, 将该盐通过加入适合的碱如碱金属氢氧化物例如氢氧化钠优选就地转化为游离化合物。

式 III 原料这样得到: 使式 IX 化合物



其中各取代基定义同上,

与式 X 化合物反应,

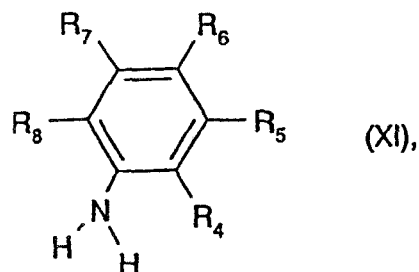


其中 R_{24} 和 R_{25} 各自是低级烷基, 其余取代基定义同上,

其反应方式类似于公开号为 No. 233461 的欧洲专利申请中所述。式 X 化合物的典型代表是 N,N-二甲基甲酰胺缩二甲醇和 N,N-二甲基乙酰胺缩二甲醇。反应这样进行：加热式 IX 和 X 反应物达若干小时，例如 4 至 24 小时，温度为大约 50°C 至 150°C，没有溶剂，或者如果必要的话有溶剂存在。

式 III 原料或者通过使式 IX 化合物与式 $R_3-C(=O)-O-CH_2-CH_3$ 的酯（其中 R_3 定义同上）反应，再使所得产物与式 $H-N(R_{11})-R_{12}$ 的胺（其中各取代基定义同上）反应得到。

式 IV 原料以酸加成盐的形式通过使式 XI 化合物



其中各取代基定义同上，

与氨脒($NC-NH_2$)反应得到。反应在适合的溶剂或分散剂如适合的醇，例如适合的低级链烷醇如乙醇中在等摩尔量成盐的酸存在下于室温至 150°C 的温度下，例如在回流下进行。

方法 ii):

式 V 或 VI 化合物中有利地被可容易除去的保护基团所保护的游离官能团尤其是氨基，但也尤其是羟基和羧基，它们不会参与所需的反应，例如基团 R_1 中的氨基。

其中 X 是氧代的式 VI 化合物的反应性衍生物尤其是反应性(活化的)酯、反应性酸酐或反应性环状酰胺。这同样适用于其中 X 具有上面给出的其它定义之一的衍生物。

式 VI 酸的反应性(活化的)酯尤其是在酯化基团的连接碳原子上是不饱和的酯，例如乙烯基酯类型的酯，例如实际的乙烯基酯(例如可通过对应的酯与乙酸乙烯酯的酯交换反应得到；活化的乙烯基酯法)、氨基甲酰基乙烯基酯(例如可通过用异噁唑酮试剂处理对应的酸得到；1,2-噁唑

翰或 Woodward 法)或 1-低级烷氧基乙烯基酯(例如可通过用低级烷氧基乙炔处理对应的酸得到;乙氧基-乙炔法);或脘基类型的酯,例如 N,N'-二取代的脘基酯(例如可通过用适合的 N,N'-二取代的碳二亚胺例如 N,N'-二环己基碳二亚胺处理对应的酸得到;碳二亚胺法)或 N,N-二取代的脘基酯(例如可通过用 N,N-二取代的氨脒处理对应的酸得到;氨脒法);适合的芳基酯,尤其是适当被吸电子取代基取代的苯基酯(例如可通过在缩合剂例如 N,N'-二环己基碳二亚胺存在下,用适当被取代的酚例如 4-硝基苯酚、4-甲磺酰基苯酚、2,4,5-三氯苯酚、2,3,4,5,6-五氯苯酚或 4-苯基氢氧化重氮苯酚处理对应的酸得到;活化的芳基酯法);氰基甲基酯(例如可通过在碱存在下用氯乙脒处理对应的酸得到;氰基甲基酯法);硫代酸酯,尤其是未取代的或取代的例如硝基取代的苯硫基酯(例如可通过用未取代的或取代的例如硝基取代的苯硫酚处理对应的酸,尤其通过酸酐或碳二亚胺法得到;活化的硫羧酸酯法);氨基或酰氨基酯(例如可通过用 N-羟基氨基或 N-羟基酰氨基化合物例如 N-羟基琥珀酰亚胺、N-羟基哌啶、N-羟基邻苯二甲酰亚胺或 1-羟基苯并三唑处理对应的酸,例如通过酸酐或碳二亚胺法得到;活化的 N-羟基酯法);或甲硅烷基酯(例如可通过用甲硅烷基化剂例如六甲基二硅氮烷处理对应的酸得到,它们容易与羟基而非氨基反应)。

式 VI 酸的酸酐可以是对称的或者优选是该酸的混合酸酐,例如与无机酸的酸酐,例如酰基卤,尤其是酰氯(例如可通过用亚硫酸氯、五氯化磷或草酰氯处理对应的酸得到;酰氯法);叠氮化物(例如可由对应的酸酯经由对应的酰肼并用亚硝酸对其进行处理得到;叠氮化物法);与碳酸半衍生物的酸酐如对应的酯,例如碳酸低级烷基半酯(例如可通过用卤代甲酸如氯甲酸的低级烷基酯,或者用 1-低级烷氧羰基-2-低级烷氧基-1,2-二氢喹啉例如 1-低级烷氧羰基-2-乙氧基-1,2-二氢喹啉处理对应的酸得到;混合的 O-烷基碳酸酐法);或者与二卤代、尤其二氯代磷酸的酸酐(例如可通过用磷酰氯处理对应的酸得到;磷酰氯法);或者与有机酸的酸酐如与有机羧酸的混合酸酐(例如可通过用未取代或取代的低级链烷基羧酰卤或苯基链烷基羧酰卤,例如苯乙酰氯、新戊酰氯或三氟乙酰

氯处理对应的酸得到；混合的羧酸酐法)；或与有机磺酸的酸酐(例如可通过用适合的有机磺酰卤如低级链烷基磺酰氯或芳基磺酰氯，例如甲磺酰氯或对甲苯磺酰氯处理对应酸的盐如碱金属盐得到；混合的磺酸酐法)；和对称的酸酐(例如可通过在碳二亚胺或 1-二乙氨基丙炔存在下缩合对应的酸得到；对称的酸酐法)。

适合的环状酰胺尤其是与芳香性五元二氮杂环的酰胺，例如与咪唑类化合物例如咪唑的酰胺(例如可通过用 N,N'-羰基二咪唑处理对应的酸得到；咪唑化物法)，或与吡唑类化合物例如 3,5-二甲基吡唑的酰胺(例如可通过用乙酰丙酮处理酰基肼得到；吡唑化物法)。

可用作酰化剂的式 VI 酸的衍生物也可就地生成。例如，N,N'-二取代的脒基酯可通过在适合的 N,N'-二取代的碳二亚胺例如 N,N'-二环己基碳二亚胺存在下，使式 V 原料与用作酰化剂的酸的混合物反应而就地生成。另外，用作酰化剂的酸的氨基或酰氨基酯可以这样生成：在待酰化的式 V 原料存在下，在 N,N'-二取代的碳二亚胺例如 N,N'-二环己基碳二亚胺和 N-羟基胺或 N-羟基酰胺例如 N-羟基琥珀酰亚胺存在下，酌情在适合的碱例如 4-二甲氨基吡啶存在下，使对应的酸与氨基原料的混合物反应。

反应优选通过使式 VI 化合物的反应性羧酸衍生物与其中参与反应的氨基或羟基是游离形式的式 V 化合物反应来进行。

反应可以以本身已知的方式进行，其反应条件尤其依赖于酰化剂的羧基是否被活化和如果活化的话，如何被活化，通常在适合的溶剂或稀释剂或其混合物的存在下，如果必要的话在缩合剂的存在下，例如当参与反应的羧基是酸酐形式时，该缩合剂还可以是酸结合剂，在冷却或加热下，例如在大约-30°C 至大约+150°C、尤其大约 0°C 至+100°C、优选室温(约+20°C)至+70°C 的温度范围内，在开放或封闭的反应容器内，和/或在惰性气体例如氮气的气氛下。惯用的缩合剂例如是碳二亚胺，例如 N,N'-二乙基-、N,N'-二丙基-、N,N'-二环己基-或 N-乙基-N'-(3-二甲氨基丙基)碳二亚胺；适合的羰基化合物，例如羰基二咪唑；或 1,2-噁唑酮化合物，例如 3'-磺酸 2-乙基-5-苯基-1,2-噁唑酮和高氯酸 2-叔丁基-5-甲基

异噁唑鎓；或适合的酰氨基化合物，例如 2-乙氧基-1-乙氧羰基-1,2-二氢喹啉。惯用的酸结合缩合剂例如是碱金属碳酸盐或碳酸氢盐，例如钠或钾的碳酸盐或碳酸氢盐(通常与硫酸盐一起使用)；或有机碱，例如惯用的吡啶或位阻的三低级烷基胺例如 N,N-二异丙基-N-乙基胺。

在方法 ii) 的优选方案中，使式 V 化合物在适合的溶剂例如 N,N-二甲基甲酰胺中，在丙基膦酸酐(Fluka, Buchs, 瑞士)和三乙胺存在下，优选在室温下与式 VI 化合物反应。

方法 iii):

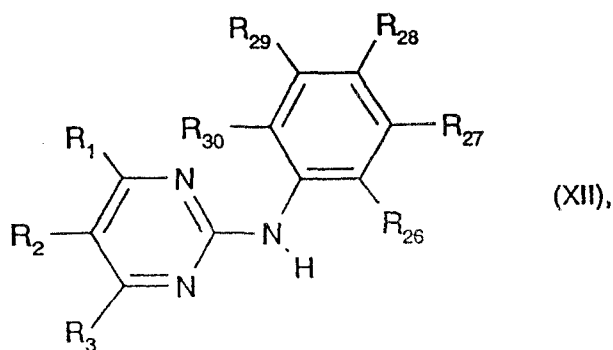
适合将其中 R_1 是吡啶基的式 I 化合物转化为 N-氧化化合物的氧化剂优选是适合的过酸，例如适合的过苯甲酸，尤其例如间氯过苯甲酸。反应这样进行：在惰性溶剂例如卤代烃，优选例如二氯甲烷中，在大约 -20°C 至 $+150^{\circ}\text{C}$ 、尤其大约 0°C 至该溶剂的沸点(一般低于 $+100^{\circ}\text{C}$)、优选室温或略高的温度下(20°C - 70°C)。

方法 iv):

在未取代的或可选被取代的卤素低级烷基苯基 R_{23} 中的卤素优选是氯。

反应以本身已知的方式，例如将反应物溶于适合的溶剂例如乙醇中，在回流下沸腾 10 至 20 小时来进行。

式 VII 原料这样得到：使式 XII 化合物



其中 R_1 、 R_2 和 R_3 定义同上，基团 R_{26} 、 R_{27} 、 R_{28} 、 R_{29} 和 R_{30} 之一是式 $-\text{N}(\text{R}_9)\text{-H}$ 基团，其中 R_9 定义同上，其余基团 R_{26} 、 R_{27} 、 R_{28} 、 R_{29} 和 R_{30} 彼此独立地是氢；低级烷基，它是未取代的或者被游离或烷基化的氨基、哌嗪基、哌啶基、吡咯烷基或吗啉基取代；低级链烷酰基；三氟甲基；

游离、醚化或酯化的羟基；游离、烷基化或酰化的氨基；或游离或酯化的羧基，

与式 XIII 化合物反应，



其中 Hal 是卤素，优选为氯，其余取代基定义同上。

式 XII 化合物的合成描述在 EP 0 564 409 中。

式 I 化合物的酸加成盐以惯用方式例如用酸或适合的阴离子交换试剂处理得到。

酸加成盐可以以惯用方式例如用适合的碱性试剂处理转化为游离化合物。

异构体的混合物可以以本身已知的方式例如分步结晶法、色谱法等分离为各单独异构体。

上述方法，包括除去保护基团的方法和另外的方法步骤除非另有说明否则都是以本身已知的方式进行，例如在有或没有优选的惰性溶剂和稀释剂存在下，如果必要的话在缩合剂或催化剂存在下，在低温或高温下，例如在大约 -20°C 至大约 150°C、尤其大约 0°C 至大约 +70°C、优选大约 +10°C 至大约 +50°C 的温度范围内、更尤其在室温下，在适合的容器内，如果必要的话在惰性气体气氛例如氮气中进行。

在这些方法步骤中，考虑分子中的所有取代基，如果必要的话例如当存在可容易水解的基团时，应当使用尤其温和的反应条件，例如短的反应时间、使用低浓度温和酸性或碱性试剂、化学计量比例和选择适合的催化剂、溶剂、温度和/或压力条件。

本发明还涉及这些形式的方法：其中可在该方法的任意阶段作为中间体得到的化合物用作原料，再进行其余步骤；或者在任意阶段中断该方法；或者原料在反应条件下生成或以反应性衍生物或盐的形式使用。优选的是从按照该方法生成上述尤其有价值的化合物的那些原料开始。

式 I 化合物优选按照实施例所述的方法和步骤制备。

本发明还涉及新颖的原料和/或中间体及其制备方法。所使用的原料和所选择的反应条件优选是生成本申请中尤其优选的化合物的那些条

件。

本发明还涉及治疗患有所述疾病，尤其是患有肿瘤疾病的包括人在内的温血动物的方法，其中将有效对抗有关疾病量、尤其是抗增殖量、尤其是肿瘤抑制量的式 I 化合物对需要这类治疗的包括人在内的温血动物给药。本发明还涉及式 I 化合物的以下用途：抑制上面提到的酪氨酸激酶、尤其是 PDGF 受体激酶、v-abl 激酶和/或 c-kit 受体激酶；或者制备用于治疗人或动物体，尤其用于治疗肿瘤，例如神经胶质瘤、卵巢肿瘤、前列腺肿瘤、结肠肿瘤和肺的肿瘤，尤其例如小细胞肺癌，和乳腺的肿瘤或其它妇科肿瘤的药物组合物。根据物种、年龄、个体条件、给药模式和有关临床表现，对体重约 70kg 的包括人在内的温血动物给以有效剂量的药，例如每日剂量约 1-2500mg、优选 1-1000mg、尤其 5-500mg。

本发明还涉及药物制剂，该制剂含有有效量的、尤其是预防或治疗所述疾病之一的有效量的式 I 化合物以及药学上可接受的载体，这些载体适合于局部、肠内(例如口服或直肠)或肠胃外给药，并且可以是无机或有机的、固体或液体的。对于口服给药，尤其使用片剂或明胶胶囊剂，其中含有活性物质以及稀释剂例如乳糖、葡萄糖、蔗糖、甘露糖醇、山梨糖醇、纤维素和/或甘油，和/或润滑剂例如二氧化硅、滑石、硬脂酸或其盐(通常为硬脂酸镁或硬脂酸钙)和/或聚乙二醇。片剂可以同样含有粘合剂例如硅酸镁铝、淀粉(通常为玉米、小麦或稻米淀粉)、明胶、甲基纤维素、羧甲基纤维素钠和/或聚乙烯吡咯烷酮，如果需要的话还含有崩解剂例如淀粉、琼脂、藻酸或其盐(通常为藻酸钠)和/或起泡混合物，或吸附剂，着色剂，矫味剂和甜味剂。本发明的药理活性化合物还可以以肠胃外给药制剂或输注溶液的形式使用。这类溶液优选是等渗的水溶液或悬浮液，它们可在使用前制备，例如在含有单独的活性物质或者还含有载体如甘露糖醇的冻干制剂的情况下。药学物质可被灭菌和/或可以含有赋形剂，例如防腐剂、稳定剂、润湿剂和/或乳化剂、增溶剂、调节渗透压的盐和/或缓冲剂。如果需要的话还可以含有其他药理活性物质如抗生素的药物制剂以本身已知的方式例如通过常规的混合、造粒、包衣、

溶解或冻干方法制备，它们含有约 1%至 100%、尤其约 1%至约 20% 的活性物质。

下列实施例阐述本发明，但不以任何方式限制本发明。 R_f 值在硅胶薄层板(Merck, Darmstadt, 德国)上测定。所用洗脱剂混合物中洗脱剂彼此的比例用体积比(v/v)表示，温度用摄氏度表示。

缩写：

conc.	浓缩的
Ex. No.	实施例号
min	分钟
m.p.	熔点
t_R	保留时间
% w/w	重量百分率

实施例 1: 将 466mg(1mmol)4-氯甲基-N-[4-甲基-3-(4-吡啶-3-基-嘧啶-2-基氨基)苯基]苯甲酰胺盐酸盐的 25ml 无水乙醇悬浮液用 381 μ l(3mmol)N-乙基哌嗪处理，然后在回流下加热 16 小时。将黄色溶液冷却至室温，轻轻倒出，在烧瓶壁上生成少量棕色不溶残余物。蒸发溶剂，将残余物溶于柠檬酸溶液(10 重量%)，并用二氯甲烷洗涤。向含水层加入碳酸氢钠和碳酸钠溶液使之呈碱性，用含有 2ml 乙醇的 150ml 二氯甲烷萃取三次。合并有机萃取液，用浓氯化钠溶液洗涤，经硫酸钠干燥，蒸发。将残余物与 3ml 乙酸乙酯一起搅拌，过滤结晶产物，用少量乙酸乙酯洗涤，得到 4-(4-乙基-哌嗪-1-基甲基)-N-[4-甲基-3-(4-吡啶-3-基-嘧啶-2-基氨基)苯基]苯甲酰胺；m.p. 209.5-210.5°C； t_R (HPLC)¹⁾ 6.62min。

实施例 2-8: 类似于实施例 1 合成下列化合物：

实施例号	化合物	m.p.[°C]	HPLC ¹⁾ t_R [min]
2	4-二乙氨基甲基-N-[4-甲基-3-(4-吡啶-3-基-嘧啶-2-基氨基)苯基]苯甲酰胺	148-151	7.23
3	4-二甲氨基甲基-N-[4-甲基-3-(4-吡啶-3-基-嘧啶-2-基氨基)苯基]苯甲酰胺	127-131	6.84

基)苯基]苯甲酰胺			
4	N-[4-甲基-3-(4-吡啶-3-基-嘧啶-2-基氨基)苯基]-4-吡咯	166-170	7.09
烷-1-基甲基苯甲酰胺			
5	N-[4-甲基-3-(4-吡啶-3-基-嘧啶-2-基氨基)苯基]-4-吗啉	219-221	6.84
-4-基甲基苯甲酰胺			
6	4-(顺式-3,5-二甲基哌嗪-1-基甲基)-N-[4-甲基-3-(4-吡啶-3-基-嘧啶-2-基氨基)苯基]苯甲酰胺	135.5-138.5	6.50
7	N-[4-甲基-3-(4-吡啶-3-基-嘧啶-2-基氨基)苯基]-4-哌啶-1-基甲基苯甲酰胺	197-199	6.66
8	N-[4-甲基-3-(4-吡啶-3-基-嘧啶-2-基氨基)苯基]-4-(4-丙基-哌嗪-1-基甲基)苯甲酰胺	209-210	7.43

实施例 9: 将 25.8g(300mmol)哌嗪悬浮在 25ml 乙醇与 25ml 水的混合物中。生成几乎澄清的溶液后, 逐步加入 12.9g(30mmol)4-氯甲基-N-[4-甲基-3-(4-吡啶-3-基-嘧啶-2-基氨基)苯基]苯甲酰胺。将黄色溶液在回流下沸腾 14 小时, 冷却至室温, 经硅藻土过滤。向溶液中加入 100ml 水, 在真空下蒸发乙醇, 加入 30ml 1N NaOH, 引起产物结晶。在 50 毫巴和 60°C 下干燥, 得到 N-[4-甲基-3-(4-吡啶-3-基-嘧啶-2-基氨基)苯基]-4-哌嗪-1-基甲基苯甲酰胺; $R_f=0.15$ (二氯甲烷:乙酸乙酯:甲醇:浓氨水=60:10:30:2); $t_R(\text{HPLC})^{2)} 14.6\text{min}$ 。

实施例 10: 在加热下, 将 4.8g(10mmol)N-[4-甲基-3-(4-吡啶-3-基-嘧啶-2-基氨基)苯基]-4-哌嗪-1-基甲基苯甲酰胺溶于 20ml 乙醇中, 加入 0.99g 甲磺酸。加入乙酸乙酯后, 产物结晶。在 50 毫巴和 60°C 下干燥, 得到 N-[4-甲基-3-(4-吡啶-3-基-嘧啶-2-基氨基)苯基]-4-哌嗪-1-基甲基苯甲酰胺甲磺酸盐; $R_f=0.17$ (二氯甲烷:乙酸乙酯:甲醇:浓氨水=60:10:30:2); $t_R(\text{HPLC})^{2)} 14.6\text{min}$; m.p. 242-245°C。

实施例 11: 将含有大约 50%丙基膦酸酐的 N,N-二甲基甲酰胺溶液(Fluka, Buchs, 瑞士; 700 μ l, 约 1.2mmol)在 20min 内分批加入到 4-甲基-N-3-[4-(3-吡啶基)-2-嘧啶基]-1,3-苯二胺(221.9mg, 0.8mmol)、3-(二甲氨基)苯甲酸(Aldrich, Buchs, 瑞士; 132.2mg, 0.8mmol)与三乙胺

(887 μ l, 6.4mmol)在 2ml 无水 N,N-二甲基甲酰胺中的搅拌混合物中。在室温下搅拌 48 小时后,在减压下蒸发除去溶剂,使残余物在饱和碳酸氢钠水溶液与乙酸乙酯之间分配。含水相用乙酸乙酯萃取两次。合并萃取液,干燥(Na_2SO_4),过滤,在减压下蒸发除去溶剂。粗产物从乙酸乙酯/己烷中重结晶,得到 3-二甲氨基-N-[4-甲基-3-[[4-(3-吡啶基)-2-嘧啶基]氨基]苯基]苯甲酰胺,为浅色结晶固体。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO-d_6 , δ): 2.18 (s, 3H); 2.92 (s, 6H); 6.87 (m, 1H); 7.12-7.51 (m, 7H); 8.03 (s, 1H); 8.39-8.50 (m, 2H); 8.64 (d, 1H); 8.95 (s, 1H); 9.24 (s, 1H); 10.05 (s, 1H).

实施例 12: 将含有大约 50%丙基膦酸酐的 N,N-二甲基甲酰胺溶液(Fluka, Buchs, 瑞士; 700 μ l, 约 1.2mmol)在 20min 内分批加入到 4-甲基-N-3-[4-(3-吡啶基)-2-嘧啶基]-1,3-苯二胺(221.9mg, 0.8mmol)、4-(二甲氨基)苯甲酸(Aldrich, Buchs, 瑞士; 132.2mg, 0.8mmol)与三乙胺(887 μ l, 6.4mmol)在 2ml 无水 N,N-二甲基甲酰胺中的搅拌混合物中。在室温下搅拌 48 小时后,在减压下蒸发除去溶剂,使残余物在饱和碳酸氢钠水溶液与乙酸乙酯之间分配。含水相用乙酸乙酯萃取两次。合并萃取液,干燥(Na_2SO_4),过滤,在减压下蒸发除去溶剂,得到粗产物,经过硅胶柱色谱纯化,洗脱剂为含 1-4%甲醇的二氯甲烷溶液。合并含有纯净产物的部分,蒸发除去溶剂。残余物从丙酮中结晶,得到 4-二甲氨基-N-[4-甲基-3-[[4-(3-吡啶基)-2-嘧啶基]氨基]苯基]苯甲酰胺,为黄色结晶固体。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6 , δ): 2.19 (s, 3H); 2.97 (s, 6H); 6.73 (m, 2H); 7.14 (d, 1H); 7.39 (d, 1H); 7.42-7.52 (m, 2H); 7.83 (m, 2H); 8.02 (d, 1H); 8.41-8.49 (m, 2H); 8.65 (dd, 1H); 8.93 (s, 1H); 9.24 (m, 1H); 9.79 (s, 1H).

利用适当的酸类似地制备下列化合物:

实施例 13: 4-(乙酰氨基)-N-[4-甲基-3-[[4-(3-吡啶基)-2-嘧啶基]氨基]苯基]苯甲酰胺

利用 4-乙酰氨基苯甲酸(Fluka, Buchs, 瑞士)。 $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO-d_6 , δ): 2.06 (s, 3H); 2.20 (s, 3H); 7.18 (d, 1H); 7.41 (d, 1H); 7.45 (dd, 1H); 7.50 (ddd, 1H); 7.69 (m, 2H); 7.90 (m, 2H); 8.04 (d, 1H); 8.46 (m, 1H); 8.49 (d, 1H); 8.66 (dd, 1H); 8.96 (s, 1H); 9.25 (dd, 1H); 10.05 (s, 1H); 10.20 (s, 1H).

实施例 14: 3-(乙酰氨基)-N-[4-甲基-3-[[4-(3-吡啶基)-2-嘧啶基]氨基]苯基]苯甲酰胺

利用 3-乙酰氨基苯甲酸(Fluka, Buchs, 瑞士)。¹H-NMR(400MHz, DMSO-d₆, δ): 2.05 (s, 3H); 2.20 (s, 3H); 7.19 (d, 1H); 7.39-7.47 (m, 3H); 7.50 (ddd, 1H); 7.57-7.61 (m, 1H); 7.78-7.83 (m, 1H); 8.04-8.06 (m, 2H); 8.46 (m, 1H); 8.49 (d, 1H); 8.66 (dd, 1H); 8.97 (s, 1H); 9.25 (dd, 1H); 10.15 (s, 1H); 10.21 (s, 1H).

实施例 15: 3-羟基-4-甲基-N-[4-甲基-3-[[4-(3-吡啶基)-2-嘧啶基]氨基]苯基]苯甲酰胺

利用 3-羟基-4-甲基苯甲酸(Fluka, Buchs, 瑞士)。¹H-NMR(400MHz, DMSO-d₆, δ): 2.16 (s, 3H); 2.20 (s, 3H); 7.17 (m, 2H); 7.30-7.34 (m, 2H); 7.41 (d, 1H); 7.45 (dd, 1H); 7.50 (m, 1H); 8.05 (m, 1H); 8.46 (m, 1H); 8.49 (d, 1H); 8.66 (dd, 1H); 8.96 (s, 1H); 9.26 (m, 1H); 9.63 (s, 1H); 10.04 (s, 1H).

实施例 16: 4-(1,1-二甲基乙基)-N-[4-甲基-3-[[4-(3-吡啶基)-2-嘧啶基]氨基]苯基]苯甲酰胺

利用 4-叔丁基苯甲酸(Fluka, Buchs, 瑞士)。¹H-NMR(300MHz, DMSO-d₆, δ): 1.30 (s, 9H); 2.20 (s, 3H); 7.18 (d, 1H); 7.40 (d, 1H); 7.42-7.54 (m, 4H); 7.85 (m, 2H); 8.04 (d, 1H); 8.42-8.50 (m, 2H); 8.66 (dd, 1H); 8.95 (s, 1H); 9.24 (m, 1H); 10.10 (s, 1H).

分析型 HPLC 条件:

1) HPLC-系统: Kontron 420 系统; 柱子: CC 250/4, 6 nucleosil 100-5 C18; 流速: 1ml/min。

洗脱剂: A: 水(+0.1%三氟乙酸)

B: 乙腈(+0.1%三氟乙酸)

梯度: B 中含 20%→0%的 A, 13min; 100%B, 5min

2) HPLC-系统: 柱子: 150×3.9mm, 用 Symmetry C18 5μ(Waters) 填充, 预先用洗脱剂 a)平衡; 流速 1.2ml/min; 在 267nm 下进行 UV 检测。

洗脱剂: a)离子对试剂和甲醇(420ml+580ml)

b)离子对试剂和甲醇(40ml+960ml)

离子对试剂: 将 7.5g1-辛磺酸溶于约 800ml H₂O, 用磷酸调节 pH 值至 2.5, 用水稀释至 1000ml。

梯度: a)中含 0%的 b), 20min; 然后 a)中含 0%→30%的 b), 10min;
a)中含 30%的 b), 5min。

实施例 17:

含有 100mg 式 I 化合物例如实施例 1-10 中所述的式 I 化合物之一的片剂通常按照下列组成制备:

组成:

活性成分	100mg
结晶乳糖	240mg
Avicel	80mg
PVPPXL	20mg
Aerosil	2mg
硬脂酸镁	5mg
	447mg

制备: 将活性物质与载体材料混合, 在压片机(Korsch EKO, 冲口直径 10mm)上压制。

Avicel 是微晶纤维素(FMC, Philadelphia, USA), PVPPXL 是交联的聚乙烯基吡咯烷酮(BASF, 德国), Aerosil 是二氧化硅(Degussa, 德国)。

实施例 18:

含有 100mg 式 I 化合物例如实施例 1-10 中所述的式 I 化合物之一的胶囊剂通常按照下列组成制备:

组成:

活性成分	100mg
Avicel	200mg
PVPPXL	15mg
Aerosil	2mg
硬脂酸镁	1.5mg
	318.5mg

制备: 将胶囊剂通过各组分混合, 然后将混合物填充在 1 号硬明胶胶囊内来制备。