



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101553473 B

(45) 授权公告日 2013.06.05

(21) 申请号 200780045533.X

(22) 申请日 2007.11.09

(30) 优先权数据

0609812 2006.11.10 FR

(85) PCT申请进入国家阶段日

2009.06.09

(86) PCT申请的申请数据

PCT/FR2007/001851 2007.11.09

(87) PCT申请的公布数据

W02008/065282 FR 2008.07.31

(73) 专利权人 赛诺菲-安万特

地址 法国巴黎

(72) 发明人 K·毕尔加德 M·多德森 J·莫杰

A·奈尔 M·帕特克 M·塔巴特

(74) 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

11105

代理人 封新琴

(51) Int. Cl.

C07D 231/38 (2006.01)

A61K 31/415 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

(56) 对比文件

WO 2006/018662 A2, 2006.02.23, 摘要, 权利要求 1.

EP 1683796 A1, 2006.07.26, 摘要, 第 15 页 [0071].

WO 02/088090 A2, 2002.11.07, 权利要求 1, 20.

J.Lars G.Nilsson et al.Studies on Carbanilic Acid Esters of Cyclic Amino Alcohols. 4. Esters of Pyrrolidinols and Piperidinols as Local Anesthetics.《Journal of Medicinal Chemistry》.1971, 第 14 卷 (第 8 期), 第 710-714 页.

审查员 何奕秋

权利要求书5页 说明书41页

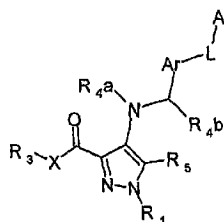
(54) 发明名称

在取代的吡唑、包含它们的组合物、生产方法和用途

(57) 摘要

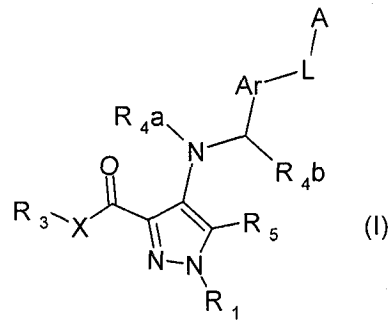
本发明尤其涉及新化学化合物,特别地取代的吡唑,包含它们的组合物和它们作为药物的用

途。



(I)

1. 以下通式 (I) 的化合物：



式 (I)

其中

1) A 为取代的苯基, 且取代基选自卤素、卤代烷基、O- 烷基和 COO- 烷基；

2) L 为 NH-CO-NH；

3) R₁ 为 H；

4) X 选自 :O 和 NH；

5) R₃ 选自 :H、烷基；

6) R_{4a} 为 H；

7) R_{4b} 为 H；

8) R₅ 为 H；

9) Ar 为苯基,

其中, 术语“烷基”是指直链或支链的饱和烃基取代基, 其具有 1-6 个碳原子。

2. 根据权利要求 1 的化合物, 特征在于 R₃ 是 H 和 X 是 NH。

3. 根据权利要求 1 的化合物, 特征在于 R₃ 是甲基和 X 是 O。

4. 根据权利要求 1 的化合物, A 选自 2- 氟代 -5-(三氟甲基) 苯基、2- 氟苯基、2- 甲氧基苯基、2- 氟代 -3-(三氟甲基) 苯基、3- 甲氧基苯基、3- 氟代 -5-(三氟甲基) 苯基、3- 甲氧基羰基苯基、4-(三氟甲基) 苯基、3-(三氟甲基) 苯基、2-(三氟甲基) 苯基、3,5- 二甲氧基苯基、4- 甲氧基苯基、4- 氟苯基、4- 氯代 -3-(三氟甲基) 苯基、4-(二氟甲氧基) 苯基、2- 氯代 -4-(三氟甲基) 苯基、3,5- 双 (三氟甲基) 苯基、3- 氟苯基、2- 甲氧基 -5- 甲基苯基、2,5- 二甲氧基苯基、3- 氯代 -4-(二氟甲氧基) 苯基、2,5- 二氟苯基和 4- 甲基 -3-(三氟甲基) 苯基。

5. 化合物, 其选自：

4- {[3- 苯基] 氨基甲酰基 } 氧基) 苄基] 氨基 } -1H- 吡唑 -3- 甲酰胺三氟乙酸盐；

4- {[3- ({[2- 氟代 -5-(三氟甲基) 苯基] 氨基甲酰基 } 氨基) 苄基] 氨基 } -1H- 吡唑 -3- 甲酰胺盐酸盐；

4- [(3- {[(2- 氟代 - 苯基) 氨基甲酰基] 氨基 } 苄基) 氨基] -1H- 吡唑 -3- 甲酰胺三氟乙酸盐；

4- [(3- {[(2- 甲氧基 - 苯基) 氨基甲酰基] 氨基 } 苄基) 氨基] -1H- 吡唑 -3- 甲酰胺三氟乙酸盐；

4- {[3- ({[2- 氟代 -3-(三氟甲基) 苯基] 氨基甲酰基 } 氨基) 苄基] 氨基 } -1H- 吡唑 -3- 甲酰胺三氟乙酸盐；

4-[(3-[(3-甲氧基-苯基)氨基甲酰基]氨基)苄基]氨基]-1H-吡唑-3-甲酰胺三氟乙酸盐;

4-[[3-([3-氟代-5-(三氟甲基)苯基]氨基甲酰基)氨基)苄基]氨基]-1H-吡唑-3-甲酰胺三氟乙酸盐;

3-[(3-[(3-氨基甲酰基-1H-吡唑-4-基)氨基]甲基)苯基]氨基甲酰基]-氨基)苯甲酸甲酯三氟乙酸盐;

4-[[3-([4-(三氟甲基)苯基]氨基甲酰基)氨基)苄基]氨基]-1H-吡唑-3-甲酰胺三氟乙酸盐;

4-[[3-([3-(三氟甲基)苯基]氨基甲酰基)氨基)苄基]氨基]-1H-吡唑-3-甲酰胺三氟乙酸盐;

4-[[3-([2-(三氟甲基)苯基]氨基甲酰基)氨基)苄基]氨基]-1H-吡唑-3-甲酰胺三氟乙酸盐;

4-[(3-[(3,5-二甲氧基-苯基)氨基甲酰基]氨基)苄基]氨基]-1H-吡唑-3-甲酰胺三氟乙酸盐;

4-[(3-[(4-甲氧基-苯基)氨基甲酰基]氨基)苄基]氨基]-1H-吡唑-3-甲酰胺三氟乙酸盐;

4-[(3-[(4-氟代-苯基)氨基甲酰基]氨基)苄基]氨基]-1H-吡唑-3-甲酰胺三氟乙酸盐;

4-[[3-([4-氯代-3-(三氟甲基)苯基]氨基甲酰基)氨基)苄基]氨基]-1H-吡唑-3-甲酰胺三氟乙酸盐;

4-[[3-([2-氯代-4-(三氟甲基)苯基]氨基甲酰基)氨基)苄基]氨基]-1H-吡唑-3-甲酰胺三氟乙酸盐;

4-[[3-([3,5-双(三氟甲基)苯基]氨基甲酰基)氨基)苄基]氨基]-1H-吡唑-3-甲酰胺三氟乙酸盐;

4-[(3-[(3-氟代-苯基)氨基甲酰基]氨基)苄基]氨基]-1H-吡唑-3-甲酰胺三氟乙酸盐;

4-[(3-[(2-甲氧基-5-甲基苯基)氨基甲酰基]氨基)苄基]氨基]-1H-吡唑-3-甲酰胺三氟乙酸盐;

4-[(3-[(2,5-二甲氧基-苯基)氨基甲酰基]氨基)苄基]氨基]-1H-吡唑-3-甲酰胺三氟乙酸盐;

4-[(3-[(2,5-二氟代-苯基)氨基甲酰基]氨基)苄基]氨基]-1H-吡唑-3-甲酰胺三氟乙酸盐;

4-[[3-([4-甲基-3-(三氟甲基)苯基]氨基甲酰基)氨基)苄基]氨基]-1H-吡唑-3-甲酰胺三氟乙酸盐;

4-[[3-([2-氟代-5-(三氟甲基)苯基]氨基甲酰基)氨基)苄基]氨基]-1H-吡唑-3-甲酰胺三氟乙酸盐。

6. 化合物,其选自:

4-[[3-([3-氯代-4-氟代-苯基]氨基甲酰基)氨基)苄基]氨基]-1H-吡唑-3-甲酰胺;

4-{{[3-({[3,4-二氯代-苯基]氨基甲酰基)氨基]苄基]氨基}-1H-吡唑-3-甲酰胺;

4-{{[3-({[3-氯代-5-三氟甲基-苯基]氨基甲酰基)氨基]苄基]氨基}-1H-吡唑-3-甲酰胺;

4-{{[3-({[3-三氟甲氧基-苯基]氨基甲酰基)氨基]苄基]氨基}-1H-吡唑-3-甲酰胺;

4-{{[3-({[3-三氟甲基-4-氯代-苯基]氨基甲酰基)氨基]苄基]氨基}-1H-吡唑-3-甲酰胺;

4-{{[3-({[2-氯代-5-三氟甲基-苯基]氨基甲酰基)氨基]苄基]氨基}-1H-吡唑-3-甲酰胺;

4-{{[3-({[2-甲氧基-5-叔-丁基-苯基]氨基甲酰基)氨基]苄基]氨基}-1H-吡唑-3-甲酰胺;

4-{{[3-({[2-氯代-4-异丙基-苯基]氨基甲酰基)氨基]苄基]氨基}-1H-吡唑-3-甲酰胺;

4-{{[3-({[2-氟代-5-甲基-苯基]氨基甲酰基)氨基]苄基]氨基}-1H-吡唑-3-甲酰胺;

4-{{[3-({[2-氟代-4-三氟甲基-苯基]氨基甲酰基)氨基]苄基]氨基}-1H-吡唑-3-甲酰胺;

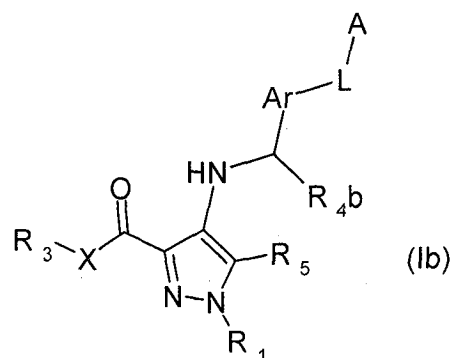
4-{{[3-({[2-氟代-4-甲基-苯基]氨基甲酰基)氨基]苄基]氨基}-1H-吡唑-3-甲酰胺;

4-{{[3-({[2-氯代-4-甲基-苯基]氨基甲酰基)氨基]苄基]氨基}-1H-吡唑-3-甲酰胺;

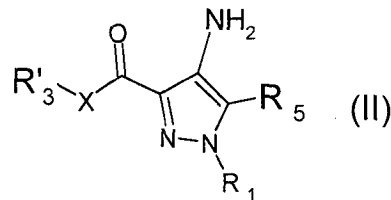
4-{{[3-({[2-氯代-5-甲基-苯基]氨基甲酰基)氨基]苄基]氨基}-1H-吡唑-3-甲酰胺。

7. 包含根据权利要求 1-6 任一项的化合物的药物组合物,所述化合物与可药用的赋形剂组合。

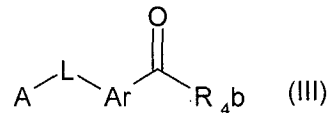
8. 以下通式 (Ib) 化合物的制备方法:



其中 R_1 、 R_3 、 R_{4b} 、 R_5 、 X 、 Ar 、 L 和 A 如在权利要求 1 中所定义,和 R_{4a} 是 H,特征在于使以下通式 (II) 化合物:

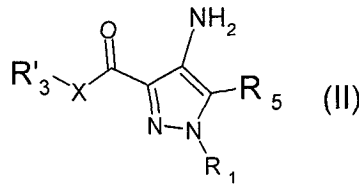


其中 R'_3 是 R_3 , 和 X 、 R_1 、 R_3 和 R_5 如在权利要求 1 中所定义, 与以下式 (III) 化合物反应:

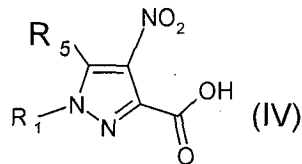


其中 R_{4b} 、 Ar 、 L 和 A 如在权利要求 1 中所定义, 以得到通式 (Ib) 化合物。

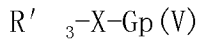
9. 以下通式 (II) 中间化合物的制备方法:



其中 R'_3 、 X 、 R_1 和 R_5 如在权利要求 8 中所定义, 特征在于使以下通式 (IV) 化合物:

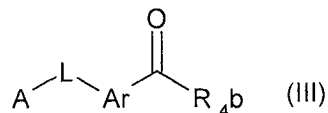


其中 R_1 和 R_5 如在权利要求 8 中所定义, 与以下通式 (V) 化合物反应:

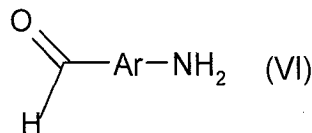


其中 Gp 是保护基团, X 和 R'_3 如在权利要求 8 中所定义, 以得到通式 (II) 化合物。

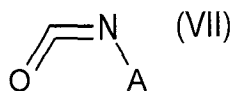
10. 以下通式 (III) 中间化合物的制备方法:



其中 R_{4b} 、 Ar 和 A 如在权利要求 8 中所定义, 和 L 是 $NH-CO-NH$, 特征在于使以下通式 (VI) 化合物:

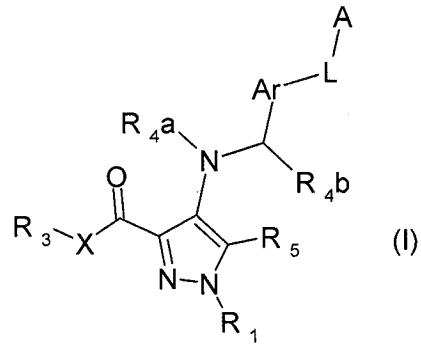


其中 Ar 是如在权利要求 8 中所定义, 与以下通式 (VII) 化合物反应:

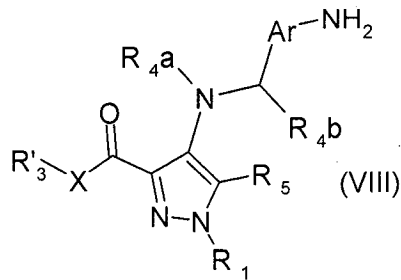


其中 A 如在权利要求 8 中所定义, 以得到通式 (III) 化合物。

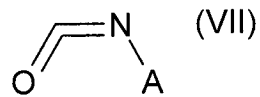
11. 以下通式 (I) 化合物的制备方法:



其中 R_1 、 R_3 、 R_{4a} 、 R_{4b} 、 R_5 、 X 、 Ar 和 A 如在权利要求 1 中所定义, 和 L 是 $NHCONH$, 特征在于使以下通式 (VIII) 化合物:



其中 R'_3 是 R_3 , 和 X 、 Ar 、 R_1 、 R_3 、 R_{4a} 、 R_{4b} 和 R_5 如在权利要求 1 中所定义, 与以下式 (VII) 化合物反应:



其中 A 如在权利要求 1 中所定义, 以得到通式 (I) 化合物。

在取代的吡唑、包含它们的组合物、生产方法和用途

[0001] 本发明特别地涉及新的化合物,特别地取代的吡唑,包含它们的组合物和它们作为药物的用途。

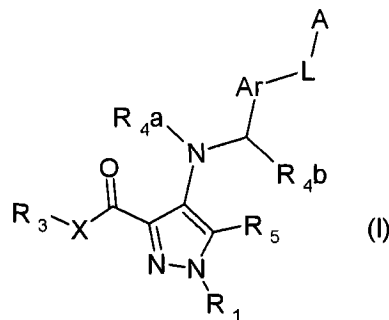
[0002] 更特别地,根据第一方面,本发明涉及新的具有抗癌活性(通过调节蛋白质,特别地激酶的活性)的特定的取代的吡唑。

[0003] 蛋白激酶是一类催化蛋白质(如酪氨酸、丝氨酸或苏氨酸)的特定残基的羟基的磷酸化作用的酶。这种磷酸化作用可以大量地改变蛋白质的功能;因此,蛋白激酶在调节多种细胞过程中起重要作用,特别地包括新陈代谢、细胞增殖、细胞分化、细胞迁移或细胞存活。在各种细胞功能(在其中涉及蛋白激酶活性)中,某些过程代表用于治疗癌症疾病以及其它疾病的有用的靶。

[0004] 因此,本发明的目的之一是提出具有抗癌活性的组合物,特别地通过作用于激酶。在对其活性调节是期望的激酶中,可以提到 KDR、Tie2、VEGFR-1、PDGFR、FGFR 和 FLT1。KDR 和 / 或 Tie2 是优选的。

[0005] 对应于以下通式 (I) 的产物:

[0006]



[0007] 式 (I)

[0008] 其中

[0009] 1) A 和 Ar 独立地选自:芳基、杂芳基、取代的芳基、取代的杂芳基;

[0010] 2) L 选自:NH-CO-NH 和 O-CO-NH;

[0011] 3) R₁ 选自:H、R₆、COR₆、SO₂R₆, 其中 R₆ 选自 H、OR₇、NR₈R₉、烷基、环烷基、杂环基、取代的杂环基、芳基、取代的芳基、杂芳基和取代的杂芳基,其中 R₇ 选自 H、苯基、烷基,其中 R₈ 和 R₉ 独立地选自 H、烷基、环烷基、杂环基、取代的杂环基、芳基、取代的芳基、杂芳基和取代的杂芳基或者 R₈ 和 R₉ 彼此连接以形成饱和的 5-8 个链节的环,其包含 0-3 个选自 O、S 和 N 的杂原子;

[0012] 4) X 选自:O 和 NH;

[0013] 5) R₃ 选自:H、烷基、取代的烷基、环烷基、取代的环烷基;

[0014] 6) R_{4a} 选自:H 和 (C1-C4) 烷基;

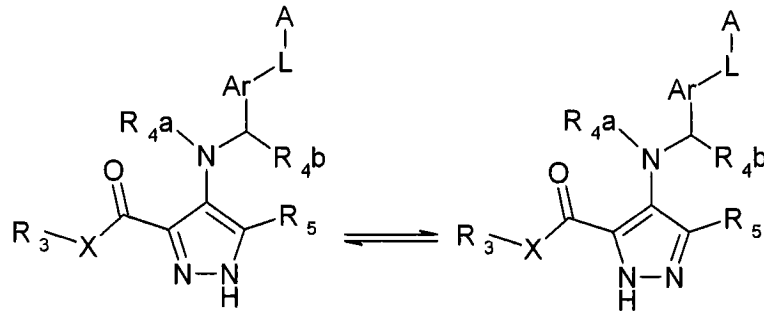
[0015] 7) R_{4b} 选自:H 和 (C1-C4) 烷基;

[0016] 8) R₅ 选自:H、卤素、R₁₀、CN、O(R₁₀)、OC(O)(R₁₀)、OC(O)N(R₁₀)(R₁₁)、OS(O₂)(R₁₀)、N(R₁₀)(R₁₁)、N=C(R₁₀)(R₁₁)、N(R₁₀)C(O)(R₁₁)、N(R₁₀)C(O)O(R₁₁)、N(R₁₂)C(O)N(R₁₀)(R₁₁)、

$N(R_{12})C(S)N(R_{10})(R_{11})$ 、 $N(R_{10})S(O_2)(R_{11})$ 、 $C(O)(R_{10})$ 、 $C(O)O(R_{10})$ 、 $C(O)N(R_{10})(R_{11})$ 、 $C(=N(R_{11}))(R_{10})$ 、 $C(=N(OR_{11}))(R_{10})$ 、 $S(R_{10})$ 、 $S(O)(R_{10})$ 、 $S(O_2)(R_{10})$ 、 $S(O_2)O(R_{10})$ 、 $S(O_2)N(R_{10})(R_{11})$ ；其中 R_{10} 、 R_{11} 、 R_{12} 各自独立地选自 H、烷基、亚烷基、炔基、芳基、杂芳基、环烷基、杂环基、取代的烷基、取代的亚烷基、取代的炔基、取代的芳基、取代的杂芳基、取代的环烷基、取代的杂环基。

[0017] 当 R_1 是 H 时，在下面指出的两种互变异构形式属于本发明：

[0018]



[0019] 在式 (I) 产物中， R_1 有利地是 H。

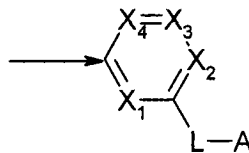
[0020] 在式 (I) 产物中， R_3 有利地是 H 和 X 有利地是 NH，或者 R_3 有利地是甲基和 X 有利地是 O。

[0021] 在式 (I) 产物中， R_5 有利地是 H。

[0022] 根据本发明的取代基 Ar 可以选自苯基、吡啶基、噻吩基、呋喃基和吡咯基，其用 R'_5 进行取代，其中 R'_5 具有与 R_5 相同的定义。

[0023] 在式 (I) 产物中，Ar-L-A 有利地是：

[0024]



[0025] 其中 X_1 、 X_2 、 X_3 和 X_4 各自独立地选自 N 和 C- R'_5 ，其中 R'_5 具有与 R_5 相同的定义。

[0026] 更特别地， R'_5 可以选自 H、F、Cl、甲基、 NH_2 、 OCF_3 和 $CONH_2$ 。取代基 Ar 有利地是苯基，其中 R'_5 是 H。

[0027] 根据本发明的取代基 A 可以选自苯基、吡啶基、嘧啶基、噻吩基、呋喃基、吡咯基、噁唑基、噻唑基、异噁唑基、异噻唑基、吡唑基、咪唑基、吡啶基、吡唑基、苯并咪唑基、苯并噁唑基和苯并噻唑基；其任选地被取代。

[0028] 更特别地，根据本发明的取代基 A 可以选自苯基、吡唑基和异噁唑基；其任选地被取代。取代基 A 有利地是苯基，其任选地被取代。

[0029] 在本发明目的的式 (I) 产物中，尤其可以提到第一组产物，对于它们而言， R_{4a} 和 R_{4b} 是 H，和 A、Ar、L、 R_1 、X、 R_3 和 R_5 为如上所定义。

[0030] 在第一组产物中，尤其可以提到第一小组产物，对于它们而言：

[0031] 1) A 和 Ar 为任选地被取代的苯基；

[0032] 2) L 选自 $:NH-CO-NH$ 和 $O-CO-NH$ ；

[0033] 3) X 是 NH 和 R_3 是 H，或者 X 是 O 和 R_3 是甲基；

- [0034] 4) R_1 、 R_{4a} 、 R_{4b} 和 R_5 是 H；
- [0035] 在第一小组中,还可以提到一小组产物,对于它们而言：
- [0036] 1) A 和 Ar 是任选地被取代的苯基；
- [0037] 2) L 是 NH-CO-NH；
- [0038] 3) X 是 NH 和 R_3 是 H；
- [0039] 4) R_1 、 R_{4a} 、 R_{4b} 和 R_5 是 H。
- [0040] 在第一小组产物中,尤其可以提到第二小组产物,对于它们而言：
- [0041] 1) A 是任选地被取代的苯基和 Ar 是任选地被取代的吡啶；
- [0042] 2) L 选自 :NH-CO-NH 和 O-CO-NH；
- [0043] 3) X 是 NH 和 R_3 是 H, 或者 X 是 O 和 R_3 是甲基；
- [0044] 4) R_1 、 R_{4a} 、 R_{4b} 和 R_5 是 H；
- [0045] 在第二小组中,尤其可以提到一小组产物,对于它们而言：
- [0046] 1) A 是任选地被取代的苯基和 Ar 是任选地被取代的吡啶；
- [0047] 2) L 是 NH-CO-NH；
- [0048] 3) X 是 NH 和 R_3 是 H；
- [0049] 4) R_1 、 R_{4a} 、 R_{4b} 和 R_5 是 H；
- [0050] 在本发明目的的式 (I) 产物中,尤其可以提到第二组产物,对于它们而言, R_{4a} 是 H, R_{4b} 是 (C1-C4) 烷基,和 A、Ar、L、 R_1 、X、 R_3 和 R_5 为如上所定义。
- [0051] 在第二组产物中,尤其可以提到第一小组产物,对于它们而言：
- [0052] 1) A 和 Ar 是任选地被取代的苯基；
- [0053] 2) L 是 NH-CO-NH；
- [0054] 3) X 是 NH 和 R_3 是 H；
- [0055] 4) R_1 、 R_{4a} 和 R_5 是 H；
- [0056] 5) R_{4b} 是甲基。
- [0057] 在本发明目的的式 (I) 产物中,尤其可以提到第三组产物,对于它们而言, R_{4a} 是 (C1-C4) 烷基、 R_{4b} 是 H, 和 A、Ar、L、 R_1 、X、 R_3 和 R_5 为如上所定义。
- [0058] 在第三组产物中,尤其可以提到第一小组产物,对于它们而言：
- [0059] 1) A 和 Ar 是任选地被取代的苯基；
- [0060] 2) L 是 NH-CO-NH；
- [0061] 3) X 是 NH 和 R_3 是 H；
- [0062] 4) R_1 、 R_{4b} 和 R_5 是 H；
- [0063] 5) R_{4a} 是甲基。
- [0064] 在第三组产物中,尤其可以提到第二小组产物,对于它们而言：
- [0065] 1) A 和 Ar 是任选地被取代的苯基；
- [0066] 2) L 是 NH-CO-NH；
- [0067] 3) X 是 NH 和 R_3 是 H；
- [0068] 4) R_1 、 R_{4b} 和 R_5 是 H；
- [0069] 5) R_{4a} 是乙基。
- [0070] A 可以用一个或多个选自以下的取代基取代 :H、F、Cl、Br、I、OH、SH、SO₃M、COOM、

COO- 烷基、CON(R₁₄) (R₁₅)、CN、NO₂、N(R₁₄)CO (R₁₅)、N(R₁₄) (R₁₅)、烷基、卤代烷基、烷基-OH、烷基-N(R₁₄) (R₁₅)、烷基 (R₁₆)、烷基-COOM、烷基-SO₃M、环烷基、亚烷基、炔基、芳基、杂芳基、O- 烷基、O- 芳基、O- 杂芳基、S- 烷基、S- 芳基和 S- 杂芳基，各自任选地用选自以下的取代基取代：烷基、卤素、O- 烷基、N(R₁₄) (R₁₅)；其中 R₁₄ 和 R₁₅ 独立地选自 H、烷基、烷基-OH、卤代烷基、烷基-NH₂、烷基-COOM 和烷基-SO₃M；其中，当 R₁₄ 和 R₁₅ 同时不是 H 时，它们可以被连接以形成 5-7 个链节 (**chaînons**) 的环，该环包含 0-3 个选自 O、N 和 S 的杂原子；其中 M 是 H 或选自 Li、Na 和 K 的碱金属阳离子；其中 R₁₆ 是 H 或任选地被取代的非芳族杂环，该杂环包含 2-7 碳原子，和 1-3 个选自 N、O 和 S 的杂原子。当 A 被双取代时，该两个取代基可以彼此被连接以形成 5-7 个链节的环，该环包含 0-3 个选自 N、O 和 S 的杂原子。

[0071] A 还可以用一个或多个选自上面提到的取代基进行取代，所述取代基还增补有 SiMe₃、S-CHF₃ 和 SF₅。

[0072] 更特别地，A 可以选自苯基、吡啶基或异噁唑基，其用至少一个选自以下的基团取代：H、卤素、烷基、卤代烷基、O- 烷基、COO- 烷基和 O- 卤代烷基。取代基 A 有利地选自：苯基、2- 氟代-5-(三氟甲基)苯基、2- 氟苯基、2- 甲氧基苯基、2- 氟代-3-(三氟甲基)苯基、3- 甲氧基苯基、3- 氟代-5-(三氟甲基)苯基、4-(三氟甲氧基)苯基、3- 甲氧基羰基苯基、4-(三氟甲基)苯基、3-(三氟甲基)苯基、2-(三氟甲基)苯基、3,5- 二甲氧基苯基、3- 甲基苯基、4- 甲氧基苯基、4- 氟苯基、4- 氯代-3-(三氟甲基)苯基、4-(二氟甲氧基)苯基、2- 氯代-4-(三氟甲基)苯基、4- 甲基苯基、2,5- 二甲基苯基、3,4- 二甲基苯基、2- 甲基苯基、3- 乙基苯基、3,5- 双(三氟甲基)苯基、3- 氟苯基、2- 甲氧基-5- 甲基苯基、2,5- 二甲氧基苯基、3- 氯代-4-(二氟甲氧基)苯基、2,5- 二氟苯基和 4- 甲基-3-(三氟甲基)苯基。

[0073] 取代基 A 更有利地选自：2- 氯代-5- 三氟甲基- 苯基、3- 氯代-4- 氟代- 苯基、3,4- 二氯代- 苯基、3- 氯代-5- 三氟甲基- 苯基、3- 三甲基甲硅烷基-4- 氟代- 苯基、3- 三氟甲氧基- 苯基、4- 三氟甲基- 吡啶-2- 基、4- 甲氧基- 吡啶-2- 基、3- 三氟甲基-4- 氯代- 苯基、2- 氯代-5- 三氟甲基- 苯基、3- 三氟甲基硫烷基- 苯基、3- 异丙基- 苯基、3- 异丙基-4- 氟代- 苯基、3- 五氟代硫烷基- 苯基、2- 甲氧基-5- 叔丁基- 苯基、4- 异丙基- 苯基、2- 氯代-4- 异丙基- 苯基、2- 氟代-5- 甲基- 苯基、2- 氟代-4- 三氟甲基- 苯基、2- 氟代-4- 甲基- 苯基、2- 氯代-4- 甲基- 苯基和 2- 氯代-5- 甲基- 苯基。

[0074] 本发明还包含对应于上面提到的小组的组合的目的。

[0075] 根据本发明的产物可以是：

[0076] 1) 非手性形式，或

[0077] 2) 外消旋形式，或

[0078] 3) 富含一种立体异构体形式，或

[0079] 4) 富含一种对映异构体形式；

[0080] 并可以任选地成盐。

[0081] 本发明还涉及包含根据本发明的产物的药物组合物，所述产物根据所选择的给药方式与可药用的赋形剂组合。该药物组合物可以是固体或液体形式或脂质体形式。

[0082] 在所述固体组合物中，可以提到粉末、胶囊和片剂。在口服形式中，还可以包括面对胃的酸性介质受保护的固体形式。用于固体形式的载体特别地由无机载体组成，如磷酸盐或碳酸盐，或有机载体，如乳糖、纤维素、淀粉或聚合物。液体形式包括溶液、悬浮体或分

散体。它们包含水或有机溶剂（乙醇、NMP 等等）或表面活性剂和溶剂的混合物或者络合剂（agentscomplexants）和溶剂的混合物作为分散性载体。

[0083] 液体形式优选地是可注射的，因此将具有可用于这种用途的配方。

[0084] 可接受的注射给药途径包括静脉内、腹膜内、肌内和皮下途径，静脉内途径通常是优选的。

[0085] 本发明的化合物的给药剂量将由开业医生根据对患者的给药途径和患者的状况进行调节。

[0086] 本发明的产物用作为通过激酶催化的反应的抑制剂。KDR 和 / 或 Tie2 是本发明的产物对于它们而言作为抑制剂是特别有用的激酶。

[0087] 选择上述激酶的理由如下：

[0088] KDR

[0089] KDR(激酶插入区域受体)，还被称为 VEGF-R2(血管内皮生长因子受体 2)，仅仅在内皮细胞中被表达。这种受体与血管内皮生长因子 VEGF 连接，因此通过活化它的细胞内激酶区域而起转导信号媒介(médiateur à signal transductionnel)的作用。在外源 VEGF(血管内皮细胞生长因子)存在下，VEGF-R2 的激酶活性的直接抑制可以减少血管发生现象(Vascular Endothelial Growth Factor :facteur de croissance vasculaire endothélial)(Strawn 等, Cancer Research, 1996, 第 56 卷, 第 3540-3545 页)。该过程已被证实尤其借助于使用 VEGF-R2 突变体(Millauer 等, Cancer Research, 1996, 第 56 卷, 第 1615-1620 页)。除了与 VEGF 的血管生成活性有关的功能，VEGF-R2 受体看起来在成人中没有其它功能。除了在动态血管生成过程中的中心作用，最近结果提出 VEGF 的表达有助于肿瘤细胞在化疗和放疗之后的存活，加强了 KDR 抑制剂与其它剂的潜在协同作用(Lee 等 Cancer Research, 2000, 第 60 卷, 第 5565-5570 页)。

[0090] Tie2

[0091] Tie-2(TEK) 是酪氨酸激酶受体族的会员，其对内皮细胞是特异的。Tie2 是具有酪氨酸激酶活性的第一受体，同时知道它的刺激受体自身磷酸化和细胞发生信号激动剂(血管生成素 1 或 Ang1)[S. Davis 等 (1996) Cell 87, 1161-1169] 和拮抗剂(血管生成素 2 或 Ang2)[P. C. Maisonpierre 等 (1997) Science 277, 55-60]。血管生成素 1 在新血管生成的最后阶段可以具有与 VEGF 协同作用[Asahara T. Circ. Res. (1998) 233-240]。表达 Tie2 或 Ang1 的剔除实验和转基因操作产生了具有血管生成缺陷的动物[D. J. Dumont 等 (1994) Genes Dev. 8, 1897-1909 和 C. Suri (1996) Cell 87, 1171-1180]。Ang1 与它的受体的连接导致 Tie2 的激酶区域的自身磷酸化，其对于新血管生成以及对于血管与外膜细胞和平滑肌细胞的征集和互相作用是必不可少的；这些现象有助于新形成的血管的成熟和稳定性。[P. C. Maisonpierre 等 (1997) Science 277, 55-60]。Lin 等 (1997) J. Clin. invest. 100, 8 : 2072-2078 和 Lin P. (1998) PNAS 95, 8829-8834 中已经证明，当在黑素瘤和乳腺肿瘤异种移植模型中的腺病毒感染或 Tie-2(Tek) 胞外域注射时，对肿瘤生长和血管生成的抑制以及肺转移的降低。。

[0092] 由于下面的原因，Tie2 抑制剂可以用于其中新血管生成或血管不适当地发生的情况中，即不仅在一般癌症中，而且在特定癌症中，如卡波济氏肉瘤或婴儿原发性肝癌(hémoangiome infantile)、类风湿性关节炎、骨关节炎和 / 或相关的疼痛、肠的炎症疾病

(如出血性直肠-结肠炎的或克罗恩病 (maladie de Crohn's)、眼病状,如与年龄相关的黄斑变性、糖尿病性视网膜病、慢性炎症和牛皮癣。

[0093] 血管发生是从在前存在的血管产生新的毛细血管的过程。对于肿瘤生长是必不可少的肿瘤血管发生(新血管的形成)同样是转移扩散的重要因素。(Oncogene. 2003 May 19 ;22(20) :3172-9 ;Nat. Med. 1995 Jan ;1(1) :27-31)。

[0094] 这种新血管生成是由于在由癌细胞和基质细胞分泌的血管生成因子影响下内皮细胞的迁移然后增殖和分化 (Recent Prog. Horm. Res. 2000 ;55 :15-35 ;35-6)。

[0095] 血管生成素 1/Tie2 受体系统通过允许内皮外细胞 (cellules péri-endothéliales) 的征集 (recrutement) 在血管的成熟中起着主要作用以稳定血管 (Cell. 1996 Dec. 27 ;87(7) :1161-9, Recent Prog. Horm. Res. 2004 ;59 :51-71)。因此,已经显示 Tie-2 受体 (exTek) 胞外域可溶解重组形式的给药在鼠科动物肿瘤模型中抑制肿瘤血管发生以及转移生长 (Proc. Natl Acad. Sci. USA. 1998 Jul 21 ;95(15) :8829-34 ;Cancer Immunol Immunother. 2004 Jul ;53(7) :600-8)。在培养中的内皮细胞中, Tie-2 的刺激激活 PI3 激酶的途径,在细胞增殖和迁移中涉及的 p42/p44 途径;PAF 的合成 (Cell Signal. 2006 Apr 14 ;ahead of print),在促炎性活性中涉及的途径。Tie2 的刺激激活了 Akt 途径并抑制凋亡 (Exp. Cell Res. 2004 Aug. 1 ;298(1) :167-77),转导途径(其由于它在细胞存活中的重要性而己知)。

[0096] 加入 exTek(Tie2 的可溶解受体)抑制在 Matrigel 上的内皮细胞的假小管 (pseudo tubules) 的形成 (Cancer Immunol Immunother. 2004 Jul ;53(7) :600-8)。上述研究表明 Tie2/ 血管生成素系统在成熟组织中的血管芽形成的第一阶段期间是必需的,和 Tie-2 受体的一个功能是在血管生成期间提高内皮细胞的存活。而且,血管生成素 -1 刺激淋巴管内皮细胞的增殖以及淋巴管生成(新的淋巴管的发育),对于转移生长有利的达到途径 (Blood. 2005 Jun 15 ;105(12) :4649-56)。

[0097] 血管发生过程还在许多实体瘤的进展中起主要作用。而且,已经显示随着原发肿瘤的血管生成增加,新陈代谢开始的可能性极大地提高 (BrJ Cancer. 2002 May 20 ;86(10) :1566-77)。

[0098] 促血管生成剂在白血病和淋巴瘤中的潜在作用近年来也已经被记载。事实上,一般地已经报道在这些病状中的细胞克隆可以通过免疫系统被自然地破坏或者回复到有利于它们存活随后它们增殖的血管生成表现型。由于超表达血管生成因子(尤其通过巨噬细胞)和/或这些因子从细胞外基质开始的转移 (mobilisation de ces facteurs à partir de la matrice extracellulaire) 导致了这种在表现型的变化 (Thomas DA, Giles FJ, Cortes J, Albitar M, Kantarjian HM., Acta Haematol., (2001), 第 207 卷, 第 106-190 页)。

[0099] 在 CML(慢性髓性单核细胞白血病)中骨髓的血管发生过程和“髓外病 (extramedullar disease)”之间存在相关性。各种研究表明抑制血管发生可以代表在这种病状中的精选治疗 (Leuk. Res. 2006 Jan ;30(1) :54-9 ;Histol. Histopathol. 2004 Oct. ;19(4) :1245-60)。而且,强烈提出,在病人遭受多发性骨髓瘤情况下,在骨髓的血管发生的发展中涉及 Tie2/ 血管生成素系统的活化 (Blood. 2003 Jul 15 ;102(2) :638-45)。

[0100] 类风湿性关节炎 (RA) 是其病原学是未知的慢性疾病。虽然它感染许多器官,RA 的最严重形式是关节的渐进性滑膜炎,其导致关节的损坏。血管发生看起来显著地影响这种

病状的进展。因此,已经显示,Tie2 的活化调节在滑膜组织中的血管发生,促进类风湿性关节炎的发展 (Arthritis Rheum. 2003 Sep ;48(9) :2461-71)。

[0101] 还已经显示,在遭受骨关节炎的病人的滑膜组织中超表达血管生成素 1 和 Tie2 与活性新血管生成相关 (Shahrara S 等, Arthritis Res. 2002 ;4(3))。因此,已经显示,通过使用产生 exTek(可溶解的 Tie2 受体)的腺病毒来阻滞 Tie2 的作用,在小鼠模型(其中关节病为胶原诱导产生)中获得了血管发生、关节病的发展的抑制和保护骨降解 (Arthritis Rheum. 2005 May ;52(5) :1346-8)。

[0102] IBD(炎症性肠疾病)包含两种形式的肠的慢性炎症性疾病:UC(溃疡性结肠炎)和克罗恩病(CD)。IBD 特征为免疫机能障碍,其表现为炎症性细胞因子的不适当的产生,其诱导局部微血管系统的建立。这种炎症起因的血管发生导致由血管收缩诱导的肠局部缺血 (Inflamm. Bowel Dis. 2006 Jun ;12(6) :515-23)。

[0103] 与新血管生成现象有关的眼睛病状,如年龄相关的黄斑变性,是在发达国家中大多数失明病例的原因。控制在眼睛中新血管生成现象的分子信号,如 VEGFs 或血管生成素,是在这些病状中所选择的靶 (Campochiaro PA. Expert Opin. Biol. Ther. 2004 Sep ;4(9))。因此,已经表明通过使用产生 exTek(可溶解的 Tie2 受体)的腺病毒阻滞 Tie2 的活化来抑制视黄醇和脉络膜新血管生成,视黄醇和脉络膜新血管生成是视力下降最常见的原因 (Hum. Gene Ther. 2001 Jul 1 ;12(10) :1311-21)。

[0104] 根据本发明的产物可以用来制备用于治疗病理状态(特别地为癌)的药物。

[0105] 由于它们的低毒性和它们的药理学的和生物学性质,本发明的化合物可用于治疗任何具有较高的血管生成程度的或引起转移的癌,或最终用于如淋巴瘤和白血病类型的病状。

[0106] 这些化合物代表单独的或与适当的化疗或放疗组合的和/或与其它具有抗血管生成活性的化合物(例如 VEGF 或者 FGF 的抑制剂)组合的所选治疗。因此,通式(I)的产物尤其用于治疗或预防病理学状态,所述病理学状态特征在于单独地或与其它活性成分,尤其抗癌剂(如细胞毒性产物、抑制细胞的产物、抗血管生成或抗转移的产物)组合给药该产物。

[0107] 本发明的化合物因此可以单独地或与其它抗癌剂的混合物形式进行给药。在可能的组合中,其可以提到:

[0108] • 烷基化剂,尤其环磷酰胺、苯丙氨酸氮芥、异环磷酰胺、苯丁酸氮芥、白消安、噻替哌、松龙苯芥、亚硝脲氮芥、环己亚硝脲、甲环己氯乙亚硝脲、链脲佐菌素 (streptozotocine)、decarbazine、替莫唑胺、普鲁卡宾和六甲三聚氰胺

[0109] • 铂衍生物,尤其如顺铂、卡铂或奥沙利铂

[0110] • 抗生素,尤其如博来霉素、丝裂霉素或更生霉素

[0111] • 抗微管药剂尤其如长春碱、长春新碱、长春酰胺、安可平、长春烯碱、和紫杉醇类(紫杉醇和多西紫杉醇)

[0112] • 蒽环类,尤其如阿霉素、柔红霉素、伊达比星、表柔比星、米托蒽醌、洛索蒽醌 (losoxantrone)

[0113] • I 类和 II 类拓扑异构酶抑制剂,如依托泊苷、替尼泊苷、胺苯吡啶、伊立替康、拓扑替康和雷替曲塞 (tomudex)

- [0114] • 氟嘧啶类,如 5- 氟尿嘧啶、UFT 和氟尿苷
- [0115] • 胞苷类似物,如 5- 氮胞苷、阿糖胞苷、吉西他滨、6-mercaptomurine、6- 硫代鸟嘌呤
- [0116] • 阿糖腺苷类似物,如喷司他丁、阿糖胞苷或氟达拉滨磷酸盐
- [0117] • 甲氨蝶呤和亚叶酸
- [0118] • 各种酶和化合物,如左天冬酰胺酶、羟基脲、反式视黄酸、suramine、右丙亚胺、阿米斯丁和单克隆抗体以及雌激素和雄激素
- [0119] • 抗血管剂,如考布他汀 (combretastatin) 衍生物,例如 CA4P、查耳酮或秋水仙碱衍生物,例如 ZD6126 和其前体药物
- [0120] • 抗血管生成剂,如 bevacizumab、索拉非尼 (sorafenib) 或舒尼替尼苹果酸盐 (sunitinib malate)
- [0121] • 抑制其它酪氨酸激酶的治疗剂,如伊马替尼 (Imatinib)、吉非替尼 (gefitinib) 和埃罗替尼 (erlotinib)。
- [0122] 当本发明的化合物与其它治疗或与放射治疗相结合时,那么这些治疗可以同时地、分开地或顺序地给药。治疗将由开业医生根据待治疗的疾病进行改变。
- [0123] 定义
- [0124] 术语“卤素”是指选自 F、Cl、Br 和 I 的元素。
- [0125] 术语“烷基”是指直链或支链的饱和烃基取代基,其具有 1-6 个碳原子。甲基、乙基、丙基、1- 甲基乙基、丁基、1- 甲基丙基、2- 甲基丙基、1,1- 二甲基乙基、戊基、1- 甲基丁基、2- 甲基丁基、3- 甲基丁基、1,1- 二甲基丙基、1,2- 二甲基丙基、2,2- 二甲基丙基、1- 乙基丙基、己基、1- 甲基戊基、2- 甲基戊基、1- 乙基丁基、2- 乙基丁基和 3,3- 二甲基丁基取代基为烷基取代基的实例。
- [0126] 术语“亚烷基”是指具有一个或多个不饱和,并具有 2-6 个碳原子的直链或支链的烃基取代基。乙烯基、1- 甲基乙烯基、丙 -1- 烯基、丙 -2- 烯基、Z-1- 甲基丙 -1- 烯基、E-1- 甲基丙 -1- 烯基、Z-1,2- 二甲基丙 -1- 烯基、E-1,2- 二甲基丙 -1- 烯基、丁 -1,3- 二烯基、1- 亚甲基丙 -2- 烯基、Z-2- 甲基丁 -1,3- 二烯基、E-2- 甲基丁 -1,3- 二烯基和 2- 甲基 -1- 亚甲基丙 -2- 烯基取代基为亚烷基取代基的实例。
- [0127] 术语“炔基”是指具有至少两个由一对相邻碳原子携带的不饱和,并具有 2-6 个碳原子的直链或支链的烃基取代基。乙炔基 ; 丙 -1 炔基 ; 丙 -2 炔基 ; 和丁 -1 炔基取代基为炔基取代基的实例。
- [0128] 术语“芳基”是指具有 6-14 个碳原子的单环或多环的芳族取代基。苯基、萘 -1- 基 ; 萘 -2- 基 ; 蒽 -9- 基 ; 1,2,3,4- 四氢萘 -5- 基 ; 和 1,2,3,4- 四氢萘 -6- 基取代基为芳基取代基的实例。
- [0129] 术语“杂芳基”是指具有 1-13 个碳原子和 1-4 个杂原子的单环或多环的杂芳族取代基。吡咯 -1- 基 ; 吡咯 -2- 基 ; 吡咯 -3- 基 ; 呋喃基 ; 噻吩基 ; 咪唑基 ; 噁唑基 ; 噻唑基 ; 异噁唑基 ; 异噻唑基 ; 1,2,4- 三唑基 ; 噁二唑基 ; 噻二唑基 ; 四唑基 ; 吡啶基 ; 嘧啶基 ; 吡嗪基 ; 1,3,5- 三嗪基 ; 吡啶基 ; 苯并 [b] 呋喃基 ; 苯并 [b] 噻吩基 ; 吡啶基 ; 苯并咪唑基 ; 氮杂吡啶基 ; 喹啉基 ; 异喹啉基 ; 吡嗪基 ; 和吡啶基取代基为杂芳基取代基的实例。
- [0130] 术语“杂原子”在这里是指不同于碳的至少二价的原子。N ; O ; S ; 和 Se 为杂原子

的实例。

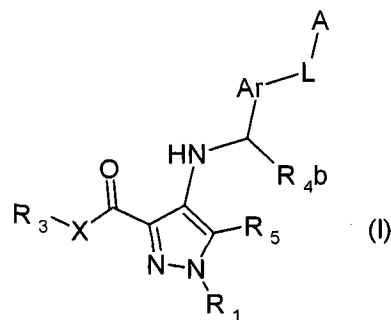
[0131] 术语“环烷基”是指具有 3-12 碳原子的饱和的或部分不饱和的环状烃基取代基。环丙基；环丁基；环戊基；环戊烯基；环戊二烯基；环己基；环己烯基；环庚基；双环 [2. 2. 1] 庚基；环辛基；双环 [2. 2. 2] 辛基；金刚烷基；和全氢萘基取代基为环烷基取代基的实例。

[0132] 术语“杂环基”是指具有 1-13 个碳原子和 1-4 个杂原子的饱和或部分不饱和的环状烃基取代基。优选地，饱和或部分不饱和的环状烃基取代基将是单环的并将包含 4 或 5 个碳原子和 1-3 个杂原子。

[0133] 术语“取代的”是指一个或多个不同于 H 的取代基，例如卤素；烷基；芳基；杂芳基；环烷基；杂环基；亚烷基；炔基；OH；O- 烷基；O- 亚烷基；O- 芳基；O- 杂芳基；NH₂；NH- 烷基；NH- 芳基；NH- 杂芳基；N- 烷基- 烷基’，其中烷基’和烷基是两个相同或不同的烷基；SH；S- 烷基；S- 芳基；S(O₂)H；S(O₂)- 烷基；S(O₂)- 芳基；SO₃H；SO₃- 烷基；SO₃- 芳基；CHO；C(O)- 烷基；C(O)- 芳基；C(O)OH；C(O)O- 烷基；C(O)O- 芳基；OC(O)- 烷基；OC(O)- 芳基；C(O)NH₂；C(O)NH- 烷基；C(O)NH- 芳基；NHCHO；NHC(O)- 烷基；NHC(O)- 芳基；NH- 环烷基；NH- 杂环基。

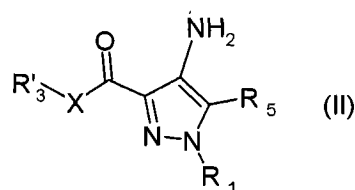
[0134] 本发明的目的还是以下通式 (I) 产物的制备方法：

[0135]



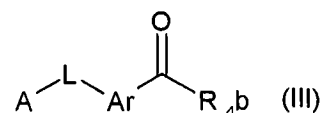
[0136] 其中 R₁、R₃、R_{4b}、R₅、X、Ar、L 和 A 如上所定义，特征在于使以下通式 (II) 产物：

[0137]



[0138] 其中 R'₃ 是 R₃ 或 R₃ 的前体，和 X、R₁、R₃ 和 R₅ 如上所定义，与以下式 (III) 产物进行反应：

[0139]

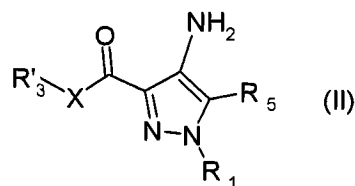


[0140] 其中 R_{4b}、Ar、L 和 A 如上所定义，得到通式 (I) 产物。

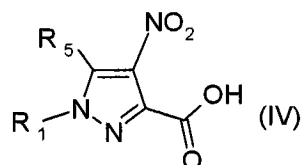
[0141] 本发明的目的还是，作为中间产物，通式 (II) 产物，对于其而言，R'₃、X、R₁ 和 R₅ 如上所定义，以及通式 (III) 产物，对于其而言，Ar、L 和 A 如上所定义。

[0142] 本发明的目的还是以下通式 (II) 中间产物的制备方法：

[0143]

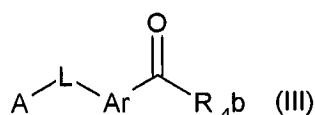
[0144] 其中 R'_3 、 X 、 R_1 和 R_5 如上所定义,特征在于使以下通式 (IV) 产物:

[0145]

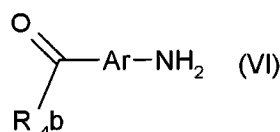
[0146] 其中 R_1 和 R_5 如上所定义,与以下通式 (V) 产物进行反应:[0147] R'_3-X-Gp (V)[0148] 其中 Gp 是保护基团, X 和 R'_3 如上所定义,得到通式 (II) 产物。

[0149] 本发明的目的还是以下通式 (III) 中间产物的制备方法:

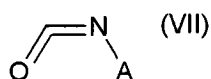
[0150]

[0151] 其中 R_{4b} 、 Ar 和 A 如上所定义,和 L 是 $NH-CO-NH$,特征在于以下通式 (VI) 产物:

[0152]

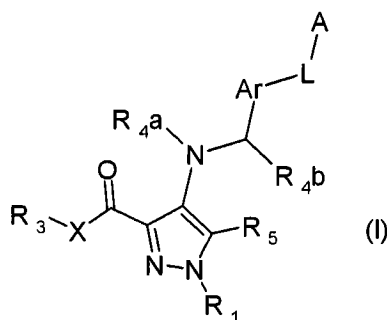
[0153] 其中 R_{4b} 、 Ar 如上所定义,与以下通式 (VII) 产物进行反应:

[0154]

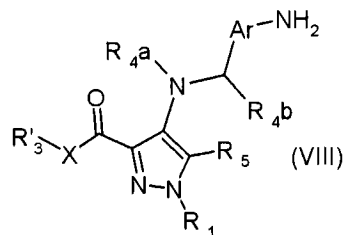
[0155] 其中 A 如上所定义,以得到通式 (III) 产物。

[0156] 本发明的目的还是通式 (I) 产物的制备方法

[0157]

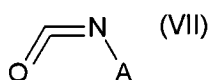
[0158] 其中 R_1 、 R_3 、 R_{4a} 、 R_{4b} 、 R_5 、 X 、 Ar 和 A 如上所定义,和 L 是 $NHCONH$,特征在于使以下通式 (VIII) 产物:

[0159]



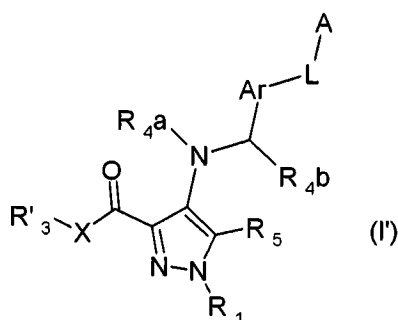
[0160] 其中 R'_3 是 R_3 或 R_3 的前体, 和 X 、 R_1 、 R_3 、 R_{4a} 、 R_{4b} 和 R_5 如上所定义, 与以下式 (VII) 产物进行反应:

[0161]



[0162] 其中 A 如上所定义, 以得到以下通式 (I') 产物

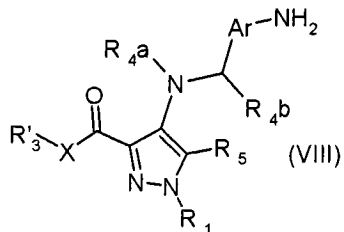
[0163]



[0164] 其中前体 R'_3 被转化为 R_3 以便得到通式 (I) 产物。

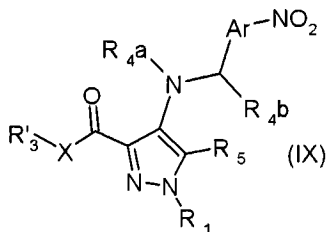
[0165] 本发明的目的还是通式 (VIII) 中间产物的制备方法

[0166]



[0167] 其中 R'_3 是 R_3 或 R_3 的前体, 和 Ar 、 X 、 R_1 、 R_3 、 R_{4a} 、 R_{4b} 和 R_5 如上所定义, 特征在于使以下通式 (IX) 产物:

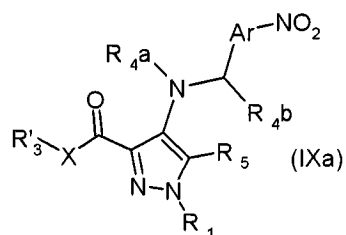
[0168]



[0169] 经受还原反应以得到通式 (VIII) 产物。

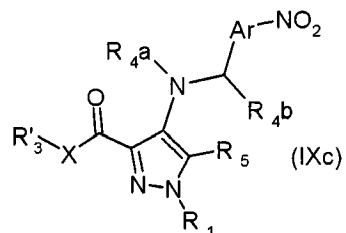
[0170] 本发明的目的还是通式 (IXa) 中间产物的制备方法

[0171]



[0172] 其中 R'_3 是 R_3 或 R_3 的前体, R_{4a} 是 (C1-C4) 烷基, 和 R_{4b} 是 H, 和 X、 R_1 、 R_3 和 R_5 如上所定义, 特征在于以下通式 (IXc) 产物:

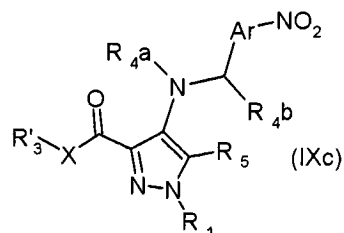
[0173]



[0174] 其中 R'_3 是 R_3 或 R_3 的前体, R_{4a} 和 R_{4b} 是 H, 和 X、 R_1 、 R_3 和 R_5 如上所定义, 经受氨基烷基化反应以得到上面通式 (IXa) 产物。

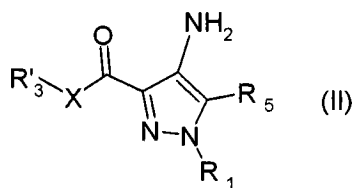
[0175] 本发明的目的还是通式 (IXc) 中间产物的制备方法

[0176]



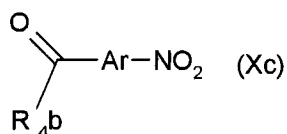
[0177] 其中 R'_3 是 R_3 或 R_3 的前体, R_{4a} 和 R_{4b} 是 H, 和 Ar、X、 R_1 、 R_3 和 R_5 如上所定义, 特征在于使以下通式 (II) 产物:

[0178]



[0179] 其中 R'_3 、X、 R_1 和 R_5 如上所定义, 与以下通式 (Xc) 产物进行反应:

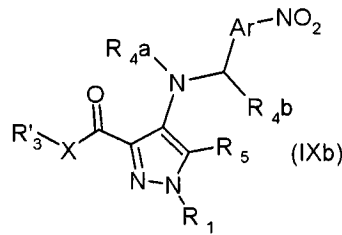
[0180]



[0181] 其中 R_{4b} 是 H 和 Ar 如上所定义, 以得到上面通式 (IXc) 产物。

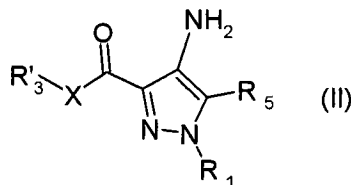
[0182] 本发明的目的还是通式 (IXb) 中间产物的制备方法

[0183]



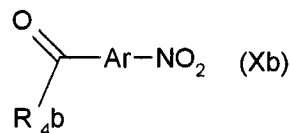
[0184] 其中 R'_3 是 R_3 或 R_3 的前体, R_{4a} 是 H, 和 R_{4b} 是 (C1-C4) 烷基, 和 Ar、X、 R_1 、 R_3 和 R_5 如上所定义, 特征在于使以下通式 (II) 产物:

[0185]



[0186] 其中 R'_3 、X、 R_1 和 R_5 如上所定义, 与以下通式 (Xb) 产物进行反应:

[0187]



[0188] 其中 R_{4b} 是 (C1-C4) 烷基和 Ar 如上所定义, 然后经历还原反应以得到上面通式 (IXb) 产物。

[0189] 使用的起始产品可从市场上买到或者通过本领域的技术人员已知的方法进行制备。

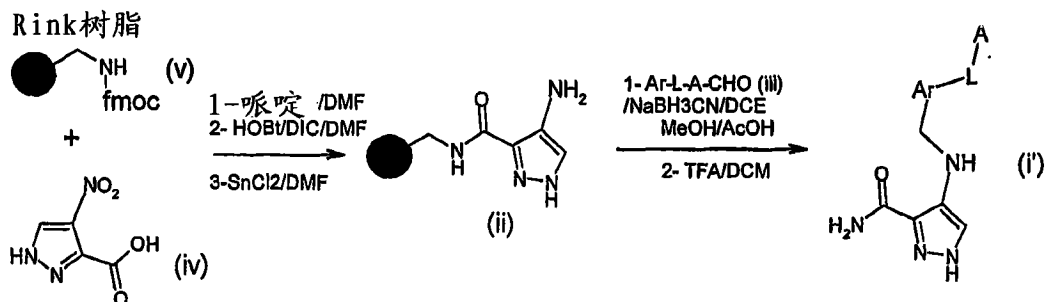
[0190] 对于“保护基 Gp”, 理解为在一方面在合成期间可以保护活性官能 (如羟基或者胺) 和另一方面在合成结束时再产生完好的活性官能的基团。保护基的实例以及保护和去保护方法的实例给在“Protective Groups in Organic Synthesis” Green 等, 第 2 版 (John Wiley & Sons, in c., New York) 中。

[0191] 对于“ R_3 的前体”, 理解为在反应或者合成结束时可以产生基团 R_3 的基团。例如当 X 是 NH 时候, 它是 $-CH_2-$ Rink 树脂, 或者 2,4-二甲氧基苄基。

[0192] 根据本发明的产物可以使用有机化学的常规方法进行制备。在下面的方案 1 举例说明用来制备实施例 1-31 的方法。在这一方面, 它不应该构成对本发明关于所要求保护的化合物的制备方法的范围的限制。

[0193] 方案 1

[0194]



[0195] 1- 中间体树脂 (ii) 的制备

[0196] 使 Rink 树脂 (v) 在 DMF 中溶胀。将 DMF 滤出然后用在 DMF 中的 50% 哌啶溶液替换。在环境温度下搅拌 30 分钟之后, 过滤混合物然后树脂先后用 DMF、甲醇和 DMF 进行洗涤。

[0197] 然后, 将 3 当量的 4-硝基-3-吡啶甲酸 (iv)、3 当量的 HOBt (羟基苯并三唑) 和 3 当量的二异丙基碳二亚胺 (DIC) 在 DMF 中的溶液加入到该树脂中。在环境温度搅拌该混合物过夜然后通过过滤除去反应混合物。树脂用 DMF 洗涤 3 次, 用甲醇洗涤两次和用 DMF 洗涤五次。在环境温度下然后用氯化锡 (SnCl_2) 摩尔溶液处理该树脂过夜。该反应混合物通过过滤被除去。树脂用 DMF 洗涤五次, 用甲醇洗涤两次, 用 DCM (二氯甲烷) 洗涤 3 次和用醚洗涤两次, 然后在真空下干燥得到树脂 (ii)。

[0198] 2- 通过还原性氨基化制备 the 产物 (i')

[0199] 在管瓶中, 在二氯乙烷 (DCE) 中使该树脂 (ii) 溶胀。加入 3 当量溶解于 DMF 中的醛 (iii), 然后加入 5 当量在包含 10% 乙酸的甲醇中的氰基氢硼化钠。使混合物在 80°C 达 2 小时。冷却后, 过滤反应介质, 并且树脂先后用甲醇洗涤两次, 用 DCM (二氯甲烷) 洗涤 3 次, 用甲醇洗涤两次和用 DCM 洗涤 3 次。在环境温度通过用三氟乙酸 / DCM 溶液 (50/50) 裂解 2 小时而获得最终产物。产物通过过滤和蒸发溶剂进行分离。产物 (i') 通过正相液相色谱或通过制备 LC/MS 进行纯化。

[0200] 原料和方法

[0201] LC/MS 分析法 A:

[0202] 分析在与 Agilent HP 1100 HPLC 仪器连接的 Waters ZQ 型号质谱仪 (负和正电喷雾模式) (范围为 10-1200amu) 上进行。在被维持在 60°C 的 Waters Xbridge C18 柱 (3×50mm, 2.5 μm 粒子直径) 上, 通过使用乙腈 / 水 (包含 0.1% (v/v) 甲酸) 的梯度和以 1.1ml/分钟流量进行分离。梯度为在 5 分钟期间 5% 到 100% 乙腈, 在 100% 维持 30 秒然后在 1 分钟期间被返回到 5%。总共分离时间为 7 分钟。除了质谱分析, UV 检测 (二极管阵列) 在 210-400nm 波长进行, 以及使用 Sedere Sedex 85 仪器进行 ELSD 测量 (蒸发光散射)。

[0203] LC/MS 分析方法 B:

[0204] 分析在与 Waters Alliance HT 仪器连接的 Waters ZQ 型号质谱仪 (负和正电喷雾模式) (范围为 10-1200amu) 上进行。在维持在 25°C 的 Waters Atlantis dC18 柱 (2.1×50mm, 5 μm 粒子直径) 上, 通过使用乙腈 / 水 (包含 0.1% (v/v) 三氟乙酸) 的梯度和以 0.5ml/分钟的流量进行分离。梯度为在 5 分钟期间从 5% 到 85% 乙腈, 然后在 90% 维持 1 分钟。总共分离时间为 7 分钟。除了质谱分析外, UV 检测 (二极管阵列) 在波长 210-400nm 进行。

[0205] LC/MS 制备方法 C:

[0206] 产物通过制备 LC/MS, 通过使用 Waters Fraction Lynx 系统进行纯化, 所述系统由 Waters 600 型号泵 (用于梯度)、Waters 515 型号泵 (用于再生)、Waters Reagent Manager 泵、2700 型号自动注射器、两个 Theodyne LabPro 型号切换器、Waters 二极管阵列检测器、Waters ZMD 型号质谱仪和 204 型号级分收集器组成。仪器是通过 Waters Fraction Lynx 软件进行控制。在分离柱的出口, 使用 LC Packing Accurate 分流器物分流出物流的 1/1000; 该物流与甲醇 (流量 0.5ml/分钟) 混合并送到检测器: 3/4 被送到二极管列

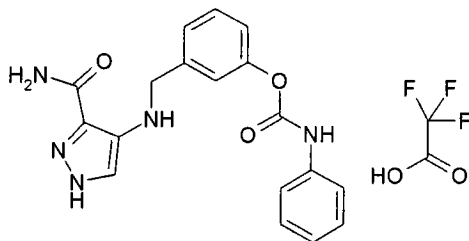
阵和 1/4 被送到质谱仪；该物流的剩余部分 (999/1000) 被送到级分收集器。如果通过 FractionLynx 观测到质量峰，收集该产物，否则该物流直接被抛弃。产物的分子式被传输到 FractionLynx 软件，并且当检测到 $[M+H]^+$ 和 $[M+Na]^+$ 质量峰时收集该产物。将级分收集在管瓶中，其在 JouanRC10.10 型号旋转蒸发器中进行蒸发。获得的产物的重量通过测定在蒸发溶剂后管瓶的重量进行确定。关于所使用的柱和梯度的信息在下面部分中的每个实施例中给出。

[0207] LC/MS 分析方法 D：

[0208] 分析在与 Waters Alliance HT 仪器连接的 Waters SQD 质谱仪上（负和正电喷雾模式）（范围为 10-1200amu）来进行。所述分离在维持在 25°C 的 BEH 柱 (2.1×50mm, 1.7 μm 粒子直径) 上，通过使用乙腈/水（包含 0.1% (v/v) 三氟乙酸）的梯度和以 1ml/分钟 的流量来进行。梯度为在 2 分钟期间从 5% 到 100% 乙腈。除了质谱分析外，UV 检测（二极管阵列）在 210-400nm 的波长进行。

[0209] 实施例 1 : 4-[[3- 苯基] 氨基甲酰基 } 氧基) 苄基] 氨基 } -1H- 吡唑 -3- 甲酰胺三氟乙酸盐

[0210]



[0211] 制备树脂 (ii)：

[0212] 使 30g Rink 树脂 (PolymerLab ; 0.99mmol/g) 在 150ml DMF 中进行溶胀。在搅拌 10 分钟后，过滤出 DMF 并用 150ml 在 DMF 中的哌啶溶液 (50/50, v/v) 替换。搅拌该混合物 1 小时然后过滤。树脂先后用 5 次 150ml DMF, 2 次 150ml 甲醇和 3 次 150ml DMF 进行洗涤。然后，将 14.1g 4- 硝基 -3- 吡唑甲酸 (90mmol, 3 当量) 和 13.8g HOBt (90mmol, 3 当量) 在 150ml DMF 中的溶液加入到该树脂中，随后立即加入 13.8ml DIC (90mmol ; 3 当量)。在环境温度下搅拌该混合物 16 小时。过滤溶液，树脂先后用 5 次 150ml DMF, 2 次 150ml 甲醇和 3 次 150ml DMF 洗涤，然后用 150ml 1M SnCl₂ 溶液 (33g 在 150ml 中) 进行洗涤。在环境温度下维持搅拌 24 小时然后过滤混合物，树脂用 5 次 150ml DMF, 2 次 150ml 甲醇, 3 次 150ml DCM 和 2 次 150ml 乙醚进行洗涤。真空下干燥后，分离出 31g 中间体树脂 (ii)。

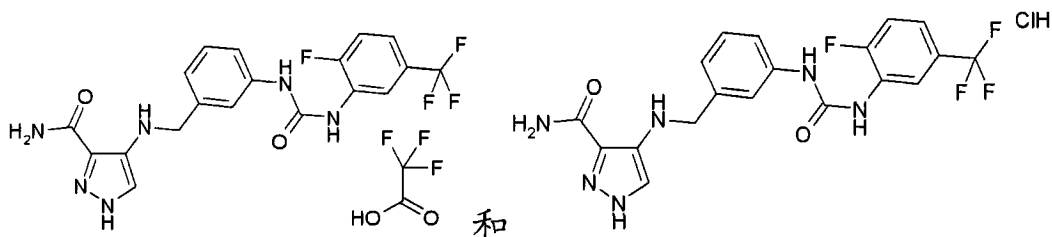
[0213] 制备实施例 1：

[0214] 使 100mg 树脂 (ii) 在 0.3ml DCE 中进行溶胀，然后加入在 0.2ml DMF 中的溶液形式的 72mg 苯基氨基甲酸 3- 甲酰基苯基酯 (0.3mmol ; ~ 3 当量) 的，随后加入 33mg 氰基氢硼化钠 (0.5mmol ; ~ 5 当量)。在 80°C 加热该混合物 1 小时，然后在冷却至环境温度后进行过滤。然后树脂先后用 2 次 1ml MeOH, 5 次 1ml DMF, 3 次 1ml MeOH 和 5 次 1ml DCM 进行洗涤。产物通过用 1ml 50/50 的 TFA/DCM 溶液处理树脂进行裂解 (clivé)。蒸发溶液，获得的粗制产物通过制备 HPLC 进行直接纯化。获得了 2.4mg 期望产物 1 (产率 = 5%)。 ($[M+H]^+$) : 352)。RT = 2.49min (方法 A)

[0215] 实施例 2a : 4-[[3-([2- 氟代 -5-(三氟甲基) 苯基] 氨基甲酰基 } 氨基) 苄

基]-氨基}-1H-吡唑-3-甲酰胺三氟乙酸盐和实施例 2b :4-[[3-([2-氟代-5-(三氟甲基)苯基]氨基甲酰基)氨基]苄基]氨基]-1H-吡唑-3-甲酰胺盐酸盐

[0216]



[0217] 制备 1-(2-氟代-5-三氟甲基-苯基)-3-(3-甲酰基-苯基)脲:

[0218] 484mg 3-氨基苯甲醛 (4mmol) (聚合形式) 和 290 μ l 2-氟代-5-三氟甲基-苯基异氰酸酯在 4ml DCE 中的混合物在 CEM Discover 微波炉中在 100°C 被处理 10 分钟 (功率 90)。冷却后, 将该混合物倒在 100ml 硫酸氢钾饱和溶液中并用 2 次 50ml 乙酸乙酯进行萃取。合并后的有机相用水进行洗涤, 用硫酸钠进行干燥并进行蒸发。获得了 740mg 具有 82% 的 LC/MS 纯度的期望的醛 (产率 = 57%)。粗制产物被直接用于后面的步骤。([M+H]⁺): 327。RT = 4.28min (30% -90% 的乙腈 / 水梯度 - 方法 B)。

[0219] 制备实施例 2a:

[0220] 实施例 2a 根据对于实施例 1 所描述的方法, 使用 1g 树脂 (ii), 520mg 1-(2-氟代-5-三氟甲基-苯基)-3-(3-甲酰基-苯基)脲 (1.6mmol, 2 当量) 和 264mg 氰基氢硼化钠 (4mmol; ~5 当量) 进行制备。在通过制备 HPLC 纯化后, 获得产物 2a (EIMS([M+H]⁺): 437。RT = 3.45min。(方法 A)。

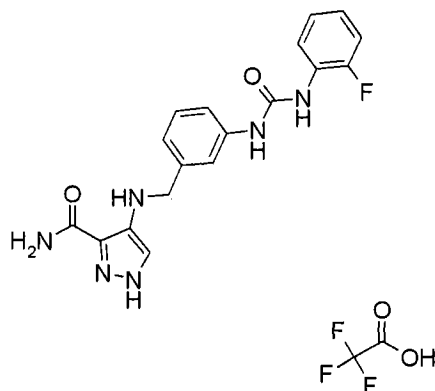
[0221] 制备实施例 2b:

[0222] 实施例 2b 根据对于实施例 1 所描述的方法, 使用 1g 树脂 (ii), 520mg 1-(2-氟代-5-三氟甲基-苯基)-3-(3-甲酰基-苯基)脲 (1.6mmol, 2 当量) 和 264mg 氰基氢硼化钠 (4mmol; ~5 当量) 进行制备。在过滤和蒸发后, 分离出 301mg 粗制产物 (LC/MS 纯度 83%)。该粗制产物在二氧化硅柱上使用 DCM/MeOH 混合物 (90/10) 作为洗脱剂进行纯化。分离出 151mg 浅黄色固体 (产率 43%)。将该产物溶解于 2ml MeOH 中并通过加入在二噁烷中的 4NHCl 溶液被转化为它的盐酸盐。蒸发后, 分离出浅黄色固体形式的产物 2b。

[0223] (EIMS([M+H]⁺): 437。RT = 3.45min。(方法 A)。¹H NMR(D₆-MeOD) (600MHz): 4.62(s, 2H); 7.19(d, 1H); 7.36(2s, 2H); 7.40(m, 1H); 7.49(m, 1H); 7.76(s, 1H); 7.78(s, 1H); 8.62(m, 1H)

[0224] 实施例 3 :4-[[3-([2-氟代-苯基]氨基甲酰基)氨基]苄基]氨基]-1H-吡唑-3-甲酰胺三氟乙酸盐

[0225]



[0226] 制备 1-(2-氟代-苯基)-3-(3-甲酰基-苯基)脲：

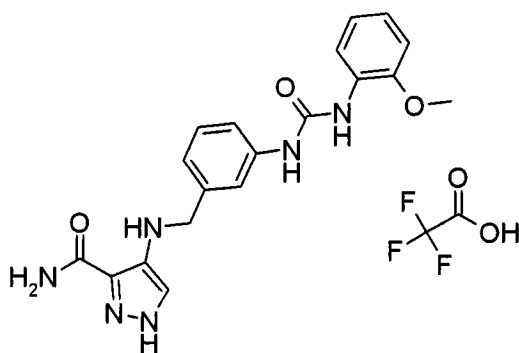
[0227] 该产物如在实施例 2 中所描述地,使用 484mg 3-氨基苯甲醛 (4mmol) (聚合形式) 和在 4ml DCE 中的 548mg 2-氟代-苯基异氰酸酯进行制备。冷却后,将该混合物倒入在 100ml 硫酸氢钾饱和溶液中并用 2 次 50ml 乙酸乙酯进行萃取。合并后的有机相用水进行洗涤,用硫酸钠干燥并进行蒸发。分离出 864mg 树脂形式的期望的醛,其具有 77% 的 LC/MS 纯度。结晶部分在乙醚中研磨后获得。分离出 165mg 固体 ([M+H]⁺):259。RT = 4.28min (5% -85% 的乙腈 / 水梯度 - 方法 B)。

[0228] 制备实施例 3：

[0229] 实施例 3 根据对于实施例 1 所描述的方法,使用 200mg 树脂 (ii), 104mg 1-(2-氟代-苯基)-3-(3-甲酰基-苯基)脲 (0.4mmol, 2 当量) 和 66mg 氰基氢硼化钠 (1mmol; ~5 当量) 进行制备。在通过制备 HPLC 纯化后,分离出 33mg 产物 3。(产率 = 43%)。EIMS ([M+H]⁺):369。RT = 3.70min (5% -85% 的乙腈 / 水梯度 - 方法 A)。

[0230] 实施例 4: 4-[(3-[(2-甲氧基苯基)氨基甲酰基]氨基]苯基)氨基]-1H-吡唑-3-甲酰胺三氟乙酸盐

[0231]



[0232] 制备 1-(2-甲氧基-苯基)-3-(3-甲酰基-苯基)脲：

[0233] 该产物如在实施例 2 中所描述地,使用 484mg 3-氨基苯甲醛 (4mmol) (聚合形式) 和在 4ml DCE 中的 597mg 2-甲氧基-苯基异氰酸酯 (4mmol) 进行制备。分离出 300mg 粗制的期望的醛,其直接用于后面的步骤。([M+H]⁺):271。RT = 5.14min (30% -90% 的乙腈 / 水梯度 - 方法 B)。

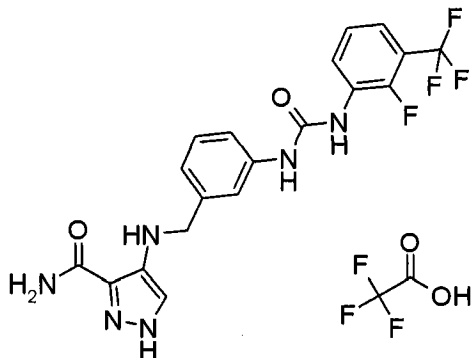
[0234] 制备实施例 4：

[0235] 实施例 4 根据对于实施例 1 所描述的方法进行制备,使用 200mg 树脂 (ii), 162mg 1-(2-甲氧基-苯基)-3-(3-甲酰基-苯基)脲 (0.6mmol, 3 当量) 和 66mg 氰基氢硼化钠

(1mmol; ~ 5 当量)。在通过制备 HPLC 纯化后,分离出 10.4mg 产物 4。(产率 = 11%)。EIMS([M+H]⁺):381。RT = 3.84min(5% -85%的乙腈 / 水梯度 - 方法 A)。

[0236] 实施例 5:4-[[3-([2-氟代-3-(三氟甲基)苯基]氨基甲酰基)氨基]苄基]-氨基]-1H-吡唑-3-甲酰胺三氟乙酸盐

[0237]



[0238] 制备 1-(2-氟代-3-三氟甲基-苯基)-3-(3-甲酰基-苯基)脲:

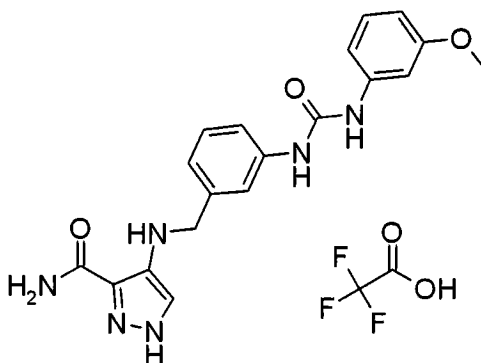
[0239] 该产物如在实施例 2 中所描述地,使用 484mg 3-氨基苯甲醛(4mmol)(聚合形式)和在 4ml DCE 中的 820mg 2-氟代-3-三氟甲基-苯基异氰酸酯(4mmol)进行制备。分离出 300mg 粗制的期望的醛,其直接用于后面的步骤。([M+H]⁺):327。RT = 4.21min(30% -90%的乙腈 / 水梯度 - 方法 B)。

[0240] 制备实施例 5:

[0241] 实施例 5 根据对于实施例 1 所描述的方法,由 200mg 树脂(ii),195mg 1-(2-氟代-3-三氟甲基-苯基)-3-(3-甲酰基-苯基)脲(0.6mmol,3 当量)和 66mg 氰基氢硼化钠(1mmol; ~ 5 当量)进行制备。在通过制备 HPLC 纯化后,分离出 31.4mg 产物 5。(产率 = 29%)。EIMS([M+H]⁺):437。RT = 3.33min(5% -100%的乙腈 / 水梯度 - 方法 A)。

[0242] 实施例 6:4-[(3-[(3-甲氧基苯基)氨基甲酰基]氨基)苄基]氨基]-1H-吡唑-3-甲酰胺三氟乙酸盐

[0243]



[0244] 制备 1-(3-甲氧基-苯基)-3-(3-甲酰基-苯基)脲:

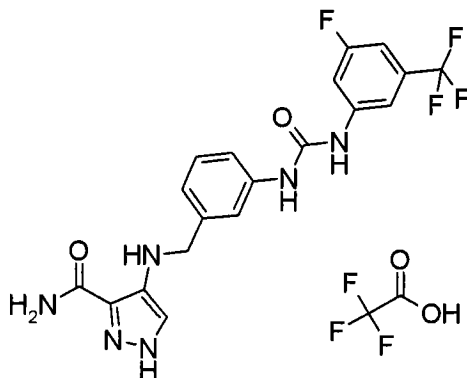
[0245] 该产物如在实施例 2 中所描述地,使用 484mg 3-氨基苯甲醛(4mmol)(聚合形式)和在 4ml DCE 中的 597mg 3-甲氧基-苯基异氰酸酯(4mmol)进行制备。分离出 598mg 粗制的期望的醛,其直接用于后面的步骤。([M+H]⁺):271。RT = 5.05min(30% -90%的乙腈 / 水梯度 - 方法 B)。

[0246] 制备实施例 6:

[0247] 实施例 6 根据对于实施例 1 所描述的方法, 通过使用 200mg 树脂 (ii), 162mg 1-(3-甲氧基-苯基)-3-(3-甲酰基-苯基) 脲 (0.6mmol, 3 当量) 和 66mg 氰基氢硼化钠 (1mmol; ~ 5 当量) 进行制备。在通过制备 HPLC 纯化后, 分离出 17mg 产物 6。(产率 = 17%)。EIMS([M+H]⁺): 381。RT = 2.47min(5% -100% 的乙腈 / 水梯度 - 方法 A)。

[0248] 实施例 7 : 4-{{3-([3-氟代-5-(三氟甲基)苯基]氨基甲酰基)氨基}苄基}-氨基}-1H-吡唑-3-甲酰胺三氟乙酸盐

[0249]



[0250] 制备 1-(3-氟代-5-三氟甲基-苯基)-3-(3-甲酰基-苯基) 脲 :

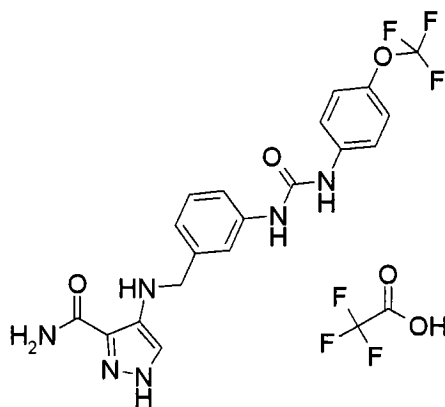
[0251] 该产物如在实施例 2 中所描述地, 使用 484mg 3-氨基苯甲醛 (4mmol) (聚合形式) 和在 4ml DCE 中的 597mg 3-氟代-5-三氟甲基-苯基异氰酸酯 (4mmol) 进行制备。分离出 924mg 粗制的期望的醛, 其直接用于后面的步骤。([M+H]⁺): 327。RT = 4.48min(30% -90% 的乙腈 / 水梯度 - 方法 B)。

[0252] 制备实施例 7 :

[0253] 实施例 7 根据对于实施例 1 所描述的方法, 使用 200mg 树脂 (ii), 196mg 1-(3-氟代-5-三氟甲基-苯基)-3-(3-甲酰基-苯基) 脲 (0.6mmol, 3 当量) 和 66mg 氰基氢硼化钠 (1mmol; ~ 5 当量) 进行制备。在通过制备 HPLC 纯化后, 分离出 33.6mg 产物 7。(产率 = 31%)。EIMS([M+H]⁺): 437。RT = 3.55min(5% -100% 的乙腈 / 水梯度 - 方法 A)。

[0254] 实施例 8 : 4-{{3-([4-(三氟甲氧基)苯基]氨基甲酰基)氨基}苄基}-氨基}-1H-吡唑-3-甲酰胺三氟乙酸盐

[0255]



[0256] 制备 1-(4-三氟甲氧基-苯基)-3-(3-甲酰基-苯基) 脲 :

[0257] 该产物如在实施例 2 中所描述地, 使用 484mg 3-氨基苯甲醛 (4mmol) (聚合形式) 和在 4ml DCE 中的 812mg 4-三氟甲氧基-苯基异氰酸酯 (4mmol) 进行制备。分离出 558mg

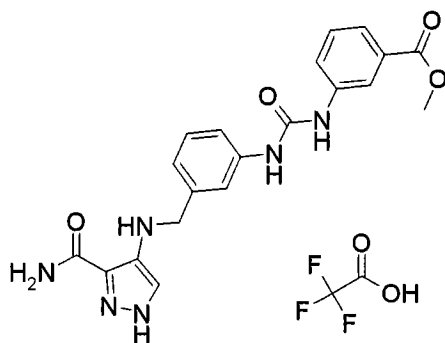
粗制的期望的醛,其直接用于后面的步骤。([M+H]⁺):325。RT = 4.13min(30% -90%的乙腈 / 水梯度 - 方法 B)。

[0258] 制备实施例 8:

[0259] 实施例 8 根据对于实施例 1 所描述的方法,使用 200mg 树脂 (ii),195mg 1-(4-三氟甲氧基-苯基)-3-(3-甲酰基-苯基)脲 (0.6mmol,3 当量) 和 66mg 氰基氢硼化钠 (1mmol; ~5 当量) 进行制备。在通过制备 HPLC 纯化后,分离出 26.3mg 产物 8。(产率=24%)。EIMS([M+H]⁺):435。RT = 3.34min(5% -100%的乙腈 / 水梯度 - 方法 A)。

[0260] 实施例 9:3-[(3-[(3-氨基甲酰基-1H-吡唑-4-基)氨基]甲基)苯基]氨基甲酰基]氨基]苯甲酸甲酯三氟乙酸盐

[0261]



[0262] 制备 1-(3-甲氧基羰基)-3-(3-甲酰基-苯基)脲

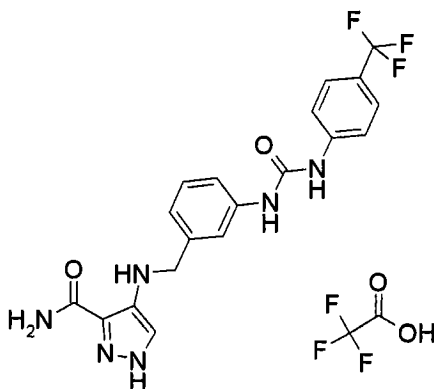
[0263] 该产物如在实施例 2 中所描述地,使用 484mg 3-氨基苯甲醛 (4mmol) (聚合形式) 和在 4ml DCE 中的 812mg 3-异氰基-苯甲酸甲酯 (4mmol) 进行制备。分离出 695mg 粗制的期望的醛,其直接用于后面的步骤。([M+H]⁺):299。RT = 2.94min(30% -90%的乙腈 / 水梯度 - 方法 B)。

[0264] 制备实施例 9:

[0265] 实施例 9 根据对于实施例 1 所描述的方法,使用 200mg 树脂 (ii),180mg 脲 (0.6mmol,3 当量) 和 66mg 氰基氢硼化钠 (1mmol; ~5 当量) 进行制备。在通过制备 HPLC 纯化后,分离出 25.3mg 产物 9。(产率=24%)。EIMS([M+H]⁺):409。RT = 2.67min(5% -100%的乙腈 / 水梯度 - 方法 A)。

[0266] 实施例 10:4-[(3-[(4-(三氟甲基)苯基]氨基甲酰基)氨基]苄基]氨基]-1H-吡唑-3-甲酰胺三氟乙酸盐

[0267]



[0268] 制备 1-(3-甲酰基-苯基)-3-(4-三氟甲基苯基)脲:

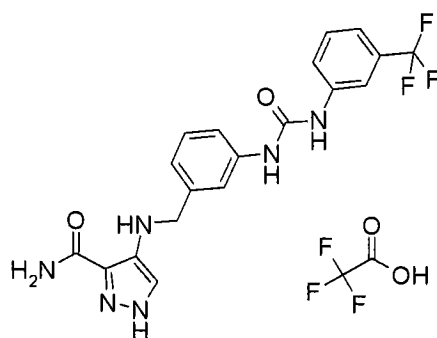
[0269] 该产物如在实施例 2 中所描述地,使用 484mg 3-氨基苯甲醛(4mmol)(聚合形式)和在 4ml DCE 中的 748mg 4-三氟甲基苯基异氰酸酯(4mmol)进行制备。分离出 896mg 粗制的期望的醛,其直接用于后面的步骤。([M+H]⁺):309。RT = 4.14min(30% -90%的乙腈/水梯度 -方法 B)。

[0270] 制备实施例 10:

[0271] 实施例 10 根据对于实施例 1 所描述的方法进行制备,使用 200mg 树脂(ii),185mg 脲(0.6mmol,3 当量)和 66mg 氰基氢硼化钠(1mmol;~5 当量)。在通过制备 HPLC 纯化后,分离出 20.9mg 产物 10。(产率=19%)。EIMS([M+H]⁺):419。RT = 3.33min(5% -100%的乙腈/水梯度 -方法 A)。

[0272] 实施例 11:4-{{3-([3-(三氟甲基)苯基]氨基甲酰基)氨基}苄基}氨基}-1H-吡唑-3-甲酰胺三氟乙酸盐

[0273]



[0274] 制备 1-(3-甲酰基-苄基)-3-(3-三氟甲基-苄基)脲:

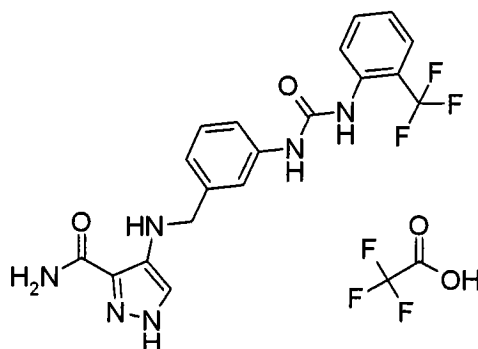
[0275] 该产物如在实施例 2 中所描述地,使用 484mg 3-氨基苯甲醛(4mmol)(聚合形式)和在 4ml DCE 中的 748mg 3-三氟甲基苯基异氰酸酯(4mmol)进行制备。分离出 744mg 粗制的期望的醛,其直接用于后面的步骤。([M+H]⁺):309。RT = 4.04min(30% -90%的乙腈/水梯度 -方法 B)。

[0276] 制备实施例 11:

[0277] 实施例 11 根据对于实施例 1 所描述的方法,使用 200mg 树脂(ii),185mg 脲(0.6mmol,3 当量)和 66mg 氰基氢硼化钠(1mmol;~5 当量)进行制备。在通过制备 HPLC 纯化后,分离出 25.9mg 产物 11。(产率=24%)。EIMS([M+H]⁺):419。RT = 3.25min(5% -100%的乙腈/水梯度 -方法 A)。

[0278] 实施例 12:4-{{3-([2-(三氟甲基)苄基]氨基甲酰基)氨基}苄基}氨基}-1H-吡唑-3-甲酰胺三氟乙酸盐

[0279]



[0280] 制备 1-(3-甲酰基-苯基)-3-(2-三氟甲基苯基)脲：

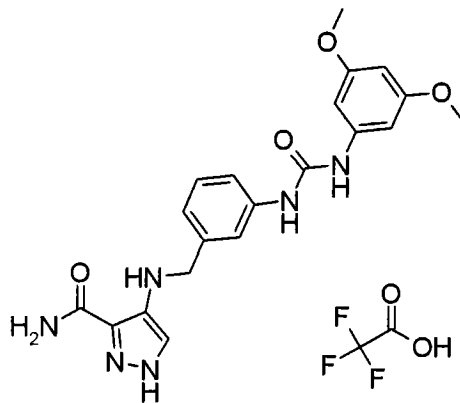
[0281] 该产物如在实施例 2 中所描述地，使用 484mg 3-氨基苯甲醛 (4mmol) (聚合形式) 和在 4ml DCE 中的 748mg 2-三氟甲基苯基异氰酸酯 (4mmol) 进行制备。分离出 744mg 粗制的期望的醛，其直接用于后面的步骤。([M+H]⁺):309。RT = 5.51min (30% -90% 的乙腈 / 水梯度 - 方法 B)。

[0282] 制备实施例 12：

[0283] 实施例 12 根据对于实施例 1 所描述的方法进行制备，使用 200mg 树脂 (ii)，185mg 脲 (0.6mmol, 3 当量) 和 66mg 氰基氢硼化钠 (1mmol ; ~ 5 当量)。在通过制备 HPLC 纯化后，分离出 17.5mg 产物 12。(产率 = 16%)。EIMS([M+H]⁺):419。RT = 2.64min (5% -100% 的乙腈 / 水梯度 - 方法 A)。

[0284] 实施例 13 : 4-[(3-[(3,5-二甲氧基苯基)氨基甲酰基]氨基}苄基)氨基]-1H-吡唑-3-甲酰胺三氟乙酸盐

[0285]



[0286] 制备 1-(3-甲酰基-苯基)-3-(3,5-二甲氧基-苯基)脲：

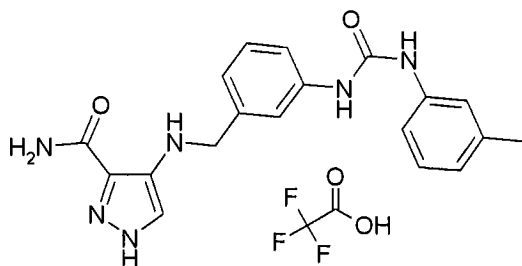
[0287] 该产物如在实施例 2 中所描述地，使用 484mg 3-氨基苯甲醛 (4mmol) (聚合形式) 和在 4ml DCE 中的 717mg 3,5-二甲氧基苯基异氰酸酯 (4mmol) 进行制备。分离出 893mg 粗制的期望的醛，其直接用于后面的步骤。([M+H]⁺):301。RT = 2.99min (30% -90% 的乙腈 / 水梯度 - 方法 B)。

[0288] 制备实施例 13：

[0289] 实施例 13 根据对于实施例 1 所描述的方法，使用 200mg 树脂 (ii)，180mg 脲 (0.6mmol, 3 当量) 和 66mg 氰基氢硼化钠 (1mmol ; ~ 5 当量) 进行制备。在通过制备 HPLC 纯化后，分离出 14.9mg 产物 13。(产率 = 14%)。EIMS([M+H]⁺):411。RT = 4.61min (5% -85% 的乙腈 / 水梯度 - 方法 A)。

[0290] 实施例 14 : 4-[(3-[(3-甲基苯基)氨基甲酰基]氨基}苄基)氨基]-1H-吡唑-3-甲酰胺三氟乙酸盐

[0291]



[0292] 制备 1-(3-甲酰基-苯基)-3-(3-甲苯基)脲：

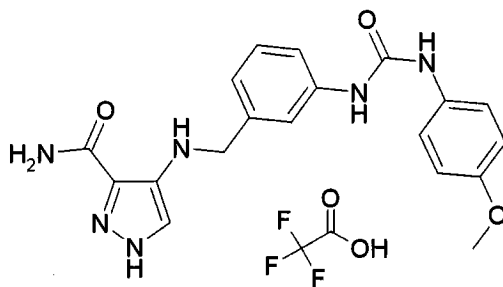
[0293] 该产物如在实施例 2 中所描述地，使用 484mg 3-氨基苯甲醛 (4mmol) (聚合形式) 和在 4ml DCE 中的 533mg 3-甲苯基异氰酸酯 (4mmol) 进行制备。分离出 629mg 粗制的期望的醛，其直接用于后面的步骤。([M+H]⁺):255。RT = 3.27min (30% -90% 的乙腈 / 水梯度 - 方法 B)。

[0294] 制备实施例 14：

[0295] 实施例 14 根据对于实施例 1 所描述的方法，使用 200mg 树脂 (ii)，153mg 脲 (0.6mmol, 3 当量) 和 66mg 氰基氢硼化钠 (1mmol; ~5 当量) 进行制备。在通过制备 HPLC 纯化后，分离出 17mg 产物 14。(产率 = 18%)。EIMS([M+H]⁺):365。RT = 4.66min (5% -85% 的乙腈 / 水梯度 - 方法 B)。

[0296] 实施例 15 :4-[(3-[(4-甲氧基-苯基)氨基甲酰基]氨基}苄基)氨基]-1H-吡唑-3-甲酰胺三氟乙酸盐

[0297]



[0298] 制备 1-(3-甲酰基-苯基)-3-(4-甲氧基-苯基)脲：

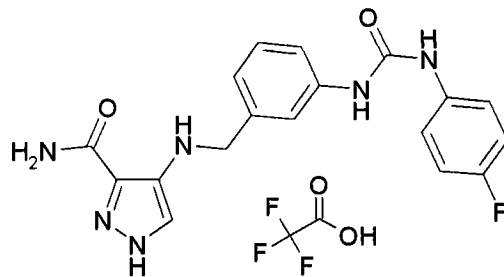
[0299] 该产物如在实施例 2 中所描述地，使用 484mg 3-氨基苯甲醛 (4mmol) (聚合形式) 和在 4ml DCE 中的 597mg 4-甲氧基-苯基异氰酸酯 (4mmol) 进行制备。分离出 747mg 粗制的期望的醛，其直接用于后面的步骤。([M+H]⁺):271。RT = 2.53min (30% -90% 的乙腈 / 水梯度 - 方法 B)。

[0300] 制备实施例 15：

[0301] 实施例 15 根据对于实施例 1 所描述的方法，使用 200mg 树脂 (ii)，162mg 脲 (0.6mmol, 3 当量) 和 66mg 氰基氢硼化钠 (1mmol; ~5 当量) 进行制备。在通过制备 HPLC 纯化后，分离出 2.6mg 产物 15。(产率 = 3%)。EIMS([M+H]⁺):381。RT = 4.3min (5% -85% 的乙腈 / 水梯度 - 方法 B)。

[0302] 实施例 16 :4-[(3-[(4-氟代-苯基)氨基甲酰基]氨基}苄基)氨基]-1H-吡唑-3-甲酰胺三氟乙酸盐

[0303]



[0304] 制备 1-(3-甲酰基-苯基)-3-(4-氟代-苯基)脲：

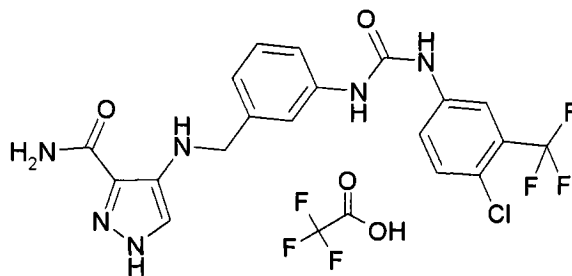
[0305] 该产物如在实施例 2 中所描述地，使用 484mg 3-氨基苯甲醛 (4mmol) (聚合形式) 和在 4ml DCE 中的 548mg 4-氟代-苯基异氰酸酯 (4mmol) 进行制备。分离出 760mg 粗制的期望的醛，其直接用于后面的步骤。([M+H]⁺):259。RT = 2.86min (30% -90% 的乙腈 / 水梯度 - 方法 B)。

[0306] 制备实施例 16：

[0307] 实施例 16 根据对于实施例 1 所描述的方法，使用 200mg 树脂 (ii)，155mg 脲 (0.6mmol, 3 当量) 和 66mg 氰基氢硼化钠 (1mmol; ~5 当量) 进行制备。在通过制备 HPLC 纯化后，分离出 0.6mg 产物 16。(产率 = 1%)。EIMS([M+H]⁺):369。RT = 4.44min (5% -85% 的乙腈 / 水梯度 - 方法 B)。

[0308] 实施例 17 : 4-[[3-([4-氯代-3-(三氟甲基)苯基]氨基甲酰基)氨基]苄基]-氨基]-1H-吡唑-3-甲酰胺三氟乙酸盐

[0309]



[0310] 制备 1-(3-甲酰基-苯基)-3-(3-三氟代-4-氯代-苯基)脲：

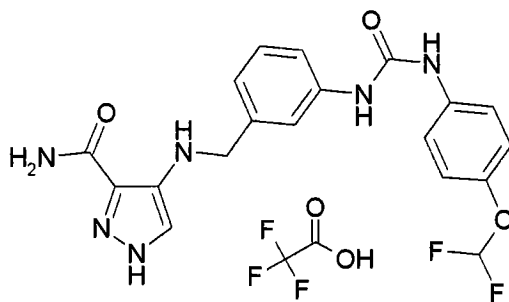
[0311] 该产物如在实施例 2 中所描述地，使用 484mg 3-氨基苯甲醛 (4mmol) (聚合形式) 和在 4ml DCE 中的 886mg 4-氯代-3-三氟代-苯基异氰酸酯 (4mmol) 进行制备。分离出 117mg 粗制的期望的醛，其直接用于后面的步骤。([M+H]⁺):343。RT = 4.66min (30% -90% 的乙腈 / 水梯度 - 方法 B)。

[0312] 制备实施例 17：

[0313] 实施例 17a 根据对于实施例 1 所描述的方法，使用 200mg 树脂 (ii)，206mg 脲 (0.6mmol, 3 当量) 和 66mg 氰基氢硼化钠 (1mmol; ~5 当量) 进行制备。在通过制备 HPLC 纯化后，分离出 7.3mg 产物 17。(产率 = 6%)。EIMS([M+H]⁺):453。RT = 5.38min (5% -85% 的乙腈 / 水梯度 - 方法 B)。

[0314] 实施例 18 : 4-[[3-([4-(二氟甲氧基)苯基]氨基甲酰基)氨基]苄基]-氨基]-1H-吡唑-3-甲酰胺三氟乙酸盐

[0315]



[0316] 制备 1-(3-甲酰基-苯基)-3-(4-二氟甲氧基-苯基)脲：

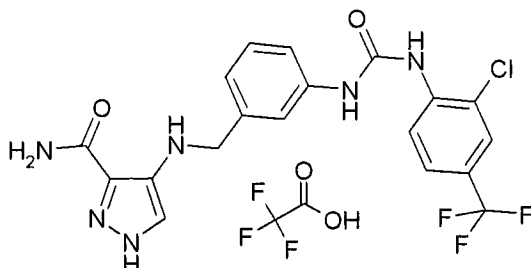
[0317] 该产物如在实施例 2 中所描述地，使用 484mg 3-氨基苯甲醛 (4mmol) (聚合形式) 和在 4ml DCE 中的 741mg 4-二氟甲氧基-苯基异氰酸酯 (4mmol) 进行制备。分离出 840mg 粗制的期望的醛，并直接用于后面的步骤。([M+H]⁺):307。RT = 3.39min (30% -90% 的乙腈 / 水梯度 - 方法 B)。

[0318] 制备实施例 18：

[0319] 实施例 18 根据对于实施例 1 所描述的方法进行制备，使用 200mg 树脂 (ii)，184mg 脲 (0.6mmol, 3 当量) 和 66mg 氰基氢硼化钠 (1mmol; ~ 5 当量)。在通过制备 HPLC 纯化后，分离出 28.5mg 产物 18。(产率 = 27%)。EIMS ([M+H]⁺):417。RT = 4.9min (5% -85% 的乙腈 / 水梯度 - 方法 B)。

[0320] 实施例 19 :4-[[3-([2-氯代-4-(三氟甲基)苯基]氨基甲酰基)氨基]苄基]-氨基]-1H-吡唑-3-甲酰胺三氟乙酸盐

[0321]



[0322] 制备 1-(3-甲酰基-苯基)-3-(2-氯代-4-三氟甲基-苯基)脲：

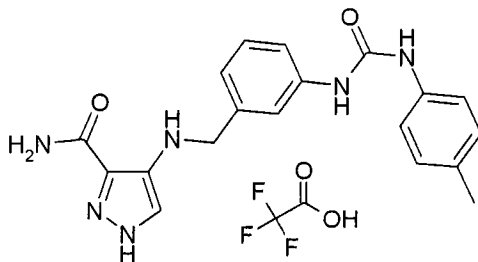
[0323] 该产物如在实施例 2 中所描述地，使用 484mg 3-氨基苯甲醛 (4mmol) (聚合形式) 和在 4ml DCE 中的 886mg 2-氯代-4-三氟甲基-苯基异氰酸酯 (4mmol) 进行制备。分离出 1g 粗制的期望的醛，其直接用于后面的步骤。([M+H]⁺):343。RT = 4.66min (30% -90% 的乙腈 / 水梯度 - 方法 B)。

[0324] 制备实施例 19：

[0325] 实施例 19 根据对于实施例 1 所描述的方法，使用 200mg 树脂 (ii)，206mg 脲 (0.6mmol, 3 当量) 和 66mg 氰基氢硼化钠 (1mmol; ~ 5 当量) 进行制备。在通过制备 HPLC 纯化后，分离出 24.3mg 产物 19。(产率 = 22%)。EIMS ([M+H]⁺):453。RT = 5.36min (5% -85% 的乙腈 / 水梯度 - 方法 B)。

[0326] 实施例 20 :4-[(3-[(4-甲基苯基)氨基甲酰基]氨基)苄基]氨基]-1H-吡唑-3-甲酰胺三氟乙酸盐

[0327]



[0328] 制备 1-(3-甲酰基-苯基)-3-(4-甲苯基)脒：

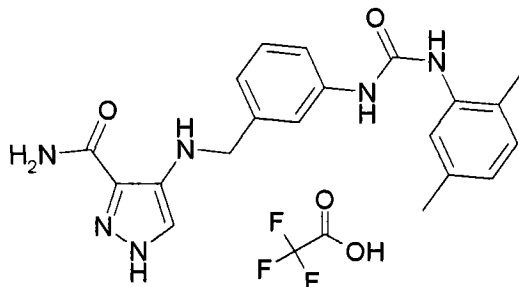
[0329] 该产物如在实施例 2 中所描述地，使用 484mg 3-氨基苯甲醛 (4mmol) (聚合形式) 和在 4ml DCE 中的 533mg 4-甲苯基异氰酸酯 (4mmol) 进行制备。分离出 683mg 粗制的期望的醛，并直接用于后面的步骤。([M+H]⁺):255。RT = 3.16min (30% -90% 的乙腈 / 水梯度 - 方法 B)。

[0330] 制备实施例 20：

[0331] 实施例 20 根据对于实施例 1 所描述的方法，使用 200mg 树脂 (ii)，153mg 脒 (0.6mmol, 3 当量) 和 66mg 氰基氢硼化钠 (1mmol ; ~5 当量) 进行制备。在通过制备 HPLC 纯化后，分离出 15.3mg 产物 20。(产率 = 16%)。EIMS ([M+H]⁺):365。RT = 4.58min (5% -85% 的乙腈 / 水梯度 - 方法 B)。

[0332] 实施例 21 : 4-[(3-[(2,5-二甲基苯基)氨基甲酰基]氨基}苄基)氨基]-1H-吡唑-3-甲酰胺三氟乙酸盐

[0333]



[0334] 制备 1-(3-甲酰基-苯基)-3-(2,5-二甲基-苯基)脒：

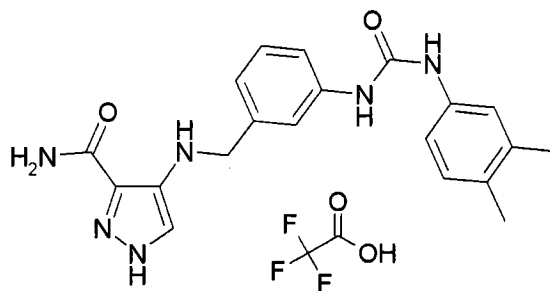
[0335] 该产物如在实施例 2 中所描述地，使用 484mg 3-氨基苯甲醛 (4mmol) (聚合形式) 和在 4ml DCE 中的 589mg 2,5-二甲基-苯基异氰酸酯 (4mmol) 进行制备。分离出 660mg 粗制的期望的醛，其直接用于后面的步骤。([M+H]⁺):269。RT = 3.39min (30% -90% 的乙腈 / 水梯度 - 方法 B)。

[0336] 制备实施例 21：

[0337] 实施例 21 根据对于实施例 1 所描述的方法，使用 200mg 树脂 (ii)，161mg 脒 (0.6mmol, 3 当量) 和 66mg 氰基氢硼化钠 (1mmol ; ~5 当量) 进行制备。在通过制备 HPLC 纯化后，分离出 26.7mg 产物 21。(产率 = 27%)。EIMS ([M+H]⁺):379。RT = 4.68min (5% -85% 的乙腈 / 水梯度 - 方法 B)。

[0338] 实施例 22 : 4-[(3-[(3,4-二甲基苯基)氨基甲酰基]氨基}苄基)氨基]-1H-吡唑-3-甲酰胺三氟乙酸盐

[0339]



[0340] 制备 1-(3-甲酰基-苯基)-3-(3,4-二甲基-苯基)脲：

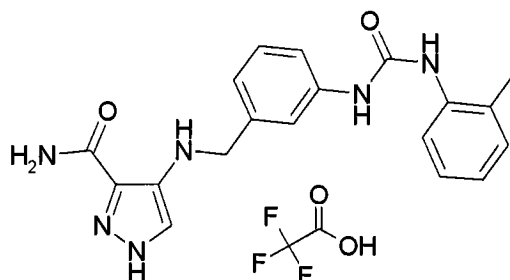
[0341] 该产物如在实施例 2 中所描述地，使用 484mg 3-氨基苯甲醛 (4mmol) (聚合形式) 和在 4ml DCE 中的 589mg 3,4-二甲基-苯基异氰酸酯 (4mmol) 进行制备。分离出 621mg 粗制的期望的醛，并直接用于后面的步骤。([M+H]⁺):269。RT = 3.55min (30% -90% 的乙腈 / 水梯度 - 方法 B)。

[0342] 制备实施例 22：

[0343] 实施例 22 根据对于实施例 1 所描述的方法，使用 200mg 树脂 (ii)，161mg 脲 (0.6mmol, 3 当量) 和 66mg 氰基氢硼化钠 (1mmol; ~ 5 当量) 进行制备。在通过制备 HPLC 纯化后，分离出 32mg 产物 22。(产率 = 32%)。EIMS([M+H]⁺):379。RT = 4.8min (5% -85% 的乙腈 / 水梯度 - 方法 B)。

[0344] 实施例 23 : 4-[(3-[(2-甲基苯基)氨基甲酰基]氨基}苄基)氨基]-1H-吡唑-3-甲酰胺三氟乙酸盐

[0345]



[0346] 制备 1-(3-甲酰基-苯基)-3-(2-甲苯基)脲：

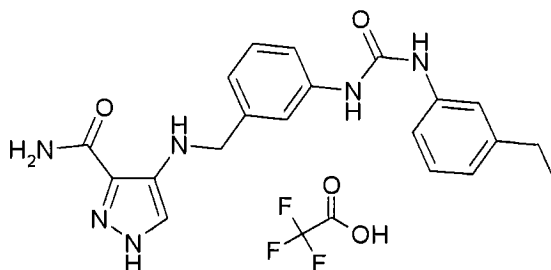
[0347] 该产物如在实施例 2 中所描述地，使用 484mg 3-氨基苯甲醛 (4mmol) (聚合形式) 和在 4ml DCE 中的 533mg 2-甲苯基异氰酸酯 (4mmol) 进行制备。分离出 621mg 粗制的期望的醛，其直接用于后面的步骤。([M+H]⁺):255。RT = 5.14min (30% -90% 的乙腈 / 水梯度 - 方法 B)。

[0348] 制备实施例 23：

[0349] 实施例 23 根据对于实施例 1 所描述的方法，使用 200mg 树脂 (ii)，153mg 脲 (0.6mmol, 3 当量) 和 66mg 氰基氢硼化钠 (1mmol; ~ 5 当量) 进行制备。在通过制备 HPLC 纯化后，分离出 16.7mg 产物 23。(产率 = 17%)。EIMS([M+H]⁺):365。RT = 4.5min (5% -85% 的乙腈 / 水梯度 - 方法 B)。

[0350] 实施例 24 : 4-[(3-[(3-乙基苯基)氨基甲酰基]氨基}苄基)氨基]-1H-吡唑-3-甲酰胺三氟乙酸盐

[0351]



[0352] 制备 1-(3-甲酰基-苯基)-3-(3-乙基-苯基)脲：

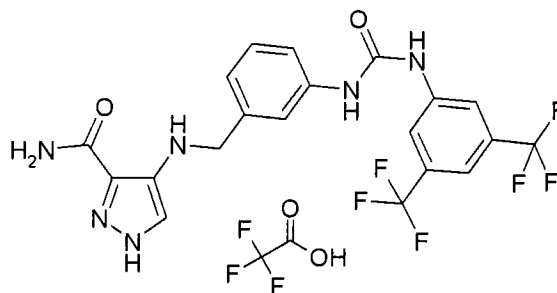
[0353] 该产物如在实施例 2 中所描述地进行制备，使用 484mg 3-氨基苯甲醛 (4mmol) (聚合形式) 和在 4ml DCE 中的 589mg 3-乙基苯基异氰酸酯 (4mmol)。分离出 732mg 粗制的期望的醛，其直接用于后面的步骤。([M+H]⁺):255。RT = 5.51min(30% -90% 的乙腈 / 水梯度 - 方法 B)。

[0354] 制备实施例 24：

[0355] 实施例 24 根据对于实施例 1 所描述的方法，使用 200mg 树脂 (ii)，160mg 脲 (0.6mmol, 3 当量) 和 66mg 氰基氢硼化钠 (1mmol; ~5 当量) 进行制备。在通过制备 HPLC 纯化后，分离出 12.2mg 产物 24。(产率 = 12%)。EIMS([M+H]⁺):365。RT = 4.5min(5% -85% 的乙腈 / 水梯度 - 方法 B)。

[0356] 实施例 25 :4-{{[3-({[3,5-双(三氟甲基)苯基]氨基甲酰基}氨基)苄基]氨基}-1H-吡唑-3-甲酰胺三氟乙酸盐

[0357]



[0358] 制备 1-(3-甲酰基-苯基)-3-(3,5-双-三氟甲基-苯基)脲：

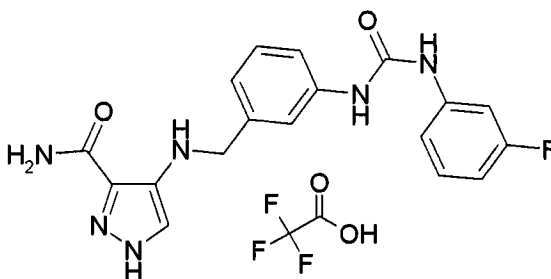
[0359] 该产物如在实施例 2 中所描述地，使用 484mg 3-氨基苯甲醛 (4mmol) (聚合形式) 和在 4ml DCE 中的 1.02g 3,5-双-三氟甲基-苯基异氰酸酯 (4mmol) 进行制备。分离出 489mg 粗制的期望的醛，其直接用于后面的步骤。([M+H]⁺):377。RT = 5.05min(30% -90% 的乙腈 / 水梯度 - 方法 B)。

[0360] 制备实施例 25：

[0361] 实施例 25 根据对于实施例 1 所描述的方法，使用 200mg 树脂 (ii)，225mg 脲 (0.6mmol, 3 当量) 和 66mg 氰基氢硼化钠 (1mmol; ~5 当量) 进行制备。在通过制备 HPLC 纯化后，分离出 3.3mg 产物 25。(产率 = 4%)。EIMS([M+H]⁺):365。RT = 4.5min(5% -85% 的乙腈 / 水梯度 - 方法 B)。

[0362] 实施例 26 :4-[(3-{{[3-氟代-苯基]氨基甲酰基}氨基}苄基)氨基]-1H-吡唑-3-甲酰胺三氟乙酸盐

[0363]



[0364] 制备 1-(3-甲酰基-苯基)-3-(3-氟代-苯基)脲：

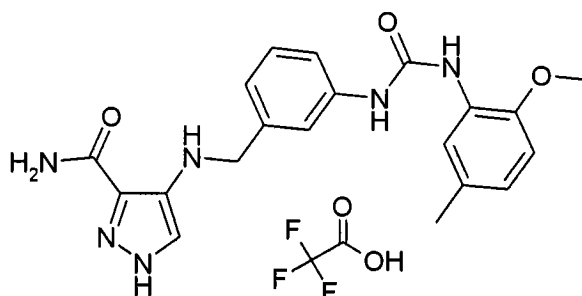
[0365] 该产物如在实施例 2 中所描述地，使用 484mg 3-氨基苯甲醛(4mmol) (聚合形式)和在 4ml DCE 中的 548mg 3-氟代-苯基异氰酸酯(4mmol) 进行制备。分离出 723mg 粗制的期望的醛，其直接用于后面的步骤。([M+H]⁺):259。RT = 4.04min(30% -90%的乙腈/水梯度-方法 B)。

[0366] 制备实施例 26：

[0367] 实施例 26 根据对于实施例 1 所描述的方法，使用 200mg 树脂(ii)，155mg 脲(0.6mmol, 3 当量)和 66mg 氰基氢硼化钠(1mmol; ~5 当量)进行制备。在通过制备 HPLC 纯化后，分离出 23.5mg 产物 26。(产率=25%)。EIMS([M+H]⁺):369。RT = 4.7min(5% -85%的乙腈/水梯度-方法 B)。

[0368] 实施例 27:4-[(3-[(2-甲氧基-5-甲基苯基)氨基甲酰基]氨基}苄基)氨基]-1H-吡唑-3-甲酰胺三氟乙酸盐

[0369]



[0370] 制备 1-(3-甲酰基-苯基)-3-(2-甲氧基-5-甲基-苯基)脲：

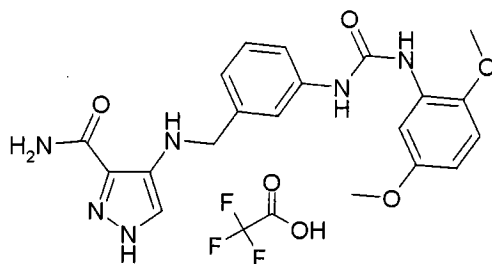
[0371] 该产物如在实施例 2 中所描述地，使用 484mg 3-氨基苯甲醛(4mmol) (聚合形式)和在 4ml DCE 中的 653mg 2-甲氧基-5-甲基-苯基异氰酸酯(4mmol) 进行制备。分离出 797mg 粗制的期望的醛，其直接用于后面的步骤。([M+H]⁺):285。RT = 2.94min(30% -90%的乙腈/水梯度-方法 B)。

[0372] 制备实施例 27：

[0373] 实施例 27 根据对于实施例 1 所描述的方法，通过使用 200mg 树脂(ii)，170mg 脲(0.6mmol, 3 当量)和 66mg 氰基氢硼化钠(1mmol; ~5 当量)进行制备。在通过制备 HPLC 纯化后，分离出 20mg 产物 27。(产率=25%)。EIMS([M+H]⁺):395。RT = 5min(5% -85%的乙腈/水梯度-方法 B)。

[0374] 实施例 28:4-[(3-[(2,5-二甲氧基苯基)氨基甲酰基]氨基}苄基)氨基]-1H-吡唑-3-甲酰胺三氟乙酸盐

[0375]



[0376] 制备 1-(3-甲酰基-苯基)-3-(2,5-二甲氧基-苯基)脲：

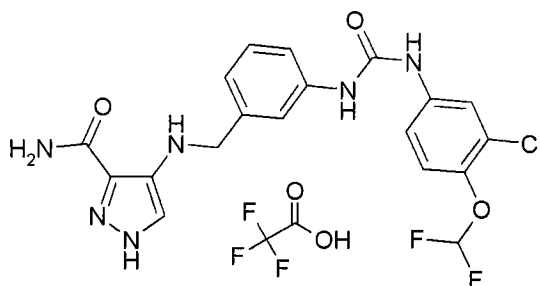
[0377] 该产物如在实施例 2 中所描述地,使用 484mg 3-氨基苯甲醛 (4mmol) (聚合形式)和在 4ml DCE 中的 717mg 2,5-二甲氧基-苯基异氰酸酯 (4mmol) 进行制备。分离出 853mg 粗制的期望的醛,其直接用于后面的步骤。([M+H]⁺):301。RT = 4.14min (30% -90% 的乙腈 / 水梯度 - 方法 B)。

[0378] 制备实施例 28：

[0379] 实施例 28 根据对于实施例 1 所描述的方法,通过使用 200mg 树脂 (ii),170mg 脲 (0.6mmol,3 当量)和 66mg 氰基氢硼化钠 (1mmol; ~5 当量)进行制备。在通过制备 HPLC 纯化后,分离出 11.8mg 产物 28。(产率 = 12%)。EIMS ([M+H]⁺):411。RT = 4.72min (5% -85% 的乙腈 / 水梯度 - 方法 B)。

[0380] 实施例 29 :4-[[3-({3-氯代-4-(二氟甲氧基-苯基)氨基甲酰基}氨基)苄基]氨基]-1H-吡唑-3-甲酰胺三氟乙酸盐

[0381]



[0382] 制备 1-(3-甲酰基-苯基)-3-(3-氯代-4-二氟甲氧基-苯基)脲：

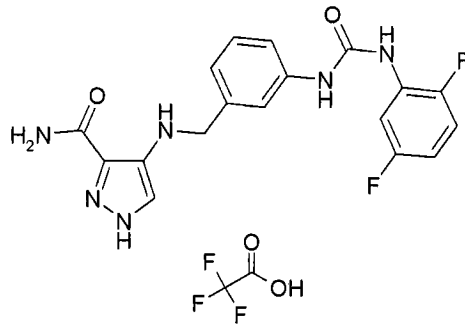
[0383] 该产物如在实施例 2 中所描述地,使用 484mg 3-氨基苯甲醛 (4mmol) (聚合形式)和在 4ml DCE 中的 878mg 3-氯代-4-二氟甲氧基-苯基异氰酸酯 (4mmol) 进行制备。分离出 936mg 粗制的期望的醛,其直接用于后面的步骤。([M+H]⁺):341。RT = 4.21min (30% -90% 的乙腈 / 水梯度 - 方法 B)。

[0384] 制备实施例 29：

[0385] 实施例 29 根据对于实施例 1 所描述的方法,通过使用 200mg 树脂 (ii),204mg 脲 (0.6mmol,3 当量)和 66mg 氰基氢硼化钠 (1mmol; ~5 当量)进行制备。在通过制备 HPLC 纯化后,分离出 8.3mg 产物 29。(产率 = 7%)。EIMS ([M+H]⁺):451。RT = 5.36min (5% -85% 的乙腈 / 水梯度 - 方法 B)。

[0386] 实施例 30 :4-[(3-[(2,5-二氟代-苯基)氨基甲酰基]氨基)苄基]氨基]-1H-吡唑-3-甲酰胺三氟乙酸盐

[0387]



[0388] 制备 1-(3-甲酰基-苯基)-3-(2,5-二氟代-苯基)脲：

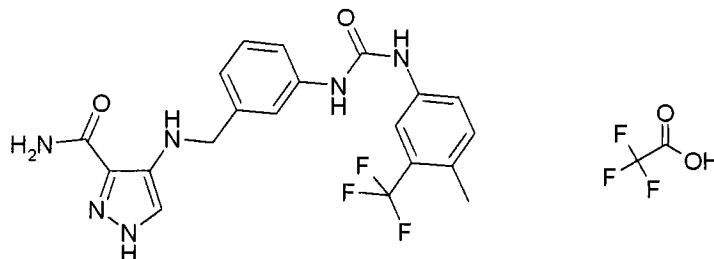
[0389] 该产物如在实施例 2 中所描述地，由 484mg 3-氨基苯甲醛 (4mmol) (聚合形式) 和在 4ml DCE 中的 620mg 2,5-二氟代-苯基异氰酸酯 (4mmol) 进行制备。分离出 952mg 粗制的期望的醛，其直接用于后面的步骤。([M+H]⁺) :277. RT = 4.13min (30% -90% 的乙腈 / 水梯度 - 方法 B)。

[0390] 制备实施例 30：

[0391] 实施例 30 根据对于实施例 1 所描述的方法，通过使用 200mg 树脂 (ii)，167mg 脲 (0.6mmol, 3 当量) 和 66mg 氰基氢硼化钠 (1mmol ; ~5 当量) 进行制备。在通过制备 HPLC 纯化后，分离出 14.1mg 产物 30。(产率 = 14%)。EIMS ([M+H]⁺) :387. RT = 4.82min (5% -85% 的乙腈 / 水梯度 - 方法 B)。

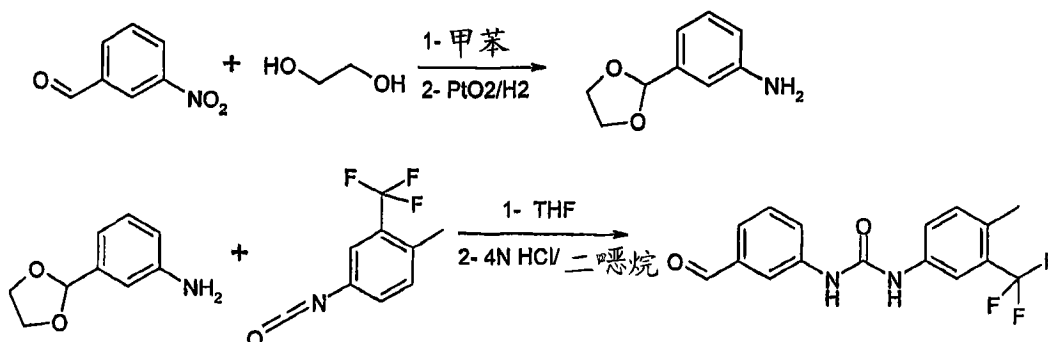
[0392] 实施例 31 :4-{{[3-({[4-甲基-3-(三氟甲基)苯基]氨基甲酰基}氨基)苄基]-氨基}-1H-吡唑-3-甲酰胺三氟乙酸盐

[0393]



[0394] 制备 1-(3-甲酰基-苯基)-3-(4-甲基-3-三氟甲基-苯基)脲

[0395]



[0396] 按下面方式进行制备脲：使在 250ml 甲苯中溶液形式的 3g 3-硝基苯甲醛 (20mmol)，3.4ml 乙二醇 (60mmol) 和 0.3g 对-甲苯磺酸沸腾 4 小时，然后将该混合物倒在 100ml 碳酸氢钠饱和的溶液中并使用 2 次 50ml 乙酸乙酯进行萃取。合并后的有机相用水进行洗涤，用硫酸钠干燥并真空下进行蒸发。该粗制产物在 20ml THF 中存在 160mg 氧化铂

时在 Parr 烧瓶 (appareilde Parr) 中进行直接氢化。在环境温度下氢化 4 小时后, 该反应混合物使用硅藻土 (Celite) 进行过滤。为了避免任何降解, 将获得的苯胺以 10mmol/20ml 浓度溶解于 THF 中并以这种形式用于形成脬。

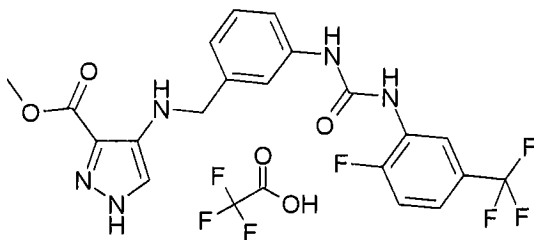
[0397] 在环境温度下, 用 200mg 4-甲基-3-三氟甲基-苯基异氰酸酯处理 2ml 苯胺溶液 (1mmol) 4 小时。将该混合物倒入在 100ml 10% HCl 溶液中并用 2 次 50ml 乙酸乙酯进行萃取。合并后的有机相用水进行洗涤, 用硫酸钠干燥并在真空下进行蒸发。分离出 320mg 固体形式的期望产物。(定量产率) EIMS ($[M+H]^+$): 323。RT = 4.37min (30% -90% 的乙腈/水梯度 - 方法 B)。

[0398] 制备实施例 31:

[0399] 实施例 31 根据对于实施例 1 所描述的方法, 通过使用 200mg 树脂 (ii), 193mg 脬 (0.6mmol, 3 当量) 和 66mg 氰基氢硼化钠 (1mmol; ~5 当量) 进行制备。在通过制备 HPLC 纯化后, 分离出 36.7mg 产物 31。(产率 = 34%)。EIMS ($[M+H]^+$): 433。RT = 4.64min (5% -85% 的乙腈/水梯度 - 方法 B)。

[0400] 实施例 32: 4-[[3-([2-氟代-5-(三氟甲基)苯基]氨基甲酰基)氨基]苄基]-氨基]-1H-吡唑-3-甲酸甲酯三氟乙酸盐

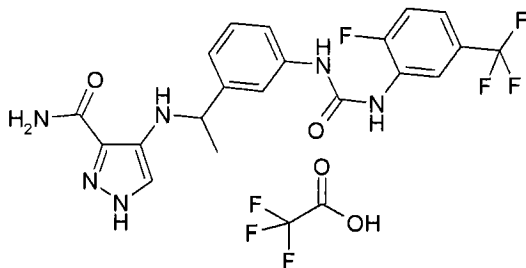
[0401]



[0402] 化合物 32 通过直接还原性氨基化 4-氨基-3-吡唑甲酸甲酯进行制备。44mg 4-氨基-3-吡唑甲酸甲酯 (0.31mmol) 和 100mg 1-(2-氟代-5-三氟甲基苯基)-3-(3-甲酰基-苯基)脬 (参看实施例 2) 在 0.6ml DCE 和 0.5ml DMF 的混合物中的溶液用 59mg 氰基氢硼化钠在 0.5ml 甲醇和 0.05ml 乙酸中的溶液进行处理。在 80°C 搅拌该混合物 2 小时, 然后使其冷却并倒在 20ml 水中。该混合物用 2 次 20ml 乙酸乙酯进行萃取。合并后的有机相用水进行洗涤, 用硫酸钠干燥并在真空下进行蒸发。在通过制备 HPLC 纯化后, 分离出 20.8mg 产物 32。(产率 = 12%)。EIMS ($[M+H]^+$): 452。RT = 5.52min (5% -85% 的乙腈/水梯度 - 方法 B)。

[0403] 实施例 33: 4-(1-{3-[3-(2-氟代-5-三氟甲基苯基)脬基]苯基}-乙基氨基)-1H-吡唑-3-甲酰胺三氟乙酸盐 (1:1)

[0404]



[0405] 制备 1-(3-乙酰基-苯基)-3-(2-氟代-5-三氟甲基-苯基)脬:

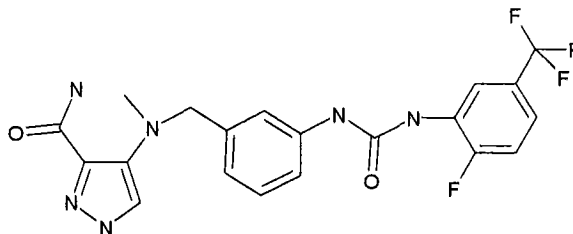
[0406] 在环境温度下,搅拌 181mg 3-氨基乙酰苯 (1.34mmol) 和 275mg 2-氟代-5-三氟甲基-苯基异氰酸酯 (1.34mmol) 在 1ml THF 中的混合物 1 小时和然后蒸发。将固体溶解在醚中并过滤。分离出 307mg 期望的酮 (产率 = 69%), 其具有 87% 的 LC/MS 纯度。该粗制产物直接用于后面的步骤。([M+H]⁺):341。保留时间:6.06min(方法 A)。

[0407] 制备实施例 33:

[0408] 使 450mg 树脂 I (0.45mmol) 在 2ml DCE 中溶胀, 然后加入在 2ml DMF 中溶液形式的 307mg 1-(3-乙酰基-苯基)-3-(2-氟代-5-三氟甲基苯基)脲 (0.9mmol; 2 当量), 随后加入 149mg 氰基氢硼化钠 (2.25mmol; 5 当量)。在 CEM Discover 微波炉中在 100°C 处理该混合物 10 分钟 (功率 90)。然后树脂先后用 2 次 2ml MeOH, 3 次 2ml 二氯甲烷, 2 次 2ml MeOH 和 3 次 2ml 二氯甲烷洗涤。产物是通过用 4ml 50/50 的三氟乙酸/二氯甲烷溶液处理树脂进行裂解。蒸发溶液和获得的粗制产物通过制备 HPLC 进行直接纯化。在冻干后, 获得 13.5mg 期望产物 (白色固体, 产率 = 5%)。([M+H]⁺):451。RT:4.77min(方法 A)

[0409] 实施例 34:4-({3-[3-(2-氟代-5-三氟甲基-苯基)脲基]苄基}甲基氨基)-1H-吡唑-3-甲酰胺

[0410]



[0411] 在 20°C, 在 0.25g 4-[(3-氨基-苄基)甲基-氨基]-1H-吡唑-3-甲酰胺在 25ml 无水 THF 中的溶液中, 加入 0.14ml 1-氟代-2-异氰酰基-4-三氟甲基-苯溶液。在 20°C, 搅拌该反应介质 12 小时和然后用 100ml 乙酸乙酯稀释。有机相用 50ml 蒸馏水洗涤, 然后离心, 使用硫酸镁进行干燥和在减压下被蒸发至干。获得的残留物在二氧化硅柱上 (15g 粒度 15-45 μm 的 Merck 二氧化硅短柱, 柱直径 2.2cm, 5ml 级分 (fraction de 5ml), 10ml/min 流量, 洗脱剂 95/5 的二氯甲烷/甲醇 (体积)) 进行色层分离。合并级分 35-95 和在减压下被蒸发至干。获得 0.02g 固体形式的 4-({3-[3-(2-氟代-5-三氟甲基-苯基)脲基]苄基}甲基-氨基)-1H-吡唑-3-甲酰胺。([M+H]⁺):451。RT:3.55min(方法 A)

[0412] 以下面方式获得 4-[(3-氨基苄基)甲基氨基]-1H-吡唑-3-甲酰胺:

[0413] 在 20°C, 将 3.6g 氯化锡二水合物按小份加入到 1.26g 4-[甲基(3-硝基-苄基)氨基]-1H-吡唑-3-甲酰胺在 90ml 无水乙醇中的溶液中。在 20°C 搅拌该反应介质 15 小时, 然后在减压下使其干燥。残留物用 500ml 90/10 的亚甲基氯/甲醇混合物 (体积) 和 500ml 碳酸氢钾饱和水溶液进行溶解。在 20°C 搅拌该介质 2 小时和然后进行过滤。获得的固体在过滤后用 100ml 90/10 的亚甲基氯/甲醇 (体积) 的混合物萃取两次, 合并液相并离心。水相用 2 次 200ml 亚甲基氯进行萃取, 合并有机相, 用 300ml 氯化钠饱和水溶液洗涤, 用硫酸钠干燥, 过滤和在减压下被蒸发至干。获得 0.6g 奶油烤蛋白 (meringue crème) 形式的 4-[(3-氨基-苄基)甲基氨基]-1H-吡唑-3-甲酰胺。([M+H]⁺):246。RT:0.3min(方法 A)

[0414] 以下面方式制备 4-[甲基(3-硝基苄基)氨基]-1H-吡唑-3-甲酰胺:

[0415] 在 2.49g 4-[甲基(3-硝基苄基)氨基]-1H-吡唑-3-甲酸 2,4-二甲氧基苄基酰胺在 30ml 甲苯中的溶液中,加入 4.45g 对甲苯磺酸单水合物,然后在甲苯的回流温度下加热该反应介质 17 小时。在该反应介质被冷却至环境温度后,加入 15ml 甲醇,然后加入 700ml 乙酸乙酯和最后加入 300ml 蒸馏水。通过加入 100ml 1N 氢氧化钠水溶液将该介质的 pH 调节到值 11。过滤该溶液,固体用 30ml 乙酸乙酯萃取 2 次,合并所述液相然后滗析。水相用 2 次 200ml 亚甲基氯进行萃取,合并有机相,用 300ml 氯化钠饱和水溶液洗涤,使用硫酸镁进行干燥,过滤和在减压下被蒸发至干。获得 1.41g 浅褐色固体形式的 4-[甲基(3-硝基-苄基)氨基]-1H-吡唑-3-甲酰胺,其在 166°C 融化。([M+H]⁺):276)。RT :2.61min(方法 A)

[0416] 以下面方式获得 4-[甲基(3-硝基-苄基)氨基]-1H-吡唑-3-甲酸 2,4-二甲氧基苄基酰胺:

[0417] 在环境温度下,搅拌 1.61g 4-(3-硝基苄基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸 2,4-二甲氧基苄基酰胺,1.25g 低聚甲醛(paraformaldehyde)和 0.94g 无水硫酸镁在 70ml 冰醋酸中的溶液 4 小时。然后在该溶液中按小份地加入 1.23g 氰基氢硼化钠。在环境温度下,搅拌该反应介质 2 小时,然后倒在 300ml 5N 氢氧化钠水溶液和 120g 碎冰上,同时将 pH 调节到 11。然后加入 300ml 氯化钠饱和溶液。过滤该溶液,固体用 3 次 60ml 蒸馏水洗涤。如此收集的固体用空气进行干燥。获得了 1.51g 浅黄色固体形式的 4-[甲基(3-硝基苄基)氨基]-1H-吡唑-3-甲酸 2,4-二甲氧基-苄基酰胺。([M+H]⁺):426)。RT :3.87min(方法 A)。

[0418] 4-(3-硝基-苄基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸 2,4-二甲氧基-苄基酰胺以下面方式获得:

[0419] 在 15.43g 4-氨基-1H-吡唑-3-甲酸-2,4-二甲氧基-苄基酰胺盐酸盐和 7.01g 二异丙基乙基胺在 490ml 无水四氢呋喃中的溶液中,加入 8.2g 3-硝基苯甲醛和 5.9g 无水硫酸镁。加热回流该反应介质 1 小时 30 分钟,使其返回到 20°C 和然后使用冰浴冷却至 5°C。在获得的乳酪色悬浮液中,按小份加入 15.5g 氰基氢硼化钠。在 5°C,搅拌该反应介质 5 分钟,然后使其返回到环境温度。在环境温度下对其搅拌 20 小时。将获得的橙色-棕色的浑浊溶液倒在 1500ml 蒸馏水中。在获得的浅棕色奶状溶液中加入 1000ml 二氯甲烷。搅拌后,然后滗析出二氯甲烷相,用 2 次 500ml 二氯甲烷再萃取该水相。合并有机相然后用 500ml 氯化钠饱和水溶液洗涤,使用硫酸镁进行干燥,使用滤纸(papier)过滤,然后在旋转蒸发器上使其干燥(温度 40°C P:15mbar)。获得 27.19g 发粘的棕黄色固体,其在 360ml 回流的乙腈中进行再结晶。获得第一批 7.7g 黄色固体形式的 4-(3-硝基-苄基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸 2,4-二甲氧基苄基酰胺。

[0420] 回收乙腈滤液然后在旋转蒸发器(温度 40°C P:15mbar)上使其干燥。获得 19.7g 发粘的赭石色(ocre)物质,其在 20°C 用 50ml 乙腈研磨 1 小时。获得的悬浮液通过 No. 3 烧结漏斗(VF n° 3)进行过滤,用 2 次 15ml 乙腈进行洗涤。在用空气干燥然后在 Héraeus 烘箱中(温度 40°C P:0.2mbar)干燥后,获得第二批 6.59g 黄色固体形式的 4-(3-硝基-苄基氨基)-1H-吡唑-3-甲酸 2,4-二甲氧基苄基酰胺。

[0421] ([M+H]⁺):412)。RT :3.93min(方法 A)

[0422] 以下面方式制备 4-氨基-1H-吡唑-3-甲酸 2,4-二甲氧基-苄基酰胺:

[0423] 在 10.72g 4-硝基-1H-吡唑-3-甲酸 2,4-二甲氧基苄基酰胺在 600ml 无水

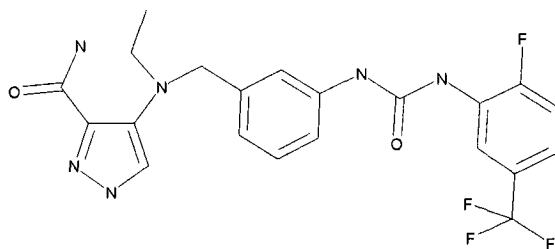
乙醇中的悬浮液中,按小份加入 27.64g 氯化锡二水合物。在 20℃ 搅拌该反应介质 48 小时。获得的棕色透明溶液使用旋转蒸发器进行干燥。获得的棕色透明烤蛋白状物用 700ml 90/10(体积)的亚甲基氯/甲醇的混合物进行溶解。在获得棕色溶液中加入 700ml 碳酸氢钠饱和水溶液。在环境温度下搅拌获得的乳酪色悬浮液 1 小时。将 30g Clarcel Flo 加入到悬浮液中,然后在环境温度下搅拌 10 分钟。过滤,滤饼用 2 次 250ml 90/10(体积)的亚甲基氯/甲醇的混合物洗涤。使固体脱水,回收滤液然后将其转移到分液漏斗(ampoule à décanter)中。滗析出二氯甲烷相然后用 2 次 250ml 二氯甲烷再萃取水相。合并有机相,然后使用硫酸镁进行干燥,使用滤纸进行过滤然后在旋转蒸发器上使其干燥。获得 8.53g 浅红色固体形式的 4-氨基-1H-吡唑-3-甲酸 2,4-二甲氧基-苄基酰胺。([M+H]⁺):277)。RT :2.36min(方法 A)

[0424] 以下面方式获得 4-硝基-1H-吡唑-3-甲酸 2,4-二甲氧基-苄基酰胺:

[0425] 在 28.76g 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐和 20.27g 1-羟基苯并三唑在 100ml 二甲基甲酰胺中的溶液中,加入 23g 2,4-二甲氧基苄基酰胺,然后 20.04g 98%的 4-硝基-3-吡唑甲酸。在环境温度下搅拌该反应介质 20 小时。然后将获得的透明黄色溶液倒在 1000ml 蒸馏水中。获得白色悬浮液,其在环境温度下放置 1 小时。过滤该悬浮液,滤饼用 3 次 250ml 蒸馏水进行洗涤。使获得的固体脱水,使用空气进行干燥然后在 Heraeus 烘箱中在真空下(温度 40℃ P :0.2mbar)进行干燥。获得 40.65g 白色固体,使该产物在 750ml 回流的异丙醇中研磨 20 分钟。使获得的悬浮液在水+冰浴中冷却 2 小时,然后过滤。滤饼用 2 次 100ml 异丙醇然后 2 次 100ml 异丙基醚洗涤。获得的固体使用空气进行干燥然后在 Heraeus 烘箱(温度 40℃ P :0.2mbar)中进行干燥。获得 32.16g 白色固体形式的 4-硝基-1H-吡唑-3-甲酸 2,4-二甲氧基-苄基酰胺,其在 204℃ 融化。([M+H]⁺):307)。RT :3.12min

[0426] 实施例 35:4-(乙基{3-[3-(2-氟代-5-三氟甲基-苯基)脲基]苄基}氨基)-1H-吡唑-3-甲酰胺

[0427]



[0428] 根据在实施例 34 中描述的操作方式,4-(乙基{3-[3-(2-氟代-5-三氟甲基-苯基)脲基]苄基}氨基)-1H-吡唑-3-甲酰胺通过使 1-氟代-2-异氰酰基-4-三氟甲基苯与 4-[(3-氨基苄基)乙基氨基]-1H-吡唑-3-甲酰胺缩合进行制备,后者衍生物本身是由 4-[(3-硝基苄基)乙基氨基]-1H-吡唑-3-甲酰胺根据同样在实施例 34 中描述的操作方式进行制备。

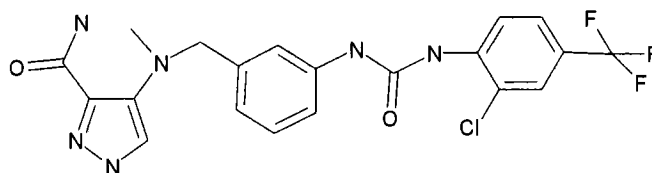
[0429] 以下面方式获得 4-[(3-硝基苄基)乙基氨基]-1H-吡唑-3-甲酰胺:

[0430] 搅拌 2.2g 4-氨基-1H-吡唑-3-甲酸 2,4-二甲氧基-苄基酰胺盐酸盐、1.3ml 二异丙基乙基胺在 70ml THF 中的溶液 5 分钟,随后在该溶液中加入 1.2g 3-硝基苯甲醛和 0.85g 硫酸镁。使该反应介质回流 1 小时,随后被冷却到 45℃ 后,按小份加入 7.4g 三乙酰

氧基氢硼化钠, 随后再加热回流 3 小时。由于不是所有的起始原料都已消失, 在冷却至 45℃ 后, 按小份加入 7.4g 三乙酰氧基氢硼化钠, 随后再加热回流 2 小时。使该反应介质冷却至环境温度后, 将其倒在 350ml 蒸馏水中。通过加入 60ml 2N 氢氧化钠水溶液使如此获得的浅黄色奶状溶液调节到 pH8-9。加入 250ml 二氯甲烷, 随后在滗析后, 然后用 2 次 150ml 二氯甲烷萃取水相, 合并有机相, 用 250ml 氯化钠饱和水溶液进行洗涤, 使用硫酸镁对其进行干燥, 过滤并在减压下浓缩至干。获得 3.19g 发粘的油状物, 该产物在二氧化硅柱上 (90g 15-45 μm 粒度的 Merck 二氧化硅短柱, 柱直径 4.7cm, 15ml 级分, 18ml/min 流量, 洗脱剂 70/30 (体积) 的乙酸乙酯 / 环己烷) 进行色层分离。合并级分 34-110 并在减压下被蒸发至干。获得 2.22g 黄色烤蛋白状物形式的 4-[(3-硝基苄基) 乙基氨基]-1H-吡唑-3-甲酰胺。([M+H]⁺):453)。RT:4.02min (方法 A)

[0431] 实施例 36: 4-({3-[3-(2-氯代-5-三氟甲基-苯基) 脲基] 苄基} 甲基-氨基)-1H-吡唑-3-甲酰胺

[0432]

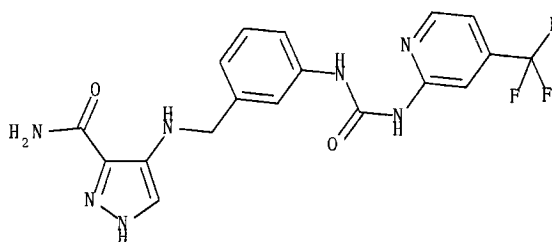


[0433] 根据在实施例 34 中描述的操作方式, 4-({3-[3-(2-氯代-5-三氟甲基-苯基) 脲基] 苄基} 甲基氨基)-1H-吡唑-3-甲酰胺通过使 1-氯代-2-异氰酰基-4-三氟甲基苯与 4-[(3-氨基苄基) 甲基氨基]-1H-吡唑-3-甲酰胺缩合获得。

[0434] ([M+H]⁺):467)。RT:3.81min (方法 A)

[0435] 实施例 37: 4-({3-[3-(4-三氟甲基吡啶-2-基) 脲基] 苄基氨基}-1H-吡唑-3-甲酰胺

[0436]



[0437] 在 20℃, 在 0.12g 4-(3-氨基-苄基氨基)-1H-吡唑-3-甲酰胺在 5ml 无水 THF 中的溶液中, 加入 88 μl 三乙基胺和 0.18g (4-三氟甲基-吡啶-2-基) 氨基甲酸苯基酯。该反应介质进行微波加热 20 分钟, 随后在冷却后, 用 25ml 乙酸乙酯进行稀释。有机相用 2 次 15ml 蒸馏水洗涤, 然后滗析, 使用硫酸镁进行干燥并在减压下被蒸发至干。获得的残留物在二氧化硅柱上 (15g 15-45 μm 粒度的 Merck 二氧化硅短柱, 柱直径 2.2cm, 3.5ml 级分, 流量 7ml/min, 洗脱剂乙酸乙酯) 进行色层分离。合并级分 36-60, 在减压下被蒸发至干。获得 0.06g 白色固体形式的 4-({3-[3-(4-三氟甲基-吡啶-2-基) 脲基] 苄基氨基}-1H-吡唑-3-甲酰胺。([M+H]⁺):420)。RT:0.78min (方法 D)。

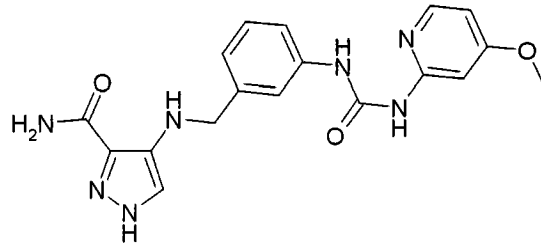
[0438] (4-三氟甲基-吡啶-2-基) 氨基甲酸苯基酯以下面方式进行制备:

[0439] 在 2-氨基-4-三氟甲基吡啶在 65ml 无水四氢呋喃中的溶液中加入 0.81ml 吡

啉,将该反应混合物冷却到 5°C,然后在该温度下加入 0.95ml 苯基氯甲酸酯。在 5°C 搅拌 2 小时后,使该反应混合物返回到环境温度,然后将其倒在 20ml 蒸馏水中同时使温度维持在 20°C。然后加入 50ml 乙酸乙酯,滗析,水相用 20ml 乙酸乙酯萃取 2 次。合并有机相,使用硫酸镁进行干燥,过滤然后蒸发至干。获得的固体在 10ml 二异丙基醚中进行研磨。获得 1.07g 白色固体形式的 4-(三氟甲基-吡啶-2-基)氨基甲酸苯基酯,其在 161°C 融化。([M+H]⁺): 281)。RT:4.30min(方法 A)

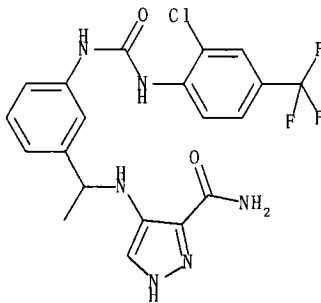
[0440] 实施例 38:4-{3-[3-(4-甲氧基-吡啶-2-基)脲基]苄基氨基}-1H-吡啶-3-甲酰胺

[0441]



[0442] 实施例 39:(RS)-4-(1-{3-[3-(2-氯代-4-三氟甲基-苯基)脲基]苄基}乙基氨基)-1H-吡啶-3-甲酰胺

[0443]



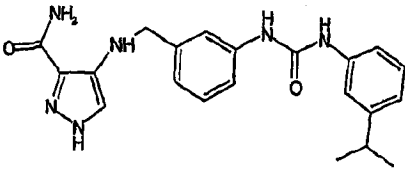
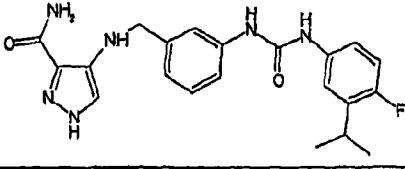
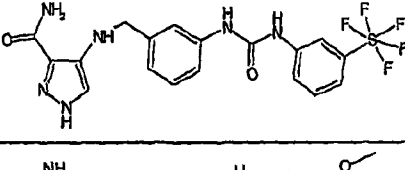
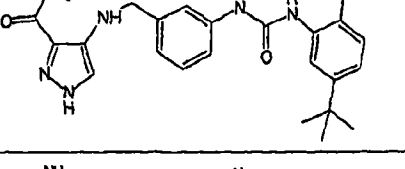
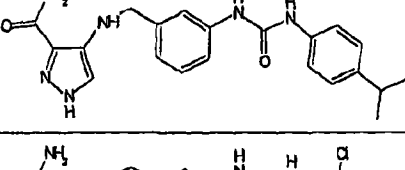
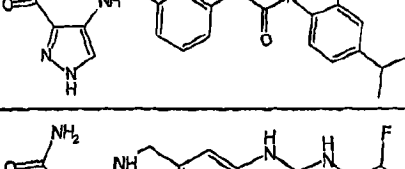
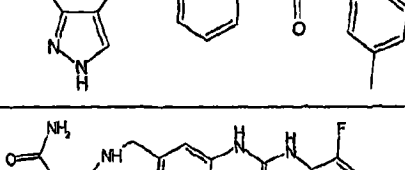
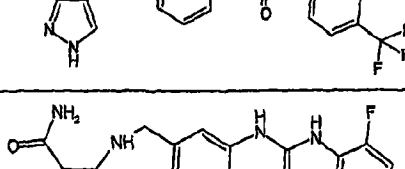
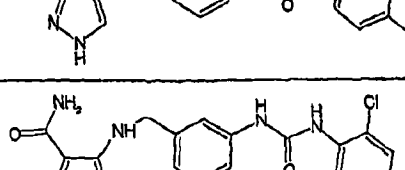
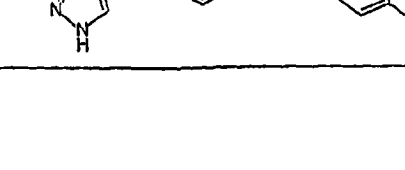
[0444] 根据在实施例 34 中描述的操作方式,在以下表中的描述实施例 40-58 通过使相应的异氰酸酯(盐)与 4-[(3-氨基苄基)氨基]-1H-吡啶-3-甲酰胺缩合获得或可以获得。

[0445] 表 A

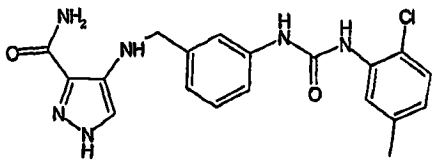
[0446]

实施例 编号	结构	[M+H] ⁺ (方法D)	RT (min)
40		403	0.78
41		419	0.91
42		453	0.96
43		442	n.d.
44		435	n.d.
45		453	0.92
46		454	n.d.
47		451	0.91

[0447]

48		393	0.86
49		411	n.d.
50		477	n.d.
51		437	0.96
52		393	0.86
53		428	n.d.
54		383	0.74
55		437	0.89
56		383	0.74
57		399	0.8

[0448]

58		399	0.81
----	---	-----	------

[0449] n. d. 未进行测定

[0450] 化合物活性的测定 - 试验方案

[0451] 1. KDR

[0452] 所述化合物的抑制效果在通过酶 KDR 的体外底物磷酸化试验中通过闪烁技术 (96 孔板, NEN) 进行测定。

[0453] 人的 KDR 酶的细胞质区域以 GST 融合形式被克隆到 pFastBac 杆状病毒表达载体中。蛋白质在 SF21 细胞中进行表达并纯化到大约 60% 同质性 (homogénéité)。

[0454] KDR 的激酶活性在 20mM MOPS、10mM MgCl₂、10mM MnCl₂、1mM DTT、2.5mM EGTA、10mM β-甘油磷酸盐中 (pH = 7.2), 在 10mM MgCl₂、100 μM Na₃VO₄、1mM NaF 存在下进行测量。在 4°C, 将 10 μl 化合物加入到 70 μl 包含 100ng KDR 酶的激酶缓冲液中。反应通过加入 20 μl 包含 2 μg 底物 (以 GST 融合蛋白标记物形式表示的 PLC γ 的 SH2-SH3 碎片)、2 μCi γ-³³P[ATP] 和 2 μM 的冷 ATP 的溶液而开始。在 37°C 培育 1 小时之后, 通过加入 1 体积 (100 μl) 的 200mM EDTA 停止反应。除去培育缓冲液, 孔用 300 μl PBS 洗涤 3 次。在每个孔中放射性使用 Top CountNXT 放射性计数器 (Packard) 进行测量。

[0455] 背景噪声通过测量在四个不同的仅仅包含放射性 ATP 和底物的孔中的放射性进行确定。

[0456] 总活性对照 (**contrôle d'activité**) 在四个不同的包含全部试剂 (γ-³³P-[ATP]、KDR 和底物 PLC γ) 但没有化合物的孔中进行测定。。

[0457] 用本发明的化合物抑制 KDR 活性被表示为在没有化合物时测定的对照活性的抑制百分比。

[0458] 在每个板中加入化合物 SU5614 (Calbiochem) (1 μM) 作为抑制对照。

[0459] 2. Tie2

[0460] 对应于胞内区域 776-1124 的氨基酸的人 Tie2 的编码序列由 PCR 通过使用从人的胎盘 (作为模型) 分离出的 cDNA 而产生。该序列以 GST 融合蛋白形式被引入到 pFastBacGT 杆状病毒 (baculovirus pFastBacGT) 表达载体中。

[0461] 所述分子的抑制效果在用 Tie2 磷酸化 PLC 的试验中在 GST-Tie2 (被纯化到大约 80% 同质性) 存在下进行测定。底物由以 GST 融合蛋白形式表示的 PLC 的 SH2-SH3 碎片组成。

[0462] Tie2 的激酶活性在 MOPS 20mM pH7.2 缓冲液中进行测量, 所述缓冲液包含 10mM MgCl₂、10mM MnCl₂、1mM DTT、10mM 甘油磷酸盐。在冰上保持的 FlashPlate 96-孔板中, 沉积由 70 μL 每孔包含 100ng GST-Tie2 的激酶缓冲液组成的反应混合物。然后, 加入 10 μL 待测试分子 (其在 DMSO 中被稀释到最高浓度 10%)。对于给定浓度, 每次测量在四次试验中进行。反应通过加入 20 μl 溶液而启动, 所述溶液包含 2 μg GST-PLC、2 μM 冷的 ATP 和 1 μCi δ-³³P[ATP]。在 37°C 培育 1 小时之后, 通过加入 1 体积 (100 μl) 200mM EDTA 停止该

反应。在除去该培育缓冲液后,所述孔用 300 μ l PBS 洗涤 3 次。使用 MicroBeta 1450 Wallac 测量放射性。

[0463] Tie2 活性的抑制以相对于在没有化合物时测定的对照活性的抑制百分比进行计算和表示。

[0464] 结果:

[0465] 本发明的实施例的化合物具有抑制 50% 激酶对 KDR 和 / 或 Tie2 的活性的浓度,该浓度通常在 0.1nM 和 2 μ M 之间,优选地在 0.1nM 和 500nM 之间,还更优选地在 0.1nM 和 50nM 之间。在下面表格 1 中给出值作为举例说明。

[0466] 表格 1:

[0467]

实施例	KDR	TIE2
2a	8	20
7	4.5	72.7
9	21.8	4510.4
13	11.8	1461.9
32	64.1	1000.8