

[19]中华人民共和国国家知识产权局

[51]Int. Cl⁷

C07D405/14

C07D401/14 C07D405/04

C07D417/14 C07D409/14

C07D403/14 A61K 31/4152

A61K 31/427 A61K 31/4439

A61K 31/497 A61P 17/06

A61P 25/28 A61P 31/18

[11]公开号 CN 1387528A

[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 00814898.8

[43]公开日 2002 年 12 月 25 日

[22]申请日 2000.11.1 [21]申请号 00814898.8

[30]优先权

[32]1999.11.4 [33]US [31]60/163,377

[32]2000.10.31 [33]US [31]09/702,191

[86]国际申请 PCT/US00/30226 2000.11.1

[87]国际公布 WO01/32653 英 2001.5.10

[85]进入国家阶段日期 2002.5.8

[71]申请人 赛福伦公司

地址 美国宾夕法尼亚州

[72]发明人 贾斯伯·辛格

拉宾德拉纳特·特里帕蒂

[74]专利代理机构 中原信达知识产权代理有限责任
公司

代理人 丁业平 王维玉

权利要求书 9 页 说明书 120 页

[54]发明名称 杂环取代的吡唑啉酮

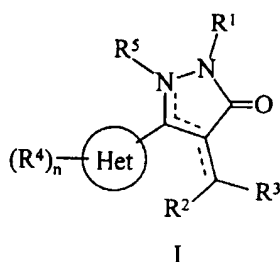
[57]摘要

本发明涉及新颖杂环取代的吡唑啉酮,包括含有该物质的药物组合物,诊断试剂盒,测定标准物或试剂,和使用该物质作为治疗药的方法。本发明也涉及中间体和这些新颖化合物的制备方法。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

1. 下式 I 化合物或其立体异构体或其药用盐：

5



10

其中：

Het 是杂环；

R^1 选自 H，被 0-5 个 R^6 取代的 C_{1-10} 烷基，被 0-5 个 R^6 取代的 C_{2-8} 链烯基，被 0-5 个 R^6 取代的 C_{2-8} 炔基， NR^aR^a ， $C(=O)R^b$ ， $C(=O)NHR^a$ ， CO_2R^c ，和被 0-5 个 R^6 取代的杂环；

15

条件是当 R^1 和 Het 均为 2-吡啶基时， R^2 和 R^3 不是 4-二乙氨基-2-苯基；以及当 R^1 是 4-羧基-苯乙基时，Het 和 R^2 或 R^3 之一均不是二甲氨基-噻吩；

20

R^2 和 R^3 各自独立地选自 H，被 1-5 个 R^6 取代的 C_{1-2} 烷基，被 0-5 个 R^6 取代的 C_{3-10} 烷基，被 0-5 个 R^i 取代的 C_{2-8} 链烯基， C_{2-6} 炔基，Cl，Br，I，CN， $(CH_2)_rNR^aR^a$ ， $(CH_2)_rOR^c$ ， $(CH_2)_rSR^c$ ， $(CH_2)_rNC(=O)R^b$ ， $(CH_2)_rCO_2R^c$ ， $(CH_2)_rOC(=O)R^b$ ， $(CH_2)_rC(=O)NR^aR^a$ ， $(CH_2)_rNR^aC(=O)R^b$ ， $(CH_2)_rNR^aC(=O)OR^b$ ， $(CH_2)_rOC(=O)NHR^a$ ， $(CH_2)_rNR^aS(=O)R^b$ ， $(CH_2)_rS(=O)_2NR^aR^a$ ， $(CH_2)_rS(O)_pR^b$ ，被 0-5 个 R^4 取代的 $(CH_2)_r$ 碳环，和被 0-5 个 R^4 取代的 $(CH_2)_r$ 杂环；

25

条件是 R^2 和 R^3 不能同时为 H 或同时为 SCH_3 ；以及当 R^2 是 H 和 R^3 是苯基时，杂环不能是 2-呋喃基；

另外， R^2 和 R^3 一起可形成被 0-4 个 R^4 取代的杂环，条件是该杂环不是 2-噻唑烷基或 5-甲基-2-噻唑烷基；

30

所述的 R^4 各自独立地选自 H，F，Cl，Br，I，CN， CF_2CF_3 ， CF_3 ， NO_2 ，CN，OH， NR^aR^a ， OR^c ， $C(=O)R^b$ ， CO_2R^c ， $OC(=O)R^b$ ， $NR^aC(=O)R^b$ ，

5 $C(=O)NR^aR^a$, $OC(=O)NR^aR^a$, $NR^aC(=O)OR^b$, $NR^aS(=O)_2R^b$,
 $S(=O)NR^aR^a$, $NR^aC(=S)R^b$, $C(=S)NR^aR^a$, $NR^aC(=O)NR^aR^a$, $NR^aC(=S)NR^aR^a$,
 $CH=NOR^c$, $CHNR^a$, $CH=NNR^aR^a$, $(CH_2)_rS(O)_pR^b$,
 $O(CH_2)_qNR^aR^a$, $O(CH_2)_qOR^c$, $(CH_2)_rOR^d$, $(CH_2)_rC(=O)R^{d'}$, $(CH_2)_rNHR^d$,
 $(CH_2)_rS(O)_pR^{d'}$, 被 0-5 个 R^6 取代的 C_{1-10} 烷基, 被 0-5 个 R^6 取代的
 C_{2-8} 链烯基, 被 0-5 个 R^6 取代的 C_{2-8} 炔基, 被 0-5 个 R^6 取代的碳环,
 被 0-5 个 R^6 取代的杂环;

R^5 或者不存在, 或者选自 H , C_{1-8} 烷基, C_{2-6} 链烯基, C_{2-6} 炔基,
 $(CH_2)_rC_{3-6}$ 环烷基, 和 $(CH_2)_r$ 苯基;

10 R^6 , 在每种情况下, 独立地选自被 0-5 个 R^h 取代的 C_{1-6} 烷基,
 C_{2-8} 链烯基, C_{2-8} 炔基, F , Cl , Br , I , CN , CF_2CF_3 , CF_3 , NO_2 , CN ,
 NR^fR^f , OR^f , $C(=O)R^f$, CO_2R^f , $OC(=O)R^g$, $NR^fC(=O)R^f$, $C(=O)NR^fR^f$,
 $OC(=O)NR^fR^f$, $NR^eC(=O)OR^g$, $NR^eS(=O)_2R^g$, $S(=O)_2NR^fR^f$,
 $NR^aC(=S)R^g$, $C(=S)NR^fR^f$, $NR^fC(=O)NR^fR^f$, $NR^fC(=S)NR^fR^f$,
 15 $CH=NOR^e$, $CH=NR^e$, $CH=NNR^eR^e$, $S(O)_pR^f$, $O(CH_2)_pNR^fR^f$,
 $O(CH_2)_pNR^f$, OR^d , NHR^d , $C(=O)R^{d'}$, $S(O)_pR^{d'}$, 被 0-5 个 R^h 取代的
 碳环, 被 0-5 个 R^h 取代的杂环, $P(=O)(OR^c)_2$, 和 C_{5-7} 单糖, 其中单
 糖的每个羟基是未取代的或被选自如下的基团取代: H , C_{1-4} 烷基, C_{1-4}
 烷氧基, 和 $OC(=O)C_{1-4}$ 烷基;

20 R^a , 在每种情况下, 独立地选自 H , C_{1-6} 烷基, C_{2-6} 链烯基, C_{2-6} 炔
 基, $(CH_2)_rC_{3-6}$ 环烷基, 和 $(CH_2)_r$ 苯基, 其中当 R^a 不是 H 时, R^a 被 0-
 5 个 R^h 取代;

或者, 两个 R^a 可结合以形成选自 $(CH_2)_qO(CH_2)_q$, $(CH_2)_qS(CH_2)_q$,
 和 $(CH_2)_m$ 的连接, 其中链接被 0-5 个 R^h 取代;

25 R^b , 在每种情况下, 独立地选自 C_{1-6} 烷基, C_{2-6} 链烯基, C_{2-6} 炔
 基, $(CH_2)_r$ 苯基, 和 $(CH_2)_r$ 杂环, 其中 R^b 被 0-5 个 R^h 取代;

R^c , 在每种情况下, 独立地选自 H , C_{1-6} 烷基, C_{2-6} 链烯基, C_{2-6} 炔
 基, C_{3-6} 环烷基, 和 $(CH_2)_r$ 苯基, 其中当 R^c 不是 H 时, R^c 被 0-5 个 R^h
 取代;

30 R^d , 在每种情况下, 独立地选自在除去羧基的羟基之后氨基酸的

残基；

$R^{d'}$ ，在每种情况下，独立地选自在除去胺的氢之后氨基酸的残基；

R^e ，在每种情况下，独立地选自 H 和 C_{1-6} 烷基；

5 R^f ，在每种情况下，独立地选自 H，被 0-5 个 R^h 取代的 C_{1-6} 烷基，和被 0-5 个 R^h 取代的 $(CH_2)_r$ 苯基；

R^g ，在每种情况下，独立地选自被 0-5 个 R^h 取代的 C_{1-6} 烷基，和被 0-5 个 R^h 取代的 $(CH_2)_r$ 苯基；

10 R^h ，在每种情况下，独立地选自 F，Cl，Br，I，OH， NO_2 ，CN， CF_3 ， CF_2CF_3 ， C_{1-4} 烷基， C_{2-6} 链烯基， C_{2-6} 炔基，烷氧基， C_{3-7} 环烷基，羧基，甲酰基，乙酰基，丙酰基，丁酰基，戊酰基，新戊酰基，己酰基，乙酰氨基，乙酸酯，氨基甲酰基，羧基， NH_2 ，单烷基氨基，二烷基氨基，苯基，苄基，苯乙基，萘基，杂环基和酮基；

15 R^i ，在每种情况下，独立地选自 F，Cl，Br，I，OH， NO_2 ，CN， CF_3 ， CF_2CF_3 ， C_{1-4} 烷基， C_{2-6} 链烯基， C_{2-6} 炔基，烷氧基， C_{3-7} 环烷基，羧基，甲酰基，乙酰基，丙酰基，丁酰基，戊酰基，新戊酰基，己酰基，乙酰氨基，乙酸酯，氨基甲酰基，羧基， NH_2 ，单烷基氨基，二烷基氨基，苯基，苄基，苯乙基；

m ，在每种情况下，独立地选自 2，3，4，和 5；

n 独立地选自 0，1，2，3，4，和 5；

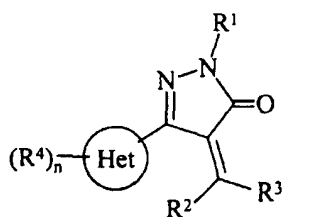
20 p ，在每种情况下，独立地选自 0，1，和 2；

q ，在每种情况下，独立地选自 1，2，3，和 4；和

r ，在每种情况下，独立地选自 0，1，2，3 和 4。

2. 根据权利要求 1 的化合物，具有如下通式：

25

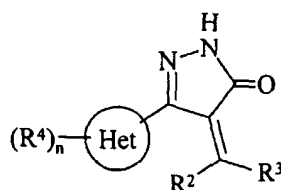


30

3. 根据权利要求2的化合物，其中 R^1 选自氢和烷基。

4. 根据权利要求3的化合物，其中 R^2 或 R^3 选自 H 和烷基。

5. 根据权利要求1的化合物，具有如下通式：



其中 R^2 或 R^3 是 H。

6. 根据权利要求5的化合物，其中 Het 选自：

a) 包含 1-3 个杂原子的 6-元杂环，杂原子选自 O, N 和 S；和

b) 包含如下一组杂原子的 5-元杂环：

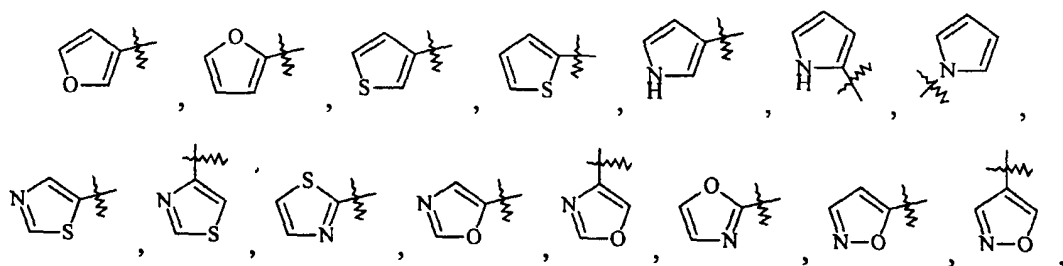
1) 一个氧原子，一个氮原子，或一个硫原子；

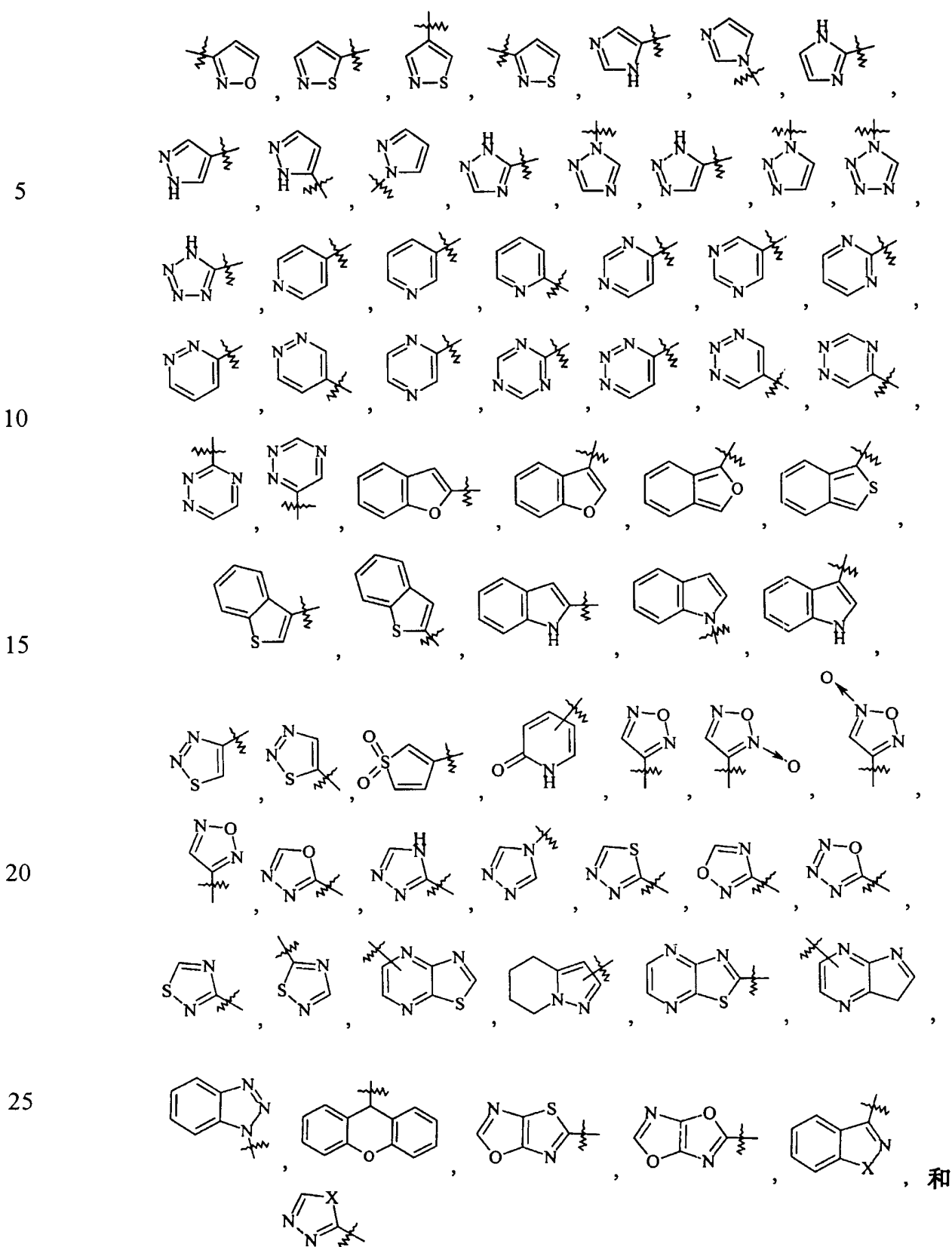
2) 硫和氮原子，氧和氮原子，或两个氮原子；或

3) 三个氮原子，一个氧原子和两个氮原子，或一个硫原子和两个氮原子。

7. 根据权利要求5的化合物，其中 Het 是芳族的。

8. 根据权利要求5的化合物，其中 Het 选自：

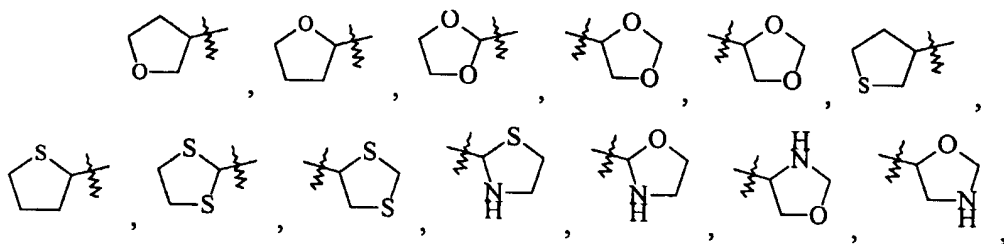




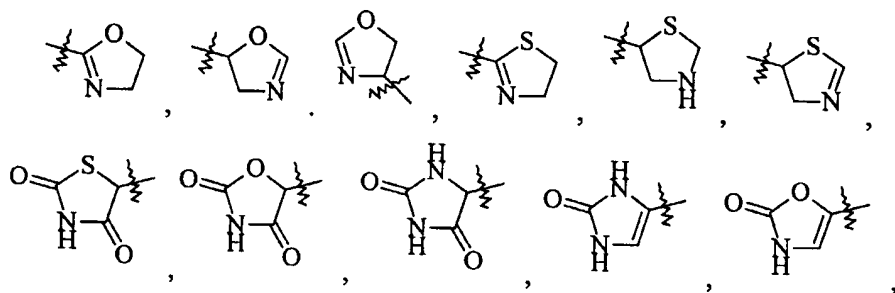
9. 根据权利要求 5 的化合物, 其中 Het 是非芳族的。

10. 根据权利要求 9 的化合物, 其中 Het 选自:

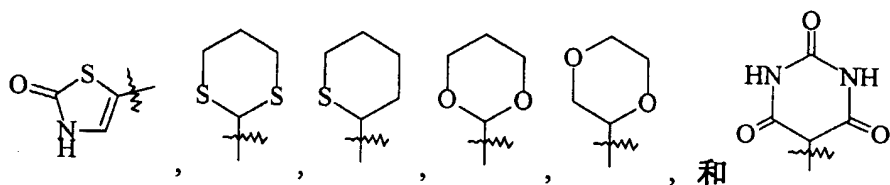
5



10



15



20

11. 根据权利要求 5 的化合物, 其中 R^3 选自:

a) 包含 1-3 个杂原子的 6-元杂环, 杂原子选自 O, N 和 S; 和

b) 包含如下任意一组杂原子的 5-元杂环:

1) 一个氧原子, 一个氮原子, 或一个硫原子;

2) 硫和氮原子, 氧和氮原子, 或两个氮原子; 或

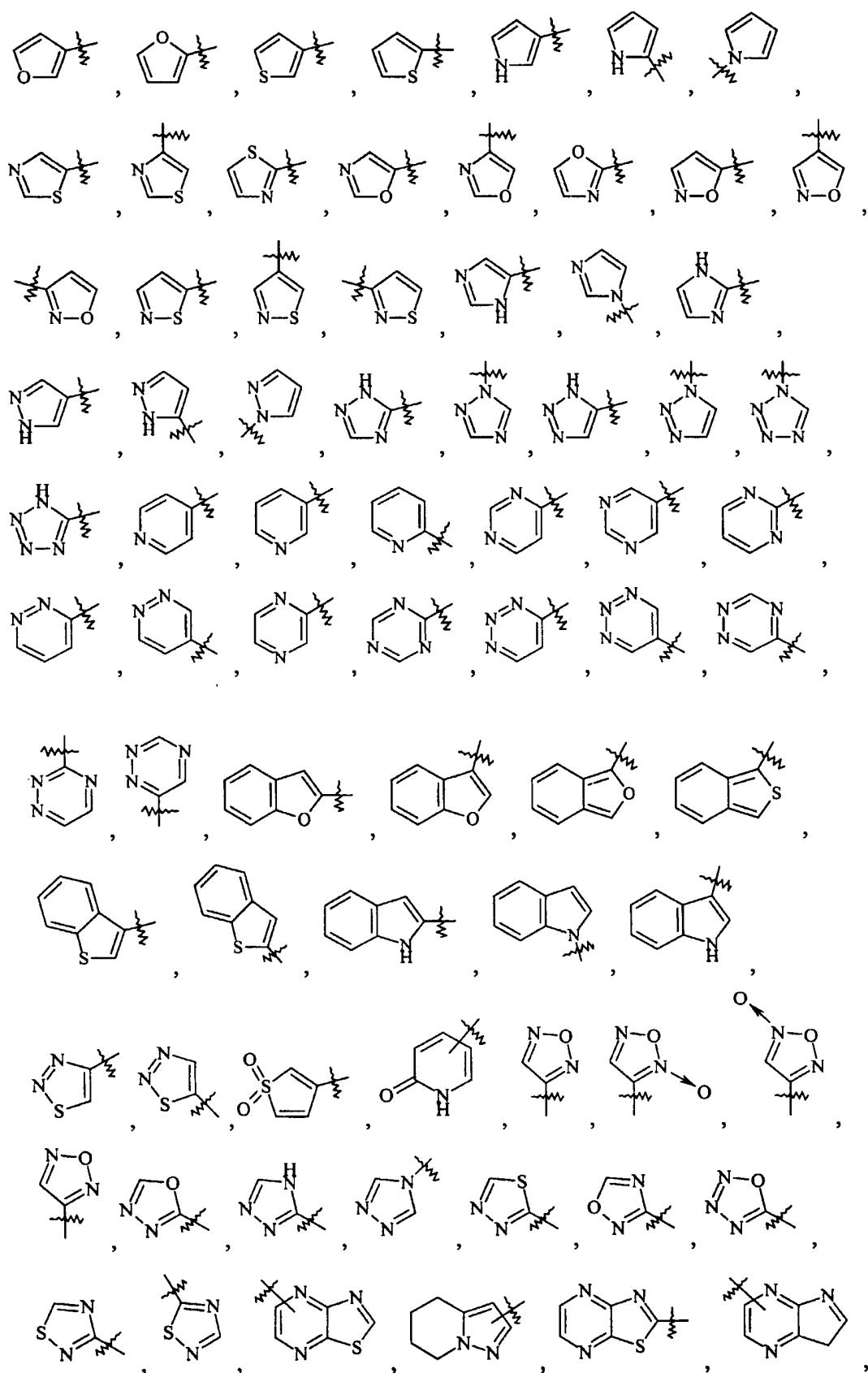
25

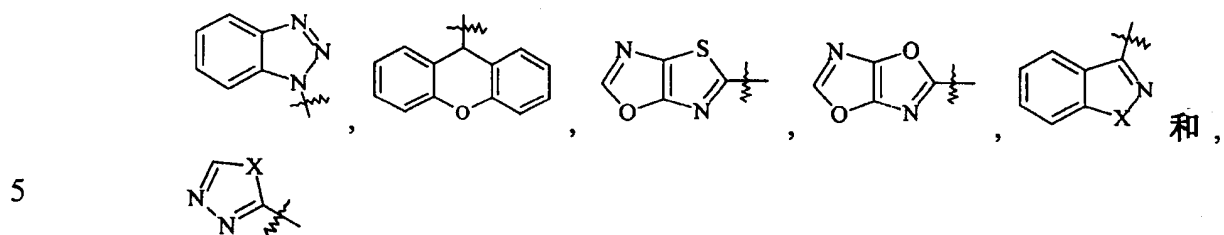
3) 三个氮原子, 一个氧原子和两个氮原子, 或一个硫原子和两个氮原子。

12. 根据权利要求 11 的化合物, 其中 R^3 是芳族杂环。

30

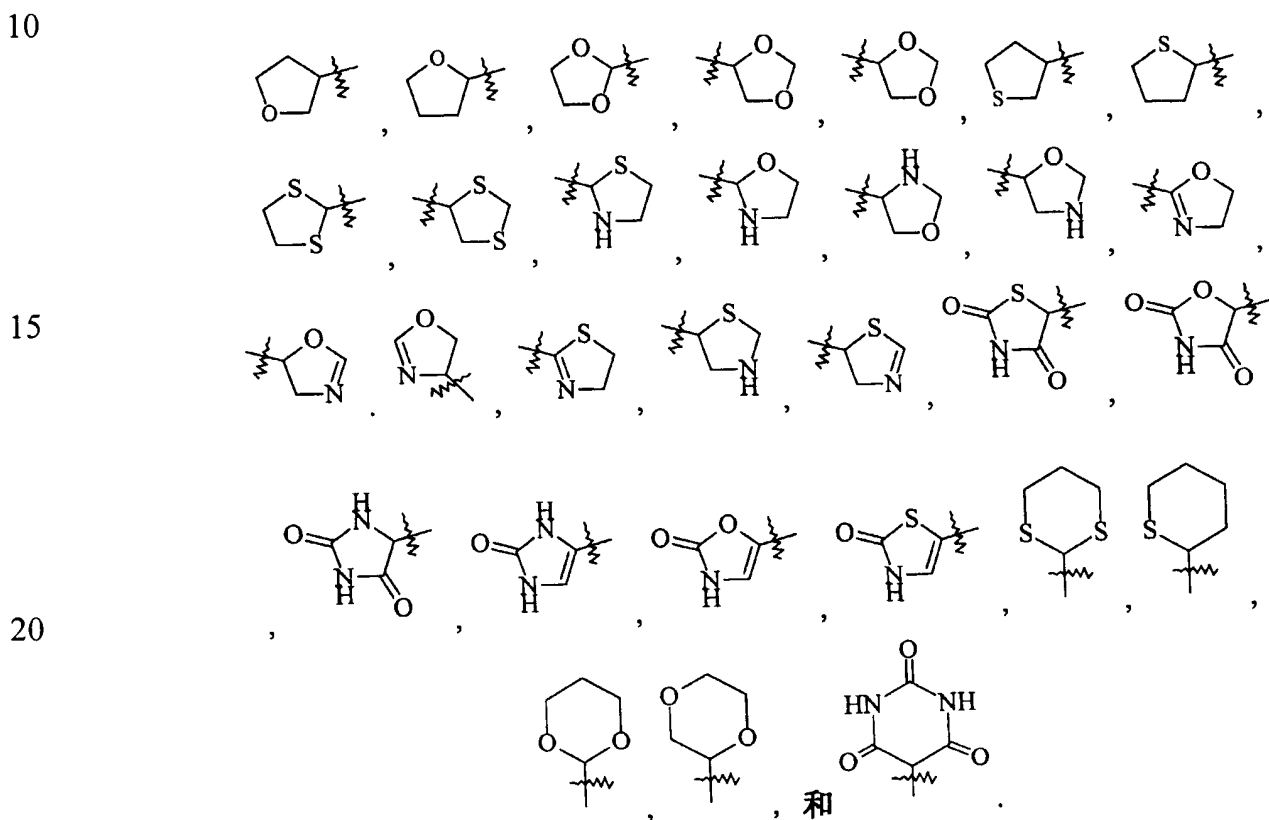
13. 根据权利要求 8 的化合物, 其中 R^3 选自:





其中 X 选自 O, S, NH, 和 N-烷基。

14. 根据权利要求 5 的化合物, 其中 R^3 选自:



25

15. 根据权利要求 13 的化合物, 其中 R^4 选自 F, Cl, Br, I, OH, NO_2 , CN, CF_3 , 甲基, 乙基, 丙基, 异丙基, 丁基, 仲丁基, 叔丁基, 戊基, 乙烯基, 丙烯基, 丁烯基, 乙炔基, 丙炔基, 丁炔基, 甲氧基, 乙氧基, 正丙氧基, 异丙氧基, 正丁氧基, 仲丁氧基, 叔丁氧基, 苯基, 环丙基, 环丁基, 环戊基, 环己基, CO_2H , 甲酰基, 乙酰基,

30

基，丙酰基，丁酰基， NH_2 ，单烷基氨基，二烷基氨基，苯基，和杂芳基；和 n 选自 0，1，和 2。

5 16. 一种药物组合物，包括权利要求 1 的化合物和药学上可接受的载体。

 17. 一种抑制激酶的方法，激酶选自 trk 激酶，VEGFR，MLK，和 FGFR，该方法包括以足以导致有效抑制的量提供权利要求 1 的化合物。

10

 18. 一种治疗或预防血管生成紊乱的方法，该方法包括向需要这样治疗或预防的宿主给予治疗量的权利要求 1 的化合物。

15 19. 根据权利要求 18 的方法，其中血管生成紊乱是实体肿瘤癌，子宫内膜异位症，糖尿病性视网膜炎，牛皮癣，成血管细胞瘤，眼病或斑退化。

20 20. 一种治疗或预防如下疾病的方法：阿尔茨海默病，肌萎缩侧索硬化，帕金森病，中风，局部出血，亨廷顿病，爱滋病，痴呆，癫痫，多发性硬化症，周围神经病，脑或脊柱索损伤，癌症，再狭窄，骨质疏松症，炎症，病毒性感染，骨或造血疾病，自身免疫病或移植排异，该方法包括向需要这样治疗或预防的宿主给予治疗量的权利要求 1 的化合物。

杂环取代的吡唑啉酮

5 发明领域

本发明一般涉及杂环取代的吡唑啉酮，包括含有该物质的药物组合物，诊断试剂盒，测定标准物或试剂，和使用该物质作为治疗药的方法。本发明也涉及中间体和这些新颖化合物的制备方法。

10 发明背景

蛋白激酶在细胞生长和分化的控制中起关键性的作用。蛋白激酶中的迷行表达或突变已经显示出导致不受控制的细胞增生，如恶性肿瘤生长和发育中的各种缺陷，包括细胞移行或侵入，和血管生成。因此，蛋白激酶对于在与异常细胞增生有关的疾病和紊乱中细胞增生的控制，调节和调变是关键。蛋白激酶也已经被指出为如下疾病中的靶物：中枢神经系统紊乱如阿尔茨海默病，炎症性紊乱如牛皮癣，骨疾病如骨质疏松症，动脉粥样硬化，再狭窄，血栓形成，代谢紊乱如糖尿病，和感染病如病毒性感染和真菌感染。

20 涉及激酶调节的最常用研究的途径之一是从细胞表面的受体到细胞核的细胞信号。一般情况下，每个受体的功能由如下确定：它的表达方式，配体可得性，和由特定受体活化的下游信号变异途径的排列。这种途径的一个例子包括激酶的级联，其中生长因子受体酪氨酸激酶的组分通过磷酸化作用传送信号到其它激酶，如 Src 酪氨酸激酶，和
25 Raf, Mek 和 Erk 丝氨酸/苏氨酸激酶属。这些激酶的每种由几种起相关，但功能不同作用的属组分表示。生长因子信号途径调节的损失在癌症以及其它疾病态中是经常发生的事情。参见 Fearon，人体癌症中的遗传病变，分子肿瘤学，1996，143-178。

30 可以通过已知癌基因产物 ras 活化 raf1 丝氨酸/苏氨酸激酶。raf

激酶通过 Raf/MEK/ERK 蛋白激酶级联，阳性地调节细胞分裂。此活化是蛋白激酶 MEK1 的 cRaf1 催化磷酸化的结果，该激酶将蛋白激酶 ERK 磷酸化和活化。ERK 磷酸化和调节要求用于细胞分裂的转录因子。Avruch 等，TIBS, 1994(19)279-283。CRaf1 通过 Bcl-2，凋亡的关键调节剂，活性的调变，阴性地调节细胞死亡。此调节涉及 Bcl-2 族组分的直接磷酸化。Gajewski 和 Thompson, *Cell*, 1996 (87) 619-628。

细胞增生的 cRaf1-为媒介的调节的这些方面要求 cRaf1 的激酶活性。也已经有报导 Raf 蛋白质水平的降低与体内小鼠模型中的肿瘤生长率的降低相关联。Monia, Johnston, Geiger, Muller 和 Fubro, *Nature Medicine*, 卷 2, No.6, 1996 年 6 月, 668-674。因此，cRaf1 激酶活性的抑制应当提供对于许多种人类癌症的有效治疗。

通过抑制涉及的一种或多种激酶，MAP 信号途径的活化代表对于肿瘤治疗有吸引力的目标。蛋白质的 MAP 激酶属的其它组分是 p38 激酶，或者称为细胞因子抑制性药物结合蛋白质或反应性激酶，RK。这种激酶的活化已经暗示在前炎症性细胞因子如 IL-1 和 TNF 的生产中。因此，这种激酶的抑制提供对于疾病状态的治疗，其中涉及未调节的细胞因子生产。

通过调节细胞周期的过程，由激酶转导的信号也已经显示可控制细胞生长，细胞死亡和细胞中的分化。由称为细胞周期蛋白依赖性激酶(CDKs)的激酶属控制通过直核细胞周期的进展。在高增生性疾病和癌症中，CDK 控制的损失是通常发生的事情。

涉及转导或保持特定疾病状态的激酶的抑制剂表示对于这些紊乱的新颖治疗。这样激酶的例子包括如下激酶的抑制：Src, raf 和癌症中的细胞周期蛋白依赖性激酶(CDK)1, 2, 和 4, 再狭窄中的 CDK2 和 PDGFR 激酶，在阿尔茨海默病中的 CDK5 和 GSK3 激酶，骨质疏松症中的 c-Src 激酶，2-型糖尿病中的 GSK-3 激酶，炎症中的 p38 激酶，

血管生成中的 VEGF-R 1-3 和 TIE-1 和-2 激酶, 病毒性感染中的 UL97 激酶, 骨和造血病中的 GSF-1R 激酶, 和自动免疫疾病和移植排异中的 Lck 激酶。

5 因此, 需要新颖类别的化合物, 该化合物显示针对受体和非受体类型蛋白激酶的活性。已经发现一类化合物, 在此称为杂环取代的吡啶啉酮, 可用作蛋白激酶调节的试剂。因此, 本发明涉及用于上述紊乱治疗的治疗剂的用途。

10 发明概述

因此, 本发明的一个目的是提供是激酶抑制剂的新颖化合物。在某些目的中, 本发明的化合物是以下物质的一种或多种的抑制剂: 血管内皮生长因子受体(VEGFR)激酶, *trkA* 酪氨酸激酶(*trkA*), 混合血统激酶(MLK)或纤维形成生长因子受体激酶(FGFR)。

15

本发明的另一个目的是提供一种药物组合物, 该组合物包括药学上可接受的载体和治疗有效量的至少一种本发明的化合物, 或其药用盐。

20

本发明的另一个目的是提供治疗或预防与蛋白质激酶迷行活性有关的紊乱的新方法。在某些目的中, 紊乱的特征在于以下物质的一种或多种的迷行活性: 血管内皮生长因子受体(VEGFR)激酶, *trkA* 酪氨酸激酶(*trkA*), 混合血统激酶(MLK)或纤维形成生长因子受体激酶(FGFR), 和该方法包括向需要这样治疗或预防的宿主给予治疗有效量的至少一种本发明的化合物。

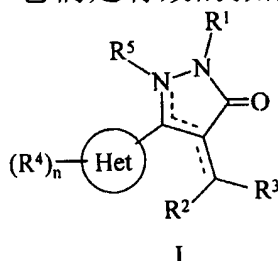
25

本发明的另一个目的是提供抑制体液样品中蛋白质激酶的方法。在某些目的中, 该方法包括采用有效量的至少一种本发明的化合物, 处理体液样品, 以抑制一种或多种蛋白质激酶。

30

本发明的另一个目的是提供试剂盒或容器，以用作诊断剂，标准物或试剂，其中包含有效量的至少一种本发明的化合物。

5 这些和其它重要目的，在以下详细描述期间是显然的，已经由本发明人的发现达到，该发现是下式 I 化合物或其立体异构体，立体异构体的混合物或其药用盐，它们是有用的激酶抑制剂：

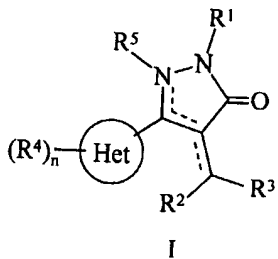


10

其中 R¹, R², R³, R⁴, R⁵, 和 Het 如下文定义。

实施方案的详细描述

15 因此，在第一个实施方案中，本发明提供下式 I 的新化合物或其立体异构体或其药用盐：



其中：

20

Het 是杂环；

R¹ 选自 H，被 0-5 个 R⁶ 取代的 C₁₋₁₀ 烷基，被 0-5 个 R⁶ 取代的 C₂₋₈ 链烯基，被 0-5 个 R⁶ 取代的 C₂₋₈ 炔基，NR^aR^a，C(=O)R^b，C(=O)NHR^a，CO₂R^c，和被 0-5 个 R⁶ 取代的杂环；

25

条件是当 R¹ 和 Het 均为 2-吡啶基时，R² 和 R³ 不是 4-二乙氨基-2-苯基；以及当 R¹ 是 4-羧基-苯乙基时，Het 和 R² 或 R³ 之一均不是二甲氨基-噻吩；

30

R² 和 R³ 各自独立地选自 H，被 1-5 个 R⁶ 取代的 C₁₋₂ 烷基，被 0-5 个 R⁶ 取代的 C₃₋₁₀ 烷基，被 0-5 个 Rⁱ 取代的 C₂₋₈ 链烯基，C₂₋₆ 炔基，Cl，Br，I，CN，(CH₂)_rNR^aR^a，(CH₂)_rOR^c，(CH₂)_rSR^c，(CH₂)_rNC(=O)R^b，(CH₂)_rCO₂R^c，(CH₂)_rOC(=O)R^b，(CH₂)_rC(=O)NR^aR^a，(CH₂)_rNR^aC(=O)R^b，

$(\text{CH}_2)_r\text{NR}^a\text{C}(=\text{O})\text{OR}^b$, $(\text{CH}_2)_r\text{OC}(=\text{O})\text{NHR}^a$, $(\text{CH}_2)_r\text{NR}^a\text{S}(=\text{O})\text{R}^b$,
 $(\text{CH}_2)_r\text{S}(=\text{O})_2\text{NR}^a\text{R}^a$, $(\text{CH}_2)_r\text{S}(\text{O})_p\text{R}^b$, 被 0-5 个 R^4 取代的 $(\text{CH}_2)_r$ 碳环,
 和被 0-5 个 R^4 取代的 $(\text{CH}_2)_r$ 杂环;

条件是 R^2 和 R^3 不能同时为 H 或同时为 SCH_3 ; 以及当 R^2 是 H
 5 和 R^3 是苯基时, 杂环不能是 2-呋喃基;

另外, R^2 和 R^3 一起可形成被 0-4 个 R^4 取代的杂环, 条件是该杂
 环不是 2-噻唑烷基或 5-甲基-2-噻唑烷基;

所述的 R^4 各自独立地选自 H, F, Cl, Br, I, CN, CF_2CF_3 , CF_3 ,
 NO_2 , CN, OH, NR^aR^a , OR^c , $\text{C}(=\text{O})\text{R}^b$, CO_2R^c , $\text{OC}(=\text{O})\text{R}^b$, $\text{NR}^a\text{C}(=\text{O})\text{R}^b$,
 10 $\text{C}(=\text{O})\text{NR}^a\text{R}^a$, $\text{OC}(=\text{O})\text{NR}^a\text{R}^a$, $\text{NR}^a\text{C}(=\text{O})\text{OR}^b$, $\text{NR}^a\text{S}(=\text{O})_2\text{R}^b$,
 $\text{S}(=\text{O})\text{NR}^a\text{R}^a$, $\text{NR}^a\text{C}(=\text{S})\text{R}^b$, $\text{C}(=\text{S})\text{NR}^a\text{R}^a$, $\text{NR}^a\text{C}(=\text{O})\text{NR}^a\text{R}^a$, $\text{NR}^a\text{C}(=\text{S})$
 NR^aR^a , $\text{CH}=\text{NOR}^c$, CHNR^a , $\text{CH}=\text{NNR}^a\text{R}^a$, $(\text{CH}_2)_r\text{S}(\text{O})_p\text{R}^b$,
 $\text{O}(\text{CH}_2)_q\text{NR}^a\text{R}^a$, $\text{O}(\text{CH}_2)_q\text{OR}^c$, $(\text{CH}_2)_r\text{OR}^d$, $(\text{CH}_2)_r\text{C}(=\text{O})\text{R}^{d'}$, $(\text{CH}_2)_r\text{NHR}^d$,
 $(\text{CH}_2)_r\text{S}(\text{O})_p\text{R}^{d'}$, 被 0-5 个 R^6 取代的 C_{1-10} 烷基, 被 0-5 个 R^6 取代的
 15 C_{2-8} 链烯基, 被 0-5 个 R^6 取代的 C_{2-8} 炔基, 被 0-5 个 R^6 取代的碳环,
 被 0-5 个 R^6 取代的杂环;

R^5 或者不存在, 或者选自 H, C_{1-8} 烷基, C_{2-6} 链烯基, C_{2-6} 炔基,
 $(\text{CH}_2)_r\text{C}_{3-6}$ 环烷基, 和 $(\text{CH}_2)_r$ 苯基;

R^6 , 在每种情况下, 独立地选自被 0-5 个 R^h 取代的碳环 C_{1-6} 烷
 20 基, C_{2-8} 链烯基, C_{2-8} 炔基, F, Cl, Br, I, CN, CF_2CF_3 , CF_3 , NO_2 ,
 CN, NR^fR^f , OR^f , $\text{C}(=\text{O})\text{R}^f$, CO_2R^f , $\text{OC}(=\text{O})\text{R}^g$, $\text{NR}^f\text{C}(=\text{O})\text{R}^f$,
 $\text{C}(=\text{O})\text{NR}^f\text{R}^f$, $\text{OC}(=\text{O})\text{NR}^f\text{R}^f$, $\text{NR}^e\text{C}(=\text{O})\text{OR}^g$, $\text{NR}^e\text{S}(=\text{O})_2\text{R}^g$,
 $\text{S}(=\text{O})_2\text{NR}^f\text{R}^f$, $\text{NR}^a\text{C}(=\text{S})\text{R}^g$, $\text{C}(=\text{S})\text{NR}^f\text{R}^f$, $\text{NR}^f\text{C}(=\text{O})\text{NR}^f\text{R}^f$,
 $\text{NR}^f\text{C}(=\text{S})\text{NR}^f\text{R}^f$, $\text{CH}=\text{NOR}^e$, $\text{CH}=\text{NR}^e$, $\text{CH}=\text{NNR}^e\text{R}^e$, $\text{S}(\text{O})_p\text{R}^f$,
 25 $\text{O}(\text{CH}_2)_p\text{NR}^f\text{R}^f$, $\text{O}(\text{CH}_2)_p\text{NR}^f$, OR^d , NHR^d , $\text{C}(=\text{O})\text{R}^{d'}$, $\text{S}(\text{O})_p\text{R}^{d'}$, 被 0-
 5 个 R^h 取代的碳环, 被 0-5 个 R^h 取代的杂环, $\text{P}(=\text{O})(\text{OR}^c)_2$, 和 C_{5-7} 单
 糖, 其中单糖的每个羟基是未取代的或被选自如下的基团取代: H, C_{1-4}
 C_{1-4} 烷基, C_{1-4} 烷氧基, 和 $\text{OC}(=\text{O})\text{C}_{1-4}$ 烷基;

R^a , 在每种情况下, 独立地选自 H, C_{1-6} 烷基, C_{2-6} 链烯基, C_{2-6} 炔
 30 基, $(\text{CH}_2)_r\text{C}_{3-6}$ 环烷基, 和 $(\text{CH}_2)_r$ 苯基, 其中当 R^a 不是 H 时, R^a 被 0-

5 个 R^h 取代;

或者, 两个 R^a 可结合以形成选自 $(CH_2)_qO(CH_2)_q$, $(CH_2)_qS(CH_2)_q$, 和 $(CH_2)_m$ 的连接, 其中链接被 0-5 个 R^h 取代;

5 R^b , 在每种情况下, 独立地选自 C_{1-6} 烷基, C_{2-6} 链烯基, C_{2-6} 炔基, $(CH_2)_r$ 苯基, 和 $(CH_2)_r$ 杂环, 其中 R^b 被 0-5 个 R^h 取代;

R^c , 在每种情况下, 独立地选自 H, C_{1-6} 烷基, C_{2-6} 链烯基, C_{2-6} 炔基, C_{3-6} 环烷基, 和 $(CH_2)_r$ 苯基, 其中当 R^c 不是 H 时, R^c 被 0-5 个 R^h 取代;

10 R^d , 在每种情况下, 独立地选自在除去羧基的羟基之后氨基酸的残基;

$R^{d'}$, 在每种情况下, 独立地选自在除去胺的氢之后氨基酸的残基;

R^e , 在每种情况下, 独立地选自在 H 和 C_{1-6} 烷在;

R^f , 在每种情况下, 独立地选自在 H, 被 0-5 个 R^h 取代的 C_{1-6} 烷基, 和被 0-5 个 R^h 取代的 $(CH_2)_r$ 苯基;

15 R^g , 在每种情况下, 独立地选自在被 0-5 个 R^h 取代的 C_{1-6} 烷基, 和被 0-5 个 R^h 取代的 $(CH_2)_r$ 苯基;

20 R^h , 在每种情况下, 独立地选自在 F, Cl, Br, I, OH, NO_2 , CN, CF_3 , CF_2CF_3 , C_{1-4} 烷基, C_{2-6} 链烯基, C_{2-6} 炔基, 烷氧基, C_{3-7} 环烷基, 羧基, 甲酰基, 乙酰基, 丙酰基, 丁酰基, 戊酰基, 新戊酰基, 己酰基, 乙酰氨基, 乙酸酯, 氨基甲酰基, 羧基, NH_2 , 单烷基氨基, 二烷基氨基, 苯基, 苄基, 苯乙基, 萘基, 杂环基和酮基;

25 R^i , 在每种情况下, 独立地选自在 F, Cl, Br, I, OH, NO_2 , CN, CF_3 , CF_2CF_3 , C_{1-4} 烷基, C_{2-6} 链烯基, C_{2-6} 炔基, 烷氧基, C_{3-7} 环烷基, 羧基, 甲酰基, 乙酰基, 丙酰基, 丁酰基, 戊酰基, 新戊酰基, 己酰基, 乙酰氨基, 乙酸酯, 氨基甲酰基, 羧基, NH_2 , 单烷基氨基, 二烷基氨基, 苯基, 苄基, 苯乙基;

m 选自 2, 3, 4, 和 5;

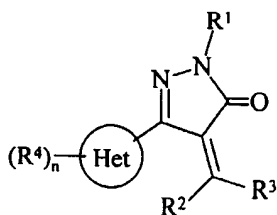
n 选自 0, 1, 2, 3, 4, 和 5;

p 选自 0, 1, 和 2;

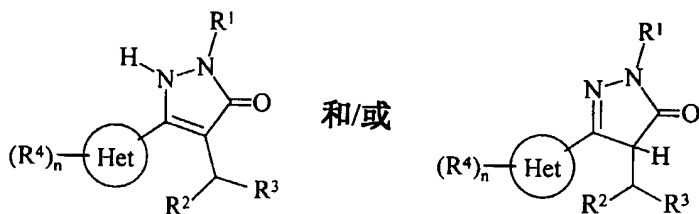
30 q 选自 1, 2, 3, 和 4; 和

r 选自 0, 1, 2, 3 和 4。

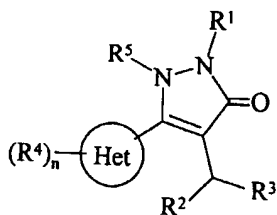
如由熟练技术人员容易理解的那样，通式 I 结构中双键的位置会依赖于 R^5 的本质。例如，在某些其中 R^5 不存在的实施方案中，通式 I 可具有如下结构：



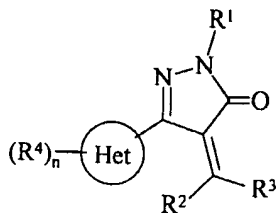
在其中 R^5 是氢的另一实施方案中，通式 I 可具有如下结构：



在其中 R^5 是取代基的其它实施方案中，通式 I 可具有如下结构：



在某些优选的实施方案中，通式 I 具有如下结构：

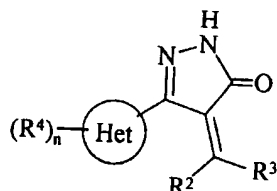


其中 R^1 选自氢和烷基。在其它优选的实施方案中， R^2 或 R^3 选自 H

和烷基。

在其它优选的实施方案中，杂环取代的吡唑啉酮由以下通式表示：

5



10

其中 R^2 或 R^3 是 H。

在其它优选的实施方案中，Het 选自：

a) 包含 1-3 个杂原子的 6-元杂环，杂原子选自 O, N 和 S；和

15

b) 包含如下之一的 5-元杂环：

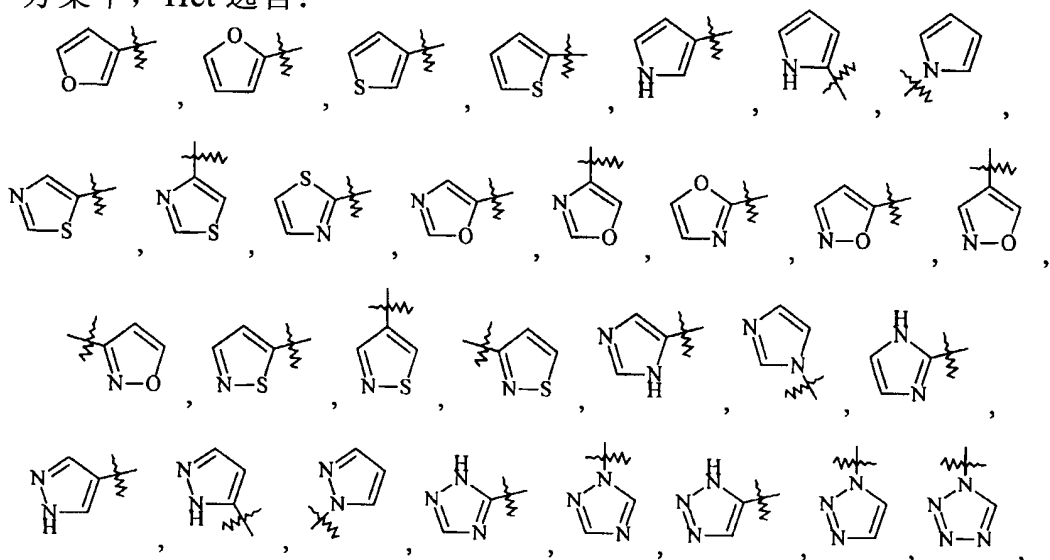
1) 一个氧原子，一个氮原子，或一个硫原子；

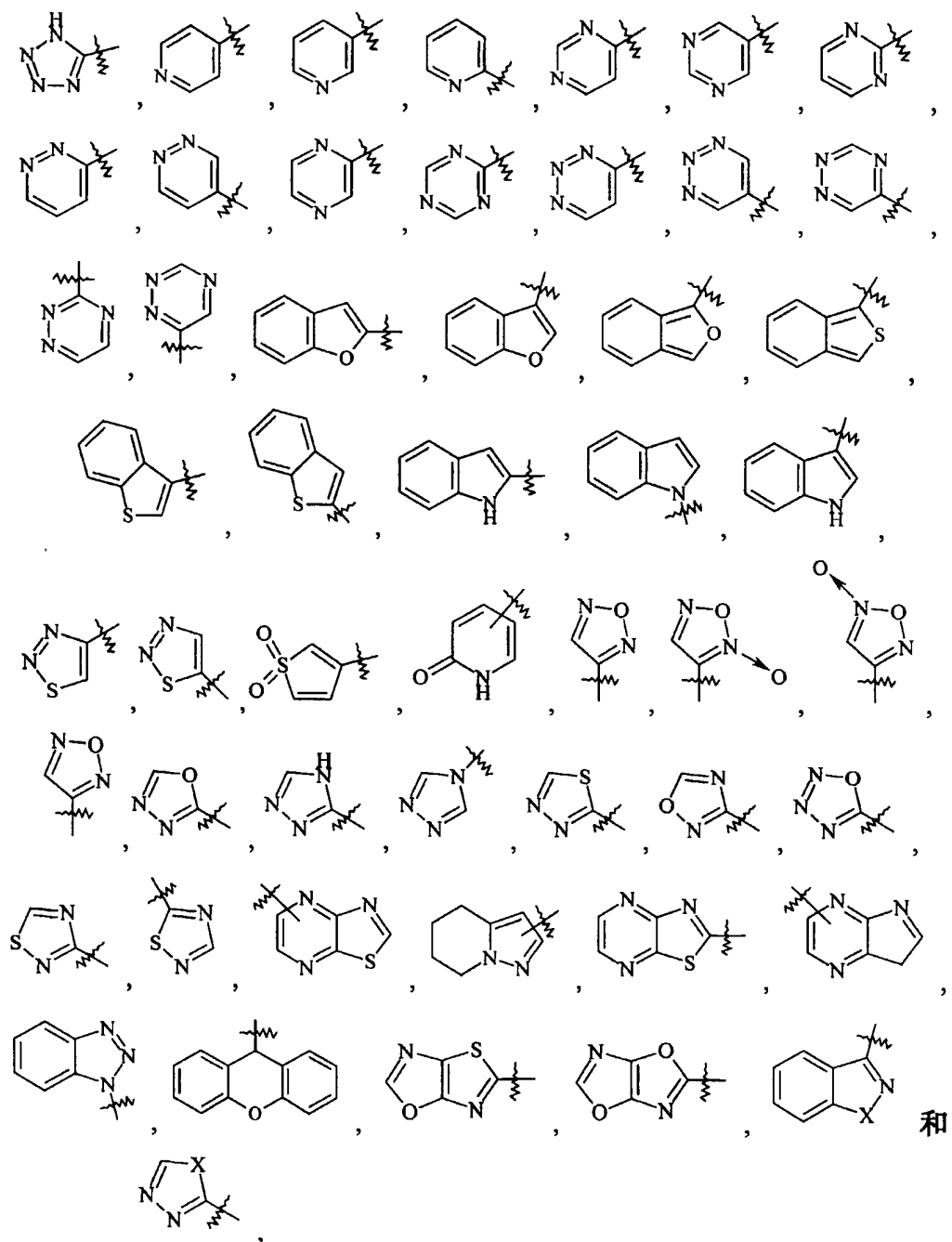
2) 硫和氮原子，氧和氮原子，或两个氮原子；或

3) 三个氮原子，一个氧原子和两个氮原子，或一个硫原子和两个氮原子。

20

在其它优选的实施方案中，Het 是杂芳族的。在其它优选的实施方案中，Het 选自：

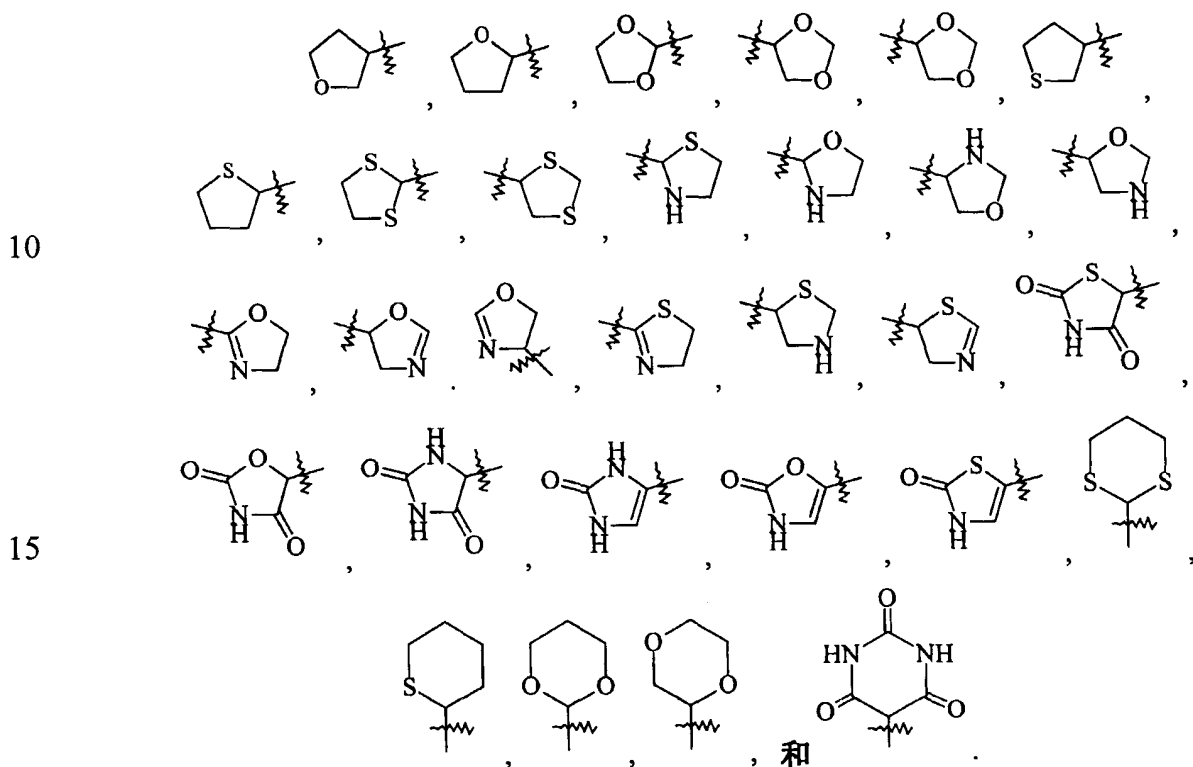




其中 X 选自 O, S, NH, 和 N-烷基。

在其它实施方案中, Het 是非芳族的。在某些优选的实施方案中,

5 Het 选自:



25 在某些实施方案中, R^4 选自 F, Cl, Br, I, OH, NO_2 , CN, CF_3 , 甲基, 乙基, 丙基, 异丙基, 丁基, 仲丁基, 叔丁基, 戊基, 乙烯基, 丙烯基, 丁烯基, 乙炔基, 丙炔基, 丁炔基, 甲氧基, 乙氧基, 正丙氧基, 异丙氧基, 正丁氧基, 仲丁氧基, 叔丁氧基, 苯基, 环丙基, 环丁基, 环戊基, 环己基, CO_2H , 甲酰基, 乙酰基, 丙酰基, 丁酰基, NH_2 , 单烷基氨基, 二烷基氨基, 苯基, 和杂芳基, 和酮($C=O$)。在其它优选的实施方案中, n 选自 0, 1, 和 2。

在某些实施方案中, R^3 是选自如下的杂环:

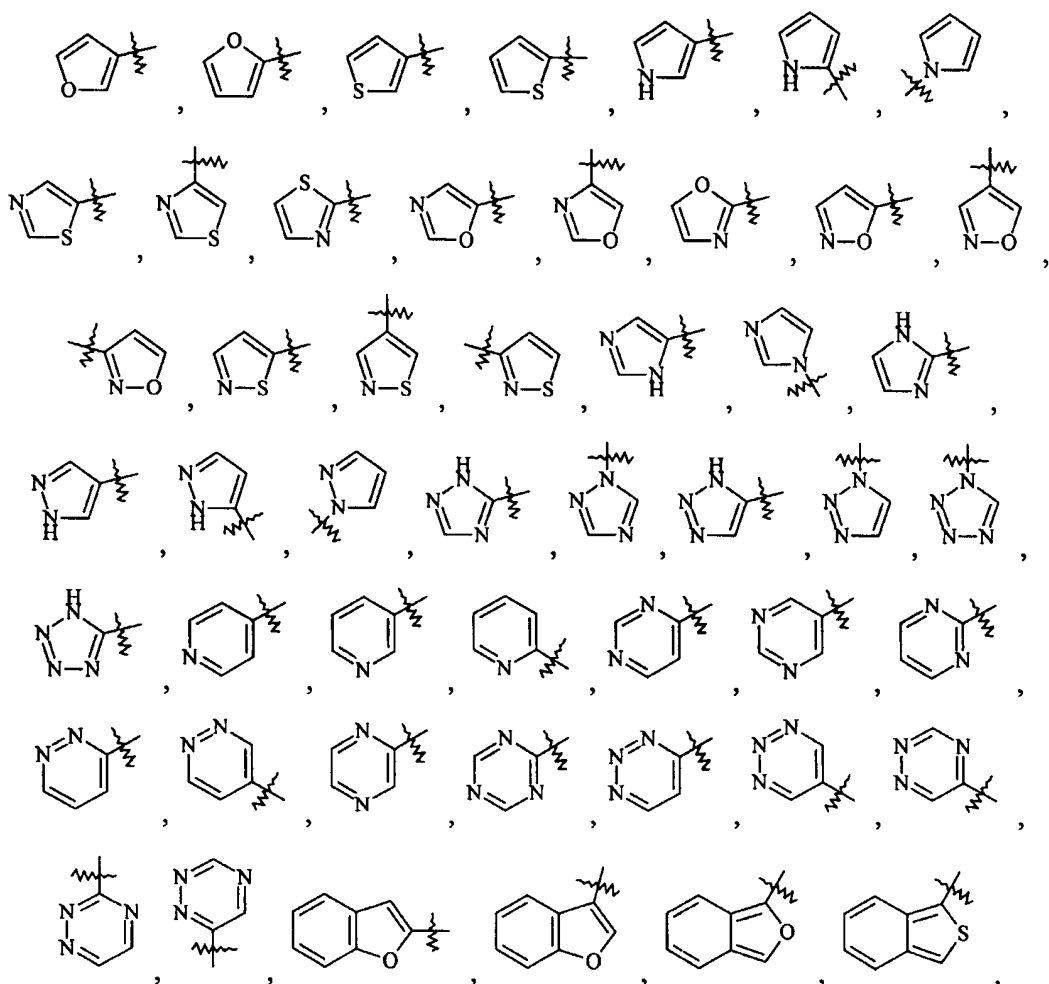
a) 包含 1-3 个杂原子的 6-元杂环, 杂原子选自 O, N 和 S;

30 b) 包含如下之一的 5-元杂环:

- 1) 一个氧原子，一个氮原子，或一个硫原子；
- 2) 硫和氮原子，氧和氮原子，或两个氮原子；或
- 3) 三个氮原子，一个氧原子和两个氮原子，或一个硫原子和两个氮原子。

5

在其它的优选实施方案中， R^2 或 R^3 之一是芳族杂环。在其它的优选实施方案中， R^2 或 R^3 之一选自：

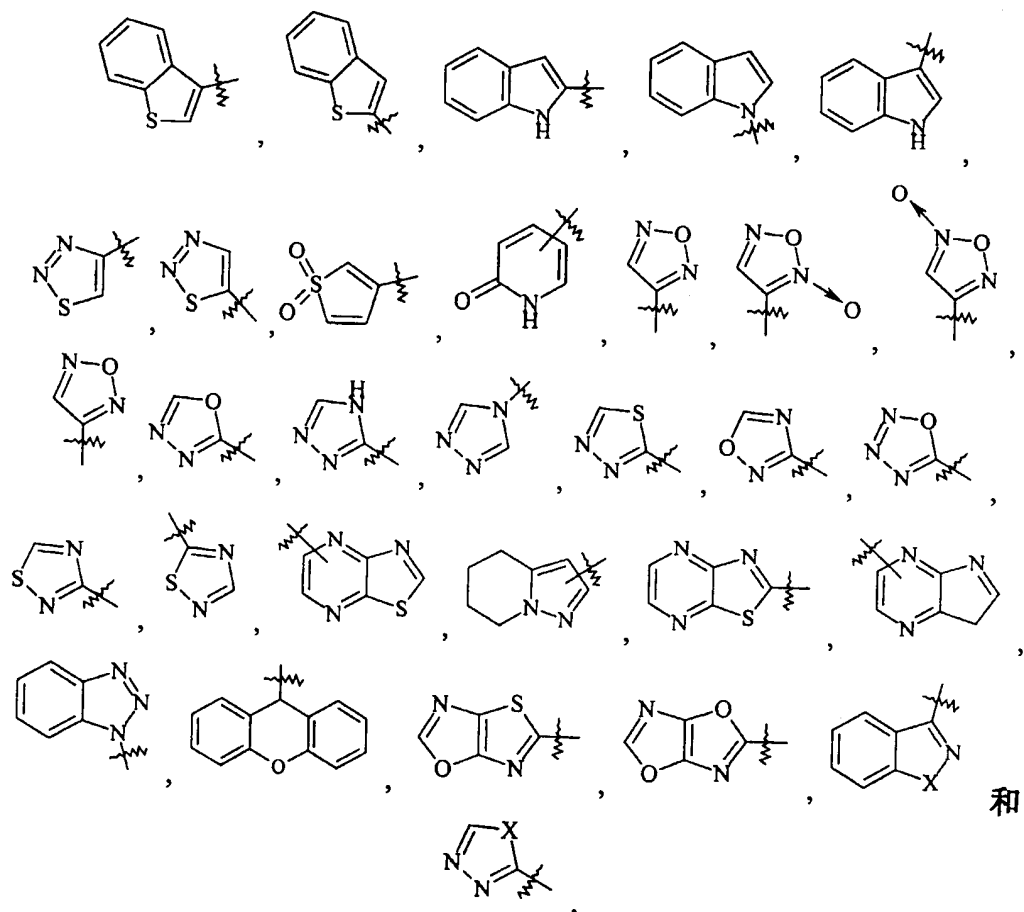


5

10

15

20



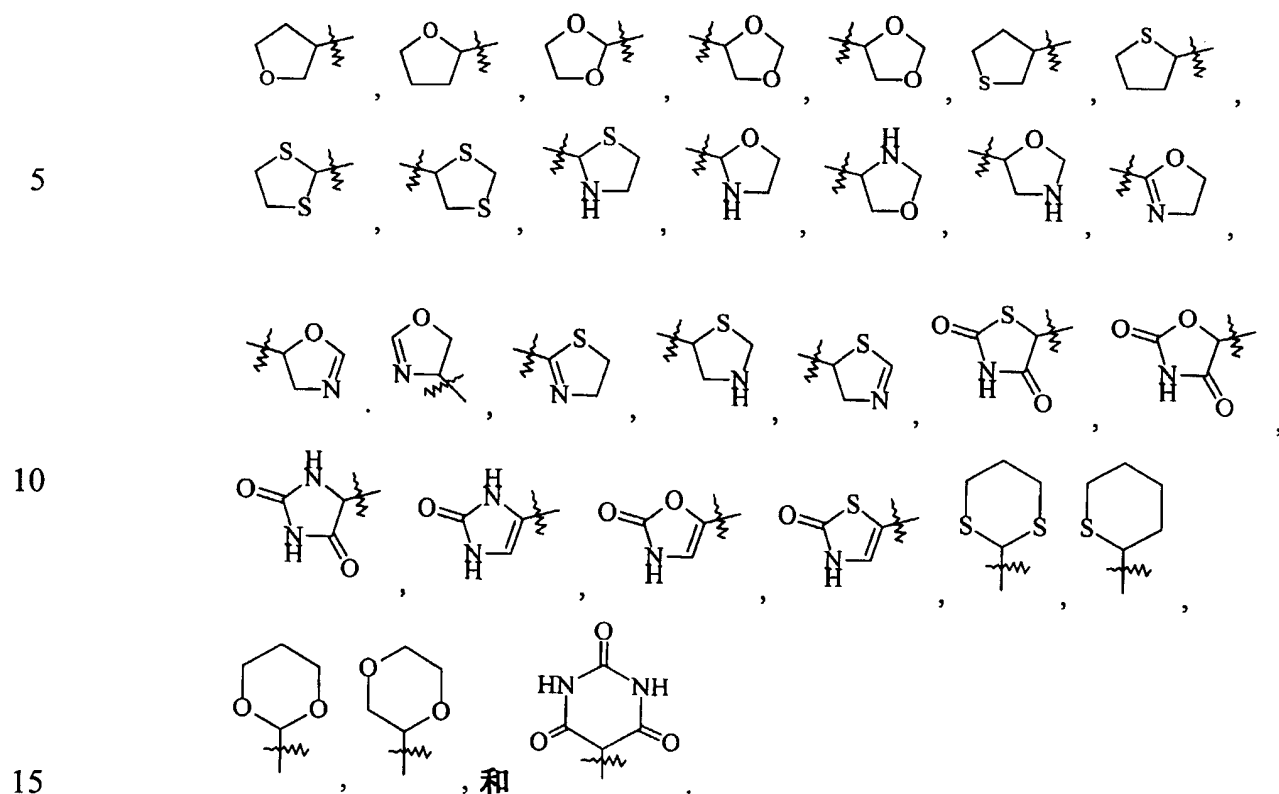
和

25

其中 X 选自 O, S, NH, 和 N-烷基。

在其它的优选实施方案中, R^2 或 R^3 之一是非芳族杂环。在其它的优选实施方案中, R^2 或 R^3 之一选自:

30



在其它实施方案中，通式 I 的化合物由在表 1 和 1a 中给出的那些化合物表示。

20 在其它实施方案中，本发明提供了一种药物组合物，其中包括通式 I 的化合物，其立体异构体或其药用盐，和制药可接受的载体。在优选的组合物中，通式 I 的化合物是在表 1 和 1a 中给出的一个。

25 在其它实施方案中，本发明提供抑制蛋白激酶活性的方法，包括以足以引起有效抑制的数量提供通式 I 的化合物。在优选的实施方案中，激酶受体是血管内皮生长因子受体(VEGFR)激酶，trkA 酪氨酸激酶(trkA)，混合血统激酶(MLK)或纤维形成生长因子受体激酶(FGFR)。

30 在其它实施方案中，本发明提供治疗或预防特征为蛋白激酶的迷行活性紊乱的方法，该方法包括向需要这样治疗或预防的宿主，提供治疗有效量的通式 I 化合物。

在其它实施方案中，本发明提供治疗或预防疾病的方法，其中的疾病包括血管内皮生长因子受体(VEGFR)激酶， trkA 酪氨酸激酶(trkA)，混合血统激酶(MLK)或纤维形成生长因子受体激酶(FGFR)引起的病理性状态，该方法包括以足够的数量提供通式 I 的化合物，以使受体与有效抑制量的化合物接触。

在其它的实施方案中，本发明提供治疗或预防血管生成紊乱的方法，该方法包括向需要这样治疗或预防的宿主，提供治疗有效量的通式 I 化合物。在优选的实施方案中，血管生成紊乱是实体肿瘤癌，眼疾病，斑退化，子宫内膜异位症，糖尿病性视网膜炎，牛皮癣，或成血管细胞瘤。

在其它的实施方案中，本发明提供治疗或预防由选自如下的激酶介导的疾病的方法： ab1, AKT, bcr-ab1, Blk, Brk, Btk, c-kit, c-met, c-src, CDK1, CDK2, CDK4, CDK6, chk1, chk2, cRaf1, CSF1R, CSK, EGFR, ErbB2, ErbB3, ErbB4, ERK (Eph), Fak, fes, FGFR1, FGFR1, FGFR3, FGFR4, FGFR5, MLK1, MLK2, MLK3,DLK, trkA, trkB, trkC, Fgr, FLK-4, fit-1, Fps, Frk, Fyn, GSK, Hck, IGF-1R, INS-R, Jak, JNK, VEGFR1, VEGFR2, VEGFR3, Lck, Lyn, MEK, p38, PDGFR, PIK, PKC, PYK2, ros, tie₁, tie₂, UL97, Yes 和 Zap70, 该方法包括向需要这样治疗或预防的患者，提供治疗有效量的通式 I 化合物。

在其它的实施方案中，本发明提供治疗或预防疾病的方法，其中选自激酶 ab1, AKT, bcr-ab1, Blk, Brk, Btk, c-kit, c-met, c-src, CDK1, CDK2, CDK4, CDK6, chk1, chk2, cRaf1, CSF1R, CSK, EGFR, ErbB2, ErbB3, ErbB4, ERK (Eph), Fak, fes, FGFR1, FGFR1, FGFR3, FGFR4, FGFR5, MLK1, MLK2, MLK3,DLK, trkA, trkB, trkC, Fgr, FLK-4, fit-1, Fps, Frk, Fyn, GSK, Hck, IGF-1R, INS-R, Jak, JNK, VEGFR1, VEGFR2, VEGFR3, Lck, Lyn, MEK, p38, PDGFR, PIK, PKC, PYK2, ros, tie₁, tie₂,

UL97, Yes 和 Zap70 促成的病理状态, 该方法包括以足够的数量提供通式 I 化合物, 使受体与有效抑制量的该化合物接触。

在其它的实施方案中, 本发明提供治疗或预防如下疾病的方法:

5 阿尔茨海默病, 肌萎缩侧索硬化, 帕金森病, 中风, 局部出血, 亨廷顿病, 爱滋病, 痴呆, 癫痫, 多发性硬化症, 周围神经病, 脑或脊柱索损伤, 癌症, 再狭窄, 骨质疏松症, 炎症, 病毒性感染, 骨或造血疾病, 自身免疫病或移植排异, 该方法包括向需要这样治疗或预防的宿主给予治疗量的权利要求 1 的化合物。

10

在某些实施方案中, 本发明涉及抑制 Src, raf, 和细胞周期蛋白依赖性激酶(CDK)1, 2, 和 4 中的一种或多种, 用于癌症的治疗。

在某些实施方案中, 本发明涉及抑制 CDK2 或 PDGF-R 激酶中一种或多种, 用于再狭窄的治疗。

15

在某些实施方案中, 本发明涉及抑制 CDK5 或 GSK3 激酶中的一种或多种, 以治疗阿尔茨海默病。

20 在某些实施方案中, 本发明涉及一种或多种 cSrc 激酶的抑制, 用于骨质疏松症的治疗。

在某些实施方案中, 本发明涉及一种或多种 GSK-3 激酶的抑制, 用于 2 型糖尿病的治疗。

25

在某些实施方案中, 本发明涉及一种或多种 p38 激酶的抑制, 用于炎症的治疗。

在某些实施方案中, 本发明涉及一种或多种 VEGF-R 1-3, TIE-1, 30 或 TIE-2 激酶的抑制, 用于血管形成的治疗。

在某些实施方案中，本发明涉及一种或多种 UL97 激酶的抑制，用于病毒性感染的治疗。

- 5 在某些实施方案中，本发明涉及一种或多种 CSF-1R 激酶的抑制，用于骨或造血疾病的治疗。

在某些实施方案中，本发明涉及一种或多种 Lck 激酶的抑制，用于治疗自身免疫疾病或移植排异。

10

在某些实施方案中，本发明提供治疗或预防由局部异构酶 Topo-I 或 TopoII 介导的疾病的方法，用于癌症的治疗。

定义

- 15 以下术语和表达具有指定的意义。在此使用的“稳定化合物”或“稳定结构”意指示这样的化合物，它是足够稳定的，以从反应混合物分离到有用的纯净程度存在，和优选能配制成有效的治疗剂。本发明仅涉及稳定化合物。在此使用的“取代的”意指示在指示的基团上的一个或多个氢原子被在此称为“取代基”的选择基团代替，条件是不超过
- 20 被取代原子的价数，和取代导致稳定的化合物。当术语“取代的”涉及包含 $(CH_2)_r$ 或 $(CH_2)_p$ 的基团，如 $(CH_2)_r$ 苯基时，它指的是取代基可位于基团，即苯基，或 CH_2 链上。通过说明，可进一步被取代的基团包括，但不限于烷基，链烯基，炔基，烷氧基，酰基，碳环和杂环，以及包含这些部分的另外基团。取代基团优选含有 1-5 个独立选择的取代基。
- 25 优选的取代基包括，但不限于 F，Cl，Br，I，OH， NO_2 ，CN， CF_3 ， CF_2CF_3 ；烷基包括，但不限于甲基，乙基，丙基，异丙基，丁基，仲丁基，叔丁基和戊基；烯基包括，但不限于乙烯基，丙烯基，和丁烯基；炔基包括，但不限于乙炔基，丙炔基，和丁炔基；烷氧基包括，但不限于甲氧基，乙氧基，正丙氧基，异丙氧基，正丁氧基，仲丁氧基，
- 30 和叔丁氧基；环烷基包括，但不限于环丙基，环丁基，环戊基，

和环己基；羧基，酰基包括，但不限于甲酰基，乙酰基，丙酰基，丁酰基，戊酰基，新戊酰基，和己酰基；酰氨基，氨基甲酰基，羧基，羟氨基， NH_2 ，单烷基氨基，二烷基氨基， $(\text{CH}_2)_r$ 碳环包括，但不限于苯基，苄基，苯乙基和萘基；杂环，和酮($\text{C}=\text{O}$)。

5

在此使用的术语“烷基”表示含有 1-8 个碳原子的直链，或支链烷基，如甲基，乙基，丙基，异丙基，丁基，异丁基，仲丁基，叔丁基，戊基，异戊基，新戊基，1-乙基丙基，己基，和辛基。在此使用的“环烷基”意表示单环，双环或三环烷基包括，但不限于环丙基，环丁基，环戊基，和环己基等。

10

在此使用的“链烯基”意在包括具有直链或支化构型和一个或多个不饱和碳-碳键的烃链，该键可在链上的任何稳定点出现，如乙烯基，丙烯基等。

15

在此使用的“炔基”意在包括具有直链或支化构型和一个或多个三重碳-碳键的烃链，该键可在链上的任何稳定点出现，如乙炔基，丙炔基等。

20

在此使用的“烷氧基”意在包括通过氧键合的直链或支化构型的烃链。烷氧基包括，但不限于甲氧基，乙氧基，正丙氧基，异丙氧基，正丁氧基，仲丁氧基，和叔丁氧基等。

25

在此使用的“碳环”意在表示由碳原子组成的任何稳定的单环、双环或三环，它们可以是饱和的，部分不饱和的，或不饱和的。碳环意在包括，但不限于在此称为“环烷基”的化合物。碳环也意在包括“芳基”或“芳族”化合物。芳基化合物的实例包括，但不限于苯基，联苯基，萘基，2,3-二氢化茚基，金刚烷基，或四氢萘基(四氢化萘)。

30

在此使用的“杂环”或“杂环的环”意在包括稳定的单环、双环或

三环杂环的环，它是饱和的，部分不饱和的，或不饱和的环。因此，杂环可以是芳族的或非芳族的。杂环优选由碳原子的杂原子组成，杂原子优选独立地选自 N，O 和 S。氮或硫杂原子可选择地被氧化。杂环可以在任何杂原子或碳原子处连接到它的侧基上，导致稳定的结构。如果获得的化合物是稳定的，在此所述的杂环可以在例如，碳或氮原子上被取代。具体而言，杂环中的氮可选择地被季铵化。优选当杂环中 S 和 O 原子的总数目超过 1 时，则这些杂原子彼此不相邻。优选杂环中 S 和 O 原子的总数目不大于 1。

在此使用的“杂芳族”或“杂芳基”意在表示稳定的杂环，它是芳族的和由碳原子和杂原子组成，其中杂原子优选独立地选自 N，O 和 S。

杂环的例子包括，但不限于 2-吡咯烷酮基，2H-吡咯基，4-哌啶酮基，6H-1,2,5-噻二嗪基，2H,6H-1,5,2-二噻嗪基，呋喃基，呋喃基，咪唑烷基，咪唑啉基，咪唑基，异噻唑基，吗啉基，噁二唑基，1,2,3-噁二唑基，1,2,4-噁二唑基，1,2,5-噁二唑基，1,3,4-噁二唑基，噻唑烷基，噻唑基，哌嗪基，哌啶基，蝶啶基，哌啶酮基，4-哌啶酮基，蝶啶基，嘌呤基，吡喃基，吡嗪基，吡唑烷基，吡唑啉基，吡唑基，哒嗪基，吡啶基，吡啶基、嘧啶基，吡咯烷基，吡咯啉基，四氢呋喃基，6H-1,2,5-噻二嗪基，1,2,3-噻二唑基，1,2,4-噻二唑基，1,2,5-噻二唑基，1,3,4-噻二唑基，噻唑基，噻吩基，噻吩并噻唑基，噻吩并噻唑基，噻吩并咪唑基，噻吩基，三嗪基，1,2,3-三唑基，1,2,4-三唑基，1,2,5-三唑基，1,3,4-三唑基，和四唑。也包括的是稠合环和螺环化合物，其中包含例如上述杂环。合适的杂环也公开于化学和物理手册(The Handbook of Chemistry Physics), 76 版, CRC Press, Inc., 1995-1996, 2-25 至 2-26 页，它们的公开内容在此引入作为参考。

由氮原子形成的优选杂环基团包括，但不限于吡咯烷基，哌啶基，哌啶子基，吗啉基，吗啉代基，硫代吗啉代基，N-甲基哌嗪基，吲哚

基，异吡啶基，咪唑，咪唑啉，噁唑啉，噁唑，三唑，噻唑啉，噻唑，异噻唑，噻二唑，三嗪，异噁唑，羟吡啶，3-羟基吡啶，吡唑，吡唑啉酮，嘧啶，吡嗪，喹啉，异喹啉，和四唑基团。

5 由氧原子形成的优选杂环基团包括，但不限于呋喃，四氢呋喃，吡喃，苯并呋喃，异苯并呋喃，和四氢吡喃基团。由硫原子形成的优选杂环基团包括，但不限于噻吩，硫茚，四氢噻吩，四氢噻喃，和苯并噻吩。

10 优选的杂芳基包括，但不限于吡啶基，嘧啶基，吡咯基，呋喃基，噻吩基，咪唑基，三唑基，四唑基，喹啉基，异喹啉基，苯并咪唑基，噻唑基，吡唑基，和苯并噻唑基。

15 在此使用的术语“单糖”具有作为简单糖的惯常意义。在此使用的术语“氨基酸”表示包含氨基和羧基两者的分子。氨基酸的实施方案包括 α -氨基， β -氨基， γ -氨基酸。在此使用的术语“ α -氨基酸”是具有通式 $\text{HOOC-CH}(\text{NH}_2)\text{-(侧链)}$ 的羧酸。氨基酸的侧链包括天然和非天然的部分。非天然(非自然)氨基酸侧链是用于代替天然氨基酸侧链的部分，例如氨基酸类似物。参见，例如，Lehninger，生物化学，第二
20 版，Worth Publishers, Inc, 1975，73-75 页，它们的公开内容在此引入作为参考。在某些实施方案中，通式 R^d 的取代基包括在除去其羧基的羟基部分之后的氨基酸的残基，即通式 $\text{-C(=O)CH-(侧链)-NHR'}$ 的基团，其中 R' 是 H ， C_{1-6} 烷基，或胺保护基团。在某些实施方案中，通式 R^d 的取代基包括在除去其氨基的氢之后的氨基酸的残基，即通式
25 $\text{-NH-CH-(侧链)-C(=O)OR'}$ 的基团，其中 R' 是 H ， C_{1-6} 烷基，或羧基保护基团。

30 在通式 I 化合物或中间体化合物上存在的官能团也可包含保护基团。优选的保护基团包括苄氧羰基(Cbz;Z)和叔丁氧羰基(Boc)。其它保护基团可在 Greene, T.W.和 Wuts, P.G.M., 有机合成中的保护基团，

第二版, Wiley & Sons, 1991, 本领域的通常文献, 它的公开内容在此引入作为参考。

5 在此使用的, 通常用于描述治疗剂在生物体系、测定等的效果的术语, 具有所在领域通常的意义。在此使用的, 用于修饰术语“功能”和“存活”的术语“效果”表示阳性或阴性的改变或变化。阳性的效果在此称为“增强”或“增强的”, 阴性的效果在此称为“抑制”或“抑制的”。

10 在此使用的, 用于修饰术语“功能”和“存活”时的术语“增强”或“增强的”表示与不存在本发明化合物的细胞相比, 杂环取代吡唑啉酮化合物的存在对营养因子响应细胞的功能和/或存活具有阳性的效果。例如, 但不受限制的情况是, 关于如胆碱能神经元的存活, 与胆碱能神经元族不存在这样的化合物时相比, 如果处理的族群比未处理的族群具有相对更大的功能周期, 化合物可增强胆碱能神经元种群处于死亡危险(如由于损伤, 疾病状态, 退化状态或天然增长)时的存活。
15 在此使用的“可抑制”和“抑制”表示在杂环取代的吡唑啉酮化合物存在下, 规定材料的特定响应(如酶活性)相对降低。

20 在此使用的术语“trk”表示高亲合力神经营养蛋白(neurotrophin)受体, 目前包括 trkA, trkB 和 trkC, 和神经营养蛋白可以结合的其它膜相关蛋白质。

25 在此使用的术语“癌症”和“癌症的”是指哺乳动物中细胞的任何恶性增生。例子包括前列腺癌, 良性前列腺过度增生, 卵巢癌, 乳腺癌, 脑癌, 肺癌, 胰腺癌, 结肠直肠癌, 胃癌, 实体肿瘤, 头和颈癌, 成神经细胞瘤, 肾细胞癌, 淋巴癌, 白血病, 造血系统的其它可识别的恶性肿瘤, 和其它可识别的癌症。

30 在此使用的术语“神经元”、“神经元系细胞”和“神经元细胞”

包括,但不限于具有单个或多个递质和/或单个或多重功能的异种族神经元类型;优选,这些是胆碱能和感觉神经元。在此使用的术语“胆碱能神经元”表示中枢神经系统(CNS)和周围神经系统(PNS)的神经元,它们的神经递质是乙酰胆碱;实例是基底前脑、纹状体和脊柱索神经元。在此使用的术语“感觉神经元”包括响应于来自如皮肤、肌肉和关节的环境信号(如温度,移动)的神经元,实例是来自脊神经节

5 的神经元。在此使用的术语“营养因子响应细胞”是包括营养因子可以特异结合的受体的细胞;例子包括神经元(如胆碱能和感觉神经元)和非神经元细胞(如单核细胞和瘤细胞)。

在此使用的“治疗有效量”表示有效预防或治疗特定疾病的本发明化合物的量。这样的疾病包括,但不限于与在此描述的受体迷行活性有关的病理和神经性紊乱,其中治疗或预防包括通过将受体与通式 I 化合物接触,以抑制、诱导或增强其活性。

在此使用的术语“药用的”表示那些化合物、材料、组合物和/或剂

15 量形式,它们是在合理医疗判断范围之内,适于与人体和动物的组织接触,而没有过量的毒性、刺激、过敏反应,或没有与合理的益处/危险定量比相当的其它并存的问题。

在此使用的“药用盐”表示公开化合物的衍生物,其中通过制备成其酸或碱盐而改性该母化合物。药用盐的例子包括,但不限于碱性残基如胺的无机或有机酸盐;酸性残基如羧基的碱或有机盐等。药用盐包括母体化合物的常规非毒性盐或季铵盐,从例如非毒性无机或有机酸形成。例如,这样的常规非毒性盐包括衍生自如下无机酸的那些盐:如盐酸,氢溴酸,硫酸,氨基磺酸,磷酸,硝酸等;和从如下有机酸制备的盐:如乙酸,丙酸,琥珀酸,乙醇酸,硬脂酸,乳酸,苹果酸,酒石酸,柠檬酸,抗坏血酸, pamoic acid, 马来酸,羟基马来酸,苯

乙酸，谷氨酸，苯甲酸，水杨酸，磺胺酸，2-乙酰氧基苯甲酸，富马酸，甲苯磺酸，甲磺酸，乙烷二磺酸，草酸，羟乙磺酸等。

5 本发明的药用盐可以从包含碱性或酸性部分的母体化合物，通过常规的化学方法制备。一般情况下，这样的盐可以通过反应这些化合物的游离酸或碱形式在水或有机溶剂中，或在两者的混合物中与化学计量的合适碱或酸反应而制备。一般情况下，非水介质如醚，乙酸乙酯，乙醇，异丙醇或乙腈是优选的。合适盐的列举在如下文献中找到：Remington's Pharmaceutical Sciences, 17 版, Mack Publishing Company,
10 Easton, PA, 1985, p.1418, 它的公开内容在此引入作为参考。

在此使用的“药物前体”意在包括任何共价键合的载体，当在体内将这样的药物前体给予哺乳动物对象时，它们可释放出本发明通式(I)的母体药物或其它形式的化合物。由于已知药物前体可增强药物的许多所需品质(如溶解性，生物可利用性，制造等)，本发明的化合物可以药物前体的形式给予。因此，本发明包括要求保护化合物的药物前体，包含该物质的组合物，和施用该物质的方法。

20 本发明化合物，例如通式 I 的药物前体，可以通过以一定的方式改性化合物中存在的官能团来制备：上述改性产物可以通常的操作或在体内分解成母体化合物。因此，药物前体包括在把其中的羟基、氨基或羧基键合到任何基团的本发明化合物的药物前体施于哺乳动物时，它们可分别分解成游离羧基、游离氨基或羧酸。例子包括，但不限于醇和胺官能团的乙酸酯，甲酸酯和苯甲酸酯衍生物；和烷基，碳
25 环，芳基和烷芳基酯如甲基，乙基，丙基，异丙基，丁基，异丁基，仲丁基，叔丁基，环丙基，苯基，苄基和苯乙基的酯等。

合成

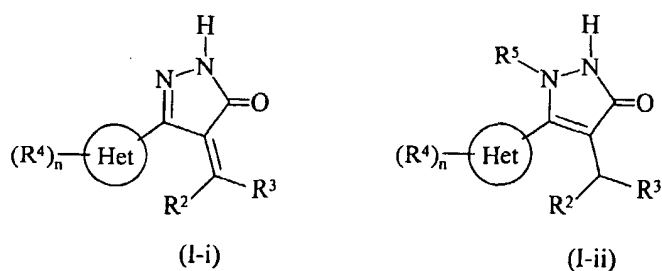
30 可以采用本领域技术人员公知的许多方式，制备本发明的化合物。例如，可以通过下述方法，或在其上被熟练技术人员理解的变化

后的方法合成该化合物。可以理解的是，与本发明有关公开的所有方法可以在任何规模上实施，包括在毫克，克，多克，千克，多千克或工业规模生产。

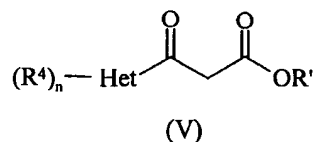
5 本发明的化合物可适当地包含一个或多个不对称取代的碳原子，
因此可以旋光活性或外消旋形式分离。因此，除非具体指出特定的立
体化学或异构体形式，指的是所有结构的手性、非对映体、外消旋和
所有几何异构体形式。在本领域公知的是如何制备和分离这样的旋光
形式。例如，立体异构体的混合物可以通过常规技术制备，常规技术
10 包括，但不限于外消旋形式的拆分，正相、反相和手性色谱，优选盐
的形成，再结晶等，或从手性原料通过手性合成或通过有目的的生成
目标手性中心。

如容易理解的那样，在合成期间，在通式 I 化合物上存在的官能度可包含保护基团。例如，可以采用保护基团，如苄氧基羰基或叔丁氧基羰基取代通式 I 化合物的氨基酸侧链取代基。保护基团自身是已知的化学官能团，它们可以选择性地连接到官能基上或从官能基除去，官能基如羟基和羧基。这些基团在化合物中存在，以使这样的官能基对于化合物要经历的化学反应条件是惰性的。任何种类的保护基团可以在本发明中采用。优选的保护基团包括包括苄氧基羰基(Cbz;Z)和叔丁氧基羰基(Boc)。其它保护基团可在 Greene, T.W.和 Wuts, P.G.M., 《有机合成中的保护基团》，第二版，Wiley & Sons, 1991。

例如，如在流程 1-6 中所示，可以制备通式(I-i)或(I-ii)的化合物：



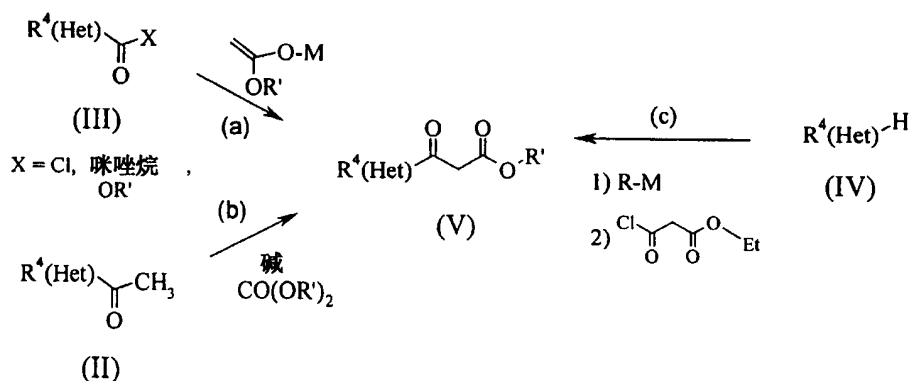
对于某些实施方案， β -酮酯(V)作为制备 I-i 到 I-ii 的关键中间体。



在某些实施方案中，本发明的化合物可包含杂环，它可进一步取代。可以通过本领域技术公知的各种方法，获得进一步取代的杂环化合物(包括另外的杂环)。例如，可用于 β -酮酯(V)合成的开始材料以及方法可在如下文献中找到：Thompson 和 Gaudino, J.Org.Chem.1984, 49, 5237-5243;和 Kamal M.R.等, Phosphorous, Sulfur, Silicon Relat. Elem. 1997, 126, 65-74; 它们的公开内容在此引入作为参考。

一般情况下，例如，可以通过在流程 1 中设定的方法制备通式(V)的化合物。

流程 1:



杂环甲基酯，酰卤或咪唑烷(imidazolidine) (III)，与烯醇酸酯反应，得到化合物(V)(流程 1a)。例如，相似的方法教导在如下文献中：Bunting, J.W.; Kanter, J.P., J.Am.Chem.Soc., 1993, 115, 11705-11715, 它的公开内容在此全文引入作为参考。通过进一步的指引，向杂环羧酸酯(III)(1 当量)在乙酸甲酯的溶液(0.5-1mL/mmol 酯)中，加入 NaH(在矿物油中 60%分散体，1.1 当量)，连续搅拌大约 0.5 小时。优选将反应

混合物在回流下搅拌约 2.5 小时, 冷却到室温, 倾入水中(1ml/mmol 酯), 和用合适的溶剂如乙醚萃取。用浓酸中和水相, 和采用极性溶剂如二氯甲烷重复萃取。优选在有机层结合, 和真空浓缩, 以提供粗制 β -酮酯(V), 它可用于吡唑啉酮生产而不要求进一步的精制。

5

或者, 可以使用碳酸二烷基酯, 通过杂环甲基酮的羧基-烷基化, 制备通式(V)的化合物(流程 1b)。例如, 以此方式制备的 β -酮酯的合成也描述在如下文献中: Krapcho, A.P.; Diamanti, J.; Cayen, C.; Bingham, R., *Org. Synth.*, 1973, 5, 198-201, 它的公开内容在此全文引入作为参考。通过进一步的指引, 在回流下, 向 NaH(2.9 当量)和碳酸二乙酯(2 当量)在干燥甲苯中的剧烈搅拌悬浮液(1.5mL/mmol 甲基酮)中, 滴加所需杂环甲基酮(II)(1 当量)在甲苯中的溶液。在加入之后, 可以在回流下搅拌混合物大约 0.5 小时。优选将混合物冷却到室温, 和采用合适的酸如冰乙酸酸化。在加入冷水之后, 可以用合适的溶剂如甲苯萃取混合物。在处理之后, 可以蒸发溶剂以提供粗 β -酮酯(V), 它可用于吡唑啉酮生产而不要求进一步的精制。

10

15

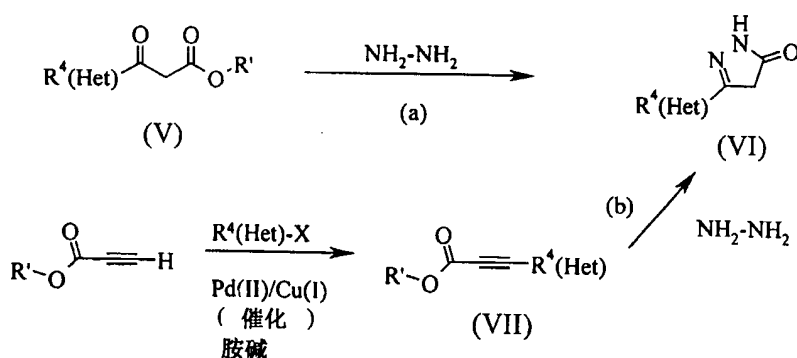
20

中间体(V)也可以从杂环化合物(IV), 按照金属化和与乙基丙炔氯的反应而获得(流程 1c)。此方法进一步描述在如下文献中: Morales-Rios 等, *杂环*, 1996, 43, 1483-96, 它的公开内容在此全文引入作为参考。

通过任何上述方法制备的 β -酮酯(V), 例如可以与各种肼衍生物反应(流程 2)。

25

流程 2:

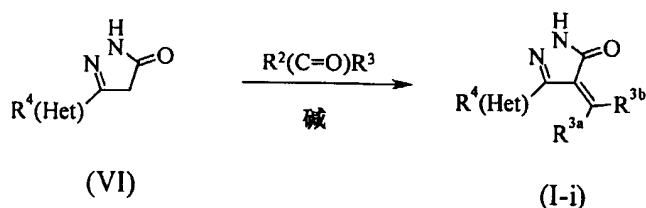


30

与肼的反应提供 4-未取代的吡唑啉酮(VI)(流程 2a)。通过进一步的指引, 向 β -酮酯(V)在绝对乙醇的混合物(3-5mL/mmol β -酮酯)中, 加入水合肼(5-10 倍过量), 并将混合物在回流下保持大约 3-5 小时。优选将混合物冷却到室温和蒸发溶剂。可以通过过滤(如果注意到固体分离)或闪蒸色谱, 使用合适的色谱溶剂体系如 EtOAc/甲醇, 分离吡唑啉酮。随后采用醚或乙酸乙酯研磨可有助于进一步的纯化。也可以通过杂环炔丙基酯(VII)与过量肼的反应, 获得 4-未取代吡唑啉酮(VI)(流程 2b)。

与合适取代的羰基化合物进行 Knoevenagel 缩合反应, 由吡唑啉酮(VI)提供所需的吡唑啉酮类似物(I-i)(流程 3)。

流程 3:

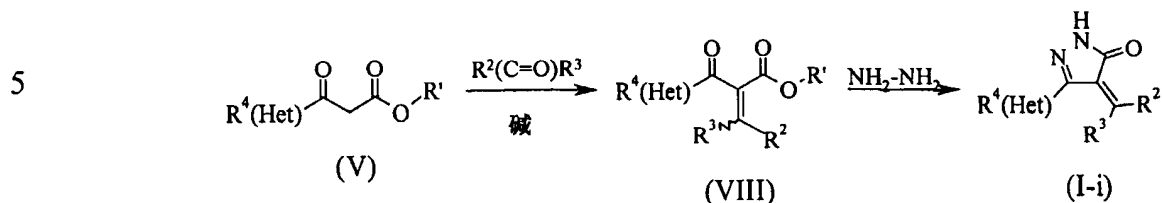


通过进一步的指引, 可以在 80-90℃下, 将合适的吡唑啉酮(1 当量)和所需醛(1.1 当量)在绝对乙醇的混合物(2.5-3mL/mmol 吡唑啉酮), 搅拌大约 1-5 小时。可以通过过滤和采用少量质子溶剂如乙醇洗涤, 以固体分离出产物(从热反应混合物或在冰浴中的随后冷却时)。固体的 NMR 优选指出是一种几何异构体。例如, 其它方法教导在如下教科书中: 《有机合成》, G.Jones, 由 R.Adams 编辑, John Wiley&Sons, INC., New York, 1967, pp204-599, 它的公开内容在此全文引入作为参考。

另外, 首先使 β -酮酯(V)与适当取代的羰基化合物缩合, 得到中

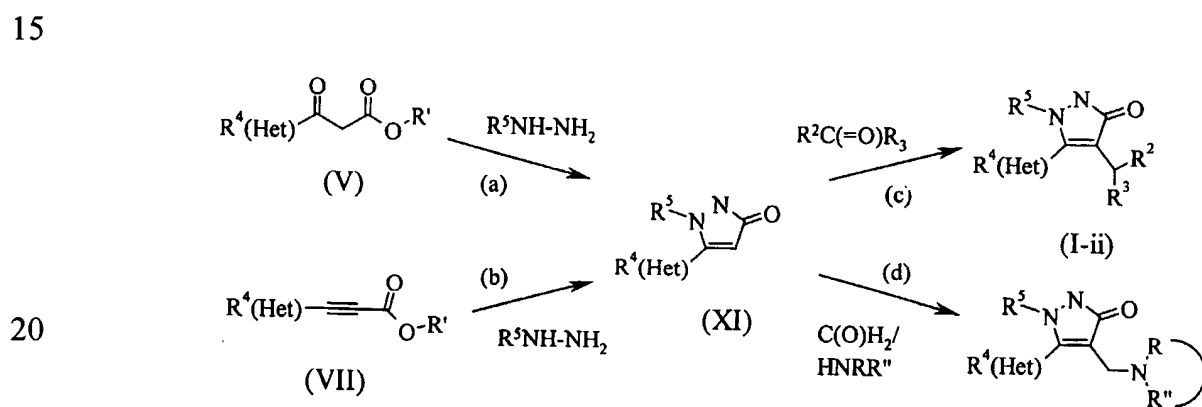
中间体(VIII)，随后将其转化为吡唑啉酮(I-i) (流程 4)。

流程 4:



可以通过单取代脒(或二取代脒, 如当 R^1 不是所需的氢)与 β -酮酯(V)或乙炔衍生物(VII)的反应, 获得带有 R^5 取代基的吡唑啉酮衍生物(分别为流程 5a 和 5b)。例如, 然后可以采用醛和仲胺引入在 4 位的取代基(流程 5c)。例如, 可以在亲核杂环存在下, 通过化合物(XI)与甲醛的反应, 制备化合物, 其中 R^2 是通过杂原子连接的杂环(流程 5d)。

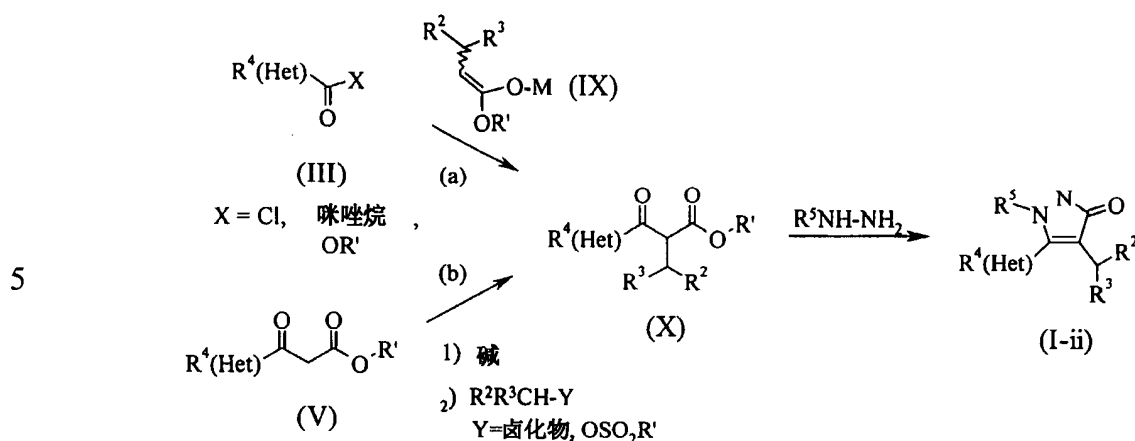
流程 5:



或者, 已经带有取代基 β -酮酯(X), 可以随后转化成吡唑啉酮类似物(I-ii)。可以通过杂环甲基酯、酰卤或咪唑化物(III), 与合适取代的烯醇酯反应, 制备化合物(X)(流程 6a)。或者, 可以通过将杂环 β -酮酯脱质子, 和将烯醇酯与合适取代的烷基卤化物、甲磺酸烷基酯或其它物质反应, 制备化合物(X)(流程 6b)。

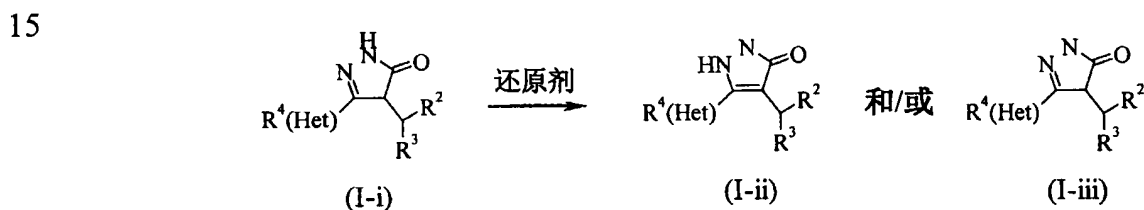
流程 6:

30



10 也可以从吡唑啉酮(I-i), 通过用合适还原剂, 如 NaBH_4 、 LiBH_4 等处理, 制备通式(I-ii)和/或(I-iii)的化合物(流程 7)。如由本领域技术人员所理解的那样, 可以在合适的条件下将通式(I-ii)或(I-iii)的化合物进一步反应, 以加入 R^5 基团, 其中 R^5 不是氢。

流程 7:



20 在如下实例性实施方案的描述中, 本发明的其它特征会是显然的。在此实施例用于说明的目的, 而不是限制本发明的范围。

实施例

某些缩写在此使用并定义如下: “EtOAc”表示乙酸乙酯, “MeOH”表示甲醇, “EtOH”表示乙醇, “DMSO- d_6 ”表示氘化二甲基亚砜, “rt”表示室温, “d”表示双重峰, “dd”表示双重的双重峰, “t”表示三重峰, “m”表示多重峰, “J”表示偶合常数, “br”表示宽峰, “eq”或“equiv”表示当量, “mg”表示毫克, “mL”表示毫升, “H”表示氢, “hr”或“h”表示小时, “mmol”表示毫摩尔, “min”或“m”表示分钟, “ ^1H -NMR”表示质子核磁共振(NMR)光谱, “Hz”表示赫兹, “HPLC”表示高效液相色谱, “Rt”为保留时间, “M”表示质量, “MS”表

30

示质谱，和“NMR”表示核磁共振谱。

实施例 1:

4-(吡啶-3-基亚甲基)-3-(1,3-噻唑-2-基)-2-吡啶-5-酮(化合物 25)

5 的制备

(a)3-(1,3-噻唑-2-基)-2-吡啶-5-酮(VIa)

在回流下，向剧烈搅拌的 NaH(在矿物油中 60%的悬浮液，904mg，
22.64 mmol，2.9 当量)和碳酸二乙酯(1.9mL，15.69mmol，1.99 当量)
在干燥甲苯(15mL)的悬浮液中，滴加(在 1h 的时间内)甲基酮(2-乙酰基
10 噻唑) (1g，7.87mmol)在甲苯(5mL)中的溶液。在加入之后，在回流
下将混合物搅拌 0.5h。将混合物冷却到室温和采用冰乙酸酸化。在加
入冷水之后，将混合物采用乙酸乙酯萃取 3 次。将结合的有机萃取物
采用水和盐水洗涤。在通过 MgSO₄ 干燥之后，蒸发溶剂以提供粗β-酮
酯。向粗产物中加入绝对乙醇(5mL)和水合肼(0.5mL)。在回流下将混
15 合物保持 3h。在真空下蒸发溶剂。通过闪蒸色谱(EtOAc:MeOH 95:5)
精制固体物质。将获得的固体在 EtOAc 中搅拌 15min.，过滤和干燥以
得到吡啶酮(VIa)(237mg，18%)。¹H-NMR (DMSO-d₆) δ 12.5 (br s, 1H), 11.00
(br s, 1H), 7.74 (s, 1H), 7.57(s, 1H), 5.7 (s, 1H), MS: 168 (M+H).

20

(b)化合物 25 的制备

在 80-90℃下，将吡啶酮(VIa)(50mg，0.30mmol)和吡啶-3-甲醛
(47mg，0.32mmol，1.08 当量)在绝对乙醇(1mL)中的混合物，以及 2-3
滴哌啶搅拌 4h。将固体过滤和采用乙醇洗涤，在真空下干燥，以单一
25 几何异构体提供 65mg(74%)的化合物 25。¹H-NMR (DMSO-d₆) δ 11.85 (s, 1H),
9.83 (s, 1H), 9.42 (s, 1H), 8.05 (d, J = 3.17 Hz, 1H), 7.80 (m, 2H), 7.58 (m, 1H), 7.30 (m, 3H).
MS: 295 (M+H). HPLC: R_t = 10.10 min.

30 实施例 2:

4-[(3,5-二甲基吡咯-2-基)亚甲基]-3-(1,3-噻唑-2-基)-2-吡唑啉-5-酮
(化合物 26)的制备

5 在 80-90℃下, 将吡唑啉酮(VIa)(50mg, 0.30mmol)和 3,5-二甲基-1H-吡咯-2-甲醛(40mg, 0.32mmol, 1.08 当量)在绝对乙醇(1mL)中的混合物, 以及 2-3 滴哌啶搅拌 4h。过滤以固体分离产物和采用乙醇洗涤。在干燥之后, 以单一几何异构体提供 65mg(74%)的化合物 26。

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ 14.39 (s, 1H), 12.01 (s, 1H), 8.70 (s, 1H), 7.95 (d, J = 3.17 Hz, 1H), 7.74 (d, J = 3.18 Hz, 1H), 6.26 (s, 1H), 2.36 (s, 3H), 2.27 (s, 3H). MS: 273 (M+H).

HPLC: R_t = 10.54 min.

10

实施例 3:

4-[(3,5-二甲基吡咯-2-基)亚甲基]-3-(2-呋喃基)-2-吡唑啉-5-酮(化合物 28)的制备

(a)3-(2-呋喃基)-2-吡唑啉-5-酮(VIb)

15 在回流下, 向剧烈搅拌的 NaH(在矿物油中 60%的悬浮液, 2.28g, 56.6 mmol, 2.9 当量)和碳酸二乙酯(4.7mL, 38.83mmol, 1.99 当量)在干燥甲苯(30mL)的悬浮液中, 滴加(在 1h 的时间内)甲基酮, 1-呋喃-2-基-乙酮(2.14g, 19.51mmol)在甲苯(5mL)中的溶液。在加入之后, 在回流下将混合物搅拌 0.5h。将混合物冷却到室温和采用冰乙酸酸化。在加入冷水之后, 将混合物采用乙酸乙酯萃取 3 次。将结合的有机萃取物采用水和盐水洗涤。在通过 MgSO₄ 干燥之后, 蒸发溶剂以提供粗β-酮酯, 3-呋喃-2-基-氧代-丙酸乙酯。向粗产物中加入绝对乙醇(10mL)和水合肼(1mL)。在回流下将混合物保持 3h。在真空下蒸发溶剂。通过闪蒸色谱(EtOAc)精制固体物质。将获得的固体在 EtOAc 中搅拌 15min., 过滤和干燥以得到吡唑啉酮(VIb)(1.23g, 42%)。 ¹H-NMR (DMSO-d₆) δ 12.1 (br s, 1H), 9.5 (br s, 1H), 7.64 (s, 1H), 6.63 (s, 1H), 6.51 (s, 1H), 5.64 (s, 1H). MS: 151 (M+H).

20

25

30

(b)化合物 28 的制备

在 80-90℃下, 将吡唑啉酮(VIb)(50mg, 0.30mmol)和 3,5-二甲基-1H-吡咯-2-甲醛(45mg, 0.36mmol, 1.09 当量)在绝对乙醇(1mL)中的混合物, 以及 2-3 滴哌啶搅拌 4h。冷却混合物(冰浴), 过滤以固体分离产物和采用乙醇洗涤。在干燥之后, 以单一几何异构体提供 58mg(69%)的化合物 28。

¹H- NMR (DMSO-d₆) δ 14.47 (s, 1H), 11.81 (s, 1H), 7.82 (s, 1H), 7.78 (s, 1H), 6.86 (d, J = 3.30 Hz, 1H), 6.61 (s, 1H), 6.22 (s, 1H), 2.35 (s, 3H), 2.27 (s, 3H). MS: 256 (M+H).
HPLC: R_t = 10.51m.

10 实施例 4:

3-(2-呋喃基)-4-(吲哚-3-基亚甲基)-2-吡唑啉-5-酮(化合物 29)的制备

在 80-90℃下, 将吡唑啉酮(VIb)(50mg, 0.30mmol)和吲哚-3-甲醛(53mg, 0.36mmol, 1.09 当量)在绝对乙醇(1mL)中的混合物, 以及 2-3 滴哌啶搅拌 4h。将混合物中冰浴中冷却, 并将产物过滤和采用乙醇洗涤。在干燥之后, 以单一几何异构体分离 36mg(40%)的化合物 29。

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ 12.55 (br s, 1H), 11.62 (s, 1H), 9.82 (s, 1H), 8.45 (s, 1H), 7.89 (m, 2H), 7.56 (m, 1H), 7.28 (m, 2H), 6.96 (m, 1H), 6.66 (m, 1H). MS: 278 (M+H). HPLC: R_t = 9.80m.

20

实施例 5:

4-[(3,5-二甲基吡咯-2-基)亚甲基]-3-(3-噻吩基)-2-吡唑啉-5-酮(化合物 37)的制备

25 (a)3-(3-噻吩基)-2-吡唑啉-5-酮(VIc)

在回流下, 向剧烈搅拌的 NaH(在矿物油中 60%的悬浮液, 830mg, 20.3 mmol, 2.85 当量)和碳酸二乙酯(1.7mL, 14.04mmol, 1.99 当量)在干燥甲苯(15mL)的悬浮液中, 滴加(在 1h 的时间内)甲基酮, 1-噻吩-3-基-乙酮(900mg, 7.14mmol)在甲苯(5mL)中的溶液。在加入之后, 在回流下将混合物搅拌 0.5h。将混合物冷却到室温和采用冰乙酸酸化。

30

在加入冷水之后，将混合物采用乙酸乙酯萃取 3 次。将结合的有机萃取物采用水和盐水洗涤。在通过 MgSO_4 干燥之后，蒸发溶剂以提供粗 β -酮酯，3-氧代-3-噻吩-3-基-丙酸乙酯。向粗产物中加入绝对乙醇(5mL)和水合肼(0.5mL)。在回流下将混合物保持 4h。在真空下蒸发溶剂。

5 通过闪蒸色谱 (EtOAc) 精制固体物质。以固体获得吡唑啉酮 (VIc)(940mg, 79%)。

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ 11.8 (br s, 1H), 9.7 (br s, 1H), 7.68 (d, $J = 1.98$ Hz, 1H), 7.55 (m, 1H), 7.38 (d, $J = 4.92$ Hz, 1H), 5.74 (s, 1H). MS: 167(M+H).

10 (b)化合物(37)的制备

在 80-90°C 下，将吡唑啉酮(VIc)(50mg, 0.30mmol)和 3,5-二甲基-1H-吡咯-2-甲醛(41mg, 0.33mmol, 1.11 当量)在绝对乙醇(1mL)中的混合物，以及 2-3 滴哌啶搅拌 3h。将以固体分离的产物过滤和采用乙醇洗涤。在干燥之后，以单一几何异构体提供 64mg(79%)的化合物 37。

15 $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ 14.44 (br s, 1H), 11.68 (s, 1H), 7.89 (d, $J = 1.60$ Hz, 1H), 7.64 (m, 1H), 7.46 (s, 1H), 7.38 (m, 1H), 6.18 (s, 1H), 2.34 (s, 3H), 2.23 (s, 3H). MS: 272 (M+H).
HPLC: $R_t = 10.75\text{m}$.

20 实施例 6:

4-(吲哚-3-基亚甲基)-3-(2-噻吩基)-2-吡唑啉-5-酮(化合物 38)的制备

在 80-90°C 下，将吡唑啉酮(VIc)(50mg, 0.30mmol)和吲哚-3-甲醛(47mg, 0.32mmol, 1.06 当量)在绝对乙醇(1mL)中的混合物，以及 2-3 滴哌啶搅拌 4h。将以固体分离的产物过滤和采用乙醇洗涤。在干燥之后，以单一几何异构体提供 65mg(74%)的化合物 38。

25 $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ 12.48 (br s, 1H), 11.48 (s, 1H), 9.81 (s, 1H), 8.13 (s, 1H), 8.00 (d, $J = 1.95$ Hz, 1H), 7.83 (m, 1H), 7.68 (m, 1H), 7.54 (m, 1H), 7.45 (d, $J = 5.02$ Hz, 1H), 7.24 (m, 2H). MS: 294 (M+H). HPLC: $R_t = 10.27\text{m}$.

实施例 7:

3-苯并[d]呋喃-2-基-4-[(3,5-二甲基吡咯-2-基)亚甲基]-2-吡啶啉-5-酮(化合物 57)的制备

5 (a) 3-苯并[d]呋喃-2-基-2-吡啶啉-5-酮(VId)的制备

在回流下, 向剧烈搅拌的 NaH(在矿物油中 60%的悬浮液, 2.6g, 65mmol, 3.32 当量)和碳酸二乙酯(4.7mL, 38.83mmol, 1.99 当量)在干燥甲苯(30mL)的悬浮液中, 滴加(在 1h 的时间内)甲基酮, 1-苯并呋喃-2-基-乙酮(1g, 7.87mmol)在甲苯(5mL)中的溶液。在加入之后, 在回流下将混合物搅拌 0.5h。将混合物冷却到室温和采用冰乙酸酸化。在加入冷水之后, 将混合物采用乙酸乙酯萃取 3 次。将结合的有机萃取物采用水和盐水洗涤。在通过 MgSO₄干燥之后, 蒸发溶剂以提供粗 β-酮酯, 3-苯并呋喃-2-基-氧代-丙酸乙酯。向粗产物中加入绝对乙醇(10mL)和水合肼(1.5mL, 过量)。在回流下将混合物保持 4h。在真空下蒸发溶剂。分离固体, 将固体过滤和采用 EtOH 洗涤。在干燥之后, 得到 1.87g(42%)的吡啶啉酮(VId)。¹H-NMR (DMSO-d₆) δ 12.5 (br s, 1H), 10.1 (br s, 1H), 7.62-7.18 (系列多重峰, 4H), 7.10 (s, 1H), 5.87 (s, 1H). MS: 201(M+H)

20 (b)化合物 57 的制备

在 80-90℃下, 将吡啶啉酮(VId)(75mg, 0.375mmol)和 3,5-二甲基-1H-吡咯-2-甲醛(50mg, 0.40mmol, 1.07 当量)在绝对乙醇(1mL)中的混合物, 以及 2-3 滴哌啶搅拌 4h。将以固体分离的产物过滤和(采用乙醇)洗涤。在干燥之后, 以单一几何异构体提供 105mg(92%)的化合物 57。¹H-NMR (DMSO-d₆) δ 14.5 (br s, 1H), 12.04 (br s, 1H), 7.93 (s, 1H), 7.67 (m, 2H), 7.36-7.24 (重叠 m & s, 3H), 6.26 (s, 1H), 2.37 (s, 3H), 2.33 (s, 3H). MS: 306 (M+H). HPLC: R_t = 13.46m.

30 实施例 8:

4-[(3,5-二甲基吡咯-2-基)亚甲基)-3-吡嗪-2-基-2-吡唑啉-5-酮(化合物 37)的制备

(a) 3-吡嗪-2-基-2-吡唑啉-5-酮(VIe)

在回流下，向剧烈搅拌吡嗪-2-羧酸甲酯(2.51g, 18.18mmol)在乙酸甲酯(10mL)的溶液中，加入 NaH(在矿物油中 60%的悬浮液, 815mg, 20.37 mmol, 1.12 当量)，连续搅拌 0.5h。在回流下将混合物搅拌 2.5h。将反应混合物冷却到室温和倾入水中。将混合物采用乙醚萃取(2 次)。将水层采用浓 HCl 中和，采用盐饱和，和采用二氯甲烷重复萃取。在处理

10 和溶剂蒸发之后，将获得的粗 β -酮酯直接用于吡唑啉酮的形成，而不进行进一步的精制。向粗产物中加入绝对乙醇(40mL)和水合肼(3mL, 过量)。在回流下将混合物保持 4h。分离固体，将固体过滤和采用 MeOH 洗涤。在干燥之后，得到 1.57g(52%)的吡唑啉酮(VIe)。

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ 9.00 (s, 1H), 8.50 (s, 1H), 8.41 (d, J = 2.37 Hz, 1 H), 5.84 (s, 与水和

15 其他可变质子结合), 1H). MS: 163(M+H).

(b)化合物 74 的制备

在 80-90°C 下，将吡唑啉酮(VIe)(50mg, 0.30mmol)和 3,5-二甲基-1H-吡咯-2-甲醛(42mg, 0.34mmol, 1.13 当量)在绝对乙醇(1mL)中的混合物，以及 2-3 滴哌啶搅拌 4h。将以固体从热反应混合物过滤，和采用热乙醇洗涤。在干燥之后，以单一几何异构体提供 40mg(50%)的化合物(74)。

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ 14.5 (br s, 1H), 12.10 (s, 1H), 9.14 (d, J = 0.82 Hz, 1H), 8.71 (s, 1H), 7.67 (d, J = 1.81 Hz, 1H), 8.58 (d, J = 2.47 Hz, 1H), 6.24 (s, 1H), 2.36 (s, 3H), 2.25 (s, 3H). MS: 268 (M+H). HPLC: R_t = 9.89 m.

实施例 9:

4-[(3,5-二甲基吡咯-2-基)亚甲基)-3-吡啶-3-基-2-吡唑啉-5-酮(化合物 76)的制备

(a)1-(2,2-二甲基乙氧基羰基)-吡啶-3-羧酸甲酯的制备

将 1H-吡啶-3-羧酸甲酯(8.95g, 50mmoles)和二碳酸二叔丁酯(11.5g, 52mmoles)溶于乙腈(100mL), 加入固体 4-二甲基氨基吡啶(0.610g, 5mmol), 和将反应混合物在室温下搅拌过夜。在真空下浓缩反应混合物, 和将残余物溶于乙酸乙酯(300mL), 随后依次采用饱和盐水, 冰冷(~5℃)1N HCl 溶液和饱和盐水溶液洗涤。将有机层通过无水硫酸钠干燥, 过滤和在真空下浓缩得到透明液体(13.9g)。

(b)3-吡啶-3-基-3-氧代丙酸乙酯(Va)的制备

在干冰-丙酮浴中, 在氩气气氛下, 冷却二异丙胺(13mL, 100mmol)和四亚甲基二胺(15mL, 100mmol)在 THF(150mL)中的溶液。在 30 分钟内, 加入正丁基锂己烷(40mL, 100mmol)的 2.5N 溶液, 和加入 EtOAc(10mL, 108mmol), 和将溶液再搅拌 30 分钟。快速加入 N-BOC 吡啶-3-羧酸甲酯(IIIa) (6.875g, 25mmol)在 THF(50mL)中的溶液, 和将反应混合物在-78℃下搅拌 1h, 和然后在-15℃下再搅拌 1h。允许反应混合物升温到 15℃, 和采用冰乙酸(10mL)使反应停止。加入乙酸乙酯(250mL), 和随后将有机层依次用 1N 柠檬酸溶液(2x150mL), 饱和盐水(2x100mL)洗涤, 过滤和在真空下干燥。采用闪蒸色谱通过硅胶精制粗产物, 使用 1:1 的乙酸乙酯和己烷作为洗脱剂, 以提供所需的产物(Va) (1.2g)和它的 N-BOC 衍生物(Vb)(1.2g), 结合收率为 30%。

(c) 3-吡啶-3-基-2-吡啶-5-酮的制备

将化合物(Va)(600mg, 3mmol)加入到绝对乙醇(7mL)和水合肼(1mL)的混合物中。在回流下将混合物保持 4h。蒸发溶剂和将残余物在乙酸乙酯(20mL)中溶解, 依次采用水和盐水洗涤。将乙酸乙酯层通过 MgSO₄ 干燥, 以得到暗棕色固体, 它显示有两种主要斑点。在乙醇中搅拌固体和过滤固体。蒸发溶剂以得到粘稠胶体化合物(VIf)(126mg, 35%)。

(d)化合物 76 的制备

在 85℃下，将在绝对乙醇(1.3mL)中的化合物 (VI f) (60mg, 0.3 mmol)、3,5-二甲基-1H-吡咯-2-甲醛(41mg, 0.33mmol, 1.11 当量)，以及 2-3 滴哌啶的混合物搅拌 3h。过滤分离固体产物，采用乙醇洗涤和在真空下干燥(58mg, 63%)。

5

实施例 10:

4-[(3,5-二甲基吡咯-2-基)甲基]-3-吡啶-3-基-2-吡唑啉-5-酮(化合物 77)的制备

10 将化合物 76(38mg, 0.12mmol)在二甲亚砜和甲醇(1:1, 1.5mL)的溶剂混合物中的溶液分批加入硼氢化钠(45mg, 1.2mmol)中。在 15min 之后，采用乙酸和水(10mL)使反应停止。采用乙酸乙酯萃取混合物，和采用水和盐水洗涤有机层。将溶剂通过 MgSO_4 干燥和蒸发，以得到红棕色残余物，它在加入醚时沉淀为淡棕色固体，得到化合物 77，(27mg, 71%)。

15

实施例 11:

4-[(2,6-二氟苯基)(5-氧代-3-吡嗪-2-基(2-吡唑啉-4-基)甲基]-3-吡嗪-2-基-2-吡唑啉-5-酮(化合物 78)的制备

20 在 85-90℃下，将吡唑啉酮(VI e)(30mg, 0.18mmol)和 2,6-二氟苯甲醛(37mg, 0.26mmol)在绝对乙醇(1mL)中的混合物，以及 2-3 滴哌啶搅拌 21.5hrs。在干燥之后，分离 68mg 的化合物 78。

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ 11.5 (br s, 2H), 8.85 (s, 2H), 8.3 (d, $J = 2.16$ Hz, 2H), 8.07 (s, 2H), 7.06 (s, 1H), 6.96 (m, 1H), 6.66 (m, 2H), 4.4 (br s, 2H), MS: 471 (M+Na).
HPLC: $R_t = 6.18$ m.

25

实施例 1-21 的化合物，以及通过与上述实施例和合成流程的教导相一致的方法制备的其它化合物，见表 1 和表 1a。这些化合物用以说明本发明，而不是用于限制其范围。

30

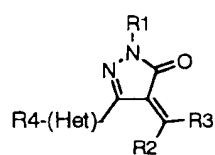
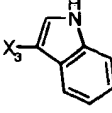
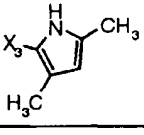
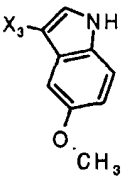
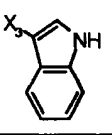
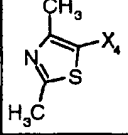
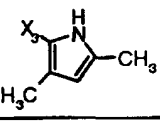
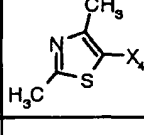
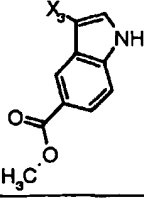
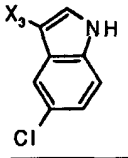
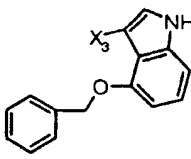
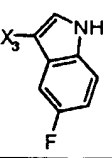
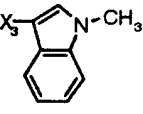
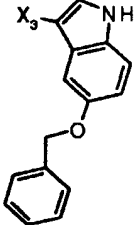
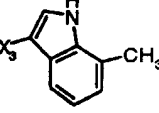
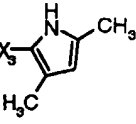
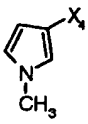
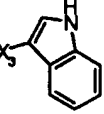
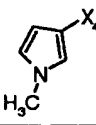
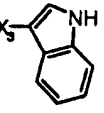
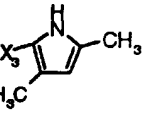


表 1.

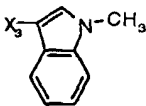
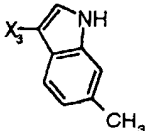
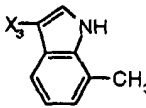
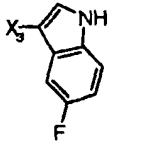
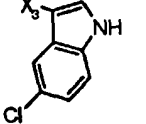
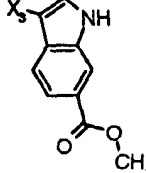
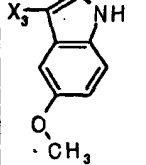
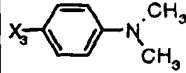
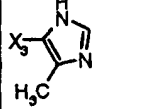
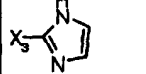
化合物编号	R1	R3	R4-(Het)
1	-H		
2	-H		
3	-H		
4	-H		
5	-H		
6	-H		
7	-H		
8	-H		

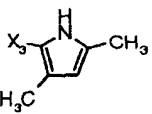
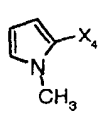
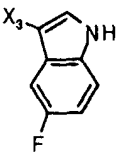
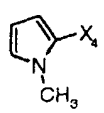
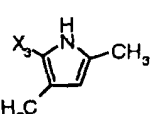
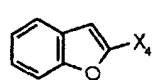
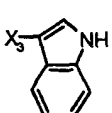
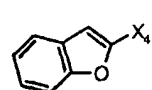
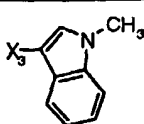
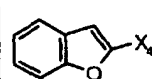
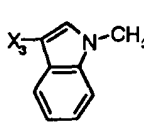
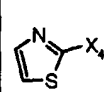
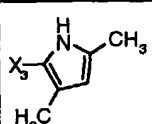
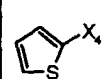
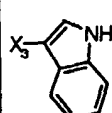
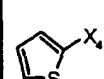
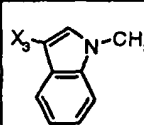
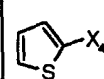
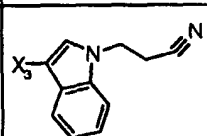
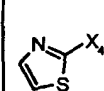
化合物编号	R1	R3	R4-(Het)
9	-H		
10	-H		
11	-H		
12	-H		
13	-H		
14	-H		
15	-H		
16	-H		
17	-H		

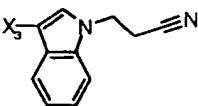
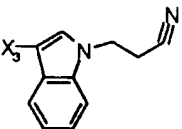
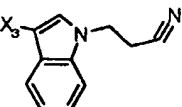
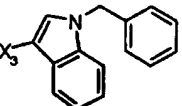
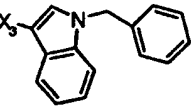
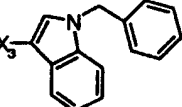
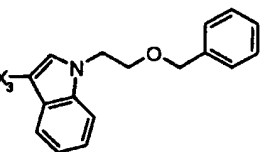
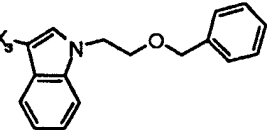
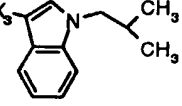
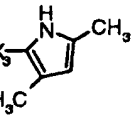
化合物编号	R1	R3	R4-(Het)
18	-H		
19	-H		
20	-H		
21	-H		
22	-H		
23	-H		
24	-H		
25	-H		
26	-H		

化合物编号	R1	R3	R4-(Het)
27	-H		
28	-H		
29	-H		
30	-H		
31	-H		
32	-H		
33	-H		
34	-H		
35	-H		

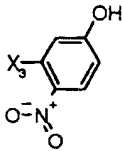
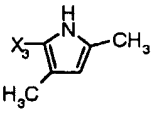
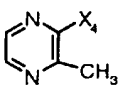
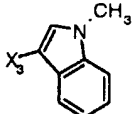
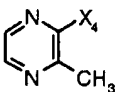
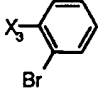
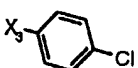
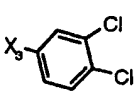
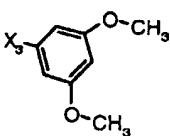
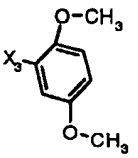
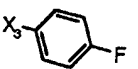
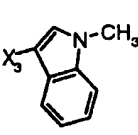
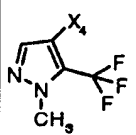
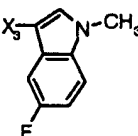
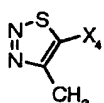
化合物编号	R1	R3	R4-(Het)
36	-H		
37	-H		
38	-H		
39	-H		
40	-H		
41	-H		
42	-H		
43	-H		
44	-H		

化合物编号	R1	R3	R4-(Het)
45	-H		
46	-H		
47	-H		
48	-H		
49	-H		
50	-H		
51	-H		
52	-H		
53	-H		
54	-H		

化合物编号	R1	R3	R4-(Het)
55	-H		
56	-H		
57	-H		
58	-H		
59	-H		
60	-H		
61	-H		
62	-H		
63	-H		
64	-H		

化合物编号	R1	R3	R4-(Het)
65	-H		
66	-H		
67	-H		
68	-H		
69	-H		
70	-H		
71	-H		
72	-H		
73	-H		
74	-H		

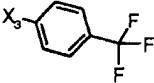
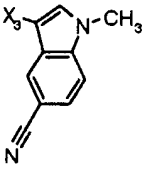
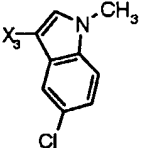
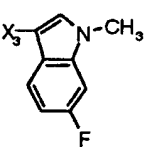
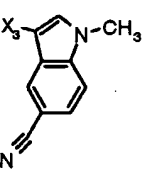
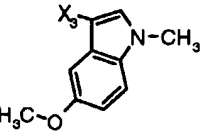
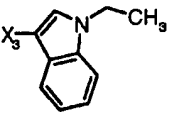
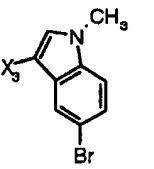
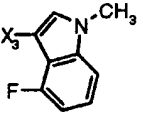
化合物编号	R1	R3	R4-(Het)
75	-H		
76	-H		
79	-H		
80	-H		
81	-H		
82	-H		
83	-H		
84	-H		
85	-H		
86	-H		

化合物编号	R1	R3	R4-(Het)
87	-H		
88	-H		
89	-H		
90	-H		
91	-H		
92	-H		
93	-H		
94	-H		
95	-H		
96	-H		
97	-H		

化合物编号	R1	R3	R4-(Het)
98	-H		
99	-H		
100	-H		
101	-H		
102	-H		
103	-H		
104	-H		
105	-H		
106	-H		
107	-H		

化合物编号	R1	R3	R4-(Het)
108	-H		
109	-H		
110	-H		
111	-H		
112	-H		
113	-H		
114	-H		
115	-H		

化合物编号	R1	R3	R4-(Het)
116	-H		
117	-H		
118	-H		
119	-H		
120	-H		
121	-H		
122	-H		
123	-H		
124 ^(a)			
125	-H		

化合物编号	R1	R3	R4-(Het)
126	-H		
127	-H		
128	-H		
129	-H		
130	-H		
131	-H		
132	-H		
133	-H		
134	-H		

化合物编号	R1	R3	R4-(Het)
135	-H		
136	-H		
137	-H		
138	-H		
139	-H		
140	-H		
141	-H		
142	-H		
143	-H		

化合物编号	R1	R3	R4-(Het)
144	-H		
145	-H		
146	-H		
147	-H		
148	-H		
149	-H		
150	-H		
151	-H		
152	-H		

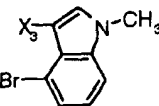
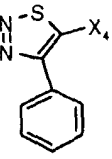
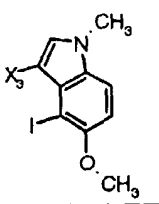
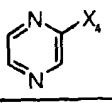
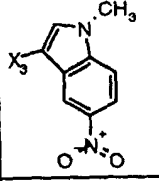
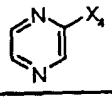
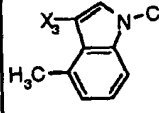
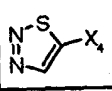
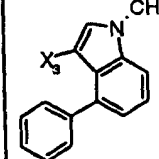
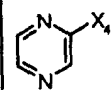
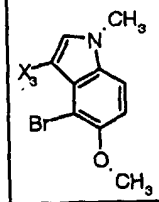
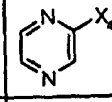
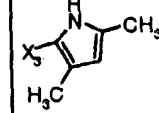
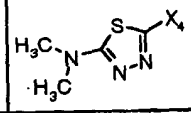
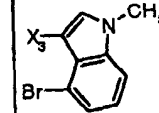
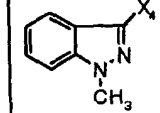
化合物编号	R1	R3	R4-(Het)
153	-H		
154	-H		
155	-H		
156	-H		
157	-H		
158	-H		
159	-H		
160	-H		
161	-H		

化合物编号	R1	R3	R4-(Het)
162	-H		
163	-H		
164	-H		
165	-H		
166	-H		
167	-H		
168	-H		
169	-H		

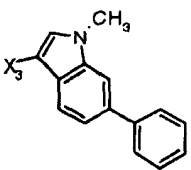
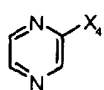
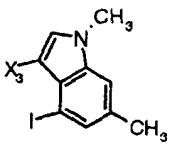
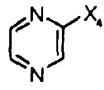
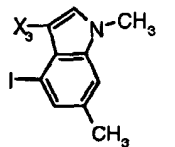
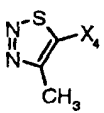
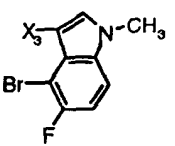
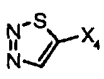
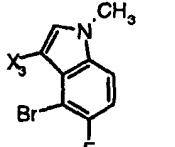
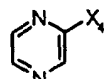
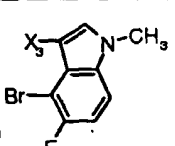
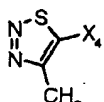
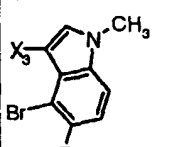
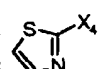
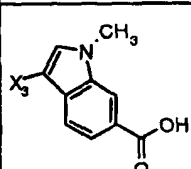
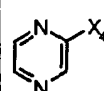
化合物编号	R1	R3	R4-(Het)
170	-H		
171	-H		
172	-H		
173	-H		
174	-H		
175	-H		
176	-H		
177	-H		
178	-H		
179	-H		

化合物编号	R1	R3	R4-(Het)
180	-H		
181	-H		
182	-H		
183	-H		
184			
185			
186	-H		
187	-H		
188	-H		

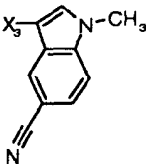
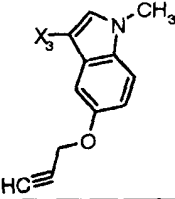
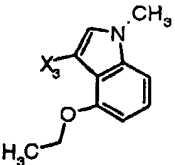
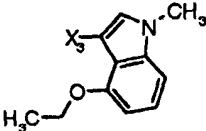
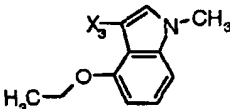
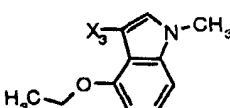
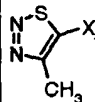
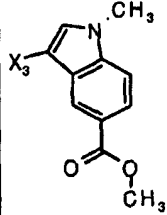
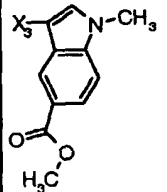
化合物编号	R1	R3	R4-(Het)
189	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{X}_1 \end{array}$		
190	-H		
191	-H		
192	-H		
193	-H		
194	-H		
195	-H		
196	-H		
197	-H		

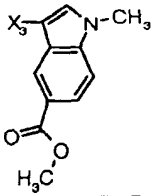
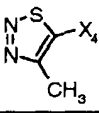
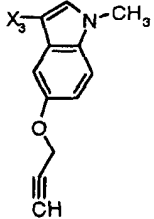
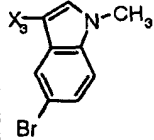
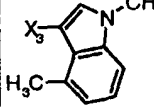
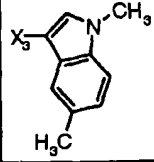
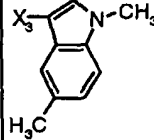
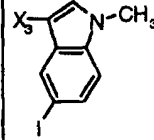
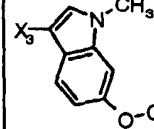
化合物编号	R1	R3	R4-(Het)
198	-H		
199	-H		
200	-H		
201	-H		
202	-H		
203	-H		
204	-H		
205	-H		

化合物编号	R1	R3	R4-(Het)
206	-H		
207	-H		
208	-H		
209	-H		
210	-H		
211	-H		
212	-H		
213	-H		
214	-H		

化合物编号	R1	R3	R4-(Het)
215	-H		
216	-H		
217	-H		
218	-H		
219	-H		
220	-H		
221	-H		
222	-H		

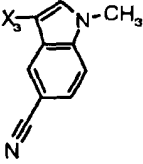
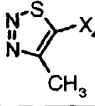
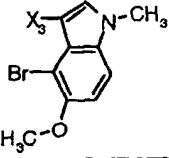
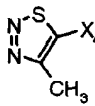
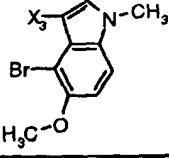
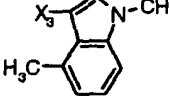
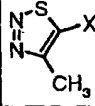
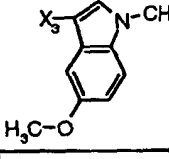
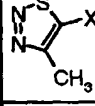
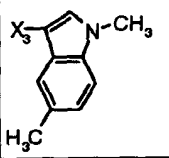
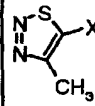
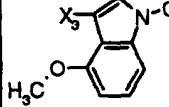
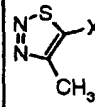
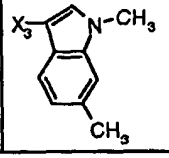
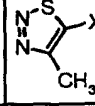
化合物编号	R1	R3	R4-(Het)
223	-H		
224	-H		
225	-H		
226	-H		
227	-H		
228	-H		
229	-H		
230	-H		

化合物编号	R1	R3	R4-(Het)
231	-H		
232	-H		
233	-H		
234	-H		
235	-H		
236	-H		
237	-H		
238	-H		

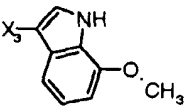
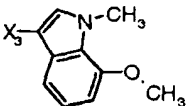
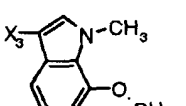
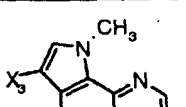
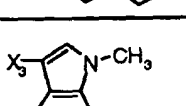
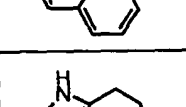
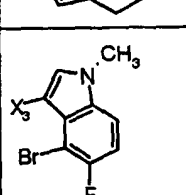
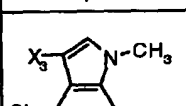
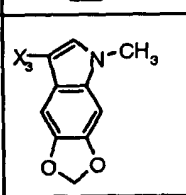
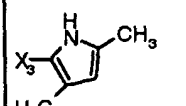
化合物编号	R1	R3	R4-(Het)
239	-H		
240	-H		
241	-H		
242	-H		
243	-H		
244	-H		
245	-H		
246	-H		

化合物编号	R1	R3	R4-(Het)
247	-H		
248	-H		
249	-H		
250	-H		
251	-H		
252	-H		
253	-H		
254	-H		

化合物编号	R1	R3	R4-(Het)
255	-H		
256	-H		
257	-H		
258	-H		
259	-H		
260	-H		
261	-H		
262	-H		

化合物编号	R1	R3	R4-(Het)
263	-H		
264	-H		
265	-H		
266	-H		
267	-H		
268	-H		
269	-H		
270	-H		

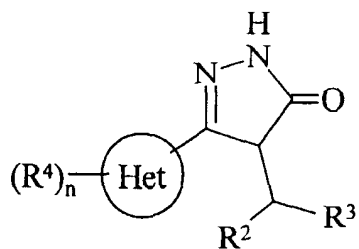
化合物编号	R1	R3	R4-(Het)
271	-H		
272	-H		
273	-H		
274	-H		
275	-H		
276	-H		
277	-H		
278	-H		
279	-H		
280	-H		

化合物编号	R1	R3	R4-(Het)
281	-H		
282	-H		
283	-H		
284	-H		
285	-H		
286	-H		
287	-H		
288	-H		
289	-H		
290	-H		

化合物编号	R1	R3	R4-(Het)
291	-H		
292	-H		
293	-H		
294	-H		
295	-H		
296	-H		
297	-H		

^(a)R₂ 和 R₃ 一起表示所示基团, 即 R₂ 和 R₃=[-CH₂CH₂-N(CH₃)-CH₂CH₂-]

表 1a



化合物编号	R1	R2	R3	R4-(Het)
77	-H	-H		
78	-H			

在表 1 和表 1a 中, 符号 X^1 , X^2 , X^3 , X^4 分别表示取代基 R^1 , R^2 , R^3 和 R^4 的连接点。

使用质谱(MS)和高效液相色谱(HPLC)鉴定表 1 和表 1a 中的化合物。结果见表 2。

表 2

化合物编号	分子量 计算值	分子量 实测值	HPLC 保留 时间 (分)	HPLC - 柱和梯度 洗脱条件
1	255	256	10.84	A
2	369	370	14.94	A
3	266	267	5.98	A
4	340	341	13.67	B
5	403	404	14.60	B
6	493	494	13.94	B
7	485	487	12.89	B
8	399	401	13.01	B
9	277	279	9.57	B
10	266	267	6.21	A
11	307	309	8.77	B
12	227	229	9.80	A
13	322	323	9.00	A
14	300	301	9.05	A
15	228	229	4.70	A
16	335	336	10.82	A
17	312	312	11.75	A
18	383	384	13.24	A
19	295	297	10.96	A
20	291	292	11.81	A
21	383	384	12.03	A
22	291	292	11.27	A
23	268	269	7.88	B
24	290	291	8.72	B

25	294	295	10.10	B
26	272	273	10.54	B
27	283	284	10.52	B
28	255	256	10.51	B
29	277	278	9.82	B
30	266	267	5.47	B
31	396	397	11.82	A
32	308	-	10.64	A
33	304	-	10.35	A
34	304	-	10.38	A
35	325	325	11.17	A
36	283	284	11.27	B
37	271	272	10.76	B
38	293	294	10.27	B
39	321	322	12.82	B
40	348	349	16.00	B
41	380	381	15.54	B
42	402	402	12.78	B
43	383	384	13.35	A
44	383	384	13.38	A
45	291	292	12.13	A
46	291	292	10.64	B
47	291	292	11.54	A
48	295	296	11.18	A
49	312	312	12.00	A
50	335	336	11.09	A
51	307	308	9.71	B
52	281	282	5.09	B
53	242	243	4.33	B
54	228	229	3.82	B
55	268	269	10.46	B

56	308	309	8.31	B
57	305	306	13.46	B
58	327	328	12.15	B
59	341	342	13.69	B
60	308	309	11.25	B
61	271	272	11.00	B
62	293	294	10.37	B
63	307	308	11.57	B
64	347	348	10.39	B
65	330	331	10.80	A
66	346	347	11.55	A
67	330	331	8.80	A
68	367	368	14.02	A
69	367	368	14.29	A
70	384	385	14.42	A
71	411	412	14.29	A
72	429	430	13.63	B
73	350	351	13.48	B
74	267	268	9.89	B
75	383	384	10.40	B
76	304	305	10.66	B
79	424	423, 425	4.92	B
80	317	318	13.95	B
81	353	354	10.77, 13.9	B
82	287	288	9.70	B
83	323	324	10.40	B
84	283	284	9.65	B
85	319	320	10.64	B
86	326	327	11.72	B
87	316	315	8.53	A
88	281	282	8.41	B

89	317	318	9.20	B
90	334	334, 336	10.36	A
91	273	273, 275	8.73	B
92	307	307, 309	9.36	B
93	298	299	7.91	B
94	298	299	7.73	B
95	256	257	8.02	B
96	373	374	10.2, 11.44	A
97	341	342	11.79	A
98	254	255	6.59	B
99	299	300	6.32	B
100	299	300	7.11	B
101	318	319	9.08	B
102	281	282	10.70	B
103	317	318	11.13	B
104	358	358, 360	11.53	B
105	343	343, 345	12.62	B
106	309	310	11.47	B
107	326	326	12.33	B
108	309	310	8.55	B
109	325	326	11.87	B
110	342	342, 344	12.74	B
111	325	326	11.90	B
112	342	342, 344	12.76	B
113	326	327	10.36	B
114	341	342	9.40	B
115	366	367	10.74	B
116	381	382	9.18	B
117	398	399	12.03	B
118	435	435	15.99	B
119	303	304	9.62	B

120	321	322	10.16	B
121	361	362	10.12	B
122	266	267	8.11	B
123	284	285	7.66	B
124	245	246	2.49	B
125	244	245	7.54	B
126	306	307	9.27	B
127	328	329	10.03	B
128	338	338, 340	11.81	B
129	321	322	10.97	B
130	333	334	10.97,13.14	B
131	333	334	10.35	B
132	322	323	12.01	B
133	382	382, 384	12.21	B
134	321	322	10.80	B
135	254	255	3.90	B
136	316	317	8.65	B
137	326	327	11.51	B
138	317	318	11.34	B
139	347	348	10.49	B
140	333	334	10.44	B
141	338	338, 340	11.59	B
142	338	339	11.26	B
143	343	343,345	12.21	B
144	352	353	11.25	B
145	317	318	11.50	B
146	317	318	11.61	B
147	363	364	9.29	B
148	352	352, 354	12.66	B
149	364	364, 366	13.00	B
150	317	318	11.44	B

151	304	305	8.70	B
152	371	372	12.72	B
153	275	276	11.50	A
154	275	276	11.52	A
155	357	358	11.04	B
156	333	334	10.67	B
157	338	338, 340	12.16	B
158	382	382, 384	12.47	B
159	382	382, 384	11.72	B
160	429	430	12.68	B
161	409	410	12.94	B
162	339	340	11.44	B
163	343	343, 345	13.14	B
164	344	345	12.17	B
165	409	410	15.11	B
166	414	415	15.41	B
167	331	332	11.27	B
168	352	352, 354	11.66	B
169	396	396, 398	11.57	B
170	378	379	11.83	B
171	303	304	10.60	B
172	402	402, 404	12.18	B
173	341	342	11.48	B
174	309	310	9.76	B
175	344	342, 344	10.21	B
176	345	345, 347	12.39	A
177	387	387, 389	13.21	A
178	295	296	10.20	A
179	369	-	11.52	A
180	349	350	10.84	A
181	383	384	11.05, 7.82	B

182	398	399	10.57	B
183	327	328	10.52	B
184	281	282	11.47	C
185	317	318	12.06	C
186	344	344, 346	11.45	B
187	358	358, 359	12.31	A
188	374	374, 376	11.54	A
189	352	352, 354	13.58	C
190	352	353	9.43	C
191	370	371	9.83	C
192	391	392	11.73	B
193	388	388, 390	11.53	B
194	345	346	11.02	B
195	344	344, 346	11.35	B
196	323	324	11.17	B
197	431	431, 433	9.44	C
198	464	464, 466	13.17	B
199	459	460	11.72	B
200	348	349	10.85	B
201	323	324	10.94	B
202	379	380	12.13	B
203	412	412, 414	11.62	B
204	316	317	8.79	B
205	434	434, 436	14.97	C
206	373	374	14.37	C
207	355	356	13.84	C
208	319	320	13.41	C
209	353	354	10.14	B
210	348	349	9.98	B
211	361	-	9.40	B
212	464	-	13.28	B

213	467	468	12.74	A
214	447	448	12.94	B
215	379	380	14.79	A
216	443	444	12.84	C
217	463	464	14.22	C
218	406	406, 408	11.95	C
219	400	400, 402	11.53	C
220	420	420, 422	12.18	C
221	405	405, 407	13.24	C
222	347	348	8.43	C
223	448	-	12.37, 14.41	C
224	449	-	13.47	C
225	401	401, 403	14.27	C
226	402	402, 404	13.35	C
227	416	416, 418	13.54	C
228	396	396, 398	12.80	C
229	333	334	10.90	B
230	317	318	8.02	B
231	334	335	9.89	B
232	362	363	11.64	B
233	347	348	11.28	B
234	352	353	12.49	B
235	353	354	11.72	B
236	367	368	11.60	B
237	361	362	10.49	B
238	367	368	10.12	B
239	381	382	10.28	B
240	363	364	10.94	B
241	388	388, 390	11.85	B
242	322	323	12.83	B
243	322	323	12.75	C

244	323	324	11.11	B
245	435	436	11.95	B
246	338	339	11.39	B
247	367	368	10.82	B
248	339	340	11.12	C
249	344	344, 346	12.02	C
250	327	328	10.97	C
251	347	348	8.00	C
252	339	340	10.50	C
253	353	354	12.00	C
254	322	323	12.68	C
255	352	353	9.21	C
256	322	323	12.89	C
257	329	329, 331	12.31	C
258	352	353	10.64	C
259	338	339	11.45	C
260	338	339	11.20	C
261	353	354	10.51	C
262	367	368	10.45	C
263	348	349	10.22	C
264	432	432, 434	-	-
265	418	418, 420	11.45	C
266	337	338	11.16	C
267	353	354	10.49	C
268	337	338	11.39	C
269	353	354	11.12	C
270	337	338	11.72	C
271	363	364	11.19	C
272	383	384	12.54	C
273	369	370	12.49	C
274	368	369	12.61	C

5	275	293	294	11.38	C
	276	298	299	12.86	C
	277	313	314	11.68	C
	278	464	465	12.09	B
	279	417	417, 419	11.86	B
10	280	387	387, 389	13.08	B
	281	324	325	11.10	C
	282	338	339	12.41	B
	283	353	354	11.42	B
	284	359	360	13.73	C
15	285	374	375	12.38	C
	286	299	300	11.20	C
	287	388	388	12.80	C
	288	338	338, 340	9.71	C
	289	347	348	8.42	C
20	290	267	268	7.78	C
	291	390	390	14.95	C
	292	380	381	13.67	C
	293	347	348	9.70	C
	294	399	400	13.68	C
25	295	397	398	7.81	C
	296	222	223	5.01	A
	297	310	311	11.19	A

方法 A-Zorbax C8, 10%AcCN 90%H₂O; 100%AcCN, 在 20min 内, 流速 1.6mL/min, 柱为 HP1100。

方法 B-Zorbax C8, 10%AcCN 90%H₂O; 100%AcCN 在 20min 内, 流速 1.6mL/min, 柱为 HP1050。

方法 C-Zorbax C8, 10%AcCN 90%H₂O; 100%AcCN 在 20min 内, 流速 1.6mL/min, 柱为 HP1090。

实施例 12:

4-[(1-甲基吲哚-3-基)亚甲基]-3-(4-(2-萘基)(1,3-噻唑-2-基))-2-吡唑啉-5-酮(化合物 118)的制备

5 (a) 3-(4-(2-萘基)-1,3-噻唑-2-基)-2-吡唑啉-5-酮(VIg)的制备

在回流下, 将溴乙基-2-萘基酮(1.78g, 6.8mmol), 2-硫代-草酸乙酯(1g, 7.5mmol)在 EtOH(绝对)中的混合物保持 6h。将混合物冷却到室温。将以固体分离的产物, 过滤, 采用乙醇洗涤和干燥, 以提供所需的酯, 4-(2-萘基)-1,3-噻唑-2-羧酸乙酯, (IIIb)(0.862g, 48%收率)。

10 MS:284(M+H)。向酯(IIIb)(800mg, 2.82mmol)在干燥乙酸甲酯(10mL)的混合物中, 加入 NaH(在矿物油中 60%的悬浮液, 135mg, 3.37 mmol)。将混合物在室温下搅拌 0.5h 和在回流下搅拌 2h。将混合物倾入冷水中和采用浓 HCl 中和。在采用 NaCl 饱和混合物之后, 将混合物采用二氯甲烷萃取(两次)。采用盐水洗涤合并的萃取物。在通过硫酸镁干燥之后, 蒸发溶剂以提供β-酮酯, 3-(4-(2-萘基)(1,3-噻唑-2-基)-3-氧代丙酸乙酯, 它用于下一步骤, 而不进行进一步的精制。向上述β-酮酯
15 中加入绝对乙醇(10mL)和水合肼(1mL, 过量)。将混合物在回流下保持 4h。在冷却之后, 从反应混合物蒸发溶剂。将所得的混合物通过硅胶进行色谱纯化和采用 EtOAc 洗脱。产物吡唑啉酮(VIg)分离为固体,
20 进一步通过采用乙醚洗涤精制(即在~50mL 乙醚中搅拌, 随后采用过滤和乙醚洗涤)。得到 287mg, (在两步中 35%)。MS:294(M+H)。

(b)化合物 118 的制备

25 在 80-90℃下, 将吡唑啉酮(VIg)(50mg, 0.17mmol), 吲哚-3-甲醛(30mg, 0.19mmol)在绝对乙醇(1mL)中的混合物, 以及 2-3 滴哌啶搅拌 3h。固体经过滤分离, 和采用乙醇洗涤。在干燥之后, 以单一几何异构体提供 52mg 的化合物 118。

实施例 13:

30 4-[(5-甲基(2H-1,3-间二杂环戊烯并[4,5-f]吲哚-7-基)亚甲基)-3-

(1,3-噻唑-2-基)-2-吡啶-5-酮(化合物 144)的制备

(a)5,6-亚甲二氧-1-甲基-吡啶-3-甲醛的制备

向 DMF(50mL, 过量)的冰冷溶液中, 滴加 POCl_3 (8mL, 85.7mmol)。在加入之后, 将混合物在 0°C 下搅拌 5min 和在室温下搅拌 45min。将混合物冷却到 0°C 和分批加入 5,6-亚甲二氧基-吡啶(10g, 62.1mmol)。在完全加入之后, 将混合物在 0°C 下搅拌 10min 和在室温下搅拌 20min 和最后在 60°C 下搅拌 6h。将混合物冷却到室温, 然后再冷却至 0°C , 和随后加入 1N NaOH 溶液(150mL)。将混合物在室温下搅拌 30min, 结果获得均匀的溶液。向混合物中加入 100mL 水和在室温下连续搅拌过夜。将以固体分离的产物, 5,6-亚甲二氧基-吡啶-3-甲醛过滤, 洗涤(水, 然后用己烷)和干燥。在采用乙酸乙酯萃取(3 次)时, 也提供另外的产物。随后采用水和盐水依次洗涤结合的有机层。在通过 MgSO_4 干燥之后, 蒸发溶剂。将获得的固体悬浮于 100mL 乙醚中, 超声波几分钟和过滤。将固体采用乙醚进一步洗涤和干燥。将合并的粗产物, 8.08g(69%)5,6-亚甲二氧基-吡啶-3-甲醛进行 N-甲基化, 而不进行进一步的精制。向 5,6-亚甲二氧基-吡啶-3-甲醛(如上)(8g, 42.32mmol)在干燥 DMF(40mL)中的冷(0°C)溶液中, 加入 NaH(在矿物油中 60%的悬浮液, 2.1g, 52.5mmol)。将获得的混合物在 0°C 下搅拌 30min。将碘甲烷(5mL, 80.3mmol)滴加到反应混合物中。将反应混合物在 0°C 下搅拌 15min 和在室温下搅拌 2h。将混合物冷却到 0°C 和采用水使反应停止。进一步采用水(~700mL)稀释混合物。将以固体分离的产物, 5,6-亚甲二氧基-1-甲基-吡啶-3-甲醛过滤, 洗涤(水, 然后己烷)和干燥, 以提供 6.2g(72%收率)的所需产物。MS:204(M+H)。

(b)化合物 144 的制备

在 2-3 滴哌啶存在下, 当黄-橙色固体开始出现时, 将吡啶酮(VIa)(0.030g, 0.17mmol)、5,6-亚甲二氧基-1-甲基-吡啶-3-甲醛(0.040g, 0.197mmol)和乙醇(2mL)的混合物于~ 85°C 加热 1 小时。将混合物在冰浴中冷却和将固体过滤出, 采用乙醇洗涤和干燥以提供化合物 144(54mg, 90%收率), 为黄-橙色固体。

实施例 14:

4-[(4-氯-1-甲基吡啶-3-基)亚甲基]-3-吡嗪-2-基-2-吡啶-5-酮(化合物 189)的制备

5 (a) 3-吡嗪-2-基-2-吡啶-5-酮, (VIh)的制备

将吡嗪-2-羧酸乙酯(10g, 66mmol)在乙酸甲酯(40mL)中的淤浆和 NaH (在矿物油中 60%的悬浮液, 3.7g, 97mmol, 1.47 当量)回流一小时。将反应混合物冷却到室温, 采用乙酸中和及采用乙酸乙酯萃取。蒸发溶剂以得到白色固体的 β -酮酯(Vc)(6.35g)。[MS:179, (M-H)]。将酯(Vc)(0.5g, 2.8mmol)、甲基肼(0.16g, 3.48mmol)在乙醇中的混合物回流过夜。过滤获得的沉淀物以提供为橙色固体的吡啶酮(VIh)(0.3g, 1.7mmol)。

(b)化合物 189 的制备

15 回流吡啶酮(VIh)(0.035g, 0.2mmol)、哌啶(0.01mmol)、乙醇(1mL)和 4-氯-1-甲基吡啶-3-甲醛(0.046g, 0.24mmol)的混合物。过滤获得的沉淀物以提供为亮橙色固体的化合物 189(0.36g, 0.10mmol)。

实施例 15:

20 3-[5-(二甲氨基)(1,3,4-噻二唑-2-基)]-4-[(1-甲基吡啶-3-基)亚甲基]-2-吡啶-5-酮(化合物 190)的制备

(a)3-[5-(二甲氨基)-1,3,4-噻二唑-2-基]-2-吡啶-5-酮(VIi)的制备

将 4,4-二甲基-3-氨基硫脲(2.0g, 16.8mmol)和氯-氧代-乙酸乙酯(2.3g, 16.8mmol)的溶液在惰性气氛下混合, 和在冰浴中冷却到 0℃。缓慢加入硫酸(2mL)。在泡腾停止之后, 除去冰浴和允许反应升温到室温和搅拌 3 小时。向白色非均相混合物中加入乙酸乙酯(100mL), 和以 2%碳酸氢钠和盐水洗涤有机层两次。将有机层通过无水硫酸镁干燥和蒸发。将残余的固体溶于乙酸乙酯, 和采用醚沉淀所需的化合物, 以得到 5-(二甲氨基)-1,3,4-噻二唑-2-羧酸乙酯(IIIc)(1.9g, 9.4mmol)。将酯(IIIc)溶于无水乙酸甲酯(4mL)和采用惰性净化溶液。

向此黄色溶液中，加入氢化钠(在矿物油中 60%的悬浮液，0.53g，13.25mmol)，提供淡黄色沉淀物。然后将混合物加热至 65℃，使其转化成浅绿色沉淀物。另加入乙酸甲酯(4mL)，在十分钟内反应混合物变成棕褐色固体。将反应除去热源和加入另外的乙酸甲酯(20mL)。采用乙酸中和混合物。过滤出固体和蒸发滤液。将从滤液得到的固体以乙醚洗涤，以得到所需的 β -酮酯，3-[5-(二甲氨基)(1,3,4-噻二唑-2-基)]-3-氧代丙酸乙酯，(Vd)(5.2mmol)，为黄色固体。将 β -酮酯(Vd)(1.2g，1.31mmol)、乙醇(2mL)和水合肼(0.063g，1.96mmol)于 65℃加热 2 小时。过滤沉淀物，以获得吡唑啉酮(VIi)(0.075g，0.36mmol)，为淡黄色固体。

(b)化合物 190 的制备

将吡唑啉酮(VIi)(0.035g，0.166mmol)、1-甲基吲哚-3-甲醛(0.032g，0.2mmol)和乙醇(1mL)的混合物加热到 65℃和搅拌过夜。过滤形成的橙色沉淀物以获得化合物 190(0.024g，0.068mmol)。

实施例 16:

4-[(1-甲基-4-苯基吲哚-3-基)亚甲基]-3-吡嗪-2-基-2-吡唑啉-5-酮 (化合物 202)的制备

(a)4-苯基-1-甲基-吲哚-3-甲醛的制备

向 DMF(5mL，过量)的冰冷溶液中，滴加 POCl_3 (0.8mL，8.57mmol)。在加入之后，将混合物在 0℃下搅拌 5min 和在室温下搅拌 45min。将混合物冷却到 0℃和分批加入 4-溴吲哚(1g)。在完全加入之后，将混合物在 0℃下搅拌 10min 和在室温下搅拌 20min，和最后在 60℃下搅拌 6h。将混合物冷却到室温和然后冷却到 0℃，和随后加入 1N NaOH 溶液(15mL)。当在水处理期间形成固体时，将混合物在室温下搅拌 30min，它在初步升温时并不进入溶液。将固体过滤和洗涤和干燥，以得到 0.77g 产物，将它进行 N-甲基化，而不进行进一步的精制。

向 4-溴-吲哚-3-甲醛(0.767g, 3.4mmol)在干燥 DMF(2mL)中的冷(0℃)溶液中, 加入 NaH(在矿物油中 60%的分散体, 173mg, 4.37mmol)。将获得的混合物在 0℃下搅拌 20min。将碘甲烷(0.8mL, 过量)滴加到反应混合物中。除去冷却浴和将获得的混合物在室温下搅拌 1.5h。将混合物用水停止反应和采用 EtOAc 重复萃取。将结合的有机萃取物采用水(两次)和盐水洗涤。在通过硫酸镁干燥之后, 除去溶剂。将获得的固体溶于己烷和超声波处理 30 min, 过滤以提供产物, 4-溴-1-甲基-吲哚-3-甲醛(0.687g, 85%收率)。将 DMF(4mL)中的 4-溴-1-甲基-吲哚-3-甲醛(109mg, 0.45mmol)、苯基硼酸(85mg, 0.69mmol)的混合物脱气(氩气)。向混合物中加入双(三苯基磷)-钯 II 氯化物(25mg, 0.035mmol), 随后加入 2M Na₂CO₃ 溶液(2mL, 4mmol), 和将混合物在氩气下, 在 100℃下搅拌 18.5h, 然后在回流下搅拌 3h。将混合物冷却到室温。将反应混合物采用水稀释和采用乙酸乙酯重复萃取。将结合的萃取物采用水(两次)和盐水洗涤。在通过无水硫酸镁干燥之后, 在真空下除去溶剂和将粗产物通过闪蒸色谱(己烷:EtOAc1:1)精制。将所需的产物以浆液形式分离(79%收率)。MS:236, 238。

(b)化合物 202 的制备

在 80-90℃下, 将吡唑啉酮(VIe)(40mg, 0.24mmol)和 4-苯基-1-甲基-吲哚-3-甲醛(84mg, 0.35mmol)在绝对乙醇(2mL)中的混合物, 以及 2-3 滴哌啶搅拌 2h。将以固体分离的产物过滤和采用乙醇洗涤。在干燥之后, 以单一几何异构体提供 81mg 的化合物 202。

实施例 17:

4-[(4-溴-1-甲基吲哚-3-基)亚甲基]-3-(1-甲基(1H-吲唑-3-基))-2-吡唑啉-5-酮(化合物 205)的制备

(a)3-(1-甲基-1H-吲唑-3-基)-2-吡唑啉-5-酮, (VIj)的制备

使吲唑-3-羧酸(5g, 31mmol)、氯三甲基硅烷(34g, 310mmol)和甲醇(50mL)的混合物搅拌过夜。蒸发溶剂后得到黄色产物(4g, 产率 74%)将甲基酯(4g, 23mmol)、NaH(1.3g, 35mmol)和 THF (60mL)的淤浆混

合过夜。将混合物中和及采用乙酸乙酯萃取。所需产物(IIIId)收集为黄色固体(4g, 21mmol)。将酯(IIIId)(4g, 21mmol)、NaH(1.2g, 32mmol)和乙酸甲酯(40mL)的淤浆回流四小时。将混合物采用乙酸中和, 将产物采用乙酸乙酯萃取, 在真空下浓缩以提供所需的 β -酮酯, 3-(1-甲基(1H-吡啶-3-基))-3-氧代丙酸乙酯(Ve), 为橙色胶体(4.6g)。将 β -酮酯(Ve)(4.6g, 20mmol)、水合肼(0.77g, 24mmol)和乙醇(10mL)的混合物回流过夜。过滤获得的沉淀物, 以获得吡啶啉酮(VIj), 为白色固体(1.2g, 30%收率)。

10 (b)化合物 205 的制备

将吡啶啉酮(VIj)(0.043g, 0.2mmol)、4-溴-1-甲基吡啶-3-甲醛(0.052g, 0.22mmol)、哌啶(0.01mmol)和乙醇(1mL)的混合物回流 3.5h。过滤获得的沉淀物, 以获得亮橙色固体(0.052g, 60%收率)。

15 实施例 18:

4-[(4-碘-1,6-二甲基吡啶-3-基)亚甲基]-3-(1,3-噻唑-2-基)-2-吡啶啉-5-酮(化合物 223)的制备

(a)6-甲基-4-碘-吡啶-3-甲醛的制备

将三氟乙酸铯(III)(1g, 1.84mmol)在三氟乙酸(15mL)中的溶液加入到 6-甲基-吡啶-3-甲醛(200mg, 1.25mmol)中, 和将获得的混合物的在 30℃下搅拌 2h。在真空(旋转蒸发器)下除去溶剂。向残余物中, 加入碘化钾的水溶液(2g, 12mmol, 在 20mL 水中), 和将混合物在室温下搅拌过夜。将固体偏亚硫酸氢钠加入到反应混合物中, 直到变黄。将混合物采用 NaOH 水溶液碱化和采用乙醚重复萃取。将结合的有机物采用盐水洗涤和通过硫酸镁干燥。蒸发溶剂得到粗产物, 使用 EtOAc 作为洗脱剂, 将粗产物通过闪蒸色谱精制。将产物, 6-甲基-4-碘-吡啶-3-甲醛分离为固体, 得到 283mg(79%)的所需产物。MS:286。

(b)1,6-二甲基-4-碘-吡啶-3-甲醛的制备

30 向 6-甲基-4-碘-吡啶-3-甲醛(265mg, 0.92mmol)在干燥 DMF(2mL)

中的冷(0℃)溶液中, 加入 NaH(在矿物油中 60%的悬浮液, 50mg, 1.25mmol)。将获得的混合物在 0℃下搅拌 20min.。将碘甲烷(0.5mL, 过量)滴加到反应混合物中。除去冷却浴和将混合物在室温下搅拌 1.5h。将混合物采用水使反应停止, 和采用 EtOAc 重复萃取。将结合的有机萃取物采用水(两次)和盐水洗涤。在通过硫酸镁干燥之后, 除去溶剂。将以固体获得的产物 1,6-二甲基-4-碘-吲哚-3-甲醛悬浮于己烷中, 搅拌几分钟和过滤。将产物进一步采用更多的己烷洗涤和干燥, 以提供 213mg(77%)的所需产物。MS:300(M+H), 322(M+Na)。

10 (c)化合物 223 的制备

在 2-3 滴哌啶存在下, 当黄-橙色固体开始出现时, 将吡唑啉酮(VIa) (0.010g, 0.059mmol), 1,6-二甲基-4-碘-吲哚-3-甲醛(0.040g, 0.197 mmol) 和乙醇(2mL)的混合物加热到约~85℃约 2h。将混合物在冰浴中冷却和将固体过滤出, 采用乙醇洗涤和干燥以提供化合物 223(21mg), 为 (E:Z) 异构体的 70:30 混合物。HPLC:R_t14.41min.和 12.73min(方法 C)。

实施例 19:

4-[(1-甲基-4-苯基吲哚-3-基)亚甲基]-3-吡啶并[3,4-e]吡啶-2-基-2-吡唑啉-5-酮(化合物 295)的制备

20 (a)3-吡啶并[3,4-e]吡啶-2-基-2-吡唑啉-5-酮(VIk)的制备

向 1,6-二氮杂萘-2-羧酸(1g, 5.7mmol)和 100mL 甲醇的混合物中, 仔细加入~0.5mL 的浓 H₂SO₄。在回流下将混合物保持过夜。将混合物冷却到室温和蒸发溶剂。向残余物中仔细加入(二氧化碳溢出)饱和碳酸氢钠溶液以中和酸。将混合物采用乙酸乙酯萃取(三次)和将结合的有机物采用盐水洗涤。在通过无水 MgSO₄干燥之后, 蒸发溶剂。将产物, 1,6-二氮杂萘-2-羧酸甲酯(IIIe)分离为固体(932mg, 87%收率), 它用于下一步骤而不进行进一步的精制。采用 NaH(在矿物油中 60%的悬浮液, 100mg, 2.5mmol)处理酯(IIIe) (322mg, 1.71mmol)和乙酸甲酯(干燥, 10mL)的混合物, 和将获得的混合物在回流下保持 2h, 在此期间注意到形成饼状物。将反应混合物冷却至室温并蒸发溶剂。以

~20mL 的水处理残余物。采用浓 HCl 中和混合物。将获得的固体过滤，洗涤(采用水，随后采用己烷)和干燥。产量： 158mg(40%)。将产物 3-氧代-3-吡啶并[3,4-e]吡啶-2-基-丙酸乙酯(Vf)用于下步骤，而不进行进一步的精制。

5

将上述 β -酮酯(Vf)(153mg, 0.66mmol)、水合肼(25 μ l, 0.8mmol)和绝对乙醇(5mL)的混合物保持在回流下。在 1h 之后，加入更多的水合肼(75 μ l, 2.4 mmol)和连续回流。分离出固体。在 3h 之后，冷却混合物(冰浴)并将固体过滤，洗涤(冷乙醇)和干燥以分离产物，1,6-二氮杂萘基吡啶酮(VIk)，66mg(47%收率)。MS:213。

10

(b)化合物 295 的制备

在 85-90℃下，将上述吡啶酮(VIk)(10mg, 0.047mmol)、5,6-亚甲二氧基-1-甲基-吲哚-3-甲醛(11mg, 0.054mmol)在 1mL 的绝对乙醇中的混合物与一滴哌啶进行搅拌。分离固体。在 2h 之后，将混合物冷却到室温和将固体过滤，采用乙醇洗涤和干燥以分离产物(11mg, 59%收率)。MS:398 (M+H)。

15

实施例 20:

20 4-[(二甲氨基)亚甲基]-3-(1,3-噻唑-2-基)-2-吡啶啉-5-酮(化合物 296)的制备

向吡啶啉酮(VIa)(250mg, 1.5mmol)在干燥 THF(12mL)的溶液中，加入 N,N-二甲基甲酰胺二叔丁基乙缩醛(0.319g, 1.05 当量)，并将反应混合物在回流下加热 15min.。TLC(10%甲醇-氯仿)显示吡啶啉酮($R_f=0.08$)向新产物($R_f=0.17$)的完全转化。反应物浓缩得到为固体的产物。(在此插入 P89 数据 1); $^1\text{H-NMR}$ (d_6 -DMSO) δ 11.26 (s, 1H, enolic), 8.69 (s, 1H, =CH), 7.86 (s, 1H), 7.67 (s, 1H), 3.79 (s, 3H), 3.33 (s, 3H);

25

电雾化 MS, m/z 223 $[M+1]^+$ 基础峰; HPLC $R_t=5.01\text{min}$. 吡啶啉酮 $R_t=4.06\text{min}$. (VIa), (方法 A)。

30

实施例 21:

4-[(2-羟基吡啶-3-基)亚甲基]-3-(1,3-噻唑-2-基)-2-吡啶-5-酮(化合物 297)的制备

5 在无水乙醇(18mL)中溶解化合物 296 和加入叔丁醇钾(0.5mL, 在 THF 中 1.0M 溶液), 随后加入羟吡啶(200mg, 1.5mmol), 将反应在回流下搅拌和通过 HPLC 和 TLC(10%甲醇-氯仿)监测。在 4.5h 之后, HPLC 显示 11.20min 的保留时间时有新组分(方法 A)。在 46h 之后停止反应, 和将反应混合物浓缩以提供粗产物(215mg), 为暗红色固体: 电雾化 MS, m/z 311[M+1]⁺。使用 15%乙腈-水到 60%乙腈-水的梯度洗脱, 在 10 C8 CEP-PAK 柱(35cc 尺寸)上通过色谱精制粗产物样品(35mg)。从包含产物的级分蒸发溶剂, 提供产物 298(11mg), 为淡红-黄色固体。

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ 13.22 (bs, 1H), 11.61 (s, 1H), 8.94 (s, 1H), 8.05 (s, 1H), 7.80 (s, 1H), 7.5 (m, 1H), 7.22 (m, 1H), 7.11 (m, 1H), 7.00 (m, 1H), 3.66 (bs, 1H); ¹³C NMR (DMSO-d₆) δ 171.2, 163.0, 159.2, 157.0, 146.6, 144.8, 138.7, 131.7, 128.4, 15 127.3, 123.7, 121.6, 119.5, 117.9, 112.0. MS 311(M+H), HPLC: Rt=11.19min (方法 A)。

原料杂环甲基酮或酯或是市购的, 或是从相应的市售酸, 通过常规步骤(如, Fischer 酯化, 醇和 TMS 氯化物(实施例 17), 使用 TMS-重氮甲烷或重氮甲烷)转化得到的。根据以下文献的方法: Shafiee, A.Lalezari, I.; Mirrashed, M.; Nercesian, D., J. Heterocyclic Chem., 20 1997, 14, 567-571, 制备如下杂环衍生物、[1,2,3]噻二唑-5-羧酸乙酯和 4-苯基-[1,2,3]噻二唑-5-羧酸乙酯, 和按照流程(1), (2)和(3)和实施例 8 描述的类似步骤, 将这些衍生物分别用于如下化合物的合成: 183, 25 186, 194, 195, 196, 201, 209, 218, 224, 226, 231, 235, 238, 240, 241, 244, 245, 247, 248, 249, 250, 252, 265, 273, 286 和 198。[1,2,3]噻二唑-5-羧酸乙酯按照如下的文献所述方法制备: Lalezari, I.; Shafiee, A.; Yalpani, M., J. Org.Chem., 1971, 36, 2836, 和遵照在实施例 8 中描述的类似步骤, 将它用于化合物 188 和 192 的合成。1-甲基-5- 30 甲氧基-4-硝基-吡啶-3-甲醛根据 Naylor, M.; Jaffar, M.; Nolan, J.;

Stephens, M. A.; Butler, S.; Patel, K. B.; Everett, S. A.; Adams, G.E.; Stratford, I., J. Med.Chem., 1997,40,2335 制备, 和用于化合物 170, 180 和 182 的制备, 如在实施例 1 中所述。

5 通过采用铯化学, 4-碘-5-甲氧基-吡啶-3-甲醛可根据 Moody, C. J.; Swann, E., J. Chem. Soc. Perkin 1,1993, 21, 2561 的步骤制备, 5-氯-4-碘-吡啶-3-甲醛根据 Ohta, T.; Yamato, Y.; Tahira, H.; Somei M., Heterocycles, 1987, 11, 2817(和其中的参考文献)的步骤制备。随后, 在 DMF 中, 将衍生物与 NaH 和碘甲烷反应, 以提供相应的 N-甲基衍生物, 和遵照在实施例 1 中描述的类似步骤, 它们可用于化合物 190, 10 280 和 212 的制备。遵照 Ohta, T.; Yamato, Y.; Tahira, H.; Somei M., Heterocycles, 1987, 11, 2817(和其中的参考文献)的一般步骤, 如上述用于 5-氯-4-碘-吡啶-3-甲醛制备, 通过铯-媒介化学, 使用(i)与三-三氟乙酸铯的反应, 随后通过(ii)与亲电子试剂, 如 KI 或 CuBr₂ 的应
15 反应, 制备对于许多市售 5-或 6-取代的吡啶-3-甲醛的 4-卤代衍生物。随后在吡啶 N-位置, 将获得的 4,5-或 4,6-二取代吡啶-3-甲醛甲基化, 如在实施例 13 和 16 中所述。将产物用于与实施例 1 中所述的吡啶酮的缩合, 以提供所需的化合物。化合物 203, 266, 267, 281, 214, 221, 220, 222, 223, 289, 218, 219, 225, 226, 227, 228, 229, 20 和 230 遵照下述步骤的顺序衍生。

1-(2-氰乙基)-吡啶-3-甲醛可根据 Blume, R. C.; Lindwall, H. G., J Org. Chem., 1945, 255 所述方法制备, 和遵照实施例 1 中所述的类似步骤, 用于化合物 64, 65, 66 和 67 的制备。4,5,6,7-四氢-吡啶-2-甲
25 醛根据 Sun, Li.; Tran, N.; Liang, C.; Hubbard., S.; Tang, F.; Lipson, K.; Schreck, R.; Zhou, Y.; McMahon, O.; Tang, C., J. Med. Chem., 1994,25, 4307 的方法制备, 和将它用于化合物 277, 278, 279 和 288 的制备。

使用各种亲电子试剂, 在吡啶氮位置, 使用 NaH/DMF, 按实施
30 例 13 的一般步骤, 将吡啶-3-甲醛官能化。使用 5-氯-吡啶-3-甲醛以

制备 N-乙基和 N-烯丙基衍生物，它们分别用于化合物 132，148 和化合物 149 的制备。如由如下描述的一般方法：Gungr, T.; Malabre P.; Teulon, J-M.; Camborde, F.; Meignen, J.; Hertz, F.; Virone-Oddos, A.; Caussade, F.; Cloarec, A., J. Med. Chem., 1994, 25, 4307, 使用 K₂CO₃/DMF, 用于制备(a) N-CH₂CH₂-OBn 类似物，它用于化合物 71 和 72 的制备;(b)N-异丁基类似物，遵照实施例 1 中描述的类似步骤，它用于化合物 73 的制备。

使用 Cs₂CO₃, 在室温下和丙酮中, 根据 Macor, J. E.; Blank, D. H.; Post, R., J. Tetrahedron Lett., 1994, 35, 45, 所述方法使 5-羟基吡啶与炔丙基溴进行选择性的 O-烷基化, 然后按照实施例 13 和 16 中描述的方法, 转化为 N-甲基和 3-甲酰基衍生物。遵照在实施例 1 中描述的类似步骤, 此醛用于化合物 155 的制备。相似地, 制备许多 4-, 5-, 6- 或 7-烷氧基取代的吡啶衍生物, 用于相应吡啶酮类似物的合成。(见表 1)。

遵照在实施例 16 中描述的相似步骤, 从 6-溴-吡啶制备 6-苯基-1-甲基-吡啶-3-甲醛, 和将它用于化合物 215 的合成。

根据在实施例 13 和 16 中描述的方法, 将 5-和 6-甲酯基-吡啶转化成相应的 N-甲基-3-甲酰基衍生物的类似物, 和这些酯随后水解成相应的羧酸。5-COOMe 甲酰基衍生物用于化合物 237, 238, 239 和 255 的合成。相应的 5-COOH 甲酰基用于化合物 251 和 255 的合成。相似地, 6-COOMe 甲酰基衍生物用于化合物 115, 116, 和 117 的合成, 和相应的 6-COOH 甲酰基衍生物用于化合物 222 的合成。

将许多三环衍生的吡啶, 如 5,6-亚甲二氧基-1-甲基-吡啶和 1H-吡咯并[3,2-H]喹啉转化成相应的 N-甲基和 C-甲酰基(即甲酰基)衍生物, 和用于制备吡啶酮衍生物。分别地, 前者用于制备化合物 139, 144, 209, 262, 289, 294 和 295; 后者醛用于制备化合物 284 和 285。

其中，本发明的杂环取代吡唑啉酮可用作治疗剂。具体地，化合物可用于蛋白激酶抑制。杂环取代的吡唑啉酮可抑制例如选自如下的激酶：ab1, AKT, bcr-ab1, Blk, Brk, Btk, c-kit, c-met, c-src, CDK1, CDK2, 5 CDK4, CDK6, chkl, chk2, cRaf1, CSF1R, CSK, EGFR, ErbB2, ErbB3, ErbB4, ERK (Eph), Fak, fes, FGFR1, FGFR1, FGFR3, FGFR4, FGFR5, MLK1, MLK2, MLK3,DLK, trkA, trkB, trkC, Fgr, FLK-4, fit-1, Fps, Frk, Fyn, GSK, Hck, IGF-1R, INS-R, Jak, JNK, VEOFR1, VEGFR2, VEGFR3, Lck, Lyn, MEK, p38, PDGFR, PIK, PKC, PYK2, ros, tie₁, tie₂, UL97, Yes 10 和Zap70。

因此，本发明化合物的性能，在治疗中是有益的。可以利用杂环取代吡唑啉酮针对某些酶的活性以对抗这些酶的缺失影响。例如，血管内皮生长因子受体(VEGFR)的抑制意味着可用于如下疾病：例如， 15 其中血管生成起重要作用的疾病，如实体肿瘤癌，子宫内膜异位症，糖尿病性视网膜炎，牛皮癣，成血管细胞瘤，以及其它眼病和癌症。trk的抑制意味着在如下疾病中的效用：例如，前列腺疾病如前列腺癌和良性前列腺过度增生，和炎症疼痛的治疗。血小板衍生生长因子受体(PDGFR)的抑制意味着在如下疾病中的效用：例如，各种形式的瘤形成， 20 类风湿性关节炎，肺纤维症，骨髓纤维化症，异常创伤治愈，心血管端点的疾病如动脉粥样硬化、再狭窄、血管形成术后再狭窄等。混合性同系激酶(MLK)的抑制意味着在如下疾病中的效用：例如，阿尔茨海默病；运动神经元素乱(如，肌萎缩侧索硬化)；帕金森病；脑血管紊乱(如，中风，局部出血)；亨廷顿病；爱滋病痴呆；癫痫；多 25 发性硬化症；周围神经病(如，在与周围神经有关的化疗中影响DRG神经元的那些)包括糖尿性神经病；由兴奋性氨基酸诱导的紊乱；和与脑或脊柱索的震荡或穿透损伤有关的紊乱。

纤维形成生长因子受体激酶(FGFR)的抑制意味着在如下疾病中的 30 效用：例如，再狭窄，血管形成术后再狭窄，动脉粥样硬化，肺纤维

症，各种癌症包括，但不限于前列腺癌，乳腺癌，异常创伤治愈，和良性前列腺过度增生。

5 通过促进神经元的存活，杂环取代的吡唑啉酮的活性对营养性因子响应细胞的功能和存活也有阳性的影响。关于胆碱能神经元的存活，例如，如果处理的种群比未处理的种群具有相对更大周期的功能性，与不存在这样的胆碱能神经元相比，化合物可保护胆碱能神经元种群处于死亡危险时的存活。

10 各种神经障碍特征在于处于死亡等的危险时，神经元细胞可死亡、受损伤、功能受危害、承受轴突退化。这些紊乱包括，但不限于阿尔茨海默病；运动神经元素乱(如，肌萎缩侧索硬化)；帕金森病；脑血管紊乱(如，中风，局部出血)；亨廷顿病；爱滋病痴呆；癫痫；多发性硬化症；周围神经病(如，在与周围神经有关的化疗中影响DRG
15 神经元的那些)包括糖尿性神经病；由兴奋性氨基酸诱导的紊乱；和与脑或脊柱索的震荡或穿透损伤有关的紊乱。

化合物可作为其它神经元细胞类型，如 dopaminergic 或
20 glutamatergic 的存活促进剂。通过小GTP结合蛋白质ras, rac, 和cdc42的信号级联下游，生长因子可调节神经元的存活(Denhardt, D.T., Biochem. J., 1996, 318, 729)。具体地，ras的活化导致细胞外受体活化的激酶(ERK)的磷酸化和活化，它与生物生长和分化过程相联。

25 rac/cdc42的刺激导致JNK和p38活化的增加，响应与应激、调亡和炎症有关。尽管生长因子主要通过ERK途径响应，后者过程也可影响导致神经元存活的其它机理，该机理可能模拟增强存活性能的生长因子(Xia等，科学，1995，270，1326)。通过相关，但不同于生长媒介存活的机理，例如，通过JNK和p38 MAPK途径的抑制，调亡细胞死亡过程，它可导致存活，化合物也可作为用于神经元和非神经元细胞的存活促进剂。
30

5 本发明化合物也可用于与降低ChAT活性或死亡有关的疾病，对
脊柱索运动神经元损伤的治疗，和也在如下疾病中具有效用：例如，
与中枢神经和周围神经系统、免疫系统的凋亡细胞死亡有关的疾病，
和也在炎症性疾病中有效用。ChAT催化神经介质的合成，和认为它
是用于功能性胆碱能神经元的酶标记物。通过染料(如，钙黄绿素)对
存活神经元的特定吸收和酶转化，测定神经元的存活。在此所述的化
合物也可用于治疗涉及恶性细胞增生的疾病状态，如许多癌症的治
疗。

10

另外，Src, raf, 和细胞周期蛋白依赖性激酶(CDK)1,2,和4的抑制
也可用于癌症的治疗。CDK2激酶的调节也可用于再狭窄的治疗。一
种或多种CDK5或GSK3激酶的调节也可用于阿尔茨海默病的治疗。一
种或多种c-Src激酶的调节也可用于骨质疏松症的治疗。对一种或多种
15 GSK-3激酶的调节也可用于2型糖尿病的治疗。一种或多种p38激酶的
调节也可用于炎症的治疗。一种或多种TIE-1, 或TIE-2激酶的调节也
可用于血管形成的治疗。一种或多种UL97激酶的调节也可用于病毒性
感染的治疗。一种或多种CSF-1R激酶的调节也可用于骨或造血疾病的
治疗。一种或多种Lck激酶的调节也可用于治疗自身免疫疾病或移植
20 排异。局部异构酶Topo-I或TopoII的调节也可用于癌症的治疗。

由于它们的可变应用，杂环取代的吡唑啉酮的性能可以用于其它
环境，如研究。例如，化合物可用于神经元体外存活功能、识别模型
的开发，或用于其它合成化合物的筛选，它们具有与杂环取代的吡唑
啉酮化合物相似的活性。因此，由本发明提供的化合物可用作用于确
25 定试剂在制药研究程序中活性的测试或测定的标准物或参考化合物。

化合物也可用于研究、定义和确定与功能响应相关的分子目标。
例如，通过放射性标记与特定细胞功能相关的杂环取代吡唑啉酮化合
30 物，衍生物结合到其上的目标实体可以识别，分离，和精制用于鉴定。

通过进一步的说明，化合物可用于对化合物在相关紊乱和疾病的机理方面的抑制作用理解的进一步增强的试验和模型的开发。因此，本发明的化合物在例如本文所述的诊断试验中用作诊断试剂。

5 例如，可以使用如下试验，确定本发明杂环取代的吡唑啉酮的酶活性抑制作用：

- 1.血管内皮生长因子受体-1激酶抑制试验(VEGFR1)
- 2.血管内皮生长因子受体-2激酶抑制试验(VEGFR2)
- 3.trkA酪氨酸激酶-1(trkA)抑制试验
- 10 4.混合血统激酶-1(MLK1)抑制试验
- 5.混合血统激酶-2(MLK2)抑制试验
- 6.混合血统激酶-3(MLK3)抑制试验
- 7.纤维形成生长因子受体激酶(FGFR1)抑制试验。

15 这些试验的描述，和其中获得的结果如下。结果是说明性的，不用于限制本公开的内容。为方便起见，某些缩写用于描写结果，它们定义在文本的主体中。其它缩写如下：“ μg ”表示微克，“ mg ”表示毫克，“ g ”表示克，“ μL ”表示微升，“ mL ”表示毫升，“ L ”表示升，“ nM ”表示纳摩尔，“ μM ”表示微摩尔，“ mM ”表示毫摩尔，“ M ”表示摩尔，
20 “ nm ”表示纳米。在约 $100\mu\text{M}$ -约 $10\mu\text{M}$ 的浓度下，在此处所述的试验中，本发明的化合物优选显示可测量的抑制作用。更优选，在约 $10\mu\text{M}$ -约 $1\mu\text{M}$ 的浓度下，本发明的化合物优选显示可测量的抑制作用。甚至更优选，在低于约 $1\mu\text{M}$ 的浓度下，本发明的化合物优选显示可测量的抑制作用。

25

血管内皮生长因子受体-1激酶活性的抑制

VEGFR1激酶活性测定利用ELISA-基格式，在96-穴FluoroNUNC Maxisorp板中，采用时间解析的荧光读数。在Tris缓冲的盐水(TBS)中 $40\mu\text{g}/\text{ml}$ 的浓度下，采用 $100\mu\text{L}/\text{穴}$ 的底物溶液(重组体人类PLC- γ /GST)
30 涂敷板。在 $100\text{-}\mu\text{L}$ 测定混合物中，测定VEGFR1活性，混合物包含 50mM

HEPES(pH7.4)、30 μ M ATP、10mM MnCl₂、0.1%BSA、2%DMSO和300ng/ml磷酸化重组体人类杆状病毒群表达的VEGFR1细胞质区。筛选化合物用于在1 μ M浓度下的VEGFR1激酶活性的抑制。允许激酶反应在37℃进行15分钟。在阻滞缓冲剂中,以1:5000稀释液(在TBST中3%BSA)加入检测抗体,铋标记的抗磷酸酪氨酸抗体(Wallac #CR04-100)。在37℃下孵化1小时之后,加入100 μ L增强溶液(Wallac #1244-105),和轻微搅拌该板。在5分钟之后,使用BMG Fluostar(型号#403),测量获得溶液的荧光。结果见表3。

表3

杂环取代的吡唑啉酮对VEGF-1受体激酶活性的抑制效果

化合物编号	VEGFR-1 激酶 %抑制 @ 1 μ M
1	35
2	9
3	22
4	20
5	10
6	14
7	13
8	21
9	51
10	41
11	23
12	29
13	39
14	8
15	12
16	18
17	17
18	9
19	30
20	45
21	0
22	23

化合物编号	VEGFR-1 激酶 %抑制 @ 1uM
23	2
24	39
25	66
26	64
27	11
28	36
29	53
30	41
31	10
32	48
33	36
34	30
35	10
36	14
37	14
38	28
39	4
40	16
41	5
42	13
43	-2
44	2
45	46
46	41
47	40
48	54
49	32
50	31
51	25

化合物编号	VEGFR-1 激酶 %抑制 @ 1uM
52	0
53	21
54	5
55	20
56	5
57	7
58	51
59	-2
60	63
61	44
62	38
63	40
64	26
65	22
66	24
67	22
68	11
69	5
70	1
71	12
72	12
73	12
74	74
75	5

血管内皮生长因子受体-2激酶活性的抑制

如下文用于 trkA 激酶所述进行测定。96-穴微量滴定板 (FluoroNUNC Maxisorp) 采用 40 μ g/ml 重组体人类磷脂酶 C- γ 1/谷光甘肽 S-转移酶融合蛋白涂敷。抑制作用的研究在 100- μ L 测定混合物中进行, 混合物包含 50mM HEPES pH7.4, 30 μ M ATP, 10mM MnCl₂, 0.1%BSA, 2%DMSO 和 1 μ M 测试化合物。通过加入磷酸化重组体人类杆状病毒群 VEGFR2 细胞质区引发反应。使反应在 37 $^{\circ}$ C 进行 15 分钟。在阻滞缓冲剂中以 1:5000 稀释液 (在 TBST 中 3%BSA) 加入检测抗体, 钨标记的抗磷酸酪氨酸抗体 (Wallac #CR04-100)。在 37 $^{\circ}$ C 下孵化 1 小时之后, 加入 100 μ L 增强溶液 (Wallac #1244-105), 和轻微搅拌该板。在 5 分钟之后, 使用 BMG Fluostar (型号 #403) 测量获得溶液的荧光。结果见

15

表4

杂环取代的吡唑啉酮对 VEGF-2 受体激酶活性的抑制效果

化合物编号	VEGFR-2 激酶 %抑制 @ 1 μ M
1	65
2	21
3	39
4	33
5	-5
6	9
7	-3
8	35
9	49
10	64
11	50
12	26
13	25
14	13
15	11

化合物编号	VEGFR-2 激酶 %抑制 @ 1uM
16	34
17	48
18	12
19	44
20	67
21	12
22	41
23	7
24	32
25	64
26	76
27	40
28	80
29	68
30	68
31	16
32	47
33	25
34	32
35	19
36	27
37	62
38	42
39	13
40	26
41	13
42	28
43	25
44	18

化合物编号	VEGFR-2 激酶 %抑制 @ 1uM
45	72
46	71
47	64
48	58
49	50
50	44
51	55
52	19
53	34
54	4
55	38
56	8
57	30
58	47
59	14
60	88
61	75
62	52
63	75
64	43
65	43
66	32
67	20
68	26
69	5
70	51
71	-1
72	3
73	15

化合物编号	VEGFR-2 激酶 %抑制 @ 1uM
74	88
75	32
76	39
77	21
78	63

trkA 酪氨酸激酶活性的抑制

5 使用前文所述的 ELISA-基试验方法, 测试选择的杂环取代吡唑啉酮对于杆状病毒群表达的人类 trkA 细胞质区的激酶活性的抑制能力 (Angeles 等, Anal. Biochem., 236:49-55, 1996)。简言之, 采用底物溶液(重组体人类磷脂酶 C- γ 1/谷光甘肽 S-转移酶融合蛋白)涂敷 96-穴微量滴定板(Rotin 等, EMBO J., 11: 559-567, 1992)。抑制研究在 100- μ L 测定混合物中进行, 混合物包含 50mM HEPES pH7.4, 40 μ M ATP, 10mM $MnCl_2$, 0.1%BSA, 2%DMSO, 和各种浓度的抑制剂。

10 通过加入 trkA 激酶引发反应, 使反应在 37°C 进行 15 分钟。然后加入对磷酸酪氨酸(UBI)的抗体, 随后加入次级酶共轭抗体, 碱性磷酸酶标记的山羊抗小鼠 IgG(Bio-Rad)。通过增强测试系统(Gibco-BRL), 测量结合酶的活性。使用 GraphPad Prism 中的 S 形剂量-响应(可变斜率)公式, 分析抑制数据。结果见表 5。

15

表5

杂环取代的吡唑啉酮对 trkA 激酶活性的抑制效果

化合物编号	trkA %抑制 @ 1 uM
1	24
2	39
3	60

化合物编号	trkA %抑制 @ 1 uM
4	53
5	2
6	31
7	33
8	20
9	41
10	26
11	65
12	44
13	45
14	35
15	15
16	29
17	52
18	70
19	45
20	60
21	56
22	44
23	26
24	22
25	65
26	42
27	49
28	34
29	43
30	22
31	39
32	8

化合物编号	trkA %抑制 @ 1 uM
33	32
34	25
35	23
36	40
37	28
38	40
39	31
40	27
41	17
42	29
43	42
44	23
45	39
46	29
47	37
48	47
49	56
50	28
51	56
52	10
53	20
54	20
55	47
56	48
57	33
58	30
59	40
60	71
61	35
62	45
63	60
64	10
65	22

化合物编号	trkA %抑制 @ 1 uM
66	32
67	40
68	42
69	35
70	32
71	15
72	38
73	8
74	53
75	23

血小板衍生生长因子受体激酶活性的抑制

使用上述 trkA 激酶 ELISA，探索杂环取代的吡唑啉酮对于杆状病毒群表达的 PDGF β 受体激酶区的抑制效果。在底物(PLC- γ /GST)-涂敷的 96-穴微量滴定板中进行测定。每 100 μ l 反应混合物包含 50mM HEPES pH7.4, 20 μ M ATP, 10mM MnCl₂, 0.1%BSA, 2%DMSO, 和各种浓度的抑制剂。通过加入预磷酸化重组体人类酶(10ng/mlPDGF β)而引发反应，使反应在 37 $^{\circ}$ C进行 15 分钟。在使用之前，通过在 4 $^{\circ}$ C下，在缓冲剂中孵化 1 小时而制备预磷酸化的酶，缓冲剂包含 20 μ M ATP, 10mM MnCl₂。通过加入辣根过氧化物酶(HRP)-共轭的抗磷酸酪氨酸抗体(UBI)进行磷酸化产物的检测。然后，加入包含 3,3',5,5'-四甲基联苯胺和过氧化氢的 HRP 底物溶液，和在室温下孵化该板 10 分钟。采用酸使反应停止，和使用微量板生物动力学阅读器(Microplate Bio-kinetics Reader) (Bio-Tek Instrument EL 312e)，在 450nm 下将获得的吸光率读数。使用 GraphPad Prism 中的 S 形剂量-响应(可变斜率)公式，分析抑制数据。

混合同系激酶-1 活性的抑制

使用如用于蛋白激酶 C 的 Millipore Multiscreen TCA “板内”格式 (Pitt & Lee, J. Biomol. Screening, 1:47-51, 1996)，测定 MLK1 的激酶活性。简言之，每 50 μ l 试验混合物包含 20mM HEPES pH7.0, 1mM EGTA, 10mM MgCl₂, 10mM DTT, 25mM β -甘油磷酸酯，60 μ M ATP,

0.25 μ Ci[γ - 32 P]ATP, 0.1%BSA,500 μ g/ml 髓磷脂碱性蛋白质(UBI#13-104),2% DMSO,1 μ M 测试化合物, 和 1 μ g/ml 杆状病毒群 GST-MLK_{KD}。样品在 37℃下孵化 15 分钟。通过加入冰冷的 50%TCA 而停止反应, 和使蛋白质在 4℃下沉淀 30 分钟。然后采用冰冷的 25%TCA 洗涤该板。加入超混合的闪烁混合物, 和在使用 Wallac MicroBeta 1450 PLUS 闪烁计数器计数之前, 将该板平衡 1-2 小时。结果见表 6。

表 6

杂环取代吡唑啉酮对 MLK-1 激酶活性的抑制效果

化合物编号	MLK-1 激酶 %抑制 @ 1 uM
1	12
2	-8
3	2
4	9
5	14
6	25
7	9
8	15
9	22
10	22
11	21
12	27
13	10
14	8
15	-3
16	18
17	6
18	14
19	4
20	21
21	4
22	1
23	30

化合物编号	MLK-1 激酶 %抑制 @ 1 uM
24	10
25	11
26	10
27	6
28	2
29	21
30	2
31	27
32	5
33	8
34	17
35	7
36	-9
37	15
38	16
39	4
40	33
41	13
42	-9
43	13
44	25
45	24
46	13
47	33
48	2
49	-10
50	11
51	26
52	5
53	7
54	-12

化合物编号	MLK-1 激酶
	%抑制 @ 1 uM
55	-5
56	-22
57	44
58	44
59	41
60	37
61	8
62	15
63	14
64	10
65	10
66	11
67	3
68	17
69	21
70	21
71	9
72	14
73	-1
74	44
75	5

混合同系激酶-2 活性的抑制

使用如 MLK-1 所述的 Millipore Multiscreen 板格式进行测定。每 50 μ l 测定混合物包含 20mM HEPES pH7.1, 1mM EGTA, 10mM MgCl₂, 10mM DTT, 25mM β -甘油磷酸酯, 10 μ M ATP, 0.25 μ Ci[γ -³²P]ATP,

5

0.1%BSA,500 μ g/ml 髓磷脂碱性蛋白质(UBI#13-104),2% DMSO,各种浓度的测试化合物,和 3 μ g/ml 杆状病毒群 GST-MLK2_{KDLZ}。样品在 37 $^{\circ}$ C下孵化 15 分钟。通过加入冰冷的 50%TCA 而停止反应,和允许蛋白质在 4 $^{\circ}$ C下沉淀 30 分钟。然后采用冰冷的 25%TCA 洗涤该板。加入超混合闪烁混合物,和在计数之前使该板平衡 1-2 小时。结果见表 7。

表 7

杂环取代吡唑啉酮对 MLK-2 激酶活性的抑制效果

化合物编号	MLK-2 激酶 %抑制 @ 1 μ M
1	7
2	-10
3	-1
4	-10
5	9
6	6
7	-12
8	0
9	15
10	-9
11	7
12	-7
13	-17
14	-18
15	-12
16	7
17	-8
18	-2
19	-5
20	-3
21	-13
22	-13
23	-6

化合物编号	MLK-2 激酶
	%抑制 @ 1 uM
24	4
25	-4
26	-7
27	-4
28	10
29	2
30	1
31	0
32	-14
33	-13
34	1
35	-15
36	-18
37	12
38	2
39	-7
40	-8
41	-15
42	-10
43	2
44	-3
45	-22
46	2
47	-2
48	3
49	3
50	-1
51	3
52	5
53	-13
54	-48
55	2

化合物编号	MLK-2 激酶 %抑制 @ 1 uM
56	-14
57	5
58	4
59	-8
60	9
61	-4
62	-21
63	1
64	9
65	-3
66	5
67	-1
68	16
69	4
70	5
71	3
72	3
73	12
74	17
75	-5

混合同系激酶-3 活性的抑制

使用如 MLK-1 所述的 Millipore Multiscreen 板格式进行测定。简言之,每 50 μ l 测定混合物包含 20mM HEPES pH7.1,1mM EGTA,10mM MgCl₂,10mM DTT,25mM β - 甘油磷酸酯, 100 μ M ATP, 0.25 μ Ci[γ -

- 5 ^{32}P]ATP, 0.1%BSA, 500 $\mu\text{g/ml}$ 髓磷脂碱性蛋白质(UBI#13-104), 2% DMSO, 各种浓度的测试化合物, 和 2 $\mu\text{g/ml}$ 杆状病毒群 GST-MLK3_{KD}。样品在 37 $^{\circ}\text{C}$ 下孵化 15 分钟。通过加入冰冷的 50%TCA 而停止反应, 和允许蛋白质在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下沉淀 30 分钟。然后采用冰冷的 25%TCA 洗涤该板。加入超混合闪烁混合物, 和在计数之前使板平衡 1-2 小时。结果见表 8。

表 8

杂环取代吡唑啉酮对 MLK-3 激酶活性的抑制效果

化合物编号	MLK-3 激酶 %抑制 @ 1 μM
1	28
2	-11
3	12
4	-6
5	-9
6	3
7	7
8	10
9	27
10	44
11	31
12	29
13	17
14	14
15	-17
16	12
17	19
18	47
19	11
20	57
21	24
22	24

化合物编号	MLK-3 激酶 %抑制 @ 1 uM
23	69
24	38
25	48
26	57
27	44
28	50
29	38
30	46
31	49
32	42
33	28
34	32
35	34
36	25
37	79
38	38
39	55
40	22
41	10
42	21
43	21
44	28
45	56
46	36
47	31
48	31
49	21
50	15
51	47

化合物编号	MLK-3 激酶 %抑制 @ 1 uM
52	19
53	12
54	0
55	26
56	-1
57	67
58	43
59	47
60	58
61	72
62	45
63	78
64	15
65	7
66	11
67	8
68	20
69	9
70	15
71	9
72	28
73	5
74	72
75	24

成纤维细胞生长因子受体-1(FGFR1)激酶活性的抑制

采用如用于trkA激酶所述的时间-解析的荧光读数，在96-穴FluoroNUNIC Maxisorp板中，使用ELISA-基格式，测量FGFR1激酶活性。在Tris缓冲的盐水(TBS)中10 μ g/ml的浓度下，采用100 μ L/穴的底

物溶液(重组体人类PLC- γ /GST)涂敷板。在100- μ L测定混合物中,测定FGFR1活性,该混合物包含50mM HEPES(pH7.4), 20 μ M ATP, 10mM MnCl₂, 0.1%BSA, 2%DMSO, 和15ng/ml重组体人类杆状病毒群表达的FGFR1细胞质区。筛选化合物在1 μ M浓度下的FGFR1激酶活性的抑制。使激酶反应在37 $^{\circ}$ C进行15分钟。在阻滞缓冲剂中以1:5000稀释液(在TBST中3%BSA)加入检测抗体, 钨标记的抗磷酸酪氨酸抗体(Wallac #CR04-100)。在37 $^{\circ}$ C下孵化1小时之后, 加入100 μ L增强溶液(Wallac #1244-105), 和轻微搅拌该板。在5分钟之后, 使用BMG Fluostar(型号#403)测量获得溶液的荧光。结果见表9。

10

表9

杂环取代的吡唑啉酮对成纤维细胞因子活性的抑制效果

化合物编号	FGFR1 %抑制 @ 1 μ M
1	6
2	33
3	29
4	20
5	-2
6	20
7	28
8	24
9	17
10	14
11	24
12	39
13	30
14	22
15	10
16	1
17	13
18	22

化合物编号	FGFR1 %抑制 @ 1 uM
19	23
20	27
21	15
22	22
23	31
24	39
25	52
26	46
27	36
28	37
29	41
30	27
31	17
32	4
33	27
34	34
35	29
36	31
37	32
38	28
39	13
40	22
41	21
42	32
43	26
44	10
45	8
46	25
47	32

化合物编号	FGFR1 %抑制 @ 1 uM
48	43
49	39
50	20
51	9
52	10
53	50
54	45
55	36
56	30
57	-2
58	24
59	29
60	66
61	35
62	37
63	38
64	7
65	21
66	29
67	23
68	27
69	30
70	21
71	26
72	29
73	19
74	48
75	26

剂量和制剂

对于治疗用途，本发明的化合物可以通过任何方式用药，这些方式导致活性剂与在哺乳动物体内试剂的作用位置的接触。化合物可以通过与药物一起使用的常规方式，或以单独的治疗剂或以治疗剂结合物中的形式给药。它们优选以在药物组合物中单一活性剂的方式给药，或者，它们可用于与其它活性成分，如其它生长因子结合使用，在疾病或紊乱中其它生长因子有助于神经元存活或轴突再生。化合物优选与药物载体结合，根据给药的选择途径和标准制药实践选择载体。

例如，采用与药物可接受非毒性赋形剂和载体的混合物，化合物可配制成药物组合物。组合物可以制备成用于胃肠外给药，特别是以液体溶液或悬浮液的形式；或口服给药，特别是以片剂或胶囊的形式；或鼻内给药，特别是以粉末、滴鼻液、或气溶胶的形式；或经皮给药，例如通过经皮贴剂。

组合物通常可以单位剂量形式用药，和可以通过在制药领域任何公知的方法制备，例如，在 Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Pub.Co.,Easton,PA,1980)中描述的方法。用于胃肠外给药的制剂可包含作为通常赋形剂的无菌水或盐水，聚亚烷基二醇如聚乙二醇，油和植物起源物，氢化萘等。特别是生物相容的生物可降解的交酯聚合物，交酯/乙交酯共聚物，或聚氧乙烯-聚氧丙烯共聚物也可用作赋形剂，以控制活性化合物的释放。

用于这些活性化合物的其它潜在可用的胃肠外输送系统包括乙烯-醋酸乙烯酯共聚物粒子，渗透泵，可植入输液系统，和脂质体。用于吸入给药的配制剂包含作为赋形剂例如乳糖，或可以是水溶液，水溶液中包含例如聚氧乙烯-9-十二烷基醚，甘氨酸胆酸酯和脱氧胆酸酯，或以滴鼻液形式的给药用油性溶液，或以鼻内应用的凝胶。用于胃肠外给药的制剂也可包括用于面颊给药的甘氨酸胆酸酯，用于直肠给药的水杨酸盐，或用于阴道给药的柠檬酸。用于经皮肤贴剂的制剂优选是亲

脂性乳液。

5 通式 I 的化合物及其药用盐可以口服或非口服给药，如以软膏或注射注给予。本发明化合物在药物组合物中的浓度可以变化。浓度依赖于如下因素：如用药的总剂量，所用化合物的化学性能(如，疏水性)，给药的途径，患者的年龄、体重和症状等。本发明的化合物可以含水生理缓冲溶液提供，该溶液包含约 0.1-10%w/v 用于胃肠外给药的化合物。典型的剂量范围是每天约 1mg-约 1 μ g/kg 体重；优选的剂量范围是每天约 0.01mg/kg-约 100mg/kg 体重；和优选约 0.1-20mg/kg，每天一到四次。要给予药物的优选剂量也依赖于如下变量：如疾病或紊乱的类型和病程，特定患者的总体健康状况，选择的化合物的相对生物率，和化合物赋形剂的配制剂型，和其给药途径。

15 可以将有效量的通式 I 化合物或其药用盐作为活性成分，和制药可接受的载体均匀地混合，而制备根据本发明的药物组合物。根据适于给药的组合物的形式，载体可以采用许多种形式。需要以适于口服或非口服给药的单位剂量形式制备这样的药物组合物。用于非口服给药的形式包括软膏和注射液。

20 可以使用赋形剂如乳糖、葡萄糖、蔗糖、甘露糖醇和甲基纤维素，崩解剂如淀粉、藻酸钠、羧甲基纤维素钙和结晶纤维素，润滑剂如硬脂酸镁和滑石粉，粘合剂如明胶、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯烷酮、羟丙基纤维素和甲基纤维素，表面活性剂如蔗糖脂肪酸酯和山梨糖醇脂肪酸酯等，以常规的方式制备片剂。优选每个片剂包含 15-300mg 的活性成分。

25 可以使用赋形剂如乳糖和蔗糖，崩解剂如淀粉，粘合剂如明胶等，以常规方式制备颗粒剂。可以使用赋形剂如乳糖和甘露糖醇等，以常规的方式制备粉剂。可以使用明胶，水，蔗糖，阿拉伯胶，山梨糖醇，甘油，结晶纤维素，硬脂酸镁，滑石粉等以常规的方式制备胶囊。优

30

选每个胶囊包含 15-300mg 的活性成分。

可以使用糖如蔗糖，水，乙醇等，以常规的方式制备糖浆制剂。

5 可以使用软膏基质如凡士林、液体石蜡、羊毛脂和聚乙烯二醇，乳化剂如十二烷基乳酸钠，氯苄烷铵(benzalkonium chloride)，脱水山梨糖醇单脂肪酸酯，羧甲基纤维素钠和阿拉伯胶等，以常规的方式制备软膏。

10 可以使用溶剂如水、生理盐水、植物油(如橄榄油和花生油)、油酸乙酯和丙二醇，增溶剂如苯甲酸钠、水杨酸钠和尿烷，等渗剂如氯化钠和葡萄糖，防腐剂如苯酚、苯甲酚、对羟基苯甲酸酯和氯丁醇，抗氧化剂如抗坏血酸和焦亚硫酸钠等，以常规的方式制备注射制剂。

15 如本领域技术人员可以理解的那样，在上述教导的指引下，本发明的许多改进和变化是可能的。因此可以理解的是，在所附权利要求范围之内，实施本发明不是如在此具体描述的那样，本发明的范围还包括所有这样的变化。