

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.

C07D 401/14 (2006.01)

C07D 403/12 (2006.01)



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 03819543.7

[45] 授权公告日 2007 年 5 月 9 日

[11] 授权公告号 CN 1314683C

[22] 申请日 2003.8.5 [21] 申请号 03819543.7

[30] 优先权

[32] 2002. 8. 17 [33] DE [31] 10237722.7

[86] 国际申请 PCT/EP2003/008629 2003. 8. 5

[87] 国际公布 WO2004/022553 德 2004. 3. 18

[85] 进入国家阶段日期 2005. 2. 17

[73] 专利权人 塞诺菲 - 安万特德国有限公司

地址 德国法兰克福

[72] 发明人 O·里策尔埃 G·耶内

[56] 参考文献

WO01 / 30774 2001.5.3

审查员 杨 明

[74] 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

代理人 黄革生 隗永良

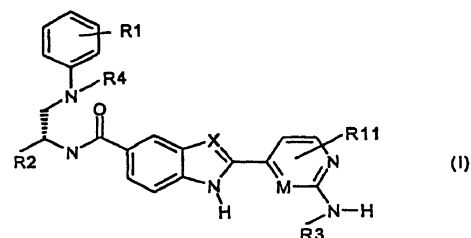
权利要求书 5 页 说明书 42 页

[54] 发明名称

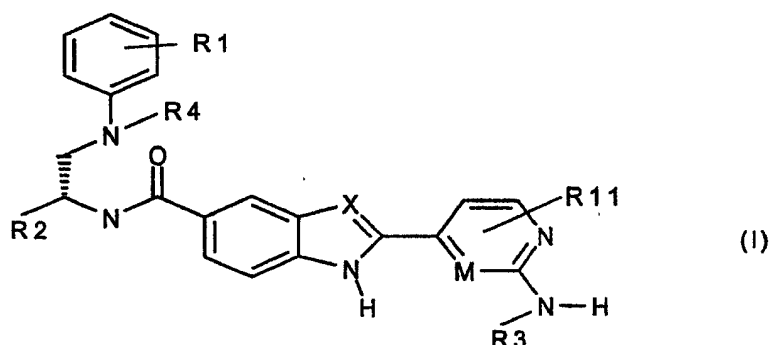
用于调节 I_kB 激酶的吡啶或苯并咪唑衍生物

[57] 摘要

本发明涉及式(I)化合物, 所述化合物适合于制备用于预防和治疗其发展涉及 I_kB 激酶活性增加的疾病。



1. 式 I 化合物和/或式 I 化合物的立体异构形式和/或式 I 化合物的生理上耐受的盐:



其中:

X 为 N 原子或 CH;

M 为 N 原子;

R1 为氢原子、F、Cl、I 或 Br,

R11 为氢原子;

R2 为: 1. 选自下列基团的杂芳基: 5-氧代-4,5-二氢[1,3,4]-噁二唑或三唑,
2. $-C(O)-OR^5$, 其中 R^5 为氢原子或 $-(C_1-C_4)$ -烷基, 或
3. $-C(O)-N(R^7)-R^8$, 其中 R^7 和 R^8 彼此独立地为氢原子、 $-(C_1-C_4)$ -烷基-OH 或 $-O-(C_1-C_4)$ -烷基;

R3 为氢原子或 $-(C_1-C_4)$ -烷基;

R4 为: 1. 选自下列基团的杂芳基: 噻唑、吡啶或嘧啶,
其中所述杂芳基未被取代或彼此独立地被下列基团取代一次、二次或三次: $-(C_1-C_5)$ -烷基或三氟甲基; 或
2. 苯基。

2. 如权利要求 1 中所述的式 I 化合物, 其中:

X 为 N 原子或 CH;

M 为 N 原子;

R1 为氢原子、F、Cl、I 或 Br,

R11 为氢原子;

R2 为: 1. 选自下列基团的杂芳基: 5-氧代-4,5-二氢[1,3,4]-噁二唑或三唑,
2. $-\text{C}(\text{O})-\text{N}(\text{R}^7)-\text{R}^8$, 其中 R^7 和 R^8 彼此独立地为氢原子、 $-(\text{C}_1-\text{C}_4)$ -烷基-OH 或 $-\text{O}-(\text{C}_1-\text{C}_4)$ -烷基;

R3 为氢原子、甲基或乙基;

R4 为: 1. 选自衍生自下列基团的环的杂芳基: 噻唑、吡啶或嘧啶,
其中所述杂芳基未被取代或彼此独立地被下列基团取代一次、二次或三次: $-(\text{C}_1-\text{C}_4)$ -烷基或三氟甲基; 或
2. 苯基。

3. 如权利要求 1 或 2 中所述的式 I 化合物, 其中式 I 化合物为:

$\text{N}-[(\text{S})-2\text{-二苯基氨基}-1\text{-(5-氧代-4,5-二氢[1,3,4]噁二唑-2-基)乙基}]$ -2-(2-甲氧基嘧啶-4-基)-1H-吡啶-5-甲酰胺;

$\text{N}-\{1\text{-氨基甲酰基}-2\text{-}[(4\text{-氟苯基})\text{吡啶-2-基氨基}]乙基\}$ -2-(2-甲氧基嘧啶-4-基)-1H-吡啶-5-甲酰胺;

$\text{N}-[(\text{S})-1\text{-(5-氧代-4,5-二氢-1,3,4-噁二唑-2-基)}-2\text{-(苯基吡啶-2-基氨基)乙基}]$ -2-(2-甲氧基嘧啶-4-基)-1H-吡啶-5-甲酰胺;

$\text{N}-\{1\text{-氨基甲酰基}-2\text{-}[(4\text{-氟苯基})\text{吡啶-2-基氨基}]乙基\}$ -2-(2-氨基嘧啶-4-基)-1H-吡啶-5-甲酰胺;

$\text{N}-[2\text{-}[(4\text{-氟苯基})\text{吡啶-2-基氨基}]-1\text{-(4H-[1,2,4]三唑-3-基)-乙基}]$ -2-(2-甲氧基嘧啶-4-基)-1H-吡啶-5-甲酰胺;

$\text{N}-[1\text{-氨基甲酰基}-2\text{-(苯基噻唑-2-基氨基)乙基}]$ -(S)-2-(2-甲氧基嘧啶-4-基)-1H-吡啶-5-甲酰胺;

$\text{N}-[1\text{-甲氧基氨基甲酰基}-2\text{-(苯基吡啶-2-基氨基)乙基}]$ -(S)-2-(2-甲氧基嘧啶-4-基)-1H-吡啶-5-甲酰胺;

$\text{N}-\{1\text{-氨基甲酰基}-2\text{-}[(\text{苯基})\text{吡啶-2-基氨基}]乙基\}$ -2-(2-氨基嘧啶-4-基)-1H-吡啶-5-甲酰胺;

N-{1-氨基甲酰基-2-[(苯基)嘧啶基-2-基氨基]乙基}-2-(2-甲氨基嘧啶-4-基)-1H-吡啶-5-甲酰胺;

N-[1-(2-羧乙基氨基甲酰基)-2-(苯基嘧啶-2-基氨基)乙基]-2-(2-甲氨基嘧啶-4-基)-1H-吡啶-5-甲酰胺;

(S)-2-[[2-(2-甲氨基嘧啶-4-基)-1H-吡啶-5-羧基]-氨基]-3-[苯基-(4-三氟甲基嘧啶-2-基)氨基]丙酸;

N-{1-氨基甲酰基-2-[(4-氟苯基)-(5-甲基嘧啶-2-基)氨基]-乙基}-2-(2-甲氨基嘧啶-4-基)-1H-吡啶-5-甲酰胺;

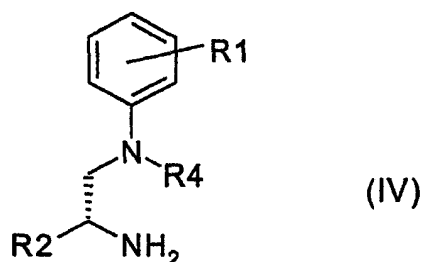
N-((S)-1-氨基甲酰基-2-二苯基氨基乙基)-2-(2-甲氨基-嘧啶-4-基)-1H-苯并咪唑-5-甲酰胺;

N-{1-氨基甲酰基-2-[(苯基)嘧啶基-2-基氨基]乙基}-2-(2-甲氨基嘧啶-4-基)-1H-苯并咪唑-5-甲酰胺; 或

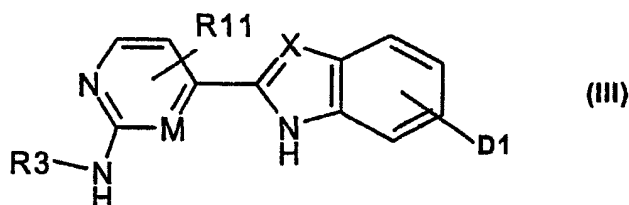
N-{1-氨基甲酰基-2-[(苯基)吡啶基-2-基氨基]乙基}-2-(2-甲氨基嘧啶-4-基)-1H-苯并咪唑-5-甲酰胺。

4. 如权利要求 1-3 的一项或多项中所述的式 I 化合物的制备方法, 其包括:

a) 在碱或如果合适在脱水剂存在的溶液中使式 IV 化合物



其中 R1、R2 和 R4 如式 I 中所定义,
与式 III 化合物的酰氯或活化酯反应,



- 其中 D1 为 -COOH 且 R11、X、M 和 R3 如式 I 中所定义，
并将产物转化成式 I 化合物；
- b) 通过与对映体纯的酸或碱成盐、手性固定相色谱法或使用手性对映体纯化合物衍生，将已通过方法 a) 制备且因其化学结构而出现对映体形式的式 I 化合物分离成纯对映体、分离所得非对映体并消去手性辅助基团，
或
- c) 分离通过方法 a) 或 b) 已制备的游离形式的式 I 化合物或当存在酸性或碱性基团时将其转化成生理上耐受的盐。

5. 如权利要求 4 中所述的制备方法，其中所述的手性对映体纯化合物为氨基酸。

6. 药物，其包含有效量的至少一种式 I 化合物和/或式 I 化合物的生理上耐受的盐和/或式 I 化合物的任选立体异构形式与药学上合适且生理上耐受的载体物质、添加剂和/或其它活性化合物和辅助物质。

7. 如权利要求 1-3 的一项或多项中所述的式 I 化合物在制备用于预防和治疗所有那些其过程涉及 I κ B 激酶活性增加的疾病的药物中的用途。

8. 如权利要求 7 中所述的用途，其中所述疾病为运动器的慢性疾病；II 型糖尿病、炎性肠病；关节创伤后软骨丧失或半月板或膝盖骨损伤或韧带破裂后相对长期的关节固定；或结缔组织疾病；肌痛和骨代谢障碍；或因肿瘤坏死因子 α 过表达或肿瘤坏死因子 α 浓度增加导致的疾病、多发性硬化、颅脑创伤、局限性回肠炎和肠溃疡；或动脉粥样硬化、狭窄、溃疡形成、阿尔茨海默病、肌肉断裂、癌病、心肌梗死、痛风、脓毒症、败血症性休克、内毒素休克；病毒感染；寄生虫感染或麻风病；真菌或酵母感染；脑膜炎；慢性炎性肺病或哮喘、急性呼吸窘迫综合征；急性滑膜炎、结核病、银屑病、糖尿病；有关器官接受者对移植器官的急性或慢性排斥反应

的治疗；慢性移植物抗宿主病和炎性血管疾病。

9. 如权利要求 8 中所述的用途，其中所述的运动器的慢性疾病为炎性、免疫学性或代谢介导的急性和慢性关节炎、关节病、类风湿性关节炎或关节变性病。

10. 如权利要求 9 中所述的用途，其中所述的关节变性病为骨关节病或椎关节强直。

11. 如权利要求 8 中所述的用途，其中所述的结缔组织疾病为胶原性疾病或牙周病。

12. 如权利要求 8 中所述的用途，其中所述的因肿瘤坏死因子 α 过表达或肿瘤坏死因子 α 浓度增加导致的疾病是恶病质。

13. 如权利要求 8 中所述的用途，其中所述的病毒感染为流感、肝炎、HIV 感染、AIDS 或因腺病毒或疱疹病毒导致的疾病。

14. 如权利要求 8 中所述的用途，其中所述的寄生虫感染为疟疾。

15. 如权利要求 8 中所述的用途，其中所述的慢性炎性肺病为慢性支气管炎。

用于调节 I κ B 激酶的吲哚或苯并咪唑衍生物

本发明涉及抑制 I κ B 激酶的吲哚衍生物或苯并咪唑衍生物、其制备方法及其作为药物的用途。

专利申请 WO 94/12478 中特别描述了抑制血小板聚集的吲哚衍生物。专利申请 WO 01/00610 和 WO 01/30774 中描述了能够调节 NF κ B 的吲哚衍生物和苯并咪唑衍生物。

NF κ B 为能够激活大量基因的异二聚化转录因子，所述基因特别编码促炎细胞因子如 IL-1、IL-2、TNF α 或 IL-6。NF κ B 存在于细胞的细胞溶胶中，在那里它与其天然存在的抑制剂 I κ B 复合。刺激细胞、例如通过细胞因子刺激细胞使 I κ B 磷酸化且随后以蛋白水解方式被分解。这种蛋白水解分解导致 NF κ B 活化，然后迁移入细胞核，在那里它激活大量促炎基因。

在诸如类风湿性关节炎(与炎症相关)、骨关节炎、哮喘、心肌梗死、阿尔茨海默病、II 型糖尿病、“炎性肠病”或动脉粥样硬化这类疾病中，NF κ B 被活化至超过了正常的程度。抑制 NF κ B 在治疗癌症方面也具有价值，因为在这种治疗中，抑制 NF κ B 被单独使用或用于加强细胞抑制疗法。已经证实诸如糖皮质激素、水杨酸盐或金盐这类用于风湿症疗法的药物抑制 NF κ B 活化信号链上的各点或直接干扰基因转录。

在上述信号级联中的第一步是分解 I κ B。这种磷酸化受到特异性 I κ B 激酶的调节。迄今为止尚不了解特异性抑制 I κ B 激酶的抑制剂。

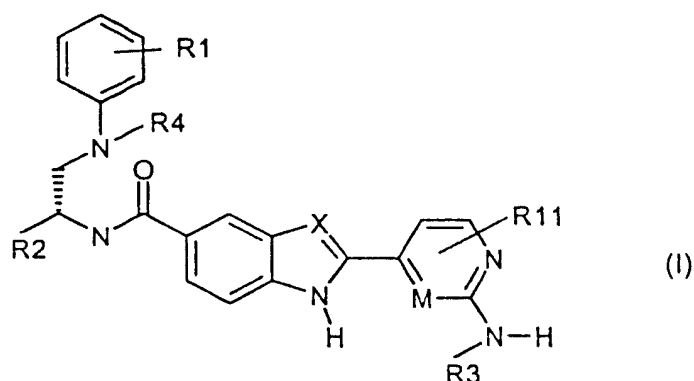
已知的 I κ B 激酶抑制剂通常的缺陷是缺乏仅抑制一类激酶的特异性。例如，大部分 I κ B 激酶抑制剂同时抑制几种不同激酶，因为这些激酶的催化域结构相似。因此，这些抑制剂以不可取的方式对许多酶起作用，包括那些具有重要功能的酶。

专利申请 WO 01/30774 中已经描述了能够调节 NF κ B 且对 I κ B 激酶表现出强抑制作用的吲哚衍生物。然而，WO 01/30774 中公开且在实施例

描述的化合物还对其它激酶表现出强抑制作用, 诸如 cAMP-依赖性蛋白激酶、蛋白激酶 C 和酪蛋白激酶 II。不过, 当特异性得到改善时, 一些该类吲哚衍生物抑制 I κ B 激酶的能力则降低。此外, WO 01/30774 中公开的化合物可获得的血浆浓度不足以用于口服施用这些衍生物。

在努力获得用于治疗类风湿性关节炎(与炎症相关)、骨关节炎、哮喘、心肌梗死、阿尔茨海默病、癌病(用细胞毒性剂强化治疗)或动脉粥样硬化的有效化合物的过程中, 已经发现本发明的吲哚衍生物和苯并咪唑衍生物没有上述缺陷。本发明的吲哚衍生物和苯并咪唑衍生物是强有力的 I κ B 激酶抑制剂, 在这方面对激酶的抑制极具选择性且在口服施用后具有高血浆浓度。

本发明由此涉及式 I 化合物和/或式 I 化合物的立体异构形式和/或式 I 化合物的生理上耐受的盐:



其中:

X 和 M 相同或不同且彼此独立地为 N 原子或 CH;

R1 和 R11 相同或不同且彼此独立地为:

1. 氢原子,
2. F、Cl、I 或 Br,
3. $-(C_1-C_4)$ -烷基,
4. $-CN$,
5. $-CF_3$,
6. $-OR^5$, 其中 R^5 为氢原子或 $-(C_1-C_4)$ -烷基,
7. $-N(R^5)-R^6$, 其中 R^5 和 R^6 彼此独立地为氢原子或 $-(C_1-C_4)$ -烷基,

8. $-\text{C}(\text{O})-\text{R}^5$, 其中 R^5 为氢原子或 $-(\text{C}_1-\text{C}_4)$ -烷基, 或

9. $-\text{S}(\text{O})_x-\text{R}^5$, 其中 x 为整数 0、1 或 2 且 R^5 为氢原子或 $-(\text{C}_1-\text{C}_4)$ -烷基;

R2 为:

1. 选自下列基团的杂芳基: 3-羟基吡咯-2,4-二酮、咪唑、咪唑烷、咪唑啉、咪唑、异噻唑、异噻唑烷、异噻唑、2-异噻唑烷、异噻唑烷、异噻唑酮、吗啉、噁唑、1,3,4-噁二唑、噁二唑烷二酮、噁二唑酮、1,2,3,5-氧硫杂二唑-2-氧化物、5-氧代-4,5-二氢[1,3,4]-噁二唑、5-氧代-1,2,4-噻二唑、哌嗪、吡嗪、吡唑、吡唑啉、吡唑烷、哒嗪、嘧啶、四唑、噻二唑、噻唑、硫代吗啉、三唑或三唑酮, 且所述杂芳基未被取代或彼此独立地被下列基团取代一次、二次或三次:

1.1 $-\text{C}(\text{O})-\text{R}^5$, 其中 R^5 为氢原子或 $-(\text{C}_1-\text{C}_4)$ -烷基,

1.2 $-(\text{C}_1-\text{C}_4)$ -烷基,

1.3 $-\text{O}-\text{R}^5$, 其中 R^5 为氢原子或 $-(\text{C}_1-\text{C}_4)$ -烷基,

1.4 $-\text{N}(\text{R}^5)-\text{R}^6$, 其中 R^5 和 R^6 彼此独立地为氢原子或 $-(\text{C}_1-\text{C}_4)$ -烷基,

1.5 卤素, 或

1.6 酮基;

2. $-\text{C}(\text{O})-\text{OR}^5$, 其中 R^5 为氢原子或 $-(\text{C}_1-\text{C}_4)$ -烷基),

3. $-\text{C}(\text{O})-\text{OR}^5$, 其中 R^5 为氢原子或 $-(\text{C}_1-\text{C}_4)$ -烷基), 或

4. $-\text{C}(\text{O})-\text{N}(\text{R}^7)-\text{R}^8$, 其中 R^7 和 R^8 彼此独立地为氢原子、 $-(\text{C}_1-\text{C}_4)$ -烷基-OH、 $-\text{O}-(\text{C}_1-\text{C}_4)$ -烷基或 $-(\text{C}_1-\text{C}_4)$ -烷基);

R3 为氢原子或 $-(\text{C}_1-\text{C}_4)$ -烷基);

R4 为:

1. 选自下列基团的杂芳基: 吡咯、呋喃、噻吩、咪唑、吡唑、噁唑、异噻唑、噻唑、异噻唑、四唑、1,2,3,5-氧硫杂二唑-2-氧化物、三唑酮、噁二唑酮、异噻唑酮、噁二唑烷二酮、三唑、3-羟基吡咯-2,4-二酮、5-氧代-1,2,4-噻二唑、吡啶、吡嗪、嘧啶、咪唑、异咪唑、咪唑、2,3-二氮杂萘、喹啉、异喹啉、喹喔啉、喹唑啉、噌啉、 β -咔啉

和这些杂芳基的苯并稠合、环戊二烯并衍生物或环己二烯(cyclohexa)并衍生物,

其中所述杂芳基未被取代或彼此独立地被下列基团取代一次、二次或三次: $-(C_1-C_5)$ -烷基、 $-(C_1-C_5)$ -烷氧基、卤素、硝基、氨基、三氟甲基、羟基、羟基- $-(C_1-C_4)$ -烷基、亚甲二氧基、亚乙二氧基、甲酰基、乙酰基、氰基、羟基羰基、氨基羰基或 $-(C_1-C_4)$ -烷氧羰基; 或

2. 选自下列基团的芳基: 苯基、萘基、1-萘基、2-萘基、联苯基、2-联苯基、3-联苯基和4-联苯基、蒽基或芴基, 且

所述杂基未被取代或彼此独立地被下列基团取代一次、二次或三次: $-(C_1-C_5)$ -烷基、 $-(C_1-C_5)$ -烷氧基、卤素、硝基、氨基、三氟甲基、羟基、羟基- $-(C_1-C_4)$ -烷基、亚甲二氧基、亚乙二氧基、甲酰基、乙酰基、氰基、羟基羰基、氨基羰基或 $-(C_1-C_4)$ -烷氧羰基。

此外, 本发明涉及式 I 化合物, 其中:

X 和 M 相同或不同且彼此独立地为 N 原子或 CH;

R1 和 R11 如上述 1.-9. 中所定义;

R2 为:

1. 选自下列基团的杂芳基: 咪唑、异噻唑、异噁唑、2-异噁唑烷、异噁唑烷、异噁唑酮、1,3,4-噁二唑、噁二唑烷二酮、1,2,3,5-噁二唑酮、噁唑、5-氧代-4,5-二氢[1,3,4]-噁二唑、四唑、噻二唑、噻唑、三唑或三唑酮, 且所述杂芳基未被取代或彼此独立地被下列基团取代一次、二次或三次:

1.1 酮基,

1.2 卤素, 或

1.3 $-(C_1-C_2)$ -烷基; 或

2. $-C(O)-N(R^7)-R^8$, 其中 R^7 和 R^8 彼此独立地为氢原子、 $-(C_1-C_4)$ -烷基-OH、 $-O-(C_1-C_4)$ -烷基或 $-(C_1-C_4)$ -烷基);

R3 为氢原子、甲基或乙基;

R4 为:

1. 选自不饱和、部分饱和或完全饱和环的杂芳基, 所述不饱和、部分饱和或完全饱和环衍生自吡啶、吡嗪、嘧啶、哒嗪、吡咯、呋喃、噻吩、咪唑、吡唑、噁唑、异噁唑、噻唑、三唑或异噻唑, 其中所述杂芳基未被取代或彼此独立地被下列基团取代一次、二次或三次: $-(C_1-C_4)$ -烷基、 $-(C_1-C_4)$ -烷氧基、F、Cl、I、Br、硝基、氨基、三氟甲基、羟基、羟基- $-(C_1-C_4)$ -烷基、亚甲二氧基、亚乙二氧基、甲酰基、乙酰基、氰基、羟基羰基、氨基羰基或 $-(C_1-C_4)$ -烷氧羰基; 或
2. 苯基, 且苯基未被取代或彼此独立地被下列基团取代一次、两次或三次的苯基: F、Cl、I、Br、 $-CF_3$ 、 $-OH$ 、 $-(C_1-C_4)$ -烷基或 $-(C_1-C_4)$ -烷氧基。

此外, 本发明涉及如下化合物:

N-[(S)-2-二苯基氨基-1-(5-氧代-4,5-二氢[1,3,4]噁二唑-2-基)乙基]-2-(2-甲氨基嘧啶-4-基)-1H-吡啶-5-甲酰胺;

N-{1-氨基甲酰基-2-[(4-氟苯基)吡啶-2-基氨基]乙基}-2-(2-甲氨基嘧啶-4-基)-1H-吡啶-5-甲酰胺;

N-[(S)-1-(5-氧代-4,5-二氢-1,3,4-噁二唑-2-基)-2-(苯基吡啶-2-基氨基)乙基]-2-(2-甲氨基嘧啶-4-基)-1H-吡啶-5-甲酰胺;

N-{1-氨基甲酰基-2-[(4-氟苯基)吡啶-2-基氨基]乙基}-2-(2-氨基嘧啶-4-基)-1H-吡啶-5-甲酰胺;

N-[2-[(4-氟苯基)吡啶-2-基氨基]-1-(4H-[1,2,4]三唑-3-基)-乙基]-2-(2-甲氨基嘧啶-4-基)-1H-吡啶-5-甲酰胺;

N-[1-氨基甲酰基-2-(苯基噻唑-2-基氨基)乙基]-(S)-2-(2-甲氨基嘧啶-4-基)-1H-吡啶-5-甲酰胺;

N-[1-甲氧基氨基甲酰基-2-(苯基吡啶-2-基氨基)乙基]-(S)-2-(2-甲氨基嘧啶-4-基)-1H-吡啶-5-甲酰胺;

N-{1-氨基甲酰基-2-[(苯基)吡啶-2-基氨基]乙基}-2-(2-氨基嘧啶-4-基)-1H-吡啶-5-甲酰胺;

N-{1-氨基甲酰基-2-[(苯基)嘧啶基-2-基氨基]乙基}-2-(2-甲氨基嘧啶-4-基)-1H-吡啶-5-甲酰胺;

N-[1-(2-羟乙基氨基甲酰基)-2-(苯基嘧啶-2-基氨基)乙基]-2-(2-甲氨基嘧啶-4-基)-1H-吡啶-5-甲酰胺;

(S)-2-[[2-(2-甲氨基嘧啶-4-基)-1H-吡啶-5-羧基]-氨基]-3-[苯基-(4-三氟甲基嘧啶-2-基)氨基]丙酸;

N-{1-氨基甲酰基-2-[(4-氟苯基)-(5-甲基嘧啶-2-基)氨基]-乙基}-2-(2-甲氨基嘧啶-4-基)-1H-吡啶-5-甲酰胺;

N-((S)-1-氨基甲酰基-2-二苯基氨基乙基)-2-(2-甲氨基-嘧啶-4-基)-1H-苯并咪唑-5-甲酰胺;

N-{1-氨基甲酰基-2-[(苯基)嘧啶-2-基氨基]乙基}-2-(2-甲氨基嘧啶-4-基)-1H-苯并咪唑-5-甲酰胺; 或

N-{1-氨基甲酰基-2-[(苯基)吡啶-2-基氨基]乙基}-2-(2-甲氨基嘧啶-4-基)-1H-苯并咪唑-5-甲酰胺。

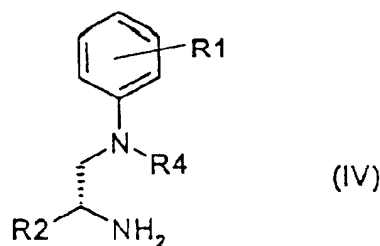
将术语“卤素”理解为指的是氟、氯、溴或碘。将术语“-(C₁-C₅)-烷基”或“-(C₁-C₅)-烷氧基”理解为指的是碳链为直链或支链且含有1-5个碳原子的烃基, 诸如甲基、乙基、丙基、正丁基、戊基或叔丁基。将表达方式“选自不饱和、部分饱和或完全饱和环的杂芳基, 所述不饱和、部分饱和或完全饱和环衍生自吡啶、吡嗪、嘧啶、哒嗪、吡咯、呋喃、噻吩、咪唑、吡唑、噁唑、异噁唑、噻唑和异噻唑”理解为指的是例如如下化合物: 诸如哌嗪、吡唑啉、咪唑啉、吡唑烷、咪唑烷、四氢吡啶、异噁唑啉、异噁唑烷、吗啉、异噻唑啉、异噻唑烷、四氢-1,4-噻嗪或哌啶。

例如, 如专利申请 WO 01/00610 和 WO 01/30774 中所述制备式 I 化合物。用于该化学反应的原料化合物是已知的或易于使用从文献中得知的方法制备。

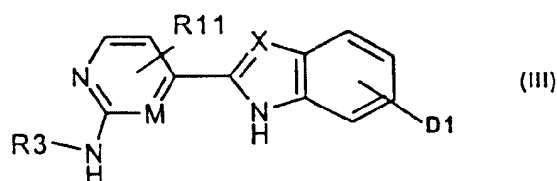
此外, 本发明涉及式 I 化合物和/或式 I 化合物的立体异构形式和/或式

I 化合物的生理上耐受的盐的制备方法，包括下列步骤：

a) 在碱或如果合适在脱水剂存在的溶液中使式 IV 化合物



其中 R1、R2 和 R4 如式 I 中所定义，
与式 III 化合物的酰氯或活化酯反应，



其中 D1 为 -COOH 且 R11、X、M 和 R3 如式 I 中所定义，
并将产物转化成式 I 化合物；

b) 通过与对映体纯的酸或碱成盐、手性固定相色谱法或使用诸如氨基酸这类手性对映体纯化合物衍生将通过方法 a) 制备且因其化学结构而出现对映体形式的式 I 化合物分离成纯对映体、分离所得非对映体并消去手性辅助基团；或

c) 分离通过方法 a) 或 b) 制备的游离形式的式 I 化合物或当存在酸性或碱性基团时将其转化成生理上耐受的盐。

使用 Houben-Weyl 在“有机化学方法”第 E6-2A 或 E6-2B 卷中所述的方法制备吲哚羧酸衍生物或苯并咪唑羧酸衍生物。因此，为了制备式 III 的吲哚羧酸衍生物或苯并咪唑羧酸衍生物，优选在 145℃ 和多磷酸作为溶剂存在下使胍基苯甲酸和芳基酮或杂芳基酮反应。使用本领域技术人员熟知的方法、例如由相应的苯甲酸苯胺制备必需的胍基苯甲酸；还使用本领域技术人员熟知的方法例如通过使相应的酰氯或腈与有机金属化合物反应而制备芳基酮或杂芳基酮。

将本身为本领域技术人员众所周知的肽化学偶联方法(例如参见 Houben-Weyl, “有机化学方法”第 15/1 或 15/2 卷, Georg Thieme Verlag,

Stuttgart, 1974)有利地用于使式 IV 的化合物与式 III 的那些化合物缩合。化合物如羰基二咪唑、碳二亚胺如二环己基-碳二亚胺或二异丙基碳二亚胺(DIC)、O-((氰基(乙氧羰基)-亚甲基)-氨基)-N,N,N',N'-四甲基脒鎓四氟硼酸盐(TOTU)或丙基-膦酸酐(PPA)适合于用作缩合试剂或偶联试剂。

可以在标准条件下进行缩合。在缩合反应中,用可逆保护基保护所存在的不反应的氨基通常是必不可少的。这同样适用于未参与反应的羧基,在缩合反应中,这些基团优选以如-(C₁-C₆)-烷基酯、苄酯或叔丁酯形式存在。如果氨基仍然以前体形式如硝基或氰基存在且仅在缩合后通过氢化形成,则氨基保护并非必需。在缩合后,以合适的方式消去存在的保护基。例如,可以通过氢化消去 NO₂(氨基酸上的胍基保护)、苄酯中的苄氧羰基和苄基。在酸性条件下消去叔丁基类保护基,同时使用仲胺类除去 9-芴基甲氧羰基。

本发明还涉及药物,其特征在于包括有效量的至少一种式 I 化合物和/或式 I 化合物的生理上耐受的盐和/或式 I 化合物的任选立体异构形式与药学上合适且生理上耐受的载体物质、添加剂和/或其它活性化合物和辅助物质。

本发明的化合物因其药理特性而适合于预防和治疗所有那些其过程涉及 I κ B 激酶活性增加的疾病。这些疾病例如包括:运动器的慢性疾病如炎性、免疫学性或代谢介导的急性和慢性关节炎、关节病、类风湿性关节炎或关节变性病如骨关节病、椎关节强直;II 型糖尿病、炎症肠病;关节创伤后软骨丧失或半月板或膝盖骨损伤或韧带破裂后相对长期的关节固定;或结缔组织疾病如胶原性疾病和牙周病;肌痛和骨代谢障碍;或因肿瘤坏死因子 α (TNF α)过表达或 TNF α 浓度增加导致的疾病如恶病质、多发性硬化、颅脑创伤、局限性回肠炎和肠溃疡;或疾病如动脉粥样硬化、狭窄、溃疡形成、阿尔茨海默病、肌肉损伤、癌病(用细胞毒性剂强化治疗)、心肌梗死、痛风、脓毒症、败血症性休克、内毒素性休克;病毒感染如流感、肝炎、HIV 感染、AIDS 或因腺病毒或疱疹病毒导致的疾病;寄生虫感染如疟疾或麻风病;真菌或酵母感染;脑膜炎;慢性炎性肺病如慢性支气管

炎或哮喘、急性呼吸窘迫综合征；急性滑膜炎；结核病；银屑病；糖尿病；有关器官接受者对移植器官的急性或慢性排斥反应治疗、慢性移植物抗宿主病和炎性血管疾病。可以用本发明使用的化合物更特异性地治疗上述疾病且副作用范围较小，因为主要仅 I κ B 激酶受到抑制。

可以通过口服、吸入、直肠或经皮施用或通过皮下、关节内、腹膜内或静脉内注射施用本发明的药物。优选口服施用。

本发明还涉及制备药物的方法，包括将至少一种式 I 化合物与药学上合适且生理上耐受的赋形剂和如果合适与其它适宜的活性化合物、添加剂或辅助物质制成合适的施用形式。

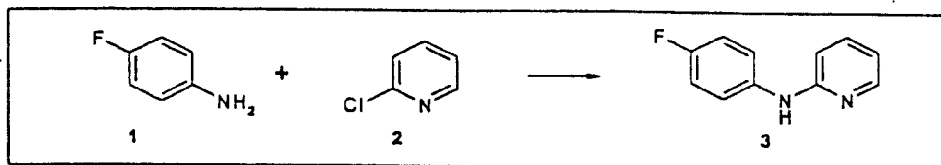
合适的固体或盖仑剂型的实例为颗粒剂、粉剂、糖衣片剂、片剂、(微)胶囊、栓剂、糖浆剂、汁剂、混悬剂、乳剂、滴剂或可注射溶液剂且还有延缓活性化合物释放的制剂，在制备所述制剂的过程中使用常用的辅助物质，如载体物质、崩解剂、粘合剂、包衣剂、膨胀剂、助流剂或润滑剂、调味剂、甜味剂和增溶剂。可以提及的常用辅助物质为：碳酸镁、二氧化钛、乳糖、甘露糖醇和其它糖类、滑石、乳蛋白、明胶、淀粉、纤维素及其衍生物、动物和植物油如鳕鱼肝油、向日葵油、花生油或芝麻油、聚乙二醇和溶剂如无菌水和一元或多元醇类如甘油。优选以剂量单位形式制备药物制剂并施用，各单位含有特定剂量的本发明式 I 化合物作为活性组分。就固体剂量单位如片剂、胶囊、糖衣片剂或栓剂而言，该剂量至多可以为约 1000mg、优选约 50mg - 300mg，而就安瓿形式的注射液而言，该剂量至多为约 300mg、优选约 10mg - 100mg。随式 I 化合物的活性的不同，约 20mg - 1000mg、优选 100mg - 500mg 活性化合物的每日剂量被用于治疗约 70kg 体重的成年患者。然而，较高或较低每日剂量可能也是适合的。可以通过仅施用一次的单次剂量单位或若干较小的剂量单位或通过预定间隔多次施用分剂量而给予每日剂量。

质谱法(FAB-MS、ESI-MS)通常用于测定终产物。温度以摄氏度给出；RT 表示室温(22°C - 26°C)。所使用的缩写或加以解释或相当于通常的规定。以下借助实施例更详细地解释本发明。

制备实施例

A) 苯胺的制备

A.1.) 2-(对氟苯胺基)吡啶(3)

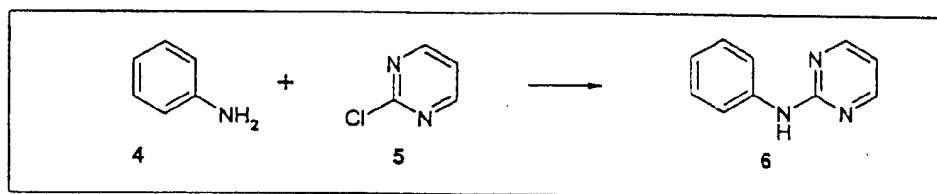


将 29.34g(0.264mol)的 4-氟苯胺(1)和 29.98g(0.264mol)的 2-氯吡啶(2)的混合物在 150℃下加热 2 小时。在冷却至 RT 后,使其分配在 500ml 1N NaOH 与 500ml 乙酸乙酯之间。各用 300ml 乙酸乙酯将水相萃取两次并用硫酸镁干燥合并的有机相。在蒸发溶剂后,将残余物用 500ml 乙酸乙酯处理并加入约 40g 活性炭。将该混合物在 RT 下搅拌 10 分钟并通过硅藻土过滤。各用 1L 乙酸乙酯将活性炭重新洗涤 4 次。在真空(i.v.)中除去溶剂并使残余物从 120ml 乙酸乙酯中沉淀。通过抽吸过滤出固体并在 50℃真空下干燥。得到 41g 的 2-(对氟苯胺基)吡啶(3); 产率 83%。

实验式 $C_{11}H_9N_2$; M.W.=188.21; MS(M+H)189.1。

1H NMR($CDCl_3$) 6.68-6.75 (m, 2H), 6.88 (s, 1H), 7.05 (t, 2H), 7.24-7.32 (m, 2H), 7.43-7.49 (m, 1H), 8.18 (d, 1H)。

A.2.) 2-(苯胺基)嘧啶(6)

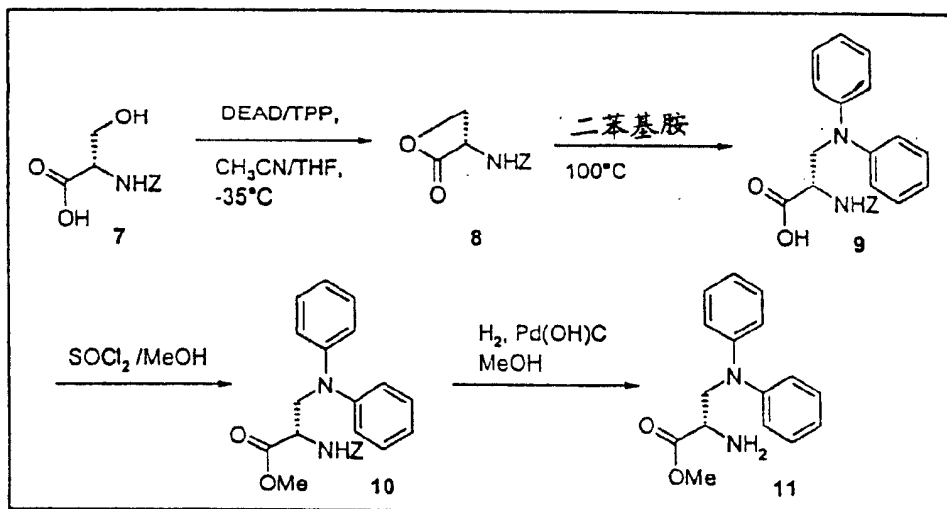


按照与 A.1.)中所述类似的方式,通过与 2-氯嘧啶(5)反应由 16.2g 苯胺(4)得到 9.15g(31%)的苯胺基嘧啶 6。

实验式 $C_{10}H_9N_3$; M.W.=171.08; MS(M+H)172.2。

B.)通过 Z-丝氨酸内酯 8 合成氨基酸

B.1.) (S)-2-氨基-3-二苯基氨基丙酸甲酯(11)



B.1.1.) N-苄氧羰基-L-丝氨酸-β-内酯(8)

将 54.8g(0.209mol)三苯磷悬浮于 600ml 乙腈中并将该混悬液冷却至 -35℃ - -45℃,同时除去水分。在该温度下于 50 分钟内滴加 36.4g(0.209mol)偶氮二甲酸二乙酯。然后将该混合物在-35℃下搅拌 15 分钟。随后向该混合物中缓慢加入 50g(0.209mol)N-苄氧羰基-L-丝氨酸(7) 在 500ml 乙腈中的溶液,使温度不超过-35℃。然后将所得混合物在 5℃下搅拌 12 小时。为了终止反应,在减压条件下从反应溶液中除去溶剂并通过中压硅胶色谱法纯化粗产物(DCM/AcCN:25/1)。在除去溶剂后,得到 20.8g N-苄氧羰基-L-丝氨酸-β-内酯(8),产率 45%;(另外参见 Org. Synth., 1991(70) 1ff),为细针状物。

实验式 C₁₁H₁₁NO₄; M.W.=221.2; MS(M+H)222.1。

¹H NMR(DMSO-d₆) 4.30 (m, 1H), 4.45 (m, 1H), 5.10 (s, 2H), 5.22 (m, 2H), 7.45 (m, 5H), 8.20 (d, J=9.8 Hz, 1H)。

B.1.2.) (S)-2-苄氧羰基氨基-2-二苯基氨基丙酸(9)

将 5.0g(22.6mmol)丝氨酸内酯(5)与 20g(118.2mmol)二苯胺一起搅拌并将该混合物在 100℃下加热 2 小时。通过中压硅胶色谱法纯化粗产物(DCM/甲醇: 9/1, 然后乙酸乙酯/正庚烷: 4/1)。在除去溶剂后,得到 3.65g(产率 42%)的纯净 2-苄氧羰基氨基-2-二苯基氨基丙酸(9)。

实验式 $C_{23}H_{22}N_2O_4$; M.W.=390.44; MS(M+H)391.2.

1H NMR (DMSO- d_6) 3.85 (m, 1H), 4.18 (m, 1H), 4.3 (m, 1H), 4.9 (m, 2H), 6.9 (m, 5H), 7.25 (m, 10H).

B.1.3.) (S)-2-苄氧羰基氨基-2-二苯基氨基丙酸甲酯(10)

在-5℃下向 75ml 甲醇中滴加 6.5ml(89.1mmol)亚硫酸氯并将该混合物搅拌 15 分钟。然后加入溶于 75ml 甲醇的 3.6g(9.22mmol)2-苄氧羰基氨基-3-二苯基氨基丙酸(9)并将该混合物在室温下再搅拌 3 小时(h)。蒸发溶剂后,将残余物用乙酸乙酯处理并用碳酸钠溶液萃取整个体系。通过快速色谱法纯化(正庚烷/乙酸乙酯 7:3)得到 2.76g(50%产率)的 2-苄氧羰基氨基-3-二苯基氨基丙酸甲酯(10)。

实验式 $C_{24}H_{24}N_2O_4$; M.W.=404.47; MS (M+H) 405.2.

1H NMR(DMSO- d_6) 3.58 (s, 3H), 3.95 (m, 1H), 4.18 (m, 1H), 4.4 (m, 1H), 4.95 (m, 2H), 6.9 (m, 6H), 7.3 (m, 9H), 7.85(d, J=9.8Hz, 1H).

B.1.4.) (S)-2-氨基-3-二苯基氨基丙酸甲酯(11)

为了消去 Z 保护基,将 2.7g(6.6.8mmol)Z-保护的衍生物(10)溶于 500ml 甲醇并在保护性氮气气氛下提供 100mg 催化剂(10% Pd(OH) $_2$ -C)。然后用大量过量的氢取代惰性气体并将该混合物在氢气气氛下振摇 2 小时。为了终止反应,过滤出催化剂并浓缩滤液。得到 1.65g(产率: 91%)的 2-氨基-3-二苯基氨基丙酸甲酯(11)。

实验式 $C_{16}H_{18}N_2O_2$; M.W.=270.32; MS(M+H)271.2.

1H NMR(DMSO- d_6) 3.45 (s, 3H), 3.58 (m, 1H), 3.8 (m, 1H), 3.95(m, 1H), 6.9 (m, 6H), 7.3 (m, 4H).

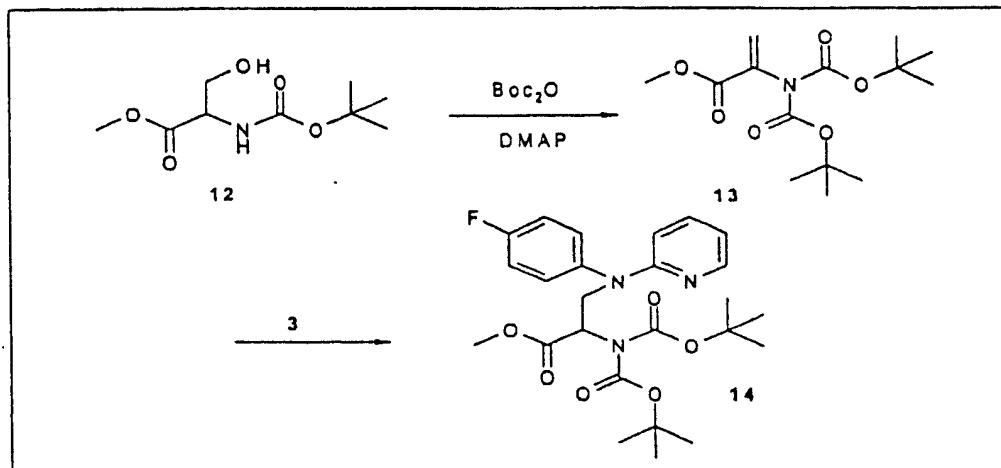
B.2.) 通过丙烯酸 13 合成氨基酸

B.2.1) 对映体的分离

通过制备型 HPLC 将使用丙烯酸制备的外消旋氨基酸拆分成对映体,其中使用手性相如 Chiralpak AD(Daicel)100 × 380, RT, 流速为 300ml/分钟。通过分析型 HPLC(如 Chiralpak-AD-H(Daicel)4.6 × 250, RT, 30℃,

流速 1ml/分钟, 室温)测定对映体纯度。

B.2.2. (3-(N-4-氟苯基-N-2-吡啶基)氨基)-2-(二叔丁氧羰基)氨基丙酸甲酯 (14)



B.2.2.1.) 2-(二叔丁氧羰基)氨基丙烯酸甲酯(13)

将 50g (0.228mol) Boc-丝氨酸(12)溶于 300ml 乙腈。加入 107g(0.493mol)Boc 酸酐和 2.64g(22mmol)DMAP。将该混合物在 RT 下搅拌过夜, 此后在真空下除去溶剂并将残余物用 500ml 乙酸乙酯处理。用 500ml 1N HCl 洗涤有机相并使用硫酸镁干燥。通过在-30℃下从 200ml 庚烷中结晶、然后通过抽吸过滤得到 23g 丙烯酸 13。浓缩母液并将残余物溶于 140ml 乙腈。加入 31g(0.142mol)Boc 酸酐和 1.26g(10mmol)DMAP。在 50℃下将该混合物加热 8 小时后, 在真空下除去溶剂并将残余物用 500ml 乙酸乙酯处理。用 400ml 1N HCl 洗涤有机相并用硫酸镁干燥。在真空下除去溶剂后, 通过从庚烷中结晶又得到 31.5g 丙烯酸酯 13。产率 54.5g(0.181mol), 79%。实验式 $C_{14}H_{23}NO_6$; M.W.=301.34; MS((M*2)+Na⁺) 625.7。

¹H NMR (DMSO-d₆) 1.40 (s, 18H), 3.74 (s, 3H), 5.85 (s, 1H), 6.28 (s, 1H)。

B.2.2.2.) (3-(N-4-氟苯基-N-2-吡啶基)氨基)-2-(二叔丁氧羰基)氨基丙酸甲酯 (14)

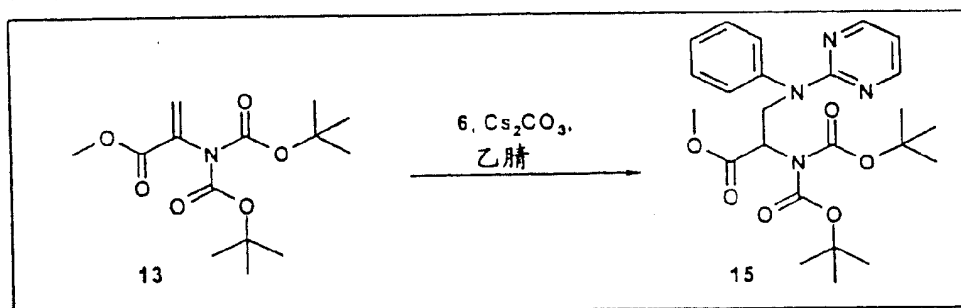
将 11.5g (38.2mmol) 丙烯酸酯 13 与 7.2g(38.2mmol) 苯胺 3 和

37.3g(114mmol)碳酸铯混合。加入 100ml 乙腈并将该混合物在 55℃下搅拌 2 天。此后将该体系在 RT 下再搅拌 2 天。通过使用硅藻土抽吸过滤出固体并各使用 100ml 乙腈洗涤 3 次。在真空下从合并的有机相中除去溶剂并对残余物进行使用庚烷/乙酸乙酯 4:1 的硅胶色谱处理。产率: 14g(75%)14。

实验式 $C_{25}H_{32}FN_3O_6$; M.W.=489.55; MS(M+H)490.6。

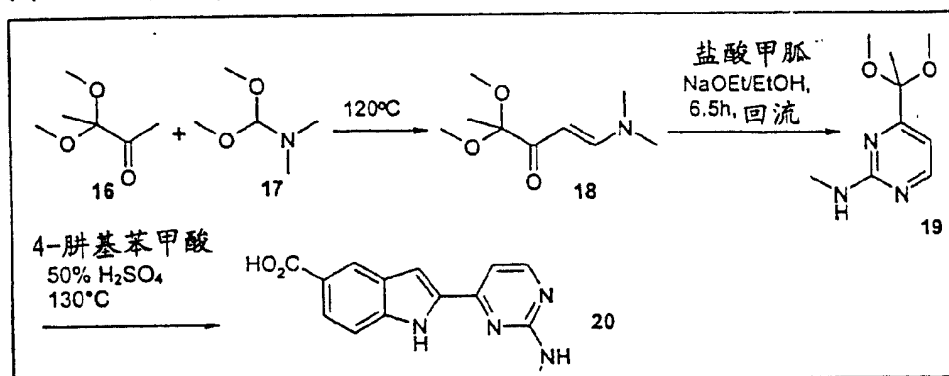
1H NMR($CDCl_3$) 1.28 (s, 18H), 3.72 (s, 3H), 4.25 (dd, 1H), 4.75 (dd, 1H), 5.83 (dd, 1H), 6.22 (d, 1H), 6.56-6.61 (m, 1H), 7.05-7.12 (m, 2H), 7.19-7.26 (m, 3H), 8.18 (d, 1H)。

B.2.3.) (3-(N-苯基-N-2-嘧啶基)氨基)-2-(二叔丁氧羰基)氨基丙酸甲酯(15)



当按照 B.2.2.2.)中所述类似的方式进行反应时, 由 35g 6 得到 3g(7%) 氨基酸 15。实验式 $C_{24}H_{32}N_4O_6$; M.W.=472.23; MS (M+H) 473.1。

C.) 合成杂环母体物质



C.1.) 吲哚母体物质的合成:

2-(2-甲氨基嘧啶-4-基)-1H-吲哚-5-甲酸(20)

C.1.1.) 1-二甲氨基-4,4-二甲氧基戊-1-烯-3-酮(18)

将 100g(0.76mol)3,3-二甲氧基-2-丁酮(16)与 90.2g N,N-二甲基甲酰胺

二甲基缩醛(17)(0.76mol)在 120℃下一起搅拌 48 小时。通过蒸馏从反应溶液中连续除去反应中形成的甲醇。当冷却溶液时, 结晶自发发生, 通过添加少量庚烷使结晶完全。得到 128.24g 粗产物 18(产率 90%), 不经任何进一步纯化使其反应。

实验式 $C_9H_{17}NO_3$; M.W.=187.24; MS(M+H)188.2.

1H NMR(DMSO- d_6) 1.22(s, 3H), 2.80 (s, 3H), 3.10 (s, 9H), 5.39 (d, J=15Hz, 1H), 7.59 (d, J=15Hz, 1H).

C.1.2.) [4-(1,1-二甲氧基乙基)嘧啶-2-基]甲胺(19)

将 1.22g(53mmol) 钠溶于 100ml 无水乙醇。向该溶液中加入 5.8g(53mmol) 盐酸甲胍和 10g(53mmol) 1-二甲氨基-4,4-二甲氧基戊-1-烯-3-酮(18), 同时搅拌并将整个体系在沸腾加热下加热 4 小时。为了终止反应, 蒸发乙醇。不经任何进一步纯化而将所得产物 19 用于随后的反应。产量 11.5g(58mmol, 定量)。

实验式 $C_9H_{15}N_3O_2$; M.W.=197.24; MS(M+H) 198.2.

1H NMR (DMSO- d_6) 1.45 (s, 3H), 2.78 (s, 3H), 3.10 (s, 6H), 6.75 (d, J = 3 Hz, 1 H), 7.0-7.1 (s(b), 1H), 8.30 (d, J=3Hz, 1H).

C.1.3.) 2-(2-甲氨基嘧啶-4-基)-1H-吡啶-5-甲酸(20)

在室温下和搅拌的同时向 150ml 50% 硫酸中加入 5g(25mmol)[4-(1,1-二甲氧基乙基)嘧啶-2-基]甲胺(19)和 3.85g 4-胍基苯甲酸, 并将该混合物在 130℃下加热 4 小时。通过蒸馏从反应溶液中连续除去反应中形成的甲醇。在冷却至 10℃后, 将该反应混合物倾倒在 200ml 冰上并用浓氢氧化钠溶液将 pH 调节至约 5.5。过滤出该过程中形成的硫酸钠与产物的混合物沉淀并用甲醇将过滤的残余物萃取数次。浓缩合并的甲醇萃取物并通过快速色谱法(DCM/甲醇 9:1)纯化产物 20。产率: 0.76g(11%)。

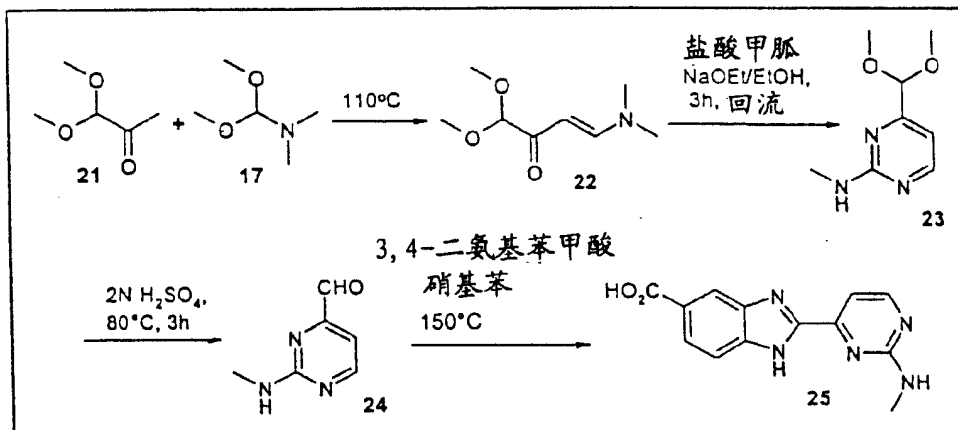
实验式 $C_{14}H_{13}N_4O_2$; M.W.=268.28; MS (M+H) 269.1.

1H NMR (DMSO- d_6) 2.95 (s, 3H), 6.90-7.10 (s(b), 1H), 7.18 (d, J=3Hz, 1H), 7.4 (s, 1H), 7.58 (d, J=4.5Hz, 1H), 7.80 (d, J=4.5Hz, 1H), 8.30 (s, 1H), 7.80 (d, J=4.5Hz, 1H), 8.38 (d, J=3Hz, 1H), 11.85 (s, 1H), 12.40-12.60 (s(b),

1H)。

C.2.) 苯并咪唑母体物质的合成:

2-(2-甲氧基嘧啶-4-基)-1H-苯并咪唑-5-甲酸(25)



C.2.1.) 41-二甲氨基-1,1-二甲氧基丁-3-烯-2-酮(22)

将 300g(307ml, 2.54mol) 甲基乙二醛二甲基缩醛(21)与 303g(337ml, 2.54mol)N,N-二甲基甲酰胺二甲基乙缩醛(17)在 110°C 下一起搅拌 4 小时。通过蒸馏从反应溶液中连续除去反应中形成的甲醇。在将反应溶液冷却后, 将其用庚烷萃取并蒸发溶剂。得到 303g 粗产物 22(产率 70%), 不经任何进一步纯化使其反应。

实验式 C₈H₁₅NO₃; M.W.=173.21; MS(M+H)174.1.

¹H NMR(DMSO-d₆) 2.10 (s, 1H), 2.80 (s, 3H), 3.10 (s, 3H), 3.25 (s, 3H), 3.3 (s, 3H), 4.42 (s, 1H), 5.19 (d (b), J=12.8Hz, 1H), 7.60 (d, J=15Hz, 1H).

C.2.2.) (4-二甲氧基甲基嘧啶-2-基)甲胺(23)

将 0.33g(14.4mmol) 钠溶于 50ml 无水乙醇。向该溶液中加入 1.57g(14.4mmol)盐酸甲胍和 2.48g(14.4mmol)4-二甲氨基-1,1-二甲氧基-丁-3-烯-2-酮(22), 同时搅拌, 并将整个体系在沸腾加热下加热 3 小时。通过蒸发乙醇终止反应。不经任何进一步纯化使用所得产物 23。产量 2.6g(定量)。

实验式 C₈H₁₃N₃O₂; M.W.=183.21; MS (M+H) 184.1.

¹H NMR (DMSO-d₆) 2.78 (s, 6H), 3.10 (s, 3H), 5.02 (s, 1H), 6.62 (d,

$J=3\text{Hz}$, 1H), 8.30 (d, $J=3\text{Hz}$, 1H).

C.2.3.) 2-甲氨基嘧啶-4-甲醛(24)

将 10g(54mmol)的(4-二甲氧基甲基嘧啶-2-基)甲胺(23)溶于 54ml 2N 硫酸并将该溶液在 80°C 下加热 3 小时, 同时搅拌。将该反应冷却后, 使用固体 Na_2CO_3 将该反应溶液的 pH 谨慎调节至约 9 并用乙醇萃取 3 次。在蒸发溶剂后, 合并的干燥萃取物生成标题醛 24, 产率为 60 % (4.47g)。

实验式 $\text{C}_6\text{H}_7\text{N}_3\text{O}$; M.W.=137.12; MS(M+H)138.2。

^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) 2.60-2.80 (s(b), 3H), 6.95 (d, $J=3\text{Hz}$, 1H), 7.40-7.60 (s(b), 1H), 8.55 (d, $J=3\text{Hz}$, 1H)。

C.2.4.) 2-(2-甲氨基嘧啶-4-基)-1H-苯并咪唑-5-甲酸(25)

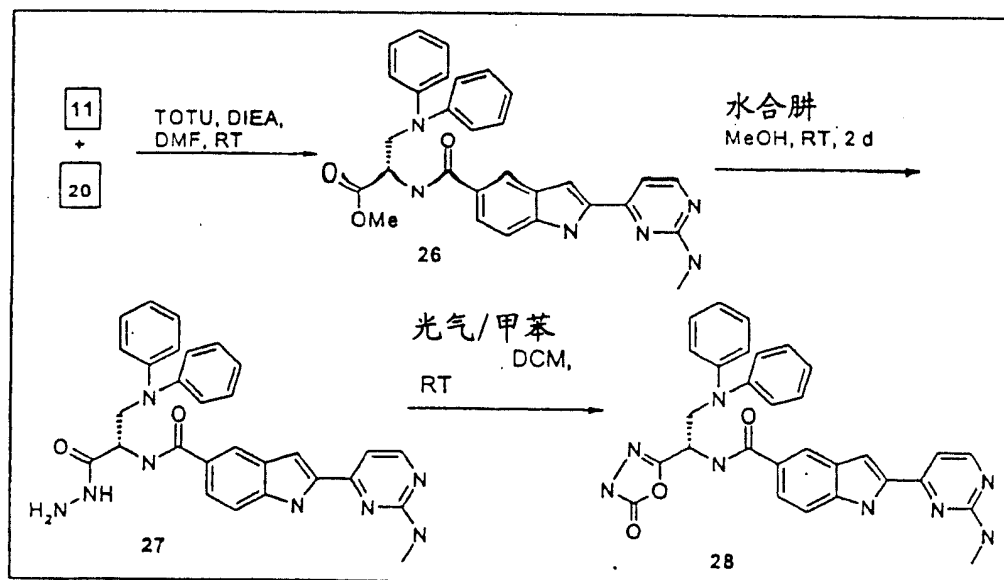
将 4.3g(31.3mmol)甲氨基嘧啶-4-甲醛(24)和 4.8g(31.1mmol)3,4-二氨基苯甲酸在 150°C 下于 300ml 硝基苯中加热 2 小时。在将该混合物冷却至 0°C 后, 通过过滤从硝基苯中分离出苯并咪唑沉淀且通过快速色谱法纯化产物 25(DCM/甲醇 4:1)。产率: 2.66g(32%)。

实验式 $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{N}_5\text{O}_2$; M.W.=269.28; MS (M+H) 270.2。

^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) 2.95(s, 3H), 7.50 (d, $J=3\text{Hz}$, 1H), 7.75 (d, $J=4.5\text{Hz}$, 1H), 7.90 (d, $J=4.5\text{Hz}$, 1H), 8.35 (s, 1H), 8.55 (d, $J=3\text{Hz}$, 1H), 8.70-9.05 (s(b), 1H)。

D.) 吲哚终产物

D.1.) N-[(S)-2-二苯基氨基-1-(5-氧代-4,5-二氢[1,3]噁二唑-2-基)乙基]-2-(2-甲氨基嘧啶-4-基)-1H-吲哚-5-甲酰胺(28)



D.1.1.) 3-二苯基氨基-2-{[2-(2-甲氨基嘧啶-4-基)-1H-吲哚-5-羰基]-(S)-氨基}丙酸甲酯(26)

将 5.0g(18.64mmol)2-(2-甲氨基嘧啶-4-基)-1H-吲哚-5-甲酸(20)溶于 1.2L DMF, 然后依次加入 7.9g(24.08mmol)TOTU 和 7.9ml(46.45mmol)乙基二异丙胺。将该溶液在 5℃下搅拌 20 分钟, 此后向其中加入 0.73g(3.28mmol) (S)-2-氨基-3-二苯基氨基丙酸甲酯(11)。在将该混合物搅拌 15 小时后, 将其在减压下浓缩并将残余物用正丁醇处理; 然后用饱和碳酸氢钠溶液萃取有机相以分离出副产物。在用 MgSO_4 干燥有机相并浓缩后, 通过硅胶快速色谱法分离标题化合物 26 的甲酯(DCM:MeOH=19:1)。产率: 4.3g(98%)。

实验式 $\text{C}_{30}\text{H}_{28}\text{N}_6\text{O}_3$; M.W.=520.22; MS (M+H) 521.3。

^1H NMR (DMSO- d_6) 2.95 (s(b),3H), 3.60 (s, 3H), 4.19-4.58 (m, 2H), 4.85 (q,1H), 6.90-7.10 (m, 7H), 7.18 (d, $J=3\text{Hz}$, 1H), 7.25-7.40 (m, 5H), 7.50 (d, $J=4.5\text{Hz}$, 1H), 7.65 (d, $J=4.5\text{Hz}$, 1H), 8.05 (s, 1H), 8.35 (d, $J=3\text{Hz}$, 1H), 8.70 (d, $J=3.75\text{Hz}$, 1H), 11.85 (s, 1H)。

D.1.2.) N-((S)-2-二苯基氨基-1-胍基羰基乙基)-2-(2-甲氨基嘧啶-4-基)-1H-吲哚-5-甲酰胺(27)

将 1.0g(1.92mmol) 3-二苯基氨基-2-{[2-(2-甲氨基嘧啶-4-基)-1H-吲哚-5-羰基]-(S)-氨基}丙酸甲酯(26)溶于 10ml 甲醇, 此后加入 0.48g(9.95mmol)

水合肼并将该混合物在 RT 下搅拌 15 小时。通过过滤从母液中分离出产物沉淀 (0.3g)。通过硅胶快速色谱法从浓缩的母液中再分离脘 27(0.1g)(DCM:MeOH=19:1)。产率: 0.4g(40%)。

实验式 $C_{29}H_{28}N_8O_2$; M.W.=520.6; MS (M+H) 521.4.

1H NMR-(DMSO- d_6) 2.95 (s(b), 3H), 4.02-4.58 (m, 2H), 4.4 (s, 2H), 4.85 (q, 1H), 6.90-7.10 (m, 7H), 7.18 (d, J=3Hz, 1H), 7.20-7.45 (m, 5H), 7.50 (d, J=4.5Hz, 1H), 7.62 (d, J=4.5Hz, 1H), 7.99 (s, 1H), 8.25 (d, J=3Hz, 1H), 8.35 (s(b), 1H), 9.30 (s, 1H), 11.70 (s, 1H)。

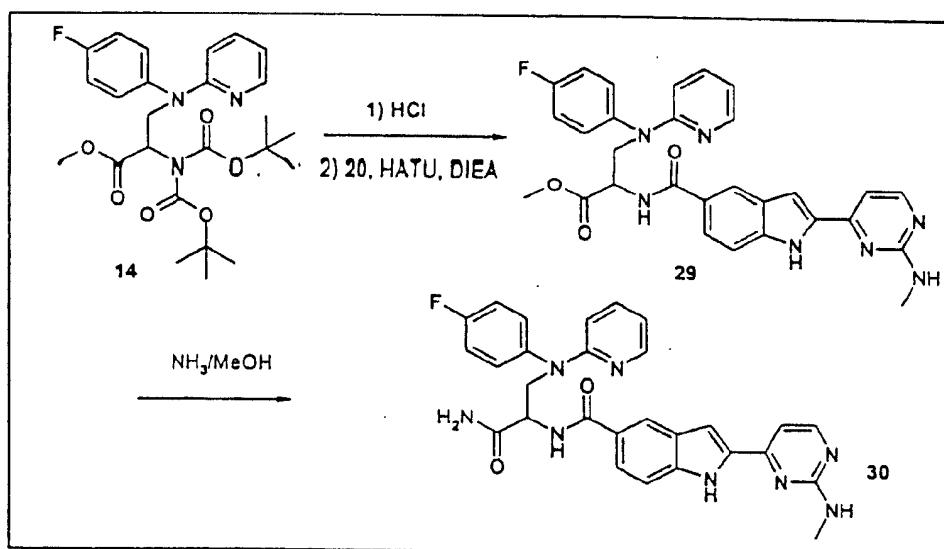
D.1.3.) N-[(S)-2-二苯基氨基-1-(5-氧代-4,5-二氢[1,3,4]噁二唑-2-基)乙基]-2-(2-甲氨基嘧啶-4-基)-1H-吡啶-5-甲酰胺(28)

将 200mg(0.384mmol) N-((S)-2-二苯基氨基-1-胍基羰基乙基)-2-(2-甲氨基嘧啶-4-基)-1H-吡啶-5-甲酰胺(27)悬浮于 20ml 二氯甲烷中并在 0℃下和搅拌的同时滴加光气在甲苯中的 20%溶液(0.398mmol)。将该混合物在室温下再搅拌 15 小时并蒸发溶剂。然后通过硅胶快速色谱法分离噁二唑酮 28(DCM:MeOH=9:1)。产率: 160mg(76%)。

实验式 $C_{30}H_{26}N_8O_3$; M.W.=546.6; MS(M+H)547.3.

1H NMR(DMSO- d_6) 2.95(s(b), 3H), 4.02-4.58 (m, 2H), 4.85 (q, 1H), 6.90-7.10 (m, 7H), 7.15 (d, J=3Hz, 1H), 7.20-7.40 (m, 6H), 7.52 (d, J=4.5Hz, 1H), 7.68 (d, J=4.5Hz, 1H), 8.10 (s,1H), 8.92 (d, J=3Hz, 1H), 11.78 (s,1H), 12.15-12.40 (s(b),1H)。

D.2.) N-{1-氨基甲酰基-2-[(4-氟苯基)吡啶-2-基氨基]乙基}-2-(2-甲氨基嘧啶-4-基)-1H-吡啶-5-甲酸(30)



D.2.1.) 3-[(4-氟苯基)吡啶-2-基氨基]-2-[[2-(2-甲氨基-嘧啶-4-基)-1H-吲哚-5-羰基]氨基}丙酸甲酯(29)

将 0.75g(1.53mmol)14 溶于 10L 二噁烷并将该溶液冷却至 0℃。加入 10ml 4N HCl/二噁烷并在 2 小时内使该混合物达到 RT；然后将该体系搅拌 12 小时。在真空下除去溶剂。将残余物用 20ml DMF 处理(溶液 A)。将 617mg 酸 20 溶于 20ml DMF 并将该溶液冷却至 0℃。加入 1.05g HATU 和 1.6ml DIEA。在 0℃ 下将该混合物搅拌 40 分钟后，加入溶液 A。使该混合物达到 RT，然后搅拌 4 小时。在真空下除去溶剂并使残余物分配在 100ml 饱和(sat.)NaHCO₃ 溶液与 100ml 乙酸乙酯之间。各用 50ml 乙酸乙酯将水相萃取 3 次并用 100ml 饱和 NaCl 溶液洗涤合并的有机相。使用硫酸镁干燥有机相。在真空下除去溶剂并对残余物进行使用庚烷/乙酸乙酯 1:3 的硅胶色谱处理。得到 560mg(68%)的酯 29。

实验式 C₂₉H₂₆FN₇O₃； M.W.=539.57； MS(M+H)540.2。

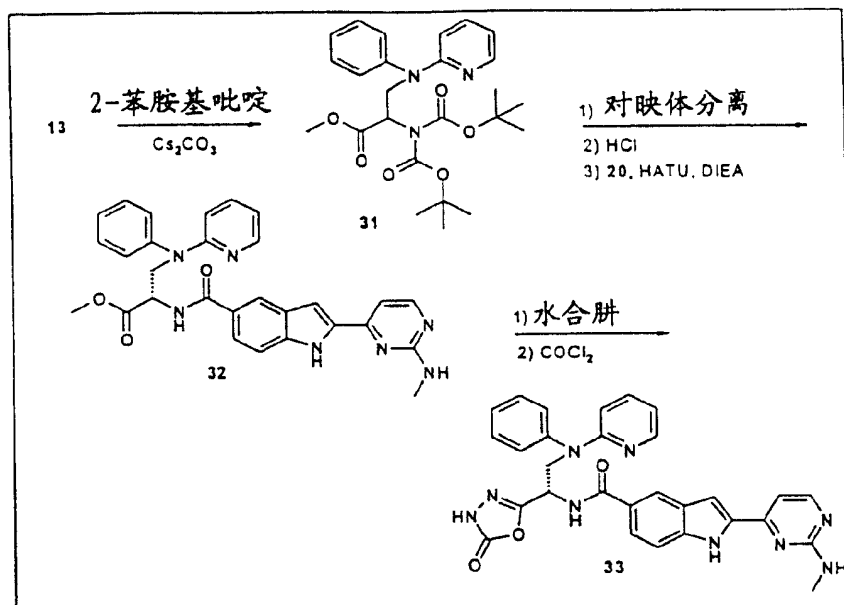
D.2.2.) N-{1-氨基甲酰基-2-[(4-氟苯基)吡啶-2-基氨基]乙基}-2-(2-甲氨基嘧啶-4-基)-1H-吲哚-5-甲酰胺(30)

在 0℃ 下将 320mg(0.593mmol)酯 29 溶于 50ml 氨饱和的甲醇。将该溶液搅拌 24 小时，然后使其达到 RT。在真空下除去溶剂并使残余物从 5ml 乙酸乙酯中沉淀。通过抽吸过滤出固体并在 50℃ 真空下干燥。得到

270mg(87%)的酰胺 30。实验式 $C_{28}H_{25}FN_8O_2$; M.W.=524.56; MS (M+H) 525.2.

1H NMR(DMSO- d_6) 2.45(s, 3H), 4.10 (d, 1H), 4.52-4.66(m, 2H), 6.26 (d, 1H), 6.77(t, 1H), 7.02 (bs, 1H), 7.09-7.17(m, 2H), 7.22-7.32(m, 5H), 7.38-7.46 (m, 1H), 7.47-7.58 (m, 3H), 7.92(s, 1H), 8.27-8.36 (M, 2H), 8.59 (d, 1H), 11.70 (s, 1H).

D.3.) N-[(S)-1-(5-氧代-4,5-二氢-1,3,4-噁二唑-2-基)-2-(苯基吡啶-2-基氨基)乙基]-2-(2-甲氨基嘧啶-4-基)-1H-吡啶-5-甲酰胺(33)



D.3.1.) (3-(N-苯基-N-2-吡啶基)氨基)-2-(二叔丁氧羰基)-氨基丙酸甲酯(31)

将 4.96g(16.5mmol)丙烯酸酯 13 与 5.6g(32.9mmol)2-苯胺基吡啶和 32.16g(98.7mmol)碳酸铯混合。加入 50ml 乙腈并将该混合物在 45℃下搅拌 2 天。通过使用硅藻土抽吸过滤出固体并各使用 100ml 乙腈洗涤 3 次。蒸发合并的有机相并对残余物进行使用庚烷/乙醚 1:1 的硅胶色谱处理。得到 5.66g(73%)的酯 31。

实验式 $C_{25}H_{33}N_3O_6$; M.W.=471.56; MS (M+H) 472.2.

D.3.2.) 如 B.2.1.)中所述分离对映体。

D.3.3.) 2-[[2-(2-甲氨基-嘧啶-4-基)-1H-吡啶-5-羰基]氨基]-3-(苯基吡啶-2-基

氨基)丙酸甲酯(32)

将 2.9g 31 的 S 对映体溶于 30ml 二噁烷并将该溶液冷却至 0℃。加入 30ml 4N HCl/二噁烷, 此后使该混合物达到 RT, 然后将该体系搅拌 12 小时。在真空下除去溶剂。将残余物用 30ml DMF 处理(溶液 A)。将 2.47g(9.2mmol)的酸 20 溶于 50ml DMF 并冷却至 0℃。加入 4.21g HATU 和 6.4ml DIEA。在 0℃下将该混合物搅拌 45 分钟后, 使其达到 RT 并加入溶液 A。将该混合物在 RT 下搅拌 12 小时。在真空下除去溶剂并使残余物分配在 300ml 饱和 NaHCO₃ 溶液与 300ml 乙酸乙酯之间。各用 100ml 乙酸乙酯将水相萃取 3 次并用 400ml 饱和 NaCl 溶液洗涤合并的有机相。使用硫酸镁干燥有机相。在真空下除去溶剂并对残余物进行使用庚烷/乙酸乙酯 1:3 的硅胶色谱处理。得到 1.78g(55%)的酯 32。

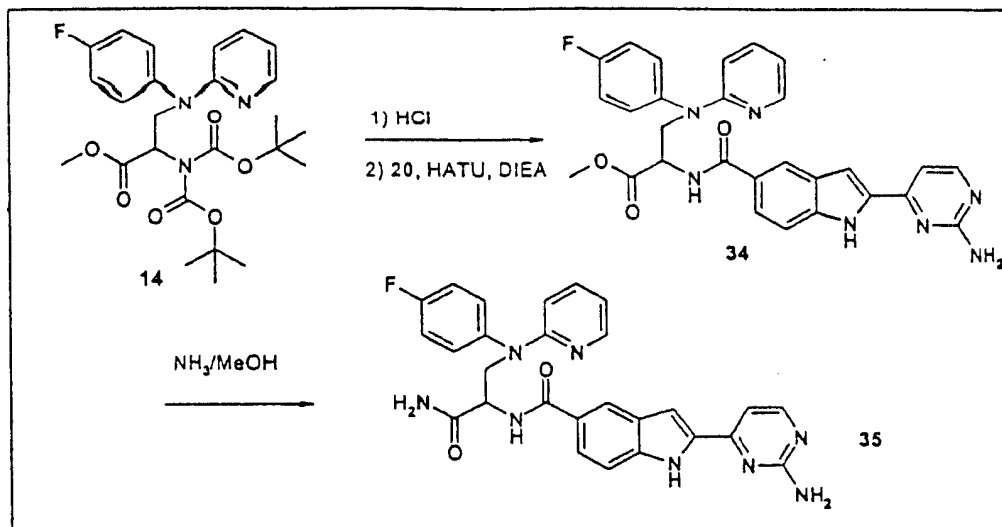
实验式 C₂₉H₂₇N₇O₃; M.W.=521.58; MS (M+H) 522.2。

D.3.4.) N-[(S)-1-(5-氧代-4,5-二氢-1,3,4-噁二唑-2-基)-2-(苯基吡啶-2-基氨基)乙基]-2-(2-甲氨基嘧啶-4-基)-1H-吡啶-5-甲酰胺(33)

将 1.78g(3.4mmol)酯 32 溶于 30ml MeOH。加入 0.83ml 水合肼并将该混合物在 40℃下搅拌 5 小时。此后再加入 1.6ml 水合肼并将该混合物在 RT 下搅拌 15 小时。在真空下除去溶剂并将残余物用 80ml 二氯甲烷处理。加入 3.2ml 光气在甲苯中的 20%溶液并将该混合物搅拌 3 天。此后在真空下除去溶剂并使残余物分配在 80ml 水与 80ml 乙酸乙酯之间。当进行该步骤时, 沉淀出固体并通过抽吸将其滤出。蒸发有机相并将残余物与所述固体合并, 进行使用庚烷/乙酸乙酯 1:5 的硅胶色谱。得到 390mg(21%)的噁二唑酮 33。实验式 C₂₉H₂₅N₉O₃; M.W.=547.58; MS(M+H)548.2。

¹H NMR(DMSO-d₆) 2.96(s, 3H), 4.30 (dd, 1H), 4.67 (dd, 1H), 5.40 (dd, 1H), 6.32 (d, 1H), 6.70-6.75 (m, 1H), 6.98 (bs, 1H), 7.16 (d, 1H), 7.22-7.33 (m, 4H), 7.38-7.46 (m, 3H), 7.52 (d, 1H), 7.63 (d, 1H), 8.08(s, 1H), 8.21 (d, 1H), 8.31-8.35(m, 1H), 9.00 (d, 1H), 11.72 (s, 1H), 12.15 (s, 1H)。

D.4.) N-{1-氨基甲酰基-2-[(4-氟苯基)吡啶-2-基氨基]乙基}-2-(2-氨基嘧啶

-4-基)-1H-吡啶-5-甲酰胺(35)**D.4.1.) 3-[(4-氟苯基)吡啶-2-基氨基]-2-[[2-(2-氨基嘧啶-4-基)-1H-吡啶-5-羰基]氨基}丙酸甲酯(34)**

当按照与 D.2.1.)中所述类似的方式进行反应时, 由 750mg 14 得到 370mg(46%)的甲酯 34。

实验式 $\text{C}_{28}\text{H}_{24}\text{FN}_7\text{O}_3$; M.W.=525.55; MS (M+H) 526.2。

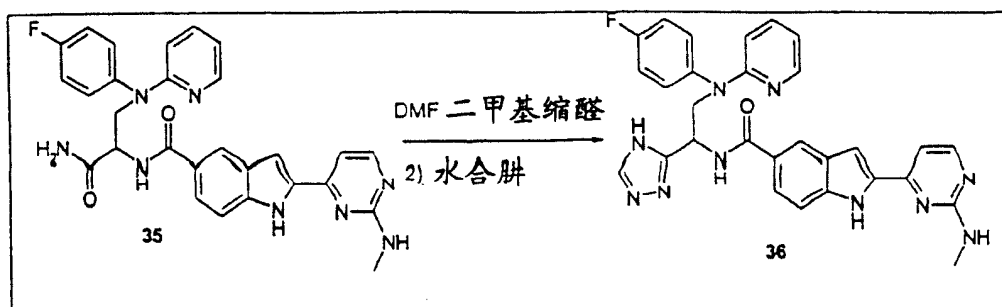
D.4.2.) N-{1-氨基甲酰基-2-[(4-氟苯基)吡啶-2-基氨基]乙基}-2-(2-氨基嘧啶-4-基)-1H-吡啶-5-甲酰胺(35)

当按照与 D.2.2.)中所述类似的方式进行反应时, 由 150mg 34 得到 95mg(65%)的酰胺 35。

实验式 $\text{C}_{27}\text{H}_{23}\text{FN}_8\text{O}_2$; M.W.=510.54; MS (M+H) 511.2。

^1H NMR (DMSO-d_6) 4.08-4.17 (m, 1H), 4.54-4.65 (m, 2H), 6.29 (d, 1H), 6.54 (s, 2H), 6.74-6.80 (m, 1H), 7.10 (s, 1H), 7.18(d, 1H), 7.22-7.31 (m, 4H), 7.38-7.56 (m, 6H), 7.92 (s, 1H), 8.29-8.35 (m, 2H), 8.74 (d, 1H), 11.80 (s, 1H)。

D.5.) N-[2-[(4-氟苯基)吡啶-2-基氨基]-1-(4H-[1,2,4]三唑-3-基)乙基]-2-(2-氨基嘧啶-4-基)-1H-吡啶-5-甲酰胺(36)

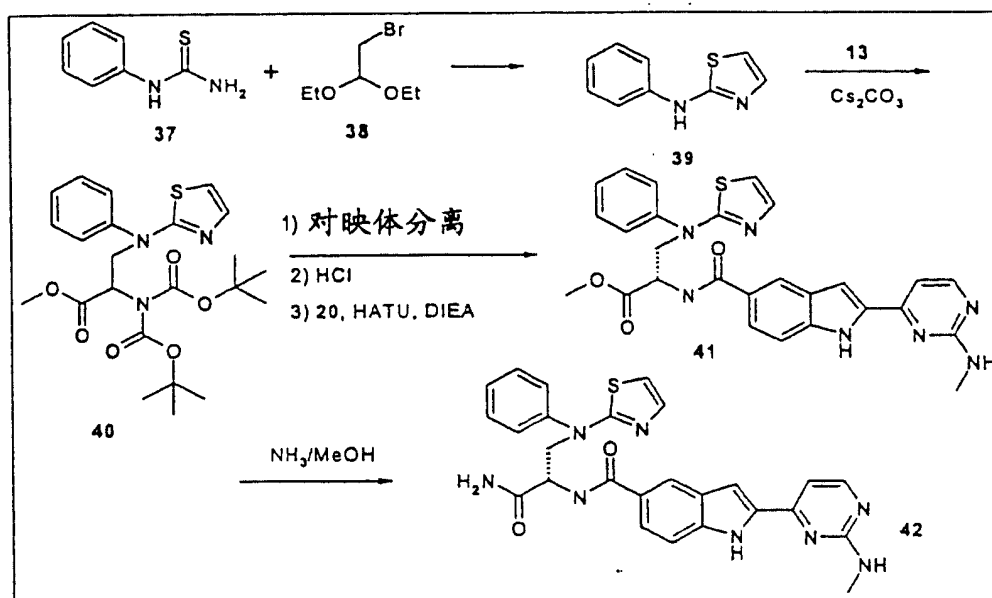


将 130mg(0.25mmol)酰胺 35 溶于 10ml DMF。加入 40 μ l DMF 二甲基缩醛并将该混合物在 90℃下加热 4 小时。在真空下除去溶剂并将残余物用 3.5ml 乙酸处理。在加入 27 μ l 水合肼后,将该混合物搅拌 18 小时。在真空下除去溶剂并通过制备型 HPLC 纯化残余物。得到 84mg(50%)三唑 26。

实验式 $C_{29}H_{25}FN_{10}O$; M.W.=548.59; MS (M+H) 549.2。

1H NMR (DMSO- d_6) 3.04 (s, 3H), 4.36-4.43 (m, 1H), 4.49-4.59 (m, 1H), 5.60-5.67 (m, 1H), 6.50 (d, 1H), 6.78 (t, 1H), 7.17-7.37 (m, 7H), 7.45-7.65 (m, 4H), 8.02 (s, 1H), 8.19 (d, 1H), 8.35 (d, 1H), 8.39 (d, 1H), 11.85 (s, 1H)。

D.6.) N-[1-氨基甲酰基-2-(苯基噻唑-2-基氨基)乙基]-S-2-(2-甲氧基嘧啶-4-基)-1H-吲哚-5-甲酰胺(42)



D.6.1.) 苯基噻唑-2-基胺(39)

将 10g(65.7mmol)苯硫脲 37 溶于 100ml 乙酸。加入 9.9ml 缩醛 38 并将

该混合物在 100℃下加热 2 小时。在真空下除去溶剂并使残余物分配在 300ml 1N NaOH 与 300ml 乙酸乙酯之间。各用 100ml 乙酸乙酯将水相萃取两次并使用硫酸镁干燥合并的有机相。除去溶剂并使残余物从 50ml 二异丙醚中沉淀。通过抽吸过滤出固体并在 50℃和真空下干燥。得到 2.5g 苯胺 39。蒸发二异丙醚母液并对残余物进行使用庚烷/乙酸乙酯 2:1 的硅胶色谱处理。又得到 3.5g 39。产率: 6.0g(52%)。

实验式 $C_9H_8N_2S$; M.W.=176.24; MS (M+H) 177.1。

D.6.2.) (3-(N-苯基-N-2-噻唑基)氨基)-2-(二叔丁氧羰基)氨基丙酸甲酯(40)

当按照与 D.3.1.)中所述类似的方式进行反应时, 由 3.8g(12.5mmol)的丙烯酸酯 13、2.2g(12.5mmol)的苯胺 39 和 20g 碳酸铯得到 4.5g(75%)酯 40。

实验式 $C_{23}H_{31}N_3O_6S$; M.W.=477.58; MS (M+H) 478.2。

D.6.3.) 如 B.2.1.)中所述分离对映体。

D.6.4.) S-2-([2-(2-甲氧基嘧啶-4-基)-1H-吡啶-5-羰基]-氨基)-3-(苯基噻唑-2-基氨基)丙酸甲酯(41)

当按照与 D.3.3.)中所述类似的方式进行反应时, 由 1.07g(2.2mmol)酯 40 和 901mg(3.3mmol)酸 20 得到 640mg(55%)41。

实验式 $C_{27}H_{25}N_7O_3S$; M.W.=527.61; MS (M+H) 528.1。

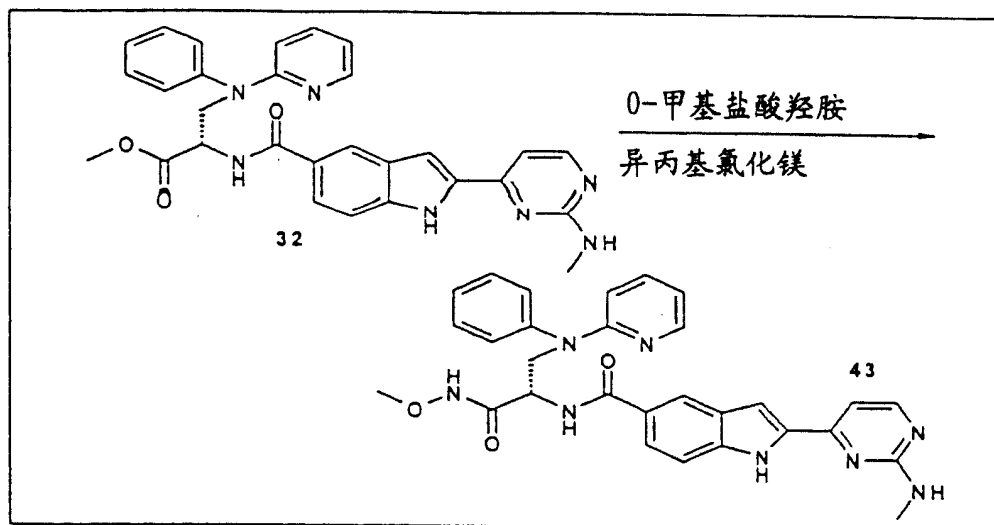
D.6.4.) N-[1-氨基甲酰基-2-(苯基噻唑-2-基氨基)乙基]-S-2-(2-甲氧基嘧啶-4-基)-1H-吡啶-5-甲酰胺(42)

当按照与 D.2.2.)中所述类似的方式进行反应时, 由 500mg(0.95mmol) 41 得到 340mg(70%)酰胺 42。

实验式 $C_{26}H_{24}N_8O_2S$; M.W.=512.60; MS (M+H) 513.3。

1H NMR (DMSO- d_6) 2.97 (s, 3H), 4.23-4.30 (M, 1H), 4.39-4.48 (M, 1H), 4.71-4.78 (m, 1H), 6.78 (d, 1H), 7.16 (d, 1H), 7.28-7.35 (m, 3H), 7.37-7.60 (m, 7H), 7.98 (s, 1H), 8.33 (d, 1H), 8.62 (d, 1H), 11.70 (s, 1H)。

D.7.) N-[1-甲氧基氨基甲酰基-2-(苯基吡啶-2-基氨基)乙基]-S-2-(2-甲氧基嘧啶-4-基)-1H-吡啶-5-甲酰胺(43)

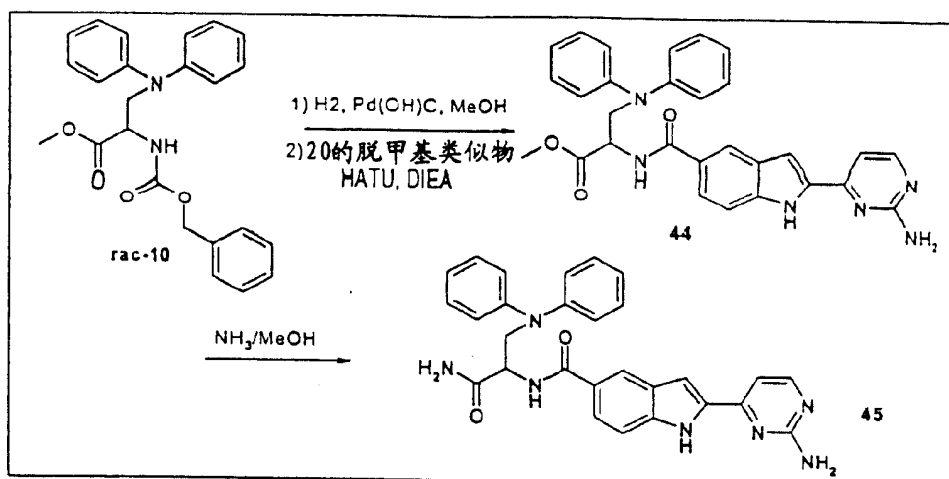


将 80mg(0.95mmol)O-甲基盐酸羟胺溶于 10ml THF 并冷却至 -40°C 。然后滴加 0.95ml(1.9mmol)异丙基氯化镁在 THF 中的 2M 溶液。在 1 小时内使该混合物达到 -20°C ，然后滴加 100mg(0.19mmol)酯 32 在 3ml THF 中的溶液。在 4 小时内使该混合物达到 RT 并通过添加 5ml 水终止反应。在真空下除去 THF 并使残余物分配在 20ml 饱和氯化铵溶液与 20ml 乙酸乙酯之间。各用 20ml 乙酸乙酯将水相萃取 3 次并使用硫酸镁干燥合并的有机相。在真空下除去溶剂并通过制备型 HPLC 纯化残余物。得到 60mg(61%)的异羟肟酸甲酯 43。

实验式 $\text{C}_{29}\text{H}_{28}\text{N}_8\text{O}_3$; M.W.=536.60; MS (M+H) 537.2。

^1H NMR (DMSO- d_6) 2.95 (s, 3H), 3.52 (s, 3H), 4.09-4.18 (m, 1H), 5.51-4.62 (m, 2H), 6.33 (d, 1H), 6.78 (t, 1H), 7.00 (bs, 1H), 7.18.(d, 1H), 7.25-7.33 (m, 4H), 7.49-7.61 (m, 5H), 7.98 (s, 1H), 8.29-8.36 (m, 2H), 8.79 (d, 1H), 11.31 (s, 1H), 11.75 (s, 1H)。

D.8.) N-{1-氨基甲酰基-2-[(苯基)吡啶-2-基氨基]乙基}-2-(2-氨基嘧啶-4-基)-1H-吲哚-5-甲酰胺(45)



D.8.1.) 3-[(苯基)吡啶-2-基氨基]-2-[[2-(2-氨基嘧啶-4-基)-1H-吡啶-5-羰基]氨基]丙酸甲酯(44)

当按照与 B.1.4.)和 D.1.1.)中所述类似的方式进行反应时, 由 540mg *rac*-10 得到 816mg(80%)的甲酯 44。

实验式 $C_{29}H_{26}N_6O_3$; M.W.=506.56; MS (M+H) 507.37.

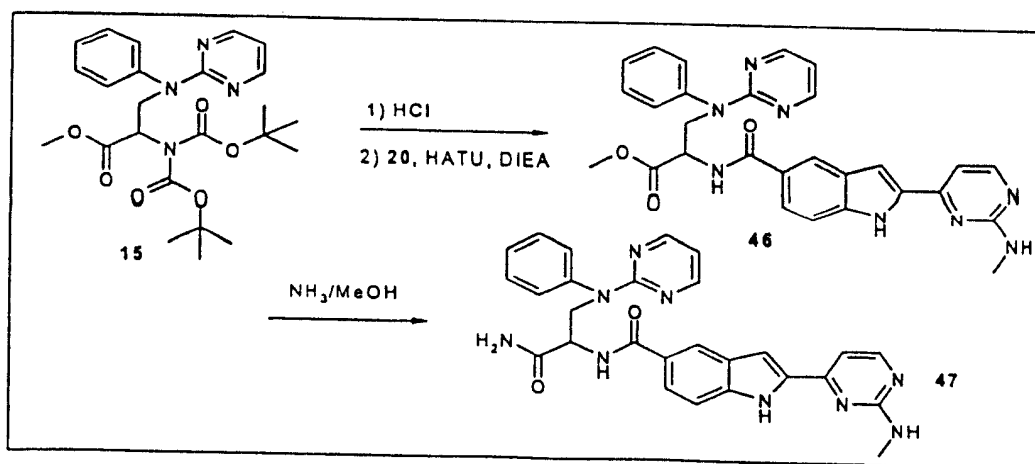
D.8.2.) N-{1-氨基甲酰基-2-[(苯基)吡啶-2-基氨基]乙基}-2-(2-氨基嘧啶-4-基)-1H-吡啶-5-甲酰胺(45)

当按照与 D.2.2.)中所述类似的方式进行反应时, 由 150mg 44 得到 162mg(67%)酰胺 45。

实验式 $C_{28}H_{25}N_7O_2$; M.W.=491.56; MS (M+H) 492.32.

1H NMR(DMSO- d_6) 3.18(s(b), 3H), 4.05-4.13 (m, 2H), 4.85 (q, 1H), 6.58 (s(b), 2H), 6.88-7.59 (m, 19H), 7.98 (s, 1H), 8.25 (d, $J=3Hz$, 1H), 8.35 (d, $J=2Hz$, 1H), 11.78 (s, 1H)。

D.9.) N-{1-氨基甲酰基-2-[(苯基)嘧啶基-2-基氨基]乙基}-2-(2-氨基嘧啶-4-基)-1H-吡啶-5-甲酰胺(47)



D.9.1.) 3-[(苯基)嘧啶基-2-基氨基]-2-{[2-(2-甲氨基嘧啶-4-基)-1H-吲哚-5-羰基]氨基}丙酸甲酯(46)

当按照与 D.2.1.)中所述类似的方式进行反应时, 由 2.36g 15 得到 1.75g(67%)甲酯 46。

实验式 $C_{28}H_{26}N_8O_3$; M.W.=522.57; MS (M+H) 523.3。

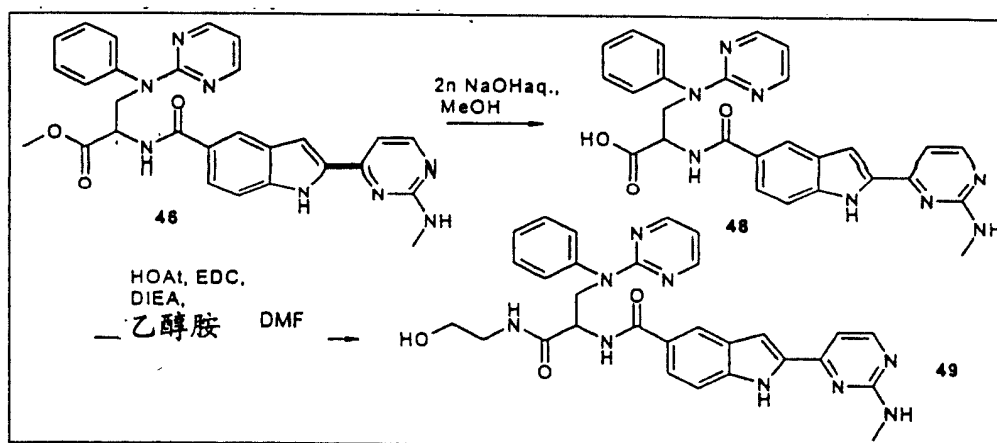
D.9.2.) N-{1-氨基甲酰基-2-[(苯基)嘧啶基-2-基氨基]乙基}-2-(2-甲氨基嘧啶-4-基)-1H-吲哚-5-甲酰胺(47)

当按照与 D.2.2.)中所述类似的方式进行反应时, 由 700mg 46 得到 440mg(65%)酰胺 47。

实验式 $C_{27}H_{25}N_9O_2$; M.W.=507.21; MS(M+H)508.4。

1H NMR (DMSO- d_6) 3.0 (s(b), 3H), 4.20-4.32 (m, 1H), 4.45-4.59 (m, 2H), 4.75-4.90 (m, 1H), 6.75 (m, 1H), 7.10-7.60 (m, 12H), 7.95 (s, 1H), -8.35-8.45 (m, 4H), 11.85 (s(b), 1H)。

D.10.) N-[1-(2-羧乙基氨基甲酰基)-2-(苯基嘧啶-2-基氨基)乙基]-2-(2-甲氨基嘧啶-4-基)-1H-吲哚-5-甲酰胺(49)



D.10.1.) 2-{{2-(2-甲氨基嘧啶-4-基)-1H-吲哚-5-羧基}氨基}-3-(苯基嘧啶-2-基氨基)丙酸(48)

将 4.0g 甲酯 46 溶于 400ml 甲醇。加入 40ml 2N NaOH 水溶液并将整个体系在室温下搅拌 12 小时。蒸发溶剂后，将残余物溶于水并使用饱和 NaH_2PO_4 溶液将 pH 调节至~5。过滤出所得沉淀并用水洗涤。得到 1.3g(产率 93%)酸 48。

实验式 $\text{C}_{29}\text{H}_{26}\text{N}_6\text{O}_3$; M.W.=506.21; MS (M+H) 507.3。

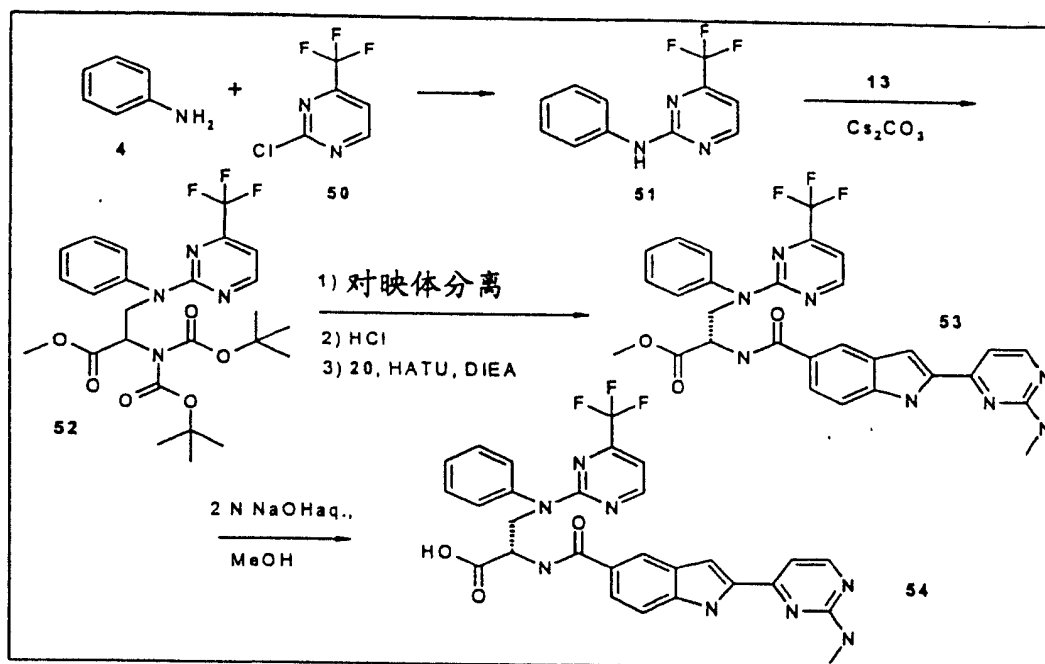
D.10.2.) N-[1-(2-羟乙基氨基甲酰基)-2-(苯基嘧啶-2-基氨基)乙基]-2-(2-甲氨基嘧啶-4-基)-1H-吲哚-5-甲酰胺(49)

将 200mg 酸 48 溶于 2ml 无水 DMF。加入 94mg HOAt 和 158 μl DIEA。然后滴加 56 μl 乙醇胺并将该混合物冷却至 0℃；然后加入 195mg EDC。在室温下搅拌 2 天后，蒸发溶剂并通过 MPLC 纯化粗产物(洗脱剂：DCM:MeOH=9:1)。产率：108mg(50%)标题酰胺 49。

实验式 $\text{C}_{31}\text{H}_{31}\text{N}_8\text{O}_2$; M.W.=549.64; MS (M+H) 550.4。

^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) 1,2 (t, 2H), 3.0 (s(b), 3H), 3.35 (t, 1H), 4.00-4.32 (m, 2H), 4.80-4.99 (m, 1H), 6.95 (m, 1H), 7.00-7.65 (m, 7H), 7.90 (m, 1H), -8.35-8.40 (m, 1H), 11.90 (s(b), 1H)。

D.11.) (S)-2-{{2-(2-甲氨基嘧啶-4-基)-1H-吲哚-5-羧基}-氨基}-3-[苯基-(4-三氟甲基嘧啶-2-基)氨基]丙酸(54)



D.11.1.) 苯基-(4-三氟甲基嘧啶-2-基)胺(51)

当按照与 A.1.)中所述类似的方式进行反应时, 由 5.1g 的苯胺(4)和 5g 氯嘧啶 50 得到 5.1g(78%)的苯胺 51。

实验式 $C_{11}H_8F_3N_3$; M.W.=239.20; MS (M+H) 240.1。

D.11.2.) (3-(N-苯基-N-4-三氟甲基嘧啶-2-基)氨基)-2-二叔丁氧羰基)氨基丙酸甲酯(52)

当按照与 D.3.1.)中所述类似的方式进行反应时, 由 2.5g(8.4mmol)丙烯酸酯 13、3g(12.5mmol)苯胺 51 和 16g(50mmol)碳酸铯得到 3.9g(86%)酯 52。

实验式 $C_{25}H_{31}F_3N_4O_6$; M.W.=540.54; MS(M+H)541.2。

D.11.3.) 如 B.2.1.)中所述分离对映体。

D.11.4.) S-2-{[2-(2-甲氨基嘧啶-4-基)-1H-吡啶-5-羰基]-氨基}-3-[苯基-(4-三氟甲基嘧啶-2-基)氨基]丙酸甲酯(53)

当按照与 D.3.3.)中所述类似的方式进行反应时, 由 743mg(1.375mmol)酯 52 的 S 对映体和 550mg(1.436mmol)酸 20 得到 467mg(58%) 53。

实验式 $C_{29}H_{25}F_3N_8O_3$; M.W.=590.57; MS (M+H) 591.7。

D.11.5.) (S)-2-{[2-(2-甲氨基嘧啶-4-基)-1H-吡啶-5-羰基]-氨基}-3-[苯基-(4-三氟甲基嘧啶-2-基)氨基]丙酸(54)

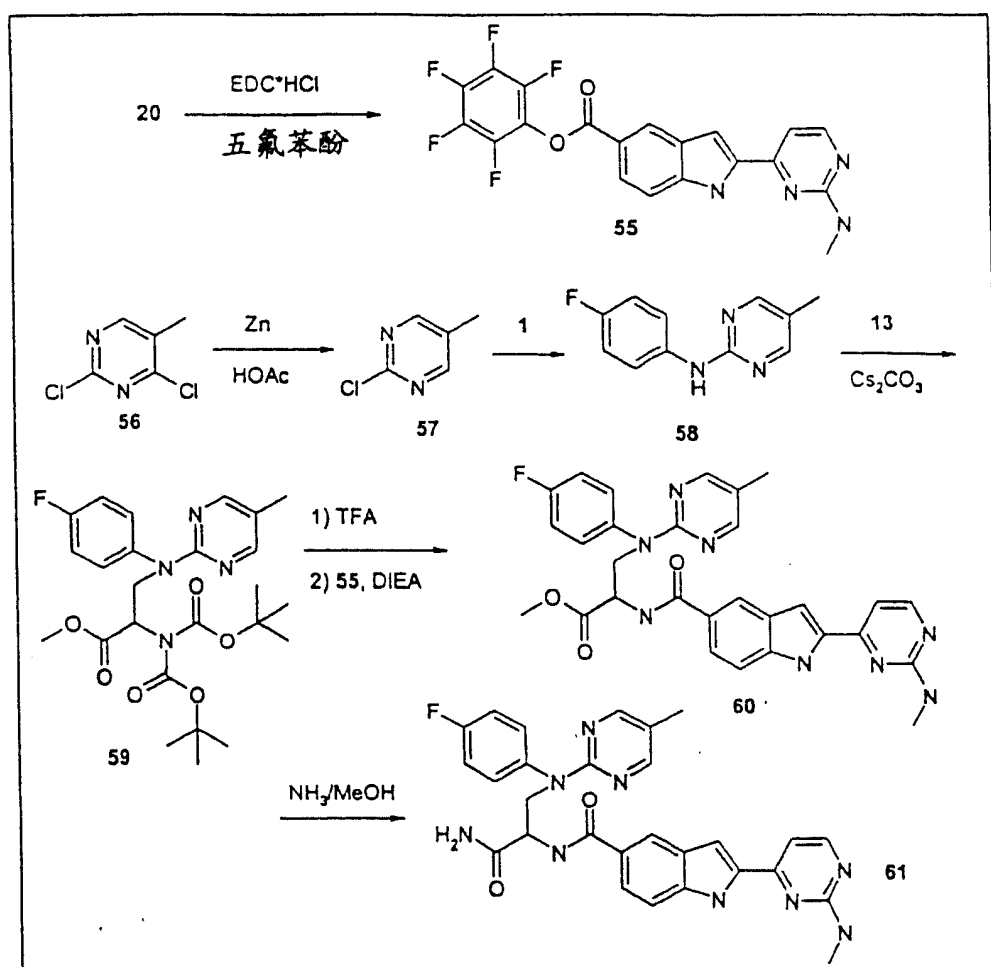
当按照与 D.10.1.)中所述类似的方式进行反应时, 由 97mg(0.164mmol)

酯 53 得到 38mg(40%)酸 54.

实验式 $C_{28}H_{23}F_3N_8O_3$; M.W.=576.54; MS (M+H) 577.7.

1H NMR (DMSO- d_6) 2.95(s, 3H), . 4.27-4.34 (m, 1H), 4.54-4.63 (m, 1H), 4.83-4.92 (m, 1H), 6.90 (bs, 1H), 7.15 (d, 2H), 7.19-7.23 (m, 1H), 7.27-7.36 (m, 5H), 7.45-7.55 (m, 2H), 7.96 (s, 1H), 8.32 (s, 1H), 8.41 (bs, 1H), 8.66(d, 1H), 11.70 (s, 1H).

D.12.) N-{1-氨基甲酰基-2-[(4-氟苯基)-(5-甲基嘧啶-2-基)氨基]乙基}-2-(2-甲氧基嘧啶-4-基)-1H-吡啶-5-甲酰胺(61)



D.12.1.) 2-(2-甲氧基嘧啶-4-基)-1H-吡啶-5-甲酸五氟苯酯(55)

将 6.38g(23.78mmol)酸 20 悬浮于 100ml THF 中。然后加入 5.25g(28.54mmol)五氟苯酚和 5.47g(28.54mmol)1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐(EDC·HCl)。将该混合物在 RT 下搅拌 15 小时,此后在真

空下除去溶剂并使残余物分配在 300ml 饱和 NaHCO_3 溶液与 300ml 乙酸乙酯之间。通过硅藻土过滤出固体并各用 100ml 乙酸乙酯洗涤残余物两次。分离各相并各用 100ml 乙酸乙酯洗涤水相两次。用 200ml 饱和 NaCl 溶液洗涤合并的有机相，然后用 MgSO_4 干燥。在真空下除去溶剂后，对残余物进行使用庚烷/乙酸乙酯 1:1 的硅胶色谱处理。得到 4.7g(46%)的五氟苯酯 55。

实验式 $\text{C}_{20}\text{H}_{11}\text{F}_5\text{N}_4\text{O}_2$; M.W.=434.33; MS (M+H) 435.4。

D.12.2.) 2-氯-5-甲基嘧啶(57)

将 10.0g(61.35mmol)2,4-二氯-5-甲基嘧啶(56)溶于 50ml THF。加入 12.93g(184mmol) 锌并将该混合物加热至回流。然后缓慢滴加 3.51ml(61.35mmol)乙酸在 10ml THF 中的溶液。在添加完成后，再将该混合物加热至回流 1 小时。再次滴加在 5ml THF 中的 1.5ml 乙酸并将该混合物加热至回流 1 小时。然后使该体系冷却至 RT，此后将该体系通过硅藻土过滤；随后各用 20ml THF 洗涤两次。在真空下除去溶剂并对残余物进行硅胶色谱处理。得到 4.7g(60%)的氯嘧啶 57。

实验式 $\text{C}_5\text{H}_5\text{ClN}_2$; M.W.=128.56; MS (M+H) 129.2。

D.12.3.) (4-氟苯基)-(5-甲基嘧啶-2-基)胺(58)

当按照与 A.1.)中所述类似的方式进行反应时，由 2.5g(19.45mmol)2-氯-5-甲基嘧啶(57)和 2.7g(24.31mmol)4-氟苯胺(1)得到 1.8g(45%)苯胺 58。

实验式 $\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{FN}_3$; M.W.=203.22; MS (M+H) 204.2。

D.12.4.) (3-(N-4-氟苯基-N-5-甲基嘧啶-2-基)氨基)-2-二叔丁氧羰基)氨基丙酸甲酯(59)

当按照与 D.3.1.)中所述类似的方式进行反应时，由 2.67g(8.86mmol)丙烯酸酯 10、1.8g(8.86mmol)苯胺 58 和 8.86g(26.58mmol)碳酸铯得到 2.88g(64%)酯 59。

实验式 $\text{C}_{25}\text{H}_{33}\text{FN}_4\text{O}_6$; M.W.=504.56; MS (M+H) 505.6。

D.12.5.) 3-[(4-氟苯基)-(5-甲基嘧啶-2-基)氨基]-2-[[2-(2-甲氨基嘧啶-4-基)-1H-吡啶-5-羰基]氨基]丙酸甲酯(60)

将 500mg(0.991mmol)酯 59 溶于 10ml 二氯甲烷中并将该溶液冷却至 0℃。加入 5ml TFA, 然后使该混合物达到 RT, 此后将该体系搅拌 1 小时。在真空下除去溶剂。将残余物用 10ml DMF 处理, 此后加入 430mg(0.991mmol)55 和 1.38ml(7.93mmol)DIEA。将该混合物在 RT 下搅拌 15 小时, 此后在真空下除去溶剂并对残余物进行使用庚烷/乙酸乙酯 1:3 的硅胶色谱处理。得到 423mg(77%) 60。

实验式 $C_{29}H_{27}FN_8O_3$; M.W.=554.59; MS (M+H) 555.2。

D.12.6.) N-{1-氨基甲酰基-2-[(4-氟苯基)-(5-甲基嘧啶-2-基)氨基]乙基}-2-(2-甲氨基嘧啶-4-基)-1H-吡啶-5-甲酰胺(61)

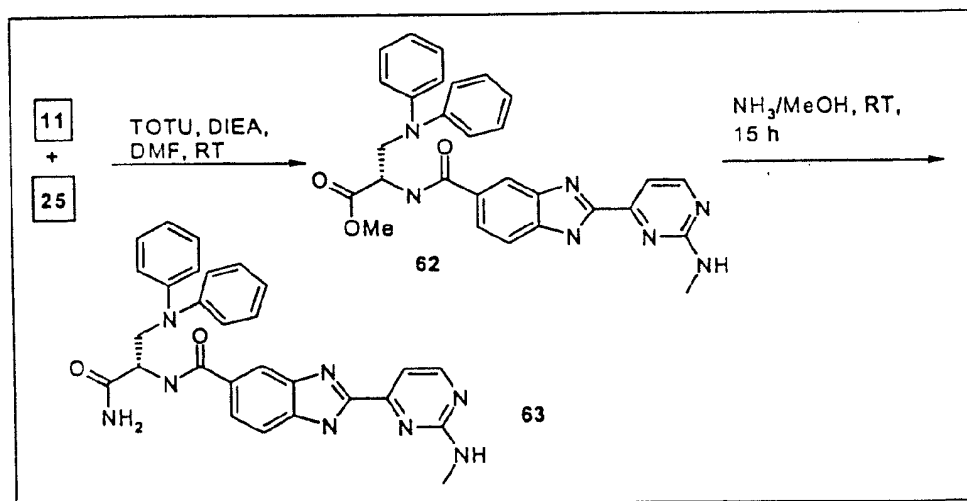
当按照与 D.2.2.)中所述类似的方式进行反应时, 由 260mg(0.469mmol)酯 60 得到 250mg(99%)酰胺 61。

实验式 $C_{28}H_{26}FN_9O_2$; M.W.=539.58; MS (M+H) 540.2。

1H NMR(DMSO- d_6) 2.11 (s, 3H), 2.95 (s, 3H), 4.21 (dd, 1H), 4.48 (dd, 1H), 4.75-4.80 (m, 1H), 7.01 (bs, 1H), 7.10-7.16 (m, 4H), 7.22-7.30 (m, 3H), 7.43 (s, 1H), 7.47-7.53 (m, 2H), 7.91 (s, 1H), 8.26 (s, 2H), 8.29. 8.34 (m, 2H), 11.70 (s, 1H)。

F.) 苯并咪唑终产物

F.1.) N-((S)-1-氨基甲酰基-2-二苯基氨基乙基)-2-(2-甲氨基嘧啶-4-基)-1H-苯并咪唑-5-甲酰胺(63)



F.1.1.) 3-二苯基氨基-2-{[2-(2-甲氨基嘧啶-4-基)-1H-苯并咪唑-5-羧基]-(S)-氨基}丙酸甲酯(62)

将 2.6g(9.6mmol)2-(2-甲氨基嘧啶-4-基)-1H-苯并咪唑-5-甲酸(25)溶于 300ml DMF, 然后依次加入 3.17g(9.6mmol)TOTU 和 1.6ml(11.6mmol)乙基二异丙胺。将该混合物在 5℃下搅拌 20 分钟, 然后向该溶液中加入 2.6g(9.6mmol) (S)-2-氨基-3-二苯基氨基丙酸甲酯(11)。在将该混合物搅拌 16 小时后, 在减压下蒸发并通过硅胶快速色谱法分离甲酯 62(DCM:MeOH=9:1)。产率: 1.61g(32%)。

实验式 $C_{29}H_{27}N_7O_3$; M.W.=521.58; MS (M+H) 522.3。

1H NMR (DMSO- d_6) 2.95 (s(b), 3H), 3.60 (s, 3H), 4.19-4.40 (m, 2H), 4.90 (q, 1H), 6.90-7.10 (m, 6H), 7.25-7.35 (m, 6H), 7.40 (d, J=4.5Hz, 1H), 7.60-7.80 (d(b), 1H), 8.05-8.25 (d(b), 1H), 8.45 (d, J=3Hz, 1H), 8.90 (s(b), 1H), 11.85 (s(b), 1H)。

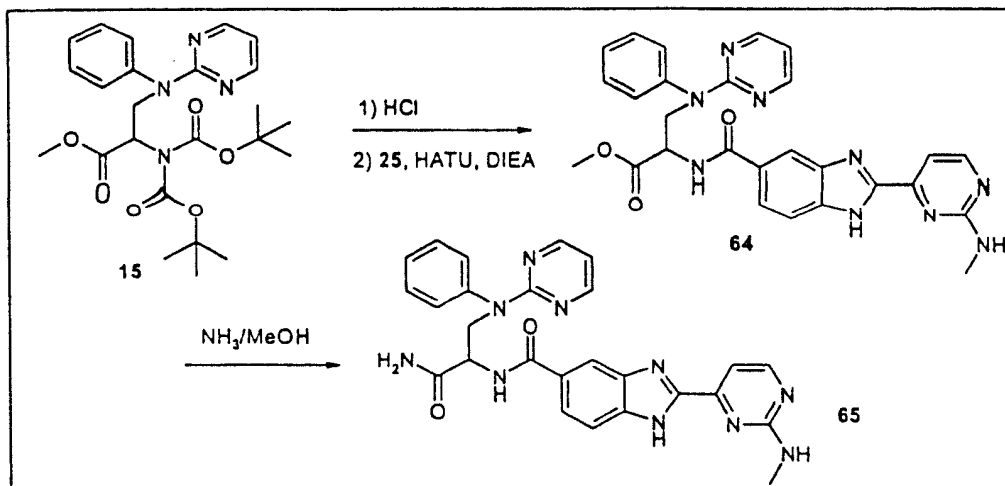
F.1.2.) N-((S)-1-氨基甲酰基-2-二苯基氨基乙基)-2-(2-甲氨基嘧啶-4-基)-1H-苯并咪唑-5-甲酰胺(63)

在 0℃下用氨饱和 50ml(无水)甲醇。然后加入 0.5g(0.959mmol) 3-二苯基氨基-2-{[2-(2-甲氨基嘧啶-4-基)-1H-苯并咪唑-5-羧基]-(S)-氨基}丙酸甲酯(62)并将该混合物在室温下搅拌 24 小时。在蒸发溶剂和过量氨后, 通过硅胶快速色谱法分离酰胺 63(DCM:MeOH=19:1)。产率: 0.43g(89%)。

实验式 $C_{29}H_{28}N_8O_2$; M.W.=506.57; MS (M+H) 507.2。

1H NMR (DMSO- d_6) 2.95 (s(b), 3H), 4.02-4.35 (m, 2H), 4.85 (q, 1H), 6.80-7.10 (m, 6H), 7.15-7.25 (m, 5H), 7.40 (d, J=4.5Hz, 1H), 7.58 (s(b), 1H), 7.68 (s(b), 1H), 8.06-8.19 (d(b), 1H), 8.40-8.58 (m, 2H), 13.10 (s, 1H)。

F.2.) N-{1-氨基甲酰基-2-[(苯基)嘧啶-2-基氨基]乙基}-2-(2-甲氨基嘧啶-4-基)-1H-苯并咪唑-5-甲酰胺(65)



F.2.1.) 3-[(苯基)嘧啶-2-基氨基]-2-[[2-(2-甲氨基-嘧啶-4-基)-1H-苯并咪唑-5-羰基]氨基]丙酸甲酯(64)

当按照与 D.2.1.)中所述类似的方式进行反应时, 由 657mg 15 得到 210mg(29%)甲酯 64。

实验式 $C_{27}H_{25}N_9O_3$; M.W.=523.56; MS(M+H) 524.2。

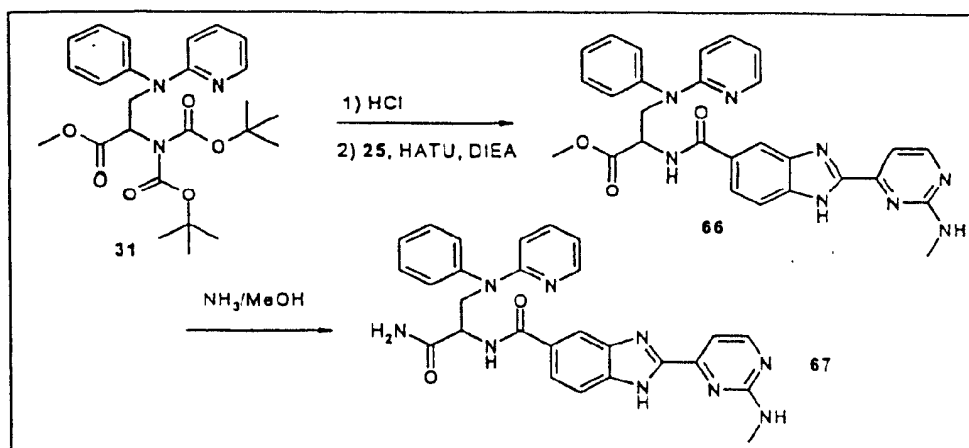
F.2.2.) N-{1-氨基甲酰基-2-[(苯基)嘧啶-2-基氨基]乙基}-2-(2-甲氨基嘧啶-4-基)-1H-苯并咪唑-5-甲酰胺(65)

当按照与 D.2.2.)中所述类似的方式进行反应时, 由 200mg 64 得到 110mg(65%)酰胺 65。

实验式 $C_{26}H_{24}FN_{10}O_2$; M.W.=508.55; MS (M+H) 509.3。

1H NMR (DMSO- d_6) 3.0 (s(b), 3H), 4.20-4.32 (m, 1H), 4.41-4.55 (m, 2H), 4.80-4.90 (m, 1H), 6.75 (m, 1H), 7.10-7.50 (m, 10H), 7.65 (q, 2H), 8.10 (s, 1H), -8.45 (d, 2H), 8.50 (d, 1H), 8.58 (d, 1H), 12.95 (s(b), 1H)。

F.3.) N-{1-氨基甲酰基-2-[(苯基)吡啶基-2-基氨基]乙基}-2-(2-甲氨基嘧啶-4-基)-1H-苯并咪唑-5-甲酰胺(67)



F.3.1.) 3-[(苯基)吡啶基-2-基氨基]-2-[[2-(2-甲氨基嘧啶-4-基)-1H-苯并咪唑-5-羰基]氨基]丙酸甲酯(66)

当按照与 D.2.1.)中所述类似的方式进行反应时, 由 3.44g 31 得到 0.85(22%)甲酯 66。

实验式 $C_{28}H_{26}N_8O_3$; M.W.=522.57; MS (M+H) 523.3。

F.3.2.) N-{1-氨基甲酰基-2-[(苯基)吡啶基-2-基氨基]乙基}-2-(2-甲氨基嘧啶-4-基)-1H-苯并咪唑-5-甲酰胺(67)

当按照与 D.2.2.)中所述类似的方式进行反应时, 由 200mg 66 得到 160mg(98%)酰胺 67。

实验式 $C_{27}H_{25}N_9O_2$; M.W.=507.56; MS (M+HCOO-) 552.3。

1H NMR (DMSO- d_6) 3.0 (s(b), 3H), 4.20-4.32 (m, 1H), 4.41-4.55 (m, 2H), 4.70-4.80 (m, 1H), 6.63 (m, 1H), 6.85 (m, 1H), 7.20-7.75 (m, 14H), 8.10 (s, 1H), -8.20 (d, 2H), 8.50 (d, 1H), 8.88 (d, 1H)。

药理实施例

I κ B 激酶 ELISA:

使用 ELISA 测定 I κ B 激酶活性, 所述 ELISA 包括含有丝氨酸 32-36 的 I κ B 蛋白的氨基酸序列的生物素化底物肽和仅结合 I κ B 肽的磷酸化形式的特异性多克隆和单克隆抗体(例如获自 New England Biolabs, Beverly, MA, USA, cat.: 9240)。将该复合物固定在抗体结合(蛋白质 A 包被的)平板

上并使用由生物素结合蛋白和 HRP 组成的缀合物(例如链霉抗生物素-HRP)检测。借助于使用底物磷酸肽构建的标准曲线对活性进行定量。

实施:

为了获得激酶复合物,用 40ml 50mM HEPES pH7.5 稀释 10ml HeLa S3 细胞萃取物 S100、使硫酸铵浓度达到 40 % 并在冰上孵育 30 分钟。将沉淀的颗粒溶于 5ml SEC 缓冲液(50mM HEPES, pH7.5、1mM DTT、0.5mM EDTA、10mM 2-磷酸甘油)、以 20000g 离心 15 分钟并通过 0.22 μ m 滤膜过滤。将样品加载至已经用 SEC 缓冲液平衡并在 4°C 下以 2ml/分钟的流速操作的 320ml Superose-6 FPLC 柱上(Amersham Pharmacia Biotech AB, Uppsala, Sweden)。合并位于 670kDa 分子量标准的迁移时间处的级分用于活化。通过在 37°C 下与 100nM MEKK1 Δ 、250 μ M MgATP、10mM MgCl₂、5mM 二硫苏糖醇(DTT)、10mM 2-磷酸甘油和 2.5 μ M 微囊藻素-LR 一起温育 45 分钟进行活化。将活化的酶保存在-80°C 下。

将溶于 DMSO 的测试物质(2 μ l)在 25°C 下与 43 μ l 活化酶(在反应缓冲液 50mM HEPES pH7.5、10mM MgCl₂、5mM DTT、10mM β -磷酸甘油、2.5 μ M 微囊藻素-LR 中按 1:25 稀释)预孵育 30 分钟,然后加入 5 μ l 底物肽(生物素-(CH₂)₆-DRHDSGLDSMKD-CONH₂)(200 μ M),此后将该混合物孵育 1 小时并用 150 μ l 50mM HEPES, pH7.5、0.1%BSA、50mM EDTA、抗体 [1:200]终止反应。然后将 100 μ l 终止的反应混合物或标准磷酸肽稀释系列(生物素-(CH₂)₆-DRHDS[PO₃]GLDSMKD-CONH₂)转入蛋白质 A 平板(Pierce Chemical Co., Rockford, IL, USA),此后将平板在振摇下孵育 2 小时。用 PBS 进行 3 次洗涤步骤后,经 30 分钟加入 100 μ l 0.5 μ g/ml 链霉抗生物素-HRP(辣根过氧化物酶)(在 50mM HEPES/0.1%BSA 中稀释)。用 PBS 进行 5 次洗涤步骤后,加入 100 μ L TMB 底物(Kirkegaard & Perry Laboratories, Gaithersburg, MD, USA)并通过添加 100 μ L 0.18M 硫酸终止显色。在 450nm 处测定吸收。通过线性回归产生对应于 4-参数剂量作用相关性的标准曲线。该标准曲线用于对酶活性或测试物质对其的抑制作用进

行定量。

N-[(S)-2-二苯基氨基-1-(5-氧代-4,5-二氢[1,3,4]噁二唑-2-基)乙基]-2-(2-甲氨基嘧啶-4-基)-1H-吡啶-5-甲酰胺的 IC_{50} 为 $0.050\mu M$ 。

N-[(S)-2-二苯基氨基-1-(5-氧代-4,5-二氢[1,3,4]噁二唑-2-基)乙基]-2-(2-甲氨基嘧啶-4-基)-1H-吡啶-5-甲酰胺的血浆浓度。

向雄性 C57/BL6 小鼠施用化合物 N-[(S)-2-二苯基氨基-1-(5-氧代-4,5-二氢[1,3,4]噁二唑-2-基)乙基]-2-(2-甲氨基嘧啶-4-基)-1H-吡啶-5-甲酰胺，下文称为化合物 28。为此，每次施用约 25mg 化合物 28/kg 小鼠体重，将该化合物在 0.5%羟乙基纤维素(HEC)中湿磨，以混悬液(通过食管探子)口服施用。0.25、0.5、1、2、4、6 和 8 小时后取血样(每次在每一提及的时间点从 2 只动物中抽取供试血液(sacrificial blood))。将血样转化成肝素血浆。将血浆样品储存在 $-20^{\circ}C$ 下直至分析。

分析:

融化血浆样品。然后用乙腈沉淀干扰分析的血浆蛋白。

处理:

将 50 μl 血浆 + 20 μl 内标(5 $\mu g/ml$) + 50 μl 缓冲液(2mMol 甲酸铵溶液, pH2.6/乙腈, 40:60, v/v)在涡动混合器上混合约 10 秒。然后加入 150 μl 乙腈并将整个体系再次混合约 10 秒。然后离心样品(Hettich, EBA 12, 约 12 000 转/分钟)。将上清液(每次约 200 μl)转入玻璃管。注射 70 μl 上清液。

通过 LC-MS/MS、按照下列方法将各上清液用于测定化合物 13 的血浆含量水平:

HPLC 系统: Agilent 1100

软件: Analyst

柱: 125 $\times$ 4mm Nucleosil 120 5 C18(Machery & Nagel)

柱长: 125mm

检测: LC-MS/MS

MS 仪器: PE-Sciex API 365(Triple Quadrupole 质谱仪)

软件: MacQuan 软件(PE-Sciex)

检测类型: MS/MS(MRM)

流速: 0.5mL/分钟

注射体积: 70 μ l

内标: 在乙腈中的 SK-7

流动相: 乙腈/2mMol 甲酸铵溶液, pH 2.6(70:30, v/v)

保留时间(Rt):

内标: 4.4 分钟

化合物 28: 3.9 分钟

该方法的检测下限为 0.01 μ g/mL。

结果:

化合物 28 的血浆水平至多为 4.3 μ g/mL。测定为 AUC = 曲线下面积的暴露值(exposure)为 5.4 μ g/mL $\times$ 小时。

蛋白酪氨酸激酶

作为已经发现的 I κ B 激酶抑制剂特异性的实例, 测定了蛋白酪氨酸激酶的 IC₅₀ 值。

使用来自 Upstate Biotechnologie 的适宜测试试剂盒、按照制造商的说明并在 50 μ M 的 ATP 浓度下测定蛋白酪氨酸激酶的活性。与制造商方法的差别在于: 使用了 Multi-Screen 平板(Millipore; 磷酸纤维素 MS-PH, cat. MAPHNOB10; 或 Durapore PVDF, cat. MADVNOB 50)与适宜的排气系统代替磷酸纤维素滤膜。将多(Glu, Tyr 4:1)(Sigma cat. P0275)用作测试试剂盒底物, 测试浓度为 1mg/ml。然后在 Wallac MicroBeta 闪烁计数仪上测定平板。每种情况下使用 100 μ M 测试物质。

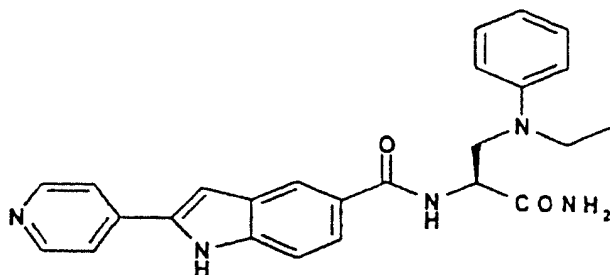
对测试物质进行一式两份测定。使用 GraFit 3.0 软件包进行 IC₅₀ 计算。

N-[(S)-2-二苯基氨基-1-(5-氧代-4,5-二氢[1,3,4]噁二唑-2-基)乙基]-2-(2-甲氨基嘧啶-4-基)-1H-吡啶-5-甲酰胺(化合物 28)在蛋白酪氨酸激酶试验中

的 IC_{50} 为 $82.5\mu M$ 。

比较实验:

如 WO 01/30774 中所述制备如下化合物并在下文中称作比较化合物:



向雄性 NMRI 小鼠施用该比较化合物。为此, 每种情况下以 0.5% HEC 中的混悬液形式(通过食管探子)口服施用约 50mg 比较化合物/kg 小鼠体重。0.25、0.5、1、2、4、6 和 8 小时后取血样(每次在每一提及的时间点从 2 只动物中抽取供试血液)。将血样转化成肝素血浆。将血浆样品储存在 $-20^{\circ}C$ 下直至分析。

分析: 使用 HPLC/UV 进行分析。

处理: 将 50 μ l 血浆 + 20 μ l 内标(5 μ g/ml) + 50 μ l 缓冲液(1% 甲酸/乙腈, 40:60, v/v)在 Whirlmixer 上混合约 10 秒。然后加入 150 μ l 乙腈并将整个体系再次混合约 10 秒。然后离心样品(Hettich, EBA 12, 约 12000 转/分钟)。将上清液(每次约 200 μ l)转入玻璃管。注射 100 μ l 上清液。

通过 HPLC/UV、按照下列方法将各上清液用于测定比较化合物的血浆含量水平:

HPLC 系统: Gynkoteck P580 HPG 泵 + Gilson Abimed XL-231 自动进样器

软件: Mass-chrom

柱: 125 $\times$ 4mm Protosil 120 3 ODS AQ 3(来自 Bischoff)

柱长: 125mm

检测: LC-MS/MS

MS 仪器: PE-Sciex API 365(Triple Quadrupole 质谱仪)

软件: MacQuan 软件(PE-Sciex)

检测类型: MS/MS(MRM)

流速: 0.5mL/分钟

注射体积: 100 μ l

内标: 在乙腈中的 SK-7(Aventis 化合物)

流动相: 乙腈/2mMol 甲酸铵溶液, pH 2.6(70:30, v/v)

保留时间(Rt):

内标: 4 分钟

比较化合物: 1.5 分钟

检测下限 0.01 μ g/mL 与使用化合物 28 的实施例中所用 LC-MS/MS 的检测下限相同。

结果: 比较化合物的血浆浓度至多为 1.5 μ g/mL。测定为 AUC = 曲线下面积的暴露值为 1.7 μ g/mL $\times$ 小时。

与使用化合物 28 的实施例相比, 尽管比较化合物的施用剂量 50mg/kg 是化合物 28 的剂量的两倍, 但是在比较实验中的最高血浆浓度仍然约低 60%。对比较化合物测定的 AUC 值也得出了相同的结果。

在上述蛋白酪氨酸激酶试验中, 比较化合物的 IC₅₀ 为 46.35 μ M。因此该 IC₅₀ 显然优于化合物 28 的 IC₅₀。

当将蛋白酪氨酸激酶与 I κ B 激酶的 IC₅₀ 进行比较时, 对 I κ B 激酶的特异性改善变得更为明显。就化合物 28 而言, 该比值为 1650(82.5/0.05), 而就比较化合物而言, 其为 46.35(46.35/1.0; 根据来自 WO 01/30774 的数据)。

按照类似方式测定了其它实施例的特异性比值和/或血浆浓度和接触值。

实施例序号	分子式 中性化合物	分子量	IKK IC50 50μM	特异性比值
28	$C_{30}H_{26}N_8O_3$	546.59	0.05	1650
30	$C_{28}H_{25}FN_8O_2$	524.56	0.05	>200
33	$C_{29}H_{25}N_9O_3$	547.58	0.012	>833
35	$C_{27}H_{23}FN_8O_2$	510.54	0.01	>1000
36	$C_{29}H_{25}FN_{10}O$	548.59	0.005	>2000
42	$C_{26}H_{24}N_8O_2S$	512.60	0.009	>1110
43	$C_{29}H_{28}N_8O_3$	536.60	0.0008	>12500
45	$C_{28}H_{25}N_7O_2$	491.55	0.015	>665
47	$C_{27}H_{25}N_9O_2$	507.56	0.006	>1665
49	$C_{31}H_{31}N_7O_3$	549.63	0.035	>285
54	$C_{28}H_{23}F_3N_8O_3$	576.54	0.003	>3330
61	$C_{28}H_{26}FN_9O_2$	539.58	0.006	>1650
63	$C_{28}H_{26}N_8O_2$	506.57	0.003	>1000
65	$C_{26}H_{24}N_{10}O_2$	508.55	0.004	>2500
67	$C_{27}H_{25}N_9O_2$	507.56	0.002	>5000

>表示优于