

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl<sup>7</sup>

C07D403/14

C07D401/14 A61K 31/4015

A61K 31/404 A61P 35/00

# [12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 00813985.7

[43] 公开日 2002 年 11 月 6 日

[11] 公开号 CN 1378545A

[22] 申请日 2000.10.2 [21] 申请号 00813985.7

[30] 优先权

[32] 1999.10.12 [33] US [31] 60/158,860

[86] 国际申请 PCT/EP00/09635 2000.10.2

[87] 国际公布 WO01/27106 英 2001.4.19

[85] 进入国家阶段日期 2002.4.8

[71] 申请人 霍夫曼-拉罗奇有限公司

地址 瑞士巴塞尔

[72] 发明人 纳德·佛投赫 诺尔曼·孔

埃米莉·爱军·刘 艾伦·约翰·勒韦伊

约翰·吉尔福伊尔·吉尔·马林

[74] 专利代理机构 中科专利商标代理有限责任公司

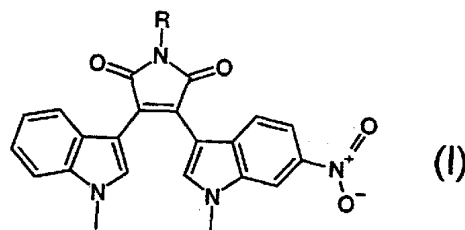
代理人 李悦

权利要求书 6 页 说明书 38 页 附图 0 页

[54] 发明名称 作为用于治疗癌症的抗增殖剂的取代的吡咯类化合物

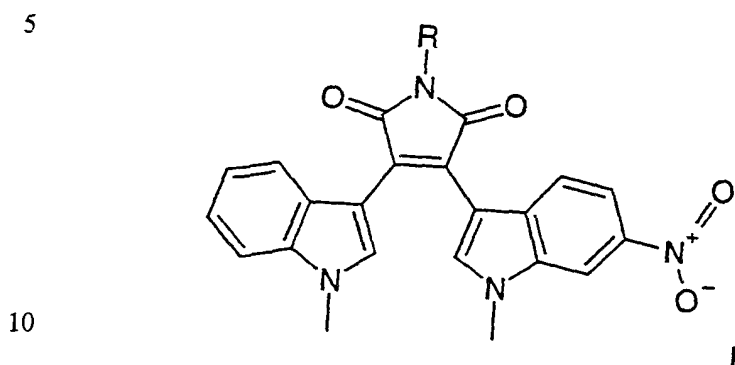
[57] 摘要

公开了具有式(I)的新型取代的吡咯类化合物。这些化合物及其药用盐适于以连续的输注溶液对患者给药和用于治疗 and/或控制细胞增殖性疾病,尤其是癌症。也公开了含有上述化合物的药物组合物及其治疗 and/或控制癌症的用途。



ISSN 1008-4274

1. 下式的化合物:



及其药用盐, 其中:

R 选自  $-\text{CH}_2\text{OPO}_3\text{R}^1\text{R}^2$ ,  $-\text{CH}_2\text{OH}$ ,  $-\text{CH}_2\text{OCOR}^3$ ,  $-\text{CH}_2\text{OCO}_2\text{R}^3$ ,  $-\text{CH}_2\text{OCONHR}^3$ , 和  $-\text{CONHR}^3$ ;

15  $\text{R}^1$  和  $\text{R}^2$  选自 H、Na 和  $\text{NH}_4$  并且是相同的, 除非  $\text{R}^1$  或  $\text{R}^2$  是 H, 在这种情况下, 另一个可以是不同的, 或者备选地,  $\text{R}^1$  和  $\text{R}^2$  一起代表钙;

$\text{R}^3$  选自:

任选地被一个或多个选自  $-\text{CO}_2\text{R}^4$ ,  $-\text{NR}^5\text{R}^6$ , 聚乙二醇,  $-\text{OPO}_3\text{R}^1\text{R}^2$ , 羟基, 烷氧基和芳基的取代基取代的烷基;

20 任选地被一个或多个选自  $-\text{CO}_2\text{R}^4$ ,  $-\text{NR}^5\text{R}^6$ , 聚乙二醇,  $-\text{OPO}_3\text{R}^1\text{R}^2$ , 羟基, 烷氧基和芳基的取代基取代的链烯基;

任选地被一个或多个选自  $-\text{CO}_2\text{R}^4$ ,  $-\text{NR}^5\text{R}^6$ , 聚乙二醇,  $-\text{OPO}_3\text{R}^1\text{R}^2$ , 羟基, 烷氧基和芳基的取代基取代的环烷基;

25 杂环基, 其中当包括 N 作为杂原子时, 该 N 任选地可被低级烷基和  $-\text{COR}^7$  取代,

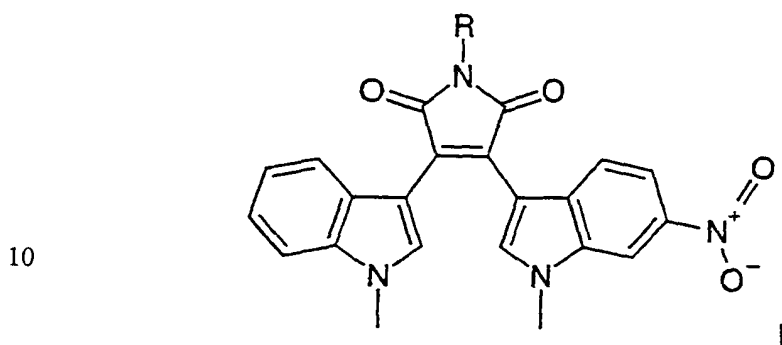
芳基, 其任选地被一个或多个选自  $\text{CO}_2\text{R}^4$ , 羟基, 烷氧基, 聚乙二醇,  $\text{OPO}_3\text{R}^1\text{R}^2$ , 和烷基的取代基取代, 其中所述烷基本身可被羟基、烷氧基、羧基和取代的氨基取代, 条件是, 当芳基代表吡啶时, 该氮可被低级烷基取代;

30  $\text{R}^4$  选自 H, Na, 和低级烷基;

$R^5$  和  $R^6$  各自独立地选自 H, 低级烷基, 和  $-\text{COR}^7$ , 或者备选地, 基团  $-\text{NR}^5\text{R}^6$  一起形成 5 或 6 元的杂环环; 和

$R^7$  是任选地可被羧基, 聚乙二醇, 聚乙二醇, 取代的氨基取代的低级烷基。

5        2. 下式的化合物:



及其药用盐, 其中:

15         $R$  选自  $-\text{CH}_2\text{OPO}_3\text{R}^1\text{R}^2$ ,  $-\text{CH}_2\text{OCOR}^3$ ,  $-\text{CH}_2\text{OCO}_2\text{R}^3$ ,  $-\text{CH}_2\text{OCONHR}^3$ , 和  $-\text{CONHR}^3$ ;

$R^1$  和  $R^2$  选自 H, Na 和  $\text{NH}_4$  并且是相同的, 除非  $R^1$  或  $R^2$  是 H, 在这种情况下, 另一个可是不同的, 或者备选地,  $R^1$  和  $R^2$  一起代表钙;

$R^3$  选自:

20        任选地被一个或多个选自  $-\text{CO}_2\text{R}^4$ ,  $-\text{NR}^5\text{R}^6$ , 聚乙二醇,  $-\text{OPO}_3\text{R}^1\text{R}^2$ , 羟基, 烷氧基和芳基的取代基取代的烷基;

任选地被一个或多个选自  $-\text{CO}_2\text{R}^4$ ,  $-\text{NR}^5\text{R}^6$ , 聚乙二醇,  $-\text{OPO}_3\text{R}^1\text{R}^2$ , 羟基, 烷氧基和芳基的取代基取代的链烯基;

任选地被一个或多个选自  $-\text{CO}_2\text{R}^4$ ,  $-\text{NR}^5\text{R}^6$ , 聚乙二醇,  $-\text{OPO}_3\text{R}^1\text{R}^2$ , 羟基, 烷氧基和芳基的取代基取代的环烷基;

25        杂环基, 其中当包括 N 作为杂原子时, 该 N 任选地可被低级烷基和  $-\text{COR}^7$  取代,

30        芳基, 其任选地被一个或多个选自  $\text{CO}_2\text{R}^4$ , 羟基, 烷氧基, 聚乙二醇,  $\text{OPO}_3\text{R}^1\text{R}^2$ , 和烷基的取代基取代, 其中所述烷基本身可被羟基, 烷氧基, 羧基和取代的氨基取代, 条件是, 当芳基代表吡啶时, 该氮可被低级烷基取代;

R<sup>4</sup>选自 H, Na 和低级烷基;

R<sup>5</sup>和 R<sup>6</sup>各自独立地选自 H, 低级烷基, 和-COR<sup>7</sup>, 或者备选地, 基团-NR<sup>5</sup>R<sup>6</sup>一起形成 5 或 6 元的杂环环; 和

5 R<sup>7</sup>是任选地可被羧基, 聚乙二醇, 聚乙二醇, 取代的氨基取代的低级烷基。

3. 权利要求 2 的化合物, 其中 R 选自-CH<sub>2</sub>OPO<sub>3</sub>R<sup>1</sup>R<sup>2</sup>和 -CH<sub>2</sub>OCOR<sup>3</sup>。

4. 权利要求 2 的化合物, 其中 R 是-CH<sub>2</sub>OCO-吡啶, 其中该吡啶上的 N 原子被低级烷基取代。

10 5. 权利要求 4 的化合物, 其中该吡啶上的 N 原子被甲基或乙基取代。

6. 权利要求 2 的化合物, 其中 R<sup>1</sup>和 R<sup>2</sup>独立地选自 H 和 Na。

7. 权利要求 2 的化合物, 其中 R<sup>3</sup>是含有任选地可被-COR<sup>7</sup>取代的至少一个 N 原子的杂环基。

15 8. 权利要求 2 的化合物, 其中 R<sup>3</sup>是被-OPO<sub>3</sub>R<sup>1</sup>R<sup>2</sup>取代的芳基, 并且 R<sup>1</sup>和 R<sup>2</sup>独立地选自 H 和 Na。

9. 权利要求 2 的化合物, 其中 R<sup>3</sup>是被选自-CO<sub>2</sub>Na, 聚乙二醇和-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>的基团取代的芳基。

10. 权利要求 2 的化合物, 其中 R<sup>3</sup>是被-CO<sub>2</sub>Na 取代的低级烷基。

20 11. 权利要求 2 的化合物, 其中基团 NR<sup>5</sup>R<sup>6</sup>一起形成 5 或 6 元的杂环环。

12. 权利要求 11 的化合物, 其中基团 NR<sup>5</sup>R<sup>6</sup>选自哌啶或吡咯烷。

13. 权利要求 2 的化合物, 其中 R<sup>5</sup>和 R<sup>6</sup>各自独立地选自 H、甲基和乙基。

14. 权利要求 2 的化合物, 其中 R<sup>7</sup>是被聚乙二醇取代的乙基。

25 15. 权利要求 2 的化合物, 其中 R 是-CH<sub>2</sub>OCOR<sup>3</sup>, 并且 R<sup>3</sup>是被具有分子量约 750 到约 5000 道尔顿的聚乙二醇取代的乙基。

16. 权利要求 2 的化合物, 其中聚乙二醇具有约 750 到约 5000 道尔顿的分子量。

17. 化合物, 选自:

30 磷酸单-[3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-

基)-2, 5-二氧代-2, 5-二氢-吡咯-1-基甲基]钠盐;

1-羟甲基-3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-吡咯-2, 5-二酮;

5 异烟酸 3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧代-2, 5-二氢-吡咯-1-基甲基酯;

丁-2-烯二酸单-[3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧代-2, 5-二氢-吡咯-1-基甲基]酯;

癸酸 3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧代-2, 5-二氢-吡咯-1-基甲基酯;

10 3-氨基-环己烷羧酸 3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧代-2, 5-二氢-吡咯-1-基甲基酯三氟乙酸盐;

哌啶-4-羧酸 3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧代-2, 5-二氢-吡咯-1-基甲基酯乙酸盐;

15 哌啶-4-羧酸 3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧代-2, 5-二氢-吡咯-1-基甲基酯盐酸盐;

2-氨基-2-甲基-丙酸 3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧代-2, 5-二氢-吡咯-1-基甲基酯盐酸盐;

1-甲基-3-[3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧代-2, 5-二氢-吡咯-1-基甲氧基羰基]-吡啶鎓三氟乙酸盐;

20 和

O-[2-[[4-[[[2, 5-二氢-3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧代-1H-吡咯-1-基]甲氧基]羰基]-1-哌啶基]羰基]乙基]-O'-甲基聚乙二醇 1000。

18. 化合物, 选自:

25 4-膦酰氧基-苯甲酸 3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧代-2, 5-二氢-吡咯-1-基甲基酯单钠盐;

[[3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧代-2, 5-二氢-吡咯-1-基]甲氧基羰基]-4-苯基-O-甲基聚乙二醇 500;

30 碳酸烯丙基酯 3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧代-2, 5-二氢-吡咯-1-基甲基酯;

(2-二甲基氨基-乙基)-氨基甲酸 3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧代-2, 5-二氢-吡咯-1-基甲基酯;

[2-(2-羟基-乙氧基)-乙基]-氨基甲酸 3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧代-2, 5-二氢-吡咯-1-基甲基酯;

(2-羟基-乙基)-氨基甲酸 3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧代-2, 5-二氢-吡咯-1-基甲基酯;

(2-膦酰氧基-乙基)-氨基甲酸 3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧代-2, 5-二氢-吡咯-1-基甲基酯;

3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧代-2, 5-二氢-吡咯-1-羧酸 (2-二乙基氨基-乙基)-酰胺;

3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧代-2, 5-二氢-吡咯-1-羧酸 (6-二甲基氨基-己基)-酰胺;

3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧代-2, 5-二氢-吡咯-1-羧酸 (4-羟基丁基)-酰胺; 和

磷酸单-(4-{[3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧代-2, 5-二氢-吡咯-1-羧基]-氨基}-丁基)酯钠盐。

19: 化合物, 选自:

磷酸单-[3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧代-2, 5-二氢-吡咯-1-基甲基]钠盐,

O-[2-[[2, 5-二氢-3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧代-2, 5-二氢-吡咯-1-基]甲氧基羰基]乙基)-O'-甲基聚乙二醇 2000,

磷酸单-(4-{[3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧代-2, 5-二氢-吡咯-1-羧基]-氨基}-丁基)酯钠盐,

三氟乙酸 1-甲基-3-[3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧代-2, 5-二氢-吡咯-1-基甲氧基羰基]-吡啶鎓盐; 和

O-[2-[[[2, 5-二氢-3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧代-1H-吡咯-1-基]甲氧基]羰基]甲基]-O'-甲基聚

乙二醇 2000。

20. 一种药物组合物，含有有效量的权利要求 1 的化合物作为活性成分和药用载体或赋形剂。

21. 权利要求 20 的药物组合物，其适于胃肠外给药。

5 22. 治疗有效量的按照权利要求 1 的化合物治疗细胞增殖性疾病的用途。

23. 权利要求 22 的用途，其中该细胞增殖性疾病是肿瘤。

24. 权利要求 23 的用途，其中的肿瘤是实体瘤。

25. 权利要求 23 的用途，其中的实体瘤是乳腺癌，结肠癌或肺癌。

## 作为用于治疗癌症的抗增殖剂的取代的吡咯类化合物

5

### 发明概述

本发明涉及某些作为抗增殖剂的取代的吡咯类化合物。这些化合物及其药用盐适用于治疗和/或控制细胞增殖性疾病，尤其是癌症。本发明还涉及含有该化合物的药物组合物及其治疗和/或预防癌症，特别是治疗

10 或控制实体肿瘤用途。

### 发明背景

不受控制的细胞增殖是癌症的标志。一般地，癌性的肿瘤细胞对直接或间接调节细胞分裂周期的基因有一些形式的损伤。人类在抗增殖剂的研究中进行了大量的工作。尽管鉴定了许多具有所需的抗增殖活性的

15 活性剂，但是其中的许多有包括不良溶解度，分子复杂度等的各种缺点，使得它们或者不适于或者不便于在人类患者中的治疗应用。一直需要可容易地合成的，作为癌症治疗剂有效的，并且适于对患者连续的输注递送的小分子化合物。因此，本发明的目的是提供这种化合物以及含有该

20 化合物的药物组合物。

### 定义

在本文中使用时，下列术语应具有以下定义。

“烷基”指具有 1-15，优选地 1-10 个碳原子的直链或支链饱和的脂

25 族烃。烷基可如下文具体描述的被取代。此外，该烷基链可包括一个或多个代替碳原子的杂原子。具有 1-6 个，优选地 1-4 个碳原子的“低级烷基”是优选的。典型的低级烷基包括甲基，乙基，丙基，异丙基，丁基，叔丁基，2-丁基，戊基，己基等。

“链烯基”指具有 1-15，优选地 1-10 个碳原子，最优选 1-6 个碳原

30 子的直链或支链的脂族不饱和烃。



“烷氧基”指通过氧连接到该分子的剩余部分的烷基（例如 RO-，如甲氧基，乙氧基等）。

“芳基”指任选地可含有一个或多个相同或不同的杂原子的具有 5-10 个原子且由 1 或 2 个环构成的芳环。在该定义中，芳基包括杂芳基。5 优选的杂芳基包括代替一个或多个碳的单个的或任何组合的氮，硫，或氧。在该定义中的芳基的实例是苯基，吡啶，咪唑，吡咯，三唑，呋喃，噻啶。

“环烷基”指含有 3-8 个原子的非芳族的，部分或完全饱和的环状脂族烃基。环烷基的实例包括环丙基，环戊基和环己基。

10 “有效量”指显著地抑制增殖和/或预防人肿瘤细胞，包括人肿瘤细胞系的分化的至少一种式 I 的化合物及其药用盐的量。

“杂原子”指选自氮，硫，或氧的原子。杂原子是独立地选择的且可代替一个或多个碳原子。

15 “杂环”指含有至少一个杂原子的 3-到 10-元非芳族，部分或完全饱和烃基。这种环系包括吗啉，吡咯烷，哌啶，哌嗪。

“IC<sub>50</sub>”指抑制 50%的具体的检测活性所需的本发明的特定的化合物的浓度。尤其，IC<sub>50</sub>可如下文实施例 26 所述进行测定。

20 “药用盐”指常规的酸加成盐或碱加成盐，其保留了式 I 的化合物的生物有效性和特性且由合适的非毒性有机或无机酸或有机或无机碱形成。酸加成盐的实例包括衍生于无机酸如盐酸，氢溴酸，氢碘酸，硫酸，磷酸和硝酸的那些，衍生于有机酸如乙酸，酒石酸，水杨酸，甲磺酸，丁二酸，柠檬酸，苹果酸，乳酸，富马酸等的那些。碱加成盐的实例包括衍生于铵，钾，钠和氢氧化季铵如氢氧化四甲铵的那些。

25 “药用”，如药用载体，赋形剂等，指对给药特定的化合物的受试者药理可接受的和基本上无毒性的。

“药物活性代谢物”指药物可接受的和有效的式 I 化合物的代谢产物。

30 针对式 I 化合物的“血浆转化”指这种化合物在 37°C 下的人或啮齿类动物血浆中 30 分钟-6 小时降解（酶解或非酶解）给出 3-（1-甲基-3-吡啶基）-4-（1-甲基-6-硝基-3-吡啶基）-1H-吡咯-2, 5-二酮，式 I 化合物

的一种药物活性代谢物，及其药物活性代谢物。通常，此转化以在给定时间段类的百分降解给出。

“聚乙二醇”或“PEG”基代表通式  $\text{HO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{R}^8$  的结构，其中  $n$  平均来说介于 2-1500，优选地 15-150 之间，平均分子量为 500-5000 道尔顿，并且其中  $\text{R}^8$  是羧基或低级烷基，优选地甲基或乙基。PEG 基可与本发明的化合物反应以得到也在本发明的范围内的聚乙二醇化（pegylated）的化合物。

“前药”指可在生理条件下转化成或通过溶剂解成药物活性化合物的化合物。前药可以在对受治者给药时是失活的，但在体内转化成活性化合物。

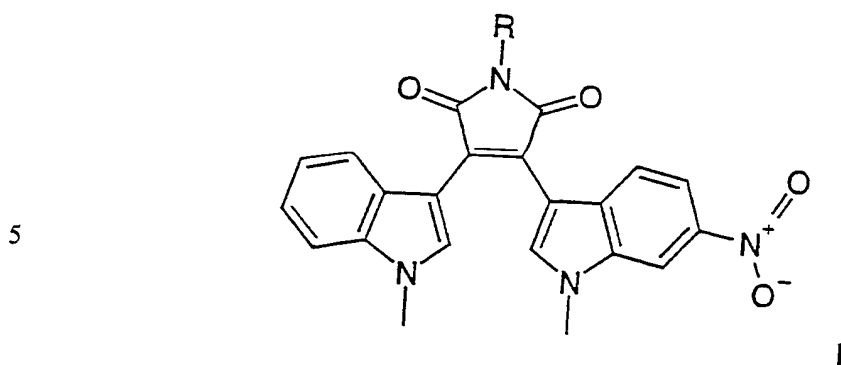
“稳定性”是指式 I 化合物在静脉内给药所用的典型的溶液中抵抗降解的能力的总体评价。具体地，其指任何给定的式 I 化合物在乙腈和盐水或葡萄糖水中于 72 小时内释放 3-（1-甲基-3-吡啶基）-4-（1-甲基-6-硝基-3-吡啶基）-1H-吡咯-2, 5-二酮的能力。如果检测到低于 1% 的 3-（1-甲基-3-吡啶基）-4-（1-甲基-6-硝基-3-吡啶基）-1H-吡咯-2, 5-二酮，则式 I 化合物的“稳定性”是“非常好的”，如果检测到低于 2.5% 的 3-（1-甲基-3-吡啶基）-4-（1-甲基-6-硝基-3-吡啶基）-1H-吡咯-2, 5-二酮，则式 I 化合物的“稳定性”是“良好的”，而如果在室温下 72 小时的温育中检测到低于 5% 的 3-（1-甲基-3-吡啶基）-4-（1-甲基-6-硝基-3-吡啶基）-1H-吡咯-2, 5-二酮，则式 I 化合物的“稳定性”是“中等的”。

取代的烷基中的“取代的”指取代可发生在一个或多个位置，并且除非另外指明，在各取代位置的取代基独立地选自给定的备选取代基。

“取代的氨基”指用另一基团，优选地低级烷基（如甲基或乙基）单或二取代的氨基。

## 发明详述

具体地，本发明涉及下式的取代的吡咯类化合物：



及其药用盐，其中：

R 选自  $-\text{CH}_2\text{OPO}_3\text{R}^1\text{R}^2$ ,  $-\text{CH}_2\text{OH}$ ,  $-\text{CH}_2\text{OCOR}^3$ ,  $-\text{CH}_2\text{OCO}_2\text{R}^3$ ,  $-\text{CH}_2\text{OCONHR}^3$  和  $-\text{CONHR}^3$ ;

$\text{R}^1$  和  $\text{R}^2$  选自 H, Na, 和  $\text{NH}_4$  并且是相同的，除非  $\text{R}^1$  或  $\text{R}^2$  是 H，在这种情况下，另一个可是不同的，或者备选地， $\text{R}^1$  和  $\text{R}^2$  一起代表钙。

$\text{R}^3$  选自：

任选地被一个或多个选自  $-\text{CO}_2\text{R}^4$ ,  $-\text{NR}^5\text{R}^6$ , 聚乙二醇,  $-\text{OPO}_3\text{R}^1\text{R}^2$ , 羟基, 烷氧基和芳基的取代基取代的烷基;

任选地被一个或多个选自  $-\text{CO}_2\text{R}^4$ ,  $-\text{NR}^5\text{R}^6$ , 聚乙二醇,  $-\text{OPO}_3\text{R}^1\text{R}^2$ , 羟基, 烷氧基和芳基的取代基取代的链烯基;

任选地被一个或多个选自  $-\text{CO}_2\text{R}^4$ ,  $-\text{NR}^5\text{R}^6$ , 聚乙二醇,  $-\text{OPO}_3\text{R}^1\text{R}^2$ , 羟基, 烷氧基和芳基的取代基取代的环烷基;

杂环基，其中当包括 N 作为杂原子时，该 N 任选地可被低级烷基和  $-\text{COR}^7$  取代，

芳基，其任选地被一个或多个选自  $\text{CO}_2\text{R}^4$ , 羟基, 烷氧基, 聚乙二醇,  $\text{OPO}_3\text{R}^1\text{R}^2$ , 和烷基的取代基取代，其中所述烷基本身可被羟基, 烷氧基, 羧基和取代的氨基取代，条件是，当芳基代表吡啶时，该氮可被低级烷基取代；

$\text{R}^4$  选自 H, Na 和低级烷基;

$\text{R}^5$  和  $\text{R}^6$  各自独立地选自 H, 低级烷基, 和  $-\text{COR}^7$ , 或者备选地，基团  $-\text{NR}^5\text{R}^6$  一起形成 5 或 6 元的杂环环；和

$\text{R}^7$  是任选地可被羧基, 聚乙二醇, 取代的氨基取代的低级烷基。

式 I 化合物具有抗增殖的活性，具体地，它们抑制细胞周期的 G2/M

期的细胞分裂并且通常被称为“G2/M 期的细胞-周期”抑制剂。这些化合物是美国专利 5057614 的抗癌治疗剂的稳定的，可溶的前药并且因此适于连续输注给药。

5 本发明还涉及含有治疗有效量的任何一种或多种上述化合物和药用载体或赋形剂的药物组合物。

本发明也涉及有效量的式 I 化合物和/或其药用盐治疗实体瘤，尤其是乳腺肿瘤和结肠肿瘤用途。

在式 I 化合物的优选的实施方案中，R 选自  $-\text{CH}_2\text{OPO}_3\text{R}^1\text{R}^2$ ， $-\text{CH}_2\text{OCOR}^3$ ， $-\text{CH}_2\text{OCO}_2\text{R}^3$ ， $-\text{CH}_2\text{OCONHR}^3$ ，和  $-\text{CONHR}^3$ ，优选地选自  $-\text{CH}_2\text{OPO}_3\text{R}^1\text{R}^2$ ， $-\text{CH}_2\text{OCOR}^3$ ，和  $-\text{CONHR}^3$ ，最优选地选自  $-\text{CH}_2\text{OPO}_3\text{R}^1\text{R}^2$  和  $-\text{CH}_2\text{OCOR}^3$ 。

在式 I 化合物的另一优选的实施方案中，R 是  $-\text{CH}_2\text{OCO}$ -吡啶，其中该吡啶上的 N 原子被低级烷基，最优选甲基和乙基取代，从而产生季氮原子。

15 在式 I 化合物的另一优选的实施方案中， $\text{R}^1$  和  $\text{R}^2$  独立地选自 H 和 Na。

在式 I 化合物的另一优选的实施方案中， $\text{R}^3$  是含有任选地可被  $-\text{COR}^7$  取代的至少一个 N 原子的杂环基。

在式 I 化合物的另一优选的实施方案中， $\text{R}^3$  是被  $-\text{OPO}_3\text{R}^1\text{R}^2$  取代的芳基，并且  $\text{R}^1$  和  $\text{R}^2$  独立地选自 H 或 Na。

20 在式 I 化合物的另一优选的实施方案中， $\text{R}^3$  是被选自  $-\text{CO}_2\text{Na}$ ，聚乙二醇和  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2$  的基团取代的芳基。

在式 I 化合物的另一优选的实施方案中， $\text{R}^3$  是被  $-\text{CO}_2\text{Na}$  取代的低级烷基。

在式 I 化合物的另一优选的实施方案中，基团  $\text{NR}^5\text{R}^6$  一起形成 5 或 25 6 元的杂环环，优选哌啶或吡咯烷。

在式 I 化合物的另一优选的实施方案中， $\text{R}^5$  和  $\text{R}^6$  各自独立地选自 H，甲基和乙基。

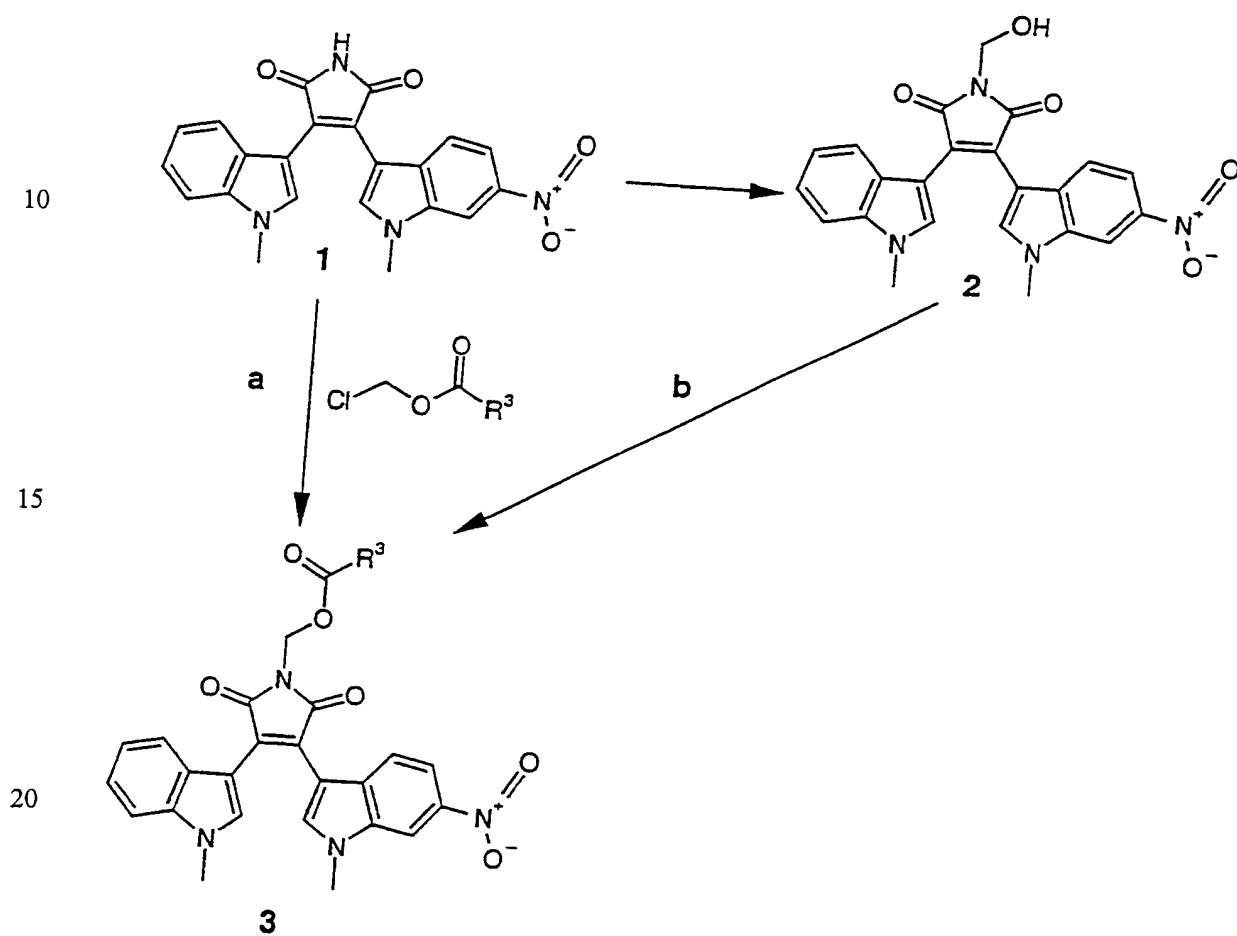
在式 I 化合物的另一优选的实施方案中， $\text{R}^7$  是被聚乙二醇取代的乙基。

30 在式 I 化合物的另一优选的实施方案中，聚乙二醇具有分子量约 750

护。路线 I 还用于制备式 I 化合物，其中 R 是  $-\text{CH}_2\text{OH}$ 。

### 反应路线 I

5



25

如路线 Ia 中所述，将通过在碱如碳酸钠和相转移催化剂如硫酸氢四丁基铵的存在下，在二氯甲烷和水中已知的羧酸或通过已知的方法制备的羧酸和  $\text{ClCH}_2\text{OSO}_2\text{Cl}$  反应所制备的氯甲基酯与 3-（1-甲基-3-吡啶基）

到约 5000 道尔顿。

在式 I 化合物的另一优选的实施方案中, R 是  $-\text{CH}_2\text{OCOR}^3$ , 其中  $\text{R}^3$  是被具有分子量约 750 到约 5000 道尔顿的聚乙二醇取代的乙基。

以下是优选的式 I 化合物的实例:

- 5 磷酸单-[3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧化-2, 5-二氢-吡咯-1-基甲基]钠盐,  
 O-[2-[[2, 5-二氢-3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧化-2, 5-二氢-吡咯-1-基]甲氧基羰基]乙基]-O'-甲基聚乙二醇 2000,
- 10 磷酸单-(4-{[3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧化-2, 5-二氢-吡咯-1-羰基]-氨基}-丁基)酯钠盐,  
 三氟乙酸 1-甲基-3-[3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧化-2, 5-二氢-吡咯-1-基甲氧基羰基]-吡啶鎓盐,  
 1-羟基甲基-3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-吡咯-2, 5-二酮; 和
- 15 O-[2-[[[2, 5-二氢-3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧化-1H-吡咯-1-基]甲氧基]羰基]甲基]-O'-甲基聚乙二醇 2000。

- 20 本文公开和上述通式包括的化合物可呈现出互变异构和结构异构现象。本发明包括这些化合物的任何互变异构或结构异构体, 或这些异构体的混合物, 并且不限于在上式范围内的所用的任一互变异构或结构异构体。

#### 本发明的化合物的合成

- 25 本发明的化合物可通过本领域已知的方法制备。在实施例中提供了合成这些化合物的合适的方法。一般地, 可根据以下合成路线制备这些化合物。

- 30 可如下的路线 I 所述制备式 I 化合物, 其中 R 是  $\text{CH}_2\text{OCOR}^3$ , 其中  $\text{R}^3$  定义如上, 条件是如果  $\text{R}^3$  含有羟基, 羟烷基, 氨基, 氨基烷基, 单烷基氨基, 或羧基时, 该基团首先用本领域技术人员公知的常规保护基保

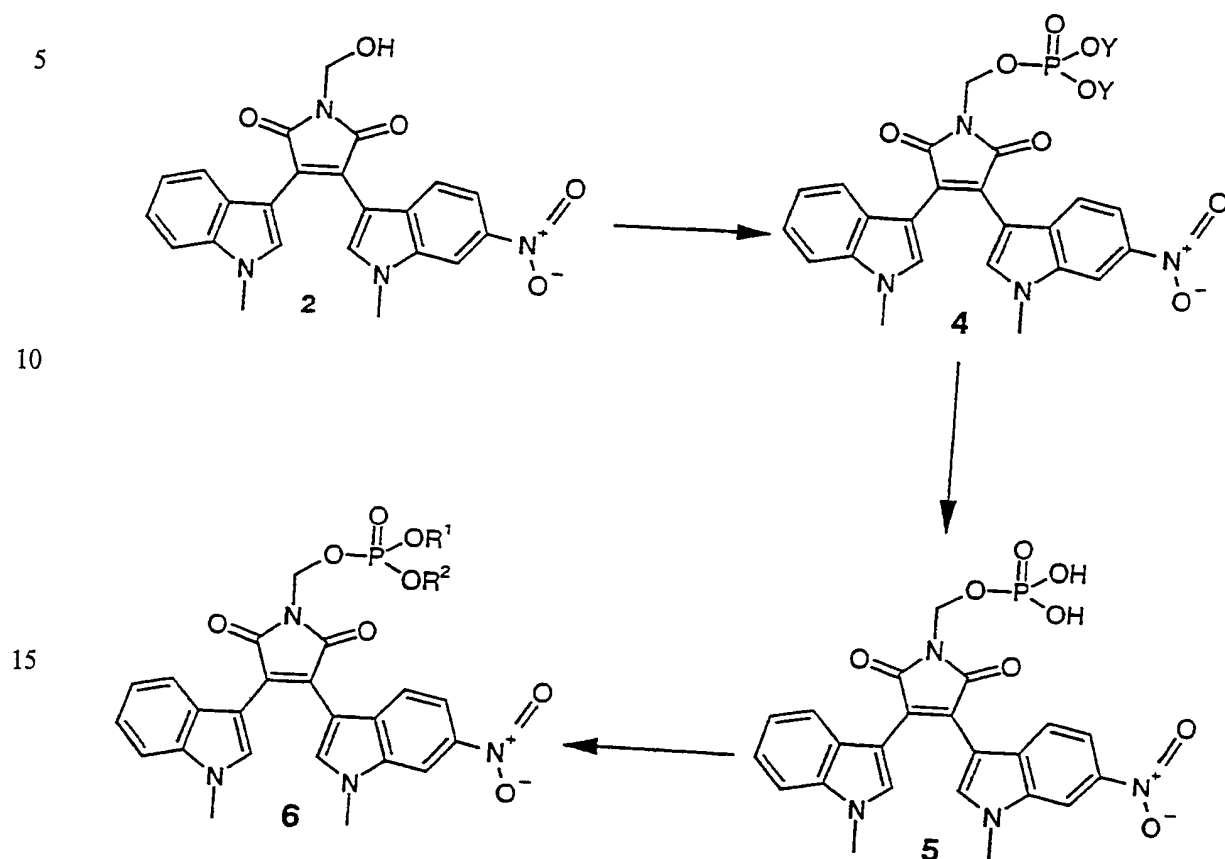
-4- (1-甲基-6-硝基-3-吡啶基) -1H-吡咯-2, 5-二酮[如 EP 专利 03288026 的例举的制备]反应。

或者, 将 3- (1-甲基-3-吡啶基) -4- (1-甲基-6-硝基-3-吡啶基) -1H-吡咯-2, 5-二酮[如 Davis US 专利 5057614 的例举的制备]用甲醛处理得到  
5 羟甲基中间体 2。然后, 用已知的方法酯化此中间体。典型地, 在 EDC 和二甲基氨基吡啶的存在和室温下, 用已知的羧酸或通过已知的方法制备的羧酸在诸如二氯甲烷的溶剂中处理羟甲基中间体 2 几小时。或者, 用已知的酰基氯或通过已知的方法制备的酰基氯处理羟甲基中间体 2。

为了制备其中  $R^3$  含有杂芳基环的结构 3 的化合物, 可通过与烷基碘  
10 如  $CH_3I$  在诸如乙腈的溶剂中反应进一步修饰该杂原子如 N。或者, 其中  $R^3$  含有合适地保护的羟基, 羟烷基, 氨基, 氨基烷基, 单烷基氨基的结构 3 的化合物可通过已知的方法首先除去保护基而被进一步修饰。然后, 可通过本领域已知的方法将氨基或羟基修饰成所需的酰胺或酯。

可如下的路线 II 所述制备式 I 化合物, 其中 R 是  $CH_2OPO_3R^1R^2$ , 且  
15 其中  $R^1$  和  $R^2$  定义如上。

### 反应路线 II

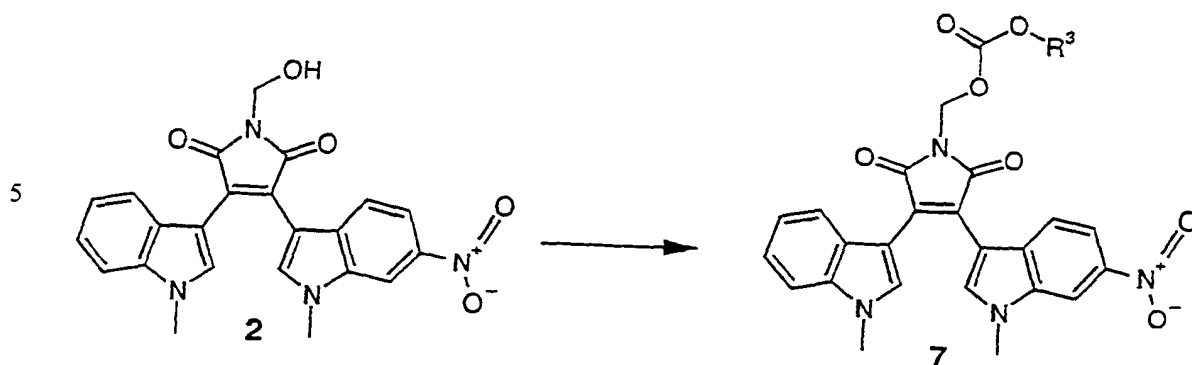


典型地，通过使用三苯磷和偶氮二羧酸乙酯的 Mitsunobu 反应偶联羟甲基中间体 2 和合适地保护的磷酸酯，得到其中 Y 代表合适的保护基的结构 4 的化合物。通过任何标准的方法除去该保护基得到磷酸 5。特别地，当 Y 代表苄基时，可通过使用环己二烯和钨碳作为催化剂除去该保护基。然后，可通过标准方法将化合物 5 转化成其盐，如单钾盐 6。

可如下的路线 III 所述制备式 I 化合物，其中 R 是  $-\text{CH}_2\text{OCO}_2\text{R}^3$ ，且其中  $\text{R}^3$  定义如上。



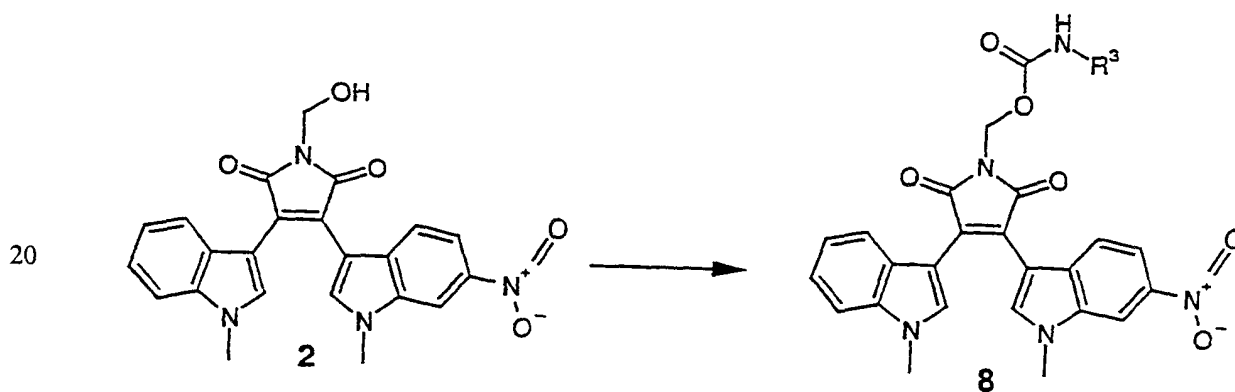
### 反应路线 III



典型地，在二甲基氨基吡啶和 1, 5-二氮杂双环(4.3.0)壬-5 烯的存在  
10 下，在诸如 THF 的溶剂中于 5-20°C 的温度下，用已知的氯甲酸酯或用已  
知的方法制备的氯甲酸酯处理羟甲基中间体 2 得到所需的碳酸酯。

可如下的路线 IV 所述制备式 I 化合物，其中 R 是  $-\text{CH}_2\text{OCONHR}^3$ ，  
且其中  $\text{R}^3$  定义如上。

### 15 反应路线 IV

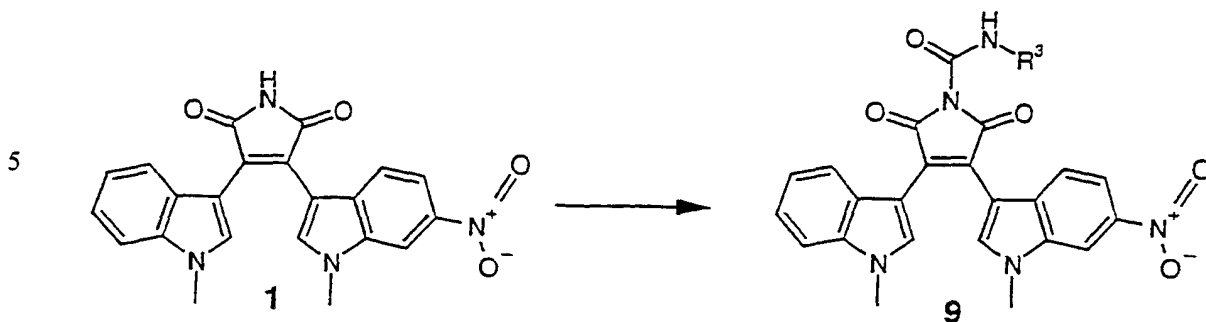


典型地，在诸如 THF 的溶剂中于 0°C 的温度下，用诸如正丁基锂或  
双(三甲基甲硅烷)酰胺锂的强碱去质子化羟甲基中间体 2。然后，在同样的  
25 的溶剂中，用双(对-硝基苯基)碳酸酯，随后用已知的胺或用已知的方法  
制备的胺处理所产生的阴离子。

可如下的路线 V 所述制备式 I 化合物，其中 R 是  $-\text{CONHR}^3$ ，且其中  
 $\text{R}^3$  定义如上，条件是，如果  $\text{R}^3$  含有羟基，羟烷基，氨基，氨基烷基，单  
烷基氨基，或羧基，那么用常规的保护基保护这些基团。

30

### 反应路线 V



典型地，在诸如 THF 的非质子传递溶剂中于 0°C 的温度下，用诸如  
 10 正丁基锂或双(三甲基甲硅烷)酰胺锂的强碱去质子化 3-(1-甲基-3-吡咯  
 基)-4-(1-甲基-6-硝基-3-吡咯基)-1H-吡咯-2,5-二酮[如 EP 专利 03288026  
 的列举的制备]。然后，用双(对-硝基苯基)碳酸酯，随后用已知的胺  
 或用本领域已知的方法制备的胺处理所得的阴离子。

通过已知的方式，用合适的碱处理，可将式 I 的酸性化合物转化成  
 15 其药用盐。合适的盐不仅包括衍生于无机碱如钠，钾或钙盐的那些，还  
 包括衍生于无机碱如乙二胺，单乙醇胺或二乙醇胺的那些。通过已知  
 的方式，用合适的酸处理可进行式 I 的碱性化合物对药用盐的转化。合适  
 的盐是说明书第二页公开的那些。

### 20 组合物/制剂

在一种备选的实施方案中，本发明涉及包括至少一种式 I 化合物或  
 其药用盐的药物组合物。

25 这些药物组合物可例如以片剂，包衣片剂，糖锭剂，硬或软明胶胶  
 囊剂，溶液剂，乳剂，或悬浮剂的形式口服给药。它们也可以栓剂的形式  
 式直肠给药。然而，本发明的化合物尤其适于例如以注射液的形式胃肠  
 外给药。

包括式 I 化合物，其前药或其药用盐的药物组合物可以用本领域已  
 知的方法制备，例如利用常规的混合，包囊，溶解，成粒，乳化，包埋，  
 30 制糖锭，或冻干法。可用治疗惰性的，无机或有机载体配制这些药物制  
 剂。乳糖，玉米淀粉或其衍生物，滑石，硬脂酸 (stearic acid) 或其盐可

用作片剂，包衣片剂，糖锭剂，硬明胶胶囊剂的这种载体。软明胶胶囊剂的合适载体包括植物油，蜡或脂肪。根据活性物质的性质，在软明胶胶囊剂的情况下，没有载体是通常需要的。制备溶液剂和糖浆的合适载体是水，多元醇，多糖，惰性糖和葡萄糖。注射液的合适载体是水，醇，多元醇，甘油，植物油，磷脂和表面活性剂。栓剂的合适载体是天然或硬化油，蜡，脂肪或半液态多元醇。

该药物制剂还可含有防腐剂，增溶剂，稳定剂，湿润剂，乳化剂，甜味剂，着色剂，矫味剂，调整渗透压的盐，缓冲液，包衣剂，抗氧剂。它们也可含有其它治疗上有价值的物质，包括除式 I 化合物外的其它活性成分。

## 剂量

如上所述，本发明的化合物用于治疗或控制细胞增殖疾病，尤其是肿瘤疾病。这些化合物和含有该化合物的制剂尤其有用于治疗或控制实体瘤，如乳腺或结肠肿瘤。

本发明的化合物的治疗有效量指有效预防、减轻或改善疾病的症状或延长被治疗的对象的存活期的化合物的量。治疗有效量的确定是本领域普通技术人员的能力范围内。

本发明的化合物的治疗有效量或剂量可在宽的范围内变化并且在每个特定的病例中按个体的要求进行调整。一般地，在对体重约 70Kg 的成人口服或胃肠外给药的情况下，约 10mg 到 10000mg，优选地约 200mg 到 1000mg 的日剂量应该是合适的，尽管需要时，可超越该上限。日剂量可以单剂量或等份剂量给药，或对于胃肠外给药，其可以连续输注形式给药。

## 实施例

本发明的化合物可以按照已知的技术，例如上述的一般合成路线合成。以下实施例举例说明合成该化合物的优选方法和本发明的制剂。

实施例 1：磷酸单-[3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧代-2, 5-二氢-吡咯-1-基甲基]钠盐

a)将 0.5g(1.25 mmol) 的 3-(1-甲基-3-吡啶基)-4-(1-甲基-6-硝基-3-吡啶基)-1H-吡咯-2, 5-二酮[见 Davis US 专利 5057614], 4.0ml 的甲醛溶液 (37%w/w) 和 2.0ml 水组成的悬浮液在搅拌下加热到 125°C 并且回流缩合 14 小时。冷却反应混合物并用水稀释。过滤该红色固体, 用水洗涤并干燥。通过硅胶色谱和 EtOAc/己烷的混合物作为洗脱剂纯化该固体得到 1-羟甲基-3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-吡咯-2, 5-二酮 (mp=209-211°C)。

b)向含有 0.12g (0.68 mmol)的偶氮二羧酸二乙酯, 0.20g(0.46 mmol) 的 1-羟甲基-3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-吡咯-2, 5-二酮 (得自上步), 和 0.40g(1.43 mmol) 的磷酸二苄酯的冷的 (10°C) THF 的溶液中滴加 5ml 的含有 0.128g(0.49 mmol)的三苯磷的溶液。在 20°C 搅拌所得混合物 14 小时。蒸发所有的溶剂, 并用硅胶色谱和 EtOAc/己烷的混合物作为洗脱剂纯化该残留物得到砖红色的固体磷酸二苄酯 3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧代-2, 5-二氢-吡咯-1-基甲基酯 (mp=105-109°C)。

c) 用 35 mg 10%钯/碳处理有 5ml 乙醇和 0.5g 的 1, 4-环己二烯的 35mg(0.051mmol)的磷酸二苄酯 3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧代-2, 5-二氢-吡咯-1-基甲基酯 (得自上步) 的 THF (5ml) 溶液。加热该混合物到 45°C, 此时有轻微的放热。在 50°C 下 10 分钟后, 趁热硅藻土过滤该反应物, 并用 THF 洗涤该滤饼。蒸发所有的溶剂, 并将该残留物重新溶解于 THF, 硅藻土过滤并用己烷研制得到 14mg 的磷酸单-[3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧代-2, 5-二氢-吡咯-1-基甲基]。

d)用稀释的氢氧化钠 14mg(0.029mmol)处理磷酸单-[3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧代-2, 5-二氢-吡咯-1-基甲基] (得自上步) 在 15 毫升水中的溶液直到该溶液的 pH 达到 7.1。过滤并冻干该溶液得到磷酸单-[3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧代-2, 5-二氢-吡咯-1-基甲基]钠盐。

30 实施例 2: 异烟酸 3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡

啉-3-基)-2, 5-二氧化-2, 5-二氢-吡咯-1-基甲基酯

向二甲基氨基吡啶 (1.5 当量) 和 1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基) 碳二亚胺盐酸盐 (1.5 当量) 的  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  溶液加入 4-吡啶甲酸 (1.2 当量), 并搅拌该反应混合物几分钟。加入实施例 1a 制备的 1-羟甲基-3-(1-甲基-1H-吡啉-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啉-3-基)-吡咯-2, 5-二酮并在室温下搅拌该反应混合物几分钟。用二氯甲烷稀释该混合物, 用含水的 HCl, 饱和的  $\text{NaHCO}_3$ , 水洗涤,  $\text{MgSO}_4$  干燥并蒸发。柱色谱纯化该残留物得到异烟酸 3-(1-甲基-1H-吡啉-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啉-3-基)-2, 5-二氧化-2, 5-二氢-吡咯-1-基甲基酯 (产率—76%)。

10

实施例 3:

用与实施例 2 中的相同的方法制备下列化合物:

a) 烟酸 3-(1-甲基-1H-吡啉-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啉-3-基)-2, 5-二氧化-2, 5-二氢-吡咯-1-基甲基酯 (产率—76%);

15 b) O-[2-[[2, 5-二氢-3-(1-甲基-1H-吡啉-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啉-3-基)-2, 5-二氧化-2, 5-二氢-吡咯-1-基]甲氧基羰基]乙基]-O'-甲基聚乙二醇 2000 (产率—88%);

c) 吡啶-4-基乙酸 3-(1-甲基-1H-吡啉-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啉-3-基)-2, 5-二氧化-2, 5-二氢-吡咯-1-基甲基酯 (产率—39%);

20 d) 吡啶-3-基乙酸 3-(1-甲基-1H-吡啉-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啉-3-基)-2, 5-二氧化-2, 5-二氢-吡咯-1-基甲基酯 (产率—94%);

e) 吡啶-2-基乙酸 3-(1-甲基-1H-吡啉-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啉-3-基)-2, 5-二氧化-2, 5-二氢-吡咯-1-基甲基酯 (产率—65%);

25 f) 丁二酸单-[3-(1-甲基-1H-吡啉-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啉-3-基)-2, 5-二氧化-2, 5-二氢-吡咯-1-基甲基]酯 (使用 3 当量 EDC 和 DMAP 和 2.4 当量的酸, 通过制备性 TLC 纯化) (产率—89%);

g) 十六-9-烯酸 3-(1-甲基-1H-吡啉-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啉-3-基)-2, 5-二氧化-2, 5-二氢-吡咯-1-基甲基酯 (产率—53%);

30 h) [2-[2-(2-羧基甲氧基-乙氧基)-乙氧基]-乙氧基] 乙酸-3-(1-甲基-1H-吡啉-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啉-3-基)-2, 5-二氧化-2, 5-二

氢-吡咯-1-基甲基酯，反相柱色谱纯化（产率—61%）。

实施例 4：丁-2-烯二酸单-[3-（1-甲基-1H-吡啶-3-基）-4-（1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基）-2, 5-二氧化-2, 5-二氢-吡咯-1-基甲基]酯

5 向实施例 1a 制备的 1-羟甲基-3-（1-甲基-1H-吡啶-3-基）-4-（1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基）-吡咯-2, 5-二酮在 1: 4 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: 苯的溶液中，加入大大地过量的富马酰氯和过量的二异丙基乙基胺。在室温下搅拌该反应物 20 分钟。加入丙酮和水。用二氯甲烷稀释该反应混合物，用水、冷的饱和的 NaHCO<sub>3</sub>、水洗涤，NaSO<sub>4</sub> 干燥。闪式色谱纯化得到丁-2-  
10 烯二酸单-[3-（1-甲基-1H-吡啶-3-基）-4-（1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基）-2, 5-二氧化-2, 5-二氢-吡咯-1-基甲基]酯（产率 60%）。

实施例 5：癸酸 3-（1-甲基-1H-吡啶-3-基）-4-（1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基）-2, 5-二氧化-2, 5-二氢-吡咯-1-基甲基酯

15 a)用在 1: 1 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: 水中的 4 当量的 NaHCO<sub>3</sub>, 0.1 当量的 Bu<sub>4</sub>NHSO<sub>4</sub> 和 1.2 当量的 ClCH<sub>2</sub>OSO<sub>2</sub>Cl 处理癸酸(0.2g, 1.2 mmol)。在 0°C 下剧烈搅拌该反应物 30 分钟，然后在室温（“RT”）下 3 小时。水性处理得到癸酸氯甲基酯（产率 100%）。

20 b)在 DMF 中溶解 3-（1-甲基-3-吡啶基）-4-（1-甲基-6-硝基-3-吡啶基）-1H-吡咯-2, 5-二酮[参见 EP 专利 03288026]并用 Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(49mg, 0.15mmol)处理几分钟，加入上述步骤 a)制备的氯甲基酯(33mg, 0.15mmol)，并在室温下搅拌 30 分钟。水性处理，随后通过闪式色谱纯化得到癸酸 3-（1-甲基-1H-吡啶-3-基）-4-（1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基）-2, 5-二氧化-2, 5-二氢-吡咯-1-基甲基酯（产率-58%）。

25

实施例 6：用与上述实施例 5b 中的相同的方法制备下列化合物：

a) [2-（2-甲氧基-乙氧基）-乙氧基]-乙酸 3-（1-甲基-1H-吡啶-3-基）-4-（1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基）-2, 5-二氧化-2, 5-二氢-吡咯-1-基甲基酯（如实施例 5a 所述，从相应的酸制备该原料氯甲基酯；通过制备性  
30 TLC 纯化）（产率-38%）；

b) 2,2-二甲基丙酸 3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2,5-二氧化-2,5-二氢-吡咯-1-基甲基酯 (原料新戊酸氯甲基酯购自 (Aldrich) (产率-91%))。

5 实施例 7: 3-氨基-环己烷羧酸 3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2,5-二氧化-2,5-二氢-吡咯-1-基甲基酯三氟乙酸盐

a) 按照类似于实施例 5a 的方式, 从其本身通过已知的 3-氨基-环己烷羧酸 (Aldrich) 的 BOC 保护的方法合成的 N-叔丁氧羰基-3-氨基环己烷羧酸, 制备氯甲基-N-叔丁氧羰基-3-氨基环己烷羧酸酯 (产率 87%)。

b) 在 DMF 中溶解 3-(1-甲基-3-吡啶基)-4-(1-甲基-6-硝基-3-吡啶基)-1H-吡咯-2,5-二酮 [参见 EP 专利 03288026], 并用  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  (0.15g, 0.45mmol) 处理几分钟。加入上述步骤 a) 制备的氯甲基酯 (0.13g, 0.45mmol), 并在室温下搅拌 50 分钟。水性处理, 随后通过闪式色谱纯化得到 [N-叔丁氧羰基-3-氨基环己烷羧酸]-3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2,5-二氧化-2,5-二氢-吡咯-1-基甲基酯 (产率-95%)。

c) 在室温下, 用在  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  中的 THF 处理 50 分钟, 除去上述步骤 b) 的化合物的叔丁氧羰基保护基。用氮气流蒸发 THF 和  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 。HPLC 纯化该残留物得到 3-氨基-环己烷羧酸 3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2,5-二氧化-2,5-二氢-吡咯-1-基甲基酯三氟乙酸盐 (产率-57%)。

## 实施例 8

25 用与上述实施例 7a, b 和 c 中的相似的方法制备下列化合物:

a) 哌啶-4-羧酸 3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2,5-二氧化-2,5-二氢-吡咯-1-基甲基酯三氟乙酸盐 (从 N-叔丁氧羰基-哌啶-4-羧酸 (Bachem) (产率-62%));

b) 2-氨基-2-甲基-丙酸 3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2,5-二氧化-2,5-二氢-吡咯-1-基甲基酯三氟乙酸盐 (从

N-叔丁氧羰基-氨基异丁酸制备 (Bachem) (产率-63%)。

实施例 9: 哌啶-4-羧酸 3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧化-2, 5-二氢-吡咯-1-基甲基酯乙酸盐

5 在乙酸乙酯中溶解实施例 8a 所制备的哌啶-4-羧酸 3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧化-2, 5-二氢-吡咯-1-基甲基酯三氟乙酸盐。用冷的饱和的  $\text{NaHCO}_3$  中和所得的溶液。浓缩该乙酸乙酯层, 在水中将其变成泥浆, 用过量的  $\text{HOAc}$  酸化和冻干得到所需的产品 (产率-97%)。

10

实施例 10: 哌啶-4-羧酸 3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧化-2, 5-二氢-吡咯-1-基甲基酯盐酸盐

在乙酸乙酯中溶解实施例 9 所制备的哌啶-4-羧酸 3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧化-2, 5-二氢-吡咯-1-基甲基酯乙酸盐。用冷的饱和的  $\text{NaHCO}_3$  中和所得的溶液, 浓缩,  
15 并在 1: 5 的  $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$  中溶解。用 2 当量的 2N 盐酸水溶液处理所得的溶液并通过 HPLC 纯化得到所需的产品 (产率-86%)。

实施例 11: 2-氨基-2-甲基-丙酸 3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧化-2, 5-二氢-吡咯-1-基甲基酯盐酸盐  
20

用类似于实施例 10 的方法, 从如实施例 8b 所制备的 2-氨基-2-甲基-丙酸 3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧化-2, 5-二氢-吡咯-1-基甲基酯三氟乙酸盐制备题述化合物 (产率-71%)。

25

实施例 12: 1-甲基-3-[3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧化-2, 5-二氢-吡咯-1-基甲氧基羰基]-吡啶鎓三氟乙酸盐

用 2 当量的  $\text{NaBPh}_4$  和 6 当量的  $\text{MeI}$  处理实施例 3a 所制备的烟酸 3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧  
30



代-2, 5-二氢-吡咯-1-基甲基酯在  $\text{CH}_3\text{CN}$  中的溶液。回流搅拌该反应物 7 小时。蒸发溶剂并通过 HPLC 纯化该残留物, 得到 1-甲基-3-[3-(1-甲基-1H-吡咯-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡咯-3-基)-2, 5-二氧代-2, 5-二氢-吡咯-1-基甲氧基羰基]-吡啶鎓三氟乙酸盐 (产率-52%)。

5

实施例 13: O-[2-[[4-[[[2, 5-二氢-3-(1-甲基-1H-吡咯-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡咯-3-基)-2, 5-二氧代-1H-吡咯-1-基]甲氧基]羰基]-1-哌啶基]羰基]乙基]-O'-甲基聚乙二醇 1000

在乙酸乙酯中溶解如实施例 8a 中所制备的 3-(1-甲基-3-吡咯基)-4-(1-甲基-6-硝基-3-吡咯基)-1-(4-哌啶羧基甲基)-1H-吡咯-2,5-二酮三氟乙酸盐。用冷的饱和的  $\text{NaHCO}_3$  中和所得的溶液。浓缩该乙酸乙酯层, 并在  $\text{CH}_3\text{CN}$  中溶解该残留物。将该溶液滴加到 O-(2-羧基乙基)-O'-甲基聚乙二醇 1000 (用标准方法从 O-(2-羧基乙基)-O'-甲基聚乙二醇 1000 酸制得) 的  $\text{CH}_3\text{CN}$  溶液中。搅拌该反应混合物 1 小时。蒸发溶剂并通过 HPLC 纯化该残留物 (产率-70%)。

15

实施例 14: 4-磷酸氧基-苯甲酸 3-(1-甲基-1H-吡咯-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡咯-3-基)-2, 5-二氧代-2, 5-二氢-吡咯-1-基甲基酯单钠盐

a) 逐滴加 t-BuOK(9.6ml, 9.6mmol, 1M 的 THF 溶液)到 4-羟基苯甲醛 (1.10g, 9mmol) 的 THF (40ml) 溶液中。在 70°C 加热该混合物, 并加入焦磷酸四苯基酯(5.05g, 9.37mmol) 的 THF (20ml) 溶液。1 小时后, 加入 THF (100ml) 和己烷 (200ml)。过滤该反应混合物并蒸发该滤液。用 2%-5%-10% 甲醇-  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  二氧化硅色谱纯化该残留物, 得到磷酸二苄酯 4-甲酰基-苯基酯(3.38g, 98%)。

20

b) 加入磷酸二氢钠一水合物 (79mg, 0.57mmol) 的水溶液 (1ml) 到 0°C 下的磷酸二苄酯 4-甲酰基-苯基酯 (0.89mg, 2.32mmol) (得自上述步骤 a)) 的 MeCN (10ml) 溶液中。加入过氧化氢(0.24ml, 2.4mmol, 30% 在水中的溶液), 随后是亚氯酸钠 (315mg, 3.5mmol) 的水溶液 (2ml)。在 0°C 下搅拌该反应混合物 1 小时, 然后温至室温 2 小时。加入硫代硫酸钠 (100mg), 剧烈搅拌该反应混合物 15 分钟。加入水并用 EtoAc 萃取

30

该混合物。用水洗涤该有机萃取物，干燥 ( $\text{MgSO}_4$ ) 和浓缩得到浅黄色蜡状固体磷酸二苄酯 4-羧基-苯基酯(880mg, 94%)。

c)加入磷酸二苄酯 4-羧基-苯基酯(205mg, 0.5mmol) (得自步骤 b)) 的  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2ml) 溶液到 1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基) 碳二亚胺盐酸盐 (Aldrich) (149mg, 0.78mmol)和二甲基氨基吡啶的  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (5ml) 溶液中。5 分钟后，加入实施例 1a 所制的 1-羟甲基-3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-吡咯-2, 5-二酮(215mg, 0.5mmol) 的  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2ml) 溶液并在室温下搅拌 3 小时。在  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  和水之间分配该所得的混合物并用水洗涤该有机萃取物。用  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  萃取含水层。合并有机萃取物，干燥 ( $\text{MgSO}_4$ ) 并浓缩。通过使用 5%-10% EtoAc-  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  的硅胶色谱纯化该残留物，得到橙色泡沫状物 4-(二-苄氧基-磷酸氧基)-苯甲酸 3-(1, 6-二甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧化-2, 5-二氢-吡咯-1-基甲基酯(179mg, 44%)。

d)加入 1, 4-环己二烯 (0.12ml, 1.26mmol) (Aldrich) 到 4-(二-苄氧基-磷酸氧基)-苯甲酸 3-(1, 6-二甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧化-2, 5-二氢-吡咯-1-基甲基酯(100mg, 0.12mmol) (得自步骤 c)) 和 Pd/C(37mg, 10%) (在 THF (6ml) 和乙醇 (0.3ml) 的混合物中)的混合物中。将该反应混合物温至 55°C 20 分钟。冷却该反应混合物至室温，硅藻土过滤，用  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  洗涤并浓缩。在 0°C 下，在 MeCN 和水中溶解该残留物。加入 1N 的氢氧化钠 (2.4ml, 2.4mmol) 并冻干该混合物。通过 HPLC 用 5-50%MeCN-水进一步纯化该混合物。冻干得到橙色粉末 4-磷酸氧基-苯甲酸 3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧化-2, 5-二氢-吡咯-1-基甲基酯单钠盐(60mg, 74%)。

25 实施例 15: [[3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧化-2, 5-二氢-吡咯-1-基]甲氧羰基]-4-苯基-O-甲基聚乙二醇 500

a)在无水 THF (100ml) 溶解无水 PEG-500 单甲醚(18.36g, 33mmol), 乙基-4-羟基苯甲酸酯(5.0g, 30mmol)和三苯膦(17.34g, 66mmol), 并在氩气下冷却至 0°C。向其中缓慢加入在无水 THF (10ml) 中的偶氮二羧

酸二乙酯 (12.95ml, 83mmol)。然后, 将所得的混合物温至 50°C 16 小时。在氩气下将该混合物冷却至 0°C, 加入在无水 THF (5ml) 中的偶氮二羧酸二乙酯 (6ml)。在 50°C 加热该混合物 24 小时。蒸发溶剂并通过用 1: 1 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-己烷, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 50%乙醚/-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 和乙醚的硅胶色谱纯化该残留物, 得到 9 克粗制的乙基-4-O-甲基聚乙二醇 500-苯甲酸酯油状物, 5.4g 橙色油(3/2mol%三苯膦/产品), 和 4.9g(约 58%的总收率)橙色油(5/4mol% 三苯膦/产品)。

b)加入 6N NaOH (13.8ml, 83mmol) 到粗制的乙基-4-O-甲基聚乙二醇 500-苯甲酸酯 (4.90g, 5/4mol%三苯膦/产品) (得自步骤 a) 在甲醇 (10 ml) 和水 (15 ml) 中的溶液中, 并将所得的溶液加热到 65°C 2 小时。浓缩该溶液并在 30% CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/乙酸乙酯和水之间分配。冷却该含水层到 0°C 并用 1N HCl 酸化到 pH3.0。用 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 萃取该混合物, 干燥 (MgSO<sub>4</sub>) 该有机萃取物。蒸发有机溶剂给出黄色蜡状的残留物粗制的 4-O-甲基聚乙二醇 500-苯甲酸 (2.3g, 49%三苯膦/产品)。(含有 20-30%摩尔过量的 PEG 500)。

c) 在室温下, 将粗制的 4-O-甲基聚乙二醇 500-苯甲酸 (679mg, 1mmol) (得自步骤 b)) 在无水 THF (5ml) 中的溶液加入到 1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基) 碳二亚胺盐酸盐(300mg, 1.56mmol) (Aldrich) 和二甲基氨基吡啶(279mg, 2.28mmol)的无水 THF (5ml) 溶液。5 分钟后, 加入实施例 1a 所制的 1-羟甲基-3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基) -4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基) -吡咯-2, 5-二酮(215mg, 0.5mmol) 的 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2ml) 溶液。在室温下搅拌该混合物 4 小时。加入水并用 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 萃取该混合物。用水洗涤该有机萃取物, 干燥 (MgSO<sub>4</sub>) 并浓缩。通过使用 MeCN/水的 HPLC 纯化该残留物得到橙色油物[[3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基) -4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基) -2, 5-二氧代-2, 5-二氢-吡咯-1-基]甲氧羰基]-4-苯基-O-甲基聚乙二醇 500 (490mg, 47%)。

实施例 16: 碳酸烯丙基酯 3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基) -4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基) -2, 5-二氧代-2, 5-二氢-吡咯-1-基甲基酯

在 90ml THF 中溶解 200mg (0.47mmol) 实施例 1a 制备的 1-羟甲基

-3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-吡咯-2,5-二酮并用 300mg (2.5mmol) 的 4-甲基氨基吡啶 (DMAP) 处理。向此 5°C 的溶液中加入 90mg (0.75mmol) 的氯甲酸烯丙基酯。趁冷滴加 300mg (2.4mmol) 的 1,5-二氮杂二环(4,3,0)壬-5-烯 (DBN) (Aldrich)。  
5 在 20°C 下搅拌 14 小时。蒸发溶剂,并用硅胶色谱和 EtOAc/己烷洗脱纯化该混合物,得到碳酸烯丙基酯 3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2,5-二氧代-2,5-二氢-吡咯-1-基甲基酯(熔点 191-194°C)。

10 实施例 17: (2-二甲基氨基-乙基)-氨基甲酸 3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2,5-二氧代-2,5-二氢-吡咯-1-基甲基酯

在 THF (10ml) 中溶解 (200mg, 0.47mmol) 实施例 1a 制备的 1-羟甲基-3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-吡咯-2,5-二酮。在冰浴中冷却所得的红色溶液。滴加二(三甲基甲硅烷基)酰胺锂 (0.56ml, 0.56mmol, 在 THF 中的 1M 溶液) 到该溶液中,给出红色悬浮液。10 分钟后,加入碳酸双(对硝基苯基)酯 (200mg, 0.66mmol)。在 0°C 下搅拌所得的溶液 20 分钟。加入在 THF (2ml) 中的二乙基氨基乙基胺 (90mg, 0.78mmol)。继续搅拌 2 小时。蒸发该混合物,并通过闪式色谱纯化该残留物得到 (2-二甲基氨基-乙基)-氨基甲酸 3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2,5-二氧代-2,5-二氢-吡咯-1-基甲基酯。  
15  
20

实施例 18: [2-(2-羟基-乙氧基)-乙基]-氨基甲酸 3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2,5-二氧代-2,5-二氢-吡咯-1-基甲基酯  
25

用类似于实施例 17 的方法,从 1-氨基-2-乙氧基-乙醇 (Aldrich) 制备此化合物 (45mg, 17%)。

30 实施例 19: (2-羟基-乙基)-氨基甲酸 3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲

基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧化-2, 5-二氢-吡咯-1-基甲基酯

滴加 n-BuLi(0.96ml, 1.54mmol, 1.6M 的己烷中的溶液)到 0°C 下的实施  
例 1a 制备的 1-羟甲基-3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-  
吡啶-3-基)-吡咯-2, 5-二酮 (600mg, 1.54mmol) 的 THF (30ml) 溶液  
5 中。十分钟后, 加入碳酸双(对-硝基苯基)酯 (600mg, 1.96mmol)。  
在 0°C 下搅拌该溶液 20 分钟。加入 1-氨基乙醇 (128mg, 2.10mmol) 的  
溶液。在 0°C 下搅拌所得的混合物 30 分钟。加入含水的 NH<sub>4</sub>Cl, 并用 EtOAc  
萃取该混合物。用盐水洗涤该有机萃取物, MgSO<sub>4</sub> 干燥。蒸发溶剂, 并  
通过用 1: 1-3: 2 的 EtOAc/己烷的硅胶色谱纯化该残留物, 得到(2-羟基-  
10 乙基)-氨基甲酸 3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-  
基)-2, 5-二氧化-2, 5-二氢-吡咯-1-基甲基酯 (339mg, 47%)。

实施例 20: (2-膦酰氧基-乙基)-氨基甲酸 3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-  
甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧化-2, 5-二氢-吡咯-1-基甲基酯

15 a) 加入三苯膦 (95mg, 0.36mmol) 和磷酸二苄酯 (101mg, 0.36mmol)  
到实施例 19 制备的(2-羟基-乙基)-氨基甲酸 3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-  
(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧化-2, 5-二氢-吡咯-1-基甲基  
酯 (150mg, 0.289mmol) 的 THF (6ml) 溶液中。在 -78°C 冷却该混合物。  
在 5 分钟内滴加偶氮二羧酸二乙酯 (0.057ml, 0.36mmol)。除去冷却浴,  
20 过夜搅拌该混合物。然后, 蒸发该混合物。并通过用 2: 1-4: 1 的 EtOAc/  
己烷的硅胶色谱纯化该残留物, 得到[2-双-苄氧基-膦酰氧基]-乙基]-氨基  
甲酸 3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-  
二氧化-2, 5-二氢-吡咯-1-基甲基酯 (121mg, 54%)。

b) 加入 Pd/C (33mg, 10%) 和 1, 4-环己二烯 (0.12ml, 1.27mmol)  
25 到[2-双-苄氧基-膦酰氧基]-乙基]-氨基甲酸 3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-  
(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧化-2, 5-二氢-吡咯-1-基甲基  
酯 (115mg, 0.148mmol) 在 THF (5ml) 和 EtOH (0.25ml) 的混合物中的  
溶液中。将该混合物加热到 50-55°C 30 分钟。硅藻土过滤所得的混合  
物, THF 洗涤, 蒸发该滤液。在 EtOH (10ml) 和 CH<sub>3</sub>CN (10ml) 的混  
30 合物中溶解该残留物。加入 0.1N NaOH, 并将 pH 调节到 8.2。加入水

(10ml) 以溶解该沉淀物。真空除去有机溶剂, 冻干该红色溶液得到橙色粉末(2-膦酰氧基-乙基)-氨基甲酸 3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧化-2, 5-二氢-吡咯-1-基甲基酯(59mg, 62%)。

5

实施例 21: 3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧化-2, 5-二氢-吡咯-1-羧酸(2-二乙基-乙基)-酰胺

滴加双(三甲基甲硅烷)酰胺锂(0.55ml, 0.55mmol, 1M 的 THF 中的溶液)到冷却的 3-(1-甲基-3-吡啶基)-4-(1-甲基-6-硝基-3-吡啶基)-1H-吡咯-2, 5-二酮(200mg, 0.5mmol) [参见 EP 专利 03288026] 的 THF (7ml) 溶液中。搅拌该所得的红色悬浮液 15 分钟。加入碳酸双(对硝基苯基)酯(213mg, 0.7mmol)。在 0°C 下搅拌该溶液 0.5 小时。加入在 THF (2ml) 中的二乙基氨基乙基胺(69.7mg, 0.6mmol), 并持续搅拌 2 小时。蒸发溶剂, 并用闪式色谱纯化该残留物得到 3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧化-2, 5-二氢-吡咯-1-羧酸(2-二乙基-乙基)-酰胺(28mg, 10%)。

实施例 22: 3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧化-2, 5-二氢-吡咯-1-羧酸(6-二甲基氨基-己基)-酰胺

用实施例 21 的方法, 从二甲基氨基己胺制备此化合物(67mg, 24%)。

实施例 23: 3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧化-2, 5-二氢-吡咯-1-羧酸(4-羟基丁基)-酰胺

滴加正丁基锂(0.86ml, 1.375mmol, 1.6M 的己烷中的溶液)到冷却的 3-(1-甲基-3-吡啶基)-4-(1-甲基-6-硝基-3-吡啶基)-1H-吡咯-2, 5-二酮(500mg, 1.25mmol) [参见 EP 专利 03288026] 的 THF (7ml) 溶液中。搅拌该所得的红色悬浮液 15 分钟。加入碳酸双(对硝基苯基)酯(532mg, 1.75mmol)。在 0°C 下搅拌该溶液 1 小时。加入在 THF (4ml) 中的 4-氨基丁醇(167mg, 1.875mmol), 并持续搅拌 2 小时。蒸发溶剂, 并用闪式色谱纯化该残留物得到橙色固体 3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲

基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧化-2, 5-二氢-吡咯-1-羧酸(4-羟基丁基)-酰胺(280mg, 43%)。

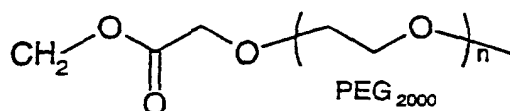
5 实施例 24: 磷酸单-(4-{[3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧化-2, 5-二氢-吡咯-1-羧基]-氨基}-丁基)酯钠盐

a)加入三苯膦(0.86g, 3.29mmol)和磷酸二苄酯(0.91g, 3.29mmol)到实施例 23 制备的 3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧化-2, 5-二氢-吡咯-1-羧酸(4-羟基丁基)-酰胺(实施例 23 制备, 1.41g, 2.74mmol)的 THF (50ml) 溶液中。在-78℃冷却该混合物。在 5 分钟内滴加偶氮二羧酸二乙酯(0.057ml, 0.36mmol)。除去冷却浴, 2 小时后, 蒸发该混合物。通过用 2: 1 的 EtOAc/己烷, 然后 EtOAc 的硅胶色谱该残留物得到磷酸二苄基酯 4-{[3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧化-2, 5-二氢-吡咯-1-羧基]-氨基}-丁基酯(1.76g, 83%)。

b)加入 Pd/C (0.5g, 10%) 和 1, 4-环己二烯(1.84ml, 19mmol)到磷酸二苄基酯 4-{[3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧化-2, 5-二氢-吡咯-1-羧基]-氨基}-丁基酯(1.76g, 2.27mmol)(来自上述步骤 a))在 THF (75ml) 和 EtOH (3.8ml) 的混合物中的溶液中。将该混合物加热到 50-55℃30 分钟。TLC (EtOAc) 显示仅剩有痕量的磷酸二苄基酯 4-{[3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧化-2, 5-二氢-吡咯-1-羧基]-氨基}-丁基酯。硅藻土过滤所得的混合物, 蒸发该滤液。在 EtOH (100ml) 和 CH<sub>3</sub>CN (100ml) 的混合物中溶解该残留物, 并用 0.2N NaOH 碱化到 pH=8.2。加入水(50ml)以溶解该沉淀物。真空除去有机溶剂, 冻干该红色溶液得到粗产物(1.2g)。HPLC (10%-90% CH<sub>3</sub>CN-H<sub>2</sub>O) 纯化该残留物得到红色粉末磷酸单-(4-{[3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧化-2, 5-二氢-吡咯-1-羧基]-氨基}-丁基)酯钠盐(0.49g, 34%)。

实施例 25: O-[2-[[[2, 5-二氢-3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧代-1H-吡咯-1-基]甲氧基]羰基]甲基]-O'-甲基聚乙二醇 2000

5



将在四氢呋喃(120 mL)中的平均分子量约 2000(Aldrich) (4.4 g, 2.2 mmol)的聚(乙二醇)甲酯温至 35-40°C,并向其中加入氢化钠(0.6 g, 60%, 15 mmol),并另外搅拌该混合物 15 分钟。在 5 分钟内,分两批加入溴乙酸叔丁酯(1.2g, 约 6.2 mmol),并在 45-50°C下加热该混合物 4 小时。冷却该混合物到 30°C,用乙醚(100 mL)稀释,趁热硅藻土过滤,并用四氢呋喃洗涤滤饼。蒸发除去有机溶剂,硅胶色谱该残留物。用三氟乙酸(75 mL)处理类似制备的纯化的叔丁酯(12.5 g),在室温下搅拌 90 分钟。蒸发该溶液,从冷乙醚中结晶得到 9.0 克甲氧基 PEG2000 乙酸。

用草酰氯(10 mL)处理甲氧基 PEG2000 乙酸(9.0 g, 4.5 mmol)在二氯甲烷(50 mL)中的溶液,在轻微回流下加热 15 分钟,随后加入痕量的二甲基甲酰胺(0.1 mL)。继续回流另外的 15 分钟,加入甲苯(50 mL),蒸发除去挥发性物质。将残留物溶解在二氯甲烷(50 mL)中,并加入到-50°C下的 1-羟甲基-3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-吡咯-2, 5-二酮(1.93 g, 4.5 mmol) (实施例 1a 制备的)和 4-二甲基氨基吡啶(1.1 g, 9 mmol)在二氯甲烷(25 mL)中的淤浆中。除去冷却浴,在室温下搅拌该混合物 2 小时,注入在二氯甲烷中的硅胶(200 g)上。色谱纯化并从四氢呋喃-乙醚中结晶提供红色固体 O-[2-[[[2, 5-二氢-3-(1-甲基-1H-吡啶-3-基)-4-(1-甲基-6-硝基-1H-吡啶-3-基)-2, 5-二氧代-2, 5-二氢-吡咯-1-基]甲氧基]羰基]甲基]-O'-甲基聚乙二醇 2000 (收率 63%)。

实施例 26: 抗增殖活性

如下证明本发明的化合物的抗增殖活性。这些效果表明本发明的化



合物可用于治疗癌症，尤其是实体瘤如乳腺和结肠肿瘤。

### 基于 MDAMB-435 细胞的检测

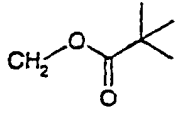
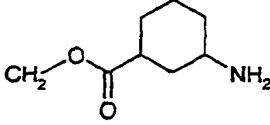
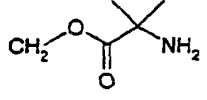
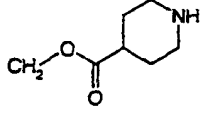
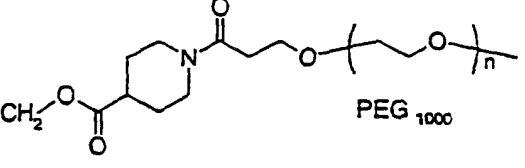
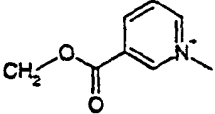
5 上皮乳腺癌细胞系(MDAMB-435)购自 ATCC (美国典型培养物保藏中心)，并在 ATCC 推荐的培养基上生长。为了分析表 1 中的各种化合物对这些细胞的生长的作用，将这些细胞以 1500 细胞/孔的浓度铺板在 96 孔组织培养板（“测试板”）中。在细胞铺板后的次日，在 100% DMSO (二甲基亚砷)中溶解待测化合物得到 10mM 的贮备液。在水中稀释各化合物到 1 mM，并加入含有培养基的 96 孔主板的 5 第一排一式三份孔中得到 10 40 $\mu$ m 的终浓度。然后，在“主板”中，在培养基中系列稀释该化合物。然后，将稀释的化合物转移到含有细胞的测试板。有一排“对照细胞”载体接受 DMSO。在各孔中的 DMSO 终浓度为 0.1%。加入药物后的第 5 天，如下分析平板。

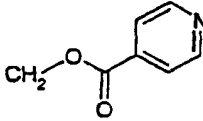
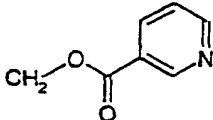
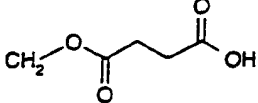
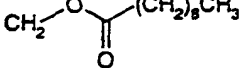
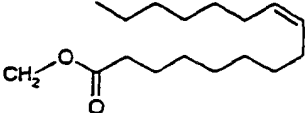
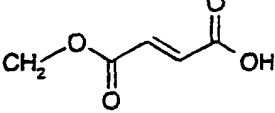
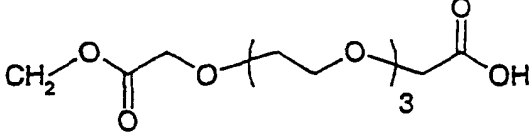
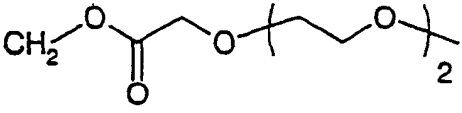
15 在各孔中加入 MTT (3-(4-5 甲基噻唑-2-基)-2, 5-二苯基溴化四唑鎓; 噻唑蓝)得到 1 mg/ml 的终浓度。然后，在 37 $^{\circ}$ C 下温育该平板 2 1/2-3 小时。然后，除去含有 MTT 的培养基，向各孔中加入 50 $\mu$ l 的 100%乙醇以溶解 formazan。然后，用自动读板仪(Bio-tek 微板阅读仪)读出吸收度。用 Reed 和 Munsch 方程，参见 Am. J. Hygiene Vol. 27 第 493-497 页,1938 计算 IC<sub>50</sub>。

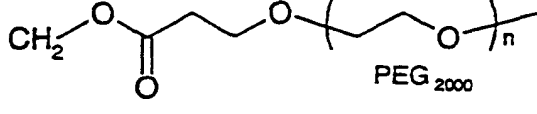
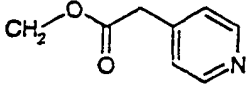
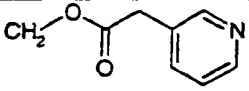
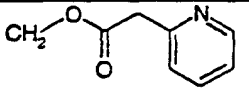
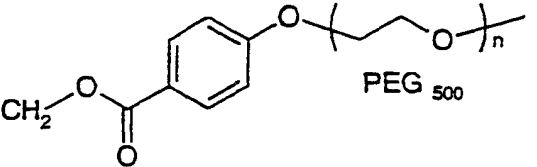
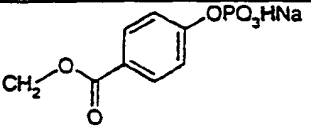
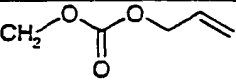
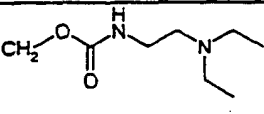
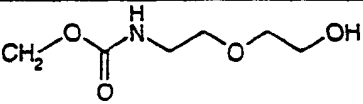
20 表 1 中给出了前述体外实验的结果。

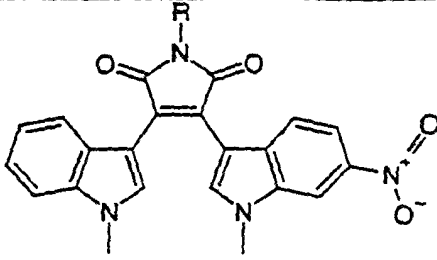
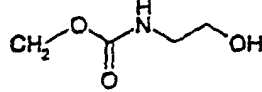
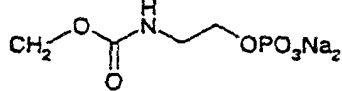
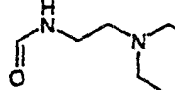
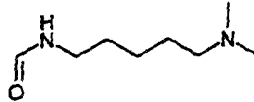
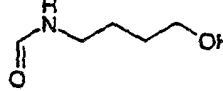
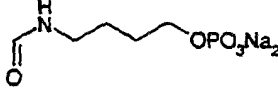
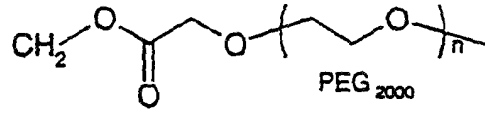
表 1 中的各化合物的 IC<sub>50</sub>≤1.00 $\mu$ m。

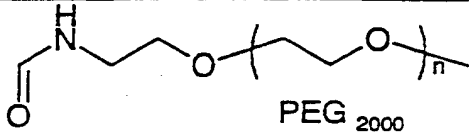
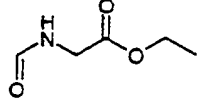
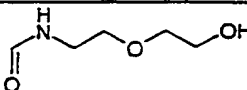
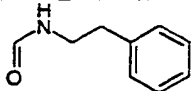
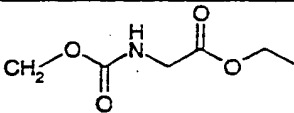
表 1

实施例	R	反应路线
6b		1a
7		1a
8b,11		1a
8a, 9, 10		1a
13		1b
12		1b

实施例	R	反应路线
2		1b
3a		1b
3f		1b
5		1a
3g		1b
4		1b
3h		1b
6a		1a

实施例	R	反应路线
3b		Ib
3c		Ib
3d		Ib
3e		Ib
15		Ib
14		Ib
16		III
17		IV
18		IV

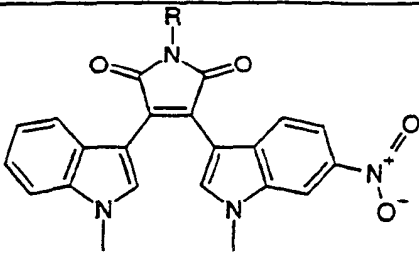
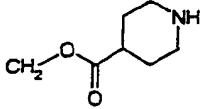
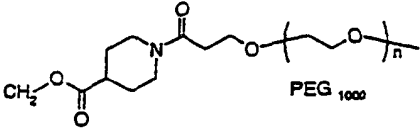
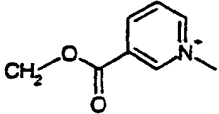
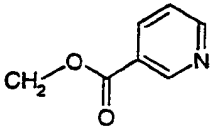
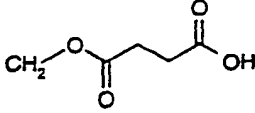
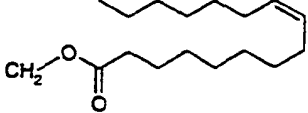
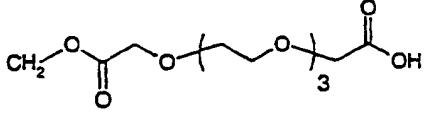
		
实施例	R	反应路线
19		IV
20		IV
1	CH <sub>2</sub> OPO <sub>3</sub> Na <sub>2</sub>	II
21		V
22		V
23		V
24		V
25		lb

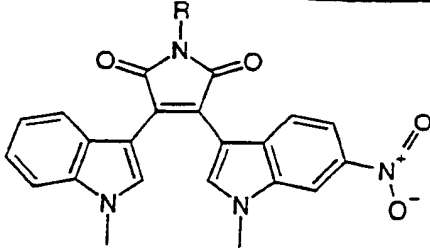
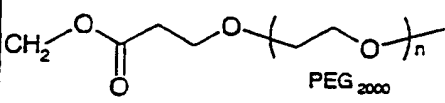
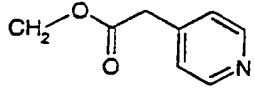
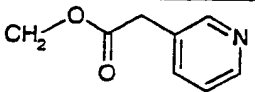
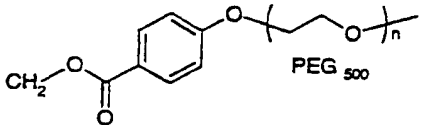
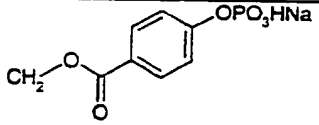
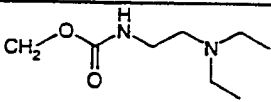
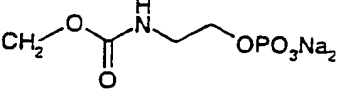
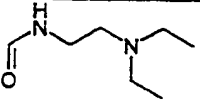
		V	
5		V	
		V	
10		V	
		IV	
15	1	-CH <sub>2</sub> OH	I

20

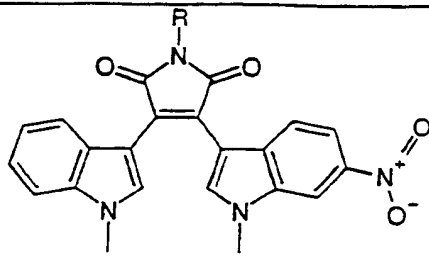
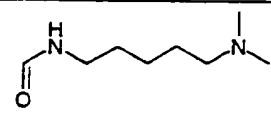
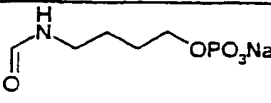
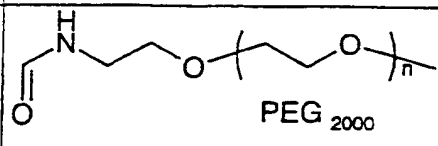
式 I 的代表化合物的血浆转化测定表明这些化合物的确在对治疗用途合适的时间段内产生药理活性的代谢物。此外，对式 I 的某些代表化合物的稳定性检测还表明这些化合物在典型地用于静脉内给药的治疗药物的类型的溶液中具有中等的到良好的稳定性。下表 II 给出了这些血浆转化和稳定性检测的结果。因此，这些化合物适于通过连续输注的方式对患者给药。

表 2

实施例	R	稳定性	血浆转化	合成路线
				
8a, 9, 10		良好	30% @30分钟	1a
13		良好	N/D*	1b
12		中等	60% @30分钟	1b
3a		良好	70% @30分钟	1b
3f		良好	20% @30分钟	1b
3g		良好	N/D*	1b
3h		中等	N/D*	1b

				
实施例	R	稳定性	血浆转化	合成路线
3b		良好	80% @30分钟	Ib
3c		良好	60% @30分钟	Ib
3d		良好	70% @30分钟	Ib
15		良好	100% @2小时	Ib
14		良好	5% @4小时	Ib
17		良好	15% @6小时	IV
20		良好	N/D*小时	IV
1	CH <sub>2</sub> OPO <sub>3</sub> Na <sub>2</sub>	良好	100% @30分钟	II
21		中等	100% @1小时	V



				
实施例	R	稳定性	血浆转化	合成路线
22		良好	N/D*	V
24		良好	10% @6小时	V
		良好	N/D*	V

\* N/D = 未做

实施例 27: 片剂

项目	成份	Mg/片					
		5	25	100	250	500	750
1	化合物 *	5	25	100	250	500	750
2	无水乳糖	103	83	35	19	38	57
3	交联羧甲基纤维素钠	6	6	8	16	32	48
4	聚乙烯吡咯酮 K30	5	5	6	12	24	36
5	硬脂酸镁	1	1	1	3	6	9
	总重	120	120	150	300	600	900

\* 化合物 A 代表本发明的化合物

PC020112

制备方法:

1. 在合适的混合器中将项目 1, 2 和 3 混合 15 分钟。
2. 用 20%的聚乙烯吡咯酮 K30 溶液 (项目 4)将来自步骤 1 的粉末混合物制粒。
- 5      3. 在 50°C干燥来自步骤 2 的颗粒。
4. 令步骤 3 获得的颗粒通过合适的研磨设备。
5. 加入项目 5 到步骤 4 的研磨的颗粒中并混合 3 分钟。
6. 在合适的压力机上压制来自步骤 5 的颗粒。

10 实施例 28: 胶囊剂

项目	成份	mg/ 胶囊				
		5	25	100	250	500
15	1 化合物 *	5	25	100	250	500
	2 无水乳糖	159	123	148	--	--
	3 玉米淀粉	25	35	40	35	70
	4 滑石	10	15	10	12	24
20	5 硬脂酸镁	1	2	2	3	6
	总填充总量	200	200	300	300	600

\* 化合物 A代表本发明的化合物

制备方法:

1. 在合适的混合器中将项目 1, 2 和 3 混合 15 分钟。
2. 加入项目 4 和 5 并混合 3 分钟。
3. 填充到合适的胶囊。

5

实施例 29: 注射液/乳剂

项目	成份	mg/mL
1	化合物 A*	1 mg
2	PEG 400	10-50 mg
3	卵磷脂	20-50 mg
4	大豆油	1-5 mg
5	甘油	8-12 mg
6	水加至	1 mL

\*化合物 A代表本发明的化合物

制备方法:

1. 在项目 2 中溶解项目 1。
2. 加入项目 3, 4 和 5 到项目 6 中并混合直至分散, 然后均化。
3. 将步骤 1 获得的溶液加入步骤 2 获得的混合物中并均化直至该分散液透明。
4. 0.2 um 滤膜无菌过滤并装瓶。

实施例 30: 注射液/乳剂

项目	成份	mg/mL
1	化合物 A *	1 mg
2	Glycofurol	10-50 mg
3	卵磷脂	20-50 mg
4	大豆油	1-5 mg
5	甘油	8-12 mg
6	水	q.s. 1 mL

\*化合物 A 代表本发明的化合物

制备方法:

1. 在项目 2 中溶解项目 1。
2. 加入项目 3, 4 和 5 到项目 6 中并混合直至分散, 然后均化。
3. 将步骤 1 获得的溶液加入步骤 2 获得的混合物中并均化直至该分  
5 散液透明。
4. 0.2 um 滤膜无菌过滤并装瓶。

尽管已参照具体的和优选的实施方案举例说明了本发明, 但是本领域的技术人员会理解通过常规的实验和实施本发明可进行变更和改进。  
10 因此, 本发明并不受前述说明书的限制, 但是受所附的权利要求书及其等价物的限定。