



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101838245 B

(45) 授权公告日 2012. 07. 25

(21) 申请号 201010182426. 5

(22) 申请日 2010. 05. 21

(73) 专利权人 中国科学院上海有机化学研究所
地址 200032 上海市徐汇区枫林路 354 号
专利权人 中国科学院动物研究所

(72) 发明人 姚祝军 周光飏 焦姣 张波

(74) 专利代理机构 上海新天专利代理有限公司
31213

代理人 郭震中

(51) Int. Cl.

C07D 239/94 (2006. 01)

C07D 403/12 (2006. 01)

A61K 31/517 (2006. 01)

A61K 31/5377 (2006. 01)

A61P 35/00 (2006. 01)

(56) 对比文件

CN 101347433 A, 2009. 01. 21, 说明书全文.
章砚东. 喹唑啉类化合物库的固相合成、
生物活性筛选及钐试剂在有机合成中的应
用. 《中国博士学位论文全文数据库 工程科技 I
辑》. 2008, (第 7 期), 第 23 页.

审查员 施捷

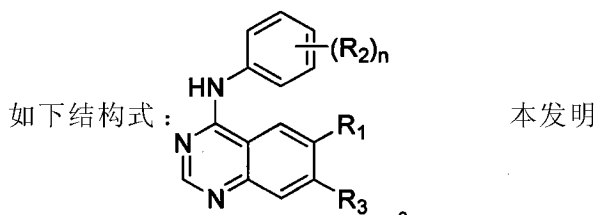
权利要求书 2 页 说明书 14 页 附图 1 页

(54) 发明名称

喹唑啉衍生物或其药用盐、制备方法和用途

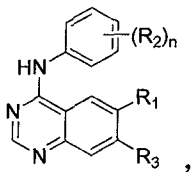
(57) 摘要

本发明涉及一种喹唑啉衍生物或其药用盐、
合成方法及其用途。本发明的喹唑啉衍生物具有



的喹唑啉衍生物或其可药用盐可以用于制备治疗
非小细胞肺癌的药物, 尤其是用于制备用 Iressa
治疗无效的非小细胞肺癌的药物。

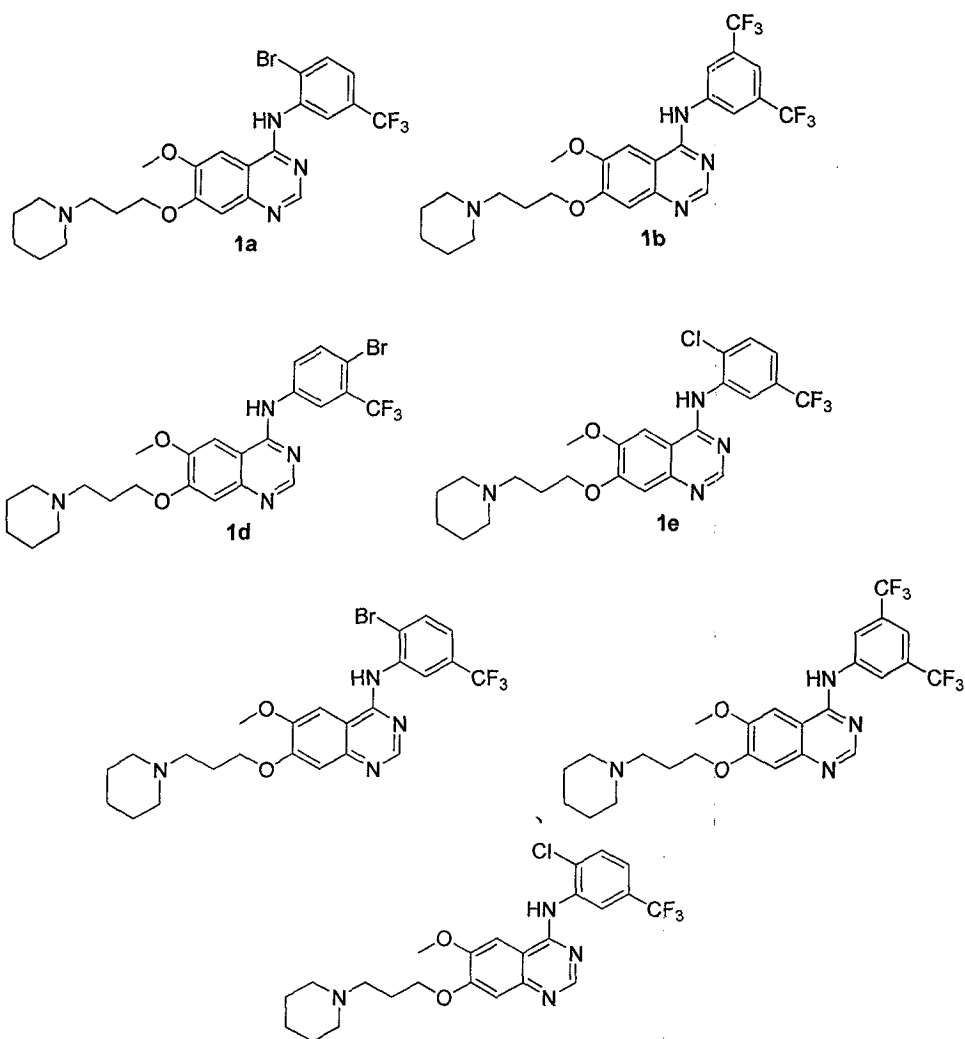
1. 一种喹唑啉衍生物或其药用盐, 该喹唑啉衍生物具有如下的结构式:



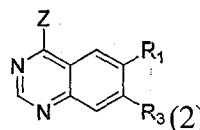
其中, n 为 1, 2 或 3; R^1 为 C1-4 的烷氧基; R^2 各自独立地代表卤素或三氟甲基; R^3 为吗啉代 -1- 基 -C2-4 的烷氧基;

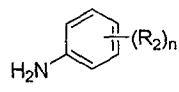
所述的喹唑啉衍生物药用盐是上述喹唑啉衍生物的盐酸盐、氢溴酸盐、硫酸盐、磷酸盐、三氟乙酸盐、枸橼酸盐、马来酸盐、酒石酸盐、富马酸盐、甲磺酸盐或 4- 甲苯磺酸盐。

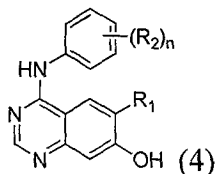
2. 如权利要求 1 所述的喹唑啉衍生物或其药用盐, 其特征是所述的喹唑啉衍生物具有如下的结构式:

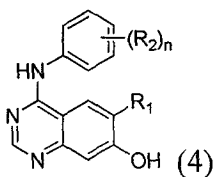


3. 一种如权利要求 1 所述的喹唑啉衍生物或其药用盐的制备方法, 其特征是通过下述 (a) 或 (b) 两种步骤获得喹唑啉衍生物, 或者采用 (a) 和 (c), 或 (b) 和 (c) 两种步骤获得喹唑啉衍生物药用盐:

(a) 有机溶剂溶剂中和微波下, 结构式为  的喹唑啉衍生物, 结构式为

 (3) 的苯胺和催化量的浓盐酸反应 1-30 分钟; 所述的结构式 (2) 的喹唑啉化合物、结构式 (3) 的苯胺的摩尔比为 1 : 1 ~ 2; 所述的 Z 为具有离去性能的取代基, 选自氯原子、溴原子、碘原子、甲氧基、苯氧基、甲磺酰基或甲苯-4-磺酰氧基;

(b) 在室温下和有机溶剂中, 结构式  (4) 的喹唑啉化合物、三苯基膦、偶氮

二甲酸二乙酯或偶氮二甲酸二异丙酯、与醇反应 2-10 小时; 所述的  喹唑

啉化合物、三苯基膦、偶氮二甲酸二乙酯或偶氮二甲酸二异丙酯、和醇的摩尔比为 1 : 1 ~ 5 : 1 ~ 5 : 1 ~ 5; 所述的醇为吗啉代-(C2-4)醇; (c) 有机溶剂中, 将步骤 (a) 或 (b) 获得的喹唑啉化合物分别和酸反应 10-60 分钟; 所述的喹唑啉化合物与酸的摩尔比为 1 : 1 ~ 100; 所述的酸为盐酸、氢溴酸、硫酸、磷酸、三氟乙酸、枸橼酸、马来酸、酒石酸、富马酸、甲磺酸或 4-甲苯磺酸;

其中, n、R₁、R₂ 和 R₃ 如权利要求 1 所述; Z 为具有离去性能的取代基, 选自氯原子、溴原子、碘原子、甲氧基、苯氧基、甲磺酰基或甲苯-4-磺酰氧基。

4. 如权利要求 3 的喹唑啉衍生物或其药用盐的制备方法, 其特征是所述的有机溶剂是甲醇、乙醇、正丙醇、正丁醇、异丙醇、二氯甲烷、氯仿、1,2-二氯乙烷、四氯化碳、乙醚、四氢呋喃、苯、甲苯、二甲苯、丙酮、丁酮、乙腈、N,N-二甲基甲酰胺或二甲亚砜。

5. 如权利要求 3 的喹唑啉衍生物或其药用盐的制备方法, 其特征是所述的微波波长为 1 毫米到 1 米, 功率为 10 瓦到 300 瓦。

6. 一种如权利要求 1 的喹唑啉衍生物或其药用盐用于制备治疗肺癌的药物。

7. 如权利要求 6 所述的的喹唑啉衍生物或其药用盐的用途, 其特征是所述的肺癌为非小细胞肺癌。

喹唑啉衍生物或其药用盐、制备方法和用途

技术领域

[0001] 本发明涉及喹唑啉衍生物或其药用盐、制备方法和用途。它们具有抗癌活性,如对肺癌细胞株 NCI-H1975 和 A549 的具有生长抑制作用,尤其可以用于制备治疗对现有的主要抗非小细胞肺癌药物 Iressa 无法治疗的非小细胞肺癌的药物。

背景技术

[0002] 攻克癌症一直是医学界面临的重大挑战。随着分子生物学的不断发展,人们对肿瘤发生、发展机制的了解也越来越深入。近年来,与该过程相关的一些特异性蛋白质,如生长因子受体 (EGFR)、信号转导分子、细胞周期蛋白、细胞凋亡调节因子、血管内皮生长因子 (VEGF) 等被相继发现,并且都有可能成为肿瘤治疗的分子靶点,于是学者们提出了肿瘤分子靶向治疗的概念,即利用特异性分子(单克隆抗体、小分子物质)封闭或抑制这些分子靶点,从而抑制肿瘤细胞的生长、转移或诱导其凋亡(褚亮 刘新垣 肿瘤防治杂志 CHIN J CANCER PREVTREAT, October 2005, 12(20), 1583)。Iressa 是一种作用于表皮生长因子受体 (EGFR), 用于治疗非小细胞肺癌的靶向药物(张力,程中伟,高金明“晚期非小细胞肺癌分子靶向药物研究新进展”, Acta Academiae Medicinae Sinicae, 26, 3, 323-329)。

[0003] EGFR(epidural growth factor receptor, 表皮生长因子受体)是一种分子量约为 170kD 的糖蛋白,广泛分布于人体各组织的细胞膜上,它的跨膜区为单向一次性的,故也称为单次跨膜受体。它的胞内区含有酪氨酸激酶段和 ATP 结合位点,对调节细胞增殖及分化至关重要。目前已发现有 3 种 EGFR 突变体:EGFR I、EGFR II 和 EGFR III,突变一般发生在胞外区,极少发生在跨膜区和胞内区。3 种突变体中以 EGFR II 最常见(Campa. M. J. ;Kuan. C. T. ;O' Connor McCourt. M. D. et al. Design of a novel small peptide targeted against a tumor-specific receptor. Biochem Biophys Res Commun, 2000, 275(2), 631-636)。且 EGFR II 仅表达于肿瘤组织,而在正常组织中不表达,因此其特异性单抗显示了良好的肿瘤靶向治疗前景(Luo. X., Gong. X., Tang. C. K. Suppression of EGFR VIII-mediated proliferation and tumorigenesis of breast cancer cells by ribozyme. Int J Cancer, 2003, 104(6), 716-721)。

[0004] EGFR 酪氨酸激酶抑制剂-Iressa(ZD1839, Gefitinib), 是阿斯利康(AstraZeneca)公司生产的一种能口服的小分子苯胺喹唑啉(quinazoline)类化合物,该药能进入细胞内,与 ATP 竞争 EGFR 的特定结合位点,从而抑制酪氨酸激酶(TK)的活性。研究发现, Iressa 通过多种机制发挥抗肿瘤的作用:诱导细胞周期阻滞在 G1 期;增加凋亡和抑制细胞增殖;抗血管生成和抗转移;逆转肿瘤细胞的耐药性,增强细胞毒性药物的效应(Mendelsohn. J., Baselga. J., Status of epidermal growth factor receptor antagonists in the biology and treatment of cancer. J. Clin. Oncol., 2003, 21(14), 2787-2799)。此药于 2003 年 5 月被美国 FDA 批准,用于治疗化疗失败的晚期非小细胞肺癌(NSCLC),并于 2005 年 3 月在中国获准上市。

[0005] Iressa 治疗 NSCLC 的 I~III 期临床试验表明, Iressa 的近期疗效为 15%~20%,

不良反应较轻。随机双盲的 III 期 IDEAL1 和 IDEAL2 试验表明, IRESSA 作为 2、3 线单药治疗 NSCLC 的有效率为 18.4%, 作为 3、4 线治疗的有效率为 11.8%。另外, 40%~50% 患者的肿瘤无进展, 40% 以上患者的症状得到明显改善 (Kris. M. G., Natale. R. B., Herbst. R. S., et al. Efficacy of gefitinib, an inhibitor of the epidermal growth factor receptor tyrosine kinase, in symptomatic patients with non-small cell lung cancer: a randomized trial. *J. Am. Med. Assoc.*, 2003, 290 (16), 2149-2158; Fukuoka. M., Yano. S., Giaccone. G., et al. Multi-institutional randomized phase II trial of gefitinib for previously treated patients with advanced non-small-cell lung cancer. *J. Clin. Oncol.*, 2003, 21 (12), 2237 ~ 2246.)

[0006] 尽管 Iressa 之类的 EGFR 靶向治疗已经成功进入临床应用阶段, 但是如前所述, 有些患者对这类治疗并不敏感, 有些患者对该类药物最终产生耐药性。2004 年 8 月, 日本最先报道了 3 例对 Iressa 治疗有效的 NSCLC 患者在经过 3~7 个月的缓解期后, 病情进一步发展 (局部复发或远处转移), 并称之为发生了获得性耐药 (acquired resistance) (Hoshi. S., Yamaguchi. T., Recurrence of Non-small-cell lung cancer after successful treatment with Gefitinib-report of three cases. *Gan To Kagaku Ryoho*, 2004, 31 (8), 1209-1213)。根据已有的研究资料, 进展往往发生于 Iressa 治疗后稳定或缓解后 4~5 个月。

[0007] 针对耐药机制, 生物学家们进行了大量的研究, 发现胞内许多不同信号通路的改变是引起 EGFR 抑制剂耐药的主要原因。主要包括以下 4 方面: (1) 肿瘤诱导的非依赖于 EGFR 的血管生成; (2) 绕过 EGFR 通路的其他 TK 受体 (酪氨酸激酶受体) 的活化; (3) 胞内 EGFR 下游信号蛋白非依赖性或非组成性活化; (4) EGFR 基因突变或靶点缺失 (王洪波, 陈晓光 EGFR 抑制剂耐药机制研究的新进展 *国际药学研究杂志* 2007 年 10 月, 34 (5), 347-350)。

[0008] 美国 Memorial Sloan-Kettering 肿瘤中心对 6 例接受过 Iressa 3 个月~2 年出现疾病进展的 NSCLC 患者肿瘤标本中, EGFR 基因 19 到 21 外显子的 DNA 进行了测序, 其中有 3 例均出现 2369 位核苷酸替换 (C2T), 导致酪氨酸激酶活化域 790 位苏氨酸残基被蛋氨酸取代, 而且可以确定, 这种突变发生于 Iressa 治疗开始和发生耐药之间的时间段。有学者认为, 790 位的野生型苏氨酸残基定位于酪氨酸激酶的催化区域疏水的 ATP 结合口袋中, 而 Iressa 以喹唑啉环结合于这种亲脂袋中, 阻断 ATP 的结合发挥作用。当苏氨酸被大的蛋氨酸残基取代, 可能导致与药物接触的芳香环结构的崩解, 但并不影响 ATP 的结合。另外已有实验结果证明, T790M 突变并不会取消野生型 EGFR 的催化活性。而且, T790M 突变可能也影响了激酶的活性或改变了突变型 EGFR 底物的专一性, 从而使带有突变的肿瘤细胞更具有增殖活性 (William. P., Vincent. A., Miller, et al, Acquired Resistance of Lung Adenocarcinomas to Gefitinib or Erlotinib Is Associated with a Second Mutation in the EGFR Kinase Domain. *PLoS Medicine*, 2005, 2 (3), 1-11)。

[0009] 总而言之, 作为一种酪氨酸激酶, EGFR (epidermal growth factor receptor, 表皮生长因子受体) 在多种肿瘤中起着重要的生长、增殖调节作用, 是近年来抗肿瘤靶向治疗的一个重要靶点。小分子酪氨酸激酶抑制剂 Iressa (Gefitinib, 易瑞沙) 通过与 EGFR 结合, 能够作为治疗 NSCLC (非小细胞肺癌) 的抗癌药物, 对特别是女性、非吸烟者、腺癌尤其是细支气管肺泡癌、东方人具有很好的治疗效果。但是可能由于 EGFR 基因突变引起的 Iressa

耐药性的出现使它的应用受到了一定的限制,并使得对 Iressa 补充疗法的研究变得尤为迫切。

发明内容

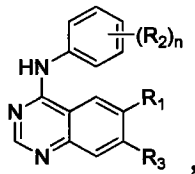
[0010] 本发明目的是提供一种喹唑啉衍生物或其药用盐;

[0011] 本发明目的还提供一种上述喹唑啉衍生物或其药用盐的制备方法;

[0012] 本发明另外一个目的是提供上述喹唑啉衍生物或其药用盐的用途,用于制备治疗肺癌的药物,尤其是用于制备治疗非小细胞肺癌的药物。

[0013] 本发明的喹唑啉衍生物具有如下的结构式:

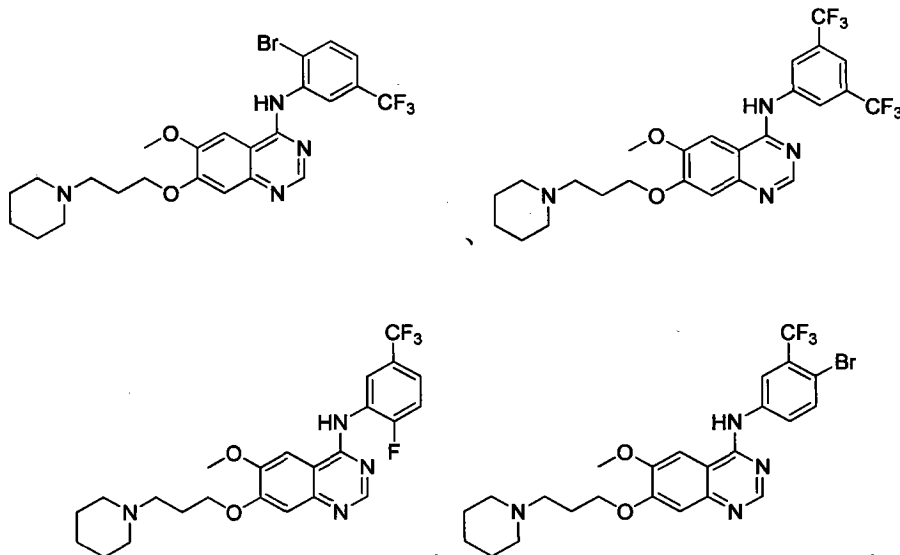
[0014]



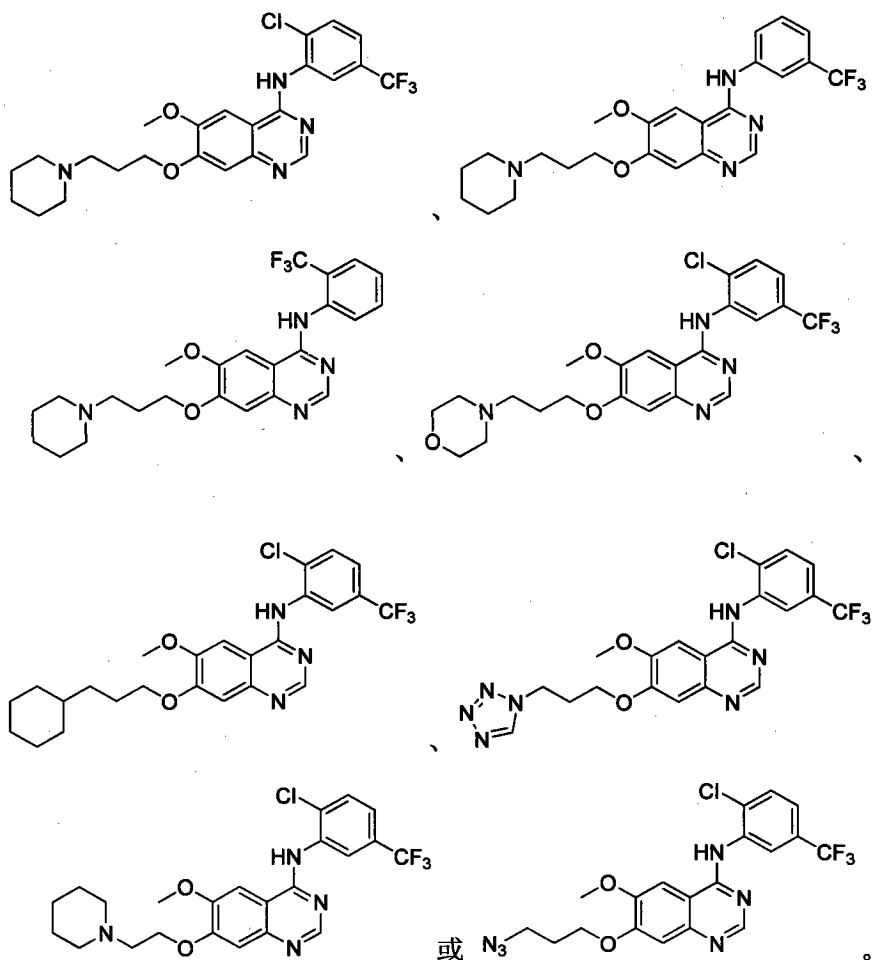
[0015] 其中,n 为 1,2 或 3; R^1 为 C1-4 的烷氧基; R^2 各自独立地代表卤素、三氟甲基、C1-4 的烷氧基或 C1-4 的烷氧羰基; R^3 为二-{C1-4 的烷基}-C2-4 的烷氧基、,吡咯烷-1-基-C2-4 的烷氧基、哌啶子基-C2-4 的烷氧基、吗啉代-1-基-C2-4 的烷氧基、哌嗪-1-基-C2-4 的烷氧基、4-C1-4 的烷基哌嗪-1-基-C2-4 的烷氧基、咪唑-1-基-C2-4 的烷氧基、二-[C1-4 的烷氧基-C2-4 的烷氧基]氨基-C2-4 的烷氧基、硫吗啉代-C2-4 的烷氧基、1-氧代硫吗啉代-C2-4 的烷氧基或、1,1-二氧代硫吗啉代-C2-4 的烷氧基、烯丙氧基或叠氮子基-C2-4 的烷氧基。

[0016] 推荐所述的喹唑啉衍生物具有如下的结构式:

[0017]



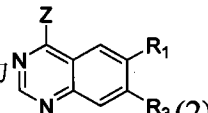
[0018]

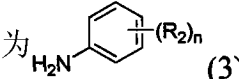


[0019] 所述的喹唑啉衍生物可以以溶剂化物或非溶剂化物形式，例如水合物形式存在。本发明的喹唑啉衍生物因碱性足够强，与酸加成可以成为喹唑啉衍生物的药用盐，所述酸如盐酸、氢溴酸、硫酸、磷酸、三氟乙酸、枸橼酸、马来酸、酒石酸、富马酸、甲磺酸或 4- 甲苯磺酸。换言之，本发明的喹唑啉衍生物药用盐是上述结构式喹唑啉衍生物的盐酸盐、氢溴酸盐、硫酸盐、磷酸盐、三氟乙酸盐、枸橼酸盐、马来酸盐、酒石酸盐、富马酸盐、甲磺酸盐或 4- 甲苯磺酸盐。

[0020] 特别优选的本发明的喹唑啉衍生物或其药用盐，推荐 $(R^2)_n$ 为 2'- 溴 -5'- 三氟甲基； R^1 为甲氧基； R^3 为 3- 哌啶代氧基。

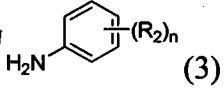
[0021] 本发明喹唑啉衍生物或其药用盐的制备方法，其特征是采用如下 (a) 和 (b) 的方法分别获得喹唑啉衍生物；获得的喹唑啉衍生物再通过步骤 (c) 获得它们的药用盐：

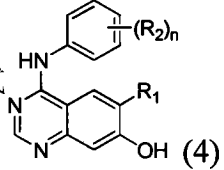
[0022] (a) 有机溶剂溶剂中和微波下，结构式为  的喹唑啉衍生物，结构式

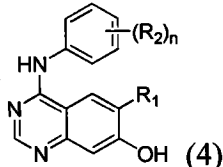
为  (3) 的苯胺和催化量的浓盐酸反应 1-30 分钟；所述的结构式 (2) 的喹唑啉化

合物、结构式 (3) 的苯胺的摩尔比为 1 : 1 ~ 2；所述的微波反应功率为 150 瓦；其中，所述的微波波长为 1 毫米到 1 米，反应功率为 10 瓦到 300 瓦；所述的 Z 包括氯原子、溴原子、碘原子、甲氧基、苯氧基、甲磺酰基或甲苯 -4- 磺酰氧基。

[0023] 特别优选的本发明的喹唑啉衍生物的制备方法,推荐结构式为  (2) 的

喹唑啉衍生物与结构式为  (3) 的苯胺和催化量的浓盐酸在微波反应器中反应 5-10 分钟。所述的微波反应器的波长范围为 50 毫米到 500 毫米,反应功率为 50 瓦到 150 瓦。

[0024] (b) 在室温下和有机溶剂中,结构式  (4) 的喹唑啉化合物、三苯基膦 (PPh₃)、偶氮二甲酸二乙酯 (DEAD) (或偶氮二甲酸二异丙酯 (DIAD)) 与醇反应 2-10 小时;

[0025] 所述的  (4) 喹唑啉化合物、三苯基膦 (PPh₃)、偶氮二甲酸二乙酯 (DEAD) 或偶氮二甲酸二异丙酯 (DIAD) 和醇的摩尔比为 1 : 1 ~ 5 : 1 ~ 5 : 1 ~ 5 ;所述的醇为吗啉代-(C2-4)醇(或哌嗪-1-基-(C2-4)醇、4-(C1-4)烷基哌嗪-1-基-(C2-4)醇、咪唑-1-基-(C2-4)醇、二-[(C1-4)烷氧基-(C2-4)烷氧基]氨基-(C2-4)醇、硫吗啉代-(C2-4)醇、1-氧代硫吗啉代-(C2-4)醇或 1,1-二氧代硫吗啉代-(C2-4)的醇;

[0026] (c) 有机溶剂中,将步骤 (a) 或 (b) 获得的喹唑啉化合物分别和酸反应 10-60 分钟;所述的喹唑啉化合物与酸的摩尔比为 1 : 1 ~ 100 ;所述的盐酸、氢溴酸、硫酸、磷酸、三氟乙酸、枸橼酸、马来酸、酒石酸、富马酸、甲磺酸或 4- 甲苯磺酸。

[0027] 其中, n、R₁、R₂ 和 R₃ 如前 1 所述; Z 为具有离去性能的取代基,包括氯原子、溴原子、碘原子、甲氧基、苯氧基、甲磺酰基或甲苯-4-磺酰氧基。

[0028] 以上所指的有机溶剂包括但不限于甲醇、乙醇、正丙醇、正丁醇、异丙醇、二氯甲烷、氯仿、1,2-二氯乙烷、四氯化碳、乙醚、四氢呋喃、苯、甲苯、二甲苯、丙酮、丁酮、乙腈、N,N-二甲基甲酰胺或二甲亚砜。

[0029] 本发明的喹唑啉衍生物的用途,可以用于制备非小细胞肺癌治疗的药物。

[0030] 研究中使用对现有的肺癌治疗药物 Iressa 不敏感的体外肺癌细胞株 NCI-H1975 和肺癌细胞株 A549 生长抑制实验来评价喹唑啉衍生物的抗癌活性。

[0031] 本发明利用简便的方法合成了一系列喹唑啉衍生物。使用对现有的肺癌治疗药物 Iressa 不敏感的体外肺癌细胞株 NCI-H1975 和肺癌细胞株 A549 生长抑制实验来评价喹唑啉衍生物的抗癌活性,结果表明许多化合物都表现出了优于 Iressa 的抗癌活性,很有希望发展为新的抗肿瘤药物,用于对 Iressa 不敏感的或者已产生耐药性的病例的治疗。

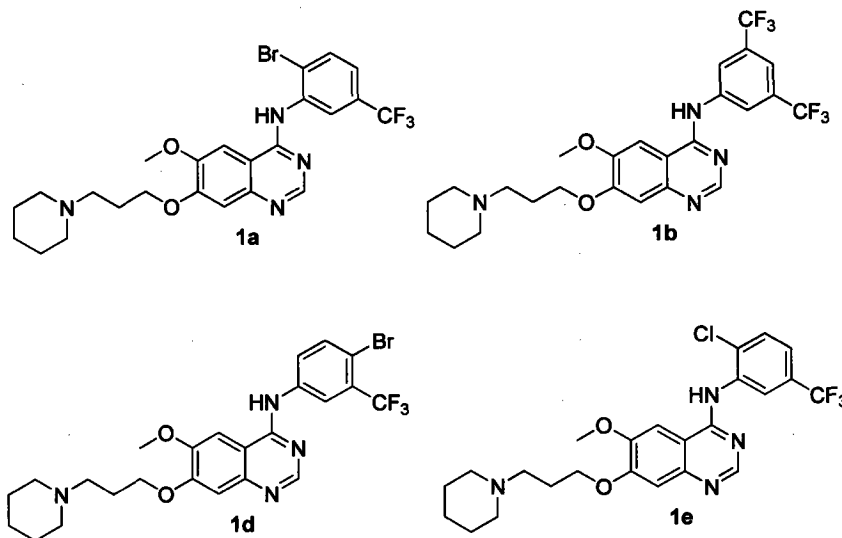
附图说明

[0032] 图 1 本发明的部分喹唑啉衍生物的抗癌活性的结果

[0033] 其中横坐标为喹唑啉衍生物标号,喹唑啉衍生物 1a、1b、1c 和 1d 分别对应于实施

例 1、2、4 和 5, 纵坐标为喹唑啉衍生物作用于对 Iressa 不敏感的肺癌细胞 NCI-H1975 时的 IC_{50} (μM) (半数抑制浓度) 值。喹唑啉衍生物 1a、1b、1c 和 1d 具有如下的结构式:

[0034]



[0035] 图 2 本发明的喹唑啉衍生物 1a 和 Iressa 分别在对 Iressa 不敏感的肺癌细胞 NCI-H1975 和 A549 中对其进行 24 小时和 48 小时的浓度 - 抑制率相关曲线测定 (图 2a 和图 2b)

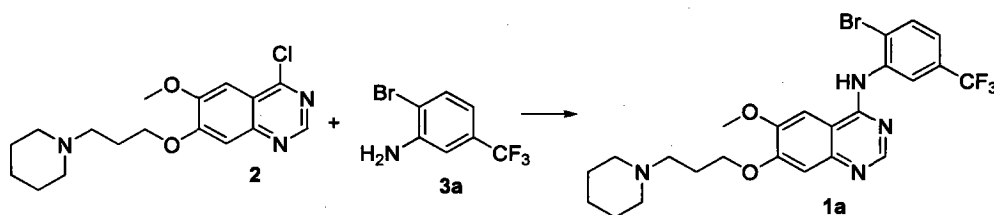
[0036] 其中, 图 2a 和图 2b 中横坐标分别为 Iressa 和喹唑啉衍生物 1a 的不同浓度 (1-5 μM) 和不同作用时间 {24 小时和 48 小时 (24 hours and 48 hours)}, 纵坐标为 Iressa 和化合物 1a 分别作用于对 Iressa 不敏感的肺癌细胞 NCI-H1975 和 A549 时的抑制率 (% , Inhibition Rate)。

具体实施方式

[0037] 通过下述实施例将有助于理解本发明, 但并不能限制本发明的内容。

[0038] 实施例 1

[0039]



[0040] 在 10mL 微波反应管 (微波反应器采用 CEM 公司生产的 Discover 型号环形聚焦单模微波合成仪) 中加入 4-氯, 6-甲氧基, 7-(3-哌啶代丙氧基) 喹唑啉 (26mg, 0.1mmol) 的异丙醇溶液 (1mL), 加入浓盐酸 (0.1mL) 和 2-溴, 5-三氟甲基苯胺 (39mg, 0.2mmol), 微波反应器中反应 (150w, 125 $^{\circ}C$, 5 分钟)。浓缩, 二氯甲烷 / 甲醇 ($CH_2Cl_2/MeOH$) (10 : 1, 20mL) 和水萃取。有机相依次用水和饱和食盐水洗涤, 无水 Na_2SO_4 干燥, 过滤, 浓缩, 残余物经柱层析分离, 得到白色固体 (40mg, 74%)。

[0041] 熔点 M. p. 178-180 $^{\circ}C$.

[0042] 红外光谱 IR(KBr) :3407, 2937, 2758, 1622, 1538, 1456, 1434, 1324, 1258, 1128, 1025, 927. 1, 508. 2 cm^{-1} .

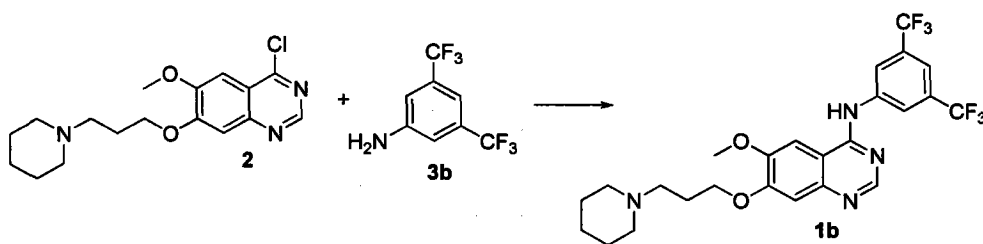
[0043] 氢谱 ^1H NMR(MeOD, 400MHz) : δ 9. 26(s, 1H), 8. 77(s, 1H), 7. 90(brs, 1H), 7. 73(d, J = 7. 6Hz, 1H), 7. 31(s, 1H), 7. 22(d, J = 7. 6Hz, 1H), 7. 07(s, 3H), 4. 25(m, 2H), 4. 04(s, 3H), 2. 53(m, 2H), 2. 43(m, 4H), 2. 13(m, 2H), 1. 60(m, 4H), 1. 26(m, 2H).

[0044] 质谱 EI-MS(m/z) :538 (M^+).

[0045] 元素分析理论值 (Anal. calc. For) $\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{BrF}_3\text{N}_4\text{O}_2$:C, 53. 44 ;H, 4. 86 ;N, 10. 39 ;实测值 (Found) :C, 52. 94 ;H, 5. 09 ;N, 9. 98.

[0046] 实施例 2

[0047]



[0048] 在 10mL 微波反应管中加入 4-氯, 6-甲氧基, 7-(3-哌啶代丙氧基) 喹唑啉 (26mg, 0. 1mmol) 的异丙醇溶液 (1mL), 加入浓盐酸 (0. 1mL) 和 3, 5-二氟甲基苯胺 (46mg, 0. 2mmol), 微波反应器中反应 (150w, 125 $^{\circ}\text{C}$, 5 分钟)。浓缩, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (10 : 1, 20mL) 和水萃取。有机相依次用水和饱和食盐水洗涤, 无水 Na_2SO_4 干燥, 过滤, 浓缩, 残余物经柱层析分离, 得到白色固体 (39mg, 74%)。

[0049] M. p. 156-158 $^{\circ}\text{C}$.

[0050] IR(KBr) :2948, 1636, 1539, 1515, 1474, 1419, 1325, 1179, 1125, 1072, 948, 888, 731, 682, 593 cm^{-1} .

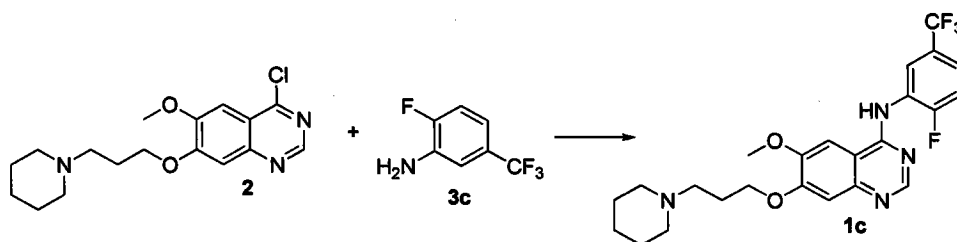
[0051] ^1H NMR(MeOD, 300MHz) : δ 8. 73(s, 1H), 8. 55(s, 2H), 8. 04(s, 1H), 7. 77(s, 1H), 7. 27(brs, 1H), 7. 35(s, 1H), 4. 33(brs, 2H), 4. 08(s, 3H), 3. 61(d, J = 2. 2Hz, 2H), 3. 35(brs, 2H), 3. 02(brs, 2H), 2. 44(s, 2H), 2. 39(brs, 2H), 1. 86(m, 2H), 1. 568(m, 1H).

[0052] EI-MS(m/z) :528. 9 (M^+).

[0053] Anal. calc. for $\text{C}_{25}\text{H}_{28}\text{F}_6\text{N}_4\text{O}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$:C, 54. 94 ;H, 5. 16 ;N, 10. 25 ;Found C, 55. 33 ;H, 5. 64 ;N, 9. 92.

[0054] 实施例 3

[0055]



[0056] 在 10mL 微波反应管中加入 4-氯, 6-甲氧基, 7-(3-哌啶代丙氧基) 喹唑啉 (26mg, 0. 1mmol) 的异丙醇溶液 (1mL), 加入浓盐酸 (0. 1mL) 和 2-氟, 5-三氟甲基苯胺 (36mg, 0. 2mmol), 微波反应器中反应 (150w, 125 $^{\circ}\text{C}$, 5 分钟)。浓缩, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (10 : 1, 20mL) 和

水萃取。有机相依次用水和饱和食盐水洗涤,无水 Na_2SO_4 干燥,过滤,浓缩,残余物经柱层析分离,得到白色固体 (33mg, 68%)。

[0057] M. p. 134-136°C .

[0058] IR(KBr) :3734, 2926, 1622, 1539, 1456, 1418, 1386, 1327, 1237, 1121, 1067, 844, 599, 659 cm^{-1} .

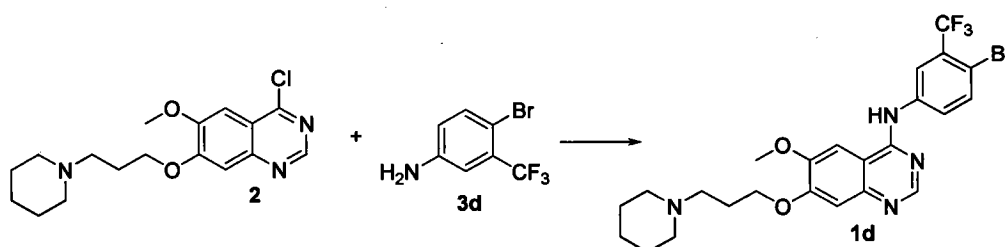
[0059] ^1H NMR(MeOD, 300MHz) : δ 8.39 (s, 1H), 8.08 (d, $J = 0.5\text{Hz}$, 1H), 7.75 (s, 1H), 7.59 (m, 1H), 7.44 (t, $J = 0.5\text{Hz}$, 1H), 7.16 (s, 1H), 4.29 (t, $J = 0.9\text{Hz}$, 2H), 4.03 (s, 3H), 3.32-3.25 (m, 8H), 2.35 (q, $J = 2.2\text{Hz}$, 2H), 1.89 (t, $J = 2.2\text{Hz}$, 4H), 1.70 (d, $J = 2.1\text{Hz}$, 2H).

[0060] EI-MS(m/z) :479.0 ($\text{M}+\text{H}^+$).

[0061] Anal. calc. for $\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{F}_4\text{N}_4\text{O}_2 \cdot 0.5\text{H}_2\text{O}$:C, 59.13 ;H, 5.58 ;N, 11.49 ;Found :C, 58.71 ;H, 5.95 ;N, 11.07.

[0062] 实施例 4

[0063]



[0064] 在 10mL 微波反应管中加入 4-氯, 6-甲氧基, 7-(3-哌啶代丙氧基)喹唑啉 (26mg, 0.1mmol) 的异丙醇溶液 (1mL), 加入浓盐酸 (0.1mL) 和 4-溴, 5-三氟甲基苯胺 (39mg, 0.2mmol), 微波反应器中反应 (150w, 125°C, 5 分钟)。浓缩, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (10 : 1, 20mL) 和水萃取。有机相依次用水和饱和食盐水洗涤, 无水 Na_2SO_4 干燥, 过滤, 浓缩, 残余物经柱层析分离, 得到白色固体 (40mg, 74%)。

[0065] M. p. 149-151°C .

[0066] IR(KBr) :3325, 2936, 1625, 1577, 1507, 1423, 1318, 1239, 1176, 1141, 1018, 849, 668 cm^{-1} .

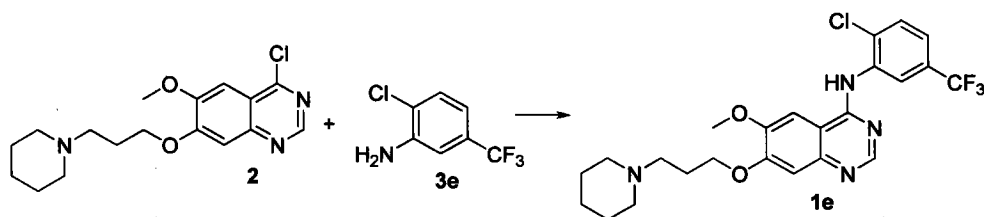
[0067] ^1H NMR(MeOD, 300MHz) : δ 10.58 (s, 1H), 10.19 (t, $J = 1.1\text{Hz}$, 1H), 8.88 (s, 1H), 8.64 (s, 1H), 7.67 (s, 1H), 8.17 (d, $J = 1.1\text{Hz}$, 1H), 7.98 (d, $J = 1.1\text{Hz}$, 1H), 7.49 (s, 1H), 4.30 (s, 2H), 4.07 (s, 3H), 3.21 (s, 2H), 2.91 (d, $J = 1.8\text{Hz}$, 2H), 2.36 (d, $J = 2.3\text{Hz}$, 2H), 1.81-1.41 (m, 6H).

[0068] Anal. calc. for $\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{BrF}_3\text{N}_4\text{O}_2$:C, 53.44 ;H, 4.86 ;N, 10.39 ;Found :C, 53.33 ;H, 4.77 ;N, 9.97.

[0069] EI-MS(m/z) :538 (M^+).

[0070] 实施例 5

[0071]



[0072] 在10mL微波反应管中加入4-氯,6-甲氧基,7-(3-哌啶代丙氧基)喹唑啉(26mg, 0.1mmol)的异丙醇溶液(1mL),加入浓盐酸(0.1mL)和2-氯,5-三氟甲基苯胺(40mg, 0.2mmol),微波反应器中反应(150w,125°C,5分钟)。浓缩,CH₂Cl₂/MeOH(10 : 1,20mL)和水萃取。有机相依次用水和饱和食盐水洗涤,无水Na₂SO₄干燥,过滤,浓缩,残余物经柱层析分离,得到白色固体(40mg,81%)。

[0073] M. p. 169-170°C .

[0074] IR(KBr) :2930,2854,1622,1573,1508,1242,1129cm⁻¹.

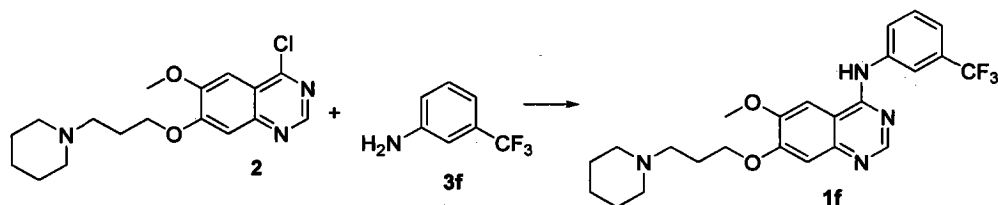
[0075] ¹H NMR(300MHz, CDCl₃) : δ 9.24(brs,1H),8.77(s,1H),7.84(s,1H),7.57(d,2H, J = 9.0Hz),7.32-7.27(m,2H),7.04(s,1H),4.24(t,2H, J = 6.6Hz),4.04(s,3H),2.55-2.42(m,6H),2.17-2.08(m,2H),1.63-1.56(m,4H),1.48-1.44(m,2H)。

[0076] ESI-MS(m/z) :495(M+H)⁺.

[0077] Anal. calc. for C₂₄H₂₆ClF₃N₄O₂ :C,58.24 ;H,5.29 ;N,11.32 ;Found C,57.91 ;H,5.30 ;N,11.17.

[0078] 实施例6

[0079]



[0080] 在10mL微波反应管中加入4-氯,6-甲氧基,7-(3-哌啶代丙氧基)喹唑啉(26mg, 0.1mmol)的异丙醇溶液(1mL),加入浓盐酸(0.1mL)和3-三氟甲基苯胺(32mg,0.2mmol),微波反应器中反应(150w,125°C,5分钟)。浓缩,CH₂Cl₂/MeOH(10 : 1,20mL)和水萃取。有机相依次用水和饱和食盐水洗涤,无水Na₂SO₄干燥,过滤,浓缩,残余物经柱层析分离,得到白色固体(36mg,79%)。

[0081] M. p. 90-92°C .

[0082] IR(KBr) :3574,2937,1627,1496,1332,1124cm⁻¹.

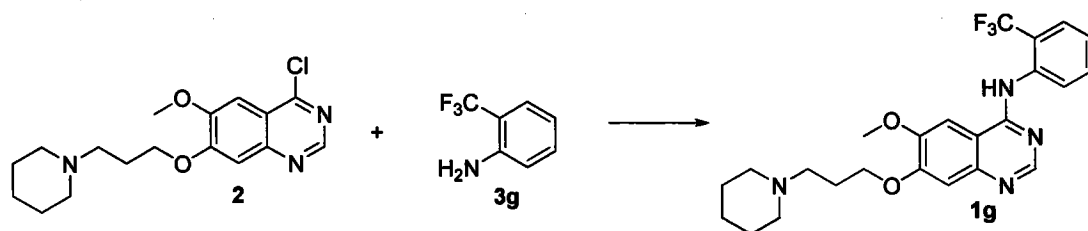
[0083] ¹H NMR(300MHz, CD₃Cl) : δ 8.67(s,1H),8.00-7.98(m,2H),7.70(s,1H),7.46(t, J = 8.1Hz,1H),7.38-7.36(m,1H),7.24(s,1H),7.14(s,1H),4.15(t, J = 6.6Hz,2H),3.95(s,3H),2.51-2.40(m,6H),2.10-2.05(m,2H),1.60-1.54(m,4H),1.44-1.43(m,2H)。

[0084] ESI-MS(m/z) :461(M+H)⁺.

[0085] Anal. calc. for C₂₄H₂₇F₃N₄O₂ • 0.5H₂O :C,61.40 ;H,6.01 ;N,11.93 ;Found C,61.73 ;H,6.04 ;N,11.85.

[0086] 实施例7

[0087]



[0088] 在10mL微波反应管中加入4-氯,6-甲氧基,7-(3-哌啶代丙氧基)喹唑啉(26mg, 0.1mmol)的异丙醇溶液(1mL),加入浓盐酸(0.1mL)和2-三氟甲基苯胺(32mg, 0.2mmol),微波反应器中反应(150w, 125°C, 5分钟)。浓缩,CH₂Cl₂/MeOH(10 : 1, 20mL)和水萃取。有机相依次用水和饱和食盐水洗涤,无水Na₂SO₄干燥,过滤,浓缩,残余物经柱层析分离,得到白色固体(26mg, 74%)。

[0089] M. p. 191-193°C .

[0090] IR(KBr) :3611, 2624, 1629, 1525, 1315, 1261, 1121cm⁻¹.

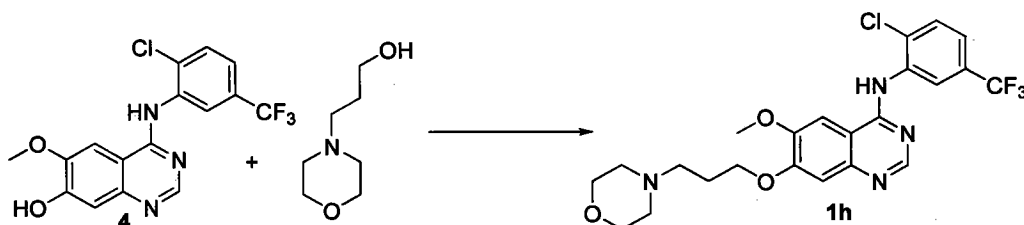
[0091] ¹H NMR(300MHz, CD₃OD) : δ 8.20 (s, 1H), 7.83-7.70 (m, 3H), 7.57-7.55 (m, 2H), 7.15 (s, 1H), 4.20 (t, J = 6Hz, 2H), 3.99 (s, 3H), 2.64-2.52 (m, 6H), 2.14-2.09 (m, 2H), 1.67-1.60 (m, 4H), 1.50-1.49 (m, 2H) .

[0092] ESI-MS(m/z) :461 (M+H)⁺

[0093] Anal. calc. for C₂₄H₂₇F₃N₄O₂ · 0.5H₂O :C, 61.40 ;H, 6.01 ;N, 11.93 ;found C, 61.07 ;H, 6.14 ;N, 11.91.

[0094] 实施例 8

[0095]



[0096] 4-(2'-氯-5'-三氟甲基苯胺基),6-甲氧基,7-羟基喹唑啉(19mg, 0.05mmol), PPh₃(39mg, 0.15mmol)置于25mL蛋形瓶中,抽换氮气三次,氮气保护下加入干燥CH₂Cl₂, 3-吗啉,1-丙醇(10mg, 0.07mmol),DEAD(26mg, 0.15mmol),室温下搅拌过夜。浓缩,残余物经柱层析分离纯化得到白色固体(7mg, 37%)。

[0097] M. p. 212-214°C .

[0098] IR(KBr) :3609, 3630, 2955, 1578, 1321, 1280, 1170, 1118, 922, 774, 668, 500cm⁻¹.

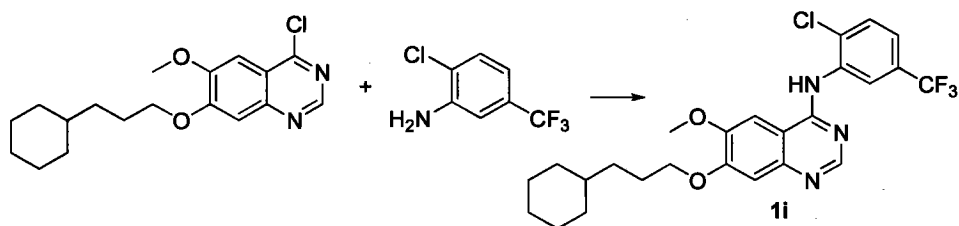
[0099] ¹H NMR(MeOD, 400MHz) : δ 8.34 (s, 1H), 8.00 (d, J = 11.2Hz, 1H), 7.87 (s, 1H), 7.71-7.69 (m, 2H), 7.16 (s, 1H), 4.23 (t, J = 8.4Hz, 2H), 3.74 (s, 3H), 3.74-3.69 (m, 6H), 2.65 (t, J = 9.6Hz, 2H), 2.57-2.52 (m, 6H), 1.774-1.725 (m, 2H) . EI-MS(m/z) :496.1 (M⁺) .

[0100] 碳谱 ¹³C NMR(MeOD/CDC1₃, 75MHz) : δ 164.9, 158.2, 153.9, 149.6, 147.8, 139.7, 132.5, 132.1, 131.3, 118.9, 112.8, 109.3, 74.8, 67.9, 59.8, 58.5, 56.0, 47.9.

[0101] 高分辨质谱HRMS(ESI)calcd for C₂₃H₂₄ClN₄O₃F₃ (M⁺) :496.1489 ;found :496.1489.

[0102] 实施例 9

[0103]



[0104] 在 4-氯,6-甲氧基,7-(3-环己烷代丙氧基)喹唑啉 (26mg,0.1mmol) 的异丙醇溶液 (2mL) 中,加入浓盐酸 (0.1mL) 和 2,氯-5,三氟甲基苯胺 (34mg,0.1mmol),回流 6 小时。浓缩, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (10 : 1) 和水萃取。有机相依次用水和饱和食盐水洗涤,无水 Na_2SO_4 干燥,过滤,浓缩,残余物经柱层析分离,得到白色固体 (40mg,71%)。

[0105] M. p. 134-136°C .

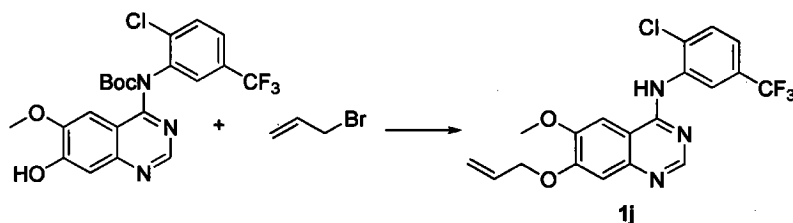
[0106] IR(KBr) :3429,2922,2852,1619,1528,1321,1278,1122,842,503 cm^{-1} .

[0107] ^1H NMR(CDCl_3 ,300MHz) : δ 8.61 (s,1H),7.45 (s,1H),7.22 (2H, d, J = 8.8Hz),7.16 (s,1H),6.83 (d, J = 8Hz,2H),4.51 (h, J = 6.0Hz,1H),4.37-4.28 (m,4H),4.48-4.20 (m,4H),4.00 (s,3H),3.82-3.74 (m,4H),3.32-3.23 (m,6H),1.84-1.50 (m,6H),1.27 (s,3H),1.26 (s,3H),1.80-0.96 (m,1H). EI-MS (m/z) :494.2 (M+H $^+$).

[0108] Anal. calc. for $\text{C}_{25}\text{H}_{27}\text{ClF}_3\text{N}_3\text{O}_2$:C,60.79 ;H,5.51 ;N,8.51 ;Found :C,60.70 ;H,5.58 ;N,8.41.

[0109] 实施例 10

[0110]



[0111] 4-(2'-氯-5'-三氟甲基,N-叔丁氧羰基苯胺基),6-甲氧基,7-羟基喹唑啉 (47mg,0.1mmol) 和烯丙基溴 (24mg,0.2mmol), K_2CO_3 (64mg,0.5mmol),丙酮 (10mL) 置于 25mL 蛋形瓶中,回流 5 小时,过滤,浓缩,残余物经柱层析分离,得到黄色固体 (22mg,52%)。

[0112] M. p. 122-124°C .

[0113] IR(KBr) :2929,1622,1522,1486,1322,1277,1122,1078,1044,882,823,706 cm^{-1} .

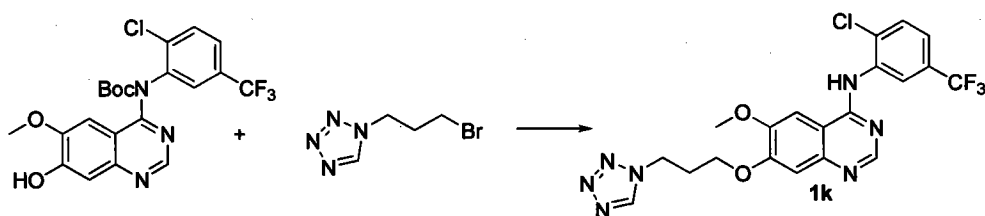
[0114] ^1H NMR (MeOD,400MHz) :8.24-8.12 (m,1H),7.80 (s,1H),7.65-7.61 (m,2H),7.58 (s,1H),5.38 (d, J = 10.0Hz,1H),6.02 (d, J = 6Hz,1H),3.97 (s,3H).

[0115] EI-MS (m/z) :432.0 (M+Na $^+$).

[0116] Anal. calc. for $\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{ClF}_3\text{N}_3\text{O}_2$:C,55.69 ;H,3.69 ;N,10.25 ;Found :C,55.27 ;H,4.05 ;N,9.83.

[0117] 实施例 11

[0118]



[0119] 4-(2'-氯-5'-三氟甲基, N-叔丁氧羰基苯胺基), 6-甲氧基, 7-羟基喹啉 (47mg, 0.1mmol) 和 3-四氮唑, 1-溴丙烷 (38mg, 0.2mmol), K_2CO_3 (64mg, 0.5mmol), 丙酮 (10mL) 置于 25mL 蛋形瓶中, 回流 5 小时, 过滤, 浓缩, 残余物经柱层析分离, 得到黄色固体 (23mg, 47%)。

[0120] M. p. 118-120°C.

[0121] IR(KBr) : 3420, 2929, 1623, 1522, 1433, 1415, 1322, 1278, 1127, 1080, 1051, 833, 706 cm^{-1} .

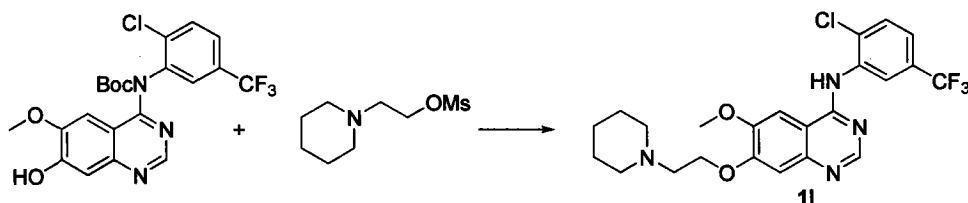
[0122] 1H NMR(MeOD, 400MHz) : δ 8.41 (s, 1H), 7.98 (s, 1H), 7.56 (s, 1H), 7.39 (s, 2H), 7.30 (s, 1H), 6.37 (s, 1H), 4.59-4.56 (m, 2H), 4.10 (t, J = 5.1Hz, 2H), 3.70 (s, 3H), 2.33 (dd, J = 5.1Hz, 2H).

[0123] ^{13}C NMR(MeOD, 75MHz) : δ 156.2, 154.0, 153.0, 149.0, 137.6, 131.2, 129.0, 126.801, 126.8, 125.4, 124.2, 124.2, 102.9, 101.6, 100.4, 55.1, 49.8, 27.2. EI-MS(m/z) : 452.9 (M^+).

[0124] HRMS(ESI) calcd for $C_{19}H_{20}Cl F N_7O_5 (M^+)$: 480.1171 ; found, 80.1193.

[0125] 实施例 12

[0126]



[0127] 4-(2'-氯-5'-三氟甲基, N-叔丁氧羰基苯胺基), 6-甲氧基, 7-羟基喹啉 (47mg, 0.1mmol) 和 2, 哌啶基甲磺酸乙酯 (41mg, 0.2mmol), K_2CO_3 (64mg, 0.5mmol), 丙酮 (10mL) 置于 25mL 蛋形瓶中, 回流 5 小时, 过滤, 浓缩, 残余物经柱层析分离, 得到黄色固体 (22mg, 46%)。

[0128] M. p. 148-150°C.

[0129] IR(KBr) : 2934, 2853, 1621, 1520, 415, 1321, 1169, 1122, 1079, 824, 705 cm^{-1} .

[0130] 1H NMR(MeOD, 400MHz) : δ 8.21 (s, 1H), 7.84 (s, 1H), 7.69 (s, 2H), 7.59 (s, 1H), 6.69 (s, 1H), 4.33 (t, J = 7.6Hz, 2H), 3.99 (s, 3H), 2.76 (t, J = 8.0Hz, 2H), 2.47-2.45 (m, 4H), 1.56-1.54 (m, 4H), 1.46-1.45 (m, 2H).

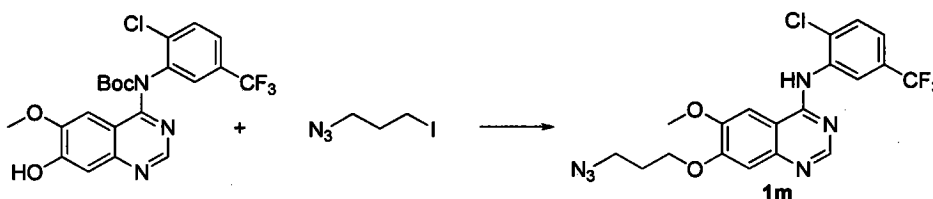
[0131] EI-MS(m/z) : 481.3 ($M+H^+$).

[0132] ^{13}C NMR(d_5 -Pyridine, 75MHz) : δ 157.0, 155.7, 152.3, 150.1, 136.2, 130.205, 129.0, 127.4, 126.3, 126.3, 126.0, 114.7, 110.5, 103.8, 58.6, 57.9, 56.8, 49.4, 28.2, 26.4.

[0133] HRMS(ESI)calcd for $C_{20}H_{25}ClFN_7O_4(M^+)$:481.1619 ;found,481.1635.

[0134] 实施例 13

[0135]



[0136] 4-(2'-氯-5'-三氟甲基, N-叔丁氧羰基苯胺基), 6-甲氧基, 7-羟基喹啉(47mg, 0.1mmol) 和 3-叠氮基, 1-碘丙烷(42mg, 0.2mmol), K_2CO_3 (64mg, 0.5mmol), 丙酮(10mL) 置于 25mL 蛋形瓶中, 回流 5 小时, 过滤, 浓缩, 残余物经柱层析分离, 得到黄色固体(17mg, 38%)。

[0137] M. p. 115-117°C .

[0138] IR(KBr) :2927, 2099, 1618, 1521, 1490, 1321, 1275, 1225, 1169, 1121, 1079, 824 cm^{-1} .

[0139] 1H NMR($CDCl_3$, 400MHz) :7.92(s, 1H), 7.81(s, 1H), 7.69(s, 1H), 7.55(d, J = 8.0Hz, 1H), 7.48(d, J = 8.0Hz, 1H), 6.59(s, 1H), 4.07(m, 2H), 3.73(s, 3H), 3.35(t, J = 6.0Hz, 2H), 1.99-1.97(m, 2H).

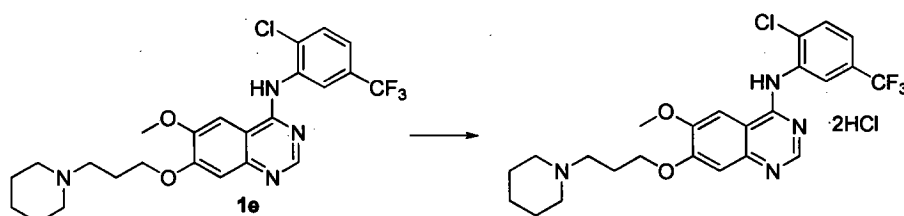
[0140] EI-MS(m/z) :452.9(M^+).

[0141] ^{13}C NMR($CDCl_3$, 75MHz) : δ 155.3, 152.6, 147.9, 136.5, 130.0, 125.2, 124.4, 121.6, 104.5, 103.8, 100.1, 55.9, 48.1, 47.8, 27.1.

[0142] HRMS(ESI)calcd for $C_{19}H_{20}ClF_3N_7O_5(M^+)$:453.1053 ;found :453.1048.

[0143] 实施例 14

[0144]



[0145] 将化合物 1e(100mg) 置于氯化氢的饱和乙酸乙酯溶液中(10ml), 在室温下搅拌 2 小时。将沉淀分离, 用乙酸乙酯洗涤并干燥。因此得到化合物 1e 的二盐酸盐(114mg)。

[0146] 1H NMR(MeOD, 400MHz) :8.68(s, 1H), 8.04(s, 1H), 7.97(s, 1H), 7.81-7.80(m, 2H), 7.33(s, 1H), 4.43(m, 2H), 4.09(s, 3H), 3.66(m, 2H), 3.39(m, 2H), 3.01(m, 2H), 2.43(2H, m), 1.98-1.87(m, 8H).

[0147] Anal. calc. for $C_{24}H_{26}ClF_3N_4O_2 \cdot 2HCl$:C, 50.76 ;H, 4.97 ;N, 9.87 ;Found :C, 50.38 ;H, 5.30 ;N, 9.74.

[0148] 实施例 15

[0149] 1、对 Iressa 不敏感的肺癌细胞 NCI-1975 和 A549, 调整细胞悬液浓度至 5×10^4 cells/ml, 96 孔板每孔加入 100ul, 铺板使待测细胞数至 5000 个 / 孔, 边缘孔用无菌 PBS 填充 ;

[0150] 2、5% CO₂, 37°C 孵育, 至细胞贴壁后 (6 小时或过夜), 加入浓度梯度的药物, 设 6 个浓度梯度, 每孔追加 10 μ l, 10 倍稀释药物至所设浓度, 设 3 个复孔;

[0151] 3、5% CO₂, 37°C 孵育 24 或 48 小时, 倒置显微镜下观察;

[0152] 4、每孔加入 10 μ l MTT (1 : 10 稀释) 溶液, 继续培养 4h;

[0153] 5、终止培养, 小心吸去孔内培养液;

[0154] 6、每孔加入 150 μ l 二甲基亚砜 (DMSO), 振荡 2min, 使结晶物充分溶解。在酶联免疫检测仪 OD490nm 处测量各孔的吸光值;

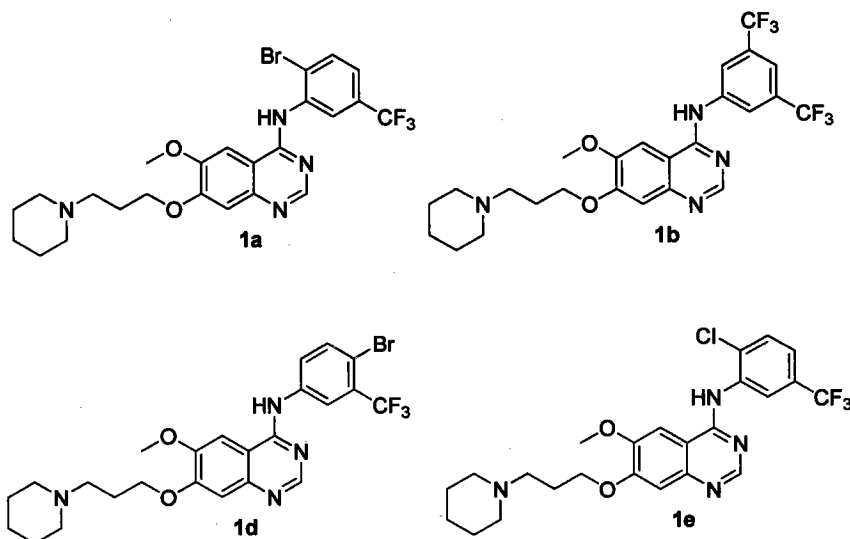
[0155] 7、同时设置单加培养基, 不加细胞的空白对照;

[0156] 8、计算抑制率及半数抑制浓度。

[0157] 注: 实验中使用 Iressa 和阿霉素 (Adriamycin) 作为阳性对照, 实施例 15 实验结果如附图 1 和 2。

[0158] 图 1 显示本发明的部分喹唑啉衍生物的抗癌活性的结果, 其中横坐标为喹唑啉衍生物标号, 喹唑啉衍生物 1a、1b、1c 和 1d 分别对应于实施例 1、2、4 和 5, 纵坐标为喹唑啉衍生物作用于对 Iressa 不敏感的肺癌细胞 NCI-H1975 时的 IC₅₀ (μ M) (半数抑制浓度) 值。喹唑啉衍生物 1a、1b、1c 和 1d 具有如下的结构式:

[0159]



[0160] 图 2 显示本发明的喹唑啉衍生物 1a 和 Iressa 分别在对 Iressa 不敏感的肺癌细胞 NCI-H1975 和 A549 中对其进行了 24 小时和 48 小时的浓度 - 抑制率相关曲线测定 (图 2a 和图 2b)

[0161] 其中, 图 2a 和图 2b 中横坐标分别为 Iressa 和喹唑啉衍生物 1a 的不同浓度 (1-5 μ M) 和不同作用时间 {24 小时和 48 小时 (24 hours and 48 hours)}, 纵坐标为 Iressa 和化合物 1a 分别作用于对 Iressa 不敏感的肺癌细胞 NCI-H1975 和 A549 时的抑制率 (% Inhibition Rate)。

[0162] 实验结果显示, 本发明中的部分喹唑啉衍生物对 Iressa 不敏感的细胞 NCI-H1975 和 A549 显示了良好的抑制作用。

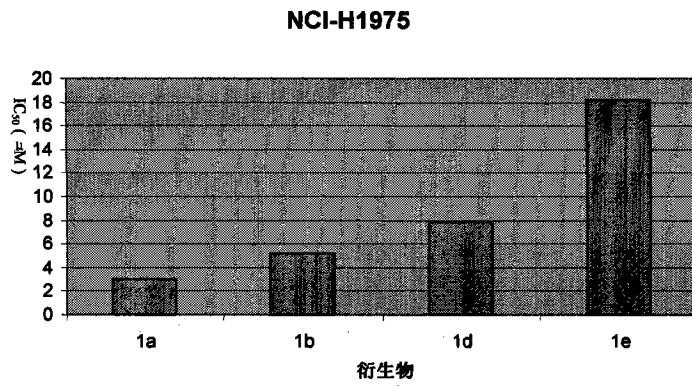


图 1

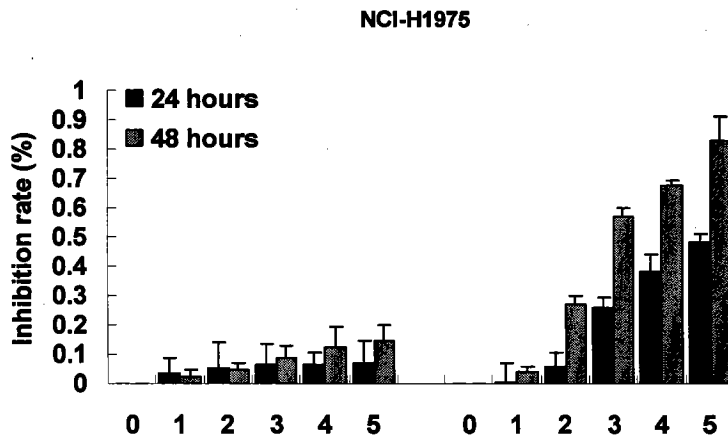


图 2a

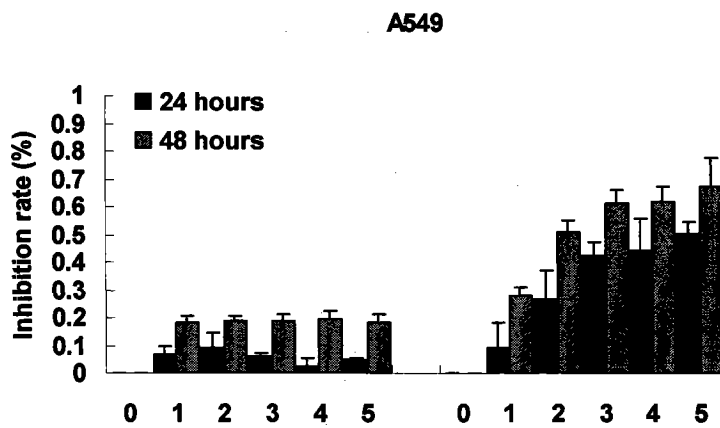


图 2b