

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.



[12] 发明专利申请公开说明书

A61K 31/496 (2006.01)  
A61K 31/4709 (2006.01)  
A61K 31/4706 (2006.01)  
A61P 9/10 (2006.01)

[21] 申请号 200480004674.3

[43] 公开日 2006年3月22日

[11] 公开号 CN 1750824A

[22] 申请日 2004.2.19

[21] 申请号 200480004674.3

[30] 优先权

[32] 2003.2.21 [33] US [31] 60/449,316

[86] 国际申请 PCT/US2004/004904 2004.2.19

[87] 国际公布 WO2004/075898 英 2004.9.10

[85] 进入国家阶段日期 2005.8.19

[71] 申请人 惠氏公司

地址 美国新泽西州

[72] 发明人 D·H·博谢利 M·M·扎莱斯卡

F·C·博谢利 K·T·阿恩特

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 关立新 李连涛

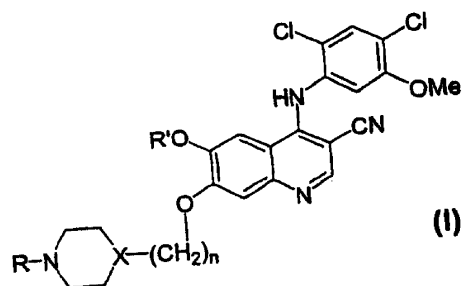
权利要求书 6 页 说明书 27 页

[54] 发明名称

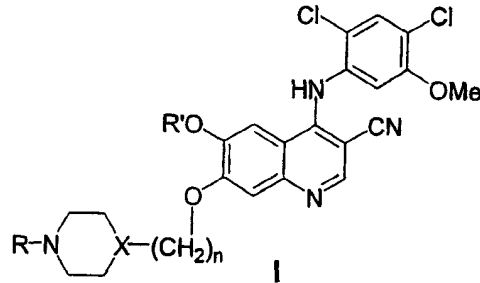
用于治疗局部缺血性损伤的 4 - [(2,4 - 二氯 - 5 - 甲氧苯基)氨基] - 6 - 烷氧基 - 3 - 氰基喹琳类

[57] 摘要

式(I)的化合物及其药学上可接受的盐能有效的用于抑制由疾病、损伤或其它创伤引起的血管渗透,其中,X为N、CH;n为选自1-3的整数;和R'和R独立地为具有1至3个碳原子的烷基,需满足的条件是当n为1时,X不为N。



1. 一种提供患者脑血管局部缺血性疾病发作后神经保护的方法，包括提供一种治疗有效量的式 I 化合物及其药学上可接受的盐，



5

其中：

X 为 N, CH

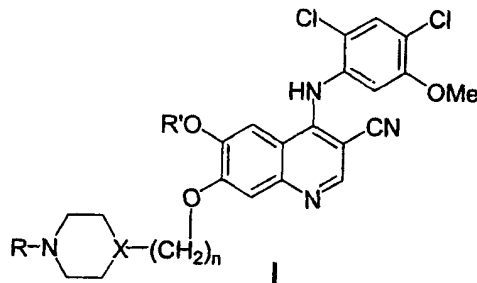
n 为选自 1-3 的整数；和

R' 和 R 独立地为具有 1 至 3 个碳原子的烷基，

10

需满足的条件是当 n 为 1 时，X 不为 N。

2. 一种抑制患者脑血管局部缺血性疾病发作后神经缺陷的方法，包括提供一种治疗有效量的式 I 化合物及其药学上可接受的盐，



15 其中：

X 为 N, CH

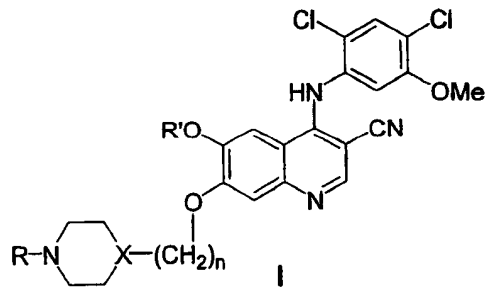
n 为选自 1-3 的整数；和

R' 和 R 独立地为具有 1 至 3 个碳原子的烷基，

需满足的条件是当 n 为 1 时，X 不为 N。

20

3. 一种减少患者脑血管局部缺血性疾病发作后梗塞面积的方法，包括提供一种治疗有效量的式 I 化合物及其药学上可接受的盐，



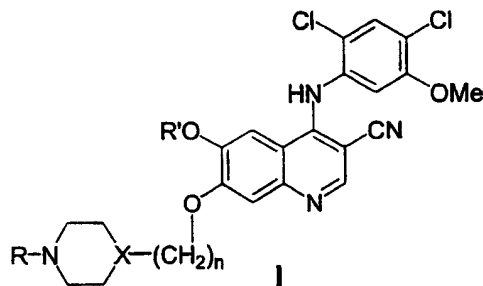
其中：

X 为 N, CH

5 n 为选自 1-3 的整数；和

R' 和 R 独立地为具有 1 至 3 个碳原子的烷基，  
需满足的条件是当 n 为 1 时，X 不为 N。

4. 一种抑制遭受脑血管疾病发作痛苦的患者脑血管局部缺血后血管渗透的方法，包括给药一种治疗有效量的式 I 化合物及其药学上可  
10 接受的盐，



其中：

X 为 N, CH

15 n 为选自 1-3 的整数；和

R' 和 R 独立地为具有 1 至 3 个碳原子的烷基，  
需满足的条件是当 n 为 1 时，X 不为 N。

5. 权利要求 1 至 4 中任一项的方法，其中 R' 为甲基。

6. 权利要求 1 至 5 中任一项的权利要求，其中 R 为甲基或乙基。

20 7. 权利要求 1 至 6 中任一项的权利要求，其中 X 为 N。

8. 权利要求 1 至 6 中任一项的权利要求，其中 X 为 CH。

9. 权利要求 1 至 4 中任一项的方法，其中化合物为

4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-6-甲氧基-7-[3-(4-甲基-1-哌嗪基)-丙氧基]-3-氟基喹琳;

5 4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-7-[3-(4-乙基-1-哌嗪基)丙氧基]-6-甲氧基-3-氟基喹琳;

4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-6-甲氧基-7-[2-(4-甲基-1-哌嗪基)-乙氧基]-3-氟基喹琳;

4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-7-[2-(4-乙基-1-哌嗪基)乙氧基]-6-甲氧基-3-氟基喹琳;

10 4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-6-甲氧基-7-[(1-甲基哌啶-4-基)-甲氧基]-3-氟基喹琳;

4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-6-甲氧基-7-[2-(1-甲基哌啶-4-基)-乙氧基]-3-氟基喹琳;

15 4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-6-甲氧基-7-[3-(1-甲基哌啶-4-基)-丙氧基]喹琳-3-腈;

4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-7-[(1-乙基哌啶-4-基)甲氧基]-6-甲氧基喹琳-3-腈;

4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-6-乙氧基-7-[3-(4-甲基哌嗪-1-基)-丙氧基]喹琳-3-腈;

20 4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-6-乙氧基-7-[(1-甲基哌啶-4-基)-甲氧基]喹琳-3-腈;

4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-6-乙氧基-7-[3-(4-乙基哌嗪-1-基)-丙氧基]喹琳-3-腈;

25 4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-6-乙氧基-7-[3-(1-甲基哌啶-4-基)-丙氧基]喹琳-3-腈;

4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-6-乙氧基-7-[2-(4-甲基-1-哌嗪基)-乙氧基]喹琳-3-腈;

4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-6-乙氧基-7-[2-(1-甲基哌啶-4-基)-乙氧基]喹琳-3-腈; 或

30 4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-6-甲氧基-7-[3-(4-丙基-1-哌嗪基)-丙氧基]-3-氟基喹琳;

以及药学上可接受的盐。

10. 权利要求 1 至 9 任一项的方法，其中在局部缺血发作之后大约 6 小时至大约 24 小时之间给药。

11. 权利要求 1 至 10 任一项的方法，其中有效治疗量为大约 1 mg/kg 至大约 30 mg/kg。

5 12. 权利要求 1 至 11 任一项的方法，包括静脉给药式 I 化合物。

13. 权利要求 1 至 12 任一项的方法，其中患者为人类。

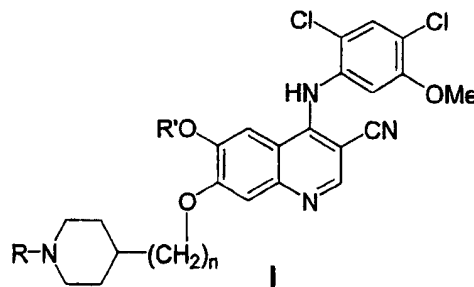
14. 权利要求 1 至 13 任一项的方法，其中局部缺血发作是暂时的。

15. 权利要求 1 至 13 任一项的方法，其中局部缺血发作是急性的。

16. 权利要求 1 至 15 任一项的方法，其中局部缺血性疾病是中风、  
10 头部创伤、脊椎创伤、普通缺氧或低氧。

17. 权利要求 1 至 15 任一项的方法，其中局部缺血性疾病发生在颅内出血、围产期窒息、心动停止或癫痫持续状态期间。

18. 一种具有如下结构的化合物及其药学上可接受的盐：



15

其中：

X 为 N, CH

n 为选自 1-3 的整数；和

R' 和 R 独立地为具有 1 至 3 个碳原子的烷基，

20 19. 权利要求 18 的化合物，其中 R' 为甲基。

20. 权利要求 18 或 19 的化合物，其中 R 为甲基或乙基。

21. 如下化合物及其药学上可接受的盐：

4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-6-甲氧基-7-(1-甲基哌啶-4-基)-甲氧基]-3-氰基喹啉；

25 4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-6-甲氧基-7-[2-(1-甲基哌啶-4-基)-乙氧基]-3-氰基喹啉；

4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-6-甲氧基-7-[3-(1-甲基哌啶

-4-基)-丙氧基]喹啉-3-腈;

4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-7-[(1-乙基哌啶-4-y1)甲氧基]-6-甲氧基喹啉-3-腈;

5 4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-6-乙氧基-7-[(1-甲基哌啶-4-基)-甲氧基]喹啉-3-腈;

4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-6-乙氧基-7-[3-(1-甲基哌啶-4-基)-丙氧基]喹啉-3-腈; 或

4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-6-乙氧基-7-[2-(1-甲基哌啶-4-基)-乙氧基]喹啉-3-腈。

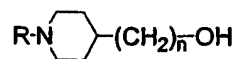
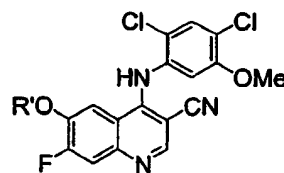
10 22. 一种药物组合物, 包括权利要求 18 至 21 中任一项定义的化合物和药学上可接受的载体或赋形剂。

23. 一种药物组合物, 包括如权利要求 1 至 9 中任一项定义的血管渗透抑制量的化合物和药学上可接受的载体或赋形剂。

24. 权利要求 21 中的组合物为经静脉剂型。

15 25. 权利要求 18 至 21 中任一项要求的化合物的制备方法, 包括如下步骤之一:

(a) 下式的喹啉与下式的醇反应:

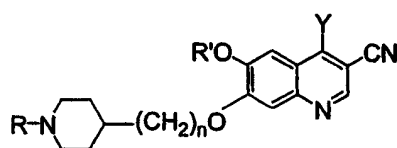


20

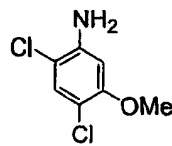
其中 R' 如权利要求 18 所定义,

其中 R 和 n 如权利要求 18 所定义,

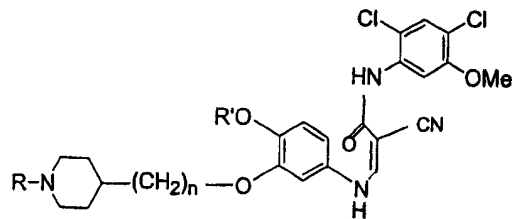
或 (b) 下式的喹啉与下式的苯胺反应:



25



其中 R , R' 如权利要求 18 所定义和 Y 是卤素,  
或 (c) 将下式化合物环化成所需的喹啉



5

其中 R, R' 和 n 如权利要求 18 所定义。

26. 权利要求 1 至 9 任一项的化合物在制备用于提供患者脑血管局部缺血性疾病发作后神经保护的药物、抑制患者脑血管局部缺血性疾病发作后神经缺陷的药物、减少患者脑血管局部缺血性疾病发作之后梗塞面积的药物或抑制遭受脑血管疾病发作痛苦的患者脑血管局部缺血后血管渗透的药物中的应用。

10

## 用于治疗局部缺血性损伤的

## 4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-6-烷氧基-3-氰基喹啉类

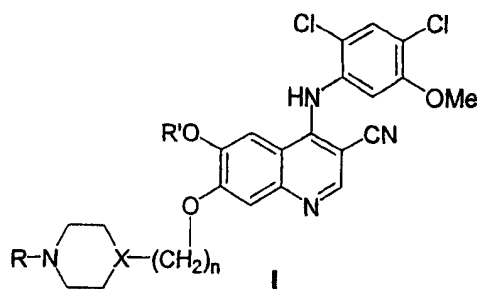
## 5 发明背景

在美国，中风是导致死亡的第三大原因以及导致残疾的主要原因，每年大约有 750,000 人发生中风。这个数字中大约有 80% 为局部缺血性中风，并且大约 15-20% 最主要是大脑出血性中风。直至今日，被认可有效治疗急性局部缺血性脑梗塞的只有通过静脉注射 t-PA，即重组组织型纤维蛋白酶原激活剂的血栓溶解疗法。该疗法的有效性非常有限。它必须在症状出现后的三小时窗口期内给药，然而大部分患者实际上都在耽搁后才寻求和/或得到治疗。另外，t-PA 治疗增加了引发脑内出血，即一种潜在的破坏性并发症的风险。在用 t-PA 治疗前必须排除出血的存在性，治疗期间和治疗后必须仔细维持和监视血压。

15 现在，没有一种神经保护性疗法能有利的用于治疗局部缺血性中风、出血性中风或脑外伤。因此，非常需要治疗中风以及与血管渗透相关的其它疾病的新方法。

## 发明描述

20 根据本发明提供了具有式 (I) 结构的化合物及其药学上可接受的盐，



其中：

25 X 为 N、CH；  
n 为选自 1-3 的整数；和

R' 和 R 独立地为具有 1 至 3 个碳原子的烷基，  
需满足的条件是当 n 为 1 时，X 不为 N。

具有 1 至 3 个碳原子的烷基实例包括甲基、乙基、正丙基和异丙基。

5 在本发明的一些优选实施例中，R' 是甲基。

在本发明的其它优选实施例中，R 是甲基或乙基。

在本发明另外的其它优选实施例中，n 是 2 或 3。

在本发明的一些优选实施例中 X 优选为 N。

在另外的其它优选实施例中 X 为 CH。

10 药学上可接受的盐是衍生自所述有机和无机酸的那些盐：乙酸、乳酸、羧酸、柠檬酸、肉桂酸、酒石酸、琥珀酸、反丁烯二酸、马来酸、丙二酸、扁桃酸、苹果酸、草酸、丙酸、盐酸、氢溴酸、磷酸、硝酸、硫酸、羟乙酸、丙酮酸、甲磺酸、乙磺酸、甲苯磺酸、水杨酸、苯甲酸和类似的已知可接受酸。

15 本发明的具体化合物包括：

4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-6-甲氧基-7-[3-(4-甲基-1-哌嗪基)-丙氧基]-3-氟基喹琳；

4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-7-[3-(4-乙基-1-哌嗪基)丙氧基]-6-甲氧基-3-氟基喹琳；

20 4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-6-甲氧基-7-[2-(4-甲基-1-哌嗪基)-乙氧基]-3-氟基喹琳；

4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-7-[2-(4-乙基-1-哌嗪基)乙氧基]-6-甲氧基-3-氟基喹琳；

25 4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-6-甲氧基-7-[(1-甲基哌啶-4-基)-甲氧基]-3-氟基喹琳；

4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-6-甲氧基-7-[2-(1-甲基哌啶-4-基)-乙氧基]-3-氟基喹琳；

4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-6-甲氧基-7-[3-(1-甲基哌啶-4-基)-丙氧基]-喹琳-3-腈；

30 4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-7-[(1-乙基哌啶-4-基)甲氧基]-6-甲氧基喹琳-3-腈；

4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-6-乙氧基-7-[3-(4-甲基哌嗪

-1-基)-丙氧基]喹啉-3-腈;

4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-6-乙氧基-7-[(1-甲基哌啶-4-基)-甲氧基]喹啉-3-腈;

5 4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-6-乙氧基-7-[3-(4-乙基哌嗪-1-基)-丙氧基]喹啉-3-腈;

4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-6-乙氧基-7-[3-(1-甲基哌啶-4-基)-丙氧基]喹啉-3-腈;

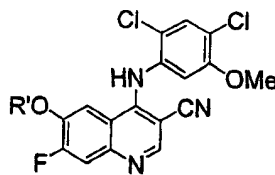
4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-6-乙氧基-7-[2-(4-甲基-1-哌嗪基)-乙氧基]喹啉-3-腈;

10 4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-6-乙氧基-7-[2-(1-甲基哌啶-4-基)-乙氧基]喹啉-3-腈; 和

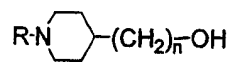
4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-6-甲氧基-7-[3-(4-丙基-1-哌嗪基)-丙氧基]-3-氰基喹啉类; 及其药学上可接受的盐。

15 还提供了式 I 化合物的制备方法, 其中 X 为 CH 和所有其它基团如上定义, 该方法包括:

(a) 任选在碱如氢氧化钠或钠存在时, 将下式的喹啉与下式的醇反应



20

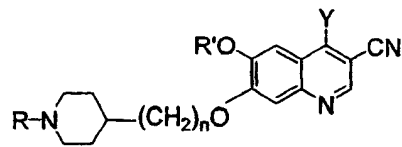


其中 R' 如本文中所定义的

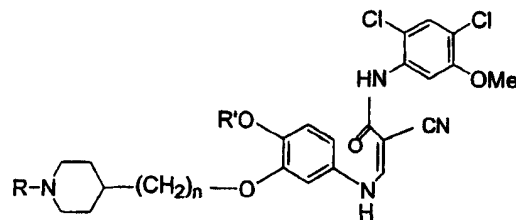
其中 R 和 n 如上所定义的,

或 (b) 任选在适宜的碱如氢氧化钠或盐酸吡啶存在时, 将下式的喹啉与下式的苯胺反应

25



- 其中 R, R' 和 n 如上所定义的, 和 Y 是氯或溴,
- 5 或 (c) 将下式的化合物环化成所需的喹啉, 优选在脱水情况下, 如在乙腈、丁腈、甲苯或二甲苯中, 以醇或胺碱类作为催化剂, 在适宜的温度如 80-110℃ 下使用三氯氧磷进行, 正如 US 06/496,191 中所述。



- 10 本发明化合物如下图所示制备。本发明化合物制得自: (a) 商业可得原料 (b) 能以文献中所述方法制得的已知原料或 (c) 本文流程和实验过程中所述的新中间体。

- 反应在适于所用试剂和材料以及适于有效转化的溶剂中进行。有机合成领域的技术人员可知, 存在于分子上的各种官能团必须与计划进行的化学转化相符。当没有特别指定时, 合成步骤的顺序、保护基团的选择和脱保护条件对于本领域技术人员是显而易见的。另外, 在一些例子中, 原料上的取代基可能与某些反应条件不相容。对所给取代基作适当的限制对于本领域技术人员是显而易见的。反应在适宜的情性气氛下进行。

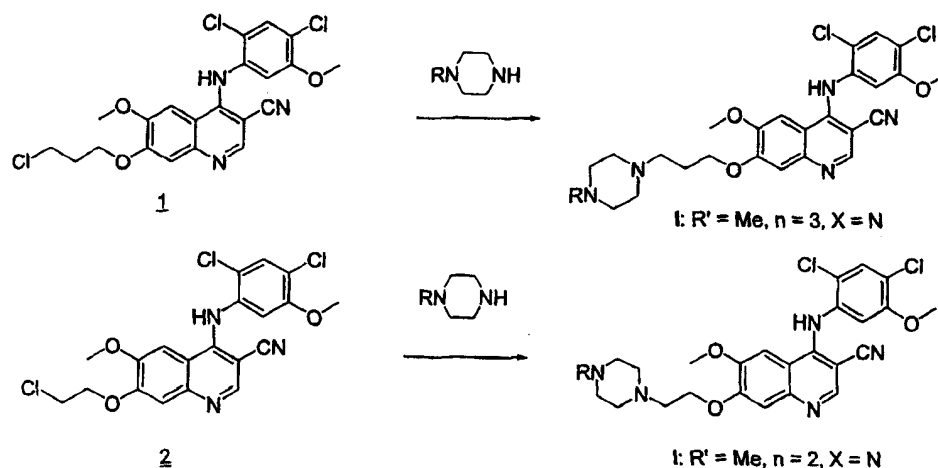
- 20 式 I 化合物如流程 1 所述制备。在碘化钠存在时, 直接或在溶剂如乙二醇二甲醚中, 通过处理 7-(3-氯丙氧基)-4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-6-甲氧基-3-氰基喹啉, 1, 与 N-烷基哌嗪如 N-甲基哌嗪、

N-乙基哌嗪或 N-丙基哌嗪易于制得式 I 化合物，其中 R' 是 Me，X 是 N 和 n 是 3。这些化合物的制备在文献 [Boschelli, D.H., 等人的 J. Med. Chem., 44, 3965 (2001)] 中已有报道。

在碘化钠存在时，直接或在溶剂如乙二醇二甲醚中，通过处理 7-(2-氯乙氧基)-4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)-氨基]-6-甲氧基-3-氰基喹啉，2，与 N-甲基或 N-乙基哌嗪易于制得式 I 的类似化合物，其中 R' 是 Me，X 是 N 和 n 是 2。这些化合物的制备在文献 [Ye, F., 等人的 221th National Meeting of the American Chemical Society, San Diego, California (April, 2001)] 中已有报道。

10

## 流程 1

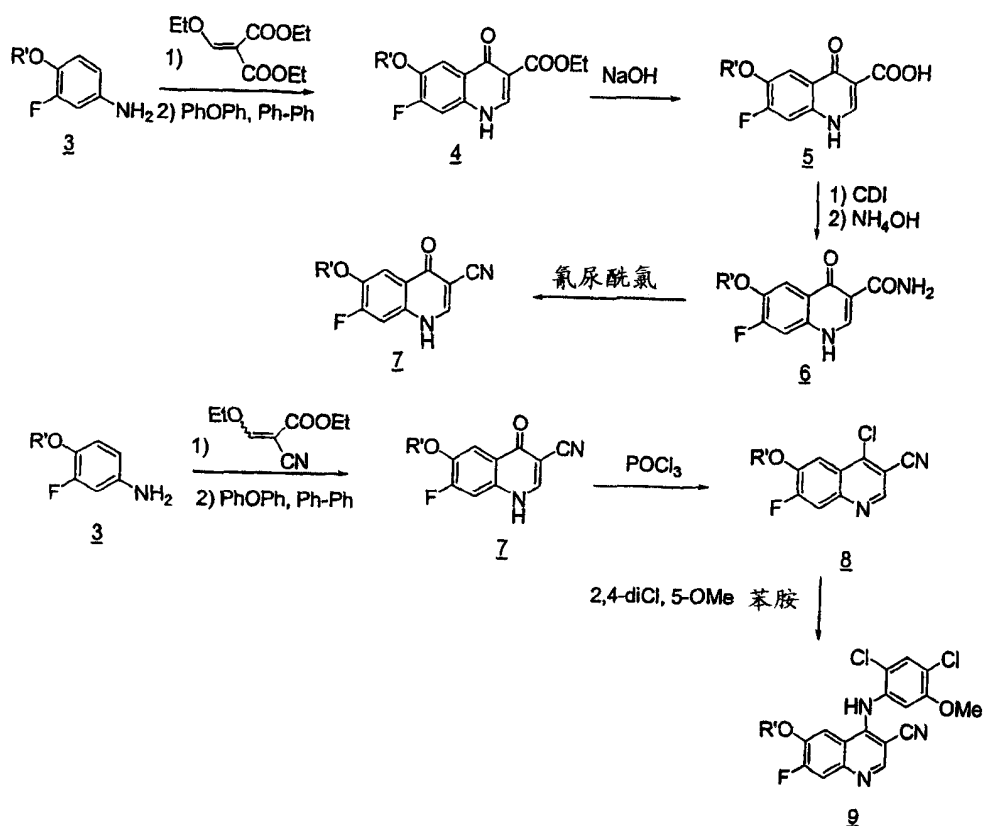


或者式 I 化合物能经由 7-氯-3-氰基喹啉中间体制得。该关键中间体的制备列于流程 2 中。能在温度 60 至 120℃，直接或在溶剂如甲苯的存在下，式 3 的苯胺类能与二乙基(乙氧基亚甲基)-丙二酸盐反应。随后优选在溶剂系统如二苯醚和联苯 3:1 的混合物中，在温度升至 260℃ 时，加热环化得到式 4 化合物。优选在碱性条件，如氢氧化钠在含醇溶剂如乙醇中水解酯基，并加热得到式 5 化合物。在通入氨气或优选加入氨水溶液后，用活化剂如 1,1-羧二咪唑处理完成酸基到伯酰胺的转化。用试剂如氰尿酸氯在溶剂如 N,N-二甲基甲酰胺中，对式 6 化合物的伯酰胺基进行脱水得到式 7 化合物。或者，在温度 60 至 120℃，直接或在溶剂如甲苯中，用乙基(乙氧基亚甲基)氰基乙酸酯处理式 3

的苯胺类。随后优选在溶剂系统如二苯醚和联苯 3: 1 的混合物中, 在温度升至 260℃ 时, 加热环化得到式 7 化合物。将 7 用氯化剂如三氯氧磷反应得到式 8 化合物。在盐酸吡啶的存在下, 用 2, 4-二氯-5-甲氧基苯胺处理式 8 化合物, 得到关键的 7-氟中间体 9。

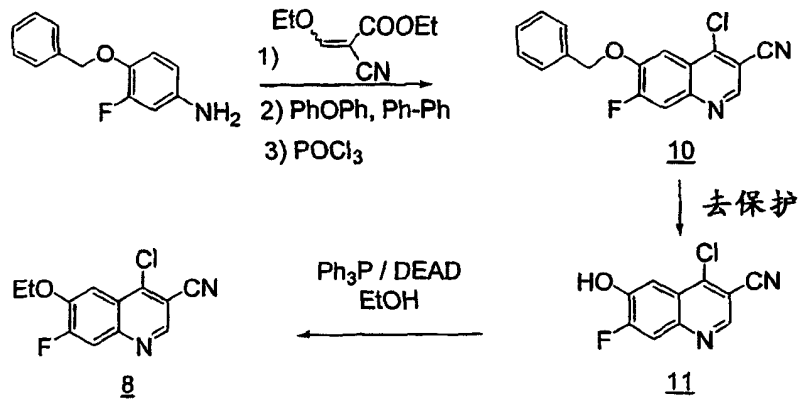
5

## 流程 2



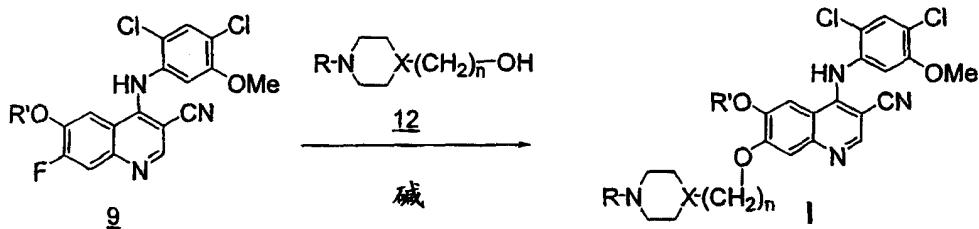
10 流程 3 中图示了另一条得到式 8 化合物的途径, 其中 R' 是 Et。使用流程 2 中的条件, 将 4-苄氧基-3-对氟苯胺转化为式 10 化合物。用苯甲硫醚和三氟乙酸除去苄基得到式 11 的 6-羟基衍生物。用三苯膦、二乙基偶氮二羧酸酯和乙醇处理 11 得到式 8 化合物, 其中 R' 是乙基。

## 流程 3



如流程 4 中所示，在碱如钠或氢化钠存在下，将式 9 化合物与式 12 的醇反应得到本发明的式 I 化合物。该反应可以在溶剂如二甲基甲酰胺甲酰胺或二甲亚砜中，在最佳温度 120℃ 至 140℃ 下进行。

## 流程 4



10

本发明的化合物经一些标准的药理学实验评估表明，本发明化合物能抑制 Src 激酶并能有效的预防血管渗透。

## Src 激酶试验

15 用 ELISA 法测定 Src (部分纯化的酶制剂购自 Upstate Biotechnologies, Lake Placid, NY) 酪氨酸激酶活性的抑制。具有含 Tyr15 的 cdc2 底物肽的 Boehringer Mannheim 酪氨酸激酶试验试剂盒 (Roche Diagnostics, Basel, Switzerland) 能有效的用于试验。辣根过氧化物酶 (HRP) 结合的磷酸酪氨酸抗体经由显色反应能有效

的用于检测磷酸肽。

反应条件：将测定当时新鲜制得的各种化合物 5 $\mu$ l，作为在 10mM HEPES pH 7.5, 10% DMSO 中的溶液加入反应孔中。将 35 $\mu$ l 含 Src、缓冲液和肽/牛血清白蛋白混合物的反应混合物加入反应孔中，在 30  
5  $^{\circ}$ C 孵化 10 分钟(反应缓冲液: 50mM TrisHCl pH 7.5, 10mM MgCl<sub>2</sub>, 0.1mM EGTA, 0.5mM Na<sub>3</sub>V0<sub>4</sub>)。加入 10  $\mu$ l ATP (500 $\mu$ M)使反应开始，在 30  $^{\circ}$ C 孵化 1 小时，加入 20  $\mu$ l 0.5M EDTA 使反应停止。将具有磷酸肽的反应混合物随后移至涂有抗生蛋白链菌素的微孔板上，并使其结合 20 分钟。将未结合的肽和反应混合物离心，并用 PBS 将板洗涤六次。将  
10 试剂盒中所提供的 HRP 结合的磷酸酪氨酸抗体与板孵化 1 小时，随后离心。用 PBS 将板洗涤六次。加入底物并测定 405 nm 时的吸光度。

或者，使用基本上如所述的除 Delfia 法(Perkin-Elmer)之外的进行试验，用铈结合的磷酸酪氨酸抗体代替 HRP-结合的磷酸酪氨酸抗体，用 Pierce Super block 代替牛血清白蛋白，并在激酶反应和抗体结合后洗涤 6 次。使用铈荧光检测反应程度。  
15

经测定的活性以%抑制表示，其通过下式计算： $(1 - \text{Abs} / \text{Abs}(\text{max})) \times 100 = \% \text{抑制}$ 。使用多种浓度的试剂，能测定 IC<sub>50</sub> (给出 50%抑制的浓度)。如表 1 中所示，本发明化合物体外抑制了 src 激酶。

## 20 不依赖贴壁的 Src-转化的成纤维细胞增殖试验

以一种含有一个 CMV 启动子控制的 v-Src /Hu c-Src 融合基因(其中人 c-Src 的催化区插入如下 v-Src 基因中 v-Src 催化区的位置)的质粒稳定转化的 Rat2 成纤维细胞:

## 25 克隆和质粒构建

来自 pSrcHis (Wendler 和 Boschelli, Oncogene 4: 231-236; 1989)的 Prague C v-Src 基因用 NcoI 和 BamHI 切除，用 T4 DNA 聚合酶处理，并克隆至已经通过用 T4 DNA 聚合酶冲洗处理的 pTRE(Clontech)的 R1 位。用含 v-Src::huc-Src 融合片断(如下)的  
30 BglII-XbaI 片断代替编码 v-Src 的羧基末端-250 氨基酸的 BglII-XbaI 片断，来创建 PrC v-Src::hu c-Src 融合。人 c-Src 的部分克隆通过使用寡核苷酸对 5'-CGCCTGGCCAACGTCTGCCCCACGTCCAAGCCGCAGACTC

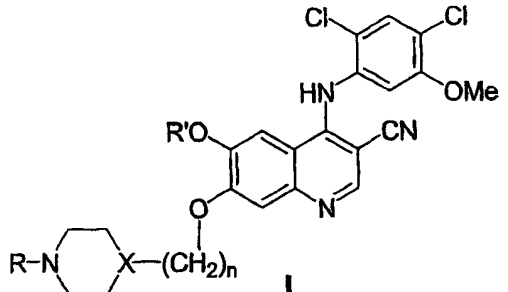
AGGGCCTG-3' (SEQ ID NO: 1) 和 5'-CCAACACACAAGCAGGGAGCAGCTGGG  
CCTGCAGGTACTCGAAGGTGGGC-3' (SEQ ID NO: 2) 从胸互补 DNA 文库中  
扩增, 并被克隆至 pCRScript (Stratagene) 中。用这些寡核苷酸(多  
核细胞启动子 v-src 核苷酸 734 至人 c-Src 核苷酸 742 和人 c-Src 核  
5 苷酸 1551 至 v-Src 和人 c-Src ORFs 中的 v-src 核苷酸 1543) 扩增克  
隆中人 c-Src 的催化区。通过 PCR (198 碱基对 v-src 5' 片断: 5'-  
GTGCCTATTGCCTCTCCGTTTCTGAC-3' (SEQ ID NO: 3) (引发剂 1) 至  
5'-ACGTGGGGCAGACGTTGGCCAGGCG-3') (SEQ ID NO: 4) (252 碱基对  
3' v-src 片断, 5'-CAGCTGCTCCCTGCTTGTGTGTTGG-3' (SEQ ID NO: 5)  
10 (v-src ORF 中的残基 1543-1567) 至 5'-ATGAATTCTCTAGAGGAAGACC  
CCATCATATTCCAAGCAG-3' (SEQ ID NO: 6) 来自 v-src ATG 的残基  
1769-1794 插入 Xba1 和 EcoR1 限制位点(引发剂 4) ) 扩增两个 v-Src  
序列。使用引发剂 1 和 4 来产生三-片断 PCR 扩增, 和 v-Src::人 c-  
Src 融合片段的融合, 和扩增自 Prague C v-Src 基因的 5' 和 3' 片断,  
15 和来自 Rous sarcoma 病毒的 3' 非翻译区。该反应产生了结构内 v-  
Src::人 c-Src 的基因融合(v-Src 的氨基酸残基 V244 至氨基末端上的  
人 c-Src 的 C 248 和人 c-Src 的 A517 至 v-Src 的 Q515)。该基因融  
合片断编码 v-Src SH2 区的羧基末端三分之一和通过 v-Src 羧基末端  
尾部侧插入被融合至人 c-Src 催化区的 SH2-催化区联结子。从天然存  
20 在的临近融合片断 5' 端的 Bgl2 位点和经设计片断的 3' 端上的 Xba1  
位点来切除片断, 用以创建如上所述的全长 v-Src::人-Src 融合基  
因。通过测定 DNA 序列来确认构建体整体。使用类似的方法克隆基因  
至其它表达质粒如 pIRES (Clontech) 中, 以在研究中使用。

使用这些经转化的 Rat2 成纤维细胞测量 src 依赖性悬浮生长。

25 第一天, 超低聚簇板(Corning Costar, Acton, MA) 接种 10,000  
细胞/孔。或者, 将超低聚簇板(Costar 3474) 用 Sigmacote(Sigma,  
St. Louis, MO) 处理, 用 70% 乙醇冲洗, 在罩中干燥后接种 5000 细胞。  
第二天, 连续加入化合物从 10 mmol 两倍稀释至 0.009mmol, 第五天  
加入 MTS 试剂(Promega, Madison, WI), (100  $\mu$ l MTS/培养基混合物 +  
30 100  $\mu$ l 培养基已在细胞上), 并测定 490nm 的吸光度。结果分析如下,  
得到对于增殖(mmol 单位)的  $IC_{50}$  如下: % 抑制 = (吸光度 490 nm 样  
品-空白) / (吸光度 490 nm 无化合物对照组-空白) X 100%。如表 1

中所示，本发明化合物抑制了 src 依赖性细胞增殖。

表 1. 酶活性和细胞活性的抑制



实施例	X	R	n	R'	Src 酶 IC <sub>50</sub> nM	Src 细胞 IC <sub>50</sub> nM
1	N	Me	3	Me	1.2	100
2	N	Et	3	Me	0.77	130
3	N	Me	2	Me	4.0	380
4	N	Et	2	Me	3.6	600
5	CH	Me	1	Me	2.0	320
6	CH	Me	2	Me	1.9	210
7	CH	Me	3	Me	1.4	100
8	CH	Et	1	Me	2.1	170
9	N	Me	3	Et	NT	86
10	CH	Me	1	Et	2.1	176
11	N	Et	3	Et	0.85	160
12	CH	Me	3	Et	1.4	96
13	N	Me	2	Et	1.5	146
14	CH	Me	2	Et	1.9	267
15	N	n-Pr	3	Me	1.1	160

5

在病灶局部缺血的暂时性模型中腹膜内注射给药实施例 1 提供了神经保护

在暂时性病灶局部缺血的鼠模型中测试实施例 1。Wistar 鼠在再灌注 48 小时后，用如 Longa 等人的 Stroke 1989, 20: 84 中所记载的管腔内缝合法进行 90 分钟的大脑中动脉 (MCA) 阻塞。在局部缺血开始  
10 发作之后的 85 分钟，对动物给药实施例 1 的化合物 (1.5, 5, 15 或 45

mg/kg ip)。随后再灌注，在 48 小时过后评估动物的神经系统缺陷和体重减轻/增加。在 MCA 阻塞后 48 小时处死，之后测量梗塞面积。5 和 45 mg/kg 剂量的实施例 1 显著改善了中风引起的神经缺陷的康复。在实施例 1 的最高剂量时发现脑组织中梗塞面积的减少，但是仅在 45 mg/kg ip 剂量时具有统计学意义。用实施例 1 进行治疗时发现动物体重恢复的改善。

在病灶局部缺血的暂时性模型中静脉注射给药实施例 1 提供了神经保护

10 Wistar 鼠在再灌注 48 小时后，用如 Longa 等人的 Stroke 1989, 20: 84 中所记载的管腔内缝合法进行 90 分钟的大脑中动脉(MCA)阻塞。在 MCA 阻塞 30 分钟后，将在 20 mM 柠檬酸盐/0.85% 盐水, pH 3 中的实施例 1 的静脉制剂以 3, 10 和 30 mg/kg (静脉注射) 给药。随后再灌注，在 48 小时过后评估动物的神经系统缺陷和体重减轻/增加。15 脑组织梗塞面积分别减少了 22%、53% 和 42%。中风后体重减轻也显著被减少。另外，如表 2 中所示，在所有三个剂量时中风引起的神经缺陷均显著被减少。因此，本发明化合物提供了病灶局部缺血后的神经保护。

20 表 2

治疗	24 小时时 平均运动神经 缺陷分	P 值 (来自对照组)	48 小时时 平均运动神经 缺陷分	P 值 (来自对照组)
载体-对照	4.55 ± 0.16	N/A	4.27 ± 0.14	N/A
3 mg/kg	3.83 ± 0.3*	P=0.007	3.25 ± 0.37*	P=0.0001
10 mg/kg	4.08 ± 0.88	P=0.09	3.67 ± 0.22*	P=0.016
30 mg/kg	4.08 ± 0.23	P=0.09	3.67 ± 0.28*	P=0.016

### 治疗窗

在暂时性病灶局部缺血模型中，三种研究被用来检查治疗窗。在进行完如上所述的再灌注之后，Wistar 鼠被用来进行 90 分钟的 MCA 阻塞。在中风后的第 30 分钟、90 分钟、3 小时、4 小时、5 小时和 6

小时以 10mg/kg 快速灌注给药实施例 1。通过组织染色法测量梗塞面积。在局部缺血性损伤后的 30 分钟和 4 小时之间以单一剂量 10mg/kg 给药实施例 1，脑组织梗塞被显著减少(以治疗载体的 a%)。在中风后 5 小时以单一剂量 10mg/kg 给药实施例 1，得到统计学上对于神经缺陷的显著保护(以治疗载体的百分数)，以及在中风后 1 至 5 小时以单一剂量 10mg/kg 给药实施例 1，得到统计学上对于局部缺血引起的体重减轻的显著保护(以治疗载体的 a%)。因此，本发明化合物相较于先前所用的治疗方法，显示出优良的治疗窗。

#### 10 局部缺血后的血管渗透

Wistar 鼠在再灌注 24 小时后，用如 Longa 等人的 Stroke 1989, 20: 84 中所记载的管腔内缝合法进行 90 分钟的大脑中动脉(MCA)阻塞。在局部缺血发生后的 30 分钟以 3、10 和 30 mg/kg (iv)快速静脉推注给药实施例 1 的化合物。处死前 2 小时，对动物静脉注射盐水中的 2%偶氮蓝。用盐水灌注大脑并分离出纹状体。提取偶氮蓝并用基于外标准的荧光分光计定量。通过偶氮蓝外渗物减少 60%可证明减少了局部缺血性纹状体中的血管渗透。因此，本发明化合物能减少与局部缺血性损伤相关的血管渗透。

#### 20 永久性病灶局部缺血

永久性病灶局部缺血的两个鼠模型还可用来评估实施例 1。在一个极度严重的模型(颈内动脉的管腔内缝合)和相对较短的结果(28 小时)中显示很少有效或无效。

通过对模型中所产生的感觉运动皮层的梗塞范围来定量评估中风后 21 天中的神经学缺陷，实施例 1 的化合物提供了中风后的神经学结果的显著改善。Wistar 鼠(n=5/每组)被用来进行病灶性局部缺血性中风模型，该模型能导致如 Chen et al 等人的(Stroke 17: 738, 1986)中所记载的感觉运动皮层的大范围局部缺血。在中风发生后 90 分钟、4 小时后、24 和 28 小时后，以 10 mg/kg 将实施例 1 或载体以静脉推注给药(总剂量 40 mg/kg)。评估在中风发生后第 1、2、4、7、9、11、14、16、18 和 21 天时的感觉运动缺陷(姿势反射、视觉和触觉的前肢置位和后肢置位测试)。21 天后，通过测定斜线之间差别的统计学意义

以及对照最终神经学结果的广义回归模型来评估结果。到第 21 天，用实施例 1 处理的受试者与对照组相比较，在行为评分中具有统计学上的显著改善。因此，本发明的化合物提供了神经缺陷的长期改善。

5 由于疾病、损伤或其它创伤引起的血管渗透可能发生在许多组织和器官中，包括中枢神经系统、心肺系统、胃肠道系统和肾脏系统中。本发明的化合物能有效地抑制由疾病、损伤或其它创伤引起的血管渗透。特别的是，能抑制脑血管疾病发作后大脑和脊椎中的血管渗透。血管渗透是脑血管疾病发作后引起血管渗漏和/或水肿的主要原因，并经常能导致神经障碍和残疾。包括但不限制于暂时性和急性局部缺血  
10 的脑血管疾病可根据本发明进行治疗。急性疾病包括但不限制于中风、头部创伤、脊椎创伤、普通缺氧或包括胎儿低氧、低血糖、低血压的低氧，以及在关节复位、高融合术和低氧症过程中观察到的类似损伤。中风包括但不限制于，病灶和全身性局部缺血、暂时性脑局部缺血发作和其它与脑缺血相关的脑血管问题。本发明还能有效的用于  
15 脑出血、内或外颅动脉栓塞或血栓引起的梗塞、围产期窒息、心动停止和癫痫持续状态，尤其是流入脑部的血被一时停止的地方。伴随血管渗漏的脑血管疾病包括但不限制于伴随神经炎症的脑炎和脑膜炎，其通过血管渗漏损伤到周围组织。全身性疾病如糖尿病、多发性硬化症、肾脏疾病和动脉粥样硬化也可能导致血管渗透性增加。本发明的  
20 化合物还能有效的用于抑制中枢神经系统之外的由于局部组织/器官局部缺血引起的血管渗透，包括但不限制于心肌缺血和局部缺血性肠疾病。

本发明化合物提供了对患者的神经保护。本文中所指的神经保护，是指防止神经细胞死亡或凋亡的保护。度量细胞死亡或凋亡程度  
25 的是梗塞面积；即坏死或死亡大脑组织的面积。能用显象技术和患者的临床状态来评估局部缺血发作后的梗塞面积。与不用本发明试剂情况下的类似局部缺血发作中出现的梗塞面积相比，本发明化合物减少了患者的梗塞面积。

30 本发明化合物减少或抑制了与血管渗透相关的神经变性和/或神经毒性可能导致的症状，包括但不限制于视力缺损、说话障碍、记忆缺陷、认知缺损或功能障碍，以及运动神经损伤，包括但不限制于麻痹。根据本发明可以抑制或预防上述由损伤或疾病引起的神经学性缺

陷。因而，本发明提供了治疗、预防、抑制或减轻哺乳动物，尤其是人类中，与上述所列血管渗漏或渗透相关疾病的方法，该方法包括提供治疗有效量，尤其是血管渗透抑制量的本发明化合物给需要的哺乳动物尤其是人类患者。

5 本发明还包括了能用于治疗或调节血管渗透的药物组合物，该组合物包括了至少一种式 I 的化合物，它们的混合物，和/或它们药学可接受的盐，及其药学上可接受的载体。所述组合物根据可接受的制药方法进行制备，如 Remingtons Pharmaceutical Sciences, 17th  
10 edition, ed. Alfonso R, Gennaro, Mack Publishing Company, Easton, PA (1985) 中所记载的方法。药学上可接受的载体包括与制剂中其它活性成分相容以及生物学上可接受的那些载体。

液体载体可用于制备溶液剂、混悬剂、乳剂、糖浆剂和酏剂以及静脉溶液剂。本发明的活性成分能溶于或混悬于药学上可接受的液体载体如水、有机溶剂及其混合物中。液体载体中还能含有其它适宜的  
15 药学添加剂如增溶剂、乳化剂、缓冲剂、防腐剂、甜味剂、矫味剂、助悬剂、增稠剂、色素、粘度调节剂、稳定剂、气味调节剂、抗养化剂和消泡剂。

适于口服、静脉和非胃肠道给药的液体载体的实例包括水(特别是含有上述添加剂如纤维素衍生物，优选羧甲基纤维素钠溶液)、盐水、  
20 葡萄糖溶液、葡萄糖-盐水和葡萄糖-水溶液、醇(包括一元醇和多元醇如乙二醇)以及它们的衍生物。所用的液体载体以无菌形式用于非胃肠道和静脉给药。在一些情况下通过添加 HCl、氢氧化钠和磷酸调节液体制剂的 PH 值。本发明优选的组合物是液体药物组合物，即在等渗、生理学上相容的缓冲系统中的灭菌溶液或混悬液。

25 本发明的液体药物组合物能通过例如肌肉注射、腹腔注射、静脉注射或皮下注射给药。本发明的药物组合物优选对患者通过腹腔注射或静脉注射给药。更优选的是，该组合物通过如快速静脉注射、静脉滴注、重复缓慢推注或滴注的方式静脉内给药。

口服给药可以以液体或固体组合物形式给药。本发明化合物也可  
30 通过口服或胃肠外给药，单独或与常规的药学载体相结合。可用的固体载体包括一种或多种作为调味剂、润滑剂、增溶剂、助悬剂、填充剂、助流剂、助压剂、粘合剂或片剂崩解剂或包衣材料的物质。在散

剂中，载体是细粉化的固体其与细粉化的活性成分相混合，在片剂中，活性成分与具有必要可压性的载体以适宜的比例压成所需的形状和大小。散剂和片剂中优选含有高达 99% 的活性成分。适宜的固体载体包括，例如磷酸钙、硬脂酸镁、滑石粉、蔗糖、乳糖、糊精、淀粉、明胶、纤维素、甲基纤维素、羧甲基纤维素钠、聚乙烯吡咯烷、低熔点蜡和离子交换树脂。

药物组合物优选以单位剂型存在，如作为片剂、胶囊剂、散剂、溶液剂、混悬剂、乳剂、颗粒剂、栓剂、安瓿或丸剂。在所述剂型中，组合物被再分成含适量活性成分的单位剂量；单位剂型可以是经包装的组合物，例如经包装的散剂、安瓿或管形瓶中经冷冻干燥的粉末或结块，或管形瓶、安瓿、载药注射器或含有液体的囊剂。单位剂型可以是，例如胶囊剂或片剂本身，或是适宜量的任何所述经包装的组合物。

提供给患者的剂量可以依据给药对象、给药目的如预防或治疗、患者状态、给药方式等等的不同而有所不同。"治疗有效量"是指足以治疗或改善疾病或损伤症状的量。一般而言，单一剂量(或剂型)将含有大约 1 mg/kg 至大约 30 mg/kg，优选大约 1 mg/kg 至大约 10 mg/kg 本发明化合物。可预计的是，一些患者需要倍剂量给药。治疗中所使用的剂量必须由主治医师主观决定。该变量包括患者的特殊情况、大小、年龄和反应模式。

本发明所提供的优点多于先前已知的治疗中风和其它与血管渗透相关的其它疾病的方法。特别是，虽然优选在局部缺血性损伤之后尽快治疗患者，但本发明化合物甚至在局部缺血性损伤发生后大约 18 - 24 小时仍可以有效的防止一些患者中神经变性和神经学缺陷的发生。而且，在局部缺血发作后直至大约 72 小时或更长时间连续或重复给药本发明化合物的话，患者的预后治疗可以持续并改善。

本发明的一个实例包括在局部缺血发作后的大约 6 至 24 小时之间给药化合物。进一步的实例包括在局部缺血发作后的大约 18 至 24 小时之间给药化合物。

本文中所用的提供是指直接给药化合物或本发明组合物，或给药前药、衍生物或在体内能形成等效量活性化合物或物质的类似物。

本发明包括式 I 化合物的前药。本文中所用的"前药"，是指在体

内通过代谢(如通过水解)能可逆的转化为式 I 化合物的化合物。现有技术中已知各种形式的前药,例如在 Bundgaard, (ed.) 的 Design of Prodrugs, Elsevier (1985); Widder, 等人的 (ed.), Methods in Enzymology, vol. 4, Academic Press (1985); Krogsgaard-Larsen 等人的 (ed). "Design and Application of Prodrugs, Textbook of Drug Design and Development, Chapter 5, 113-191 (1991); Bundgaard 等人的 Journal of Drug Deliver Reviews, 8: 1-38 (1992), Bundgaard, J. 的 Pharmaceutical Sciences, 77: 285 et seq. (1988); 和 Higuchi and Stella (eds.) 的 Prodrugs as Novel Drug Delivery Systems, American Chemical Society (1975) 中讨论的。

通过与以下特定实施例相结合更完整的描述本发明,但所述实施例不用于解释为对本发明范围的限制。

15

### 参考实施例 1

#### 乙基 7-氟-6-甲氧基-4-氧-1,4-二氢-3-喹啉羧酸酯

将 3-氟-4-甲氧基苯胺 (3.00 g, 21.26mmol) 和二乙基乙氧基-亚甲基丙二酸酯 (4.59 g, 21.26mmol) 的混合物在 110°C 加热 1 小时, 然后冷却至室温。加入己烷, 过滤收集固体。将该原料混悬于 45 mL 二苯醚和联苯为 3:1 的混合物中, 加热回流混合物 2 小时, 得到一褐色溶液。将反应混合物冷却至室温并加入己烷。用己烷洗涤过滤收集到的最终固体, 得到 2.62 g, mp > 300°C 的白色固体乙基 7-氟-6-甲氧基-4-氧-1,4-二氢-3-喹啉羧酸酯。

20

MS: 265.9 (M+H)<sup>+</sup>

25

元素分析: C<sub>13</sub>H<sub>12</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>4</sub>

计算值: C, 58.87; H, 4.56; N, 5.28。

实测值: C, 58.66; H, 4.16; N, 5.14。

### 参考实施例 2

30

#### 7-F 氟-6-甲氧基-4-氧-1,4-二氢-3-喹啉羧酸

将乙基 7-氟-6-甲氧基-4-氧-1,4-二氢-3-喹啉羧酸酯 (2.2 g, 8.30mmol), 13.2 mL 1 N 氢氧化钠和 40 mL 乙醇的混合物加热回流 3

小时，然后冷却至室温。加入水，将混合物用乙酸酸化。用水洗涤过滤收集到的最终固体，得到 1.90 g，mp 为 265-267℃ 的白色固体 7-氟-6-甲氧基-4-氧-1,4-二氢-3-喹啉羧酸。

MS: 238.1 (M+H) +

5 元素分析:  $C_{11}H_8FNO_4 \cdot 1-2 H_2O$

计算值: C, 51.04; H, 4.03; N, 5.41。

实测值: C, 50.98; H, 3.95; N, 5.33。

### 参考实施例 3

10 7-氟-6-甲氧基-4-氧-1,4-二氢-3-喹啉羧酰胺

在 14 mL N,N-二甲基甲酰胺中，将 7-氟-6-甲氧基-4-氧-1,4-二氢-3-喹啉羧酸 (1.0 g, 4.21mmol) 和 1,1'-羧二咪唑 (1.51 g, 9.28mmol) 的混合物，在 65℃ 加热 2 小时，随后冷却至室温，并倒入 200 mL 冰水浴上的氨水溶液中。将该溶液在室温搅拌过夜，直至浓缩至少量。在用乙酸酸化之后，加入冰水。用水洗涤过滤收集到的最终固体，得到 821 mg，mp > 300℃ 的白色固体 7-氟-6-甲氧基-4-氧-1,4-二氢-3-喹啉羧酰胺。

MS: 236.8 (M+H) +

元素分析:  $C_{11}H_9FN_2O_3 \cdot 0.2 H_2O$

20 计算值: C, 55.09; H, 3.94; N, 11.68。

实测值: C, 55.00; H, 3.63; N, 11.49。

### 参考实施例 4

7-氟-6-甲氧基-4-氧-1,4-二氢-3-氟基喹啉

25 在 15 mL N,N-二甲基甲酰胺中，将 7-氟-6-甲氧基-4-氧-1,4-二氢-3-喹啉羧酰胺 (700 mg, 3.0mmol) 和 氟尿酰氟 (341 mg, 1.65mmol) 的混合物，在 65℃ 加热 6 小时，随后冷却至室温，并另外加入 206 mg 氟尿酰氟。将混合物在 65℃ 加热 4 小时，随后在室温下搅拌过夜。将反应混合物倒入冰水中，用饱和的碳酸氢钠中和。用水和己烷洗涤过滤收集到的固体，得到 610 mg 粗产物。用快速柱色谱法提纯，以二氯甲烷中的 3% 甲醇至 10% 甲醇梯度洗脱，得到 272 mg，mp 为 147-149℃ 的 7-氟-6-甲氧基-4-氧-1,4-二氢-3-氟基喹啉。

30

MS: 216.8 (M-H) -

元素分析:  $C_{11}H_7FN_2O_2 \cdot 0.1$  二氯甲烷

计算值: C, 58.80; H, 3.19; N, 12.36。

实测值: C, 59.06; H, 2.96; N, 11.97。

5

#### 得到参考实施例 4 的另一种方法

##### 7-氟-6-甲氧基-4-氧-1,4-二氢-3-氟基喹琳

在甲苯中, 将 3-氟-4-甲氧基苯胺 (15.31 g, 108mmol) 和乙基 (乙氧基-亚甲基) 氟基乙酸酯 (18.36 g, 108mmol) 的混合物, 在 100-110  
10 °C 加热 4.5 小时, 随后冷却至室温。加入乙烷和乙酸乙酯为 1: 1 的混合物, 将混合物在冰浴上冷却。用己烷洗涤收集到的固体, 第一批收得 26.10 g 和第二批收得 1.24 g。将 2.0 g 该原料加入 18 mL 二苯醚和联苯为 3: 1 的混合物中, 加热回流。将该混合物加热回流 4 小时, 随后冷却并倒入己烷中。过滤收集固体, 并用乙酸乙酯洗涤, 得到 624  
15 mg 褐色固体 7-氟-6-甲氧基-4-氧-1,4-二氢-3-氟基喹琳。浓缩滤液, 将残渣溶于加入的乙酸乙酯和己烷中。收集所得的最终固体, 得到 1.07 g 黄色固体 7-氟-6-甲氧基-4-氧-1,4-二氢-3-氟基喹琳。

#### 参考实施例 5

##### 4-氟-7-氟-6-甲氧基-3-氟基喹琳

将 7-氟-6-甲氧基-4-氧-1,4-二氢-3-氟基喹琳 (1.0 g, 4.59mmol) 和 14 g 三氟氧磷的混合物加热回流 30 分钟, 随后真空浓缩。残渣在碳酸氢钠水溶液和乙酸乙酯之间分层。有机层用硫酸镁干燥完全, 并在硅胶柱上过滤和浓缩。用快速柱色谱法提纯, 以乙酸乙酯: 己烷为 1: 5 至乙酸乙酯: 己烷为 1: 1 梯度洗脱, 得到 631 mg, mp 为 160-162 °C 的 4-氟-7-氟-6-甲氧基-3-氟基喹琳。

MS: 236.9 (M+H) +

元素分析:  $C_{11}H_6ClFN_2O$

计算值: C, 55.83; H, 2.56; N, 11.84。

30 实测值: C, 55.66; H, 2.84; N, 11.91。

### 参考实施例 6

#### 4-[(2,4-二氯-5-甲氧基-苯基)氨基]-7-氟-6-甲氧基-3-氰基喹啉

在 45 mL 2-乙氧乙醇中, 将 4-氯-7-氟-6-甲氧基-3-氰基喹啉 (4.12 g, 18mmol), 2,4-二氯-5-甲氧基苯胺 (4.56 g, 24mmol) (Theodoridis, G.; Pestic. Sci. 1990, 30, 259) 和盐酸吡啶 (2.31 g, 19.9mmol) 的混合物, 在 120℃加热 3 小时, 随后冷却至室温。将反应混合物加入碳酸氢钠水溶液中, 并搅拌 20 分钟。过滤收集固体, 得到 4.89 g, mp > 260℃的 4-[(2,4-二氯-5-甲氧基-苯基)氨基]-7-氟-6-甲氧基-3-氰基喹啉。

10 HRMS 理论值: 392.03634; 实测值: 392.03556 (M+H) +

元素分析: C<sub>18</sub>H<sub>12</sub>Cl<sub>2</sub>FN<sub>3</sub>O<sub>2</sub>·2.0 H<sub>2</sub>O

计算值: C, 50.48; H, 3.77; N, 9.81。

实测值: C, 50.41; H, 2.82; N, 9.78。

15

### 参考实施例 7

#### 6-苄氧基-7-氟-4-氧-1,4-二氢-3-氰基喹啉

将 4-苄氧基-3-对氟苯胺 (6.06 g, 27.9mmol) (US 5, 622, 967) 和乙基(乙氧基亚甲基)氰基乙酸酯 (5.08 g, 30.0mmol) 的混合物在 120℃加热 45 分钟, 随后冷却至室温。在 245℃时, 将该固体加入二苯醚和联苯为 3: 1 的混合物中。将混合物在 245℃时加热 3 小时, 随后冷却, 过滤收集固体, 并用己烷和二乙醚洗涤, 得到 2.60 g, mp > 250℃的 6-苄氧基-7-氟-4-氧-1,4-二氢-3-氰基喹啉。

MS : 293.1 (M-H)-

25

### 参考实施例 8

#### 6-苄氧基-4-氯-7-氟-3-氰基喹啉

将 6-苄氧基-7-氟-4-氧-1,4-二氢-3-氰基喹啉 (645 mg, 2.19mmol) 和 10 mL 三氯氧磷的混合物在 115℃加热 1.5 小时, 随后真空浓缩。残渣用冰氨水溶液处理, 过滤收集最终固体。用快速柱色谱法提纯, 以己烷中的 1%乙酸乙酯至 6%乙酸乙酯梯度洗脱, 得到 284 mg, mp 为 159-160℃的 6-苄氧基-4-氯-7-氟-3-氰基喹啉。

MS : 313.13 (M+H)+

元素分析:  $C_{17}H_{10}ClFN_2O$

计算值: C, 65.15; H, 3.06; N, 8.82。

实测值: C, 65.29; H, 3.22; N, 8.96。

5

### 参考实施例 9

#### 4-氯-7-氟-6-羟基-3-氰基喹琳

在 12 mL 三氟乙酸中, 将 6-苄氧基-4-氯-7-氟-3-氰基喹琳 (733 mg, 2.34mmol) 和 1 mL 苯甲硫醚的混合物加热回流 9 小时, 随后真空浓缩。残渣用冰水处理, 随后添加氨水溶液碱化至 pH 9-10。过滤收集最终的固体, 并用二乙醚洗涤。用乙酸乙酯中的 10% 甲醇提取滤液。有机层用硫酸镁干燥完全, 过滤和真空浓缩。残渣与最初得到的固体结合, 将该原料溶于乙酸乙酯中的 5% 甲醇中, 并在硅胶上吸附。用快速柱色谱法提纯, 以己烷至己烷中的乙酸乙酯量增加至乙酸乙酯中的 5% 甲醇梯度洗脱, 得到 260 mg, mp > 250°C 的 4-氯-7-氟-6-羟基-3-氰基喹琳。

10

15

MS: 220.9 (M-H) -

元素分析:  $C_{10}H_4ClFN_2O$

计算值: C, 53.96; H, 1.81; N, 12.58。

实测值: C, 54.23; H, 2.02; N, 12.06。

20

### 参考实施例 10

#### 4-氯-6-乙氧基-7-氟-3-氰基喹琳

0°C 时, 往 15 mL 四氢呋喃中的 4-氯-7-氟-6-羟基-3-氰基喹琳 (185 mg, 0.83mmol), 三苯膦 (392 mg, 1.49mmol) 和乙醇 (153 mg, 3.32mmol) 混合物中加入二乙基偶氮二羧酸酯 (260 mg, 1.80mmol)。将混合物在 0°C 保持 45 分钟, 随后在室温下搅拌过夜。将反应混合物真空浓缩, 并用快速柱色谱法提纯, 以己烷中的 1% 乙酸乙酯至 5% 乙酸乙酯梯度洗脱, 得到 mp 为 165-166°C 的 4-氯-6-乙氧基-7-氟-3-氰基喹琳。

25

MS : 251.0 (M+H) +

元素分析:  $C_{12}H_8ClFN_2O$

计算值: C, 57.50; H, 3.22; N, 11.18。

30

实测值: C, 57.24; H, 3.41; N, 11.09。

### 参考实施例 11

#### 4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-6-乙氧基-7-氟-3-氟基喹琳

5 接着参考实施例 6 的步骤, 将所提供的 4-氯-6-乙氧基-7-氟-3-氟基喹琳 (197 mg, 0.78mmol), 2,4-二氯-5-甲氧基苯胺 (220 mg, 1.14mmol) 和盐酸吡啶 (120 mg, 1.04mmol) 的混合物, 用快速柱色谱法提纯, 以二氯甲烷至二氯甲烷中 1% 甲醇梯度洗脱, 得到 183 mg, mp184-186°C 的 4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-6-乙氧基-7-氟-3-氟基喹琳。

MS: 406.0 (M+H)

元素分析:  $C_{19}H_{14}Cl_2FN_3O_2 \cdot 0.5H_2O$

计算值: C, 54.96; H, 3.64; N, 10.12。

实测值: C, 54.99; H, 3.59; N, 10.05。

15

### 实施例 1

#### 4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-6-甲氧基-7-[3-(4-甲基-1-哌嗪基)丙氧基]-3-氟基喹琳

20 在 4 mL N-甲基哌嗪中, 将 7-[3-氟丙氧基]-4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-6-甲氧基-3-氟基喹琳 (656 mg, 1.40mmol) 和碘化钠 (210 mg, 1.40mmol) 的混合物, 在 80°C 加热 20 小时。反应混合物真空浓缩, 并在乙酸乙酯和碳酸氢钠饱和水溶液之间分层。有机层用盐水洗涤, 用硫酸钠干燥完全, 过滤和真空浓缩。残渣用柱色谱法提纯, 以二氯甲烷中的 30% 甲醇洗脱。收集含产物的流分, 真空浓缩。在残渣

25 中加入二乙醚, 过滤收集淡粉色固体, 得到 560 mg (75%) 4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-6-甲氧基-7-[3-(4-甲基-1-哌嗪基)丙氧基]-3-氟基喹琳: mp 为 116-120°C; MS (ES) m/z 为 530.2, 532.2 (M+1)。

30

### 实施例 2

#### 4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-7-[3-(4-乙基-1-哌嗪基)丙氧基]-6-甲氧基-3-氟基喹琳

在 5 mL 乙二醇二甲醚中，将 7-[3-氯丙氧基]-4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-6-甲氧基-3-氟基喹琳 (3.50g, 7.50mmol)，碘化钠 (1.12 g, 7.50mmol) 和 4.8 mL N-乙基哌啶的混合物，在 95℃ 加热 20 小时。反应混合物真空浓缩，并在乙酸乙酯和碳酸氢钠饱和水溶液之间分层。有机层用饱和的碳酸氢钠洗涤，随后用盐水洗涤，用硫酸钠干燥完全，过滤和真空浓缩。在残渣中加入二乙醚，过滤收集白色固体，得到 1.80 g (44%) 4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-7-[3-(4-乙基-1-哌嗪基)-丙氧基]-6-甲氧基-3-氟基喹琳：mp 为 102-104℃；MS (ES) m/z 为 544.3, 546.4 (M+1)。

10

### 实施例 3

#### 4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-6-甲氧基-7-[2-(4-甲基-1-哌嗪基)乙氧基]-3-氟基喹琳

根据实施例 1 所用的制备方法，通过 7-[2-氯乙氧基]-4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-6-甲氧基-3-氟基喹琳和 N-甲基哌啶反应制得：mp 为 165-167℃；MS (ES) m/z 为 516.0, 518.2 (M+1)。

### 实施例 4

#### 4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-7-[2-(4-乙基-1-哌嗪基)乙氧基]-6-甲氧基-3-氟基喹琳

20

根据实施例 1 所用的制备方法，通过 7-[2-氯乙氧基]-4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-6-甲氧基-3-氟基喹琳和 N-乙基哌啶反应制得：mp 为 101-105℃；MS (ES) m/z 为 530.4, 532.4 (M+1)。

25

### 实施例 5

#### 4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-6-甲氧基-7-[(1-甲基哌啶-4-基)甲氧基]-3-氟基喹琳

在 135℃ 时，向 4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-7-氟-6-甲氧基-3-氟基喹琳 (600 mg, 1.53mmol) 和 1-甲基哌啶-4-甲醇 (395 mg, 3.06mmol) 在 10 mL N,N-二甲基甲酰胺的溶液中，逐份加入氯化钠 (362 mg, 9.06mmol)。45 分钟后将反应混合物倒入饱和的碳酸氢钠中。在搅拌 15 分钟后，过滤收集固体。残渣用快速柱色谱法提纯，以

30

二氯甲烷中的 5% 甲醇至 25% 甲醇梯度洗脱。用二乙醚研磨，得到 396 mg，mp 为 200-202℃ 的 4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-6-甲氧基-7-(1-甲基哌啶-4-基)甲氧基]-3-氟基喹琳。

MS: 501.3 (M+H)<sup>+</sup>

5 元素分析: C<sub>25</sub>H<sub>26</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>-0.8 H<sub>2</sub>O

计算值: C, 58.21; H, 5.39; N, 10.86。

实测值: C, 58.19; H, 5.23; N, 10.67。

### 实施例 6

10 4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-6-甲氧基-7-[2-(1-甲基哌啶-4-基)乙氧基]-3-氟基喹琳

在 5 mL N,N-二甲基甲酰胺中，将氢氧化钠(128 mg, 3.2mmol)和 1-甲基-4-哌啶乙醇(180 mg, 1.25mmol) [EP 0581538]的混合物，在 110℃ 加热 1 小时。加入 4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-7-氟-6-甲氧基-3-氟基喹琳(200 mg, 0.51mmol)，并将反应混合物在 135℃ 加  
15 热 5 小时。在随后的 4 小时之后在 130℃ 时，将另外的 128 mg 氢氧化钠加入反应混合物中。反应混合物在乙酸乙酯和水之间分层。有机层用硫酸钠干燥完全，过滤和真空浓缩。残渣用薄层色谱法提纯，以二氯  
20 甲烷中的 20% 甲醇洗脱，得到 105 mg，mp 为 190-191℃ 的 4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-6-甲氧基-7-[(2-(1-甲基哌啶-4-基)乙氧基)-3-氟基喹琳。

MS: 515.19 (M+H)<sup>+</sup>

元素分析: C<sub>26</sub>H<sub>28</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>-1.0 H<sub>2</sub>O

计算值: C, 58.53; H, 5.67; N, 10.50。

25 实测值: C, 58.65; H, 5.57; N, 10.34。

实施例 7 和 8 以类似于实施例 5 的方法和相应的醇制得。

### 实施例 7

30 4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-6-甲氧基-7-[3-(1-甲基哌啶-4-基)丙氧基]喹琳-3-腈

MP: 144-145℃; Mass spec.: 529.2 (ES<sup>+</sup>)

实施例 8

4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-7-  
[(1-乙基哌啶-4-基)甲氧基]-6-甲氧基喹琳-3-腈

5 MP: 192-195°C; Mass spec.: 515.2 (ES +)

实施例 9

4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-6-乙氧基-7-  
[3-(4-甲基哌啶-1-基)丙氧基]喹琳-3-腈

10 在 5 mL N,N-二甲基甲酰胺中, 将 4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-6-乙氧基-7-氟-3-喹琳-腈 (200 mg, 0.49mmol), 3-(4-甲基哌啶-1-基)丙醇 (155 mg, 0.98mmol) (WO 20047212) 和氢氧化钠 (196 mg, 4.6mmol) 的混合物, 在 125°C 加热 3 小时。将反应混合物倒入饱和的碳酸氢钠中并搅拌 1 小时。用二氯甲烷中的 10% 甲醇提取水溶液。  
15 有机层用盐水洗涤, 用硫酸镁干燥完全, 并真空浓缩。残渣用薄层色谱法提纯, 以二氯甲烷中的 15% 甲醇洗脱。用己烷研磨, 得到 116 mg, mp 为 137-138°C 的淡褐色固体 4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-6-乙氧基-7-[3-(4-甲基哌啶-1-基)丙氧基]-喹琳-3-腈。

MS: 542.0 (M-H)-

20 元素分析:  $C_{27}H_{31}Cl_2N_5O_3 \cdot 0.6H_2O$

计算值: C, 58.40; H, 5.84; N, 12.61。

实测值: C, 58.31; H, 5.71; N, 12.43。

实施例 10

25 4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-6-乙氧基-7-  
[(1-甲基哌啶-4-基)甲氧基]喹琳-3-腈

在 5 mL N,N-二甲基甲酰胺中, 将 4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-6-乙氧基-7-氟-3-喹琳-腈 (200 mg, 0.49mmol), 1-甲基哌啶-4-甲醇 (188 mg, 0.98mmol) (WO 20047212) 和氢氧化钠 (196 mg, 4.6mmol) 的混合物, 在 125°C 加热 3 小时。将反应混合物倒入饱和的碳酸氢钠中并搅拌 1 小时。过滤收集固体, 用水洗涤和真空干燥。固体用薄层色谱法提纯, 以二氯甲烷中的 15% 甲醇洗脱。用二乙醚研磨,

得到 67 mg, mp 为 182-186℃的淡褐色固体 4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-6-乙氧基-7-[(1-甲基哌啶-4-基)甲氧基]喹琳-3-腈。

MS: 513.0 (M-H) -

元素分析:  $C_{26}H_{28}Cl_2N_4O_3 \cdot 1.4 H_2O$

5 计算值: C, 57.76; H, 5.74; N, 10.36。

实测值: C, 57.65; H, 5.43; N, 10.15。

### 实施例 11

4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-6-乙氧基-7-

10 [3-(4-乙基哌啶-1-基)丙氧基]喹琳-3-腈

在 5 mL N,N-二甲基甲酰胺中, 将 4-[(2,5-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-6-乙氧基-7-氟-3-喹琳-腈 (200 mg, 0.49mmol) 和 3-(4-乙基哌啶-1-基)丙醇 (241 mg, 0.98mmol) 的混合物, 在 125℃加热 5 分钟。加入氢氧化钠 (60%) (98 mg, 2.45mmol), 并将混合物在 125℃加热 1 小时。加入另外的氢氧化钠 (98 mg, 2.45mmol), 将混合物在 125℃加热 2 小时。将反应混合物冷却至室温, 并倒入饱和的碳酸氢钠中搅拌 1 小时。用二氯甲烷中的 10% 甲醇提取水溶液。有机层用硫酸钠干燥完全, 并真空浓缩。残渣用薄层色谱法提纯, 以二氯甲烷中的 12% 甲醇展开。用二乙醚和己烷研磨, 得到 146 mg, mp 为 127-130℃的淡褐色固体

20 4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-6-乙氧基-7-[3-(4-乙基哌啶-1-基)-丙氧基]喹琳-3-腈。

MS: 558.3 (M+H) +

元素分析:  $C_{28}H_{33}Cl_2N_5O_3 \cdot 1.5H_2O$

计算值: C, 57.44; H, 6.20; N, 11.96。

25 实测值: C, 57.44; H, 6.24; N, 11.79。

### 实施例 12

4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-6-乙氧基-7-

30 [3-(1-甲基哌啶-4-基)丙氧基]喹琳-3-腈

在 5 mL N,N-二甲基甲酰胺中, 将 4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-6-乙氧基-7-氟-3-喹琳-腈 (200 mg, 0.49mmol) 和 3-(1-甲基-4-哌啶基)丙醇 (154 mg, 0.98mmol) 的混合物, 在 125℃加热 5 分钟。

加入氢氧化钠(60%) (98 mg, 2.45mmol), 并将混合物在 125℃加热 1 小时。加入另外的氢氧化钠(98 mg, 2.45mmol), 将混合物在 125℃加热 2 小时。将反应混合物冷却至室温, 并倒入饱和的碳酸氢钠中搅拌 1 小时。收集沉淀物, 用水洗涤并真空干燥。残渣用薄层色谱法提纯, 以二氯甲烷中的 15%甲醇展开。用二乙醚研磨, 得到 146 mg, mp 为 148-151

5 二氯甲烷中的 15%甲醇展开。用二乙醚研磨, 得到 146 mg, mp 为 148-151℃的米色固体 4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-6-乙氧基-7-[3-(1-甲基哌啶-4-基)丙氧基]喹琳-3-腈。

MS: 543.2 (M+H)<sup>+</sup>

元素分析: C<sub>28</sub>H<sub>32</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>·1.8 H<sub>2</sub>O

10 计算值: C, 58.39; H, 6.23; N, 9.73。

实测值: C, 58.40; H, 6.16; N, 9.64。

### 实施例 13

#### 4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-6-乙氧基-7-[2-(4-甲基-1-哌嗪基)乙氧基]喹琳-3-腈

15

在 5 mL N,N-二甲基甲酰胺中, 将 4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-6-乙氧基-7-氟-3-喹琳-腈 (200 mg, 0.49mmol) 和 2-(4-甲基-1-哌嗪基)乙醇 (141 mg, 0.98mmol) 的混合物, 加热至 100℃。逐份加入氢氧化钠(60%) (196 mg, 4.9mmol), 并将混合物在 125℃加热 3

20 小时。将反应混合物冷却至室温, 并用 25 mL 水处理。搅拌混合物 2 小时。收集沉淀物, 用水洗涤并真空干燥。残渣用快速柱色谱法提纯, 以二氯甲烷中的 5%甲醇至 15%甲醇梯度洗脱。用二乙醚研磨, 得到 123 mg, mp 为 141-143℃的米色固体 4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-6-乙氧基-7-[2-(4-甲基-1-哌嗪基)-乙氧基]喹琳-3-腈。

25 MS: 530.2 (M+H)<sup>+</sup>

元素分析: C<sub>26</sub>H<sub>29</sub>N<sub>5</sub>O<sub>3</sub>

计算值: C, 58.87; H, 5.51; N, 13.20。

实测值: C, 58.48; H, 5.45; N, 12.95。

30

### 实施例 14

#### 4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-6-乙氧基-7-[2-(1-甲基哌啶-4-基)乙氧基]喹琳-3-腈

- 在 5 mL N,N-二甲基甲酰胺中, 将 4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-6-乙氧基-7-氟-3-喹琳-腈(200 mg, 0.49mmol)和 1-甲基-4-哌啶乙醇(140 mg, 0.98 mmol)的混合物, 加热至 100 °C。逐份加入氢氧化钠(60%) (162mg, 4.05mmol), 并将混合物在 125 °C加热 3 小时。将反应混合物冷却至室温, 并用 25 mL 水处理。收集沉淀物, 用水洗涤并真空干燥。残渣用快速柱色谱法提纯, 首先以二氯甲烷洗脱, 随后以二氯甲烷中的 5%甲醇至 30%甲醇梯度洗脱。用二乙醚研磨, 得到 121 mg, mp 为 174-176 °C 的米色固体 4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-6-乙氧基-7-[2-(1-甲基哌啶-4-基)乙氧基]喹琳-3-腈。
- 10 MS: 529.1 (M+H)<sup>+</sup>  
元素分析: C<sub>27</sub>H<sub>30</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>  
计算值: C, 61.25; H, 5.71; N, 10.58。  
实测值: C, 61.40; H, 5.84; N, 10.35。

15

#### 实施例 15

#### 4-[(2,4-二氯-5-甲氧基)氨基]-6-甲氧基-7-[3-(4-丙基-1-哌嗪基)丙氧基]-3-氟基喹琳

- 根据实施 1 的制备方法, 将 7-[3-氟乙氧基]-4-[(2,4-二氯-5-甲氧苯基)氨基]-6-甲氧基-3-氟基喹琳和 N-丙基哌嗪反应制得: mp 为 97-101 °C; MS (ES) m/z 为 558.2, 560.2 (M+1)。
- 20