[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.
C07D 403/12 (2006.01)
C07D 239/94 (2006.01)
C07D 401/12 (2006.01)

[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 01817352.7

[45] 授权公告日 2008 年 1 月 2 日

[11] 授权公告号 CN 100358890C

[22] 申请日 2001.8.17 [21] 申请号 01817352.7

[30] 优先权

[32] 2000.8.18 [33] US [31] 60/226,122

[86] 国际申请 PCT/US2001/041752 2001.8.17

[87] 国际公布 WO2002/016351 英 2002.2.28

[85] 进入国家阶段日期 2003.4.14

[73] 专利权人 千年药物股份有限公司

地址 美国加利福尼亚州

共同专利权人 协和发酵工业株式会社

[72] 发明人 A·潘迪 R·M·斯卡伯勒
松野研司 市村通朗 野本裕二
井出慎一 佃英次 入江纯子
小田祥二

[56] 参考文献

CN1208404A 1999.2.17

审查员 李雪莹

[74] 专利代理机构 上海专利商标事务所有限公司

代理人 余 颖

权利要求书 1 页 说明书 28 页

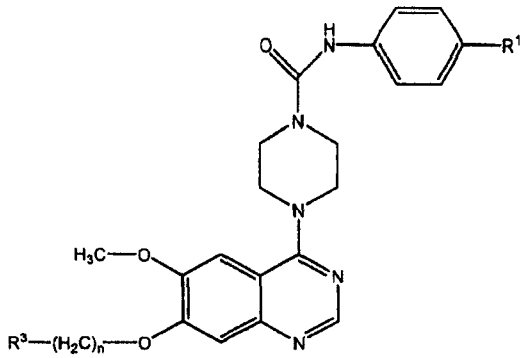
[54] 发明名称

喹唑啉衍生物类激酶抑制剂

[57] 摘要

本发明涉及对激酶磷酸化具有抑制性，因而对此类酶具有抑制性的含氮杂环化合物及其药学上认可的盐。 本发明还涉及通过抑制激酶磷酸化来抑制激酶和治疗哺乳动物疾病的方法。 本发明具体内容之一是抑制 PDGF 受体磷酸化从而抑制异常细胞生长和迁移的含氮杂环化合物及其药学上认可的盐，以及预防或治疗诸如动脉硬化、血管再梗阻、癌症和血管球性硬化症等细胞增殖性疾病的方法。

1．式 I 所示的化合物及其药学上认可的盐：



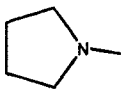
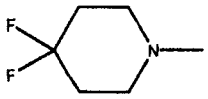
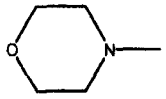
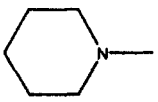
式 I

其中，

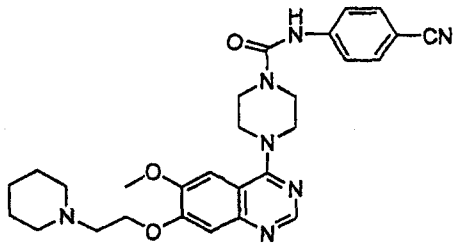
n 是 2-3；

R^1 是 CN 或-O-异丙基；

R^3 选自：$-N(-CH_3)_2$，

，，和。

2．如权利要求 1 所述的化合物及其药学上认可的盐，所述化合物是 N-(4-氰基苯基){4-[6-甲氧基-7-(2-哌啶基乙氧基)喹唑啉-4-基]哌嗪基}羧酰胺

。

3．药物组合物，包含有效量的权利要求 1 或 2 所述化合物或其药学上认可的盐，和药学上认可的稀释剂或载体。

4．权利要求 3 所述组合物用于制造抑制患者体内 PDGF 受体磷酸化的药物的用途。

5．权利要求 3 所述组合物用于制造预防或治疗细胞增殖性疾病的药物的用途。

6．如权利要求 5 所述的用途，所述细胞增殖性疾病选自动脉硬化、血管再梗阻，再狭窄，癌症和血管球性硬化症。

喹唑啉衍生物类激酶抑制剂

技术领域

本发明涉及抑制激酶磷酸化活性进而可抑制此类激酶活性的含氮杂环化合物及其药学上认可的盐。本发明还涉及通过抑制激酶磷酸化来抑制激酶和治疗哺乳动物疾病的方法。

背景技术

PDGF(血小板衍生类生长因子)会造成细胞增殖性疾病的恶化，例如动脉硬化，经皮冠血管再造术和血管搭桥术后的血管再梗阻，癌症，肾小球性肾炎，血管球性硬化症，牛皮癣和风湿性关节炎(细胞，46，155-169(1986)；科学，253，1129-1132(1991)；Nippon Rinsho(日本临床医学杂志)，50，3038-3045(1992)；Nephrol Dial Transplant，10，787-795(1995)；Kidney International，43(Suppl. 39)，86-89(1993)；风湿病学杂志，21，1507-1511(1994)；北欧免疫学杂志，27，285-294(1988)；等)。

据南非专利 No.67 06512(1968)记载，在用作药物的喹唑啉衍生物中，N,N-二甲基-4-(6,7-二甲氧基-4-喹唑啉基)-1-哌嗪羧酰胺是一种支气管扩张药。据日本公开待审专利申请 No.208911/93 和 WO96/09294 报道，二甲氧基喹唑啉衍生物是表皮生长因子(EGF)受体磷酸化的抑制剂。《药物学生物化学及性能》，53，87-97(1996)和《欧洲医学化学杂志》，31，417-425(1996)报道了具有苯并二氮杂草受体抑制性的喹啉衍生物，《印度化学杂志》，26B，550-555(1987)报道了可用作抗寄生虫药的喹啉衍生物。

目前所知的PDGF受体磷酸化抑制剂包括二单环芳基化合物和双环芳基化合物和杂芳基化合物(WO92/20642)，喹喔啉衍生物(《癌症研究》，54，6106(1994))，嘧啶衍生物(日本公开待审专利申请 No.87834/94)和二甲氧基喹啉衍生物(日本药学协会第 16 届(金泽)年会摘要(1996)，2，p.275，29(C2)，15-2)。

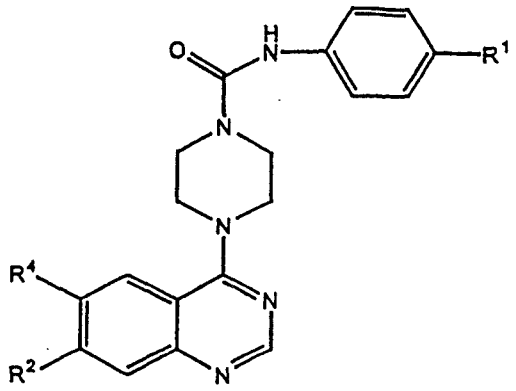
发明内容

本发明目的在于提供对激酶的磷酸化作用具有抑制性进而抑制激酶活性的含氮杂环化合物及其药学上认可的盐。本发明尤其关注的激酶抑制性是对受体酪氨酸激酶的抑制性，此类受体包括血小板衍生类生长因子(PDGF)受体，Flt3，CSF-1R，表皮生长因子受体(EDGF)，成纤维细胞生成因子(FGF)，血管内皮生长

因子受体(VEGFR)等。本发明涉及的另一类激酶抑制性是对 src 和 abl 等非受体酪氨酸激酶的抑制性。本发明涉及的第三类激酶抑制性是对丝氨酸/苏氨酸激酶的抑制性，此类激酶例如介导细胞增殖的 MAPK，MEK 和细胞周期蛋白(cyclin)依赖性激酶(CDKs)，介导细胞存活的 AKT 和 CDK，以及调节炎性反应的 NIK。抑制此类激酶可用于治疗涉及细胞存活、增殖和迁移的疾病，例如动脉硬化和血管再梗阻之类心血管病，癌症，血管球性硬化性纤维变性疾病和炎症，以及用于对细胞增殖性疾病的一般性治疗。

优选实施方式中，本发明提供的化合物及其药学上认可的盐能够抑制或预防至少一种酪氨酸激酶对至少一种 PDGF 受体的磷酸化作用。这样的 PDGF 受体激酶抑制性可抑制异常的细胞生长和迁移，因此，此类化合物可用于预防或治疗诸如动脉硬化、血管再梗阻、癌症和血管球性硬化症等细胞增殖性疾病。

本发明涉及以下式 I 所示含氮杂环化合物，及其药学上认可的异构体、盐、水合物、溶剂化物和前药衍生物：



其中，R^1 选自：-CN，-X，$-CX_3$，$-R^5$，$-CO_2R^5$，$-C(O)R^5$，$-SO_2R^5$，$-O-C_{1-8}$ 直链或支链烷基，-O-苯基，-O-萘基，-O-吲哚基和-O-异喹啉基；

X 是卤素；

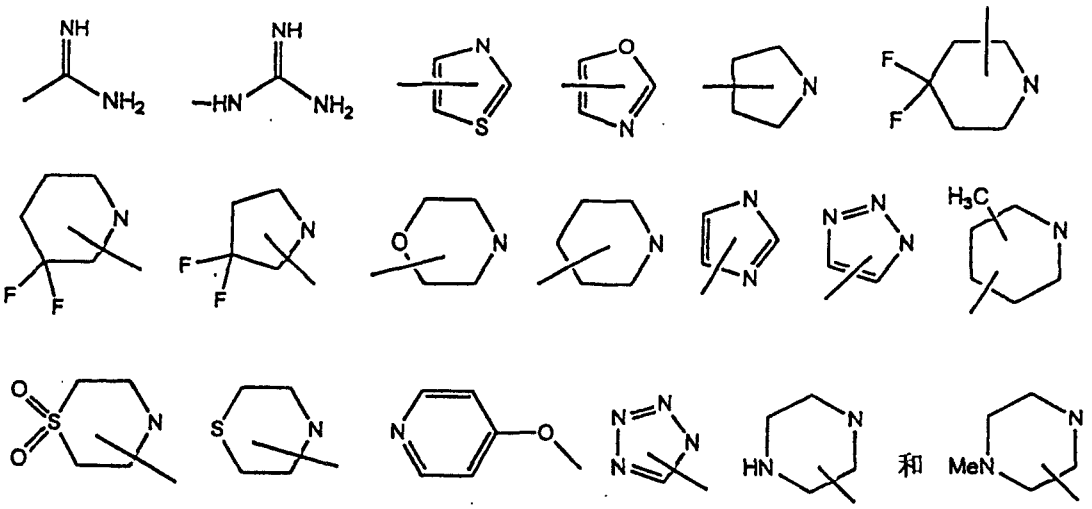
R^5 是 H 或 C_{1-8} 直链或支链烷基；

R^2 和 R^4 各自选自：$-O-CH_3$，$-O-CH_2-CH_3$，$-O-CH_2-CH=CH_2$，$-O-CH_2-C\equiv CH$，$-O(CH_2)_n-SO_2-R^5$，$-O-CH_2-CH(R^6)CH_2-R^3$ 和 $-O-(CH_2)_n-R^3$；

R^6 是-OH，-X 或 C_{1-8} 直链或支链烷基；

n 是 2 或 3；

R^3 选自：-OH，$-O-CH_3$，$-O-CH_2-CH_3$，$-NH_2$，$-N(-CH_3)_2$，$-NH(-CH_2-$苯基)，-NH(-苯基)，-CN，



优选式 I 化合物及其位置异构体、类似物，以及它们的药学上认可的异构体、盐、水合物、溶剂化物和前药衍生物中，R^1 选自：-CN，-O-甲基，-O-乙基，-O-丙基，-O-异丙基，-O-丁基，-O-叔丁基，-O-异戊基，1-萘氧基，2-萘氧基，4-吲哚氧基，5-吲哚氧基，5-异喹啉氧基。

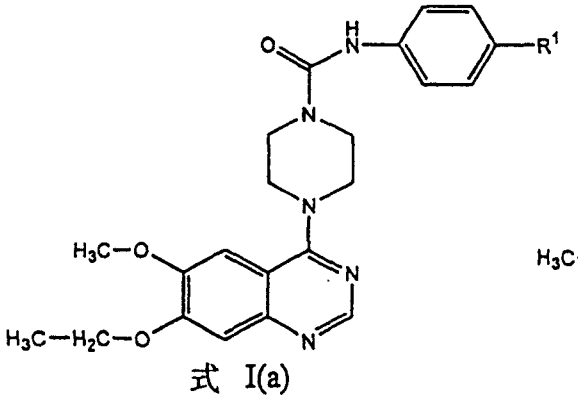
此外，优选化合物及其药学上认可的异构体、盐、水合物、溶剂化物和前药衍生物中，R^2 与 R^4 不同，且其中之一为-O-CH_3。

式 I 化合物的药学上认可的盐包括其药学上认可的酸加成盐，金属盐，铵盐，有机胺盐，氨基酸加成盐等。

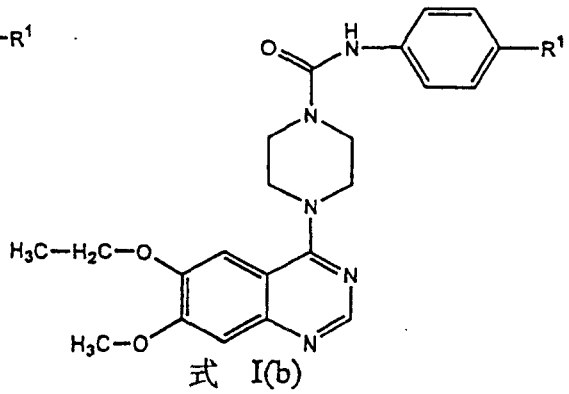
式 I 化合物的药学上认可的酸加成盐的例子是盐酸、硫酸和磷酸等无机酸的加成盐和乙酸、马来酸、富马酸、酒石酸、柠檬酸和甲磺酸等有机酸的加成盐。

药学上认可的金属盐的例子是钠盐、钾盐等碱金属盐，镁盐、钙盐等碱土金属盐，铝盐和锌盐。药学上认可的铵盐的例子是铵盐和四甲基铵盐。药学上认可的有机胺加成盐的例子有吗啉盐和哌啶盐等杂环胺盐。药学上认可的氨基酸加成盐的例子是赖氨酸盐、甘氨酸盐和苯丙氨酸盐。

优选实施方式中，本发明提供了式 I(a)和式 I(b)所示化合物，及其药学上认可的异构体、盐、水合物、溶剂化物和前药衍生物：



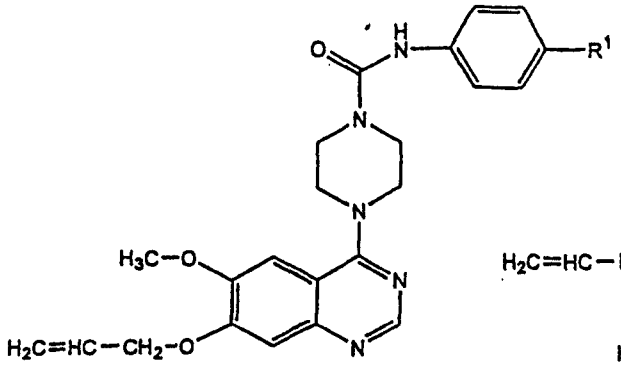
式 I(a)



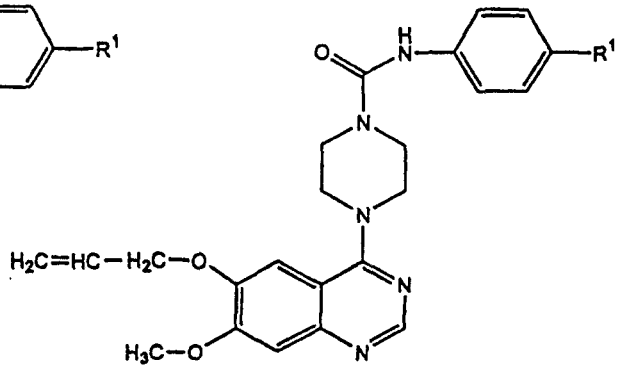
式 I(b)

其中，R^1选自-CN，-O-甲基，-O-乙基，-O-丙基，-O-异丙基，-O-丁基，-O-叔丁基，-O-异戊基，1-萘氧基，2-萘氧基，4-吲哚氧基，5-吲哚氧基，5-异喹啉氧基。

另一优选实施方式中，本发明提供了式 I(c)和式 I(d)所示化合物，及其药学上认可的异构体、盐、水合物、溶剂化物和前药衍生物：



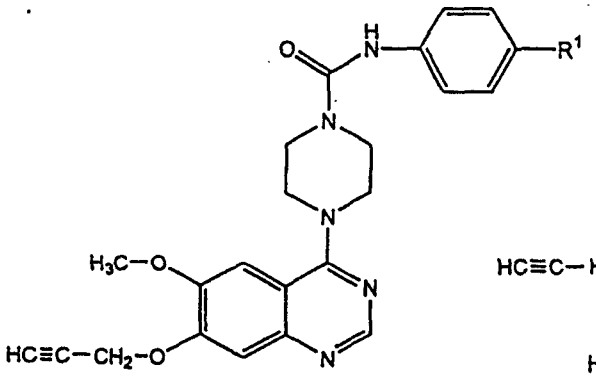
式 I(c)



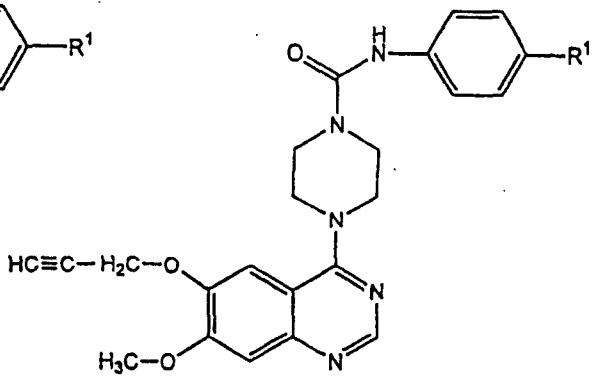
式 I(d)

其中，R^1选自-CN，-O-甲基，-O-乙基，-O-丙基，-O-异丙基，-O-丁基，-O-叔丁基，-O-异戊基，1-萘氧基，2-萘氧基，4-吲哚氧基，5-吲哚氧基，5-异喹啉氧基。

另一优选实施方式中，本发明提供了式 I(e)和式 I(f)所示化合物，及其药学上认可的异构体、盐、水合物、溶剂化物和前药衍生物：



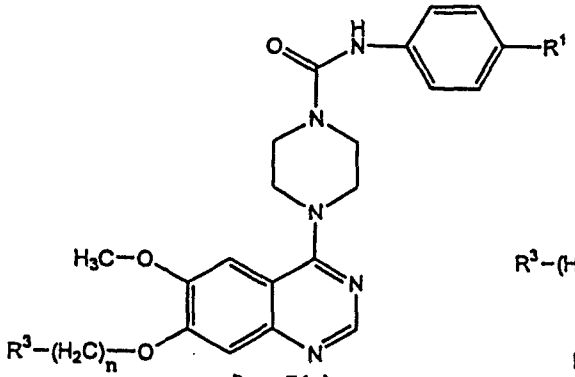
式 I(e)



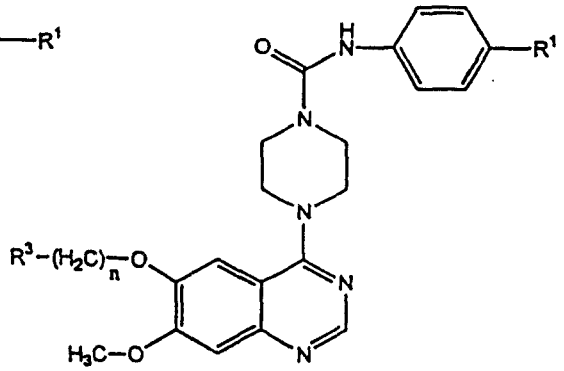
式 I(f)

其中，R^1选自-CN，-O-甲基，-O-乙基，-O-丙基，-O-异丙基，-O-丁基，-O-叔丁基，-O-异戊基，1-萘氧基，2-萘氧基，4-吲哚氧基，5-吲哚氧基，5-异喹啉氧基。

另一优选实施方式中，本发明提供了式 I(g)和式 I(h)所示化合物，及其药学上认可的异构体、盐、水合物、溶剂化物和前药衍生物：

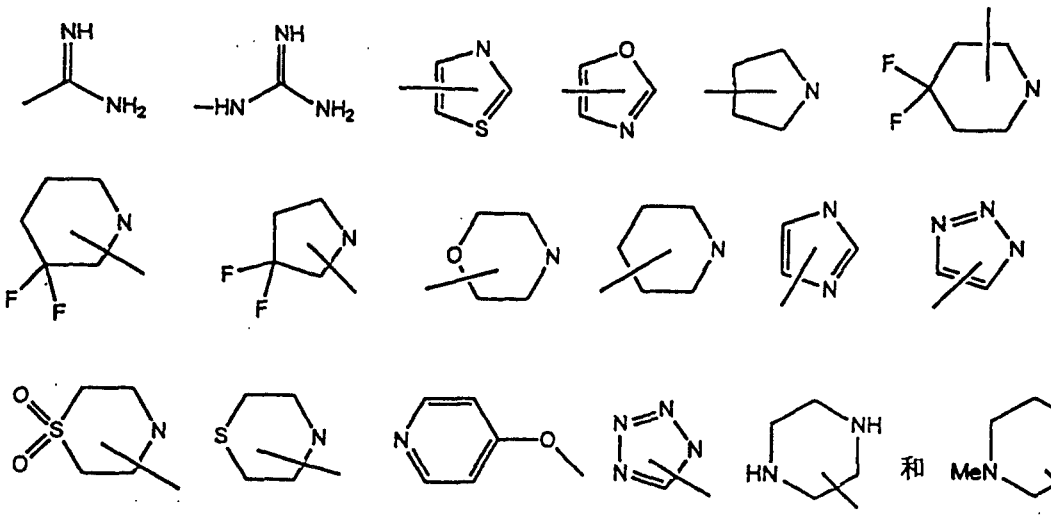


式 I(g)



式 I(h)

其中，n 是 2 或 3；R1 选自-CN，-O-甲基，-O-乙基，-O-丙基，-O-异丙基，-O-丁基，-O-叔丁基，-O-异戊基，1-萘氧基，2-萘氧基，4-吲哚氧基，5-吲哚氧基，5-异喹啉氧基；R^3 选自-OH，-O-CH_3，-O-CH_2-CH_3，-NH_2，-N(-CH_3)$_2$，-NH(-CH_2-苯基)，-NH(-苯基)，-CN

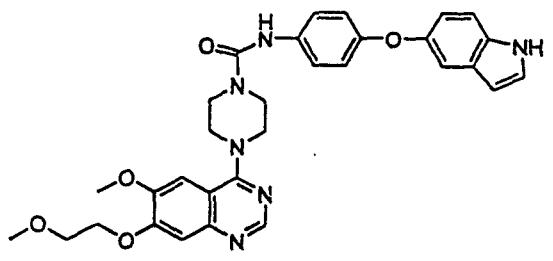


式 I 化合物的药学上认可的盐包括其药学上认可的酸加成盐，金属盐，铵盐，有机胺加成盐，氨基酸加成盐等。

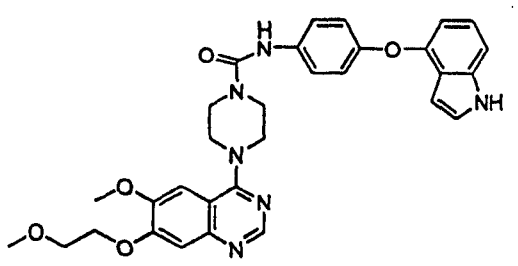
本发明不仅包括以上所述的化合物，而且还包括双环化合物的类似物。

而且，本发明尤为优选的实施方式中提供了以下化合物，及其药学上认可的异构体、盐、水合物、溶剂化物和前药衍生物：

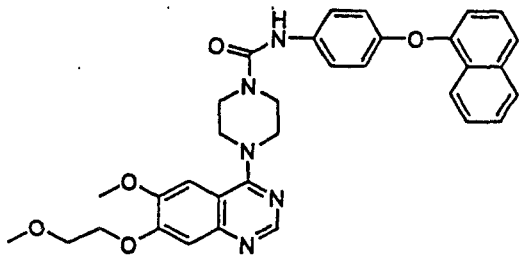
N-(4-吲哚-5-基氧基苯基){4-[6-甲氧基-7-(2-甲氧基乙氧基)喹唑啉-4-基]哌嗪基}羧酰胺



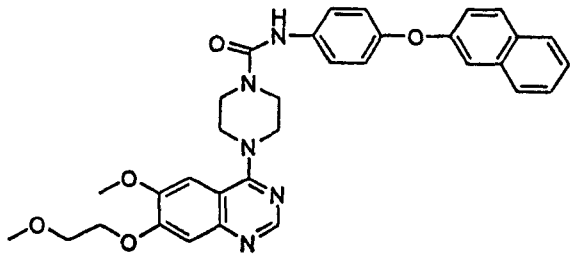
N-(4-吲哚-4-基氧基苯基){4-[6-甲氧基-7-(2-甲氧基乙氧基)喹唑啉-4-基]哌嗪基}羧酰胺



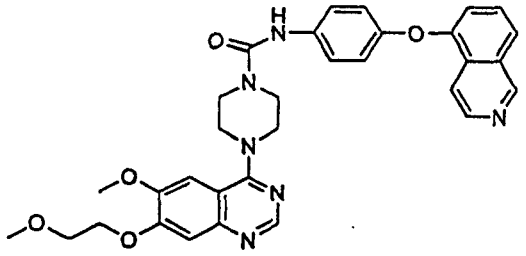
{4-[6-甲氧基-7-(2-甲氧基乙氧基)喹唑啉-4-基]哌嗪基}-N-(4-萘氧基苯基)羧酰胺



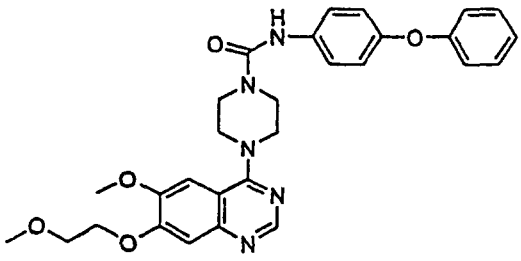
{4-[6-甲氧基-7-(2-甲氧基乙氧基)喹唑啉-4-基]哌嗪基}-N-(4-(2-萘氧基)苯基)羧酰胺



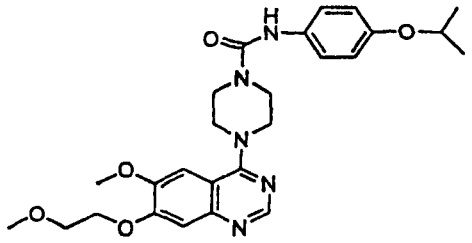
N-(4-(5-异喹啉氧基)苯基){4-[6-甲氧基-7-(2-甲氧基乙氧基)喹唑啉-4-基]哌嗪基}羧酰胺



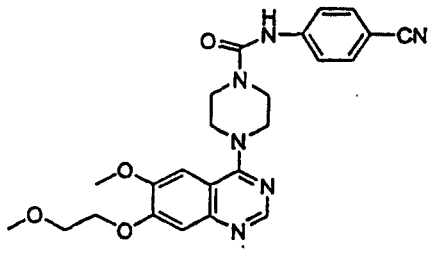
{4-[6-甲氧基-7-(2-甲氧基乙氧基)喹唑啉-4-基]哌嗪基}-N-(4-苯氧基苯基)羧酰胺



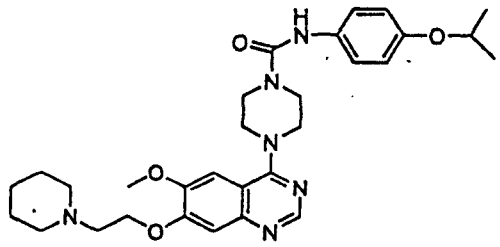
{4-[6-甲氧基-7-(2-甲氧基乙氧基)喹唑啉-4-基]哌嗪基}-N-[4-(甲基乙氧基)苯基]羧酰胺



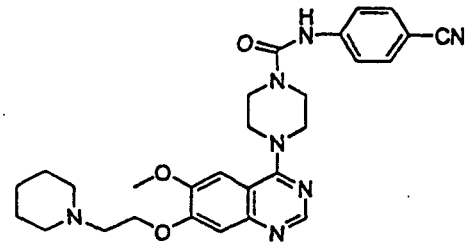
N-(4-氰基苯基){4-[6-甲氧基-7-(2-甲氧基乙氧基)喹唑啉-4-基]哌嗪基}羧酰胺



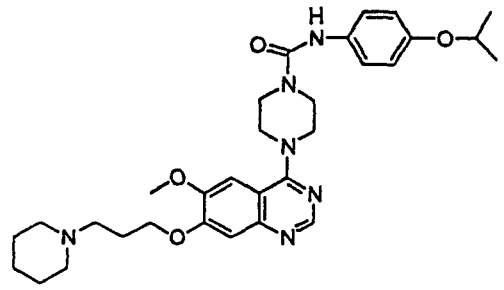
{4-[6-甲氧基-7-(2-哌啶基乙氧基)喹唑啉-4-基]哌嗪基}-N-(4-(甲基乙氧基)苯基]羧酰胺



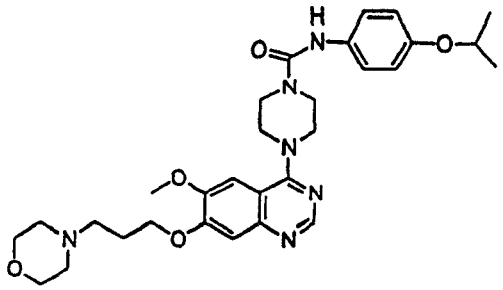
N-(4-氰基苯基){4-[6-甲氧基-7-(2-哌啶基乙氧基)喹唑啉-4-基]哌嗪基}羧酰胺



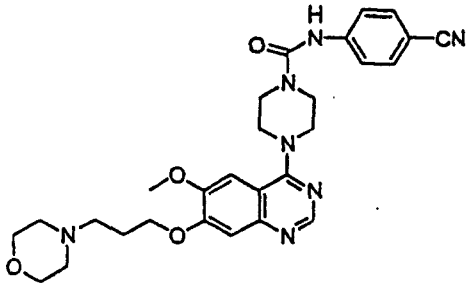
{4-[6-甲氧基-7-(3-哌啶基丙氧基)喹唑啉-4-基]哌嗪基}-N-(4-(甲基乙氧基)苯基]羧酰胺



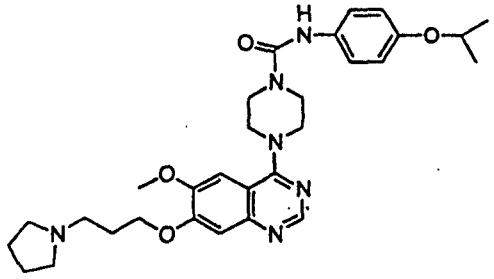
{4-[6-甲氧基-7-(3-吗啉-4-基丙氧基)喹唑啉-4-基]哌嗪基}-N-(4-(甲基乙氧基)苯基]羧酰胺



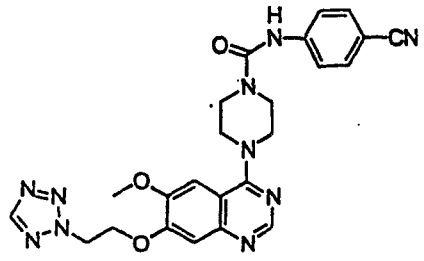
N-(4-氰基苯基){4-[6-甲氧基-7-(3-吗啉-4-基丙氧基)喹唑啉-4-基]哌嗪基}羧酰胺



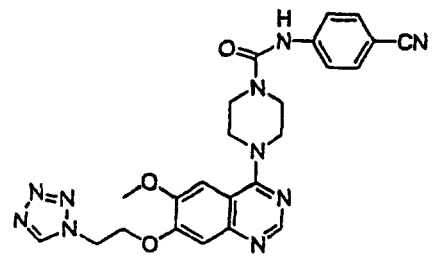
{4-[6-甲氧基-7-(3-吡咯烷基丙氧基)喹唑啉-4-基]哌嗪基}-N-(4-(甲基乙氧基)苯基]羧酰胺



N-(4-氰基苯基){4-[6-甲氧基-7-(2-(1,2,3,4-四唑-2-基)乙氧基)喹唑啉-4-基]哌嗪基}羧酰胺

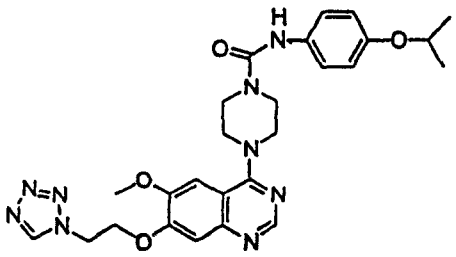


N-(4-氰基苯基){4-[6-甲氧基-7-(2-(1,2,3,4-四唑基)乙氧基)喹唑啉-4-基]哌嗪基}羧酰胺

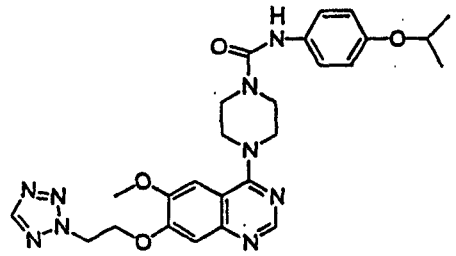


{4-[6-甲氧基-7-(2-(1,2,3,4-四唑基)乙氧基)喹唑啉-4-基]哌嗪基}-N-[4-(甲基乙氧基)苯基)羧酰

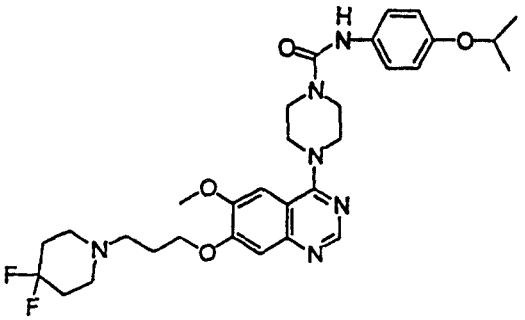
胺



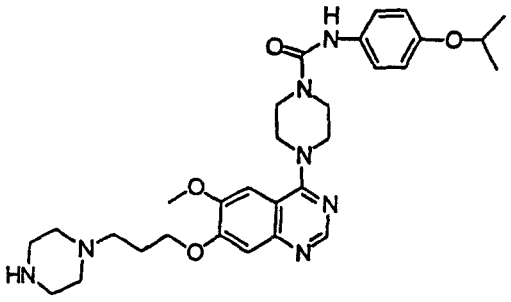
{4-[6-甲氧基-7-(2-(1,2,3,4-四唑-2-基)乙氧基)喹唑啉-4-基]哌嗪基}-N-[4-(甲基乙氧基)苯基)羧酰胺



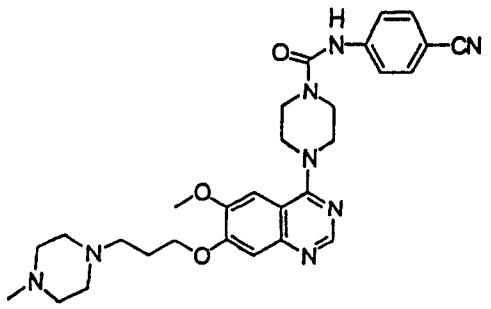
(4-{7-[3-(4,4,-二氟哌啶基)丙氧基]-6-甲氧基喹唑啉-4-基}哌嗪基)-N-[4-(甲基乙氧基)苯基]羧酰胺



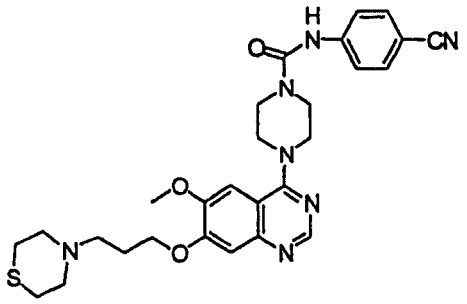
{4-[6-甲氧基-7-(3 哌嗪基丙氧基)喹唑啉-4-基]哌嗪基}-N-[4-(甲基乙氧基)苯基)羧酰胺



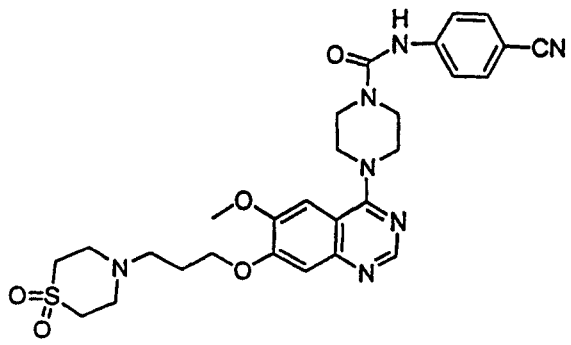
N-(4-氰基苯基)(4-{6-甲氧基-7-[3-(4-甲基哌嗪基)丙氧基]喹唑啉-4-基}哌嗪基)羧酰胺



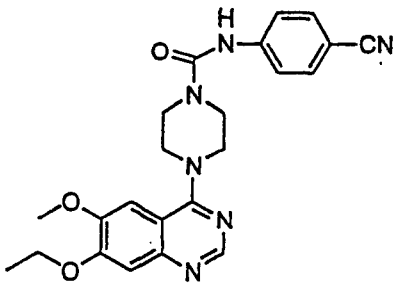
N-(4-氰基苯基){4-[6-甲氧基-7-(3-(1-硫代吗啉代)丙氧基]喹唑啉-4-基}哌嗪基)羧酰胺



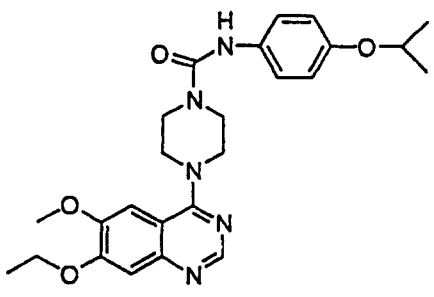
(4-{7-[3-(1,1-二氧(1-硫代吗啉代)丙氧基]-6-甲氧基-喹唑啉-4-基)-N-(4-氰基苯基)羧酰胺



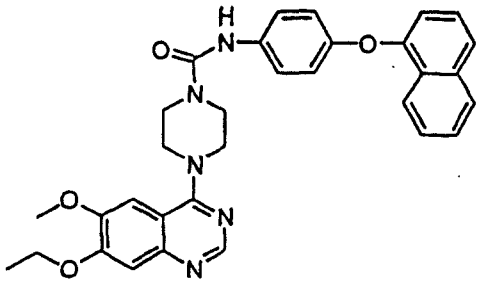
N-(4-氰基苯基)[4-(7-乙氧基-6-甲氧基喹唑啉-4-基)哌嗪基]羧酰胺



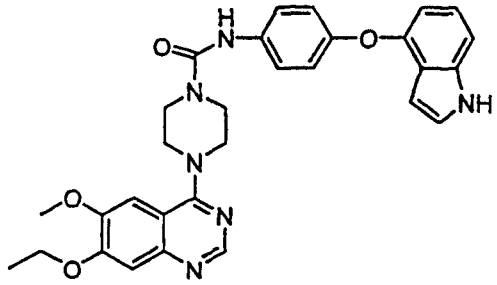
[4-(7-乙氧基-6-甲氧基喹唑啉-4-基)哌嗪基]-N-(4-(甲基乙氧基)苯基]羧酰胺



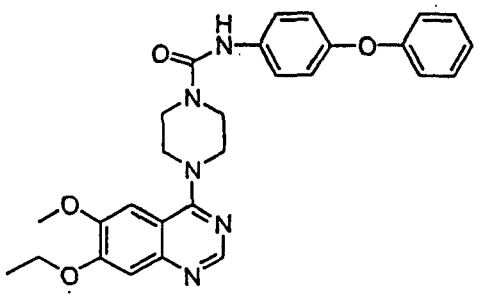
[4-(7-乙氧基-6-甲氧基喹唑啉-4-基)哌嗪基]-N-(4-萘氧基苯基)羧酰胺



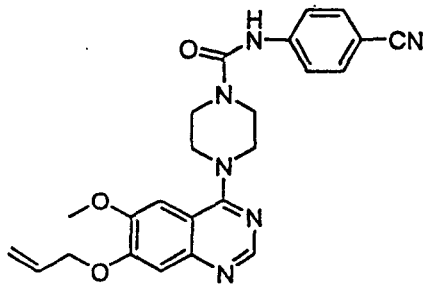
[4-(7-乙氧基-6-甲氧基喹唑啉-4-基)哌嗪基]-N-(4-吲哚-4-基氧基苯基)羧酰胺



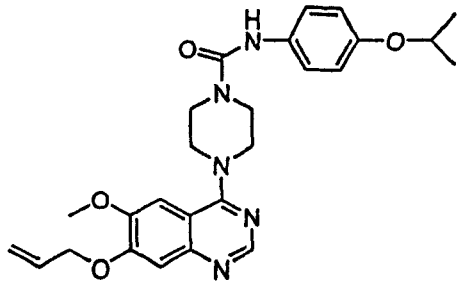
[4-(7-乙氧基-6-甲氧基喹唑啉-4-基)哌嗪基]-N-(4-苯氧基苯基)羧酰胺



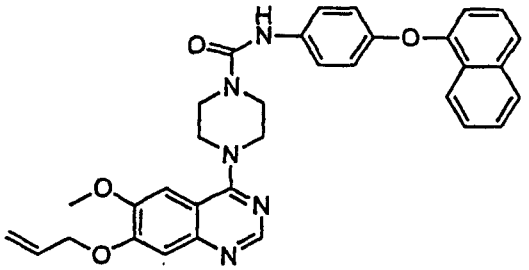
N-(4-氰基苯基)[4-(6-甲氧基-7-丙-2-烯基氧基喹唑啉-4-基)哌嗪基]-酰胺



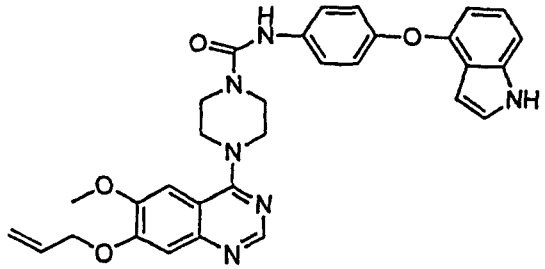
[4-(6-甲氧基-7-丙-2-烯基氧基喹唑啉-4-基)哌嗪基]-N-[4-(甲基乙氧基)苯基]羧酰胺



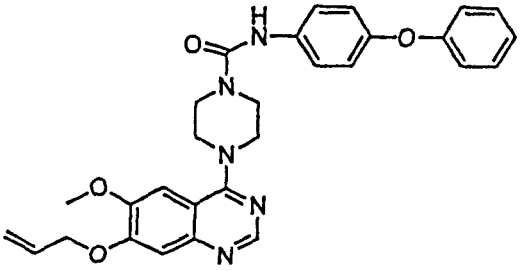
[4-(6-甲氧基-7-丙-2-烯基氧基喹唑啉-4-基)哌嗪基]-N-(4-萘氧基苯基)羧酰胺



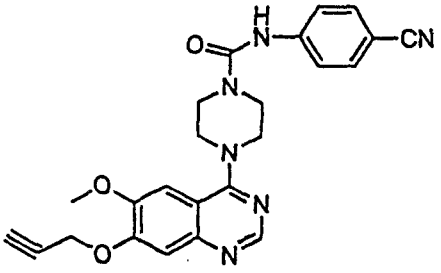
N-(4-吲哚-4-基氧基苯基)[4-(6-甲氧基-7-丙-2-烯基氧基喹唑啉-4-基)哌嗪基]羧酰胺



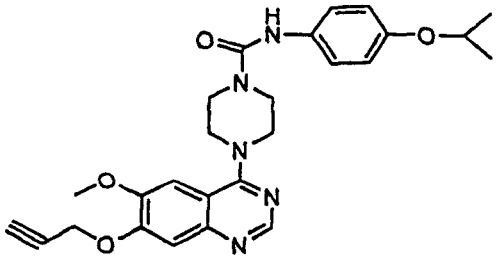
[4-(6-甲氧基-7-丙-2-烯基氧基喹唑啉-4-基)哌嗪基]-N-(4-苯氧基苯基)羧酰胺



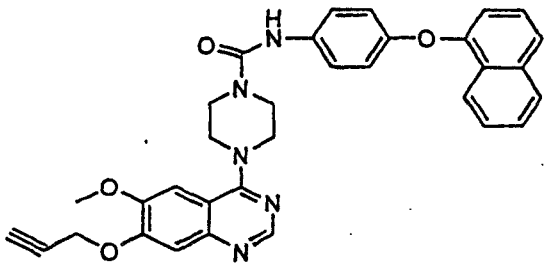
N-(4-氰基苯基)[4-(6-甲氧基-7-丙-2-炔基氧基喹唑啉-4-基)哌嗪基]羧酰胺



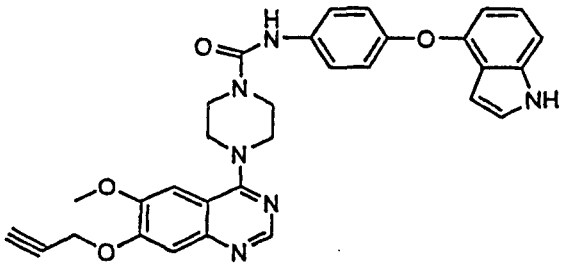
[4-(6-甲氧基-7-丙-2-炔基氧基喹唑啉-4-基)哌嗪基]-N-[4-(甲基乙氧基)苯基]羧酰胺



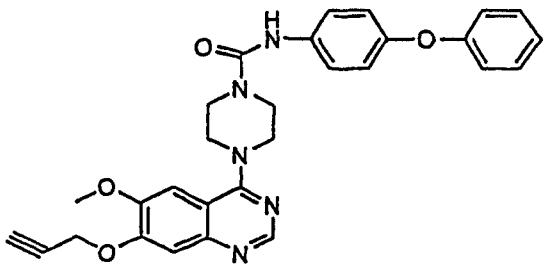
[4-(6-甲氧基-7-丙-2-炔基氧基喹唑啉-4-基)哌嗪基]-N-(4-萘氧基苯基)羧酰胺



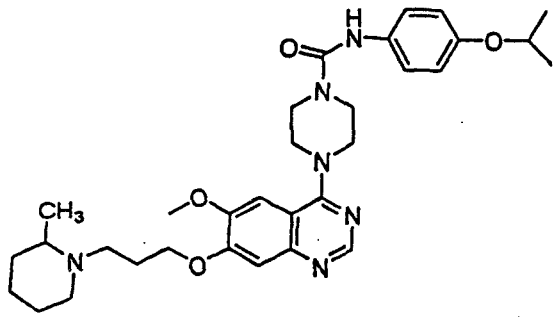
N-(4-吲哚-4-基氧基苯基)[4-(6-甲氧基-7-丙-2-炔基氧基喹唑啉-4-基)哌嗪基]羧酰胺



[4-(6-甲氧基-7-丙-2-炔基氧基喹唑啉-4-基)哌嗪基]-N-(4-苯氧基苯基)羧酰胺

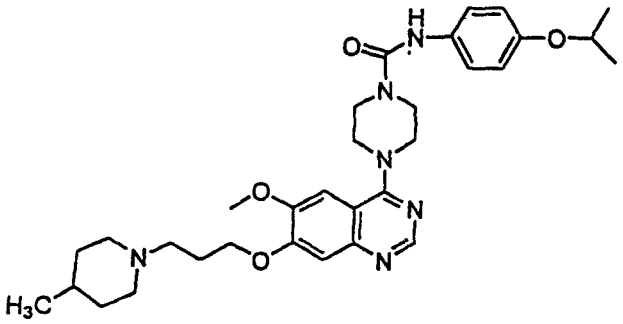


(4-{6-甲氧基-7-[3-(2-甲基哌啶基)丙氧基]喹唑啉-4-基}哌嗪基)-N-[4-(甲基乙氧基)苯基]羧酰胺

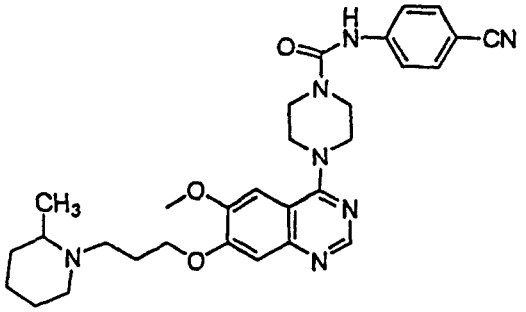


(4-{6-甲氧基-7-[3-(4-甲基哌啶基)丙氧基]喹唑啉-4-基}哌嗪基)-N-[4-(甲基乙氧基)苯基]羧酰

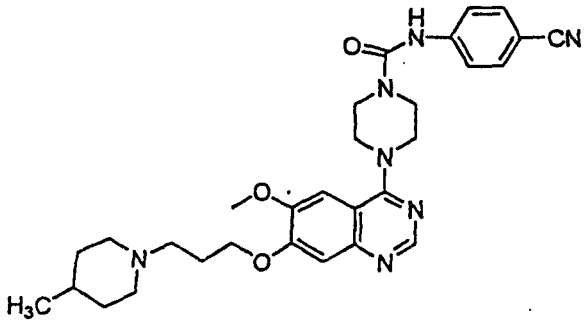
胺



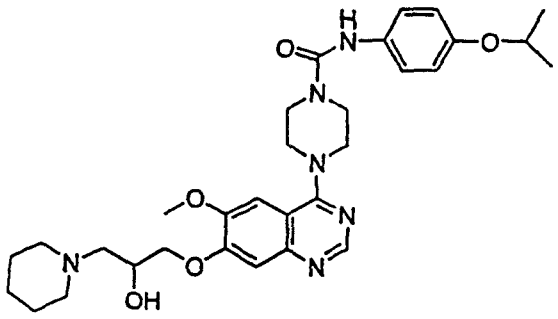
N-(4-氰基苯基)(4-{6-甲氧基-7-[3-(2-甲基哌啶基)丙氧基]喹唑啉-4-基}哌嗪基)羧酰胺



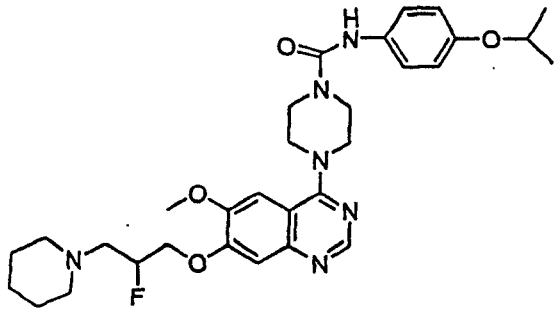
N-(4-氰基苯基)(4-{6-甲氧基-7-[3-(4-甲基哌啶基)丙氧基]喹唑啉-4-基}哌嗪基)羧酰胺



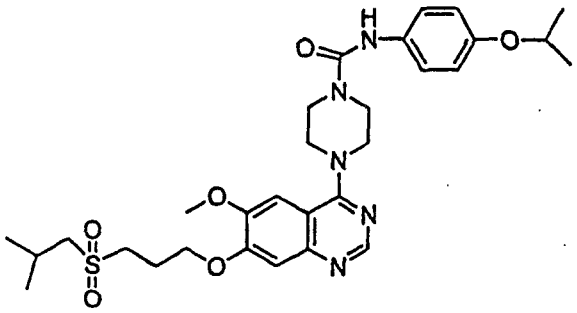
{4-[7-(2-羟基-3-哌啶基丙氧基)-6-甲氧基喹唑啉-4-基]哌嗪基}-N-[4-(甲基乙氧基)苯基]羧酰胺



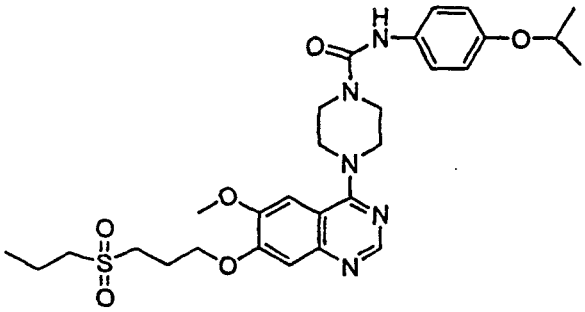
{4-[7-(2-氟-3-哌啶基丙氧基)-6-甲氧基喹唑啉-4-基]哌嗪基}-N-[4-(甲基乙氧基)苯基]羧酰胺



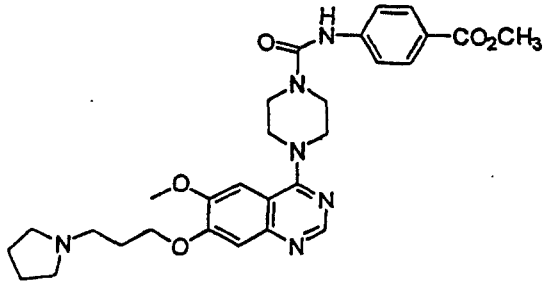
[4-(6-甲氧基-7-{3-[(2-甲基丙基)磺酰基]丙氧基}喹唑啉-4-基)哌嗪基]-N-[4-(甲基乙氧基)苯基]羧酰胺



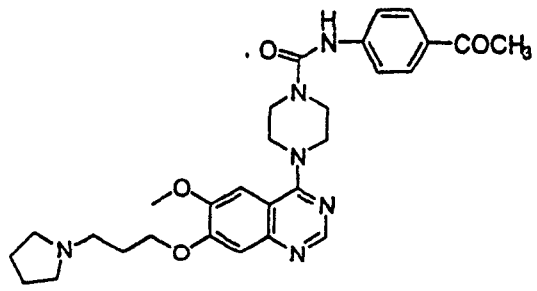
[4-{6-甲氧基-7-[3-(丙基磺酰基)丙氧基]喹唑啉-4-基}哌嗪基)-N-[4-(甲基乙氧基)苯基]羧酰胺



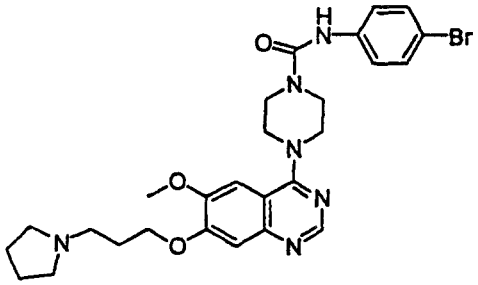
4-({4-[6-甲氧基-7-(3-吡咯烷基丙氧基)喹唑啉-4-基]哌嗪基}羰基氨基)苯甲酸甲酯



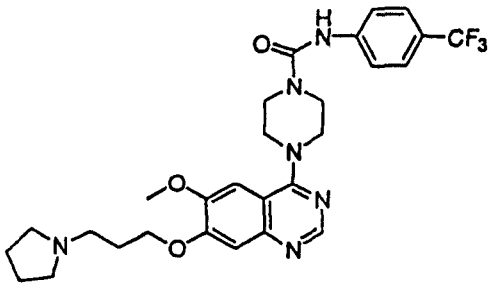
N-(4-乙酰基基苯基){4-[6-甲氧基-7-(3-吡咯烷基丙氧基)喹唑啉-4-基]哌嗪基}羧酰胺



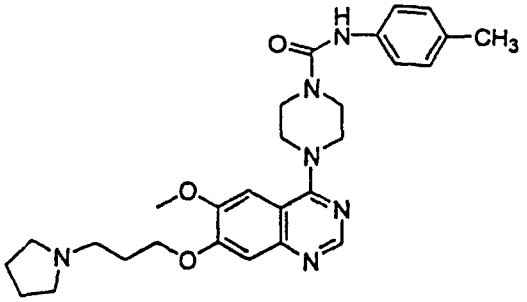
N-(4-溴苯基){4-[6-甲氧基-7-(3-吡咯烷基丙氧基)喹唑啉-4-基]哌嗪基}羧酰胺



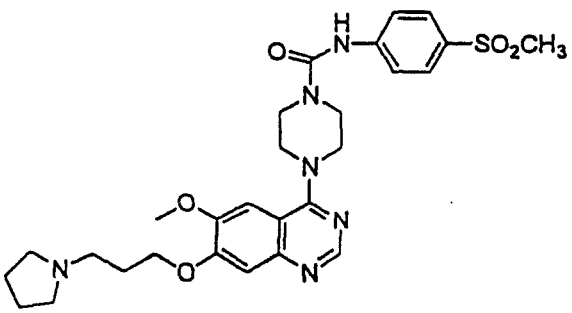
{4-[6-甲氧基-7-(3-吡咯烷基丙氧基)喹唑啉-4-基]哌嗪基}-N-[4-(三氟甲基)苯基]羧酰胺



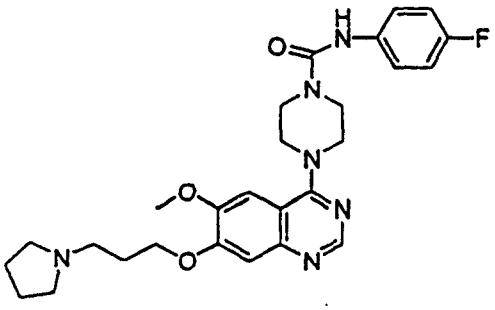
{4-[6-甲氧基-7-(3-吡咯烷基丙氧基)喹唑啉-4-基]哌嗪基}-N-(4-甲基苯基)羧酰胺



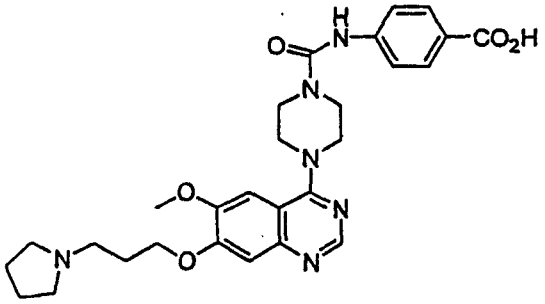
{4-[6-甲氧基-7-(3-吡咯烷基丙氧基)喹唑啉-4-基]哌嗪基}-N-[4-(甲基磺酰基)苯基]羧酰胺



N-(4-氟苯基){4-[6-甲氧基-7-(3-吡咯烷基丙氧基)喹唑啉-4-基]哌嗪基}羧酰胺



4-({4-[6-甲氧基-7-(3-吡咯烷基丙氧基)喹唑啉-4-基]哌嗪基}羰基氨基苯甲酸



化合物的制备

可按照 1998 年 9 月 12 日公开的 WO98/14431 所述的方法来制备本发明的化合物，起始物的制备或获取也如其所述。除了反应位点之外，可以根据需要采用诸如卤素、低级烷氧基、低级硫代烷基、低级烷基磺酰基氧基、芳基磺酰基氧基等离去基团进行保护，然后去保护。合适的氨基保护基可参见 T.W.Greene，《有机合成中的保护基》，John Wiley & Sons Inc.(1981)，例如乙氧基羰基，叔丁氧基羰基，乙酰基和苄基。保护基的引入和去除可参照有机合成化学领域的常规技术(例如，T.W.Greene，《有机合成中的保护基》，John Wiley & Sons Inc.(1981))。

在上述过程中，如果所定义的基团在反应条件下发生改变，或者不适合所采用的方法，则可采用有机合成化学领域引入和去除保护基的常规方法来制取所需的化合物(例如参见 T.W.Greene，《有机合成中的保护基》，John Wiley & Sons Inc.(1981)等)。取代基中官能团的转化，除上述方法之外，还可按已知方法进行(例如 R.C.Larock，《有机转化大观》(1989))，而且，某些式 I 所示的活性化合物可以作为中间体用于进一步合成新的式 I 所示其他衍生物。

以上过程中的中间体和所需化合物可用有机合成化学中的常规精制方法来分离和纯化，例如：中和，过滤，洗涤，干燥，浓缩，重结晶，以及各种层析法。所得中间体无需纯化即可直接用于下一步反应。

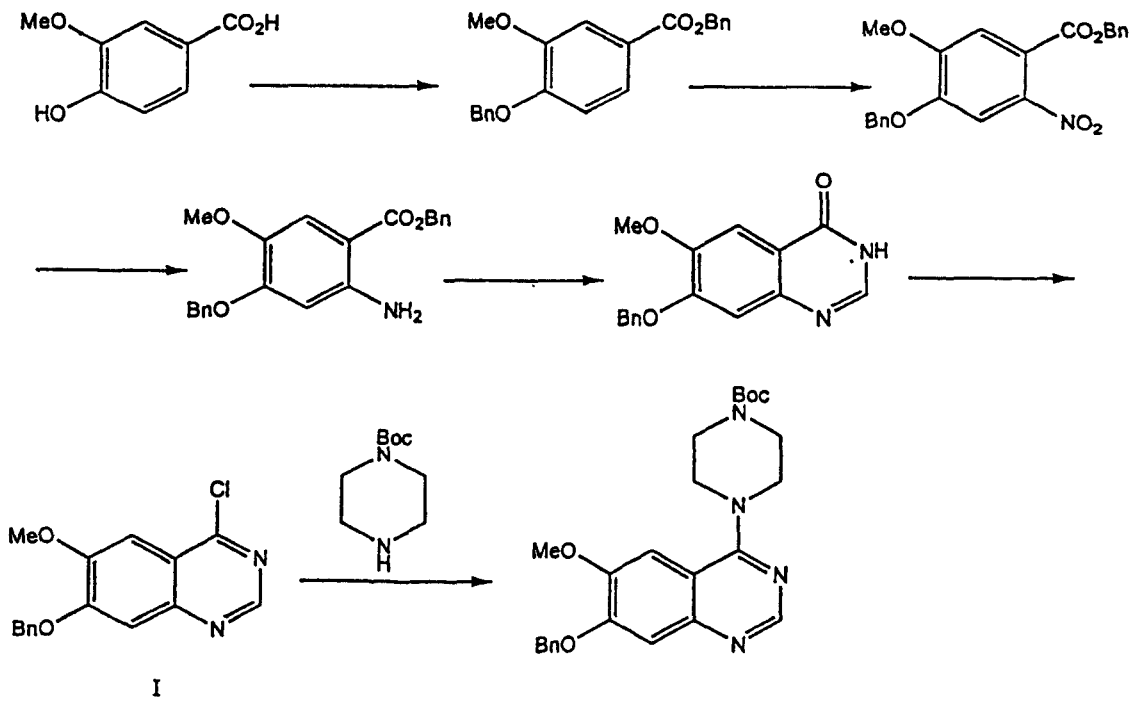
某些式 I 化合物可能存在互变异构体，本发明涵盖包括互变异构体及其混合

物在内的所有可能存在的异构体。如果因为有手性碳原子而存在两种不同的对映体，则本发明包括这两种对映体及其拆分方法。

如果所需的是式 I 化合物的盐，而产物形式正是这种盐，则可以直接纯化获取该盐。如果产物是式 I 化合物的游离形式，而所需的是其盐，则可将式 I 化合物溶解或悬浮在合适的有机溶剂中，然后加入酸或碱来成盐。

以下非限定性反应方案 I 和 II 是制备本发明化合物的优选实施方式。

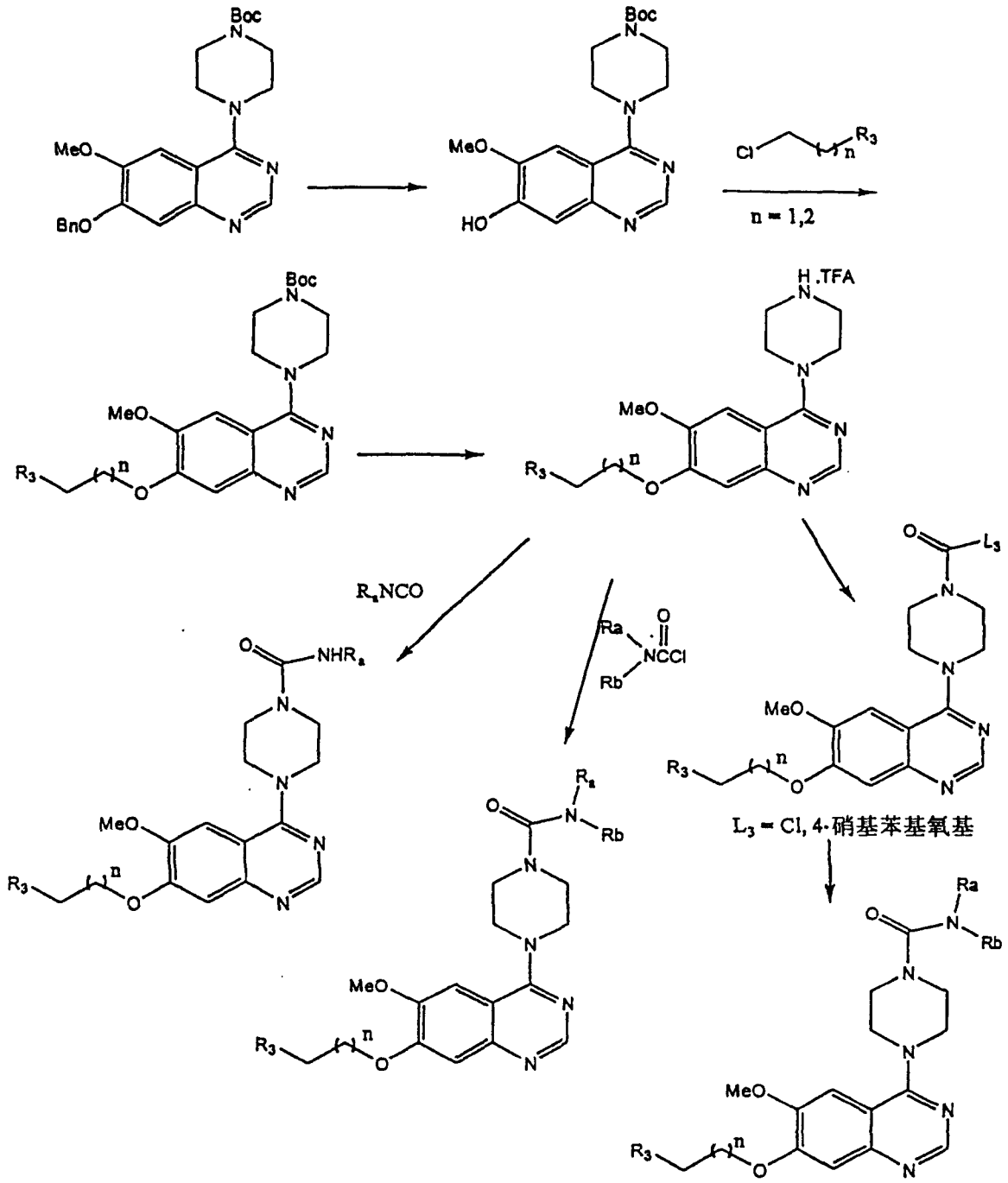
方案 I



I

以上合成叔丁基-4-[6-甲氧基-7-(苯基甲氧基)喹唑啉-4-基]-哌嗪羧酸酯化合物的方法提供了可用于合成各种前述式 I 化合物的中间体(可调整该过程来产生双环位置异构体)。将香草酸苄基化，然后用发烟硝酸在 100℃左右硝化。用氯化锡之类还原剂还原硝基，然后用甲酰胺之类碱进行高温一以 100-200℃为佳一环化，从而得到喹唑啉酮。用诸如亚硫酰氯、草酰氯和磷酰氯等卤化剂在诸如甲苯或四氯化碳等溶剂中处理喹唑啉酮，从而合成得到 4-Cl-喹唑啉。在合适的溶剂中，例如在异丙醇、乙腈或 THF 中，室温下或回流 1-6 小时，在三乙胺或吡啶类碱存在下，用 Boc-哌嗪处理 4-Cl-喹唑啉，于是得到所示中间体。

方案 II



方案 II 是由方案 I 或其他方法所得中间体合成各种取代脲中间体的方法。在氢化条件下将方案 I 所得中间体(或其双环位置异构体)去苄基，然后用各种取代卤代烷进行烷基化。用三氟乙酸去除 Boc 保护基，然后用各种异氰酸酯处理，从而获得最终的脲化合物。如果无法购得异氰酸酯，则可用光气处理哌嗪中间体，得到氨基甲酰氯中间体，然后与各种取代苯胺反应。也可以用氯甲酸对硝基苯酯处理哌嗪中间体，得到氨基甲酸硝基苯酯，然后可用各种苯胺处理从而获得所需的脲。如果所述脲化合物具有 NH_2 端基(或者，该氨基上的一个或多个氢原子被可置换的取代基所取代)，则该化合物可用作中间体来合成以-NH-苯基-R^1 封端的

脲化合物。或者，如果需要苯基上为另外的 R^1 基团，则可以在偶合后通过取代对位的可置换离去基团获得特定的式 I 所示 R^1 取代基。

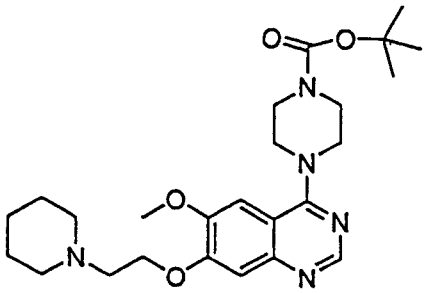
以上所述只是说明本发明制备所述化合物的优选实施方式。根据以上所述的反应方案和本发明化合物的结构，其他方法和调整对于本领域技术人员来说显而易见。这些方法都包括在本发明范围内。

而且，式 I 化合物及其药学上认可的盐可能以与水(水合物)或各种溶剂的加成物形式存在，这些也在本发明范围内。

以下非限定性实施例有助于更好地理解本发明。

实施例 1

按照方案 I 和 II 所示，制备中间体 4-[6-甲氧基-7-(2-哌啶基乙氧基)喹唑啉-4-基]-哌嗪羧酸叔丁酯：



步骤 A：向香草酸(25g，149mmol)的 DMF(300ml)溶液中加入 K_2CO_3(102.7g，744mmol，BnBr(44.2g，372mmol)，所得的悬浮液于室温下搅拌过夜。过滤反应混合物，加入 EtOAc，所得溶液用盐水洗涤，干燥，浓缩。经硅胶层析纯化得 55g(96%)中间体产物。MS(ES)349$(M+H)^+$。

步骤 B：-10℃，向步骤 A 所得苄基保护的产物(20g，57.4mmol)的 CH_2Cl_2 溶液(100ml)中缓慢加入乙酸(100ml)。向所得冷溶液中缓慢加入浓 HNO_3(25.8ml，574.4mmol)，让反应升至室温，然后在 100℃回流过夜。次日，将反应混合物倒入冰中，用 EtOAc 萃取产物，用盐水洗涤，用 $MgSO_4$ 干燥。真空挥发溶剂，得到所需中间体产物的黄色固体(21.8g，96.5%)。MS(ES)416(M+Na)。

步骤 C：向步骤 B 所得硝基化合物(10.9g，27.7mmol)的 EtOAc 溶液(100ml)中加入 $SnCl_2.H_2O$(18.7g，83.1mmol)，反应混合物在 50℃加热过夜。将反应混合物冷却后用硅藻土过滤，滤液用 10% $NaHCO_3$ 洗涤，用 EtOAc 萃取。干燥有机层，蒸发溶剂，得到中间体氨基化合物的棕色固体(9.5g，95%)。MS(ES)364(M+H)。

步骤 D：将步骤 C 所得氨基产物(3g，8.3mmol)溶于甲酰胺(20ml)，向其中加

入甲酸铵(781mg，12.4mmol)，反应混合物在 150℃加热 4 小时。期间，HPLC(高效液相层析)证实起始物完全耗尽，冷却后，将反应混合物倒入水中，得到奶油色沉淀。过滤收集沉淀，即为所需中间体，环化的 7-苄基氧基-6-甲氧基-4-喹唑啉酮(1.9g，81%)。MS(ES)283(M+H)。

步骤 E：7-苄基氧基-6-甲氧基-4-喹唑啉酮(1g，3.5mmol，步骤 D 所得)，亚硫酰氯(5ml)和 DMF(5 滴)的混合物加热回流 4 小时。冷却后，蒸发去除过量亚硫酰氯，所得残留物与甲苯共沸蒸馏，得到中间体 4-氯-6-甲氧基-7-苄基氧基喹唑啉黄色固体(652mg，62%)。MS(ES)301(M+H)。

步骤 F：向 4-氯-6-甲氧基-7-苄基氧基喹唑啉(1.8g，6mmol)的 THF(20ml)溶液中加入 Boc-哌嗪(2.2g，12mmol)，然后加入 DIEA(4.2ml，24mmol)，50℃加热反应过夜。蒸发去除溶剂，将残留物溶于水，用 EtOAc 萃取。EtOAc 层经干燥，过滤和蒸发，得中间体 4-[6-甲氧基-7-苯基甲氧基)喹唑啉-4-基]哌嗪羧酸叔丁酯白色固体(2.2g，81%)。MS(ES)451(M+H)。

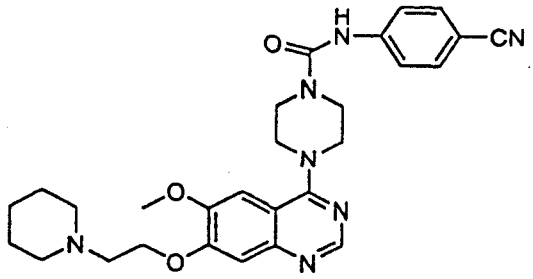
步骤 G：将步骤 F 所得苄基氧基化合物(500mg，1.1mmol)溶于 EtOH(5ml)，向其中加入 $Pd(OH)_2/C$(50mg)，将混合物在 50psi H_2 压力的 Parr 氢化仪上放置过夜。用硅藻土过滤反应混合物，用 EtOH 洗涤，蒸发溶剂，得去苄基化中间体(400mg，98%)。MS(ES)361(M+H)。

步骤 H：向 4-[6-甲氧基-7-苯基甲氧基)喹唑啉-4-基]哌嗪羧酸叔丁酯(1.8g，5mmol)和 Cs_2CO_3(3.3g，10mmol)的 DMF 溶液(10ml)中加入甲苯磺酸 1-氯乙酯(1.8ml，10mmol)。室温下搅拌反应过夜。蒸发溶剂，粗残留物经 RP-HPLC(反相高效液相层析)纯化得中间体 4-[6-甲氧基-7-(2-氯乙氧基)喹唑啉-4-基]哌嗪羧酸叔丁酯(850mg，40%)。MS(ES)423(M+H)。

步骤 I：向步骤 H 所得起始物(450mg，1.2mmol)的 DMF 溶液(10ml)中加入哌啶(1.2ml，12mmol)，80℃搅拌反应过夜。蒸发溶剂，粗残留物经 RP-HPLC 纯化得 4-[6-甲氧基-7-(2-哌啶基乙氧基)喹唑啉-4-基]哌嗪羧酸叔丁酯(310mg，55%)。MS(ES)472(M+H)。

实施例 2

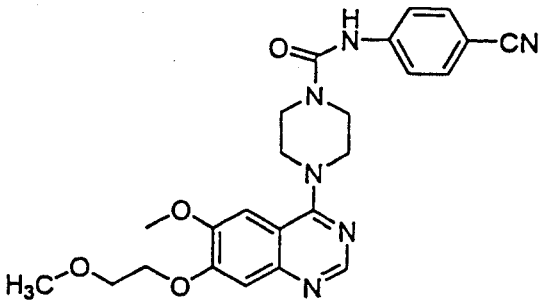
用实施例 1 所得中间体，按照方案 II 所示，制备 N-(4-氰基苯基){4-[6-甲氧基-7-(2-哌啶基乙氧基)喹唑啉-4-基]哌嗪}羧酰胺：



向 4-[6-甲氧基-7-(2-哌啶基乙氧基)喹唑啉-4-基]哌嗪羧酸叔丁酯(实施例 1 步骤 I 所得，111mg，0.3mmol)中加入 4N HCl/二噁烷(1ml)，室温下搅拌反应 1 小时。蒸发溶剂，与戊烷共沸蒸馏数次后得去 Boc 产物，即去除了 Boc 保护基的产物。向所得残留物中加入 DMF(2ml)，然后加入异氰酸 4-氰基苯酯(75mg，0.45mmol)，室温下搅拌反应过夜。蒸发溶剂，残留物经 RP-HPLC 纯化，得所需产物 N-(4-氰基苯基){4-[6-甲氧基-7-(2-哌啶基乙氧基)喹唑啉-4-基]哌嗪}羧酰胺白色固体(89mg，59%)。MS(ES)516(M+H)。

实施例 3-4

按照实施例 1 和 2 所述方法制备 N-(4-氰基苯基){4-[6-甲氧基-7-(2-(甲氧基)乙氧基)喹唑啉-4-基]哌嗪基}羧酰胺：



所不同的是用 1-溴乙基甲基醚取代甲苯磺酸 1-氯乙酯作为烷化剂，得率与实施例 1 和 2 相近。

根据以下实施例所述的试验测定了本发明化合物的药学活性。

生物学试验 1

化合物对血小板衍生类生长因子β-PDGF 受体自磷酸化的抑制作用

(1) HR5 磷酸化试验

HR5 细胞系是一个经基因工程处理而过量表达人β-PDGFR 的 CHO 细胞系，可以向 ATCC 获取。HR5 细胞系内β-PDGFR 的表达水平约为 5×10^4 受体/细胞。

为了进行本发明的磷酸化试验，在标准组织培养条件下将 HR5 细胞在 96 格微滴板上培养至铺满，然后无血清培养 16 小时。37℃，不加待测化合物，或逐步升高待测化合物浓度(0.01-30μM)，培养静息细胞 30 分钟，然后加入 8nM PDGF BB 培养 10 分钟。在 100mM Tris，pH7.5，750mM NaCl，0.5%Triton X-100，10mM 焦磷酸钠，50mM NaF，10μg/ml 抑蛋白酶肽，10μg/ml 亮抑蛋白酶肽，1mM 苯基甲基磺酰氟，1mM 钒酸钠中裂解细胞，15,000×g 离心 5 分钟以澄清裂解液。将澄清后的裂解液转移到另一微滴板上，板上各格中已预涂了 500ng/格的 1B5B11 抗β-PDGFR mAb，室温下孵育 2 小时。用结合缓冲液(0.3%明胶，25mM Hepes pH7.5，100mM NaCl，0.01%Tween-20)洗涤 3 次，然后加入 250ng/ml 兔多克隆抗磷酸酪氨酸抗体(Transduction Laboratory)，37℃孵育 60 分钟。然后，各格用结合缓冲液洗涤 3 次，与 1μg/ml 辣根过氧化物酶偶联的抗兔抗体(Boehringer Mannheim)一起 37℃孵育 60 分钟。各格洗涤后加入 ABTS(Sigma)，在 650nm 处监测底物形成速度。实验结果以与不接触本发明化合物的对照细胞相比的 IC_{50} 表示(表示本发明化合物抑制 50%的 PDGF 受体磷酸化时的浓度)，并。

本发明化合物在 HR5 试验中测得的 IC_{50} 值列于表 1。

(2) MG63 磷酸化试验

MG63 细胞系是一个人骨肉瘤肿瘤细胞系，可向 ATCC 获取。本试验测定的是 MG63 细胞内内源性β-PDGFR 磷酸化作用。试验条件与 HR5 细胞试验相同，不同的是在有或没有 45%人血浆存在下给予 PDGF-BB 刺激。HR5 试验的结果以与不接触本发明化合物的对照细胞相比的 IC_{50} 表示(表示本发明化合物抑制 50%的 PDGF 受体磷酸化时的浓度)。

本发明化合物在 MG63 试验中测得的 IC_{50} 值列于表 1。

以下表 1 中是实施例 2 和 4 化合物的试验结果。

表 1

实施例化合物	MG63w/人血浆 IC_{50}(μM)	HR5
实施例 2	0.080	0.360
实施例 4	0.700	1.5

生物学试验 2

对平滑肌细胞的生长抑制

由猪的大动脉分离血管平滑肌细胞用于试验。将细胞加入 96 格微滴板的各格中(8000 细胞/格)，在 Dulbeccois 改进的 Eagle 氏培养基(DMEM；Nissui

Pharmaceutical Co., Ltd.)中培养 4 天。然后，再在含 0.1% FBS 的 DMEM 中培养 3 天，在细胞生长稳定期进行同步化。

向各格中加入含 0.1% FBS 的 DMEM 和不同浓度的待测样品，用 PDGF-BB(Sigma，终浓＝20ng/ml)诱导细胞生长。培养 3 天后，用细胞生长试验试剂盒(Boehringer Mannheim)按照 XTT 法(免疫学方法杂志，142，257-265(1991))测定细胞生长，用以下公式计算细胞生长分数：

细胞生长分数＝100×{1-(M-PO)/(P100-PO)}

其中，P100＝受 PDGF-BB 刺激时 XTT 试剂的吸光度；PO＝无 PDGF-BB 刺激时 XTT 试剂的吸光度；M＝加样品后受 PDGF-BB 刺激时 XTT 试剂的吸光度。

实验结果用待测化合物抑制 50%细胞生长时的浓度表示(IC_{50})。

生物学试验 3

对血管内膜肥厚的抑制作用

用戊巴比托钠麻醉(50mg/kg，i.p.)雄性 SD 大鼠(体重 375-445g，Charles River，golden standard)，沿中线切开颈部，在左外颈动脉内逆向插入气球插管(2F，Edwards Laboratory)。以上处理重复 7 次后，抽出插管，连接左外颈动脉，缝合创口。如欲腹膜内给药，将待测化合物悬浮在 0.5%Tween80 的氯化钠水溶液中至浓度为 20mg/ml，如欲经口给药，则将待测化合物悬浮于 0.5%甲基纤维素 400 的 NaCl 溶液中至浓度为 6mg/ml。如果是腹膜内给药，每日给予悬浮液 1 次，如果是经口给药，则每日 1-2 次，自气球插管手术前一天开始，持续 15 天。气球手术后的第 14 天，将大鼠杀死，摘取其左颈动脉。用福尔马林固定组织，石蜡包封后切片，然后进行 Elastica Wangeeson 染色。用图像分析仪(Luzex F, NIRECO)测定血管组织(内膜和中膜)截面面积，以内膜/中膜面积比(I/M)表征血管内膜肥厚程度。

所得结果显示，本发明化合物显著抑制血管内膜肥厚。

生物学试验 4

用大鼠佐剂关节炎模型进行的评价

用玛瑙验钵将分支杆菌(Difco Laboratories Inc.)死细胞磨碎，悬浮在液体石蜡中，至最终浓度为 6.6mg/ml，然后进行高压蒸气消毒。然后，给雌性 8 周龄 Lewis 大鼠(Charles River Japan)(6 只一组)右后足垫皮下注射 100ml 该悬浮液以诱导佐剂关节炎。将待测化合物悬浮于 0.5%甲基纤维素溶液至 3mg/ml，从临诱导前开始，每日一次经口给予 100ml/g 体重该悬浮液，一周 5 日。对照组仅给予 0.5%甲基纤

维素溶液。正常组不给予佐剂或待测化合物。待测化合物给药持续到佐剂诱导后第 18 天。在第 17 天，计数外周血中的白细胞数，在第 18 天，收集全血，然后解剖。

测定和评价体重随时间的变化，后足水肿随时间的变化，脾和胸腺重量，外周血白细胞数，尿中羟脯氨酸含量，尿中葡糖氨基聚糖含量，血清 SH 浓度，血清一氧化氮浓度和血清粘蛋白浓度。用大鼠后足水肿测定仪(TK-101, Unicom)测定两后足的体积。用自动多道血细胞计数仪(Sysmex K-200, Toa Iyo Denshi Co., Ltd.)计数外周血白细胞数。按 Ikeda 等在 Tokyo Metropolitan Research Laboratories P.H.年度报告，36，277(1985)所述的方法测定尿中羟脯氨酸含量，按 Moriyama 等，Hinyo Kiyo, 40, 565(1994)和 Klompmakers 等，《分析生物化学》，153，80(1986)所述的方法测定葡糖氨基聚糖含量。按 Miesel 等《炎症》，17，595(1993)所述方法测定血清 SH 浓度，按 Tracey 等，《药学和实验治疗学杂志》272，1011(1995)所述方法测定血清一氧化氮浓度。用 Aspro GP 试剂盒(Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd.)测定粘蛋白浓度。按照以下公式计算抑制百分比：

%抑制＝{(对照组-化合物处理组)/(对照组-正常组}×100

以上试验所得结果显示，本发明化合物可抑制佐剂关节炎的发生。

生物学试验 5

对肾小球膜增殖性肾小球肾炎模型的活性

给雄性 Wister-Kyoto 大鼠(Charles River Japan, 160g，6 只一组)尾静脉注射 1.0mg/kg 抗大鼠 Thy-1.1 单克隆抗体 OX-7(Sedaren)。将待测化合物悬浮于 0.5%甲基纤维素溶液中，每日两次给大鼠注射所得悬浮液，从给予 OX-7 的前一天开始，持续 7 天。给予 OX-7 后第 7 天，当肾小球膜细胞生长和胞外基质肥厚变得明显时，摘取左肾，用 20%缓冲福尔马林固定 6 小时，然后石蜡包封，切片。用抗增殖细胞核内抗原的抗体 PC10(DAKO)对所得切片进行免疫组织染色。用二氨基联苯胺作为展色剂用 Methyl Green 溶液进行对比染色后，将石蜡切片密封。在一肾切片中可观察到半个肾小球，计数一个肾小球内的增殖细胞核内抗原阳性细胞数。用 Wilcoxon 试验评价差异显著性。

结果显示，本发明化合物能够缓解肾小球膜增殖性肾小球肾炎。

式 I 化合物及其药学上认可的盐可以原形直接给药，但通常以人用和兽用药物组合物形式给药为佳。

给药途径优选疗效最佳的。例如，给药途径可以是口服或直肠内、口内、皮下、肌内或静脉内等非口服途径。

剂型可例如胶囊、片剂、颗粒剂、粉剂、糖浆、乳液、栓剂和注射剂。

配制适合口服的液体组合物，例如乳液和糖浆，可采用水，蔗糖、山梨糖和果糖等糖，聚乙二醇和丙二醇等多元醇，芝麻油、橄榄油和大豆油等油，苯甲酸之类防腐剂，草莓香精和薄荷等调味剂等。

制备胶囊，片剂，粉剂和颗粒剂所用的赋形剂有例如乳糖，葡萄糖，蔗糖和甘露糖，淀粉和藻酸钠等崩解剂，硬脂酸镁和滑石粉等润滑剂，聚乙烯醇、羟丙基纤维素和明胶等粘合剂，脂肪酸酯等表面活性剂，甘油等增塑剂，等等。

非口服组合物最好包含消毒过的水性制剂，其中含有与受主血液等渗的活性化合物。例如，可用含有盐溶液，葡萄糖溶液或盐溶液和葡萄糖溶液混合物的载体来制备注射剂。

局部用组合物可通过将活性化合物溶于或悬浮于一种或多种溶剂中来制备，所述溶剂例如矿物油，凡士林和多元醇，或是其他用于局部用药的基质。

肠内给药的组合物可用诸如可可脂、氢化脂肪和氢化脂肪羧酸等常用载体来制备，并制成栓剂。

非口服组合物还可以包含一种或多种以下常用于制备口服组合物的添加剂：乙二醇，油，调味剂，防腐剂(包括抗氧化剂)，赋形剂，崩解剂，润滑剂，粘合剂，表面活性剂和增塑剂。

每一种式 I 化合物或其药学上认可的盐的有效量和给药方案取决于给药途径，患者年龄和体重，疾病类型和程度。然而，一般说来，式 I 化合物或其药学上认可的盐的适当剂量约为 0.01-1000mg/成人/日，以 5-500mg/成人/日为佳，可以一次或分次给予。

本发明的化合物都可以直接作为激酶抑制剂用于治疗哺乳动物激酶依赖性疾病，尤其是与酪氨酸激酶相关的疾病。尤其好的是 IC_{50} 为 10nM-10μM 的化合物，10nM-1μM 的更好，小于 1μM 的最好。

可以选择对三种蛋白质激酶(例如，催化酪氨酸磷酸化的激酶，催化酪氨酸和苏氨酸磷酸化的激酶，和催化苏氨酸磷酸化的激酶)之一具有特异性抑制活性的本发明具体化合物。酪氨酸激酶依赖性疾病包括因酪氨酸激酶活性异常导致或维持的超增殖性机能不良，例如牛皮癣，肺纤维化，肾小球肾炎，癌症，动脉硬化和抗血管生成(例如肿瘤生长和糖尿病性肾病)。目前尚不完全清楚其他激酶与特定疾病之间的关联性。然而，具有特异性 PTK 抑制性的化合物具有治疗效用。还发现，其他激酶也一样。槲皮素，染料木苷和十字孢碱都是 PTK 抑制剂，它们能够抑制除酪氨酸激酶以外的多种蛋白质激酶。然而，因为它们没有特异性，所以

毒性很高。所以，用测定细胞毒性的常规试验可鉴定出因没有特异性而会造成不良副作用的 PTK 抑制剂(或其他激酶的抑制剂)。

根据以上所述可以确信本领域普通技术人员能够实施本发明。以上实施例没有限定意义，因为本领域普通技术人员根据本文所述很容易预见到符合本发明总旨的其他改换和变化形式。这些改换和变化都属于本发明范围之内。

虽然以上为了有助于清楚地理解本发明而对其进行了详细的描述，但对本领域普通技术人员来说显而易见的是在本发明范围内，根据本发明构思，还包涵着许多修改形式和等效形式。应当认为，以上论述和实施例只是对优选实施方式的详细描述。前文中引述的专利、杂志论文等文献都为本发明全文参考引用。