



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102918029 B

(45) 授权公告日 2015.06.17

(21) 申请号 201180023195.6

(22) 申请日 2011.05.17

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2012.11.09

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/CN2011/074165 2011.05.17

(87) PCT国际申请的公布数据
W02012/155339 ZH 2012.11.22

(73) 专利权人 江苏康缘药业股份有限公司
地址 222047 江苏省连云港市经济技术开发
区泰山北路 58 号

(72) 发明人 沈旺 萧伟 满杰克 张爱民
郑晓玲 王振中 郭庆明 李瑛光

(74) 专利代理机构 北京集佳知识产权代理有限
公司 11227
代理人 冯琼

(51) Int. Cl.
C07D 239/94(2006.01)
A61K 31/517(2006.01)
A61P 35/02(2006.01)
A61P 35/04(2006.01)

(56) 对比文件

CN 1310713 A, 2001.08.29, 全文.
WO 9630347 A1, 1996.10.03, 全文.
WO 9738973 A1, 1997.10.23, 全文.
CN 1867564 A, 2006.11.22, 全文.
WO 0250043 A1, 2002.06.27, 全文.
Rodolfo E Bordoni. Afatinib (BIBW-2992):
a novel dual EGFR/HER2neu inhibitor with
promising activity in non-small-cell lung
cancer. 《Therapy》. 2011, 第 8 卷 (第 1 期), 第
15 - 22 页.

审查员 辜艳

权利要求书2页 说明书18页

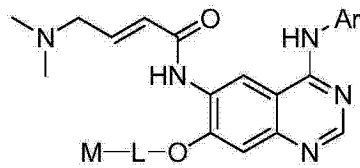
(54) 发明名称

4- 苯胺 -6- 丁烯酰胺 -7- 烷醚喹唑啉衍生物
及其制备方法和用途

(57) 摘要

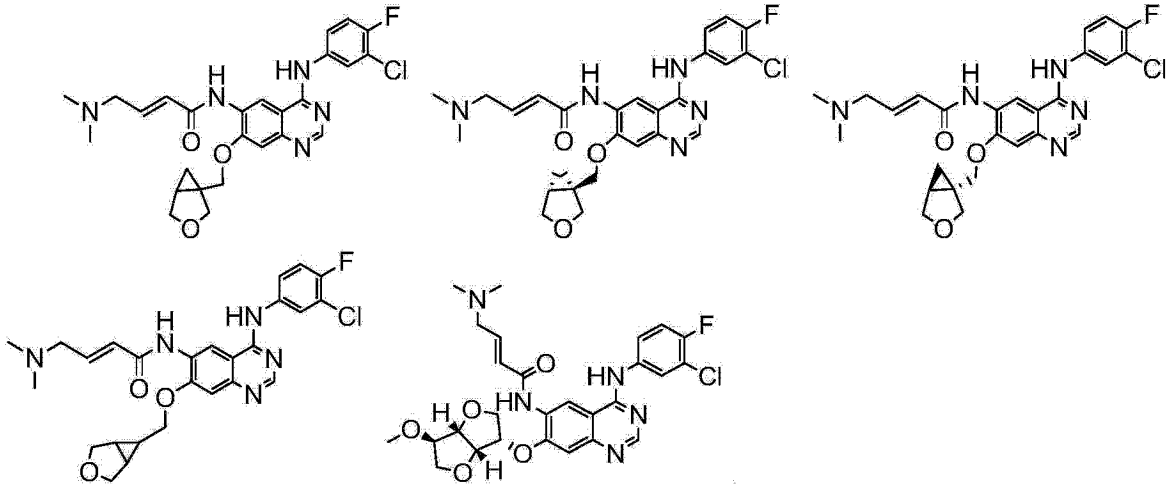
4- 苯胺 -6- 丁烯酰胺 -7- 烷醚喹唑啉衍生物
及其制备方法, 含有该衍生物的药物组合物, 以及
其在制备用于治疗与酪氨酸蛋白激酶有关疾病的
药物中的用途。所述疾病包括乳腺癌、结肠直肠癌、肺癌等。

1. 式 (I) 所示化合物：



式 (I)

或其药学上可接受的盐，
其具有以下之一的结构：



2. 根据权利要求 1 所述的化合物，其特征在于，所述药学上可接受的盐为上述化合物与以下的酸形成的盐：苹果酸，乳酸，马来酸，富马酸，琥珀酸，盐酸，甲磺酸，甲苯磺酸，苯磺酸，硫酸，磷酸，柠檬酸，酒石酸，乙酸，丙酸，辛酸，己酸，苯甲酸。

3. 一种药物组合物，包含根据权利要求 1 所述的化合物或其药学上可接受的盐，及其药学上可接受的载体，赋形剂，稀释剂，辅剂，媒介物，或它们的组合。

4. 权利要求 1 或 2 所述化合物或权利要求 3 所述药物组合物在制备治疗与受体酪氨酸蛋白激酶有关疾病的药物或受体酪氨酸蛋白激酶抑制剂的用途。

5. 根据权利要求 4 所述的用途，其特征在于，所述受体酪氨酸蛋白激酶有关疾病包括但不限于：乳腺癌，结肠直肠癌，肺癌，乳头状癌，前列腺癌，淋巴瘤，结肠癌，胰腺癌，卵巢癌，子宫颈癌，中枢神经系统癌，成骨肉瘤，肾癌，肝癌，膀胱癌，胃癌，头或颈鳞癌，黑色素瘤和白血病。

6. 权利要求 1 所述化合物的制备方法，包括下列步骤：

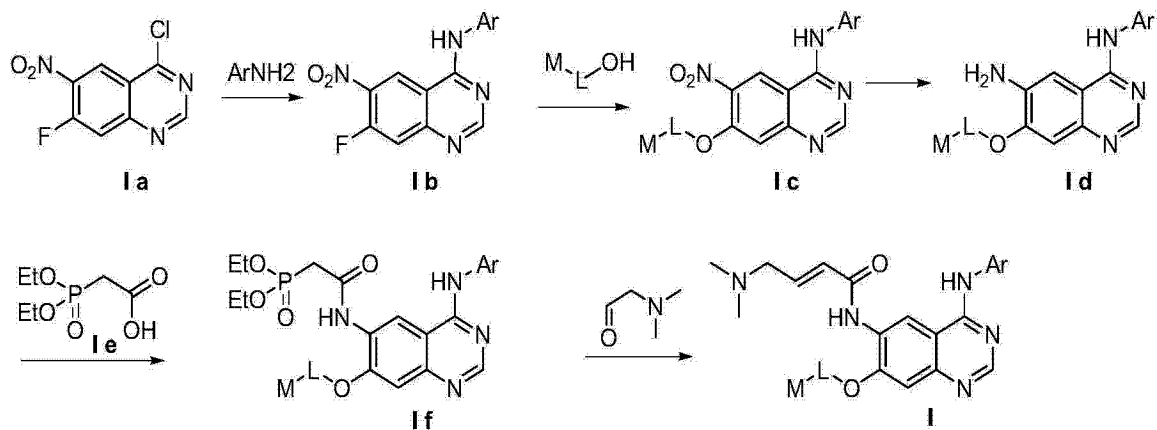
步骤 1：化合物 Ia 与苯胺化合物 ArNH_2 进行取代反应得到化合物 Ib；

步骤 2：醇 M-L-OH 用强碱处理后加入化合物 Ib 得到化合物 Ic；

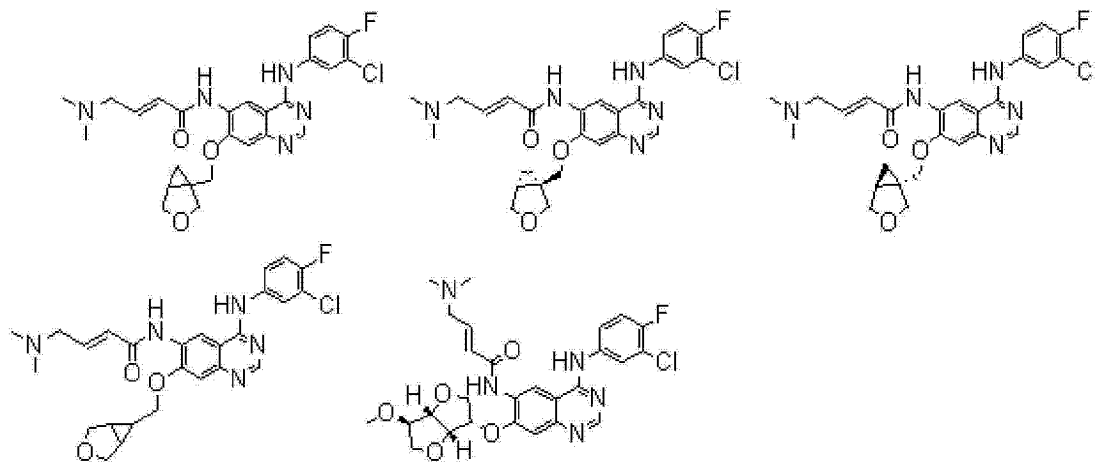
步骤 3：化合物 Ic 发生还原反应生成 Id；

步骤 4：Id 与酸 Ie 偶联试剂作用下进行酰胺化反应生成化合物 If；

步骤 5：化合物 If 和 2-二甲胺乙醛进行维悌希反应生成通式 (I) 化合物；



其具有以下之一的结构：



7. 根据权利要求 6 所述的制备方法,其特征在于,步骤 2 所述强碱为氢氧化钠。

8. 根据权利要求 6 所述的制备方法,其特征在于,步骤 3 所述还原为铂-碳催化氢化,铁粉-酸催化。

4-苯胺-6-丁烯酰胺-7-烷酰喹啉生物及其制备方法和用途

技术领域

[0001] 本发明涉及医药领域,特别涉及 4-苯胺-6-丁烯酰胺-7-烷酰喹啉类生物及其制备方法及其含有该生物的药物组合物以及其作为治疗剂特别是作为 erbB 家族蛋白酪氨酸激酶 (PTK) 抑制剂的用途。

背景技术

[0002] 细胞信号传导是一种基础的作用机制。在信号传导过程中,来自细胞外的刺激被传递到细胞内部,进而调节细胞的不同过程。这些受信号调节的过程包括细胞增殖、分化、凋亡和运动等。很多信号传递是通过生长因子与 PTK 跨膜受体酪氨酸蛋白激酶 (RTK) 结合来调节细胞内的过程。

[0003] 许多 RTK 的不适当的或不受控制的激活,即异常的 RTK 活性,例如过高的表达或突变将导致细胞生长或分化等不受正常的控制,从而导致疾病。已知因 RTK 异常活性所导致的疾病有牛皮癣,类风湿关节炎,多种癌症,以及血管生成、粥样动脉硬化等疾病。RTK 有多个亚族,其中一个亚族是 erbB 激酶家族,成员包括 EGFr (又名 ErbB1)、HER2 (又名 ErbB2)、HER3 (又名 ErbB3) 和 HER4 (又名 ErbB4)。这些 RTK 由细胞外糖基化配体结合域、跨膜域和可将蛋白质上酪氨酸序列进行磷酸化的细胞内细胞质催化域组成。其中 HER3 不含有能将蛋白质上酪氨酸序列进行磷酸化的细胞内细胞质催化域。RTK 的催化活性可通过受体过度表达或配体介导二聚合而激活。ErbB 家族 RTKs 聚合体有同型二聚体和异型二聚体两种形式。同型二聚体一个例子为 EGFr 和 EGF 家族配体 (包括 EGF、转化生长因子、betacellulin、epiregulin 等) 的聚合。ErbB 家族 RTKs 之间的异体二聚合可通过 heregulin (又名 neuregulin) 家族配体结合而加速。HER3 虽然没有受体激酶活性,但其与 HER2 或 HER4 的异型二聚可显著刺激受体激酶的聚合及酪氨酸磷酸化催化活性。研究发现 EGFr 的过度激活与一些过度增生的疾病如非小细胞肺癌、膀胱癌、头颈部癌,脑癌等有潜在的关系,而增强的 HER2 活性已经涉及到乳房癌、子宫癌、卵巢癌、胃癌及胰腺癌等癌症。因此抑制 erbB 家族 RTKs 可以提供以异常 erbB 家族 RTK 活性为特征的疾病的治疗。已有多篇文献讨论 erbB 家族 RTK 的生物学作用,及其与各种疾病的关系,如以下文献和专利:Reid, A., et al. Eur. J. Cancer, 2007, 43, 481; Doebele, R. C., et al. Lung Cancer. 2010, 69, 1-12; Ocana, A.; Amir, E. Cancer Treat Rev. 2009, 35, 685-91; Minkovsky, N. et al. Current Opinion in Investigational Drugs 2008, 9, 1336-1346; W02002/66445, W01999/09016, US06627634 等。

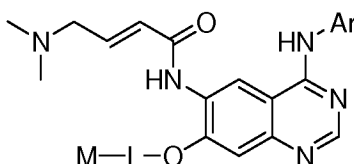
[0004] 许多专利文献中讨论了 RTK 抑制剂或喹啉生物的相关技术,如 W09630347 (中国专利申请 CN96102992.7) 涉及一些 4-苯基胺喹啉类化合物用于治疗过度增生疾病。W09738973 (中国专利申请 CN97194458) 和 W02009/140863 (中国专利申请 CN2009000557) 公开了作为酪氨酸激酶不可逆抑制剂的制备和药物用途。W00006555 (中国专利申请 CN99808949) 公布了有关取代的喹啉生物具有抑制 RTK 活性的功能。W09935146 (中国

专利申请 CN99803887) 披露了一系列的二环芳香杂环包括喹唑啉化合物为 RTK 激酶抑制剂。另外, 中国专利申请如 CN01817895, CN93103556, CN98807303, CN96193526, CN01812051, CN99803887, CN0410089867, CN03811739; 美国专利如 US5521884, US6894051, US6958335, US5457105, US5616582, US5770599, US5747498, US6900221, US6391874, US6713485, US6727256, US6828320, US7157466 中均提及多种喹唑啉类化合物具有抑制多种 RTK 活性的功能。已经有数个喹唑啉类激酶抑制剂药物被美国、欧洲等多个国家和地区批准上市用于治疗癌症, 例如 Gefitinib(商品名 Irresa), Erlotinib(商品名 Tarceva), Lapatinib(商品名 Tykerb) 等。随着生物机理的研究、医学诊断和肿瘤治疗水平的不断提高, 对增生类疾病, 尤其是肿瘤的治疗趋向于细化、靶向化和病人个体化。因此开发疗效明确、靶向性高的抗增生类疾病和癌症的化合物仍然是临床应用所急需。

发明内容

[0005] 本发明的目的在于提供通式 (I) 所示的新的喹唑啉类化合物, 或其立体异构体、几何异构体、互变异构体、水合物、溶剂化物、多晶型物、代谢产物、药学上可接受的盐或前药,

[0006]



通式 (I)

[0007] 其中 :Ar 是被取代的单环苯基或单环芳香杂环基, 可以被 0-4 个卤素, 三氟甲基, 三氟甲氧基, C₁₋₃烷基, 乙炔基, 乙烯基, C₁₋₃烷氧基, 或 O(CH₂)_nAr¹所取代, 其中 n 是 0 或 1;

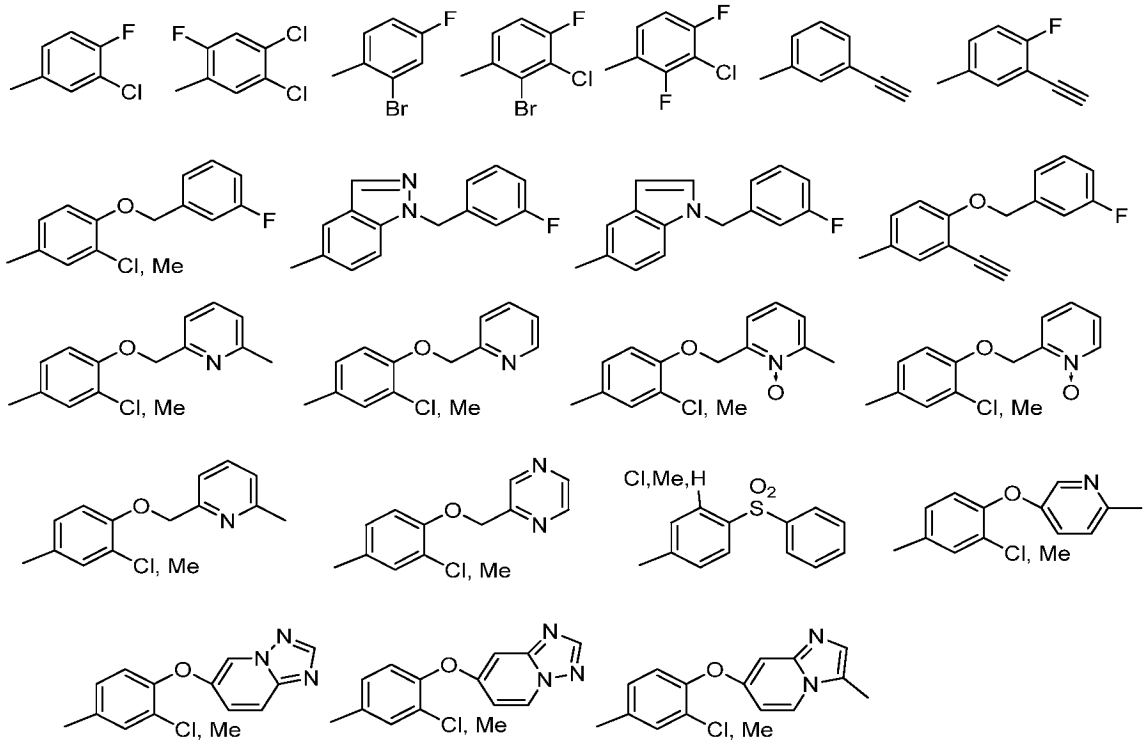
[0008] Ar¹选自单环芳香环或 5-6 元芳香杂环, 并且芳香环或芳香杂环可以被 0-3 个卤素, 三氟甲基, 三氟甲氧基, C₁₋₃烷基, C₂₋₃炔基, C₂₋₃烯基, C₁₋₃烷氧基所取代;

[0009] L 选自 (CH₂)_m, 其中 m 是 0 或 1;

[0010] M 是一个 6-10 元双环烷基杂环, 杂环内含一个或多个 O, N, 或 S 原子, 并且杂环上可以进一步被一个或多个卤素, C₁₋₃烷基, 羟基, 或 C₁₋₃烷氧基所取代。

[0011] 进一步, 通式 (I) 中优选的 Ar 如下:

[0012]



[0013] 具体地, 通式 (I) 所述的化合物或其盐包括, 但不限于表 1 所述化合物:

[0014]

序号	结构式	中文名	英文名
1		(E)-N-(7-(((3R,3aS,6S,6aS)-六氢-3-甲氧基呋喃[3,2-b]呋喃-6-基氧基)-4-(3-氯-4-氟苯胺基)喹唑啉-6-基)-4-(二甲基胺基)丁-2-烯酰胺	(E)-N-(7-(((3R,3aS,6S,6aS)-hexahydro-3-methoxyfuro[3,2-b]furan-6-yloxy)-4-(3-chloro-4-fluorophenylamino)quinazolin-6-yl)-4-(dimethylamino)but-2-enamide
2		(E)-N-(7-(((3-氧-双环[3.1.0]己烷-6-基)甲氧基)-4-(3-氯-4-氟苯胺基)喹唑啉-6-基)-4-(二甲基胺基)丁-2-烯酰胺	(E)-N-(7-(((3-oxa-bicyclo[3.1.0]hexan-6-yl)methoxy)-4-(3-chloro-4-fluorophenylamino)quinazolin-6-yl)-4-(dimethylamino)but-2-enamide
3		(E)-N-(7-(((1S,5S)-3-氧-双环[3.1.0]己烷-1-基)甲氧基)-4-(3-氯-4-氟苯胺基)喹唑啉-6-基)-4-(二甲基胺基)丁-2-烯酰胺	(E)-N-(7-(((1S,5S)-3-oxa-bicyclo[3.1.0]hexan-1-yl)methoxy)-4-(3-chloro-4-fluorophenylamino)quinazolin-6-yl)-4-(dimethylamino)but-2-enamide
4		(E)-N-(7-(((1R,5R)-3-氧-双环[3.1.0]己烷-1-基)甲氧基)-4-(3-氯-4-氟苯胺基)喹唑啉-6-基)-4-(二甲基胺基)丁-2-烯酰胺	(E)-N-(7-(((1R,5R)-3-oxa-bicyclo[3.1.0]hexan-1-yl)methoxy)-4-(3-chloro-4-fluorophenylamino)quinazolin-6-yl)-4-(dimethylamino)but-2-enamide
5		(E)-N-(7-(((3-氧-双环[3.1.0]己烷-1-基)甲氧基)-4-(3-氯-4-氟苯胺基)喹唑啉-6-基)-4-(二甲基胺基)丁-2-烯酰胺	(E)-N-(7-(((3-oxa-bicyclo[3.1.0]hexan-1-yl)methoxy)-4-(3-chloro-4-fluorophenylamino)quinazolin-6-yl)-4-(dimethylamino)but-2-enamide

[0015] 其中,所述的盐为上述化合物与以下的酸形成的盐:苹果酸,乳酸,马来酸,富马酸,琥珀酸,盐酸,甲磺酸,甲苯磺酸,苯磺酸,硫酸,磷酸,柠檬酸,酒石酸,乙酸,丙酸,辛酸,己酸,苯甲酸。

[0016] 本发明的一个方面是提供一种药物组合物,含有通式(I)所示的化合物,或其药学上可接受的盐或其前药和药学上可接受的载体或赋形剂以及其在制备治疗与受体酪氨酸蛋白激酶有关的疾病的药物或受体酪氨酸蛋白激酶抑制剂特别是作为 erbB 家族受体酪氨酸蛋白激酶抑制剂的用途。所述受体酪氨酸蛋白激酶有关疾病包括但不限于乳腺癌,结肠直肠癌,肺癌,乳头状癌,前列腺癌,淋巴瘤,结肠癌,胰腺癌,卵巢癌,子宫颈癌,中枢神经系统癌,成骨肉瘤,肾癌,肝癌,膀胱癌,胃癌,头或颈鳞癌,黑色素瘤和白血病。

[0017] 本发明的另一个方面是提供一种受体蛋白质酪氨酸激酶(RTK)调节方法,包括使RTK和通式(I)的化合物或其药学上可接受的盐相结合。

[0018] 本发明的另一个方面是提供一种制备通式(I)化合物的方法。所述方法包括下列

步骤：

[0019] 步骤 1 :化合物 Ia 与苯胺化合物 ArNH₂进行取代反应得到化合物 Ib ；

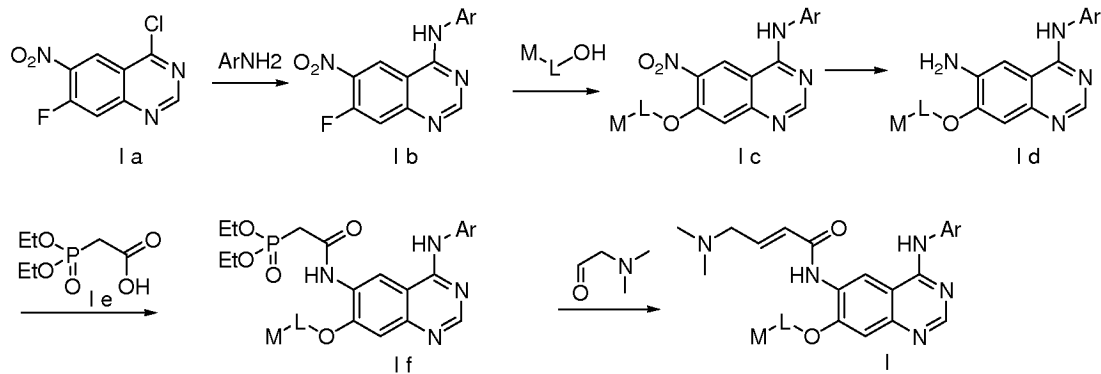
[0020] 步骤 2 :醇 M-L-OH 用强碱处理后加入化合物 Ib 得到化合物 Ic ；

[0021] 步骤 3 :化合物 Ic 发生还原反应生成 Id ；

[0022] 步骤 4 :Id 与酸 Ie 在偶联试剂作用下进行酰胺化反应生成化合物 If ；

[0023] 步骤 5 :化合物 If 和 2- 二甲胺乙醛进行维梯希反应生成通式 (I) 化合物 ；

[0024]



[0025] 其中, Ar 是被取代的单环苯基或单环芳香杂环基, 可以被 0-4 个卤素, 三氟甲基, 三氟甲氧基, C₁₋₃烷基所取代, 乙炔基, 乙烯基, C₁₋₃烷氧基, 或 O(CH₂)_nAr¹所取代, 其中 n 是 0 或 1 ；

[0026] Ar¹选自单环芳香环或 5-6 元芳香杂环, 并且芳香环或芳香杂环可以被 0-3 个卤素, 三氟甲基, 三氟甲氧基, C₁₋₃烷基, C₂₋₃炔基, C₂₋₃烯基, C₁₋₃烷氧基所取代 ；

[0027] L 选自单键或 CH₂；

[0028] M 是一个 6-10 元双环烷基杂环, 杂环内含一个或多个 O, N, 或 S 原子, 并且杂环上可以进一步被一个或多个卤素, C₁₋₃烷基, 羟基, 或 C₁₋₃烷氧基所取代。

[0029] 作为优选, 步骤 2 所述强碱为氢氧化钠 ; 更优选的, 步骤 3 所述还原为铂 - 碳催化氢化, 铁粉 - 酸催化。

[0030] 4- 氯喹啉化合物 Ia (文献 :Rewcastle, G. W., et al. J. Med. Chem., 1996, vol. 39, 918-928) 与苯胺化合物进行取代反应得到化合物 Ib。相应的醇 M-L-OH 用强碱 (氢氧化钠) 处理后, 将化合物 Ib 加入。由此得到的化合物 Ic 被还原成胺 Id。还原方法有铂 - 碳催化氢化, 铁粉 - 酸等。所得的胺 Id 在偶联试剂如 CDI (N, N' -Carbonyldiimidazole) 作用下, 与酸 Ie 进行酰胺化反应生成化合物 If。化合物 If 和由新制备得的 2- 二甲胺乙醛进行维梯希 (Wittig) 反应, 生成通式 (I) 化合物。

[0031] 本发明的另一个方面是提供一种使用通式 (I) 所述的化合物或药物组合物治疗与受体酪氨酸蛋白激酶有关疾病的方法, 包括给予患者所述化合物或药物组合物的有效治疗量。

[0032] 发明的详细说明

[0033] 除非特地指出, 在说明书和权利要求书中使用的术语具有以下含义。

[0034] 像本发明所描述的, 本发明的化合物可以任选地被一个或多个取代基所取代, 如上面的通式化合物, 或者像实施例里面特殊的例子, 子类, 和本发明所包含的一类化合物。应了解“任选取代的”这个术语与“取代或非取代的”这个术语可以交换使用。一般而言,

术语“任选地”不论是否位于术语“取代的”之前,表示所给结构中的一个或多个氢原子被具体取代基所取代。除非其他方面表明,一个任选的取代基团可以有一个取代基在基团各个可取代的位置进行取代。当所给出的结构式中不只一个位置能被选自具体基团的一个或多个取代基所取代,那么取代基可以相同或不同地在各个位置取代。其中所述的取代基可以是,但并不限于,羟基,氨基,卤素,氰基,芳基,杂芳基,烷氧基,烷基,烯基,炔基,杂环基,巯基,硝基,芳氧基等等。

[0035] “烷基”指饱和的烃基团,包括 1 到 20 个碳原子的直链和支链基团。优选含有 1 到 6 个碳原子的烷基,例如甲基、乙基、丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、戊基等。更优选的是含有 1 到 3 个碳原子的低级烷基,例如甲基、乙基、丙基、异丙基。烷基可以是被取代的或未被取代的,当被取代时,取代基优选为一个或多个,独立地选自羟基、卤素等。

[0036] “芳香基”是指具有至少有一个芳环结构的基团,即具有共轭的 π 电子体系的芳环。

[0037] “芳香杂环基”指具有 1 到 3 个杂原子环原子,其余环原子为碳的芳基。

[0038] “双环烷基杂环”指含有两个环的连环或稠环基团,至少有 6-10 个环原子,其中 1 到 3 个环原子选自氮、氧或 $S(O)_n$ (其中 n 是整数 0-2) 的杂原子,其余环原子为碳。这些环还可以有一个或多个双键。这些环可以是取代的或未被取代的。当被取代时,取代基优选为一个或多个,更优选为一个、两个或三个,进而优选为一个或两个,独立地选自低级烷基、三氟甲基、卤素、羟基、低级烷氧基、氰基等。

[0039] “卤素”指氟、氯、溴、碘。优选的卤素为氟和氯。

[0040] “羟基”是指“-OH”基团。

[0041] “烷氧基”指“-O-(烷基)”,代表性实施例包括但不限于甲氧基、乙氧基、丙氧基、环丙氧基、丁氧基、环丁氧基等。

[0042] “可选”代表随后所描述的事件或环境可以但不必发生。

[0043] “药物组合物”表示一种或多种本文所述化合物或其药学上可以接受的盐或前药与其他化合物组成的混合物,其他组分例如生理学或药学可接受的载体或赋形剂。药物组合物的目的是促进化合物对生物的给药。

[0044] 除非其他方面表明,本发明所描述的结构式包括所有的同分异构形式(如对映异构,非对映异构,和几何异构(或构象异构)):例如含有不对称中心的 R、S 构型,双键的 (Z)、(E) 异构体,和 (Z)、(E) 的构象异构体。因此,本发明的化合物的单个立体化学异构体或其对映异构体,非对映异构体,或几何异构体(或构象异构体)的混合物都属于本发明的范围。

[0045] 本发明所使用的术语“互变异构体”或“互变异构形式”表示具有不同能量的结构同分异构体可以越过低能垒,从而互相转化。譬如,质子互变异构体(即质子移变)包括通过质子迁移进行互变,如酮-烯醇式互变和亚胺-烯胺同分异构化作用。化合价互变异构体包括通过一些成键电子重组而进行互变。

[0046] 除非其他方面表明,本发明的化合物的所有互变异构形式都包含在本发明的范围之内。

[0047] 本发明所使用的术语“前药”,代表一个化合物在体内转化为式 (I) 所示的化合物。这样的转化受前体药物在血液中水解或在血液或组织中经酶转化为母体结构的影响。

[0048] “代谢产物”是指具体的化合物或其盐在体内通过代谢作用所得到的产物。一个化合物的代谢产物可以通过所属领域公知的技术来进行鉴定,其活性可以通过如本发明所描述的那样采用试验的方法进行表征。这样的产物可以通过给药化合物经过氧化,还原,水解,酰氨化,脱酰氨作用,酯化,脱脂作用,酶裂解等等方法得到。相应地,本发明包括化合物的代谢产物,包括将本发明的化合物与哺乳动物充分接触一段时间所产生的代谢产物。

[0049] 本发明的化合物可以包含不对称中心或手性中心,因此存在不同的立体异构体。本发明的化合物所有的立体异构形式,包括但绝不限于,非对映体,对映异构体,阻转异构体,和它们的混合物,如外消旋混合物,组成了本发明的一部分。很多有机化合物都以光学活性形式存在,即它们有能力旋转平面偏振光的平面。在描述光学活性化合物时,前缀 D、L 或 R、S 用来表示分子手性中心的绝对构型。前缀 d、l 或 (+)、(-) 用来命名化合物平面偏振光旋转的符号,(-) 或 l 是指化合物是左旋的,前缀 (+) 或 d 是指化合物是右旋的。这些立体异构体的化学结构是相同的,但是它们的立体结构不一样。特定的立体异构体可以是对映体,异构体的混合物通常称为对映异构体混合物。50 : 50 的对映体混合物被称为外消旋混合物或外消旋体,这可能导致化学反应过程中没有立体选择性或立体定向性。术语“外消旋混合物”和“外消旋体”是指等摩尔的两个对映异构体的混合物,缺乏光学活性。

[0050] 术语“互变异构体”或“互变异构的形式”是指不同能量的结构的同分异构体可以通过低能垒互相转化。例如质子互变异构体(即质子移变的互变异构体)包括通过质子迁移的互变,如酮式-烯醇式和亚胺-烯胺的同分异构化作用。原子价(化合价)互变异构体包括重组成键电子的互变。

[0051] 本发明所使用的“药学上可接受的盐”是指本发明的化合物的有机盐和无机盐。药学上可接受的盐在所属领域是为我们所熟知的。

[0052] 药学上可接受的无毒的酸形成的盐包括,但并不限于,与氨基基团反应形成的无机酸盐有盐酸盐,氢溴酸盐,磷酸盐,硫酸盐,硝酸盐,和有机酸盐如乙酸盐,草酸盐,马来酸盐,酒石酸盐,柠檬酸盐,琥珀酸盐,丙二酸盐,或通过书籍文献上所记载的其他方法如离子交换法来得到这些盐。其他药学上可接受的盐包括己二酸盐,藻酸盐,抗坏血酸盐,天冬氨酸盐,苯磺酸盐,苯甲酸盐,重硫酸盐,硼酸盐,丁酸盐,樟脑酸盐,樟脑磺酸盐,环戊基丙酸盐,二葡萄糖酸盐,十二烷基硫酸盐,乙磺酸盐,甲酸盐,反丁烯二酸盐,葡庚糖酸盐,甘油磷酸盐,葡萄糖酸盐,半硫酸盐,庚酸盐,己酸盐,氢碘酸盐,2-羟基-乙磺酸盐,乳糖醛酸盐,乳酸盐,月桂酸盐,月桂基硫酸盐,苹果酸盐,丙二酸盐,甲磺酸盐,2-萘磺酸盐,烟酸盐,硝酸盐,油酸盐,棕榈酸盐,扑酸盐,果胶酸盐,过硫酸盐,3-苯基丙酸盐,苦味酸盐,特戊酸盐,丙酸盐,硬脂酸盐,硫氰酸盐,对甲苯磺酸盐,十一酸盐,戊酸盐,等等。通过适当的碱得到的盐包括碱金属,碱土金属,铵和 $N^+(C_{1-4}\text{烷基})_4$ 的盐。本发明也拟构思了任何所包含 N 的基团的化合物所形成的季铵盐。水溶性或油溶性或分散产物可以通过季铵化作用得到。碱金属或碱土金属盐包括钠,锂,钾,钙,镁,等等。药学上可接受的盐进一步包括适当的、无毒的铵,季铵盐和抗平衡离子形成的胺阳离子,如卤化物,氢氧化物,羧化物,硫酸化物,磷酸化物,硝酸化物, C_{1-8} 磺酸化物 and 芳香磺酸化物。

[0053] 除非其他方面表明,本发明的化合物所有的立体异构体,几何异构体,互变异构体,氮氧化物,水合物,溶剂化物,代谢产物,盐和药学上可接受的前药都属于本发明的范围。

[0054] 具体地说,盐是药学上可接受的盐。术语“药学上可接受的”包括物质或组合物必须是适合化学或毒理学地,与组成制剂的其他组分和用于治疗哺乳动物有关。

[0055] 如果本发明的化合物是碱性的,则想得到的盐可以通过文献上提供的任何合适的方法制备得到,例如,使用无机酸,如盐酸,氢溴酸,硫酸,硝酸和磷酸等等。或者使用有机酸,如乙酸,马来酸,琥珀酸,扁桃酸,富马酸,丙二酸,丙酮酸,草酸,羟乙酸和水杨酸;吡喃糖酸,如葡萄糖醛酸和半乳糖醛酸; α -羟酸,如柠檬酸和酒石酸;氨基酸,如天门冬氨酸和谷氨酸;芳香族酸,如苯甲酸和肉桂酸;磺酸,如对甲苯磺酸,乙磺酸,等等。

[0056] 如果本发明的化合物是酸性的,则想得到的盐可以通过合适的方法制备得到,如,使用无机碱或有机碱,如氨(伯氨,仲氨,叔氨),碱金属氢氧化物或碱土金属氢氧化物,等等。合适的盐包括,但并不限于,从氨基酸得到的有机盐,如甘氨酸和精氨酸,氨,如伯氨、仲氨和叔氨,和环状氨,如吡啶,吗啉和哌嗪等,和从钠,钙,钾,镁,锰,铁,铜,锌,铝和锂得到无机盐。

[0057] 本发明的“溶剂化物”是指一个或多个溶剂分子与本发明的化合物所形成的缔合物。形成溶剂化物的溶剂包括,但并不限于,水,异丙醇,乙醇,甲醇,二甲亚砜,乙酸乙酯,乙酸,氨基乙醇。术语“水合物”是指溶剂分子是水所形成的缔合物。

[0058] 本发明的化合物存在自由形态,或合适的、作为药学上可接受的衍生物。根据本发明,药学上可接受的衍生物包括,但并不限于,药学上可接受的前药,盐,酯,酯类的盐,或能直接或间接地根据患者的需要给药的其他任何加合物或衍生物,本发明其他方面所描述的化合物,其代谢产物或他的残留物。

[0059] 像本发明所描述的,本发明药学上可接受的组合物进一步包含药学上可接受的载体,辅剂,或赋形剂,这些像本发明所应用的,包括任何溶剂,稀释剂,或其他液体赋形剂,分散剂或悬浮剂,表面活性剂,等渗剂,增稠剂,乳化剂,防腐剂,固体粘合剂或润滑剂等等,适合于特有的目标剂型。

[0060] 可作为药学上可接受载体的物质包括,但并不限于,离子交换剂,铝,硬脂酸铝,卵磷脂,血清蛋白,如人血清蛋白,缓冲物质如磷酸盐,甘氨酸,山梨酸,山梨酸钾,饱和植物脂肪酸的部分甘油酯混合物,水,盐或电解质,如硫酸鱼精蛋白,磷酸氢二钠,磷酸氢钾,氯化钠,锌盐,胶体硅,三硅酸镁,聚乙烯吡咯烷酮,聚丙烯酸酯,蜡,聚乙烯-聚氧丙烯-阻断聚集体,羊毛脂,糖,如乳糖,葡萄糖和蔗糖;淀粉如玉米淀粉和土豆淀粉;纤维素和它的衍生物如羧甲基纤维素钠,乙基纤维素和乙酸纤维素;树胶粉;麦芽;明胶;滑石粉;辅料如可可豆脂和栓剂蜡状物;油如花生油,棉子油,红花油,麻油,橄榄油,玉米油和豆油;二醇类化合物,如丙二醇和聚乙二醇;酯类如乙基油酸酯和乙基月桂酸酯;琼脂;缓冲剂如氢氧化镁和氢氧化铝;海藻酸;无热原的水;等渗盐;林格(氏)溶液;乙醇,磷酸缓冲溶液,和其他无毒的合适的润滑剂如月桂硫酸钠和硬脂酸镁,着色剂,释放剂,包衣衣料,甜味剂,调味剂和香料,防腐剂和抗氧化剂。

[0061] 本发明的组合物可以是口服给药,注射给药,喷雾吸入法,局部给药,经直肠给药,经鼻给药,含服给药,阴道给药或通过植入性药盒给药。此处所使用的术语“经注射的”包括皮下的,静脉的,肌内的,关节内的,滑膜(腔)内的,胸骨内的,膜内的,眼内的,肝内的,病灶内的,和颅内的注射或输注技术。优选的组合物为口服给药,向腹膜内给药或静脉注射。本发明的组合物无菌的注射方式可以是水的或油脂性的悬浮液。这些悬浮液可以根据公知

技术采用合适的分散剂、湿润剂和悬浮剂按配方制造。无菌注射剂可以是无菌注射液或悬浮液,是注射无毒的可接受的稀释剂或溶剂,如 1,3-丁二醇溶液。这些可接受的赋形剂和溶剂可以是水,林格溶液和等渗氯化钠溶液。更进一步地,无菌的非挥发性的油按照惯例可以作为溶剂或悬浮介质。

[0062] 以此为目的,任何温和的非挥发性的油可以是合成的单或二葡基甘油二酯。脂肪酸,如油酸和它的甘油酯衍生物可用于血管注射剂的制备,作为天然的药学上可接受的油脂,如橄榄油或蓖麻油,特别是它们的聚氧乙烯衍生物。这些油溶液或悬浮液可以包含长链醇稀释剂或分散剂,如羧甲基纤维素或相似分散剂,一般用于药学上可接受剂型的药物制剂包括乳液和悬浮液。其他常用的表面活性剂,如吐温类,司盘类和其他乳化剂或生物药效率的强化剂,一般用于药学上可接受的固体,液体,或其他剂型,并可以应用于目标药物制剂的制备。

[0063] 本发明药学上可接受的组合物可以是以任何可接受的口服剂型进行口服给药,其中包括,但并不限于,胶囊,片剂,水制悬浮液或溶液。关于片剂口服使用,载体一般包括乳糖和玉米淀粉。润滑剂,如硬脂酸镁,都典型地被添加。对于胶囊口服给药,合适的稀释剂包括乳糖和干的玉米淀粉。当口服给药为水制悬浮液时,其有效成分由乳化剂和悬浮剂组成。如果想得到这些剂型,某些甜味剂、调味剂或着色剂也可以被添加。

[0064] 另外,本发明药学上可接受的组合物可以以栓剂的形式直肠给药。这些可以通过将试剂与合适的非灌注辅药混合制备而成,这种辅药在室温下为固体但在直肠的温度下则为液体,从而在直肠中融化并释放药物。这样的物质包括可可豆脂,蜂蜡,和聚乙二醇类。本发明药学上可接受的组合物可以是局部给药,特别是局部用药时,涉及到区域或器官的治疗目标容易达到,如眼、皮肤或下肠道的疾病。合适的局部用药制剂可以制备得到并应用于这些领域或器官。

[0065] 直肠栓剂(见以上内容)或合适的灌肠剂可以应用于下部肠道的局部用药。局部皮肤斑也可以这样用药。对于局部用药,药学上可接受的组合物可以按制剂方法制备成合适的软膏,该软膏包含活性成分悬浮于或溶解于一个或多个载体。本发明局部给药的载体化合物包括,但并不限于矿物油,液体石蜡,白凡士林,丙二醇,聚氧乙烯,聚氧丙烯化合物,乳化蜡和水。另外,药学上可接受的组合物可以制备成合适的洗剂或乳剂,该洗剂或乳剂包含活性成分悬浮于或溶于一个或多个药学上可接受的载体。合适的载体包括,但并不限于,矿物油,司盘-60(脱水山梨醇单硬脂酸酯),吐温 60(聚山梨酯 60),十六烷基酯蜡,棕榈醇,2-辛基十二烷醇,苯甲醇和水。

[0066] 对于眼用的、药学上可接受的组合物可以制备成制剂,如等渗的微粒化悬浮液, pH 调节的无菌盐水或其他水溶液,优选地,等渗溶液和 pH 调节的无菌盐水或其他水溶液,可以添加消毒防腐剂如苯扎氯铵。另外,对于眼用的,药学上可接受的组合物可以按制剂配方制备成软膏如凡士林油。本发明药学上可接受的组合物可以通过鼻的气溶剂或吸入剂进行给药。这样的组合物可以根据制剂配方的公知技术制备得到,或可以制备成盐溶液,使用苯甲醇或其他合适的防腐剂、吸收促进剂、碳氟化合物或其他常规增溶剂或分散剂来提高生物利用度。

[0067] 口服给药的液体剂型包括,但并不限于,药学上可接受的乳剂,微乳剂,溶液,悬浮液,糖浆剂和酞剂。除活性化合物外,液体剂型可以包含公知的一般的惰性稀释剂,例如,水

或其他溶剂,增溶剂和乳化剂,如乙醇,异丙醇,碳酸乙酯,乙酸乙酯,苯甲醇,苯甲酸苄酯,丙二醇,1,3-丁二醇,二甲基甲酰胺,油脂(特别是棉籽,落花生,玉米,微生物,橄榄,蓖麻和麻油),甘油,2-四氢呋喃甲醇,聚乙二醇,去水山梨糖醇脂肪酸酯,以及它们的混合物。除惰性的稀释剂之外,口服组合物也可以包含辅剂如湿润剂,乳化剂或悬浮剂,甜味剂,调味剂和芳香剂。

[0068] 口服给药的固体剂型包括胶囊,片剂,丸剂,粉剂和粒剂。在这些剂型中,活性化合物与至少一种药学上可接受的惰性赋形剂或载体混合,如柠檬酸钠或磷酸钙或充填剂或 a) 填充剂如淀粉,乳糖,蔗糖,葡萄糖,甘露醇和硅胶, b) 粘合剂如羧甲基纤维素,藻酸盐,明胶,聚乙烯吡咯酮,蔗糖和阿拉伯胶, c) 保湿剂如甘油, d) 崩解剂如琼脂,碳酸钙,土豆淀粉或木薯淀粉,海藻酸,某些硅酸盐和碳酸钠, e) 阻滞剂溶液如石蜡, f) 吸收促进剂如季胺类化合物, g) 湿润剂如十六醇和单硬脂酸甘油酯, h) 吸收剂如白陶土和皂土, i) 润滑剂如滑石粉,硬脂酸钙,硬脂酸镁,固体聚乙二醇,月桂硫酸钠,及它们的混合物。至于胶囊,片剂和丸剂,这些剂型可以包含缓冲剂。

[0069] 注射剂,如无菌注射液或油脂性的悬浮液可以根据公知技术采用合适的分散剂、湿润剂和悬浮剂按制剂配方制备得到。无菌注射剂可以是无毒的经注射地可接受的稀释剂或溶剂制成的无菌注射液、悬浮液或乳液,例如,1,3-丁二醇溶液。可接受的赋形剂和溶剂可以是水,林格(氏)溶液,U. S. P. 和等渗氯化钠溶液。另外,无菌的非挥发性的油按照惯例作为溶剂或悬浮介质。以此为目的任何温和的非挥发性的油可以包括合成的单或二葡基甘油二酯。另外,脂肪酸如油酸可以应用于注射剂。

[0070] 注射剂可以是无菌的,如通过细菌防卫过滤器过滤,或以无菌固体组合物的形式掺入灭菌剂,在使用前灭菌剂可以溶解于或分散于消毒水或其他无菌注射介质中。为了延长本发明的化合物的效果,通常需要通过皮下注射或肌肉注射来减缓化合物的吸收。这样可以实现利用液体悬浮液解决晶体或非晶体物质水溶性差的问题。化合物的吸收率取决于它的溶出度,依次取决于晶粒大小和晶体形状。另外,可以通过化合物在油类赋形剂中溶解或分散来完成化合物注射给药的延迟吸收。

[0071] 本发明的化合物优选地按制剂配方制备成剂量单位型以减轻给药量和剂量的均匀性。术语“剂量单位型”在此处是指患者得到适当治疗所需药物的物理分散单位。然而,应了解本发明的化合物或组合物每日总的用法将通过主治医生根据可靠的医学范围判断来确定。具体的有效剂量水平对于任何一个特殊的患者或有机体将取决于许多因素包括被治疗的病症和病症的严重性,具体化合物的活性,所用的具体组合物,患者的年龄、体重、健康状况、性别和饮食习惯,给药时间,给药途径和所用具体化合物的排泄速率,治疗的持续时间,药物应用于联合用药或与有特效的化合物联用,以及其他一些药学领域公知的因素。

[0072] 本发明同样包含所述的化合物或所述的药物组合物治疗与受体酪氨酸蛋白激酶有关疾病的方法,包括给予患者所述化合物或所述的药物组合物的有效治疗量。此方法包括本发明的化合物或组合物与细胞接触,从而抑制细胞生长。能被抑制生长的细胞包括:乳腺癌细胞,结肠直肠癌细胞,肺癌细胞,乳头状癌细胞,前列腺癌细胞,淋巴瘤细胞,结肠癌细胞,胰腺癌细胞,卵巢癌细胞,子宫颈癌细胞,中枢神经系统癌细胞,成骨肉瘤细胞,肾癌细胞,肝细胞癌细胞,膀胱癌细胞,胃癌细胞,头或颈鳞癌细胞,黑色素瘤细胞和白血病细胞。

[0073] 本发明的化合物或药学上可接受的组合物的“有效量”或“有效剂量”是指处理或减轻一个或多个本发明所提到病症的严重度的有效量。根据本发明的方法,化合物和组合物可以是任何给药量和任何给药途径来有效地用于处理或减轻疾病的严重程度。必需的准确的量将根据患者的情况而改变,这取决于种族,年龄,患者的一般条件,感染的严重程度,特殊的因素,给药方式,等等。化合物或组合物可以和一个或多个其他治疗剂联合给药,如本发明所讨论的。

具体实施方式

[0074] 为了进一步了解本发明,下面结合实施例对本发明优选实施方案进行描述,但是应当理解,这些描述只是为进一步说明本发明的特征和优点,而不是对本发明权利要求的限制。

[0075] 以下以具体实施例说明本发明的效果,但本发明的保护范围不受以下实施例的限制。

[0076] 下面结合具体实验例,进一步阐述本发明。应该理解,这些实施例仅用于举例说明本发明,而不是用来限制本发明的范围。下列条件,实施例如为注明具体实验方法,通常按照常规,或按照制造厂家所建议的条件。

[0077] 化合物制备

[0078] 化合物的结构是通过核磁共振 (NMR) 和质谱 (MS) 来确定的。NMR 位移 (δ) 是以百万分之一 (ppm) 单位给出。NMR 谱图的测定是用 Bruker-300 核磁仪。

[0079] MS 的测定是用 Agilent LC-MS (ESI+) 质谱仪。

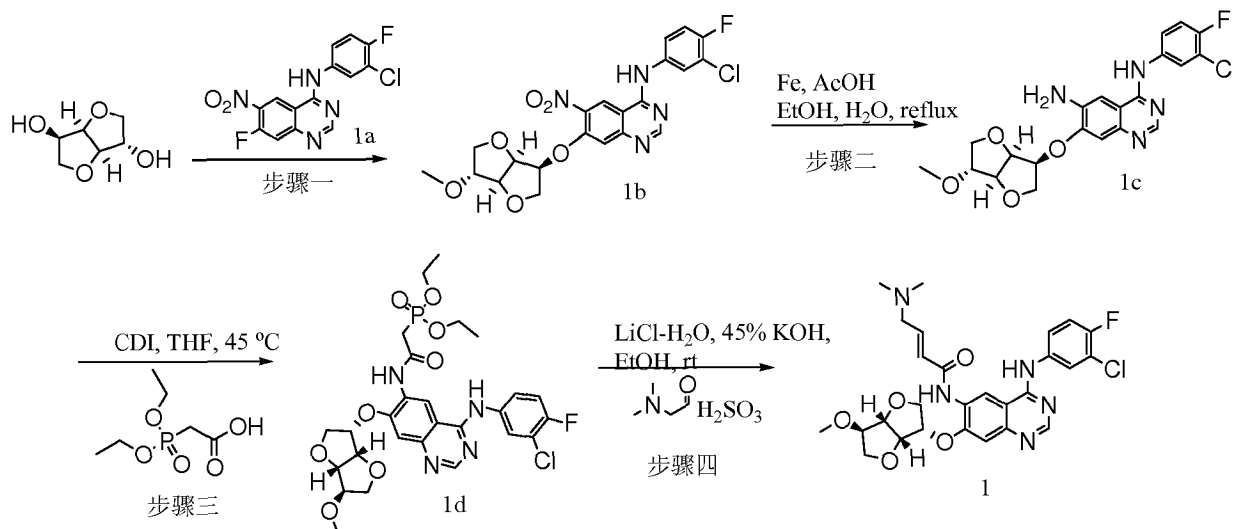
[0080] 如无特别说明,反应均在氮气氛下进行。

[0081] 柱层析和薄板层析均使用 Merck 生产的硅胶和硅胶层析板。

[0082] 实施例 1:

[0083] (E)-N-(7-((3R,3aS,6S,6aS)-六氢-3-甲氧基咪喃[3,2-b]咪喃-6-基氧基)-4-(3-氯-4-氟苯胺基)喹唑啉-6-基-4-(二甲基氨基)丁-2-烯酰胺的制备

[0084]



[0085] 步骤一

[0086] N-(3-氯-4-氟苯基)-7-(((3R,3aS,6S,6aS)-6-甲氧基六氢呋喃[3,2-b]呋喃-3-基)氧基)-6-硝基喹唑啉-4-胺(1b)的制备:

[0087] 在室温下和氮气环境中,向良好搅拌的-D-glucitol(1.5g,10.26mmol)的无水二甲基甲酰胺(20mL)溶液中分批量加入氢化钠(60%混在矿物油中,493mg,12.32mmol)。20分钟后,向反应液中滴加入甲基碘(639 μ L,10.26mmol)。再过30分钟,反应液被冷却到0 $^{\circ}$ C,向其中再加入氢化钠(60%混在矿物油中,493mg,12.32mmol)。过20分钟,N-(3-氯-4-氟苯基)-7-氟-6-硝基喹唑啉-4-胺(1a,制备参照:Smaill, J. B., et al., Journal of Medicinal Chemistry, 2000, 43, p. 1380-1397)。反应搅拌30分钟后,在0 $^{\circ}$ C向其加入饱和NH₄Cl水溶液(20mL),所得混合物用乙酸乙酯(100mL)萃取。所得有机层再用水(100mL)洗2次,饱和盐水洗一次,用硫酸镁干燥,滤去固体,真空旋转蒸发抽干,得到黄色固体,N-(3-氯-4-氟苯基)-7-(((3R,3aS,6S,6aS)-6-甲氧基六氢呋喃[3,2-b]呋喃-3-基)氧基)-6-硝基喹唑啉-4-胺(1b)。产物直接用于下一步反应。

[0088] 质谱:MS m/z (ESI⁺):477[M+1]

[0089] 步骤二

[0090] N⁴-(3-氯-4-氟苯基)-7-(((3R,3aS,6S,6aS)-6-甲氧基六氢呋喃[3,2-b]呋喃-3-基)氧基)-喹唑啉-3-基)氧基)喹唑啉-4,6-二胺(1c)的制备

[0091] N⁴-(3-chloro-4-fluorophenyl)-7-(((3S,3aS,6R,6aS)-6-methoxyhexahydrofuran[3,2-b]furan-3-yl)oxy)quinazoline-4,6-diamine(1c):

[0092] 向搅拌中的化合物1b(700mg,1.47mmol)的乙醇/水(2/1)溶液(90mL)加入冰乙酸(3mL),然后再加入铁粉(328mg,5.87mmol)。混合物加热回流1小时,然后冷却到室温。向反应液中慢慢加入氢氧化钠水溶液(5M),直到反应液的pH值达到7-8。反应用乙酸乙酯(100mL)稀释,并强力搅拌30分钟。反应混合物经硅藻土过滤,并用乙酸乙酯(100mL)洗2次。滤液真空旋转蒸干后,再加入水(100mL),并用二氯甲烷/甲醇(9/1,100mL)萃取2次。有机层合在一起,用硫酸镁干燥,滤去干燥剂,真空旋转蒸干后得到黄绿色的固体:N⁴-(3-氯-4-氟苯胺基)-7-(((3R,3aS,6S,6aS)-6-甲氧基六氢呋喃[3,2-b]呋喃-3-基)氧基)-喹唑啉-3-基)氧基)喹唑啉-4,6-二胺(1c)。产物直接用于下一步反应。

[0093] 质谱:MS m/z (ESI⁺):447[M+1]

[0094] 步骤三

[0095] 二乙基(2-((4-(3-氯-4-氟苯基)-7-(((3R,3aS,6S,6aS)-6-甲氧基六氢呋喃[3,2-b]呋喃-3-基)氧基)-喹唑啉-3-基)氧基)喹唑啉-6-基)胺-2-羰乙基)磷酸酯(1d)的制备

[0096] Diethyl(2-((4-(3-chloro-4-fluorophenyl)-7-(((3S,3aS,6R,6aS)-6-methoxyhexahydrofuran[3,2-b]furan-3-yl)oxy)quinazolin-6-yl)amino-2-oxoethyl)phosphonate:

[0097] 1,1-羰基二咪唑(CDI,310mg,1.91mmol)和二乙基膦乙酸(diethylphosphonoacetic acid,375mg,1.91mmol)混合在无水四氢呋喃(THF,10mL)中,加热到40 $^{\circ}$ C并搅拌30分钟。向该反应中加入化合物1c(657mg,1.47mmol)的THF溶液(3mL)。反应在45 $^{\circ}$ C下搅拌16小时。反应用乙酸乙酯(100mL)稀释,用饱和碳酸氢钠(100mL),水(100mL),饱和盐水(100mL)洗。有机层用硫酸镁干燥,滤去干燥剂,真空旋转

蒸干后得到二乙基 (2-((4-(3-氯-4-氟苯基)-7-(((3R,3aS,6S,6aS)-6-甲氧基六氢呋喃[3,2-b]呋喃-3-基)氧基)-喹唑啉-3-基)氧基)喹唑啉-6-基)胺-2-羰乙基)磷酸酯 (1d)。产物直接用于下一步反应。

[0098] 质谱:MS m/z (ESI⁺):625[M+1]

[0099] 步骤四

[0100] (E)-N-(7-((3R,3aS,6S,6aS)-六氢-3-甲氧基呋喃[3,2-b]呋喃-6-基氧基)-4-(3-氯-4-氟苯胺基)喹唑啉-6-基-4-(二甲基胺基)丁-2-烯酰胺 (1) 的制备

[0101] (E)-N-(4-((3-chloro-4-fluorophenyl)-7-(((3S,3aS,6R,6aS)-6-methoxyhexahydrofuro[3,2-b]furan-3-yl)oxy)quinazolin-6-yl)-4-(dimethylamino)but-2-enamide:

[0102] 在室温下,向化合物 1d(400mg,0.64mmol) 在乙醇(10mL) 的溶液中加入氯化锂(105mg,1.28mmol), 然后加入 45% 的氢氧化钾(1mL)。5 分钟后,向反应液中加入 2-二甲胺乙醛-亚硫酸氢盐(214mg,1.28mmol,制备方法参照:W02007/85638)。搅拌 15 分钟后,再用二氯甲烷(200mL) 稀释反应,用水(100mL) 洗 2 次,饱和盐水(100mL) 洗 1 次。有机层用硫酸镁干燥,滤去干燥剂,真空旋转蒸干后得到的产物用柱层析分离(0-20% 甲醇/二氯甲烷) 得到 (E)-N-(7-((3R,3aS,6S,6aS)-六氢-3-甲氧基呋喃[3,2-b]呋喃-6-基氧基)-4-(3-氯-4-氟苯胺基)喹唑啉-6-基-4-(二甲基胺基)丁-2-烯酰胺 (1)。

[0103] 核磁:¹HNMR(CDCl₃,300MHz) 9.16(s,1H),8.66(s,1H),8.04(s,1H),7.90(d,1H),7.75(s,1H),7.56(m,1H),7.40(s,1H),7.17(m,1H),7.06(m,1H),6.25(d,1H),5.05(s,1H),4.85(t,1H),4.74(d,1H),4.32(m,2H),4.01(m,2H),3.78(t,1H),3.54(s,2H),3.20(d,2H),2.35(s,6H)。

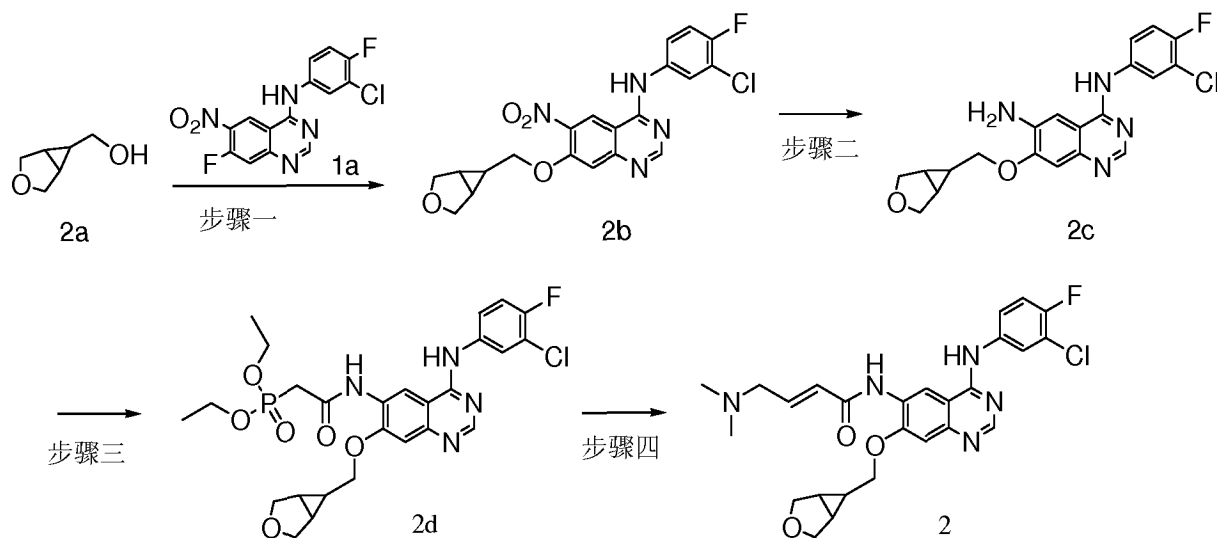
[0104] 质谱:MS (ESI) m/z = 559 (MH⁺)。

[0105] 实施例 2:

[0106] (E)-N-(7-((3-氧双环[3.1.0]己烷-6-基)甲氧基)-4-((3-氯-4-氟苯基)胺基)喹唑啉-6-基-4-(二甲基胺基)丁-2-烯酰胺的制备

[0107] (E)-N-(7-((3-oxabicyclo[3.1.0]hexan-6-yl)methoxy)-4-((3-chloro-4-fluorophenyl)amino)quinazolin-6-yl)-4-(dimethylamino)but-2-enamide

[0108]



[0109] 步骤一

[0110] 7-((3-氧双环[3.1.0]己烷-6-基)甲氧基)-N-(3-氯-4-氟苯基)-6-硝基喹唑啉-4-胺(2b)的制备:

[0111] 7-((3-oxa-bicyclo[3.1.0]hexan-6-yl)methoxy)-N-(3-chloro-4-fluorophenyl)-6-nitroquinazolin-4-amine

[0112] 在0℃下,向良好搅拌的(3-氧双环[3.2-0]己烷-6-基)甲醇(1.5g,10.26mmol,2a)制备参照:US2008/249087)的无水二甲基甲酰胺(20mL)溶液中分批量加入氢氧化钠(60%混在矿物油中,493mg,12.32mmol)。过20分钟,N-(3-氯-4-氟苯基)-7-氟-6-硝基喹唑啉-4-胺(1a)。反应搅拌30分钟后,在0℃向其加入饱和NH₄Cl水溶液(20mL),所得混合物用乙酸乙酯(100mL)萃取。所得有机层再用水(100mL)洗2次,饱和盐水洗一次,用硫酸镁干燥,滤去固体,真空旋转蒸发抽干,得到黄色固体,7-((3-氧双环[3.1.0]己烷-6-基)甲氧基)-N-(3-氯-4-氟苯基)-6-硝基喹唑啉-4-胺(2b)。产物直接用于下一步反应。

[0113] 质谱:MS m/z (ESI⁺):431[M+1]

[0114] 步骤二、三和四:

[0115] (E)-N-(7-((3-氧双环[3.1.0]己烷-6-基)甲氧基)-4-((3-氯-4-氟苯基)胺基)喹唑啉-6-基-4-(二甲基胺基)丁-2-烯酰胺的制备

[0116] (E)-N-(7-((3-oxabicyclo[3.1.0]hexan-6-yl)methoxy)-4-((3-chloro-4-fluorophenyl)amino)quinazolin-6-yl)-4-(dimethylamino)but-2-enamide。

[0117] 应用实施例1中完全一样的步骤二、三和四,将化合物2b转变成:(E)-N-(7-((3-氧双环[3.1.0]己烷-6-基)甲氧基)-4-((3-氯-4-氟苯基)胺基)喹唑啉-6-基-4-(二甲基胺基)丁-2-烯酰胺(2)。

[0118] 核磁:¹HNMR(CDCl₃,300MHz)9.17(s,1H),8.66(s,1H),8.17(s,1H),7.96(m,1H),7.75(s,1H),7.56(m,1H),7.22(s,1H),7.16(m,1H),7.05(m,1H),6.25(d,1H),4.16(d,1H),4.02(d,1H),3.79(d,1H),3.20(d,1H),2.35(s,4H),1.78(s,2H),1.73(s,6H),1.47(m,1H)。

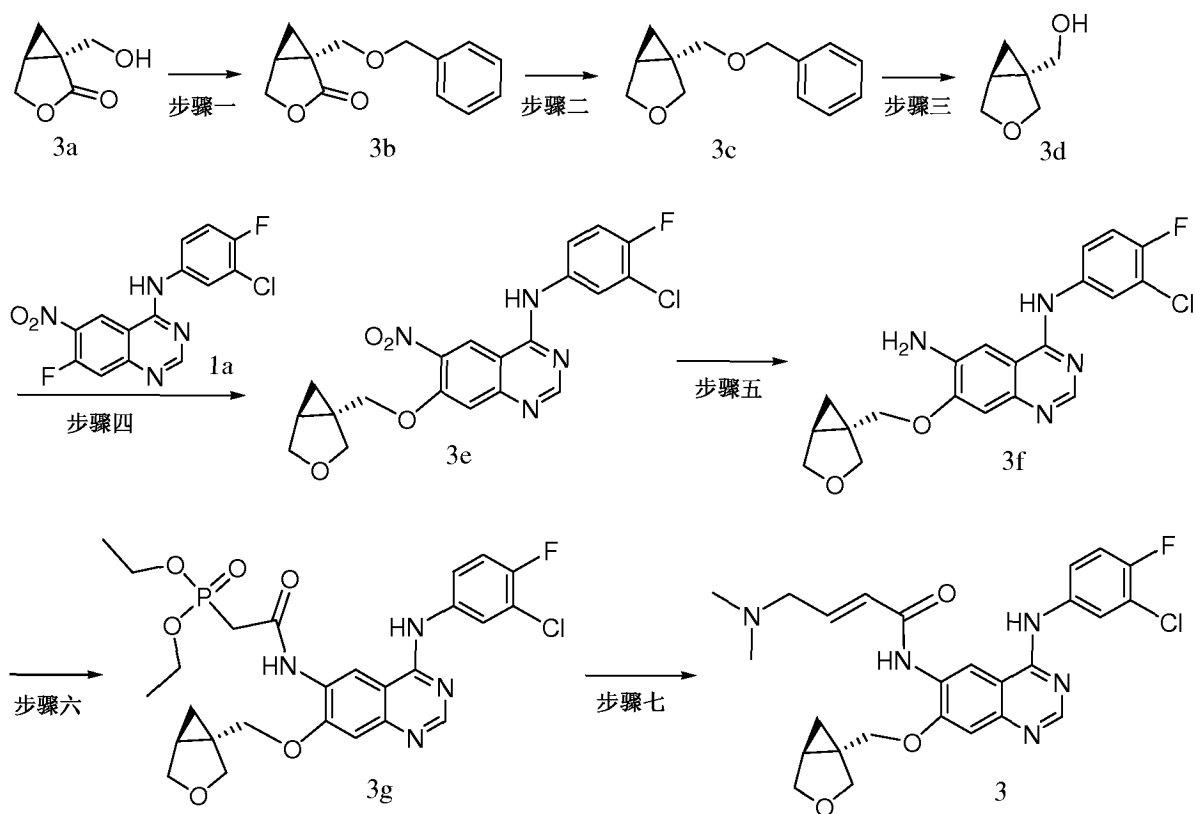
[0119] 质谱:MS(ESI)m/z = 513(M+1)。

[0120] 实施例3

[0121] (E)-N-(7-((1S,5S)-3-氧双环[3.1.0]己烷-1-基)甲氧基)-4-((3-氯-4-氟苯基)胺基)喹唑啉-6-基-4-(二甲基胺基)丁-2-烯酰胺的制备

[0122] (E)-N-(7-((1S,5S)-3-oxabicyclo[3.1.0]hexan-1-yl)methoxy)-4-((3-chloro-4-fluorophenyl)amino)quinazolin-6-yl)-4-(dimethylamino)but-2-enamide

[0123]



[0124] 步骤一

[0125] (1R,5S)-1-((苄氧基)甲基)-3-醚-双环[3.1.0]己烷-2-酮(3b)的制备

[0126] (1R,5S)-1-((benzyloxy)methyl)-3-oxa-bicyclo[3.1.0]hexan-2-one

[0127] 在 0℃下,向搅拌中的(1R,5S)-1-(羟基甲基)-3-醚-双环[3.2.0]己烷-2-酮(3a,100mmol,制备参照Moon,H.R.,et al.Nucleosides,Nucleotides and Nucleic Acids,2007,26,p.975-978)THF(200mL)溶液中分批量加入氢氧化钠(60%混在矿物油中,4.80mg,120mmol)。10分钟后,加入苄基溴(120mmol)。反应在室温下搅拌12小时后,被冷却到0℃,并向反应中加入饱和NH₄Cl水溶液(50mL)和水(50mL),所得混合物用乙醚(300mL)萃取。所得有机层再用水(100mL)洗1次,饱和盐水洗一次,用硫酸镁干燥,滤去固体,真空旋转蒸发抽干,所得液体用柱层析分离(0-20%乙酸乙酯/己烷)给出无色液体,为纯的1R,5S)-1-((苄氧基)甲基)-3-醚-双环[3.1.0]己烷-2-酮(3b)

[0128] 质谱:MS(ESI)m/z = 219(M+1).

[0129] 步骤二

[0130] (1S,5S)-1-((苄氧基)甲基)-3-醚-双环[3.1.0]己烷(3c)

[0131] 该制备方法参照:Sakai,N.,et al.Synthesis,2008p.3533-3536。

[0132] 向(1R,5S)-1-((苄氧基)甲基)-3-醚-双环[3.1.0]己烷-2-酮(3b,50mmol)与三溴化铟(1.0mmol)在氯仿(200mL)的混合物中加入三乙基硅烷(200mmol)。所得混合物加热到65℃,并在16小时后冷却到室温。反应在真空旋转蒸发抽干,所得液体用柱层析分离(0-10%乙酸乙酯/己烷)给出无色液体,为纯的(1S,5S)-1-((苄氧基)甲基)-3-醚-双环[3.1.0]己烷(3c)

[0133] 质谱:MS(ESI)m/z = 205(M+1).

[0134] 步骤三

[0135] ((1R,5S)-3-醚-双环[3.1.0]己烷-1-基)甲醇(3d)

[0136] ((1R,5S)-3-oxa-bicyclo[3.1.0]hexan-1-yl)methanol

[0137] (1S,5S)-1-((苄氧基)甲基)-3-醚-双环[3.1.0]己烷(3c,40mmol)和钯-碳(5%)在甲醇(50mL)中的混合物用氢气球氢化3小时。混合物经硅藻土过滤,小心真空旋转蒸发抽干(水浴温度保持在25℃以下)。所得化合物为无色液体,((1R,5S)-3-醚-双环[3.1.0]己烷-1-基)甲醇,直接用于下一步反应。

[0138] 步骤四、五、六和七

[0139] (E)-N-(7-((1S,5S)-3-醚双环[3.1.0]己烷-1-基)甲氧基)-4-((3-氯-4-氟苯基)氨基)喹唑啉-6-基-4-(二甲基氨基)丁-2-烯酰胺(3)的制备

[0140] (E)-N-(7-(((1S,5S)-3-oxa-bicyclo[3.1.0]hexan-1-yl)methoxy)-4-(3-chloro-4-fluorophenylamino)quinazolin-6-yl)-4-(dimethylamino)but-2-enamide

[0141] 实施例3中的步骤四、五、六和七和实施例2中步骤一、二、三和四完全相同,只是将化合物2a换成化合物3d,从而得到(E)-N-(7-((1S,5S)-醚双环[3.1.0]己烷-1-基)甲氧基)-4-((3-氯-4-氟苯基)氨基)喹唑啉-6-基-4-(二甲基氨基)丁-2-烯酰胺(3)。

[0142] 核磁:¹HNMR(CD₃OD,300MHz)8.78(s,1H),8.48(s,1H),8.01(m,1H),7.67(m,1H),7.25(m,2H),7.01(m,1H),6.47(d,1H),4.62(s,1H),4.53(d,1H),4.37(d,1H),4.01(d,1H),3.85(m,2H),3.24(d,2H),2.34(s,6H),1.77(m,1H),1.29(s,1H),1.00(m,1H),0.79(m,1H),0.11(s,1H).

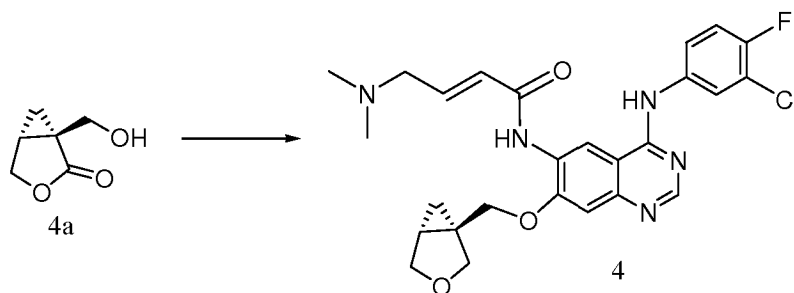
[0143] 质谱:MS(ESI)m/z = 513(M+1).

[0144] 实施例4

[0145] (E)-N-(7-((1R,5R)-3-醚双环[3.1.0]己烷-1-基)甲氧基)-4-((3-氯-4-氟苯基)氨基)喹唑啉-6-基-4-(二甲基氨基)丁-2-烯酰胺的制备

[0146] (E)-N-(7-((1R,5R)-3-oxabicyclo[3.1.0]hexan-1-yl)methoxy)-4-((3-chloro-4-fluorophenyl)amino)quinazolin-6-yl)-4-(dimethylamino)but-2-enamide

[0147]



[0148] 实施例4是用实施例3制备方法完全相同的方法和步骤来合成,只是用(1S,5R)-1-(羟基甲基)-3-醚-双环[3,2-0]己烷-2-酮(4a)来代替(1R,5S)-1-(羟基甲基)-3-醚-双环[3,2-0]己烷-2-酮(3a)。

[0149] 核磁:¹HNMR(CD₃OD,300MHz)8.78(s,1H),8.48(s,1H),8.01(m,1H),7.67(m,1H),7.25(m,2H),7.01(m,1H),6.47(d,1H),4.62(s,1H),4.53(d,1H),4.37(d,1H),4.01(d,1H),3.85(m,2H),3.24(d,2H),2.34(s,6H),1.77(m,1H),1.29(s,1H),1.00(m,1H),0.79(m,1H),0.11(s,1H).

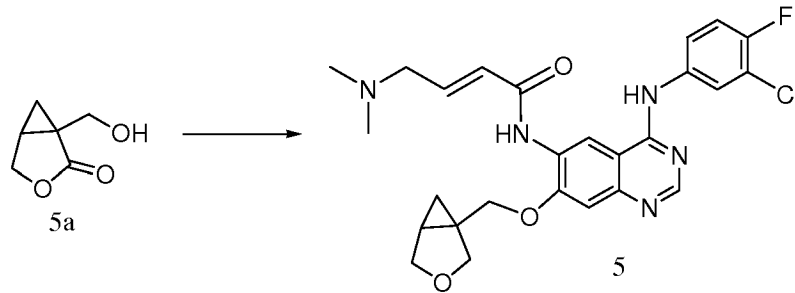
[0150] 质谱:MS (ESI) $m/z = 513 (M+1)$.

[0151] 实施例 5

[0152] (±)-(E)-N-(7-((3-醚双环[3.1.0]己烷-1-基)甲氧基)-4-((3-氯-4-氟苯基)胺基)喹唑啉-6-基)-4-(二甲基胺基)丁-2-烯酰胺(5)的制备

[0153] (±)-(E)-N-(7-((3-oxa-bicyclo[3.1.0]hexan-1-yl)methoxy)-4-(3-chloro-4-fluorophenylamino)quinazolin-6-yl)-4-(dimethylamino)but-2-enamide

[0154]



[0155] 实施例 5 是用实施例 3 制备方法完全相同的方法和步骤来合成,只是用(±)-1-(羟基甲基-3-醚-双环[3,2-0]己烷-2-酮(5a)来代替(1R,5S)-1-(羟基甲基-3-醚-双环[3,2-0]己烷-2-酮(3a)

[0156] 核磁: $^1\text{H NMR}(\text{CD}_3\text{OD}, 300\text{MHz})$ 8.78(s, 1H), 8.48(s, 1H), 8.01(m, 1H), 7.67(m, 1H), 7.25(m, 2H), 7.01(m, 1H), 6.47(d, 1H), 4.62(s, 1H), 4.53(d, 1H), 4.37(d, 1H), 4.01(d, 1H), 3.85(m, 2H), 3.24(d, 2H), 2.34(s, 6H), 1.77(m, 1H), 1.29(s, 1H), 1.00(m, 1H), 0.79(m, 1H), 0.11(s, 1H).

[0157] 质谱:MS (ESI) $m/z = 513 (M+1)$.

[0158] 实施例 6

[0159] 激酶活性抑制实验

[0160] 1) 化合物溶解在 DMSO 中配成 10mM 浓度溶液。然后用水稀释到 100uM 浓度,作为起始浓度,再每次稀释 10 倍用于 IC_{50} 测定。均相时间分辨荧光 (HTRF) 技术被用来检测分析激酶活性的抑制。

[0161] 2) 在 384 孔板上,化合物和相应的激酶一起培养 30 分钟。然后激酶底物和 ATP 加入孔中开始反应。15 分钟后,检测试剂 Sa-XL665 和检测抗体 TK Ab-Cryptate 加入孔中,停止反应。

[0162] 3) 将 384 孔板封上,并在室温下培养 1 小时。在 620nm (Cryptate) 和 665nm (XL655) 频率检测荧光强度。

[0163] 4) 每个浓度同时在 3 个孔中重复检测,未加化合物的孔作为阴性控制,同时用已知化合物作为阳性控制。

[0164] 数据分析处理:计算出 620nm (Cryptate) 和 665nm (XL655) 的 (665/620)。结果由此计算:信号强度 = 药物荧光强度比例 - 阴性控制荧光强度比例。 IC_{50} 是通过浓度 - 抑制曲线计算得到。

[0165] 表 2、本发明所述化合物激酶活性抑制实验及细胞株增殖抑制实验结果

[0166]

实施例序号	EGFR 激酶抑制 IC ₅₀ (nM)	HER2 激酶抑制 IC ₅₀ (nM)	BT474 细胞增殖抑制 IC ₅₀ (nM)
1	0.4	25	35.9
2	0.13	6	19.1
3	0.54	23	31.8
4	0.51	22	25.6
5	0.37	91	157

[0167] 由上表可见,本发明所列化合物对 EGFr 和 Her2 激酶抑制的 IC₅₀均小于 100nM。

[0168] 实施例 7

[0169] 对 BT474 细胞株增殖抑制。

[0170] 1) 在 96 孔板上,每孔植入 10,000 个 BT474 细胞,再在 37℃培养 24 小时。

[0171] 2) 将不同浓度的化合物加入孔中 (30M 到 0.16nM,每次 5 倍稀释),在完全的细胞培养液中培养 72 小时。

[0172] 3) 除去细胞培养液,用 CCK-8 试剂检测细胞。

[0173] 4) 计算出浓度 - 生长曲线,并用此曲线计算细胞株增殖抑制的 EC₅₀值。

[0174] 结果见表 2,显示本发明所列化合物对 BT474 细胞增殖抑制 EC₅₀均小于 100nM。

[0175] 本发明提出的已通过实施例进行了描述,相关技术人员明显能在不脱离本发明内容、精神和范围内对本文所述的石墨烯的制备方法进行改动或适当变更与组合,来实现本发明技术。特别需要指出的是,所有相类似的替换和改动对本领域技术人员来说是显而易见的,它们都被视为包括在本发明的精神、范围和内容中。