



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 106543143 B

(45)授权公告日 2019.03.22

(21)申请号 201510608850.4	(51)Int.Cl.
(22)申请日 2015.09.22	<i>C07D 401/12</i> (2006.01)
(65)同一申请的已公布的文献号	<i>C07D 215/22</i> (2006.01)
申请公布号 CN 106543143 A	<i>C07D 401/14</i> (2006.01)
(43)申请公布日 2017.03.29	<i>C07D 405/14</i> (2006.01)
(73)专利权人 合肥中科普瑞昇生物医药科技有 限公司	<i>C07D 413/14</i> (2006.01)
地址 230031 安徽省合肥市高新区望江西 路860号创新大厦B座1405-1室	<i>C07D 417/14</i> (2006.01)
(72)发明人 刘青松 刘静 李滨华 王傲莉 吴宏 陈程 王文超 胡晨 赵铮 余凯琳 王蓓蕾 王黎	<i>A61P 35/00</i> (2006.01)
(74)专利代理机构 北京尚诚知识产权代理有限 公司 11322	<i>A61P 35/02</i> (2006.01)
代理人 李巍 张燕	(56)对比文件
	WO 2005030140 A2,2004.09.24,摘要以及 TABLE2.
	WO 2005073224 A2,2005.08.11,说明书第 67页表格化合物75以及权利要求43-52.
	CN 101558055 A,2009.10.14,全文.
	审查员 邹雯
	权利要求书7页 说明书73页 附图9页

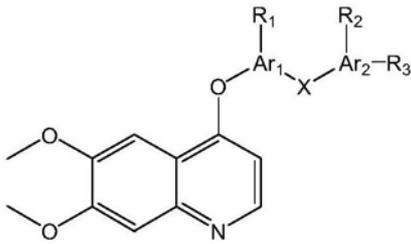
(54)发明名称

一类新型的FLT3激酶抑制剂及其用途

(57)摘要

本发明提供了一种新型激酶抑制剂,其包括式(I)的化合物或其药学可接受的盐、溶剂化物、异构体、酯、酸、代谢物、或前药。本发明还提供包括式(I)化合物的药物组合物及其用于预防或治疗细胞增殖性病症和/或FLT3、c-Kit相关病症的用途和方法,以及响应于FLT3激酶(尤其是FLT3/ITD突变型激酶)抑制的病症。

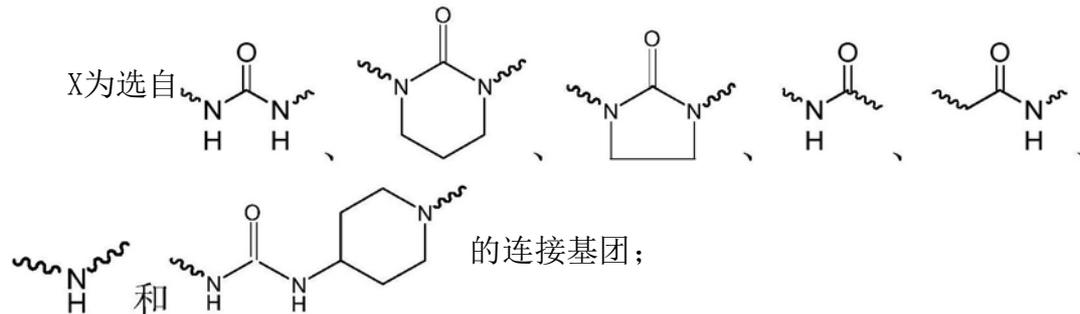
1. 一种式 (I) 的化合物或其药学可接受的盐, 其具有以下结构:



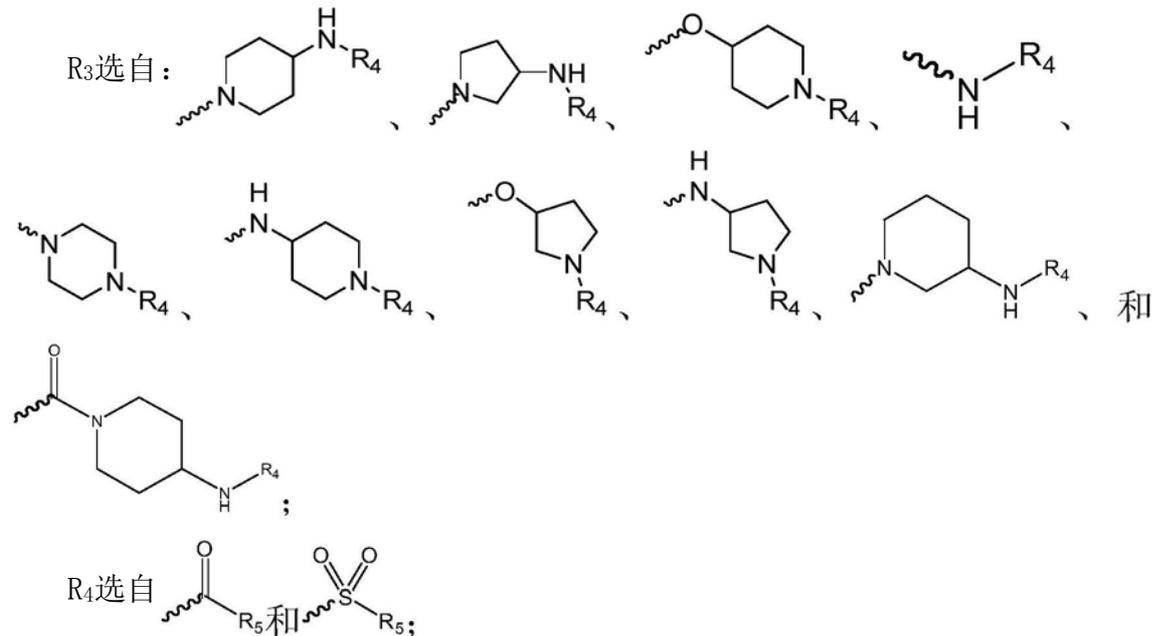
式 (I)

其中:

Ar₁和Ar₂为苯基;



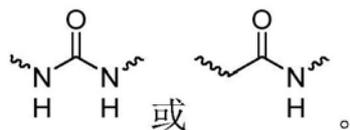
R₁和R₂各自独立地选自氢、卤素、烷基、和卤代烷基;



R₅选自烷基;烯基;炔基;卤代烷基;环烷基;氨基烷基;烷基氨基烷基;烷基氨基烯基;杂环烷基,任选地被烷基、烷基羰基、环烷基羰基、氨基保护基、或杂原子任选被烷基取代的杂环烷基取代;环烯基;杂芳基;任选地被烷基取代的杂环烷基烷基;任选地被烷基取代的杂芳基;烷基任选地被氨基取代且氮任选被氨基保护基取代的氨酰基烷基;烷基任选地被氨基取代且氮任选被氨基保护基取代且/或芳基任选被羟基取代的芳基烷基;烷基任选地被氨基取代且氮任选被氨基保护基取代且/或杂芳基任选被羟基取代的杂芳基烷基。

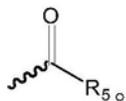
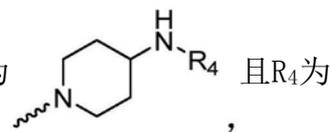
2. 根据权利要求1所述的化合物或其药学可接受的盐,其中氨基保护基为叔丁氧羰基、苄氧羰基、9-苄甲氧羰基、苄基或对甲氧苄基。

3. 根据权利要求1所述的化合物或其药学可接受的盐, 其中 X 为

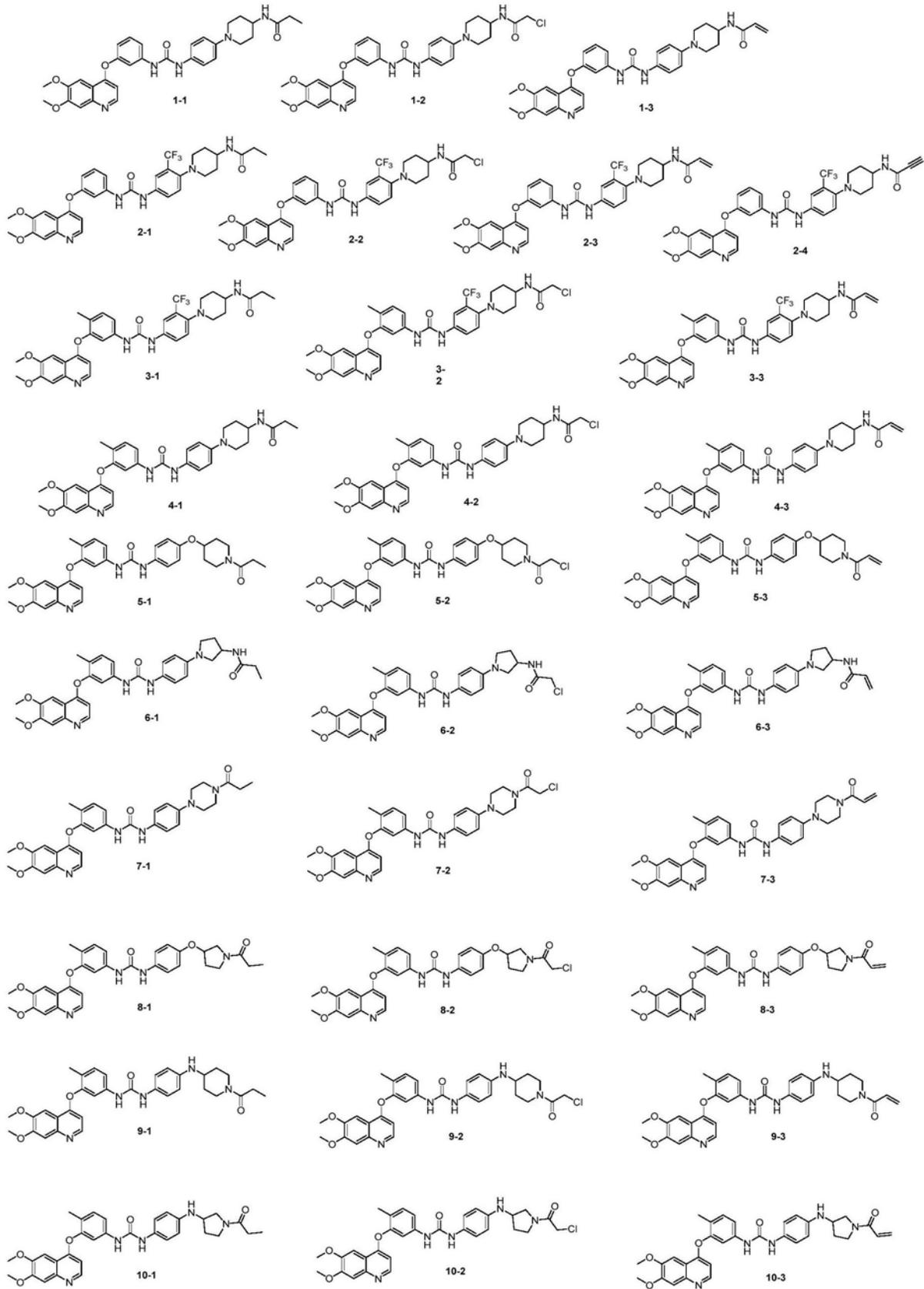


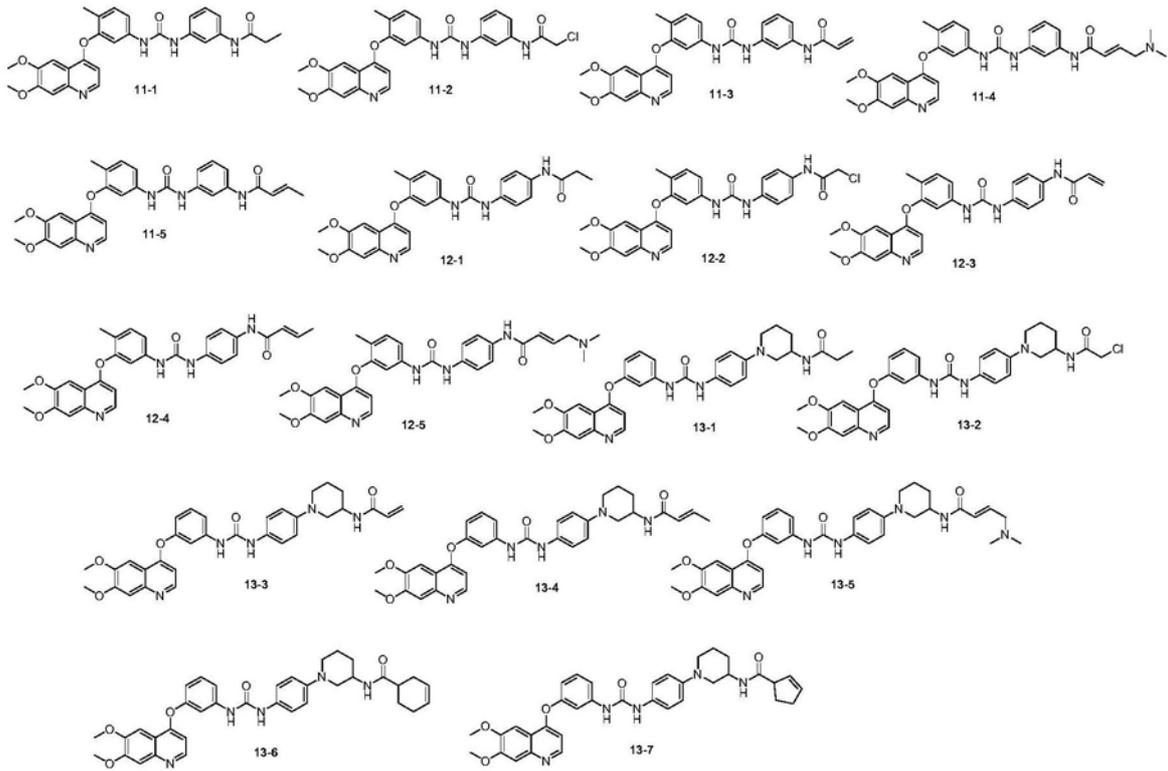
4. 根据权利要求1所述的化合物或其药学可接受的盐, 其中 R₁ 为氢, 且/或 R₂ 为三氟甲基。

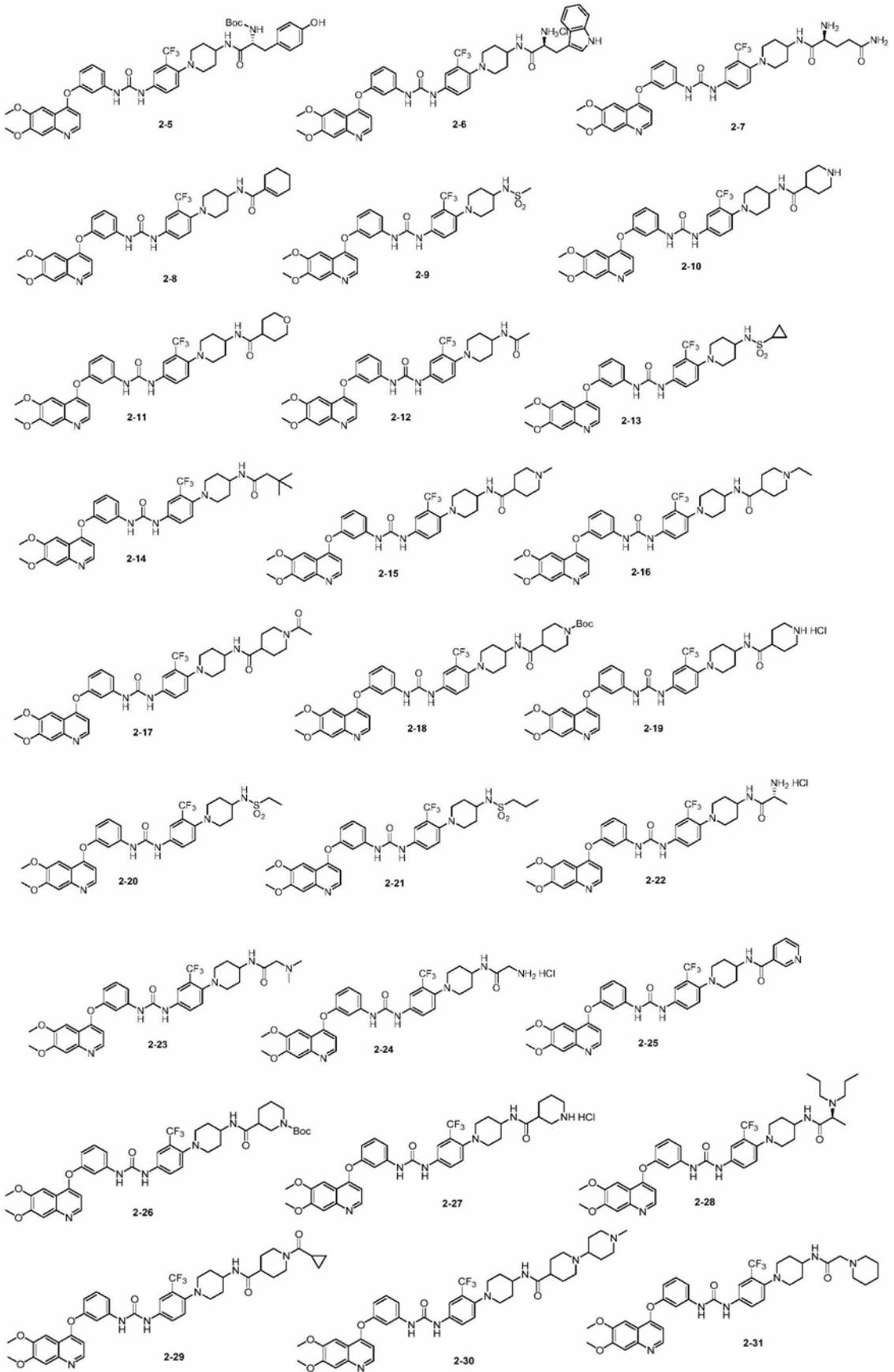
5. 根据权利要求1所述的化合物或其药学可接受的盐, 其中 R₃ 为

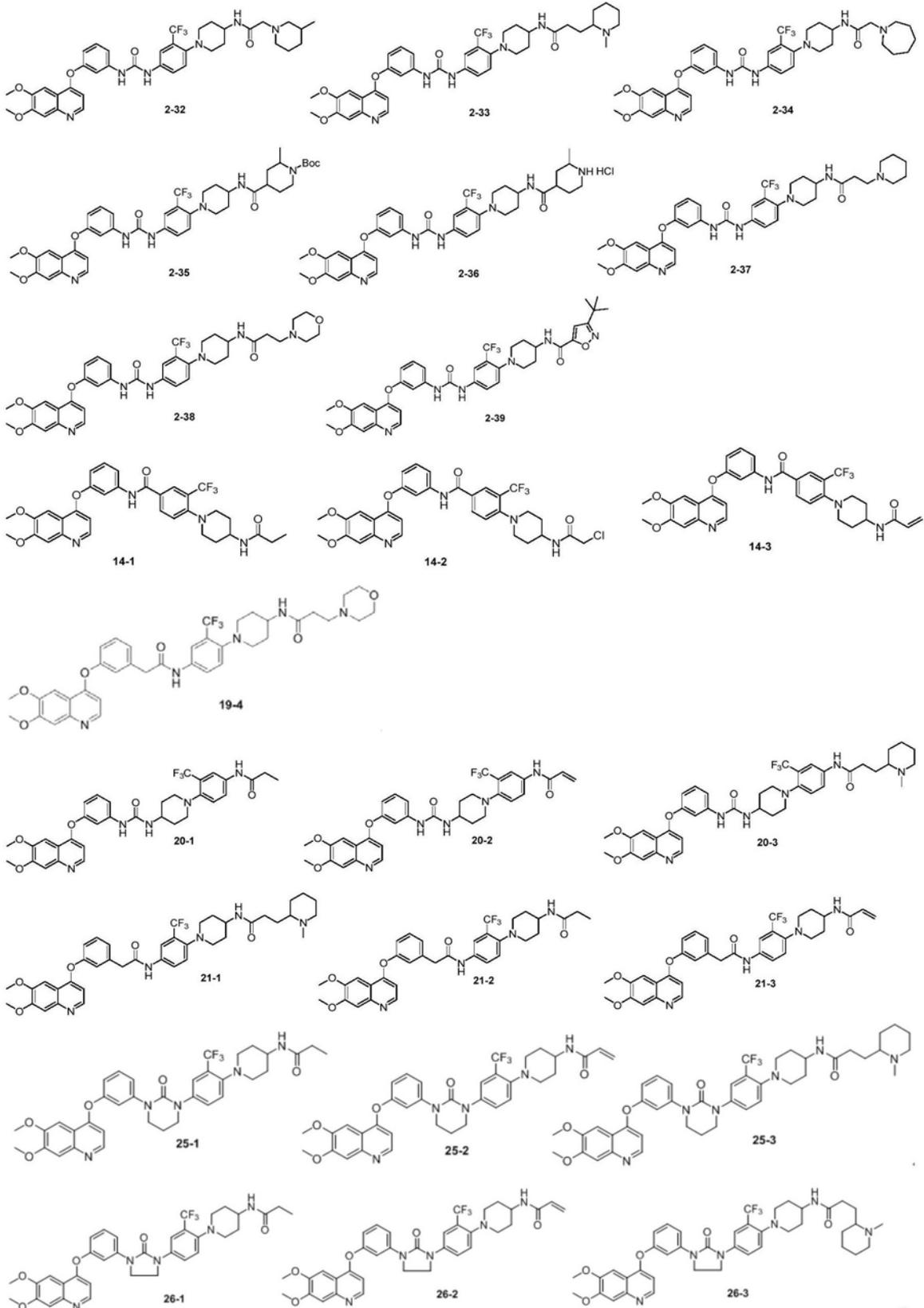


6. 根据权利要求1-5中任一项所述的化合物或其药学可接受的盐, 其选自以下化合物:









7. 一种药物组合物,包括如权利要求1-6中任一项所述的化合物或其药学可接受的盐,药学上可接受的载体或赋形剂,以及任选的其它治疗剂。

8. 根据权利要求1-6中任一项所述的化合物在制备用于降低或抑制酪氨酸激酶FLT3、cKIT、ABL、EGFR、BMX、BLK、VEGFR、RET、PDGFR、MEK、BCR/ABL、JAK、BRAF活性的药物中的用途。

9. 根据权利要求1-6中任一项所述的化合物在制备用于治疗增殖性病症和/或FLT3、c-KIT相关病症的药物中的用途。

10. 根据权利要求9所述的用途,其中所述病症响应于FLT3激酶或突变型FLT3激酶抑制。

11. 根据权利要求9所述的用途,其中所述病症响应于Kit激酶抑制。

12. 根据权利要求10所述的用途,其中所述突变型FLT3激酶是FLT3/ITD突变型激酶。

13. 根据权利要求9所述的用途,其中所述增殖性病症选自:良性或恶性实体瘤、肉瘤、胃肠道间质瘤、急性粒细胞白血病(AML)、慢性髓性白血病(CML)、对ABL及BCR/ABL酪氨酸激酶活性抑制具有影响的白血病、B-细胞淋巴瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、慢性淋巴细胞淋巴瘤、慢性淋巴细胞白血病、B胞前淋巴细胞性白血病、淋巴浆细胞淋巴瘤/瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症、脾边缘区淋巴瘤、浆细胞性骨髓瘤、浆细胞瘤、结外边缘区B细胞淋巴瘤、淋巴结边缘区B细胞淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、纵隔(胸腺)大B细胞淋巴瘤、血管内大B细胞淋巴瘤、原发性渗出性淋巴瘤、伯基特淋巴瘤、淋巴瘤样肉芽肿病、间质瘤、系统性肥大细胞病、嗜酸性粒细胞增多综合征(HES)、纤维变性、类风湿性关节炎、多关节炎、硬皮病、红斑狼疮、移植物抗宿主病、神经纤维瘤、肺高压、乳腺导管癌、小叶癌、腺癌、黑色素瘤、B细胞增生性疾病、脑癌、肾癌、肝癌、肾上腺癌、膀胱癌、乳腺癌、淋巴瘤、胃癌、胃肠间质瘤、胃肿瘤、食道癌、卵巢癌、结直肠癌、前列腺癌、胰腺癌、肺癌、阴道癌、膜腺癌、甲状腺癌、颈癌、CNS的癌症、恶性胶质瘤、骨髓增生病、成胶质细胞瘤、多发性骨髓瘤、胃肠癌、结肠直肠癌、头颈肿瘤、脑瘤、表皮过度增生、银屑病、前列腺增生、上皮特征的瘤形成、阴道癌、宫颈癌、子宫内膜癌、多发性骨髓瘤、颈和头部肿瘤、阿尔茨海默病、精原细胞瘤、无性细胞瘤、肥大细胞肿瘤、支气管癌、睾丸上皮内瘤形成、乳癌、神经母细胞瘤、乳头状/滤泡型甲状腺癌、恶性淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、2型多发性内分泌瘤形成、嗜铬细胞瘤、甲状旁腺增生/腺瘤、结肠癌、结肠直肠腺瘤、恶性胸膜间皮瘤、成血管细胞瘤、血管瘤、直肠癌、瘤形成以及其他增生性或增殖性疾病或其组合。

14. 根据权利要求9所述的用途,其中所述FLT3相关病症选自:霍奇金病、骨髓瘤、急性淋巴细胞白血病、急性粒细胞白血病、急性早幼粒细胞白血病、慢性淋巴细胞白血病、慢性粒细胞白血病、慢性嗜中性细胞白血病、急性未分化细胞白血病、退行发育性大细胞性淋巴瘤、成人T细胞ALL、伴有三谱系脊髓发育不良的AML、混合型谱系白血病、脊髓发育不良综合征、骨髓增生异常、多发性骨髓瘤和脊髓肉瘤、慢性淋巴细胞淋巴瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤或慢性淋巴细胞白血病、套细胞淋巴瘤、纵隔(胸腺)大B细胞淋巴瘤、血管内大B细胞淋巴瘤、原发性渗出性淋巴瘤、伯基特淋巴瘤、及其组合。

15. 根据权利要求9所述的用途,其中所述增殖性病症或所述FLT3相关病症为白血病。

16. 根据权利要求9所述的用途,其中所述增殖性病症或所述FLT3相关病症为淋巴瘤。

一类新型的FLT3激酶抑制剂及其用途

技术领域

[0001] 本发明涉及一种新型FLT3激酶抑制剂化合物、包括该化合物的药物组合物、以及使用这些化合物和组合物来降低或抑制细胞或受试者的FLT3、c-Kit激酶和/或突变型FLT3激酶活性以及在受试者中预防或治疗细胞增殖性病症和/或FLT3、c-Kit相关病症的用途和方法。

背景技术

[0002] 蛋白激酶是信号转导途径的酶组分,其催化ATP的末端磷酸酯转移到蛋白质的酪氨酸、丝氨酸和/或苏氨酸残基的羟基。在哺乳动物中正常或突变的蛋白激酶的超量表达或不当表达已经成为广泛研究的主题,并且已经证明在许多疾病的发展中起到重要作用,所述疾病包括糖尿病、血管生成、银屑病、再狭窄、眼病、精神分裂症、类风湿性关节炎、动脉粥样硬化、心血管疾病和癌症。总之,蛋白激酶的抑制剂在治疗人类和动物疾病中有特殊的应用。

[0003] FLT3(Fms-like tyrosine kinase 3)即FMS样酪氨酸激酶3,与c-Kit、c-FMS和PDGFR同属于III型受体酪氨酸激酶(receptor tyrosine kinase III,RTK III)家族成员,其蛋白结构包括5个免疫球蛋白(Ig)样结构域组成的胞外区,1个跨膜区,1个近膜区(JM),以及胞内由激酶插入区分隔而成的2个酪氨酸激酶(TK)区(S.D.Lyman等,Oncogene,1993,8,815-822)。1996年首先在AML细胞中发现了FLT3突变,其突变类型是内部串联重复(FLT3/ITD)。近年来,许多研究已经证实FLT3的激活突变在急性粒细胞白血病或急性髓性白血病(Acute Myeloblastic Leukemia,AML)的发生及疾病的进展中起到十分重要的病理作用。具有FLT3/ITD激活突变的AML患者通常具有外周血白细胞计数高,临床预后较差,易复发等独特的临床特征,并且由于FLT3激活突变的检测方法简单易行,故越来越多的研究者致力于将FLT3发展成为AML的常规检测手段用来指导AML患者的治疗和预后的判断以及作为微小残留白血病的检测手段,并将其作为白血病患者化疗药物的又一新的靶点。

[0004] 血液学恶性肿瘤是身体的血液形成和免疫系统、骨髓和淋巴组织的癌症。尽管在正常的骨髓中,FLT3表达只限于早期祖细胞,但在血液学恶性肿瘤中,FLT3以高水平表达或者FLT3突变引起不受控制的FLT3受体和下游分子通道诱导、可能的RAS活化。血液学恶性肿瘤包括白血病、淋巴瘤(非霍奇金淋巴瘤)、霍奇金病(也称为霍奇金淋巴瘤)和骨髓瘤——例如,急性淋巴细胞白血病(ALL)、急性粒细胞白血病或急性髓性白血病(AML)、急性早幼粒细胞白血病(APL)、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、慢性粒细胞白血病(Chronic Myelogenous Leukemia,CML)、慢性嗜中性细胞白血病(CNL)、急性未分化细胞白血病(AUL)、退行发育性大细胞性淋巴瘤(ALCL)、成人T细胞ALL、伴有三谱系(trilineage)脊髓发育不良的AML(AML/TMDS)、混合型谱系白血病(MLL)、脊髓发育不良综合征(MDSs)、骨髓增生异常(MPD)、多发性骨髓瘤(MM)和脊髓肉瘤(Kottaridis,P.D.,R.E.Gale等人,FLT3mutations and leukaemia,British Journal of Haematology,2003,122(4):523-38;Ansari-Lari,Ali等人,FLT3mutations in myeloid sarcoma,British Journal of Haematology,2004,126

(6):785-91)。

[0005] 现已证实FLT3的激活突变主要有两种:内部串联重复(internal tandem duplication,ITD)和活化环中的点突变(point mutation in the activation loop,TKD点突变)。FLT3的这两种激活突变均能引起FLT3发生自动磷酸化进而导致FLT3发生配体非依赖性的组成性激活,进一步激活其下游异常的信号转导,从而起到促进增殖和抑制凋亡的作用,使得具有此突变表型的白血病患者临床预后较差。

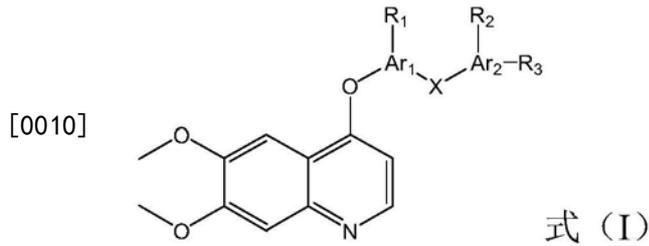
[0006] 目前对FLT3及突变型FLT3的靶向抑制成为研究热点,主要为开发小分子酪氨酸激酶抑制剂,通过与FLT3酪氨酸激酶竞争ATP结合位点而抑制其活性。目前已经进入临床的抑制FLT3的激酶抑制剂有AC220等。

[0007] 受体酪氨酸激酶c-Kit(又称CD117)是由逆转录病毒原癌基因c-kit编码的一类具有酪氨酸激酶活性的跨膜受体蛋白,与血小板衍生生长因子受体(PDGFR)、巨噬细胞集落刺激因子-1受体(CSF-1R)和Fms样酪氨酸激酶受体3(FLT3)共同组成Ⅲ型受体酪氨酸激酶超家族,其在肿瘤发生发展过程中起着十分重要的作用。因此,c-Kit是目前肿瘤分子靶向治疗的热门靶标之一。C-Kit是酪氨酸激酶受体蛋白家族的重要成员之一,其作为干细胞因子的受体,可以通过一系列信号通路参与造血干细胞增殖分化的调控。近年来研究发现,c-kit基因存在突变,特别是激活性突变与急性白血病中的发病、治疗和预后等密切相关。

[0008] 胃肠道间质瘤(Gastrointestinal Stromal Tumors,GIST)是消化道最常见的间叶源性肿瘤。绝大部分的GIST均表达c-kit基因编码的Kit蛋白(CD117)。在分子层面上,大部分的GIST均存在c-kit基因突变,从而导致Kit蛋白的活化不需要配体SCF参与就能刺激肿瘤细胞的持续增殖和抗凋亡信号的失控。胃肠道间质瘤占胃肠道恶性肿瘤的1~3%,估计年发病率约为10-20/100万,多发于中老年患者,40岁以下患者少见,男女发病率无明显差异。GIST大部分发生于胃(50~70%)和小肠(20~30%),结直肠约占10~20%,食道占0~6%,肠系膜、网膜及腹腔后罕见。GIST病人20-30%是恶性的,第一次就诊时约有11~47%已有转移,转移主要在肝和腹腔。2001年,Joensuu等报告了首例晚期GIST受试者接受分子靶向药物甲磺酸伊马替尼(简称伊马替尼)治疗有效,2002年美国食品与药物管理局(FDA)正式批准伊马替尼作为GIST的标准用药,开创了GIST的分子靶向治疗新时代。c-Kit激酶抑制剂在肿瘤分子靶向治疗中的成功着实令人欢欣鼓舞,然而不幸的是,部分肿瘤患者在使用该类药物一段时间后会出耐药,其机制十分复杂,主要包括激酶结构域的二次点突变、靶基因的扩增和过度表达或表观遗传学调控激活、冗余/下游信号通路上调或激活以及ABC转运蛋白的过度表达等。因此,开发新的c-Kit抑制剂势在必行。

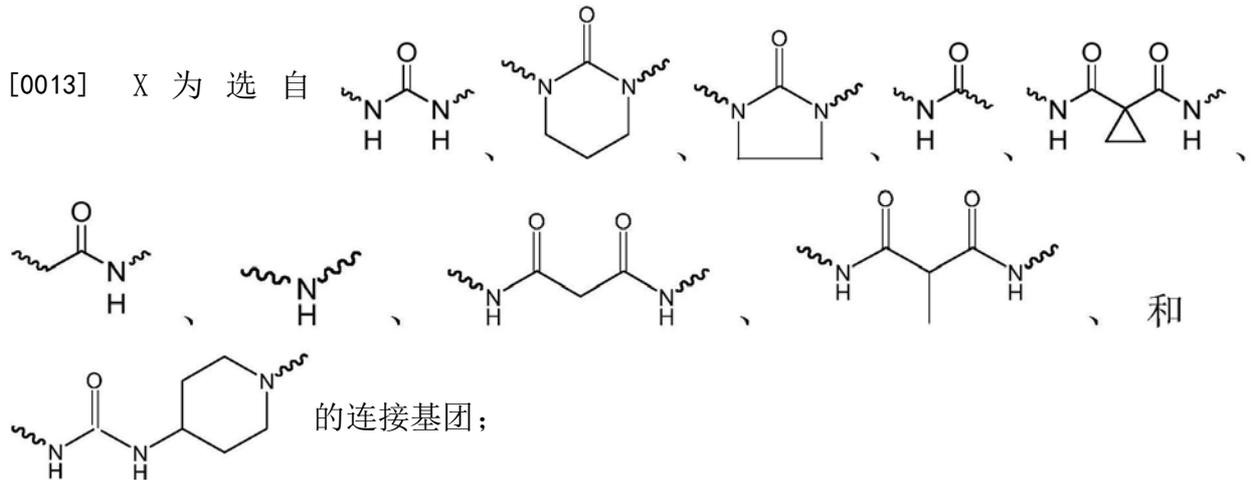
发明内容

[0009] 本发明提供了一种新型FLT3激酶抑制剂,其包括式(I)的化合物或其药学可接受的盐、溶剂化物、异构体、酯、酸、代谢物、或前药:

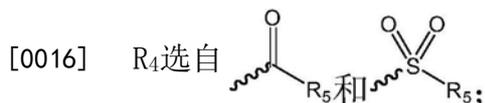
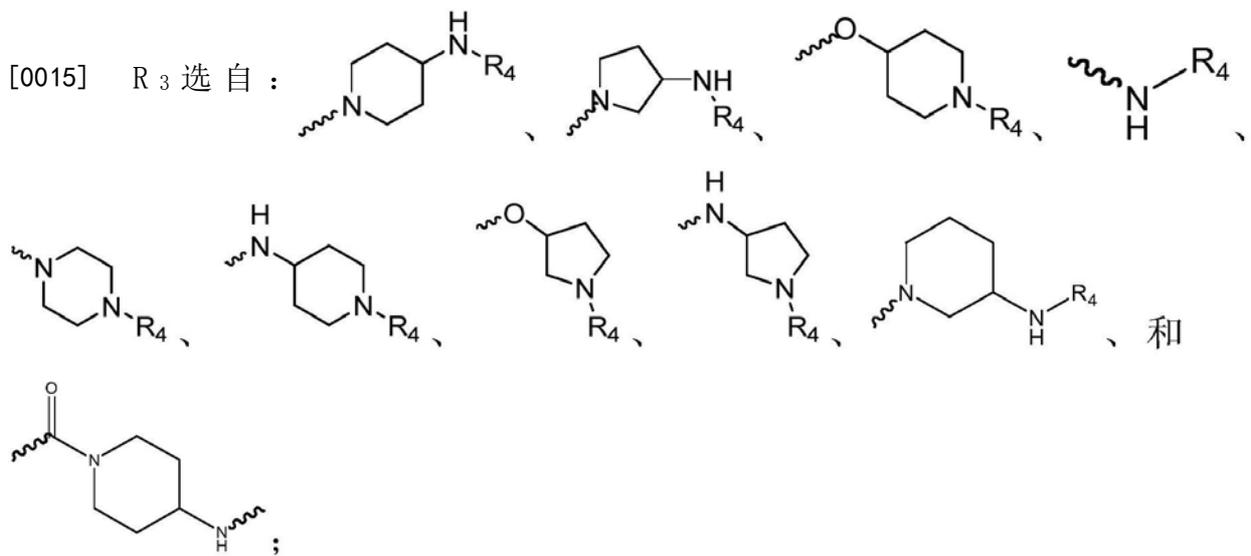


[0011] 其中:

[0012] Ar₁和Ar₂各自独立地为芳基或杂芳基;



[0014] R₁和R₂各自独立地选自氢、卤素、烷基、和卤代烷基;



[0017] R₅选自烷基;烯基;炔基;卤代烷基;环烷基;氨基烷基;烷基氨基烷基;烷基氨基烯基;杂环烷基,任选地被烷基、烷基羰基、环烷基羰基、氨基保护基、或杂原子任选被烷基取代的杂环烷基取代;环烯基;杂芳基;任选地被烷基取代的杂环烷基烷基;任选地被烷基取代的杂芳基;烷基任选地被氨基取代且氮任选被氨基保护基取代的氨酰基烷基;烷基任选地被氨基取代且氮任选被氨基保护基取代且/或芳基任选被羟基取代的芳基烷基;以及烷

基任选地被氨基取代且氮任选地被氨基保护基取代且/或杂芳基任选地被羟基取代的杂芳基烷基。其中,氨基保护基独立地选自叔丁氧羰基、苄氧羰基、9-芴甲氧羰基、苄基和对甲氧苄基。

[0018] 在另一方面,本发明提供一种药物组合物,其包括治疗有效量的至少一种本文提供的化合物或其药学可接受的盐、溶剂化物、异构体、酯、酸、代谢物或前药,以及药学可接受的载体或赋形剂,以及任选的其它治疗剂。

[0019] 在又一方面,本发明提供一种本发明的式(I)化合物或其药学可接受的盐、溶剂化物、异构体、酯、酸、代谢物或前药的制备方法。

[0020] 在又一方面,本发明涉及式(I)化合物或其药学可接受的盐、溶剂化物、异构体、酯、酸、代谢物或前药在体内或体外降低或抑制酪氨酸激酶FLT3、c-KIT、ABL、EGFR、BMX、BLK、VEGFR、RET、PDGFR、MEK、BCR/ABL、JAK、BRAF活性的用途,特别是FLT3激酶和/或突变型FLT3激酶以及c-Kit激酶。

[0021] 在又一方面,本发明涉及式(I)化合物或其药学可接受的盐、溶剂化物、异构体、酯、酸、代谢物或前药、或包括式(I)化合物的药物组合物在制备用于治疗细胞增殖性病症和/或FLT3、c-Kit相关病症的药物中的用途。

[0022] 特别地,所述病症响应于FLT3或突变型FLT3激酶抑制,或者响应于c-Kit激酶抑制。FLT3突变包括ITD突变和TKD点突变,尤其是FLT3/ITD突变。

附图说明

[0023] 图1a至1h分别示出本发明的化合物2-3、化合物2-1和化合物2-33在MV-4-11、MOLM-14和MOLM-13细胞中对与FLT3相对密切相关的蛋白及相关信号通路的影响。

[0024] 图2a至2e分别示出本发明的化合物2-1和化合物2-33在MV-4-11、MOLM-14和MOLM-13细胞中对细胞凋亡的影响。

[0025] 图3a至3c分别示出本发明的化合物2-1和化合物2-33对MV-4-11和MOLM-14细胞株的细胞周期分布的影响。

具体实施方式

[0026] 术语

[0027] 除非另外定义,所有本文使用的科技术语都具有与要求保护的主体所属领域的技术人员一般理解相同的含义。

[0028] 除非另有说明,本发明采用本领域技术范围内的质谱、NMR、HPLC、蛋白质化学、生物化学、重组DNA技术和药理学等常规方法。除非提供具体的定义,否则与本文描述的分析化学、合成有机化学、以及医学和药物化学等化学上相关的命名和实验室操作和技术,是本领域技术人员已知的。一般而言,前述技术和步骤可以通过本领域众所周知的和在各种一般文献和更具体文献中描述的常规方法来实施,这些文献在本说明书中被引用和讨论。

[0029] 本文使用的术语“烷基”是指含有1至12个碳原子的直链或支链烃基。术语“低级烷基”是指C1~C6烷基链。烷基可以任选地被一个或多个取代基取代。在本发明中,烷基优选为C1-C8烷基,更优选为C1-C6烷基。典型的烷基包括但不限于甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、戊基、己基等。应理解,本文提到的“烷基”包括可能存在的所有构型和

构象的该烷基,例如本文提到的“丁基”包括正丁基、异丁基和叔丁基。

[0030] 术语“烯基”是指可以是直链或支链的不饱和烃链,其含有2至12个碳原子和至少一个碳-碳双键。烯基可以任选地被一个或多个取代基取代。在本发明中,烯基优选为C2-C8烯基,更优选为C2-C6烯基,更优选为C2-C4烯基。

[0031] 术语“炔基”是指可以是直链或支链的不饱和烃链,其含有2至12个碳原子和至少一个碳-碳三键。炔基可以任选地被一个或多个取代基取代。在本发明中,炔基优选为C2-C8炔基,更优选为C2-C6炔基,更优选为C2-C4炔基。

[0032] 烯基和炔基的 sp^2 或 sp 碳可以分别任选地为烯基或炔基的连接点。

[0033] 术语“氨基”是指基团 $-NH_2$ 。术语“氨酰基”是指 $-CO-NH_2$ 。术语“酰胺基”或“酰氨基”是指 $-NR-CO-R'$,其中R和R'各自独立地为氢或烷基。

[0034] 术语“烷基氨基”是指进一步被一个或两个烷基取代的氨基取代基,具体是指基团 $-NRR'$,其中R和R'各自独立地选自氢或低级烷基,条件是 $-NRR'$ 不是 $-NH_2$ 。术语“氨基烷基”是指进一步被一个或多个氨基取代的烷基取代基。术语“羟烷基”或“羟基烷基”是指进一步被一个或多个羟基取代的烷基取代基。术语“氰基烷基”是指进一步被一个或多个氰基取代的烷基取代基。术语“烷酰基”或“烷基羰基”是指进一步被一个烷基取代的羰基。术语“烷基羰基烷基”是指进一步被一个烷基羰基取代的烷基。术语“烷氧基羰基”是指进一步被一个烷氧基取代的羰基。术语“烷基氨基烷基”是指本文定义的烷基被本文定义的烷基氨基取代。烷基氨基、氨基烷基、羟基烷基、氰基烷基、烷基羰基、烷基羰基烷基、烷氧基羰基、以及烷基氨基烷基中的烷基部分可以任选地被一个或多个取代基取代。

[0035] 术语“芳香基”是指平面环具有离域的 π 电子系统并且含有 $4n+2$ 个 π 电子,其中n是整数。芳香基环可以由五、六、七、八、九或多于九个原子构成。芳香基可以是任选取代的。术语“芳香基”包括碳环芳基(例如苯基)和杂环芳基(或“杂芳基”或“杂芳香基”)基团(例如吡啶)。该术语包括单环或稠环多环(即共用相邻的碳原子对的环)基团。

[0036] 本文使用的术语“芳基”是指芳香基环中每一个构成环的原子都是碳原子。芳基环可以由五、六、七、八、九或多于九个原子构成。芳基可以是任选取代的。芳基的实例包括但不限于苯基、萘基、菲基、蒽基、茚基和茛基。根据结构,芳基可以是单价基团或双价基团(即亚芳基)。

[0037] “烷基(芳基)”或“芳烷基”是指本文定义的烷基被本文定义的芳基取代。非限制性的烷基(芳基)包括苄基、苯乙基等。

[0038] 术语“环烷基”是指单环或多环基,其仅含有碳和氢。环烷基包括具有3-8个环原子的基团。根据结构,环烷基可以是单价基团或双价基团(例如亚环烷基)。在本发明中,环烷基优选是具有3-8个碳原子的环烷基,更优选具有3-6个碳原子的“低级环烷基”。

[0039] “烷基(环烷基)”或“环烷基烷基”是指本文定义的烷基被本文定义的环烷基取代。非限制性的烷基(环烷基)包括环丙基甲基、环丁基甲基、环戊基甲基、环己基甲基等。

[0040] 本文使用的术语“杂烷基”是指本文定义的烷基中的一个或多个骨架链原子是杂原子,例如氧、氮、硫、硅、磷或它们的组合。所述杂原子(一个或多个)可以位于杂烷基内部的任意位置或在杂烷基与分子的其余部分相连的位置。

[0041] 术语“杂芳基”是指芳基中包括一个或多个选自氮、氧和硫的环杂原子。含N“杂芳基”部分是指芳香基中环上至少有一个骨架原子是氮原子。根据结构,杂芳基可以是单价基

团或双价基团(即亚杂芳基)。杂芳基的实例包括但不限于吡啶基、咪唑基、嘧啶基、吡唑基、三唑基、吡嗪基、四唑基、呋喃基、噻吩基、异噻唑基、噻唑基、噁唑基、异噻唑基、吡咯基、喹啉基、异喹啉基、吲哚基、苯并咪唑基、苯并呋喃基、吲唑基、吲嗪基、酞嗪基、哒嗪基、异吲哚基、蝶啶基、嘌呤基、噁二唑基、噻二唑基、呋喃基、苯并呋喃基、苯并噻吩基、苯并噻唑基、苯并噁唑基、喹啉基、茶啶基和呋喃并吡啶基等。

[0042] 本文使用的术语“杂环烷基”是指非芳香基环中一个或多个构成环的原子是选自氮、氧和硫的杂原子。杂环烷基环可以由三、四、五、六、七、八、九或多于九个原子构成。杂环烷基环可以是任选取代的。杂环烷基的实例包括但不限于内酰胺、内酯、环亚胺、环硫代亚胺、环氨基甲酸酯、四氢噻喃、4H-吡喃、四氢吡喃、哌啶、1,3-二噁英、1,3-二噁烷、1,4-二噁英、1,4-二噁烷、哌嗪、1,3-氧硫杂环己烷、1,4-氧硫杂环己二烯、1,4-氧硫杂环己烷、四氢-1,4-噻嗪、2H-1,2-噻嗪、马来酰亚胺、琥珀酰亚胺、巴比妥酸、硫代巴比妥酸、二氧化哌嗪、乙内酰脲、二氢尿嘧啶、氮杂茺、高哌啶、吗啉、三噁烷、六氢-1,3,5-三嗪、四氢噻吩、四氢呋喃、吡咯啉、吡咯烷、咪唑烷、吡咯烷酮、吡唑啉、吡唑烷、咪唑啉、咪唑烷、1,3-二氧杂环戊烯、1,3-二氧杂环戊烷、1,3-二硫杂环戊烯、1,3-二硫杂环戊烷、异噻唑啉、异噻唑烷、噁唑啉、噁唑烷、噁唑烷酮、噻唑啉、噻唑烷和1,3-氧硫杂环戊烷。根据结构,杂环烷基可以是单价基团或双价基团(即亚杂环烷基)。

[0043] 术语“烷基(杂芳基)”或“杂芳基烷基”是指本文定义的烷基被本文定义的杂芳基取代。

[0044] 术语“烷基(杂环烷基)”或“杂环烷基烷基”是指本文定义的烷基被本文定义的杂环烷基取代。

[0045] 术语“卤”或“卤素”是指氟、氯、溴和碘。

[0046] 术语“卤代烷基”、“卤取代的烷氧基”和“卤取代的杂烷基”包括烷基、烷氧基或杂烷基的结构,其中至少一个氢被卤原子置换。在某些实施方式中,如果两个或更多氢原子被卤原子置换,所述卤原子彼此相同或不同。

[0047] 术语“酰基”是指有机或无机含氧酸去掉羟基后剩下的一价原子团,通式为R-M(O)-,其中M通常为C。

[0048] 术语“羰基”是由碳和氧两种原子通过双键连接而成的有机官能团(C=O)。

[0049] 术语“取代的”是指所提及的基团可以被一个或多个额外的基团取代,所述额外的基团各自并且独立地选自烷基、环烷基、芳基、杂芳基、羟基、烷氧基、氰基、卤素、酰胺基、硝基、卤代烷基、氨基、烷氧基羰基、烷基(杂芳基)、烷基(杂环烷基)等。

[0050] 任何基团(例如,烷基、烯基、炔基、芳基、芳烷基、杂芳基、杂芳烷基、环烷基、杂环烷基)可以任选地被一个或多个取代基取代,且取代基可以在该基团的任意原子上,其中可被取代的任何基团可以任选地被一个或多个取代基(其可以是相同的或不同的)取代,各自取代一个氢原子。适当的取代基的实例包括,但不限于,烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、芳烷基、杂芳烷基、芳基、杂芳基、卤素、卤代烷基、氰基、硝基、烷氧基、卤代烷氧基、芳氧基、羟基、羟基烷基、氧(即,羰基)、羧基、甲酰基、烷基羰基、烷基羰基烷基、烷氧基羰基、烷基羰基氧基、芳氧基羰基、杂芳氧基、杂芳氧基羰基、硫基、巯基、巯基烷基、芳基磺酰基、氨基、氨基烷基、二烷基氨基、烷基羰基氨基、烷基氨基羰基、烷氧基羰基氨基、烷基氨基、芳基氨基、二芳基氨基、烷基羰基、或芳基氨基取代的芳基;芳基烷基氨基、芳烷基氨基羰基、酰

氨基、烷基氨基磺酰基、芳基氨基磺酰基、二烷基氨基磺酰基、烷基磺酰基氨基、芳基磺酰基氨基、亚氨基、脒基、氨基甲酰基、硫脒基、氰硫基、磺酰氨基、磺酰基烷基、磺酰基芳基、巯基烷氧基、N-羟基脒基、或N'-芳基、N''-羟基脒基、硫代烷氧基、环烷氧基、含1~5个氟的氟代烷氧基、甲酰氨基、任选取代的芳基、或任选取代的杂芳基。

[0051] 本文使用的术语“抑制”、“抑制的”或“抑制剂”，是指磷酸转移酶活性被抑制。

[0052] 本文公开的化合物的“代谢物”是当该化合物被代谢时形成的化合物的衍生物。术语“活性代谢物”是指当该化合物被代谢时形成的化合物的生物活性衍生物。本文使用的术语“被代谢”，是指特定物质被生物体改变的过程总和(包括但不限于水解反应和由酶催化的反应，例如氧化反应)。因此，酶可以产生特定的结构转变为化合物。例如，细胞色素P450催化各种氧化和还原反应，同时二磷酸葡萄糖苷酸基转移酶催化活化的葡萄糖醛酸分子至芳香醇、脂肪族醇、羧酸、胺和游离的巯基的转化。新陈代谢的进一步的信息可以从《The Pharmacological Basis of Therapeutics》，第九版，McGraw-Hill(1996)获得。本文公开的化合物的代谢物可以通过将化合物给予宿主并分析来自该宿主的组织样品、或通过将化合物与肝细胞在体外孵育并且分析所得化合物来鉴别。这两种方法都是本领域已知的。在一些实施方式中，化合物的代谢物是通过氧化过程形成并与相应的含羟基化合物对应。在一些实施方式中，化合物被代谢为药物活性代谢物。本文使用的术语“调节”，是指直接或间接与靶标相互作用，以改变靶标的活性，仅仅举例来说，包括增强靶标的活性、抑制靶标的活性、限制靶标的活性或者延长靶标的活性。

[0053] 术语“前药”包括具有可以在体内代谢的部分的化合物。通常，前药通过酯酶或通过其它机理在体内代谢成活性药物。前药及其用途的例子在本领域内公知(参见例如Berge等人(1977)“Pharmaceutical Salts”，J.Pharm.Sci.66:1-19)。可以在化合物最终分离和纯化期间原位制备前药，或者通过单独地使纯化的化合物以其游离酸形式或羟基与合适的酯化剂反应来制备。羟基可以经羧酸处理而转换成酯。前药部分的实例包括取代和未被取代的、支链或无支链的低级烷基酯部分(例如丙酸酯)、低级烯基酯、二-低级烷基-氨基低级烷基酯(例如二甲基氨基乙基酯)、酰基氨基低级烷基酯(例如乙酰氧基甲基酯)、酰氧基低级烷基酯(例如新戊酰氧基甲基酯)、芳基酯(苯基酯)、芳基低级烷基酯(例如苄基酯)、取代的(例如被甲基、卤素或甲氧基取代基取代的)芳基和芳基低级烷基酯、酰胺、低级烷基酰胺、二低级烷基酰胺和羟基酰胺。优选的前药部分为丙酸酯和酰基酯。也包括在体内通过其它机理转化成活性形式的前药。在一些方面，本发明的化合物是任意本文通式的前药。

[0054] 术语“异构体”是指化学组成相同但是原子或基团在空间排列上不同的化合物，意在包括非对映异构体、对映异构体、区域异构体(regioisomers)、结构异构体、旋转异构体、互变异构体等等。对于含有一个或多个立体中心(stereogenic center)的化合物，例如手性化合物，可以使用对映异构富集化合物、外消旋体、或非对映异构体混合物来实施本发明的方法。

[0055] 本文使用的术语“靶蛋白”是指能被选择性结合化合物所结合的蛋白质分子或部分蛋白质。在某些实施方式中，靶蛋白是FLT3。

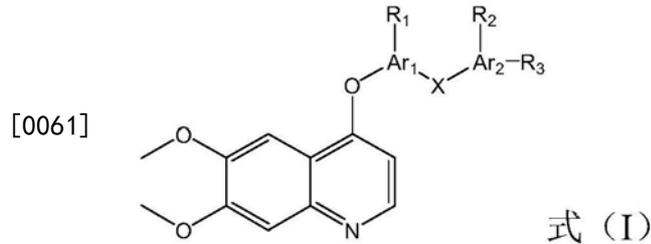
[0056] 本文使用的GI50是指细胞50%生长抑制所需的药物浓度，即药物使50%癌细胞的生长得到抑制或控制，此时的药物浓度。

[0057] 本文使用的IC₅₀是指在测量这样的效应的分析中获得最大效应的50%抑制的特定测试化合物的量、浓度或剂量。

[0058] 本文使用的EC₅₀是指测定化合物的剂量、浓度或量,其引起特定测定化合物诱导、刺激或加强的特定反应的50%的最大表达的剂量依赖反应。

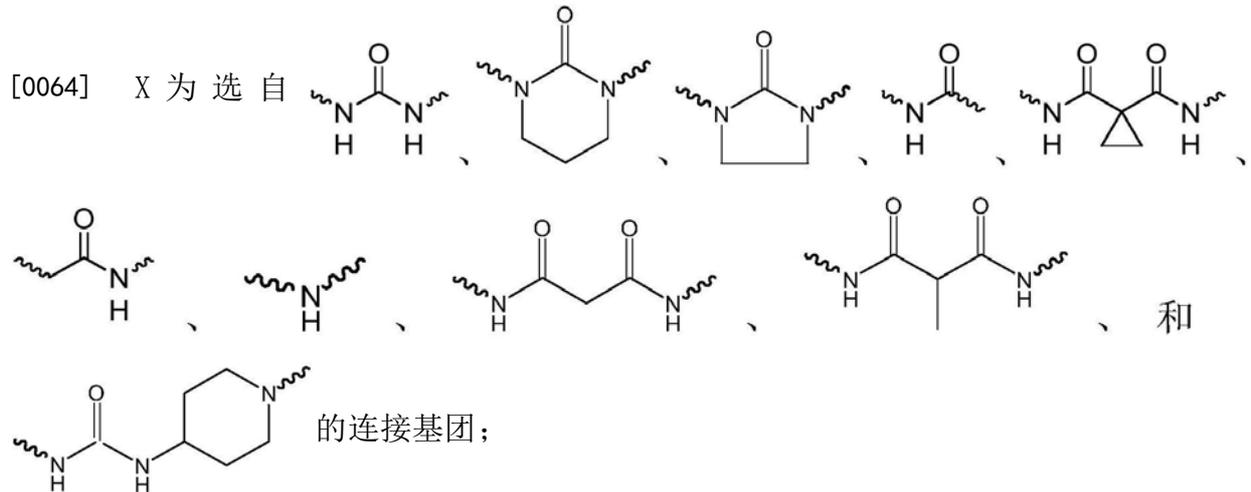
[0059] 本发明新型的激酶抑制剂

[0060] 本发明提供了一种新型FLT3激酶抑制剂,其包括式(I)的化合物或其药学可接受的盐、溶剂化物、异构体、酯、酸、代谢物、或前药:

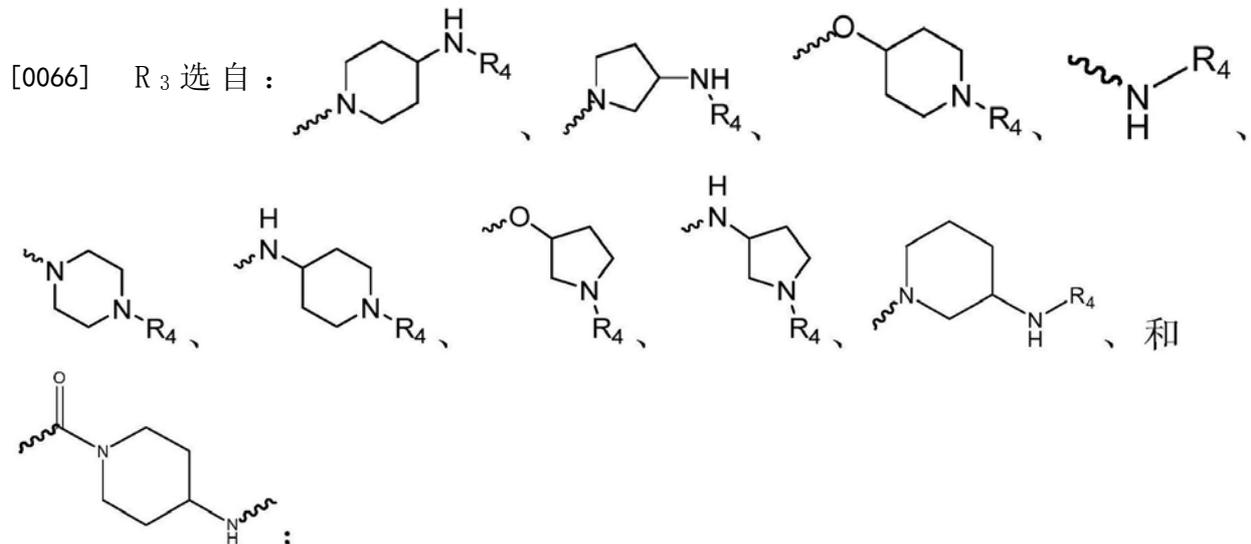


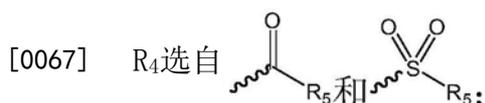
[0062] 其中:

[0063] Ar₁和Ar₂各自独立地为芳基或杂芳基,例如苯基、噻唑基、喹唑啉基、苯并噁唑基;



[0065] R₁和R₂各自独立地选自氢;卤素;烷基,例如甲基;以及卤代烷基,例如三氟甲基;





[0068] R_5 选自烷基,例如甲基、乙基、丙基、新戊基、壬基;烯基,例如乙烯基、丙烯基;炔基,例如乙炔基;卤代烷基,例如氯代乙烷基;环烷基,例如环丙基;氨基烷基,例如氨基甲基、氨基乙基;烷基氨基烷基,例如N,N-二甲基氨基甲基、N,N-二丙基氨基乙基;烷基氨基烯基,例如N,N-二甲基氨基丙烯基;杂环烷基(例如哌啶基、吡喃基),可任选地被烷基(例如甲基、乙基)、烷基羰基(例如甲基羰基、乙基羰基)、环烷基羰基(例如环丙基羰基)、氨基保护基(例如Boc)、或杂原子任选被烷基(例如甲基)取代的杂环烷基取代;环烯基,优选五元或六元环烯基,例如环戊烯基、环己烯基;杂芳基,例如吡啶基;任选地被烷基取代的杂环烷基;任选地被烷基取代的杂芳基(例如吡啶基、异噁唑基);烷基任选地被氨基取代且氮任选地被氨基保护基取代的氨酰基烷基;烷基任选地被氨基取代且氮任选地被氨基保护基取代且/或芳基任选被羟基取代的芳基烷基;以及烷基任选地被氨基取代且氮任选地被氨基保护基取代且/或杂芳基任选被羟基取代的杂芳基烷基。其中,氨基保护基独立地选自叔丁氧羰基(Boc)、苄氧羰基(Cbz)、9-芴甲氧羰基(FMOC)、苄基(Bn)和对甲氧苄基(PMP)。

[0069] 本发明所涉及带有手性的化合物,其构型可以是任意构型或者混合的外消旋体。

[0070] 对于各个变量,上述基团的任意组合也在本文考虑之中。可以理解的是:本文所提供的化合物上的取代基和取代模式可以由本领域技术人员进行选择,以便提供化学上稳定的且可以使用本领域已知的技术以及本文阐述的技术合成的化合物。

[0071] 本文描述的是新型的激酶抑制剂。本文也描述了此化合物的药学可接受的盐、溶剂化物、异构体、酯、酸、药物活性代谢物和前药。

[0072] 在另外的或进一步的实施方式中,将本文描述的化合物给予有需要的生物体后在其体内代谢产生代谢物,所产生的代谢物然后用于产生期望的效果,包括期望的治疗效果。

[0073] 本文描述的化合物可以被制成和/或被用作药学可接受的盐。药学可接受的盐的类型包括但不限于:(1)酸加成盐,通过将化合物的游离碱形式与药学可接受的无机酸反应形成,所述无机酸如盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、磷酸、偏磷酸等;或与有机酸反应形成,所述有机酸如乙酸、丙酸、己酸、环戊烷丙酸、羟基乙酸、丙酮酸、乳酸、丙二酸、苹果酸、柠檬酸、琥珀酸、马来酸、酒石酸、反丁烯二酸、三氟乙酸、苯甲酸、3-(4-羟基苯甲酰基)苯甲酸、肉桂酸、扁桃酸、甲烷磺酸、乙烷磺酸、1,2-乙二磺酸、2-羟基乙磺酸、苯磺酸、甲苯磺酸、4-甲基双环-[2.2.2]辛-2-烯-1-甲酸、2-萘磺酸、叔丁基乙酸、葡庚糖酸、4,4'-亚甲基双-(3-羟基-2-烯-1-甲酸)、3-苯基丙酸、三甲基乙酸、十二烷基硫酸、葡糖酸、谷氨酸、水杨酸、羟基萘酸、硬脂酸、粘康酸等;(2)碱加成盐,其在母体化合物中的酸性质子被金属离子置换时形成,例如碱金属离子(例如锂、钠、钾)、碱土金属离子(例如镁或钙)或铝离子;或与有机碱配位。可接受的有机碱包括乙醇胺、二乙醇胺、三乙醇胺、三甲胺、N-甲基葡萄糖胺,等等。可接受的无机碱包括氢氧化铝、氢氧化钙、氢氧化钾、碳酸钠、氢氧化钠等。

[0074] 药学可接受的盐的相应的平衡离子可以使用各种方法分析和鉴定,所述方法包括但不限于离子交换色谱、离子色谱、毛细管电泳、电感耦合等离子体、原子吸收光谱、质谱或它们的任何组合。

[0075] 使用以下技术的至少一种回收所述盐:过滤、用非溶剂沉淀接着过滤、溶剂蒸发,

或水溶液的情况下使用冻干法。

[0076] 筛选和表征药学可接受的盐、多晶型和/或溶剂化物可以使用多种技术完成,所述技术包括但不限于热分析、X射线衍射、光谱、显微镜方法、元素分析。使用的各种光谱技术包括但不限于Raman、FTIR、UVIS和NMR(液体和固体状态)。各种显微镜技术包括但不限于IR显微镜检术和拉曼(Raman)显微镜检术。

[0077] 本发明的药物组合物及其用途

[0078] 本发明也涉及药物组合物,它们包含式(I)化合物或其药学可接受的盐、溶剂化物、异构体、酯、酸、代谢物或前药作为活性成分,以及药学可接受的载体或赋形剂,以及任选的其它治疗剂。

[0079] 式(I)化合物或其药学可接受的盐、溶剂化物、异构体、酯、酸、代谢物或前药以及包括其的药物组合物在下文中又称为“本发明的物质”。

[0080] 本发明的物质可用于治疗或预防细胞增殖性病症和/或FLT3、c-Kit相关病症,特别是响应于蛋白酪氨酸激酶抑制、尤其FLT3或突变型FLT3激酶抑制或c-Kit抑制的疾病。FLT3突变包括ITD突变和TKD点突变,尤其是ITD突变。本发明的“治疗”可以是治疗性的(如对症治疗)和/或预防性的。本发明的物质优选可治疗或预防与FLT3或c-Kit相关的病症,特别优选治疗或预防与突变型FLT3/ITD相关的病症。

[0081] 在治疗过程中,本发明的物质可以根据情况单独或与一种或多种其它的治疗剂组合使用。可以通过注射、口服、吸入、直肠和经皮施用中的至少一种将包含至少一种式(I)的化合物的药物施用给需要的患者。其它的治疗剂可以选自以下药物:免疫抑制剂(例如他克莫司、环孢菌素、雷帕霉素、甲氨蝶呤、环磷酰胺、硫唑嘌呤、巯嘌呤、麦考酚酯或FTY720)、糖皮质激素类药(例如泼尼松、醋酸可的松、泼尼松龙、甲泼尼龙、地塞米松、倍他米松、曲安西龙、氢羟强的松龙、倍氯米松、醋酸氟氢可的松、醋酸脱氧皮质酮、醛固酮)、非甾体抗炎药(例如水杨酸盐、芳基烷酸、2-芳基丙酸、N-芳基邻氨基苯甲酸、昔康类、考昔类或硫酰替苯胺)、变态反应疫苗、抗组胺药、抗白三烯药、 β -激动剂、茶碱、抗胆碱药或其它选择性激酶抑制剂(例如mTOR抑制剂、c-Met抑制剂)或Her2抗体-药物。另外,所提及的其它治疗剂还可以是雷帕霉素(Rapamycin)、克唑替尼(Crizotinib)、他莫昔芬、雷洛昔芬、阿那曲唑、依西美坦、来曲唑、赫赛汀TM(曲妥珠单抗)、格列卫TM(伊马替尼)、紫杉醇TM(紫杉醇)、环磷酰胺、洛伐他汀、美诺四环素(Minosine)、阿糖胞苷、5-氟尿嘧啶(5-FU)、甲氨蝶呤(MTX)、紫杉特尔TM(多西他赛)、诺雷德TM(戈舍瑞林)、长春新碱、长春碱、诺考达唑、替尼泊苷、依托泊苷、健择TM(吉西他滨)、埃博霉素(Epothilone)、诺唯本、喜树碱、柔红霉素(Daunorubicin)、更生霉素、米托蒽醌、安吡啶、多柔比星(亚德里亚霉素)、表柔比星或伊达比星。或者,其它治疗剂也可以是细胞因子例如G-CSF(粒细胞集落刺激因子)。或者,其它治疗剂也可以是,例如但不限于,CMF(环磷酰胺、甲氨蝶呤和5-氟尿嘧啶)、CAF(环磷酰胺、亚德里亚霉素和5-氟尿嘧啶)、AC(亚德里亚霉素和环磷酰胺)、FEC(5-氟尿嘧啶、表柔比星和环磷酰胺)、ACT或ATC(亚德里亚霉素、环磷酰胺和紫杉醇)或CMFP(环磷酰胺、甲氨蝶呤、5-氟尿嘧啶和泼尼松)。

[0082] 所述其它治疗剂还包括,例如,细胞抑制剂、其他抗增殖剂。

[0083] 这类抗增殖剂包括但不限于芳构化酶抑制剂、抗雌激素、拓扑异构酶I抑制剂、拓扑异构酶II抑制剂、微管活性剂、烷基化剂、组蛋白去乙酰酶抑制剂、法尼基转移酶抑制剂、

COX-2抑制剂、MMP抑制剂、mTOR抑制剂、抗瘤形成性抗代谢物、铂化合物、降低蛋白激酶活性的化合物与进一步的抗血管生成化合物、促性腺激素释放因子激动剂、抗雄激素、bengamide、双膦酸类化合物、类固醇、抗增殖性抗体、17-(烯丙胺基)-17-去甲氧基格尔德霉素(17-AAG)和替莫唑胺(TMEDODAL)。

[0084] 本文所用术语“芳构化酶抑制剂”涉及抑制雌激素产生、也就是底物雄烯二酮和雌二酮转化的化合物。该术语包括但不限于类固醇,尤其依西美坦和福美坦,以及特别是非类固醇,尤其氨鲁米特、伏罗唑、法倔唑、阿那曲唑,非常尤其是来曲唑。依西美坦例如可以以其市售形式给药,例如商标为AROMASIN™。福美坦例如可以以其市售形式给药,例如商标为LENTARON™。法倔唑例如可以以其市售形式给药,例如商标为AFEMA™。氨鲁米特例如可以以其市售形式给药,例如商标为ORIMETEN™。

[0085] 包含芳构化酶抑制剂作为抗瘤形式剂的本发明组合物特别可用于治疗激素受体阳性乳腺肿瘤。

[0086] 本文所用的术语“抗雌激素”涉及在雌激素受体水平上拮抗雌激素效应的化合物。该术语包括但不限于他莫昔芬、fulvestrant、雷洛昔芬和盐酸雷洛昔芬。他莫昔芬例如可以以其市售形式给药,例如商标为NOLVADEX™。盐酸雷洛昔芬例如可以以其市售形式给药,例如商标为EVISTA™。Fulvestrant可以如US4659516所述配制,或者例如可以以其市售形式给药,例如商标为FASLODEX™。

[0087] 本文所用的术语“拓扑异构酶I抑制剂”包括但不限于拓扑替康、伊立替康、9-硝基喜树碱缀合物PNU-166148(W099/17804中的化合物A1)。伊立替康例如可以以其市售形式给药,例如商标为CAMPTOSAR™。拓扑替康例如可以以其市售形式给药,例如商标为HYCANTIN™。

[0088] 本文所用的术语“拓扑异构酶II抑制剂”包括但不限于蒽环素类(anthracycline)阿霉素(包括脂质体制剂,例如CAELYX™)、表柔比星、伊达比星和奈莫比星(nemorubin),蒽醌类米托蒽醌和洛素蒽醌,和鬼臼毒素类依托泊苷和替尼泊苷。依托泊苷例如可以以其市售形式给药,例如商标为ETOPOPHOS™。替尼泊苷例如可以以其市售形式给药,例如商标为VM 26-BRISTOL™。阿霉素例如可以以其市售形式给药,例如商标为ADRIBLASTIN™。伊达比星例如可以以其市售形式给药,例如商标为ZAVEDOS™。米托蒽醌例如可以以其市售形式给药,例如商标为NOVANTRON™。

[0089] 术语“微管活性剂”涉及微管稳定化剂,包括但不限于紫杉烷素(paclitaxel)和多西他赛(docetaxel),长春花属生物碱,例如长春碱,尤其硫酸长春碱,海绵内酯(discodermolide)和埃坡霉素(epothilone),例如埃坡霉素B和D。多西他赛例如可以以其市售形式给药,例如商标为TAXOTERE™。硫酸长春碱可以以其市售形式给药,例如商标为VINBLASTIN R.P.™。硫酸长春新碱例如可以以其市售形式给药,例如商标为FARMISTION™。海绵内酯例如可以如US 5010099所述得到。

[0090] 本文所用的术语“烷基化剂”包括但不限于环磷胺、异环磷酰胺和美法仑。环磷酰胺例如可以以其市售形式给药,例如商标为CYCLOSTIN™。异环磷酰胺例如可以以其市售形式给药,例如商标为HOLOXAN™。

[0091] 术语“组蛋白去乙酰酶抑制剂”涉及抑制组蛋白去乙酰酶并且具备抗增殖活性的化合物。这包括WO 02/22577所公开化合物,尤其N-羟基-3-[[(2-羟基乙基) [2-(1H-吡啶-

3-基)乙基]-氨基]甲基]苯基]-2E-2-丙烯酰胺、N-羟基-3-[[(2-羟基乙基) [2- (1H-吡啶-3-基)乙基]-氨基]甲基]苯基]-2E-2-丙烯酰胺和其药学上可接受的盐。进一步尤其包括辛二酰苯胺异羟肟酸(SAHA)。

[0092] 术语“法尼基转移酶抑制剂”涉及抑制法尼基转移酶并且具备抗增殖活性的化合物。

[0093] 术语“COX-2抑制剂”涉及抑制环加氧酶2型酶(COX-2)并且具备抗增殖活性的化合物,例如塞来昔布(Celebrex)、洛芬昔布(Vioxx)和鲁米拉考昔(COX189)。

[0094] 术语“MMP抑制剂”涉及抑制基质金属蛋白酶(MMP)并且具备抗增殖活性的化合物。

[0095] 术语“mTOR抑制剂”涉及抑制哺乳动物雷帕霉素靶(mTOR)并且具备抗增殖活性的化合物,例如西罗莫司(Rapamune)、everolimus (Certican™)、CCI-779和ABT578。

[0096] 术语“抗瘤形成性抗代谢物”包括但不限于5-氟尿嘧啶、替加氟、卡培他滨、克拉屈滨、阿糖胞苷、磷酸氟达拉滨、氟脲苷(fluorouridine)、吉西他滨、6-巯基嘌呤、羟基脲、甲氨喋呤、依达曲沙和这类化合物的盐,此外还有ZD1694 (RALTITREXED™)、LY231514 (ALIMTA™)、LY264618 (LOMOTREXOL™)和OGT719。

[0097] 本文所用的术语“铂化合物”包括但不限于卡铂、顺铂和奥沙利铂。卡铂例如可以以其市售形式给药,例如商标为CARBOPLAT™。奥沙利铂例如可以以其市售形式给药,例如商标为ELOXATIN™。

[0098] 本文所用的术语“降低蛋白激酶活性的化合物与进一步的抗血管生成化合物”包括但不限于降低下列活性的化合物,例如血管内皮生长因子(VEGF)、表皮生长因子(EGF)、c-Src、蛋白激酶C、血小板衍生生长因子(PDGF)、Bcr-Abl、c-Kit、FLT3、胰岛素样生长因子I受体(IGF-IR)和细胞周期蛋白依赖性激酶(CDK),具有不同于降低蛋白激酶活性的作用机理的抗血管生成化合物。

[0099] 降低VEGF活性的化合物尤其是抑制VEGF受体、尤其VEGF受体的酪氨酸激酶活性的化合物和与VEGF结合的化合物,特别是在下列文献中一般和具体公开的那些化合物、蛋白质和单克隆抗体:WQ98/35958(描述式I化合物)、W000/09495、W000/27820、W000/59509、W098/11223、W000/27819、W001/55114、W001/58899和EP0769947;M.Prewett等人在Cancer Research 59(1999)5209-5218中、Z.Zhu等人在Cancer Res.58,1998,3209-3214中和J.Mordenti等人在Toxicologic Pathology,vol.27,no.1,14-21,1999中所述的那些;W000/37502和W094/10202;Angiostatin™,如M.S.O'Reilly等人,Cell 79,1994,315-328所述。

[0100] 降低EGF活性的化合物尤其是抑制EGF结合的化合物,特别是在下列文献中一般与具体公开的那些化合物:W097/02266(描述式IV化合物)、EP0564409、W099/03854、EP0520722、EP0566226、EP0787722、EP0837063、W098/10767、W097/30034、W097/49688、WOW097/38983和尤其W096/33980。

[0101] 降低c-Src活性的化合物包括但不限于如下所定义的抑制c-Src蛋白酪氨酸激酶活性的化合物和SH2相互作用抑制剂,例如公开在W097/07131和W097/08193中的那些。

[0102] 抑制c-Src蛋白酪氨酸激酶活性的化合物包括但不限于属于下列结构种类的化合物:吡咯并嘧啶类、尤其吡咯并[2,3-d]嘧啶;嘌呤类;吡唑并嘧啶类、尤其吡咯并[3,4-d]嘧啶;吡唑并嘧啶类、尤其吡唑并吡咯并[3,4-d]嘧啶和吡啶并嘧啶类、尤其吡啶并吡咯并[2,

3-d]嘧啶。优选地,该术语涉及公开在W096/10028、W097/28161、W097/32879和W097/49706中的那些化合物。

[0103] 降低IGF-IR活性的化合物尤其是公开在W002/92599中的那些化合物。

[0104] 降低蛋白激酶活性并且也可以与本发明化合物联合使用的进一步具体化合物有Imatinib(Gleevec/Glivec)、PKC412、IressacTM(ZD1839)、AEE788和其药学可接受盐(另见W003/13541)、PTK787和其药学上可接受的盐(另见W098/35958)、ZD6474、GW2016、CHIR-200131、CEP-7055/CEP-5214、CP-547632、KRN-633和SU5416。

[0105] 具有不同于降低蛋白激酶活性的作用机理的抗血管生成化合物包括但不限于例如沙利度胺(THALOMID)、塞来昔布(Celebrex)和ZD6126。

[0106] 本文所用的术语“促性腺激素释放因子激动剂”包括但不限于abarelix、性瑞林和乙酸性瑞林。性瑞林公开在US4100274中,例如可以以其市售形式给药,例如商标为ZOLADEXTM。Abarelix例如可以如US5843901所述配制。

[0107] 本文所用的术语“抗雄激素”包括但不限于比卡鲁胺(CASODEXTM),它例如可以如US4636505所述配制。

[0108] 术语“bengamide”涉及bengamide和其具有抗增殖性质的衍生物。

[0109] 本文所用的术语“双膦酸类化合物”包括但不限于依曲膦酸(pamidronic acid)、阿仑膦酸(alendronic acid)。依曲膦酸例如可以以其市售形式给药,例如商标为DIDRINELTM。氯膦酸例如可以以其市售形式给药,例如商标为BONEFOSTM。替鲁膦酸例如可以以其市售形式给药,例如商标为SKELIDTM。帕米膦酸例如可以以其市售形式给药,例如商标为AREDIATM。阿仑膦酸例如可以以其市售形式给药,例如商标为FOSAMAXTM。伊班膦酸例如可以以其市售形式给药,例如商标为BONDRANATTM。利塞膦酸例如可以以其市售形式给药,例如商标为ACTONELTM。唑来膦酸例如可以以其市售形式给药,例如商标为ZOMETATM。

[0110] 术语“类固醇”包括氢化可的松、地塞米松(Decadron)、甲基氢化波尼松和波尼松。

[0111] 本文所用的术语“抗增殖性抗体”包括但不限于司徒曼布(Trastuzumab)(HerceptinTM)、司徒曼布-DM1、erlotinib(TercevaTM)、bevacizumab(AvastinTM)、利妥希玛(Rituxan)、PR064553(抗-CD40)和2C4抗体。

[0112] 在又一方面,本发明涉及以本发明的物质治疗或预防细胞增殖性病症和/或FLT3、c-Kit相关病症的方法。在治疗过程中,可以通过注射、口服、吸入、直肠或经皮将提供的本发明的物质施用给患者。还可以根据情况将有效量的包含至少一种式(I)的化合物或药物组合物单独或与一种或多种其它的治疗剂组合使用。所提及的其它的治疗剂如上文所限定。在治疗过程中,还可以将包含至少一种式(I)的化合物或药物组合物的化学疗法联合放射疗法进行施用。

[0113] 具体而言,本发明的物质可用于治疗或预防细胞增殖性病症,选自良性或恶性肿瘤,包括但不限于:实体瘤(包括良性或者尤其恶性类型)、肉瘤、胃肠道间质瘤(Gastrointestinal Stromal Tumors,GIST)、急性粒细胞白血病(Acute Myeloblastic Leukemia,AML)、慢性髓性白血病(Chronic Myelogenous Leukemia,CML)、对ABL及BCR/ABL酪氨酸激酶活性抑制具有影响的白血病、B-细胞淋巴瘤、淋巴瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、慢性淋巴细胞淋巴瘤、慢性淋巴细胞白血病、B胞前淋巴细胞性白血病、淋巴浆细胞淋巴瘤/瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症、脾边缘区淋巴瘤、浆细胞性骨髓瘤、浆细胞瘤、结

外边缘区B细胞淋巴瘤、淋巴结边缘区B细胞淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、纵隔(胸腺)大B细胞淋巴瘤、血管内大B细胞淋巴瘤、原发性渗出性淋巴瘤、伯基特淋巴瘤、白血病、淋巴瘤样肉芽肿病、间质瘤、系统性肥大细胞病、嗜酸性粒细胞增多综合征(HES)、纤维变性、类风湿性关节炎、多关节炎、硬皮病、红斑狼疮、移植物抗宿主病(graft-versus-host disease, GVHD)、神经纤维瘤、肺高压、乳腺导管癌、小叶癌、腺癌、黑色素瘤、B细胞增生性疾病、脑癌、肾癌、肝癌、肾上腺癌、膀胱癌、乳腺癌、淋巴瘤、胃癌、胃肠间质瘤、胃肿瘤、食道癌、卵巢癌、结肠癌、前列腺癌、胰腺癌、肺癌、阴道癌、膜腺癌、甲状腺癌、颈癌、CNS的癌症、恶性胶质瘤、骨髓增生病、成胶质细胞瘤、多发性骨髓瘤、胃肠癌、结肠直肠癌、头颈肿瘤、脑瘤、表皮过度增生、银屑病、前列腺增生、上皮特征的瘤形成、阴道癌、宫颈癌、子宫内膜癌、多发性骨髓瘤、颈和头部肿瘤、阿尔茨海默病、精原细胞瘤、无性细胞瘤、肥大细胞肿瘤、支气管癌、睾丸上皮内瘤形成、乳癌、神经母细胞瘤、乳头状/滤泡型甲状腺癌、恶性淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、2型多发性内分泌瘤形成、嗜铬细胞瘤、甲状旁腺增生/腺瘤、结肠癌、结肠直肠癌、恶性胸膜间皮瘤、成血管细胞瘤、血管瘤、直肠癌、瘤形成以及其他增生性或增殖性疾病或其组合。

[0114] 本发明的物质还可用于治疗或预防c-Kit相关病症,尤其是胃肠间质瘤(Gastrointestinal Stromal tumors, GIST)或类似疾病或组合。

[0115] 本发明的物质还可用于治疗或预防FLT3相关病症,尤其是突变型FLT3/ITD相关病症,包括但不限于:血液学恶性肿瘤包括白血病、淋巴瘤(非霍奇金淋巴瘤)、霍奇金病(也称为霍奇金淋巴瘤)和骨髓瘤——例如,急性淋巴细胞白血病(ALL)、急性粒细胞白血病(AML)、急性早幼粒细胞白血病(APL)、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、慢性粒细胞白血病(CML)、慢性嗜中性细胞白血病(CNL)、急性未分化细胞白血病(AUL)、退行发育性大细胞性淋巴瘤(ALCL)、成人T细胞ALL、伴有三谱系(trilineage)脊髓发育不良的AML(AML/TMDs)、混合型谱系白血病(MLL)、脊髓发育不良综合征(MDSs)、骨髓增生异常(MPD)、多发性骨髓瘤(MM)和脊髓肉瘤、慢性淋巴细胞淋巴瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、滤泡性淋巴瘤或慢性淋巴细胞白血病、套细胞淋巴瘤(mantle cell lymphoma)、纵隔(胸腺)大B细胞淋巴瘤、血管内大B细胞淋巴瘤、原发性渗出性淋巴瘤、伯基特淋巴瘤(Burkitt lymphoma)、或类似疾病、或其组合。

[0116] 优选对温血动物、尤其人类肠内给药如鼻、口腔、直肠或尤其口服给药的组合物和肠胃外给药如静脉内、肌内或皮下给药的组合物。活性成分的剂量依赖于所要治疗的疾病和品种、其年龄、体重与个体条件、个体药动学数据和给药方式。

[0117] 所述药物组合物可以任选地与已知治疗方法联合使用,例如激素或放射的施用。

[0118] 例如,就急性髓性白血病AML的治疗而言,式(I)化合物可以与标准白血病疗法联合使用,尤其用于治疗AML的疗法。确切而言,式(I)化合物可以与例如法尼基转移酶抑制剂和/或其他可用于治疗AML的药物联合给药,例如柔红霉素、阿霉素、Ara-C、VP-16、替尼泊苷、米托蒽醌、伊达比星、卡铂和PKC412。

[0119] 由代码、通用名称或商品名称所确定的活性成分的结构可以来自标准著作“默克索引”的现行版本或者来自数据库,例如Patents International(例如IMS World Publications)。

[0120] 上述可以与式(I)化合物联合使用的化合物可以如本领域例如上面引用的文献所述制备和给药。

[0121] 在本发明的实施方式中,在根据本发明对患者进行治疗时,给定药物的量取决于诸多因素,如具体的给药方案、疾病或病症类型及其严重性、需要治疗的受治疗者或宿主的独特性(例如体重),但是,根据特定的周围情况,包括例如已采用的具体药物、给药途径、治疗的病症、以及治疗的受治疗者或宿主,施用剂量可由本领域已知的方法常规决定。通常,就成人治疗使用的剂量而言,施用剂量典型地在0.02-5000mg/天,例如约1-1500mg/天的范围。该所需剂量可以方便地被表现为一剂、或同时给药的(或在短时间内)或在适当的间隔的分剂量,例如每天二、三、四剂或更多分剂。本领域技术人员可以理解的是,尽管给出了上述剂量范围,但具体的有效量可根据患者的情况并结合医师诊断而适当调节。

[0122] 化合物的制备

[0123] 使用本领域技术人员已知的标准合成技术或使用本领域已知的方法与本文描述的方法组合,可以合成式(I)的化合物。另外,本文给出的溶剂、温度和其它反应条件可以根据本领域技术而改变。

[0124] 在某些实施方式中,本文提供的是本文描述的激酶抑制剂化合物的制备方法及其使用方法。在某些实施方式中,本文描述的化合物可以使用以下合成的方案合成。可以使用与下述类似的方法,通过使用适当的可选择起始原料,合成化合物。

[0125] 用于合成本文描述的化合物的起始原料可以被合成或可以从商业来源获得。本文描述的化合物和其它相关具有不同取代基的化合物可以使用本领域技术人员已知的技术和原料合成。制备本文公开的化合物的反应可以通过由本领域技术人员所认为适当的试剂和条件修改,以引入本文提供的分子中的各种部分。

[0126] 如果需要,反应产物可以使用常规技术分离和纯化,包括但不限于过滤、蒸馏、结晶、色谱等方法。这些产物可以使用常规方法表征,包括物理常数和图谱数据。

[0127] 使用本文描述的合成方法,以好的收率和纯度获得本文公开的化合物。按照本文公开的方法制备的化合物通过本领域已知的常规方法纯化,例如过滤、重结晶、色谱、蒸馏及其组合。

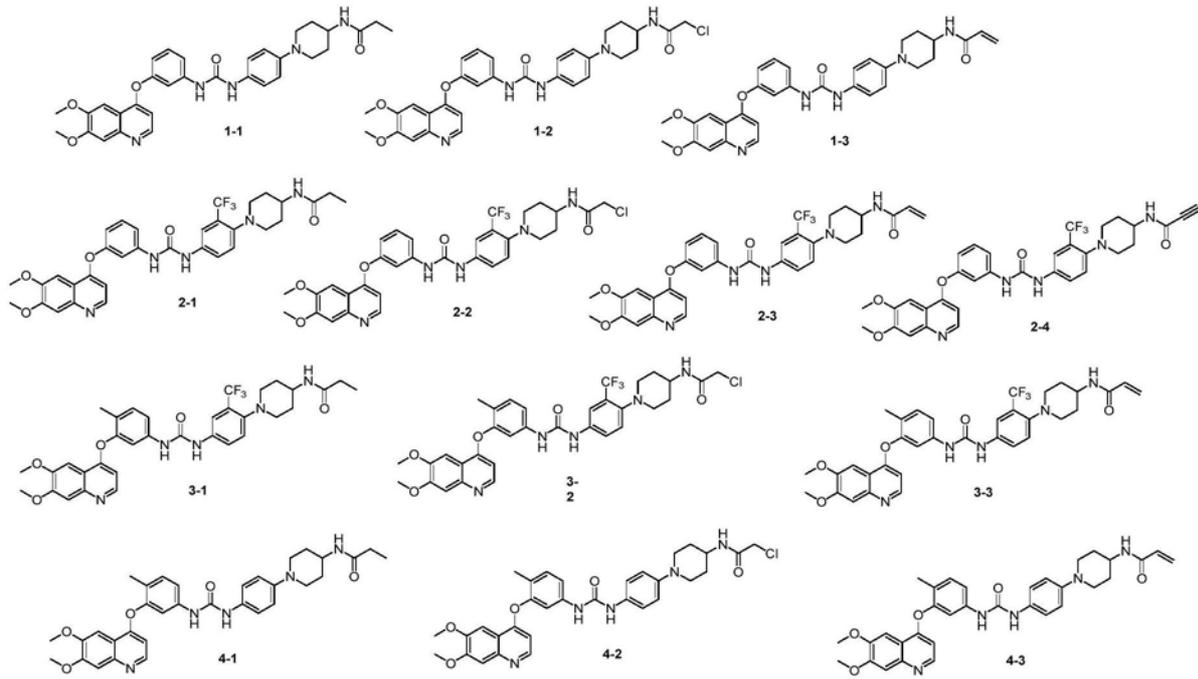
[0128] 在式(I)的化合物的芳香环部分上的位点,可以易于发生各种代谢反应,因此适当的取代基被引入至芳香环结构上,例如,仅仅举例说明,卤素能还原、减小或消除这种代谢途径。

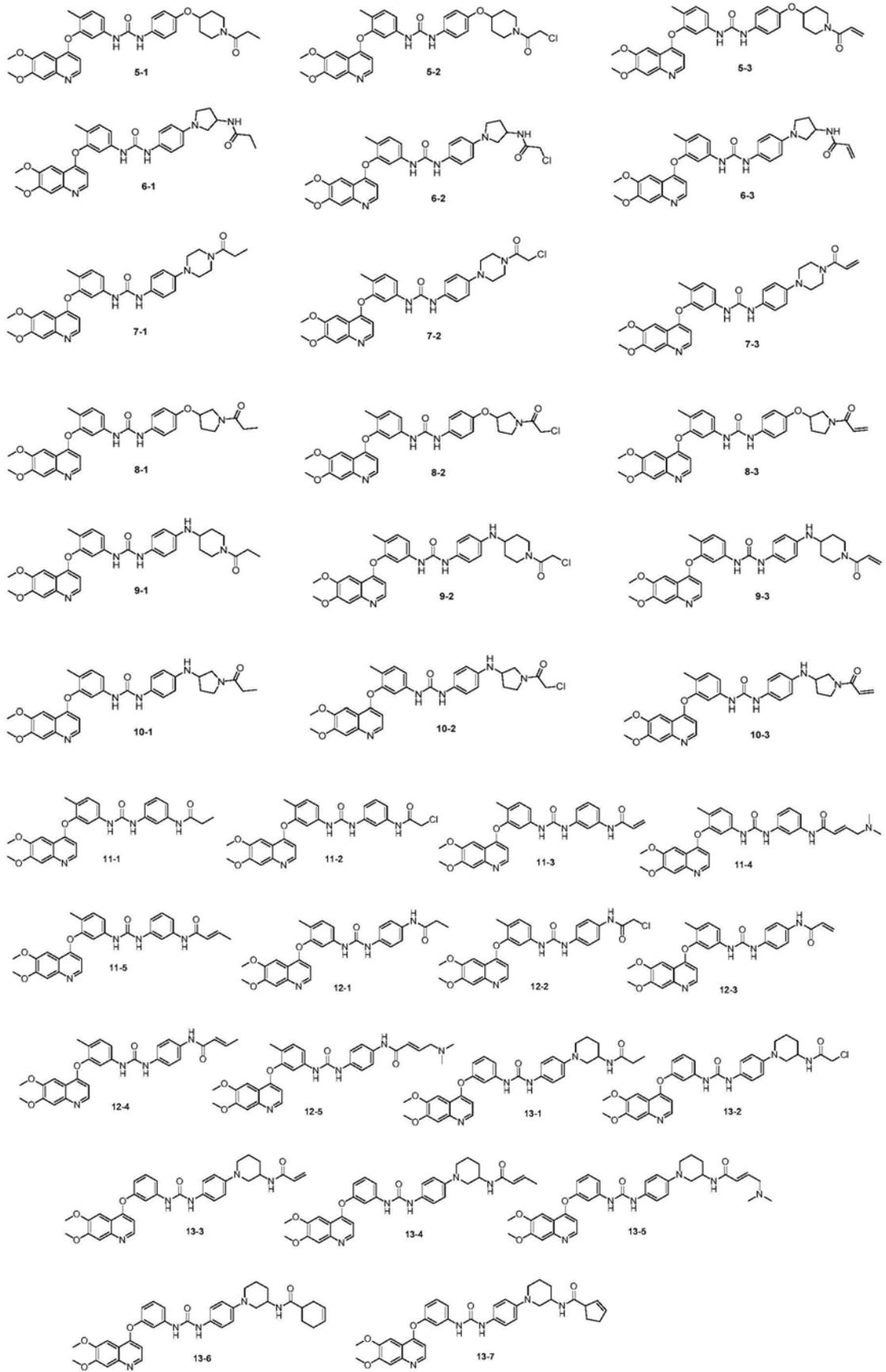
[0129] 实施例

[0130] 以下具体的非限制性实施例将被解释为仅仅是说明性的,并不以任何方式限制本公开。虽然无需进一步详细描述,但是可以相信本领域技术人员能基于本文的描述,完全利用本公开。

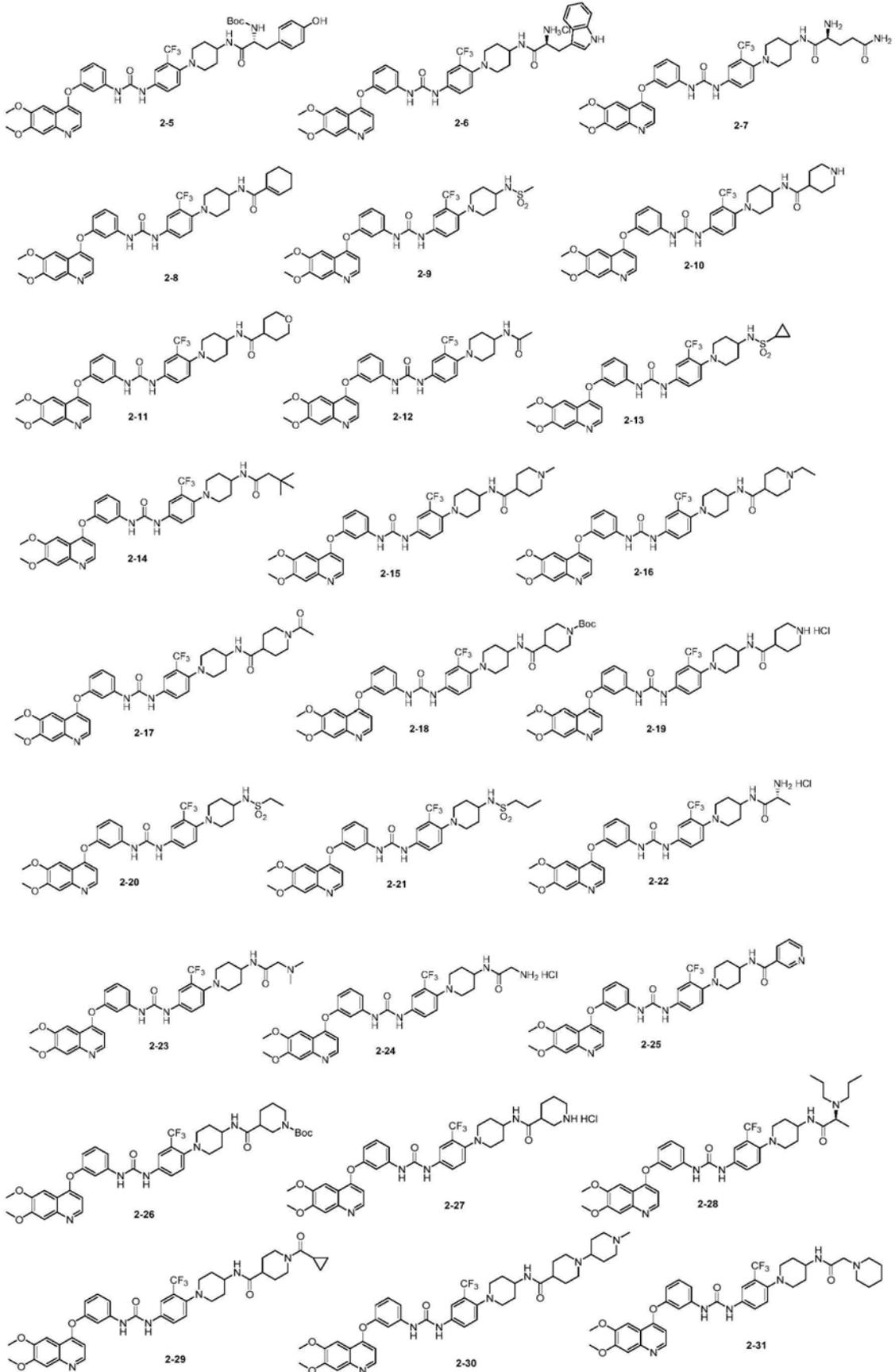
[0131] 本发明的优选化合物如下所示:

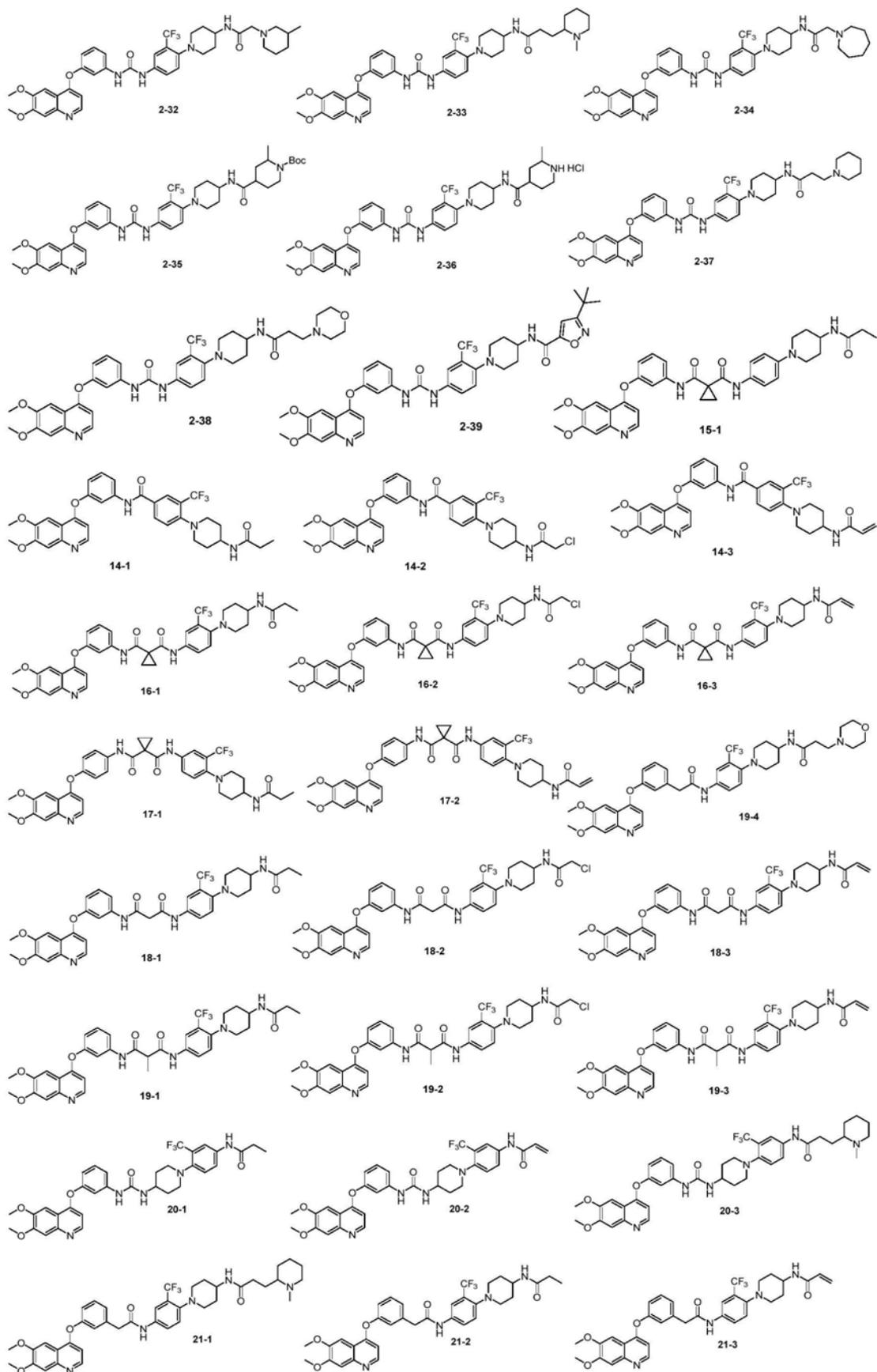
[0132]



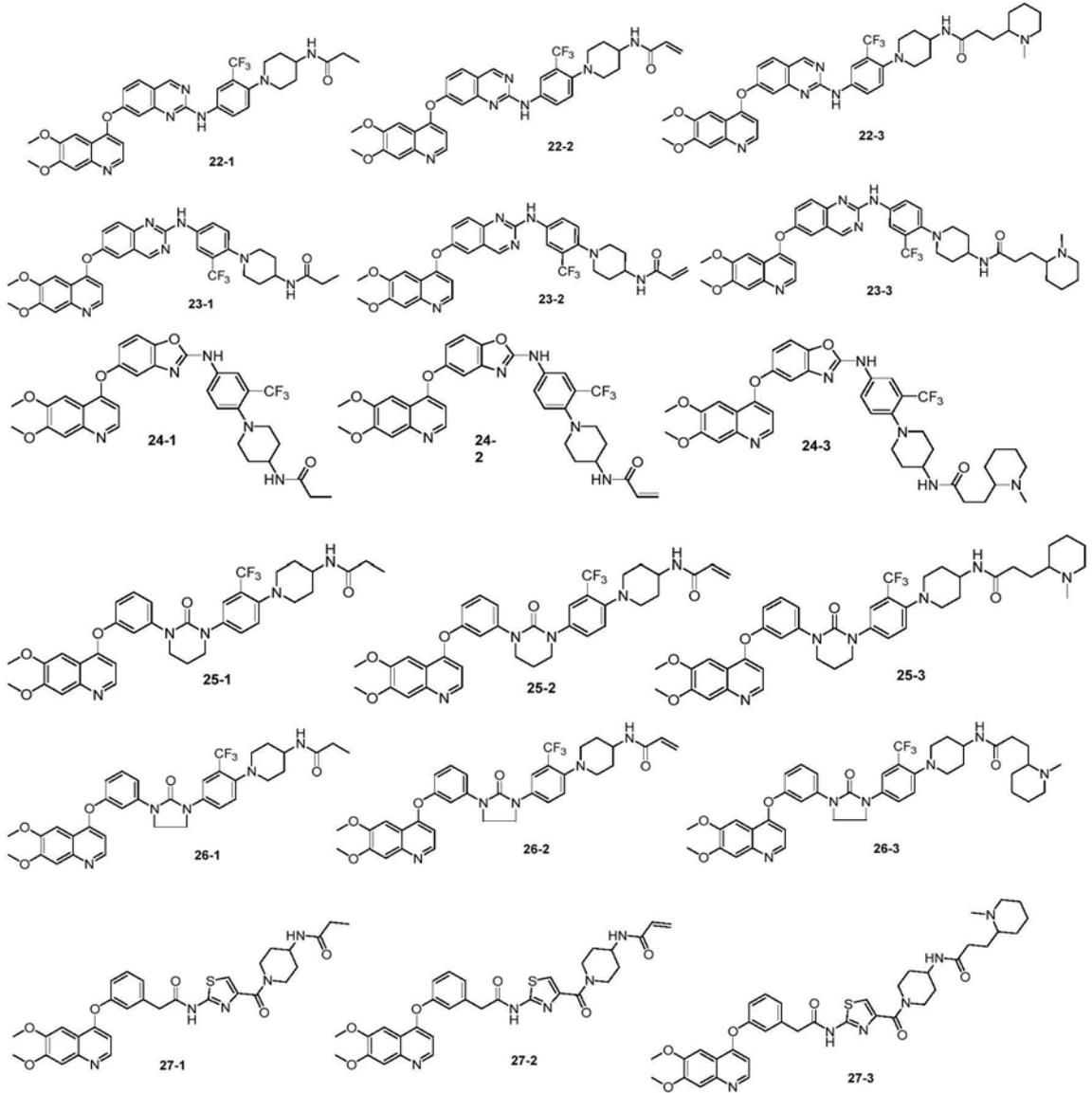


[0134]



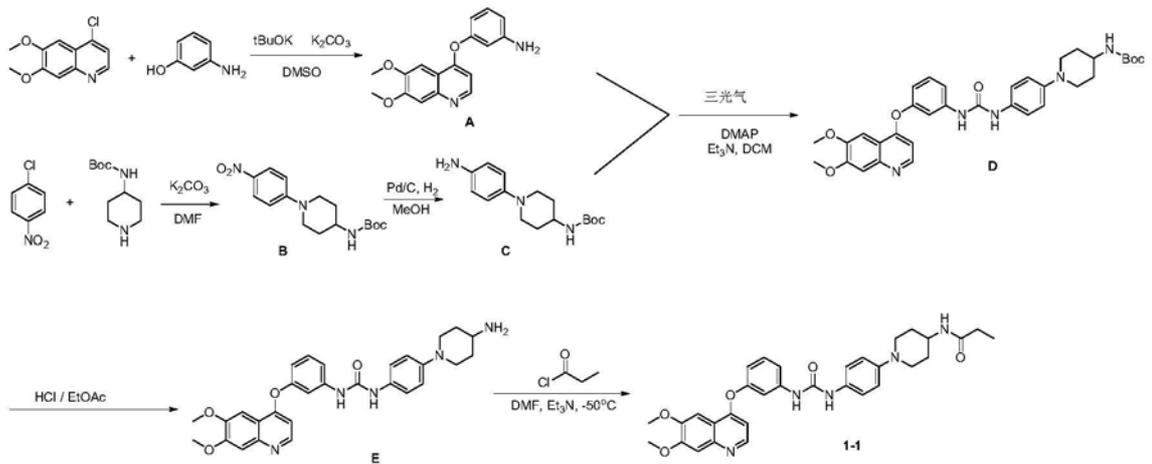


[0136]



[0137] 实施例1

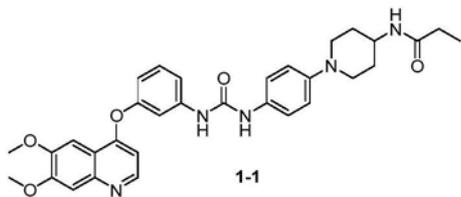
[0138]



[0139] N-(1-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)脲基)苯基)哌啶-4-基)

丙酰胺1-1的合成

[0140]



[0141] 3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)-氧基)苯胺A的合成

[0142] 步骤一:将叔丁醇钾(1.2当量)慢慢加入到装有3-氨基苯酚(1.2当量)和二甲基亚砷(3mL)的反应瓶中,于室温条件下搅拌2小时后再往反应瓶中加入4-氯-6,7-二甲氧基喹啉(2.2mmol)和碳酸钾(0.6当量)。加热反应至110℃,反应过夜。质谱检测无4-氯-6,7-二甲氧基喹啉剩余,停止反应,冷却至室温,反应液用乙酸乙酯稀释后再加入饱和碳酸氢钠溶液,分液后,乙酸乙酯相再分别用稀氢氧化钠溶液、饱和食盐水洗涤,无水硫酸镁干燥,过滤,浓缩后柱层析得化合物A(400mg),收率61%。Exact Mass(计算值):296.1161;MS(ESI) m/e (M+1)⁺:297.1201;¹H-NMR(400MHz,DMSO-d₆) 8.49(d,J=4.2Hz,1H),7.46(s,1H),7.39(s,1H),7.14~7.10(m,1H),6.53(d,J=4.2Hz,1H),6.51(d,J=8.0Hz,1H),6.37~6.34(m,2H),5.39(s,2H),4.04(s,3H),3.94(s,3H)。

[0143] 叔丁基(1-(4-硝基苯基)哌啶-4-基)氨基甲酸酯B的合成

[0144] 步骤二:将4-氯硝基苯(12.69mmol)和4-Boc氨基哌啶(1.0当量)溶于N,N-二甲基甲酰胺(60mL)中,再加入碳酸钾(3.0当量),加热反应至100℃反应10小时。质谱检测无原料剩余,停止反应。冷却至室温,反应液用碳酸氢钠溶液稀释,用乙酸乙酯萃取三次,合并的乙酸乙酯相,用饱和食盐水洗涤,干燥,过滤,浓缩后得化合物B粗产物(3.9g)。Exact Mass(计算值):321.1689;MS(ESI) m/e (M+1)⁺:321.1601;¹H-NMR(400MHz,DMSO-d₆) 8.04(d,J=8.0Hz,2H),7.02(d,J=8.0Hz,2H),4.02~3.96(m,2H),3.56~3.53(m,1H),3.11~3.05(m,2H),2.51~2.50(m,2H),1.82~1.80(m,2H),1.39(s,9H)。

[0145] 叔丁基(1-(4-氨基苯基)哌啶-4-基)氨基甲酸酯C的合成

[0146] 步骤三:将化合物B(12.96mmol)溶于甲醇(500mL)中,再加入钯碳(2.0g),反应混合液于氢气氛围下反应7小时。质谱检测无原料剩余,停止反应。反应混合液浓缩后柱层析得化合物C(1.2g),两步收率为32%。Exact Mass(计算值):291.1947;MS(ESI) m/e (M+1)⁺:292.2011;¹H-NMR(400MHz,DMSO-d₆) 6.83(s,1H),6.69~6.67(m,2H),6.49~6.47(m,2H),4.62(br.,2H),3.33~3.27(m,3H),2.54~2.51(m,2H),1.78~1.75(m,2H),1.50~1.47(m,2H),1.39(s,9H)。

[0147] 叔丁基(1-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)脲基)苯基)哌啶-4-基)氨基甲酸酯D的合成

[0148] 步骤四:氩气氛围下,将三光气(0.4当量)溶于二氯甲烷(20mL)中,冰水浴冷却,然后将化合物A(1.34mmol),4-二甲氨基吡啶(0.1当量),三乙胺(1.0当量)和二氯甲烷(5mL)的混合液通过恒压低液漏斗慢慢滴入三光气的混合液中,滴完后反应30分钟,再于冰水浴条件下将化合物C(1.34mmol),4-二甲氨基吡啶(0.1当量),三乙胺(1.0当量)和二氯甲烷(5mL)的混合液通过恒压低液漏斗慢慢滴入上述混合反应液中,室温下反应过夜。质谱检测,原料反应殆尽,停止反应。反应混合液浓缩后柱层析得化合物D(206mg),收率25%。

Exact Mass (计算值): 613.2900; MS (ESI) m/e (M+1)⁺: 614.2907; ¹H-NMR (400MHz, DMSO-d₆) 9.46 (s, 1H), 8.99 (s, 1H), 8.52 (d, J=4.0Hz, 1H), 7.55~7.52 (m, 2H), 7.42~7.38 (m, 2H), 7.27~7.25 (m, 3H), 6.87~6.83 (m, 4H), 6.57 (d, J=4.0Hz, 1H), 3.96 (s, 3H), 3.95 (s, 3H), 3.52~3.49 (m, 2H), 3.36 (br, 1H), 2.66~2.61 (m, 2H), 1.79~1.77 (m, 2H), 1.49~1.42 (m, 2H), 1.39 (s, 9H).

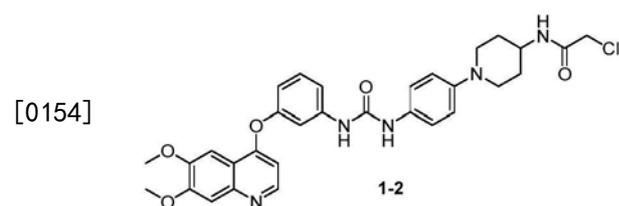
[0149] 1-(4-(4-氨基哌啶-1-基)苯基)-3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)脲E的合成

[0150] 步骤五:将氯化氢乙酸乙酯溶液(15mL)慢慢滴入装有化合物D(0.33mmol)的反应瓶中,于室温下反应4小时。质谱检测,原料反应殆尽,停止反应。将反应液过滤得类白色固体,即为化合物E的盐酸盐(170mg)。Exact Mass (计算值): 513.2376; MS (ESI) m/e (M+1)⁺: 514.2402; ¹H-NMR (400MHz, DMSO-d₆) 8.47 (d, J=4.0Hz, 1H), 7.53 (s, 1H), 7.40 (s, 1H), 7.35~7.30 (m, 3H), 7.21~7.19 (m, 2H), 6.88~6.83 (m, 3H), 6.52 (d, J=4.0Hz, 1H), 4.15 (s, 3H), 4.13 (s, 3H), 3.59~3.56 (m, 2H), 2.82~2.71 (m, 3H), 1.92~1.90 (m, 2H), 1.47~1.44 (m, 2H).

[0151] 步骤六:将化合物E(0.078mmol)溶于N,N-二甲基甲酰胺(0.5mL)中,再加入三乙胺(0.04mL),冷却至-50℃,再将丙酰氯(1.2当量)缓慢加入反应液中。反应5分钟后质谱检测,原料反应殆尽。往反应液中加入饱和碳酸氢钠溶液,氯仿萃取三次,氯仿层再饱和食盐水洗涤,干燥,过滤,浓缩后柱层析得化合物1-1(34mg),收率79%。Exact Mass (计算值): 569.2638; MS (ESI) m/e (M+1)⁺: 570.2599; ¹H-NMR (400MHz, DMSO-d₆) 9.25 (s, 1H), 8.87 (s, 1H), 8.50 (d, J=5.2Hz, 1H), 7.73 (d, J=7.6Hz, 1H), 7.55 (s, 1H), 7.50 (s, 1H), 7.41~7.37 (m, 2H), 7.29~7.25 (m, 3H), 6.87~6.83 (m, 3H), 6.55 (d, J=5.2Hz, 1H), 3.96 (s, 3H), 3.94 (s, 3H), 3.67~3.65 (m, 1H), 3.53~3.50 (m, 2H), 2.72~2.66 (m, 2H), 2.07 (q, J=7.6Hz 14.8Hz, 2H), 1.80~1.77 (m, 2H), 1.51~1.45 (m, 2H), 0.99 (t, J=8.0Hz 15.2Hz, 3H)。

[0152] 实施例2

[0153] 2-氯-N-(1-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)脲基)苯基)哌啶-4-基)乙酰胺1-2的合成

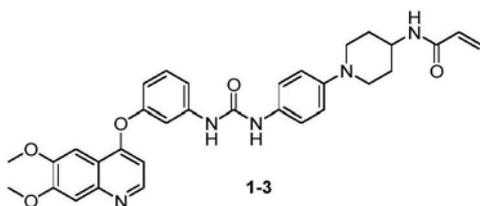


[0155] 化合物1-2的合成通过使用类似于实施例1中所述的步骤完成,只是在步骤六用氯乙酰氯代替丙酰氯。Exact Mass (计算值): 590.0770; MS (ESI) m/e (M+1)⁺: 591.0807。

[0156] 实施例3

[0157] N-(1-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)脲基)苯基)哌啶-4-基)丙烯酰胺1-3的合成

[0158]

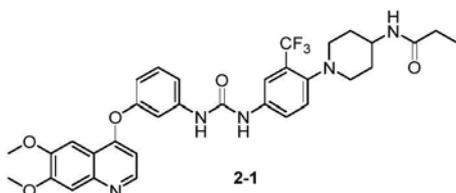


[0159] 化合物1-3的合成通过使用类似于实施例1中所述的步骤完成,只是在步骤六用丙烯酰氯代替丙酰氯。Exact Mass (计算值):567.2482;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:568.2479。

[0160] 实施例4

[0161] N-(1-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)脲基)-2-(三氟甲基)苯基)哌啶-4-基)丙酰胺2-1的合成

[0162]

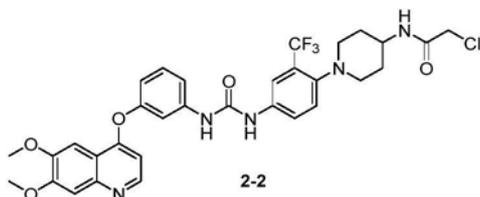


[0163] 化合物2-1的合成通过使用类似于实施例1中所述的步骤完成,只是在步骤二中用2-氯-5-硝基三氟甲苯代替4-氯硝基苯。Exact Mass (计算值):637.2512;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:638.2481。

[0164] 实施例5

[0165] 2-氯-N-(1-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)脲基)-2-(三氟甲基)苯基)哌啶-4-基)乙酰胺2-2的合成

[0166]

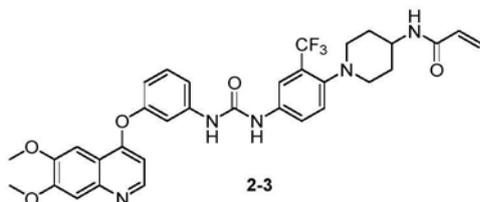


[0167] 化合物2-2的合成通过使用类似于实施例4中所述的步骤完成,只是在步骤六用氯乙酰氯代替丙酰氯。Exact Mass (计算值):657.1966;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:658.1999。

[0168] 实施例6

[0169] N-(1-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)脲基)-2-(三氟甲基)苯基)哌啶-4-基)丙烯酰胺2-3的合成

[0170]



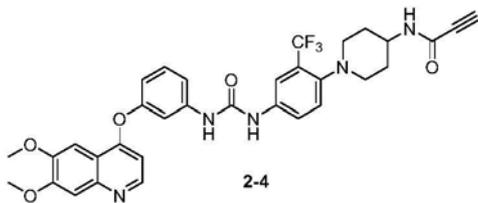
[0171] 化合物2-3的合成通过使用类似于实施例4中所述的步骤完成,只是在步骤六用氯乙酰氯代替丙酰氯。Exact Mass (计算值):635.2356;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:636.2401。

[0172] 实施例7

[0173] N-(1-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)脲基)-2-(三氟甲基)苯基)哌啶-4-基)丙酰胺2-1的合成

基)哌啶-4-基)丙炔酰胺2-4的合成

[0174]



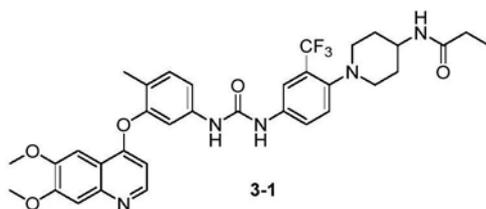
[0175] 按照实施例6的第1-5步合成化合物1-(4-(4-氨基哌啶-1-基)-3-三氟甲基苯基)-3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)脲。

[0176] 第六步:将化合物1-(4-(4-氨基哌啶-1-基)-3-三氟甲基苯基)-3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)脲(0.085mmol)溶于N,N-二甲基甲酰胺(0.5mL),再分别加入三乙胺(0.05mL)、4-二甲氨基吡啶(0.5当量)、2-(7-偶氮苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯(HATU,1.5当量)和丙炔酸(1.2当量)。室温反应5小时,质谱检测,无原料剩余,停止反应。反应液用氯仿稀释,再依次水洗、饱和食盐水洗,无水硫酸镁干燥,过滤,浓缩后柱层析得化合物2-4(6.3mg),收率12%。Exact Mass(计算值):633.2199;MS(ESI)m/e(M+1)⁺:634.2226。

[0177] 实施例8

[0178] N-(1-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)-4-甲基苯基)脲基)-2-(三氟甲基)苯基)哌啶-4-基)丙酰胺3-1的合成

[0179]

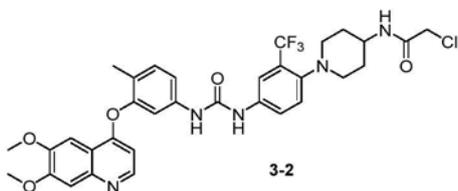


[0180] 化合物3-1的合成通过使用类似于实施例1中所述的步骤完成,只是在步骤一中用2-甲基-5-氨基苯酚代替3-氨基苯酚,在步骤二中用2-氯-5-硝基三氟甲苯代替4-氯硝基苯。Exact Mass(计算值):651.2669;MS(ESI)m/e(M+1)⁺:652.2678。

[0181] 实施例9

[0182] 2-氯-N-(1-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)-4-甲基苯基)脲基)-2-(三氟甲基)苯基)哌啶-4-基)乙酰胺3-2的合成

[0183]

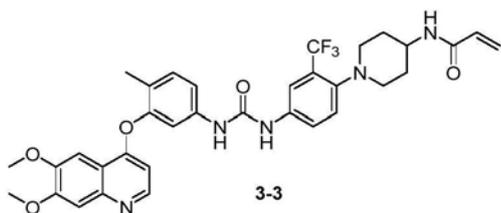


[0184] 化合物3-2的合成通过使用类似于实施例8中所述的步骤完成,只是在步骤六中用氯乙酰氯代替丙酰氯。Exact Mass(计算值):671.2122;MS(ESI)m/e(M+1)⁺:672.2098。

[0185] 实施例10

[0186] N-(1-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)-4-甲基苯基)脲基)-2-(三氟甲基)苯基)哌啶-4-基)丙烯酰胺3-3的合成

[0187]

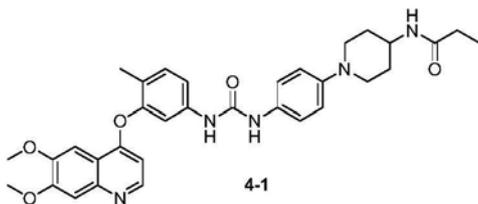


[0188] 化合物3-3的合成通过使用类似于实施例8中所述的步骤完成,只是在步骤六中用丙烯酰氯代替丙酰氯。Exact Mass (计算值):649.2512;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:650.2488。

[0189] 实施例11

[0190] N-(1-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)-4-甲基苯基)脲基)苯基)哌啶-4-基)丙酰胺4-1的合成

[0191]

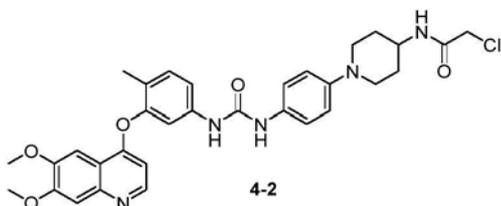


[0192] 化合物4-1的合成通过使用类似于实施例1中所述的步骤完成,只是在步骤一中用2-甲基-5-氨基苯酚代替3-氨基苯酚。Exact Mass (计算值):583.2795;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:584.2799。

[0193] 实施例12

[0194] 2-氯-N-(1-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)-4-甲基苯基)脲基)苯基)哌啶-4-基)乙酰胺4-2的合成

[0195]

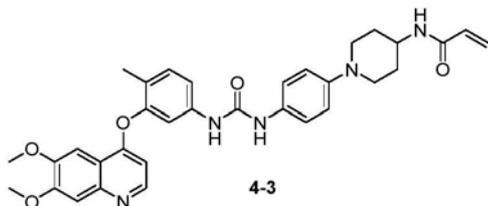


[0196] 化合物4-2的合成通过使用类似于实施例11中所述的步骤完成,只是在步骤六中用氯丙酰氯代替丙酰氯。Exact Mass (计算值):603.2248;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:604.2301。

[0197] 实施例13

[0198] N-(1-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)-4-甲基苯基)脲基)苯基)哌啶-4-基)丙烯酰胺4-3的合成

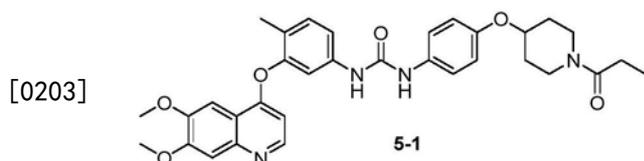
[0199]



[0200] 化合物4-3的合成通过使用类似于实施例11中所述的步骤完成,只是在步骤六中用丙烯酰氯代替丙酰氯。Exact Mass (计算值):581.2638;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:582.2630。

[0201] 实施例14

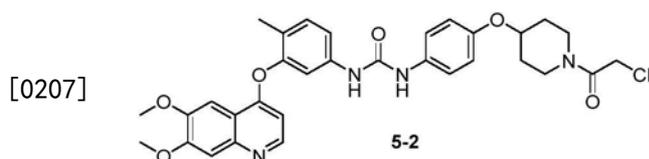
[0202] 1-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)-4-甲基苯基)-3-(4-((1-丙酰哌啶-4-基)氧基)苯基)脲5-1的合成



[0204] 化合物5-1的合成通过使用类似于实施例11中所述的步骤完成,只是在步骤二中用4-羟基-1-Boc哌啶代替4-Boc氨基哌啶。Exact Mass (计算值):584.2635;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:585.2660。

[0205] 实施例15

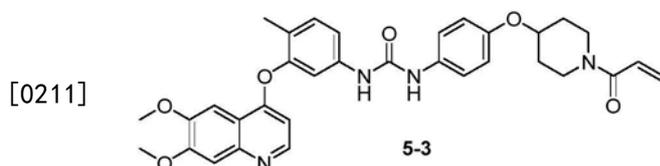
[0206] 1-(4-((2-氯乙酰基)哌啶-4-基)氧基)苯基)-3-(3-((6,7-二甲氧基-4-基)氧基)-4-甲基苯基)脲5-2的合成



[0208] 化合物5-2的合成通过使用类似于实施14中所述的步骤完成,只是在步骤六用氯乙酰氯代替丙酰氯。Exact Mass (计算值):604.2089;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:605.2103。

[0209] 实施例16

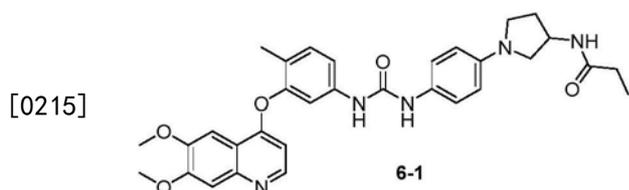
[0210] 1-(4-((2-丙烯酰基哌啶-4-基)氧基)苯基)-3-(3-((6,7-二甲氧基-4-基)氧基)-4-甲基苯基)脲5-3的合成



[0212] 化合物5-3的合成通过使用类似于实施例14中所述的步骤完成,只是在步骤六用丙烯酰氯代替丙酰氯。Exact Mass (计算值):582.2478;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:583.2461。

[0213] 实施例17

[0214] N-(1-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)-4-甲基苯基)脲基)苯基)吡咯啉-3-基)丙酰胺6-1的合成



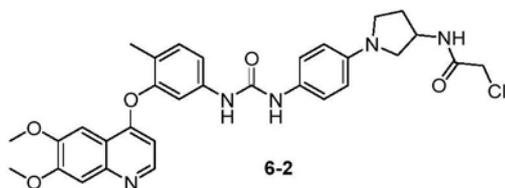
[0216] 化合物6-1的合成通过使用类似于实施例14中所述的步骤完成,只是在步骤二用3-Boc氨基吡咯啉代替4-羟基-1-Boc哌啶。Exact Mass (计算值):569.2638;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:570.2709。

[0217] 实施例18

[0218] 2-氯-N-(1-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)-4-甲基苯基)脲基)苯基)苯

基)吡咯啉-3-基)乙酰胺6-2的合成

[0219]

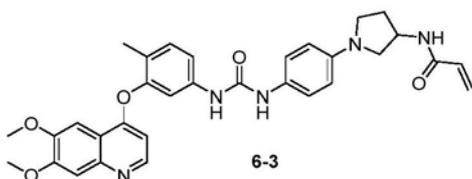


[0220] 化合物6-2的合成通过使用类似于实施例17中所述的步骤完成,只是在步骤六用氯乙酰氯代替丙酰氯。Exact Mass (计算值):589.2092;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:590.2111。

[0221] 实施例19

[0222] N-(1-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)-4-甲基苯基)脲基)苯基)吡咯啉-3-基)丙烯酸6-3的合成

[0223]

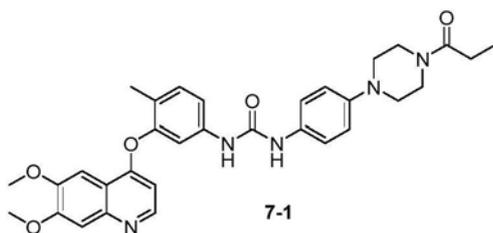


[0224] 化合物6-3的合成通过使用类似于实施例17中所述的步骤完成,只是在步骤六用丙烯酸氯代替丙酰氯。Exact Mass (计算值):567.2483;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:568.2561。

[0225] 实施例20

[0226] 1-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)-4-甲基苯基)-3-(4-(4-丙酰基哌嗪-1-基)苯基)脲7-1的合成

[0227]

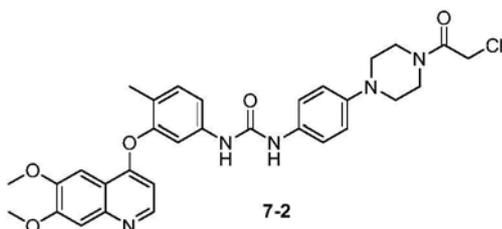


[0228] 化合物7-1的合成通过使用类似于实施例14中所述的步骤完成,只是在步骤二用4-Boc哌嗪代替4-羟基-1-Boc哌啶。Exact Mass (计算值):569.2638;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:570.2600。

[0229] 实施例21

[0230] 1-(4-(4-(2-氯乙酰基)哌嗪-1-基)苯基)-3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)-4-甲基苯基)脲7-2的合成

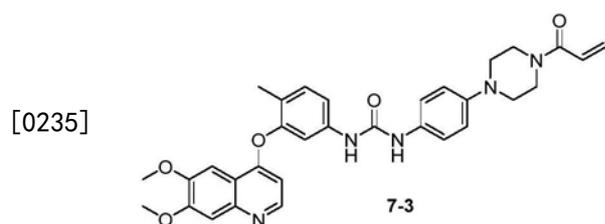
[0231]



[0232] 化合物7-2的合成通过使用类似于实施例20中所述的步骤完成,只是在步骤六用氯乙酰氯代替丙酰氯。Exact Mass (计算值):589.2092;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:590.2116。

[0233] 实施例22

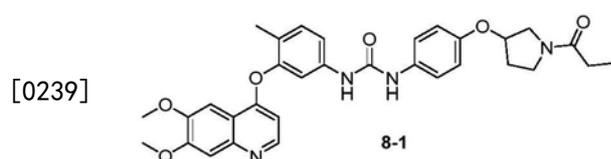
[0234] 1-(4-(4-丙烯酰基哌嗪-1-基)苯基)-3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)-4-甲基苯基)脲7-3的合成



[0236] 化合物7-3的合成通过使用类似于实施例20中所述的步骤完成,只是在步骤六用丙烯酰氯代替丙酰氯。Exact Mass (计算值):567.2482;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:568.2417。

[0237] 实施例23

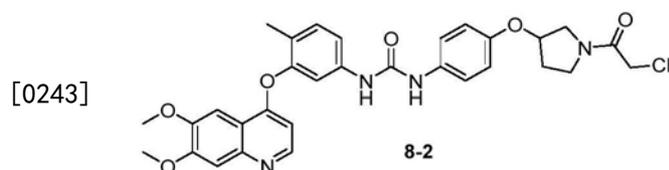
[0238] 1-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)-4-甲基苯基)-3-(4((1-丙酰基吡咯啉-3-基)氧基)苯基)脲8-1的合成



[0240] 化合物8-1的合成通过使用类似于实施例14中所述的步骤完成,只是在步骤二用3-羟基-1-吡咯啉代替4-羟基-1-Boc哌啶。Exact Mass (计算值):570.2478;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:571.2399。

[0241] 实施例24

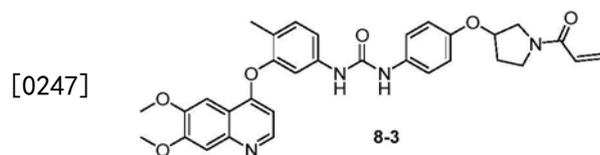
[0242] 1-(4-((2-氯乙酰基)吡咯啉-3-基)氧基)苯基)-3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)-4-甲基苯基)脲8-2的合成



[0244] 化合物8-2的合成通过使用类似于实施例23中所述的步骤完成,只是在步骤六用氯乙酰氯代替丙酰氯。Exact Mass (计算值):590.1932;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:591.2010。

[0245] 实施例25

[0246] 1-(4-((1-丙烯酰基吡咯啉-3-基)氧基)苯基)-3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)-4-甲基苯基)脲8-3的合成

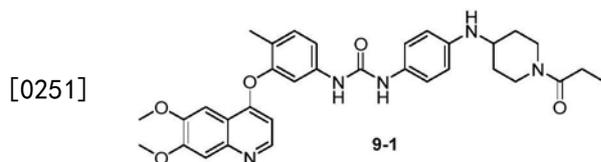


[0248] 化合物8-3的合成通过使用类似于实施例23中所述的步骤完成,只是在步骤六用丙烯酰氯代替丙酰氯。Exact Mass (计算值):568.2322;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:569.2331。

[0249] 实施例26

[0250] 1-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)-4-甲基苯基)-3-(4-((1-丙酰基哌啶-4-

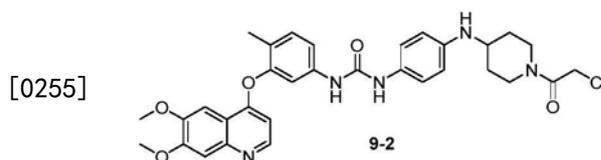
基)氨基)苯基)脲9-1的合成



[0252] 化合物9-1的合成通过使用类似于实施例14中所述的步骤完成,只是在步骤二用4-氨基-1-Boc哌啶代替4-羟基-1-Boc哌啶。Exact Mass (计算值):583.2795;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:584.2799。

[0253] 实施例27

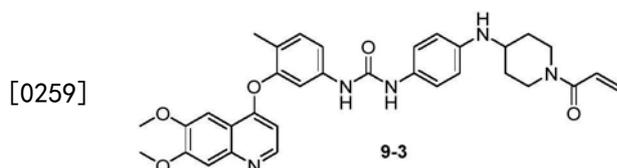
[0254] 1-(4-((2-氯乙酰基)哌啶-4-基)氨基)苯基)-3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)-4-甲基苯基)脲9-2的合成



[0256] 化合物9-2的合成通过使用类似于实施例26中所述的步骤完成,只是在步骤六用氯乙酰氯代替丙酰氯。Exact Mass (计算值):603.2248;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:604.2250。

[0257] 实施例28

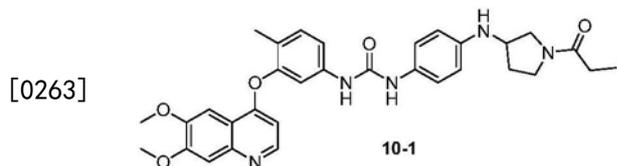
[0258] 1-(4-((1-丙烯酰基哌啶-4-基)氨基)苯基)-3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)-4-甲基苯基)脲9-3的合成



[0260] 化合物9-3的合成通过使用类似于实施例26中所述的步骤完成,只是在步骤六用丙烯酰氯代替丙酰氯。Exact Mass (计算值):581.2638;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:582.2661。

[0261] 实施例29

[0262] 1-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)-4-甲基苯基)-3-(4-((1-丙酰基吡咯啉-3-基)氨基)苯基)脲10-1的合成

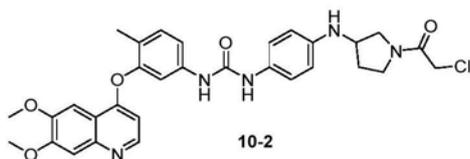


[0264] 化合物10-1的合成通过使用类似于实施例14中所述的步骤完成,只是在步骤二用3-氨基-1-Boc吡咯啉代替4-羟基-1-Boc哌啶。Exact Mass (计算值):569.2638;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:570.2707。

[0265] 实施例30

[0266] 1-(4-((2-氯乙酰基)吡咯啉-3-基)氨基)苯基)-3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)-4-甲基苯基)脲10-2的合成

[0267]

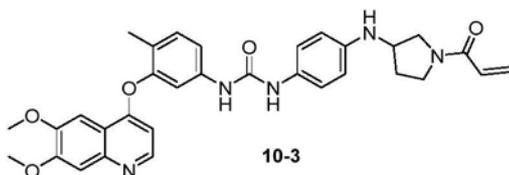


[0268] 化合物10-2的合成通过使用类似于实施例29中所述的步骤完成,只是在步骤六用氯乙酰氯代替丙酰氯。Exact Mass (计算值): 589.2902; MS (ESI) m/e (M+1)⁺: 590.2112。

[0269] 实施例31

[0270] 1-(4-((1-丙烯酰基吡咯啉-3-基)氨基)苯基)-3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)-4-甲基苯基)脲10-3的合成

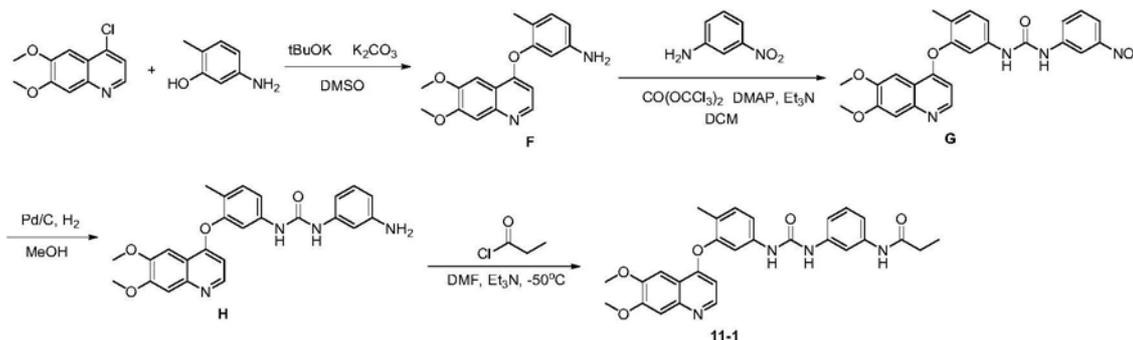
[0271]



[0272] 化合物10-3的合成通过使用类似于实施例29中所述的步骤完成,只是在步骤六用丙烯酰氯代替丙酰氯。Exact Mass (计算值): 567.2482; MS (ESI) m/e (M+1)⁺: 568.2409。

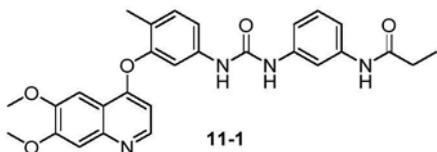
[0273] 实施例32

[0274]



[0275] N-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)-4-甲基苯基)脲基)苯基)丙酰胺11-1的合成

[0276]



[0277] 步骤一:化合物F的合成通过使用类似于实施例1中所述的步骤一完成,只是在反应中用2-甲基-5-氨基苯酚代替3-氨基苯酚。Exact Mass (计算值): 310.3530; MS (ESI) m/e (M+1)⁺: 311.2350。

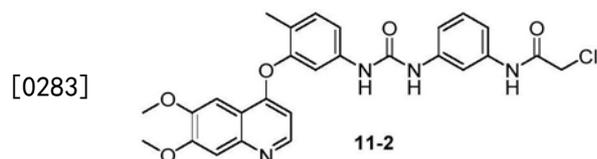
[0278] 步骤二:化合物G的合成通过使用类似于实施例1中所述的步骤四完成,只是在反应中用3-硝基苯胺代替化合物C。Exact Mass (计算值): 474.4730; MS (ESI) m/e (M+1)⁺: 478.5112。

[0279] 步骤三:化合物H的合成通过使用类似于实施例1中所述的步骤三完成,只是在反应中用化合物G代替化合物B。Exact Mass (计算值): 444.4910; MS (ESI) m/e (M+1)⁺: 445.5609。

[0280] 步骤四:化合物11-1的合成通过使用类似于实施例1中所述的步骤六完成,只是在反应中用化合物H代替化合物E。Exact Mass (计算值):500.2060;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:501.5550。

[0281] 实施例33

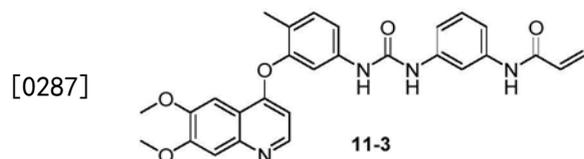
[0282] 2-氯-N-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)-4-甲基苯基)脲基)苯基)乙酰胺11-2的合成



[0284] 化合物11-2的合成通过使用类似于实施例32中所述的步骤完成,只是在步骤四用氯乙酰氯代替丙酰氯。Exact Mass (计算值):520.1513;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:521.2106。

[0285] 实施例34

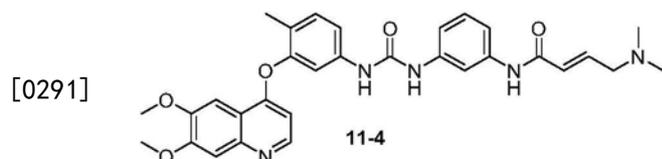
[0286] N-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)-4-甲基苯基)脲基)苯基)丙烯酰胺11-3的合成



[0288] 化合物11-3的合成通过使用类似于实施例32中所述的步骤完成,只是在步骤四用丙烯酰氯代替丙酰氯。Exact Mass (计算值):498.1903;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:499.2607。

[0289] 实施例35

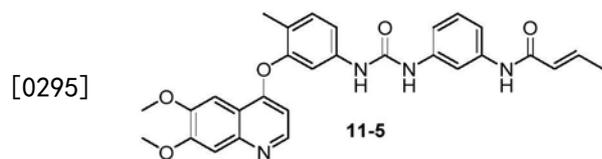
[0290] (E)-N-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)-4-甲基苯基)脲基)苯基)-4-(二甲氨基)丁基-2-烯基酰胺11-4的合成



[0292] 化合物11-4的合成通过使用类似于实施例32中所述的步骤完成,只是在步骤四用4-二甲氨基-2-烯丁酰氯代替丙酰氯。Exact Mass (计算值):555.2482;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:556.6350。

[0293] 实施例36

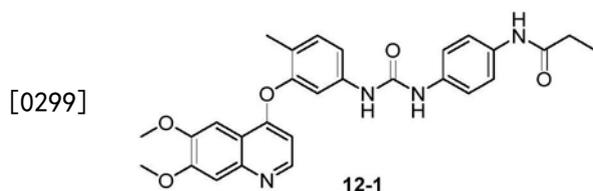
[0294] (E)-N-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)-4-甲基苯基)脲基)苯基)丁基-2-烯基酰胺11-5的合成



[0296] 化合物11-5的合成通过使用类似于实施例32中所述的步骤完成,只是在步骤四用2-烯丁酰氯代替丙酰氯。Exact Mass (计算值):512.2060;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:513.3099。

[0297] 实施例37

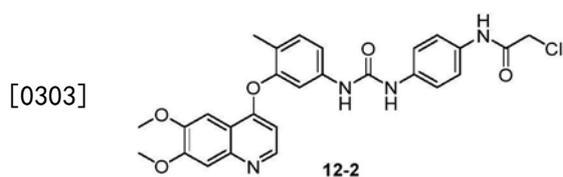
[0298] N-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)-4-甲基苯基)脲基)苯基)丙酰胺12-1的合成



[0300] 化合物12-1的合成通过使用类似于实施例32中所述的步骤完成,只是在步骤二用对硝基苯胺代替3-硝基苯胺。Exact Mass (计算值): 500.2060; MS (ESI) m/e (M+1)⁺: 501.3001。

[0301] 实施例38

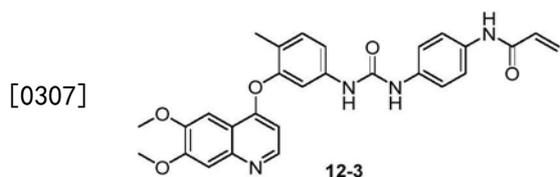
[0302] 2-氯-N-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)-4-甲基苯基)脲基)苯基)乙酰胺12-2的合成



[0304] 化合物12-2的合成通过使用类似于实施例37中所述的步骤完成,只是在步骤四用氯乙酰氯代替丙酰氯。Exact Mass (计算值): 520.1513; MS (ESI) m/e (M+1)⁺: 521.3101。

[0305] 实施例39

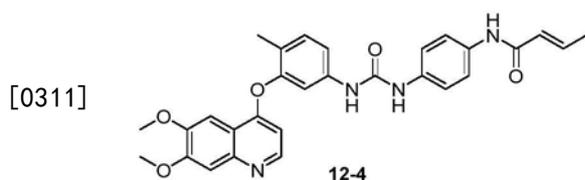
[0306] N-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)-4-甲基苯基)脲基)苯基)丙烯酰胺12-3的合成



[0308] 化合物12-3的合成通过使用类似于实施例37中所述的步骤完成,只是在步骤四用丙烯酰氯代替丙酰氯。Exact Mass (计算值): 498.1503; MS (ESI) m/e (M+1)⁺: 499.5390。

[0309] 实施例40

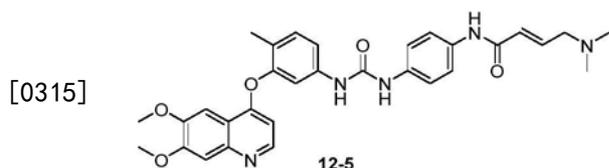
[0310] (E)-N-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)-4-甲基苯基)脲基)苯基)丁基-2-烯酰胺12-4的合成



[0312] 化合物12-4的合成通过使用类似于实施例37中所述的步骤完成,只是在步骤四用2-烯丁酰氯代替丙酰氯。Exact Mass (计算值): 512.2060; MS (ESI) m/e (M+1)⁺: 513.5330。

[0313] 实施例41

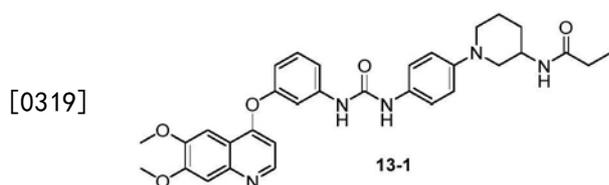
[0314] (E)-N-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)-4-甲基苯基)脲基)苯基)-4-(二甲氨基)丁基-2-烯酰胺12-5的合成



[0316] 化合物12-5的合成通过使用类似于实施例37中所述的步骤完成,只是在步骤四用4-二甲氨基-2-烯丁酰氯代替丙酰氯。Exact Mass (计算值): 555.2482; MS (ESI) m/e (M+1)⁺: 556.6350。

[0317] 实施例42

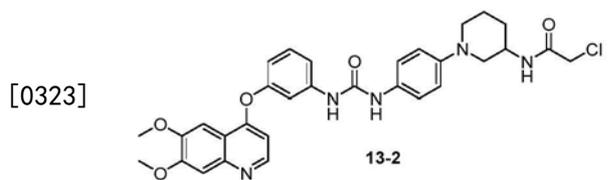
[0318] N-(1-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)脲基)苯基)哌啶-3-基)丙酰胺13-1的合成



[0320] 化合物13-1的合成通过使用类似于实施例1中所述的步骤完成,只是在步骤二用3-Boc氨基哌啶代替4-Boc氨基哌啶。Exact Mass (计算值): 569.2638; MS (ESI) m/e (M+1)⁺: 570.6620。

[0321] 实施例43

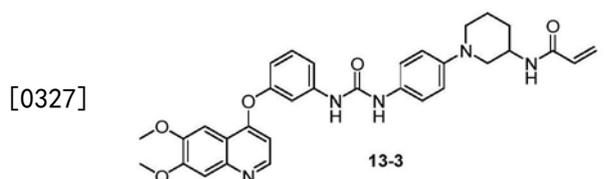
[0322] 2-氯-N-(1-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)脲基)苯基)哌啶-3-基)乙酰胺13-2的合成



[0324] 化合物13-2的合成通过使用类似于实施例42中所述的步骤完成,只是在步骤六用氯乙酰氯代替丙酰氯。Exact Mass (计算值): 589.2092; MS (ESI) m/e (M+1)⁺: 590.0770。

[0325] 实施例44

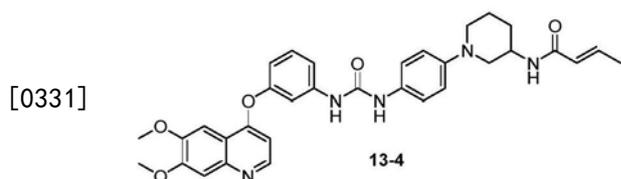
[0326] N-(1-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)脲基)苯基)哌啶-3-基)丙烯酰胺13-3的合成



[0328] 化合物13-3的合成通过使用类似于实施例42中所述的步骤完成,只是在步骤六用丙烯酰氯代替丙酰氯。Exact Mass (计算值): 567.2482; MS (ESI) m/e (M+1)⁺: 568.6460。

[0329] 实施例45

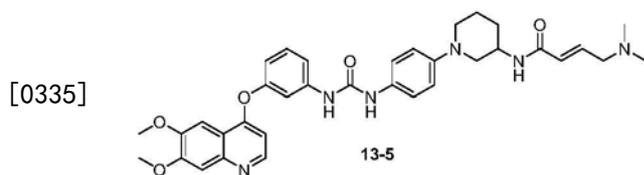
[0330] (E)-N-(1-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)脲基)苯基)哌啶-3-基)丁基-2-烯酰胺13-4的合成



[0332] 化合物13-4的合成通过使用类似于实施例42中所述的步骤完成,只是在步骤六用2-烯丁酰氯代替丙酰氯。Exact Mass (计算值):581.2638;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:582.6730。

[0333] 实施例46

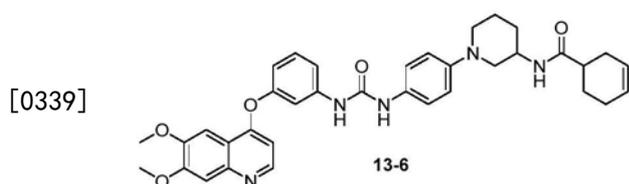
[0334] (E)-N-(1-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)脲基)苯基)哌啶-3-基)-4-(二甲基氨基)丁基-2-烯酰胺13-5的合成



[0336] 化合物13-5的合成通过使用类似于实施例42中所述的步骤完成,只是在步骤六用4-二甲氨基-2-烯丁酰氯代替丙酰氯。Exact Mass (计算值):624.3020;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:625.7420。

[0337] 实施例47

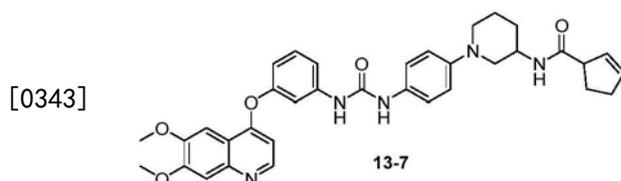
[0338] N-(1-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)脲基)苯基)哌啶-3-基)环己基-3-烯-1-碳酰胺13-6的合成



[0340] 化合物13-6的合成通过使用类似于实施例42中所述的步骤完成,只是在步骤六用3-烯-1-环己酰氯代替丙酰氯。Exact Mass (计算值):621.2951;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:622.7380。

[0341] 实施例48

[0342] N-(1-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)脲基)苯基)哌啶-3-基)环戊基-2-烯-1-碳酰胺13-7的合成

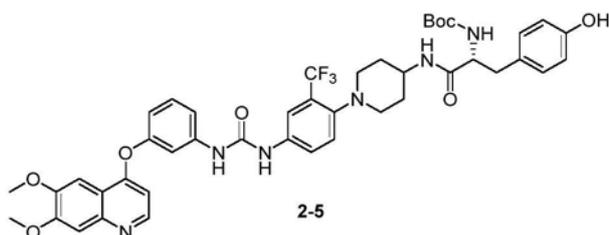


[0344] 化合物13-7的合成通过使用类似于实施例42中所述的步骤完成,只是在步骤六用2-烯-1-环戊酰氯代替丙酰氯。Exact Mass (计算值):607.2795;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:608.7111。

[0345] 实施例49

[0346] (R)-1-((1-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)脲基)-2-(三氟甲基)苯基)哌啶-4-基)氨基)-3-(4-羟基苯基)-1-氧丙烷-2-基)氨基甲酸叔丁醇酯2-5的合成

[0347]

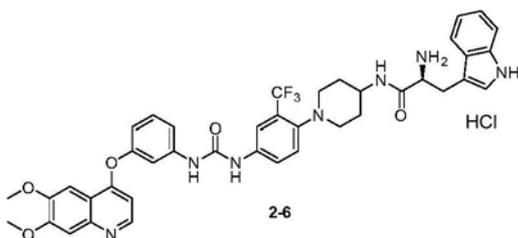


[0348] 化合物2-5的合成通过使用类似于实施例7中所述的步骤完成,只是在步骤六用Boc氨基酪氨酸代替丙炔酸。Exact Mass (计算值):844.3407;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:845.8892。

[0349] 实施例50

[0350] (S)-2-氨基-N-(1-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)脲基)-2-(三氟甲基)苯基)哌啶-4-基)-3-(1H-吡咯-3-基)丙酰胺盐酸盐2-6的合成

[0351]

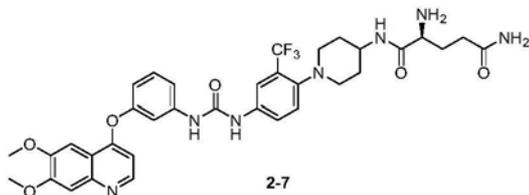


[0352] 化合物2-6的合成:首先通过使用类似于实施例7中所述的步骤得到固体,只是在步骤六用Boc氨基色氨酸代替丙炔酸。然后将所得的固体溶于盐酸的乙酸乙酯溶液,反应2小时后真空除去易挥发物质,所得固体即化合物2-6的盐酸盐。Exact Mass (计算值):767.3403;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:768.8102。

[0353] 实施例51

[0354] (S)-2-氨基-N-(1-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)脲基)-2-(三氟甲基)苯基)哌啶-4-基)戊烷二酰胺2-7的合成

[0355]

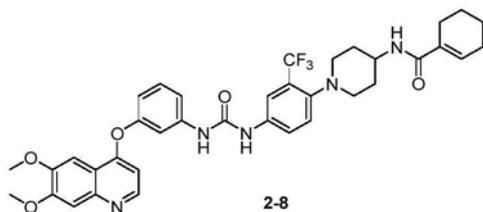


[0356] 化合物2-7的合成通过使用类似于实施例49中所述的步骤完成,只是在步骤六用谷氨酰胺代替Boc氨基色氨酸。Exact Mass (计算值):709.2836;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:710.7272。

[0357] 实施例52

[0358] N-(1-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)脲基)-2-(三氟甲基)苯基)哌啶-4-基)环己基-1-烯-1-甲酰胺2-8的合成

[0359]

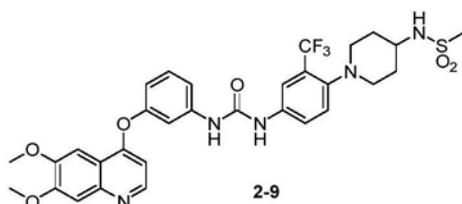


[0360] 化合物2-8的合成通过使用类似于实施例7中所述的步骤完成,只是在步骤六用1-烯环己基甲酸代替丙炔酸。Exact Mass (计算值):689.2825;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:690.7362。

[0361] 实施例53

[0362] N-(1-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)脲基)-2-(三氟甲基)苯基)哌啶-4-基)甲磺酰胺2-9的合成

[0363]

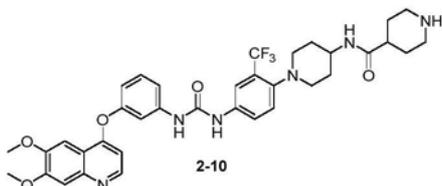


[0364] 化合物2-9的合成通过使用类似于实施例7中所述的步骤完成,只是在步骤六用甲磺酸代替丙炔酸。Exact Mass (计算值):659.2625;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:660.6812。

[0365] 实施例54

[0366] N-(1-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)脲基)-2-(三氟甲基)苯基)哌啶-4-基)哌啶-4-甲酰胺2-10的合成

[0367]

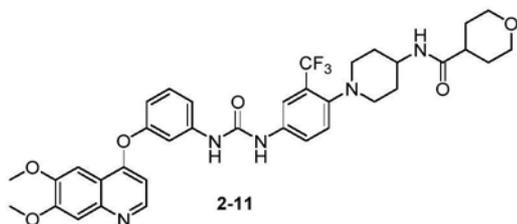


[0368] 化合物2-10的合成通过使用类似于实施例7中所述的步骤完成,只是在步骤六用4-甲酸哌啶代替丙炔酸。Exact Mass (计算值):692.2934;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:693.7402。

[0369] 实施例55

[0370] N-(1-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)脲基)-2-(三氟甲基)苯基)哌啶-4-基)四氢-2H-吡喃-4-甲酰胺2-11的合成

[0371]



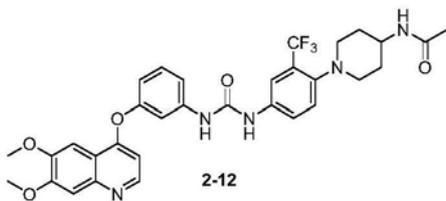
[0372] 化合物2-11的合成通过使用类似于实施例7中所述的步骤完成,只是在步骤六用4-甲酸吡喃代替丙炔酸。Exact Mass (计算值):693.2774;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:694.2669。

[0373] 实施例56

[0374] N-(1-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)脲基)-2-(三氟甲基)苯基)哌啶-4-基)哌啶-4-甲酰胺2-10的合成

基) 哌啶-4-基) 乙酰胺2-12的合成

[0375]

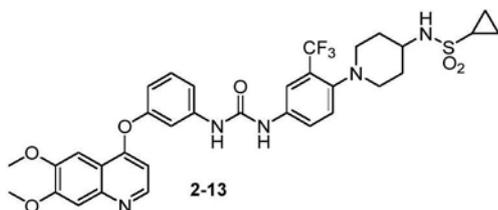


[0376] 化合物2-12的合成通过使用类似于实施例4中所述的步骤完成,只是在步骤六用乙酰氯代替丙酰氯。Exact Mass (计算值):623.2356;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:624.2426。

[0377] 实施例57

[0378] N-(1-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)脲基)-2-(三氟甲基)苯基)哌啶-4-基)环丙基磺酰胺2-13的合成

[0379]

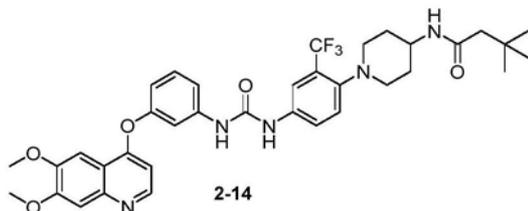


[0380] 化合物2-13的合成通过使用类似于实施例4中所述的步骤完成,只是在步骤六用环丙磺酸代替丙酰氯。Exact Mass (计算值):685.2182;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:686.2229。

[0381] 实施例58

[0382] N-(1-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)脲基)-2-(三氟甲基)苯基)哌啶-4-基)-3,3-二甲基丁酰胺2-14的合成

[0383]

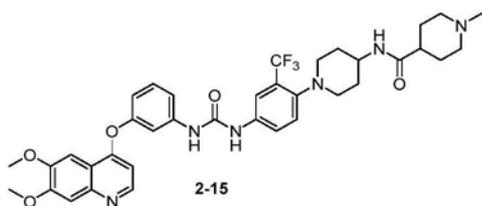


[0384] 化合物2-14的合成通过使用类似于实施例7中所述的步骤完成,只是在步骤六用3,3-二甲基丁酸代替丙炔酸。Exact Mass (计算值):679.2982;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:680.3001。

[0385] 实施例59

[0386] N-(1-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)脲基)-2-(三氟甲基)苯基)哌啶-4-基)-1-甲基哌啶-4-甲酰胺2-15的合成

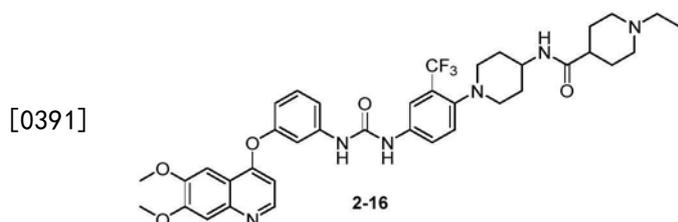
[0387]



[0388] 化合物2-15的合成通过使用类似于实施例7中所述的步骤完成,只是在步骤六用4-甲酸-1-甲基哌啶代替丙炔酸。Exact Mass (计算值):706.3091;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:707.4291。

[0389] 实施例60

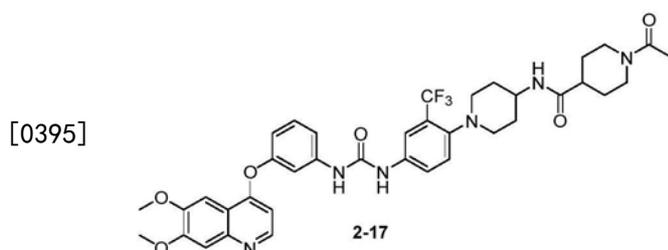
[0390] N-(1-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)脲基)-2-(三氟甲基)苯基)哌啶-4-基)-1-乙基哌啶-4-甲酰胺2-16的合成



[0392] 化合物2-16的合成通过使用类似于实施例7中所述的步骤完成,只是在步骤六用4-甲酸-1-乙基哌啶代替丙炔酸。Exact Mass (计算值):720.3247;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:721.4433。

[0393] 实施例61

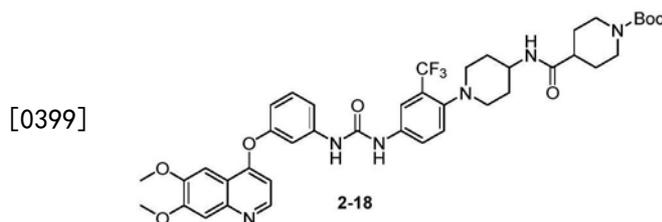
[0394] 1-乙酰-N-(1-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)脲基)-2-(三氟甲基)苯基)哌啶-4-基)哌啶-4-甲酰胺2-17的合成



[0396] 化合物2-17的合成通过使用类似于实施例7中所述的步骤完成,只是在步骤六用4-甲酸-1-乙酰基哌啶代替丙炔酸。Exact Mass (计算值):734.3040;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:735.4262。

[0397] 实施例62

[0398] 叔丁基4-((1-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)脲基)-2-(三氟甲基)苯基)哌啶-4-基)胺甲酰基)哌啶-1-羧酸酯2-18的合成

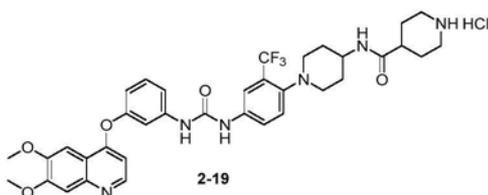


[0400] 化合物2-18的合成通过使用类似于实施例7中所述的步骤完成,只是在步骤六用4-甲酸-1-Boc哌啶代替丙炔酸。Exact Mass (计算值):792.3458;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:793.3691。

[0401] 实施例63

[0402] N-(1-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)脲基)-2-(三氟甲基)苯基)哌啶-4-基)哌啶-4-甲酰胺盐酸盐2-19的合成

[0403]

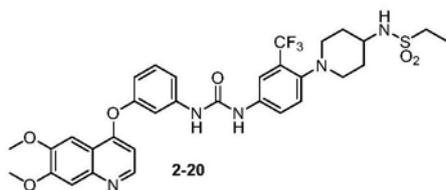


[0404] 化合物2-19的合成通过使用类似于实施例50中所述的步骤完成,只是在反应中用4-甲酸哌啶代替Boc-氨基色氨酸。Exact Mass (计算值):728.2701;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:729.2881。

[0405] 实施例64

[0406] N-(1-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)脲基)-2-(三氟甲基)苯基)哌啶-4-基)乙基磺酰胺2-20的合成

[0407]

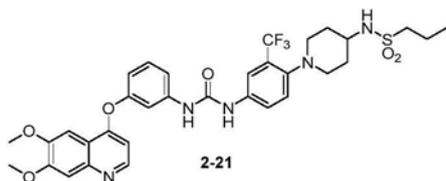


[0408] 化合物2-20的合成通过使用类似于实施例4中所述的步骤完成,只是在步骤六用乙磺酰氯代替丙酰氯。Exact Mass (计算值):673.2182;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:674.2275。

[0409] 实施例65

[0410] N-(1-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)脲基)-2-(三氟甲基)苯基)哌啶-4-基)丙基-1-磺酰胺2-21的合成

[0411]

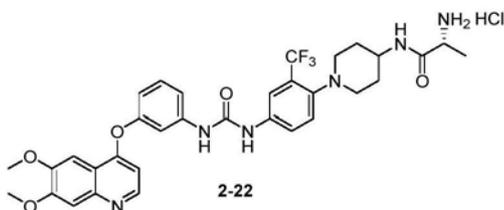


[0412] 化合物2-21的合成通过使用类似于实施例4中所述的步骤完成,只是在步骤六用丙磺酰氯代替丙酰氯。Exact Mass (计算值):687.2338;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:688.3026。

[0413] 实施例66

[0414] (R)-2-氨基-N-(1-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)脲基)-2-(三氟甲基)苯基)哌啶-4-基)丙酰胺盐酸盐2-22的合成

[0415]



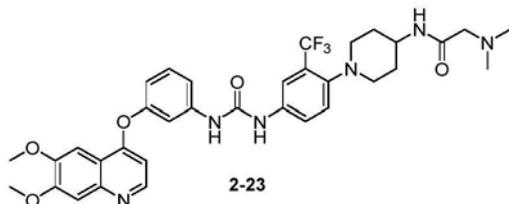
[0416] 化合物2-22的合成通过使用类似于实施例50中所述的步骤完成,只是在反应中用Boc丙氨酸代替Boc-氨基色氨酸。Exact Mass (计算值):688.2388;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:689.2403。

[0417] 实施例67

[0418] N-(1-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)脲基)-2-(三氟甲基)苯基)哌啶-4-基)乙基磺酰胺2-20的合成

基) 哌啶-4-基)-2-(二甲氨基) 乙酰胺2-23的合成

[0419]

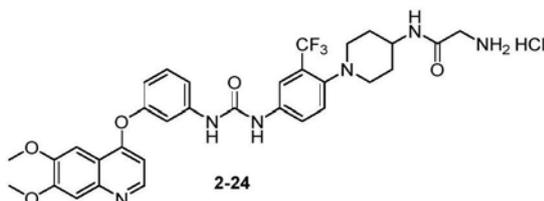


[0420] 化合物2-23的合成通过使用类似于实施例7中所述的步骤完成,只是在步骤六用N,N-二甲基甘氨酸代替丙炔酸.Exact Mass (计算值):666.2788;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:667.7022。

[0421] 实施例68

[0422] 2-氨基-N-(1-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)脲基)-2-(三氟甲基)苯基)哌啶-4-基)乙酰胺盐酸盐2-24的合成

[0423]

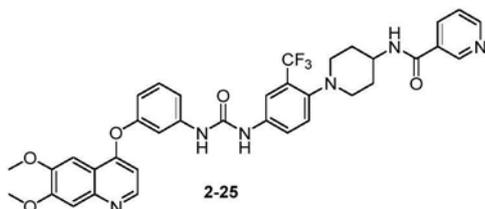


[0424] 化合物2-24的合成通过使用类似于实施例50中所述的步骤完成,只是在反应中用Boc甘氨酸代替Boc-氨基色氨酸.Exact Mass (计算值):674.2231;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:675.1022。

[0425] 实施例69

[0426] N-(1-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)脲基)-2-(三氟甲基)苯基)哌啶-4-基)烟酰胺2-25的合成

[0427]

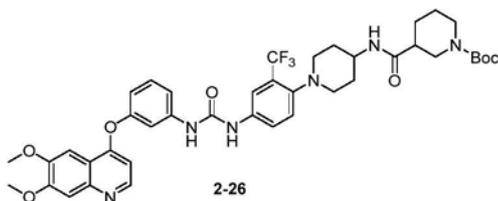


[0428] 化合物2-25的合成通过使用类似于实施例7中所述的步骤完成,只是在步骤六用烟酸代替丙炔酸.Exact Mass (计算值):686.3465;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:687.4004。

[0429] 实施例70

[0430] 叔丁基-3-((1-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)脲基)-2-(三氟甲基)苯基)哌啶-4-基)氨甲酰基)哌啶-1-羧酸酯2-26的合成

[0431]

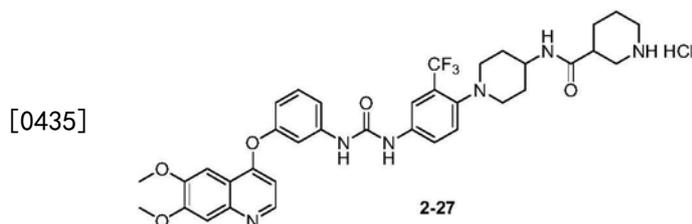


[0432] 化合物2-26的合成通过使用类似于实施例7中所述的步骤完成,只是在步骤六用3-甲酸-1-Boc哌啶代替丙炔酸.Exact Mass (计算值):792.8572;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:

793.7271。

[0433] 实施例71

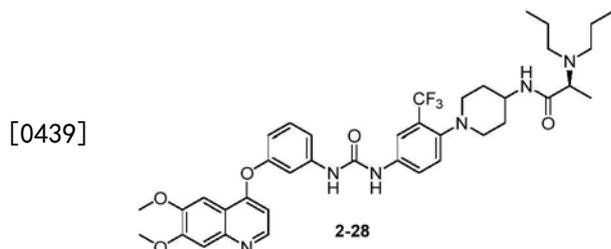
[0434] N-(1-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)脲基)-2-(三氟甲基)苯基)哌啶-4-基)氨基甲酰基)哌啶-1-甲酰胺盐酸盐2-27的合成



[0436] 化合物2-27的合成通过使用类似于实施例50中所述的步骤完成,只是在反应中用3-甲酸-1-Boc哌啶代替Boc-氨基色氨酸.Exact Mass (计算值):729.1289;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:730.0109。

[0437] 实施例72

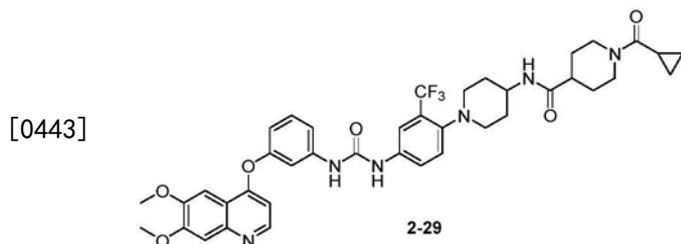
[0438] (S)-N-(1-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)脲基)-2-(三氟甲基)苯基)哌啶-4-基)-2-(二丙基氨基)丙酰胺2-28的合成



[0440] 化合物2-28的合成通过使用类似于实施例7中所述的步骤完成,只是在步骤六用N,N-二丙基丙酸代替丙炔酸.Exact Mass (计算值):736.8372;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:737.8377。

[0441] 实施例73

[0442] 1-(环丙基羰基)-N-(1-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)脲基)-2-(三氟甲基)苯基)哌啶-4-基)哌啶-4-甲酰胺2-29的合成

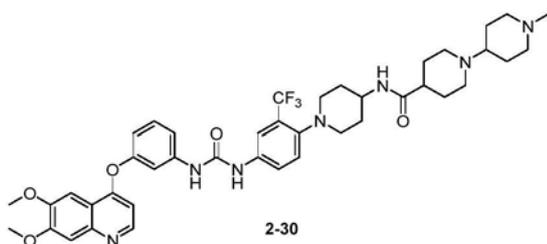


[0444] 化合物2-29的合成通过使用类似于实施例7中所述的步骤完成,只是在步骤六用4-甲酸-1-环丙甲酰基哌啶代替丙炔酸.Exact Mass (计算值):760.8152;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:761.8222。

[0445] 实施例74

[0446] N-(1-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)脲基)-2-(三氟甲基)苯基)哌啶-4-基)-1'-甲基-[1,4'-二哌啶]-4-甲酰胺2-30的合成

[0447]

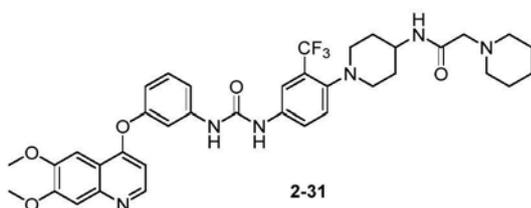


[0448] 化合物2-30的合成通过使用类似于实施例7中所述的步骤完成,只是在步骤六用4-甲酸-1-(1-甲基-4-哌啶基)哌啶代替丙炔酸。Exact Mass (计算值): 789.8052; MS (ESI) m/e (M+1)⁺: 790.1624。

[0449] 实施例75

[0450] N-(1-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)脲基)-2-(三氟甲基)苯基)哌啶-4-基)-2-(哌啶-1-基)乙酰胺2-31的合成

[0451]

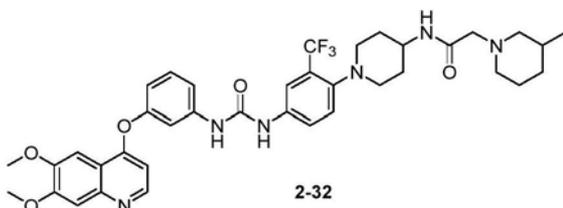


[0452] 化合物2-31的合成通过使用类似于实施例7中所述的步骤完成,只是在步骤六用1-乙酰基哌啶代替丙炔酸。Exact Mass (计算值): 706.7672; MS (ESI) m/e (M+1)⁺: 707.3124。

[0453] 实施例76

[0454] N-(1-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)脲基)-2-(三氟甲基)苯基)哌啶-4-基)-2-(3-甲基哌啶-1-基)乙酰胺2-32的合成

[0455]

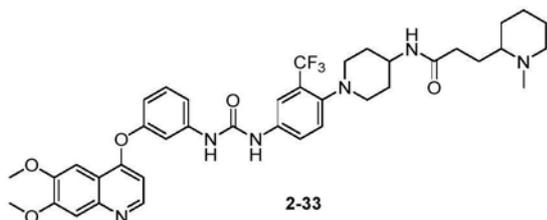


[0456] 化合物2-32的合成通过使用类似于实施例7中所述的步骤完成,只是在步骤六用3-甲基-1-乙酰胺基哌啶代替丙炔酸。Exact Mass (计算值): 720.7942; MS (ESI) m/e (M+1)⁺: 721.3281。

[0457] 实施例77

[0458] N-(1-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)脲基)-2-(三氟甲基)苯基)哌啶-4-基)-3-(1-甲基哌啶-2-基)丙酰胺2-33的合成

[0459]

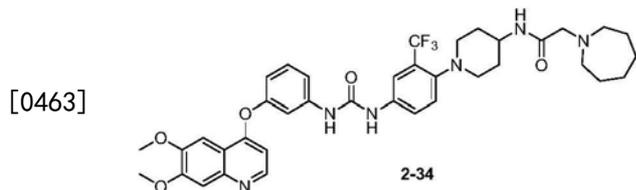


[0460] 化合物2-33的合成通过使用类似于实施例7中所述的步骤完成,只是在步骤六用

3-(1-甲基-2-哌啶基)丙酸代替丙炔酸。Exact Mass (计算值): 734.3404; MS (ESI) m/e (M+1)⁺: 735.3437。

[0461] 实施例78

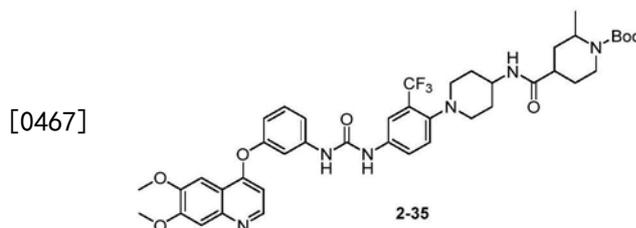
[0462] 2-(高哌啶-1-基)-N-(1-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)脲基)-2-(三氟甲基)苯基)哌啶-4-基)-3-(1-甲基哌啶-2-基)乙酰胺2-34的合成



[0464] 化合物2-34的合成通过使用类似于实施例7中所述的步骤完成,只是在步骤六用2-(1-高哌啶基)乙酸代替丙炔酸。Exact Mass (计算值): 720.7942; MS (ESI) m/e (M+1)⁺: 721.3281。

[0465] 实施例79

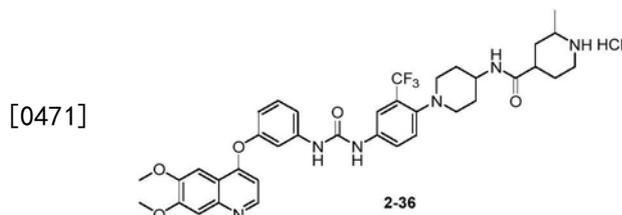
[0466] 叔丁基-4-(1-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)脲基)-2-(三氟甲基)苯基)哌啶-4-基)氨基酰基)-2-甲基哌啶-1-羧酸酯2-35的合成



[0468] 化合物2-35的合成通过使用类似于实施例7中所述的步骤完成,只是在步骤六用4-甲酸-2-甲基-1-Boc哌啶代替丙炔酸。Exact Mass (计算值): 806.8842; MS (ESI) m/e (M+1)⁺: 807.3648。

[0469] 实施例80

[0470] N-(1-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)脲基)-2-(三氟甲基)苯基)哌啶-4-基)-2-甲基哌啶-4-甲酰胺盐酸盐2-36的合成

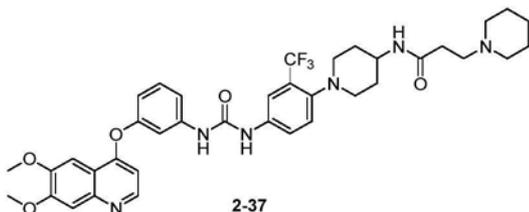


[0472] 化合物2-36的合成通过使用类似于实施例50中所述的步骤完成,只是在反应中用4-甲酸-2-甲基-1-Boc哌啶代替Boc-氨基色氨酸。Exact Mass (计算值): 743.2252; MS (ESI) m/e (M+1)⁺: 743.2891。

[0473] 实施例81

[0474] N-(1-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)脲基)-2-(三氟甲基)苯基)哌啶-4-基)-3-(哌啶-1-基)丙酰胺2-37的合成

[0475]

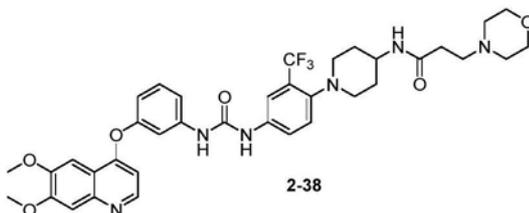


[0476] 化合物2-37的合成通过使用类似于实施例7中所述的步骤完成,只是在步骤六用3-(哌啶-1-基)丙酸代替丙炔酸。Exact Mass (计算值): 720.7942; MS (ESI) m/e (M+1)⁺: 721.3281。

[0477] 实施例82

[0478] N-(1-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)脲基)-2-(三氟甲基)苯基)哌啶-4-基)-3-吗啉乙酰胺2-38的合成

[0479]

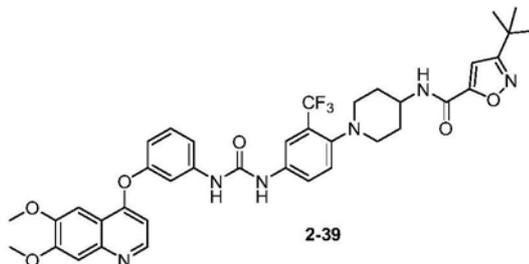


[0480] 化合物2-38的合成通过使用类似于实施例7中所述的步骤完成,只是在步骤六用3-吗啉基丙酸代替丙炔酸。Exact Mass (计算值): 722.7662; MS (ESI) m/e (M+1)⁺: 723.3703。

[0481] 实施例83

[0482] 3-叔丁基-N-(1-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)脲基)-2-(三氟甲基)苯基)哌啶-4-基)异噁唑-5-甲酰胺2-39的合成

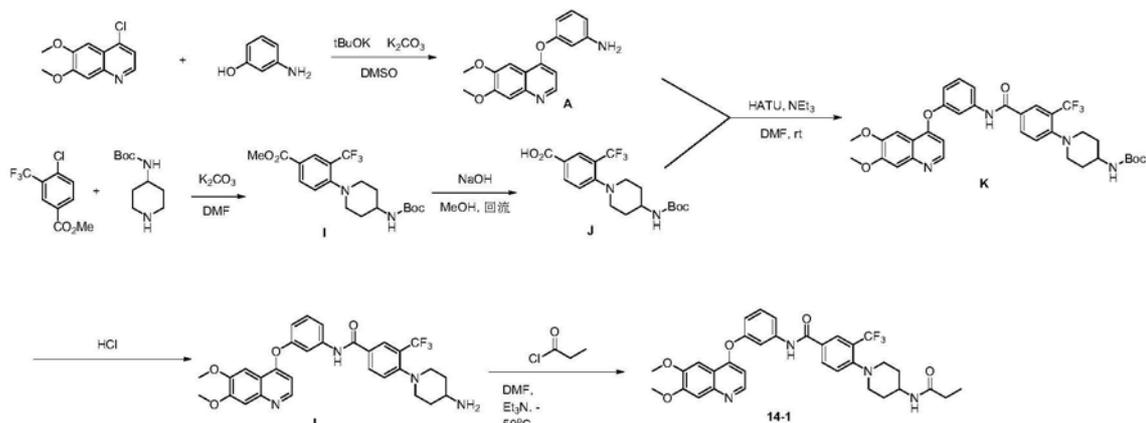
[0483]



[0484] 化合物2-39的合成通过使用类似于实施例7中所述的步骤完成,只是在步骤六用3-叔丁基异噁唑-5-甲酰胺代替丙炔酸。Exact Mass (计算值): 732.7612; MS (ESI) m/e (M+1)⁺: 733.7617。

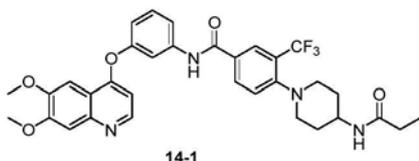
[0485] 实施例84

[0486]



[0487] N-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)-4-(4-丙酰胺基哌啶-1-基)-3-三氟甲基苯甲酰胺14-1的合成

[0488]



[0489] 3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)-氧基)苯胺A的合成

[0490] 步骤一:将叔丁醇钾(1.2当量)慢慢加入到装有3-氨基苯酚(1.2当量)和二甲基亚砜(3mL)的反应瓶中,于室温条件下搅拌2小时后再往反应瓶中加入4-氯-6,7-二甲氧基喹啉(2.2mmol)和碳酸钾(0.6当量)。加热反应至110℃,反应过夜。质谱检测无4-氯-6,7-二甲氧基喹啉剩余,停止反应,冷却至室温,反应液用乙酸乙酯稀释后再加入饱和碳酸氢钠溶液,分液后,乙酸乙酯相再分别用稀氢氧化钠溶液、饱和食盐水洗涤,无水硫酸镁干燥,过滤,浓缩后柱层析得化合物A(400mg),收率61%。Exact Mass(计算值):296.1161;MS(ESI)m/e(M+1)⁺:297.1201;¹H-NMR(400MHz,DMSO-d₆)8.49(d,J=4.2Hz,1H),7.46(s,1H),7.39(s,1H),7.14~7.10(m,1H),6.53(d,J=4.2Hz,1H),6.51(d,J=8.0Hz,1H),6.37~6.34(m,2H),5.39(s,2H),4.04(s,3H),3.94(s,3H)。

[0491] 甲基-4-(4-((叔丁氧羰基)氨基)哌啶-1-基)-3-三氟甲基苯甲酸酯I的合成

[0492] 步骤二:将4-氯-3-三氟甲基苯甲酸甲酯(12.69mmol)和4-氨基甲酸叔丁醇酯(1.0当量)溶于N,N-二甲基甲酰胺(60mL)中,再加入碳酸钾(3.0当量),加热反应至100℃反应10小时。质谱检测无原料剩余,停止反应。冷却至室温,反应液用碳酸氢钠溶液稀释,用乙酸乙酯萃取三次,合并的乙酸乙酯相用饱和食盐水洗涤,干燥,过滤,浓缩后得化合物I粗产物(3.9g)。Exact Mass(计算值):402.4142;MS(ESI)m/e(M+1)⁺:403.1801;

[0493] 4-(4-((叔丁氧羰基)氨基)哌啶-1-基)-3-三氟甲基苯甲酸J的合成

[0494] 步骤三:将化合物I(12.96mmol)溶于甲醇(500mL)中,再将氢氧化钠(12.96mmol)溶于水(13mL)中的溶液加入上述混合液中,反应物加热至回流反应2小时。质谱检测无原料剩余,停止反应。冷却至室温后直接浓缩得化合物J粗产物(1.2g)。Exact Mass(计算值):388.3872;MS(ESI)m/e(M+1)⁺:389.1643;

[0495] 叔丁基-(1-(4-((3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)氨基酰基)-2-(三氟甲基)苯基)哌啶-4-基)氨基甲酸酯K的合成

[0496] 步骤四:将化合物A (1.34mmol)、化合物J (1.34mmol)、HATU (1.89mmol)、三乙胺 (3.01mmol) 溶于DMF (5mL) 中。于室温下反应。质谱检测,原料反应殆尽,停止反应。反应混合液用乙酸乙酯稀释,再用水洗三次,饱和食盐水洗一次,所得乙酸乙酯相用无水硫酸镁干燥,过滤浓缩物柱层析得化合物K (206mg)。Exact Mass (计算值):666.6982;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:667.2689。

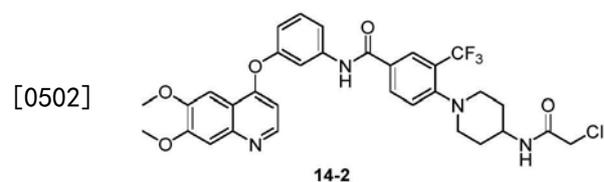
[0497] 4-(4-氨基哌啶-1-基)-N-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)-3-(三氟甲基)苯基)苯甲酰胺L的合成

[0498] 步骤五:将氯化氢乙酸乙酯溶液 (15mL) 慢慢滴入装有化合物K (0.33mmol) 的反应瓶中,于室温下反应4小时。质谱检测,原料反应殆尽,停止反应。将反应液过滤得类白色固体,即为化合物L的盐酸盐 (170mg)。Exact Mass (计算值):566.5812;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:567.2173。

[0499] 步骤六:化合物14-1的合成最后通过使用类似于实施例1步骤六中所述的步骤完成,只是用化合物L代替化合物E。Exact Mass (计算值):622.6452;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:623.2437。

[0500] 实施例85

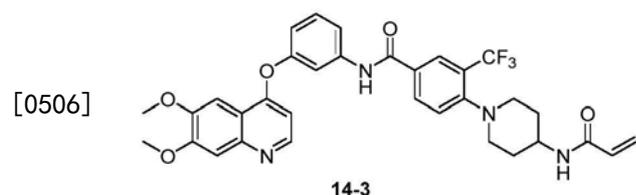
[0501] 4-(4-(2-氯乙酰胺基)哌啶-1-基)-N-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)-3-三氟甲基苯甲酰胺14-2的合成



[0503] 化合物14-2的合成通过使用类似于实施例84中所述的步骤完成,只是在步骤六中用氯乙酰氯代替丙酰氯。Exact Mass (计算值):643.0602;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:643.1890。

[0504] 实施例86

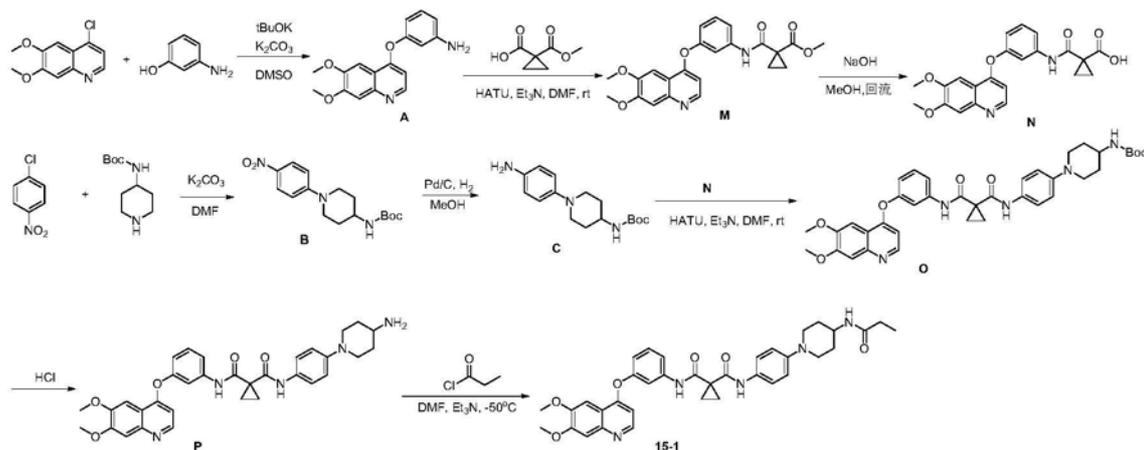
[0505] 4-(4-(丙烯酰胺基)哌啶-1-基)-N-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)-3-三氟甲基苯甲酰胺14-3的合成



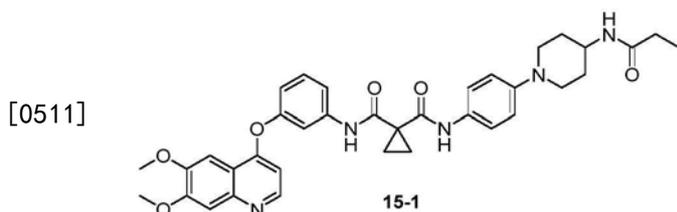
[0507] 化合物14-3的合成通过使用类似于实施例84中所述的步骤完成,只是在步骤六中用丙烯酰氯代替丙酰氯。Exact Mass (计算值):620.6292;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:621.2280。

[0508] 实施例87

[0509]



[0510] N-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)-4-(4-(4-丙酰胺基哌啶-1-基)苯基)环丙基-1,1-二甲酰胺15-1的合成



[0511]

[0512] 步骤一:将叔丁醇钾(1.2当量)慢慢加入到装有3-氨基苯酚(1.2当量)和二甲基亚砷(3mL)的反应瓶中,于室温条件下搅拌2小时后再往反应瓶中加入4-氯-6,7-二甲氧基喹啉(2.2mmol)和碳酸钾(0.6当量)。加热反应至110℃,反应过夜。质谱检测无4-氯-6,7-二甲氧基喹啉剩余,停止反应,冷却至室温,反应液用乙酸乙酯稀释后再加入饱和碳酸氢钠溶液,分液后,乙酸乙酯相再分别用稀氢氧化钠溶液、饱和食盐水洗涤,无水硫酸镁干燥,过滤,浓缩后柱层析得化合物A(400mg),收率61%。Exact Mass(计算值):296.1161;MS(ESI) m/e (M+1)⁺:297.1201;¹H-NMR(400MHz,DMSO-d₆) 8.49(d,J=4.2Hz,1H),7.46(s,1H),7.39(s,1H),7.14~7.10(m,1H),6.53(d,J=4.2Hz,1H),6.51(d,J=8.0Hz,1H),6.37~6.34(m,2H),5.39(s,2H),4.04(s,3H),3.94(s,3H)。

[0513] 步骤二:将化合物A(12.69mmol)、1-(甲氧羰基)环丙基-1-甲酸(12.69mmol)、HATU(15.00mmol)和三乙胺(15.00mmol)混合溶于DMF(15mL)中。于室温下反应至质谱检测无原料剩余,停止反应。用乙酸乙酯稀释,混合液用水洗三次,饱和食盐水洗一次,有机相用无水硫酸镁干燥,过滤浓缩后柱层析得化合物M。Exact Mass(计算值):422.4370;MS(ESI) m/e (M+1)⁺:423.1511。

[0514] 步骤三:将化合物M(6.66mmol)溶于甲醇(10mL)中,再将氢氧化钠(6.66mmol)溶于水(7mL)中的溶液加入上述混合液中,反应物加热至回流反应2小时。质谱检测无原料剩余,停止反应。冷却至室温后直接浓缩得化合物N粗产物。Exact Mass(计算值):408.4100;MS(ESI) m/e (M+1)⁺:409.1355。

[0515] 步骤四:将4-氯硝基苯(12.69mmol)和4-氨基甲酸叔丁醇酯(1.0当量)溶于N,N-二甲基甲酰胺(60mL)中,再加入碳酸钾(3.0当量),加热反应至100℃反应10小时。质谱检测无原料剩余,停止反应。冷却至室温,反应液用碳酸氢钠溶液稀释,用乙酸乙酯萃取三次,合并

的乙酸乙酯相,用饱和食盐水洗涤,干燥,过滤,浓缩后得化合物B粗产物(3.9g)。Exact Mass(计算值):321.1689;MS(ESI)m/e(M+1)⁺:321.1601;¹H-NMR(400MHz,DMSO-d₆)8.04(d,J=8.0Hz,2H),7.02(d,J=8.0Hz,2H),4.02~3.96(m,2H),3.56~3.53(m,1H),3.11~3.05(m,2H),2.51~2.50(m,2H),1.82~1.80(m,2H),1.39(s,9H)。

[0516] 步骤五:将化合物B(12.96mmol)溶于甲醇(500mL)中,再加入钯碳(2.0g),反应混合液于氢气氛围下反应7小时。质谱检测无原料剩余,停止反应。反应混合液浓缩后柱层析得化合物C(1.2g),两步收率为32%。Exact Mass(计算值):291.1947;MS(ESI)m/e(M+1)⁺:292.2011;¹H-NMR(400MHz,DMSO-d₆)6.83(s,1H),6.69~6.67(m,2H),6.49~6.47(m,2H),4.62(br.,2H),3.33~3.27(m,3H),2.54~2.51(m,2H),1.78~1.75(m,2H),1.50~1.47(m,2H),1.39(s,9H)。

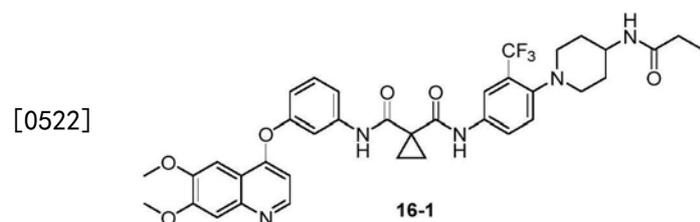
[0517] 步骤六:将化合物N、化合物C、HATU(15.00mmol)和三乙胺(15.00mmol)混合溶于DMF(15mL)中。于室温下反应至质谱检测无原料剩余,停止反应。用乙酸乙酯稀释,混合液用水洗三次,饱和食盐水洗一次,有机相用无水硫酸镁干燥,过滤浓缩后柱层析得化合物O。Exact Mass(计算值):681.7900;MS(ESI)m/e(M+1)⁺:682.3196。

[0518] 步骤七:将氯化氢乙酸乙酯溶液(15mL)慢慢滴入装有化合物O(0.33mmol)的反应瓶中,于室温下反应4小时。质谱检测,原料反应殆尽,停止反应。将反应液过滤得类白色固体,即为化合物P的盐酸盐(170mg)。Exact Mass(计算值):581.6730;MS(ESI)m/e(M+1)⁺:582.6732。

[0519] 步骤八:化合物15-1的合成最后通过使用类似于实施例1步骤六中所述的步骤完成,只是用化合物P代替化合物E。Exact Mass(计算值):637.7370;MS(ESI)m/e(M+1)⁺:638.6931。

[0520] 实施例88

[0521] N-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)-4-(4-(4-丙酰胺基哌啶-1-基)-3-三氟甲基苯基)环丙基-1,1-二甲酰胺16-1的合成。

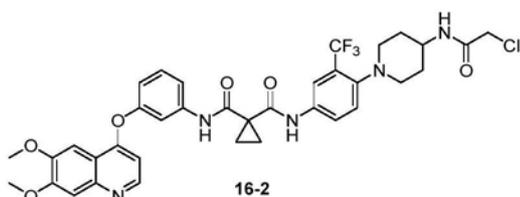


[0523] 化合物16-1的合成通过使用类似于实施例87中所述的步骤完成,只是在步骤四用2-氯-5-硝基三氟甲苯代替4-氯硝基苯。Exact Mass(计算值):705.7352;MS(ESI)m/e(M+1)⁺:706.2808。

[0524] 实施例89

[0525] N-(4-(4-(2-氯乙酰胺基)哌啶-1-基)-3-三氟甲基苯基)-N-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)环丙基-1,1-二甲酰胺16-2的合成

[0526]

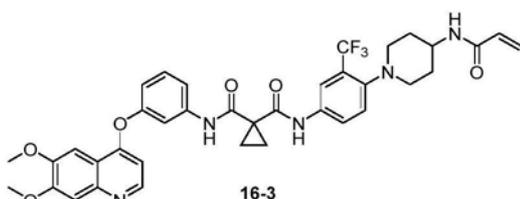


[0527] 化合物16-2的合成通过使用类似于实施例88中所述的步骤完成,只是在步骤八用氯乙酰氯代替丙酰氯。Exact Mass (计算值):726.1502;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:726.2262。

[0528] 实施例90

[0529] N-(4-(4-丙烯酰胺基哌啶-1-基)-3-三氟甲基苯基)-N-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)环丙基-1,1-二甲酰胺16-3的合成

[0530]

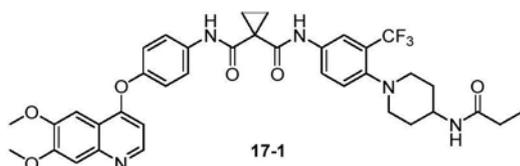


[0531] 化合物16-3的合成通过使用类似于实施例88中所述的步骤完成,只是在步骤八用丙烯酰氯代替丙酰氯。Exact Mass (计算值):703.7192;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:704.2651。

[0532] 实施例91

[0533] N-(4-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)-N-(4-(4-丙酰胺基哌啶-1-基)-3-三氟甲基苯基)环丙基-1,1-二甲酰胺17-1的合成。

[0534]

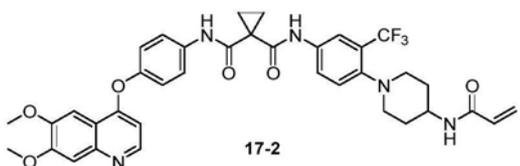


[0535] 化合物17-1的合成通过使用类似于实施例88中所述的步骤完成,只是在步骤一用对氨基苯酚代替3-氨基苯酚。Exact Mass (计算值):705.7352;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:706.2810。

[0536] 实施例92

[0537] N-(4-(4-氯乙酰胺基哌啶-1-基)-3-三氟甲基苯基)-N-(4-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)环丙基-1,1-二甲酰胺17-2的合成。

[0538]

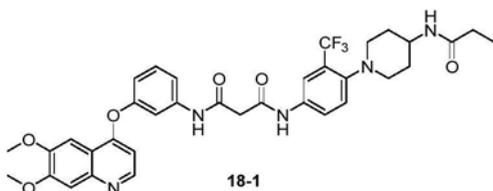


[0539] 化合物17-2的合成通过使用类似于实施例91中所述的步骤完成,只是在步骤八用丙烯酰氯代替丙酰氯。Exact Mass (计算值):703.7200;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:704.1099。

[0540] 实施例93

[0541] N-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)-N'-(4-(4-丙酰胺基哌啶-1-基)-3-三氟甲基苯基)丙二酰胺18-1的合成。

[0542]

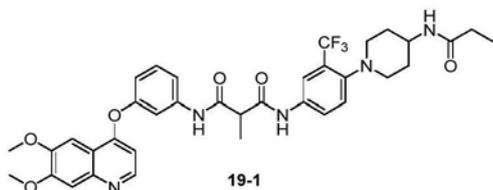


[0543] 化合物18-1的合成通过使用类似于实施例88中所述的步骤完成,只是在步骤二用3-甲氧羰基丙酸代替1-(甲氧羰基)环丙基-1-甲酸。Exact Mass (计算值):679.6972;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:680.3162。

[0544] 实施例94

[0545] N-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)-2-甲基-N-(4-(4-丙酰胺基哌啶-1-基)-3-三氟甲基苯基)丙二酰胺19-1的合成。

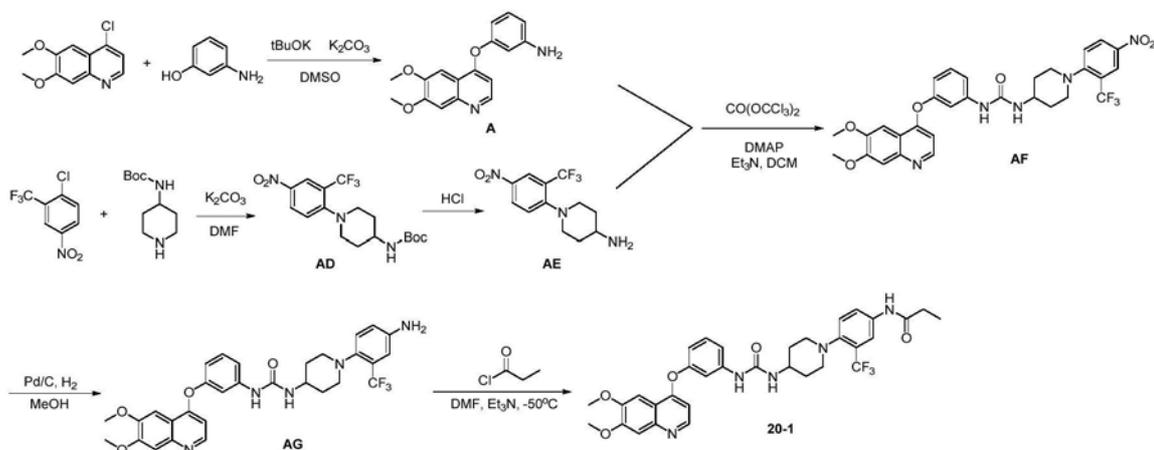
[0546]



[0547] 化合物19-1的合成通过使用类似于实施例88中所述的步骤完成,只是在步骤二用3-甲氧基-2-甲基-3-羰基丙酸代替1-(甲氧羰基)环丙基-1-甲酸。Exact Mass (计算值):693.7242;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:694.6610。

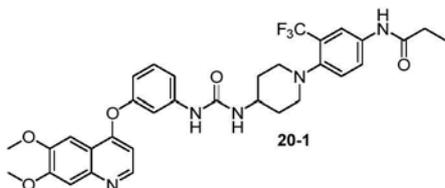
[0548] 实施例95

[0549]



[0550] N-(4-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)脲基)哌啶-1-基)-3-三氟甲基苯基)丙酰胺20-1的合成

[0551]



[0552] 步骤一:进行与实施例87步骤一所述的相同步骤。

[0553] 步骤二:进行类似于实施例87步骤四所述的步骤,只是用2-氯-5-硝基三氟甲苯代替4-氯硝基苯。所得固体为AD,Exact Mass (计算值):389.1562;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:

390.1077。

[0554] 步骤三:进行类似于实施例87步骤七所述的步骤,只是用AD代替化合物O。所得固体为化合物AE,Exact Mass (计算值):289.2582;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:290.1072。

[0555] 步骤四:进行类似于实施例1步骤四所述的步骤,只是用AE代替化合物C。所得固体为AF,Exact Mass (计算值):611.5782;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:612.2025。

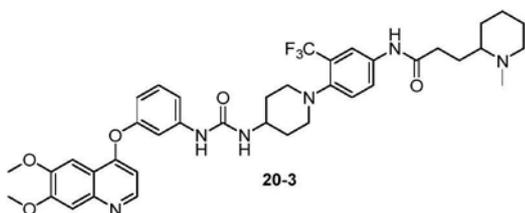
[0556] 步骤五:进行类似于实施例1步骤三所述的步骤,只是用AF代替化合物B。所得固体为AG,Exact Mass (计算值):581.5962;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:582.2283。

[0557] 步骤六:化合物20-1的合成最后通过使用类似于实施例1步骤六中所述的步骤完成,只是用AG代替化合物E.Exact Mass (计算值):637.6602;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:638.6736。

[0558] 实施例96

[0559] N-(4-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)脲基)哌啶-1-基)-3-三氟甲基苯基)-1-(1-甲基哌啶-2-基)丙酰胺20-3的合成

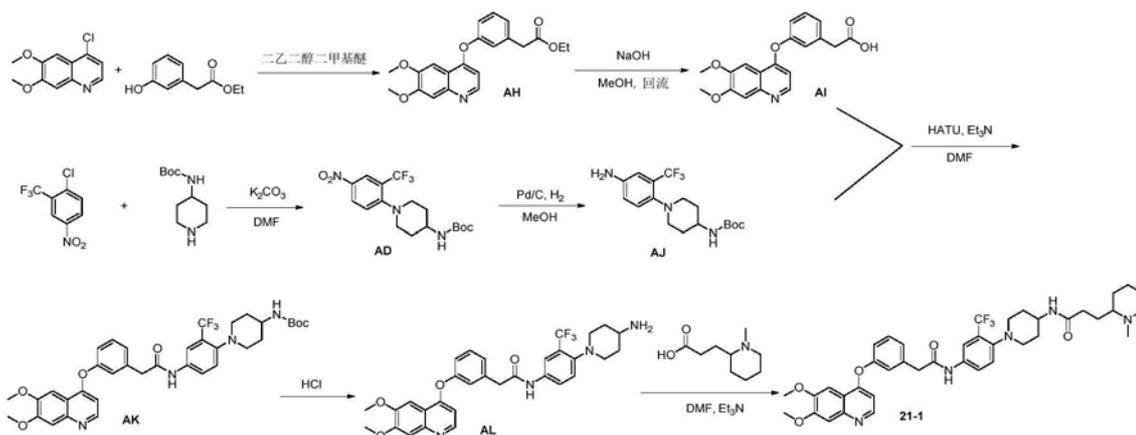
[0560]



[0561] 化合物20-3的合成通过使用类似于实施例7中所述的步骤完成,只是在步骤六用AG代替化合物E,同时用3-(1-甲基哌啶-2-基)丙酸代替丙炔酸.Exact Mass (计算值):734.8212;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:735.6736。

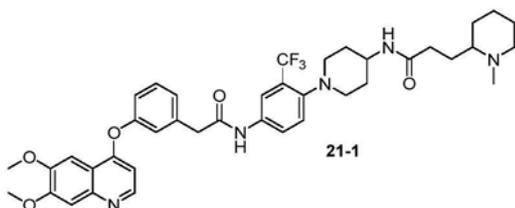
[0562] 实施例97

[0563]



[0564] N-(1-(4-(2-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)乙酰胺基)-2-三氟甲基苯基)哌啶-4-基)-3-(1-甲基哌啶-2-基)丙酰胺21-1的合成

[0565]



[0566] 步骤一:使用3-羟基苯乙酸甲酯和4-氯-6,7-二甲氧基喹啉进行类似于实施例1步骤一所述的步骤。所得化合物为AH, Exact Mass (计算值): 353.3771; MS (ESI) m/e (M+1)⁺: 354.1201。

[0567] 步骤二:进行类似于实施例87步骤三所述的步骤,只是用AH代替化合物M。所得化合物为AI, Exact Mass (计算值): 339.3445; MS (ESI) m/e (M+1)⁺: 340.2025。

[0568] 步骤三:进行类似于实施例87步骤五所述的步骤,只是用AD代替化合物B。所得化合物为AJ, Exact Mass (计算值): 359.3932; MS (ESI) m/e (M+1)⁺: 360.4001。

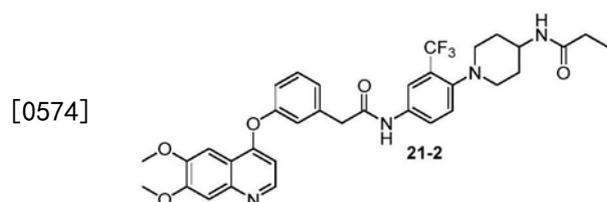
[0569] 步骤四:进行类似于实施例87步骤二所述的步骤,只是用AI代替化合物A。所得化合物为AK, Exact Mass (计算值): 680.7522; MS (ESI) m/e (M+1)⁺: 681.2225。

[0570] 步骤五:进行类似于实施例87步骤七所述的步骤,只是用AK代替化合物O。所得化合物为AL, Exact Mass (计算值): 580.6082; MS (ESI) m/e (M+1)⁺: 581.2333。

[0571] 步骤六:化合物21-1的合成最后通过使用类似于实施例7中所述的步骤完成,只是用AL代替化合物E,同时用化合物3-(1-甲基哌啶-2-基)丙酸代替丙炔酸。Exact Mass (计算值): 733.8212; MS (ESI) m/e (M+1)⁺: 734.8332。

[0572] 实施例98

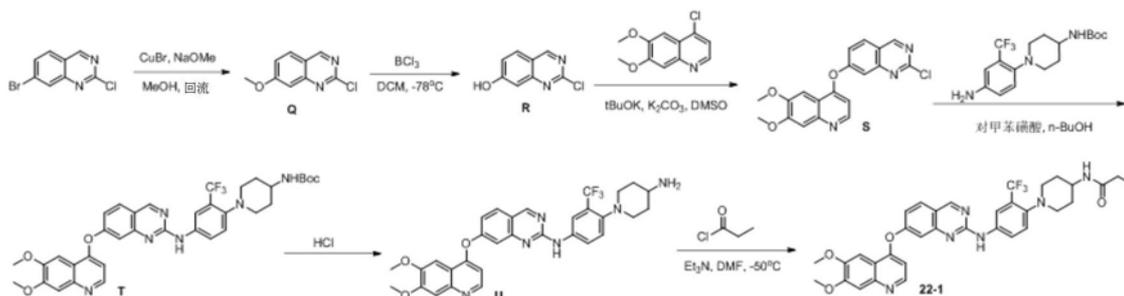
[0573] N-(1-(4-(2-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)乙酰胺基)-2-三氟甲基苯基)哌啶-4-基)丙酰胺21-2的合成



[0575] 化合物21-2的合成通过使用类似于实施例97中所述的步骤完成,只是在步骤六用丙酰氯代替3-(1-甲基哌啶-2-基)丙酸。Exact Mass (计算值): 636.6322; MS (ESI) m/e (M+1)⁺: 637.2559。

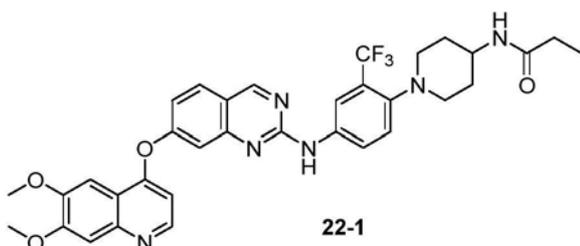
[0576] 实施例99

[0577]



[0578] N-(1-(4-(7-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)喹啉-2-基)胺基)-2-三氟甲基苯基)哌啶-4-基)丙酰胺22-1的合成

[0579]



[0580] 步骤一：将2-氯-7-溴喹唑啉 (8.11mmol) 溶于N,N-二甲基甲酰胺 (10mL) 中，于氩气氛围下再将溴化亚铜 (10.16mmol)、甲醇钠 (40.54mmol, 5.4M于MeOH中) 依次加入上述溶液中。加热至回流质谱检测至无原料剩余，停止反应。冷却至室温，真空除去溶剂后，残留物用乙酸乙酯溶解，所得有机相用水洗三次至溶液呈浅蓝色，饱和食盐水洗一次，无水硫酸镁干燥，过滤浓缩后柱层析得目标化合物Q。Exact Mass (计算值) : 194.6186; MS (ESI) m/e (M+1)⁺ : 196.0017。

[0581] 步骤二：将上述化合物Q (7.98mmol) 溶于二氯甲烷 (100mL) 中，冷却至-78℃后，将三氯化硼的二氯甲烷溶液 (1.0M, 25mL) 慢慢加入上述反应液中，反应至质谱检测无原料剩余后，停止反应。用饱和氯化铵溶液淬灭反应液，分液过滤，所得二氯甲烷相用饱和食盐水洗，无水硫酸镁干燥，过滤浓缩后所得粗产物R直接用于下一步反应。Exact Mass (计算值) : 180.5898; MS (ESI) m/e (M+1)⁺ : 181.1067。

[0582] 步骤三：使用化合物R和4-氯-6,7-二甲氧基喹啉进行类似于实施例1步骤一所述的步骤，得到化合物S。Exact Mass (计算值) : 367.7681; MS (ESI) m/e (M+1)⁺ : 368.7211。

[0583] 步骤四：将化合物S (7.01mmol) 和叔丁基-(1-(4-氨基-2-三氟甲基苯基)哌啶-4-基)氨基甲酸酯 (7.33mmol) 溶于正丁醇 (20mL) 中，再加入对甲基苯磺酸 (0.7mmol)，加热混合液至80℃反应至质谱检测无原料剩余。停止反应，冷却至室温。真空除去正丁醇，残留固体用乙酸乙酯溶解后用饱和碳酸氢钠溶液洗一次，用饱和食盐水洗一次，用无水硫酸镁干燥，过滤浓缩后柱层析得目标化合物T，Exact Mass (计算值) : 690.7244; MS (ESI) m/e (M+1)⁺ : 691.6631。

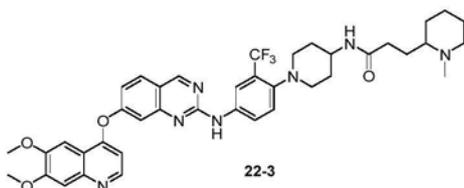
[0584] 步骤五：进行类似于实施例1步骤五所述的步骤，只是用化合物T代替化合物D，得到化合物U。Exact Mass (计算值) : 590.6970; MS (ESI) m/e (M+1)⁺ : 591.3262。

[0585] 步骤六：化合物22-1的合成最后通过使用类似于实施例1步骤六中所述的步骤完成，只是用化合物U代替化合物E。Exact Mass (计算值) : 646.6712; MS (ESI) m/e (M+1)⁺ : 647.2579。

[0586] 实施例100

[0587] N-(1-(4-(7-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)喹唑啉-2-基)胺基)-2-三氟甲基苯基)哌啶-4-基)-3-(1-甲基哌啶-2-基)丙酰胺22-3的合成

[0588]

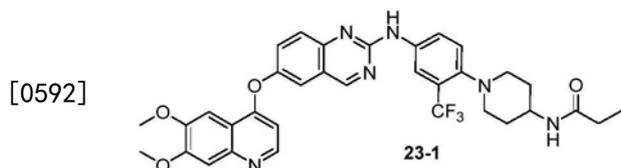


[0589] 化合物22-3的合成通过使用类似于实施例99中所述的步骤完成，只是在步骤六用3-(1-甲基哌啶-2-基)丙酸代替丙酰氯。Exact Mass (计算值) : 743.8122; MS (ESI) m/e (M+1)⁺ :

744.3441。

[0590] 实施例101

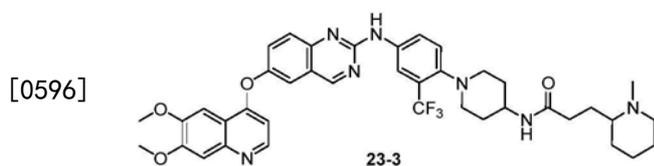
[0591] N-(1-(4-(6-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)喹唑啉-2-基)胺基)-2-三氟甲基苯基)哌啶-4-基)丙酰胺23-1的合成



[0593] 化合物23-1的合成通过使用类似于实施例99中所述的步骤完成,只是在步骤一用2-氯-6-溴喹唑啉代替2-氯-7-溴喹唑啉。Exact Mass (计算值):646.6723;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:647.2556。

[0594] 实施例102

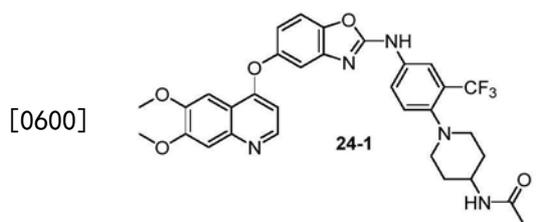
[0595] N-(1-(4-(6-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)喹唑啉-2-基)胺基)-2-三氟甲基苯基)哌啶-4-基)-3-(1-甲基哌啶-2-基)丙酰胺23-3的合成



[0597] 化合物23-3的合成通过使用类似于实施例101中所述的步骤完成,只是在步骤六用3-(1-甲基哌啶-2-基)丙酸代替丙酰氯。Exact Mass (计算值):743.8322;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:744.3671。

[0598] 实施例103

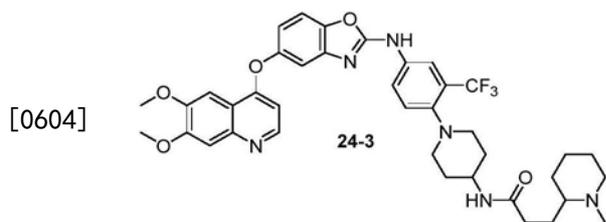
[0599] N-(1-(4-(5-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯并[d]噁唑-2-基)胺基)-2-三氟甲基苯基)哌啶-4-基)丙酰胺24-1的合成



[0601] 化合物24-1的合成通过使用类似于实施例99中所述的步骤完成,只是在步骤一用2-氯-5-溴苯并噁唑代替2-氯-7-溴喹唑啉。Exact Mass (计算值):635.6442;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:636.6389。

[0602] 实施例104

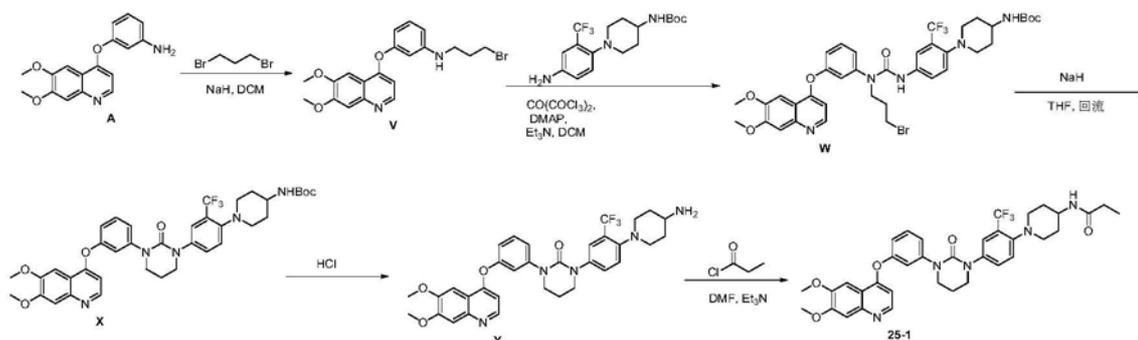
[0603] N-(1-(4-(6-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯并[d]噁唑-2-基)胺基)-2-三氟甲基苯基)哌啶-4-基)-3-(1-甲基哌啶-2-基)丙酰胺24-3的合成



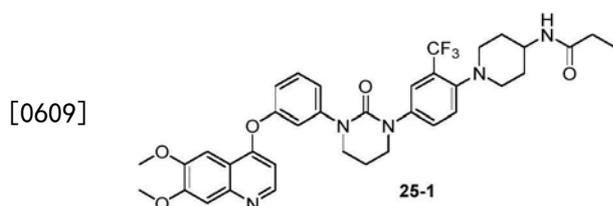
[0605] 化合物24-3的合成通过使用类似于实施例103中所述的步骤完成,只是在步骤六用3-(1-甲基哌啶-2-基)丙酸代替丙酰氯。Exact Mass (计算值): 732.8352; MS (ESI) m/e (M+1)⁺: 733.3971。

[0606] 实施例105

[0607]



[0608] N-(1-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)-2-羰基四氢哌啶-1-(2H)-基)-2-三氟甲基苯基)哌啶-4-基)丙酰胺25-1的合成



[0610] 步骤一:将化合物3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯胺(2.11mmol)溶于无水二氯甲烷(10mL)中,将氢化钠(3.15mmol)慢慢加入室温下搅拌30分钟后,再将化合物1,3-二溴丙烷(2.11mmol)加入上述混合液中,加热至回流反应至质谱检测不在有原料剩余,停止反应。冷却至室温,用二氯甲烷稀释,再用饱和碳酸氢钠溶液洗,水洗,饱和食盐水洗,无水硫酸镁干燥,过滤浓缩后柱层析得化合物V。Exact Mass (计算值): 417.3022; MS (ESI) m/e (M+1)⁺: 418.0755。

[0611] 步骤二:使用化合物V、三光气、叔丁基-(1-(4-氨基-2-三氟甲基苯基)哌啶-4-基)氨基甲酸酯进行类似于实施例1步骤四中所述的步骤,得到化合物为W。Exact Mass (计算值): 732.8352; MS (ESI) m/e (M+1)⁺: 733.3971。

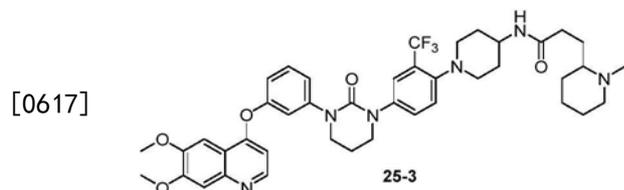
[0612] 步骤三:将化合物W(0.88mmol)溶于四氢呋喃(10mL)中,将氢化钠(1.34mmol)加入上述混合液中,加热至回流反应至质谱检测无原料剩余,停止反应。冷却至室温,真空除去溶剂,残留物用乙酸乙酯溶解,用水洗、饱和食盐水洗,无水硫酸镁干燥,过滤浓缩后柱层析得化合物X。Exact Mass (计算值): 721.7282; MS (ESI) m/e (M+1)⁺: 723.3971。

[0613] 步骤四:使用化合物X进行类似于实施例1步骤五中所述的步骤,得到化合物Y。Exact Mass (计算值): 621.6612; MS (ESI) m/e (M+1)⁺: 622.7156。

[0614] 步骤五:化合物25-1的合成最后通过使用类似于实施例1步骤六中所述的步骤完成,只是用化合物Y代替化合物E。Exact Mass (计算值):677.7652;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:678.6752。

[0615] 实施例106

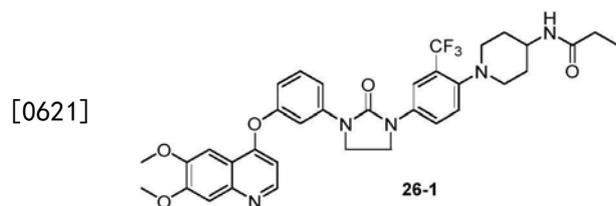
[0616] N-(1-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)-2-羰基四氢嘧啶-1-(2H)-基)-2-三氟甲基苯基)哌啶-4-基)-3-(1-甲基哌啶-2-基)丙酰胺25-3的合成



[0618] 化合物25-3的合成通过使用类似于实施例105中所述的步骤完成,只是在步骤五用3-(1-甲基哌啶-2-基)丙酸代替丙酰氯。Exact Mass (计算值):774.8662;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:775.7551。

[0619] 实施例107

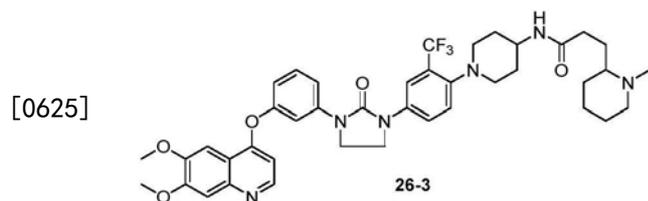
[0620] N-(1-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)-2-羰基咪唑啉-1-基)-2-三氟甲基苯基)哌啶-4-基)丙酰胺26-1的合成



[0622] 化合物26-1的合成通过使用类似于实施例105中所述的步骤完成,只是在步骤一用1,2-二溴乙烷代替1,3-二溴丙烷。Exact Mass (计算值):663.6982;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:664.6702。

[0623] 实施例108

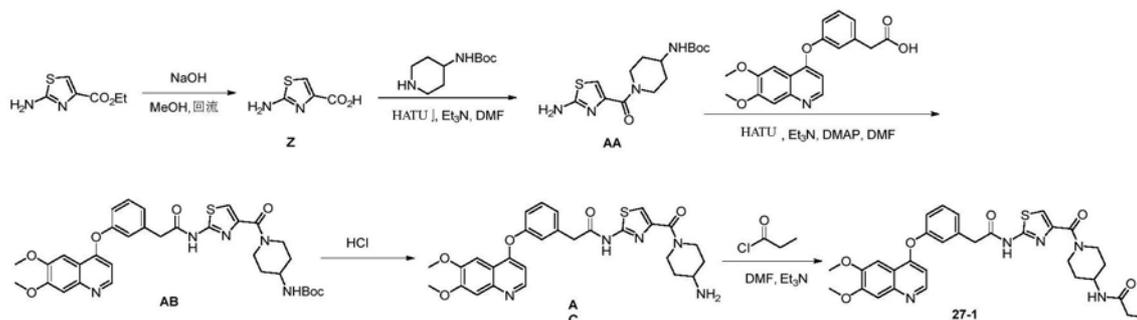
[0624] N-(1-(4-(3-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)-2-羰基咪唑啉-1-基)-2-三氟甲基苯基)哌啶-4-基)-3-(1-甲基哌啶-2-基)丙酰胺26-3的合成



[0626] 化合物26-3的合成通过使用类似于实施例107中所述的步骤完成,只是在步骤五用3-(1-甲基哌啶-2-基)丙酸代替丙酰氯。Exact Mass (计算值):760.8592;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:761.8593。

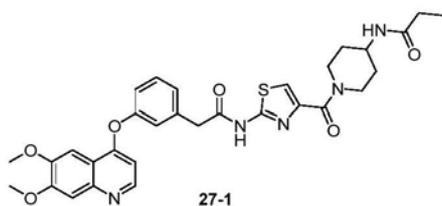
[0627] 实施例109

[0628]



[0629] N-(1-(2-(2-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)乙酰氨基)噻唑-4-羰基)哌啶-4-基)丙酰胺27-1的合成

[0630]



[0631] 步骤一:将化合物2-氨基噻唑-4-甲酸乙酯(0.71mmol)溶于甲醇(10mL)中,将配好的氢氧化钠(1.0M,0.71mmol)溶液加入上述混合液中,加热至回流,反应至质谱检测没有原料剩余,停止反应。冷去至室温,将混合液真空浓缩,所得残留物即为化合物Z的混合物,直接用于下一步反应。Exact Mass(计算值):144.1841;MS(ESI)m/e(M+1)⁺:145.9901。

[0632] 步骤二:使用混合物Z、4-Boc氨基哌啶进行类似于实施例87步骤二中所述的步骤,所得化合物为AA。Exact Mass(计算值):326.4150;MS(ESI)m/e(M+1)⁺:327.1687。

[0633] 步骤三:使用化合物AA、2-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)乙酸进行类似于实施例87步骤二中所述的步骤,所得化合物为AB。Exact Mass(计算值):647.7472;MS(ESI)m/e(M+1)⁺:648.2613。

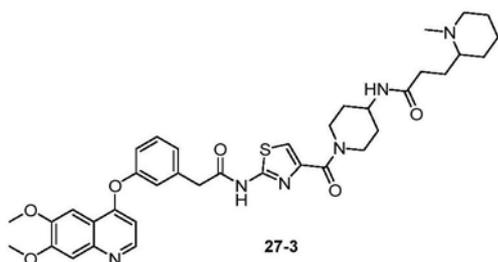
[0634] 步骤四:使用化合物AB进行类似于实施例1步骤五中所述的步骤,得到化合物AC。Exact Mass(计算值):547.5391;MS(ESI)m/e(M+1)⁺:548.2670。

[0635] 步骤五:化合物27-1的合成最后通过使用类似于实施例1步骤六中所述的步骤完成,只是用化合物AC代替化合物E。Exact Mass(计算值):603.6940;MS(ESI)m/e(M+1)⁺:604.6938。

[0636] 实施例110

[0637] N-(1-(2-(2-(3-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)乙酰氨基)噻唑-4-羰基)哌啶-4-基)-3-(1-甲基哌啶-2-基)丙酰胺27-3的合成

[0638]



[0639] 化合物27-3的合成通过使用类似于实施例109中所述的步骤完成,只是在步骤五

用3-(1-甲基哌啶-2-基)丙酸代替丙酰氯。Exact Mass (计算值):700.8511;MS (ESI) m/e (M+1)⁺:701.3781。

[0640] 实施例111:对癌细胞增殖的影响

[0641] 通过测试文中化合物2-1、化合物2-2、化合物2-3、化合物2-9、化合物2-8、化合物2-5、化合物2-10、化合物2-11、化合物2-12、化合物2-13、化合物2-14、化合物2-15、化合物2-16、化合物2-17、化合物2-18、化合物2-19、化合物2-20、化合物2-21、化合物2-22、化合物2-23、化合物2-24、化合物2-25、化合物2-26、化合物2-27、化合物2-28、化合物2-29、化合物2-30、化合物2-31、化合物2-32、化合物2-33、化合物2-34、化合物2-35、化合物2-36、化合物2-37、化合物14-1、化合物14-2、化合物14-3、化合物16-1、化合物16-2、化合物16-3、化合物17-1、化合物17-2对癌细胞生长的影响(表1),进一步评估文中化合物对癌细胞增殖的抑制作用,及其对抑制癌细胞增殖的选择性。本实施例中选用了人急性单核细胞性白血病细胞株MV-4-11(表达FLT3/ITD突变型基因)、人急性髓性白血病细胞株MOLM-13(表达FLT3/ITD突变型基因及野生型FLT3基因)、人非小细胞肺癌细胞H1975(表达EGFR L858R/T790M双突变型基因)、血癌细胞K562、人肺腺癌细胞A549(表达野生型EGFR基因)、前列腺癌C4-2、弥漫性大B细胞淋巴瘤细胞系TMD8、前列腺癌RV-1、人Burkitt's淋巴瘤细胞Namalwa、人B细胞慢性淋巴细胞白血病细胞株MEC-2、MEG-01、慢性髓性白血病KU812、人急性髓性白血病细胞株MOLM-14(表达FLT3/ITD突变型基因及野生型FLT3基因)、人急性髓性白血病细胞株U937(表达野生型FLT3基因)、急性髓性白血病细胞HL-60(表达野生型FLT3基因)、人非小细胞肺癌细胞NCI-H460(EGFR WT)、人急性髓性白血病细胞株OCI-AML-3(表达FLT3 A680V突变型基因)、人T细胞淋巴瘤细胞PF-382、人肺腺癌细胞PC-9、人乳腺癌细胞MDA-MB-468、人乳腺癌细胞T47D、人膀胱癌细胞Hb-c、人非小细胞肺癌细胞HCC827、人非小细胞肺癌细胞NCI-H23、中国仓鼠肺细胞CHL、中国仓鼠卵巢细胞(Chinese hamster ovary)CHO、小鼠原B细胞BaF3,以上细胞均购自ATCC。还选用了小鼠BaF3-FLT3-ITD(稳定表达FLT3-ITD突变的活化激酶)、小鼠BaF3-FLT3-D835Y(稳定表达FLT3 D835Y突变的活化激酶)、小鼠BaF3-FLT3-D835V(稳定表达FLT3 D835V突变的活化激酶)、小鼠BaF3-FLT3-D835H(稳定表达FLT3 D835H突变的活化激酶)、小鼠BaF3-FLT3-K663Q(稳定表达FLT3 K663Q突变的活化激酶)、小鼠TEL-BMX-BaF3(稳定表达BMX激酶)、小鼠BaF3-TEL-PDGFRa(稳定表达PDGFRa激酶)、小鼠BaF3-TEL-VEGFR2(稳定表达VEGFR2激酶)、小鼠TEL-FLT3-BaF3(稳定表达FLT3激酶)、小鼠BaF3-FLT3-ITD-D835Y(稳定表达FLT3/ITD D835Y突变的活化激酶)、小鼠BaF3-FLT3-ITD-F691L(稳定表达FLT3/ITD F691L突变的活化激酶)、小鼠TEL-c-KIT-BaF3(稳定表达cKIT激酶)、小鼠TEL-c-KIT-N822K-BaF3(稳定表达cKIT N822K突变的活化激酶)、小鼠TEL-c-KIT-D816V-BaF3(稳定表达cKIT D816V突变的活化激酶)、小鼠TEL-c-KIT-T670I-BaF3(稳定表达cKIT T670I突变的活化激酶)、小鼠TPR-MET-BaF3(稳定表达MET激酶)、小鼠TEL-ABL-BaF3(稳定表达ABL激酶)、小鼠TEL-ABL-T315I-BaF3(稳定表达ABL T315I激酶)、小鼠BaF3-p210(稳定表达ABL p210激酶)、小鼠TEL-ALK-BaF3(稳定表达ALK激酶)、。上述细胞株均由本实验室构建,构建方法为:PCR分别扩增人类FLT3/ITD、FLT3 D835Y、FLT3 D835V、FLT3 D835H、BMX、FLT3、FLT3/ITD D835Y、FLT3/ITD F691L、cKIT、cKIT N822K、cKIT D816V、cKIT T670I、MET、EGFR、EGFR L858R、BLK、PDGFRa、JAK1激酶区序列,并分别插入到带有N端TEL或者TPR片段的MSCV-Puro载体(Clontech),通过逆转录病毒方法,稳定转入小鼠BaF3细胞,并且撤除IL-3

生长因子,最终得到依赖FLT3/ITD、FLT3 D835Y、FLT3 D835V、FLT3 D835H、FLT3 K663Q、BMX、ABL、ABL T315I、ALK、FLT3、FLT3/ITD D835Y、FLT3/ITD F691L、cKIT、cKIT N882K、cKIT D816V、cKIT T670I、MET、EGFR、VEGFR2、PDGFR α 、EGFR L858R、BLK、JAK1转入蛋白的细胞系。

[0642] 在实施例中将不同浓度(0.000508 μ M、0.00152 μ M、0.00457 μ M、0.0137 μ M、0.0411 μ M、0.123 μ M、0.370 μ M、1.11 μ M、3.33 μ M、10 μ M于DMSO中)的上述化合物分别加入到上述细胞中,并孵育72小时,用Cell Titer-Glo[®] (Promega,美国)化学自发光法细胞活力检测试剂盒,通过对活细胞中的ATP进行定量测定来检测活细胞数目。实验结果见表1。

[0643] 表1对细胞增殖的影响

[0644]

化合物/ GI50(μ M)	化合物 2-1	化合物 2-2	化合物 2-3	化合物 2-9	化合物 2-8	化合物 2-5	化合物 2-10
BaF3-FLT3-ITD	0.016	0.004	0.012	0.0088	0.2		1.1
BaF3-FLT3-D835Y	0.15		0.2	0.13	1.4	0.46	
BaF3-FLT3-ITD-F691L	0.29		0.27	0.16	0.99		0.6
BaF3-FLT3-ITD-D835Y	0.79		0.83	0.59	2.1		

[0645]

BaF3-FLT3-K663Q							
BaF3	>10	1.3	>10	5.5	1.1		>10
TEL-ABL-BaF3	0.062	0.049	0.085				
TEL-ALK-BaF3	5.1			1.1	>10	>10	
TEL-c-KIT-BaF3	0.071	0.073	0.073	0.41	0.76	0.46	
TEL-c-KIT-N822K-BaF3	0.12		0.15				
TEL-c-KIT-D816V-BaF3	1.0		1.0				
TEL-c-KIT-T670I-BaF3	0.17		0.22				
TEL-BMX-BaF3	1.1	0.304	0.71				
TEL-ABL-T315I-BaF3							
TPR-MET-BaF3	3.51		3.15				
BaF3-TEL-PDGFRa	0.014		0.014				
BaF3-TEL-VEGFR2	<3 nM						
BaF3-p210	0.046		0.077				
MEG-01	0.014		0.027				
K562	0.015		0.023				
KU812	0.12		0.15				
CHL	>10		>10				
CHO	6.0						
MOLM13	0.042	0.016	0.042	0.11	0.31	0.081	0.040
MOLM14	0.028	0.011	0.025				
MV4-11	0.039	0.017	0.036				
PC-9	3.4	1.2	3.0				
H460	>10	3.6	>10				
H1975(NJ)	>10	2.9	>10				
MDA-MB-468	>10	0.83	>10				
TMD8	>10	0.45	>10				
MEC-2	>10	0.23	>10				
PF-382	>10	1.2	>10				
RV-1	>10	4.0	>10				
Namalwa	>10	0.39	>10				
C4-2	>10	>10	>10				
T47D	>10	0.98	>10				
Hb-c	>10	3.4	>10				
OCI-AML3	>10	1.3	>10				
HCC827	>10	1.1	>10				
NCI-H23	>10	1.2	>10				
A549	>10	3.5	>10				

[0646] 续表1

[0647]

化合物 / GI50(uM)	化合物 2-11	化合物 2-12	化合物 2-13	化合物 2-14	化合物 2-15	化合物 2-16	化合物 2-17	化合物 2-18
BaF3-FLT3-I TD	0.0084	0.0069	0.0076	0.098	0.0011	< 0.003	0.009	0.048
BaF3-FLT3-D835Y	0.3	0.2	0.21	1.9	0.22	0.19	0.26	0.23
BaF3-FLT3-I TD-F691L	0.46	0.54	3.3	0.57	0.5			
BaF3-FLT3-I TD-D835Y	0.84	1.0	0.81	>10	1.2	1.0	0.42	0.48
BaF3-FLT3-K663Q								

[0648]

BaF3	2.9	7.1	1.9	>10	1.7	1.3	3.4	1.1
TEL-ABL-BaF3								
TEL-ALK-BaF3								
TEL-c-KIT-BaF3	0.078	0.11	0.14	0.43	0.16	0.039	0.059	0.078
TEL-c-KIT-N822K-BaF3								
TEL-c-KIT-D816V-BaF3								
TEL-c-KIT-T670I-BaF3								
TEL-BMX-BaF3								
TEL-ABL-T315I-BaF3								
TPR-MET-BaF3								
BaF3-TEL-PDGFRa								
BaF3-TEL-VEGFR2								
BaF3-p210								
MEG-01								
K562								
KU812								
CHL								
CHO								
MOLM13								
MOLM14								
MV4-11								
PC-9								
H460								
H1975								
MDA-MB-468								
TMD8								
MEC-2								
PF-382								
RV-1								
Namalwa								
C4-2								
T47D								
Hb-c								
OCI-AML3								
HCC827								
NCI-H23								
A549								

[0649] 续表1

[0650]

化合物 / GI50(uM)	化合物 2-19	化合物 2-20	化合物 2-21	化合物 2-22	化合物 2-23	化合物 2-24	化合物 2-25	化合物 2-26
BaF3-FLT3-I TD	0.072	0.011	0.015	0.007	0.0019	0.002	0.028	0.0071

[0651]

BaF3-FLT3-D835Y	1.5	0.15	0.22	0.29	0.086	0.46	0.5	0.026
BaF3-FLT3-I TD-F691L								
BaF3-FLT3-I TD-D835Y	3.9	0.31	0.52	1.0	0.25	1.1	1.1	
BaF3-FLT3-K663Q								
BaF3	>10	6.2	4.2	3.0	2.9	5.0	7.0	0.51
TEL-ABL-B aF3								
TEL-ALK-B aF3								
TEL-c-KIT-B aF3	0.376	0.034	0.059	0.117	0.0384	0.130	0.0198	0.13
TEL-c-KIT-N822K-BaF3								
TEL-c-KIT-D816V-BaF3								
TEL-c-KIT-T 670I-BaF3								
TEL-BMX-B aF3								
TEL-ABL-T 315I-BaF3								
TPR-MET-B aF3								
BaF3-TEL-P DGFRa								
BaF3-TEL-V EGFR2								
BaF3-p210								
MEG-01								
K562								
KU812								
CHL								
CHO								
MOLM13								0.048
MOLM14								0.041
MV4-11								0.041
PC-9								
H460								
H1975								
MDA-MB-468								
TMD8								
MEC-2								
PF-382								
RV-1								
Namalwa								
C4-2								
T47D								
Hb-c								
OCI-AML3								
HCC827								
NCI-H23								

[0652]

A549								
------	--	--	--	--	--	--	--	--

[0653] 续表1

[0654]

化合物 / GI50(uM)	化合物 2-27	化合物 2-28	化合物 2-29	化合物 2-30	化合物 2-31	化合物 2-32	化合物 2-33	化合物 2-34
BaF3-FLT3-ITD	0.022	0.018	0.006	0.0054	0.002	0.0049	<0.0003	0.0018
BaF3-FLT3-D835Y	0.57	0.63	0.16	0.38	0.038	0.086	0.054	0.12
BaF3-FLT3-ITD-F691L						0.32	0.63	5.2
BaF3-FLT3-ITD-D835Y						0.33	0.60	1.1
BaF3-FLT3-K663Q								
BaF3	6.2	3.6	0.8	2.8	0.48	0.87	1.2	2.3
TEL-ABL-BaF3						0.13	0.11	0.20
TEL-ALK-BaF3						3.2	2.9	4.1
TEL-c-KIT-BaF3	0.62	0.43	0.13	0.34	0.12	0.33	0.19	0.36
TEL-c-KIT-N822K-BaF3								
TEL-c-KIT-D816V-BaF3								
TEL-c-KIT-T670I-BaF3								
TEL-BMX-BaF3						2	2.96	1.9
TEL-ABL-T315I-BaF3								
TPR-MET-BaF3						1.0	2.8	3.0
BaF3-TEL-PDGFRa						0.030	0.029	0.091
BaF3-TEL-VEGFR2						<3 nM	<3 nM	<3 nM
BaF3-p210						0.28	0.3	0.36
MEG-01								
K562								
KU812								
CHL						>10	>10	>10
CHO						5.7	7.5	4.9
MOLM13	0.081	0.16	0.046	0.05	0.014	0.014	0.0042	0.0074
MOLM14	0.066	0.14	0.035	0.039	0.013	0.028	0.007	0.008
MV4-11	0.041	0.089	0.041	0.053	0.0079	0.019	0.013	0.0041
PC-9								
H460								
H1975								
MDA-MB-468								
TMD8								
MEC-2								
PF-382								
RV-1								
Namalwa								

[0655]

C4-2								
T47D								
Hb-c								
OCI-AML3								
HCC827								
NCI-H23								
A549								

[0656] 续表1

[0657]

化合物 / GI50(uM)	化合物 2-35	化合物 2-36	化合物 2-37	化合物 14-1	化合物 14-2	化合物 14-3	化合物 16-1	化合物 16-2
BaF3-FLT3-ITD	0.024	0.014	0.0069	9.67	0.098	2.7	>10	1.2
BaF3-FLT3-D835Y	0.18	0.5						
BaF3-FLT3-ITD-F691L			>10					
BaF3-FLT3-ITD-D835Y			1.1					
BaF3-FLT3-K663Q								
BaF3	0.74	4.0	7.6	>10	>10	>10	>10	5.9
TEL-ABL-BaF3			0.16					
TEL-ALK-BaF3			2.2	>10	>10	>10	>10	4.6
TEL-c-KIT-BaF3	0.39	0.46	0.44	0.4	0.59	3.1	>10	8.1
TEL-c-KIT-N822K-BaF3								
TEL-c-KIT-D816V-BaF3								
TEL-c-KIT-T670I-BaF3								
TEL-BMX-BaF3			2.2					
TEL-ABL-T315I-BaF3								
TPR-MET-BaF3			3.1					
BaF3-TEL-PDGFRa			0.025					
BaF3-TEL-VEGFR2			<3 nM					
BaF3-p210			0.29					
MEG-01								
K562								
KU812								
CHL			>10					
CHO			8.9					
MOLM13	0.19	0.040	0.0083					
MOLM14	0.12	0.037						
MV4-11	0.12	0.025	0.012					
PC-9								
H460								
H1975								
MDA-MB-46								

[0658]

8								
TMD8								
MEC-2								
PF-382								
RV-1								
Namalwa								
C4-2								
T47D								
Hb-c								
OCI-AML3								
HCC827								
NCI-H23								
A549								

[0659] 续表1

[0660]

化合物/ GI50(uM)	化 合 物 16-3	化合物 17-1	化合物 17-2	化合物 21-1
BaF3-FLT3-ITD	>10	0.071	0.1	<0.0003
BaF3-FLT3-D835Y				0.006
BaF3-FLT3-ITD-F691L		0.05	0.1	0.31
BaF3-FLT3-ITD-D835Y		0.42	0.56	0.53
BaF3-FLT3-K663Q		0.44	0.65	
BaF3	>10	1.1	1.6	2
TEL-ABL-BaF3				
TEL-ALK-BaF3	>10			
TEL-c-KIT-BaF3	>10			0.16
TEL-c-KIT-N822K-BaF3				
TEL-c-KIT-D816V-BaF3				
TEL-c-KIT-T670I-BaF3				
TEL-BMX-BaF3				
TEL-ABL-T315I-BaF3				
TPR-MET-BaF3				
BaF3-TEL-PDGFRa				
BaF3-TEL-VEGFR2				
BaF3-p210				
MEG-01				
K562				
KU812				
CHL				
CHO				
MOLM13				0.002
MOLM14		0.38	0.62	<0.0003
MV4-11		0.34	0.58	0.002
PC-9				
H460				
H1975				
MDA-MB-468				
TMD8				
MEC-2				
PF-382				
RV-1				
Namalwa				
C4-2				
T47D				
Hb-c				
OCI-AML3				

[0661]

HCC827				
NCI-H23				
A549				
TEL-FLT3-BaF3				0.042
BaF3-FLT3-D835V				0.16
BaF3-FLT3-D835H				0.032
HL-60				1.5
U937				1.5

[0662] 实施例112:体外抑制活性(酶活)检测

[0663] 在体外酶活实验中测定化合物2-1、化合物2-2、化合物2-3、化合物2-11、化合物2-

12、化合物2-13、化合物2-14、化合物2-15、化合物2-16、化合物2-32、化合物2-33、化合物2-34、化合物2-37对蛋白激酶FLT3、FLT3-ITD及cKIT的IC50值。将蛋白激酶FLT3、FLT3-ITD及cKIT的胞内段区域克隆到昆虫表达载体pAcG2T中,利用昆虫表达体系BaculoGold™ Baculovirus Expression System (BD Pharmingen,美国)进行蛋白表达,并带有GST或histag标签。将构建好的载体转染至SF9包装病毒,用病毒感染SF9表达蛋白。

[0664] 取纯化的FLT3、FLT3-ITD及cKIT蛋白激酶9 μ L (6ng/ μ L) 分别与三倍梯度稀释的上述化合物1 μ L室温反应4小时(药物终浓度为10 μ M、3 μ M、1 μ M、0.3 μ M、0.1 μ M、0.03 μ M、0.01 μ M、0.003 μ M);

[0665] 加入2 μ L ATP和3 μ L底物Poly (4:1Glu,Tyr) Peptide (Promega,美国) (终浓度分别为10 μ M和0.2 μ g/ μ L),37 $^{\circ}$ C反应1小时;

[0666] 取5 μ L反应后的激酶溶液,加入5 μ L ADP-Glo™ (Promega,美国) 试剂室温反应40min以终止激酶反应并消耗完剩余的ATP;

[0667] 加入10 μ L激酶检测试剂将ADP转化成ATP,使用偶联的萤光素酶/萤光素反应检测新合成的ATP,利用Envision读数后作图,计算IC50值(表2)。

[0668] 实验结果如表2所示:本发明的上述示例性化合物对FLT3、FLT3-ITD及cKIT蛋白激酶具有强烈的抑制作用。这些结果说明本发明化合物是FLT3激酶的抑制剂,同时对FLT3-ITD及cKIT激酶也有抑制作用。

[0669] 表2酶活检测结果

[0670]

化合物/ GI50(uM)	FLT 激酶 IC50(uM)	FLT3-ITD 激酶 IC50(uM)	cKIT 激酶 IC50(uM)
化合物 2-1	0.055		0.258

[0671]

化合物 2-2			
化合物 2-3	0.031		
化合物 2-11	0.042		
化合物 2-12	0.16		
化合物 2-13	0.23		
化合物 2-14	1.43		
化合物 2-15	0.082		
化合物 2-16	0.073		
化合物 2-32	0.574	0.062	
化合物 2-33	0.081	0.010	0.047
化合物 2-34	0.429	0.132	
化合物 2-37	0.090	0.268	0.347

[0672] 实施例113:化合物2-1、化合物2-3及化合物2-33在细胞中对FLT3上下游信号通路的影响

[0673] 在携带FLT3基因和/或FLT3-ITD突变型基因的人急性髓性白血病细胞MV-4-11(表达FLT3-ITD突变型基因)细胞株、人急性髓性白血病细胞株MOLM-13(表达FLT3-ITD突变型基因及野生型FLT3基因)细胞株及人急性髓性白血病细胞株MOLM-14(表达FLT3-ITD突变型基因及野生型FLT3基因)细胞株中,通过测定许多细胞生物化学终点和功能性终点,测试了

化合物2-1、化合物2-3、化合物2-33及对照化合物FLT3激酶抑制剂AC220(购自Hao Yuan Chemexpress公司,上海)对细胞中的FLT3和/或FLT3-ITD蛋白激酶的磷酸化及其密切相关的信号通路下游STAT5蛋白磷酸化的影响以及其它相关的蛋白激酶ERK、AKT磷酸化的影响,同时我们还检测了蛋白C-Myc以及转录因子NF- κ B亚单位p65磷酸化的影响(图1)。用不同浓度0nM、3nM、10nM、30nM、100nM、300nM、1000nM(于DMSO中)的化合物2-1、化合物2-3及0 μ M、0.03 μ M、0.1 μ M、0.3 μ M、1 μ M、3 μ M(于DMSO中)的化合物2-33及0.1 μ M(于DMSO中)的FLT3激酶抑制剂AC220分别处理携带FLT3和/或FLT3-ITD基因的急性髓性白血病细胞MV-4-11、MOLM-13、MOLM-14细胞株4小时,收集样品。测定化合物对细胞中的FLT3、STAT5、C-Myc、ERK、NF- κ B p65、AKT等蛋白磷酸化的影响(图1)。

[0674] 实验结果如图1所示:在人急性髓性白血病细胞MV-4-11(表达FLT3-ITD突变型基因)细胞株中,化合物2-1、化合物2-3及化合物2-33均能够非常强烈地抑制蛋白激酶FLT3的磷酸化(其IC₅₀小于10nM)。同时,化合物2-1、化合物2-3及化合物2-33对细胞中FLT3-ITD下游蛋白STAT5的磷酸化也具有非常强烈的抑制作用,对蛋白激酶ERK的磷酸化有明显的抑制作用。此外,化合物2-1、化合物2-3及化合物2-33对与FLT3蛋白激酶密切相关的蛋白C-Myc有强烈的降解作用。同样的实验中,对照化合物FLT3激酶抑制剂AC220也能够观察到同样的实验现象。

[0675] 在人急性髓性白血病细胞株MOLM-13(表达FLT3-ITD突变型基因及野生型FLT3基因)细胞株及人急性髓性白血病细胞株MOLM-14(表达FLT3-ITD突变型基因及野生型FLT3基因)细胞株中,化合物2-1、化合物2-3及化合物2-33也均能够非常强烈地抑制蛋白激酶FLT3的磷酸化(其IC₅₀小于10nM)。化合物2-1、化合物2-3及化合物2-33对细胞中FLT3-ITD下游蛋白STAT5的磷酸化同样也具有非常强烈的抑制作用。此外,化合物2-1、化合物2-3及化合物2-33对蛋白激酶ERK的磷酸化有明显的抑制作用,对与FLT3蛋白激酶密切相关的蛋白C-Myc有强烈的降解作用。同样的实验中,对照化合物FLT3激酶抑制剂AC220也能够观察到同样的实验现象。

[0676] 实施例113表明化合物2-1、化合物2-3及化合物2-33不仅能够强烈地抑制蛋白激酶FLT3的磷酸化,且对细胞中蛋白激酶FLT3的信号通路下游蛋白STAT5的磷酸化有强烈的抑制作用,对与FLT3蛋白激酶密切相关的蛋白C-Myc有强烈的降解作用,进而抑制携带FLT3和/或FLT3-ITD基因的急性髓性白血病细胞株的细胞增殖。

[0677] 实施例114:化合物2-1及化合物2-33在细胞上对细胞凋亡的影响

[0678] 为了证明用药以后细胞的死亡是通过凋亡还是坏死,在携带FLT3基因和/或FLT3-ITD突变型基因的人急性髓性白血病细胞MV-4-11(表达FLT3-ITD突变型基因)细胞株、人急性髓性白血病细胞株MOLM-13(表达FLT3-ITD突变型基因及野生型FLT3基因)细胞株及人急性髓性白血病细胞株MOLM-14(表达FLT3-ITD突变型基因及野生型FLT3基因)细胞株中,检测了化合物2-1、化合物2-33在细胞中对与细胞凋亡密切相关的DNA修复酶聚腺苷二磷酸-核糖聚合酶PARP、含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶Caspase 3蛋白剪切的影响。用不同浓度0 μ M、0.3 μ M、1 μ M、3 μ M(于DMSO中)的化合物2-1及1 μ M(于DMSO中)的FLT3激酶抑制剂AC220分别处理MOLM-13、MOLM-14及MV-4-11细胞株,用不同浓度0 μ M、0.03 μ M、0.1 μ M、0.3 μ M、1 μ M、3 μ M(于DMSO中)的化合物2-33及0.1 μ M(于DMSO中)的FLT3激酶抑制剂AC220分别处理MOLM-14、MV-4-11细胞株,24小时后收集细胞。用Western Blot检测不同浓度的药在不同时间段

对DNA修复酶聚腺苷二磷酸-核糖聚合酶PARP和含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶Caspase 3的剪切蛋白的影响(图2)。

[0679] 实验结果如图2所示:对于携带FLT3基因和/或FLT3-ITD突变型基因的急性髓性白血病细胞株MOLM-13、MOLM-14及MV-4-11细胞株,当化合物2-1的用药浓度为0.3 μ M时,作用24小时后就能够看到特别明显的DNA修复酶聚腺苷二磷酸-核糖聚合酶PARP的剪切,以及特别明显的含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶Caspase 3的剪切,同样地使用1 μ M的对照化合物FLT3激酶抑制剂AC220也能观测到同样的现象。

[0680] 对于携带FLT3基因和/或FLT3-ITD突变型基因的急性髓性白血病细胞MOLM-14及MV-4-11细胞株,当化合物2-33的用药浓度为0.1 μ M时,作用24小时后,能够看到特别明显的DNA修复酶聚腺苷二磷酸-核糖聚合酶PARP的剪切,也能看见含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶Caspase 3的剪切。实施例114证明了化合物2-1及化合物2-33能够引起携带FLT3基因和/或FLT3-ITD突变型基因的急性髓性白血病细胞的凋亡。

[0681] 实施例115:化合物2-1及化合物2-33在细胞上对细胞周期的影响

[0682] 为了研究用药后细胞被阻止在哪个生长周期,在携带FLT3基因和/或FLT3-ITD突变型基因的急性髓性白血病细胞MOLM-14及MV-4-11细胞株,测试了化合物2-1及化合物2-33对这些细胞株的细胞周期分布的影响。用不同浓度的0.5 μ M、1 μ M(于DMSO中)的化合物2-1及10nM(于DMSO中)的FLT3激酶抑制剂AC220作用于携带FLT3基因和/或FLT3-ITD突变型基因的急性髓性白血病细胞MOLM-14及MV-4-11细胞株,用不同浓度的0 μ M、0.01 μ M、0.03 μ M、0.1 μ M、0.3 μ M、1 μ M(于DMSO中)的化合物2-33及0.1 μ M(于DMSO中)的FLT3激酶抑制剂AC220作用于仅携带FLT3-ITD突变基因的急性髓性白血病细胞MV-4-11细胞株中,作用24小时后,收集细胞,1XPBS缓冲液洗涤两次,75%的乙醇于-20 $^{\circ}$ C固定24小时,1XPBS缓冲液再洗涤两次,加0.5mL 1XPBS缓冲液和0.5mL的PI染色液(购自美国BD Bioscience)到细胞中并将细胞放置于黑暗避光37 $^{\circ}$ C染色15分钟,用流式细胞仪(BD FACS Calibur)检测细胞周期分布(图3)。

[0683] 实验结果如图3所示:在携带FLT3/ITD突变型基因的急性髓性白血病细胞株MV-4-11细胞株中,随着化合物2-1的药物浓度从0 μ M增加到1 μ M,捕获的G0-G1期的细胞也从53.38%增加到88.53%;同样的实验中,选择性较强的FLT3激酶抑制剂AC220在10nM时捕获的G0-G1期的细胞为85.31%;而随着化合物2-33的药物浓度从0 μ M增加到1 μ M,捕获的G0-G1期的细胞也从57.57%增加到91.93%;同实验中选择性较强的FLT3激酶抑制剂AC220在0.1 μ M时捕获的G0-G1期的细胞为88.66%。在表达FLT3-ITD突变型基因及野生型FLT3基因的急性髓性白血病细胞MOLM-14细胞株中,随着化合物2-1的药物浓度从0 μ M增加到1 μ M,捕获的G0-G1期的细胞也从48.92%增加到85.63%;而同实验中选择性较强的FLT3激酶抑制剂AC220在10nM时捕获的G0-G1期的细胞为87.29%;

[0684] 实施例115证明了化合物2-1及化合物2-33能够将携带FLT3基因和/或FLT3-ITD突变型基因的急性髓性白血病细胞MOLM-14及MV-4-11细胞株阻止在G0-G1期,并且对细胞周期的分布有很强的影响(图3)。

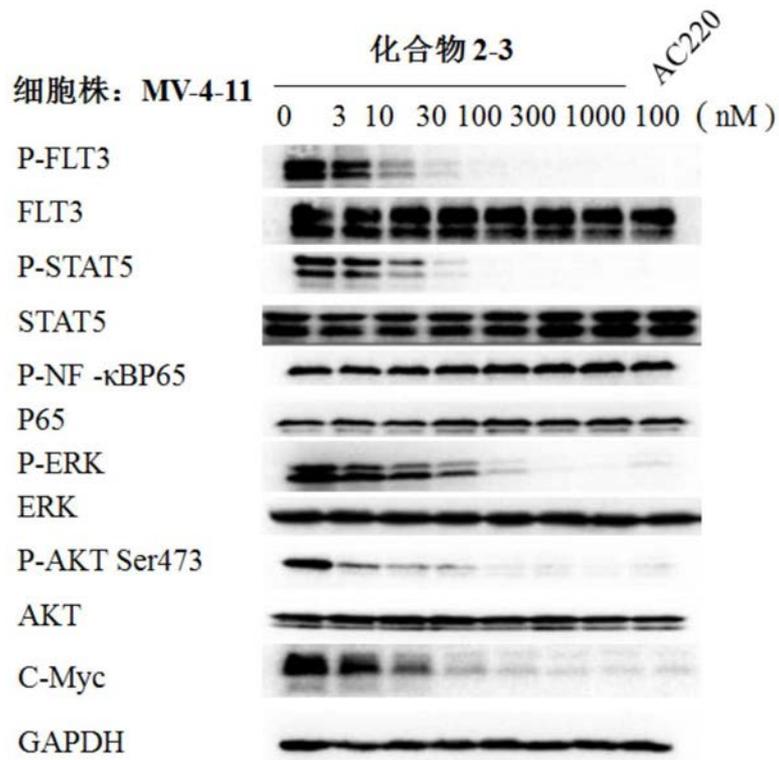


图1a

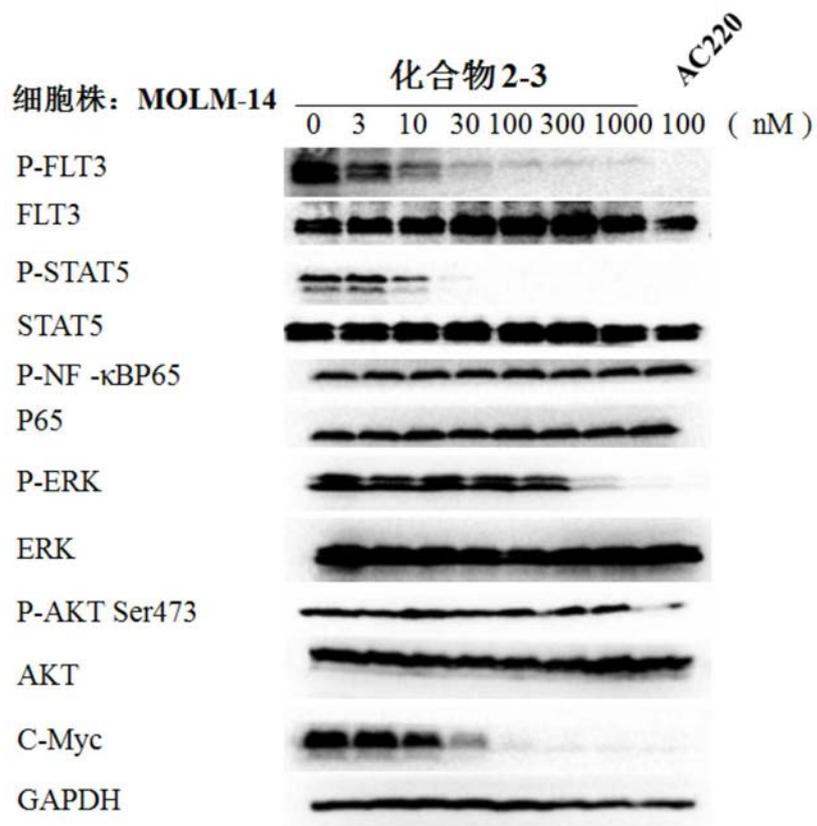


图1b

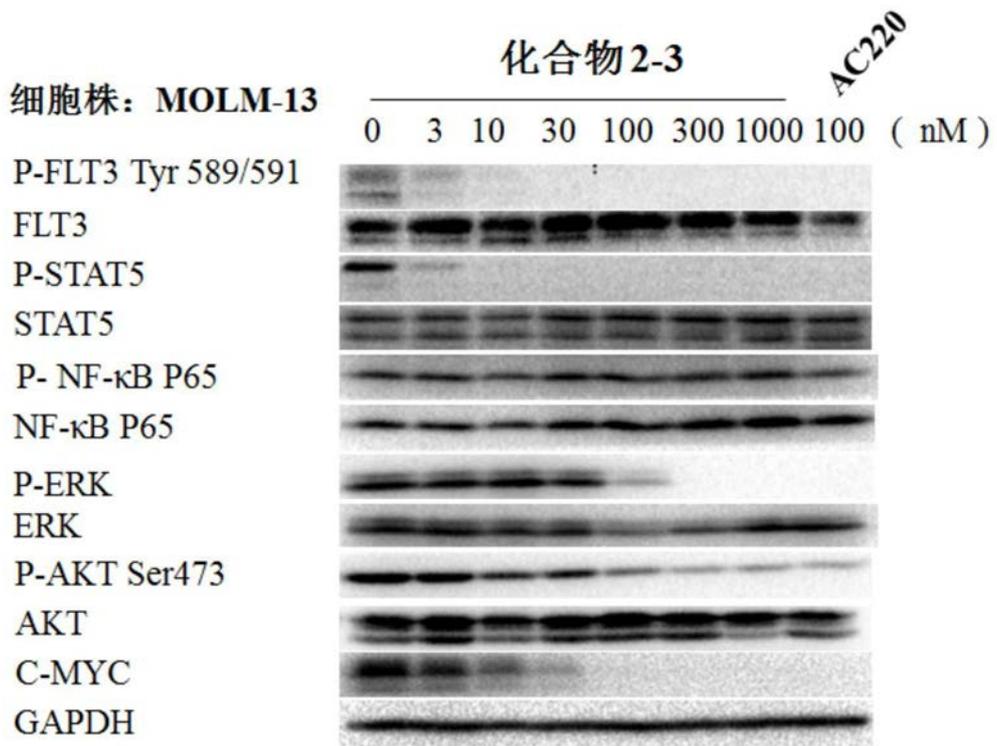


图1c

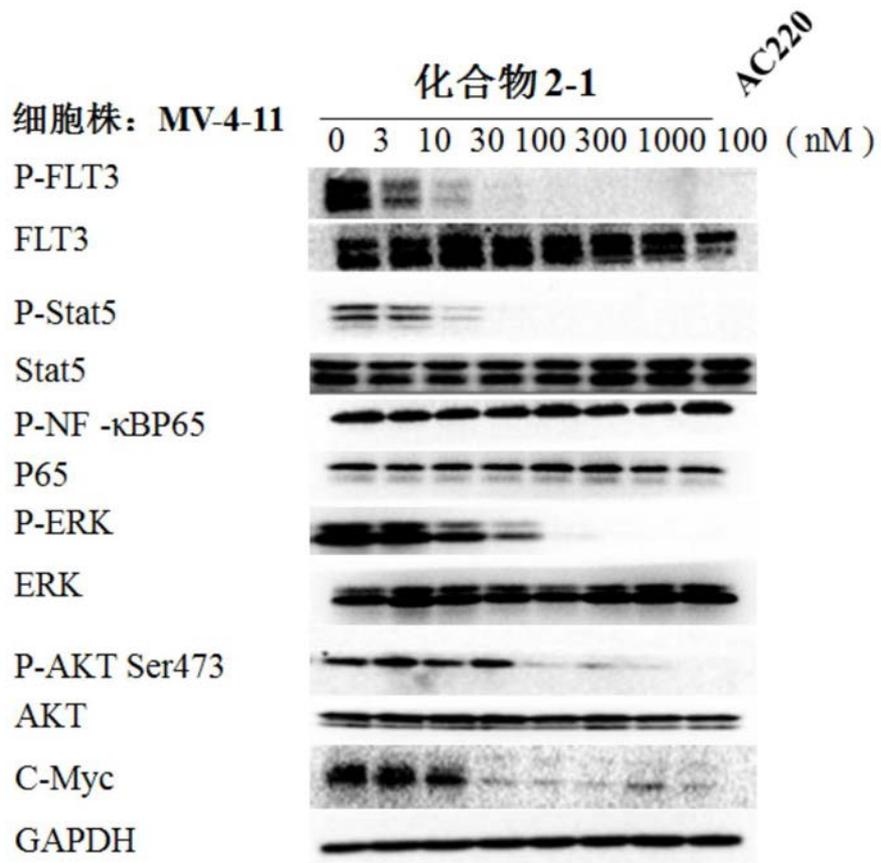


图1d

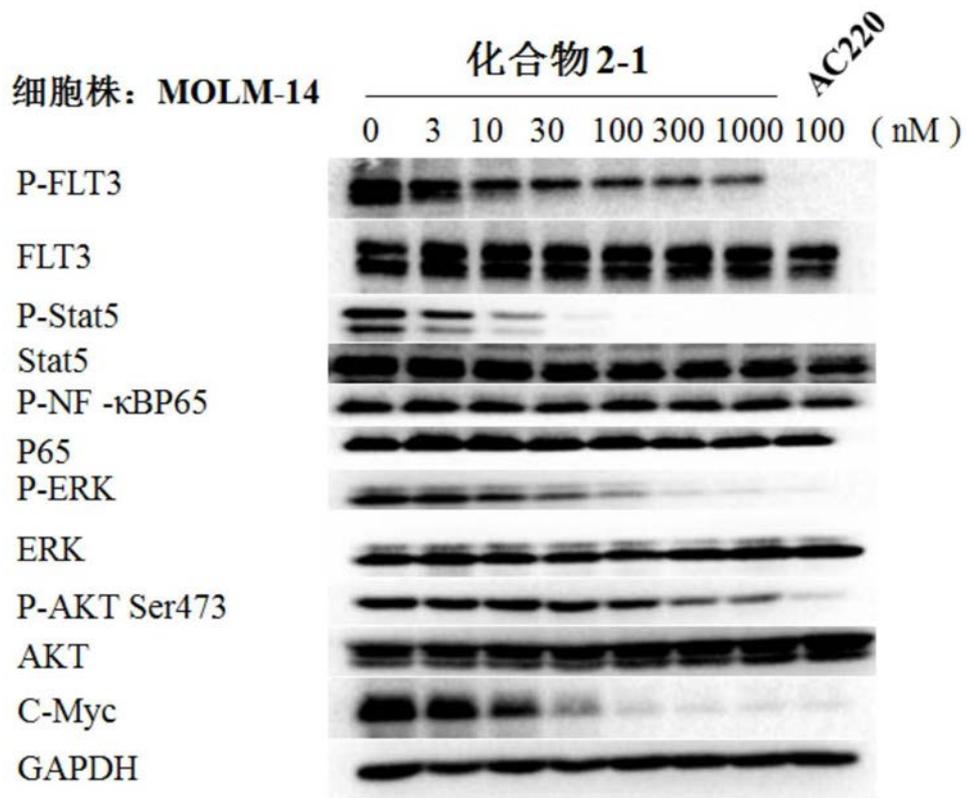


图1e

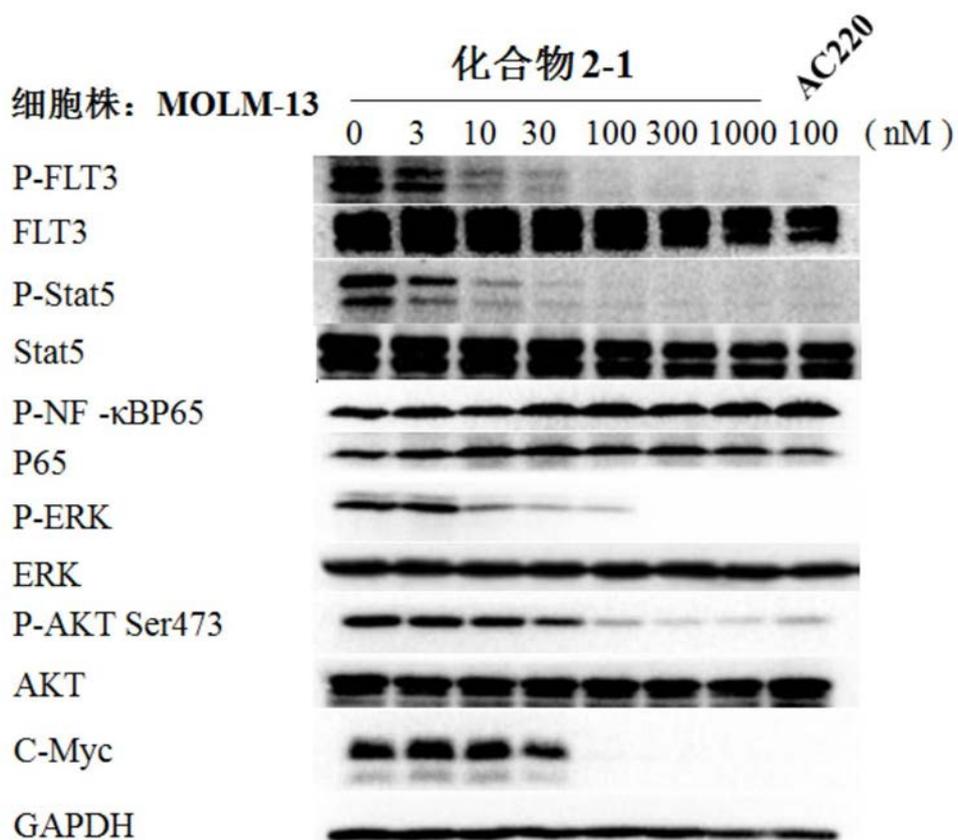


图1f



图1g



图1h

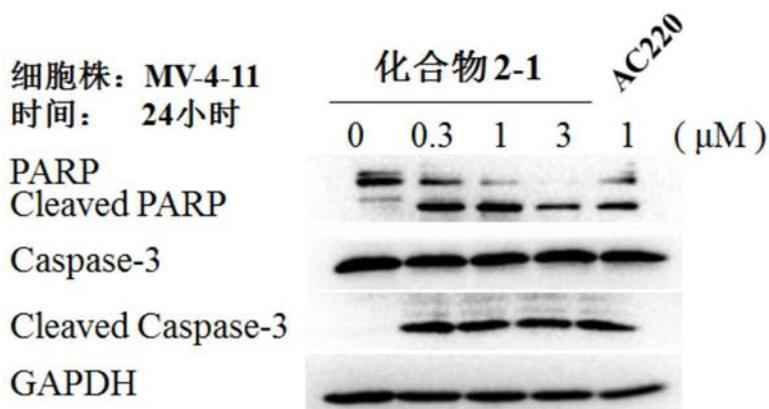


图2a

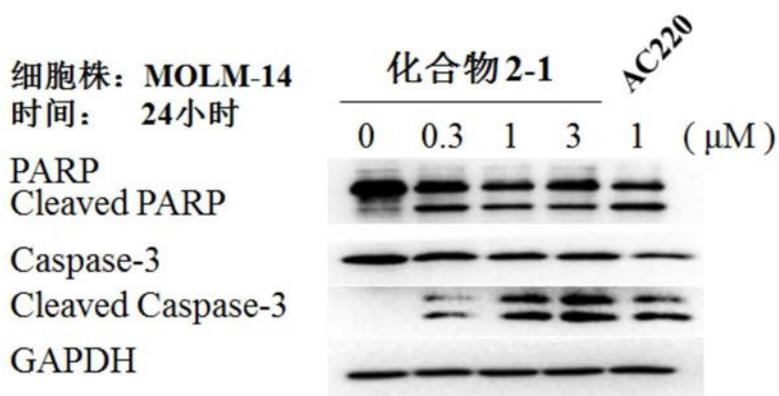


图2b

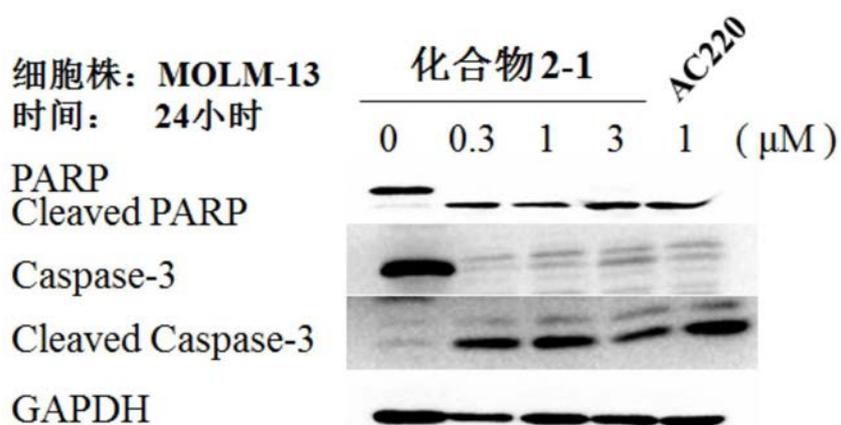


图2c

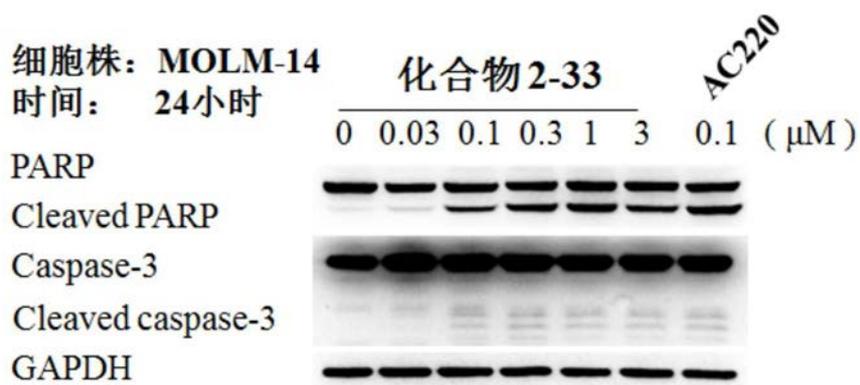


图2d

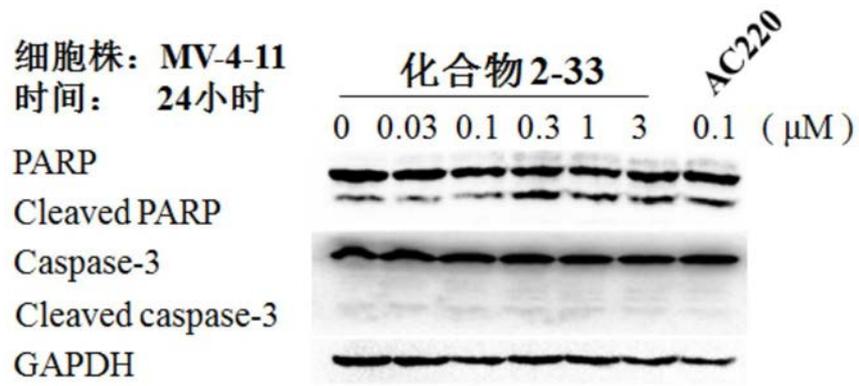


图2e

化合物: 化合物 2-1
细胞株: MV-4-11
时间: 24小时

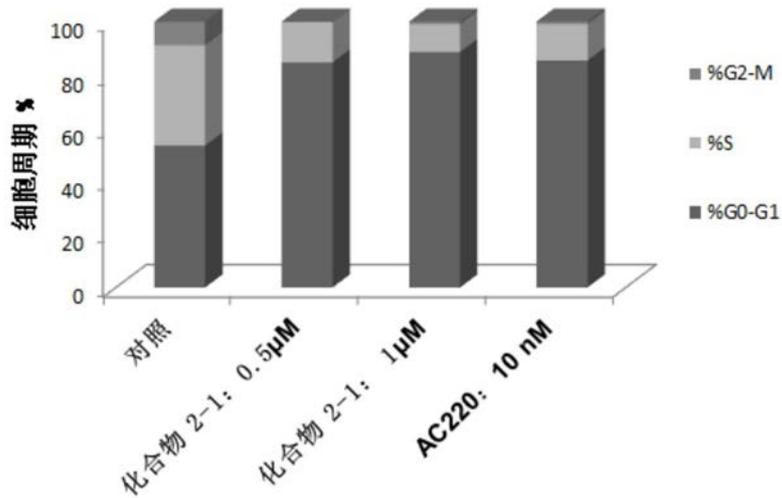


图3a

化合物: 化合物 2-1
细胞株: MOLM-14
时间: 24小时

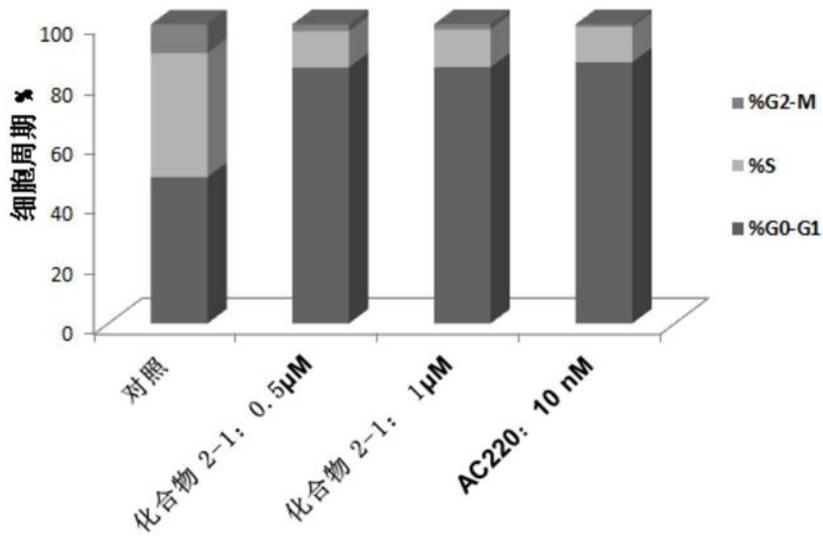


图3b

化合物: 化合物 2-33
细胞株: MV-4-11
时间: 24小时

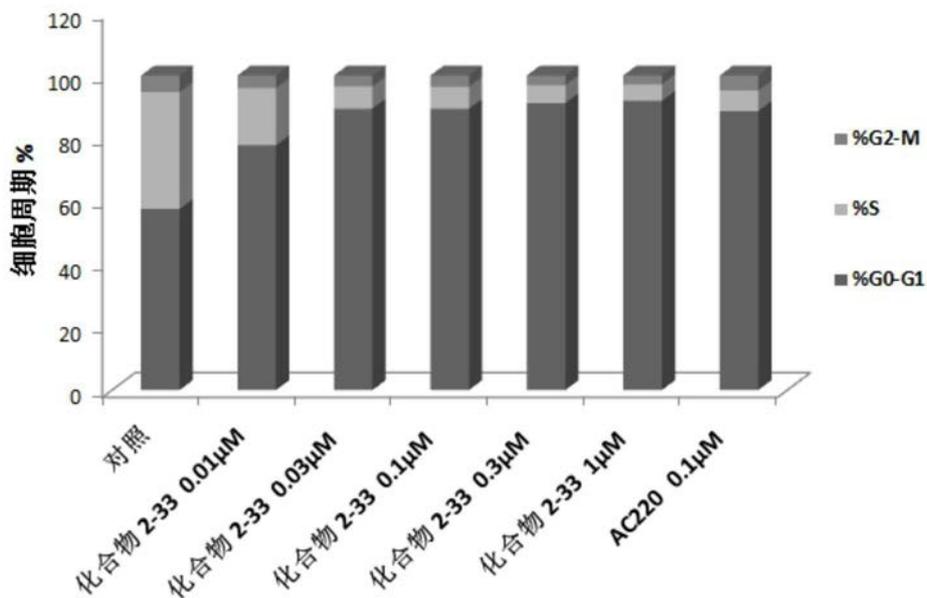


图3c