



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 107235896 B

(45)授权公告日 2019.11.05

(21)申请号 201610822529.0

(22)申请日 2016.09.13

(65)同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 107235896 A

(43)申请公布日 2017.10.10

(73)专利权人 上海翔锦生物科技有限公司  
地址 201913 上海市崇明县长兴镇潘园公  
路2528号A幢543室

(72)发明人 孙芳 占有妮

(74)专利代理机构 上海序伦律师事务所 31276  
代理人 周东萍

(51)Int.Cl.  
C07D 215/22(2006.01)  
C07D 413/12(2006.01)  
C07D 413/14(2006.01)  
C07D 401/12(2006.01) (续)

(56)对比文件  
WO 2005030140 A2,2005.04.07,  
审查员 孙静

权利要求书1页 说明书21页 附图5页

(54)发明名称

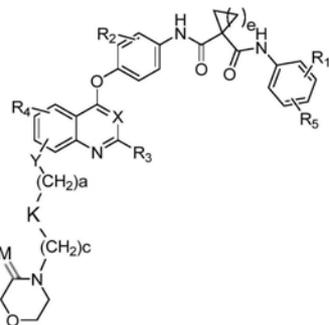
酪氨酸激酶抑制剂及其应用

(57)摘要

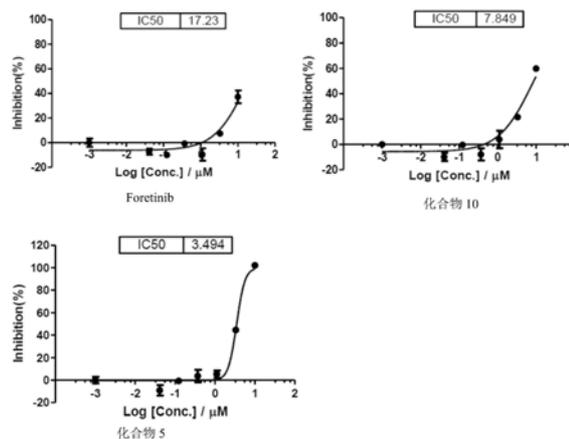
本发明公开了一种具有下述通式(I)的化合物,其中,K选自:环烷基基(H<sub>2</sub>C)<sup>b</sup>



卤代烷基(E-C-G)<sup>b</sup>或N-R6。本发明还公开了包含上述化合物的酪氨酸激酶抑制剂及该化合物在制备治疗癌症的药物中的应用。本发明的酪氨酸激酶抑制剂,能够抑制C-MET、VEGF、KDR等多种信号传导激酶的生物活性,能有效抑制细胞增殖,对多种疾病如癌症具有良好的治疗效果,尤其是对肺癌、胃癌、卵巢癌、恶性胶质瘤等具有显著的治疗效果,应用前景非常广阔。



(I)



CN 107235896 B

[接上页]

(51) Int.Cl.

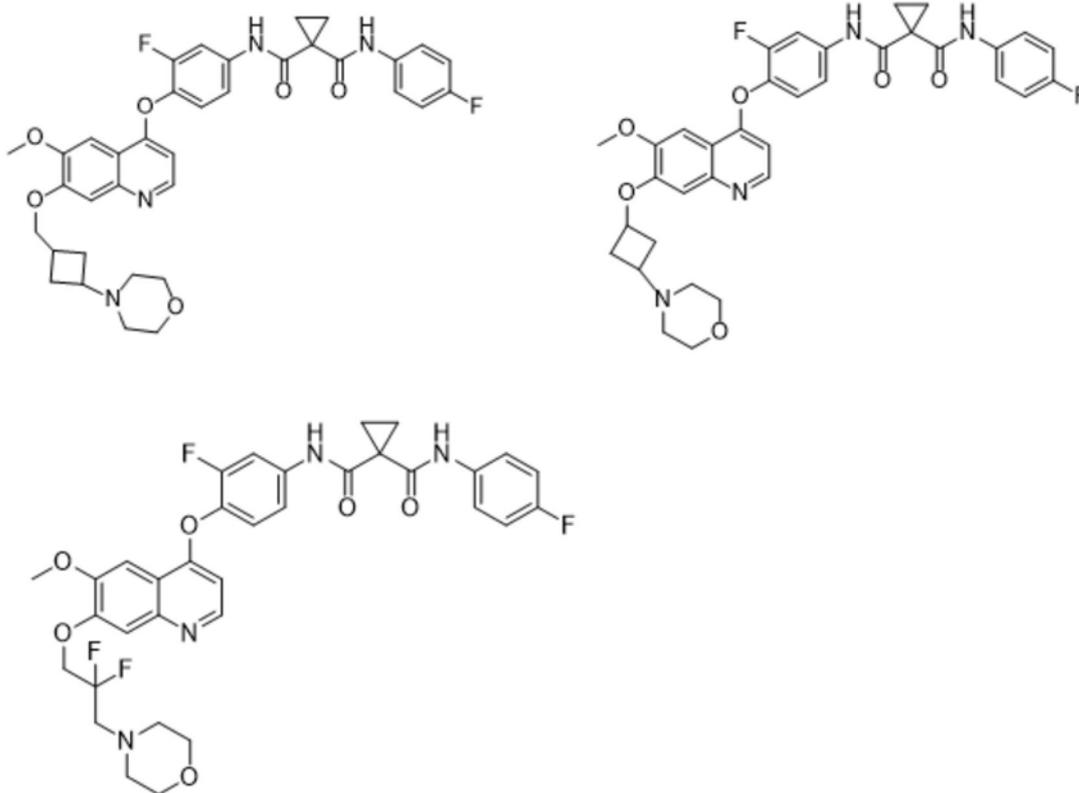
*C07D 401/04*(2006.01)

*A61K 31/5377*(2006.01)

*A61P 29/00*(2006.01)

*A61P 35/00*(2006.01)

1. 选自下述化学结构式的化合物或其药学上可接受的盐



2. 一种药物组合物, 其特征在于, 该组合物包含安全有效量的权利要求1所述化合物和药学上可接受的载体。

3. 一种酪氨酸激酶抑制剂, 包含权利要求1所述的化合物。

4. 根据权利要求3所述的酪氨酸激酶抑制剂, 其特征在于, 所述酪氨酸激酶为C-MET、VEGF、KDR、RON、KIT、PDGF、FGF、SRC激酶。

5. 权利要求1所述化合物在制备治疗癌症的药物中的应用。

6. 根据权利要求5所述的应用, 其特征在于, 所述癌症为肺癌、胃癌、卵巢癌、结肠癌、胰腺癌、食管腺癌、恶性胶质瘤。

7. 权利要求1所述化合物在制备治疗炎症的药物中的应用。

## 酪氨酸激酶抑制剂及其应用

## 技术领域

[0001] 本发明涉及医药技术领域,具体涉及一种酪氨酸激酶抑制剂及其应用。

## 背景技术

[0002] 蛋白激酶是一种磷酸转移酶,转移三磷酸腺苷ATP的伽马磷酸脂基到特定的氨基酸残基,用以实现蛋白的磷酸化,从而实现其生理和生化功能。

[0003] 蛋白激酶在信息传导上有着重要功能。反常的蛋白激酶不能进行正常的信号传递,可能会引起病变,例如:肿瘤细胞增生、细胞死亡、炎症、心血管疾病等蛋白激酶。蛋白激酶主要分为两类:蛋白酪氨酸激酶PTKs和受体酪氨酸激酶RTKs。MET族蛋白激酶中的ROS1/C-MET是RTPs的一个重要亚系,也称作hHGFR和RON;ROS1/C-MET能够对起始肿瘤细胞的生长和代谢起到重要作用,是多种药物临床研究的目标靶点。

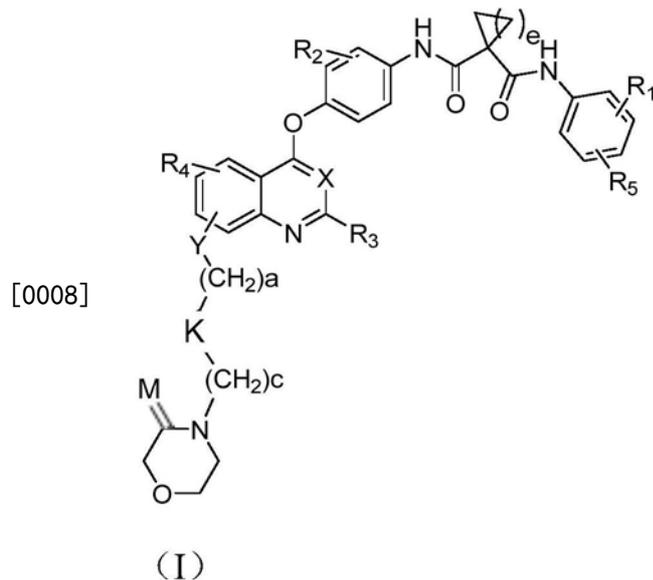
[0004] 因此,生物医疗技术领域急需ROS1/C-MET激酶抑制剂,尤其是小分子化合物的酪氨酸激酶抑制剂。

## 发明内容

[0005] 本发明要解决的技术问题是提供一种酪氨酸激酶抑制剂,该激酶抑制剂能够抑制C-MET、VEGF、KDR、RON、KIT、PDGF、FGF、SRC等多种参与信号传导的酪氨酸激酶的活性,能有效抑制肿瘤细胞的增殖,使临床癌症治疗取得更好效果。

[0006] 为了解决上述技术问题,本发明通过如下技术方案实现:

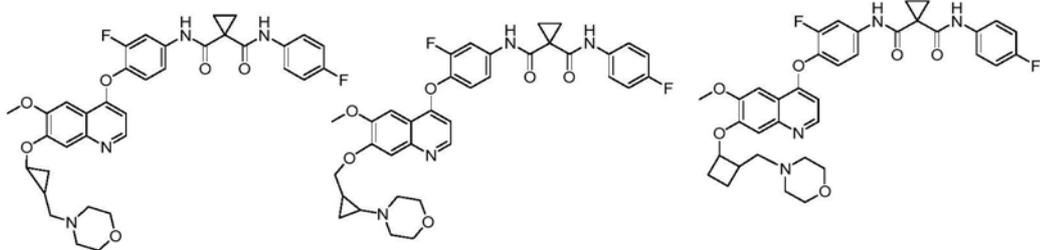
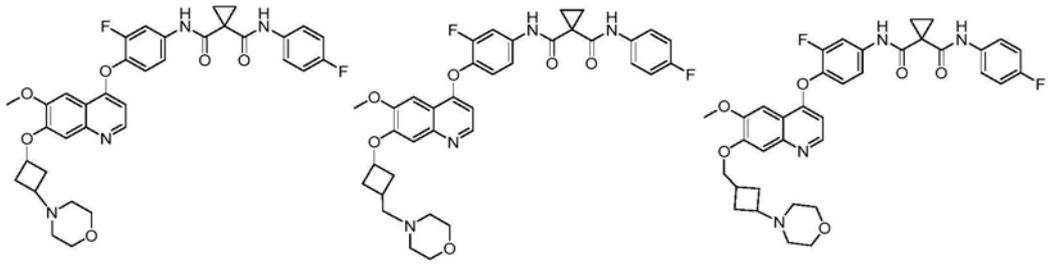
[0007] 在本发明的一个方面,提供了一种具有通式(I)的化合物,或其内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式、或其顺/反式、或其可药用盐,



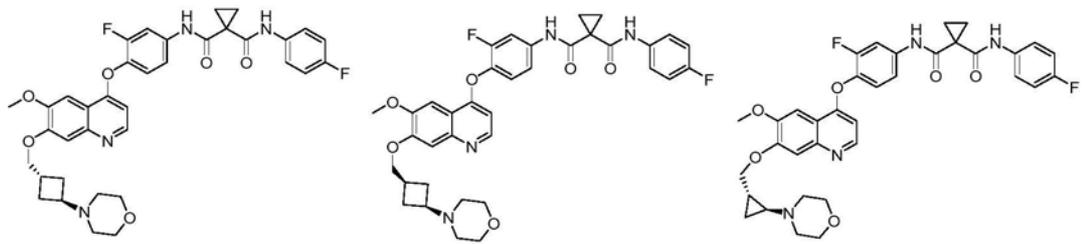
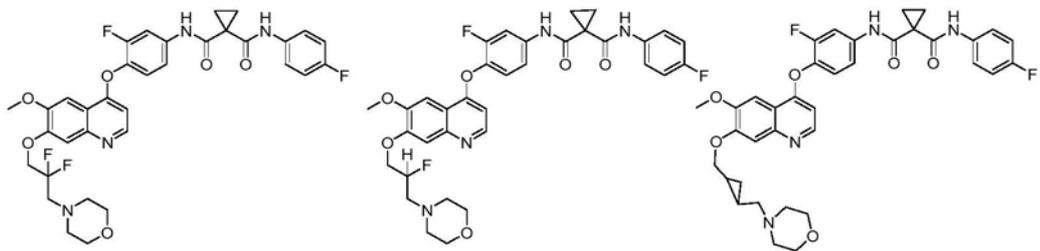
[0009] 其中,

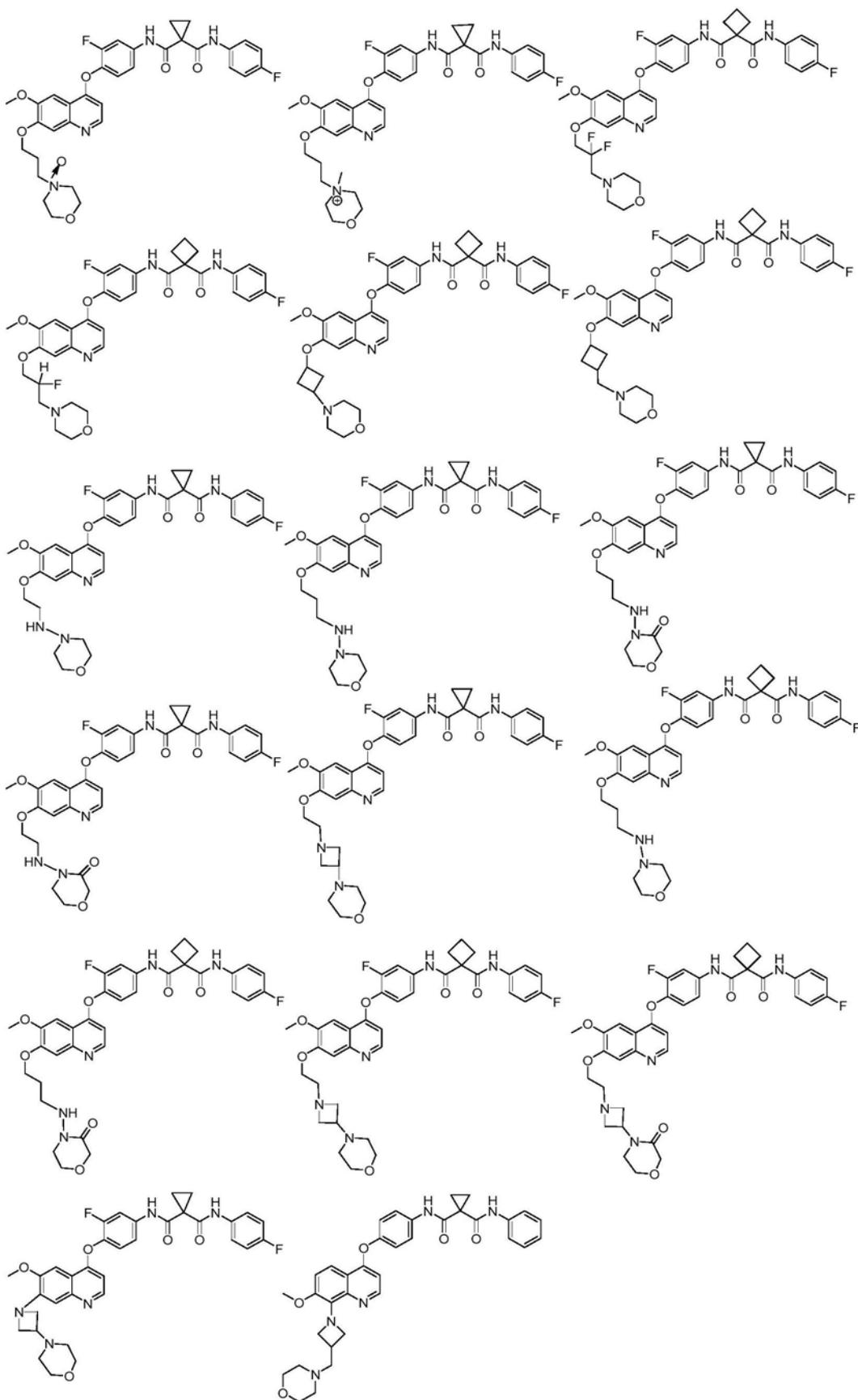
[0010] K选自下述基团:环烷基





[0018]





[0020] 在本发明的另一方面,还提供了一种药物组合物,该组合物包含安全有效量的上述化合物和药学上可接受的载体。

[0021] 上述可接受的载体是无毒的、能辅助施用并且对化合物的治疗效果没有不利影响。此类载体可以是本领域的技术人员通常能得到的任何固体赋形剂、液体赋形剂、半固体赋形剂或者在气雾剂组合物中的气体赋形剂。固体药物赋形剂包括淀粉、纤维素、滑石、葡萄糖、乳糖、蔗糖、明胶、麦芽、稻米、面粉、白垩、硅胶、硬脂酸镁、硬脂酸钠、甘油硬脂酰酯、氯化钠、无水脱脂乳等。液体和半固体赋形剂可以选自甘油、丙二醇、水、乙醇和各种油，包括那些源于石油、动物、植物或人工合成的油，例如，花生油、豆油、矿物油、芝麻油等、优选的液体载体，特别是用于可注射溶液的，包括水、盐水、葡萄糖水溶液和甘醇。另外还可以在组合物中加入其它辅剂如香味剂、甜味剂等。

[0022] 本发明的化合物以治疗上的有效量施用，其施用方式可以是口服、全身施用(例如，透过皮肤的、鼻吸入的或者用栓剂)或肠胃外施用(例如，肌肉内、静脉内或皮下)。优选的施用方式是口服，它可根据疾病程度调节。

[0023] 本发明的化合物的实际施用量(即活性组分)依赖于许多因素，如待治疗疾病的严重性、治疗对象的年龄和相对健康程度、所使用的化合物的效能、施用途径和形式，以及其他因素。

[0024] 本发明药物组合物的各种剂型可以按照药学领域的常规方法制备。例如使该化合物与一种或者多种载体混合，然后将其制成所需的剂型，如片剂、药丸、胶囊、半固体、粉末、缓释剂型、溶液、混悬液、配剂、气雾剂等等。

[0025] 在本发明的另一方面，还提供了一种包含上述化合物的酪氨酸激酶抑制剂。

[0026] 所述酪氨酸激酶包括C-MET、VEGF、KDR、RON、KIT、PDGF、FGF、SRC激酶。

[0027] 在本发明的另一方面，还提供了上述化合物在制备治疗癌症的药物中的应用。

[0028] 由于酪氨酸激酶是目前效果明显的抗肿瘤药物靶点，而本发明的化合物具有显著的酪氨酸激酶抑制活性，通过实验证实这些化合物对各种癌细胞增殖具有抑制作用，因此本发明化合物适用于治疗各种癌症。尤其是对于肺癌、胃癌、卵巢癌、结肠癌、恶性胶质瘤具有较好的治疗效果。

[0029] 在本发明的另一方面，还提供了上述化合物在制备治疗炎症的药物中的应用。

[0030] 本发明化合物与多种信号传导激酶如C-MET、VEGF、KDR、RON、KIT、PDGF、FGF、SRC等都具有良好的生物活性作用，并与多种信号传导路径相关联，因此对多种疾病有治疗效果，如癌症、炎症、淋巴水肿、糖尿病等。

[0031] 本发明的酪氨酸激酶抑制剂，能够抑制C-MET、VEGF、KDR等多种信号传导激酶的生物活性，能有效抑制细胞增殖，对多种疾病如癌症具有良好的治疗效果，尤其是对肺癌、胃癌、卵巢癌、恶性胶质瘤等具有显著的治疗效果，应用前景非常广阔。

## 附图说明

[0032] 下面结合附图和具体实施方式对本发明作进一步详细的说明。

[0033] 图1是本发明实施例10的人肺腺癌细胞HCC78的增殖抑制拟合曲线图；

[0034] 图2是本发明实施例10的人恶性胶质瘤细胞U87MG的增殖抑制拟合曲线图；

[0035] 图3是本发明实施例10的人胃癌细胞MKN-45的增殖抑制拟合曲线图；

[0036] 图4是本发明实施例10的人肺腺癌细胞HCC78的增殖抑制拟合曲线图；

[0037] 图5是本发明实施例10的人卵巢癌细胞SK-OV-3的增殖抑制拟合曲线图；

[0038] 图6是本发明实施例10的人结肠癌细胞HCT116的增殖抑制拟合曲线图；

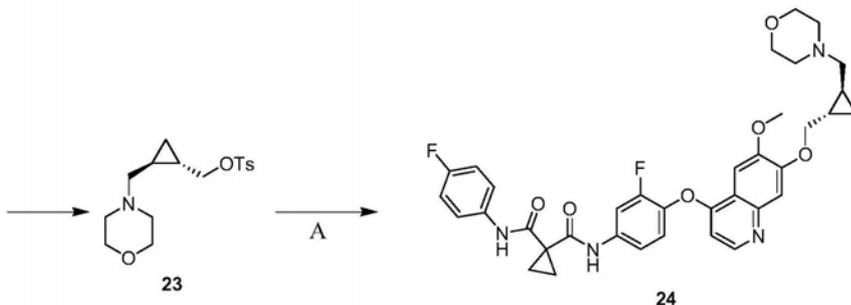
[0039] 图7是本发明实施例10的人肺腺癌细胞A549的增殖抑制拟合曲线。

### 具体实施方式

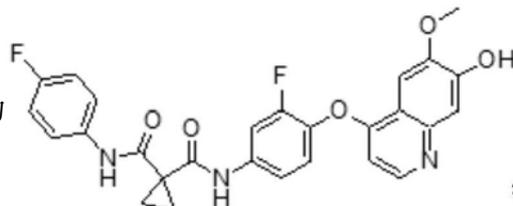
[0040] 实施例1酪氨酸激酶抑制剂化合物24的合成



[0041]

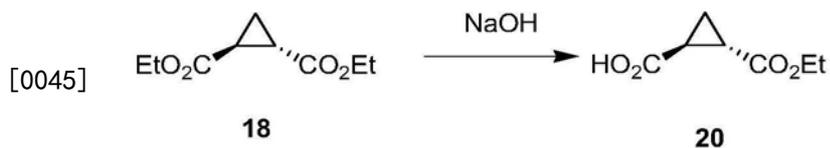


[0042] 其中,化合物A为

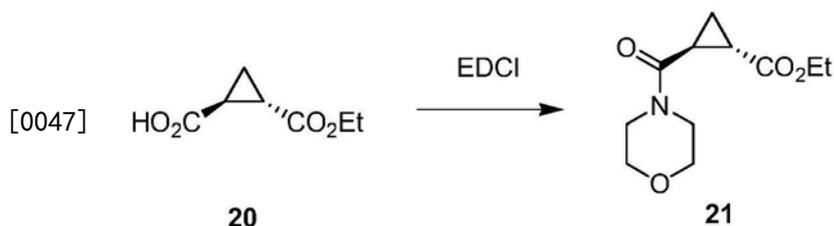


[0043] 包括如下步骤:

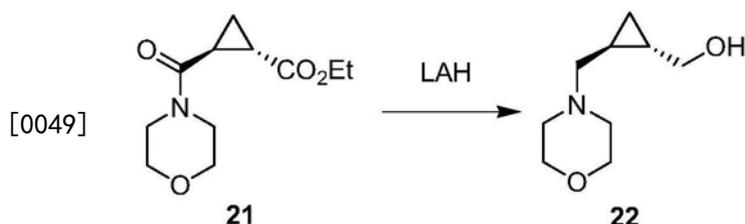
[0044] 步骤一,将1.3g、7mmol的化合物19溶于50ml甲醇中,化合物19为反式-1,2-环丙二羧酸二乙酯,然后向上述溶液中加入1N的1mol/L氢氧化钠溶液,室温搅拌过夜;然后将过夜后的反应液用水稀释后,采用乙酸乙酯萃取;将萃取得到的有机相用饱和食盐水洗,水洗后加入无水硫酸钠进行干燥,然后浓缩蒸干;蒸干后采用硅胶柱层析法对上述浓缩蒸干的有机相进行纯化,得到1g、77%产率的黄色油状物20,化合物20为反式-1,2-环丙二羧酸单乙酯,具体反应式如下:



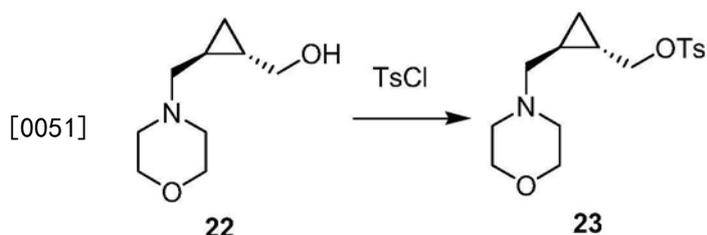
[0046] 步骤二,将1g、6mmol的化合物20溶于30mL二甲基甲酰胺DMF中,然后向上述溶液中加入4.6g、12mmol多肽缩合试剂HATU和3mL三乙胺,室温下搅拌0.5h后,再加入0.6g、6mmol的吗啡啉,室温搅拌过夜;然后将过夜后的反应液用水稀释后,采用乙酸乙酯萃取;将萃取得到的有机相用饱和食盐水洗,水洗后加入无水硫酸钠进行干燥,然后浓缩蒸干;蒸干后采用硅胶柱层析法对上述浓缩蒸干的有机相进行纯化,得到1g、77%产率的无色液体化合物21,化合物21为(1s,2s)-2-吗啡啉-4-羰基)环丙烷乙酯,具体反应式如下:



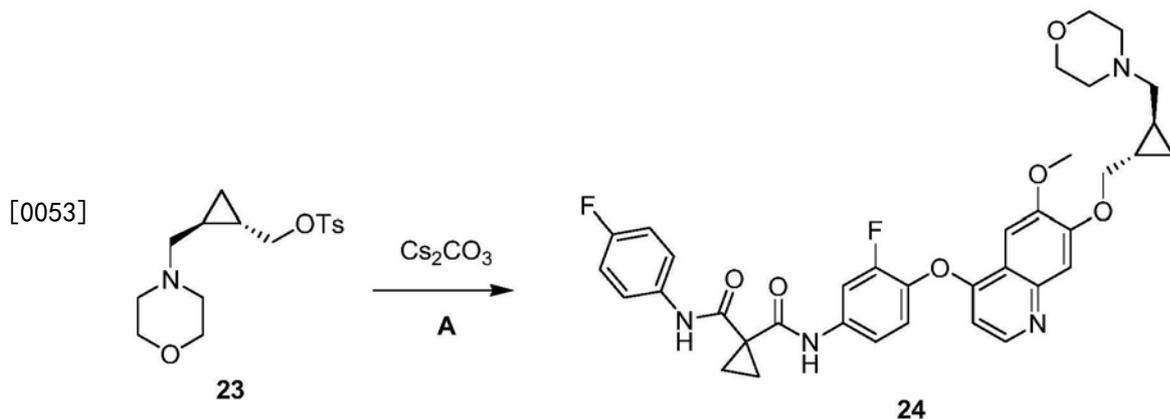
[0048] 步骤三,将1g,4mmol化合物21溶于30mL THF中,冰浴下加入1N的1mol/L氢化铝锂 LAH溶液,室温搅拌2h;然后将搅拌均匀的反应液用十水硫酸钠淬灭后进行过滤;将萃取得到的有机相用饱和食盐水洗,水洗后加入无水硫酸钠进行干燥,然后浓缩蒸干;硅胶柱层析纯化,蒸干后采用硅胶柱层析法对上述浓缩蒸干的有机相进行纯化,得到0.5g、66%产率无色液体化合物22,化合物22为(1s,2s)-2-吗啡啉甲基)环丙基甲醇,具体反应式如下:



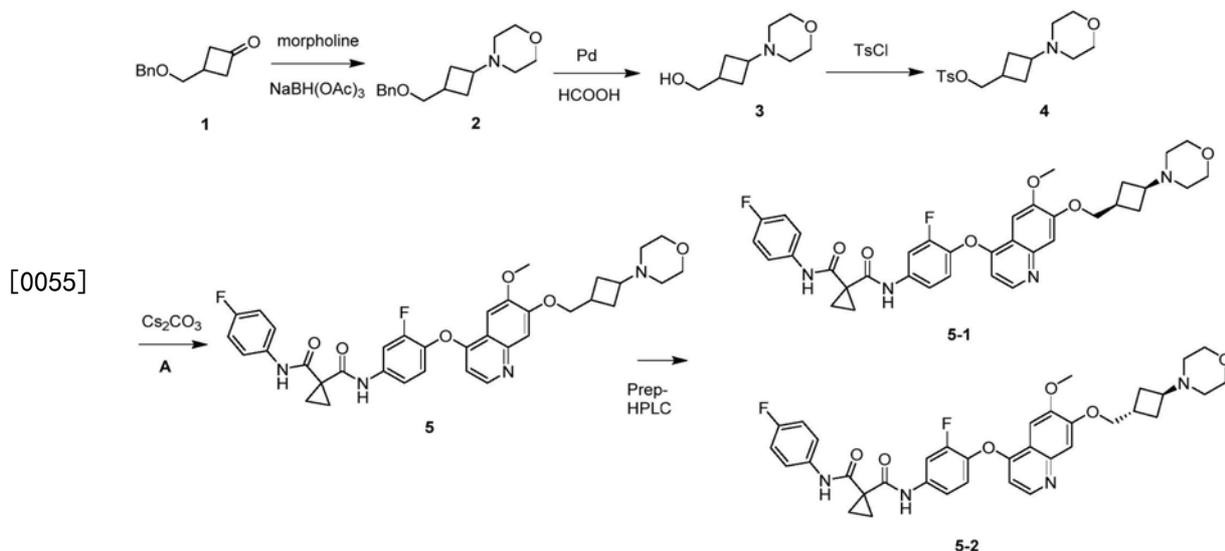
[0050] 步骤四,将0.3g、1.7mmol的化合物22溶于30mL二氯甲烷中,然后向上述溶液中加入0.3g、3.4mmol N-甲基吡咯和0.3g、1.7mmol对甲苯磺酰氯,室温搅拌过夜;然后将过夜后的反应液用水稀释后,采用乙酸乙酯萃取;将萃取得到的有机相用饱和食盐水洗,水洗后加入无水硫酸钠进行干燥,然后浓缩蒸干;蒸干后采用硅胶柱层析法对上述浓缩蒸干的有机相进行纯化,得到0.1g、18%产率的白色固体化合物23,化合物23为(1s,2s)-2-吗啡啉甲基)环丙基对甲基苯磺酸甲酯,具体反应式如下:



[0052] 步骤五,将0.1g、0.2mmol的化合物A,化合物A为N-对氟苯基-N-3-氟-4-(6-甲氧基-7-羟基喹啉-4-基)氧基苯基环丙-1,1-二甲酰胺和0.1g、0.3mmol的化合物23溶于10mL乙腈中,然后向上述溶液中加入0.2g、0.5mmol碳酸铯,回流搅拌过夜;然后将过夜后的反应液用水稀释后,采用乙酸乙酯萃取;将萃取得到的有机相用饱和食盐水洗,水洗后加入无水硫酸钠进行干燥,然后浓缩蒸干;蒸干后采用反向制备法对上述浓缩蒸干的有机相进行纯化,得到0.01g、8%产率的黄色固体化合物24,化合物24为N-对氟苯基-N-3-氟-4-【6-甲氧基-7-(1S,2S)-2-吗啡啉甲基环丙基甲氧基喹啉-4-基】氧基苯基环丙-1,1-二甲酰胺,具体反应式如下:

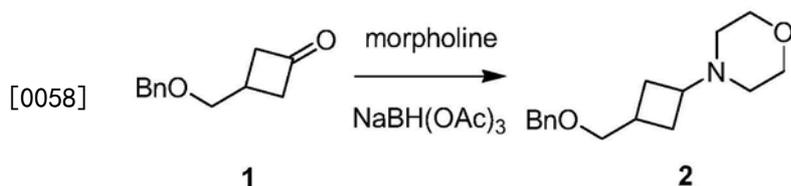


[0054] 实施例2酪氨酸激酶抑制剂化合物5的合成

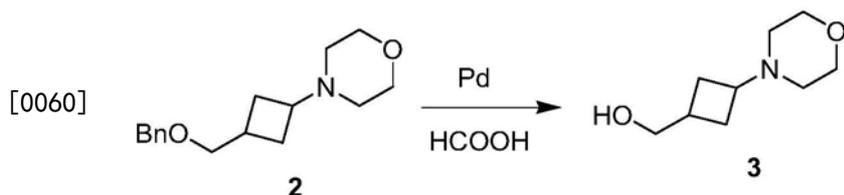


[0056] 包括如下步骤:

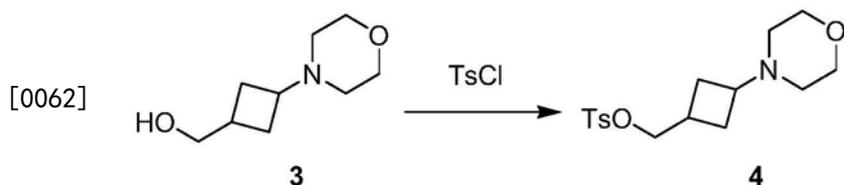
[0057] 步骤一,将1g、5.2mmol化合物1,化合物1为3-(苄氧基甲基)环丁-1-酮和0.46g、5.2mmol吗啡啉溶于30mL二氯乙烷中,然后向上述溶液中加入3.3g、15.6mmol醋酸硼氢化钠和1滴乙酸,回流搅拌过夜;然后将过夜后的反应液用水稀释后,采用乙酸乙酯萃取;将萃取得到的有机相用饱和食盐水洗,水洗后加入无水硫酸钠进行干燥,然后浓缩蒸干;蒸干后采用硅胶柱层析法对上述浓缩蒸干的有机相进行纯化,得到1g、73%产率的无色液体化合物2,化合物2为(3-吗啉-环丁基-1-)甲基苄基醚,具体反应式如下:



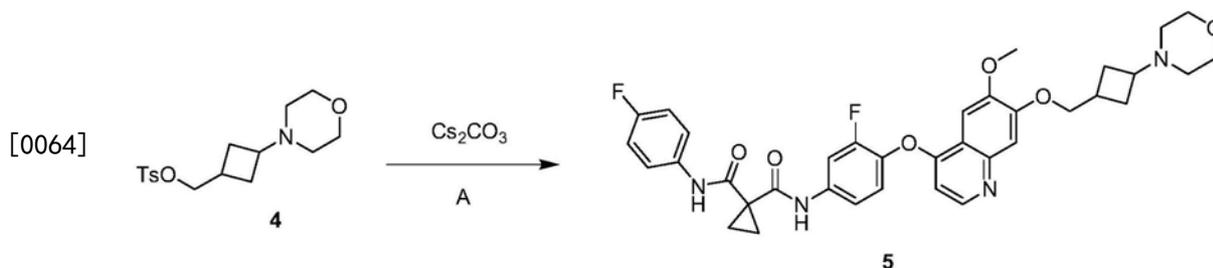
[0059] 步骤二,将1g、3.8mmol的化合物2溶于30mL甲醇中,然后向上述溶液中加入0.1g钨黑和2mL甲酸,回流搅拌过夜;然后将过夜后的反应液用水稀释后,采用乙酸乙酯萃取;将萃取得到的有机相用饱和食盐水洗,水洗后加入无水硫酸钠进行干燥,然后浓缩蒸干;蒸干后采用硅胶柱层析法对上述浓缩蒸干的有机相进行纯化,得到0.3g、46%产率的无色液体化合物3,化合物3为3-吗啉-环丁基甲醇,具体反应式如下:



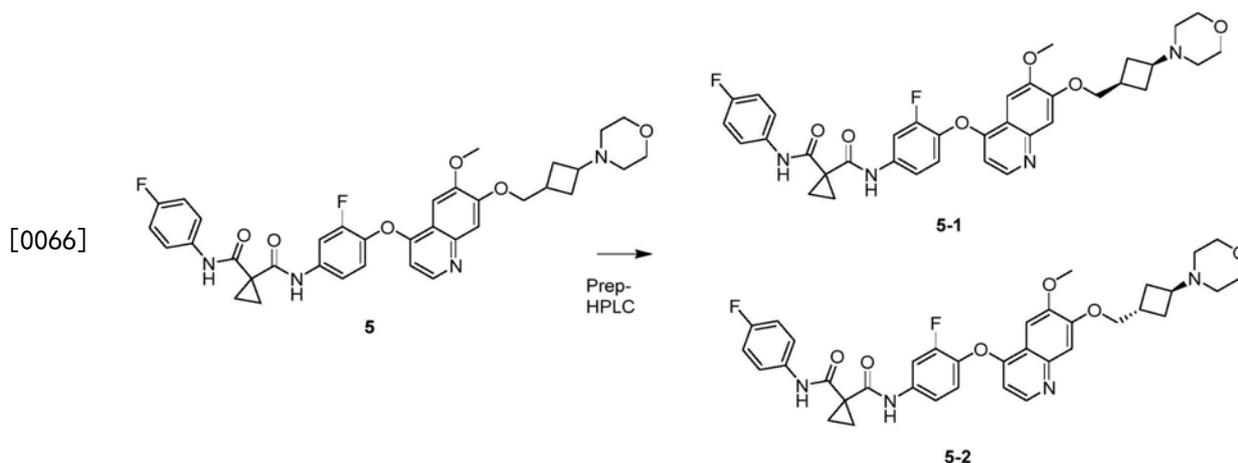
[0061] 步骤三,将0.3g、1.7mmol化合物3溶于30mL二氯甲烷中,然后向上述溶液中加入0.3g、3.4mmol N-甲基吡咯和0.3g、1.7mmol对甲苯磺酰氯,室温搅拌过夜;然后将过夜后的反应液用水稀释后,采用乙酸乙酯萃取;将萃取得到的有机相用饱和食盐水洗,水洗后加入无水硫酸钠进行干燥,然后浓缩蒸干;蒸干后采用硅胶柱层析法对上述浓缩蒸干的有机相进行纯化,得到0.2g、35%产率的白色固体化合物4,化合物4为N-对氟苯基-N-3-氟-4-(6-甲氧基-7-羟基喹啉-4-)氧基苯基环丙-1,1-二甲酰胺,具体反应式如下:



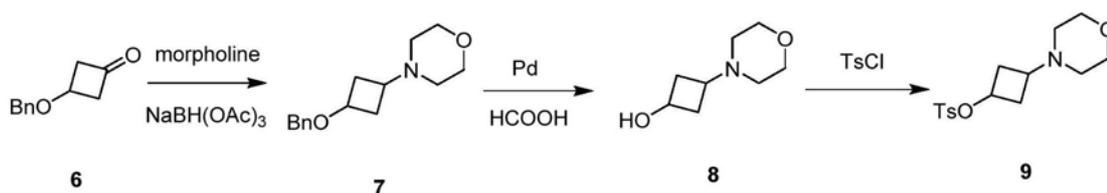
[0063] 步骤四,将0.1g、0.2mmol化合物A,化合物A为N-对氟苯基-N-3-氟-4-(6-甲氧基-7-羟基喹啉-4-)氧基苯基环丙-1,1-二甲酰胺和0.1g、0.3mmol化合物4溶于10mL乙腈中,加入0.2g、0.5mmol碳酸铯,回流搅拌过夜;然后将过夜后的反应液用水稀释后,采用乙酸乙酯萃取;将萃取得到的有机相用饱和食盐水洗,水洗后加入无水硫酸钠进行干燥,然后浓缩蒸干;蒸干后采用反向制备法对上述浓缩蒸干的有机相进行纯化,得到0.02g、16%产率的黄色固体化合物5,化合物5为N-对氟苯基-N-3-氟-4-【6-甲氧基-7-(3-吗啉-环丁基)甲氧基喹啉-4-】氧基苯基环丙-1,1-二甲酰胺,具体反应式如下:



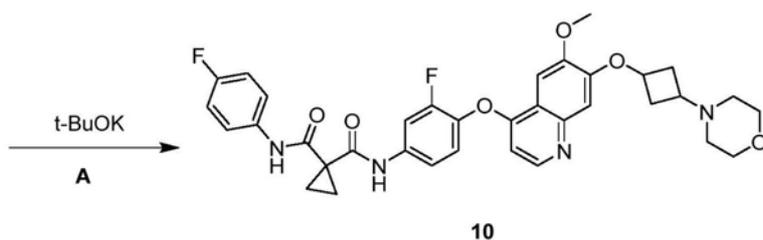
[0065] 步骤五,将0.3g化合物5进行反相制备HPLC分离,分别得到化合物化合物5-1为顺式-N-对氟苯基-N-3-氟-4-【6-甲氧基-7-(3-吗啉-环丁基)甲氧基喹啉-4-】氧基苯基环丙-1,1-二甲酰胺,和化合物5-2为反式-N-对氟苯基-N-3-氟-4-【6-甲氧基-7-(3-吗啉-环丁基)甲氧基喹啉-4-】氧基苯基环丙-1,1-二甲酰胺。



[0067] 实施例3酪氨酸激酶抑制剂化合物10的合成

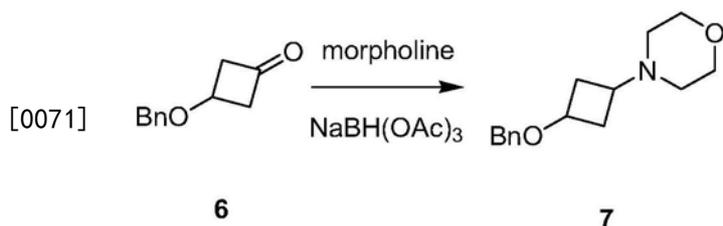


[0068]

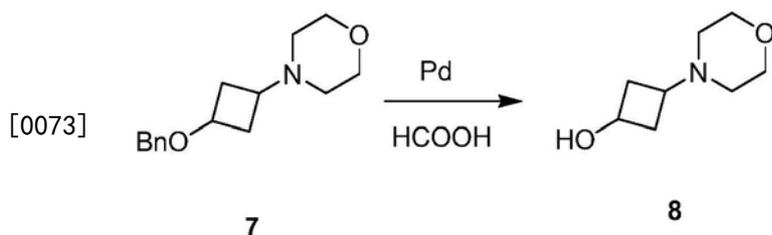


[0069] 包括如下步骤:

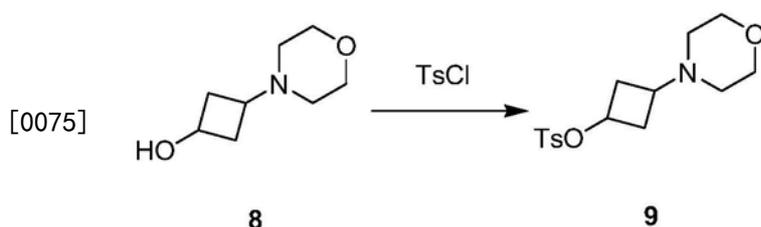
[0070] 步骤一, 将1g、5.2mmol化合物6, 化合物6为3-苄氧基环丁-1-酮和0.46g、5.2mmol吗啡啉溶于30mL二氯乙烷中, 然后向上述溶液中加入3.3g、15.6mmol醋酸硼氢化钠和1滴乙酸, 室温搅拌过夜; 然后将过夜后的反应液用水稀释后, 采用乙酸乙酯萃取; 将萃取得到的有机相用饱和食盐水洗, 水洗后加入无水硫酸钠进行干燥, 然后浓缩蒸干; 蒸干后采用硅胶柱层析法对上述浓缩蒸干的有机相进行纯化, 得到1.1g、80%产率无色液体化合物7, 化合物7为3-吗啉-环丁基苄基醚, 具体反应式如下:



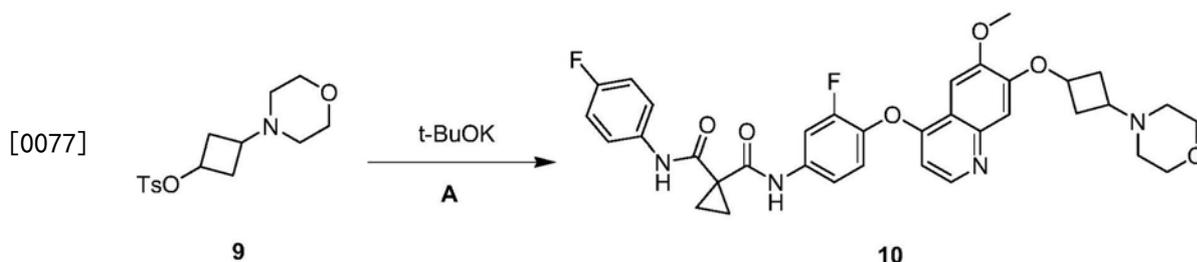
[0072] 步骤二, 将1g、3.8mmol化合物7溶于30mL甲醇中, 然后向上述溶液中加入0.1g钯黑和2mL甲酸, 回流搅拌过夜; 然后将过夜后的反应液用水稀释后, 采用乙酸乙酯萃取; 将萃取得到的有机相用饱和食盐水洗, 水洗后加入无水硫酸钠进行干燥, 然后浓缩蒸干; 蒸干后采用硅胶柱层析法对上述浓缩蒸干的有机相进行纯化, 得到0.3g、46%产率无色液体化合物8, 化合物8为3-吗啉-环丁醇, 具体反应式如下:



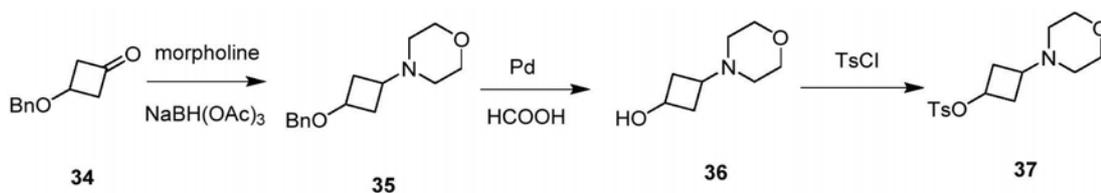
[0074] 步骤三,将0.3g、1.7mmol化合物8溶于30mL二氯甲烷中,然后向上述溶液中加入0.3g、3.4mmol N-甲基吡咯和0.3g、1.7mmol对甲苯磺酰氯,室温搅拌过夜;然后将过夜后的反应液用水稀释后,采用乙酸乙酯萃取;将萃取得到的有机相用饱和食盐水洗,水洗后加入无水硫酸钠进行干燥,然后浓缩蒸干;蒸干后采用硅胶柱层析法对上述浓缩蒸干的有机相进行纯化,得到0.1g、18%产率的白色固体化合物9,化合物9为对甲苯磺酸(3-吗啉-环丁)酯,具体反应式如下:



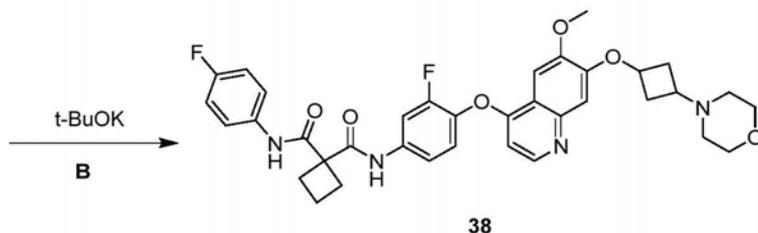
[0076] 步骤四,将0.1g、0.2mmol化合物A溶于10mL二氧六环中,化合物A为N-对氟苯基-N-3-氟-4-(6-甲氧基-7-羟基喹啉-4-)氧基苯基环丙-1,1-二甲酰胺,然后向上述溶液中加入0.02g、0.2mmol叔丁醇钾,室温搅拌半小时后,加入0.1g、0.3mmol化合物9,50℃条件下搅拌过夜;然后将过夜后的反应液用水稀释后,采用乙酸乙酯萃取;将萃取得到的有机相用饱和食盐水洗,水洗后加入无水硫酸钠进行干燥,然后浓缩蒸干;蒸干后采用反向制备法对上述浓缩蒸干的有机相进行纯化,得到0.1g、8%产率的黄色固体化合物10,化合物10为N-对氟苯基-N-3-氟-4-【6-甲氧基-7-(3-吗啉-环丁基)氧基喹啉-4-】氧基苯基环丙-1,1-二甲酰胺,具体反应式如下:



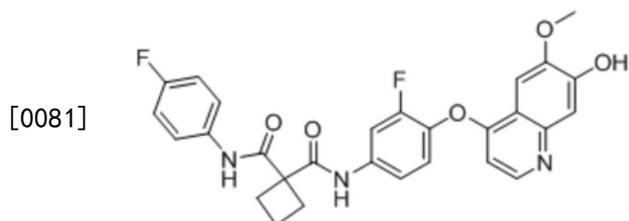
[0078] 实施例4酪氨酸激酶抑制剂化合物38的合成



[0079]

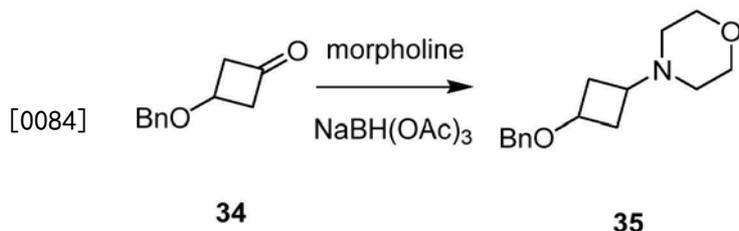


[0080] 其中,化合物B具有下述结构式:

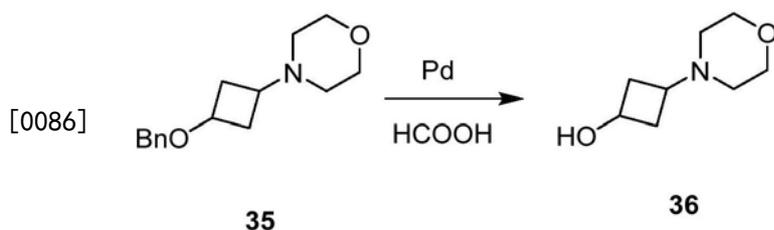


[0082] 包括如下步骤:

[0083] 步骤一,将1g、5.2mmol化合物34和0.46g、5.2mmol吗啡啉溶于30mL二氯乙烷中,化合物34为3-苄氧基环丁-1-酮,然后向上述溶液中加入3.3g、15.6mmol醋酸硼氢化钠和1滴乙酸,室温搅拌过夜;然后将过夜后的反应液用水稀释后,采用乙酸乙酯萃取;将萃取得到的有机相用饱和食盐水洗,水洗后加入无水硫酸钠进行干燥,然后浓缩蒸干;蒸干后采用硅胶柱层析法对上述浓缩蒸干的有机相进行纯化,得到1.1g、80%产率的无色液体化合物35,化合物35为3-吗啉-环丁基苄基醚,具体反应式如下:

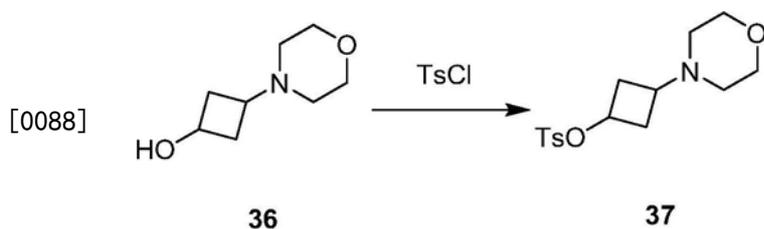


[0085] 步骤二,将1g、3.8mmol化合物35溶于30mL甲醇中,然后向上述溶液中加入0.1g钯黑和2mL甲酸,回流搅拌过夜;然后将过夜后的反应液用水稀释后,采用乙酸乙酯萃取;将萃取得到的有机相用饱和食盐水洗,水洗后加入无水硫酸钠进行干燥,然后浓缩蒸干;蒸干后采用硅胶柱层析法对上述浓缩蒸干的有机相进行纯化,得到0.3g、46%产率的无色液体化合物36,化合物36为3-吗啉-环丁醇,具体反应式如下:

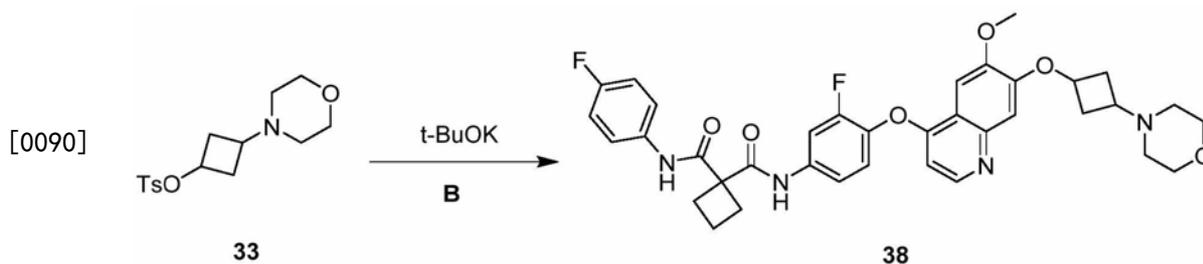


[0087] 步骤三,将0.3g、1.7mmol化合物36溶于30mL二氯甲烷中,加入0.3g、3.4mmol N-甲

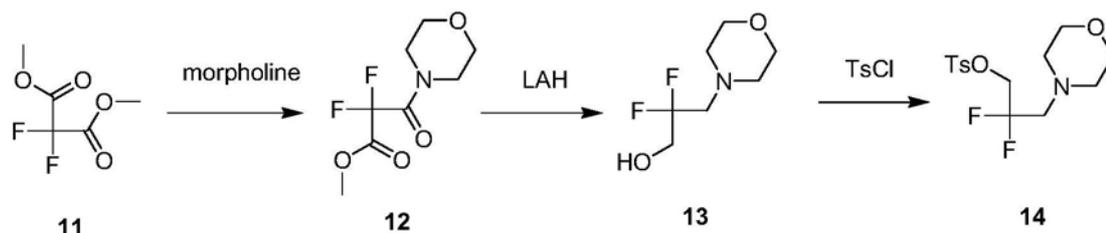
基吡咯和0.3g、1.7mmol对甲苯磺酰氯,室温搅拌过夜;然后将过夜后的反应液用水稀释后,采用乙酸乙酯萃取;将萃取得到的有机相用饱和食盐水洗,水洗后加入无水硫酸钠进行干燥,然后浓缩蒸干;蒸干后采用硅胶柱层析法对上述浓缩蒸干的有机相进行纯化,得到0.1g,18%产率的白色固体化合物37,化合物37为3-吗啉-环丁基苄基醚,具体反应式如下:



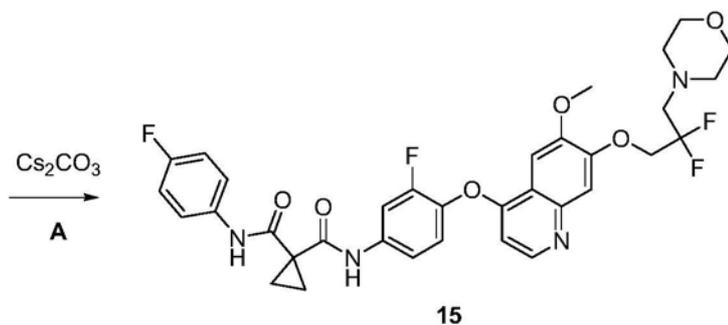
[0089] 步骤四,将0.1g、0.2mmol化合物B溶于10mL二氧六环中,化合物B为N-对氟苯基-N-3-氟-4-(6-甲氧基-7-羟基喹啉-4-)-氧基苄基环丁-1,1-二甲酰胺,加入0.02g、0.2mmol叔丁醇钾,室温搅拌半小时后加入0.1g、0.3mmol化合物33,化合物33为对甲苯磺酸(3-吗啉-环丁)酯,50°C条件下搅拌过夜;然后将过夜后的反应液用水稀释后,采用乙酸乙酯萃取;将萃取得到的有机相用饱和食盐水洗,水洗后加入无水硫酸钠进行干燥,然后浓缩蒸干;蒸干后采用反向制备法对上述浓缩蒸干的有机相进行纯化,得到0.01g,8%产率的黄色固体化合物38,化合物38为,N-对氟苯基-N-3-氟-4-【6-甲氧基-7-(3-吗啉-环丁基)氧基喹啉-4-】氧基苄基环丁-1,1-二甲酰胺.具体反应式如下:



[0091] 实施例5酪氨酸激酶抑制剂化合物15的合成



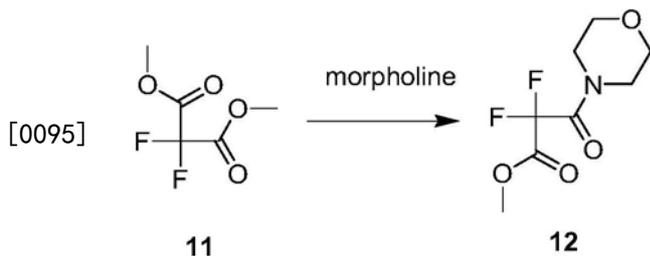
[0092]



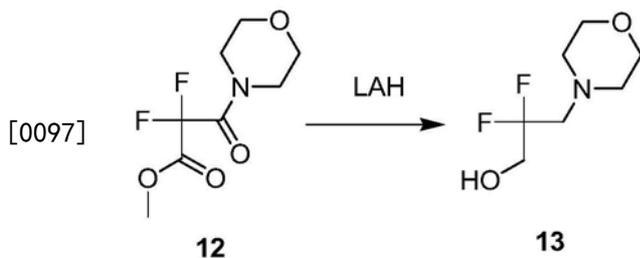
[0093] 包括如下步骤:

[0094] 步骤一,将2g,12mmol化合物11和1g、12mmol吗啡啉溶于30mL DMF中,化合物11为

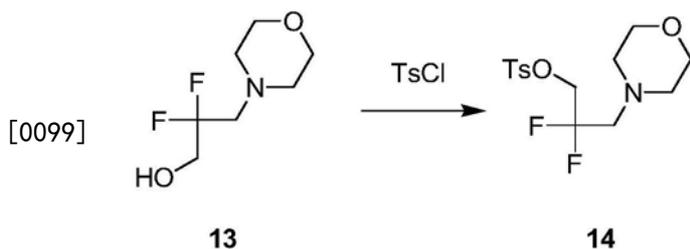
2,2-二氟丙二酸二甲酯,100条件下搅拌过夜;然后将过夜后的反应液用水稀释后,采用乙酸乙酯萃取;将萃取得到的有机相用饱和食盐水洗,水洗后加入无水硫酸钠进行干燥,然后浓缩蒸干;蒸干后采用硅胶柱层析法对上述浓缩蒸干的有机相进行纯化,得到1.5g,57%产率的无色液体化合物12,化合物12为2,2-二氟-3-吗啉-3-氧代丙酸甲酯,具体反应式入下:



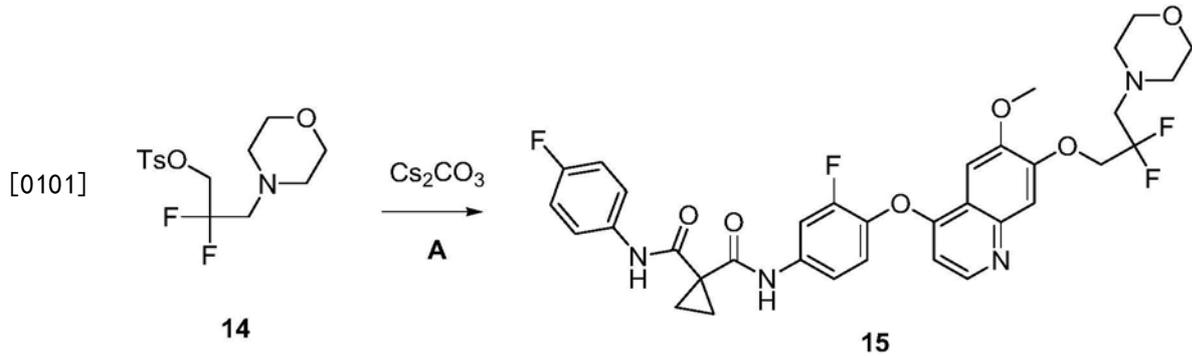
[0096] 步骤二,将1.5g、7mmol化合物12溶于30mL四氢呋喃THF中,冰浴下加入1mol/L的28mL、28mmol LAH,室温搅拌2h;然后将过夜后的反应液用十水硫酸钠淬灭后,过滤;将萃取得到的有机相用饱和食盐水洗,水洗后加入无水硫酸钠进行干燥,然后浓缩蒸干;蒸干后采用硅胶柱层析法对上述浓缩蒸干的有机相进行纯化,得到0.5g,41%产率的无色液体化合物13,化合物13为2,2-二氟-3-吗啉-1-丙醇,具体反应式如下:



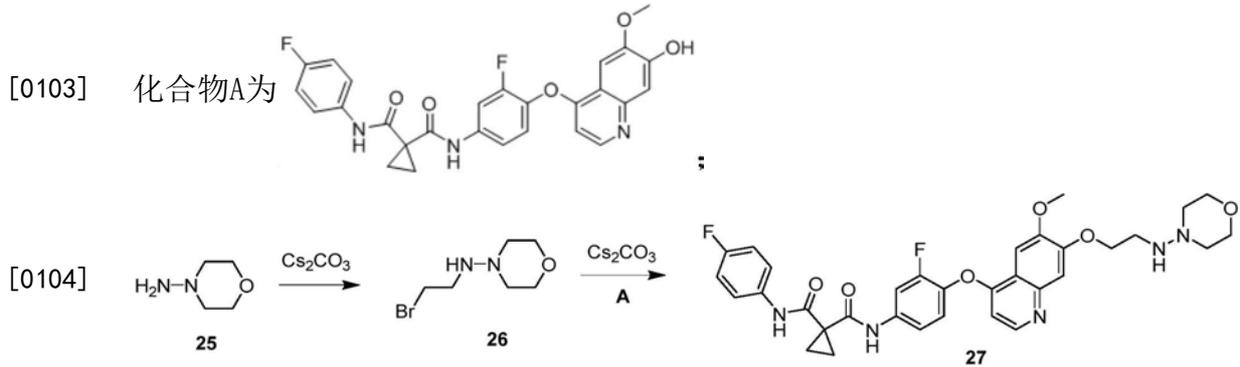
[0098] 步骤三,将0.3g、1.7mmol化合物13溶于30mL二氯甲烷中,然后向上述溶液中加入0.3g、3.4mmol N-甲基吡咯和0.3g、1.7mmol对甲苯磺酰氯,室温搅拌过夜;然后将过夜后的反应液用水稀释后,采用乙酸乙酯萃取;将萃取得到的有机相用饱和食盐水洗,水洗后加入无水硫酸钠进行干燥,然后浓缩蒸干;蒸干后采用硅胶柱层析法对上述浓缩蒸干的有机相进行纯化,得到0.1g、18%产率的白色固体化合物14,化合物14为对甲苯磺酸(2,2-二氟-3-吗啉-1-)丙酯,具体反应式如下:



[0100] 步骤四,将0.1g、0.2mmol化合物A和0.1g、0.3mmol化合物14溶于10mL乙腈中,化合物A为N-对氟苯基-N-3-氟-4-(6-甲氧基-7-羟基喹啉-4-)氧基苯基环丙-1,1-二甲酰胺,然后向上述溶液中加入0.2g、0.5mmol碳酸铯,回流搅拌过夜;然后将过夜后的反应液用水稀释后,采用乙酸乙酯萃取;将萃取得到的有机相用饱和食盐水洗,水洗后加入无水硫酸钠进行干燥,然后浓缩蒸干;蒸干后采用反向制备法对上述浓缩蒸干的有机相进行纯化,得到0.01g、8%产率的黄色固体化合物15,化合物15为N-对氟苯基-N-3-氟-4-【6-甲氧基-7-(2,2-二氟-3-吗啉-1-)丙氧基喹啉-4-】氧基苯基环丙-1,1-二甲酰胺,具体反应式如下:

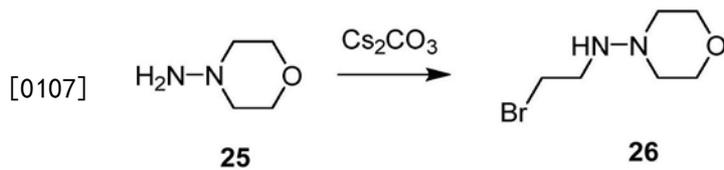


[0102] 实施例6酪氨酸激酶抑制剂化合物27的合成

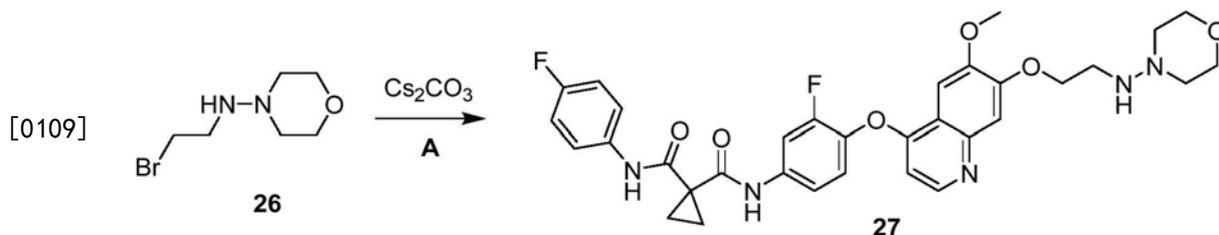


[0105] 包括如下步骤:

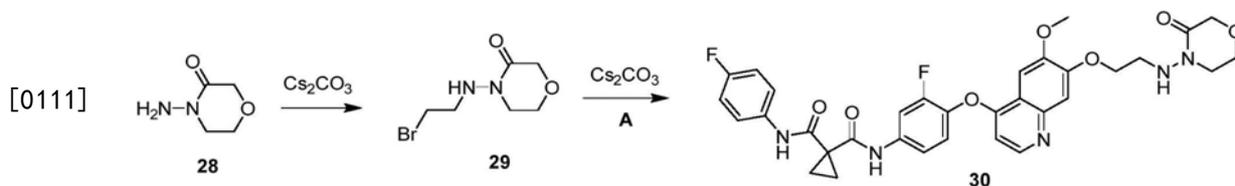
[0106] 步骤一, 将0.1g、1mmol化合物25和0.18g、1mmol 1,2-二溴乙烷溶于10mL乙腈中, 化合物25为N-氨基吗啡啉, 然后向上述溶液中加入0.65g、2mmol碳酸铯, 室温搅拌过夜; 然后将过夜后的反应液用水稀释后, 采用乙酸乙酯萃取; 将萃取得到的有机相用饱和食盐水洗, 水洗后加入无水硫酸钠进行干燥, 然后浓缩蒸干; 蒸干后采用硅胶柱层析法对上述浓缩蒸干的有机相进行纯化, 得到0.1g、50%产率的无色液体化合物26, 化合物26为N-(2-溴乙基)吗啡啉-4-胺, 具体反应式如下:



[0108] 步骤二, 将0.1g、0.2mmol化合物A和0.06g、0.3mmol化合物26溶于10mL乙腈中, 化合物A为N-对氟苯基-N-3-氟-4-(6-甲氧基-7-羟基喹啉-4-)氧基苯基环丙-1,1-二甲酰胺, 然后向上述溶液中加入0.2g、0.5mmol碳酸铯, 回流搅拌过夜; 然后将过夜后的反应液用水稀释后, 采用乙酸乙酯萃取; 将萃取得到的有机相用饱和食盐水洗, 水洗后加入无水硫酸钠进行干燥, 然后浓缩蒸干; 蒸干后采用反向制备法对上述浓缩蒸干的有机相进行纯化, 得到0.01g、8%产率的黄色固体化合物27, 化合物27为, N-对氟苯基-N-3-氟-4-【6-甲氧基-7-(吗啡啉-4-胺)乙氧基喹啉-4-】氧基苯基环丙-1,1-二甲酰胺, 具体反应式如下:

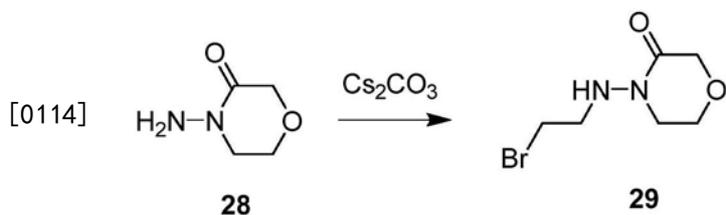


[0110] 实施例7酪氨酸激酶抑制剂化合物30的合成

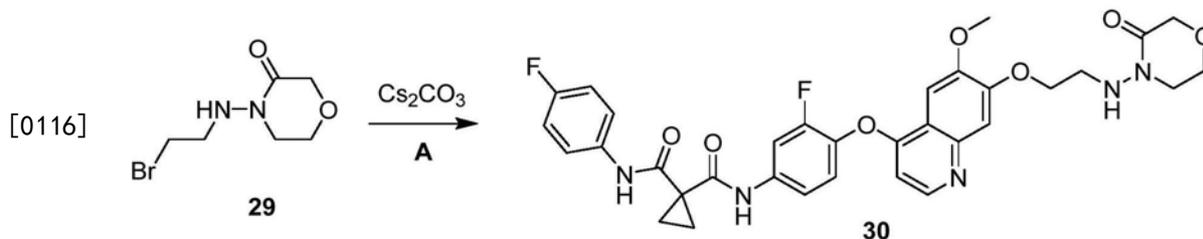


[0112] 包括如下步骤:

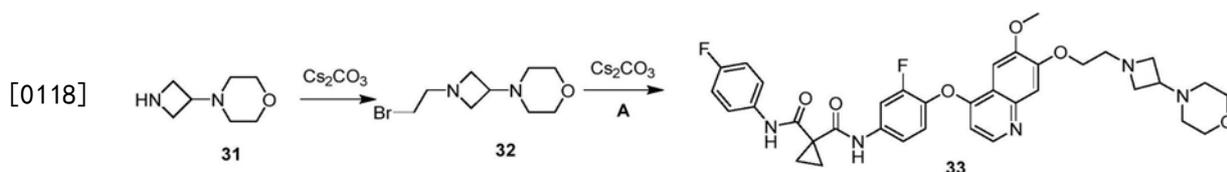
[0113] 步骤一, 将0.1g、1mmol化合物28和0.18g、1mmol 1,2-二溴乙烷溶于10mL乙腈中, 化合物28为4-氨基吗啉-3-酮, 然后向上述溶液中加入0.65g、2mmol碳酸铯, 室温搅拌过夜; 然后将过夜后的反应液用水稀释后, 采用乙酸乙酯萃取; 将萃取得到的有机相用饱和食盐水洗, 水洗后加入无水硫酸钠进行干燥, 然后浓缩蒸干; 蒸干后采用硅胶柱层析法对上述浓缩蒸干的有机相进行纯化, 得到0.1g、50%产率的无色液体化合物29, 化合物29为(2-溴乙基)吗啉-3-酮, 具体反应如下:



[0115] 步骤二, 将0.1g、0.2mmol化合物A和0.06g、0.3mmol化合物29溶于10mL乙腈中, 化合物A为N-对氟苯基-N-3-氟-4-(6-甲氧基-7-羟基喹啉-4-)氧基苯基环丙-1,1-二甲酰胺, 然后向上述溶液中加入0.2g、0.5mmol碳酸铯, 回流搅拌过夜; 然后将过夜后的反应液用水稀释后, 采用乙酸乙酯萃取; 将萃取得到的有机相用饱和食盐水洗, 水洗后加入无水硫酸钠进行干燥, 然后浓缩蒸干; 蒸干后采用反向制备法对上述浓缩蒸干的有机相进行纯化, 得到0.012g、9%产率的黄色固体化合物30, 化合物30为N-对氟苯基-N-3-氟-4-【6-甲氧基-7-(3-氧代吗啉胺)乙氧基喹啉-4-】氧基苯基环丙-1,1-二甲酰胺, 具体反应式如下:

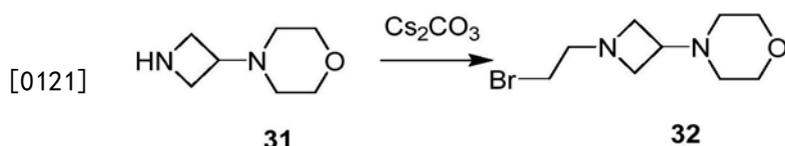


[0117] 实施例8酪氨酸激酶抑制剂化合物33的合成

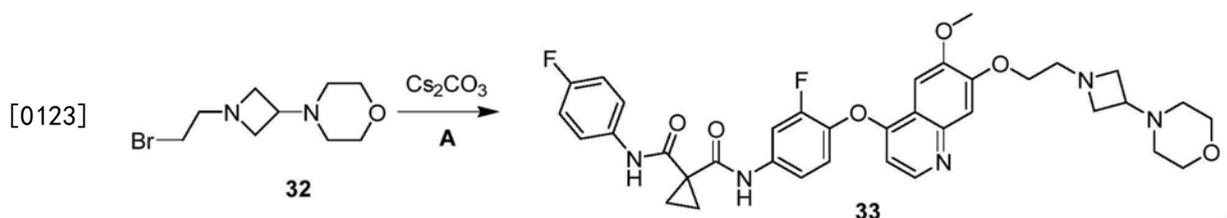


[0119] 包括如下步骤:

[0120] 步骤一,将0.1g、0.7mmol化合物31和0.12g、0.7mmol 1,2-二溴乙烷溶于10mL乙腈中,化合物31为3-吗啉氮杂环丁烷,然后向上述溶液中加入0.65g、2mmol碳酸铯,室温搅拌过夜;然后将过夜后的反应液用水稀释后,采用乙酸乙酯萃取;将萃取得到的有机相用饱和食盐水洗,水洗后加入无水硫酸钠进行干燥,然后浓缩蒸干;蒸干后采用硅胶柱层析法对上述浓缩蒸干的有机相进行纯化,得到0.1g、50%产率的无色液体化合物32,化合物32为溴乙基氮杂环丁烷基吗啉,具体反应式如下:



[0122] 步骤二,将0.1g、0.2mmol化合物A和0.06g、0.24mmol化合物32溶于10mL乙腈中,化合物A为N-对氟苯基-N-3-氟-4-(6-甲氧基-7-羟基喹啉-4-)-氧基苯基环丙-1,1-二甲酰胺,然后向上述溶液中加入0.2g、0.5mmol碳酸铯,回流搅拌过夜;然后将过夜后的反应液用水稀释后,采用乙酸乙酯萃取;将萃取得到的有机相用饱和食盐水洗,水洗后加入无水硫酸钠进行干燥,然后浓缩蒸干;蒸干后采用反向制备法对上述浓缩蒸干的有机相进行纯化,得到0.09g、8%产率的黄色固体化合物33,化合物33为N-对氟苯基-N-3-氟-4-【6-甲氧基-7-(吗啉-3-氮杂环丁烷-1-)-乙氧基喹啉-4-】氧基苯基环丙-1,1-二甲酰胺,具体反应式如下:



[0124] 实施例9酪氨酸激酶抑制活性检测

[0125] 将上述实施例的化合物应用于对C-MET和KDR激酶抑制活性的检测和筛选。

[0126] 1. 方法

[0127] (1) 向384孔板中加入4μL配制的激酶缓冲溶液,或是4μL的激酶溶液(100%抑制对照);向孔中加入2μL的化合物,或是2μL不含化合物的buffer(0% inhibition对照);以上所有样品或对照均设2复孔。

[0128] (2) 25℃孵育5min;

[0129] (3) 向孔中加入2μL的ATP/底物/MgCl<sub>2</sub>/MnCl<sub>2</sub>/SEB/DTT混合液;

[0130] (4) 1000rpm离心1min,30℃震荡孵育30min;

[0131] (5) 向孔中加入8μL XL-665/抗体的混合液;

[0132] (6) 25℃孵育1h;

[0133] (7) PHERAstar FS仪器读取665nm和620nm信号;

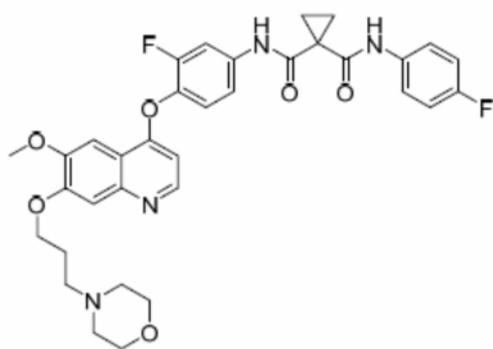
[0134] (8) 根据试剂盒说明书分析数据,并用GraphPad Prism5拟合计算IC<sub>50</sub>。

[0135] Ratio=665nm/620nm

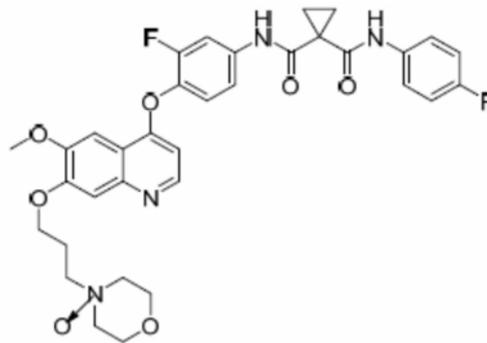
[0136] 样品的抑制率% =  $\left( \frac{\text{Ratio}_{\text{sample}} - \text{Ratio}_{\text{negative}}}{\text{Ratio}_{\text{positive}} - \text{Ratio}_{\text{negative}}} \right) \times 100$

[0137] 2. 实验结果

[0138] 各送检化合物及参比化合物的检测结果总结如下表1和表2所示,其中对照化合物是现有的C-MET激酶抑制剂Foretinib(结构式如下)。For-Oxide、For-Methyl的化学结构式也分别如下。

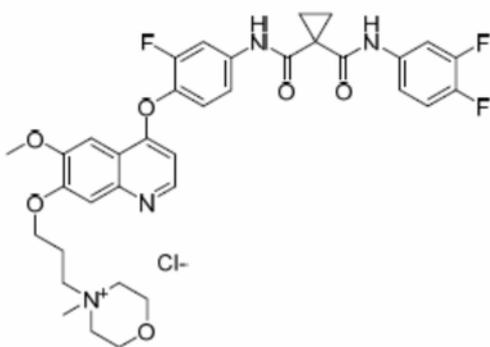


Foretinib



For-Oxide

[0139]



For-Methyl

[0140] 表1化合物对C-MET的抑制活性

[0141]

化合物编号	cMet IC50 (nM)	IC50 95 置信区间 (nM)	曲线 R <sup>2</sup>
Foretinib	7.491	5.829 to 9.627	0.9884
For-Oxide	2.911	2.204 to 3.844	0.9850
For-Methyl	162.7	107.8 to 245.5	0.9697
化合物 10	17.04	12.35 to 23.51	0.9814
化合物 5	20.55	17.07 to 24.74	0.9815
化合物 15	6.641	4.713 to 8.552	0.9672
化合物 24	25.21	20.21 to 29.92	0.9770
化合物 33	15.01	11.23 to 18.58	0.9711
参比化合物 SCR-1510 (实验内参)	2.751	1.841 to 4.139	0.9685

[0142] 表2化合物对KDR的抑制活性

[0143]

化合物编号	KDR IC50 (nM)	IC50 95 置信区间 (nM)	曲线 R <sup>2</sup>
Foretinib	14.83	11.33 to 19.41	0.9741
For-Oxide	10.6	8.628 to 13.09	0.9836
化合物 10	64.16	54.00 to 76.24	0.9881
化合物 5	39.93	32.27 to 49.41	0.9714
Positive Ref	6774	5424 to 8460	0.8963

[0144] 由表1-2的数据可知,本发明上述实施例的化合物具有C-MET、KDR等酪氨酸激酶的抑制活性。

[0145] 实施例10对肿瘤细胞增殖抑制试验

[0146] 1. 方法

[0147] (1) 细胞培养:将肿瘤细胞(如人肺腺癌细胞HCC78、人恶性胶质瘤细胞U87MG、人胃癌细胞MKN-45、人脐静脉内皮细胞HUVEC、人肺腺癌细胞A549等)用细胞培养基培养,培养条件为37℃,5%CO<sub>2</sub>。

[0148] (2) 细胞接种:取处于指数生长期,状态良好的细胞,加入适量胰酶消化细胞,收集细胞离心,弃上清。用含血清的培养液重新混悬细胞,然后计数并取细胞悬液按3000/孔接种于96孔板上,90μL/孔。将培养板转入恒温CO<sub>2</sub>培养箱中,在37℃,5%CO<sub>2</sub>及饱和湿度条件下培养24小时。

[0149] (3) 加入受试化合物:10μL/孔,培养72小时,每组设3个平行孔。

[0150] (4) 结果测定:化合物作用72小时后,加入10μL/孔的CCK8,置于培养箱中孵育适当时间,在450nm处测吸光值。

[0151] 2. 实验结果

[0152] 各送检化合物的检测结果总结如下表3-6所示:

[0153] 表3人肺腺癌细胞HCC78的增殖抑制结果(对应的拟合曲线见图1)

[0154]

化合物编号	HCC78IC50 ( $\mu\text{M}$ )	95%置信区间 ( $\mu\text{M}$ )
Foretinib	0.1886	0.1253to 0.2839
For-Oxide	0.1182	0.06890to 0.2030
For-Methyl	>10	/
化合物10	0.1072	0.06939to 0.1656
SCR-1510	1.779	1.001to 3.160

[0155] 表4人恶性胶质瘤细胞U87MG、人胃癌细胞MKN-45、人肺腺癌细胞HCC78的增殖抑制结果(对应的拟合曲线见图2-4)

[0156]

化合物编号	U87MG			MKN-45		
	IC50 ( $\mu\text{M}$ )	95%置信区间 ( $\mu\text{M}$ )	R <sup>2</sup>	IC50 ( $\mu\text{M}$ )	95%置信区间 ( $\mu\text{M}$ )	R <sup>2</sup>
Foretinib	1.646	1.255 to 2.160	0.9424	1.867	1.387 to 2.513	0.9328
化合物 10	1.595	1.226 to 2.074	0.9473	<b>3.205</b>	<b>2.788 to 3.684</b>	<b>0.9751</b>
化合物 5	1.139	0.8225 to 1.576	0.9323	1.262	0.9934 to 1.602	0.9613
	HCC78					
	IC50 ( $\mu\text{M}$ )	95%置信区间 ( $\mu\text{M}$ )	R <sup>2</sup>			
Foretinib	0.07480	0.03897 to 0.1435	0.8136			
化合物 10	/	/	/			
化合物 5	0.04417	0.03120 to 0.06254	0.9471			

[0157] 表5人卵巢癌细胞SK-OV-3的增殖抑制结果(对应的拟合曲线见图5)

[0158]

化合物编号	SK-OV-3		
	IC50 ( $\mu\text{M}$ )	95%置信区间 ( $\mu\text{M}$ )	R <sup>2</sup>
Foretinib	17.23	11.85 to 25.04	0.7477
For-Oxide	11.6	8.971 to 15.01	0.8846
For-Methyl	No inhibition	/	/
化合物 10	7.849	5.925 to 10.40	0.8928
化合物 5	3.494	3.155 to 3.869	0.9645

[0159] 表6人结肠癌细胞HCT116、人肺腺癌细胞A549的增殖抑制结果(对应的拟合曲线见图6、7)

[0160]

	HCT116			A549		
	IC50 ( $\mu\text{M}$ )	95%置信区间 ( $\mu\text{M}$ )	R <sup>2</sup>	IC50 ( $\mu\text{M}$ )	95%置信区间 ( $\mu\text{M}$ )	R <sup>2</sup>
Foretinib	2.065	1.542 to 2.763	0.9391	2.833	2.167 to 3.704	0.9287
For-Oxide	3.103	2.242 to 4.295	0.9149	4.921	3.965 to 6.107	0.9051
For-Methyl	No inhibition	/	/	No inhibition	/	/
化合物 10	2.605	2.262 to 3.001	0.9713	4.397	3.676 to 5.259	0.9372
化合物 5	1.655	1.163 to 2.356	0.8922	1.605	2.350 to 3.477	0.9527

[0161] 由上述表3-6的数据可知,本发明的化合物通过抑制C-MET、KDR等酪氨酸激酶的活性,能够有效抑制人肺腺癌细胞、人胃癌细胞、人结肠癌细胞、人卵巢癌细胞、人恶性胶质瘤细胞等各种癌细胞的增殖,特别适用于癌症的治疗。

[0162] 以上所述实施例仅表达了本发明的实施方式,其描述较为具体和详细,但并不能因此而理解为对本发明专利范围的限制。应当指出的是,对于本领域的普通技术人员来说,在不脱离本发明构思的前提下,还可以做出若干变形和改进,这些都属于本发明的保护范围。因此,本发明专利的保护范围应以所附权利要求为准。

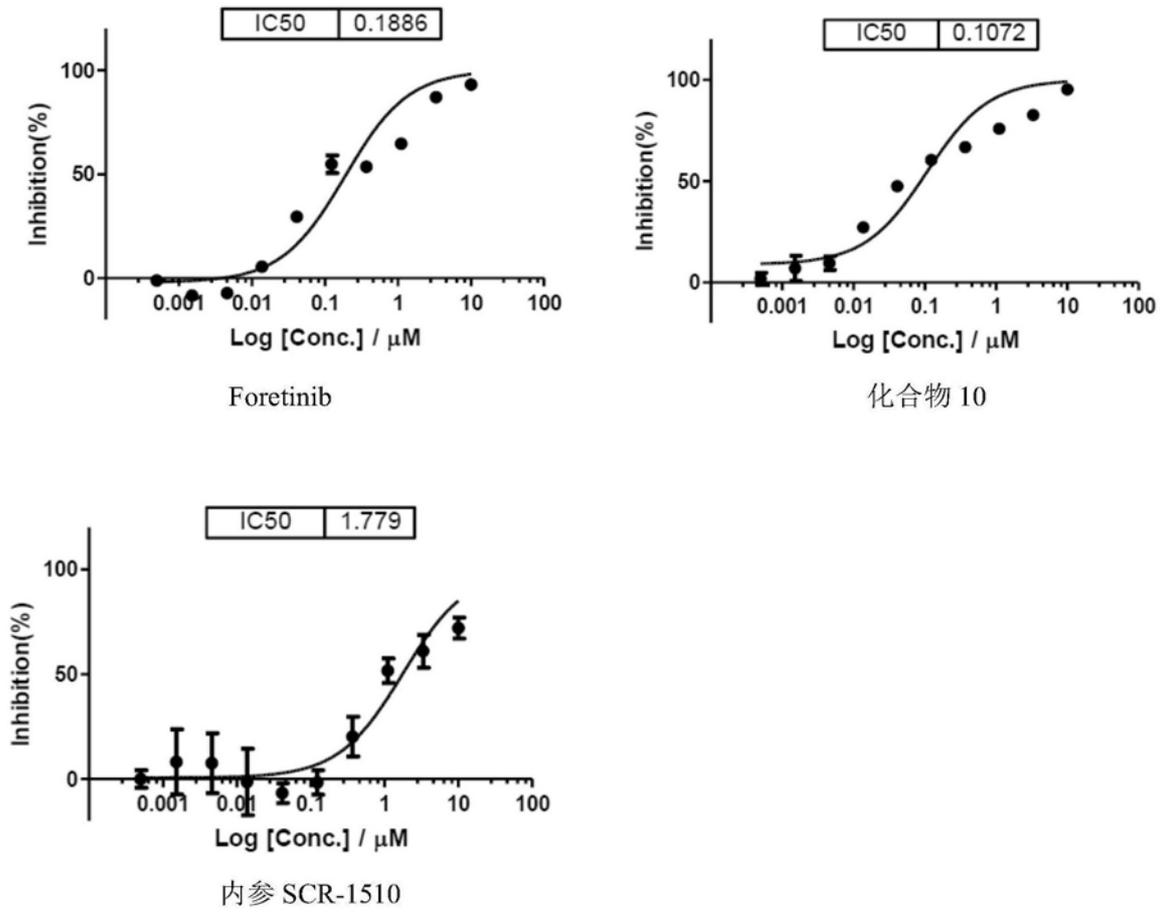
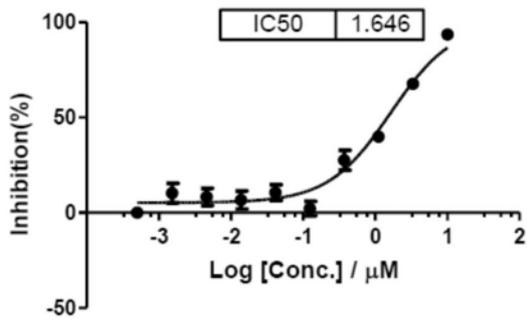
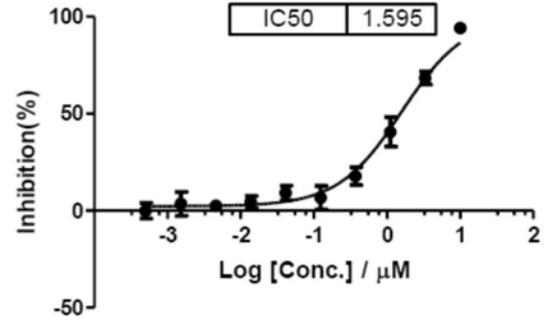


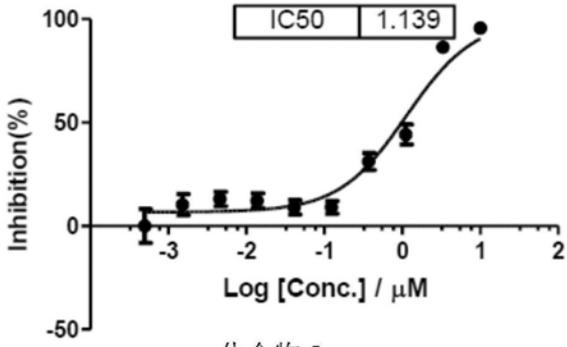
图1



Foretinib

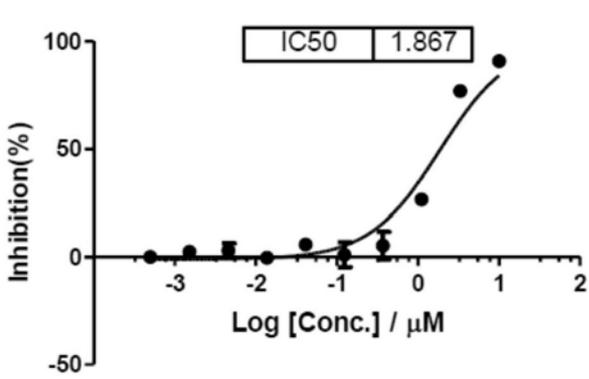


化合物 10

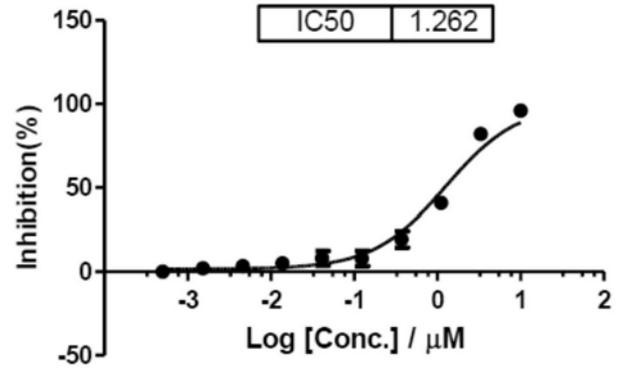


化合物 5

图2



Foretinib



化合物 5

图3

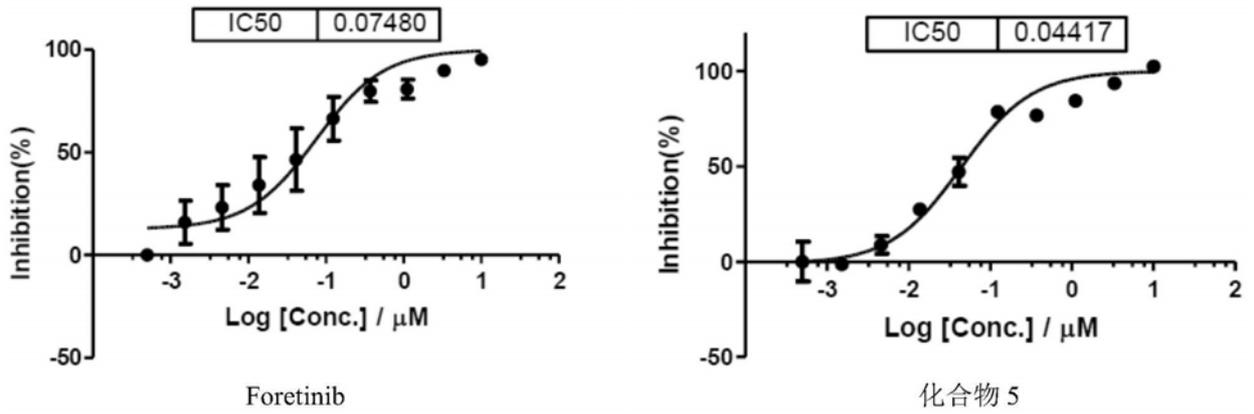


图4

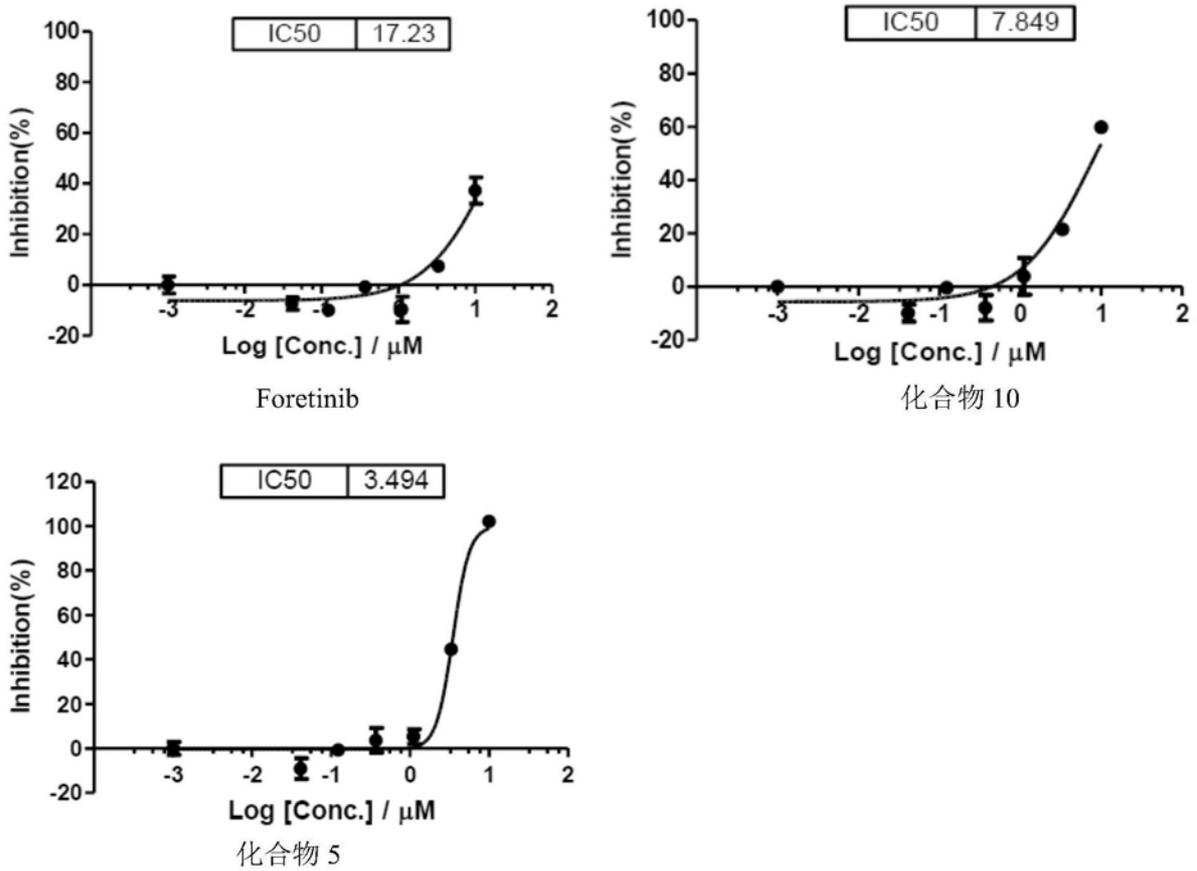


图5

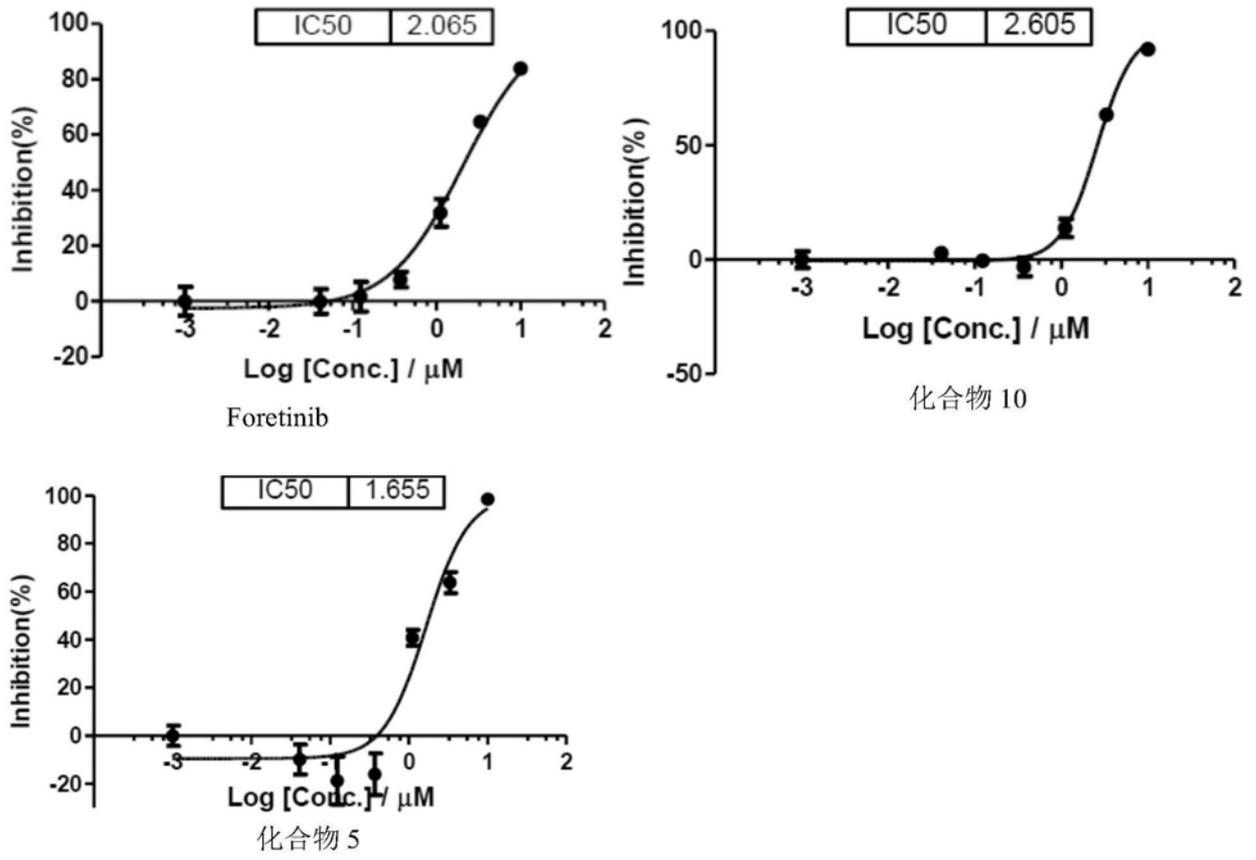


图6

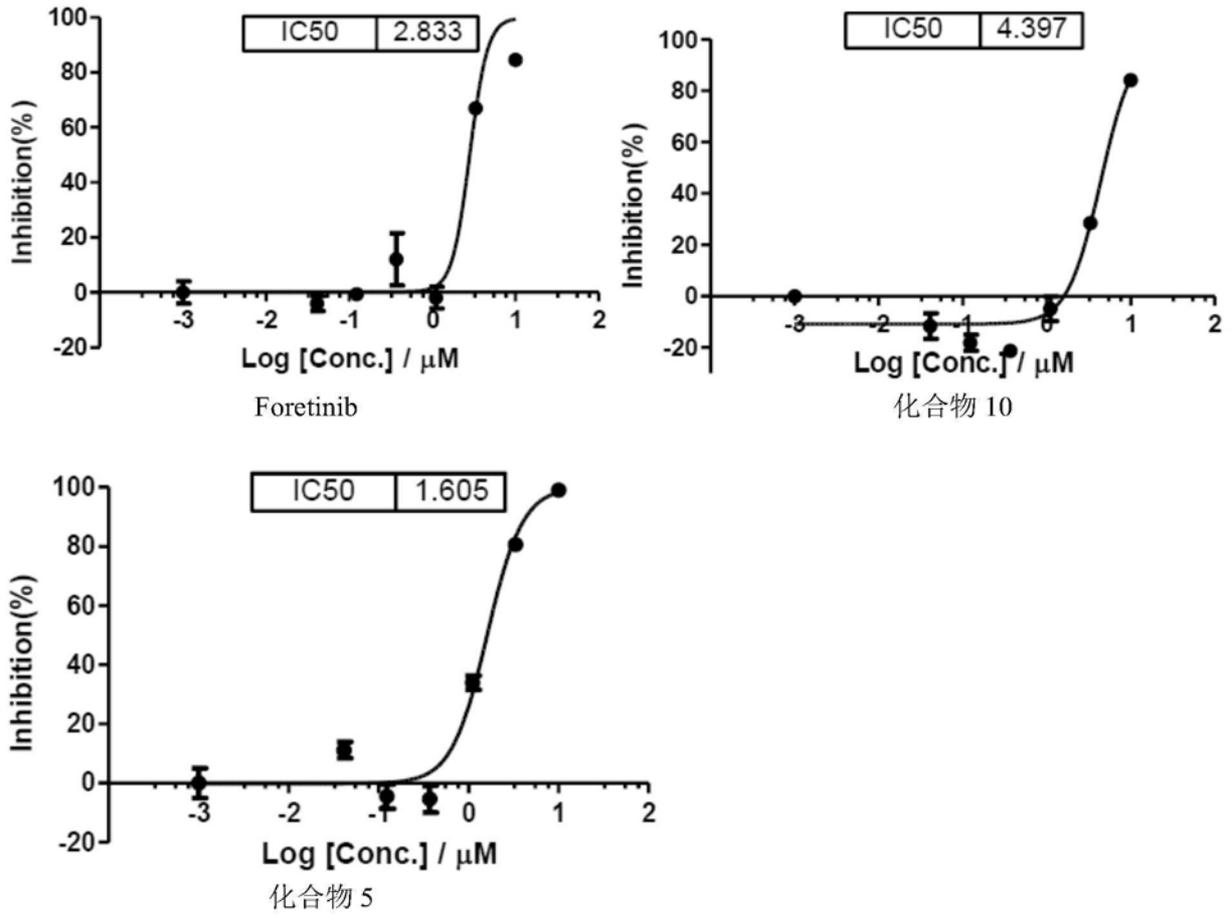


图7