



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103804292 A

(43) 申请公布日 2014. 05. 21

(21) 申请号 201210436287. 3

A61K 31/5377(2006. 01)

(22) 申请日 2012. 11. 05

A61K 31/4709(2006. 01)

A61P 35/00(2006. 01)

(71) 申请人 江苏唐果医药科技有限公司

地址 223800 江苏省宿迁市宿迁经济开发区
发展大道西侧商务中心 1936 室

(72) 发明人 王森 曹鑫 曹聪 戴振亚
陆爱军

(74) 专利代理机构 上海元一成知识产权代理事
务所(普通合伙) 31268

代理人 赵青

(51) Int. Cl.

C07D 215/54(2006. 01)

C07D 401/12(2006. 01)

C07D 417/12(2006. 01)

C07D 417/14(2006. 01)

A61K 31/496(2006. 01)

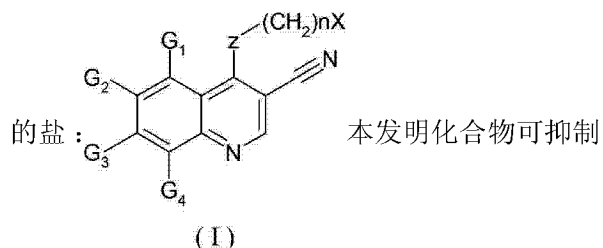
权利要求书4页 说明书18页

(54) 发明名称

HDM2 和 HDMX 双重抑制剂 3-腈基喹啉衍生物及其制备方法与应用

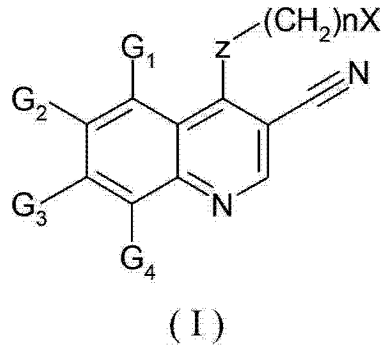
(57) 摘要

本发明属于化学制药领域,具体涉及一种 HDM2 和 HDMX 双重抑制剂 3-腈基喹啉衍生物及其制备方法与应用。本发明提供了一类结构如式 (I) 所示的喹啉衍生物或其药学上可以接受



HDM2 和 HDMX 分别与 p53 特异性结合的能力,也可以用作抗肿瘤药,具有广泛的临床应用前景。

1. 一类结构如式 (I) 所示的喹啉衍生物或其药学上可以接受的盐：



式(I)中：

Z 是 -O-、-S-、-NR- 或 -NHR；

R 是氢、1 至 6 个碳原子的烷基或 2 至 7 个碳原子的烷基羰基；

X 是 5 至 7 个原子的单环芳基系统，其中所述芳环可以含有 1 至 3 个独立选自 N、O 和 S 的杂原子，它们可任选被选自以下的取代基—、二—、或三—取代：卤素、1 至 3 个碳原子的烷基、卤代甲基、羟基、三氟甲基、三氟甲氧基、腈基、硝基、羧基、苯甲酰基、氨基、烷氧基、苯氧基、巯基；

或 X 是 8 至 12 个原子的双环杂芳基环系统，其中所述杂环含有 1 至 4 个独立选自 N、O 和 S 的杂原子，它们可任选被选自以下的取代基—、二—、三—或四—取代：卤素、氧代、硫代、卤素、1 至 3 个碳原子的烷基、卤代甲基、羟基、三氟甲基、三氟甲氧基、腈基、硝基、羧基、苯甲酰基；

G₁ 和 G₄ 各自独立的为选自氢、卤素；

G₂ 和 G₃ 各自独立的为选自氢、卤素、1 至 6 个碳原子的烷基、羟甲基、卤代甲基、1 至 6 个碳原子的烷氧基、羟基、三氟甲基、三氟甲氧基、腈基、硝基、羧基、氨基、羟氨基、苯氧基、

苯基、苄基、N- 烷基氨基甲酰基、苯基氨基、苄基氨基、 $R1-\left[\begin{array}{c} \text{C} \\ | \\ \text{H}_2 \end{array} \right]_m-\text{Y}$ 其中 Y 是二价基团，选自 -O-、-NR-、-S-；R1 是含 4 至 7 个原子的饱和杂环，其中所述杂环含有 1 至 3 个独立选自 N、O 和 S 的杂原子，该杂环上可以有一—、二—、三—或四—的甲基、乙基、丙基、卤素、羟基、羟甲基、羟乙基、氨基、二甲氨基、氨基乙基、甲氨基、乙氨基、二乙氨基取代，m 是 0 至 4 的整数；

n 是 0 至 2 的整数。

2. 根据权利要求 1 所述的一类结构如式 (I) 所示的喹啉衍生物或其药学上可以接受的盐，其特征在于，X 为 4 位单环芳基包括取代苯基、吡啶、嘧啶、咪唑、噻唑、噻唑烷、吡咯、呋喃、噁吩、噁唑或 1,2,4-三唑，或 X 为 4 位双环芳基包括苯并噻唑、苯并咪唑、苯并呋喃、苯并噁唑、苯并噁吩、苯并三唑、吲哚、喹啉或喹啉啉；Z 为 -NH-；n 为 0。

3. 根据权利要求 1 或 2 所述的一类结构如式 (I) 所示的喹啉衍生物或其药学上可以接受的盐，其特征在于，

G₁ 为氢；

G₄ 为氢或卤素；

G₂ 选自甲基、甲氧基、乙氧基、二甲氨基、二乙氨基、卤素或甲巯基；

G_3 是符合通式 $R_1-\left[\begin{array}{c} C \\ H_2 \end{array}\right]_m-Y$ 的任意基团, 其中 Y 是二价基团, 选自 -O-、-NR-、-S-; R_1 是

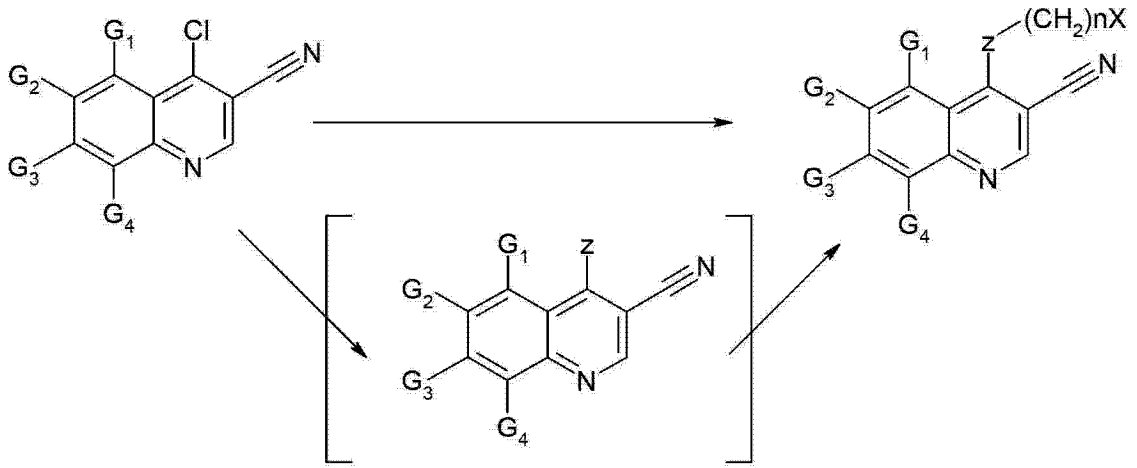
含 4 至 7 个原子的饱和杂环, 其中所述杂环含有 1 至 3 个独立选自 N、O 和 S 的杂原子, 该杂环可以是哌嗪、哌啶、吗啉、四氢吡咯、四氢呋喃和四氢噻吩, 该杂环上是一-、二-、三-或四-的甲基、乙基、丙基、卤素、羟基、羟甲基、羟乙基、氨基、二甲氨基、氨乙基、甲氨基、乙氨基或二乙氨基取代。

4. 根据权利要求 1 所述的一类结构如式 (I) 所示的喹啉衍生物或其药学上可以接受的盐, 其特征在于, 所述的化合物为: 6-甲基-4-(取代苯并噻唑-2-氨基)-7-(烷氧基-3-取代哌啶)-3-腈基喹啉、6-甲基-4-(取代苯并噻唑-2-氨基)-7-(烷氧基-3-取代哌嗪)-3-腈基喹啉、6-甲基-4-(取代苯并噻唑-2-氨基)-7-(烷氧基-3-哌嗪)-3-腈基喹啉、6-甲基-4-(取代苯并噻唑-2-氨基)-7-(烷氧基-3-吗啉)-3-腈基喹啉、6-甲基-4-(取代苯并噻唑-2-氨基)-7-(烷氧基-3-吡咯)-3-腈基喹啉、6-甲氧基-4-(取代苯并噻唑-2-氨基)-7-(烷氧基-3-取代哌啶)-3-腈基喹啉、6-甲氧基-4-(取代苯并噻唑-2-氨基)-7-(烷氧基-3-取代哌嗪)-3-腈基喹啉、6-甲氧基-4-(取代苯并噻唑-2-氨基)-7-(烷氧基-3-吗啉)-3-腈基喹啉、6-甲氧基-4-(取代苯并噻唑-2-氨基)-7-(烷氧基-3-吡咯)-3-腈基喹啉、6-甲基-4-(取代苯并噻唑-2-氨基)-7-(烷胺基-3-取代哌啶)-3-腈基喹啉、6-甲基-4-(取代苯并噻唑-2-氨基)-7-(烷胺基-3-取代哌嗪)-3-腈基喹啉、6-甲基-4-(取代苯并噻唑-2-氨基)-7-(烷胺基-3-哌嗪)-3-腈基喹啉、6-甲基-4-(取代苯并噻唑-2-氨基)-7-(烷胺基-3-吗啉)-3-腈基喹啉、6-甲基-4-(取代苯并噻唑-2-氨基)-7-(烷胺基-3-吡咯)-3-腈基喹啉、6-甲氧基-4-(取代苯并噻唑-2-氨基)-7-(烷胺基-3-取代哌啶)-3-腈基喹啉、6-甲氧基-4-(取代苯并噻唑-2-氨基)-7-(烷胺基-3-取代哌嗪)-3-腈基喹啉、6-甲氧基-4-(取代苯并噻唑-2-氨基)-7-(烷胺基-3-吗啉)-3-腈基喹啉, 或 6-甲氧基-4-(取代苯并噻唑-2-氨基)-7-(烷胺基-3-吡咯)-3-腈基喹啉。

5. 根据权利要求 1 所述的一类结构如式 (I) 所示的喹啉衍生物或其药学上可以接受的盐, 其特征在于, 所述的化合物为含有一个或一个以上的不对称碳原子、各种单一非对映异构体、消旋体以及单一 R 和 S 对映异构体。

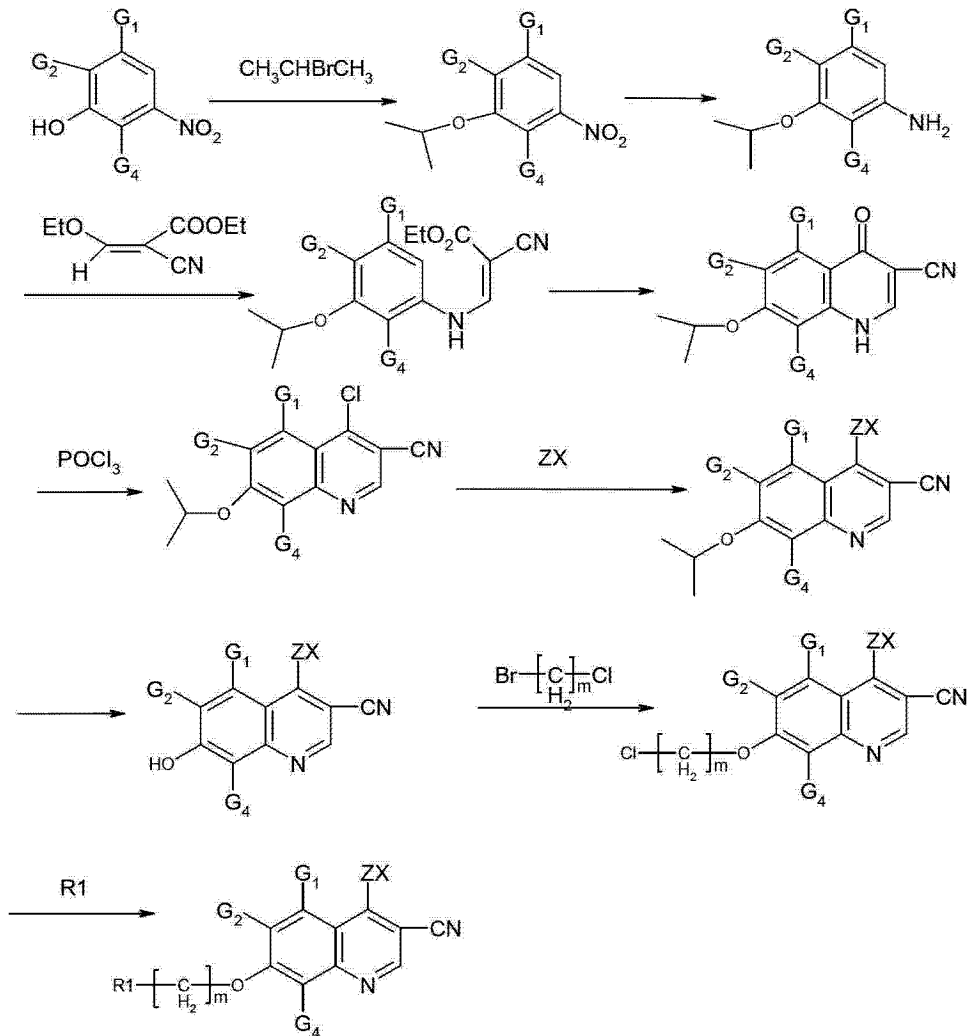
6. 根据权利要求 1 所述的一类结构如式 (I) 所示的喹啉衍生物或其药学上可以接受的盐, 其特征在于, 药学上可以接受的盐为有机或无机酸成盐, 包括但不限于盐酸、硫酸、磷酸、甲酸、乙酸、丙酸、乳酸、柠檬酸、酒石酸、琥珀酸、富马酸、马来酸、杏仁酸、苹果酸、樟脑磺酸以及类似的已知可以接受的酸形成盐。

7. 一类如权利要求 1 所述的结构如式 (I) 所示的喹啉衍生物或其药学上可以接受的盐的制备方法, 其特征在于, 该制备方法包括下述步骤之一:

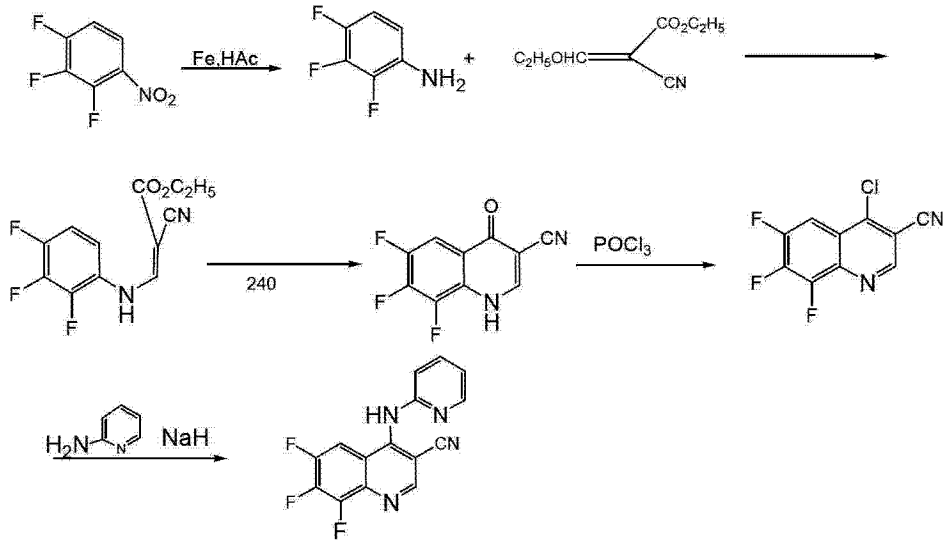


8. 根据权利要求7所述的结构如式(I)所示的喹啉衍生物或其药学上可以接受的盐的制备方法,其特征在于,该制备方法包括下述化学反应式之一:

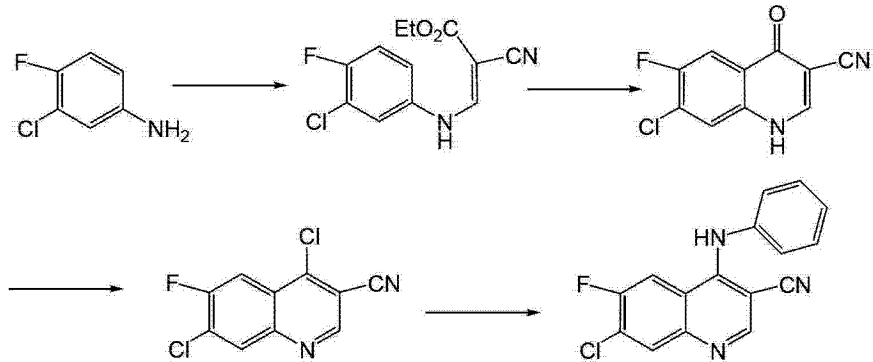
化学反应式1:



化学反应式2:



化学反应式 3 :



9. 一类如权利要求 1 所述的结构如式 (I) 所示的喹啉衍生物或其药学上可以接受的盐在制备 HDM2 和 HDMX 双重抑制剂中的应用。

10. 一类如权利要求 1 所述的结构如式 (I) 所示的喹啉衍生物或其药学上可以接受的盐在制备预防和治疗肿瘤药物中的应用。

HDM2 和 HDMX 双重抑制剂 3-脒基喹啉衍生物及其制备方法与应用

技术领域

[0001] 本发明属于化学制药领域,具体涉及一种 HDM2 和 HDMX 双重抑制剂 3-脒基喹啉衍生物及其制备方法与应用。

背景技术

[0002] p53 基因是一种强大的抑癌基因,定位于人类染色体 17p13.1,编码的 393 个氨基酸组成的 53kD 的核内磷酸化蛋白,被称为 p53 蛋白。p53 基因是细胞生长周期中的负调节因子,与细胞周期的调控、DNA 修复、细胞分化、细胞凋亡等重要的生物学功能有关。为什么人体内有 p53 基因等强大的抑癌基因,人体还会发生癌症?这是因为有两种方式导致 p53 抑癌基因不能有效发挥抑癌作用,一是通过 p53 突变(缺失)导致 p53 结构异常从而失去正常功能,二是尽管 p53 蛋白结构正常,但是肿瘤细胞通过其它途径加快 p53 的降解,使其不能有效发挥作用。有大量研究表面,约有半数(50%)的肿瘤病人由于 p53 发生结构性突变导致其功能丧失(突变型 p53),而失去其肿瘤抑制作用。从肿瘤发生、发展及治疗药物研发角度,如何恢复失去功能的 p53 的强大的抑癌作用一直是极富吸引力的研究方向。大量研究表明,约半数的肿瘤病人的 p53 无突变,结构是正常的,在这种类型的 p53 野生型肿瘤病人,有一种蛋白 HDM2 是最重要的 p53 蛋白负性调控分子,能够与 p53 特异性结合,将 p53 泛素化并进入蛋白酶体降解。自从 HDM2 (human double minute 2)在 1991 年首次被发现以来,系列、多篇在国际最顶级杂志的研究论文均证实开发 HDM2 抑制剂以抑制 HDM2 与 p53 结合,阻断 HDM2 对 p53 的泛素化和降解是富有潜力的。

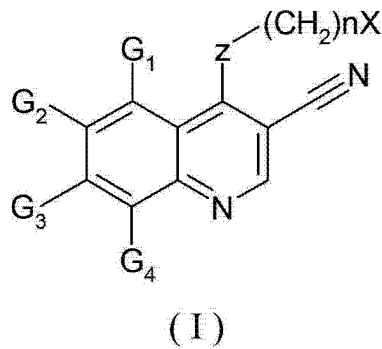
[0003] HDMX 作为 HDM2 的结构类似蛋白,较 HDM2 晚发现数年,但是这个蛋白的功能一直未得到充分的重视,直到 2010 年 Cancer Cell 发表最新研究指出 HDMX 同样可以结合 p53 蛋白使其不能发挥抑癌作用,从而可以作为肿瘤药物研发的靶点,2012 年 Nature Medicine 也发表独立实验室的研究论文指出 HDMX 是肿瘤药物研发非常富有潜力的靶点,研究也指出,特异性的 HDM2-p53 抑制剂很可能带来耐药的问题,即如果仅仅抑制 HDM2-p53 相互作用,肿瘤细胞很容易通过上调 HDMX 的表达,增加 GDMX 结合 p53 使其失活的能力而“代偿”HDM2 抑制剂的作用,开发 HDM2/HDMX 双重抑制剂是最富有潜力的研究方向。

发明内容

[0004] 本发明的目的就是要提供一种 HDM2 和 HDMX 双重抑制剂 3-脒基喹啉衍生物,本发明的另一目的是提供及所述的 3-脒基喹啉衍生物制备方法,及其在制备 HDM2 和 HDMX 双重抑制剂、预防和治疗肿瘤药物中的应用。

[0005] 第一方面,本发明提供了一类新的具有抗肿瘤作用的化合物,该化合物由以下结构式(I)代表的喹啉衍生物或其药学上可以接受的盐:

[0006]



[0007] 式(I)中：

[0008] Z 是 -O-、-S-、-NR- 或 -NHR；

[0009] R 是氢、1 至 6 个碳原子的烷基或 2 至 7 个碳原子的烷基羰基；

[0010] X 是 5 至 7 个原子的单环芳基系统，其中所述芳环可以含有 1 至 3 个独立选自 N、O 和 S 的杂原子，它们可任选被选自以下的取代基—、二—、或三—取代：卤素、1 至 3 个碳原子的烷基、卤代甲基、羟基、三氟甲基、三氟甲氧基、腈基、硝基、羧基、苯甲酰基、氨基、烷氧基、苯氧基、巯基；

[0011] 或 X 是 8 至 12 个原子的双环杂芳基环系统，其中所述杂环含有 1 至 4 个独立选自 N、O 和 S 的杂原子，它们可任选被选自以下的取代基—、二—、三—或四—取代：卤素、氧代、硫代、卤素、1 至 3 个碳原子的烷基、卤代甲基、羟基、三氟甲基、三氟甲氧基、腈基、硝基、羧基、苯甲酰基；

[0012] G_1 和 G_4 各自独立的为选自氢、卤素；

[0013] G_2 和 G_3 各自独立的为选自氢、卤素、1 至 6 个碳原子的烷基、羟甲基、卤代甲基、1 至 6 个碳原子的烷氧基、羟基、三氟甲基、三氟甲氧基、腈基、硝基、羧基、氨基、羟氨基、苯氧基、

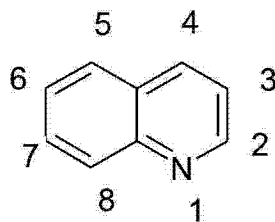
苯基、苄基、N- 烷基氨基甲酰基、苯基氨基、苄基氨基、 $R_1-\left[\begin{array}{c} \text{C} \\ | \\ \text{H}_2 \end{array} \right]_m-\text{Y}$ 其中 Y 是二价基团，选

自 -O-、-NR-、-S-； R_1 是含 4 至 7 个原子的饱和杂环，其中所述杂环含有 1 至 3 个独立选自 N、O 和 S 的杂原子，该杂环上可以有一—、二—、三—或四—的甲基、乙基、丙基、卤素、羟基、羟甲基、羟乙基、氨基、二甲氨基、氨基乙基、甲氨基、乙氨基、二乙氨基取代，m 是 0 至 4 的整数；

[0014] n 是 0 至 2 的整数。

[0015] 本发明化合物是一些取代的 3-腈基喹啉衍生物。在本说明书中，喹啉的环系统编号按照下式所示进行：

[0016]



[0017] X 优选的 4 位单环芳基包括取代苯基、吡啶、嘧啶、咪唑、噻唑、噻唑烷、吡咯、呋喃、噻吩、噁唑或 1,2,4-三唑。

[0018] X 优选的 4 位双环芳基包括苯并噻唑、苯并咪唑、苯并呋喃、苯并噁唑、苯并噻吩、

苯并三唑、咪唑、喹啉或喹唑啉。

[0019] Z 优选的基团为 -NH-。

[0020] n 优选的值为整数 0。

[0021] 在某些实施方案中, X 可以是任意取代的吡啶基、任意取代的 2-苯并噻唑基或任意取代的 2-苯并咪唑基。任意取代基可以选自卤素、甲基、三氟甲基、三氟甲氧基、甲氧基、乙氧基、氨基、硝基或羟基。

[0022] 在某些实施方案中, G_1 是氢, G_4 是氢或卤素。

[0023] 在某些实施方案中, G_2 是选自甲基、甲氧基、乙氧基、二甲氨基、二乙氨基、卤素和甲硫基的任意基团。

[0024] 在某些实施方案中, G_3 是符合通式 $R_1-\left[\begin{array}{c} C \\ H_2 \end{array} \right]_m-Y$ 的任意基团, 其中 Y 是二价基团, 选自 -O-、-NR-、-S-; R_1 是含 4 至 7 个原子的饱和杂环, 其中所述杂环含有 1 至 3 个独立选自 N、O 和 S 的杂原子, 该杂环可以是哌嗪、哌啶、吗啉、四氢吡咯、四氢呋喃和四氢噻吩, 该杂环上可以有一-、二-、三-或四-的甲基、乙基、丙基、卤素、羟基、羟甲基、羟乙基、氨基、二甲氨基、氨基乙基、甲氨基、乙氨基、二乙氨基取代; m 是 0 至 3 的整数。

[0025] 优选的本发明化合物如下文所述。除另有说明外, 其取代基同上文定义。

[0026] A. 根据式 (I) 的化合物或其药学上可以接受的盐, 其中 Z 是 -NH-, n 是整数 0, X 是任选取代的苯基或吡啶基, G_1 是氢, G_2 是选自甲基、甲氧基、乙氧基、二甲氨基、二乙氨基、

卤素和甲硫基的任意基团, G_3 是符合通式 $R_1-\left[\begin{array}{c} C \\ H_2 \end{array} \right]_m-Y$ 的任意基团, 其中 Y 是二价基团, 选自 -O-、-NH-、-S-; R_1 是含 5 至 6 个原子的饱和杂环, 其中所述杂环含有 1 至 3 个独立选自 N、O 和 S 的杂原子, 该杂环可以是哌嗪、哌啶、吗啉或四氢吡咯, 该杂环上可以有一-、二-、三-或四-的甲基、乙基、丙基、卤素、羟基、羟甲基、羟乙基、氨基、二甲氨基、氨基乙基、甲氨基、乙氨基、二乙氨基取代, G_4 是氢或卤素; m 是 0 至 3 的整数。

[0027] B. 根据式 (I) 的化合物或其药学上可以接受的盐, 其中 Z 是 -NH-, n 是整数 0, X 是任选取代的 2-苯并噻唑基、2-苯并咪唑基, G_1 是氢, G_2 是选自甲基、甲氧基、乙氧基、二甲氨基、二乙氨基、卤素和甲硫基的任意基团, G_3 是符合通式 $R_1-\left[\begin{array}{c} C \\ H_2 \end{array} \right]_m-Y$ 的任意基团, 其中 Y

是二价基团, 选自 -O-、-NH-、-S-; R_1 是含 5 至 6 个原子的饱和杂环, 其中所述杂环含有 1 至 3 个独立选自 N、O 和 S 的杂原子, 该杂环可以是哌嗪、哌啶、吗啉或四氢吡咯, 该杂环上可以有一-、二-、三-或四-的甲基、乙基、丙基、卤素、羟基、羟甲基、羟乙基、氨基、二甲氨基、氨基乙基、甲氨基、乙氨基、二乙氨基取代, G_4 是氢或卤素; m 是 0 至 3 的整数。

[0028] 根据式 (I) 及以上说明, 本发明优选的化合物包括 6-甲基-4-(取代苯并噻唑-2-氨基)-7-(烷氧基-3-取代哌啶)-3-腈基喹啉、6-甲基-4-(取代苯并噻唑-2-氨基)-7-(烷氧基-3-取代哌嗪)-3-腈基喹啉、6-甲基-4-(取代苯并噻唑-2-氨基)-7-(烷氧基-3-吗啉)-3-腈基喹啉、6-甲基-4-(取代苯并噻唑-2-氨基)-7-(烷氧基-3-吡咯)-3-腈基喹啉、6-甲氧基-4-(取代苯并噻唑-2-氨基)-7-(烷氧基-3-取代哌啶)-3-腈基喹啉、6-甲氧基-4-(取代苯并噻唑-2-氨基)-7-(烷氧基-3-取代哌

噻)-3- 腈基喹啉、6- 甲氧基 -4- (取代苯并噻唑 -2- 氨基)- 7 - (烷氧基 -3- 吗啉)-3- 腈基喹啉、6- 甲氧基 -4- (取代苯并噻唑 -2- 氨基)-7- (烷氧基 -3- 吡咯)-3- 腈基喹啉、6- 甲基 -4- (取代苯并噻唑 -2- 氨基)- 7 - (烷胺基 -3- 取代哌啶)-3- 腈基喹啉、6- 甲基 -4- (取代苯并噻唑 -2- 氨基)- 7 - (烷胺基 -3- 取代哌啶)-3- 腈基喹啉、6- 甲基 -4- (取代苯并噻唑 -2- 氨基)- 7 - (烷胺基 -3- 吗啉) - 3- 腈基喹啉、6- 甲基 -4- (取代苯并噻唑 -2- 氨基)- 7 - (烷胺基 -3- 吡咯) - 3- 腈基喹啉、6- 甲氧基 -4- (取代苯并噻唑 -2- 氨基)- 7 - (烷胺基 -3- 取代哌啶) - 3- 腈基喹啉、6- 甲氧基 -4- (取代苯并噻唑 -2- 氨基)- 7 - (烷胺基 -3- 取代哌啶) - 3- 腈基喹啉、6- 甲氧基 -4- (取代苯并噻唑 -2- 氨基)- 7 - (烷胺基 -3- 吗啉) - 3- 腈基喹啉、6- 甲氧基 -4- (取代苯并噻唑 -2- 氨基)- 7 - (烷胺基 -3- 吡咯) - 3- 腈基喹啉等化合物。

[0029] 根据式(I)及以上说明,本发明优选的化合物还包括 6- 甲基 -4- (取代苯并咪唑 -2- 氨基)- 7 - (烷氧基 -3- 取代哌啶) - 3- 腈基喹啉、6- 甲基 -4- (取代苯并咪唑 -2- 氨基)- 7 - (烷氧基 -3- 取代哌啶) - 3- 腈基喹啉、6- 甲基 -4- (取代苯并咪唑 -2- 氨基)- 7 - (烷氧基 -3- 哌啶) - 3- 腈基喹啉、6- 甲基 -4- (取代苯并咪唑 -2- 氨基)- 7 - (烷氧基 -3- 吗啉) - 3- 腈基喹啉、6- 甲基 -4- (取代苯并咪唑 -2- 氨基)- 7 - (烷氧基 -3- 吡咯) - 3- 腈基喹啉、6- 甲氧基 -4- (取代苯并咪唑 -2- 氨基)- 7 - (烷氧基 -3- 取代哌啶) - 3- 腈基喹啉、6- 甲氧基 -4- (取代苯并咪唑 -2- 氨基)- 7 - (烷氧基 -3- 取代哌啶) - 3- 腈基喹啉、6- 甲氧基 -4- (取代苯并咪唑 -2- 氨基)- 7 - (烷氧基 -3- 吗啉) - 3- 腈基喹啉、6- 甲氧基 -4- (取代苯并咪唑 -2- 氨基)- 7 - (烷氧基 -3- 吡咯) - 3- 腈基喹啉、6- 甲基 -4- (取代苯并咪唑 -2- 氨基)- 7 - (烷胺基 -3- 取代哌啶) - 3- 腈基喹啉、6- 甲基 -4- (取代苯并咪唑 -2- 氨基)- 7 - (烷胺基 -3- 哌啶) - 3- 腈基喹啉、6- 甲基 -4- (取代苯并咪唑 -2- 氨基)- 7 - (烷胺基 -3- 吗啉) - 3- 腈基喹啉、6- 甲基 -4- (取代苯并咪唑 -2- 氨基)- 7 - (烷胺基 -3- 吡咯) - 3- 腈基喹啉、6- 甲氧基 -4- (取代苯并咪唑 -2- 氨基)- 7 - (烷胺基 -3- 取代哌啶) - 3- 腈基喹啉、6- 甲氧基 -4- (取代苯并咪唑 -2- 氨基)- 7 - (烷胺基 -3- 取代哌啶) - 3- 腈基喹啉、6- 甲氧基 -4- (取代苯并咪唑 -2- 氨基)- 7 - (烷胺基 -3- 吗啉) - 3- 腈基喹啉、6- 甲氧基 -4- (取代苯并咪唑 -2- 氨基)- 7 - (烷胺基 -3- 吡咯) - 3- 腈基喹啉等化合物。

[0030] 根据式(I)及以上说明,本发明优选的化合物还包括 6- 甲基 -4- 取代氨基吡啶 -7- (烷氧基 -3- 取代哌啶) - 3- 腈基喹啉、6- 甲基 -4- 取代氨基吡啶 - 7 - (烷氧基 -3- 取代哌啶) - 3- 腈基喹啉、6- 甲基 -4- 取代氨基吡啶 -7- (烷氧基 -3- 哌啶) - 3- 腈基喹啉、6- 甲基 -4- 取代氨基吡啶 -7- (烷氧基 -3- 吗啉) - 3- 腈基喹啉、6- 甲基 -4- 取代氨基吡啶 - 7 - (烷氧基 -3- 吡咯) - 3- 腈基喹啉、6- 甲氧基 -4- 取代氨基吡啶 - 7 - (烷氧基 -3- 取代哌啶) - 3- 腈基喹啉、6- 甲氧基 -4- 取代氨基吡啶 - 7 - (烷氧基 -3- 取代哌啶) - 3- 腈基喹啉、6- 甲氧基 -4- 取代氨基吡啶 - 7 - (烷氧基 -3- 吗啉) - 3- 腈基喹啉、6- 甲氧基 -4- 取代氨基吡啶 - 7 - (烷氧基 -3- 吡咯) - 3- 腈基喹啉、6- 甲基 -4- 取代氨基吡啶 - 7 - (烷胺基 -3- 取代哌啶) - 3- 腈基喹啉、6- 甲基 -4- 取代氨基吡啶 - 7 - (烷胺基 -3- 取代哌啶) - 3- 腈基喹啉、6- 甲基 -4- 取代氨基吡啶 - 7 - (烷胺基 -3- 哌啶) - 3- 腈基喹啉、6- 甲基 -4- 取代氨基吡啶 - 7 - (烷胺基 -3- 吗啉) - 3- 腈基喹啉、6- 甲基 -4- 取代氨基吡啶 - 7 - (烷胺基 -3- 吡咯) - 3- 腈基喹啉等化合物。

胺基-3-哌嗪)-3-脲基喹啉、6-甲基-4-取代氨基吡啶-7-(烷胺基-3-吗啉)-3-脲基喹啉、6-甲基-4-取代氨基吡啶-7-(烷胺基-3-吡咯)-3-脲基喹啉、6-甲氧基-4-取代氨基吡啶-7-(烷胺基-3-取代哌啶)-3-脲基喹啉、6-甲氧基-4-取代氨基吡啶-7-(烷胺基-3-取代哌嗪)-3-脲基喹啉、6-甲氧基-4-取代氨基吡啶-7-(烷胺基-3-吗啉)-3-脲基喹啉、6-甲氧基-4-取代氨基吡啶-7-(烷胺基-3-吡咯)-3-脲基喹啉等化合物。

[0031] 本发明化合物可以含有一个或一个以上的不对称碳原子；在这种情况下，本发明化合物包括其各种单一非对映异构体、消旋体以及单一 R 和 S 对映异构体。

[0032] 对于上述定义的及本说明书所提及的式(I)化合物，除另有说明外，下列术语被定义为：

[0033] 本文所用的卤素是指氟、氯、溴和碘。

[0034] 本文所用的烷基是指具有 1 至 3 个碳原子的支链或直链碳链。烷基实例包括甲基、乙基、正丙基、异丙基等。

[0035] 本文所用的烷氧基是指烷基-O-基团，其中烷基如前文定义。烷氧基实例包括甲氧基、乙氧基、正丙氧基、异丙氧基。

[0036] 当术语被组合使用时，除另有说明外，所述定义适用于组合中的各个单一部分。

[0037] 本发明中符合式(I)的化合物的所有符合药学需要的盐都是可以接受的。本文采用本领域技术人员熟知的根据所成盐化合物物理和化学稳定性、吸湿性和溶解性来选择合适的盐的形式。

[0038] 对于具有酸性基团的式(I)化合物，其药学上可以接受的盐可以用有机和无机碱形式。例如与碱金属或碱土金属(如钠、钾、钙或镁)或有机碱和 N-四烷基铵盐(如 N-四丁基铵)成盐。对于具有碱性基团的式(I)化合物，则可以由有机或无机酸成盐。例如可以由盐酸、硫酸、磷酸、甲酸、乙酸、丙酸、乳酸、柠檬酸、酒石酸、琥珀酸、富马酸、马来酸、杏仁酸、苹果酸、樟脑磺酸以及类似的已知可以接受的酸形成盐。

[0039] 对于符合式(I)的化合物，也可以采用制成酯、氨基甲酸酯和其他前药形式，当以这种形式给药时，其在体内转变为活性形式起效。

[0040] 本发明还提供包括与药学上可以接受的载体组合或结合的本发明化合物的药用组合物。更详细的讲，本发明提供一种药用组合物，其中含有有效量的本发明化合物和药学上可接受的载体。

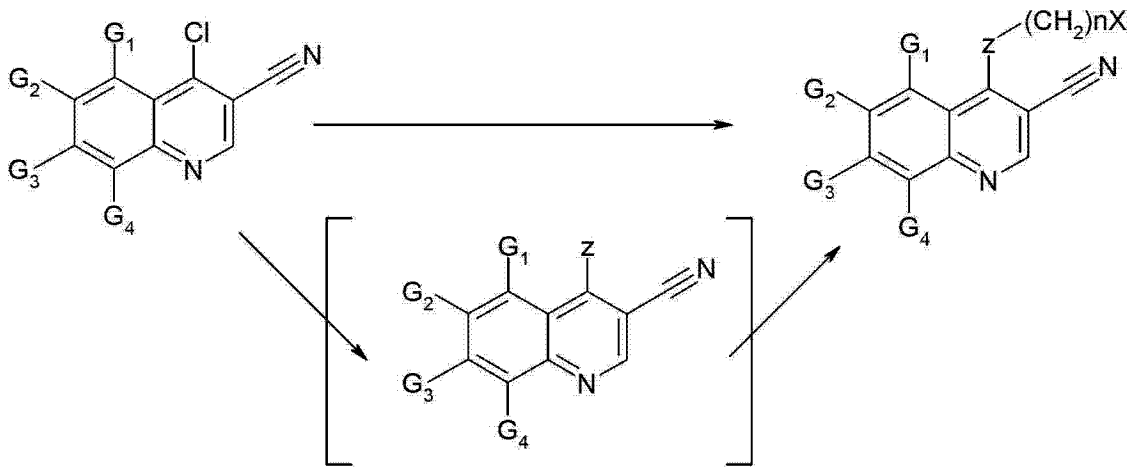
[0041] 除这些用途外，本文中所述的部分化合物可用作制备本发明的其他化合物的中间体。

[0042] 第二方面，本发明还提供了上述的结构式(I)代表的喹啉衍生物或其药学上可以接受的盐的制备方法。

[0043] 制备方法中各反应在适合于所用试剂和原料并且适合于有效转化的溶剂中进行。有机合成领域技术人员能够理解分子上的各种官能团必须符合拟进行的化学转化。这可能需要根据合成步骤的顺序来做必要的判断。必须合理考虑保护活性官能团以防止不需要的副反应。

[0044] 本发明的方法包括下述步骤之一：

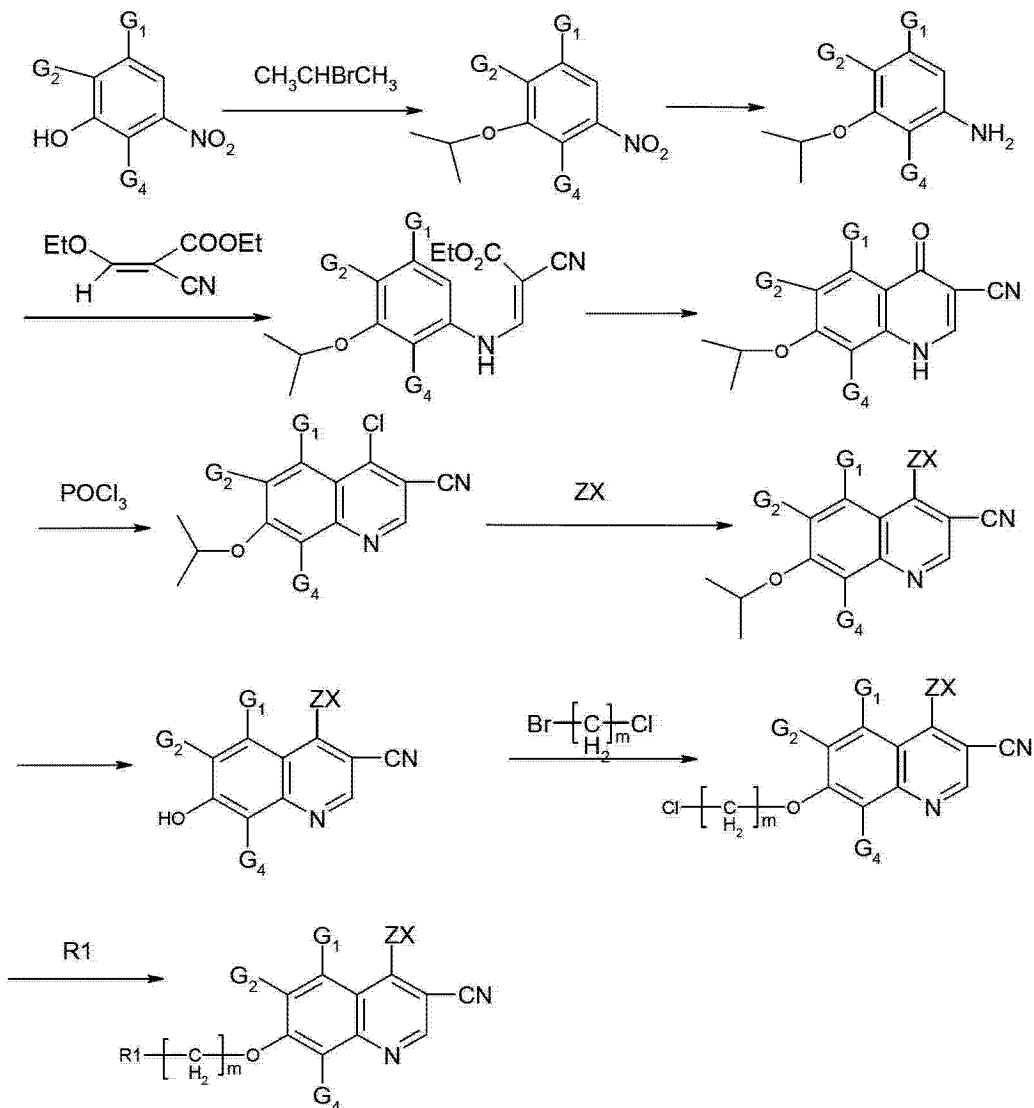
[0045]



[0046] 下文化学反应式 1、化学反应式 2 和化学反应式 3 描述了式 (I) 所包括的本发明化合物的制备方法,其中 Z、X、n、G₁、G₂、G₃、G₄、Y、m 和 R₁ 意义如上文所述。

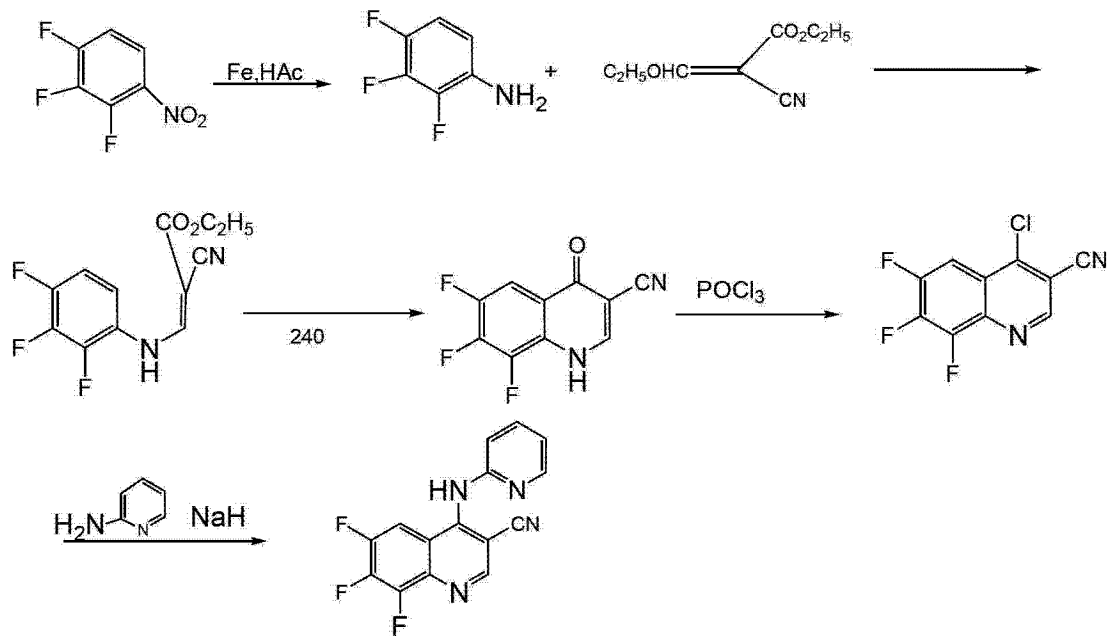
[0047] 化学反应式 1 :

[0048]



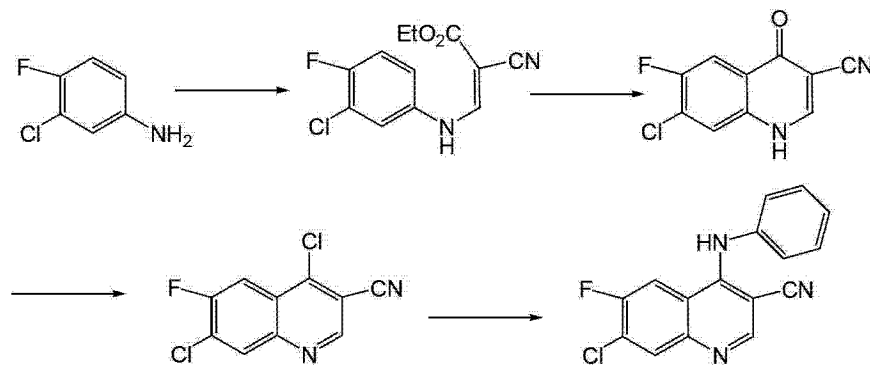
[0049] 化学反应式 2 :

[0050]



[0051] 化学反应式 3 :

[0052]



[0053] 第三方面,本发明还提供了上述化合物在制备 HDM2 和 HDMX 双重抑制剂中的应用,以及在制备预防和治疗肿瘤药物中的应用。

[0054] 一种在有需要的哺乳动物中治疗肿瘤或白血病、抑制肿瘤生长或消除肿瘤的方法,该方法包括给予所述哺乳动物有效剂量的上述式(I)化合物或其药学上可以接受的盐。

[0055] 所述肿瘤的选自乳腺、肾、膀胱、口腔、喉、食道、胃、结肠、卵巢、肺、肝脏、子宫、神经系统和血液系统的肿瘤。

[0056] 本发明的代表性化合物以数项标准药理学检验规程进行评价,结果表明本发明化合物作为 PTKs 和 NOS 抑制剂具有显著活性并且可作为抗肿瘤药。可以用于治疗或抑制那些病因学上至少部分由 HDM2 和 HDMX 功能失调所引起的疾病。基于所述标准药理学检验程序评价中所显示的活性,本发明化合物因而可以用于抗肿瘤领域,适用范围包括乳腺癌、肾癌、膀胱癌、口腔癌、喉癌、食管癌、胃癌、结肠癌、卵巢癌、子宫癌、肺癌、胰腺癌、前列腺癌、肝癌、皮肤癌和白血病等。

[0057] 对于本发明,术语“提供有效量的化合物”是指给予这些化合物或能在体内形成有效的所述化合物剂量的前药、衍生物或类似物。

[0058] 除上述应用外,本发明的某些化合物还可以用于制备本发明的其他化合物。

[0059] 下文叙述了本文所采用的药理检验规程以及所得结果。

[0060] 在显示本发明化合物明显具有作为 HDM2 和 HDMX 双重抑制剂的活性并且具有抗肿瘤活性的几个标准试验中,本发明的代表性化合物表现出较强的抗肿瘤活性。根据 A 抗肿瘤细胞增殖磺酰罗丹明 B (SRB) 试验、B 化合物对 HDM2 及 HDMX 分别于 p53 结合的抑制性试验,结果显示,本发明化合物可抑制 HDM2 和 HDMX 分别与 p53 特异性结合的能力,也可以用作抗肿瘤药。

[0061] 本发明化合物可以作为前药在体内发挥作用。通过化学反应或代谢的结果,本发明化合物可以被转变成可用于治疗肿瘤的化合物。

[0062] 本发明化合物可以单独或与一种或一种以上的药学上可以接受的载体组合制成制剂以供给药。例如,溶剂、稀释剂等,可以用口服剂型给药,如片剂、胶囊、可分散粉末、颗粒剂等。这些药用制剂中可以含有与载体组合的例如 0.05% 至 90% 重量的活性成分,更常见约 15% 至 60% 之间重量的活性成分。

[0063] 对于肿瘤的治疗,可将本发明化合物与其他抗肿瘤物质或放射治疗联合应用。这些其他物质或放射治疗可以与本发明化合物同时或在不同时间给予。这些联合治疗可以产生协同作用并且能改善作用效果。例如,可将本发明化合物与以下药物联合使用:有丝分裂抑制剂(如紫杉醇或长春碱)、烷化剂(如环磷酰胺或顺铂)、抗代谢药(如 5-氟尿嘧啶或羟基脲)、DNA 插入剂(如阿霉素)、拓扑异构酶抑制剂(如喜树碱)。

[0064] 本发明提供了一种新的肿瘤药物,具有广泛的临床应用前景。

具体实施方式

[0065] 下面结合具体实施例,进一步阐述本发明。应理解这些实施例仅用于说明本发明,而不适用于限制本发明的应用范围。

[0066] 本发明化合物可以方便的由以下原料制备:(a) 商业上可获得的起始物,(b) 可以按照文献所述步骤制备的已知起始物或(c) 本文流程和试验步骤中所述的新的中间体。

[0067] 实施例 1:3-异丙氧基-4-甲基硝基苯(1)

[0068] 将 3-羟基-4-甲基硝基苯 60g(0.39mol) 和碳酸钾 100g(0.72mol) 加入到 500ml 三颈瓶中,溶于丙酮 300ml,机械搅拌,缓慢滴加 2-溴丙烷 50ml(0.50mol),40°C 反应 6 小时。然后将反应液倾入 1000ml 水中,用氯仿萃取 3 次,浓缩萃取液,真空干燥得棕黄色液体产品 72.2g,产率 95%。分子式:C₁₀H₁₃N₃O₃,分子量:195.22

[0069] MS(EI)m/z 195。

[0070] 实施例 2:3-异丙氧基-4-甲基苯胺(2)

[0071] 将铁粉 41g(0.73mol)、水 200ml、醋酸 50ml 和乙醇 50ml 分别加入 500ml 三颈瓶中,搅拌并加热至 30°C 反应 20min,然后缓慢滴加 3-异丙氧基-4-甲基硝基苯 60g(0.31mol),50°C 反应 2 小时,抽滤,合并滤液,用氯仿萃取 3 次,浓缩萃取液,真空干燥得棕色油状液体 45g。产率 89%。分子式:C₁₀H₁₅N₃O,分子量:165.24。

[0072] MS(EI)m/z 165。

[0073] 实施例 3:(Z)-2-膦基-3-(3-异丙氧基-4-甲基苯-氨基)-丙烯酸乙酯(3)

[0074] 将 3-异丙氧基-4-甲基苯胺 45g(0.27mol)、(Z)-3-乙氧基-2-膦基-丙烯酸乙酯 51g(0.30mol) 和甲苯 160ml 加入 250ml 三颈瓶中,加热搅拌,回流反应 4 小时,冷却

至室温,析出大量白色固体,抽滤,回收滤液中甲苯,滤饼用乙醇重结晶,得产品 72g,产率 93%。分子式:C₁₆H₂₀N₂O₃,分子量:288.35。Mp:138° C。

[0075] MS(EI)m/z 288。

[0076] ¹H-NMR(AV-500, δ, DMSO-d₆):1.21-1.28(m, 9H);2.08(s, 3H);4.14-4.26(t, 2H);4.55-4.57(m, 1H);6.81-6.89(m, 2H);7.01-7.02(d, 1H);8.26-8.39(t, 1H);10.58-10.68(d, 1H)

[0077] 实施例 4:7-异丙氧基-6-甲基-4-氧代-1,4-二氢-3-脲基喹啉(4)

[0078] 将(Z)-2-脲基-3-(3-异丙氧基-4-甲基苯胺基)丙烯酸乙酯 60g(0.21mol)和液体石蜡 300ml 加入到 500ml 三颈瓶中,N₂保护,240°C反应 4 小时,冷却至室温有棕褐色固体析出,抽滤,滤饼用石油醚洗至灰白色,然后用乙酸乙酯重结晶,干燥得灰褐色固体 20.4g,产率 40%,分子式:C₁₄H₁₄N₂O₂,分子量:242.28。Mp:>300° C。

[0079] MS(EI)m/z 242。

[0080] ¹H-NMR(AV-500, δ, DMSO-d₆):1.21-1.22(s, 6H);2.10(s, 3H);4.55-4.57(m, 1H);7.06(s, 1H);7.48(s, 1H);8.58(s, 1H)

[0081] 实施例 5:4-氯-7-异丙氧基-6-甲基-3-脲基喹啉(5)

[0082] 将 7-异丙氧基-6-甲基-1,4-二氢-4-氧代-3-脲基喹啉 12.1g(0.05mol)和三氯氧磷 40ml 加入 100ml 单颈瓶中,加热回流反应 4 小时,减压蒸去三氯氧磷,用饱和碳酸钾溶液调 PH 至 7,氯仿萃取,硅胶柱层析,得白色絮状固体 8.8g,产率 68%,分子式:C₁₄H₁₃ClN₂O,分子量:260.73。Mp:142° C。

[0083] MS(EI)m/z 260。

[0084] ¹H-NMR(AV-500, δ, DMSO-d₆):1.38-1.40(s, 6H);2.38(s, 3H);7.51(s, 1H);8.05-8.06(d, 1H);9.02(s, 1H)

[0085] 实施例 6:4-(6-甲基苯并噻唑-2-氨基)-7-异丙氧基-6-甲基-3-脲基喹啉(6)

[0086] 将 2-氨基苯并噻唑 2g(0.012mol)加入 100ml 单颈瓶中,溶于无水 DMF20ml,加入 NaH 0.5g,室温活化半小时后,将 4-氯-7-异丙氧基-6-甲基-3-脲基喹啉 2.4g(0.01mol)缓慢滴入反应瓶中,滴加完毕加热至回流,反应 6 小时,有淡黄色固体析出,冷却抽滤,滤饼用乙醇重结晶,干燥得产品 2.33g,产率 60%。分子式:C₂₂H₂₀N₄O₂,分子量:388.49。Mp:187° C(dec)。

[0087] MS(EI)m/z 388。

[0088] ¹H-NMR(AV-500, δ, DMSO-d₆):1.41-1.42(s, 6H);2.36(s, 3H);2.43(s, 3H);4.85-4.89(m, 1H);7.18(s, 1H);7.31-7.38(dd, 1H);7.95(s, 1H);8.40(s, 1H);8.93(s, 1H);9.32-9.35(d, 1H);9.58(s, 1H)

[0089] 实施例 7:4-(6-甲基苯并噻唑-2-氨基)-7-羟基-6-甲基-3-脲基喹啉(7)

[0090] 将 4-(6-甲基苯并噻唑-2-氨基)-7-异丙氧基-6-甲基-3-脲基喹啉 0.78g(0.002mol)、三氯化铝 0.53g(0.004mol)和二氯甲烷 30ml 加入 50ml 单颈瓶中,0-5°C反应 1 小时,有黄色固体析出。抽滤,用 0.1N 盐酸和水将滤饼各清洗 3 次,干燥得黄色产品 0.52g,产率 75%。分子式:C₁₉H₁₄N₄O₂,分子量:346.41。Mp:251° C。

[0091] MS(EI)m/z 346。

[0092] $^1\text{H-NMR}$ (AV-500, δ , DMSO- d_6): 2.30 (s, 3H); 2.46 (s, 3H); 7.30 (s, 1H); 7.35-7.37 (d, 1H); 7.99 (s, 1H); 8.42 (s, 1H); 8.96 (s, 1H); 9.33 (s, 1H); 9.60 (s, 1H)

[0093] 实施例 8: 4-(6-甲基苯并噻唑-2-氨基)-7-(3-氯丙氧基)-6-甲基-3-腈基喹啉(8)

[0094] 将 4-(6-甲基苯并噻唑-2-氨基)-7-羟基-6-甲基-3-腈基喹啉 0.51g(1.5mmol) 和碳酸钾 0.30g(2.1mmol) 加入 50ml 三颈瓶中, 溶于 DMF30ml, 然后加入 1-溴-3-氯丙烷 0.1ml(1.6mmol), 60°C 反应 3 小时, 将反应液倾入 50ml 水中, 有絮状固体析出, 抽滤, 滤饼用甲醇重结晶, 得淡黄色固体 0.39g, 产率 60%。分子式: C₂₂H₁₉C₁N₄O₂S, 分子量: 422.94。Mp: 248°C (dec)。

[0095] MS(EI)m/z 422。

[0096] $^1\text{H-NMR}$ (AV-500, δ , DMSO- d_6): 2.27-2.29 (m, 2H); 2.31 (s, 3H); 2.44 (s, 3H); 3.80-3.84 (t, 2H); 4.34-4.38 (t, 2H); 7.30 (s, 1H); 7.36-7.37 (dd, 1H); 7.99 (s, 1H); 8.43 (s, 1H); 8.99 (s, 1H); 9.35 (s, 1H)

[0097] 实施例 9: 6-甲基-4-(6-甲基苯并噻唑-2-氨基)-7-(丙氧基-3-哌啶)-3-腈基喹啉(9, CPU-Y010)

[0098] 将 4-(6-甲基苯并噻唑-2-氨基)-7-(丙氧基-3-氯)-6-甲基-3-腈基喹啉 0.127g(0.3mmol) 和碳酸钾 0.10g(0.7mmol) 加入到 25ml 三颈瓶中, 溶于 DMF15ml, 然后加入哌啶 0.1ml(0.1mmol), 80°C 反应 4 小时。将反应液倾入 50ml 水中, 有淡黄色固体析出, 抽滤干燥得粗品 0.12g。柱层析得纯品 0.10g, 产率 70.8%。分子式: C₂₇H₂₉N₅O₂S, 分子量: 471.63。Mp: 270°C。

[0099] MS(EI)m/z 471。

[0100] $^1\text{H-NMR}$ (AV-500, δ , DMSO- d_6): 1.18 (m, 8H); 1.82 (s, 3H); 2.34-2.45 (m, 2H); 3.02-3.25 (m, 5H); 3.47-3.51 (m, 2H); 4.29-4.33 (t, 3H); 7.46-7.50 (d, 1H); 7.57 (s, 1H); 7.93 (s, 1H); 8.56 (s, 1H); 8.78-8.81 (d, 1H); 9.51 (s, 1H)

[0101] 实施例 10: 6-甲基-4-(6-甲基苯并噻唑-2-氨基)-7-(丙氧基-3-(4-甲基哌嗪)基)-3-腈基喹啉(10, CPU-Y008)

[0102] 采用上述实施例 9 中方法, 加入(9)及甲基哌嗪等原料, 得(10)。分子式: C₂₇H₃₀N₆O₂S, 分子量: 486.64。Mp: 272°C。

[0103] MS(EI)m/z 486。

[0104] $^1\text{H-NMR}$ (AV-500, δ , D₂O): 1.99 (s, 3H); 2.27 (m, 5H); 3.06 (s, 3H); 3.43 (m, 2H); 3.73-3.85 (m, 10H); 6.70 (s, 1H); 7.10-7.12 (d, 1H); 7.36 (s, 1H); 7.64 (s, 1H); 7.90-7.92 (d, 1H); 8.93 (s, 1H)

[0105] 实施例 11: 6-甲基-4-(6-甲基苯并噻唑-2-氨基)-7-(丙氧基-3-吗啉基)-3-腈基喹啉(11, CPU-Y012)

[0106] 采用上述实施例 9 中方法, 加入(9)及吗啉等原料, 得(11)。分子式: C₂₆H₂₇N₅O₂S, 分子量: 473.60。Mp: 279°C。

[0107] MS(EI)m/z 473。

[0108] $^1\text{H-NMR}$ (AV-500, δ , D₂O): 1.44 (m, 2H); 2.63 (m, 7H); 3.44 (s, 3H); 3.64 (m, 2H); 3.77

(m, 2H); 4.02 (m, 4H); 7.05 (m, 2H); 7.73 (s, 1H); 8.04 (s, 1H); 8.44 (m, 1H); 9.43 (s, 1H)

[0109] 实施例 12 : 2,3,4-三氟苯胺(12)

[0110] 将铁粉 40g (0.72mol)、水 200ml、醋酸 50ml 和乙醇 50ml 分别加入 500ml 三颈瓶中, 搅拌并加热至 30° C 反应 20min, 然后缓慢滴加 2,3,4-三氟硝基苯 50g(0.28mol), 60° C 反应 3 小时, 抽滤, 合并滤液, 用氯仿萃取 3 次, 浓缩萃取液, 真空干燥得黄色油状液体 35g。产率 86%。分子式 :C₆H₄F₃N, 分子量 :147.10。

[0111] MS(EI)m/z 147。

[0112] 实施例 13 : (Z)-2-氰基-3-(2,3,4-三氟苯胺基)-丙烯酸乙酯(13)

[0113] 将 2,3,4-三氟苯胺 35g(0.24mol)、(Z)-3-乙氧基-2-氰基-丙烯酸乙酯 40g(0.24mol) 和甲苯 100ml 加入 250ml 三颈瓶中, 加热搅拌, 回流反应 6 小时, 冷却至室温, 析出白色固体, 抽滤, 回收滤液中甲苯, 滤饼用乙醇重结晶, 得产品 52g, 产率 80%。分子式 :C₁₂H₉F₃N₂O₂, 分子量 :270.21。

[0114] MS(EI)m/z 270。

[0115] 实施例 14 : 6,7,8-三氟-4-氧代-1,4-二氢-3-氰基喹啉(14)

[0116] 将 (Z)-2-氰基-3-(2,3,4-三氟苯胺基)-丙烯酸乙酯 20g(0.074mol) 和液体石蜡 700ml 加入到 1000ml 三颈瓶中, N₂ 保护, 280°C 反应 6 小时, 冷却至室温有棕褐色固体析出, 抽滤, 滤饼用石油醚洗至灰白色, 然后用乙酸乙酯重结晶, 干燥得灰褐色固体 10g, 产率 60%, 分子式 :C₁₀H₃F₃N₂O, 分子量 :224.14。Mp: > 300° C。

[0117] MS(EI)m/z 224。

[0118] 实施例 15 : 4-氯-6,7,8-三氟-3-氰基喹啉(15)

[0119] 将 6,7,8-三氟-4-氧代-1,4-二氢-3-氰基喹啉 5g(0.022mol) 和三氯氧磷 40ml 加入 100ml 单颈瓶中, 加热回流反应 4 小时, 减压蒸去三氯氧磷, 用饱和碳酸钾溶液调 PH 至 7, 氯仿萃取, 硅胶柱层析, 得产品 4.0g, 产率 75%, 分子式 :C₁₀H₂F₃N₂, 分子量 :242.59。。

[0120] MS(EI)m/z 242。

[0121] 实施例 16 : 4-(吡啶-2-氨基)-6,7,8-三氟-3-氰基喹啉(16, CPU-Y007)

[0122] 将 2-氨基吡啶 0.10g(1.1mmol) 加入 50ml 单颈瓶中, 溶于无水 DMF 10ml, 加入 NaH 0.050g, 室温活化半小时后, 将 4-氯-6,7,8-三氟-3-氰基喹啉 0.24g(1mmol) 缓慢滴入反应瓶中, 滴加完毕加热至回流, 反应 6 小时, 有淡黄色固体析出, 冷却抽滤, 滤饼用乙醇重结晶, 干燥得产品 0.23g, 产率 77%。分子式 :C₁₅H₇F₃N₄, 分子量 :300.25。Mp: 187° C(dec)。

[0123] MS(EI)m/z 300。

[0124] ¹H-NMR(AV-300, δ, DMSO-d₆): 7.12-7.17 (t, 1H), 7.48-7.51 (d, 1H), 7.88-7.93 (m, 1H), 8.33-8.36 (m, 1H), 9.21-9.23 (d, 1H), 9.59 (s, 1H), 10.04 (s, 1H)

[0125] 实施例 17 : (Z)-2-氰基-3-(3-氯-4-氟苯胺基)-丙烯酸乙酯(17)

[0126] 将 3-氯-4-氟苯胺 35g(0.24mol)、(Z)-3-乙氧基-2-氰基-丙烯酸乙酯 40g(0.24mol) 和甲苯 100ml 加入 250ml 三颈瓶中, 加热搅拌, 回流反应 6 小时, 冷却至室温, 析出白色固体, 抽滤, 回收滤液中甲苯, 滤饼用乙醇重结晶, 得产品 60g, 产率 93%。分子式 :C₁₂H₁₀ClF₂N₂O₂, 分子量 :268.68。

[0127] MS(EI)m/z 268。

[0128] 实施例 18 :6-氟-7-氯-4-氧代-1,4-二氢-3-氰基喹啉(18)

[0129] 将(Z)-2-氰基-3-(3-氯-4-氟苯胺基)-丙烯酸乙酯 20g(0.075mol)和液体石蜡 700ml 加入到 1000ml 三颈瓶中, N₂ 保护, 270°C 反应 6 小时, 冷却至室温有棕褐色固体析出, 抽滤, 滤饼用石油醚洗至灰白色, 然后用乙酸乙酯重结晶, 干燥得灰褐色固体 12g, 产率 60%, 分子式: C₁₀H₄ClFN₂O, 分子量: 222.61

[0130] Mp: > 250° C。

[0131] MS(EI)m/z 222。

[0132] 实施例 19 :4,7-二氯-6-氟-3-氰基喹啉(19)

[0133] 将 6-氟-7-氯-4-氧代-1,4-二氢-3-氰基喹啉 5g(0.023mol) 和三氯氧磷 40ml 加入 100ml 单颈瓶中, 加热回流反应 4 小时, 减压蒸去三氯氧磷, 用饱和碳酸钾溶液调 PH 至 7, 氯仿萃取, 硅胶柱层析, 得产品 3.8g, 产率 75%, 分子式: C₁₀H₃Cl₂FN₂, 分子量: 241.05。

[0134] MS(EI)m/z 240。

[0135] 实施例 20 :4-苯胺基-6-氟-7-氯-3-氰基喹啉(20, CPU-Y003)

[0136] 将苯胺 0.2ml(0.2g, 2.2mmol) 加入 50ml 单颈瓶中, 溶于无水乙醇 10ml, 然后将 4,7-二氯-6-氟-3-氰基喹啉 0.48g 的乙醇溶液(2mmol) 缓慢滴入反应瓶中, 滴加完毕加热至回流, 反应 2 小时后有白色固体析出, 冷却抽滤, 滤饼用甲醇重结晶, 干燥得产品 0.53g, 产率 82%。分子式: C₁₆H₉ClFN₃, 分子量: 297.72。Mp: 167° C。

[0137] MS(EI)m/z 297。

[0138] ¹H-NMR(AV-300, δ, CDCl₃): 7.15-7.16(m, 2H), 7.28-7.31(m, 1H), 7.39-7.46(m, 3H), 8.12(d, 1H), 8.71(s, 1H)

[0139] 实施例 21:4-苯胺基-6-甲基哌嗪基-7-氯-3-氰基喹啉(21, CPU-Y016)

[0140] 将 4-苯胺基-6-氟-7-氯-3-氰基喹啉 150mg(0.5mmol) 和 0.1ml 甲基哌嗪(1.0mmol) 溶于 6ml 乙二醇中, 加入铜粉和 CuCl 各 50mg, 80°C 反应 36 小时。然后将反应液倾入水中, 有固体析出, 干燥得粗品 100mg, 将粗品柱层析得产品 60mg。产率: 33%。分子式: C₂₀H₁₉FN₆, 分子量: 362.41。

[0141] MS(EI)m/z 361。

[0142] ¹H-NMR(AV-300, δ, DMSO-d₆): 2.44(s, 3H), 2.75(b, 4H), 3.18(b, 4H), 7.30-7.32(t, 3H), 7.41-7.47(m, 2H), 7.85(s, 1H), 7.96(s, 1H), 8.44(s, 1H)

[0143] 实施例 22:4-苯胺基-6,8-二氟-7-甲基哌嗪基-3-氰基喹啉(22, CPU-Y001)

[0144] 采用上述合成方法, 以 4-苯胺基-6,7,8-三氟-3-氰基喹啉和甲基哌嗪为原料, 得产品 30。分子式: C₂₁H₁₉F₂N₅。分子量: 379.42。

[0145] MS(EI)m/z 379

[0146] ¹H-NMR(AV-300, δ, DMSO-d₆): 2.2(s, 3H), 2.48(m, 4H), 3.30(m, 4H), 7.19-7.27(m, 3H), 7.35-7.41(m, 2H), 8.06(d, 1H), 8.49(s, 1H), 9.64(s, 1H)

[0147] 实施例 23:4-苯胺基-6,8-二氟-7-哌嗪基-3-氰基喹啉(23, CPU-Y002)

[0148] 采用上述合成方法, 以 4-苯胺基-6,7,8-三氟-3-氰基喹啉和哌嗪为原料, 得

产品 31。分子式 :C₂₀H₁₇F₂N₅。分子量 :365.39。

[0149] MS(EI)m/z 365

[0150] ¹H-NMR(AV-300, δ, DMSO-d₆):3.38-3.40(m, 4H), 3.62-3.65(m, 4H), 7.29-7.31(m, 3H), 7.41-7.44(m, 2H), 7.95(d, 1H), 8.45(s, 1H)

[0151] 实施例 24:

[0152] 取实施例 10 中所得化合物 0.5g, 加入片剂常规辅料, 按照片剂常规工艺制成片剂。

[0153] 实施例 25:

[0154] 取实施例 10 中所得化合物 0.5g, 加入颗粒剂常规辅料, 按照颗粒剂常规工艺制成颗粒剂。

[0155] 实施例 26: 本发明化合物的抗肿瘤活性试验

[0156] 所用试验步骤和试验结果如下所述:

[0157] A 抗肿瘤细胞增殖磺酰罗丹明 B (SRB) 试验。

[0158] SR (Sulforhodamine) 是一种荧光染料, 可以与经三氯乙酸固定后的细胞蛋白的碱性氨基酸结合而显色, 显现一种明亮的粉红色, 其吸光度测定, 可提供一个敏感的细胞蛋白含量的数值, 以此来表现细胞抑制情况, 是近年来一种较新的筛选抗癌药物的方法。

[0159] SRB 试验具体操作如下: 取肺癌细胞 A549、胃癌细胞 AGS、结肠癌细胞 HT-29 和前列腺癌细胞 PC-3, 用 RPMI1640 培养基加 10% 新鲜小牛血清置于温度 37℃、CO₂ 含量 5% 的细胞培养箱孵育; 取肝癌细胞 HepG2, 用 MEM 培养基加 10% 新鲜小牛血清置于温度 37℃、CO₂ 含量 5% 的细胞培养箱孵育; 然后按照 10000 细胞 / 孔将 5 种癌细胞分别接种于 96 孔板在细胞培养箱中孵育 24 小时。设置不同药物浓度和空白对照, 每组设 3 个平行复孔。T₀ 时刻和 48 小时分别按照染色读数的标准规程用全波长酶标仪检测细胞染色情况。

[0160] 根据上述试验, 表 1 说明了本发明化合物对各种肿瘤细胞均有较强的抑制作用。

[0161] 表 1

[0162]

化合物编号	Percent of Growth % at 10 μ M				
	Lung, A549	Stomach, AGS	Liver, HepG2	Colon, HT-29	Prostate, PC-3
CS-001	59.14	35.34	28.86	64.55	54.35
CS-002	86.04	47.75	71.75	66.85	63.26
CS-004	89.61	80.77	111.41	120.99	88.71
CS-005	97.40	100.21	101.07	112.97	90.19
CS-006	115.97	83.89	87.10	119.54	90.19
CS-007	110.88	99.58	119.91	111.86	83.51
CS-008	95.98	97.89	117.14	109.63	84.06
CS-009	108.08	92.87	110.03	111.19	83.43
CS-010	95.39	31.01	37.10	92.70	67.68
CS-011	108.77	97.04	95.65	116.53	77.15
CS-012	108.04	107.08	101.13	115.06	86.70
CS-015	99.88	106.67	115.46	84.00	101.16
CS-016	94.25	106.79	124.44	107.62	99.07
CS-017	102.44	110.62	112.23	110.36	108.94
CS-019	104.77	108.53	116.06	109.73	94.90
CS-020	109.00	110.15	116.00	108.94	79.88
CS-021	109.55	108.90	109.64	100.00	108.31
CS-022	113.75	113.09	107.37	108.90	97.34
CS-041	116.77	102.11	113.04	94.11	107.35
CS-042	131.92	102.03	116.27	111.01	103.66
CS-013	51.49	26.20	51.13	75.53	30.87
CS-043	9.32	3.80	9.20	-2.84	7.81

[0163] 其中 CS-013 和 CS-043 分别为 Ascenta Therapeutics 公司开发的化合物 MI-219 和文献最新报道的 SJ-172550, 是公开报道的活性较好的阳性对照药。可以看出本专利所包含化合物达到已有阳性药报道的活性数量级, 有些化合物对于某种癌症有优于对照品的活性。

[0164] B 化合物对 HDM2 及 HDMX 分别于 p53 结合的抑制性试验。

[0165] 制备获得相应蛋白或信号标记肽段, 测定测定不同化合物抑制 HDM2 和 HDMX 分别与 p53 特异性结合的能力。

[0166] 克隆、表达、纯化获得 GST-HDM2 (amino acid 1-188) 和 GST-MDMX (amino acids 1-185) 的 p53 结合区域, 合成 p53 的相应结合肽段 (amino acids 15-29) 以及相应的突变肽段作为对照, 并以 FITC 标记作为检测信号。待测定化合物与一定量的克隆蛋白预孵育, 然后加入 FITC- 标记的 p53 结合肽段, 检测均相体系的荧光偏振信号, 检测信噪比 (S/N) > 5, 检测灵敏度达到皮摩尔 (pM)。

[0167] 荧光偏振反应体系为 20 μ L, 反应缓冲体系为 10mM Tris (pH 8.0), 42.5mM

NaCl, and 0.0125% Tween 20。WT-p53 肽为 :GSGSSQETFSDLWKLLPEN, 突变型 AAA-p53 肽为 :GSGSSQETFADLAKLAPEN。测定化合物抑制活性时, 小分子化合物 10 μ M 浓度与与 1 μ M GST-MDMX 或 GST-MDM2 孵育 30min, 然后加入 2.5nM FITC 标记肽段(或 15nM 德克萨斯红)共同孵育 45min。然后在 TECAN INFINITE 200 测定荧光偏振, 激发波长 480nm, 荧光偏振波长 535nm。以未标记的竞争性肽段和 Nutlin-3 和 SJ-172550 为阳性对照, 而甘氨酸取代的 p53 肽段(AAA-p53)为阴性对照。试验结果如表 2 所示。

[0168] 表 2

[0169]

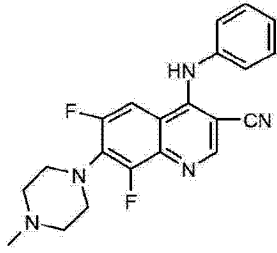
化合物	HDM2 (IC50, nM)	HDMX (IC50, nM)	化合物	HDM2 (IC50, nM)	HDMX (IC50, nM)
CS-001	30.7	2.7	CS-015	139	94.5
CS-002	156	--	CS-016	2341	21.4
CS-004	698.1	98	CS-017	28.7	51.2
CS-005	412	23.4	CS-019	181	6734
CS-006	44.8	8.9	CS-020	101.7	65.6
CS-007	112.4	50.9	CS-021	9.3	26.7
CS-008	12.7	48.7	CS-022	592.1	3790
CS-009	1689	32.9	CS-041	1008.6	-
CS-010	3130	--	CS-042	15.5	7.2
CS-011	444.9	5288	CS-003	18	5000
CS-012	7.14	5743	CS-013	1200	42

[0170] 其中 CS-003 和 CS-013 分别为 MI-219 和 SJ-172550, 是公开报道的活性较好的阳性对照药。可以看出本专利所包含化合物达到已有阳性药报道的活性数量级, 有些化合物有优于对照品的 10 倍以上的活性。

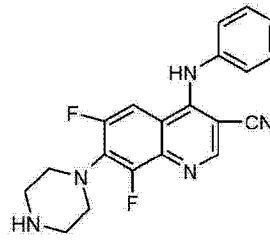
[0171] 表 1 和表 2 中所列化合物结构如下:

[0172]

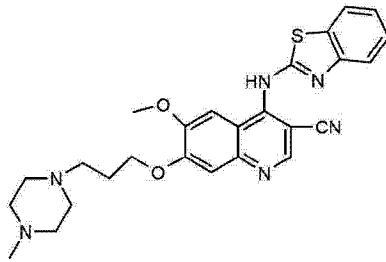
CS-001



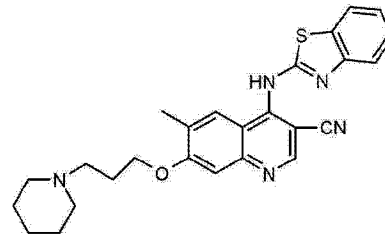
CS-002



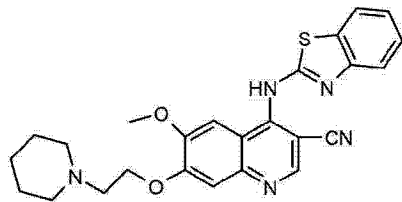
CS-004



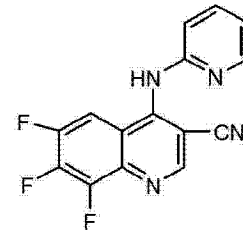
CS-005



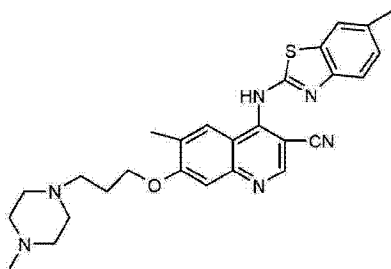
CS-007



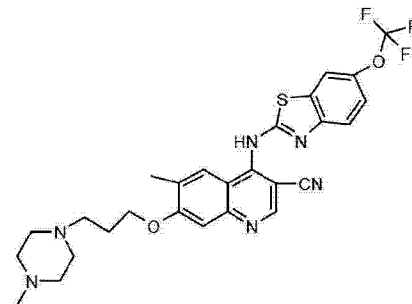
CS-006



CS-00 8



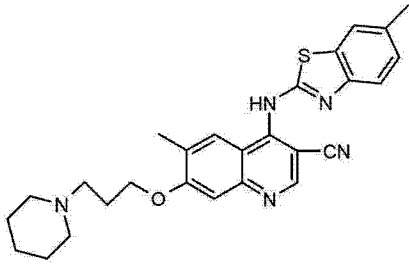
CS-00 9



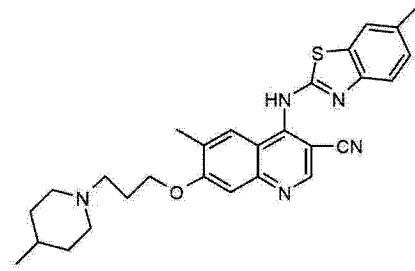
CS-010

[0173]

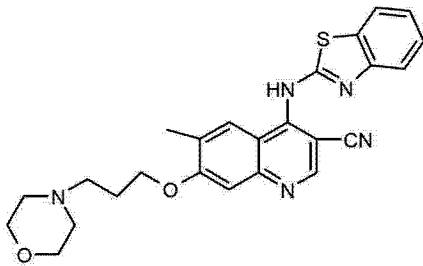
CS-011



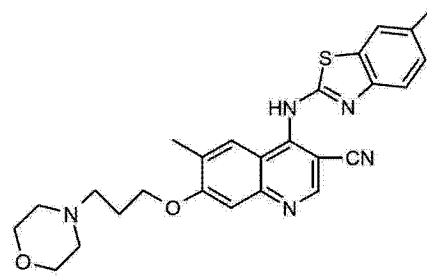
CS-012



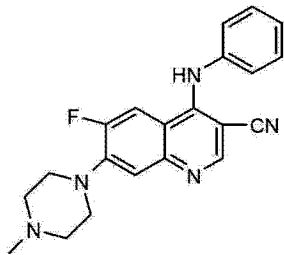
CS-015



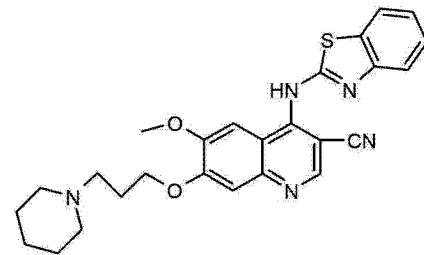
CS-016



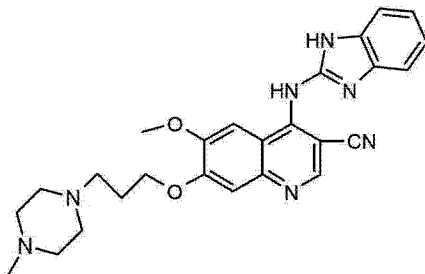
CS-017



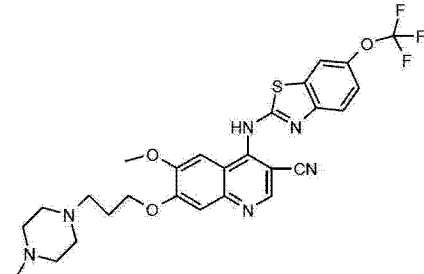
CS-019



CS-020

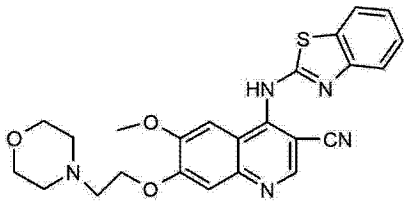


CS-021

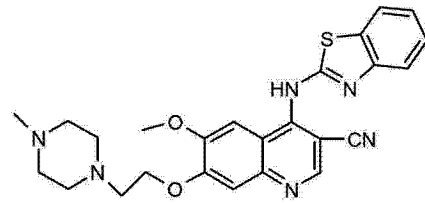


CS-022

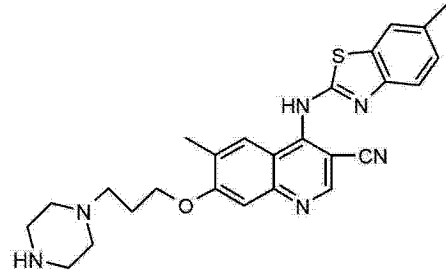
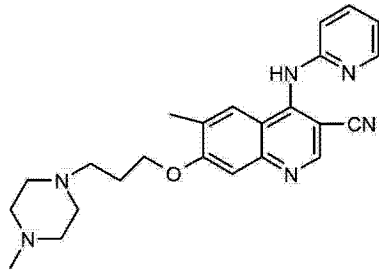
[0174]



CS-041



CS-042



[0175] 以上显示和描述了本发明的基本原理、主要特征和本发明的优点。本行业的技术人员应该了解,本发明不受上述实施例的限制,上述实施例和说明书中描述的只是说明本发明的原理,在不脱离本发明精神和范围的前提下本发明还会有各种变化和改进,这些变化和改进都落入要求保护的本发明范围内。本发明要求保护范围由所附的权利要求书及其等同物界定。