



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101747329 A

(43) 申请公布日 2010.06.23

(21) 申请号 200910265062.4

(22) 申请日 2009.12.31

(71) 申请人 四川大学

地址 610064 四川省成都市一环路南一段
24 号

(72) 发明人 杨胜勇 杨黎 赵瀛兰 余洛汀
魏于全

(74) 专利代理机构 成都和睿达专利代理事务所
(普通合伙) 51217

代理人 陶红

(51) Int. Cl.

C07D 417/12(2006.01)

C07D 409/12(2006.01)

A61K 31/517(2006.01)

A61K 31/5377(2006.01)

A61P 35/00(2006.01)

权利要求书 1 页 说明书 14 页 附图 2 页

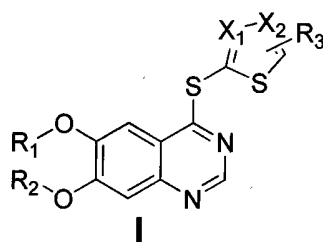
(54) 发明名称

一类 4- 芳硫基喹唑啉衍生物及制备方法和
医药用途

(57) 摘要

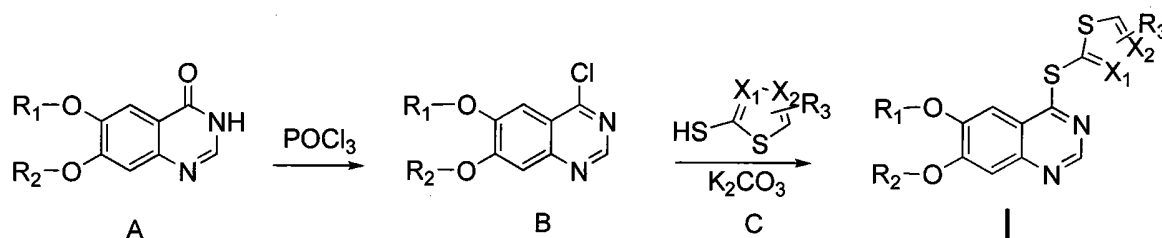
本发明公开了一类 4- 芳硫基喹唑啉新衍生物和其制备方法以及在制备治疗急性髓细胞白血病药物组合物中的用途,发明人经过研究发现 4- 芳硫基喹唑啉衍生物,具有很强的 FLT3 抑制活性,该制备方法具有反应步骤简短,所需原料试剂廉价易得,不需要柱层析纯化,整个过程只需 1 次重结晶,即可得到高纯度的目标产物。

1. 一种 4-芳硫基喹啉衍生物,其结构式如式 I 所示:



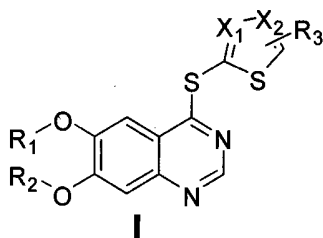
式中, R_1 为甲基、甲氧基乙基、N 取代的乙胺基或丙胺基, R_2 为甲基、甲氧基乙基。 $X_1 = X_2 = \text{CH}$ 时, R_3 为氢; $X_1 = \text{N}$, $X_2 = \text{CH}$ 时, R_3 为氢、甲基或 4- CH_3 -5- $\text{CH}_2\text{CONHR}_4$ (R_4 为取代或未取代的苯基或苄基); $X_1 = X_2 = \text{N}$ 时, R_3 为氢、5- NHCONHR_4 (R_4 为取代或未取代的苯基)。

2. 如权利要求 1 所述的衍生物 I 的制备方法,其反应方程式如下:



式中, R_1 为甲基、甲氧基乙基、N 取代的乙胺基或丙胺基, R_2 为甲基、甲氧基乙基。 $X_1 = X_2 = \text{CH}$ 时, R_3 为氢; $X_1 = \text{N}$, $X_2 = \text{CH}$ 时, R_3 为氢、甲基或 4- CH_3 -5- $\text{CH}_2\text{CONHR}_4$ (R_4 为取代或未取代的苯基或苄基); $X_1 = X_2 = \text{N}$ 时, R_3 为氢、5- NHCONHR_4 (R_4 为取代或未取代的苯基)。

3. 一种式 I 衍生物作为活性成分在制备用于治疗肿瘤的药物组合物的用途,其特征在于添加药学上可接受的辅助性成分制备而成:



式中, R_1 为甲基、甲氧基乙基、N 取代的乙胺基或丙胺基, R_2 为甲基、甲氧基乙基。 $X_1 = X_2 = \text{CH}$ 时, R_3 为氢; $X_1 = \text{N}$, $X_2 = \text{CH}$ 时, R_3 为氢、甲基或 4- CH_3 -5- $\text{CH}_2\text{CONHR}_4$ (R_4 为取代或未取代的苯基或苄基); $X_1 = X_2 = \text{N}$ 时, R_3 为氢、5- NHCONHR_4 (R_4 为取代或未取代的苯基)。

一类 4-芳硫基喹唑啉衍生物及制备方法和医药用途

技术领域

[0001] 本发明涉及治疗急性髓细胞白血病的一类新型的 4-芳硫基喹唑啉衍生物和其制备方法以及在制备治疗急性髓细胞白血病药物组合物中的用途。

背景技术

[0002] 急性髓细胞白血病 (AML) 是造血干细胞异常克隆增生导致的一种恶性肿瘤性疾病,是成人急性白血病中最常见的类型;其发病率高,据统计,我国 AML 的年发病率是 1.62/100000,近年来还有逐年上升的趋势。而据美国国立癌症研究所的最新统计表明,2001~2005 年美国 AML 的总体发病率为 3.6/100000,死亡率为 2.8/100000,中位发病年龄为 67 岁,65 岁以上患者发病率为 15.3/100000-18.1/100000。

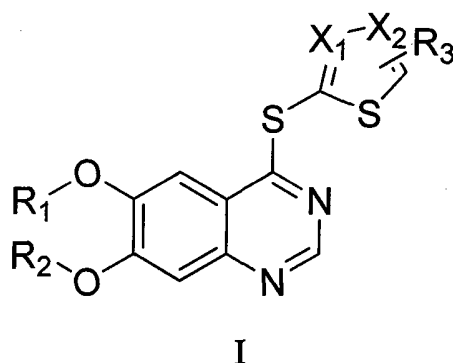
[0003] 化疗是 AML 的主要治疗手段,常用的化疗药物包括蒽环类药,例如柔红霉素,和核苷类似物,如氟拉达滨、Clofarabine、Sapacitabine 和 Troxacitabine 等。单药应用蒽环类药物治疗 AML,完全缓解率只有 30%~50%,如联合阿糖胞苷,可在一定程度上提高完全缓解率。但难治、复发、老年 AML 仍是当前临床治疗的难点。例外,传统的化疗药物靶向性差、毒性大。因此,特异性分子靶向化疗药物是未来治疗 AML 药物的发展方向。

[0004] FLT3 (Fms-like tyrosine kinase, FMS 样的酪氨酸激酶 3) 是一种受体酪氨酸激酶,它在造血干细胞的增殖和分化方面起着重要作用。近年来的分子生物学研究发现,大约三分之一的急性髓细胞白血病患者中,其造血干细胞出现 FLT3 突变或高表达。许多研究表明,具有 FLT3 突变的 AML 患者,易复发且预后差。目前,FLT3 已作为治疗 AML 的重要治疗靶点,其特异性抑制剂被认为是当前最有前景的治疗 AML 的分子靶向药物。

发明内容

[0005] 发明人经过研究发现 4-芳硫基喹唑啉衍生物,具有很强的 FLT3 抑制活性,其结构式如下:

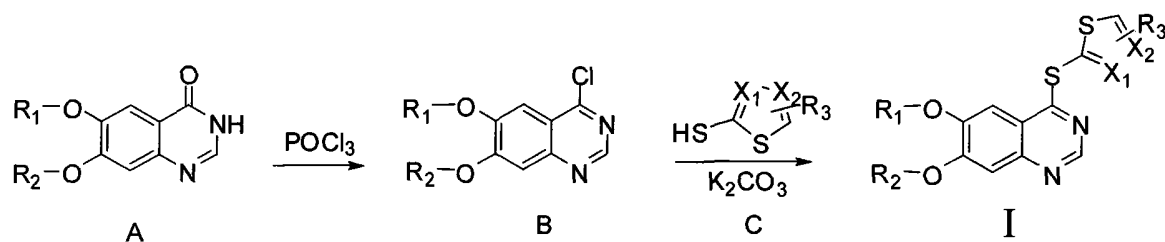
[0006]



[0007] 式中, R_1 为甲基、甲氧基乙基、N 取代的乙胺基或丙胺基, R_2 为甲基、甲氧基乙基。 $X_1 = X_2 = \text{CH}$ 时, R_3 为氢; $X_1 = \text{N}$, $X_2 = \text{CH}$ 时, R_3 为氢、甲基或 4- CH_3 -5- $\text{CH}_2\text{CONHR}_4$ (R_4 为取代或未取代的苯基或苄基); $X_1 = X_2 = \text{N}$ 时, R_3 为氢、5- NHCONHR_4 (R_4 为取代或未取代的苯基)。

[0008] 通用反应步骤如下：

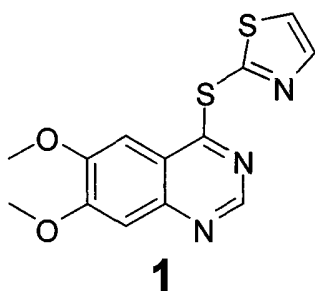
[0009]



[0010] 式中, R_1 为甲基、甲氧基乙基、N 取代的乙胺基或丙胺基, R_2 为甲基、甲氧基乙基。 $X_1 = X_2 = \text{CH}$ 时, R_3 为氢; $X_1 = \text{N}$, $X_2 = \text{CH}$ 时, R_3 为氢、甲基或 $4\text{-CH}_3\text{-5-CH}_2\text{CONHR}_4$ (R_4 为取代或未取代的苯基或苄基); $X_1 = X_2 = \text{N}$ 时, R_3 为氢、 5-NHCONHR_4 (R_4 为取代或未取代的苯基)。

[0011] 而发明人在研究中更进一步发现化合物 6,7-dimethoxy-4-(thiazol-2-ylthio)quinazoline (1), 该化合物对 FLT3 激酶具有很强的抑制作用, IC_{50} (半数抑制浓度) 为 7nM, 对 FLT3 突变的白血病细胞株 MV-4-11 和 RS-4-11 具有明显的抑制作用。该化合物的相对分子质量为 305.38, 为白色粉末, 水溶性较差, 可溶于二甲基亚砜 (DMSO) 及乙醇等溶剂。其结构式如下：

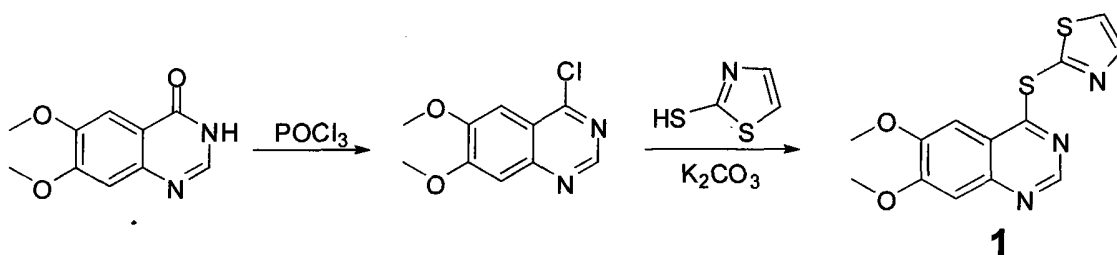
[0012]



[0013] 其化学名为: $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{N}_3\text{O}_2\text{S}_2$, 英文名: 6,7-dimethoxy-4-(thiazol-2-yl thio)quinazoline, 中文命名: 6,7-二甲氧基-4-(噻唑-2-硫基)喹唑啉。

[0014] 化合物 1 的制备方法为：

[0015]



[0016] 该制备方法优点在于: 反应步骤简短, 所需原料试剂廉价易得, 不需要柱层析纯化, 整个过程只需 1 次重结晶, 即可得到高纯度的目标产物。

[0017] 目前还没有关于该化合物和其它 4-芳硫基喹唑啉的衍生物的医药用途报道。

[0018] 本发明所要解决的第二个技术问题是提供一种抗肿瘤小分子靶向药物。发明人经过研究发现 4-芳硫基喹唑啉衍生物具有抑制 FLT3 激酶的活性, 特别是 6,7-dimethoxy-4-(thiazol-2-ylthio)quinazoline (1), 可用于制备治疗急性髓细胞白血病小分子靶向药物。

[0019] 抗肿瘤小分子靶向药物是以式 I 所示的 4- 芳硫基喹唑啉衍生物为主要活性成分添加药学上可接受的辅助性成分制备而成的。

[0020] 本发明的有益效果在于,创造性地通过体内外实验证明了 4- 芳硫基喹唑啉衍生物具有很好的抗肿瘤作用,能用于制备抗肿瘤药物组合物。为抗肿瘤药物制备领域提供了一种新的选择,具有很好的市场前景。

附图说明

[0021] 图 1 实施例 1 化合物对 FLT3 激酶的抑制活性随化合物浓度增高的变化

[0022] 图 2 实施例 1 化合物对不同的人肿瘤细胞株的增殖抑制作用随化合物浓度增高的变化

[0023] 图 3 实施例 10 化合物对不同的人肿瘤细胞株的增殖抑制作用随化合物浓度增高的变化

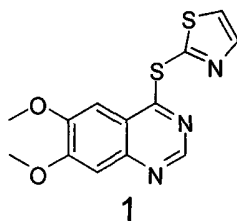
[0024] 图 4 实施例 16 化合物对不同的人肿瘤细胞株的增殖抑制作用随化合物浓度增高的变化

具体实施方式

[0025] 以下结合实施例对本发明进行更进一步阐述但不是对本发明的限制;凡基于本发明上述内容所实现的技术均属于本发明的范围。

[0026] 实施例 16, 7- 二甲氧基 -4-(噻唑 -2- 硫基) 喹唑啉的制备

[0027]



[0028] 制备 4- 芳硫基喹唑啉衍生物通用反应步骤如下 :

[0029] 1、将喹唑啉酮 A (48.5mmol) 与 POCl_3 (42ml, 458.8mmol) 搅拌回流反应 2 小时,待反应液冷至室温后倒入冰水中,用 20% NaOH 调 pH 至中性,加入二氯甲烷 (DCM) 萃取分液,有机相旋干得到白色固体 B,直接用于下一步反应。

[0030] 2、室温搅拌下,向 C (2.8mmol) 的丁酮 (30ml) 悬浮液中加入 K_2CO_3 (8.0mmol),室温下搅拌反应 10 分钟,再加入 B (2.7mmol),升温至 80-85℃ 反应 4 小时,冷却反应液,用水和二氯甲烷 (DCM) 萃取分液,旋干有机层得到 4- 芳硫基喹唑啉衍生物初产品。用乙醇 (30ml) 重结晶得到纯品。

[0031] 按制备 4- 芳硫基喹唑啉衍生物通用反应步骤的方法,其中 A 为 6,7- 二甲氧基喹唑啉 -4- 酮,C 为 2- 硫基噻唑,制得粗品 (1) 810mg,粗品产率为 99.3%。用乙醇 (30ml) 重结晶得到 700mg,重结晶产率 85.8%。

[0032] ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : δ 8.88 (s, 1H), 8.06 (d, $J = 3.2\text{Hz}$, 1H), 8.03 (d, $J = 3.2\text{Hz}$, 1H), 7.40 (s, 1H), 7.29 (s, 1H), 4.00 (s, 6H) ppm ;

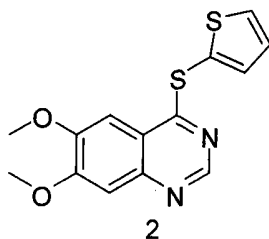
[0033] ^{13}C NMR (100MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : δ 162.4, 156.1, 153.8, 151.6, 150.5, 146.0, 143.0,

125. 3, 117. 4, 107. 1, 100. 7, 56. 3, 56. 1ppm ;

[0034] ESI-MS(m/z , %) 306. 1 ($M+H$)⁺。

[0035] 实施例 26, 7-二甲氧基-4-(噻吩-2-硫基)喹唑啉的制备

[0036]



[0037] 按制备 4-芳硫基喹唑啉衍生物通用反应步骤的方法, 其中 A 为 6, 7-二甲氧基喹唑啉-4-酮, C 为 2-巯基噻吩, 制得粗品 (2) 410mg, 产率为 92. 0%。用乙醇重结晶得到 360mg, 重结晶产率 80. 5%。

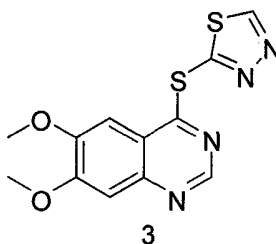
[0038] ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) : δ 8. 74(s, 1H), 7. 95(d, J = 5. 2Hz, 1H), 7. 47(d, J = 3. 6Hz, 1H), 7. 35(s, 1H), 7. 31(s, 1H), 7. 25(t, J = 4. 4Hz, 1H), 3. 99(s, 6H) ppm ;

[0039] ¹³C NMR(100MHz, DMSO-d₆) : δ 165. 6, 155. 8, 152. 2, 150. 3, 145. 8, 137. 7, 133. 9, 128. 2, 123. 3, 117. 4, 107. 0, 100. 6, 56. 2, 56. 0ppm ;

[0040] ESI-MS(m/z , %) 305. 0 ($M+H$)⁺。

[0041] 实施例 3 6, 7-二甲氧基-4-(1, 3, 4-噻二唑-2-硫基)喹唑啉的制备

[0042]



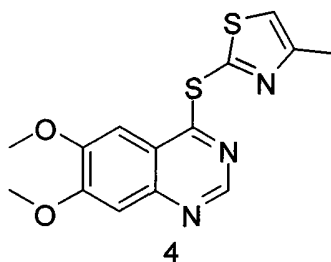
[0043] 按制备 4-芳硫基喹唑啉衍生物通用反应步骤的方法, 其中 A 为 6, 7-二甲氧基喹唑啉-4-酮, C 为 2-巯基-1, 3, 4-噻二唑, 制得粗品 (3) 350mg, 产率为 85. 5%。用乙醇重结晶得到 200mg, 重结晶产率 48. 9%。

[0044] ¹H NMR(400MHz, CDCl₃) : δ 9. 33(s, 1H), 8. 97(s, 1H), 7. 37(s, 1H), 7. 23(s, 1H), 4. 09(d, J = 5. 6Hz, 6H) ppm ;

[0045] ESI-MS(m/z , %) 307. 2 ($M+H$)⁺。

[0046] 实施例 46, 7-二甲氧基-4-(4-甲基噻唑-2-硫基)喹唑啉的制备

[0047]



[0048] 按制备 4-芳硫基喹唑啉衍生物通用反应步骤的方法, 其中 A 为 6, 7-二甲氧基喹

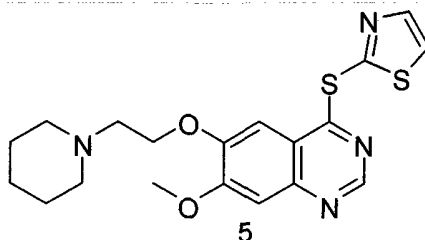
唑啉-4-酮, C 为 4-甲基-2-巯基噻唑, 制得粗品 (4) 300mg, 产率为 82.2%。用乙醇重结晶得到 150mg, 重结晶产率 41.9%。

[0049] ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) : δ 8.88 (s, 1H), 7.29 (s, 1H), 7.24 (s, 1H), 7.15 (d, $J = 1.2\text{Hz}$, 1H), 4.05 (s, 6H), 2.53 (d, $J = 0.8\text{Hz}$, 3H) ppm ;

[0050] ESI-MS (m/z , %) 318.3 ($M+H$) $^+$ 。

[0051] 实施例 5 7-甲氧基-6-(2-哌啶乙氧基)-4-(噻唑-2-巯基)喹唑啉的制备

[0052]



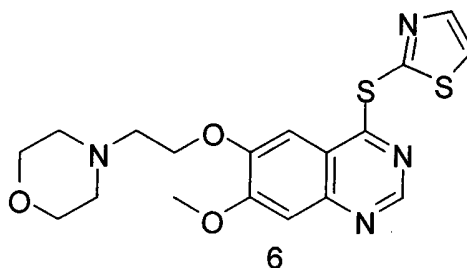
[0053] 按制备 4-芳硫基喹唑啉衍生物通用反应步骤的方法, 其中 A 为 7-甲氧基-6-(2-(1-哌啶基)乙氧基)喹唑啉-4-酮, C 为 2-巯基噻唑, 制得固体 (5) 187mg, 总产率为 54.2%。

[0054] ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : δ 8.88 (s, 1H), 8.06 (d, $J = 3.2\text{Hz}$, 1H), 8.03 (d, $J = 3.2\text{Hz}$, 1H), 7.40 (s, 1H), 7.38 (s, 1H), 4.31 (t, $J = 6.0\text{Hz}$, 2H), 4.00 (s, 3H), 2.75 (t, $J = 5.8\text{Hz}$, 2H), 2.48 (broad, 3H), 1.84 (s, 1H), 1.50-1.55 (m, 4H), 1.39-1.40 (m, 2H) ppm ;

[0055] ESI-MS (m/z , %) 403.03 ($M+H$) $^+$ 。

[0056] 实施例 6 7-甲氧基-6-(2-吗啉乙氧基)-4-(噻唑-2-巯基)喹唑啉的制备

[0057]



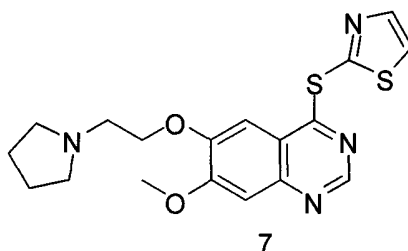
[0058] 按制备 4-芳硫基喹唑啉衍生物通用反应步骤的方法, 其中 A 为 7-甲氧基-6-(2-吗啉基乙氧基)喹唑啉-4-酮, C 为 2-巯基噻唑, 得到固体 (6) 100mg, 总产率为 36.8%。

[0059] ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : δ 8.88 (s, 1H), 8.06 (d, $J = 3.6\text{Hz}$, 1H), 8.03 (d, $J = 3.2\text{Hz}$, 1H), 7.40 (s, 1H), 7.36 (s, 1H), 4.33 (t, $J = 5.8\text{Hz}$, 2H), 4.00 (s, 3H), 3.61 (t, $J = 4.4\text{Hz}$, 4H), 2.80 (t, $J = 5.8\text{Hz}$, 2H), 2.51 (t, $J = 1.8\text{Hz}$, 4H) ppm ;

[0060] ESI-MS (m/z , %) 405.01 ($M+H$) $^+$ 。

[0061] 实施例 7 7-甲氧基-6-(2-吡咯烷乙氧基)-4-(噻唑-2-巯基)喹唑啉的制备

[0062]



[0063] 按制备 4-芳硫基喹唑啉衍生物通用反应步骤的方法,其中 A 为 7-甲氧基-6-(2-(1-四氢吡咯基)乙氧基)喹唑啉-4-酮, C 为 2-巯基噻唑

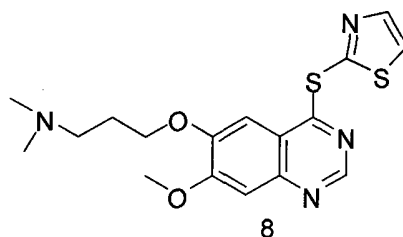
[0064] 按照实施例 1 相同方法,得到固体 (7) 92mg,总产率为 42.0%。

[0065] ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : δ 8.88 (s, 1H), 8.06 (d, $J = 3.2\text{Hz}$, 1H), 8.03 (d, $J = 3.2\text{Hz}$, 1H), 7.41 (s, 1H), 7.36 (s, 1H), 4.31 (t, $J = 5.6\text{Hz}$, 2H), 4.01 (s, 3H), 2.91 (t, $J = 5.6\text{Hz}$, 2H), 2.59 (s, 4H), 1.71 (s, 4H) ppm ;

[0066] ESI-MS (m/z , %) 388.99 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 。

[0067] 实施例 87-甲氧基-6-(3-(N,N-二甲基)丙氧基)-4-(噻唑-2-巯基)喹唑啉的制备

[0068]



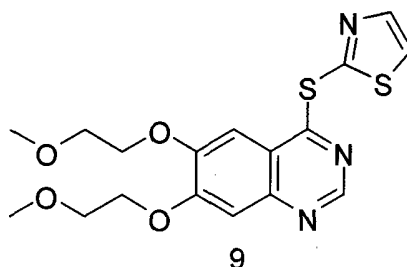
[0069] 按制备 4-芳硫基喹唑啉衍生物通用反应步骤的方法,其中 A 为 6-(3-二甲氨基丙氧基)-7-甲氧基喹唑啉-4-酮, C 为 2-巯基噻唑,得到固体 (8) 90mg,总产率为 46.0%。

[0070] ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) : δ 8.87 (s, 1H), 8.06 (d, $J = 3.2\text{Hz}$, 1H), 8.03 (d, $J = 3.2\text{Hz}$, 1H), 7.39 (s, 1H), 7.28 (s, 1H), 4.22 (t, $J = 6.6\text{Hz}$, 2H), 4.01 (s, 3H), 2.41 (t, $J = 7.0\text{Hz}$, 2H), 2.18 (s, 6H), 1.96 (m, $J = 6.8\text{Hz}$, 2H) ppm ;

[0071] ESI-MS (m/z , %) 376.99 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 。

[0072] 实施例 96,7-二(2-甲氧基乙氧基)-4-(噻唑-2-巯基)喹唑啉的制备

[0073]



[0074] 按制备 4-芳硫基喹唑啉衍生物通用反应步骤的方法,其中 A 为 6,7-二甲氧乙氧基喹唑啉-4-酮, C 为 2-巯基噻唑,制得粗品 (9) 200mg,产率为 74.5%。用乙醇重结晶得到 135mg,重结晶产率 50.5%。

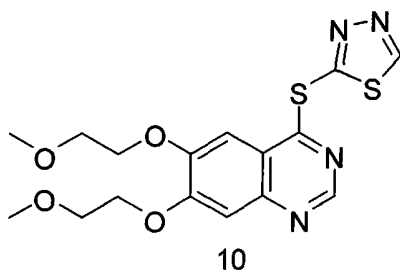
[0075] ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) : δ 8.89 (s, 1H), 7.97 (d, $J = 3.2\text{Hz}$, 1H), 7.61 (d, $J =$

3.2Hz, 1H), 7.33(s, 1H), 4.33(m, $J = 2.2\text{Hz}$, 4H), 3.89(m, $J = 4.4\text{Hz}$, 4H), 3.50(d, $J = 7.6\text{Hz}$, 6H) ppm;

[0076] ESI-MS (m/z , %) 393.89 ($M+H$)⁺.

[0077] 实施例 106, 7-二(2-甲氧基乙氧基)-4-(1,3,4-噻二唑-2-巯基)喹唑啉的制备

[0078]



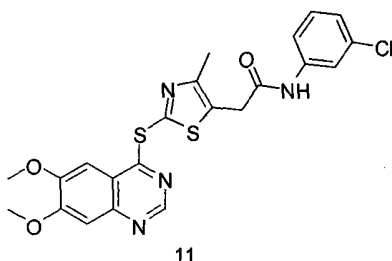
[0079] 按制备 4-芳硫基喹唑啉衍生物通用反应步骤的方法, 其中 A 为 6,7-二甲氧基喹唑啉-4-酮, C 为 2-巯基-1,3,4-噻二唑, 制得粗品 (10) 300mg, 产率为 79.3%。用乙醇重结晶得到 165mg, 重结晶产率 43.6%。

[0080] ¹H NMR (400MHz, CDCl₃): δ 9.86(s, 1H), 8.94(s, 1H), 7.46(s, 1H), 7.40(s, 1H), 4.38(q, $J = 4.4\text{Hz}$, 4H), 3.78(q, $J = 4.8\text{Hz}$, 4H), 3.37(d, $J = 7.6\text{Hz}$, 6H) ppm;

[0081] ESI-MS (m/z , %) 417.08 ($M+Na$)⁺.

[0082] 实施例 112-(4-(6,7-二甲氧基喹唑啉)巯基)-4-甲基噻唑-5-(N-(3-氯苯基))乙酰胺的制备

[0083]



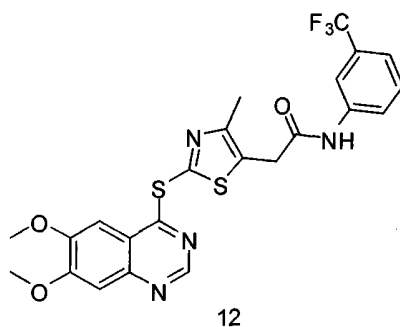
[0084] 按制备 4-芳硫基喹唑啉衍生物通用反应步骤的方法, 其中 A 为 6,7-二甲氧基喹唑啉-4-酮, C 为 N-(3-氯苯基)-2-(2-巯基-4-甲基噻唑-5-基)乙酰胺, 得到目标产品 (11) 167mg, 产率为 51.8%。

[0085] ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): δ 10.52(s, 1H), 8.86(s, 1H), 7.82(s, 1H), 7.45(d, $J = 8.4\text{Hz}$, 1H), 7.34-7.39(m, 2H), 7.29(s, 1H), 7.13(d, $J = 7.6\text{Hz}$, 1H), 4.00(s, 8H), 2.39(s, 3H) ppm;

[0086] ESI-MS (m/z , %) 485.00 ($M-H$)⁻.

[0087] 实施例 12 2-(4-(6,7-二甲氧基喹唑啉)巯基)-4-甲基噻唑-5-(N-(3-三氟甲基苯基))乙酰胺的制备

[0088]



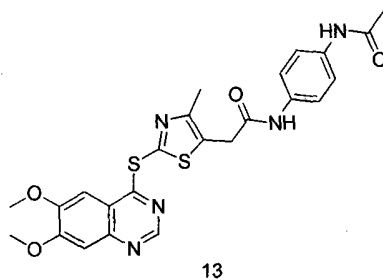
[0089] 按制备 4-芳硫基喹唑啉衍生物通用反应步骤的方法,其中 A 为 6,7-二甲氧基喹唑啉-4-酮,C 为 2-(2-巯基-4-甲基噻唑-5-基)-N-(3-三氟甲基苯基)乙酰胺,得到产品 (12) 153mg,产率为 44.5%。

[0090] ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) : δ 10.67(s, 1H), 8.87(s, 1H), 8.11(s, 1H), 7.78(d, J = 7.6Hz, 1H), 7.58(t, J = 8.0Hz, 1H), 7.40-7.44(m, 2H), 7.29(s, 1H), 4.04(s, 2H), 4.00(s, 6H), 2.40(s, 3H) ppm ;

[0091] ESI-MS(m/z, %) 519.00 (M-H) $^-$ 。

[0092] 实施例 13 2-(4-(6,7-二甲氧基喹唑啉)硫基)-4-甲基噻唑-5-(N-(4-乙酰苯氨基))乙酰胺的制备

[0093]



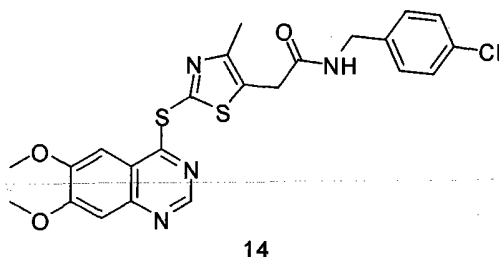
[0094] 按制备 4-芳硫基喹唑啉衍生物通用反应步骤的方法,其中 A 为 6,7-二甲氧基喹唑啉-4-酮,C 为 N-(4-乙酰胺基苯基)-2-(2-巯基-4-甲基噻唑-5-基)乙酰胺,得到产品 (13) 232mg,产率为 57.0%。

[0095] ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) : δ 10.27(s, 1H), 9.90(s, 1H), 8.86(s, 1H), 7.51(s, 4H), 7.39(s, 1H), 7.28(s, 1H), 4.00(s, 6H), 3.96(s, 2H), 2.40(s, 3H), 2.02(s, 3H) ppm ;

[0096] ESI-MS(m/z, %) 508.00 (M-H) $^-$ 。

[0097] 实施例 14 2-(4-(6,7-二甲氧基喹唑啉)硫基)-4-甲基噻唑-5-(N-(4-氯苄胺基))乙酰胺的制备

[0098]



[0099] 按制备 4-芳硫基喹唑啉衍生物通用反应步骤的方法,其中 A 为 6,7-二甲氧基

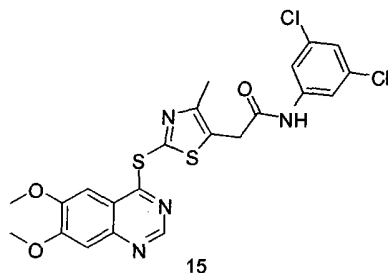
喹唑啉-4-酮, C 为 N-(4-氯苄基)-2-(2-巯基-4-甲基噻唑-5-基)乙酰胺, 得到产品 (14) 153mg, 产率为 48.0%。

[0100] ^1H NMR (400MHz, DMSO-d_6) : δ 8.85 (s, 1H), 8.77 (s, 1H), 7.39 (d, $J = 7.2\text{Hz}$, 3H), 7.30 (d, $J = 8.0\text{Hz}$, 3H), 4.30 (d, $J = 4.8\text{Hz}$, 2H), 4.00 (s, 6H), 3.81 (s, 2H), 2.35 (s, 3H) ppm ;

[0101] ESI-MS (m/z , %) 500.96 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 。

[0102] 实施例 152-(4-(6,7-二甲氧基喹唑啉)巯基)-4-甲基噻唑-5-(N-(3,5-二氯苄基))乙酰胺的制备

[0103]



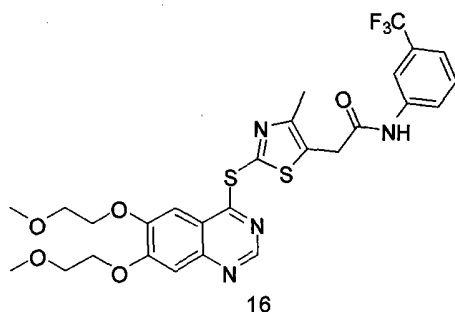
[0104] 按制备 4-芳硫基喹唑啉衍生物通用反应步骤的方法, 其中 A 为 6,7-二甲氧基喹唑啉-4-酮, C 为 N-(3,5-二氯苄基)-2-(2-巯基-4-甲基噻唑-5-基)乙酰胺, 得到产品 (15) 110mg, 产率为 32.3%。

[0105] ^1H NMR (400MHz, DMSO-d_6) : δ 10.68 (s, 1H), 8.87 (s, 1H), 7.67 (s, 2H), 7.40 (s, 1H), 7.30 (d, $J = 8.4\text{Hz}$, 2H), 4.01 (d, $J = 7.6\text{Hz}$, 8H), 3.96 (s, 2H), 2.39 (s, 3H) ppm ;

[0106] ESI-MS (m/z , %) 520.91 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 。

[0107] 实施例 16 2-(4-(6,7-二(2-甲氧基乙氧基)喹唑啉)巯基)-4-甲基噻唑-5-(N-(3-三氟甲基苄基))乙酰胺的制备

[0108]



[0109] 按制备 4-芳硫基喹唑啉衍生物通用反应步骤的方法, 其中 A 为 6,7-二甲氧乙氧基喹唑啉-4-酮, C 为 2-(2-巯基-4-甲基噻唑-5-基)-N-(3-三氟甲基苄基)乙酰胺, 得到产品 (16) 119mg, 产率为 36.8%。

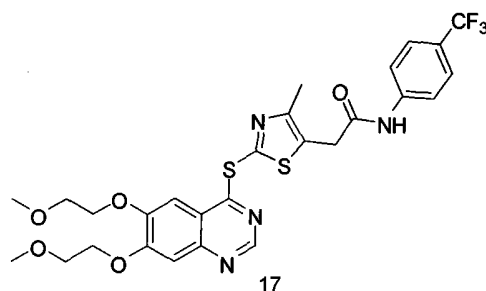
[0110] ^1H NMR (400MHz, DMSO-d_6) : δ 10.67 (s, 1H), 8.86 (s, 1H), 8.11 (s, 1H), 7.78 (d, $J = 8.0\text{Hz}$, 1H), 7.58 (t, $J = 8.0\text{Hz}$, 1H), 7.43 (d, $J = 6.8\text{Hz}$, 2H), 7.35 (s, 1H), 4.36 (t, $J = 2.2\text{Hz}$, 4H), 4.03 (s, 2H), 3.77 (q, $J = 2.2\text{Hz}$, 4H), 3.36 (d, $J = 5.6\text{Hz}$, 6H), 2.40 (s, 3H) ppm ;

[0111] ESI-MS (m/z , %) 607.22 ($\text{M}-\text{H}$) $^-$ 。

[0112] 实施例 17 2-(4-(6,7-二(2-甲氧基乙氧基)喹唑啉)巯基)-4-甲基噻

唑-5-(N-(4-三氟甲基苯基))乙酰胺的制备

[0113]



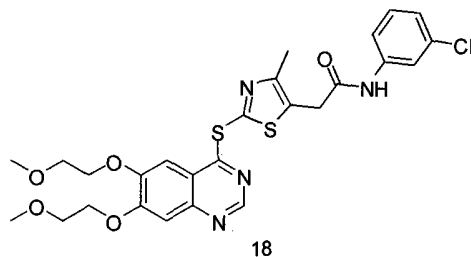
[0114] 按制备 4-芳硫基喹唑啉衍生物通用反应步骤的方法,其中 A 为 6,7-二甲氧乙氧基喹唑啉-4-酮, C 为 2-(2-巯基-4-甲基噻唑-5-基)-N-(4-三氟甲基苯基)乙酰胺,得到产品 (17) 160mg,产率为 49.0%。

[0115] ^1H NMR (400MHz, DMSO-d_6) : δ 10.69 (s, 1H), 8.85 (s, 1H), 7.82 (d, $J = 8.4\text{Hz}$, 2H), 7.70 (d, $J = 8.8\text{Hz}$, 2H), 7.42 (s, 2H), 7.35 (s, 1H), 4.36 (d, $J = 4.4\text{Hz}$, 4H), 4.05 (s, 2H), 3.77 (q, $J = 4.0\text{Hz}$, 4H), 3.36 (d, $J = 6.0\text{Hz}$, 6H), 2.40 (s, 3H) ppm ;

[0116] ESI-MS (m/z , %) 607.22 (M-H^-).

[0117] 实施例 18 2-(4-(6,7-二(2-甲氧基乙氧基)喹唑啉)硫基)-4-甲基噻唑-5-(N-(3-氯苯基))乙酰胺的制备

[0118]



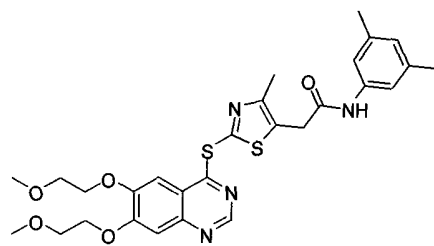
[0119] 按制备 4-芳硫基喹唑啉衍生物通用反应步骤的方法,其中 A 为 6,7-二甲氧乙氧基喹唑啉-4-酮, C 为 2-(2-巯基-4-甲基噻唑-5-基)-N-(3-氯苯基)乙酰胺,得到产品 (18) 200mg,产率为 62.3%。

[0120] ^1H NMR (400MHz, DMSO-d_6) : δ 10.52 (s, 1H), 8.85 (s, 1H), 7.82 (t, $J = 1.8\text{Hz}$, 1H), 7.42-7.46 (m, 2H), 7.38 (s, 1H), 7.34-7.36 (m, 1H), 7.13 (dd, $J = 0.8\text{Hz}$, 1H), 4.35 (m, $J = 2.9\text{Hz}$, 4H), 4.01 (s, 2H), 3.77 (m, $J = 3.2\text{Hz}$, 4H), 3.36 (d, $J = 6.0\text{Hz}$, 6H), 2.39 (s, 3H) ppm ;

[0121] ESI-MS (m/z , %) 573.02 (M-H^-).

[0122] 实施例 19 2-(4-(6,7-二(2-甲氧基乙氧基)喹唑啉)硫基)-4-甲基噻唑-5-(N-(3,5-二甲苯基))乙酰胺的制备

[0123]



19

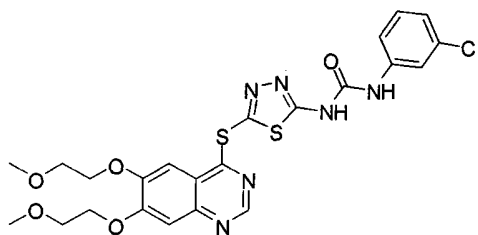
[0124] 按制备 4-芳硫基喹唑啉衍生物通用反应步骤的方法,其中 A 为 6,7-二甲氧乙氧基喹唑啉-4-酮, C 为 2-(2-巯基-4-甲基噻唑-5-基)-N-(3,5-二甲基苯基)乙酰胺,得到产品 (19) 210mg,产率为 68.6%。

[0125] ^1H NMR (400MHz, DMSO-d_6) : δ 10.17 (s, 1H), 8.85 (s, 1H), 7.42 (s, 2H), 7.35 (s, 1H), 7.22 (s, 2H), 6.71 (s, 1H), 4.36 (d, $J = 4.0\text{Hz}$, 4H), 3.96 (s, 2H), 3.77 (d, $J = 4.0\text{Hz}$, 4H), 3.36 (d, $J = 6.0\text{Hz}$, 6H), 2.39 (s, 3H), 2.23 (s, 6H) ppm ;

[0126] ESI-MS (m/z , %) 567.02 (M-H^-)。

[0127] 实施例 20 2-(4-(6,7-二(2-甲氧基乙氧基)喹唑啉)硫基)-5-(N-(3-氯苯基)脲)噻二唑的制备

[0128]



20

[0129] 按制备 4-芳硫基喹唑啉衍生物通用反应步骤的方法,其中 A 为 6,7-二甲氧乙氧基喹唑啉-4-酮, C 为 1-(3-氯苯基)-3-(5-巯基-1,3,4-噻二唑-2-基)脲,得到产品 (20) 85mg,产率为 15.7%。

[0130] ^1H NMR (400MHz, DMSO-d_6) : δ 11.41 (s, 1H), 9.34 (s, 1H), 8.89 (s, 1H), 7.73 (s, 1H), 7.45 (s, 1H), 7.38 (broad, 3H), 7.14 (s, 1H), 4.38 (d, $J = 4.4\text{Hz}$, 4H), 3.78 (q, $J = 4.8\text{Hz}$, 4H), 3.37 (d, $J = 7.6\text{Hz}$, 6H) ppm ;

[0131] ESI-MS (m/z , %) 563.00 (M-H^-)。

[0132] 实施例 21 化合物 1 的 FLT3 激酶抑制活性检测实验

[0133] 1、实验方法

[0134] 将化合物 1 以梯度浓度溶解在 100% 的 DMSO 中作为待测样本,接着,把不同浓度的待测样本和 5-10mU 的 FLT3 (人源) 混合在 25u1 工作液中 (工作液成分: 8mM MOPS、0.2mM EDTA, 50 μM EAIYAAPFAKKK (短肽), pH7.0)。震荡混匀后,加入 $\text{Mg}[\gamma\text{-}^{33}\text{P-ATP}]$ 复合物后开始反应。在室温下孵育 40 分钟,加入 3% 的磷酸溶液终止反应,再将反应液滴在 P30 滤膜垫上,并用 75mM 磷酸溶液洗脱三次 (每次 5 分钟)。最后,用甲醇浸洗后晾干并进行放射性闪烁计数检测。检测结果见表 1 和图 1。

[0135] 2. 结果

[0136] 表 1 化合物 1 对 FLT3 及其它常见激酶的抑制活性 (IC_{50})

[0137]

激酶	IC ₅₀ (nM)	激酶	IC ₅₀ (nM)
FLT3	7	Lck	> 10000
KIT	> 10000	Met	> 10, 000
FMS	10, 180	RAF1	> 10, 000
PDGFR	> 10, 000	Syk	> 10000
PDGFR	> 10, 000	Pim-1	> 10, 000
FLT1	9, 046	PLK1	> 10, 000
KDR	5880	PLK3	> 10, 000
FLT4	3, 548	EGFR	> 10000
AuroraA	3874	CDK1	> 10000
AuroraB	993	CDK2	> 10000
IGF-1R	> 10000	CHK1	> 10000

[0138]

[0139] 表 1 中活性数据表明, 化合物 1 对 FLT3 的半数抑制浓度 (IC₅₀) 7nM, 对其它常见激酶的抑制活性较低或几乎没有活性 (IC₅₀ > 10000nM)。通过图 1 还进一步表明, 随着药物浓度增大, 化合物 1 对 FLT3 的抑制活性越明显, 具有明显的剂量依赖性。

[0140] 实施例 224- 芳硫基噻唑啉衍生物的体外肿瘤细胞增殖抑制实验

[0141] 1、实验材料

[0142] 1.1 主要试剂

[0143] RPMI-1640、DMEM、胎牛血清、胰酶等购自 Gibco BRL 公司 (Invitrogen Corporation, USA), IMDM 培养基购自 ATCC (American Type Culture Collection)。溴化噻唑蓝四唑 (MTT)、二甲基亚砜 (DMSO) 为 Sigma 公司 (USA) 产品。4- 芳硫基噻唑啉系列衍生物由发明人合成, 体外实验时用 100% DMSO 配制成 20mg/ml 储存液, 置 -20℃ 冰箱避光保存备用, 临用时用完全培养液稀释至所需浓度。

[0144] 1.2 细胞系及培养

[0145] 本实验所用的人肝癌细胞株 (HepG2)、人前列腺癌细胞株 (PC-3)、人肺癌细胞株 (A549)、人结肠癌细胞株 (HCT-116)、人慢性髓性白血病细胞株 (K562)、人乳腺癌细胞株 (MCF-7)、人单核细胞白血病细胞株 (Raji)、人恶性黑色素瘤细胞株 (A375)、人急性髓性白血病细胞株 (MV4-11) 均购于美国 ATCC 公司, 由本实验室保存。

[0146] 人肝癌细胞株 (HepG2)、人前列腺癌细胞株 (PC-3)、人结肠癌细胞株 (HCT-116) 和

人乳腺癌细胞株 (MCF-7) 用含 10% 胎牛血清、100U/ml 青霉素、100 μg/ml 链霉素的 DMEM 完全培养基在 5% CO₂、37℃ 条件下培养。人肺癌细胞株 (A549)、人慢性髓性白血病细胞株 (K562)、人单核细胞白血病细胞株 (Raji) 和人恶性黑色素瘤细胞株 (A375) 用含 10% 胎牛血清、100U/ml 青霉素、100 μg/ml 链霉素的 RPMI-1640 完全培养基在 5% CO₂、37℃ 条件下。人急性髓性白血病细胞株 (MV4-11) (注: MV4-11 是 FLT3-ITD 突变细胞株, 其他细胞株均无 FLT3-ITD 突变) 用含 10% 胎牛血清、100U/ml 青霉素、100 μg/ml 链霉素的 IMDM 完全培养基在 5% CO₂、37℃ 条件下。

[0147] 2 实验方法和结果

[0148] 2.1 实验方法 (MTT 法)

[0149] 用完全培养液调整细胞浓度为 $1-2 \times 10^4$ 个 /ml 的细胞悬液, 接种于 96 孔板, 每孔 200 μl 细胞悬液, 培养过夜, 次日分别用梯度浓度的 4- 芳硫基喹唑啉衍生物处理细胞 (对于悬浮细胞直接用含不同浓度化合物的培养基混悬细胞, 且其细胞初始浓度是贴壁细胞的 3-10 倍), 同时设不含药物的阴性对照组和等体积的溶剂对照组, DMSO 浓度为 0.1%, 每个剂量组设 3 个复孔, 在 37℃, 5% CO₂ 条件下培养。48 小时后, 每孔加入 5mg/ml MTT 试剂 20 μl, 继续培养 2-4h, 弃上清, 再加 DMSO 150 μL, 振荡混匀 15min, 用酶标仪 (λ = 570nm) 测定吸光度 (A) 值 (A 值与活细胞数成正比), 取其平均值。相对细胞增殖抑制率 = (对照组 A570 - 实验组 A570) / 对照组 A 570 × 100%。实验至少重复 3 次。实验数据用均数表示, 数据统计资料采用 t 检验, P < 0.05 为差异有统计学意义。以下各化合物对细胞增殖抑制作用均用 IC₅₀ 或抑制率表示。检测结果见表 2 和图 2、图 3 及图 4。

[0150] 2.2 实验结果

[0151] 表 2 实施例 1-20 的化合物在不同肿瘤细胞株上的对细胞增殖抑制作用

人肿瘤细胞株	MV4-11	A549	HCT116	K562	PC-3	HEPG2
肿瘤类型	AML 细胞	肺癌	结肠癌	CML	前列腺癌	肝癌
实施例	半数抑制浓度 (IC ₅₀ μM)					
[0152] 1	1.8	>10	>10	>10	>10	>10
2	2.7	>10	>10	>10	>10	>10
3	<2	>10	>10	>10	>10	>10
4	<2	>10	>10	>10	>10	>10

[0153]

5	0.3	>10	>10	>10	7.2	5.7
6	1.5	>10	>10	>10	>10	>10
7	0.6	>10	6.2	9	8.7	4.6
8	2.5	>10	>10	>10	8.9	7.1
9	1.2	>10	>10	>10	>10	>10
10	0.3	2.1	4.2	3.2	3.1	2.2
11	0.4	>10	>10	>10	>10	>10
12	0.4	>10	>10	>10	>10	>10
13	>10	>10	>10	>10	>10	>10
14	>10	>10	>10	>10	>10	>10
15	3.0	>10	>10	>10	>10	>10
16	0.07	>10	>10	>10	>10	>10
17	<1	>10	>10	>10	>10	>10
18	0.17	>10	>10	>10	>10	>10
19	0.6	>10	>10	>10	>10	>10
20	<1	>10	>10	>10	>10	>10

[0154] 实验结果显示,化合物 1-20 中大部分对 FLT3 突变高表达的细胞株 MV4-11 有明显的生长抑制, IC_{50} 一般在 2M 以下。而它们对其它五种肿瘤细胞株的抑制作用较弱或无抑制活性,表明这些化合物对 FLT3 突变高表达的细胞株 MV4-11 有选择性抑制作用。通过图 2、图 3、图 4 还进一步表明,随着药物浓度增大,细胞增殖抑制越明显,且明显对 FLT3 突变细胞的具有选择性和剂量依赖性。

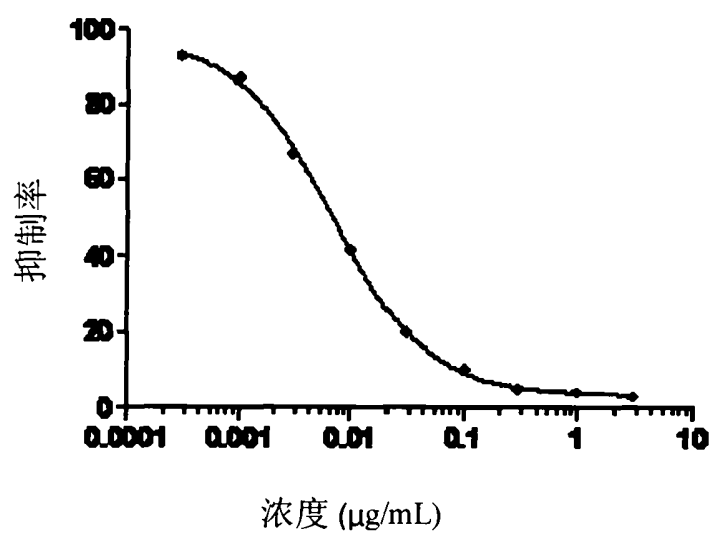


图 1

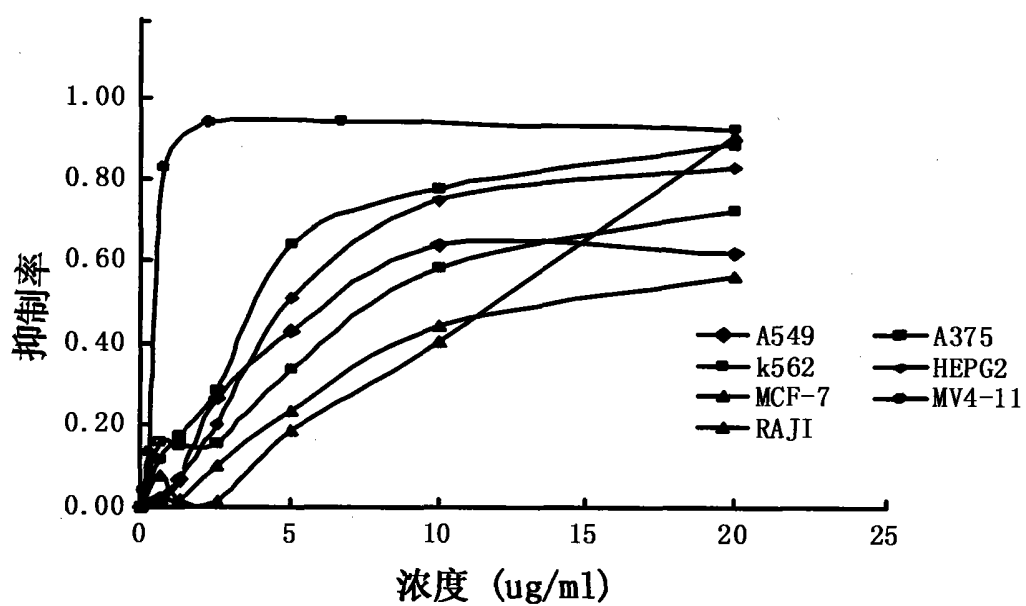


图 2

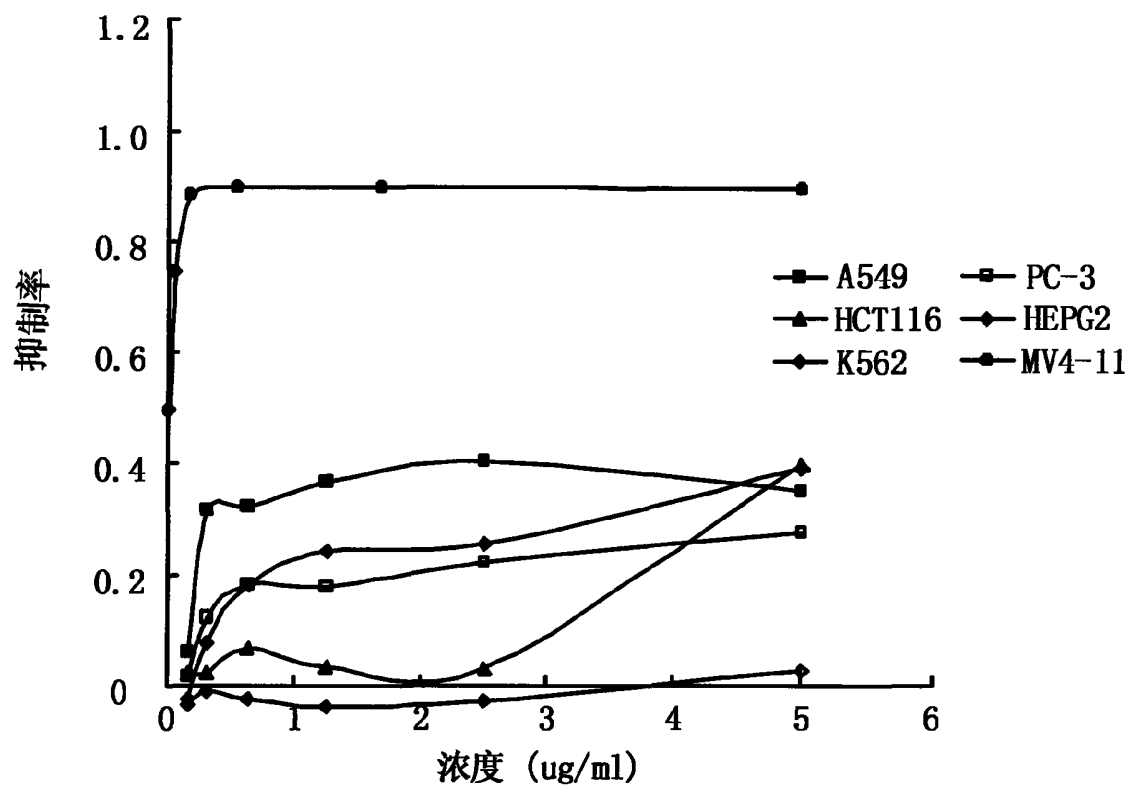


图 3

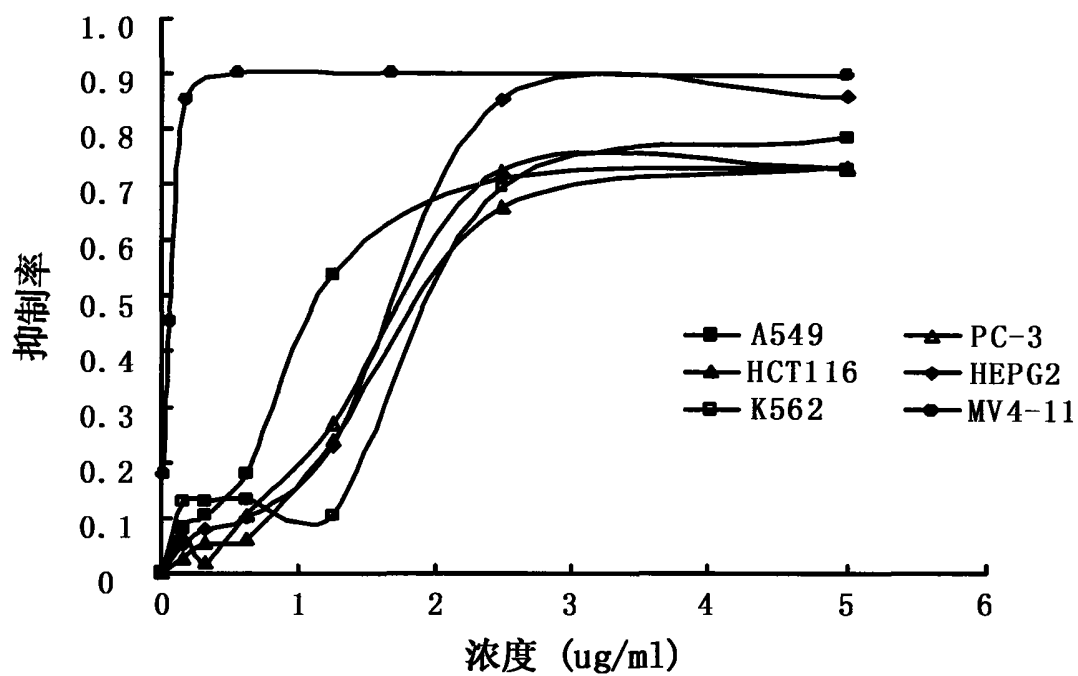


图 4