



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101926803 A

(43) 申请公布日 2010. 12. 29

(21) 申请号 200910053642. 7

A23L 1/30 (2006. 01)

(22) 申请日 2009. 06. 23

A61K 8/49 (2006. 01)

(71) 申请人 湘北威尔曼制药有限公司

地址 410300 湖南浏阳市洞阳乡 (生物医药
园内)

申请人 中国科学院上海药物研究所

(72) 发明人 俞强 龙亚秋

(51) Int. Cl.

A61K 31/517 (2006. 01)

A61P 37/02 (2006. 01)

A61P 17/06 (2006. 01)

A61P 19/02 (2006. 01)

A61P 17/00 (2006. 01)

A61P 25/00 (2006. 01)

A61P 21/04 (2006. 01)

A61P 3/10 (2006. 01)

A61P 1/04 (2006. 01)

A61P 1/16 (2006. 01)

A61P 7/06 (2006. 01)

A61P 7/00 (2006. 01)

A61P 13/12 (2006. 01)

权利要求书 2 页 说明书 15 页 附图 3 页

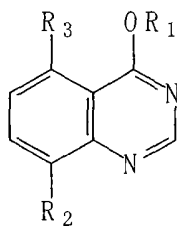
(54) 发明名称

一种喹唑啉类化合物的用途

(57) 摘要

本发明涉及医药技术领域, 尤其涉及一种喹唑啉类化合物的用途。本发明公开了一种如结构通式 I 所示的喹唑啉类化合物或其药学上可接受的盐或前药或其异构体在制备治疗自身免疫性疾病药物中的用途。

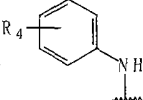
1. 一种如结构通式 I 所示的喹唑啉类化合物或其药学上可接受的盐或前药或其异构体在制备治疗自身免疫性疾病的组合物中的用途,



I

其中, R_1 可选为 H、烷基氨基羰基、磺酰基、烷基磺酰基、烷基亚磺酰基、氨基磺酰基、酰基其中之一;

R_2 可为 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{NHSO}_2\text{R}$ 、 $-\text{NRSO}_2\text{R}$ 、 $-\text{NHR}$ 、或 $-\text{OR}$ 中之一;

R_3 可为 H、烷基、链烯基、杂环基、 $-\text{OR}$ 或  中之一;

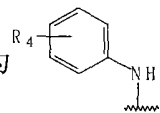
R_4 在苯环 2、3、4、5、或 6 位取代,可为无、 $-\text{OR}$ 、卤素、烷基、氨基、氨基烷基、烷基氨基羰基、烷基磺酰基、烷基亚磺酰基、氨基磺酰基、芳基烷基,环烷基芳基、杂芳基或杂环基中之一;

R 可为烷基、芳基、芳基烷基,环烷基芳基、杂芳基、或杂环基中之一;

在以上基团中,各自可不被取代或被一个或多个取代基取代,这些取代基包括:卤素、 $=\text{O}$ 、 $=\text{S}$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{OCF}_3$ 、烷基、链烯基、链炔基、卤代烷基、卤代烯基、卤代炔基、羟基、羟烷基、烷氧基、烷氧烷基、烯氧基、炔氧基、氨基、烷基氨基、磺酰基、烷基磺酰基、氨基磺酰基、烷氧基烷基、 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{SH}$ 和酰基。

2. 如权利要求 1 所述的用途,其特征在于所述 R_1 为 H。

3. 如权利要求 1 所述的用途,其特征在于所述 R_2 可为 $-\text{NO}_2$ 。

4. 如权利要求 1 所述的用途,其特征在于所述 R_3 为  时, R_4 为 $-\text{OR}$ 在苯环 3、

4、或 5 位取代, R 可为烷基或芳基。

5. 如权利要求 4 所述的用途,其特征在于所述 R_4 为 $-\text{OR}$ 在苯环 3 或 4 位取代, R 可为甲基。

6. 如权利要求 1 所述的用途,其特征在于所述喹唑啉类化合物可为下列化合物中之一:4-羟基-5-苯胺基-8-硝基喹唑啉、4-羟基-5-间氯苯胺基-8-硝基喹唑啉、4-羟基-5-(对甲氧基)苯胺基-8-硝基喹唑啉、4-羟基-5-(对氨基)苯胺基-8-硝基喹唑啉、4-羟基-5-(对苄氧基)苯胺基-8-硝基喹唑啉。

7. 如权利要求 1 所述的用途,其特征在于所述喹唑啉类化合物为 4-羟基-5-(对甲氧基)苯胺基-8-硝基喹唑啉。

8. 如权利要求 1-7 所述的用途,其特征在于所述的自身免疫性疾病为银屑病、类风湿关节炎、系统性红斑狼疮、皮炎、硬皮病、多发性硬化症、重症肌无力、脱髓鞘疾病、原发性

肾上腺皮质萎缩、慢性甲状腺炎、青少年型糖尿病、慢性非特异性溃疡性结肠炎、慢性活动性肝炎、恶习性贫血与萎缩性胃炎、自身免疫性肾小球肾炎、肺肾出血性综合症、自身免疫性溶血性贫血、特发性血小板减少性紫癜、特发性白细胞减少症。

9. 如权利要求 8 所述的用途,其特征在于所述的自身免疫性疾病为银屑病、类风湿关节炎。

10. 如权利要求 1 所述的用途,其特征在于,所述的组合物是药物组合物、保健食品组合物或化妆品组合物。

一种喹唑啉类化合物的用途

技术领域

[0001] 本发明涉及医药技术领域,尤其涉及一种喹唑啉类化合物的用途。

背景技术

[0002] 有丝分裂是细胞增殖的必要步骤。机体通过严格精确的调控机制使有丝分裂有序可控。研究表明,有丝分裂调控紊乱在细胞异常增殖引起的疾病中起着重要的作用。细胞分裂过程中的纺锤体及相关结构主要由微管所组成。微管则由微管蛋白(tubulin)构成。临床应用证明,针对微管蛋白活性的有丝分裂抑制剂是最有效的抗细胞过度增殖药物之一。

[0003] 研究表明,有许多化合物能干扰微管蛋白的功能。它们属于有丝分裂抑制剂,通过影响纺锤体微管的聚合来抑制细胞增殖。通常微管活性化合物被分作两大类,一是微管去稳定剂,较高浓度时抑制微管聚集,包括长春碱、秋水仙素等。二是微管稳定剂,包括紫杉醇类和埃波霉素类等。紫杉醇及其衍生物,能促使微管蛋白迅速聚集成微管,并结合到微管上抑制微管的解聚,从而使细胞有丝分裂中止。

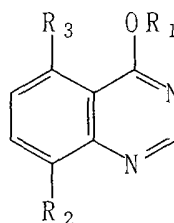
[0004] 虽然国内、国外对微管聚合小分子抑制剂(也可称为有丝分裂抑制剂)已有很多研究报告,但由于不同化学结构的微管蛋白聚合抑制剂在体内不同组织中的分布和生物利用度有很大差异,它们对不同组织来源的细胞过度增殖疾病的治疗效果和副毒作用也因此各不相同。虽然针对有丝分裂纺锤体微管的药物在临床上得到广泛应用,但这些药物也有许多不尽人意之处。紫杉醇的溶解度很差,不良反应大和易产生耐药性。已经证明秋水仙素类在抗细胞过度增殖疾病中使用范围很窄。因此,需要进一步研究细胞微管蛋白聚合的机制,开发出更多效果更好的有丝分裂抑制剂药物。

发明内容

[0005] 本发明旨在提供一种新化合物在制备治疗自身免疫性疾病药物中的用途。

[0006] 本发明提供了一种如结构通式 I 所示的喹唑啉类化合物或其药学上可接受的盐或前药或其异构体在制备治疗自身免疫性疾病药物中的用途,

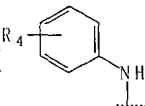
[0007]



I

[0008] 其中, R_1 可选为 H、烷基氨基羰基、磺酰基、烷基磺酰基、烷基亚磺酰基、氨基磺酰基、酰基中之一;

[0009] R_2 可为 $-NO_2$ 、 $-NHSO_2R$ 、 $-NRSO_2R$ 、 $-NHR$ 、或 $-OR$ 中之一;

[0010] R_3 可为 H、烷基、链烯基、杂环基、-OR 或  中之一；

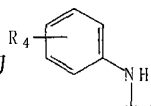
[0011] R_4 在苯环 2、3、4、5、或 6 位取代，可为无、-OR、卤素、烷基、氨基、氨基烷基、烷基氨基羰基、烷基磺酰基、烷基亚磺酰基、氨基磺酰基、芳基烷基，环烷基芳基、杂芳基或杂环基中之一；

[0012] R 可为烷基、芳基、芳基烷基，环烷基芳基、杂芳基、或杂环基中之一；

[0013] 在以上基团中，各自可不被取代或被一个或多个取代基取代，这些取代基包括：卤素、=O、=S、-CN、-NO₂、-CF₃、-OCF₃、烷基、链烯基、链炔基、卤代烷基、卤代烯基、卤代炔基、羟基、羟烷基、烷氧基、烷氧烷基、烯氧基、炔氧基、氨基、烷基氨基、磺酰基、烷基磺酰基、氨基磺酰基、烷氧基烷基、-COOH、-SH 和酰基。

[0014] 在一些优选例中，所述 R_1 为 H。

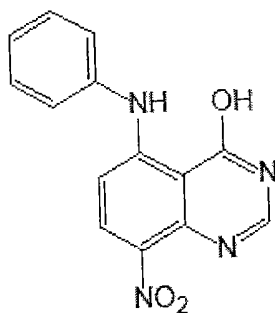
[0015] 在一些优选例中，所述 R_2 可为 -NO₂。

[0016] 在一些优选例中，所述 R_3 为  时， R_4 为 -OR 在苯环 3、4、或 5 位取代，优选在苯环 3、或 4 位取代，R 可为烷基或芳基，优选为甲基。

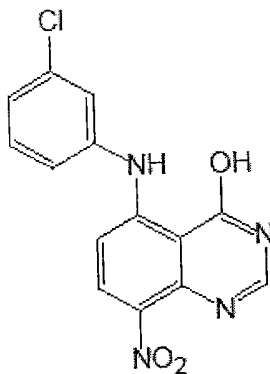
[0017] 在另一优选例中，所述喹唑啉类化合物可为下列化合物：

[0018] 化合物 结构式

[0019] 4-羟基-5-苯胺基-8-硝基喹唑啉

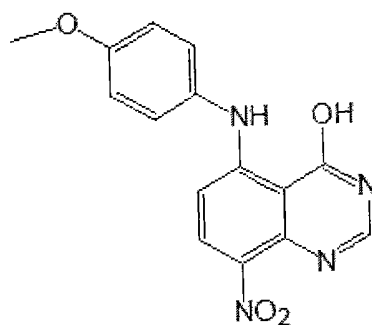


[0020] 4-羟基-5-间氯苯胺基-8-硝基喹唑啉

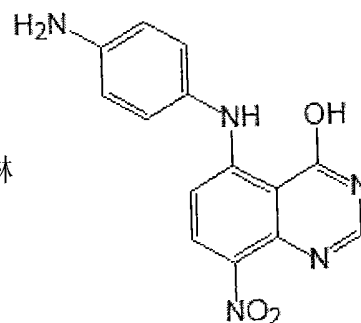


[0021] 4-羟基-5-(对甲氧基)苯胺基-8-硝基喹唑啉

[0022]

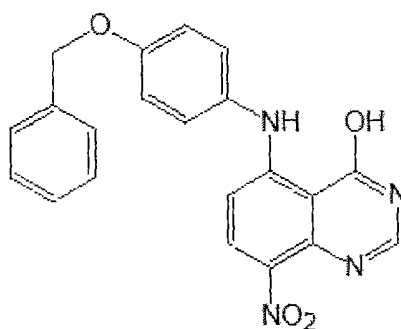


[0023] 4-羟基-5-(对氨基)苯胺基-8-硝基喹唑啉



[0024] 4-羟基-5-(对苄氧基)苯胺基-8-硝基喹唑啉

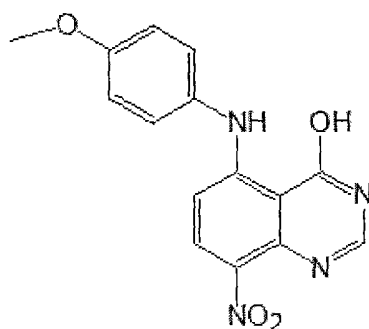
[0025]



[0026] 其中优选为,

[0027] 4-羟基-5-(对甲氧基)苯胺基-8-硝基喹唑啉

[0028]



[0029] 在另一优选例中,本发明化合物可治疗自身免疫性疾病,所述自身免疫病为银屑病、类风湿关节炎、系统性红斑狼疮、皮炎、硬皮病、多发性硬化症、重症肌无力、脱髓鞘疾病、原发性肾上腺皮质萎缩、慢性甲状腺炎、青少年型糖尿病、慢性非特异性溃疡性结肠炎、慢性活动性肝炎、恶习性贫血与萎缩性胃炎、自身免疫性肾小球肾炎、肺肾出血性综合症、自身免疫性溶血性贫血、特发性血小板减少性紫癜、特发性白细胞减少症。

附图说明

[0030] 图 1 所示一实施例中 LJK-11 对微管聚合的作用。

[0031] 图 2 所示一实施例中 LJK-11 对人胃癌 HGC 细胞周期的流式细胞检测结果。

[0032] 图 3 所示一实施例中 LJK-11 对多种肿瘤细胞生长的抑制作用。

具体实施方式

[0033] 发明人经过广泛而深入的研究,发现结构通式 I 所示的喹唑啉类化合物或其药学上可接受的盐或前药或其异构体能有效抑制细胞的异常增殖,具有治疗自身免疫性疾病的作用。在此基础上,完成本发明。

[0034] 本发明所使用的部分术语定义如下:

[0035] “细胞异常增殖疾病”一般是指广泛的以细胞的失控性异常生长为特征的病症,包括但不限于自身免疫病、炎症、骨病、代谢病、神经和神经变性病、心血管病、变态反应或哮喘。

[0036] “卤素”是指氟、氯、溴和碘。

[0037] “烷基”当作一基团或一基团的部分时是指直链或者带有支链的脂肪烃基团。优先选择烷基为 C_1-C_{14} 的烷基;更优先选择为 C_1-C_{10} 烷基;最优先选择为 C_1-C_6 ,除非另有指明。直链或和带有支链的 C_1-C_6 烷基的实例包括,但不限于:甲基、乙基、正丙基、2-丙基、正丁基、异丁基、特丁基、己基等。

[0038] “烷基氨基”包括单烷基氨基和二烷基氨基两种,除非另有指明。“单烷基氨基”是指:(烷基-NH)-的基团;“二烷基氨基”是指:((烷基) $2N$)-的基团。其中,烷基见本文有关定义。该烷基基团优先选择 C_1-C_6 的烷基基团。实例包括,但不限于:N-甲基、N-乙胺基、N-异丙胺基、N,N-(二乙基)胺基等。

[0039] “氨基烷基”是指:(氨基-烷基)-的基团。其中,烷基见本文有关定义。实例包括,但不限于:氨基乙基、1-氨基丙基、1-氨基丙基等。

[0040] “芳基氨基”包括单-芳基氨基和二-芳基氨基两种,除非另有说明。单-芳基氨基是指:(芳基-NH)-的基团;二-芳基氨基是指式(芳基) $2N$ -的基团;芳基的定义见本文相关部分。

[0041] “酰基”包括(烷基-CO)-的基团和(芳基-CO)-的基团,除非另有说明。其中烷基或芳基均见本文中的有关定义。酰基的实例包括,但不限于:乙酰基、丙酰基、异丁酰基、苯甲酰基等。

[0042] “酰胺基”包括(烷基-CONH)-的基团和(芳基-CONH)-的基团,除非另有说明。其中,烷基或芳基均见本文中的有关定义。酰胺基的实例包括,但不限于:乙酰胺基、丙酰胺基、丁酰胺基、异丁酰胺基、苯甲酰胺基等。

[0043] “烯基”作为一基团或一基团的一部分时是指至少含有一个碳-碳双键的脂肪烃基团,可为直链也可以带有支链。优先选择具有 C_2-C_{14} 的烯基。 C_2-C_{12} 则更好;最为优先选择的是 C_2-C_6 的烯基。该基团可在其主链中含有多个双键且其构象可各自为 E 或 Z。烯基基团的例子包括,但不限于:乙烯基、丙烯基等。

[0044] “烷氧基”是指(烷基-O)-的基团。其中,烷基见本文有关定义。 C_1-C_6 的烷氧基为优先选择。其实例包括,但不限于:甲氧基、乙氧基、正丙氧基、异丙氧基、正丁氧基、异丁

氧基等。

[0045] “烯氧基”是指(烯基-O)-的基团。其中,的烯基见本文有关定义。 C_1-C_6 的烯氧基为优先选择。

[0046] “炔氧基”是指(炔基-O)-的基团。其中,的炔基见本文有关定义。 C_1-C_6 的炔氧基为优先选择。

[0047] “烷氧羰基”是指(烷基-O-C(O))-的基团。其中,烷基见本文有关定义。优先选择的烷基基团为 C_1-C_6 烷基。其实例包括,但不限于:甲氧羰基、乙氧羰基等。

[0048] “烷基亚磺酰基”是指(烷基-S(O))-的基团。其中,的烷基见本文有关定义。优先选择的烷基为 C_1-C_6 烷基基团。烷基亚磺酰基基团包括,但不限于:甲基亚磺酰基、乙基亚磺酰基等。

[0049] “烷基磺酰基”是指(烷基-S(O)₂-O)-的基团。其中,的烷基见本文有关定义。该优先选择的烷基为 C_1-C_6 烷基基团。其实例包括,但不限于:甲磺酰基、乙磺酰基等。

[0050] “烷基氨基芳基”是指烷基氨基-芳基基团。其中,烷基氨基见本文有关定义。

[0051] “环烷基”是指饱和或部分饱和的单环、稠环或螺环之碳环。以3-9个碳原子组成的环为优先选择。实例包括,但不限于:环丙基、环丁基、环戊基、环己基等。

[0052] “环烷基烷基”是指环烷基-烷基基团。其中,环烷基和烷基部分见本文有关定义。单环烷基烷基基团包括,但不限于:环丙基甲基,环戊基甲基,环己基甲基、环庚基甲基等。

[0053] “杂环烷基”是指至少含有一个选自N, S, O的杂原子的环烷基。优选含有1-3个杂原子。优选的环为3-14员环,更优先选择的环为4-7员环。杂环烷基包括,但不限于:吡咯烷基、二氢吡咯基、四氢吡咯基、二氢吡唑基、哌啶基、吗啉四氢呋喃基、四氢硫代呋喃基、四氢吡喃基等。

[0054] “杂环烯基”是指至少含有一个双键的杂环烷基。杂环烷基见本文有关定义。

[0055] “杂环烷基烷基”是指:(杂环烷基-烷基)-的基团。其中,杂环烷基和烷基部分见本文有关定义。杂环烷基烷基基团包括,但不限于:(2-四氢呋喃基)甲基、(2-四氢硫代呋喃基)甲基等。

[0056] “杂烷基”是指直链或含有支链烷基的基团,并且在主链中,至少含有一个或多个选自S, O和N的杂原子。优先选择含有2-14个原子链。杂烷基包括,但不限于:醚类、硫醚类、烷基酯类,第二或第三烷基胺类、烷基亚磺酸类等。

[0057] “芳基”作为一基团或一基团的部分是指:(1)芳香性的单环或稠环;优先选择具有5-12个碳原子的芳香性碳环(环原子均为碳的环状构造)。芳基的实例包括,但不限于:苯基,萘基;(2)可以连接部分饱和的碳环,例如:苯基和 C_{5-7} 环烷基或 C_{5-7} 环烯基基团系互相稠合而形成一环状结构。实例包括,但不限于:四氢萘基,茚基或氢茚基等。芳基基团可被一个或多个取代基取代。

[0058] “芳基烯基”是指:(芳基-烯基)-的基团。其中,的芳基和烯基见本文有关定义。示例性的芳基烯基基团包括,但不限于:苯基丙烯基等。

[0059] “芳烷基”是指:(芳基-烷基)-的基团。其中,芳基和烷基部分见本文有关定义。示例性的芳烷基基团包括,但不限于:苯甲基,苯乙基、1-萘甲基等。

[0060] “环烯基”是指非芳香性单环或多环环系。其至少含有一个碳-碳双键且每环优选具有5-10个碳原子。示例性的单环状环烯基环包括,但不限于:环戊烯,环己烯或环庚烯。

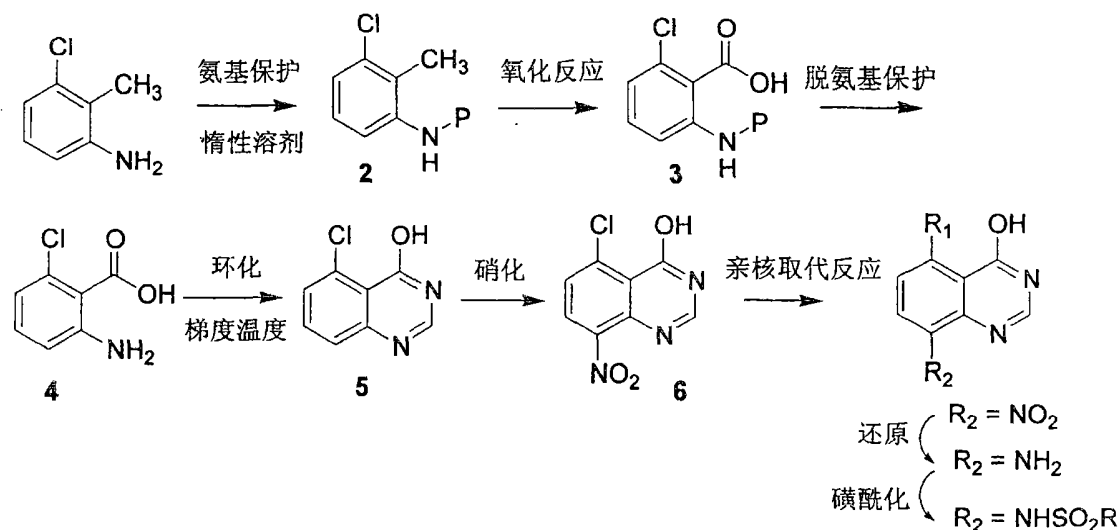
环烯基集团可被一个或多个取代基取代。

[0061] “杂芳基”是指单环性或稠合的多环芳香杂环。优先选择含有一个或多个选自 N, O 或 / 和 S 的杂原子的 5-7 员芳香环。典型的杂芳基取代基包括实例, 但不限于: 呋喃基, 噻吩基, 吡咯, 吡唑, 三唑, 噻唑, 吡啶, 嘧啶, 吡嗪, 咪唑, 苯并咪唑等。

[0062] “杂芳烷基”是指: (杂芳基-烷基)- 的基团。其中, 杂芳基和烷基部分见本文有关定义。示例性的杂芳烷基基团包括, 但不限于: 2-呋喃甲基、3-呋喃甲基、2-吡啶甲基等。

[0063] 本发明所述化合物可采用下列的合成路线:

[0064]



[0065] 具体的说, 从 3-氯-2-甲基苯胺出发, 经氨基保护、氧化、脱 N-保护基、环化成喹唑啉环、硝化和芳环亲核取代反应 6 步反应合成得到。首先, 商业可售的原料 3-氯-2-甲基苯胺在惰性溶剂如卤代烷烃、甲苯、苯、四氢呋喃、二氧六环或乙醚、醋酸或 N, N-二甲基甲酰胺等溶剂中上 N-保护基, 保护基是常用的保护氨基的甲酰基、乙酰基或取代乙酰基、CBZ、BOC、苄基或取代苄基、Fmoc, 温度为 0℃~室温, 或加热至溶剂回流; 然后苯甲基在高锰酸钾水溶液中加热回流氧化成苯甲酸 (氧化试剂还可以是重铬酸钾、三氧化铬、高碘酸钠等, 反应温度控制在 0℃~120℃, 溶剂为卤代烃、甲苯、乙腈、乙酸和水)。在一定条件下脱去 N-保护基 (对 N-保护的甲酰基、乙酰基或取代乙酰基、CBZ、BOC 在酸性条件下脱去保护基, 对 N-保护的甲酰基、苄基或取代苄基用催化氢化脱去保护基, 对 N-保护的 Fmoc 在碱性条件下脱去保护基, 溶剂用卤代烃、四氢呋喃、1,4-二氧六环, 甲醇、乙醇, 温度为室温到溶剂回流温度), 得到的 2-氨基-6-氯苯甲酸与甲酰胺在高温下环化为喹唑啉, 再进一步硝化 (硝化试剂可以是发烟硝酸和浓硫酸在 0℃~室温, 或次硝酸铋和二氯亚砷, 或硝酸钠、硝酸铜和浓硝酸, 或硝酸钠、硝酸铜和浓盐酸, 溶剂用水、卤代烃或四氢呋喃, 温度在 0℃~室温) 得到 8-硝基-5-氯喹唑啉, 胺或醇作为亲核试剂对喹唑啉的 5-氯进行芳基亲核取代反应得到不同 5-取代基-8-硝基-喹唑啉化合物 (反应溶剂用惰性溶剂如四氢呋喃、乙醚、甲苯、乙腈、1,4-二氧六环或 N, N-二甲基甲酰胺在 40℃~100℃加热发生亲核取代反应), 8-位硝基可进一步还原为氨基 (还原剂为 Pd/C 氢化、铁粉和醋酸、铁粉和氯化铵、锌粉和氯化铵、水合肼、甲酸铵, 溶剂用水、乙醇、甲醇或乙腈, 温度在 40℃~100℃) 并进一步转化为磺酰胺。

[0066] 术语“药学上可接受的盐”是指上述化合物能保持原有生物活性并且适合于医药

用途的某些盐类。通式 (I) 所表示的化合物的药学上可接受的盐有两种形成形式：一是与酸形成的盐；另一是与碱或者碱金属形成的盐。与通式 (I) 所表示的化合物形成药学上可接受的盐的酸包括无机酸和有机酸。合适的无机酸包括：盐酸、硫酸和磷酸。合适的有机酸可选自脂肪族、环脂肪族、芳香性、杂环羧酸和磺酸类有机酸；其实例包括但不限于：甲酸、乙酸、丙酸、琥珀酸、甘醇酸、葡萄糖酸、乳酸、苹果酸、酒石酸、甘氨酸、精氨酸、柠檬酸、反丁烯二酸、烷基磺酸等。与通式 (I) 所表示的化合物形成药学上可接受的盐的碱金属包括：锂、钠、钾、镁、钙、铝或锌等。

[0067] 本发明包括通式 (I) 所表示的化合物及其可能的各种异构型式。包括：非镜像异构体、镜像异构体、互变异构体和“E”或“Z”构型异构体的几何异构体等。

[0068] 本发明包括通式 (I) 所表示的化合物及其可能的消旋体或 / 和镜像异构物 / 或 / 和非镜像异构物的混合物。

[0069] 此外，通式 (I) 所表示的化合物在应用上也涵盖该化合物的溶剂化及非溶剂化型式。因此，各式均包括具有有所指明构造的化合物，包括其水合及无水合型式。

[0070] 除了通式 (I) 所表示的化合物外，不同具体实施方案包括：药学上可接受的盐，前药和该等化合物的活性代谢物。和该等代谢物的药学上可接受的盐。

[0071] “前药”是一种通式 (I) 所表示的衍生物，借助于在体内代谢的方式将其于活体内转化（例如：藉由水解，还原或氧化）成通式 (I) 所表示的化合物。例如，可以将通式 (I) 所表示的、含有羟基基团的化合物与酸反应制备成相应的酯。相应的酯即为前药，可以在活体内水解为母体药物。适合来制备“前药”的酸包括但不限于：乙酸、柠檬酸、乳酸、酒石酸、丙二酸、草酸、水杨酸、琥珀酸、反丁烯二酸、顺丁烯二酸、亚甲基-双-β-羟基萘酸、龙胆酸、羟乙基磺酸、甲磺酸、乙磺酸、苯磺酸、对甲苯磺酸等。

[0072] 用途

[0073] 本发明结构通式 I 所示的喹唑啉类化合物或其药学上可接受的盐或前药或其异构体能有效抑制细胞的异常增殖，具有治疗自身免疫性疾病的作用。

[0074] 所用的活性成分的有效剂量可随给药模式和待治疗疾病的严重程度而变化。对大部分大型哺乳动物而言，每天施以有效成分的总剂量约为 0.01-1000mg。通常，成人临床给药量的范围为 0.01-200mg/日，优选为 0.05-100mg/日。

[0075] 通常，当本发明组合物用于上述用途时，它们可与一种或多种药学上可接受的载体或赋形剂混合制成不同给药途径的药物剂型，如片剂、胶囊、散剂、颗粒剂、糖浆剂、溶液剂、口服液、酏剂、酹剂、气雾剂、粉雾剂、注射剂、注射用无菌粉末、栓剂等。

[0076] “药学上可接受的”成分是适用于人和 / 或动物而无过度不良反应（如毒性、刺激和变态反应）即有合理的效益 / 风险比的物质。“药学上可接受的载体”是用于将本发明的二萜内酯类化合物或其生理上可接受的盐传送给动物或人的药学上或食品上可接受的溶剂、悬浮剂或赋形剂。载体可以是液体或固体。

[0077] 本发明的化合物可经过口服、静脉内、肌内或皮下途径给药。

[0078] 上述剂型中可经口服给药的剂型为：片剂、胶囊、散剂、颗粒剂、糖浆剂、溶液剂、酏剂。固态载体包括：淀粉、乳糖、磷酸氢钙、微晶纤维素、蔗糖、白陶土、微粉硅胶、滑石粉、低取代羟丙基纤维素、羧甲基淀粉钠、聚乙烯吡咯烷酮。而液态载体包括：无菌水、乙醇、聚乙二醇、非离子型表面活性剂和食用油（如玉米油、花生油和芝麻油）。在制备药物组合物

的过程中通常使用的佐剂包括：调味剂、着色剂、防腐剂（如羟苯烷基丁酯、苯甲酸钠、山梨酸）和抗氧化剂（如维生素 E、维生素 C、焦亚硫酸钠和二丁基羟基甲苯）。

[0079] 上述剂型中可用于注射途径给药的剂型包括：注射剂、注射用无菌粉末，它们是将药物与一种或多种药学上可接受的赋形剂混合制成以供注射给药的形式。溶剂包括：无菌水、乙醇、甘油、丙二醇、聚乙二醇。此外，还需加入抑菌剂（如苯甲醇、羟苯丁酯、硫柳汞）、等渗调节剂（如氯化钠、葡萄糖）、助悬剂（如羧甲基纤维素钠、甲基纤维素）、增溶剂（吐温-80、卵磷脂）、抗氧化剂（如维生素 E、维生素 C、焦亚硫酸钠）和填充剂（如乳糖、甘露醇）。

[0080] 从易于制备和给药的立场看，优选的药物组合物是固态组合物，尤其是片剂和固体填充或液体填充的胶囊。优选口服给药。

[0081] 本发明提到的上述特征，或实施例提到的特征可以任意组合。本案说明书所揭示的所有特征可与任何组合物形式并用，说明书中所揭示的各个特征，以任何可提供相同、均等或相似目的的替代性特征取代。因此除有特别说明，所揭示的特征仅为均等或相似特征的一般性例子。

[0082] 本发明的主要优点在于：

[0083] 本发明结构通式 I 所示的喹唑啉类化合物或其药学上可接受的盐或前药或其异构体能有效抑制细胞的异常增殖，具有治疗自身免疫性疾病的作用。

[0084] 以下结合具体实施例，进一步阐述本发明。这些实施例仅用于说明本发明而不适用于限制本发明的范围。下列实施例中未注明具体条件的实验方法，通常按照常规条件或按照制造厂商所建议的条件。

[0085]

编号	化合物
LJK-4	4-羟基-5-苯胺基-8-硝基喹唑啉
LJK-6	4-羟基-5-间氯苯胺基-8-硝基喹唑啉
LJK-11	4-羟基-5-(对甲氧基)苯胺基-8-硝基喹唑啉
LJK-12	4-羟基-5-(对氨基)苯胺基-8-硝基喹唑啉
LJK-13	4-羟基-5-(对苄氧基)苯胺基-8-硝基喹唑啉

[0086] 实施例 1 LJK-11 对微管聚合的影响

[0087] 实验仪器：Tecan GENios Pro 多功能酶标仪

[0088] 实验试剂：Tubulin Polymerization Assay Kit (Cat. #CDS03 and BK006)

[0089] 实验方法：

[0090] 1、37℃ 预热 96 孔板，30 分钟；

[0091] 2、4℃ 预冷微管蛋白聚合溶液 (Tubulin Polymerization Buffer)：

[0092] General Tubulin Buffer (750 μl)：80mM PIPES (pH6.9)，2mM MgCl₂，0.5mM EGTA；

[0093] Tubulin Glycerol Buffer(250 μ l):15 % glycerol in GeneralTubulin Buffer ;

[0094] GTP Stock(200mM, 10 μ l) :1mM GTP ;

[0095] 3、预热 500 μ l General Tubulin Buffer 至室温 ;

[0096] 4、随机分为 5 组:(1) 对照组:每孔加入 5 μ l General Tubulin Buffer ;(2) LJK-11 组:每孔加入 10 μ l LJK-11, 终浓度分别为 200 μ M、100 μ M、25 μ M、5 μ M、1 μ M, 37 $^{\circ}$ C 孵育 2 分钟;(3) 秋水仙碱组:吸取 10 μ l 秋水仙碱溶解于 190 μ l 的 General Tubulin Buffer 中, 每孔加入 10 μ l 稀释后的秋水仙碱溶液, 至终浓度为 10 μ M ;(4) 紫杉醇组, 吸取 10 μ l 紫杉醇溶解于 190 μ l 的 General Tubulin Buffer 中, 每孔加入 10 μ l 稀释后的紫杉醇溶液, 至终浓度为 10 μ M ;(5)Nocodazole 组, 吸取 10 μ lNocodazole 溶解于 190 μ l 的 General Tubulin Buffer 中, 每孔加入 10l 稀释后的 Nocodazole 溶液, 至终浓度为 10 μ M ;以上 5 个实验组, 每组各设 2 个复孔 ;

[0097] 5、取 2 管 200 μ l 分装的微管蛋白, 至于室温下快速溶解 1 分钟, 再将其放置于冰上 ;

[0098] 6、将微管蛋白稀释溶解于 840 μ l 预冷的微管蛋白聚合溶液中, 至终浓度为 3mg/ml ;

[0099] 7、每孔加入 100 μ l 微管蛋白, 立即将 96 孔板放入酶标仪中, 记录微管蛋白聚合的动力曲线。

[0100] 实验结果:图 1 的数据表明, LJK-11 能显著抑制微管蛋白的聚合, 效果优于有丝分裂抑制剂 Nocodazole, 与秋水仙碱的抑制效果相比, 无显著性差异, 并且在不同的浓度下, 抑制效果呈现明显的剂量依赖性。

[0101] 实施例 2LJK-11 对人胃癌 HGC 细胞周期的影响

[0102] 体外培养 HGC 细胞, 生长状态良好时, 消化并接种 1×10^5 个细胞于 6cm 培养皿中, 过夜贴壁。等细胞状态良好后, 吸去培养基, 加入以培养基稀释的 LJK-11, 终浓度分别为 5 μ M、25 μ M、50 μ M, 阴性对照孔加入培养基, 37 $^{\circ}$ C 培养 24h。镜下观察细胞形态变化。用胰酶消化细胞 (0.25%胰酶 /0.02% EDTA), 轻轻吹下, 移入离心管, 2000rpm 离心 5min, PBS 洗涤 2 次, 1000rpm 离心 5min。向细胞沉淀中缓缓加入 75%乙醇 (-20 $^{\circ}$ C 预冷) 800 μ l, 边滴边振荡 (Vortex), 尽量使之形成单细胞。4 $^{\circ}$ C 固定过夜后, 1000rpm 离心 5min, PBS 洗涤两次, 离心。重悬于 300 μ l PBS, 加预先煮沸过的 RNase (终浓度为 50 μ g/ml), 37 $^{\circ}$ C 孵育 30min。300 目尼龙网过滤, 加入碘化丙啶 (PI) (终浓度为 25 μ g/ml), 4 $^{\circ}$ C 避光 1h, 流式细胞仪检测细胞周期。

[0103] 实验结果:LJK-11 作用于 HGC 细胞 24h 后, 细胞全部变圆, 部分漂浮, 收集细胞进行流式细胞仪检测。结果显示 (如图 2), LJK-11 作用后, G1、S 期细胞明显减少, G2 期细胞明显增加, 说明 LJK-11 分别在 5 μ M、25 μ M、50 μ M 剂量下, 使人胃癌 HGC 细胞停滞于 G2-M 期, 阻止肿瘤细胞进行正常的有丝分裂。

[0104] 实施例 3 受试药物对多种肿瘤细胞生长的抑制作用

[0105] 体外培养人乳腺癌 MDA-MB-453 细胞、人宫颈癌 HeLa 细胞、人肺癌 A 549 细胞、人胃癌 HGC 细胞。细胞生长至对数生长期后, 收集细胞, 1000rpm 离心 5 分钟, 弃上清, 适量培养基悬浮, 调整细胞浓度至 3.5×10^3 /ml。将细胞悬液接种到 96 孔细胞培养板中, 每孔 100 μ l,

放置细胞培养箱 (37℃, 5% CO₂) 中培养 24h 后, 加入待测药物 LJK-11 (终浓度分别为 1 μM、5 μM、10 μM、20 μM、40 μM、60 μM、80 μM、100 μM), LJK-4 (终浓度为 40 μM)、LJK-6 (终浓度为 40 μM)、LJK-12 (终浓度为 40 μM)、LJK-13 (终浓度为 40 μM), 阴性对照组加入终浓度为 0.5% DMSO, 各组均设 3 个复孔。培养箱中培养 72h 后, 每孔加入 5mg/ml 的 MTT 20 μl, 37℃ 放置 4h。每孔加入 200 μl DMSO, 37℃ 摇床振荡 30min, 492nm/620nm 测吸光度 (OD)。运用 PrismGraphpad 统计软件计算 EC₅₀ 值。

[0106] 表 1 LJK-4 对多种肿瘤细胞生长的抑制作用

[0107]

细胞名称	用药组 OD 值	对照组 OD 值	抑制率 (%)
A549	0.219 ± 0.02	0.873 ± 0.01	74.91
HGC	0.119 ± 0.01	0.993 ± 0.01	88.02
MDA-MB-453	0.172 ± 0.06	0.931 ± 0.02	81.53
Hela	0.141 ± 0.07	0.872 ± 0.02	83.83

[0108] 表 2 LJK-6 对多种肿瘤细胞生长的抑制作用

[0109]

细胞名称	用药组 OD 值	对照组 OD 值	抑制率 (%)
A549	0.189 ± 0.02	0.992 ± 0.01	80.95
HGC	0.191 ± 0.01	0.863 ± 0.01	77.87
MDA-MB-453	0.185 ± 0.07	0.986 ± 0.01	81.24
Hela	0.230 ± 0.06	0.982 ± 0.02	76.58

[0110] 表 3 LJK-12 对多种肿瘤细胞生长的抑制作用

[0111]

细胞名称	用药组 OD 值	对照组 OD 值	抑制率 (%)
A549	0.193 ± 0.02	0.992 ± 0.01	80.54
HGC	0.198 ± 0.09	0.930 ± 0.01	78.71
MDA-MB-453	0.187 ± 0.03	0.956 ± 0.08	80.44
Hela	0.196 ± 0.07	0.972 ± 0.02	79.84

[0112] 表 4 LJK-13 对多种肿瘤细胞生长的抑制作用

[0113]

细胞名称	用药组 OD 值	对照组 OD 值	抑制率 (%)
A549	0.147±0.02	0.937±0.01	84.31
HGC	0.234±0.01	0.996±0.06	76.51
MDA-MB-453	0.156±0.06	0.918±0.03	83.01
HeLa	0.191±0.05	0.984±0.02	80.59

[0114] 实验结果:如图3及表1、2、3、4所示,在各种肿瘤细胞培养液中加入受试药物后,用药组的OD值均低于空白对照组,说明LJK-4、LJK-6、LJK-12、LJK-13在体外对人乳腺癌MDA-MB-453细胞、人宫颈癌HeLa细胞、人肺癌A549细胞、人胃癌HGC细胞均有很强的抑制其生长的作用,LJK-11对人宫颈癌HeLa细胞、人肺癌A549细胞、人胃癌HGC细胞皆有明显的抑制作用,对人乳腺癌MDA-MB-453细胞抑制作用则不明显。

[0115] 实施例4LJK-11对普萘洛尔所致豚鼠耳部皮肤银屑病样皮损模型的影响

[0116] 实验动物:体重为300-450g白色豚鼠20只,雄性,由上海斯莱克实验动物有限公司提供。

[0117] 实验药品:LJK-11乳膏由本实验室制备(LJK-11含量为0.5%),醋酸地塞米松软膏由上海通用药业股份有限公司生产,普萘洛尔由东北制药总厂生产。

[0118] 取盐酸普萘洛尔5g溶于适量50%的乙醇液中,加入Azone-丙二醇5mL作为复合促进剂,加入PVPK305g为成膜材料,最后加入50%的乙醇液使成100mL,搅匀即得。取20只雄性豚鼠,分为4组,即正常对照组、模型组、地塞米松组、LJK-11组,除正常对照组外,其余各组用玻棒涂普萘洛尔搽剂于左侧耳廓(0.3g/cm²),2次/天,连续2周以造成耳部皮肤银屑病样皮损模型。此后开始用药,正常对照组和模型组不用药,LJK-11组每日给药2次(0.2g/只),地塞米松组每日给药2次(0.2g/只),用药2周后,取豚鼠左侧耳廓皮肤,在光镜下(X400)用测微尺测表皮厚度,然后换算成实际厚度(mm),进行组间差异性比较。统计学分析计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用t检验进行统计学分析。

[0119] 表5LJK-11乳膏对豚鼠耳部表皮厚度的影响($\bar{x} \pm s$)

[0120]

组别	动物数	表皮厚度
正常对照组	5	0.205±0.046
模型组	5	0.397±0.051**
LJK-11组	5	0.229±0.034△△
地塞米松组	5	0.282±0.049△△

[0121] 注:**与空白对照组相比, $p < 0.01$;

[0122] △△与模型组相比, $p < 0.01$ 。

[0123] 实验结果:银屑病的基本病理特点是表皮细胞增殖过快和角化不全,如能抑制表

皮细胞的增生或角化不全,即可能具有治疗银屑病的药理作用。目前治疗银屑病的外用药物,主要包括糖皮质激素类、维 A 酸类等,但糖皮质激素外用可引起诸多副作用,如抑制下丘脑-垂体-肾上腺轴。LJK-11 乳膏可有效改善豚鼠耳部表皮厚度,治疗效果与糖皮质激素相当,且无毒副作用。

[0124] 实施例 5LJK-11 对胶原诱导的大鼠关节炎的影响

[0125] 实验动物:Wistar 雄性大鼠,体重 120g 左右。

[0126] 给药方式:腹腔注射给药,LJK 的剂量为 10mg/kg,阴性对照组为 0.5% CMC。

[0127] 实验方法:1) 制备 II 型胶原,在 4 摄氏度中将新鲜小牛关节软骨捣碎,用 Tris-HCL2 浸泡洗涤得残渣,再用胃蛋白酶消化,取上清液盐析出胶原,过 DE-52 柱得到 II 型胶原蛋白。取冰醋酸溶解的 II 型胶原加入氟氏佐剂研磨乳化,除模型空白组外,每只动物于尾根部、颈背部皮内多点注入胶原共 2.5mg/kg。7 天后再于尾根部、颈背部皮内注射胶原 1.0mg/kg 作加强免疫。按体重将动物随机分成 4 组,每组 10 只。分别为模型空白组,模型对照组,吡喹菊内酯低、高两剂量组。每鼠于第 1 次免疫后第 10 天开始给药,每天 1 次,连续 3 周,观察药物对类风湿性关节炎的治疗作用及对迟发性超敏反应的影响。从第 1 次免疫后第 10 天开始,每隔 10 天观察下述指标:A、关节炎表面温度:用数字体温仪测量双后肢踝关节表面温度,计算造模后温度差值。B、关节炎积分:按文献给大鼠计分,1 分:足爪或足垫单个区域炎症,2 分:足爪或足垫两个以上区域炎症,3 分:整个肢体的轻度炎症,4 分:引起关节强直、畸形、功能障碍的重度炎症,每足最高积分为 4 分,每鼠的总积分为 16 分。C、迟发性超敏反映观察:第 24 天时每鼠右耳背部皮下注射含 II 型胶原 $10 \mu\text{L}$,用测厚仪测量注射前及注射 48h 右耳厚度。

[0128] 结果:

[0129] 试验结果见表 6-8,说明 LJK-11 能抑制胶原诱导的关节炎。

[0130] 表 6LJK-11 对胶原诱导性关节炎大鼠踝关节表面温度的影响($\bar{x} \pm \text{SD}$)

[0131]

组别	关节数 (只)	致炎前温度($^{\circ}\text{C}$)	不同时间踝关节表面温度差值($^{\circ}\text{C}$)		
			第 10 天	第 20 天	第 30 天
模型空白组	20	26.40 ± 0.65	-0.01 ± 0.26	0.01 ± 0.27	0.01 ± 0.15
模型对照组	20	27.82 ± 0.73	1.45 ± 0.24	1.80 ± 0.44	1.83 ± 0.61
LJK-11	20	26.99 ± 0.72	$1.39 \pm 0.74^*$	$0.79 \pm 0.34^{***}$	$0.68 \pm 0.32^{**}$

[0132] “***”表示 $p < 0.001$ 与阴性对照组 (0.5% CMC) 相比有极为显著性差异。

[0133] “**”表示 $p < 0.01$ 与阴性对照组 (0.5% CMC) 相比有非常显著性差异。

[0134] “*”表示 $p < 0.05$ 与阴性对照组 (0.5% CMC) 相比有显著性差异。

[0135] 表 7LJK-11 对 II 胶原诱导性关节大鼠炎症积分的影响($\bar{x} \pm \text{SD}$)

[0136]

组别	动物数 (只)	不同时间的炎症积分		
		第 10 天	第 20 天	第 30 天
模型空白组	10	0.00 ±0.00***	0.00 ±0.00***	0.00 ±0.00***
模型对照组	10	4.30 ±1.72	5.19±1.62	5.77±1.21
LJK-11	10	4.12±2.02*	3.08±1.45***	2.81±1.01***

[0137] “****”表示 $p < 0.001$ 与阴性对照组 (0.5% CMC) 相比有极为显著性差异。

[0138] “**”表示 $p < 0.01$ 与阴性对照组 (0.5% CMC) 相比有非常显著性差异。

[0139] “*”表示 $p < 0.05$ 与阴性对照组 (0.5% CMC) 相比有显著性差异。

[0140] 表 8LJK-11 对 II 胶原诱导性关节大鼠迟发型超敏反应的影响($\bar{x} \pm SD$)

组别	动物数 (只)	注射前右耳厚度	右耳厚度增长值
		(mm)	(mm)
模型空白组	10	0.731 ±0.101*	0.001 ±0.026***
模型对照组	10	0.789 ±0.072	0.411±0.183
LJK-11	10	0.781±0.071*	0.221±0.113**

[0142] “***”表示 $p < 0.001$ 与阴性对照组 (0.5% CMC) 相比有极为显著性差异。

[0143] “**”表示 $p < 0.01$ 与阴性对照组 (0.5% CMC) 相比有非常显著性差异。

[0144] “*”表示 $p < 0.05$ 与阴性对照组 (0.5% CMC) 相比有显著性差异。

[0145] 实施例 6

[0146] 片剂的制备

[0147] 利用常规技术,混合以下组分,然后直接压片,制备片剂形式的药物组合物,其配方如下:

	成分	处方量
		(g/1000 片)
[0148]	LJK-11	100
	乳糖	50
	微晶纤维素	40
	玉米淀粉	6
	羧甲基淀粉钠	3
	硬脂酸镁	1
	总量	200

[0149] 实施例 7

[0150] 注射剂的制备

	成分	处方量
		(g/1000ml)
[0151]	LJK-11	10
	亚硫酸氢钠	0.2
	羧甲基纤维素钠	5
	吐温-80	1.5
	注射用水	加至 1000ml

[0152] ①将亚硫酸氢钠加于 500ml 注射用水中,加入羧甲基纤维素钠,混匀,浸泡过夜(24 小时),全溶后,用 210 目尼龙布过滤;

[0153] ②将溶液①水浴加热,加入吐温-80,混匀;

[0154] ③至水浴沸腾,加入 LJK-11,混匀,继续加热 30 分钟,取出冷却至室温, G₃ 垂熔玻璃漏斗过滤;

[0155] ④加注射用水至 1000ml,混匀,灌封,用 100℃ 30 分钟灭菌。

[0156] 实施例 8

[0157] 油包水型乳膏的制备

[0158] 处方 (200g):

[0159] LJK-11 2g

[0160] 司盘 80 2g

[0161] 氯甲酚 0.4g

[0162] 蜂蜡 15g

[0163] 液状石蜡 50g

[0164] 白凡士林 10g

[0165] 单硬脂酸甘油酯 30g

[0166] 5%氢氧化钠 适量

[0167] 蒸馏水 88g

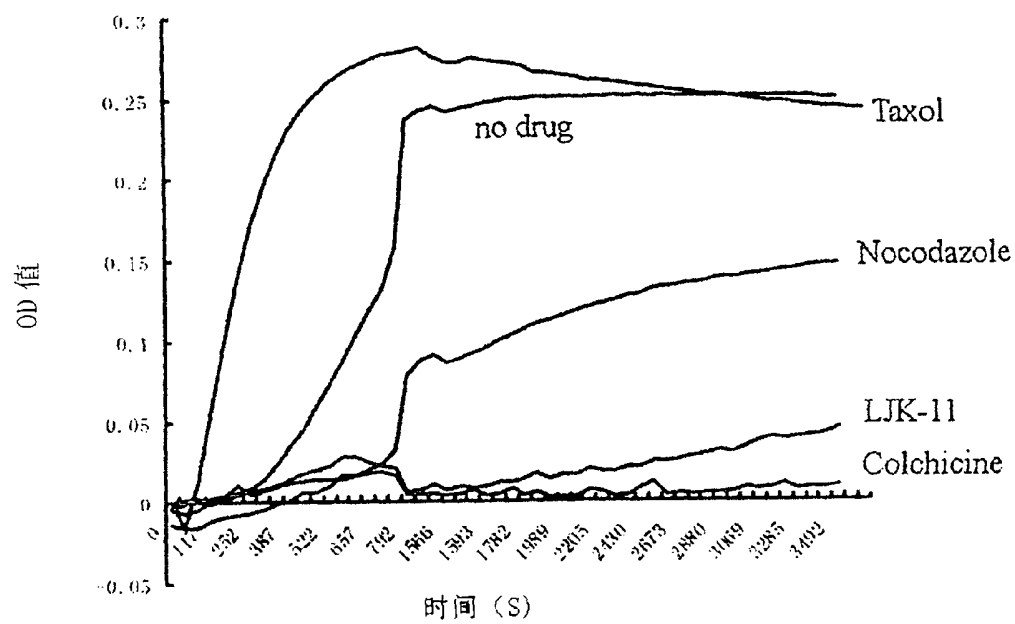
[0168] 制法：

[0169] 1、将蜂蜡、单硬脂酸甘油酯、液状石蜡、白凡士林和司盘 80 为油相，置蒸发皿中，水浴上加热至 80℃左右。

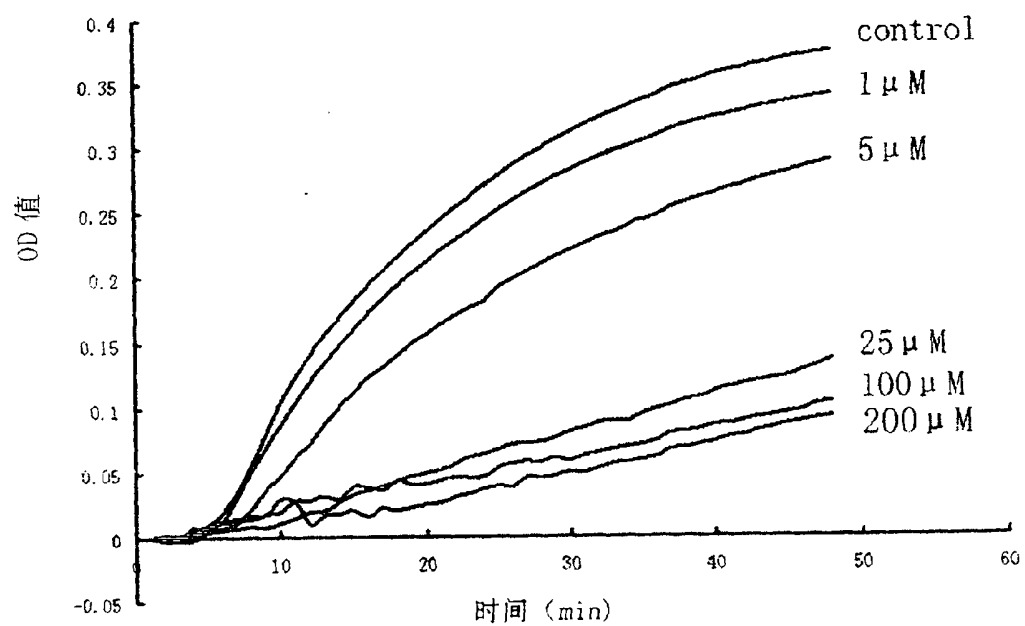
[0170] 2、将 LJK-11 加适量 5%氢氧化钠溶于蒸馏水中，加入氯甲酚，于水浴上亦加热至 80℃左右，搅拌使溶解，为水相。

[0171] 3、在约 80℃下将水相缓缓加入油相中，并于水浴上不断搅拌至呈乳白色半固体状，再在室温下搅拌至近冷凝，即得。

[0172] 本发明的范围不受所述具体实施方案的限制，所述实施方案只欲作为阐明本发明各个方面的单个例子，本发明范围内还包括功能等同的方法和组分。实际上，除了本文所述的内容外，本领域技术人员参照上文的描述和附图可以容易地掌握对本发明的多种改进。所述改进也落入所附权利要求书的范围之内。上文提及的每篇参考文献皆全文列入本文作为参考。

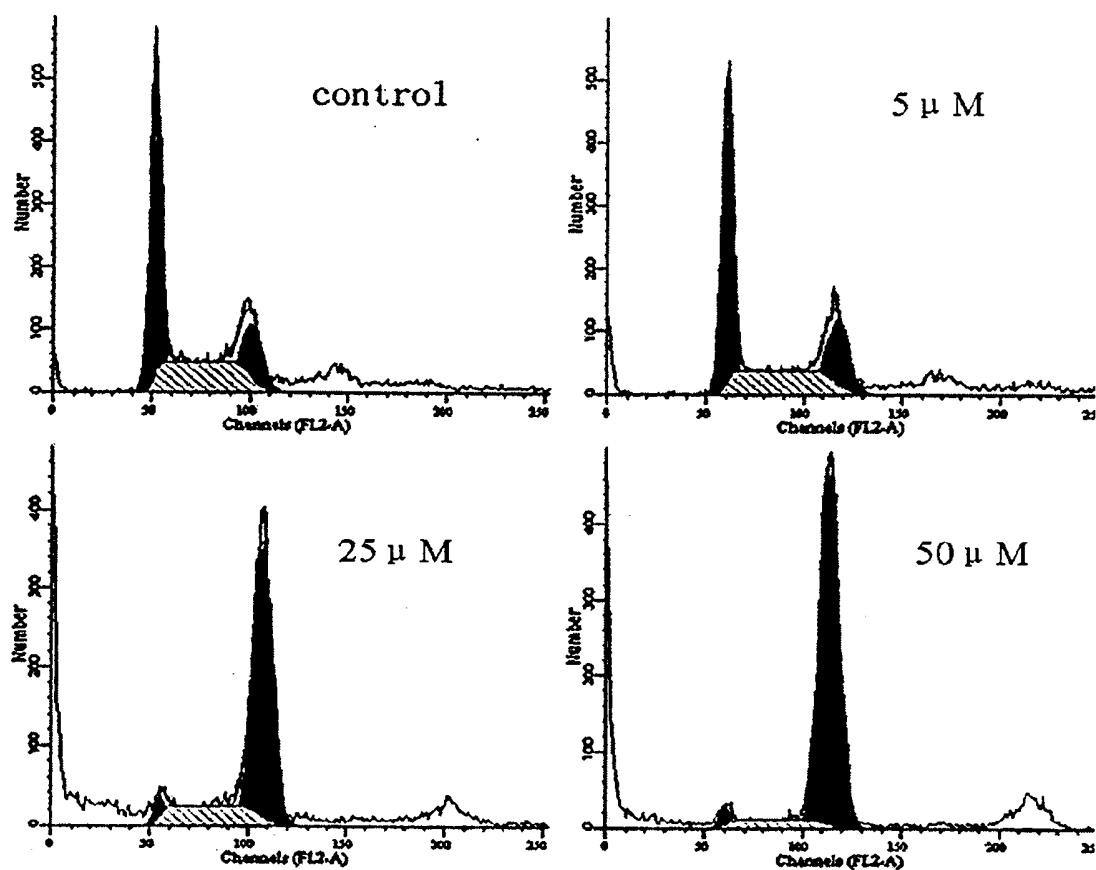


A

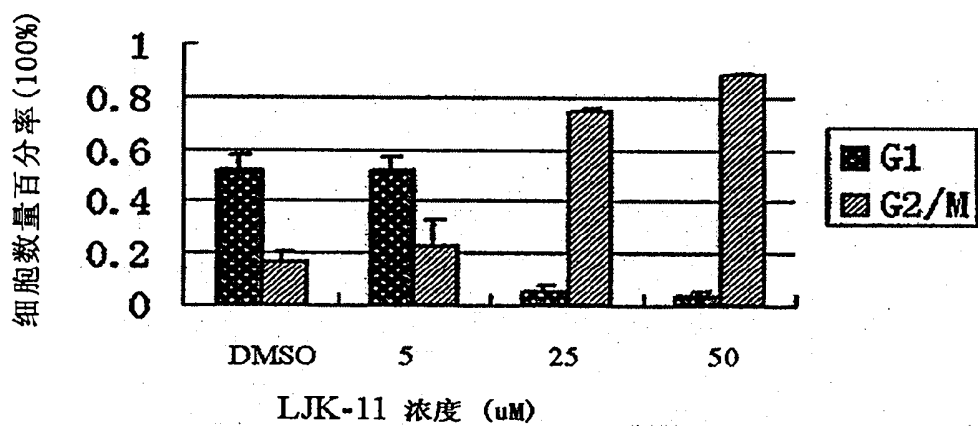


B

图 1



A



B

图 2

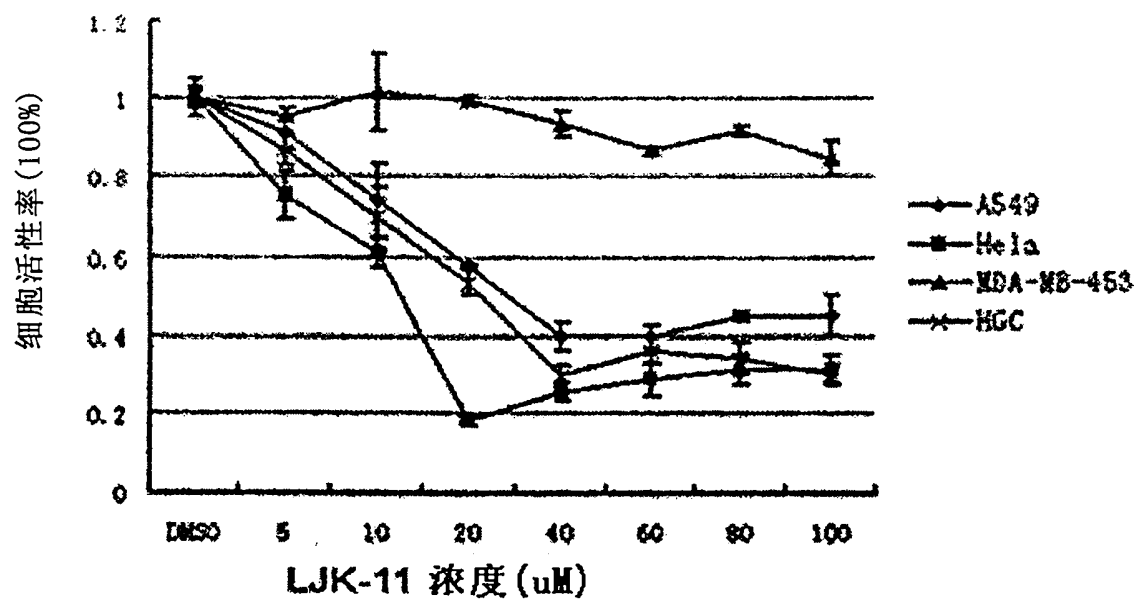


图 3