[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl[7]
A61K 9/19
A61K 31/382 A61P 35/00

[12] 发明专利说明书

[21] ZL 专利号 96198174.1

[45] 授权公告日 2004 年 12 月 8 日

[11] 授权公告号 CN 1178651C

[22] 申请日 1996.9.12 [21] 申请号 96198174.1
[30] 优先权
[32] 1995. 9.18 [33] US [31] 08/529,934
[86] 国际申请 PCT/IB1996/000984 1996.9.12
[87] 国际公布 WO1997/010809 英 1997.3.27
[85] 进入国家阶段日期 1998.5.8
[71] 专利权人 圣诺菲 - 合成实验室(美国)有限公司
地址 美国纽约州
[72] 发明人 S·布朗 G·S·桑杜
审查员 张 伟

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司
代理人 吴玉和 谭明胜

权利要求书 3 页 说明书 49 页

[54] 发明名称 冷冻干燥的噻吨酮抗肿瘤剂

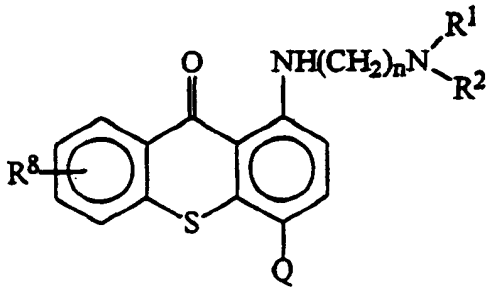
[57] 摘要

公开了几种用于治疗哺乳动物肿瘤的再配制冷冻干燥制剂，它含有一种与作为稳定剂的甘露糖醇或蔗糖在乳酸盐缓冲液中组合的噻吨酮抗肿瘤剂。

ISSN1008-4274

1. 一种用于治疗哺乳动物肿瘤的再配制冷冻干燥制剂，含有：

a）1－50mg/ml 具有如下结构式（I）结构的抗肿瘤剂：



I

其中 n 是 2 或 3，

R^1 和 R^2 独立地是 C_1-C_4 烷基；

Q 是一个选自如下的残基：CH_2NHR^3，$CH_2N(R^4)SO_2R^7$，CH_2NHCHO，CH＝N－Ar，$C(O)NR^5R^6$，$CH_2N(R^4)C(O)R^7$，$CH_2N(C_2H_5)CHO$，$CH_2N(R^4)P(O)(O-C_1-C_4烷基)_2$，$CH_2N=CH-N(R^9)(R^{10})$，$CH_2N(R^4)C(O)CF_3$，和 $CH_2N(R^4)C(O)OR^7$，

R^3 是氢或 C_1-C_4 烷基，

R^4 是氢，C_1-C_4 烷基或 Ar，

R^5 是氢，C_1-C_4 烷基或 Ar，

R^6 是氢或 C_1-C_4 烷基，

R^7 是 C_1-C_4 烷基，或 Ar，

R^8 是氢，C_1-C_4 烷基，C_1-C_4 烷氧基，或羟基，

Ar 是苯基，或者是被甲基，甲氧基，羟基，卤素或硝基取代的苯基，前提条件是当 n 是 2，R^1 和 R^2 是乙基，R^8 是氢，以及 Q 是 CH_2NHSO_2Ar 时，此 Ar 不能被甲基或卤素在第 4 位单基取代，

R^9 和 R^{10} 独立地是 C_1-C_4 烷基，

或其可药用的酸加成盐或溶剂化物；

b）10－125mg/ml 选自甘露糖醇和蔗糖的稳定剂，以及

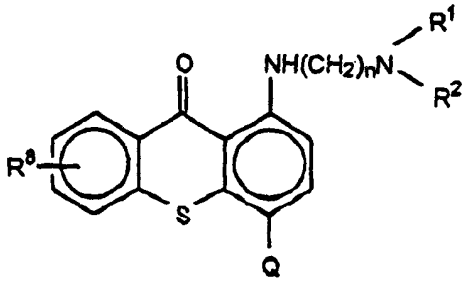
c）0.025－0.25M 的乳酸盐缓冲剂，该制剂具有 3.0－4.5 的 pH.

2. 权利要求 1 的再配制冷冻干燥制剂，其还含有 1.0－10.0mg/ml 氯化钠。

3. 权利要求 1 的再配制冷冻干燥制剂，其中所说的乳酸盐缓冲剂是乳酸钠。

4. 一种用于治疗哺乳动物肿瘤的再配制冷冻干燥制剂，含有：

a）1－20mg/ml 具有如下结构式（II）结构的抗肿瘤剂：



II

其中 n 是 2 或 3，

R^1 和 R^2 独立地是 C_1-C_4 烷基，

Q 是一个选自如下的残基：CH_2NHR^3，CH_2NHCHO，

$CH=N-Ar$，$C(O)NR^5R^6$，$CH_2N(R^4)C(O)R^7$，

$CH_2N(C_2H_5)CHO$，$CH_2N(R^4)P(O)(O-C_1-C_4烷基)_2$，$CH_2N=CH-N(R^9)(R^{10})$，$CH_2N(R^4)C(O)CF_3$，和 $CH_2N(R^4)C(O)OR^7$，

R^3 是氢或 C_1-C_4 烷基，

R^4 是氢，C_1-C_4 烷基或 Ar，

R^5 是氢，C_1-C_4 烷基或 Ar，

R^6 是氢或 C_1-C_4 烷基，

R^7 是 C_1-C_4 烷基，或 Ar，

R^8 是氢，C_1-C_4 烷基，C_1-C_4 烷氧基，或羟基，

Ar 是苯基，或者是被甲基，甲氧基，羟基，卤素或硝基取代的苯基，以及

R^9 和 R^{10} 独立地是 C_1-C_4 烷基，

或其可药用的酸加成盐或溶剂化物。

b）30－100mg/ml 选自甘露糖醇和蔗糖的稳定剂，

c）0.025－0.25M 的乳酸盐缓冲剂，该制剂具有 3.5－4.5 的 pH。

5. 权利要求 4 的再配制冷冻干燥制剂，其还含有 1.0－10.0ml/ml 氯化钠。

6. 权利要求 4 的再配制冷冻干燥制剂，其中所说的乳酸盐缓冲剂是乳酸钠。

7. 一种用于治疗哺乳动物肿瘤的再配制冷冻干燥制剂，含有：

a）1－50mg 的 N－[[1－[[2－（二乙氨基）乙基]氨基]－9－氧代噻吨－4－基]甲基]甲磺酰胺，

b）0.025－0.25M 的乳酸钠缓冲剂，

c）10－125mg 蔗糖，

d）1.0－10mg 氯化钠，

e）加水至 1.0ml。

8. 权利要求 1 的再配制冷冻干燥制剂在制备治疗哺乳动物的敏感性肿瘤的药物中的用途。

9. 权利要求 4 的再配制冷冻干燥制剂在制备治疗哺乳动物的敏感性肿瘤的药物中的用途。

10. 权利要求 7 的再配制冷冻干燥制剂在制备治疗哺乳动物的敏感性肿瘤的药物中的用途。

11. 权利要求 1-6 任一项的再配制冷冻干燥制剂，其中抗肿瘤剂是 N-[[1-[[2-(二乙氨基)乙基]氨基]-7-甲氧基-9-氧代噻吨-4-基]甲基]甲酰胺。

12. 权利要求 11 的再配制冷冻干燥制剂在制备治疗哺乳动物的敏感性肿瘤时药物中的用途。

冷冻干燥的噻吨酮抗肿瘤剂

1.发明领域

本发明是关于冷冻干燥的抗肿瘤剂水性非胃肠给药溶液。更具体地说，本发明是关于冷冻干燥的噻吨酮（ thioxanthenone ）抗肿瘤水剂。

2.已报告的进展

许多以治疗或诊断用途为目的的常规药物和蛋白质，在水溶液中都不稳定，而需要转变成固体产品。对于药物产品，为了使之具有必需的稳定性，冷冻干燥是最常用的处理方法之一。

由于种种原因，生物活性剂很少以其纯品形式被冷冻干燥。为了某些特定目的，例如为了 pH 缓冲，提高稳定性或渗透压平衡，通常需要加入其它化学成分。在设计冷冻干燥程序时，主要由作为整体的制剂控制过程中的参数。因此，制剂中的任何改变，不仅是活性剂本身含量的改变，都将要求操作过程作进一步调整。除了出于上述原因加入的赋形剂之外，冷冻干燥处理通常还需要掺入更多的添加剂，以便有助于冷冻干燥过程本身，或者为了在以后的贮存和运输过程中，使冷冻干燥的填料能保持机械强度。这样一些赋形剂被称为 lyoprotectants 或稳定剂。稳定剂的用途将在下述参考文献中作例证说明。

国际申请 No. PCT/US 89/04099 （ WO 90/03784 ）描述了一种冷冻干燥的组合物，它包含一种多肽和一种具有使之稳定/增溶量的选自如下的环糊精：β－和γ－环糊精的羟丙基衍生物，羟乙基衍生物，葡糖基衍生物，麦芽糖基衍生物和麦芽三糖基衍生物。

美国专利 No. 4,983,586 公开了一种用于减少非胃肠给药时，亲脂性药物和/或水－不稳定性药物在注射部位出现沉淀的发生率的方法，包括以含有大约 20 % － 50 % 羟丙基－β－环糊精的药物水溶液给药。对多种药物提出了权利要求，包括：抗肿瘤药，镇静剂，安定药，抗惊厥药，抗抑郁药，安眠药，肌肉弛缓药，解痉剂，抗炎症药，抗凝剂，强心药，血管扩张剂和抗心律不齐药。

美国专利 No. 5,298,410 公开了几种冷冻干燥的生物活性物质制

剂，其中的稳定剂是一种环糊精衍生物，以及一种如磷酸钠，醋酸钠和碳酸钠的缓冲剂。此制剂还可任选地加入蔗糖或海藻糖。

冷冻干燥的起始物通常是一种不饱和的水溶液，而最后的产品是固体。整个过程包括除去 99 % 以上的水分。在冷却过程中，水溶液被冷冻浓缩，而水是以冰的形式被除去。整个过程包括几次相转变，例如液－固相转变和固－气相转变，认为这种转变对于确保有效的处理和形成稳固的产品是重要的。当温度降低时，在冰晶核自发形成之前，溶液起初将被过冷（即冷却至平衡状态冻结温度以下）。冰晶核形成和冰晶生长是一个复杂的过程，其速度取决于冷却速度，溶液浓度和其它一些因素。过程的这个步骤将在很大程度上决定最后干燥产品的质地。在冻结过程中，溶剂以越来越浓缩的形式遗留在残存的液相中，浓缩程度可由相平衡状态图来确定。最后，溶液将成为饱和状态，在此时，溶剂的固相也将形成。这样，该系统将由冰晶和溶剂晶体的混合物组成。

最初为了辅助冷冻干燥而加入的赋形剂，通常只起了二种功能中的一种作用。填充剂是单纯地用于增加整个固体的含量，以便得到机械性能更坚硬的干燥产品。这些赋形剂在冷冻干燥过程中，优选地是在冰冻阶段必须能够从溶液中结晶出来，因为它仅作为一种分散相，它们对产品的稳定性只有不确定的作用。而另一方面，稳定剂则在冷冻－浓缩过程中提供化学保护作用，并且有助于玻璃态的形成，它们还使干燥的填料具有机械强度。玻璃态转变温度是全部固体物质化学成分的函数。

尽管在以前的研究中、以物理－化学基本原理用于正确地配制冷冻干燥产品的方法受到了相当广泛的注意（参见例如 Franks， F.冷冻干燥：物理学，化学，工程学和经济学的综合， Jap. J. Freese Drying，38, 5 － 16（ 1992 ）），但是，仅根据物理－化学原理还不足以使本领域的技术人员能研制出满足理想目标的最终产品。显然，正如本发明的结果所表明，艰苦的探索和/或意外的发现，仍然是可借以产生适当产品的现实基础。

通过艰苦的探索我们现在已发现，可以将噻吨酮抗肿瘤化合物制成冷冻干燥的药物制剂，再溶解后则成为可注射的制剂，但当将这种化合物在通常的药物赋形剂中给药，例如以片剂和胶囊剂口服给药，

则不能完全符合一个有效产品的要求。并发现这种冷冻干燥制剂是稳定的，在延长的贮存期内未发生降解/改变。

发明概述

根据本发明，在此提供了用于治疗哺乳动物肿瘤的再溶解冷冻干燥制剂，它含有：

a)下文所定义的噻吨酮抗肿瘤剂，大约 1－50mg/ml，优选的是大约 10－20mg/ml;

b)选自甘露糖醇和蔗糖的稳定剂，大约 10mg/ml－125mg/ml，优选的是大约 30mg/ml－100mg/ml;

c)大约 0.025－0.25M 乳酸盐缓冲液，优选的是乳酸钠缓冲液，该制剂具有大约 3.0－4.5 的 pH。

该制剂还含有大约 1.0-10.0 mg/ml 的氯化钠。

本发明优选的制剂含有抗肿瘤剂 N－[[1－[[2－（二乙氨基）乙基]氨基]－9－氧代噻吨（thioxanthene）－4－基]甲基]－甲磺酰胺，以及作为稳定剂的蔗糖。

所说优选的制剂含有：

a）1－50mg 的 N－[[1－[[2－（二乙氨基）乙基]氨基]－9－氧代噻吨－4－基]甲基]甲磺酰胺，

b）大约 0.025－0.25M 的乳酸钠缓冲剂，

c）大约 10－125mg 蔗糖，

d）大约 1.0－10mg 氯化钠，

e）加水至 1.0ml。

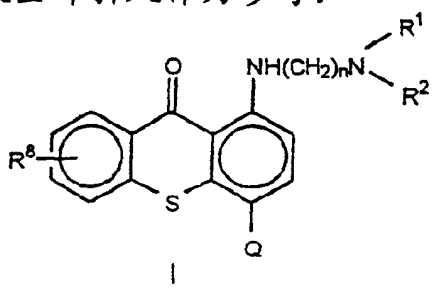
本发明的再配制冷冻干燥制剂可对哺乳动物给药，用于治疗肿瘤。

发明详述

本发明的冷冻干燥制剂包含：噻吨酮（thioxanthenone）抗肿瘤剂，以及水性赋形剂。

抗肿瘤剂：

根据美国专利 No. 5,346,917，本发明的抗肿瘤剂具有如结构式（I）的结构，此专利在此被全部引入作为参考：



I

其中 n 是 2 或 3，

R^1 和 R^2 独立地是低级烷基，

Q 是一个选自如下的残基： CH_2NHR^3， $CH_2N(R^4)SO_2R^7$，CH_2NHCHO， $CH = N - Ar$， $C(O)NR^5R^6$，$CH_2N(R^4)C(O)R^7$， $CH_2N(C_2H_5)CHO$， $CH_2N(R^4)P(O)(O-$低级烷基$)_2$， $CH_2N = CH - N(R^9)(R^{10})$， $CH_2N(R^4)C(O)CF_3$，和 $CH_2N(R^4)C(O)OR^7$，

R^3 是 H 或低级烷基，

R^4 是 H，低级烷基，或 Ar，

R^5 是 H，低级烷基，或 Ar，

R^6 是 H 或低级烷基，

R^7 是低级烷基，或 Ar，

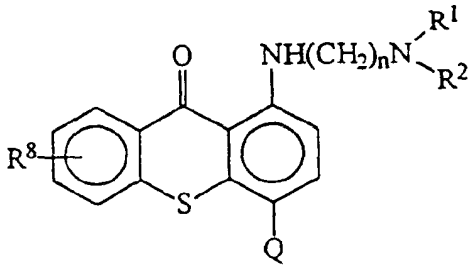
R^8 是 H，低级烷基，低级烷氧基，或羟基，

Ar 是苯基，或者是被甲基，甲氧基，羟基，卤素或硝基取代的苯基，前提条件是当 n 是 2，R^1 和 R^2 是乙基，R^8 是 H，以及 Q 是 CH_2NHSO_2Ar 时，此 Ar 基不能够被甲基或卤素在第 4 位单基取代，

R^9 和 R^{10} 独立地是低级烷基，

或者其可药用的酸加成盐或溶剂化物。此化合物对治疗哺乳动物的肿瘤是有效的。

优选的抗肿瘤剂是结构式（ II ）代表的抗肿瘤剂：



II

其中 n 是 2 或 3，

R^1 和 R^2 独立地是低级烷基，

Q 是一个选自如下的残基： CH_2NHR^3， CH_2NHCHO，$CH = N - Ar$， $C(O)NR^5R^6$， $CH_2N(R^4)C(O)R^7$，

$CH_2N(C_2H_5)CHO$，$CH_2N(R^4)P(O)(O-低级烷基)_2$，$CH_2N=CH-N(R^9)(R^{10})$，$CH_2N(R^4)C(O)CF_3$和$CH_2N(R^4)C(O)OR^7$，

R^3是H或低级烷基，

R^4是H，低级烷基或Ar，

R^5是H，低级烷基或Ar，

R^6是H或低级烷基，

R^7是低级烷基，或Ar，

R^8是H，低级烷基，低级烷氧基，或羟基，

Ar是苯基，或者是被甲基，甲氧基，羟基，卤素或硝基取代的苯基，以及

R^9和R^{10}独立地是低级烷基，

或者其可药用的酸加成盐或溶剂化物。

这里所说的低级烷基是指含有4个或更少碳原子的直链、支链或环状烷基。卤素是指溴、氯或氟。术语“低级烷氧基”是指有1个至约4个碳原子的直链或支链烷氧基取代基，例如，甲氧基、乙氧基、丙氧基、异丙氧基、丁氧基、仲丁氧基等。

代表性化合物将在下述实施例中说明:

实施例1

1-[[2-(二乙氨基)乙基]氨基]-4-(N-苯基甲亚氨酰基)噻吨-9-酮

（I: $R^1=R^2=Et$，$Q=CH=N-C_6H_5$，$R^8=H$，$n=2$）

将1-[[2-(二乙氨基)-乙基]氨基]-9-氧代-噻吨-4-甲醛17.7g(50mmol)和苯胺15.1 g（150mmol）在100ml甲苯中的混合物，以迪安-斯达克榻分水器回流加热8小时。以氯仿/己烷/异丙胺10:10:2作流动相，在氧化铝板上作薄板层析显示出不完全反应。蒸馏除去甲苯，加入25ml苯胺，再将此混合物回流加热4小时。加入50ml二甲苯，并将此反应物再回流加热3小时。用真空法除去溶剂和剩余的苯胺，残余物用苯重结晶，产生19.9g粗品。将此粗品用大约1.5L己烷重结晶，产生15.8g（86%）产品，熔点125-126°。

实施例2

N-[[1-[[2-(二乙氨基)乙基]氨基]-9-氧代噻吨-4-基]甲基]甲酰胺

（I：$R^1 = R^2 = Et$，$Q = CH_2NHCHO$，$R^8 = H$，$n = 2$）

将 35.4g（0.1 mol）1－[[2－(二乙氨基)－乙基]氨基]－9－氧代－噻吨－4－甲醛，420ml 甲酰胺和 50ml（1 mol）甲酸的溶液在160°加热 1 小时。冷却后将反应物注入 2L 水中，并用约 50ml 35％氢

氧化钠溶液碱化。过滤出胶质沉淀物，并作真空干燥处理。将此干燥的沉淀物溶解于大约 1.5L 热乙酸乙酯中，用活性炭处理，并使之冷却结晶。过滤出产品，用乙酸乙酯洗，然后干燥，得到 29.0g（ 75 % ）产品，熔点 154 - 155°。

实施例 3

N - [[1 - [[2 - (二乙氨基)乙基]氨基] - 9 - 氧代噻吨 - 4 - 基]甲基] - N - 甲基甲酰胺

（ IV： $R^1 = R^2 = Et$， $R^4 = Me$， $R^8 = H$， $n = 2$ ）

按照类似于实施例 2 的方法，从 35.4g（ 0.1 mol ） 1 - [[2 - (二乙氨基)乙基]氨基] - 9 - 氧代 - 噻吨 - 4 - 甲醛， 394g N - 甲基甲酰胺，和 50ml 甲酸制备出 24.6g 所述 N - 甲基甲酰胺。产品用 150ml 丙酮重结晶，熔点为 127 - 130°。

实施例 4

4 - (氨甲基) - 1 - [[2 - (二乙氨基)乙基]氨基] - 噻吨 - 9 - 酮

（ I： $R^1 = R^2 = Et$， $Q = CH_2NH_2$， $R^8 = H$， $n = 2$ ）

将 24.4g（ 64mmol ）实施例 2 制备的甲酰胺在 240ml 2N 盐酸中的溶液，在蒸汽浴上加热 1 小时。使反应物冷却至室温，用 35 % 氢氧化钠水溶液碱化，并通过过滤收集生成的黄色沉淀。将该产品溶解于苯中，用活性炭处理，用硫酸镁干燥，过滤并共沸除去痕迹量水分。通过加入盐酸乙醚液，使干燥的残留物从甲醇和异丙醇中结晶出。将生成的固体用甲醇重结晶几次，得到 10.6g 作为二盐酸盐的产品，熔点 270 - 272°。

实施例 5

1 - [[2 - (二乙氨基)乙基]氨基] - 4 - [(甲氨基) - 甲基]噻吨 - 9 - 酮

（ I： $R^1 = R^2 = Et$， $Q = CH_2NHCH_3$， $R^8 = H$， $n = 2$ ）

按照与实施例 4 完全相似的方法，从 14.6g（ 37mmol ）实施例 3 制备的 N - 甲基甲酰胺和 150ml 2N 盐酸，得到了作为半水合二盐酸化物的甲胺 10.5g。此产品的熔点为 241 - 243°。

实施例 6

N - [[1 - [[2 - (二乙氨基)乙基]氨基] - 9 - 氧代噻吨 - 4 - 基]甲基]甲磺酰胺

（ I： $R^1 = R^2 = Et$， $Q = CH_2NHSO_2CH_3$， $R^8 = H$， $n = 2$ ）

将在实施例 4 所制备胺的游离碱 10.65g（ 30mmol ）溶于 100ml 吡啶中，置于冰浴中冷却，并一次加入 4g（ 35mmol ）甲基磺酰氯。将此混合物在室温下搅拌 2 小时，并注入含有 2g 氢氧化钠的 750ml 水中。过滤收集暗黄色的沉淀物，用水洗，并真空干燥过夜。通过对滤液加入过量氢氧化钠，再次得到产物，过滤出所形成的固体。干燥后合并沉淀物，并用苯重结晶，得到 6.4g 所需甲磺酰胺，熔点 169 - 170°。

实施例 7

1 - [[2′ - (二乙氨基)乙基]氨基] - 9 - 氧代噻吨 - 4 - 甲酰胺

（ I： $R^1 = R^2 = Et$， $Q = CONH_2$， $R^8 = H$， $n = 2$ ）

将 74g（ 0.23mol ） 1 - [[2 - (二乙氨基) - 乙基]氨基] - 9 - 氧代噻吨 - 4 - 甲醛和 74g（ 1.06mol)羟胺盐酸化物在 400ml 吡啶和 400ml 乙醇中的悬液回流加热 0.5 小时，再加入 70ml 水，得到均质溶液。将此溶液再加热 2 小时，然后在室温下静置 14 小时。生成的结晶肟被过滤出，达到一定量产率，熔点 215 - 218°。

将 123g 所述肟在 180ml 乙酸酐中，在蒸汽浴上作短暂加热，形成溶液。将此溶液冷却，加入 100ml 1.8M HCl 的乙醚液，形成的悬液再以 500ml 乙醚稀释。将此悬液在 0°下静置 14 小时，并过滤。使此残留物（ 123g，熔点 109 - 112°）在 250ml 二甲苯中作成淤浆状，并回流加热 20 分钟。将此混合物冷却，过滤得到 71.3g 腈，熔点 265°C 。

取 10g 这种腈置于 200ml 浓 H_2SO_4 中，在室温下搅拌 3 天。然后用浓 NH_4OH 中和此反应物，并过滤出残留物。将此残留物在温热的 EtOAc/EtOH 中消化，再过滤，然后从冷却液中结晶出产品，熔点 241 - 243°。将产品溶解于乙醇中，并加入 1N HCl 乙醇溶液。得到 6g 盐酸酰胺，熔点 271 - 272°。

实施例 8

N - [[1 - [[2 - (二乙氨基)乙基]氨基] - 9 - 氧代噻吨 - - 基]甲基]N - 甲基甲磺酰胺

（ I： $R^1 = R^2 = Et$， $Q = CH_2N(CH_3)SO_2CH_3$， $R^8 = H$， $n = 2$ ）

将实施例 6 制备的甲磺酰胺 1.5g（ 3.5mmol ）溶于四氢呋喃（ 60ml)中，置于冰浴内冷却至 0°C，并加入 NaH 0.16g（ 4.0mmol)。使反应混合物温热至室温，搅拌 10 分钟，然后加入甲基碘 0.25ml（ 4.0mmol ）。再将反应混合物在室温下搅拌 24 小时，然后真空除去

溶剂。通过柱层析纯化残留物，在硅胶柱上，先用氯仿（ 100 % ）洗脱，然后用 1 % 异丙胺/氯仿洗脱，得到 1.15g（ 74 % ）N - 甲基甲磺酰胺黄色粉末，熔点 175 - 177 ℃。也可将此游离碱在甲醇中用甲磺酸处理，得到其甲磺酸盐，熔点 194 - 195.5°C （此后被称为实施例 8a ）。

实施例 9

N - [[1 - [[2 - (二乙氨基)乙基]氨基] - 9 - 氧代噻吨 - 4 - 基]甲基]苯磺酰胺

（ I： $R^1 = R^2 = Et$， $Q = CH_2NHSO_2Ph$， $R^8 = H$， $n = 2$ ）

按照基本上类似于实施例 6 中所述的方法，通过在 2.54g（ 7.15mmol ）实施例 4 所制备胺的游离碱，吡啶（ 50ml ）和苯磺酰氯（ 1.1 ml， 8.62mmol ）反应后，在甲醇中用甲磺酸处理得到了以甲磺酸盐形式存在的该苯磺酰胺 2.4g（ 57 % ）。再将此产品用乙醇重结晶。

实施例 10

N - [[1 - [[2 - (二乙氨基)乙基]氨基] - 9 - 氧代 - 噻吨 - 4 - 基]甲基]乙酰胺

（ I： $R^1 = R^2 = Et$， $Q = CH_2NHC(O)CH_3$， $R^8 = H$， $n = 2$ ）

按照基本上类似于实施例 6 中所述的方法，从 4.15g（ 11.7mmol ）实施例 4 所制备胺的游离碱，吡啶（ 60ml ）和乙酰氯（ 0.82ml ，11.53mmol ），得到了 2.3g（ 52 % ）该乙酰胺橙色固体。将此产品用丙酮重结晶，熔点 182 - 183°C 。

实施例 11

N - [[1 - [[2 - (二乙氨基)乙基]氨基] - 9 - 氧代噻吨 - 4 - 基]甲基]苯甲酰胺

（ I： $R^1 = R^2 = Et$， $Q = CH_2NHC(O)Ph$， $R^8 = H$， $n = 2$ ）

按照基本上类似于实施例 6 中所述的方法，从 1.17g（ 3.29mmol ）实施例 4 所制备胺的游离碱，吡啶（ 25ml ）和苯甲酰氯（ 0.42ml ，3.62mmol ），得到了 1.02g（ 68 % ）该苯甲酰胺黄色粉末。通过柱层析将该产品纯化，在硅胶柱上，先以氯仿（ 100 % ）、然后以 1 % 异丙胺/氯仿洗脱，随后用乙酸乙酯重结晶。该产物熔点为 161 - 163 ℃。

实施例 12

N－[[1－[[2－(二乙氨基)乙基]氨基]－9－氧代噻吨－4－基]二乙基磷酰胺

（I：$R^1 = R^2 = Et$，$Q = CH_2NHP(O)(OEt)_2$，$R^8 = H$，$n = 2$）

将2.28g（6.41 mmol）实施例4所制备胺的游离碱，CH_2Cl_2（50ml），和三乙基胺（2ml）的溶液，在0℃用氯代磷酸二乙基酯（1.0ml，6.9mmol）处理。此反应混合物先在0℃被搅拌2小时，然后在室温下搅拌1小时。真空除去溶剂后，残留物通过柱层析纯化，在硅胶柱上，先用乙酸乙酯（100％）洗脱，然后用5％甲醇/乙酸乙酯洗脱，最后用甲醇/异丙胺/乙酸乙酯（5/5/90）洗脱，再以乙酸乙酯重结晶后得到2.28g（72％）该二乙基磷酰胺黄色固体，熔点108－110℃。

实施例13

N－[[1－[[2－(二乙氨基)乙基]氨基]－9－氧代噻吨－4－基]甲基]－N－乙基甲酰胺

（IV：$R^1 = R^2 = Et$，$R^4 = Et$，$R^8 = H$，$n = 2$）

将2.0g（5.6mmol）1－[[2－(二乙氨基)乙基]氨基]－9－氧代－噻吨－4－甲醛，N－乙基甲酰胺（24.0ml）和甲酸（3.0ml，79.5mmol）的溶液，在170℃加热4小时。使反应混合物冷却之后，注入水中，并用10％氢氧化钠碱化。借助于过滤收集，得到固体，并用水洗。在氯仿/水中提取该固体残留物，分离出有机层，复盖在Na_2SO_4上干燥。真空除去溶剂后，残留物通过径向层析法纯化，用异丙胺/甲醇/乙酸乙酯（0.5/1/98.5）洗脱，得到1.32g（57％）所述N－乙基甲酰胺橙色固体，熔点75－77℃。

实施例14

1－[[2－(二乙氨基)乙基]氨基]－4－[(乙氨基)－甲基]噻吨－9－酮

（I：$R^1 = R^2 = Et$，$Q = CH_2NHC_2H_5$，$R^8 = H$，$n = 2$）

按照基本上类似于实施例4中所述的方法，从1.3g（3.2mmol）实施例13制备的N－乙基甲酰胺和10.8ml 2N盐酸，得到了作为二盐酸化物的所需乙胺1.29g（92％）。将此产物用乙醇/四氢呋喃重结晶，此产物在160℃熔化（分解）。

实施例15

1 - [[2 - (二乙氨基)乙基]氨基] - 4 - (二甲氨基亚甲基 - 氨甲基) - 噻吨 - 9 - 酮三盐酸化物

(I: $R^1 = R^2 = Et$; $Q = CH_2N = CHN(Me)_2$; $R^8 = H$; $n = 2$)

将 N - [[1 - [[2 - (二乙氨基)]乙基]氨基] - 9 - 氧代噻吨 - 4 - 基]甲基]甲酰胺 (3g) 用 50ml 2N HCl 稀释后，溶液在蒸汽浴上加热 90 分钟。将此混合物冷却，用 35 % 氢氧化钠溶液碱化至 pH10，然后被萃取进入氯仿。分离出有机层，使之过滤通过 K_2CO_3，再被真空浓缩，并使生成的粗制品在 60 ℃与二甲基甲酰胺缩二甲醇反应过夜。真空除去过剩的二甲基甲酰胺缩二甲醇后，用快速层析法(硅胶，氯仿/$iPrNH_2$/甲醇 (98: 1: 1) 纯化该所需的标题化合物。将此产品溶解于 2.5M HCl/乙醇 (100ml) 中，在冰浴中冷却，过滤，并干燥，得到 2.38g 1 - [[2 - (二乙氨基)]乙基]氨基] - 4 - (二甲氨基亚甲基氨甲基) - 噻吨 - 9 - 酮三盐酸化物橙色固体，熔点 258 - 260 ℃。

实施例 16

N - [[1 - [[2 - (二乙氨基)乙基]氨基] - 9 - 氧代噻吨 - 4 - 基]甲基] - 三氟乙酰胺

(I: $R^1 = R^2 = Et$, $Q = CH_2NHC(O)CF_3$, $R^8 = H$, $n = 2$)

将 4 - (氨甲基) - 1 - [[2 - (二乙氨基)乙基] - 氨基]噻吨 - 9 - 酮 (2.91 g, 8.19mmol) 溶于 80ml 二氯甲烷，在 0 ℃用三氟乙酰氨 (溶于甲苯的 14.75ml 0.61 M 溶液, 9.0mmol) 处理，然后将反应混合物在 0 ℃搅拌 90 分钟。将此混合物真空浓缩，残留物用快速层析法纯化(硅胶柱，先用 EtOAc (100 %)洗脱，然后用 2 % 异丙胺/EtOAc 洗脱)，然后用乙酸乙酯重结晶，得到 2.52g (68 %) 该产品的游离碱，熔点 189 - 190 ℃ (实施例 16)。将此游离碱溶解于甲醇中，用甲磺酸 (0.55g, 5.72mmol) 处理，用丙酮重结晶后，得到其甲磺酸盐，熔点 152 - 154 ℃ (实施例 16a)。

实施例 17

(a)

将硫代水杨酸 (50.14g, 0.33mol) 和乙酸铜 (5.0g) 在二甲基亚砜 (500ml) 中的混合物回流加热，并一次加入碳酸钾 (54.3g)。然后借助注射器加入 3 - 溴氯苯 (42ml, 0.36mol)，并将此混合物回流加热 3 小时。将反应混合物注入水中，用活性炭处理，并过滤通

过硅藻土。滤液用浓 HCl 酸化，过滤收集生成的沉淀，用水洗沉淀，在 60 ℃真空干燥，得到 75.01 g（ 85 % ） 2 - [（ 3 - 氯苯基）硫代]苯甲酸。

（ b ）

在 0 ℃，搅拌下，将 2 - [（ 3 - 氯苯基）硫代]苯甲酸（ 75.00g，0.28mol ）加至浓 H_2SO_4 中，在超过 1 小时的时间内分几批加入。将此混合物再搅拌 2 小时，注入浓 NH_4OH（ 500ml ）的水（ 2.5L ）溶液中，借助过滤收集生成的沉淀物，用水洗，并在 60 ℃真空干燥，得到 65.9g（ 95 % ） 1 - 氯和 3 - 氯噻吨 - 9 - 酮混合物。

（ c ）

将 1 - 氯和 3 - 氯噻吨 - 9 - 酮（ 14.01 g， 56.8mmol ），吡啶（ 20ml ），以及二乙氨基丙基胺（ 5.13g， 39.4mmol ）的混合回流加热直至反应完成。撤除加热，真空除去溶剂，残留物用氯仿萃取，并通过柱层析纯化，在硅胶柱上先用氯仿洗脱，除去未反应的 3 - 氯异构体，然后用 5 % 异丙胺/氯仿洗脱，得到 5.10g（ 54 % ） 1 - [[3 -（二乙氨基）丙基）]氨基]噻吨 - 9 - 酮橙色胶状物。

（ d ）

将 1 - [[3 -（二乙氨基）丙基]氨基] - 噻吨 - 9 - 酮（ 5.10g，15.0mmol ），甲醛水溶液（ 160ml ）和 5N 乙酸（ 0.8ml ）的混合物，在 90 ℃加热 16 小时，再加入 5N 乙酸（ 0.20ml ），随之加入甲醛水溶液（ 50ml ），然后将此混合物在 90 ℃再加热约 57 小时。用水将混合物稀释，用 5N NaOH 碱化，并用氯仿萃取。有机层复盖在 Na_2SO_4 上干燥，并使之通过硅胶柱，先用 2 % 甲醇/氯仿洗脱，然后用异丙胺/甲醇/氯仿（ 2/2/96 ）洗脱，得到 3.82g（ 69 % ） 1 - [[3 -（二乙氨基）丙基]氨基] - 4 -（羟甲基）- 噻吨 - 9 - 酮橙色/棕色胶状物。

（ e ）

1 - [[3 -（二乙氨基）丙基]氨基] - 9 - 氧代噻吨 - 4 - 甲醛

（ II： $R^1 = R^2 = Et$， $R^8 = H$， $n = 3$ ）

将 1 - [[3 -（二乙氨基）丙基）]氨基] - 4 -（羟甲基）- 噻吨 - 9 - 酮（ 3.82g ），甲苯（ 60ml ）和二氧化锰（ 7.5g ）的混合物回流加热 6.5 小时。将混合物冷却至室温后，使之过滤通过硅藻土，真空浓缩滤液，得到 3.3g（ 87 % ） 1 - [[3 -（二乙氨基）丙基]氨基] - 9

－氧代噻吨－4－甲醛棕色油状物。

（f）

1－[[3－（二乙氨基）丙基）]氨基]－4－（甲氨基甲基）噻吨－9－酮二盐酸化物·3/2水合物

（I：$R^1 = R^2 = Et$，$Q = CH_2NHMe$，$R^8 = H$，$n = 3$）

将1－[[3－（二乙氨基）丙基]氨基]－9－氧代噻吨－4－甲醛（3.3g，8.96mmol）和3g甲酸在50ml，N－甲基甲酰胺中的溶液回流加热2小时。用5ml 5N氢氧化钠溶液碱化此混合物，并在氯仿萃取（3次，每次150ml氯仿）。有机层用硫酸钠干燥，真空浓缩，粗制油状物被溶解于3N HCl水溶液（50ml）中，并在蒸汽浴上加热3小时。将上述混合物冷却，用30ml 35％ NaOH碱化，在氯仿（3×150ml）中萃取，有机层用硫酸钠干燥，真空浓缩后得到棕色油状物。将此棕色油状物用快速层析法纯化（硅胶柱，先用5％三乙基胺/Et_2O洗脱，然后用5％ Et_3N/EtOAc洗脱，再用三乙基胺/甲醇/EtOAc（5：5：90）洗脱），得到1.1g 1－[[3－（二乙氨基）－丙基]氨基]－4－（甲氨基甲基）噻吨－9－酮鲜橙色胶状物。通过在乙醚中用6N HCl处理，将此胶状物转变成相应的二盐酸化物，得到1.04g其二盐酸化物3/2水合物黄色粉末，熔点222－224℃。

实施例18

（a）

4－（氨甲基）－1－[[2－（二甲氨基）乙基]氨基－9－氧代噻吨－9－酮二盐酸化物·1/2水合物

（I：$R^1 = R^2 = Me$，$Q = CH_2NH_2$，$R^8 = H$，$n = 2$）

将N－[[1－[[2－（二甲氨基）乙基]氨基]－9－氧代噻吨－4－基]甲基]甲酰胺（6.2g）和2N HCl（52ml）的混合物，加热至100℃，持续1.5－2小时。再将此反应混合物注入冰水中，用35％ NaOH碱化，并用氯仿萃取。有机层用水洗（二次），然后用盐水洗（1次），用Na_2SO_4干燥，并真空浓缩。残留物通过柱层析纯化，在硅胶柱上，先用乙酸乙酯洗脱，然后用0.5％三乙基胺/EtOAc洗脱，再用2％三乙基胺/EtOAc洗脱，再用$CHCl_3$/1－2％异丙胺洗脱，最后用$CHCl_3$/1－2％异丙胺/2％甲醇洗脱，得到3.3g（58％）该产品的游离碱。将一部分这种游离碱（1.25g）溶解于甲醇中，并在甲醇（6ml）中用浓

HCl（3.3ml）处理，得到1.2g该产品的二盐酸化物·1/2水合物，熔点213℃（分解）。

（b）

N－[[1－[[2－（二甲氨基）乙基]氨基]－9－氧代噻吨－4－基]甲基]甲磺酰胺甲磺酸盐

（I：$R^1 = R^2 = Me$，$Q = CH_2NHSO_2Me$，$R^8 = H$，$n = 2$）

将4－（氨甲基）－1－[[2－（二甲氨基）]乙基]氨基]－噻吨－9－酮（2g，6mmol）置于在氮气下的30ml干燥吡啶中，在室温下搅拌直至完全溶解。使此溶液在冰浴中冷却，滴加溶于冷吡啶中的甲磺酰氯0.52ml（6.7mmol），并将此混合物在室温下搅拌1小时。再将此反应混合物注入含有0.51 g氢氧化钠的500ml水中，用氯仿萃取，有机层用水（2次）和盐水洗，并用无水硫酸钠干燥。将此混合物过滤，并真空浓缩。残留物（2.5g）在乙醚中搅拌，过滤，干燥后得到2g N－[[1－[[2－（二甲氨基）乙基]氨基]－9－氧代噻吨－4－基]甲基]甲磺酰胺，熔点126－127℃。将此游离碱溶于甲醇中，用甲磺酸（0.48g）处理，得到2.0g（67％）该产品的甲磺酸盐，熔点168℃（分解）。

（c）

将1－[[2－（二甲氨基）乙基]氨基]－4－（羟甲基）－噻吨－9－酮（9.2g，0.028mol）在甲苯（322ml）中的混合物加热至大约60℃，然后加入氧化锰（MnO_2，16g），再将此混合物在60℃加热1小时。过滤此混合物，真空浓缩其滤液，得到7.9g（87％）1－[[2－（二甲氨基）－乙基]氨基]－9－氧代噻吨－4－甲醛（结构式II：$R^1 = R^2 = Me$，$R^8 = H$，$n = 2$）。

（d）

N－[[1－[[2－（二甲氨基）乙基]氨基]－9－氧代噻吨－4－基]甲基]甲酰胺

（I：$R^1 = R^2 = Me$，$Q = CH_2NHCHO$，$R^8 = H$，$n = 2$）

将1－[[2－（二甲氨基）乙基]氨基]－9－氧代噻吨－4－甲醛（4.75g），甲酰胺（66.5ml）和甲酸（7.6ml）的混合物，在170℃加热4小时。将此混合物注入冰水（250ml）中，然后用35％ NaOH碱化，用氯仿萃取。有机层先用水洗（2次），然后用盐水洗（1次），

再将此溶剂用 Na_2SO_4 干燥，并真空浓缩，得到 6.3g N－[[1－[[2－（二甲氨基）乙基]氨基]－9－氧代噻吨－4－基]甲基]甲酰胺。

（e）

4－（氨甲基）－1－[[2－（二甲氨基）乙基]氨基]－9－氧代噻吨－9－酮二盐酸化物·1/2 水合物

（I：$R^1 = R^2$ = 甲基，$Q = CH_2NH_2$，R^8 = H，n = 2）

将 N－[[1－[[2－（二甲氨基）乙基]氨基]－9－氧代噻吨－4－基]甲基]甲酰胺（6.2g）和 2N HCl（52ml）的混合物 1 加热至 100℃，持续 1.5－2 小时。将此反应混合物注入冰水中，用 35％ NaOH 碱化，用氯仿萃取。有机层用水洗（2 次），然后用盐水洗（1 次）用 Na_2SO_4 干燥，并真空浓缩。残留物通过柱层析纯化，在硅胶柱上，先用乙酸乙酯洗脱，然后用 0.5％三乙基胺/EtOAc 洗脱，再用 2％三乙基胺/EtOAc 洗脱，再用 $CHCl_3$/1－2％异丙胺洗脱，最后用 $CHCl_3$/1－2％异丙胺/2％甲醇洗脱，得到 3.3g（58％）该产品的游离碱。取一部分此游离碱（1.25g）溶于甲醇中，在甲醇（6ml）中用浓 HCl（3.3ml）处理，得到 1.2g 该产品的二盐酸化物·合 1/2 水，熔点 213℃（分解）。

（f）

N－[[1－[[2－（二甲氨基）乙基]氨基]－9－氧代噻吨－4－基]甲基]甲磺酰胺甲磺酸盐

（I：$R^1 = R^2$ = Me，$Q = CH_2NHSO_2Me$，R^8 = H，n = 2）

将 4－（氨甲基）－1－[[2－（二甲氨基）]乙基]氨基]－噻吨－9－酮（2g，6mmol）置于在氮气下的 30ml 干燥吡啶中，在室温下搅拌，直至完全溶解。使此溶液在冰浴中冷却，滴加溶于冷吡啶中的甲磺酰氯 0.52ml（6.7mmol），并将此混合物在室温下搅拌 1 小时。再将此反应混合物注入含有 0.51 g 氢氧化钠的 500ml 水中，用氯仿萃取，有机层用水（2 次）和盐水洗，并用无水磷酸钠干燥。将此混合物过滤，并真浓缩。残留物（2.5g）在乙醚中搅拌，过滤，干燥后得到 2g N－[[1－[[2－（二甲氨基）乙基]氨基]－9－氧代噻吨－4－基]甲基]甲磺酰胺，熔点 126－127℃。将此游离碱溶于甲醇中，用甲磺酸（0.48g）处理，得到 2.0g（67％）该产品的甲磺酸盐，熔点 168℃（分解）。

实施例 19

（ a ）

按照类似于在实施例 17（ c ）中所述的方法，从 1 - 氯和 3 - 氯噻吨 - 9 - 酮（ 15.15g， 61.4mmol ），吡啶（ 20ml ），以及二甲氨基丙基胺（ 6.01 g， 58.7mmol ）的混合物，制备了 6.83g 1 - [[3 - （二甲氨基）丙基]氨基]噻吨 - 9 - 酮。

（ b ）

按照类似于在实施例 17（ d ）中所述的方法，从 1 - [[3 - （二甲氨基）丙基]氨基] - 噻吨 - 9 - 酮（ 6.8g， 21.8mmol ），甲醛水溶液（ 175ml ）和冰醋酸（ 0.75ml ），得到了 6.74g（ 90 % ） 1 - [[3 - （二甲氨基）丙基]氨基 - 4 - （羟甲基）噻吨 - 9 - 酮。

（ c ）

按照类似于在实施例 17（ e ）中所述的方法，从 1 - [[3 - （二甲氨基）丙基]氨基] - 4 - （羟甲基）- 噻吨 - 9 - 酮（ 6.7g ），甲苯（ 80ml ）和 MnO_2（ 12.15g ），得到了 4.2g 1 - [[3 - （二甲氨基）丙基]氨基] - 9 - 氧代噻吨 - 4 - 甲醛（结构式 II： $R^1 = R^2 = Me$， $R^8 = H$， $n = 3$ ）。将此产物通过柱层析纯化，在硅胶柱上，先用 $CHCl_3$（ 100 % ）洗脱，然后用 1 % 异丙胺/$CHCl_3$ 洗脱。

（ d ）

将 N - 甲基甲酰胺（ 50ml ），甲酸（ 5.2g ）和 1 - [[3 - （二甲氨基）丙基]氨基] - 9 - 氧代噻吨 - 4 - 甲醛（ 4.14g， 12.16mmol ）的混合物回流加热 3 小时。再将此混合物用水（ 250ml ）稀释，用 35 % NaOH 碱化，并用 $CHCl_3$ 萃取（ 3 次，每次 $CHCl_3$ 150ml ）。将此有机层用 Na_2SO_4 干燥，然后使之通过硅胶柱，先用 $CHCl_3$（ 100 % ）洗脱，然后用 2 % 异丙胺/$CHCl_3$ 洗脱，得到 3.93g（ 84 % ） N - [[1 - [[3 - （二甲氨基）- 丙基]氨基] - 9 - 氧代噻吨 - 4 - 基]甲基] - N - 甲基甲酰胺（结构式 IV： $R^1 = R^2 = Me$， $R^4 = Me$， $R^8 = H$， $n = 3$ ）。

（ e ）

1 - [[3 - （二甲氨基）丙基]氨基] - 4 - [[甲氨基甲基]噻吨 - 9 - 酮二盐酸化物 · 一水合物

（ $R^1 = R^2 = Me$， $Q = CH_2NHMe$， $R^8 = H$， $n=3$ ）

将上面制备的N－甲基甲酰胺（3.83g，10mmol）在40ml 3N HCl中的溶液，在蒸汽浴上加热4小时，再用35％NaOH溶液中和，并在冰上冷却1小时。将液体层轻轻倒去，粗制产物溶解于氯仿中，并使之过滤通过硅胶柱（用氯仿，1％异丙胺/氯仿洗脱），得到2.38g所需的胺橙色胶状物。此产物通过溶解在甲醇中，用浓HCl处理，被转变成相应的盐酸盐，得到0.98g所需的二盐酸化物一水合物，熔点228－229℃。

实施例20

（a）

将1－[[2－（二甲氨基）乙基]氨基]－9－氧代噻吨－4甲醛（4.75g，0.15mol），N－甲基甲酰胺（48ml）和甲酸（3.9ml）的混合物，在170℃加热4.5小时，然后使其在室温下静置大约64小时。再将此反应混合物注入水（250ml）中，用35％NaOH碱化，用$CHCl_3$萃取（3次）。分离出有机层，先用水洗（2次），然后用盐水洗（1次），并用Na_2SO_4干燥。真空除去溶剂后，得到5.75g N－[[1－[[2－（二甲氨基）乙基]氨基]－9－氧代噻吨－4－基]甲基]－N－甲基甲酰胺（结构式IV：$R^1 = R^2 = Me$，$R^4 = Me$，$R^8 = H$，$n = 3$）。

（b）

1－[[2－（二甲氨基）乙基]氨基]－4－[（甲氨基）－甲基]噻吨－9－酮二盐酸化物·5/4水合物

（I：$R^1 = R^2 = Me$，$Q = CH_2NHMe$，$R^8 = H$，$n = 2$）

按照类似于实施例19e的方法，从5.7g（15.4mmol）实施例20（a）制备的相应N－甲基甲酰胺和50ml 2N HCl，通过快速层析法纯化其游离碱之后（硅胶柱，先用氯仿洗脱，然后用0.5％异丙胺/氯仿洗脱，再后用1％异丙胺/氯仿洗脱），得到了1.8g 1－[[2－（二甲氨基）乙基]氨基]－4－[（甲氨基）甲基]噻吨－9－酮。通过在甲醇中用浓HCl处理，将此游离碱转化成相应的二盐酸盐·5/4水合物，得到1.8g（30％）此产品，熔点177℃（分解）。

实施例21

（a）

将[[3－（二甲氨基）丙基]氨基]－9－氧代噻吨－4－甲醛

（3.6g，10.57mmol）溶解于含有3.6g甲酸的50ml甲酰胺中，再将此溶液回流加热1.5小时，然后使之在室温下静置过夜。用水（400ml）将此反应混合物稀释后，用3ml 5N NaOH溶液碱化，快速搅拌30分钟，再过滤出沉淀的固体，用水洗，干燥后得到3.1g（79%）N－[[1－[[3－（二甲氨基）丙基]氨基]－9－氧代噻吨－4－基]甲基]－N－甲基甲酰胺（结构I：$R^1 = R^2 = Me$，$Q = CH_2NHCHO$，$R^8 = H$，$n = 3$），为黄色粉末。

（b）

将实施例21（a）制备的甲酰胺（2.98g，8.07mmol）在40ml 3N HCl中的溶液，在蒸汽浴上加热4小时，使之冷却至室温后，再在冰上冷却，并用5N NaOH溶液中和至pH8。形成的不均匀混合物用氯仿萃取（5×100ml），将其有机层用硫酸钠干燥，并过滤通过硅胶柱（先用5%三乙基胺/乙醚洗脱，然后用1－5%异丙胺/氯仿洗脱），得到2.3g（83%）4－（氨甲基）－1－[[3－（二甲氨基）丙基]氨基]噻吨－9－酮（结构式I：$R^1 = R^2 = Me$，$Q = CH_2NH_2$，$R^8 = H$，$n = 3$）。

（c）

N－[[1－[[3－（二甲氨基）丙基]氨基]－9－氧代噻吨－4－基]甲基]甲磺酰胺甲磺酸盐·1/2水合物

（I：$R^1 = R^2 = Me$，$Q = CH_2NHSO_2Me$，$R^8 = H$，$n = 3$）

将甲磺酰氯（0.51ml，6.59mmol）加到实施例21（b）所制备的胺（2.2g，6.44mmol）溶于吡啶的冰冷溶液中，并在室温下将此形成的混合物搅拌过夜。用氯仿稀释此混合物，并使之通过大硅胶柱，用5%三乙基胺/EtOAc洗脱，得到1.32g N－[[1－[[3－（二甲氨基）丙基]氨基]－9－氧代噻吨－4－基]甲基]－甲磺酰胺黄色粉末。将此游离碱溶解于甲醇（10ml），并在甲醇中用甲磺酸（0.31g，1当量）处理，得到1.38g该甲磺酸盐·1/2水合物，为橙色固体，熔点>107℃。

实施例22

N－[[1－[[2－（二乙氨基）乙基]氨基]－9－氧代噻吨－4－基]甲基]－N－甲基－乙磺酰胺甲磺酸盐

（I：$R^1 = R^2 = Et$，$Q = CH_2N(CH_3)SO_2Et$，$R^8 = H$，$n = 2$）

将2.03g（5.49mmol）1－[[2－（二乙氨基）乙基]氨基]－4－

[（甲氨基）甲基]噻吨－9－酮（按照实施例5中所述方法制备的）和三乙胺在45ml二氯甲烷中的溶液冷却至0℃，并用乙磺酰氯（0.74g，5.76mmol）处理。在0℃放置15分钟后，再在室温下将此反应混合物搅拌72小时。真空浓缩此混合物，将残留物溶于氯仿中，并使之通过硅胶柱纯化（先用氯仿，然后用1％三乙胺/氯仿洗脱），得到2.43g（96％）N－[[1－[[2－（二乙氨基）乙基]氨基]－9－氧代噻吨－4－基]甲基]－N－甲基乙磺酰胺。将此磺酰胺用乙酸乙酯重结晶，并在异丙醇中用甲磺酸处理，得到此产品的甲磺酸盐，熔点159－161℃。

实施例23

N－[[1－[[2－（二乙氨基）乙基]氨基]－9－氧代噻吨－4－基]甲基]（对－甲氧基）苯磺酰胺甲磺酸盐

（I：$R^1 = R^2 = Et, Q = CH_2NHSO_2C_6H_4 - p - OMe, R^8 = H, n = 2$）

将1.40g（3.94mmol）4－（氨甲基）－1－[[2－（二乙氨基）乙基]氨基]－噻吨－9－酮（按照实施例4中所述的方法制备的）溶于含有1.5ml三乙胺的30ml氯仿中，并将此溶液冷却至0℃，再用对－甲氧苯磺酰氯（0.83g，4.02mmol）处理。在0℃放置10分钟后，再将此反应混合物在室温下搅拌2小时。真空除去氯仿，将残留物溶解于含有1ml三乙胺的100ml二氯甲烷中，并在室温下，搅拌中再加入对－甲氧苯磺酰氯（0.85g）处理。真空浓缩此混合物，残留物通过硅胶柱纯化（用1％三乙胺/氯仿洗脱），得到1.57g N－[[1－[[2－（二乙氨基）乙基]氨基]－9－氧代噻吨－4－基]甲基]－对－甲氧基苯磺酰胺。将此磺酰胺在异丙醇/乙酸异丙酯/甲醇中用甲磺酸（0.3g）处理，得到1.07g其甲磺酸盐，熔点133－137℃。

实施例24

N－[[1－[[2－（二乙氨基）乙基]氨基]－9－氧代噻吨－4－基]甲基]乙磺酰胺甲磺酰盐

（I：$R^1 = R^2 = Et$，$Q = CH_2NHSO_2Et$，$R^8 = H$，$n = 2$）

将2.5g 4－（氨甲基）－1－[[2－（二乙氨基）乙基]氨基]－噻吨－9－酮（按照实施例4中所述方法制备的）在30ml吡啶中的溶液在冰浴中冷却15分钟，快速滴加0.95g乙磺酰氯在5ml吡啶中的溶液，并将此反应混合物在室温下搅拌1小时，再将此混合物注入含有0.75g NaOH的75ml水中，用氯仿萃取，然后用水（2次）和盐水洗有机层，

并将此有机层用硫酸钠干燥。真空浓缩此混合物，将残留物在乙醚中搅拌，干燥（40℃/0.1 mm），得到1.7g N－[[1－[[2－（二乙氨基）乙基]氨基]－9－氧代噻吨－4－基]甲基]乙磺酰胺，熔点105℃（分解）。将此磺酰胺溶于甲醇中，在甲醇中用甲磺酸处理，得到1.61g（42％）其甲磺酸盐，熔点135℃（分解）。

实施例25

N－[[1－[[2－（二乙氨基）乙基]氨基]－9－氧代噻吨－4－基]甲基]－N－乙基－甲磺酰胺

（I：$R^1 = R^2 = Et$, $Q = CH_2N(Et)SO_2Me$, $R^8 = H$, $n = 2$）

将2.10g（5.48mmol）1－[[2－（二乙氨基）乙基]氨基]－4－[（乙氨基）甲基]噻吨－9－酮（按照实施例14的方法制备的）在30ml二氯甲烷中的溶液冷却至0℃，用2ml三乙胺和甲磺酰氯（0.7ml）处理，并将此反应混合物在室温下搅拌6小时。真空除去溶剂，将残留物溶解于氯仿中，并使此溶液通过硅胶柱纯化（先用氯仿，然后用2％三乙胺/氯仿洗脱）。将分离出的黄色固体用乙酸乙酯重结晶，干燥后得到1.11 g（44％）N－[[1－[[2－（二乙氨基）乙基]氨基]－9－氧代噻吨－4－基]甲基]－N－乙基甲磺酰胺黄色粉末，熔点172－176℃。

实施例26

N－[[1－[[2－（二乙氨基）乙基]氨基]－9－氧代噻吨－4－基]甲基]－3,4－二氯苯磺酰胺甲磺酸盐·1/2水合物

（I：$R^1 = R^2 = Et$，$Q = CH_2NHSO_2C_6H_3$－3,4－二氯，$R^8 = H$，$n = 2$）

将2.5g（7mmol）4－（氨甲基）－1－[[2－（二乙氨基）乙基]氨基]－噻吨－9－酮（按照实施例4中所述方法制备的），在氮气下加入到溶解于35ml干燥吡啶的3,4－二氯苯磺酰氯（1.84g，7.5mmol）溶液中，并将此反应混合物在室温下搅拌15分钟，然后使之静置大约72小时。再将此反应混合物注入含有0.75g NaOH的75ml水中，并用氯仿萃取。有机层先用水（2次）和盐水洗，再用硫酸钠干燥。真空除去氯仿后，残留物用乙醇重结晶，得到1.24g N－[[1－[[2－（二乙氨基）]乙基]氨基]－9－氧代噻吨－4－基]甲基]－3,4－二氯苯磺酰胺，熔点95℃（分解）。将此游离碱溶解于甲醇中，并

在甲醇中用甲磺酸处理，得到其甲磺酸盐·1/2水合物，熔点55℃（分解）。

实施例27

N－[[1－[[2－（二乙氨基）乙基]氨基]－9－氧代噻吨－4－基]甲基]－2－氟苯磺酰胺

（I：$R^1 = R^2 = Et$，$Q = CH_2NHSO_2C_6H_4-2-F$，$R^8 = H$，$n = 2$）

将1.36g（3.83mmol）4－（氨甲基）－1－[[2－（二乙氨基）乙基]氨基]－噻吨－9－酮（按实施例4中所述方法制备的）溶于含有1 ml三乙胺的25ml二氯甲烷中，并将此溶液冷却至0℃，再用2－氟苯磺酰氯（0.84g，4.32mmol）处理，搅拌反应混合物几小时。真空除去溶剂后，将残留物溶于氯仿中，并用快速层析法纯化（硅胶柱，先用氯仿，随后用1％三乙胺/氯仿洗脱）。真空除去溶剂后，用乙酸乙酯重结晶此产物，得到1.08g（55％）N－[[1－[[2－（二乙氨基）乙基]氨基]－9－氧代噻吨－4－基]甲基]－2－氟苯磺酰胺橙色粉末，熔点125－127℃。

实施例28

N－[[1－[[2－（二乙氨基）乙基]氨基]－9－氧代噻吨－4－基]甲基]－N－丙基－甲磺酰胺

（I：$R^1 = R^2 = Et$，$Q = CH_2N(C_3H_7)SO_2Me$，$R^8 = H$，$n = 2$）

通过用戊烷研磨（4次），将油从氢化钠在矿物油中的60％悬液0.2g中除去。在氮气中，搅拌下将干燥的二甲基甲酰胺（DMF、40ml）加入氢化物中，然后在氮气中将2g N－[[1－[[2－（二乙氨基）乙基]氨基]－9－氧代噻吨－4－基]甲基]甲磺酰胺（实施例6）加入到该反应混合物中，同时搅拌，并将此混合物加热至50℃持续2小时。再将上面的混合物在冰浴中冷却15分钟，加入溶于少量DMF中的丙基胺0.87g，然后在室温下将此混合物搅拌过夜。用35ml水搅拌此混合物，过滤，其残留物用水洗，并干燥（50℃/0.1 mm/P_2O_5），得到2.17g N－[[1－[[2－（二乙氨基）乙基]氨基]－9－氧代噻吨－4－基]甲基]－N－丙基甲磺酰胺，熔点142－143℃。

实施例29

N－[[1－[[2－（二乙氨基）乙基]氨基]－9－氧代噻吨－4－

基]甲基]－ N －甲基－苯磺酰胺甲磺酸盐

（ I：$R^1 = R^2 = Et$， $Q = CH_2N(Me)SO_2C_6H_5$， $R_8 = H$， $n = 2$ ）

将5.32g（ 14.4mmol ） 1 －[[2 －（二乙氨基）乙基]氨基]－ 4 －[（甲氨基）甲基]噻吨－ 9 －酮（按实施例 5 中所述方法制备的）在 100ml 二氯甲烷中的溶液冷却至0℃，并用三乙胺（ 5ml)和苯磺酰氯（ 2ml，15.67mmol ）处理，将此反应混合物搅拌 2 小时。真空浓缩此混合物，使其残留物通过硅胶柱纯化，（先用氯仿洗脱，然后用 1/2 % － 1 % 异丙胺/氯仿洗脱），得到 6.24g 黄色胶状物。将此产物溶解于乙酸乙酯中，真空除去溶剂后得到 6.06g（ 83 % ） N －[[1 －[[2 －（二乙氨基）乙基]氨基]－ 9 －氧代噻吨－ 4 －基]甲基]－ N －甲基苯磺酰胺。将此磺酰胺（ 2.5g ）悬浮于异丙醇中，用甲磺酸（ 0.51 g ）处理，生成 2.63g 其甲磺酸盐，熔点 171 － 174 ℃。

实施例 30

（ a ）

先将溴（ 85ml ），然后将水（ 1 L ）分别加入到间－茴香酸（ 250g， 1.67mol ）与乙酸（ 1 L ）的混合物中。将此混合物加热回流，在冰浴中冷却，并借助过滤收集沉淀产物，用水洗，得到 305.7g（ 79 % ） 2 －溴－ 5 －甲氧基苯甲酸，熔点 154 － 156 ℃。

（ b ）

将 K_2CO_3（ 23g ）加入到 3 －氯苯硫酚（ 20g， 138 mol ），乙酸铜（ 1.8g ）和 DMF （ 200ml ）的混合物中。将此混合物加热至 150 ℃，持续 15 － 20 分钟，然后分几次加入 2 －溴－ 5 －甲氧基苯甲酸（ 35.8g， 0.155mol)。再将此混合物加热过夜，然后注入水（ 600ml ）中，过滤，并用活性炭处理滤出液，再过滤，并用 HCl 稀释。再用过滤法收集生成的沉淀物，用水洗，在 50 ℃，在 P_2O_5 上真空干燥，得到 27.6g 2 －[（ 3 －氯苯基）硫基]－ 5 －甲氧基苯甲酸。

（ c ）

在氮气中，将 2 －[（ 3 －氯苯基）硫基]－ 5 －甲氧基苯甲酸（ 27g， 0.092mol ）加入到冷硫酸（ 89ml ）中，分几次加入，持续 1.5 － 2 小时以上。将此混合物在室温下搅拌过夜，然后注入含有浓 NH_4OH（ 218ml ）和冰的水（ 900ml ）中。过滤收集沉淀的固体，在 50 ℃，在 P_2O_5 上真空干燥，得到 21 g（ 42 % ） 1 －氯和 3 －氯－ 7

－甲氧基－噻吨－9－酮的混合物。

（d）

将1－氯和3－氯－7－甲氧基－噻吨－9－酮（20.7g），吡啶（69ml）和二乙氨基乙胺（16.1g，0.138mol）的混合物，在115℃，氮气中加热20小时。真空除去溶剂后，残留物通过柱层析法纯化，在硅胶柱上，先用$CHCl_3$（100％）洗脱，然后用1％异丙胺/氯仿洗脱，得到11.22g 1－[[2－（二乙氨基）乙基]氨基]－7－甲氧基噻吨－9－酮。

（e）

将1－[[2－（二乙氨基）乙基]氨基]－7－甲氧基噻吨－9－酮（11.2g，0.031 mol），37％甲醛（277ml）和5N乙酸（4.6ml）的混合物在100℃加热3小时。使反应混合物冷却后过滤，将滤出液注入冰水（600ml）中，并用35％NaOH碱化。用氯仿萃取此混合物（3次），再用盐水洗，并在Na_2SO_4上干燥。真空除去溶剂后，残留物通过柱层析纯化，在硅胶柱上，依次用25％$CHCl_3$/己烷，50％$CHCl_3$/己烷，75％$CHCl_3$/己烷，0.5％异丙胺/$CHCl_3$洗脱，得到8.8g（73％）1－[[2－（二乙氨基）－乙基]氨基]－4－（羟甲基）－7－甲氧基噻吨－9－酮。

（f）

将1－[[2－（二乙氨基）乙基]氨基]－4－（羟甲基）－7－甲氧基噻吨－9－酮（8.8g，0.023mol）在甲苯（268ml）中的溶液，在氮气中加热至60℃，然后加入MnO_2（13.2g）。将此混合物加热过夜，然后过滤，并将滤液真空浓缩，得到7.05g（81％）1－[[2－（二乙氨基）乙基]氨基]－7－甲氧基－9－氧代噻吨－4－甲醛（结构式II：$R^1 = R^2 = Et$，$R^8 = 7-OCH_3$，$n = 2$）。

（g）

将1－[[2－（二乙氨基）乙基]氨基]－7－甲氧基－9－氧代噻吨－4－甲醛（3g，7.8mmol）和1.5ml甲酸在25.5ml N－甲基甲酰胺中的溶液在氮气中，加热至170℃，持续8小时，同时搅拌。将此反应混合物注入160ml冰水中，用35％NaOH溶液碱化后用氯仿萃取（3次）。有机层用水（2次）和盐水洗，在硫酸钠上干燥，真空除去溶剂后得到3g（89％）所需的N－[[1－[[2－（二乙氨基）乙基]

氨基]－7－甲氧基－9－氧代噻吨－4－基]甲基]－N－甲基甲酰胺（结构式 IV：$R^1 = R^2 = Et$，$R^4 = Me$，$R^8 = 7-OCH_3$，n = 2）。

（h）

1－[[2－（二乙氨基）乙基]氨基]－4－[（甲氨基）甲基]－7－甲氧基－噻吨－9－酮

（I：$R^1 = R^2 = Et$，$Q = CH_2NHMe$，$R^8 = 7-OMe$，n = 2）

将实施例 30(g)制备的 N－甲基甲酰胺（3.0 g）溶于 2N HCl 水溶液（24ml）中，在氮气中，在 100℃搅拌加热 2 小时。将上述混合物冷却后，注入 125ml 冰水中，用 35％NaOH 液碱化，用氯仿萃取，先用水洗（2 次），再用盐水洗。将此有机层在硫酸钠上干燥，并真空浓缩后得到 3.1 g 粗制产物。将此产物在乙醚中研磨，其滤出液通过几支快速层析柱纯化（硅胶柱，依次用 50％己烷/氯仿，氯仿，和 0.25－0.5％异丙胺/氯仿洗脱(柱 1)，先用氯仿，再用 1％异丙胺/1％MeOH/$CHCl_3$ 洗脱（柱 2），以及先用 $CHCl_3$，再用 0.5％异丙胺/$CHCl_3$ 洗脱（柱 3）），得到 0.746g 1－[[2－（二乙氨基）乙基]氨基]－4－[（甲氨基）甲基]－7－甲氧基－噻吨－9－酮。

实施例 31

（a）

N－[[1－[[2－（二乙氨基）乙基]氨基]－7－甲氧基－9－氧代噻吨－4－基]甲基]甲酰胺

（I：$R^1 = R^2 = Et$，$Q = CH_2NHCHO$，$R^8 = 7-OMe$，n = 2）

将 1－[[2－（二乙氨基）乙基]氨基]－7－甲氧基－9－氧代噻吨－4－甲醛（3.6g，0.0094mol），甲酰胺（48ml）和甲酸（6ml）的混合物，在 N_2 中加热至 170℃，持续 8 小时。再将此混合物注入冰水中，用 35％NaOH 碱化后用氯仿萃取。分离出有机层，先用水（2 次），然后用盐水洗，并在 Na_2SO_4 上干燥，真空浓缩后得到 3.88g N－[[1－[[2－（二乙氨基）乙基]氨基]－7－甲氧基－9－氧代噻吨－4－基]甲基]甲酰胺。

（b）

4－（氨甲基）－1－[[2－（二乙氨基）乙基]氨基]－7－甲氧基－噻吨－9－酮

（I：$R^1 = R^2 = Et$，$Q = CH_2NH_2$，$R^8 = 7-OCH_3$，n = 2）

将实施例 31（ a ）制备的甲酰胺（ 3.88g ）和 2N HCl（ 32ml ）的混合物，在氮气中，在 100 ℃搅拌加热 2 小时。使上述混合物冷却后，注入水中，用 10 % NaOH 液碱化后用氯仿萃取，再先后用水和盐水洗有机层。将此有机层在硫酸钠上干燥，真空浓缩后得到 3.6g 粗制产物。将此产物溶解于氯仿中，借助快速层析法纯化（硅胶柱，先用己烷/氯仿（ 50： 50 ）洗脱，然后用在己烷/氯仿（ 50： 50 ）中的 1 % 异丙胺洗脱），得到 1.75g 所需的产物。

（ c ）

N - [[1 - [[2 - （二乙氨基）乙基]氨基] - 7 - 甲氧基 - 9 - 氧代噻吨 - 4 - 基]甲基] - 甲磺酰胺

（ I： $R^1 = R^2 = Et$, $Q = CH_2NHSO_2Me$, $R^8 = 7 - OMe$, $n = 2$ ）

先将 1.75g（ 0.0045mol ）实施例 31（ b ）制备的酰胺溶于在冰浴内冷却的 22.5ml 吡啶中，然后在氮气中，搅拌下向此溶液滴加 0.39ml（ 0.005mol ）甲磺酰氯在少量吡啶中的溶液，并将此反应混合物在室温下搅拌 2 小时。再将此混合物注入含有 0.38g NaOH 的 375ml 水中，用氯仿萃取，其有机层用水和盐水洗。再将此氯仿层在硫酸钠上干燥，真空除去此溶剂，残留物被真空干燥后得到 1.61 g（ 77 % ） N - [[1 - [[2 - （二乙氨基）乙基]氨基] - 7 - 甲氧基 - 9 - 氧代噻吨 - 4 - 基]甲基]甲磺酰胺，熔点 144 ℃（分解）。

实施例 32

（ a ）

在 N_2 中，分几次将 N_2CO_3(23g)加入到 3 - 氯苯硫酚（ 20g，0.138mol ），乙酸酮（ 1.75g ）和 DMF（ 199ml ）的混合物中。先将此混合物加热至 150 ℃，然后加入 2,5 - 二溴苯甲酸（ 43.5g ）。再将此混合物加热这夜，然后注入水中（ 600ml ），过滤，用活性炭处理滤液后再次过滤。将此滤出液先用浓 HCl 酸化，再用 $CHCl_3$ 萃取，用盐水洗此有机层，并在 Na_2SO_4 上干燥。真空除去溶剂后得到 28.9g 2 - [（ 3 - 氯苯基）硫基] - 5 - 溴苯甲酸。

（ b ）

将 2 - [（ 3 - 氯苯基）硫基] - 5 - 溴苯甲酸（ 28.4g ）和浓硫酸（ 80ml ）的混合物，先在 0 ℃搅拌，然后在室温下搅拌过夜。再将此混合物注入含有浓 NH_4OH（ 199ml ）的冰水（ 850ml ）中，借助过滤

收集沉淀产物，并在 50 ℃真空干燥，得到 15.0g 1 - 氯和 3 - 氯 - 7 - 溴 - 噻吨 - 9 - 酮的混合物。

（ c ）

将 1 - 氯和 3 - 氯 - 7 - 溴噻吨 - 9 - 酮（ 13.6g ），吡啶（ 108ml ），以及 N,N - 二乙基乙二胺（ 16.3ml ）的混合物加热至 115 ℃，持续 20 小时。真空除去溶剂后，残留物通过柱层析纯化，在硅胶柱上，先用 $CHCl_3$（ 100 % ），然后用 1 % 异丙胺/$CHCl_3$ 洗脱，得到 9.3g 1 - [[2 - （二乙氨基）乙基]氨基] - 7 - 溴噻吨 - 9 - 酮。

（ d ）

将 1 - [[2 -（二乙氨基）乙基]氨基] - 7 - 溴噻吨 - 9 - 酮（ 9.3g，22.9mmol ），37 % 甲醛溶液 203ml，以及 5N 乙酸溶液 3.4ml 的混合物，在氮气中加热至 100 ℃，持续过夜。将此混合物冷却至室温，并借助于过滤除去生成的固体。用水稀释滤出液，并用 35 % NaOH 液碱化，用氯仿萃取。其有机层用盐水洗，在硫酸钠上干燥，真空除去溶剂后，得到 10g 油状物。将此油状物溶于二氯甲烷中，并过滤，真空除去此溶剂后，其羟甲基类似物粗品用快速层析法纯化（硅胶柱，依次用 25 % 氯仿/己烷，氯仿/己烷（ 1： 1），25 % 氯仿/己烷，$CHCl_3$（ 100 % ），和 0.5 - 1 % 异丙胺/氯仿洗脱），得到 3.2g 1 - [[2 -（二乙氨基）乙基]氨基] - 4 -（羟甲基）- 7 - 溴噻吨 - 9 - 酮。

（ e ）

1 - [[2 -（二乙氨基）乙基]氨基] - 7 - 溴 - 9 - 氧代噻吨 - 4 - 甲醛

（ II： $R^1 = R^2 = Et$， $R^8 = 7 - Br$， $n = 2$ ）

将 3.2g（ 7.34mmol ）实施例 32（ d ）制备的醇和 4.3g MnO_2 在 85ml 甲苯中的混合物，在氮气中，60 ℃加热 1 小时。过滤此混合物，并用 $CHCl_3$ 洗，用真空法浓缩合并的滤出液，得到 3g 黄色固体。在乙醚中研磨此黄色固体，过滤，干燥后得到 2.7g（ 94.3 % ） 1 - [[2 -（二乙氨基）乙基]氨基] - 7 - 溴 - 9 - 氧代噻吨 - 4 - 甲醛，熔点 145 - 146 ℃。

（ f ）

N - [[1 - [[2 -（二乙氨基）乙基]氨基] - 7 - 溴 - 9 - 氧代噻吨 - 4 - 基]甲基]甲酰胺

（I： $R^1 = R^2 = Et$， $Q = CH_2NHCHO$， $R^8 = 7-Br$， $n = 2$）

将2.7g（6.2mmol）1－[[2－（二乙氨基）乙基]氨基]－7－溴－9－氧代噻吨－4－甲醛，31.7ml甲酰胺，和3.6ml甲酸的混合物，在氮气中加热至170℃，同时搅拌持续8小时，然后此混合物在室温下静置72小时。将此混合物注入150ml冰水中，用35％NaOH液碱化，过滤出固体产物，并用水洗。将此固体产物溶于氯仿中，用盐水洗，在硫酸钠上干燥，真空除去溶剂后得到2.85g所需的甲酰胺，为黄色/橙色固体，熔点132℃（分解）。

（g）

1－[[2－（二乙氨基）乙基]氨基]－4－（氨甲基）－7－溴噻吨－9－酮

（I： $R^1 = R^2 = Et$， $Q = CH_2NH_2$， $R^8 = 7-Br$， $n = 2$）

将2.85g（6.6mmol）上述甲酰胺（实施例32（f））在26ml 2N HCl溶液中的混合物，在氮气中加热到100℃，持续2小时，然后使混合物在室温下静置过夜。将此反应混合物注入200ml冰水中，用35％NaOH溶液碱化，用氯仿萃取。用水和盐水洗其有机层，在硫酸钠上干燥，真空浓缩后得到2.67g黑色油状物。用快速层析法纯化此黑色油状物（硅胶柱，先用1250ml己烷/氯仿（1：1）洗脱，然后用在己烷/氯仿（1：1）中的1％异丙胺洗脱），得到1.87g（70％）1－[[2－（二乙氨基）乙基]氨基]－4－（氨甲基）－7－溴噻吨－9－酮，熔点79－82℃。

实施例33

N－[[1－[[2－（二乙氨基）乙基]氨基]－7－溴－9－氧代噻吨－4－基]甲基]甲磺酰胺

（I： $R^1 = R^2 = Et$, $Q = CH_2NHSO_2Me$, $R^8 = 7-Br$, $n = 2$）

在氮气中将1－[[2－（二乙氨基）乙基]氨基]－4（氨甲基）－7－溴噻吨－9－酮（1g，2.3mmol）溶于11.5ml干燥吡啶中，在冰浴内搅拌15分钟，并滴加溶于冷吡啶中的0.2ml（2.6mmol）甲磺酰氯，在室温下搅拌此混合物。将此反应混合物注入200ml水中，在冰水中加入0.19g氢氧化钠，用氯仿萃取。用水（2次）和盐水洗其有机层，并在无水硫酸钠上干燥。过滤此混合物，真空浓缩，在乙醚中搅拌其残留物，过滤并干燥后得到1.02g N－[[1－[[2－（二乙氨基）乙

基]氨基]－7－溴－9－氧代噻吨－4－基]甲基]－甲磺酰胺，熔点134－139℃。

实施例34

N－[[1－[[2－（二乙氨基）乙基]氨基]－9－氧代噻吨－4－基]甲基]氨基甲酸甲酯

（I：$R^1 = R^2 = Et$；$Q = CH_2NHCOOMe$；$R^8 = H$；$n = 2$）

将2.94g（8.27mmol）4－（氨甲基）－1－[[2－（二乙氨基）乙基]氨基]－噻吨－9－酮溶解于含有5ml三乙胺，并冷却至0℃的50ml二氯甲烷中，向此溶液加入0.7ml（9.06mmol）氯甲酸甲酯，并将此混合物搅拌2.5小时。真空除去其溶剂后，将残留物悬浮于氯仿中，并通过快速层析法纯化（硅胶柱，先用氯仿，然后用1％异丙胺/氯仿洗脱），得到2.36g（69％）N－[[1－[[2－（二乙氨基）乙基]氨基]－9－氧代噻吨－4－基]甲基]－氨基甲酸甲酯，为黄色固体，熔点129－131℃。

实施例35

1－[[2－（二乙氨基）乙基]氨基]－4－[（甲氨基）甲基]－7－羟基噻吨－9－酮

（I：$R^1 = R^2 = Et$，$Q = CH_2NHMe$，$R^8 = 7-OH$，$n = 2$）

将1.6g（4mmol）1－[[2－（二乙氨基）乙基]氨基]－4－[（甲基－氨基）甲基]－7－甲氧基－噻吨－9－酮（按实施例30（h）中所述方法制备的）在10ml 48％ HBr中的溶液加热至110℃，持续5小时。冷却后，将此反应混合物用饱和碳酸氢钠中和，用氯仿萃取（3次，每次100ml氯仿）。得到一种不溶于水或氯仿的黑色胶状物，将它溶解于甲醇，并与氯仿溶液结合。真空浓缩除去溶剂后得到1.67g深橙色固体物。用快速层析法纯化此橙色固体产物（硅胶柱，用异丙胺/甲醇/氯仿（1：1：98）洗脱，随后用第二支硅胶柱，以异丙胺/MeOH/$CHCl_3$（2：2：96）洗脱）得到0.56g（36％）1－[[2－（二乙氨基）乙基]－氨基]－4－[（甲氨基）甲基]－7－羟基－噻吨－9－酮，熔点167－169℃。

实施例36

N－[[1－[[2－（二乙氨基）乙基]氨基]－7－甲氧基－9－氧代噻吨－4－基]－甲基]氨基甲酸甲酯

（I： $R^1 = R^2 = Et, Q = CH_2NHCOOMe, R^8 = 7 - OMe, n = 2$）

将1.55g 4－（氨甲基）－1－[[2－（二乙氨基）乙基]氨基]－7－甲氧基噻吨－9－酮溶解于含有2ml三乙胺，并冷却至0℃的40ml氯仿中，向此溶液加入0.45ml氯甲酸甲酯，将此混合物在室温下搅拌几小时。真空除去溶剂后，残留物用快速层析法纯化（硅胶柱，先用氯仿，然后用在氯仿/己烷（1：1）中的1％三乙胺洗脱），得到1.2g N－[[1－[[2－（二乙氨基）乙基]氨基]－7－甲氧基－9－氧代噻吨－4－基]－甲基]氨基甲酸甲酯，用乙酸乙酯重结晶后，形成0.79g亮黄色固体物，熔点131－132℃。

实施例37

N－[[1－（2－二乙氨基）乙基]氨基]－7－羟基－9－氧代噻吨－4－基]甲基]甲磺酰胺·3/4水合物

（I： $R^1 = R^2 = Et, Q = CH_2NHSO_2CH_3, R^8 = 7 - OH, n = 2$）

在－78℃将1N BBr_3在CH_2Cl_2（1.75ml）中的溶液加到N－[[1－[2－（二乙氨基）乙基]氨基]－7－甲氧基－9－氧代噻吨－4－基]甲基]甲磺酰胺（0.5g）在CH_2Cl_2（45ml）中的溶液中。将此混合物温热至室温，搅拌过夜，然后注入含有35％NaOH（8ml）的冰水（250ml）中。对此混合物先用稀HCl酸化，然后用固体Na_2CO_3碱化，再用乙酸乙酯萃取。分离出有机层，用盐水洗，用Na_2SO_4干燥，并真空浓缩。残留物用柱层析法纯化，在硅胶柱上，用5％MeOH/EtOAc洗脱，得到0.28g（58％）N－[[1－（2－二乙氨基）乙基]氨基]－7－羟基－9－氧代噻吨－4－基]甲磺酰胺·3/4水合物，熔点78℃（分解）。

按照如下的方法，测定了本发明代表性实施例化合物对小鼠的抗肿瘤活性。

先将动物混合在一起，用12号标准套针皮下植入30－60mg肿瘤碎片，在未选择分配到不同的治疗组或对照组之前，将动物再次混合。对于早期治疗，是在植入肿瘤后1－5天内开始化学治疗，此时细胞的数量比较少（10^7－10^8个细胞）。对于晚期治疗，是推迟到肿瘤变得比较大（重量200－300mg）时才开始化学治疗。一个300mg的肿瘤总共含有大约3×10^8个细胞。对于90％动物，在已知晚期试验中的肿瘤都在2.5倍的大小范围之内。每周用卡尺测量肿瘤一次（或者对

较快生长的肿瘤每周测量2次）。当它们的肿瘤达到1500mg时（也就是在它们能引起动物不安之前）将小鼠活杀。肿瘤的重量可根据二维测量来估算。

当对照组肿瘤大小达到大约700－1200mg（组中位数）时，对治疗组和对照组进行测定。确实每组动物的平均肿瘤重量（包括0）。T/C值（治疗组肿瘤重量比对照组肿瘤重量）的百分数是抗肿瘤疗效的指标：按照癌症治疗部分的药物评价分部（Drug Evalnation Branch of the Division of Cancer Treatment （NCI））的标准，T/C等于或小于42％被认为有显著的抗肿瘤活性。T/C值＜10％被认为表明有非常显著的抗肿瘤活性。认为最低体重下降（组平均数）大于20％，或者大于20％的药物－致死，指示是极端毒性的剂量。

对于胰管腺癌＃3的结果显示在表1中，对于结肠腺癌＃38的结果显示在表2中。

表1

实施例号#	T/C(%)	体重下降(g)*	药物致死	总剂量(mg/kg)静脉内或口服
1	0	1.6	0	1739
2	0	2.0	0	576
2	7	1.6	0	144
4	0	0.4	0	570
5	0	1.6	0	222
6	0	1.6	0	124
7	0	3.2	1/5	400
8	0	0.8	0	304
9	8	1.6	0	1395
10	0	2.4	0	540
11	0	0.8	0	855
12	36	3.2	0	1298
13	0	2.4	0	431
14	0	1.2	0	448
15	0	2.0	0	390
16(a)	21	+0.8	0	1171
17(f)	17	2.0	0	1060

18(e)	82	1.0	0	128
18(f)	0	5.2	2/5	256
19(e)	4	3.4	0	610
20(b)	10	0.4	0	383
21(c)	0	4.5	0	208
22	0	3.2	0	465
23	20	2.4	0	1212
24	0	2.3	0	203
25	0	4.6	0	288
26	13	2.2	0	654
27	5	+0.8	0	2594
28	0	2.8	0	552
29	6	2.4	0	2403
31(c)	0	5.6	0	248
30(h)	0	1.4	0	880
33	28	2.0	0	1281
34	0	3.6	0	248
36	0	0.4	0	155
37	7	0	0	32

*平均体重是 25g

表 2

实施例号#	T/C(%)	体重下降(g)*	药物致死	总剂量(mg/kg)静脉内注射
2	0	2.8	0	600
5	11	2.9	0	960
6	0	5.0	3/7	132
6	4	1.7	1/7	82
7	16	0.6	0	840
10	0	4.0	0	340(b)
	24	2.3	0	200(b)
	22	0.6	0	160(b)
	2	4.0	2/5	740(a)

	7	1.2	0	460(a)
	23	2.0	0	865(b)
11	0	2.0	0	1709(a)
	0	0.8	0	885(a)
	39	0.8	0	518(b)
16(a)	20	1.2	0	1000
	27	1.5	0	670
18(e)	51	2.2	4/5	180
	3	1.0	0	120
25	0	4.8	4/5	852(c)
	0	0.6	0	529(c)
	0	0.8	0	327(c)

*平均体重是 20.5 - 25.5g

(a) = 口服给药

(b) = 腹膜内给药

(c) = 静脉注射给药 3 - 6 天及口服给药 7 - 10 天

通过静脉内输注给药，试验了实施例 5 的化合物对抗多种其它肿瘤的作用，如表 3 中所示，并且，以 300mg/kg 口服给药，此化合物具有抗结肠腺癌 # 38 的活性。

通过静脉内快速浓注给药，试验了实施例 6 的化合物对抗多种其它肿瘤的作用，如表 4 中所示。

实施例 8（ a ）的化合物对抗多种肿瘤的试验结果如表 5 中所示。

实施例 36 的化合物对抗多种肿瘤的试验结果如表 6 所示。

本发明代表性化合物对抗乳腺癌 16/C/RP 的试验结果如表 7 中所示。

本发明代表性化合物对抗 P388/阿霉素抗性白血病的试验结果如表 8 中所示。

表 3

肿瘤	总剂量 mg/kg	给药方案	最低体重下降 g/小鼠	T/C 值(%)	无肿瘤的	观察天数
Human Adeno	960	输注 16 小时,第 7 天, 第 20 天	- 0.4	16%	1/4	33
Squamous Lung#125			- 0.4	16%	0/4	132
	600		- 0.4	15%	0/5	33
			- 0.4	15%	0/5	132
乳腺癌 16/C	720	输注 4 小时,第 1 天, 第 4 天	- 2.0	18%	0/7	13
	454		- 1.2	16%	0/7	13
乳腺癌 16/C/Adr *	960	输注 3 小时,第 1 天, 第 4 天	- 2.8	23%	0/7	27
结肠腺癌#38	732	快速浓缩 3 - 15 次	- 2.0	0%	1/5	100
	477		- 2.8	9%	0/5	100
结肠腺癌#38	960	输注 4 小时,第 6 天, 第 3 天	- 2.9	11%	2/7	20
			- 2.9	11%	1/7	100
	600		- 2.0	26%	0/7	20
			- 2.0	26%	0/7	100
结肠癌 # 51	720	输注 3 小时,第 3 天, 第 7 天	- 1.1	8%	0/5	50
	454		- 2.8	12%	0/7	50
胰腺癌 03	222	输注 3 小时	- 1.6	0	1/4	108

*阿霉素抗性的

表 4

肿瘤	总剂量 mg/kg	给药方案	最低体重下降	T/C 值(%)	无肿瘤的	观摩天数
结肠腺癌#38	82	第 6 - 9 天快速浓注	- 1.7	1	2/7	132
	51		- 1.2	18	1/7	132
乳腺癌 16/C	82	第 1 - 4 天快速浓注	- 3.0	6	0/5	23
	51		- 1.2	13	0/5	23
结肠癌 51/A	96	第 3 - 6 天,第 9 天,11 天快速浓注	- 3.0	14	0/6	32
	66		- 2.3	28	0/6	32
胰腺癌 02	82	第 1 - 4 天快速浓注	- 2.0	23	0/5	28
	51		- 1.2	42	0/5	28
胰腺癌 03	124	第 3 - 4 天,6 - 14 天快速浓注	- 1.6	0	3/5	245
	79		- 1.0	0	1/5	245

表 5

肿瘤	总剂量 mg/kg	给药途径	给药方案	最低体重下降 g/小鼠	T/C 值 (%)	药物致死	无肿瘤	观摩天数
结肠腺癌 # 38	340	腹膜内注射	3 - 10 天	- 2.0	0	0	5/5	168
	196	腹膜内注射	3 - 10 天	- 0.0	0	0	1/5	168
	112	腹膜内注射	3 - 10 天	+0.4	3	0	- -	168
	550	口服	3 - 7 天	- 2.8	0	0	5/5	168
	275	口服	3 - 7 天	- 0.4	0	0	3/5	168
结肠癌 51/A	500	口服	3 - 7 天	- 4.6	0	4/5	0/5	31
	250	口服	3 - 7 天	- 1.6	16	0	0/5	31
乳腺癌 16/C/Adr *	340	静脉注射 →口服	静注 2 次/天 1-4 天口服 5 天	- 7.1	32	5/6	0/6	22
	284	静脉注射 →口服	静注 2 次/天 1-4 天口服 5-6 天	- 2.3	61	3/6	0/6	22
	183	静脉注射 →口服	静脉 2 次/天口服 5 - 6 天	- 4.3	39	0/4	0/4	22

*阿霉素抗性

表 6

肿瘤	总剂量 mg/kg	给药途径	给药方案	最低体重下降 g/小鼠	T/C 值 (%)	药物致死	无肿瘤	观察天数
胰腺癌 03	420	静脉内注射	3 - 6 天	- 5.6	0	3/5	2/5	45
	240	静脉内注射	3 - 6 天	- 0.4	0	0	5/5	45
	155	静脉内注射	3 - 6 天	- 0.4	0	0	5/5	45
结肠腺癌 # 38	330	静脉内注射	3 - 7 天	- 3.2	0	0	5/5	33
	220	静脉内注射	3 - 7 天	- 0.8	0	0	5/5	33
	147	静脉内注射	3 - 7 天	0	0	0	5/5	33
乳腺癌 16/C	363	静脉内注射	1 - 4 天	- 2.4	2	2/5	2/5	21
	242	静脉内注射	1 - 4 天	- 1.2	8	1/5	0/5	21
	161	静脉内注射	1 - 4 天	- 0.4	9	0	0/5	21
人 MX - 1 乳腺癌	297	静脉内注射	1 - 6 天	- 2.4	39	0	0/5	26
	132	静脉内注射	1 - 6 天	- 0.8	27	0	0/5	26

(a)注意：由于尾静脉损伤，在注射给药 2 - 4 天后，某些注射改为口服。

表 7

实施例号 No.	总剂量 mg/kg	给药途径	给药方案	最低体重下降 g/小鼠	T/C 值 (%)	药物致死	无肿瘤	观察天数
30(H)	900	静脉内输注	输注 1 天,4 天	0	29	1/6	0/5	63
	600	静脉内输注	输注 1 天,4 天	- 0.7	23	0/5	0/5	63
	400	静脉内输注	输注 1 天,4 天	- 1.0	46	0/5	0/5	63
31(C)	224	静脉注射	2 次/天,3 - 6 天	- 4.4	0	0	1/5	28
	156.8	静脉注射	2 次/天,3 - 6 天	- 1.6	5	0	0/5	28
	109.6	静脉注射	2 次/天,3 - 6 天	- 1.6	6	0	1/5	28

表 8

实施例号 No.	在第 0 天静脉内注射植入的 P388/Adr 细胞数	总剂量 mg/kg	给药途径	给药方案	最低体重下降 g/小鼠	药物致死	ILS %	Log_{10} 杀肿瘤细胞数	肿瘤细胞	观察一天数
10	10^5	520	静脉内输注 3 小时	第 1,4 天	- 3.75	3/7	54	3.5	0/7	129
	10^5	320	静脉内输注 3 小时	第 1,4 天	- 1.75	0/5	23	1.5	0/5	129
	10^5	200	静脉内输注 3 小时	第 1,4 天	- 1.5	0/7	8	0.5	0/7	129
13	10^5	450	静脉内输注 3 小时	第 1,4 天	- 3.0	2/7	38	2.5	0/7	129
	10^5	300	静脉内输注 3 小时	第 1,4 天	- 1.75	0/7	15	1.0	0/7	129
	10^5	150	静脉内输注 3 小时	第 1,4 天	- 1.75	0/8	8	0.5	0/8	129
30(H)	10^6	450	静脉内输注 3 小时	第 1,4 天	- 2.3	0/7	62	5.3	0/7	43

表 8（续）

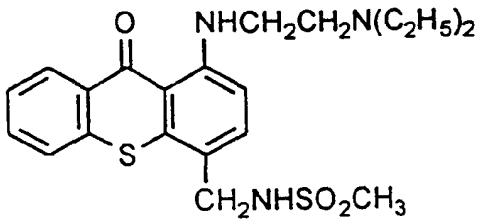
实施例号 No.	在第 0 天静脉内注射植入的 P388/Adr 细胞数	总剂量 mg/kg	给药途径	给药方案	最低体重下降 g/小鼠	药物致死	ILS %	Log_{10} 杀肿瘤细胞数	肿瘤细胞	观察天数
	10^6	280	静脉内输注 3 小时	第 1 天	- 1.7	0/7	69	6.0	2/7	43
31(C)	10^6	248	静脉注射→口服*	第 1,4 天	- 3.0	1/6	0	0	0/6	43
	10^6	112	静脉注射→口服*	第 1,4 天	- 2.7	0/6	0	0	0/6	43
34	10^6	320	静脉内输注 3.5 小时	第 1 天	-3.6	5/5	中毒	LD_{100}	0/5	23
		198	静脉内输注 3.5 小时	第 1 天	- 1.2	0/5	41.7	3.3	0/5	23
		123	静脉内输注 3.5 小时	第 1 天	- 1.2	0/5	8.3	0.7	0/5	23
		76	静脉内输注 3.5 小时	第 1 天	- 0.4	0/5	0	0	0/5	23

*: 由于尾静脉损伤注射 4 天后改为口服。

% ILS = 生成期增加的百分数。

在进行上述试验过程中，研究者遇到了非在注射给药之前新鲜配制的注射液降解的问题。因此，进行了提供在放置中不降解注射液的研究，这样，该抗肿瘤剂就可以用于临床治疗肿瘤病人。

具有细胞毒抗肿瘤活性的实施例6化合物被用于此项研究，它具有如下结构：



化学名称为N－[[1－[[2－（二乙氨基）乙基]氨基]－9－氧代噻吨－4－基]甲基]甲磺酰胺。为便于引用，此化合物以后有时将被称为WIN 33377。用在安瓿中以2.5mg/ml的浓度溶于柠檬酸盐缓冲液（pH5.5）的最后稳定化溶液制剂，对此化合物进行了临床评价研究。为了达到可接受的贮存寿命，将此制剂在冷藏下贮存（2－8℃）。在较高的温度下贮存会导致形成非常难溶解的二聚体形式，在低浓度就会沉淀出。为了提供能在室温贮存，市场可接受的产品，可能要求制成冷冻干燥制剂。

使用了三种制剂，如表9中所示：

表9

制剂	1	2	3
WIN 33377	10.0mg	10.0mg	10.0mg
乙酸（0.1M）	0.5ml		
柠檬酸（0.1M）		9.6mg	
乳酸（0.1M）			0.5ml
NaOH（0.5M）		8.8μl	12μl
加注射用水至	1ml	1ml	1ml
pH	4.95	3.98	3.99

在加入稳定剂之前，先制成 WIN 33377 的水溶液制剂。

对此溶液以不同的浓度加入三种稳定剂：甘露糖醇（ Fison AR 级， M/2405 ），葡聚糖（ Sigma Chemical Co. 医用级 D - 4751 ），以及蔗糖（ Prolabo Normapur AR 级， 27480.294 ）。

采用了与亚室温辅助部件相适应的 Perkin - Elmer DSC - II。在 Dell 210 微机上用 DARES 软件进行数据收集和分析。如厂商说明书中所述，用铟和水作参照物进行温度校准。将液体待分析样品密封在大不锈钢平锅内。在 27 ℃把它们装入热量计中，并使之在 - 53 ℃和 27 ℃之间进行冷/热循环作用。加热和冷却的速度是 5 度/分钟。冷冻干燥的样品也被密封在大不锈钢平锅内，但是是在干燥的氮气环境中，以便减少这种干块吸潮的可能性。为了提高所有信号的强度，在 - 53 ℃ - 127 ℃的温度范围内采用了 10 度/分钟的加热和冷却速度。在一台实验用冷冻干燥机内进行冷冻干燥。

用高效液相色谱（ HPLC ）技术，通过分析 WIN 33377 试样或者其总色谱杂质，对冷冻干燥样品进行稳定性评价。

试样分析法

用 HPLC 仪（ Kontron ），在如下条件下进行色谱分析：

色谱柱:	Partisil ODS - 3, 5μm, 10 × 0.46cm
流动相:	A： B（ 77： 23 v/v
其中	A = 0.5M 乙酸铵缓冲液， pH4.8 ， 和
	B = 乙腈
流速:	2.0ml/min
检测波长:	258nm
温度:	40 ℃
注入体积:	20μl

总色谱杂质分析法

以如下条件，用梯度洗脱 HPLC 技术对总色谱杂质进行测定：

色谱柱： Hypersil BDS， C18， 5μm， 25 × 0.46cm 内径

流动相： A： 7.71 g/l 乙酸铵 + 6.0ml/l 冰醋酸 + 10ml/l 三乙胺，调 pH4.8

B： 乙腈

梯度条件:

时间（分钟）	% A	% B
0.00	80	20
30.00	80	20
60.00	60	40
70.00	60	40
70.01	80	20
80.00	80	20
流速:		2.0ml/min
检测波长:		438nm
温度:		40 ℃
注入体积:		25μl

制剂研制:

在试图制备冷冻干燥制剂之前，实施任何冷冻干燥过程的第一步，是充分了解此溶液的物理化学特性。按照上述程序，通过 DSC（差示扫描量热法）对如表 9 中给出的三种制剂样品进行了分析。在表 10 中概括地显示了其相关的转化温度。

表 10

制剂	缓冲剂	转化温度 1（℃）	转化温度 2（℃）
1	乙酸盐	- 28	- 17
2	柠檬酸盐	- 33	- 17
3	乳酸盐	- 32	

发现这三种混合物发现出不同的物理化学性能：发现基于乙酸盐的制剂是结晶体状，基于柠檬酸盐的制剂一部分是结晶体状，而其余部分形成玻璃状，基于乳酸盐的制剂形成玻璃状。

这三种类型状态中，部分结晶对冷冻干燥导致最大的问题。部分结晶通常是不可预测的，并且，在药瓶内配制药剂的情况下，它可能导致不同药瓶之间的冷冻产品结构有显著差别。这又可能引起不同药

瓶之间的干燥效果不同。最后结果是同一批次内产品质量不同，例如不同药瓶之间的稳定性，再水化作用和贮存寿命不同。不同药瓶之间的水分含量不同是此问题最直接的指示。

如柠檬酸盐制剂所表现的不完全结晶作用，可通过对此混合物加入适当的玻璃态形成赋形剂来防止。这种赋形剂将阻止其它材料形成结晶，而导致形成玻璃态。加入玻璃态形成剂的量将取决于结晶材料的性质和结晶的速度。在本研究中是拒绝使用柠檬酸盐，主要是由于在柠檬酸盐缓冲液中，药物虽然在配制初期是溶解了，但是，在4℃或25℃贮存过程中，几小时内就会结晶出来。因为冷冻干燥并不影响药物的溶解度，所以在使用时，当此柠檬酸盐制剂被再水化、可能会遇到某种溶解困难，加之甚至在给药过程中也可能出现散发的结晶作用。

所有三种制剂的总溶剂含量都较少，大约仅1％－2％ w/w。这种水平不足以维持适当的填料结构，因需要再配制。结晶体制剂1需要加入填充剂。另一方面，制剂3（玻璃状的）需要加入玻璃态形成剂。对于结晶体，选择的稳定剂是甘露糖醇，对于玻璃态制剂，稳定剂是蔗糖或葡聚糖。它们是以50mg/ml的浓度被加入到表9所列举的溶液中。然后通过DSC对所配制溶液的样品进行分析。

DSC测定得出了这三种制剂的玻璃态转化温度值。这些温度相当于瓦解和变质最小时可允许的最高初始干燥温度。含葡聚糖的系统具有最高的玻璃态转化温度，并且当冰的升华速度随温度升高按指数变化增加时，将使干燥周期最短。但是，WIN 33377需要重复给药，在这种情况下，葡聚糖可能会引起过敏性休克反应。因此，出于医疗原因，这种制剂被排除了。

对于其它二种制剂发现了如下情况。

对于蔗糖/乳酸盐制剂，初期干燥应使在大约－40℃进行。这允许有5℃的安全范围（对目前使用的干燥器是足够的），以便补偿干燥器内的温度梯度。每个药瓶装有10ml产品，装填深度大约1.63cm。药瓶的直径为2.8cm，使产品有6.15cm^2的表面积。对于这些样品，总产品容量的有效升华速度计算为0.22g/瓶/h，其总产品容量由大约9.4g冰组成，其余部分是由固体和未冻结的水组成。在－40℃，以0.226g/h的速度，完成升华需要大约42小时。

对于甘露糖醇/乙酸盐混合制剂，初期干燥必须在低于通过 DSC 对乙酸盐制剂所测定的最低转化温度下进行，即在－ 30 ℃下进行．药瓶的装填容积和直径是相同的，但是，此刻升华作用可能在较高的温度下进行，对于这些样品，计算的有效升华速度是 0.670 g/瓶/h ．同上面一样，必须升华 9.4g 冰，而现在初期干燥时间减少为 14 小时。

按上述将产品在所推荐的温度下保持一段时间，假定在升华面的温度等于冰核心的温度，这将确保能完成初始的干燥。然后，必须使产品的温度按逐渐增加的放置温度上升，以便除去产品中残留的水分。

冷冻干燥产品的制备:

表 11 显示了一些冷冻干燥的方法参数，可任选地用于分别以甘露糖醇和蔗糖稳定化的乙酸盐和乳酸盐缓冲的溶液。

表 11

制剂	甘露糖醇	蔗糖
药瓶容量（ ml ）	20	20
装填容量（ ml ）	10	10
装填深度（ cm ）	1.63	1.63
初期干燥温度（ ℃ ）	－ 30	－ 40
初期干燥时间（ h ）	14	42
第二期干燥中温度上升的速度（ 度/ h ）	4	4
最后干燥温度（ ℃ ）	25	25
初期干燥中的压力（ mbar ）	0.3	0.1

用如下的方法对本发明的制剂进行冷冻干燥。

根据剂量要求，选择装填某种制剂所需容量的药瓶。在选择容纳某一剂量的药瓶时，装填量不应越过药瓶容量的某一分数。例如，不应将 5ml 装填量装入小于 10ml 的药瓶内。装瓶后，将药瓶装入干燥室，并直接放在预冷至 4 ℃的冷冻架上。将热电偶安置在若干药瓶内，以便监测冷冻干燥过程中制剂的温度。先使药瓶温度与架子温度（ 4 ℃）平衡，然后，对于蔗糖的制剂使架子温度降至－ 40 ℃，对于甘露糖醇的制剂，使之降至－ 30 ℃。分别对于蔗糖和甘露糖醇的制剂，一旦达

到了－ 40 ℃和－ 30 ℃，使药瓶在此温度维持大约 2 小时，以便使制剂完全冷冻（对于甘露糖醇的制剂，在此阶段包括一个退火步骤）。经过这段时间之后，再使冷凝器螺旋管冷却至－ 60 ℃，并开动真空泵，对冷凝器室抽真空，随之进行初期干燥和第二期干燥过程。在初期干燥过程中，将冷凝器与干燥室之间的主阀打开，对干燥室抽真空，排出氮气，使之达到大约 100 微米汞柱的压力。冷冻干燥周期的这部分时间（初级干燥期）需要大约 40 － 50 小时。当冷冻混合物中的冰全部消失了，初期干燥过程即告完成。在第二期干燥过程中，为了除去在初期干燥过程中未除去的所有残留水分，使温度从－ 20 ℃或－ 30 ℃上升至＋ 25 ℃。这段第二期干燥时间需要大约 15 小时。

完成第二期干燥过程之后，将主阀关闭，并对干燥室充入氮气，这样使干燥室内保持有轻微的真空度。然后启动加塞机，将塞子压下进入药瓶口。使干燥室与大气压平衡后，打开干燥室门，取出药瓶，并进行卷边密封。然后将药瓶贮存在规定的温度下，直到以水再溶解用于注射。

稳定性研究

在 30 ℃， 40 ℃和 50 ℃贮存至 4 周后，对干燥产品的稳定性进行评价。对此样品实施试样研究和色谱杂质研究。对于甘露糖醇的制剂结果表明，在直至 50 ℃的温度下存放该产品 4 周后，药物试样没有显著改变。总色谱杂质从起始的 0.35 % w/w，在 30 ℃增加至 0.54 % w/w，在 40 ℃增加至 0.49 % w/w，在 50 ℃增加至 0.56 % w/w。该产品的水分含量为 2.4 % w/w，凝结外观也令人满意，即就是说未见有产品崩坍现象。但是， 5 个药瓶中的二个未能重新水合成澄清的黄色溶液。能够重溶解形成澄清溶液的药瓶，比不能形成澄清溶液（ pH5.6 ）的药瓶具有较低的 pH （ 5.0 ）。认为这种 pH 偏移是由于冷冻干燥过程中乙酸的蒸发。

对蔗糖制剂（含 5 % 残留水分）的稳定性研究表明，在 30 ℃和 40 ℃存放 4 周后，试样或总色谱杂质都没有改变。在 50 ℃存放的药品显示出试样含量减少，总色谱杂质含量增加。在各个温度下存放 2 周后，可见冷冻干燥的凝块有些崩坍。

WIN 33377/甘露糖醇制剂的稳定性显示在表 12 中， WIN 33377/蔗糖制剂的稳定性显示在表 13 中。

表 12

	开始时		2 周后		4 周后	
温度	药物 % W/W	杂质 % W/W	药物 % W/W	杂质 % W/W	药物 %W/W	杂质 %W/W
室温	101.6	0.35	-	-	-	-
30 ℃	-	-	100.3	0.43	98.0	0.54
40 ℃	-	-	102.5	0.54	100.9	0.49
50 ℃	-	-	101.0	0.65	98.1	0.56

表 13

	开始时		2 周后		4 周后	
温度	药物 % W/W	杂质 % W/W	药物 % W/W	杂质 % W/W	药物 %W/W	杂质 %W/W
室温	98.4	0.35	-	-	-	-
30 ℃	-	-	98.4	0.32	96.8	0.33
40 ℃	-	-	98.2	0.31	98.1	0.34
50 ℃	-	-	96.8	0.51	95.2	0.87

此研究发现了一种适当的冷冻干燥制剂（乳酸盐－蔗糖的制剂），但是，对此还可以进一步最优化，并且可包括另一些最终使用要求。已发现在起始溶液中药物浓度可增加到 20mg/ml，这样装填量可以减半，使初级干燥时间减少。通过加入氯化钠平衡等渗性也是重要的。因为这种盐会影响玻璃态转化温度（ Tg′），通过 DSC 对修改的制剂（见表 14 ）进行了测定。其玻璃态转化温度测定结果在表 15 中被给出。

表 14 - 用于测定 NaCl 和蔗糖对缓冲的 WIN 33377 溶液相对影响的待测制剂

制剂	A	B	C	D
WIN 33377	20.0mg	20.0mg	20.0mg	20.0mg
乳酸（ 0.1M ）	0.5ml	0.5ml	0.5ml	0.5ml
NaOH（ 0.5M ）	12μl	12μl	12μl	12μl
蔗糖	100mg	50mg	40mg	30mg
NaCl	2.7mg	2.7mg	3.8mg	5.0mg
加注射用水至	1ml	1ml	1ml	1ml
pH	3.99	3.99	3.99	3.99

表 15 - 对表 14 中所列制剂测定的玻璃态转化温度值

制剂	Tg′（ ℃ ）
未加 NaCl 的对照制剂 A	- 35
A	- 37
B	- 38
C	- 42.5
D	- 45.5

可见，加入 NaCl 使此冷冻浓缩物的玻璃态温度降低了。 NaCl 具有比蔗糖低很多的玻璃态转化温度（ - 87 ℃对 - 32 ℃ ）。因此，当 NaCl 的重量比率增加（从 A 到 D ），玻璃态转化温度则朝向纯 NaCl 的数值下降。向标准的 5 % 蔗糖制剂加入 NaCl，导致玻璃态转化温度降低 2 ℃。降低蔗糖浓度，以及为了保持等渗性所必须的 NaCl 浓度补偿性增加，将导致玻璃态转化温度进一步下降。可以认为，干燥产品的玻璃态转化温度是该产品应该面对的最高温度。超过玻璃态温度，将导致填料最终崩坍，使产品变成液体态，在这种情况下，扩散速度将迅速增加，导致活性物质降解。玻璃态转化温度取决于水分含量，因此，在某一批次中水分含量的任何改变，都将引起玻璃态转化温度改变。这样，考虑到在某一批次内安全贮存的最高温度有所差异，为

谨慎起见，此产品应贮存在低于所测定玻璃态温度至少 5 ℃之下。

在 20ml 的药瓶中，含量 WIN 33377 溶液（ 100mg ）和蔗糖的制剂：

赋形剂	加入量（ mg/瓶）
WIN 33377	100.0
蔗糖	250.0
氯化钠	5.0
0.5M 乳酸溶液	1.0ml
1.0M 氢氧化钠	57.0μl
注射用水	5.0ml
pH（范围 3.70 - 4.30 ）	4.00

在 30 ℃和 40 ℃贮存直至 6 个月的过程中，对此优选的蔗糖制剂进行了稳定评价。试样分析结果和 pH 被列举在表 16 中．该产品具有 1.3 % w/w 的起始水分含量。在 40 ℃贮存 2 周之后观察到产品有崩坍。这是被预料到的，因为这种贮存温接近于此批产品的玻璃态转化温度（ 42 ℃ ）。稳定性结果表明，该产品是化学稳定的，也就是说，在 30 ℃或 40 ℃贮存 6 个月之后，试样含量和 pH 都未见任何改变。

表 16

时间	温度(℃)	WIN 33377（ % w/v ）双份分析		pH
开始时	室温	90.85,	90.95	3.95
3 周后	30 ℃	89.13,	89.28	3.96
	40 ℃	90.14,	89.79	3.94
2 周后	30 ℃	90.81,	92.36	3.95
	40 ℃	88.59,	89.49	3.95
4 周后	30 ℃	93.88,	91.93	3.99
	40 ℃	95.52,	95.2	400

表 16（续）

		WIN 33377（% w/v）		
时间	温度(℃)	双份分析		pH
6 月后	30 ℃	90.08,	87.68	4.02
	40 ℃	88.40,	86.75	4.05

由本发明提供的高稳定性，使该产品能贮存在室温下，并延长了它的贮存寿命。这种冷冻干燥产品既适合封装在传统的玻璃药瓶内，也适合封装在预先装填的注射器内。这种制剂对治疗肿瘤大有用处，是迄今未曾有过的。