

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200710037557.2

[51] Int. Cl.

*C07D 239/94 (2006.01)*

*A61K 31/517 (2006.01)*

*A61P 35/00 (2006.01)*

[43] 公开日 2008 年 8 月 20 日

[11] 公开号 CN 101245050A

[22] 申请日 2007.2.14

[21] 申请号 200710037557.2

[71] 申请人 上海艾力斯医药科技有限公司

地址 201210 上海市张江高科技园区哈雷路  
1118 号 5 楼

[72] 发明人 姜 勇 郭建辉

权利要求书 1 页 说明书 8 页

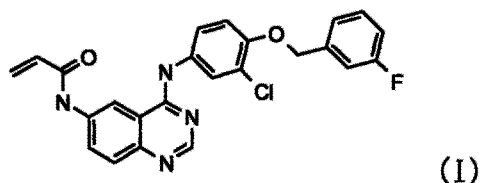
[54] 发明名称

4-苯胺喹唑啉衍生物的盐

[57] 摘要

本发明提供了 N-{4-[3-氯-4-(3-氟-苄氧基)苯基氨基]-喹唑啉-6-基}-丙烯酸酯的成盐形式、其制备方法, 以及包含该成盐形式的药物组合物及其应用。本发明的盐在常规溶剂如水中溶解性好, 并且在动物体内具有良好的生物利用度, 适用于制备抗肿瘤的常规制剂。

1. 一种如下式所示化合物在药学上可接受的盐，



2. 如权利要求1所述的盐，其中所述盐为酸式盐。
3. 如权利要求2所述的盐，其中所述盐为氢溴酸盐、盐酸盐、硫酸盐、亚硫酸盐、磷酸盐、硼酸盐、乙酸盐、草酸盐、戊酸盐、苯甲酸盐、乳酸盐、甲苯甲酸盐、柠檬酸盐、马来酸盐、富马酸盐、琥珀酸盐、酒石酸盐。
4. 如权利要求2所述的盐，其中所述盐为盐酸盐、硫酸盐、草酸盐或苯甲酸盐。
5. 如权利要求1所述的盐，其中所述盐为碱式盐。
6. 如权利要求5所述的盐，其中所述盐为钠盐、钾盐、钙盐、镁盐或胺盐。
7. 如权利要求6所述的盐，其中所述盐为四甲基胺盐、四乙基胺盐、甲胺盐、二甲胺盐、三甲胺盐、三乙胺盐、乙胺盐。
8. 如权利要求7所述的盐，其中所述盐为三乙胺盐、乙胺盐。
9. 如权利要求1所述盐的制备方法，包括步骤：
- (a) 将N-{4-[3-氯-4-(3-氟-苄氧基)苯基胺基]-喹唑啉-6-基-}-丙烯酰胺溶于有机溶剂中，在搅拌条件下滴加含酸或碱的有机溶剂；
- (b) 直接过滤或经浓缩后过滤得到固体，水洗，干燥后得到目标化合物。
10. 如权利要求9所述的制备方法，其中所述的有机溶剂为甲醇、乙醇、乙酸乙酯、四氢呋喃、三乙胺、乙醚、1,3-二氧六环。
11. 包含权利要求1-8任一所述的盐的药物组合物。
12. 如权利要求1-8任一所述的盐在制备抗肿瘤药物中的用途。

## 4-苯胺喹唑啉衍生物的盐

### 技术领域

本发明涉及 4-苯胺喹唑啉衍生物的盐。具体的说，本发明涉及 N-{4-[3-氯-4-(3-氟-苄氧基)苯基氨基]-喹唑啉-6-基-}-丙烯酰胺的成盐形式、其制备方法，以及包含该成盐形式的药物组合物及其应用。

### 背景技术

癌症被认为是细胞内信号传导系统或信号传导机制的疾病。细胞接受许多来自细胞外的指令，指导细胞是否增殖，信号传导系统的目的是接受细胞表面的这些或其它信号，将其导入细胞内，然后将这些信号传递到细胞核、细胞骨架，以及转运和蛋白合成结构。

癌症的最常见病因是一系列的缺损，所述缺损可以是某些蛋白质的缺损(当其突变时)，或者是对细胞内蛋白质的量的调节的缺损，从而使蛋白过度产生或产生不足。通常，在细胞内存在重要损伤，该损伤导致组成型状态，由此使细胞核收到增殖信号，而事实上这些信号并不存在。这可以通过多种机制发生。有时细胞会在不应该的情况下开始生产其自身受体的真正的生长因子，所谓的自分泌环机制。

细胞表面存在大量的受体，生长因子与这些受体的相互作用是细胞生长正常调节的必需事件。然而，在某些条件下，由于这些受体或者突变或者过量表达，这些受体可变为异常，其结果是细胞繁殖不受控制，最终导致肿瘤的生长。

表皮生长因子受体(EGFR)被确定为在细胞生长和繁殖过程中至关重要的驱动因素，在常见的肿瘤，如非小细胞肺癌中，表皮生长因子受体大量表达，远远超出正常范围。表皮生长因子受体家族由 EGFR(Erb-B1)、Erb-B2(HER-2/neu)、Erb-B3 和 Erb-B4 组成。表皮生长因子受体与大部分癌症的疾病进程有关，特别是结肠癌和乳腺癌。该受体的过度表达和突变已被明确证实是预后不好的乳腺癌的主要危险因素。此外，已证实该受体家族的所有四个成员均可与该家族的其它成员聚合为异源二聚体，形成信号传导复合物，如果该家族中有一个以上的成员在恶性肿瘤中过度表达，便可导致协同的信号传导作用。

EGFR 属于蛋白酪氨酸激酶 (PTK) 家族, 蛋白酪氨酸激酶是一类将磷酸基团从 ATP 催化转移到位于蛋白质底物的酪氨酸残基的酶。蛋白酪氨酸激酶在正常细胞生长中起作用。EGFR 的过度表达, 导致受体在缺乏配体的条件下被激活, 使某些蛋白发生磷酸化, 产生了细胞分裂的信号。因此, EGFR 通过自身酪氨酸激酶的作用, 导致了弱信号的过度放大, 引起了细胞的过量增值。

由于异常的受体激酶在癌发病机理中所起作用的重要性, 因此最近的许多研究都涉及作为潜在抗癌治疗药物的特异的 PTK 抑制剂的研制。欧洲专利申请 520722 A1 公开了某些 4-苯胺基间二氮杂萘具有 PTK 抑制剂活性。欧洲专利申请 566226 A1 公开了在位置 5-8 含有许多取代基的 4-苯胺基间二氮杂萘具有 PTK 抑制剂活性。从欧洲专利申请 635498 A1 得知, 在位置 6 含有许多取代基、在位置 7 必须有一个卤素的某些 4-苯胺基间二氮杂萘也具有 PTK 抑制剂活性。

WO 96/30347 (中国专利 CN96102992) 涉及一些 4-(取代苯氨基)喹唑啉衍生物、其前药和其药学上可接受的盐, 用于治疗过度增生疾病。

WO97/38983 (中国专利 CN97194458) 提供了作为酪氨酸激酶不可逆抑制剂的化合物。

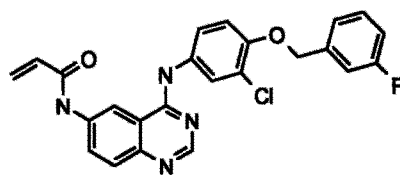
WO00/06555 (中国专利 CN99808949) 也涉及某些取代的喹唑啉的衍生物具有 PTK 抑制剂活性。

WO99/35146 (中国专利 CN99803887) 公开了作为蛋白酪氨酸激酶抑制剂的二环杂芳族化合物。

PCT/CN2006/002786 公开了一类新型的 4-苯胺喹唑啉衍生物, 以及其作为 PTK 抑制剂的应用。其中, 实施例 8 制备的化合物为 N-{4-[3-氯-4-(3-氟-苄氧基)苯基胺基]-喹唑啉-6-基}-丙烯酸酰胺, 证明其对表皮样鳞癌细胞 A431、人乳腺癌细胞 BT-474 有较好的抑制生长的作用, 对移植于裸鼠的人体表皮癌 A431 的抑瘤作用明显。体外实验证明该化合物对 Erb-B2 激酶有优越的抑制活性。

## 发明内容

本发明人经过广泛而深入的研究, 得到了 N-{4-[3-氯-4-(3-氟-苄氧基)苯基胺基]-喹唑啉-6-基}-丙烯酸酰胺 (如下式结构 I) 的成盐形式, 该成盐形式具有良好的成药性, 在此基础上完成了本发明。



(I)

在本发明的第一方面，提供了一种上述所示化合物在药学上可接受的盐，本发明所述“药学上可接受的盐”是指在药学上相对无毒的酸式盐和碱式盐。酸式盐包括氢溴酸盐、盐酸盐、硫酸盐、亚硫酸盐、乙酸盐、草酸盐、戊酸盐、油酸盐、棕榈酸盐、硬脂酸盐、月桂酸盐、硼酸盐、苯甲酸盐、乳酸盐、磷酸盐、甲苯甲酸盐、柠檬酸盐、马来酸盐、富马酸盐、琥珀酸盐、酒石酸盐、苯甲酸盐、甲磺酸盐、葡萄糖酸盐、乳糖酸盐和月桂基磺酸盐等。碱式盐包括与碱金属或碱土金属的阳离子形成的盐，如钠盐、锂盐、钾盐、钙盐、镁盐等；与胺离子形成的盐，如：胺盐、四甲基胺盐、四乙基胺盐、甲胺盐、二甲胺盐、三甲胺盐、三乙胺盐、乙胺盐等。

在本发明优选的方案中，所述盐是酸式盐，包括无机酸盐或有机酸盐，无机酸盐如氢溴酸盐、盐酸盐、硫酸盐、亚硫酸盐、磷酸盐、硼酸盐，更加优选的是盐酸盐、硫酸盐；有机酸盐如乙酸盐、草酸盐、戊酸盐、苯甲酸盐、乳酸盐、甲苯甲酸盐、柠檬酸盐、马来酸盐、富马酸盐、琥珀酸盐、酒石酸盐，更加优选的是草酸盐、苯甲酸盐。

在本发明的第二方面，提供了一种制备本发明所述药学上可接受的盐的方法，包括步骤：

- (c) 将N-{4-[3-氯-4-(3-氟-苄氧基)苯基胺基]-喹啉-6-基}-丙烯酰胺溶于有机溶剂中，在搅拌条件下滴加含酸或碱的有机溶剂；
- (d) 直接过滤或经浓缩后过滤得到固体，水洗，干燥后得到目标化合物所述的盐。

上述所述的有机溶剂如甲醇、乙醇、乙酸乙酯、四氢呋喃、三乙胺、乙醚、1,3-二氧六环等；所述的酸包括无机酸如氢溴酸、盐酸、硫酸、亚硫酸、磷酸、硼酸，有机酸如乙酸、草酸、戊酸、苯甲酸、乳酸、甲苯甲酸、柠檬酸、马来酸、富马酸、琥珀酸、酒石酸；所述的碱包括无机碱如含钠、锂、钾、钙、镁的碱，有机碱如氨水、甲胺、二甲胺、三甲胺、三乙胺、乙二胺、四甲基胺、四乙基胺等。

通常，上述制备过程为控温反应，反应温度的选择对不同的成盐反应有着不可忽

视的影响，一般反应温度为0℃～60℃，优选0℃～40℃。

以制备盐酸盐为一具体例，该方法包括：

- (a) 将N-{4-[3-氯-4-(3-氟-苄氧基)苯基氨基]-噻唑啉-6-基-}-丙烯酰胺溶于四氢呋喃/三乙胺中，于冰水浴下搅拌，缓慢滴加4N浓HCl/1,3-二氧六环溶液，有黄色固体析出；
- (b) 停止搅拌，过滤，水洗，干燥后得到N-{4-[3-氯-4-(3-氟-苄氧基)苯基氨基]-噻唑啉-6-基-}-丙烯酰胺盐酸盐。

在本发明的第三方面，提供了一种药物组合物，它含有药学上可接受的载体和本发明所述的盐。本发明所述的盐或其药物组合物可给药于人，可以口服、直肠、肠胃外(静脉内、肌肉内或皮下)、局部给药。使用药物组合物时，是将安全有效量的本发明化合物适用于需要治疗的哺乳动物(如人)，其中施用剂量为药学上认为的有效给药剂量，对于60kg体重的人而言，日给药剂量通常为1～1000mg，优选20～500mg。当然，具体剂量还应考虑给药途径、病人健康状况等因素，这些都是熟练医师技能范围内的。

用于口服给药的固体剂型包括胶囊剂、片剂、丸剂、散剂和颗粒剂。在这些固体剂型中，活性化合物与至少一种常规惰性赋形剂(或载体)混合，如柠檬酸钠或磷酸二钙，或与下述成分混合：(a) 填料或增容剂，例如，淀粉、乳糖、蔗糖、葡萄糖、甘露醇和硅酸；(b) 粘合剂，例如，羟甲基纤维素、藻酸盐、明胶、聚乙烯基吡咯烷酮、蔗糖和阿拉伯胶；(c) 保湿剂，例如，甘油；(d) 崩解剂，例如，琼脂、碳酸钙、马铃薯淀粉或木薯淀粉、藻酸、某些复合硅酸盐、和碳酸钠；(e) 缓溶剂，例如石蜡；(f) 吸收加速剂，例如，季胺化合物；(g) 润湿剂，例如鲸蜡醇和单硬脂酸甘油酯；(h) 吸附剂，例如，高岭土；和(i) 润滑剂，例如，滑石、硬脂酸钙、硬脂酸镁、固体聚乙二醇、十二烷基硫酸钠，或其混合物。胶囊剂、片剂和丸剂中，剂型也可包含缓冲剂。

固体剂型如片剂、糖丸、胶囊剂、丸剂和颗粒剂可采用包衣和壳材制备，如肠衣和其它本领域公知的材料。它们可包含不透明剂，并且，这种组合物中活性化合物或化合物的释放可以延迟的方式在消化道内的某一部分中释放。可采用的包埋组分的实例是聚合物物质和蜡类物质。必要时，活性化合物也可与上述赋形剂中的一种或多种

形成微胶囊形式。

用于口服给药的液体剂型包括药学上可接受的乳液、溶液、悬浮液、糖浆或酞剂。除了活性化合物外，液体剂型可包含本领域中常规采用的惰性稀释剂，如水或其它溶剂，增溶剂和乳化剂，例如，乙醇、异丙醇、碳酸乙酯、乙酸乙酯、丙二醇、1,3-丁二醇、二甲基甲酰胺以及油，特别是棉籽油、花生油、玉米胚油、橄榄油、蓖麻油和芝麻油或这些物质的混合物等。

除了这些惰性稀释剂外，组合物也可包含助剂，如润湿剂、乳化剂和悬浮剂、甜味剂、矫味剂和香料。

除了活性化合物外，悬浮液可包含悬浮剂，例如，乙氧基化异十八烷醇、聚氧乙烯山梨醇和脱水山梨醇酯、微晶纤维素、甲醇铝和琼脂或这些物质的混合物等。

用于肠胃外注射的组合物可包含生理上可接受的无菌含水或无水溶液、分散液、悬浮液或乳液，和用于重新溶解成无菌的可注射溶液或分散液的无菌粉末。适宜的含水和非水载体、稀释剂、溶剂或赋形剂包括水、乙醇、多元醇及其适宜的混合物。

用于局部给药的本发明化合物的剂型包括软膏剂、散剂、贴剂、喷射剂和吸入剂。活性成分在无菌条件下与生理上可接受的载体及任何防腐剂、缓冲剂，或必要时可能需要的推进剂一起混合。

本发明所述的盐可用于治疗由蛋白酪氨酸激酶介导的疾病，例如乳腺癌、非小细胞肺癌、卵巢癌、胃癌、胰腺癌等肿瘤。本发明所述的盐可以单独给药，或者与其他药学上可接受的化合物联合给药。

本发明的主要优点包括：

- (a) 本发明的盐在常规溶剂如水中溶解性增加。
- (b) 本发明的盐在动物体内证明具有较好的生物利用度。

因此，本发明所述的盐适合开发成为一种优良的抗肿瘤药物，从而应用于临床。

下面结合具体实施方式，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。除非另外说明，否则份数和百分比为重量份和重量百分比。

## 具体实施方式

### 实施例1: N-{4-[3-氯-4-(3-氟-苄氧基)苯基胺基]-噻唑啉-6-基-}-丙烯酰胺

在一个装有冷凝装置的烧瓶中,将原料6-硝基-4-氯-噻唑啉1.20g (5.7mmol)和4-间氟苄氧基-3-氯苯胺1.37g (5.6mmol)溶于80ml异丙醇,回流反应3h,体系中析出大量黄色固体,过滤,固体用饱和碳酸氢钠水溶液洗涤至pH=8。样品真空干燥,经鉴别该化合物为:4-[3-氯-4-(3-氟-苄氧基)苯基胺基]-6-硝基噻唑啉,收率67%。

在一个装有回流冷凝装置的烧瓶中加入4-[3-氯-4-(3-氟-苄氧基)苯基胺基]-6-硝基噻唑啉1.60g (3.77mmol),还原铁粉1.05g (18.85mmol, 5eq),冰醋酸2ml,甲醇40ml,85℃油浴下回流反应2.5h后,过滤除去铁粉,滤液用乙酸乙酯稀释,碳酸氢钠溶液洗涤,水洗,有机相干燥浓缩,得到黄色固体,经鉴别该化合物为:4-[3-氯-4-(3-氟-苄氧基)苯基胺基]-6-胺基噻唑啉,收率61%。

在一个100ml烧瓶中,在冰浴下加入4-[3-氯-4-(3-氟-苄氧基)苯基胺基]-6-胺基噻唑啉1.2g (3.04mmol),三乙胺0.6ml (4.58mmol, 1.5eq),丙烯酰氯0.28ml (3.33mmol, 1.1eq),THF40ml,逐渐升至室温反应,3h后,停止反应,过滤,固体水洗至中性,干燥,得到固体1.0g。经鉴别该化合物为:N-{4-[3-氯-4-(3-氟-苄氧基)苯基胺基]-噻唑啉-6-基-}-丙烯酰胺。MS: 449。mp: 222-225℃。

### 实施例2 N-{4-[3-氯-4-(3-氟-苄氧基)苯基胺基]-噻唑啉-6-基-}-丙烯酰胺盐酸盐

将1.0gN-{4-[3-氯-4-(3-氟-苄氧基)苯基胺基]-噻唑啉-6-基-}-丙烯酰胺溶于20ml乙酸乙酯/三乙胺中于冰水浴下搅拌,缓慢滴加4N浓HCl/1,3-二氧六环溶液。有黄色固体析出,45min后停止搅拌,过滤,水洗,干燥得530mgN-{4-[3-氯-4-(3-氟-苄氧基)苯基胺基]-噻唑啉-6-基-}-丙烯酰胺盐酸盐。MS: 449。mp: 249-252℃。

$^1\text{H}$  NMR(400MHz,  $\text{CDCl}_3$ +DMSO): 8.75(1H, s), 8.60-8.52(2H, m), 7.81(1H, d,  $J=2.44\text{Hz}$ ), 7.69(2H, s), 7.54(1H, dd,  $J=2.56\text{Hz}$ ,  $8.92\text{Hz}$ ), 7.30-7.22(2H, m), 7.18-7.08(2H, m), 6.96-6.86(2H, m), 6.37(2H, d,  $J=5.86\text{Hz}$ ), 5.67(1H, t,  $J=5.86\text{Hz}$ ), 5.06(2H, s)。

也可通过以下方法制备目标化合物:将1.0gN-{4-[3-氯-4-(3-氟-苄氧基)苯基胺基]-噻唑啉-6-基-}-丙烯酰胺溶于20ml四氢呋喃/三乙胺中于冰水浴下搅拌,缓慢滴加4N浓HCl/1,3-二氧六环溶液,有黄色固体析出,45min后停止搅拌,过滤,水洗,干燥得370mgN-{4-[3-氯-4-(3-氟-苄氧基)苯基胺基]-噻唑啉-6-基-}-丙烯酰胺盐酸盐。

**实施例3: N-{4-[3-氯-4-(3-氟-苄氧基)苯基胺基]-噻唑啉-6-基-}-丙烯酰胺草酸盐**

将1.0gN-{4-[3-氯-4-(3-氟-苄氧基)苯基胺基]-噻唑啉-6-基-}-丙烯酰胺溶于20ml甲醇中于冰水浴下搅拌, 缓慢滴加草酸的甲醇溶液(11mmol/2ml), 有黄色固体析出, 45min后停止搅拌, 过滤, 水洗, 干燥得530mgN-{4-[3-氯-4-(3-氟-苄氧基)苯基胺基]-噻唑啉-6-基-}-丙烯酰胺草酸盐。MS: 449。mp: 253-256℃。

<sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>+DMSO): δ8.75(1H, s), 8.60-8.52(2H, m), 7.81(1H, d, J=2.44Hz), 7.69(2H, s), 7.54(1H, dd, J=2.56Hz, 8.92Hz), 7.30-7.22(2H, m), 7.18-7.08(2H, m), 6.96-6.86(2H, m), 6.37(2H, d, J=5.86Hz), 5.67(1H, t, J=5.86Hz), 5.06(2H, s)。

**实施例4: N-{4-[3-氯-4-(3-氟-苄氧基)苯基胺基]-噻唑啉-6-基-}-丙烯酰胺三乙胺盐**

将1.0gN-{4-[3-氯-4-(3-氟-苄氧基)苯基胺基]-噻唑啉-6-基-}-丙烯酰胺悬浮于20ml甲醇中于35℃下搅拌, 缓慢滴加三乙胺, 悬浮液慢慢澄清。45min后停止搅拌, 浓缩, 水洗, 干燥得530mgN-{4-[3-氯-4-(3-氟-苄氧基)苯基胺基]-噻唑啉-6-基-}-丙烯酰胺三乙胺盐。MS: 449。

<sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>+DMSO): δ8.75(1H, s), 8.60-8.52(2H, m), 7.81(1H, d, J=2.44Hz), 7.69(2H, s), 7.54(1H, dd, J=2.56Hz, 8.92Hz), 7.30-7.22(2H, m), 7.18-7.08(2H, m), 6.96-6.86(2H, m), 6.37(2H, d, J=5.86Hz), 5.67(1H, t, J=5.86Hz), 5.06(2H, s)。

**实施例5 溶解度实验**

按照常规溶解度测定方法, 测得各化合物在水中的溶解度如下:

| 化合物  | 溶解度(/ml) |
|------|----------|
| 化合物  | <10ng    |
| 盐酸盐  | >5ug     |
| 草酸盐  | >5ug     |
| 三乙胺盐 | >5ug     |

**实施例6 SD大鼠药物吸收实验**

健康SD大鼠, 分别灌胃给予上述实施例1化合物或其盐酸盐, 于给药后不同时间点采集血样, 分离制备血浆, 采用液相色谱/串联质谱法测定血浆中药物的浓度, 得到药物浓度-时间曲线。实验表明: 与化合物相比, 化合物的盐酸盐的药物曲线下峰

面积增加, 说明成盐形式可以增强药物的吸收, 具有较好的生物利用度。

#### 实施例7 肿瘤细胞生长抑制作用

将本发明化合物配制成 5 个浓度梯度, 参照活细胞的改良 MTT 方法, 将  $1 \times 10^5$  人乳腺癌细胞 BT-474 悬液 100ul 接种于 96 孔培养板内, 然后加入不同浓度药液 10ul, 使其达到终浓度; 置 37℃ 湿性培养箱中, 72 小时后取出培养板, 每孔再加 MTT, 继续培养 6hr, 加入 100ul SDS 终止液。在自动酶标仪测定各孔光密度 (OD) 值, 计算出抑制率。结果表明: 与化合物本身相比, 本发明成盐化合物具有相当的肿瘤细胞抑制作用。

#### 实施例8 药物组合物

|         |      |
|---------|------|
| 化合物的盐酸盐 | 23g  |
| 淀粉      | 140g |
| 微晶纤维素   | 67g  |

按常规方法, 将上述物质混合均匀后, 装入普通明胶胶囊, 得到1000颗胶囊。

按类似方法, 分别制得含化合物的草酸盐或化合物的三乙胺盐的胶囊。

在本发明提及的所有文献都在本申请中引用作为参考, 就如同每一篇文献被单独引用作为参考那样。此外应理解, 在阅读了本发明的上述讲授内容之后, 本领域技术人员可以对本发明作各种改动或修改, 这些等价形式同样落于本申请所附权利要求书所限定的范围。