

[19]中华人民共和国专利局

[51]Int.Cl<sup>6</sup>

C07D221/14

A61K 31/435



# [12] 发明专利说明书

[21] ZL 专利号 94193569.8

[45]授权公告日 1998年8月5日

[11] 授权公告号 CN 1039414C

[22]申请日 94.8.8 [24]颁证日 98.4.23

[21]申请号 94193569.8

[30]优先权

[32]93.8.18 [33]US[31]08/108,949

[73]专利权人 BASF公司

地址 联邦德国路德维希港

[72]发明人 G·凯豪尔 C·罗马达尔

M·费南迪兹布兰尼亚

X·-D·钱 P·布斯凯

J·M·卡斯特兰诺伯兰加

M·莫兰莫塞 M·J·佩里迪维加

[74]专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 孟八一 王景朝

[56]参考文献

CN1094036A 1994.10.26 C07D221/18

EP0281902A1 1988.9.14 C07D221/14

EP0506008A1 1992.9.30 C07D221/14

WO9312092A1 1993.6.24 C07D221/14

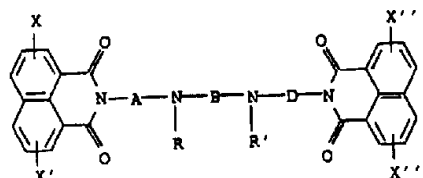
审查员

权利要求书 1 页 说明书 10 页 附图页数 0 页

[54]发明名称 双苯二甲酰亚胺类化合物

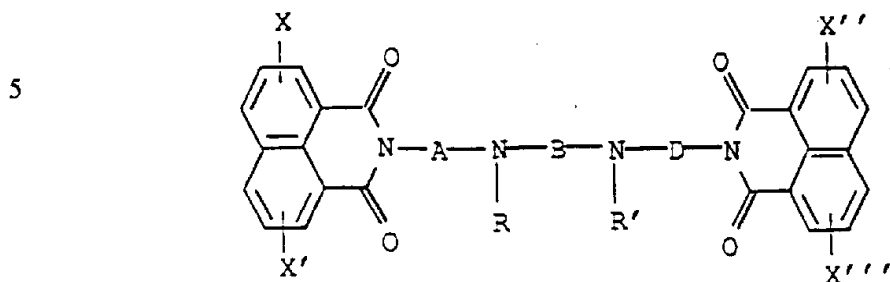
[57]摘要

本发明公开了下式化合物和含有它们的药物组合物以及它们的制备方法,其中 X, X', X'' 和 X'''', A, D, R 和 R' 如说明书定义。含有该化合物的药物组合物可用于治疗癌症。



# 权 利 要 求 书

1. 下式化合物或其药学上可接受的酸加成盐,



10 其中 X, X', X'' 和 X''' 相同或不同, 并选自 H, NO<sub>2</sub>, NH<sub>2</sub>, 低级酰基-NH-, C<sub>1-6</sub> 烷基氨基, 二-C<sub>1-6</sub> 烷基氨基, OH, 卤素, C<sub>1-6</sub> 烷基; R 和 R' 为 H, C<sub>1-4</sub> 烷基; A 和 D 相同或不同, 为任选被 C<sub>1-4</sub> 烷基取代基取代的 -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-, B 为 -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-, 其中 n 为 3 或 4, 而且任选被 C<sub>1-4</sub> 烷基取代基取代。

2、权利要求 1 的化合物, 其中 X, X', X'' 和 X''' 相同或不同, 并且选自 NO<sub>2</sub>, NH<sub>2</sub>, 低级酰基-NH-, 卤素。

15 3、权利要求 1 的化合物, 其中 X, X', X'' 和 X''' 中至少一个是 NH<sub>2</sub>, 低级酰基-NH-。

4、权利要求 1 的化合物, 其中 X, X', X'' 和 X''' 是 H; -A-NR-B-NR'-D-是 -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-。

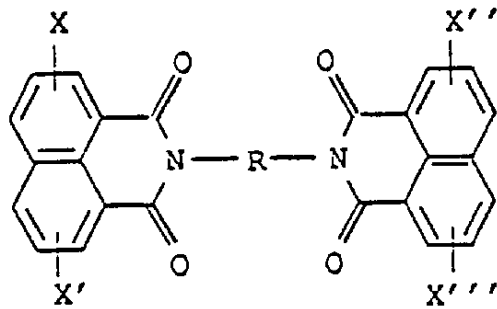
# 说明书

## 双萘二甲酰亚胺类化合物

本发明涉及新双萘二甲酰亚胺和它们的盐，制备它们的方法，含有它们的药物组合物和用它们治疗哺乳动物恶性肿瘤，特别是固体恶性肿瘤如结肠癌，乳腺癌，前列腺癌和非小细胞肺癌的方法。

1989年6月20日颁布的 Harnish 等人的美国专利 4,841,052 公开了双萘二甲酰亚胺在电子照相调色剂中作为电荷调整物质。

1989年10月17日颁布的 Braña 等人的美国专利 4,874,883 公开了下列抗癌化合物或生理上容许的酸加成盐：



其中 X, X', X'' 和 X''' 相同或不同，分别为 H, NO<sub>2</sub>, NH<sub>2</sub>, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基氨基，二-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基氨基，OH, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷氧基，卤素，三卤代甲基，C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基，甲酰基，C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基羰基，脲基 (ureyl)，C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基脲基，R 为直链或支链 C<sub>4</sub>-C<sub>10</sub> 亚烷基，该链在一处或两处被仲氨基或叔氨基隔开，其中 2 个氮原子彼此可以再由亚烷基键连。

1992年2月4日颁布的 Ardecky 等人的美国专利 5,086,059 公开的萘二甲酰亚胺在萘二甲亚酰胺环的 4 位和 5 位有一个亚乙基桥。这些化合物被认为有抗癌效果，而且在水中的溶解度比现有技术中的化合物

好。

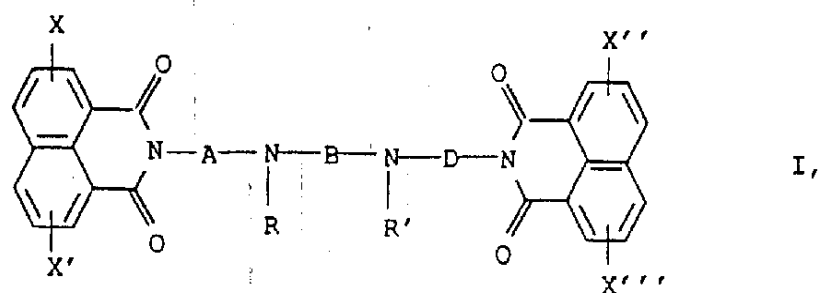
1993年4月27日颁布的Sun的美国专利5,206,249公开了双萘二甲酰亚胺作为抗癌药物，该化合物在萘二甲酰亚胺环上含有至少一个与支链桥部分连接的确基取代基。1993年6月24日颁布的Sun等人的PCT/US92/10525公开了在萘二甲酰亚胺环上含有至少一个与支链桥部分连接的确基取代基的双萘二甲酰亚胺。

1992年9月30日Braña等人的1992年德国专利申请42 32 739.3公开了不对称双萘二甲酰亚胺。

Harnish的美国专利4,919,848公开的双萘二甲酰亚胺是制备抑制阴离子荧光增白剂产生荧光的化合物的中间体。

到现在为止，人们已经认识到，无论是否经过与确基双萘二甲酰亚胺的DNA嵌入有关的相互作用，萘二甲酰亚胺环上的取代，特别是确基取代对双萘二甲酰亚胺的抗肿瘤效果有重要作用。然而，我们惊奇地发现，这种确基取代对于抗癌活性是根本不需要的。事实上，正如下面详述的，没有确基取代和/或具有环取代基与桥构型新结合的某些双萘二甲酰亚胺类都能提供具有降低毒性，抗肿瘤选择性和/或溶解性的抗肿瘤组合物。

本发明涉及式I双萘二甲酰亚胺化合物（包括其各对映体或非对映体形式，这些对映体和非对映体的混合形式和药学上可接受的酸加成盐），含有这些化合物的药物组合物和用它们治疗哺乳动物癌症的方法：



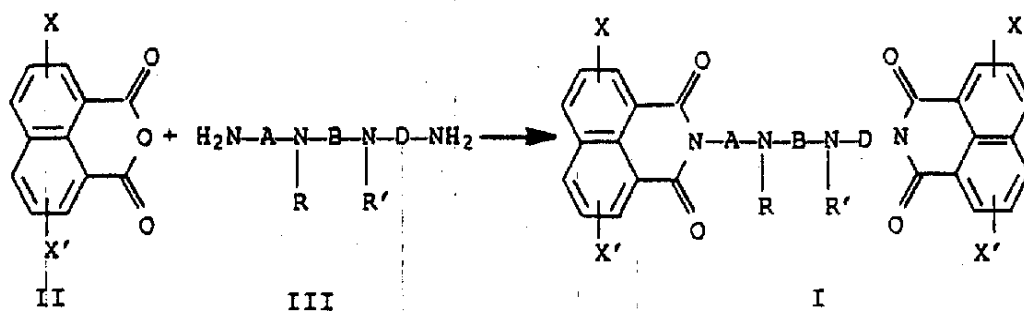
其中 X, X', X'' 和 X''' 相同或不同, 并选自 H, NO<sub>2</sub>, NH<sub>2</sub>, 低级酰基-NH-, C<sub>1-6</sub> 烷基氨基, 二-C<sub>1-6</sub> 烷基氨基, OH, C<sub>1-6</sub> 烷氧基, 卤素, 三卤代甲基, C<sub>1-6</sub> 烷基, 甲酰基, C<sub>1-6</sub> 烷基羰基, 脲基和 C<sub>1-6</sub> 烷基脲基; 或 X 和 X' 或 X'' 和 X''' 可以在环的 C-4 和 C-5 位之间形成亚乙基桥, R 和 R' 为 H, C<sub>1-4</sub> 烷基, 芳基或苄基; A 和 D 相同或不同, 可以是被 C<sub>1-4</sub> 烷基取代基任意取代的 -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-, B 为 -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-, 其中 n 为 3 或 4, 而且其中一个氢原子可以被一个 C<sub>1-4</sub> 烷基取代。

本发明的一类化合物是式 I 的双萘二甲酰亚胺类, 其中 X, X', X'' 和 X''' 中至少一个不是 H, 即其中 X, X', X'' 和 X''' 相同或不同, 选自 NO<sub>2</sub>, NH<sub>2</sub>, 低级酰基-NH-, C<sub>1-6</sub> 烷基氨基, 二-C<sub>1-6</sub> 烷基氨基, OH, C<sub>1-6</sub> 烷氧基, 卤素, 三卤代甲基, C<sub>1-6</sub> 烷基, 甲酰基, C<sub>1-6</sub> 烷基羰基, 脲基, C<sub>1-6</sub> 烷基脲基。目前在这类化合物各实施方案中优选 X, X', X'' 和 X''' 都不是 NO<sub>2</sub>。

上述化合物的小类是式 I 双萘二甲酰亚胺化合物, 其中 X, X', X'' 和 X''' 至少一个为 NH<sub>2</sub>, 低级酰基-NH-, C<sub>1-6</sub> 烷基氨基或二-C<sub>1-6</sub> 烷基氨基。这类化合物包括 X 和 X'' 为 H, X' 和 X''' 为 NHCOCH<sub>3</sub> 的式 I 化合物。

这些化合物的另一类是式 I 双萘二甲酰亚胺化合物, 其中连接两个环的桥部分为 -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NR-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NR-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-, 其中 R 如上定义, X, X', X'' 和 X''' 及 R 均为 H 的化合物是优选的。

本发明的对称化合物可以通过式 II 的萘二甲酸酐与半当量式 III 的多胺, 在有机溶剂如二噁烷, 乙醇, DMF 等存在下, 在 -20 °C 到溶剂沸腾温度下反应来合成 (流程 1)。从反应混合物中滤出固体, 或将反应混合物减压蒸发至干, 并用常规方法如结晶或色谱法纯化剩余物。



### 流程 1

不对称化合物合成如下：将一个末端氨基被常规保护的多胺(III)与等当量酸酐缩合。将所得产物除去氨基保护基后与等当量另一酸酐缩合。

含有支链桥部分的化合物，即其中 A 和/或 B 带有烷基取代基，可以用 Sun 在美国专利 5,206,249 中使用的方法制备，该文献的全部内容在此引作参考。

如此得到的双萘二甲酰亚胺被直接使用或可用适宜的无机酸或有机酸酸化，通过过滤回收，制备药学上可接受的盐，例如，甲磺酸盐或乙酸盐。游离碱的盐也可以通过用适宜的无机酸或有机酸酸化乙醇，二氯甲烷，乙醚等中的游离碱悬浮液，并过滤收集如此形成的固体来制备。其它用于形成盐的酸是现有技术中已知的，参见 Braña 等人的美国专利 4,874,883。

1,8-萘二甲酸酐 II 和相应的多胺 III 都是商品，或可通过文献中已知方法制备。可以用美国专利 5,206,249 (Sun) 中的方法合成支链多胺，并用所需的酸酐部分与其制成本发明双萘二甲酰亚胺类。

本发明进一步包括含有本发明肿瘤抑制化合物以及药学上可接受的载体的药物组合物。本发明还涉及治疗哺乳动物肿瘤的方法，包括给

患有肿瘤的哺乳动物施用抑制肿瘤量的本发明化合物。本发明化合物可以制成药物组合物，并用例如 Braña 等人的美国专利 4,874,883 和 Sun 的美国专利 5,206,249 中所述的常规物质和方法给药予病人。两篇专利文献的内容在此引作参考，特别参见美国专利 5,206,249，第 22 栏第 10 行到第 23 栏末尾。

本发明化合物具有治疗各种癌症的细胞毒素活性。这些化合物可用现有技术通常接受的，如在 Sun 的美国专利 5,206,249（特别参见第 19 栏到第 22 栏第 9 行）中所述的那些体内和体外模型评价相对效力。在这些模型中的效果表明本发明化合物对治疗病人固体肿瘤的实用性，以及对癌，特别是固体恶性肿瘤有明显治疗作用。

#### A. 体外方法

细胞毒性可用细胞酶联标准方法测定，如微生物四唑啉测定（MTT）。该测定详细过程已有发表（Alley, MC et al., Cancer Research 48: 589-601, 1988）。肿瘤细胞如 HT-29 结肠癌或 LX-1 肺肿瘤的指数增长培养在微滴定板上进行。在 96 孔板上每孔种 5000 - 20000 个细胞（150  $\mu$ l 介质），在 37  $^{\circ}$ C 生长过夜。以 10 倍稀释度（ $10^{-4}$ M 至  $10^{-10}$ M）加入试验化合物。然后培养细胞 48 - 72 小时。为测定每孔中存活细胞数，加入 MTT 染色剂（50  $\mu$ l 的 3-(4,5-二甲基噁唑-2-基)-2,5-二苯基溴化四唑啉盐水，3mg/ml 溶液）。将该混合物在 37  $^{\circ}$ C 培养 5 小时，然后每孔加入 25% SDS（PH2）50  $\mu$ l。经一夜培养，用 ELISA 读数器读取每孔在 550nm 处的吸收。用公式 % T/C（% 存活细胞，治疗的/对照）计算一式四份孔数据的 +/- SD 的平均值。

$$\frac{\text{治疗的细胞 OD}}{\text{对照细胞 OD}} \times 100 = \% \text{ T/C}$$

试验化合物能得到 T/C 为 50% 抑制生长的浓度记为 IC50。

## B. 体内方法

本发明化合物可进一步于各种临床前测定中测试体内活性以确定其临床实用性。正如本领域中已知的，这些试验可在裸鼠肿瘤组织，优选人体移植器官（“异种移植”）上进行。对异种移植的小鼠使用试验化合物之后来评价它们的抗肿瘤效果。

更具体地，将已生长在无胸腺裸鼠体内的人体肿瘤切片成约 50mg 大小，移植到新动物体内。移植当天记为 0 天。6-10 天后，小鼠接受试验化合物静脉或腹腔内注射治疗，每种剂量一组，5-10 只。每天一次，共给药 5 天，10 天或 15 天，剂量从 10-100mg/Kg 体重。每周二次测肿瘤直径和体重。用卡尺测径器测直径，用公式计算肿瘤体积：

$$(\text{长} \times \text{宽}^2) / 2 = \text{mm}^3 \text{ (肿瘤体积)}$$

计算每个治疗组肿瘤的平均体积，相对于未治疗对照组肿瘤测定各治疗组 T/C 值。数据可用下列标准评价。T/C 值是 1.0 或大于 1.0，表明化合物对肿瘤生长无影响；值 < 1.0 表明肿瘤大小有所减小；值为 0.15-0.49 表明有中等活性；< 0.01-0.14 表明有高或很高活性；极高活性表现为肿瘤完全消失（治疗后无可见肿瘤）；化合物 T/C 值 > 0.50 认为无活性。

通过以下实施例本发明更易理解。此处的份数及百分率按重量计，除非另有说明。

### 实施例

#### 实施例 1 N,N'-双[2-(1,8-萘二甲酰亚氨基)乙基]-1,3-二氨基丙烷

将 4g (20mmol) 1,8-萘二甲酸酐和 1.6g (10mmol) N,N'-双(2-氨基乙基)-1,3-二氨基丙烷的混合物在二噁烷 (40ml) 中回流加热 5 小时。滤出沉淀的固体，洗涤，干燥并从甲苯中重结晶，得到 3g (58%) N,N'-双[2-(1,8-萘二甲酰亚氨基)乙基]-1,3-二氨基丙烷。M.P. 160 °C (甲

苯)。

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CF}_3\text{COOD}$ )  $\delta$  = 2.54 (m, 2H); 3.58 (t,  $J$  = 7.5, 4H); 3.86 (t,  $J$  = 4.9, 4H); 4.83 (t,  $J$  = 4.8, 4H); 7.93 (t,  $J$  = 7.4, 4H); 8.48 (d,  $J$  = 8.3, 4H); 8.73 (d,  $J$  = 7.4, 4H)。

$\text{C}_{31}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{O}_4$  元素分析

计算值: C 71.50; H 5.42; N 10.76;

实测值: C 71.20; H 5.48; N 10.59。

乙酸盐 M.P. 134 °C; 甲磺酸盐 M.P. 215 °C。

实施例 2  $\text{N, N}'$ -双[2-(4-氯-1, 8-萘二甲酰亚氨基)乙基]-1, 3-二氨基丙烷

将 4g (17mmol) 4-氯-1, 8-萘二甲酸酐和 1.3g (8.5mmol)  $\text{N, N}'$ -双(2-氨基乙基)-1, 3-二氨基丙烷的混合物在二恶烷 (40ml) 中回流加热 5 小时。滤出沉淀的固体, 洗涤, 干燥并从甲苯中重结晶, 得到 2.9g (59%)  $\text{N, N}'$ -双[2-(4-氯-1, 8-萘二甲酰亚氨基)乙基]-1, 3-二氨基丙烷。M.P. 151 °C (甲苯)。

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CF}_3\text{COOD}$ )  $\delta$  = 2.54 (s, 2H); 3.57 (t,  $J$  = 7.4, 4H); 3.86 (s, 4H); 4.81 (s, 4H); 8.00 (d,  $J$  = 7.9, 2H); 8.04 (d,  $J$  = 8.6; 2H); 8.62 (d,  $J$  = 8.0; 2H); 8.78 (d,  $J$  = 7.3 2H); 8.90 (d,  $J$  = 8.2, 2H)。

$\text{C}_{31}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}_4\text{Cl}_2$  元素分析

计算值: C 63.16; H 4.44; N 9.50;

实测值: C 62.89; H 4.49; N 9.20。

实施例 3  $\text{N, N}'$ -双[2-(3-硝基-1, 8-萘二甲酰亚氨基)乙基]-1, 3-二氨基丙烷

如实施例 1。产率 64%。M.P. 215 °C (DMF)。

实施例 4  $\text{N, N}'$ -双[2-(4, 5-二亚甲基-1, 8-萘二甲酰亚氨基)乙

基]-1,3-二氨基丙烷

如实施例 1。产率 51%。M. P. 209 °C (甲苯)。

实施例 5 N, N'-双[2-(2-羟基-1,8-萘二甲酰亚氨基)乙基]-1,3-二氨基丙烷

如实施例 1。产率 29%。M. P. 103 °C (EtOH)。

实施例 6 N, N'-双[2-(3-羟基-1,8-萘二甲酰亚氨基)乙基]-1,3-二氨基丙烷

如实施例 1。产率 75%。M. P. 207 °C (DMF)。

实施例 7 N, N'-双[2-(4-羟基-1,8-萘二甲酰亚氨基)乙基]-1,3-二氨基丙烷

如实施例 1。产率 38%。M. P. 196 °C (EtOH)。

实施例 8 N, N'-双[2-(2-甲基-1,8-萘二甲酰亚氨基)乙基]-1,3-二氨基丙烷

如实施例 1。产率 45%。M. P. 220 °C (EtOH)。

实施例 9 N, N'-双[2-(3-氨基-1,8-萘二甲酰亚氨基)乙基]-1,3-二氨基丙烷

如实施例 1。产率 72%。M. P. 200 °C (DMF-H<sub>2</sub>O)。

实施例 10 N, N'-双[2-(3-乙酰氨基-1,8-萘二甲酰亚氨基)乙基]-1,3-二氨基丙烷

如实施例 1。产率 63%。M. P. 240 °C (DMF-H<sub>2</sub>O)。

实施例 11 N, N'-双[2-(4-硝基-1,8-萘二甲酰亚氨基)乙基]-1,3-二氨基丙烷

如实施例 1。产率 32%。M. P. 162 °C (甲苯)。

实施例 12 N, N'-双[2-(4,5-二甲基-1,8-萘二甲酰亚氨基)乙基]-1,3-二氨基丙烷

如实施例 1。产率 74%。M. P. 205 °C (甲苯)。

实施例 13 N, N'-双[2-(3-溴-1, 8-萘二甲酰亚氨基)乙基]-1, 3-二氨基丙烷

如实施例 1。产率 20%。M. P. 100 °C (甲苯-环己烷)。

实施例 14 N, N'-双[2-(1, 8-萘二甲酰亚氨基)乙基]-N, N'-二甲基-1, 3-二氨基丙烷

将 2g (3.8mmol) N, N'-双[2-(1, 8-萘二甲酰亚氨基)乙基]-1, 3-二氨基丙烷溶解于 10ml 甲酸，并将 4ml 甲醛加到上述溶液中。将反应混合物回流加热 4 小时，真空除去甲酸，得到的剩余物用碳酸氢钠中和。过滤所得固体并从乙醇重结晶，得到 1g (47%) N, N'-双[2(1, 8-萘二甲酰亚氨基)乙基]-N, N'-二甲基-1, 3-二氨基丙烷。M. P. 133 °C (乙醇)。

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CF}_3\text{-COOD}$ )  $\delta$  = 2.70 (m, 2H); 3.32 (s, 6H); 3.63 (m, 2H); 3.89 (m, 6H); 4.85 (m, 4H); 7.90 (m, 4H); 8.43 (d,  $J$  = 8.2 Hz, 2H); 8.47 (d,  $J$  = 8.2 Hz, 2H); 8.71 (t,  $J$  = 8 Hz, 4H)。

$\text{C}_{33}\text{H}_{32}\text{N}_4\text{O}_4$  元素分析

计算值: C 72.24; H 5.87; N 10.21;

实测值: C 72.07; H 5.72; N 10.25。

实施例 15 N, N'-双-[2-(1, 8-萘二甲酰亚氨基)乙基]-N, N'-二乙基-1, 3-二氨基丙烷

将 2g (3.8mmol) N, N'-双[2-(1, 8-萘二甲酰亚氨基)乙基]-1, 3-二氨基丙烷溶解于 50ml 乙酸，慢慢加入 3.6g (96mmol) 硼氢化钠。将该溶液加热至 50-55 °C 10 小时。冷却反应物并用 25ml 水淬灭，用二氯甲烷萃取上述溶液。干燥萃取液，真空除去溶剂。剩余的油状物进行柱色谱分离，得到 1g (45%) N, N'-双-[2-(1, 8-萘二甲酰亚氨基)乙基]-N, N'-二乙基-1, 3-二氨基丙烷。M. P. 106 °C (EtOH)。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CF}_3\text{COOD}$ )

$\delta = 1.54$  (t,  $J = 7.1$  Hz, 6H);  $2.70$  (m, 2H);  $3.75$  (m, 8H);  $3.86$  (m, 4H);  $4.82$  (m, 4H);  $7.86$  (t,  $J = 7.8$  Hz, 8H);  $8.38$  (d,  $J = 2.9$  Hz, 2H);  $8.42$  (d,  $J = 3.0$  Hz, 2H);  $8.66$  (d,  $J = 7.4$  Hz, 4H).

实施例 16  $N, N'$ -双[2-(1,8-萘二甲酰亚氨基)乙基]- $N, N'$ -二丁基-1,3-二氨基丙烷

将 1g (1.9mmol)  $N, N'$ -双-[2-(1,8-萘二甲酰亚氨基)乙基]-1,3-二氨基丙烷, 0.2g (3.8mmol) KOH 和 15mg 四丁基溴化铵在烧瓶中混合, 放入超声波浴 15 分钟。加入 800mg (5.8mmol) 正-丁基溴至混合物中, 加热至  $80^\circ\text{C}$  反应 8 小时。产物用  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  萃取, 浓缩, 进行柱色谱分离, 得到 0.48g (40%)  $N, N'$ -双[2-(1,8-萘二甲酰亚氨基)乙基]- $N, N'$ -二丁基-1,3-二氨基丙烷。M.P.  $245^\circ\text{C}$  (EtOH)。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CF}_3\text{COOD}$ )  $\delta = 1.08$  (t,  $J = 7.0$  Hz, 6H);  $1.57$  (m, 4H);  $1.95$  (m, 4H);  $2.87$  (m, 2H);  $3.60$  (m, 4H);  $3.92$  (m, 8H);  $4.88$  (m, 4H);  $7.90$  (m, 4H);  $8.47$  (t,  $J = 7.4$  Hz, 4H);  $8.74$  (m, 4H)。

实施例 17  $N, N'$ -双[2-(1,8-萘二甲酰亚氨基)乙基]-1,4-二氨基丁烷

用实施例 1 的方法制备标题化合物, 但用  $N, N'$ -双(2-氨基乙基)-1,4-二氨基丁烷代替  $N, N'$ -双(2-氨基乙基)-1,3-二氨基丙烷。

产率 30%。M.P.  $186^\circ\text{C}$  (甲苯-正庚烷)。

实施例 18  $N, N'$ -双[2-(4-溴-1,8-萘二甲酰亚氨基)乙基]-1,3-二氨基丙烷

如实施例 1。产率 58%。M.P.  $182^\circ\text{C}$  (EtOH)。