

抗肿瘤药物 dacomitinib 的合成工艺

程海博, 徐斌, 张惠斌, 周金培*

(中国药科大学新药研究中心, 南京 210009)

摘要 对抗肿瘤药物 dacomitinib 合成工艺进行改进。以 4-氟-2-氨基苯甲酸为原料, 经环合、硝化、卤代、偶联以及还原等反应, 得到 dacomitinib。目标化合物经质谱、核磁共振氢谱确证化学结构。以 11 步反应总收率 36.1%, 单步收率 75%~90% 合成目标化合物, 无需特殊试剂和复杂分离纯化过程, 降低了成本, 优化了反应条件, 操作更加简单实用。

关键词 dacomitinib; 酪氨酸激酶抑制剂; 合成工艺; 抗肿瘤

中图分类号 R914 文献标志码 A 文章编号 1000-5048(2014)02-0165-05

doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20140206

Synthetic process of antitumor drug dacomitinib

CHENG Haibo, XU Bin, ZHANG Huibin, ZHOU Jinpei*

Center for Drug Discovery, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

Abstract This paper describes a practical process for the preparation of antitumor drug dacomitinib. It was synthesized by eleven steps from 2-amino-4-fluorobenzoic acid by cyclization, nitration, halogenation, coupling and reduction reactions with the total yield of 36.1% and one-step yield of 75%~90%. The intermediates and target compound were characterized by NMR and MS. This practical synthetic process of dacomitinib highlights comparable yield, low-cost, optimized condition and easier purification.

Key words dacomitinib; tyrosine kinase inhibitor; synthetic process; antitumor

肿瘤是一种严重威胁人类健康的恶性疾病, 开发高效、低毒、高选择性的药物, 针对特定靶点的小分子药物已成为当今抗肿瘤药物研发的主要方向。已上市的酪氨酸激酶抑制剂(如吉非替尼、厄洛替尼), 在非小细胞肺癌的治疗中显示了良好的效果。但是在进行临床治疗时, 肿瘤细胞逐渐表现出对其的耐药性, 使得这些药物疗效短暂。研究表明其中一个突变涉及激酶门控处的苏氨酸 T790 突变为甲硫氨酸, 从而阻止了药物与靶点的结合。发现近年研究揭示, 使用不可逆的激酶抑制剂, 对突变株依然有很强的活性, 为肿瘤耐药治疗提供了新的思路。

Dacomitinib (PF-00299804), 化学名 (2E)-N-[4-[(3-氯-4-氟苯基)氨基]-7-甲氧基-6-喹唑啉基]-4-(1-哌啶基)-2-丁烯酰胺, 是辉瑞公司研发的第 2 代不可逆酪氨酸激酶抑制剂, 目前正进行Ⅲ期

临床研究。是一种可口服、高选择性且靶向 HER1、2、3 的喹唑啉类多激酶抑制剂。其特殊的丁烯酰胺结构, 令其能够不受 T790 突变影响, 作为迈克尔受体 (Michael reaction acceptors) 与 HER 受体中催化域的半胱氨酸残基不可逆结合, 发挥抑制作用。在延长晚期非小细胞肺癌无进展生存期上疗效超过厄洛替尼。不仅适用于初始治疗, 更可用于第 1 代酪氨酸激酶抑制剂治疗失败的患者^[1-10]。因此, 本课题组对其的制备方法进行了探索, 设计了一条经济高效的合成路线, 结果令人满意。

1 路线设计与讨论

该化合物的合成主要分为两个部分: 喹唑啉酮母核的合成以及丁烯酰胺侧链的合成。Minisci 等^[11]用喹唑啉直接一步氧化得到喹唑啉酮, 此方

法操作简单,但收率不高,且用到的过氧三氟乙酸不稳定,实用价值不高。文献[12]在三氯化铟作用下,邻硝基苯甲酸酯与甲酰胺环合。该方法选择性强收率高,但三氯化铟较贵,且易潮解并有一定毒性,不适宜工业化生产。林国跃等^[13]以4-甲氧基-2-硝基苯甲酸为原料,经铁粉还原、硝化、甲酰胺环合,再铁粉还原得到母核(图1)。所用原料试剂成本低廉,但后处理操作繁琐,总收率不高。Fakhoury等^[14]以乙酸甲脒成环,乙二醇单甲醚为溶剂,经硝化、氯代等步骤得到目标产物(图2)。其缺点为成本较高并且操作复杂,需两次用到柱色谱分离,产率较低。文献[15]先偶联侧链得到(2E)-N-(7-氯-4-氧代-3,4-二氢喹唑啉-6-基)-4-(哌啶-1-基)-2-丁烯酰胺,再甲氧基取代、氯代,最后和3-氯-4-氟苯胺反应得到目标物(图3)。该路线需要大量二恶烷和浓盐酸,对环境不友好,而后甲氧基的引入具有选择性,需隔绝空气,且后续氯

代反应不可避免造成产率损失。

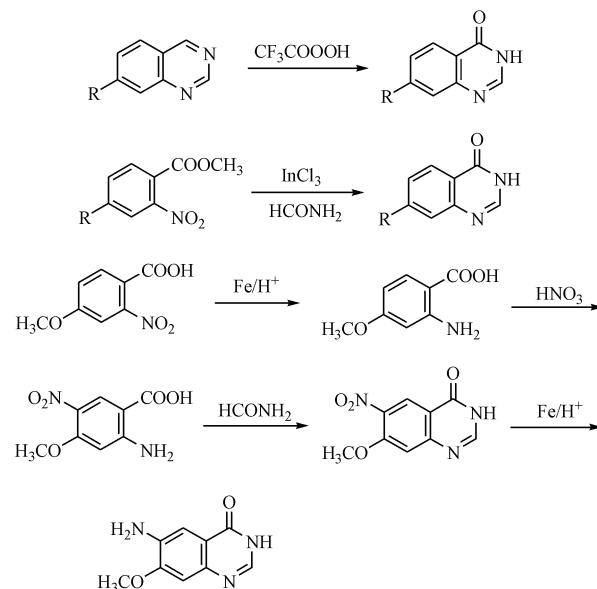


Figure 1 Synthesis of quinazolinone

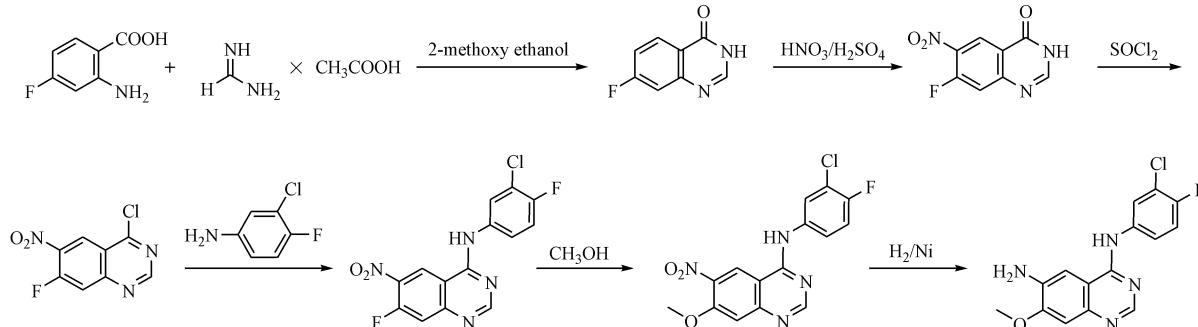


Figure 2 Synthesis of quinazoline

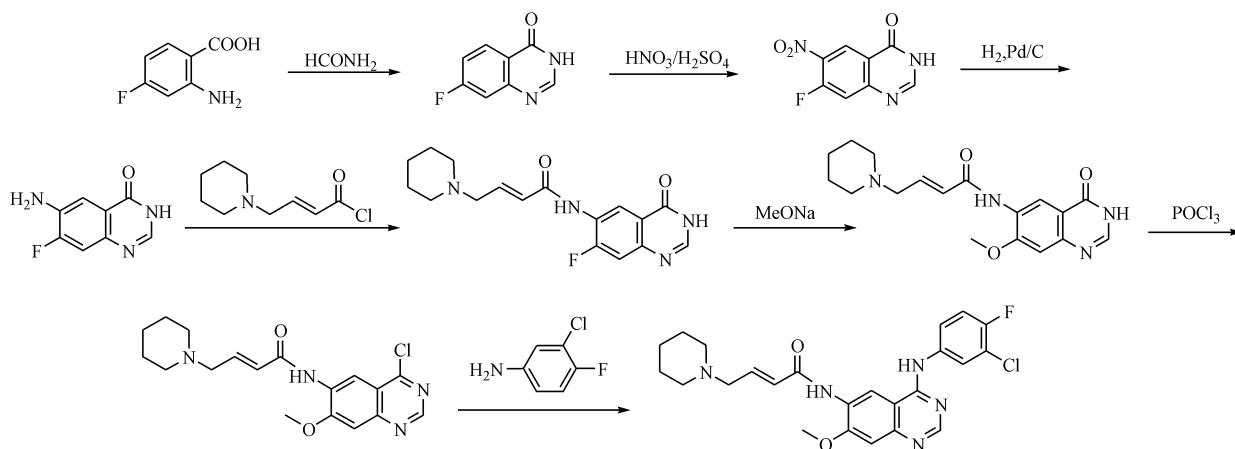


Figure 3 Synthesis of dacomitinib

而侧链4-哌啶-2-丁烯酸的合成大多是由4-溴-2-丁烯酸甲酯与哌啶反应后水解酯基而来。

Roth等^[16]以高收率得到了4-溴-2-丁烯酸甲酯,此方法巧妙,选择性好,然而条件苛刻,试剂昂贵,不

适合放大生产。Pospíšil 等^[17]以 4-羟基-2-丁烯酸甲酯为原料,经过两步制得产物,条件温和收率高,然而过程中消耗多种试剂,成本较高。Khazaei

等^[18]用巴豆酸甲酯为原料,NBS 溴代(图 4),反应性好,也有较高的收率,不足之处就是溶剂四氯化碳有剧毒。

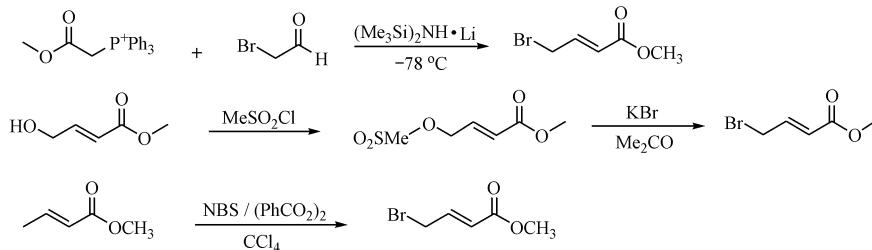
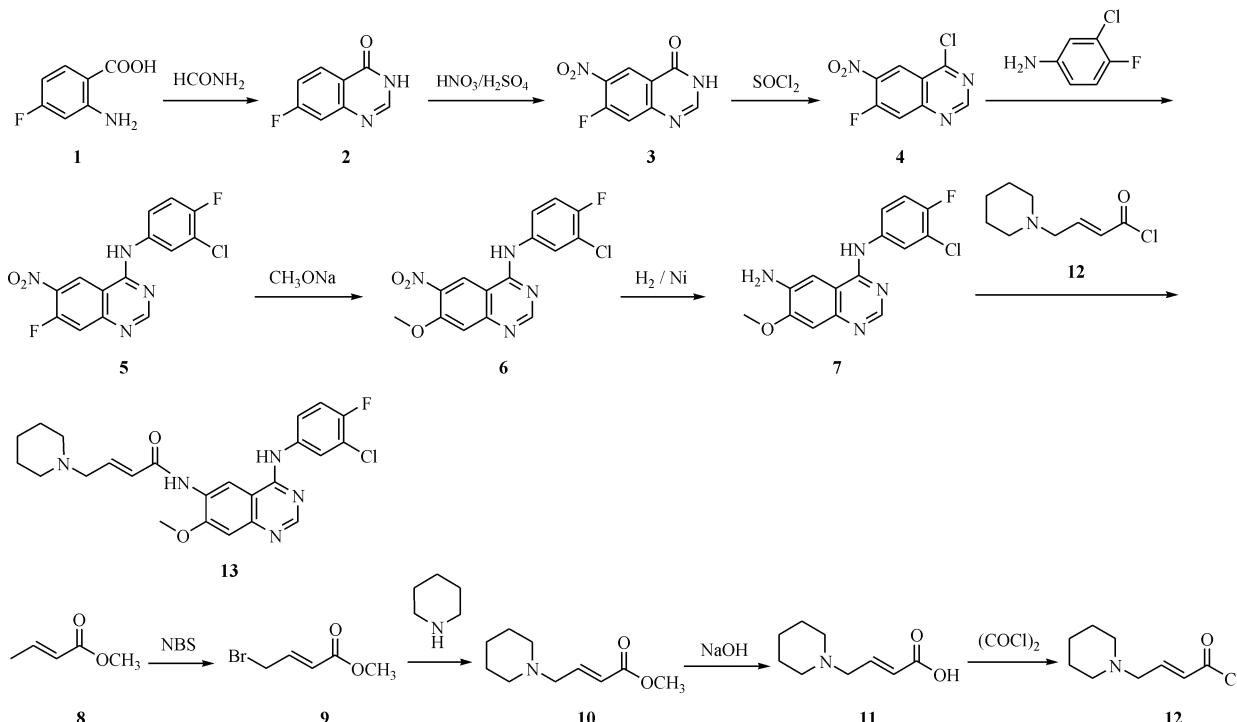


Figure 4 Synthesis of methyl 4-bromobut-2-enoate

通过对以上合成方法进行分析,对路线进行优化,同时结合工业化的生产设备及条件,得到了路线 1 中所示的合成路线,以价廉的 4-氟-2-氨基苯甲酸为原料,甲酰胺作用下成环,合成 7-氟-3,4-二氢喹唑啉-4-酮(2),无需另加溶剂乙二醇单甲醚,且避免了使用较贵的乙酸甲脒。本步收率为 95%,相比文献中的 3 组分反应收率 77% 有了很大提高。在 4-氯-7-氟-6-硝基喹唑啉(4)的合成中,使用氯化亚砜为卤化剂,直接结晶析出产物,操作简便,环境污染小。对化合物 6 的还原采用热乙醇溶解,氢气气下反应 6 h,替代了有刺激性的四氢呋喃作溶剂,并缩短了反应时间。化合物 9 的合成

文献使用了剧毒的四氯化碳进行卤代反应,本课题组经过条件改进,采用了环己烷为溶剂,分批加料的方式,制得了目标产物。4-哌啶-2-丁烯酸甲酯(10)的水解在碱催化下进行,反应完全后酸化,重结晶得到固体,减少试剂溶剂消耗,降低成本。最后一步偶联反应中,本研究考察了缚酸剂的使用,按文献方法使用三乙胺时,副反应较多,本研究中尝试了改变溶剂(二氯甲烷、四氢呋喃、DMF)、温度(0~60 °C)、添加不同缚酸剂(三乙胺、碳酸钾、N,N-二异丙基乙胺)等不同反应条件,选择了 N,N-二异丙基乙胺,以二氯甲烷为溶剂,室温条件进行反应,副产物少,收率高(75%,文献收率 40%)。



Scheme 1 Synthetic route of dacomitinib (13)

2 材 料

薄層色譜(TLC)板採用硅膠HSGF254(烟台江友硅膠開發有限公司),于紫外燈下(波長254 nm)顯色。柱色譜採用200~300目硅膠(青島海洋化工廠生產),濕法裝柱。旋轉蒸發儀及真空干燥箱。¹H NMR用D20MA-300Bruker型核磁共振儀測定。質譜用Waters-TQD液質聯用儀測定。試劑均为市售分析純產品,除特別說明外,不經處理直接使用。

3 化學合成

7-氟-3,4-二氫喹唑啉-4-酮(2) 在250 mL三頸瓶中,將4-氟-2-氨基苯甲酸15 g(0.98 mol)溶于甲酰胺100 mL(2.48 mol),氮氣保護下,160 ℃加熱攪拌3 h,冷卻至室溫,抽濾,固体以甲醇40 mL洗,干燥得到淡黃色晶體**2**(14.7 g,91.2%);mp:221~223 ℃(文獻值:221~222 ℃)。¹H NMR(DMSO-*d*₆,300 MHz)δ:12.39(s,1H,NH),8.17(m,1H,Ar-H),8.13(s,1H,Ar-H),7.34~7.46(m,2H,Ar-H)。ESI-MS:(*m/z*):165.1[M+H]⁺。

7-氟-6-硝基-3,4-二氫喹唑啉-4-酮(3) 冰浴下,在三頸瓶中加入98%濃硫酸20 mL(0.37 mol),攪拌,緩慢加入65%硝酸20 mL(0.31 mol),再將化合物**2**(10 g,0.06 mol)分批投入,反應1 h後,加熱至110 ℃,反應2 h,冷卻至室溫,把混合液倒入冰水100 mL中,有大量固体析出,抽濾,得到黃色固体**3**(11.2 g,88%)。¹H NMR(DMSO-*d*₆,300 MHz)δ:12.80(s,1H,NH),8.73(d,*J*=8.1 Hz,1H,Ar-H),8.31(s,1H,Ar-H),7.79(d,*J*=12.6 Hz,1H,Ar-H)。

4-氯-7-氟-6-硝基喹唑啉(4) 在三頸瓶中加入化合物**3**(10 g,0.048 mol),氯化亞砜(120 mL,1.23 mol),加熱至80 ℃,反應4 h,冷卻至0 ℃,析出固体,抽濾,得到黃色晶體**4**(8.7 g,95%)。¹H NMR(DMSO-*d*₆,300 MHz)δ:8.72(d,*J*=8.1 Hz,1H,Ar-H),8.36(s,1H,Ar-H),7.79(d,*J*=12.3 Hz,1H,Ar-H)。

7-氟-6-硝基-4-(3-氯-4-氟苯胺基)喹唑啉(5) 在茄型瓶中,加入化合物**4**(8 g,0.035 mol),異丙醇(60 mL),緩慢滴加3-氯-4-氟苯胺(5 g,0.035 mol)的異丙醇(30 mL)溶液,攪拌3 h,抽濾,濾餅以異丙醇(20 mL)洗,干燥,得黃色粉末(11.5 g,98%)。¹H NMR(DMSO-*d*₆,300 MHz)δ:9.87(d,*J*=7.8 Hz,1H,Ar-H),8.92(s,1H,Ar-H),8.09(dd,*J*=2.4 Hz,2.4 Hz,1H,Ar-H),7.98(d,*J*=11.7 Hz,1H,Ar-H),7.78(m,1H,Ar-H),7.56(m,1H,Ar-H)。

7-甲氧基-6-硝基-4-(3-氯-4-氟苯胺基)喹唑啉(6) 向三頸瓶中加入四氫呋喃(70 mL),甲醇鈉(0.25 g,0.045 mol),攪拌均勻後,分批加入化合物**5**(11 g,0.032 mol),反應

1 h,加熱至50 ℃繼續攪拌2 h,停止反應,冷卻至室溫,加入水(30 mL)。有固体析出,抽濾,干燥,得黃色固体(11 g,88%)。¹H NMR(DMSO-*d*₆,300 MHz)δ:9.38(d,*J*=8.1 Hz,1H,Ar-H),8.36(s,1H,Ar-H),8.19(s,1H,Ar-H),7.80(d,*J*=4.8 Hz,1H,Ar-H),7.38(m,1H,Ar-H),7.09(m,1H,Ar-H),4.05(s,3H,CH₃O)。

7-甲氧基-6-氨基-4-(3-氯-4-氟苯胺基)喹唑啉(7) 在茄型瓶中,將化合物**6**(7 g,0.02 mol)溶于乙醇(100 mL),加入雷尼鎳(0.05 g),通入氫氣,室溫攪拌6 h,抽濾除去不溶物,溶液減壓濃縮,得到灰白色固体(6.37 g,99%)。¹H NMR(DMSO-*d*₆,300 MHz)δ:9.59(s,1H,Ar-H),8.61(s,1H,Ar-H),8.15(d,*J*=2.1 Hz,1H,Ar-H),7.87(d,*J*=5.1 Hz,1H,Ar-H),7.42(s,1H,Ar-H),7.19(s,1H,Ar-H),5.35(s,2H,NH₂),3.95(s,3H,CH₃O)。

4-溴-2-丁烯酸甲酯(9) 在三頸瓶中,加入2-丁烯酸甲酯(10 g,0.10 mol),環己烷(110 mL),分批加入NBS(16 g,0.091 mol),AIBN(0.1 g),加熱回流8 h,抽濾除去固体,液体減壓濃縮,加入二氯甲烷80 mL,以水(80 mL×3)洗,飽和NaCl溶液(80 mL×3)洗,無水Na₂SO₄干燥,減壓濃縮,得淺黃色液體(15.4 g,86%)。¹H NMR(DMSO-*d*₆,300 MHz)δ:7.17(m,1H,CH),6.12(m,1H,CH),3.97(d,*J*=6.5 Hz,2H,CH₂Br),3.78(s,3H,CH₃O)。

4-哌啶-2-丁烯酸甲酯(10) 向茄型瓶中加入哌啶(7.9 mL,0.08 mol),三乙胺(11.2 mL,0.08 mol),乙酸乙酯(100 mL)冰浴下加入化合物**9**(12 g,0.067 mol),室溫攪拌2 h,抽濾除去固体,液体以水(60 mL×3)洗,飽和NaCl溶液(60 mL×3)洗,無水Na₂SO₄干燥,濃縮得到黃色液體(11.6 g,96%)。¹H NMR(DMSO-*d*₆,300 MHz)δ:6.98(m,1H,CH),5.96(m,1H,CH),3.71(d,*J*=6.3 Hz,2H,CH₂),3.01(s,3H,CH₃O),2.39(t,*J*=4.8 Hz,4H,CH₂),1.58(m,4H,CH₂),1.43(t,*J*=6.0 Hz,2H,CH₂)。

4-哌啶-2-丁烯酸(11) 在三頸瓶中,化合物**10**(6 g,0.033 mol)溶于NaOH的乙醇水混合溶液,室溫攪拌8 h,以HCl溶液(6 mol/L)調pH至4,減壓濃縮,剩餘物以二氯甲烷重結晶,得到白色晶體(5.33 g,85%)。¹H NMR(DMSO-*d*₆,300 MHz)δ:13.1(s,1H,OH),7.17(m,1H,CH),6.12(m,1H,CH),3.97(d,*J*=6.6 Hz,2H,CH₂),3.78(s,3H,CH₃O),2.44(t,*J*=5.8 Hz,4H,CH₂),1.54(m,4H,CH₂),1.48(t,*J*=6.8 Hz,2H,CH₂)。

4-哌啶-2-丁烯酰氯(12) 在茄型瓶中,加入草酰氯(2.0 mL,0.023 mol)及DMF(70 mL),冰浴下加入化合物**11**(3.08 g,0.015 mol),室溫攪拌2 h,減壓濃縮,剩餘固体溶于二氯甲烷,直接用于下一步反應。

Dacomitinib(13) 在茄型瓶中,化合物**7**(1.51 g,0.005 mol)與*N,N*-二異丙基乙胺(0.92 g,0.006 mol)溶于二氯甲烷(90 mL),滴加化合物**12**的四氫呋喃溶液,攪拌

1 h, 抽滤除去固体, 剩余溶液减压浓缩, 再以二氯甲烷溶解, 水洗(50 mL×3), 饱和NaCl溶液洗(50 mL×3), 无水Na₂SO₄干燥, 柱色谱分离(二氯甲烷-甲醇, 40:1), 得到白色固体(1.69 g, 75%)。¹H NMR(DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ : 13.1(s, 1H, OH), 9.19(s, 1H, Ar-H), 8.71(d, *J*=3.9 Hz, 1H, Ar-H), 8.31(s, 1H, Ar-H), 7.77(d, *J*=2.1 Hz, 1H, Ar-H), 7.75(s, 1H, Ar-H), 7.74(s, 1H, Ar-H), 7.17(m, 1H, CH), 6.12(m, 1H, CH), 3.97(s, 2H, CH₂), 3.81(s, 3H, CH₃O), 2.52(t, *J*=7.1 Hz, 4H, CH₂), 1.57(m, 4H, CH₂), 1.48(t, *J*=7.5 Hz, 2H, CH₂)。ESI-MS(*m/z*): 470.1 [M+H]⁺。

4 结 论

该工艺以4-氟-2-氨基苯甲酸为原料, 以普通商业化试剂, 经11步反应合成 dacomitinib, 总收率36.1% (以4-氟-2-氨基苯甲酸计), 产率较文献报道的27%有所提高, 并且原料成本降低。该工艺具有反应条件温和、原料易得、环境友好、节能高效等优点, 具备一定的工业化生产潜力。

参 考 文 献

- [1] Fry DW, Kraker AJ, McMichael A, et al. A specific inhibitor of the epidermal growth factor receptor tyrosine kinase[J]. *Science*, 1994, **265**(5 175): 1 093–1 095.
- [2] Engelman JA, Zejnnullahu K, Gale CM, et al. PF00299804, an irreversible pan-ERBB inhibitor, is effective in lung cancer models with EGFR and ERBB2 mutations that are resistant to gefitinib[J]. *Cancer Res*, 2007, **67**(24): 11 924–11 932.
- [3] Ercan D, Zejnnullahu K, Yonesaka K, et al. Amplification of EGFR T790M causes resistance to an irreversible EGFR inhibitor[J]. *Oncogene*, 2010, **29**(16): 2 346–2 356.
- [4] Rewcastle GW, Denny W A, Bridges AJ, et al. Tyrosine kinase inhibitors. 5. Synthesis and structure-activity relationships for 4-[(phenylmethyl) amino]-and 4-(phenylamino) quinazolines as potent adenosine 5'-triphosphate binding site inhibitors of the tyrosine kinase domain of the epidermal growth factor receptor [J]. *J Med Chem*, 1995, **38**(18): 3 482–3 487.
- [5] Kalous O, Conklin D, Desai AJ, et al. Dacomitinib (PF-00299804), an irreversible Pan-HER inhibitor, inhibits proliferation of HER2-amplified breast cancer cell lines resistant to trastuzumab and lapatinib[J]. *Mol Cancer Ther*, 2012, **11**(9): 1 978–1 987.
- [6] Wu J, Chen W, Xia G, et al. Design, Synthesis, and biological evaluation of novel conformationally constrained inhibitors targeting EGFR[J]. *ACS Med Chem Lett*, 2013, **4**(10): 974–978.
- [7] Heuckmann, Johannes M, Rauh D, et al. Epidermal growth factor receptor (EGFR) signaling and covalent EGFR inhibition in lung cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2012, **30**(27): 3 417–3 420.
- [8] Brugger, Wolfram, Michael T. EGFR-TKI resistant non-small cell lung cancer (NSCLC): new developments and implications for future treatment[J]. *Lung Cancer*, 2012, **77**(1): 2–8.
- [9] Barf, Tjeerd, Kaptein A. Irreversible protein kinase inhibitors: balancing the benefits and risks [J]. *J Med Chem*, 2012, **55**(14): 6 243–6 262.
- [10] Bain J, Plater L, Elliott M, et al. The selectivity of protein kinase inhibitors: a further update [J]. *Biochem J*, 2007, **408**: 297–315.
- [11] Minisci F, Recupero F, Cecchetto A, et al. Polar effects in free-radical reactions. A novel homolytic acylation of heteroaromatic bases by aerobic oxidation of aldehydes, catalysed by *N*-hydroxypythalimide and Co salts[J]. *J Heterocyclic Chem*, 2003, **40**(2): 325–328.
- [12] Kundu SK, Mahindaratne MPD, Quintero MV, et al. One-pot reductive cyclization to antitumor quinazoline precursors [J]. *Arkivoc*, 2008, **2**: 33–42.
- [13] Lin GY, Yan WW, Chen XM, et al. Synthesis of (3-chloro-4-fluoro-phenyl)-[7-methoxy-6-(3-morpholin-4-yl-propoxy)-quinazolin-4-yl]-amine: CN, 200910103605. 2 [P]. 2011-01-05 [2013-12-24].
- [14] Fakhoury, Lee, Reed, et al. 4-phenylamino-quinazolin-6-yl-amides: US, 7772243 B2 [P]. 2010-08-10.
- [15] Lin KC, Mo GN. Synthesis of EGFR inhibitor dacomitinib: CN, 201310245229.7 [P]. 2013-09-18 [2013-12-24].
- [16] Roth HF, Li M, Jiang J, et al. Heck reaction and Stille coupling as the key steps in the synthesis of carbon-14-labeled gsk-3 inhibitor alsterpaullone[J]. *J Labelled Comp Radiopharm*, 2011, **54**(5): 272–277.
- [17] Pospíšil J, Potáček M. Microwave-assisted solvent-free intramolecular 1, 3-dipolar cycloaddition reactions leading to hexahydro-chromenopyrroles: scope and limitations [J]. *Tetrahedron*, 2007, **63**(2): 337–346.
- [18] Khazaei A, Vaghei RG, Karkhanei E. Bromination of organic allylic compounds by using *N,N'*-dibromo-*N,N*-1,2-ethane diyl bis(2,5-dimethyl benzene sulphonyl) amine [J]. *Synthetic Commun*, 2002, **32**(14): 2 107–2 113.