

## 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(2*E*)-*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<sup>[1-10]</sup>。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<sup>[11]</sup>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<sup>[13]</sup>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<sup>[14]</sup>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(2*E*)-*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。

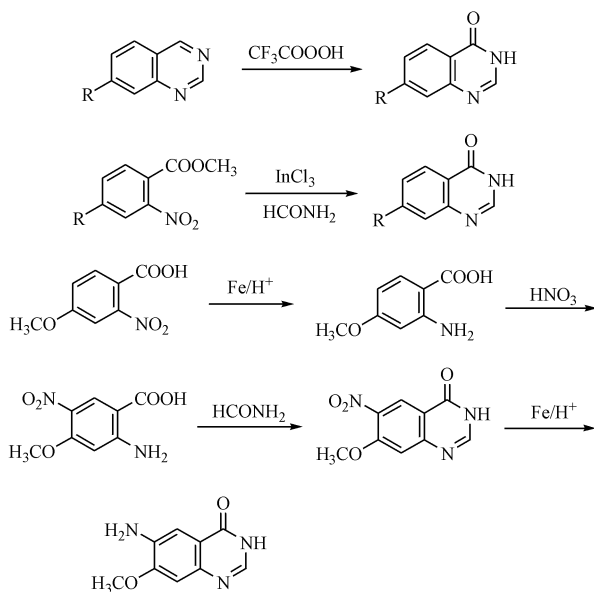


Figure 1 Synthesis of quinazolinone

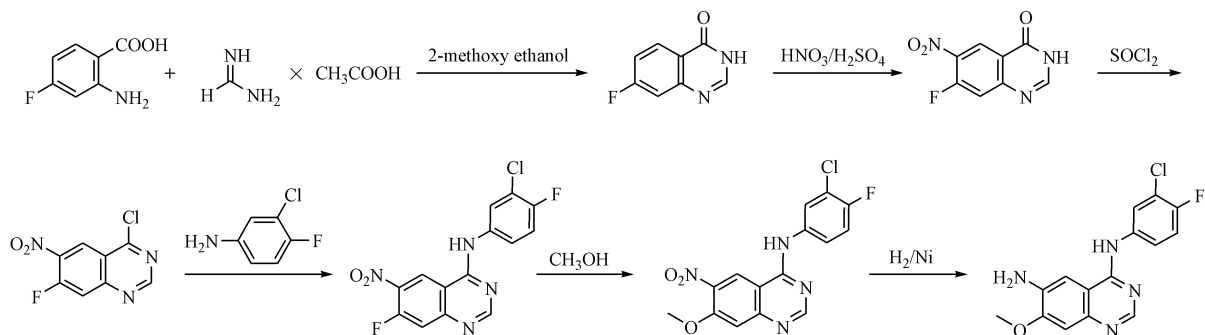


Figure 2 Synthesis of quinazoline

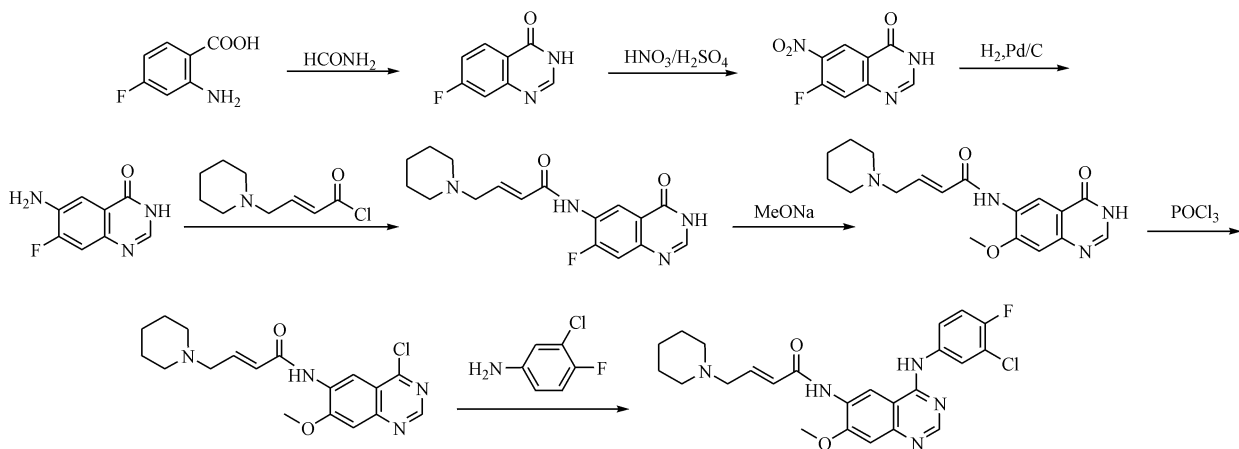


Figure 3 Synthesis of dacomitinib

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<sup>[16]</sup>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<sup>[17]</sup>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<sup>[18]</sup>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。

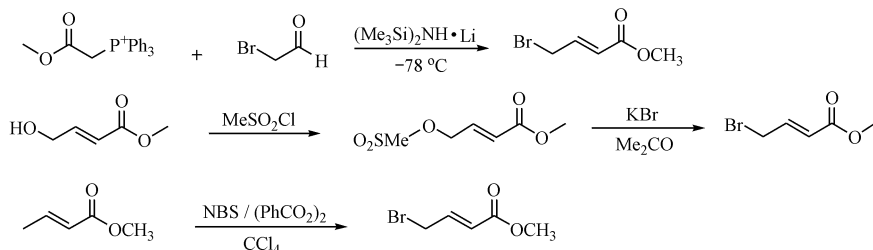
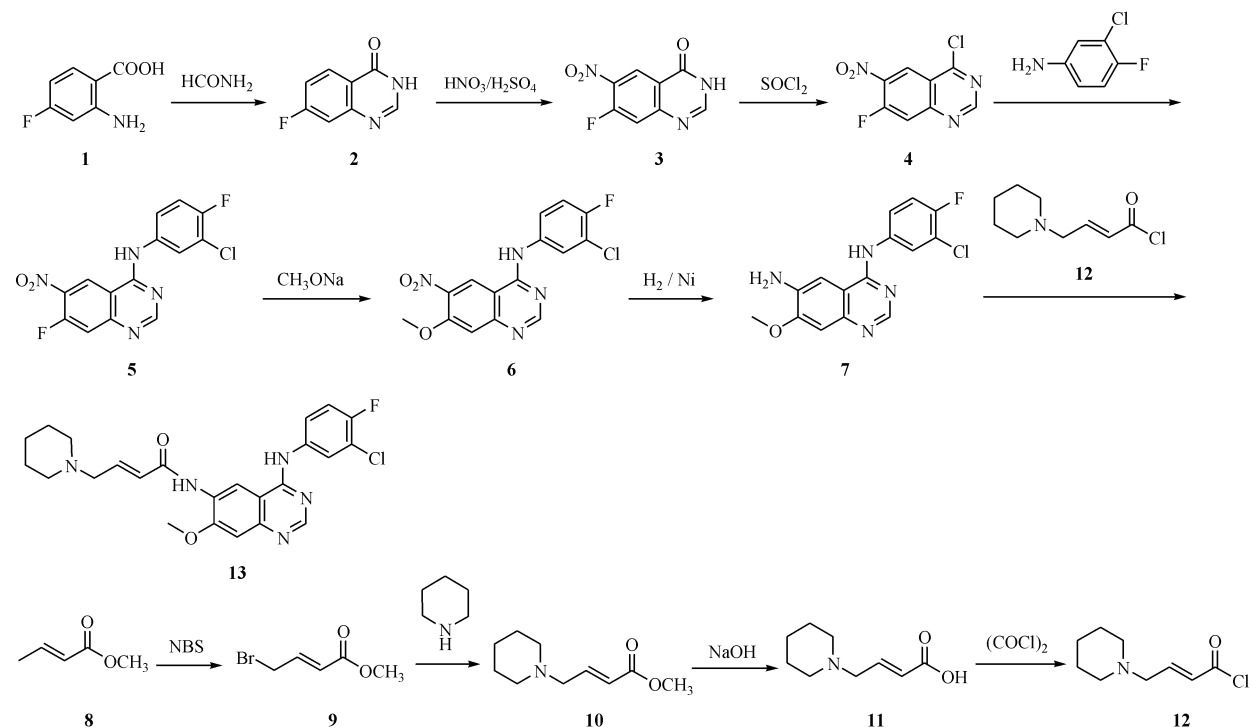


Figure 4 Synthesis of methyl 4-bromobut-2-enoate

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,使用氯化亚砷为卤化剂,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,氢气氛下反应 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

薄层色谱(TLC)板采用硅胶 HSGF254(烟台江友硅胶开发有限公司),于紫外灯下(波长 254 nm)显色。柱色谱采用 200~300 目硅胶(青岛海洋化工厂生产),湿法装柱。旋转蒸发仪及真空干燥箱。<sup>1</sup>H NMR 用 D20MA-300 Bruker 型核磁共振仪测定。质谱用 Waters-TQD 液质联用仪测定。试剂均为市售分析纯产品,除特别说明外,不经处理直接使用。

## 3 化学合成

7-氟-3,4-二氢喹唑啉-4-酮(**2**) 在 250 mL 三颈瓶中,将 4-氟-2-氨基苯甲酸 15 g(0.098 mol)溶于甲酰胺 100 mL(2.48 mol),氮气保护下,160 °C 加热搅拌 3 h,冷却至室温,抽滤,固体以甲醇 40 mL 洗,干燥得到淡黄色晶体 **2**(14.7 g, 91.2%);mp:221~223 °C(文献值:221~222 °C)。<sup>1</sup>H NMR(DMSO-*d*<sub>6</sub>, 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]<sup>+</sup>。

7-氟-6-硝基-3,4-二氢喹唑啉-4-酮(**3**) 冰浴下,在三颈瓶中加入 98% 浓硫酸 20 mL(0.37 mol),搅拌,缓慢加入 65% 硝酸 20 mL(0.31 mol),再将化合物 **2**(10 g, 0.06 mol)分批投入,反应 1 h 后,加热至 110 °C,反应 2 h,冷却至室温,把混合液倒入冰水 100 mL 中,有大量固体析出,抽滤,得到黄色固体 **3**(11.2 g, 88%)。<sup>1</sup>H NMR(DMSO-*d*<sub>6</sub>, 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-氟-7-氟-6-硝基喹唑啉(**4**) 在三颈瓶中加入化合物 **3**(10 g, 0.048 mol),氯化亚砷(120 mL, 1.23 mol),加热至 80 °C,反应 4 h,冷却至 0 °C,析出固体,抽滤,得到黄色晶体 **4**(8.7 g, 95%)。<sup>1</sup>H NMR(DMSO-*d*<sub>6</sub>, 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),异丙醇(60 mL),缓慢滴加 3-氯-4-氟苯胺(5 g, 0.035 mol)的异丙醇(30 mL)溶液,搅拌 3 h,抽滤,滤饼以异丙醇(20 mL)洗,干燥,得黄色粉末(11.5 g, 98%)。<sup>1</sup>H NMR(DMSO-*d*<sub>6</sub>, 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**) 向三颈瓶中加入四氢呋喃(70 mL),甲醇钠(0.25 g, 0.045 mol),搅拌均匀后,分批加入化合物 **5**(11 g, 0.032 mol),反应

1 h,加热至 50 °C 继续搅拌 2 h,停止反应,冷却至室温,加入水(30 mL)。有固体析出,抽滤,干燥,得黄色固体(11 g, 88%)。<sup>1</sup>H NMR(DMSO-*d*<sub>6</sub>, 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, CH<sub>3</sub>O)。

7-甲氧基-6-氨基-4-(3-氯-4-氟苯胺基)喹唑啉(**7**) 在茄型瓶中,将化合物 **6**(7 g, 0.02 mol)溶于乙醇(100 mL),加入雷尼镍(0.05 g),通入氢气,室温搅拌 6 h,抽滤除去不溶物,溶液减压浓缩,得到灰白色固体(6.37 g, 99%)。<sup>1</sup>H NMR(DMSO-*d*<sub>6</sub>, 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, NH<sub>2</sub>), 3.95(s, 3H, CH<sub>3</sub>O)。

4-溴-2-丁烯酸甲酯(**9**) 在三颈瓶中,加入 2-丁烯酸甲酯(10 g, 0.10 mol),环己烷(110 mL),分批加入 NBS(16 g, 0.091 mol),AIBN(0.1 g),加热回流 8 h,抽滤除去固体,液体减压浓缩,加入二氯甲烷 80 mL,以水(80 mL×3)洗,饱和 NaCl 溶液(80 mL×3)洗,无水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥,减压浓缩,得浅黄色液体(15.4 g, 86%)。<sup>1</sup>H NMR(DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300 MHz)δ:7.17(m, 1H, CH), 6.12(m, 1H, CH), 3.97(d, *J*=6.5 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>Br), 3.78(s, 3H, CH<sub>3</sub>O)。

4-吡啶-2-丁烯酸甲酯(**10**) 向茄型瓶中加入吡啶(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),室温搅拌 2 h,抽滤除去固体,液体以水(60 mL×3)洗,饱和 NaCl 溶液(60 mL×3)洗,无水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥,浓缩得到黄色液体(11.6 g, 96%)。<sup>1</sup>H NMR(DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300 MHz)δ:6.98(m, 1H, CH), 5.96(m, 1H, CH), 3.71(d, *J*=6.3 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.01(s, 3H, CH<sub>3</sub>O), 2.39(t, *J*=4.8 Hz, 4H, CH<sub>2</sub>), 1.58(m, 4H, CH<sub>2</sub>), 1.43(t, *J*=6.0 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>)。

4-吡啶-2-丁烯酸(**11**) 在三颈瓶中,化合物 **10**(6 g, 0.033 mol)溶于 NaOH 的乙醇水混合溶液,室温搅拌 8 h,以 HCl 溶液(6 mol/L)调 pH 至 4,减压浓缩,剩余物以二氯甲烷重结晶,得到白色晶体(5.33 g, 85%)。<sup>1</sup>H NMR(DMSO-*d*<sub>6</sub>, 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, CH<sub>2</sub>), 3.78(s, 3H, CH<sub>3</sub>O), 2.44(t, *J*=5.8 Hz, 4H, CH<sub>2</sub>), 1.54(m, 4H, CH<sub>2</sub>), 1.48(t, *J*=6.8 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>)。

4-吡啶-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),室温搅拌 2 h,减压浓缩,剩余固体溶于二氯甲烷,直接用于下一步反应。

Dacomitinib(**13**) 在茄型瓶中,化合物 **7**(1.51 g, 0.005 mol)与 *N,N*-二异丙基乙胺(0.92 g, 0.006 mol)溶于二氯甲烷(90 mL),滴加化合物 **12** 的四氢呋喃溶液,搅拌

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 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 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%)。<sup>1</sup>H NMR(DMSO-*d*<sub>6</sub>,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,CH<sub>2</sub>),3.81(s,3H,CH<sub>3</sub>O),2.52(t,*J*=7.1 Hz,4H,CH<sub>2</sub>),1.57(m,4H,CH<sub>2</sub>),1.48(t,*J*=7.5 Hz,2H,CH<sub>2</sub>)。ESI-MS(*m/z*):470.1[M+H]<sup>+</sup>。

## 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, Zejnullahu 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, Zejnullahu 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*-hydroxyphthalimide 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 hexahydrochromenopyrroles: scope and limitations[J]. *Tetrahedron*, 2007, **63**(2):337–346.
- [18] Khazaei A, Vaghei RG, Karkhane 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.