



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102190616 B

(45) 授权公告日 2015. 07. 29

(21) 申请号 201010127706. 6

(22) 申请日 2010. 03. 18

(73) 专利权人 苏州泽璟生物制药有限公司  
地址 215300 江苏省昆山市晨丰路 209 号

(72) 发明人 邢立东

(74) 专利代理机构 上海一平知识产权代理有限公司 31266

代理人 祝莲君

(51) Int. Cl.

C07D 213/81(2006. 01)

(56) 对比文件

US 2009069388 A1, 2009. 03. 12, 说明书第  
[0057] 段.

审查员 严华

权利要求书1页 说明书21页 附图2页

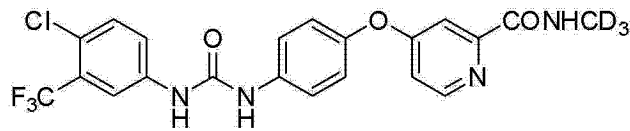
(54) 发明名称

一种氘代的  $\omega$ -二苯基脲的合成及生产的方法和工艺

(57) 摘要

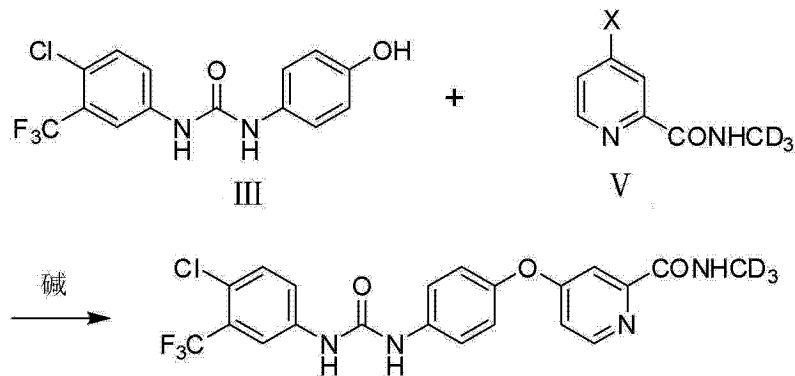
本发明涉及一种氘代的  $\omega$ -二苯基脲的合成及生产的方法和工艺。具体地,本发明提供了一类可有效抑制磷酸激酶的氘代的  $\omega$ -二苯基脲,本发明还提供了相应的制备化合物N-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-N'-(4-(2-(N-1',1',1'-三氟甲基氨基甲酰基)-4-吡啶基氧)苯基)脲的方法。本发明方法制备的氘代二苯基脲可用于治疗和预防癌症以及相关的疾病。

1. 一种制备化合物 N-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-N'-(4-(2-(N-1',1',1'-三氟甲基氨基甲酰基)-4-吡啶基氧)苯基)脲的方法,



其特征在于,所述方法包括:

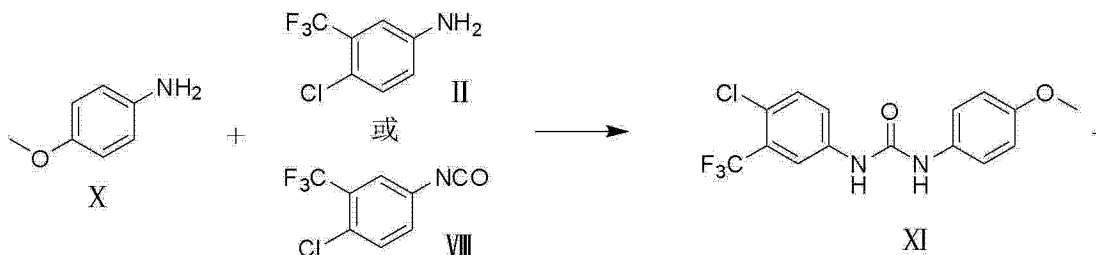
(a) 在惰性溶剂中以及碱存在下,式 III 化合物与式 V 化合物反应,形成所述化合物;



式中, X 为 Cl、Br、或 I;

并且所述的式 III 化合物是通过以下该方法制备:

(ii) 对甲氧基苯胺 (X) 和 4-氯-3-三氟甲基苯胺 (II) 或 4-氯-3-三氟甲基苯异氰酸酯 (VIII) 反应生成 XI 化合物:



然后, XI 化合物在酸或碱条件下,脱甲基得到 III 化合物。

2. 如权利要求 1 所述的方法,其特征在于,所述的碱选自叔丁醇钾、氯化钠、氯化钾,碳酸钾、碳酸铯、磷酸钾、氢氧化钾、氢氧化钠或组合。

3. 如权利要求 1 所述的方法,其特征在于,在方法 (a),还包括在的催化剂存在进行反应,其中所述的催化剂选自:碘化亚铜和脯氨酸;或碘化亚铜和吡啶甲酸。

4. 如权利要求 1 所述的方法,其特征在于,各反应在温度 0 ~ 200°C 下进行。

## 一种氘代的 $\omega$ -二苯基脲的合成及生产的方法和工艺

### 技术领域

[0001] 本发明涉及化学合成领域,更具体涉及一种氘代的  $\omega$ -二苯基脲的合成及生产的方法和工艺。

### 背景技术

[0002] 已知的  $\omega$ -二苯基脲衍生物是 c-RAF 激酶活性的化合物。例如在 W02000/042012 中公开了一类  $\omega$ -羧基芳基取代的二苯基脲,及其在治疗癌症以及相关疾病中的用途。

[0003]  $\omega$ -二苯基脲化合物如索拉非尼 (Sorafenib) 最先被发现是 c-RAF 激酶的抑制剂,之后不断的研究发现它还能抑制 MEK 和 ERK 信号传导通路、血管内皮生长因子-2 (VEGFR-2)、血管内皮生长因子-3 (VEGFR-3)、以及血小板源生长因子- $\beta$  (PDGFR- $\beta$ ) 的酪氨酸激酶的活性 (Curr Pharm Des 2002 ;8 :2255-2257),因此它被称之为多激酶抑制剂,具有双重抗肿瘤作用。

[0004] 索拉非尼 (Sorafenib), 商品名 Nexavar, 是由拜耳公司和 ONXY 公司共同研制的一种新型的口服多激酶抑制剂,由于它在一项针对晚期肾癌的 III 期临床研究中的卓越表现,2005 年 12 月被 FDA 快速批准用于治疗晚期肾细胞癌,2006 年 11 月在中国上市。然而,索拉非尼 (Sorafenib) 具有多种副作用,例如高血压、体重减轻、皮疹等。

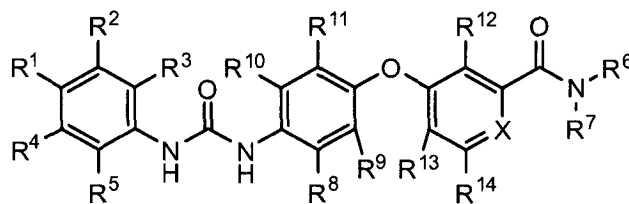
[0005] 然而,本领域仍需要开发对 raf 激酶有抑制活性、或更好药效学性能的化合物及其制备工艺。

### 发明内容

[0006] 本发明的目的就是提供一类新型的具有 raf 激酶抑制活性和更好药效学性能的化合物及其用途。

[0007] 在本发明的第一方面,提供了一种式 (I) 所示的氘代的  $\omega$ -二苯基脲化合物、或其晶型、药学上可接受的盐、水合物或溶剂合物:

[0008]



(I)

[0009] 式中:

[0010] X 是 N 或者  $N^+O^-$ ;

[0011]  $R^1$  是卤素 (如 F, Cl 或 Br), 一个或多个氘代的或全氘代的 C1-C4 烷基;

[0012]  $R^2$  是未氘代的、一个或多个氘代的或全氘代的 C1-C4 烷基, 或者部分或全部卤素取代的 C1-C4 烷基;

[0013]  $R^3, R^4, R^5, R^8, R^9, R^{10}, R^{11}, R^{12}, R^{13}, R^{14}$  分别是氢、氘、或卤素 (如 F, Cl, 或 Br);

[0014] R<sup>6</sup>是氢、氘、或一个或多个氘代的或全氘代的 C1-C4 烷基；

[0015] R<sup>7</sup>是氢、氘、或一个或多个氘代的或全氘代的 C1-C4 烷基；

[0016] 附加条件是 R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>、R<sup>7</sup>、R<sup>8</sup>、R<sup>9</sup>、R<sup>10</sup>、R<sup>11</sup>、R<sup>12</sup>、R<sup>13</sup>或 R<sup>14</sup>中至少一个是氘代的或氘。

[0017] 在另一优选例中，氘在氘取代位置的氘同位素含量至少是大于天然氘同位素含量 (0.015%)，较佳地大于 30%，更佳地大于 50%，更佳地大于 75%，更佳地大于 95%，更佳地大于 99%。

[0018] 在另一优选例中，式 (I) 化合物至少含有 1 个氘原子，更佳地 3 个氘原子，更佳地 5 个氘原子。

[0019] 在另一优选例中，R<sup>1</sup>选自卤素；更佳的是氯；

[0020] 在另一优选例中，R<sup>2</sup>是三氟甲基；

[0021] 在另一优选例中，R<sup>6</sup>或 R<sup>7</sup>分别独立地选自：氢、氘、氘代的甲基、或氘代的乙基；更佳地，选自一氘甲基、二氘甲基、三氘甲基、一氘乙基、二氘乙基、三氘乙基、四氘乙基、或五氘乙基。

[0022] 在另一优选例中，R<sup>6</sup>或 R<sup>7</sup>分别独立地选自：氢、甲基或三氟甲基。

[0023] 在另一优选例中，R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>或 R<sup>5</sup>分别独立地选自：氢或氘。

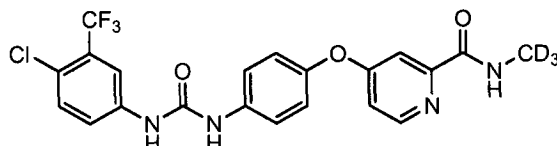
[0024] 在另一优选例中，R<sup>8</sup>、R<sup>9</sup>、R<sup>10</sup>或 R<sup>11</sup>分别独立地选自：氢或氘。

[0025] 在另一优选例中，R<sup>12</sup>、R<sup>13</sup>或 R<sup>14</sup>分别独立地选自：氢或氘。

[0026] 在另一优选例中，所述化合物是选自下组的优选化合物：

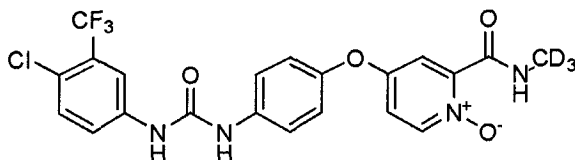
[0027] N-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-N'-(4-(2-(N-1',1',1'-三氘甲基氨基甲酰基)-4-吡啶基氧)苯基)脲；

[0028]



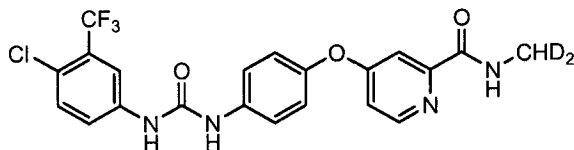
[0029] 4-(4-(3-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)脲基)苯氧基)-2-(N-1',1',1'-三氘甲基氨基甲酰基)吡啶-1-氧化物；

[0030]



[0031] N-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-N'-(4-(2-(N-1',1'-二氘甲基氨基甲酰基)-4-吡啶基氧)苯基)脲；

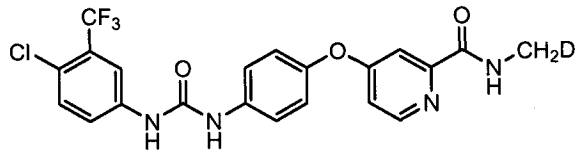
[0032]



[0033] N-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-N'-(4-(2-(N-1'-氘甲基氨基甲酰基)-4-吡啶

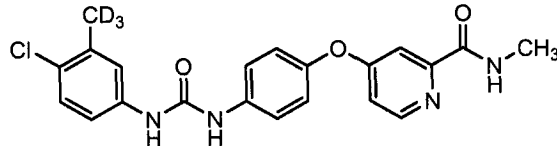
基氧) 苯基) 脲;

[0034]



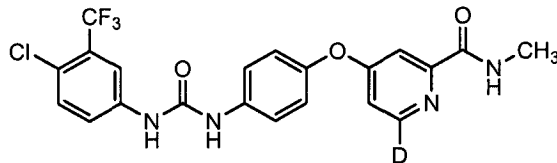
[0035] N-(4-氯-3-(三氘甲基)苯基)-N'-(4-(2-(N-甲基氨基甲酰基)-4-吡啶基氧)苯基)脲;

[0036]



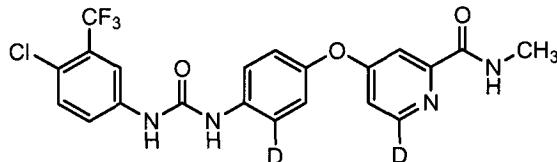
[0037] N-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-N'-(4-(2-氘-6-(N-甲基氨基甲酰基)-4-吡啶基氧)苯基)脲;

[0038]



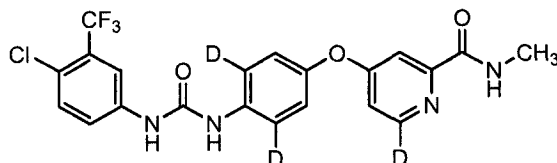
[0039] N-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-N'-(2-氘-4-(2-氘-6-(N-甲基氨基甲酰基)-4-吡啶基氧)苯基)脲;

[0040]



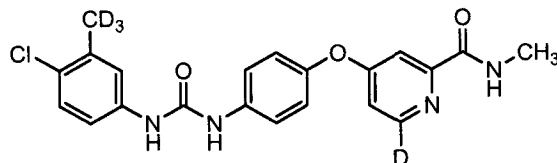
[0041] N-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-N'-(2,6-二氘-4-(2-氘-6-(N-甲基氨基甲酰基)-4-吡啶基氧)苯基)脲;

[0042]



[0043] N-(4-氯-3-(三氘甲基)苯基)-N'-(4-(2-氘-6-(N-甲基氨基甲酰基)-4-吡啶基氧)苯基)脲;

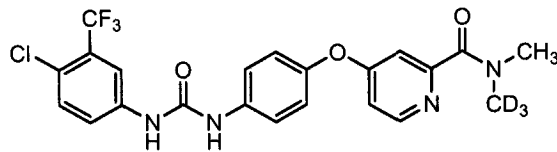
[0044]



[0045] N-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-N'-(4-(2-(N-甲基-N-1',1',1'-三氟甲基氨基

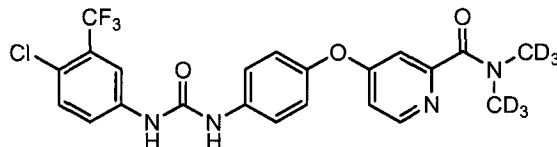
基甲酰基)-4-吡啶基氧)苯基)脲;

[0046]



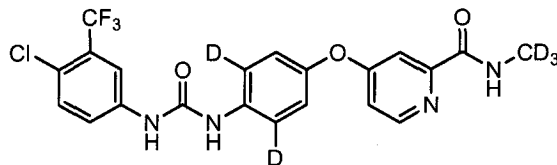
[0047] N-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-N'-(4-(2-(N,N-二(1',1',1'-三氘甲基)氨基甲酰基)-4-吡啶基氧)苯基)脲;

[0048]



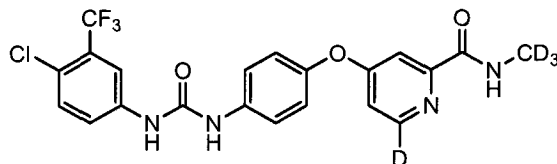
[0049] N-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-N'-(2,6-二氘-4-(2-(N-1',1',1'-三氘甲基氨基甲酰基)-4-吡啶基氧)苯基)脲;

[0050]



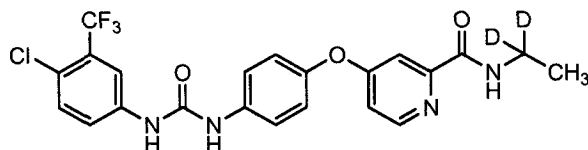
[0051] N-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-N'-(4-(2-(氘-6-(N-1',1',1'-三氘甲基氨基甲酰基)-4-吡啶基氧)苯基)脲;

[0052]



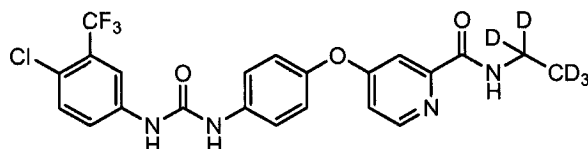
[0053] N-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-N'-(4-(2-(N-1',1'-二氘乙基氨基甲酰基)-4-吡啶基氧)苯基)脲;

[0054]



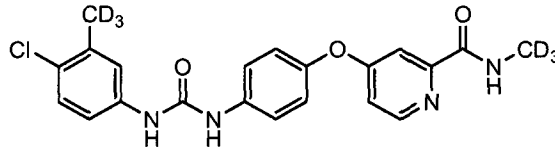
[0055] N-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-N'-(4-(2-(N-1',1',2',2',2'-五氘乙基氨基甲酰基)-4-吡啶基氧)苯基)脲;

[0056]



[0057] 或 N-(4-氯-3-(三氘甲基)苯基)-N'-(4-(2-(N-1',1',1'-三氘甲基氨基甲酰基)-4-吡啶基氧)苯基)脲。

[0058]



[0059] 在本发明的第二方面,提供了一种制备药物组合物的方法,包括步骤:将药学上可接受的载体与本发明第一方面中所述的化合物,或其晶型、药学上可接受的盐、水合物或溶剂合物进行混合,从而形成药物组合物。

[0060] 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第一方面中所述的化合物,或其晶型、药学上可接受的盐、水合物或溶剂合物。

[0061] 在另一优选例中,所述的药物组合物为注射剂、囊剂、片剂、丸剂、散剂或颗粒剂。

[0062] 在另一优选例中,所述的药物组合物还含有另外的治疗药物,所述的另外的治疗药物为癌症、心血管疾病、炎症、免疫性疾病、肾病、血管发生 (angiogenesis)、前列腺疾病的药物。

[0063] 更佳地,所述的治疗药物包括(但并不限于):5-氟尿嘧啶、AV412、阿瓦斯丁<sup>TM</sup>(avastin, bevacizumab)、贝沙罗汀 (bexarotene)、硼替佐米 (bortezomib)、骨化三醇 (calcitriol)、卡奈替尼 (canertinib)、卡培他滨 (capecitabine)、碳铂 (carboplatin)、塞来考昔 (celecoxib)、西妥昔单抗 (cetuximab)、CHR-2797、顺铂 (cisplatin)、达沙替尼 (dasatinib)、地高辛 (digoxin)、enzastaurin、埃罗替尼 (Erlotinib)、依托泊甙 (etoposide)、依维莫司 (everolimus)、氟维司群 (fulvestrant)、吉非替尼 (gefitinib)、2,2-二氟脱氧胞嘧啶核苷 (gemcitabine)、金雀异黄素 (genistein)、伊马替尼 (imatinib)、依立替康 (irinotecan)、拉帕替尼 (lapatinib)、来那度胺 (lenalidomide)、来曲唑 (letrozole)、亚叶酸 (leucovorin)、马妥珠单抗 (matuzumab)、奥沙利铂 (oxaliplatin)、紫杉醇 (paclitaxel)、帕尼单抗 (panitumumab)、PEG化的粒细胞集落刺激因子 (pegfilgrastin)、PEG化的 $\alpha$ -干扰素 (pegylated alfa-interferon)、培美曲塞 (pemetrexed)、Polyphenon<sup>®</sup> E、沙铂 (satraplatin)、西罗莫司 (sirolimus)、舒尼替尼 (sutent, sunitinib)、舒林酸 (sulindac)、泰索帝 (taxotere)、替莫唑胺 (temodar, temozomolomide)、Torisel (temsirolimus)、TG01、tipifarnib、曲妥单抗 (trastuzumab)、丙戊酸 (valproic acid)、长春氟宁 (vinflunine)、Volociximab、vorinostat 和 XL647。

[0064] 在本发明的第四方面,提供了本发明第一方面中所述的化合物,或其晶型、药学上可接受的盐、水合物或溶剂合物的用途,它们被用于制备抑制磷酸激酶(如raf激酶)的药物组合物。

[0065] 在另一优选例中,所述的药物组合物用于治疗 and 预防以下疾病:癌症、心血管疾病、炎症、免疫性疾病、肾病、血管发生 (angiogenesis)、或前列腺疾病。

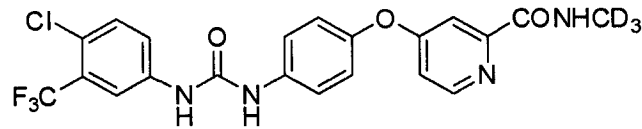
[0066] 在另一优选例中,所述的癌症包括(但并不限于):非小型细胞肺癌、子宫癌、直肠癌、脑癌、头癌、颈癌、膀胱癌、前列腺癌、乳腺癌、固体肿瘤、肾癌、血癌、肝癌、胃癌、或胰腺癌。

[0067] 在本发明的第五方面,提供了一种治疗方法,它包括步骤:给需要治疗的对象施用本发明第一方面中所述的化合物,或其晶型、药学上可接受的盐、水合物或溶剂合物,或施用本发明第三方面中所述的药物组合物,从而抑制磷酸激酶(如raf激酶)。更佳地,所述

的疾病包括：癌症、心血管疾病、炎症、免疫性疾病、肾病、血管发生、或前列腺疾病。

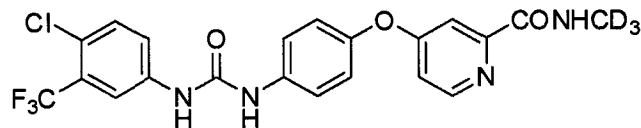
[0068] 本发明的一种特别优选的化合物是 N-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-N'-(4-(2-(N-1',1',1'-三氘甲基氨基甲酰基)-4-吡啶基氧)苯基)脲

[0069]



[0070] 在本发明的第六方面，本发明提供了制备化合物 N-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-N'-(4-(2-(N-1',1',1'-三氘甲基氨基甲酰基)-4-吡啶基氧)苯基)脲的方法，

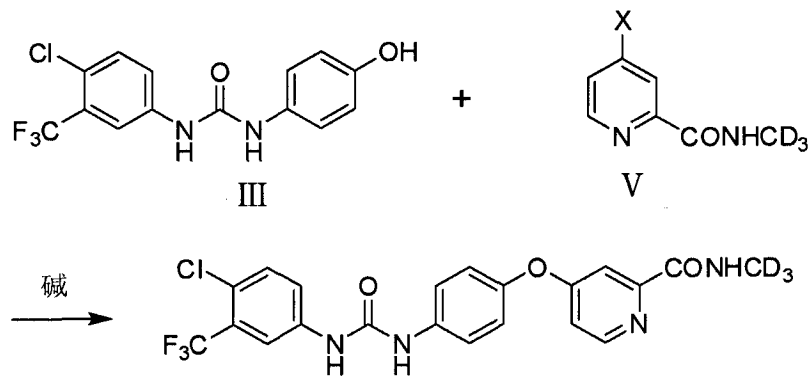
[0071]



[0072] 所述方法包括：

[0073] (a) 在惰性溶剂中以及碱存在下，式 III 化合物与式 V 化合物反应，形成所述化合物；

[0074]

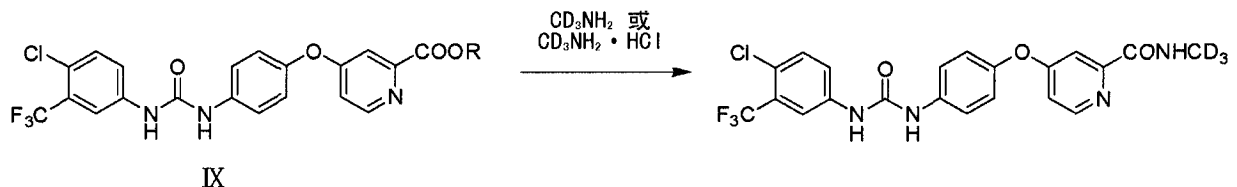


[0075] 式中，X 为 Cl、Br、或 I；

[0076] 或者，所述方法包括：

[0077] (b) 在惰性溶剂中，式 IX 化合物与  $CD_3NH_2$  或  $CD_3NH_2 \cdot HCl$  反应，形成所述的化合物；

[0078]



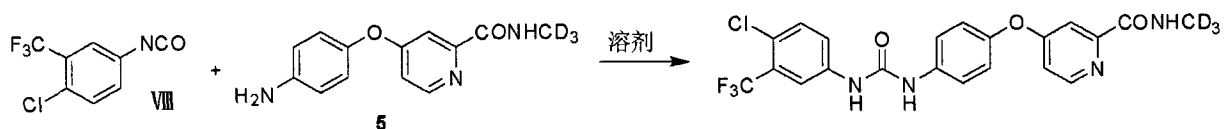
[0079] 式中，R 为 C1-C8 直链或支链烷基，或芳基；

[0080] 或者，所述方法包括：

[0081] (c) 在惰性溶剂中，4-氯-3-三氟甲基苯异氰酸酯 (VIII) 与式 5 化合物反应，形成所述的化合物；

[0082]

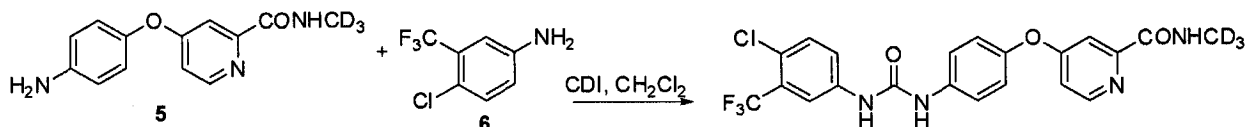




[0083] 或者,所述方法包括:

[0084] (d) 在惰性溶剂中,在 CDI 和  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  存在下,式 5 化合物与式 6 化合物反应,形成所述的化合物。

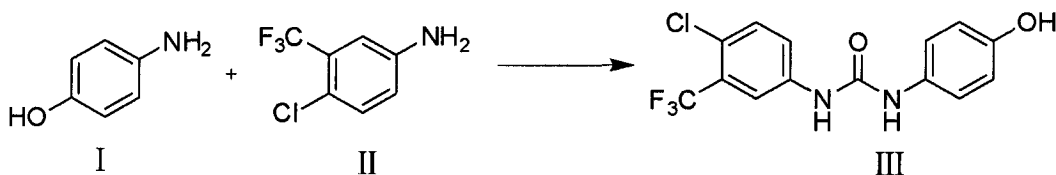
[0085]



[0086] 在另一优选实施例中,式 III 化合物是通过以下该方法制备:

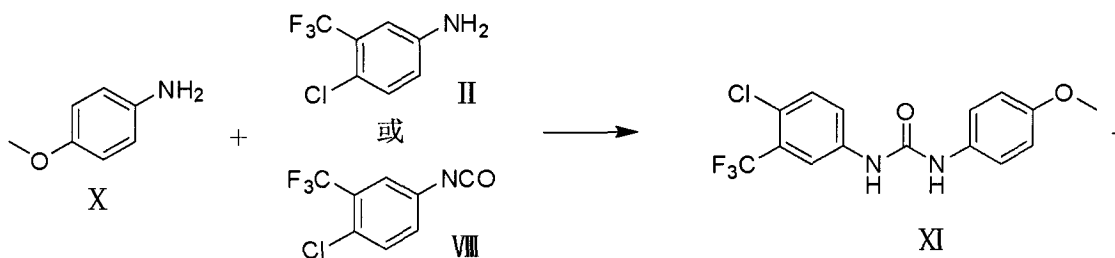
[0087] (i) 对羟基苯胺 (I) 和 4-氯-3-三氟甲基苯胺 (II) 缩合得到 III 化合物:

[0088]



[0089] 或者 (ii) 对甲氧基苯胺 (X) 和 4-氯-3-三氟甲基苯胺 (II) 或 4-氯-3-三氟甲基苯胺异氰酸酯 (VIII) 反应生成 XI 化合物:

[0090]

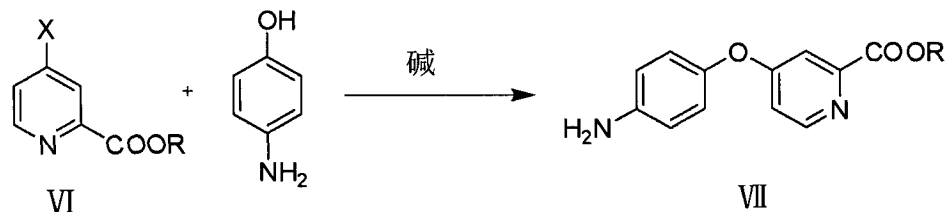


[0091] 然后, XI 化合物在酸或碱条件下,脱甲基得到 III 化合物。

[0092] 在另一优选例中,式 VII 化合物通过以下方法制备:

[0093] VI 化合物与对羟基苯胺在碱作用下,生成 VII 化合物:

[0094]



[0095] 式中, X 是氯、溴或碘; R 为 C1-C8 直链或支链烷基,或芳基。

[0096] 在另一优选例中,所述的碱选自叔丁醇钾、氯化钠、氯化钾,碳酸钾、碳酸铯、磷酸钾、氢氧化钾、氢氧化钠或组合。

[0097] 在另一优选例中,在方法 (a),还包括在的催化剂存在进行反应,其中所述的催化剂选自:碘化亚铜和脯氨酸;或碘化亚铜和吡啶甲酸。

[0098] 在另一优选例中,各反应在温度  $0 \sim 200^\circ\text{C}$  下进行。

[0099] 应理解,在本发明范围内中,本发明的上述各技术特征和在下文(如实施例)中具体描述的各技术特征可以互相组合,从而构成新的或优选的技术方案。限于篇幅,在此不再一一累述。

### 附图说明

[0100] 图 1 是雄性 SD 大鼠口服 3mg/kg 对照化合物 CM4306 后的血清药物浓度 (ng/ml) 曲线图。

[0101] 图 2 是雄性 SD 大鼠口服 3mg/kg 本发明化合物 CM4307 后的血清药物浓度 (ng/ml) 曲线图。

[0102] 图 3 是 CM4306 和 CM4307 对人肝细胞癌 SMMC-7721 裸鼠移植模型的抑制作用曲线图。图中,“treatment”表示治疗的时间为 14 天。随后为停药后的观察期。治疗前 5 天是模型制备期。

### 具体实施方式

[0103] 本发明人经过研究,意外地发现,本发明的氘代的  $\omega$ -二苯基脲及其药学上可接受的盐与未经氘代的化合物相比,具有明显更优异的药物动力学和/或药效学性能,因此更适合作为抑制 raf 激酶的化合物,进而更适用制备治疗癌症以及相关疾病的药物。在此基础上完成了本发明。

[0104] 以氘代化合物 N-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-N'-(4-(2-(N-1',1',1'-三氘甲基氨基甲酰基)-4-吡啶基氧)苯基)脲(化合物 CM4307)和未氘代的 N-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-N'-(4-(2-(N-甲基氨基甲酰基)-4-吡啶基氧)苯基)脲(化合物 CM4306)为例,

[0105]



[0106] 药代动力学实验结果显示,CM4307 比 CM4306 的半衰期  $T_{1/2}$  延长,曲线下面积  $AUC_{0-\infty}$  CM4307 比 CM4306 显著增加,CM4307 比 CM4306 表观清除率减少。

[0107] 在人肝细胞癌 SMMC-7721 裸鼠移植模型进行的药效学实验结果显示,在 100mg/kg 每日的剂量下每日灌胃给药连续 2 周,CM4306 的抗肿瘤活性的评价指标相对肿瘤增值率 T/C(%) 为 32.2%;而 CM4307 的抗肿瘤活性的评价指标相对肿瘤增值率 T/C(%) 为 19.6%,故抗肿瘤活性的绝对值提高 10%以上,相对值提高约 60% ( $32.2\% / 19.6\% - 1 = 64\%$ ),表现出更为显著的抑制肿瘤生长的作用。

[0108] 定义

[0109] 如本文所用,“卤素”指 F、Cl、Br、和 I。更佳地,卤原子选自 F、Cl 和 Br。

[0110] 如本文所用,“烷基”包括直链或支链的烷基。优选的烷基是 C1-C4 烷基,例如甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基等。

[0111] 如本文所用,“氘代”指化合物或基团中的一个或多个氢被氘所取代。氘代可以是

一取代、二取代、多取代或全取代。术语“一个或多个氘代的”与“一次或多次氘代”可互换使用。

[0112] 在另一优选例中,氘在氘取代位置的氘同位素含量是大于天然氘同位素含量(0.015%),更佳地大于50%,更佳地大于75%,更佳地大于95%,更佳地大于97%,更佳地大于99%,更佳地大于99.5%。

[0113] 在另一优选例中,式(I)化合物至少含有1个氘原子,更佳地3个氘原子,更佳地5个氘原子。

[0114] 活性成分

[0115] 如本文所用,术语“本发明化合物”指式(I)所示的化合物。该术语还包括式(I)化合物的各种晶型形式、药学上可接受的盐、水合物或溶剂合物。

[0116] 如本文所用,术语“药学上可接受的盐”指本发明化合物与酸或碱所形成的适合用作药物的盐。药学上可接受的盐包括无机盐和有机盐。一类优选的盐是本发明化合物与酸形成的盐。适合形成盐的酸包括但不限于:盐酸、氢溴酸、氢氟酸、硫酸、硝酸、磷酸等无机酸,甲酸、乙酸、丙酸、草酸、丙二酸、琥珀酸、富马酸、马来酸、乳酸、苹果酸、酒石酸、柠檬酸、苦味酸、甲磺酸、苯甲磺酸,苯磺酸等有机酸;以及天冬氨酸、谷氨酸等酸性氨基酸。

[0117] 制备方法

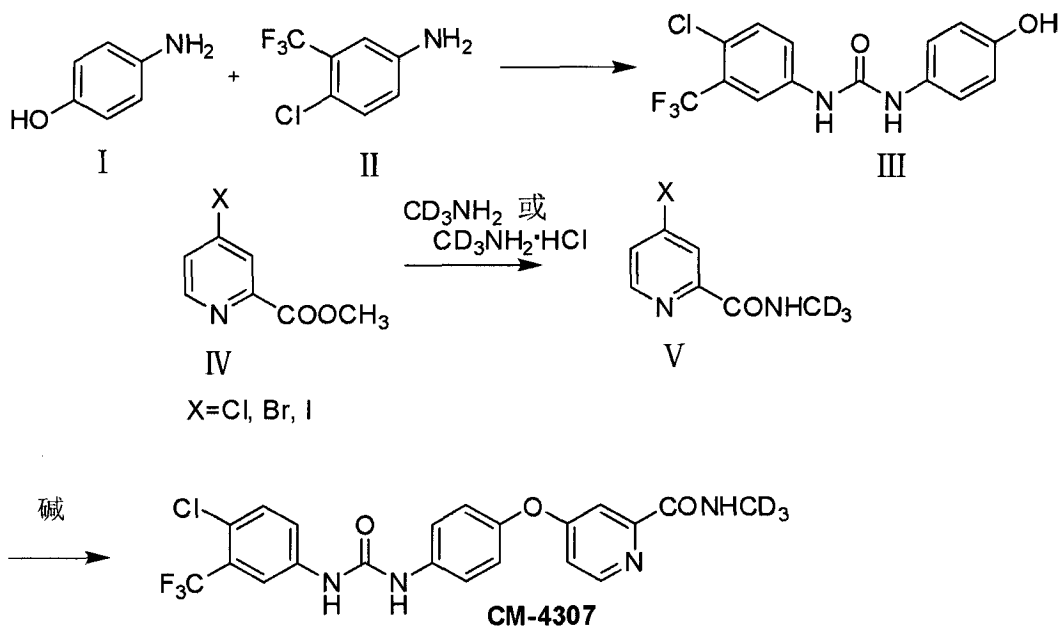
[0118] 下面更具体地描述本发明式(I)结构化合物的制备方法,但这些具体方法不对本发明构成任何限制。本发明化合物还可以任选将在本说明书中描述的或本领域已知的各种合成方法组合起来而方便的制得,这样的组合可由本发明所属领域的技术人员容易的进行。

[0119] 本发明使用的未氘代的 $\omega$ -二苯基脲及其生理上相容的盐的制备方法是已知的。对应氘代的 $\omega$ -二苯基脲的制备可以用相应的氘代起始化合物为原料,用同样的路线合成。例如,本发明式(I)化合物可按WO 2000/042012中所述的制备方法制备,不同点在于在反应中用于氘代的原料代替非氘代的原料。

[0120] 通常,在制备流程中,各反应通常在惰性溶剂中,在室温至回流温度(如0°C~80°C,优选0°C~50°C)下进行。反应时间通常为0.1小时-60小时,更佳地为0.5-48小时。

[0121] 以化合物CM4307为例,一种优选的制备流程如下:

[0122]

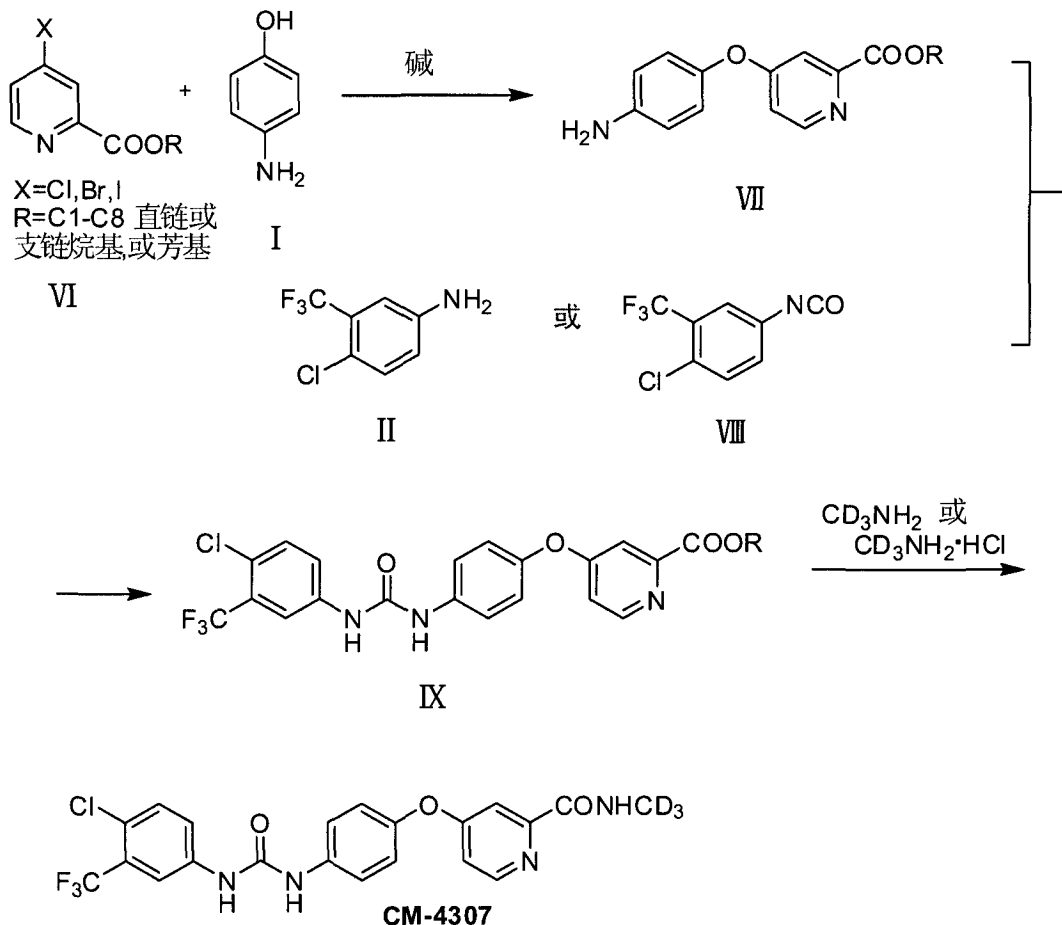


[0123] 合成路线一

[0124] 如合成路线一所示,对羟基苯胺(化合物 I)和 3-三氟甲基-4-氯-苯胺(化合物 II)在 N,N'-羰基二咪唑、光气或三光气作用下,反应得到 1-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-3-(4-羟基苯基)脲(化合物 III)。吡啶甲酸甲酯(化合物 IV)和氘代甲胺或氘代甲胺盐酸盐在碱(例如碳酸钠、碳酸钾、氢氧化钠、三乙胺、吡啶等)的作用下、或直接混合反应,得到吡啶-2-(N-1',1',1'-三氘代甲基)甲酰胺(化合物 V)。化合物 III 和化合物 V 在碱(如叔丁醇钾、氢化钠、氢化钾,碳酸钾、碳酸铯、磷酸钾、氢氧化钾、氢氧化钠)和任选的催化剂(如碘化亚铜和脯氨酸、或碘化亚铜和吡啶甲酸)的作用下,得到化合物 CM-4307。上述反应在惰性溶剂,如二氯甲烷、二氯乙烷、乙腈、正己烷、甲苯、四氢呋喃、N,N-二甲基甲酰胺、二甲基亚砷等中,温度 0 ~ 200°C 下进行。

[0125] 以化合物 CM4307 为例,另一种优选的制备流程如下:

[0126]

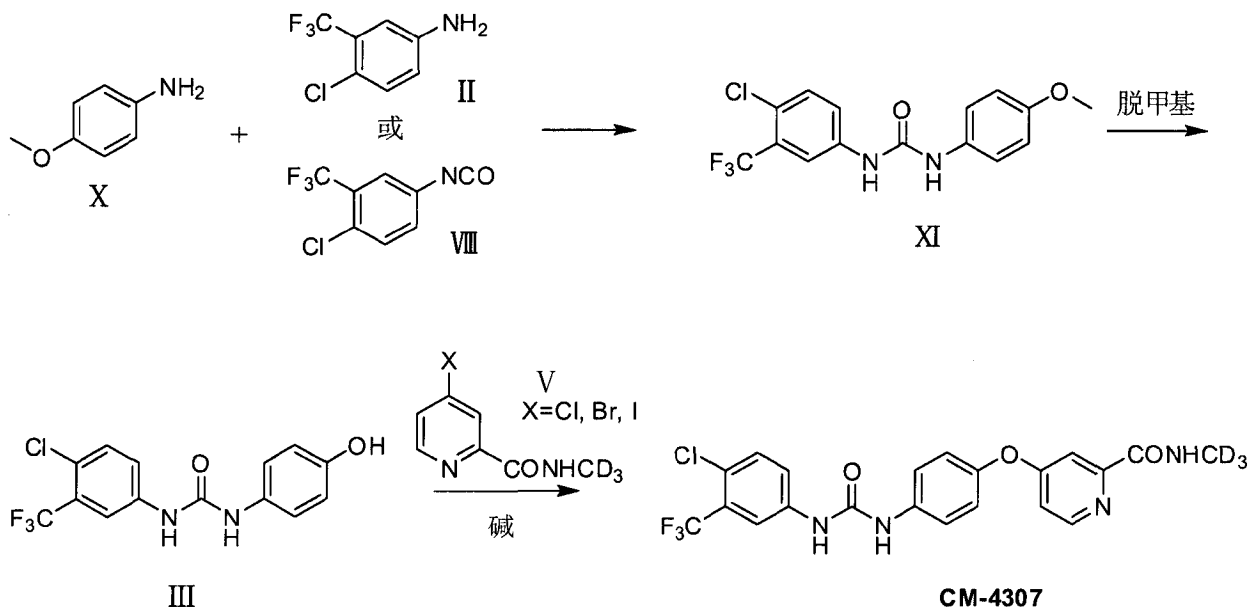


[0127] 合成路线二

[0128] 如合成路线二所示, 吡啶甲酸酯 (化合物 VI) 和对羟基苯胺 (化合物 I) 在碱 (如叔丁醇钾、氢氧化钠、氢氧化钾, 碳酸钾、碳酸铯、磷酸钾、氢氧化钾、氢氧化钠) 和任选的催化剂 (如碘化亚铜和脯氨酸、或碘化亚铜和吡啶甲酸) 的作用下, 得到胺 (化合物 VII)。再和化合物 II 在 N, N'-羰基二咪唑、光气或三光气作用下、或和 4-氯-3-三氟甲基-吡啶异氰酸酯 (化合物 VIII) 反应得到脲 (化合物 IX)。化合物 IX 和氘代甲胺或氘代甲胺盐酸盐在碱 (例如碳酸钠、碳酸钾、氢氧化钠、三乙胺、吡啶等) 的作用下、或直接混合反应得到化合物 CM4307。上述反应在惰性溶剂, 如二氯甲烷、二氯乙烷、乙腈、正己烷、甲苯、四氢呋喃、N, N-二甲基甲酰胺、二甲基亚砜等中, 温度 0 ~ 200 °C 下进行。

[0129] 以化合物 CM4307 为例, 另一种优选的制备流程如下:

[0130]

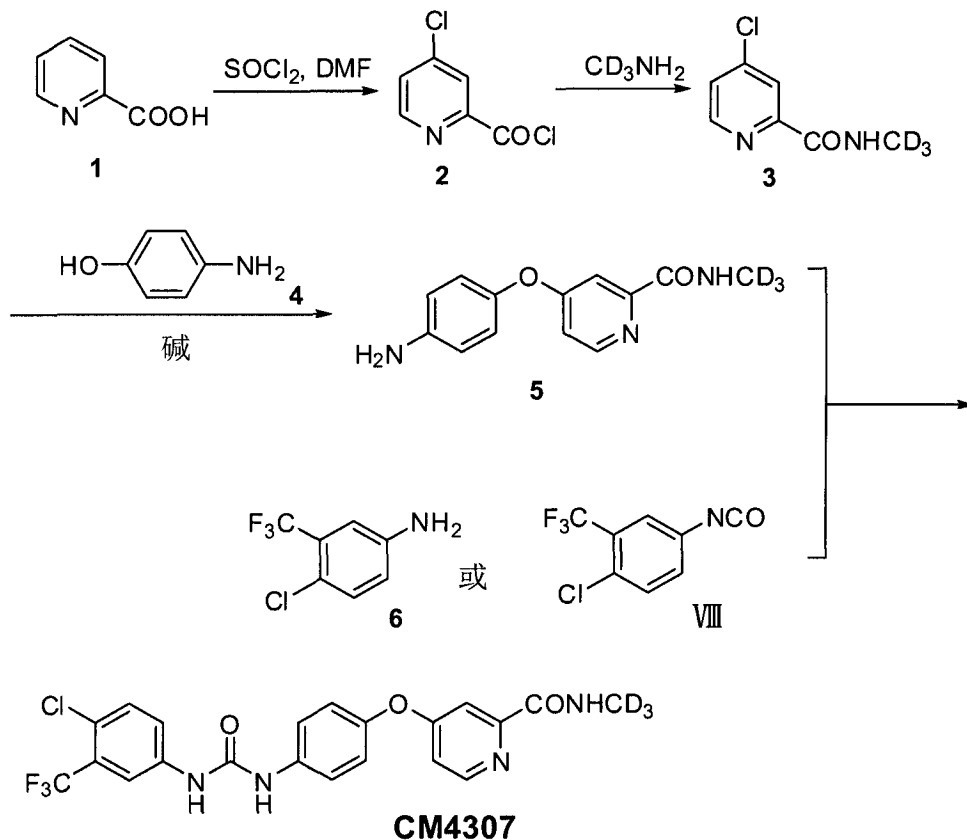


[0131] 合成路线三

[0132] 如合成路线三所示,对甲氧基苯胺(化合物X)和化合物II在N,N'-羰基二咪唑、光气或三光气作用下、或和4-氯-3-(三氟甲基)-吡啶异氰酸酯(化合物VIII)反应得到脲(化合物XI)。利用本领域已知的各种去甲基方法得到1-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-3-(4-羟基苯基)脲(化合物III)。然后使用和合成路线一中描述的同样方法,或本领域已知的各种合成方法,化合物III和化合物V反应得到化合物CM4307。上述反应在惰性溶剂,如二氯甲烷、二氯乙烷、乙腈、正己烷、甲苯、四氢呋喃、N,N-二甲基甲酰胺、二甲基亚砷等中,温度0~200℃下进行。

[0133] 以化合物CM4307为例,一种特别优选的制备流程如下:

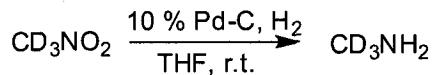
[0134]



[0135] 合成路线四

[0136] 氘代可以通过氘代甲胺引入的。氘代甲胺也可以通过已知的文献方法如下方法制备,如氘代硝基甲烷的氢化加氢反应。

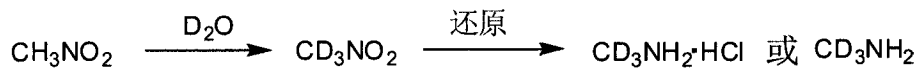
[0137]



[0138] 式中, r. t. 表示室温。

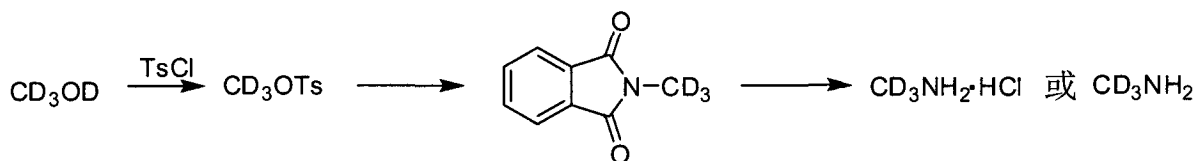
[0139] 或者,可通过以下反应得到氘代甲胺或其盐酸盐。硝基甲烷在碱(氢氧化钠、氢氧化钾、氘代氢氧化钠、氘代氢氧化钾、碳酸钾等),或在相转移催化剂下,和氘水反应得到氘代硝基甲烷,如有必要,重复上述实验,以得到高纯度的氘代硝基甲烷。氘代硝基甲烷还原,如锌粉、镁粉、铁或镍等作用下,得到氘代甲胺或其盐酸盐。

[0140]



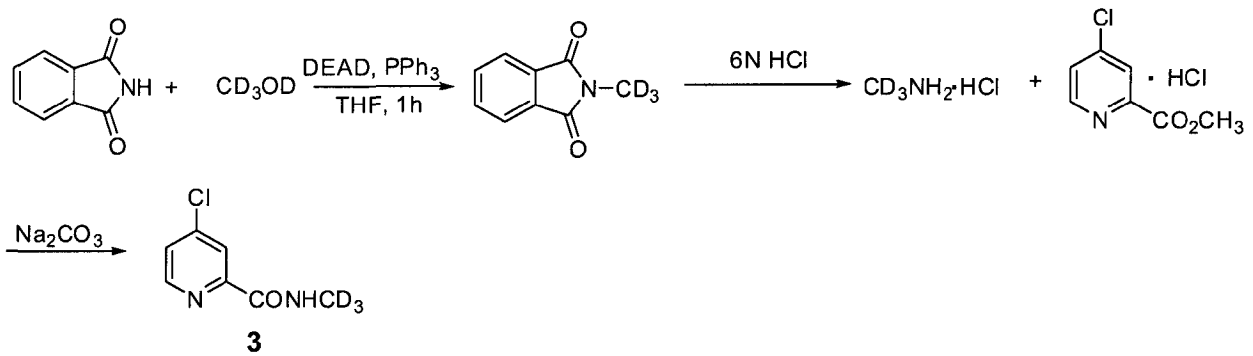
[0141] 再者可以通过以下反应得到氘代甲胺或其盐酸盐。

[0142]



[0143] 关键中间体 3 也可以通过如下方法从氘代甲醇合成。

[0144]



[0145] 其具体合成方法在实施例 1 中有详细的说明。

[0146] 药物组合物和施用方法

[0147] 由于本发明化合物具有优异的对磷酸激酶 (Kinase) 例如 raf 激酶的抑制活性, 因此本发明化合物及其各种晶型, 药学上可接受的无机或有机盐, 水合物或溶剂合物, 以及含有本发明化合物为主要活性成分的药物组合物可用于治疗、预防以及缓解由对磷酸激酶 (Kinase) 例如 raf 激酶介导的疾病。根据现有技术, 本发明化合物可用于治疗以下疾病: 癌症, 心血管疾病, 肥胖病, 糖尿病等等。

[0148] 本发明的药物组合物包含安全有效量范围内的本发明化合物或其药理上可接受的盐及药理上可以接受的赋形剂或载体。其中“安全有效量”指的是: 化合物的量足以明显改善病情, 而不至于产生严重的副作用。通常, 药物组合物含有 1-2000mg 本发明化合物 / 剂, 更佳地, 含有 10-200mg 本发明化合物 / 剂。较佳地, 所述的“一剂”为一个胶囊或药片。

[0149] “药学上可以接受的载体”指的是: 一种或多种相容性固体或液体填料或凝胶物质, 它们适合于人使用, 而且必须有足够的纯度和足够低的毒性。“相容性”在此指的是组合物中各组份能和本发明的化合物以及它们之间相互掺和, 而不明显降低化合物的药效。药学上可以接受的载体部分例子有纤维素及其衍生物 (如羧甲基纤维素钠、乙基纤维素钠、纤维素乙酸酯等)、明胶、滑石、固体润滑剂 (如硬脂酸、硬脂酸镁)、硫酸钙、植物油 (如豆油、芝麻油、花生油、橄榄油等)、多元醇 (如丙二醇、甘油、甘露醇、山梨醇等)、乳化剂 (如吐温®)、润湿剂 (如十二烷基硫酸钠)、着色剂、调味剂、稳定剂、抗氧化剂、防腐剂、无热原水等。

[0150] 本发明化合物或药物组合物的施用方式没有特别限制, 代表性的施用方式包括 (但并不限于): 口服、瘤内、直肠、肠胃外 (静脉内、肌肉内或皮下)、和局部给药。

[0151] 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。

[0152] 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。

[0153] 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,例知,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。

[0154] 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。

[0155] 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。

[0156] 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。

[0157] 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。

[0158] 本发明化合物可以单独给药,或者与其他药学上可接受的化合物联合给药。

[0159] 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1~2000mg,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。

[0160] 本发明的化合物与现有技术中已知的不携带氘的化合物相比,具有一系列优点。本发明的主要优点包括:

[0161] (1) 本发明化合物对磷酸激酶(Kinase)例如raf激酶具有优异的抑制性。

[0162] (2) 通过氘化这一技术改变生物体中的代谢,使药物的代谢变得困难,这导致初次通过效应(First-pass effect)的降低。在这种情况下,可以改变剂量并形成长效制剂,其也可以长效制剂的形式改善适用性。

[0163] (3) 通过氘化还改变了药物动力学作用,因为氘代化合物完全形成另一水合物膜,以致在生物体中的分布明显不同于未氘代的化合物。

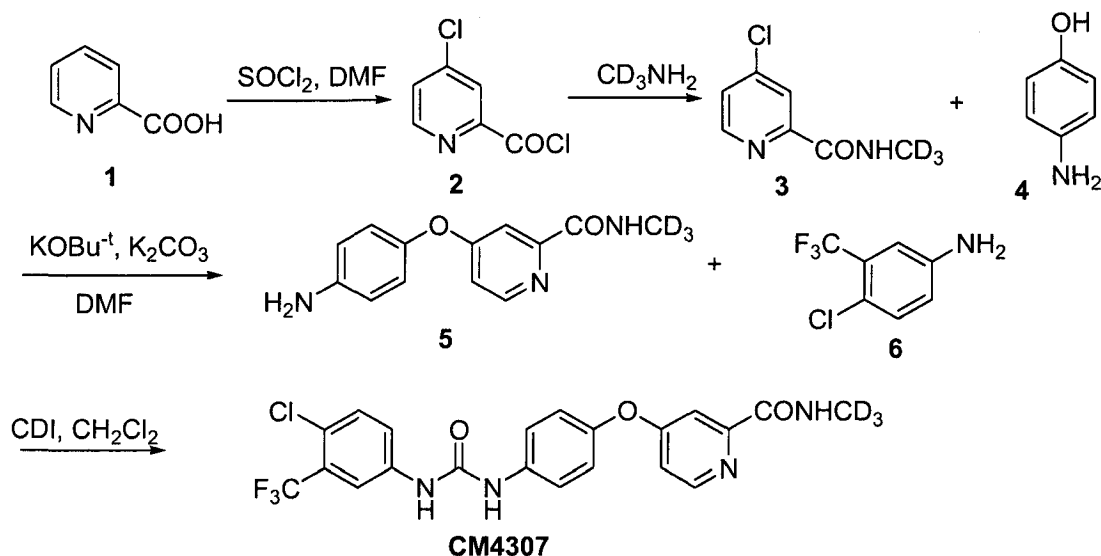
[0164] (4) 用氘取代化合物中的氢原子,由于其同位素效应,能够提高化合物在动物体内的药物浓度,以提高药物疗效。

[0165] 下面结合具体实施例,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。

[0166] 实施例1:N-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-N'-(4-(2-(N-1',1',1'-三氟甲基氨基甲酰基)-4-吡啶基氧)苯基)脲(化合物CM4307)

[0167] 合成路线:

[0168]



[0169] 流程一

[0170] 1,4-氯吡啶-2-(N-1',1',1'-三氘代甲基)甲酰胺(3)的制备

[0171] 在配有尾气处理装置的250mL单颈圆底烧瓶中,加入氯化亚砷(60mL),维持温度在40~50℃之间,向其中缓慢的滴加无水DMF(2mL),滴加完毕后,继续搅拌10分钟,在20分钟内向其中分批加入烟酸(20g,162.6mmol),溶液的颜色逐渐由绿色转变为浅紫色。将温度升到72℃,搅拌回流16小时,产生大量的固体沉淀物。冷却到室温,用甲苯(100mL)稀释,浓缩至近干,然后再用甲苯稀释,浓缩至干。过滤,用甲苯洗涤,得到淡黄色的3-氯-吡啶-2-甲酰氯固体。冰浴下将此固体慢慢的加入到氘代甲胺的四氢呋喃饱和溶液中,维持温度低于5℃,继续搅拌5小时。浓缩,加乙酸乙酯,析出白色固体,滤除,滤液用饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥,浓缩至干,得到淡黄色的4-氯吡啶-2-(N-1',1',1'-三氘代甲基)甲酰胺(3)(20.68g),收率73%。

[0172]  $^1\text{H NMR}$ ( $\text{CDCl}_3$ ,300MHz):8.37(d,1H),8.13(s,1H),7.96(br,1H),7.37(d,1H).

[0173] 2,4-(4-氨基苯氧基)-2-吡啶-(N-1',1',1'-三氘代甲基)甲酰胺(5)的制备

[0174] 向100mL干燥的无水DMF中依次加入对氨基苯酚(9.54g,0.087mol),叔丁醇钾(10.3g,0.092mol),溶液变成深褐色,室温下搅拌2小时后,向其中加入4-氯吡啶-2-(N-1',1',1'-三氘代甲基)甲酰胺(3)(13.68g,0.079mol),无水碳酸钾(6.5g,0.0467mol),将反应液温度升到80℃后继续搅拌过夜。TLC检测反应完毕,冷却到室温,将反应液倒入乙酸乙酯(150mL)和饱和食盐水(150mL)的混和溶液中,搅拌分层,静置后分液,水层用乙酸乙酯萃取(100mL×3),合并萃取液,用饱和水洗涤(100mL×3),无水硫酸钠干燥,浓缩,得到淡黄色的4-(4-氨基苯氧基)-2-吡啶-(N-1',1',1'-三氘代甲基)甲酰胺(18.00g),收率92%。

[0175]  $^1\text{H NMR}$ ( $\text{CDCl}_3$ ,300MHz):8.32(d,1H),7.99(br,1H),7.66(s,1H),6.91~6.85(m,3H),6.69(m,2H),3.70(br,s,2H).

[0176] 3,N-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-N'-(4-(2-(N-1',1',1'-三氘代甲基氨基甲酰基)-4-吡啶基氧)苯基)脲(CM4307)的制备

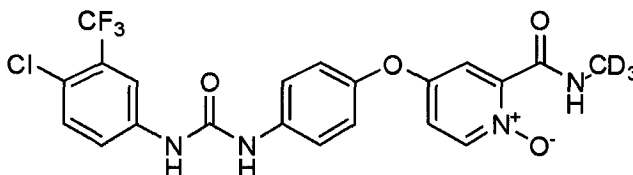
[0177] 向120mL二氯甲烷中加入5-氨基-2-氯-3-氟甲基苯(15.39g,78.69mol),

N, N' - 羰基二咪唑 (CDI) (13.55g, 83.6mmol), 室温搅拌 16 小时后, 向其中缓慢的滴加 4-(4-氯苯氧基)-2-吡啶-(N-1', 1', 1'-三氘代甲基)甲酰胺 (18g, 73mmol) 的二氯甲烷 (180mL) 溶液, 室温下继续搅拌 18 小时。TLC 检测反应完毕, 旋去部分二氯甲烷溶剂至 100mL 左右, 室温放置数小时, 有大量白色固体析出, 抽滤, 固体用大量二氯甲烷洗涤。滤液浓缩去除部分溶剂后, 又析出部分固体, 合并两次固体, 用大量二氯甲烷再次洗涤, 得到白色粉状的 N-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-N'-(4-(2-(N-1', 1', 1'-三氘甲基氨基甲酰基)-4-吡啶基氧)苯基)脲 CM4307 纯品 (20.04g), 收率 58%。

[0178]  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 300MHz): 8.48 (d, 1H), 8.00 (d, 1H), 7.55 (m, 5H), 7.12 (d, 1H), 7.08 (s, 2H), ESI-HRMS  $m/z$ :  $\text{C}_{21}\text{H}_{13}\text{D}_3\text{ClF}_3\text{N}_4\text{O}_3$ , Calcd. 467.11, Found 490.07 ( $\text{M}+\text{Na}$ ) $^+$ .

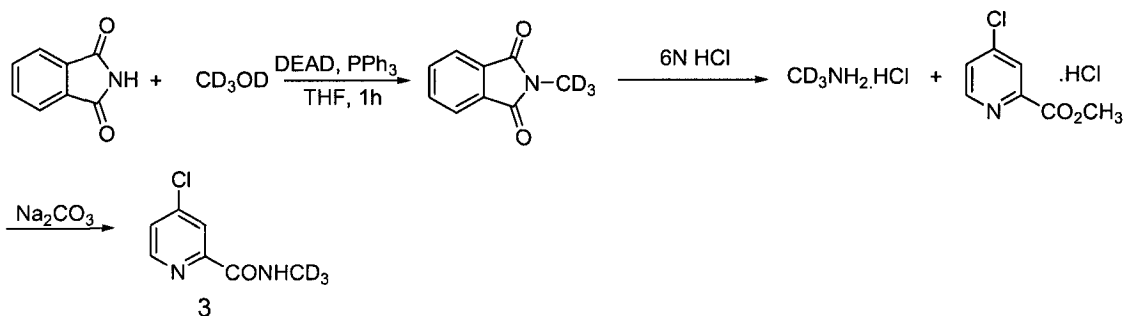
[0179] 另外, 可将化合物 CM4307 溶于二氯甲烷中, 与过氧苯甲酸进行反应, 制得相应的氧化产物: 4-(4-(3-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)脲基)苯氧基)-2-(N-1', 1', 1'-三氘甲基氨基甲酰基)吡啶-1-氧化物。

[0180]



[0181] 实施例 2: 4-氯吡啶-2-(N-1', 1', 1'-三氘代甲基)甲酰胺 (3) 的制备

[0182]



[0183] a) 将邻苯二甲酰亚胺 (14.7g, 0.1mol), 氘代甲醇 (3.78g, 0.105mol, 1.05equiv), 三苯基膦 (28.8g, 0.11mol, 1.1equiv) 溶于无水四氢呋喃中, 冰浴下滴加 DEAD (1.1equiv) 的四氢呋喃溶液, 滴加完毕后室温搅拌一小时。过柱提纯, 或者溶剂旋干后, 加适量 DCM 于冰箱冷冻析出固体后过滤, 滤液旋干, 再快速过柱, 得纯品氘代甲基邻苯二甲酰亚胺 14.8g。收率 90%。

[0184] b) 氘代甲基邻苯二甲酰亚胺 (12.5g, 0.077mol) 溶于适量盐酸 (6N, 50ml) 中, 于封管中回流 24-30 小时, 反应液冷却至室温后, 置于冰箱中冷却到零度以下, 过滤析出的固体, 用冷的去离子水洗涤, 收集滤液, 旋蒸除水并干燥得到氘代甲胺盐酸盐。加入无水 DCM (100ml) 于氘代甲胺盐酸盐中, 并加入 4-氯烟酸甲酯盐酸盐 (6.52g, 0.038mol, 0.5equiv), 碳酸钠 (12.2g, 0.12mol, 1.5equiv), 反应瓶密封, 置于冰箱中反应一天。TLC 检测反应, 完毕后水洗, 干燥, 浓缩, 过柱提纯。得化合物 4-氯吡啶-2-(N-1', 1', 1'-三氘代甲基)甲酰胺 (3), 5.67g, 收率 86%。其结构特征与实施例 1 一致。

[0185] 实施例 3 化合物 N-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-N'-(4-(2-(N-1', 1'-二氘甲基氨基甲酰基)-4-吡啶基氧)苯基)脲的制备

[0186] 按实施例 1 中所述的方法,不同点在于:用  $\text{CD}_2\text{HNH}_2$  替换  $\text{CD}_3\text{NH}_2$ , 从而制得目标化合物。

[0187] 实施例 4 化合物 N-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-N'-(4-(2-(N-1'-氘甲基氨基甲酰基)-4-吡啶基氧)苯基)脲的制备

[0188] 按实施例 1 中所述的方法,不同点在于:用  $\text{CD}_2\text{NH}_2$  替换  $\text{CD}_3\text{NH}_2$ , 从而制得目标化合物。

[0189] 实施例 5 化合物 N-(4-氯-3-(三氘甲基)苯基)-N'-(4-(2-(N-甲基氨基甲酰基)-4-吡啶基氧)苯基)脲的制备

[0190] 按实施例 1 中所述的方法,不同点在于:用 5-氨基-2-氯-三氘甲基苯替换 5-氨基-2-氯-三氟甲基苯,  $\text{CH}_3\text{NH}_2$  替换  $\text{CD}_3\text{NH}_2$ , 从而制得目标化合物。

[0191] 实施例 6 化合物 N-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-N'-(4-(2-氘-6-(N-甲基氨基甲酰基)-4-吡啶基氧)苯基)脲的制备

[0192] 按实施例 1 中所述的方法,不同点在于:用 2-氘-6-羧基吡啶替换烟酸,  $\text{CH}_3\text{NH}_2$  替换  $\text{CD}_3\text{NH}_2$ , 从而制得目标化合物。

[0193] 实施例 7 化合物 N-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-N'-(2-氘-4-(2-氘-6-(N-甲基氨基甲酰基)-4-吡啶基氧)苯基)脲

[0194] 按实施例 1 中所述的方法,不同点在于:用 2-氘-6-羧基吡啶替换烟酸, 3-氘-4-氨基苯酚替换对氨基苯酚,  $\text{CH}_3\text{NH}_2$  替换  $\text{CD}_3\text{NH}_2$ , 从而制得目标化合物。

[0195] 实施例 8 化合物 N-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-N'-(2,6-二氘-4-(2-氘-6-(N-甲基氨基甲酰基)-4-吡啶基氧)苯基)脲的制备

[0196] 按实施例 1 中所述的方法,不同点在于:用 2-氘-6-羧基吡啶替换烟酸, 3,5-二氘-4-氨基苯酚替换对氨基苯酚,  $\text{CH}_3\text{NH}_2$  替换  $\text{CD}_3\text{NH}_2$ , 从而制得目标化合物。

[0197] 实施例 9 化合物 N-(4-氯-3-(三氘甲基)苯基)-N'-(4-(2-氘-6-(N-甲基氨基甲酰基)-4-吡啶基氧)苯基)脲的制备

[0198] 按实施例 1 中所述的方法,不同点在于:用 2-氘-6-羧基吡啶替换烟酸, 用 5-氨基-2-氯-三氘甲基苯替换 5-氨基-2-氯-三氟甲基苯,  $\text{CH}_3\text{NH}_2$  替换  $\text{CD}_3\text{NH}_2$ , 从而制得目标化合物。

[0199] 实施例 10 化合物 N-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-N'-(4-(2-(N-甲基-N-1',1',1'-三氘甲基氨基甲酰基)-4-吡啶基氧)苯基)脲的制备

[0200] 按实施例 1 中所述的方法,不同点在于:用  $\text{CD}_3\text{CH}_3\text{NH}$  替换  $\text{CD}_3\text{NH}_2$ , 从而制得目标化合物。

[0201] 实施例 11 化合物 N-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-N'-(4-(2-(N,N-二(1',1',1'-三氘甲基)氨基甲酰基)-4-吡啶基氧)苯基)脲的制备

[0202] 按实施例 1 中所述的方法,不同点在于:用  $(\text{CD}_3)_2\text{NH}$  替换  $\text{CD}_3\text{NH}_2$ , 从而制得目标化合物。

[0203] 实施例 12 化合物 N-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-N'-(2,6-二氘-4-(2-(N-1',1',1'-三氘甲基氨基甲酰基)-4-吡啶基氧)苯基)脲的制备

[0204] 按实施例 1 中所述的方法,不同点在于:用 3,5-二氘-4-氨基苯酚替换对氨基苯酚, 从而制得目标化合物。

[0205] 实施例 13 化合物 N-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-N'-(4-(2-氘-6-(N-1',1',1'-三氘甲基氨基甲酰基)-4-吡啶基氧)苯基)脲的制备

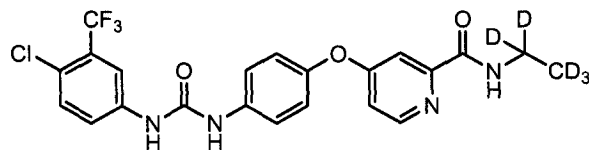
[0206] 按实施例 1 中所述的方法,不同点在于:用 2-氘-6-羧基吡啶替换烟酸,从而制得目标化合物。

[0207] 实施例 14 化合物 N-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-N'-(4-(2-(N-1',1'-二氘乙基氨基甲酰基)-4-吡啶基氧)苯基)脲的制备

[0208] 按实施例 1 中所述的方法,不同点在于:CH<sub>3</sub>CD<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>替换 CD<sub>3</sub>NH<sub>2</sub>,从而制得目标化合物。

[0209] 实施例 15 化合物 N-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-N'-(4-(2-(N-1',1',2',2',2'-五氘乙基氨基甲酰基)-4-吡啶基氧)苯基)脲的制备:

[0210]



[0211] 按实施例 1 中所述的方法,不同点在于:CD<sub>3</sub>CD<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>替换 CD<sub>3</sub>NH<sub>2</sub>从而制得目标化合物。

[0212] 实施例 16 化合物 N-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-N'-(4-(2-(N-1',1',1'-三氘甲基氨基甲酰基)-4-吡啶基氧)苯基)脲的制备:

[0213] 按实施例 1 中所述的方法,不同点在于:用 5-氨基-2-氯-三氟甲基苯替换 5-氨基-2-氯-三氟甲基苯,从而制得目标化合物。

[0214] 实施例 17:大鼠中的药代动力学评价

[0215] 8 只雄性 Sprague-Dawley 大鼠,7-8 周龄,体重约 210g,分成 2 组,每组 4 只(大鼠编号:对照组为 13-16;实验组为 9-12),单次口服给予 3mg/kg 剂量的 (a) 对组合物:未氘代的 N-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-N'-(4-(2-(N-甲基氨基甲酰基)-4-吡啶基氧)苯基)脲(对照化合物 CM4306)或 (b) 实施例 1 制备的 N-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-N'-(4-(2-(N-1',1',1'-三氘甲基氨基甲酰基)-4-吡啶基氧)苯基)脲(本发明化合物 CM4307),比较其药代动力学差异。

[0216] 大鼠采用标准饲料饲养,给予水和利眠宁。实验的前一天晚上停止给予利眠宁,给药后 2 小时重新给予利眠宁。试验前 16 小时开始禁食。药物用 30% PEG400 溶解。眼眶采血,采血的时间点为给药后 0.083 小时,0.25 小时,0.5 小时,1 小时,2 小时,4 小时,6 小时,8 小时和 24 小时。

[0217] 令大鼠吸入乙醚后短暂麻醉,眼眶采集 300uL 血样于试管。试管内有 30uL 1% 肝素盐溶液。使用前,试管于 60°C 烘干过夜。在随后一个时间点血样采集完成之后,大鼠乙醚麻醉后处死。

[0218] 血样采集后,立即温和地颠倒试管至少 5 次,保证混合充分后放置于冰上。血样在 4°C 5000rpm 离心 5 分钟,将血清与红细胞分离。用移液器吸出 100uL 血清到干净的塑料离心管中,表明化合物的名称和时间点。血清在进行 LC-MS 分析前保存在 -80°C。

[0219] 其结果如图 1-2 所示。结果显示,CM4307 比 CM4306 的半衰期 T<sub>1/2</sub>延长[分别为 11.3±2.1 小时和 8.6±1.4 小时],曲线下面积 AUC<sub>0-∞</sub>CM4307 比 CM4306 显著增加[分别

为  $11255 \pm 2472 \text{ ng} \cdot \text{h/mL}$  和  $7328 \pm 336 \text{ ng} \cdot \text{h/mL}$ ], CM4307 比 CM4306 表观清除率减少 [分别为  $275 \pm 52 \text{ mL/h/kg}$  和  $410 \pm 18.7 \text{ mL/h/kg}$ ].

[0220] 从上面结果看出,本发明化合物在动物体内具有更好的药物动力学,因而具有更好的药效学和治理效果。

[0221] 另外,通过氧化,本发明化合物在生物体中的代谢过程有所改变。特别地使苯基上的羟化变得困难,这导致初次通过效应 (First-pass effect) 的降低。在这种情况下,可以改变剂量并形成长效制剂,其也可以长效制剂的形式改善适用性。

[0222] 另外,通过氧化还改变了药物动力学作用,因为氘代化合物完全形成另一水合物膜,以致在生物体中的分布明显不同于未氘代的化合物。

[0223] 实施例 18 :CM4307 对人肝细胞癌 SMMC-7721 裸小鼠移植瘤生长抑制的药效学评价

[0224] Balb/c nu/nu 裸小鼠,6 周龄,雌性,70 只,购自上海试验动物资源中心(上海西普尔-必凯实验动物有限公司)。

[0225] SMMC-7721 细胞购自中科院上海生命科学院(上海,中国)。

[0226] 肿瘤裸鼠移植模型的建立:收获对数生长期的 SMMC-7721 细胞,计数后将细胞悬于  $1 \times \text{PBS}$ ,调整细胞悬液浓度至  $1.5 \times 10^7 / \text{ml}$ 。用 1ml 注射器在裸鼠右侧腋下皮下接种肿瘤细胞,  $3 \times 10^6 / 0.2 \text{ ml}$  / 鼠。共接种 70 只裸鼠。

[0227] 在肿瘤体积达到  $30-130 \text{ mm}^3$  时,将动物进行随机分组,共获得 58 只动物,使各组肿瘤差异小于均值的 10%,并开始给药。

[0228] 试验剂量分组设置见下表:

[0229]

组别	动物	化合物	给药方式	剂量 (mg/kg)	方案
1	10	空白对照(溶剂)	po	0.1ml/10gBW	qdx2 周
2	8	CM4306	po	10mg/kg	qdx2 周
3	8	CM4306	po	30mg/kg	qdx2 周
4	8	CM4306	po	100mg/kg	qdx2 周
5	8	CM4307	po	10mg/kg	qdx2 周
6	8	CM4307	po	30mg/kg	qdx2 周
7	8	CM4307	po	100mg/kg	qdx2 周

[0230] 试验期间每周测定两次动物体重和肿瘤大小。每日观察记录临床症状。给药结束时,拍照记录肿瘤大小。每组处死一只小鼠取肿瘤组织,固定于 4% 多聚甲醛。给药结束后,继续观察,当肿瘤均值大于  $2000 \text{ mm}^3$ ,或动物出现濒死状态时,处死动物,做大体解剖,取肿瘤组织固定于 4% 多聚甲醛。

[0231] 肿瘤体积 (Tumor volume, TV) 的计算公式为:  $TV = a \times b^2 / 2$ 。其中 a、b 分别代表

肿瘤测量长和宽。相对肿瘤体积 (relative tumor volume, RTV) 计算公式为:  $RTV = V_t / V_0$ 。其中  $V_0$  为分组给药时的肿瘤体积,  $V_t$  为测量时的肿瘤体积。抗肿瘤活性的评价指标为相对肿瘤增值率 T/C(%), 计算公式为:  $T/C(\%) = (T_{RTV} / C_{RTV}) \times 100\%$ 。  $T_{RTV}$  为治疗组 RTV,  $C_{RTV}$  为阴性对照组 RTV。

[0232] 疗效评价标准: 相对肿瘤增值率 T/C(% )  $\leq 40\%$  并经统计学分析  $p < 0.05$  为有效。

[0233] 结果如图 3 所示。CM4306 和 CM4307 单剂量 10、30、100mg/kg 每日灌胃给药连续 2 周, 两个化合物均表现剂量依赖性的抑制肿瘤生长作用。给药结束时, CM4306 的 T/C% 分别为 56.9%、40.6% 和 32.2%。CM4307 的 T/C(% ) 分别为 53.6%、40.8% 和 19.6%。其中 100mg/kg 剂量组的 T/C% 均  $< 40\%$ , 肿瘤体积与对照组比较有显著差异 ( $p < 0.01$ ), 表现显著的抑制肿瘤生长的作用。

[0234] CM4307 的高剂量 100mg/kg 组比 CM4306 高剂量组肿瘤抑制作用强 (最佳 T/C% 分别为 19.6% 和 32.2%, d15), 瘤体积组间比较有显著差异 ( $p < 0.01$ )。与 CM4306 相比, CM4307 的抑瘤率的绝对值提高 10% 以上, 相对幅度提高约 60% ( $32.2\% / 19.6\% - 1 = 64\%$ ), 表现出更为显著的抑制肿瘤生长的作用。

[0235] 此外, 试验过程中未见其他药物相关毒性反应。

[0236] 实施例 19 药物组合物

[0237] 化合物 CM4307 (实施例 1) 20g

[0238] 淀粉 140g

[0239] 微晶纤维素 60g

[0240] 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。

[0241] 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。

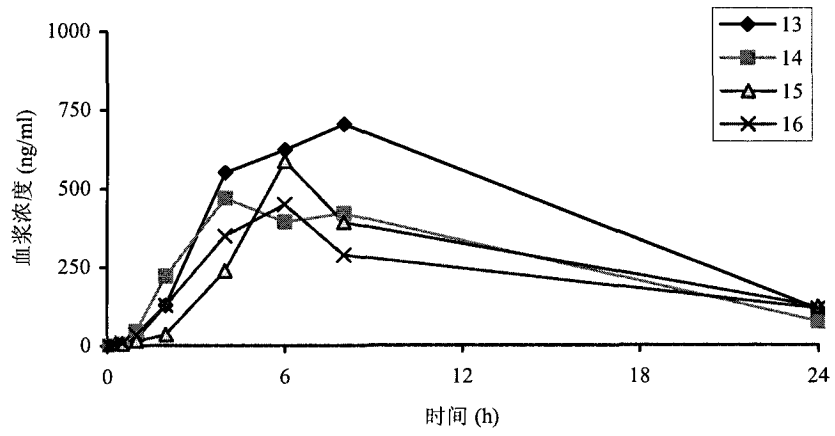


图 1

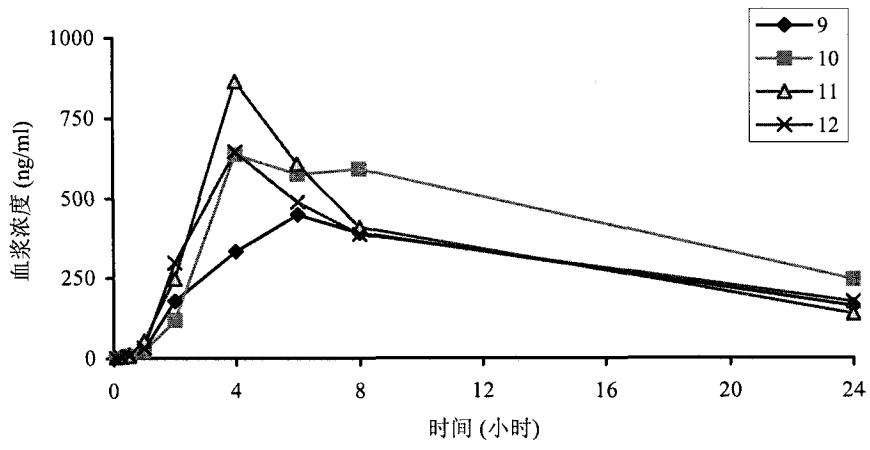


图 2



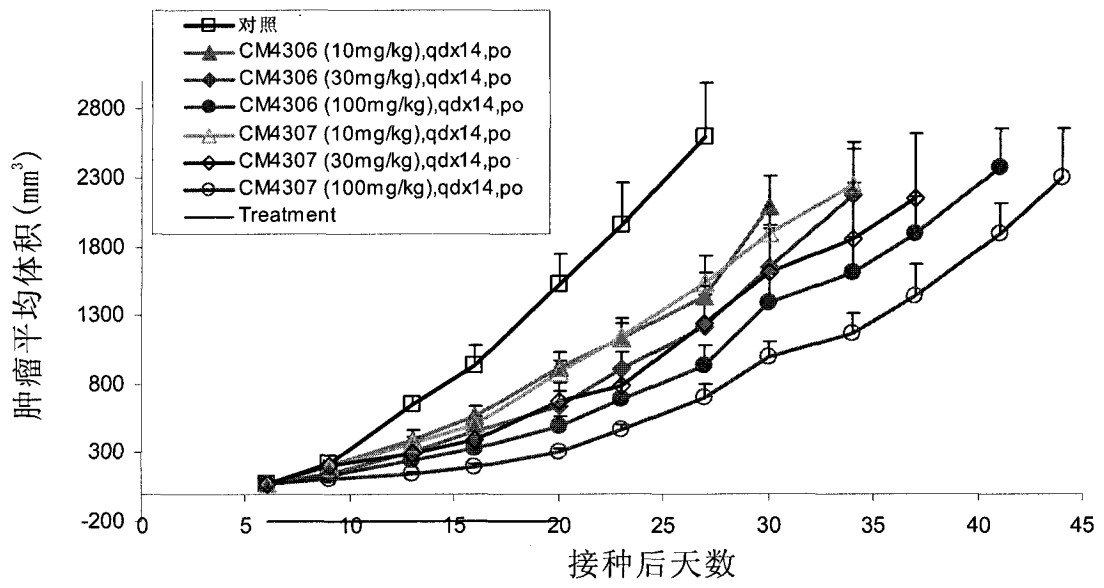


图 3