



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106255499 A

(43)申请公布日 2016.12.21

(21)申请号 201580023083.9

(22)申请日 2015.03.17

(30)优先权数据

61/954,352 2014.03.17 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2016.10.27

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2015/021072 2015.03.17

(87)PCT国际申请的公布数据

W02015/142928 EN 2015.09.24

(71)申请人 埃克塞里艾克西斯公司

地址 美国加利福尼亚州

(72)发明人 D·T·阿夫塔布 S·纳加纳坦

W·许 S·莱西

(74)专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494

代理人 封新琴

(51)Int.Cl.

A61K 31/47(2006.01)

A61P 35/00(2006.01)

权利要求书5页 说明书42页

(54)发明名称

卡博替尼制剂的给药

(57)摘要

本发明涉及施用一种c-Met抑制剂N-(4-[[6,7-双(甲基氧基)喹啉-4-基]氧基]苯基)-N'-(4-氟苯基)环丙烷-1,1-二甲酰胺(卡博替尼)及其代谢物的各种药物制剂以实现期望的药代动力学和药效动力学效果。

1. 一种药物制剂,其包含生理有效量的卡博替尼,其中对选定的人受试者组口服施用所述药物制剂在所述选定的人受试者组中产生:

按照递送的每个140mg卡博替尼剂量为至少60,000ng·h/mL的平均卡博替尼血浆曲线下面积(平均AUC);

按照递送的每个140mg卡博替尼剂量为至少1000ng/mL的平均最大卡博替尼血浆浓度(平均C_{最大});和

至少0.25的AUC(卡博替尼)与卡博替尼加上测量的卡博替尼代谢物的总和的AUC之比:

$AUC(\text{卡博替尼})/AUC(\text{卡博替尼}+\text{测量的代谢物})$;

其中测量AUC是从时间零到最后可测量的浓度的时间。

2. 一种药物制剂,其包含生理有效量的卡博替尼,其中对选定的人受试者组口服施用所述药物制剂在所述选定的人受试者组中产生:

对于每日一次递送的包含100mg卡博替尼的制剂为至少35,000ng·h/mL的卡博替尼的稳态曲线下面积(平均AUC);

按照递送的每个100mg卡博替尼剂量为至少2400ng/mL的平均最大卡博替尼血浆浓度(平均C_{最大});

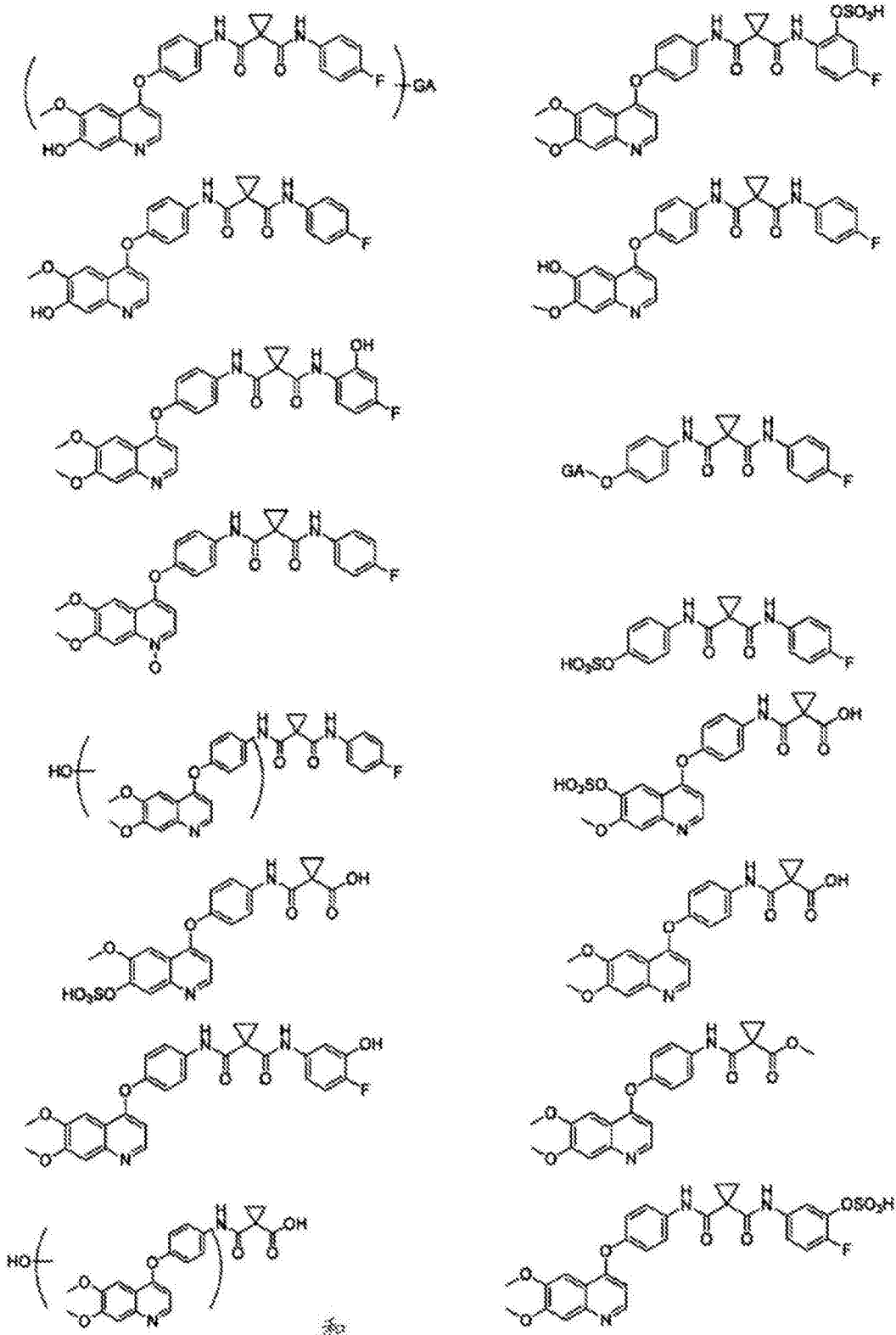
按照递送的每个100mg卡博替尼剂量为至少1100ng/mL的平均最小卡博替尼血浆浓度(平均C_{最小});和

至少0.35的AUC(卡博替尼)与卡博替尼加上测量的卡博替尼代谢物的总和的AUC之比:

$AUC(\text{卡博替尼})/AUC(\text{卡博替尼}+\text{测量的代谢物})$;

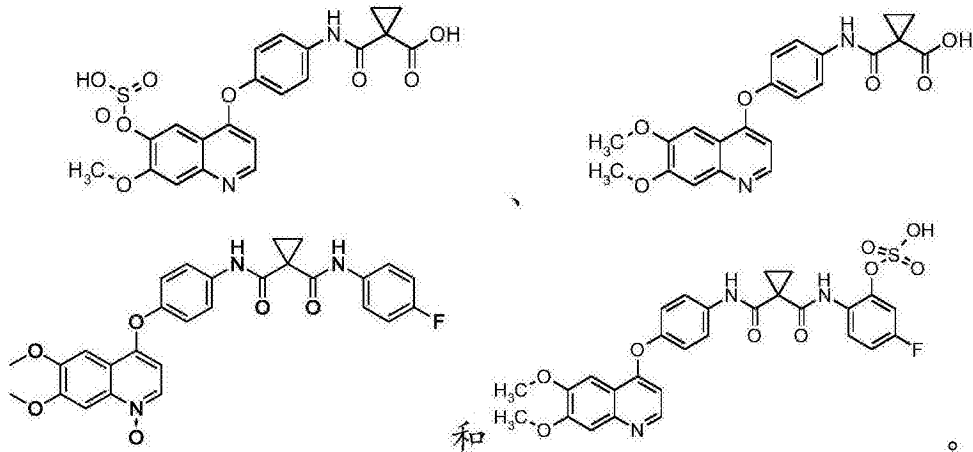
其中在第22天测量AUC。

3. 如权利要求1-2所述的药物制剂,其中所述测量的代谢物选自由以下组成的组:



其中GA是葡萄糖醛酸部分，

4. 如权利要求1-2所述的药物制剂，其中所述测量的代谢物包括以下中的一种或多种：



5. 一种在人类患者中治疗癌症的方法,包括以使得能实现如下的速率向所述患者口服施用包含生理有效量的卡博替尼的药物制剂:

按照递送的每个140mg卡博替尼剂量为至少60,000ng·h/mL的平均卡博替尼血浆曲线下面积(平均AUC);

按照递送的每个140mg卡博替尼剂量为至少1000ng/mL的平均最大卡博替尼血浆浓度(平均C_{最大});和

至少0.25的AUC(卡博替尼)与卡博替尼加上测量的卡博替尼代谢物的总和的AUC之比:

AUC(卡博替尼)/AUC(卡博替尼+测量的代谢物);

其中测量AUC是从时间零到最后可测量的浓度的时间。

6. 一种在人类患者中治疗癌症的方法,包括以使得能实现如下的速率向所述患者口服施用包含生理有效量的卡博替尼的药物制剂:

对于每日一次递送的包含100mg卡博替尼的制剂为至少35,000ng·h/mL的卡博替尼的稳态曲线下面积(平均AUC);

按照递送的每个100mg卡博替尼剂量为至少2400ng/mL的平均最大卡博替尼血浆浓度(平均C_{最大});

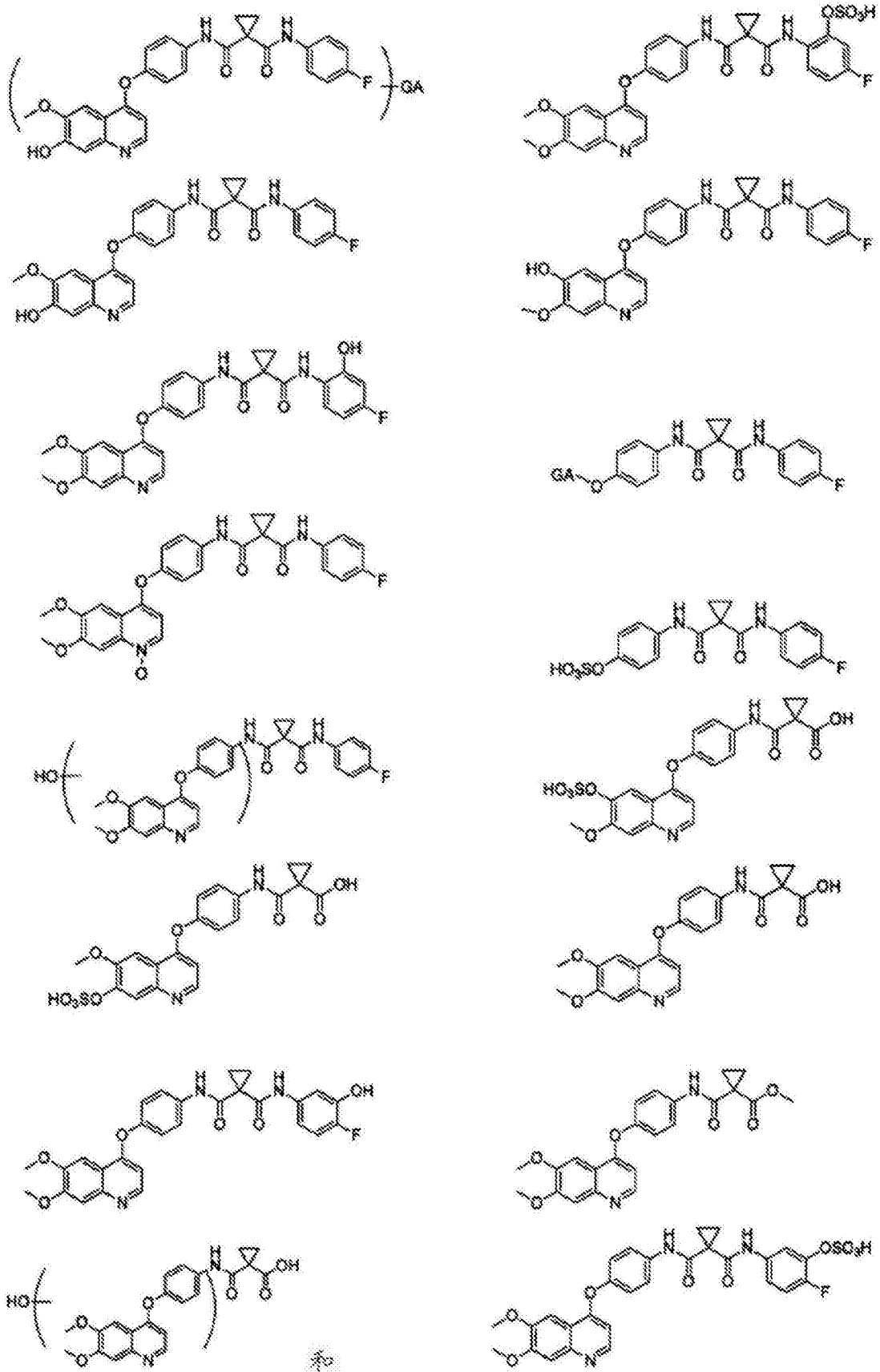
按照递送的每个100mg卡博替尼剂量为至少1100ng/mL的平均最小卡博替尼血浆浓度(平均C_{最大});和

至少0.35的AUC(卡博替尼)与卡博替尼加上测量的卡博替尼代谢物的总和的AUC之比:

AUC(卡博替尼)/AUC(卡博替尼+测量的代谢物);

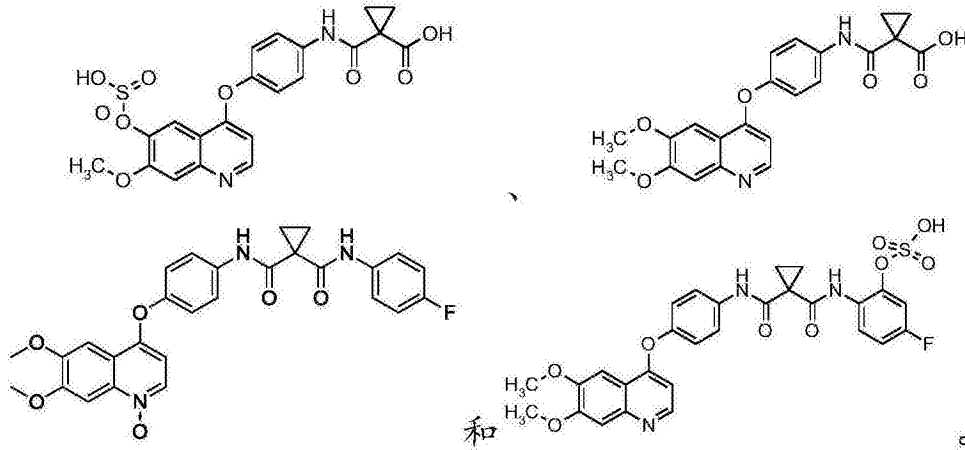
其中在第22天测量AUC。

7. 如权利要求5-6所述的方法,其中所述测量的代谢物选自由以下组成的组:



其中GA是葡萄糖醛酸部分。

8. 如所述的方法,其中所述测量的代谢物包括以下中的一种或多种:



9. 如权利要求5-8所述的方法,其中所述癌症选自卵巢癌、肺癌、甲状腺髓样癌、肝癌、胃肠癌、胰腺癌、骨癌、血液癌、皮肤癌、肾癌、乳腺癌、结肠癌和输卵管癌。

卡博替尼制剂的给药

[0001] 优先权声明

[0002] 本申请要求2014年3月17日提交的美国申请系列No. 61/954,352的优先权。上述申请的全部内容以引用的方式并入本文。

技术领域

[0003] 本发明涉及施用一种c-Met抑制剂N-(4-[[6,7-双(甲基氧基)喹啉-4-基]氧基}苯基)-N'-(4-氟苯基)环丙烷-1,1-二甲酰胺(卡博替尼)及其代谢物的各种药物制剂以实现期望的药代动力学和药效动力学效果。

[0004] 背景

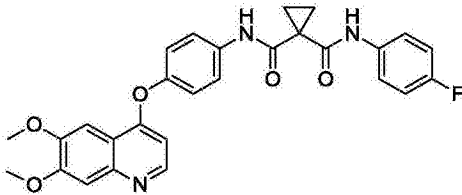
[0005] 传统上,癌症治疗方面的显著改进与识别出通过新型机制起作用的治疗剂相关联。在癌症治疗方面可以利用的一种机制是调节蛋白激酶活性,因为通过蛋白激酶激活的信号转导负责肿瘤细胞的许多特性。蛋白激酶信号转导在例如甲状腺癌、胃癌、头颈癌、肺癌、乳腺癌、前列腺癌和结直肠癌中以及在脑肿瘤细胞的生长和增殖中具有特别相关性。

[0006] 蛋白激酶可以被分类为受体型或非受体型。受体型酪氨酸激酶由大量具有不同生物活性的跨膜受体组成。关于受体型酪氨酸激酶的详细讨论,参见Plowman等人, DN&P 7 (6):334-339, 1994。由于蛋白激酶及其配体在各种细胞活动中发挥关键作用,因此蛋白激酶的酶活性的失调可导致细胞特性改变,如与癌症相关联的不受控制的细胞生长。除了肿瘤学指征之外,在许多其它病理疾病中也牵涉了改变的激酶信号传导,包括例如免疫病症、心血管疾病、炎症疾病和变性疾病。因此,蛋白激酶是小分子药物研发的有吸引力的靶标。关于抗血管生成活性和抗增殖活性的小分子调节的特别有吸引力的靶标包括受体型酪氨酸激酶Ret、c-Met和VEGFR2。

[0007] 激酶c-Met是包括Met、Ron和Sea的异源二聚受体酪氨酸激酶(RTK)亚家族的原型成员。c-Met的内源性配体是肝细胞生长因子(HGF),一种有效的血管生成诱导物。结合c-Met的是肝细胞生长因子(HGF),即一种有效的血管生成诱导物。HGF对c-Met的结合经由自磷酸化诱导受体的活化,导致受体依赖性信号传导增加,这促进了细胞生长和侵袭。已显示抗-HGF抗体或HGF拮抗剂抑制体内肿瘤转移(参见Maulik等人, Cytokine&Growth Factor Reviews, 2002, 13, 41-59)。已表明c-Met、VEGFR2和/或Ret在很多种肿瘤类型上过表达,包括乳腺癌、结肠癌、肾癌、肺癌、鳞状细胞骨髓性白血病、血管瘤、黑素瘤和星形细胞肿瘤(其包括胶质母细胞瘤、巨细胞胶质母细胞瘤、胶质肉瘤和带有少突胶质细胞组分的胶质母细胞瘤)。Ret蛋白是具有酪氨酸激酶活性的跨膜受体。Ret在甲状腺髓样癌的大多数家族形式中突变。这些突变激活Ret的激酶功能,并将其转化成致癌形式。

[0008] 因此,特异性抑制、调控和/或调节激酶(特别是包括上述的Ret、c-Met和VEGFR2)的信号转导的小分子化合物作为治疗或预防与异常细胞增殖和血管生成相关联的疾病状态的手段是特别可取的。一种这样的小分子是XL184,别称为N-(4-[[6,7-双(甲基氧基)喹啉-4-基]氧基}苯基)-N'-(4-氟苯基)环丙烷-1,1-二甲酰胺,即卡博替尼,以及作为COMETRIQ™(卡博替尼的S-苹果酸盐)。卡博替尼具有以下化学结构:

[0009]



[0010] 在2012年11月,卡博替尼在美国获得监管部门批准用于治疗渐进转移性甲状腺髓样癌。卡博替尼的其他临床试验正在进行中。

[0011] WO 2005/030140(以引用方式并入本文)描述了卡博替尼的合成(实施例48),并且还公开了该分子抑制、调控和/或调节激酶的信号转导的治疗活性(测定,表4,条目289)。实施例48在WO 2005/030140的第[0353]段落。

[0012] 仍然需要鉴定用于卡博替尼治疗癌症的药物制剂和给药方案。

[0013] 发明概述

[0014] 本发明满足这些及其它需求,本发明涉及一种c-Met抑制剂N-(4-{[6,7-双(甲氧基)喹啉-4-基]氧基}苯基)-N'-(4-氟苯基)环丙烷-1,1-二甲酰胺(卡博替尼)及其代谢物的各种药物制剂,用以实现期望的药代动力学和药效动力学效果。

[0015] 在一方面,本发明涉及包含生理有效量的卡博替尼的药物制剂,其中对选定的人受试者组口服施用所述药物制剂在所述选定的人受试者组中产生:

[0016] 按照递送的每个140mg卡博替尼剂量为至少60,000ng·h/mL的平均卡博替尼血浆曲线下面积(平均AUC);

[0017] 按照递送的每个140mg卡博替尼剂量为至少1000ng/mL的平均最大卡博替尼血浆浓度(平均C_{最大});和

[0018] 至少0.25的AUC(卡博替尼)与卡博替尼加上测定的卡博替尼代谢物的总和的AUC之比:

[0019] AUC(卡博替尼)/AUC(卡博替尼+测定的代谢物);

[0020] 其中测量AUC是从时间零到最后可测量的浓度的时间。

[0021] 在另一方面,本发明涉及包含生理有效量的卡博替尼的药物制剂,其中对选定的人受试者组口服施用所述药物制剂在所述选定的人受试者组中产生:

[0022] 对于每日一次递送的包含100mg卡博替尼的制剂为至少35,000ng·h/mL的卡博替尼的稳态曲线下面积(平均AUC);

[0023] 按照递送的每个100mg卡博替尼剂量为至少2400ng/mL的平均最大卡博替尼血浆浓度(平均C_{最大});

[0024] 按照递送的每个100mg卡博替尼剂量为至少1100ng/mL的平均最小卡博替尼血浆浓度(平均C_{最大});和

[0025] 至少0.35的AUC(卡博替尼)与卡博替尼加上测定的卡博替尼代谢物的总和的AUC之比:

[0026] AUC(卡博替尼)/AUC(卡博替尼+测定的代谢物);

[0027] 其中在第22天测量AUC。

[0028] 在进一步的方面中,本发明涉及在人类患者中治疗癌症的方法,包括以使得能实现如下的速率对所述患者口服施用包含生理有效量的卡博替尼的药物制剂:

[0029] 按照递送的每个140mg卡博替尼剂量为至少60,000ng·h/mL的平均卡博替尼血浆

曲线下面积(平均AUC);

[0030] 按照递送的每个140mg卡博替尼剂量为至少1000ng/mL的平均最大卡博替尼血浆浓度(平均C_{最大});和

[0031] 至少0.25的AUC(卡博替尼)与卡博替尼加上测定的卡博替尼代谢物的总和的AUC之比;

[0032] AUC(卡博替尼)/AUC(卡博替尼+测定的代谢物);

[0033] 其中测量AUC是从时间零到最后可测量的浓度的时间。

[0034] 在另一方面,本发明涉及在人类患者中治疗癌症的方法,包括以使得能实现如下的速率对所述患者口服施用包含生理有效量的卡博替尼的药物制剂:

[0035] 对于每日一次递送的包含100mg卡博替尼的制剂为至少35,000ng·h/mL的卡博替尼的稳态曲线下面积(平均AUC);

[0036] 按照递送的每个100mg卡博替尼剂量为至少2400ng/mL的平均最大卡博替尼血浆浓度(平均C_{最大});

[0037] 按照递送的每个100mg卡博替尼剂量为至少1100ng/mL的平均最小卡博替尼血浆浓度(平均C_{最大});和

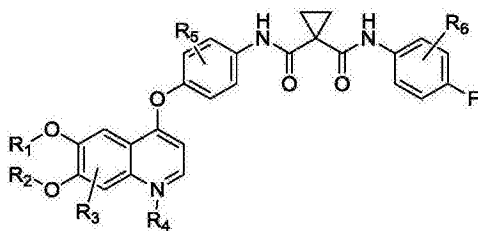
[0038] 至少0.35的AUC(卡博替尼)与卡博替尼加上测定的卡博替尼代谢物的总和的AUC之比;

[0039] AUC(卡博替尼)/AUC(卡博替尼+测定的代谢物);

[0040] 其中在第22天测量AUC。

[0041] 在这些方面中,“代谢物”是指式Ia的化合物

[0042]



Ia

[0043] 具有以下属性中的一种或多种:

[0044] a) R₁或R₂之一是H、SO₃H或葡萄糖醛酸部分,且另一者是Me;

[0045] b) R₃是OH或OSO₃H;

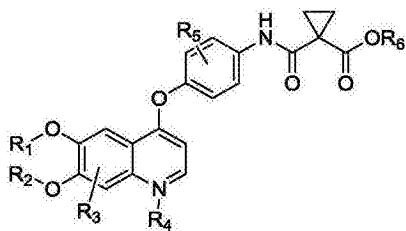
[0046] c) R₄是O⁻,条件是当R₄是O⁻时,N是N⁺;

[0047] d) R₅是OH或OSO₃H;且

[0048] e) R₆是OH或OSO₃H。

[0049] “代谢物”还指式Ib的化合物

[0050]



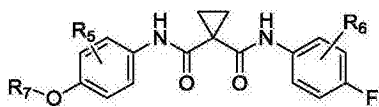
Ib

[0051] 其中：

[0052] a) R₁或R₂是Me；或者R₁或R₂之一是H、SO₃H或葡萄糖醛酸部分，且另一者是Me；[0053] b) R₃是H、OH或OSO₃H；[0054] c) R₄不存在或者是O⁻，条件是当R₄是O⁻时，N是N⁺；且[0055] d) R₆是H或Me。

[0056] “代谢物”还指式Ic的化合物

[0057]



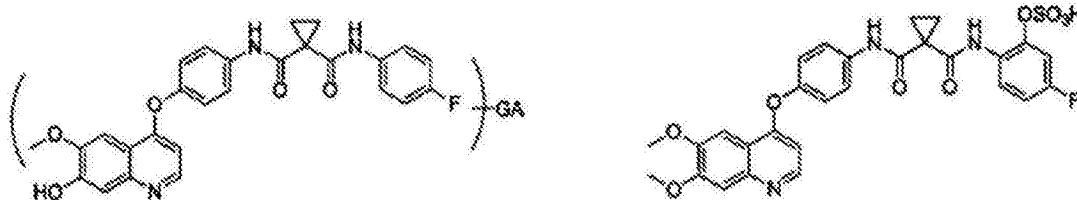
Ic

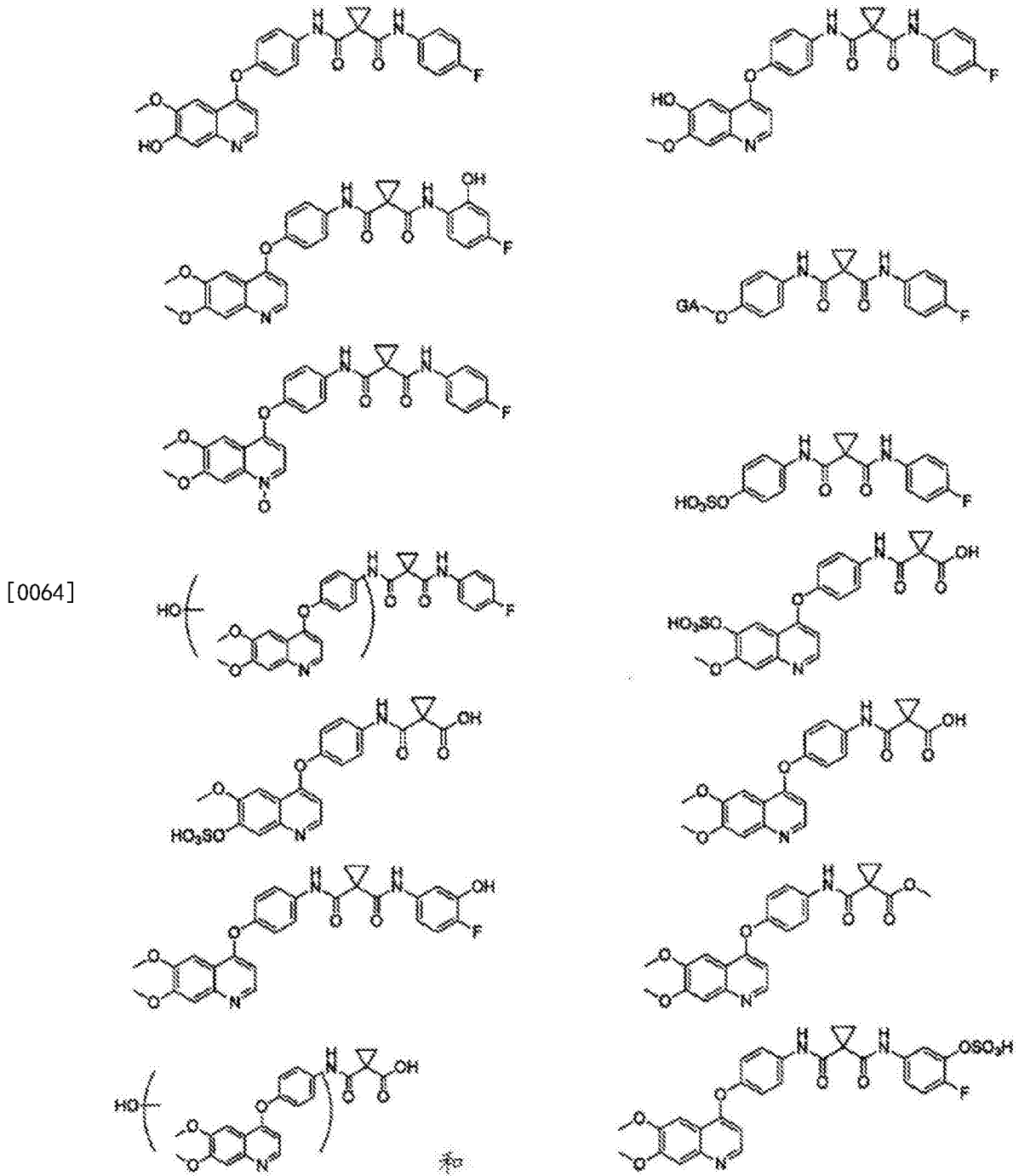
[0058] 其中：


[0059] a) R₅是OH或OSO₃H；且[0060] b) R₆是OH或OSO₃H；且[0061] c) R₇是H、SO₃H或葡萄糖醛酸部分。

[0062] 具体地，代谢物包括：

[0063]





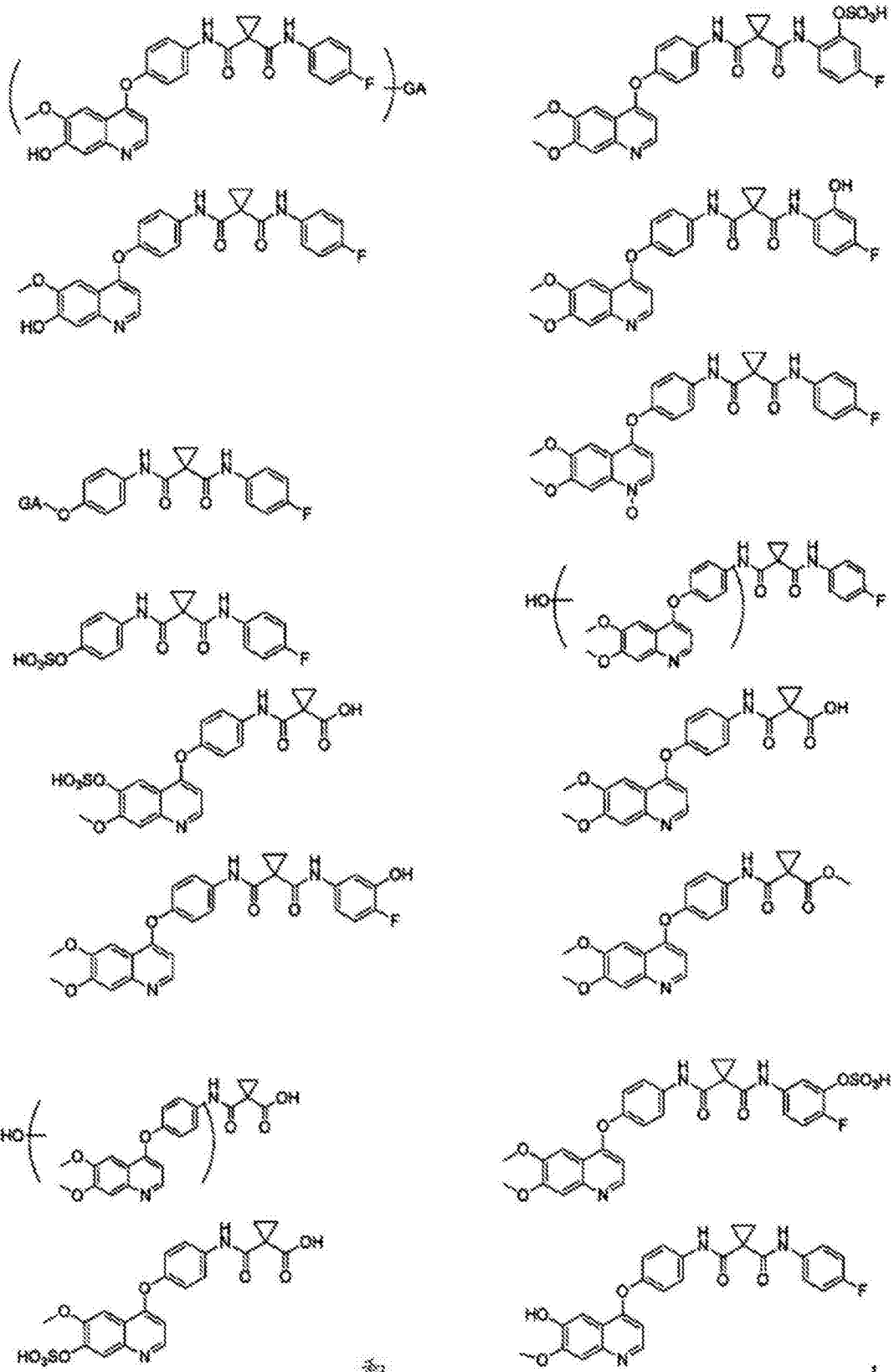
[0065] 其中GA是葡萄糖醛酸部分,如在例如  中。

具体实施方式

[0066] 本文中描述的代谢物在下文中可以被称为“人体代谢物”。卡博替尼的人体代谢物包括在根据关于给药和监测的临床方案摄取或施加卡博替尼之后形成在人受试者身体中的卡博替尼的代谢物,包括本文中描述的那些。在各种实施方案中,该术语包括体内形成的分子物质,无论该物质是否甚至在特定的试验中被检测到或分析过。还可预期一些代谢物

受地在安全性、有效性、稳定性及其它所需性质方面影响化合物的性质。

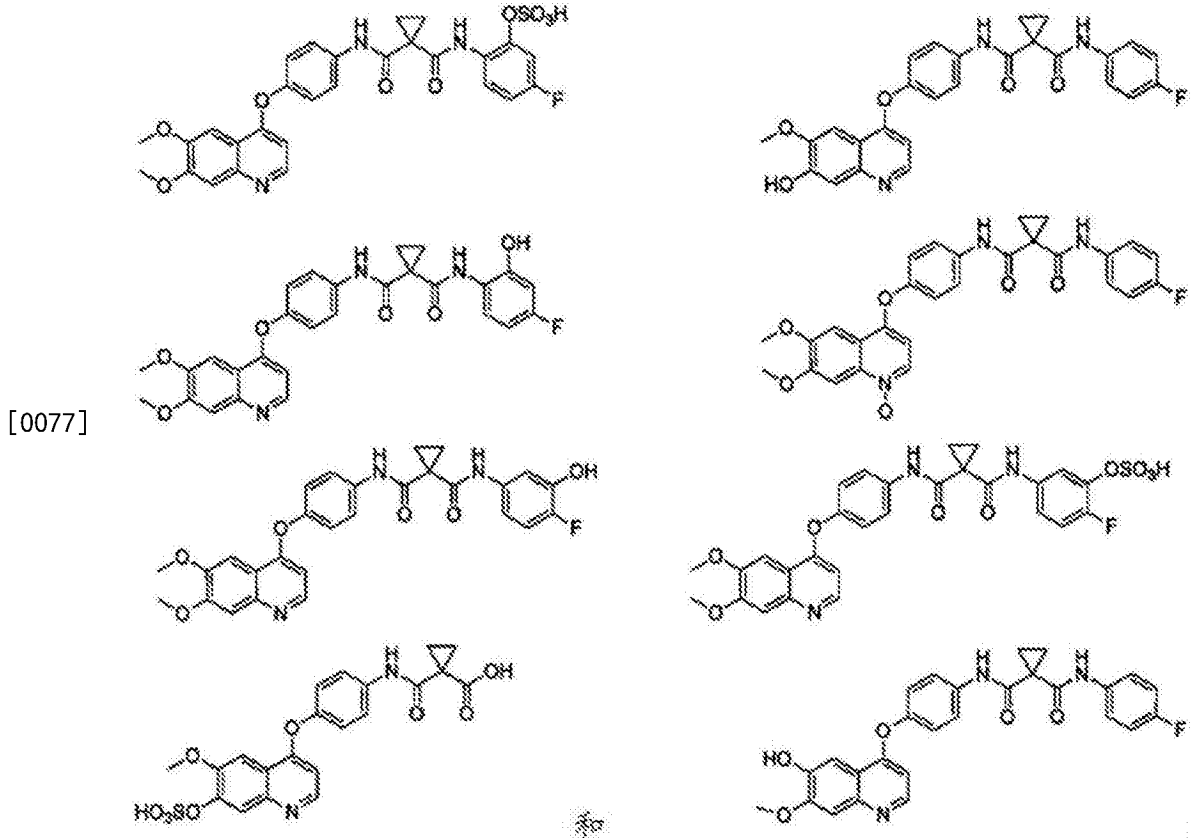
[0073] 方案1中描述的分离的代谢物包括：

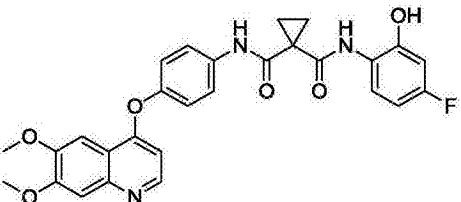


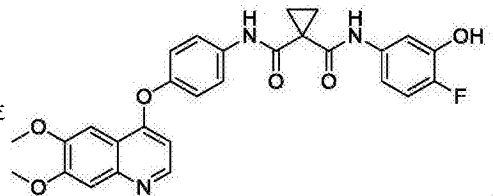
[0074]

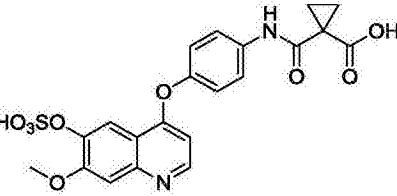
[0075] 其中GA是葡萄糖醛酸。

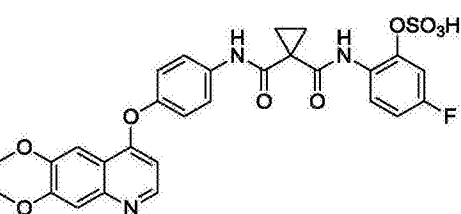
[0076] 更具体地,代谢物包括：



[0078] 特别地,分离的代谢物是  或其药学上可接受的盐。

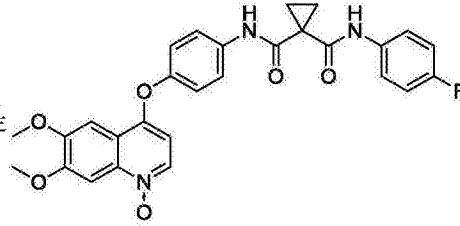
[0079] 特别地,分离的代谢物是  或其药学上可接受的盐。

[0080] 特别地,分离的代谢物是  或其药学上可接受的盐。

[0081] 特别地,分离的代谢物是  或其药学上可接受的盐。

盐。

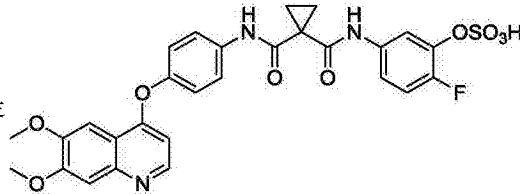
[0082] 特别地,分离的代谢物是



或其药学上可接受的

盐。

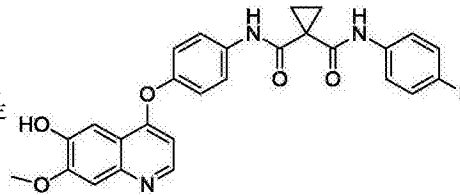
[0083] 特别地,分离的代谢物是



或其药学上可接

受的盐。

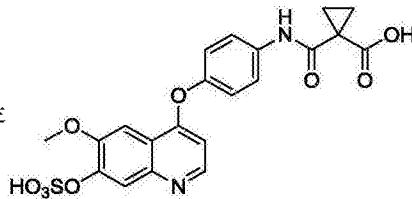
[0084] 特别地,分离的代谢物是



或其药学上可接受的

盐。

[0085] 特别地,分离的代谢物是



或其药学上可接受的盐。

[0086] 本发明中预期的药物制剂可选自以下之一:

[0087]

成分	(% w/w)
卡博替尼	31.68
微晶纤维素	38.85
无水乳糖	19.42

[0088]

羟丙基纤维素	3.00
交联羧甲纤维素钠	3.00
总颗粒内	95.95
二氧化硅, 胶体	0.30
交联羧甲纤维素钠	3.00
硬脂酸镁	0.75
总计	100.00

[0089]

成分	(%w/w)
卡博替尼	25.0-33.3
微晶纤维素	适量
羟丙基纤维素	3
泊洛沙姆	0-3
交联羧甲纤维素钠	6.0
胶体二氧化硅	0.5
硬脂酸镁	0.5-1.0
总计	100

[0090]

成分	理论量 (mg/单位剂量)
卡博替尼	100.0
微晶纤维素 PH-102	155.4
无水乳糖 60M	77.7
羟丙基纤维素, EXF	12.0
交联羧甲纤维素钠	24
胶体二氧化硅	1.2
硬脂酸镁 (非牛)	3.0
欧巴代黄	16.0
总计	416

[0091]

组分	重量/重量百分比
卡博替尼	25-29

[0092]

微晶纤维素	适量
无水乳糖	40-44
羟丙基纤维素	2-4
交联羧甲纤维素钠	2-8
胶体二氧化硅	0.1-0.4
硬脂酸镁	0.7-0.9
总计	100

[0093]

成分	%w/w
卡博替尼	12.67
MCC	51.52
乳糖	25.76

羟丙基纤维素	3.0
交联羧甲纤维素钠	6.0
胶体二氧化硅	0.3
硬脂酸镁	0.75
总计	100

[0094]

成分	mg/单位剂量
卡博替尼	25
硅化微晶纤维素	196.75
交联羧甲纤维素钠	12.5
羟乙酸淀粉钠	12.5
气相法二氧化硅	0.75
硬脂酸	2.5
总填充重量	250

[0095]

成分	mg/单位剂量
卡博替尼	100
硅化微晶纤维素	75.40
交联羧甲纤维素钠	10.00
羟乙酸淀粉钠	10.00

[0096]

气相法二氧化硅	0.6
硬脂酸	4.0
总填充重量	200

[0097]

	mg/单位剂量
成分	50mg
卡博替尼	63.35
微晶纤维素	95.39
交联羧甲纤维素钠	9.05
羟乙酸淀粉钠	9.05
气相法二氧化硅	0.54
硬脂酸	3.62
总填充重量	181.00

[0098]

	mg/单位剂量
成分	60mg
卡博替尼	73.95
微晶纤维素	114.36

交联羧甲纤维素钠	10.85
羟乙酸淀粉钠	10.85
气相法二氧化硅	0.65
硬脂酸	4.34
总填充重量	217.00

[0099]

成分	% w/w
卡博替尼	31.7
微晶纤维素 (Avicel PH-102)	38.9
无水乳糖 (60M)	19.4
羟丙基纤维素 (EXF)	3.0
交联羧甲纤维素钠 (Ac-Di-Sol)	6.0
胶体二氧化硅,	0.3
硬脂酸镁	0.75

[0100]

欧巴代黄薄膜包衣, 其包括:	
- HPMC 2910 /羟丙甲纤维素 6 cp	
- 二氧化钛	4.00
- 三醋精	
- 氧化铁黄	

[0101] 本发明还涉及药物制剂,其包含一种或多种抑制C_{Met}或具有其它有益属性的卡博替尼分离的代谢物。分离的代谢物选自:

浓度(平均 $C_{\text{最大}}$);

[0114] 按照递送的每个100mg卡博替尼剂量为至少1100ng/mL的平均最小卡博替尼血浆浓度(平均 $C_{\text{最大}}$);和

[0115] 至少0.35的AUC(卡博替尼)与卡博替尼加上测定的卡博替尼代谢物的总和的AUC之比;

[0116] $AUC(\text{卡博替尼})/AUC(\text{卡博替尼}+\text{测定的代谢物})$;

[0117] 其中在第22天测量AUC。

[0118] “癌症”包括的肿瘤类型诸如包括以下的肿瘤类型:乳腺癌、结肠癌、肾癌、肺癌、鳞状细胞骨髓性白血病、血管瘤、黑素瘤、星形细胞瘤和胶质母细胞瘤以及其它细胞增殖性疾病状态,包括但不限于:心脏:肉瘤(血管肉瘤、纤维肉瘤、横纹肌肉瘤、脂肪肉瘤)、粘液瘤、横纹肌瘤、纤维瘤、脂肪瘤和畸胎瘤;肺:支气管癌(鳞状细胞、未分化小细胞、未分化大细胞、腺癌)、肺泡(细支气管)癌、支气管腺瘤、肉瘤、淋巴瘤、软骨错构瘤、间皮瘤(inesothelioma);胃肠道:食管(鳞状细胞癌、腺癌、平滑肌肉瘤、淋巴瘤)、胃(癌、淋巴瘤、平滑肌肉瘤)、胰腺(导管腺癌、胰岛瘤、胰高血糖素瘤、胃泌素瘤、类癌瘤、血管活性肠肽瘤)、小肠(腺癌、淋巴瘤、类癌瘤、卡波氏肉瘤、平滑肌瘤、血管瘤、脂肪瘤、神经纤维瘤、纤维瘤)、大肠(腺癌、管状腺瘤、绒毛状腺瘤、错构瘤,平滑肌瘤);泌尿生殖道:肾(腺癌、成肾细胞瘤[肾母细胞瘤]、淋巴瘤、白血病、肾细胞癌)、膀胱和尿道(鳞状细胞癌、移行细胞癌、腺癌)、前列腺(腺癌、肉瘤、前列腺的小细胞癌)、睾丸(精原细胞瘤、畸胎瘤、胚胎癌、畸胎瘤、绒毛膜癌、肉瘤、间质细胞癌、纤维瘤、纤维腺瘤、腺瘤样肿瘤、脂肪瘤);肝:肝癌(肝细胞癌)、胆管癌、肝母细胞瘤、血管肉瘤、肝细胞腺瘤、血管瘤;骨:骨原性肉瘤(骨肉瘤)、纤维肉瘤、恶性纤维组织细胞瘤、软骨肉瘤、尤因氏肉瘤、恶性淋巴瘤(网状细胞肉瘤)、恶性巨细胞瘤脊索瘤、骨软骨瘤(骨软骨外生骨疣)、良性软骨瘤、成软骨细胞瘤、软骨粘液样纤维瘤、骨样骨瘤和巨细胞瘤;神经系统:颅骨(骨瘤、血管瘤、肉芽肿瘤、黄瘤、畸形性骨炎)、脑膜(脑膜瘤、脑膜肉瘤、神经胶质过多)、脑(星形细胞瘤、髓母细胞瘤、胶质瘤、室管膜瘤、生殖细胞瘤[松果体瘤]、多形性胶质母细胞瘤、少突神经胶质瘤、神经鞘瘤、视网膜母细胞瘤、先天性肿瘤)、脊髓神经纤维瘤、脑膜瘤、胶质瘤、肉瘤);妇科:子宫(子宫内膜癌)、宫颈(宫颈癌、肿瘤前期宫颈非典型增生)、卵巢(卵巢癌[浆液性囊腺癌、粘液性囊腺癌、未分类癌]、颗粒-卵泡膜细胞瘤、塞托利-莱迪希细胞瘤、无性细胞瘤、恶性畸胎瘤)、外阴(鳞状细胞癌、上皮内癌、腺癌、纤维肉瘤、黑素瘤)、阴道(透明细胞癌、鳞状细胞癌、葡萄状肉瘤(胚胎性横纹肌肉瘤)、输卵管(癌));血液系统:血液(骨髓性白血病[急性和慢性]、急性成淋巴细胞性白血病、慢性淋巴细胞性白血病、骨髓增生性疾病、多发性骨髓瘤、骨髓增生异常综合征)、霍奇金病、非霍奇金淋巴瘤[恶性淋巴瘤];皮肤:恶性黑素瘤、基底细胞癌、鳞状细胞癌、卡波氏肉瘤、发育不良痣、脂肪瘤、血管瘤、皮肤纤维瘤、瘢痕瘤、银屑病;和肾上腺:神经母细胞瘤;以及甲状腺的癌症,包括甲状腺髓样癌。因此,如本文所提供的术语“癌细胞”包括受上文确定的条件中的任一者侵害的细胞。

[0119] 在一个实施方案中,癌症选自卵巢癌、前列腺癌、肺癌、甲状腺髓样癌、肝癌、胃肠癌、胰腺癌、骨癌、血液癌、皮肤癌、肾癌、乳腺癌、结肠癌和输卵管癌。

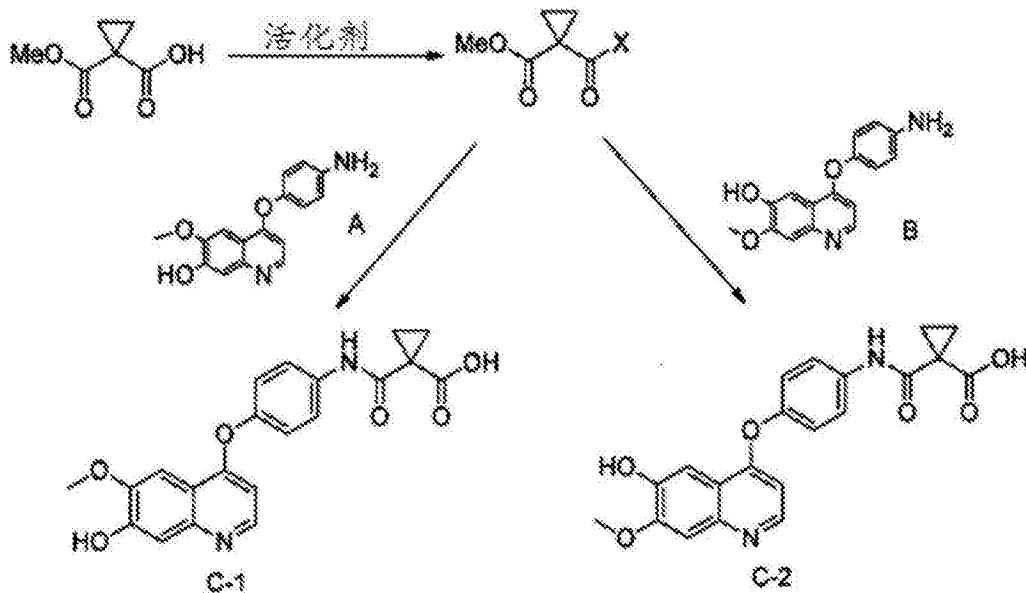
[0120] 在另一实施方案中,所述疾病或病症是卵巢癌。

[0121] 在另一实施方案中,所述疾病或病症是前列腺癌。

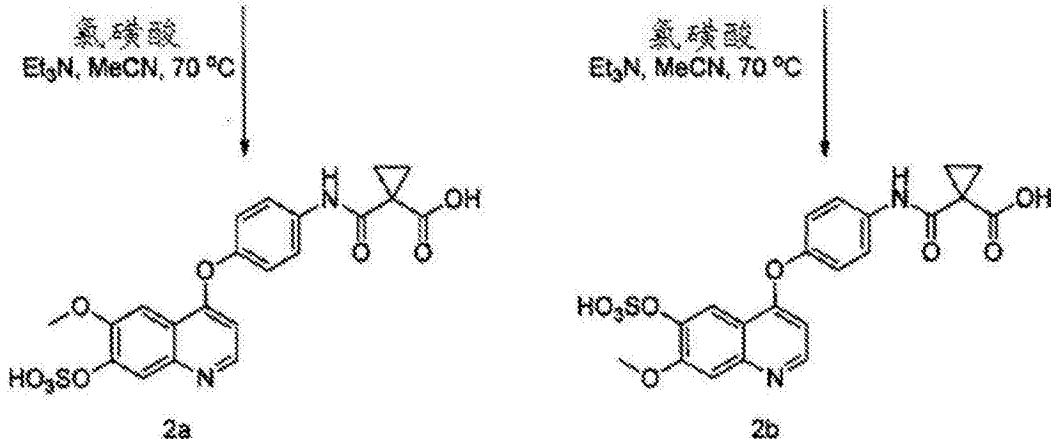
- [0122] 在另一实施方案中,所述疾病或病症是肺癌。
- [0123] 在另一实施方案中,所述疾病或病症是甲状腺髓样癌。
- [0124] 在另一实施方案中,所述疾病或病症是肝癌。
- [0125] 在另一实施方案中,所述疾病或病症是胃肠癌。
- [0126] 在另一实施方案中,所述疾病或病症是胰腺癌。
- [0127] 在另一实施方案中,所述疾病或病症是骨癌。
- [0128] 在另一实施方案中,所述疾病或病症是血液癌。
- [0129] 在另一实施方案中,所述疾病或病症是皮肤癌。
- [0130] 在另一实施方案中,所述疾病或病症是肾癌。
- [0131] 在另一实施方案中,所述疾病或病症是乳腺癌。
- [0132] 在另一实施方案中,所述疾病或病症是结肠癌。
- [0133] 在另一实施方案中,所述疾病或病症是输卵管癌。
- [0134] 在另一实施方案中,所述疾病或病症是肝癌,其中所述肝癌是肝细胞癌、胆管癌、肝母细胞瘤、血管肉瘤、肝细胞腺瘤或血管瘤。
- [0135] 在另一实施方案中,所述疾病或病症是胃肠癌,其中所述胃肠癌是食道的癌症,其是鳞状细胞癌、腺癌或平滑肌肉瘤;胃的癌症,其是癌或淋巴瘤;胰腺的癌症,其是导管腺癌、胰岛瘤、胰高血糖素瘤、胃泌素瘤、类癌瘤或血管活性肠肽瘤;小肠的癌症,其是腺癌、淋巴瘤、类癌瘤、卡波氏肉瘤、平滑肌瘤、血管瘤、脂肪瘤,或大肠的癌症,其是腺癌、管状腺瘤、绒毛状腺瘤、错构瘤或平滑肌瘤。
- [0136] 在另一实施方案中,所述疾病或病症是胰腺的癌症,其中所述胰腺的癌症是导管腺癌、胰岛瘤、胰高血糖素瘤、胃泌素瘤、类癌瘤或血管活性肠肽瘤。
- [0137] 在另一实施方案中,所述疾病或病症是骨癌,其中所述骨癌是骨肉瘤、纤维肉瘤、恶性纤维组织细胞瘤、软骨肉瘤、尤因氏肉瘤、恶性网状细胞肉瘤、多发性骨髓瘤、恶性巨细胞瘤脊索瘤、骨软骨外生骨疣、成软骨细胞瘤、软骨粘液样纤维瘤或骨样骨瘤。
- [0138] 在另一实施方案中,所述疾病或病症是血液癌,其中所述血液癌是骨髓性白血病、急性成淋巴细胞性白血病、慢性淋巴细胞性白血病、骨髓增生性疾病、多发性骨髓瘤或骨髓增生异常综合征。
- [0139] 在另一实施方案中,所述疾病或病症是皮肤癌,其中所述皮肤癌是恶性黑素瘤、基底细胞癌、鳞状细胞癌或卡波氏肉瘤。
- [0140] 在另一实施方案中,所述疾病或病症是肾肿瘤或肾细胞癌。
- [0141] 在另一实施方案中,所述疾病或病症是乳腺癌。
- [0142] 在另一实施方案中,所述疾病或病症是结肠癌肿瘤。
- [0143] 在另一实施方案中,所述疾病或病症是输卵管癌。
- [0144] 分离的代谢物的制备
- [0145] 可根据技术人员可用的方法制出本文公开的分离的代谢物。例如,如方案2中描述的那样,可采用肽化学方法由相应的胺和羧酸制出酚C-1和C-2。多种工艺和试剂可用于实现这类转化,并且它们比如在Tetrahedron 61(2005)10827-10852中有所描述。代表性的实例描述于方案2中,其中活化剂是亚硫酸氯、草酰氯等。相应的酰氯分别与化合物A或B反应,得到酚C-1或C-2。酚C-1或C-2与诸如氯磺酸或三氧化硫-三甲胺复合物的硫酸化剂在诸如

三乙胺、碱金属氢氧化物等的碱的存在下进行后续反应可分别得到相应的硫酸氢盐2b或2a。

[0146] 方案2

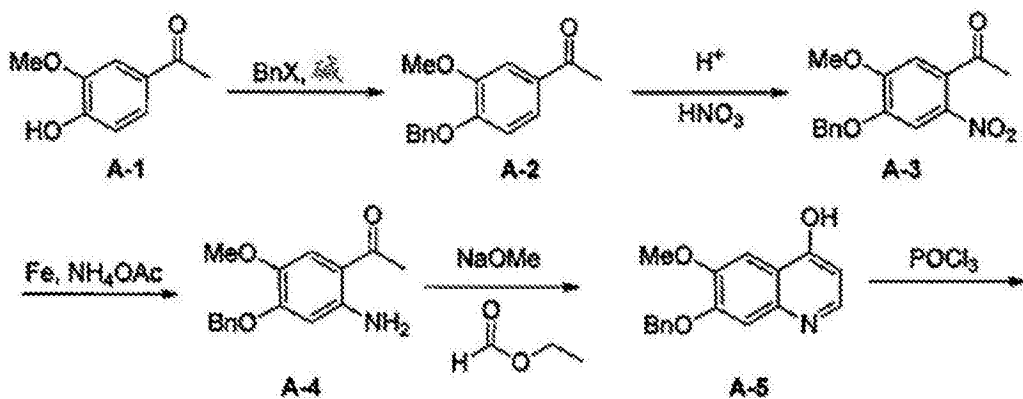


[0147]

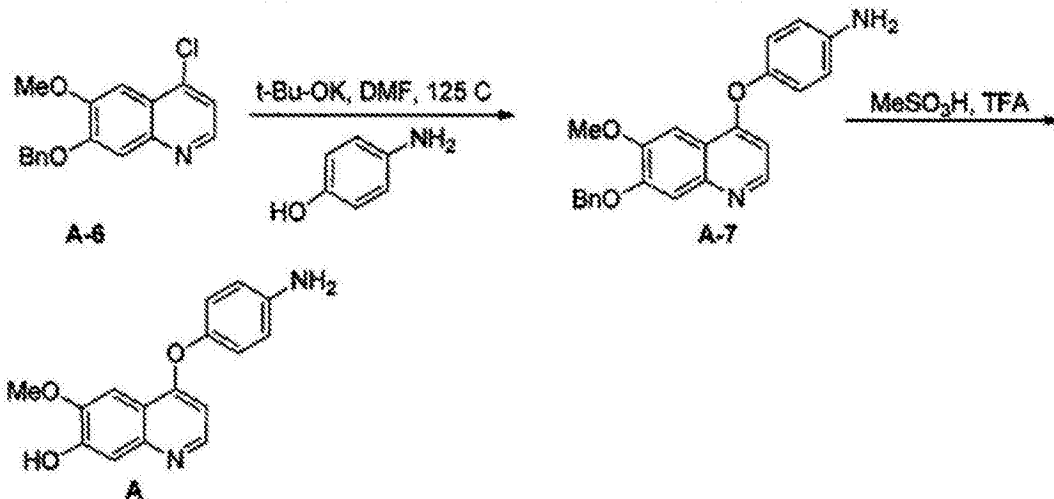


[0148] 根据方案3制备化合物A。使用苄基卤等(BnX, 其中X是Cl、Br或I、甲磺酸根(OMs)、三氟甲磺酸根(OTf)或甲苯磺酸根(OTs))苄化A-1得到苄基保护的A-2。使用硝酸和硫酸的混合物硝化A-2得到A-3。可采用诸如铁和乙酸铵的标准硝基还原条件来实现将A-3中的硝基还原成胺A-4。用甲酸乙酯和诸如甲醇钠的醇盐环化A-4得到A-5。使用氧氯化磷将A-5转化成相应的氯化物得到A-6。A-6与4-氨基苯酚反应得到A-7, 其用甲磺酸去保护, 得到化合物A。

[0149] 方案3

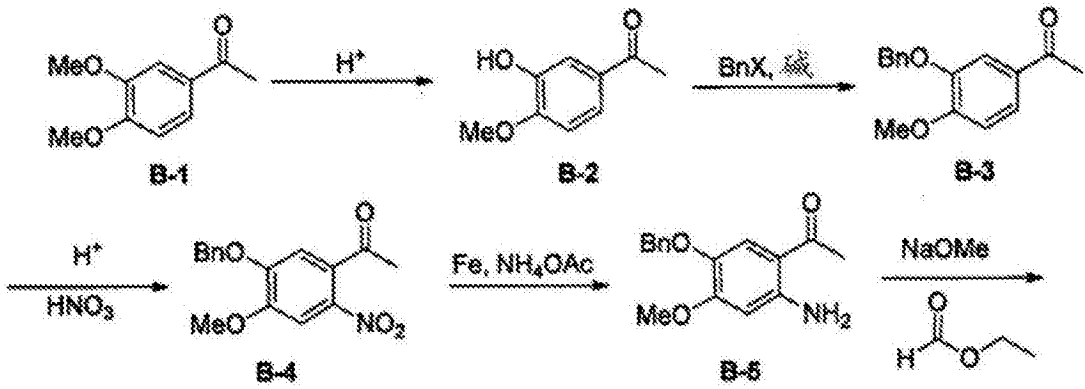


[0150]

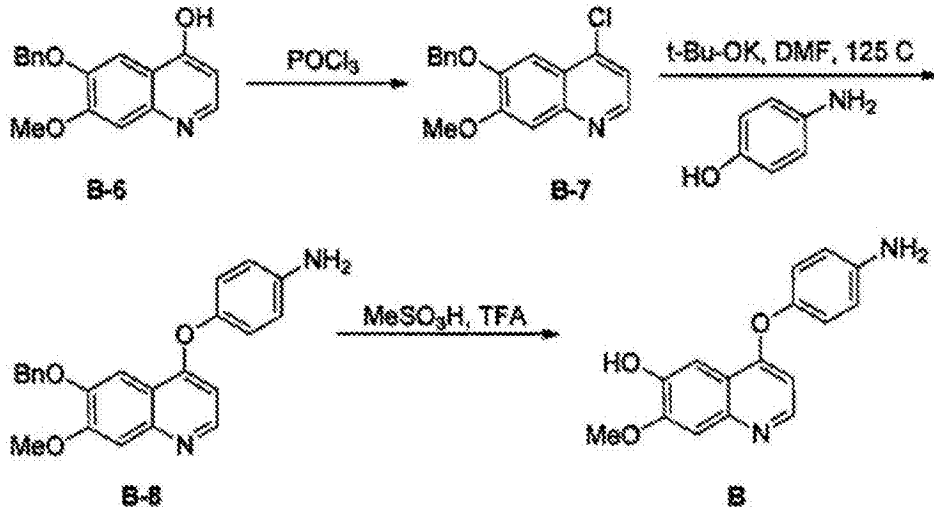


[0151] 类似地,根据方案4制备化合物B。B-1去甲基化得到B-2。使用苄基卤等(BnX ,其中X是Cl、Br或I、甲磺酸根(OMs)、三氟甲磺酸根(OTf)或甲苯磺酸根(OTs))苄化B-2。使用硝酸和硫酸的混合物硝化B-3得到B-4。可采用诸如铁和乙酸铵的标准硝基还原条件来实现将B-4中的硝基还原成胺B-5。用甲酸乙酯和诸如甲醇钠的醇盐环化B-5得到B-6。使用氧氯化磷将B-6转化成相应的氯化物得到B-7。B-7与4-氨基苯酚反应得到B-8,其用甲磺酸去保护,得到化合物B。

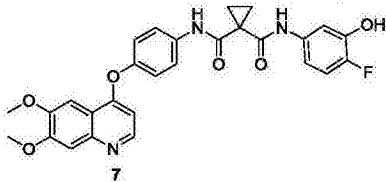
[0152] 方案4



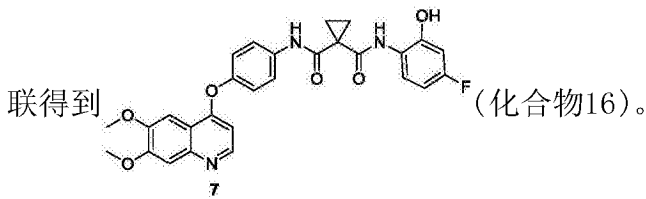
[0153]



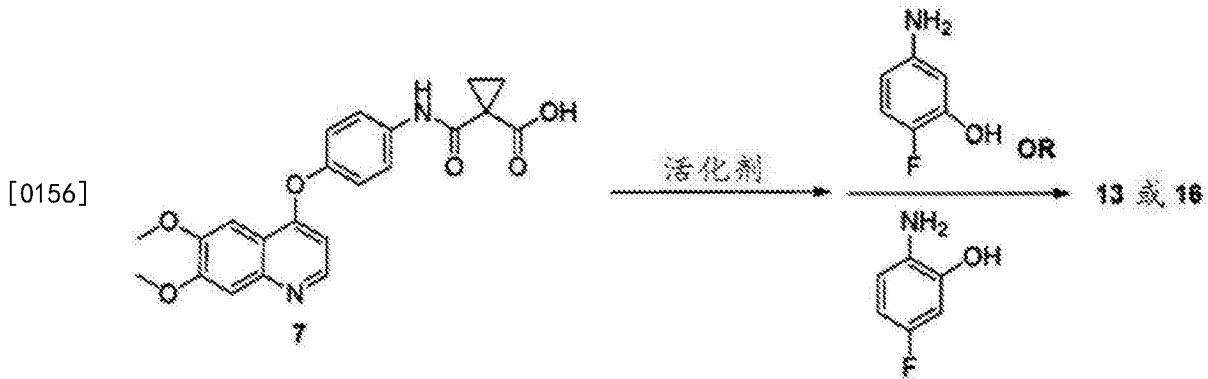
[0154] 可类似地由化合物7制备酚13和16,化合物7的合成公开在W0 2005/030140中(作为实施例73)。因此,在方案5中,7与2-氨基-5-氟苯酚(CAS登记号53981-24-1)偶联得到



(化合物13)。7与5-氨基-2-氟苯酚(CAS登记号100367-48-4)偶



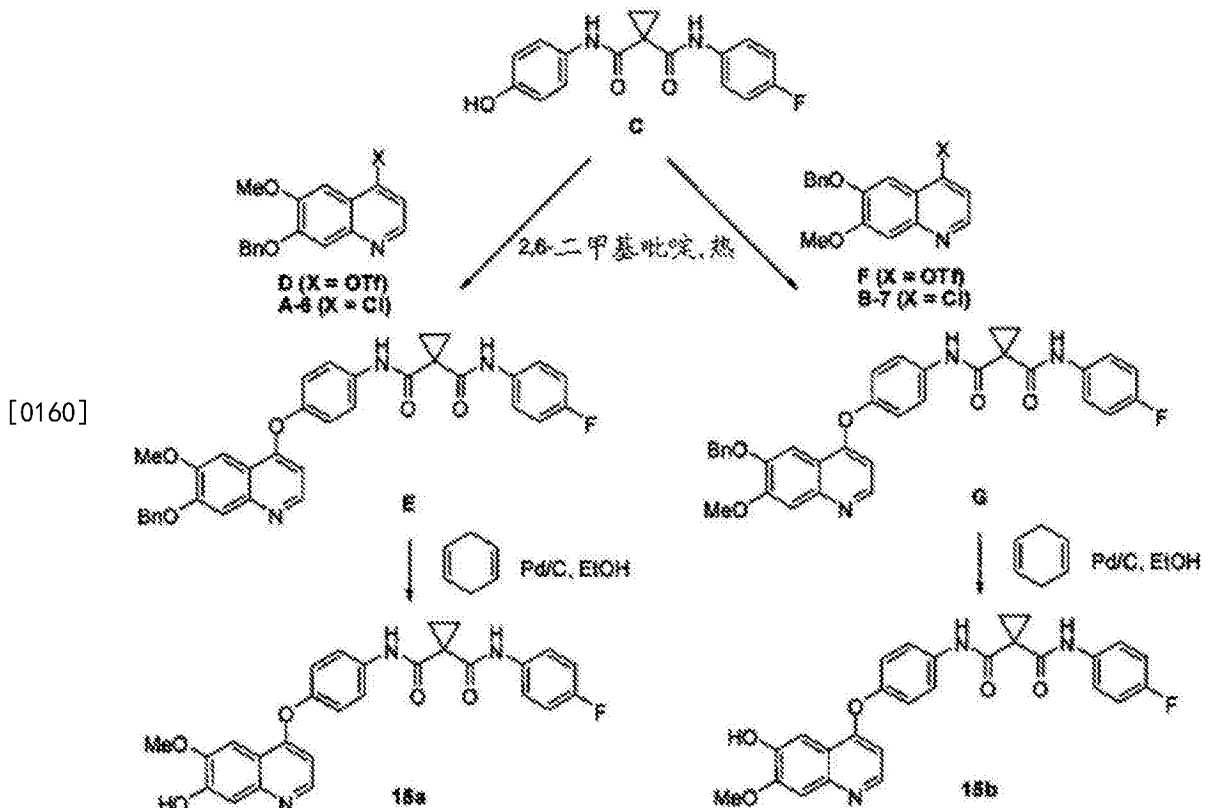
[0155] 方案5



[0157] 使用例如硫酸化剂(如三氧化硫三甲胺复合物)在强氢氧化物(如氢氧化钾、氢氧化钠等)的存在下或者使用氯磺酸在胺碱(如三乙胺)的存在下可以很容易地将酚13和16转化成方案1中描述的相应的硫酸盐9和12。

[0158] 可通过采用与W0 2005/030140中公开用于实施例43的制备类似的方法制备酚15a和15b。在方案6中,酚C(W0 2005/030140中的实施例38)与三氟甲磺酸盐D(W0 2005/030140中的实施例33)或氯化物A-6(W0 2005/030140中的实施例32)偶联得到E,然后将其在Pd-催化的氢解条件下脱保护,得到化合物15。类似地,酚C与三氟甲磺酸盐F或氯化物B-7反应得到G,其经历O-苄基脱保护得到化合物15b。

[0159] 方案6



[0161] 可通过卡博替尼与氧化剂(比如过氧化物、过酸等)反应来制备N-氧化物19。在一个实施方案中,氧化剂是四水合过硼酸钠。

[0162] 以下非限制性实施例旨在说明本发明。

[0163] 实施方案

[0164] 实施方案1。一种药物制剂,其包含生理有效量的卡博替尼,其中对选定的人受试者组口服施用所述组合物在所述选定的人受试者组中产生:

[0165] 按照递送的每个140mg卡博替尼剂量为至少60,000ng·h/mL的平均卡博替尼血浆曲线下面积(平均AUC);

[0166] 按照递送的每个140mg卡博替尼剂量为至少1000ng/mL的平均最大卡博替尼血浆浓度(平均C_{最大});和

[0167] 至少0.25的AUC(卡博替尼)与卡博替尼加上测定的卡博替尼代谢物的总和的AUC之比:

[0168] $AUC(\text{卡博替尼})/AUC(\text{卡博替尼}+\text{测定的代谢物})$;

[0169] 其中测量AUC是从时间零到最后可测量的浓度的时间。

[0170] 实施方案2。一种药物制剂,其包含生理有效量的卡博替尼,其中对选定的人受试者组口服施用所述药物制剂在所述选定的人受试者组中产生:

[0171] 对于每日一次递送的包含100mg卡博替尼的制剂为至少35,000ng·h/mL的卡博替尼的稳态曲线下面积(平均AUC);

[0172] 按照递送的每个100mg卡博替尼剂量为至少2400ng/mL的平均最大卡博替尼血浆浓度(平均C_{最大});

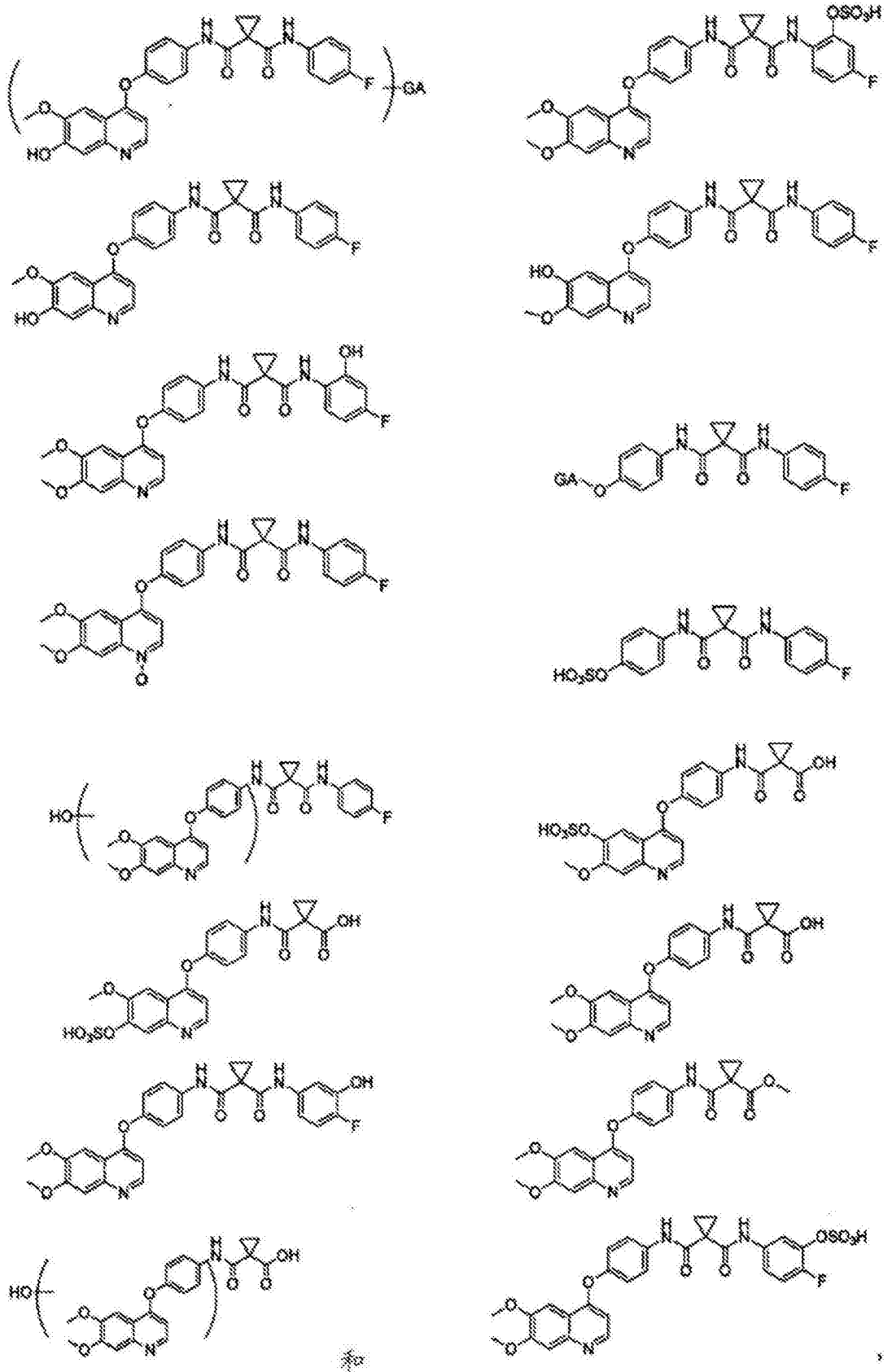
[0173] 按照递送的每个100mg卡博替尼剂量为至少1100ng/mL的平均最小卡博替尼血浆浓度(平均C_{最大});和

[0174] 至少0.35的AUC(卡博替尼)与卡博替尼加上测定的卡博替尼代谢物的总和的AUC之比:

[0175] $AUC(\text{卡博替尼})/AUC(\text{卡博替尼}+\text{测定的代谢物})$;

[0176] 其中在第22天测量AUC。

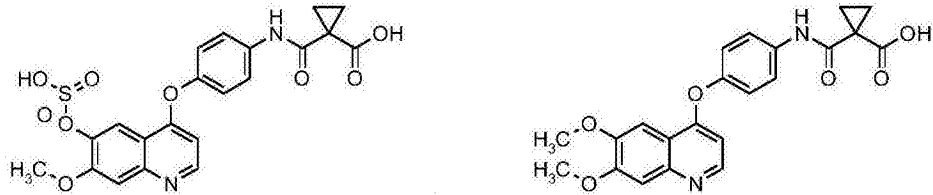
[0177] 实施方案3。如实施方案1-2所述的药物制剂,其中测定的代谢物选自由以下组成的组:



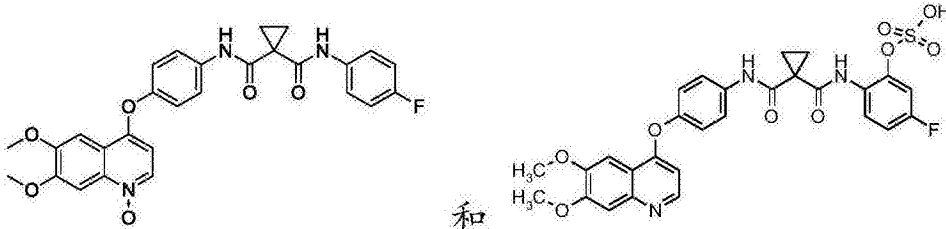
[0178]

[0179] 其中GA是葡萄糖醛酸部分，

[0180] 实施方案4。如权利要求1-2所述的药物制剂，其中测定的代谢物包括以下中的一种或多种：



[0181]



[0182] 实施方案5。一种在人类患者中治疗癌症的方法,包括以使得能实现如下的速率对所述患者口服施用包含生理有效量的卡博替尼的药物制剂:

[0183] 按照递送的每个140mg卡博替尼剂量为至少60,000ng·h/mL的平均卡博替尼血浆曲线下面积(平均AUC);

[0184] 按照递送的每个140mg卡博替尼剂量为至少1000ng/mL的平均最大卡博替尼血浆浓度(平均C_{最大});和

[0185] 至少0.25的AUC(卡博替尼)与卡博替尼加上测定的卡博替尼代谢物的总和的AUC之比:

[0186] AUC(卡博替尼)/AUC(卡博替尼+测定的代谢物);

[0187] 其中测量AUC是从时间零到最后可测量的浓度的时间。

[0188] 实施方案6。一种在人类患者中治疗癌症的方法,包括以使得能实现如下的速率对所述患者口服施用包含生理有效量的卡博替尼的药物制剂:

[0189] 对于每日一次递送的包含100mg卡博替尼的制剂为至少35,000ng·h/mL的卡博替尼的稳态曲线下面积(平均AUC);

[0190] 按照递送的每个100mg卡博替尼剂量为至少2400ng/mL的平均最大卡博替尼血浆浓度(平均C_{最大});

[0191] 按照递送的每个100mg卡博替尼剂量为至少1100ng/mL的平均最小卡博替尼血浆浓度(平均C_{最大});和

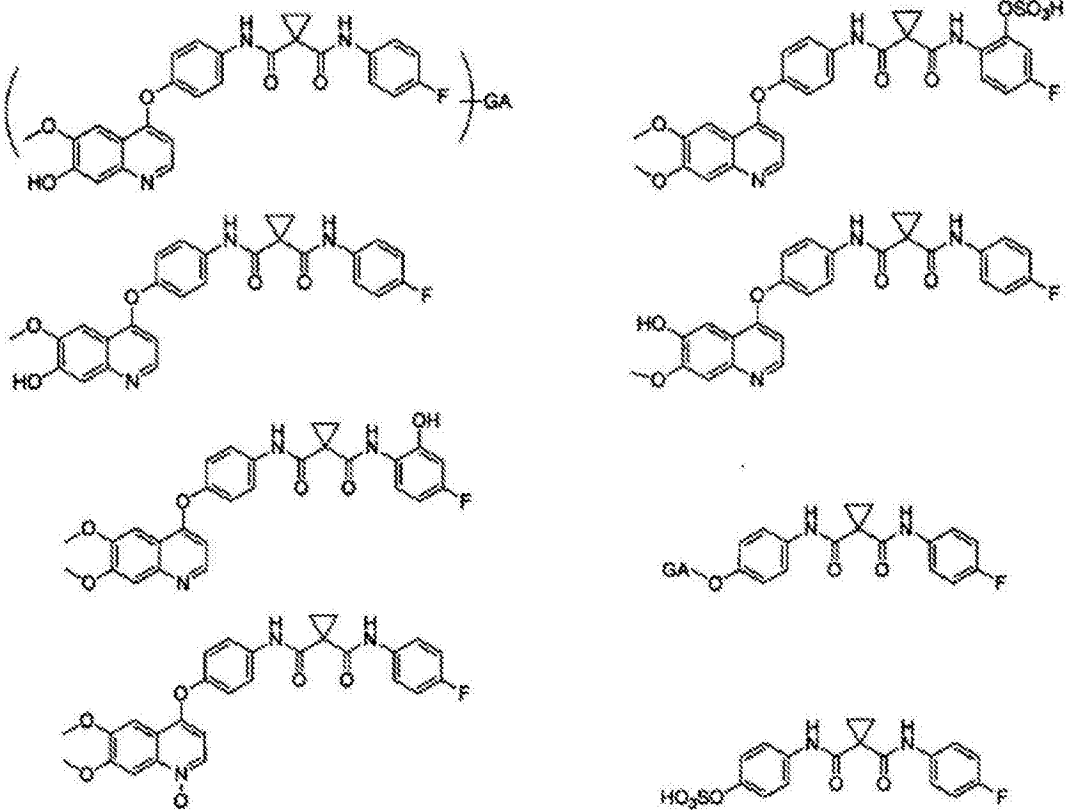
[0192] 至少0.35的AUC(卡博替尼)与卡博替尼加上测定的卡博替尼代谢物的总和的AUC之比:

[0193] AUC(卡博替尼)/AUC(卡博替尼+测定的代谢物);

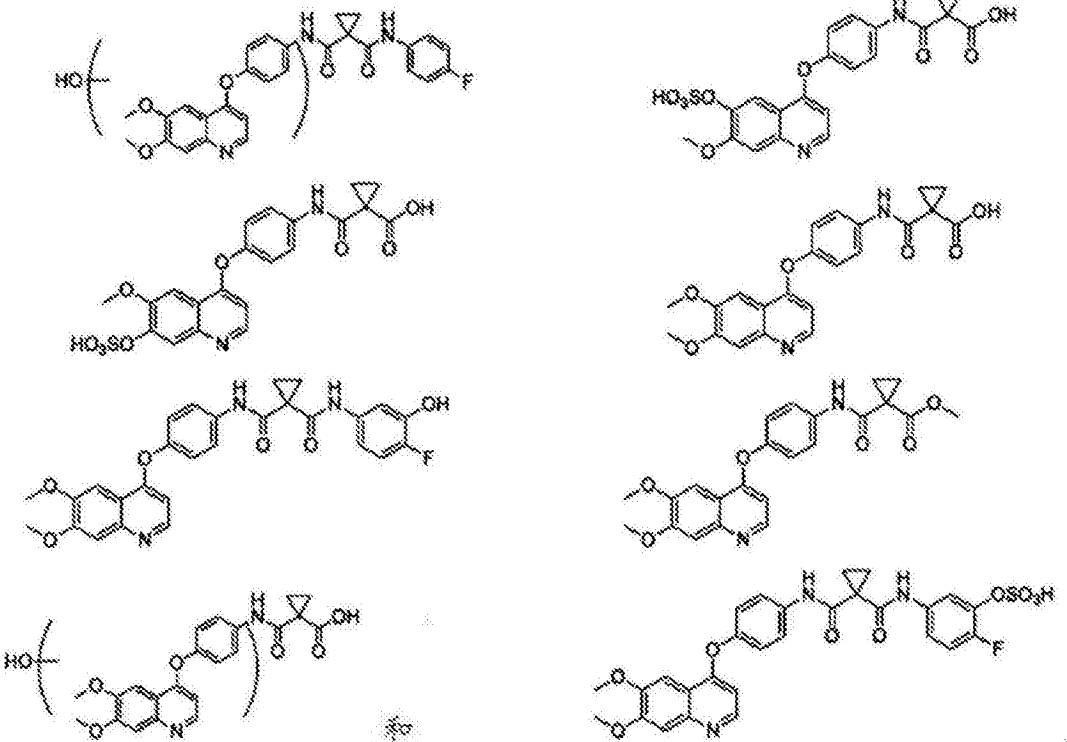
[0194] 其中在第22天测量AUC。

[0195] 实施方案7。如实施方案5-6所述的方法,其中测定的代谢物选自由以下组成的组:

[0196]



[0197]

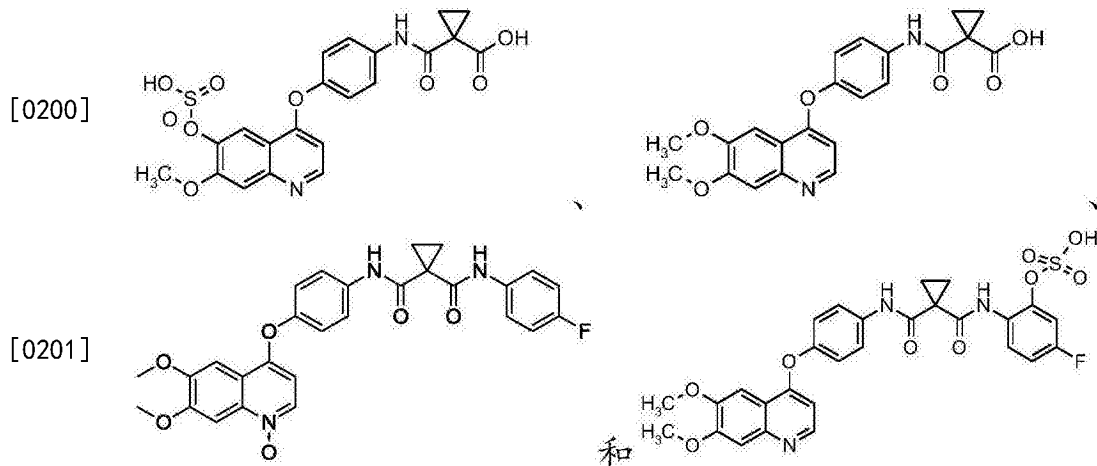


[0198]

其中GA是葡萄糖醛酸部分，

[0199]

实施方案8。如实施方案5-7所述的方法，其中测定的代谢物包括以下中的一种或多种：



[0202] 实施方案9。如实施方案5-8所述的方法,其中所述癌症选自卵巢癌、肺癌、甲状腺髓样癌、肝癌、胃肠癌、胰腺癌、骨癌、血液癌、皮肤癌、肾癌、乳腺癌、结肠癌和输卵管癌。

[0203] 实施方案10。如实施方案1-4或权利要求5-9的实施方案所述的药物制剂,其中施用是每日一次的。

[0204] 实施例

[0205] 卡博替尼代谢物的鉴定

[0206] 本研究的目的是谱分析和鉴定人血浆、尿和粪便中的卡博替尼的代谢物。血浆、尿和粪便样品收集自在健康男性受试者中单次175mg口服施用含 $[^{14}\text{C}]$ 卡博替尼(100 μCi)的卡博替尼(L-苹果酸盐)之后的质量平衡研究。

[0207] 研究设计及血浆、尿和粪便取样

[0208] 八位男性受试者参与研究,并且每位受试者接受的单次口服剂量为含有 $[^{14}\text{C}]$ -卡博替尼(100 μCi)的175mg卡博替尼(L-苹果酸盐)。自8位受试者收集血浆、尿和粪便样品用于代谢物谱分析。

[0209] 在给药前、给药后0.5、1、2、3、4、5、8、14、24、72、168、336、504和648小时收集血浆样品;在给药前、0-8小时、8-24小时、按24小时间隔到给药后480小时以及按大于48小时间隔从给药后504至1152小时收集尿样品;并且在给药前、按24小时间隔到给药后480小时以及按大于48小时间隔从给药后504至1152小时收集粪便样品。将所有样品送到QPS LLC (Newark, DE)并在 -70°C 下贮藏。耦合有放射流通型检测器(RFD)的HPLC/串联MS用于代谢物谱分析和鉴定具有足够放射性水平的样品。

[0210] 采用HPLC级分收集继之以用TopCount NXTTM计数来对具有足够放射性水平的血浆样品进行放射定量。在此项研究中采用三(3)种HPLC方法分离卡博替尼及其代谢物。HPLC方法1用于分析汇集的尿和粪便样品以及来自不同时间点的个别血浆样品。HPLC方法2用于分析来自药物-药物相互作用研究的血浆样品,以搜索可与硫酸卡博替尼共洗脱的可能的代谢物。HPLC方法3用于汇集的血浆样品。

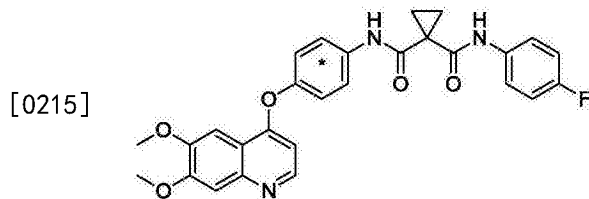
[0211] 分析来自6位受试者的血浆、尿和粪便的选定样品的卡博替尼及代谢物并记录。

[0212] 来自2位受试者的样品用于调查研究。

[0213] 测试制品

[0214] 用于此项研究的测试制品是 $[^{14}\text{C}]$ 卡博替尼和卡博替尼的混合物。星号指示 $[^{14}\text{C}]$ 标记的位置。如WO 2005/030140中所提供的那样制备 $[^{14}\text{C}]$ 标记的卡博替尼,不同的是使用

[¹⁴C]标记的4-氨基苯酚代替未标记的4-氨基苯酚。 [¹⁴C]标记的4-氨基苯酚以盐酸盐市售，例如购自Hartmann Analytic、American Radiolabeled Chemicals或Fisher Scientific。



[0216] 一般化学品和参考标准

[0217] 甲酸和乙酸铵得自Sigma-Aldrich Chemical Co.(St.Louis,MO)。乙腈(B&J牌,不含羰基,用于对痕量醛和酮敏感的应用)、水(B&J牌,用于GC、HPLC和分光光度法)和甲醇(HPLC级)购自Fisher Scientific(Pittsburgh,PA)。使用Elgastat UHQ PS水纯化系统生成I型水。由Exelixis, Inc提供非放射性标记的代谢物标准物(氟苯胺裂解产物、硫酸卡博替尼和卡博替尼N-氧化物)。

[0218] 生物样品收集

[0219] 血浆、尿和粪便样品收集自在健康男性受试者中单次175mg口服施用含[¹⁴C]卡博替尼(100 μ Ci)的卡博替尼(L-苹果酸盐)之后的卡博替尼质量平衡研究。将样品在干冰上从Celerion(Lincoln,NE)送到QPS LLC(Newark,DE)并且在-70 $^{\circ}$ C下贮藏直至分析。来自6位受试者的样品用于代谢物谱分析、鉴定和放射定量。来自2位受试者的血浆样品仅用在作为共洗脱代谢物调查的一部分的关联研究中。

[0220] 人血浆的样品制备和放射性回收率

[0221] 为进行代谢物谱分析、鉴定及放射定量,对6位受试者在给药后0.5、1、2、3、4、5、8、14、24、72、168和336小时收集的个别放射性标记的血浆样品进行处理并分析。为调查共洗脱代谢物,汇集、处理并分析给药前、给药后1-7、8-96和120-336小时六位受试者的非放射性标记的血浆样品。为将来自人质量平衡研究的代谢物数据从非放射性标记的血浆样品关联到放射性标记的血浆样品,还采用Hamilton汇集方法对六位受试者中的每一位汇集来自给药后0-168小时的[¹⁴C]血浆样品,进行处理并通过放射定量进行分析。对两位受试者汇集来自给药后1-168小时的[¹⁴C]血浆样品(等体积),进行处理并分析。

[0222] 血浆提取和回收的初始方法

[0223] 将来自受试者的两个血浆样品(给药后4和72小时)用于初始提取和回收测定。质量平衡研究中的每个血浆样品的总放射性由Exelixis, Inc.提供并定义为100%。将样品在生物罩(biological hood)下解冻后,将每个血浆样品的两个0.5mL等分试样添加到3体积(1.5mL)的MeOH:ACN(20:80, v/v)中并涡旋(5分钟)。将混合物以2000rpm离心10分钟,并将上清液转移到清洁的管中。用两个另外3体积的MeOH:CAN(20:80, v/v)提取团粒。将混合物离心并将上清液合并。通过2900TR液体闪烁计数器(LSC)(Packard Instruments, Meridian,CT)分析等分试样。如下计算提取回收率:

[0224] 提取回收率(%)=(上清液中的DPM/血浆样品中的DPM)x100

[0225] 在环境水浴中于氮气流下将来自提取的上清液蒸发至干。然后将残留物在0.35-0.5mL的MeOH:ACN:水(10:20:70, v/v/v)中复溶。将复溶的样品以15,000rpm离心10分钟,并通过LSC对等分试样进行复溶回收率分析。

[0226] 复溶回收率(%)=(复溶溶液中的DPM/上清液中的DPM)x100

[0227] 血浆样品制备

[0228] 根据样品的可用体积和放射性水平情况,使用1.0-2mL血浆样品,采用相同的方法提取放射性标记和非放射性标记的血浆样品。在环境水浴中于氮气流下将上清液蒸发至干,并且将残留物在0.35-0.5mL的MeOH:ACN:水(10:20:70, v/v/v)中复溶。将复溶的样品以15,000rpm离心10分钟。将上清液的等分试样注射到HPLC系统上用于分析。

[0229] 人尿的样品制备和放射性回收率

[0230] 将来自受试者的汇集尿样品(给药后0-72、168-192和312-336小时)一式三份冻干(各4mL),并将残留物在1mL的水:ACN:FA(80:20:0.1, v/v/v)中复溶。采用LSC对汇集的尿和复溶溶液中的放射性进行计数并计算复溶回收率。为进行代谢物谱分析、鉴定和放射定量,对来自六位受试者中的每一位的给药前及3个汇集的尿样品(给药后0-72小时、168-192小时和312-336小时)进行分析。将每个汇集的尿样品冻干,将残留物在水:ACN:FA(80:20:0.1, v/v/v)中复溶,并在分析前将复溶的样品以15,000rpm离心10分钟。

[0231] 人尿的样品制备和放射性回收率

[0232] 为了评估粪便样品的提取回收率,将两个来自受试者的粪便匀浆样品在生物罩下解冻。精确地称量出大约5.5-6g粪便匀浆用于提取。对粪便匀浆添加15mL的ACN:MeOH(80:20)。将混合物涡旋3分钟并以3000rpm离心10分钟。将上清液转移到清洁的管中。再重复两次提取程序。将来自所有三次提取的上清液合并。通过LSC确定合并的上清液中的放射性。使用下式计算提取回收率:

[0233] $\text{提取回收率}(\%) = (\text{上清液中的DPM} / \text{粪便匀浆中的DPM}) \times 100$

[0234] 在环境温度下在氮气流下浓缩上清液,并将残留物在MeOH:ACN:水(10:20:70)中复溶。用LSC对复溶溶液的等分试样进行计数以用于复溶回收率。

[0235] $\text{复溶回收率}(\%) = (\text{复溶溶液中的DPM} / \text{上清液中的DPM}) \times 100$

[0236] $\text{总回收率}(\%) = \text{提取回收率}(\%) \times \text{复溶回收率}(\%) / 100$

[0237] 为了进行代谢物谱分析、鉴定和放射定量,采用相同的提取回收程序对来自六位受试者中的每一位的给药前及3个汇集的粪便样品(给药后0-72、168-192和312-336小时)进行提取。在氮气流下干燥上清液,并将残留物在水:ACN:FA(80:20:0.1, v/v/v)中复溶。在分析前将复溶的样品以15,000rpm离心10分钟。

[0238] HPLC柱回收率

[0239] 实施HPLC柱回收以证明采用HPLC方法1从柱中有效地洗脱所有的放射性组分。将尿样品的等分试样(受试者1042,给药后24-48小时)注射到有或没有柱的HPLC系统上,并将0-30分钟的洗脱液收集到清洁的50mL离心管里。收集后得到来自每次注射的洗脱液的重量,并采用LSC对一式两份的等分试样(1mL)进行计数。将计数的平均值用于计算在有或没有安装柱的情况下在收集的洗脱液中所含有的总放射性。

[0240] $\text{柱回收率}(\%) = (\text{有柱情况下洗脱液中的DPM} / \text{没有柱情况下洗脱液中的DPM}) \times 100$

[0241] HPLC方法3仅用于汇集的血浆,且由于可用的样品体积有限,没有进行柱回收。

[0242] HPLC/MS/RFD和HPLC放射分析系统

[0243] 用于代谢物谱分析和鉴定的系统(HPLC/MS/RFD)由HTC PAL自动进样器、Surveyor HPLC泵、LTQ线性离子阱质谱仪和β-RAM 3型RFD构成。分别由Xcalibur和Laura Lite 3软件处理通过质谱法和RFD得到的数据。将HPLC洗脱液以3比1的比例在RFD与质谱仪之间拆分。

以下是HPLC、质谱仪和RFD的条件汇总。

[0244] HPLC/MS/RFD方法1

	<u>HPLC</u>	Surveyor HPLC 泵																								
	• 柱类型	Phenomenex Synergi Polar RP, 4.6 x 250 mm, 4 μ m																								
	• 移动相	A: 含 0.1%FA 的 H ₂ O B: 含 0.1%FA 的 ACN																								
	• 梯度程序	<table border="1"> <thead> <tr> <th>时间 (分钟)</th> <th>A%</th> <th>B%</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>80</td> <td>20</td> </tr> <tr> <td>2</td> <td>80</td> <td>20</td> </tr> <tr> <td>22</td> <td>30</td> <td>70</td> </tr> <tr> <td>23</td> <td>5</td> <td>95</td> </tr> <tr> <td>27</td> <td>5</td> <td>95</td> </tr> <tr> <td>28</td> <td>80</td> <td>20</td> </tr> <tr> <td>34</td> <td>80</td> <td>20</td> </tr> </tbody> </table>	时间 (分钟)	A%	B%	0	80	20	2	80	20	22	30	70	23	5	95	27	5	95	28	80	20	34	80	20
时间 (分钟)	A%	B%																								
0	80	20																								
2	80	20																								
22	30	70																								
23	5	95																								
27	5	95																								
28	80	20																								
34	80	20																								
[0245]	• 流速	800 μ L/分钟																								
	• 分析时间	34 分钟																								
	<u>质谱分析:</u>	Thermo Finnigan LTQ 线性离子阱																								
	• 保护气体流速	50 单位																								
	• 辅助气体流速	20 单位																								
	• 吹扫气体流速	10 单位																								
	• 离子喷雾电压	对于 ESI+ 为 5kV, 对于 ESI- 为 4.3kV																								
	• 毛细管温度	300 $^{\circ}$ C																								
	• 毛细管电压	对于 ESI+ 为 22V, 对于 ESI- 为 -9V																								
	• 管透镜电压	对于 ESI+ 为 80V, 对于 ESI- 为 -96V																								
	• 电离模式	ESI+, ESI-																								
[0246]	<u>放射流通型检测器:</u>	β -RAM 型号 3																								
	• 放射性核素	¹⁴ C																								
	• 池体积	400 μ L																								
	• 闪烁混合液	Ultima-Flo M. Perkin Elmer																								
	• 混合液/HPLC 流量比	3:1																								

[0247] HPLC/MS方法2

	<u>HPLC</u>	Serveyor HPLC 泵		
	• 柱类型	Phenoxninx Synergi Polar RP, 4.6 x 250 mm, 4 μ m		
	• 移动相	A: 含 0.1%FA 的 H ₂ O B: 含 0.1%FA 的 ACN		
	• 梯度程序	时间 (分钟)	A%	B%
		0	80	20
		2	80	20
		40	35	65
		42	5	95
		47	5	95
		48	80	20
		55	80	20
[0248]	• 流速	800 μ L/分钟		
	• 分析时间	55 分钟		
	<u>质谱分析:</u>	Thermo Finnigan LTQ 线性离子阱		
	• 保护气体流速	50 单位		
	• 辅助气体流速	20 单位		
	• 吹扫气体流速	10 单位		
	• 离子喷雾电压	5kV		
	• 毛细管温度	300 $^{\circ}$ C		
	• 毛细管电压	22V		
	• 管透镜电压	80V		
	• 电离模式	ESI+		
[0249]	HPLC/MS方法3			
	<u>HPLC</u>	Serveyor HPLC 泵		
	• 柱类型	Waters Xbridge phenyl,, 4.6 x 150 mm, 3.5 μ m		
	• 移动相	A: 含 0.1%FA 的 H ₂ O B: 含 0.15%FA 的 ACN		
[0250]	• 梯度程序	时间 (分钟)	A%	B%
		0	80	20
		2	80	20
		40	30	70
		42	5	95
		47	5	95
		48	80	20

	55	80	20
	• 流速	800 $\mu\text{L}/\text{分钟}$	
	• 分析时间	55 分钟	
	<u>质谱分析:</u>	Thermo Finnigan LTQ 线性离子阱	
[0251]	• 保护气体流速	50 单位	
	• 辅助气体流速	20 单位	
	• 吹扫气体流速	10 单位	
	• 离子喷雾电压	5kV	
	• 毛细管温度	300 $^{\circ}\text{C}$	
	• 毛细管电压	22V	
	• 管透镜电压	80V	
	• 电离模式	ESI+	

[0252] 用于高分辨率MS的HPLC-MS系统由Michrom Bioresources Paradigm MS4B HPLC和Thermo LTQ Orbitrap Discovery质谱仪构成。色谱条件和离子源参数与LTQ系统的HPLC方法1相同。按质心模式获得30000分辨率的数据。

[0253] HPLC/TopCount NXTTM系统用于血浆样品的放射定量。该系统由HTC PAL自动进样器、两个Shimadzu HPLC泵和Foxy Jr.级分收集器(Isco, Lincoln, NE)构成。使用EZ-2_pplus个人蒸发器(Genevac, Valley Cottage, New York)对收集在LumaPlateTM 96孔板中的HPLC级分进行干燥,并通过TopCount NXTTM微型板闪烁及发光计数器(PerkinElmer[®])对干燥的样品进行计数。使用ProFSA(PerkinElmer[®])软件处理数据。HPLC方法与如上所述的相同。

[0254] 代谢物鉴定

[0255] 根据以下方法鉴定基质中代表超过总放射性的5%或总AUC的5%的代谢物。在离子阱质谱仪上获得由Exelixis, Inc.提供的卡博替尼及其代谢物标准物的质谱(MS、MS/MS和MS/MS/MS)。建议了主要碎片模式。这些代谢物的鉴定通过质谱(MS和MS/MS)和滞留时间与真实参考标准的匹配得到确认。对于其它未知的代谢物,在与LC-放射色谱图上所见相同的滞留时间下以全扫描正电离模式以及负电离模式操作,在LC/MS色谱图上搜索分子离子。然后对于相应的分子离子获得产物离子质谱和高分辨率质谱。基于它们的质量碎片模式的分析提出了假定代谢物结构。

[0256] 卡博替尼及其代谢物的定量

[0257] 由各基质在不同的时间点或时间间隔定量汇集的或个别的样品中的卡博替尼及其代谢物是基于在它们的放射色谱图上所见的相应峰的整合。对于血浆样品,针对每个峰在每个时间点计算样品中总放射性的百分比并转换成ng/mL。

[0258] 对于血浆中的卡博替尼及其代谢物的定量:

$$[0259] \quad \text{ng/mL} = (\text{总放射性的}\%) \times (\text{总ng当量}/\text{该时间点的mL}) / 100$$

[0260] 由人质量平衡研究的结果得到总ng当量/mL的值。

[0261] 对于汇集的尿样品,针对每个峰将汇集的样品中的总放射性的百分比计算为汇集的样品中的总非母峰的%:

$$[0262] \quad \text{汇集的样品中的总非母峰的}\% = (\text{峰的总放射性}/\text{非母峰的总放射性}) \times 100$$

[0263] 对于汇集的粪便样品,针对每个峰将汇集的样品中的总放射性的百分比计算为汇

集的样品中的总非母峰加上母峰的百分比：

[0264] 汇集的样品中的总非母峰加上母峰的%=(峰的总放射性/母峰和非母峰的总放射性)x100

[0265] 针对每个峰将汇集的样品中的总放射性的百分比转换成汇集的样品中的母峰的百分比：

[0266] 汇集的样品中的母峰的%=(峰的总放射性/母峰的总放射性)x100

[0267] 放射性检测器的定量极限被定义为放射色谱图上的信噪比(3比1)。对于TopCount和β-RAM放射流通型检测器,定量的下限分别为10和500dpm。

[0268] 结果和讨论

[0269] 放射性回收率

[0270] 使用来自受试者在给药后4小时和72小时用三体积MeOH:ACN(20:80)提取三次的血浆样品确定初始提取回收率。来自4和72小时样品的放射性的平均回收率分别为98.43%和94.99%。全部弄干并复溶到MeOH:ACN溶液当中后,复溶回收率分别为92.73%和85.90%。总回收率分别为91.27%和81.60%。

[0271] 使用来自受试者给药后0-8、24-48、72-96和120-144小时样品的尿离心回收率在102%与104%的范围之间。使用来自受试者的汇集的样品,冻干后尿复溶回收率为94.7%。

[0272] 对于来自给药后0-48小时汇集的粪便样品,提取、复溶及总回收率分别为98.48%、88.80%和87.37%。对于给药后120-168小时汇集的粪便样品,提取、复溶及总回收率分别为85.85%、87.69%和75.24%。

[0273] 对于尿样品来自HPLC柱的放射性回收率为97.05%。

[0274] 对血浆、尿和粪便放射定量未应用校正因子解释回收率。

[0275] 代谢物谱分析

[0276] 在受试者中,卡博替尼化合物9((硫酸卡博替尼)和化合物19(卡博替尼N-氧化物)是放射色谱图上的主峰。化合物2(去甲基化和硫酸化氟苯胺裂解产物)是给药后72小时后血浆样品中的主要代谢物。代谢物化合物7(氟苯胺裂解产物)对应的是次峰之一。采用HPLC方法1,代谢物化合物7、3(去甲基卡博替尼葡糖苷酸B)、9和10(氟苯胺裂解产物的甲酯)共洗脱。

[0277] 从受试者收集来自给药后0-72小时、144-192小时和288-336小时的人尿样品的代表性人尿代谢物曲线,即放射色谱图(采用HPLC方法1)。代谢物化合物6是给药后0-72小时、144-192小时和288-336小时汇集的尿样品中的主要代谢物。除了化合物6外,在给药后0-72小时汇集的样品中观察到代谢物化合物1、4、5、7和19。在给药后144-192小时汇集的样品中观察到代谢物化合物1、4、5和7。在给药后288-336小时汇集的样品中检测到代谢物化合物1和5。在尿样品中未观察到母体化合物卡博替尼。

[0278] 从来自给药后0-72小时、144-192小时和288-336小时的人粪便样品的代表性人粪便代谢物曲线,即放射色谱图(采用HPLC方法1)。在给药后0-72小时汇集的样品中观察到母体卡博替尼和代谢物化合物4、7、11和15(包括化合物16)。在给药后144-192小时汇集的样品中观察到代谢物化合物4、7、11、15、16和18。在给药后288-336小时汇集的样品中观察到代谢物化合物4和11。

[0279] 采用HPLC/MS分析的代谢物鉴定

[0280] 采用HPLC方法1对真实标准物进行HPLC/MS分析显示卡博替尼、氟苯胺裂解产物(化合物7)、硫酸盐(化合物9)和N-氧化物(化合物19)的滞留时间分别为20.3、14.4、16.5和23.1分钟。

[0281] 接下来通过HPLC/MS分析血浆、尿和粪便样品,并基于化合物的质子化分子离子和碎片模式对它们进行鉴定。

[0282] 人血浆中的卡博替尼及其代谢物的代谢物鉴定

[0283] XIC中在大约19.1分钟的峰的质谱显示出m/z 502的质子化分子离子。其产物离子谱显示出m/z 391、323和297的主要碎片,这与卡博替尼标准物的情况一致。MS数据汇总于表1和2中。

[0284] 表1. 来自 ^{14}C 卡博替尼的单次口服剂量的样品中的代谢物的滞留时间的HPLC放射色谱图

化合物 标准物	HPLC 方法	滞留时间(分钟)
7	1	14.13
9	1	16.45
I	1	20.26
19	1	23.06
血浆		
1	1	4.13
2a/2b	1	9.33
4	1	11.87
5	1	12.80
6	1	13.47
7	1	14.13
9	1	14.67
I	1	18.67
19	1	23.47
尿		
1	1	4.13
4	1	11.87
5	1	12.80
6	1	13.47
7	1	14.13
19	1	23.47
粪便		
4	1	12.67
7	1	13.47
11	1	16.07
15	1	17.87
I	1	19.60
18	1	21.03
Hamilton 汇集的样品		
血浆		
9	3	17.36
7	3	19.32
8	3	19.32 (肩)
19	3	25.20
I	3	37.52

[0285]

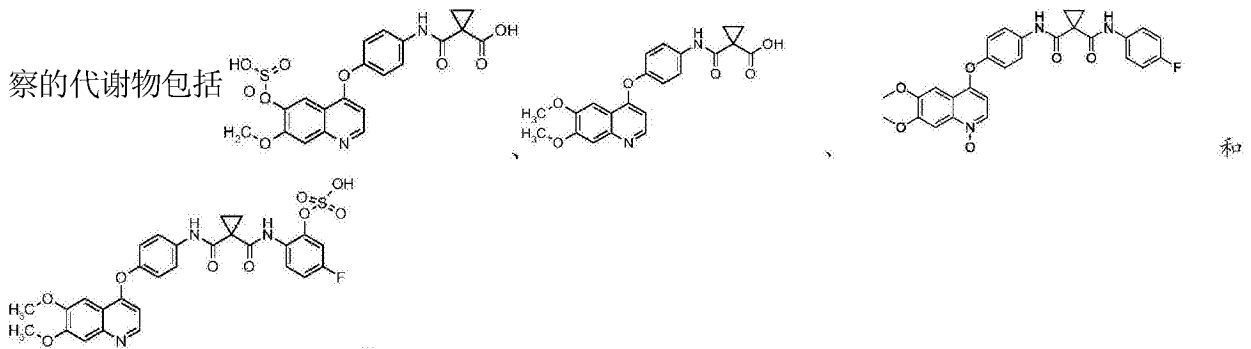
[0286] 表2. 采用HPLC的代谢物的MS数据

化合物	HPLC 方法	HPLC 滞留时间	MS (m/z)
1	1	19.10	502
19	1	21.85	518
9	1	15.29	518 (由 m/z 分子离子 损失 SO ₃ , m/z 在 598)
7	1	13.36	409
2a	1	10.70 (2a)	473, 395 (由 m/z 分子离子 损失 SO ₃ , m/z 在 473)
3	2	15.87	488
8	2	19.43	488
10	2	33.56	423
5	1	13.00	489
6	1	13.39	393
15	1	17.60	488
16	1	17.60	518
13	1	16.45	518
12	1	16.45	518
17	1	18.43	518

[0287]

[0288] 卡博替尼及代谢物的PK参数

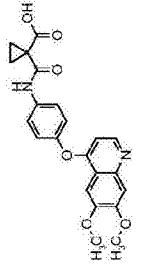
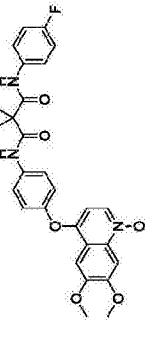
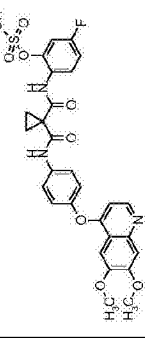
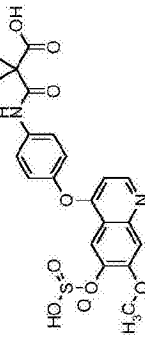
[0289] 在八位施用卡博替尼140mg/日的人受试者中测量卡博替尼及各种代谢物的PK参数。观



[0290] 测量的参数包括以ng/mL测量的最大观测浓度(C_{最大});以h·ng/mL测量的浓度-时间曲线下面积(AUC),测量是在时间0至24小时(AUC₀₋₂₄)、在时间0至72小时(AUC₀₋₇₂)、在时间0至最后可测量的浓度的时间(AUC_{0-t})。还计算了AUC比,包括AUC(卡博替尼)与卡博替尼加上测定的卡博替尼代谢物的总和的AUC之比。结果汇总于下表3中。

[0291]

表 3. 卡博替尼及测定的代谢物的选定 PK 参数

	卡博替尼				
C _{最大} , ng/mL	1250±238 (19)	52.9±17.3 (33)	118±33.7 (28)	236±66.7 (28)	229±91 (40)
T _{最大} , h ^a	1.49 (1.00, 3.00)	18.99 (5.00, 24.10)	13.50 (2.00, 24.30)	24.00 (3.00, 48.00)	168 (72-240)
AUC ₀₋₂₄ , h·ng/mL	14300±2600 (18)	1080±341 (32)	2030±682 (34)	3970±1350 (34)	950±376 (40)
AUC ₀₋₇₂ , h·ng/mL	35000±6770 (19)	3120±976 (31)	5610±1940 (35)	12600±4180 (33)	.
AUC _{0-t} , h·ng/mL	67200±6880 (10)	6540±1680 (26)	10100±3210 (32)	28900±10700 (37)	99362±34386 (35)
比例 ^b , %	NA	9.93±3.20 (32)	15.0±3.80 (25)	42.9±14.4 (33)	150±51.3 (34)
比例 ^c , %	32±6.06 (19)	3.63±1.76 (48)	5.25±2.15 (41)	13.4±5.6(43)	46±11.2 (25)
AUC _{0-inf} , h·ng/mL	68000±6910 (10)	6770±1700 (25)	10300±3170 (31)	29500±10600 (36)	177682±62496(35) ^d
k _{el} , 1/h	0.00712±0.0 0176 (25)	0.00807±0.00218 (27)	0.00846±0.00256 (30)	0.00859±0.0022 (26)	.
t _{1/2} , h	102±23.3 (23)	91.8±25.4 (28)	89.2±29.2 (33)	86.0±24.3 (28)	494±99 (20)

[0292]

a: 中值(范围); $b: AUC_{0-1}(\text{代谢物})/AUC_{0-1}(\text{母体})$ 的比例;

c: $AUC_{0-1}(\text{各分析物})/AUC_{0-1}(\text{母体}+4 \text{ 个测定的代谢物})$ 的比例; NA: 不适用; ^d外推 $AUC_{inf}>40\%$

$C_{\text{最大}}$, 最大观测浓度; $T_{\text{最大}}$, 最大浓度的时间; AUC_{0-t} , 从时间零到最后可测量的浓度的时间的浓度-时间曲线下面积; AUC_{0-24} , 从时间零到 XL184 给药后 24 小时的浓度-时间曲线下面积; AUC_{0-72} , 从时间零到 XL184 给药后 72 小时的浓度-时间曲线下面积; AUC_{0-inf} , 从时间零到无穷大的浓度-时间曲线下面积; k_{el} , 表观终末消除速率常数; $t_{1/2}$, 表观终末消除半衰期; CL/F , 表观总身体清除率; V/F , 表观分布的总体积。





[0293] 卡博替尼代谢物的激酶活性

[0294] 激酶稀释


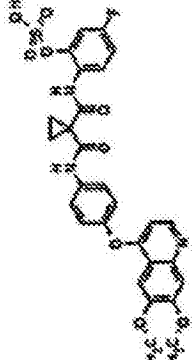
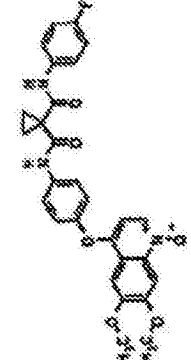
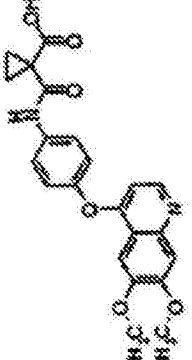
[0295] 测量激酶活性并根据Kinase Profiler Service Assay Protocols Protocol Guide第57卷通过EMD Millipore进行谱分析。结果汇总于下表4中。将抑制指示为具有以下要点的IC₅₀: A=IC₅₀小于50nM, B=IC₅₀大于50nM但小于500nM, C=IC₅₀大于500nM但小于5000nM, 且D=IC₅₀大于5,000nM。取决于有关喹唑啉或喹啉的官能性, 本发明的示例性化合物表现出对c-Met、KDR、c-Kit、flt-3和flt-4中任一者的选择性。表3中所列出的酶的缩写定义如下: c-Met是指肝细胞生长因子受体激酶; RET是指RET原癌基因激酶; KDR是指激酶插入结构域受体酪氨酸激酶; flt-1 α 、flt-3和flt-4、fms样酪氨酸激酶代表受体酪氨酸激酶的FLK家族; 且Aurora B MP是指Aurora B激酶。当列出百分比而非IC₅₀值时, 其指示在1 μ M时的抑制百分比。表中的空单元格仅指示缺少数据。

[0296]

表 4. 激酶活性

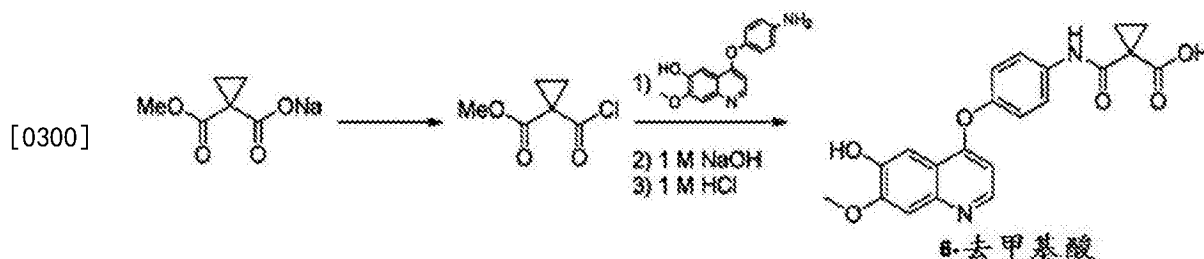
化合物 ID	分子结构	c-Met Std (IC50) (nM)	RET Std (IC50) (nM)	KDR Std (IC50) (nM)	Flt-1 Alpha (IC50) (nM)	Flt-3 Std (IC50) (nM)	Flt-4 Std (IC50) (nM)	Aurora B MP 8pt Std (IC50) (nM)
卡博替尼		A	A	A	A	A	A	
16		A		A	C	A		B
13		A		A	C	A		B
2a		≥ 50% 在 1μM 下	≤ 25% 在 1μM 下	≤ 25% 在 1μM 下	≤ 25% 在 1μM 下	≤ 25% 在 1μM 下	≥ 25% 在 1μM 下	≤ 25% 在 1μM 下

[0297]

						≥75% 在 1μM 下		C	C
						≥75% 在 1μM 下			
						≥50% 在 1μM 下		C	C
						≥50% 在 1μM 下			
						≤25% 在 1μM 下		B	D
						≥75% 在 1μM 下			
	未检测到					≥75% 在 1μM 下		B	D
2b									
9									
19									
7									

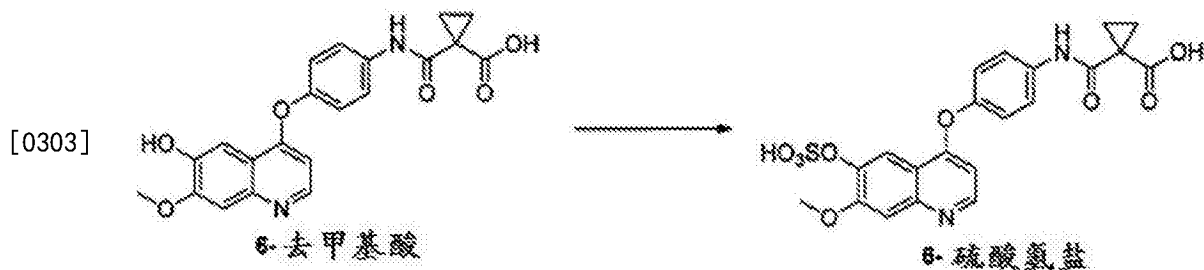
[0298] 代谢物合成及结构数据

[0299] 6-去甲基酸



[0301] 在容器中,在20℃下将卡博替尼(15.0g;53.3mmol)和碳酸钾(29.5g;213.3mmol;4当量)悬浮于THF(210mL;14体积)和水(90mL;6体积)中。在单独的容器中,将1-(甲氧羰基)环丙烷羧酸钠(17.71g;106.6mmol;2当量)悬浮于THF(90mL;6体积)中。添加DMF(120μL;3摩尔%)并冷却到低于15℃。经90分钟添加草酰氯(9.34mL;106.6mmol;2当量),并且将反应物在10-15℃下老化2小时。在20-25℃下经2小时将酰氯浆料添加到卡博替尼悬浮液中并老化至少3小时,届时HPLC分析显示超过99%转化成单和二羰基化材料的混合物。将反应混合物经Celite®过滤,用THF(30mL;2体积)洗涤并分离各层。向上部THF层添加1M NaOH(150mL;10体积)并将混合物在40℃下加热1小时,届时HPLC分析显示皂化产物超过99%。将混合物冷却到25℃并移除上部THF层。用1M HCl将含水层酸化到pH 3-4以沉淀产物并老化1小时。将沉淀物过滤,用水(90mL,6体积)洗涤并在50℃下在氮泄放的情况下真空干燥(大于20psig),得到灰色至褐色粉末。¹H-NMR(DMSO-d₆,400MHz)δ10.8-11.0(br s,1H),10.7(s,1H),8.65(d,J=6.9Hz,1H),7.81(d,J=9.3Hz,2H),7.67(s,1H),7.58(s,1H),7.32(d,J=9.3Hz,2H),6.69(d,J=6.9Hz,1H),4.01(s,3H),2.48-2.53(m,4H)。MS(ESI⁻)m/z 393[M-H]⁻。

[0302] 6-硫酸氢盐6-去甲基酸

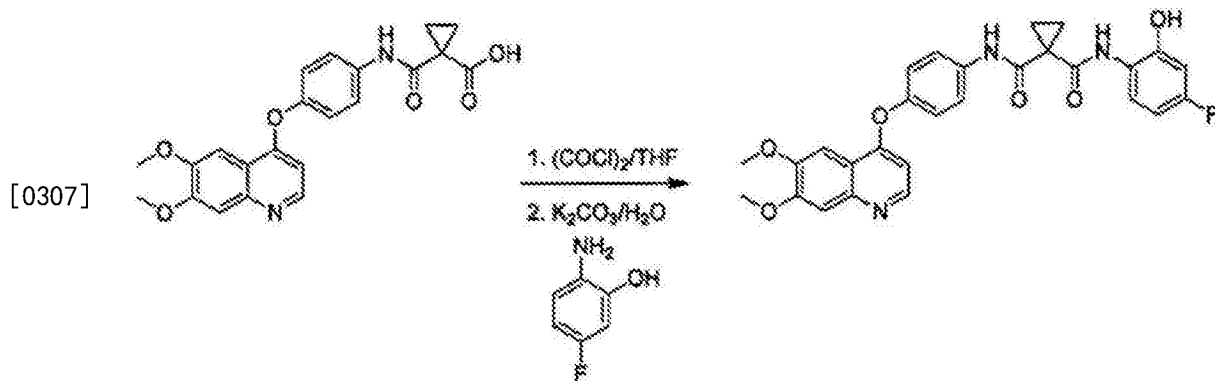


[0304] 将6-去甲基酸(120mg;0.30mmol)、氢氧化钾(118mg;2.1mmol;7当量)和三氧化硫三甲胺复合物(292mg;2.1mmol;7当量)溶于水(3mL;25体积)中并加热到70℃达2小时,届时通过HPLC分析显示转化率超过99%。然后在冰浴中冷却反应混合物并用1N H₂SO₄水溶液逐滴酸化至大约pH 1。使浆料在25℃下老化1小时,过滤,用水(3mL;25体积)洗涤并脱液。然后用丙酮(3mL;25体积)洗涤湿滤饼,并在氮泄放的情况下在35℃下真空(大于20psig)干燥24小时,得到米色粉末。

[0305] 或者,将6-去甲基酸(120mg;0.30mmol)悬浮在MeCN(50体积,6mL)中,添加三乙胺(1.27mL,9.12mmol,30当量)并然后在冰浴中冷却。滴加氯磺酸(101μL,1.52mmol,5当量)并然后将反应物加热到70℃达1小时,届时通过HPLC分析显示转化率超过98%。然后将反应混合物在冰浴中冷却2小时,在其中形成了沉淀物。以过滤方式移除沉淀物,用冷MeCN(50体积)冲洗。然后将MeCN溶液浓缩至大约20体积(大约2mL)并用100体积的1N HCl猝灭且在冰浴中冷却,得到细沉淀物,将该沉淀物过滤,用50体积水和50体积丙酮洗涤,并在氮泄放的

情况下在35℃下真空(大于20psig)干燥24小时,得到米色粉末。¹H-NMR(DMSO-d₆,400MHz)δ 10.8(s,1H),8.83(d,J=5.9Hz,1H),8.5(s,1H),7.85(d,J=8.5Hz,2H),7.52(s,1H),7.40(d,J=8.5Hz,2H),6.84(d,J=5.9Hz,1H),4.04(s,3H),3.20-3.70(br s,1H),1.39-1.48(br s,4H)。MS(ESI⁻)m/z 473[M-H]⁻,236。

[0306] 邻羟基-卡博替尼

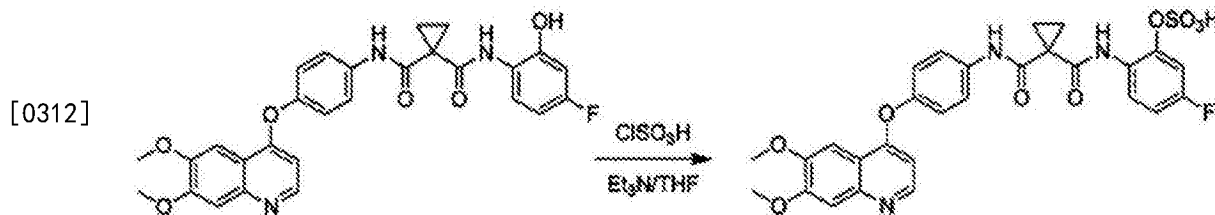


[0308] 向烧瓶中装入羧酸(0.84g;2.1mmol)、THF(1.2mL)和DMF(5μL)并冷却到15℃。经大约20分钟向此浆料中滴加草酰氯(0.17mL;2.1mmol)。2小时后,经大约15分钟将酰氯浆料添加到另一容器中,该容器含有苯胺(0.2g,1.6mmol)、碳酸钾(0.63g,4.6mmol)在THF(2.8mL)和水(1mL)中的搅拌悬浮液。3小时后,HPLC分析显示完全转化成产物。停止搅拌,移除下部含水层并添加水(30mL)以沉淀产物。然后通过过滤收集产物并用1:1THF-水溶液(2x10mL)洗涤以得到浅灰色固体。然后使用甲醇/二氯甲烷作为流动相通过硅胶上的快速色谱法将其进一步纯化。

[0309] 或者,用EDAC(2.30g;12mmol)和HOBT(0.5g;3mmol)处理羧酸(4.08g;10mmol)、苯胺(1.52g;12mmol)和三乙胺(2.7mL;20mmol)在乙腈(100mL)中的悬浮液。将浆料在室温下搅拌过夜,并且通过HPLC监测反应进程。在反应结束时,添加150mL水,并通过过滤收集沉淀的产物,用水洗涤,并然后通过快速色谱法纯化。¹H-NMR(DMSO-d₆,400MHz)δ10.46(br s,1H),10.29(br s,1H),10.0(br s,1H),8.47(d,1H),7.92(dd,1H),7.73(dd,2H),7.51(s,1H),7.40(s,1H),7.28(dd,2H),6.68(dd,1H),6.62(dt,1H),6.45(d,1H),3.95(s,3H),3.94(s,3H),1.60-1.55(m,4H)。¹³C NMR(DMSO-d₆,100MHz)δ169.82,167.67,159.91,157.51,152.58,149.97,149.35,149.09,148.98,148.86,146.49,135.72,123.00,122.97,122.91,122.43,121.30,115.17,107.86,105.10,104.87,103.16,102.43,102.19,99.08,55.74,55.71,55.66,30.02,16.51。

[0310] MS(APCI⁺)m/z 518.3[M+H]⁺,500.3。

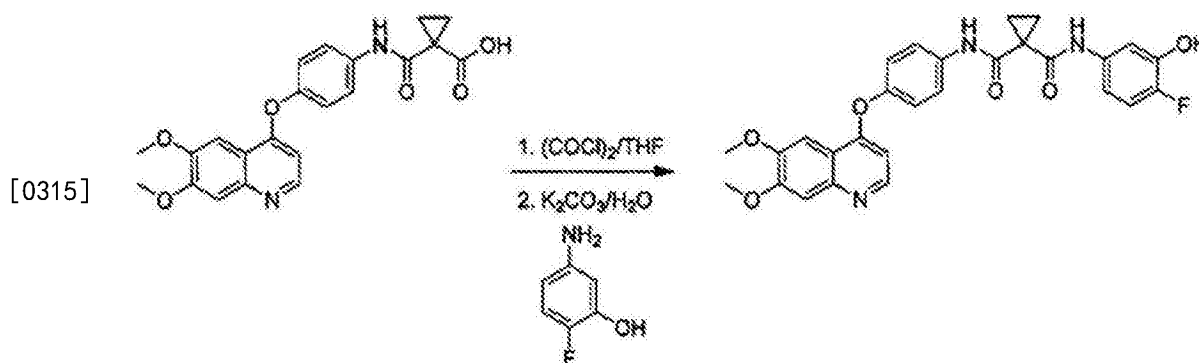
[0311] 卡博替尼-羟基硫酸盐



[0313] 向羟基-卡博替尼(0.95g;1.9mmol)在THF(20mL)中的悬浮液添加三乙胺(5mL;36mmol)并冷却到低于5℃。经大约15分钟滴加氯磺酸(1mL;15mmol),使得温度保持低于10

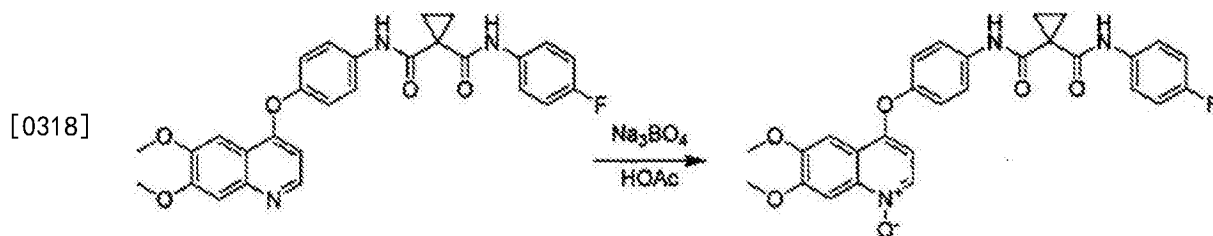
℃。在室温下过夜搅拌后，HPLC分析显示剩下大约5%的原料。用1N HCl水溶液(25mL)处理反应混合物。通过过滤收集沉淀产物，用水(4x 25mL)洗涤并真空干燥，得到灰白色固体(937mg;82%粗收率)。通过AN-HPLC分析显示产物纯度为90.8%，主要杂质为原料。使用乙酸铵水溶液/乙腈流动相体系，通过C18柱上的制备型HPLC将产物纯化到超过99% (AN-HPLC)。¹H-NMR(DMSO-d₆,400MHz)δ10.39(s,1H),9.69(s,1H),8.81(d,1H),7.95(dd,1H),7.85(d,2H),7.77(s,1H),7.51(s,1H),7.11(s,1H),7.08(dd,1H),6.93(dd,1H),6.45(d,1H),4.05(s,3H),4.04(s,3H),1.53(s,4H)。MS(ESI-)m/z 596.0[M-H]⁻。

[0314] 间羟基-卡博替尼



[0316] 向烧瓶中装入羧酸(0.84g;2.1mmol)、THF(1.2mL)和DMF(5μL)并冷却到15℃。经大约20分钟向此浆料中滴加草酰氯(0.17mL;2.1mmol)。2小时后，经大约15分钟将酰氯浆料添加到另一容器中，该容器含有苯胺(0.2g,1.6mmol)、碳酸钾(0.63g,4.6mmol)在THF(2.8mL)和水(1mL)中的搅拌悬浮液。90分钟后，HPLC分析显示完全转化成产物。停止搅拌，移除下部含水层并用乙酸乙酯(15mL)萃取。将有机层合并，经无水MgSO₄干燥，过滤并浓缩以得到棕色固体。然后使用乙酸乙酯/庚烷作为流动相，通过硅胶上的快速色谱法将固体进一步纯化。¹H-NMR(DMSO-d₆,400MHz)δ10.15(br s,1H),9.96(br s,1H),9.89(br s,1H),8.46(d,1H),7.76(d,1H),7.50(s,1H),7.41(d,2H),7.39(s,1H),7.22(d,2H),7.07-6.98(m,2H),6.42(d,1H),3.94(s,3H),3.93(s,3H),1.46(br s,4H)。¹³C NMR(DMSO-d₆,100MHz)δ168.27,167.95,160.02,152.56,149.48,149.33,148.86,148.56,146.46,146.21,144.52,144.39,136.45,135.33,135.31,122.23,121.22,115.63,115.44,115.15,111.29,111.23,110.26,107.85,103.04,99.08,55.73,55.71,31.66,15.40。MS(APCI+)m/z 518.3[M+H]⁺,502.3。

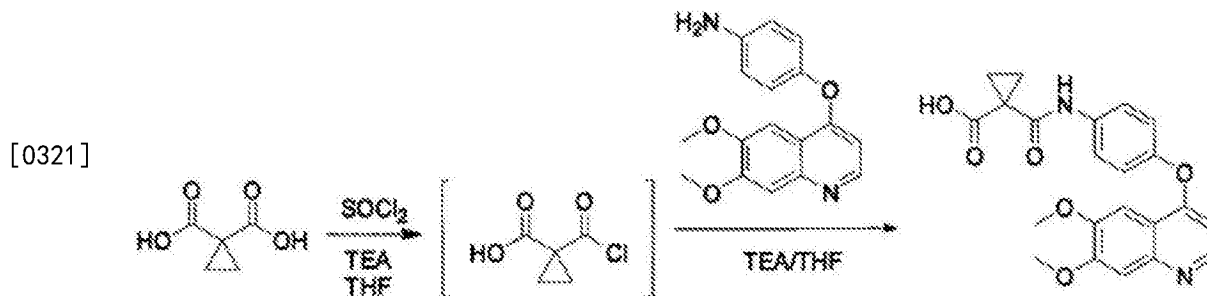
[0317] 卡博替尼N-氧化物



[0319] 向烧瓶中装入N-(4-[[6,7-双(甲基氧基)喹啉-4-基]氧基]苯基)-N'-(4-氟苯基)环丙烷-1,1-二甲酰胺(3.21g;6.4mmol)、乙酸(32.1mL)和四水合过硼酸钠(1.98g,12.8mmol)并加热到65℃且搅拌过夜。24小时后，HPLC分析显示约38:62的原料:产物。添加更多的氧化剂(1.98g;12.8mmol)并继续加热过夜。真空移除溶剂并使用二氯甲烷-甲醇梯度液(二氯甲烷至10%甲醇-二氯甲烷)通过快速色谱法纯化残留物，得到呈白色固体的

0.95g产物。¹H-NMR(DMSO-d₆,400MHz)δ10.20(br s,1H),10.08(br s,1H),8.28(d,1H),7.90(s,1H),7.74(d,2H),7.64(dd,2H),7.48(s,1H),7.23(d,2H),7.15(t,2H),6.45(d,1H),3.97(s,3H),3.94(s,3H),1.47(br s,4H)。¹³C NMR(DMSO-d₆,100MHz)δ172.11,168.18,168.13,159.49,157.09,153.34,150.72,150.57,149.98,137.41,136.32,135.24,135.21,134.06,122.44,122.36,122.19,120.65,117.23,11.17,114.95,104.37,100.34,99.12,56.09,56.03,31.59,15.42。MS(APCI+)m/z 518.3[M+H]⁺。

[0320] 1-[4-(6,7-二甲氧基-喹啉-4-基氧基)-苯基氨甲酰基]-环丙烷羧酸



[0322] 向THF(3.5mL)中的环丙基二羧酸(449mg,3.45mmol)添加TEA(485μL,3.45mmol)。在氮气氛围下将所得到的溶液在室温下搅拌40分钟,之后添加亚硫酸氯(250μL,3.44mmol)。通过LCMS监测反应的单酰氯的形成(用MeOH猝灭样品并寻找相应的单甲酯)。在室温下搅拌3小时后,添加呈固体的4-(6,7-二甲氧基-喹啉-4-基氧基)-苯胺(1.02g,3.44mmol),接着添加更多的THF(1.5mL)。在室温下继续搅拌反应物16小时。将所得到的稠浆料用EtOAc(10mL)稀释并用1N NaOH萃取。过滤双相浆料,用浓HCl将含水相酸化至pH或大约6并过滤。将两种固体合并,用EtOAc洗涤,然后真空干燥。得到呈白色固体的所需产物1-[4-(6,7-二甲氧基-喹啉-4-基氧基)-苯基氨甲酰基]-环丙烷羧酸(962mg,68.7%收率,97%纯度)。¹H NMR(D₂O/NaOH):7.97(d,1H),7.18(d,2H),6.76(m,4H),6.08(d,1H),3.73(s,3H),3.56(s,3H),1.15(d,4H)。

[0323] 为了清楚和理解的目的,已经借助于说明和举例的方式在一些细节方面对前述的公开内容进行了描述。已经参照各种具体和优选的实施方案和技术对本发明进行了描述。然而,应当理解的是,可以在本发明的实质和范围内做出许多变化和修改。本领域技术人员显而易见的是,可以在所附权利要求的范围内实施变化和修改。因此,要理解的是,上文的描述旨在为说明性而非限制性的。因此应当不是参照上文的描述而是应当参照以下所附的权利要求连同与这些权利要求具有等效性的表述的全部范围来确定本发明的范围。除非另有说明外,否则本文引用的所有专利文献以引用的方式并入本文。