

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2015 年 10 月 15 日 (15.10.2015)



(10) 国际公布号
WO 2015/154535 A1

- (51) 国际专利分类号:
C07D 401/04 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
A61K 31/4439 (2006.01) A61P 35/02 (2006.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2014/095461
- (22) 国际申请日: 2014 年 12 月 30 日 (30.12.2014)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (30) 优先权:
201410139359.7 2014 年 4 月 8 日 (08.04.2014) CN
- (71) 申请人: 北大方正集团有限公司 (PEKING UNIVERSITY FOUNDER GROUP CO., LTD.) [CN/CN]; 中国北京市海淀区成府路 298 号, Beijing 100871 (CN)。方正医药研究院有限公司 (PKUCARE PHARMACEUTICAL R&D CENTER) [CN/CN]; 中国北京市昌平区生命园路 29 号创新大厦 A106-109, Beijing 102206 (CN)。北大医疗产业集团有限公司 (PKU HEALTHCARE INDUSTRY GROUP CO., LTD.) [CN/CN]; 中国北京市海淀区成府路 298 号中关村方正大厦 7 层, Beijing 100871 (CN)。
- (72) 发明人: 易崇勤 (YI, Chongqin); 中国北京市海淀区成府路 298 号, Beijing 100871 (CN)。许恒 (XU,

Heng); 中国北京市海淀区成府路 298 号, Beijing 100871 (CN)。陶晶 (TAO, Jing); 中国北京市海淀区成府路 298 号, Beijing 100871 (CN)。林松文 (LIN, Songwen); 中国北京市海淀区成府路 298 号, Beijing 100871 (CN)。韩方斌 (HAN, Fangbin); 中国北京市海淀区成府路 298 号, Beijing 100871 (CN)。

(74) 代理人: 中国国际贸易促进委员会专利商标事务所 (CCPIT PATENT AND TRADEMARK LAW OFFICE); 中国北京市西城区阜成门外大街 2 号万通新世界广场 8 层, Beijing 100037 (CN)。

(81) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ,

[见续页]

(54) Title: POLYSUBSTITUTED PYRIDINE COMPOUND, PREPARATION METHOD, USE AND PHARMACEUTICAL COMPOSITION

(54) 发明名称: 多取代的吡啶化合物、制备方法、用途及药物组合物

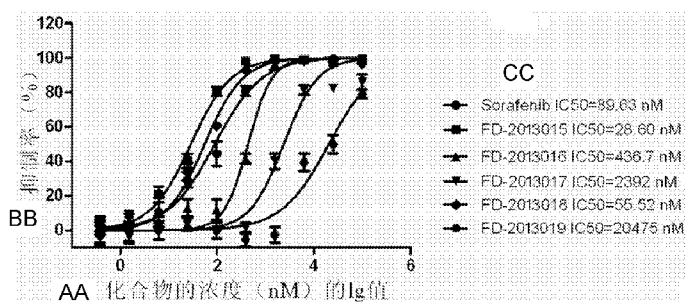
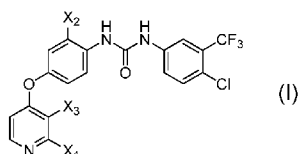


图 1 / FIG. 1

AA lg value of concentration of compound
BB Inhibition rate



(57) Abstract: Provided are a polysubstituted pyridine compound as shown by formula I, a preparation method, use and a pharmaceutical composition: the polysubstituted pyridine compound as shown by formula I of the present invention has an excellent anti-tumour effect, and can inhibit a variety of cell kinases at the same time, and also has evidently excellent pharmacokinetic properties, and is very suitable for oral and intravenous administration. The pharmaceutical composition of the present invention can be used for treating tumours and cancers.

(57) 摘要: 本发明提供了一种式 I 所示的多取代的吡啶化合物、制备方法、用途及药物组合物: 本发明的式 I 所示的多取代的吡啶化合物具有优秀的抗肿瘤作用, 能同时抑制多种细胞激酶, 还具有明显优秀的药代动力学特征, 非常适合口服和静脉给药。本发明的药物组合物可用于治疗肿瘤和癌症。



BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

— 包括国际检索报告(条约第 21 条(3))。

多取代的吡啶化合物、制备方法、用途及药物组合物

技术领域

本发明属于药物化学领域，具体而言，涉及一种多取代的吡啶化合物、制备方法、用途及药物组合物。

背景技术

抗肿瘤药物的研究与开发是当今生命科学中极富挑战性且意义重大的领域。近年来，随着分子生物学的飞速发展以及人们对癌症发生、发展、作用机制的进一步认识，恶性肿瘤细胞内的信号转导、细胞周期的调控、细胞凋亡的诱导、血管生成以及细胞与胞外基质的相互作用等各种基本过程正在被逐步阐明。因此寻找和发现选择性作用于特定靶点的高效、低毒、特异性强的新型抗肿瘤药物已成为当前药物研究开发的重要领域之一。由此产生了一个新的抗癌药物领域——分子靶向药物。

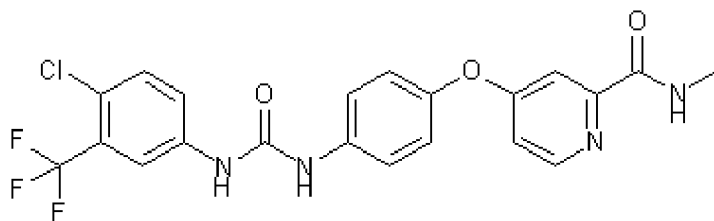
分子靶向药物是指针对细胞癌变过程的受体或转导过程中关键的酶，从分子水平抑制肿瘤生长的治疗模式。其以肿瘤细胞的特征分子为靶点，在发挥抗肿瘤作用的同时，减少了对正常细胞的毒副作用。

正负调控子的平衡控制着肿瘤血管的生成，由此促进肿瘤的生长和转移，开发血管生成抑制剂是肿瘤研究最为活跃的领域之一。VEGFR 是一类重要的酪氨酸激酶，许多研究表明，其信号转导途径失调在肿瘤的发生、生长和转移中有重要作用。VEGFR 主要有 VEGFR21(Flt21)、VEGFR22(KDR /Flt21)和 VEGFR23(Flt24)，均属酪氨酸激酶受体。VEGF 通过与两种跨内皮细胞膜受体结合发挥生物学功能。

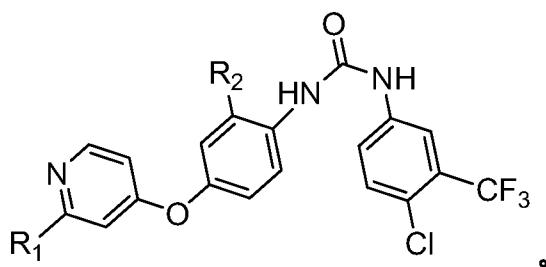
细胞的分化信号传导因子中，含有大量的蛋白激酶家族。在细胞信号转导过程中，蛋白酪氨酸激酶十分重要，它可催化 ATP 上的磷酸基转移到许多重要蛋白质酪氨酸残基上使其磷酸化，导

致传导支路的活化,影响细胞生长、增殖和分化,而许多肿瘤细胞中酪氨酸激酶活性异常升高。超过 50% 的癌基因及其产物具有蛋白酪氨酸激酶活性,它们的异常表达将导致肿瘤的发生。此外,该酶的异常表达还与肿瘤转移、肿瘤新生血管生成、肿瘤对化疗耐药有关。研究能阻断或修饰由信号传导失常引起疾病的选择性蛋白激酶抑制剂,被认为是有希望的药物开发途径。目前,已经发现了一些蛋白激酶抑制剂和针对不同蛋白激酶 ATP 结合位点的小分子治疗剂,并已进入临床研究,如酪氨酸激酶抑制剂等。

由拜耳药业开发的多靶点药物索拉非尼 (Sorafenib, 商品名 Nexavar) 2005 年 12 月经美国食品药品监督管理局 (FDA) 批准作为治疗晚期肾癌的一线药物上市,是目前世界上第一个被批准应用于临床的多靶点的靶向治疗药物。中国专利文献 CN1341098A 公开了索拉非尼的化学结构,索拉非尼结构如下:



本发明人在之前的研究中还申请过另一篇中国专利申请,该专利文献 CN102532113A (申请号: 201110435847.9) 中公开的化合物的通式为:



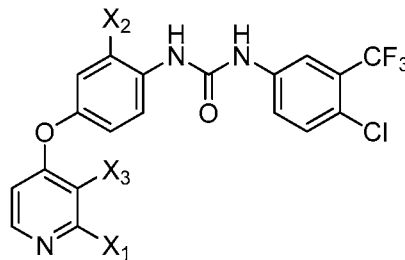
由于目前的抗肿瘤药物仍然不能满足治疗人类及其它哺乳动物肿瘤疾病的需要,已上市的抗肿瘤药物的临床治疗效果仍然达不到人们希望的水平,仍然需要寻找更强效的抗肿瘤药物。

发明内容

为解决上述现有技术中存在的问题，本发明提供了一种多取代的吡啶化合物、制备方法、用途及药物组合物。

具体而言，

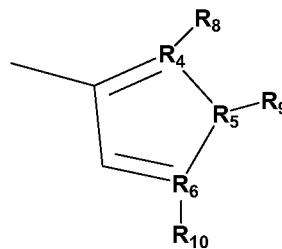
本发明第一方面提供了一种式 I 所示的多取代的吡啶化合物或其水合物、溶剂合物和药学上可接受的盐：



式 I

其中，

X_1 选自式 a 所示的取代或未取代的五元芳杂环；



式 a

R_4 、 R_5 、 R_6 各自独立地选自碳原子、氮原子、氧原子、或硫原子， R_8 、 R_9 、 R_{10} 各自独立地选自氢、卤素、 C_1 - C_4 烷基、 C_1 - C_4 烷氧基；

X_2 选自 F 或 H；

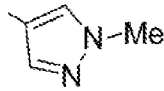
X_3 选自卤素、 $-CN$ 、 C_1 - C_4 烷基、卤代的 C_1 - C_4 烷基、 C_1 - C_4 烷氧基、卤代的 C_1 - C_4 烷氧基、 $-NR_{11}R_{12}$ 中的一种；其中所述 R_{11} 、 R_{12} 各自独立地选自氢、或 C_1 - C_4 烷基。

优选的，其中 R_4 、 R_5 、 R_6 各自独立地选自碳原子或氮原子。

优选的，其中 R_4 、 R_5 、 R_6 不同时为碳原子。

优选的，其中 R_4 、 R_5 、 R_6 不同时为氮原子。

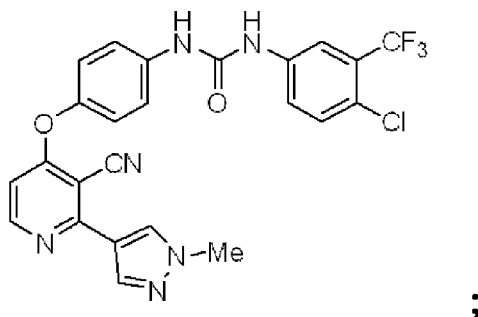
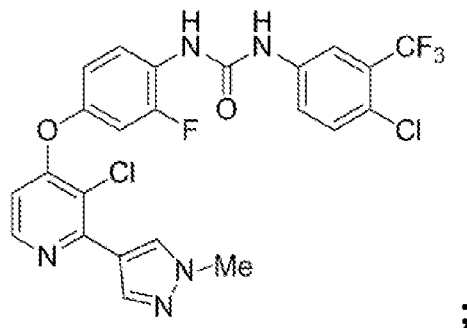
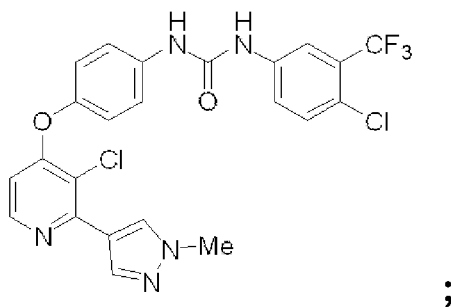
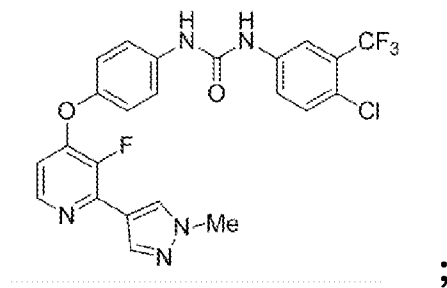
优选的，其中 R_8 、 R_9 、 R_{10} 各自独立地选自氢、或甲基。

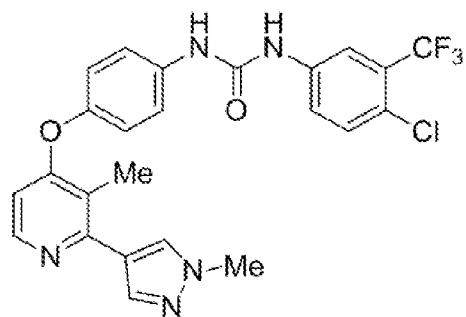
优选的, 其中, X_1 为 .

优选的, 其中, X_3 选自 F、Cl、Br、 $-CF_3$ 、 $-CN$ 、 C_1-C_2 烷基、 C_1-C_2 烷氧基、 $-NR_{11}R_{12}$ 中的一种; 其中所述 R_{11} 、 R_{12} 各自独立地选自氢、或 C_1-C_2 烷基。

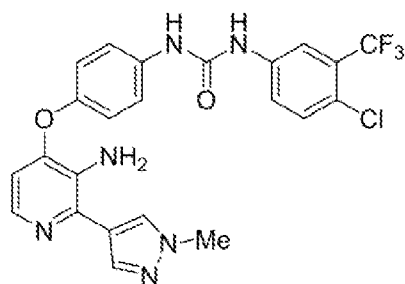
优选的, 其中, X_3 选自 F、Cl、 $-CN$ 。

优选的, 其中, 式 I 所示的多取代的吡啶化合物选自以下化合物:

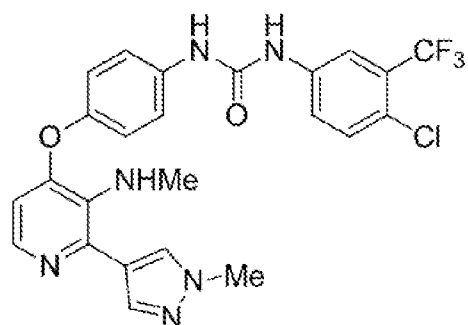




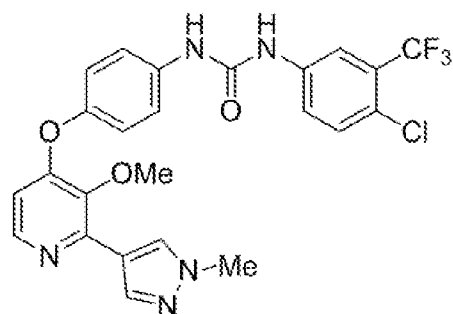
;



;

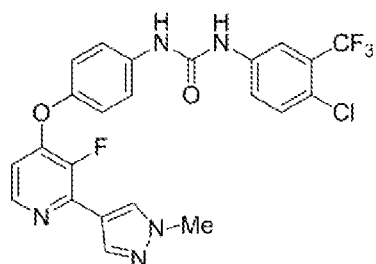


; 以及

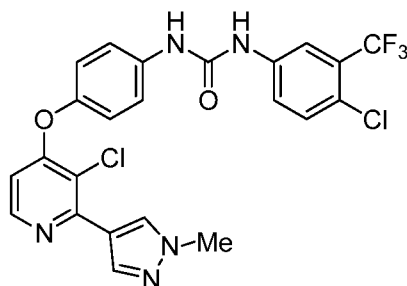


。

更优选的, 其中, 式 I 所示的多取代的吡啶化合物选自以下化合物:



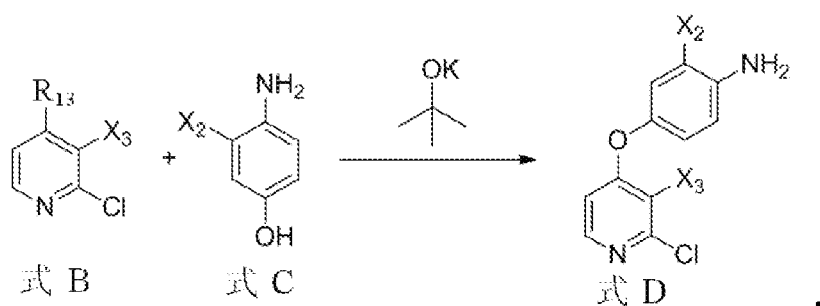
; 以及



优选的，其中，式 I 所示的多取代的吡啶化合物的药学上可接受的盐选自：盐酸盐、氢溴酸盐、硫酸盐、磷酸盐、甲磺酸盐、三氟甲磺酸盐、苯磺酸盐、对甲苯磺酸盐、1-萘磺酸盐、2-萘磺酸盐、乙酸盐、三氟乙酸盐、苹果酸盐、酒石酸盐、柠檬酸盐、乳酸盐、草酸盐、琥珀酸盐、富马酸盐、马来酸盐、苯甲酸盐、水杨酸盐、苯基乙酸盐、或杏仁酸盐。

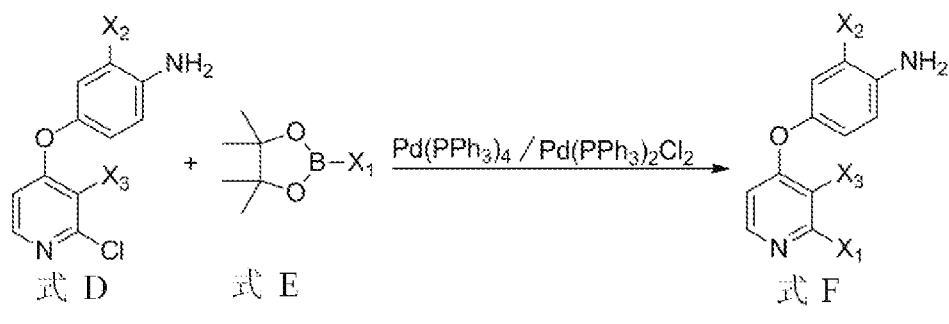
本发明还涉及本发明第一方面任一项所述的多取代的吡啶化合物的制备方法，其包括：

1) 式 B 所示的化合物与式 C 所示的化合物在叔丁醇钾作为碱的存在下发生如下反应，得到式 D 所示的化合物：

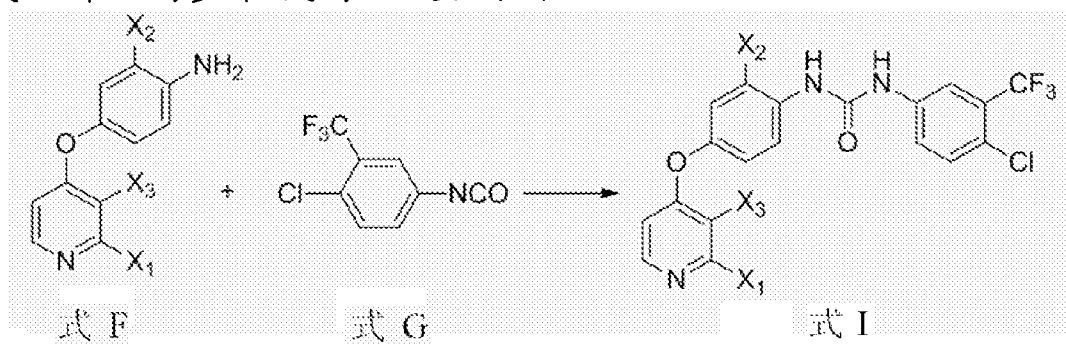


其中 R_{13} 为氟、氯、溴或碘；

2) 式 D 所示的化合物与式 E 所示的化合物在四(三苯基膦)钯或二(三苯基膦)二氯化钯的催化下发生如下反应，得到式 F 所示的化合物：

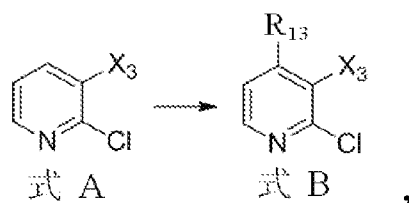


3) 式 F 所示的化合物与式 G 所示的化合物发生如下反应, 得到式 I 所示的多取代的吡啶化合物:



优选的, 其中, 所述的式 B 所示的化合物是通过以下方法制备得到的:

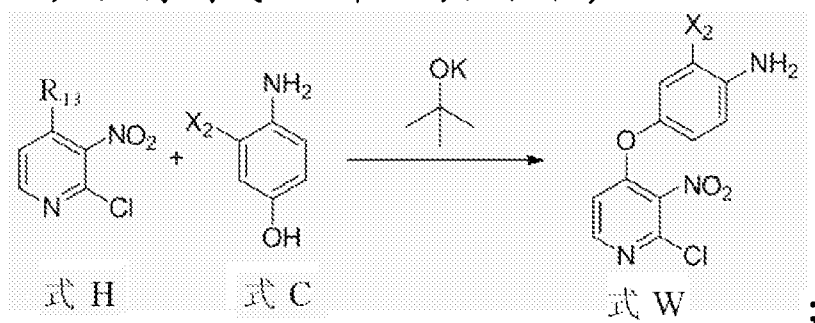
式 A 所示的化合物发生卤代反应, 得到式 B 所示的化合物:



其中 R_{13} 为氟、氯、溴或碘。

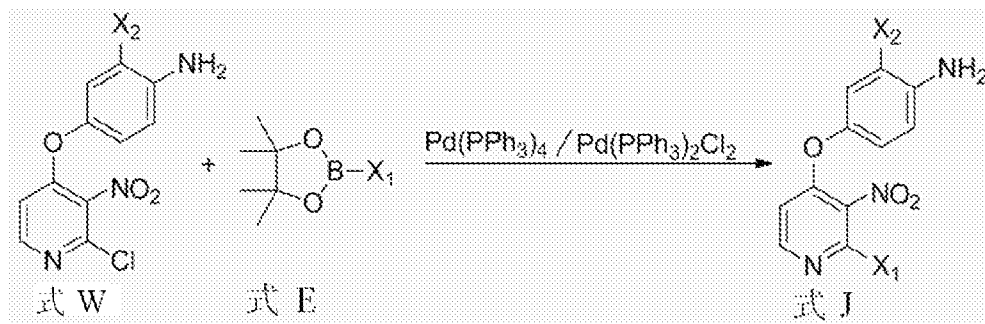
优选的, 当 X_3 为 NH_2 时, 所述的制备方法包括:

1) 式 H 所示的化合物与式 C 所示的化合物在叔丁醇钾的催化下发生如下反应, 得到式 W 所示的化合物;

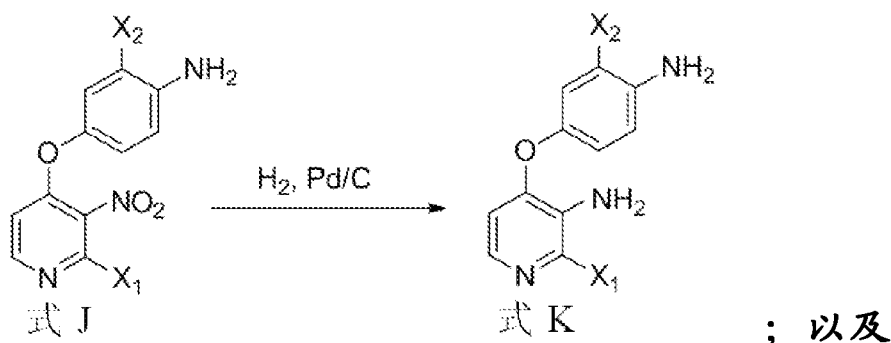


其中 R_{13} 为氟、氯、溴或碘;

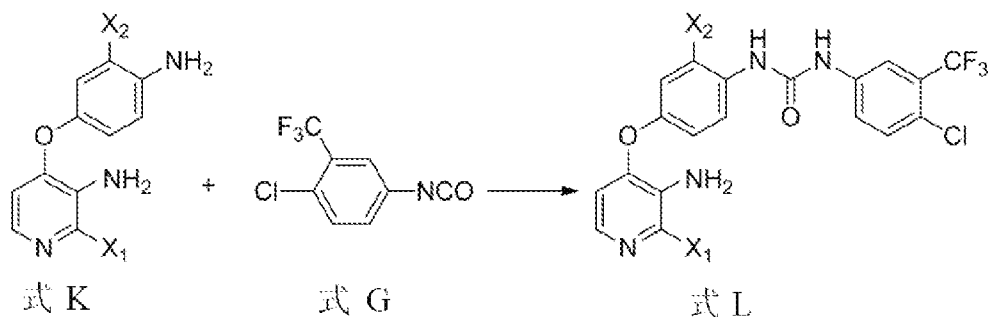
2) 式 W 所示的化合物与式 E 所示的化合物在催化剂四(三苯基膦)钯或二(三苯基膦)二氯化钯的作用下发生如下反应, 得到式 J 所示的化合物:



3) 式 J 所示的化合物在钯碳的催化下进行氢化反应, 得到式 K 所示的化合物:



4) 式 K 所示的化合物与式 G 所示的化合物发生如下反应, 得到式 L 所示的化合物:



其中, 在本发明中, LDA 表示二异丙基氨基锂; THF 表示四氢呋喃; -78deg 表示 -78℃; DMSO 表示二甲基亚砜; rt 表示室温; DCM 表示二氯甲烷; conc. 表示“浓”; TEA 表示三乙胺。

本发明还涉及本发明第一方面任一项所述的多取代的吡啶化合物或其水合物、溶剂合物和药学上可接受的盐在制备用于治疗

和/或预防与 VEGFR-2（血管内皮生长因子受体-2）、VEGFR-3（血管内皮生长因子受体-3）、CRAF（人 C-Raf 原癌基因丝苏氨酸蛋白激酶）、PDGFR- β （血小板衍生生长因子受体 β ）、BRAF（人丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶）、BRAF V600E、KIT 和/或 FLT-3（FMS 样酪氨酸激酶 3）激酶相关的疾病的药物中的用途。

在本发明的实施方案中，所述的与 VEGFR-2、VEGFR-3、CRAF、PDGFR- β 、BRAF、V600E BRAF、KIT 和/或 FLT-3 激酶相关的疾病包括肿瘤或癌症。

优选的，其中，所述的肿瘤或癌症为黑色素瘤、肝癌、肾癌、急性白血病、慢性白血病、非小细胞肺癌、前列腺癌、甲状腺癌、皮肤癌、结肠癌、直肠癌、胰腺癌、卵巢癌、乳腺癌、骨髓异常增生综合症、食管癌、或间皮瘤。

本发明还提供了一种治疗和/或预防与 VEGFR-2、VEGFR-3、CRAF、PDGFR- β 、BRAF、V600E BRAF、KIT 和/或 FLT-3 激酶相关的疾病的方法，所述方法包括向有需要的受试者给予治疗或预防有效量的本发明第一方面任一项所述的多取代的吡啶化合物或其水合物、溶剂合物和药学上可接受的盐。

在本发明的实施方案中，所述的与 VEGFR-2、VEGFR-3、CRAF、PDGFR- β 、BRAF、V600E BRAF、KIT 和/或 FLT-3 激酶相关的疾病包括肿瘤或癌症。

优选的，其中，所述的肿瘤或癌症为黑色素瘤、肝癌、肾癌、急性白血病、慢性白血病、非小细胞肺癌、前列腺癌、甲状腺癌、皮肤癌、结肠癌、直肠癌、胰腺癌、卵巢癌、乳腺癌、骨髓异常增生综合症、食管癌、或间皮瘤。

本发明还涉及本发明第一方面任意一项所述的多取代的吡啶化合物或其水合物、溶剂合物和药学上可接受的盐，用于治疗和/或预防与 VEGFR-2、VEGFR-3、CRAF、PDGFR- β 、BRAF、

V600E BRAF、KIT 和/或 FLT-3 激酶相关的疾病。

在本发明的实施方案中，所述的与 VEGFR-2、VEGFR-3、CRAF、PDGFR- β 、BRAF、V600E BRAF、KIT 和/或 FLT-3 激酶相关的疾病包括肿瘤或癌症。

优选的，所述的肿瘤或癌症为黑色素瘤、肝癌、肾癌、急性白血病、慢性白血病、非小细胞肺癌、前列腺癌、甲状腺癌、皮肤癌、结肠癌、直肠癌、胰腺癌、卵巢癌、乳腺癌、骨髓异常增生综合症、食管癌、或间皮瘤。

本发明还提供一种用于抑制细胞中的 VEGFR-2、VEGFR-3、CRAF、PDGFR- β 、BRAF、V600E BRAF、KIT 和/或 FLT-3 激酶活性的方法，其包括，给所述细胞施用有效量的本发明第一方面任意一项所述的多取代的吡啶化合物或其水合物、溶剂合物和药学上可接受的盐。

优选的，所述的方法在体外进行。

优选的，所述的方法在体内进行。

优选的，所述的细胞为细胞系，或者来自受试者的细胞，例如肿瘤细胞或癌细胞。

优选的，所述肿瘤或癌症选自黑色素瘤、肝癌、肾癌、急性白血病、慢性白血病、非小细胞肺癌、前列腺癌、甲状腺癌、皮肤癌、结肠癌、直肠癌、胰腺癌、卵巢癌、乳腺癌、骨髓异常增生综合症、食管癌或间皮瘤。

本发明还涉及本发明第一方面任意一项所述的多取代的吡啶化合物或其水合物、溶剂合物和药学上可接受的盐用于制备试剂的用途，所述的试剂用于抑制细胞中的 VEGFR-2、VEGFR-3、CRAF、PDGFR- β 、BRAF、V600E BRAF、KIT 和/或 FLT-3 激酶的活性。

优选的，所述的试剂用于体外方法中。

优选的，所述的试剂用于体内方法中。

优选的，所述的细胞为细胞系，或者来自受试者的细胞，例如肿瘤细胞或癌细胞。

优选的，所述的肿瘤或癌症选自黑色素瘤、肝癌、肾癌、急性白血病、慢性白血病、非小细胞肺癌、前列腺癌、甲状腺癌、皮肤癌、结肠癌、直肠癌、胰腺癌、卵巢癌、乳腺癌、骨髓异常增生综合症、食管癌或间皮瘤。

本发明还涉及本发明第一方面任意一项所述的多取代的吡啶化合物或其水合物、溶剂合物和药学上可接受的盐，其用于抑制细胞中的 VEGFR-2、VEGFR-3、CRAF、PDGFR- β 、BRAF、V600E BRAF、KIT 和/或 FLT-3 激酶的活性。

优选的，其用于体外方法中。

优选的，其用于体内方法中。

优选的，所述的细胞为细胞系，或者来自受试者的细胞，例如肿瘤细胞或癌细胞。

优选的，所述的肿瘤或癌症选自黑色素瘤、肝癌、肾癌、急性白血病、慢性白血病、非小细胞肺癌、前列腺癌、甲状腺癌、皮肤癌、结肠癌、直肠癌、胰腺癌、卵巢癌、乳腺癌、骨髓异常增生综合症、食管癌或间皮瘤。

本发明还提供一种用于抑制细胞中的 VEGFR-2、VEGFR-3、CRAF、PDGFR- β 、BRAF、V600E BRAF、KIT 和/或 FLT-3 激酶的活性的试剂盒，所述的试剂盒包括本发明第一方面任意一项所述的多取代的吡啶化合物或其水合物、溶剂合物和药学上可接受的盐，且，任选地还包括使用说明。

在本发明的实施方案中，所述的与 VEGFR-2、VEGFR-3、CRAF、PDGFR- β 、BRAF、V600E BRAF、KIT 和/或 FLT-3 激酶相关的疾病包括肿瘤或癌症。

优选的，所述的肿瘤或癌症为黑色素瘤、肝癌、肾癌、急性白血病、慢性白血病、非小细胞肺癌、前列腺癌、甲状腺癌、皮肤癌、结肠癌、直肠癌、胰腺癌、卵巢癌、乳腺癌、骨髓异常增生综合症、食管癌、或间皮瘤。

本发明还提供一种药物组合物，其包含本发明第一方面任一项所述的多取代的吡啶化合物或其水合物、溶剂合物和药学上可接受的盐及药学上可接受的辅料（例如载体或赋形剂）。

优选的，所述的药物组合物为注射剂、口服制剂、透皮吸收剂或栓剂。

优选的，所述的药物组合物可用于治疗和/或预防与 VEGFR-2、VEGFR-3、CRAF、PDGFR- β 、BRAF、V600E BRAF、KIT 和/或 FLT-3 激酶相关的疾病。

在本发明中，所述 C_1 - C_4 烷基选自甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基。

在本发明中，所述 C_1 - C_4 烷氧基是指 C_1 - C_4 烷基-O-，其中 C_1 - C_4 烷基的定义如前所述。

在本发明中，所述卤素选自氟、氯、溴、碘。

在本发明中，所述 C_1 - C_2 烷基是指甲基或乙基。

在本发明中，所述 C_1 - C_2 烷氧基是指甲氧基或乙氧基。

本文中使用的化合物名称与化学结构式不一致时，以化学结构式为准或根据本发明实际情况结合本领域技术人员公知常识得出。

本发明中的一些化合物可能与水或各种有机溶剂结晶或重结晶，在这种情况下，可能形成各种溶剂化物。本发明包括那些化学计量的溶剂化物，包括水合物，也包括在用低压升华干燥法制备时形成的包含可变量水的化合物。

根据本发明，既然式 I 化合物是以药用为目的的，可以理解它

们最好以纯的形式提供，例如至少 60% 的纯度，更合适的 75%，更好的 85%，最好至少 98% 的纯度(%是指重量百分比)。不纯化合物的制备方法可用来用于药用组合物中更纯的形式。这些不够纯的产物中至少含有 1%，更合适的 5%，更好的至少 10% 的如通式 I 所示的化合物或其可药用的衍生物。

本发明还涉及药物组合物，其包括至少一种式 I 化合物和至少一种药用载体或赋形剂。式 I 的化合物或其可药用的盐可以单独使用，或与可药用的载体或赋形剂一起以药物组合物的形式使用，当以药物组合物的形式使用时，通常将有效剂量的本发明式 I 化合物或其可药用盐或水合物以及一种或多种可药用载体或稀释剂结合制成适当的施用形式或剂量形式，这一程序包括通过合适的方式将组分混合、粒化、压缩或溶解。

本发明药用组合物可以以下方面的任意方式施与：口服、喷雾吸入、直肠给药、鼻腔给药、阴道给药、局部给药、非肠道给药如皮下、静脉、肌肉、腹膜内、鞘内、心室内、胸骨内或颅内注射或输入，或借助一种外植的储器用药，其中优选口服、肌注、腹膜内或静脉内用药方式。

本发明的药物组合物中含有的药用载体包括但不限于：离子交换剂，氧化铝，硬脂酸铝，卵磷脂，血清蛋白如人血清蛋白，缓冲物质如磷酸盐，甘油，山梨酸，山梨酸钾，饱和植物脂肪酸的部分甘油酯混合物，水，盐或电解质，如硫酸鱼精蛋白，磷酸氢二钠，磷酸氢钾，氯化钠，锌盐，胶态氧化硅，三硅酸镁，聚乙烯吡咯烷酮，纤维素物质，聚乙二醇，羧甲基纤维素钠，聚丙烯酸酯，蜂蜡，羊毛酯等。载体在药物组合物中的含量可以是 1 重量%- 98 重量%，通常大约占到 80 重量%，为方便起见，局部麻醉剂，防腐剂，缓冲剂等可直接溶于载体中。

口服制剂如口服片剂和胶囊可以含有赋形剂如粘合剂，如糖浆，阿拉伯胶，山梨醇，黄芪胶，或聚乙烯吡咯烷酮，填充剂，如乳糖，蔗糖，玉米淀粉，磷酸钙，山梨醇，氨基乙酸，润滑剂，如硬脂酸

镁，滑石，聚乙二醇，硅土，崩解剂，如马铃薯淀粉，或可接受的增润剂，如月桂醇钠硫酸盐。片剂可以用制药学上公知的方法包衣。

口服液形式的本发明药物组合物可以制成水和油的悬浮液，溶液，乳浊液，糖浆或酏剂，也可以制成干品，用前补充水或其它合适的媒质。这种液体制剂可以包含常规的添加剂，如悬浮剂，山梨醇，纤维素甲醚，葡萄糖糖浆，凝胶，羟乙基纤维素，羧甲基纤维素，硬脂酸铝凝胶，氢化的食用油脂，乳化剂，如卵磷脂，山梨聚糖单油酸盐，阿拉伯树胶；或非水载体(可能包含可食用油)，如杏仁油，油脂如甘油，乙二醇，或乙醇；防腐剂，如对羟基苯甲酸甲酯或丙酯，山梨酸。如需要可添加调味剂或着色剂。栓剂可包含常规，的栓剂基质，如可可黄油或其它甘油酯。非肠道给药，液态剂型通常由化合物和至少一种消毒或无菌的载体制成。载体首选水。依照所选载体和药物浓度的不同，化合物既可溶于载体中也可制成悬浮溶液，在制成注射用溶液时先将化合物溶于水中，过滤消毒后装入封口瓶或安瓿中。当皮肤局部施用时，本发明化合物可以制成适当的软膏，洗剂，或霜剂的形式，其中活性成分悬浮或溶解于一种或多种的载体中。其中软膏制剂可以使用的载体包括但不限于：矿物油，液体凡士林，白凡士林，丙二醇，聚氧化乙烯，聚氧化丙烯，乳化蜡和水；洗剂和霜剂可使用的载体包括但不限于：矿物油，脱水山梨糖醇单硬脂酸酯，吐温60，十六烷酯蜡，十六碳烯芳醇，2-辛基十二烷醇，苜醇和水。依据给药方式的不同，组合物中可以含有重量比0.1%，或更合适的重量比10-60%的活性组分。但组合物为单位剂型时，每个单位最好包含50-500毫克活性成分。依据给药途径和给药频率的不同，用于成人的适宜治疗剂量，例如可为每天100-3000毫克，如每天1500毫克。

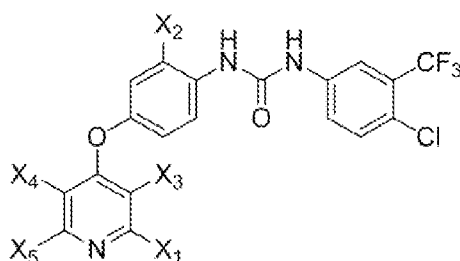
必须认识到，式 I 化合物的最佳给药剂量和间隔是由疾病或症状的严重程度、化合物性质和诸如给药的形式、路径和部位以及所治疗的特定哺乳动物等条件决定的，而这一最佳给药剂量可由临床医生来确定。

本发明的多取代的吡啶化合物与现有技术相比具有以下优点和积极效果：

本发明首次提供了一类新的多取代的吡啶化合物，与现有的化合物（例如索拉非尼，或者 CN1341098A、CN102532113A 中的化合物）相比，本发明的式 I 所示的多取代的吡啶化合物具有更优秀的抗肿瘤作用，能同时抑制多种存在于细胞内和细胞表面的激酶，包括血管内皮生长因子受体-2（VEGFR-2）、血管内皮生长因子受体-3（VEGFR-3）、CRAF、血小板衍生生长因子受体- β （PDGFR- β ）、BRAF、V600E BRAF、KIT 和 FLT-3 激酶，特别是本发明的一些优选化合物具有双重抗肿瘤效应，一方面可通过抑制 VEGFR 和 PDGFR 而阻断肿瘤新生血管的形成，抑制肿瘤细胞的生长；另一方面可以通过抑制 RAF/MEK/ERK 信号传导通路，抑制肿瘤生长，因此具有更强效的抗肿瘤作用。

此外，本发明的化合物除了有明显优秀的抗肿瘤作用外，还具有明显优秀的药代动力学特征，在体内的血药浓度等数据明显优于上市药物索拉非尼，非常适合口服和静脉给药。

本发明人为了获得更强效的抗肿瘤药物，进行了大量的筛选试验，例如，本发明人利用药效学实验在通式 II 的吡啶环的 X3、X4、X5 三个位置上进行了筛选：



式 II。

本发明人通过药效学实验筛选出人意料地发现，当吡啶环的 X₄ 和 X₅ 两个位置均为氢，并且 X₃ 位置上引入取代基时，通过电子云效应及化合物分子空间构型的变化，增强了药效基团 2-(1-甲基-4-吡唑基)、2-(甲基氨甲酰基)和吡啶环上的氮原子的作用，

使得化合物分子与受体结合强度更高。并且本发明人通过大量实验还出人意料地发现,吡啶环上 X_3 位置为氢时是导致化合物易被代谢的位点,当向通式 I 的 X_3 位置上引入取代基后,这些取代基阻止了原有的易被代谢的位点,提高了化合物代谢稳定性,保证了化合物在体内的高水平的血药浓度,从而使本发明化合物的药效又进一步的增加。在这些发现的基础上,本发明人进一步得到了本发明的技术方案,所得到的化合物有非常明显的优秀的抗肿瘤效果,明显优于中国专利文献 CN1341098、CN201110435847.9 中的化合物,也明显优于上市药物索拉非尼。

本发明人通过药效学实验进一步发现,当 X_3 位置上的取代基为吸电子基时,本发明化合物具有更进一步优秀的治疗效果。优选的吸电子基为氟、氯、氰基。

本发明技术方案与本发明人之前申请的专利 CN201110435847.9 中的技术方案的重要区别在于:本发明化合物在吡啶环的 3 位(即本发明通式 I 的 X_3 位置)上有取代基,而 CN201110435847.9 中的化合物在吡啶环上的 3 位、5 位、6 位(即本发明说明书通式 II 的 X_3 、 X_4 、 X_5 位置)上都没有取代基。

同样的,已上市的抗肿瘤药物索拉非尼的结构中在吡啶环上的 3 位、5 位、6 位(即本发明说明书通式 II 的 X_3 、 X_4 、 X_5 位置)上也都没有取代基,本发明化合物与索拉非尼化合物的结构也有重要区别。

发明人通过药效学对比实验研究发现,本发明化合物相对于吡啶环上 3 位、5 位、6 位(即本发明说明书通式 II 的 X_3 、 X_4 、 X_5 位置)没有取代基的 CN1341098、CN201110435847.9 中的化合物有明显优秀的抗肿瘤作用。并且,本发明化合物也明显优于目前已上市的抗肿瘤药物索拉非尼。这表示,本发明化合物相对于已上市的抗肿瘤药物索拉非尼是更强效的具有多重激酶抑制剂作用的抗肿瘤化合物。

本发明化合物除了有明显优秀的抗肿瘤作用外,还具有明显

优秀的药代动力学特征，在体内的血药浓度等数据明显优于上市药物索拉非尼，非常适合口服和静脉给药。

附图说明

图 1 为实施例 1、实施例 2、对比例 3、对比例 4、对比例 5、索拉非尼(Sorafenib)游离碱对激酶 VEGFR2 的半数抑制率的图；图中化合物与其在说明书具体实施方式部分对应关系如下：

说明书附图中化合物	对应的实施例
FD-2013015	实施例 1
FD-2013018	实施例 2
FD-2013016	对比例 3
FD-2013019	对比例 4
FD-2013017	对比例 5

具体实施方式

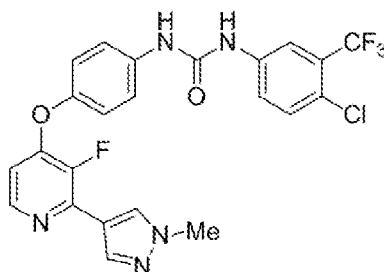
以下通过具体实施方式的描述并参照附图对本发明作进一步说明，但这并非是对本发明的限制，本领域技术人员根据本发明的基本思想，可以做出各种修改或改进，但是只要不脱离本发明的基本思想，均在本发明的范围之内。

在以下例子中，如无特殊说明，各试剂均市售可得，例如，可得自百灵威科技有限公司、阿法埃莎（天津）化学有限公司或北京偶合科技有限公司。

在以下例子中，产率的计算公式为：产率=产物重量×原料摩尔质量/（原料重量×产物摩尔质量）。

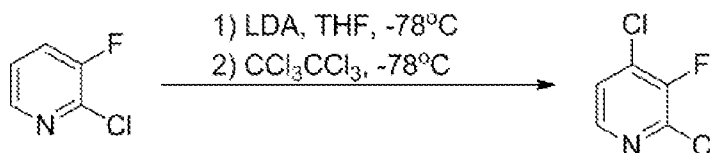
实施例 1

FD-2013015：即 1-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-3-(4-(3-氟-2-(1-甲基-4-吡唑基)-4-吡啶氧基)苯基)脲



制备方法:

步骤 1: 2-氯-3-氟-4-氯吡啶的合成

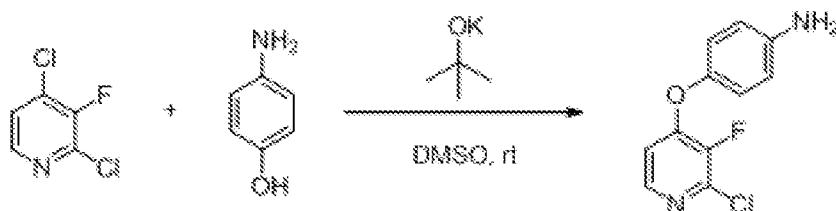


在氮气气氛中-30℃下将正丁基锂(2.4M的己烷溶液, 13.13mL, 31.5mmol)滴加到二异丙基胺(3.18g, 31.5mmol)于无水四氢呋喃(30mL)中的溶液中。将反应混合物在-30℃下搅拌30分钟, 然后冷却至-78℃。滴加2-氯-3-氟吡啶(3.95g, 30mmol)于无水四氢呋喃(20mL)中的溶液, 然后将反应混合物在-78℃搅拌60分钟。滴加六氯乙烷(7.10g, 30mmol)于无水四氢呋喃(50mL)中的溶液, 然后将反应混合物在-78℃搅拌60分钟。将反应混合物以饱和氯化铵溶液(50mL)淬灭, 以水(50mL)稀释, 以乙酸乙酯萃取(100mL×3次), 合并有机层。将合并的有机层以食盐水洗(100mL×3次), 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩。残留物经柱色谱(石油醚: 乙酸乙酯=100:1)纯化得产物为黄色固体(3.60g, 产率为72%)。

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): 8.14 (d, $J = 5.1$ Hz, 1H), 7.34 (t, $J = 5.1$ Hz, 1H)

MS (ESI⁺): m/z 166.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$

步骤 2: 2-氯-3-氟-4-(4-氨基苯氧基)吡啶的合成:

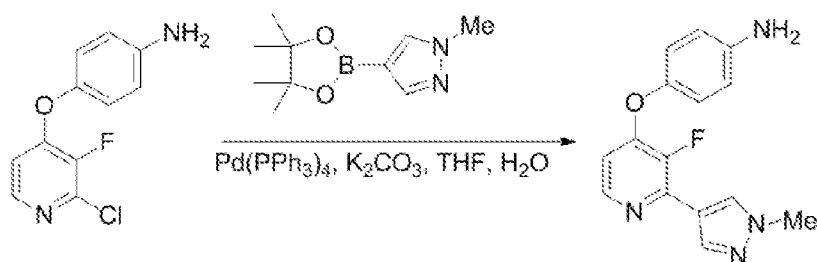


将 4-氨基苯酚(24.8g, 227mmol)于无水二甲基亚砜(210mL) 中的溶液以氩气鼓泡 10 分钟, 然后加入叔丁醇钾(26.80g, 238.8mmol)。将反应混合物在室温下搅拌 30 分钟后, 加入 2-氯-3-氟-4-氯吡啶(37.68g, 227mmol)。将反应混合物在室温下搅拌 5 小时, 然后用水(1000mL) 稀释并用乙酸乙酯萃取(500mL×3 次), 合并有机层。将合并的有机层以食盐水洗(500mL×2 次), 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩。残留物经柱色谱(硅胶, 石油醚: 乙酸乙酯=5:1, v/v) 纯化得产物为淡黄色固体(15.0g 产率为 28%)。

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ 5.22 (br s, 2H), 6.62 (d, J = 9.0 Hz, 2H), 6.75 (t, J = 5.7 Hz, 1H), 6.92 (d, J = 9.0 Hz, 2H), 8.05 (d, J = 5.7 Hz, 1H)

MS (ESI $^{+}$): m/z 239.1 $[\text{M}+\text{H}]^{+}$

步骤 3: 4-(3-氟-2-(1-甲基-4-吡唑基)-4-吡啶氧基)苯胺的合成:



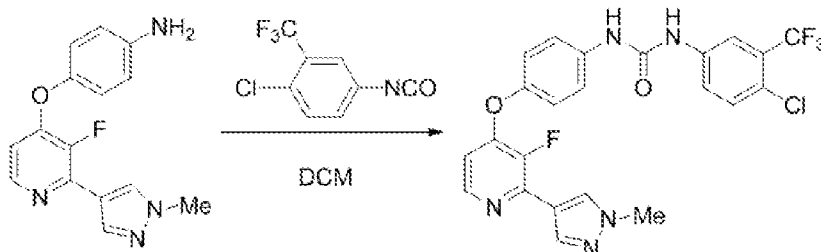
将 2-氯-3-氟-4-(4-氨基苯氧基)吡啶(7.2g, 30.2mmol), 1-甲基-4-吡唑硼酸频哪醇酯(6.3g, 30.2mmol), 碳酸钾(12.5g, 90.6 mmol)和四(三苯基膦)钯(1.74g, 1.5 mmol)于四氢呋喃(THF, 180mL) 和水(30mL) 中的混合物以氩气鼓泡 5 分钟, 然后在氩气气氛中 85℃下搅拌 24 小时。将反应混合物以水(100mL) 稀释, 以乙酸乙酯萃取(100mL×3 次), 合并有机层。将合并的有机层以食盐水洗(100mL×2 次), 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩。残留物经柱色谱(硅胶, 石油醚: 乙酸乙酯=1:2, v/v) 纯化得产物为淡黄色固体(5.4g, 产率 60%)。

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ 3.93 (s, 3H), 5.18 (br s, 2H),

6.54 (t, $J = 5.7$ Hz, 1H), 6.63 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 6.91 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 7.98 (d, $J = 0.6$ Hz, 1H), 8.15 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 8.29 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H)

MS (ESI⁺): m/z 285.1 $[M+H]^+$

步骤 4: 1-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-3-(4-(3-氟-2-(1-甲基-4-吡唑基)-4-吡啶氧基)苯基)脲的合成:

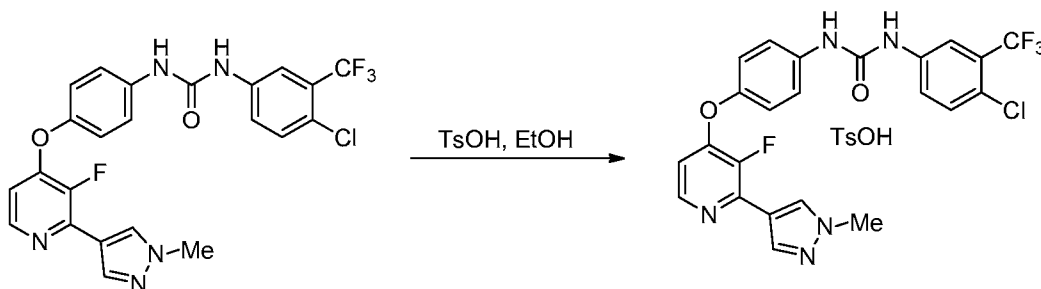


将 4-(3-氟-2-(1-甲基-4-吡唑基)-4-吡啶氧基)苯胺 (1.71g, 6.0 mmol) 和 4-氯-3-三氟甲基苯基异氰酸酯 (1.6g, 7.2 mmol) 于二氯甲烷 (30mL) 中的混合溶液在室温下搅拌 12 小时。过滤收集产生的白色固体, 以二氯甲烷洗, 烘干得到产物为白色固体 (2.35g, 产率 75%)。

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ 3.93 (s, 3H), 6.66 (t, $J = 6.0$ Hz, 1H), 7.18 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H), 7.56 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H), 7.59-7.63 (m, 2H), 7.98 (s, 1H), 8.10 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 8.20 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 8.30 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 8.98 (s, 1H), 9.18 (s, 1H)

MS (ESI⁺): m/z 505.8 $[M+H]^+$

步骤 5: 1-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-3-(4-(3-氟-2-(1-甲基-4-吡唑基)-4-吡啶氧基)苯基)脲对甲苯磺酸盐的合成:



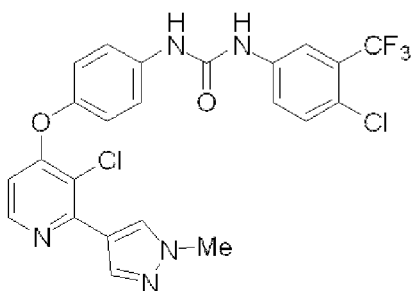
将 1-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-3-(4-(3-氟-2-(1-甲基-4-吡唑基)-4-吡啶氧基)苯基)脲 (1.518g, 3mmol) 和对甲苯磺酸一水合

物 (0.684g, 3.6mmol) 于无水乙醇 (20mL) 中的混合物加热至回流, 补加无水乙醇至固体完全溶解。将所得澄清溶液过滤, 将滤液静置过夜。抽滤收集所产生的白色固体, 烘干得产物为白色固体 (1.328g, 产率为 65%)

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 9.32 (s, 1H), 9.12 (s, 1H), 8.39 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H), 8.28 (d, $J = 5.7$ Hz, 1H), 8.13 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 8.06 (s, 1H), 7.72 – 7.56 (m, 4H), 7.51 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.23 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H), 7.13 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 6.77 (t, $J = 6.2$ Hz, 1H), 3.95 (s, 3H), 2.29 (s, 3H).

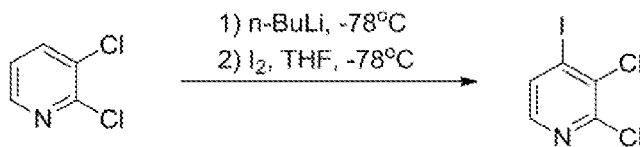
实施例 2

FD-2013018: 即 1-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-3-(4-(3-氯-2-(1-甲基-4-吡唑基)-4-吡啶氧基)苯基)脲



制备方法:

步骤 1: 2,3-二氯-4-碘吡啶的合成



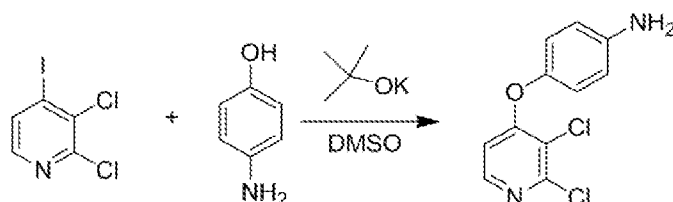
在氩气气氛中 -78°C 下将正丁基锂 (2.4M 的己烷溶液, 59.12mL, 141.9mmol) 滴加到 2,3-二氯吡啶 (20g, 135.1mmol) 于无水四氢呋喃 (350mL) 的溶液中, 并将反应混合物在 -78°C 下搅拌 90 分钟。滴加碘 (41g, 161.5mmol) 于无水四氢呋喃 (100mL) 中的溶液, 将反应混合物在 -78°C 下搅拌 60 分钟然后升至室温。将反应混合物以饱和氯化铵溶液 (100mL) 淬灭, 以水 (100mL)

稀释，以乙酸乙酯萃取（200mL×3次），合并有机层。将合并的有机层以食盐水洗（200mL×2次），无水硫酸钠干燥，过滤，浓缩。残留物经柱色谱（硅胶，石油醚：乙酸乙酯=100:1）纯化得产物为黄色固体（31.5g，产率 85.1%）。

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6): 8.08 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 8.65 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H)

MS (ESI+): m/z 273.9 $[\text{M}+\text{H}]^+$

步骤 2: 2,3-二氯-4-(4-氨基苯氧基)吡啶的合成:

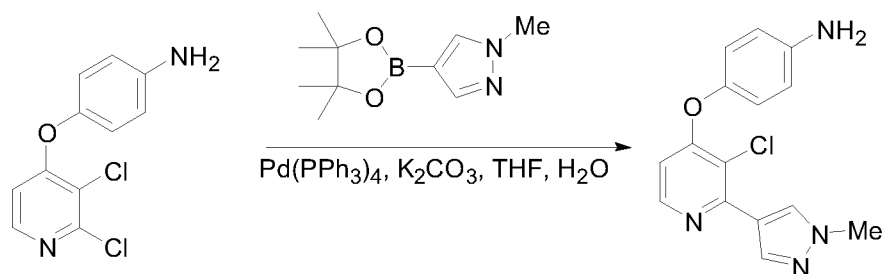


将 4-氨基苯酚(13.85g, 127.0mmol)于无水二甲基亚砷(120mL)中的溶液以氮气鼓泡 10 分钟，然后加入叔丁醇钾（13.60g, 121.2mmol）。将反应混合物在室温下搅拌 30 分钟后，加入 2,3-二氯-4-碘吡啶（31.5g, 115.4 mmol）。将反应混合物在室温下搅拌 5 小时，然后用水（500mL）稀释并用乙酸乙酯萃取（300mL×3次），合并有机层。将合并的有机层以食盐水洗（300mL×2次），无水硫酸钠干燥，过滤，浓缩。残留物经柱色谱（硅胶，石油醚：乙酸乙酯 = 4:1, v/v）纯化得产物为淡黄色固体（27.5g，产率为 93.7%）。

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 5.24 (br s, 2H), 6.64 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 6.67 (d, $J = 5.6$ Hz, 1H), 6.90 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 8.39 (d, $J = 5.6$ Hz, 1H)

MS (ESI+): m/z 255.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$

步骤 3: 4-(3-氯-2-(1-甲基-4-吡唑基)-4-吡啶氧基)苯胺的合成:

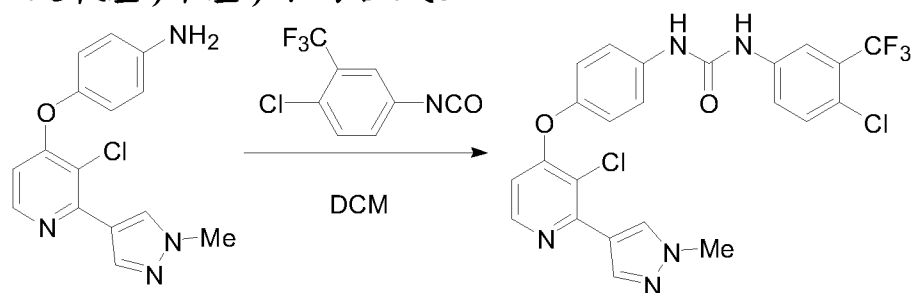


将 2,3-二氯-4-(4-氨基苯氧基)吡啶 (9.1g, 35.7 mmol), 1-甲基-4-吡唑硼酸频哪醇酯 (7.42g, 35.7mmol), 碳酸钾 (14.76g, 106.9 mmol) 和四(三苯基膦)钯 (2g, 1.72 mmol) 于四氢呋喃中 (THF, 210mL) 和水 (35mL) 中的混合物以氩气鼓泡 5 分钟, 然后在氩气气氛中 85℃ 下搅拌 24 小时。将反应混合物以水 (100mL) 稀释, 以乙酸乙酯萃取 (100mL×3 次), 合并有机层。将合并的有机层以食盐水洗 (100mL×2 次), 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩。残留物经柱色谱 (硅胶, 石油醚: 乙酸乙酯=1:2, v/v) 纯化得产物为淡黄色固体 (4.85g, 产率 45.2%)。

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 3.93 (s, 3H), 5.19 (br s, 2H), 6.46 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 6.64 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 6.88 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 8.11 (s, 1H), 8.27 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 8.48 (s, 1H)

MS (ESI $^{+}$): m/z 301.0 $[\text{M}+\text{H}]^{+}$

步骤 4: 1-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-3-(4-(3-氯-2-(1-甲基-4-吡唑基)-4-吡啶氧基)苯基)脲的合成:

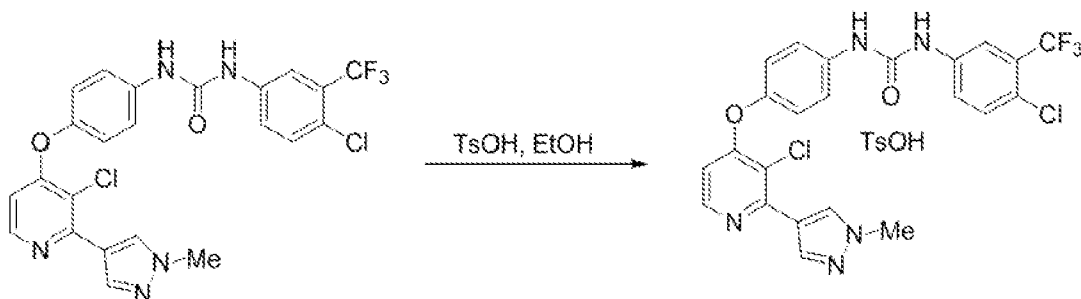


将 4-(3-氯-2-(1-甲基-4-吡唑基)-4-吡啶氧基)苯胺 (4.85g, 16.1 mmol) 和 4-氯-3-三氟甲基苯基异氰酸酯 (4.28g, 19.3 mmol) 于二氯甲烷 (50mL) 中的溶液在室温下搅拌 12 小时。过滤收集产生的白色固体, 以二氯甲烷洗, 烘干得到产物为白色固体 (7.2g, 产率 85.5%)。

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 3.94 (s, 3H), 6.56 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H), 7.19 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 7.59 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 7.61-7.68 (m, 2H), 8.12(s, 1H), 8.13(s, 1H), 8.32(d, $J = 5.6$ Hz, 1H), 8.51(s, 1H), 9.01 (s, 1H), 9.21 (s, 1H)

MS (ESI $^+$): m/z 522.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$

步骤 5: 1-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-3-(4-(3-氯-2-(1-甲基-4-吡唑基)-4-吡啶氧基)苯基)脲对甲苯磺酸盐的合成:

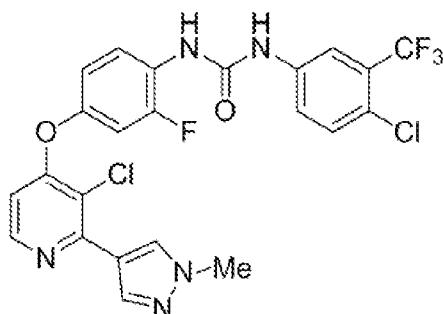


将 1-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-3-(4-(3-氯-2-(1-甲基-4-吡唑基)-4-吡啶氧基)苯基)脲 (1.570g, 3mmol) 和对甲苯磺酸一水合物 (0.684g, 3.6mmol) 于无水乙醇 (20mL) 中的混合物加热至回流, 补加无水乙醇至固体完全溶解。将所得澄清溶液过滤, 将滤液静置过夜。抽滤收集所产生的白色固体, 烘干得产物为白色固体 (1.428g, 产率为 69%)

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 9.33 (s, 1H), 9.14 (s, 1H), 8.56 (s, 1H), 8.42 – 8.32 (dd, $J = 6.0, 2.4$ Hz, 1H), 8.15 (s, 1H), 8.13 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 7.71 – 7.58 (m, 4H), 7.50 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.21 (d, $J = 8.7$ Hz, 3H), 7.13 (d, $J = 7.8$ Hz, 2H), 6.71 – 6.60 (m, 1H), 3.95 (s, 3H), 2.29 (s, 3H).

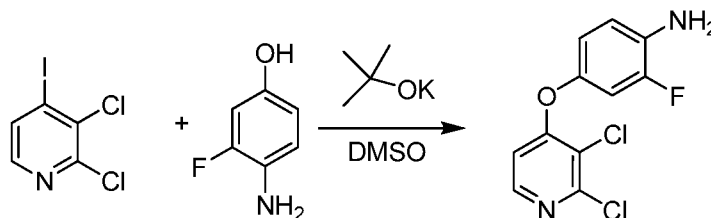
实施例 3

FD-2013024: 即 1-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-3-(4-(3-氯-2-(1-甲基-4-吡唑基)-4-吡啶氧基)-2-氟苯基)脲



制备方法:

步骤 1: 2,3-二氯-4-(4-氨基-3-氟苯氧基)吡啶的合成:

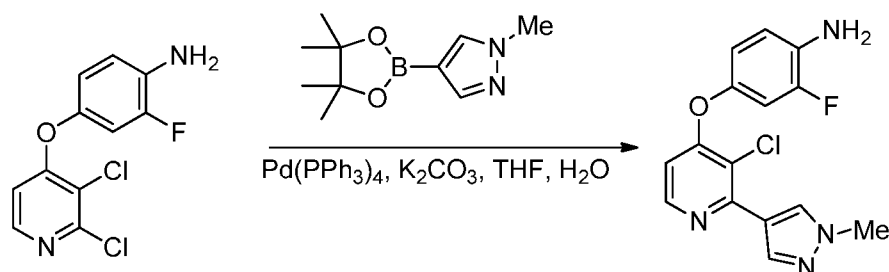


将 4-氨基-3-氟苯酚 (1.69g, 13.28mmol) 于无水二甲基亚砜 (15mL) 中的溶液以氮气鼓泡 10 分钟, 然后加入 2,3-二氯-4-碘吡啶 (3.31g, 12.13 mmol)。将反应混合物在室温下搅拌 30 分钟后, 加入 2,3-二氯-4-碘吡啶 (31.5g, 115.4 mmol)。将反应混合物在室温下搅拌 5 小时, 然后用水 (50mL) 稀释并用乙酸乙酯萃取 (30mL×3 次), 合并有机层。将合并的有机层以食盐水洗 (30mL×2 次), 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩。残留物经柱色谱 (硅胶, 石油醚: 乙酸乙酯 = 4:1, v/v) 纯化得产物为淡黄色固体 (1.0g, 产率 30%)。

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 8.17 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 7.16-7.00 (m, 1H), 6.92-6.78 (m, 2H), 6.75 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 5.26 (br s, 2H)

MS (ESI $^+$): m/z 272.9 $[\text{M}+\text{H}]^+$

步骤 2: 4-(3-氯-2-(1-甲基-4-吡唑基)-4-吡啶氧基)-2-氟苯胺的合成:

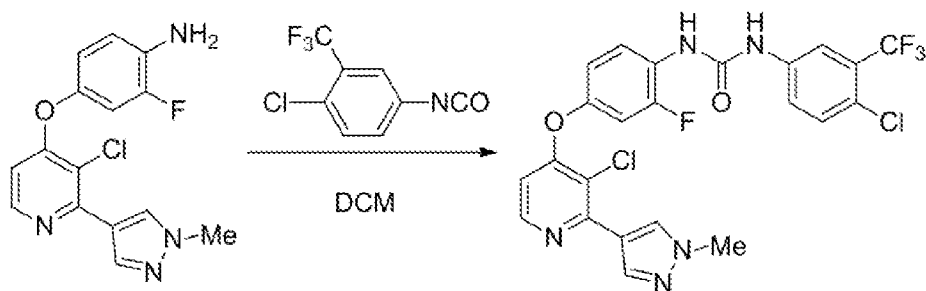


将 2,3-二氯-4-(4-氨基-3-氟苯氧基)吡啶 (0.40g, 1.47 mmol), 1-甲基-4-吡唑硼酸频哪醇酯 (0.35g, 1.68mmol), 碳酸钾 (0.70g, 5.07 mmol) 和四(三苯基膦)钯 (0.10g, 0.086 mmol) 于四氢呋喃中 (THF, 5mL) 和水 (1mL) 中的混合物以氩气鼓泡 5 分钟, 然后在氩气气氛中 85℃ 下搅拌 24 小时。将反应混合物以水 (20mL) 稀释, 以乙酸乙酯萃取 (20mL×3 次), 合并有机层。将合并的有机层以食盐水洗 (20mL×2 次), 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩。残留物经柱色谱 (硅胶, 石油醚: 乙酸乙酯=1:2, v/v) 纯化得产物为淡黄色固体 (0.23g, 产率 49%)。

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 8.48 (s, 1H), 8.29 (d, J = 5.5 Hz, 1H), 8.11 (d, J = 0.6 Hz, 1H), 7.04 (dd, J = 11.9, 2.3 Hz, 1H), 6.90-6.75 (m, 2H), 6.53 (d, J = 5.5 Hz, 1H), 5.21 (s, 2H), 3.93 (s, 3H)

MS (ESI $^{+}$): m/z 319.0 $[\text{M}+\text{H}]^{+}$

步骤 3: 1-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-3-(4-(3-氯-2-(1-甲基-4-吡唑基)-4-吡啶氧基)-2-氟苯基)脲的合成:



将 4-(3-氯-2-(1-甲基-4-吡唑基)-4-吡啶氧基)-2-氟苯胺 (0.23g, 0.72 mmol) 和 4-氯-3-三氟甲基苯基异氰酸酯 (0.16g, 0.72 mmol) 于二氯甲烷 (5mL) 中的溶液在室温下搅拌 12 小时。过滤收集产

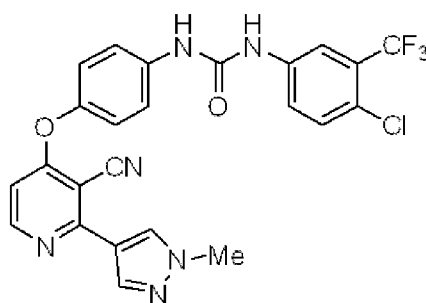
生的白色固体,以二氯甲烷洗,烘干得到产物为白色固体(0.30g, 产率 77%)。

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 9.52 (s, 1H), 8.75 (s, 1H), 8.52 (s, 1H), 8.36 (d, $J = 5.5$ Hz, 1H), 8.26-8.05 (m, 3H), 7.64 (s, 2H), 7.36 (dd, $J = 11.5, 2.6$ Hz, 1H), 7.07 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 6.69 (d, $J = 5.5$ Hz, 1H), 3.94 (s, 3H)

MS (ESI $^+$): m/z 540.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$

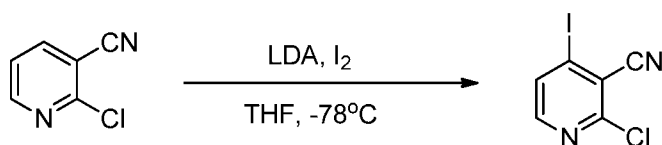
实施例 4

FD-2013025: 即 1-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-3-(4-(3-氰基-2-(1-甲基-4-吡唑基)-4-吡啶氧基)苯基)脲



制备方法:

步骤 1: 2-氯-4-碘烟腈的合成



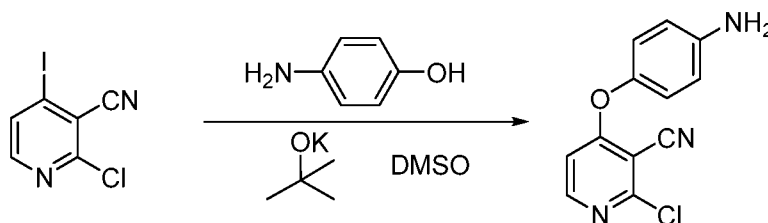
在氩气气氛中 -30°C 下将正丁基锂(2.4M 的己烷溶液, 3.0mL, 7.2mmol)滴加到二异丙基胺(0.728g, 7.2mmol)于无水四氢呋喃(20mL)中的溶液中。将反应混合物在 -30°C 下搅拌 30 分钟, 然后冷却至 -78°C 。滴加 2-氯烟腈(1.0g, 7.2mmol)于无水四氢呋喃(10mL)中的溶液, 然后将反应混合物在 -78°C 搅拌 60 分钟。滴加碘(1.8g, 7.2mmol)于无水四氢呋喃(10mL)中的溶液, 然后将反应混合物在 -78°C 搅拌 30 分钟。将反应混合物以饱和氯化铵溶液(50mL)淬灭, 以水(50mL)稀释, 以乙酸乙酯萃取

(100mL×3 次)，合并有机层。将合并的有机层以食盐水洗(100mL×3 次)，无水硫酸钠干燥，过滤，浓缩。残留物经柱色谱(石油醚：乙酸乙酯=80:1)纯化得产物为黄色固体(0.357g, 产率 19%)。

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.32 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H), 8.15 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H)

MS (ESI $^+$): m/z 264.9 $[\text{M}+\text{H}]^+$

步骤 2: 2-氯-3-氰基-4-(4-氨基苯氧基)吡啶的合成:

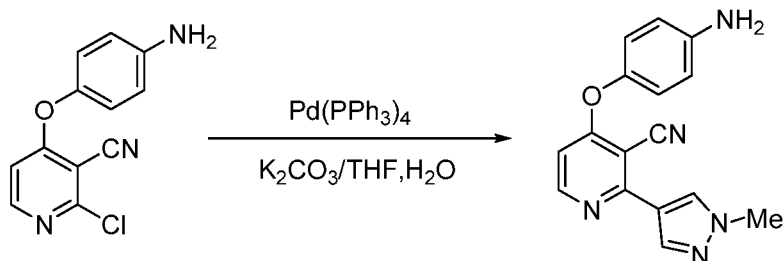


将 4-氨基苯酚(164mg, 1.48mmol)于无水二甲基亚砜(3mL)中的溶液以氮气鼓泡 10 分钟，然后加入叔丁醇钾(166mg, 1.48mmol)。将反应混合物在室温下搅拌 30 分钟后，加入 2-氯-4-碘烟腈(355mg, 1.34 mmol)。将反应混合物在室温下搅拌 5 小时，然后用水(30mL)稀释并用乙酸乙酯萃取(30mL×3 次)，合并有机层。将合并的有机层以水洗(30 mL×2 次)，食盐水洗(30mL×2 次)，无水硫酸钠干燥，过滤，浓缩。残留物经柱色谱(硅胶，石油醚：乙酸乙酯=4:1, v/v)纯化得产物为淡黄色固体(210mg, 产率为 61%)。

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.42 (d, $J = 6.0$ Hz, 1H), 6.96 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 6.76 (d, $J = 6.0$ Hz, 1H), 6.65 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 5.29 (s, 2H)

MS (ESI $^+$): m/z 246.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$

步骤 3: 4-(3-氰基-2-(1-甲基-4-吡唑基)-4-吡啶氧基)苯胺的合成:

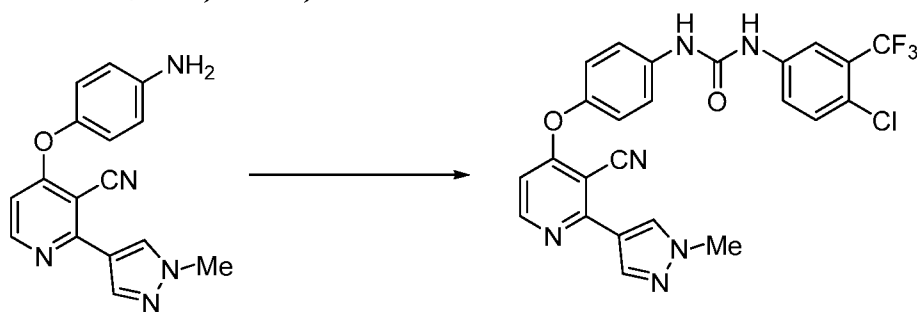


将 2-氯-3-氰基-4-(4-氨基苯氧基)吡啶(200mg, 0.816 mmol), 1-甲基-4-吡唑硼酸频哪醇酯(187mg, 0.878mmol), 碳酸钾(338mg, 2.45 mmol) 和四(三苯基膦)钯(95mg, 0.0816 mmol) 于四氢呋喃中(THF, 6mL) 和水(1mL) 中的混合物以氩气鼓泡 5 分钟, 然后在氩气气氛中 85℃下搅拌 24 小时。将反应混合物以水(20mL) 稀释, 以乙酸乙酯萃取(20mL×3 次), 合并有机层。将合并的有机层以水洗(20mL×2 次), 饱和食盐水洗(20mL×2 次), 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩。残留物经柱色谱(硅胶, 石油醚: 乙酸乙酯=1:2, v/v) 纯化得产物为淡黄色固体(95mg, 产率 40%)。

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 8.52 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 8.48 (s, 1H), 8.17 (s, 1H), 6.95 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 6.65 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 6.51 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 5.25 (s, 2H), 3.96 (s, 3H)

MS (ESI $^{+}$): m/z 292.1 $[\text{M}+\text{H}]^{+}$

步骤 4: 1-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-3-(4-(3-氰基-2-(1-甲基-4-吡唑基))-4-吡啶氧基)苯基)脲的合成:



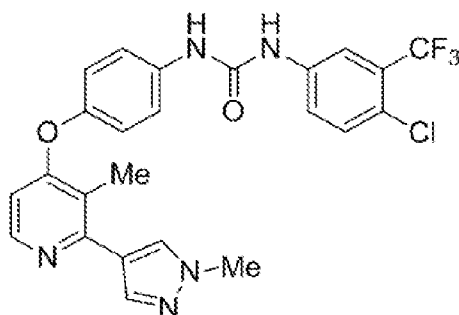
将 4-(3-氰基-2-(1-甲基-4-吡唑基))-4-吡啶氧基)苯胺(90mg, 0.31 mmol)和 4-氯-3-三氟甲基苯基异氰酸酯(68.5mg, 0.31 mmol) 于二氯甲烷(50mL) 中的溶液在室温下搅拌 12 小时。过滤收集产生的白色固体, 以二氯甲烷洗, 烘干得到产物为白色固体(54mg, 产率 34%)。

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9.23 (s, 1H), 9.05 (s, 1H), 8.56 (d, $J = 6.0$ Hz, 1H), 8.51 (s, 1H), 8.19 (s, 1H), 8.12 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.67-7.59 (m, 4H), 7.28 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H), 6.58 (d, $J = 6.0$ Hz, 1H), 3.96 (s, 3H)

MS (ESI $^+$): m/z 512.9 $[\text{M}+\text{H}]^+$

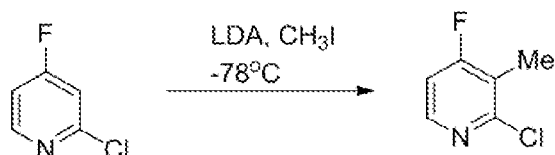
实施例 5

FD-2013027: 即 1-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-3-(4-(3-甲基-2-(1-甲基-4-吡唑基)-4-吡啶氧基)苯基)脲



制备方法:

步骤 1: 2-氯-4-氟-3-甲基吡啶的合成:



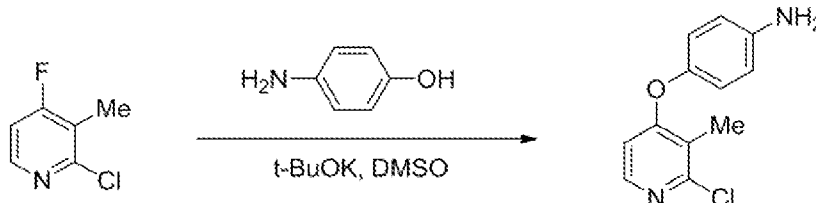
在氮气气氛中 -30°C 下将正丁基锂(2.4M的己烷溶液, 4.37mL, 10.49mmol)滴加到二异丙基胺(1.06g, 11mmol)于无水四氢呋喃(20mL)中的溶液中。将反应混合物在 -30°C 下搅拌 30 分钟, 然后冷却至 -78°C 。滴加 2-氯-4-氟吡啶(1.31g, 10mmol)于无水四氢呋喃(10mL)中的溶液, 然后将反应混合物在 -78°C 搅拌 60 分钟。滴加碘甲烷(1.48g, 10.5mmol)于无水四氢呋喃(5mL)中的溶液, 然后将反应混合物在 -78°C 搅拌 30 分钟。将反应混合物以饱和氯化铵溶液(5mL)淬灭, 以水(50mL)稀释, 以乙酸乙酯萃取(30mL $\times$ 3 次), 合并有机层。将合并的有机层以饱和食盐水洗(30mL $\times$ 3 次), 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩。残留

物经柱色谱（石油醚：乙酸乙酯=100:1，v/v）纯化得产物为黄色固体（0.63g，产率为43%）。

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 8.31 (dd, $J = 8.0, 5.8$ Hz, 1H), 7.38 (dd, $J = 8.7, 5.6$ Hz, 1H), 2.27 (d, $J = 1.8$ Hz, 3H)

MS (ESI+): m/z 146.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$

步骤 2: 2-氯-3-甲基-4-(4-氨基苯氧基)吡啶的合成:

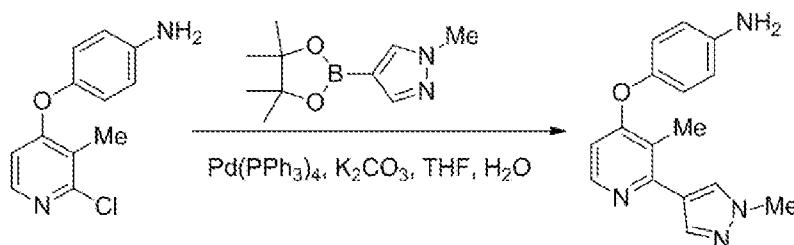


将 4-氨基苯酚 (0.21g, 1.91mmol) 于无水二甲基亚砜 (3mL) 中的溶液以氮气鼓泡 10 分钟，然后加入叔丁醇钾 (0.22g, 1.96mmol)。将反应混合物在室温下搅拌 30 分钟后，加入 2-氯-4-氟-3-甲基吡啶 (269mg, 1.85 mmol)。将反应混合物在室温下搅拌 5 小时，然后用水 (20mL) 稀释并用乙酸乙酯萃取 (20mL×3 次)，合并有机层。将合并的有机层以水洗 (20mL×2 次)，食盐水洗 (20mL×2 次)，无水硫酸钠干燥，过滤，浓缩。残留物经柱色谱（硅胶，石油醚：乙酸乙酯=5:1，v/v）纯化得产物为淡黄色固体 (0.38g，产率 88%)。

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 8.04 (d, $J = 5.6$ Hz, 1H), 6.89-6.78 (m, 2H), 6.69-6.57 (m, 2H), 6.51 (d, $J = 5.7$ Hz, 1H), 5.15 (s, 2H), 2.31 (s, 3H)

MS (ESI+): m/z 235.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$

步骤 3: 4-(3-甲基-2-(1-甲基-4-吡唑基)-4-吡啶氧基)苯胺的合成:

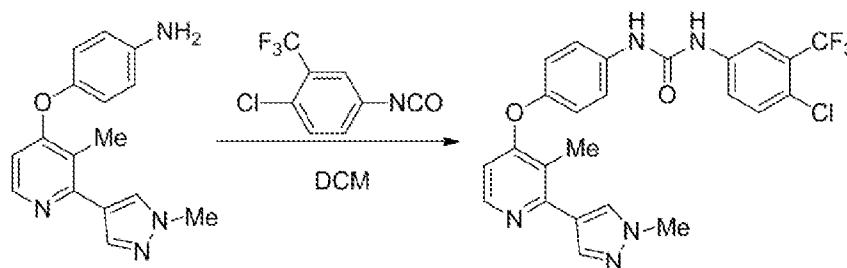


将 2-氯-3-甲基-4-(4-氨基苯氧基)吡啶 (380mg, 1.62 mmol), 1-甲基-4-吡唑硼酸频哪醇酯 (337mg, 1.62mmol), 碳酸钾 (400mg, 2.89 mmol) 和四(三苯基磷)钯 (90mg, 0.08 mmol) 于四氢呋喃 (THF, 6mL) 和水 (1mL) 中的混合物以氩气鼓泡 5 分钟, 然后在氩气气氛中 85℃ 下搅拌 24 小时。将反应混合物以水 (20mL) 稀释, 以乙酸乙酯萃取 (20mL×3 次), 合并有机层。将合并的有机层以水洗 (20mL×2 次), 饱和食盐水洗 (20mL×2 次), 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩。残留物经柱色谱 (硅胶, 石油醚: 乙酸乙酯=1:2, v/v) 纯化得产物为淡黄色固体 (170mg, 产率 37.5%)。

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.18 (d, $J = 5.6$ Hz, 1H), 8.17 (s, 1H), 7.88 (s, 1H), 6.82 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 6.63 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 6.35 (d, $J = 5.6$ Hz, 1H), 5.10 (s, 2H), 3.91 (s, 3H), 2.39 (s, 3H)

MS (ESI $^+$): m/z 281.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$

步骤 4: 1-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-3-(4-(3-甲基-2-(1-甲基-4-吡唑基)-4-吡啶氧基)苯基)脲的合成:



将 4-(3-甲基-2-(1-甲基-4-吡唑基)-4-吡啶氧基)苯胺 (165mg, 0.58 mmol) 和 4-氯-3-三氟甲基苯基异氰酸酯 (155mg, 0.7 mmol) 于二氯甲烷 (2mL) 中的溶液在室温下搅拌 12 小时。过滤收集产生的白色固体, 以二氯甲烷洗, 烘干得到产物为白色固体 (145mg, 产率 49%)。

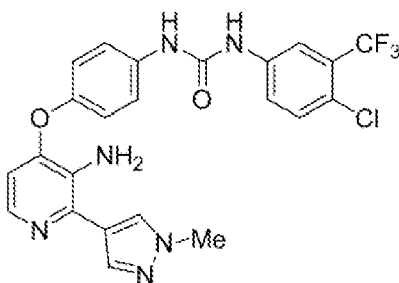
^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 9.18 (s, 1H), 8.94 (s, 1H), 8.24 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 8.19 (s, 1H), 8.12 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 7.91

(s, 1H), 7.69-7.58 (m, 2H), 7.55 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H), 7.09 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H), 6.47 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 3.92 (s, 3H), 2.40 (s, 3H)

MS (ESI⁺): m/z 501.9 $[M+H]^+$

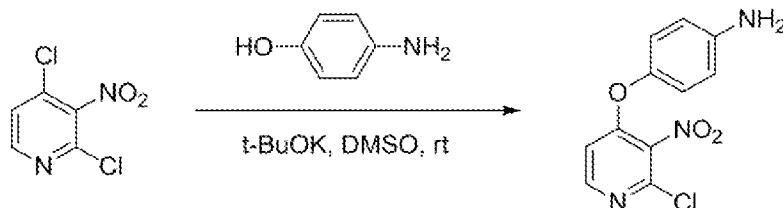
实施例 6

FD-2013031: 即 1-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-3-(4-(3-氨基-2-(1-甲基-4-吡唑基)-4-吡啶氧基)苯基)脲



制备方法:

步骤 1: 2-氯-3-硝基-4-(4-氨基苯氧基)吡啶的合成:

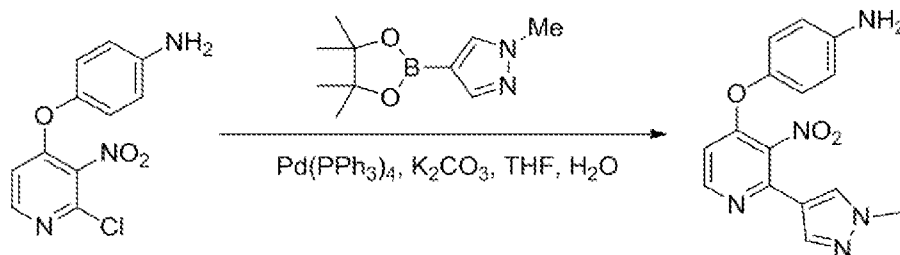


将 4-氨基苯酚 (1.09 g, 10 mmol) 于无水二甲基亚砜 (10 mL) 中的溶液以氮气鼓泡 10 分钟, 然后加入叔丁醇钾 (1.12 g, 10 mmol)。将反应混合物在室温下搅拌 15 分钟后, 加入 2,4-二氯-3-硝基吡啶 (1.93 g, 10 mmol)。将反应混合物在室温下搅拌 5 小时, 然后用水 (100 mL) 稀释并用乙酸乙酯萃取 (50 mL × 3 次), 合并有机层。将合并的有机层以水洗 (50 mL × 2 次), 食盐水洗 (50 mL × 2 次), 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩。残留物经柱色谱 (硅胶, 石油醚: 乙酸乙酯 = 3:1, v/v) 纯化得产物为淡黄色固体 (408 mg, 产率 15%)。

¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 8.40 (d, $J = 5.7$ Hz, 1H), 6.33 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 6.28 (d, $J = 5.7$ Hz, 2H), 6.63 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 5.30 (br s, 2H)

MS (ESI⁺): m/z 266.0 [M + H]⁺

步骤 2: 4-(3-硝基-2-(1-甲基-4-吡唑基)-4-吡啶氧基)苯胺的合成:

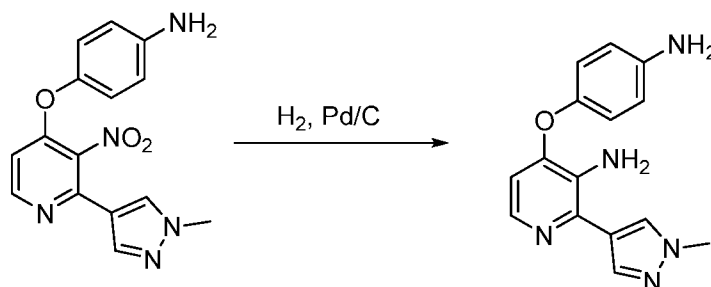


将 2-氯-3-硝基-4-(4-氨基苯氧基)吡啶 (1.25 mg, 1.51 mmol), 1-甲基-4-吡唑硼酸频哪醇酯 (377 mg, 1.81 mmol), 碳酸钾 (12.4g, 9.0 mmol) 和四(三苯基膦)钯 (174mg, 1.151 mmol) 于四氢呋喃 (THF, 18mL) 和水 (3mL) 中的混合物以氩气鼓泡 5 分钟, 然后在氩气气氛中 85℃ 下搅拌过夜。将反应混合物以水 (50mL) 稀释, 以乙酸乙酯萃取 (30mL×3 次), 合并有机层。将合并的有机层以水洗 (30mL×2 次), 饱和食盐水洗 (30mL×2 次), 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩。残留物经柱色谱 (硅胶, 石油醚: 乙酸乙酯=1:3, v/v) 纯化得产物为淡黄色固体 (450mg, 产率 96%)。

¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 8.49 (d, J = 5.7 Hz, 1H), 8.10 (s, 1H), 7.72 (s, 1H), 7.69-7.46 (m, 11H), 6.91 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 6.68 (d, J = 5.7 Hz, 1H), 6.63 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 5.26 (br s, 2H), 3.91 (s, 3H)

MS (ESI⁺) m/z 312.0 [M + H]⁺

步骤 3: 4-(3-氨基-2-(1-甲基-4-吡唑基)-4-吡啶氧基)苯胺的合成:



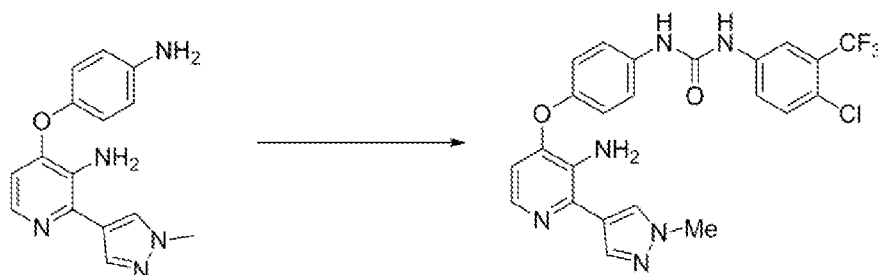
将 4-(3-硝基-2-(1-甲基-4-吡唑基)-4-吡啶氧基)苯胺 (200mg,

0.64 mmol) 和钨碳 (20mg) 于无水甲醇 (15mL) 中的混合物在室温下 4atm 氢气气氛中搅拌 4 小时。经硅藻土滤去钨碳, 然后浓缩滤液。将残留物以柱色谱 (硅胶, 石油醚: 乙酸乙酯=1:4) 纯化得产物 75mg, 产率为 41%。

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.20 (s, 1H), 7.91 (s, 1H), 7.73 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H), 6.83 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 6.62 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 6.29 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H), 5.08 (br s, 2H), 4.72 (s, 2H), 3.90 (s, 3H)

MS (ESI $^+$): m/z 282.1 $[\text{M} + \text{H}]^+$

步骤 4: 1-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-3-(4-(3-氨基-2-(1-甲基-4-吡唑基)-4-吡啶氧基)苯基)脲的合成:



将 4-(3-氨基-2-(1-甲基-4-吡唑基)-4-吡啶氧基)苯胺 (70mg, 0.249 mmol) 和 4-氯-3-三氟甲基苯基异氰酸酯 (55mg, 0.249 mmol) 于二氯甲烷 (3mL) 中的溶液在室温下搅拌 3 小时。过滤收集产生的白色固体, 以二氯甲烷洗, 烘干得到产物为白色固体 (79mg, 产率 63%)。

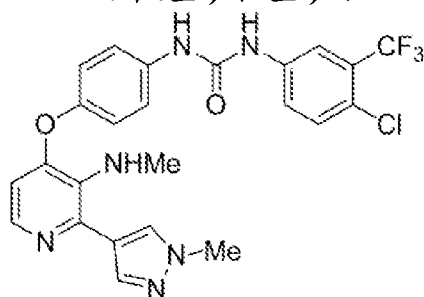
^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 9.17 (s, 1H), 8.92 (s, 1H), 8.23 (s, 1H), 8.11 (s, 1H), 7.93 (s, 1H), 7.78 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 7.63 (d, $J = 2.6$ Hz, 2H), 7.67-7.59 (m, 2H), 7.10 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H), 6.42 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 4.82 (br s, 2H), 3.91 (s, 3H)

MS (ESI $^+$): m/z 502.9 $[\text{M} + \text{H}]^+$

实施例 7

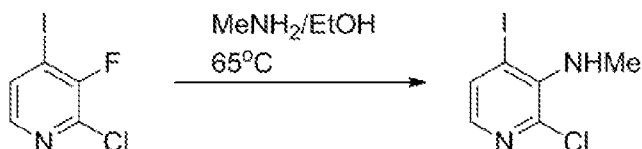
FD-2013033: 即 1-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-3-(4-(3-甲氨基

-2-(1-甲基-4-吡唑基)-4-吡啶氧基)苯基)脲



制备方法:

步骤 1: 2-氯-4-碘-3-甲氨基吡啶的合成:

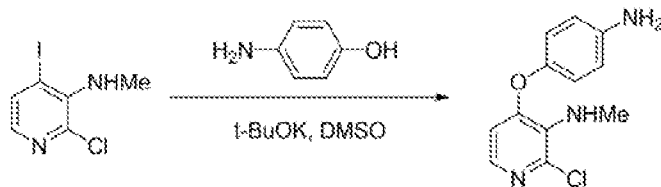


于密封管中将 2-氯-3-氟-4-碘吡啶 (12g, 46.6mmol) 于甲胺的乙醇溶液 (25%, v/v, 30mL) 在 65°C 下搅拌 8 小时。减压除去挥发物, 将残留物经柱色谱 (硅胶, 石油醚: 乙酸乙酯=30:1) 纯化得到产物为黄色油状 (5.5g, 产率 44%)。

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 7.77 (d, $J = 4.9$ Hz, 1H), 7.51 (d, $J = 4.9$ Hz, 1H), 4.75 (br, s, 1H), 2.91 (s, 3H)

MS (ESI+): m/z 268.9 $[\text{M}+\text{H}]^+$

步骤 2: 2-氯-3-甲氨基-4-(4-氨基苯氧基)吡啶的合成:



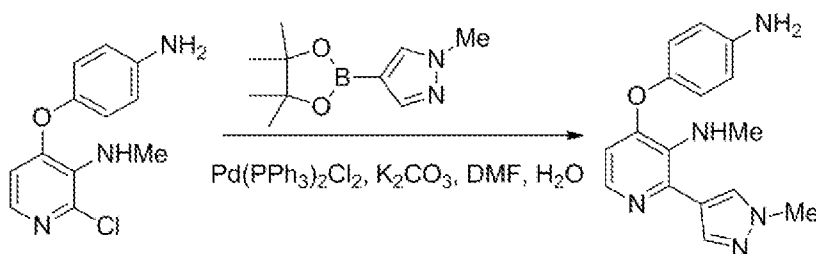
将 4-氨基苯酚 (0.16g, 1.46mmol) 于无水二甲基亚砜 (3mL) 中的溶液以氮气鼓泡 10 分钟, 然后加入叔丁醇钾 (0.16g, 1.46mmol)。将反应混合物在室温下搅拌 30 分钟后, 加入 2-氯-4-碘-3-甲氨基吡啶 (170mg, 0.63 mmol)。将反应混合物在室温下搅拌 1 小时, 然后在 80°C 下 5 小时。将反应混合物用水 (20mL) 稀释并用乙酸乙酯萃取 (20mL $\times$ 3 次), 合并有机层。将合并的有机层以水洗 (20mL $\times$ 2 次), 食盐水洗 (20mL $\times$ 2 次), 无水硫

酸钠干燥，过滤，浓缩。残留物经柱色谱（硅胶，石油醚：乙酸乙酯=5:1，v/v）纯化得产物为淡黄色固体（96mg，产率 61%）。

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7.57 (d, $J = 5.3$ Hz, 1H), 6.81 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 6.66-6.56 (m, 2H), 6.48 (d, $J = 5.3$ Hz, 1H), 5.08 (s, 2H), 4.94 (q, $J = 5.4$ Hz, 1H), 2.97 (d, $J = 5.4$ Hz, 3H)

MS (ESI $^+$): m/z 250.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$

步骤 3: 4-(3-甲氨基-2-(1-甲基-4-吡唑基)-4-吡啶氧基)苯胺的合成:



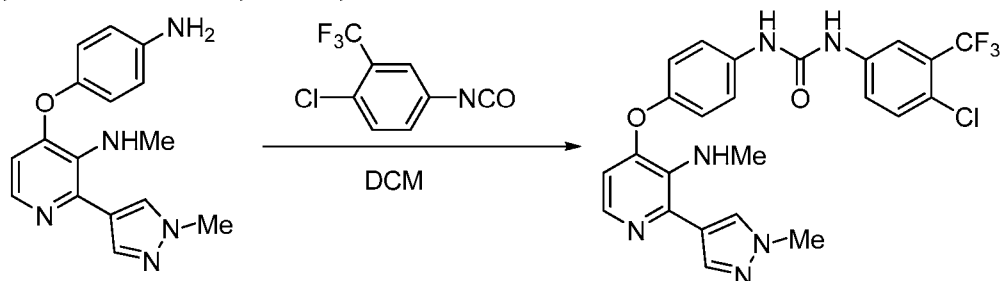
将 2-氯-3-甲氨基-4-(4-氨基苯氧基)吡啶 (270mg, 1.08 mmol), 1-甲基-4-吡唑硼酸频哪醇酯 (225mg, 1.08mmol), 碳酸钾 (447mg, 3.24 mmol) 和二(三苯基膦)二氯化钯 (76mg, 0.108 mmol) 于二甲基甲酰胺 (DMF, 6mL) 和水 (1mL) 中的混合物以氩气鼓泡 5 分钟，然后在氩气气氛中 85℃ 下搅拌 24 小时。将反应混合物以水 (30mL) 稀释，以乙酸乙酯萃取 (30mL×3 次)，合并有机层。将合并的有机层以水洗 (30mL×2 次)，饱和食盐水洗 (30mL×2 次)，无水硫酸钠干燥，过滤，浓缩。残留物经柱色谱（硅胶，石油醚：乙酸乙酯=1:3，v/v）纯化得产物为淡黄色固体 (180mg，产率 56%)。

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.19 (s, 1H), 8.02 (s, 1H), 7.94 (s, 1H), 7.91 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 6.84 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 6.62 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 6.35 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 5.14 (s, 1H), 3.90 (s, 3H), 2.66 (s, 3H)

MS (ESI $^+$): m/z 296.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$

步骤 4: 1-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-3-(4-(3-甲氨基-2-(1-甲基-4-

吡唑基)-4-吡啶氧基)苯基)脲的合成:



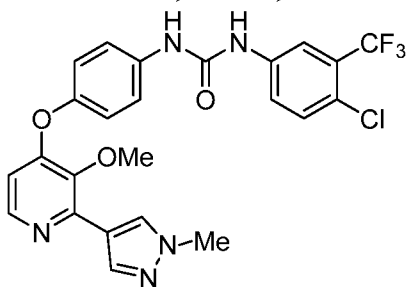
将 4-(3-甲氨基-2-(1-甲基-4-吡唑基)-4-吡啶氧基)苯胺(170mg, 0.576 mmol) 和 4-氯-3-三氟甲基苯基异氰酸酯(127.6mg, 0.576 mmol) 于二氯甲烷(2mL) 中的溶液在室温下搅拌 12 小时。过滤收集产生的白色固体, 以二氯甲烷洗, 烘干得到产物为白色固体(67mg, 产率 22.5%)。

¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 9.16 (s, 1H), 8.91 (s, 1H), 8.20 (s, 1H), 8.11 (s, 1H), 7.95 (d, J = 5.1 Hz, 2H), 7.94 (s, 1H), 7.66-7.60 (m, 2H), 7.53 (d, J = 9.0 Hz, 2H), 7.09 (d, J = 9.0 Hz, 2H), 6.47 (d, J = 5.1 Hz, 1H), 4.40 (br s, 1H), 3.91 (s, 3H), 2.69 (d, J = 4.8 Hz, 3H)

MS (ESI+): m/z 517.1 [M+H]⁺

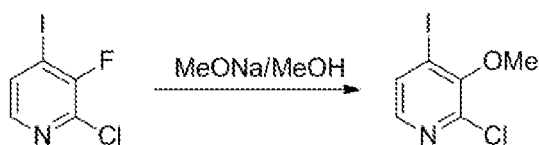
实施例 8

FD-2013037: 即 1-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-3-(4-(3-甲氧基-2-(1-甲基-4-吡唑基)-4-吡啶氧基)苯基)脲



制备方法:

步骤 1: 2-氯-3-甲氧基-4-碘吡啶的合成:

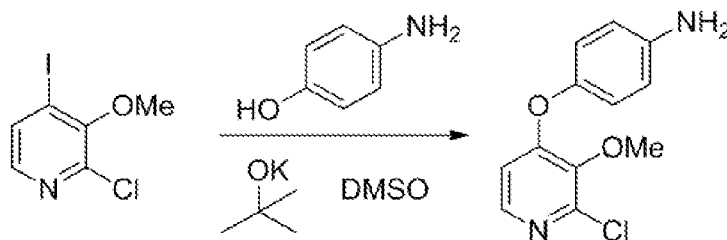


将 2-氯-3-氟-4-碘吡啶 (1.05g, 4.08mmol) 和甲醇钠 (0.22g, 4.08mmol) 于甲醇 (10mL) 中的溶液在 45℃ 下搅拌 2 小时。将反应混合物以水 (50mL) 稀释, 以乙酸乙酯萃取 (50mL×3), 合并有机层。将合并的有机层以水洗 (50 mL×2), 食盐水洗 (50 mL×2), 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩。残留物经柱色谱 (硅胶, 石油醚: 乙酸乙酯=100:1, v/v) 纯化得产物为浅黄色固体 (0.58g 产物, 产率 53%)。

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 7.92 (d, $J = 5.1$ Hz, 1H), 7.86 (d, $J = 5.1$ Hz, 1H), 3.83 (s, 3H)

MS (ESI $^+$): m/z 269.8 $[\text{M} + \text{H}]^+$

步骤 2: 2-氯-3-甲氧基-4-(4-氨基苯氧基)吡啶的合成:

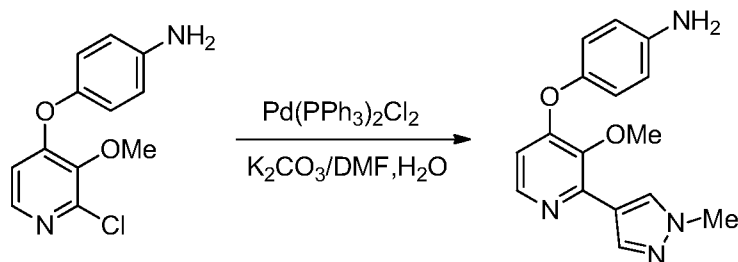


于密封管中将 4-氨基苯酚 (0.172g, 1.58mmol), 2-氯-3-甲氧基-4-碘吡啶 (425mg, 1.58 mmol) 和叔丁醇钾 (0.177g, 1.58mmol) 于无水二甲基亚砜 (5mL) 中的溶液在 155℃ 下搅拌 2.5 小时。将反应混合物用水 (30mL) 稀释, 用乙酸乙酯萃取 (30mL×3 次), 合并有机层。将合并的有机层以水洗 (30mL×2 次), 食盐水洗 (30mL×2 次), 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩。残留物经柱色谱 (硅胶, 石油醚: 乙酸乙酯=4:1, v/v) 纯化得产物为淡黄色固体 (210mg, 产率 53%)。

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 7.95 (d, $J = 5.7$ Hz, 1H), 6.91- 6.86 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 6.63 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 6.62 (d, $J = 5.7$ Hz, 1H), 5.16 (s, 2H), 3.90 (s, 3H)

MS (ESI⁺): m/z 251.0 [M + H]⁺

步骤 3: 4-(3-甲氧基-2-(1-甲基-4-吡唑基)-4-吡啶氧基)苯胺的合成:

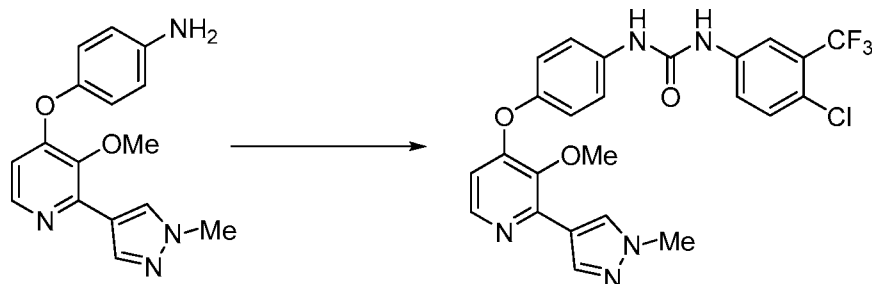


将 2-氯-3-甲氧基-4-(4-氨基苯氧基)吡啶 (130mg, 0.52 mmol), 1-甲基-4-吡唑硼酸频哪醇酯 (120mg, 0.58mmol), 碳酸钾 (215mg, 1.56 mmol) 和二(三苯基膦)二氯化钯 (90mg, 0.127 mmol) 于二甲基甲酰胺 (DMF, 6mL) 和水 (1mL) 中的混合物以氩气鼓泡 5 分钟, 然后在氩气气氛中 100℃ 下搅拌 5 小时。将反应混合物以水 (30mL) 稀释, 以乙酸乙酯萃取 (30mL×3 次), 合并有机层。将合并的有机层以水洗 (30mL×2 次), 饱和食盐水洗 (30mL×2 次), 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩。残留物经柱色谱 (硅胶, 石油醚: 乙酸乙酯=1:3, v/v) 纯化得产物为淡黄色固体 (40mg, 产率 26%)。

¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 8.27 (s, 1H), 8.07 (d, J = 5.4 Hz, 1H), 8.00 (s, 1H), 6.87 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 6.62 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 6.41 (d, J = 5.4 Hz, 1H), 5.12 (s, 2H), 3.91 (s, 3H), 3.89 (s, 3H)

MS (ESI⁺): m/z 297.1 [M + H]⁺

步骤 4: 1-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-3-(4-(3-甲氧基-2-(1-甲基-4-吡唑基)-4-吡啶氧基)苯基)脲的合成:



将 4-(3-甲氧基-2-(1-甲基-4-吡唑基)-4-吡啶氧基)苯胺(40mg, 0.135 mmol)和 4-氯-3-三氟甲基苯基异氰酸酯(30mg, 0.135 mmol)于二氯甲烷(5mL)中的溶液在室温下搅拌 12 小时。过滤收集产生的白色固体,以二氯甲烷洗,烘干得到产物为白色固体(50mg, 产率 71%)。

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 9.18 (s, 1H), 8.95 (s, 1H), 8.30 (s, 1H), 8.17-8.08 (m, 2H), 8.02 (s, 1H), 7.69-7.59 (m, 2H), 7.55 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H), 7.15 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H), 6.55 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 3.91 (s, 3H), 3.89 (s, 3H)

MS (ESI $^+$): m/z 517.9 $[\text{M} + \text{H}]^+$

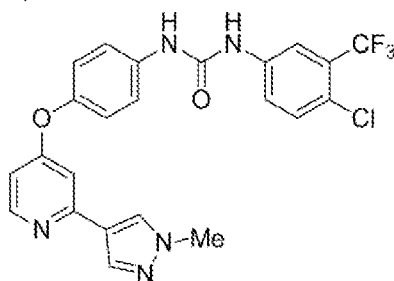
对比例 1

对比化合物: 索拉非尼 (Sorafenib) 游离碱, 依照专利文献 WO0042012A1 方法制备。

对比例 2

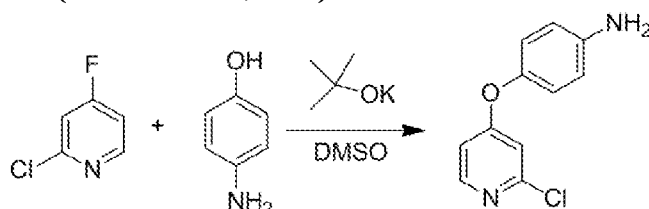
化合物编号 FD-1210005

CN201110435847.9 中实施例 1 化合物



制备方法:

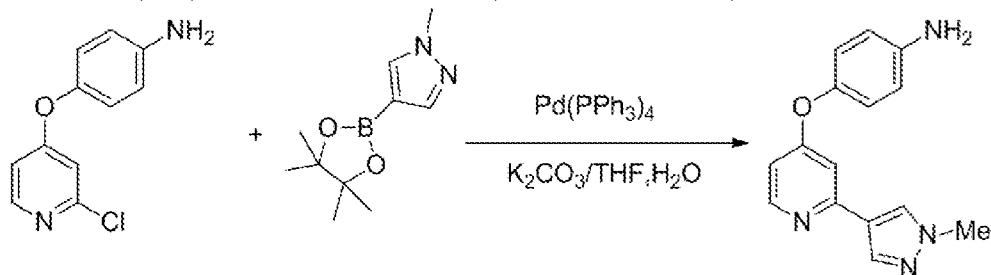
步骤 1: 2-氯-4-(4-氨基苯氧基)吡啶的合成:



将 4-氨基苯酚 (4.35g, 39.8mmol) 于 40mL 无水二甲基亚砷

中的溶液以氮气鼓泡 10 分钟，然后加入叔丁醇钾（4.7g，41.8mmol），室温搅拌 30 分钟后，加入 2-氯-4-氟吡啶（5g，38.0 mmol），再将反应混合物缓慢升温至 80℃并保温反应 2 小时，TLC 检测显示反应完全。冷却至室温后，用水（100 mL）稀释，并用乙酸乙酯萃取（100 mL×3 次），合并乙酸乙酯层，水洗（100 mL×2），再用食盐水洗一次（100 mL），无水硫酸钠干燥，过滤，浓缩。残留物经柱色谱（硅胶，石油醚：乙酸乙酯 = 4:1，v/v）纯化得产物为淡黄色固体（7.26g，产率为 86.8%）。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 4.07 (br s, 2H), 6.72 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 6.75-6.77 (m, 2H), 6.88 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 8.19 (d, J = 5.4 Hz, 1H). MS (ESI⁺): 221.1 [M+H]⁺

步骤 2: 4-(2-(1-甲基-4-吡唑基)-4-吡啶氧基)苯胺的合成:

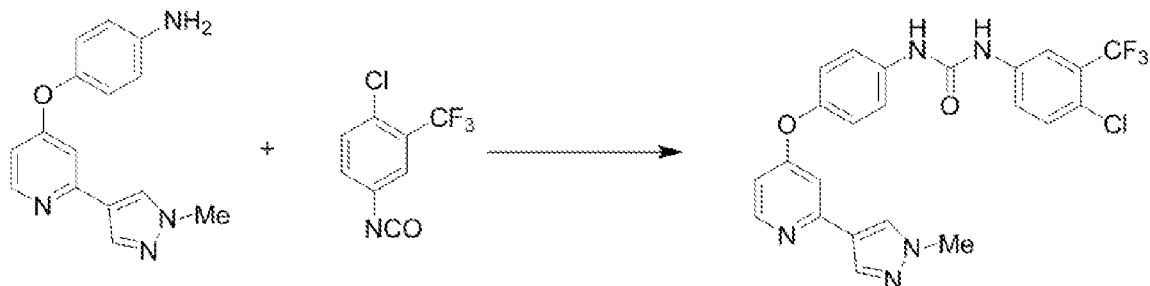


氮气保护下，2-氯-4-(4-氨基苯氧基)吡啶（5.7g，25.9 mmol）和 1-甲基-4-吡唑硼酸频哪醇酯（6.47g，31.1 mmol）溶于四氢呋喃中（THF，70 mL），搅拌下加入碳酸钾（10.7g，77.5 mmol）和水（17.1 mL），然后避光下加入四(三苯基膦)钯催化剂（1.5g，1.29 mmol），于 70℃保温搅拌 24 小时。冷却至室温，将反应混合物浓缩，然后用水（50 mL）稀释，乙酸乙酯萃取（50mL×3），合并乙酸乙酯层，水洗（50 mL×2 次），食盐水洗一次（50 mL），无水硫酸钠干燥，过滤，浓缩。残留物经柱色谱（硅胶，石油醚：乙酸乙酯 = 1:2，v/v）纯化得产物为淡黄色固体（5.85g，产率 85%）。

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 3.84 (br s, 2H), 3.92 (s, 3H), 6.60 (dd, J = 2.4, 5.7 Hz, 1H), 6.71 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 6.91 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 6.94 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 7.86 (s, 2H), 8.34 (d, J = 5.7

Hz, 1H). MS (ESI⁺) : 267.1 [M+H]⁺

步骤 3: 1-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-3-(4-(2-(1-甲基-4-吡唑基)-4-吡啶氧基)苯基)脲的合成:



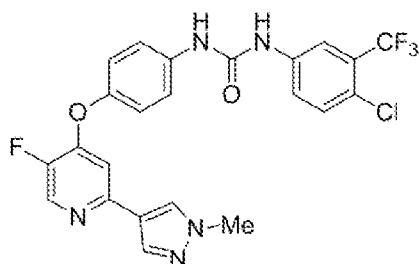
将 4-(2-(1-甲基-4-吡唑基)-4-吡啶氧基)苯胺 (6.7g, 25.1 mmol) 溶于乙酸乙酯中 (80 mL), 氮气保护下加入 3-三氟甲基-4-氯-苯异氰酸酯 (5.6g, 25.1 mmol), 室温下搅拌 12 小时后有大量固体析出, 将反应混合物浓缩至溶剂剩余 40 mL, 抽滤, 乙酸乙酯洗, 烘干, 得产物为白色固体 (7.5g, 产率 60.9%)。

¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ 3.88 (s, 3H), 6.63 (d, J = 3.9 Hz, 1H), 7.15 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.21 (s, 1H), 7.57-7.69 (m, 4H), 7.96 (s, 1H), 8.12 (s, 1H), 8.24 (s, 1H), 8.37 (d, J = 5.4 Hz, 1H), 8.93 (s, 1H), 9.17 (s, 1H). MS (ESI⁺) : 488.1 [M+H]⁺

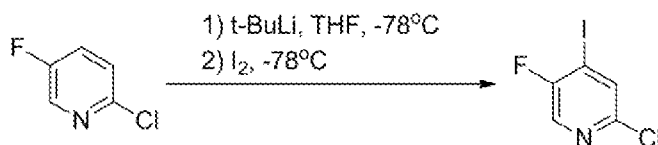
对比例 3

化合物编号 FD-2013016。

1-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-3-(4-(2-(1-甲基-4-吡唑基)-5-氟代-4-吡啶氧基)苯基)脲;



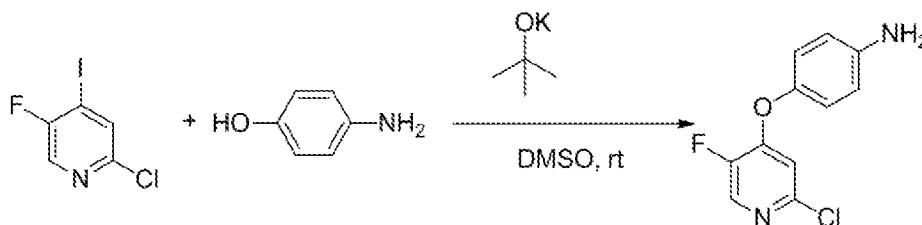
制备方法: 步骤 1: 2-氯-4-碘-5-氟吡啶的合成



在 100mL 的三口瓶中，将 2-氯-5-氟吡啶 (2.65g, 20.1mmol) 溶于无水四氢呋喃 (30mL)，氮气保护，-78°C 搅拌 30 分钟后，缓慢滴加 1.3M 的叔丁基锂正戊烷溶液 (16.27mL, 21.1mmol)，加毕后保温反应 90 分钟，随后缓慢滴加碘 (6.13g, 24.2mmol) 于无水四氢呋喃 (10mL) 的溶液。加完后缓慢升至室温。加入饱和氯化铵溶液 (100mL)，再加入水 (50mL)，分液，水相以 50mL、40mL、200mL 乙酸乙酯各萃取 1 次。合并有机相，有机相分别以饱和硫代硫酸钠溶液洗涤 (50mL × 2 次)，食盐水洗 (50mL × 2 次)，无水硫酸钠干燥，过滤，浓缩。残留物经柱色谱 (硅胶，石油醚：乙酸乙酯 = 100:1, v/v) 纯化得产物为黄色固体 (2g，产率为 39%)。

MS (ESI⁺): 257.9 [M+H]⁺

步骤 2: 2-氯-5-氟-4-(4-氨基苯氧基)吡啶的合成:

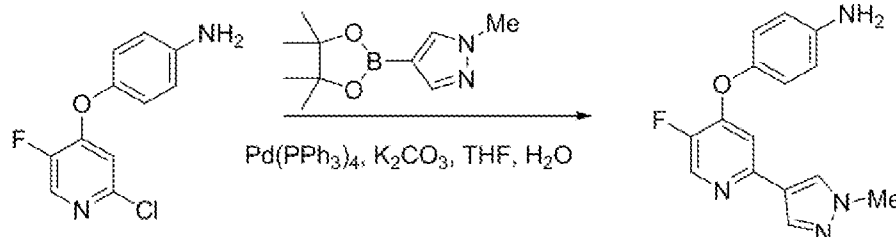


将 4-氨基苯酚 (0.55g, 5mmol) 溶于无水二甲基亚砷 (15mL) 中，通氮气 10 分钟后，加入叔丁醇钾 (0.58g, 5.2mmol)，室温下搅拌 30 分钟后，加入 2-氯-4-碘-5-氟吡啶 (1.3g, 5 mmol)，室温反应 5 小时，TLC 检测显示反应完全。加入乙酸乙酯 (50 mL)，充分搅拌，再加入水 (100 mL)，分液后水相用乙酸乙酯萃取 (50 mL × 3 次)，合并乙酸乙酯层，水洗 (50 mL × 2 次)，再用食盐水洗 (50 mL × 2 次)，无水硫酸钠干燥，过滤，浓缩。残留物经柱色谱 (硅胶，石油醚：乙酸乙酯 = 4:1, v/v) 纯化得产物为淡黄色固体 (0.2g，产率为 16.8%)。

¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ 5.24 (br s, 2H), 6.64 (d, J =

8.7 Hz, 2H), 6.65 (s, 1H), 6.94 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 8.44 (d, J = 3.0 Hz, 1H). MS (ESI⁺) : 239.1 [M+H]⁺

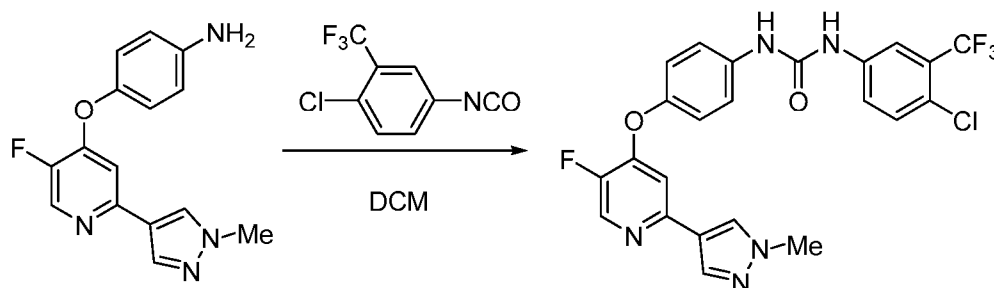
步骤 3: 4-(5-氟-2-(1-甲基-4-吡唑基)-4-吡啶氧基)苯胺的合成:



氮气保护下, 将 2-氯-5-氟-4-(4-氨基苯氧基)吡啶 (200mg, 0.84 mmol) 和 1-甲基-4-吡唑硼酸频哪醇酯 (175mg, 0.84mmol) 溶于四氢呋喃中 (THF, 5 mL), 加入碳酸钾 (347mg, 2.51 mmol) 和水 (0.84 mL), 除氧, 氮气保护, 避光下加入四(三苯基膦)钯催化剂 (48mg, 0.04 mmol), 于 85℃保温搅拌 24 小时, TLC 检测反应完全。冷却至室温, 然后加入乙酸乙酯和水各 20 mL, 分液后水相用乙酸乙酯萃取 (20 mL×2), 合并乙酸乙酯层, 食盐水洗 (20 mL×2 次), 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩。残留物经柱色谱 (硅胶, 石油醚: 乙酸乙酯 = 4:1, v/v) 纯化得产物为淡黄色固体 (50mg, 产率 21%)。

¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ 3.82 (s, 3H), 5.16 (br s, 2H), 6.63 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 6.89 (d, J = 6.6 Hz, 1H), 6.91 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 7.76 (s, 1H), 8.10 (s, 1H), 8.46 (d, J = 3.0 Hz, 1H). MS (ESI⁺) : 285.0 [M+H]⁺

步骤 4: 1-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-3-(4-(5-氟-2-(1-甲基-4-吡唑基)-4-吡啶氧基)苯基)脲的合成:

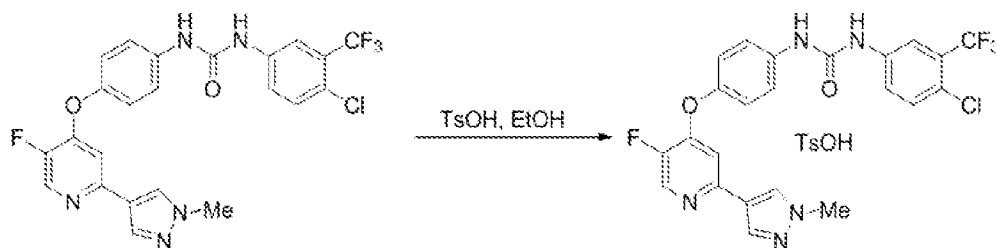


将 4-(5-氟-2-(1-甲基-4-吡唑基)-4-吡啶氧基)苯胺 (50mg, 0.176

mmol) 溶于二氯甲烷 (2 mL) 中, 氮气保护下加入 4-氯-3-三氟甲基苯基异氰酸酯 (46mg, 0.208 mmol), 室温下搅拌 12 小时后有大量固体析出, 抽滤, 二氯甲烷洗, 烘干, 得产物为白色固体 (61mg, 产率 68.6%)。

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ 3.83 (s, 3H), 7.11 (d, J = 6.6 Hz, 1H), 7.18 (d, J = 9.0 Hz, 2H), 7.56 (d, J = 9.0 Hz, 2H), 7.60-7.67 (m, 2H), 7.83(s, 1H), 8.11(d, J = 2.1 Hz, 1H), 8.16(s, 1H), 8.52(d, J = 2.7 Hz, 1H), 8.95 (s, 1H), 9.17 (s, 1H). MS (ESI+) : 506.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$

步骤 5: 1-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-3-(4-(5-氯-2-(1-甲基-4-吡唑基)-4-吡啶氧基)苯基)脲对甲苯磺酸盐的合成:



将 1-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-3-(4-(5-氯-2-(1-甲基-4-吡唑基)-4-吡啶氧基)苯基)脲 (55mg, 0.109mmol) 和对甲苯磺酸一水合物 (25mg, 0.131mmol) 加到无水乙醇 (2mL) 中, 所得混合物加热至回流, 补加无水乙醇至固体完全溶解。将所得澄清溶液过滤, 将滤液静置过夜。抽滤收集所产生的白色固体, 烘干得产物为白色固体 (42mg, 产率为 57%)。

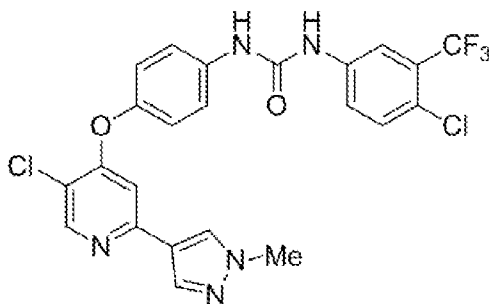
^1H NMR (300 MHz, DMSO) δ 9.28 (s, 1H), 9.08 (s, 1H), 8.64 (d, J = 3.2 Hz, 1H), 8.23 (s, 1H), 8.12 (d, J = 1.7 Hz, 1H), 7.90 (s, 1H), 7.74 – 7.55 (m, 4H), 7.50 (dd, J = 5.3, 2.8 Hz, 2H), 7.26 – 7.07 (m, 5H), 3.84 (s, 3H), 2.29 (s, 1H).

对比例 4

化合物编号 FD-2013019。

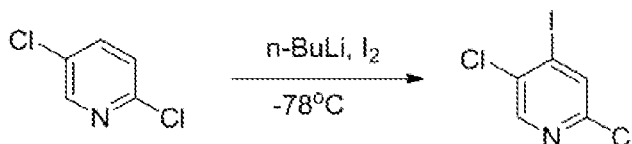
1-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-3-(4-(2-(1-甲基-4-吡唑基)-5-氯代

-4-吡啶氧基)苯基)脲;



制备方法:

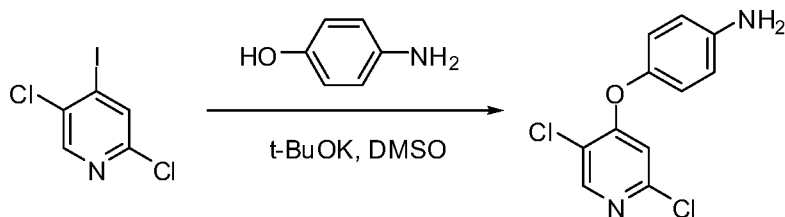
步骤 1: 2,5-二氯-4-碘吡啶的合成



在 100mL 的三口瓶中，将 2,5-二氯吡啶 (3.0g, 20.3mmol) 溶于无水四氢呋喃 (30mL)，氮气保护，降温至 -78℃，30 分钟后，缓慢滴加 2.4M 的正丁基锂正己烷溶液 (8.9mL, 21.3mmol)，加毕后保温反应 90 分钟，向体系缓慢滴加碘 (6.13g, 24.2mmol) 于无水四氢呋喃 (10mL) 的溶液。加完，缓慢升至室温。加入饱和氯化铵溶液 (100mL)，再加入水 (50mL)，分液，水相以 50mL、40mL、200mL 乙酸乙酯各萃取 1 次。合并有机相，有机相分别以饱和硫代硫酸钠溶液洗涤 (50mL × 2 次) 和食盐水洗 (50mL × 2 次)，无水硫酸钠干燥，过滤，浓缩得粗产物为黄色固体 (4g, 产率为 72%)。粗产物不经纯化直接用于下一步。

MS (ESI+): 273.9 [M+H]⁺

步骤 2: 2,5-二氯-4-(4-氨基苯氧基)吡啶的合成:

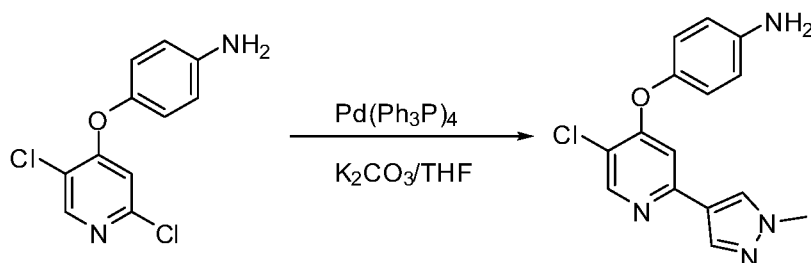


将 4-氨基苯酚(1.59g, 14.6 mmol)溶于无水二甲基亚砜(30mL)中, 通氮气 10 分钟后, 加入叔丁醇钾(1.68g, 15mmol), 室温下搅拌 30 分钟后, 加入 2,5-二氯-4-碘吡啶(4g, 14.6 mmol),

室温反应 5 小时, TLC 检测显示反应完全。加入乙酸乙酯(80 mL), 充分搅拌, 再加入水(100 mL), 分液后水相用乙酸乙酯萃取(100 mL ×3 次), 合并乙酸乙酯层, 水洗(150 mL×2 次), 再用食盐水洗(100 mL×2 次), 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩。残留物经柱色谱(硅胶, 石油醚: 乙酸乙酯 = 4:1, v/v) 纯化得产物为淡黄色固体(0.34g, 产率为 9.1%)。

MS (ESI⁺) : 255.0 [M+H]⁺

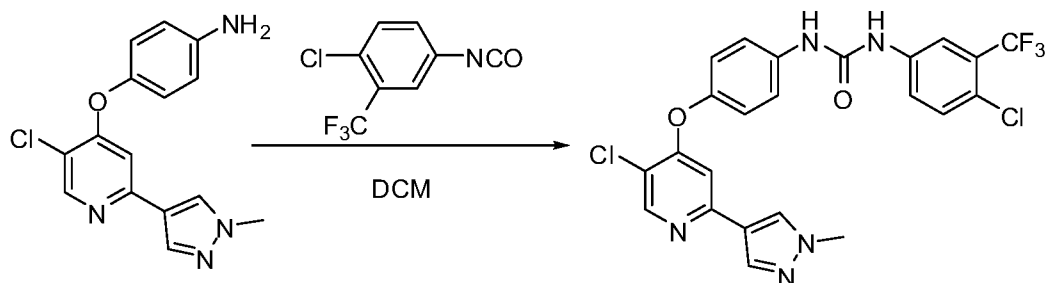
步骤 3: 4-(5-氯-2-(1-甲基-4-吡唑基)-4-吡啶氧基)苯胺的合成:



氮气保护下, 将 2,5-二氯-4-(4-氨基苯氧基)吡啶(340mg, 1.33mmol) 和 1-甲基-4-吡唑硼酸频哪醇酯(278mg, 1.33mmol) 溶于四氢呋喃中(THF, 8 mL), 加入碳酸钾(548mg, 3.97 mmol) 和水(1.33 mL), 然后避光下加入四(三苯基膦)钯催化剂(76mg, 0.06 mmol), 于 85℃保温搅拌 24 小时, TLC 检测反应完全。冷却至室温, 然后加入乙酸乙酯和水各 20 mL, 分液后水相用乙酸乙酯萃取(20 mL×2 次), 合并乙酸乙酯层, 食盐水洗(20 mL×2 次), 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩。残留物经柱色谱(硅胶, 石油醚: 乙酸乙酯 = 4:1, v/v) 纯化得产物为淡黄色固体(75mg, 产率 19%)。

MS (ESI⁺) : 301.0 [M+H]⁺

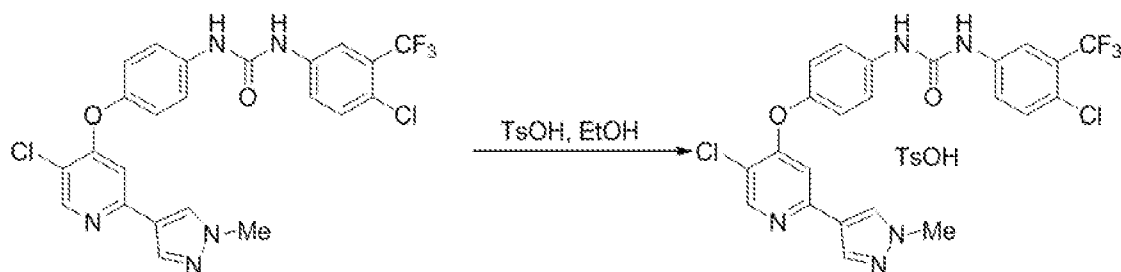
步骤 4: 1-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-3-(4-(5-氯-2-(1-甲基-4-吡唑基)-4-吡啶氧基)苯基)脲的合成:



将 4-(5-氯-2-(1-甲基-4-吡唑基)-4-吡啶氧基)苯胺 (75mg, 0.25 mmol) 溶于二氯甲烷 (2 mL) 中, 氮气保护下加入 4-氯-3-三氟甲基苯异氰酸酯 (67mg, 0.3 mmol), 室温下搅拌 12 小时后有大量固体析出, 抽滤, 二氯甲烷洗, 烘干, 得产物为白色固体 (78mg, 产率 59.7%)。

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ 3.82 (s, 3H), 6.98 (s, 1H), 7.18 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H), 7.59 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H), 7.63-7.66 (m, 2H), 7.82 (s, 1H), 8.12 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 8.22 (s, 1H), 8.59 (s, 1H), 9.05 (s, 1H), 9.25 (s, 1H). MS (ESI $^+$): 522.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$

步骤 5: 1-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-3-(4-(5-氯-2-(1-甲基-4-吡唑基)-4-吡啶氧基)苯基)脲对甲苯磺酸盐的合成:



将 1-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-3-(4-(5-氯-2-(1-甲基-4-吡唑基)-4-吡啶氧基)苯基)脲 (70mg, 0.134mmol) 和对甲苯磺酸一水合物 (31mg, 0.161mmol) 加到无水乙醇 (2mL) 中, 所得的混合物加热至回流, 补加无水乙醇至固体完全溶解。将所得澄清溶液过滤, 将滤液静置过夜。抽滤收集所产生的白色固体, 烘干得产物为白色固体 (57mg, 产率为 61%)。

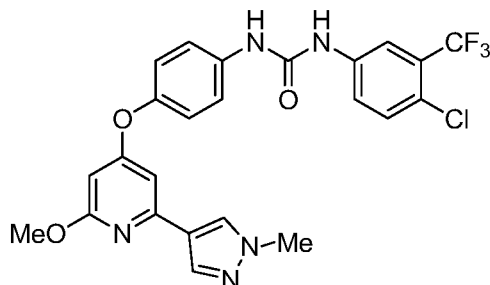
^1H NMR (300 MHz, DMSO) δ 9.25 (s, 1H), 9.05 (s, 1H), 8.59 (s, 1H), 8.22 (s, 1H), 8.12 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H), 7.87 (s, 1H), 7.72 – 7.54

(m, 4H), 7.48 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.18 (d, J = 9.0 Hz, 2H), 7.11 (d, J = 7.9 Hz, 2H), 6.98 (s, 1H), 3.82 (s, 3H), 2.29 (s, 3H).

对比例 5

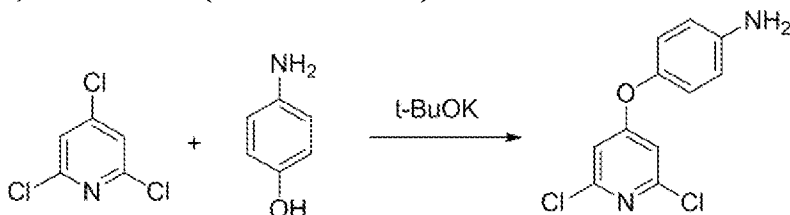
化合物编号 FD-2013017

1-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-3-(4-(2-(1-甲基-4-吡唑基)-6-甲氧基-4-吡啶氧基)苯基)脲



制备方法:

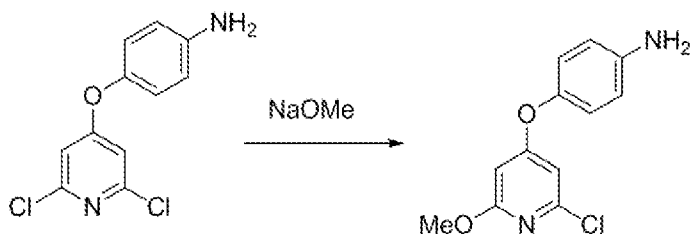
步骤 1: 2,6-二氯-4-(4-氨基苯基)吡啶



将 4-氨基苯酚(2.39g, 21.9 mmol)溶于无水二甲基亚砜(30mL)中, 通氮气 10 分钟后, 加入叔丁醇钾(2.45g, 21.9mmol), 室温下搅拌 30 分钟后, 加入 2,4,6-三氯吡啶(4g, 21.9 mmol), 45℃反应 5 小时, TLC 检测显示反应完全。加入乙酸乙酯(80 mL), 充分搅拌, 再加入水(100 mL), 分液后水相用乙酸乙酯萃取(100 mL× 3 次), 合并乙酸乙酯层, 水洗(150 mL×2 次), 再用食盐水洗(100 mL×2 次), 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩, 得粗产物为淡黄色固体(5.1g, 产率为 91%)。粗产物不经进一步纯化用于下一步。

MS (ESI+): 255.0 [M+H]⁺

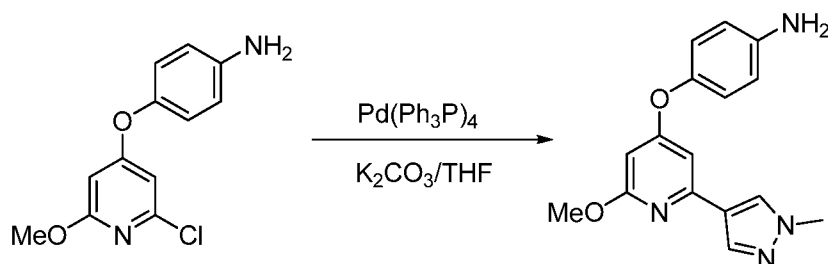
步骤 2: 2-氯-6-甲氧基-4-(4-氨基苯氧基)吡啶的合成



将 2,6-二氯-4-(4-氨基苯基)吡啶 (7.2g, 28.2mmol) 溶于无水甲醇 (50mL) 中, 加入甲醇钠 (1.52g, 28.2mmol), 回流 24 小时, 减压蒸干, 加入水 (100mL), 乙酸乙酯萃取 (100mL×3 次), 食盐水洗 (100mL×2 次), 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩。残留物经柱色谱(石油醚: 乙酸乙酯 8:1)纯化得产物为黄色固体 (0.88g, 产率为 12%)。

MS (ESI⁺): 251.0 [M+H]⁺

步骤 3: 4-(6-甲氧基-2-(1-甲基-4-吡唑基)-4-吡啶氧基)苯胺的合成:

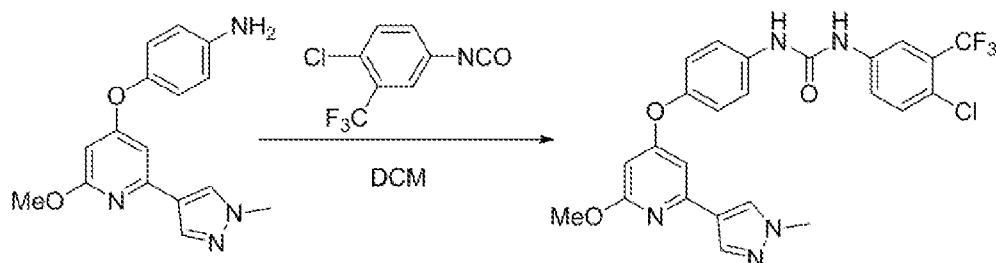


氮气保护下, 将 2-氯-6-甲氧基-4-(4-氨基苯氧基)吡啶 (440mg, 1.76mmol) 和 1-甲基-4-吡唑硼酸频哪醇酯 (368mg, 1.76mmol) 溶于四氢呋喃中 (THF, 8 mL), 加入碳酸钾 (726mg, 5.25 mmol) 和水 (1.76 mL), 然后避光下加入四(三苯基膦)钯催化剂 (100mg, 0.08 mmol), 于 85℃ 保温搅拌 24 小时, TLC 检测反应完全。冷却至室温, 然后加入乙酸乙酯和水各 20 mL, 分液后水相用乙酸乙酯萃取 (20 mL×2 次), 合并乙酸乙酯层, 食盐水洗 (20 mL×2 次), 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩。残留物经柱色谱 (硅胶, 石油醚: 乙酸乙酯 = 4:1, v/v) 纯化得产物为淡黄色固体 (400mg, 产率 77%)。

MS (ESI⁺): 297.2 [M+H]⁺

步骤 4: 1-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-3-(4-(6-甲氧基-2-(1-甲基-4-

吡唑基)-4-吡啶氧基)苯基)脲的合成:



将 4-(6-甲氧基-2-(1-甲基-4-吡唑基)-4-吡啶氧基)苯胺(400mg, 1.35 mmol)溶于二氯甲烷(2 mL)中, 氮气保护下加入 4-氯-3-三氟甲基苯基异氰酸酯(300mg, 1.35 mmol), 室温下搅拌 12 小时后有大量固体析出, 抽滤, 二氯甲烷洗, 烘干, 得产物为白色固体(300mg, 产率 43%)。

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ 3.84 (s, 3H), 3.85 (s, 3H), 6.25(d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 7.00-7.03(m, 1H), 7.12 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.51 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.60-7.68 (m, 2H), 7.86(s, 1H), 8.07(s, 1H), 8.13(d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 8.94 (s, 1H), 9.23 (s, 1H). MS (ESI $^+$): 518.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$

试验例 1: 测试化合物对 VEGFR2 激酶的抑制活性

1. 材料和仪器

EnVision 2104 多标记微孔板检测仪(PerkinElmer);

OptiPlate-384 白色不透明 384-孔微孔板 (Cat.6007290, PerkinElmer);

HTRF®KinEASE™-TK 检测试剂盒 (Cat.62TKOPEC, Cisbio);

VEGFR2 (Cat: k2643, Sigma);

5×激酶缓冲液(Cat: PV3189, Invitrogen);

ATP 10 mM (Cat.PV3227, Invitrogen);

DTT 1 M (Cat.D5545, Sigma);

MgCl₂ 1 M (Cat.M8266, Sigma);

MnCl₂ 1 M (Cat.244589, Sigma);

待测化合物：实施例化合物

对照化合物：对比例化合物

2. 实验步骤

2.1 VEGFR2 激酶试剂配制

表 1 VEGFR2 激酶的反应体系各组分及浓度表

VEGFR2 激酶浓度	在酶反应步骤的终浓度 (10 μL)	2 ng/孔
ATP (μM)		5 μM
TK 底物-生物素		200 nM
酶反应时间		20 分钟
Sa-XL665	在完全反应中的终浓度 (20 μL)	125 nM
TK Ab-cryptate		1:100 稀释

1×激酶缓冲液：1mL 的 1×激酶缓冲液中含有 200 μ L 5×激酶缓冲液 (Invitrogen)、5 μ L 1M MgCl₂、1 μ L 1M DTT、1 μ L 1M MnCl₂、793 μ L ddH₂O;

5×TK 底物-生物素和 ATP 工作液：TK 底物-生物素和 ATP 的具体浓度见表 1。用 1×激酶缓冲液稀释 TK 底物-生物素和 ATP 至反应浓度的 5 倍;

5×激酶工作液：VEGFR2 激酶的浓度见表 1。用 1×激酶缓冲液配制 5×激酶工作液;

4×Sa-XL665 工作液：Sa-XL665 (Cisbio) 在反应中的浓度参见表 1。用检测缓冲液 (Cisbio) 配制 4×Sa-XL665 工作液;

4×TK Ab-cryptate 工作液：用检测缓冲液 (Cisbio) 将 TK Ab-Cryptate (Cisbio) 稀释 100 倍作为工作液;

2.2 实验流程

HTRF KinEASE TK 检测试剂盒实验流程

所有试剂按照上述方法配好后，除酶外，平衡到室温以后，开始进行加样。

TK 底物-生物素，ATP，VEGFR2 激酶以及一定浓度的化合物在 1×激酶缓冲液中室温反应 20 分钟。待测化合物的抑制浓度从 0 到 100 μM ，使用 2.5%的 DMSO 作为共溶剂。向所有反应孔中加入 5 μl 的 4×Sa-XL665 工作液和 5 μl 的 4×TK Ab-cryptate 工作液，室温反应 1 小时后，用 ENVISION (Perkinelmer) 仪器检测荧光信号（320 nm 刺激，665 nm、615 nm 发射）。通过全活性孔和背景信号孔计算出每个孔的抑制率，复孔取平均值，同时用专业的画图分析软件 Graphpad PRISM 5.0 对每个待测化合物进行半数抑制活性（ IC_{50} ）的拟合。

实验加样流程图如下：

	激酶检测	对照	
酶步骤(10 μL)	样品	阴性	阳性
化合物	4 μL	4 μL 2.5%DMSO/ 激酶缓冲液	4 μL 2.5%DMSO/ 激酶缓冲液
TK 底物-生物素	2 μL	2 μL	2 μL
激酶	2 μL	2 μL 激酶缓冲液	2 μL
密封板并在室温下孵育 10 分钟			
ATP	2 μL	2 μL	2 μL
密封板并在室温下孵育 20 分钟			
检测步骤(10 μL)			
Sa-XL665	5 μL	5 μL	5 μL
TK Ab-Cryptate	5 μL	5 μL	5 μL
密封板并在室温下孵育 1 小时			
320 nm 激发，665 nm，615 nm 发射			

2.3 数据分析

发射光比例(ER)=665 nm 发射信号/ 615 nm 发射信号

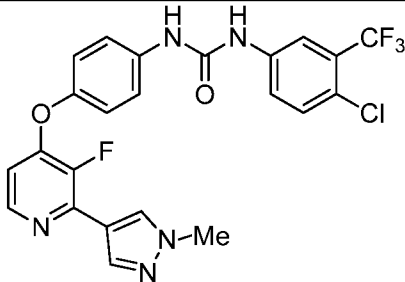
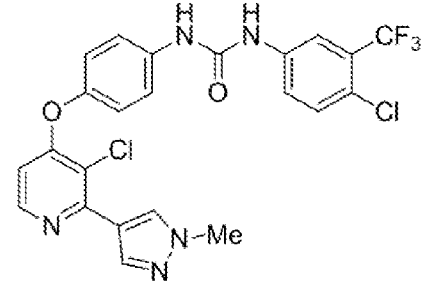
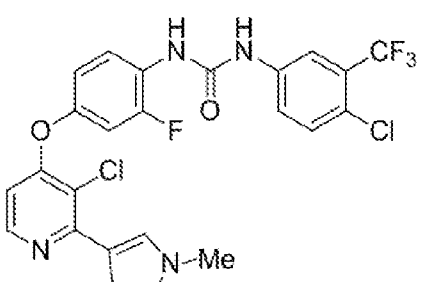
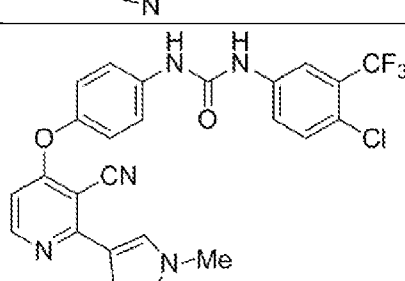
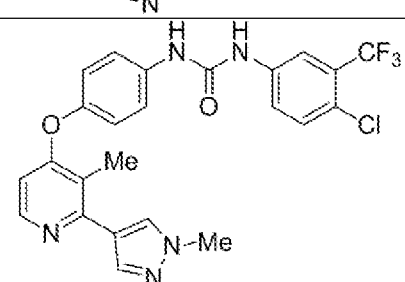
抑制率= $(\text{ER}_{\text{positive}} - \text{ER}_{\text{sample}}) / (\text{ER}_{\text{positive}} - \text{ER}_{\text{negative}}) * 100\%$

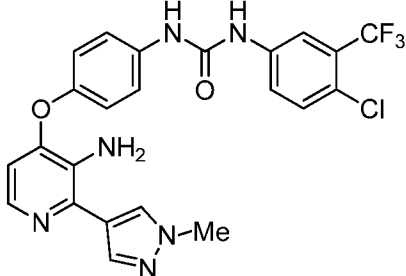
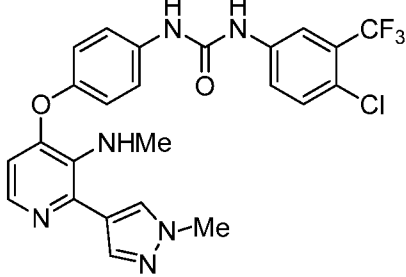
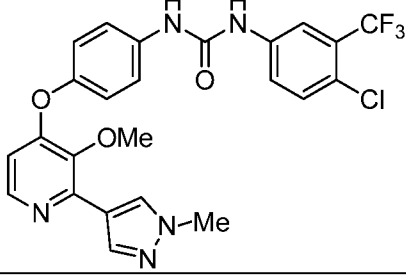
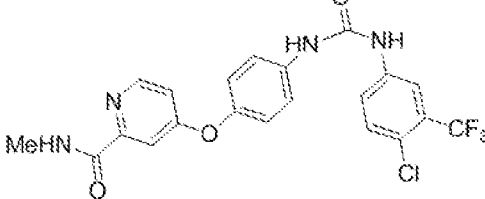
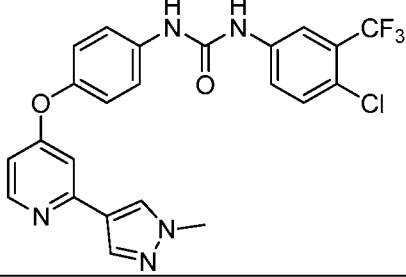
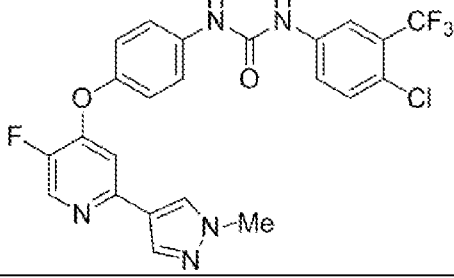
3. 实验结果

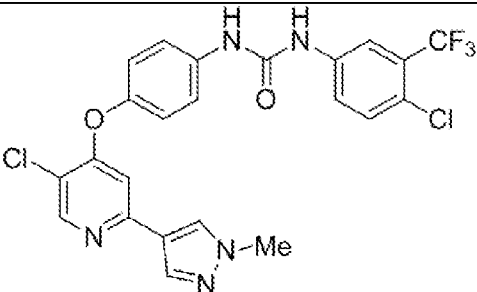
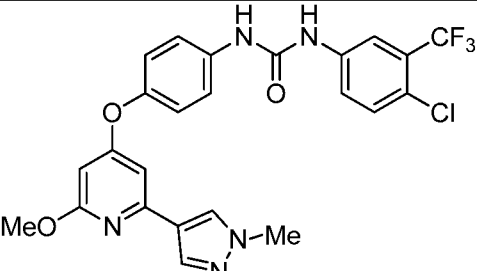
应用 HTRF KinEASE TK kit 检测化合物对激酶 VEGFR2 的半数抑制浓度 IC_{50} 值。化合物作用终浓度从 100 μM 开始，4 倍比梯度稀释，共 10 个浓度，每个浓度为复孔测定，控制反应体

系 DMSO 最终浓度为 1%。实验结果如表 2 及图 1 所示。

表 2 本发明的化合物对激酶 VEGFR2 活性抑制的 IC₅₀ 测定

化合物	原始编号		IC ₅₀ (nM)
实施例 1	FD-2013015		28.60
实施例 2	FD-2013018		55.52
实施例 3	FD-2013024		221.6
实施例 4	FD-2013025		68.55
实施例 5	FD-2013027		317.2

实施例 6	FD-2013031		214.7
实施例 7	FD-2013033		655.9
实施例 8	FD-2013037		417.2
对比例 1	索拉非尼 (游离碱)		89.63
对比例 2	FD-1210005		188.1
对比例 3	FD-2013016		436.7

对比例 4	FD-2013019		20475
对比例 5	FD-2013017		2392

4. 实验结论:

本发明所有实施例化合物的 IC_{50} 值均小于1000,说明本发明化合物具有非常优秀的激酶VEGFR2的抑制活性,可以作为优秀的抗肿瘤药物进行研究。

在与目前市场上非常优秀的抗肿瘤药物索拉非尼的对比中,本发明优选化合物对激酶VEGFR2的抑制活性是上市药物索拉非尼(对比化合物1)的2-3倍,并且优于中国专利申请CN201110435847.9中化合物(对比化合物2)。其中,本发明实施例1化合物 IC_{50} 值分别为索拉非尼(游离碱)和对比化合物2的0.32倍和0.15倍,即抑制活性分别是索拉非尼和对比化合物2的3.13倍和6.6倍。实施例2化合物 IC_{50} 值分别为索拉非尼(游离碱)和对比化合物2的0.62倍和0.34倍,即抑制活性分别是索拉非尼和对比化合物2的1.61倍和3.4倍。实施例4化合物 IC_{50} 值分别为索拉非尼(游离碱)和对比化合物2的0.75倍和0.36倍,即抑制活性分别是索拉非尼和对比化合物2的1.3倍和2.7倍。实施例3化合物 IC_{50} 浓度为索拉非尼(游离碱)的2.5倍,即抑制活性比索拉非尼强弱1.5倍,与对比化合物2的相当,即抑制活性相当。

因此,从上述实验结果可以看出,本发明化合物具有极优秀的VEGFR2激酶抑制活性。

在本发明说明书通式 II 所示的 X3、X4、X5 三个取代位置的对比中，本发明化合物明显优于对比例 3、4、5。

试验例 2：本发明化合物体外抗肿瘤细胞增殖的 IC_{50} 测定

1. 材料和方法

细胞株：

MDA-MB-231 人乳腺癌细胞株（购于中科院上海细胞生物研究所）；

A498 人肾癌细胞株（购于中科院上海细胞生物研究所）；

HCT116 人结肠癌细胞株（购于中科院上海细胞生物研究所）；

786-O 人肾透明细胞腺癌细胞株（购于中科院上海细胞生物研究所）；

MiaPaCa-2 人胰腺癌细胞株（购于美国 ATCC）；

SK-OV-3 人卵巢癌细胞株（购于中科院上海细胞生物研究所）；

HepG2 人肝癌细胞株（购于中科院上海细胞生物研究所）；

NCI-H460 人大细胞肺癌细胞株（购于中科院上海细胞生物研究所）；

HL-60 人急性髓系白血病细胞株（购于中科院上海细胞生物研究所）；

试剂和耗材：

Cell Counting Kit-8（Cat# CK04-13，Dojindo）；

96孔培养板（Cat# 3599，Corning Costar）；

胎牛血清（Cat#10099-141，GIBCO）；

表3中各培养基（Invitrogen）；

台式酶标仪 SpectraMax M5 Microplate Reader（Molecular Devices）；

待测化合物：实施例化合物；

对照化合物：对比例化合物；

2. 实验步骤

2.1 试剂配制

表 3 培养基的配制

细胞株	培养基
786-O	RPMI 1640+10% FBS
MDA-MB-231	RPMI 1640+10% FBS
A498	EMEM+10% FBS
HCT116	DMEM+10% FBS
SK-OV-3	McCoy's 5A+10% FBS
MiaPaCa-2	RPMI 1640+10% FBS
HepG2	EMEM+10% FBS
NCI-H460	RPMI 1640+10% FBS
HL-60	RPMI 1640+10% FBS

化合物的制备：用 DMSO 稀释化合物使终浓度为 10mM。

2.2 细胞培养

- a) 收集对数生长期细胞,计数,用完全培养基重新悬浮细胞;
- b) 调整细胞浓度至合适浓度,接种96孔板,每孔接种100 μ l 细胞悬液。
- c) 细胞在37℃, 100 %相对湿度, 5 % CO₂ 培养箱中孵育24 小时。

2.3 IC₅₀ 实验

- a) 收集对数生长期细胞,计数,用完全培养基重新悬浮细胞,调整细胞浓度至合适浓度(依照细胞密度优化试验结果确定),接种96孔板,每孔加100 μ l细胞悬液。细胞在37℃, 100 %相对湿度, 5% CO₂培养箱中孵育24小时。
- b) 用培养基将待测化合物稀释至500 μ M后梯度稀释8次。按25 μ l/孔加入细胞。化合物终浓度从100 μ M至0 μ M, 4倍梯度稀释,共10个浓度点。
- c) 细胞置于37℃, 100%相对湿度, 5% CO₂培养箱中孵育72

小时。

d) 吸弃培养基,加入含10%CCK-8的完全培养基置于37℃培养箱中孵育2-4小时。

e) 轻轻震荡后在SpectraMax M5 Microplate Reader上测定450nm波长处的吸光度,以650nm处吸光度作为参比,计算抑制率。

2.4 数据处理

按下式计算药物对肿瘤细胞生长的抑制率: 肿瘤细胞生长抑制率(%) = $[(A_c - A_s)/(A_c - A_b)] \times 100\%$ 。

A: 样品的吸光度(细胞+CCK-8+待测化合物);

A_c: 阴性对照的吸光度(细胞+CCK-8+DMSO);

A_b: 阳性对照的吸光度(培养基+CCK-8+DMSO);

用专业作图分析软件 GraphPad Prism 5.0 拟合 IC₅₀ 曲线和 IC₅₀ 值的计算。

3. 实验结果

本实验检测了本发明化合物对肿瘤细胞株的体外细胞增殖 IC₅₀ 值。化合物作用终浓度从100μM至0μM, 4倍梯度稀释, 共10个浓度点。实验结果如表4所示。

表4 IC₅₀ (μM)

细胞株	实施例1 (FD-2013015)	实施例2 (FD-2013018)	对比例1 (索拉非尼)
SK-OV-3	7.141	5.762	17.906
HCT-116	2.774	3.159	4.561
786-O	2.432	2.768	4.509
A498	4.945	4.710	5.492
MDA-MB-231	2.822	3.047	10.002
MiaPaCa-2	2.036	2.339	3.061

HepG2	0.721	0.808	0.947
NCI-H460	0.939	1.050	1.272
HL-60	17.139	18.227	22.012

4. 实验结论:

在体外抗肿瘤细胞增殖实验中, 本发明的化合物对不同肿瘤细胞的半数抑制浓度 IC_{50} 均在0-20之间, 说明本发明化合物具有非常优秀的体外肿瘤细胞抑制活性, 可以作为优秀的抗肿瘤药物进行研究。

在与目前市场上非常优秀的抗肿瘤药物索拉非尼的对比中, 本发明的化合物在不同细胞系对SK-OV-3, HCT-116, 786-O, MDA-MB-231等肿瘤细胞系的半数抑制浓度(IC_{50})均明显优于上市药物索拉非尼(例如, 在MDA-MB-231细胞系中, 本发明实施例1化合物的 IC_{50} 浓度为索拉非尼的0.28, 本发明实施例2化合物的 IC_{50} 浓度为索拉非尼的0.30); 对A498, MiaPaCa-2, HepG2, NCI-H460, HL-60等肿瘤细胞系的半数抑制浓度(IC_{50})与上市药物索拉非尼相当。

本实验证明, 本发明化合物对肿瘤细胞具有优秀的抗增殖活性。

试验例 3: 本发明化合物在小鼠体内药代动力学研究

1. 材料与方法

1.1 待测化合物

本发明实施例、对比例化合物

1.2 实验动物

CD-1 小鼠, 雌性, 体重 28-35g。

1.3 给药方式

给药途径: 静脉注射; 口服。

禁食情况: 自由饮水, 不禁食。

2. 实验方法

2.1 给药与样品收集

2.1.1 给药

给药前称重并计算给药体积（IV 组：4 mL/kg；PO 组：10 mL/kg）。

给药方式及剂量：静脉(IV)组 1 mg/kg；口服(PO)组 5 mg/kg。

样品：血浆。

动物分组：3 只/组，每个待测药物分静脉和口服 2 组。

2.1.2 样品收集

给药后，IV 组经眼眶在各个预定时间点（5 分钟、15 分钟、30 分钟、1 小时、2 小时、4 小时、8 小时、24 小时）收集 30 μ L 全血，PO 组经眼眶在各个预定时间点（15 分钟、30 分钟、1 小时、2 小时、4 小时、8 小时、24 小时）收集 30 μ L 全血，全血离心(6,000rpm, 5 分钟)得血浆，所有的血浆样品存放在-80℃冰箱等待分析。

2.2 定量分析方法

LC/MS/MS 条件如下：

电离模式：ESI，正离子；

检测模式：MRM；

定量离子 FD2012015：506.12/270.20；

内标(特非那丁)：472.40/436.40；

样品处理：50ng 特非那丁（乙腈溶液）沉淀蛋白（PPT）；

样品：CD-1 小鼠血浆(EDTA 抗凝)；

样品体积：20 μ L；

色谱柱：ACE C4 column (50 mm * 2.1 mm, 5 micron)

流动相：梯度洗脱，流动相 A：水（含 0.1% 甲酸），流动相 B：乙腈（含 0.1% 甲酸）；

流速(mL/min)：0.9；

柱温(℃)：室温；

进样体积(μL): 5;

时间 (分钟): 2.0;

3. 数据处理

用非房室模型法估算药代动力学参数 (采用 WinNonlin 软件计算):

IV 参数: $t_{1/2}$ (hr); C_0 (ng/mL); AUC_{last} (hr*ng/mL); AUC_{Inf} (hr*ng/mL); AUC Extr (%); V_z (L/kg); V_{ss} (L/kg); CL (mL/min/kg); MRT (hr)。

PO 参数: $t_{1/2}$ (hr); t_{max} (hr); C_{max} (ng/mL); AUC_{last} (hr*ng/mL); AUC_{Inf} (hr*ng/mL); AUC Extr (%); MRT (hr); AUC/D (hr*mg/mL); F (%)。

4. 实验结果:

表 5 本发明化合物口服给药后的药代动力学参数
(每组 3 只小鼠的平均值)

	C_{max} (ng/mL)	AUC_{last} (hr*ng/mL)	F (%)
实施例 1	1913	39610	90.3
实施例 2	3007	56618	82.9
Sorafenib	1150	18920	78.6

注: C_{max} : 峰浓度; AUC_{last} : 药时曲线下面积; F : 口服利用度

5. 实验结论:

本发明实施例 1、2 化合物具有非常优秀的代谢稳定性, 峰浓度、药时曲线下面积、口服利用度等数据明显优于上市药物索拉非尼, 非常具有临床应用前景。说明当向通式 I 的 X3 位置上引入取代基后, 这些取代基从空间构型上阻止了原有的易被代谢的位点(对比化合物 2、3、4 在 X3 位置上是氢), 提高了化合物代谢稳定性, 保证了化合物在体内的高水平的血药浓度, 从而使本发明化合物的药效又进一步的增加。

试验例 4

1. 细胞培养

用含有灭活的 10%胎牛血清, 100 U/ml 的青霉素和 100 µg/ml 的链霉素以及 2 mM 谷氨酰胺的 RPMI-1640 培养基在 37°C、5% CO₂ 的培养箱中培养 786-O 细胞。细胞培养起始浓度为 5×10⁵ 个/毫升, 每隔 3 至 4 天待细胞长满后分瓶传代。将处于对数生长期的肿瘤细胞用于体内肿瘤的接种。

2. 肿瘤细胞接种与分组

PBS 重悬的 786-O 肿瘤细胞 8×10⁶ 个/0.1ml 接种于雌性 SCID-Beige 裸鼠 (SPF 级) 的右侧胁肋部皮下, 待肿瘤生长到 800 mm³, 在无菌条件下, 剥离肿瘤, 选择生长良好的肿瘤组织, 切成瘤块 2 × 2 × 2 mm³, 然后再接种到动物皮下。待肿瘤长至 100 mm³ 左右时分组给药, 共 5 组, 每组 8 只。

3. 肿瘤的测量及试验终点

使用游标卡尺测量肿瘤体积每周 2 次, 测量肿瘤的长径和短径, 其体积计算公式为: 体积=0.5×长径×短径²。末次测量后处死动物剥离肿瘤称重。根据各组肿瘤重量计算肿瘤生长抑制率 (TGI)。肿瘤生长抑制率 (TGI) = (1-T/C) × 100%。T: 给药组平均相对瘤重量; C: 阴性对照组平均相对瘤重量, 肿瘤生长抑制率 ≥ 60%, 并经统计学处理 p < 0.05 为有效。

表 6 FD-2013018 对 786-O 人源肾透明细胞异种移植荷瘤小鼠的抑瘤作用 (肿瘤重量)

组别	给药剂量	给药方法	动物数	肿瘤重量 (mg) ^a	TGI(%)	P 值 ^b
			始/终	Mean ± S.E		
溶剂对照	空白溶剂 ^c	po, QD×14 天	8/8	206 ± 47	-	-

FD-2013018	10 mg/kg	po, QD×14 天	8/8	37 ± 20	82	< 0.001
FD-2013018	20 mg/kg	po, QD×14 天	8/8	32 ± 15	85	< 0.001
FD-2013018	40 mg/kg	po, QD×14 天	8/8	16 ± 12	92	< 0.001

注：^a均数±标准误；^b与溶剂对照组比较；^c空白溶剂为：溶媒 DMA:Solutol HS-15:H₂O=5:5:90（体积比）（DMA 为二甲基乙酰胺，Solutol HS-15，购自 BASF，CAS: 61909-81-7）；FD-2013018 为游离形式；po 为口服，QD 为一天一次；

P 值：组 2(10 mg/kg) vs. 组 3(20 mg/kg) = 0.999；组 2 vs. 组 4(40 mg/kg) = 0.386；

组 3 vs. 组 4 = 0.270。

试验例 5

1. 细胞培养

用含有灭活的 10%胎牛血清，100 U/ml 青霉素和 100 µg/ml 链霉素以及 2 mM 谷氨酰胺的 McCoy's 5a 培养基在 37°C、5% CO₂ 的培养箱中培养 HCT116 细胞。细胞培养起始浓度为 5×10^5 个/毫升，每隔 3 至 4 天待细胞长满后分瓶传代。将处于对数生长期的肿瘤细胞用于体内肿瘤的接种。

2. 肿瘤接种与分组

PBS 重悬的 HCT116 肿瘤细胞 $1.0 \times 10^7 / 0.1 \text{ ml}$ 接种于 Balb/c 裸鼠右侧胁肋部皮下。待肿瘤生长到 800 mm^3 时处死动物，在无菌条件下，剥离肿瘤，选择生长良好的肿瘤组织，将肿瘤组织切成 $2 \times 2 \times 2 \text{ mm}^3$ 瘤块，接种至 Balb/c 裸鼠右侧胁肋部皮下，共转接 60 只动物。待肿瘤长至 110 mm^3 左右时分组给药，共 5 组，每组 8 只。

3. 肿瘤的测量及实验指标

每周使用游标卡尺对肿瘤体积进行两次测量，测量肿瘤的长

径和短径，其体积计算公式为：体积 = $0.5 \times \text{长径} \times \text{短径}^2$ 。末次测量后处死动物剥离肿瘤称重。根据肿瘤重量计算肿瘤生长抑制率 (TGI) = $(1 - T/C) \times 100\%$ ，其中 T 为各受试化合物组相对肿瘤重量的平均值，C 为溶剂对照组相对肿瘤重量的平均值。实验结束时，将实验动物安乐处死。

表 7 FD-2013018 对 HCT116 异种移植荷瘤小鼠的抑瘤作用 (肿瘤重量)

组别	给药剂量	给药方法	动物数	肿瘤重量 (D27, g) ^a	TGI(%)	P 值 ^b
			始/终	Mean ± S.E		
溶剂对照	空白溶剂	po, QD×14 天	8 / 8	0.961 ± 0.130	-	-
FD-2013018	10 mg/kg	po, QD×14 天	8 / 8	0.153 ± 0.078	84.1	< 0.001
FD-2013018	20 mg/kg	po, QD×14 天	8 / 8	0.104 ± 0.035	89.1	< 0.001
FD-2013018	40 mg/kg	po, QD×14 天	8 / 8	0.077 ± 0.043	92.0	< 0.001

注：^a均数 ± 标准差；^b与对照组比较；FD-2013018 为游离形式；空白溶剂同表 6；

P 值：组 2(10 mg/kg) vs. 组 3 (20 mg/kg) = 0.687；组 2 vs. 组 4(40 mg/kg) = 0.248；

组 3 vs. 组 4 = 0.807。

对比实验例 1：

舒尼替尼 (Sunitinib)，依照专利 WO0160814 A1 方法制备。

动物模型制备：

取生长良好的 786-O 实体瘤，无菌条件下切割成约 1mm³ 大小均匀的小块，用套管针接种于裸鼠右前肢腋窝皮下。定期观察肿

瘤生长情况，直至肿瘤体积生长至 250~550mm³。

分组及给药：

淘汰瘤体积过大或过小、肿瘤形状不规则的动物，选择状态良好，肿瘤体积 250~550mm³ 的荷瘤鼠，共 48 只，将动物分为 6 组，分别作为溶媒对照组、3 个阳性对照组和 2 个受试品组。阳性对照及受试品组，均采用灌胃给药，每天 1 次；溶媒对照组给予 12.5% 乙醇 & 12.5% 聚氧乙烯蓖麻油超纯水溶液，每天 1 次；灌胃容量均为 10ml/kg。

给药期间每周测量 2 次瘤径，并计算肿瘤体积，同时记录动物体重。每次给药时观察动物状态，并对异常状态进行记录。

处死动物：

CO₂ 处死动物，剥取瘤块称重，并拍照。对动物进行大体解剖，肉眼观察脏器有无异常。

观察指标：

$$\text{瘤重抑瘤率 (IR)} = (W_C - W_T) / W_C$$

其中 W_C 、 W_T 分别表示溶媒对照组平均瘤重和给药组平均瘤重。

BW_0 为分组时（即 d0）称量所得动物体重， BW_t 为每次称量时的动物体重。如果体重下降率为负值，表示对我体重增加。

统计方法：

试验数据用 Microsoft Office Excel 2003 软件进行计算和相关统计学处理。数据除特别说明外，均用均数±标准误 (Mean ± S.E) 表示，两组间比较采用 t-检验。

表 8 FD-1210005 对人体肾癌 786-O 裸鼠移植瘤瘤重的影响

组 别	剂量(mg/kg)	给药方案	动物数	瘤重(g)	抑瘤率%
			始/终	Mean ± S.E	
溶剂对照	溶媒	po, QD ×14 天	8 / 8	0.9356±0.1126	-

Sunitinib, 40, QD	40	po, QD ×14 天	8 /8	0.1825±0.0213**	80.49%
Sorafenib, 20, QD	20	po, QD ×14 天	8 /8	0.5239±0.1038*	44.01%
Sorafenib, 60, QD	60	po, QD ×14 天	8/8	0.4407±0.0581**	52.89%
FD-1210005, 20, QD	20	po, QD ×14 天	8 /8	0.1892±0.0253**	79.78%
FD-1210005, 60, QD	60	po, QD ×14 天	8 /6	0.1897±0.0192**	79.73%

注：1. 与溶剂对照组比较，*P<0.05，**P<0.01；

2. 本实验中 sorafenib 为对甲苯磺酸盐，FD-1210005 为游离形式

对比实验例 2

动物模型制备：

取生长良好的对数生长期的人 HCT-116 细胞悬液，无菌条件下用注射器接种于裸鼠右前肢腋窝皮下。定期观察肿瘤生长情况，直至肿瘤体积生长至 100~300mm³。

分组及给药：

选择肿瘤体积 100~300mm³ 的荷瘤鼠 48 只，将动物分为 6 组，分别作为溶媒对照组、3 个阳性对照组和 2 个受试品组。阳性对照及受试品组，均采用灌胃给药，每天 1 次；溶媒对照组给予 12.5%乙醇 & 12.5% 聚氧乙烯蓖麻油超纯水溶液，每天 1 次；灌胃容量均为 10ml/kg。

给药期间每周测量 2 次瘤径，并计算肿瘤体积，同时记录动物体重。每次给药时观察动物状况，并对异常状况进行记录。

处死动物：

CO₂ 处死动物，剥取瘤块称重，并拍照。拍照结束后，每个瘤块剪成 2 份，一份放在 4% 多聚甲醛中保存，另一份装入冻存管中，液氮中冻存。对动物进行大体解剖，肉眼观察脏器有无异常。

观察指标：

$$\text{瘤重抑瘤率 (IR)} = (W_C - W_T) / W_C$$

其中 W_C 、 W_T 分别表示溶媒对照组平均瘤重和给药组平均瘤重。

统计方法：

试验数据用 Microsoft Office Excel 2003 软件进行计算和相关统计学处理。数据除特别说明外，均用均数±标准误 (Mean ± S.E) 表示，两组间比较采用 t-检验。

表 9 FD-1210005 对人结肠癌 HCT-116 裸鼠移植瘤瘤重的影响

组 别	剂量 (mg/kg)	给药方案	动物数	瘤重(g)	抑瘤率 %
			始/终	Mean ± S.E	
溶剂对照	溶媒	Ig, QD ×17 天	8 /8	0.9924±0.1112	-
Sunitinib, 40, QD	40	Ig, QD ×17 天	8/8	0.3890±0.0453**	60.80%
Sorafenib, 20, QD	20	Ig, QD ×17 天	8/8	0.5628±0.0617**	43.28%
Sorafenib, 60, QD	60	Ig, QD ×17 天	8/8	0.4409±0.0857**	55.57%
FD-1210005, 20, QD	20	Ig, QD ×17 天	8/8	0.3283±0.0404**	66.91%
FD-1210005, 60, QD	60	Ig, QD ×17 天	8/8	0.2829±0.0309**	71.49%

注：1. 与溶剂对照组比较，*P<0.05，**P<0.01；

2.“-”表示此处没有数据。

3. 本实验中 sorafenib 为对甲苯磺酸盐，FD-1210005 为游离形式

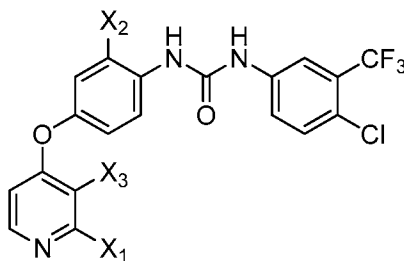
从体内抗肿瘤试验研究结果显示，实施例 2 (FD-2013018) 在 10mg/kg 的剂量下对 786-O 和 HCT116 异种移植荷瘤小鼠即分别达到 82% 和 84.1% 的抑瘤作用，在 40mg/kg 下更是均达到 92%；而对比化合物 2 (FD-2010005) 在 20mg/kg 剂量下对 786-O 和 HCT116 异种移植荷瘤小鼠分别达到 80% 和 67% 的抑瘤作用，在 60mg/kg 剂量下也只达到 80% 和 71% 的抑瘤作用。这些数据说明，本发明实施例 2 的化合物 (FD-2013018) 的体内抗肿瘤活性明显优于对比化合物 2 (FD-1210005)，具有更低的有效剂量和更强的抗肿瘤活性。

综上，本发明的化合物具有非常强的体外和体内抗肿瘤活性，以及特别优秀的药代动力学性质。在与索拉菲尼和对比例 2 化合物的对比中，本发明的化合物具有更强的体外和体内抗肿瘤活性，更好的药代动力学性质。

尽管本发明的具体实施方式已经得到详细的描述，本领域技术人员将会理解。根据已经公开的所有教导，可以对那些细节进行各种修改和替换，这些改变均在本发明的保护范围之内。本发明的全部范围由所附权利要求及其任何等同物给出。

权利要求

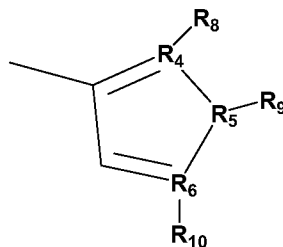
1. 一种式 I 所示的多取代的吡啶化合物或其水合物、溶剂合物和药学上可接受的盐：



式 I

其中，

X_1 选自式 a 所示的取代或未取代的五元芳杂环；



式 a

R_4 、 R_5 、 R_6 各自独立地选自碳原子、氮原子、氧原子、或硫原子， R_8 、 R_9 、 R_{10} 各自独立地选自氢、卤素、 C_1 - C_4 烷基、 C_1 - C_4 烷氧基；

X_2 选自 F 或 H；

X_3 选自卤素、-CN、 C_1 - C_4 烷基、卤代的 C_1 - C_4 烷基、 C_1 - C_4 烷氧基、卤代的 C_1 - C_4 烷氧基、- $NR_{11}R_{12}$ ；其中所述 R_{11} 、 R_{12} 各自独立地选自氢、或 C_1 - C_4 烷基。

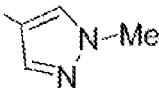
2. 根据权利要求 1 所述的多取代的吡啶化合物或其水合物、溶剂合物和药学上可接受的盐，其中 R_4 、 R_5 、 R_6 各自独立地选自碳原子或氮原子。

3. 根据权利要求 1 或 2 所述的多取代的吡啶化合物或其水合物、溶剂合物和药学上可接受的盐，其中 R_4 、 R_5 、 R_6 不同时为碳

原子。

4. 根据权利要求 1 或 2 所述的多取代的吡啶化合物或其水合物、溶剂合物和药学上可接受的盐，其中 R_4 、 R_5 、 R_6 不同时为氮原子。

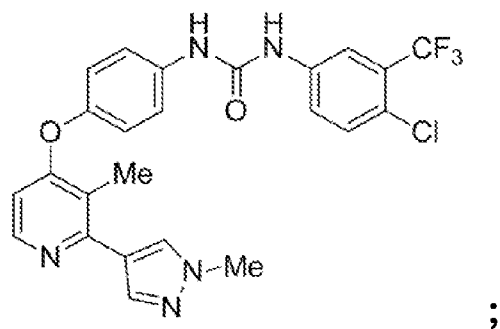
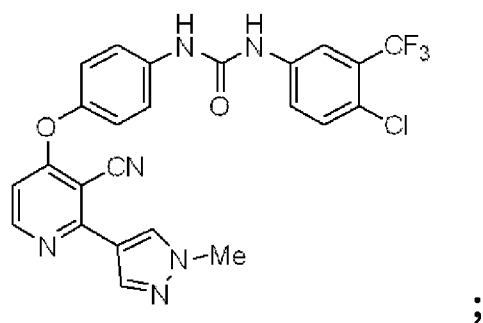
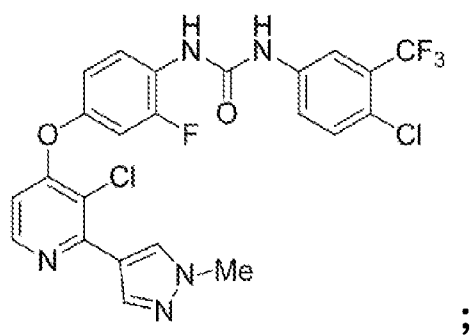
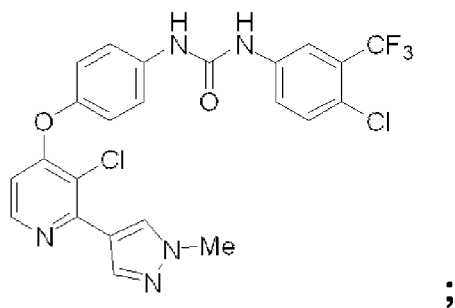
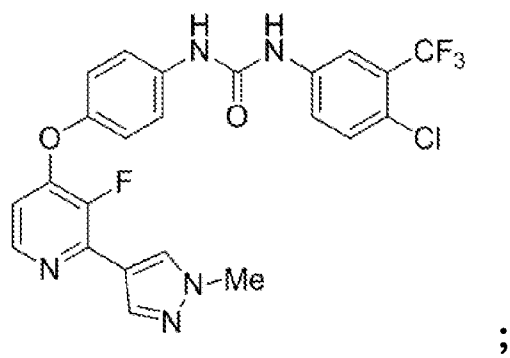
5. 根据权利要求 1-4 任意一项所述的多取代的吡啶化合物或其水合物、溶剂合物和药学上可接受的盐，其中 R_8 、 R_9 、 R_{10} 各自独立地选自氢、或甲基。

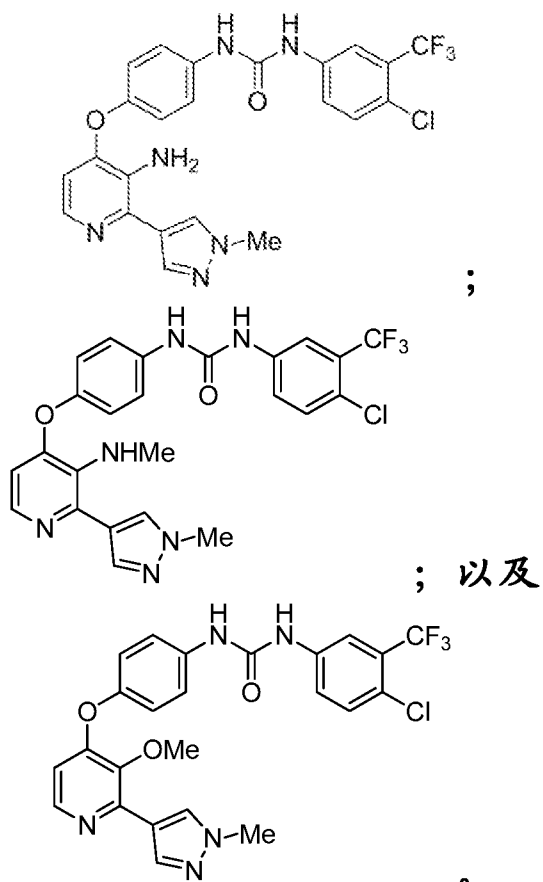
6. 根据权利要求 1 所述的多取代的吡啶化合物或其水合物、溶剂合物和药学上可接受的盐，其中， X_1 为 。

7. 根据权利要求 1-6 任意一项所述的多取代的吡啶化合物或其水合物、溶剂合物和药学上可接受的盐，其中， X_3 选自 F、Cl、Br、 $-CF_3$ 、 $-CN$ 、 C_1-C_2 烷基、 C_1-C_2 烷氧基、 $-NR_{11}R_{12}$ ；其中所述 R_{11} 、 R_{12} 各自独立地选自氢、或 C_1-C_2 烷基。

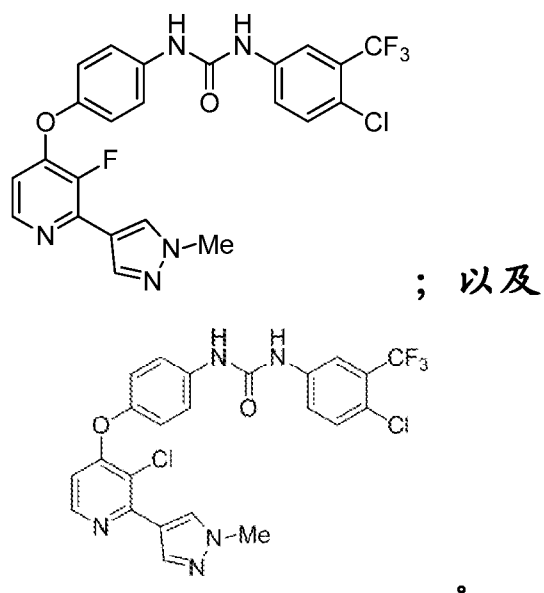
8. 根据权利要求 7 中所述的多取代的吡啶化合物或其水合物、溶剂合物和药学上可接受的盐，其中， X_3 选自 F、Cl、 $-CN$ 。

9. 根据权利要求 1 所述的多取代的吡啶化合物或其水合物、溶剂合物和药学上可接受的盐，其中，式 I 所示的多取代的吡啶化合物选自以下化合物：





10. 根据权利要求 1 所述的多取代的吡啶化合物或其水合物、溶剂合物和药学上可接受的盐，其中，式 I 所示的多取代的吡啶化合物选自以下化合物：

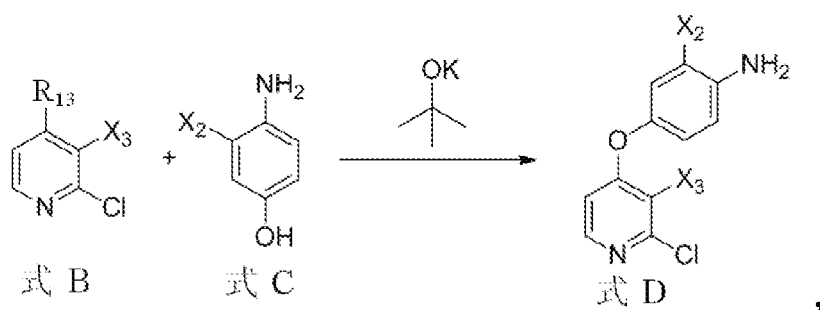


11. 根据权利要求 1-10 任意一项所述的多取代的吡啶化合物或其水合物、溶剂合物和药学上可接受的盐, 其中, 式 I 所示的多取代的吡啶化合物的药学上可接受的盐选自: 盐酸盐、氢溴酸盐、硫酸盐、磷酸盐、甲磺酸盐、三氟甲磺酸盐、苯磺酸盐、对甲苯磺酸盐、1-萘磺酸盐、2-萘磺酸盐、乙酸盐、三氟乙酸盐、苹果酸盐、酒石酸盐、柠檬酸盐、乳酸盐、草酸盐、琥珀酸盐、富马酸盐、马来酸盐、苯甲酸盐、水杨酸盐、苯基乙酸盐、或杏仁酸盐。

12. 药物组合物, 其含有权利要求 1-10 任意一项所述的多取代的吡啶化合物或其水合物、溶剂合物和药学上可接受的盐, 以及药学上可接受的辅料。

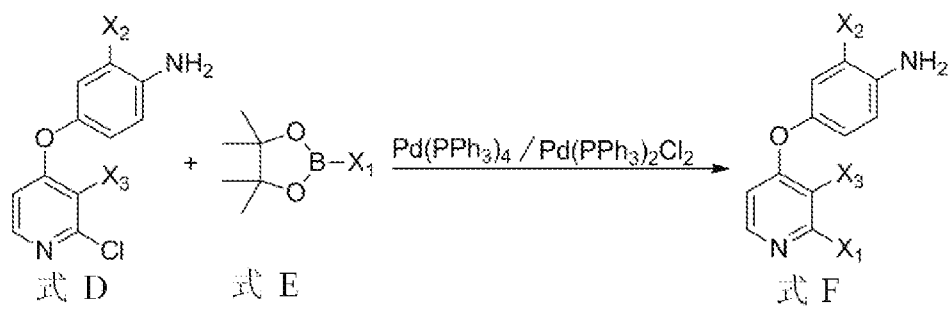
13. 根据权利要求 1-10 中任意一项所述的多取代的吡啶化合物的制备方法, 其包括:

1) 式 B 所示的化合物与式 C 所示的化合物在叔丁醇钾的催化下发生如下反应, 得到式 D 所示的化合物:

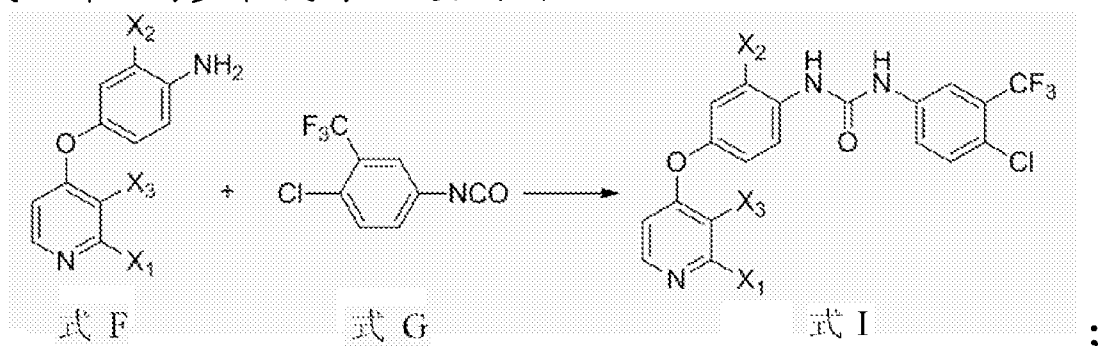


其中 R_{13} 为氟、氯、溴或碘;

2) 式 D 所示的化合物与式 E 所示的化合物在四(三苯基膦)钯或二(三苯基膦)二氯化钯的催化下发生如下反应, 得到式 F 所示的化合物:



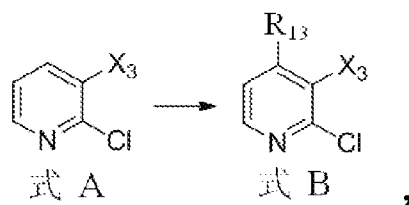
3) 式 F 所示的化合物与式 G 所示的化合物发生如下反应, 得到式 I 所示的多取代的吡啶化合物:



其中 X_1 、 X_2 、 X_3 的定义同权利要求 1-10 任一项。

14. 根据权利要求 13 所述的方法, 其中, 所述的式 B 所示的化合物是通过以下方法制备得到的:

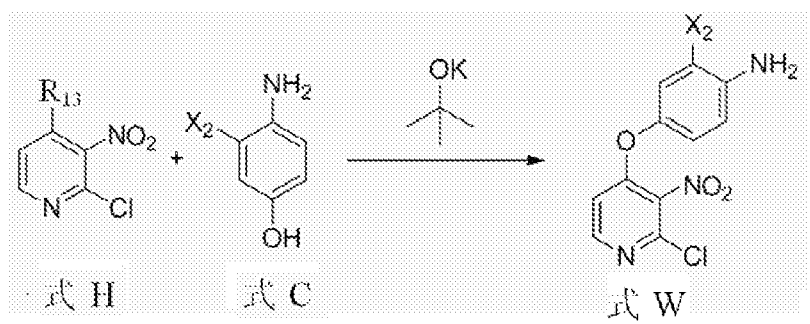
式 A 所示的化合物发生卤代反应, 得到式 B 所示的化合物:



其中 R_{13} 为氟、氯、溴或碘。

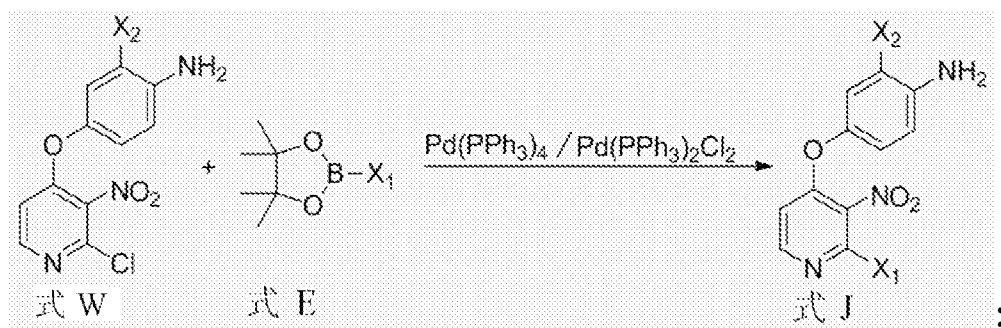
15. 根据权利要求 1-10 中任意一项所述的多取代的吡啶化合物的制备方法, 其中, 当 X_3 为 NH_2 时, 所述的制备方法包括:

1) 式 H 所示的化合物与式 C 所示的化合物在叔丁醇钾作为碱的存在下发生如下反应, 从而得到式 W 所示的化合物;

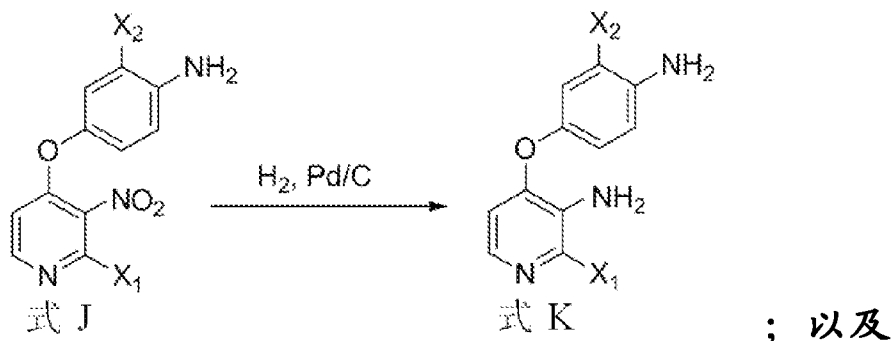


其中 R₁₃ 为氟、氯、溴或碘；

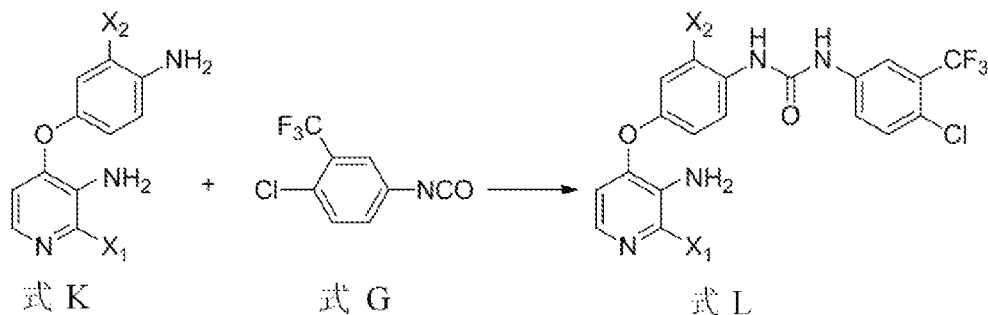
2) 式 W 所示的化合物与式 E 所示的化合物在四(三苯基膦)钯或二(三苯基膦)二氯化钯的催化下发生如下反应，得到式 J 所示的化合物：



3) 式 J 所示的化合物在钯碳的催化下进行氢化反应，得到式 K 所示的化合物：



4) 式 K 所示的化合物与式 G 所示的化合物发生如下反应，得到式 L 所示的化合物：



16. 根据权利要求 1-10 中任意一项所述的多取代的吡啶化合物或其水合物、溶剂合物和药学上可接受的盐在制备用于治疗 and/或预防与 VEGFR-2、VEGFR-3、CRAF、PDGFR- β 、BRAF、V600E BRAF、KIT 和/或 FLT-3 激酶相关的疾病的药物中的用途。

17. 根据权利要求 16 所述的用途，其中所述的与 VEGFR-2、VEGFR-3、CRAF、PDGFR- β 、BRAF、V600E BRAF、KIT 和/或 FLT-3 激酶相关的疾病包括肿瘤或癌症。

18. 根据权利要求 17 所述的用途，其中，所述的肿瘤或癌症为黑色素瘤、肝癌、肾癌、急性白血病、慢性白血病、非小细胞肺癌、前列腺癌、甲状腺癌、皮肤癌、结肠癌、直肠癌、胰腺癌、卵巢癌、乳腺癌、骨髓异常增生综合症、食管癌、或间皮瘤。

19. 一种治疗和/或预防与 VEGFR-2、VEGFR-3、CRAF、PDGFR- β 、BRAF、V600E BRAF、KIT 和/或 FLT-3 激酶相关的疾病的方法，所述方法包括向有需要的受试者给予治疗或预防有效量的权利要求 1-10 任一项所述的多取代的吡啶化合物或其水合物、溶剂合物和药学上可接受的盐。

20. 权利要求 19 所述的方法，其中所述的与 VEGFR-2、VEGFR-3、CRAF、PDGFR- β 、BRAF、V600E BRAF、KIT 和/或 FLT-3 激酶相关的疾病包括肿瘤或癌症。

21. 权利要求 20 所述的方法，其中，所述的肿瘤或癌症为黑色素瘤、肝癌、肾癌、急性白血病、慢性白血病、非小细胞肺癌、前列腺癌、甲状腺癌、皮肤癌、结肠癌、直肠癌、胰腺癌、卵巢癌、乳腺癌、骨髓异常增生综合症、食管癌、或间皮瘤。

22. 根据权利要求 1-10 任意一项所述的多取代的吡啶化合物

或其水合物、溶剂合物、药学上可接受的盐，其用于治疗 and/或预防与 VEGFR-2、VEGFR-3、CRAF、PDGFR- β 、BRAF、V600E BRAF、KIT 和/或 FLT-3 激酶相关的疾病。

23. 根据权利要求 22 所述的多取代的吡啶化合物或其水合物、溶剂合物和药学上可接受的盐，其中所述的与 VEGFR-2、VEGFR-3、CRAF、PDGFR- β 、BRAF、V600E BRAF、KIT 和/或 FLT-3 激酶相关的疾病包括肿瘤或癌症。

24. 根据权利要求 23 所述的多取代的吡啶化合物或其水合物、溶剂合物和药学上可接受的盐，其中，所述的肿瘤或癌症为黑色素瘤、肝癌、肾癌、急性白血病、慢性白血病、非小细胞肺癌、前列腺癌、甲状腺癌、皮肤癌、结肠癌、直肠癌、胰腺癌、卵巢癌、乳腺癌、骨髓异常增生综合症、食管癌、或间皮瘤。

25. 用于抑制细胞中的 VEGFR-2、VEGFR-3、CRAF、PDGFR- β 、BRAF、V600E BRAF、KIT 和/或 FLT-3 激酶活性的方法，其包括，给所述细胞施用有效量的根据权利要求 1-10 任意一项所述的多取代的吡啶化合物或其水合物、溶剂合物和药学上可接受的盐。

26. 根据权利要求 25 所述的方法，其中，所述的方法在体外进行。

27. 根据权利要求 25 所述的方法，其中，所述的方法在体内进行。

28. 根据权利要求 25-27 任意一项所述的方法，其中，所述的细胞为细胞系，或者来自受试者的细胞，例如肿瘤细胞或癌细胞。

29. 根据权利要求 28 所述的方法, 其中, 所述的肿瘤或癌症选自黑色素瘤、肝癌、肾癌、急性白血病、慢性白血病、非小细胞肺癌、前列腺癌、甲状腺癌、皮肤癌、结肠癌、直肠癌、胰腺癌、卵巢癌、乳腺癌、骨髓异常增生综合症、食管癌或间皮瘤。

30. 根据权利要求 1-10 任意一项所述的多取代的吡啶化合物或其水合物、溶剂合物和药学上可接受的盐用于制备试剂的用途, 所述的试剂用于抑制细胞中的 VEGFR-2、VEGFR-3、CRAF、PDGFR- β 、BRAF、V600E BRAF、KIT 和/或 FLT-3 激酶的活性。

31. 根据权利要求 30 所述的用途, 其中, 所述的试剂用于体外方法中。

32. 根据权利要求 30 所述的用途, 其中, 所述的试剂用于体内方法中。

33. 根据权利要求 30-32 任意一项所述的用途, 其中, 所述的细胞为细胞系, 或者来自受试者的细胞, 例如肿瘤细胞或癌细胞。

34. 根据权利要求 33 所述的用途, 其中, 所述的肿瘤或癌症选自黑色素瘤、肝癌、肾癌、急性白血病、慢性白血病、非小细胞肺癌、前列腺癌、甲状腺癌、皮肤癌、结肠癌、直肠癌、胰腺癌、卵巢癌、乳腺癌、骨髓异常增生综合症、食管癌或间皮瘤。

35. 根据权利要求 1-10 任意一项所述的多取代的吡啶化合物或其水合物、溶剂合物和药学上可接受的盐, 其用于抑制细胞中的 VEGFR-2、VEGFR-3、CRAF、PDGFR- β 、BRAF、V600E BRAF、KIT 和/或 FLT-3 激酶的活性。

36. 根据权利要求 35 所述的多取代的吡啶化合物或其水合物、溶剂合物和药学上可接受的盐，其用于体外方法中。

37. 根据权利要求 35 所述的多取代的吡啶化合物或其水合物、溶剂合物和药学上可接受的盐，其用于体内方法中。

38. 根据权利要求 35-37 任意一项所述的多取代的吡啶化合物或其水合物、溶剂合物和药学上可接受的盐，其中，所述的细胞为细胞系，或者来自受试者的细胞，例如肿瘤细胞或癌细胞。

39. 根据权利要求 38 所述的多取代的吡啶化合物或其水合物、溶剂合物和药学上可接受的盐，其中，所述的肿瘤或癌症选自黑色素瘤、肝癌、肾癌、急性白血病、慢性白血病、非小细胞肺癌、前列腺癌、甲状腺癌、皮肤癌、结肠癌、直肠癌、胰腺癌、卵巢癌、乳腺癌、骨髓异常增生综合症、食管癌或间皮瘤。

40. 一种用于抑制细胞中的 VEGFR-2、VEGFR-3、CRAF、PDGFR- β 、BRAF、V600E BRAF、KIT 和/或 FLT-3 激酶的活性的试剂盒，所述的试剂盒包括权利要求 1-10 任意一项所述的多取代的吡啶化合物或其水合物、溶剂合物和药学上可接受的盐，且，任选地还包括使用说明。

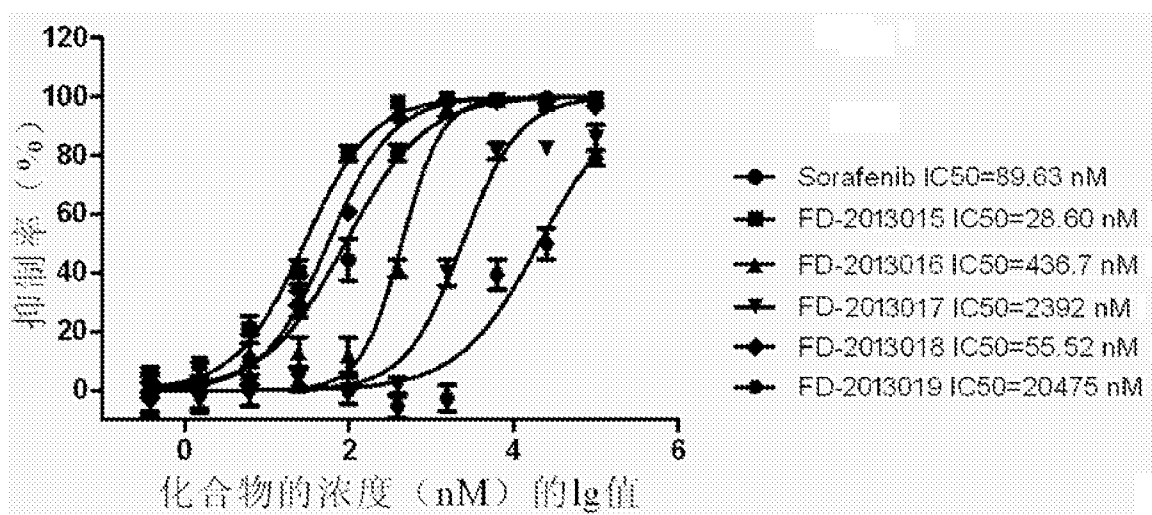


图 1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2014/095461

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07D 401/04 (2006.01) i; A61K 31/4439 (2006.01) i; A61P 35/00 (2006.01) i; A61P 35/02 (2006.01) i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07D 401/-; A61K31/-; A61P35/-

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

WPI, EPODOC, CNKI, CNAPT, STN (REG, CAPLUS, CASREACT): pyridine, kinase, tumor, tumour, cancer, inhibi+, urea, aryl

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	CN 102558144 A (PEKING UNIVERSITY FOUNDER GROUP CORP. et al.), 11 July 2012 (11.07.2012), claims 1-19, and description, pages 4-6	1-18, 22-24, 30-40
Y	CN 101801383 A (DECIPHERA PHARMACEUTICALS, LLC), 11 August 2010 (11.08.2010), claims 1 and 13-20	1-18, 22-24, 30-40
Y	CN 102532113 A (PEKING UNIVERSITY FOUNDER GROUP CORP. et al.), 04 July 2012 (04.07.2012), claims 1-19, and description, pages 4-6	1-18, 22-24, 30-40
Y	CN 102234270 A (INSTITUTE OF RADIATION MEDICINE, ACADEMY OF MILITARY MEDICAL SCIENCES OF P.L.A.), 09 November 2011 (09.11.2011), claims 1-4	1-18, 22-24, 30-40
Y	CN 102686577 A (ALLERGAN, INC.), 19 September 2012 (19.09.2012), claims 1-19	1-18, 22-24, 30-40
Y	CN 1341098 A (BAYER AG), 20 March 2002 (20.03.2002), claims 1-67	1-18, 22-24, 30-40
Y	CN 1656073 A (NOVARTIS AG), 17 August 2005 (17.08.2005), claims 1-20	1-18, 22-24, 30-40

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search 25 March 2015 (25.03.2015)	Date of mailing of the international search report 21 April 2015 (21.04.2015)
Name and mailing address of the ISA/CN: State Intellectual Property Office of the P. R. China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing 100088, China Facsimile No.: (86-10) 62019451	Authorized officer MA, Liangxiao Telephone No.: (86-10) 62086312

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2014/095461

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2012019015 A2 (DECIPHERA PHARMACEUTICALS LLC et al.), 09 February 2012 (09.02.2012), claims 1-17	1-18, 22-24, 30-40

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2014/095461

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 19-21 and 25-29

because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

[1] claims 19-21 and 25-29 relate to a method for the prevention and/or treatment of diseases, which is a method for treatment of the human or animal body (PCT Rule 39.1(iv)), and belongs to the subject matter not required a search.

2. ☐ Claims Nos.:

because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:

because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2014/095461

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN 102558144 A	11 July 2012	None	
CN 101801383 A	11 August 2010	EP 2146717 A4	11 August 2010
		WO 2008131276 A1	30 October 2008
		BR PI0810094 A2	21 October 2014
		EP 2146718 A4	11 August 2010
		AU 2008242720 A1	30 October 2008
		US 2008261965 A1	23 October 2008
		EA 200970700 A1	26 February 2010
		IL 201650 D0	31 May 2010
		AU 2008242767 A1	30 October 2008
		JP 2010524974 A	22 July 2010
		AU 2008251723 A1	20 November 2008
		EP 2481736 A1	01 August 2012
		KR 20100014811 A	11 February 2010
		CA 2684949 A1	30 October 2008
		EP 2148677 A1	03 February 2010
		MX 2009011343 A	05 November 2009
		US 2008261961 A1	23 October 2008
		WO 2008131253 A1	30 October 2008
		AU 2008242697 A1	30 October 2008
		RU 2009142851 A	27 May 2011
		CA 2684950 A1	30 October 2008
		US 8143293 B2	27 March 2012
		EP 2148677 A4	11 August 2010
		SG 183054 A1	30 August 2012
		MX 2009009066 A	02 September 2009
		US 2008269254 A1	30 October 2008
		EP 2146716 A1	27 January 2010
		CA 2684666 A1	20 November 2008
		EP 2146717 A1	27 January 2010
		US 2008269267 A1	30 October 2008
		EP 2146718 A1	27 January 2010
		KR 20100017184 A	16 February 2010
		WO 2008131227 A1	30 October 2008
		BR PI0807717 A2	20 May 2014
		CA 2678639 A1	30 October 2008
		CN 101878031 A	03 November 2010
		EP 2146716 A4	11 August 2010
		JP 2010524970 A	22 July 2010
		WO 2008140895 A1	20 November 2008
CN 102532113 A	04 July 2012	CN 102532113 B	10 September 2014
CN 102234270 A	09 November 2011	None	
CN 102686577 A	19 September 2012	CN 102498114 A	13 June 2012
		US 2011053905 A1	03 March 2011
		CA 2772718 A1	10 March 2011
		IL 218332 D0	30 April 2012
		MX 2012002591 A	02 April 2012
		WO 2011029001 A1	10 March 2011
		US 8614234 B2	24 December 2013
		US 2011053973 A1	03 March 2011

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2014/095461

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN 1341098 A	20 March 2002	EP 2473501 A1	11 July 2012
		RU 2012109233 A	10 October 2013
		NZ 598781 A	30 May 2014
		JP 2013503903 A	04 February 2013
		KR 20120082890 A	24 July 2012
		SG 178965 A1	27 April 2012
		AU 2010289359 A1	29 March 2012
		JP 2013503901 A	04 February 2013
		SG 178963 A1	27 April 2012
		KR 20120047313 A	11 May 2012
		NZ 598455 A	28 March 2014
		IL 218374 D0	30 April 2012
		RU 2012112151 A	10 October 2013
		AU 2010289353 A1	29 March 2012
		WO 2011028995 A1	10 March 2011
		CA 2772625 A1	10 March 2011
		EP 2473513 A1	11 July 2012
		MX 2012002596 A	03 July 2012
		US 8809534 B2	19 August 2014
		US 2014100212 A1	10 April 2014
		US 7528255 B2	05 May 2009
		EP 1140840 B1	22 March 2006
		PL 360085 A1	06 September 2004
		JP 4472669 B2	02 June 2010
		US 2001027202 A1	04 October 2001
		DE 60026822 D1	11 May 2006
		PL 215029 B1	31 October 2013
		US 2003139605 A1	24 July 2003
		EE 200100368 A	15 April 2003
		CZ 20012489 A3	16 January 2002
		NO 20055863 A	12 September 2001
		HU 0300866 A3	28 April 2006
		SK 9882001 A3	04 April 2002
		CN 1219764 C	21 September 2005
		EG 24407 A	20 May 2009
		NO 20013463 D0	12 July 2001
		IL 144030 A	30 June 2010
		GT 200000002 A	09 January 2002
		PA 8489701 A1	18 November 2002
		US 2002042517 A1	11 April 2002
		SI 1140840 T1	30 June 2006
		HU 0300866 A2	28 July 2003
		TR 200102020 T2	21 January 2003
		US 2001034447 A1	25 October 2001
		NL 300242 I1	01 December 2006
		AR 035310 A1	12 May 2004
		PT 1690853 E	23 April 2010
		AT 460398 T	15 March 2010
		MEP 36908 A	10 February 2011
		NO 20013463 A	12 September 2001

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2014/095461

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN 1656073 A	17 August 2005	SK 285532 B6	01 March 2007
		GT 200000002A A	15 June 2007
		DE 60044004 D1	22 April 2010
		BG 109688 A	31 May 2007
		EP 1140840 A4	18 September 2002
		NO 2007002 I1	05 February 2007
		ES 2255971 T3	16 July 2006
		CZ 302846 B6	14 December 2011
		NL 300242 I2	02 April 2007
		DK 1140840 T3	31 July 2006
		JP 3845792 B2	15 November 2006
		JO 2373 B	12 December 2006
		NO 2007002 I2	05 October 2009
		AU 2501600 A	01 August 2000
		SI 1690853 T1	30 July 2010
		SV 2001000004 A	10 January 2001
		PT 1140840 E	31 May 2006
		DZ 3004 A1	27 March 2004
		ES 2272203 T1	01 May 2007
		EP 1690853 A1	16 August 2006
		PE 05222004 A1	28 September 2004
		TW 200406374 A	01 May 2004
		MX PA04011789 A	31 March 2005
		PT 1511730 E	18 February 2009
		US 7652022 B2	26 January 2010
		DE 60325209 D1	22 January 2009
		NO 20045521 A	17 December 2004
		EP 1511730 B1	10 December 2008
		AT 417037 T	15 December 2008
		KR 101036394 B1	23 May 2011
		AR 037647 A1	01 December 2004
		AU 2003242591 A1	12 December 2003
		CA 2484288 A1	04 December 2003
		IL 164784 D0	18 December 2005
		NZ 536781 A	21 December 2007
		JP 4608312 B2	12 January 2011
		JP 2005527622 A	15 September 2005
		EP 1511730 B8	08 April 2009
		ES 2318158 T3	01 May 2009
		CN 1656073 B	26 May 2010
		BR 0311313 A	15 February 2005
		EP 1511730 A2	09 March 2005
		AU 2003242591 B2	26 July 2007
		PL 372426 A1	25 July 2005
		WO 03099771 A3	01 April 2004
		KR 20050006281 A	15 January 2005
		US 2006128734 A1	15 June 2006
WO 2012019015 A2	09 February 2012	WO 03099771 A2	04 December 2003
		US 2011189167 A1	04 August 2011
		WO 2012019015 A3	03 May 2012

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2014/095461

A. 主题的分类

C07D 401/04(2006.01)i; A61K 31/4439(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i; A61P 35/02(2006.01)i

按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

C07D401/-; A61K31/-; A61P35/-

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))

WPI, EPDOC, CNKI, CNAPT, STN(REG, CAPLUS, CASREACT): 吡啶, 激酶, 肿瘤, 癌, 抑制, 脲, 芳基, pyridine, kinase, tumor, tumour, cancer, inhibi+, urea, aryl

C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
Y	CN 102558144 A (北大方正集团有限公司等) 2012年 7月 11日 (2012 - 07 - 11) 权利要求1-19, 说明书第4-6页	1-18、22-24、30-40
Y	CN 101801383 A (迪赛孚尔制药有限公司) 2010年 8月 11日 (2010 - 08 - 11) 权利要求1、13-20	1-18、22-24、30-40
Y	CN 102532113 A (北大方正集团有限公司等) 2012年 7月 4日 (2012 - 07 - 04) 权利要求1-19, 说明书第4-6页	1-18、22-24、30-40
Y	CN 102234270 A (中国人民解放军军事医学科学院放射与辐射医学研究所) 2011年 1月 9日 (2011 - 11 - 09) 权利要求1-4	1-18、22-24、30-40
Y	CN 102686577 A (阿勒根公司) 2012年 9月 19日 (2012 - 09 - 19) 权利要求1-19	1-18、22-24、30-40
Y	CN 1341098 A (拜耳有限公司) 2002年 3月 20日 (2002 - 03 - 20) 权利要求1-67	1-18、22-24、30-40
Y	CN 1656073 A (诺瓦提斯公司) 2005年 8月 17日 (2005 - 08 - 17) 权利要求1-20	1-18、22-24、30-40

☒ 其余文件在C栏的续页中列出。☒ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型:

“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件 (如具体说明的)

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件

“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性

“&” 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期

2015年 3月 25日

国际检索报告邮寄日期

2015年 4月 21日

ISA/CN的名称和邮寄地址

中华人民共和国国家知识产权局(ISA/CN)
北京市海淀区蓟门桥西土城路6号
100088 中国

传真号 (86-10)62019451

受权官员

马良晓

电话号码 (86-10)62086312

C. 相关文件

类 型*	引用文件，必要时，指明相关段落	相关的权利要求
Y	WO 2012019015 A2 (DECIPHERA PHARMACEUTICALS LLC等) 2012年 2月 9日 (2012 - 02 - 09) 权利要求1-17	1-18、22-24、30-40

第II栏 某些权利要求被认为是不能检索的意见(续第1页第2项)

根据条约第17条(2)(a)，对某些权利要求未做国际检索报告的理由如下：

1. ☒ 权利要求： 19-21、25-29
因为它们涉及不要求本单位进行检索的主题，即：
[1] 权利要求19-21、25-29涉及预防和/或治疗疾病的方法，是对人体或动物体进行处置的方法(PCT细则39.1(iv))，属于不被检索的主题。
2. ☐ 权利要求：
因为它们涉及国际申请中不符合规定的要求的部分，以致不能进行任何有意义的国际检索，具体地说：
3. ☐ 权利要求：
因为它们是从属权利要求，并且没有按照细则6.4(a)第2句和第3句的要求撰写。

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2014/095461

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	102558144	A	2012年 7月 11日	无			
CN	101801383	A	2010年 8月 11日	EP	2146717	A4	2010年 8月 11日
				WO	2008131276	A1	2008年 10月 30日
				BR	PI0810094	A2	2014年 10月 21日
				EP	2146718	A4	2010年 8月 11日
				AU	2008242720	A1	2008年 10月 30日
				US	2008261965	A1	2008年 10月 23日
				EA	200970700	A1	2010年 2月 26日
				IL	201650	D0	2010年 5月 31日
				AU	2008242767	A1	2008年 10月 30日
				JP	2010524974	A	2010年 7月 22日
				AU	2008251723	A1	2008年 11月 20日
				EP	2481736	A1	2012年 8月 1日
				KR	20100014811	A	2010年 2月 11日
				CA	2684949	A1	2008年 10月 30日
				EP	2148677	A1	2010年 2月 3日
				MX	2009011343	A	2009年 11月 5日
				US	2008261961	A1	2008年 10月 23日
				WO	2008131253	A1	2008年 10月 30日
				AU	2008242697	A1	2008年 10月 30日
				RU	2009142851	A	2011年 5月 27日
				CA	2684950	A1	2008年 10月 30日
				US	8143293	B2	2012年 3月 27日
				EP	2148677	A4	2010年 8月 11日
				SG	183054	A1	2012年 8月 30日
				MX	2009009066	A	2009年 9月 2日
				US	2008269254	A1	2008年 10月 30日
				EP	2146716	A1	2010年 1月 27日
				CA	2684666	A1	2008年 11月 20日
				EP	2146717	A1	2010年 1月 27日
				US	2008269267	A1	2008年 10月 30日
				EP	2146718	A1	2010年 1月 27日
				KR	20100017184	A	2010年 2月 16日
				WO	2008131227	A1	2008年 10月 30日
				BR	PI0807717	A2	2014年 5月 20日
				CA	2678639	A1	2008年 10月 30日
				CN	101878031	A	2010年 11月 3日
				EP	2146716	A4	2010年 8月 11日
				JP	2010524970	A	2010年 7月 22日
				WO	2008140895	A1	2008年 11月 20日
CN	102532113	A	2012年 7月 4日	CN	102532113	B	2014年 9月 10日
CN	102234270	A	2011年 11月 9日	无			
CN	102686577	A	2012年 9月 19日	CN	102498114	A	2012年 6月 13日
				US	2011053905	A1	2011年 3月 3日
				CA	2772718	A1	2011年 3月 10日
				IL	218332	D0	2012年 4月 30日
				MX	2012002591	A	2012年 4月 2日
				WO	2011029001	A1	2011年 3月 10日
				US	8614234	B2	2013年 12月 24日
				US	2011053973	A1	2011年 3月 3日

表 PCT/ISA/210 (同族专利附件) (2009年7月)

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2014/095461

检索报告引用的专利文件	公布日 (年/月/日)	同族专利	公布日 (年/月/日)
		EP 2473501 A1	2012年 7月 11日
		RU 2012109233 A	2013年 10月 10日
		NZ 598781 A	2014年 5月 30日
		JP 2013503903 A	2013年 2月 4日
		KR 20120082890 A	2012年 7月 24日
		SG 178965 A1	2012年 4月 27日
		AU 2010289359 A1	2012年 3月 29日
		JP 2013503901 A	2013年 2月 4日
		SG 178963 A1	2012年 4月 27日
		KR 20120047313 A	2012年 5月 11日
		NZ 598455 A	2014年 3月 28日
		IL 218374 D0	2012年 4月 30日
		RU 2012112151 A	2013年 10月 10日
		AU 2010289353 A1	2012年 3月 29日
		WO 2011028995 A1	2011年 3月 10日
		CA 2772625 A1	2011年 3月 10日
		EP 2473513 A1	2012年 7月 11日
		MX 2012002596 A	2012年 7月 3日
		US 8809534 B2	2014年 8月 19日
		US 2014100212 A1	2014年 4月 10日
CN 1341098 A	2002年 3月 20日	US 7528255 B2	2009年 5月 5日
		EP 1140840 B1	2006年 3月 22日
		PL 360085 A1	2004年 9月 6日
		JP 4472669 B2	2010年 6月 2日
		US 2001027202 A1	2001年 10月 4日
		DE 60026822 D1	2006年 5月 11日
		PL 215029 B1	2013年 10月 31日
		US 2003139605 A1	2003年 7月 24日
		EE 200100368 A	2003年 4月 15日
		CZ 20012489 A3	2002年 1月 16日
		NO 20055863 A	2001年 9月 12日
		HU 0300866 A3	2006年 4月 28日
		SK 9882001 A3	2002年 4月 4日
		CN 1219764 C	2005年 9月 21日
		EG 24407 A	2009年 5月 20日
		NO 20013463 D0	2001年 7月 12日
		IL 144030 A	2010年 6月 30日
		GT 200000002 A	2002年 1月 9日
		PA 8489701 A1	2002年 11月 18日
		US 2002042517 A1	2002年 4月 11日
		SI 1140840 T1	2006年 6月 30日
		HU 0300866 A2	2003年 7月 28日
		TR 200102020 T2	2003年 1月 21日
		US 2001034447 A1	2001年 10月 25日
		NL 300242 I1	2006年 12月 1日
		AR 035310 A1	2004年 5月 12日
		PT 1690853 E	2010年 4月 23日
		AT 460398 T	2010年 3月 15日
		ME P36908 A	2011年 2月 10日
		NO 20013463 A	2001年 9月 12日

表 PCT/ISA/210 (同族专利附件) (2009年7月)

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2014/095461

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
				SK	285532	B6	2007年 3月 1日
				GT	200000002A	A	2007年 6月 15日
				DE	60044004	D1	2010年 4月 22日
				BG	109688	A	2007年 5月 31日
				EP	1140840	A4	2002年 9月 18日
				NO	2007002	I1	2007年 2月 5日
				ES	2255971	T3	2006年 7月 16日
				CZ	302846	B6	2011年 12月 14日
				NL	300242	I2	2007年 4月 2日
				DK	1140840	T3	2006年 7月 31日
				JP	3845792	B2	2006年 11月 15日
				JO	2373	B	2006年 12月 12日
				NO	2007002	I2	2009年 10月 5日
				AU	2501600	A	2000年 8月 1日
				SI	1690853	T1	2010年 7月 30日
				SV	2001000004	A	2001年 1月 10日
				PT	1140840	E	2006年 5月 31日
				DZ	3004	A1	2004年 3月 27日
				ES	2272203	T1	2007年 5月 1日
				EP	1690853	A1	2006年 8月 16日
CN	1656073	A	2005年 8月 17日	PE	05222004	A1	2004年 9月 28日
				TW	200406374	A	2004年 5月 1日
				MX	PA04011789	A	2005年 3月 31日
				PT	1511730	E	2009年 2月 18日
				US	7652022	B2	2010年 1月 26日
				DE	60325209	D1	2009年 1月 22日
				NO	20045521	A	2004年 12月 17日
				EP	1511730	B1	2008年 12月 10日
				AT	417037	T	2008年 12月 15日
				KR	101036394	B1	2011年 5月 23日
				AR	037647	A1	2004年 12月 1日
				AU	2003242591	A1	2003年 12月 12日
				CA	2484288	A1	2003年 12月 4日
				IL	164784	D0	2005年 12月 18日
				NZ	536781	A	2007年 12月 21日
				JP	4608312	B2	2011年 1月 12日
				JP	2005527622	A	2005年 9月 15日
				EP	1511730	B8	2009年 4月 8日
				ES	2318158	T3	2009年 5月 1日
				CN	1656073	B	2010年 5月 26日
				BR	0311313	A	2005年 2月 15日
				EP	1511730	A2	2005年 3月 9日
				AU	2003242591	B2	2007年 7月 26日
				PL	372426	A1	2005年 7月 25日
				WO	03099771	A3	2004年 4月 1日
				KR	20050006281	A	2005年 1月 15日
				US	2006128734	A1	2006年 6月 15日
				WO	03099771	A2	2003年 12月 4日
WO	2012019015	A2	2012年 2月 9日	US	2011189167	A1	2011年 8月 4日
				WO	2012019015	A3	2012年 5月 3日

表 PCT/ISA/210 (同族专利附件) (2009年7月)