



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102190587 A

(43) 申请公布日 2011.09.21

(21) 申请号 201110064696.0

(22) 申请日 2011.03.17

(66) 本国优先权数据

201010127698.5 2010.03.18 CN

(71) 申请人 苏州泽璟生物制药有限公司

地址 215300 江苏省苏州市昆山市晨丰路
209号

(72) 发明人 高小勇 冯卫东 代晓俊

(74) 专利代理机构 上海天翔知识产权代理有限
公司 31224

代理人 刘粉宝

(51) Int. Cl.

C07C 211/04 (2006.01)

C07C 209/34 (2006.01)

C07C 209/62 (2006.01)

C07D 213/81 (2006.01)

权利要求书 2 页 说明书 12 页

(54) 发明名称

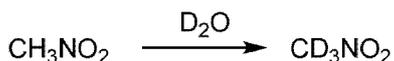
氘代甲胺及其盐的合成及生产的方法和工艺

(57) 摘要

本发明涉及氘代甲胺及其盐的合成及生产的方法和工艺。所述的方法包括：包括步骤：(i) 在碱和相转移催化剂下，将硝基甲烷，和氘水反应得到氘代硝基甲烷；和在惰性溶剂中，还原氘代硝基甲烷，形成氘代甲胺；然后任选地，将氘代甲胺与酸反应，形成氘代甲胺的盐；或者(ii) 通过N-(1,1,1-三氘代甲基)苯并丁二酰亚胺与酸反应，形成氘代甲胺盐。本发明的制法简便、高效且成本较低。

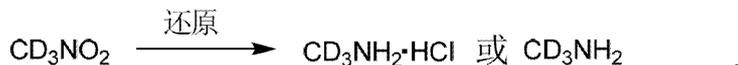
1. 一种氘代甲胺或其盐的制备方法,其特征在于,包括步骤:

(i) 在碱和相转移催化剂下,将硝基甲烷,和氘水反应得到氘代硝基甲烷



(ii-a) 在惰性溶剂中,还原氘代硝基甲烷,形成氘代甲胺;然后任选地,将氘代甲胺与酸反应,形成氘代甲胺的盐;或者,

(ii-b) 在惰性溶剂中,在酸存在下,还原氘代硝基甲烷,直接形成氘代甲胺的盐



2. 如权利要求 1 所述的方法,其特征在于,所述的碱选自下组:氯化钠、氯化钾、氘代氢氧化钠、氘代氢氧化钾、碳酸钾或其组合。

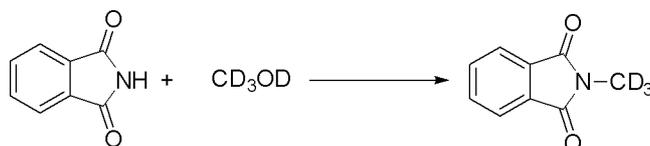
3. 如权利要求 1 所述的方法,其特征在于,在步骤 (ii-a) 或 (ii-b) 中,使用锌粉、镁粉、铁、镍作为催化剂。

4. 如权利要求 1 所述的方法,其特征在于,所述的酸选自下组:盐酸、硫酸、甲酸、乙酸、或其组合。

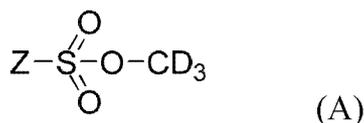
5. 如权利要求 1 所述的方法,其特征在于,在步骤 (ii-a) 或 (ii-b) 中,所述的惰性溶剂选自下组:甲醇、乙醇、水、四氢呋喃、异丙醇、或其组合。

6. 一种氘代甲胺或其盐的制备方法,其特征在于,所述方法包括步骤:

(a1) 在惰性溶剂中,在催化剂存在下,将邻苯二甲酰亚胺与氘代甲醇反应,形成 N-(1,1,1-三氘代甲基)苯并丁二酰亚胺;

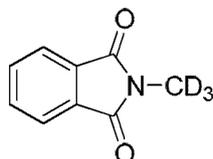


或者 (a2) 在惰性溶剂中,将邻苯二甲酰亚胺的碱金属盐与式 A 化合物进行反应,



式中, Z 为 CH_3 , $\text{O}-\text{CD}_3$ 或  其中 R 为甲基、硝基或卤素 (F、Cl 或 Br), 从而形成

N-(1,1,1-三氘代甲基)苯并丁二酰亚胺;



步骤 (b): 将 N-(1,1,1-三氘代甲基)苯并丁二酰亚胺与酸反应,形成氘代甲胺盐;以及

任选的步骤 (c): 将氘代甲胺盐与碱反应,形成氘代甲胺。

7. 如权利要求 6 所述的方法,其特征在于,在步骤 (a1) 中,所述的惰性溶剂选自:四氢呋喃。

8. 如权利要求 6 所述的方法,其特征在于,在步骤 (a1) 中,所述的催化剂选自:偶氮二

甲酸二乙酯 (DEAD)、偶氮二甲酸二异丙酯 (DIAD)、三苯基膦、三丁基膦、或其组合。

9. 如权利要求6所述的方法,其特征在于,步骤(a2)中,所述的邻苯二甲酰亚胺碱金属盐包括:邻苯二甲酰亚胺钾盐、邻苯二甲酰亚胺钠盐、邻苯二甲酰亚胺锂盐或其组合。

10. 一种制备 1,1,1-三氟代甲胺盐的方法,其特征在于,包括步骤:

在惰性溶剂或水性溶剂中,将 N-(1,1,1-三氟代甲基)苯并丁二酰亚胺与酸进行反应,从而形成 1,1,1-三氟代甲胺盐,其中所述的酸包括:盐酸、硫酸、氢溴酸、三氟乙酸、或其组合。

氘代甲胺及其盐的合成及生产的方法和工艺

技术领域

[0001] 本发明涉及氘代甲胺及其盐的合成及生产的方法和工艺。

背景技术

[0002] 氘代甲胺及其盐酸盐是一种重要的化学合成的中间体,可以用于药用化合物。

[0003] 例如,已知 ω -二苯基脲衍生物是 c-RAF 激酶活性的化合物。 ω -二苯基脲化合物如索拉非尼 (Sorafenib) 最先被发现是 c-RAF 激酶的抑制剂,之后不断的研究发现它还能抑制 MEK 和 ERK 信号传导通路、血管内皮生长因子-2 (VEGFR-2)、血管内皮生长因子-3 (VEGFR-3)、以及血小板源生长因子- β (PDGFR- β) 的酪氨酸激酶的活性,因此它被称之为多激酶抑制剂,具有双重抗肿瘤作用。

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

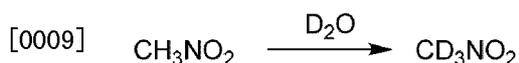
[0005] 在索拉非尼衍生物的制备过程中,需要使用氘代甲胺,然而本领域中现有的制备工艺或者步骤较为复杂,或者制备成本,因此,本领域需要开发简便、高效和 / 或价廉的制备氘代甲胺及其盐的方法。

发明内容

[0006] 本发明的目的就是提供一种简便、高效和 / 或价廉的制备氘代甲胺及其盐的方法。

[0007] 在本发明的第一方面,提供了一种氘代甲胺或其盐的制备方法,包括步骤:

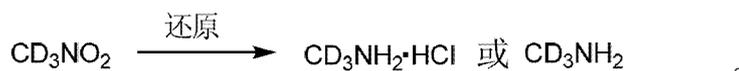
[0008] (i) 在碱和相转移催化剂下,将硝基甲烷,和氘水反应得到氘代硝基甲烷



[0010] (ii-a) 在惰性溶剂中,还原氘代硝基甲烷,形成氘代甲胺;然后任选地,将氘代甲胺与酸反应,形成氘代甲胺的盐;或者,

[0011] (ii-b) 在惰性溶剂中,在酸存在下,还原氘代硝基甲烷,直接形成氘代甲胺的盐

[0012]



[0013] 在另一优选例中,所述的碱选自下组:氢化钠、氢化钾、氘代氢氧化钠、氘代氢氧化钾、碳酸钾或其组合。

[0014] 在另一优选例中,在步骤 (ii-a) 或 (ii-b) 中,使用锌粉、镁粉、铁、镍作为催化剂。

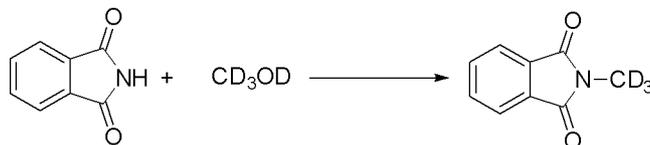
[0015] 在另一优选例中,所述的酸选自下组:盐酸、硫酸、甲酸、乙酸、或其组合。

[0016] 在另一优选例中,在步骤 (ii-a) 或 (ii-b) 中,所述的惰性溶剂选自下组:甲醇、乙醇、水、四氢呋喃、异丙醇、或其组合。

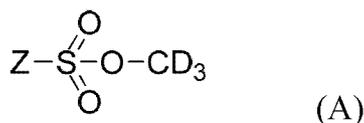
[0017] 在本发明的第二方面,提供了一种氘代甲胺或其盐的制备方法,所述方法包括步骤:

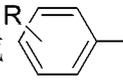
[0018] (a1) 在惰性溶剂中,在催化剂存在下,将邻苯二甲酰亚胺与氘代甲醇反应,形成 N-(1,1,1-三氘代甲基)苯并丁二酰亚胺;

[0019]

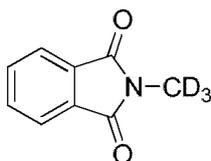


[0020] 或者 (a2) 在惰性溶剂中,将邻苯二甲酰亚胺的碱金属盐与式 A 化合物进行反应,
[0021]



[0022] 式中,Z 为 CH₃, O-CD₃ 或  其中 R 为甲基、硝基或卤素 (F、Cl 或 Br),从而形成 N-(1,1,1-三氘代甲基)苯并丁二酰亚胺;

[0023]



[0024] 步骤 (b):将 N-(1,1,1-三氘代甲基)苯并丁二酰亚胺与酸反应,形成氘代甲胺盐;以及

[0025] 任选的步骤 (c):将氘代甲胺盐与碱反应,形成氘代甲胺。

[0026] 在另一优选例中,在步骤 (a1) 中,所述的惰性溶剂选自:四氢呋喃。

[0027] 在另一优选例中,所述的酸选自下组:盐酸、硫酸、甲酸、乙酸、或其组合。

[0028] 在另一优选例中,在步骤 (a1) 中,所述的催化剂选自:偶氮二甲酸二乙酯 (DEAD)、偶氮二甲酸二异丙酯 (DIAD)、三苯基膦、三丁基膦、或其组合。

[0029] 在另一优选例中,在步骤 (a2) 中,所述的惰性溶剂包括:N,N-二甲基甲酰胺 (DMF)、N,N-二甲基乙酰胺 (DMA)、二甲基亚砜 (DMSO)、N-甲基吡咯烷酮 (NMP)、或其组合。

[0030] 在另一优选例中,步骤 (a2) 中,反应温度为 -10°C 至回流温度,较佳地为 -4°C 至 100°C,更佳地为 20-80°C。

[0031] 在另一优选例中,反应时间为 0.1-24 小时,较佳地为 0.3-5 小时,更佳地为 0.5-2 小时。

[0032] 在另一优选例中,步骤 (a2) 中,所述的邻苯二甲酰亚胺碱金属盐包括:邻苯二甲酰亚胺钾盐、邻苯二甲酰亚胺钠盐、邻苯二甲酰亚胺锂盐或其组合。

[0033] 在另一优选例中,步骤 (a2) 中,所述的式 A 化合物包括 4-甲基苯磺酸-(1,1,1-三氘代甲基)酯、3-硝基苯磺酸-(1,1,1-三氘代甲基)酯,或 4-硝基苯磺酸-(1,1,1-三氘代甲基)酯。

[0034] 在另一优选例中,所述方法在步骤 (a2) 之前还包括步骤:在碱性条件下和惰性溶

剂中,将氘代甲醇与对甲苯磺酰氯进行反应,从而形成 4-甲基苯磺酸-(1,1,1-三氘代甲基)酯。较佳地,该步骤中所述的惰性溶剂包括水、四氢呋喃、或其混合溶剂。

[0035] 在本发明的第三方面,提供了一种制备 1,1,1-三氘代甲胺盐的方法,包括步骤:

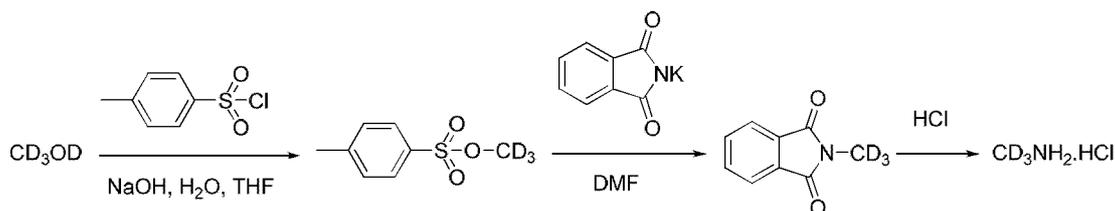
[0036] 在水性溶剂中,将 N-(1,1,1-三氘代甲基)苯并丁二酰亚胺与酸进行反应,从而形成 1,1,1-三氘代甲胺盐,其中所述的酸包括:盐酸、硫酸、氢溴酸、三氟乙酸、或其组合。

[0037] 在另一优选例中,所述的反应温度为 30 至回流温度(如 120℃),较佳地为 40-110℃。

[0038] 在另一优选例中,反应时间为 0.5-48 小时,较佳地为 1-36 小时,更佳地为 2-24 小时。

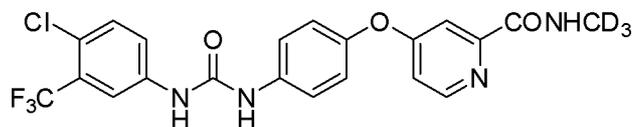
[0039] 在另一优选例中,所述方法包括步骤:

[0040]



[0041] 在本发明的第四方面,提供了用本发明制备的氘代甲胺或其盐制备化合物 N-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-N'-(4-(2-(N-1',1',1'-三氘甲基氨基甲酰基)-4-吡啶基氧)苯基)脲的方法,

[0042]



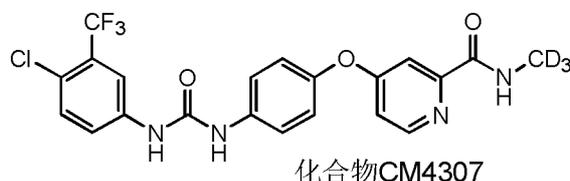
[0043] 应理解,在本发明范围内中,本发明的上述各技术特征和在下文(如实施例)中具体描述的各技术特征可以互相组合,从而构成新的或优选的技术方案。限于篇幅,在此不再一一累述。

具体实施方式

[0044] 本发明人经过广泛而深入的研究,开发了简便、高效而经济地生产氘代甲胺及其盐酸盐的方法和工艺。在此基础上完成了本发明。

[0045] 此外,本发明人还合成了可更有效抑制磷酸激酶的氘代的 ω-二苯基脲化合物,以最优的氘代化合物 N-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-N'-(4-(2-(N-1',1',1'-三氘甲基氨基甲酰基)-4-吡啶基氧)苯基)脲(化合物 CM4307)和未氘代的 N-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-N'-(4-(2-(N-甲基氨基甲酰基)-4-吡啶基氧)苯基)脲(化合物 CM4306)为例,

[0046]



[0047] 药代动力学实验结果显示, CM4307 比 CM4306 的半衰期 $T_{1/2}$ 延长, 曲线下面积 $AUC_{0-\infty}$ CM4307 比 CM4306 显著增加, CM4307 比 CM4306 表观清除率减少。

[0048] 在人肝细胞癌 SMMC-7721 裸鼠移植模型进行的药效学实验结果显示, 在 100mg/kg 每日的剂量下每日灌胃给药连续 2 周, CM4306 的抗肿瘤活性的评价指标相对肿瘤增值率 T/C(%) 为 32.2%; 而 CM4307 的抗肿瘤活性的评价指标相对肿瘤增值率 T/C(%) 为 19.6%, 故抗肿瘤活性的绝对值提高 10% 以上, 相对值提高约 60% ($32.2\% / 19.6\% - 1 = 64\%$), 表现出更为显著的抑制肿瘤生长的作用。

[0049] 术语

[0050] 如本文所用, “卤素”指 F、Cl、Br、和 I。更佳地, 卤原子选自 F、Cl 和 Br。

[0051] 如本文所用, “烷基”包括直链或支链的烷基。优选的烷基是 C1-C4 烷基, 例如甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基等。

[0052] 如本文所用, “氘代”指化合物或基团中的一个或多个氢被氘所取代。氘代可以是一取代、二取代、多取代或全取代。术语“一个或多个氘代的”与“一次或多次氘代”可互换使用。

[0053] 在另一优选例中, 氘在氘取代位置的氘同位素含量是大于天然氘同位素含量 (0.015%), 更佳地大于 50%, 更佳地大于 75%, 更佳地大于 95%, 更佳地大于 97%, 更佳地大于 99%, 更佳地大于 99.5%。

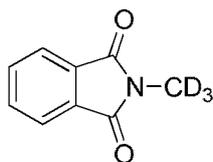
[0054] 如本文所用, 术语“化合物 CM4306”指化合物 4-(4-(3-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)酰脲)-苯氧基)-N-甲基吡啶酰胺。

[0055] 如本文所用, 术语“化合物 CM4307”指化合物 4-(4-(3-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)酰脲)-2-(N-1', 1', 1'-三氘代甲基)吡啶酰胺)。

[0056] 如本文所用, 术语“TsOH”表示对甲苯磺酸。因此, CM4307·TsOH 表示化合物 CM4307 的对甲苯磺酸盐。CM4309·TsOH 表示化合物 CM4309 的对甲苯磺酸盐。

[0057] 本发明的一种关键中间体是 N-(1, 1, 1-三氘代甲基)苯并丁二酰亚胺:

[0058]



[0059] 该中间体也可称为“氘代甲基邻苯二甲酰亚胺”。上式化合物中的除 H 之外的其他元素 (如 N、C、O 等) 全部或基本上 (> 99wt%) 为丰度最高的天然存在的元素, 例如 ^{14}N 、 ^{12}C 和 ^{16}O 。

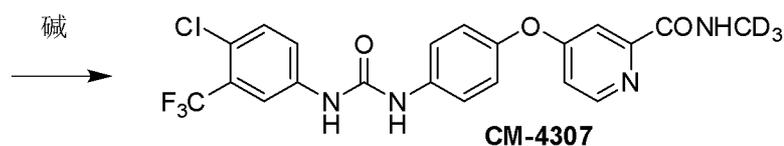
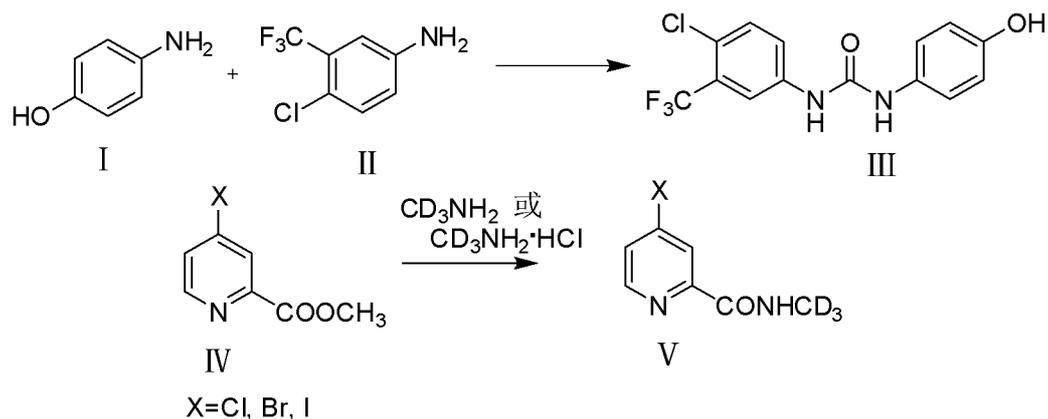
[0060] 制备方法

[0061] 下面更具体地描述本发明化合物的制备方法, 但这些具体方法不对本发明构成任何限制。本发明化合物还可以任选将在本说明书中描述的或本领域已知的各种合成方法组合起来而方便的制得, 这样的组合可由本发明所属领域的技术人员容易的进行。

[0062] 通常, 在制备流程中, 各反应通常在惰性溶剂中, 在室温至回流温度 (如 $0^\circ\text{C} \sim 80^\circ\text{C}$, 优选 $0^\circ\text{C} \sim 50^\circ\text{C}$) 下进行。反应时间通常为 0.1 小时 -60 小时, 较佳地为 0.5-48 小时。

[0063] 以化合物 CM4307 为例, 一种优选的制备流程如下:

[0064]

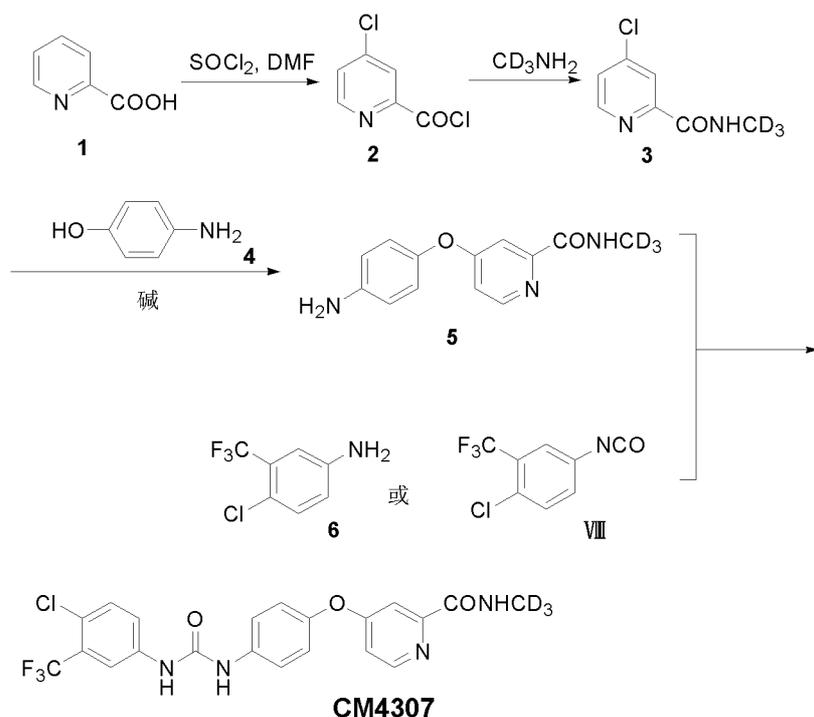


[0065] 合成路线一

[0066] 如合成路线一所示,对羟基苯胺(化合物 I)和 3-三氟甲基-4-氯-苯胺(化合物 II)在 N,N'-羰基二咪唑、光气或三光气作用下,反应得到 1-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-3-(4-羟基苯基)脲(化合物 III)。吡啶甲酸甲酯(化合物 IV)和氘代甲胺或氘代甲胺盐酸盐在碱(例如碳酸钠、碳酸钾、氢氧化钠、三乙胺、吡啶等)的作用下、或直接混合反应,得到吡啶-2-(N-1',1',1'-三氘代甲基)甲酰胺(化合物 V)。化合物 III 和化合物 V 在碱(如叔丁醇钾、氢化钠、氢化钾,碳酸钾、碳酸铯、磷酸钾、氢氧化钾、氢氧化钠)和任选的催化剂(如碘化亚铜和脯氨酸、或碘化亚铜和吡啶甲酸)的作用下,得到化合物 CM-4307。上述反应在惰性溶剂,如二氯甲烷、二氯乙烷、乙腈、正己烷、甲苯、四氢呋喃、N,N-二甲基甲酰胺、二甲基亚砷等中,温度 0 ~ 200°C 下进行。

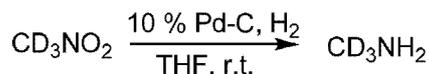
[0067] 以化合物 CM4307 为例,另一种特别优选的制备流程如下:

[0068]



[0069] 其中,氘代可以通过氘代甲胺引入的。氘代甲胺也可以通过已知的文献方法如下方法制备,如氘代硝基甲烷的氢化加氢反应。

[0070]



[0071] 式中, r. t. 表示室温。

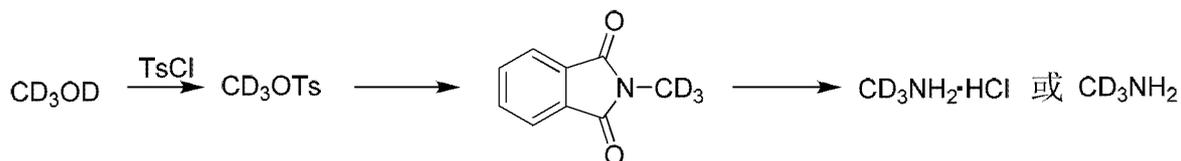
[0072] 或者,可通过以下反应得到氘代甲胺或其盐酸盐。硝基甲烷在碱(氢氧化钠、氢氧化钾、氘代氢氧化钠、氘代氢氧化钾、碳酸钾等),或在相转移催化剂下,和氘水反应得到氘代硝基甲烷,如有必要,重复上述实验,以得到高纯度的氘代硝基甲烷。氘代硝基甲烷还原,如锌粉、镁粉、铁或镍等作用下,得到氘代甲胺或其盐酸盐。

[0073]



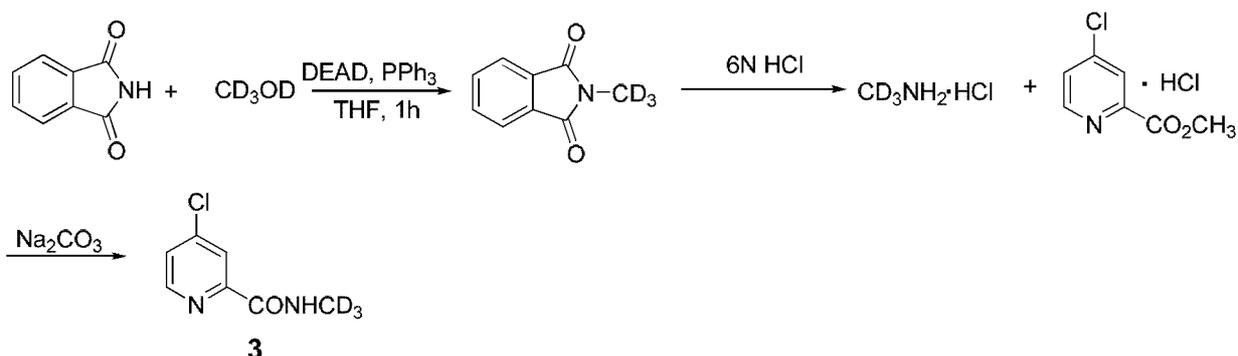
[0074] 再者可以通过以下反应得到氘代甲胺或其盐酸盐。

[0075]



[0076] 关键中间体 3 也可以通过如下方法从氘代甲醇合成。

[0077]



[0078] 其具体合成方法在实施例 1 中有详细的说明。

[0079] 本发明的氘代甲胺或其盐的制法的主要优点包括：

[0080] (1) 制法简便、高效且成本较低。

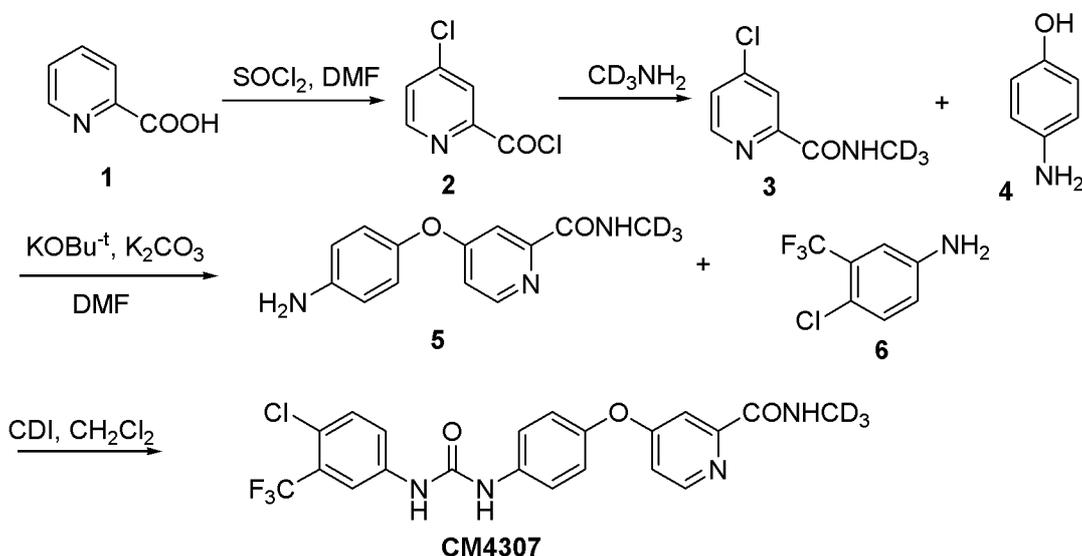
[0081] (2) 产品纯度高。

[0082] (3) 通用性高。

[0083] 下面结合具体实施例，进一步阐述本发明。应理解，这些实施例仅用于说明本发明而不适用于限制本发明的范围。下列实施例中未注明具体条件的实验方法，通常按照常规条件，或按照制造厂商所建议的条件。除非另外说明，否则份数和百分比为重量份和重量百分比。

[0084] 实施例 1 :N-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-N'-(4-(2-(N-1',1',1'-三氘甲基氨基甲酰基)-4-吡啶基氧)苯基)脲 (化合物 CM4307)

[0085]



[0086] 1,4-氯吡啶-2-(N-1',1',1'-三氘代甲基)甲酰胺 (3) 的制备

[0087] 在配有尾气处理装置的 250mL 单颈圆底烧瓶中，加入氯化亚砷 (60mL)，维持温度在 40 ~ 50℃ 之间，向其中缓慢的滴加无水 DMF (2mL)，滴加完毕后，继续搅拌 10 分钟，在 20 分钟内向其中分批加入烟酸 (20g, 162.6mmol)，溶液的颜色逐渐由绿色转变为浅紫色。将温度升到 72℃，搅拌回流 16 小时，产生大量的固体沉淀物。冷却到室温，用甲苯 (100mL) 稀释，浓缩至近干，然后再用甲苯稀释，浓缩至干。过滤，用甲苯洗涤，得到淡黄色的 3-氯-吡啶-2-甲酰氯固体。冰浴下将此固体慢慢的加入到氘代甲胺的四氢呋喃饱和溶液中，维持温度低于 5℃，继续搅拌 5 小时。浓缩，加乙酸乙酯，析出白色固体，滤除，滤液用饱和食盐水

洗涤,无水硫酸钠干燥,浓缩至干,得到淡黄色的 4-氯吡啶-2-(N-1',1',1'-三氟代甲基)甲酰胺 (3) (20.68g),收率 73%。

[0088] $^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3, 300\text{MHz})$: 8.37(d, 1H), 8.13(s, 1H), 7.96(br, 1H), 7.37(d, 1H).

[0089] 2,4-(4-氨基苯氧基)-2-吡啶-(N-1',1',1'-三氟代甲基)甲酰胺 (5) 的制备

[0090] 向 100mL 干燥的无水 DMF 中依次加入对氨基苯酚 (9.54g, 0.087mol), 叔丁醇钾 (10.3g, 0.092mol), 溶液变成深褐色, 室温下搅拌 2 小时后, 向其中加入 4-氯吡啶-2-(N-1',1',1'-三氟代甲基)甲酰胺 (3) (13.68g, 0.079mol), 无水碳酸钾 (6.5g, 0.0467mol), 将反应液温度升到 80°C 后继续搅拌过夜。TLC 检测反应完毕, 冷却到室温, 将反应液倒入乙酸乙酯 (150mL) 和饱和食盐水 (150mL) 的混和溶液中, 搅拌分层, 静置后分液, 水层用乙酸乙酯萃取 (100mL×3), 合并萃取液, 用饱和水洗涤 (100mL×3), 无水硫酸钠干燥, 浓缩, 得到淡黄色的 4-(4-氨基苯氧基)-2-吡啶-(N-1',1',1'-三氟代甲基)甲酰胺 (18.00g), 收率 92%。

[0091] $^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3, 300\text{MHz})$: 8.32(d, 1H), 7.99(br, 1H), 7.66(s, 1H), 6.91 ~ 6.85(m, 3H), 6.69(m, 2H), 3.70(br, s, 2H).

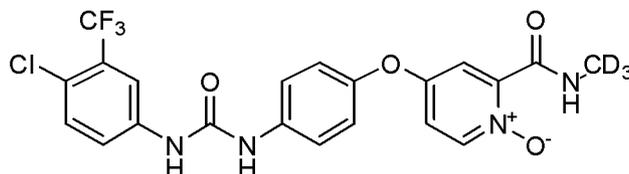
[0092] 3,N-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-N'-(4-(2-(N-1',1',1'-三氟甲基氨基甲酰基)-4-吡啶基氧)苯基)脒 (CM4307) 的制备

[0093] 向 120mL 二氯甲烷中加入 5-氨基-2-氯-三氟甲基苯 (15.39g, 78.69mol), N,N'-羰基二咪唑 (CDI) (13.55g, 83.6mmol), 室温搅拌 16 小时后, 向其中缓慢的滴加 4-(4-氨基苯氧基)-2-吡啶-(N-1',1',1'-三氟代甲基)甲酰胺 (18g, 73mmol) 的二氯甲烷 (180mL) 溶液, 室温下继续搅拌 18 小时。TLC 检测反应完毕, 旋去部分二氯甲烷溶剂至 100mL 左右, 室温放置数小时, 有大量白色固体析出, 抽滤, 固体用大量二氯甲烷洗涤。滤液浓缩去除部分溶剂后, 又析出部分固体, 合并两次固体, 用大量二氯甲烷再次洗涤, 得到白色粉状的 N-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-N'-(4-(2-(N-1',1',1'-三氟甲基氨基甲酰基)-4-吡啶基氧)苯基)脒 CM4307 纯品 (20.04g), 收率 58%。

[0094] $^1\text{H NMR}(\text{CD}_3\text{OD}, 300\text{MHz})$: 8.48(d, 1H), 8.00(d, 1H), 7.55(m, 5H), 7.12(d, 1H), 7.08(s, 2H), ESI-HRMS m/z : C₂₁H₁₃D₃C₁F₃N₄O₃, Calcd. 467.11, Found 490.07 (M+Na)⁺.

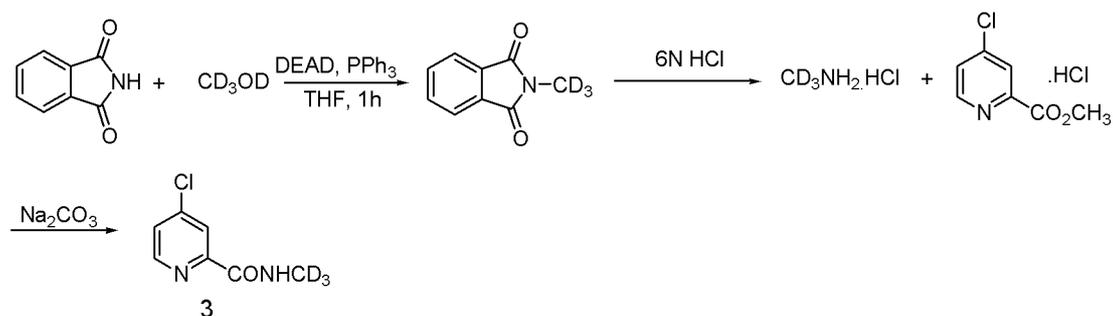
[0095] 另外, 可将化合物 CM4307 溶于二氯甲烷中, 与过氧苯甲酸进行反应, 制得相应的氧化产物: 4-(4-(3-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)脒基)苯氧基)-2-(N-1',1',1'-三氟甲基氨基甲酰基)吡啶-1-氧化物。

[0096]



[0097] 实施例 2: 4-氯吡啶-2-(N-1',1',1'-三氟代甲基)甲酰胺 (3) 的制备

[0098]



[0099] a) 将邻苯二甲酰亚胺 (14.7g, 0.1mol), 氘代甲醇 (3.78g, 0.105mol, 1.05eq), 三苯基膦 (28.8g, 0.11mol, 1.1eq) 溶于无水四氢呋喃中, 冰浴下滴加 DEAD (1.1eq) 的四氢呋喃溶液, 滴加完毕后室温搅拌一小时。过柱提纯, 或者溶剂旋干后, 加适量 DCM 于冰箱冷冻析出固体后过滤, 滤液旋干, 再快速过柱, 得纯品氘代甲基邻苯二甲酰亚胺 14.8g。收率 90%。

[0100] b) 氘代甲基邻苯二甲酰亚胺 (12.5g, 0.077mol) 溶于适量盐酸 (6N, 50ml) 中, 于封管中回流 24-30 小时, 反应液冷却至室温后, 置于冰箱中冷却到零度以下, 过滤析出的固体, 用冷的去离子水洗涤, 收集滤液, 旋蒸除水并干燥得到氘代甲胺盐酸盐。加入无水 DCM (100ml) 于氘代甲胺盐酸盐中, 并加入 4-氯烟酸甲酯盐酸盐 (6.52g, 0.038mol, 0.5eq), 碳酸钠 (12.2g, 0.12mol, 1.5eq), 反应瓶密封, 置于冰箱中反应一天。TLC 检测反应, 完毕后水洗, 干燥, 浓缩, 过柱提纯。得化合物 4-氯吡啶-2-(N-1',1',1'-三氘代甲基)甲酰胺 (3), 5.67g, 收率 86%。其结构特征与实施例 1 一致。

[0101] 实施例 3

[0102] 氘代甲胺盐酸盐的合成

[0103]



[0104] 1. 氘代硝基甲烷

[0105] 将硝基甲烷 (0.61g, 10mmol, 1.0eq) 溶于重水 (5.0g, 250mmol, 25.0eq) 中, 氮气置换 3 次, 回流反应 16 小时。冷却至室温, 加入无水乙醚 (20mL×2) 萃取。无水硫酸钠干燥, 过滤减压除去溶剂, 得到标题化合物, 为黄色液体 0.1g, 核磁的结果表明有部分氘代或全氘代的硝基甲烷生成。

[0106] 2. 氘代甲胺盐酸盐

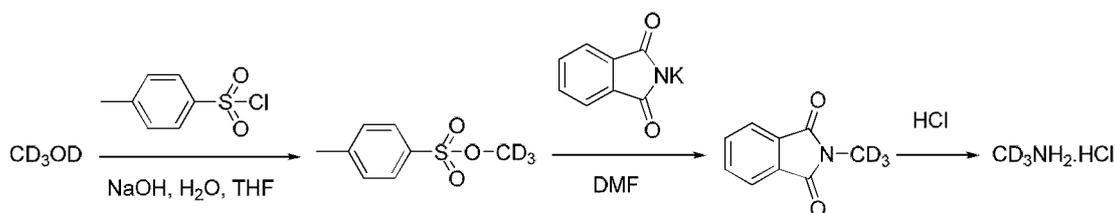
[0107] 将氘代硝基甲烷 (0.64g, 10.0mmol) 溶于甲醇 (25.0mL) 中, 加入钯炭 (10%, 0.1g), 通上气球氢气置换三次后, 室温搅拌 16 小时, 滴加盐酸酸化反应液, 过滤, 滤液减压除去溶剂, 得 0.60g 标题化合物, 为淡黄色产品, 核磁的结果表明有氘代甲胺盐酸盐。

[0108] ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400MHz): δ 8.05 (br, 2H)。

[0109] 实施例 4

[0110] 氘代甲胺盐酸盐的合成

[0111]



[0112] 1:4-甲基苯磺酸-(1,1,1-三氟代甲基)酯的制备

[0113] 将氢氧化钠(180g,4.5mol,5.0eq)加入到水(288mL)中,在0℃下,加入氘代甲醇(32.4g,900mmol,1.0eq),并缓慢滴加对甲苯磺酰氯(206g,1.1mmol,1.2eq)的四氢呋喃(288mL)溶液。升至室温搅拌过夜。在25℃以下滴加醋酸(206g)中和至中性,过滤,分液,水层用乙酸乙酯(100mL)萃取,滤饼用水(300mL)溶解,并用乙酸乙酯萃取(200mL),合并有机相,用饱和碳酸钠(100mL)洗涤,用饱和食盐水(100mL)洗涤,有机相无水硫酸钠干燥,过滤,减压除去溶剂,得到标题化合物,为浅黄色液体160.5g,纯度99%,收率94%。

[0114] $^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3\text{-d}, 400\text{MHz}) : \delta 3.20(\text{s}, 3\text{H}), 7.71\text{--}7.75(\text{m}, 2\text{H}), 7.84\text{--}7.88(\text{m}, 2\text{H})$ 。

[0115] 2:N-(1,1,1-三氟代甲基)苯并丁二酰亚胺的制备

[0116] 将邻苯二甲酰亚胺钾盐(166.7g,0.9mol,2.0eq)加入至N,N-二甲基甲酰胺(DMF,225mL)中,室温下滴加4-甲基苯磺酸-(1,1,1-三氟代甲基)酯(85.2g,0.45mmol,1.0eq),在60℃下搅拌0.5小时。趁热过滤,滤饼用DMF(250mL)洗涤,过滤取出滤饼,再次用DMF(100mL)洗涤,合并DMF溶液,在0℃下,滴加水(1150mL),析出白色固体,过滤,并用水(100mL×2)洗涤,真空干燥得到标题化合物,为白色固体64g,纯度99.6%,收率85%。

[0117] $^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3\text{-d}, 400\text{MHz}) : \delta 7.71\text{--}7.77(\text{m}, 2\text{H}), 7.84\text{--}7.88(\text{m}, 2\text{H})$ 。

[0118] 3:1,1,1-三氟代甲胺盐酸盐的制备

[0119] 在室温下,将N-(1,1,1-三氟代甲基)苯并丁二酰亚胺(82g,0.5mol,1eq)加入至蒸馏水(625mL)与浓盐酸(625mL,7.5mol,15eq)的混合液中,升温至105度回流过夜。冷却至室温,过滤,并用蒸馏水洗涤(50mL×2),减压除去盐酸,得到淡黄色固体,加入无水乙醇(140mL),回流1小时,冷却至室温,过滤,并用乙醇(30mL)洗涤,滤饼真空干燥得到标题化合物,为白色固体28g,收率80%。

[0120] $^1\text{H NMR}(\text{DMSO-d}_6, 400\text{MHz}) : \delta 8.05(\text{br}, 2\text{H})$ 。

[0121] 实施例4:大鼠中的药代动力学评价

[0122] 8只雄性Sprague-Dawley大鼠,7-8周龄,体重约210g,分成2组,每组4只(大鼠编号:对照组为13-16;实验组为9-12),单次口服给予3mg/kg剂量的(a)对组合物:未氘代的N-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-N'-(4-(2-(N-甲基氨基甲酰基)-4-吡啶基氧)苯基)脲(对照化合物CM4306)或(b)实施例1制备的N-(4-氯-3-(三氟甲基)苯基)-N'-(4-(2-(N-1',1',1'-三氟甲基氨基甲酰基)-4-吡啶基氧)苯基)脲(本发明化合物CM4307),比较其药代动力学差异。

[0123] 大鼠采用标准饲料饲养,给予水和利眠宁。实验的前一天晚上停止给予利眠宁,给药后2小时重新给予利眠宁。试验前16小时开始禁食。药物用30%PEG400溶解。眼眶采血,采血的时间点为给药后0.083小时,0.25小时,0.5小时,1小时,2小时,4小时,6小时,8小时和24小时。

[0124] 令大鼠吸入乙醚后短暂麻醉,眼眶采集300uL血样于试管。试管内有30uL11%肝素

盐溶液。使用前, 试管于 60℃ 烘干过夜。在随后一个时间点血样采集完成之后, 大鼠乙醚麻醉后处死。

[0125] 血样采集后, 立即温和地颠倒试管至少 5 次, 保证混合充分后放置于冰上。血样在 4℃ 5000rpm 离心 5 分钟, 将血清与红细胞分离。用移液器吸出 100uL 血清到干净的塑料离心管中, 表明化合物的名称和时间点。血清在进行 LC-MS 分析前保存在 -80℃。

[0126] 结果显示, CM4307 比 CM4306 的半衰期 $T_{1/2}$ 延长 [分别为 11.3 ± 2.1 小时和 8.6 ± 1.4 小时], 曲线下面积 $AUC_{0-\infty}$ CM4307 比 CM4306 显著增加 [分别为 $11255 \pm 2472 \text{ ng} \cdot \text{h}/\text{mL}$ 和 $7328 \pm 336 \text{ ng} \cdot \text{h}/\text{mL}$], CM4307 比 CM4306 表观清除率减少 [分别为 $275 \pm 52 \text{ mL}/\text{h}/\text{kg}$ 和 $410 \pm 18.7 \text{ mL}/\text{h}/\text{kg}$]。

[0127] 从上面结果看出, 本发明化合物在动物体内具有更好的药物动力学, 因而具有更好的药效学和治理效果。

[0128] 实施例 5 : CM4307 对人肝细胞癌 SMMC-7721 裸小鼠移植瘤生长抑制的

[0129] 药效学评价

[0130] Balb/c nu/nu 裸小鼠, 6 周龄, 雌性, 70 只, 购自上海试验动物资源中心 (上海西普尔 - 必凯实验动物有限公司)。

[0131] SMMC-7721 细胞购自中科院上海生命科学院 (上海, 中国)。

[0132] 肿瘤裸鼠移植模型的建立 : 收获对数生长期的 SMMC-7721 细胞, 计数后将细胞悬于 $1 \times \text{PBS}$, 调整细胞悬液浓度至 $1.5 \times 10^7 / \text{ml}$ 。用 1ml 注射器在裸鼠右侧腋下皮下接种肿瘤细胞, $3 \times 10^6 / 0.2 \text{ ml} / \text{鼠}$ 。共接种 70 只裸鼠。

[0133] 在肿瘤体积达到 $30-130 \text{ mm}^3$ 时, 将动物进行随机分组, 共获得 58 只动物, 使各组肿瘤差异小于均值的 10%, 并开始给药。

[0134] 试验剂量分组设置见下表 :

[0135]

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

[0136] 试验期间每周测定两次动物体重和肿瘤大小。每日观察记录临床症状。给药结束时, 拍照记录肿瘤大小。每组处死一只小鼠取肿瘤组织, 固定于 4% 多聚甲醛。给药结束后, 继续观察, 当肿瘤均值大于 2000 mm^3 , 或动物出现濒死状态时, 处死动物, 做大体解剖, 取

肿瘤组织固定于 4%多聚甲醛。

[0137] 肿瘤体积 (Tumor volume, TV) 的计算公式为: $TV = a \times b^2 / 2$ 。其中 a、b 分别代表肿瘤测量长和宽。相对肿瘤体积 (relative tumor volume, RTV) 计算公式为: $RTV = V_t / V_0$ 。其中 V_0 为分组给药时的肿瘤体积, V_t 为测量时的肿瘤体积。抗肿瘤活性的评价指标为相对肿瘤增值率 T/C(%), 计算公式为: $T/C(\%) = (T_{RTV} / C_{RTV}) \times 100\%$ 。 T_{RTV} 为治疗组 RTV, C_{RTV} 为阴性对照组 RTV。

[0138] 疗效评价标准: 相对肿瘤增值率 T/C(%) $\leq 40\%$ 并经统计学分析 $p < 0.05$ 为有效。

[0139] 结果表明, CM4306 和 CM4307 单剂量 10、30、100mg/kg 每日灌胃给药连续 2 周, 两个化合物均表现剂量依赖性的抑制肿瘤生长作用。给药结束时, CM4306 的 T/C% 分别为 56.9%、40.6% 和 32.2%。CM4307 的 T/C(%) 分别为 53.6%、40.8% 和 19.6%。其中 100mg/kg 剂量组的 T/C% 均 $< 40\%$, 肿瘤体积与对照组比较有显著差异 ($p < 0.01$), 表现显著的抑制肿瘤生长的作用。

[0140] CM4307 的高剂量 100mg/kg 组比 CM4306 高剂量组肿瘤抑制作用强 (最佳 T/C% 分别为 19.6% 和 32.2%, d15), 瘤体积组间比较有显著差异 ($p < 0.01$)。与 CM4306 相比, CM4307 的抑瘤率的绝对值提高 10% 以上, 相对幅度提高约 60% ($32.2\% / 19.6\% - 1 = 64\%$), 表现出更为显著的抑制肿瘤生长的作用。

[0141] 此外, 试验过程中未见其他药物相关毒性反应。

[0142] 在本发明提及的所有文献都在本申请中引用作为参考, 就如同每一篇文献被单独引用作为参考那样。此外应理解, 在阅读了本发明的上述讲授内容之后, 本领域技术人员可以对本发明作各种改动或修改, 这些等价形式同样落于本申请所附权利要求书所限定的范围。