

(19)



Евразийское  
патентное  
ведомство

(11) 033786

(13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента  
2019.11.26

(21) Номер заявки  
201591756

(22) Дата подачи заявки  
2014.03.17

(51) Int. Cl. C07D 215/22 (2006.01)  
C07C 305/24 (2006.01)  
C07C 233/60 (2006.01)  
A61K 31/47 (2006.01)  
A61P 35/00 (2006.01)

(54) МЕТАБОЛИТЫ N-(4-{[6,7-БИС-(МЕТИЛОКСИ)ХИНОЛИН-4-ИЛ]ОКСИ}ФЕНИЛ)-N'-(4-ФТОРФЕНИЛ)ЦИКЛОПРОПАН-1,1-ДИКАРБОКСАМИДА

(31) 61/792,413

(32) 2013.03.15

(33) US

(43) 2016.02.29

(86) PCT/US2014/030524

(87) WO 2014/145715 2014.09.18

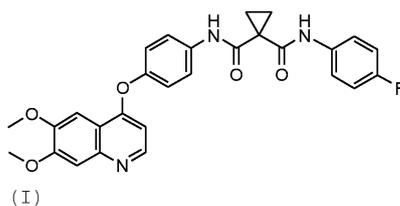
(71)(73) Заявитель и патентовладелец:  
ЭКСЕЛИКСИС, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:  
Афтаб Дана Т., Наганатхан Срирам,  
Сюй Вей, Лэйси Стивен, Нгуйен Линь  
(US)

(74) Представитель:  
Медведев В.Н. (RU)

(56) WO-A2-2005030140

(57) Изобретение относится к метаболитам кабозантиниба (I), а также к их применению



(I)

B1

033786

033786

B1

### Притязание на приоритет

Настоящая заявка испрашивает приоритет на основании заявки на патент США № 61/792413, поданной 15 марта 2013 года. Содержание вышеупомянутой заявки полностью включено в настоящую заявку.

### Область техники

Настоящее описание относится к метаболитам N-(4-{{6,7-бис-(метилокси)хинолин-4-ил}окси}фенил)-N'-(4-фторфенил)циклопропан-1,1-дикарбоксамида, ингибитора с-Met.

### Уровень техники

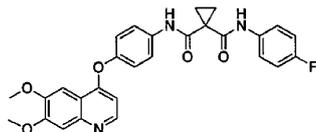
Традиционно значительные улучшения в лечении рака связывают с обнаружением терапевтических агентов, действующих с помощью новых механизмов. Одним из механизмов, которые можно применять для лечения рака, является модулирование активности протеинкиназы, поскольку передача сигнала посредством активации протеинкиназы является ответственной за многие характеристики опухолевых клеток. Передача сигнала с участием протеинкиназ является особенно важной, например, при раке щитовидной железы, раке желудка, раке головы и шеи, раке легких, раке молочной железы, раке предстательной железы и колоректальном раке, а также при росте и пролиферации опухолевых клеток головного мозга.

Протеинкиназы можно разделить на рецепторный и нерцепторный тип. Тирозинкиназы рецепторного типа состоят из большого числа трансмембранных рецепторов с разнообразной биологической активностью. Что касается подробного обсуждения тирозинкиназ рецепторного типа, см. Plowman et al., DN&P 7(6): 334-339, 1994. Поскольку протеинкиназы и их лиганды играют значительную роль в различных клеточных активностях, нарушение регуляции ферментативной активности протеинкиназ может приводить к изменениям свойств клетки, таким как неконтролируемый клеточный рост, связанный с раком. Дополнительно к онкологическим показаниям измененная киназная передача сигнала связана с другими многочисленными патологическими заболеваниями, включая, например, иммунологические заболевания, сердечно-сосудистые заболевания, воспалительные заболевания и дегенеративные заболевания. Следовательно, протеинкиназы являются привлекательными мишенями для поиска низкомолекулярных лекарственных средств. Особенно привлекательные мишени для низкомолекулярной модуляции в отношении антиангиогенной и антипролиферативной активности включают тирозинкиназы рецепторного типа Ret, с-Met и VEGFR2.

Киназа с-Met представляет собой прототипный член подсемейства гетеродимерных рецепторных тирозинкиназ (RTK), которое включает Met, Ron и Sea. Эндогенным лигандом для с-Met является фактор роста гепатоцитов (HGF), мощный индуктор ангиогенеза. Связывание HGF с с-Met вызывает активацию рецептора посредством аутофосфорилирования, приводя в результате к усилению зависящей от рецептора передачи сигнала, которая способствует росту клетки и инвазии. Показано, что анти-HGF антитела или HGF антагонисты ингибируют метастазирование опухоли *in vivo* (см. Maulik et al. Cytokine & Growth Factor Reviews 2002 13, 41-59). Сверхэкспрессия с-Met, VEGFR2 и/или Ret была продемонстрирована на большом наборе типов опухолей, включая опухоли молочной железы, толстой кишки, почки, легкого, плоскоклеточную миелоидную лейкемию, гемангиомы, меланомы, астроцитарную опухоль (которая включает глиобластому, гигантоклеточную глиобластому, глиосаркому и глиобластому с олигодендроглиальными компонентами). Ret белок представляет собой трансмембранный рецептор с тирозинкиназной активностью. Ret мутирует в большинстве наследственных форм медуллярного рака щитовидной железы. Данные мутации активируют киназную функцию Ret и превращают его в онкогенный продукт.

Соответственно низкомолекулярные соединения, которые специфически ингибируют, регулируют и/или модулируют передачу сигнала киназ, в частности включая Ret, с-Met и VEGFR2, описанные выше, являются особенно подходящими в качестве средства для лечения или предотвращения болезненного состояния, связанного с нарушенной клеточной пролиферацией и ангиогенезом.

Одной такой малой молекулой является XL184, известная под разными названиями, как N-(4-{{6,7-бис-(метилокси)хинолин-4-ил}окси}фенил)-N'-(4-фторфенил)циклопропан-1,1-дикарбоксамид, а также под названием кабозантиниб (COMETRIQ™), который является L-малатной солью кабозантиниба. Кабозантиниб имеет химическую структуру



В ноябре 2012 года кабозантиниб получил нормативное утверждение в Соединенных Штатах для лечения прогрессирующего метастатического медуллярного рака щитовидной железы. Другие клинические испытания кабозантиниба продолжаются.

В WO 2005/030140 описан синтез кабозантиниба (пример 48), а также описана терапевтическая активность данной молекулы по ингибированию, регулированию и/или модулированию передачи сигнала киназ (анализы, табл. 4, строка 289). Пример 48 находится в параграфе [0353] в WO 2005/030140.

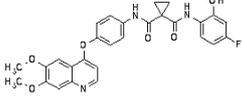
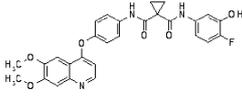
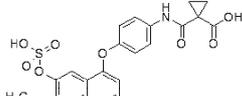
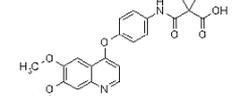
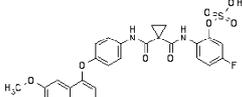
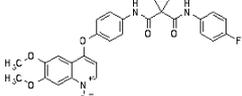
Существует потребность в идентификации соединений, которые проявляют сходную с кабозанти-

нибом активность.

### Краткое описание изобретения

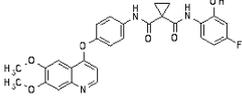
Эти и другие потребности удовлетворяются настоящим изобретением, которое относится к метаболитам кабозантиниба.

В одном варианте реализации данного аспекта метаболит представляет собой выделенный метаболит кабозантиниба или его фармацевтически приемлемая соль, где выделенный метаболит представляет собой соединение, выбранное из

Номер соединения	Структура
16	
13	
2a	
2b	
9	
19	

или его фармацевтически приемлемую соль.

В еще одном аспекте настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей терапевтически активный метаболит кабозантиниба, и по меньшей мере один фармацевтически приемлемый носитель, где выделенный метаболит представляет собой соединение, выбран из

Номер соединения	Структура
16	

13	
2a	
2b	
9	
19	

или его фармацевтически приемлемой соли.

В еще одном аспекте настоящее изобретение относится к способу идентификации метаболита кабо-зантиниба, включающему

введение кабозантиниба млекопитающему;

обнаружение или измерение уровня или концентрации метаболита N-(4-{[6,7-бис-(метилокси)хинолин-4-ил]окси}фенил)-N'-(4-фторфенил)циклопропан-1,1-дикарбоксиамида у млекопитающего в тканях или биологических жидкостях млекопитающего;

где метаболит выбран из группы, состоящей из

Номер соединения	Структура
16	
13	
2a	
2b	
9	
19	

или его фармацевтически приемлемую соль.

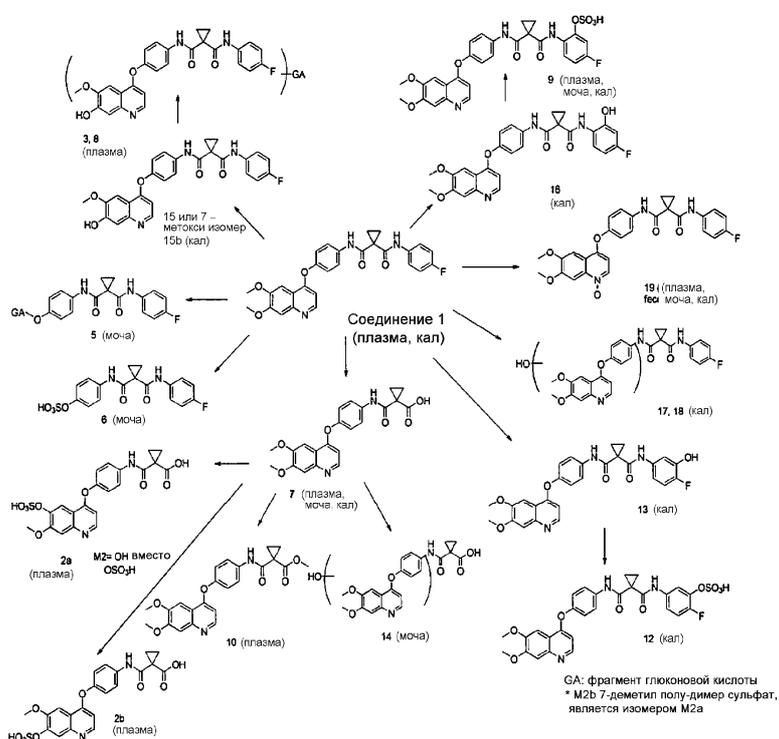
### Подробное описание изобретения

В одном аспекте настоящее изобретение относится к метаболитам кабозантиниба, в частности метаболитам человека. Таким образом, метаболиты могут упоминаться как "метаболиты человека". Метаболиты кабозантиниба человека включают метаболиты кабозантиниба, которые были сформированы в органах человека после приема внутрь или введения кабозантиниба в соответствии с клиническими протоколами в отношении дозирования и контроля, включая те, которые описаны в настоящем документе.

В различных вариантах реализации термин охватывает молекулярные частицы, образованные *in vivo*, вне зависимости от того, точно ли обнаружены эти частицы или проанализированы в конкретном испытании. Также предполагается, что некоторые метаболиты являются уникальными для отдельных лиц, что отражает различный генетический состав, а также наличие и активность различных ферментов, включая ферменты цитохрома P450 и UGT, которые вовлечены в метаболизм. Таким образом, метаболиты человека охватывают все такие метаболиты, образованные в организме человека.

Некоторые метаболиты человека изображены на схеме 1. Эти метаболиты человека идентифицировали в ходе клинических исследований кабозантиниба, который представлен в качестве соединения I на схеме 1, путем определения метаболического профиля, в частности, из плазмы крови человека, мочи и кала.

Схема 1



GA представляет собой фрагмент глюкуроновой кислоты.

В различных вариантах реализации метаболиты кабозантиниба, включая те, которые показаны на схеме 1, выделяют из тканей и жидкостей организма и/или получают синтетически в соответствии со способами, доступными специалисту в данной области техники. Разнообразные процессы разделения могут быть выполнены на ткани и жидкостях образцов, чтобы обеспечить образцы для дальнейших анализов, таких как ядерный магнитный резонанс, газовая хроматография (ГХ), жидкостная хроматография (ЖХ) и масс-спектрометрия. В таких образцах метаболиты содержатся в композициях, которые, по существу, отсутствуют в присутствии любого другого метаболита. Присутствие метаболитов может быть определено количественно с помощью физических методов, таких как измерение ядерного распада радиоактивных изотопов, измерение показателя преломления, ионизация пламени, ионизация и отклонение в магнитных полях, ультрафиолет (УФ-поглощение) и тому подобное.

В различных вариантах реализации метаболиты человека представлены в кристаллических формах или в формах раствора, которые имеют значительную степень чистоты. Пути органического синтеза являются подходящими для получения соединений в относительном чистом виде, например чистотой 80% или более, 90% или более, 95% или более или 99% или более. Перекристаллизация и другие способы очистки могут быть осуществлены с получением соединений, которые, по существу, на 100% чистые. Такие способы синтеза и способы очистки известны в данной области техники.

В различных вариантах реализации метаболиты представлены, по существу, в чистом виде. "По существу, чистый" означает, что метаболиты являются достаточно чистыми для утверждения Управлением по надзору за качеством продуктов питания и лекарственных средств правительства США (FDA) и

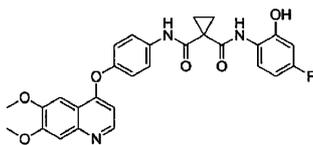
не содержат, по существу, никаких загрязняющих примесей или других материалов. С другой стороны, "по существу, чистый" означает уровень примесей, не оказывающий вредного или неприемлемого влияния на свойства соединений по отношению к безопасности, эффективности, стабильности и другим желательным свойствам.

В одном варианте реализации настоящее изобретение относится к выделенным метаболитам, как показано на схеме 1. В этом и других вариантах реализации метаболит выбран из

16	
13	
2a	
2b	
9	
19	

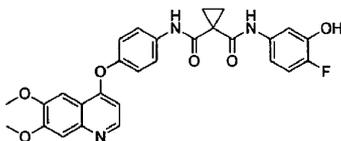
или его фармацевтически приемлемой соли.

В конкретном варианте реализации выделенный метаболит представляет собой



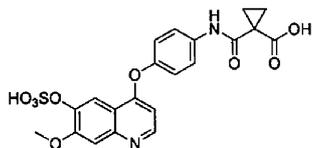
или его фармацевтически приемлемую соль.

В еще одном конкретном варианте реализации выделенный метаболит представляет собой



или его фармацевтически приемлемую соль.

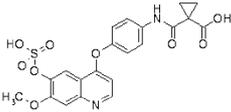
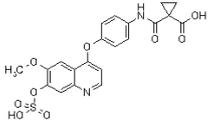
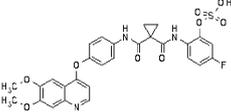
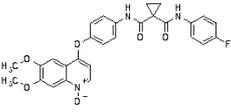
В еще одном конкретном варианте реализации выделенный метаболит представляет собой



или его фармацевтически приемлемую соль.

В еще одном конкретном варианте реализации выделенный метаболит представляет собой



2a	
2b	
9	
19	

или его фармацевтически приемлемой соли.

В данном способе биологические жидкости выбраны из группы, состоящей из плазмы, желчи, мочи и кала. В этом и других способах метаболиты идентифицируют с использованием общепринятых аналитических способов, включающих изотопное мечение и ВЭЖХ/МС.

Выделенные метаболиты, подобно описанным выше, которые обладают ингибирующей активностью в отношении с-МЕТ или других киназ, могут быть приготовлены в подходящих лекарственных формах для введения человеку или другим млекопитающим. В некоторых вариантах реализации метаболиты могут демонстрировать благоприятные токсикологические профили по сравнению с традиционным лечением или лечением кабозантинибом.

В некоторых вариантах реализации метаболиты в качестве ингибиторов с-МЕТ применяются для лечения рака. "Рак" включает типы опухолей, такие как типы опухолей, включающие опухоль молочной железы, опухоль толстой кишки, опухоль почек, опухоль легких, плоскоклеточную миелоидную лейкемию, гемангиомы, меланомы, астроцитомы и глиобластомы, равно как и другие клеточно-пролиферативные болезненные состояния, включая, но не ограничиваясь ими, кардиологические: саркома (ангиосаркома, фибросаркома, рабдомиосаркома, липосаркома), миксома, рабдомиома, фиброма, липома и тератома; легочные: бронхогенная карцинома (плоскоклеточная, недифференцированная мелко-клеточная, недифференцированная крупноклеточная аденокарцинома), альвеолярная (бронхиолярная) карцинома, бронхиальная аденома, саркома, лимфома, хондроматозная гамартома, инесотелиома; желудочно-кишечные: пищевода (плоскоклеточный рак, аденокарцинома, лейомиосаркома, лимфома), желудка (карцинома, лимфома, лейомиосаркома), поджелудочной железы (аденокарцинома протоков, инсулинома, глюкагонома, гастринома, карциноиды, випома), тонкой кишки (аденокарцинома, лимфома, карциноиды, саркома Капоши, лейомиома, гемангиома, липома, нейрофиброма, фиброма), толстой кишки (аденокарцинома, тубулярная аденома, ворсинчатая аденома, гамартома, лейомиома); мочеполовой системы: почек (аденокарцинома, опухоль Вильмса (нефробластома), лимфома, лейкоз, почечно-клеточная карцинома), мочевого пузыря и уретры (плоскоклеточная карцинома, переходно-клеточная карцинома, аденокарцинома), предстательной железы (аденокарцинома, саркома, мелкоклеточная карцинома предстательной железы), яичек (семинома, тератома, эмбриональная карцинома, тератокарцинома, хориокарцинома, саркома, интерстициальная карцинома, фиброма, фиброаденома, аденоматоидные опухоли, липома); Печени: гепатома (гепатоцеллюлярная карцинома), холангиокарцинома, гепатобластома, ангиосаркома, гепатоцеллюлярная аденома, гемангиома; костей: остеогеническая саркома (остеосаркома), фибросаркома, злокачественная фиброзная гистиоцитома, хондросаркома, саркома Юинга, злокачественная лимфома (ретикулоклеточная саркома), злокачественная гигантоклеточная опухолевая хондрома, остеохондрома (костно-хрящевые экзостозы), доброкачественная хондрома, хондробластома, хондромиксофиброма, остеоид-остеома и гигантоклеточные опухоли; нервной системы: черепа (остеома, гемангиома, гранулема, ксантома, деформирующий остит), мозговых оболочек (менингиома, менингосаркома, глиоматоз), головного мозга (астроцитомы, медуллобластома, глиома, эпендимы, герминома [пинеалома], полиморфная глиобластома, олигодендроглиома, шваннома, ретинобластома, врожденные опухоли), спинного мозга (нейрофиброма, менингиома, глиома, саркома); гинекологические: матки (эндометриальная карцинома), шейки матки (карцинома шейки матки, предопуховая дисплазия шейки матки), яичников (карцинома яичников [серозная цистаденокарцинома, слизистая цистаденокарцинома, неклассифицированная карцинома], гранулезотеклоклеточные опухоли, опухоли из клеток Сертоли-Лейдига, дисгерминома, злокачественная тератома), женских наружных половых органов (плоскоклеточная карцинома, интраэпителиальная карцинома, аденокарцинома, фибросаркома, меланома), влагалища (светлоклеточ-

ная карцинома, плоскоклеточная карцинома, ботриоидная саркома [эмбриональная рабдомиосаркома]), фаллопиевых труб (карцинома); гематологические: крови (миелоидный лейкоз [острый и хронический], острый лимфобластный лейкоз, хронический лимфоцитарный лейкоз, миелопролиферативные заболевания, множественная миелома, миелодиспластический синдром), болезнь Ходжкина, неходжкинская лимфома [злокачественная лимфома]; кожные: злокачественная меланома, базально-клеточная карцинома, плоскоклеточная карцинома, саркома Капоши, диспластические невусы, липома, ангиома, фиброма кожи, келоиды, псориаз; и надпочечников: нейробластома; равно как и рак щитовидной железы, включая медуллярный рак щитовидной железы. Таким образом, термин "раковая клетка", как это предусмотрено в настоящем документе, включает в себя клетку, пораженную любым из вышеуказанных состояний.

В одном варианте реализации рак выбран из рака яичников, рака предстательной железы, рака легкого, медуллярного рака щитовидной железы, рака печени, рака желудочно-кишечного тракта, рака поджелудочной железы, рака костей, гематологической злокачественной опухоли, рака кожи, рака почек, рака молочной железы, рака толстой кишки и рака фаллопиевых труб.

В еще одном варианте реализации заболевание или расстройство представляет собой рак яичников.

В еще одном варианте реализации заболевание или расстройство представляет собой рак предстательной железы.

В еще одном варианте реализации заболевание или расстройство представляет собой рак легких.

В еще одном варианте реализации заболевание или расстройство представляет собой медуллярный рак щитовидной железы.

В еще одном варианте реализации заболевание или расстройство представляет собой рак печени.

В еще одном варианте реализации заболевание или расстройство представляет собой рак желудочно-кишечного тракта.

В еще одном варианте реализации заболевание или расстройство представляет собой рак поджелудочной железы.

В еще одном варианте реализации заболевание или расстройство представляет собой рак костей.

В еще одном варианте реализации заболевание или расстройство представляет собой гематологическую злокачественную опухоль.

В еще одном варианте реализации заболевание или расстройство представляет собой рак кожи.

В еще одном варианте реализации заболевание или расстройство представляет собой рак почек.

В еще одном варианте реализации заболевание или расстройство представляет собой рак молочной железы.

В еще одном варианте реализации заболевание или расстройство представляет собой рак толстой кишки.

В еще одном варианте реализации заболевание или расстройство представляет собой рак фаллопиевых труб.

В еще одном варианте реализации заболевание или расстройство представляет собой рак печени, где рак печени представляет собой гепатоцеллюлярную карциному, холангиокарциному, гепатобластому, ангиосаркому, гепатоцеллюлярную аденому или гемангиому.

В еще одном варианте реализации заболевание или расстройство представляет собой рак желудочно-кишечного тракта, где рак желудочно-кишечного тракта представляет собой рак пищевода, который представляет собой плоскоклеточную саркому, аденокарциному или лейомиосаркому; рак желудка, который представляет собой карциному или лимфому; рак поджелудочной железы, который представляет собой протоковую аденокарциному, инсулиному, глюкагоному, гастриному, карциноидные опухоли или випому; рак тонкой кишки, который представляет собой аденокарциному, лимфому, карциноидные опухоли, саркому Капоши, лейомиому, липому, гемангиому, или рак толстой кишки, который представляет собой аденокарциному, тубулярную аденому, ворсинчатую аденому, гамартому или лейомиому.

В еще одном варианте реализации заболевание или расстройство представляет собой рак поджелудочной железы, где рак поджелудочной железы представляет собой протоковую аденокарциному, инсулиному, глюкагоному, гастриному, карциноидные опухоли или випому.

В еще одном варианте реализации заболевание или расстройство представляет собой рак костей, где рак костей представляет собой остеосаркому, фибросаркому, злокачественную фиброзную гистиоцитому, хондросаркому, саркому Юинга, злокачественную ретикулочеточную саркому, множественную миелому, злокачественную гигантоклеточную опухолевую хондрому, костно-хрящевые экзостозы, хондробластому, хондромиксофибром или остеонид-остеому.

В еще одном варианте реализации заболевание или расстройство представляет собой гематологическую злокачественную опухоль, где гематологическая злокачественная опухоль представляет собой гематологический миелоидный лейкоз, острый лимфобластный лейкоз, хронический лимфоцитарный лейкоз, миелопролиферативные заболевания, множественную миелому или миелодиспластический синдром.

В еще одном варианте реализации заболевание или расстройство представляет собой рак кожи, где рак кожи представляет собой злокачественную меланому, базально-клеточную карциному, плоскоклеточную карциному или саркому Капоши.

В еще одном варианте реализации заболевание или расстройство представляет собой почечную

опухоль или почечно-клеточную карциному.

В еще одном варианте реализации заболевание или расстройство представляет собой рак молочной железы.

В еще одном варианте реализации заболевание или расстройство представляет собой раковую опухоль толстой кишки.

В еще одном варианте реализации заболевание или расстройство представляет собой карциному фаллопиевых труб.

В качестве альтернативы или дополнительно метаболиты вводят субъектам или подопытным животным, не имеющим какого-либо из указанных выше болезненных состояний, с целью изучения нефармакологических воздействий, таких как побочные эффекты, токсичность, метаболизм, усвояемость, биодоступность и пути экскреции.

В различных вариантах реализации метаболиты вводят любым подходящим способом, включая пероральный, ректальный, интраназальный, внутривенный (например, посредством ингаляции) или перитонеальный (например, внутрикожный, чрескожный, подкожный, внутримышечный или внутривенный) пути. Пероральное введение является предпочтительным в некоторых вариантах реализации, и доза может быть дана с пищей или без пищи, то есть натощак или не натощак. Неограничивающие примеры лекарственных форм включают непокрытые или покрытые таблетки, капсулы, порошки, гранулы, суппозитории, растворы, мази, кремы и спреи.

Составы в соответствии с настоящим изобретением, подходящие для перорального введения, получают в виде дискретных единиц, таких как капсулы, саше или таблетки, каждая из которых содержит заранее определенное количество активного ингредиента; в виде порошка или гранул; в виде раствора или суспензии в водной жидкости или неводной жидкости; или в виде жидкой эмульсии масло-в-воде; или в виде жидкой эмульсии вода-в-масле. Активный ингредиент также может быть представлен в виде болуса, лекарственной каши или пасты.

Таблетку изготавливают посредством прессования или формования, необязательно с одним или более дополнительными ингредиентами. Прессованные таблетки могут быть получены прессованием в соответствующем устройстве активного ингредиента в сыпучей форме, такой как порошок или гранулы, необязательно смешанного со связывающим веществом, скользящим веществом, инертным разбавителем, консервантом, поверхностно-активным или диспергирующим агентом. Формованные таблетки могут быть изготовлены формованием в соответствующем аппарате смеси порошкообразного активного ингредиента, увлажненного инертным жидким разбавителем. Таблетки необязательно могут быть покрыты оболочкой или помечены и, необязательно, приготовлены таким образом, чтобы обеспечить медленное или контролируемое высвобождение из них активного ингредиента. В одном варианте реализации кислотный гидролиз лекарственного средства устраняется посредством применения энтеросолюбильного покрытия.

Энтеросолюбильное покрытие представляет собой средство защиты соединения согласно настоящему изобретению, для того, чтобы избежать воздействия соединения согласно настоящему изобретению на часть желудочно-кишечного тракта, обычно верхних отделов пищеварительного тракта, в частности, желудка и пищевода. Таким образом, ткань слизистой желудка защищена от воздействия соединения согласно настоящему изобретению, которое вызывает побочные эффекты, такие как тошнота, и, с другой стороны, соединение согласно настоящему изобретению защищено от действия условий, имеющих место в одном или нескольких участках желудочно-кишечного тракта, обычно верхних отделах пищеварительного тракта.

Составы, подходящие для местного введения в полость рта, включают леденцы, содержащие активный ингредиент в ароматизированной основе, обычно в сахарозе, и гуммиарабик или трагакант; пастилки, содержащие активный ингредиент в инертной основе, такой как желатин и глицерин или сахароза, и гуммиарабик; и жидкости для полоскания рта, содержащие активный ингредиент в подходящем жидком носителе.

Составы для ректального введения могут быть представлены в виде суппозиториев с подходящим основанием, содержащим, например, масло какао или салицилат.

Наряду с тем, что активные ингредиенты можно вводить отдельно, может быть предпочтительным представлять их в виде фармацевтических составов. Составы как для ветеринарного применения, так и для применения у человека, содержат по меньшей мере один активный ингредиент, как определено выше, вместе с одним или более приемлемыми носителями и, необязательно, содержат другие лечебные ингредиенты. Носитель(-и) должны быть "приемлемыми" в том, что они совместимы с другими ингредиентами состава и физиологически безвредны для реципиента этого состава.

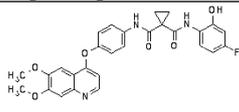
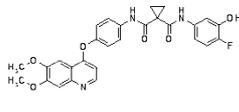
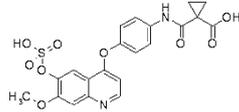
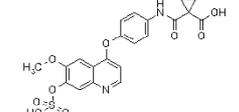
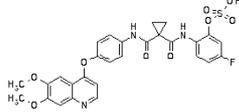
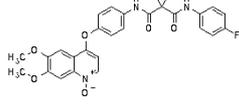
В различных вариантах реализации соединения готовят в системе-носителе. Такие системы являются известными и включают связывающие вещества, наполнители, консерванты, дезинтеграторы, регуляторы потока, пластификаторы, смачивающие агенты, эмульгаторы, диспергаторы, скользящие вещества, растворители, агенты, замедляющие высвобождение (включая энтеросолюбильное покрытие), антиоксиданты и газы пропелленты. Особенно в тех случаях, когда получают составы для введения человеку, активные агенты предпочтительно комбинируют по меньшей мере с одним фармацевтически приемлемым

носителем. Такие носители являются известными и включают, без ограничения, производные целлюлозы, полиэтиленгликоль и полимеры N-винилпирролидона. Лекарственные формы содержат терапевтически эффективное количество соединений, которое составляет от 0,1 до приблизительно 90 мас.% от массы лекарственной формы.

Соединения согласно настоящему изобретению получают с традиционными носителями и вспомогательными веществами, которые выбирают в соответствии с обычной практикой. Таблетки будут содержать вспомогательные вещества, скользящие вещества, наполнители, связывающие вещества и тому подобное. Водные композиции готовят в стерильной форме, и они, если предназначены для доставки любым путем, кроме орального введения, как правило, будут изотоническими. Все составы будут необязательно содержать вспомогательные вещества, такие как те, которые изложены в "Справочник фармацевтических вспомогательных веществ" ("Handbook of Pharmaceutical Excipients") (1986). Вспомогательные вещества включают аскорбиновую кислоту и другие антиоксиданты, хелатирующие агенты, такие как ЭДТА, углеводы, такие как декстрин, гидроксилалкилцеллюлозу, гидроксилалкилметилцеллюлозу, стериновую кислоту и тому подобное.

Составы включают такие составы, которые подходят для вышеупомянутых способов введения. Составы могут быть удобно представлены в единичной дозированной форме и могут быть получены любым из способов, хорошо известных в области фармации. Способы и составы, как правило, можно найти в Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Co., Easton, Pa.). Такие способы включают стадию приведения во взаимозависимость активного ингредиента с носителем, который состоит из одного или более вспомогательных ингредиентов. В большинстве случаев составы получают путем однородного и непосредственного приведения во взаимозависимость активного ингредиента с жидкими носителями, или тонко измельченными твердыми носителями, или ими обоими, а затем, если необходимо, формования продукта.

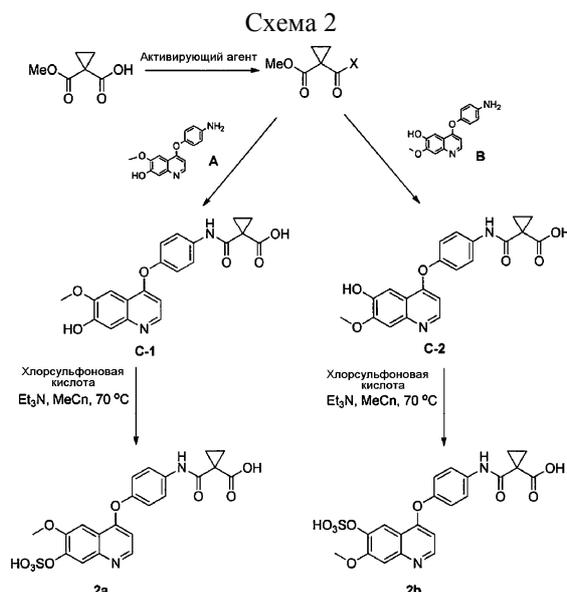
В конкретном варианте реализации настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей метаболит кабозантиниба, который представляет собой соединение, выбранное из

16	
13	
2a	
2b	
9	
19	

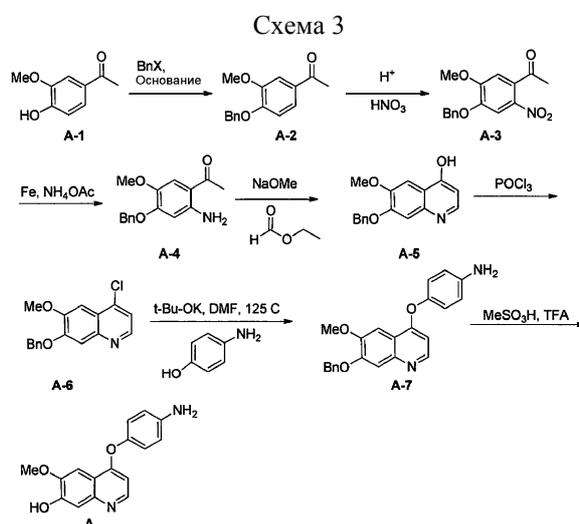
или его фармацевтически приемлемую соль и по меньшей мере один фармацевтически приемлемый носитель.

Соединения, описанные в настоящем документе, могут быть получены в соответствии со способами, доступными специалисту в данной области техники. Например, как показано на схеме 2, можно применять химию пептидов, чтобы получить фенолы C-1 и C-2 из соответствующих аминов и карбоновых кислот. Разнообразные процессы и реагенты доступны для достижения таких преобразований и описаны, например, в Tetrahedron 61 (2005) 10827-10852. Типичный пример изображен на схеме 2, где активирующим агентом является тионилхлорид, оксалилхлорид или тому подобное. Соответствующий хлорангидрид реагирует с соединением А или В соответственно с получением фенола C-1 или C-2. Последую-

шая реакция фенола С-1 или С-2 с сульфатирующим агентом, таким как хлорсульфоновая кислота или комплекс триоксида серы-триметиламина, в присутствии основания, такого как триэтиламин, гидроксид щелочного металла или тому подобное, может дать соответствующий водород сульфат 2b или 2a соответственно.

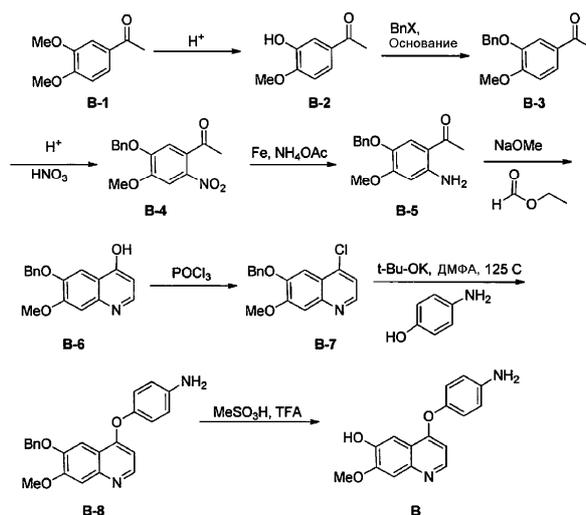


Соединение А получают в соответствии со схемой 3. Бензилирование А-1 с применением бензилгалогенида или тому подобного приводит к получению бензилзащищенного А-2. Азотирование А-2 с применением смеси азотной кислоты и серной кислоты приводит к получению А-3. Восстановление нитрогруппы в А-3 до амина А-4 может быть осуществлено с применением стандартных условий восстановления нитрогруппы, таких как железо и ацетат аммония. Циклизация А-4 с этилформиатом и алкоксидом, таким как метоксид натрия, приводит к получению А-5. Преобразование А-5 с соответствующим хлоридом с применением оксихлорида фосфора приводит к получению А-6. Реакция А-6 с 4-аминофенолом приводит к получению А-7, с которого была снята защита посредством метансульфоновой кислоты, с получением соединения А.



Аналогичным образом, соединение В получают в соответствии со схемой 4. Деметилирование В-1 приводит к получению В-2. Бензилирование В-2 с применением бензилгалогенида ВnХ, где Х представляет собой Вr, Сl, или I, или тому подобное, приводит к получению бензилзащищенного В-3. Азотирование В-3 с применением смеси азотной кислоты и серной кислоты приводит к получению В-4. Восстановление нитрогруппы в В-4 до амина В-5 может быть осуществлено с применением стандартных условий восстановления нитрогруппы, таких как железо и ацетат аммония. Циклизация В-5 с этилформиатом и алкоксидом, таким как метоксид натрия, приводит к получению В-6. Преобразование В-6 в соответствующий хлорид с помощью оксихлорида фосфора приводит к получению В-7. Реакция В-7 с 4-аминофенолом приводит к получению В-8, с которого была снята защита посредством метансульфоновой кислоты, с получением соединения В.

Схема 4



Фенолы 13 и 16 могут быть аналогичным образом получены из соединения 7, синтез которого описан в WO 2005/030140 как пример 73. Таким образом, в схеме 5 сочетание 7 с 2-амино-5-фторфенолом (CAS Reg. No. 53981-24-1) приводит к получению 13. Сочетание 7 с 5-амино-2-фторфенолом (CAS Reg. No. 100367-48-4) приводит к получению 16.

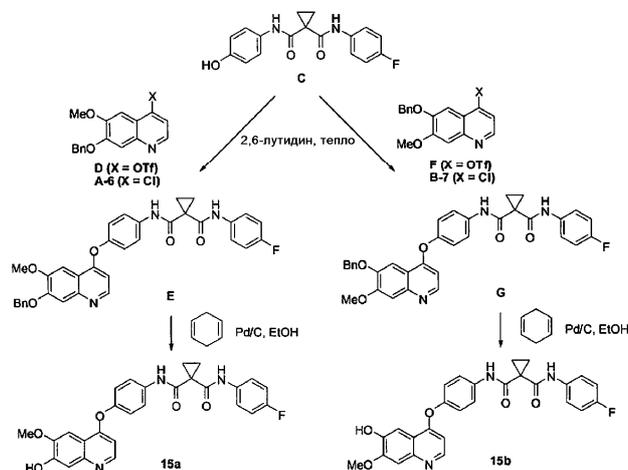
Схема 5



Фенолы 13 и 16 могут быть легко превращены в соответствующие сульфаты 9 и 12, как показано на схеме 1, с применением, например, сульфатирующего агента, такого как комплекс триоксида серы-триметиламина, в присутствии сильного гидроксида, такого как гидроксид калия, гидроксид натрия и т.п., или с применением хлорсульфоновой кислоты в присутствии аминного основания, такого как триэтиламин.

Фенолы 15a и 15b могут быть получены с применением аналогичного способа, который раскрыт в WO 2005/030140 для получения примера 43. Таким образом, на схеме 6 сочетание фенола C (пример 38 в WO 2005/030140) с трифлатом D (пример 33 в WO 2005/030140) или хлоридом A-6 (пример 32 в WO 2005/030140) дает E, с которого затем удаляется защитная группа в условиях Pd-катализируемого гидрогенолиза с получением соединения 15a. Аналогичным образом реакции фенола C с трифлатом F или хлоридом B-7 приводят к получению G, который подвергают удалению защитной группы O-бензила с получением соединения 15b.

Схема 6



N-оксид 19 может быть получен с помощью реакции кабозантиниба с окислителем, таким как, например, пероксид, перкислота или тому подобное. В одном варианте реализации окислитель представляет собой тетрагидрат пербората натрия.

Следующие неограничивающие примеры предназначены для иллюстрации настоящего изобретения.

### Примеры

Идентификация метаболитов кабозантиниба.

Задача данного исследования заключалась в профилировании и идентификации метаболитов кабозантиниба в человеческой плазме, моче и кале. Образцы плазмы, мочи и кала собирали из масс-балансного исследования кабозантиниба после одного перорального введения здоровым субъектам мужского пола 175 мг кабозантиниба (L-малатная соль), содержащего [ $^{14}\text{C}$ ]-кабозантиниб (100 мкКи).

План клинического исследования и отбор проб плазмы, мочи и кала.

Восемь субъектов мужского пола принимали участие в исследовании, и каждый субъект получал единичную пероральную дозу 175 мг кабозантиниба (L-малатная соль), содержащую [ $^{14}\text{C}$ ]-кабозантиниба (100 мкКи). Для профилирования метаболита у 8 субъектов собирали образцы плазмы, мочи и кала.

Образцы плазмы собирали до введения дозы через 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 8, 14, 24, 72, 168, 336, 504 и 648 ч после введения дозы; образцы мочи собирали до введения дозы в интервалах 0-8 ч, 8-24 ч, с 24-часовыми интервалами до 480 ч после введения дозы и с более чем 48-часовыми интервалами от 504 до 1152 ч после введения дозы; и образцы кала собирали до введения дозы с 24-часовыми интервалами до 480 ч после введения дозы и с более чем 48-часовыми интервалами от 504 до 1152 ч после введения дозы. Все образцы отправляли в QPS LLC (Newark, DE) и хранили при  $-70^\circ\text{C}$ . ВЭЖХ/тандемную МС в сочетании с проточным радиодетектором (RFD) применяли для профилирования и идентификации метаболита для образцов с достаточными уровнями радиоактивности.

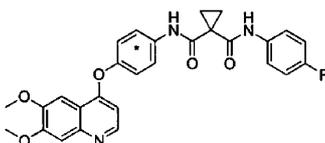
Отбор фракций из ВЭЖХ с последующим подсчетом с помощью TopCount NXT™ применяли для подсчета радиоактивности образцов плазмы с достаточными уровнями радиоактивности. Чтобы отделить кабозантиниб и его метаболиты, в этом исследовании применяли три способа ВЭЖХ. Способ 1 ВЭЖХ применяли для анализа объединенных образцов мочи и кала и отдельных образцов плазмы в различные моменты времени. Способ 2 ВЭЖХ применяли для анализа образцов плазмы, полученных в результате исследования межлекарственного взаимодействия, чтобы найти возможные метаболиты, которые могут коэлировать с сульфатом кабозантиниба. Способ 3 ВЭЖХ применяли для объединенных образцов плазмы.

Выбранные образцы плазмы, мочи и кала, взятые у 6 субъектов, проанализировали в отношении кабозантиниба и метаболитов и сделали отчет.

Образцы, взятые у 2 субъектов, использовали для исследования.

Объект исследования.

Объект исследования в данном исследовании представлял собой смесь [ $^{14}\text{C}$ ] кабозантиниба и кабозантиниба. Звездочка указывает на положение [ $^{14}\text{C}$ ] метки. Меченый [ $^{14}\text{C}$ ] кабозантиниб получали, как это предусмотрено в WO 2005/030140, за исключением того, что меченый [ $^{14}\text{C}$ ] 4-аминофенол применяли вместо немеченого 4-аминофенола. Меченый [ $^{14}\text{C}$ ] 4-аминофенол является коммерчески доступным в виде гидрохлоридной соли, например, от Hartmann Analytic, American Radiolabeled Chemicals или Fisher Scientific.



Использованные химические вещества и эталонные стандарты.

Муравьиную кислоту и ацетат аммония получали от Sigma-Aldrich Chemical Co. (St. Louis, MO). Ацетонитрил (бренд V&J, без карбонила, для нанесений, чувствительных к следовым альдегиду и кетону), воду (бренд V&J, для GC, ВЭЖХ и спектрофотометрии) и метанол (чистоты "для ВЭЖХ") приобрели у Fisher Scientific (Pittsburgh, PA). Воду типа I генерировали с использованием системы очистки воды Elgastat UHQ PS. Немеченные радиоактивным изотопом стандарты метаболитов (продукт расщепления фторанилина, сульфат кабозантиниба и N-оксид кабозантиниба) были предоставлены Exelixis, Inc.

Отбор биологических образцов.

Образцы плазмы, мочи и кала собирали из масс-балансного исследования кабозантиниба после одного перорального введения здоровым субъектам мужского пола 175 мг кабозантиниба (L-малатная соль), содержащего [ $^{14}\text{C}$ ] -кабозантиниб (100 мкКи). Образцы отправляли из Celergion (Lincoln, NE) QPS LLC (Newark, DE) на сухом льду и хранили при  $-70^\circ\text{C}$  до анализа. Образцы от 6 субъектов использовали для профилирования метаболита, идентификации и подсчета радиоактивности. Образцы плазмы от 2 субъектов использовали только в связующем исследовании в рамках исследования совместного элюирования метаболитов.

Приготовление образцов и радиоактивное восстановление плазмы человека.

Для профилирования метаболита, идентификации и подсчета радиоактивности отдельные образцы плазмы, собранные через 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 8, 14, 24, 72, 168 и 336 ч после введения дозы, обрабатывали и

анализировали для 6 субъектов. Для исследования совместного элюирования метаболитов немеченные радиоактивными изотопами образцы плазмы шести субъектов объединяли, обрабатывали и анализировали до введения дозы через 1-7, 8-96 и 120-336 ч после введения дозы. Для того чтобы соединить данные метаболитов из немеченных радиоактивными изотопами образцов плазмы с мечеными радиоактивными изотопами образцами плазмы из масс-балансного исследования у человека, образцы [ $^{14}\text{C}$ ] плазмы, собранные в диапазоне от 0-168 ч после введения дозы для каждого из шести субъектов также объединяли с помощью метода объединения Гамильтона, обрабатывали и анализировали посредством подсчета радиоактивности. Образцы [ $^{14}\text{C}$ ] плазмы, собранные в диапазоне 1-168 ч после введения дозы для двух субъектов, объединяли (в равном объеме), обрабатывали и анализировали.

Первоначальный способ экстракции и восстановления плазмы.

Два образца плазмы от субъекта (4 и 72 ч после введения дозы) использовали для определения первоначальной экстракции и восстановления. Общая радиоактивность для каждого образца плазмы в масс-балансном исследовании была обеспечена Exelixis, Inc. и была определена как 100%. После того как образцы оттаивали под биологической вытяжкой, две 0,5 мл аликвоты каждого образца плазмы добавляли к 3-м объемам (1,5 мл) MeOH:ACN (20:80 об./об.) и перемешивали вихревым способом (5 мин). Смеси центрифугировали при 2000 об/мин в течение 10 мин, и супернатанты переносили в чистые пробирки. Пеллеты экстрагировали с помощью двух дополнительных 3-х объемов MeOH:CAN (20:80 об./об.). Смеси центрифугировали, и объединяли супернатанты. Аликвоты анализировали с помощью 2900 TR жидкостного сцинтилляционного счетчика (LSC) (Packard Instruments, Meridian, CT). Эффективность экстракции рассчитывали как

эффективность экстракции (%)=(число распадов в минуту в супернатанте/число распадов в минуту в образце плазмы) $\times$ 100.

Супернатанты, полученные при экстракции, выпаривали досуха в токе азота на водяной бане с температурой окружающей среды. Затем осадок восстанавливали в 0,35-0,5 мл MeOH:ACN:вода (10:20:70 об./об./об.). Восстановленные образцы центрифугировали при 15000 об/мин в течение 10 мин и анализировали аликвоты с помощью LSC для эффективности восстановления.

Эффективность восстановления (%)=(число распадов в минуту в восстановленном растворе/число распадов в минуту в супернатанте) $\times$ 100.

Приготовление образцов плазмы.

Меченные радиоактивным изотопом и немеченные радиоактивным изотопом образцы плазмы извлекали с использованием того же способа с помощью 1,0-2 мл образцов плазмы в зависимости от доступного объема и уровня радиоактивности образцов. Супернатанты выпаривали досуха в токе азота на водяной бане с температурой окружающей среды, и остаток восстанавливали в 0,35-0,5 мл MeOH:ACN:воды (10:20:70 об./об./об.). Восстановленные образцы центрифугировали при 15000 об/мин в течение 10 мин. Аликвоты супернатантов вводили в ВЭЖХ систему для анализа.

Приготовление образцов и радиоактивное восстановление мочи человека.

Объединенные образцы мочи, собранные у субъекта (0-72, 168-192 и 312-336 ч после введения дозы), лиофилизировали в трех экземплярах (каждый по 4 мл), и остатки восстанавливали в 1 мл воды:ACN: FA (80:20:0,1 об./об./об.). Радиоактивность объединенной мочи и восстановленного раствора подсчитывали с помощью LSC и рассчитывали эффективность восстановления. Для профилирования, идентификации и подсчета радиоактивности метаболита анализировали образец мочи до введения дозы и 3 объединенных образца мочи (0-72 ч, 168-192 ч и 312-336 ч после введения дозы), собранные у каждого из шести субъектов. Каждый образец мочи лиофилизировали, остаток восстанавливали в воде:ACN:FA (80:20:0,1 об./об./об.), и восстановленный образец центрифугировали при 15000 об/мин в течение 10 мин перед анализом.

Приготовление образцов и радиоактивное восстановление мочи человека.

Для того чтобы оценить эффективность экстракции образцов кала, два образца гомогената кала, собранных у субъекта, оттаивали под биологической вытяжкой. Примерно 5,5-6 г гомогената кала точно отвешивали для извлечения. К гомогенатам кала добавляли 15 мл ACN:MeOH (80:20). Смеси встряхивали в течение 3 мин и центрифугировали при 3000 об/мин в течение 10 мин. Супернатанты переносили в чистые пробирки. Процедуру экстракции повторяли еще два раза. Объединяли супернатанты из всех трех экстракций.

Радиоактивность в объединенных супернатантах определяли посредством LSC. Эффективность экстракции рассчитывали с помощью следующей формулы:

Эффективность экстракции (%)=(число распадов в минуту в супернатанте/число распадов в минуту гомогената кала) $\times$ 100.

Супернатант концентрировали в токе азота при комнатной температуре, а остатки восстанавливали в MeOH:ACN:воде (10:20:70). Аликвоты восстанавливающего раствора подсчитывали посредством LSC для эффективности восстановления.

Эффективность восстановления (%)=(число распадов в минуту в восстанавливающем растворе/число распадов в минуту в супернатанте) $\times$ 100.

Общая эффективность (%) = Эффективность экстракции (%) × Эффективность восстановления (%) / 100.

Для профилирования, идентификации и подсчета радиоактивности метаболита образец кала до введения дозы и 3 объединенных образца кала (0-72, 168-192, 312-336 ч после введения дозы), собранные у каждого из шести субъектов, извлекали с помощью аналогичных процедур для эффективности экстракции. Супернатанты высушивали в токе азота, и остаток восстанавливали в воде: ACN:FA (80:20:0,1 об./об./об.). Восстановленные образцы центрифугировали при 15000 об/мин в течение 10 мин перед анализом.

Определение эффективности колонки для ВЭЖХ.

Определение эффективности колонки для ВЭЖХ проводили, чтобы продемонстрировать, что все радиоактивные компоненты эффективно элюировали из колонки с помощью способа 1 ВЭЖХ. Аликвоты образцов мочи (субъект 1042, 24-48 ч после введения дозы) вводили в систему ВЭЖХ с или без колонки, и элюенты, собранные в диапазоне 0-30 мин, собирали в чистые 50 мл центрифужные пробирки. После сбора получали массы элюента из каждого ввода, и дублированные аликвоты (1 мл) подсчитывали посредством LSC. Среднее значение подсчетов использовали для расчета общей радиоактивности, содержащейся в собранном элюенте с или без установленной колонки.

Эффективность колонки (%) = (число распадов в минуту в элюенте с колонкой / число распадов в минуту в элюенте без колонки) × 100.

Способ 3 ВЭЖХ применяли только для объединенной плазмы, и определение эффективности колонки не было выполнено из-за ограниченного объема доступных образцов.

Системы ВЭЖХ/МС/RFD и ВЭЖХ радиоанализа.

Система профилирования и идентификации метаболита (ВЭЖХ/МС/RFD) состояла из автоматического пробоотборника HTC PAL, ВЭЖХ-насоса Surveyor, линейного масс-спектрометра с ионной ловушкой LTQ и β-RAM модели 3 RFD. Полученные данные масс-спектрометрии и RFD обрабатывали посредством программного обеспечения Xcalibur и Laura Lite 3 соответственно. ВЭЖХ элюент разделяли между RFD и масс-спектрометром в соотношении 3:1. Ниже приведено краткое описание условий ВЭЖХ, масс-спектрометра и RFD.

#### Способ 1 ВЭЖХ/МС/RFD

<u>ВЭЖХ</u>		ВЭЖХ-насос Surveyor			
Тип колонки		Phenomenex Synergi Polar RP, 4, 6×250 мм, 4 мкм			
Подвижные фазы		А: H <sub>2</sub> O с 0,1% FA В: ACN с 0,1% FA			
•Градиентная программа	Время (мин)	А%	В%		
	0	80	20		
	2	80	20		
	22	30	70		
	23	5	95		
	27	5	95		
	28	80	20		
	34	80	20		
•Расход	800 мкл/мин				
•Время анализа	34 минуты				
<u>Масс-спектрометрия:</u>		Линейная	ионная	ловушка	Thermo
		Finnigan LTQ			
•Расход газа оболочки	50 единиц				
•Расход вспомогательного газа	20 единиц				
•Расход продувочного газа	10 единиц				
•Напряжение ионораспыления	5 кВ для ИЭР+; 4,3 кВ для ИЭР-				
•Капиллярная температура	300°C				
•Капиллярное напряжение	22 В для ИЭР+; -9 В для ИЭР-				
•Напряжение тубуса объектива	80 В для ИЭР+; -96 В для ИЭР-				
•Режим ионизации	ИЭР+, ИЭР-				
<u>Проточный радиодетектор:</u>		β-RAM Модель 3			
•Радионуклид	[ <sup>14</sup> C]				
•Объем клетки	400 мкл				

•Сцинтилляционная смесь	Ultima-Flo M, Perkin Elmer			
•Смесь/ВЭЖХ расход	3:1			
Способ 2 ВЭЖХ/МС				
<b>ВЭЖХ</b>	<b>ВЭЖХ-насос Surveyor</b>			
Тип колонки	Phenomenex Synergi Polar RP, 4,6x250 мм, 4 мкм			
Подвижные фазы	A: H <sub>2</sub> O с 0,1% FA B: ACN с 0,1% FA			
•Градиентная программа	Время (мин)	<b>A%</b>	<b>B%</b>	
	0	80	20	
	2	80	20	
	40	35	65	
	42	5	95	
	47	5	95	
	48	80	20	
	55	80	20	
•Расход	800 мкл/мин			
•Время анализа	55 минут			
<b>Масс-спектрометрия:</b>	Линейная	ионная	ловушка	Thermo
	Finnigan LTQ			
•Расход газа оболочки	50 единиц			
•Расход вспомогательного газа	20 единиц			
•Расход продувочного газа	10 единиц			
•Напряжение ионораспыления	5 кВ			
•Капиллярная температура	300°C			
•Капиллярное напряжение	22 В			
•Напряжение тубуса объектива	80 В			
•Режим ионизации	ИЭР+			
Способ 3 ВЭЖХ/МС				
<b>ВЭЖХ</b>	<b>ВЭЖХ-насос Surveyor</b>			
Тип колонки	Waters Xbridge phenyl, 4,6x150 мм, 3,5 мкм			
Подвижные фазы	A: H <sub>2</sub> O с 0,1% FA B: ACN с 0,15% FA			
•Градиентная программа	Время (мин)	<b>A%</b>	<b>B%</b>	
	0	80	20	
	2	80	20	
	40	30	70	
	42	5	95	
	47	5	95	
	48	80	20	
	55	80	20	
•Расход	800 мкл/мин			
•Время анализа	55 минут			
<b>Масс-спектрометрия:</b>	Линейная	ионная	ловушка	Thermo
	Finnigan LTQ			
•Расход газа оболочки	50 единиц			
•Расход вспомогательного газа	20 единиц			
•Расход продувочного газа	10 единиц			
•Напряжение ионораспыления	5 кВ			
•Капиллярная температура	300°C			
•Капиллярное напряжение	22 В			
•Напряжение тубуса объектива	80 В			
•Режим ионизации	ИЭР+			

Система ВЭЖХ-МС для МС высокого разрешения состояла из Michrom Bioresources Paradigm MS4B ВЭЖХ и масс-спектрометра Thermo LTQ Orbitrap Discovery. Хроматографические условия и па-

раметры источника ионов были такими же, как в способе 1 ВЭЖХ для системы LTQ. Данные получали с разрешением 30000 в центроидном режиме.

Систему ВЭЖХ/TopCount NXT™ применяли для подсчета радиоактивности образцов плазмы. Система состояла из автоматического пробоотборника HTC PAL, двух Shimadzu ВЭЖХ насосов и коллектора фракций Foxy Jr. Fraction Collector (Isco, Lincoln, NE). ВЭЖХ фракции, собранные в 96-луночный планшет LumaPlate™, высушивали с помощью персонального испарителя EZ-2plus (Genevac, Valley Cottage, New York), и высушенные образцы подсчитывали с помощью TopCount NXT™ Microplate Scintillation & Luminescence Counter (PerkinElmer®). Эти данные обрабатывали с использованием программного обеспечения ProFSA (PerkinElmer®). Способы ВЭЖХ были такими же, как описано выше.

Идентификация метаболита.

Метаболиты, которые представляли более чем 5% от общей радиоактивности или 5% от общего АУС в матрице, определяли в соответствии со следующим способом. Масс-спектры (МС, МС/МС и МС/МС/МС) кабозантиниба и стандартов его метаболита, предоставленные Exelixis, Inc., получали на масс-спектрометре с ионной ловушкой. Были предложены основные фрагменты модели. Идентификацию этих метаболитов подтверждали путем сопоставления масс-спектров (МС и МС/МС) и времен удерживания с подлинными эталонными образцами. Для других неизвестных метаболитов ионы молекул искали на хроматограммах ЖХ/МС, в полносканерных режимах как положительной, так и отрицательной ионизации при тех же временах удерживания, что и те, которые были обнаружены на ЖХ-радиохроматограмме. Получали масс-спектры ионных продуктов и масс-спектры высокого разрешения для соответствующих ионов молекул. Предлагали предполагаемые структуры метаболита на основе анализа их массовых фрагментов модели.

Количественное определение кабозантиниба и его метаболитов.

Количественное определение кабозантиниба и его метаболитов в объединенных или отдельных образцах из каждой матрицы в различные моменты времени или временные интервалы было основано на интеграции соответствующих пиков, найденных на их радиохроматограммах. Для образцов плазмы рассчитывали процент общей радиоактивности в образце для каждого пика в каждый момент времени и преобразовывали его в нг/мл.

Для количественного определения кабозантиниба и его метаболитов в плазме

$\text{нг/мл} = (\% \text{ от общей радиоактивности}) \times (\text{общее нг эквивалента/мл для временной точки}) / 100.$

Значения общего нг эквивалента/мл получали из результатов масс-балансного исследования человека.

Для объединенных образцов мочи процент общей радиоактивности в объединенном образце для каждого пика рассчитывали как % от общего исходного в объединенных образцах

$\% \text{ общего исходного в объединенных образцах} = (\text{общая радиоактивность пика} / \text{общая радиоактивность исходных пиков}) \times 100.$

Для объединенных образцов кала процент общей радиоактивности в объединенном образце для каждого пика рассчитывали как процент общего исходного плюс исходного в объединенных образцах:

$\% \text{ общего исходного плюс исходного в объединенных образцах} = (\text{общая радиоактивность пика} / \text{общая радиоактивность исходных и исходных пиков}) \times 100.$

Процент общей радиоактивности в объединенных образцах для каждого пика преобразовывали в процент исходного в объединенных образцах

$\% \text{ исходного в объединенных образцах} = (\text{общая радиоактивность пика} / \text{общая радиоактивность исходного пика}) \times 100.$

Предел количественного показателя для детектора радиоактивности определяли как отношение сигнала к шуму (3:1) на радиохроматограмме. Низкие пределы количественного показателя составляли 10 и 500 распадов в минуту для проточных радиодетекторов TopCount и  $\beta$ -RAM соответственно.

Результаты и их обсуждение.

Радиоактивная эффективность.

Начальную эффективность экстракции определяли с использованием образцов плазмы, полученных от субъекта через 4 ч и через 72 ч после введения дозы с тремя объемами MeOH:ACN (20:80), экстрагированными три раза. Средние значения эффективностей экстракции радиоактивности на 4-часовых и 72-часовых образцах составляли 98,43 и 94,99% соответственно. После окончательного высушивания и восстановления в растворе MeOH:ACN эффективность восстановления составляла 92,73 и 85,90% соответственно. Общие эффективности составляли 91,27 и 81,60% соответственно.

Эффективность центрифугирования мочи, определяемая с использованием собранных у субъекта образцов в диапазонах 0-8, 24-48, 72-96 и 120-144 ч после введения дозы, колебалась между 102 и 104%. Эффективность восстановления мочи после лиофилизации составляла 94,7% при использовании объединенных образцов от субъекта.

Для объединенных образцов кала, собранных в диапазоне 0-48 ч после введения дозы, эффективность экстракции, эффективность восстановления и общая эффективность составляла 98,48, 88,80 и 87,37% соответственно. Для объединенных образцов кала, собранных в диапазоне 120-168 ч после вве-

дения дозы, эффективность экстракции, эффективность восстановления и общая эффективность составляла 85,85, 87,69 и 75,24% соответственно.

Радиоактивная эффективность колонки ВЭЖХ для образца мочи составляла 97,05%.

Для расчета эффективности не применяли поправочный коэффициент для подсчета радиоактивности плазмы, мочи и кала.

Профилирование метаболита.

У субъекта кабозантиниба, соединение 9 (сульфат кабозантиниба) и соединение 19 (N-оксид кабозантиниба) демонстрировали основные пики на радиохроматограммах. Соединение 2 (продукт расщепления деметилированного и сульфатированного фторанилина) было основным метаболитом в образцах плазмы после 72 ч после введения дозы. Метаболит - соединение 7 (продукт расщепления фторанилина) приходится на один из второстепенных пиков. Метаболиты - соединения 7, 3 (деметилкабозантиниба глюкуронид В), 9 и 10 (продукт расщепления метилового эфира фторанилина) совместно элюировали с помощью способа 1 ВЭЖХ.

У субъекта собирали представленные профили метаболита мочи человека, радиохроматограммы (с использованием способа 1 ВЭЖХ) образцов мочи человека в диапазонах 0-72 ч, 144-192 ч и 288-336 ч после введения дозы. Метаболит - соединение 6 было основным метаболитом объединенных образцов мочи в диапазонах 0-72 ч, 144-192 ч и 288-336 ч после введения дозы. В дополнение к соединению 6 метаболиты соединения 1, 4, 5, 7 и 19 обнаружили в объединенном образце в диапазоне 0-72 ч после введения дозы. Метаболиты соединения 1, 4, 5, 7 обнаружили в объединенном образце в диапазоне 144-192 ч после введения дозы. Метаболиты соединения 1 и 5 обнаружили в объединенном образце в диапазоне 288-336 ч после введения дозы. Исходное соединение кабозантиниба в образцах мочи не обнаружили.

У субъекта собирали представленные профили метаболита кала человека, радиохроматограммы (с использованием способа 1 ВЭЖХ) образцов кала человека в диапазонах 0-72 ч, 144-192 ч и 288-336 ч после введения дозы. Исходный кабозантиниба и метаболиты - соединения 4, 7, 11 и 15 (включая соединение 16) обнаружили в объединенном образце в диапазоне 0-72 ч после введения дозы. Метаболиты - соединения 4, 7, 11, 15, 16 и 18 обнаружили в объединенном образце в диапазоне 144-192 ч после введения дозы. Метаболиты - соединения 4 и 11 обнаружили в объединенном образце в диапазоне 288-336 ч после введения дозы.

Идентификация метаболитов с использованием ВЭЖХ/МС анализа.

ВЭЖХ/МС анализ аутентичных стандартов с использованием способа 1 ВЭЖХ показал, что время удержания кабозантиниба, продукта расщепления фторанилина (соединение 7), сульфата (соединение 9) и N-оксида (соединение 19) составляло 20,3, 14,4, 16,5 и 23,1 мин соответственно.

Затем образцы плазмы, мочи и кала проанализировали посредством HPLC/МС, и соединения идентифицировали на основе их протонированных молекулярных ионов и схем фрагментации.

Идентификация метаболитов кабозантиниба и его метаболитов в плазме человека.

Масс-спектр пика в течение примерно 19,1 мин в ХИС показывал протонированные молекулярные ионы на m/z 502. Его спектры ион-продуктов показывали основные фрагменты на m/z 391, 323 и 297, что согласуется с тем стандартом кабозантиниба. Данные МС представлены в табл. 1 и 2.

Таблица 1  
ВЭЖХ радиохроматограмма времен удерживания метаболитов  
в образцах из одной пероральной дозы [<sup>14</sup>C] кабозантиниба

Соединение	Способ ВЭЖХ	Время удерживания (мин)
Стандарты		
7	1	14,13
9	1	16,45
I	1	20,26
19	1	23,06
Плазма		
1	1	4,13
2a/2b	1	9,33
4	1	11,87
5	1	12,80
6	1	13,47
7	1	14,13
9	1	14,67
I	1	18,67
19	1	23,47
Моча		
1	1	4,13
4	1	11,87
5	1	12,80
6	1	13,47
7	1	14,13

19	1	23,47
Кал		
4	1	12,67
7	1	13,47
11	1	16,07
15	1	17,67
I	1	19,60
18	1	21,03
Объединенные образцы Гамильтона		
Плазма		
9	3	17,36
7	3	19,32
8	3	19,32 (плечо)
19	3	25,20
I	3	37,52

**Таблица 2**  
**Данные MS для метаболитов с использованием ВЭЖХ**

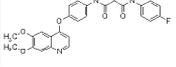
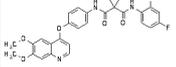
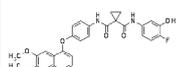
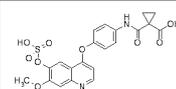
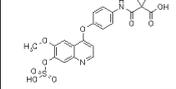
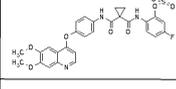
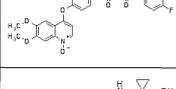
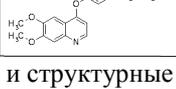
Соединение	Способ ВЭЖХ	Время удерживания ВЭЖХ	МС (m/z)
I	1	19,10	502
19	1	21,85	518
9	1	15,29	518 (потеря SO <sub>3</sub> от m/z молекулярного иона m/z при 598)
7	1	13,36	409
2a	1	10,70 (2a)	473, 395 (потеря SO <sub>3</sub> от m/z молекулярного иона m/z при 473)
3	2	15,87	488
8	2	19,43	488
10	2	33,56	423
5	1	13,00	489
6	1	13,39	393
15	1	17,60	488
16	1	17,60	518
13	1	16,45	518
12	1	16,45	518
17	1	18,43	518

Активность киназы метаболитов кабозантиниба.

Разбавление киназы.

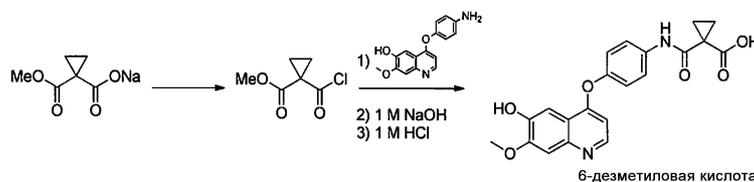
Активность киназы измеряли и профилировали посредством EMD Millipore в соответствии с Kinase Profiler Service Assay Protocols Protocol Guide Volume 57. Результаты приведены ниже в табл. 3. Ингибирование указано как IC<sub>50</sub> со следующим ключом: A=IC<sub>50</sub> менее 50 нМ, B=IC<sub>50</sub> более 50 нМ, но менее 500 нМ, C=IC<sub>50</sub> более 500 нМ, но менее 5000 нМ, и D=IC<sub>50</sub> более 5000 нМ. В зависимости от функциональности хиназолина или хинолина типичные соединения согласно настоящему изобретению обладают селективностью по любому из c-Met, KDR, c-Kit, flt-3 и flt-4. Сокращения для ферментов, приведенных в табл. 3, определяются следующим образом: c-Met обозначает рецепторную киназу фактора роста гепатоцитов; RET относится к RET протоонкогена киназы; KDR относится к рецептору домена киназной вставки тирозинкиназы; flt-1 alpha, flt-3 и flt-4, fms-подобные тирозинкиназы, представитель семейства FLK рецепторных тирозинкиназ и Aurola B MP относятся к Aurola B киназам. Когда вместо значения IC<sub>50</sub> указан процент, это указывает на процент ингибирования при 1 мкМ. Пустые ячейки в таблицах указывают только на отсутствие данных.

Таблица 3

ID соединения	МОЛЕКУЛЯРНАЯ СТРУКТУРА	Активность киназы						
		c-Met Std (IC50) (нМ)	RET Std (IC50) (нМ)	KDR Std (IC50) (нМ)	Flt-1 Alpha (IC50) (нМ)	Flt-3 Std (IC50) (нМ)	Flt-4 Std (IC50) (нМ)	Aurora B MP 8pt Std (IC50) (нМ)
Кабозантиниб		A	A	A	A	A	A	
16		A		A	C	A		B
13		A		A	C	A		B
2a		≥ 50% @ 1 мкМ	≤ 25% @ 1 мкМ	≤ 25% @ 1 мкМ	≤ 25% @ 1 мкМ	≤ 25% @ 1 мкМ	≥ 25% @ 1 мкМ	≤ 25% @ 1 мкМ
2b								
9		≥ 75% @ 1 мкМ	≥ 75% @ 1 мкМ	≤ 25% @ 1 мкМ	≥ 50% @ 1 мкМ	≥ 50% @ 1 мкМ	≥ 75% @ 1 мкМ	≥ 75% @ 1 мкМ
19		B		B		C		C
7		D		D		C		C

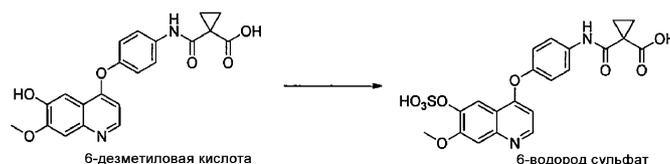
Синтез метаболита и структурные данные.

#### 6-Дезметиловая кислота



4-(4-Аминофенокси)-7-метоксихинолин-6-ол (15,0 г; 53,3 ммоль), который приготовили в соответствии со схемой 4, и карбонат калия (29,5 г; 213,3 ммоль; 4 экв.) суспендировали в сосуде в ТГФ (210 мл; 14 об.) и воде (90 мл; 6 об.) при 20°C. 1-(Метоксикарбонил)циклопропанкарбоксилат натрия (17,71 г; 106,6 ммоль; 2 экв.) суспендировали в отдельном сосуде в ТГФ (90 мл; 6 об.). Добавляли ДМФА (120 мкл, 3 мол.%) и охлаждали до температуры ниже 15°C. Добавляли оксалилхлорид (9,34 мл; 106,6 ммоль; 2 экв.) в течение 90 мин, и реакционную смесь выдерживали 2 ч при 10-15°C. Добавляли суспензию хлорангидрида к суспензии кабозантиниба в течение 2 ч при 20-25°C и выдерживали по меньшей мере в течение 3 ч, после чего анализ ВЭЖХ показал более чем 99% преобразование в смесь моно- и бискарбонилированного материала. Реакционную смесь фильтровали через целит, промывали ТГФ (30 мл; 2 об.) и разделяли слои. 1 М NaOH (150 мл; 10 об.) добавляли к верхнему слою ТГФ, и смесь нагревали при 40°C в течение 1 ч, после чего анализ ВЭЖХ показал более 99% омыленного продукта. Смесь охлаждали до 25°C, и удаляли верхний слой ТГФ. Водный слой подкисляли до pH 3-4 с помощью 1 М HCl, чтобы осадить продукт, и выдерживали в течение 1 ч. Осадок отфильтровывали, промывали водой (90 мл, 6 об.) и высушивали в вакууме (более 20 фунтов на квадратный дюйм) с продувкой азотом при 50°C с получением серовато-коричневатого порошка. <sup>1</sup>H ЯМР (DMCO-d<sub>6</sub>, 400 МГц) δ 10,8-11,0 (уш. с, 1H), 10,7 (с, 1H), 8,65 (д, J=6,9 Гц, 1H), 7,81 (д, J=9,3 Гц, 2H), 7,67 (с, 1H), 7,58 (с, 1H), 7,32 (д, J=9,3 Гц, 2H), 6,69 (д, J=6,9 Гц, 1H), 4,01 (с, 3H), 2,48-2,53 (м, 4H). MS (ИЭР-) m/z 393 [M-H].

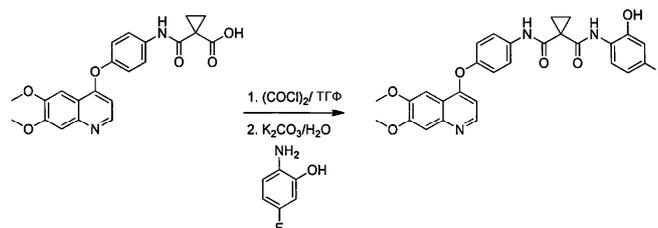
6-Водород сульфат 6-дезметиловая кислота



6-Дезметиловую кислоту (120 мг; 0,30 ммоль), гидроксид калия (118 мг; 2,1 ммоль; 7 экв.) и комплекс триоксида серы-триметиламина (292 мг; 2,1 ммоль; 7 экв.) растворяли в воде (3 мл; 25 об.) и нагревали до 70°C в течение 2 ч, после чего анализ с помощью ВЭЖХ показал преобразование больше чем 99%. Реакционную смесь затем охлаждали на ледяной бане и подкислили по каплям 1 н. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> приблизительно до pH 1. Суспензию выдерживали при 25°C в течение 1 ч, фильтровали, промывали водой (3 мл; 25 об.) и обезвоживали. Влажный осадок затем промывали ацетоном (3 мл; 25 об.) и высушивали при 35°C в вакууме (более 20 фунтов на квадратный дюйм) с продувкой азотом в течение 24 ч с получением порошка бежевого цвета.

В альтернативном варианте 6-дезметиловую кислоту (120 мг; 0,30 ммоль) суспендировали в MeCN (50 об., 6 мл) и добавляли триэтиламин (1,27 мл, 9,12 ммоль, 30 экв.), а затем охлаждали на бане со льдом. Добавляли по каплям хлорсульфоновую кислоту (101 мкл, 1,52 ммоль, 5 экв.), и затем реакционную смесь нагревали до 70°C в течение 1 ч, после чего анализ с помощью ВЭЖХ показал преобразование больше чем 98%. Реакционную смесь затем охлаждали на ледяной бане в течение 2 ч с образованием осадка. Осадок удаляли фильтрованием, прополаскивали холодной MeCN (50 об.). Раствор MeCN затем концентрировали до приблизительно 20 об. (примерно 2 мл), гасили 100 об. 1 н. HCl и охлаждали на бане со льдом с получением рафинированного осадка, который отфильтровывали, промывали 50 об. воды и 50 об. ацетона и высушивали при 35°C в вакууме (более 20 фунтов на квадратный дюйм) с продувкой азотом в течение 24 ч с получением порошка бежевого цвета. <sup>1</sup>H ЯМР (DMCO-d<sub>6</sub>, 400 МГц) δ 10,8 (с, 1H), 8,83 (д, J=5,9 Гц, 1H), 8,5 (с, 1H), 7,85 (д, J=8,5 Гц, 2H), 7,52 (с, 1H), 7,40 (д, J=8,5 Гц, 2H), 6,84 (д, J=5,9 Гц, 1H), 4,04 (с, 3H), 3,20-3,70 (уш. с, 1H), 1,39-1,48 (уш. с, 4H). MS (ИЭР-) m/z 473 [M-H], 236.

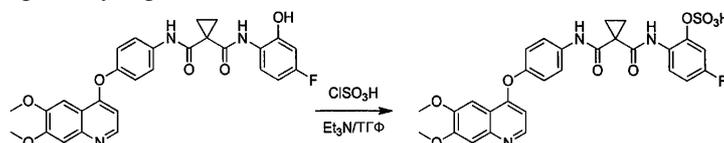
#### Ортогидроксикабозантиниб



В колбу помещали карбоновую кислоту (0,84 г; 2,1 ммоль), ТГФ (1,2 мл) и ДМФА (5 мкл) и охлаждали до 15°C. К этой суспензии по каплям добавляли оксалилхлорид (0,17 мл; 2,1 ммоль) в течение примерно 20 мин. Через 2 ч добавляли суспензию хлорангидрида в другой сосуд, содержащий перемешиваемую суспензию анилина (0,2 г, 1,6 ммоль), карбонат калия (0,63 г, 4,6 ммоль) в ТГФ (2, 8 мл) и воде (1 мл) в течение примерно 15 мин. Через 3 ч анализ ВЭЖХ показал полное превращение в продукт. Перемешивание прекращали, нижний водный слой удаляли и добавляли воду (30 мл), чтобы осадить продукт. Затем продукт собирали фильтрованием и промывали смесью 1:1 ТГФ-вода (2×10 мл) с получением бледно-серого твердого вещества. Затем его дополнительно очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле с применением смеси метанол/дихлорметан в качестве подвижной фазы.

В альтернативном варианте суспензию карбоновой кислоты (4,08 г; 10 ммоль), анилин (1,52 г; 12 ммоль) и триэтиламин (2,7 мл; 20 ммоль) в ацетонитриле (100 мл) обрабатывали EDAC (2,30 г; 12 ммоль) и НОВт (0,5 г; 3 ммоль). Суспензию перемешивали в течение ночи при комнатной температуре, и протекающие реакции контролировали с помощью ВЭЖХ. В конце реакции добавляли 150 мл воды, и выпавший осадок продукт собирали фильтрованием, промывали водой, а затем очищали посредством флэш-хроматографии. <sup>1</sup>H ЯМР (DMCO-d<sub>6</sub>, 400 МГц) δ 10,46 (уш. с, 1H), 10,29 (уш. с, 1H), 10,0 (уш. с, 1H), 8,47 (д, 1H), 7,92 (дд, 1H), 7,73 (дд, 2H), 7,51 (с, 1H), 7,40 (с, 1H), 7,28 (дд, 2H), 6,68 (дд, 1H), 6,62 (дт, 1H), 6,45 (д, 1H), 3,95 (с, 3H), 3,94 (с, 3H), 1,60-1,55 (м, 4H). <sup>13</sup>C ЯМР (DMCO-d<sub>6</sub>, 100 МГц) δ 169,82, 167,67, 159,91, 157,51, 152,58, 149,97, 149,35, 149,09, 148,98, 148,86, 146,49, 135,72, 123,00, 122,97, 122,91, 122,43, 121,30, 115,17, 107,86, 105,10, 104,87, 103,16, 102,43, 102,19, 99,08, 55,74, 55,71, 55,66, 30,02, 16,51. MS (APCI+) m/z 518,3 [M+H]<sup>+</sup>, 500,3.

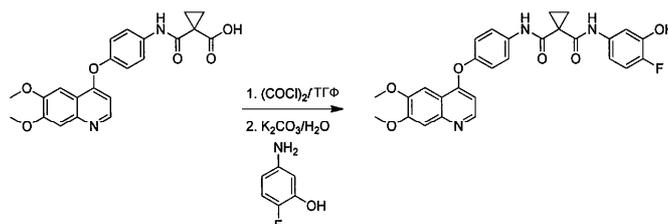
#### Кабозантинибгидроксисульфат



К суспензии гидроксикабозантиниба (0,95 г; 1,9 ммоль) в ТГФ (20 мл) добавляли триэтиламин (5

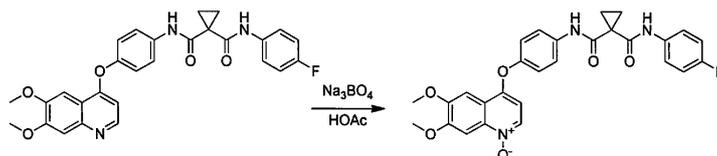
мл; 36 ммоль) и охлаждали до температуры ниже 5°C. Добавляли по каплям хлорсульфоновую кислоту (1 мл; 15 ммоль) так, чтобы температура оставалась ниже 10°C, в течение примерно 15 мин. После перемешивания в течение ночи при комнатной температуре анализ ВЭЖХ показал, что осталось примерно 5% исходного материала. Реакционную смесь обрабатывали водным раствором 1 н. HCl (25 мл). Выпавший в осадок продукт собирали фильтрованием, промывали водой (4×25 мл) и высушивали в вакууме с получением не совсем белого твердого вещества (937 мг; выход неочищенного продукта 82%). Анализ АН-ВЭЖХ показал, что продукт был 90,8% чистоты, основная примесь являлась исходным материалом. Продукт очищали до более чем 99% (АН-ВЭЖХ) с помощью препаративной ВЭЖХ на колонке C18 с использованием системы подвижной фазы водный ацетат аммония/ацетонитрил. <sup>1</sup>H ЯМР (DMCO-d<sub>6</sub>, 400 МГц) δ 10,39 (с, 1H), 9,69 (с, 1H), 8,81 (д, 1H), 7,95 (дд, 1H), 7,85 (д, 2H), 7,77 (с, 1H), 7,51 (с, 1H), 7,11 (с, 1H), 7,08 (дд, 1H), 6,93 (дд, 1H), 6,45 (д, 1H), 4,05 (с, 3H), 4,04 (с, 3H), 1,53 (с, 4H). МС (ИЭР-) m/z 596,0 [M-H]<sup>-</sup>.

#### Метагидроксикабозантиниб



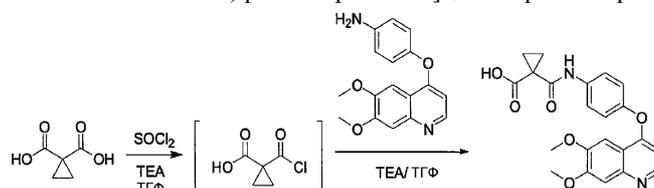
В колбу помещали карбоновую кислоту (0,84 г; 2,1 ммоль), ТГФ (1,2 мл) и ДМФА (5 мкл) и охлаждали до 15°C. К этой суспензии добавляли по каплям оксалилхлорид (0,17 мл; 2,1 ммоль) в течение примерно 20 мин. Через 2 ч добавляли суспензию хлорангирида в другой сосуд, содержащий перемешиваемую суспензию анилина (0,2 г, 1,6 ммоль), карбоната калия (0,63 г, 4,6 ммоль) в ТГФ (2, 8 мл) и воды (1 мл) в течение примерно 15 мин. Через 90 мин анализ ВЭЖХ показал полное превращение в продукт. Перемешивание прекращали, и нижний водный слой удаляли и экстрагировали этилацетатом (15 мл). Органические слои объединяли, высушивали над безводным MgSO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали с получением твердого вещества коричневого цвета. Твердое вещество затем дополнительно очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле с использованием смеси этилацетат/гептан в качестве подвижной фазы. <sup>1</sup>H ЯМР (DMCO-d<sub>6</sub>, 400 МГц) δ 10,15 (уш. с, 1H), 9,96 (уш. с, 1H), 9,89 (уш. с, 1H), 8,46 (д, 1H), 7,76 (д, 1H), 7,50 (с, 1H), 7,41 (д, 2H), 7,39 (с, 1H), 7,22 (д, 2H), 7,07-6,98 (м, 2H), 6,42 (д, 1H), 3,94 (с, 3H), 3,93 (с, 3H), 1,46 (уш. с, 4H). <sup>13</sup>C ЯМР (DMCO-d<sub>6</sub>, 100 МГц) δ 168,27, 167,95, 160,02, 152,56, 149,48, 149,33, 148,86, 148,56, 146,46, 146,21, 144,52, 144,39, 136,45, 135,33, 135,31, 122,23, 121,22, 115,63, 115,44, 115,15, 111,29, 110,26, 107,85, 103,04, 99,08, 55,73, 55,71, 31,66, 15,40. МС (APCI+) m/z 518,3 [M+H]<sup>+</sup>, 502,3.

#### N-Оксид кабозантиниба



В колбу помещали кабозантиниб (3,21 г; 6,4 ммоль), уксусную кислоту (32,1 мл) и тетрагидрат пербората натрия (1,98 г, 12,8 ммоль), нагревали до 65°C и перемешивали в течение ночи. После 24 ч анализ ВЭЖХ показал примерное соотношение 38:62 исходного материала:продукта. Добавляли еще окислитель (1,98 г, 12,8 ммоль), и нагревание продолжали в течение ночи. Растворители удаляли в вакууме, и остаток очищали с помощью флэш-хроматографии с использованием градиента дихлорметан-метанол (дихлорметан до 10% в смеси метанол-дихлорметан) с получением 0,95 г продукта в виде белого твердого вещества. <sup>1</sup>H ЯМР (DMCO-d<sub>6</sub>, 400 МГц) δ 10,20 (уш. с, 1H), 10,08 (уш. с, 1H), 8,28 (д, 1H), 7,90 (с, 1H), 7,74 (д, 2H), 7,64 (дд, 2H), 7,48 (с, 1H), 7,23 (д, 2H), 7,15 (т, 2H), 6,45 (д, 1H), 3,97 (с, 3H), 3,94 (с, 3H), 1,47 (уш. с, 4H). <sup>13</sup>C ЯМР (DMCO-d<sub>6</sub>, 100 МГц) δ 172,11, 168,18, 168,13, 159,49, 157,09, 153,34, 150,72, 150,57, 149,98, 137,41, 136,32, 135,24, 135,21, 134,06, 122,44, 122,36, 122,19, 120,65, 117,23, 11,17, 114,95, 104,37, 100,34, 99,12, 56,09, 56,03, 31,59, 15,42. МС (APCI+) m/z 518,3 [M+H]<sup>+</sup>.

#### 1-[4-(6,7-Диметоксихинолин-4-илокси)фенилкарбамоил]циклопропанкарбоновая кислота



К циклопропилдикарбоновой кислоте (449 мг, 3,45 ммоль) в ТГФ (3,5 мл) добавляли ТЕА (485 мкл,

3,45 ммоль). Полученный раствор перемешивали при комнатной температуре в атмосфере азота в течение 40 мин перед добавлением тионилхлорида (250 мкл, 3,44 ммоль). За ходом реакции следили с помощью ЖХМС в отношении образования монохлоргибрида (образец гасили MeOH и искали соответствующий монометилловый эфир). Через 3 ч перемешивания при комнатной температуре добавляли 4-(6,7-диметоксихинолин-4-илокси)фениламин (1,02 г, 3,44 ммоль) в виде твердого вещества, а затем добавляли еще ТГФ (1,5 мл). Реакционную смесь продолжали перемешивать при комнатной температуре в течение 16 ч. Полученную густую суспензию разбавляли этилацетатом (10 мл) и экстрагировали 1N NaOH. Двухфазную суспензию фильтровали, и водную фазу подкисляли концентрированной соляной кислотой до pH примерно 6 и фильтровали. Оба твердых вещества объединяли и промывали EtOAc, затем высушивали в вакууме. Желаемый продукт, 1-[4-(6,7-диметоксихинолин-4-илокси)фенилкарбамоил]циклопропанкарбоновую кислоту, получали (962 мг, 68,7% выход, 97% чистоты) в виде белого твердого вещества. <sup>1</sup>H ЯМР (D<sub>2</sub>O/NaOH): 7,97 (д, 1H), 7,18 (д, 2H), 6,76 (м, 4H), 6,08 (д, 1H), 3,73 (с, 3H), 3,56 (с, 3H), 1,15 (д, 4H).

В целях ясности и понимания вышеизложенное раскрытие было достаточно подробно описано с помощью иллюстраций и примеров. Настоящее изобретение было описано со ссылкой на различные конкретные и предпочтительные варианты реализации и способы. Тем не менее, следует понимать, что многие изменения и модификации могут быть сделаны, оставаясь в рамках сущности и объема настоящего изобретения. Для специалиста в данной области техники будет очевидно, что изменения и модификации могут быть в пределах объема прилагаемой формулы изобретения. Таким образом, следует понимать, что приведенное выше описание предназначено для того, чтобы быть иллюстративным, а не ограничивающим. Поэтому объем изобретения должен быть определен не посредством ссылки на приведенное выше описание, а вместо этого он должен быть определен посредством ссылки на следующую прилагаемую формулу изобретения вместе с полным объемом эквивалентов, на которые распространяются притязания согласно этой формуле изобретения.

#### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Выделенный метаболит кабозантиниба или его фармацевтически приемлемая соль, где выделенный метаболит представляет собой соединение, выбранное из

Номер соединения	Структура
16	
13	
2a	
2b	
9	
19	

или его фармацевтически приемлемую соль.

2. Выделенный метаболит по п. 1, который представляет собой

Номер соединения	Структура
16	

3. Выделенный метаболит по п.1, который представляет собой

Номер соединения	Структура
13	

4. Выделенный метаболит по п.1, который представляет собой

Номер соединения	Структура
2a	

5. Выделенный метаболит по п.1, который представляет собой

Номер соединения	Структура
2b	

6. Выделенный метаболит по п.1, который представляет собой

Номер соединения	Структура
9	

7. Выделенный метаболит по п.1, который представляет собой

Номер соединения	Структура
19	

8. Фармацевтическая композиция, содержащая терапевтически активный метаболит кабозантина, выбранный из группы, состоящей из

Номер соединения	Структура
16	
13	
2a	
2b	
9	
19	

или его фармацевтически приемлемую соль и по меньшей мере один фармацевтически приемлемый носитель.

9. Композиция по п.9, которая является подходящей для перорального введения.

10. Соединение, выбранное из

Номер соединения	Структура
16	
13	
2a	

2b	
9	
19	

или его фармацевтически приемлемая соль.

11. Способ идентификации метаболита кабозантиниба, включающий обнаружение или измерение уровня или концентрации метаболита N-(4-{{6,7-бис-(метилокси)хинолин-4-ил}окси}фенил)-N'-(4-фторфенил)циклопропан-1,1-дикарбоксиамида у млекопитающего в тканях или биологических жидкостях, полученных от млекопитающего; где метаболит выбран из группы, состоящей из

Номер соединения	Структура
16	
13	
2a	
2b	
9	
19	

или его фармацевтически приемлемой соли.

12. Способ по п.11, где биологические жидкости выбраны из группы, состоящей из плазмы, желчи, мочи и кала.

