



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 106928233 B

(45) 授权公告日 2021.02.12

(21) 申请号 201611248951.6

(22) 申请日 2016.12.29

(65) 同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 106928233 A

(43) 申请公布日 2017.07.07

(66) 本国优先权数据

201511030013.4 2015.12.31 CN

(73) 专利权人 上海医药集团股份有限公司

地址 201203 上海市浦东新区张江路92号

(72) 发明人 余建鑫 郝宇 张晶 赵菲

张乐多 刘振营 李供省 王余吉

陈娜 白蕊 范艺

(74) 专利代理机构 上海弼兴律师事务所 31283

代理人 薛琦 王卫彬

(51) Int. Cl.

C07D 487/04 (2006.01)

C07C 59/255 (2006.01)

C07C 51/41 (2006.01)

C07C 51/43 (2006.01)

A61K 31/4985 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61P 35/02 (2006.01)

(56) 对比文件

CN 104109166 A, 2014.10.22

CN 104903326 A, 2015.09.09

CN 101001825 A, 2007.07.18

WO 2004052370 A2, 2004.06.24

WO 2014139489 A1, 2014.09.18

CN 102225926 A, 2011.10.26

WO 9429274 A1, 1994.12.22

叶连宝. 基于c-Met靶点的抗肿瘤药物的设计与合成研究.《中国博士学位论文全文数据库医药卫生科技辑》.2014, (第4期), E079-1.

姜梦 等. 喹啉类蛋白酪氨酸激酶抑制剂的 研究进展.《化学试剂》.2013, 第35卷(第4期), 第 333-336页.

审查员 董静楠

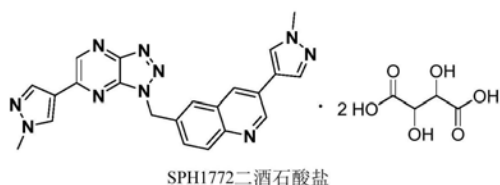
权利要求书4页 说明书28页 附图5页

(54) 发明名称

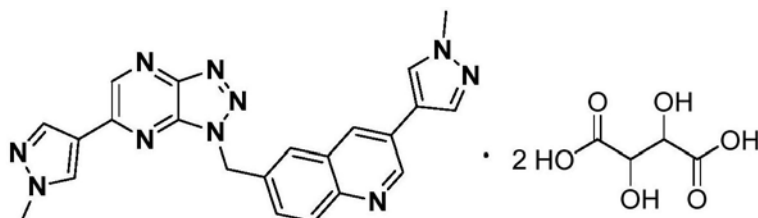
喹啉类化合物的盐, 其晶型、制备方法、组合物与应用

(57) 摘要

本发明公开了一种喹啉类化合物的盐, 其晶型、制备方法、组合物与应用。本发明的SPH1772二酒石酸盐或其晶型A可表出以下的优异的性质: 稳定性高, 生物利用率好, 药动学性质优异, 比SPH1772游离碱优异的体内药效。



1. 一种喹啉类化合物SPH1772二酒石酸盐的晶型A, 其特征在于, 以衍射角为 2θ 表示的X-射线粉末衍射图在 $7.089 \pm 0.2^\circ$ 、 $7.541 \pm 0.2^\circ$ 、 $9.150 \pm 0.2^\circ$ 、 $11.019 \pm 0.2^\circ$ 、 $14.163 \pm 0.2^\circ$ 、 $14.545 \pm 0.2^\circ$ 、 $16.589 \pm 0.2^\circ$ 、 $17.130 \pm 0.2^\circ$ 、 $17.825 \pm 0.2^\circ$ 、 $19.752 \pm 0.2^\circ$ 、 $20.283 \pm 0.2^\circ$ 、 $21.389 \pm 0.2^\circ$ 、 $21.598 \pm 0.2^\circ$ 、 $22.783 \pm 0.2^\circ$ 、 $23.161 \pm 0.2^\circ$ 、 $25.314 \pm 0.2^\circ$ 、 $25.789 \pm 0.2^\circ$ 、 $26.670 \pm 0.2^\circ$ 、 $26.927 \pm 0.2^\circ$ 、 $28.264 \pm 0.2^\circ$ 、 $28.758 \pm 0.2^\circ$ 、 $29.348 \pm 0.2^\circ$ 、 $31.248 \pm 0.2^\circ$ 、 $32.305 \pm 0.2^\circ$ 、 $33.048 \pm 0.2^\circ$ 、 $33.842 \pm 0.2^\circ$ 、 $35.343 \pm 0.2^\circ$ 和 $38.305 \pm 0.2^\circ$ 处有特征峰; 所述的X-射线粉末衍射中使用的靶型为Cu靶;



SPH1772二酒石酸盐

2. 如权利要求1所述的喹啉类化合物SPH1772二酒石酸盐的晶型A, 其特征在于, 所述的酒石酸为L-酒石酸。

3. 如权利要求1所述的喹啉类化合物SPH1772二酒石酸盐的晶型A, 其特征在于, 所述的SPH1772二酒石酸盐的晶型A的熔点为 202°C 。

4. 如权利要求1所述的喹啉类化合物SPH1772二酒石酸盐的晶型A, 其特征在于, 所述的SPH1772二酒石酸盐的晶型A的DSC显示 199.4°C 处有主要吸热峰。

5. 如权利要求1所述的喹啉类化合物SPH1772二酒石酸盐的晶型A, 其特征在于, 所述的SPH1772二酒石酸盐的晶型A在以衍射角为 2θ 表示的X-射线粉末衍射图的特征峰和相对强度值如下表所示:

$2\theta^\circ[\pm 0.2^\circ]$	相对强度%
7.089	30.7
7.541	100.0
9.150	31.2

11.019	28.8
14.163	22.3
14.545	75.7
16.589	29.4
17.130	24.5
17.825	10.6
19.752	8.1
20.283	32.9
21.389	24.9
21.598	21.7
22.783	12.8
23.161	6.3
25.314	29.5
25.789	22.3
26.670	8.5
26.927	8.9
28.264	6.3
28.758	25.1
29.348	10.5
31.248	3.4
32.305	6.5
33.048	3.1
33.842	4.6
35.343	3.5
38.305	4.4

。

6. 如权利要求1所述的喹啉类化合物SPH1772二酒石酸盐的晶型A,其特征在于,所述的

SPH1772二酒石酸盐的晶型A在以衍射角为 2θ 表示的X-射线粉末衍射图基本上如图1所示。

7. 如权利要求1所述的喹啉类化合物SPH1772二酒石酸盐的晶型A,其特征在于,所述的SPH1772二酒石酸盐的晶型A的红外光谱在 3415.3cm^{-1} , 3225.4cm^{-1} , 3117.1cm^{-1} , 2356.6cm^{-1} , 1742.6cm^{-1} , 1714.0cm^{-1} , 1579.5cm^{-1} , 1541.8cm^{-1} , 1191.2cm^{-1} , 1135.7cm^{-1} , 1076.4cm^{-1} , 873.7cm^{-1} 和 608.2cm^{-1} 波长处有吸收峰。

8. 如权利要求1~7任一项所述的喹啉类化合物SPH1772二酒石酸盐的晶型A的制备方法,其特征在于,包括以下步骤:有机溶剂中,将化合物SPH1772与酒石酸进行反应,即可;其中,所述的有机溶剂为酯类溶剂;所述的酯类溶剂为乙酸乙酯。

9. 如权利要求8所述的制备方法,其特征在于,
所述的有机溶剂与所述的SPH1772的体积质量比为 $40\text{mL/g} \sim 80\text{mL/g}$;
和/或,所述的SPH1772与所述的酒石酸的摩尔比为 $1:2.0 \sim 1:2.2$;
和/或,所述反应的温度为 $40 \sim 60^\circ\text{C}$;
和/或,所述反应的时间为 $24\text{h} \sim 72\text{h}$ 。

10. 如权利要求9所述的制备方法,其特征在于,
所述的有机溶剂与所述的SPH1772的体积质量比为 $60 \sim 70\text{mL/g}$;
和/或,所述的SPH1772与所述的酒石酸的摩尔比为 $1:2.1$;
和/或,所述反应的温度为 50°C ;
和/或,所述反应的时间为 $24\text{h} \sim 48\text{h}$ 。

11. 如权利要求8所述的制备方法,其特征在于,所述的SPH1772二酒石酸盐的晶型A的制备方法包括以下步骤:将所述的酒石酸加入到“所述的化合物SPH1772和所述的有机溶剂的混合物”中,反应即可。

12. 如权利要求11所述的制备方法,其特征在于,所述的酒石酸的加入时间为 $1 \sim 5\text{min}$;
和/或,当所述的酒石酸以“酒石酸的所述有机溶剂的溶液”形式参与反应时,所述“酒石酸的所述有机溶剂的溶液”中,所述的有机溶剂与所述的酒石酸的体积摩尔比为 $3.5:1 \sim 4.5:1\text{mL/mmol}$;

和/或,当所述的酒石酸以“酒石酸的所述有机溶剂的溶液”形式参与反应时,“酒石酸的所述有机溶剂的溶液”的加入速率为 $1 \sim 5\text{mL/min}$;

和/或,所述的SPH1772二酒石酸盐的晶型A的制备方法中,所述的反应结束之后还包括以下后处理的步骤:将反应液过滤,得到所述的SPH1772二酒石酸的晶型A,即可。

13. 如权利要求12所述的制备方法,其特征在于,所述的酒石酸的加入时间为 2min ;
和/或,当所述的酒石酸以“酒石酸的所述有机溶剂的溶液”形式参与反应时,所述“酒石酸的所述有机溶剂的溶液”中,所述的有机溶剂与所述的酒石酸的体积摩尔比为 $4:1\text{mL/mmol}$;

和/或,当所述的酒石酸以“酒石酸的所述有机溶剂的溶液”形式参与反应时,“酒石酸的所述有机溶剂的溶液”的加入速率为 2.5mL/min 。

14. 如权利要求1~7任一项所述的SPH1772的二酒石酸盐的晶型A在制备酪氨酸激酶c-Met抑制剂中的应用。

15. 如权利要求1~7任一项所述的SPH1772的二酒石酸盐的晶型A在制备治疗和/或预防与酪氨酸激酶c-Met的过表达相关疾病的药物中的应用。

16. 如权利要求1~7任一项所述的SPH1772的二酒石酸盐的晶型A在制备治疗和/或预防与酪氨酸激酶c-Met的活性相关疾病的药物中的应用。

17. 一种药物组合物, 其特征在于, 包括如权利要求1~7任一项所述的SPH1772的二酒石酸盐的晶型A以及药学上可接受的辅料。

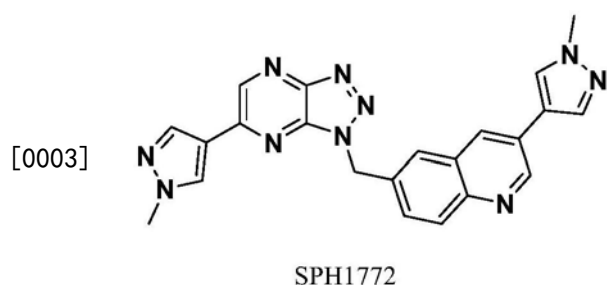
喹啉类化合物的盐,其晶型、制备方法、组合物与应用

技术领域

[0001] 本发明涉及一种喹啉类化合物的盐,其晶型、制备方法、组合物与应用。

背景技术

[0002] 化合物3-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-6-(6-(1-甲基-1H-吡唑-4-基)-1H-[1,2,3]三唑并[4,5-b]吡嗪-1-基)甲基)喹啉,简称SPH1772(结构如下式所示),该化合物已经公开于专利CN104109166A中。SPH1772是肝细胞生长因子(HGF)受体酪氨酸激酶c-Met的高效选择性的研究性口服不可逆抑制剂。SPH1772正在被开发治疗若干实体肿瘤,包括非小细胞肺癌(NSCLC)、肝癌、肠癌和卵巢癌,和各种其他癌症。



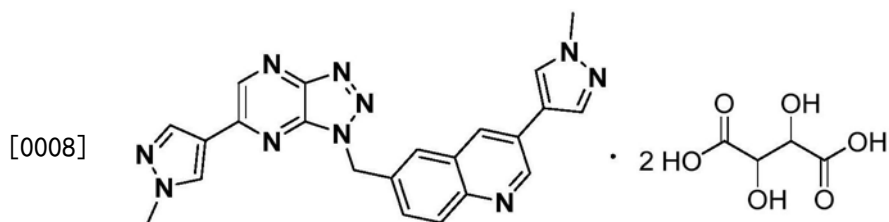
[0004] 多晶型现象(不同晶体形式的出现)是某些分子和分子复合体的性质。单分子可能导致具有不同晶体结构和物理性质的各种多晶型,所述物理性质像熔点、热行为(例如通过热重分析-“TGA”、或差示扫描量热法(DSC)测定)、X射线粉末衍射(XRPD或粉末XRD)图、红外线吸收指纹以及固态核磁共振(NMR)光谱。这些技术中的一种或多种可以用于区别化合物的不同多晶型物。

[0005] 发现可以提供具有合意加工性质的材料,所述的合意处理性质如易于处理、易于加工、存储稳定性和易于提纯或用作促进转化成其他多晶型物的合意的中间晶体形式。可药用化合物或其盐的多晶型物和溶剂化物也可提供改进药物的性能特征的机会。其扩展了制剂研究员可用于例如通过向产品提供不同的性质(例如,更佳加工或处理特征,改善的溶解特征,或改善的储存期限)来制剂优化的材料清单。至少出于这些原因,需要SPH1772游离碱和其盐的固态形式。

发明内容

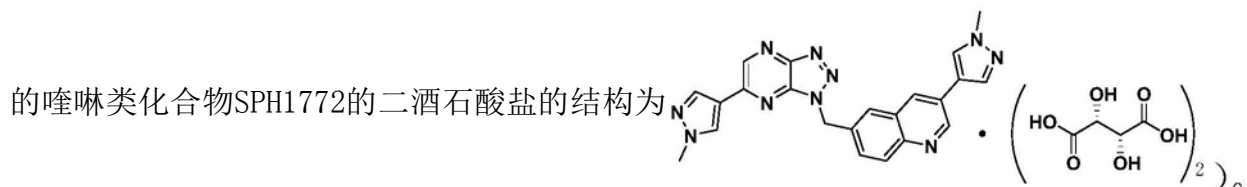
[0006] 本发明提供了一种喹啉类化合物的盐,其晶型、制备方法、组合物与应用。本发明的SPH1772二酒石酸盐或其晶型A可表出以下的优异的性质:稳定性高,生物利用率好,药动学性质优异,比SPH1772游离碱优异的体内药效。

[0007] 本发明提供了一种喹啉类化合物SPH1772的二酒石酸盐,



SPH1772二酒石酸盐

[0009] 所述的喹啉类化合物SPH1772的二酒石酸盐中的酒石酸优选为L-酒石酸(即所述



[0010] 本发明提供了一种如上所述的SPH1772二酒石酸盐的晶型A,其以衍射角为 2θ 表示的X-射线粉末衍射图在 $7.5 \pm 0.2^\circ$ 、 $9.2 \pm 0.2^\circ$ 、 $14.5 \pm 0.2^\circ$ 、 $16.6 \pm 0.2^\circ$ 、 $20.3 \pm 0.2^\circ$ 和 $28.8 \pm 0.2^\circ$ 处有特征峰;所述的X-射线粉末衍射中使用的靶型为Cu靶。

[0011] 优选地,所述的SPH1772二酒石酸盐的晶型A以衍射角为 2θ 表示的X-射线粉末衍射图在如表1左侧栏所示的数值处有特征峰:

[0012] 表1:SPH1772二酒石酸盐的晶型A的XRPD峰列表

[0013]

2 θ °[$\pm 0.2^\circ$]	相对强度%
7.089	30.7
7.541	100.0
9.150	31.2
11.019	28.8
14.163	22.3
14.545	75.7
16.589	29.4
17.130	24.5
17.825	10.6
19.752	8.1
20.283	32.9
21.389	24.9
21.598	21.7
22.783	12.8
23.161	6.3
25.314	29.5
25.789	22.3
26.670	8.5
26.927	8.9
28.264	6.3
28.758	25.1
29.348	10.5
31.248	3.4
32.305	6.5
33.048	3.1

[0014]	33.842	4.6
	35.343	3.5
	38.305	4.4

[0015] 作为优选,所述的SPH1772二酒石酸盐的晶型A在以衍射角为 2θ 表示的X-射线粉末衍射图的特征峰和相对强度值如表1所示。

[0016] 作为优选,所述的SPH1772二酒石酸盐的晶型A在以衍射角为 2θ 表示的X-射线粉末衍射图如图1所示。

[0017] 作为优选,所述的SPH1772二酒石酸盐的晶型A的熔点为 202°C 。

[0018] 作为优选,所述的SPH1772二酒石酸盐的晶型A的DSC显示 199.4°C 处有主要吸热峰(DSC为差示扫描量热法)。

[0019] 本发明中喹啉类化合物SPH1772二酒石酸盐的制备,本领域技术人员根据本申请实施例公开的内容及本领域常识进行制备。

[0020] 本发明还提供了所述的SPH1772二酒石酸盐的晶型A的制备方法,包括以下步骤:有机溶剂中,将化合物SPH1772与酒石酸进行反应,即可;其中,所述的有机溶剂为醇类溶剂、酯类溶剂、DCM:MeOH=6:1~9:1v/v、醚类溶剂或酮类溶剂。

[0021] 所述的SPH1772二酒石酸盐的晶型A的制备方法中,所述的醇类溶剂优选甲醇;所述的酯类溶剂优选乙酸乙酯;所述的醚类溶剂优选四氢呋喃;所述的酮类溶剂优选丙酮。所述的有机溶剂与所述的SPH1772的体积质量比优选 $40\text{mL/g}\sim 80\text{mL/g}$,更优选 $60\sim 70\text{mL/g}$;所述的SPH1772与所述的酒石酸的摩尔比优选 $1:2.0\sim 1:2.2$,更优选 $1:2.1$;所述的反应的温度优选 $40\sim 60^{\circ}\text{C}$,更优选 50°C ;所述的反应的时间优选 $24\text{h}\sim 72\text{h}$,更优选 $24\text{h}\sim 48\text{h}$ 。

[0022] 所述的SPH1772二酒石酸盐的晶型A的制备方法中,优选包括以下步骤:将所述的酒石酸加入到“所述的化合物SPH1772和所述的有机溶剂的混合物”中,反应即可。所述的酒石酸的加入时间优选 $1\sim 5\text{min}$,更优选 2min ;所述的酒石酸还可以以“酒石酸的所述有机溶剂的溶液”形式参与反应,所述“酒石酸的所述有机溶剂的溶液”中,所述的有机溶剂与所述的酒石酸的体积摩尔比优选 $3.5:1\sim 4.5:1\text{mL}/\text{mmol}$,更优选 $4:1\text{mL}/\text{mmol}$ 。当所述的酒石酸以“酒石酸的所述有机溶剂的溶液”形式参与反应时,“酒石酸的所述有机溶剂的溶液”的加入速率优选为 $1\sim 5\text{mL}/\text{min}$,更优选为 $2.5\text{mL}/\text{min}$ 。所述的化合物SPH1772和所述的有机溶剂的混合方式优选为将所述的化合物SPH1772加入到所述的有机溶剂中,得到“所述的化合物SPH1772和所述的有机溶剂的混合物”。

[0023] 所述的SPH1772二酒石酸盐的晶型A的制备方法中,所述的反应结束之后还可包括后以下处理的步骤:将反应液过滤,得到所述的SPH1772二酒石酸的晶型A,即可。其中,所述的过滤之后还可进一步包括用所述的有机溶剂洗涤滤饼的操作。所述的过滤之后还可进一步包括干燥滤饼的操作;所述的干燥优选真空干燥;所述的真空干燥的温度优选 $40\sim 60^{\circ}\text{C}$,更优选 50°C 。

[0024] 本发明提供了一种SPH1772二酒石酸盐的晶型B的制备方法,其由以下任一方法制备:

[0025] 方法一:将上述制备得到的SPH1772二酒石酸盐的晶型A进行气液渗透结晶实验,

即可;其中,良溶剂为THF:H₂O=19:1v/v;反溶剂为丁酮(MEK)。

[0026] 方法二,将上述制备得到的SPH1772二酒石酸盐的晶型A的1,4-二氧六环溶液,进行常温挥发结晶实验,即可。

[0027] 方法三,将上述制备得到的SPH1772二酒石酸盐的晶型A进行高聚物诱导结晶实验,即可;其中,当高聚物为聚乙烯吡咯烷酮(PVP):聚乙烯醇(PVA):聚氯乙烯(PVC):聚醋酸乙烯酯(PVAC):羟丙基甲基纤维素(HPMC):甲基纤维素(MC)的质量比为1:1:1:1:1:1时,溶剂为1,4-二氧六环;当高聚物为聚己内酯(PCL):聚乙二醇(PEG):聚甲基丙基酸甲酯(PMMA):海藻酸钠(SA):羟乙基纤维素(HEC)的质量比为1:1:1:1:1时,溶剂为1,4-二氧六环,或四氢呋喃:水=19:1v/v。

[0028] 本发明需要说明,气液渗透结晶实验是本领域中常规的一种晶型的制备方法,具体操作为:将装有“化合物的良溶剂的饱和溶液”的小器皿开口置于装有反溶剂的大器皿中,将大器皿密封、静置,当有固体析出的时候,收集固体即可;其中,小器皿不可以没入到大器皿中的反溶剂中。

[0029] 本发明所述的SPH1772二酒石酸盐的晶型B的制备方法的方法一中,优选与以下步骤:所述的SPH1772二酒石酸盐的晶型A的良溶剂的饱和溶液的制备方法可以为将SPH1772二酒石酸盐的晶型A与所述的良溶剂混合均匀,取上层清液即可;其中,所述的SPH1772二酒石酸盐的晶型A与所述的良溶剂的质量体积比优选4~6mg/mL。

[0030] 本发明需要说明,常温挥发结晶试验是本领域中常规的一种晶型的制备方法,具体操作为:将装有“化合物的溶剂的澄清溶液”的器皿用封口膜密封,置于室温下,将封口膜上刺几个(如2~4个)小孔后放置自然挥发,挥干后得到固体,即可。

[0031] 本发明所述的SPH1772二酒石酸盐的晶型B的制备方法的方法二中,所述的SPH1772二酒石酸盐的晶型A的1,4-二氧六环溶液的制备方法可以为:将所述的SPH1772二酒石酸盐的晶型A与1,4-二氧六环混合,取澄清液即可;所述的SPH1772二酒石酸盐的晶型A与1,4-二氧六环的质量体积比优选5~10mg/mL。

[0032] 本发明需要说明,高聚物诱导结晶试验是本领域中常规的一种晶型的制备方法,具体操作为:将化合物的溶剂的饱和溶液与高聚物混合充分后(一般采用超声使其混合充分),用封口膜盖住器皿并在上面扎孔,置于室温条件下挥发,收集固体,即可。

[0033] 本发明所述的SPH1772二酒石酸盐的晶型B的制备方法的方法三中,所述的SPH1772二酒石酸盐的晶型A的饱和溶液与所述的高聚物的体积质量比优选0.75:1~1.5:1。

[0034] 本发明还提供了一种由上所述的SPH1772二酒石酸盐的晶型B的制备方法制得的SPH1772二酒石酸盐的晶型B。

[0035] 本发明提供了一种SPH1772二酒石酸盐的晶型C的制备方法:其包括以下步骤:将所述的SPH1772二酒石酸盐的晶型A进行气固渗透结晶实验,即可;其中,溶剂为N,N-二甲基甲酰胺。

[0036] 本发明需要说明,气固渗透结晶实验是本领域中常规的一种晶型的制备方法,具体操作为:将装有化合物的小器皿开口置于装有溶剂的大器皿中,将大器皿密封、静置,当有固体析出的时候,收集固体即可。

[0037] 本发明所述的SPH1772二酒石酸盐的晶型C的制备方法中,所述的SPH1772二酒石

酸盐的晶型A与所述的溶剂的质量体积比优选4~7mg/mL,更优选5mg/mL。

[0038] 本发明还提供了一种由上所述的SPH1772二酒石酸盐的晶型C的制备方法制得的SPH1772二酒石酸盐的晶型C。

[0039] 本发明提供了一种SPH1772二酒石酸盐的晶型D的制备方法:其包括以下步骤:将上述制备得到的SPH1772二酒石酸盐的晶型A进行气固渗透结晶实验,即可;其中,溶剂为DMSO。

[0040] 本发明所述的SPH1772二酒石酸盐的晶型D的制备方法中,所述的SPH1772二酒石酸盐的晶型A与所述的溶剂的质量体积比优选4~7mg/mL,更优选5mg/mL。

[0041] 本发明还提供了一种由上所述的SPH1772二酒石酸盐的晶型D的制备方法制得的SPH1772二酒石酸盐的晶型D。

[0042] 本发明提供一种如上所述的SPH1772的二酒石酸盐制备酪氨酸激酶c-Met抑制剂的应用。

[0043] 本发明提供一种如上所述的SPH1772的二酒石酸盐在制备治疗和/或预防与酪氨酸激酶c-Met的过表达或活性相关疾病的药物中的应用。

[0044] 本发明提供一种如上所述的SPH1772二酒石酸盐的晶型A制备酪氨酸激酶c-Met抑制剂的应用。

[0045] 本发明提供一种如上所述的SPH1772二酒石酸盐的晶型A在制备治疗和/或预防与酪氨酸激酶c-Met的过表达或活性相关疾病的药物中的应用。

[0046] 本发明还提供一种药物组合物,其包括有效量的SPH1772的二酒石酸盐,以及药学上可接受辅料。

[0047] 本发明还提供一种药物组合物,其包括有效量的SPH1772二酒石酸盐的晶型A,以及药学上可接受辅料。

[0048] 本发明提供一种如上所述的SPH1772二酒石酸盐的晶型B、如上所述的SPH1772二酒石酸盐的晶型C和如上所述的SPH1772二酒石酸盐的晶型D中的一种或几种,在制备酪氨酸激酶c-Met抑制剂的应用。

[0049] 本发明提供一种如上所述的SPH1772二酒石酸盐的晶型B、如上所述的SPH1772二酒石酸盐的晶型C和如上所述的SPH1772二酒石酸盐的晶型D中的一种或几种,在制备治疗和/或预防与酪氨酸激酶c-Met的过表达或活性相关的疾病的药物中的应用。

[0050] 本发明还提供一种药物组合物,其包括如上所述的SPH1772二酒石酸盐的晶型B、如上所述的SPH1772二酒石酸盐的晶型C和如上所述的SPH1772二酒石酸盐的晶型D中的一种或几种,以及药学上可接受辅料。

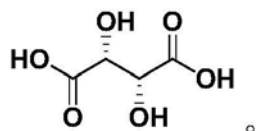
[0051] 本发明中,所述的药学上可接受辅料为本领域中的常规药用辅料,其选择因施途径和作用特点而异,较佳的包括填充剂、稀释剂、粘合剂、润湿剂、崩解剂、润滑剂、乳化剂、助悬剂。

[0052] 本发明中,所述的药物组合物可以口服、注射(静脉、肌肉、皮下和冠状动脉内)、舌下、经颊、经直肠、经尿道、经阴道、经鼻、吸入或局部途径施用。优选的途径是口服。

[0053] 本发明中,所述的与酪氨酸激酶c-Met的过表达或活性相关疾病为本领域中常规的由酪氨酸激酶c-Met的变化所引起的疾病,较佳的包括癌症、肌肉骨骼肉瘤、软组织肉瘤、造血系统恶性肿瘤和其他肿瘤。所述的癌症较佳的包括膀胱癌、乳腺癌、宫颈癌、结肠癌、食

道癌、胃癌、头颈癌、肾癌、肺癌、肝癌、鼻咽癌、卵巢癌、胰腺癌、前列腺癌和甲状腺癌；所述的肌肉骨骼肉瘤较佳的包括：骨肉瘤、滑膜肉瘤和横纹肌肉瘤；所述的软组织肉瘤较佳的包括：恶性纤维组织细胞瘤/纤维肉瘤、平滑肌肉瘤和卡波济氏肉瘤；所述的造血系统恶性肿瘤较佳的包括：多发性骨髓瘤、淋巴瘤、成人型T细胞白血病、急性骨髓性白血病和慢性粒细胞白血病；所述的其他肿瘤较佳的包括：胶质母细胞瘤、星形细胞瘤、黑色素瘤、间皮瘤和胚胎性癌肉瘤。

[0054] 本发明中的酒石酸如无特殊说明，一般指L-酒石酸。例如，所述的SPH1772的二酒石酸盐以及其A~D晶型中的酒石酸一般均为L-酒石酸盐。L-酒石酸的结构为



[0055] 本申请中喹啉类化合物SPH1772盐或其多晶型 (SPH1772的二酒石酸盐或其晶型A) 称为大体上通过“如图中所示”的图形数据表征，这些数据包括 (例如) 粉末X射线衍射图、FTIR光谱和固态NMR光谱。技术人员将理解，由于技术人员熟知的诸如仪器响应的变化和样品浓度和纯度变化之类因素，数据的这些图示可能经受诸如峰相对强度和峰位置之类的小变化。尽管如此，技术人员将容易能够将本文图中的图形数据与未知结晶形式产生的图形数据比较并且确认两组图形数据是表征相同的晶体形式或还是两种不同的晶体形式。SPH1772二酒石酸盐或其晶型A在本文被称为通过“如图中所示”图形数据表征，因此将被理解为可包括用具有与附图相比的这些微小变化 (如技术人员熟知) 的图形数据表征的SPH1772二酒石酸盐或其晶型A的任何结晶形式。

[0056] 术语XRPD和PXRD在科学文献中被粉末X射线衍射分析领域技术人员互换地使用，并且本申请在这两种表述或其缩写之间未做区别。

[0057] 如本文中所用，除非另外说明，否则使用铜K α 辐射波长 $\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$ 进行XRPD测定。

[0058] 物品 (例如反应混合物) 可能在本文中特征在于处于、或允许达到“室温”，通常缩写为“RT”。这意味着物品的温度接近于空间的温度，或与空间的温度相同，该空间例如该物品所位于的房间或通风橱。典型地，室温为约20℃至约30℃，或约22℃至约27℃，或约25℃。

[0059] 方法或步骤在本文可以被称为“过夜”。这是指例如方法或步骤的时间间隔，其跨越方法或步骤可能未被积极地观察时的夜晚时间。该时间间隔为约8至约20小时，或约10至18小时，典型地约16小时。

[0060] 如本文中所用，术语“减压”是指约10mbar至约50mbar的压力。

[0061] 如本文中所用，术语“分离”是关于以下任一种：本发明的SPH1772盐或其多晶型，并且对应于从其形成的反应混合物中物理分离的所述SPH1772或SPH1772盐多晶型。

[0062] 本发明涉及活性药用成分API (例如SPH1772的二酒石酸盐或其晶型A) 含有SPH1772的个别光学异构体，个别对映体的混合物或外消旋体。

[0063] 本发明的SPH1772的二酒石酸盐或其晶型A通常呈现降低的吸湿性。因为这些盐不像本领域中比较性盐那样强的吸水，所以他们在盖仑制剂中具有优点。

[0064] 优选地，本发明的SPH1772的二酒石酸盐的晶型A至少呈部分结晶形式，更高程度

的结晶度导致SPH1772更稳定的盐。

[0065] 优选地,本发明的SPH1772的二酒石酸盐的水含量小于0.1至8重量%、更优选地0.5至5重量%、还更优选0.8至3.5重量%。

[0066] 根据本发明SPH1772的二酒石酸盐或其晶型A优选以分离和基本上纯的形式例如>95重量%、优选>98重量%、更优选>99重量%的纯度存在。

[0067] 本发明的SPH1772二酒石酸盐或其晶型A优选以微粒形式存在。

[0068] 在不违背本领域常识的基础上,上述各优选条件,可任意组合,即得本发明各较佳实例。

[0069] 本发明所用试剂和原料均市售可得。

[0070] 本发明的积极进步效果在于:本发明的SPH1772二酒石酸盐或其晶型A可表出以下的优异的性质:稳定性高,生物利用率好,药动学性质好,比SPH1772游离碱优异的体内药效。

附图说明

[0071] 图1为SPH1772二酒石酸盐的晶型A的XRPD图。

[0072] 图2为SPH1772的晶型A的XRPD图。

[0073] 图3为SPH1772的晶型B的XRPD图。

[0074] 图4为SPH1772一酒石酸盐的晶型A的XRPD图。

[0075] 图5为效果实施例3中受试化合物在大鼠体内的药-时浓度曲线。

[0076] 图6为效果实施例3中受试化合物在大鼠体内的药-时浓度分布柱状图。

[0077] 图7为效果实施例3中受试化合物在大鼠体内达峰浓度柱状图。

[0078] 图8为MHCC97H人源肝癌模型中各治疗组和对照组小鼠肿瘤体积的生长变化曲线。

[0079] 图9为LU2503人源肺肿瘤小鼠模型中各治疗组和对照组的肿瘤体积变化曲线。

具体实施方式

[0080] 下面通过实施例的方式进一步说明本发明,但并不因此将本发明限制在所述的实施例范围之中。下列实施例中未注明具体条件的实验方法,按照常规方法和条件,或按照商品说明书选择。

[0081] 本申请效果实施例中,单位M的含义为mol/L,nM的含义为nmol/L,mM的含义为mmol/L。

[0082] 除了特别声明,下述实施例中涉及的酒石酸为L-酒石酸。

[0083] 除了特别声明,本发明的实施例涉及的设备及测试方法如下:

[0084] XRPD图:在PANalytical Empyrean粉末X射线衍射仪上分析样品;测定条件如下:

[0085]

参数	XRPD
X 射线	Cu, $k\alpha$, $K\alpha_1$ (Å): 1.540598; $K\alpha_2$ (Å): 1.544426
X 射线光管设定	$K\alpha_2/K\alpha_1$ 强度比例: 0.50
发散狭缝	45 千伏, 40 毫安
单色器	自动

[0086]

扫描模式	无
扫描范围(2θ)	连续
扫描步长(2θ)	$3^\circ \sim 40^\circ$
扫描时间(分钟)	0.013

[0087] 残余水分含量:根据如Ph.Eur.第6版,2008,章节2.5.12中所述Karl Fischer方法测定。使用Mettler Toledo DL31Karl Fischer滴定器进行测定。通常,分析50mg至100mg盐样品。

[0088] IR:漫反射模式的Perkin Elmer型

[0089] DSC:TA Q200/2000差示扫描量热仪;

[0090] TGA:TA Q500/5000热重分析仪

[0091]

参数	TGA	DSC
方法	线性升温	线性升温
样品盘	铂金盘,敞开	铝盘,压盖
温度范围	室温-设定温度	25°C -设定温度
扫描速率($^\circ\text{C}/\text{分钟}$)	10	10
保护气体	氮气	氮气

[0092] 熔点:Lab India Visual熔化范围装置;

[0093] HPLC:高效液相色谱

[0094] 高效液相色谱在Agilent 1100和1260HPLC上采集。

[0095]	参数	纯度	
	色谱柱	Agilent C18 (4.6 × 150 毫米 3.5 微米)	
	流动相	A: 0.1%三氟乙酸的水溶液	
		B: 0.1%三氟乙酸的乙腈溶液	
	梯度	时间 (分钟)	% B
		0.0	10
		10.0	30
[0096]		20.0	90
		22.0	90
		22.1	10
		25.0	10
	时间	25.0 分钟	
	后运行时间	0.0 分钟	
	流速	1.0 毫升/分钟	
	进样量	5 微升	
	检测波长	250 纳米(空白: 500 纳米)	
	柱温	30 °C	
	样品室温度	室温	
	稀释液	50 微升+乙腈	

[0097] 液态核磁 (Solution NMR): 液态核磁谱图在Bruker 400M核磁共振仪上采集, DMSO-d₆作为溶剂。

[0098] 实施例1: SPH1772的晶型A

[0099] 向配备有磁针、温度计和氮气球的三颈圆底烧瓶装填5.0g (11.8mmol) SPH1772和100ml DMF的混合物加热至110℃, 慢慢溶解至澄清溶液, 在此温度下继续搅拌30分钟, 停止加热并在室温下静置过夜。过滤, 滤饼用20ml DMF洗涤。将上述滤饼转移至配备有磁针、温度计和氮气球的三颈圆底烧瓶, 加入100ml无水乙醇。混合物加热至50℃, 并在此温度下继续搅拌2小时, 停止加热并在冷却至室温。过滤, 滤饼用20ml无水乙醇洗涤。置于真空干燥箱内50℃干燥2小时以提供4.0g (80%) 白色产品。SPH1772的晶型A的XRPD峰列表如下所示: XRPD图如图2所示。

[0100]	2 θ [$\pm 0.2^\circ$]	相对强度%
	9.374	31.0
	10.811	42.6
[0101]	12.219	1.6
	14.321	100.0
	16.239	72.2
	18.813	11.3
	19.546	44.8
	21.682	12.3
	23.673	9.5
	24.813	7.0
	27.005	29.4
	28.567	1.6
	35.797	1.9
	38.200	1.9

[0102] DSC显示273.0℃处的主要吸热峰。

[0103] IR (cm⁻¹): 3432.3, 1618.2, 1575.9, 1541.7, 1195.9, 1126.6, 1099.6, 917.8, 817.7 和 616.9。

[0104] 残余溶剂-未检测到。

[0105] 熔点=270.5℃。

[0106] ¹H NMR (δ ppm, DMSO-d₆, 400MHz) 9.22 (s, 1H), 9.17 (d, J=2.4Hz, 1H), 8.64 (s, 1H), 8.46 (d, J=1.6Hz, 1H), 8.37 (s, 1H), 8.31 (s, 1H), 8.07 (s, 1H), 7.99 (d, J=8.8Hz, 1H), 7.84 (d, J=1.2Hz, 1H), 7.76 (dd, J₁=8.4Hz, J₂=2.0Hz, 1H), 6.15 (s, 2H), 3.95 (s, 3H), 3.90 (s, 3H)。

[0107] 实施例2: SPH1772二酒石酸盐的晶型A的制备

[0108] 将乙酸乙酯(10ml)加入SPH1772游离碱250.8mg (0.59mmol) 并且该混合物在室温下搅拌以获得白色悬浊液, 经历两分钟的过程添加187.5mg (1.25mmol) 酒石酸在乙酸乙酯(5ml) 中的溶液。该混合物在50℃下搅拌24小时。过滤, 滤饼用MeOH (5ml) 漂洗, 将固体样品转移至50℃真空烘箱干燥过夜, 得370.5mg (86.3%收率) 的白色固体。

[0109] DSC显示199.4℃下的主要吸热峰。

[0110] XRPD图如图1所示, 具体XRPD峰列表如下:

[0111]

2 θ [$\pm 0.2^\circ$]	相对强度%
7.089	30.7
7.541	100.0
9.150	31.2
11.019	28.8
14.163	22.3
14.545	75.7
16.589	29.4
17.130	24.5
17.825	10.6
19.752	8.1
20.283	32.9
21.389	24.9
21.598	21.7
22.783	12.8
23.161	6.3
25.314	29.5
25.789	22.3
26.670	8.5
26.927	8.9
28.264	6.3
28.758	25.1
29.348	10.5

[0112]

31.248	3.4
32.305	6.5
33.048	3.1
33.842	4.6
35.343	3.5
38.305	4.4

[0113] IR (cm^{-1}): 3415.3, 3225.4, 3117.1, 2356.6, 1742.6, 1714.0, 1579.5, 1541.8, 1191.2, 1135.7, 1076.4, 873.7 和 608.2。

[0114] 残余溶剂-未检测到。

[0115] 熔点 = 202°C。

[0116] ^1H NMR 表明存在酒石酸盐。

[0117] ^1H NMR (δ_{ppm} , DMSO- d_6 , 400MHz) 9.22 (s, 1H), 9.18 (d, $J=0.4\text{Hz}$, 1H), 8.64 (s, 1H), 8.46 (d, $J=0.4\text{Hz}$, 1H), 8.37 (s, 1H), 8.31 (s, 1H), 8.07 (s, 1H), 7.99 (d, $J=0.8\text{Hz}$, 1H), 7.84 (d, $J=1.2\text{Hz}$, 1H), 7.76 (dd, $J_1=8.4\text{Hz}$, $J_2=2.0\text{Hz}$, 1H), 6.16 (s, 2H), 4.33 (s, 4H), 3.95 (s, 3H), 3.90 (s, 3H)。

[0118] 实施例3SPH1772酒石酸盐的多晶型研究

[0119] 本实施例中使用的SPH1772二酒石酸盐的晶型A均为实施例2制备得到。

[0120] 多晶型试验设置在96种条件下进行,包括反溶剂添加、室温搅拌法、气固渗透、气液渗透、缓慢降温、常温挥发和高聚物诱导等方法。试验中所得固体已全部分离表征。

[0121] (1) 反溶剂添加法:

[0122] 称取15毫克SPH1772二酒石酸盐的晶型A于20毫升小瓶中,加入相应良溶剂溶解固体后,边搅拌边逐滴添加反溶剂,有固体析出后离心分离固体。若加入15毫升反溶剂且搅拌过夜后仍无固体析出,则放置室温挥发分离出固体。具体反应的结果见表2:

[0123] 表2反溶剂添加的溶剂及晶型种类

[0124]

试验编号	良溶剂/反溶剂	良溶剂 (mL) /反溶剂 (mL)	晶型
SPH-A-1	THF/n-heptane	3.4/4.8	无定形
SPH-A-2	THF/toluene	3.4/12.0	无定形
SPH-A-3*	THF/EtOAc	3.4/12.0	无定形
SPH-A-4*	THF/MEK	3.4/12.0	无定形
SPH-A-5	1,4-dioxane/ CHCl ₃	2.6/12.0	无定形
SPH-A-6*	1,4-dioxane/ ACN	2.6/12.0	无定形
SPH-A-7	1,4-dioxane/IPA	2.6/12.0	无定形
SPH-A-8	(acetone:H ₂ O) /n-heptane	5.0/5.0	无定形
SPH-A-9	(acetone:H ₂ O) /EtOAc	5.0/10.0	SPH1772 一酒石酸盐晶型 A
SPH-A-10	NMP/toluene	0.6/12.0	无定形
SPH-A-11**	NMP/EtOAc	0.6/15.0	无定形
SPH-A-12*	NMP/MEK	0.6/15.0	SPH1772 的晶型 A
SPH-A-13	DMAc/CHCl ₃	2.0/12.0	无定形
SPH-A-14	DMAc/MTBE	2.0/15.0	SPH1772 的晶型 B
SPH-A-15*	DMAc/IPAc	2.0/15.0	SPH1772 的晶型 A
SPH-A-16*	DMSO/ACN	3.0/12.0	无定形
SPH-A-17**	DMSO/MIBK	3.0/12.0	无定形
SPH-A-18*	DMSO/EtOH	3.0/12.0	无定型

[0125] 注:表中acetone:H₂O=4:1, v/v;*表示固体由5℃搅拌过夜得到;**表示固体由室温挥发得到。

[0126] 反溶剂添加法在18种试验条件下进行,获得晶型包括SPH1772一酒石酸盐晶型A、SPH1772的晶型A、SPH1772的晶型B。

[0127] (2) 气固渗透的方法:

[0128] 称取10毫克SPH1772二酒石酸盐的晶型A于3毫升小瓶中,另在20毫升小瓶中加入2毫升溶剂,将3毫升小瓶敞口置于20毫升小瓶中后,将20毫升小瓶密封。室温下静置7天后收集固体。具体实验结果参见表3。

[0129] 表3、气固渗透试验的溶剂及获得晶型

[0130]

试验编号	溶剂	晶型
SPH-B-A1	H ₂ O	SPH1772二酒石酸盐晶型A
SPH-B-A2	DCM	SPH1772二酒石酸盐晶型A
SPH-B-A3	EtOH	SPH1772二酒石酸盐晶型A
SPH-B-A4	MeOH	SPH1772二酒石酸盐晶型A
SPH-B-A5	ACN	SPH1772二酒石酸盐晶型A
SPH-B-A6	THF	SPH1772二酒石酸盐晶型A
SPH-B-A7	CHCl ₃	SPH1772二酒石酸盐晶型A

SPH-B-A8	MEK	SPH1772二酒石酸盐晶型A
SPH-B-A9	Acetone	SPH1772二酒石酸盐晶型A
SPH-B-A10	DMF	SPH1772二酒石酸盐晶型C
SPH-B-A11	EtOAc	SPH1772二酒石酸盐晶型A
SPH-B-A12	1,4-Dioxane	SPH1772二酒石酸盐晶型A
SPH-B-A13	IPA	SPH1772二酒石酸盐晶型A
SPH-B-A14	DMSO	SPH1772二酒石酸盐晶型D

[0131] 气固渗透在14种试验条件下进行,获得晶型包括SPH1772二酒石酸盐的晶型A、SPH1772二酒石酸盐的晶型C、SPH1772二酒石酸盐的晶型D。

[0132] (3) 室温搅拌法:

[0133] 称取15毫克SPH1772二酒石酸盐的晶型A于1.5毫升小瓶中,加入1.0毫升不同溶剂或混合溶剂配成浑浊液,置于设定温度为25℃的磁力搅拌(转速为800rpm),约3.5天后离心分离固体,搅拌后变为澄清的样品则放置室温下挥发分离出固体。具体结果见表4:

[0134] 表4室温搅拌试验的溶剂及获得晶型

试验编号	溶剂	晶型
SPH-C-A1	EtOH	SPH1772 二酒石酸盐晶型 A
SPH-C-A2	IPA	SPH1772 二酒石酸盐晶型 A
SPH-C-A3	acetone	SPH1772 二酒石酸盐晶型 A
SPH-C-A4	MIBK	SPH1772 二酒石酸盐晶型 A
SPH-C-A5	EtOAc	SPH1772 二酒石酸盐晶型 A
SPH-C-A6	IPAc	SPH1772 二酒石酸盐晶型 A
SPH-C-A7	MTBE	SPH1772 二酒石酸盐晶型 A
SPH-C-A8	THF	SPH1772 二酒石酸盐晶型 A
SPH-C-A9	2-MeTHF	SPH1772 二酒石酸盐晶型 A

[0135]

SPH-C-A10	1,4-dioxane	SPH1772 二酒石酸盐晶型 A
SPH-C-A11	ACN	SPH1772 二酒石酸盐晶型 A
SPH-C-A12	DCM	SPH1772 二酒石酸盐晶型 A
SPH-C-A13	MEK	SPH1772 二酒石酸盐晶型 A
SPH-C-A14	MeOH	无定形
SPH-C-A15	MeOH/H ₂ O (aw=0.2)	SPH1772 二酒石酸盐晶型 A
SPH-C-A16	MeOH/H ₂ O (aw=0.4)	无定形
SPH-C-A17	MeOH/H ₂ O (aw=0.6)	无定形
SPH-C-A18	MeOH/H ₂ O (aw=0.8)	无定形
SPH-C-A19	H ₂ O	无定形

[0136]

[0137] 其中,aw表示水活度

[0138] 室温搅拌在19种条件下进行,获得晶型为SPH1772二酒石酸盐的晶型A。

[0139] (4) 50℃搅拌试验:

[0140] 称量15毫克每份的SPH1772二酒石酸盐的晶型A至1.5毫升玻璃小瓶中,分别加入0.5毫升表5中所列的溶剂,得到悬浮液在50℃下搅拌3.5天后,离心收集固体并进行XRPD测试。试验结果见表5。

[0141] 表5 50℃搅拌试验的溶剂及获得晶型如下表:

试验编号	溶剂	晶型
SPH-D-A1	EtOH	SPH1772 二酒石酸盐晶型 A
SPH-D-A2	IPA	SPH1772 二酒石酸盐晶型 A
SPH-D-A3	acetone	SPH1772 二酒石酸盐晶型 A
SPH-D-A4	MIBK	SPH1772 二酒石酸盐晶型 A
SPH-D-A5	EtOAc	SPH1772 二酒石酸盐晶型 A
[0142] SPH-D-A6	IPAc	SPH1772 二酒石酸盐晶型 A
SPH-D-A7	MTBE	SPH1772 二酒石酸盐晶型 A
SPH-D-A8	THF	SPH1772 二酒石酸盐晶型 A
SPH-D-A9	2-MeTHF	SPH1772 二酒石酸盐晶型 A
SPH-D-A10	1,4-dioxane	SPH1772 二酒石酸盐晶型 A
SPH-D-A11	ACN	SPH1772 二酒石酸盐晶型 A
SPH-D-A12	CHCl ₃	SPH1772 二酒石酸盐晶型 A
[0143] SPH-D-A13	MEK	SPH1772 二酒石酸盐晶型 A
SPH-D-A14	MeOH	无定形

[0144] 50℃搅拌在14种条件下进行,获得晶型为SPH1772二酒石酸盐的晶型A。

[0145] (5) 缓慢降温试验:

[0146] 称取30毫克SPH1772二酒石酸盐的晶型A于3毫升小瓶中,加入1.0毫升不同的溶剂,在50℃搅拌约2小时并过滤后得其饱和溶液,将该溶液以0.1℃/分钟降温至5℃后析出固体。未析出固体的样品至室温下进行挥发分离出固体。具体结果见表6。

[0147] 表6缓慢降温试验的溶剂及获得晶型

试验编号	溶剂 (v:v)	晶型
SPH-E-A1*	1,4-dioxane	无定形
SPH-E-A2	2-MeTHF	无定形
SPH-E-A3*	acetone	无定形
SPH-E-A4*	EtOAc	无定形
SPH-E-A5*	ACN	无定形
SPH-E-A6	THF/H ₂ O (19:1)	无定形

[0149] 注:*表示固体通过室温敞口挥发得到。

[0150] 缓慢降温在6种条件下进行,获得晶型为SPH1772酒石酸盐无定型。

[0151] (6) 气液渗透试验:

[0152] 称取15毫克SPH1772二酒石酸盐的晶型A于3毫升小瓶中,分别加入2.5毫升表7中的溶剂,过滤取上清液于3毫升小瓶中,另取20毫升的小瓶并向其中加入约3毫升的反溶剂,将3毫升小瓶敞口置于20毫升小瓶中,密封并于室温下静置。当观察到有固体析出时则取出固体测XRPD。具体结果见表7。

[0153] 表7气液渗透试验的溶剂及获得晶型

[0154]	试验编号	良溶剂/反溶剂	晶型
[0155]	SPH-F-A1	(THF:H ₂ O)/MEK	SPH1772 二酒石酸盐晶型 B
	SPH-F-A2	(THF:H ₂ O)/ACN	无定形
	SPH-F-A3	(THF:H ₂ O)/EtOH	无定形
	SPH-F-A4	1,4-dioxane/MEK	澄清
	SPH-F-A5	1,4-dioxane/n-heptane	无定形
	SPH-F-A6	1,4-dioxane/EtOAc	无定形
	SPH-F-A7	NMP/MeOH	SPH1772 的晶型 A
	SPH-F-A8	NMP/toluene	澄清
	SPH-F-A9	NMP/ACN	SPH1772 的晶型 A
	SPH-F-A10	DMSO/acetone	澄清
	SPH-F-A11	DMSO/IPA	澄清
	SPH-F-A12	DMAc/2-MeTHF	澄清
	SPH-F-A13	DMAc/CHCl ₃	澄清

[0156] 注:THF:H₂O=19:1, v/v。

[0157] 气液扩散在13种条件下进行,获得晶型包括SPH1772二酒石酸盐晶型B、SPH1772游离碱晶型A。

[0158] (7) 常温挥发结晶试验:

[0159] 称取15毫克化合物SPH1772二酒石酸盐的晶型A于3毫升小瓶中,加入1.5毫升-3.0毫升相应溶剂或混合溶剂配制成澄清溶液,或过滤后得到澄清液,置于在室温下用封口膜密封,刺2~4个小孔后放置自然挥发,挥干后得到固体。

[0160] 表8常温挥发结晶试验的溶剂及获得晶型

[0161]	试验编号	溶剂 (v:v)	晶型
	SPH-G-A1	THF	无定形
	SPH-G-A2	1,4-dioxane	SPH1772 二酒石酸盐的晶型 B
	SPH-G-A3	2-MeTHF	N/A
	SPH-G-A4	acetone/H ₂ O (9:4)	无定形
	SPH-G-A5	THF/H ₂ O (19:1)	无定形

[0162] 注:N/A表示固体量少。

[0163] 常温挥发在5种条件下进行,获得晶型为SPH1772酒石酸盐晶型B。

[0164] (8) 高聚物诱导结晶试验:

[0165] 称取15毫克化合物,分别配制成表9中所列溶于相应的良溶剂的饱和溶液,分装1.5~3.0毫升每份的饱和溶液至装有2毫克相应混合聚合物的3毫升小瓶中。超声使其混合充分后,用封口膜盖住小瓶并在上面扎孔,置于室温条件下挥发,收集所得固体进行XRPD测试。实验结果具体结果见表9。

[0166] 表9高聚物诱导结晶试验的溶剂及获得晶型

试验编号	溶剂 (v:v)	高聚物	晶型
SPH-H-A1	1,4-dioxane	高聚物 A	SPH1772 二酒石酸盐的晶型 B
SPH-H-A2	2-MeTHF		无定型
SPH-H-A3	acetone/H ₂ O (9:4)		无定型
SPH-H-A4	THF/H ₂ O (19:1)		无定型
SPH-H-A5	1,4-dioxane	高聚物 B	SPH1772 二酒石酸盐的晶型 B
SPH-H-A6	2-MeTHF		无定型
SPH-H-A7	acetone/H ₂ O (9:4)		无定型
SPH-H-A8	THF/H ₂ O (19:1)		SPH1772 二酒石酸盐的晶型 B

[0168] 注:高聚物A:聚乙烯吡咯烷酮(PVP),聚乙烯醇(PVA),聚氯乙烯(PVC),聚醋酸乙烯酯(PVAC),羟丙基甲基纤维素(HPMC),甲基纤维素(MC),质量比1:1:1:1:1:1。高聚物B:聚己内酯(PCL),聚乙二醇(PEG),聚甲基丙基酸甲酯(PMMA),海藻酸钠(SA),羟乙基纤维素(HEC),质量比1:1:1:1:1:1。

[0169] 高聚物诱导在8种条件下进行,获得晶型为SPH1772二酒石酸盐晶型B。

[0170] 本实施例中,根据XRPD结果:试验中共得到四种二酒石酸盐晶型(A~D),鉴定结果表明SPH1772二酒石酸盐的晶型A为无水晶型,SPH1772二酒石酸盐的晶型B和晶型C为SPH1772二酒石酸盐的歧化晶型,SPH1772二酒石酸盐的晶型D为DMSO溶剂合物。由于SPH1772二酒石酸盐的晶型B、晶型C和晶型D可能的弱稳定性,SPH1772二酒石酸盐的晶型A为优选晶型。同时还得到SPH1772一酒石酸盐的晶型A和SPH1772的晶型B,SPH1772一酒石酸盐的晶型A为无水晶型,SPH1772的晶型B为DMAc溶剂合物。具体表征数据如下:

[0171] (1) SPH1772一酒石酸盐的晶型A

[0172] DSC显示209.2℃处的主要吸热峰。残余溶剂:丙酮、乙酸乙酯-未检测到。熔点=202.1℃。¹H NMR确认SPH1772一酒石酸盐的晶型A。

[0173] ¹H NMR (δppm,DMSO-d₆,400MHz) 9.22 (s,1H), 9.18 (d,J=0.4Hz,1H), 8.64 (s,1H), 8.46 (d,J=0.4Hz,1H), 8.37 (s,1H), 8.31 (s,1H), 8.07 (s,1H), 7.99 (d,J=0.8Hz,1H), 7.84 (d,J=1.2Hz,1H), 7.76 (dd,J₁=8.4Hz,J₂=2.0Hz,1H), 6.15 (s,2H), 4.28 (s,2H), 3.93 (s,3H), 3.90 (s,3H)。

[0174] XRPD图如图4所示,具体XRPD峰列表如下:

[0175]	2θ° [±0.2°]	相对强度%
--------	-------------	-------

6.892	19.8
12.924	20.2
13.525	21.3
14.512	100.0
15.639	37.3
16.990	14.4
17.912	14.9
19.098	11.0
21.024	18.9

[0176] (2) SPH1772的晶型B

[0177] 熔点为263.2℃。DSC显示113.9℃、171.7℃和268.8℃处有主要吸热峰。残余溶剂：DMAc=51.5%。¹H NMR确认SPH1772的晶型B

[0178] ¹H NMR (δppm, DMSO-d₆, 400MHz) 9.22 (s, 1H), 9.17 (d, J=2.4Hz, 1H), 8.64 (s, 1H), 8.46 (d, J=1.6Hz, 1H), 8.37 (s, 1H), 8.31 (s, 1H), 8.07 (s, 1H), 7.99 (d, J=8.8Hz, 1H), 7.84 (d, J=1.2Hz, 1H), 7.76 (dd, J₁=8.4Hz, J₂=2.0Hz, 1H), 6.15 (s, 2H), 3.95 (s, 3H), 3.90 (s, 3H), 2.94 (s, 15H), 2.79 (s, 15H), 1.96 (s, 15H)。

[0179] XRPD图如图3所示, XRPD峰列表如下:

2-θ° [±0.2°]	相对强度%
10.511	24.3
13.156	19.6
17.057	100.0
18.631	27.0
28.781	3.1

[0181] 效果实施例1:c-Met酪氨酸激酶活性的抑制活性

[0182] 材料与试剂:

[0183] c-Met激酶, 购自Carna Biosciences, Inc. 货号:08-151;

[0184] 二甲基亚砜, 购自Sigma-Aldrich, 货号:D8418;

[0185] ATP, 购自Sigma-Aldrich, 货号:A7699;

[0186] DTT溶液, 购自Sigma-Aldrich, 货号:43816;

[0187] EDTA溶液, 购自GIBCO, 货号:15575;

[0188] 检测试剂盒HTRF kinEASE-TK kit及相关组分, 购自Cisbio Bioassays, 其中HTRF kinEASE-TK kit货号为:62TKOPEC;

[0189] 96孔化合物板, 购自Thermo Scientific, 货号:267245;

[0190] 384孔检测板, 购自Greiner Bio-One, 货号:784075;

[0191] 其他常规化学药品购自国药集团化学试剂有限公司。

[0192] 体外激酶分析采用均相时间分辨荧光HTRF (Homogeneous Time-Resolved Fluorescence) 技术, 在ATP浓度为K_m情况下, 分别在c-Met激酶上对受试化合物进行筛选。(其中, K_m代表米氏常数, 单位是mol/L, 酶促反应速度是最大反应速度一半时ATP的浓度。)

[0193] 检测过程中, 受试化合物初始浓度均选择为111.11nM, 各化合物均选择10个梯度

稀释浓度,梯度稀释倍数为3倍,每浓度2个复孔进行检测,采用INCB28060 (Capmatinib) 作为标准对照。

[0194] 所有样品采用DMSO配制成 10^{-2} M的贮备液,小量分装后保存于 -80°C 备用。

[0195] 实验方法:

[0196] 1、配制 $1\times$ 反应缓冲液(购买的反应缓冲液为高浓度的,使用时需要稀释,稀释成最终实验时所需浓度称为 $1\times$ 反应缓冲液。)

[0197] 采用HTRF kinEASE-TK kit中的 $5\times$ Enzymatic buffer,配制适合每种激酶所需要的 $1\times$ 反应缓冲液。

[0198] 2、 $5\times$ 化合物的配制与转移(例如:最终实验所需化合物浓度为 $1\mu\text{M}$,先配制成 $5\mu\text{M}$ 浓度的样品,称为 $5\times$ 化合物。)

[0199] 1) 化合物稀释:取 10mM 的受试化合物储存液,在96孔化合物板中,用DMSO将化合物分多步稀释,获得为初始浓度 $100\times$ 的化合物,之后再以此浓度化合物为第一个浓度,采用DMSO进行3倍梯度稀释,共稀释10个浓度;之后分别取 $1\mu\text{l}$ 的梯度稀释液加入 $19\mu\text{l}$ 的 $1\times$ 反应缓冲液中,配制成 $5\times$ 化合物备用;

[0200] 2) $5\times$ 化合物的转移:从96孔板中转移 $2\mu\text{l}$ 的 $5\times$ 化合物进入384孔板中;无化合物对照孔中加入 $2\mu\text{l}$ 的如下液体: $1\mu\text{l}$ 的DMSO加入 $19\mu\text{l}$ 的 $1\times$ 反应缓冲液;Min对照孔中加入 $2\mu\text{l}$ 的 250mM 的EDTA。

[0201] 本效果实施例中,受试化合物的c-Met酪氨酸激酶活性的抑制活性数据如表10所示:

[0202] 表10受试化合物对c-Met酪氨酸激酶活性的抑制活性数据

[0203]	化合物	c-Met IC_{50} (nM)
	INCB28060	0.56
	SPH1772 二酒石酸盐的晶型 A	0.33
	SPH1772 的晶型 A	0.27

[0204] SPH1772的晶型A和SPH1772二酒石酸盐的晶型A的c-Met酪氨酸激酶抑制 IC_{50} 比阳性参照化合物INCB28060更低,表明体外抑制活性高于INCB28060。

[0205] 效果实施例2人肺癌H1993细胞的增殖抑制活性

[0206] 材料与试剂:

[0207] Cell Counting Kit-8试剂盒,购自Dojindo,货号:CK04;

[0208] H1993人肺癌细胞,购自ATCC,货号:CRL-5909;

[0209] RPMI 1640,购自GIBCO,货号:11875-093;

[0210] Strep/pen,购自GIBCO,货号:15240-062;

[0211] 胎牛血清FBS,购自GIBCO,货号:10099-141;

[0212] 96孔细胞培养板,购自Corning,货号:3599;

[0213] 96孔化合物板,购自Thermo Scientific,货号:267245;

[0214] 其他常规化学药品购自国药集团化学试剂有限公司。

[0215] 本效果实施例中,我们采用Cell Counting Kit-8 (CCK-8) 试剂,在人肺癌H1993细胞株上进行了化合物SPH1772及其不同盐型对肿瘤细胞增殖的抑制筛选,以评价受试化合物对该细胞株体外增殖的抑制活性。

[0216] CCK-8是检测细胞增殖、细胞存活和细胞毒性的试剂盒,为MTT法的替代方法。检测过程中,受试化合物的初始浓度选择为111.11nM,选择9个梯度稀释浓度,梯度稀释倍数为3倍,每浓度2个复孔进行检测,采用INCB28060 (Capmatinib) 作为标准对照。

[0217] 所有样品采用DMSO配制成10⁻²M的贮备液,小量分装后保存于-80℃备用。

[0218] 实验方法:

[0219] 1、细胞培养与接种:实验第一天,取正常培养的细胞,在其指数生长状态下,消化分散后按照 5.5×10^4 cells/mL (表示55000个细胞每毫升) 的密度,接种于96孔细胞培养板中,每孔接种90μl;接种完成后将微孔板放置于37摄氏度,5%的CO₂的条件下培养过夜;

[0220] 2、加药处理细胞:实验的第二天,从培养箱中取出微孔板,向微孔板中的每个孔中各加入10×化合物,每孔加入10μL,其中每个给药浓度2个复孔,每个化合物共9个给药浓度。根据不同的细胞株,各化合物的起始浓度有所不同。

[0221] 3、数据的采集:化合物与细胞共同孵育72小时后,将含有细胞的微孔板从培养箱中取出,向每孔中加入10μl Cell Counting Kit-8反应液,将微孔板放入培养箱孵育2-3个小时。于Flexstation 3上测定在450nm处的吸光度值,设定650nm为参比波长。

[0222] 4、按下列公式对化合物的体外抑制活性进行计算:细胞增殖抑制率:抑制率(%) = (信号值对照 - 信号值给药) / 信号值对照 × 100%。并根据各浓度的抑制率,采用LOGIT法计算50%抑制浓度(50% inhibitory concentration, IC₅₀)。

[0223] 表11:受试化合物对H1993细胞株的体外增殖抑制作用

化合物	IC ₅₀ (nM)
INCB28060	2.1
SPH1772二酒石酸盐的晶型A	0.7
SPH1772的晶型A	0.5

[0225] SPH1772的晶型A和SPH1772二酒石酸盐的晶型A对H1993细胞的增殖抑制活性优于阳性参照化合物INCB28060,在nM水平以下就对H1993细胞株的体外增殖有较强的抑制作用。

[0226] 效果实施例3大鼠体内药物动力学分析

[0227] 药物、动物及试剂:

[0228] 分析用和动物实验用化合物由中央研究院药化室提供。乙腈为HPLC纯试剂(Merck),甲酸(HCOOH)为CNW公司生产的HPLC纯试剂。其它分析纯有机试剂均由中国医药(集团)上海化学试剂公司提供。分析用纯水由去离子水经MilliQ纯水仪制备而成。

[0229] SD大鼠,雄性,180~200g,由上海西普尔必凯实验动物有限公司提供。

[0230] 实验仪器:液相-质谱联用分析系统(LC/MS/MS)由Waters AcQuity UPLC串联API 4000Q-trap质谱检测器组成。

[0231] 实验方法:

[0232] 所有样品均使用DMSO超声加热至澄清,并配制成25nM溶液。

[0233] 所有样品均按照20μmol/kg的剂量给药。

[0234] SD大鼠分为3组,每组3只,分别灌胃给予20μmol/kgSPH1772二酒石酸盐的晶型A、SPH1772的晶型A和INCB28060盐酸盐(8mL/kg,2.5mM),分别于给药前和给药后5、15、30、60、90、120、240、360、480、720、1440min于大鼠眼底静脉丛取血0.4mL。血样于8000rpm离心5min,取血浆于离心管中-20℃保存备用。

[0235] 血浆样品处理:血浆样品50μL,加入200μL含内标的乙腈(普萘洛尔(PRO),2.5ng/ml)沉淀蛋白。涡旋10min,6000g离心10min,取上清用流动相5倍稀释后,于96孔板中进样。

[0236] 样品测定方法:

[0237] 1、仪器

[0238] 液相色谱系统:Acquity UPLC液相色谱系统(包括二元输液泵、自动进样器、柱温箱、脱气机),美国Waters公司。

[0239] MS/MS系统:API 4000Q-Trap型三重四极杆串联质谱仪,配备电喷雾电离源(ESI),美国Applied Biosystems公司

[0240] 数据采集:Analyst 1.5.1软件,美国Applied Biosystems公司

[0241] 2、LC条件

[0242] 分析柱:BEH C18column,1.7μm粒径,50x 2.1mm I.D.,美国Waters公司

[0243] 流速:0.3ml/min;进样量:2μl;柱温45℃。采用的梯度洗脱程序为:

时间 (min)	A (1MmNH ₄ FA-0.025%FA-H ₂ O)	B (1MmNH ₄ FA-0.025%FA-METH)
0	95%	5%
0.5	95%	5%
1	5%	95%
2	5%	95%
2.5	95%	5%
3	95%	5%

[0246] 3、MS条件

[0247] 离子源为电喷雾电离源(Turbo Ionspray,ESI);源喷射电压为5500V;温度为500℃;离子源气体1(N₂)压力为50psi;离子源气体2(N₂)压力为50psi;气帘气体(N₂)压力为20psi;碰撞气压力(CAD)为Medium;扫描时间为100ms;正离子方式检测;扫描方式为多反应监测(MRM),用于定量分析的离子反应及碰撞能量(CE)、去簇电压(DP)如下表所示:

化合物	Parent	product	DP	CE
普萘洛尔	260.1	116	76	26
SPH1772	423.2	222.1	60	23
INCB28060 盐酸盐	413.2	382.1	100	35

[0249] SPH1772在大鼠血浆中标准曲线线性范围为0.01~22.5μM,定量下限0.01μM。INCB28060盐酸盐在大鼠血浆中标准曲线线性范围为0.002~5μM,定量下限0.002μM。SPH1772二酒石酸盐的晶型A、SPH1772的晶型A和INCB28060盐酸盐的体药代参数参见表12~表14。受试化合物的药-时浓度曲线如图5所示,受试化合物在大鼠体内药-时浓度(AUC

(0-t)) 分布柱状图如图6所示;受试化合物在大鼠体内的达峰浓度 (C_{max}) 的分布柱状图7所示。

[0250] 表12 SPH1772二酒石酸盐的晶型A在大鼠体内血浆药物浓度

时间 (min)	血浆药物浓度 (uM)			均值 (uM)	标准差
	Rat1	Rat 2	Rat 3		
[0251] 5	0.251	0.157	0.403	0.27	0.12
15	1.94	1.34	2.93	2.07	0.80
30	4.18	2.56	5.36	4.03	1.41
60	6.67	9.67	7.16	7.83	1.61
90	8.95	10.9	8.59	9.48	1.24
[0252]	120	11.3	14.3	11.54	2.65
	240	17.5	12.9	15.57	2.39
	360	14.9	12.8	14.17	1.18
	480	8.81	7.72	9.34	1.95
	720	4.73	4.14	5.10	1.18
	1440	0.581	0.377	0.60	0.24

[0253] 表13 SPH1772的晶型A在大鼠体内血浆药物浓度

[0254]

时间(min)	血浆药物浓度 (uM)			均值 (uM)	标准差 SD
	Rat1	Rat 2	Rat 3		
5	0.0466	0.0589	0.0196	0.04	0.02
15	0.345	0.547	0.0526	0.31	0.25
30	0.834	0.982	0.153	0.66	0.44
60	1.4	1.77	0.327	1.17	0.75
90	2.45	2.86	0.449	1.92	1.29
120	3.68	3.91	0.538	2.71	1.88
240	8.06	13.2	1.22	7.49	6.01
360	6.67	17.1	1.56	8.44	7.92
480	3.28	13.3	0.922	5.83	6.57
720	1.38	5.78	0.228	2.46	2.93
1440	0.195	0.185	0.0208	0.13	0.10

[0255] 表14 INCB28060盐酸盐的晶型A在大鼠体内血浆药物浓度

[0256]

时间(min)	血浆药物浓度 (uM)			均值 (uM)	标准差 SD
	Rat1	Rat 2	Rat 3		
5	0.0153	0.0425	0.0222	0.03	0.01
15	0.399	0.732	0.448	0.53	0.18
30	0.784	1.32	0.99	1.03	0.27
60	0.616	1.21	0.897	0.91	0.30
90	0.394	0.961	0.835	0.73	0.30
120	0.305	0.725	0.758	0.60	0.25
240	0.465	0.333	0.495	0.43	0.09
360	0.193	0.148	0.211	0.18	0.03
480	0.0885	0.042	0.107	0.08	0.03
720	0.0626	0.0131	0.0257	0.03	0.03
1440	0.00808	0.00699	0.0156	0.01	0.00

[0257] 表15受试化合物在大鼠体内主要PK数据:

[0258]

		SPH1772 二 酒石酸盐的 晶型 A	SPH1772 的 晶型 A	INCB28060 盐酸盐
AUC(0-t)	uM*min	8802.13	4057.55	223.81
AUCextra	uM*min	210.83	36.83	4.29
AUCtot	uM*min	9012.96	4094.37	228.10
thalf	min	236.71	185.79	283.79
MRT	min	473.59	448.80	271.69
Clearance	L/min/kg	0.002	0.013	0.089
Vz	L/kg	0.760	3.448	35.978
V _{ss}	L/kg	1.053	5.688	24.325
C _{max}	uM	16.03	8.91	1.03
T _{max}	min	200.00	320.00	30.00
Dose	umol/kg	20.00	20.00	20.00

[0259] 如表所示,剂量为20 μ mol/Kg时,SPH1772的晶型A的AUC (0-24h) 为4057.55 μ M*min, SPH1772二酒石酸盐的晶型A的AUC (0-24h) 为8802.13 μ M*min。与SPH1772的晶型A相比, SPH1772二酒石酸盐的晶型A相应的AUC值增加了2.17倍,达峰浓度增加了1.80倍。相同摩尔剂量下,SPH1772二酒石酸盐晶型A表现出了比SPH1772的晶型A更加优异的药动性质,总体来说INCB28060盐酸盐在大鼠体内的暴露量不如SPH1772的晶型A及SPH1772二酒石酸盐的晶型A。

[0260] 效果实施例4SPH1772二酒石酸盐的晶型A在人源肝癌MHCC97H细胞株异种移植BALB/c裸小鼠动物模型中的抗肿瘤作用评价

[0261] 4.1实验方法

[0262] BALB/c裸小鼠皮下接种MHCC97H细胞,建立人肝癌皮下移植肿瘤模型。试验分为SPH1772二酒石酸盐的晶型A(0.05mg/kg、0.5mg/kg和5mg/kg)、阳性对照INC280盐酸盐(5mg/kg)及Vehicle组(溶媒对照组),每组10只,灌胃给药,每天给药一次,共给药21天。根据相对肿瘤抑制率(TGI)及肿瘤延迟时间进行疗效评价,根据动物体重变化和死亡情况进行安全性评价。

[0263] 4.2实验动物

[0264] BALB/c Nude小鼠,雌性,7-9周(肿瘤细胞接种时的小鼠周龄),体重19.5-23.9g,75只。购自上海灵畅生物科技有限公司,动物合格证编号:2013001816956。饲养环境:SPF级。

[0265] 4.3细胞和相关试剂

[0266] MHCC97H(复旦大学附属中山医院)细胞培养在含10%胎牛血清的DMEM培养液中。收集指数生长期的MHCC97H细胞,PBS重悬至适合浓度用于小鼠皮下肿瘤接种。

[0267] 4.4动物造模和分组

[0268] 75只雌性小鼠右侧皮下接种0.2毫升重悬于PBS和基质胶(1:1)中的 1×10^7 MHCC97H细胞。待肿瘤平均体积157mm³时,根据肿瘤大小随机分组。肿瘤体积计算公式为:长径 $\times$ 短径²/2。

[0269] 4.5结果判断标准

[0270] 相对肿瘤抑制率TGI(%): $TGI = 1 - T/C$ (%)。T/C%为相对肿瘤增值率,即在某一时间点,治疗组和对照组相对肿瘤体积或瘤重的百分比值。T和C分别为治疗组和对照组在某一特定时间点的相对肿瘤体积(RTV)或瘤重(TW)。

[0271] 计算公式如下: $T/C\% = T_{RTV}/C_{RTV} \times 100\%$ (T_{RTV} :治疗组平均RTV; C_{RTV} :溶媒对照组平均RTV; $RTV = V_t/V_0$, V_0 为分组时该动物的瘤体积, V_t 为治疗后该动物的瘤体积)。或 $T/C\% = T_{TW}/C_{TW} \times 100\%$ (T_{TW} :治疗组实验终结时平均瘤重; C_{TW} :溶媒对照组实验终结时平均瘤重)。

[0272] 4.6实验终点

[0273] 末次给药后1.5h和24h,取血取瘤,称瘤重,拍照。

[0274] 4.7统计分析

[0275] 所有实验结果以平均瘤体积 $\pm$ SEM(平均标准误差)表示。不同组间的统计分析选择最佳药物治疗点(通常是在最后一次给药后)。用独立样本T检验方法比较治疗组相对肿瘤体积和瘤重与对照组相比有无显著性差异。所有的数据均用SPSS 18.0进行分析。 $p < 0.05$ 为具有显著性差异。

[0276] 4.8实验结果

[0277] 溶媒对照组小鼠在给药后第25天平均肿瘤体积为1815mm³。SPH 1772二酒石酸盐的晶型A(0.05mg/kg)治疗组在给药后第25天平均肿瘤体积为469mm³,相对肿瘤抑制率TGI(%)为74%。SPH 1772二酒石酸盐的晶型A(0.5mg/kg)治疗组在给药后第25天平均肿瘤体积为60mm³,相对肿瘤抑制率TGI(%)为97%。SPH 1772二酒石酸盐的晶型A(5mg/kg)治疗组在给药后第25天平均肿瘤体积为22mm³,相对肿瘤抑制率TGI(%)为99%。INC280(5mg/kg)治疗组在给药后第25天平均肿瘤体积为166mm³,相对肿瘤抑制率TGI(%)为91%。瘤重分析结果与相对瘤体积分析结果基本吻合。各治疗组和对照组肿瘤生长情况见表16、表17和图8。

表 16 在 MHCC97H 人源肝癌模型中各组 TGI、T/C 值

实验组	给药后第 25 天				
	肿瘤体积 ($\bar{x} \pm S$)	相对肿瘤体积 ($\bar{x} \pm S$)	TGI (%)	T/C (%)	P Value (相较于对照组)
第 1 组 Vehicle 0 mg/kg	1815±206	11.71±1.30	--	--	--
第 2 组 INC280 5 mg/kg	166±17	1.05±0.09	91	9	<0.001
第 3 组 SPH1772 二酒石酸盐的晶型 A 0.05 mg/kg	469±85	3.03±0.56	74	26	<0.001
第 4 组 SPH1772 二酒石酸盐的晶型 A 0.5 mg/kg	60±5	0.39±0.03	97	3	<0.001
第 5 组 SPH1772 二酒石酸盐的晶型 A 5 mg/kg	22±3	0.14±0.02	99	1	<0.001

[0279] 表17各组瘤重表

组别	瘤重 (mg) ($\bar{x} \pm s$) 给药后 26 天	TGI(%)	P value (相较于对照组)
----	---	--------	---------------------

Vehicle(0 mg/kg)	1586±131	--	--
INC280 (5 mg/kg)	136±19	91	<0.001
SPH1772 二酒石酸盐的晶型 A(0.05mg/kg)	493± 71	69	<0.001
SPH1772 二酒石酸盐的晶型 A(0.5 mg/kg)	48 ±2	97	<0.001
SPH1772 二酒石酸盐的晶型 A(5 mg/kg)	31± 3	98	<0.001

[0282] SPH1772二酒石酸盐的晶型A在上述MHCC97H人源肝癌模型研究中,各治疗组均无动物死亡,没有表现明显的药物毒性,治疗期间耐受良好。

[0283] 效果实施例5:SPH1772二酒石酸盐的晶型A在人源肺肿瘤小鼠模型LU2503中的抗肿瘤作用评价

[0284] 5.1模型信息

[0285] 来源于女性患者的HuPrime[®]肺肿瘤异种移植模型LU2503被用于该药效学实验。该模型的MET基因14号外显子存在基因缺失。同时,该模型具有轻微恶病质,且具有肿瘤破溃倾向。

[0286] 5.2实验方法

[0287] 从HuPrime[®]肺肿瘤异种移植模型LU2503(R11P6)荷瘤小鼠收取肿瘤组织,切成直径为2-3mm的瘤块接种于BALB/c裸鼠右前肩胛处皮下。当平均肿瘤体积达到约139mm³时,根据肿瘤体积将小鼠随机分入6个实验组,每组8只,每笼4只。分组当天定义为第0天。给药开始于第0天,结束于第20天。该实验于第21日结束。试验分为SPH1772二酒石酸盐的晶型A

(0.3mg/kg、3mg/kg和30mg/kg)、阳性对照INC280 (30mg/kg)、阳性对照Crizotinib (30mg/kg) 及溶剂组,每组8只,灌胃给药,每天给药一次,共给药21天。

[0288] 5.3实验动物

[0289] BALB/c小鼠,雌性,8-9周(肿瘤细胞接种时的小鼠周龄),52只。购自南京大学南京生物医药研究院,许可证号:SCXK(苏)2015-0001;质量合格证号:201602064。饲养环境:SPF级。

[0290] 5.4动物分组

[0291] 待肿瘤平均体积139mm³时,根据肿瘤大小随机分组。肿瘤体积计算公式为:长径×短径²/2。

[0292] 5.5结果判断标准

[0293] 同4.5。

[0294] 5.6实验终点

[0295] 同4.6。

[0296] 5.7统计分析

[0297] 同4.7。

[0298] 5.8实验结果

[0299] 在分组治疗后第21天,第1组(INC280,30mg/kg,QD*21)、第2组(溶剂,QD*21)、第3组(SPH1772二酒石酸盐的晶型A,0.3mg/kg,QD*21)、第4组(SPH1772二酒石酸盐的晶型A,3mg/kg,QD*21)、第5组(SPH1772二酒石酸盐的晶型A,30mg/kg,QD*21)和第6组(Crizotinib,30mg/kg,QD*21)荷瘤鼠体重改变百分比分别为-5.00%、-9.86%、-1.61%、-1.88%、-2.01%和3.26%。

[0300] 在分组治疗后第21天,溶剂组的平均肿瘤体积达到1886.32mm³。其他组的肿瘤完全消退,相对肿瘤增值率(T/C%)均为0.00%,均具有统计学显著的抗LU2503肿瘤生长的作用(P<0.05)。各治疗组和溶剂处理组荷瘤鼠在不同时间点的肿瘤体积见表18、表19和图9。

[0301] 表18各治疗组和溶剂处理组荷瘤鼠的肿瘤体积

治疗组	治疗后 天数	肿瘤体积 (mm ³)					
		第 1 组	第 2 组	第 3 组	第 4 组	第 5 组	第 6 组
		INC280	溶剂	SPH1772 二 酒石酸盐的 晶型 A	SPH1772 二 酒石酸盐的 晶型 A	SPH1772 二 酒石酸盐的 晶型 A	Crizotinib
		30 mg/kg	-	0.3 mg/kg	3 mg/kg	30 mg/kg	30 mg/kg
[0302]	0	139.14±19.30	139.13±17.81	139.09±19.03	138.85±16.77	138.93±18.13	138.99±18.22
	2	86.20±6.49	216.85±27.34	71.49±9.02	74.25±7.03	67.62±8.13	78.65±7.77
	6	23.03±4.10	495.06±68.25	22.13±2.10	24.04±2.67	13.38±2.67	21.63±2.93
	9	10.55±1.97	928.64±143.77	15.19±2.89	9.15±2.23	6.07±1.65	12.83±2.68
	13	5.89±1.81	1433.91±245.76	8.95±0.91	4.78±1.56	2.19±1.44	8.30±2.08
	16	5.07±1.99	1972.58±339.36	6.22±1.65	2.25±1.47	0.00±0.00	8.27±2.55
	19	1.53±1.53	2176.65±314.52	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	2.77±2.77
[0303]	21	0.00±0.00	1886.32±271.80	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	2.11±2.11

[0304] 注释:数据以“平均值±标准误差”表示

[0305] 表19在HuPrime[®]肺肿瘤异种移植模型LU2503中的抑瘤效果

[0306]

组号	治疗	第 0 天肿瘤 体积 ^a (mm ³)	第 21 天肿瘤 体积 ^a (mm ³)	RTV	T/C(RTV) (%)	TGI (%)	P 值 ^b
1	INC280, 30 mg/kg, PO, QD×21	139.14±19.30	0.00±0.00	0.00	0.00	107.96	0.018
2	溶剂, PO, QD×21	139.13±17.81	1886.32±271.80	13.56	-	-	-
3	SPH1772 二酒石酸 盐的晶型 A, 0.3 mg/kg, PO, QD×21	139.09±19.03	0.00±0.00	0.00	0.00	107.96	0.018
4	SPH1772 二酒石酸 盐的晶型 A, 3 mg/kg, PO, QD×21	138.85±16.77	0.00±0.00	0.00	0.00	107.95	0.018
5	SPH1772 二酒石酸 盐的晶型 A, 30 mg/kg, PO, QD×21	138.93±18.13	0.00±0.00	0.00	0.00	107.95	0.018
6	Crizotinib, 30 mg/kg, PO, QD×21	138.99±18.22	2.11±2.11	0.02	0.11	107.83	0.018

[0307] 本研究中,SPH1772二酒石酸盐的晶型A作为单药治疗,在0.3mg/kg、3mg/kg和30mg/kg剂量时均具有统计学显著的抗HuPrime[®]肺肿瘤异种移植模型LU2503生长的作用,且相同给药剂量下,SPH1772二酒石酸盐的晶型A抗HuPrime[®]肺肿瘤异种移植模型LU2503生长的作用,要优于INC280和Crizotinib。

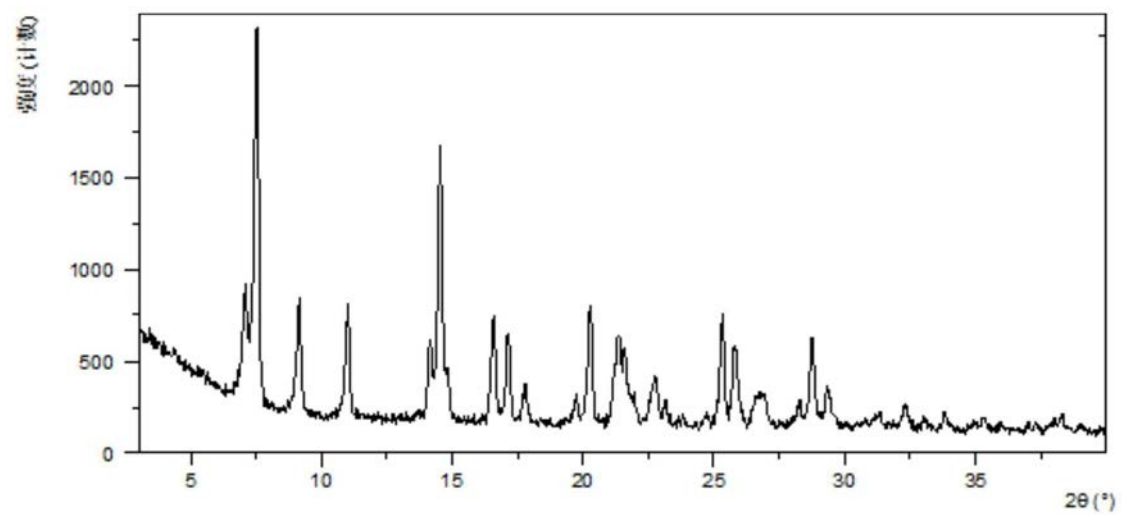


图1

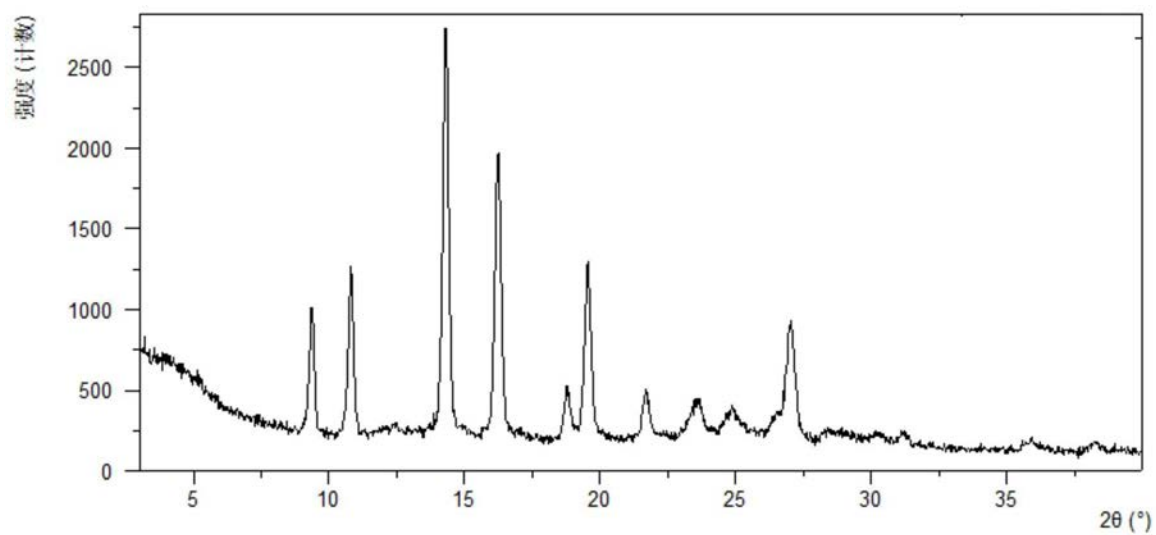


图2

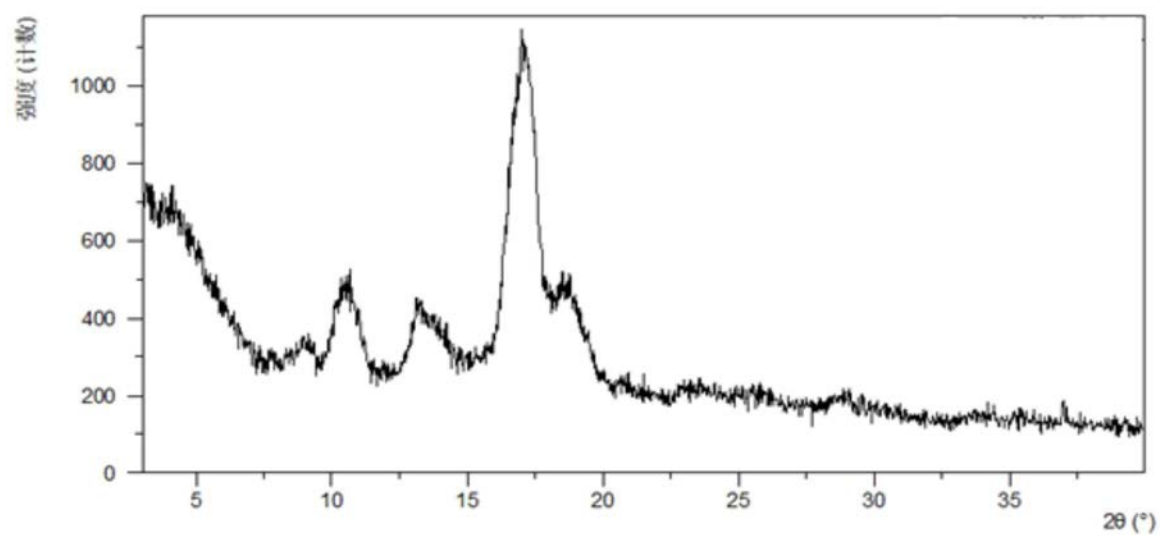


图3

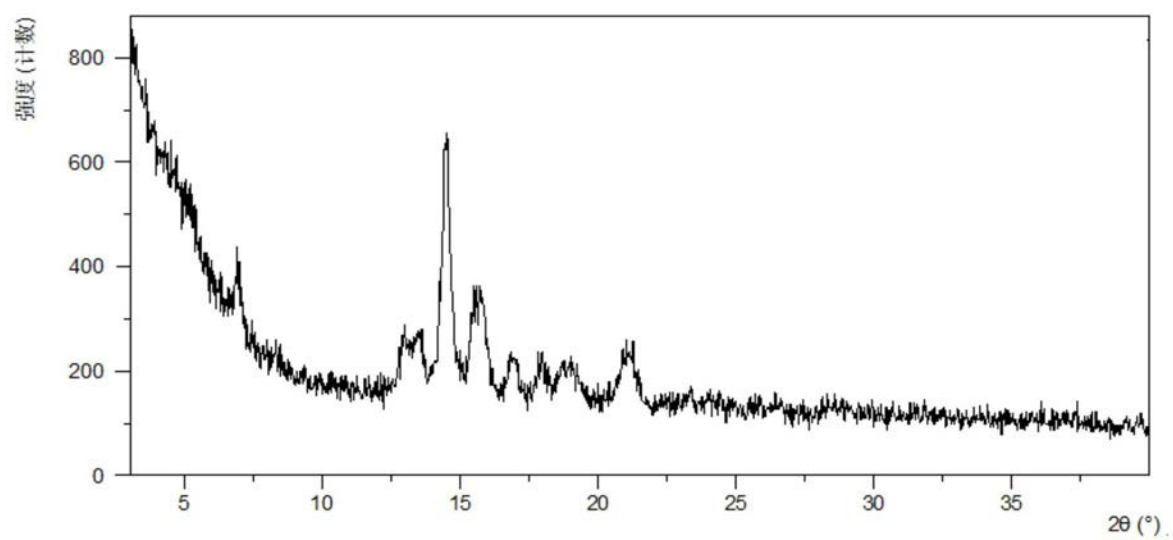


图4

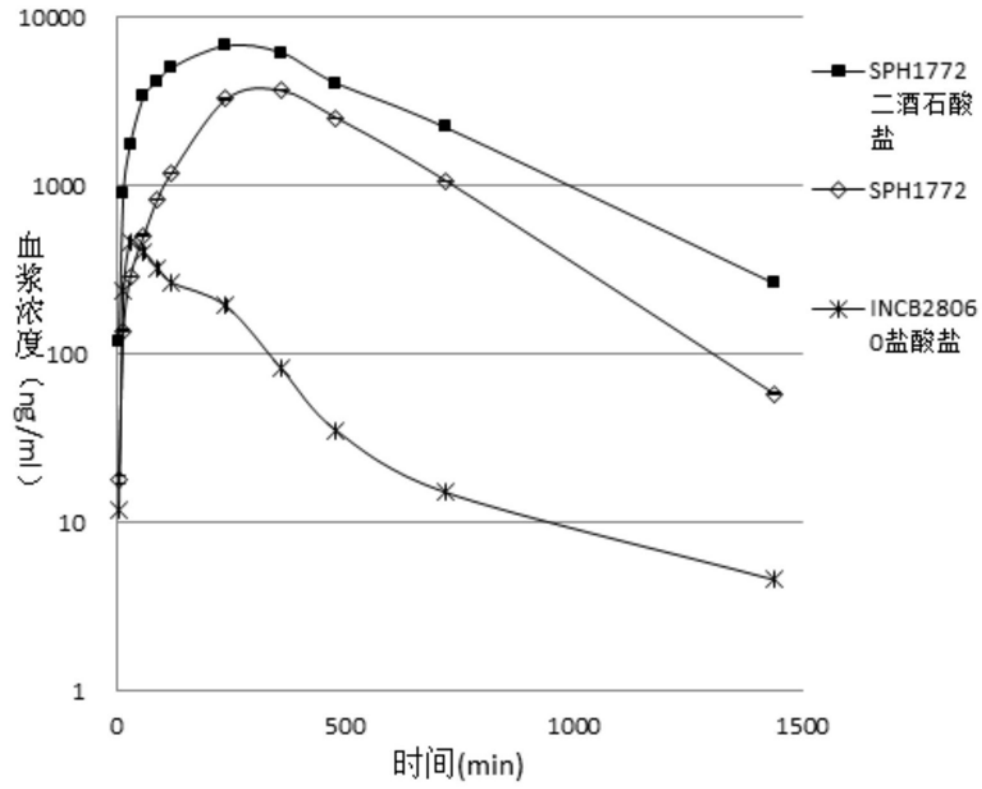


图5

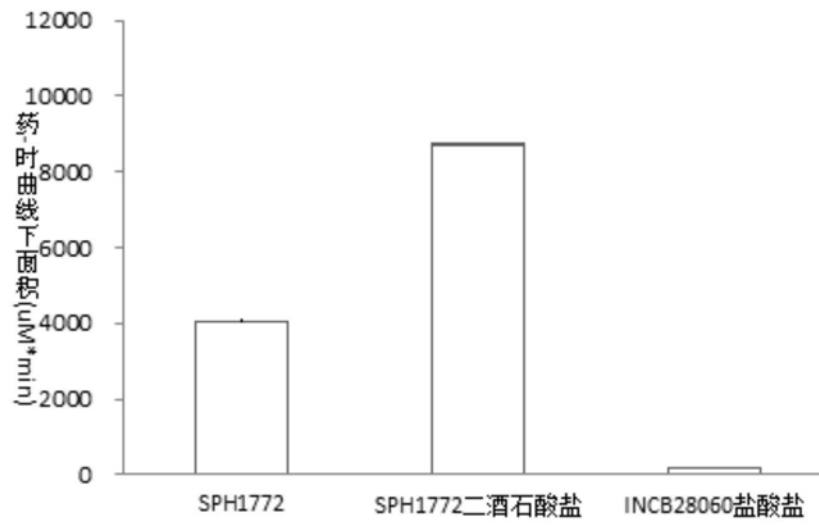


图6

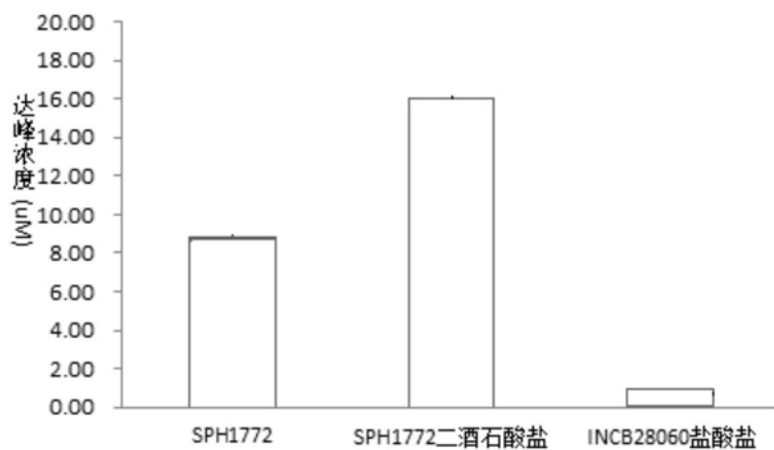


图7

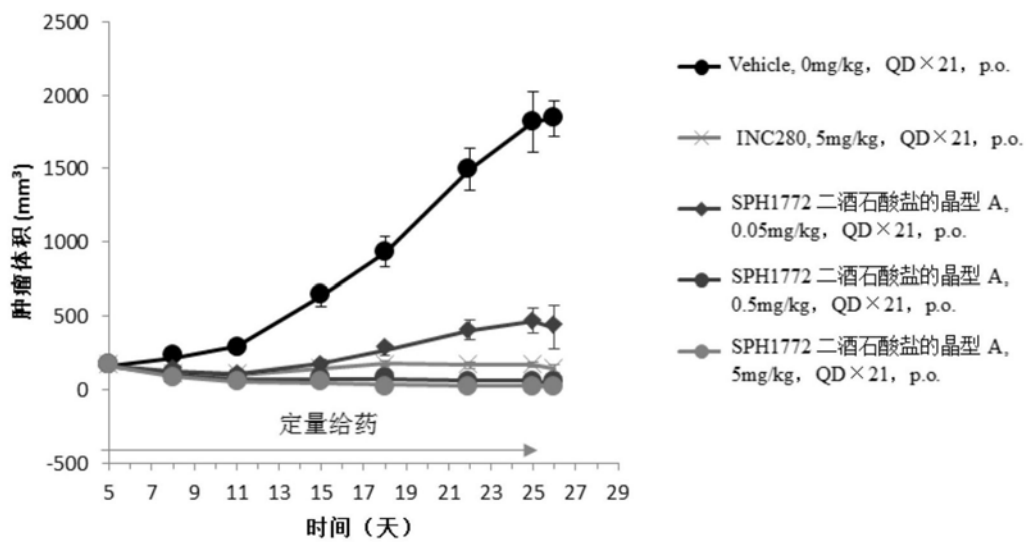


图8

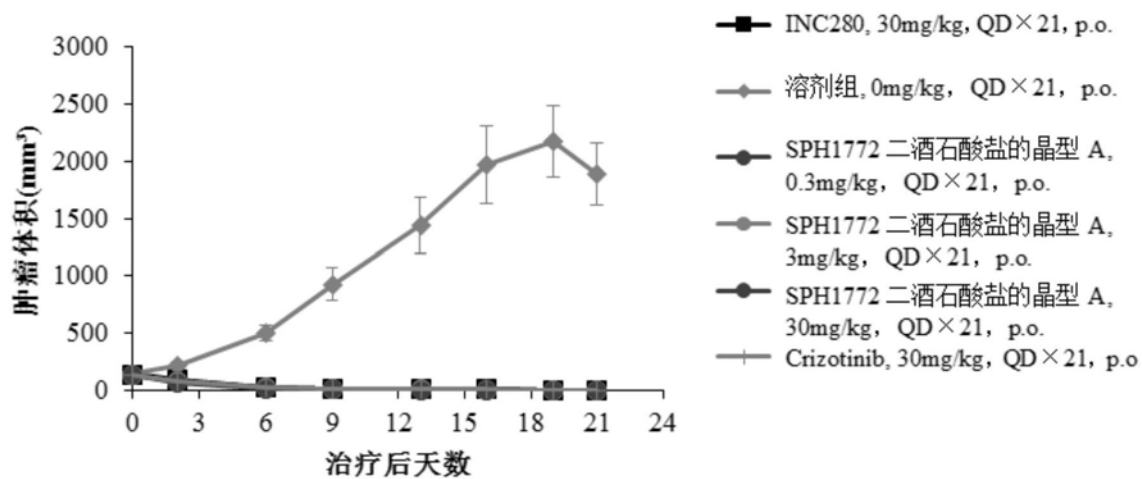


图9