

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200510107402.2

[51] Int. Cl.

C07D 239/42 (2006.01)

C07D 401/14 (2006.01)

A61K 31/506 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

[43] 公开日 2007年4月4日

[11] 公开号 CN 1939910A

[22] 申请日 2005.9.30

[21] 申请号 200510107402.2

[30] 优先权

[32] 2004.12.31 [33] CN [31] 200410103077.8

[71] 申请人 孙飘扬

地址 222002 江苏省连云港市新浦区人民路  
145号

[72] 发明人 孙飘扬 吕爱锋 杨保海 胡春勇

[74] 专利代理机构 北京纪凯知识产权代理有限公司  
代理人 程伟

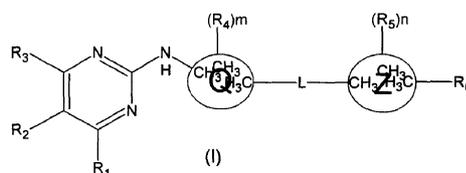
权利要求书6页 说明书20页 附图4页

[54] 发明名称

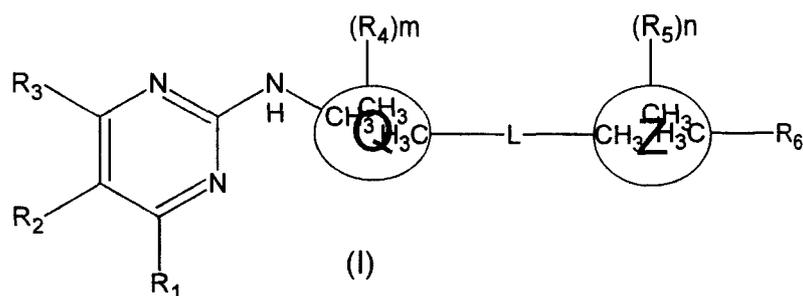
氨基嘧啶类化合物及其盐和其制备方法与药物用途

[57] 摘要

本发明涉及通式为(I)的氨基嘧啶类化合物及其盐,式中 $R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_3$ 、 $R_4$ 、 $R_5$ 、 $R_6$ 、 $Q$ 、 $Z$ 、 $L$ 、 $m$ 、 $n$ 如正文所述;其制备方法,以及含有效剂量的通式(I)化合物的药物组合物。通式为(I)的化合物及其盐可以作为蛋白激酶抑制剂使用。



1、一种通式为 (I) 的氨基嘧啶类化合物及其药学上可接受的盐:



式中,

$R_1$  选自被取代或没被取代的芳基、杂环芳基或杂环, 取代基选自卤素原子、C1-4 直链或支链烷基、氨基、烷氧基;

$R_2$  和  $R_3$  独立地选自氢、卤素原子、氨基、烷基氨基、二烷基氨基、氰基、硝基、羟基、烷氧基、卤代烷氧基;或被取代或没被取代的烷基、烯基、炔基、芳基、杂环芳基、芳烷基、杂环芳烷基, 取代基选自卤素原子、C1-4 直链或支链烷基、氨基、烷氧基、硝基; 或  $R_2$ 、 $R_3$  与其相连的碳原子形成的 4-7 元被取代或没被取代的碳环或杂环, 取代基选自卤素原子、氨基、烷基氨基、二烷基氨基、氰基、硝基、羟基、烷氧基、卤代烷氧基;

$R_4$  选自氢、卤素原子、氨基、烷基氨基、二烷基氨基、氰基或被取代或没被取代的烷基、烯基、炔基, 取代基选自卤素原子、氨基、羟基;

$R_5$  选自氢、卤素原子、硝基、氰基、羟基、烷氧基、亚甲二氧基、卤代烷氧基、氨基或被取代或没被取代的烷基、烯基、炔基、芳基、杂环芳基, 取代基选自卤素原子、氨基、羟基;

$R_6$  选自氢或被取代或没被取代的烷基、芳基、芳烷基、杂环芳基、杂环芳烷基、杂环、杂环烷基, 取代基选自卤素原子、氨基、C1-4 烷基;

$m=0, 1, 2$  或  $3$ ;

$n=0, 1, 2$  或  $3$ ;

Q 选自芳基、杂环芳基或杂环;

Z 选自芳基、杂环芳基或杂环;

## L 选自

- (1)  $-\text{NR}_7\text{CO}-$
- (2)  $-\text{CONR}_8-$
- (3)  $\text{NR}_9\text{SO}_2-$
- (4)  $-\text{SO}_2\text{NR}_{10}-$
- (5)  $-\text{NR}_{11}\text{COO}-$
- (6)  $-\text{NR}_{12}\text{CONR}_{13}-$
- (7)  $-\text{OCONR}_{14}-$

其中  $\text{R}_7$ 、 $\text{R}_8$ 、 $\text{R}_9$ 、 $\text{R}_{10}$ 、 $\text{R}_{11}$ 、 $\text{R}_{12}$ 、 $\text{R}_{13}$  和  $\text{R}_{14}$  选自氢、被取代或没被取代的烷基，取代基选自卤素原子、氨基。

2、根据权利要求 1 所述的化合物及其药学上可接受的盐，其特征在于所述的化合物中  $\text{R}_1$  选自被取代或没被取代的杂环芳基，优选被取代或没被取代的六元杂环芳基，更优选被取代或没被取代的吡啶环，取代基选自卤素原子、C1-4 直链或支链烷基。

3、根据权利要求 1 所述的化合物及其药学上可接受的盐，其特征在于所述的化合物中  $\text{R}_2$  和  $\text{R}_3$  选自氢、卤素原子、氨基、烷基氨基、氰基、硝基、被取代或没被取代的烷基，取代基选自卤素原子；优选氢或卤素原子，其中卤素原子指氟、氯、溴、碘原子。

4、根据权利要求 1 所述的化合物及其药学上可接受的盐，其特征在于所述的化合物中  $\text{R}_4$  选自被取代或没被取代的烷基、烯基、炔基，优选被取代或没被取代的烷基，更优选碳原子为 1-4 的被取代或没被取代的烷基，取代基选自卤素原子、氨基。

5、根据权利要求 1 所述的化合物及其药学上可接受的盐，其特征在于所述的化合物中  $\text{R}_5$  选自氢、卤素原子、硝基、被取代或没被取代的烷基、烯基、炔基，优选氢、卤素原子或被取代或没被取代的烷基，取代基选自卤素原子、羟基。

6、根据权利要求 1 所述的化合物及其药学上可接受的盐，其特征在于所述的化合物中  $R_6$  选自杂环芳基、杂环芳烷基、杂环和杂环烷基，以上基团可以被取代或没被取代；优选被取代或没被取代的杂环烷基，取代基优选 C1-4 烷基。

7、根据权利要求 1 所述的化合物及其药学上可接受的盐，其特征在于所述化合物中  $m$  和  $n$  独立地选自 0、1、2、3，优选  $m=0、1$ ， $n=0、1$ 。

8、根据权利要求 1 所述的化合物及其药学上可接受的盐，其特征在于所述的化合物中  $Q$  选自芳基、杂环芳基或杂环，优选芳基或杂环芳基； $Z$  选自芳基、杂环芳基或杂环，优选芳基或杂环芳基。

9、根据权利要求 1 所述的化合物及其药学上可接受的盐，其特征在于所述的化合物中  $L$  选自 (1)  $-NR_7CO-$  (2)  $-CONR_8-$  (3)  $-NR_9SO_2-$  (4)  $-SO_2NR_{10}-$  (5)  $-NR_{11}COO-$ ，优选 (1) 和 (2)； $R_7、R_8、R_9、R_{10}、R_{11}$  优选氢。

10、 根据权利要求 1 所述的化合物及其药学上可接受的盐，其特征在于所述的化合物可以指以 (R)、(S) 或 (RR)、(SS) 等单一对映体形式或以富含对映体形式存在的化合物及其盐。

11、 根据权利要求 1 所述的化合物及其药学上可接受的盐，其特征在于所述的化合物和酸成盐，所用的酸选自有机酸或无机酸。

12、 根据权利要求 11 所述的化合物及其药学上可接受的盐，其特征在于有机酸包括乙酸、三氯乙酸、丙酸、丁酸、天门冬氨酸、对甲苯磺、马来酸、乳酸，无机酸包括盐酸、硫酸、磷酸、甲磺酸，优选盐酸和甲磺酸。

13、 根据权利要求 11 所述的化合物及其药学上可接受的盐，其特征在于所述的化合物和等物质量的酸成盐。

14、 根据权利要求 1 所述的化合物及其药学上可接受的盐，其特征在于所述的化合物和碱成盐，所成的盐包括和碱金属、碱土金属或季铵所成的盐。

15、 根据权利要求 14 所述的化合物及其药学上可接受的盐，其特征在于所述的季铵包括  $\text{NR}_4$ ，其中 R 指碳原子为 1-4 烷基。

16、 根据权利要求 1 所述的化合物及其药学上可接受的盐，其特征在于所述的化合物包括以下化合物：

4-((甲基-1-哌嗪基)甲基)-N-[4-甲基-3-[[4-(3-吡啶基)-2-嘧啶基]氨基]-吡啶基]苯甲酰胺、

4-((乙基-1-哌嗪基)甲基)-N-[4-甲基-3-[[4-(3-吡啶基)-2-嘧啶基]氨基]-吡啶基]苯甲酰胺、

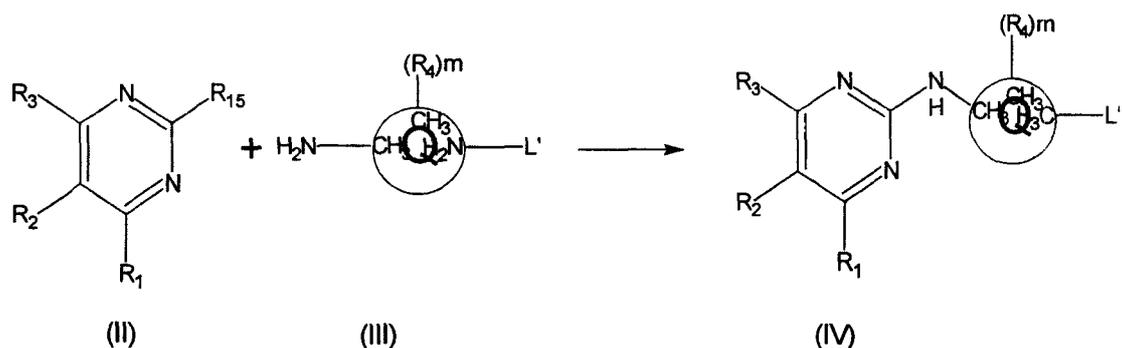
4-((甲基-1-哌嗪基)甲基)-N-[4-甲基-3-[[4-(3-吡啶基)-2-嘧啶基]氨基]-吡啶基]-3-氟-苯甲酰胺、

4-((甲基-1-哌嗪基)甲基)-N-[4-甲基-3-[[4-(3-吡啶基)-2-嘧啶基]氨基]-吡啶基]-3-氯-苯甲酰胺、

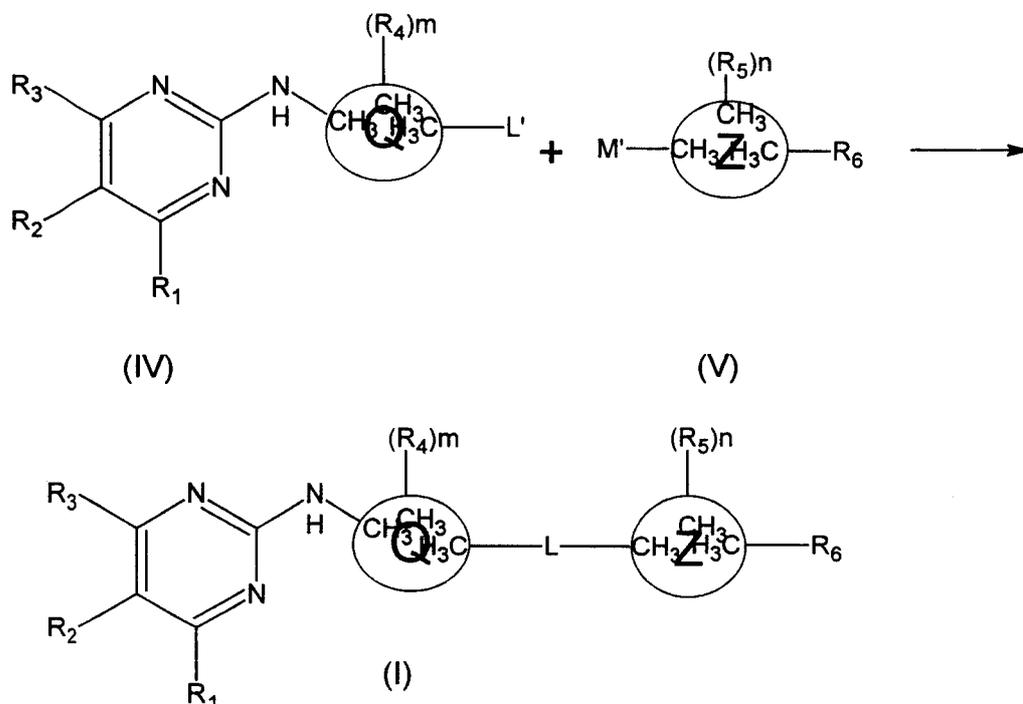
4-((甲基-1-哌嗪基)甲基)-N-[4-甲基-3-[[4-(3-吡啶基)-2-嘧啶基]氨基]-吡啶基]-3-(三氟甲基)-苯甲酰胺。

17、 一种制备权利要求 1 所述化合物及其药学上可接受的盐的方法，其特征包括如下步骤：

(A) 在碱性条件下将通式为 (II) 的化合物和通式为 (III) 的化合物反应，得通式为 (IV) 的化合物；



(B) 将通式为 (IV) 的化合物和通式为 (V) 的化合物在缩合剂存在下缩合反应得通式为 (I) 的化合物。



其中 R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>、R<sub>4</sub>、R<sub>5</sub>、R<sub>6</sub>、Q、L、m、n 如权利要求 1 中所定义；L'、M' 指相互能发生缩合反应的基团，该基团包括氨基、羧酸基、酸酐基、酯基、酰卤基，优选氨基、羧酸基或酰卤基；或者包括经常规方法能转化成氨基、羧酸基或酰卤基的有机基团，

R<sub>15</sub> 指易离去基团，其选自卤素原子或甲磺酰基、乙磺酰基、对甲苯磺酰基。

18. 根据权利要求 17 所述制备通式为 (I) 的化合物及其药学上可接受的盐的方法，其特征在于：所述的有机基团包括硝基、酯基。

19. 根据权利要求 17 所述制备通式为 (I) 的化合物及其药学上可接受的盐的方法，其特征在于：

(A) 在制备化合物 (IV) 时，使用用碱，所述的碱选自有机碱或无机碱，该有机碱包括正丁基锂、甲醇钠、乙醇钠、叔丁醇钾，该无机碱包括氢氧化钠、氢氧化钾、氨基钠、钠氢，优选钠氢。

(B)在制备化合物(I)时,当反应为羧酸基和氨基缩合时,缩合剂为N,N-二环己基碳二亚胺、N,N-二异丙基碳二亚胺、N,N-二乙基碳二亚胺、三苯基磷和偶氮二羧酸二乙酯组成的混合物或三苯基磷和偶氮二羧酸二异丙酯组成的混合物等,优选N,N-二环己基碳二亚胺;当反应为酰卤基和氨基缩合时,缩合剂为无机碱或有机碱,优选吡啶或三乙胺。

20. 根据权利要求17所述制备通式为(I)的化合物及其药学上可接受的盐的方法,其特征在于:在制备化合物(I)时,所述的无机碱包括碳酸钠、碳酸钾、碳酸钙,有机碱包括三乙胺、吡啶、4-二甲氨基吡啶、三丙胺、三丁胺。

21. 根据权利要求1所述的化合物及其药学上可接受的盐,其特征在于所述的化合物为蛋白激酶抑制剂。

22. 如权利要求1所述的化合物及其药学上可接受的盐在制备治疗细胞增生性疾病药物中的应用。

23. 根据权利要求23所述的应用,其特征在于所述的化合物单独或和其他药物联合使用。

24. 一种含有药物有效剂量的如权利要求1所述的化合物及其盐和药学上可接受的载体的药物组合物。

## 氨基嘧啶类化合物及其盐和其制备方法与药物用途

### 技术领域

本发明涉及通式为(I)的氨基嘧啶类化合物及其盐,和其制备方法,和该化合物单独或和其他药物联合使用在治疗细胞增生性疾病(如癌)中的应用。

### 背景技术

在 95%以上的慢性髓性白血病人中,由于染色体易位,产生 BCR-ABL 融合蛋白,导致高表达 ABL 酪氨酸激酶活性,因此,这类病人成为伊马替尼(Imatinib)靶向给药的适应症。人慢性髓性白血病 K562 细胞表达 Bcr-Abl 蛋白,因此本发明是研究针对 BCR-ABL 药物的常用细胞模型。

现有技术中,人们采用例如重组干扰素  $\alpha$ -2a 治疗慢性髓性白血病,该药物具有广谱抗病毒、抗肿瘤及免疫调节功能。干扰素与细胞表面受体结合,诱导细胞产生多种抗病毒蛋白,抑制病毒在细胞内繁殖,提高免疫功能包括增强巨噬细胞的吞噬功能,增强淋巴细胞对靶细胞的细胞毒性和天然杀伤性细胞的功能。

近来, Gleevec 又名伊马替尼(imatinib)成为治疗慢性粒细胞白血病的前线药物,但是有些病人用药后产生了抗药性。新的研究说,第二代的 Gleevec 也许能帮助产生抗药性的病人。这个药物和 BCR-ABL 结合从而阻碍了其活性,BCR-ABL 是一个促进白血病细胞生长的酶。在多数情况下,抗药性的产生是因为 BCR-ABL 发生了变异,使酶的形状改变了,药物不能与其结合。Neil P.Shah 和同事分离出了一个被称为 BMS-354825 的伊马替尼变异,这个变异对与 BCR-ABL 酶结合的选择性要低。文章作者用白血病小鼠模式和培养的来自白血病患者的骨髓细胞做的实验显示, BMS-354825 比伊马替尼更有效,而且能对付大多数的伊马替尼抗药性,而没有明显的毒性。(约 15-20%的伊马替尼抗药性是由另一种变异造成的,新药对这些病例无效。)

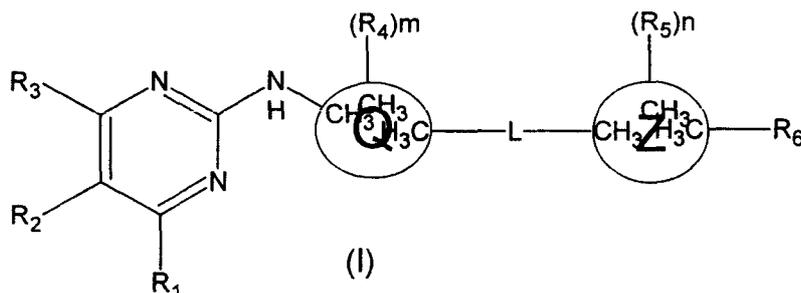
BMS-354825 现已进入一期临床阶段。(Overriding Imatinib Resistance With a Novel ABL Kinase Inhibitor, Neil P.Shah, et al.)。

在没有发现伊马替尼前,对费城染色体(Ph)阳性髓样白血病(CML)有活性的药物有 IFN- $\alpha$ , 阿糖胞苷和高三尖杉酯碱(HHT),可单独或联合使用。但是这些已经使用的药物还存在不尽人意的效果。

## 发明内容

为了克服现有技术的不足,本发明的目的在于提供一种氨基嘧啶类化合物及其盐;本发明的另一目的在于提供一种制备氨基嘧啶类化合物及其盐的方法;本发明的又一目的在于提供一种该化合物及其盐单独或和其他药物联合使用在治疗细胞增生性疾病(如癌)中的应用。

本发明的目的是由以下技术方案来达到的,本发明涉及一种通式为(I)的氨基嘧啶类化合物及其盐:



式中,

$R_1$  选自被取代或没被取代的芳基、杂环芳基或杂环,取代基选自卤素原子、C1-4直链或支链烷基、氨基、烷氧基;

$R_2$  和  $R_3$  独立地选自氢、卤素原子、氨基、烷基氨基、二烷基氨基、氰基、硝基、羟基、烷氧基、卤代烷氧基;或被取代或没被取代的烷基、烯基、炔基、芳基、杂环芳基、芳烷基和杂环芳烷基,取代基选自卤素原子、C1-4直链或支链烷基、氨基、烷氧基、硝基;或  $R_2$ 、 $R_3$  与其相连的碳原子形成的 4-7 元被取代或没被取代的碳环或杂环,取代基选自卤素原子、氨基、烷基氨基、二烷基氨基、氰基、硝基、羟基、烷氧基、卤代烷氧基;

$R_4$  选自氢、卤素原子、氨基、烷基氨基、二烷基氨基、氰基或被取代或没被取代的烷基、烯基、炔基,取代基选自卤素原子、氨

基、羟基；

$R_5$  选自氢、卤素原子、硝基、氰基、羟基、烷氧基、亚甲二氧基、卤代烷氧基、氨基或被取代或没被取代的烷基、烯基、炔基、芳基、杂环芳基，取代基选自卤素原子、氨基、羟基；

$R_6$  选自氢或被取代或没被取代的烷基、芳基、芳烷基、杂环芳基、杂环芳烷基、杂环、杂环烷基，取代基选自卤素原子、氨基、C1-4 烷基；

$m=0、1、2$  或  $3$ ；

$n=0、1、2$  或  $3$ ；

$Q$  选自芳基、杂环芳基或杂环；

$Z$  选自芳基、杂环芳基或杂环；

$L$  选自

(8)  $-NR_7CO-$

(9)  $-CONR_8-$

(10)  $NR_9SO_2-$

(11)  $-SO_2NR_{10}-$

(12)  $-NR_{11}COO-$

(13)  $-NR_{12}CONR_{13}-$

(14)  $-OCONR_{14}-$

其中  $R_7、R_8、R_9、R_{10}、R_{11}、R_{12}、R_{13}$  和  $R_{14}$  选自氢、被取代或没被取代的烷基，取代基选自卤素原子、氨基。

本发明的目的是由以下技术方案进一步达到的，上述通式为 (I) 的化合物及其盐，其特点是  $R_1$  选自被取代或没被取代的杂环芳基，优选被取代或没被取代的六元杂环芳基，更优选被取代或没被取代的吡啶环，取代基选自卤素原子、C1-4 直链或支链烷基。

本发明的目的是由以下技术方案进一步达到的，上述通式为 (I) 的化合物及其盐，其特点是  $R_2$  和  $R_3$  选自氢、卤素原子、氨基、烷基氨基、氰基、硝基、被取代或没被取代的烷基，取代基选自卤素原子；优选氢或卤素原子，其中卤素原子指氟、氯、溴、碘原子。

本发明的目的是由以下技术方案进一步达到的，上述通式为 (I) 的化合物及其盐，其特点是  $R_4$  选自被取代或没被取代的烷基、烯基、

炔基, 优选被取代或没被取代的烷基, 更优选碳原子为 1-4 的被取代或没被取代的烷基, 取代基选自卤素原子、氨基。

本发明的目的是由以下技术方案进一步达到的, 上述通式为 (I) 的化合物及其盐, 其特点是  $R_5$  选自氢、卤素原子、硝基或被取代或没被取代的烷基、烯基、炔基, 优选氢、卤素原子或被取代或没被取代的烷基, 取代基选自卤素原子、羟基。

本发明的目的是由以下技术方案进一步达到的, 上述通式为 (I) 的化合物及其盐, 其特点是  $R_6$  选自杂环芳基、杂环芳烷基、杂环和杂环烷基, 以上基团可以被取代或没被取代, 优选被取代或没被取代的杂环烷基, 取代基优选 C1-4 烷基。

本发明的目的是由以下技术方案进一步达到的, 上述通式为 (I) 的化合物及其盐, 其特点是  $m$  和  $n$  独立地选自 0、1、2、3, 优选  $m=0$ 、1,  $n=0$ 、1。

本发明的目的是由以下技术方案进一步达到的, 上述通式为 (I) 的化合物及其盐, 其特点是  $Q$  选自芳基、杂环芳基或杂环, 优选芳基或杂环芳基;  $Z$  选自芳基、杂环芳基或杂环, 优选芳基或杂环芳基。

本发明的目的是由以下技术方案进一步达到的, 上述通式为 (I) 的化合物及其盐, 其特点是  $L$  选自 (1)  $-NR_7CO-$  (2)  $-CONR_8-$  (3)  $-NR_9SO_2-$  (4)  $-SO_2NR_{10}-$  (5)  $-NR_{11}COO-$ , 优选 (1) 和 (2);  $R_7$ 、 $R_8$ 、 $R_9$ 、 $R_{10}$ 、 $R_{11}$  选自烷基或氢, 优选氢。

本发明的目的是由以下技术方案进一步达到的, 上述通式为 (I) 的化合物及其盐, 其特点是可以指以 (R)、(S) 或 (RR)、(SS) 等单一对映体形式或以富含对映体形式存在的化合物及其盐。

本发明的目的是由以下技术方案进一步达到的, 上述通式为 (I) 的化合物及其盐, 其特点是所述的化合物可以和一定质量的酸 (如等质量) 成盐, 所用的酸选自有机酸 (如乙酸、三氯乙酸、丙酸、丁酸、天门冬氨酸、对甲苯磺酸、马来酸、乳酸) 或无机酸 (如盐酸、硫酸、磷酸、甲磺酸), 优选盐酸和甲磺酸。

本发明的目的是由以下技术方案进一步达到的, 上述通式为 (I) 的化合物及其盐, 其特点是所述的化合物可以和一定质量的碱 (如等质量) 成盐, 所成的盐包括和碱金属 (如锂、钠、钾等)、碱土金

属（如镁、钙等）或季铵（如  $\text{NR}_4$ ，其中 R 指碳原子为 1-4 烷基）所成的盐。

本发明的目的是由以下技术方案进一步达到的，上述通式为 (I) 的化合物及其盐，其特点是所述的化合物包括：

4-（（甲基-1-哌嗪基）甲基）-N-[4-甲基-3-[[4-（3-吡啶基）-2-吡啶基]氨基]-吡啶基]苯甲酰胺

4-（（乙基-1-哌嗪基）甲基）-N-[4-甲基-3-[[4-（3-吡啶基）-2-吡啶基]氨基]-吡啶基]苯甲酰胺

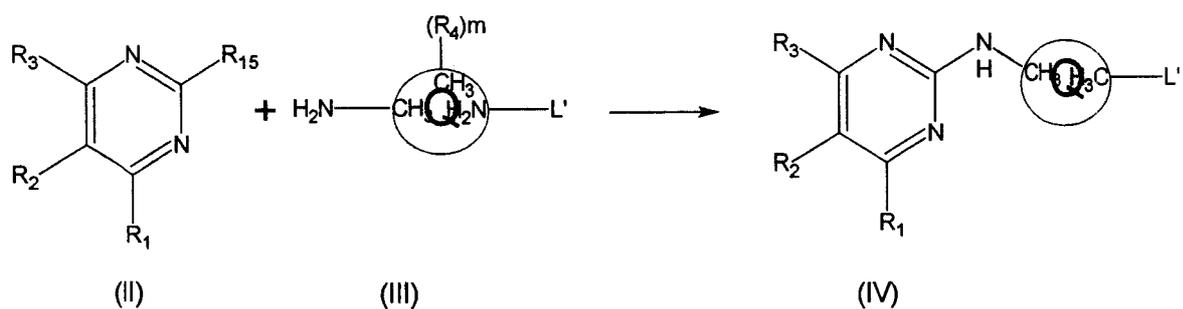
4-（（甲基-1-哌嗪基）甲基）-N-[4-甲基-3-[[4-（3-吡啶基）-2-吡啶基]氨基]-吡啶基]-3-氟-苯甲酰胺

4-（（甲基-1-哌嗪基）甲基）-N-[4-甲基-3-[[4-（3-吡啶基）-2-吡啶基]氨基]-吡啶基]-3-氯-苯甲酰胺

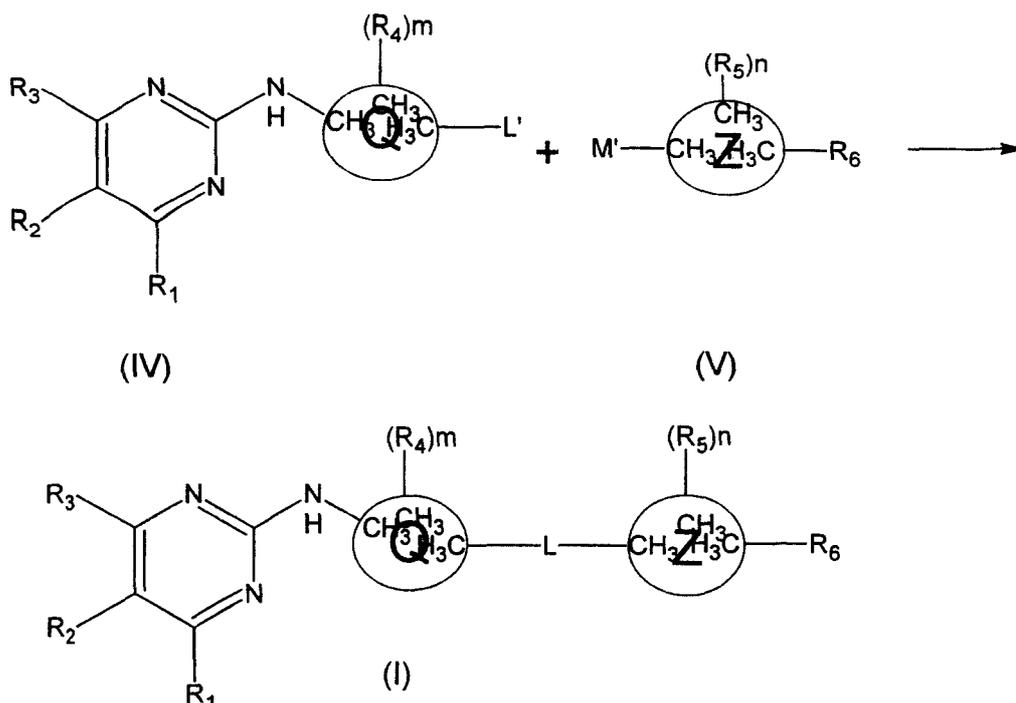
4-（（甲基-1-哌嗪基）甲基）-N-[4-甲基-3-[[4-（3-吡啶基）-2-吡啶基]氨基]-吡啶基]-3-（三氟甲基）-苯甲酰胺

本发明的另一目的是由以下技术方案进一步达到的，本发明提供一种制备通式为 (I) 的化合物及其盐的方法，其特点是包括如下步骤：

(C) 在碱性条件下将通式为 (II) 的化合物和通式为 (III) 的化合物反应，得通式为 (IV) 的化合物：



(D) 将通式为 (IV) 的化合物和通式为 (V) 的化合物在缩合剂存在下缩合反应得通式为 (I) 的化合物。



其中  $R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_3$ 、 $R_4$ 、 $R_5$ 、 $R_6$ 、 $Q$ 、 $L$ 、 $m$ 、 $n$  如前面所定义； $L'$ 、 $M'$  指相互能发生缩合反应的基团，如氨基、羧酸基、酸酐基、酯基、酰卤基等，优选氨基、羧酸基或酰卤基；也可以指经常规方法能转化成氨基、羧酸基或酰卤基的有机基团，如硝基、酯基； $R_{15}$  指易离去基团，选自卤素原子（如氟、氯、溴、碘）或甲磺酰基、乙磺酰基、对甲苯磺酰基等。

本发明的另一目的是由以下技术方案进一步达到的，本发明提供一种制备通式为 (I) 的化合物及其盐的方法，其特点是

(A) 在制备化合物 (IV) 时，所用的碱选自有机碱（如正丁基锂、甲醇钠、乙醇钠、叔丁醇钾）或无机碱（如钠、氢氧化钠、氢氧化钾、氨基钠、钠氢），优选钠氢。

(B) 在制备化合物 (I) 时，当反应为羧酸基和氨基缩合时，缩合剂为  $N, N$ -二环己基碳二亚胺、 $N, N$ -二异丙基碳二亚胺、 $N, N$ -二乙基碳二亚胺、三苯基磷和偶氮二羧酸二乙酯组成的混合物或三苯基磷和偶氮二羧酸二异丙酯组成的混合物等，优选  $N, N$ -二环己基碳二亚胺；当反应为酰卤基和氨基缩合时，缩合剂为无机碱（如碳酸钠、碳酸钾、碳酸钙）或有机碱（如三乙胺、吡啶、4-二甲氨基吡啶、三丙胺、三丁胺），优选吡啶或三乙胺。

本发明的又一目的是由以下技术方案进一步达到的，本发明提供

一种该化合物及其盐单独或和其他药物联合使用在治疗细胞增生性疾病（如癌）中的应用。

在本发明中，“烷基”指支链或直链饱和脂肪族碳氢基；优选碳原子为 1-10 个的支链或直链饱和脂肪族烷基，如甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、叔丁基、异丁基、戊基、己基、庚基、辛基等；“环烷基”指含单环的饱和脂肪族碳氢基，优选碳原子为 3-10 个的环烷基，如环丙基、甲基-环丙基、2, 2-二甲基-环丁基、乙基-环戊基、环己基等；在“C1-C6 芳烷基”和“C1-C6 杂环芳烷基”中，“C1-C6”指烷基部分碳原子数。

在本发明中，“烯基”指碳原子为 2-10 个、至少含一个碳碳双键的支链、直链或环状非芳香族碳氢基团，如乙烯基、丙烯基、丁烯基、环己烯等。在“C2-C6 烯基”中指烯基碳原子为 2-6 个。

在本发明中，“炔基”指碳原子为 2-10 个、至少含一个碳碳三键的支链、直链或环状碳氢基团，如乙炔基、丙炔基、丁炔基、3-甲基丁炔基等。在“C2-C6 炔基”中指炔基碳原子为 2-6 个。

在本发明中，“烷氧基”指通过氧连接、碳原子为 1-10 个的环状或非环状烷基。

在本发明中，“芳基”指任何稳定的单环或双环，其中每个环的碳原子不大于 7 个并至少一个环为芳香环，如苯基、萘基、四氢萘、二苯基等。若芳基为双环且其中一环为非芳香环，则反应通过芳香环连接。

在本发明中，“卤素原子”指氟、氯、溴和碘。

在本发明中，“杂环芳基”指稳定的单环或双环，其中每个环碳原子不大于 7 个并至少一个环为芳香环且含有 1-4 个杂原子，杂原子选自 O、N、S。按此定义，“杂环芳基”包括但并非限定以下种类：呋喃基、噻吩基、吡咯基、噻唑基、噻二唑基、异噻唑基、咪唑基、三唑基、三嗪基、吡嗪基、哒嗪基、吡啶基、嘧啶基、苯并噻吩基、苯并呋喃基、吲哚基、苯并三唑基、喹啉基、喹喔啉基、异喹啉基、四氢喹啉基等。当杂环芳基中含 N 原子时，“杂环芳基”也包括其 N-氧衍生物。若杂环芳基为双环且其中一环为非芳香环或不杂原子时，则反应通过芳香环或含杂原子的环连接。

在本发明中，“杂环”指 4-8 个原子的单环、7-12 个原子的双环或 1-16 个原子的三环；环可以是饱和或非饱和的，由碳原子和一个或多个杂原子组成，其中杂原子选自 N、O、S，当 N 和 S 为杂原子时，可以被氧化；当 N 为杂原子时可以被季铵化。只要能得到稳定的结构，反应可以通过任何杂原子或碳原子相连接。当杂环有取代基时，取代基可以接在环中任何原子上。它包括苯并咪唑基、苯并呋喃基、苯并吡唑基、苯并三唑基、苯并噁吩基、呋唑基、呋啉基、呋喃基、咪唑基、二氢吡啶基、吡啶基、吡唑基、异苯并呋喃基、异吡啶基、异喹啉基、异噁唑基、奈吡啶基、吡喃基、吡嗪基、吡啶基、哒嗪基、吡啶并吡啶基、吡啶基、嘧啶基、吡咯基、喹啉基、喹啉基、喹喔啉基、四氢吡喃基、四唑基、四唑并吡啶基、噁二唑基、噁唑基、噁吩基、三唑基、六氢氮杂基、哌嗪基、哌啶基、吡咯烷基、吗啉基、硫吗啉基、二氢苯并咪唑基、二氢苯并呋喃基、二氢苯并噁吩基、二氢呋喃基、二氢咪唑基、二氢吡啶基、二氢异噁唑基、二氢吡嗪基、二氢吡唑基、二氢吡啶基、二氢嘧啶基、二氢吡咯基、二氢喹啉基、二氢四唑基、二氢噁二唑基、二氢噁唑基、二氢噁吩基、二氢三唑基、二氢氮杂环丁烷基、亚甲基二氧苯甲酰基、四氢呋喃基、四氢噁吩基、噁嗪基、二氧噁二嗪基、二氧噁二唑烷基、异二氧噁二唑烷基等；“杂环”还包括以下双环化合物，如咪唑[4, 5-b]吡啶基、二氢咪唑[4, 5-b]吡啶基、吡啶[4, 3-c]吡啶基、二氢吡啶[4, 3-c]吡啶基、四氢吡啶[4, 3-c]吡啶基、吡咯[1, 2-a]吡嗪基、二氢吡咯[1, 2-a]吡嗪基、四氢吡咯[1, 2-a]吡嗪基、噌啉基、嘌呤基、1, 6-萘啶基、1, 8-萘啶基、咪唑[1, 2-a]嘧啶基、2, 3-二氢咪唑[2, 1-b][1, 3]噁唑基、苯氮杂基、二氢苯氮杂基、苯并二氮杂基、二氢苯并二氮杂基、四氢苯并二氮杂基等；“杂环”还包括以下三环化合物，如吩噻嗪基、呋唑基、 $\beta$ -呋唑基、吩嗪基等。

上述烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂环芳基和杂环基也可以被取代，其取代基包括但并非限定以下种类：羟基、烷基、卤代烷基、卤素、氰基、硝基、羰基、酯基、氨基、烷氧基、烷基氨基、二烷基氨基等。

本发明所得化合物及其盐可通过口服、真皮或非胃肠道（如通过

注射、吸入、喷雾、舌下、直肠或阴道)给药。“注射给药”包括静脉注射、关节注射、肌肉注射、皮下注射、非肠道注射以及输液。真皮给药包括局部或交叉给药。口服用药是按照本领域技术人员所熟知的方法制备的,在此类制剂中还可有一种或多种助剂,如稀释剂、甜味剂、调味剂、色剂和防腐剂。

在片剂中,活性组分和无毒、可药用的赋形剂混合。这些赋形剂包括:惰性稀释剂(如碳酸钙、碳酸钠、乳糖、磷酸钙或磷酸钠)、粒化或崩解剂(如玉米淀粉、藻酸)和粘合剂(如硬脂酸镁、硬脂酸、滑石)。片剂可以不包衣,也可以用已知的方法包衣来延缓在胃肠道中的分解和吸收从而延长药效时间,如可以使用硬脂酸甘油酯或甘油二硬脂酸酯。这些化合物也可以制备成固态、快速释放的模式。

在硬胶囊中,活性组分和惰性固体稀释剂如碳酸钙、磷酸钙或陶土混合;在软胶囊中,活性组分和水或油媒介如花生油、石蜡或橄榄油混合。

在水悬浮剂中,活性组分和能适合药用的赋形剂混合。这些赋形剂有悬浮剂(如羟基甲基纤维素钠、甲基纤维素、羟基丙基-甲基纤维素、藻酸钠、聚乙烯吡咯烷酮、黄蓍胶、阿拉伯胶)、分散剂或湿润剂[包括自然产生的磷脂(如卵磷脂)或烯化氧和脂肪酸的缩合物(如聚氧乙烯硬脂酸酯)或乙烯化氧和长链脂肪醇的缩合物(如十七碳乙烯氧十六醇)或乙烯氧和由脂肪酸和己糖醇衍生得到的部分酯的缩合物(如聚氧乙烯山梨糖醇单油酸酯)或乙烯氧和由脂肪酸和己糖酐衍生得到的部分酯的缩合物(如聚乙烯脱水山梨糖醇单油酸酯)。所述水悬浮剂也可以含一种或多种防腐剂(如对羟基苯甲酸乙酯、对羟基苯甲酸丙酯);一种或多种色剂;一种或多种芳香剂以及一种或多种甜味剂(如蔗糖或糖精)。

适合制备水悬浮剂的可分散粉末和颗粒是通过将水、活性组分和分散剂或湿润剂、悬浮剂和一种或多种防腐剂混合而制备的。也可以向其中加入其他赋形剂如甜味剂、色剂、芳香剂。

本发明所得通式(I)的化合物及其盐也可以制备成非-水液体制剂。油悬浮剂可以将活性组分悬浮在植物油(如花生油、橄榄油、芝麻油)或矿物油(如液体石蜡)中;油悬浮剂中可以含有增稠剂(如蜂蜡、

硬石蜡或十六醇)；也可以加入甜味剂和芳香剂来增加制剂的口感；为增加制剂的稳定性，可加入抗氧化剂（如抗坏血酸）。

本发明所得通式 (I) 的化合物及其盐也可以制备成油-水乳状液。油相选自植物油（如橄榄油、花生油）或矿物油（如液体石蜡）或上述混合物。乳化剂选自天然树胶（如黄蓍胶、阿拉伯胶）或天然磷脂（如大豆、卵磷脂）或由脂肪酸和己糖酐衍生得到的部分酯（如山梨糖醇单油酸酯）或上述酯和乙烯氧缩合的产物（如聚氧乙烯山梨醇单油酸酯）。乳状液中也可以含甜味剂和芳香剂。

糖浆和西也剂中甜味剂选自甘油、丙二醇、山梨醇或蔗糖。这类制剂中也可以含有缓和剂、防腐剂、芳香剂和色剂。

本发明所得通式 (I) 的化合物及其盐也可以制备成直肠或阴道给药的栓剂。本栓剂通过将活性组分和合适无毒的赋形剂混合来制备，所选用的赋形剂在常温下是固体，但在直肠或阴道中融化变成液体从而释放出药物，如可可油和聚乙二醇。

本发明所得通式 (I) 的化合物及其盐也可以用本领域技术人员熟知的方法反真皮给药。例如，在挥发性溶剂中，将所得到的化合物 (I) 的溶液或悬浮液、渗透增强剂和本领域技术人员熟知的添加剂相混合，无菌处理后，所得混合物按熟知的程序和一定的剂量制备成所需制剂；另外，用乳化剂或水处理后，化合物 (I) 的溶液或悬浮液可以制备成洗剂或药膏。

经皮传输系统所用溶剂是本领域技术人员所熟知的，包括低级醇（如乙醇或异丙醇）、低级酮（如丙酮）、低级羧酸酯（如乙酸乙酯）、极性醚类（如四氢呋喃）、低级碳氢化物（如正己烷、环己烷或苯）或卤代碳氢化物（如二氯甲烷、氯仿、三氯三氟乙烷）；所用溶剂还包括选自低级醇、低级酮、低级羧酸酯、极性醚、低级碳氢化物、卤代低级碳氢化物中的一种或多种混合溶剂。

经皮传输系统所用渗透增强剂是本领域技术人员所熟知的，包括单羟基或多羟基醇（如乙醇、丙二醇或苯醇）、饱和或不饱和的 C8-C18 脂肪醇（如十二醇或十六醇）、饱和或不饱和的 C8-C18 脂肪酸（如硬脂酸）、碳原子不超过 24 的饱和或不饱和酯（如乙酸、己酸、月桂酸、十四酸、硬脂酸或软脂酸和甲醇、乙醇、丙醇、丁醇、异丁醇、叔丁

醇或单甘油所生成的酯)或饱和或不饱和的二羧酸所形成的二酯(如己二酸二异丙酯、己二酸二异丁酯、癸二酸二异丙酯、马来酸二异丙酯;渗透增强剂还包括磷脂衍生物(如卵磷脂或脑磷脂)、萜烯、氨、酮、尿素及其衍生物和醚类(如异山梨醇二甲醚、二甘醇单乙醚);合适的渗透增强剂还包括选自单羟基或多羟基醇、饱和或不饱和 C8-C18 脂肪醇、饱和或不饱和 C8-C18 脂肪酸、碳原子不超过 24 个的饱和或不饱和酯、饱和或不饱和的二羧酸所形成的二酯、磷脂衍生物、萜烯、氨、酮、尿素及其衍生物、醚中的一种或多种物质的混合物。

经皮传输系统所用粘合剂是本领域技术人员所熟知的,包括聚丙烯酸酯、硅树脂、聚亚安酯、嵌段共聚物、苯乙烯-丁二烯共聚物、天然或合成橡胶,纤维素、聚乙烯衍生物和硅酸盐也可以用作骨架的组成物。另外,也可以加入添加剂如粘性树脂或油从而增加骨架的粘性。

本发明所得通式(I)的化合物及其盐,其口服给药日剂量优选 0.01-200mg/kg;其注射给药日剂量(如静脉注射、肌肉注射、皮下注射、非肠道注射或输液)优选 0.01-200mg/kg;其直肠或阴道给药日剂量优选 0.01-200mg/kg;其局部给药日剂量优选 0.1-200mg,每天给药 1-4 次;其反真皮给药浓度优选 0.01-200mg/kg;其吸入给药日剂量优选 0.01-10mg/kg,其中“mg”表示药物组合中活性组分的重量单位,“kg”表示人体的重量单位。

当然,就如本领域技术人员所熟知的,药物的给药剂量依赖于多种因素,包括但并非限定以下因素:所用特定化合物的活性、病人的年龄、病人的体重、病人的健康状况、病人的性别、病人的饮食、给药的时间、给药的方式、排泄的速率、药物的组合等;另外,最佳的治疗方式如治疗的模式、化合物(I)的日剂量或药学可接受盐的种类可以根据传统的治疗方案来验证。

另一方面,本发明提供一种该化合物及其盐单独或和其他药物联合使用在治疗细胞增生疾病(如癌)中的应用。能和本发明所提供的化合物及其盐联合使用的抗肿瘤剂包括多聚核苷酸、多肽、生物模拟药物、生物碱、烷基化剂、抗肿瘤抗生素、抗代谢物、激素、铂化合物、和抗肿瘤药物结合的单克隆抗体、毒素和或放射性核、生物学反应修饰剂(如干扰素)、免疫疗法剂、造血增长因子、基因治疗剂、反

义治疗剂、核苷、抗肿瘤疫苗等。优选的抗肿瘤剂有诱导或刺激 apoptosis 剂，诱导 apoptosis 剂包括但并非限定以下种类：放射物、激酶抑制剂（如表皮生长因子受体激酶抑制剂、血管生长因子受体激酶抑制剂、衍生血小板生长因子受体激酶抑制剂和 Bcr-abl 激酶抑制剂如 STI-157, Gleevec），还优选反义分子、抗体（如 Herceptin 和 Rituxan）、抗雌激素剂（如 raloxifene 和 tamoxifen）、抗男性荷尔蒙剂（如 flutamide、bicalutamide、finasteride、aminoglutethamide、ketoconazole 和 corticosteroids）、COX-2 抑制剂（如 Celecoxib、meloxicam、NS-398、非甾族抗炎药物和癌症化疗药物（如 irinotecan）、CPT-11、fludarabine、dacarbazine、dexabetasone、mitoxantrone、Mylotarg、VP-16、顺铂、5-FU、Doxrubicin、TAXOTERE、细胞标记分子、ceramide、cytokine、staurosporine 等。

本发明涉及通式为 (I) 的化合物及其盐的制备方法，其制备方法具体包括：

阶段 A: 本阶段包括化合物 (II) 和化合物 (III) 反应制备化合物 (IV)。本反应在碱性环境中进行，所用的碱选自有机碱（如吡啶、三乙胺、六氢吡啶、N-甲基哌嗪、4-二甲氨基吡啶等）或无机碱（如碳酸钠、碳酸钾、碳酸氢钠、碳酸氢钾、甲醇钠、乙醇钠、氨基钠、钠氢、正丁基锂等），所用碱量控制在化合物 (II) 物质质量的 1-10 倍，优选 1-3 倍；本反应温度从 -80°C 到 100°C，优选 0°C 到 60°C；本反应所用时间取决于化合物 (II) 和 (III) 类型、所选用的溶剂和反应的温度等，一般控制在 1min-72hrs，优选 15min-24hrs。

阶段 B: 本阶段包括化合物 (IV) 和化合物 (V) 缩合反应制备化合物 (I)。当缩合反应在酸和氨基之间进行时，所用缩合剂选自 N，N-二环己基碳二亚胺、N，N-二异丙基碳二亚胺、N，N-二乙基碳二亚胺、三苯基磷和偶氮二羧酸二乙酯组成的混合物或三苯基磷和偶氮二羧酸二异丙酯组成的混合物等，优选 N，N-二环己基碳二亚胺；所用溶剂选自甲苯、苯、二氯甲烷、氯仿、四氢呋喃或上述溶剂组成的混合物等，优选二氯甲烷；反应温度控制在 -80°C 到 100°C，优选 0°C 到 60°C；反应所用时间取决于化合物 (IV) 和 (V) 类型、所选用的溶剂和反应的温度等，一般控制在 1min-72hrs，优选 15min-24hrs。当缩合反

应在酰卤和氨基之间进行时，所用缩合剂选自有机碱（如吡啶、三乙胺、六氢吡啶、N-甲基哌嗪、4-二甲氨基吡啶等）或无机碱（如碳酸钠、碳酸钾、碳酸氢钠、碳酸氢钾、甲醇钠、乙醇钠、氨基钠、钠氢、正丁基锂等），所用碱量控制在化合物（IV）质量的 1-10 倍，优选 1-3 倍；本反应温度从-80℃到 100℃，优选 0℃到 60℃；本反应所用时间取决化合物（II）和（III）类型、所选用的溶剂和反应的温度等，一般控制在 1min-72hrs，优选 15min-24hrs。

本发明所得化合物：4-（（甲基-1-哌嗪基）甲基）-N-[4-甲基-3-[[4-（3-吡啶基）-2-嘧啶基]氨基]-吡啶基]-3-氯-苯甲酰胺甲磺酸盐（编号化合物 E）和 4-（（甲基-1-哌嗪基）甲基）-N-[4-甲基-3-[[4-（3-吡啶基）-2-嘧啶基]氨基]-吡啶基]-3-（三氟甲基）-苯甲酰胺甲磺酸盐（编号化合物 F）对体外培养的人慢性髓性白血病 K562 细胞和人早幼粒白血病 HL-60 细胞增殖抑制作用做了研究，并与 Imatinib 的作用进行了比较。

表 1 氨基嘧啶类化合物对体外培养的白血病细胞的增殖抑制作用

	IC <sub>50</sub> (μM)		
	化合物 E	化合物 F	imatinib
K562	0.08	0.008	0.33
HL-60	>10	10	>10

结果：

Imatinib 通过抑制 Abl 酪氨酸激酶的活性而发挥其抑制细胞增殖的作用。在 95% 以上的慢性髓性白血病病人中，由于染色体易位，产生 Bcr-Abl 融合蛋白，导致高表达 Abl 酪氨酸激酶活性。人慢性髓性白血病 K562 细胞表达 Bcr-Abl 蛋白，因此，是研究针对 Bcr-Abl 药物的常用细胞模型。本实验发现本发明所得化合物对 K562 的增殖均有不同程度的抑制作用，化合物 F 作用比 imatinib 约强 40 倍；化合物 E 作用比 imatinib 强 4 倍。人早幼粒细胞白血病 HL-60 没有表达 Bcr-Abl，因此，作为本实验的模型对照。结果发现本发明所得化合物即使在高浓度时(10 μM)对 HL-60 细胞的增殖也没有明显的影响，说明这类化合物

对作用靶点有很好的选择性，其中，对照药物 imatinib 的选择性约大于 30 倍；化合物 F 约为 1250 倍；化合物 E 约大于 125 倍。因此，本发明所得化合物 E 和化合物 F 对靶向白血病细胞的增殖显示出很强的抑制作用，他们的作用均优于或相当于对照药物 Imatinib。

#### 附图的详细说明

图 1：氨基嘧啶类化合物药物浓度对早幼粒白血病 HL-60 细胞增殖抑制率关系图。

图 2：氨基嘧啶类化合物药物浓度对人髓性白血病 K562 细胞增殖抑制率关系图。

图 3：氨基嘧啶类化合物对人髓性白血病 K562、早幼粒白血病 HL-60 细胞增殖抑制图。

图 3-a：人髓性白血病 K562 细胞对照图。

图 3-b：早幼粒白血病 HL-60 细胞对照图。

图 3-c：化合物 E (0.3uM) 对人髓性白血病 K562 细胞增殖抑制图。

图 3-d：化合物 E (10uM) 对早幼粒白血病 HL-60 细胞增殖抑制图。

图 3-e：化合物 F (0.03uM) 对人髓性白血病 K562 细胞增殖抑制图。

图 3-f：化合物 E (10uM) 对早幼粒白血病 HL-60 细胞增殖抑制图。

图 3-g：化合物 Imatinib (0.3uM) 对人髓性白血病 K562 细胞增殖抑制图。

图 3-h：化合物 Imatinib (10uM) 对早幼粒白血病 HL-60 细胞增殖抑制图。

图 4：HH-GV-E、HH-GV-F、Gleevec 对人粒细胞白血病 K562 裸小鼠移植瘤的疗效图。

图 5：HH-GV-E、HH-GV-F、Gleevec 对荷瘤裸小鼠体重的影响图。

图 6：HH-GV-E、HH-GV-F、Gleevec 对人粒细胞白血病 K562 裸小鼠移植瘤的疗效。肿瘤照片。

## 具体实施方式

为了更详细地说明本发明，给出下述制备实例。但本发明的范围并非限定于此。

### 实施例 1

#### N-（5-硝基-2-甲基吡啶基）-4-（3-吡啶基）-2-嘧啶胺的制备

将 2-甲磺酰基-4-（3-吡啶基）嘧啶（3.0 克）、2-甲基-3-氨基-5-硝基吡啶（5.0 克）和 DMF（50 毫升）投入到反应瓶中，冷却至 0-5℃，加入钠氢（60%、2.3 克），自然升至室温反应 6 小时。向反应液中加入氯仿和水各 50 毫升，分层，水层用氯仿（2×100 毫升）反提，合并有机层，干燥，过滤，浓缩干，柱层析纯化得 N-（5-硝基-2-甲基吡啶基）-4-（3-吡啶基）-2-嘧啶胺：5.2 克。

### 实施例 2

#### N-（5-氨基-2-甲基吡啶基）-4-（3-吡啶基）-2-嘧啶胺的制备

方法 A：将 N-（5-硝基-2-甲基吡啶基）-4-（3-吡啶基）-2-嘧啶胺（3.0 克）、活性镍（0.3 克）和甲醇（100 毫升）投入到反应瓶中，常压加氢至无原料。过滤，浓缩干，得 N-（5-氨基-2-甲基吡啶基）-4-（3-吡啶基）-2-嘧啶胺：2.8 克。

方法 B：将 N-（5-硝基-2-甲基吡啶基）-4-（3-吡啶基）-2-嘧啶胺（18 克）、乙醇（180 毫升）、水合肼（9 毫升）和活性镍（0.5 克）投入到反应瓶中，回流反应 3 小时，过滤，滤液减压浓缩至析出固体，0℃放置过夜，过滤，干燥得 N-（5-氨基-2-甲基吡啶基）-4-（3-吡啶基）-2-嘧啶胺：15 克。

方法 C：将 N-（5-硝基-2-甲基吡啶基）-4-（3-吡啶基）-2-嘧啶胺（18 克）和四氢呋喃（200 毫升）投入到反应瓶中，冷却至 0-5℃，分批加入氢化锂铝（共约 2.2 克），保温反应 2 小时，向反应液中加入 1N 盐酸调 PH=5-6，用二氯甲烷（2×100 毫升）提取，合并有机层，干燥，过滤，浓缩干得 N-（5-氨基-2-甲基吡啶基）-4-（3-吡啶基）-2-嘧啶胺：12 克。

### 实施例 3

#### 4-((甲基-1-哌嗪基)甲基)-N-[4-甲基-3-[[4-(3-吡啶基)-2-嘧啶基]氨基]-吡啶基]-苯甲酰胺的制备

方法 D: 将 4-(4-甲基哌嗪甲基)苯甲酸(3.2 克)和氯化亚砷(100 毫升)投入到反应瓶中,加热至回流反应 4 小时,减压浓缩至干,所得固体直接用于下步投料。

将 N-(5-氨基-2-甲基吡啶基)-4-(3-吡啶基)-2-嘧啶胺(3.0 克)溶于吡啶(80 毫升)中,溶清后将此溶液滴加到上述酰氯中,室温搅拌过夜。减压浓缩干,向反应液中加入水和氯仿各 100 毫升,萃取,干燥,过滤,浓缩干,柱层析纯化得 4-((甲基-1-哌嗪基)甲基)-N-[4-甲基-3-[[4-(3-吡啶基)-2-嘧啶基]氨基]-吡啶基]-苯甲酰胺: 4.2 克。

方法 E: 将 4-(4-甲基哌嗪甲基)苯甲酸(3.2 克)、N,N-二环己基碳二亚胺(3.0 克)、N-(5-氨基-2-甲基吡啶基)-4-(3-吡啶基)-2-嘧啶胺(3.0 克)和二氯甲烷(100 毫升)投入到反应瓶中,室温搅拌反应过夜。过滤,滤液用水(2×100 毫升)洗涤,干燥,过滤,浓缩干柱层析纯化得 4-((甲基-1-哌嗪基)甲基)-N-[4-甲基-3-[[4-(3-吡啶基)-2-嘧啶基]氨基]-吡啶基]-苯甲酰胺: 4.0 克。

### 实施例 4

#### 4-((甲基-1-哌嗪基)甲基)-N-[4-甲基-3-[[4-(3-吡啶基)-2-嘧啶基]氨基]-吡啶基]-苯甲酰胺甲磺酸盐的制备

方法 F: 将 4-((甲基-1-哌嗪基)甲基)-N-[4-甲基-3-[[4-(3-吡啶基)-2-嘧啶基]氨基]-吡啶基]-苯甲酰胺(2.0 克)、甲磺酸(0.40 克)和纯化水(100 毫升)投入到反应瓶中,溶清后过滤,滤液冷冻干燥得 4-((甲基-1-哌嗪基)甲基)-N-[4-甲基-3-[[4-(3-吡啶基)-2-嘧啶基]氨基]-吡啶基]-苯甲酰胺甲磺酸盐: 2.2 克。

方法 G: 将 4-((甲基-1-哌嗪基)甲基)-N-[4-甲基-3-[[4-(3-吡啶基)-2-嘧啶基]氨基]-吡啶基]-苯甲酰胺(2.0 克)、甲磺酸(0.40 克)和甲醇(100 毫升)投入到反应瓶中,溶清后减压浓缩至约 20 毫升,加入丙酮析晶,过滤,干燥得 4-((甲基-1-哌嗪基)甲基)-N-[4-甲基-3-[[4-(3-吡啶基)-2-嘧啶基]氨基]-吡啶基]-苯甲酰胺甲磺酸盐: 2.0 克。

### 实施例 5

#### 4-((乙基-1-哌嗪基)甲基)-N-[4-甲基-3-[[4-(3-吡啶基)-2-噻啶基]氨基]-吡啶基]-苯甲酰胺的制备

按实施例 3 中 D、E 两种相同的方法制备, 不同之处在于用 4-(4-乙基哌嗪甲基)苯甲酸(3.3 克)代替 4-(4-甲基哌嗪甲基)苯甲酸(3.2 克)。

### 实施例 6

#### 4-((乙基-1-哌嗪基)甲基)-N-[4-甲基-3-[[4-(3-吡啶基)-2-噻啶基]氨基]-吡啶基]-苯甲酰胺甲磺酸盐的制备

按实施例 4 中 F、G 两种相同的方法制备, 不同之处在于用 4-((乙基-1-哌嗪基)甲基)-N-[4-甲基-3-[[4-(3-吡啶基)-2-噻啶基]氨基]-吡啶基]-苯甲酰胺(2.10 克)代替 4-((甲基-1-哌嗪基)甲基)-N-[4-甲基-3-[[4-(3-吡啶基)-2-噻啶基]氨基]-吡啶基]-苯甲酰胺(2.0 克)。

### 实施例 7

#### 4-((甲基-1-哌嗪基)甲基)-N-[4-甲基-3-[[4-(3-吡啶基)-2-噻啶基]氨基]-吡啶基]-3-氟苯甲酰胺的制备

按实施例 3 中 D、E 两种相同的方法制备, 不同之处在于用 4-(4-甲基哌嗪甲基)-3-氟-苯甲酸(3.3 克)代替 4-(4-甲基哌嗪甲基)苯甲酸(3.2 克)。

### 实施例 8

#### 4-((甲基-1-哌嗪基)甲基)-N-[4-甲基-3-[[4-(3-吡啶基)-2-噻啶基]氨基]-吡啶基]-3-氟苯甲酰胺甲磺酸盐的制备

按实施例 4 中 F、G 两种相同的方法制备, 不同之处在于用 4-((甲基-1-哌嗪基)甲基)-N-[4-甲基-3-[[4-(3-吡啶基)-2-噻啶基]氨基]-吡啶基]-3-氟-苯甲酰胺(2.10 克)代替 4-((甲基-1-哌嗪基)甲基)-N-[4-甲基-3-[[4-(3-吡啶基)-2-噻啶基]氨基]-吡啶基]-苯甲酰胺(2.0 克)。

### 实施例 9

#### 4-((甲基-1-哌嗪基)甲基)-N-[4-甲基-3-[[4-(3-吡啶基)-2-咪啶基]氨基]-吡啶基]-3-氯-苯甲酰胺的制备

按实施例 3 中 D、E 两种相同的方法制备,不同之处在于用 4-(4-甲基哌嗪甲基)-3-氯-苯甲酸(3.4 克)代替 4-(4-甲基哌嗪甲基)苯甲酸(3.2 克)。

### 实施例 10

#### 4-((乙基-1-哌嗪基)甲基)-N-[4-甲基-3-[[4-(3-吡啶基)-2-咪啶基]氨基]-吡啶基]-苯甲酰胺甲磺酸盐的制备

按实施例 4 中 F、G 两种相同的方法制备,不同之处在于用 4-((甲基-1-哌嗪基)甲基)-N-[4-甲基-3-[[4-(3-吡啶基)-2-咪啶基]氨基]-吡啶基]-3-氯-苯甲酰胺(2.20 克)代替 4-((甲基-1-哌嗪基)甲基)-N-[4-甲基-3-[[4-(3-吡啶基)-2-咪啶基]氨基]-吡啶基]-苯甲酰胺(2.0 克)。

### 实施例 11

#### 4-((甲基-1-哌嗪基)甲基)-N-[4-甲基-3-[[4-(3-吡啶基)-2-咪啶基]氨基]-吡啶基]-3-(三氟甲基)苯甲酰胺的制备

按实施例 3 中 D、E 两种相同的方法制备,不同之处在于用 4-(4-甲基哌嗪甲基)-3-(三氟甲基)苯甲酸(3.6 克)代替 4-(4-甲基哌嗪甲基)苯甲酸(3.2 克)。

### 实施例 12

#### 4-((乙基-1-哌嗪基)甲基)-N-[4-甲基-3-[[4-(3-吡啶基)-2-咪啶基]氨基]-吡啶基]-苯甲酰胺甲磺酸盐的制备

按实施例 4 中 F、G 两种相同的方法制备,不同之处在于用 4-((甲基-1-哌嗪基)甲基)-N-[4-甲基-3-[[4-(3-吡啶基)-2-咪啶基]氨基]-吡啶基]-3-(三氟甲基)苯甲酰胺(2.35 克)代替 4-((甲基-1-哌嗪基)甲基)-N-[4-甲基-3-[[4-(3-吡啶基)-2-咪啶基]氨基]-吡啶基]-苯甲酰胺(2.0 克)。

### 实施例 13

化合物 F	400g
淀粉	100g
蔗糖	20g
微晶纤维素	10g
0.5%CMC 液	适量
硬脂酸镁	5g

1000 片

常规湿法制粒，压片，包装。

### 实验例一

#### HH-GV-E、HH-GV-F、Gleevec 对人粒细胞白血病 K562 裸小鼠移植瘤的疗效

本试验例中，HH-GV-E 指 4-((甲基-1-哌嗪基)甲基)-N-[4-甲基-3-[[4-(3-吡啶基)-2-嘧啶基]氨基]-吡啶基]-3-氯-苯甲酰胺甲磺酸盐；HH-GV-F 指 4-((甲基-1-哌嗪基)甲基)-N-[4-甲基-3-[[4-(3-吡啶基)-2-嘧啶基]氨基]-吡啶基]-3-(三氟甲基)-苯甲酰胺甲磺酸盐。

#### 1. 实验动物：

BALB/cA-nude 裸小鼠购自上海斯莱克实验动物有限责任公司；18—21g，♀，合格证号：SCXK（沪）2004—0005；在恒温、恒湿的 SPF 环境中饲养。

#### 2. 实验步骤

动物适应 1 周后，皮下接种人白血病 K562 细胞，待肿瘤生长到 100—300 mm<sup>3</sup> 后，将动物随机分组(d0)。裸小鼠灌胃给药。HH-GV-E、Gleevec，给药剂量均为 75mg/kg，150 mg/kg；HH-GV-F 为 37.5mg/kg，75mg/kg。每天给药 1 次，共 21 天。每周测 2—3 次瘤体积，称鼠重，记录数据。肿瘤体积（V）计算公式为： $V=1/2 \times a \times b^2$  其中 a、b 分别表示长、宽。

#### 3. 结果

参见图 1-6，小鼠灌胃给药，每天 1 次，连续 21 天。

对照组小鼠在实验第 18 天时，有 1/8 只小鼠死亡，至实验结束时共有 2/8 只小鼠死亡，根据肿瘤生长情况及小鼠状态，该死亡应属于肿瘤生长所致。

Gleevec 按照目前的给药方案对 K562 肿瘤生长没有明显作用；150 mg/kg 组有 1/6 只小鼠在给药后第 18 天死亡，应属于肿瘤相关性死亡。

HH-GV-E 150 mg/kg 给药对 K562 肿瘤生长有明显的抑制作用，但没有引起肿瘤消退。

HH-GV-F 75mg/kg 给药后第 9 天，有 1/6 只小鼠出现肿瘤消退；第 12 天有 4/6 只小鼠出现肿瘤消退；第 15 天出现 5/6 只小鼠肿瘤消退。但在试验结束时(即给药后第 21 天)有 1 只小鼠肿瘤复发，因此，试验结束时共有 4/6 只小鼠肿瘤消退。37.5mg/kg 给药明显抑制 K562 肿瘤的生长，但没有引起小鼠肿瘤消退。HH-GV-F 的疗效呈现出明显的剂量依赖性。由于肿瘤消退，HH-GV-F 给药组的小鼠状态明显比对照组和 Gleevec、HH-GV-E 组好，显示出 HH-GV-F 对慢性粒细胞白血病非常好的治疗效果。

表 2. 口服 HH-GV-E、HH-GV-F、Gleevec 对人粒细胞白血病 K562 裸小鼠移植瘤的疗效

组别	剂量 (mg/kg)	动物数		解剖前体重 (克)		TV x±SD		RTV	T/C	CR
		d0	dn	d0	dn	d0	dn	x±SD	(%)	
对照		8	6	18.9	16.3	161±61	1133±527	7.05±2.91		0/6
Gleevec	75	6	6	19.3	15.6	153±68	971±154	8.56±7.09	0	0/6
Gleevec	150	6	5	20.3	16.3	127±45	824±170	8.30±5.65	0	0/6
HH-GV-E	75	6	6	18.5	14.2	130±58	954±242	9.60±6.51	0	0/6
HH-GV-E	150	6	6	18.8	15.2	149±31	455±214	3.24±1.65	47.4*	0/6
HH-GV-F	37.5	6	6	19.3	18.8	119±51	294±255	2.85±3.18	40.4*	0/6
HH-GV-F	75	6	6	19.2	19.3	127±46	95±199	1.38±3.08	19.6*	4/6

d0: 分笼给药时间; dn: 第 1 次给药后 21 天; \*P<0.01 vs 对照; CR: 完全消退。

#### 4. 结论:

HH-GV-F 对人粒细胞白血病 K562 有非常好的疗效；其疗效明显优于 HH-GV-E 和 Gleevec。

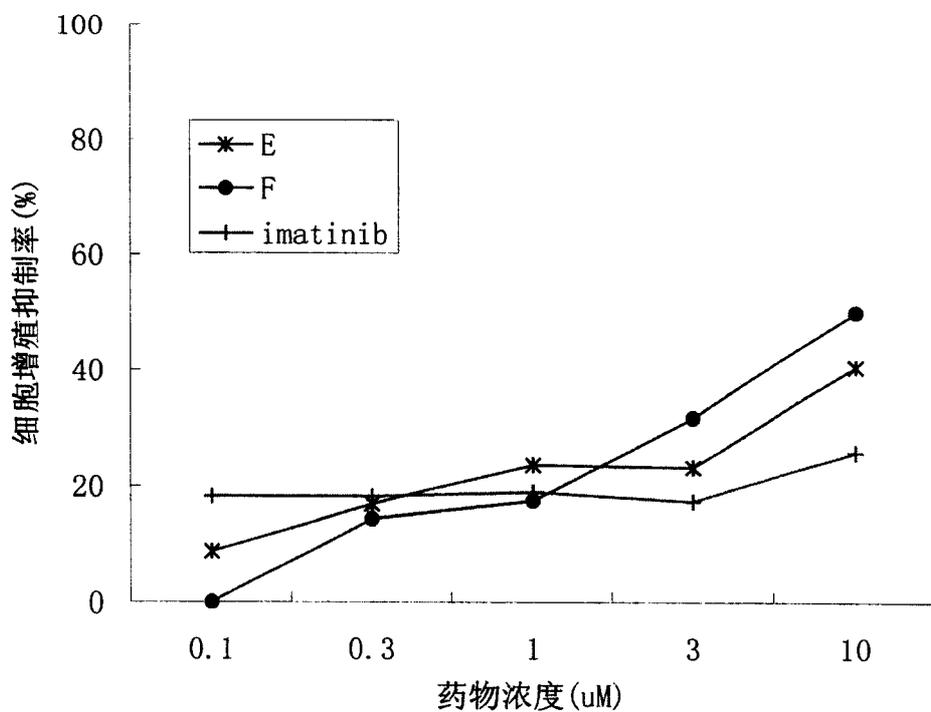


图 1

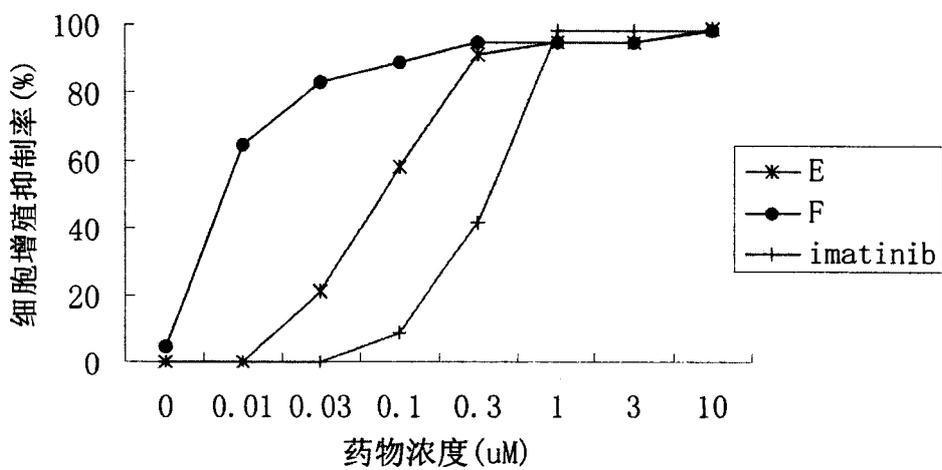
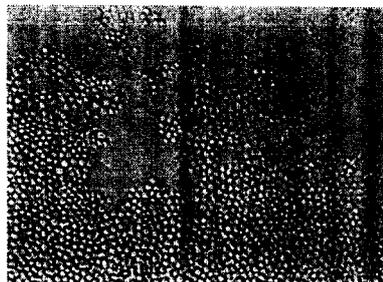
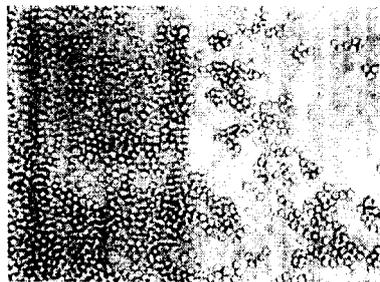


图 2

K562

HL-60

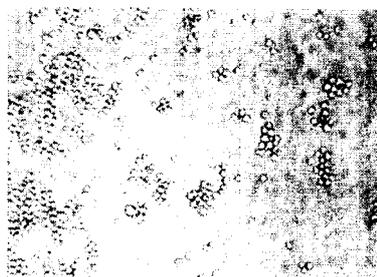
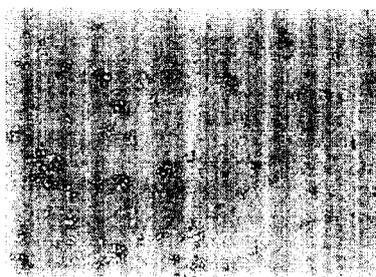


对照

对照

图 3-a

图 3-b

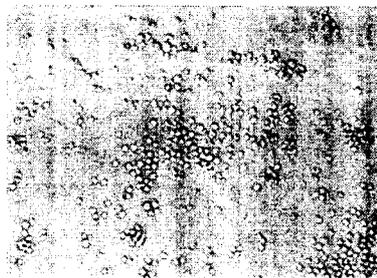
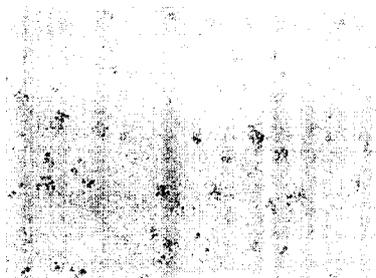


化合物 E 0.3  $\mu\text{M}$

化合物 E 10  $\mu\text{M}$

图 3-c

图 3-d

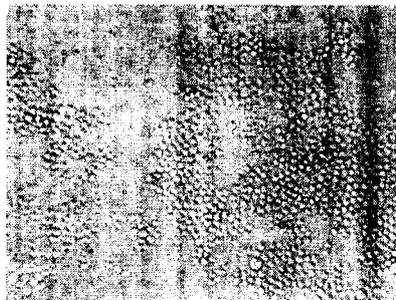
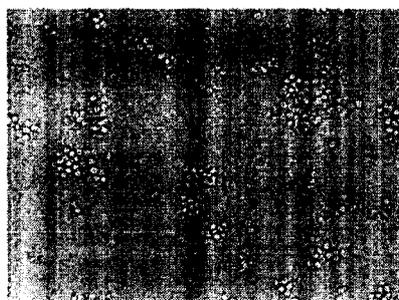


化合物 F 0.03  $\mu\text{M}$

化合物 F 10  $\mu\text{M}$

图 3-e

图 3-f



Imatinib 0.3  $\mu\text{M}$

Imatinib 10  $\mu\text{M}$

图 3-g

图 3-h

图 3

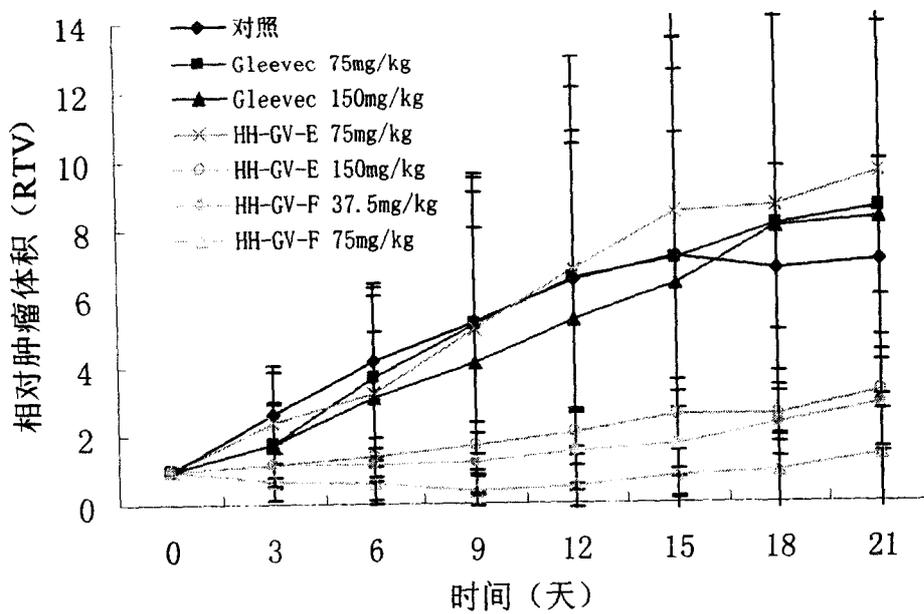


图 4

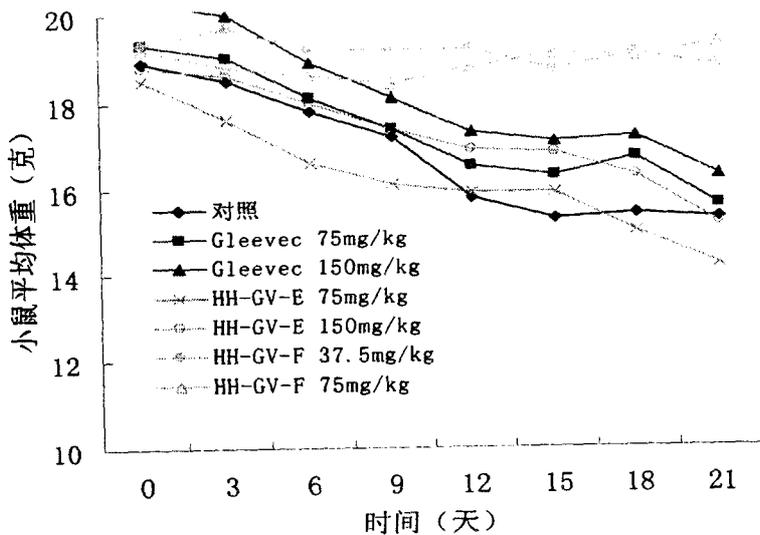


图 5

Gleevec, HH-GV-E, HH-GV-F  
对人慢性粒细胞白血病 K562 裸小鼠移植瘤的疗效

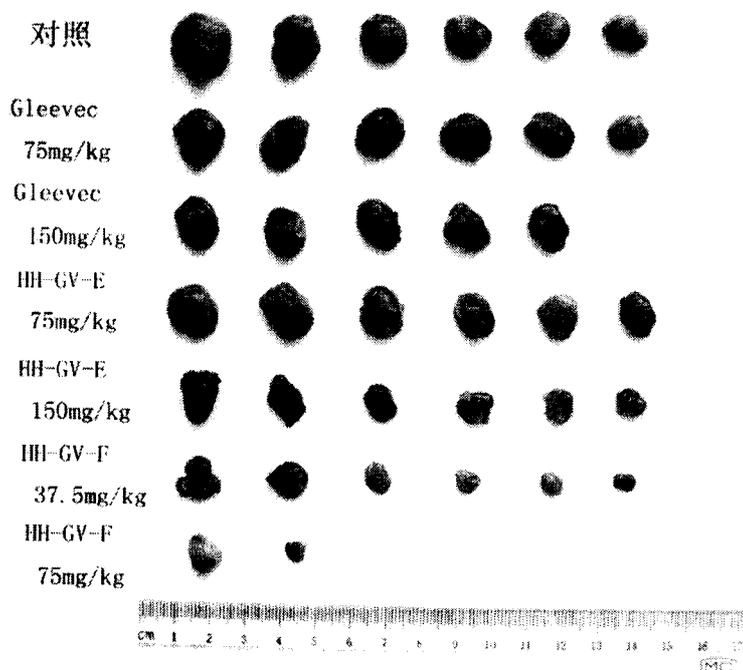


图 6