

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2017年9月14日 (14.09.2017)



(10) 国际公布号
WO 2017/152706 A1

- (51) 国际专利分类号:
C07D 401/14 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
A61K 31/506 (2006.01) A61P 35/04 (2006.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2017/000202
- (22) 国际申请日: 2017年3月1日 (01.03.2017)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (30) 优先权:
201610126987.0 2016年3月7日 (07.03.2016) CN
- (71) 申请人: 上海艾力斯医药科技有限公司 (SHANGHAI ALLIST PHARMACEUTICALS, INC.) [CN/CN]; 中国上海市张江高科技园区哈雷路 1118 号五楼, Shanghai 201203 (CN)。
- (72) 发明人: 罗会兵 (LUO, Huibing); 中国上海市张江高科技园区哈雷路 1118 号五楼, Shanghai 201203 (CN)。 周华勇 (ZHOU, Huayong); 中国上海市张江高科技园区哈雷路 1118 号五楼, Shanghai 201203 (CN)。
- (74) 代理人: 中国专利代理 (香港) 有限公司 (CHINA PATENT AGENT (H.K.) LTD); 中国香港特别行政

区湾仔港湾道 23 号鹰君中心 22 号楼, Hong Kong (CN)。

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

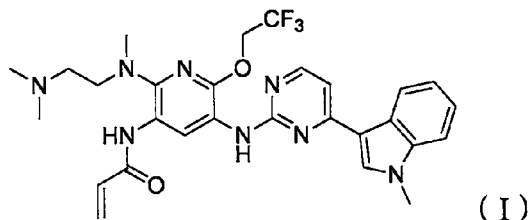
(84) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

— 包括国际检索报告 (条约第 21 条(3))。

(54) Title: SALT OF PYRIDINYL AMINO PYRIMIDINE DERIVATIVE, PREPARATION METHOD THEREFOR, AND APPLICATION THEREOF

(54) 发明名称: 吡啶胺基嘧啶衍生物的盐及其制备方法和应用



(57) Abstract: A mesylate salt of a compound represented by formula (I) and preparation method therefor, a pharmaceutical composition containing the salt, and an application of the salt in the treatment of activated EGFR mutant- or drug-resistant mutant-mediated diseases, especially cancer, in mammals, particularly humans. The mesylate salt of the compound represented by formula (I) has high bioavailability in animals, can better inhibit the growth of transplanted tumors in animals, and demonstrates desirable safety.

(57) 摘要: 式(I)化合物的甲磺酸盐、其制备方法, 包含该盐的药物组合物及该盐在治疗哺乳动物尤其人类由EGFR 激活型或耐药型突变体介导的疾病、特别是癌症中的应用。式(I)化合物的甲磺酸盐在动物体内的生物利用度高, 能更好的抑制动物移植瘤的生长, 并显示良好的安全性。



WO 2017/152706 A1

吡啶胺基嘧啶衍生物的盐及其制备方法和应用

技术领域

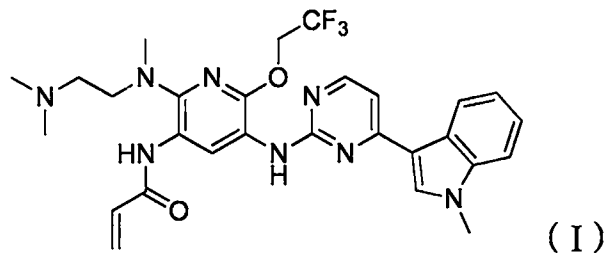
本发明涉及吡啶胺基嘧啶衍生物的盐，具体的说，本发明涉及
 5 N-{2-{{2-(二甲胺基)乙基}(甲基)胺基}-6-(2,2,2-三氟乙氧基)-5-{{[4-(1-甲基-1*H*-吡啶-3-基)嘧啶-2-基]胺基}吡啶-3-基}丙烯酰胺的甲磺酸盐、其制备方法、包含该盐的药物组合物及该盐在治疗哺乳动物尤其人类由 EGFR 激活型或耐药型突变体介导的疾病、特别是癌症中的应用。

10

背景技术

表皮生长因子受体 (EGFR) 被确认为是在细胞生长和增值过程中至关重要的驱动因素。表皮生长因子受体家族由 EGFR (Erb-B1)、
 Erb-B2 (HER-2/neu)、Erb-B3 和 Erb-B4 组成。表皮生长因子受体与
 15 大部分癌症的疾病进程有关，如肺癌、结肠癌、乳腺癌等。EGFR 的过度表达和突变已被明确证实是预后不好的乳腺癌的主要危险因素。

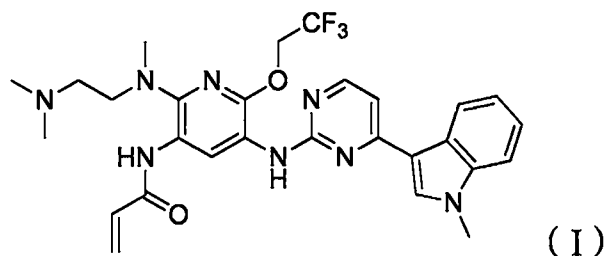
目前，研究前沿的已经是不可逆的第三代 EGFR 抑制剂。专利申请 CN201410365911.4 公开如下式 (I) 结构化合物，该化合物对 EGFR
 20 激活型突变 (如 19 号外显子缺失激活突变、或 L858R 激活突变) 和 T790M 耐药型突变的抑制活性显著高于对野生型 EGFR (WT EGFR) 的抑制活性，有很好的选择性，并且毒副作用较低，安全性好。



发明内容

本发明所要解决的技术问题是提供式 (I) 化合物的甲磺酸盐、其
 25 制备方法，包含该盐的药物组合物及该盐在治疗哺乳动物尤其人类由 EGFR 激活型或耐药型突变体介导的疾病、特别是癌症中的应用。

本发明提供了式 (I) 化合物的甲磺酸盐。



本发明提供了式 (I) 化合物的甲磺酸盐的制备方法。

本发明进一步提供了式 (I) 化合物的甲磺酸盐的制备方法, 包括在溶剂当中将式 (I) 化合物直接与甲磺酸反应得到。

5 本发明提供了药物组合物, 包括式 (I) 化合物的甲磺酸盐及药学上可接受的载体。

本发明进一步提供药物组合物, 包括式 (I) 化合物的甲磺酸盐, 以及药学上可接受的载体、赋形剂或稀释剂。

本发明提供了用作抗肿瘤药物的式 (I) 化合物的甲磺酸盐。

10 本发明还提供式 (I) 化合物的甲磺酸盐在制备治疗哺乳动物尤其人类由 EGFR 激活型或耐药型突变体介导的疾病、特别是癌症的药物中的用途。

本发明还提供式 (I) 化合物的甲磺酸盐在制备治疗癌症的药物中的用途。

15 本发明还提供式 (I) 化合物的甲磺酸盐在治疗哺乳动物尤其人类由 EGFR 激活型或耐药型突变体介导的疾病、特别是癌症方面中的用途。

20 本发明还提供含有式 (I) 化合物的甲磺酸盐的药物组合物在制备治疗哺乳动物尤其人类由 EGFR 激活型或耐药型突变体介导的疾病、特别是癌症的药物中的用途。

本发明还提供含有式 (I) 化合物的甲磺酸盐的药物组合物在制备治疗癌症的药物中的用途。

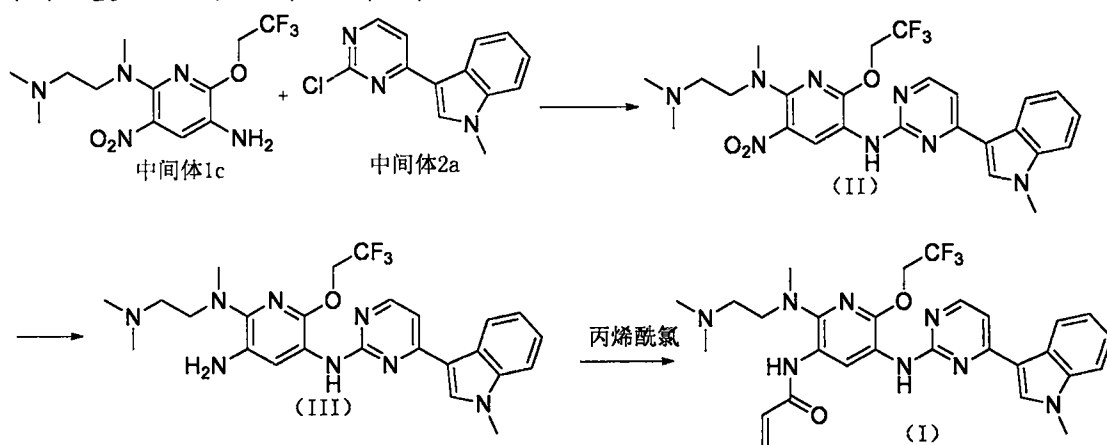
25 本发明还提供一种治疗哺乳动物尤其人类由 EGFR 激活型或耐药型突变体介导的疾病、特别是癌症的方法, 所述方法包括对患者施用式 (I) 化合物的甲磺酸盐、或包括治疗有效量的式 (I) 化合物的甲磺酸盐和药物可接受载体、赋形剂或稀释剂的药物组合物。

本发明还提供一种治疗癌症的方法, 所述方法包括对患者施用式 (I) 化合物的甲磺酸盐、或包括治疗有效量的式 (I) 化合物的甲磺酸

盐和药物可接受载体、赋形剂或稀释剂的药物组合物。

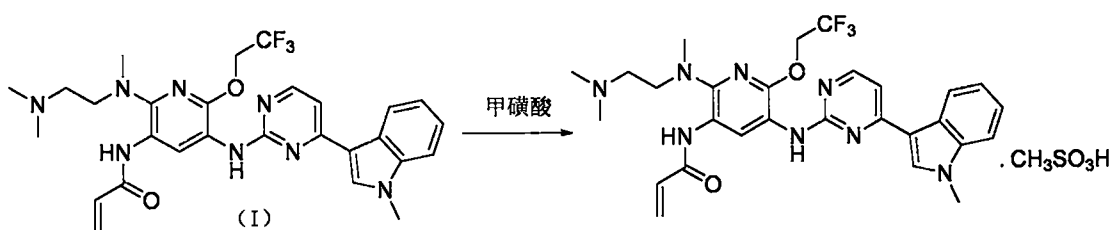
本发明所提及癌症包括但不限于，例如肺癌、卵巢癌、宫颈癌、乳腺癌、胃癌、结肠直肠癌、胰腺癌、胶质瘤、胶质母细胞瘤、黑色素瘤、前列腺癌、白血病、淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、肝细胞癌、胃肠道基质瘤（GIST）、甲状腺癌、胆管癌、子宫内膜癌、肾癌、间变性大细胞淋巴瘤、急性髓细胞白血病（AML）、多发性骨髓瘤、间皮瘤，尤其对于表皮生长因子受体790位苏氨酸突变为蛋氨酸（EGFR T790M）的肿瘤类型有更好的应用。举例来说，本发明式（I）化合物的甲磺酸盐可作为和用于治疗非小细胞癌（EGFR T790M）的药物。

10 本发明提供的式（I）化合物的制备方法如下，该方法是参考专利申请 CN201410365911.4 实施例 1 的方法，其中中间体 1c 与中间体 2a 的制备是直接引用专利申请 CN201410365911.4 的实施例。



15 中间体 1c 与中间体 2a 经取代或偶联反应得到化合物（II），化合物（II）硝基被还原得到化合物（III），化合物（III）与丙烯酰氯经酰化得到化合物（I）。中间体 1c 与中间体 2a 取代或偶联反应包括也可以在过渡金属催化剂催化下进行，所述过渡金属催化剂包括但不限于三(二亚苄基丙酮)二钯/4,5-双二苄基膦-9,9-二甲基氧杂蒽；还原硝基的方法采用本领域中公知的常规还原剂，包括但不限于铁粉、锌粉、硫化钠、H₂/二氧化铂。

20 本发明提供的式（I）化合物的甲磺酸盐的制备方法如下：



在溶剂中式 (I) 化合物直接与甲磺酸反应成盐得到式 (I) 化合物的甲磺酸盐, 所述溶剂包括但不限于丙酮与水的混合溶剂。

本发式的式 (I) 化合物的甲磺酸盐可给药于哺乳动物包括人, 可以口服、直肠、肠胃外 (静脉内、肌肉内或皮下)、局部给药 (粉剂、
5 软膏剂或滴剂)、或瘤内给药。

本发明式 (I) 化合物的甲磺酸盐的给药剂量可以大约为 0.05 ~ 50mg/kg 体重/天, 例如 0.1 ~ 45mg/kg 体重/天, 更例如 0.5 ~ 35mg/kg 体重/天。

本发明式 (I) 化合物的甲磺酸盐可以配制为用于口服给药的固体
10 剂型, 包括, 但不限于胶囊剂、片剂、丸剂、散剂和颗粒剂等。在这些固体剂型中, 本发明式 (I) 化合物的甲磺酸盐作为活性成分与至少一种常规惰性赋形剂 (或载体) 混合, 例如与柠檬酸钠或磷酸二钙, 或与下述成分混合: (1) 填料或增容剂, 例如, 淀粉、乳糖、蔗糖、葡萄糖、甘露醇和硅酸等; (2) 粘合剂, 例如羟甲基纤维素、藻酸盐、
15 明胶、聚乙烯基吡咯烷酮、蔗糖和阿拉伯胶等; (3) 保湿剂, 例如, 甘油等; (4) 崩解剂, 例如琼脂、碳酸钙、马铃薯淀粉或木薯淀粉、藻酸、某些复合硅酸盐和碳酸钠等; (5) 缓溶剂, 例如石蜡等; (6) 吸收加速剂, 例如, 季铵化合物等; (7) 润湿剂, 例如鲸蜡醇和单硬脂酸甘油酯等; (8) 吸附剂, 例如, 高岭土等; 和 (9) 润滑剂, 例
20 如, 滑石、硬脂酸钙、硬脂酸镁、固体聚乙二醇、十二烷基硫酸钠等, 或其混合物。胶囊剂、片剂和丸剂中也可包含缓冲剂。

所述固体剂型如片剂、糖丸、胶囊剂、丸剂和颗粒剂可采用包衣和壳材料例如肠溶衣和其他本领域公知的材料进行包衣或微囊化。它们可包含不透明剂, 并且, 这种组合物中活性成分的释放可以延迟的
25 方式在消化道内的某一部分中释放。可采用的包埋组分的实例是聚合物物质和蜡类物质。必要时, 活性成分也可与上述赋形剂中的一种或多种形成微胶囊形式。

本发明式 (I) 化合物的甲磺酸盐可以配制为用于口服给药的液体剂型, 包括, 但不限于药学上可接受的乳液、溶液、悬浮液、糖浆和
30 酞剂等。除了作为活性成分的式 (I) 化合物的甲磺酸盐外, 液体剂型可包含本领域中常规采用的惰性稀释剂, 如水和溶剂, 增溶剂和乳化剂, 例如, 乙醇、异丙醇、碳酸乙酯、乙酸乙酯、丙二醇、1, 3-

丁二醇、二甲基甲酰胺以及油类，特别是棉籽油、花生油、玉米胚油、橄榄油、蓖麻油和芝麻油等或这些物质的混合物等。除了这些惰性稀释剂外，本发明液体剂型也可包含常规助剂，如润湿剂、乳化剂和悬浮剂、甜味剂、矫味剂和香料等。

5 所述悬浮剂包括，例如，乙氧基化异十八烷醇、聚氧乙烯山梨醇和脱水山梨醇只、微晶纤维素、甲醇铝和琼脂等或这些物质的混合物。

本发明式 (I) 化合物的甲磺酸盐可以配制为用于肠胃外注射的剂型，包括，但不限于生理上可接受的无菌含水或无水溶液、分散液、悬浮液或乳液，以及用于重新溶解成无菌的可注射溶液或分散液的无
10 菌粉末。适宜的载体、稀释剂、溶剂或赋形剂包括水、乙醇、多元醇及其适宜的混合物。

本发明化合物或其药学上可接受的盐也可以配制为用于局部给药的剂型，包括如软膏剂、散剂、栓剂、滴剂、喷射剂和吸入剂等。作为活性成分的本发明式 (I) 化合物的甲磺酸盐在无菌条件下和生理上
15 可接受的载体及任选的防腐剂、缓冲剂，或必要时可能需要的推进剂一起混合。

本发明还提供药物组合物，它含有本发明式 (I) 化合物的甲磺酸盐，以及药学上可接受载体、赋形剂或稀释剂。在制备药物组合物时，通常是将本发明式 (I) 化合物的甲磺酸盐与药学上可接受载体、赋形
20 剂或稀释剂混合。

可以按常规制备方法将所述本发明组合物配制为常规药物制剂。例如片剂、丸剂、胶囊剂、散剂、颗粒剂、乳液剂、混悬剂、分散液、溶液剂、糖浆剂、酏剂、软膏剂、滴剂、栓剂、吸入剂、喷射剂等。

本发明所述的式 (I) 化合物的甲磺酸盐可以单独给药，或者与其他
25 他药学上可接受的治疗剂联合给药，特别是与其他抗肿瘤药物组合。所述治疗剂包括但不限于：作用于 DNA 化学结构的药物抗肿瘤药如顺铂，影响核苷酸合成的抗肿瘤药物如甲氨蝶呤 (MTX)、5-氟尿嘧啶 (5FU) 等，影响核酸转录的抗肿瘤药物如阿霉素、表阿霉素、阿克拉霉素、光辉霉素等，作用于微管蛋白合成的抗肿瘤药物如紫杉醇、长春瑞滨等，芳香化酶抑制剂如氨鲁米特、兰特隆、来曲唑、瑞宁德等，
30 细胞信号通路抑制剂如表皮生长因子受体抑制剂伊马替尼 (Imatinib)、吉非替尼 (Gefitinib)、埃罗替尼 (Erlotinib) 等。待组合的各成分可

同时或顺序的给予，以单一制剂形式或以不用制剂的形式给予。所述组合不仅包括本发明化合物和一种其他活性剂的组合，而且也包括本发明化合物和两种或更多种其他活性剂的组合。

5 本发明式 (I) 化合物的甲磺酸盐灌胃给药的绝对生物利用度的测定方法如下：

静脉给药：健康SD大鼠，随机分组。测试化合物按一定剂量D静脉给药，于给药前及给药后5 min、15 min、0.5h、1.0 h、2.0 h、4.0 h、8.0 h、12 h和24h经眼球后静脉丛取血，分离制备血浆，采用液相色谱/串联质谱法测定血浆中药物的浓度，得到药物浓度-时间曲线。

10 灌胃给药：健康SD大鼠，随机分组。测试物质按一定剂量D灌胃给药，于给药前和给药后0.5、1.0、2.0、4.0、6.0、8.0、10、12和24h经大鼠眼球后静脉丛取静脉血，分离制备血浆，采用液相色谱/串联质谱法测定血浆中药物的浓度，得到药物浓度-时间曲线。

经剂量校正，按药时曲线下面积(AUC_{0-t})计算，得到绝对生物利
15 用度F，计算公式 $F = (AUC_{灌胃} \times D_{静脉}) / (AUC_{静脉} \times D_{灌胃}) \times 100\%$ 。

本发明式 (I) 化合物的甲磺酸盐抑制动物移植瘤生长的药效可用常规方法测定，一种优选的评价方法为对人肺癌 H1975 裸小鼠皮下移植瘤的生长抑制作用。实验方法：人肺癌 H1975 细胞株 (5×10^6 个/只) 接种于裸小鼠右侧背部皮下。待肿瘤生长至平均 (100 ~ 150) mm³
20 时根据肿瘤大小和小鼠体重随机分组。测试化合物按一定剂量灌胃给药，溶剂对照组灌胃给予等量溶剂，每天给药一次，连续给药 21 天。整个实验过程中，每周测量两次小鼠的体重和肿瘤的大小，观察是否出现毒性反应。

25 肿瘤体积的计算公式为：肿瘤体积(mm³) = 0.5 × (肿瘤长径 × 肿瘤短径²)。

本发明的有益效果为：

本发明提供的式 (I) 化合物的甲磺酸盐在动物体内具有优异的生物利用度。

30 本发明提供的式 (I) 化合物的甲磺酸盐能更好的抑制动物移植瘤的生长，并显示良好的安全性。

附图说明

附图 1 是实施例 2 制备得到式 (I) 化合物的甲磺酸盐和对照例 2 物质 (即专利申请 CN201410365911.4 实施例 16) 在 25mg/kg 给药剂量下的人肺癌 H1975 裸小鼠皮下移植瘤的肿瘤体积变化曲线。

附图 2 是实施例 2 制备得到式 (I) 化合物的甲磺酸盐和对照例 2 物质 (即专利申请 CN201410365911.4 实施例 16) 在 25mg/kg 给药剂量下的人肺癌 H1975 裸小鼠的体重变化曲线。

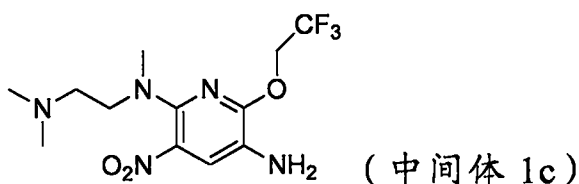
下面结合具体实施例, 进一步阐述本发明。应理解, 这些实施例仅用于举例说明本发明而不用于限制本发明的范围。下列实施例中未注明具体条件的实验方法, 通常按照常规条件, 或按照制造厂商所建议的条件。除非另外说明, 否则份数和百分比分别为重量份和重量百分比。

具体实施方式

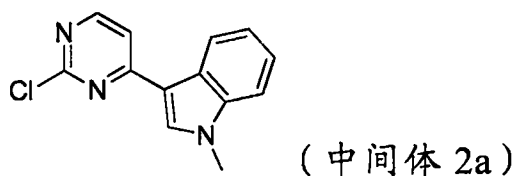
I. 制备实施例

实施例 1: N-{2-[2-(二甲氨基)乙基](甲基)胺基}-6-(2,2,2-三氟乙氧基)-5-[4-(1-甲基-1*H*-吡啶-3-基)咪啶-2-基]胺基}吡啶-3-基}丙烯酰胺

中间体 1c: N²-甲基-N²-[2-(二甲氨基)乙基]-6-(2,2,2-三氟乙氧基)-3-硝基吡啶-2,5-二胺, 制备方法引用专利申请 CN201410365911.4 实施例

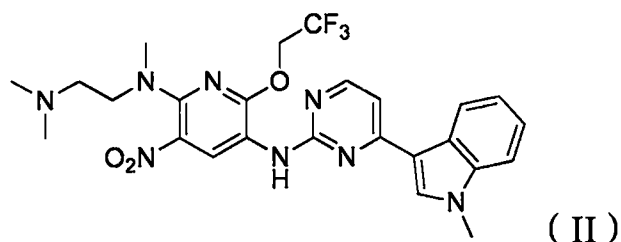


中间体 2a: 3-(2-氯咪啶-4-基)-1-甲基-1*H*-吡啶, 制备方法引用专利申请 CN201410365911.4 实施例



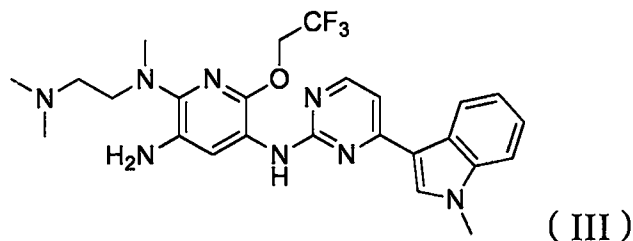
化合物 (II): N²-甲基-N²-[2-(二甲氨基)乙基]-6-(2,2,2-三氟乙氧基)-N⁵-[4-(1-甲基-1*H*-吡啶-3-基)咪啶-2-基]-3-硝基吡啶-2,5-二胺

的合成



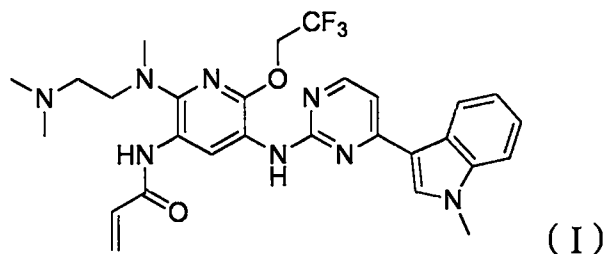
在圆底烧瓶中加入 3-(2-氯嘧啶-4-基)-1-甲基-1H-吲哚 (73 mg, 0.3mmol)、N²-甲基-N²-[2-(二甲胺基)乙基]-6-(2,2,2-三氟乙氧基)-3-硝基吡啶-2,5-二胺 (100 mg, 0.3 mmol)、三(二亚苄基丙酮)二钯 (14 mg, 0.015 mmol)、4,5-双二苄基膦-9,9-二甲基氧杂蒽 (14 mg, 0.03 mmol)、磷酸钾 (127 mg, 0.6 mmol) 和 8 ml 二氧六环, 氩气保护下, 95℃反应 5 h。过滤, 滤液减压蒸干, 硅胶柱层析(二氯甲烷: 甲醇=20:1), 得到 140 mg 产物。收率为 86%。MS m/z: 545 [M+1]。

10 化合物 (III): N²-甲基-N²-[2-(二甲胺基)乙基]-6-(2,2,2-三氟乙氧基)-N⁵-[4-(1-甲基-1H-吲哚-3-基)嘧啶-2-基]吡啶-2,3,5-三胺的合成



15 在圆底烧瓶中加入 N²-甲基-N²-[2-(二甲胺基)乙基]-6-(2,2,2-三氟乙氧基)-N⁵-[4-(1-甲基-1H-吲哚-3-基)嘧啶-2-基]-3-硝基吡啶-2,5-二胺 (150 mg, 0.27 mmol)、二氧化铂 (60 mg) 和 10 ml 甲醇, 通入氢气, 室温反应 1h。过滤, 制备板分离(二氯甲烷: 甲醇=10:1), 得到 80 mg 目标化合物。收率为 56%。MS m/z: 515 [M+1]。

20 化合物 (I): N-{2-{[2-(二甲胺基)乙基](甲基)胺基}-6-(2,2,2-三氟乙氧基)-5-{[4-(1-甲基-1H-吲哚-3-基)嘧啶-2-基]胺基}吡啶-3-基}丙烯酰胺的合成

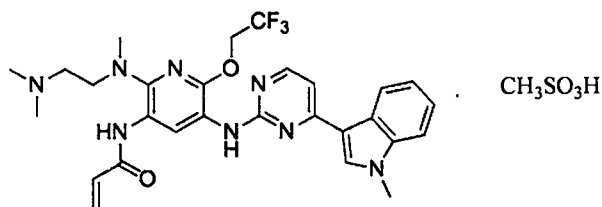


向圆底烧瓶中加入 N^2 -甲基- N^2 -[2-(二甲胺基)乙基]-6-(2,2,2-三氟乙氧基)- N^5 -[4-(1-甲基-1*H*-吲哚-3-基)嘧啶-2-基]吡啶-2,3,5-三胺 (80 mg, 0.16 mmol) 和 5 ml 二氯甲烷, 冰水浴冷却, 加入 0.5 N 丙烯酰氯的二氯甲烷溶液 (0.5 ml, 0.25 mmol)。冰水浴下反应 1.5 小时, 反应液用 50 ml 乙酸乙酯稀释, 饱和碳酸氢钠溶液洗涤, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 制备板分离纯化 (二氯甲烷: 甲醇=10:1), 得到 20 mg 目标产物。收率为 23%。MS m/z : 569 [M+1]。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ 10.41 (s, 1H), 10.27 (s, 1H), 8.68 (s, 1H), 8.44 (s, 1H), 8.28 (t, $J = 8.5$ Hz, 2H), 8.18 (s, 1H), 7.52 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.29 – 7.14 (m, 3H), 6.98 (s, 1H), 6.28 (d, $J = 17.1$ Hz, 1H), 5.76 (d, $J = 10.4$ Hz, 1H), 5.00 (q, $J = 9.0$ Hz, 2H), 3.89 (s, 3H), 3.61 (s, 2H), 3.28 (s, 2H), 2.80 (s, 3H), 2.73 (s, 6H)。

其中化合物 (II)、(III)、(I) 的制备方法参考专利申请 CN201410365911.4 实施例 1。

实施例 2: N -{2-[2-(二甲胺基)乙基](甲基)胺基}-6-(2,2,2-三氟乙氧基)-5-[4-(1-甲基-1*H*-吲哚-3-基)嘧啶-2-基]胺基}吡啶-3-基}丙烯酰胺甲磺酸盐的合成



在三口瓶中加入 N -{2-[2-(二甲胺基)乙基](甲基)胺基}-6-(2,2,2-三氟乙氧基)-5-[4-(1-甲基-1*H*-吲哚-3-基)嘧啶-2-基]胺基}吡啶-3-基}丙烯酰胺 1g (1.76 mmol), 35 ml 丙酮, 7 ml 水, 169 mg 甲烷磺酸, 50°C 加热至全溶。减压蒸干, 加入乙腈, 再减压蒸干。向残留物中加入丙酮, 超声, 过滤, 滤饼烘干得到 685 mg 目标产物。收率为 59%。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9.80 (s, 1H), 9.23 (s, 1H), 8.53 (s,

1H), 8.42 (s, 1H), 8.30 (d, $J = 5.4$ Hz, 2H), 8.23 (s, 1H), 7.52 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.25 (t, $J = 7.2$ Hz, 1H), 7.22 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.15 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H), 6.70 (dd, $J = 17.0, 10.2$ Hz, 1H), 6.34 (dd, $J = 17.0, 1.7$ Hz, 1H), 5.83 (dd, $J = 10.3, 1.6$ Hz, 1H), 5.02 (q, $J = 9.1$ Hz, 2H), 3.88 (s, 3H), 3.65 (t, $J = 6.0$ Hz, 2H), 3.33 (t, $J = 6.0$ Hz, 2H), 2.86 (s, 6H), 2.81 (s, 3H), 2.44 (s, 3H)。

II. 活性测试实施例

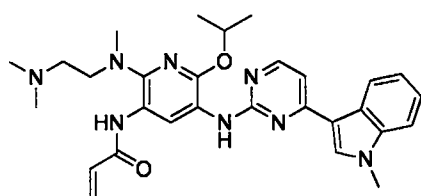
测试实施例 1: SD 大鼠 (Sprague Dawley 大鼠) 药物吸收实验
 静脉给药: 健康 SD 大鼠, 雌雄各半共 16 只, 体重 200 ~ 280 g,
 10 由上海西普尔-必凯实验动物有限公司提供, 随机分成四组。分别按下
 表所列剂量静脉给予上述实施例 1、实施例 2、对照例 1 和对照例 2 的
 物质, 于给药前及给药后 5 min、15 min、0.5h、1.0 h、2.0 h、4.0 h、
 8.0 h、12 h 和 24h 经大鼠眼球后静脉丛取静脉血 0.2 ml, 分离制备血浆,
 采用液相色谱/串联质谱法测定血浆中药物的浓度, 得到药物浓度-时间
 15 曲线。

其主要的药物动力学参数如下表 1 所示:

参数	实施例 1	实施例 2	对照例 1	对照例 2
剂量 D (mg/kg)	2.5	4.0	3.0	4.0
C_{max} (ng/mL)	81.3	429.7	327.5	630.2
AUC_{0-t} (ng·h/mL)	307.3	405.9	437.8	810.7
$T_{1/2}$ (h)	3.96	3.13	2.72	1.71

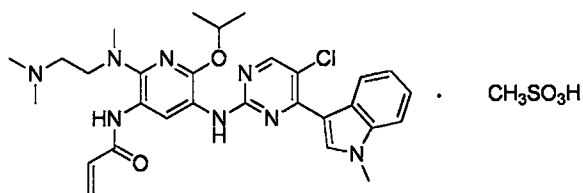
表 1

20 表 1 中, 对照例 1 物质结构如下, 按专利申请 CN201410365911.4
 实施例 2 方法制备得到,



(对照例 1)

对照例 2 物质结构如下, 按专利申请 CN201410365911.4 实施例 16
 方法制备得到,



$T_{1/2}$: 消除半衰期; C_{max} : 血浆中药物的最高浓度; AUC_{0-t} : 药时曲线下面积

灌胃给药: 健康 SD 大鼠, 雌雄各半共 16 只, 体重 200~280 g, 由上海西普尔-必凯实验动物有限公司提供, 随机分成四组。分别按下表所列剂量灌胃给予上述实施例 1、实施例 2、对照例 1 和对照例 2 的物质, 于给药前和给药后 0.5、1.0、2.0、4.0、6.0、8.0、10、12 和 24h 经大鼠眼球后静脉丛取静脉血 0.2 ml, 分离制备血浆, 采用液相色谱/串联质谱法测定血浆中药物的浓度, 得到药物浓度-时间曲线。

其主要的药物动力学参数如下表 2 所示:

参数	实施例 1	实施例 2	对照例 1	对照例 2
剂量 D (mg/kg)	10	10	6	10
C_{max} (ng/mL)	17.6	44.54	12.63	28.3
AUC_{0-t} (ng·h/mL)	231.7	287	77.66	172.2
$T_{1/2}$ (h)	4.14	8.33	8.60	5.76
F (%)	18.85	28.28	8.9	8.5

表 2, 其中对照例 1、2 的结构与制备方法同表 1

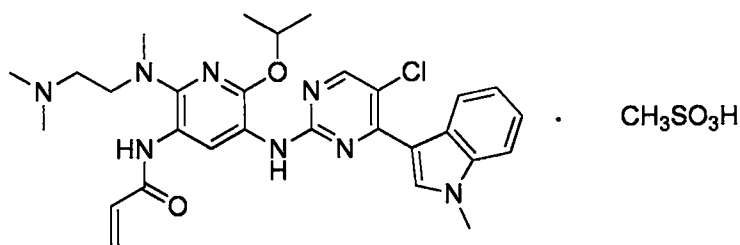
经剂量校正后, 按 AUC_{0-t} 计算, 得到绝对生物利用度 F, 计算公式 $F = (AUC_{灌胃} \times D_{静脉}) / (AUC_{静脉} \times D_{灌胃}) \times 100\%$, 得到的绝对生物利用度 F 见上表 2。

结论: 实施例 2 的式 (I) 化合物的甲磺酸盐灌胃给药的绝对生物利用度最高达到 28.28%, 明显优于实施例 1 式 (I) 化合物、对照例 1 和对照例 2 灌胃给药的绝对生物利用度。

测试实施例 2: 对人肺癌 H1975 裸小鼠皮下移植瘤的生长抑制作用

观察本发明实施例 2 制备得到的式 (I) 化合物的甲磺酸盐和对照例 2 物质 (对照例 2 的结构如下, 制备方法参考专利申请

CN201410365911.4 实施例 16)对人肺癌 H1975 裸小鼠皮下移植瘤的抑制作用。



5 细胞培养：H1975 培养在加有 10%FBS 的 RPMI-1640 培养基中培养，放在 37℃ 含有 5%CO₂ 的恒温培养箱中培养。收取指数生长期的细胞并计数，以供接种。

实验动物：BALB/c nude 裸鼠，15 只，雄性，6 周，18-20g，每组 5 只，购自上海动物实验中心。

10 设 3 个实验组，分别为：0.5%羧甲基纤维素钠溶剂对照组，实施例 2 (25mg/kg) 组与对照例 2 (25mg/kg) 组。

15 实验方法：人肺癌 H1975 细胞株 (5×10⁶ 个/只) 接种于实验小鼠于右侧背部皮下，定期观察肿瘤生长情况，用游标卡尺测量移植瘤直径，待肿瘤生长至平均 (100~150) mm³ 时根据肿瘤大小和小鼠体重随机分组。实施例 2 与对照例 2 的物质各自按 25mg/kg 灌胃给药，溶剂对照组灌胃给予等量溶剂，每天给药一次，连续 21 天。整个实验过程中，每周测量两次小鼠的体重和肿瘤的大小，观察是否出现毒性反应。

肿瘤体积计算公式：肿瘤体积(mm³)=0.5×(肿瘤长径×肿瘤短径²)。

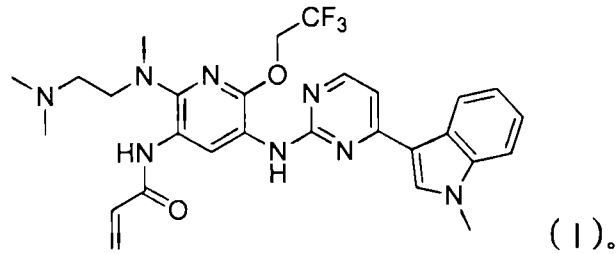
三个实验组肿瘤增长生长曲线见附图 1，体重曲线见附图 2。

20 结论：本发明实施例 2 的式(I)化合物的甲磺酸盐对人肺癌 H1975 裸小鼠皮下移植瘤的生长具有良好的抑制作用，抑制效果明显优于对照例 2；并且显示良好的安全性。

25 在本文中提及的所有文献均通过引用被并入本申请中。此外还应指明的是，在阅读了本申请的上述公开内容之后，本领域技术人员可以无需背离本发明的精神和范围，对本发明作出各种修饰、改动或修改，但这些变化形式同样都应落于本申请所附权利要求书所记载的范围。

权 利 要 求

1. 式 (1) 化合物的甲磺酸盐,



2. 权利要求 1 所述式 (1) 化合物甲磺酸盐的制备方法, 其特征在于在溶剂当中将式 (1) 化合物直接与甲磺酸反应得到。

3. 如权利要求 2 所述的制备方法, 其特征在于所述溶剂是丙酮与水的混合溶剂。

4. 药物组合物, 其特征在于含有所述的式 (1) 化合物的甲磺酸盐以及药学上可接受的载体。

5. 权利要求 1 所述的式 (1) 化合物的甲磺酸盐在制备治疗癌症的药物中的用途。

6. 权利要求 4 所述的药物组合物在制备治疗癌症的药物中的用途。

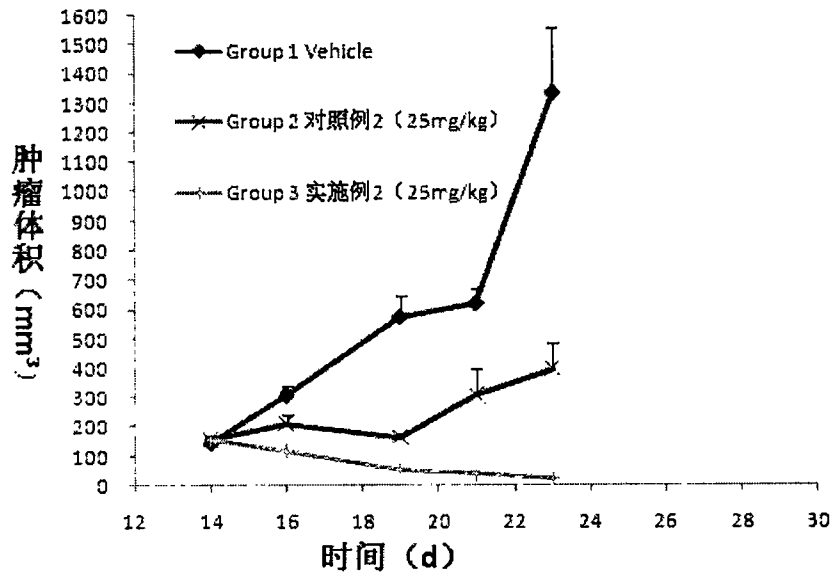


图 1

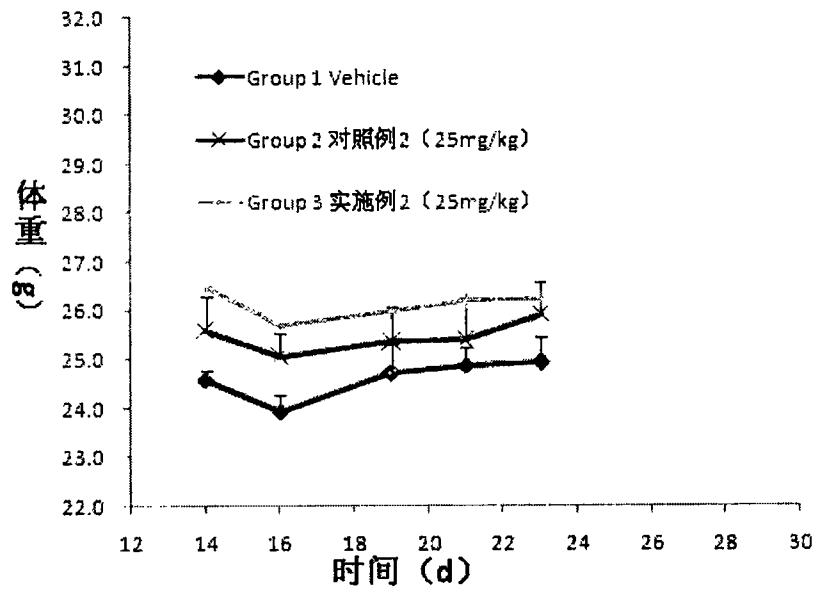


图 2

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2017/000202**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**

C07D 401/14 (2006.01) i; A61K 31/506 (2006.01) i; A61P 35/00 (2006.01) i; A61P 35/04 (2006.01) i

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07D 401/-; A61K 31/-; A61P 35/-

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

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

CNPAT, CNKI, WPI, EPODOC, ISI Web of Knowledge, STN (REGISTRY, CAPLUS): ALLIST PHARMACEUTICALS, INC.; LUO, Huibing; Zhuo, Huayong; pyridine, pyrimidine, indole, methanesulfonic, 1869057-83-9

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN 105315259 A (ALLIST PHARMACEUTICALS, INC.), 10 February 2016 (10.02.2016), claims 16 and 20, description, paragraph [0120]	1-6
A	CN 103702990 A (ASTRAZENECA AB), 02 April 2014 (02.04.2014), claims 1-16	1-6
A	CN 104761544 A (NANJING BOER TAI PHARMACEUTICAL TECHNOLOGY CO., LTD.), 08 July 2015 (08.07.2015), claims 1-24	1-6

 Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

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

Date of the actual completion of the international search
05 May 2017 (05.05.2017)Date of mailing of the international search report
07 June 2017 (07.06.2017)Name and mailing address of the ISA/CN:
State Intellectual Property Office of the P. R. China
No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao
Haidian District, Beijing 100088, China
Facsimile No.: (86-10) 62019451Authorized officer
CHEN, Xi
Telephone No.: (86-10) **82246724**

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2017/000202

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN 105315259 A	10 February 2016	WO 2016015453 A1	04 February 2016
		CA 2956628 A1	04 February 2016
CN 103702990 A	02 April 2014	KR 2017031778 A	21 March 2017
		HK 1192554 A1	10 June 2016
		EA 201391491 A1	29 August 2014
		CA 2881991 A1	31 January 2013
		CA 2843109 C	16 June 2015
		TW 201443040 A	16 November 2014
		PE 17002014 A1	20 November 2014
		IL 242278 A	29 December 2016
		EA 201690328 A1	30 November 2016
		KR 20140062181 A	22 May 2014
		CA 2881991 C	25 October 2016
		WO 2013014448 A1	31 January 2013
		AU 2012288626 B2	07 May 2015
		CA 2881987 A1	31 January 2013
		CR 20130629 A	12 March 2014
		CA 2843109 A1	31 January 2013
		TW I465445 B	21 December 2014
		IL 242286 A	31 July 2016
		HK 1192549 A1	26 August 2016
		SM T201600070 B	29 April 2016
		IL 242278 D0	30 November 2015
		AU 2012288626 A8	26 September 2013
		TW 201319057 A	16 May 2013
		JP 2013544273 A	12 December 2013
		CN 105175396 A	23 December 2015
		TW I555743 B	01 November 2016
		CA 2882018 A1	31 January 2013
IL 242279 D0	30 November 2015		
JP 2014094930 A	22 May 2014		
EP 2736895 A1	04 June 2014		
US 2013053409 A1	28 February 2013		
TW 201700099 A	01 January 2017		
IL 242284 A	31 July 2016		
EA 024421 B1	30 September 2016		
ES 2564671 T3	28 March 2016		
UY 34219 A	28 February 2013		
SG 10201402860Q A	28 August 2014		
SG 10201402857Q A	28 August 2014		
CN 104109151 A	22 October 2014		
KR 101422619 B1	24 July 2014		
AR 087336 A1	19 March 2014		
NZ 617393 A	28 November 2014		
JP 5977779 B2	24 August 2016		
CN 104109161 A	22 October 2014		
JP 5537704 B2	02 July 2014		
IL 242284 D0	30 November 2015		
CN 105198862 A	30 December 2015		
IL 242279 A	31 July 2016		

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2017/000202

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN 104761544 A	08 July 2015	CN 104109161 B	17 August 2016
		BR 112014001768 A2	14 February 2017
		IL 242285 D0	30 November 2015
		CN 104761585 A	08 July 2015

<p>A. 主题的分类</p> <p>C07D 401/14(2006.01)i; A61K 31/506(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i; A61P 35/04(2006.01)i</p> <p>按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类</p>														
<p>B. 检索领域</p> <p>检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)</p> <p>C07D401/-; A61K31/-; A61P35/-</p> <p>包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献</p> <p>在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))</p> <p>CNPAT, CNKI, WPI, EPODOC, ISI Web of Knowledge, STN(REGISTRY, CAPLUS): 上海艾力斯医药科技有限公司, 罗会兵, 周华勇, 吡啶, 嘧啶, 咪唑, 甲磺酸, pyridine, pyrimidine, indole, methanesulfonic, 1869057-83-9</p>														
<p>C. 相关文件</p> <table border="1" style="width:100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width:10%;">类型*</th> <th style="width:70%;">引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th style="width:20%;">相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="text-align:center;">A</td> <td>CN 105315259 A (上海艾力斯医药科技有限公司) 2016年 2月 10日 (2016 - 02 - 10) 权利要求16, 20, 说明书第[0120]段</td> <td style="text-align:center;">1-6</td> </tr> <tr> <td style="text-align:center;">A</td> <td>CN 103702990 A (阿斯利康瑞典有限公司) 2014年 4月 2日 (2014 - 04 - 02) 权利要求1-16</td> <td style="text-align:center;">1-6</td> </tr> <tr> <td style="text-align:center;">A</td> <td>CN 104761544 A (南京波尔泰药业科技有限公司) 2015年 7月 8日 (2015 - 07 - 08) 权利要求1-24</td> <td style="text-align:center;">1-6</td> </tr> </tbody> </table>			类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	A	CN 105315259 A (上海艾力斯医药科技有限公司) 2016年 2月 10日 (2016 - 02 - 10) 权利要求16, 20, 说明书第[0120]段	1-6	A	CN 103702990 A (阿斯利康瑞典有限公司) 2014年 4月 2日 (2014 - 04 - 02) 权利要求1-16	1-6	A	CN 104761544 A (南京波尔泰药业科技有限公司) 2015年 7月 8日 (2015 - 07 - 08) 权利要求1-24	1-6
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求												
A	CN 105315259 A (上海艾力斯医药科技有限公司) 2016年 2月 10日 (2016 - 02 - 10) 权利要求16, 20, 说明书第[0120]段	1-6												
A	CN 103702990 A (阿斯利康瑞典有限公司) 2014年 4月 2日 (2014 - 04 - 02) 权利要求1-16	1-6												
A	CN 104761544 A (南京波尔泰药业科技有限公司) 2015年 7月 8日 (2015 - 07 - 08) 权利要求1-24	1-6												
<p><input type="checkbox"/> 其余文件在C栏的续页中列出。</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。</p>														
<p>* 引用文件的具体类型:</p> <p>“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件</p> <p>“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利</p> <p>“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的)</p> <p>“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件</p> <p>“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件</p> <p>“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件</p> <p>“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性</p> <p>“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性</p> <p>“&” 同族专利的文件</p>														
<p>国际检索实际完成的日期</p> <p style="text-align:center;">2017年 5月 5日</p>		<p>国际检索报告邮寄日期</p> <p style="text-align:center;">2017年 6月 7日</p>												
<p>ISA/CN的名称和邮寄地址</p> <p>中华人民共和国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088</p> <p>传真号 (86-10)62019451</p>		<p>授权官员</p> <p style="text-align:center;">陈曦</p> <p>电话号码 (86-10)82246724</p>												

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2017/000202

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	105315259	A	2016年 2月 10日	WO	2016015453	A1	2016年 2月 4日
				CA	2956628	A1	2016年 2月 4日
				KR	2017031778	A	2017年 3月 21日
CN	103702990	A	2014年 4月 2日	HK	1192554	A1	2016年 6月 10日
				EA	201391491	A1	2014年 8月 29日
				CA	2881991	A1	2013年 1月 31日
				CA	2843109	C	2015年 6月 16日
				TW	201443040	A	2014年 11月 16日
				PE	17002014	A1	2014年 11月 20日
				IL	242278	A	2016年 12月 29日
				EA	201690328	A1	2016年 11月 30日
				KR	20140062181	A	2014年 5月 22日
				CA	2881991	C	2016年 10月 25日
				WO	2013014448	A1	2013年 1月 31日
				AU	2012288626	B2	2015年 5月 7日
				CA	2881987	A1	2013年 1月 31日
				CR	20130629	A	2014年 3月 12日
				CA	2843109	A1	2013年 1月 31日
				TW	1465445	B	2014年 12月 21日
				IL	242286	A	2016年 7月 31日
				HK	1192549	A1	2016年 8月 26日
				SM	T201600070	B	2016年 4月 29日
				IL	242278	D0	2015年 11月 30日
				AU	2012288626	A8	2013年 9月 26日
				TW	201319057	A	2013年 5月 16日
				JP	2013544273	A	2013年 12月 12日
				CN	105175396	A	2015年 12月 23日
				TW	1555743	B	2016年 11月 1日
				CA	2882018	A1	2013年 1月 31日
				IL	242279	D0	2015年 11月 30日
				JP	2014094930	A	2014年 5月 22日
				EP	2736895	A1	2014年 6月 4日
				US	2013053409	A1	2013年 2月 28日
				TW	201700099	A	2017年 1月 1日
				IL	242284	A	2016年 7月 31日
				EA	024421	B1	2016年 9月 30日
				ES	2564671	T3	2016年 3月 28日
				UY	34219	A	2013年 2月 28日
				SG	10201402860Q	A	2014年 8月 28日
				SG	10201402857Q	A	2014年 8月 28日
				CN	104109151	A	2014年 10月 22日
				KR	101422619	B1	2014年 7月 24日
				AR	087336	A1	2014年 3月 19日
				NZ	617393	A	2014年 11月 28日
				JP	5977779	B2	2016年 8月 24日
				CN	104109161	A	2014年 10月 22日
				JP	5537704	B2	2014年 7月 2日
				IL	242284	D0	2015年 11月 30日
				CN	105198862	A	2015年 12月 30日
				IL	242279	A	2016年 7月 31日

表 PCT/ISA/210 (同族专利附件) (2009年7月)

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2017/000202

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
				CN	104109161	B	2016年 8月 17日
				BR	112014001768	A2	2017年 2月 14日
				IL	242285	D0	2015年 11月 30日
CN	104761544	A	2015年 7月 8日	CN	104761585	A	2015年 7月 8日