(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
2016 年 10 月 27 日 (27.10.2016)

WIPO | PCT

(10) 国际公布号
WO 2016/169030 A1

(51) 国际专利分类号:
A61K 31/4545 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
C07D 401/14 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2015/077308

(22) 国际申请日: 2015 年 4 月 23 日 (23.04.2015)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(71) 申请人: 正大天晴药业集团股份有限公司 (CHIA TAI TIANQING PHARMACEUTICAL GROUP CO., LTD) [CN/CN]; 中国江苏省连云港市海州区郁州南路 369 号, Jiangsu 222062 (CN)。

(72) 发明人: 赵锐 (ZHAO, Rui); 中国江苏省连云港市海州区郁州南路 369 号, Jiangsu 222062 (CN)。 孟庆义 (MENG, Qingyi); 中国江苏省连云港市海州区郁州南路 369 号, Jiangsu 222062 (CN)。 李新路 (LI, Xinlu); 中国江苏省连云港市海州区郁州南路 369 号, Jiangsu 222062 (CN)。 张喜全 (ZHANG, Xiquan); 中国江苏省连云港市海州区郁州南路 369 号, Jiangsu 222062 (CN)。

(74) 代理人: 北京英赛嘉华知识产权代理有限责任公司 (INSIGHT INTELLECTUAL PROPERTY LIMITED); 中国北京市海淀区知春路甲 48 号盈都大厦 A 座 19A, Beijing 100098 (CN)。

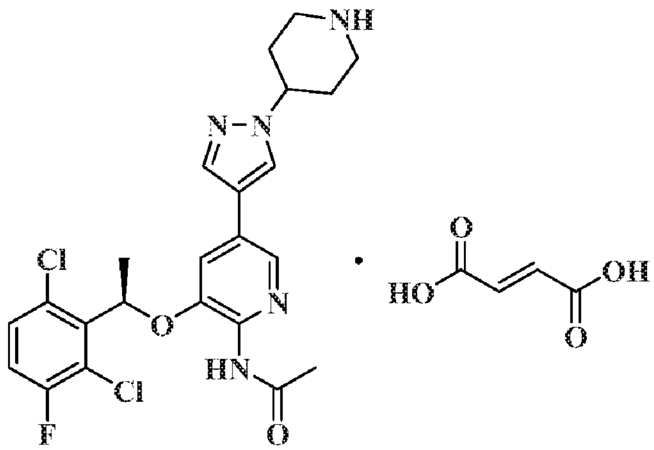
(81) 指定国 (除另有指明，要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, 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: FUMARATE AND CRYSTALS OF PYRIDYLAMINE COMPOUND

(54) 发明名称 : 吡啶胺化合物的富马酸盐及其晶体



（III）

(57) Abstract: Disclosed are a fumarate, an A-type crystal and B-type crystal of a pyridylamine compound having the structural formula (III), a preparation method therefor, medicine compositions and crystal compositions containing the compound and the crystals thereof, and uses thereof in preparation of medicines for preventing or treating tumors.

(57) 摘要: 本发明公开了具有结构式(III)的吡啶胺化合物的富马酸盐，及其 A 型晶体和 B 型晶体，以及其制备方法，含有所述化合物及其晶体的药物组合物和晶体组合物，以及它们在制备用于预防或治疗肿瘤的药物中的用途。

WO 2016/169030 A1

吡啶胺化合物的富马酸盐及其晶体

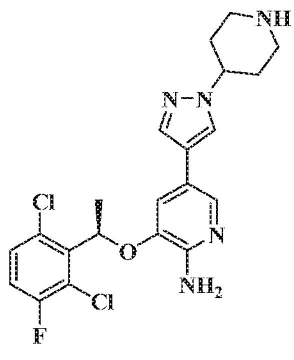
技术领域

本发明涉及吡啶胺化合物的富马酸盐及其晶体，属于医药化学领域。

背景技术

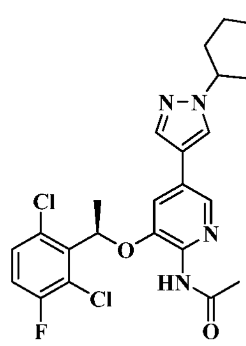
酪氨酸激酶(Protein Tyrosine Kinases，PTKs)在细胞内的信号转导通路中起着极其重要的作用。它参与正常细胞的调节、信号传递和发育，也与肿瘤细胞的增殖、分化、迁移和凋亡密切相关，因此抑制酪氨酸激酶的活性对于抑制和治疗肿瘤有着积极的作用。酪氨酸激酶家族具有多个亚型，包括表皮生长因子受体亚型(EGFR)，血管内皮生长因子受体亚型(VEGFR)，血小板衍生生长因子受体亚型(PDGFR)和间变性淋巴瘤激酶(ALK)等，研究发现在多种肿瘤细胞(如非小细胞肺癌，乳腺癌和恶性胶质瘤等)中存在 ALK 激酶的异常激活和表达。

克里唑替尼(Crizotinib，XALKORITM)是美国辉瑞公司开发的一种间变性淋巴瘤激酶(ALK)口服抑制剂，2011 年 8 月首次在美国上市(Nat. Rev. Drug Discov.10, 895-896, 2011)。该药临床主要用于间变性淋巴瘤(ALK)阳性的局部晚期或转移非小细胞肺癌(NSCLC)患者的治疗。克里唑替尼的化学结构如式(I)所示：



式(I)

CN102850328A 公开了化学结构如式(Ⅱ)所示的一种吡啶胺化合物，其为 Crizotinib 的类似物，对 ALK 具有较好的抑制作用。但是，式(Ⅱ)化合物存在容易吸潮且发生降解、贮存条件苛刻等问题。

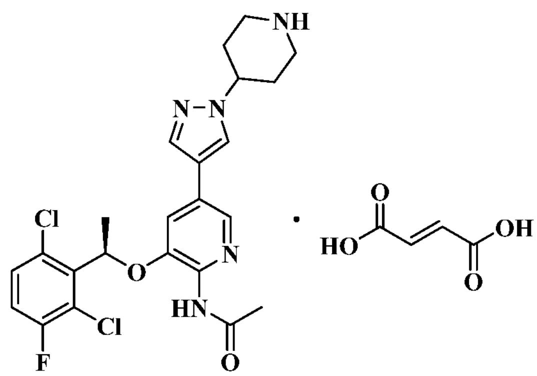


式（II）

除了治疗效力外，作为治疗剂的药物在加工、制造、储存时的稳定性、吸湿性、以及生物利用度等都对药物研发至关重要；而且，从获得一种商业上可行的生产方法的角度或者从生产含有活性化合物的药用组合物的角度出发，活性成分的化学稳定性、固态稳定性和储存期限均是非常重要的因素。因此，提供一种具有所需性质的药物的合适形式对于药物生产、储存是十分重要的。

发明内容

本发明提供了具有以下结构的式(III)化合物，其为式(II)化合物的富马酸盐：



式（III） 。

本发明还提供了一种制备式(III)化合物的方法，其包括以下步骤：将式(II)化合物溶于有机溶剂中，在 0～80℃下加入富马酸的乙醇溶液进行反应，得到式(III)化合物。

在本发明的一些实施方案中，在搅拌下加入富马酸的乙醇溶液，反应 0.5~2 小时。

在本发明的一些实施方案中，在反应液析出固体后，过滤并干燥，优

选真空干燥。

在本发明的一些实施方案中，有机溶剂选自甲醇、乙醇、二氯甲烷、丙酮中的一种或多种。

在本发明的一些实施方案中，所加入的富马酸与式(II)化合物的摩尔比为 1.2 ~ 1.5：1。

在本发明的一些实施方案中，所加入的富马酸的乙醇溶液的浓度为 1.0mol/L ~ 2.0mol/L，优选 1.0mol/L ~ 1.5mol/L。

在本发明的一些实施方案中，反应优选在 0 ~ 50℃下进行；在其它一些实施方案中，反应进一步优选在 20 ~ 50℃下进行。

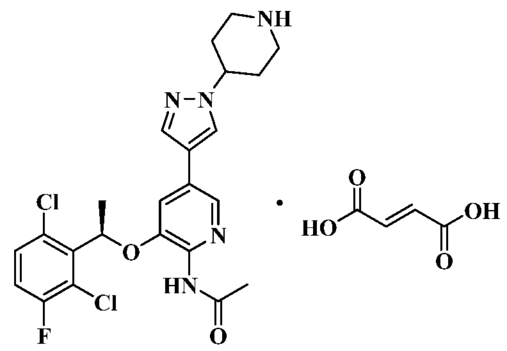
在某些特定的实施方案中，式(III)化合物可以按照以下步骤制备得到：将式(II)化合物溶于乙醇中，在 20 ~ 50℃下，在搅拌下加入富马酸的乙醇溶液，反应 0.5 ~ 2 小时，反应液析出固体，过滤，真空干燥，得到式(III)化合物。

可以不同的无机酸或有机酸替换富马酸，采用与上述方法类似的方法制备得到式(II)化合物的不同的酸加成盐。

本发明还提供一种药物组合物，其包含治疗有效量的式(III)化合物和药学上可接受的载体。药学上可接受的载体可以是固体或液体。固体载体可包括调味剂、润滑剂、增溶剂、悬浮剂、填充剂、粘合剂、片剂崩解剂或胶囊化材料中的一种或多种物质。合适的固体载体例如包括：硬脂酸镁、滑石、蔗糖、乳糖、糊精、淀粉、明胶、纤维素、甲基纤维素、羧甲基纤维素钠、聚乙烯吡咯烷酮。液体载体用于制备溶液、悬浮液、乳液、糖浆等组合物。对于口服和非肠道给药的合适的液体载体包括水、醇类、油等。

本发明还提供了式(III)化合物在制备用于预防或治疗肿瘤的药物中的用途。本发明的式(III)化合物可单独地或与其他药物联用，用于制备抗肿瘤药物。所述的肿瘤可以是肺癌，优选 ALK 阳性的原发性或转移性非小细胞肺癌。

本发明还提供了式(III)化合物的 A 型晶体，



式（III）

其特征是X-射线粉末衍射光谱用2θ值表示在约6.3°、11.7°、12.5°、14.1°、22.6°和23.3°处有衍射峰；典型地，X-射线粉末衍射光谱用2θ值表示在约6.3°、11.7°、12.5°、14.1°、19.7°、21.2°、22.6°、23.3°、23.8°和25.5°处有衍射峰；更典型地，X-射线粉末衍射光谱用2θ值表示在约6.3°、11.7°、12.5°、14.1°、15.0°、15.9°、17.0°、19.7°、20.6°、21.2°、21.6°、22.6°、23.3°、23.8°和25.5°处有衍射峰；更典型地，X-射线粉末衍射光谱用2θ值表示在约 6.3°、9.9°、11.7°、12.5°、14.1°、15.0°、15.9°、17.0°、19.7°、20.6°、21.2°、21.6°、22.6°、23.3°、23.8°、24.6°、25.1°、25.5°、27.1°和28.7°处有衍射峰。

非限制性地，本发明提供的式(III)化合物的A型晶体一个典型实例的差示扫描量热(DSC)测量图在约227.5℃处有吸收峰。

非限制性地，本发明提供的式(III)化合物的A型晶体一个典型实例具有如图5所示的红外(IR)图谱。

本发明的另一方面提供了一种晶体组合物，其中上述式(III)化合物的A型晶体占晶体组合物重量的50％以上，优选80％以上，更优选90％以上，最优选95％以上。

本发明的另一方面提供了一种药物组合物，其中包含治疗有效量的上述式(III)化合物的A型晶体，或上述晶体组合物。

本发明的另一方面提供了上述式(III)化合物的A型晶体，上述晶体组合物，或上述药物组合物在制备用于预防或治疗肿瘤的药物中的用途，优选其在制备用于预防或治疗肺癌的药物中的用途，进一步优选其在制备用于治疗ALK阳性的原发性或转移性非小细胞肺癌的药物中的用途。

本发明的另一方面提供了一种制备上述式(III)化合物的A型晶体或上述晶体组合物的方法，其包括:

（a）将式(III)化合物溶于有机溶剂中，搅拌加热；

（b）加入第二种溶剂；

（c）冷却，析晶。

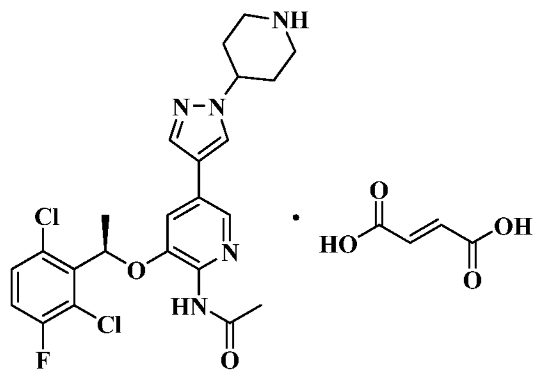
上述步骤（a）中，有机溶剂是低级醇，优选C_1～C_4烷基醇，更优选甲醇；步骤（a）中，可以加热至40℃～65℃，优选50℃～60℃；步骤（a）中，式(III)化合物与有机溶剂的比例优选为1g/50ml～1g/10ml，更优选为1g/15ml～1g/10ml；步骤（a）中，优选的搅拌速率为300-500r/min；步骤（b）中，优选地，第二种溶剂是丙酮、四氢呋喃、二氧六环或水；步骤（b）中的第二种溶剂与步骤（a）中的有机溶剂的体积比可以为1～3：1，优选2：1；步骤（c）中，可以冷却至-15℃～0℃，优选冷却至0℃。

在本发明的一些实施方案中，上述制备式(III)化合物的A型晶体的方法还可包括：

（d）过滤，干燥。

步骤（d）中，可以采用45℃真空干燥或45℃常压鼓风干燥。

本发明还提供了式(III)化合物的 B 型晶体，



式（III）

其特征是 X-射线粉末衍射光谱用 2θ 值表示在约 23.0°、24.9°、25.9°、27.0°、28.9°、29.5°、38.1°和 38.8°处有衍射峰；典型地，X-射线粉末衍射光谱用 2θ 值表示在约 18.7°、23.0°、24.9°、25.9°、27.0°、28.0°、28.9°、29.5°、36.0°、38.1°和 38.7°处有衍射峰。

非限制性地，本发明提供的式(III)化合物的 B 型晶体一个典型实例的差示扫描量热(DSC)测量图在约 230.6℃处有吸收峰。

非限制性地，本发明提供的式(III)化合物的 B 型晶体一个典型实例具有如图 6 所示的红外(IR)图谱。

本发明的另一方面提供了一种晶体组合物，其中上述式(III)化合物的B型晶体占晶体组合物重量的50％以上，优选80％以上，更优选90％以上，最优选95％以上。

本发明的另一方面提供了一种药物组合物，其中包含治疗有效量的上述式(III)化合物的B型晶体，或上述晶体组合物。

本发明的另一方面提供了上述式(III)化合物的B型晶体，上述晶体组合物，或上述药物组合物在制备用于预防或治疗肿瘤的药物中的用途，优选其在制备用于预防或治疗肺癌的药物中的用途，进一步优选其在制备用于治疗ALK阳性的原发性或转移性非小细胞肺癌的药物中的用途。

本发明的另一方面提供了一种制备上述式(III)化合物的B型晶体或上述晶体组合物的方法，其包括：

（a） 加热搅拌下，将式(III)化合物溶于无水甲醇中；

（b） 分步降温，析晶。

上述步骤（a）中，可以加热至40℃～70℃，优选加热至回流；优选的搅拌速率为300-500r/min；优选式(III)化合物与无水甲醇的比例为1g/50ml～1g/10ml，进一步优选1g/15ml～1g/10ml。上述步骤（b）中，分步降温可以是冷却至15℃～25℃，再进一步冷至-5℃～-20℃；优选冷却至室温，再进一步冷却至-18℃。

在本发明的一些实施方案中，上述制备式(III)化合物的B型晶体的方法还可包括：

（c）过滤，干燥。

步骤（c）可以采用45℃真空干燥或45℃常压鼓风干燥的方法。

本发明中，样品的 X-射线粉末衍射光谱在下述条件下测定：仪器：Bruker D2 X 射线衍射仪；测试条件：30kv 10mA；狭缝：0.6mm/3mm/0.8mm；靶型：Cu；角度范围：5-40°；步长 0.1s/0.02°。

本发明中，^{1}HNMR 在下述条件下测定：测试单位：中国药科大学分析测试中心；仪器：BRUKER AV-500 型核磁共振仪；溶剂：DMSO-d6；内标：TMS；温度：303K。

本发明中，DSC 光谱在下述条件下测定：仪器：Mettler 1 型差热分析仪；温度范围：30-270℃；升温速率：10℃/min。

本发明中，IR 光谱在下述条件下测定：仪器：Perkin Elmer spetrum 100 型红外光谱仪；仪器校正：用聚苯乙烯薄膜的红外光谱吸收峰对仪器波数进行校正；方法：KBr 压片法。

本发明中，除了特别指定以外，所使用的乙醇均为无水乙醇。

需要说明的是，在X-射线粉末衍射光谱中，由晶体化合物得到的衍射谱图对于特定的晶型往往是特征性的，其中谱带(尤其是在低角度)的相对强度可能会因为晶体条件、粒径和其它测定条件的差异而产生的优势取向效果而变化。因此，衍射峰的相对强度对所针对的晶型并非是特征性的，判断是否与已知的晶型相同时，更应该注意的是峰的相对位置而不是它们的相对强度。此外，对任何给定的晶型而言，峰的位置可能存在轻微误差，这在结晶学领域中也是公知的。例如，由于分析样品时温度的变化、样品移动、或仪器的标定等，峰的位置可以移动，2θ值的测定误差有时约为±0.2°。因此，在确定每种结晶结构时，应该将此误差考虑在内。在XRD 图谱中通常用2θ角或晶面距d表示峰位置，两者之间具有简单的换算关系：$d=\lambda/2\sin\theta$，其中d代表晶面距，λ代表入射X射线的波长，θ为衍射角。对于同种化合物的同种晶型，其XRD谱的峰位置在整体上具有相似性，相对强度误差可能较大。还应指出的是，在混合物的鉴定中，由于含量下降等因素会造成部分衍射线的缺失，此时，无需依赖高纯试样中观察到的全部谱带，甚至一条谱带也可能对给定的晶体是特征性的。

DSC测定当晶体由于其晶体结构发生变化或晶体熔融而吸收或释放热时的转变温度。对于同种化合物的同种晶型，在连续的分析中，热转变温度和熔点误差典型的在约5℃之内，通常在约3℃之内，当我们说一个化合物具有一给定的DSC峰或熔点时，这是指该DSC峰或熔点±5℃。DSC提供了一种辨别不同晶型的辅助方法。不同的晶体形态可根据其不同的转变温度特征而加以识别。需要指出的是对于混合物而言，其DSC峰或熔点可能会在更大的范围内变动。此外，由于在物质熔化的过程中伴有分解，因此熔化温度与升温速率相关。

本发明中，式(II)化合物可以参照CN201210128875.0中公开的方法制备得到。

附图说明

图 1 为实施例 3 制得的式(III)化合物的 A 型晶体的 X-射线粉末衍射图谱。

图 2 为实施例 5 制得的式(III)化合物的 B 型晶体的 X-射线粉末衍射图谱。

图 3 为实施例 3 制得的式(III)化合物的 A 型晶体差示扫描量热(DSC)测量图。

图 4 为实施例 5 制得的式(III)化合物的 B 型晶体差示扫描量热(DSC)测量图。

图 5 为实施例 3 制得的式(III)化合物的 A 型晶体红外(IR)图谱。

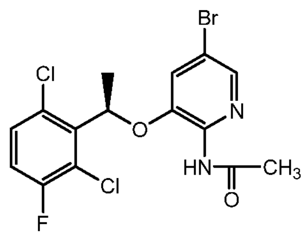
图 6 为实施例 5 制得的式(III)化合物的 B 型晶体红外(IR)图谱。

具体实施方式

下面通过实施例进一步详述本发明，但本发明并不限于下述的实施例。

实施例 1 式(II)化合物的制备

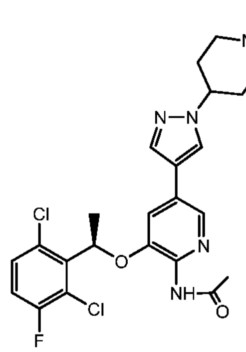
A. N-乙酰基-5-溴-3-[(1R)-1-(2,6-二氯-3-氟苯基)乙氧基] -2-吡啶胺的制备



将500mg 5-溴-3-[(1R)-1-(2,6-二氯-3-氟苯基)乙氧基] -2-吡啶胺溶于15ml二氯甲烷中，冷却至0℃，加入1ml三乙胺继续搅拌5分钟后，滴加1.1当量的乙酰氯后，升温至室温反应5小时。加入水终止反应，二氯甲烷萃取，无水硫酸钠干燥，过滤，浓缩。粗产品用乙酸乙酯:石油醚=1:4柱层析，得到黄白色固体400mg，收率72%。

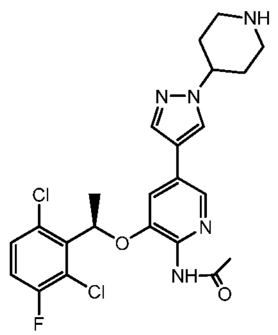
5-溴-3-[(1R)-1-(2,6-二氯-3-氟苯基)乙氧基] -2-吡啶胺可按照Organic Process Research & Development, 2011, 15(5):1018-1026或WO2007066187等文献所公开的方法制备得到。

B. N-乙酰基-3-[(1R)-1-(2,6-二氯-3-氟苯基)乙氧基]-5-[1-(4-N-Boc-哌啶基)-1H-吡唑-4-基]-2-吡啶胺的制备



将 300mg N-乙酰基-5-溴-3-[(1R)-1-(2,6-二氯-3-氟苯基)乙氧基]-2-吡啶胺和 230mg 1-(4-N- Boc-哌啶基)-4-(4,4,5,5-四甲基-[1,3,2]二氧硼戊环-2-基)-1H-吡唑溶于 5ml DMF 中，加入含 300mg 碳酸铯的 1ml 水溶液中，用氮气置换空气三次，加入 20mg $Pd(PPh_3)_2Cl_2$，再用氮气置换空气三次，反应混合物升温到 75℃搅拌 12 小时。反应结束后，降至室温，加入 20ml 乙酸乙酯稀释，硅藻土过滤，用乙酸乙酯洗涤，合并的乙酸乙酯层以无水硫酸钠干燥后浓缩，粗产品用乙酸乙酯:石油醚=1:1 柱层析纯化，得到白色泡沫状固体 330mg，收率 78%。

C. N-乙酰基-3-[(1R)-1-(2,6-二氯-3-氟苯基)乙氧基]-5-[1-(4-哌啶基)-1H-吡唑-4-基]-2-吡啶胺的制备



将得到的 N-乙酰基-3-[(1R)-1-(2,6-二氯-3-氟苯基)乙氧基]-5-[1-(4-N-Boc-哌啶基)-1H-吡唑-4-基]-2-吡啶胺 100mg 溶于少量二氯甲烷中，在 0℃搅拌，加入 4N HCl 的二氧六环溶液 2ml，搅拌 20 分钟后，减压除去溶剂，加入 10ml 水，以碳酸氢钠固体调节 PH=10，使用二氯甲烷萃取后干燥，浓缩，柱层析得到白色固体 71mg，收率 85%。MS: m/e 492 (M+1)。

实施例 2 式(III)化合物的制备

取 0.01mol 的式(II)化合物溶于乙醇，20℃搅拌下加入配置好的浓度为 1.4mol/l 富马酸的乙醇溶液 8.6ml，反应 1 小时后，反应液析出固体，过滤，

45℃真空干燥，得类白色固体，收率 85.5%。

^{1}HNMR（DMSO-d6）δ (ppm)：1.79(3H, $-CH_3$), 2.10(3H, $-CH_3$), 2.19(4H, $-CH_2-$), 3.04(2H, $-CH_2-$), 3.38(2H, $-CH_2-$), 4.50(1H，-CH-), 6.16(1H, -CH-), 6.52(2H，-CH)，7.38(1H，ArH)，7.44(1H，ArH)，7.56(1H，ArH)，7.83(1H，=CH-N)，8.23(1H，-CH=N)，8.24(1H，-NHCO-)，9.39(1H，ArH)，9-12(3H，2*-COOH, -NH-)。

实施例 3 式(III)化合物的 A 型晶体的制备

取 2.0g 式(III)化合物溶于 20ml 的甲醇中，搅拌加热至 50℃后加入 40ml 的丙酮，冷却至 0℃，保持 48h，析晶，过滤，45℃真空干燥，得 A 型晶体，收率：87.7%。所得晶体的 X-射线粉末衍射谱图如图 1 所示，差示扫描量热(DSC)测量图如图 3 所示，红外(IR)图谱如图 5 所示。

实施例 4 式(III)化合物的 A 型晶体的制备

取 2.0g 式(III)化合物溶于 20ml 的甲醇中，搅拌加热至 50℃加入 40ml 的四氢呋喃，冷却至 0℃，保持 48h，析晶，过滤，45℃常压鼓风干燥，经 X-射线粉末衍射分析所得晶体为 A 型晶体，收率：86.0 %。

实施例 5 式(III)化合物的 B 型晶体的制备

取 5.0g 式(III)化合物，加入 50ml 无水甲醇中搅拌加热至回流溶解后，逐步冷却至室温后，再进一步冷却至-18℃，保持低温静置析晶 48 小时，过滤，45℃常压鼓风干燥 4 小时，得 B 型晶体，收率：86.4%。所得晶体的 X-射线粉末衍射谱图如图 2 所示，差示扫描量热(DSC)测量图如图 4 所示，红外(IR)图谱如图 6 所示。

参考例 1 式(II)化合物的其它酸加成盐的制备

采用实施例 2 的方法，以不同的有机酸或无机酸替代富马酸，得到式(II)化合物的一系列酸加成盐。

表 1 式(II)化合物的其它酸加成盐

式(II)化合物的酸加成盐	产品性状	产品熔点(m.p.：℃)
盐酸盐	类白色固体	138.3-139.2
对甲苯磺酸盐	类白色固体	136.7-138.6
甲磺酸盐	类白色固体	143.0-144.7

马来酸盐	类白色固体	177.1-178.8
苹果酸盐	类白色固体	124.7-127.6
丁二酸盐	类白色固体	77.9-79.2

实施例 6 引湿性试验

式(II)化合物以及实施例 2、参考例 1 制备得的式(II)化合物的各种盐按照《中国药典》2010 年版二部附录 XIX J 的《药物引湿性试验指导原则》进行试验，分别计算样品引湿增重，结果如表 2 所示。

表 2　引湿性试验结果

样品名称	引湿增重(%)
式(II)化合物	61.75
富马酸盐	0.80
盐酸盐	256.39
对甲苯磺酸盐	164.27
甲磺酸盐	232.53
马来酸盐	1.15
苹果酸盐	7.83
丁二酸盐	3.60

实施例7 式(II)化合物的酸加成盐的药代动力学试验

取健康的SD雄性大鼠27只，体重200～220 g，每天定时饲以大鼠标准配方颗粒饲料，实验前禁食12h，给药后4h恢复供食，实验前后和实验过程中均自由饮水。随机分成9组，第1组单剂量灌胃给药克里唑替尼；第2组单剂量灌胃给药式(II)化合物；第3～9组分别单剂量灌胃给药式(III)化合物、式(II)化合物的盐酸盐、对甲苯磺酸盐、甲磺酸盐、马来酸盐、苹果酸盐、丁二酸盐； 9组大鼠的给药剂量均为0.11 mmol/kg，分别于给药前(0h)和给药后0.5、1、2、4、6、8、10、24h由眼底静脉丛取血约0.2~0.3mL，肝素抗凝，离心分离血浆，准确量取0.1mL至EP管中，加入1.2mL乙酸乙酯，用涡旋混合器高速混匀5min，离心5 min(8000 $r \cdot min^{-1}$)，收集上清液，于30℃氮吹仪上用氮气吹干溶剂，残余物用流动相100 μL溶解，用涡旋混合器高速混匀1min，离心5min(14000 $r \cdot min^{-1}$)，转移80μL上清液至进样瓶，HPLC进样10 μL检测，记录色谱图。结果如表3所示：

表3 大鼠中化合物口服生物利用度结果

化合物	口服生物利用度 (AUC，ug/mL*h)
克里唑替尼	15.474
式(II)化合物	17.056
富马酸盐	25.654
盐酸盐	19.043
对甲苯磺酸盐	13.182
甲磺酸盐	12.866
马来酸盐	14.165
苹果酸盐	17.393
丁二酸盐	10.453

HPLC检测条件如下:

液相色谱仪：岛津超快速高分离液相色谱仪Prominence UFLC XR

分析柱：Shim-pack XR-ODS II (2.0*75mm 2.2μm)

流动相：含5mM甲酸铵的0.1%甲酸溶液/乙腈=80/20(V/V)

流速：0.25 mL/min柱温：40℃

进样体积：10 μL分析时间：10.5 min

PDA波长范围：260 ~ 275 nm　　检测池温度：40℃

实施例 8 稳定性试验

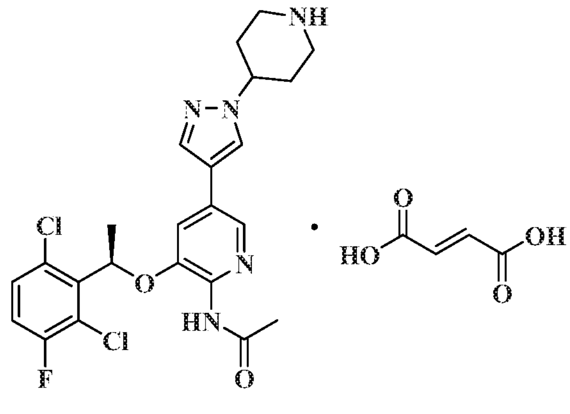
参照中国药典2010年版(二部)的附录XIX C中原料药影响因素试验的方法，将实施例3制备得到的式(III)化合物的A型晶体和实施例5制备得到的式(III)化合物的B型晶体分别进行高温试验(40℃±2℃，相对湿度75%±5%)和强光照射试验(4500lx±500lx)。考察时间为10天，分别于第0天和第10天取样检测杂质总量，以考察其稳定性，试验结果如表4所示。

表 4 稳定性试验结果

测定项目		A 型晶体	B 型晶体
杂质总量(%)	0 天	0.73	0.65
	光照 10 天	0.89	1.62
	40℃ 10 天	0.85	2.56

权利要求书

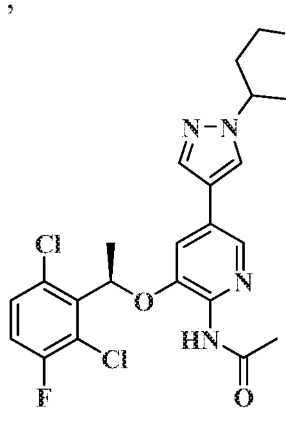
1. 具有以下结构的式(III)化合物：



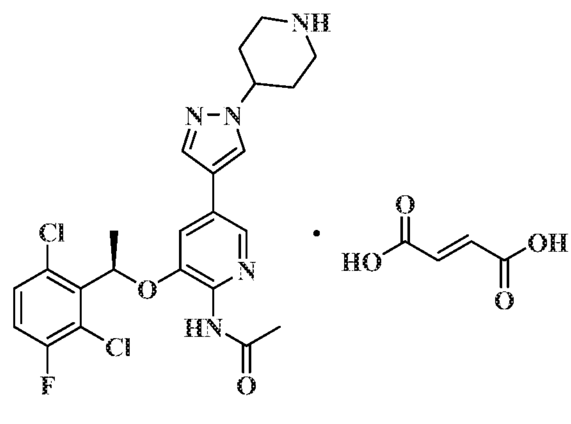
式（III）

。

2. 一种制备式(III)化合物的方法，其特征在于包括以下步骤：将式(II)化合物溶于有机溶剂中，在 0～80℃下，优选在 0~50℃下，更优选在 20~50℃下，加入富马酸的乙醇溶液进行反应，优选反应 0.5~2 小时，得到式(III)化合物；



式（II）



式（III）

。

3. 权利要求 2 所述的方法，其特征在于所述有机溶剂选自甲醇、乙醇、二氯甲烷、丙酮中的一种或多种。

4. 权利要求 2 或 3 所述的方法，其特征在于所加入的富马酸与式(II)化合物的摩尔比为 1.2～1.5：1。

5. 权利要求 2～4 中任一项所述的方法，其特征在于所述富马酸的乙醇溶液的浓度为 1.0mol/L～2. 0mol/L，优选为 1.0mol/L～1.5mol/L。

6. 权利要求 2～5 中任一项所述的方法，其特征在于所述方法还包括在反应液析出固体后，过滤并干燥。

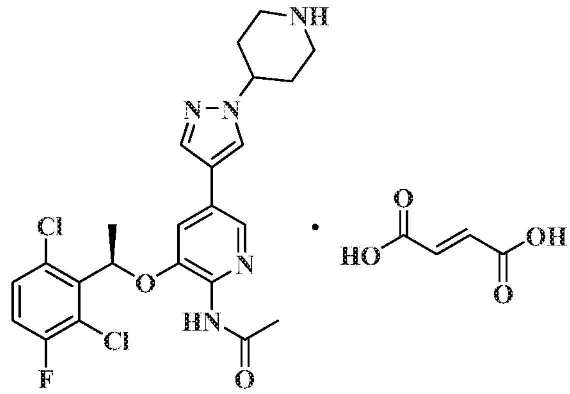
7. 一种药物组合物，其包含治疗有效量的式(III)化合物和药学上可接受的载体。

8. 权利要求 1 所述的式(III)化合物在制备用于预防或治疗肿瘤的药物中的用途。

9. 权利要求 8 所述的用途，其特征在于所述肿瘤为肺癌。

10. 权利要求 9 所述的用途，其特征在于所述肺癌为 ALK 阳性的原发性或转移性非小细胞肺癌。

11. 式(III)化合物的 A 型晶体，



式（III）

其特征在于 X-射线粉末衍射光谱用 2θ 值表示在约 6.3°、11.7°、12.5°、14.1°、22.6°和 23.3°处有衍射峰。

12. 权利要求 11 所述的式(III)化合物的 A 型晶体，其特征在于 X-射线粉末衍射光谱用 2θ 值表示在约 6.3°、11.7°、12.5°、14.1°、19.7°、21.2°、22.6°、23.3°、23.8°和 25.5°处有衍射峰。

13. 权利要求 11 所述的式(III)化合物的 A 型晶体，其特征在于 X-射线粉末衍射光谱用 2θ 值表示在约 6.3°、11.7°、12.5°、14.1°、15.0°、15.9°、17.0°、19.7°、20.6°、21.2°、21.6°、22.6°、23.3°、23.8°和 25.5°处有衍射峰。

14. 权利要求 11 所述的式(III)化合物的 A 型晶体，其特征在于 X-射线粉末衍射光谱用 2θ 值表示在约 6.3°、9.9°、11.7°、12.5°、14.1°、15.0°、15.9°、17.0°、19.7°、20.6°、21.2°、21.6°、22.6°、23.3°、23.8°、24.6°、25.1°、25.5°、27.1°和 28.7°处有衍射峰。

15. 一种晶体组合物，其中权利要求 11 ~ 14 中任一项所述的式(III)化合物的 A 型晶体占晶体组合物重量的 50% 以上，优选 80% 以上，更优

选 90％以上，最优选 95％以上。

16. 一种药物组合物，其中包含治疗有效量的权利要求 11～14 中任一项所述的式(III)化合物的 A 型晶体或权利要求 15 所述的晶体组合物。

17. 权利要求 11～14 中任一项所述的式(III)化合物的 A 型晶体或权利要求 15 所述的晶体组合物或权利要求 16 所述的药物组合物在制备用于预防或治疗肿瘤的药物中的用途；优选地，所述肿瘤为肺癌；进一步优选地，所述肿瘤为 ALK 阳性的原发性或转移性非小细胞肺癌。

18. 制备权利要求11～14中任一项所述的式(III)化合物的A型晶体或权利要求15所述的晶体组合物的方法，其包括：

（a）将式(III)化合物溶于有机溶剂中，搅拌加热；

（b） 加入第二种溶剂；

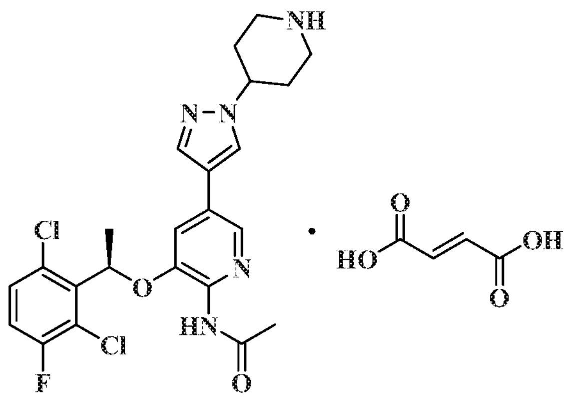
（c）冷却，析晶。

19. 权利要求 18 所述的方法，其特征在于，步骤（a）中，所述有机溶剂是低级醇，优选 C_1～C_4烷基醇，更优选甲醇；和/或搅拌加热至 40℃～65℃，优选 50℃～60℃；和/或所述式(III)化合物与所述有机溶剂的比例为 1g/50ml～1g/10ml，优选 1g/15ml～1g/10ml；和/或搅拌速率为 300-500r/min。

20. 权利要求 18 或 19 所述的方法，其特征在于，步骤（b）中，所述第二种溶剂是丙酮、四氢呋喃、二氧六环或水；和/或步骤（b）中的所述第二种溶剂与步骤（a）中的所述有机溶剂的体积比为 1～3：1，优选 2：1；和/或步骤（c）中冷却至-15℃～0℃，优选冷却至 0℃。

21. 权利要求 18~20 中任一项所述的方法，其特征在于，所述方法还包括（d）过滤，干燥；其中优选采用 45℃真空干燥或 45℃常压鼓风干燥。

22. 式(III)化合物的 B 型晶体，



式（III）

其特征在于X-射线粉末衍射光谱用2θ值表示在约23.0°、24.9°、25.9°、27.0°、28.9°、29.5°、38.1°和38.8°处有衍射峰。

23. 权利要求22所述的式(III)化合物的B型晶体，其特征在于X-射线粉末衍射光谱用2θ值表示在约18.7°、23.0°、24.9°、25.9°、27.0°、28.0°、28.9°、29.5°、36.0°、38.1°和38.7°处有衍射峰。

24. 一种晶体组合物，其中权利要求 22 或 23 所述的式(III)化合物的 B 型晶体占晶体组合物重量的 50%以上，优选 80%以上，更优选 90%以上，最优选 95%以上。

25. 一种药物组合物，其中包含治疗有效量的权利要求 22 或 23 所述的式(III)化合物的 B 型晶体或权利要求 24 所述的晶体组合物。

26. 权利要求 22 或 23 所述的式(III)化合物的 B 型晶体或权利要求 24 所述的晶体组合物或权利要求 25 所述的药物组合物在制备用于预防或治疗肿瘤的药物中的用途；优选地，所述肿瘤为肺癌；进一步优选地，所述肿瘤为 ALK 阳性的原发性或转移性非小细胞肺癌。

27. 制备权利要求22或23所述的式(III)化合物的B型晶体或权利要求24所述的晶体组合物的方法，其包括：

（a）加热搅拌下，将式(III)化合物溶于无水甲醇中；

（b）分步降温，析晶。

28. 权利要求27所述的方法，其特征在于，步骤（a）中，加热至40℃～70℃，优选加热至回流；和/或搅拌速率为300-500r/min；和/或所述式(III)化合物与所述无水甲醇的比例为1g/50ml～1g/10ml，优选1g/15ml～1g/10ml。

29. 权利要求27或28所述的方法，其特征在于，步骤（b）中，所述分步降温是冷却至15℃～25℃，再进一步冷至-5℃～-20℃；优选冷却至室温，再进一步冷却至-18℃。

30. 权利要求27~29中任一项所述的方法，其特征在于，所述方法还包括（c）过滤，干燥；其中优选采用45℃真空干燥或45℃常压鼓风干燥。

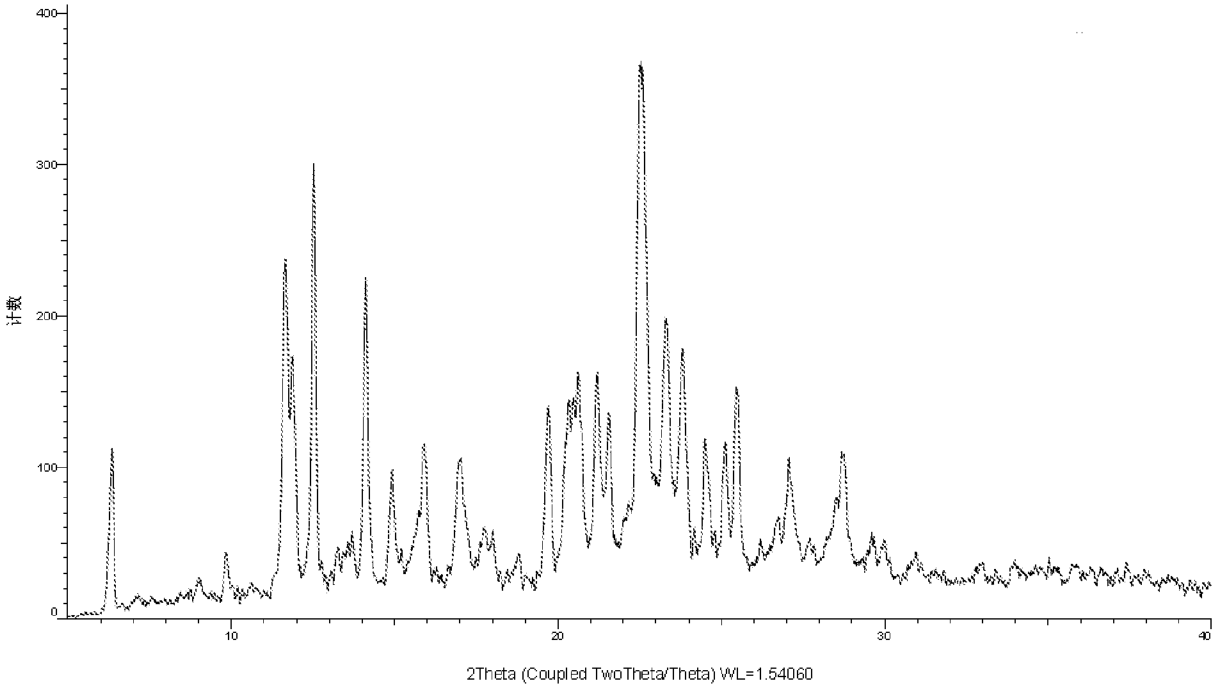

400
300
200
100
0
计数
10
20
30
40
2Theta (Coupled TwoTheta/Theta) WL=1.54060

图 1

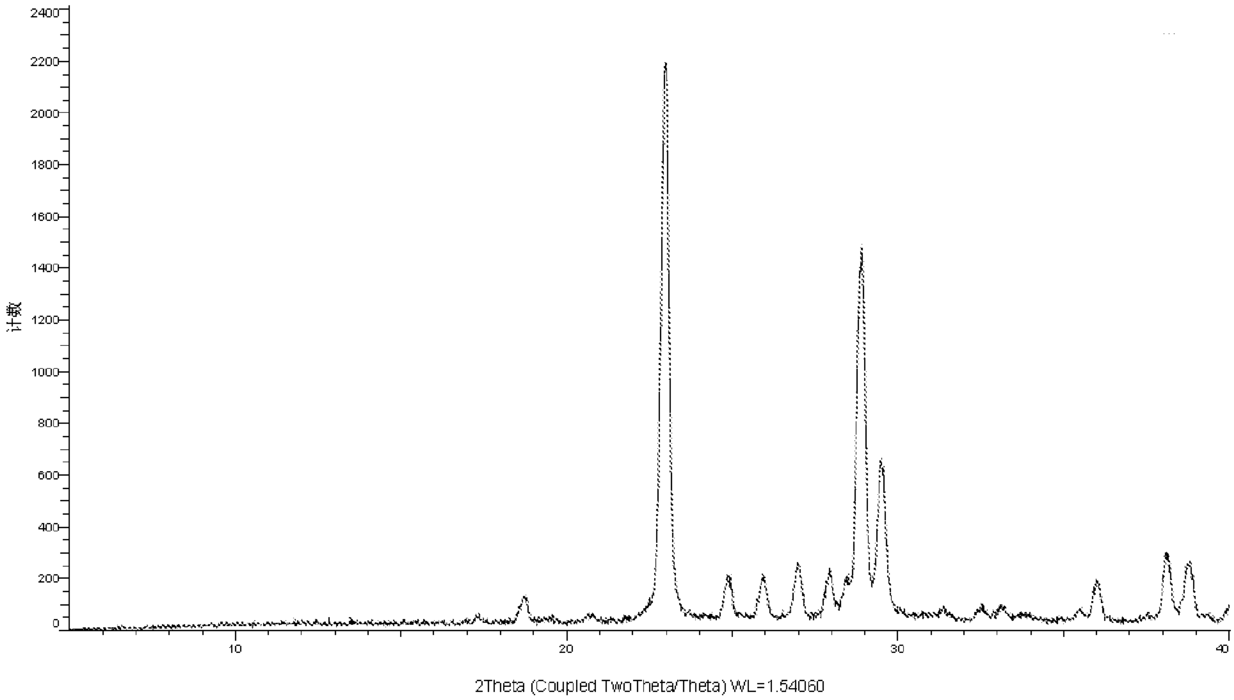

2400
2200
2000
1800
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
计数
10
20
30
40
2Theta (Coupled TwoTheta/Theta) WL=1.54060

图 2

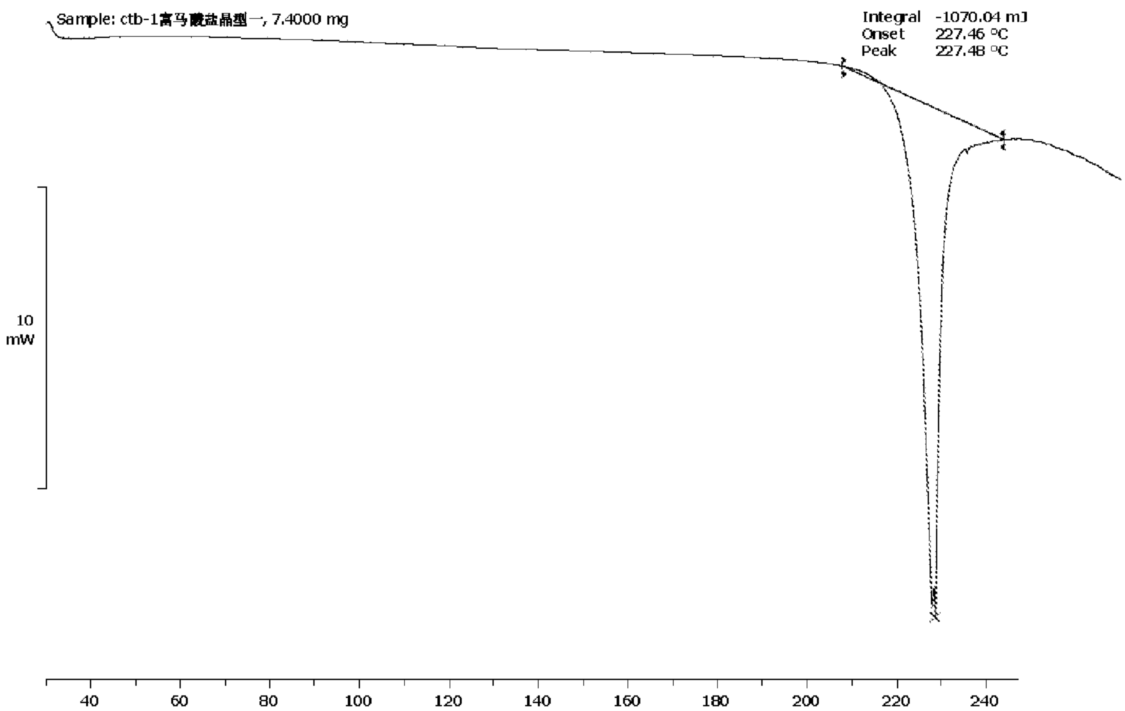

Sample: ctb-1富马酸盐晶型一, 7.4000 mg
Integral -1070.04 mJ
Onset 227.46 °C
Peak 227.48 °C
10
mW
40
60
80
100
120
140
160
180
200
220
240

图 3

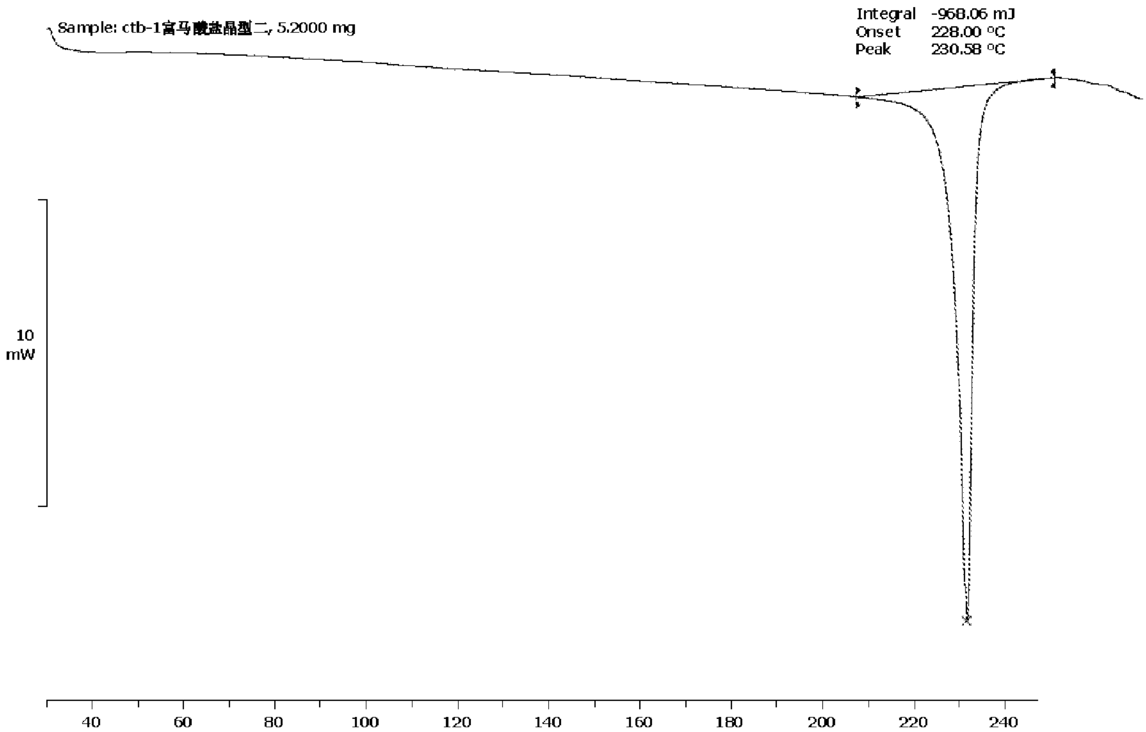

Sample: ctb-1富马酸盐晶型二, 5.2000 mg
Integral -968.06 mJ
Onset 228.00 °C
Peak 230.58 °C
10
mW
40
60
80
100
120
140
160
180
200
220
240

图 4

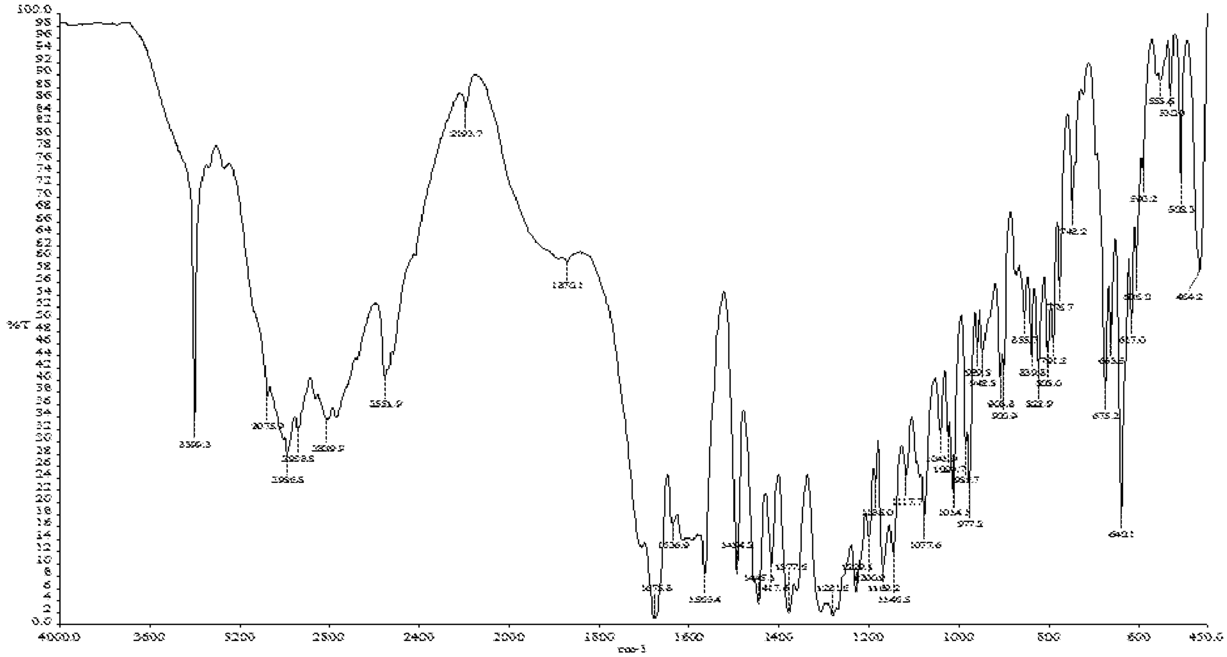


图 5

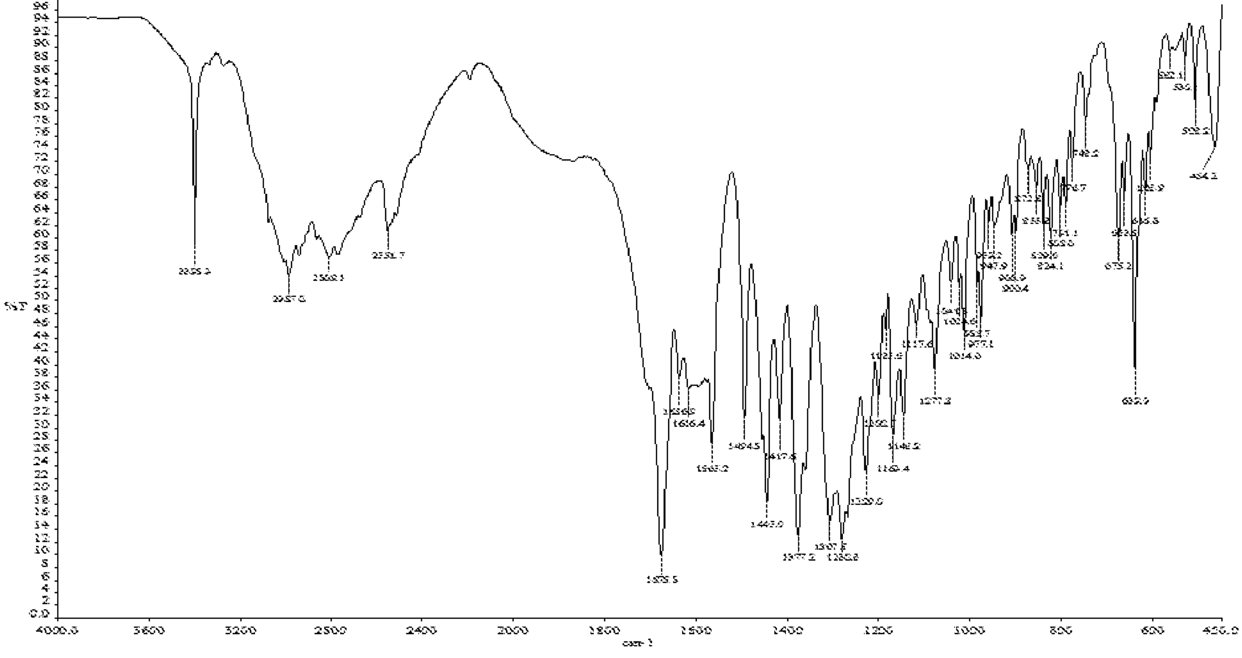


图 6

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2015/077308

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 31/4545 (2006.01) i; C07D 401/14 (2006.01) i: A61P 35/00 (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)

A61K; A61P; C07D

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)

WPI, EPODOC, CNPAT, CNKI, REGISTRY, CAPLUS: PF2341066, Crizotinib, prodrug, Fumarate, Fumaric, crystal, structure search etc.

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
E	CN 104557869 A (CHIA TAI TIANQING PHARMACEUTICAL GROUP CO., LTD.), 29 April 2015 (29.04.2015), see the whole document, particularly claims 1-14, and description, paragraphs [0008]-[0034] and embodiments 2-6	1-30
E	CN 104557870 A (CHIA TAI TIANQING PHARMACEUTICAL GROUP CO., LTD.), 29 April 2015 (29.04.2015), see the whole document, particularly claims 1-10	1-10
X	CN 102850328 A (SHANGHAI INSTITUTE OF MATERIA MEDICA, CHINESE ACADEMY OF SCIENCES), 02 January 2013 (02.01.2013), see claims 6-9, and description, paragraphs [0029] and [0036] and experimental example 2	1-30
X	CN 103263416 A (HANGZHOU GMAX BIOPHARM BIOMEDICAL ENGINEERING CO., LTD.), 28 August 2013 (28.08.2013), see the whole document, particularly, claims 1-6, and embodiments 1-7	1-30

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

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"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)

"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

"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

"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

"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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
15 January 2016 (15.01.2016)	**25 January 2016 (25.01.2016)**

Name and mailing address of the ISA/CN	Authorized officer
State Intellectual Property Office of the P. R. China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing 100088, China Facsimile No.: (86-10) 62019451	**XIAO, Ying** Telephone No.: (86-10) **62089320**

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2015/077308

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN 104557869 A	29 April 2015	None	
CN 104557870 A	29 April 2015	None	
CN 102850328 A	02 January 2013	CN 102850328 B	24 December 2014
CN 103263416 A	28 August 2013	None	

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2015/077308

A. 主题的分类

A61K 31/4545(2006.01)i；C07D 401/14(2006.01)i；A61P 35/00(2006.01)i

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

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

A61K; A61P; C07D

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

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））

WPI, EPODOC, CNPAT, CNKI, REGISTRY, CAPLUS:克里唑蒂尼, 克里唑替尼, PF2341066, Crizotinib, 前药, prodrug, 富马酸, 延胡索酸, Fumarate, Fumaric, 晶体, crystal, 结构式检索 等

C. 相关文件

类 型*	引用文件，必要时，指明相关段落	相关的权利要求
E	CN 104557869 A (正大天晴药业集团股份有限公司) 2015年 4月 29日 (2015 - 04 - 29) 见全文，尤其是权利要求1-14，说明书第[0008]-[0034]段，实施例2-6.	1-30
E	CN 104557870 A (正大天晴药业集团股份有限公司) 2015年 4月 29日 (2015 - 04 - 29) 见全文，尤其是权利要求1-10	1-10
X	CN 102850328 A (中国科学院上海药物研究所) 2013年 1月 2日 (2013 - 01 - 02) 见权利要求6-9，说明书第[0029]、[0036]段，试验实施例二	1-30
X	CN 103263416 A (杭州鸿运华宁生物医药工程有限公司) 2013年 8月 28日 (2013 - 08 - 28) 见全文，尤其是，权利要求1-6，实施例1-7	1-30

☐ 其余文件在C栏的续页中列出。 ☑ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型:

“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

“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）

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“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

“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

“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

“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

“&” 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期	国际检索报告邮寄日期
2016年 1月 15日	2016年 1月 25日
ISA/CN的名称和邮寄地址 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 传真号 (86-10)62019451	受权官员 肖瑛 电话号码 (86-10)62089320

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2015/077308

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 104557869 A	2015年 4月 29日	无	
CN 104557870 A	2015年 4月 29日	无	
CN 102850328 A	2013年 1月 2日	CN 102850328 B	2014年 12月 24日
CN 103263416 A	2013年 8月 28日	无	