



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 110577526 B

(45) 授权公告日 2023. 10. 27

(21) 申请号 201910491517.8

(22) 申请日 2019.06.06

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 110577526 A

(43) 申请公布日 2019.12.17

(66) 本国优先权数据
201810581815.1 2018.06.07 CN

(73) 专利权人 上海翰森生物医药科技有限公司
地址 201203 上海市浦东新区张江高科技
园区金科路3728号2号楼

专利权人 江苏豪森药业集团有限公司

(72) 发明人 詹小兰 龚素娟 吴临松

(74) 专利代理机构 北京戈程知识产权代理有限公司 11314

专利代理师 程伟

(51) Int.Cl.
C07D 471/04 (2006.01)
A61K 31/437 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 35/02 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)
A61P 1/16 (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01)

(续)

(56) 对比文件
CN 110167939 B, 2021.12.31

(续)

审查员 张建宏

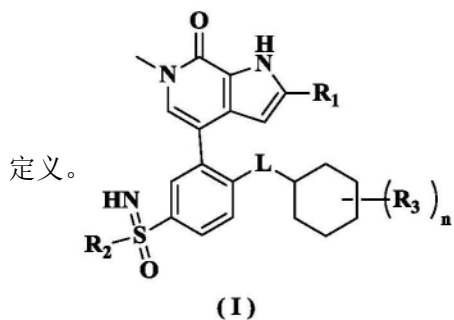
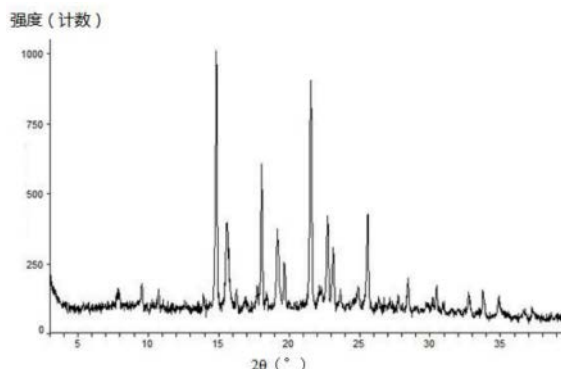
权利要求书8页 说明书35页 附图9页

(54) 发明名称

溴域结构蛋白抑制剂的盐及其制备方法和应用

(57) 摘要

本发明涉及溴域结构蛋白抑制剂的盐及其制备方法和应用。本发明属于生物医药领域,涉及溴域结构蛋白抑制剂的盐及其晶型的制备方法和应用。本发明具体涉及一种式(I)所示通式化合物的酸加成盐及其酸加成盐晶型、制备方法和应用以及含有治疗有效量的该盐或晶型的药物组合物及应用。本发明公开了其作为BRD4高选择性抑制剂,用于治疗包括癌症、炎症、慢性肝病、糖尿病、血脂异常等心血管疾病或AIDS等相关疾病的用途。式(I)中取代基如权利要求中所



CN 110577526 B

[接上页]

(51) Int.Cl.

A61P 3/06 (2006.01)

A61P 9/00 (2006.01)

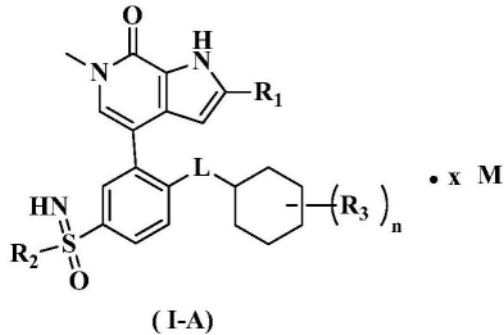
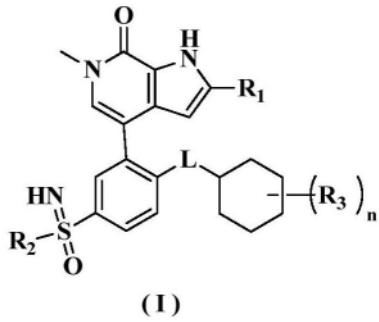
A61P 31/04 (2006.01)

(56) 对比文件

CN 104136435 A, 2014.11.05

WO 2016077378 A1, 2016.05.19

1. 一种式(I)所示通式化合物的酸加成盐,其结构如式(I-A)所示,



其中:

L选自O和NH;

R₁选自C₁₋₃烷基和C₁₋₃卤代烷基;

R₂选自甲基、乙基、异丙基、环丙基、卤代环丙基和氰基取代的环丙基;R₃选自氢原子、卤素、羟基、C₁₋₃烷基和C₁₋₃卤代烷基;

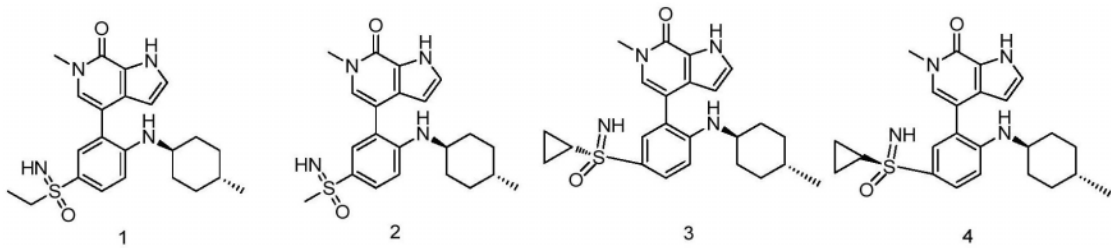
M选自甲磺酸、盐酸、硫酸、硝酸、磷酸、苯磺酸和对甲基苯磺酸;

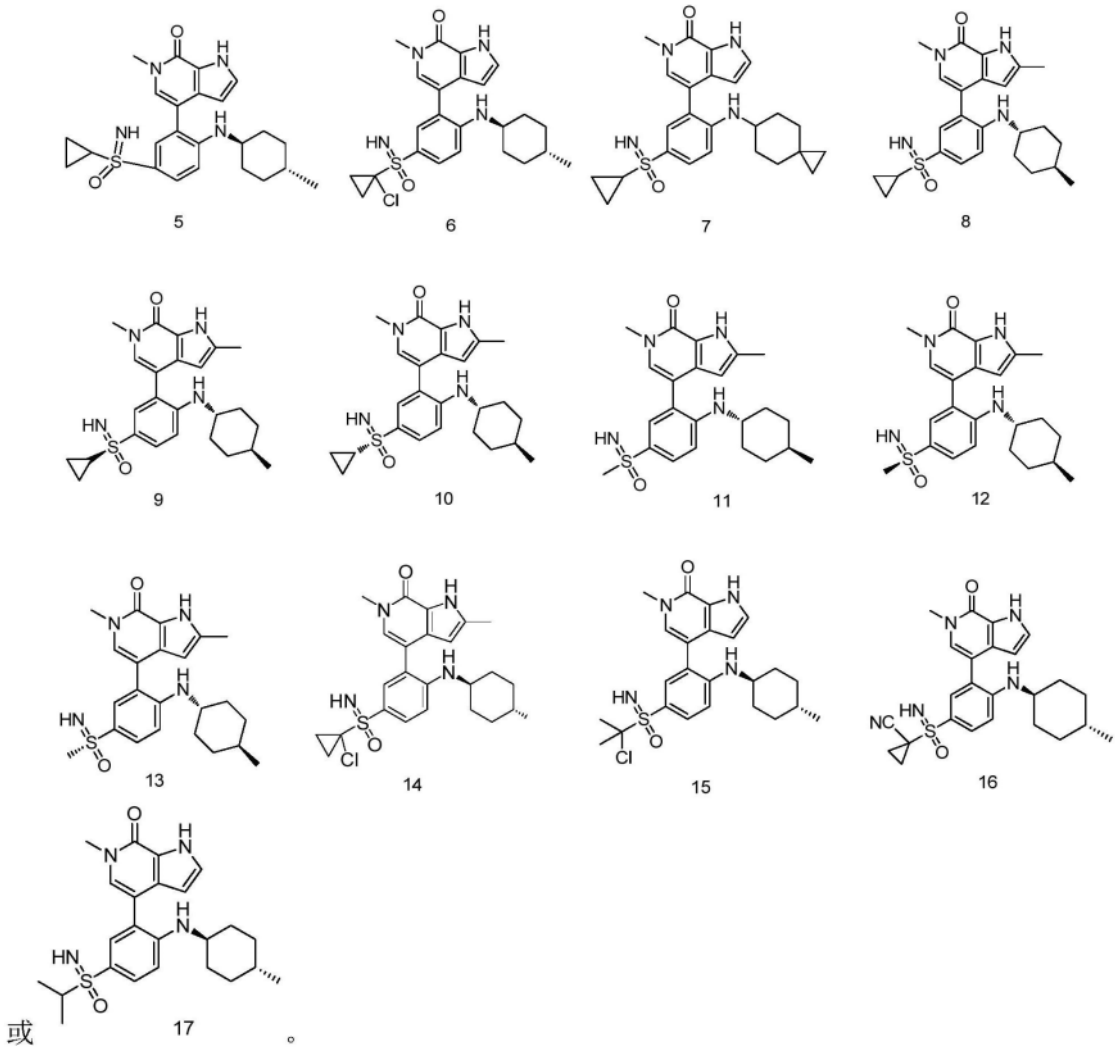
x为1;且

n为0或1。

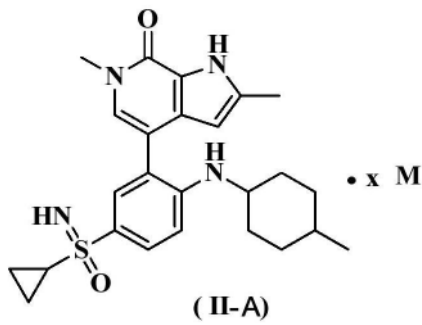
2. 根据权利要求1所述的酸加成盐,所述的M选自硝酸。

3. 根据权利要求1所述的酸加成盐,其为如下化合物的酸加成盐:



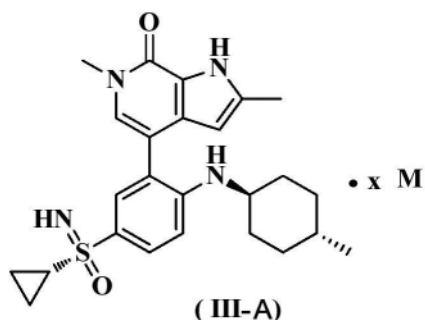


4. 根据权利要求1所述的酸加成盐, 其为式(II-A)所示化合物;



x和M如权利要求1所定义。

5. 根据权利要求1所述的酸加成盐, 其为式(III-A)所示化合物;



x和M如权利要求1所定义。

6. 一种制备根据权利要求1-5任意一项所述式(I)所示通式化合物的酸加成盐的方法，具体包括如下步骤：

- 1) 称取适量的式(I)所示通式化合物，用良性溶剂溶解；
- 2) 称取适量的反离子酸，用有机溶剂溶解；
- 3) 把上述两种溶液混合均匀，挥发溶剂；
- 4) 分离得式(I)所示通式化合物的酸加成盐；

上述良性溶剂和有机溶液使用时需互溶；

所述的反离子酸选自甲磺酸、盐酸、硫酸、硝酸、磷酸、苯磺酸和对甲基苯磺酸。

7. 根据权利要求6所述的制备式(I)所示通式化合物的酸加成盐的方法，所述的良性溶剂选自甲醇、丙酮、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N,N-二甲基乙酰胺和N-甲基吡咯烷酮的一种或多种。

8. 根据权利要求6所述的制备式(I)所示通式化合物的酸加成盐的方法，所述的良性溶剂选自甲醇和二氯甲烷的混合溶剂。

9. 根据权利要求6所述的制备式(I)所示通式化合物的酸加成盐的方法，所述的有机溶剂选自甲醇、乙醇、乙酸乙酯、二氯甲烷、丙酮、正己烷、石油醚、苯、甲苯、氯仿、乙腈、四氯化碳、二氯乙烷、四氢呋喃、2-丁酮、3-戊酮、庚烷、甲基叔丁基醚、异丙醚、1,4-二氧六环、叔丁醇和N,N-二甲基甲酰胺。

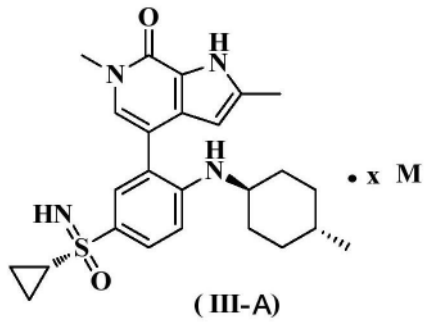
10. 根据权利要求6所述的制备式(I)所示通式化合物的酸加成盐的方法，所述的有机溶剂选自甲醇或乙醇。

11. 根据权利要求6所述的制备式(I)所示通式化合物的酸加成盐的方法，所述的反离子酸选自硝酸。

12. 根据权利要求6所述的制备式(I)所示通式化合物的酸加成盐的方法，所述的反离子酸的用量为式(I)所示通式化合物的1.0~10倍当量。

13. 根据权利要求6所述的制备式(I)所示通式化合物的酸加成盐的方法，所述的反离子酸的用量为式(I)所示通式化合物的1.2~2当量。

14. 式(III-A)化合物的晶型，



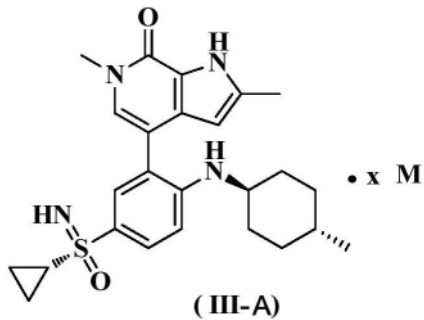
其中M为硝酸, x 为1;

所述的晶型,其为硝酸盐晶型I, X-射线粉末衍射图谱在 2θ ($\pm 0.2^\circ$)为6.7、16.0、17.5和20.3处具有衍射峰;还包含在 2θ ($\pm 0.2^\circ$)为8.0、9.4和19.0处具有衍射峰。

15. 根据权利要求14所述的晶型,所述X-射线粉末衍射图谱还包含在 2θ ($\pm 0.2^\circ$)为11.0和23.2处具有衍射峰。

16. 根据权利要求14所述的晶型,其X-射线粉末衍射图谱基本如图4所示。

17. 式(III-A)化合物的晶型,



其中M为硝酸, x 为1;

所述的晶型,其为硝酸盐晶型II, X-射线粉末衍射图谱在 2θ ($\pm 0.2^\circ$)为5.6、12.0、12.7、13.0、16.5、20.7、24.1和25.9处具有衍射峰。

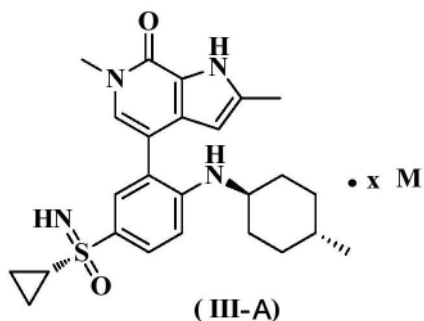
18. 根据权利要求17所述的晶型,所述X-射线粉末衍射图谱还包含在 2θ ($\pm 0.2^\circ$)为8.1、14.5、17.6、18.4、19.6、20.1和22.6处具有衍射峰。

19. 根据权利要求18所述的晶型,所述X-射线粉末衍射图谱还包含在 2θ ($\pm 0.2^\circ$)为17.0、25.3、26.6、27.6、28.8、30.1、31.0和33.6处具有衍射峰。

20. 根据权利要求17所述的晶型,其X-射线粉末衍射图谱基本如图7所示。

21. 根据权利要求17所述的晶型,其单晶结构图基本如图18所示。

22. 式(III-A)化合物的晶型,



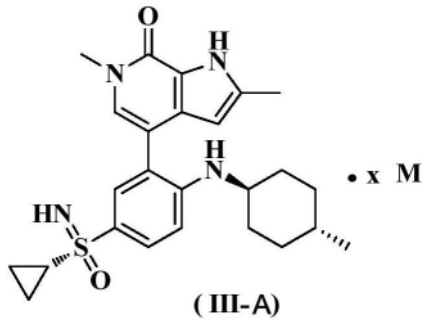
其中M为甲磺酸, x 为1;

所述的晶型,其X-射线粉末衍射图谱在 $2\theta (\pm 0.2^\circ)$ 为6.6、7.1、11.2、17.3和20.1处具有衍射峰;还包含在 $2\theta (\pm 0.2^\circ)$ 为13.3、18.3、21.2和23.8处具有衍射峰。

23.根据权利要求22所述的晶型,所述X-射线粉末衍射图谱还包含在 $2\theta (\pm 0.2^\circ)$ 为24.5、25.0和27.0处具有衍射峰。

24.根据权利要求22所述的晶型,其X-射线粉末衍射图谱基本如图11所示。

25.式(III-A)化合物的晶型,

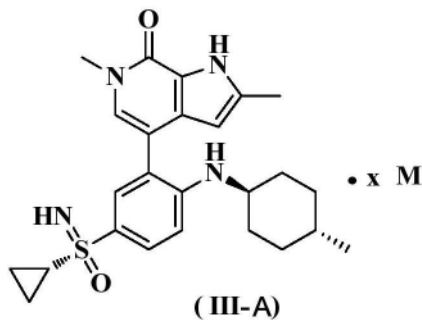


其中M为硫酸, x 为1;

所述的晶型,其为硫酸盐晶型I,X-射线粉末衍射图谱在 $2\theta (\pm 0.2^\circ)$ 为6.6、6.9、7.2、11.5和20.8处具有衍射峰;还包含在 $2\theta (\pm 0.2^\circ)$ 为17.5、18.0和18.7处具有衍射峰。

26.根据权利要求25所述的晶型,其X-射线粉末衍射图谱基本如图12所示。

27.式(III-A)化合物的晶型,



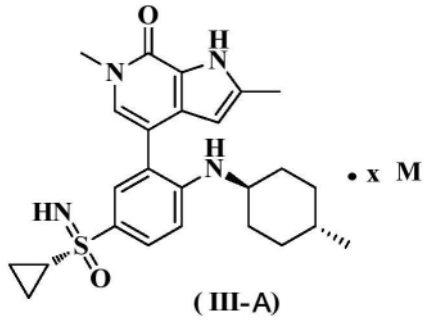
其中M为硫酸, x 为1;

所述的晶型,其为硫酸盐晶型II,X-射线粉末衍射图谱在 $2\theta (\pm 0.2^\circ)$ 为6.3、7.0、8.8、18.5、18.9和22.0处具有衍射峰;还包含在 $2\theta (\pm 0.2^\circ)$ 为14.1、15.0、16.7、17.8、21.3和21.7处具有衍射峰。

28.根据权利要求27所述的晶型,所述X-射线粉末衍射图谱还包含在 $2\theta (\pm 0.2^\circ)$ 为16.3、22.5、22.6、23.0和25.9处具有衍射峰。

29.根据权利要求27所述的晶型,其X-射线粉末衍射图谱基本如图13所示。

30.式(III-A)化合物的晶型,

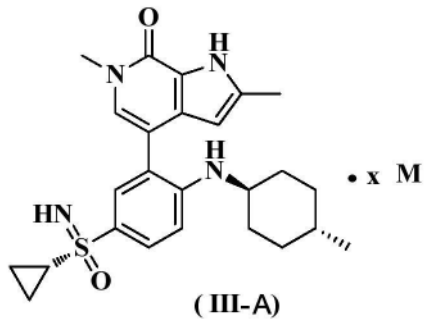


其中M为盐酸, x 为1;

所述的晶型, 其为盐酸盐晶型I, X-射线粉末衍射图谱在 2θ ($\pm 0.2^\circ$) 为6.7、7.6、12.5、12.8和16.7处具有衍射峰; 还包含在 2θ ($\pm 0.2^\circ$) 为10.8、16.3、17.6、18.9、20.2、22.0和22.8处具有衍射峰。

31. 根据权利要求30所述的晶型, 其X-射线粉末衍射图谱基本如图14所示。

32. 式(III-A)化合物的晶型,



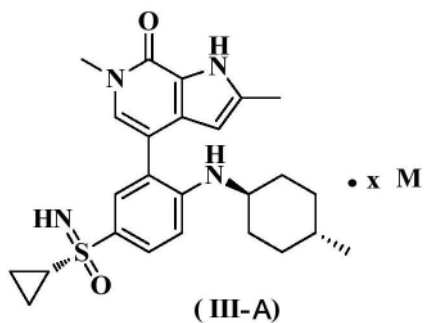
其中M为盐酸, x 为1;

所述的晶型, 其为盐酸盐晶型II, X-射线粉末衍射图谱在 2θ ($\pm 0.2^\circ$) 为5.4、6.7、8.2、12.5、13.4、17.0、17.4和20.4处具有衍射峰。

33. 根据权利要求32所述的晶型, 所述X-射线粉末衍射图谱还包含在 2θ ($\pm 0.2^\circ$) 为10.2、14.7、16.3、17.9、18.3、19.2、20.8和27.5处具有衍射峰。

34. 根据权利要求32所述的晶型, 其X-射线粉末衍射图谱基本如图15所示。

35. 式(III-A)化合物的晶型,



其中M为盐酸, x 为1;

所述的晶型, 其为盐酸盐晶型III, 其X-射线粉末衍射图谱基本如图16所示。

36. 一种制备根据权利要求14-35任意一项所述式(III-A)所示通式化合物的晶型的方法, 包括如下步骤:

1) 称取适量的式(III)所示通式化合物, 用良性溶剂溶解;

2) 称取适量的反离子酸,用有机溶剂溶解;

3) 把上述两种溶液合并,搅拌数小时后若无沉淀析出,滴加不良溶剂或者滴加一定量的不良溶剂后加热浓缩直至出现浑浊,搅拌过夜;

4) 分离得式(III-A)所示通式化合物的晶型;

上述良性溶剂和有机溶液使用时需互溶;

所述的反离子酸选自甲磺酸、硫酸、盐酸和硝酸。

37. 根据权利要求36所述的制备式(III-A)所示通式化合物的晶型的方法,所述的良性溶剂选自甲醇、丙酮、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N,N-二甲基乙酰胺和N-甲基吡咯烷酮中的一种或多种。

38. 根据权利要求36所述的制备式(III-A)所示通式化合物的晶型的方法,所述的良性溶剂选自甲醇。

39. 根据权利要求36所述的制备式(III-A)所示通式化合物的晶型的方法,所述的有机溶剂选自甲醇、乙醇、乙酸乙酯、二氯甲烷、丙酮、正己烷、石油醚、苯、甲苯、氯仿、乙腈、四氯化碳、二氯乙烷、四氢呋喃、2-丁酮、3-戊酮、庚烷、甲基叔丁基醚、异丙醚、1,4-二氧六环、叔丁醇和N,N-二甲基甲酰胺。

40. 根据权利要求36所述的制备式(III-A)所示通式化合物的晶型的方法,所述的有机溶剂选自甲醇或乙醇。

41. 根据权利要求36所述的制备式(III-A)所示通式化合物的晶型的方法,所述的不良溶剂选自庚烷、水、甲基叔丁基醚、甲苯、异丙醚、乙酸乙酯和乙腈。

42. 根据权利要求36所述的制备式(III-A)所示通式化合物的晶型的方法,所述的不良溶剂选自乙酸乙酯或乙腈。

43. 根据权利要求36所述的制备式(III-A)所示通式化合物的晶型的方法,所述的反离子酸选自硝酸。

44. 根据权利要求36所述的制备式(III-A)所示通式化合物的晶型的方法,所述的反离子酸的用量为式(III)所示通式化合物的1.0~10倍当量。

45. 根据权利要求36所述的制备式(III-A)所示通式化合物的晶型的方法,所述的反离子酸的用量为式(III)所示通式化合物的1.2~2当量。

46. 一种制备根据权利要求14-35任意一项所述式(III-A)所示通式化合物的晶型的方法,包括如下步骤:

1) 称取适量的式(III)所示通式化合物,用不良性溶剂混悬;

2) 称取适量的反离子酸,用有机溶剂溶解;

3) 把上述两种溶液合并,搅拌数小时先澄清后沉淀析出;

4) 分离得式(III-A)所示通式化合物的晶型;

上述不良性溶剂和有机溶液使用时需互溶;

所述的反离子酸选自甲磺酸、硫酸、盐酸和硝酸。

47. 根据权利要求46所述的制备式(III-A)所示通式化合物的晶型的方法,所述的不良性溶剂选自乙酸乙酯或乙腈。

48. 根据权利要求46所述的制备式(III-A)所示通式化合物的晶型的方法,所述的有机溶剂选自甲醇、乙醇、乙酸乙酯、二氯甲烷、丙酮、正己烷、石油醚、苯、甲苯、氯仿、乙腈、四氯

化碳、二氯乙烷、四氢呋喃、2-丁酮、3-戊酮、庚烷、甲基叔丁基醚、异丙醚、1,4-二氧六环、叔丁醇和N,N-二甲基甲酰胺中一种或多种。

49. 根据权利要求46所述的制备式(III-A)所示通式化合物的晶型的方法,所述的有机溶剂选自甲醇或乙醇。

50. 根据权利要求46所述的制备式(III-A)所示通式化合物的晶型的方法,所述的反离子酸选自硝酸。

51. 根据权利要求46所述的制备式(III-A)所示通式化合物的晶型的方法,所述的反离子酸的用量为式(I)所示通式化合物的1.0~10倍当量。

52. 根据权利要求46所述的制备式(III-A)所示通式化合物的晶型的方法,所述的反离子酸的用量为式(I)所示通式化合物的1.2~2当量。

53. 一种药物组合物,其含有治疗有效量的根据权利要求1-5任意一项所述式(I)所示通式化合物的酸加成盐或权利要求14-35任意一项所述式(III-A)所示通式化合物的晶型,以及一种或多种药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。

54. 根据权利要求1-5任意一项所述式(I)所示通式化合物的酸加成盐或权利要求14-35任意一项所述式(III-A)所示通式化合物的晶型或权利要求53所述的药物组合物在制备用于治疗癌症相关疾病的药物中的用途;所述的癌症选自乳腺癌、宫颈癌、结肠癌、肺癌、胃癌、直肠癌、胰腺癌、脑癌、肝癌、神经胶质瘤、神经胶母细胞瘤、白血病、淋巴瘤、骨髓瘤和非小细胞肺癌。

溴域结构蛋白抑制剂的盐及其制备方法和应用

技术领域

[0001] 本发明属于生物医药领域,具体涉及一种溴域结构蛋白抑制剂的盐、晶型及药物组合物及其应用,以及上述盐和晶型的制备方法。本发明公开了其作为BRD4高选择性抑制剂,用于治疗包括癌症、炎症、慢性肝病、糖尿病、血脂异常等心血管疾病或AIDS等相关疾病的用途。

背景技术

[0002] 肿瘤是严重危害人类生命的重大疾病之一,一半以上发生在发展中国家。我国恶性肿瘤发病率总体呈上升趋势,发病率以年均3%~5%的速度递增,其主要原因是:老龄化、城镇化、工业化及生活习惯改变。在中国医院用药市场,抗肿瘤药物的销售规模近几年来一直稳步增长,2012年达到了664.2亿元,同比增长了13.07%,预计到2017年,抗肿瘤药物的市场规模将达到1055.7亿元,同比增长7.57%。

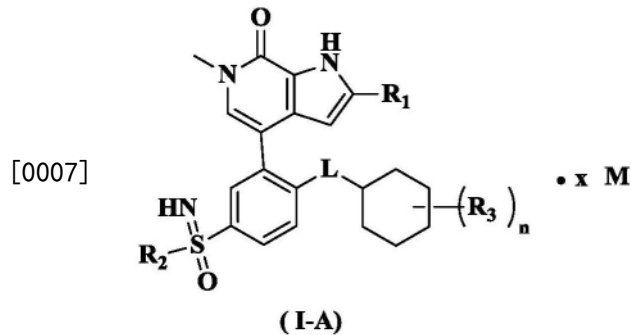
[0003] 由于恶性肿瘤的无限制生长与浸润、转移,现今临床采用的三大常规治疗方法(手术、放疗和化疗)无法完全切除或彻底杀灭肿瘤细胞,因此常出现肿瘤转移或复发。肿瘤生物治疗是应用现代生物技术及其相关产品进行肿瘤防治的新疗法,因其安全、有效、不良反应低等特点,成为继手术、放疗、化疗之后肿瘤治疗的第四种模式,其通过调动宿主的天然防御机制或给予天然产生的靶向性很强的物质来获得抗肿瘤的效应。

[0004] 溴结构蛋白4(BRD4)是溴结构域和超末端结构(bromodomain and extraterminal domain, BET) 家族成员, BRD4通过招募不同的转录调节因子,如Mediator、正性转录延伸因子b(positive transcription elongation factor b, P-TEFb)来调节靶基因的表达。作为一种在哺乳动物中广泛表达的染色质“适配器, reader”,可以在整个有丝分裂过程中识别乙酰化的蛋白结合到染色体上,募集不同的染色质修饰蛋白,广泛调控基因的表达,从而在调控细胞周期进程、转录、炎症等方面发挥重要作用。最近的研究表明BRD4的表达水平失调或功能紊乱与睾丸核蛋白中线癌(midline carcinoma with rearrangement of the nuclear protein intestis gene, NMC)、黑色素瘤、急性髓系白血病、结肠癌、乳腺癌等的发生有关。BRD4shRNA或BET抑制剂可以诱导上述肿瘤发生细胞周期阻滞、凋亡及细胞分化,显示出强大的抗肿瘤活性。这些发现表明, BET蛋白有望成为上述肿瘤甚至其他肿瘤新的治疗靶点。另外,通过工具化合物JQ1等研究发现, BRD4的抑制剂在病毒感染, 糖尿病, 代谢性疾病, 肝脏疾病和老年痴呆症等多种疾病均可能有较广泛的运用。

[0005] 江苏豪森药业集团有限公司的PCT专利(申请号:PCT/CN2018/072204)中公开了4-(5-(环丙磺亚胺酰基)-2-((4-甲基环己基)氨基)苯基)-6-甲基-1,6-二氢-7H-吡咯并[2,3-c]吡啶-7-酮的结构,在后续的研发中,为了产物易于处理、过滤和干燥,寻求适合的便于储存、长期稳定的产品,本发明对上述物质的盐进行了全面的研究,致力于得到最适合的盐型。

发明内容

[0006] 本发明的目的在于提供了一种式(I)所示通式化合物的酸加成盐,其结构如式(I-A)所示,



[0008] 其中:

[0009] L选自-O-和-NR_v-;R_v为氢原子或C₁₋₈烷基;优选L为-O-或-NH-;

[0010] R₁选自氢、C₁₋₈烷基、C₃₋₈环烷基和C₁₋₈卤代烷基;其中所述的C₁₋₈烷基、C₃₋₈环烷基和C₁₋₈卤代烷基任选进一步被选自C₁₋₈烷基、卤素、羟基、氨基、硝基、氰基、C₁₋₈烷氧基或C₁₋₈羟烷基中的一个或多个取代基所取代;优选C₁₋₆烷基或C₁₋₆卤代烷基;更优选C₁₋₃烷基或C₁₋₃卤代烷基;

[0011] R₂选自C₁₋₈烷基、C₃₋₈环烷基、C₁₋₈卤代烷基、C₃₋₈卤代环烷基、3-10元杂环基和6-10元芳基,其中所述的C₁₋₈烷基、C₃₋₈环烷基、C₁₋₈卤代烷基、C₃₋₈卤代环烷基、3-10元杂环基和6-10元芳基任选进一步被选自C₁₋₈烷基、卤素、羟基、氨基、硝基、氰基、C₁₋₈烷氧基、C₃₋₈环烷基和C₁₋₈羟烷基中的一个或多个取代基所取代;优选C₁₋₆烷基、C₁₋₆卤代烷基、C₃₋₈环烷基、卤代C₃₋₈环烷基或氰基取代的C₃₋₈环烷基;更优选C₁₋₃烷基、C₁₋₃卤代烷基、C₃₋₆环烷基、卤代C₃₋₆环烷基或氰基取代的C₃₋₆环烷基;最优选甲基、乙基、异丙基、环丙基、卤代环丙基、氰基取代的环丙基及其氘代物;

[0012] R₃选自氢、卤素、羟基、氧代基、C₁₋₈烷基、C₁₋₈卤代烷基、C₁₋₈烷氧基和C₁₋₈卤代烷氧基;优选氢原子、卤素、氧代基、羟基、C₁₋₆烷基和C₁₋₆卤代烷基;更优选氢原子、卤素、羟基、C₁₋₃烷基或C₁₋₃卤代烷基;

[0013] 或者任意两个R₃形成一个C₃₋₈环烷基或3-10元的杂环基,其中所述的C₃₋₈环烷基或3-10元的杂环基任选进一步被选自C₁₋₈烷基、卤素、羟基、氨基、硝基、氰基、C₁₋₈烷氧基或C₁₋₈羟烷基中的一个或多个取代基所取代;

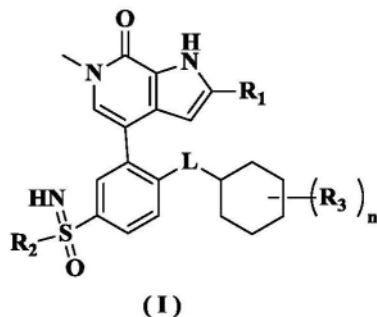
[0014] M为无机酸或有机酸,其中所述无机酸选自盐酸、硫酸、硝酸、氢溴酸、氢氟酸、氢碘酸或磷酸;有机酸选自2,5-二羟基苯甲酸、1-羟基-2-萘甲酸、醋酸、二氯醋酸、三氯醋酸、乙酰氧肟酸、己二酸、苯磺酸、4-氯苯磺酸、苯甲酸、4-乙酰氨基苯甲酸、4-氨基苯甲酸、癸酸、己酸、辛酸、肉桂酸、柠檬酸、环己烷氨基磺酸、樟脑磺酸、天门冬氨酸、樟脑酸、葡萄糖酸、葡糖醛酸、谷氨酸、异抗坏血酸、乳酸、苹果酸、扁桃酸、焦谷氨酸、酒石酸、十二烷基硫酸、二苯甲酰酒石酸、乙烷-1,2-二磺酸、乙磺酸、蚁酸、富马酸、半乳糖酸、龙胆酸、戊二酸、2-酮戊二酸、乙醇酸、马尿酸、羟乙基磺酸、乳糖酸、抗坏血酸、天冬氨酸、月桂酸、樟脑酸、马来酸、丙二酸、甲磺酸、1,5-萘二磺酸、萘-2-磺酸、烟酸、油酸、乳清酸、草酸、棕榈酸、双羟萘酸、丙酸、水杨酸、4-氨基水杨酸、癸二酸、硬脂酸、丁二酸、硫氰酸、十一碳烯酸、三氟乙酸、苯磺酸、对甲基苯磺酸和L-苹果酸;优选甲磺酸、盐酸、硫酸、硝酸、磷酸、苯磺酸或对甲基苯磺

酸;更优选硝酸;

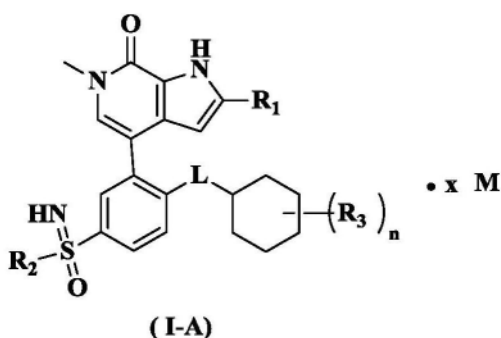
[0015] x 为0、1、2或3;优选 x 为0或1,更优选 x 为1;且

[0016] n 为0、1、2、3、4或5。

[0017] 本发明的目的还在于提供了一种式(I)所示通式化合物的酸加成盐,其结构如式(I-A)所示,



[0018]



[0019] 其中:

[0020] 所述式(I)所示通式化合物包括其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体或其混合物形式;

[0021] L 选自 $-O-$ 和 $-NR_v-$; R_v 为氢原子或 C_{1-8} 烷基;优选 L 为 $-O-$ 或 $-NH-$;

[0022] R_1 选自氢、 C_{1-8} 烷基、 C_{3-8} 环烷基和 C_{1-8} 卤代烷基;其中所述的 C_{1-8} 烷基、 C_{3-8} 环烷基和 C_{1-8} 卤代烷基任选进一步被选自 C_{1-8} 烷基、卤素、羟基、氨基、硝基、氰基、 C_{1-8} 烷氧基或 C_{1-8} 羟烷基中的一个或多个取代基所取代;优选 C_{1-6} 烷基或 C_{1-6} 卤代烷基;更优选 C_{1-3} 烷基或 C_{1-3} 卤代烷基;

[0023] R_2 选自 C_{1-8} 烷基、 C_{3-8} 环烷基、 C_{1-8} 卤代烷基、 C_{3-8} 卤代环烷基、3-10元杂环基和6-10元芳基,其中所述的 C_{1-8} 烷基、 C_{3-8} 环烷基、 C_{1-8} 卤代烷基、 C_{3-8} 卤代环烷基、3-10元杂环基和6-10元芳基任选进一步被选自 C_{1-8} 烷基、卤素、羟基、氨基、硝基、氰基、 C_{1-8} 烷氧基、 C_{3-8} 环烷基和 C_{1-8} 羟烷基中的一个或多个取代基所取代;优选 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 卤代烷基、 C_{3-8} 环烷基、卤代 C_{3-8} 环烷基或氰基取代的 C_{3-8} 环烷基;更优选 C_{1-3} 烷基、 C_{1-3} 卤代烷基、 C_{3-6} 环烷基、卤代 C_{3-6} 环烷基或氰基取代的 C_{3-6} 环烷基;最优选甲基、乙基、异丙基、环丙基、卤代环丙基、氰基取代的环丙基及其氘代物;

[0024] R_3 选自氢、卤素、羟基、氧代基、 C_{1-8} 烷基、 C_{1-8} 卤代烷基、 C_{1-8} 烷氧基和 C_{1-8} 卤代烷氧基;优选氢原子、卤素、氧代基、羟基、 C_{1-6} 烷基和 C_{1-6} 卤代烷基;更优选氢原子、卤素、羟基、 C_{1-3} 烷基或 C_{1-3} 卤代烷基;

[0025] 或者任意两个 R_3 形成一个 C_{3-8} 环烷基或3-10元的杂环基,其中所述的 C_{3-8} 环烷基或3-10元的杂环基任选进一步被选自 C_{1-8} 烷基、卤素、羟基、氨基、硝基、氰基、 C_{1-8} 烷氧基或 C_{1-8}

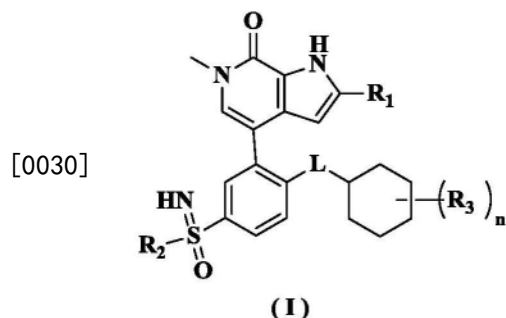
羟烷基中的一个或多个取代基所取代；

[0026] M为无机酸或有机酸，优选地，所述无机酸选自盐酸、硫酸、硝酸、氢溴酸、氢氟酸、氢碘酸或磷酸；优选地，所述有机酸选自2,5-二羟基苯甲酸、1-羟基-2-萘甲酸、醋酸、二氯醋酸、三氯醋酸、乙酰氧肟酸、己二酸、苯磺酸、4-氯苯磺酸、苯甲酸、4-乙酰氨基苯甲酸、4-氨基苯甲酸、癸酸、己酸、辛酸、肉桂酸、柠檬酸、环己烷氨基磺酸、樟脑磺酸、天门冬氨酸、樟脑酸、葡萄糖酸、葡糖醛酸、谷氨酸、异抗坏血酸、乳酸、苹果酸、扁桃酸、焦谷氨酸、酒石酸、十二烷基硫酸、二苯甲酰酒石酸、乙烷-1,2-二磺酸、乙磺酸、蚁酸、富马酸、半乳糖酸、龙胆酸、戊二酸、2-酮戊二酸、乙醇酸、马尿酸、羟乙基磺酸、乳糖酸、抗坏血酸、天冬氨酸、月桂酸、樟脑酸、马来酸、丙二酸、甲磺酸、1,5-萘二磺酸、萘-2-磺酸、烟酸、油酸、乳酸、草酸、棕榈酸、双羟萘酸、丙酸、水杨酸、4-氨基水杨酸、癸二酸、硬脂酸、丁二酸、硫氰酸、十一碳烯酸、三氟乙酸、苯磺酸、对甲基苯磺酸和L-苹果酸；更优选甲磺酸、盐酸、硫酸、硝酸、磷酸、苯磺酸或对甲基苯磺酸；最优选硝酸；

[0027] x为0、1、2或3；且

[0028] n为0、1、2、3、4或5。

[0029] 本发明所述的式(I)所示通式化合物，其结构如下所示：



[0031] 本发明所述的式(I)所示通式化合物，若无特别说明，是指其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体或其混合物形式。

[0032] 本发明所述的式(I)所示通式化合物，可根据PCT/CN2018/072204所描述的制备方法获得。

[0033] 在本发明的一个优选实施例方案中，所述的式(I)或式(I-A)所示通式化合物，其中L选自O和NH。

[0034] 在本发明的一个优选实施例方案中，所述的式(I)或式(I-A)所示通式化合物，其中R₁选自C₁₋₃烷基和C₁₋₃卤代烷基。

[0035] 在本发明的一个优选实施例方案中，所述的式(I)或式(I-A)所示通式化合物，其中R₂选自甲基、乙基、异丙基、环丙基、卤代环丙基和氰基取代的环丙基。

[0036] 在本发明的一个优选实施例方案中，所述的式(I)或式(I-A)所示通式化合物，其中R₃选自氢原子、卤素、羟基、C₁₋₃烷基和C₁₋₃卤代烷基。

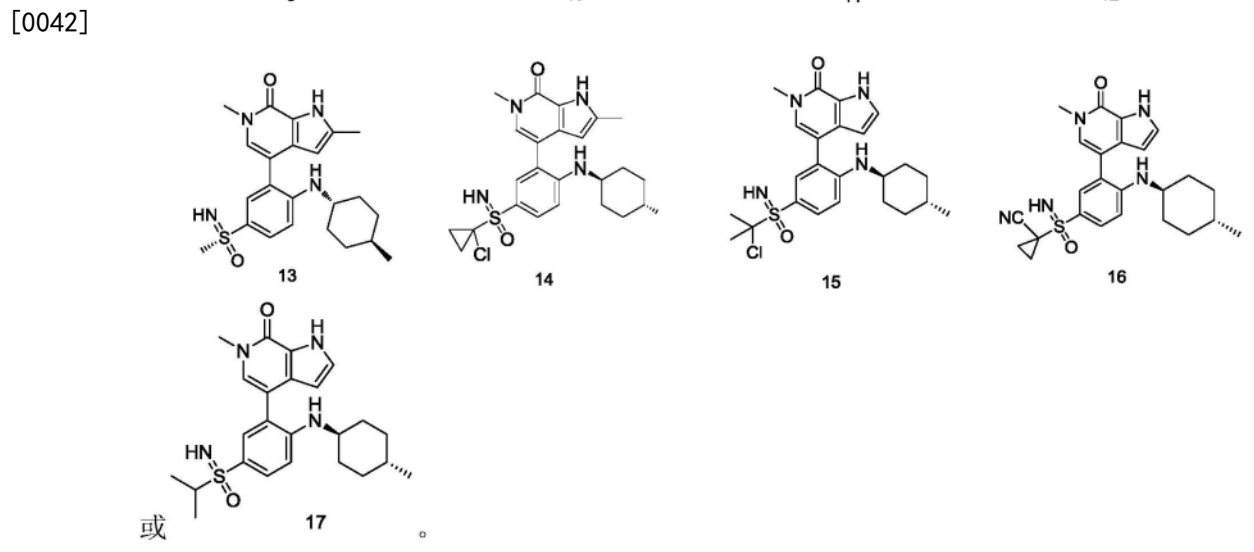
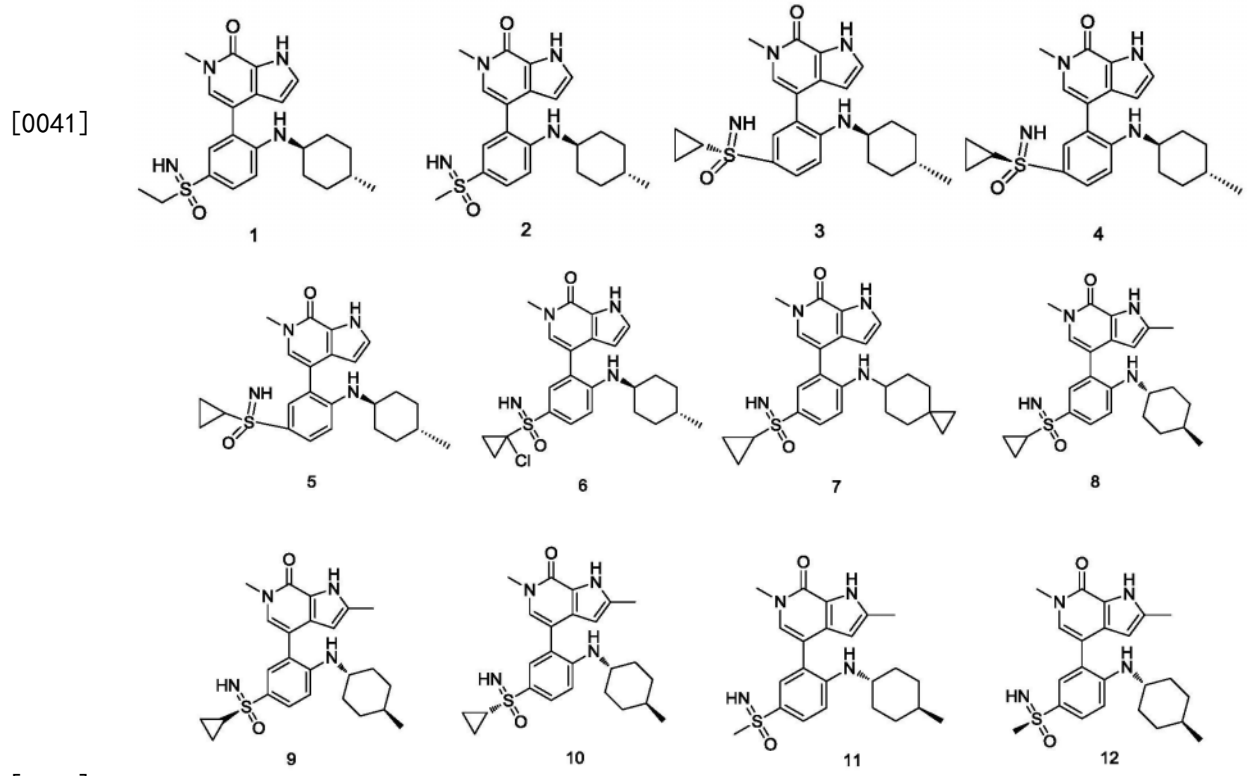
[0037] 在本发明的一个优选实施例方案中，所述的式(I)或式(I-A)所示通式化合物，其中M选自甲磺酸、盐酸、硫酸、硝酸、磷酸、苯磺酸和对甲基苯磺酸；优选硝酸。

[0038] 在本发明的一个优选实施例方案中，所述的式(I)或式(I-A)所示通式化合物，其中x为0或1。

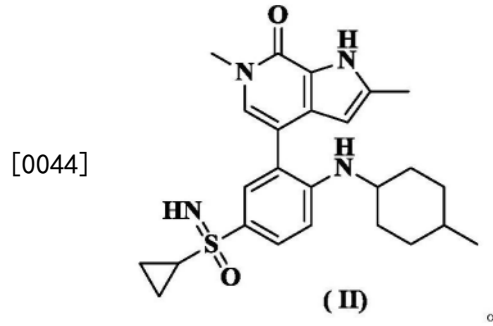
[0039] 在本发明的一个优选实施例方案中，所述的式(I)或式(I-A)所示通式化合物，其

中n为0或1。

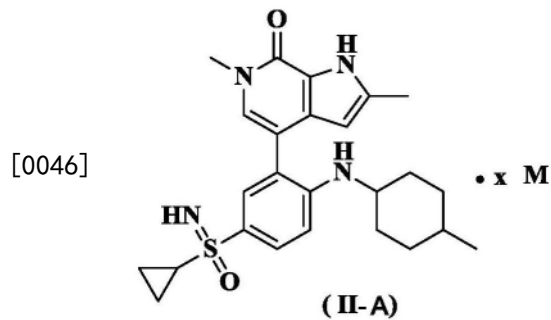
[0040] 在本发明的一个优选实施例方案中,所述式(I)所示通式化合物的酸加成盐,包括选自如下化合物的酸加成盐:



[0043] 在本发明的一个优选实施例方案中,所述式(I)所示通式化合物为式(II)化合物,

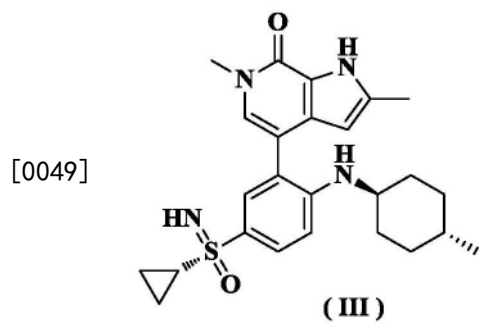


[0045] 在本发明的一个优选实施例方案中,所述式(I-A)所示通式化合物为式(II-A)化合物,

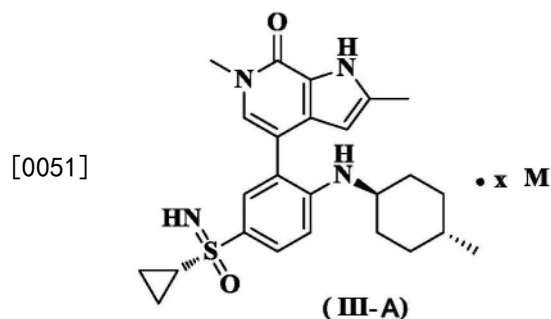


[0047] x和M如式(I-A)通式化合物所定义。

[0048] 在本发明的一个优选实施例方案中,所述式(I)所示通式化合物为式(III)化合物,



[0050] 在本发明的一个优选实施例方案中,所述式(I-A)所示通式化合物为式(III-A)化合物,



[0052] x和M如式(I-A)通式化合物所定义。

[0053] 在本发明的一个优选实施例方案中,所述式(III-A)化合物,其中M选自甲磺酸、盐酸、硫酸、硝酸、磷酸、苯磺酸和对甲基苯磺酸;优选硝酸。

[0054] 在本发明的一个优选实施例方案中,所述式(III-A)化合物,其中x为0或1,优选x为1。

[0055] 在本发明的一个优选实施例方案中,所述式(III-A)化合物,M为甲磺酸,且x为1。

[0056] 在本发明的一个优选实施例方案中,所述式(III-A)化合物,M为盐酸,且x为1。

[0057] 在本发明的一个优选实施例方案中,所述式(III-A)化合物,M为硫酸,且x为1。

[0058] 在本发明的一个优选实施例方案中,所述式(III-A)化合物,M为硝酸,且x为1。

[0059] 在本发明的一个优选实施例方案中,所述式(III-A)化合物,M为磷酸,且x为1。

[0060] 在本发明的一个优选实施例方案中,所述式(III-A)化合物,M为苯磺酸,且x为1。

[0061] 在本发明的一个优选实施例方案中,所述式(III-A)化合物,M为对甲基苯磺酸,且x为1。

[0062] 本发明的目的还在于提供一种式(I-A)所示通式化合物的制备方法,具体包括如下步骤:

[0063] 1)称取适量的式(I)所示通式化合物,用良性溶剂溶解;

[0064] 2)称取适量的反离子酸,用有机溶剂溶解;

[0065] 3)把上述两种溶液混合均匀,挥发溶剂;

[0066] 4)分离得式(I-A)所示通式化合物。

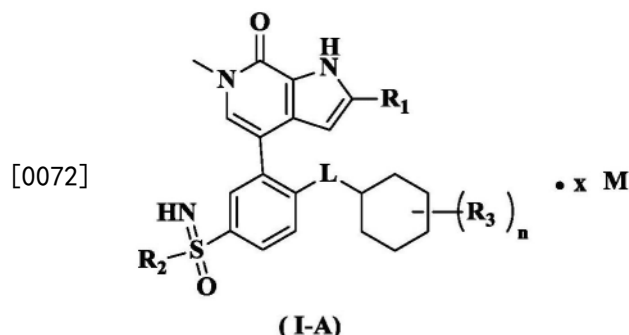
[0067] 优选所述的良性溶剂选自甲醇、丙酮、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N,N-二甲基乙酰胺和N-甲基吡咯烷酮的一种或多种;更优选甲醇和二氯甲烷的混合溶剂。

[0068] 优选所述的有机溶剂选自甲醇、乙醇、乙酸乙酯、二氯甲烷、丙酮、正己烷、石油醚、苯、甲苯、氯仿、乙腈、四氯化碳、二氯乙烷、四氢呋喃、2-丁酮、3-戊酮、庚烷、甲基叔丁基醚、异丙醚、1,4-二氧六环、叔丁醇和N,N-二甲基甲酰胺;更优选甲醇或乙醇;上述良性溶剂和有机溶液使用时需互溶。

[0069] 优选所述的反离子酸选自盐酸、硫酸、硝酸、氢溴酸、氢氟酸、氢碘酸、磷酸、2,5-二羟基苯甲酸、1-羟基-2-萘甲酸、醋酸、二氯醋酸、三氯醋酸、乙酰氧肟酸、己二酸、苯磺酸、4-氯苯磺酸、苯甲酸、4-乙酰氨基苯甲酸、4-氨基苯甲酸、癸酸、己酸、辛酸、肉桂酸、柠檬酸、环己烷氨基磺酸、樟脑磺酸、天门冬氨酸、樟脑酸、葡萄糖酸、葡糖醛酸、谷氨酸、异抗坏血酸、乳酸、苹果酸、扁桃酸、焦谷氨酸、酒石酸、十二烷基硫酸、二苯甲酰酒石酸、乙烷-1,2-二磺酸、乙磺酸、蚁酸、富马酸、半乳糖酸、龙胆酸、戊二酸、2-酮戊二酸、乙醇酸、马尿酸、羟乙基磺酸、乳糖酸、抗坏血酸、天冬氨酸、月桂酸、樟脑酸、马来酸、丙二酸、甲磺酸、1,5-萘二磺酸、萘-2-磺酸、烟酸、油酸、乳清酸、草酸、棕榈酸、双羟萘酸、丙酸、水杨酸、4-氨基水杨酸、癸二酸、硬脂酸、丁二酸、硫氰酸、十一碳烯酸、三氟乙酸、苯磺酸、对甲基苯磺酸和L-苹果酸;更优选甲磺酸、硫酸、盐酸、硝酸、苯磺酸、马来酸、己二酸、对甲基苯磺酸、柠檬酸、丙二酸和L-苹果酸;最优选硝酸。

[0070] 优选反离子酸的用量为式(I)所示通式化合物的1.0~10倍当量,更优选1.2~2当量。

[0071] 本发明的目的还在于提供了一种式(I-A)所示通式化合物的晶型,



[0073] 其中:

[0074] L选自O和NR_v;R_v为氢原子或C₁₋₈烷基;优选L为O或NH;

[0075] R₁选自氢原子、C₁₋₈烷基、C₃₋₈环烷基和C₁₋₈卤代烷基;其中所述的C₁₋₈烷基、C₃₋₈环烷基和C₁₋₈卤代烷基任选进一步被选自C₁₋₈烷基、卤素、羟基、氨基、硝基、氰基、C₁₋₈烷氧基或

C_{1-8} 羟烷基中的一个或多个取代基所取代；优选 C_{1-6} 烷基或 C_{1-6} 卤代烷基；更优选 C_{1-3} 烷基或 C_{1-3} 卤代烷基；

[0076] R_2 选自 C_{1-8} 烷基、 C_{3-8} 环烷基、 C_{1-8} 卤代烷基、 C_{3-8} 卤代环烷基、3-10元杂环基和6-10元芳基，其中所述的 C_{1-8} 烷基、 C_{3-8} 环烷基、 C_{1-8} 卤代烷基、 C_{3-8} 卤代环烷基、3-10元杂环基和6-10元芳基任选进一步被选自 C_{1-8} 烷基、卤素、羟基、氨基、硝基、氰基、 C_{1-8} 烷氧基、 C_{3-8} 环烷基和 C_{1-8} 羟烷基中的一个或多个取代基所取代；优选 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 卤代烷基、 C_{3-8} 环烷基、卤代 C_{3-8} 环烷基或氰基取代的 C_{3-8} 环烷基；更优选 C_{1-3} 烷基、 C_{1-3} 卤代烷基、 C_{3-6} 环烷基、卤代 C_{3-6} 环烷基或氰基取代的 C_{3-6} 环烷基；最优选甲基、乙基、异丙基、环丙基、卤代环丙基、氰基取代的环丙基及其氘代物；

[0077] R_3 选自氢原子、卤素、羟基、氧代基、 C_{1-8} 烷基、 C_{1-8} 卤代烷基、 C_{1-8} 烷氧基和 C_{1-8} 卤代烷氧基；优选氢原子、卤素、氧代基、羟基、 C_{1-6} 烷基和 C_{1-6} 卤代烷基；更优选氢原子、卤素、羟基、 C_{1-3} 烷基或 C_{1-3} 卤代烷基；

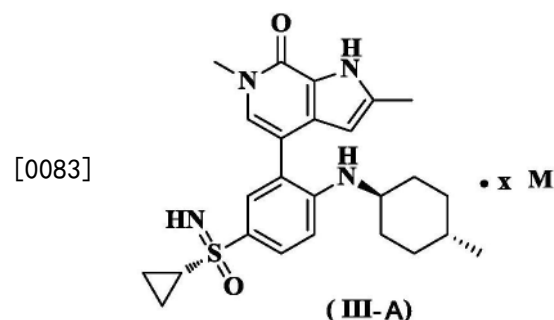
[0078] 或者任意两个 R_3 形成一个 C_{3-8} 环烷基或3-10元的杂环基，其中所述的 C_{3-8} 环烷基或3-10元的杂环基任选进一步被选自 C_{1-8} 烷基、卤素、羟基、氨基、硝基、氰基、 C_{1-8} 烷氧基或 C_{1-8} 羟烷基中的一个或多个取代基所取代；

[0079] M为无机酸或有机酸，其中所述无机酸选自盐酸、硫酸、硝酸、氢溴酸、氢氟酸、氢碘酸或磷酸；有机酸选自2,5-二羟基苯甲酸、1-羟基-2-萘甲酸、醋酸、二氯醋酸、三氯醋酸、乙酰氧肟酸、己二酸、苯磺酸、4-氯苯磺酸、苯甲酸、4-乙酰氨基苯甲酸、4-氨基苯甲酸、癸酸、己酸、辛酸、肉桂酸、柠檬酸、环己烷氨基磺酸、樟脑磺酸、天门冬氨酸、樟脑酸、葡萄糖酸、葡糖醛酸、谷氨酸、异抗坏血酸、乳酸、苹果酸、扁桃酸、焦谷氨酸、酒石酸、十二烷基硫酸、二苯甲酰酒石酸、乙烷-1,2-二磺酸、乙磺酸、蚁酸、富马酸、半乳糖酸、龙胆酸、戊二酸、2-酮戊二酸、乙醇酸、马尿酸、羟乙基磺酸、乳糖酸、抗坏血酸、天冬氨酸、月桂酸、樟脑酸、马来酸、丙二酸、甲磺酸、1,5-萘二磺酸、萘-2-磺酸、烟酸、油酸、乳清酸、草酸、棕榈酸、双羟萘酸、丙酸、水杨酸、4-氨基水杨酸、癸二酸、硬脂酸、丁二酸、硫氰酸、十一碳烯酸、三氟乙酸、苯磺酸、对甲基苯磺酸和L-苹果酸；优选甲磺酸、盐酸、硫酸、硝酸、磷酸、苯磺酸或对甲基苯磺酸；更优选硝酸；

[0080] x为0、1、2或3的整数；且

[0081] n为0、1、2、3、4或5的整数。

[0082] 在本发明的一个优选实施例方案中，所述式(I-A)所示通式化合物的晶型，其为式(III-A)化合物的晶型，



[0084] x和M如式(I-A)所示通式化合物所定义。

[0085] 在本发明的一个优选实施例方案中，所述的式(III-A)化合物的晶型，其中x为0；

具体地,其为式(III)化合物的晶型。

[0086] 本发明所述式(III)化合物的晶型,其X-射线粉末衍射图谱在 2θ ($\pm 0.2^\circ$)为14.8、15.6、18.1、19.2、19.7、21.5、22.7、23.2、25.6、28.4和30.5处具有衍射峰。

[0087] 本发明所述式(III)化合物的晶型,使用Cu-K α 辐射,以 2θ 角和晶面间距d值表示的X-射线特征衍射峰如表1所示。

[0088] 表1

序号	XRPD 衍射数据					
	2θ ($\pm 0.2^\circ$)	d 值	峰高	比例 (I%)	面积	比例 (I%)
1	7.873	11.22	62	6.8	738	10.2
2	9.556	9.2479	87	9.5	1034	14.2
3	10.273	8.604	35	3.8	538	7.4
4	10.74	8.231	70	7.7	888	12.2
5	13.912	6.3605	56	6.1	225	3.1
6	14.849	5.9609	915	100	7262	100
7	15.594	5.678	300	32.8	4292	59.1
8	16.261	5.4464	66	7.2	310	4.3
9	16.912	5.2382	47	5.1	435	6
10	17.743	4.9948	82	9	857	11.8
11	18.06	4.9078	515	56.3	3976	54.8
12	18.398	4.8183	56	6.1	368	5.1
13	19.164	4.6275	277	30.3	3198	44
14	19.668	4.51	158	17.3	1699	23.4
15	21.549	4.1203	806	88.1	6986	96.2
16	22.293	3.9845	60	6.6	895	12.3
17	22.734	3.9082	321	35.1	4581	63.1
18	23.15	3.8389	190	20.8	1304	18
19	23.654	3.7582	62	6.8	460	6.3
20	24.917	3.5705	80	8.7	1747	24.1
21	25.596	3.4774	324	35.4	2611	36
22	26.348	3.3797	43	4.7	247	3.4
23	27.162	3.2803	36	3.9	232	3.2
24	27.762	3.2108	52	5.7	336	4.6
25	28.447	3.135	117	12.8	1078	14.8
26	30.197	2.9572	52	5.7	1484	20.4
27	30.474	2.9309	94	10.3	1452	20
28	32.74	2.733	77	8.4	534	7.4
29	33.799	2.6498	90	9.8	1079	14.9
30	34.88	2.5701	79	8.6	1344	18.5
31	36.747	2.4437	38	4.2	457	6.3
32	37.268	2.4107	40	4.4	586	8.1

[0091] 本发明所述式(III)化合物的晶型,其X-射线粉末衍射图谱基本如图1所示。

[0092] 本发明所述式(III)化合物的晶型,其DSC图谱在 $298.6 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 处具有吸热峰;具体地,其DSC图谱基本如图3所示。

[0093] 本发明所述式(III)化合物的晶型,其单晶结构图基本如图17所示。

[0094] 在本发明的一个优选实施例方案中,所述的式(III-A)化合物的晶型,其中M为硝

酸, x 为1;具体地,其为式(III)化合物硝酸盐晶型I或式(III)化合物硝酸盐晶型II,下文简称为硝酸盐晶型I或硝酸盐晶型II。

[0095] 其中本发明所述硝酸盐晶型I,其X-射线粉末衍射图谱在 2θ ($\pm 0.2^\circ$)为6.7、16.0、17.5和20.3处具有衍射峰;优选,还包含在 2θ ($\pm 0.2^\circ$)为8.0、9.4和19.0处具有衍射峰;更优选,还包含在 2θ ($\pm 0.2^\circ$)为11.0和23.2处具有衍射峰。

[0096] 本发明所述硝酸盐晶型I,使用Cu-K α 辐射,以 2θ 角和晶面间距 d 值表示的X-射线特征衍射峰如表2所示。

[0097] 表2

序号	XRPD 衍射数据					
	2θ ($\pm 0.2^\circ$)	d 值	峰高	比例 (I%)	面积	比例 (I%)
1	6.688	13.2054	587	100	6926	100
2	7.952	11.1091	85	14.5	1468	21.2
3	9.416	9.3849	217	37	2199	31.7
4	10.959	8.0666	62	10.6	549	7.9
5	15.153	5.8422	41	7	283	4.1
6	15.973	5.5438	115	19.6	1905	27.5
7	16.403	5.3997	40	6.8	262	3.8
8	17.512	5.06	89	15.2	1750	25.3
9	18.999	4.6673	74	12.6	704	10.2
10	20.264	4.3786	71	12.1	1693	24.4
11	21.351	4.1582	41	7	94	1.4
12	23.208	3.8295	48	8.2	614	8.9
13	24.994	3.5596	39	6.6	1517	21.9
14	32.154	2.7815	33	5.6	258	3.7

[0100] 本发明所述硝酸盐晶型I,其X-射线粉末衍射图谱基本如图4所示。

[0101] 本发明所述硝酸盐晶型I,其TGA图谱基本如图5所示。

[0102] 本发明所述硝酸盐晶型I,其DSC图谱基本如图6所示。

[0103] 其中本发明所述硝酸盐晶型II,其X-射线粉末衍射图谱在 2θ ($\pm 0.2^\circ$)为5.6、12.0、12.7、13.0、16.5、20.7、24.1和25.9处具有衍射峰;优选,还包含在 2θ ($\pm 0.2^\circ$)为8.1、14.5、17.6、18.4、19.6、20.1和22.6处具有衍射峰;更优选,还包含在 2θ ($\pm 0.2^\circ$)为17.0、25.3、26.6、27.6、28.8、30.1、31.0和33.6处具有衍射峰。

[0104] 本发明所述硝酸盐晶型II,使用Cu-K α 辐射,以 2θ 角和晶面间距 d 值表示的X-射线特征衍射峰如表3所示。

[0105] 表3

序号	XRPD 衍射数据					
	$2\theta (\pm 0.2^\circ)$	d 值	峰高	比例 (I%)	面积	比例 (I%)
1	5.62	15.7131	239	38.6	2928	19
2	8.081	10.9323	88	14.2	1267	8.2
3	12.018	7.3583	127	20.5	2307	15
4	12.721	6.9531	416	67.2	8244	53.6
5	12.996	6.8066	223	36	15390	100
6	14.458	6.1214	92	14.9	1332	8.7
7	16.499	5.3686	325	52.5	7542	49
8	17.001	5.211	98	15.8	2415	15.7
9	17.558	5.0468	213	34.4	8138	52.9
10	18.401	4.8177	491	79.3	10492	68.2
[0106] 11	19.601	4.5252	619	100	9717	63.1
12	20.059	4.4229	96	15.5	2328	15.1
13	20.66	4.2956	360	58.2	6074	39.5
14	22.56	3.938	148	23.9	1895	12.3
15	24.102	3.6895	222	35.9	3950	25.7
16	24.96	3.5645	94	15.2	3612	23.5
17	25.298	3.5176	69	11.1	3787	24.6
18	25.941	3.4319	225	36.3	8058	52.4
19	26.619	3.346	66	10.7	1032	6.7
20	27.576	3.232	80	12.9	2131	13.8
21	28.838	3.0934	84	13.6	3550	23.1
22	30.06	2.9703	85	13.7	2716	17.6
23	30.96	2.886	65	10.5	2150	14
24	32.983	2.7134	94	15.2	1639	10.6
[0107] 25	33.577	2.6668	69	11.1	1073	7

[0108] 本发明所述硝酸盐晶型II,其X-射线粉末衍射图谱基本如图7所示。

[0109] 本发明所述硝酸盐晶型II,其红外特征吸收峰为 3384cm^{-1} 、 3012cm^{-1} 、 2731cm^{-1} 、 2521cm^{-1} 、 1606cm^{-1} 、 1529cm^{-1} 、 1491cm^{-1} 、 1429cm^{-1} 、 1404cm^{-1} 、 1298cm^{-1} 、 1284cm^{-1} 、 1227cm^{-1} 、 1169cm^{-1} 、 1120cm^{-1} 、 1011cm^{-1} 、 974cm^{-1} 、 812cm^{-1} 、 683cm^{-1} 、 561cm^{-1} ;具体地,其IR图谱基本如图8所示。

[0110] 本发明所述硝酸盐晶型II,其TGA图谱基本如图9所示。

[0111] 本发明所述硝酸盐晶型II,其DSC图谱基本如图10所示。

[0112] 本发明所述硝酸盐晶型II,其单晶结构图基本如图18所示。

[0113] 在本发明的一个优选实施例方案中,所述的式(III-A)化合物的晶型,其中M为甲磺酸,x为1;下文简称为甲磺酸晶型。

[0114] 本发明所述甲磺酸盐晶型,其X-射线粉末衍射图谱在 $2\theta (\pm 0.2^\circ)$ 为6.6、7.1、11.2、17.3和20.1处具有衍射峰;优选,还包含在 $2\theta (\pm 0.2^\circ)$ 为13.3、18.3、21.2和23.8处具有衍射峰;更优选,还包含在 $2\theta (\pm 0.2^\circ)$ 为24.5、25.0和27.0处具有衍射峰。

[0115] 本发明所述甲磺酸盐晶型,使用Cu-K α 辐射,以 2θ 角和晶面间距d值表示的X-射线特征衍射峰如表4所示。

[0116] 表4

[0117]

序号	XRPD 衍射数据					
	2θ ($\pm 0.2^\circ$)	d 值	峰高	比例 (I%)	面积	比例 (I%)
1	6.552	13.4792	295	21.9	4974	40.3
2	7.071	12.4908	1350	100	12348	100
3	11.203	7.8916	228	16.9	2807	22.7
4	13.346	6.6288	63	4.7	1532	12.4
5	17.276	5.1286	594	44	6281	50.9
6	17.882	4.9561	42	3.1	751	6.1
7	18.321	4.8384	231	17.1	4427	35.9
8	18.855	4.7026	55	4.1	1489	12.1
9	19.381	4.5761	51	3.8	978	7.9
10	20.105	4.4129	183	13.6	2636	21.3
11	21.17	4.1932	92	6.8	1530	12.4
12	21.648	4.1017	99	7.3	1587	12.9
13	23.813	3.7335	72	5.3	1152	9.3
14	24.497	3.6307	92	6.8	3012	24.4
15	25.039	3.5534	57	4.2	1880	15.2
16	26.277	3.3887	45	3.3	890	7.2
17	26.576	3.3513	42	3.1	1066	8.6
18	27.038	3.2951	77	5.7	1109	9
19	27.972	3.1871	35	2.6	747	6
20	28.7	3.1079	42	3.1	637	5.2
21	33.24	2.6931	31	2.3	614	5

[0118] 本发明所述甲磺酸盐晶型,其X-射线粉末衍射图谱基本如图11所示。

[0119] 在本发明的一个优选实施例方案中,所述的式(III-A)化合物的晶型,其中M为硫酸, x为1;具体地,其为式(III)化合物硫酸盐晶型I或式(III)化合物硫酸盐晶型II,下文简称为硫酸盐晶型I或硫酸盐晶型II。

[0120] 本发明所述硫酸盐晶型I,其X-射线粉末衍射图谱在 2θ ($\pm 0.2^\circ$)为6.6、6.9、7.2、11.5和20.8处具有衍射峰;优选,还包含在 2θ ($\pm 0.2^\circ$)为17.5、18.0和18.7处具有衍射峰。

[0121] 本发明所述硫酸盐晶型I,使用Cu-K α 辐射,以 2θ 角和晶面间距d值表示的X-射线特征衍射峰如表5所示。

[0122] 表5

[0123]

序号	XRPD 衍射数据					
	$2\theta (\pm 0.2^\circ)$	d 值	峰高	比例 (I%)	面积	比例 (I%)
1	6.571	13.4409	469	38.8	8348	37.8
2	6.869	12.8578	1208	100	22084	100
3	7.233	12.211	135	11.2	3816	17.3
4	11.548	7.6565	163	13.5	3095	14
5	12.147	7.28	62	5.1	1674	7.6
6	17.535	5.0534	183	15.1	4953	22.4
7	17.959	4.9351	144	11.9	3897	17.6
8	18.679	4.7464	118	9.8	2453	11.1
9	20.848	4.2574	78	6.5	2245	10.2
10	21.691	4.0938	46	3.8	3994	18.1
11	24.253	3.6668	45	3.7	1117	5.1
12	24.653	3.6082	80	6.6	2352	10.7
13	25.7	3.4635	42	3.5	2386	10.8

[0124] 本发明所述硫酸盐晶型I,其X-射线粉末衍射图谱基本如图12所示。

[0125] 本发明所述硫酸盐晶型II,其X-射线粉末衍射图谱在 $2\theta (\pm 0.2^\circ)$ 为6.3、7.0、8.8、18.5、18.9和22.0处具有衍射峰;优选,还包含在 $2\theta (\pm 0.2^\circ)$ 为14.1、15.0、16.7、17.8、21.3和21.7处具有衍射峰;更优选,还包含在 $2\theta (\pm 0.2^\circ)$ 为16.3、22.5、22.6、23.0和25.9处具有衍射峰。

[0126] 本发明所述硫酸盐晶型II,使用Cu-K α 辐射,以 2θ 角和晶面间距d值表示的X-射线特征衍射峰如表6所示。

[0127] 表6

[0128]

序号	XRPD 衍射数据					
	$2\theta (\pm 0.2^\circ)$	d 值	峰高	比例 (I%)	面积	比例 (I%)
1	6.26	14.1072	210	51.1	4007	34
2	6.96	12.6899	134	32.6	1750	14.8
3	8.797	10.0442	119	29	1947	16.5
4	14.137	6.2597	253	61.6	4377	37.1
5	15.001	5.901	152	37	2780	23.6

[0129]

6	16.28	5.4401	44	10.7	608	5.2
7	16.736	5.2929	109	26.5	1624	13.8
8	17.798	4.9795	209	50.9	4097	34.7
9	18.461	4.8021	275	66.9	5350	45.3
10	18.877	4.6971	102	24.8	2335	19.8
11	21.34	4.1602	411	100	11801	100
12	21.697	4.0925	167	40.6	10208	86.5
13	21.979	4.0407	126	30.7	10194	86.4
14	22.516	3.9455	66	16.1	2859	24.2
15	22.596	3.9318	54	13.1	2615	22.2
16	22.977	3.8674	64	15.6	2318	19.6
17	25.92	3.4346	64	15.6	1893	16

[0130] 本发明所述硫酸盐晶型II,其X-射线粉末衍射图谱基本如图13所示。

[0131] 在本发明的一个优选实施例方案中,所述的式(III-A)化合物的晶型,其中M为盐

酸, x为1;具体地,其为式(III)化合物盐酸盐晶型I、式(III)化合物盐酸盐晶型II或式(III)化合物盐酸盐晶型III,下文简称为盐酸盐晶型I、盐酸盐晶型II或盐酸盐晶型III。

[0132] 本发明所述盐酸盐晶型I,其X-射线粉末衍射图谱在 $2\theta (\pm 0.2^\circ)$ 为6.7、7.6、12.5、12.8和16.7处具有衍射峰;优选,还包含在 $2\theta (\pm 0.2^\circ)$ 为10.8、16.3、17.6、18.9、20.2、22.0和22.8处具有衍射峰。

[0133] 本发明所述盐酸盐晶型I,使用Cu-K α 辐射,以 2θ 角和晶面间距d值表示的X-射线特征衍射峰如表7所示。

[0134] 表7

序号	XRPD 衍射数据					
	$2\theta (\pm 0.2^\circ)$	d 值	峰高	比例 (I%)	面积	比例 (I%)
1	6.672	13.2363	396	35	5002	42.7
2	7.629	11.5786	1131	100	11720	100
3	10.764	8.2126	89	7.9	714	6.1
4	12.543	7.0513	200	17.7	2592	22.1
5	12.763	6.93	347	30.7	3041	25.9
6	15.271	5.7972	59	5.2	1012	8.6
7	15.479	5.7199	54	4.8	946	8.1
8	16.313	5.4291	169	14.9	4056	34.6
9	16.733	5.2938	338	29.9	6431	54.9
10	17.64	5.0236	65	5.7	982	8.4
11	18.905	4.6903	78	6.9	1389	11.9
12	19.666	4.5105	56	5	1994	17
13	19.905	4.4568	67	5.9	3027	25.8
14	20.223	4.3874	112	9.9	3527	30.1
15	22.045	4.0288	71	6.3	1430	12.2
16	22.77	3.9022	172	15.2	4596	39.2
17	23.532	3.7775	52	4.6	1668	14.2

[0135]

18	25.18	3.5339	64	5.7	1112	9.5
19	25.341	3.5117	51	4.5	1109	9.5
20	26.209	3.3973	50	4.4	1470	12.5
21	26.681	3.3383	46	4.1	2206	18.8
22	27.261	3.2687	49	4.3	1619	13.8

[0136]

[0137] 本发明所述盐酸盐晶型I,其X-射线粉末衍射图谱基本如图14所示。

[0138] 本发明所述盐酸盐晶型II,其X-射线粉末衍射图谱在 $2\theta (\pm 0.2^\circ)$ 为5.4、6.7、8.2、12.5、13.4、17.0、17.4和20.4处具有衍射峰;优选,还包含在 $2\theta (\pm 0.2^\circ)$ 为10.2、14.7、16.3、17.9、18.3、19.2、20.8和27.5处具有衍射峰。

[0139] 本发明所述盐酸盐晶型II,使用Cu-K α 辐射,以 2θ 角和晶面间距d值表示的X-射线特征衍射峰如表8所示。

[0140] 表8

序号	XRPD 衍射数据					
	$2\theta (\pm 0.2^\circ)$	d 值	峰高	比例 (I%)	面积	比例 (I%)
1	5.438	16.2382	183	29	1702	34.8
2	6.683	13.2153	96	15.2	1511	30.9
3	8.168	10.8163	192	30.4	2438	49.9
4	10.19	8.6733	71	11.2	514	10.5
5	12.461	7.0974	304	48.1	2305	47.2
6	13.364	6.6197	632	100	4547	93.1
7	14.687	6.0263	159	25.2	1371	28.1
8	16.318	5.4274	266	42.1	2838	58.1
9	17.037	5.2002	115	18.2	1862	38.1
10	17.416	5.0878	275	43.5	3776	77.3
11	17.878	4.9574	47	7.4	1097	22.5
12	18.28	4.8492	465	73.6	4884	100
13	19.162	4.628	84	13.3	833	17.1
14	20.385	4.3529	173	27.4	3547	72.6
15	20.843	4.2582	68	10.8	786	16.1
16	21.711	4.0901	54	8.5	3478	71.2
17	24.956	3.5651	76	12	1930	39.5
18	27.489	3.2421	66	10.4	1034	21.2
19	29.992	2.9769	50	7.9	1225	25.1

[0142] 本发明所述盐酸盐晶型II,其X-射线粉末衍射图谱基本如图15所示。

[0143] 本发明所述盐酸盐晶型III,其X-射线粉末衍射图谱在 $2\theta (\pm 0.2^\circ)$ 为5.7、7.1和7.6处具有衍射峰。

[0144] 本发明所述盐酸盐晶型III,使用Cu-K α 辐射,以 2θ 角和晶面间距d值表示的X-射线特征衍射峰如表9所示。

[0145] 表9

序号	XRPD 衍射数据					
	$2\theta (\pm 0.2^\circ)$	d 值	峰高	比例 (I%)	面积	比例 (I%)
1	5.699	15.4954	82	13.6	1275	13.9
2	7.11	12.422	547	90.9	7960	86.9
3	7.633	11.5731	602	100	9162	100

[0148] 本发明所述盐酸盐晶型III,其X-射线粉末衍射图谱基本如图16所示。

[0149] 本发明目的还在于提供了一种式(I-A)所示通式化合物的晶型的制备方法,具体地包括如下步骤:

[0150] 1) 称取适量的式(I)所示通式化合物,用良性溶剂溶解;

[0151] 2) 称取适量的反离子酸,用有机溶剂溶解;

[0152] 3) 把上述两种溶液合并,搅拌数小时后若无沉淀析出,滴加不良溶剂或者滴加一定量的不良溶剂后加热浓缩直至出现浑浊,搅拌过夜;

[0153] 4) 分离得式(I-A)所示通式化合物的晶型。

[0154] 优选所述的良性溶剂选自甲醇、丙酮、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N,N-二甲基乙酰胺和N-甲基吡咯烷酮中的一种或多种;更优选甲醇。

[0155] 优选所述的有机溶剂选自甲醇、乙醇、乙酸乙酯、二氯甲烷、丙酮、正己烷、石油醚、苯、甲苯、氯仿、乙腈、四氯化碳、二氯乙烷、四氢呋喃、2-丁酮、3-戊酮、庚烷、甲基叔丁基醚、异丙醚、1,4-二氧六环、叔丁醇和N,N-二甲基甲酰胺；更优选甲醇或乙醇；上述良性溶剂和有机溶液使用时需互溶。

[0156] 优选所述的不良溶剂选自庚烷、水、甲基叔丁基醚、甲苯、异丙醚、乙酸乙酯、丙酮和乙腈；更优选乙酸乙酯、丙酮或乙腈。

[0157] 优选所述的反离子酸选自盐酸、硫酸、硝酸、氢溴酸、氢氟酸、氢碘酸、磷酸、2,5-二羟基苯甲酸、1-羟基-2-萘甲酸、醋酸、二氯醋酸、三氯醋酸、乙酰氧肟酸、己二酸、苯磺酸、4-氯苯磺酸、苯甲酸、4-乙酰氨基苯甲酸、4-氨基苯甲酸、癸酸、己酸、辛酸、肉桂酸、柠檬酸、环己烷氨基磺酸、樟脑磺酸、天门冬氨酸、樟脑酸、葡萄糖酸、葡糖醛酸、谷氨酸、异抗坏血酸、乳酸、苹果酸、扁桃酸、焦谷氨酸、酒石酸、十二烷基硫酸、二苯甲酰酒石酸、乙烷-1,2-二磺酸、乙磺酸、蚁酸、富马酸、半乳糖酸、龙胆酸、戊二酸、2-酮戊二酸、乙醇酸、马尿酸、羟乙基磺酸、乳糖酸、抗坏血酸、天冬氨酸、月桂酸、樟脑酸、马来酸、丙二酸、甲磺酸、1,5-萘二磺酸、萘-2-磺酸、烟酸、油酸、乳清酸、草酸、棕榈酸、双羟萘酸、丙酸、水杨酸、4-氨基水杨酸、癸二酸、硬脂酸、丁二酸、硫氰酸、十一碳烯酸、三氟乙酸、苯磺酸、对甲基苯磺酸和L-苹果酸；更优选甲磺酸、硫酸、盐酸、硝酸、苯磺酸、马来酸、己二酸、对甲基苯磺酸、柠檬酸、丙二酸和L-苹果酸；最优选硝酸。

[0158] 优选所述反离子酸的用量为式(I)所示通式化合物的1.0~10倍当量，更优选1.2~2当量。

[0159] 在本发明的一个优选实施例方案中，所述式(I-A)所示通式化合物的晶型的制备方法，包括如下步骤：

[0160] 1) 称取适量的式(I)所示通式化合物，用不良性溶剂混悬；

[0161] 2) 称取适量的反离子酸，用有机溶剂溶解；

[0162] 3) 把上述两种溶液合并，搅拌数小时先澄清后沉淀析出；

[0163] 4) 分离得式(I-A)所示通式化合物的晶型。

[0164] 优选所述的不良性溶剂选自丙酮、乙酸乙酯、乙腈、乙醇、丙酮、四氢呋喃、1,4-二氧六环、苯、甲苯、异丙醇、正丁醇、异丁醇、N,N-二甲基甲酰胺、N,N-二甲基乙酰胺、正丙醇、叔丁醇和2-丁酮中一种或多种；更优选乙酸乙酯、乙腈或丙酮。

[0165] 优选所述的有机溶剂选自甲醇、乙醇、乙酸乙酯、二氯甲烷、丙酮、正己烷、石油醚、苯、甲苯、氯仿、乙腈、四氯化碳、二氯乙烷、四氢呋喃、2-丁酮、3-戊酮、庚烷、甲基叔丁基醚、异丙醚、1,4-二氧六环、叔丁醇和N,N-二甲基甲酰胺中一种或多种；更优选甲醇或乙醇；上述良性溶剂和有机溶液使用时需互溶。

[0166] 优选所述的反离子酸选自盐酸、硫酸、硝酸、氢溴酸、氢氟酸、氢碘酸、磷酸、2,5-二羟基苯甲酸、1-羟基-2-萘甲酸、醋酸、二氯醋酸、三氯醋酸、乙酰氧肟酸、己二酸、苯磺酸、4-氯苯磺酸、苯甲酸、4-乙酰氨基苯甲酸、4-氨基苯甲酸、癸酸、己酸、辛酸、肉桂酸、柠檬酸、环己烷氨基磺酸、樟脑磺酸、天门冬氨酸、樟脑酸、葡萄糖酸、葡糖醛酸、谷氨酸、异抗坏血酸、乳酸、苹果酸、扁桃酸、焦谷氨酸、酒石酸、十二烷基硫酸、二苯甲酰酒石酸、乙烷-1,2-二磺酸、乙磺酸、蚁酸、富马酸、半乳糖酸、龙胆酸、戊二酸、2-酮戊二酸、乙醇酸、马尿酸、羟乙基磺酸、乳糖酸、抗坏血酸、天冬氨酸、月桂酸、樟脑酸、马来酸、丙二酸、甲磺酸、1,5-萘二磺

酸、萘-2-磺酸、烟酸、油酸、乳酸、草酸、棕榈酸、双羟萘酸、丙酸、水杨酸、4-氨基水杨酸、癸二酸、硬脂酸、丁二酸、硫氰酸、十一碳烯酸、三氟乙酸、苯磺酸、对甲基苯磺酸和L-苹果酸；更优选甲磺酸、硫酸、盐酸、硝酸、苯磺酸、马来酸、己二酸、对甲基苯磺酸、柠檬酸、丙二酸和L-苹果酸；最优选硝酸。

[0167] 优选所述反离子酸的用量为式(I)所示通式化合物的1.0~10倍当量,更优选1.2~2当量。

[0168] 在本发明的一个优选实施例方案中,所述式(I-A)所示通式化合物的晶型的制备方法,其中所述的反离子酸为硝酸。

[0169] 本发明的目的还在于提供了一种药物组合物,其含有治疗有效量的所述式(I-A)所示通式化合物或其晶型,以及一种或多种药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。

[0170] 本发明的目的还在于提供了所述式(I-A)所示通式化合物或所述的药物组合物在制备用于治疗 and/或预防由BRD4介导的癌症或肿瘤相关疾病的药物中的用途。

[0171] 本发明的目的还在于提供了所述式(I-A)所示通式化合物或其药物组合物在制备治疗癌症、炎症、慢性肝病、糖尿病、心血管疾病或AIDS的药物中的应用。

[0172] 本发明的目的还在于提供了一种治疗和/或预防BRD4介导的病理学特征的疾病的方法,其包括向患者施用治疗有效剂量的式(I-A)所示通式化合物或其晶型或药物组合物。其中BRD4介导的病理学特征的疾病包括癌症、炎症、慢性肝病、糖尿病、心血管疾病或AIDS。

[0173] 本发明的目的还在于提供了一种治疗癌症的方法,该方法包括向患者施用治疗有效剂量的式(I-A)所示通式化合物或其晶型。该方法显示出突出的疗效和较少的副作用。

[0174] 本发明的目的还在于提供了一种治疗炎症的方法,该方法包括向患者施用治疗有效剂量的式(I-A)所示通式化合物或其晶型。该方法显示出突出的疗效和较少的副作用。

[0175] 本发明的目的还在于提供了一种治疗慢性肝病的方法,该方法包括向患者施用治疗有效剂量的式(I-A)所示通式化合物或其药物组合物。该方法显示出突出的疗效和较少的副作用。

[0176] 本发明所述的癌症包括但不限于乳腺癌、宫颈癌、结肠癌、肺癌、胃癌、直肠癌、胰腺癌、脑癌、肝癌、实体瘤、神经胶质瘤、神经胶母细胞瘤、白血病、淋巴瘤、骨髓瘤和非小细胞肺癌。

[0177] 本发明所述的慢性肝病选自原发性硬化(PBC)、脑脏性黄瘤症(CTX)、原发性硬化性胆囊炎(PSC)、药物导致的胆汁郁积、妊娠肝内胆汁淤积症、肠外吸收相关胆汁郁积(PNAC)、细菌过度生长或脓血症胆汁郁积、自身免疫肝炎、慢性病毒性肝炎、酒精性肝病、非酒精性脂肪肝病(NAFLD)、非酒精性脂肪性肝炎(NASH)、肝移植相关移植物抗宿主病、活供体肝移植再生、先天性肝纤维化、胆总管结石、肉芽性肝病、肝内或外恶性肿瘤、Sjogren综合征、结节病、Wilson's疾病、Gaucher's疾病、血色病和 α_1 -抗膜蛋白酶缺乏症。

附图说明

[0178] 图1为式(III)化合物晶型的XRPD图示

[0179] 图2为式(III)化合物晶型的TGA图示

[0180] 图3为式(III)化合物晶型的DSC图示

[0181] 图4为硝酸盐晶型I的XRPD图示

- [0182] 图5为硝酸盐晶型I的TGA图示
- [0183] 图6为硝酸盐晶型I的DSC图示
- [0184] 图7为硝酸盐晶型II的XRPD图示
- [0185] 图8为硝酸盐晶型II的IR图示
- [0186] 图9为硝酸盐晶型II的TGA图示
- [0187] 图10为硝酸盐晶型II的DSC图示
- [0188] 图11为甲磺酸盐的XRPD图示
- [0189] 图12为硫酸盐晶型I的XRPD图示
- [0190] 图13为硫酸盐晶型II的XRPD图示
- [0191] 图14为盐酸盐晶型I的XRPD图示
- [0192] 图15为盐酸盐晶型II的XRPD图示
- [0193] 图16为盐酸盐晶型III的XRPD图示
- [0194] 图17为式(III)化合物晶型的单晶结构图
- [0195] 图18为硝酸盐晶型II的单晶结构图

具体实施方式

[0196] 除非有相反陈述,在说明书和权利要求书中使用的术语具有下述含义。

[0197] 术语“烷基”指饱和脂肪族烃基团,其为包含1至8个碳原子的直链或支链基团,优选1至6个碳原子的烷基,更优选1至3个碳原子的烷基。非限制性实例包括甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、仲丁基、正戊基、1,1-二甲基丙基、1,2-二甲基丙基、2,2-二甲基丙基、1-乙基丙基、2-甲基丁基、3-甲基丁基、正己基、1-乙基-2-甲基丙基、1,1,2-三甲基丙基、1,1-二甲基丁基、1,2-二甲基丁基、2,2-二甲基丁基、1,3-二甲基丁基、2-乙基丁基、2-甲基戊基、3-甲基戊基、4-甲基戊基、2,3-二甲基丁基、正庚基、2-甲基己基、3-甲基己基、4-甲基己基、5-甲基己基、2,3-二甲基戊基、2,4-二甲基戊基、2,2-二甲基戊基、3,3-二甲基戊基、2-乙基戊基、3-乙基戊基、正辛基、2,3-二甲基己基、2,4-二甲基己基、2,5-二甲基己基、2,2-二甲基己基、3,3-二甲基己基、4,4-二甲基己基、2-乙基己基、3-乙基己基、4-乙基己基、2-甲基-2-乙基戊基、2-甲基-3-乙基戊基、正壬基、2-甲基-2-乙基己基、2-甲基-3-乙基己基、2,2-二乙基戊基、正癸基、3,3-二乙基己基、2,2-二乙基己基,及其各种支链异构体等。烷基可以是取代的或非取代的,当被取代时,取代基可以在任何可使用的连接点上被取代,所述取代基优选为一个或多个以下基团,其独立地选自烷基、烯基、炔基、烷氧基、烷硫基、烷基氨基、卤素、巯基、羟基、硝基、氰基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基、环烷氧基、杂环烷氧基、环烷硫基、杂环烷硫基、氧代基、羧基或羧酸酯基。

[0198] 术语“环烷基”指饱和或部分不饱和单环或多环环状烃取代基,环烷基环包含3至20个碳原子,优选包含3至8个碳原子,更优选包含3至6个碳原子。单环环烷基的非限制性实例包括环丙基、环丁基、环戊基、环戊烯基、环己基、环己烯基、环己二烯基、环庚基、环庚三烯基、环辛基等;多环环烷基包括螺环、稠环和桥环的环烷基,优选环丙基、环己基和环戊基。

[0199] 术语“杂环基”指饱和或部分不饱和单环或多环环状烃取代基,其包含3至20个环原子,其中一个或多个环原子为选自氮、氧或S(O)_m(其中m是整数0至2)的杂原子,但不包

括-0-0-、-0-S-或-S-S-的环部分,其余环原子为碳。优选包含3至12个环原子,其中1~4个是杂原子;更优选包含3至8个环原子;最优选包含3至6个环原子。单环杂环基的非限制性实例包括吡咯烷基、咪唑烷基、四氢呋喃基、四氢噻吩基、二氢咪唑基、二氢呋喃基、二氢吡唑基、二氢吡咯基、哌啶基、哌嗪基、吗啉基、硫代吗啉基、高哌嗪基、吡喃基等,优选吗啉基和吡喃基。多环杂环基包括螺环、稠环和桥环的杂环基。

[0200] 术语“芳基”指具有共轭的 π 电子体系的6至14元全碳单环或稠合多环(也就是共享毗邻碳原子对的环)基团,优选为6至10元,例如苯基和萘基。更优选苯基。芳基可以是取代的或非取代的,当被取代时,取代基优选为一个或多个以下基团,其独立地选自烷基、烯基、炔基、烷氧基、烷硫基、烷基氨基、卤素、巯基、羟基、硝基、氰基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基、环烷氧基、杂环烷氧基、环烷硫基、杂环烷硫基、羧基或羧酸酯基。

[0201] 术语“烷氧基”指-0-(烷基)和-0-(非取代的环烷基),其中烷基的定义如上所述。烷氧基的非限制性实例包括:甲氧基、乙氧基、丙氧基、丁氧基、环丙氧基、环丁氧基、环戊氧基、环己氧基。烷氧基可以是任选取代的或非取代的,当被取代时,取代基优选为一个或多个以下基团,其独立地选自烷基、烯基、炔基、烷氧基、烷硫基、烷基氨基、卤素、巯基、羟基、硝基、氰基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基、环烷氧基、杂环烷氧基、环烷硫基、杂环烷硫基、羧基或羧酸酯基。

[0202] 术语“卤代烷基”指被一个或多个卤素取代的烷基,其中烷基如上所定义。

[0203] 术语“卤代烷氧基”指被一个或多个卤素取代的烷氧基,其中烷氧基如上所定义。

[0204] 术语“羟烷基”指被羟基取代的烷基,其中烷基如上所定义。

[0205] 术语“羟基”指-OH基团。

[0206] 术语“卤素”指氟、氯、溴或碘。

[0207] 术语“氨基”指-NH₂。

[0208] 术语“氰基”指-CN。

[0209] 术语“硝基”指-NO₂。

[0210] 术语“氧代基”指=O。

[0211] 术语“羧基”指-C(O)OH。

[0212] “X选自A、B、或C”、“X选自A、B和C”、“X为A、B或C”、“X为A、B和C”等不同用语均表达了相同的意义,即表示X可以是A、B、C中的任意一种或几种。

[0213] “任选”或“任选地”意味着随后所描述的事件或环境可以但不必发生,该说明包括该事件或环境发生或不发生的场合。

[0214] “取代的”指基团中的一个或多个氢原子,优选为最多5个,更优选为1~3个氢原子彼此独立地被相应数目的取代基取代。不言而喻,取代基仅处在它们的可能的化学位置,本领域技术人员能够在不付出过多努力的情况下确定(通过实验或理论)可能或不可能的取代。例如,具有游离氢的氨基或羟基与具有不饱和(如烯属)键的碳原子结合时可能是不稳定的。

[0215] “立体异构”包含几何异构(顺反异构)、旋光异构、构象异构三类。

[0216] 本发明所述的氢原子均可被其同位素氘所取代,本发明涉及的实施例化合物中的任一氢原子也均可被氘原子取代。

[0217] “药物组合物”表示含有一种或多种本文所述化合物或其生理学上/可药用的盐或

前体药物与其他化学组分的混合物,以及其他组分例如生理学/可药用的载体和赋形剂。药物组合物的目的是促进对生物体的给药,利于活性成分的吸收进而发挥生物活性。

[0218] “可药用盐”是指本发明化合物的盐,这类盐用于哺乳动物体内时具有安全性和有效性,且具有应有的生物活性。

[0219] “TGA”是指热重分析(TGA)实验。

[0220] “DSC”是指差示扫描量热法(DSC)实验。

[0221] “XRPD”是指X-射线粉末衍射(XRPD)实验。

[0222] “IR”是指红外光谱(IR)实验。

[0223] “HPLC”是指高效液相色谱(HPLC)实验。

[0224] “PK”是指药物代谢动力学(PK)实验。

[0225] “DVS”动态水分吸附解吸试验。

[0226] 以下结合实施例进一步描述本发明,但这些实施例并非限制着本发明的范围。

[0227] 以下结合实施例进一步描述本发明,但这些实施例并非限制着本发明的范围。另外,本发明引入2018年1月11日提交的PCT申请PCT/CN2018/072204所记载的全部内容作为本申请实施例的组成部分。

[0228] 1.1实验仪器

[0229] 1.1.1物理化学检测仪器的一些参数

[0230]	XRPD	仪器型号	Rigaku UltimaIV
		衍射线	CuK (1.5418) (40 kV, 40 mA), 步长 0.02, 狭缝 2mm
		扫描速率	20°/min (2θ 值)
		扫描范围	3° ~ 45° (2θ 值)
[0230]	DSC	仪器型号	NETZSCH DSC 214 polyma
		吹扫气	氮气
		吹扫速度	40 mL/min
		升温速率	10 °C /min
		温度范围	25~350 °C

	盘类型	铝盘
[0231]	仪器型号	NETZSCH TG 209 Tarsus
	吹扫气	氮气
	吹扫速度	40 mL/min
	升温速率	10 °C /min
	温度范围	室温~400 °C
	盘类型	Al ₂ O ₃
[0231]	仪器型号	Thermo Fisher Nicolet 6700
	分辨率	4cm ⁻¹
	扫描次数	32 次
	测量范围	4000~400 cm ⁻¹
[0231]	仪器型号	Bruker Smart Apex II
	光源	Mo 靶
	X 射线	Mo -K α ($\lambda=0.71073\text{\AA}$)
	探测器	CCD 面探测器
	分辨率	0.77 \AA
	电流电压	50kV, 30 mA
	曝光时间	1 s
	面探测器至样品距离	50 mm
	测试温度	173(2) K

[0232] 1.2液相分析条件

[0233] 1.2.1仪器与设备

仪器名称	型号
分析天平	Sartorius BSA224S-CW
纯水机	Milli-Q Plus, Millipore
高效液相色谱仪	Agilent1260
泵	Agilent G1311B
进样器	G1329B
柱温箱	G1316A
检测器	G1315D

[0235] 1.2.2色谱条件

[0236] 色谱柱:XBridge™ (C18, 3.5 μm , 4.6*150mm)

[0237] 流速:1mL/min

[0238] 柱温:40°C

[0239] 检测波长:230nm

[0240] 进样体积:5.0 μL

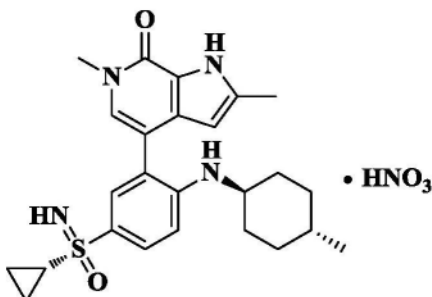
[0241] 运行时间:35min

[0242] 稀释剂:甲醇-水(v/v, 4:1)

[0243] 流动相:A:水(0.1%三氟乙酸);B:乙腈(0.1%三氟乙酸)

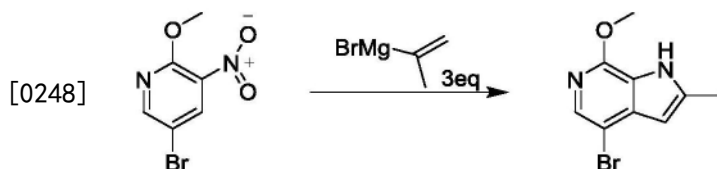
T(min)	B(%)
0.00	5
25.00	60
30.00	95
30.20	5
35.00	5

[0245] 实施例一式(III)化合物硝酸盐的制备



[0246]

[0247] 第一步:4-溴-7-甲氧基-2-甲基-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶

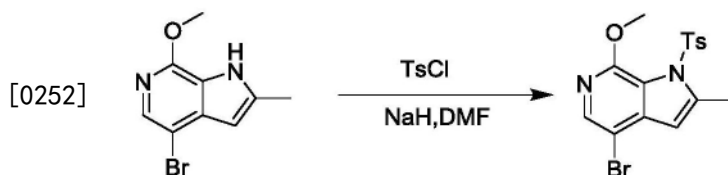


[0248]

[0249] 5-溴-2-甲氧基-3-硝基吡啶(15g,64.3mmol)溶于四氢呋喃(150mL)中,在-78℃氮气保护下慢慢滴加异烯丙基溴化镁(385mL,192.9mmol,0.5M)。反应液在-78℃搅拌3小时,反应液用饱和氯化铵水溶液(100mL)淬灭,溶液用乙酸乙酯(100mL×2)萃取,有机相用饱和食盐水(100mL)洗涤,无水硫酸钠干燥。有机相干燥旋干,柱分离(石油醚/乙酸乙酯=5/1)得到4-溴-7-甲氧基-2-甲基-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶(5.5g,黄色油状物)。

[0250] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 7.80 (d, $J=5.6\text{Hz}$, 1H), 7.26 (s, 1H), 4.06 (s, 3H), 2.48 (s, 3H)。

[0251] 第二步:4-溴-7-甲氧基-2-甲基-1-甲苯磺酰-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶

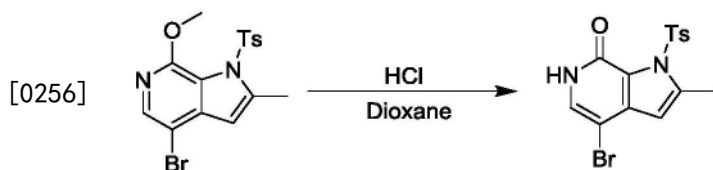


[0252]

[0253] 4-溴-7-甲氧基-2-甲基-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶(2.6g,11mmol)溶于N,N-二甲基甲酰胺(20mL)中,在0℃氮气保护下分批加入氢氧化钠(640mL,16mmol)。反应在室温下搅拌15分钟,然后在0℃氮气保护下分批加入对甲基苯磺酰氯(3.04g,16mmol),反应液在室温下搅拌16小时。反应液用饱和氯化铵水溶液(20mL)淬灭,溶液用乙酸乙酯(30mL×2)萃取,有机相用饱和食盐水(20mL×3)洗涤,无水硫酸钠干燥。有机相干燥旋干,柱分离(石油醚/乙酸乙酯=10/1)得到4-溴-7-甲氧基-2-甲基-1-甲苯磺酰-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶(1.6g,黄色固体)。

[0254] MS m/z (ESI) : 394.9/397.0 (50/50) [M+H]⁺.

[0255] 第三步: 4-溴-2-甲基-1-甲苯磺酰-1,6-二氢-7H-吡咯并[2,3-c]吡啶-7-酮

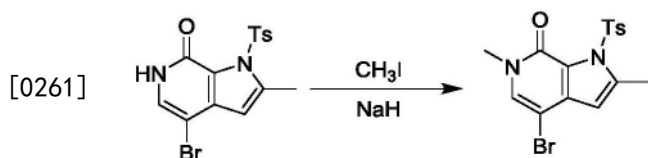


[0257] 4-溴-7-甲氧基-2-甲基-1-甲苯磺酰-1H-吡咯并[2,3-c]吡啶 (1.6g, 4.1mmol) 溶于二氧六环 (20mL) 中, 在室温下加入盐酸 (20mL, 4M)。反应在 40℃ 下搅拌 16 小时。反应液浓缩, 用二氯甲烷 (20mL × 2) 萃取, 有机相用饱和食盐水 (20mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥。有机相干燥旋干, 柱分离 (石油醚/乙酸乙酯 = 2/1) 得到 4-溴-2-甲基-1-甲苯磺酰-1,6-二氢-7H-吡咯并[2,3-c]吡啶-7-酮 (1.4g, 白色固体)。

[0258] MS m/z (ESI) : 380.9/382.9 (50/50) [M+H]⁺.

[0259] ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 7.94 (d, J = 8.4Hz, 2H), 7.29 (d, J = 8.1Hz, 2H), 7.14 (s, 1H), 6.34 (d, J = 0.9Hz, 1H), 2.79 (d, J = 0.7Hz, 3H), 2.41 (s, 3H) .

[0260] 第四步: 4-溴-2,6-二甲基-1-甲苯磺酰-1,6-二氢-7H-吡咯并[2,3-c]吡啶-7-酮

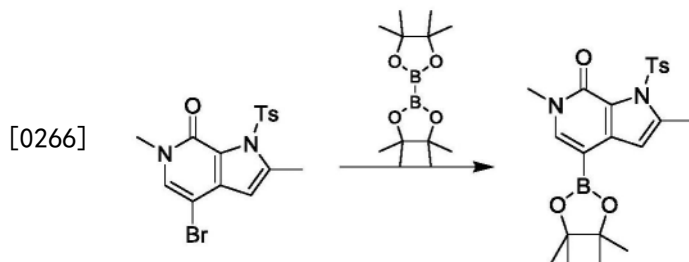


[0262] 4-溴-2-甲基-1-甲苯磺酰-1,6-二氢-7H-吡咯并[2,3-c]吡啶-7-酮 (1.4g, 3.7mmol) 溶于 N,N-二甲基甲酰胺 (20mL) 中, 在 0℃ 氮气保护下分批加入氢化钠 (180mL, 4.5mmol, 60%)。反应在室温下搅拌 15 分钟, 然后在 0℃ 氮气保护下分批加入碘甲烷 (620mg, 4.5mmol), 反应液在室温下搅拌 3 小时。反应液用饱和氯化铵水溶液 (20mL) 淬灭, 溶液用乙酸乙酯 (30mL × 2) 萃取, 有机相用饱和食盐水 (20mL × 3) 洗涤, 无水硫酸钠干燥。有机相干燥旋干, 柱分离 (石油醚/乙酸乙酯 = 2/1) 得到 4-溴-2,6-二甲基-1-甲苯磺酰-1,6-二氢-7H-吡咯并[2,3-c]吡啶-7-酮 (1.4g, 黄色固体)。

[0263] MS m/z (ESI) : 394.9/397.0 [M+H]⁺.

[0264] ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 7.99 (d, J = 8.4Hz, 2H), 7.31 (d, J = 8.1Hz, 2H), 7.18 (s, 1H), 6.26 (d, J = 0.9Hz, 1H), 3.48 (s, 3H), 2.76 (d, J = 0.8Hz, 3H), 2.41 (s, 3H) .

[0265] 第五步: 2,6-二甲基-4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二噁硼戊环-2-基)-1-甲苯磺酰-1,6-二氢-7H-吡咯并[2,3-c]吡啶-7-酮。

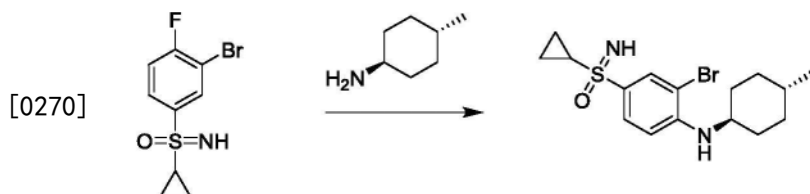


[0267] 4-溴-2,6-二甲基-1-甲苯磺酰-1,6-二氢-7H-吡咯并[2,3-c]吡啶-7-酮 (1.4g, 3.5mmol), 频哪醇硼酸酯 (1.8g, 7.0mmol), 三(二亚苄基丙酮)二钯 (84mg, 0.091mmol), 乙酸钾 (877mg, 8.75mmol), 2-二环己基磷-2,4,6-三异丙基联苯 (166mg, 0.35mmol) 溶于二氧六

环(30mL)中,在90℃氮气保护下搅拌2小时。反应液过滤,溶液用乙酸乙酯(30mL×2)萃取,有机相用饱和食盐水(20mL)洗涤,无水硫酸钠干燥。有机相干燥旋干,柱分离(石油醚/乙酸乙酯=1/1)得到2,6-二甲基-4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二噁硼戊环-2-基)-1-甲苯磺酰-1,6-二氢-7H-吡咯并[2,3-c]吡啶-7-酮(1.4g,黄色油状物)。

[0268] MS m/z (ESI): 443.2 [M+H]⁺。

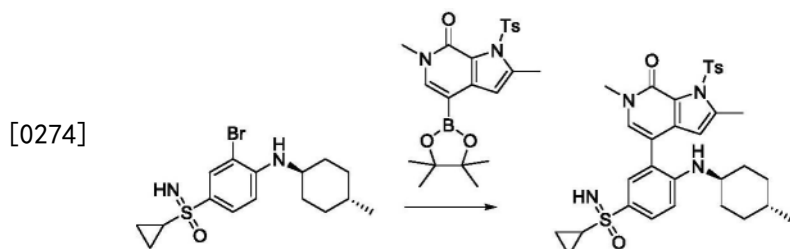
[0269] 第六步: (3-溴-4-((反式-4-甲基环己基)氨基)苯基)(环丙基)(亚氨基)-λ⁶-硫烷酮的制备。



[0271] (3-溴-4-氟苯基)(环丙基)(亚氨基)-λ⁶-硫烷酮(500mg, 1.75mmol)与反式-4-甲基环己烷胺(5.0mL)置于25mL三口瓶中,氮气保护下油浴加热到90℃,反应5小时后冷却至室温,用乙酸乙酯(50mL)稀释,经饱和氯化铵水溶液洗涤(25mL×2),无水硫酸钠干燥,过滤。滤液浓缩后经柱层析纯化(石油醚/乙酸乙酯=3/1)得到(3-溴-4-((反式-4-甲基环己基)氨基)苯基)(环丙基)(亚氨基)-λ⁶-硫烷酮(500mg,黄色油状物)。

[0272] MS m/z (ESI): 370.9/372.9 (50/50) [M+H]⁺。

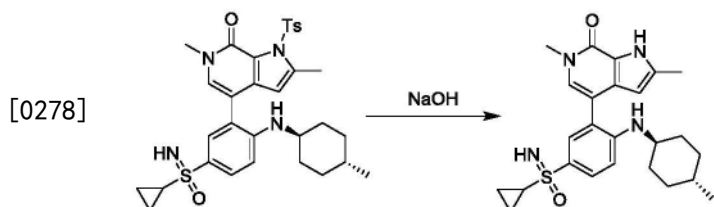
[0273] 第七步: 4-(5-(环丙磺亚胺酰基)-2-((反式-4-甲基环己基)氨基)苯基)-2,6-二甲基-1-甲苯磺酰-1,6-二氢-7H-吡咯并[2,3-c]吡啶-7-酮的制备



[0275] 将磷酸钾(15.7g, 2.5eq.)和水(35mL)加入到反应瓶中,溶清。将(3-溴-4-((反式-4-甲基环己基)氨基)苯基)(环丙基)(亚氨基)-λ⁶-硫烷酮(11.0g, 1.0eq.)、1,3,5,7-四甲基-6-苯基-2,4,8-三氧杂-6-磷酰金刚烷(0.13g, 0.015eq.)、Pd2(dba)₃(0.41g, 0.015eq.)、THF(70mL)加入到反应瓶中。反应液加热至60℃,滴加2,6-二甲基-4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二噁硼戊环-2-基)-1-甲苯磺酰-1,6-二氢-7H-吡咯并[2,3-c]吡啶-7-酮(16.0g, 1.22eq.)的THF溶液,加完,搅拌15min,反应完全。加100mL水,分液,水相用100mL乙酸乙酯萃取,合并有机相,有机相用100mL饱和碳酸氢钠溶液洗涤,再用100mL饱和氯化钠溶液洗涤,分液。有机相用无水硫酸钠干燥,过滤,浓缩得到黄色固体。固体中加入二氯甲烷(48mL),加热至回流,滴加乙腈(144mL),降至室温,搅拌2h,过滤,乙腈(40mL)洗涤,干燥得4-(5-(环丙磺亚胺酰基)-2-((反式-4-甲基环己基)氨基)苯基)-2,6-二甲基-1-甲苯磺酰-1,6-二氢-7H-吡咯并[2,3-c]吡啶-7-酮16.3g。

[0276] MS m/z (ESI): 607.1 [M+H]⁺。

[0277] 第八步: 4-(5-(环丙磺亚胺酰基)-2-((反式-4-甲基环己基)氨基)苯基)-2,6-二甲基-1,6-二氢-7H-吡咯并[2,3-c]吡啶-7-酮的制备

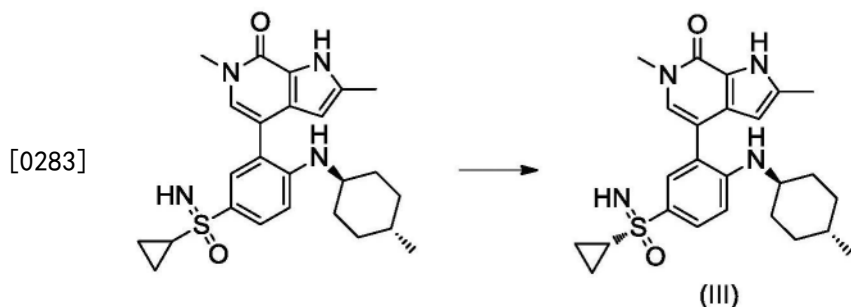


[0279] 将4-(5-(环丙磺亚胺酰基)-2-((反式-4-甲基环己基)氨基)苯基)-2,6-二甲基-1-甲苯磺酰-1,6-二氢-7H-吡咯并[2,3-c]吡啶-7-酮(14.3g, 1.0eq.)、甲醇(100mL)、KOH(6.6g, 5.0eq.)水溶液加入到500mL三口瓶中。加热至45℃, 搅拌12h, 反应完全。冷却至室温, 用盐酸中和至pH=7, 浓缩。加入100mL二氯甲烷和20mL水, 分液。水相再用40mL二氯甲烷萃取, 合并有机相, 用饱和氯化钠溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩得固体。向上述固体中加入二氯甲烷(18mL), 溶清, 滴加乙腈(64mL), 析出固体。室温搅拌3h, 过滤, 干燥, 得4-(5-(环丙磺亚胺酰基)-2-((反式-4-甲基环己基)氨基)苯基)-2,6-二甲基-1,6-二氢-7H-吡咯并[2,3-c]吡啶-7-酮8.9g。

[0280] MS m/z (ESI): 453.2 $[M+H]^+$ 。

[0281] 1H NMR (400MHz, MeOD): δ 7.65 (dd, $J=8.8\text{Hz}, 2.3\text{Hz}, 1\text{H}$), 7.50 (d, $J=2.3\text{Hz}, 1\text{H}$), 7.06 (s, 1H), 6.75 (d, $J=8.9\text{Hz}, 1\text{H}$), 5.73 (s, 1H), 3.57 (s, 3H), 3.26 (d, $J=3.9\text{Hz}, 1\text{H}$), 2.59-2.51 (m, 1H), 2.29 (s, 3H), 1.93-1.89 (m, 2H), 1.64-1.60 (m, 2H), 1.23-1.20 (m, 2H), 1.16-1.09 (m, 1H), 1.04-0.93 (m, 5H), 0.85-0.83 (m, 1H), 0.81 (d, $J=6.5\text{Hz}, 3\text{H}$)。

[0282] 第九步: 式(III)化合物的制备



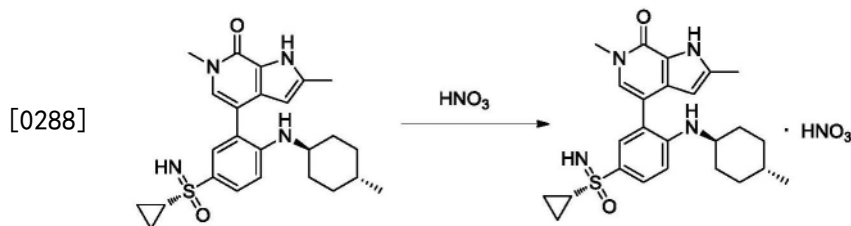
[0284] 以4-(5-(环丙磺亚胺酰基)-2-((反式-4-甲基环己基)氨基)苯基)-2,6-二甲基-1,6-二氢-7H-吡咯并[2,3-c]吡啶-7-酮为原料, 经手性柱拆分得式(III)化合物。

[0285] 手性制备条件:

[0286]

柱型	CHIRALPAK IG
柱尺寸	2.5cm I.D. \times 25cm L
流动相	MeOH=100%
流速	30.0ml/min
检测波	UV 254nm
柱长温	35℃

[0287] 第十步: 式(III)化合物硝酸盐的制备



[0289] 称取194.2mg的4-(5-((R)-环丙磺亚胺酰基)-2-((反式-4-甲基环己基)氨基)苯基)-2,6-二甲基-1,6-二氢-7H-吡咯并[2,3-c]吡啶-7-酮,加入9.71mL甲醇和9.71mL二氯甲烷,超声溶清,取其中2mL溶液,加入1M硝酸的乙醇溶液48uL,混合均匀并敞口室温挥干溶剂,得到式(III)化合物硝酸盐。

[0290] 实施例二式(III)化合物晶型的制备

[0291] 将10.7g式(III)化合物加入18ml的二氯甲烷,搅拌至溶清。向溶液中加入64ml的乙腈,室温搅拌析出固体,在室温下搅拌3h后过滤,用24ml的乙腈淋洗。最后固体放入35℃下干燥至恒重,最后得到类白色固体。经检测分析,其具有基本如图1所示的XRPD图、如图2所示的TGA图以及如图3所示的DSC图。

[0292] 实施例三硝酸盐晶型I的制备

[0293] 称取40mg式(III)化合物,加入2mL甲醇溶解后滤膜过滤,向滤液中加入96uL1M硝酸的乙醇溶液,室温搅拌10min无固体产生,将溶液放入50℃下搅拌挥发,同时加入2.5mL乙酸乙酯溶液直至固体析出,固体放入40℃真空干燥箱烘干至恒重,得到硝酸盐晶型I。经检测分析,其具有基本如图4所示的XRPD图、如图5所示的TGA图及如图6所示的DSC图。

[0294] 实施例四硝酸盐晶型II的制备

[0295] 称取2g式(III)化合物,加入25mL乙酸乙酯,室温搅拌不溶,向混悬液中加入5.3mL1M硝酸的乙醇溶液,搅拌后溶清,并立即析出白色固体,将产品离心后放入40℃真空干燥箱烘干至恒重,得到硝酸盐晶型II。经检测分析,其具有基本如图7所示的XRPD图、如图8所示的IR图、如图9所示的TGA图及如图10所示的DSC图。

[0296] 实施例五甲磺酸盐的制备

[0297] 称取40mg式(III)化合物,加入2mL甲醇溶解,后滤膜过滤,向滤液中加入96uL 1M的甲磺酸的乙醇溶液,室温搅拌12h后无固体析出,此时,将溶液于50℃下缓慢挥发溶剂,待甲醇快挥发完时加入1mL乙酸乙酯,并室温搅拌2h后析出大量固体,固体放入40℃真空干燥箱烘干至恒重,得到甲磺酸盐。经检测分析,其有基本如图11所示的XRPD图。

[0298] 实施例六硫酸盐晶型I的制备

[0299] 称取14.8mg式(III)化合物,加入0.2mL乙酸乙酯室温搅拌不溶,向混悬液中加入36uL 1M硫酸的乙醇溶液,超声振荡完全溶清,溶液放入40℃下搅拌1h析出大量的白色固体,将所得固体离心最后放入40℃真空干燥箱中烘干至恒重,得到硫酸盐晶型I。经检测分析,其具有基本如图12所示的XRPD图。

[0300] 实施例七硫酸盐晶型II的制备

[0301] 称取40mg式(III)化合物,加入0.5mL乙酸乙酯室温搅拌不溶,向混悬液中加入106uL 1M硫酸的乙醇溶液,超声振荡完全溶清,溶液放入40℃下搅拌析出大量的白色固体,将所得白色固体过滤并干燥,干燥后的产品加入0.2mL乙腈并于40℃下打浆3h,最后将固体过滤并放入40℃真空干燥箱中烘干至恒重,得到硫酸盐晶型II。经检测分析,其具有基本如

图13所示的XRPD图。

[0302] 实施例八盐酸盐晶型I的制备

[0303] 称取500mg式(III)化合物,加入5mL乙酸乙酯,室温搅拌不溶,向混悬液中加入1.125mL 1.18M盐酸的乙醇溶液,超声振荡完全溶清,后室温搅拌析出大量的白色固体。将所得白色固体过滤后放入40℃真空干燥箱中烘干至恒重。得到盐酸盐晶型I。经检测分析,其具有基本如图14所示的XRPD图。

[0304] 实施例九盐酸盐晶型II的制备

[0305] 称取24.4mg盐酸盐晶型I,加入160uL乙腈混悬一周,最后产品离心后放入40℃真空干燥箱中烘干至恒重,得到盐酸盐晶型II。经检测分析,其具有基本如图15所示的XRPD图。

[0306] 实施例十盐酸盐晶型III的制备

[0307] 称取200mg式(III)化合物,加入2mL乙腈室温搅拌不溶,向混悬液中加入0.45mL 1.18M盐酸的乙醇溶液,超声振荡完全溶清,室温下搅拌4h后析出大量白色固体,将所得固体过滤后放入40℃真空干燥箱烘干至恒重,得到盐酸盐晶型III。经检测分析,其具有基本如图16所示的XRPD图。

[0308] 实施例十一式(III)化合物单晶培养

[0309] 将式(III)化合物溶解于丙酮/水(体积比为88:12的)混合溶剂体系中,室温下挥发,得到式(III)化合物的单晶。

[0310] 实验结果:

[0311] 所得式(III)化合物的单晶结构图如17所示,单晶数据如表10所示。

[0312] 表10

$C_{25}H_{32}N_4O_2S$	$Z = 2$
$M_r = 452.60$	$F(000) = 484$
Triclinic, $P\bar{1}$	$D_x = 1.254 \text{ Mg m}^{-3}$
$a = 9.255 (3) \text{ \AA}$	Mo $K\alpha$ radiation, $\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$
$b = 11.816 (4) \text{ \AA}$	Cell parameters from 2360 reflections
$c = 12.144 (4) \text{ \AA}$	$\theta = 2.5\text{--}24.6^\circ$
$\alpha = 100.254 (7)^\circ$	$\mu = 0.16 \text{ mm}^{-1}$
$\beta = 106.119 (6)^\circ$	$T = 173 \text{ K}$
$\gamma = 103.343 (7)^\circ$	Block, colourless
$V = 1199.1 (6) \text{ \AA}^3$	$0.28 \times 0.15 \times 0.12 \text{ mm}$

[0314] 由表10可知,式(III)化合物的硫原子处的绝对构型为R构型。

[0315] 实施例十二硝酸盐晶型II单晶培养

[0316] 将硝酸盐晶型II溶解于良溶剂乙醇及不良溶剂乙酸乙酯的混合溶剂体系中,4℃下冷却挥发,得到硝酸盐晶型II的单晶。

[0317] 实验结果:

[0318] 单晶数据显示硝酸盐晶型II为一硝酸盐,且硫原子处的绝对构型为R构型。

[0319] 硝酸盐晶型II的单晶结构图如图18所示,单晶数据如表11所示。

[0320] 表11

[0321]	$C_{25}H_{33}N_4O_2S \cdot NO_3$	$D_x = 1.293 \text{ Mg m}^{-3}$
	$M_r = 515.62$	Mo $K\alpha$ radiation, $\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$
	Orthorhombic, $P2_12_12_1$	Cell parameters from 3424 reflections
	$a = 5.6645 (4) \text{ \AA}$	$\theta = 2.4\text{--}19.5^\circ$
[0322]	$b = 15.0486 (11) \text{ \AA}$	$\mu = 0.17 \text{ mm}^{-1}$
	$c = 31.080 (2) \text{ \AA}$	$T = 173 \text{ K}$
	$V = 2649.3 (3) \text{ \AA}^3$	Block, colourless
	$Z = 4$	$0.28 \times 0.15 \times 0.12 \text{ mm}$
	$F(000) = 1096$	

[0323] 实施例十三本发明化合物对BRD4结合活性的测定

[0324] BRD4结合活性测试通过以下的方法进行测试。

[0325] 该方法用来测定本发明中的化合物对BRD4结合活性的抑制作用。

[0326] 实验步骤

[0327] 为了测试化合物对BRD4于乙酰化蛋白结合的影响,本实验采用荧光共振能量转移(TR-FRET)的方法测试化合物对BRD4与乙酰化底物结合活性的抑制作用,并得出化合物对BRD4结合活性的半数抑制浓度 IC_{50} 。

[0328] 具体实验操作如下:

[0329] 1、在384孔板中加入1~5ul BRD4酶溶液,酶终浓度为1~20nM;

[0330] 2、加入1~5ul梯度稀释好的化合物溶液;

[0331] 3、加入1~5ul底物混合液包含乙酰化底物多肽终浓度2~50nM;

[0332] 4、室温孵育0.5~3小时;

[0333] 5、加入10ul EDTA和含标记抗体的检测液,室温孵育1小时;

[0334] 6、酶标仪测定各板孔的665nm荧光信号值;

[0335] 7、通过荧光信号值计算抑制率;

[0336] 8、根据不同浓度的抑制率通过曲线拟合得出化合物的 IC_{50} 。

[0337] 本发明中化合物对BRD4结合活性通过以上的试验进行测定,测得的 IC_{50} 值见表12。

[0338] 结果表明:本发明化合物对BRD4结合活性具有明显的抑制作用。

[0339] 实施例十四本发明化合物对白血病细胞MV4-11增殖活性的测定

[0340] 化合物对白血病细胞MV4-11增殖活性的影响通过以下的方法进行测试。

[0341] 该方法用来测定本发明中的化合物对白血病细胞MV4-11增殖活性的影响。

[0342] 本实验采用CellTiter-Glo的方法测试化合物对MV4-11细胞增殖的抑制作用,并得出化合物抑制细胞增殖活性的半数抑制浓度 IC_{50} 。

[0343] 实验步骤:

[0344] 1、在96孔细胞培养板中接种50~100 μ L的MV4-11细胞悬液,密度为 $1\sim 5 \times 10^4$ 细胞/ml,将培养板于培养箱培养16~24小时(37 $^\circ$ C, 5% CO_2)。

[0345] 2、向培养板细胞中加入梯度稀释的不同浓度的待测化合物溶液,将培养板在培养箱孵育72小时(37 $^\circ$ C, 5% CO_2)。

[0346] 3、每孔加入50~100 μ L CellTiter-Glo试剂,并振荡10分钟,室温静置10分钟。

[0347] 4、酶标仪测定各板的化学发光信号值。

[0348] 5、通过化学发光信号值计算抑制率。

[0349] 6、根据不同浓度的抑制率通过曲线拟合得出化合物的 IC_{50} 。

[0350] 本发明中化合物对白血病细胞MV4-11增殖活性的试验进行测定,测得的 IC_{50} 值见表12。

[0351] 结果表明:本发明化合物对白血病细胞MV4-11增殖活性具有明显的抑制作用。

[0352] 表12

化合物编号	$IC_{50}(nM)$	
	BRD4	白血病细胞 MV4-11
化合物 1	14.6	1.2
化合物 2	16.4	2.4
化合物 3	7.3	1.3
化合物 4	5.1	1.1
化合物 5	12.7	0.9
化合物 6	11.5	3.5
化合物 7	8.3	1.0
[0353] 化合物 8	15.5	2.0
化合物 9	3.8	1.8
化合物 10	5.0	1.9
化合物 11	11.3	1.5
化合物 12	5.8	1.3
化合物 13	8.2	2.2
化合物 14	10.3	3.9
化合物 15	13.5	1.4
化合物 16	13.9	3.6
化合物 17	5.2	1.2

[0354] 实施例十五本发明化合物对结肠癌肿瘤细胞colo205增殖活性的测定

[0355] 化合物对结肠癌肿瘤细胞colo205增殖活性通过以下的方法进行测试。

[0356] 该方法用来测定本发明中的化合物对结肠癌肿瘤细胞colo205增殖活性的抑制作用。

[0357] 实验步骤

[0358] 本实验采用CellTiter-Glo的方法测试化合物对colo205细胞增殖的抑制作用,并得出化合物抑制细胞增殖活性的半数抑制浓度 IC_{50} 。

[0359] 1、在96孔细胞培养板中接种50~100 μ L的colo205细胞悬液,密度为1~5*10⁴细胞/ml,将培养板于培养箱培养16~24小时(37 $^{\circ}$ C,5%CO₂)。

[0360] 2、向培养板细胞中加入梯度稀释的不同浓度的待测化合物溶液,将培养板在培养箱孵育6天(37 $^{\circ}$ C,5%CO₂)。

[0361] 3、每孔加入50~100 μ L CellTiter-Glo试剂,并振荡10分钟,室温静置10分钟。

[0362] 4、酶标仪测定各板的化学发光信号值。

[0363] 5、通过化学发光信号值计算抑制率。

[0364] 6、根据不同浓度的抑制率通过曲线拟合得出化合物的IC₅₀。

[0365] 本发明中化合物对结肠癌肿瘤细胞colo205增殖活性的试验进行测定,测得的IC₅₀值见下表13。

[0366] 本发明中化合物对结肠癌肿瘤细胞colo205增殖活性抑制IC₅₀:

[0367] 表13

化合物编号	IC ₅₀ (nM)
化合物9	7.6
化合物12	25.4

[0369] 结论:本发明化合物对结肠癌肿瘤细胞colo205增殖活性具有明显的抑制作用。

[0370] 实施例十六本发明化合物对小鼠的PK分析测试

[0371] 本发明优选实施例的小鼠药物代谢动力学试验采用Balb/c小鼠(上海杰思捷实验动物有限公司)进行。

[0372] 给药方式:单次灌胃给药

[0373] 给药剂量:5毫克/10毫升/千克

[0374] 制剂处方:0.5%CMC-Na和1%Tween 80,超声溶解

[0375] 取样点:给药后0.5、1、2、4、6、8和24小时

[0376] 样品处理:

[0377] 静脉采血0.1mL,置于K2EDTA试管中,室温1000~3000 \times g离心5~20min分离血浆,于-80 $^{\circ}$ C保存。

[0378] 血浆样品40 μ L加入160 μ L乙腈沉淀,混合后500~2000 \times g离心5~20分钟。

[0379] 取处理后上清溶液100 μ L进行LC/MS/MS分析待测化合物的浓度,LC/MS/MS分析仪器:AB Sciex API 4000。

[0380] 液相条件:Shimadzu LC-20AD泵

[0381] 色谱柱:phenomenex Gemiu 5 μ m C18 50 \times 4.6mm

[0382] 移动相:A液为0.1%甲酸水溶液,B液为乙腈

[0383] 流速:0.8mL/min

[0384] 药代动力学:

[0385] 主要参数用WinNonlin 6.1计算得到,小鼠药代实验结果见下表14:

[0386] 表14

化合物编号	药代实验(5mg/kg)					
	达峰时间	血药浓度	曲线面积	曲线面积	半衰期	平均滞留时间
	t_{max} (ng/mL)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-t} (ng/mL×h)	$AUC_{0-\infty}$ (ng/mL×h)	$t_{1/2}$ (h)	MRT (h)
1	1	934.7	3279.1	3302.3	3.16	3.21
2	1	927.30	5834.91	5884.81	3.39	4.93
3	1.0	1186.0	3626.6	3726.1	2.13	2.57
4	0.5	1106.7	3623.6	4170.3	2.57	3.90
5	0.5	876.6	3449.1	4007.2	2.8	4.1
6	0.5	1326.70	2730.66	2876.70	3.25	4.57
7	0.5	586	1022.3	1099.1	2.00	2.69
8	0.5	685	2172.7	2236.8	1.02	2.09
9	1	514.7	1628.9	1692.6	1.66	2.84
10	1	478.3	1273.3	1334.6	1.65	2.45
11	1.0	862	3437.1	3966.5	2.46	4.26
12	1	599.7	2377.4	2632.8	2.15	3.61
14	0.5	943.7	2002.4	2009.1	1.02	1.59
15	0.5	1490	2401.3	2417.6	1.13	1.60
16	0.5	541.3	1090.2	1109.6	1.06	1.81
17	2	344.00	1078.34	1089.22	5.80	3.14

[0388] 从表中小鼠药代实验结果可以看出：本发明实施例化合物表现出良好的代谢性质，暴露量AUC和最大血药浓度 C_{max} 都表现良好。

[0389] 实施例十七本发明化合物对体内药效试验测试

[0390] 实验目的：通过体内药效实验筛选出药效较为明显且毒副作用较小的化合物。实验主要仪器和试剂

[0391] 仪器：

[0392] 1、超净工作台(BSC-1300II A2,上海博讯实业有限公司医疗设备厂)

[0393] 2、CO2培养箱(Thermo)

[0394] 3、离心机(Centrifuge 5720R,Eppendorf)

[0395] 4、全自动细胞计数仪(Countess II,Life)

[0396] 5、移液器(10-20uL,Eppendorf)

[0397] 6、显微镜(TS100,尼康)

[0398] 6、游标卡尺(500-196,日本三丰)

[0399] 7、细胞培养瓶(T25/T75/T225,Corning)

[0400] 试剂：

[0401] 1、MEM培养基(11095-080,gibico)

[0402] 2、胎牛血清(FBS)(10099-141,gibico)

[0403] 3、0.25%胰蛋白酶(25200-056,gibico)

[0404] 4、青链霉素双抗(SV30010,GE)

[0405] 5、磷酸盐缓冲液(PBS) (10010-023,gibico)

[0406] 实验步骤

[0407] 1、细胞培养及细胞悬液制备

[0408] a,从细胞库中取出一株Hep3B细胞,用MEM培养基(MEM+10%FBS+1%Glu+1%SP)复苏细胞,复苏后的细胞置细胞培养瓶中(在瓶壁标记好细胞种类、日期、培养人名字等)置于CO₂培养箱中培养(培养箱温度为37℃,CO₂浓度为5%)。

[0409] b,待细胞铺满培养瓶底部80-90%后传代,传代后细胞继续置于CO₂培养箱中培养,重复该过程直到细胞数满足体内药效需求。

[0410] c,收集培养好的细胞,用全自动细胞计数仪计数,根据计数结果用PBS重悬细胞,制成细胞悬液(密度 7×10^7 /mL),置于冰盒中待用。

[0411] 2、细胞接种、量瘤:

[0412] a,接种前用一次性大小鼠通用耳标标记裸鼠,并用75%医用酒精消毒接种部位皮肤。

[0413] b,接种时混匀细胞悬液,用1mL注射器抽取0.1~1mL细胞悬液、排除气泡,然后将注射器置于冰袋上待用。

[0414] c,依次给试验裸鼠接种(接种部位位于裸鼠右侧背部靠右肩位置皮下接种0.1mL细胞悬液)。

[0415] 3、荷瘤鼠量瘤、分组、给药

[0416] a,根据肿瘤生长情况,在接种后第14-16天量瘤、并计算肿瘤大小。

[0417] 肿瘤体积计算:肿瘤体积(mm³) = 长(mm) × 宽(mm) × 宽(mm) / 2

[0418] b,根据肿瘤大小,采用随机分组的方法进行分组。

[0419] c,根据分组结果,开始给予测试药物(给药方式:口服给药,给药剂量:30mg/kg,给药体积:10mL/kg,给药频率:2次/天,给药周期:14天,溶媒:0.5%CMC/1%吐温80)。

[0420] d,开始给予测试药物后每周二次量瘤、称重。

[0421] e,实验结束后安乐死动物。

[0422] 4、试验数据:表15

[0423]	分组	动物数量	给药天数	抑瘤率	给药剂量
--------	----	------	------	-----	------

	(只)	(天)		
空白对照	5	14	-	
化合物1	5	14	184.9%	3mg/kg
化合物2	5	14	182.5%	3mg/kg
化合物3	5	14	147.3%	3mg/kg
化合物4	5	14	154.5%	3mg/kg
[0424] 化合物5	5	14	97.0%	3mg/kg
化合物8	5	14	110.9%	3mg/kg
化合物9	5	14	103.96%	3mg/kg
化合物10	5	14	116.98%	3mg/kg
化合物11	5	14	145.9%	3mg/kg
化合物12	5	14	95.5%	1mg/kg
化合物17	5	14	145.5%	3mg/kg

[0425] 5、实验结果

[0426] 从上述结果中可以看出,本专利的上述实施例有较好的抑瘤率。

[0427] 实施例十八动物PK研究

[0428] 将式(III)化合物晶型和硝酸盐晶型II,分别用含0.5%的HPMC K4M的水溶液混悬均匀后,灌胃,大鼠给药,平行三只大鼠,给药剂量为5mg/kg,化合物的量全部折算成相同式(III)化合物的量,具体实验结果如表16。

[0429] 表16

[0430]

参数	式(III)化合物晶型	硝酸盐晶型II
T_{max} (h)	0.5	0.5
C_{max} (ng/mL)	10.5	131.7
AUC_{0-t} (ng/mL*h)	80.8	409.2
$AUC_{0-\infty}$ (ng/mL*h)	94.6	387.5
$t_{1/2}$ (h)	7.72	4.34
$MRT_{0-\infty}$ (h)	11.78	4.84

[0431] 从大鼠药代实验结果可以看出:本发明硝酸盐晶型II表现出良好的代谢性质,暴露量AUC和最大血药浓度Cmax都表现良好。

[0432] 实施例十九稳定性实验

[0433] 取式(III)化合物或其酸加成盐约2mg,密闭置60℃烘箱、敞口置室温RH95%(饱和KNO₃水溶液)和光照箱(5000lx±500lx)中,考察5天、10天、20天及30天,用HPLC,外标法测定盐的含量,并采用色谱峰面积归一化法计算盐有关物质的变化。具体结果如表17。

[0434] 表17

[0435]

条件	60 °C (密闭)					室温/95%RH (敞口)					光照 5000±500 lux (密闭)				
	0 天	5 天	10 天	20 天	30 天	5 天	10 天	20 天	30 天	5 天	10 天	20 天	30 天		
式(III)化合物	98.78%	98.74%	98.54%	98.75	98.92%	98.79%	98.56%	98.85%	98.77%	98.23%	98.33%	98%	97.3%		
式(III)化合物硝酸盐	99.23%	99.22%	99.22%	99.47%	99.48%	99.32%	99.42%	99.6%	99.36%	99.2%	99.04%	99.18	99.15%		
式(III)化合物甲酸盐	99.76%	99.89%	-	-	-	99.85%	-	-	-	91.7%	-	-	-		
式(III)化合物硫酸盐	99.93%	-	-	-	-	-	-	-	-	99.02%	98.85%	-	-		
式(III)化合物硫酸盐	99.59%	99.62%	99.43%	-	-	99.68%	99.68%	-	-	97.24%	95.87%	-	-		

“-”表示未检测

[0436] 以上数据显示:式(III)化合物及其各种酸加成盐在高温60°C及室温RH95%下均较稳定,纯度无明显变化;式(III)化合物和式(III)化合物硝酸盐在光照条件下5-10天相

对较稳定。

[0437] 实施例二十引湿性实验

[0438] 将式(III)化合物酸加成盐置不同相对湿度的饱和水蒸气中,使化合物与水蒸气达到动态平衡,并计算平衡后化合物吸湿增重的百分数。

[0439] 结果显示,硝酸盐晶型II在25℃/80%RH的条件下,吸水约0.15%。根据《中国药典》2015年版四部9103药物引湿性试验指导原则,硝酸盐晶型II为无引湿性。并且硝酸盐晶型II经0-95%相对湿度条件下吸湿与解吸湿循环1次,XRPD图谱并未发生改变,即没有晶型转变。

[0440] 实施例二十一溶解度实验

[0441] 分别称取2mg式(III)化合物及硝酸盐晶型II,混悬到不同介质中24小时,用HPLC,外标法测定化合物室温下的热力学溶解度,具体实验结果如表18。

[0442] 表18

样品名称	式(III)化合物	硝酸盐晶型II
介质	溶解度(mg/mL)	
pH1	0.695	0.651
pH2	0.157	0.85
pH3	0.004	0.0157
pH4	<0.001	0.00133
pH5	<0.001	<0.001
pH6	<0.001	<0.001
pH7	<0.001	<0.001
pH8	<0.001	<0.001
FaSSIF	0.003	0.004
FeSSIF	0.184	0.286
SGF	0.374	0.773
water	<0.001	0.29

[0443] 注:pH 1-2为盐酸缓冲液,pH 3-4为邻苯二甲酸缓冲液,pH 5-8为磷酸盐缓冲液,SGF为人工模拟胃液,FaSSIF为禁食人工模拟肠液,FeSSIF为非禁食人工模拟肠液。

[0445] 由表18可知,式(III)化合物成盐后,在大部分的媒介中的溶解度均有不同程度的提升。

[0446] 实施例二十二转晶实验

[0447] 选择有一定溶解度的有机溶剂、水,将化合物悬浮于溶剂体系中,室温搅拌打浆1周后,离心,弃掉上清液,固体在40℃条件真空干燥(-0.1Mpa)过夜后,测定固体的XRPD,并与原料化合物盐的XRPD比较。

[0448] 具体实验结果如下:

[0449] 1)硝酸盐晶型I转成晶型II

[0450] 硝酸盐晶型I在40℃下乙腈中打浆9天转晶成晶型II。

[0451] 2)硝酸盐晶型II未发生转晶

[0452] 硝酸盐晶型II分别在乙醇、乙酸乙酯、丙酮、乙腈、四氢呋喃、1,4-二氧六环、异丙醇及水中室温下打浆1周末发生转晶。因此,硝酸盐晶型II为稳定晶型。

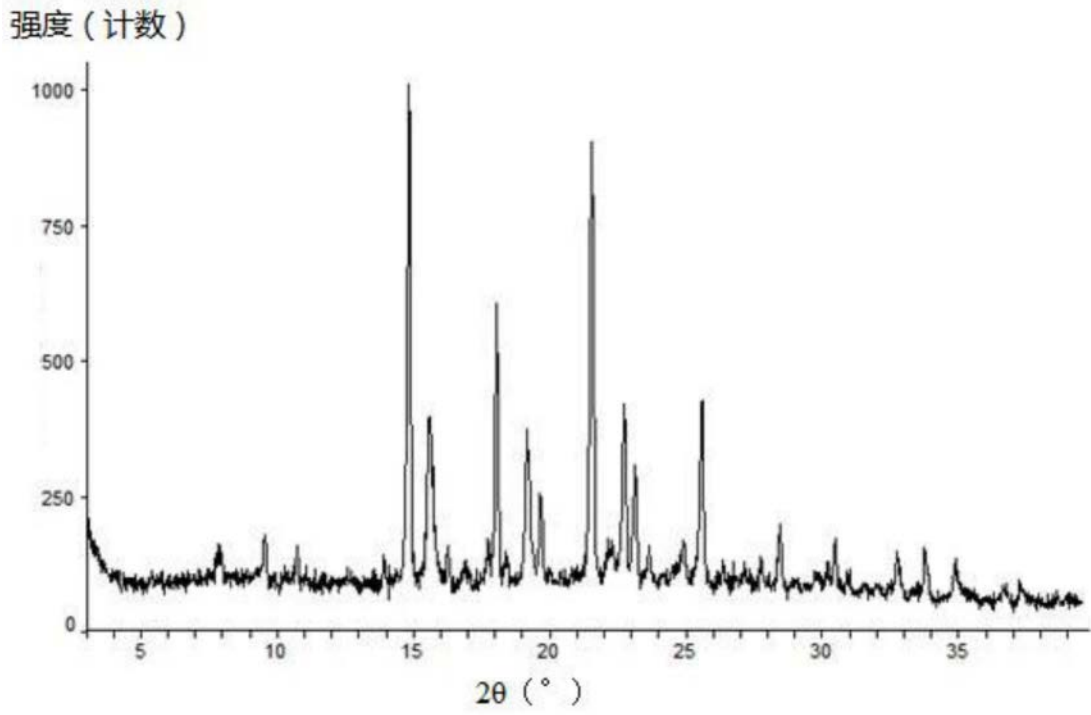


图1

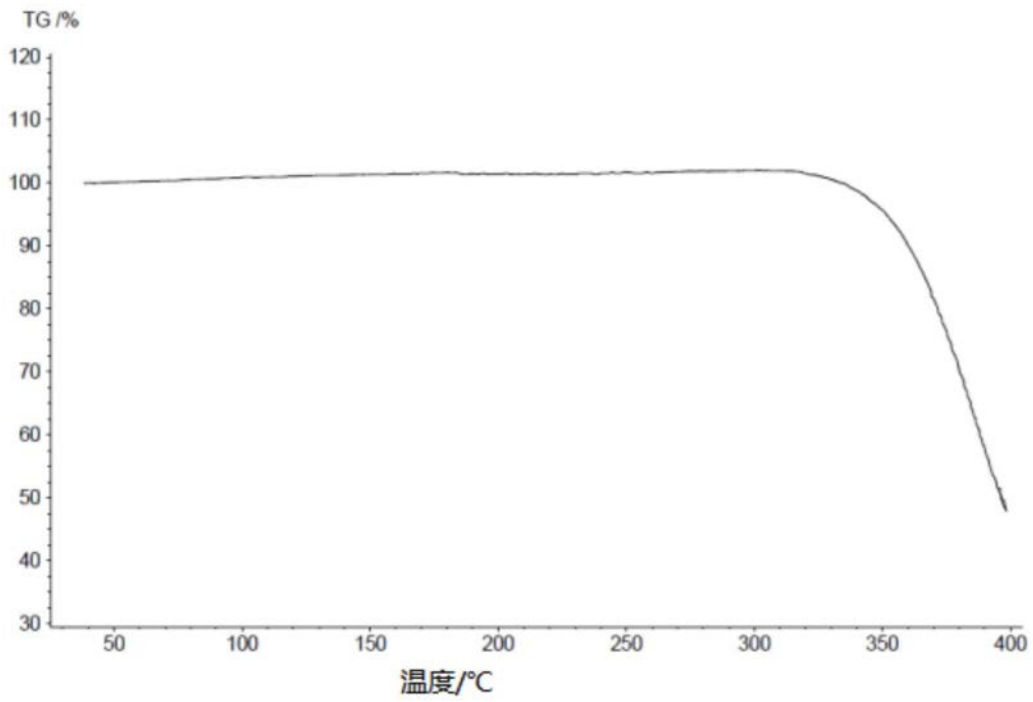


图2

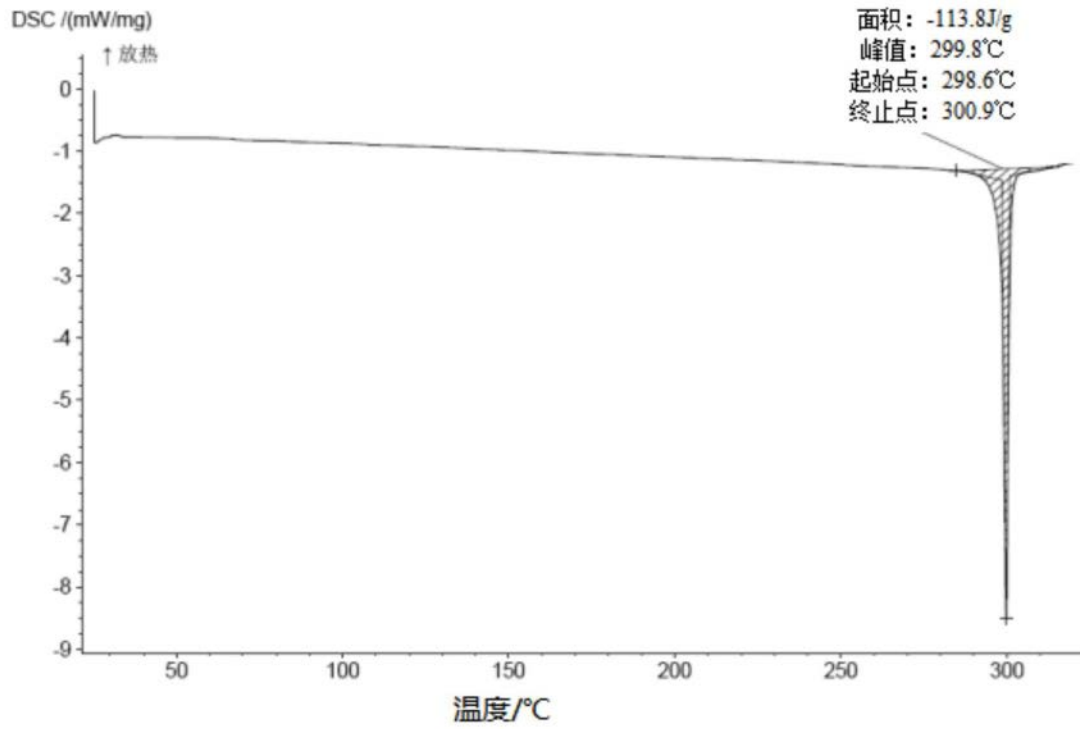


图3

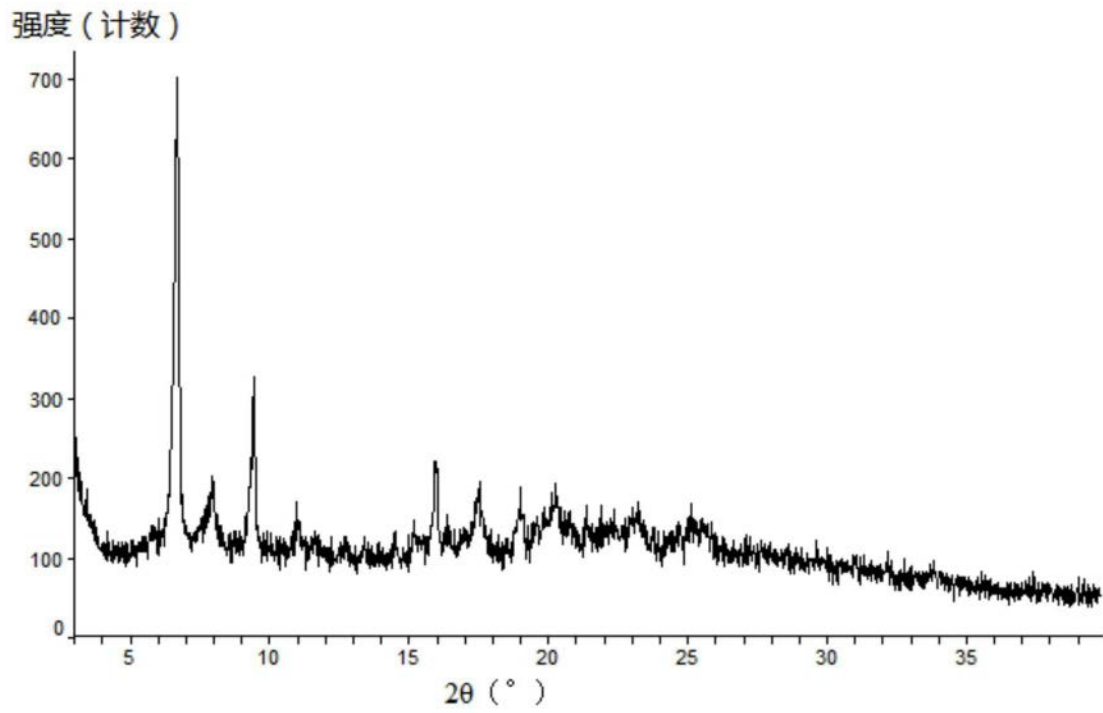


图4

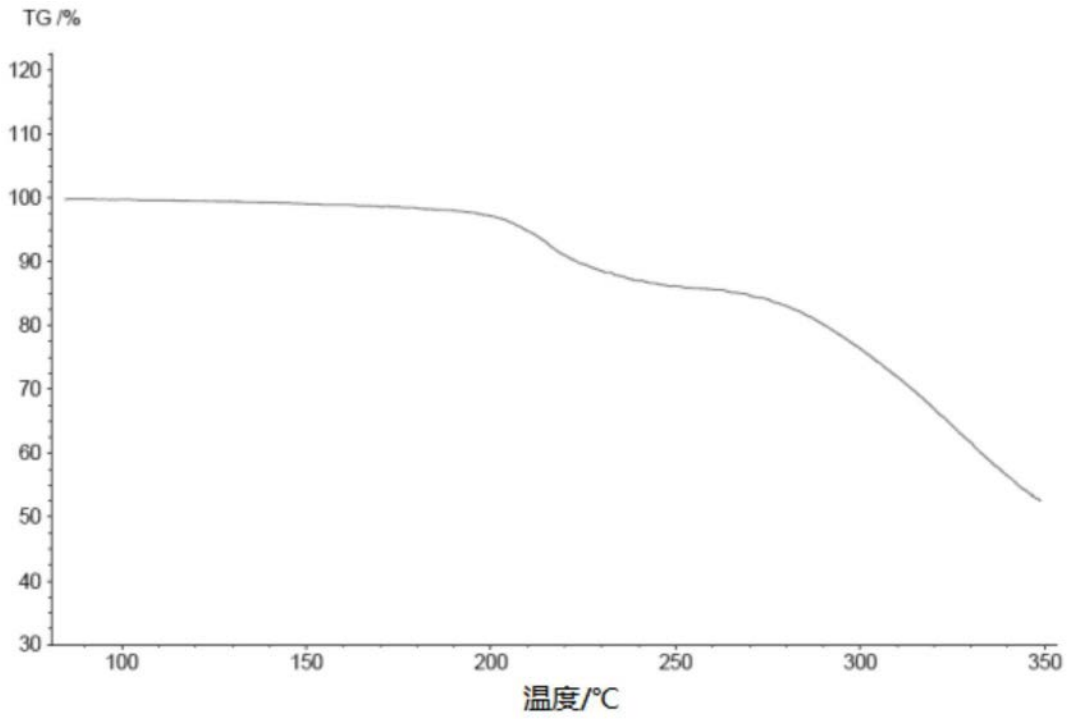


图5

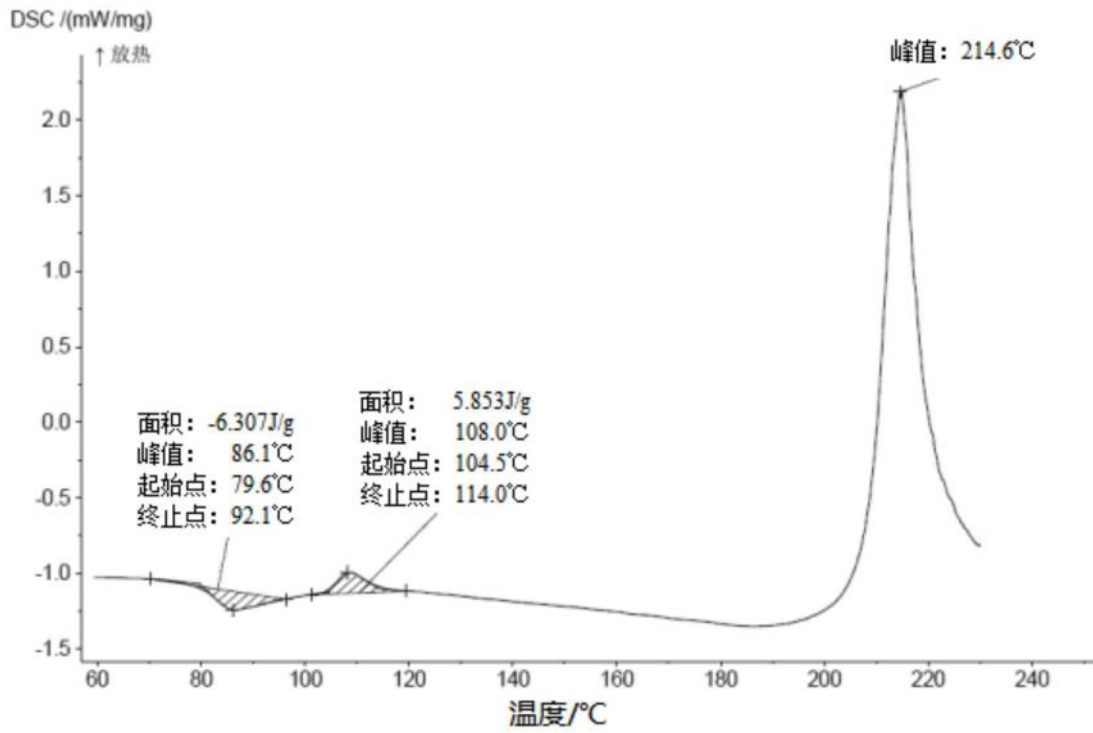


图6

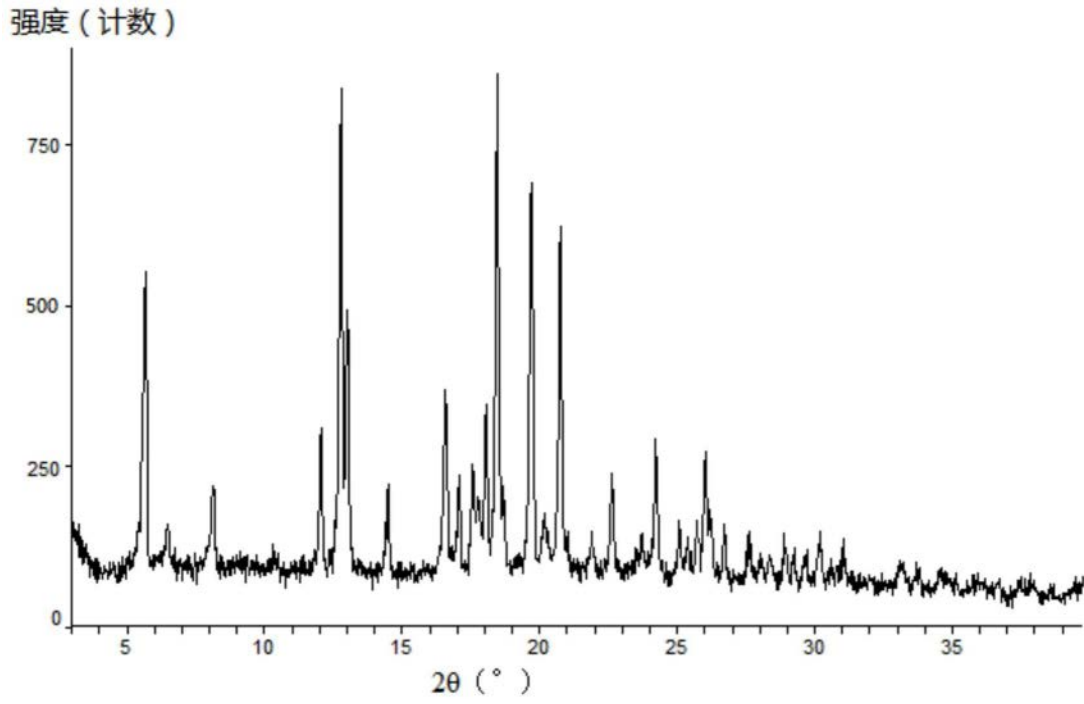


图7

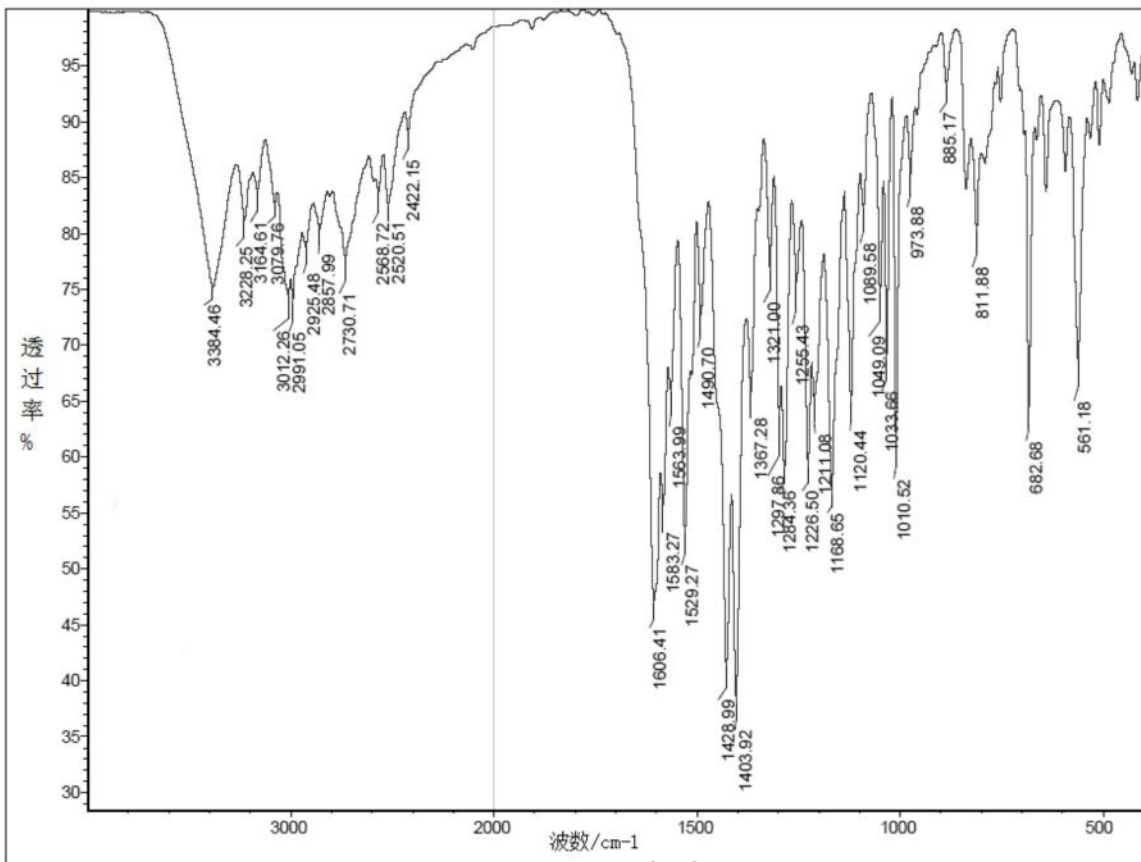


图8

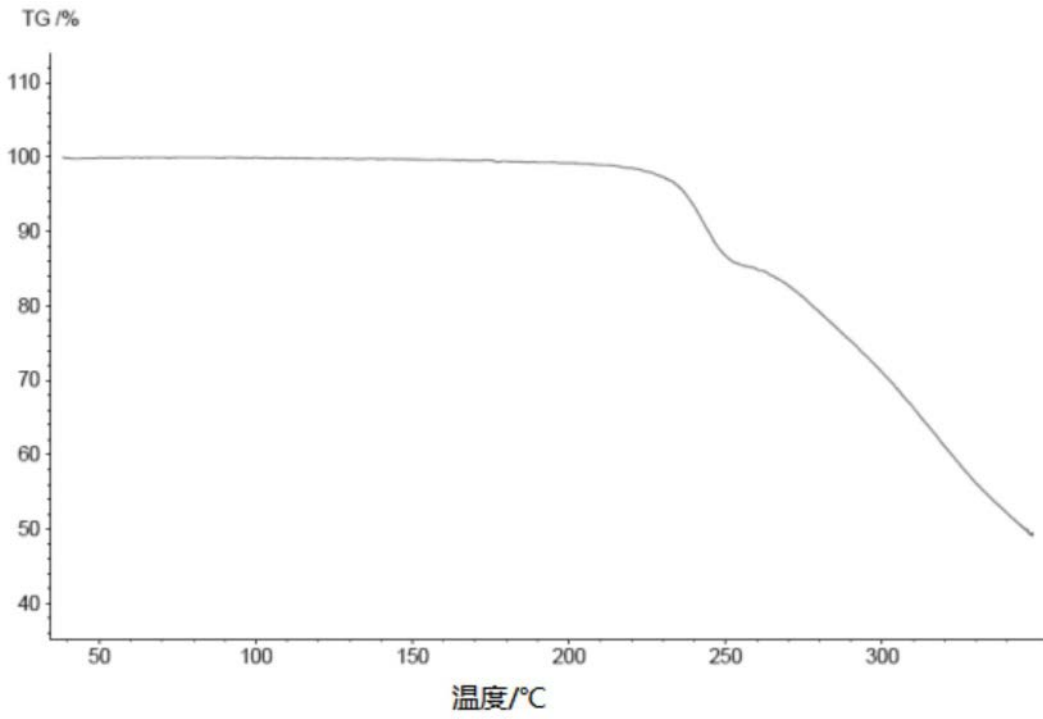


图9

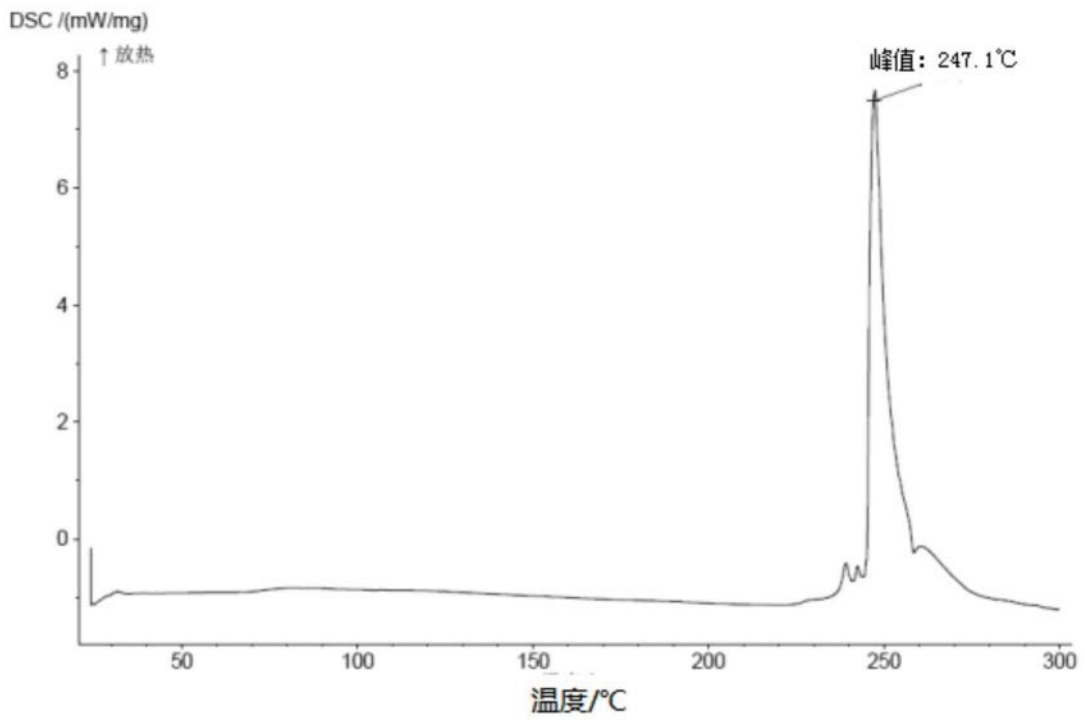


图10

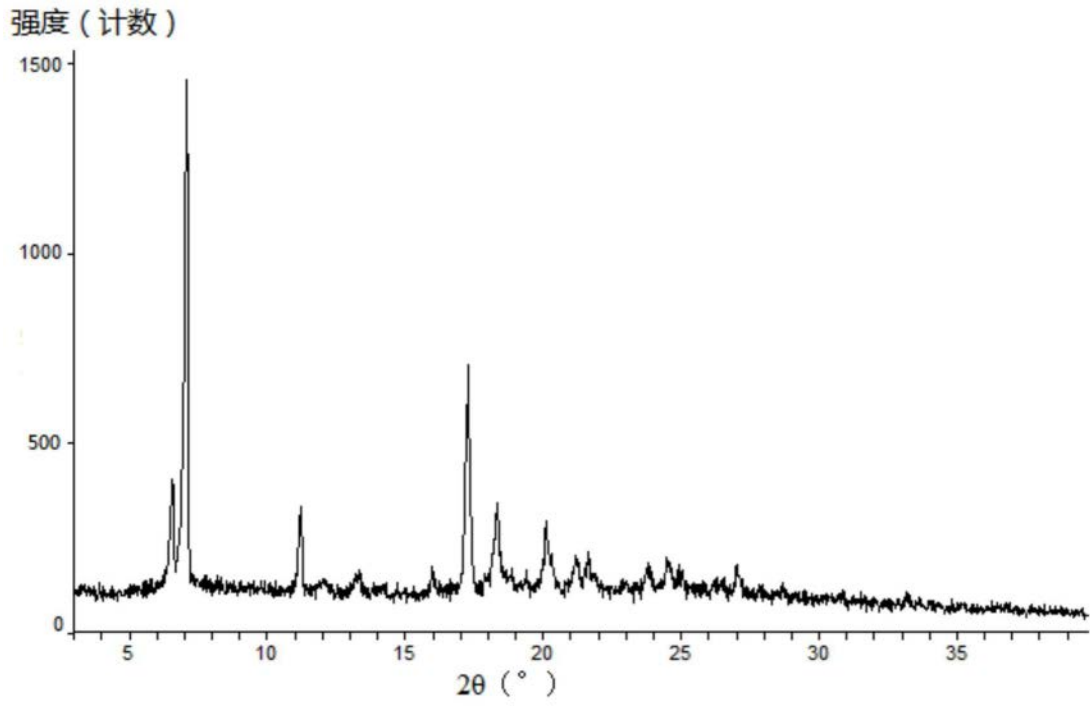


图11

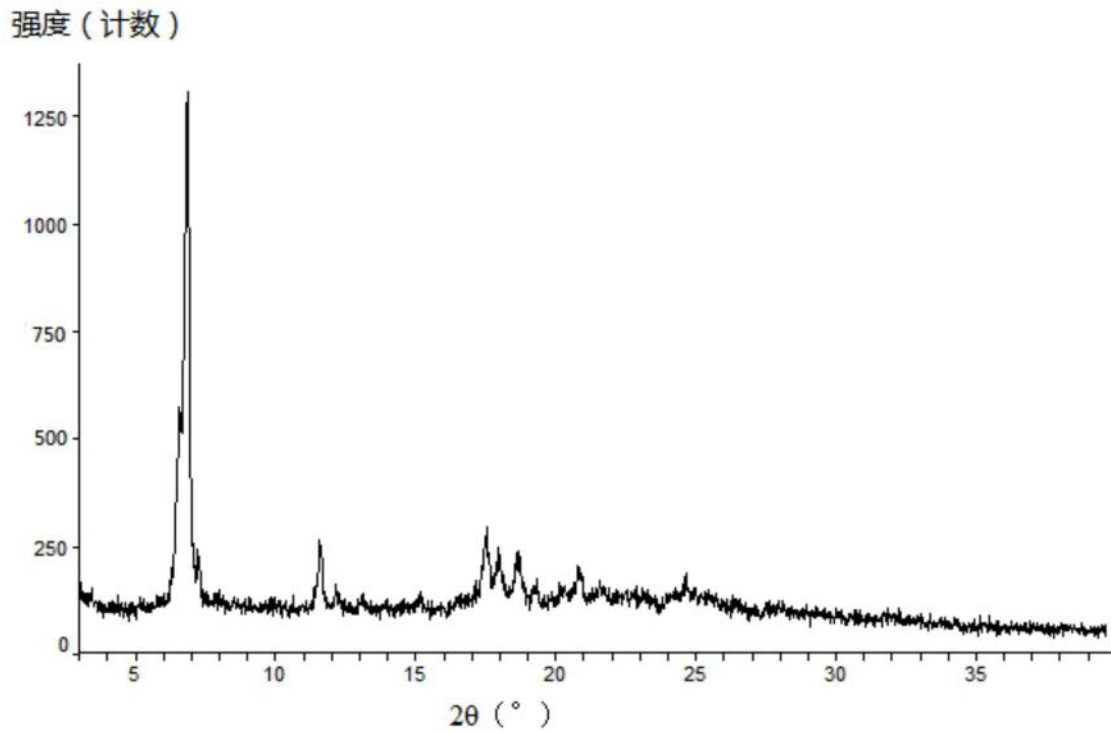


图12

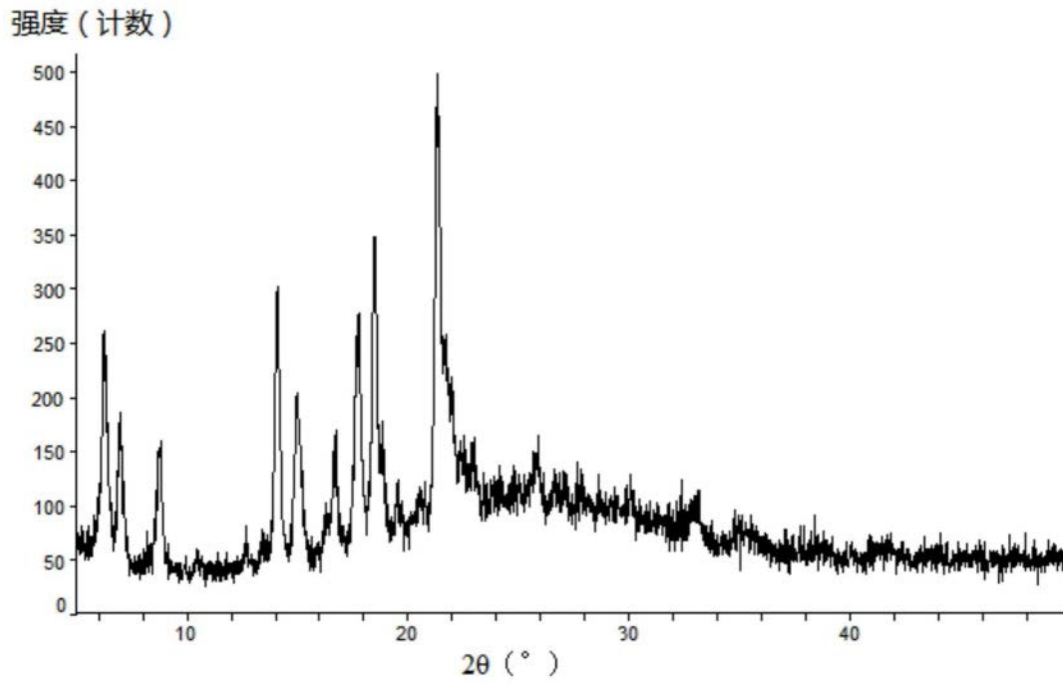


图13

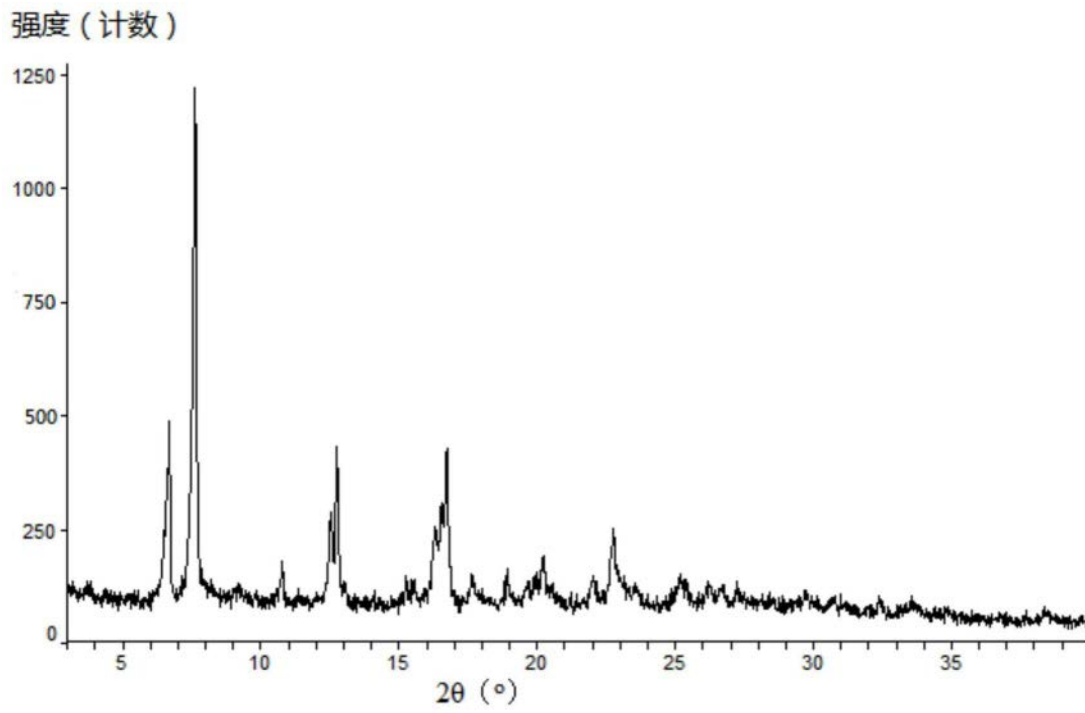


图14

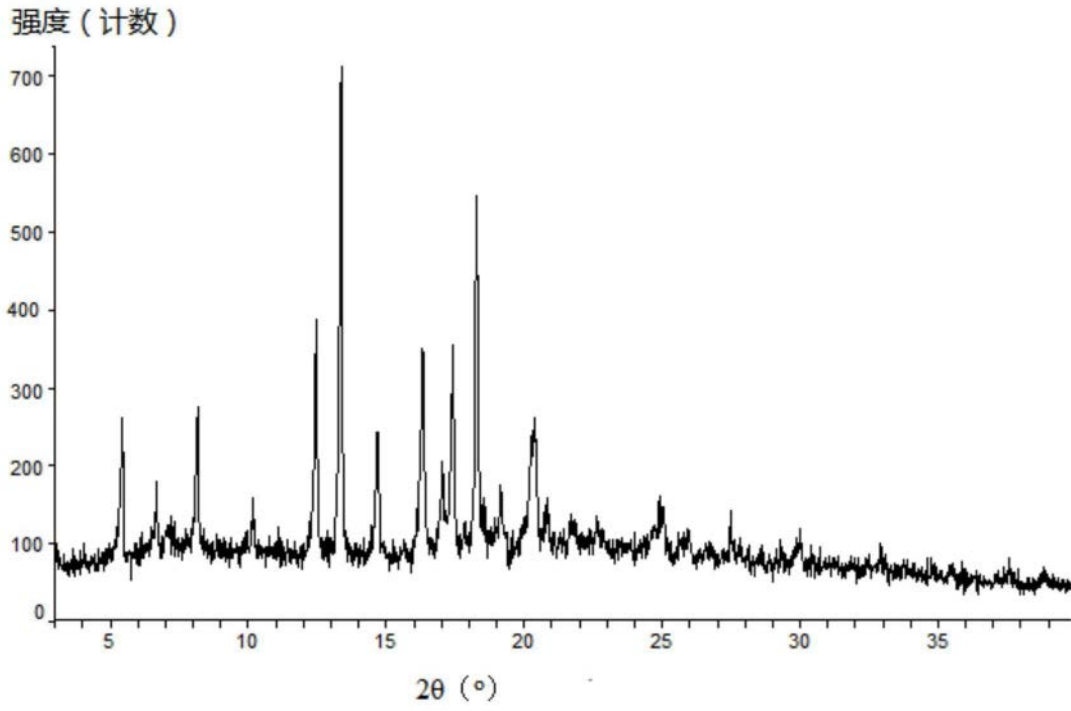


图15

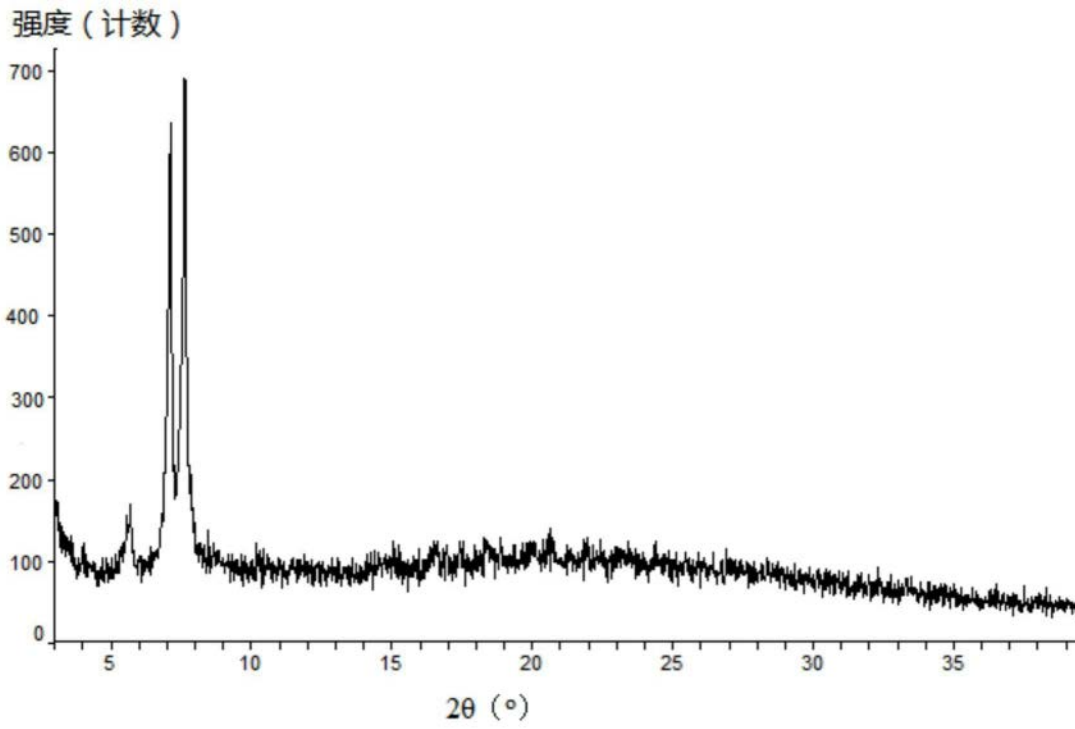


图16

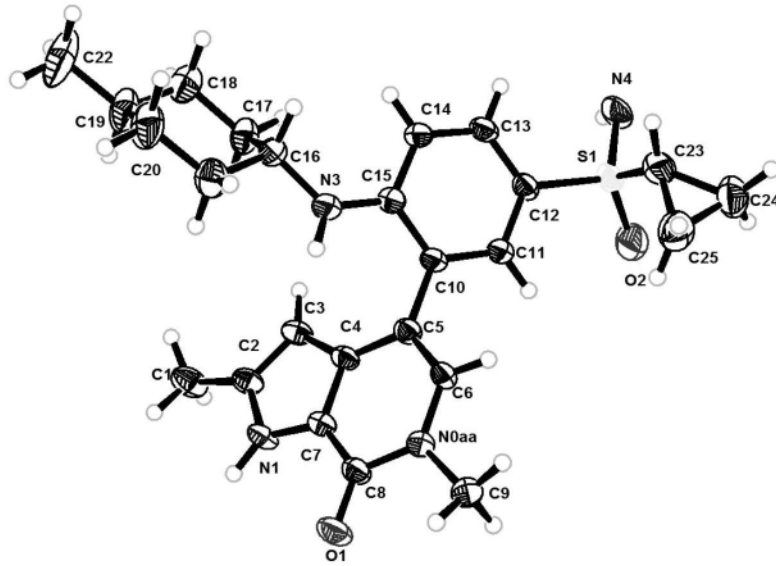


图17

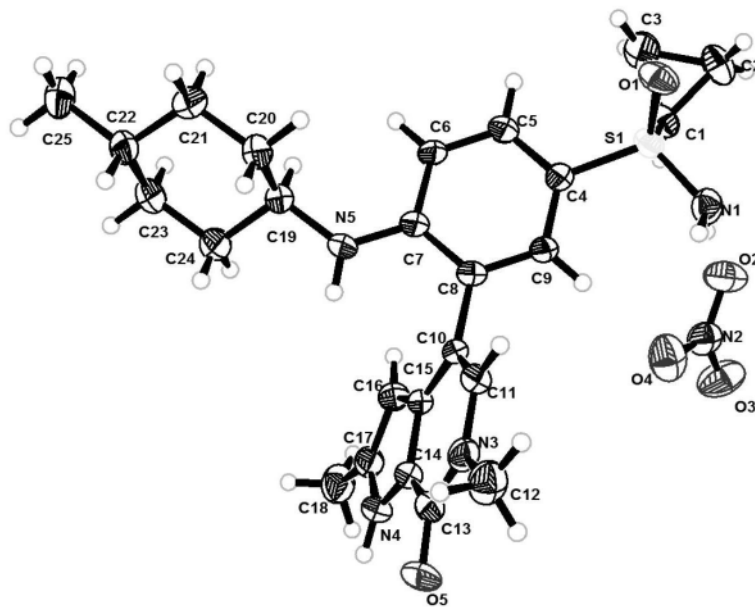


图18