

一种ENPP1抑制剂的晶型

本申请要求2023年6月15日向中国国家知识产权局提交的，专利申请号为202310706966.6，发明名称为“一种ENPP1抑制剂的晶型”的在先申请的优先权。所述申请的全文通过引用的方式结合于本申请中。

技术领域

本发明属于药物化学领域，公开了一种 ENPP1 抑制剂的晶型，还包括所述晶型在制备治疗与 ENPP1 相关疾病的药物中的应用。

背景技术

ENPP1 是一种具有核苷酸焦磷酸酶和磷酸二酯酶活性的 II 型跨膜糖蛋白，属于胞外核苷酸焦磷酸酶/磷酸二酯酶(Enpp)家族，该家族由 7 种功能不同的蛋白质组成(1-7)。ENPP1 结构具有两个 N 端 SMB 结构域(SMB1 和 SMB2)、两个连接体区域(L1 和 L2)、一个催化结构域和一个核酸酶样结构域。ENPP1 在免疫细胞中差异表达，在 NK 细胞、DC 和巨噬细胞中低水平表达，在中性粒细胞中高水平表达。ENPP1 也在一小部分 B 细胞中表达，这些细胞可能参与了 T 细胞活性的调节。ENPP1 在 M2 亚型巨噬细胞中表达升高，而 M2 亚型巨噬细胞在肿瘤促进中起作用。ENPP1 在星形细胞肿瘤、乳腺癌和头颈部肿瘤中的表达增加。ENPP1 的表达在不同的肿瘤组织之间差异很大。ENPP1 在部分肿瘤中特异性高表达，可能是肿瘤免疫逃逸和转移的驱动因素。

ENPP1 通过 STING 途径在多种刺激的免疫应答中发挥重要作用，选择性地激活肿瘤细胞和肿瘤微环境中其他细胞的 STING 信号通路，实现高选择性。ENPP1 还可催化 ATP 水解为 PPi 和 AMP，促进腺苷的生成，而腺苷有很强的免疫抑制作用。抑制 ENPP1 可以通过抑制 ATP 的水解，减少腺苷生成，解除肿瘤免疫抑制。

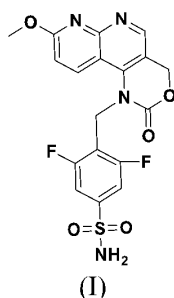
STING 激动剂无区分性地激活癌细胞和宿主细胞中的 STING，而 ENPP1 则使 STING 激活的范围更加局限于肿瘤组织及肿瘤微环境，发挥增强抗肿瘤免疫力的作用。而且 ENPP1 在转移性和染色体不稳定的肿瘤细胞中选择性上调，ENPP1 抑制剂全身给药能干扰扩散的肿瘤细胞对免疫监视的逃避能力，避开了 STING 激动剂瘤内给药的技术困难。

ENPP1 抑制剂联合放疗在动物模型上取得较好的效果，与 PD-1 等免疫检查点抑制剂及 PARP 抑制剂等多种抗肿瘤药物联用也有一定协同作用。现阶段 ENPP1 抑制剂的开发均属于临床前研发阶段，但已有多家药企发表关于 ENPP1 抑制剂的专利，如 WO2021061803A1、WO2021158829A1、WO2020190912A1、WO2019177971A1 和 WO2019046778A1。

尽管现有技术已公开了一些 ENPP1 抑制剂小分子，但目前暂未有上市临床的小分子药物，因此开发新的具有上市潜力的，具有更好药效、药代结果的化合物仍是迫切需要的。本发明设计了系列具有通式所示的新结构的化合物，并发现具有此类结构的化合物呈现出优异的效果和作用，对 ENPP1 抑制剂的开发具有积极意义。

发明内容

第一方面，本发明提供了结晶形式的式(I)化合物，



在本发明的一个优选方面，所述结晶形式的式(I)所示化合物，其为晶型 A，使用 Cu-K α 辐射，其 X 射线粉末衍射图谱在下列 2θ 角处具有衍射峰($\pm 0.2^\circ$)：24.9，25.1，25.7。

在本发明的一些方案中，上述式(I)化合物的晶型 A，使用 Cu-K α 辐射，其 X 射线粉末衍射图谱在下列 2θ 角处具有衍射峰($\pm 0.2^\circ$)：12.8，14.0，16.0，18.5，24.9，25.1，25.7。

在本发明的一些方案中，上述式(I)化合物的晶型 A，使用 Cu-K α 辐射，其 X 射线粉末衍射图谱在下列 2θ 角处具有衍射峰($\pm 0.2^\circ$)：12.8，14.0，16.0，18.5，24.9，25.1，25.7，26.9，28.5。

在本发明的一些方案中，上述式(I)化合物的晶型 A，使用 Cu-K α 辐射，其 X 射线粉末衍射图谱在下列 2θ 角处具有衍射峰($\pm 0.2^\circ$)：12.8，14.0，16.0，18.5，24.9，25.1，25.7，26.9，28.5，29.8。

在本发明的一些方案中，上述式(I)化合物的晶型 A，使用 Cu-K α 辐射，其 X 射线粉末衍射图谱在下列 2θ 角处具有衍射峰($\pm 0.2^\circ$)：12.8，14.0，16.0，17.0，18.5，20.5，24.9，25.1，25.7，26.9，28.5，29.8。

在本发明的一些方案中，上述式(I)化合物的晶型 A，使用 Cu-K α 辐射，其 XRPD 图谱如图 1 或图 7 所示。

在本发明的一些方案中，上述式(I)化合物的晶型 A，使用 Cu-K α 辐射，其 XRPD 图谱解析如表 1 或表 2 所示。

在本发明的一些方案中，上述式(I)化合物的 A 晶型，其差示扫描量热曲线在 $233.23 \pm 4^\circ\text{C}$ 处具有吸热峰。

在本发明的一些方案中，上述式(I)化合物的 A 晶型，其差示扫描量热曲线在 $234.3 \pm 4^\circ\text{C}$ 处具有放热峰。

在本发明的一些方案中，上述式(I)化合物的 A 晶型，其具有基本上如图 2 所示的差示扫描量热 (DSC) 图谱。

在本发明的一些方案中，上述式(I)化合物的 A 晶型，其热重分析曲线在约 $105\text{--}254^\circ\text{C}$ 之间失重达 $13.50 \pm 1\%$ ，例如失重达 13.5111%。

在本发明的一些方案中，上述式(I)化合物的 A 晶型，其热重分析曲线在 $254.00 \pm 3^\circ\text{C}$ 处失重达 $13.50 \pm 1\%$ ，例如失重达 13.5111%。

在本发明的一些方案中，上述式(I)化合物的 A 晶型，其具有基本上如图 3 所示的热重分析 (TGA) 图谱。

本发明还提供了式(I)化合物的晶型 B，使用 Cu-K α 辐射，其 X 射线粉末衍射图谱在下列 2θ 角处具有衍射峰($\pm 0.2^\circ$)：19.19，27.18，13.44，22.55。

在本发明的一些方案中，上述式(I)化合物的晶型 B，使用 Cu-K α 辐射，其 X 射线粉末衍射图谱在下列 2θ 角处具有衍射峰($\pm 0.2^\circ$)：26.19，20.76，4.42，22.84，19.19，27.18，13.44，22.55。

在本发明的一些方案中，上述式(I)化合物的晶型 B，使用 Cu-K α 辐射，其 XRPD 图谱如图 4 所示。

在本发明的一些方案中，上述式(I)化合物的晶型 B，使用 Cu-K α 辐射，其 XRPD 图谱解

析如表 3 所示。

在本发明的一些方案中, 上述式(I)化合物的晶型 B 为式(I)化合物的 DMF 溶剂合物。

在本发明的一些方案中, 上述式(I)化合物的晶型 B 中式(I)化合物与 DMF 溶剂比例为 1:1。

本发明还提供了式(I)化合物的晶型 C, 使用 Cu-K α 辐射, 其 X 射线粉末衍射图谱在下列 2 θ 角处具有衍射峰($\pm 0.2^\circ$): 22.11, 22.55, 20.96, 26.63。

在本发明的一些方案中, 上述式(I)化合物的晶型 C, 使用 Cu-K α 辐射, 其 X 射线粉末衍射图谱在下列 2 θ 角处具有衍射峰($\pm 0.2^\circ$): 22.11, 22.55, 20.96, 26.63, 15.01, 25.68, 26.38, 28.54, 13.22, 18.68。

在本发明的一些方案中, 上述式(I)化合物的晶型 C, 使用 Cu-K α 辐射, 其 XRPD 图谱如图 5 所示。

在本发明的一些方案中, 上述式(I)化合物的晶型 C, 使用 Cu-K α 辐射, 其 XRPD 图谱解析如表 4 所示。

在本发明的一些方案中, 上述式(I)化合物的晶型 C 为式(I)化合物的 DMSO 溶剂合物。

本发明还提供了结晶形式的式(I)化合物的晶型 D, 使用 Cu-K α 辐射, 其 X 射线粉末衍射图谱在下列 2 θ 角处具有衍射峰($\pm 0.2^\circ$): 22.71, 18.92, 22.96, 26.4, 24.44, 16.62, 13.15, 17.79, 27.12。

在本发明的一些方案中, 上述式(I)化合物的晶型 D, 使用 Cu-K α 辐射, 其 X 射线粉末衍射图谱在下列 2 θ 角处具有衍射峰($\pm 0.2^\circ$): 22.71, 18.92, 22.96, 26.4, 24.44, 16.62, 13.15, 17.79, 27.12, 24.17, 28.81, 19.95, 28.42, 24.85, 14.78, 17.36, 29.16。

在本发明的一些方案中, 上述式(I)化合物的晶型 D, 使用 Cu-K α 辐射, 其 XRPD 图谱如图 6 所示。

在本发明的一些方案中, 上述式(I)化合物的晶型 D, 使用 Cu-K α 辐射, 其 XRPD 图谱解析如表 5 所示。

在本发明的一些方案中, 上述式(I)化合物的晶型 D 为式(I)化合物的 NMP 溶剂合物。

在本发明的一些方案中, 上述式(I)化合物的晶型 D 中式(I)化合物与 NMP 溶剂比例为 1:1。

第二方面, 本申请提供了如第一方面所述的结晶形式的式(I)化合物的制备方法, 包括方法一:

将式 I 化合物加入有机溶剂 A 中溶解, 再将溶液加入到有机溶剂 B 中, 析出晶体。

所述有机溶剂 A 选自 DMF (N,N-二甲基甲酰胺), DMSO (二甲基亚砜), NMP (N-甲基吡咯烷酮) 中的一种或多种; 所述有机溶剂 B 选自水, 甲醇, 乙醇, MTBE, 甲苯, 二氯甲烷中的一种或多种。

在本发明的一些方案中, 当式(I)化合物为晶型 A 时, 所述方法一中, 有机溶剂 A 选自 DMF, 有机溶剂 B 选自水, 乙醇中的一种或两种; 或有机溶剂 A 选自 DMSO, 有机溶剂 B 选自甲苯, 甲醇中的一种或两种。

在本发明的一些方案中, 当式(I)化合物为晶型 B 时, 所述方法一中, 有机溶剂 A 选自 DMF, 有机溶剂 B 选自 MTBE 和甲苯中的一种或两种。

在本发明的一些方案中, 当式(I)化合物为晶型 D 时, 所述方法一中, 有机溶剂 A 选自 NMP, 有机溶剂 B 选自水, 二氯甲烷, MTBE 的一种或多种。

所述的结晶形式的式(I)化合物的制备方法, 包括方法二:

将式 I 化合物加入有机溶剂 C 中溶解, 再加入有机溶剂 D, 析出晶体。

所述有机溶剂 C 选自 DMF, DMSO, NMP 中的一种或多种, 所述有机溶剂 D 选自丙酮, 乙二醇甲醚, 水, 二氯甲烷, 乙酸乙酯, MTBE, 甲苯, 四氢呋喃, 二氧六环, 乙醇, 三氟乙醇, 乙腈, 乙二醇二甲醚, 异丙醇, 丁酮中的一种或多种。

在本发明的一些方案中, 当式(I)化合物为晶型 A 时, 所述方法一中, 有机溶剂 C 选自 DMF, 有机溶剂 D 选自丙酮, 乙二醇甲醚, 水, 二氯甲烷中的一种或多种; 或有机溶剂 C 选

自 DMSO, 有机溶剂 D 选自乙醇, 三氟乙醇, 乙二醇甲醚, 乙腈, 二氧六环, 乙二醇二甲醚, 丁酮中的一种或多种; 或有机溶剂 C 选自 NMP, 有机溶剂 D 选自水, 乙腈, 二氯甲烷, 乙二醇二甲醚中的一种或多种。

在本发明的一些方案中, 当式 (I) 化合物为晶型 B 时, 所述方法二中, 有机溶剂 C 选自 DMF, 有机溶剂 D 选自乙酸乙酯, MTBE, 甲苯, 四氢呋喃, 二氧六环, 丁酮中的一种或多种。

在本发明的一些方案中, 当式 (I) 化合物为晶型 C 时, 所述方法二中, 有机溶剂 C 选自 DMSO, 有机溶剂 D 选自乙酸乙酯, 水, 甲苯中的一种或多种。

在本发明的一些方案中, 当式 (I) 化合物为晶型 D 时, 所述方法二中, 有机溶剂 C 选自 NMP, 有机溶剂 D 选自异丙醇, MTBE, 甲苯, 四氢呋喃, 丁酮中的一种或多种。

所述的结晶形式的式 (I) 化合物的制备方法, 包括方法三:

将式 I 化合物加入有机溶剂 E 混悬, 打浆, 过滤后得到晶体。

所述有机溶剂 E 选自甲醇, 乙醇, 异丙醇, 乙酸乙酯, 正庚烷, MTBE, 乙二醇甲醚, 水, 乙腈, 甲苯, 二氯甲烷, 四氢呋喃, 二氧六环, 乙二醇二甲醚, 丁酮, 二甲基甲酰胺, 二甲基亚砜, N 甲基吡咯烷酮, 丙酮中的一种或多种。

在本发明的一些方案中, 当式 (I) 化合物为晶型 A 时, 所述方法三中, 有机溶剂 E 选自甲醇、乙醇、异丙醇、乙酸乙酯、正庚烷、MTBE、乙二醇甲醚、水、乙腈、甲苯、二氯甲烷、四氢呋喃、二氧六环、乙二醇二甲醚、丁酮中的一种或多种。

在本发明的一些方案中, 当式 (I) 化合物为晶型 B 时, 所述方法三中, 有机溶剂 E 选自 DMF。

在本发明的一些方案中, 当式 (I) 化合物为晶型 C 时, 所述方法三中, 有机溶剂 E 选自 DMSO。

在本发明的一些方案中, 当式 (I) 化合物为晶型 D 时, 所述方法三中, 有机溶剂 E 选自 NMP。

第三方面, 本申请提供了一种结晶组合物, 包含如第一方面所述的结晶形式的式 (I) 化合物。优选的, 所述结晶组合物中, 结晶形式的式 (I) 化合物选自晶型 A、晶型 B、晶型 C、晶型 D 中的一种或多种。

本申请的一些方案中, 所述结晶形式的式 (I) 化合物占所述结晶组合物重量的 10% 以上、20% 以上、30% 以上、40% 以上、50% 以上、60% 以上、70% 以上、80% 以上、90% 以上、91% 以上、92% 以上、93% 以上、94% 以上、95% 以上、96% 以上、97% 以上、98% 以上、99% 以上或 99.5% 以上。

优选地, 所述结晶形式的式 (I) 化合物占所述结晶组合物重量的 50% 以上、60% 以上、70% 以上、80% 以上、90% 以上、91% 以上、92% 以上、93% 以上、94% 以上、95% 以上、96% 以上、97% 以上、98% 以上、99% 以上或 99.5% 以上。

本申请的一些方案中, 所述结晶组合物, 包含式 (I) 化合物的晶型 A。

本申请的一些方案中, 所述晶型 A 占所述结晶组合物重量的 10% 以上、20% 以上、30% 以上、40% 以上、50% 以上、60% 以上、70% 以上、80% 以上、90% 以上、91% 以上、92% 以上、93% 以上、94% 以上、95% 以上、96% 以上、97% 以上、98% 以上、99% 以上或 99.5% 以上。

优选地, 所述晶型 A 占所述结晶组合物重量的 50% 以上、60% 以上、70% 以上、80% 以上、90% 以上、91% 以上、92% 以上、93% 以上、94% 以上、95% 以上、96% 以上、97% 以上、98% 以上、99% 以上或 99.5% 以上。

第三方面, 本申请提供了一种药物组合物, 包含结晶形式的式 (I) 所示化合物以及任选的药学上可接受的载体。优选的, 所述药物组合物中, 结晶形式的式 (I) 化合物选自晶型 A、晶型 B、晶型 C、晶型 D 中的一种或多种。

本申请的一些方案中，所述药物组合物，包含式(I)所示化合物的晶型A以及任选的药理学上可接受的载体。

第四方面，本申请提供了一种药物组合物，包含如第二方面所述的结晶组合物以及任选的药理学上可接受的载体。

第五方面，本申请提供了如第一方面所述的结晶形式的式(I)所示化合物、如第二方面所述的结晶组合物、或第三方面的药物组合物作为药物或在制备药物中的应用。

本申请的一些方案中，所述药物用于预防和/或治疗ENPP1介导的疾病。

本申请的一些方案中，所述药物用于预防和/或治疗癌症或肿瘤相关疾病，或者心血管疾病。

本申请的一些方案中，所述药物组合物中包含另一种、两种或多种治疗癌症或肿瘤的药物。

本申请的一些方案中，所述的药物组合物与另一种、两种或多种治疗癌症或肿瘤的药物，或治疗手段联合使用。

优选的，所述抗肿瘤药物为化疗药物、靶向治疗药物或免疫治疗药物；优选的，所述用于预防和/或治疗癌症或肿瘤的药物包括但不限于：细胞信号转导抑制剂、苯丁酸氮芥、美法仑、环磷酰胺、异环磷酰胺、白消安、卡莫司汀、洛莫司汀、链脲佐菌素、顺铂、卡铂、奥沙利铂、达卡巴嗪、替莫唑胺、丙卡巴肼、甲氨蝶呤、氟尿嘧啶、阿糖胞苷、吉西他滨、巯基嘌呤、氟达拉滨、长春碱、长春新碱、长春瑞滨、紫杉醇、多西紫杉醇、拓扑替康、伊立替康、依托泊苷、曲贝替定、更生霉素、多柔比星、表柔比星、道诺霉素、米托蒽醌、博来霉素、丝裂霉素C、伊沙匹隆、他莫昔芬、氟他胺、戈那瑞林类似物、甲地孕酮、强的松、地塞米松、甲泼尼龙、沙利度胺、干扰素 α 、亚叶酸钙、西罗莫司、西罗莫司脂化物、依维莫司、阿法替尼、alisertib、amuvatinib、阿帕替尼、阿西替尼、硼替佐米、波舒替尼、布立尼布、卡博替尼、西地尼布、crenolanib、克卓替尼、达拉菲尼、达可替尼、达努塞替、达沙替尼、多维替尼、厄洛替尼、foretinib、ganetespib、吉非替尼、依鲁替尼、埃克替尼、伊马替尼、iniparib、拉帕替尼、乐伐替尼、linifanib、linsitinib、马赛替尼、mometotinib、莫替沙尼、来那替尼、尼罗替尼、尼拉帕尼、oprozomib、奥拉帕尼、帕唑帕尼、pictilisib、普纳替尼、奎扎替尼、瑞格菲尼、rigosertib、卢卡帕尼、鲁索利替尼、塞卡替尼、saridegib、索拉非尼、舒尼替尼、替拉替尼、tivatinib、替沃扎尼、托法替尼、曲美替尼、凡德他尼、维利帕尼、威罗菲尼、维莫德吉、volasertib、阿仑单抗、贝伐单抗、贝伦妥单抗维多汀、卡妥索单抗、西妥昔单抗、地诺单抗、吉妥珠单抗、伊匹单抗、尼妥珠单抗、奥法木单抗、帕尼单抗、利妥昔单抗、托西莫单抗、曲妥珠单抗、PI3K抑制剂、CSF1R抑制剂、A2A和/或A2B受体拮抗剂、IDO抑制剂、抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体、LAG3抗体、TIM-3抗体、TIGIT抗体、CD47抗体、CLAUDIN 18.2抗体、抗CTLA-4抗体或其任意组合；优选的所述治疗手段为放疗或手术。

本申请的一些方案中，所述药物用于预防和/或治疗皮肤癌、膀胱癌、卵巢癌、乳腺癌、胃癌、胰腺癌、前列腺癌、结肠癌、肺癌、骨癌、脑癌、神经细胞瘤、直肠癌、结肠癌、家族性腺瘤性息肉性癌、遗传性非息肉性结直肠癌、食管癌、唇癌、喉癌、下咽癌、舌癌、唾液腺癌、腺癌、甲状腺髓样癌、乳头状甲状腺癌、肾癌、肾实质癌、宫颈癌、子宫体癌、子宫内膜癌、绒毛膜癌、睾丸癌、泌尿癌、黑素瘤、脑肿瘤诸如成胶质细胞瘤、星形细胞瘤、脑膜瘤、成神经管细胞瘤和外周神经外胚层肿瘤、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、伯基特淋巴瘤、白血病、急性淋巴性白血病(ALL)、慢性淋巴性白血病(CLL)、急性骨髓性白血病(AML)、慢性粒细胞白血病(CML)、成人T细胞白血病淋巴瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、肝细胞癌、胆囊癌、支气管癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌、多发性骨髓瘤、基底细胞瘤、畸胎瘤、成视网膜细胞瘤、脉络膜黑素瘤、精原细胞瘤、横纹肌肉瘤、颅咽管瘤、骨肉瘤、软骨肉瘤、肌肉瘤、脂肪肉瘤、纤维肉瘤、尤因肉瘤和浆细胞瘤。

本申请的一些方案中，所述治疗和/或预防的心血管疾病为治疗和/或预防心肌梗塞(心梗)、

心力衰竭(心衰)、心脏创伤、心脏组织异常瘢痕的形成、心肌病、心肌细胞死亡,增强心脏修复,心肌细胞中释放促炎分子。

定义和说明

除非另有说明,本文所用的下列术语和短语旨在含有下列含义。一个特定的短语或术语在没有特别定义的情况下不应该被认为是不确定的或不清楚的,而应该按照普通的含义去理解。

本申请提及的“结晶形式的式(I)所示化合物”是指呈结晶形态的式(I)所示化合物,包括式(I)所示化合物的无水且无溶剂形式、水合物形式和溶剂合物形式。所述结晶形式优选为无水且无溶剂形式或水合物形式;进一步优选为无水且无溶剂形式。

术语“溶剂化物”或“溶剂合物”是指化学计量比或非化学计量比的溶剂分子与本申请的式(I)所示化合物所形成的缔合物,包括同时含有水分子和一种或多种其它溶剂分子的缔合物,及仅含一种或多种其它溶剂分子的缔合物。

术语“水合物”是指化学计量比或非化学计量比的水分子与本申请的式(I)所示化合物所形成的缔合物。

所述“无水且无溶剂形式”是指晶胞或晶格中不含水分子或溶剂分子,或者水分子或溶剂分子以非分子间力结合的方式与式(I)所示化合物共存,例如吸附的方式。

术语“结晶组合物”指的是一种固体形式,其包含本申请提及的晶型A。而且,除了本申请的晶型以外,结晶组合物还可以任选地包含其它晶型或其它无定型形式的式(I)所示化合物或其盐,或者除了这些物质以外的杂质。本领域技术人员应当理解,结晶组合物中各成分的含量之和应当为100%。

所述“室温”为本领域常规意义上的室温温度,一般为10~30°C,优选25°C±5°C。

在X-射线粉末衍射图谱中,术语“基本上”或者“基本上如图所示”是指基本上纯净的某种晶型,其粉末X-射线衍射图谱中至少50%,或至少60%,或至少70%,或至少80%,或至少90%,或至少95%,或至少96%,或至少97%,或至少98%,或至少99%的峰出现在所给图谱中。进一步的,当产品中某种晶型的含量逐渐降低时,其X-射线粉末衍射图谱中的一些归属于该晶型的衍射峰可能会由于仪器的检测灵敏度的因素而变少。此外,对任何给定的晶型而言,峰的位置可能存在轻微误差,这在晶体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,2 θ 值的测定误差有时约为±0.3°,通常约为±0.2°。因此,在确定每种晶型结构时,应该将此误差考虑在内,术语“基本上”或者“基本上如附图所示”也意图涵盖衍射峰位中的这样的差异性,是指±0.3°,优选±0.2°,进一步优选±0.1°。

在DSC图谱中,术语“基本上”或者“基本上如图所示”是指对于同种化合物的同种晶型,在连续的分析中,热转变起始温度、吸热峰峰值温度、放热峰峰值温度、熔点等的误差典型的在约8°C,通常在约5°C,通常约在3°C之内。当描述某个化合物具有某一给定的热转变起始温度、吸热峰峰值温度、放热峰峰值温度、熔点等时,指的是该温度±5°C。

在本文使用的术语“预防”是指当用于疾病或病症(例如病毒性疾病)时,与未施用化合物或药物(例如,本申请要求保护的组合产品)的受试者相比,所述化合物或药物能降低受试者体内的医学病症症状的频率或推迟其发病。

在本文中使用的术语“治疗”是指减轻、缓解或改善疾病或病症的症状,改善潜在的代谢引起的症状,抑制疾病或症状,例如阻止疾病或病症的发展、缓解疾病或病症、引起疾病或病症的消退、缓解疾病或病症引起的病况、或阻止疾病或病症的症状。

本申请的药物组合物可以采用本领域的常规方法制备得到。

在本申请的上下文中,术语“药学上可接受的载体”或“赋形剂”或“药学上可接受的辅料”或“药用可接受的辅料”是指对有机体无明显刺激作用,而且不会损害该活性化合物的生物活

性及性能的那些辅料。术语“药用可接受的辅料”包括：溶剂、抛射剂、增溶剂、助溶剂、乳化剂、着色剂、黏合剂、崩解剂、填充剂、润滑剂、润湿剂、渗透压调节剂、稳定剂、助流剂、矫味剂、防腐剂、助悬剂、包衣材料、芳香剂、抗黏着剂、抗氧剂、螯合剂、渗透促进剂、pH 值调节剂、缓冲剂、增塑剂、表面活性剂、发泡剂、消泡剂、增稠剂、包合剂、保湿剂、吸收剂、稀释剂、絮凝剂与反絮凝剂、助滤剂、释放阻滞剂等。本领域技术人员可根据实际需要选择具体的药用可接受的辅料。有关辅料的知识是本领域技术人员众所周知的，例如可以参考《药剂学》（崔福德主编，第 5 版，人民卫生出版社，2003）。

词语“包括（comprise）”或“包含（comprise）”及其英文变体例如 comprises 或 comprising 应理解为开放的、非排他性的意义，即“包括但不限于”。

在本申请的范围中，任一特征的各种选项可以与其它特征的各种选项相互组合，从而构成许多不同的实施方案。本申请意欲包括由所有技术特征的各种选项所组成的所有可能的实施方案。

本申请的中间体化合物可以通过本领域技术人员所熟知的多种合成方法来制备，包括下面列举的具体实施方式、其与其他化学合成方法的结合所形成的实施方式以及本领域技术人员所熟知的等同替换方式，优选的实施方式包括但不限于本申请的实施例。

本申请具体实施方式的化学反应是在合适的溶剂中完成的，所述的溶剂须适合于本申请的化学变化及其所需的试剂和物料。为了获得本申请的化合物，有时需要本领域技术人员在已有实施方式的基础上对合成步骤或者反应流程进行修改或选择。

下面会通过实施例具体描述本申请，这些实施例并不意味着对本申请的任何限制。

本申请所使用的所有试剂、溶剂是市售的，无需进一步纯化即可使用。

技术效果

本发明的式(I)化合物具有较好的 PK 性质及口服生物利用度，其晶型稳定好，成药前景良好。式(I)化合物对 ENPP1 展现出较好的抑制活性；式(I)化合物药代动力学指标良好。

本发明提供的结晶形式的式(I)所示化合物，以及具体晶型，它们具有以下一种或多种有益效果：（1）结晶形式的式(I)所示化合物具有良好的性状，便于称量、转移、分离、纯化和储存；（2）结晶形式的式(I)所示化合物及具体晶型具有良好的结晶度；（3）结晶形式的式(I)所示化合物及具体晶型可操作性优良，例如，易于纯化、过滤和分离，特别是晶型 A，其制备简便，收率高；（4）优选晶型具备良好的物理稳定性和化学稳定性，特别是晶型 A，纯度高，可直接作为原料药使用，具有良好的药用前景。

1、仪器及分析方法

1.1.粉末 X-射线衍射（X-ray powder diffractometer, XRPD）

仪器型号：D8 Advance

测试条件：中国药典四部通则 0451

X-ray 发生器：铜靶

管电压：40KV

散射狭缝：0.6mm

探测器狭缝：10.5mm

防散射狭缝：2.5°

扫描范围：3-50°

步径：0.1s/step

步长：0.02°

1.2.差热分析（Differential Scanning Calorimeter, DSC）

仪器型号：DSC 3

测试条件：起始温度 30 °C，以 10 °C/min 的升温速率加热至 300 °C；吹扫气流速：50ml/min；

干燥气流速：150ml/min；吹扫气体：N₂；坩埚：铝坩埚。

- 1.3.热重分析（Thermal Gravimetric Analyzer, TGA）
仪器型号：TGA 2
测试条件：起始温度 30 °C，以 10 °C/min 的升温速率加热至 350 °C；天平保护气流速：20ml/min；反应气流速：50ml/min；吹扫气体：N₂；坩埚：氧化铝坩埚。
- 1.4.动态气体吸附仪（DVS）
仪器型号：DVS Intrinsic
测试方法：25°C 0%RH-90%RH-0%RH；参考中国药典四部通则 0103
平衡 dm/dt: 0.002
RH（%）测量梯度：10%一个台阶
RH（%）测量梯度范围：0%~90%
引湿性特征描述与引湿性增重的界定：

引湿性特征	增重比例
极具引湿性	引湿增重不小于 15%
有引湿性	引湿增重小于 15%但不小于 2%
略有引湿性	引湿增重小于 2%但不小于 0.2%
无或几乎无引湿性	引湿增重小于 0.2%

- 1.5 水和生物介质中的晶型稳定性测试
生物介质的配制过程如下表所示。晶型样品加入生物介质和水中在 37 ° C 恒温震荡 24 h，分别于 1 h、4 h 和 24 h 取样，将取样的溶液用 0.22 μm 水系滤膜过滤，对部分浓度较高的样品用稀释剂进行适当稀释，用 HPLC 测量溶液的信号峰面积，最后根据峰面积、原料的 HPLC 标准曲线和稀释倍数计算溶液中化合物的浓度。此外，取不同时间点样品测试其 pH 值，对剩余固体进行 XRPD 测试。
- | 生物介质 | 配制过程 |
|--------|---|
| FaSSIF | 称取 1.04255g FaSSIF 溶液浓缩液，加适量纯水稀释，加入 56.23 mg FaSSIF/FeSSIF/FaSSGF 粉末，用纯水定容至 25 ml。pH 为 6.5。 |
| FeSSIF | 称取 2.03528 g FeSSIF 溶液浓缩液，加适量纯水稀释，加入 280.36 mg FaSSIF/FeSSIF/FaSSGF 粉末，用纯水定容至 25 mL。pH 为 5.0。 |
| FaSSGF | 称取 3.6782 g FaSSGF 溶液浓缩液，加适量纯水稀释，加入 6.02 mg FaSSIF/FeSSIF/FaSSGF 粉末，用纯水定容至 100 mL。pH 为 1.6。 |
- 备注：FaSSIF：模拟人类餐前饥饿状态下小肠内的肠液；FeSSIF：模拟人类餐后饱食状态下小肠内的肠液；FaSSGF：模拟人类饥饿状态下空胃时的胃液。

附图说明：

图 1 为实施例 2 制备的式(I)化合物晶型 A 的 XRPD 图谱。

图 2 为式(I)化合物的 A 晶型 DSC 图谱。

图 3 为式(I)化合物的 A 晶型 TGA 图谱。

图 4 为实施例 4 制备的式(I)化合物晶型 B 的 XRPD 图谱。

图 5 为实施例 5 制备的式(I)化合物晶型 C 的 XRPD 图谱。

图 6 为实施例 6 制备的式(I)化合物晶型 D 的 XRPD 图谱。

图 7 为实施例 3 制备的式(I)化合物的晶型 A 的 XRPD 图谱。

图 8 为式(I)化合物小鼠急性心肌缺血模型心脏功能指标及体重变化，A)小鼠左心室射血分数； B)小鼠左心室短轴缩短率； C)小鼠体重变化；

图 9 为式(I)化合物小鼠急性心肌缺血模型心肌纤维化变化，D)小鼠心脏组织 Masson 染色病理切片； E)小鼠心肌纤维化程度；

图 10 为式(I)化合物大鼠急性心肌缺血模型心脏功能指标及体重变化，a) 大鼠左心室短轴缩短率； b)大鼠左心室射血分数； c)大鼠体重变化；

图 11 为式(I)化合物大鼠急性心肌缺血模型心肌纤维化变化, d)大鼠心脏组织 Masson 染色病理切片; e)大鼠心肌纤维化程度;

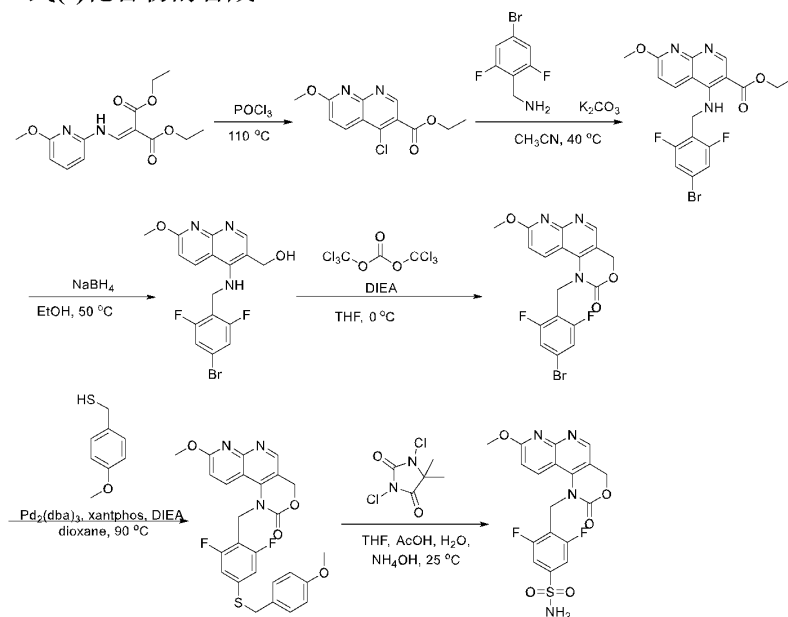
图 12 为晶型 A 稳定性实验前后 XRPD 图谱对比。

注: 图示中出现的“化合物 1”即式(I)化合物。

具体实施方式

为了更好的理解本发明的内容, 下面结合具体实施例来做进一步的说明, 但具体的实施方式并不是对本发明的内容所作的限制。

实施例 1 式(I)化合物的合成



第一步: 4-氯-7-甲氧基-1,8-二氮杂萘-3-羧酸乙酯的制备

将 2-(((6-甲氧基吡啶-2-基)氨基)亚甲基)丙二酸 1,3-二乙基酯(12 g, 22.7 mmol, 1 eq.)溶于三氯氧磷(60 mL), 反应在氮气保护下 110°C 搅拌反应 4 小时。LCMS 监测反应结束, 将溶剂减压蒸馏除去, 所得残渣用乙酸乙酯(60 mL)溶清, 加入水(20 mL)迅速清洗, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液旋干。得到的粗产品用快速色谱法分离纯化(Silica gel, DCM:EA = 1:1)得到目标化合物(1.5 g, 收率 12%)。LCMS (ESI) $[M+H]^+ = 266.0$ 。

第二步: 4-((4-溴-2,6-二氟苯基)氨基)-7-甲氧基-1,8-二氮杂萘-3-羧酸乙酯的制备

将 4-氯-7-甲氧基-1,8-二氮杂萘-3-羧酸乙酯(3.0 g, 18.75 mmol, 1 eq.)溶于乙腈(80 mL), 然后加入碳酸钾(5.2 g, 37.5 mmol, 2.0 eq.), (4-溴-2,6-二氟苯基)胺(4.37 g, 19.69 mmol, 1.05 eq.), 反应在氮气保护下在 40°C 进行 20 小时。LCMS 监测反应完成, 将反应液浓缩, 用乙酸乙酯稀释, 水洗后, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液旋干。得到的粗产品用快速色谱法分离纯化(Silica gel, DCM:EA = 4:1)得到目标化合物(3.5 g, 收率 69.2%)。LCMS (ESI) $[M+H]^+ = 452.0$ 。

第三步: (4-((4-溴-2,6-二氟苯基)氨基)-7-甲氧基-1,8-二氮杂萘-3-基)甲醇的制备

将 4-((4-溴-2,6-二氟苯基)氨基)-7-甲氧基-1,8-二氮杂萘-3-羧酸乙酯(120 mg, 22.7 mmol, 1 eq.)溶于乙醇(10 mL), 缓慢加入硼氢化钠(134 mg, 5 eq.), 反应在氮气保护下 50°C 搅拌反应 16 小时。LCMS 监测反应结束, 将溶剂旋干, 所得残渣用饱和氯化钠溶液(5 mL)淬灭反应, 加入乙酸乙酯(10 mL)萃取, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液旋干。得到的粗产品用快

速色谱法分离纯化(Silica gel, DCM:MeOH = 2:1)得到目标化合物(120 mg, 收率 38%)。LCMS (ESI) $[M+H]^+ = 410.0$; 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.43 (s, 1H), 8.35 (d, J = 9.2 Hz, 1H), 7.09 (d, J = 6.8 Hz, 2H), 6.90 (d, J = 9.2 Hz, 1H), 4.75 (s, 2H), 4.69 (s, 2H), 4.12 (s, 3H).

第四步: 1-(4-溴-2,6-二氟苯基)-8-甲氧基-1,4-二氢-2H-[1,3]噁嗪并[5,4-c][1,8]二氮杂萘-2-酮的制备

将(4-((4-溴-2,6-二氟苯基)氨基)-7-甲氧基-1,8-二氮杂萘-3-基)甲醇(300 mg, 0.73 mmol, 1 eq.)溶于二氯甲烷(15 mL)中, 加入 N,N-二异丙基乙胺(473 mg, 3.66 mmol, 5 eq.)和三光气(651 mg, 2.19 mmol, 3 eq.), 在 0℃下反应 2 小时。

LCMS 监测反应完全。将反应液用水洗涤, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液旋干。得到的粗产品用快速硅胶柱层析(Silica gel, MeOH:DCM = 5: 95)分离纯化, 得到目标化合物(250 mg, 收率 78.51%)。LCMS (ESI) $[M+H]^+ = 436.0$.

第五步: 1-(2,6-二氟-4-((4-甲氧基苄基)硫基)苯基)-8-甲氧基-1,4-二氢-2H-[1,3]噁嗪并[5,4-c][1,8]二氮杂萘-2-酮的制备

将 1-(4-溴-2,6-二氟苯基)-8-甲氧基-1,4-二氢-2H-[1,3]噁嗪并[5,4-c][1,8]二氮杂萘-2-酮(200 mg, 0.46 mmol, 1 eq.)溶于二氧杂环己烷(10 mL)中, 加入(4-甲氧基苄基)甲硫醇(141 mg, 0.92 mmol, 2 eq.), [5-(二苯基膦基)-9,9-二甲基-9H-黄原-4-基]二苯基膦(53 mg, 0.09 mmol, 0.2 eq.), 三(1,5-二苯基五-1,4-二烯-3-酮)二钼(84 mg, 0.09 mmol, 0.2 eq.)和 N,N-二异丙基乙胺(178 mg, 1.38 mmol, 3 eq.). 在 90℃下反应 2 小时, LCMS 监测反应完全。将反应液浓缩旋干后, 用快速硅胶柱层析(Silica gel, MeOH:DCM = 5: 95)分离纯化, 得到目标化合物(110 mg, 收率 47.09%)。LCMS (ESI) $[M+H]^+ = 510.1$.

第六步: 3,5-二氟-4-((8-甲氧基-2-氧代-2H-[1,3]噁嗪并[5,4-c][1,8]二氮杂萘-1(4H)-基)甲基)苯磺酰胺的制备

将 1-(2,6-二氟-4-((4-甲氧基苄基)硫基)苯基)-8-甲氧基-1,4-二氢-2H-[1,3]噁嗪并[5,4-c][1,8]二氮杂萘-2-酮(100 mg, 0.2 mmol, 1.0 eq.), 乙酸(83 mg, 1.37 mmol, 7.0 eq.), 水(50 mg, 2.75 mmol, 14.0 eq.)溶于四氢呋喃(15 mL)中, 在 0℃加入二氯海因(116 mg, 0.59 mmol, 3 eq.), 混合液于 25℃反应 1 小时。加入氨水(0.5 mL)后于 25℃反应 10 分钟。LCMS 监测原料反应完全。反应液浓缩后经制备 HPLC 纯化得到目标化合物(14.6 mg, 收率 17.05%)。LCMS (ESI) $[M+H]^+ = 437.1$; 1H NMR (400MHz, $MeOD-d_4$) δ 8.71 (s, 1H), 8.59 (d, J = 9.2 Hz, 1H), 7.46 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 7.13 (d, J = 9.6 Hz, 1H), 5.57 (s, 2H), 5.30 (s, 2H), 4.12 (s, 3H).

实施例 2 式(I)化合物 A 晶型的制备

向反应瓶中依次加实施例 1 制备的式(I)化合物 (100mg) 和二甲基亚砜 (0.3mL), 缓慢加热溶清, 80℃下将其缓慢加入到水 (1 mL) 中。缓慢降温至室温后搅拌一小时, 过滤, 用适量水洗滤饼, 滤饼在 65℃下减压干燥得式(I)化合物 A 晶型。

表 1 式(I)化合物的 A 晶型 XRPD 图谱解析数据

编号	2θ 角 (°)	面间距 (Å)	相对强度 (%)	编号	2θ 角 (°)	面间距 (Å)	相对强度 (%)
1	12.763	6.93059	14.5	7	24.851	3.57990	100
2	13.957	6.34010	8.4	8	25.072	3.54894	79.2
3	15.995	5.53658	5.9	9	25.718	3.46127	63.8
4	16.971	5.22022	1.8	10	26.904	3.31126	11.6
5	18.481	4.79708	8.1	11	28.488	3.13064	8.9
6	20.480	4.33298	4.2	12	29.819	2.99386	8.3

实施例 3 式(I)化合物 A 晶型的制备

向反应瓶中加入实施例 1 制备的式(I)化合物 (100mg)，再加入丙酮 (1mL)，室温后搅拌 24 小时混悬打浆；过滤，滤饼在 45℃ 下减压干燥得式(I)化合物 A 晶型。

表 2 式(I)化合物的 A 晶型 XRPD 图谱解析数据

编号	2θ 角 (°)	面间距 (Å)	相对强度 (%)	编号	2θ 角 (°)	面间距 (Å)	相对强度 (%)
1	12.775	6.92376	20.1	7	24.871	3.57719	100
2	13.969	6.33445	14.0	8	25.087	3.54685	87.2
3	16.010	5.53149	33.4	9	25.731	3.45948	77.4
4	16.984	5.21628	10.8	10	26.858	3.31685	22.4
5	18.495	4.79344	42.1	11	28.503	3.12906	20.5
6	20.471	4.33504	10.6	12	29.830	2.99282	22.7

实施例 4 式(I)化合物 B 晶型的制备

称取 260mg 样品，室温下溶于 10mL 的 DMF 中，取 0.8mL 溶液，滴加甲基叔丁基醚约 8mL。室温搅拌一定时间后将有固体析出的体系离心分离后，并将固体室温真空干燥得到晶型 B。

表 3 式(I)化合物的 B 晶型 XRPD 图谱解析数据

编号	2θ 角 (°)	面间距 (Å)	相对强度 (%)	编号	2θ 角 (°)	面间距 (Å)	相对强度 (%)
1	4.42	19.99571	12.2	7	22.84	3.96834	15.6
2	8.91	9.94855	8.8	8	24.65	3.69362	11.1
3	13.44	6.62975	38.6	9	26.19	3.49104	11.4
4	19.19	4.68691	17.1	10	26.91	3.40442	8.9
5	20.76	4.34553	11.5	11	27.18	3.37289	28.3
6	22.55	4.01691	100	12	27.99	3.28216	11.3

实施例 5 式(I)化合物 C 晶型的制备

称取 260mg 样品，室温下溶于 4mL 的 DMSO 中，取 0.3mL 溶液，滴加甲苯约 3mL。室温搅拌一定时间后将有固体析出的体系离心分离后，并将固体室温真空干燥得到晶型 C。

表 4 式(I)化合物的 C 晶型 XRPD 图谱解析数据

编号	2θ 角 (°)	面间距 (Å)	相对强度 (%)	编号	2θ 角 (°)	面间距 (Å)	相对强度 (%)
1	3.78	23.38464	52.2	7	22.11	4.09394	100
2	4.36	20.26257	37.6	8	22.55	4.01691	53.6
3	13.22	6.73499	25	9	25.68	3.55493	27.1
4	15.01	5.94803	27.6	10	26.38	3.46714	27
5	18.68	4.80896	24	11	26.63	3.43662	30
6	20.96	4.30702	35.3	12	28.54	3.22469	26.2

实施例 6 式(I)化合物 D 晶型的制备

称取 260mg 样品，室温下溶于 10mL 的 NMP 中，取 0.8mL 溶液，滴加甲基叔丁基醚约 8mL。室温搅拌一定时间后将有固体析出的体系离心分离后，并将固体室温真空干燥得到晶型 D。

表 5 式(I)化合物的 D 晶型 XRPD 图谱解析数据

编号	2θ 角 (°)	面间距 (Å)	相对强度 (%)	编号	2θ 角 (°)	面间距 (Å)	相对强度 (%)
1	4.54	19.48264	47.6	14	22.71	3.99084	100
2	10.87	8.1683	27.2	15	22.96	3.94927	73
3	11.92	7.45824	20.6	16	23.37	3.88406	21
4	13.15	6.77411	54.9	17	24.17	3.76329	48
5	13.55	6.57377	23.3	18	24.44	3.72392	66.6
6	14.78	6.03976	32.2	19	24.85	3.66654	35.1
7	16.62	5.38486	66.4	20	25.66	3.55744	25.5
8	17.36	5.16242	31.6	21	26.4	3.46477	70.1
9	17.79	5.04222	53.3	22	27.12	3.37959	52
10	18.1	4.95842	29.4	23	28.42	3.23681	38.7
11	18.92	4.75181	77.9	24	28.81	3.19681	44.5
12	19.95	4.51567	40.2	25	29.16	3.16176	30.7
13	20.4	4.42077	26.1				

测试例 1 晶型的吸湿性研究
实验仪器：DVS Intrinsic
实验方法：取实施例 2 制备的式化合物(I)的晶型 A 25-35mg 置于 DVS 样品盘内进行测试。
实验结论：式化合物(I)的晶型 A 图谱在 25℃，80%湿度时增重 ΔW=0.4461%，略有引湿性。DVS 测试后晶型未发生变化。

测试例 2：固体稳定性研究
称取实施例 2 制备的式化合物(I)的晶型 A 样品 20mg 于小瓶中，在高温（60℃）、长期（25℃/60%RH）和加速（40 ℃/75 %RH）条件下分别敞口放置 7 天，取样品分别进行纯度检测 and X-射线粉末衍射，考察实施例 2（晶型 A）在不同条件下的稳定性，结果见表 6 和图 12。

表 6 固体稳定性实验结果

初始样品	条件	纯度	XRPD（7 天）
实施例 2（晶型 A）	0 天	98%	
	高温（60℃）-7d	98.02%	不变
	25 ℃ /60%RH-7d	98.11%	不变
	40 ℃ /75%RH -7d	98.17%	不变

数据表明：实施例 2（晶型 A）在固体稳定性试验中均能保持化学稳定和晶型稳定。

测试例 3：式(I)化合物晶型 A 在生物溶媒介质中的稳定性测试
取实施例 2（晶型 A）样品在 3 种生物介质(FaSSIF、FeSSIF 和 FaSSGF)和水中进行生物溶媒介质中的稳定性测试，取 24h 后剩余样品进行 X-射线粉末衍射，结果见表 7：

表 7 生物溶媒介质中的稳定性测试

实施例	初始晶型	介质	初始 pH	剩 余 固 体 XRPD
实施例 2	晶型 A	水	-	不变
		FaSSIF	6.5	不变
		FeSSIF	5.0	不变
		FaSSGF	1.6	不变

数据表明：实施例 2（晶型 A）在生物溶媒介质中均能保持晶型稳定。

测试例 4 体外 ENPP1 酶学抑制测试

ENPP1 是一种能够水解核苷酸和具有核苷酸-5'-单磷酸结构衍生物的跨膜糖蛋白。ENPP1 能够将人工合成的 5'-单磷酸对硝基苯基酯(TMP-pNP)水解成核苷酸'-单磷酸和对硝基苯酚，而对硝基苯酚为显色产物。对硝基苯酚产物的生成量可通过其在 405 nm 处的吸光度直接测定，该与酶活性成正比。

实验步骤

用 DMSO 配制 100x 连续梯度稀释的化合物，1 mM 起始，4 倍连续梯度稀释，10 个浓度点。用 Echo 转移 300 nL 梯度浓度的化合物至 384 孔检测板(终浓度为 10 μM 起始，4 倍连续梯度稀释，10 个浓度点)，每孔中先加入 15 μL 用实验缓冲液(250 mM NaCl, 50 mM Tris, pH 9.5)配制的 0.2 ng/μL hENPP1 酶(2x 终浓度)。然后加入 15 μL 用实验缓冲液配制的 400 μM TMP-pNP(2x 终浓度)，37℃孵育 0.5 小时后，酶标仪 OD405nm 读值。公式计算百分抑制率：%抑制率=(OD 高信号对照-OD 样品 孔)/(OD 高信号对照-OD 低信号对照)*100，进行四参数拟合计算 IC50 值，高信号对照：无抑制剂 DMSO 组，低信号对照：空白对照组。实施例 1 制备的式（I）化合物的数据在表 8 中示出。

表 8 ENPP1 酶抑制活性

化合物编号	IC ₅₀ (nM)
式（I）化合物	0.05

测试例 5：应用 LC-MS/MS 测定小鼠中化合物浓度的药代动力学试验

测试原理：使用 LC-MS/MS 测定目标药物在不同时间下血浆中的药物浓度，绘制出目标化合物在体内的药代动力曲线。

试验方法：DMSO 溶解待测化合物(实施例 1 制备的式(I)化合物)，配制为终浓度 20mg/mL 的储备液，使用含 5%DMSO (Sigma-Aldrich, SHBJ2847)，45%PEG400(Sigma-Aldrich, BCCC0015)及 50% dd H₂O 的溶剂将上述化合物溶解为 1mg/mL。小鼠来源为 CD-1 male (JH Laboratory Animal Co. LTD)，每组化合物取 9 只小鼠，10mg/kg PO 给药，分别于 0.25hr、0.5hr、1hr、2hr、4hr、8hr 和 24hr 交叉采血，每个时间采样 3 个，采全血 110μL（K2EDTA 抗凝），立刻将样本进行 2000g 4℃离心 5 分钟，收集血清，-70℃保存。使用 Triple-quadrupole MS system (SCIEX)进行血药浓度测定，包括标曲和质控制备和样品制备。标曲和质控配制：用 MeOH:H₂O（1:1）稀释配制工作液，在 57μL 空白血浆中加入上述 3μL 标曲和质控工作溶液。样本制备：取 30 μL 血浆样品中加入 200 μL 内标溶液（Propranolol, 40 ng/mL），混匀 1 分钟，5800rpm 离心 10 分钟，取 100μL 上清并转移至新板中进行样分析。色谱条件根据样品优化各自的流动相组成、洗脱梯度条件、流速和保留时间等，色谱柱为 Waters BEH C18(2.1×50 mm, 1.7μm)，进样体积 1μL。质谱采用电喷雾离子源（TuREo spray），在正离子检测模式下，选择多通道反应监测（MRM）模式进行二级质谱分析。根据药物浓度-时间数据，采用 WinNonlin 8.2 软件按非房室模型计算药动力学参数，包括达峰浓度 C_{max}、达峰时间 T_{max}、药-时曲线下面积 AUC、消除半衰期 t_{1/2}。AUC 计算方式为线性梯形法（linear up log down）。

表 9 药代动力学参数如下：

	IV, 2mpk				PO, 10mpk				
化合物编号	T _{1/2} , h	AUC _{0-24h} , h*ng/mL	CL, L/h/kg	Vss, L/kg	T _{1/2} , h	C _{max} , ng/mL	T _{max} , h	AUC _{0-24h} , h*ng/mL	F%

式 (I) 化合物	5.35	10021	0.192	1.08	3.5	8080	2	47811	92.6
--------------	------	-------	-------	------	-----	------	---	-------	------

试验结果表明本发明式 (I) 化合物有良好的体内药代动力学, 具有成药潜质。

测试例 6: 式 (I) 化合物在小鼠胰腺癌 Pan02 模型中的药效学评价

1、实验目的: 评价受试药在小鼠胰腺癌 Pan02 细胞皮下同种移植肿瘤模型上的体内药效。

2、试验方法:

2.1 细胞培养: 小鼠胰腺癌 Pan02 细胞体外单层培养, 培养条件为 DMEM 培养基中加 10% 胎牛血清, 0.01mg/ml insulinsulin, 1%青霉素/链霉素/两性霉素 B, 37 °C 5%CO₂ 孵箱培养。当细胞饱和度为 80%-90%, 数量到达要求时, 收取细胞, 计数, 接种。

2.2 动物: C57BL/6 小鼠, 雌性, 6-8 周龄, 体重 18-22 克。由上海西普尔-必凯实验动物有限公司或其他供应商提供。

2.3 肿瘤接种及动物分组给药: 将 0.1 mL (5×10⁶ 个) Pan02 细胞皮下接种于每只小鼠的右后背, 肿瘤平均体积达到约 100-200 mm³ 时开始分组给药。给药前称重动物, 测量瘤体积。根据瘤体积随机分组, 每组 8 只, 对照组给予溶媒: 5%DMSO+45%PEG400+ 50%H₂O(1%CMC-Na), 实验组剂量 20mg/kg, 给予口服灌胃给药, 给药容积根据小鼠体重 10 μl/g, 每天两次。每日观察动物健康状况, 若瘤体积超过 3,000 mm³, 或有严重疾病, 或疼痛, 体重降低大于 20 %, 持续恶化, 须处以安乐死。

2.4 肿瘤生长抑制率: 每周两次用游标卡尺测量肿瘤直径。肿瘤体积的计算公式为: $V = 0.5a \times b^2$, a 和 b 分别表示肿瘤的长径和短径。化合物的抑瘤疗效 TGI(%)=[(1- (处理组给药后平均瘤体积 - 该处理组开始给药时平均瘤体积))/(溶剂对照组处理前平均瘤体积 - 溶剂对照组处理后平均瘤体积)]×100%。数据分析采用 T 检验用于两组间比较, $p < 0.05$ 认为有显著性差异。

3、实验结果:

本发明实施例 1 制备的式 (I) 化合物在小鼠胰腺癌 Pan02 模型显示出的活性。本发明的式 (I) 化合物给药 16 天, 能显著抑制肿瘤的生长, TGI 为 43.4%, 与对照组有显著统计学差异 ($p < 0.05$), 且对小鼠体重没有抑制, 安全性较好。结晶形式的式(I)化合物 (如式(I)化合物晶型 A) 具有基本相同的药效。

测试例 7: 化合物在小鼠心肌缺血模型中的药效学评价

1. 实验目的

本研究目的是在 C57 BL/6 小鼠心肌缺血模型中评价化合物的药效。

2. 试验方法

动物到达设施适应一周后, 术前一天根据动物体重分成4组, 假手术组 (Sham) 6只, 模型组 (MI) 8只动物, 第二天接受心肌缺血手术造模 (Sham组小鼠仅开胸穿线, 不进行结扎), 采用结扎左冠状动脉前降支 (LAD) 方法造模, 造模后给予青霉素 (20,000单位/小鼠i.m) 治疗3天, 消毒以防止感染。

术前 1 小时各组动物分别给予对应化合物。对照组 (Vehicle) 给予溶媒: 5%DMSO+45%PEG400+ 50%H₂O(1%CMC-Na), 实验组剂量分别为4mg/kg和20mg/kg, 给予口服灌胃给药, 每天两次, 连续给药28天。给药后每日监测动物体重, 第1天、第7天和第28天测量心脏超声影像学指标。心超评价主要指标为左室短轴缩短分数 (FS) 和左室射血分数 (LVEF)。第28天心超测量结束后, 采集心脏组织于组织固定液中用于Masson 三色染色病理分析。

3. 实验结果

本发明所示实施例1的化合物(I)在小鼠心梗模型中显示出较好的心脏功能改善活性。本发

明的式 (I) 化合物在造模前一天预给药后,对心脏功能具有保护作用。如图5所示,第1天,4 mpk和20 mpk与模型溶媒对照组比,能将小鼠左心室射血分数LVEF分别提高15%,10%(图A)和左心室短轴缩短率FS分别提高7%,5%(图B)。第7天,能将小鼠左心室射血分数LVEF分别提高23.4%,23.3%和左心室短轴缩短率FS分别提高12.2%,12.3%。第28天,模型溶媒对照组LVEF和FS进一步恶化,化合物(I)能进一步维持小鼠的左室LVEF和FS,且对体重无明显影响(图C)。统计显著性采用双因素方差分析/单因素方差分析/t检验分析, $p < 0.05$ 认为有显著性差异。

本发明所示实施例1的式(I)化合物对心肌梗死小鼠心肌纤维化显示出改善作用。如图6所示,图D为小鼠心脏组织Masson染色病理切片的电镜图。图E为小鼠心脏组织纤维化程度统计结果。如图所示,假手术组,小鼠红色心肌纤维排列整齐,蓝色胶原纤维少见。MI模型对照组,心肌细胞坏死,心肌组织结构紊乱,梗死区可见大面积蓝色胶原纤维。式(I)化合物给药组小鼠心肌组织结构有一定程度改善,梗死区红色心肌细胞与蓝色胶原交互分布,胶原纤维明显减少,表明式(I)化合物在28天给药可减轻MI后心肌纤维化程度,且与模型溶媒对照组比,能将纤维化程度分别降低8.8%和9.6%(图E)。式(I)化合物晶型A具有基本相同的药效。

测试例8: 化合物在大鼠心肌缺血模型中的药效学评价

1. 实验目的: 本研究目的是在SD大鼠心肌缺血模型中评价化合物的药效。

2. 试验方法

动物到达设施适应一周后,采用结扎左冠状动脉前降支(LAD)方法造模,造模后给予青霉素(80,000单位/大鼠i.m)治疗3天,消毒以防止感染。

模型建立一天后,将成模的动物按基线体重和心脏超声影像学指标随机分为4组,假手术组(Sham)每组4只动物,心梗模型组(MI)每组6只动物,开始给药。对照组给予空白溶媒Vehicle: 5%DMSO+45%PEG400+50%H₂O(1%CMC-Na),实验组剂量分别为30mg/kg和75mg/kg,给予口服灌胃给药,每天两次,连续给药28天,给药后每日监测动物体重,第7天和第28天测量心脏超声影像学指标。心超评价主要指标为左室短轴缩短分数(FS)和左室射血分数(LVEF)。第28天心超测量结束后,采集心脏组织于组织固定液中用于Masson三色染色病理分析。

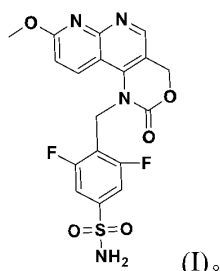
3. 实验结果

本发明实施例1制备的式(I)化合物在大鼠心梗模型显示出较好的心脏功能改善活性(图7a、b)。本发明的式(I)化合物,给药第7天,能显著提高大鼠左心室射血分数LVEF和左心室短轴缩短指数FS,30mpk和75mpk组将LVEF分别提高了11.43%,18.85%和左心室短轴缩短率FS分别提高了9.73%,12.62%。第28天,30mpk和75mpk剂量组能将LVEF分别提高了18.75%,23.8%和左心室短轴缩短率FS分别提高了13.01%,15.88%。而且呈现出剂量依赖性趋势且对体重无明显影响(图c)。统计显著性采用t检验分析, $p < 0.05$ 认为有显著性差异。

本发明实施例1制备的式(I)化合物对心肌梗死大鼠心肌纤维化显示出改善作用。如图d为大鼠心脏组织Masson染色病理切片的电镜图。图e为大鼠心脏组织纤维化程度统计结果。如图8所示,假手术组,大鼠红色心肌纤维排列整齐,蓝色胶原纤维少见。MI模型对照组,心肌细胞坏死,心肌组织结构紊乱,梗死区可见大面积蓝色胶原纤维。式(I)化合物给药组大鼠心肌组织结构有一定程度改善,梗死区红色心肌细胞与蓝色胶原交互分布,胶原纤维明显减少,表明式(I)化合物在28天给药可减轻MI后心肌纤维化程度,且与模型溶媒对照组比,能将纤维化程度分别降低5.2%和6.5%(图c)。式(I)化合物晶型A具有基本相同的药效。

权 利 要 求

1. 结晶形式的式 (I) 所示化合物,



2. 根据权利要求 1 所述的结晶形式的式 (I) 所示化合物, 其特征在于, 所述的结晶形式的式 (I) 所示化合物为晶型 A, 使用 Cu-K α 辐射, 其 X-射线粉末衍射图谱包含在下列 2 θ 角处的衍射峰 ($\pm 0.2^\circ$): 24.9, 25.1, 25.7;

或者, 使用 Cu-K α 辐射, 其 X-射线粉末衍射图谱包含在下列 2 θ 角处的衍射峰 ($\pm 0.2^\circ$): 12.8, 14.0, 16.0, 18.5, 24.9, 25.1, 25.7;

或者, 使用 Cu-K α 辐射, 其 X-射线粉末衍射图谱包含在下列 2 θ 角处的衍射峰 ($\pm 0.2^\circ$): 12.8, 14.0, 16.0, 18.5, 24.9, 25.1, 25.7, 26.9, 28.5;

或者, 使用 Cu-K α 辐射, 其 X-射线粉末衍射图谱包含在下列 2 θ 角处的衍射峰 ($\pm 0.2^\circ$): 12.8, 14.0, 16.0, 18.5, 24.9, 25.1, 25.7, 26.9, 28.5, 29.8;

或者, 使用 Cu-K α 辐射, 其 X-射线粉末衍射图谱包含在下列 2 θ 角处的衍射峰 ($\pm 0.2^\circ$): 12.8, 14.0, 16.0, 17.0, 18.5, 20.5, 24.9, 25.1, 25.7, 26.9, 28.5, 29.8;

或者, 其具有基本上如图 1 或图 7 所示的 X-射线粉末衍射图谱

或者, 使用 Cu-K α 辐射, 其 XRPD 图谱解析如表 1 或表 2 所示;

或者, 其差示扫描量热曲线在 $233.23 \pm 4^\circ\text{C}$ 处具有吸热峰;

或者, 其差示扫描量热曲线在 $234.3 \pm 4^\circ\text{C}$ 处具有放热峰;

或者, 其具有基本上如图 2 所示的差示扫描量热 (DSC) 图谱。

或者, 其热重分析曲线在约 $105\text{-}254^\circ\text{C}$ 之间失重达 $13.50 \pm 1\%$, 例如失重达 13.5111% 。

或者, 其热重分析曲线在 $254.00 \pm 3^\circ\text{C}$ 处失重达 $13.50 \pm 1\%$, 例如失重达 13.5111% 。

或者, 上述式 (I) 化合物的 A 晶型, 其具有基本上如图 3 所示的热重分析 (TGA) 图谱。

或者, 所述的结晶形式的式 (I) 所示化合物为晶型 B, 使用 Cu-K α 辐射, 其 X 射线粉末衍射图谱在下列 2 θ 角处具有衍射峰 ($\pm 0.2^\circ$): 19.19, 27.18, 13.44, 22.55 ;

或者, 所述晶型 B, 使用 Cu-K α 辐射, 其 X 射线粉末衍射图谱在下列 2 θ 角处具有衍射峰 ($\pm 0.2^\circ$): 26.19, 20.76, 4.42, 22.84, 19.19, 27.18, 13.44, 22.55;

或者, 所述晶型 B, 使用 Cu-K α 辐射, 其 XRPD 图谱如图 4 所示;

或者, 所述晶型 B, 使用 Cu-K α 辐射, 其 XRPD 图谱解析如表 3 所示;

或者, 所述晶型 B 为式 (I) 化合物的 DMF 溶剂合物;

或者, 所述的结晶形式的式 (I) 所示化合物为晶型 C, 使用 Cu-K α 辐射, 其 X 射线粉末衍射图谱在下列 2 θ 角处具有衍射峰 ($\pm 0.2^\circ$): 22.11, 22.55, 20.96, 26.63;

或者, 所述晶型 C, 使用 Cu-K α 辐射, 其 X 射线粉末衍射图谱在下列 2 θ 角处具有衍射峰 ($\pm 0.2^\circ$): 22.11, 22.55, 20.96, 26.63, 15.01, 25.68, 26.38, 28.54, 13.22, 18.68;

或者, 所述晶型 C, 使用 Cu-K α 辐射, 其 XRPD 图谱如图 5 所示;

或者, 所述晶型 C, 使用 Cu-K α 辐射, 其 XRPD 图谱解析如表 4 所示;

或者, 所述晶型 C 为式 (I) 化合物的 DMSO 溶剂合物;

或者, 所述的结晶形式的式 (I) 所示化合物为晶型 C, 使用 Cu-K α 辐射, 其 X 射线粉末衍射图谱在下列 2 θ 角处具有衍射峰 ($\pm 0.2^\circ$): 22.71, 18.92, 22.96, 26.4, 24.44, 16.62, 13.15,

17.79, 27.12;

或者, 所述晶型 D, 使用 Cu-K α 辐射, 其 X 射线粉末衍射图谱在下列 2 θ 角处具有衍射峰($\pm 0.2^\circ$): 22.71, 18.92, 22.96, 26.4, 24.44, 16.62, 13.15, 17.79, 27.12, 24.17, 28.81, 19.95, 28.42, 24.85, 14.78, 17.36, 29.16;

或者, 所述晶型 D, 使用 Cu-K α 辐射, 其 XRPD 图谱如图 6 所示;

或者, 所述晶型 D, 使用 Cu-K α 辐射, 其 XRPD 图谱解析如表 5 所示;

或者, 所述晶型 D 为式(I)化合物的 NMP 溶剂合物。

3. 根据权利要求 1 或 2 所述结晶形式的式 (I) 化合物的制备方法, 包括方法一:

将式 I 化合物加入有机溶剂 A 中溶解, 再将溶液加入到有机溶剂 B 中, 析出晶体。

所述有机溶剂 A 选自 DMF (N,N-二甲基甲酰胺), DMSO (二甲基亚砜), NMP (N-甲基吡咯烷酮) 中的一种或多种; 所述有机溶剂 B 选自水, 甲醇, 乙醇, MTBE, 甲苯, 二氯甲烷中的一种或多种;

在本发明的一些方案中, 当式 (I) 化合物为晶型 A 时, 所述方法一中, 有机溶剂 A 选自 DMF, 有机溶剂 B 选自水, 乙醇中的一种或两种; 或有机溶剂 A 选自 DMSO, 有机溶剂 B 选自甲苯, 甲醇中的一种或两种;

在本发明的一些方案中, 当式 (I) 化合物为晶型 B 时, 所述方法一中, 有机溶剂 A 选自 DMF, 有机溶剂 B 选自 MTBE 和甲苯中的一种或两种;

在本发明的一些方案中, 当式 (I) 化合物为晶型 D 时, 所述方法一中, 有机溶剂 A 选自 NMP, 有机溶剂 B 选自水, 二氯甲烷, MTBE 的一种或多种;

或包括方法二:

将式 I 化合物加入有机溶剂 C 中溶解, 再加入有机溶剂 D, 析出晶体;

所述有机溶剂 C 选自 DMF, DMSO, NMP 中的一种或多种, 所述有机溶剂 D 选自丙酮, 乙二醇甲醚, 水, 二氯甲烷, 乙酸乙酯, MTBE, 甲苯, 四氢呋喃, 二氧六环, 乙醇, 三氟乙醇, 乙腈, 乙二醇二甲醚, 异丙醇, 丁酮中的一种或多种;

优选的, 当式 (I) 化合物为晶型 A 时, 所述方法二中, 有机溶剂 C 选自 DMF, 有机溶剂 D 选自丙酮, 乙二醇甲醚, 水, 二氯甲烷中的一种或多种; 或有机溶剂 C 选自 DMSO, 有机溶剂 D 选自乙醇, 三氟乙醇, 乙二醇甲醚, 乙腈, 二氧六环, 乙二醇二甲醚, 丁酮中的一种或多种; 或有机溶剂 C 选自 NMP, 有机溶剂 D 选自水、乙腈、二氯甲烷、乙二醇二甲醚中的一种或多种;

优选的, 当式 (I) 化合物为晶型 B 时, 所述方法二中, 有机溶剂 C 选自 DMF, 有机溶剂 D 选自乙酸乙酯, MTBE, 甲苯, 四氢呋喃, 二氧六环, 丁酮中的一种或多种;

优选的, 当式 (I) 化合物为晶型 C 时, 所述方法二中, 有机溶剂 C 选自 DMSO, 有机溶剂 D 选自乙酸乙酯, 水, 甲苯中的一种或多种;

优选的, 当式 (I) 化合物为晶型 D 时, 所述方法二中, 有机溶剂 C 选自 NMP, 有机溶剂 D 选自异丙醇, MTBE, 甲苯, 四氢呋喃, 丁酮中的一种或多种;

或包括方法三:

将式 I 化合物加入有机溶剂 E 混悬, 打浆, 过滤后得到晶体;

所述有机溶剂 E 选自甲醇, 乙醇, 异丙醇, 乙酸乙酯, 正庚烷, MTBE, 乙二醇甲醚, 水, 乙腈, 甲苯, 二氯甲烷, 四氢呋喃, 二氧六环, 乙二醇二甲醚, 丁酮, 二甲基甲酰胺, 二甲基亚砜, N 甲基吡咯烷酮, 丙酮中的一种或多种;

优选的, 当式 (I) 化合物为晶型 A 时, 所述方法三中, 有机溶剂 E 选自甲醇、乙醇、异丙醇、乙酸乙酯、正庚烷、MTBE、乙二醇甲醚、水、乙腈、甲苯、二氯甲烷、四氢呋喃、二氧六环、乙二醇二甲醚、丁酮中的一种或多种;

优选的, 当式 (I) 化合物为晶型 B 时, 所述方法三中, 有机溶剂 E 选自 DMF;

优选的，当式(I)化合物为晶型C时，所述方法三中，有机溶剂E选自DMSO；
优选的，当式(I)化合物为晶型D时，所述方法三中，有机溶剂E选自NMP。

4. 一种结晶组合物，包含根据权利要求1-3中任一项所述的结晶形式的式(I)所示化合物；优选的，所述结晶组合物中，结晶形式的式(I)化合物选自晶型A、晶型B、晶型C、晶型D中的一种或多种；

优选的，所述结晶形式的式(I)化合物占所述结晶组合物重量的10%以上、20%以上、30%以上、40%以上、50%以上、60%以上、70%以上、80%以上、90%以上、91%以上、92%以上、93%以上、94%以上、95%以上、96%以上、97%以上、98%以上、99%以上或99.5%以上；

优选地，所述结晶形式的式(I)化合物占所述结晶组合物重量的50%以上、60%以上、70%以上、80%以上、90%以上、91%以上、92%以上、93%以上、94%以上、95%以上、96%以上、97%以上、98%以上、99%以上或99.5%以上。

5. 一种药物组合物，包含权利要求1或2所述的结晶形式的式(I)所示化合物或如权利要求4所述的结晶组合物，以及任选的药学上可接受的载体。

6. 根据权利要求5所述的药物组合物，其包含另一种、两种或多种治疗癌症或肿瘤的药物。

7. 根据权利要求1或2所述的结晶形式的式(I)所示化合物、权利要求4所述的结晶组合物、权利要求5或6中所述的药物组合物作为药物或在制备药物中的应用，所述药物用于预防和/或治疗ENPP1介导的疾病。

8. 根据权利要求1或2所述的结晶形式的式(I)所示化合物、权利要求4所述的结晶组合物、权利要求5或6中所述的药物组合物作为药物或在制备药物中的应用，所述药物用于预防和/或治疗癌症或肿瘤相关疾病，或者心血管疾病；

优选的，权利要求1或2所述的结晶形式的式(I)所示化合物、权利要求4所述的结晶组合物、权利要求5或6中所述的药物组合物与另一种、两种或多种治疗癌症或肿瘤的药物，或治疗手段联合使用。

9. 根据权利要求6所述的药物组合物或权利要求8所述的应用，其中，所述抗肿瘤药物为化疗药物、靶向治疗药物或免疫治疗药物；

优选的，所述用于预防和/或治疗癌症或肿瘤的药物选自：细胞信号转导抑制剂、苯丁酸氮芥、美法仑、环磷酰胺、异环磷酰胺、白消安、卡莫司汀、洛莫司汀、链脲佐菌素、顺铂、卡铂、奥沙利铂、达卡巴嗪、替莫唑胺、丙卡巴肼、甲氨蝶呤、氟尿嘧啶、阿糖胞苷、吉西他滨、巯基嘌呤、氟达拉滨、长春碱、长春新碱、长春瑞滨、紫杉醇、多西紫杉醇、拓扑替康、伊立替康、依托泊苷、曲贝替定、更生霉素、多柔比星、表柔比星、道诺霉素、米托蒽醌、博来霉素、丝裂霉素C、伊沙匹隆、他莫昔芬、氟他胺、戈那瑞林类似物、甲地孕酮、强的松、地塞米松、甲泼尼龙、沙利度胺、干扰素 α 、亚叶酸钙、西罗莫司、西罗莫司脂化物、依维莫司、阿法替尼、alisertib、amuvatinib、阿帕替尼、阿西替尼、硼替佐米、波舒替尼、布立尼布、卡博替尼、西地尼布、crenolanib、克卓替尼、达拉菲尼、达可替尼、达努塞替、达沙替尼、多维替尼、厄洛替尼、foretinib、ganetespib、吉非替尼、依鲁替尼、埃克替尼、伊马替尼、iniparib、拉帕替尼、乐伐替尼、linifanib、linsitinib、马赛替尼、mometotinib、莫替沙尼、来那替尼、尼罗替尼、尼拉帕尼、oprozomib、奥拉帕尼、帕唑帕

尼、pictilisib、普纳替尼、奎扎替尼、瑞格菲尼、rigosertib、卢卡帕尼、鲁索利替尼、塞卡替尼、saridegib、索拉非尼、舒尼替尼、替拉替尼、tivantinib、替沃扎尼、托法替尼、曲美替尼、凡德他尼、维利帕尼、威罗菲尼、维莫德吉、volasertib、阿仑单抗、贝伐单抗、贝伦妥单抗维多汀、卡妥索单抗、西妥昔单抗、地诺单抗、吉妥珠单抗、伊匹单抗、尼妥珠单抗、奥法木单抗、帕尼单抗、利妥昔单抗、托西莫单抗、曲妥珠单抗、PI3K 抑制剂、CSF1R 抑制剂、A2A 和/或 A2B 受体拮抗剂、IDO 抑制剂、抗 PD-1 抗体、抗 PD-L1 抗体、LAG3 抗体、TIM-3 抗体、TIGIT 抗体，CD47 抗体，CLAUDIN 18.2 抗体、抗 CTLA-4 抗体或其任意组合；优选的，所述治疗手段为放疗或手术。

10 根据权利要求 8 所述的应用，其特征在于，所述癌症或肿瘤选自皮肤癌、膀胱癌、卵巢癌、乳腺癌、胃癌、胰腺癌、前列腺癌、结肠癌、肺癌、骨癌、脑癌、神经细胞瘤、直肠癌、结肠癌、家族性腺瘤性息肉性癌、遗传性非息肉性结直肠癌、食管癌、唇癌、喉癌、下咽癌、舌癌、唾液腺癌、腺癌、甲状腺髓样癌、乳头状甲状腺癌、肾癌、肾实质癌、宫颈癌、子宫体癌、子宫内膜癌、绒毛膜癌、睾丸癌、泌尿癌、黑素瘤、脑肿瘤诸如成胶质细胞瘤、星形细胞瘤、脑膜瘤、成神经管细胞瘤和外周神经外胚层肿瘤、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、伯基特淋巴瘤、白血病、急性淋巴性白血病(ALL)、慢性淋巴性白血病(CLL)、急性骨髓性白血病(AML)、慢性粒细胞白血病(CML)、成人 T 细胞白血病淋巴瘤、弥漫性大 B 细胞淋巴瘤(DLBCL)、肝细胞癌、胆囊癌、支气管癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌、多发性骨髓瘤、基底细胞瘤、畸胎瘤、成视网膜细胞瘤、脉络膜黑素瘤、精原细胞瘤、横纹肌肉瘤、颅咽管瘤、骨肉瘤、软骨肉瘤、肌肉瘤、脂肪肉瘤、纤维肉瘤、尤因肉瘤和浆细胞瘤；

所述心血管疾病选自心肌梗塞(心梗)、心力衰竭(心衰)、心脏创伤、心脏组织异常瘢痕的形成、心肌病、心肌细胞死亡，增强心脏修复，心肌细胞中释放促炎分子。