

一种三嗪二酮类衍生物的晶型及制备方法

技术领域

本公开属于制药领域，涉及一种三嗪二酮类衍生物的晶型，具体的，涉及(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮的晶型及其制备方法。

背景技术

肥厚型心肌病（HCM）是一种与基因突变相关的显性遗传性心肌疾病。全球发病率约为0.2%，是导致35岁以下年轻人猝死的最重要原因（Tuohy, CV. et al., Eur J Heart Fail, 22, 2020, 228-240）。临床上表现出来的特征为左室壁呈不对称性肥厚，常侵及室间隔，心室内腔变小，左心室血液充盈受阻，心室舒张期顺应性下降。根据左心室流出道有无梗阻分为梗阻性及非梗阻性肥厚型心肌病。现临床上对于肥厚型心肌病的治疗多采用 β -阻断剂和钙离子通道阻断剂来降低心脏收缩，缓解症状。但这些治疗都是治标不治本。HCM进展到晚期只能进行心脏移植（Ramaraj, R. Cardiol Rev, 16, 2008, 172-180）。因而找到一种针对HCM发病根源的治疗方法非常迫切。

现有研究发现70%的HCM病人都是由于肌节蛋白基因突变导致的。其中5-7%的病人中发现多个位点突变。现已确定约70多个致病突变，但这些突变大多都具有家族特异性，仅有少数几个热点被确定，例如MYH7 R403Q和R453C突变（Frey, N. et al., Nat Rev Cardiol, 9, 2011, 91-100; Sabater-Molina, M. et al., Clin Genet, 93, 2018, 3-14）。针对基因突变致病机率的研究发现MYH7基因突变病人约占30%。相比较于其他肌节蛋白基因，MYH7会导致疾病早发以及更严重的心肌肥大。肌球蛋白是肌原纤维粗肌丝的组成单位，在肌肉运动中起重要作用。其分子形状如豆芽状，由两条重链和多条轻链构成。肌球蛋白头部与肌动蛋白结合形成横桥，使肌球蛋白的ATP酶活性大大提高，催化ATP水解反应，产生能量促使横桥滑动，进行肌肉收缩。研究结果表明MYH7基因突变会导致肌球蛋白ATP酶活性升高，肌球蛋白super-relaxed state（SRX）比例降低，肌球蛋白和肌动蛋白间的横桥增加，从而导致心脏收缩功能异常（Green, EM. et al., Science, 351, 2016, 617-621; Sommese, RF. et al., Proc Natl Acad Sci U S A, 110, 2013, 12607-12612）。因此肌球蛋白是治疗肥厚型心肌病的重要靶点。

申请号为WO2022105852的申请中提供了一系列三嗪二酮类衍生物并进行了结构表征，其中包括(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮。另外，该申请还对(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮进行了生物学评价，结果显示化合物对肌球蛋白ATPase酶具有很好的抑制作用。

药用活性成分的晶型结构往往影响到药物的化学稳定性，结晶条件及储存条件的不同有可能导致化合物的晶型结构的变化，有时还会伴随着产生其他形态的晶型。一般来说，无定型的药物产品没有规则的晶型结构，往往具有其它缺陷，比如产物稳定性较差，析晶较细，

过滤较难，易结块，流动性差等。因此，改善上述产物的各方面性质是很有必要的，我们需要深入研究找到晶型纯度较高并且具备良好物化稳定性的晶型。

发明内容

5 本公开提供了一种肌球蛋白抑制剂(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮的晶型及其制备方法和应用。

本公开提供一种(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮的晶体形式。

一些实施方案中，本公开提供一种(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮的A晶型，以衍射角 2θ 角度表示的 X-射线粉末衍射图谱，
10 在 9.2、10.9、18.6、20.1、22.0、26.9 处有特征峰；可选地，在 9.2、10.9、13.3、16.9、18.6、19.2、20.1、22.0、26.9、35.6 处有特征峰；可选地，在 9.2、10.9、13.3、16.9、18.6、19.2、20.1、20.6、22.0、26.9、28.0、35.6 处有特征峰。

一些实施方案中，本公开提供一种(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮的A晶型，以衍射角 2θ 角度表示的 X-射线粉末衍射图谱，
15 在 9.2、10.9、18.5、20.1、22.0、26.9 处有特征峰；可选地，在 9.2、10.9、13.3、16.8、18.5、19.1、20.1、22.0、26.9、35.5 处有特征峰；可选地，在 9.2、10.9、13.3、16.8、18.5、19.1、20.1、20.6、22.0、26.9、27.9、35.5 处有特征峰。

一些实施方案中，本公开提供一种(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮的B晶型，以衍射角 2θ 角度表示的 X-射线粉末衍射图谱，
20 在 11.1、15.9、18.8、20.4、22.2、26.8 处有特征峰；可选地，在 6.6、9.5、11.1、15.9、18.8、20.4、21.0、22.2、26.8 处有特征峰；可选地，在 6.6、9.5、11.1、13.3、14.0、15.9、18.8、19.0、19.8、20.4、21.0、22.2、26.8、28.0 处有特征峰。

一些实施方案中，本公开提供一种(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮的C晶型，以衍射角 2θ 角度表示的 X-射线粉末衍射图谱，
25 在 8.3、14.4、16.8、17.8、19.3、22.3、23.1 处有特征峰。

一些实施方案中，本公开提供一种(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮的D晶型，以衍射角 2θ 角度表示的 X-射线粉末衍射图谱，
30 在 7.8、8.7、9.7、13.5、14.0、22.9 处有特征峰；可选地，在 7.8、8.7、9.7、13.5、14.0、16.7、19.6、20.2、22.9 处有特征峰；可选地，在 7.8、8.7、9.7、13.5、14.0、15.5、16.7、17.5、19.6、20.2、22.9、23.9 处有特征峰。

一些实施方案中，本公开提供一种(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮的E晶型，以衍射角 2θ 角度表示的 X-射线粉末衍射图谱，
35 在 6.9、9.3、14.2、17.1、18.0、25.0 处有特征峰；可选地，在 6.9、9.3、13.5、14.2、17.1、18.0、22.4、23.2、25.0 处有特征峰；可选地，在 6.9、9.3、13.5、14.2、16.1、17.1、18.0、21.1、22.4、23.2、23.8、25.0 处有特征峰。

可选的实施方案中，本公开提供的式(I)所示化合物的晶型，其中，所述 2θ 角度的误差

范围为 ± 0.2 。

本公开提供一种(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮A晶型的制备方法，选自如下任一方法，

方法一：

- 5 (a) 将化合物(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮与溶剂(1)混合，搅拌溶解或加热溶解，溶剂(1)选自7%水/乙醇、四氢呋喃、10%水/异丙醇、10%水/丙酮、甲醇、乙醇、10%水/甲醇中的至少一种，

(b) 析晶；

或，方法二：

- 10 (a) 将化合物(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮与溶剂(2)混合，搅拌溶解或加热溶解，溶剂(2)选自10%水/丙酮，二氯甲烷

(b) 加入溶剂(3)，析晶，溶剂(3)选自水、甲醇、乙醇中的至少一种；

或，方法三：

- 15 (a) 将化合物(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮与溶剂(4)混合，溶剂(4)选自水、甲醇、乙醇、异丙醇、丙酮、乙酸乙酯、乙腈、乙酸异丙酯、甲基叔丁基醚、甲基异丁基酮、正庚烷、环己烷、1,4-二氧六环、10%水/甲醇、7%水/乙醇中的至少一种，

(b) 打浆，析晶。

- 20 本公开提供一种(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮B晶型的制备方法，选自如下任一方法，

方法一：

(a) 将化合物(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮与溶剂(5)混合，搅拌溶解或加热溶解，溶剂(5)选自乙醇，

- 25 (b) 析晶；

或，方法二：

(a) 将化合物(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮与溶剂(6)混合，搅拌溶解或加热溶解，溶剂(6)选自二氯甲烷，

- 30 (b) 加入溶剂(7)，析晶，溶剂(7)选自乙酸乙酯、丙酮、乙腈、甲基异丁基酮中的至少一种。

本公开提供一种(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮C晶型的制备方法，所述包括：

(a) 将化合物(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮与溶剂(9)混合，搅拌溶解或加热溶解，溶剂(9)选自二氯甲烷，

- 35 (b) 加入溶剂(10)，析晶，溶剂(10)选自乙酸异丙酯。

本公开提供一种(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪

-2,4(1H,3H)-二酮D晶型的制备方法,所述包括:

(a) 将化合物(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮与溶剂(11)混合,溶剂(11)选自二氯甲烷,

(b) 加入溶剂(12)打浆,析晶,溶剂(12)选自甲基叔丁基醚。

5 本公开提供一种(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮E晶型的制备方法,所述包括:

(a) 将化合物(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮与溶剂(13)混合,溶剂(13)选自二氯甲烷,

(b) 加入溶剂(14)打浆,析晶,溶剂(14)选自正庚烷。

10 在某些实施方案中,本公开所述的晶型的制备方法还包括过滤、洗涤或干燥步骤中的一步或多步。

本公开还提供了由前述(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮的晶型制备得到的药物组合物。

本公开还提供了一种药物组合物,含前述(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮的晶型或其混合物,或由前述方法制备得到的
15 (S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮的晶型,和任选自药学上可接受的赋形剂。

本公开还提供了一种药物组合物的制备方法,包括将前述(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮的晶型或其混合物,或由前述方法制
20 备得到的(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮的晶型与药学上可接受的赋形剂混合的步骤。

本公开还提供了(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮的晶型或其混合物,或由前述方法制备得到的晶型或其混合物,或前述组
25 合物,或由前述方法制备得到的组合物在制备治疗与肌球蛋白调节有关的疾病或病症的药物中的用途。

本公开还提供了(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮的晶型或其混合物,或由前述方法制备得到的晶型或其混合物,或前述组
合物,或由前述方法制备得到的组合物在制备用于治疗疾病或病症的药物中的用途,所述疾病
或病症选自射血分数保留的舒张性心力衰竭、缺血性心脏病、心绞痛、限制型心肌病、舒张
30 功能障碍、肥厚型心肌病(HCM)、非梗阻性肥厚型心肌病(nHCM)、梗阻性肥厚型心肌病(oHCM)、瓣膜疾病、正常射血分数心力衰竭(HFpEF)、射血分数中间值心衰(HFmREF)、
主动脉瓣狭窄、炎性心肌病、勒夫勒心内膜炎、心肌心内膜纤维化、浸润性心肌病、血色素
沉着症、法布瑞氏症、糖原贮积病、先天性心脏病、法洛四联症、左心室肥厚、难治性心绞
痛和恰加斯病;可选地,选自缺血性心脏病、限制型心肌病、肥厚型心肌病(HCM)、非梗
35 阻性肥厚性心肌病(nHCM)、梗阻性肥厚型心肌病(oHCM)、炎性心肌病、浸润性心肌病、
先天性心脏病和左心室肥厚;可选地,所述疾病或病症为肥厚型心肌病(HCM)。

本公开所述的“ 2θ 或 2θ 角度”是指衍射角， θ 为布拉格角，单位为 $^{\circ}$ 或度；每个特征峰 2θ 的误差范围为 ± 0.20 （包括超过 1 位小数的数字经过四舍五入后的情况），具体为 -0.20 、 -0.19 、 -0.18 、 -0.17 、 -0.16 、 -0.15 、 -0.14 、 -0.13 、 -0.12 、 -0.11 、 -0.10 、 -0.09 、 -0.08 、 -0.07 、 -0.06 、 -0.05 、 -0.04 、 -0.03 、 -0.02 、 -0.01 、 0.00 、 0.01 、 0.02 、 0.03 、 0.04 、 0.05 、 0.06 、 0.07 、 0.08 、
5 0.09 、 0.10 、 0.11 、 0.12 、 0.13 、 0.14 、 0.15 、 0.16 、 0.17 、 0.18 、 0.19 、 0.20 。

本公开所述的“结晶析出”或“析晶”包括但不限于搅拌结晶、打浆结晶、冷却结晶和挥发结晶。

本公开中所述的“差示扫描量热分析或 DSC”是指在样品升温或恒温过程中，测量样品与参考物之间的温度差、热流差，以表征所有与热效应有关的物理变化和化学变化，得到样品
10 的相变信息。

本公开中所述的“药学上可接受的赋形剂”包括但不限于任何已经被美国食品和药物管理局批准对于人类或家畜动物使用可接受的任何助剂、载体、助流剂、甜味剂、稀释剂、防腐剂、染料/着色剂、增香剂、表面活性剂、润湿剂、分散剂、助悬剂、稳定剂、等渗剂或乳化剂。
15

附图说明

图 1 为(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮无定形XRD谱图。

图 2 为(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮A晶型XRD谱图。
20

图 3 为(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮B晶型XRD谱图。

图 4 为(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮C晶型XRD谱图。

图 5 为(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮D晶型XRD谱图。
25

图 6 为(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮E晶型XRD谱图。

具体实施方式

30

通过以下实施例和实验例进一步详细说明本公开。这些实施例和实验例仅用于说明性目的，而并不用于限制本公开的范围。

实验所用仪器的测试条件：

化合物的结构是通过核磁共振(NMR)或/和质谱(MS)来确定的。NMR位移(δ)以 10^{-6} (ppm) 的单位给出。NMR的测定是用Bruker AVANCE-400 核磁仪，测定溶剂为氘代二甲基亚砷(DMSO- d_6)、氘代氯仿($CDCl_3$)、氘代甲醇(CD_3OD)，内标为四甲基硅烷(TMS)。
35

MS的测定用Agilent 1200 /1290 DAD-6110/6120 Quadrupole MS液质联用仪(生产商: Agilent, MS型号: 6110/6120 Quadrupole MS)、waters ACQuity UPLC-QD/SQD(生产商: waters, MS型号: waters ACQuity Qda Detector/waters SQ Detector)、THERMO Ultimate 3000-Q Exactive (生产商: THERMO, MS型号: THERMO Q Exactive)。

- 5 高效液相色谱法 (HPLC) 分析使用Agilent HPLC 1200DAD、Agilent HPLC 1200VWD和 Waters HPLC e2695-2489 高压液相色谱仪。

手性HPLC分析测定使用Agilent 1260 DAD高效液相色谱仪。

高效液相制备使用 Waters 2767、Waters 2767-SQ Detecor2、Shimadzu LC-20AP 和 Gilson-281 制备型色谱仪。

- 10 手性制备使用Shimadzu LC-20AP制备型色谱仪。

CombiFlash快速制备仪使用CombiFlash Rf200 (TELEDYNE ISCO)。

薄层层析硅胶板使用烟台黄海HSGF254 或青岛GF254 硅胶板, 薄层色谱法(TLC)使用的硅胶板采用的规格是 0.15 mm~0.2 mm, 薄层层析分离纯化产品采用的规格是 0.4 mm~0.5 mm。

- 15 硅胶柱色谱法一般使用烟台黄海硅胶 200~300 目硅胶为载体。

本公开的已知的起始原料可以采用或按照本领域已知的方法来合成, 或可购买自ABCR GmbH & Co. KG, Acros Organics, Aldrich Chemical Company, 韶远化学科技(Accela ChemBio Inc)、达瑞化学品等公司。

实施例中无特殊说明, 反应能够均在氩气氛或氮气氛下进行。

- 20 氩气氛或氮气氛是指反应瓶连接一个约 1L容积的氩气或氮气气球。

氢气氛是指反应瓶连接一个约 1L容积的氢气气球。

加压氢化反应使用Parr 3916EKX型氢化仪和清蓝QL-500 型氢气发生器或HC2-SS型氢化仪。

氢化反应通常抽真空, 充入氢气, 反复操作 3 次。

- 25 微波反应使用CEM Discover-S 908860 型微波反应器。

实施例中无特殊说明, 溶液是指水溶液。

实施例中无特殊说明, 反应的温度为室温, 为 20°C~30°C。

实施例中的反应进程的监测采用薄层色谱法(TLC), 反应所使用的展开剂, 纯化化合物采用的柱层析的洗脱剂的体系和薄层色谱法的展开剂体系包括: A: 正己烷/乙酸乙酯体系, B: 二氯甲烷/甲醇体系, 溶剂的体积比根据化合物的极性不同而进行调节, 也可以加入少量的三乙胺和醋酸等碱性或酸性试剂进行调节。

- 30 实施例中的化合物含有两个或更多个手性中心时, 这些化合物的相对立体化学是通过 NMR研究和/或X-射线衍射鉴定的。在这些情况中, 使用前缀“rel”、随后使用R/S命名法鉴定这些化合物, 此时的R/S仅提供相对立体化学信息(例如反式或顺式), 不表示绝对立体化学。

- 35 XRPD 为 X 射线粉末衍射检测: 测定使用 BRUKER D8 型 X 射线衍射仪进行, 具体采集信息: Cu 阳极(40 kV, 40 mA), 射线: 单色 Cu-K α 射线($\lambda=1.5418\text{\AA}$)。扫描方式: $\theta/2\theta$, 扫描范围(2θ 范围): 5~50° (或 3~48°)。

。

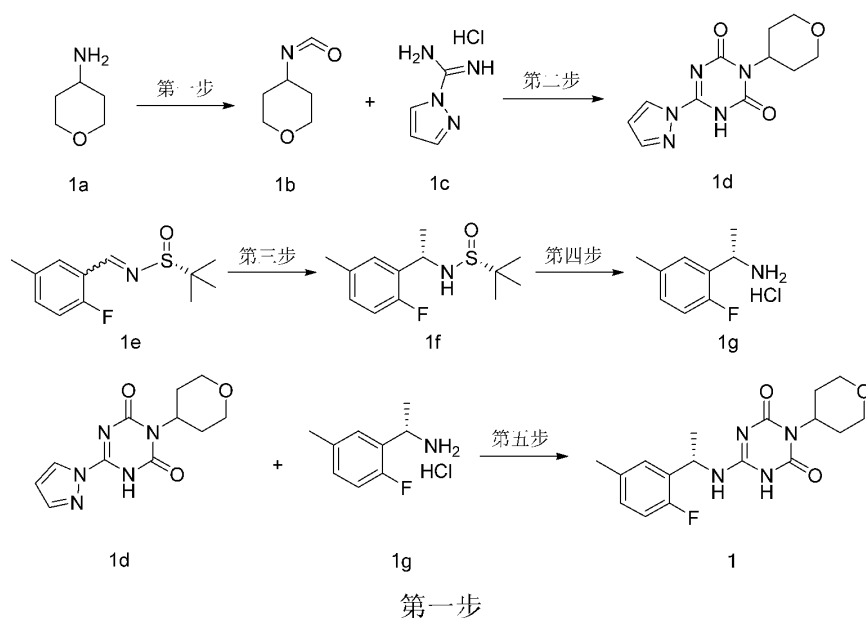
DSC为差示扫描量热：测定采用METTLER TOLEDO DSC 3+示差扫描量热仪，升温速率10°C/min，温度具体范围参照相应图谱（多为25-300°C），氮气吹扫速度50 mL/min。

TGA为热重分析：检测采用METTLER TOLEDO TGA 2型热重分析仪，升温速率10°C/min，温度具体范围参照相应图谱（多为25-300°C），氮气吹扫速度50 mL/min。

DVS为动态水分吸附：检测采用SMS DVS Advantage，在25°C，湿度变化为50%-95%-0%-95%-50%，步进为10%（最后一步为5%）（湿度具体范围以相应图谱为准，此处所列为大多使用方法），判断标准为dm/dt不大于0.002%。

实施例 1.

制备(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮（参照申请号为WO2022105852的申请中实施例16的制备方法）



4-异氰氧基四氢-2H-吡喃 **1b**

15°C下，向二(三氯甲基)碳酸酯(11.9 g, 40.0 mmol，上海泰坦科技股份有限公司)的无水二氯甲烷(30 mL)中，缓慢滴加四氢-2H-吡喃-4-胺 **1a** (10.0 g, 100.0 mmol，上海韶远科技股份有限公司)和N,N-二异丙基乙胺(28.4 g, 220.0 mmol，上海泰坦科技股份有限公司)的无水二氯甲烷(120 mL)溶液。室温反应2小时。反应液减压浓缩，得到标题产物 **1b**粗品。粗品无需纯化直接用于下一步。

第二步

6-(1H-吡唑-1-基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮 **1d**

-10°C下，向化合物 **1c** (10.5 g, 95.2 mmol)和化合物 **1b**粗品的无水N,N-二甲基乙酰胺(120 mL)溶液中，缓慢滴加1,8-二偶氮杂双螺[5.4.0]十一-7-烯(15.2 g, 100.0 mmol，上海韶远科技股份有限公司)。反应在0°C下搅拌1小时。随后，反应在0°C下，加入羰基二咪唑(23.2 g,

142.8 mmol, 上海毕得科技有限公司)和1,8-二偶氮杂双螺环[5.4.0]十一-7-烯(21.7 g, 142.8 mmol, 上海韶远科技股份有限公司)。反应在 60℃搅拌 16 小时。反应液减压浓缩, 向所得残余物中加入二氯甲烷, 搅拌, 过滤, 收集滤饼, 减压干燥, 得到标题产物 **1d** (16.6 g, 两步产率: 63.4 %)。MS m/z (ESI): 264.1 [M+1]。

5

第三步

(R)-N-((S)-1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)-2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺 1f

将*(R)-N*-(2-氟-5-甲基苯基)-2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺 **1e** (6.90 g, 28.59 mmol, 采用专利申请“WO2020092208A1”说明书中第 56 页中间体 3B 公开的方法制备而得)溶于二氯甲烷中(100 mL), 氮气置换三次。反应冷却到-60℃, 滴加 3 M 甲基溴化镁的 2-甲基四氢呋喃溶液
10 (19.1 mL, 57.18 mmol)。氮气保护下, 反应在室温搅拌 2 小时。加入饱和氯化铵溶液(100 mL), 分出有机相。水相用乙酸乙酯(80 mL×2)萃取, 合并有机相, 用饱和氯化钠溶液(100 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 用高效液相色谱法纯化(Boston Phlex C18 150*30 mm, 5 μm, 洗脱体系: 水(10 mmol 碳酸氢铵)、乙腈, 20-95%乙腈, 20 分钟梯度洗脱, 流速: 30 mL/min), 得到标题产物 **1f** (5.60 g, 产率: 76.1 %)。MS m/z (ESI): 258.0 [M+1]。

15

第四步

(S)-1-(2-氟-5-甲基苯基)乙胺 盐酸盐 1g

将化合物 **1f** (670 mg, 2.60 mmol)溶于乙醇中(10 mL), 冷却到 0℃, 滴加氯化亚砷(620 mg, 5.21 mmol)。反应在室温搅拌 1 小时。减压浓缩, 得到标题产物 **1g**粗品(493 mg, 产率: 99.9 %)。粗品无需纯化直接用于下一步。MS m/z (ESI): 153.9 [M+1]。

20

第五步

(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮 1

将化合物 **1d** (425 mg, 1.61 mmol)和化合物 **1g** (297 mg, 1.94 mmol)溶于 1,4-二氧六环(10 mL), 120℃反应搅拌 16 小时。反应液减压浓缩, 用高效液相色谱法纯化(Boston Phlex C18 150*30 mm, 5 μm, 洗脱体系: 水(10 mmol 碳酸氢铵)、乙腈, 20-95%乙腈, 20 分钟梯度洗脱,
25 流速: 30 mL/min), 得到产物 **1** (310 mg, 产率: 55.1 %)。MS m/z (ESI): 349.0 [M+1]。

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10.50 (brs, 1H), 7.28-7.05 (m, 4H), 5.22 (m, 1H), 4.64 (m, 1H), 3.90-3.86 (m, 2H), 3.33-3.27 (m, 2H), 2.54-2.42 (m, 2H), 2.28 (s, 3H), 1.45-1.39 (m, 5H)。

实施例 2. *(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮*无定形的制备
30

将实施例 1 中用高效液相色谱纯化得到的物质进行冻干, 得到产物。经X-射线粉末衍射检测, 将该产物定义为*(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮*的无定形。以衍射角 2θ角度表示的X-射线粉末衍射图中, 在 3-48° 范围内无特征峰, XRD谱图如图 1。

35

实施例 3. *(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮*对肌球蛋白ATP酶活性的抑制效应

以下方法用来测定化合物对肌球蛋白ATP酶活性的抑制效应，实验方法简述如下：

1、实验材料及仪器

a.心肌肌动蛋白 (Cytoskeleton, AD99)

b.肌球蛋白马达蛋白S1 片段 (Myosin Motor Protein S1 Fragment) (Cytoskeleton, CS-MYS03)

c.ATP (Sigma, A7699-1G)

d.UltraPure™ 1M Tris-HCl缓冲液, pH 7.5 (Thermo, 15567027)

e.CytoPhos™磷酸盐检测生物试剂盒(Cytoskeleton, BK054)

f.氯化镁溶液(Sigma, 68475-100ML-F)

g.氯化钾溶液(Sigma, 60142-100ML-F)

h. EGTA(Sigma, E3889-100G)

i.96 孔板(Corning, 3697)

j.U型底 96 孔板(Corning, 3795)

k.酶标仪(BMG, PHERAstar)

l.恒温培养箱(上海博迅, SPX-100B-Z)

2、实验步骤

心肌肌动蛋白 1.61 μM ，肌球蛋白马达蛋白S1 片段 0.07 μM 与不同浓度的小分子化合物（首浓度 100 μM ，3倍梯度稀释9个浓度）混合，37°C孵育1小时。再加入ATP 120 μM ，37°C孵育2小时。最后每孔加入CytoPhos™磷酸盐检测生物试剂盒中的检测溶液（70 μL /孔），室温孵育10 min。用酶标仪读取650 nm波长的OD值，根据标准曲线计算Pi的量，数据使用GraphPad软件处理，根据化合物各浓度与相应的抑制率绘出抑制曲线，并计算抑制率达到50%时化合物的浓度即 IC_{50} 值。

结论：(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮对肌球蛋白ATP酶的抑制活性的 IC_{50} 为1.06 μM ，对肌球蛋白ATP酶具有很好的抑制作用。

实施例 4. (S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮对SD大鼠灌胃重复给药14天的毒代动力学评价

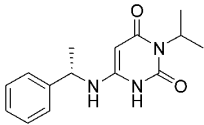
1、摘要

以SD大鼠为受试动物，应用LC/MS/MS法测定了SD大鼠灌胃给予待测化合物后不同时刻血浆和给药溶液中的药物原形的浓度。研究(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮在SD大鼠体内的毒代动力学行为，评价其毒代动力学特征。

2、实验方案

2.1 试验药品

(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二



酮、化合物MYK-461（，WO2014205223A1 的实施例 1）。

2.2 实验动物

SD大鼠 24 只，雌雄各半，平均分为 6 组，每组 4 只，每组雌雄各半，由维通利华实验动物有限公司提供。

2.3 药物配制

称取一定量(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮，加入 15% PEG400 和 85%（10% TPGS+1% HPMC K100LV）配置成淡黄色均匀混悬溶液。

称取一定量化合物MYK-461，加入 0.5% MC配置成无色澄明溶液。

2.4 给药

灌胃给药，(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮的给药剂量分别为 5 mg/kg、15 mg/kg、30 mg/kg，给药体积分别均为 10 mL/kg。化合物MYK-461 的给药剂量分别为 0.5 mg/kg、1.5 mg/kg、3 mg/kg，给药体积分别均为 10 mL/kg。

3、操作

第 1 天于给药后 0.5 h、1.0 h、2.0 h、4.0 h、8.0 h、24.0 h由眼眶采血 0.2 mL，第 7 天和第 14 天于给药前和给药后 0.5 h、1.0 h、2.0 h、4.0 h、8.0 h、24.0 h由眼眶采血 0.2 mL，置EDTA-K2 抗凝试管中，10000 rpm离心 1 min（4℃），1 h内分离血浆，-20℃保存待测。采血至离心过程在冰浴条件下操作。给药后 2 h进食。

测定不同浓度的药物灌胃给药后SD大鼠血浆中的待测化合物含量：取给药后各时刻的SD大鼠血浆 20 μL，加入 50 μL内标溶液（(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮的内标：维拉帕米 100 ng/mL；化合物MYK-461 的内标：喜树碱 100 ng/mL），乙腈 200 μL，涡旋混合 5 分钟，离心 10 分钟（3700 转/分钟），血浆样品取上清液 1 μL进行LC/MS/MS分析。

4、毒代动力学参数结果

表 1 化合物在SD大鼠体内的毒代动力学参数

化合物	给药剂量 (mg/kg)	日期	血药浓度	曲线面积	半衰期	滞留时间	清除率	表观分布容积
			Cmax (ng/mL)	AUC (ng/mL* h)	T _{1/2} (h)	MRT(h)	CL/F (mL/min/kg)	V _z /F (mL/kg)
(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮	5	第 1 天	5735	30026	4.8	5.0	3.06	1265
		第 7 天	4473	28136	4.9	6.0	2.99	1279

-5-甲基 苯基)乙 基)氨基 基)-3-(四 氢-2H-吡 喃-4- 基)-1,3,5- 三嗪 -2,4(1H,3 H)-二酮	15	第 14 天	4858	29780	5.1	6.2	2.80	1239
		第 1 天	16125	80443	5.1	5.4	3.08	1369
		第 7 天	16800	70916	6.5	6.7	3.58	2129
		第 14 天	14125	82906	5.6	6.4	2.98	1445
	30	第 1 天	18725	104640	5.6	6.4	4.72	2257
		第 7 天	21550	120552	5.9	6.7	4.14	2146
		第 14 天	20000	139432	5.6	6.9	3.52	1689
MYK -461	0.5	第 1 天	40.2	491	13.3	19.0	12.9	13778
		第 7 天	51.7	888	14.7	21.3	7.46	8412
		第 14 天	89.3	1558	32.9	47.3	3.06	5861
	1.5	第 1 天	140	2577	19.1	28.2	6.39	9561
		第 7 天	269	5181	20.5	30.2	3.58	4802
		第 14 天	333	6320	26.2	38.5	2.57	5027
	3.0	第 1 天	297	5213	28.5	43.1	4.91	8931
		第 7 天	628	12549	190	275	1.97	4355
		第 14 天	767	15985	46.5	68.1	1.3	3802

结论：(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮对SD大鼠灌胃重复给药 14 天后在SD大鼠体内的蓄积不明显，而化合物 MYK-461 在SD大鼠体内蓄积严重，增加了用药风险。显然，(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮较化合物MYK-461 具有明显的毒代动力学优势。

实施例 5. 化合物A晶型的制备

称取 300 mg (S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮，加入 6 mL 7% 水/乙醇，80℃加热溶清，冷却至室温后搅拌过夜，过滤后固体真空干燥，得到产物。经X-射线粉末衍射检测，将该产物定义为A晶型，X-射线粉末衍射数据如表 2 所示，X-射线粉末衍射谱图如图 2 所示。

DSC 谱图显示：吸热峰峰值 256.71℃。TGA 谱图显示 30℃-100℃失重 0.59%。

DVS 检测显示在正常存储条件下(即室温、60%RH)，该样品吸湿增重约为 0.12%；在加速实验条件(即 70%RH)，吸湿增重约为 0.15%；在极端条件下(即 90%RH)，吸湿增重约为 0.24%。且 DVS 检测后复测晶型未转变。

表 2 化合物A晶型峰位置

峰序号	2θ[° 或度]	d [Å]	相对强度(%)
-----	----------	-------	---------

1	6.792	13.00289	5.5
2	9.167	9.63949	48.8
3	10.928	8.08983	54.5
4	13.325	6.63932	6.9
5	13.947	6.34463	8.6
6	15.714	5.63498	15.9
7	16.084	5.50611	7.8
8	16.803	5.27216	62.9
9	18.524	4.78597	44.1
10	19.144	4.63244	8.1
11	20.056	4.42380	100.0
12	20.585	4.31129	31.4
13	22.011	4.03511	91.5
14	23.318	3.81170	17.4
15	23.996	3.70548	4.3
16	24.320	3.65695	4.0
17	24.647	3.60916	5.7
18	25.176	3.53441	3.5
19	26.880	3.31418	62.9
20	27.317	3.26209	20.9
21	27.945	3.19025	11.8
22	28.718	3.10611	5.9
23	29.501	3.02545	11.5
24	30.062	2.97022	6.1
25	31.399	2.84670	8.3
26	32.248	2.77368	2.1
27	33.300	2.68845	1.5
28	34.575	2.59214	0.6
29	35.518	2.52542	14.3
30	37.552	2.39323	1.6
31	39.031	2.30587	1.6
32	40.744	2.21275	0.7
33	41.874	2.15565	5.7
34	42.664	2.11753	4.7
35	43.847	2.06310	2.5
36	45.128	2.00748	1.8
37	46.066	1.96876	1.2
38	47.297	1.92034	1.0

实施例 6. 化合物A晶型的制备

将(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮加入溶剂打浆,离心后固体真空干燥,得到产物。经X-射线粉末衍射检测确定结晶形式,如表3所示。

表3 打浆析晶制备A晶型

编号	投料量及溶剂	晶型
1	称取 10 mg (S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮,加入 1 mL水,室温打浆 4 天	A
2	称取 10 mg (S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮,加入 1 mL甲醇,室温打浆 4 天	A
3	称取 10 mg (S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮,加入 1 mL乙醇,室温打浆 4 天	A
4	称取 10 mg (S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮,加入 1 mL异丙醇,室温打浆 4 天	A
5	称取 10 mg (S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮,加入 1 mL丙酮,室温打浆 4 天	A
6	称取 10 mg (S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮,加入 1 mL乙酸乙酯,室温打浆 4 天	A
7	称取 10 mg (S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮,加入 1 mL乙腈,室温打浆 4 天	A
8	称取 10 mg (S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮,加入 1 mL乙酸异丙酯,室温打浆 4 天	A
9	称取 10 mg (S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮,加入 1 mL甲基叔丁基醚,室温打浆 4 天	A
10	称取 10 mg (S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮,加入 1 mL甲基异丁基酮,室温打浆 4 天	A
11	称取 10 mg (S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮,加入 1 mL正庚烷,室温打浆 4 天	A
12	称取 10 mg (S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮,加入 1 mL环己烷,室温打浆 4 天	A
13	称取 10 mg (S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮,加入 1 mL1,4-二氧六环,室温打浆 4 天	A
14	称取 10 mg (S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮,加入 1 mL10%水/甲醇,室温打浆 4 天	A
15	称取 10 mg (S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮,加入 1 mL7%水/乙醇,室温打浆 4 天	A

5

实施例 7. 化合物A晶型的制备

将(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮加入溶剂打浆,离心后固体真空干燥,得到产物。经X-射线粉末衍射检测确定结晶形式,如表4所示。

表 4 打浆析晶制备A晶型

编号	投料量及溶剂	晶型
1	称取 10 mg (S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮，加入 1 mL水，50°C打浆 1 天	A
2	称取 10 mg (S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮，加入 1 mL异丙醇，50°C打浆 1 天	A
3	称取 10 mg (S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮，加入 1 mL丙酮，50°C打浆 1 天	A
4	称取 10 mg (S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮，加入 1 mL乙酸乙酯，50°C打浆 1 天	A
5	称取 10 mg (S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮，加入 1 mL乙腈，50°C打浆 1 天	A
6	称取 10 mg (S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮，加入 1 mL乙酸异丙酯，50°C打浆 1 天	A
7	称取 10 mg (S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮，加入 1 mL甲基叔丁基醚，50°C打浆 1 天	A
8	称取 10 mg (S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮，加入 1 mL甲基异丁基酮，50°C打浆 1 天	A
9	称取 10 mg (S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮，加入 1 mL正庚烷，50°C打浆 1 天	A
10	称取 10 mg (S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮，加入 1 mL环己烷，50°C打浆 1 天	A

实施例 8. 化合物A晶型的制备

称取 10mg (S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮，加入 0.1 mL四氢呋喃搅拌溶清，挥发析晶得到产物。经X-射线粉末衍射检测，该产物为A晶型。

实施例 9. 化合物A晶型的制备

称取 10mg (S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮，加入 1 mL 10%水/异丙醇搅拌溶清，挥发析晶得到产物。经X-射线粉末衍射检测，该产物为A晶型。

实施例 10. 化合物A晶型的制备

称取 10mg (S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮，加入 1 mL 10%水/丙酮搅拌溶清，挥发析晶得到产物。经X-射线粉末衍射检测，该产物为A晶型。

实施例 11. 化合物A晶型的制备

称取 10mg (S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮, 加入 1 mL 甲醇, 50°C 搅拌溶清, 冷却析晶得到产物。经X-射线粉末衍射检测, 该产物为A晶型。

5 实施例 12. 化合物A晶型的制备

称取 10mg (S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮, 加入 1 mL 乙醇, 50°C 搅拌溶清, 冷却析晶得到产物。经X-射线粉末衍射检测, 该产物为A晶型。

10 实施例 13. 化合物A晶型的制备

称取 10mg (S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮, 加入 1 mL 10% 水/甲醇, 50°C 搅拌溶清, 冷却析晶得到产物。经X-射线粉末衍射检测, 该产物为A晶型。

15 实施例 14. 化合物A晶型的制备

称取 10mg (S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮, 加入 1 mL 7% 水/乙醇, 50°C 搅拌溶清, 冷却析晶得到产物。经X-射线粉末衍射检测, 该产物为A晶型。

20 实施例 15. 化合物A晶型的制备

称取 5mg (S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮, 加入 0.05 mL 二氯甲烷室温搅拌溶清, 加入 0.35 mL 甲醇搅拌, 室温打浆 3 天, 离心后固体真空干燥, 得到产物。经X-射线粉末衍射检测, 该产物为A晶型。

25 实施例 16. 化合物A晶型的制备

称取 5mg (S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮, 加入 0.05 mL 二氯甲烷室温搅拌溶清, 加入 0.35 mL 乙醇搅拌, 室温打浆 3 天, 离心后固体真空干燥, 得到产物。经X-射线粉末衍射检测, 该产物为A晶型。

30 实施例 17. 化合物A晶型的制备

称取 1 g (S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮, 加入 30 mL 10% 水/丙酮, 50°C 搅拌溶清, 加入 30 mL 水搅拌, 50°C 搅拌 5 小时, 降至 25°C 并搅拌过夜, 过滤后固体真空干燥, 得到产物。经X-射线粉末衍射检测, 该产物为A晶型。

35

实施例 18. 化合物B晶型的制备

将(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二

酮 5 g溶于 250 mL无水乙醇中，升温至回流，固体溶清。停止加热并静置，过滤并收集滤饼，干燥得到产物。经X-射线粉末衍射检测，将该产物定义为晶型B，X-射线粉末衍射数据如表 5 所示，X-射线粉末衍射谱图如图 3 所示。

DSC谱图显示：吸热峰峰值 256.45°C。TGA谱图显示：40°C-190°C化合物失重 1.32%。

- 5 DVS实验数据显示，在正常储存条件下（即 25°C，60%RH），该样品吸湿增重约为 0.242%；在加速试验条件（即 70%RH），吸湿增重约为 0.298%；在极端条件下（90%RH），吸湿增重约为 0.418%。XRD图谱显示，DVS检测前后晶型未发生改变。

表 5 化合物B晶型峰位置

峰序号	2θ值[°或度]	D[Å]	相对强度(%)
1	6.638	13.30516	30.3
2	9.522	9.28101	32.7
3	11.108	7.9588	66.5
4	13.342	6.63115	13.4
5	13.967	6.33549	13.3
6	15.949	5.55235	45.8
7	17.535	5.05373	4.7
8	17.827	4.97144	3.2
9	18.788	4.71925	41.8
10	19.026	4.66084	21.1
11	19.847	4.46990	19.8
12	20.429	4.34376	72.3
13	20.968	4.23329	14.2
14	21.783	4.07672	7.0
15	22.24	3.99394	100.0
16	22.692	3.91537	3.5
17	23.415	3.79623	10.7
18	24.096	3.69041	8.8
19	24.579	3.61895	5.4
20	24.87	3.57729	5.2
21	26.78	3.32635	50.0
22	28.023	3.18149	17.3
23	28.425	3.13742	4.5
24	28.679	3.11017	4.5
25	29.373	3.03827	11.3
26	30.093	2.96723	5.5
27	33.317	2.68706	5.4
28	35.733	2.51074	3.1
29	40.517	2.22467	3.4

5

10

15

20

25

30

实施例 19. 化合物B晶型的制备

称取 30 mg (S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮，加入 0.3 mL二氯甲烷室温搅拌溶清，加入 2.1 mL乙酸乙酯搅拌，室温搅拌 2 天，过滤后固体真空干燥，得到产物。经X-射线粉末衍射检测，该产物为B晶型。

实施例 20. 化合物B晶型的制备

称取 5mg (S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮，加入 0.05 mL二氯甲烷室温搅拌溶清，加入 0.35 mL丙酮搅拌，室温打浆 3 天，离心后固体真空干燥，得到产物。经X-射线粉末衍射检测，该产物为B晶型。

实施例 21. 化合物B晶型的制备

称取 5mg (S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮，加入 0.05 mL二氯甲烷室温搅拌溶清，加入 0.35 mL 乙酸乙酯搅拌，室温打浆 3 天，离心后固体真空干燥，得到产物。经X-射线粉末衍射检测，该产物为B晶型。

实施例 22. 化合物B晶型的制备

称取 5mg (S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮，加入 0.05 mL二氯甲烷室温搅拌溶清，加入 0.35 mL乙腈搅拌，室温打浆 3 天，离心后固体真空干燥，得到产物。经X-射线粉末衍射检测，该产物为B晶型。

实施例 23. 化合物B晶型的制备

称取 5mg (S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮，加入 0.05 mL二氯甲烷室温搅拌溶清，加入 0.35 mL甲基异丁基酮搅拌，室温打浆 3 天，离心后固体真空干燥，得到产物。经X-射线粉末衍射检测，该产物为B晶型。

实施例 24. 化合物C晶型的制备

称取 5mg (S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮，加入 0.05mL二氯甲烷室温搅拌溶清，加入 0.35mL乙酸异丙酯搅拌析晶，室温打浆 3 天，离心后固体真空干燥，得到标题产物。经X-射线粉末衍射检测，将该产物定义为C晶型，XRD谱图如图 4，其特征峰位置如表 6 所示。DSC谱图显示吸热峰峰值 86.45℃、255.56℃，放热峰峰值 194.44℃。TGA谱图显示 30-140℃失重 5.17%。

表 6 化合物C晶型峰位置

峰序号	2θ[°或度]	d [Å]	相对强度(%)
1	8.336	10.59832	100.0
2	14.395	6.14797	6.4
3	16.750	5.28863	9.1

4	17.834	4.96943	4.2
5	19.291	4.59747	3.6
6	22.327	3.97863	5.4
7	23.070	3.85219	23.6

实施例 25. 化合物D晶型的制备

称取 5mg (S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮,加入 0.05 mL二氯甲烷室温搅拌溶清,加入 0.35 mL甲基叔丁基醚搅拌析晶, 5 室温打浆 3 天,离心后固体真空干燥,得到产物。经X-射线粉末衍射检测,将该产物定义为 D晶型,XRD谱图如图 4,其特征峰位置如表 7 所示。DSC谱图显示吸热峰峰值 96.46℃、256.21℃,放热峰峰值 160.48℃。TGA谱图显示 30-140℃失重 9.49%。

表 7 化合物D晶型峰位置

峰序号	2θ[°或度]	d [Å]	相对强度(%)
1	6.969	12.67472	7.6
2	7.778	11.35735	70.2
3	8.651	10.21361	100.0
4	9.662	9.14614	36.7
5	13.469	6.56865	19.4
6	13.965	6.33638	23.9
7	15.004	5.89981	7.3
8	15.488	5.71645	14.7
9	16.681	5.31042	16.3
10	17.484	5.06818	14.4
11	18.114	4.89333	2.9
12	19.588	4.52839	18.9
13	20.173	4.39837	17.6
14	20.860	4.25502	5.9
15	21.311	4.16599	8.6
16	22.938	3.87398	23.1
17	23.931	3.71540	13.0
18	25.200	3.53117	9.9
19	26.241	3.39334	1.6
20	27.604	3.22882	5.5
21	29.829	2.99291	8.9
22	32.620	2.74289	2.8

实施例 26. 化合物E晶型的制备

称取 30mg (S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮，加入 0.15 mL二氯甲烷室温搅拌溶清，加入 3.15 mL正庚烷搅拌析晶，室温打浆 2 天，离心后固体真空干燥，得到产物。经X-射线粉末衍射检测，将该产物定义为E晶型，XRD谱图如图 5，其特征峰位置如表 8 所示。DSC谱图显示吸热峰峰值 104.97℃、128.14℃、205.60℃、231.49℃、254.86℃，放热峰峰值 184.66℃。TGA谱图显示 30-100℃失重 0.86%。

表 8 化合物E晶型峰位置

峰序号	2θ[°或度]	d [Å]	相对强度(%)
1	6.934	12.73692	24.2
2	9.264	9.53856	100.0
3	13.241	6.68135	12.7
4	13.485	6.56088	13.7
5	14.249	6.21093	68.7
6	15.990	5.53823	6.3
7	16.092	5.50344	6.4
8	17.050	5.19617	38.2
9	17.993	4.92605	40.4
10	18.753	4.72799	6.1
11	19.570	4.53254	4.4
12	20.449	4.33959	4.8
13	21.098	4.20754	9.1
14	22.356	3.97354	10.8
15	23.209	3.82931	13.8
16	23.774	3.73957	8.3
17	24.993	3.55997	14.9
18	26.939	3.30705	4.1
19	28.153	3.16711	3.9

实验例 1. 化合物A晶型的影响因素稳定性研究

将(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮A晶型敞口平摊放置，考察在高温(40℃、60℃)、光照、高湿(RH 75%、RH 92.5%)条件下样品的稳定性，取样考察期为 30 天。

表 9 化合物A晶型影响因素稳定性

条件	时间 (天)	色泽、性状	纯度%	晶型
起始	0	类白色固体	99.7	A晶型
光照（4500	5	类白色固体	99.7	未转变

Lux)	10	类白色固体	99.7	未转变
	30	类白色固体	99.7	未转变
40℃	5	类白色固体	99.7	未转变
	10	类白色固体	99.7	未转变
	30	类白色固体	99.7	未转变
60℃	5	类白色固体	99.7	未转变
	10	类白色固体	99.7	未转变
	30	类白色固体	99.7	未转变
75% RH	5	类白色固体	99.7	未转变
	10	类白色固体	99.7	未转变
	30	类白色固体	99.7	未转变
92.5% RH	5	类白色固体	99.7	未转变
	10	类白色固体	99.7	未转变
	30	类白色固体	99.7	未转变

结论：影响因素实验表明：在光照、高温(40℃、60℃)、高湿(75% RH、92.5% RH)条件下 30 天，游离态A晶型的物理和化学稳定性均良好。

实验例 2. 化合物A晶型的长期/加速稳定性研究

5 将(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮A晶型在长期(25℃、60% RH)、加速(40℃、75% RH)条件下进行 6 个月的长期加速稳定性考察。

表 10 化合物A晶型长期加速稳定性

试验条件	时间 (月)	纯度 (%)	晶型
初始		99.7	A晶型
25℃/60%RH	1	99.7	未转变
	2	99.7	未转变
	3	99.7	未转变
	6	99.7	未转变
40℃/75%RH	1	99.7	未转变
	2	99.7	未转变
	3	99.7	未转变
	6	99.8	未转变

10 结论：长期加速实验表明：在 25℃、60% RH和 40℃、75% RH条件下 6 个月，游离态A晶型的物理化学稳定性均良好。

实验例 3. 化合物B晶型影响因素实验

15 将(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮B晶型敞口平摊放置，考察在高温(40℃、60℃)、光照、高湿(RH 75%、RH 90%)条件下样品的稳定性，取样考察期为 30 天。

表 11 化合物B晶型影响因素稳定性

条件	时间 (天)	色泽、性状	纯度%	晶型
起始	0	类白色固体	99.9	B晶型
光照 (4500 Lux)	5	类白色固体	99.9	未转变
	10	类白色固体	99.9	未转变
	30	类白色固体	99.9	未转变
40℃	5	类白色固体	99.8	未转变
	10	类白色固体	99.9	未转变
	30	类白色固体	99.9	未转变
60℃	5	类白色固体	99.9	未转变
	10	类白色固体	99.9	未转变
	30	类白色固体	99.9	未转变
75% RH	5	类白色固体	99.8	未转变
	10	类白色固体	99.8	未转变
	30	类白色固体	99.8	未转变
92.5% RH	5	类白色固体	99.9	未转变
	10	类白色固体	99.9	未转变
	30	类白色固体	99.9	未转变

结论：影响因素实验表明：在光照、高温(40℃、60℃)、高湿(75% RH、92.5% RH)条件下 30 天，游离态B晶型的物理化学稳定性均良好。

实验例 4. 化合物B晶型长期/加速稳定性实验

- 5 将(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮B晶型在长期(25℃、60% RH)、加速(40℃、75% RH)条件下进行 6 个月的长期加速稳定性考察。

表 12 化合物B晶型长期加速稳定性实验结果

试验条件	时间 (月)	纯度 (%)	晶型
初始		99.9	B晶型
25℃ 60%RH	1	99.8	未转变
	2	99.8	未转变
	3	99.9	未转变
	6	99.9	未转变
40℃ 75%RH	1	99.9	未转变
	2	99.9	未转变
	3	99.9	未转变
	6	99.9	未转变

- 10 结论：长期加速实验表明：在 25℃、60% RH和 40℃、75% RH条件下 6 个月，游离态B晶型的物理化学稳定性均良好。

权利要求书:

1. 一种(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮的A晶型, 以衍射角 2θ 角度表示的 X-射线粉末衍射图谱, 在 9.2、10.9、18.6、20.1、22.0 和 26.9 处有特征峰; 优选在 9.2、10.9、13.3、16.9、18.6、19.2、20.1、22.0、26.9、35.6 处有特征峰; 更优选在 9.2、10.9、13.3、16.9、18.6、19.2、20.1、20.6、22.0、26.9、28.0 和 35.6 处有特征峰; 最优选以衍射角 2θ 角度表示的X-射线粉末衍射图谱如图 2 所示。
2. 一种(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮的B晶型, 以衍射角 2θ 角度表示的 X-射线粉末衍射图谱, 在 11.1、15.9、18.8、20.4、22.2 和 26.8 处有特征峰; 优选在 6.6、9.5、11.1、15.9、18.8、20.4、21.0、22.2、24.6 和 26.8 处有特征峰; 更优选在 6.6、9.5、11.1、13.3、14.0、15.9、18.8、19.0、19.8、20.4、21.0、22.2、26.8 和 28.0 处有特征峰; 最优选以衍射角 2θ 角度表示的X-射线粉末衍射图谱如图 3 所示。
3. 一种(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮的C晶型, 以衍射角 2θ 角度表示的 X-射线粉末衍射图谱, 在 8.3、14.4、16.8、17.8、19.3、22.3 和 23.1 处有特征峰; 最优选以衍射角 2θ 角度表示的X-射线粉末衍射图谱如图 4 所示。
4. 一种(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮的D晶型, 以衍射角 2θ 角度表示的 X-射线粉末衍射图谱, 在 7.8、8.7、9.7、13.5、14.0 和 22.9 有特征峰; 优选在 7.8、8.7、9.7、13.5、14.0、16.7、19.6、20.2 和 22.9 处有特征峰; 更优选在 7.8、8.7、9.7、13.5、14.0、15.5、16.7、17.5、19.6、20.2、22.9 和 23.9 处有特征峰; 最优选以衍射角 2θ 角度表示的X-射线粉末衍射图谱如图 5 所示。
5. 一种(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮的E晶型, 以衍射角 2θ 角度表示的 X-射线粉末衍射图谱, 在 6.9、9.3、14.2、17.1、18.0 和 25.0 有特征峰; 优选在 6.9、9.3、13.5、14.2、17.1、18.0、22.4、23.2 和 25.0 处有特征峰; 更优选在 6.9、9.3、13.5、14.2、16.1、17.1、18.0、21.1、22.4、23.2、23.8 和 25.0 处有特征峰; 最优选以衍射角 2θ 角度表示的X-射线粉末衍射图谱如图 6 所示。
6. 一种根据权利要求 1-5 任一项所述的(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基

基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮的晶型，其中，所述 2θ角度的误差范围为±0.2。

7. 制备权利要求 1-6 任一项所述的A、B、C、D或E晶型的制备方法，选自如下任一方法，

方法一：

(a) 将化合物(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮与溶剂混合，搅拌溶解或加热溶解，

(b) 析晶；

10 或，方法二：

(a) 将化合物(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮与溶剂混合，搅拌溶解或加热溶解，

(b) 加入第二溶剂，析晶；

或，方法三：

15 (a) 将化合物(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮与溶剂混合，

(b) 搅拌打浆，析晶。

8. 一种药物组合物，其包含如下组分：

20 i) 根据权利要求 1-6 任一项所述的(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮的晶型；和

ii) 一种或多种药学上可接受的赋形剂。

9. 一种制备药物组合物的方法，包括下述步骤：将根据权利要求 1-6 任一项所述的(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮的晶型与药学上可接受的赋形剂混合的步骤。

10. 根据权利要求 1-6 所述的(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮的晶型、或根据权利要求 8 所述的组合物在制备治疗与肌球蛋白调节有关的疾病或病症的药物中的用途。

11. 根据权利要求 1-6 所述的(S)-6-((1-(2-氟-5-甲基苯基)乙基)氨基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮的晶型、或根据权利要求 8 所述的组合物在制备治疗疾病或病症的药物中的用途，所述疾病或病症选自射血分数保留的舒张性心力衰竭、缺血性心脏病、心绞痛、限制型心肌病、舒张功能障碍、

- 肥厚型心肌病 (HCM)、非梗阻性肥厚性心肌病 (nHCM)、梗阻性肥厚型心肌病 (oHCM)、瓣膜疾病、正常射血分数心力衰竭 (HFpEF)、射血分数中间值心衰 (HFmREF)、主动脉瓣狭窄、炎性心肌病、勒夫勒心内膜炎、心肌心内膜纤维化、浸润性心肌病、血色素沉着症、法布瑞氏症、糖原贮积病、先天性心脏病、
- 5 法洛四联症、左心室肥厚、难治性心绞痛和恰加斯病；可选地，选自缺血性心脏病、限制型心肌病、肥厚型心肌病 (HCM)、非梗阻性肥厚性心肌病 (nHCM)、梗阻性肥厚型心肌病 (oHCM)、炎性心肌病、浸润性心肌病、先天性心脏病和左心室肥厚；可选地，所述疾病或病症为肥厚型心肌病 (HCM)。