

7-氮杂螺[4,5]癸烷-6,10-二酮类化合物的晶型及其制备方法

本申请主张如下优先权：

CN202210103134.0，2022 年 01 月 27 日；

CN202211017556.2，2022 年 08 月 23 日。

技术领域

本发明公开了一类 7-氮杂螺[4,5]癸烷-6,10-二酮类化合物的晶型及其制备方法，具体公开了式 (I) 化合物及其晶型的制备方法和应用。

背景技术

肥厚型心肌病是一种以心肌肥厚为特征的心肌疾病，常侵及室间隔，心室内腔变小，左心室血液充盈受阻，左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，可能与遗传等有关。HCM 全球发病率约 1/500，其临床表现多样，可以无症状，也可以有心悸、劳力性呼吸困难、心前区闷痛、易疲劳、晕厥甚至猝死，晚期出现左心衰的表现。

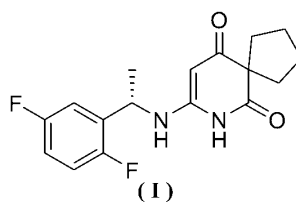
目前 HCM 治疗药物有限，主要通过 β 受体阻滞剂或钙通道阻滞剂来改善症状，无法针对病因，延缓心肌肥厚进展，也不改善预后，治疗效果有限。

肌球蛋白和肌动蛋白是心肌收缩的物质基础，肌球蛋白横桥周期性地与肌动蛋白结合、解离，驱动肌丝滑动，导致心肌收缩。肌球蛋白具有 ATP 酶活性，通过水解 ATP 为心肌收缩提供动力。肌球蛋白变异会导致肌球蛋白与肌动蛋白结合时间延长，左心室心肌过度收缩和舒张受损，导致左心室心肌肥大、纤维化，引发 HCM。MYK-461 是心肌肌球蛋白别构调控剂，其减慢磷酸水解速度、降低肌球蛋白与肌动蛋白结合时间，产生负性肌力效应，缓解因左心室心肌过度收缩所致心肌肥大等病理改变。但体内消除缓慢，药物在体内停留时间过长，不便于快速调节剂量。因此，开发具有更好活性、更理想药代动力学特性的肌球蛋白抑制剂具有重要临床价值和意义。

此外，心肌肌节的异常已鉴别为多种心脏疾病及病状的驱动原因，如射血分数保留的舒张性心力衰竭、缺血性心脏病、心绞痛和限制性心肌病等，肌球蛋白 ATP 酶抑制剂通过抑制心肌收缩，也可以在缓解上述疾病病理过程中发挥潜在治疗效应。

发明内容

本发明提供式 (I) 化合物的 A 晶型，其 X-射线粉末衍射图谱 (XRPD) 在下列 2θ 角处具有特征衍射峰： $18.283 \pm 0.200^\circ$ 、 $19.662 \pm 0.200^\circ$ 和 $22.420 \pm 0.200^\circ$ 。



本发明的一些方案中，上述 A 晶型的 X-射线粉末衍射图谱在下列 2θ 角处具有特征衍射峰：

$11.143 \pm 0.200^\circ$ 、 $18.283 \pm 0.200^\circ$ 、 $19.662 \pm 0.200^\circ$ 、 $22.420 \pm 0.200^\circ$ 、 $26.259 \pm 0.200^\circ$ 和 $28.056 \pm 0.200^\circ$ 。

本发明的一些方案中，上述 A 晶型的 X-射线粉末衍射图谱在下列 2θ 角处具有特征衍射峰：

$11.143 \pm 0.200^\circ$ 、 $18.283 \pm 0.200^\circ$ 、 $19.662 \pm 0.200^\circ$ 、 $22.420 \pm 0.200^\circ$ 、 $26.259 \pm 0.200^\circ$ 、 $27.261 \pm 0.200^\circ$ 、 $28.056 \pm 0.200^\circ$ 和 $30.256 \pm 0.200^\circ$ 。

本发明的一些方案中，上述 A 晶型，其 X-射线粉末衍射图谱中，用 2θ 角表示，至少包含选自下列中的 5、6、7 或 8 个特征衍射峰： $11.143 \pm 0.200^\circ$ 、 $18.283 \pm 0.200^\circ$ 、 $19.662 \pm 0.200^\circ$ 、 $22.420 \pm 0.200^\circ$ 、 $26.259 \pm 0.200^\circ$ 、 $27.261 \pm 0.200^\circ$ 、 $28.056 \pm 0.200^\circ$ 和 $30.256 \pm 0.200^\circ$ 。

本发明的一些方案中，上述 A 晶型的 X-射线粉末衍射图谱在下列 2θ 角处具有特征衍射峰：

$11.143 \pm 0.200^\circ$ 、 $16.522 \pm 0.200^\circ$ 、 $17.053 \pm 0.200^\circ$ 、 $18.283 \pm 0.200^\circ$ 、 $19.662 \pm 0.200^\circ$ 、 $22.420 \pm 0.200^\circ$ 、 $23.909 \pm 0.200^\circ$ 、 $26.259 \pm 0.200^\circ$ 、 $27.261 \pm 0.200^\circ$ 、 $28.056 \pm 0.200^\circ$ 、 $30.256 \pm 0.200^\circ$ 和 $33.761 \pm 0.200^\circ$ 。

本发明的一些方案中，上述 A 晶型，其 X-射线粉末衍射图谱中，用 2θ 角表示，至少包含选自下列中的 5、6、7、8、9、10、11 或 12 个特征衍射峰： $11.143 \pm 0.200^\circ$ 、 $16.522 \pm 0.200^\circ$ 、 $17.053 \pm 0.200^\circ$ 、 $18.283 \pm 0.200^\circ$ 、 $19.662 \pm 0.200^\circ$ 、 $22.420 \pm 0.200^\circ$ 、 $23.909 \pm 0.200^\circ$ 、 $26.259 \pm 0.200^\circ$ 、 $27.261 \pm 0.200^\circ$ 、 $28.056 \pm 0.200^\circ$ 、 $30.256 \pm 0.200^\circ$ 和 $33.761 \pm 0.200^\circ$ 。

本发明的一些方案中，上述 A 晶型的 X-射线粉末衍射图谱在下列 2θ 角处具有特征衍射峰：

$11.143 \pm 0.200^\circ$ 、 $13.260 \pm 0.200^\circ$ 、 $16.522 \pm 0.200^\circ$ 、 $17.053 \pm 0.200^\circ$ 、 $18.283 \pm 0.200^\circ$ 、 $19.662 \pm 0.200^\circ$ 、 $22.420 \pm 0.200^\circ$ 、 $23.568 \pm 0.200^\circ$ 、 $23.909 \pm 0.200^\circ$ 、 $26.259 \pm 0.200^\circ$ 、 $27.261 \pm 0.200^\circ$ 、 $28.056 \pm 0.200^\circ$ 、 $29.008 \pm 0.200^\circ$ 、 $30.256 \pm 0.200^\circ$ 、 $33.761 \pm 0.200^\circ$ 和 $35.404 \pm 0.200^\circ$ 。

本发明的一些方案中，上述 A 晶型的 X-射线粉末衍射图谱在下列 2θ 角处具有特征衍射峰：

$11.143 \pm 0.200^\circ$ 、 $13.260 \pm 0.200^\circ$ 、 $14.860 \pm 0.200^\circ$ 、 $16.163 \pm 0.200^\circ$ 、 $16.522 \pm 0.200^\circ$ 、 $17.053 \pm 0.200^\circ$ 、 $17.537 \pm 0.200^\circ$ 、 $18.283 \pm 0.200^\circ$ 、 $19.662 \pm 0.200^\circ$ 、 $22.420 \pm 0.200^\circ$ 、 $23.568 \pm 0.200^\circ$ 、 $23.909 \pm 0.200^\circ$ 、 $26.259 \pm 0.200^\circ$ 、 $26.726 \pm 0.200^\circ$ 、 $27.261 \pm 0.200^\circ$ 、 $28.056 \pm 0.200^\circ$ 、 $29.008 \pm 0.200^\circ$ 、 $30.256 \pm 0.200^\circ$ 、 $31.219 \pm 0.200^\circ$ 、 $31.646 \pm 0.200^\circ$ 、 $32.037 \pm 0.200^\circ$ 、 $32.438 \pm 0.200^\circ$ 、 $32.807 \pm 0.200^\circ$ 、 $33.761 \pm 0.200^\circ$ 、 $34.534 \pm 0.200^\circ$ 、 $35.404 \pm 0.200^\circ$ 、 $36.856 \pm 0.200^\circ$ 、 $37.813 \pm 0.200^\circ$ 和 $39.456 \pm 0.200^\circ$ 。

本发明的一些方案中，上述 A 晶型的 X-射线粉末衍射图谱在下列 2θ 角处具有特征衍射峰：

$11.143 \pm 0.100^\circ$ 、 $13.260 \pm 0.100^\circ$ 、 $14.860 \pm 0.100^\circ$ 、 $16.163 \pm 0.100^\circ$ 、 $16.522 \pm 0.100^\circ$ 、 $17.053 \pm 0.100^\circ$ 、 $17.537 \pm 0.100^\circ$ 、

18.283 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 19.662 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 22.420 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 23.568 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 23.909 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 26.259 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 26.726 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 27.261 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 28.056 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 29.008 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 30.256 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 31.219 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 31.646 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 32.037 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 32.438 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 32.807 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 33.761 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 34.534 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 35.404 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 36.856 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 37.813 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 和 39.456 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 。

本发明的一些方案中，上述 A 晶型的 X-射线粉末衍射图谱在下列 2θ 角处具有特征衍射峰：11.143 $^{\circ}$ 13.260 $^{\circ}$ 14.860 $^{\circ}$ 16.163 $^{\circ}$ 16.522 $^{\circ}$ 17.053 $^{\circ}$ 17.537 $^{\circ}$ 18.283 $^{\circ}$ 19.662 $^{\circ}$ 22.420 $^{\circ}$ 23.568 $^{\circ}$ 23.909 $^{\circ}$ 26.259 $^{\circ}$ 26.726 $^{\circ}$ 27.261 $^{\circ}$ 28.056 $^{\circ}$ 29.008 $^{\circ}$ 30.256 $^{\circ}$ 31.219 $^{\circ}$ 31.646 $^{\circ}$ 32.037 $^{\circ}$ 32.438 $^{\circ}$ 32.807 $^{\circ}$ 33.761 $^{\circ}$ 34.534 $^{\circ}$ 35.404 $^{\circ}$ 36.856 $^{\circ}$ 37.813 $^{\circ}$ 和 39.456 $^{\circ}$ 。

本发明的一些方案中，上述 A 晶型的 X-射线粉末衍射图谱在下列 2θ 角处具有特征衍射峰：18.283 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 19.662 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 22.420 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 和/或 11.143 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 和/或 13.260 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 和/或 14.860 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 和/或 16.163 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 和/或 16.522 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 和/或 17.053 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 和/或 17.537 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 和/或 23.568 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 和/或 23.909 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 和/或 26.259 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 和/或 26.726 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 和/或 27.261 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 和/或 28.056 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 和/或 29.008 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 和/或 30.256 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 和/或 31.219 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 和/或 31.646 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 和/或 32.037 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 和/或 32.438 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 和/或 32.807 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 和/或 33.761 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 和/或 34.534 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 和/或 35.404 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 和/或 36.856 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 和/或 37.813 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 和/或 39.456 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 。

本发明的一些方案中，上述 A 晶型的 X-射线粉末衍射图谱在下列 2θ 角处具有特征衍射峰：18.283 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 19.662 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 22.420 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 和/或 11.143 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 和/或 13.260 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 和/或 14.860 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 和/或 16.163 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 和/或 16.522 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 和/或 17.053 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 和/或 17.537 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 和/或 23.568 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 和/或 23.909 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 和/或 26.259 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 和/或 26.726 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 和/或 27.261 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 和/或 28.056 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 和/或 29.008 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 和/或 30.256 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 和/或 31.219 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 和/或 31.646 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 和/或 32.037 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 和/或 32.438 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 和/或 32.807 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 和/或 33.761 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 和/或 34.534 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 和/或 35.404 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 和/或 36.856 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 和/或 37.813 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 和/或 39.456 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 。

本发明的一些方案中，上述 A 晶型的 XRPD 图谱基本如图 1 所示。

本发明的一些方案中，上述 A 晶型的 XRPD 图谱解析数据如表 1 所示。

表1 式 (I) 化合物A晶型的XRPD图谱解析数据

编号	$2\theta/^{\circ}$	峰高 [cts]	晶面间距 [Å]	相对强度 [%]	编号	$2\theta/^{\circ}$	峰高 [cts]	晶面间距 [Å]	相对强度 [%]
1	11.143	1135	7.9341	7.8	16	28.056	2129	3.1778	14.9
2	13.260	153	6.6716	1.0	17	29.008	154	3.0757	1.2
3	14.860	102	5.9567	0.6	18	30.256	700	2.9516	5.0
4	16.163	58	5.4792	0.7	19	31.219	44	2.8627	0.5
5	16.522	395	5.3612	3.9	20	31.646	139	2.8251	0.9
6	17.053	261	5.1953	2.1	21	32.037	40	2.7915	0.2

编号	2 θ [°]	峰高 [cts]	晶面间距 [Å]	相对强度 [%]	编号	2 θ [°]	峰高 [cts]	晶面间距 [Å]	相对强度 [%]
7	17.537	77	5.0531	0.6	22	32.438	44	2.7579	0.5
8	18.283	14765	4.8486	100.0	23	32.807	48	2.7277	0.5
9	19.662	1641	4.5113	11.4	24	33.761	1081	2.6527	8.0
10	22.420	7011	3.9624	43.6	25	34.534	184	2.5951	1.4
11	23.568	113	3.7719	0.9	26	35.404	503	2.5333	3.6
12	23.909	204	3.7188	1.9	27	36.856	132	2.4368	1.5
13	26.259	1489	3.3911	11.3	28	37.813	183	2.3773	1.4
14	26.726	56	3.3329	0.7	29	39.456	40	2.2820	0.3
15	27.261	888	3.2687	6.4					

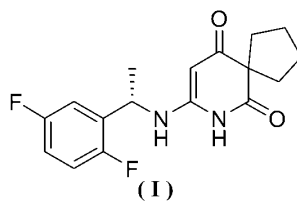
本发明的一些方案中,上述 A 晶型,其差示扫描量热曲线在 $249.53\pm 8^{\circ}\text{C}$ 和 $306.12\pm 8^{\circ}\text{C}$ 处具有吸热峰的峰值。

本发明的一些方案中,上述 A 晶型,其差示扫描量热曲线在 $249.53\pm 3^{\circ}\text{C}$ 和 $306.12\pm 3^{\circ}\text{C}$ 处具有吸热峰的峰值。

本发明的一些方案中,上述 A 晶型,其 DSC 图谱基本如图 2 所示。

本发明的一些方案中,上述 A 晶型,其热重分析曲线在 $200\pm 3^{\circ}\text{C}$ 时失重达 0.075%,在 $250\pm 3^{\circ}\text{C}$ 时失重达 0.164%。

本发明的一些方案中,上述 A 晶型,其 TGA 图谱基本如图 3 所示。



本发明的一些方案中,上述 B 晶型的 X-射线粉末衍射图谱在下列 2θ 角处具有特征衍射峰:
 $12.861\pm 0.200^{\circ}$ 、 $14.135\pm 0.200^{\circ}$ 、 $17.788\pm 0.200^{\circ}$ 、 $18.099\pm 0.200^{\circ}$ 、 $21.659\pm 0.200^{\circ}$ 、 $21.912\pm 0.200^{\circ}$ 、 $22.410\pm 0.200^{\circ}$
 和 $25.218\pm 0.200^{\circ}$ 。

本发明的一些方案中,上述 B 晶型,其 X-射线粉末衍射图谱中,用 2θ 角表示,至少包含选自下列中的 5、6、7 或 8 个特征衍射峰: $12.861\pm 0.200^{\circ}$ 、 $14.135\pm 0.200^{\circ}$ 、 $17.788\pm 0.200^{\circ}$ 、 $18.099\pm 0.200^{\circ}$ 、 $21.659\pm 0.200^{\circ}$ 、 $21.912\pm 0.200^{\circ}$ 、 $22.410\pm 0.200^{\circ}$ 和 $25.218\pm 0.200^{\circ}$ 。

本发明的一些方案中,上述 B 晶型的 X-射线粉末衍射图谱在下列 2θ 角处具有特征衍射峰: $8.262\pm 0.200^{\circ}$ 、 $12.861\pm 0.200^{\circ}$ 、 $14.135\pm 0.200^{\circ}$ 、 $16.303\pm 0.200^{\circ}$ 、 $17.788\pm 0.200^{\circ}$ 、 $18.099\pm 0.200^{\circ}$ 、 $19.053\pm 0.200^{\circ}$ 、 $21.659\pm 0.200^{\circ}$ 、 $21.912\pm 0.200^{\circ}$ 、 $22.410\pm 0.200^{\circ}$ 、 $25.218\pm 0.200^{\circ}$ 、 $27.230\pm 0.200^{\circ}$ 、 $27.526\pm 0.200^{\circ}$ 和 $28.132\pm 0.200^{\circ}$ 。

本发明的一些方案中,上述 B 晶型,其 X-射线粉末衍射图谱中,用 2θ 角表示,至少包含选自下列中的 5、6、7、8、9、10、11、12、13 或 14 个特征衍射峰: $8.262\pm 0.200^{\circ}$ 、 $12.861\pm 0.200^{\circ}$ 、 $14.135\pm 0.200^{\circ}$ 、

16.303 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 17.788 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 18.099 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 19.053 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 21.659 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 21.912 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 22.410 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 25.218 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 27.230 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 27.526 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 和 28.132 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 。

本发明的一些方案中,上述B晶型的X-射线粉末衍射图谱在下列 2θ 角处具有特征衍射峰:7.240 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 8.262 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 9.189 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 10.841 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 12.861 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 13.269 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 14.135 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 14.651 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 15.907 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 16.303 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 16.770 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 17.788 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 18.099 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 19.053 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 21.659 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 21.912 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 22.410 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 22.829 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 24.408 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 25.218 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 26.009 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 27.230 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 27.526 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 28.132 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 29.630 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 32.150 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 32.961 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 和 33.645 $\pm$ 0.200 $^{\circ}$ 。

本发明的一些方案中,上述B晶型的X-射线粉末衍射图谱在下列 2θ 角处具有特征衍射峰:7.240 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 8.262 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 9.189 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 10.841 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 12.861 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 13.269 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 14.135 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 14.651 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 15.907 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 16.303 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 16.770 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 17.788 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 18.099 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 19.053 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 21.659 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 21.912 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 22.410 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 22.829 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 24.408 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 25.218 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 26.009 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 27.230 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 27.526 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 28.132 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 29.630 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 32.150 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 32.961 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 和 33.645 $\pm$ 0.100 $^{\circ}$ 。

本发明的一些方案中,上述B晶型的X-射线粉末衍射图谱在下列 2θ 角处具有特征衍射峰:7.240 $^{\circ}$ 8.262 $^{\circ}$ 9.189 $^{\circ}$ 10.841 $^{\circ}$ 12.861 $^{\circ}$ 13.269 $^{\circ}$ 14.135 $^{\circ}$ 14.651 $^{\circ}$ 15.907 $^{\circ}$ 16.303 $^{\circ}$ 16.770 $^{\circ}$ 17.788 $^{\circ}$ 18.099 $^{\circ}$ 19.053 $^{\circ}$ 21.659 $^{\circ}$ 21.912 $^{\circ}$ 22.410 $^{\circ}$ 22.829 $^{\circ}$ 24.408 $^{\circ}$ 25.218 $^{\circ}$ 26.009 $^{\circ}$ 27.230 $^{\circ}$ 27.526 $^{\circ}$ 28.132 $^{\circ}$ 29.630 $^{\circ}$ 32.150 $^{\circ}$ 32.961 $^{\circ}$ 和 33.645 $^{\circ}$ 。

本发明的一些方案中,上述B晶型的X-射线粉末衍射图谱在下列 2θ 角处具有特征衍射峰:17.788 $^{\circ}$ 和/或18.099 $^{\circ}$ 和/或21.659 $^{\circ}$ 和/或21.912 $^{\circ}$ 和/或7.240 $^{\circ}$ 和/或8.262 $^{\circ}$ 和/或9.189 $^{\circ}$ 和/或10.841 $^{\circ}$ 和/或12.861 $^{\circ}$ 和/或13.269 $^{\circ}$ 和/或14.135 $^{\circ}$ 和/或14.651 $^{\circ}$ 和/或15.907 $^{\circ}$ 和/或16.303 $^{\circ}$ 和/或16.770 $^{\circ}$ 和/或19.053 $^{\circ}$ 和/或22.410 $^{\circ}$ 和/或22.829 $^{\circ}$ 和/或24.408 $^{\circ}$ 和/或25.218 $^{\circ}$ 和/或26.009 $^{\circ}$ 和/或27.230 $^{\circ}$ 和/或27.526 $^{\circ}$ 和/或28.132 $^{\circ}$ 和/或29.630 $^{\circ}$ 和/或32.150 $^{\circ}$ 和/或32.961 $^{\circ}$ 和/或33.645 $^{\circ}$ 。

本发明的一些方案中,上述B晶型的X-射线粉末衍射图谱在下列 2θ 角处具有特征衍射峰:17.788 $^{\circ}$ 和/或18.099 $^{\circ}$ 和/或21.659 $^{\circ}$ 和/或21.912 $^{\circ}$ 和/或7.240 $^{\circ}$ 和/或8.262 $^{\circ}$ 和/或9.189 $^{\circ}$ 和/或10.841 $^{\circ}$ 和/或12.861 $^{\circ}$ 和/或13.269 $^{\circ}$ 和/或14.135 $^{\circ}$ 和/或14.651 $^{\circ}$ 和/或15.907 $^{\circ}$ 和/或16.303 $^{\circ}$ 和/或16.770 $^{\circ}$ 和/或19.053 $^{\circ}$ 和/或22.410 $^{\circ}$ 和/或22.829 $^{\circ}$ 和/或24.408 $^{\circ}$ 和/或25.218 $^{\circ}$ 和/或26.009 $^{\circ}$ 和/或27.230 $^{\circ}$ 和/或27.526 $^{\circ}$ 和/或28.132 $^{\circ}$ 和/或29.630 $^{\circ}$ 和/或32.150 $^{\circ}$ 和/或32.961 $^{\circ}$ 和/或33.645 $^{\circ}$ 。

本发明的一些方案中,上述B晶型的XRPD图谱解析数据如表2所示。

表2 式(I) 化合物B晶型的XRPD图谱解析数据

编号	2 θ [°]	峰高 [cts]	晶面间距 [Å]	相对强度 [%]	编号	2 θ [°]	峰高 [cts]	晶面间距 [Å]	相对强度 [%]
1	7.240	95.3229	12.19978	3.9	15	21.659	323.373	4.09986	22.7
2	8.262	154.957	10.69278	8.6	16	21.912	417.795	4.05312	30.3
3	9.189	104.853	9.61591	5.0	17	22.410	251.950	3.96412	16.9
4	10.841	68.8444	8.15463	2.6	18	22.829	63.4991	3.89226	1.9
5	12.861	151.604	6.87764	9.0	19	24.408	88.2752	3.64398	4.0
6	13.269	103.027	6.66729	5.1	20	25.218	196.697	3.52863	12.4
7	14.135	179.287	6.26047	11.4	21	26.009	70.0000	3.42313	2.3
8	14.651	106.116	6.04121	5.6	22	27.230	193.477	3.27241	12.2
9	15.907	58.9828	5.56714	1.5	23	27.526	183.975	3.23783	11.4
10	16.303	163.852	5.43249	9.8	24	28.132	156.746	3.16940	9.4
11	16.770	82.3403	5.28244	3.2	25	29.630	55.6683	3.01253	1.8
12	17.788	1288.82	4.98221	100.0	26	32.150	64.4326	2.78196	2.1
13	18.099	740.754	4.89732	55.7	27	32.961	92.0000	2.71528	4.3
14	19.053	188.143	4.65418	11.2	28	33.645	64.5000	2.66167	2.2

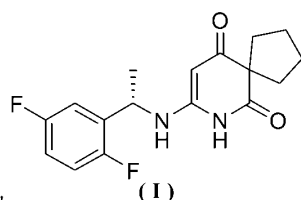
本发明的一些方案中, 上述B晶型, 其差示扫描量热曲线在 249.48 $\pm$ 8℃处具有吸热峰的峰值。

本发明的一些方案中, 上述B晶型, 其差示扫描量热曲线在 249.48 $\pm$ 3℃处具有吸热峰的峰值。

本发明的一些方案中, 上述B晶型, 其DSC图谱基本如图6所示。

本发明还提供了式(I) 化合物A晶型的制备方法, 包括:

- 1) 将式(I) 化合物加入到醇类溶剂、乙酸乙酯、叔丁基甲醚、四氢呋喃、二氯甲烷中;
- 2) 在 15~100℃下搅拌 1~168 小时;
- 3) 过滤, 收集滤饼, 滤饼置于 30~45℃下真空干燥 0.5~2 小时, 优选为 35℃下真空干燥 1 小时;



其中, 式(I) 化合物为

本发明的一些方案中, 上述醇类溶剂选自甲醇和乙醇。

本发明还提供了上述式(I) 化合物、上述式(I) 化合物的A晶型、上述式(I) 化合物的B晶型或式(I) 化合物A晶型的制备方法在制备治疗LSD1相关疾病的药物上的应用。

本发明还提供了上述式(I) 化合物、上述式(I) 化合物的A晶型或上述式(I) 化合物A晶型的制备方法在制备治疗LSD1相关疾病的药物上的应用。

本发明还提供了一种药物组合物, 其含有治疗有效量的上述式(I) 化合物、上述式(I) 化合物的A晶型、上述式(I) 化合物的B晶型和药学上可接受的载体。

本发明还提供了一种药物组合物, 其含有治疗有效量的上述式(I) 化合物或上述式(I) 化合物的A

晶型和药学上可接受的载体。

本发明还提供了上述式 (I) 化合物、上述式 (I) 化合物的 A 晶型、上述式 (I) 化合物的 B 晶型或上述药物组合物在制备心肌肌球蛋白抑制剂药物中的应用。

本发明还提供了上述式 (I) 化合物、上述式 (I) 化合物的 A 晶型或上述药物组合物在制备心肌肌球蛋白抑制剂药物中的应用。

本发明还提供了上述式 (I) 化合物、上述式 (I) 化合物的 A 晶型、上述式 (I) 化合物的 B 晶型或上述药物组合物在制备治疗心衰和肥厚型心肌疾病中的应用。

本发明还提供了上述式 (I) 化合物、上述式 (I) 化合物的 A 晶型或上述药物组合物在制备治疗心衰和肥厚型心肌疾病中的应用。

本发明还提供了一种在需要的受试者中治疗与心肌肌球蛋白抑制剂相关的疾病的方法，方法包括向受试者提供有效剂量的上述任意技术方案所限定的式 (I) 化合物、式 (I) 化合物的 A 晶型、式 (I) 化合物的 B 晶型或药物组合物。

本发明还提供了一种在需要的受试者中治疗与心肌肌球蛋白抑制剂相关的疾病的方法，方法包括向受试者提供有效剂量的上述任意技术方案所限定的式 (I) 化合物、式 (I) 化合物的 A 晶型或药物组合物。

本发明还提供了一种在需要的受试者中治疗心衰和肥厚型心肌疾病的方法，方法包括向受试者提供有效剂量的上述任意技术方案所限定的式 (I) 化合物、式 (I) 化合物的 A 晶型、式 (I) 化合物的 B 晶型或药物组合物。

本发明还提供了一种在需要的受试者中治疗心衰和肥厚型心肌疾病的方法，方法包括向受试者提供有效剂量的上述任意技术方案所限定的式 (I) 化合物、式 (I) 化合物的 A 晶型或药物组合物。

技术效果

本发明式 (I) 化合物的 A 晶型易于获得、物理稳定性和化学稳定性均较好，具有很高的工业应用价值和经济价值。本发明化合物对心肌肌球蛋白 ATP 酶有较好的抑制作用，且其具有优良的药代动力学性质。

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。当本文出现商品名时，旨在指代其对应的商品或其活性成分。

必须注意的是，除非上下文另有明确说明或与本文明显相悖，否则如本文和所附权利要求所用的本发明的内容(尤其随附权利要求书的内容)中使用的单数形式“一”、“一个”、“所述”及类似术语应解释为包括单数和复数两者。因此，例如，提及“所述化合物”包括提及一种或多种化合物；等等。

术语“无定形”或者“无定形形式”意在表示所讨论的物质、组分或产物，缺少特征性的晶体形状或结晶

结构, 当例如通过 XRPD (X-射线粉末衍射) 测定时基本上不是晶体或者所讨论的物质、组分或产物, 例如当使用偏振光显微镜观看时不是双折射的或者立方体的, 或者 X 射线粉末衍射图不具尖峰。在某些实施方案中, 包含物质的无定形形式的样品可基本上不含其它无定形形式和/或结晶形式。

本发明所述品型的差示扫描量热测定 (DSC) 有实验误差, 并受样品的干燥程度有轻微影响, 在一台机器和另一台机器之间以及一个样品和另一个样品之间, 吸热峰的位置和峰值可能会略有差别, 实验误差或差别的数值可能小于等于 10°C, 或小于等于 9°C, 或小于等于 8°C, 或小于等于 7°C, 或小于等于 6°C, 或小于等于 5°C, 或小于等于 4°C, 或小于等于 3°C, 或小于等于 2°C, 或小于等于 1°C, 因此所述 DSC 吸热峰的峰位置或峰值的数值不能视为绝对的。

本发明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上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发明的实施例。

除非另有规定, 当化合物中存在双键结构, 如碳碳双键、碳氮双键和氮氮双键, 且双键上的各个原子均连接有两个不同的取代基时 (包含氮原子的双键中, 氮原子上的一对孤对电子视为其连接的一个取代基),

如果该化合物中双键上的原子与其取代基之间用  表示, 则表示该化合物的 (Z) 型异构体或 (E) 型异构体或两种异构体的混合物。

本发明的化合物可以通过本领域技术人员所熟知的常规方法来确认结构, 如果本发明涉及化合物的绝对构型, 则该绝对构型可以通过本领域常规技术手段予以确证。例如单晶 X 射线衍射法 (SXRD), 把培养出的单晶用 Bruker D8 venture 衍射仪收集衍射强度数据, 光源为 CuK α 辐射, 扫描方式: φ/ω 扫描, 收集相关数据后, 进一步采用直接法 (Shelxs97) 解析晶体结构, 便可以确证绝对构型。

本发明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发明的化学变化及其所需的试剂和物料。为了获得本发明的化合物, 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发明, 这些实施例并不意味着对本发明的任何限制。

本发明所使用的所有溶剂是市售的, 无需进一步纯化即可使用。

本发明所使用的溶剂可经市售获得。

本发明采用下述缩略词: TEA 代表三乙胺; DIEA 代表 *N,N*-二异丙基乙胺; PE 代表石油醚; EtOAc 代表乙酸乙酯; EA 代表乙酸乙酯; THF 代表四氢呋喃; MeOH 代表甲醇; MTBE 代表甲基叔丁基醚; DCM 代表二氯甲烷; EtOH 代表乙醇; iPrOH 代表异丙醇; Boc₂O 代表二碳酸二叔丁酯; L-selectride 代表三仲丁基硼氢化锂; TCFH 代表 *N,N,N,N*-四甲基氯甲脒六氟磷酸盐; FA 代表甲酸; TFA 代表三氟乙酸; ACN 代表乙腈; TLC 代表薄层色谱; HPLC 代表高效液相色谱; LCMS 代表液质联用色谱; DMSO 代表二甲亚砜;

DMF 代表 *N,N*-二甲基甲酰胺；LDA 代表二异丙基氨基锂；DMAC 代表 *N,N*-二甲基乙酰胺；PEG-400 代表聚乙二醇 400；EGTA 代表乙二醇双(2-氨基乙基醚)四乙酸；DMSO-*d*₆ 代表氘代二甲亚砜；CDCl₃ 代表氘代氯仿；BID 代表每天两次；QD 代表每天一次；PO 口服给药；IV 表示静脉注射给药。

化合物经手工或者 ChemDraw® 软件命名，市售化合物采用供应商目录名称。

本发明仪器及分析方法

本发明 X-射线粉末衍射 (X-ray powder diffractometer, XRPD) 方法一，A 晶型测试测试参数见表 3。

表 3 XRPD 测试参数

参数	设定值
型号	DX-2700BH
X 射线	Cu, K α (1.54184Å)
X 射线光管设定	40 kV, 30 mA
发散狭缝	1 mm
接收狭缝	0.3 mm
防散射狭缝	1 mm
扫描范围(2θ)	3~40
步宽角度(2θ)	0.02
测量时间	0.5 s

本发明 X-射线粉末衍射 (X-ray powder diffractometer, XRPD) 方法二，由布鲁克仪器的 D2 Phaser 型采集获得，测试参数见表 4。

表 4 XRPD 测试参数

方法名称	3-40+0.02+0.2+15.bsml	感应模式	步进测量
X 射线发射器	Cu, k α ($\lambda=1.54184\text{\AA}$)	光管电压 (kV)	30
光管电流 (mA)	10	发散狭缝 (mm)	0.6
主光路轴向索拉狭缝 (°)	2.5	次级光路轴向索拉狭缝 (°)	2.5
探测器狭缝 (°)	0.075	防散射狭缝 (mm)	1
扫描轴	θ s- θ d	步长 (deg)	0.02
每步停留时间 (S)	0.2	扫描范围 (deg)	3-40

本发明差热分析 (Differential Scanning Calorimeter, DSC) 方法一，测试参数见表 5。

表 5 DSC 测试参数

DSC 测试参数	
仪器型号	Mettler Toledo DSC1
方法	线性升温
样品盘	高压坩埚
温度范围	40-350℃
扫描速率(℃ /分钟)	10
保护气体	氮气

本发明差热分析 (Differential Scanning Calorimeter, DSC) 方法二，测试参数见表 6。

表 6 DSC 测试参数

DSC 测试参数	
仪器型号	TA-DSC 250
方法	线性升温
样品盘	铝坩埚
温度范围	25-300℃
扫描速率(℃ /分钟)	10
保护气体	氮气

本发明热重分析 (Thermal Gravimetric Analyzer, TGA) 方法一，测试参数见表 7。

表 7 TGA 测试参数

TGA 测试参数	
仪器型号	TA Discovery TGA 550
方法	线性升温
样品盘	铝盘，开盖
温度范围	室温-500℃
扫描速率(℃/分钟)	10
保护气体	氮气

附图说明

- 图 1：式 (I) 化合物 A 晶型的 Cu-K α 辐射的 XRPD 谱图；
- 图 2：式 (I) 化合物 A 晶型的 DSC 谱图；
- 图 3：式 (I) 化合物 A 晶型的 TGA 谱图；
- 图 4：式 (I) 化合物的单晶 X 射线衍射 (SC-XRD) 立体结构椭球图；

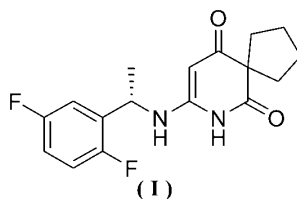
图 5: 式 (I) 化合物 B 晶型的 Cu-K α 辐射的 XRPD 谱图;

图 6: 式 (I) 化合物 B 晶型的 DSC 谱图。

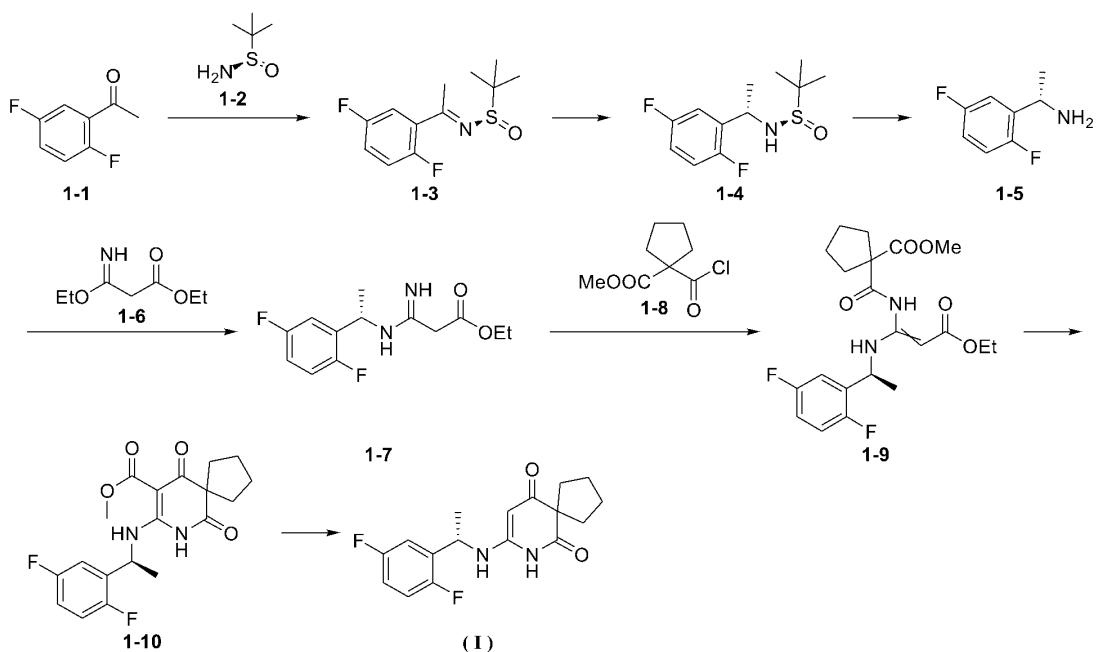
具体实施方式

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做的限制。

实施例1



合成路线:



步骤 A: 在 20°C 下, 向 1-1 (5 g, 32.02 mmol, 4.07 mL, 1 eq) 的 THF (50 mL) 的溶液中加入 1-2 (4.66 g, 38.43 mmol, 1.2 eq) 和钛酸四乙酯 (21.92 g, 96.07 mmol, 19.92 mL, 3 eq), 反应液在 60°C 下搅拌 16 小时, 向反应液中加入乙酸乙酯 (100 mL), 冷却到 0°C 后缓慢加入水 (20 mL), 搅拌 0.5 小时, 过滤, 滤液用饱和食盐水洗涤 (50 mL $\times$ 3), 无水硫酸钠干燥, 过滤后浓缩得到化合物 1-3。

步骤 B: 在氮气保护-78°C 下, 向 1-3 (9 g, 34.71 mmol, 1 eq) 的 THF (100 mL) 的溶液缓慢滴加 L-selectride (1 M, 41.65 mL, 1.2 eq), 反应液在-78°C 下搅拌 2 小时后缓慢加入到饱和氯化铵水溶液 (100 mL) 中, 用 EA 萃取 (100 mL $\times$ 2), 合并的有机相用饱和食盐水洗涤 (100 mL $\times$ 3), 无水硫酸钠干燥, 过滤后浓缩, 残留物通过柱层析分离 (PE: EtOAc=5:1-3:1) 得到化合物 1-4。

步骤 C: 在 20°C 下, 向 1-4 (6.6 g) 的 MeOH (50 mL) 溶液中加入 HCl/MeOH (200 mmol, 50 mL, 7.92 eq), 反应液搅拌 16 小时后浓缩得到化合物 1-5 的盐酸盐。

步骤 D: 在 20°C 下, 向 1-5 的盐酸盐 (1g) 的 EtOH (10 mL) 溶液中加入 1-6 (1.51 g, 7.74 mmol, 1.5 eq, HCl) 和 DIEA (4.00 g, 30.96 mmol, 5.40 mL, 6 eq), 反应液在 20°C 下搅拌 16 小时, 浓缩后得到化合物 1-7。

步骤 E: 在氮气保护 -20°C 下, 向 1-7 (1.54 g, 8.08 mmol, 1 eq) 的 DCM (15 mL) 溶液中加入 TEA (2.45 g, 24.24 mmol, 3.37 mL, 3 eq), 然后加入 1-8 (1.39 g, 5.14 mmol, 6.37 eq) 的 DCM (15 mL) 溶液, 反应液在 20°C 下搅拌 16 小时后浓缩, 残留物加入 EA (30 mL) 稀释, 然后用饱和食盐水 (30 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤后浓缩, 残留物通过柱层析分离 (PE: EtOAc=10:1-5:1) 得到化合物 1-9。

步骤 F: 在氮气保护下, 向 1-9 (0.648 g, 1.53 mmol, 1 eq) 的 MeOH (7.6 mL) 溶液中加入甲醇钠 (1 M, 6.43 mL, 1 eq), 反应液在 20°C 下搅拌 16 小时, 向反应液中加入 1 M 稀盐酸调节 pH 到 5 左右, 然后加入 EA (20 mL) 萃取, 有机相用饱和食盐水 (20 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤后浓缩得到化合物 1-10。

步骤 G: 向 1-10 (348 mg, 919.74 μ mol, 1 eq) 的 1,4-二氧六环 (4 mL) 溶液中加入盐酸 (4 M, 4 mL, 17.40 eq), 反应液在 50°C 下搅拌 16 小时, 向反应液中加入 EA (30 mL), 然后加入 1 M 氢氧化钠水溶液调节 pH 到 8 左右, 分液后有机相用饱和食盐水 (50 mL $\times$ 2) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤后浓缩, 残留物加入 MeOH (10 mL) 并搅拌 20 分钟, 过滤, 滤饼高真空干燥后得到式 (I) 化合物, 经过 XPRD 测试, 得到的式 (I) 化合物即为式 (I) 化合物的 A 晶型。¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ ppm 9.60 - 9.47 (m, 1H), 7.34 - 7.26 (m, 2H), 7.25 - 7.16 (m, 1H), 6.96 (br d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 4.82 - 4.71 (m, 1H), 4.44 - 4.34 (m, 1H), 1.93 - 1.81 (m, 4H), 1.70 (br s, 4H), 1.48 (br d, *J* = 6.4 Hz, 3H); LCMS(ESI) *m/z*: 321.2(M+1)。

实施例 2 式 (I) 化合物 A 晶型的制备

将式 (I) 化合物 (80 mg, 249.74 μ mol) 加入到乙醇 (3 mL) 中, 在 80°C 下搅拌 16 小时。冷却到室温后过滤, 固体真空干燥。得到化合物式 (I) 化合物的 A 晶型。¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ ppm 9.60 - 9.47 (m, 1H), 7.34 - 7.26 (m, 2H), 7.25 - 7.16 (m, 1H), 6.96 (br d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 4.82 - 4.71 (m, 1H), 4.44 - 4.34 (m, 1H), 1.93 - 1.81 (m, 4H), 1.70 (br s, 4H), 1.48 (br d, *J* = 6.4 Hz, 3H); LCMS(ESI) *m/z*: 321.2(M+1)。式 (I) 化合物 A 晶型的 XPRD, DSC 和 TGA 均使用相应的方法一测试, 其检测结果图谱依次如图 1、2、3 所示。

将上述溶剂乙醇替换为甲醇、二氯甲烷、乙酸乙酯、四氢呋喃, 在室温或加热温度下均得到式 (I) 化合物的 A 晶型。实验结果如表 8 所示。

表 8 不同溶剂搅拌下得到的晶型实验

样品编号	溶剂 (温度)	实验结果
1	甲醇, 60°C	A 晶型
2	二氯甲烷, 室温	A 晶型

样品编号	溶剂（温度）	实验结果
3	乙酸乙酯，室温	A 晶型
4	四氢呋喃，室温	A 晶型

实施例 3 式 (I) 化合物 B 晶型的制备

取约 60 mg A 晶型用 TGA 从室温（20-25℃）以 10℃/分钟的速率加热至 250℃后再自然降温（降温过程未控制其速率）降至室温，得到化合物式 (I) 化合物的 B 晶型。¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ ppm 9.57 (s, 1H), 7.32 - 7.27 (m, 2H), 7.22 - 7.15 (m, 1H), 6.96 (br d, *J* = 6.4 Hz, 1H), 4.78 - 4.72 (m, 1H), 4.38 (s, 1H), 1.86 - 1.82 (m, 4H), 1.70 - 1.67 (m, 4H), 1.47 (br d, *J* = 6.8 Hz, 3H)。式 (I) 化合物 B 晶型的 XRPD 和 DSC 均使用相应的方法二测试，其检测结果图谱依次如图 5 和 6 所示。

实施例 4：式 (I) 化合物的单晶 X-射线衍射检测分析

1. 仪器参数和数据收集

生产厂家：布鲁克公司；

仪器型号：Bruker D8 VENTURE；

X-射线光源：采用高强度微聚焦旋转阳极光源；

Cu 转靶： $\lambda=1.54184 \text{ \AA}$ ；

功率：2.5 kW；

管电压：50 kV；

管电流：50 mA；

测角仪：四轴（Kappa, ω , 2θ , φ ）测角仪；

探测器：大面积 photon II 探测器，探测器有效面积 $14 \text{ cm} \times 10 \text{ cm}$ ；

探测器到样品的距离： $d = 45 \text{ mm}$ 。

2. 晶体培养

称取 14.3 mg 样品加入 MeOH (2 mL)，样品不溶，然后滴入 DMSO (1 mL)，搅拌至全部溶解，将样品溶解置于 4 mL 半密封样品瓶中，在室温下缓慢挥发。7 天后得到无色块状晶体。送测单晶测试。

3. 晶体数据列表

表 9 式 (I) 化合物的单晶结构数据

分子式	C ₁₇ H ₁₈ F ₂ N ₂ O ₂
分子量	320.33
晶系	正交晶系
空间群	<i>P</i> 2 ₁ 2 ₁ 2 ₁

波长 (Å)		1.54178
晶胞参数	a/Å	10.4611(2)
	b/Å	11.8741(3)
	c/Å	12.3305(3)
	$\alpha/^\circ$	90
	$\beta/^\circ$	90
	$\gamma/^\circ$	90
晶胞体积 (Å ³)		1531.65(6)

4. 结论

单晶数据显示, 单晶为式 (I) 化合物。式 (I) 化合物的单晶 X 射线衍射 (SC-XRD) 立体结构椭球图见附图 4。式 (I) 化合物的单晶结构数据和参数见表 9。

生物测试数据:

实验例 1: 心肌肌球蛋白 ATP 酶活性的抑制效应实验

实验试剂:

心肌原肌球蛋白/肌钙蛋白复合物 (Cytoskeleton, Cat. # TT05)

心肌肌球蛋白 S1 (Cytoskeleton, Cat. # MYS03)

心肌肌动蛋白 (Cytoskeleton, Cat. # AD99-A)

ATP 酶测定生化试剂盒 (Cytoskeleton, Cat. # BK051)

实验步骤:

1) 准备化合物

a) 在 Echo 中用 DMSO 对化合物进行 4 倍稀释, 8 个浓度梯度, 并分别转移 200 nL 化合物到 96 孔板 (Corning-3696) 中。

b) 1000 rpm 离心 15 秒, 封板待用。

2) 准备 F-肌动蛋白

a) 配置缓冲液 5 mM Pipes-KOH pH 7.0, 500 μ M ATP, 500 μ M 二硫苏糖醇, 并加入 2.5 mL 缓冲液溶解 1 mg F-肌动蛋白, 蛋白浓度为 0.4 mg/mL。

b) 室温放置 10 分钟以充分溶解蛋白。

c) 加入 2.0 mM MgCl₂ 和 2.0 mM EGTA, 室温放置 20 分钟以形成蛋白聚合物。

3) 准备细肌丝

a) 加入 200 μ L 冰水溶解 1 mg 心肌原肌球蛋白/肌钙蛋白复合物, 蛋白浓度为 5 mg/mL。

- b) 加入 1000 μL 步骤 1 中准备的 F-肌动蛋白，混匀。
 - c) 室温放置 20 分钟。
 - d) 87K xg 4℃ 离心 1.5 小时。
 - e) 配置 PM12 缓冲液 12 mM Pipes-KOH, pH 7.0, 2 mM MgCl_2 ，并加入 1200 μL 缓冲液重悬蛋白。
- 4) 准备反应溶液，并开始实验
- a) 加入 250 μL 冰的 PM12 缓冲液到 250 μg S1 肌球蛋白中，蛋白浓度为 1 mg/mL。
 - b) 按照下面的顺序，依次加入试剂混合，以得到反应混合液：
400 μL 的 PM12，
400 μL 的 5x MSEG（来自 ATP 酶测定生化试剂盒），
1200 μL 的肌动蛋白/心肌原肌球蛋白/肌钙蛋白复合物，
40 μL 的肌球蛋白 S1，
40 μL 的 100x PNP（来自 ATP 酶测定生化试剂盒），
10.4 μL 的 100 mM ATP。
 - c) 加入 10 μL 440 μM CaCl_2 溶液到 96 孔板中，放置到 37℃ 培养箱预热。
 - d) 加入 100 μL 反应混合液到 96 孔板中，1000 rpm 离心 10 秒。
 - e) 在 SpectraMax 340PC 上连续读数 10 分钟，间隔 30 秒，仪器温度 37℃，波长 360 nm。

数据分析：

用 Prism 分析数据，实验结果见表 10。

表 10 本发明化合物对心肌肌球蛋白 ATP 酶活性的抑制效应 IC_{50} 值测试结果

化合物	IC_{50} (μM)
式 (I) 化合物	0.22

结论：本发明化合物具有较好的心肌肌球蛋白 ATP 酶抑制活性。

实验例 2：大鼠体内药代动力学评价

实验目的：

检测本发明化合物在大鼠体内的药代动力学参数

实验方案：

- 1) 实验药品：本发明化合物；
- 2) 实验动物：4 只 7-9 周龄的雄性 SD 大鼠，随机分为 2 组，每组 2 只；
- 3) 药物配制：称取适量药物，溶于 DMAC：PEG-400：30% 2-HP- β -CD=5:25:70 的混合溶剂中，配置成 0.2 mg/mL；

实验操作：

第1组动物通过尾静脉单次注射给予剂量为0.2 mg/kg、浓度为0.2 mg/mL的药物，第2组动物通过灌胃给予剂量为1 mg/kg、浓度为0.2 mg/mL的化合物。动物于给药后0.0833（仅尾静脉注射组）、0.25、0.5、1、2、4、6、8和24小时采集血浆样品。

数据分析：

使用LC-MS/MS方法测定血浆样品中的药物浓度，得出测试药物的药代动力学测试结果见表11。

表11 本发明化合物的药代动力学测试结果

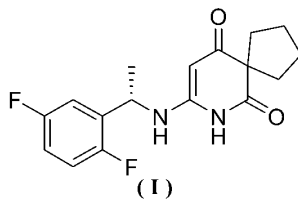
式 (I) 化合物	尾静脉注射组	清除率	初始浓度	分布容积	半衰期	曲线面积
		Cl (mL/Kg/min)	C ₀ (nM)	Vd (L/Kg)	T _{1/2} (h)	AUC (nM•h)
		6.0	1460	2.7	6.37	1294
	灌胃给药组	最高浓度	最高浓度时间	曲线面积	生物利用度	--
		C _{max} (nM)	T _{1/2} (h)	AUC (nM•h)	F (%)	--
		1307	4.83	7929	123	--

--表示不存在

结论： 本发明化合物具有良好的大鼠体内药代动力学性质。

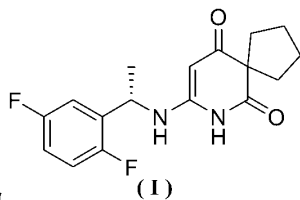
权 利 要 求

1. 式(I)化合物的 A 晶型,其 X-射线粉末衍射图谱(XRPD)在下列 2θ 角处具有特征衍射峰: $18.283\pm 0.200^\circ$ 、 $19.662\pm 0.200^\circ$ 和 $22.420\pm 0.200^\circ$;



2. 根据权利要求 1 所述的 A 晶型,其 X-射线粉末衍射图谱(XRPD)在下列 2θ 角处具有特征衍射峰: $11.143\pm 0.200^\circ$ 、 $18.283\pm 0.200^\circ$ 、 $19.662\pm 0.200^\circ$ 、 $22.420\pm 0.200^\circ$ 、 $26.259\pm 0.200^\circ$ 和 $28.056\pm 0.200^\circ$ 。
3. 根据权利要求 2 所述的 A 晶型,其 X-射线粉末衍射图谱在下列 2θ 角处具有特征衍射峰: $11.143\pm 0.200^\circ$ 、 $18.283\pm 0.200^\circ$ 、 $19.662\pm 0.200^\circ$ 、 $22.420\pm 0.200^\circ$ 、 $26.259\pm 0.200^\circ$ 、 $27.261\pm 0.200^\circ$ 、 $28.056\pm 0.200^\circ$ 和 $30.256\pm 0.200^\circ$ 。
4. 根据权利要求 3 所述的 A 晶型,其 X-射线粉末衍射图谱在下列 2θ 角处具有特征衍射峰: $11.143\pm 0.200^\circ$ 、 $16.522\pm 0.200^\circ$ 、 $17.053\pm 0.200^\circ$ 、 $18.283\pm 0.200^\circ$ 、 $19.662\pm 0.200^\circ$ 、 $22.420\pm 0.200^\circ$ 、 $23.909\pm 0.200^\circ$ 、 $26.259\pm 0.200^\circ$ 、 $27.261\pm 0.200^\circ$ 、 $28.056\pm 0.200^\circ$ 、 $30.256\pm 0.200^\circ$ 和 $33.761\pm 0.200^\circ$ 。
5. 根据权利要求 1 所述的 A 晶型,其 X-射线粉末衍射图谱中,用 2θ 角表示,至少包含选自下列中的 5、6、7 或 8 个特征衍射峰: $11.143\pm 0.200^\circ$ 、 $18.283\pm 0.200^\circ$ 、 $19.662\pm 0.200^\circ$ 、 $22.420\pm 0.200^\circ$ 、 $26.259\pm 0.200^\circ$ 、 $27.261\pm 0.200^\circ$ 、 $28.056\pm 0.200^\circ$ 和 $30.256\pm 0.200^\circ$ 。
6. 根据权利要求 5 所述的 A 晶型,其 X-射线粉末衍射图谱在下列 2θ 角处具有特征衍射峰: 11.143° 、 13.260° 、 14.860° 、 16.163° 、 16.522° 、 17.053° 、 17.537° 、 18.283° 、 19.662° 、 22.420° 、 23.568° 、 23.909° 、 26.259° 、 26.726° 、 27.261° 、 28.056° 、 29.008° 、 30.256° 、 31.219° 、 31.646° 、 32.037° 、 32.438° 、 32.807° 、 33.761° 、 34.534° 、 35.404° 、 36.856° 、 37.813° 和 39.456° 。
7. 根据权利要求 1 所述的 A 晶型,其 XRPD 图谱基本如图 1 所示。
8. 根据权利要求 1~7 任意一项所述的 A 晶型,其差示扫描量热(DSC)曲线在 $249.53\pm 3^\circ\text{C}$ 和 $306.12\pm 3^\circ\text{C}$ 处具有吸热峰的峰值。
9. 根据权利要求 1 所述的 A 晶型,其 DSC 图谱基本如图 2 所示。
10. 根据权利要求 1~7 任意一项所述的 A 晶型,其热重分析(TGA)曲线在 $200\pm 3^\circ\text{C}$ 时失重达 0.075%,在 $250\pm 3^\circ\text{C}$ 时失重达 0.164%。
11. 根据权利要求 1 所述的 A 晶型,其 TGA 图谱基本如图 3 所示。
12. 权利要求 1 所述式(I)化合物 A 晶型的制备方法,包括:
 - 1) 将式(I)化合物加入到醇类溶剂、乙酸乙酯、叔丁基甲醚、四氢呋喃、二氯甲烷中;

- 2) 在 15~100℃ 下搅拌 1~168 小时；
- 3) 过滤，收集滤饼，滤饼置于 30~45℃ 下真空干燥 0.5~2 小时，优选为 35℃ 下真空干燥 1 小时；



其中，式 (I) 化合物为

13. 一种药物组合物，其含有治疗有效量的根据权利要求 1~11 任意一项所述的式 (I) 化合物或式 (I) 化合物的 A 晶型和药学上可接受的载体。
14. 根据权利要求 1~11 任意一项所述的式 (I) 化合物或式 (I) 化合物的 A 晶型或根据权利要求 13 所述的药物组合物在制备心肌球蛋白抑制剂药物中的应用根据权利要求 13 所述的药物组合物在制备心肌球蛋白抑制剂药物中的应用。
15. 根据权利要求 1~11 任意一项所述的式 (I) 化合物或式 (I) 化合物的 A 晶型或根据权利要求 13 所述的药物组合物在制备治疗心衰和肥厚型心肌疾病中的应用。