

吡咯并三嗪类化合物的盐型、其晶型及其制备方法

优先权及相关申请

本发明要求享有于 2021 年 5 月 8 日向中国国家知识产权局提交的，专利申请号为 202110501179.9，名称为“吡咯并三嗪类化合物的盐型、其晶型及其制备方法”的在先申请的优先权。该在先申请的全文通过引用的方式结合于本发明中。

技术领域

本发明涉及吡咯并三嗪类化合物的盐型、其晶型及其制备方法和应用。具体涉及式 (II) 化合物及其晶型。

背景技术

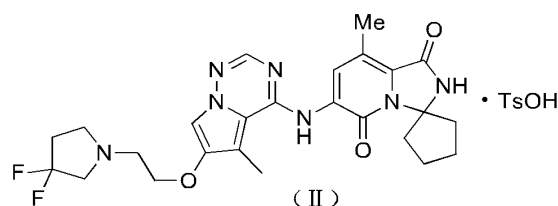
有丝分裂原激活的蛋白激酶作用激酶(MAP kinase interacting kinase, 简称 MNK), 属于丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶。人类的 MNK 有四种亚型, MNK1a, MNK1b 和 MNK2a, MNK2b, 分别由 MNK1 和 MNK2 基因表达。4 中亚型在 N 端都含有细胞核定位信号序列(nuclear localization signal, NLS) 和与 eIF4G 结合的序列, 是其可以进入细胞核发挥作用, 识别并结合下游 eIF4E。MNK1a 和 MNK2a 亚型 C 端具有与 MAPK 结合位点, 可以被上游 ERK 和 p38 磷酸化激活。MNK1a 的 C 端的细胞核转出信号序列(nuclear export signal, NES) 使其可以广泛存在于细胞质中, 而其他 3 个亚型多数存在于细胞核中。

真核细胞翻译起始因子 4E (eukaryotic initiation factor 4E, 简称 eIF4E) 是一种帽结合蛋白, 可以特异性地识别 mRNA 的 5' 端的帽子结构, 是蛋白质翻译过程重要的起始因子。S209 磷酸化的 eIF4E 可以促进下游蛋白质的翻译过程, 主要包括 c-MYC, cyclin D1, VEGF, FGF 以及 mcl-1 和 Bcl-2 等抗凋亡蛋白。eIF4E 在肺癌、结直肠癌、胃癌、胰腺导管癌等多种恶性肿瘤中表达上调。MNK 是已知的唯一的可磷酸化 eIF4E 的激酶。此外, MNK 处于多个涉及肿瘤和免疫信号通路的交汇处, 如 RAS 和 T 细胞受体 (TCR), 可以选择性的控制抗肿瘤免疫反应的调节器的转录。MNK 活性以及 eIF4E 的活化对肿瘤的发生和发展至关重要, 但对正常的细胞并不是必须的。因此选择性的 MNK 抑制剂有望成为低毒性的抗肿瘤药物。EFT508 (WO2015/200481; WO2016/172010; WO2017/075394; WO2017/075412; WO2017/087808; WO2017/117052; WO2018/152117; WO2018/218038) 是 EFFECTOR THERAPEUTICS, INC. 公司开发的选择性的口服 MNK 抑制剂。研究表明, eFT508 可以选择性的抑制 PD-1, LAG3, IL-10 的表达, 提高细胞毒性 T 细胞的功能, 同时正常 T 细胞的增殖不受影响。临床前的研究发现, eFT508 与 PD-1 单抗联用可以增强药效并提高响应

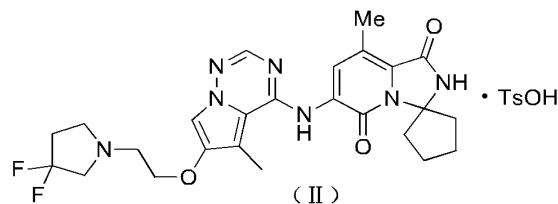
率。目前已完成 I 期临床试验, 安全性良好, 目前单药用于血液瘤和趋势性前列腺癌均处于临床 II 期研究中, 与 Avelumab 单抗联用用于微卫星稳定型结直肠癌(MSS CRC)的治疗处于临床 II 期研究中, 与 PD-1/PD-L1 疗法联用(对单一 PD-1/PD-L1 疗法已产生疾病进展或无完全缓解或部分缓解的病人)用于实体瘤的治疗处于临床 II 期研究中。

发明内容

本发明提供式 (II) 化合物,



本发明还提供式 (II) 化合物的 A 晶型, 其特征在于其 X 射线粉末衍射图谱在下列 2θ 角处具有特征衍射峰: $7.78 \pm 0.20^\circ$ 、 $11.38 \pm 0.20^\circ$ 和 $20.58 \pm 0.20^\circ$;



在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: $7.78 \pm 0.20^\circ$ 、 $9.44 \pm 0.20^\circ$ 、 $11.38 \pm 0.20^\circ$ 、 $19.84 \pm 0.20^\circ$ 、 $20.58 \pm 0.20^\circ$ 、 $21.56 \pm 0.20^\circ$ 、 $22.86 \pm 0.20^\circ$ 和 $24.82 \pm 0.20^\circ$ 。

在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: $6.58 \pm 0.20^\circ$ 、 $7.78 \pm 0.20^\circ$ 、 $9.44 \pm 0.20^\circ$ 、 $11.38 \pm 0.20^\circ$ 、 $14.38 \pm 0.20^\circ$ 、 $18.66 \pm 0.20^\circ$ 、 $19.84 \pm 0.20^\circ$ 、 $20.58 \pm 0.20^\circ$ 、 $21.56 \pm 0.20^\circ$ 、 $22.86 \pm 0.20^\circ$ 、 $23.54 \pm 0.20^\circ$ 和 $24.82 \pm 0.20^\circ$ 。

在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: $4.78^\circ \pm 0.20^\circ$ 、 $6.58^\circ \pm 0.20^\circ$ 、 $7.78^\circ \pm 0.20^\circ$ 、 $9.44^\circ \pm 0.20^\circ$ 、 $11.38^\circ \pm 0.20^\circ$ 、 $13.48^\circ \pm 0.20^\circ$ 、 $14.38^\circ \pm 0.20^\circ$ 、 $14.80^\circ \pm 0.20^\circ$ 、 $16.42^\circ \pm 0.20^\circ$ 、 $17.00^\circ \pm 0.20^\circ$ 、 $17.32^\circ \pm 0.20^\circ$ 、 $18.34^\circ \pm 0.20^\circ$ 、 $18.66^\circ \pm 0.20^\circ$ 、 $19.08^\circ \pm 0.20^\circ$ 、 $19.60^\circ \pm 0.20^\circ$ 、 $19.84^\circ \pm 0.20^\circ$ 、 $20.28^\circ \pm 0.20^\circ$ 、 $20.58^\circ \pm 0.20^\circ$ 、 $21.56^\circ \pm 0.20^\circ$ 、 $21.84^\circ \pm 0.20^\circ$ 、 $22.52^\circ \pm 0.20^\circ$ 、 $22.86^\circ \pm 0.20^\circ$ 、 $23.26^\circ \pm 0.20^\circ$ 、 $23.54^\circ \pm 0.20^\circ$ 、 $24.46^\circ \pm 0.20^\circ$ 、 $24.82^\circ \pm 0.20^\circ$ 、 $25.50^\circ \pm 0.20^\circ$ 、 $26.04^\circ \pm 0.20^\circ$ 、 $26.58^\circ \pm 0.20^\circ$ 、 $27.42^\circ \pm 0.20^\circ$ 、 $27.82^\circ \pm 0.20^\circ$ 、 $28.07^\circ \pm 0.20^\circ$ 、 $28.42^\circ \pm 0.20^\circ$ 、 $29.08^\circ \pm 0.20^\circ$ 、 $29.66^\circ \pm 0.20^\circ$ 、 $30.08^\circ \pm 0.20^\circ$ 、 $31.20^\circ \pm 0.20^\circ$ 、 $31.42^\circ \pm 0.20^\circ$ 、 $38.22^\circ \pm 0.20^\circ$ 和 $39.04^\circ \pm 0.20^\circ$ 。

在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: $4.78^\circ \pm 0.10^\circ$ 、 $6.58^\circ \pm 0.10^\circ$ 、 $7.78^\circ \pm 0.10^\circ$ 、 $9.44^\circ \pm 0.10^\circ$ 、 $11.38^\circ \pm 0.10^\circ$ 、 $13.48^\circ \pm 0.10^\circ$ 、 $14.38^\circ \pm 0.10^\circ$ 、 $14.80^\circ \pm 0.10^\circ$ 、

16.42°±0.10°、17.00°±0.10°、17.32°±0.10°、18.34°±0.10°、18.66°±0.10°、19.08°±0.10°、19.60°±0.10°、19.84°±0.10°、20.28°±0.10°、20.58°±0.10°、21.56°±0.10°、21.84°±0.10°、22.52°±0.10°、22.86°±0.10°、23.26°±0.10°、23.54°±0.10°、24.46°±0.10°、24.82°±0.10°、25.50°±0.10°、26.04°±0.10°、26.58°±0.10°、27.42°±0.10°、27.82°±0.10°、28.07°±0.10°、28.42°±0.10°、29.08°±0.10°、29.66°±0.10°、30.08°±0.10°、31.20°±0.10°、31.42°±0.10°、38.22°±0.10°和39.04°±0.10°。

在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：4.78°、6.58°、7.78°、9.44°、11.38°、13.48°、14.38°、14.80°、16.42°、17.00°、17.32°、18.34°、18.66°、19.08°、19.60°、19.84°、20.28°、20.58°、21.56°、21.84°、22.52°、22.86°、23.26°、23.54°、24.46°、24.82°、25.50°、26.04°、26.58°、27.42°、27.82°、28.07°、28.42°、29.08°、29.66°、30.08°、31.20°、31.42°、38.22°和39.04°。

在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：4.78°±0.20°、和/或 6.58°±0.20°、和/或 7.78°±0.20°、和/或 9.44°±0.20°、和/或 11.38°±0.20°、和/或 13.48°±0.20°、和/或 14.38°±0.20°、和/或 14.80°±0.20°、和/或 16.42°±0.20°、和/或 17.00°±0.20°、和/或 17.32°±0.20°、和/或 18.34°±0.20°、和/或 18.66°±0.20°、和/或 19.08°±0.20°、和/或 19.60°±0.20°、和/或 19.84°±0.20°、和/或 20.28°±0.20°、和/或 20.58°±0.20°、和/或 21.56°±0.20°、和/或 21.84°±0.20°、和/或 22.52°±0.20°、和/或 22.86°±0.20°、和/或 23.26°±0.20°、和/或 23.54°±0.20°、和/或 24.46°±0.20°、和/或 24.82°±0.20°、和/或 25.50°±0.20°、和/或 26.04°±0.20°、和/或 26.58°±0.20°、和/或 27.42°±0.20°、和/或 27.82°±0.20°、和/或 28.07°±0.20°、和/或 28.42°±0.20°、和/或 29.08°±0.20°、和/或 29.66°±0.20°、和/或 30.08°±0.20°、和/或 31.20°±0.20°、和/或 31.42°±0.20°、和/或 38.22°±0.20°、和/或 39.04°±0.20°。

在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：4.78°±0.10°、和/或 6.58°±0.10°、和/或 7.78°±0.10°、和/或 9.44°±0.10°、和/或 11.38°±0.10°、和/或 13.48°±0.10°、和/或 14.38°±0.10°、和/或 14.80°±0.10°、和/或 16.42°±0.10°、和/或 17.00°±0.10°、和/或 17.32°±0.10°、和/或 18.34°±0.10°、和/或 18.66°±0.10°、和/或 19.08°±0.10°、和/或 19.60°±0.10°、和/或 19.84°±0.10°、和/或 20.28°±0.10°、和/或 20.58°±0.10°、和/或 21.56°±0.10°、和/或 21.84°±0.10°、和/或 22.52°±0.10°、和/或 22.86°±0.10°、和/或 23.26°±0.10°、和/或 23.54°±0.10°、和/或 24.46°±0.10°、和/或 24.82°±0.10°、和/或 25.50°±0.10°、和/或 26.04°±0.10°、和/或 26.58°±0.10°、和/或 27.42°±0.10°、和/或 27.82°±0.10°、和/或 28.07°±0.10°、和/或 28.42°±0.10°、和/或 29.08°±0.10°、和/或 29.66°±0.10°、和/或 30.08°±0.10°、和/或 31.20°±0.10°、和/或 31.42°±0.10°、和/或 38.22°±0.10°、和/或 39.04°±0.10°。

在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。

在本发明的一些方案中，上述 A 晶型的 XRPD 使用 Cu-Kα 辐射来测定。

在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 (II) 化合物 A 晶型的 XRPD 解析数据

编号	2θ角 (°)	峰强度 (cts)	面间距 (Å)	相对强度 (%)	编号	2θ角 (°)	峰强度 (cts)	面间距 (Å)	相对强度 (%)
1	4.78	124	18.46	9.8	21	22.52	240	3.94	19.0
2	6.58	104	13.42	8.2	22	22.86	640	3.89	50.6
3	7.78	357	11.35	28.2	23	23.26	301	3.82	23.8
4	9.44	245	9.36	19.3	24	23.54	426	3.78	33.6
5	11.38	1265	7.77	100.0	25	24.46	68	3.64	5.4
6	13.48	93	6.57	7.3	26	24.82	453	3.58	35.8
7	14.38	310	6.15	24.5	27	25.50	93	3.49	7.4
8	14.80	251	5.98	19.8	28	26.04	179	3.42	14.1
9	16.42	137	5.39	10.9	29	26.58	214	3.35	16.9
10	17.00	144	5.21	11.4	30	27.42	97	3.25	7.7
11	17.32	91	5.12	7.2	31	27.82	190	3.20	15.0
12	18.34	291	4.83	23.0	32	28.07	85	3.18	6.7
13	18.66	349	4.75	27.6	33	28.42	81	3.14	6.4
14	19.08	136	4.65	10.8	34	29.08	91	3.07	7.2
15	19.60	269	4.53	21.2	35	29.66	81	3.01	6.4
16	19.84	514	4.47	40.6	36	30.08	90	2.97	7.1
17	20.28	167	4.38	13.2	37	31.20	71	2.86	5.6
18	20.58	726	4.31	57.4	38	31.42	63	2.84	5.0
19	21.56	667	4.12	52.7	39	38.22	36	2.35	2.8
20	21.84	341	4.07	26.9	40	39.04	57	2.31	4.5

在本发明的一些方案中，上述 A 晶型的差示扫描量热曲线在 287.17±3℃ 具有吸热峰。

在本发明的一些方案中，上述 A 晶型的 DSC 图谱如图 2 所示。

在本发明的一些方案中，上述 A 晶型的热重分析曲线（TGA）在 200.0±3℃ 时失重达 0.075%。

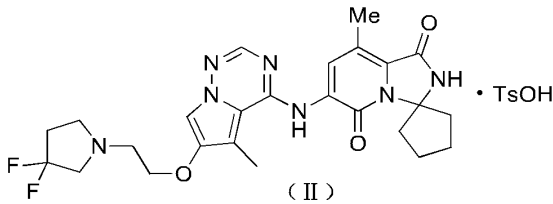
在本发明的一些方案中，上述 A 晶型的 TGA 图谱如图 3 所示。

本发明还提供式 (II) 化合物 A 晶型的制备方法，步骤包含如下：

- (a) 将式 (II) 化合物加入溶剂中使其成悬浊液；
- (b) 悬浊液在 40~55℃ 下搅拌 2~25 小时；
- (c) 过滤后在 30~45℃ 下真空干燥 10~24 小时；

其中，所述溶剂选自甲醇、乙腈和叔丁基甲基醚。

本发明提供了式 (II) 化合物的 B 晶型，其特征在于其 X 射线粉末衍射（XRPD）图谱在下列 2θ 角处具有特征衍射峰：7.55±0.20°、15.13±0.20°和 19.82±0.20°；



在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: $6.89\pm0.20^\circ$ 、 $7.55\pm0.20^\circ$ 、 $9.50\pm0.20^\circ$ 、 $11.35\pm0.20^\circ$ 、 $12.72\pm0.20^\circ$ 、 $15.13\pm0.20^\circ$ 、 $19.82\pm0.20^\circ$ 和 $26.63\pm0.20^\circ$ 。

在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: $6.89\pm0.20^\circ$ 、 $7.55\pm0.20^\circ$ 、 $9.50\pm0.20^\circ$ 、 $11.35\pm0.20^\circ$ 、 $12.24\pm0.20^\circ$ 、 $12.72\pm0.20^\circ$ 、 $15.13\pm0.20^\circ$ 、 $18.94\pm0.20^\circ$ 、 $19.82\pm0.20^\circ$ 、 $23.25\pm0.20^\circ$ 、 $26.63\pm0.20^\circ$ 和 $27.27\pm0.20^\circ$ 。

在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: $4.98\pm0.20^\circ$ 、 $6.89\pm0.20^\circ$ 、 $7.55\pm0.20^\circ$ 、 $8.46\pm0.20^\circ$ 、 $9.50\pm0.20^\circ$ 、 $10.12\pm0.20^\circ$ 、 $11.35\pm0.20^\circ$ 、 $12.24\pm0.20^\circ$ 、 $12.72\pm0.20^\circ$ 、 $14.05\pm0.20^\circ$ 、 $15.13\pm0.20^\circ$ 、 $15.65\pm0.20^\circ$ 、 $16.20\pm0.20^\circ$ 、 $17.79\pm0.20^\circ$ 、 $18.94\pm0.20^\circ$ 、 $19.82\pm0.20^\circ$ 、 $20.76\pm0.20^\circ$ 、 $21.61\pm0.20^\circ$ 、 $23.25\pm0.20^\circ$ 、 $23.87\pm0.20^\circ$ 、 $26.09\pm0.20^\circ$ 、 $26.63\pm0.20^\circ$ 、 $27.27\pm0.20^\circ$ 、 $28.45\pm0.20^\circ$ 、 $29.12\pm0.20^\circ$ 、 $30.95\pm0.20^\circ$ 、 $32.32\pm0.20^\circ$ 、 $34.62\pm0.20^\circ$ 和 $38.41\pm0.20^\circ$ 。

在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: $4.98\pm0.10^\circ$ 、 $6.89\pm0.10^\circ$ 、 $7.55\pm0.10^\circ$ 、 $8.46\pm0.10^\circ$ 、 $9.50\pm0.10^\circ$ 、 $10.12\pm0.10^\circ$ 、 $11.35\pm0.10^\circ$ 、 $12.24\pm0.10^\circ$ 、 $12.72\pm0.10^\circ$ 、 $14.05\pm0.10^\circ$ 、 $15.13\pm0.10^\circ$ 、 $15.65\pm0.10^\circ$ 、 $16.20\pm0.10^\circ$ 、 $17.79\pm0.10^\circ$ 、 $18.94\pm0.10^\circ$ 、 $19.82\pm0.10^\circ$ 、 $20.76\pm0.10^\circ$ 、 $21.61\pm0.10^\circ$ 、 $23.25\pm0.10^\circ$ 、 $23.87\pm0.10^\circ$ 、 $26.09\pm0.10^\circ$ 、 $26.63\pm0.10^\circ$ 、 $27.27\pm0.10^\circ$ 、 $28.45\pm0.10^\circ$ 、 $29.12\pm0.10^\circ$ 、 $30.95\pm0.10^\circ$ 、 $32.32\pm0.10^\circ$ 、 $34.62\pm0.10^\circ$ 和 $38.41\pm0.10^\circ$ 。

在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: 4.98° 、 6.89° 、 7.55° 、 8.46° 、 9.50° 、 10.12° 、 11.35° 、 12.24° 、 12.72° 、 14.05° 、 15.13° 、 15.65° 、 16.20° 、 17.79° 、 18.94° 、 19.82° 、 20.76° 、 21.61° 、 23.25° 、 23.87° 、 26.09° 、 26.63° 、 27.27° 、 28.45° 、 29.12° 、 30.95° 、 32.32° 、 34.62° 和 38.41° 。

在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: $4.98\pm0.20^\circ$ 、和/或 $6.89\pm0.20^\circ$ 、和/或 $7.55\pm0.20^\circ$ 、和/或 $8.46\pm0.20^\circ$ 、和/或 $9.50\pm0.20^\circ$ 、和/或 $10.12\pm0.20^\circ$ 、和/或 $11.35\pm0.20^\circ$ 、和/或 $12.24\pm0.20^\circ$ 、和/或 $12.72\pm0.20^\circ$ 、和/或 $14.05\pm0.20^\circ$ 、和/或 $15.13\pm0.20^\circ$ 、和/或 $15.65\pm0.20^\circ$ 、和/或 $16.20\pm0.20^\circ$ 、和/或 $17.79\pm0.20^\circ$ 、和/或 $18.94\pm0.20^\circ$ 、和/或 $19.82\pm0.20^\circ$ 、和/或 $20.76\pm0.20^\circ$ 、和/或 $21.61\pm0.20^\circ$ 、和/或 $23.25\pm0.20^\circ$ 、和/或 $23.87\pm0.20^\circ$ 、和/或 $26.09\pm0.20^\circ$ 、和/或 $26.63\pm0.20^\circ$ 、和/或 $27.27\pm0.20^\circ$ 、和/或 $28.45\pm0.20^\circ$ 、和/或 $29.12\pm0.20^\circ$ 、和/或 $30.95\pm0.20^\circ$ 、和/或 $32.32\pm0.20^\circ$ 、和/或 $34.62\pm0.20^\circ$ 、和/或 $38.41\pm0.20^\circ$ 。

在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: $4.98\pm0.10^\circ$ 、和/或 $6.89\pm0.10^\circ$ 、和/或 $7.55\pm0.10^\circ$ 、和/或 $8.46\pm0.10^\circ$ 、和/或 $9.50\pm0.10^\circ$ 、和/或 $10.12\pm0.10^\circ$ 、和/或 $11.35\pm0.10^\circ$ 、和/或 $12.24\pm0.10^\circ$ 、和/或 $12.72\pm0.10^\circ$ 、和/或 $14.05\pm0.10^\circ$ 、和/或 $15.13\pm0.10^\circ$ 、和/或 $15.65\pm0.10^\circ$ 、和/或 $16.20\pm0.10^\circ$ 、和/或 $17.79\pm0.10^\circ$ 、和/或 $18.94\pm0.10^\circ$ 、和/或 $19.82\pm0.10^\circ$ 、和/或 $20.76\pm0.10^\circ$ 、和/或 $21.61\pm0.10^\circ$ 、和/或 $23.25\pm0.10^\circ$ 、和/或 $23.87\pm0.10^\circ$ 、和/或 $26.09\pm0.10^\circ$ 、和/或

26.63°±0.10°、和/或 27.27°±0.10°、和/或 28.45°±0.10°、和/或 29.12°±0.10°、和/或 30.95°±0.10°、和/或 32.32°±0.10°、和/或 34.62°±0.10°、和/或 38.41°±0.10°。

在本发明的一些方案中，上述 B 晶型的 XRPD 图谱基本如附图 4 所示。

在本发明的一些方案中，上述 B 晶型的 XRPD 使用 Cu-Kα 辐射来测定。

在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 (II) 化合物 B 晶型的 XRPD 解析数据

编号	2θ角 (°)	峰强度 (cts)	面间距 (Å)	相对强度 (%)	编号	2θ角 (°)	峰强度 (cts)	面间距 (Å)	相对强度 (%)
1	4.98	72.32	17.74	2.97	16	19.82	1532.59	4.48	62.93
2	6.89	896.22	12.82	36.80	17	20.76	150.45	4.28	6.18
3	7.55	1530.49	11.71	62.85	18	21.61	244.84	4.11	10.05
4	8.46	157.42	10.46	6.46	19	23.25	347.03	3.83	14.25
5	9.50	859.72	9.31	35.30	20	23.87	274.20	3.73	11.26
6	10.12	135.06	8.74	5.55	21	26.09	263.02	3.42	10.80
7	11.35	889.45	7.80	36.52	22	26.63	913.50	3.35	37.51
8	12.24	510.42	7.23	20.96	23	27.27	351.00	3.27	14.41
9	12.72	666.73	6.96	27.38	24	28.45	138.33	3.14	5.68
10	14.05	259.16	6.31	10.64	25	29.12	70.84	3.07	2.91
11	15.13	2435.25	5.86	100.00	26	30.95	54.09	2.89	2.22
12	15.65	242.34	5.66	9.95	27	32.32	32.02	2.77	1.31
13	16.20	272.35	5.47	11.18	28	34.62	16.98	2.59	0.70
14	17.79	95.51	4.99	3.92	29	38.41	68.55	2.34	2.81
15	18.94	579.19	4.69	23.78					

在本发明的一些方案中，上述 B 晶型的差示扫描量热曲线在 300.0±3℃处具有吸热峰。

在本发明的一些方案中，上述 B 晶型的 DSC 图谱如附图 5 所示。

本发明还提供式 (II) 化合物B晶型的制备方法，步骤包含如下：

- (a) 将式 (II) 化合物加入溶剂中使其成悬浊液；
- (b) 悬浊液在40~55℃下搅拌2~25小时；
- (c) 过滤后在30~45℃下真空干燥10~24小时；

其中，所述溶剂选自乙醇和正庚烷。

本发明还提供上述式 (II) 化合物、上述 A 晶型和上述 B 晶型或根据上述方法制备得到的晶型在制备 MNK1/2 抑制剂药物中的应用。

本发明还提供上述式 (II) 化合物、上述 A 晶型和上述 B 晶型或根据上述方法制备得到的晶型在制备治疗结直肠癌药物中的应用。

技术效果

本发明式(I)化合物对 MNK1/2 具有很高的选择性,且对该激酶具有显著的抑制活性,同时具有较好的透膜性,且具有优良的药代动力学和药效学性质。以及式(II)化合物的各晶型稳定、受光、热、湿度影响小且具有良好的体内药效,成药前景广阔。

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。

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。

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。

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。

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。

本发明采用下述缩略词:DCM代表二氯甲烷;DMF代表*N,N*-二甲基甲酰胺;DMSO代表二甲亚砜;EtOH代表乙醇;MeOH代表甲醇;2-MeTHF代表2-甲基四氢呋喃;Dioxane代表二氧六环;ACN代表乙腈;Toluene代表甲苯;Acetone代表丙酮;EtOAc代表乙酸乙酯;THF代表四氢呋喃;H₂O代表水;TosOH代表对甲苯磺酸。

化合物依据本领域常规命名原则或者使用ChemDraw®软件命名,市售化合物采用供应商目录名称。

附图说明

图1:式(II)化合物的A晶型的XRPD图谱;

图2:式(II)化合物的A晶型的DSC图谱;

图3:式(II)化合物的A晶型的TGA图谱;

图 4：式（II）化合物的 B 晶型的 XRPD 图谱；

图 5：式（II）化合物的 B 晶型的 DSC 图谱；

图 6：式（II）化合物的 A 晶型的 DVS 图谱；

图 7：式（II）化合物的单晶椭球图。

仪器参数

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

表 3 A 晶型的 XRPD 测试参数

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
初级散射狭缝	28 mm
次级狭缝	28 mm
探测器狭缝	0.3 mm
防散射狭缝	1 mm
扫描轴	θs-θd
扫描范围 2θ (°)	3~40
扫描时间 (s)	0.5
扫描步长 2θ (°)	0.02

本发明 A 晶型的差热分析 (Differential Scanning Calorimeter, DSC) 方法，其测试参数见表 4。

表 4 A 晶型的 DSC 测试参数

DSC 测试参数	
仪器型号	梅特勒 DSC1
方法	线性升温
坩埚类型	高压镀金坩埚，压盖
温度范围	40-350℃
扫描速率(℃/分钟)	10

DSC 测试参数	
仪器型号	梅特勒 DSC1
保护气体	氮气

本发明 A 晶型的热重分析 (Thermal Gravimetric Analyzer, TGA) 方法，其测试参数见表 5。

表 5 A 晶型的 TGA 测试参数

TGA 测试参数	
仪器型号	TGA 550
方法	线性升温
样品盘	铝盘，开盖
温度范围	40~500℃
扫描速率(℃/分钟)	10
保护气体	氮气

本发明 A 晶型的动态蒸汽吸附分析 (Dynamic Vapor Sorption, DVS) 方法，其测试参数见表 6。

表 6 A 晶型的 DVS 测试参数

仪器厂家型号	SMS/ DVS intrinsic
测试条件	称取约 10 mg 样品，进行测试
温度	25℃
平衡	dm/dt: 0.01%/min
干燥	25℃，0%RH 干燥 2h
RH (%) 测试梯级	5% RH
RH (%) 测试梯级范围	0%~95%~0% RH

引湿性评价分类如下表 7 所示：

表 7 引湿性评价分类表

吸湿性分类	$\Delta W\%$
潮解	吸收足量水分形成液体
极具吸湿性	$\Delta W\% \geq 15\%$
有吸湿性	$15\% > \Delta W\% \geq 2\%$
略有吸湿性	$2\% > \Delta W\% \geq 0.2\%$
无或几乎无吸湿性	$\Delta W\% < 0.2\%$

注：ΔW%表示受试品在 25 ± 1℃和 80 ± 2% RH 下的吸湿增重。

本发明 B 晶型的 X-射线粉末衍射 (X-ray powder diffractometer, XRPD) 方法，其测试参数见表 8。

表 8 B 晶型的 XRPD 测试参数

XRPD 测试参数	
参数	设定值
型号	X'Pert ³
X 射线	Cu, $\text{K}\alpha$, $\text{K}\alpha 1$ (Å): 1.54060; $\text{K}\alpha 2$ (Å): 1.54443;
X 射线光管设定	45 kV, 40 mA
发散狭缝	固定 1/8°
防散射狭缝	P7.5
扫描模式	连续
扫描范围 2θ (°)	3~40
每步扫描时间 (s)	46.665
扫描步长 2θ (°)	0.0263

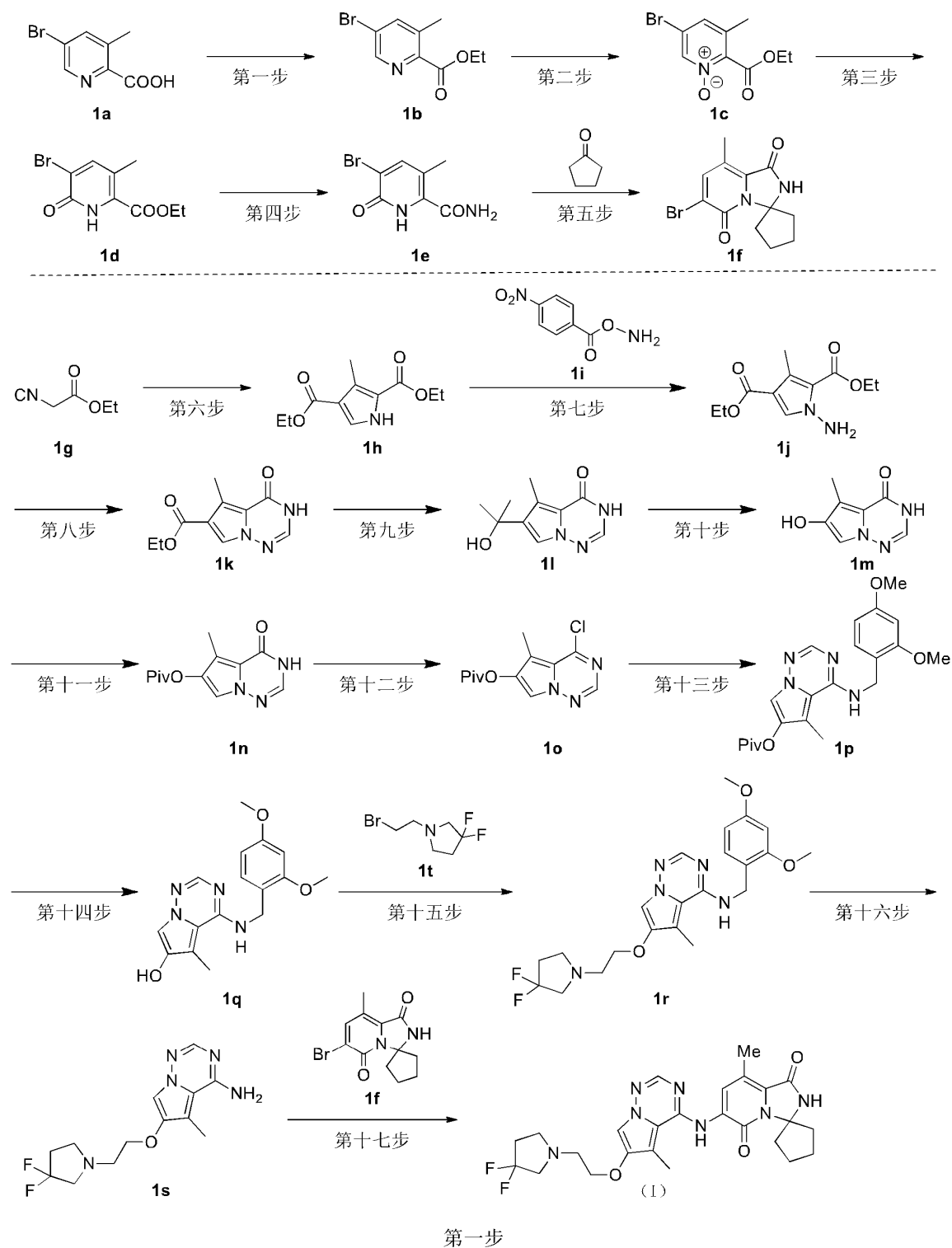
本发明 B 晶型的差热分析 (Differential Scanning Calorimeter, DSC) 方法，其测试参数见表 9。

表 9 B 晶型的 DSC 测试参数

DSC 测试参数	
仪器型号	TA Discovery DSC 2500
方法	线性升温
样品盘	铝盘，压盖
温度范围	25-330℃
扫描速率(℃/分钟)	10
保护气体	氮气

实施例 1：式 (I) 化合物的制备

合成路线:



将化合物 **1a** (100 g, 462 mmol) 溶于乙醇 (500 mL) 中, 在 0℃ 下滴加浓硫酸 (49.94 g, 509 mmol, 纯

度：98%)，反应液在 95℃下搅拌 16 小时。反应完成后，反应液减压浓缩除掉大部分乙醇，浓缩液加入水 (300mL)，用乙酸乙酯 (250 mL × 3) 萃取，合并的有机相用饱和碳酸氢钠 (300 mL) 洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤，滤液减压浓缩，得到化合物 **1b**。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 8.60 (s, 1H), 7.78 (s, 1H), 4.48-4.42 (m, 2H), 2.58 (s, 3H), 1.43 (t, *J*=7.2 Hz, 3H)。

第二步

将化合物 **1b** (10.0 g, 41.0 mmol) 溶于二氯甲烷 (200 mL) 中，在 0℃下搅拌加入三氟乙酸酐 (17.2 g, 81.9 mmol) 和过氧化氢尿素 (8.09 g, 86.0 mmol)，反应液升至 25℃下搅拌 16 小时。向反应液中加入水 (200 mL)，用二氯甲烷 (100 mL × 3) 萃取，合并有机相，依次用饱和碳酸氢钠 (200 mL × 2) 和饱和食盐水 (500 mL) 洗涤，用无水硫酸钠干燥，过滤，减压浓缩，得到化合物 **1c**。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 8.23 (s, 1H), 7.29 (s, 1H), 4.52-4.45 (m, 2H), 2.29 (s, 3H), 1.41 (t, *J*=7.2 Hz, 3H)。

第三步

将化合物 **1c** (22.0 g, 84.6 mmol) 溶于 *N,N*-二甲基甲酰胺 (130 mL) 中，在 0℃下搅拌加入三氟乙酸酐 (35.5 g, 169 mmol)，反应液在 50℃下搅拌 1 小时。向反应液中加入水 (200 mL)，用乙酸乙酯 (100 mL × 4) 萃取，合并有机相，依次用饱和碳酸氢钠 (200 mL × 3) 和饱和食盐水 (150 mL × 3) 洗涤，用无水硫酸钠干燥，过滤，减压浓缩。粗品在石油醚/乙酸乙酯混合液 (8/1, 90 mL) 中室温下搅拌 2 h，过滤得到化合物 **1d**。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 9.89 (br s, 1H), 7.75 (s, 1H), 4.46-4.41 (m, 2H), 2.44 (s, 3H), 1.43 (t, *J*=7.2 Hz, 3H)。

第四步

将化合物 **1d** (2.00 g, 7.69 mmol) 溶于乙醇 (20 mL) 中，加入氨水 (16.2 g, 115 mmol, 纯度：25%)，反应液在 40℃下搅拌 16 小时。反应液减压浓缩，粗品在甲醇/二氯甲烷混合液 (1/5, 48 mL) 中室温下搅拌过夜。然后过滤，用二氯甲烷 (5 mL × 2) 洗涤，滤饼减压浓缩得到化合物 **1e**。MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 231 和 233，实测值 231 和 233。

第五步

将化合物 **1e** (500 mg, 1.97 mmol) 和环戊酮 (664 mg, 7.89 mmol) 溶于无水二氧六环 (6 mL) 中，向反应液中逐滴加入浓硫酸 (98.7 mg, 0.986 mmol, 纯度：98%)，反应液在 95℃下搅拌 3 小时。反应液减压浓缩除去部分二氧六环 (约 3 mL)，过滤。向收集的滤饼中加入正己烷 (10 mL)，室温下搅拌 2 小时，过滤，滤饼真空干燥 2 小时，得到化合物 **1f**。MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 297 和 299，实测值 297 和 299。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10.16 (s, 1H), 8.02 (s, 1H), 2.71-2.78 (m, 2H), 2.37 (s, 3H), 1.91-1.93 (m, 2H), 1.79-1.84 (m, 2H), 1.63-1.67 (m, 2H)。

第六步

将化合物 **1g** (50 g, 0.442 mol)，1,8-二氮杂双环[5.4.0]十一碳-7-烯 (67.3 g, 0.442 mol) 溶于四氢呋喃 (500

mL) 中。将反应液加热至55℃, 在此温度下, 向反应液中加入乙醛 (9.74 g, 0.221 mol)。反应液在55℃下搅拌18小时。将反应液降至22℃, 用乙酸 (25 mL) 淬灭。反应液减压浓缩, 剩余物溶于乙酸乙酯 (1000 mL) 和稀盐酸 (1000 mL, 1 M), 分液后保留有机相, 水相用乙酸乙酯萃取 (300 mL × 3), 合并有机相, 有机相依次用饱和碳酸氢钠溶液 (100 mL) 和食盐水 (200 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩, 粗产物经过柱层析法分离 (4/1, 石油醚/乙酸乙酯, Rf = 0.56) 得到化合物**1h**。MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 226, 实测值226。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.29 (br s, 1H), 7.48 (d, J=3.2 Hz, 1H), 4.35 (q, J=7.2 Hz, 2H), 4.29 (q, J=7.2 Hz, 2H), 2.61 (s, 3H), 1.38 (t, J=7.2 Hz, 3H), 1.35 (m, J=7.2 Hz, 3H)。

第七步

将化合物**1h** (11.0 g, 48.8 mmol) 溶于*N*-甲基吡咯烷酮 (60 mL) 中, 向反应液中加入叔丁醇钾 (6.03 g, 53.7 mmol)。反应液在25℃下搅拌0.5小时后, 加入化合物**1i** (9.78 g, 53.7 mmol) 的*N*-甲基吡咯烷酮 (30 mL) 溶液。反应液继续搅拌20小时。将反应液用水 (200 mL) 洗涤, 乙酸乙酯萃取 (200 mL × 3), 合并有机相, 有机相用饱和食盐水 (20 mL × 3) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩, 粗产物经过柱层析法分离 (4/1, 石油醚/乙酸乙酯, Rf = 0.55) 得到化合物**1j**。MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 241, 实测值241。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.49 (s, 1H), 4.35 (q, J=7.2 Hz, 2H), 4.27 (q, J=7.2 Hz, 2H), 2.57 (s, 3H), 1.40 (t, J=7.2 Hz, 3H), 1.34 (t, J=7.2 Hz, 3H)。

第八步

将化合物**1j** (10.2 g, 42.5 mmol) 溶于甲酰胺 (120 mL), 向反应液中加入磷酸 (832 mg, 8.49 mmol)。反应液在125℃下搅拌16小时。将反应液降至22℃, 此时有大量白色固体析出。将混合物过滤, 收集的滤饼加入到石油醚/乙酸乙酯混合溶液 (1/1, 100 mL) 中, 混合物在30℃下搅拌0.5小时, 过滤得化合物**1k**。MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 222, 实测值222。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.90 (s, 1H), 7.84 (s, 1H), 4.23 (q, J=7.2 Hz, 2H), 2.61 (s, 3H), 1.28 (t, J=7.2 Hz, 3H)。

第九步

将化合物**1k** (4.00 g, 18.0 mmol) 溶于无水四氢呋喃 (50 mL) 中。在25℃下, 向反应液滴加甲基溴化镁 (30.1 mL, 90.3 mmol), 滴加完毕, 反应升温至25℃, 搅拌15小时。反应液用饱和氯化铵溶液 (100 mL) 淬灭, 乙酸乙酯 (50 mL × 5) 萃取, 合并有机相, 有机相用饱和食盐水 (10 mL × 1) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 粗产物经过薄层色谱层析法分离 (2/1, 石油醚/乙酸乙酯, Rf = 0.39) 得到化合物**1l**。MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 208, 实测值208。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.30 (br s, 1H), 7.24 (br s, 1H), 2.59 (s, 3H), 1.54 (s, 6H)。

第十步

将化合物**1l** (1.00 g, 4.83 mmol), 双氧水 (4.64 mL, 48.26 mmol, 含量: 30%) 溶于无水四氢呋喃 (30 mL) 中。在0℃下, 向反应液滴加冷的甲磺酸 (3.44 mL, 48.26 mmol) 的水 (10 mL) 溶液。反应液在0℃, 搅拌1

小时。反应液用10%亚硫酸钠水溶液 (15 mL) 淬灭, 直至淀粉碘化钾试纸显示阴性。溶液用乙酸乙酯 (50 mL $\times$ 3) 萃取, 合并有机相, 有机相用饱和食盐水 (10 mL $\times$ 1) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 粗产物经过柱层析色谱法分离 (2/1, 石油醚/乙酸乙酯, R_f = 0.38) 得到化合物**1m**。MS-ESI 计算值 $[M+H]^+$ 166, 实测值166。

第十一步

将化合物**1m** (400 mg, 2.42 mmol) 溶于无水四氢呋喃 (10 mL), 向反应液中加入三乙胺 (0.674 mL, 4.84 mmol), 特戊酰氯 (350 mg, 4.84 mmol)。反应液在0℃下搅拌1小时, 反应液用水 (10 mL) 洗涤, 乙酸乙酯萃取 (10 mL $\times$ 5), 合并有机相, 有机相用饱和食盐水 (10 mL $\times$ 1) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 粗产物经过薄层色谱层析法分离 (2/1, 石油醚/乙酸乙酯, R_f = 0.63) 得到化合物**1n**。MS-ESI 计算值 $[M+H]^+$ 250, 实测值250。 1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7.61 (s, 1H), 7.47 (s, 1H), 2.34 (s, 3H), 1.38 (s, 9H)。

第十二步

将化合物**1n** (450 mg, 1.81 mmol) 溶于三氯氧磷 (8.85 mL) 中。反应液在100℃下搅拌1小时。将反应液降至室温, 倒入饱和碳酸氢铵溶液 (300 mL) 中。混合物用二氯甲烷萃取 (50 mL $\times$ 3), 合并有机相, 有机相用饱和食盐水 (20 mL $\times$ 1) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩得到化合物**1o**。MS-ESI 计算值 $[M+H]^+$ 268, 实测值268。

第十三步

将化合物**1o** (2.00 g, 7.47 mmol), 2,4-二甲氧苄基胺 (1.87 g, 11.21 mmol), 三乙胺 (2.27 g, 22.4 mmol) 溶于无水四氢呋喃 (30 mL) 中。反应液在70℃下搅拌1小时。反应液减压浓缩得到粗品化合物**1p**。MS-ESI 计算值 $[M+H]^+$ 399, 实测值399。

第十四步

将化合物**1p** (3.50 g, 8.78 mmol) 溶于甲醇 (3 mL) 和四氢呋喃 (20 mL) 中, 向反应液中加入氢氧化钠 (703 mg, 17.6 mmol) 的水 (20 mL) 溶液。反应液在25℃下搅拌0.5小时。反应液浓缩除去有机溶剂, 水相用稀盐酸水溶液 (1 M) 调节至pH=7, 混合物用二氯甲烷萃取 (50 mL $\times$ 3), 合并有机相, 有机相用饱和食盐水 (10 mL $\times$ 1) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 粗产物经过柱层析法分离 (2/1, 石油醚/乙酸乙酯, R_f = 0.32) 得到化合物**1q**。MS-ESI 计算值 $[M+H]^+$ 315, 实测值315。 1H NMR (400MHz, CD_3OD) δ 7.67 (s, 1H), 7.21 (d, J =8.4 Hz, 1H), 7.07 (s, 1H), 6.56 (d, J =2.4 Hz, 1H), 6.47 (dd, J =2.4, 8.4 Hz, 1H), 4.66 (s, 2H), 3.90 (s, 3H), 3.79 (s, 3H), 2.36 (s, 3H)。

第十五步

将化合物**1t** (250 mg, 795 μ mol) 溶于*N,N*-二甲基甲酰胺 (4 mL) 中, 然后加入化合物**1q** (187 mg, 875 μ mol) 和氢氧化钠 (63.6 mg, 1.59 mmol), 并于50℃下搅拌0.5小时。反应完成后, 向反应液中加入水 (50 mL) 稀释, 用乙酸乙酯萃取 (30 mL $\times$ 3), 合并的有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 经柱层析分

离 (1:1, 石油醚/乙酸乙酯, Rf = 0.1) 得到化合物**1r**。MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 448, 实测值448。

第十六步

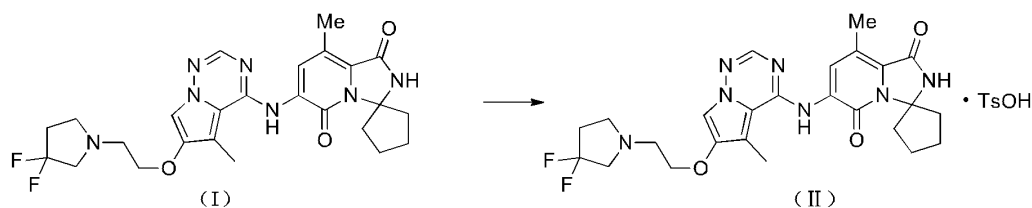
将化合物**1r** (300 mg, 670 μ mol) 溶于三氟乙酸 (3.0 mL) 中, 反应液在100℃下搅拌1小时。反应完成后, 将反应液浓缩, 剩余物经过高效液相色谱法 (盐酸体系) 纯化得化合物**1s**的盐酸盐。MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 298, 实测值298。

第十七步

将化合物 **1s** 的盐酸盐(90 mg), 化合物 **1f** (72 mg, 241 μ mol) 溶于无水二氧六环 (2 mL) 中, 然后加入碳酸铯 (250 mg, 766 μ mol) 和甲烷磺酸 (2-二环己基磷)-3,6-二甲氧基-2,4,6-三异丙基-1,1-联苯(2-氨基-1,1-联苯-2-基)钯(II) (20 mg, 21.9 μ mol), 反应液在氮气保护下 105℃搅拌 12 小时。减压浓缩反应液, 经柱层析分离 (10:1, 二氯甲烷/甲醇, Rf = 0.3) 纯化得到粗品化合物。向粗品中加入甲醇和乙醇混合溶液 (4/1, 10 mL), 20℃搅拌 16 小时, 过滤, 滤饼用甲醇洗涤 (2 mL $\times$ 2), 水洗涤 (2 mL $\times$ 2), 干燥得到式 (I) 化合物。MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 514, 实测值 514。¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ 10.00 (s, 1H), 8.84 (s, 1H), 8.64 (s, 1H), 8.08 (s, 1H), 7.70 (s, 1H), 4.08 (t, *J*=5.6 Hz, 2H), 3.00 (t, *J*=13.5 Hz, 2H), 2.91-2.78 (m, 6H), 2.47 (s, 3H), 2.46 (s, 3H), 2.31-2.18 (m, 2H), 2.04-1.92 (m, 2H), 1.91-1.78 (m, 2H), 1.76-1.62 (m, 2H)。

实施例 2: 式 (II) 化合物制备及其单晶培养

合成路线:



第一步

将式 (I) 化合物 (2 g, 3.89 μ mol) 与六氟异丙醇 (40 mL) 搅拌混匀, 向溶液中加入一水合对甲苯磺酸 (814.89 mg, 4.28 mmol), 反应液在 40℃下搅拌 3 小时, 将反应液滴加入异丙醇中 (160 mL), 过滤, 滤饼真空干燥得到式 (II) 化合物。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10.02 (s, 1H), 8.86 (br s, 1H), 8.64 (s, 1H), 8.11 (s, 1H), 7.78 (s, 1H), 7.48 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.10 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 4.31 (br d, *J* = 4.4 Hz, 2H), 4.08 - 3.62 (m, 6H), 2.89 - 2.78 (m, 2H), 2.72 - 2.57 (m, 2H), 2.51 (br s, 3H), 2.46 (s, 3H), 2.28 (s, 3H), 1.95-1.97 (m, 2H), 1.89 - 1.79 (m, 2H), 1.73 - 1.64 (m, 2H)。MS-ESI 计算值[M+H]⁺ 514, 实测值 514。

取适量式 (II) 化合物在室温条件下溶解于 1 mL 的二氯甲烷/甲醇 (1:1) 中, 将样品溶液置于 4 mL 半密封样品瓶中, 在室温条件下缓慢挥发。第二天得到无色块状晶体, 送 X-ray 单晶衍射测试, 单晶结构解析结果如图 7 所示。

实施例 3：式 (II) 化合物 A 晶型的制备

控制内温 20-30℃，向反应釜中依次加入乙腈 (7.0 L)、式 (I) 化合物 (700.22 g) 和一水合对甲苯磺酸 (272.25 g)，将反应釜内温升至 45-55℃搅拌 4.5 小时。过滤，滤饼用乙腈 (0.7 L) 漂洗。将所得滤饼转移至反应釜，加入乙腈 (7.0 L) 后在 45-55℃下搅拌 20 小时。过滤，滤饼依次用乙腈 (0.7 L) 和叔丁基甲基醚 (1.4 L) 漂洗后在温度不高于 45℃，压力≤-0.1 MPa 下真空减压干燥 17 小时得到式 (II) 化合物 A 晶型。其 XRPD，DSC，TGA 检测结果如图 1、图 2 和图 3 所示。

实施例 4：式 (II) 化合物在不同溶剂中的晶型筛选试验

分别称取约 50 mg 的式 (II) 化合物和于不同溶剂中，在 50℃下搅拌 3 小时，反应液冷却至室温，过滤收集并真空干燥后所得固体并进行 XRPD 测试，实验结果如下表 10 所示：

表 10 式 (II) 化合物在不同溶剂中的稳定性试验结果

编号	溶剂	显现	晶型
1	甲醇	悬浊液	晶型 A
2	乙腈	悬浊液	晶型 A
3	叔丁基甲基醚	悬浊液	晶型 A
4	乙醇	悬浊液	晶型 B
5	正庚烷	悬浊液	晶型 B

结论：式 (II) 化合物在甲醇、乙腈和叔丁基甲基醚中形成的是A晶型，在乙醇和正庚烷中形成的是B晶型。其中B晶型的XRPD、DSC检测结果依次如图4和图5。

实施例5：式 (II) 化合物A晶型的吸湿性研究

实验材料：

SMS DVS intrinsic 动态气体吸附仪

实验方法：

取式 (II) 化合物 A 晶型 10~15 mg 置于 DVS 样品盘内进行测试。

实验结果：

式 (II) 化合物 A 晶型 的 DVS 谱图如图 6 所示，ΔW=1.179%。

实验结论：

式 (II) 化合物 A 晶型在 25℃和 80% RH 下的吸湿增重为 1.179%，吸湿性较弱，且吸湿前后晶型未发生改变，故为稳定晶型。

实验例 6：本发明化合物的 A 晶型固体稳定性试验研究

参考中国药典 2020 年版四部 9001 “原料药物与制剂稳定性试验指导原则”和国家食品药品监督管理局颁布的《化学药物（原料药和制剂）稳定性研究技术指导原则（修订）》以及 ICH Q1B 的规定要求，对本发明化合物的 A 晶型进行加速放样稳定性试验和长期放样稳定性研究。

1. 长期加速放样稳定性试验：

每份样品分别装入双层 LDPE 袋，每层 LDPE 袋分别用扎扣密封，再放入铝箔袋中热封，然后放入相应条件的稳定性箱中考察。化合物的 A 晶型的固体稳定性试验结果见表 11。

表 11 本发明化合物的 A 晶型的固体稳定性试验结果

试验条件	时间点	晶型
25℃/60%RH	0 天	A 晶型
	12 个月	A 晶型
40℃/75%RH	0 天	A 晶型
	6 个月	A 晶型

结论：本发明化合物的 A 晶型在长期加速放样稳定性试验条件下具有良好的稳定性，A 晶型属于稳定晶型。

生物活性测试

测试例1：体外评价本发明化合物对MNK2蛋白激酶的抑制活性

实验目的：检测化合物的MNK2蛋白激酶抑制活性

实验材料：测定缓冲溶液：8 mM 3-(N-吗啉)丙磺酸，0.2 mM的乙二胺四乙酸二钠，0.01%月桂醇聚氧乙烯醚，5%甘油，0.1% β-巯基乙醇，1 mg牛血清蛋白

实验操作：使用Eurofins Pharma Discovery Services UK Limited的KinaseProfiler™服务进行Mnk2蛋白激酶抑制活性测定。将含有待测化合物的系列DMSO稀释液（始于10μM，按3倍系列稀释），MNK2 (h) 蛋白激酶和0.33 mg/mL的髓鞘碱性蛋白加入到将新鲜制备的缓冲溶液（pH=7.0）中，均匀搅拌。加入³³P-ATP（放射强度 10μCi/μL）和10 mM乙酸镁混合物引发反应，室温反应40分钟，加入磷酸稀释到0.5%的浓度停止反应。10 μL的反应液使用P30过滤机（P30 filtermat）过滤，用0.425%磷酸洗涤四次，每次4分钟，甲醇洗涤一次，干燥后使用Filter-Binding方法检测放射强度。

化合物的蛋白激酶抑制活性表达为相对空白底物（单纯DMSO）残存的蛋白激酶活性的百分比。利用Prism4软件包（GraphPad）计算IC₅₀值和曲线，具体信息如下表12所示。

表12 本发明化合物对MNK2蛋白激酶抑制活性的IC₅₀

化合物编号	对 MNK2 的 IC ₅₀ (nM)
式 (I) 化合物	17

实验结论：本发明式 (I) 化合物表现出优异的对MNK2蛋白激酶的抑制活性。

测试例2：体外评价本发明化合物对eIF4E磷酸化的抑制活性

实验目的：检测化合物对 HCT116 细胞株的 eIF4E 磷酸化抑制 IC₅₀ 值。

实验材料：HCT116细胞 (ATCC)，RPMI1640培养基 (Life technology)，胎牛血清 (Hyclone)，双抗 (青霉素、链霉素) (Millipore)，磷酸盐缓冲液 (Corning)，384 孔细胞板 (PerkinElmer)，AlphaLISA®SureFire®Ultra™ p-eIF4E (Ser209) Assay Kit (PerkinElmer)。

实验操作：将HCT116细胞消化后制成细胞悬液，铺板于96孔板中。然后将细胞板放到培养箱中培养过夜。将化合物稀释到相应浓度加入到细胞培养板中，继续培养3小时。随后用lysis buffer将细胞裂解，并将裂解液转移到384孔板中。按照试剂盒说明书新鲜配制混合受体，并加入384孔板中，室温孵育1小时，按照试剂盒说明书新鲜配制混合供体，并加入到384孔板中，室温孵育1小时，在EnVision上用标准AlphaLISA程序读取信号，用Graphpad prism进行曲线拟合并计算IC₅₀，具体信息如下表13所示。

表13 本发明化合物对eIF4E磷酸化抑制活性的IC₅₀

化合物编号	对 HCT116 细胞株 p-eIF4E 的 IC ₅₀ (nM)
式 (I) 化合物	8.6

实验结论：本发明式 (I) 化合物表现出优异的对eIF4E磷酸化抑制活性。

测试例3：本发明化合物在CT-26小鼠移植瘤中的体内药效实验

实验目的：测试化合物在CT-26小鼠移植瘤中的体内药效实验

实验材料：CT-26细胞，RMPI-1640培养基，含10%胎牛血清，小鼠（雌性，上海必凯实验动物有限公司）

实验操作：CT-26 细胞培养于 RMPI-1640 培养基，含 10%胎牛血清，在 5%CO₂ 的 37℃培养箱中进行培养。经传代生长至合适浓度且肿瘤细胞在对数生长期进行收集肿瘤细胞，计数重悬于 DPBS（磷酸盐缓冲溶液），调整细胞悬液浓度至 3×10⁶/mL 用于接种。

小鼠结肠癌移植瘤的建立：收集细胞，调整浓度为3×10⁶细胞/毫升（用DPBS重悬成细胞悬液），在无菌条件下，于小鼠的右侧背部皮下注射0.1mL的肿瘤细胞，每只小鼠接种的细胞数为3×10⁵。待肿瘤生长至一定大小后用数显游标卡尺来测定肿瘤的长（a）和宽（b），计算肿瘤体积，肿瘤体积（Tumor volume，

TV) 的计算公式为: $TV=a \times b^2/2$ 。

CT-26肿瘤细胞接种: 接种当天按照动物体重进行分组给药, 每组8只动物, 接种当天视为D0。待肿瘤大小长至60mm³左右按照肿瘤大小及体重对抗体组进行分组。实验期间每周三次测定动物的体重和肿瘤大小, 同时每天观察和记录动物的临床症状, 每次给药均参考最近一次称量的动物体重。测定化合物在30 mg/Kg QD (一天一次), 90 mg/Kg QD (一天一次), 200 mg/Kg QD (一天一次) 的剂量下, 给药21天, 对小鼠结肠癌移植瘤抑制效果, 具体信息如下表14所示。

抗肿瘤活性的评价指标为相对肿瘤增殖率T/C (%), $T/C (%) > 40\%$ 为无效, $T/C (%) \leq 40\%$, 并经统计学处理 $P < 0.05$ 为有效, T/C (%) 的计算公式为: $T/C (%) = (T_{RTV}/C_{RTV}) \times 100\%$ 。T_{RTV}为治疗组的相对肿瘤体积, C_{RTV}为阴性对照组的相对肿瘤体积; $TGI (%)^a = (1 - \text{处理组给药结束时平均瘤体积} / \text{溶剂对照组治疗结束时平均瘤体积}) \times 100\%$ 。

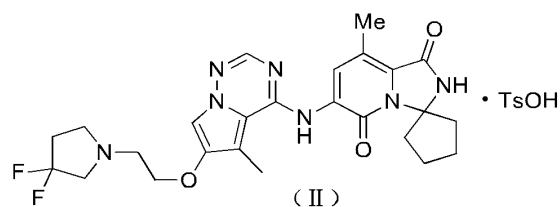
表14 本发明化合物在CT-26移植瘤模型中的抗肿瘤体内药效

化合物	给药剂量	TGI%	T/C%
式 (I) 化合物	30mg/Kg, QD	63.57	36.43
式 (I) 化合物	90mg/Kg, QD	68.89	31.11
式 (I) 化合物	200mg/Kg, QD	68.51	33.31

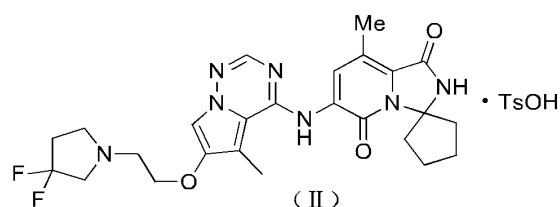
实验结论: 本发明式 (I) 化合物对小鼠结肠癌移植瘤抑制效果显著。

权 利 要 求

1. 式 (II) 化合物,



2. 式 (II) 化合物的 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: $7.78 \pm 0.20^\circ$ 、 $11.38 \pm 0.20^\circ$ 和 $20.58 \pm 0.20^\circ$;



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: $7.78 \pm 0.20^\circ$ 、 $9.44 \pm 0.20^\circ$ 、 $11.38 \pm 0.20^\circ$ 、 $19.84 \pm 0.20^\circ$ 、 $20.58 \pm 0.20^\circ$ 、 $21.56 \pm 0.20^\circ$ 、 $22.86 \pm 0.20^\circ$ 和 $24.82 \pm 0.20^\circ$ 。

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: $6.58 \pm 0.20^\circ$ 、 $7.78 \pm 0.20^\circ$ 、 $9.44 \pm 0.20^\circ$ 、 $11.38 \pm 0.20^\circ$ 、 $14.38 \pm 0.20^\circ$ 、 $18.66 \pm 0.20^\circ$ 、 $19.84 \pm 0.20^\circ$ 、 $20.58 \pm 0.20^\circ$ 、 $21.56 \pm 0.20^\circ$ 、 $22.86 \pm 0.20^\circ$ 、 $23.54 \pm 0.20^\circ$ 和 $24.82 \pm 0.20^\circ$ 。

5. 根据权利要求 4 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: 4.78° 、 6.58° 、 7.78° 、 9.44° 、 11.38° 、 13.48° 、 14.38° 、 14.80° 、 16.42° 、 17.00° 、 17.32° 、 18.34° 、 18.66° 、 19.08° 、 19.60° 、 19.84° 、 20.28° 、 20.58° 、 21.56° 、 21.84° 、 22.52° 、 22.86° 、 23.26° 、 23.54° 、 24.46° 、 24.82° 、 25.50° 、 26.04° 、 26.58° 、 27.42° 、 27.82° 、 28.07° 、 28.42° 、 29.08° 、 29.66° 、 30.08° 、 31.20° 、 31.42° 、 38.22° 和 39.04° 。

6. 根据权利要求 5 所述的 A 晶型, 其 XRPD 图谱基本如图 1 所示。

7. 根据权利要求 2-6 任意一项所述的 A 晶型, 其差示扫描量热曲线在 $287.17 \pm 3^\circ\text{C}$ 具有吸热峰。

8. 根据权利要求 7 所述的 A 晶型, 其 DSC 图谱如图 2 所示。

9. 根据权利要求 2-6 任意一项所述的 A 晶型, 其热重分析曲线在 $200.0 \pm 3^\circ\text{C}$ 时失重达 0.075%。

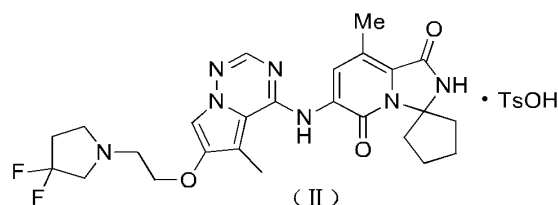
10. 根据权利要求 9 所述的 A 晶型, 其 TGA 图谱如图 3 所示。

11. 式 (II) 化合物 A 晶型的制备方法, 步骤包含如下:

- (a) 将式 (II) 化合物加入溶剂中使其成悬浊液;
- (b) 悬浊液在 $40 \sim 55^\circ\text{C}$ 下搅拌 2~25 小时;
- (c) 过滤后在 $30 \sim 45^\circ\text{C}$ 下真空干燥 10~24 小时;

其中,所述溶剂选自甲醇、乙腈和叔丁基甲基醚。

12.式(II)化合物的B晶型,其X射线粉末衍射图谱在下列2 θ 角处具有特征衍射峰:7.55 $\pm$ 0.20 $^\circ$ 、15.13 $\pm$ 0.20 $^\circ$ 和19.82 $\pm$ 0.20 $^\circ$;



13.根据权利要求12所述的B晶型,其X射线粉末衍射图谱在下列2 θ 角处具有特征衍射峰:6.89 $\pm$ 0.20 $^\circ$ 、7.55 $\pm$ 0.20 $^\circ$ 、9.50 $\pm$ 0.20 $^\circ$ 、11.35 $\pm$ 0.20 $^\circ$ 、12.72 $\pm$ 0.20 $^\circ$ 、15.13 $\pm$ 0.20 $^\circ$ 、19.82 $\pm$ 0.20 $^\circ$ 和26.63 $\pm$ 0.20 $^\circ$ 。

14.根据权利要求13所述的B晶型,其X射线粉末衍射图谱在下列2 θ 角处具有特征衍射峰:6.89 $\pm$ 0.20 $^\circ$ 、7.55 $\pm$ 0.20 $^\circ$ 、9.50 $\pm$ 0.20 $^\circ$ 、11.35 $\pm$ 0.20 $^\circ$ 、12.24 $\pm$ 0.20 $^\circ$ 、12.72 $\pm$ 0.20 $^\circ$ 、15.13 $\pm$ 0.20 $^\circ$ 、18.94 $\pm$ 0.20 $^\circ$ 、19.82 $\pm$ 0.20 $^\circ$ 、23.25 $\pm$ 0.20 $^\circ$ 、26.63 $\pm$ 0.20 $^\circ$ 和27.27 $\pm$ 0.20 $^\circ$ 。

15.根据权利要求14所述的B晶型,其X射线粉末衍射图谱在下列2 θ 角处具有特征衍射峰:4.98 $^\circ$ 、6.89 $^\circ$ 、7.55 $^\circ$ 、8.46 $^\circ$ 、9.50 $^\circ$ 、10.12 $^\circ$ 、11.35 $^\circ$ 、12.24 $^\circ$ 、12.72 $^\circ$ 、14.05 $^\circ$ 、15.13 $^\circ$ 、15.65 $^\circ$ 、16.20 $^\circ$ 、17.79 $^\circ$ 、18.94 $^\circ$ 、19.82 $^\circ$ 、20.76 $^\circ$ 、21.61 $^\circ$ 、23.25 $^\circ$ 、23.87 $^\circ$ 、26.09 $^\circ$ 、26.63 $^\circ$ 、27.27 $^\circ$ 、28.45 $^\circ$ 、29.12 $^\circ$ 、30.95 $^\circ$ 、32.32 $^\circ$ 、34.62 $^\circ$ 和38.41 $^\circ$ 。

16.根据权利要求15所述的B晶型,其XRPD图谱基本如图4所示。

17.根据权利要求12-16任意一项所述的B晶型,其差示扫描量热曲线在300.0 $\pm$ 3 $^\circ$ C处具有吸热峰。

18.根据权利要求17所述的B晶型,其DSC图谱如图5所示。

19.权利要求1所述的式(II)化合物、权利要求2-10任意一项所述A晶型、权利要求12-18任意一项所述B晶型以及权利要求11的方法制备得到的晶型在制备MNK1/2抑制剂药物中的应用。

20.权利要求1所述的式(II)化合物、权利要求2-10任意一项所述A晶型、权利要求12-18任意一项所述B晶型以及权利要求11的方法制备得到的晶型在制备治疗结直肠癌药物中的应用。