

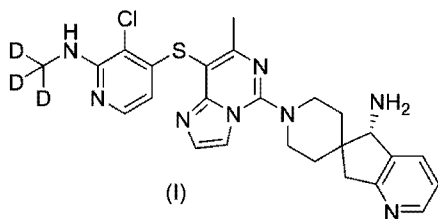
(21) 申請案號：110148796 (22) 申請日：中華民國 110 (2021) 年 12 月 24 日  
 (51) Int. Cl. : C07D487/04 (2006.01) A61K31/519 (2006.01)  
 A61P35/00 (2006.01)  
 (30) 優先權：2020/12/25 中國大陸 202011563824.1  
 (71) 申請人：大陸商江蘇恒瑞醫藥股份有限公司 (中國大陸) JIANGSU HENGRUI MEDICINE CO., LTD. (CN)  
 中國大陸  
 (72) 發明人：張志鵬 ZHANG, ZHIPENG (CN)；李志亞 LI, ZHIYA (CN)；胡逸民 HU, YIMIN (CN)；周先強 ZHOU, XIANQIANG (CN)；杜振興 DU, ZHENXING (CN)；王捷 WANG, JIE (CN)  
 (74) 代理人：洪蘭心  
 申請實體審查：無 申請專利範圍項數：15 項 圖式數：12 共 77 頁

## (54) 名稱

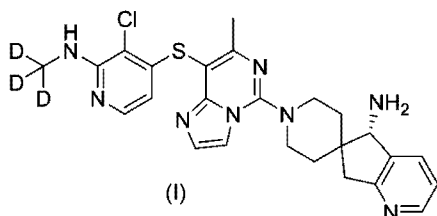
一種嘧啶并五元氮雜環類衍生物的晶型及其製備方法

## (57) 摘要

本公開涉及一種嘧啶并五元氮雜環類衍生物的晶型及其製備方法。具體而言，本公開涉及式(I)所示化合物的不同晶型及其製備方法，本公開提供的式(I)化合物的晶型具備良好的穩定性，可更好地用於臨床治療。



The present disclosure relates to a crystal form of a pyrimido five-membered nitrogen heterocyclic derivative and a preparation method thereof. Specifically, the present disclosure relates to different crystal forms of a compound represented by formula (I) and preparation methods thereof. The crystal forms of the compound of formula (I) provided by the present disclosure has good stability and can be better used for clinical treatment.





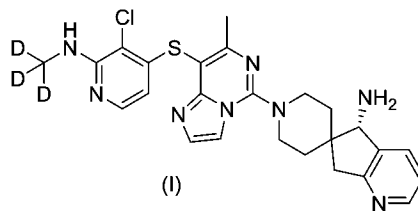
## 【發明摘要】

【中文發明名稱】一種嘧啶并五元氮雜環類衍生物的晶型及其製備方法

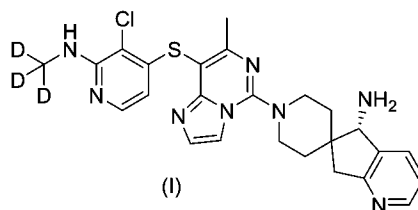
【英文發明名稱】CRYSTAL FORM OF A PYRIMIDO FIVE-MEMBERED

NITROGEN HETEROCYCLIC DERIVATIVE AND PREPARATION METHOD THEREOF

【中文】本公開涉及一種嘧啶并五元氮雜環類衍生物的晶型及其製備方法。具體而言，本公開涉及式(I)所示化合物的不同晶型及其製備方法，本公開提供的式(I)化合物的晶型具備良好的穩定性，可更好地用於臨床治療。



【英文】The present disclosure relates to a crystal form of a pyrimido five-membered nitrogen heterocyclic derivative and a preparation method thereof. Specifically, the present disclosure relates to different crystal forms of a compound represented by formula (I) and preparation methods thereof. The crystal forms of the compound of formula (I) provided by the present disclosure has good stability and can be better used for clinical treatment.



【指定代表圖】 無

【代表圖之符號簡單說明】 無

## 【發明說明書】

【中文發明名稱】一種嘧啶并五元氮雜環類衍生物的晶型及其製備方法

【英文發明名稱】CRYSTAL FORM OF A PYRIMIDO FIVE-MEMBERED NITROGEN HETEROCYCLIC DERIVATIVE AND PREPARATION METHOD THEREOF

### 【技術領域】

【0001】本公開涉及一種嘧啶并五元氮雜環類衍生物的晶型及其製備方法、醫藥用途，屬於製藥領域。

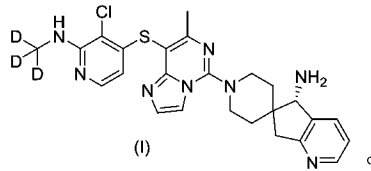
### 【先前技術】

【0002】本申請要求申請日為2020/12/25的中國專利申請202011563824.1的優先權。本申請引用上述中國專利申請的全文。

【0003】含Src同源2蛋白質酪胺酸磷酸酶2(Src homology domain 2containing tyrosine phosphatase-2，SHP2)是由PTPN11基因編碼的一種進化保守的非受體型蛋白酪胺酸磷酸酶(PTP)，主要由兩個SH2結構域(N-SH2、C-SH2)和一個PTP催化域組成，廣泛表達於人類各個組織，在維持組織發育和細胞穩態等方面發揮了重要作用。SHP2與通過Ras-有絲分裂原-活化的蛋白激酶、JAK-STAT或磷酸肌醇3-激酶AKT通路的信號有關。PTPN11基因的突變以及隨後SHP2的突變已經在多種人類疾病中獲得識別，例如努南氏症候群(N Noonan Syndrome)、豹皮症候群(Leopard Syndrome)、幼年性骨髓單核細胞白血病、成神經細胞瘤、黑素瘤、急性骨髓性白血病以及乳腺癌、肺癌和結腸癌。因此，對於治療各種疾病的新療法的發展而言，SHP2代表可具有高吸引力的靶點。

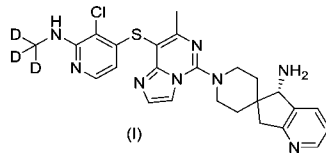
【0004】已公開的SHP2靶點的相關研究的專利申請有WO2018136264A、WO2015003094A、WO2018160731A、WO2018130928A1、WO2018136265A、WO2018172984A、WO2018081091、WO2016203405、WO2017211303A、WO2018013597A等；目前諾華的SHP2抑制劑TNO155及JACOBIO的SHP2抑制劑JAB-3068均在處於I期臨床階段，尚無已上市的該靶點的產品，因此仍需要繼續開發更高效的新的SHP2抑制劑，以期為患者提供新的有效的抗癌藥物。

【0005】WO2020259679A的專利申請公開了一種式(I)所示化合物，為滿足用藥需求，對其晶型進行研究很有必要，



### 【發明內容】

【0006】本公開提供一種式(I)所示化合物的A晶型，



以衍射角 $2\theta$ 角度表示的X-射線粉末衍射圖譜，在4.847、9.801、13.778、14.770、15.444、26.077處有特徵峰。

【0007】可選的實施方案中，本公開提供的式(I)所示化合物的A晶型，以衍射角 $2\theta$ 角度表示的X-射線粉末衍射圖譜，在4.847、9.801、13.138、13.778、14.770、15.444、18.363、19.856、21.092、23.371、26.077、28.130處有特徵峰。

【0008】可選的實施方案中，本公開提供的式(I)所示化合物的A晶型，以衍射角 $2\theta$ 角度表示的X-射線粉末衍射圖譜，在4.847、9.801、13.138、13.778、14.770、15.444、18.363、19.856、21.092、22.034、23.371、24.460、26.077、28.130、28.970、31.894、32.920、33.916、38.924處有特徵峰。

【0009】可選的實施方案中，本公開提供的式(I)所示化合物的A晶型，其X-射線粉末衍射圖如附圖2所示。

【0010】本公開提供一種式(I)所示化合物的A晶型的製備方法，其選自：

- a) 將式(I)所示化合物與溶劑I混合，溶清，結晶析出，所述溶劑I選自二氯甲烷、三氯甲烷中的至少一種；或
- b) 將式(I)所示化合物與溶劑II混合，結晶析出，所述溶劑II選自四氫呋喃、乙酸乙酯、甲苯、丙酮、甲醇、乙醇、乙腈、甲基第三丁基醚、水、異丙醚、丁酮、正己烷中的至少一種；或
- c) 將式(I)所示化合物與溶劑III混合得溶清液，溶清液與溶劑IV混合，結晶析出，所述溶劑III選自甲醇、N，N-二甲基甲醯胺、N-甲基吡咯烷酮中至少一種；所述溶劑IV選自乙腈、乙酸乙酯、醋酸異丙酯、甲基第三丁基醚、異丙醚中的至少一種。

【0011】本公開提供一種式(I)所示化合物的B晶型，以衍射角 $2\theta$ 角度表示的X-射線粉末衍射圖譜，在4.606、9.110、11.423、13.745、16.006、22.973處有特徵峰。

【0012】可選的實施方案中，本公開提供的式(I)所示化合物的B晶型，以衍射角 $2\theta$ 角度表示的X-射線粉末衍射圖譜，在4.606、9.110、11.423、13.745、16.006、18.349、22.973、25.285、27.505、29.262處有特徵峰。

【0013】可選的實施方案中，本公開提供的式(I)所示化合物的B晶型，以衍射角 $2\theta$ 角度表示的X-射線粉末衍射圖譜，在4.606、9.110、11.423、13.745、

16.006、18.349、19.767、22.973、24.700、25.285、27.505、29.262、31.451、32.407、34.072、35.983、37.216、38.388處有特徵峰。

【0014】一種式(I)所示化合物的B晶型的製備方法，將式(I)所示化合物與甲醇溶清，過濾，與甲基第三丁基醚混合，結晶析出。

【0015】本公開提供一種式(I)所示化合物的C晶型，以衍射角 $2\theta$ 角度表示的X-射線粉末衍射圖譜，在8.905、12.920、13.428、14.074、18.458、22.519處有特徵峰。

【0016】可選的實施方案中，本公開提供的式(I)所示化合物的C晶型，以衍射角 $2\theta$ 角度表示的X-射線粉末衍射圖譜，在8.905、12.920、13.428、14.074、16.104、17.996、18.458、18.965、20.580、22.519、23.949、26.395、28.795、31.748處有特徵峰。

【0017】可選的實施方案中，本公開提供的式(I)所示化合物的C晶型，以衍射角 $2\theta$ 角度表示的X-射線粉末衍射圖譜，在8.905、12.920、13.428、14.074、16.104、17.996、18.458、18.965、20.580、22.519、23.949、25.011、26.395、27.226、28.379、28.795、30.041、31.748、32.487、35.578、37.978、41.393處有特徵峰。

【0018】一種式(I)所示化合物的C晶型的製備方法，將式(I)所示化合物與選自二氧六環、N-甲基吡咯烷酮、N,N-二甲基甲醯胺的至少一種溶劑混合，得溶清液，溶清液與選自甲基第三丁基醚、異丙醇至少一種的溶劑混合，結晶析出。

【0019】本公開提供一種式(I)所示化合物的D晶型，以衍射角 $2\theta$ 角度表示的X-射線粉末衍射圖譜，在4.766、9.594、14.089、14.471、18.981、19.609、25.987處有特徵峰。

【0020】可選的實施方案中，本公開提供的式(I)所示化合物的D晶型，以衍射角 $2\theta$ 角度表示的X-射線粉末衍射圖譜，在4.766、9.594、13.461、14.089、14.471、16.602、18.981、19.609、20.238、22.616、24.187、24.770、25.264、25.987、29.123、30.380、32.714、34.688、39.042、39.535、44.382處有特徵峰。

【0021】一種式(I)所示化合物的D晶型的製備方法，選自以下方法：

a) 將式(I)所示化合物與甲醇混合得溶清液，溶清液與異丙醚混合，結晶析出；

b) 將式(I)所示化合物與乙醇-水混合，溶清，揮發析晶。

【0022】本公開提供一種式(I)所示化合物的E晶型，以衍射角 $2\theta$ 角度表示的X-射線粉末衍射圖譜，在4.603、9.209、13.920、15.097、19.700、25.454處有特徵峰。

【0023】可選的實施方案中，本公開提供的式(I)所示化合物的E晶型，以衍射角 $2\theta$ 角度表示的X-射線粉末衍射圖譜，在4.603、9.209、12.888、13.920、15.097、18.641、19.194、19.700、20.529、22.876、25.454、25.664、27.775、29.504處有特徵峰。

【0024】可選的實施方案中，本公開提供的式(I)所示化合物的E晶型，以衍射角 $2\theta$ 角度表示的X-射線粉末衍射圖譜，在4.603、9.209、12.888、13.920、15.097、18.641、19.194、19.700、20.529、21.863、22.876、23.659、24.349、25.054、25.454、25.664、27.203、27.698、27.775、28.906、29.504、29.965、30.747、31.944、34.430、38.756、39.263、42.577處有特徵峰。

【0025】一種式(I)所示化合物的E晶型的製備方法，所述方法選自：

a) 將式(I)所示化合物與溶劑V混合得溶清液，溶清液與溶劑VI混合，結晶析出，所述溶劑V選自N，N-二甲基甲醯胺、N，N-二甲基甲醯胺、甲

醇、二甲基亞砷、二氯甲烷溶劑中的至少一種；所述溶劑VI選自異丙醚、甲基第三丁基醚、異丙醇、二氧六環、丙酮、正己烷、甲苯和乙腈中的至少一種；或

b) 將式(I)所示化合物與二氯甲烷-乙腈溶劑混合，溶清，結晶析出。

【0026】本公開提供一種式(I)所示化合物的F型，以衍射角 $2\theta$ 角度表示的X-射線粉末衍射圖譜，在4.656、14.068、15.183、18.858、23.235處有特徵峰。

【0027】可選的實施方案中，本公開提供的式(I)所示化合物的F晶型，以衍射角 $2\theta$ 角度表示的X-射線粉末衍射圖譜，在 $2\theta$ 角為4.656、9.341、12.670、13.443、14.068、14.850、15.183、18.858、19.436、20.518、23.235、25.591、28.386、29.543處有特徵峰。

【0028】可選的實施方案中，本公開提供的式(I)所示化合物的F晶型，以衍射角 $2\theta$ 角度表示的X-射線粉末衍射圖譜，在4.656、9.341、12.670、13.443、14.068、14.850、15.183、16.122、18.032、18.858、19.436、20.518、22.150、22.571、23.235、24.442、24.863、25.591、26.585、27.765、28.386、28.934、29.543、30.245、31.113、32.116、32.491、36.608、38.199、38.620、40.679、43.206處有特徵峰。

【0029】本公開提供一種式(I)所示化合物的F晶型的製備方法，將式(I)所示化合物與乙醇-水混合，結晶析出。

【0030】本公開提供一種式(I)所示化合物的G晶型，以衍射角 $2\theta$ 角度表示的X-射線粉末衍射圖譜，在4.869、9.735、13.290、14.713、20.020處有特徵峰。

【0031】可選的實施方案中，本公開提供的式(I)所示化合物的G晶型，以衍射角 $2\theta$ 角度表示的X-射線粉末衍射圖譜，在4.869、9.735、10.863、13.290、

14.713、14.968、17.852、19.399、20.020、20.593、21.796、22.793、24.251、24.681、25.510、25.907、26.327、27.617、30.155處有特徵峰。

【0032】可選的實施方案中，本公開提供的式(I)所示化合物的G晶型，以衍射角 $2\theta$ 角度表示的X-射線粉末衍射圖譜，在4.869、9.735、10.863、13.290、14.713、14.968、17.852、19.399、20.020、20.593、21.796、22.793、24.251、24.681、25.510、25.907、26.327、27.617、28.051、29.696、30.155、31.101、32.405、33.402、35.019、39.615、41.021、45.193、46.644、54.898處有特徵峰。

【0033】一種式(I)所示化合物的G晶型的製備方法，將式(I)所示化合物與乙醇-水混合，溶清，與水混合，結晶析出，40°C 乾燥3天。

【0034】本公開提供一種式(I)所示化合物的H晶型，以衍射角 $2\theta$ 角度表示的X-射線粉末衍射圖譜，在8.608、12.983、13.476、17.716、20.144、23.371處有特徵峰。

【0035】可選的實施方案中，本公開提供的式(I)所示化合物的H晶型，以衍射角 $2\theta$ 角度表示的X-射線粉末衍射圖譜，在 8.608、11.238、12.983、13.476、17.716、18.227、19.392、20.144、21.435、21.914、22.935、23.371、23.814、25.416、30.620處有特徵峰。

【0036】可選的實施方案中，本公開提供的式(I)所示化合物的H晶型，以衍射角 $2\theta$ 角度表示的X-射線粉末衍射圖譜，在8.608、11.238、11.718、12.983、13.476、14.485、17.716、18.227、19.392、20.144、21.435、21.914、22.935、23.371、23.814、25.416、26.499、28.195、28.887、30.620、31.767、32.874、33.970、34.839、35.854、37.045、38.478、39.958、41.311、43.925、44.582處有特徵峰。

【0037】一種式(I)所示化合物的H晶型的製備方法，將式(I)所示化合物與乙醇-水混合，結晶析出。

【0038】在某些實施方式中，本公開所述的晶型的製備方法還包括過濾、洗滌或乾燥步驟。

【0039】本公開提供一種經有上述製備方法製備得到的式(I)所示化合物的A晶型、B晶型、C晶型、D晶型、E晶型、F晶型、G晶型及H晶型。

【0040】可選的實施方案中，本公開中式(I)所示化合物及其對應晶型，每一個氬原子(D)具有至少20%的豐度。

【0041】可選的實施方案中，本公開中式(I)所示化合物及其對應晶型，每一個氬原子(D)具有至少50%的豐度。

【0042】可選的實施方案中，本公開中式(I)所示化合物及其對應晶型，每一個氬原子(D)具有至少90%的豐度。

【0043】可選的實施方案中，本公開中式(I)所示化合物及其對應晶型，每一個氬原子(D)具有至少98%的豐度。

【0044】本公開還提供了一種藥物組合物，含前述式(I)所示化合物的晶型，或由前述方法製備得到的式(I)所示化合物的晶型，或混合物，和任選自藥學上可接受的載體、稀釋劑或賦形劑。

【0045】本公開還提供了由前述式(I)所示化合物的晶型製備得到的藥物組合物。

【0046】本公開還提供了一種藥物組合物的製備方法，包括將前述式(I)所示化合物的晶型，或由前述方法製備得到的式(I)所示化合物的晶型，或其混合物與藥學上可接受的載體、稀釋劑或賦形劑混合的步驟。

【0047】本公開還提供了前述式(I)所示化合物的晶型，或由前述方法製備得到的式(I)所示化合物的晶型，或其混合物，或前述組合物，或由前

述方法製備得到的組合物在製備製備治療與SHP2調節有關的疾病或病症的藥物中的用途。

【0048】本公開還提供了前述式(I)所示化合物的晶型，或由前述方法製備得到的式(I)所示化合物的晶型，或其混合物，或前述組合物，或由前述方法製備得到的組合物在製備製備預防和/或治療腫瘤或癌症的藥物中的用途。

【0049】本公開還提供了前述式(I)所示化合物的晶型，或由前述方法製備得到的式(I)所示化合物的晶型，或前述組合物，或由前述方法製備得到的組合物在製備預防或者治療努南氏症候群、豹皮症候群的藥物中的用途。

【0050】本公開還提供了前述式(I)所示化合物的晶型，或由前述方法製備得到的式(I)所示化合物的晶型，或前述組合物，或由前述方法製備得到的組合物在製備預防或者治療幼年性骨髓單核細胞白血病、神經母細胞瘤、黑素瘤、急性骨髓性白血病、乳腺癌、食管癌、肺癌、結腸癌、頭癌、胰腺癌、頭和頸鱗狀細胞癌、胃癌、肝癌、間變性大細胞淋巴瘤和成膠質細胞瘤藥物中的用途。

【0051】本公開所述的“ $2\theta$ 或 $2\theta$ 角度”是指衍射角， $\theta$ 為布拉格角，單位為 $^{\circ}$ 或度；每個特徵峰 $2\theta$ 的誤差範圍為 $\pm 0.20$ ，可以為-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、0.09、0.10、0.11、0.12、0.13、0.14、0.15、0.16、0.17、0.18、0.19、0.20。

【0052】本公開所述的“結晶析出”包括但不限於攪拌結晶、降溫結晶、打漿結晶和揮發結晶。

【0053】本公開中所述的“差示掃描量熱分析或DSC”是指在樣品升溫或恒溫過程中，測量樣品與參考物之間的溫度差、熱流差，以表徵所有與熱效應有關的物理變化和化學變化，得到樣品的相變信息。

【0054】本公開中所述乾燥溫度一般為25°C-100°C，優選40°C-70°C，可以常壓乾燥，也可以減壓乾燥。

【0055】除另有說明，當一個位置被特別地指定為氘（D）時，該位置應理解為具有大於氘的天然豐度（其為0.015%）至少1000倍的豐度的氘（即，至少10%的氘摻入）。示例中化合物的具有大於氘的天然豐度可以是至少1000倍的豐度的氘、至少2000倍的豐度的氘、至少3000倍的豐度的氘、至少4000倍的豐度的氘、至少5000倍的豐度的氘、至少6000倍的豐度的氘或更高豐度的氘。

【0056】WO2020259679A的內容，一併引用到本公開中。

#### 【圖式簡單說明】

##### 【0057】

圖1為式(I)所示化合物無定型XRPD譜圖。

圖2為式(I)所示化合物A晶型XRPD譜圖。

圖3為式(I)所示化合物A晶型TGA譜圖。

圖4為式(I)所示化合物A晶型DSC譜圖。

圖5為式(I)所示化合物A晶型DVS前後XRPD對比譜圖。

圖6為式(I)所示化合物B晶型XRPD譜圖。

圖7為式(I)所示化合物C晶型XRPD譜圖。

圖8為式(I)所示化合物D晶型XRPD譜圖。

圖9為式(I)所示化合物E晶型XRPD譜圖。

圖10為式(I)所示化合物F晶型XRPD譜圖。

圖11為式(I)所示化合物G晶型XRPD譜圖。

圖12為式(I)所示化合物的H晶型XRPD譜圖。

### 【實施方式】

【0058】通過以下實施例和實驗例進一步詳細說明本發明。這些實施例和實驗例僅用於說明性目的，而並不用於限制本發明的範圍。

【0059】實驗所用儀器的測試條件：

化合物的結構是通過核磁共振(NMR)或/和質譜(MS)來確定的。NMR位移( $\delta$ )以10<sup>-6</sup> (ppm)的單位給出。NMR的測定是用Bruker AVANCE-400核磁儀，測定溶劑為氘代二甲基亞砒(DMSO-d<sub>6</sub>)、氘代氯仿(CDCl<sub>3</sub>)、氘代甲醇(CD<sub>3</sub>OD)，內標為四甲基矽烷(TMS)。

【0060】MS的測定用Shimadzu 2010 Mass Spectrometer或Agilent 6110A MSD質譜儀。

【0061】HPLC的測定使用安捷倫1260DAD高壓液相色譜儀(Sunfire C18 150×4.6mm 色譜柱)和 Thermo U3000 高壓液相色譜儀(Gimini C18 150×4.6mm色譜柱)。

【0062】HPLC的測定使用Shimadzu LC-20A systems、Shimadzu LC-2010HT series 或安捷倫 Agilent 1200 LC 高壓液相色譜儀(Ultimate XB-C18 3.0\*150mm色譜柱或Xtimate C18 2.1\*30mm色譜柱)。

【0063】手性HPLC分析測定使用Chiralpak IC-3 100×4.6mm I.D., 3 $\mu$ m、Chiralpak AD-3 150×4.6mm I.D., 3 $\mu$ m、Chiralpak AD-3 50×4.6mm I.D., 3 $\mu$ m、Chiralpak AS-3 150×4.6mm I.D., 3 $\mu$ m、Chiralpak AS-3 100×4.6mm I.D., 3 $\mu$ m、ChiralCel OD-3 150×4.6mm I.D., 3 $\mu$ m、Chiralcel OD-3 100×4.6mm I.D., 3 $\mu$ m、

ChiralCel OJ-H 150×4.6mm I.D., 5 $\mu$ m、Chiralcel OJ-3 150×4.6mm I.D., 3 $\mu$ m  
色譜柱；

【0064】薄層層析矽膠板使用煙臺黃海HSGF254或青島GF254矽膠板，薄層色譜法(TLC)使用的矽膠板採用的規格是0.15 mm~0.2 mm，薄層層析分離純化產品採用的規格是0.4 mm~0.5 mm。

【0065】柱層析一般使用煙臺黃海矽膠100~200目、200~300目或300~400目矽膠為載體。

【0066】手性製備柱使用DAICEL CHIRALPAK IC (250mm\*30mm,10 $\mu$ m) 或 Phenomenex-Amylose-1 (250mm\*30mm,5 $\mu$ m)。

【0067】CombiFlash快速製備儀使用Combiflash Rf150 (TELEDYNE ISCO)。

【0068】激酶平均抑制率及IC<sub>50</sub>值的測定用NovoStar酶標儀(德國BMG公司)。

【0069】本公開的已知的起始原料可以採用或按照本領域已知的方法來合成，或可購買自ABCR GmbH & Co. KG，Acros Organics，Aldrich Chemical Company，韶遠化學科技(Accela ChemBio Inc)、達瑞化學品等公司。

【0070】實施例中無特殊說明，反應能夠均在氬氣氛或氮氣氛下進行。

【0071】氬氣氛或氮氣氛是指反應瓶連接一個約1L容積的氬氣或氮氣氣球。

【0072】氬氣氛是指反應瓶連接一個約1L容積的氬氣氣球。

【0073】加壓氫化反應使用Parr 3916EKX型氫化儀和清藍QL-500型氫氣發生器或HC2-SS型氫化儀。

【0074】氫化反應通常抽真空，充入氫氣，反復操作3次。

【0075】微波反應使用CEM Discover-S 908860型微波反應器。

【0076】實施例中無特殊說明，溶液是指水溶液。

【0077】實施例中無特殊說明，反應的溫度為室溫，為20°C~30°C。

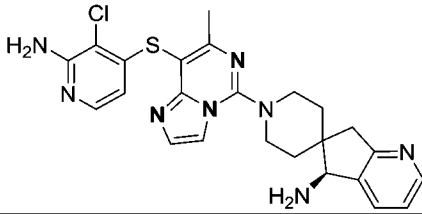
【0078】實施例中的反應進程的監測採用薄層色譜法(TLC)，反應所使用的展開劑，純化化合物採用的柱層析的洗脫劑的體系和薄層色譜法的展開劑體系包括：A：二氯甲烷/甲醇體系，B：正己烷/乙酸乙酯體系，C：石油醚/乙酸乙酯體系，D：石油醚/乙酸乙酯/甲醇，溶劑的體積比根據化合物的極性不同而進行調節，也可以加入少量的三乙胺和醋酸等鹼性或酸性試劑進行調節。

【0079】XRPD為X射線粉末衍射檢測：測定使用BRUKER D8型X射線衍射儀進行，具體採集信息：Cu陽極(40kV, 40mA)，Cu-K $\alpha$ 1射線( $\lambda=1.54060\text{\AA}$ )，K $\alpha$ 2射線( $\lambda=1.54439\text{\AA}$ )，K $\beta$ 射線( $\lambda=1.39222\text{\AA}$ )。掃描方式： $\theta/2\theta$ ，掃描範圍：3-48°。DSC為差示掃描量熱：測定採用METTLER TOLEDO DSC3+，升溫速率10°C/min，25-350°C，氮氣吹掃速度50 mL/min。

【0080】TGA為熱重分析：檢測採用METTLER TOLEDO TGA2，升溫速率10°C/min，溫度具體範圍參照相應圖譜，氮氣吹掃速度50 mL/min。

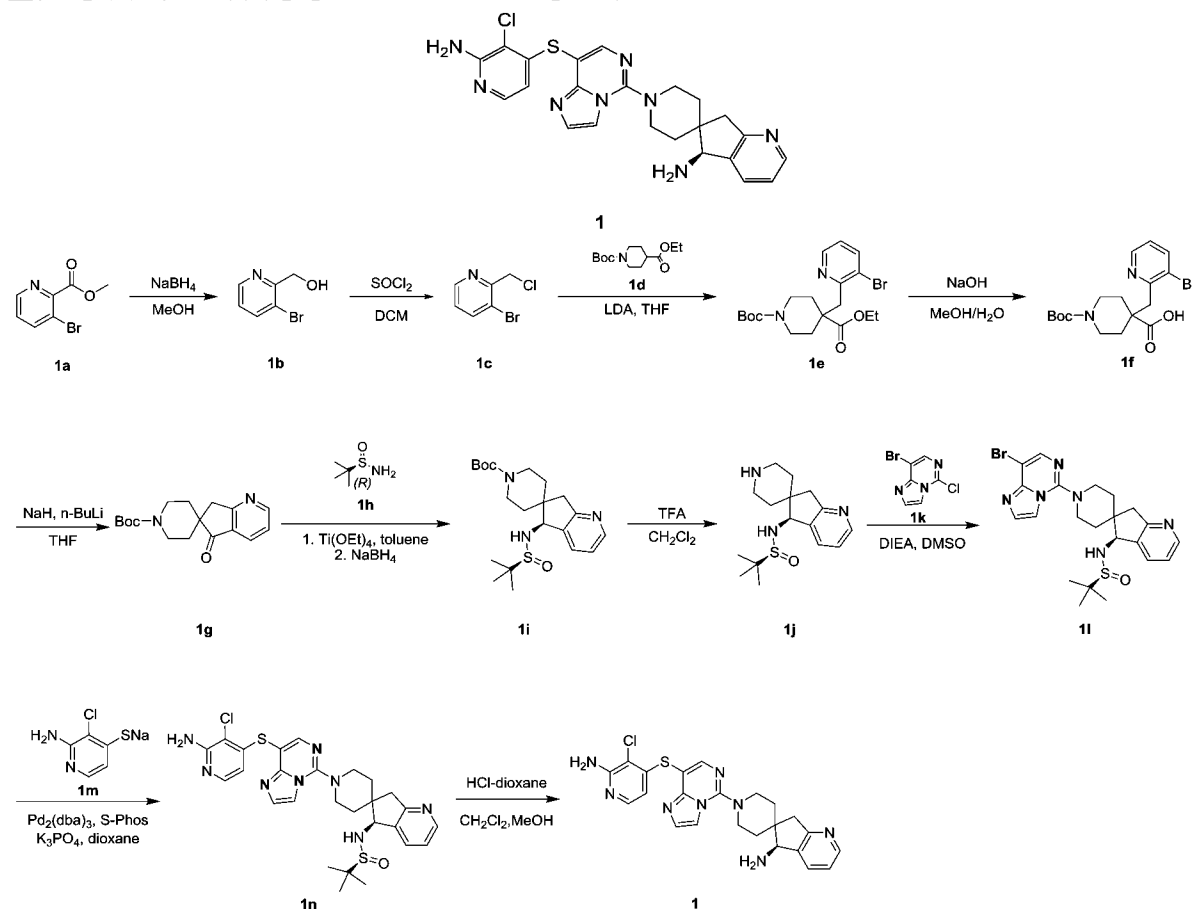
【0081】DVS為動態水分吸附：採用Surface Measurement Systems advantage 2，濕度從50%起，考察濕度範圍為0%-95%，步進為10%，判斷標準為360min之內質量變化小於0.002%，循環兩圈。

【0082】代謝產物14結構如下：

14	
	<p>(S)-1'-(8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫代)-7-甲基咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-5,7-二氫螺[環戊二烯并[b]吡啶-6,4'-吲哚]-5-胺</p>

【0083】實施例1

(S)-1'-(8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫基)咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-5,7-二  
 氫螺[環戊二烯并[b]吡啶-6,4'-哌啶]-5-胺



【0084】 第一步

(3-溴吡啶-2-基)甲醇 1b

【0085】 將化合物1a (17.2g, 79.6 mmol) 溶於甲醇 (50 mL)，在0°C下加入硼氫化鈉 (15.1 g, 398 mmol)。反應體系於室溫條件下攪拌12小時。反應結束後加入飽和氯化銨水溶液 (600 mL)，乙酸乙酯 (200 mL×3) 萃取。合併有機相，飽和氯化鈉 (200 mL × 2) 洗滌，無水硫酸鈉乾燥，減壓濃縮得到白色固體化合物1b (9.7 g, 產率：64.8%)。

MS(ESI)  $m/z$  187.8  $[\text{M}+\text{H}]^+$

$^1\text{H NMR}$ : (400MHz, MeOD- $d_4$ )  $\delta$  = 8.52 (d,  $J$  = 4.8 Hz, 1H), 8.01 (dd,  $J$  = 1.2, 8.0 Hz, 1H), 7.26 (dd,  $J$  = 4.4, 6.4 Hz, 1H), 4.77 (s, 2H).

**【0086】** 第二步

## 3-溴-2-(氯甲基)吡啶 1c

**【0087】** 將化合物1b (9.70 g, 51.6 mmol) 溶於二氯甲烷 (20 mL)，室溫下加入二氯亞砷 (7.48 mL, 103 mmol)。室溫條件下攪拌3小時。反應完成後在0°C下加入飽和碳酸氫鈉水溶液 (300 mL)，二氯甲烷萃取 (80 mL×3)。合併有機相，飽和氯化鈉 (100 mL) 洗滌，無水硫酸鈉乾燥。減壓濃縮得到粉紅油狀物化合物1c (10.3 g, 產率：96.9%)。

MS(ESI) m/z 207.7 [M+H]<sup>+</sup>.

<sup>1</sup>H NMR (400MHz, Methanol-*d*4) = 8.55-8.45 (m, 1H), 8.12-7.99 (m, 1H), 7.37-7.21 (m, 1H), 4.84-4.80 (m, 2H).

**【0088】** 第三步

## 1-(第三丁基) 4-乙基 4-((3-溴吡啶-2-基)甲基)哌啶-1,4-二羧酸酯 1e

**【0089】** 氮氣氛下，將化合物1c (9.97 g, 38.7 mmol) 溶於四氫呋喃 (80 mL) 中，-78°C條件下逐滴滴加LDA (13.5 mL, 2M四氫呋喃和正己烷溶液)。滴加完畢後在-78°C下攪拌1小時。再在-78°C下逐滴滴加化合物1d (8.8 g, 35.07 mmol)，並繼續在-78°C條件下攪拌9小時。反應完成後加入飽和氯化銨水溶液 (400mL)，乙酸乙酯萃取 (100 mL×3)，合併有機相，飽和氯化鈉溶液洗滌 (100 mL×2)，無水硫酸鈉乾燥。真空濃縮得到粗產品，用矽膠色譜法以石油醚、乙酸乙酯洗脫純化，得到黃色油狀物化合物1e (14.8 g, 產率：89.4%)。

MS(ESI) m/z 429.0 [M+H]<sup>+</sup>.

**【0090】** 第四步

## 4-((3-溴吡啶-2-基)甲基)-1-(第三丁氧羰基)哌啶-4-羧酸 1f

【0091】將化合物1e (14.8 g, 34.6 mmol) 溶於甲醇 (3 mL)，0°C條件下加入氫氧化鈉水溶液 (13.8g, 346 mmol, 溶於40 mL水)，80°C條件下攪拌12小時。反應完成後將反應液濃縮，再向其中加入乙酸乙酯 (300 mL) 和水 (300 mL)。加入飽和氫氧化鈉水溶液 (10 mL) 調節pH至12，分離水相，並用乙酸乙酯洗滌 (80 mL×2)。向所得水相中加入2N鹽酸 (25 mL) 調節pH至3，乙酸乙酯萃取 (100 mL×3)。合併有機相，飽和氯化鈉溶液洗滌 (150 mL)，無水硫酸鈉乾燥，減壓濃縮得到白色固體化合物1f (11.4 g，產率：82.4%)。

MS(ESI) m/z 344.0 [M-56+H]<sup>+</sup>.

【0092】第五步

第三丁基 5-羰基-5,7-二氫螺[環戊二烯并[b]吡啶-6,4'-哌啶]-1'-羧酸酯  
1g

【0093】氮氣氛下，在-15°C條件下將氫化鈉 (60%煤油混合物，1.32g，33.1 mmol) 加入到化合物1f (11.0 g，27.6 mmol) 的四氫呋喃 (100mL) 中。在-15°C條件下攪拌1小時。再將反應液冷卻到-78°C，逐滴滴加2.5M正丁基鋰的正己烷溶液 (16.5 mL，41.3 mmol)，在-78°C條件下攪拌1小時。反應完成後在0°C下加入飽和氯化銨水溶液 (400 mL)，乙酸乙酯萃取 (100 mL×3)。合併有機相，飽和氯化鈉 (100 mL×2) 洗滌，無水硫酸鈉乾燥。真空濃縮得到粗產品，用矽膠色譜法以二氯甲烷、甲醇洗脫純化，得到白色固體化合物1g (4.60 g，產率：55.2%)。

MS(ESI) m/z 246.9 [M-56+H]<sup>+</sup>.

<sup>1</sup>H NMR (400MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>) = 8.82 (dd, J = 1.6, 4.8 Hz, 1H), 8.12 (dd, J = 1.6, 7.6 Hz, 1H), 7.50 (dd, J = 4.8, 7.6 Hz, 1H), 4.08 (td, J = 3.6, 13.6 Hz, 2H), 3.25 (s, 2H), 3.12 (br s, 2H), 1.88-1.77 (m, 2H), 1.51 (br s, 2H), 1.49 (s, 9H).

第 16 頁，共 59 頁(發明說明書)

**【0094】 第六步**

第三丁基 (S)-5-((S)- 第三丁基亞磺醯氨基)-5,7-二氫螺[環戊二烯并[b]吡啶-6,4'-哌啶]-1'-羧酸酯 1i

**【0095】** 氮氣氛下，將鈦酸四乙酯 (9.4 mL, 44.6 mmol) 加入到化合物1g (4.50 g, 14.9 mmol) 的無水甲苯 (80 mL) 中，室溫條件下攪拌10分鐘。再將化合物1h (5.4 g, 44.6 mmol) 加入反應液中，120°C條件下反應5小時。冷卻至0°C並加入硼氫化鋰 (1.58 g, 89.2 mmol) 繼續反應30分鐘後，升溫至室溫攪拌1小時。反應完成後在0°C下逐滴滴加甲醇 (20 mL)。再加入水 (100 mL) 和乙酸乙酯 (100 mL) 並攪拌5分鐘。矽藻土濾去懸浮物並用乙酸乙酯 (300 mL) 和水 (300 mL) 洗滌。合併有機相，飽和氯化鈉 (500 mL) 洗滌，無水硫酸鈉乾燥。減壓濃縮得到粗產品，用矽膠色譜法以石油醚、乙酸乙酯洗脫純化，得到黃色固體化合物1i (4.40 g, 產率：72.6%)。

MS(ESI) m/z 408.1 [M+H]<sup>+</sup>.

**【0096】 第七步**

(S)-N-((S)-5,7-二氫螺[環戊二烯并[b]吡啶-6,4'-哌啶]-5-基)- 2-甲基丙烷-2-亞磺醯胺 1j

**【0097】** 將化合物1i (4.40 g, 10.8 mmol) 溶於二氯甲烷 (15 mL)，0°C條件下加入三氟乙酸 (5 mL)，0°C條件下攪拌1小時。減壓濃縮得到粗產品，加入4M氫氧化鈉水溶液至pH = 11。氯仿和異丙醇 (體積比3:1) 萃取 (30 mL × 3)，合併有機相，無水硫酸鈉乾燥。減壓濃縮得到黃色油狀產物1j (3.32 g, 產率：100%)。

MS(ESI) m/z 307.9 [M+H]<sup>+</sup>.

**【0098】 第八步**

(S)-N-((S)-1'-(8-溴咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-5,7-二氫螺[環戊二烯并[b]吡啶-6,4'-哌啶]-5-基)-2-甲基丙烷-2-亞磺醯胺11

【0099】氮氣氛下，將化合物1j (3.30 mg, 10.7 mmol) 和化合物1k (2.50 g, 10.7 mmol) 溶於二甲基亞砷 (40 mL)，加入二異丙基乙基胺 (7.7 g, 59.8 mmol)，90°C條件下攪拌2小時。加入乙酸乙酯 (50 mL) 和水 (100 mL)，乙酸乙酯萃取 (50 mL × 2)，合併有機相，飽和氯化鈉溶液洗滌 (50 mL × 3)，無水硫酸鈉乾燥。減壓濃縮得到粗產物，用矽膠色譜法以二氯甲烷、甲醇洗脫純化得到化合物11 (2.96 g, 產率：54.6%)。

MS(ESI)  $m/z$  503.1  $[M+H]^+$ .

$^1H$  NMR (400MHz, METHANOL- $d_4$ ) = 8.41 (d,  $J=4.8$  Hz, 1H), 7.97 (s, 1H), 7.92 (d,  $J=1.5$  Hz, 1H), 7.81 (d,  $J=7.5$  Hz, 1H), 7.66 (d,  $J=1.5$  Hz, 1H), 7.32 (dd,  $J=5.0, 7.5$  Hz, 1H), 4.61 (br s, 2H), 3.95 - 3.83 (m, 2H), 3.30 - 3.21 (m, 2H), 2.99 (d,  $J=16.6$  Hz, 1H), 2.40 (dt,  $J=4.0, 12.7$  Hz, 1H), 2.14 (dt,  $J=3.6, 12.4$  Hz, 1H), 1.82 (br d,  $J=13.3$  Hz, 1H), 1.54 (br d,  $J=12.3$  Hz, 1H), 1.36 (s, 9H).

【0100】第九步

(S)-N-((S)-1'-(8-((2-氨基-3-氮吡啶-4-基)硫基)咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-5,7-二氫螺[環戊二烯并[b]吡啶-6,4'-哌啶]-5-基)-2-甲基丙烷-2-亞磺醯胺1n

【0101】氮氣氛下，將化合物11 (70 mg, 0.14 mmol) 和化合物1m (33 mg, 0.21 mmol, 採用專利申請“WO2015107495 A1”公開的方法製備而得) 溶於1,4-二氧六環 (1 mL)，室溫條件下加入二異丙基乙基胺 (54 mg, 0.42 mmol)。加入三(二亞苄基丙酮)二鈣 (13 mg, 0.014 mmol) 和2-二環己基磷-2',6'-二甲氧基聯苯 (14 mg, 0.028 mmol)，110°C條件下加熱攪拌12小時。反

應完成後將反應液過濾，所得濾液濃縮，殘餘物用C-18反相色譜法以水、甲醇洗脫純化得到棕色油狀化合物1n（45 mg，產率：55.1%）。

MS(ESI) m/z 583.1 [M+H]<sup>+</sup>.

【0102】第十步

(S)-1'-(8-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫基)咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-5,7-二氫螺[環戊二烯并[b]吡啶-6,4'-哌啶]-5-胺 1

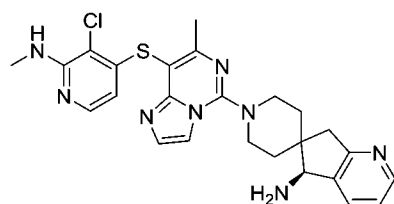
【0103】將化合物1n（25 mg，0.035 mmol）溶於1,4-二氧六環中，0°C條件下加入氯化氫的1,4-二氧六環溶液（0.2 mL，4 N），2-7°C下反應1小時。反應完成後加入水（30 mL），乙酸乙酯萃取（15 mL×2）。合併有機相，飽和氯化鈉溶液洗滌（20 mL），無水硫酸鈉乾燥，減壓濃縮後殘餘物用C-18反相色譜法純化得到化合物1（3.9 mg，產率：19.0%）。

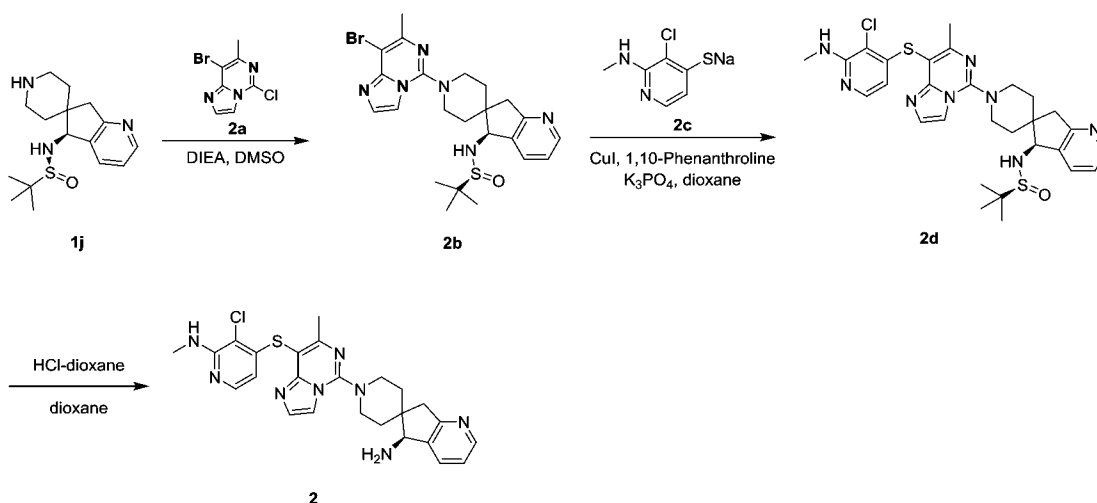
MS(ESI) m/z 479.1 [M+H]<sup>+</sup>.

<sup>1</sup>H NMR: (400 MHz, MeOD-d<sub>4</sub>) δ = 8.38 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 8.06 (s, 1H), 7.90-7.84 (m, 2H), 7.57 (s, 1H), 7.50 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 7.30 (dd, *J* = 5.6, 7.6 Hz, 1H), 5.90 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 4.16 (s, 1H), 4.06 (br d, *J* = 13.6 Hz, 2H), 3.48-3.36 (m, 2H), 3.30-3.24 (m, 1H), 3.01 (br d, *J* = 16.4 Hz, 1H), 2.20-2.01 (m, 2H), 1.80-1.71 (m, 1H), 1.61-1.53 (m, 1H).

【0104】實施例2

(S)-1'-(8-((3-氯-2-(甲基氨基)吡啶-4-基)硫代)-7-甲基咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-5,7-二氫螺[環戊二烯并[b]吡啶-6,4'-哌啶]-5-胺





### 【0105】 第一步

(S)-N-((S)-1'-(8-溴-7-甲基咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-5,7-二氫螺[環戊二烯并[b]吡啶-6,4'-吡啶]-5-基)-2-甲基丙烷-2-亞磺醯胺 2b

【0106】將化合物1j (260 mg, 0.85 mmol) 和化合物 2a (271 mg, 1.10 mmol) 溶於二甲基亞砷 (3 mL)，加入二異丙基乙基胺 (547 mg, 4.23 mmol)，90°C條件下攪拌1小時。向反應液中加入水 (30 mL)，乙酸乙酯萃取 (30 mL × 3)。合併有機相，再用飽和氯化鈉溶液洗滌 (50 mL × 2)，無水硫酸鈉乾燥，過濾。濾液通過減壓濃縮得到粗產物，用矽膠色譜法以甲醇、二氯甲烷洗脫純化得到化合物2b (370 mg，產率：84.5%)

MS(ESI)  $m/z$  518.8  $[M+H]^+$

$^1H$  NMR (400MHz, Methanol- $d_4$ )  $\delta$  = 8.39 (d,  $J$  = 4.8 Hz, 1H), 7.82 (d,  $J$  = 1.2 Hz, 1H), 7.79 (d,  $J$  = 8.0 Hz, 1H), 7.55 (d,  $J$  = 1.6 Hz, 1H), 7.30 (dd,  $J$  = 4.8 Hz, 7.6 Hz, 1H), 3.90-3.81 (m, 2H), 3.37-3.32 (m, 1H), 3.29-3.17 (m, 3H), 3.00-2.92 (m, 1H), 2.57 (s, 3H), 2.37 (td,  $J$  = 4.4 Hz, 12.8 Hz, 1H), 2.13 (td,  $J$  = 4.4 Hz, 13.2 Hz, 1H), 1.83-1.75 (m, 1H), 1.56-1.49 (m, 1H), 1.34 (s, 9H).

### 【0107】 第二步

(S)-N-((S)-1'-(8-((3-氯-2-(甲基氨基)吡啶-4-基)硫代)-7-甲基咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-5,7-二氫螺[環戊二烯并[b]吡啶-6,4'-哌啶]-5-基)-2-甲基丙烷-2-亞磺醯胺 2d

【0108】將化合物2b (50 mg, 0.10 mmol), 化合物2c (77 mg, 0.39 mmol) 和磷酸鉀 (41 mg, 0.19 mmol) 溶於1,4-二氧六環 (1mL) 中, 在攪拌的情況下, 氮氣置換三次。氮氣氣氛下, 快速的加入1,10-菲羅啉 (3.5 mg, 0.02 mmol) 和碘化亞銅 (1.8 mg, 0.01 mmol), 再氮氣置換三次, 並在130°C條件下加熱攪拌10小時。向反應液加入水 (50 mL) 並用乙酸乙酯萃取 (40 mL × 3), 合併有機相, 飽和氯化鈉溶液洗滌 (70 mL × 2), 無水硫酸鈉乾燥, 過濾。濾液通過減壓濃縮得到粗產物, 用矽膠板層析分離技術, 用二氯甲烷、甲醇層析純化得到化合物2d (36 mg, 產率: 58.5%)。

MS(ESI) m/z 611.1 [M+H]<sup>+</sup>.

【0109】 第三步

(S)-1'-(8-((3-氯-2-(甲基氨基)吡啶-4-基)硫代)-7-甲基咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-5,7-二氫螺[環戊二烯并[b]吡啶-6,4'-哌啶]-5-胺 2

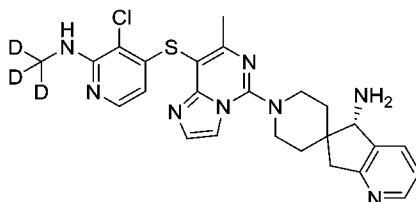
【0110】將化合物2d (36 mg, 0.059 mmol) 溶於乾燥的二氧六環 (1 mL), 10°C 條件下滴加氯化氫的1, 4-二氧六環溶液 (1 mL, 4 N), 10°C 反應15分鐘。向懸濁的反應液中加入水 (30 mL), 並用乙酸乙酯萃取 (30 × 3)。將水相用飽和碳酸氫鈉水溶液調節pH = 8, 再用氯仿萃取 (40 mL × 4)。將所有有機相合併, 無水硫酸鈉乾燥, 過濾, 濾液進行減壓濃縮得到粗產物。粗產物通過高效液相色譜法製備純化並凍乾得到化合物2 (2.3 mg, 產率: 7.7%)。

MS(ESI) m/z 507.3 [M+H]<sup>+</sup>.

$^1\text{H NMR}$  (400MHz, Methanol- $d_4$ )  $\delta$  = 8.35 (d,  $J$  = 4.4 Hz, 1H), 7.85 (d,  $J$  = 7.6 Hz, 1H), 7.76 (d,  $J$  = 1.6 Hz, 1H), 7.58 (d,  $J$  = 5.6 Hz, 1H), 7.48 (d,  $J$  = 1.6 Hz, 1H), 7.29 (dd,  $J$  = 5.2 Hz, 7.6 Hz, 1H), 5.75 (d,  $J$  = 6.0 Hz, 1H), 4.12-4.00 (m, 3H), 3.46-3.34 (m, 2H), 3.29-3.23 (m, 1H), 3.01-2.92 (m, 4H), 2.55 (s, 3H), 2.17-2.01 (m, 2H), 1.74 (d,  $J$  = 13.6 Hz, 1H), 1.53 (d,  $J$  = 13.6 Hz, 1H).

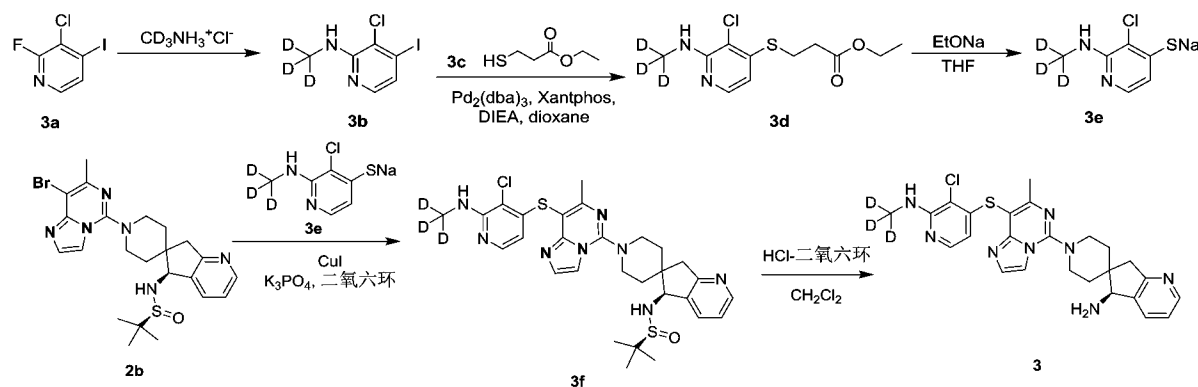
### 【0111】實施例3

(S)-1'-(8-((3-氯-2-((甲基- $d_3$ )氨基)吡啶-4-基)硫代)-7-甲基咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-5,7-二氫螺[環戊二烯并[b]吡啶-6,4'-哌啶]-5-胺



### 【0112】中間體3e

2-((甲基- $d_3$ )氨基)-3-氯吡啶-4-硫醇鈉



### 【0113】第一步

3-氯-4-碘-N-(甲基- $d_3$ )吡啶-2-胺 3b

【0114】將化合物3a (3.0 g, 12 mmol) 和甲基- $d_3$ -胺鹽酸鹽 (1.2 g, 16 mmol) 溶於DMSO (50 mL)，加入DIEA (5.8 mL, 35 mmol)。70°C下反應12小時。反應結束後加入冰水混合物 (50 mL)，過濾，冰水洗滌 (50 mL×3)。所得固體減壓乾燥得到化合物3b (2.8 g, 產率：83%)。

MS(ESI)  $m/z$  272.0  $[M+H]^+$ .

$^1\text{H NMR}$ : (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 7.67 (d,  $J$  = 5.2 Hz, 1H), 7.02 (d,  $J$  = 5.2 Hz, 1H), 5.14 (br s, 1H)。

**【0115】** 第二步

3-((3-氯-2-((甲基- $d_3$ )氨基)吡啶-4-基)硫基)丙酸乙酯 3d

**【0116】** 將化合物3b (2.7 g, 10 mmol) 溶於二氯甲烷 (30 mL)，加入3-硫基丙酸乙酯3c (2.0 g, 15 mmol)，三(二亞苄基丙酮) (0.46 g, 0.50 mmol)，4,5-雙二苯基磷-9,9-二甲基氧雜蒽 (0.58 g, 0.99 mmol) 和N,N-二異丙基乙基胺 (4.9 mL, 30 mmol)。氮氣氛下 $100^\circ\text{C}$ 條件下反應3小時。反應完成後過濾，濾液減壓濃縮，所得殘留物用矽膠色譜法以乙酸乙酯、石油醚洗脫純化得到化合物3d (2.5 g, 產率：90%)。

MS(ESI)  $m/z$  278.1  $[M+H]^+$ .

$^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 7.96 (d,  $J$  = 5.6 Hz, 1H), 6.45 (d,  $J$  = 5.6 Hz, 1H), 5.00 (br s, 1H), 4.19 (q,  $J$  = 7.2 Hz, 2H), 3.23 (t,  $J$  = 7.6 Hz, 2H), 2.72 (t,  $J$  = 7.6 Hz, 2H), 1.28 (t,  $J$  = 7.2 Hz, 3H)。

**【0117】** 第三步

2-((甲基- $d_3$ )氨基)-3-氯吡啶-4-硫醇鈉 中間體3e

**【0118】** 將化合物3d (2.4 g, 8.6 mmol) 溶於四氫呋喃 (25 mL) 中， $0^\circ\text{C}$  條件下加入乙醇鈉乙醇溶液 (3.5g, 10 mmol, 20% w/w,)， $0^\circ\text{C}$  下反應1小時。反應完成後，將反應液濃縮，加入50:1甲基第三丁基醚和二氯甲烷的混合溶液 (20 mL)，過濾，50:1甲基第三丁基醚和二氯甲烷洗滌 (10 mL $\times$ 3)。所得固體真減壓乾燥得到中間體3e (2.0 g, 產率：99%)。

MS(ESI)  $m/z$  178.0  $[M+H]^+$ .

$^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta = 7.12$  (d,  $J = 5.6$  Hz, 1H), 6.43 (d,  $J = 5.2$  Hz, 1H), 5.29 (s, 1H)。

**【0119】** 第四步

(S)-N-((S)-1'-(8-((3-氯-2-((甲基- $d_3$ )氨基)吡啶-4-基)硫代)-7-甲基咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-5,7-二氫螺[環戊二烯并[b]吡啶-6,4'-哌啶]-5-基)-2-甲基丙烷-2-亞磺醯胺 3f

**【0120】** 氮氣氛下，將化合物2b (200 mg, 0.39 mmol) 中間體3e (156 mg, 0.77 mmol) 溶於1,4-二氧六環 (5 mL)，加入碘化亞銅 (74 mg, 0.39 mmol)，N,N'-二甲基乙二胺 (34 mg, 0.39 mmol) 和磷酸鉀 (246 mg, 1.2 mmol)，130°C 氮氣氛下加熱反應15小時。反應完成後加入氨水 (30 mL) 和乙酸乙酯 (15 mL)，水相以乙酸乙酯萃取 (25 mL  $\times$  3)，合併所有有機相，飽和氯化鈉水溶液洗滌，無水硫酸鈉乾燥，濃縮。所得殘餘物用矽膠色譜法以二氯甲烷、甲醇洗脫純化得到化合物3f (130 mg, 產率：55%)。

MS(ESI)  $m/z$  614.3  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

$^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 8.47$  (d,  $J=4.4$  Hz, 1H), 7.68 (d,  $J=5.6$  Hz, 1H), 7.64 (d,  $J=7.2$  Hz, 1H), 7.48 (dd,  $J=1.2, 9.2$  Hz, 2H), 7.17 (dd,  $J=4.8, 7.6$  Hz, 1H), 5.73 (d,  $J=5.6$  Hz, 1H), 5.28 (s, 1H), 5.03 (s, 1H), 4.64 (d,  $J=10.0$  Hz, 1H), 4.05 - 3.93 (m, 2H), 3.73 (d,  $J=10.0$  Hz, 1H), 3.33 - 3.16 (m, 3H), 2.94 (d,  $J=16.4$  Hz, 1H), 2.54 (s, 3H), 2.52 - 2.44 (m, 1H), 2.13 (dt,  $J=4.0, 12.4$  Hz, 1H), 1.82 - 1.74 (m, 1H), 1.52 - 1.44 (m, 1H), 1.30 (s, 9H)。

**【0121】** 第五步

(S)-1'-(8-((3-氯-2-((甲基- $d_3$ )氨基)吡啶-4-基)硫代)-7-甲基咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-5,7-二氫螺[環戊二烯并[b]吡啶-6,4'-哌啶]-5-胺 3

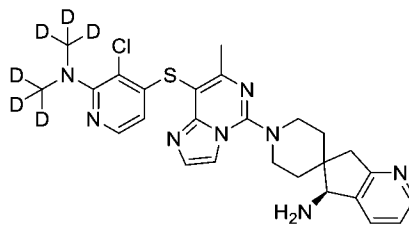
【0122】將化合物3f (130 mg, 0.21 mmol) 溶於乾燥的二氯甲烷 (4.5 mL)，0°C條件下滴加氯化氫的1, 4-二氧六環溶液 (1.5 mL, 4 N)，20°C下反應1小時。向反應液中加入0.1 M氫氧化鈉水溶液 (30 mL) 調節pH = 14，再用二氯甲烷萃取 (30 mL × 2)。合併有機相，無水硫酸鈉乾燥，過濾，濾液進行減壓濃縮得到粗產物。粗產物通過反相色譜法以0.1%氨水、乙腈洗脫純化得到化合物3 (65 mg, 產率：41%)。經X-射線粉末衍射檢測，該固體為無定型，XRPD譜圖如圖1所示。

MS(ESI) m/z 510.2 [M+H]<sup>+</sup>.

<sup>1</sup>H NMR (400MHz, MeOD-d<sub>4</sub>) δ = 8.36 (d, J=4.4 Hz, 1H), 7.86 (d, J=7.6 Hz, 1H), 7.76 (d, J=1.6 Hz, 1H), 7.57 (d, J=5.6 Hz, 1H), 7.47 (d, J=1.6 Hz, 1H), 7.29 (dd, J=4.8, 7.6 Hz, 1H), 5.75 (d, J=6.0 Hz, 1H), 4.11 (s, 1H), 4.05 (br d, J=13.6 Hz, 2H), 3.45 - 3.35 (m, 2H), 3.27 (d, J=16.8 Hz, 1H), 2.97 (d, J=16.4 Hz, 1H), 2.55 (s, 3H), 2.17 - 2.03 (m, 2H), 1.74 (br d, J=14.0 Hz, 1H), 1.53 (br d, J=13.6 Hz, 1H)。

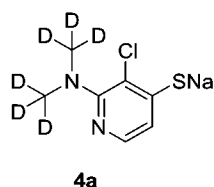
#### 【0123】實施例4

(S)-1'-(8-((2-(二(甲基-d<sub>3</sub>)氨基)-3-氯吡啶-4-基)硫代)-7-甲基咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-5,7-二氫螺[環戊二烯并[b]吡啶-6,4'-哌啶]-5-胺



#### 【0124】中間體4a

2-(二(甲基-d<sub>3</sub>)氨基)-3-氯吡啶-4-硫醇鈉



【0125】中間體4a的合成步驟參見中間體3e，其中以化合物二甲基-*d*<sub>6</sub>-胺鹽酸鹽替換甲基-*d*<sub>3</sub>-胺鹽酸鹽製備獲得前述中間體4a。

MS(ESI) *m/z* 195.1 [M+H]<sup>+</sup>.

<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ = 7.24 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 6.79 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H)。

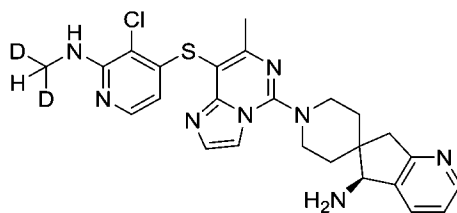
【0126】化合物4的合成步驟參見實施例3，其中以中間體4a替換中間體3e製備獲得化合物4。

MS(ESI) *m/z* 527.2 [M+H]<sup>+</sup>.

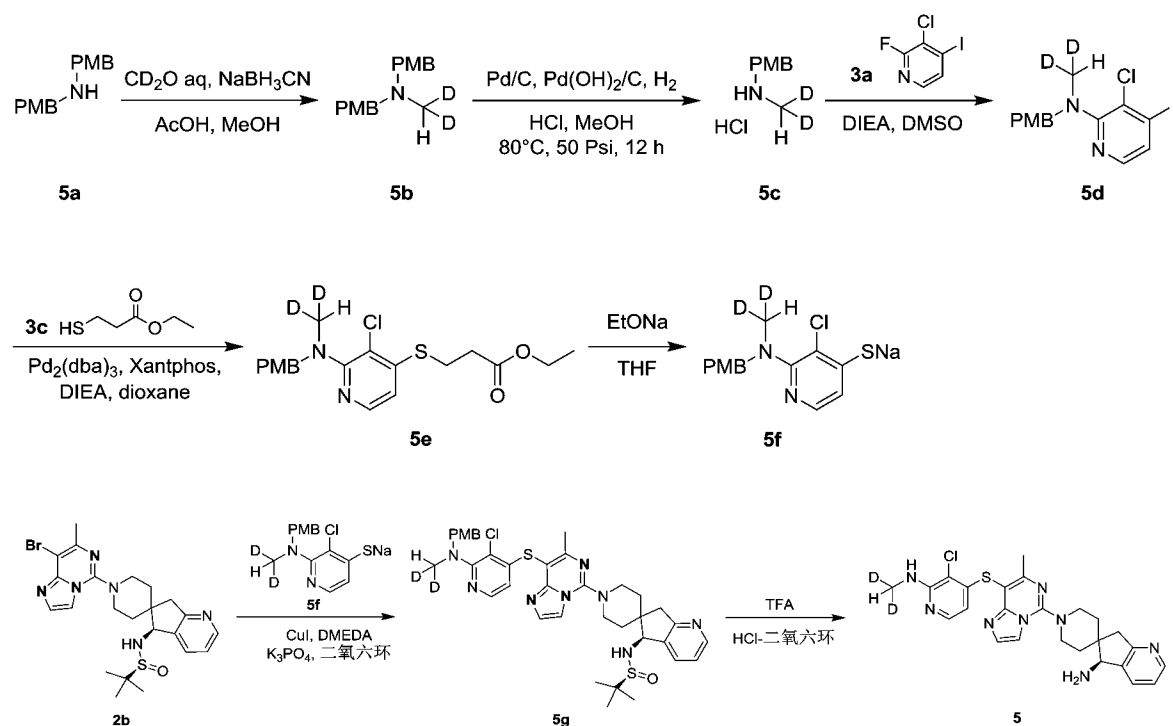
<sup>1</sup>H NMR (400MHz, MeOD-*d*<sub>4</sub>) δ = 8.36 (d, *J* = 4.4 Hz, 1H), 7.86 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.77 (d, *J* = 1.6 Hz, 1H), 7.72 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 7.47 (d, *J* = 1.6 Hz, 1H), 7.29 (dd, *J* = 5.2, 7.6 Hz, 1H), 6.06 (d, *J* = 5.6 Hz, 1H), 4.11 (s, 1H), 4.06 (br d, *J* = 13.6 Hz, 2H), 3.44-3.37 (m, 2H), 3.25 (s, 1H), 2.97 (d, *J* = 16.8 Hz, 1H), 2.56 (s, 3H), 2.14-2.03 (m, 2H), 1.75 (br d, *J* = 13.2 Hz, 1H), 1.54 (br d, *J* = 13.6 Hz, 1H)。

【0127】實施例5

(S)-1'-(8-((3-氯-2-((甲基-*d*<sub>2</sub>)氨基)吡啶-4-基)硫代)-7-甲基咪唑并[1,2-*c*]嘧啶-5-基)-5,7-二氫螺[環戊二烯并[*b*]吡啶-6,4'-哌啶]-5-胺



## 【0128】中間體5f



## 【0129】第一步

N, N-雙(4-甲氧基苄基)甲胺- $d_2$  5b

將化合物 5a (4.0 g, 16 mmol) 溶於甲醇 (50 mL)，室溫下加入氘代甲醛的氘水溶液 (3.7 g, 23 mmol, 20% w/w) 和醋酸 (0.93 g, 16 mmol)。再加入氰基硼氫化鈉 (2.9 g, 47 mmol)，室溫下反應 15 小時。反應完成後，將反應液濃縮，加入 2M 氫氧化鈉溶液調節 pH 至 9~10，乙酸乙酯萃取 (30 mL×3)。合併有機相，無水硫酸鈉乾燥，減壓濃縮，所得殘餘物用矽膠色譜法以石油醚、乙酸乙酯洗脫純化得到化合物 5b (4.0 g，產率：95%)。

MS(ESI)  $m/z$  274.3  $[M+H]^+$ .

$^1H$  NMR: (400MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  = 7.28-7.25 (m, 4H), 6.89-6.84 (m, 4H), 3.88-3.74 (m, 7H), 3.45 (s, 4H)。

## 【0130】第二步

N-(4-甲氧基苄基)甲烷- $d_2$ -胺鹽酸鹽 5c

【0131】將化合物5b (1.0 g, 3.7 mmol) 溶於甲醇 (20 mL)，加入10% 鈹碳 (含水量1%，100 mg)，20% 氫氧化鈹 (100 mg) 和濃鹽酸 (0.5 mL)。50 psi 氫氣氛下，80°C 反應12小時。過濾，甲醇 (30 mL×3) 洗滌，濾液減壓濃縮乾燥得到化合物5c (0.69 g，產率：99%)。

MS(ESI)  $m/z$  153.8 [M+H]<sup>+</sup>.

<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 9.18 (br s, 2H), 7.45 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 6.97 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 4.01 (t, J = 5.6 Hz, 2H), 3.76 (s, 3H), 2.44 (br s, 1H)。

## 【0132】 第三步

3-氯-4-碘-N-(4-甲氧基苄基)-N-(甲基- $d_2$ )吡啶-2-胺 5d

【0133】將化合物5c (638 mg, 3.4 mmol) 和化合物3a (787 mg, 3.1 mmol) 溶於DMSO (10 mL)，加入DIEA (2.0 g, 15 mmol)。60°C 下反應15小時。反應結束後加入冰水混合物 (100 mL)，乙酸乙酯萃取 (30 mL×3)。合併有機相，飽和食鹽水洗滌，無水硫酸鈉乾燥，減壓濃縮。所得殘餘物用矽膠色譜法以石油醚、乙酸乙酯洗脫純化得到化合物5d (590 mg，產率：49%)。

MS(ESI)  $m/z$  391.0 [M+H]<sup>+</sup>.

<sup>1</sup>H NMR: (400MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 7.76 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 7.35 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 7.32-7.27 (m, 2H), 6.95-6.81 (m, 2H), 4.45 (s, 2H), 3.82 (s, 3H), 2.80 (s, 1H)。

## 【0134】 第四步

3-((3-氯-2-((4-甲氧基苄基)(甲基- $d_2$ )氨基)吡啶-4-基)硫基)丙酸乙酯 5e

將化合物 5d (590 mg, 1.5 mmol) 溶於 1, 4-二氧六環 (8 mL)，加入 3-硫基丙酸乙酯 3c (304 mg, 2.3 mmol)，三(二亞苄基丙酮)二鈹 (69 mg，

0.076 mmol) , 4,5-雙二苯基膦-9,9-二甲基氧雜蔥 (87 mg, 0.15 mmol) 和 N,N-二異丙基乙胺 (586 mg, 4.5 mmol) 。氮氣氛下 100°C 條件下反應 5 小時。反應完成後過濾，濾液減壓濃縮，所得殘留物用矽膠色譜法以乙酸乙酯、石油醚洗脫純化得到化合物 5e (614 mg, 產率：94%) 。

MS(ESI) m/z 397.1 [M+H]<sup>+</sup>.

<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 8.07 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 7.34-7.29 (m, 2H), 6.93-6.83 (m, 2H), 6.71 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 4.43 (s, 2H), 4.20 (q, J = 7.2 Hz, 2H), 3.81 (s, 3H), 3.24 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 2.80 (s, 1H), 2.75 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 1.29 (t, J = 7.2 Hz, 3H) 。

#### 【0135】 第五步

3-氯-2-((4-甲氧基苄基)(甲基-d<sub>2</sub>)氨基)吡啶-4-硫醇鈉 中間體 5f

【0136】 將化合物 5e (614 mg, 1.4 mmol) 溶於四氫呋喃 (8 mL) 中，0°C 條件下加入乙醇鈉乙醇溶液 (582 mg, 1.7 mmol, 20% w/w,) , 0°C 下反應 1 小時。反應完成後，將反應液濃縮，加入甲基第三丁基醚和二氯甲烷的混合溶液 (6 mL, v/v = 50/2) , 過濾，甲基第三丁基醚洗滌 (10 mL×3) 。所得固體真減壓乾燥得到中間體 5f (445 mg, 產率：98%) 。

MS(ESI) m/z 297.1 [M+H]<sup>+</sup>.

<sup>1</sup>H NMR (400MHz, Methanol-d<sub>4</sub>) δ = 7.46 (d, J = 5.4 Hz, 1H), 7.32-7.22 (m, 2H), 7.17 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 6.92-6.76 (m, 2H), 4.25 (s, 2H), 3.77 (s, 3H), 2.61 (s, 1H) 。

#### 【0137】 第六步

(S)-N-((S)-1'-(8-((3-氯-2-((4-甲氧基苄基)(甲基-d<sub>2</sub>)氨基)吡啶-4-基)硫代)-7-甲基咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-5,7-二氫螺[環戊二烯并[b]吡啶-6,4'-哌啶]-5-基)-2-甲基丙烷-2-亞磺醯胺 5g

【0138】氮氣氛下，將化合物2b (153 mg, 0.30 mmol) 中間體5f (188 mg, 0.59 mmol) 溶於1,4-二氧六環 (5 mL)，加入碘化亞銅 (56 mg, 0.30 mmol)，N,N'-二甲基乙二胺 (52 mg, 0.59 mmol) 和磷酸鉀 (188 mg, 0.89 mmol)，130°C氮氣氛下加熱反應15小時。反應完成後加入氨水 (20 mL) 和乙酸乙酯 (10 mL)，水相以乙酸乙酯萃取 (20 mL × 3)，合併所有有機相，飽和氯化鈉水溶液洗滌，無水硫酸鈉乾燥，濃縮。所得殘餘物用矽膠色譜法以二氯甲烷、甲醇洗脫純化得到化合物5g (190 mg, 產率：45%)。

MS(ESI) m/z 733.3 [M+H]<sup>+</sup>.

【0139】第七步

(S)-1'-(8-((3-氯-2-((甲基-d<sub>2</sub>)氨基)吡啶-4-基)硫代)-7-甲基咪唑并[1,2-c]嘧啶-5-基)-5,7-二氫螺[環戊二烯并[b]吡啶-6,4'-哌啶]-5-胺 5

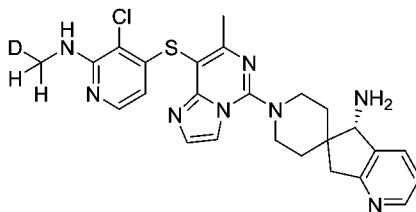
【0140】將化合物5g (160 mg, 0.22 mmol) 溶於TFA中 (3 mL)，室溫條件下反應4小時。再在0°C下滴加氯化氫的1,4-二氧六環溶液 (1 mL, 4 N)，室溫反應1小時。向反應液中加入0.1 M氫氧化鈉水溶液 (30 mL) 調節pH = 14，再用二氯甲烷萃取 (30 mL × 2)。合併有機相，無水硫酸鈉乾燥，過濾，濾液進行減壓濃縮得到粗產物。粗產物通過矽膠色譜法以二氯甲烷、甲醇洗脫純化得到化合物5 (51 mg, 產率：46%)。

MS(ESI) m/z 509.2 [M+H]<sup>+</sup>.

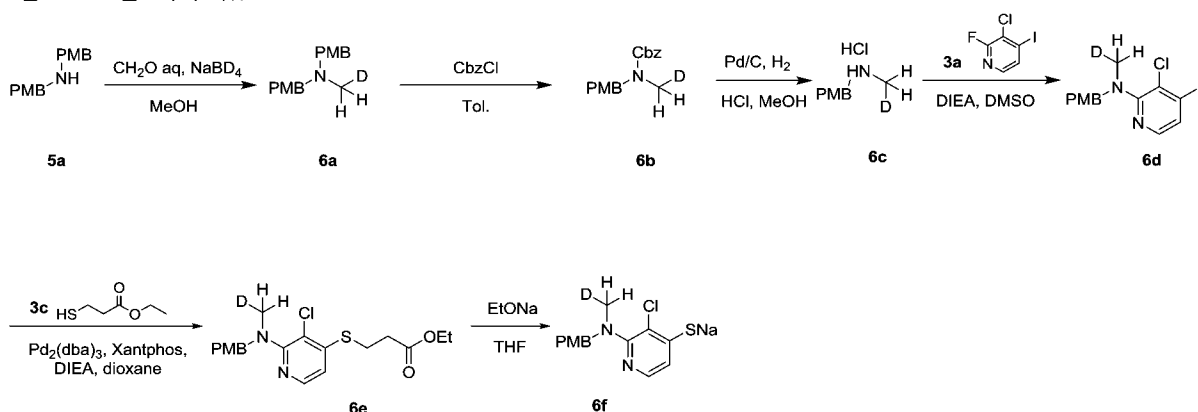
<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 8.45 (d, J=4.4 Hz, 1H), 7.71 (d, J=5.2 Hz, 1H), 7.67 (d, J=7.2 Hz, 1H), 7.56 (d, J=1.2 Hz, 1H), 7.44 (d, J=1.6 Hz, 1H), 7.18 (dd, J=5.2, 7.6 Hz, 1H), 5.78 (d, J=5.6 Hz, 1H), 5.03 (d, J=4.4 Hz, 1H), 4.11 (s, 1H), 4.04 - 3.93 (m, 2H), 3.33 (q, J=11.6 Hz, 2H), 3.25 (d, J=16.8 Hz, 1H), 3.00 (br s, 1H), 2.93 (d, J=16.8 Hz, 1H), 2.58 (s, 3H), 2.11 (dt, J=4.0, 12.8 Hz, 1H), 2.02 (dt, J=4.4, 12.4 Hz, 1H), 1.81 - 1.73 (m, 1H), 1.52 - 1.47 (m, 1H)。

## 【0141】實施例6

(S)-1'-(8-((3-氯-2-((甲基-*d*)氨基)吡啶-4-基)硫代)-7-甲基咪唑并[1,2-*c*]嘧啶-5-基)-5,7-二氫螺[環戊二烯并[*b*]吡啶-6,4'-哌啶]-5-胺



## 【0142】中間體6f



## 【0143】中間體6f

N, N-雙(4-甲氧基苄基)甲胺-*d* 6a

【0144】將化合物5a (3.0 g, 12 mmol) 溶於無水甲醇 (30 mL)，室溫下加入甲醛水溶液 (2.6 mL, 37% w/w) 和醋酸 (0.67 mL, 12 mmol)。室溫下反應2小時，再在0°C下加入硼氘化鈉 (0.97 g, 23 mmol)，室溫下再反應1.5小時。反應完成後，將反應液濃縮，加入水 (50 mL)，乙酸乙酯萃取 (30 mL×3)。合併有機相，無水硫酸鈉乾燥，減壓濃縮得到化合物6a (3.3 g, 產率：94%)。

<sup>1</sup>H NMR: (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 7.30-7.25 (m, 4H), 6.91-6.84 (m, 4H), 3.81 (s, 6H), 3.45 (s, 4H), 2.13 (s, 2H)。

## 【0145】第二步

(4-甲氧基苄基)(甲基-*d*)氨基甲酸苄酯 6b

【0146】將化合物6a (3.3 g, 12 mmol) 溶於甲苯 (30 mL)，加入氯甲酸苄酯 (4.1 mL, 29 mmol)，氮氣氛下120°C反應14小時。反應完成後將反應液減壓濃縮，加入乙酸乙酯 (50 mL)，水 (20 mL)、飽和食鹽水 (20 mL×2) 洗滌，有機相無水硫酸鈉乾燥，減壓濃縮。殘餘物用矽膠色譜法以石油醚、乙酸乙酯洗脫純化得到化合物6b (3.8 g粗品)。

$^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 7.43-7.31 (m, 5H), 7.21 (d,  $J$  = 7.6 Hz, 1H), 7.13 (d,  $J$  = 7.6 Hz, 1H), 6.91-6.82 (m, 2H), 5.20 (s, 2H), 4.45 (s, 2H), 3.82 (s, 3H), 2.86 (d,  $J$  = 10.8 Hz, 2H)。

【0147】 第三步

N-(4-甲氧基苄基)甲烷-*d*-胺鹽酸鹽 6c

【0148】將化合物6b (3.8 g, 12 mmol) 溶於甲醇 (40 mL)，加入10% 鈹碳 (1.0 g)。氮氣氛下40°C反應16小時。過濾，甲醇 (80 mL) 洗滌，濾液減壓濃縮乾燥得到化合物6c (2 g，產率：99%)。

MS(ESI)  $m/z$  152.9  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

【0149】 第四步

3-氯-4-碘-N-(4-甲氧基苄基)-N-(甲基-*d*)吡啶-2-胺 6d

【0150】將化合物6c (2 g, 12 mmol) 和化合物3a (2.3 g, 8.8 mmol) 溶於DMSO (4 mL)，加入DIEA (4.3 mL, 26 mmol)。60°C下反應5小時。反應結束後加入水 (50 mL)，乙酸乙酯萃取 (30 mL×3)。合併有機相，飽和食鹽水洗滌，無水硫酸鈉乾燥，減壓濃縮。所得殘餘物用矽膠色譜法以石油醚、乙酸乙酯洗脫純化得到化合物6d (2.6 g，產率：76%)。

MS(ESI)  $m/z$  390.0  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

$^1\text{H NMR}$ : (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 7.76 (d,  $J$  = 4.8 Hz, 1H), 7.35 (d,  $J$  = 5.2 Hz, 1H), 7.32-7.27 (m, 2H), 6.92-6.83 (m, 2H), 4.45 (s, 2H), 3.81 (s, 3H), 2.82 (s, 2H)。

**【0151】** 第五步

3-((3-氯-2-((4-甲氧基苄基)(甲基-*d*)氨基)吡啶-4-基)硫基)丙酸乙酯 6e

**【0152】** 將化合物6d (2.6 g, 6.7 mmol) 溶於1,4-二氧六環 (30 mL)，加入3-硫基丙酸乙酯3c (1.3 g, 10 mmol)，三(二亞苄基丙酮)二鈣 (310 mg, 0.34 mmol)，4,5-雙二苯基磷-9,9-二甲基氧雜蒽 (390 mg, 0.67 mmol) 和 *N,N*-二異丙基乙胺 (3.3 mL, 20 mmol)。氮氣氛下100°C條件下反應6小時。反應完成後過濾，濾液減壓濃縮，所得殘留物用矽膠色譜法以乙酸乙酯、石油醚洗脫純化得到化合物6e (2.3 g, 產率：88%)。

$\text{MS(ESI)}$   $m/z$  396.1  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

$^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 8.07 (d,  $J$  = 5.2 Hz, 1H), 7.34-7.28 (m, 2H), 6.93-6.82 (m, 2H), 6.72 (d,  $J$  = 5.2 Hz, 1H), 4.43 (s, 2H), 4.20 (q,  $J$  = 7.2 Hz, 2H), 3.81 (s, 3H), 3.24 (t,  $J$  = 7.6 Hz, 2H), 2.81 (s, 2H), 2.75 (t,  $J$  = 7.6 Hz, 2H), 1.29 (t,  $J$  = 6.8 Hz, 3H)。

**【0153】** 第六步

3-氯-2-((4-甲氧基苄基)(甲基-*d*)氨基)吡啶-4-硫醇鈉 中間體 6f

**【0154】** 將化合物6e (2.3 g, 5.9 mmol) 溶於四氫呋喃 (25 mL) 中，0°C 條件下加入乙醇鈉乙醇溶液 (2.4 g, 7.1 mmol, 20% w/w,)，0°C 下反應1小時。反應完成後，將反應液濃縮，加入甲基第三丁基醚和二氯甲烷的混合溶液 (40 mL,  $v/v$  = 50/2)，過濾，甲基第三丁基醚洗滌 (15 mL $\times$ 3)。所得固體真減壓乾燥得到中間體6f (1.7 g, 產率：91%)。

$^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  = 7.29-7.23 (m, 3H), 6.89-6.79 (m, 3H), 4.12 (s, 2H), 3.72 (s, 3H), 3.34 (s, 2H)。

【0155】化合物6的合成步驟參見實施例5，其中以中間體6f替換中間體5f製備獲得前述化合物6。

MS(ESI) m/z 508.2 [M+H]<sup>+</sup>。

$^1\text{H}$  NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 8.47 (d, J=4.4 Hz, 1H), 7.68 (d, J=5.6 Hz, 1H), 7.64 (d, J=7.2 Hz, 1H), 7.48 (dd, J=1.2, 9.2 Hz, 2H), 7.17 (dd, J=4.8, 7.6 Hz, 1H), 5.73 (d, J=5.6 Hz, 1H), 5.28 (s, 1H), 5.03 (s, 1H), 4.64 (d, J=10.0 Hz, 1H), 4.05 - 3.93 (m, 2H), 3.73 (d, J=10.0 Hz, 1H), 3.33 - 3.16 (m, 3H), 2.94 (d, J=16.4 Hz, 1H), 2.54 (s, 3H), 2.52 - 2.44 (m, 1H), 2.13 (dt, J=4.0, 12.4 Hz, 1H), 1.82 - 1.74 (m, 1H), 1.52 - 1.44 (m, 1H), 1.30 (s, 9H)。

#### 【0156】生物學評價

以下結合測試例進一步描述解釋本公開，但這些實施例並非意味著限制本公開的範圍。

#### 【0157】測試例1、本公開化合物對SHP2磷酸酶活性檢測

#### 【0158】1、實驗材料及儀器

儀器名稱	設備廠家	型號
恆溫恆溫振盪器	IMB	MB-1002A
微孔板讀板儀	MDSpectraMax	M5

試劑名稱	廠商	貨號
Shp2	金斯瑞	N/A
激活型多肽	金斯瑞	N/A
DMSO	Sigma	C34557
1M HEPES	Thermofisher	15630080

5M NaCl	Thermofisher	AM9760G
2M KCl	Thermofisher	AM9640G
1M DTT	Thermofisher	P2325
10% SDS	Thermofisher	AM9822
30% Brij™-35	Thermofisher	20150
EDTA	Sigma	EDS-500G
Difmup	Invitrogen	TM 6567

### 【0159】2、實驗步驟

【0160】將0.2nM重組表達的全長SHP2 (aa 1-593)，0.5nM帶有雙磷酸化位點的激活型多肽 IRS1(sequence: H2N-LN(pY)IDLDLY(dPEG8)LST(pY)ASINFQK-amide)以及一系列濃度的測試化合物(終濃度為1 M，0.3 M，0.1 M，0.03 M，0.01 M，0.003 M，0.001 M，0.0003 M，0.0001 M，0.00003 M)加入磷酸酶反應液(60 mM HEPES, PH 7.5 0.005% Brij-35, 75 mM NaCl, 75 mM KCl, 1 mM EDTA, 5 mM DTT)中，室溫震盪(350rpm)30分鐘。再加入終濃度為30 M 反應受質DiFMUP室溫反應30分鐘後，用5 L 反應終止液(60 mM HEPES, pH 7.5，0.2% SDS)終止磷酸酶反應。在螢光讀板儀MD SpectraMax上讀取Ex358nm/Em455螢光值。

【0161】化合物的IC<sub>50</sub>值用四參數logit方法計算。下列公式中x代表化合物濃度的對數形式；F(x)代表效應值(該濃度條件下細胞增殖的抑制率)： $F(x) = ((A-D) / (1 + ((x/C)^B))) + D$ 。A,B,C和D為四個參數。不同的濃度對應不同的磷酸酶活抑制率，做出一條反曲線，從曲線上算出抑制劑的IC<sub>50</sub>。用 Primer premier 6.0計算化合物的IC<sub>50</sub>。

【0162】本公開化合物對SHP2體外活性通過以上的試驗進行測定，選取有口服活性的SHP2抑制劑SHP099做為陽性藥，該化合物結構公開於文獻J.

Med. Chem. 2016, 59, 7773–7782中，具體化合物購買自上海皓元生物醫藥科技有限公司（Medchemexpress.cn）。

【0163】測得的IC<sub>50</sub>值見表1。

表 1. 化合物對 SHP2 磷酸酶 IC<sub>50</sub>

實施例編號	IC <sub>50</sub> (nM)	實施例編號	IC <sub>50</sub> (nM)
SHP099	79	1	1.7
2	2.1	3	4.5
5	4.8	6	4.7

【0164】測試例 2、大鼠肝微粒體體外代謝穩定性實驗

【0165】利用 LC/MS/MS 測定反應體系中的化合物濃度，以此來計算待測化合物的固有清除率，並評估在大鼠肝微粒體中的體外代謝穩定性。

【0166】將 222.5 μL，1.1236 mg/mL 的大鼠肝微粒體(雄性 Wistar Han 品系, 購自 Corning 公司，貨號 452511)混合液和 25 μL，10 mM 的 NADPH 加入孵育板中。用渦旋混勻 10 秒。在 37°C 水浴中孵育 8 分鐘。將 2.5 μL，100 μM 的待測化合物或陽性對照加入孵育板起始反應。在渦旋上混勻 12 秒後在 37°C 水浴中繼續孵育。分別在 0.5、5、10、15、20 和 30 分鐘時將 20 μL 孵育體系轉移到含有 100 μL 冷終止液的終止板上來終止反應，用渦旋混勻 2 分鐘。將終止板以 4000 rpm 離心 20 分鐘，然後 4°C 下靜置 30 分鐘，再以 4000 rpm 離心 20 分鐘。轉移 40 μL 每個化合物上清液至 96 孔進樣板中，加入 160 μL 純水稀釋樣品。

【0167】所得樣品由離子色譜圖定量，根據待測化合物或陽性對照的峰面積來計算殘餘率。斜率 k 使用 Microsoft Excel 由剩餘率的自然對數值對孵育時間的線性回歸測定。

體外半衰期 (in vitro t1/2) 由斜率計算： $\text{in vitro } t1/2 = -(0.693/k)$

用以下等式將體外半衰期轉化為固有清除率 (in vitro CLint,  $\mu\text{L}/\text{min}/\text{mg}$  蛋白)：

$$\text{in vitro CLint} = (0.693/t1/2) \times (\text{孵育體積}(\mu\text{L})/\text{蛋白量}(\text{mg}))$$

【0168】測得的大鼠肝微粒體固有清除率值見表 2。

表 2. 大鼠肝微粒體固有清除率

實施例編號	固有清除率 ( $\mu\text{L}/\text{min}/\text{mg}$ 蛋白)
2	19.2
3	<3
5	26.62
6	34.67

【0169】測試例 3、大鼠體內藥代動力學實驗

【0170】以大鼠為受試動物，應用 LC/MS/MS 法測定了大鼠灌胃給予本發明化合物後不同時刻血漿中的藥物濃度。研究本發明化合物在大鼠體內的藥代動力學行為，評價其藥動學特徵。

試驗動物：每組健康 6-8 周雄性 SD 大鼠 3 只

藥物配製

稱取一定量藥物，加 0.5%質量的羥丙甲纖維素、0.1%體積的吐溫 80 和 99.4%體積的水配製成 1 mg/mL 的白色懸濁液。

給藥

SD 大鼠禁食過夜後灌胃給藥，參照物給藥劑量為 7.5 mg/kg，實施例 1 給藥劑量為 5 mg/kg。

操作

大鼠灌胃給藥本發明化合物，給藥後 0.25、0.5、1、2、4、8、24 小時由頸靜脈采血 0.2 mL，置於含 EDTA-K2 的試管中，4°C、4000 轉/分鐘離心 5 分鐘分離血漿，於-75°C 保存。

測定不同濃度的藥物灌胃給藥後大鼠血漿中的待測化合物含量：取給藥後各時刻的大鼠血漿 50  $\mu$ L，加入內標地塞米松（50 ng/mL）的乙腈溶液 200  $\mu$ L，渦旋混合 30 秒，4°C、4700 轉/分鐘離心 15 分鐘，血漿樣品取上清液加水稀釋三倍，取 2.0  $\mu$ L 進行 LC/MS/MS 分析。

### 藥代動力學參數結果

【0171】本發明化合物的大鼠藥代動力學參數如下表 3。

表 3. 化合物的大鼠藥代動力學參數

編號	最大血藥濃度	曲線下面積	單位劑量曲線下面積	代謝產物比例
	Cmax (ng/mL)	AUC (ng/mL*h)	AUC/D (mg/mL*h)	AUC <sub>代謝產物</sub> /AUC <sub>原藥</sub>
2	21 (7.5 mpk)	500	4250	0.11
	代謝產物 14	48.4	456	
3	21 (5 mpk)	445	3819	0.071
	代謝產物 14	26.7	264	

【0172】測試例 4、食蟹猴體內藥代動力學實驗

【0173】以食蟹猴為受試動物，應用 LC/MS/MS 法測定了食蟹猴灌胃給予本發明化合物後不同時刻血漿中的藥物濃度。研究本發明化合物在食蟹猴體內的藥代動力學行為，評價其藥動學特徵。

試驗動物：每組健康2-5歲雄性食蟹猴3只；

藥物配製

灌胃給藥：稱取一定量藥物，加0.5%質量的羥丙甲纖維素、0.1%體積的吐溫80和99.4%體積的水配製成1 mg/mL的白色懸濁液。

給藥

食蟹猴禁食過夜後灌胃給藥，給藥劑量為5 mg/kg。

操作

食蟹猴灌胃給藥本發明化合物，給藥後0.25、0.5、1、2、4、8、24小時由外周靜脈采血0.2 mL，置於含EDTA-K2的試管中，2~8°C、2000轉/分鐘離心10分鐘分離血漿，於-75°C保存。

測定不同濃度的藥物灌胃給藥後食蟹猴血漿中的待測化合物含量：取給藥後各時刻的食蟹猴血漿 55  $\mu$ L，加入內標維拉帕米或地塞米松的乙腈溶液 200  $\mu$ L，渦旋混合 30 秒，4°C、3900 轉/分鐘離心 15 分鐘，血漿樣品取上清液加水稀釋三倍，取 15  $\mu$ L 進行 LC/MS/MS 分析。

藥代動力學參數結果

【0174】本發明化合物的食蟹猴藥代動力學參數如下表 4。

表 4.食蟹猴藥代動力學參數

編號	最大血藥濃度	曲線下面積	代謝產物比例
	Cmax (ng /mL)	AUC (ng /mL*h)	AUC <sub>代謝產物</sub> /AUC <sub>原藥</sub>
2	2 (5 mpk)	12677	0.39
	代謝產物 14	3647	
3	2 (5 mpk)	12200	0.20
	代謝產物 14	1400	

【0175】測試例 5、Caco-2 滲透性實驗

【0176】通過 Caco-2 細胞模型利用液相色譜串聯質譜 (LC/MS/MS) 測定分析藥物的表觀滲透係數 ( $P_{app}$ )。

【0177】在 Caco-2 細胞(購自 ATCC)密度為  $7.92 \times 10^5$  cells/cm<sup>2</sup>的 Transwell (購自康寧公司)小室頂端加入 210  $\mu$ L 含 10  $\mu$ M 待測化合物的 HBSS (25 mM HEPES, pH 7.4, 含 50  $\mu$ M quinidine, 30  $\mu$ M benzbromarone, 20  $\mu$ M sulfasalazine), 同時立即取出 10  $\mu$ L 樣品到已加有 90  $\mu$ L HBSS (25 mM HEPES, pH 7.4, 含 50  $\mu$ M quinidine, 30  $\mu$ M benzbromarone, 20  $\mu$ M sulfasalazine)的 96 深孔板中作為初始加藥端樣品,基底端加入 800  $\mu$ L HBSS (25 mM HEPES, pH 7.4, 含 50  $\mu$ M quinidine, 30  $\mu$ M benzbromarone, 20  $\mu$ M sulfasalazine)。37 °C 孵育 2 小時。在 45 分鐘和 2 小時時間點分別從頂端吸取 10  $\mu$ L 樣品到含有 90  $\mu$ L HBSS (25 mM HEPES, pH 7.4, 含 50  $\mu$ M quinidine, 30  $\mu$ M benzbromarone, 20  $\mu$ M sulfasalazine) 的 96 孔深孔板中。在 45 分鐘和 2 小時時間點分別從基底端吸取 100  $\mu$ L 樣品到 96 孔深孔板中。然後每孔加入 3 倍體積的預冷內標。1000 rpm 渦旋 10 分鐘, 4000 rpm 離心 20 分鐘。每孔取出 100  $\mu$ L 樣品, 3 個樣品一起與 100  $\mu$ L 純水混合進行 LC/MS/MS 分析。

【0178】使用 Microsoft Excel 計算數據, 峰面積根據色譜圖計算。表觀滲透係數 ( $P_{app}$ ) 的單位是 cm/s, 用如下公式進行計算:

$$P_{app} = \frac{C_R^{120} \times 0.8 - C_R^{45} \times 0.7}{(C_D^{45} + C_D^{120}) / 2 \times Area \times time}$$

$C_R$  為基底端待測化合物濃度 (上標“120”或“45”為取樣時間, 單位: 分鐘),  $C_D$  為頂端待測化合物濃度 (上標“120”或“45”為取樣時間, 單位: 分鐘),  $Area$  為膜表面積 (0.33 cm<sup>2</sup>), 時間為總的轉運時間 (75×60 秒)。

【0179】測得的 Caco-2 細胞表觀滲透系數值見表 5。

表 5. 化合物 Caco-2 細胞表觀滲透係數

實施例編號	$P_{app(A-B)} (10^{-6}, \text{cm/s})$
1	2.71
2	12.05
3	17.22

【0180】測試例 6、CYP 抑制實驗

【0181】使用 150 個供體混合人肝微粒體（購自 Corning, 貨號 452117）評估人主要 5 個 CYP 亞型（CYP1A2、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、CYP3A4/5）的代表性受質代謝反應。通過液相色譜串聯質譜（LC/MS/MS）測定不同濃度待測化合物對非那西丁（CYP1A2）、雙氯芬酸鈉（CYP2C9）、S-美芬妥英（CYP2C19）、丁呋洛爾鹽酸鹽（2D6）、咪達唑侖（CYP3A4/5）代謝反應的影響。

【0182】將 30  $\mu\text{M}$  非那西丁、10  $\mu\text{M}$  雙氯芬酸鈉、35  $\mu\text{M}$  S-美芬妥英、5  $\mu\text{M}$  丁呋洛爾鹽酸鹽、3  $\mu\text{M}$  咪達唑侖、1 mM NADPH、待測化合物（濃度分別為 0.1、0.3、1、3、10、30  $\mu\text{mol/L}$ ）或陽性化合物或空白對照與混合人肝微粒體（0.2 mg/mL）的反應體系 200  $\mu\text{L}$ （100 mmol/L 磷酸鹽緩衝液，pH 7.4，含體積比分別為 0.3% 的 DMSO、0.6% 的乙腈、0.1% 的甲醇）在 37  $^{\circ}\text{C}$  孵育 5 分鐘。然後加入 200  $\mu\text{L}$  含 3% 甲酸及 40 nM 內標維拉帕米的乙腈溶液，4000 rpm 離心 50 分鐘。置於冰上冷卻 20 分鐘，再 4000 rpm 離心 20 分鐘析出蛋白。取 200  $\mu\text{L}$  上清液進行 LC/MS/MS 分析。

【0183】峰面積根據色譜圖計算。殘餘活性比例（%）用如下公式進行計算：

峰面積比例 = 代謝產物峰面積 / 內標峰面積

殘餘活性比例 (%) = 待測化合物組的峰面積比例 / 空白組的峰面積比例

CYP 半數抑制濃度 (IC<sub>50</sub>) 通過 Excel XLfit 5.3.1.3 計算得到。

【0184】測得的 CYP 半數抑制濃度 (IC<sub>50</sub>) 數值見表 6。

表 6. 化合物對 CYP 的半數抑制濃度 (IC<sub>50</sub>)

實施例 編號	CYP 1A2 ( $\mu$ M)	CYP 2C9 ( $\mu$ M)	CYP 2C19 ( $\mu$ M)	CYP 2D6 ( $\mu$ M)	CYP 3A4/5 ( $\mu$ M)
1	9.21	>20	>20	>20	>20
3	14.7	>20	>20	>20	>20

【0185】實施例 7、式(I)所示化合物的 A 晶型的製備

【0186】實施例 1 中第五步採用甲醇-二氯甲烷溶劑體系柱層析，旋蒸，得固體，經 X-射線粉末衍射檢測，XRPD 譜圖如圖 2 所示，其特徵峰位置如表 7 所示，將其定義為 A 晶型；TGA 譜圖（圖 3）顯示 A 晶型在 25-260°C 區間內失重 1.33%，DSC 譜圖（圖 4）顯示 A 晶型具有一個吸熱峰，峰值為 241.49°C；DVS 前後 X-射線粉末衍射對比圖顯示 DVS 前後晶型未發生轉變，見圖 5。

表 7. A 晶型特徵峰

峰編號	2- $\theta$ (deg)	d( $\text{\AA}$ )	I(%)
1	4.847	18.21537	100.0%
2	9.801	9.01760	37.7%
3	13.138	6.73349	6.3%
4	13.778	6.42224	38.1%
5	14.770	5.99300	36.8%
6	15.444	5.73297	39.2%

7	18.363	4.82747	9.1%
8	19.856	4.46773	10.9%
9	21.092	4.20879	12.0%
10	22.034	4.03091	4.5%
11	23.371	3.80317	9.4%
12	24.460	3.63631	5.8%
13	26.077	3.41432	18.1%
14	28.130	3.16964	8.5%
15	28.970	3.07963	5.5%
16	31.894	2.80367	4.2%
17	32.920	2.71855	7.7%
18	33.916	2.64101	6.5%
19	38.924	2.31198	6.0%

【0187】實施例 8、式(I)所示化合物的 A 晶型的製備

A 晶型製備過程包括固液分離的步驟，經 X-射線粉末衍射檢測確定晶型。

表 8. 式(I)所示化合物的 A 晶型的製備

投料	操作	晶型
5mg A 晶型	加入 1ml 二氯甲烷溶解澄清，放置室溫條件下揮發	A 晶型
5mg A 晶型	加入 1ml 三氯甲烷溶解澄清，放置室溫條件下揮發	A 晶型
5mg A 晶型	加入 1ml 四氫呋喃，放置室溫條件下攪拌過夜	A 晶型
5mg A 晶型	加入 1ml 乙酸乙酯，放置室溫條件下攪拌過夜	A 晶型
5mg A 晶型	加入 1ml 甲苯，放置室溫條件下攪拌過夜	A 晶型
5mg A 晶型	加入 1ml 丙酮，放置室溫條件下攪拌過夜	A 晶型

型		
5mg A 晶型	加入 1ml 甲醇，放置室溫條件下攪拌過夜	A 晶型
5mg A 晶型	加入 1ml 乙醇，放置室溫條件下攪拌過夜	A 晶型
5mg A 晶型	加入 1ml 乙腈，放置室溫條件下攪拌過夜	A 晶型
5mg A 晶型	加入 1ml 甲基第三丁基醚，放置室溫條件下攪拌過夜	A 晶型
5mg A 晶型	加入 1ml 水，放置室溫條件下攪拌過夜	A 晶型
5mg A 晶型	加入 1ml 異丙醚，放置室溫條件下攪拌過夜	A 晶型
5mg A 晶型	加入 1ml 丁酮，放置室溫條件下攪拌過夜	A 晶型
5mg A 晶型	加入 1ml 正己烷，放置室溫條件下攪拌過夜	A 晶型
3mg A 晶型	加入 0.2ml N,N-二甲基甲醯胺，溶清，加入 1.0ml 乙腈，放置室溫條件下攪拌過夜	A 晶型
4mg A 晶型	加入 0.2ml 甲醇，溶清，加入 1.0ml 乙酸乙酯，放置室溫條件下攪拌過夜	A 晶型
4mg A 晶型	加入 0.2ml 甲醇，溶清，加入 1.0ml 醋酸異丙酯，放置室溫條件下攪拌過夜	A 晶型
10mg A 晶型	加入 0.1ml N-甲基吡咯烷酮，溶清，加入 1.0ml 甲基第三丁基醚，放置室溫條件下攪拌過夜	A 晶型
10mg A 晶型	加入 0.1ml N-甲基吡咯烷酮，溶清，加入 1.0ml 乙酸乙酯，放置室溫條件下攪拌過夜	A 晶型
10mg A 晶型	加入 0.1ml N-甲基吡咯烷酮，溶清，加入 1.0ml 異丙醚，放置室溫條件下攪拌過夜	A 晶型
10mg A 晶型	加入 0.1ml N-甲基吡咯烷酮，溶清，加入 1.0ml 乙腈，放置室溫條件下攪拌過夜	A 晶型

10mg A 晶型	加入 0.2ml 甲醇，60°C 加熱溶清，加入 0.6ml 甲基第三丁基醚，降溫速率 0.1K/min，析晶溫度 10°C 結晶析出	A 晶型
10mg A 晶型	加入 0.2ml 甲醇，60°C 加熱溶清，加入 0.2ml 異丙醚，降溫速率 0.1K/min，析晶溫度 10°C 結晶析出	A 晶型
10mg A 晶型	加入 0.2ml N,N-二甲基甲醯胺，溶清，加入 0.2ml 乙腈，降溫速率 0.1K/min，析晶溫度 10°C 結晶析出	A 晶型
400mg E 晶型	10 mL 乙酸乙酯，室溫打漿 1 天，固體於 40°C 真空乾燥 3 小時	A 晶型
1g E 晶型	加入 10ml 的甲醇加熱至 80°C 溶解，加入 250ml 醋酸異丙酯，常溫攪拌過夜，抽濾，用 MTBE 洗滌，放於 60°C 條件下烘乾 2h	A 晶型

【0188】實施例 9、式(I)所示化合物的 B 晶型的製備

【0189】秤量 50mg 式(I)所示化合物 A 晶型，加入 1ml 甲醇溶解，過濾，加入 5ml 甲基第三丁基醚，在常溫條件下攪拌過夜，抽濾，用甲基第三丁基醚洗滌，乾燥得固體，經 X-射線粉末衍射檢測，XRPD 譜圖如圖 6 所示，其特徵峰位置如表 9 所示，將其定義為 B 晶型。

表 9 . B 晶型特徵峰

峰編號	2-θ(deg)	d(Å)	I(%)
1	4.606	19.17053	35.9%
2	9.110	9.69989	100.0%
3	11.423	7.74033	12.7%
4	13.745	6.43745	47.0%
5	16.006	5.53284	13.5%
6	18.349	4.83127	6.0%
7	19.767	4.48774	3.1%
8	22.973	3.86814	10.0%

9	24.700	3.60154	2.9%
10	25.285	3.51942	8.5%
11	27.505	3.24023	5.0%
12	29.262	3.04952	3.9%
13	31.451	2.84210	4.2%
14	32.407	2.76043	1.9%
15	34.072	2.62927	6.0%
16	35.983	2.49386	6.6%
17	37.216	2.41401	2.2%
18	38.388	2.34299	6.6%

【0190】實施例 10、式(I)所示化合物的 C 晶型的製備

【0191】秤量 10mg 式(I)所示化合物的 A 晶型，加入 0.1mlN-甲基吡咯烷酮，溶清，加入 1.0ml 異丙醇，放置室溫條件下攪拌過夜，抽濾得固體，經 X-射線粉末衍射檢測，XRPD 譜圖如圖 7 所示，其特徵峰位置如表 10 所示，將其定義為 C 晶型；TGA 譜圖顯示 C 晶型在 25-220°C 之間失重 8.83%；DSC 譜圖顯示 C 晶型具有兩個吸熱峰，峰值分別為 197.87°C 及 241.33°C。

表 10 . C 晶型特徵峰

峰編號	2- $\theta$ (deg)	d(Å)	I(%)
1	8.905	9.92233	100.0%
2	12.920	6.84658	37.0%
3	13.428	6.58886	55.7%
4	14.074	6.28781	36.4%
5	16.104	5.49928	21.8%
6	17.996	4.92514	24.1%
7	18.458	4.80303	25.9%
8	18.965	4.67560	19.1%
9	20.580	4.31216	25.0%
10	22.519	3.94520	29.2%

11	23.949	3.71267	14.5%
12	25.011	3.55747	13.0%
13	26.395	3.37393	14.5%
14	27.226	3.27285	6.0%
15	28.379	3.14237	7.4%
16	28.795	3.09798	14.4%
17	30.041	2.97226	10.1%
18	31.748	2.81620	16.2%
19	32.487	2.75386	15.2%
20	35.578	2.52130	7.3%
21	37.978	2.36733	4.5%
22	41.393	2.17957	0.3%

【0192】實施例 11、式(I)所示化合物的 D 晶型的製備

【0193】秤量 4mg 式(I)所示化合物的 A 晶型，加入 0.2ml 甲醇，溶清，加入 1.0ml 異丙醚，放置室溫條件下攪拌過夜，抽濾，乾燥得固體，經 X-射線粉末衍射檢測，XRPD 譜圖如圖 8 所示，其特徵峰位置如表 11 所示，將其定義為 D 晶型；TGA 譜圖顯示 D 晶型在 25-215°C 之間失重 2.63%；DSC 譜圖顯示 D 晶型有兩個吸熱峰，峰值分別為 195.92°C 及 243.03°C。

表 11 . D 晶型特徵峰

峰編號	2- $\theta$ (deg)	d(Å)	I(%)
1	4.766	18.52527	100.0%
2	9.594	9.21168	35.1%
3	13.461	6.57255	5.2%
4	14.089	6.28084	8.8%
5	14.471	6.11582	29.2%
6	16.602	5.33531	5.1%
7	18.981	4.67176	8.0%
8	19.609	4.52347	8.0%
9	20.238	4.38443	6.7%

10	22.616	3.92841	4.7%
11	24.187	3.67673	7.5%
12	24.770	3.59144	6.7%
13	25.264	3.52237	4.5%
14	25.987	3.42593	14.8%
15	29.123	3.06376	6.6%
16	30.380	2.93983	11.4%
17	32.714	2.73525	6.8%
18	34.688	2.58393	5.6%
19	39.042	2.30526	4.8%
20	39.535	2.27760	5.0%
21	44.382	2.03947	3.1%

【0194】實施例 12、式(I)所示化合物的 E 晶型的製備

【0195】秤量 10mg 式(I)所示化合物的 A 晶型，加入 0.3ml 二氯甲烷，溶清，加入 1.0ml 乙腈，50°C 條件下攪拌過夜，抽濾，40°C 乾燥得固體，經 X-射線粉末衍射檢測，XRPD 譜圖如圖 9 所示，其特徵峰位置如表 12 所示，將其定義為 E 晶型；TGA 譜圖顯示 E 晶型 25-65°C 失重 0.33%，65-220°C 失重 6.95%，DSC 譜圖顯示 E 晶型具有兩個吸熱峰，峰值分別為 193.32°C、243.68°C。

表 12. E 晶型特徵峰

峰編號	2- $\theta$ (deg)	d(Å)	I(%)
1	4.603	19.18372	100.0%
2	9.209	9.59589	32.8%
3	12.888	6.86366	8.0%
4	13.920	6.35688	23.3%
5	15.097	5.86377	16.1%
6	18.641	4.75611	14.0%
7	19.194	4.62047	14.6%

8	19.700	4.50284	18.8%
9	20.529	4.32294	10.4%
10	21.863	4.06192	7.7%
11	22.876	3.88435	9.7%
12	23.659	3.75762	7.8%
13	24.349	3.65261	4.5%
14	25.054	3.55137	7.8%
15	25.454	3.49653	20.1%
16	25.664	3.46841	19.2%
17	27.203	3.27554	9.6%
18	27.698	3.21812	10.6%
19	27.775	3.20932	11.0%
20	28.906	3.08631	8.4%
21	29.504	3.02506	12.2%
22	29.965	2.97963	10.5%
23	30.747	2.90556	7.8%
24	31.944	2.79938	4.5%
25	34.430	2.60276	4.5%
26	38.756	2.32156	11.3%
27	39.263	2.29278	6.2%
28	42.577	2.12167	3.9%

【0196】實施例 13、式(I)所示化合物的 F 晶型的製備

【0197】秤量 100mg 式(I)所示化合物的 E 晶型，加入 5ml 的 80%水-乙醇，在常溫條件下攪拌過夜，抽濾，用水洗滌，40°C 條件下乾燥 2h 得固體，經 X-射線粉末衍射檢測，XRPD 譜圖如圖 10 所示，其特徵峰位置如表 13 所示，將其定義為 F 晶型；TGA 譜圖顯示 F 晶型在 25-70°C 之間失重 3.02%，70-260°C 之間失重 0.47%；DSC 譜圖顯示 F 晶型具有兩個吸熱峰，峰值分別為 80.36°C、243.71°C，具有一個放熱峰，峰值為 188.21°C。

表 13. F 晶型特徵峰

峰編號	2- $\theta$ (deg)	d(Å)	I(%)
1	4.656	18.96517	100.0%
2	9.341	9.46015	27.3%
3	12.670	6.98122	31.3%
4	13.443	6.58108	44.0%
5	14.068	6.29016	45.6%
6	14.850	5.96080	23.9%
7	15.183	5.83067	42.2%
8	16.122	5.49309	17.5%
9	18.032	4.91549	14.2%
10	18.858	4.70207	30.2%
11	19.436	4.56351	27.2%
12	20.518	4.32511	22.3%
13	22.150	4.01010	16.4%
14	22.571	3.93622	13.5%
15	23.235	3.82523	37.7%
16	24.442	3.63887	15.5%
17	24.863	3.57818	8.6%
18	25.591	3.47803	37.9%
19	26.585	3.35024	14.8%
20	27.765	3.21054	4.9%
21	28.386	3.14163	16.4%
22	28.934	3.08334	10.3%
23	29.543	3.02122	20.1%
24	30.245	2.95269	4.1%
25	31.113	2.87218	16.2%
26	32.116	2.78475	3.2%
27	32.491	2.75352	3.7%
28	36.608	2.45270	3.4%
29	38.199	2.35412	7.7%

30	38.620	2.32942	6.5%
31	40.679	2.21615	4.6%
32	43.206	2.09221	2.4%

【0198】實施例 14、式(I)所示化合物的 G 晶型的製備

【0199】秤量 500mg 式(I)所示化合物的 E 晶型，加入 12.5ml 的 20%水-乙醇溶解，加入 37.5ml 水，在常溫條件下攪拌過夜，抽濾，用水洗滌，40°C 乾燥 3 天得固體，經 X-射線粉末衍射檢測，XRPD 譜圖如圖 11 所示，其特徵峰位置如表 14 所示，將其定義為 G 晶型；TGA 譜圖顯示 G 晶型在 25-220°C 之間失重 0.62%；DSC 譜圖顯示 G 晶型具有一個吸熱峰，峰值為 243.37°C；一個放熱峰，峰值為 187.40°C。

表 14. G 晶型特徵峰

峰編號	2- $\theta$ (deg)	d(Å)	I(%)
1	4.869	18.13400	100.0%
2	9.735	9.07839	89.3%
3	10.863	8.13759	14.3%
4	13.290	6.65664	60.7%
5	14.713	6.01593	99.8%
6	14.968	5.91419	68.2%
7	17.852	4.96446	20.6%
8	19.399	4.57194	18.0%
9	20.020	4.43162	46.7%
10	20.593	4.30947	25.7%
11	21.796	4.07435	31.2%
12	22.793	3.89827	37.2%
13	24.251	3.66715	18.9%
14	24.681	3.60416	22.4%
15	25.510	3.48895	21.2%
16	25.907	3.43637	42.6%

17	26.327	3.38247	31.1%
18	27.617	3.22733	28.1%
19	28.051	3.17841	10.1%
20	29.696	3.00597	14.3%
21	30.155	2.96122	30.1%
22	31.101	2.87330	24.2%
23	32.405	2.76063	5.2%
24	33.402	2.68042	2.0%
25	35.019	2.56031	13.0%
26	39.615	2.27319	6.1%
27	41.021	2.19847	2.7%
28	45.193	2.00473	3.9%
29	46.644	1.94568	4.9%
30	54.898	1.67108	2.9%

【0200】實施例 15、式(I)所示化合物的 H 晶型的製備

【0201】秤量 100mg 式(I)所示化合物的 E 晶型，5ml 的 80%水-乙醇，在常溫條件下攪拌過夜，抽濾，水洗，30°C 乾燥 2h 得固體，經 X-射線粉末衍射檢測，XRPD 譜圖如圖 12 所示，其特徵峰位置如表 15 所示，將其定義為 H 晶型；TGA 譜圖顯示 H 晶型 25-60°C 之間失重 3.64%；DSC 譜圖顯示 H 晶型有三個吸熱峰，峰值分別為 50.81°C、67.63°C、243.52°C，有一個放熱峰，峰值為 190.16°C。

表 15. H 晶型特徵峰

峰編號	2- $\theta$ (deg)	d(Å)	I(%)
1	8.608	10.26410	88.0%
2	11.238	7.86706	47.2%
3	11.718	7.54608	43.0%
4	12.983	6.81350	100.0%
5	13.476	6.56531	80.6%

6	14.485	6.11015	31.9%
7	17.716	5.00247	32.4%
8	18.227	4.86315	22.2%
9	19.392	4.57375	25.4%
10	20.144	4.40465	36.2%
11	21.435	4.14211	24.2%
12	21.914	4.05271	23.4%
13	22.935	3.87455	24.6%
14	23.371	3.80326	50.8%
15	23.814	3.73342	21.2%
16	25.416	3.50169	29.7%
17	26.499	3.36088	18.1%
18	28.195	3.16246	14.9%
19	28.887	3.08833	24.2%
20	30.620	2.91735	44.4%
21	31.767	2.81456	15.3%
22	32.874	2.72232	6.2%
23	33.970	2.63694	15.0%
24	34.839	2.57307	23.3%
25	35.854	2.50254	11.6%
26	37.045	2.42476	16.9%
27	38.478	2.33773	15.7%
28	39.958	2.25450	16.8%
29	41.311	2.18370	12.3%
30	43.925	2.05962	9.4%
31	44.582	2.03081	19.9%

【0202】實施例 16、影響因素穩定性研究

【0203】A 晶型、F 晶型、G 晶型、H 晶型 4 種晶型敞口平攤放置，分別考察在光照(4500Lux)、高溫(40°C、60°C)、高濕(RH 75%、RH 92.5%)條件下樣品的穩定性，取樣考察期為 30 天。

表 16. A 晶型影響因素穩定性數據

條件	時間(天)	A 晶型		
		色澤、性狀	主峰純度%	晶型
起始	0	類白色固體	99.21	A 晶型
40°C	7	類白色固體	98.76	未轉變
	14	類白色固體	98.65	未轉變
	30	類白色固體	98.55	未轉變
60°C	7	類白色固體	98.64	未轉變
	14	類白色固體	98.51	未轉變
	30	類白色固體	98.27	未轉變
75% RH	7	類白色固體	99.17	未轉變
	14	類白色固體	99.20	未轉變
	30	類白色固體	99.18	未轉變
92.5% RH	7	類白色固體	99.17	未轉變
	14	類白色固體	99.20	未轉變
	30	類白色固體	99.19	未轉變

表 17. F 晶型影響因素穩定性數據

條件	時間(天)	F 晶型		
		色澤、性狀	主峰純度%	晶型
起始	0	類白色固體	99.26	F 晶型
40°C	7	類白色固體	98.34	未轉變
	14	類白色固體	98.00	未轉變
	30	類白色固體	97.72	未轉變
60°C	7	類白色固體	98.75	未轉變
	14	類白色固體	98.44	未轉變
	30	類白色固體	98.16	未轉變

75% RH	7	類白色固體	99.27	未轉變
	14	類白色固體	99.24	轉晶
	30	類白色固體	99.25	轉晶
92.5% RH	7	類白色固體	99.28	轉晶
	14	類白色固體	99.25	轉晶
	30	類白色固體	99.20	轉晶
4500 Lux	7	類白色固體	97.53	未轉變
	14	類白色固體	97.29	未轉變
	30	類白色固體	96.12	未轉變

表 18.G 晶型影響因素穩定性數據

條件	時間(天)	G 晶型		
		色澤、性狀	主峰純度%	晶型
起始	0	類白色固體	99.33	G 晶型
40°C	7	類白色固體	98.69	未轉變
	14	類白色固體	98.51	未轉變
	30	類白色固體	98.28	未轉變
60°C	7	類白色固體	98.68	未轉變
	14	類白色固體	98.48	未轉變
	30	類白色固體	98.21	未轉變
75% RH	7	類白色固體	99.32	轉晶
	14	類白色固體	99.30	轉晶
	30	類白色固體	99.28	轉晶
92.5% RH	7	類白色固體	99.31	轉晶
	14	類白色固體	99.31	轉晶
	30	類白色固體	99.30	轉晶
4500 Lux	7	類白色固體	96.84	未轉變
	14	類白色固體	95.17	未轉變
	30	類白色固體	/	未轉變

表 19. H 晶型影響因素穩定性數據

條件	時間(天)	H 晶型
----	-------	------

第 55 頁，共 59 頁(發明說明書)

		色澤、性狀	主峰純度%	晶型
起始	0	類白色固體	99.33	H 晶型
40°C	7	類白色固體	97.88	轉晶
	14	類白色固體	97.67	轉晶
	30	類白色固體	97.13	轉晶
60°C	7	類白色固體	98.61	轉晶
	14	類白色固體	98.28	轉晶
	30	類白色固體	97.91	轉晶
75% RH	7	類白色固體	99.30	未轉變
	14	類白色固體	99.29	未轉變
	30	類白色固體	99.29	未轉變
92.5% RH	7	類白色固體	99.31	未轉變
	14	類白色固體	99.30	未轉變
	30	類白色固體	99.29	未轉變
4500 Lux	7	類白色固體	98.60	未轉變
	14	類白色固體	98.60	未轉變
	30	類白色固體	96.73	未轉變

【0204】結論：影響因素實驗表明 A 晶型在高溫、高濕條件下具有較好的物理、化學穩定性；F、G、H 晶型在高溫高濕條件下化學與物理穩定性略差。

【0205】實施例 17、長期/加速穩定性研究

將 A 晶型、F 晶型、G 晶型、H 晶型分別放置 25°C，60%RH 和 40°C，75%RH、5°C、-20°C 充氮氣條件考察其穩定性

表 20. A 晶型長期加速穩定性數據

條件	時間(天)	A 晶型		
		色澤、性狀	主峰純度%	晶型
起始	0	類白色固體	99.21	A 晶型

-20°C	30	類白色固體	99.21	未轉變
	60	類白色固體	99.20	未轉變
5°C	7	類白色固體	99.20	未轉變
	14	類白色固體	99.20	未轉變
	30	類白色固體	99.19	未轉變
	60	類白色固體	99.20	未轉變
25°C/60% RH	7	類白色固體	99.20	未轉變
	14	類白色固體	99.21	未轉變
	30	類白色固體	99.20	未轉變
	60	類白色固體	99.19	未轉變
40°C/75% RH	7	類白色固體	99.21	未轉變
	14	類白色固體	99.21	未轉變
	30	類白色固體	99.19	未轉變
	60	類白色固體	99.17	未轉變

表 21. F 晶型長期加速穩定性數據

條件	時間(天)	F 晶型		
		色澤、性狀	主峰純度%	晶型
起始	0	類白色固體	99.26	F 晶型
-20°C	30	類白色固體	99.31	未轉變
	60	類白色固體	99.29	未轉變
5°C	7	類白色固體	99.30	未轉變
	14	類白色固體	99.30	未轉變
	30	類白色固體	99.30	未轉變
	60	類白色固體	99.30	未轉變
25°C/60% RH	7	類白色固體	99.29	未轉變
	14	類白色固體	99.28	未轉變
	30	類白色固體	99.28	未轉變
	60	類白色固體	99.26	未轉變
40°C/75% RH	7	類白色固體	99.25	未轉變
	14	類白色固體	99.24	未轉變
	30	類白色固體	99.24	未轉變

	60	類白色固體	99.20	未轉變
--	----	-------	-------	-----

表 22. G 晶型長期加速穩定性數據

條件	時間(天)	G 晶型		
		色澤、性狀	主峰純度%	晶型
起始	0	類白色固體	99.33	G 晶型
-20°C	30	類白色固體	99.34	未轉變
	60	類白色固體	99.33	未轉變
5°C	7	類白色固體	99.33	未轉變
	14	類白色固體	99.34	未轉變
	30	類白色固體	99.31	未轉變
	60	類白色固體	99.31	未轉變
25°C/60% RH	7	類白色固體	99.32	轉晶
	14	類白色固體	99.33	轉晶
	30	類白色固體	99.30	轉晶
	60	類白色固體	99.30	轉晶
40°C/75% RH	7	類白色固體	99.31	轉晶
	14	類白色固體	99.30	轉晶
	30	類白色固體	99.27	轉晶
	60	類白色固體	99.25	轉晶

表 23. H 晶型長期加速穩定性數據

條件	時間(天)	H 晶型		
		色澤、性狀	主峰純度%	晶型
起始	0	類白色固體	99.33	H 晶型
-20°C	30	類白色固體	99.33	未轉變
	60	類白色固體	99.29	未轉變
5°C	7	類白色固體	99.32	未轉變
	14	類白色固體	99.32	未轉變
	30	類白色固體	99.31	未轉變
	60	類白色固體	99.31	未轉變

25°C/60% RH	7	類白色固體	99.33	未轉變
	14	類白色固體	99.32	未轉變
	30	類白色固體	99.31	未轉變
	60	類白色固體	99.31	未轉變
40°C/75% RH	7	類白色固體	99.31	轉晶
	14	類白色固體	99.30	轉晶
	30	類白色固體	99.29	轉晶
	60	類白色固體	99.28	轉晶

【0206】結論：長期加速實驗表明：A 晶型、F 晶型在長期加速條件下物理和化學性質穩定性良好，G 晶型、H 晶型在加速條件下均發生轉晶。

【0207】實施例 18、A 晶型、F 晶型、G 晶型和 H 晶型的引濕性研究

【0208】採用 Surface Measurement Systems advantage 2，在 25°C，濕度從 50%起，考察濕度範圍為 0%-95%，步進為 10%，判斷標準為每個梯度質量變化  $dM/dT$  小於 0.002%，TMAX 小於 360min，循環兩圈。

表 24. 引濕性數據

供試品	0.0%RH-95.0%RH	20.0%RH-80.0%RH	晶型
A 晶型	5.071%	1.62% (略有引濕性)	未轉變
F 晶型	10.37%	6.11% (有引濕性)	轉晶
G 晶型	11.57%	7.50% (有引濕性)	轉晶
H 晶型	11.42%	6.69% (有引濕性)	未轉變

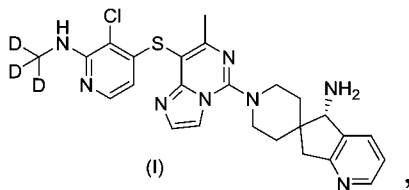
。

#### 【符號說明】

【0209】無

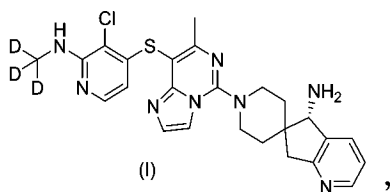
## 【發明申請專利範圍】

【請求項1】一種式(I)所示化合物的A晶型，以衍射角 $2\theta$ 角度表示的X-射線粉末衍射圖譜，



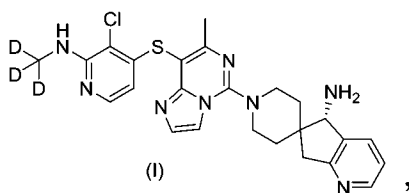
在 4.847、9.801、13.778、14.770、15.444、26.077 處有特徵峰，優選地，以衍射角  $2\theta$  角度表示的 X-射線粉末衍射圖譜，在 4.847、9.801、13.138、13.778、14.770、15.444、18.363、19.856、21.092、23.371、26.077、28.130 處有特徵峰，最優選地，以衍射角  $2\theta$  角度表示的 X-射線粉末衍射圖譜，在 4.847、9.801、13.138、13.778、14.770、15.444、18.363、19.856、21.092、22.034、23.371、24.460、26.077、28.130、28.970、31.894、32.920、33.916、38.924 處有特徵峰，特別優選地，其 X-射線粉末衍射譜圖如附圖 2 所示。

【請求項2】一種式(I)所示化合物的B晶型，



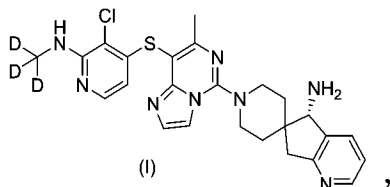
以衍射角  $2\theta$  角度表示的 X-射線粉末衍射圖譜，在 4.606、9.110、11.423、13.745、16.006、22.973 處有特徵峰。

【請求項3】一種式(I)所示化合物的C晶型，



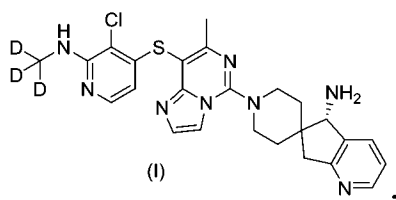
以衍射角  $2\theta$  角度表示的 X-射線粉末衍射圖譜，在 8.905、12.920、13.428、14.074、18.458、22.519 處有特徵峰。

【請求項4】一種式(I)所示化合物的D晶型，



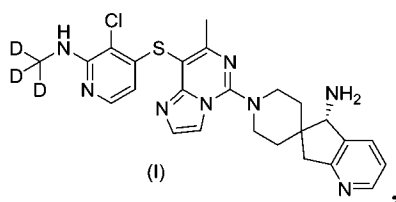
以衍射角  $2\theta$  角度表示的 X-射線粉末衍射圖譜，在 4.766、9.594、14.089、14.471、18.981、19.609、25.987 處有特徵峰。

【請求項5】一種式(I)所示化合物的E晶型，



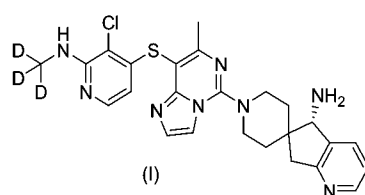
以衍射角  $2\theta$  角度表示的 X-射線粉末衍射圖譜，在 4.603、9.209、13.920、15.097、19.700、25.454 處有特徵峰。

【請求項6】一種式(I)所示化合物的F晶型，



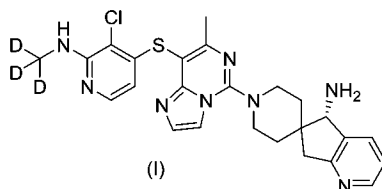
以衍射角  $2\theta$  角度表示的 X-射線粉末衍射圖譜，在 4.656、14.068、15.183、18.858、23.235 處有特徵峰。

【請求項7】一種式(I)所示化合物的G晶型，



以衍射角  $2\theta$  角度表示的 X-射線粉末衍射圖譜，在 4.869、9.735、13.290、14.713、20.020 處有特徵峰。

【請求項8】 一種式(I)所示化合物的H晶型，



以衍射角  $2\theta$  角度表示的 X-射線粉末衍射圖譜，在 8.608、12.983、13.476、17.716、20.144、23.371 處有特徵峰。

【請求項9】 根據請求項1-8任一項所述的式(I)所示化合物的晶型，所述 $2\theta$ 角的誤差範圍為 $\pm 0.20$ 。

【請求項10】 根據請求項1-9任一項所述的式(I)所示化合物的晶型，其中式(I)所示化合物，每一個氘原子(D)具有至少20%的豐度，優選具有至少50%的豐度，最優選具有至少90%的豐度，特別優選具有至少98%的豐度。

【請求項11】 根據請求項1、9-10任一項所述的式(I)所示化合物的A晶型的製備方法，其選自：

- a) 將式(I)所示化合物與溶劑 I 混合，溶清，結晶析出，所述溶劑 I 選自二氯甲烷、三氯甲烷中的至少一種；或
- b) 將式(I)所示化合物與溶劑 II 混合，結晶析出，所述溶劑 II 選自四氫呋喃、乙酸乙酯、甲苯、丙酮、甲醇、乙醇、乙腈、甲基第三丁基醚、水、異丙醚、丁酮、正己烷中的至少一種；或
- c) 將式(I)所示化合物與溶劑 III 混合得溶清液，溶清液與溶劑 IV 混合，結晶析出，所述溶劑 III 選自甲醇、N,N-二甲基甲醯胺、N-甲基吡咯烷酮中的至

少一種；所述溶劑 IV 選自乙腈、乙酸乙酯、醋酸異丙酯、甲基第三丁基醚、異丙醚中的至少一種。

【請求項12】 一種藥物組合物，包含以下成分：

- 1) 根據請求項 1-10 任一項所述的式(I)所示化合物的晶型，或其混合物和
- 2) 任選自藥學上可接受的載體、稀釋劑或賦形劑。

【請求項13】 一種藥物組合物的製備方法，包括將根據請求項1-10任一項所述的式(I)所示化合物的晶型，或其混合物和

- 2) 任選自藥學上可接受的載體、稀釋劑或賦形劑混合的步驟。

【請求項14】 根據請求項1-10任一項所述的式(I)所示化合物的晶型，或其混合物或請求項12所述的組合物在製備治療與SHP2調節有關的疾病或病症的藥物中的用途。

【請求項15】 根據請求項1-10任一項所述的式(I)所示化合物的晶型，或其混合物或請求項12所述的組合物在製備治療腫瘤或癌症或努南氏症候群、豹皮症候群的藥物中的用途，所述腫瘤或癌症優選幼年性骨髓單核細胞白血病、神經母細胞瘤、黑素瘤、急性骨髓性白血病、乳腺癌、食管癌、肺癌、結腸癌、頭癌、胰腺癌、頭和頸鱗狀細胞癌、胃癌、肝癌、間變性大細胞淋巴瘤和成膠質細胞瘤。

(發明圖式)



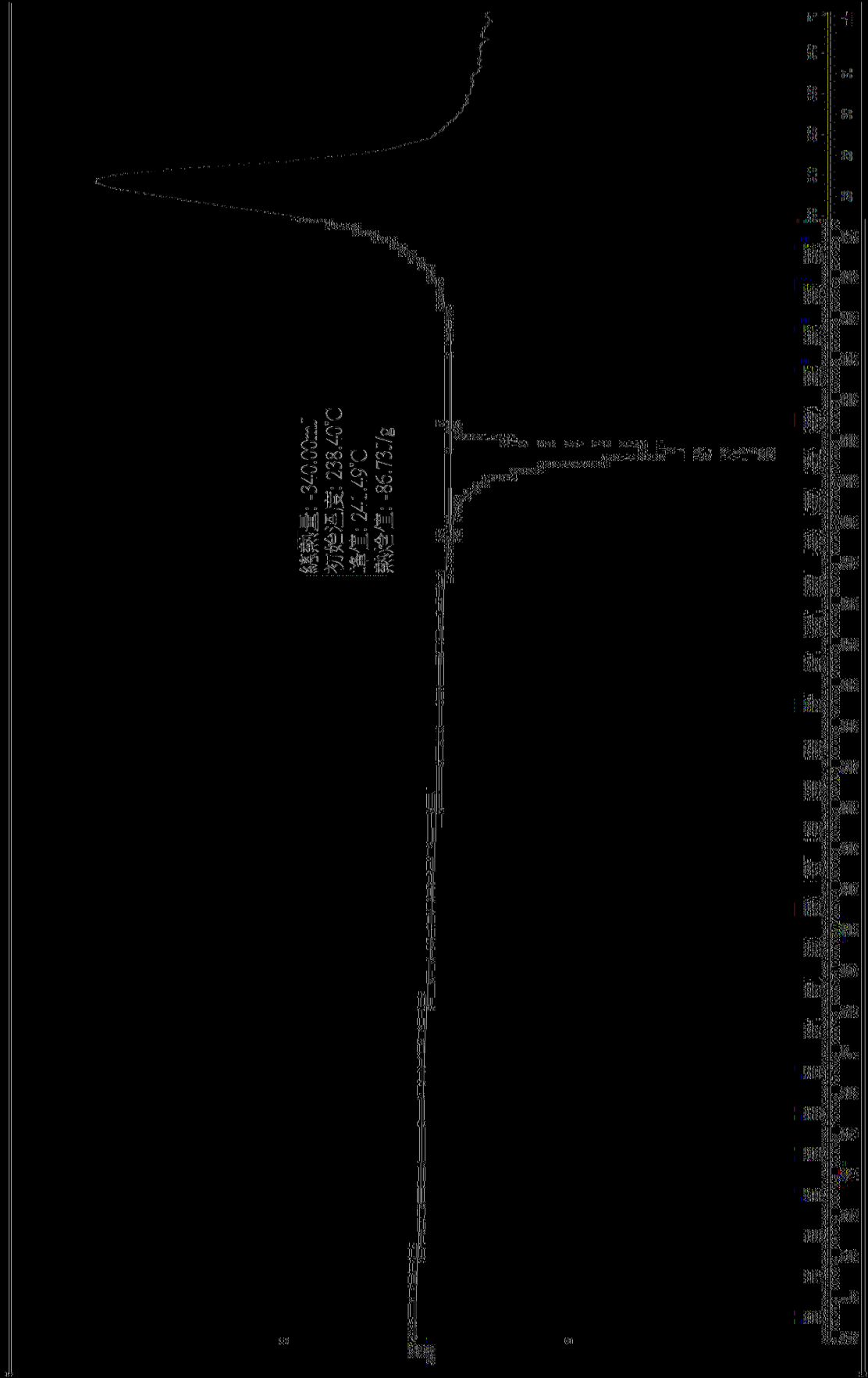
插圖

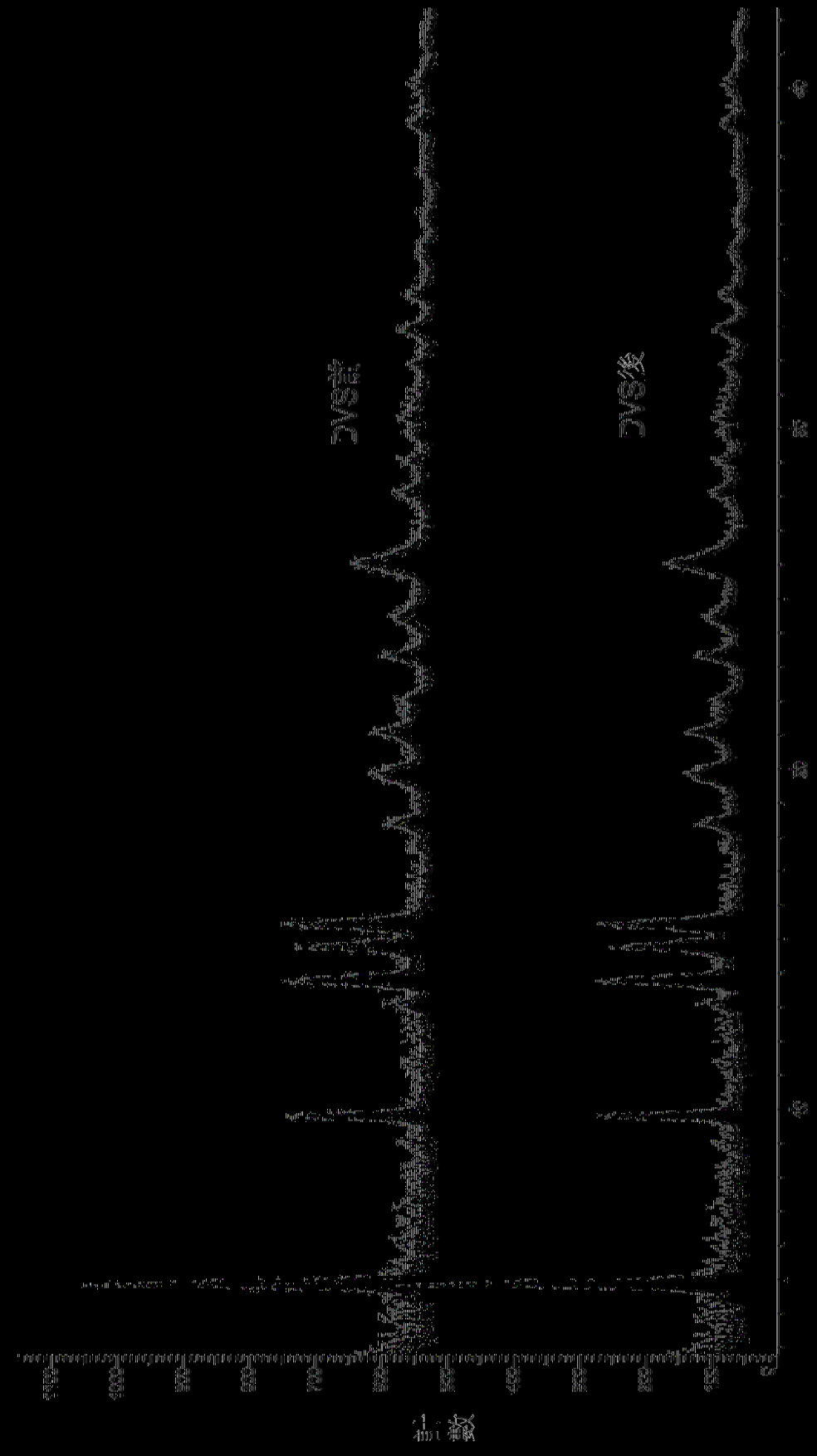
20 頁 = 1,406











09075-F.A.8Z

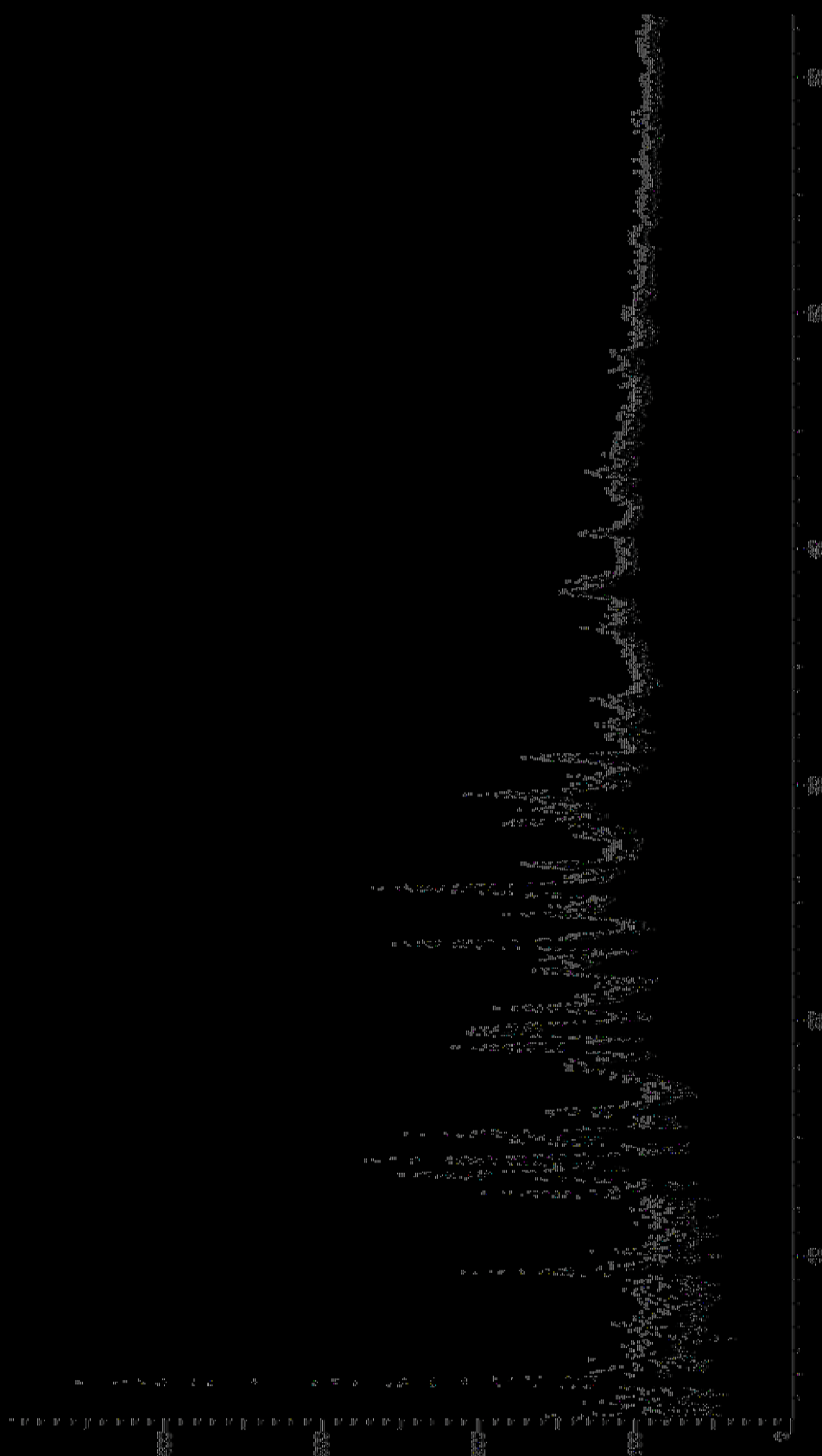












8907511-1.5/060



圖 1



26 W... 1.5066



中 華 郵 政

