(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 104302650 B
(45)授权公告日 2017.07.18

(21)申请号 201380013851.3

(22)申请日 2013.03.13

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 104302650 A

(43)申请公布日 2015.01.21

(30)优先权数据
61/610023 2012.03.13 US
61/610012 2012.03.13 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2014.09.12

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/GB2013/050624 2013.03.13

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2013/136076 EN 2013.09.19

(73)专利权人 瑞斯比维特有限公司
地址 英国白金汉郡

(72)发明人 R.L.M.布勒克斯 W.F.M.菲利尔斯
P.H.J.尼斯特 A.H.科普曼斯
F.M.C.范侯特 C.利斯

(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001
代理人 初明明 李进

(51)Int.Cl.
C07D 487/04(2006.01)

(56)对比文件
CN 101448505 A,2009.06.03,权利要求1-36.
WO 2011048111 A1,2011.04.28,权利要求17, 权利要求20, 说明书第76页.
WO 2005113554 A2,2005.12.01,权利要求1.
WO 2008138834 A1,2008.11.20,全文.

审查员 张倩

权利要求书1页 说明书32页 附图19页

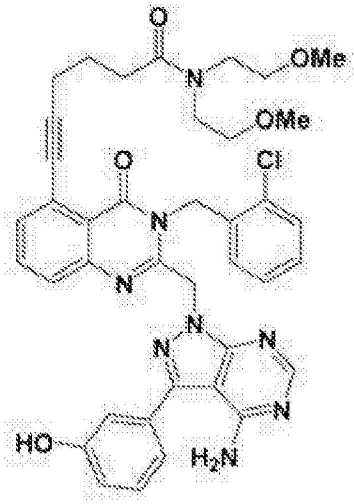
(54)发明名称

晶体PI3激酶抑制剂

(57)摘要

本发明特别提供固态晶体水合物形式和固态晶体无水形式的6-(2-((4-氨基-3-(3-羟苯基)-1*H*-吡唑并[3,4-d]嘧啶-1-基)甲基)-3-(2-氯苄基)-4-氧代-3,4-二氢喹唑啉-5-基)-*N*,*N*-双(2-甲氧乙基)己-5-炔酰胺。本发明还提供用于吸入的包含所述固态晶体形式的干粉药物组合物。

1.一种式(I)化合物，



(I)

其为固态晶体无水形式的6-(2-((4-氨基-3-(3-羟苯基)-1*H*-吡唑并[3,4-d]嘧啶-1-基)甲基)-3-(2-氯苄基)-4-氧代-3,4-二氢喹唑啉-5-基)-*N*,*N*-双(2-甲氧乙基)己-5-炔酰胺，其中式(I)化合物为固态晶体形式，其具有大体上如图2所示的X-射线粉末衍射图。

2.权利要求1的化合物，其中式(I)化合物为固态晶体形式，其具有包含位置在17.6、18.4、22.5和24.2± 0.2度2-θ的4个峰的X-射线粉末衍射图。

3.包含与一种或多种药学上可接受的稀释剂或载体混合的权利要求1或2中任一项的化合物的药物组合物。

4.权利要求3的药物组合物，其中所述药学上可接受的稀释剂或载体包含乳糖。

5.权利要求4的药物组合物，其中所述乳糖为α-乳糖一水合物。

6.权利要求3-5中任一项的药物组合物，包含选自硬脂酸金属盐和硬脂酰延胡索酸金属盐的稳定剂。

7.权利要求6的药物组合物，其中所述稳定剂为硬脂酸金属盐。

8.权利要求7的药物组合物，其中所述硬脂酸金属盐为硬脂酸镁。

9.权利要求3-5、7和8中任一项的药物组合物，包含微粉化形式的式(I)化合物。

10.权利要求1或2的化合物或权利要求3-9中任一项的药物组合物在制备用于治疗或预防选自慢性阻塞性肺病、哮喘、囊性纤维化、结节病、特发性肺纤维化、恶病质的病况或抑制肺肿瘤的生长和转移的药物中的用途。

11.权利要求10的化合物或药物组合物在制备药物中的用途，其中慢性阻塞性肺病为慢性支气管炎或肺气肿。

12.权利要求10的化合物或药物组合物在制备药物中的用途，其中所述哮喘为小儿哮喘。

13.权利要求10的化合物或药物组合物在制备药物中的用途，其中所述肺肿瘤为非小细胞肺癌。

14.用于制备权利要求1或2的固态晶体无水形式的式(I)化合物的方法，包括从无水1-丙醇中结晶出式(I)化合物的步骤。

15.权利要求14的方法，其中所述结晶步骤包括从升高的温度冷却。

16.一种吸入剂型，包含一个或多个剂量的权利要求3-9中任一项的药物组合物。

晶体PI3激酶抑制剂

发明领域

[0001] 本发明提供抑制磷酸肌醇3-激酶(PI3激酶)的新型晶体形式的化合物，及其在治疗，特别是在炎性疾病例如COPD和哮喘的治疗中的用途。所述新型晶体形式适用于供吸入的干粉制剂。

[0002] 发明背景

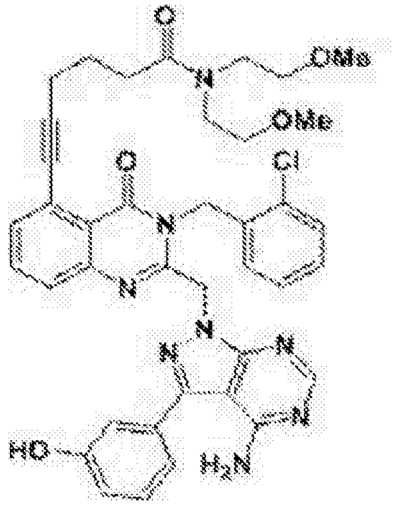
[0003] 脂质激酶催化脂质的磷酸化作用，产生涉及广范围生理过程包括细胞迁移和粘附的调节的种类。PI3-激酶为膜相关蛋白，属于催化本身与细胞膜缔合的脂质的磷酸化的酶种类。PI3-激酶δ同工酶(PI3激酶δ)是负责产生介导细胞信号传导并且已经牵涉在炎症、生长因子信号传导、恶性转化和免疫中的各种3′-磷酸化磷酸肌醇的I型PI3激酶的四个亚型之一[见Rameh，L. E. 和Cantley，L. C. 的综述，*J. Biol. Chem.*，1999，*274*:8347-8350]。

[0004] PI3激酶涉及控制炎症已经在数个使用pan-PI3激酶抑制剂，例如LY-294002和渥曼青霉素的模型中得到证实[Ito，K. 等，*J Pharmacol. Exp. Ther.*，2007，321:1-8]。最近已经使用选择性PI3激酶抑制剂或在缺乏特定酶亚型的基因敲除小鼠中进行研究。这些研究已经证明了PI3激酶控制的途径在炎症中的作用。发现PI3激酶δ选择性抑制剂IC-87114抑制气道高反应性、IgE释放、促炎细胞因子表达、炎性细胞累积在肺部和卵白蛋白-致敏的卵白蛋白-攻击小鼠的血管通透性[Lee，K. S. 等，*J. Allergy Clin. Immunol.*，2006，118:403-409和Lee，K. S. 等，*FASEB J.*，2006，20:455-65]。此外，IC-87114降低经TNFα刺激的嗜中性粒细胞在小鼠肺部的累积和嗜中性粒细胞功能[Sadhu，C. 等，*Biochem. Biophys. Res. Commun.*，2003，308:764-9]。PI3激酶δ亚型被胰岛素和其它生长因子以及G-蛋白偶联蛋白信号传导和炎症细胞因子活化。最近报道当通过雾化给予时，PI3激酶δ/γ双抑制剂TG100-115在鼠科模型中抑制肺嗜酸粒细胞增多和白细胞介素-13以及粘蛋白累积和气道高反应性。同一作者还报道该化合物能够抑制由LPS或吸烟引发的肺嗜中性粒细胞增多症[Doukas，J. 等，*J Pharmacol. Exp. Ther.*，2009,328:758-765]。

[0005] 由于PI3激酶δ亚型也可由氧化应激活化，其作为用于牵涉高水平氧化应激的那些疾病的治疗性干预的靶点而可能相关。PI3激酶信号转导途径的下游介质包括Akt (丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶)和雷帕霉素的哺乳动物靶点，酶mTOR。最近的工作已经显示PI3激酶δ的活化(导致Akt的磷酸化)能够在其它皮质类固醇敏感细胞中诱发皮质类固醇抵抗状态[To，Y. 等，*Am. J. Respir. Crit. Care Med.*，2010，182:897-904]。这些观察已经产生以下假设：该信号传导级联可为造成患有COPD的病人以及吸烟的哮喘患者肺部所观察到的皮质类固醇-不敏感炎症的机制，并借此使其肺部经受增加的氧化应激。实际上，茶碱，一种在COPD和哮喘二者的治疗中使用的化合物，已经显示通过涉及与PI3激酶δ所控制途径的相互作用的机制逆转类固醇不敏感性[To，Y. 等，*Am. J. Respir. Crit. Care Med.*，2010，182:897-904]。

[0006] 国际专利申请WO2011/048111公开了其为PI3激酶特别是PI3激酶δ的抑制剂的许多化合物，包括在其中作为实施例83公开的游离碱形式的6-(2-((4-氨基-3-(3-羟苯基)-

1*H*-吡唑并[3,4-d]嘧啶-1-基)甲基)-3-(2-氯苄基)-4-氧代-3,4-二氢喹唑啉-5-基)-*N*,*N*-双(2-甲氧乙基)己-5-炔酰胺。该化合物也公开于WO2012/052753中。

[0007] 

(I)

[0008] 上述化合物在本文中被称为“式(I)化合物”或“式(I)化合物游离碱”。

[0009] 在本申请人早期的公开(WO2011/048111)之前，迄今描述的PI3激酶抑制剂已经典型地用来口服给予。然而，该途径的一个不希望的结果为非靶向的身体组织，特别是肝和肠，有可能暴露在药理学活性浓度的药物中。一个替代策略是设计其中药物经由局部治疗直接给于发炎器官的治疗方案。在控制肺部炎症(或提供另一种治疗效果)的情况中，这可通过吸入药物达到，这具有将药物主要保留在肺重的益处，借此将全身毒性的风险降到最低。为了达到持续的作用时间，可使用产生活性药物“储库”的适当制剂。

[0010] 式(I)化合物，因此，已经被描述为可用于局部给予至肺(见WO2011/048111)。

[0011] 除了提供对靶向器官的亲和力和持续效力，用于经由吸入局部给予至肺的药物还必须经配制以便提供可预见剂量的药物，其因此必须具有可预见性及重现性。在制剂中达到药物可接受和可重现的化学及物理稳定性是所有类型药物剂型的药物产品的产品开发的关键目标。优选晶体形式，其同样为适合进行微粉化的形式。

[0012] 对于吸入用途，存在3种主要的剂型—干粉吸入剂(DPI)、定量吸入剂(MDI)和基于水的雾化剂(手持或桌上型)。然而大部分全球销售的吸入产品为DPI并因此提供了通过吸入递送药物的广为接受的方式。存在多种市售的DPI产品，例如辅舒酮(Flixotide) (丙酸氟替卡松)、舒利迭(Advair) (丙酸氟替卡松/沙美特罗(salmeterol)、信必可(Symbicort) (布地奈德(budesonide)/福莫特罗(formoterol))、普米克(Pulmicort) (布地奈德)、施立稳(Serevent) (沙美特罗)、Foradil (福莫特罗)。

[0013] 干粉吸入制剂典型地由药物颗粒(大小在10微米以下以及通常在5微米以下)与稀释剂(典型地为乳糖)的混合物组成。由于吸入治疗所需的常用剂量在微克范围内，稀释剂帮助将单个剂量药物处理和分散至例如胶囊或囊泡中或从大量储库中计算剂量，供后续给予患者。因此，典型地，稀释剂(最常见的为乳糖)的量可大于药物物质的量。在这种环境下，一些产品的可接受的制剂可通过简单地混合药物与乳糖达成。其它产物可需要其它额外的赋形剂或其它处理步骤，以便使产品符合监管当局的要求。例如，US7186401 B2 (Jagotec AG 等)公开将硬脂酸镁添加到用于吸入的干粉制剂中改善了制剂的防潮性并得以在潮湿条件下维持高细颗粒剂量或细颗粒部分。WO00/53157 (Chiesi)描述了硬脂酸镁作为润滑

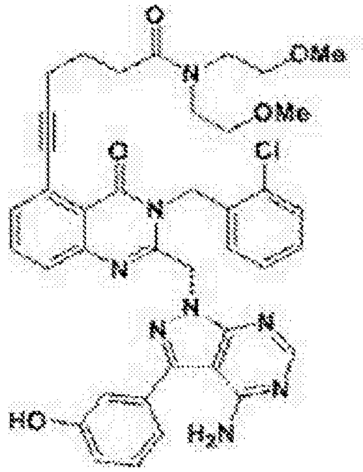
剂用于供吸入的干粉制剂中，其能够增加某些药物中的细颗粒剂量。US2006/0239932(Monteith)公开了包含对与乳糖的化学相互作用敏感的某些活性成分、乳糖以及硬脂酸镁的可吸入固体药物制剂。其公开硬脂酸镁抑制乳糖诱导的活性成分降解，推测是经由涉及活性成分上胺基团与乳糖的反应的美拉德反应(Maillard reaction)。US2012/0082727(Chiesi)公开了在包含载体颗粒(例如乳糖颗粒)的用于吸入的粉末制剂中抑制或减少带有对水解敏感的基团的活性成分的化学降解的方法，其中所述基团选自碳酸基、氨甲酸基和酯基，所述方法包括用硬脂酸镁包覆所述载体颗粒的至少一部分表面。

[0014]　因此，对提供具有提供哮喘、COPD和其它肺部炎性疾病治疗功效的潜能的用于吸入治疗的选择性PI3激酶抑制剂形式仍有需求。特别地，提供具有适当物理和化学稳定性、优选适合进行微粉化和与用于吸入治疗的药物赋形剂特别是乳糖相容的晶体形式的式(I)化合物仍为一个目标。

发明摘要

[0015]　第一方面，本发明提供式(I)化合物

[0016]

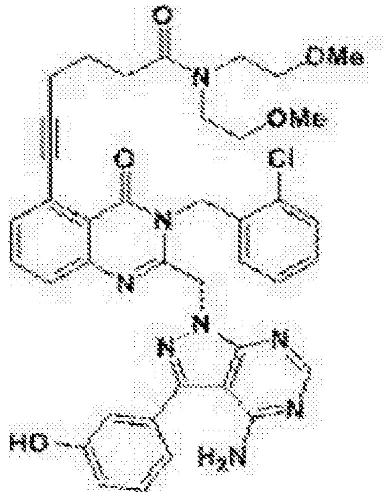


(I)

[0017]　其为固态晶体水合物形式的6-(2-((4-氨基-3-(3-羟苯基)-1*H*-吡唑并[3,4-d]嘧啶-1-基)甲基)-3-(2-氯苄基)-4-氧代-3,4-二氢喹唑啉-5-基)-*N*,*N*-双(2-甲氧乙基)己-5-炔酰胺。

[0018]　第二方面，本发明提供式(I)化合物

[0019]



(I)

[0020] 其为固态晶体无水形式的6-(2-((4-氨基-3-(3-羟苯基)-1*H*-吡唑并[3,4-d]嘧啶-1-基)甲基)-3-(2-氯苄基)-4-氧代-3,4-二氢喹唑啉-5-基)-*N*,*N*-双(2-甲氧乙基)己-5-炔酰胺。

[0021] 这些物质后文中被称为"本发明固态晶体形式"。包含本发明固态晶体形式(优选微粉化的)的药物制剂后文中被称为"本发明制剂"。

[0022] 如在实施例中所解释的,本发明固态晶体形式具有高熔点(约183℃或以上),显示具有良好的物理稳定性(如通过XRPD、TGA、DSC、DVS和IR分析测定的)和具有良好的化学稳定性(如通过HPLC分析测定的)。当与乳糖组合时本发明固态晶体形式具有良好的化学稳定性。当与乳糖组合时固态晶体水合物形式具有良好的化学稳定性。当在硬脂酸金属盐例如硬脂酸镁存在情况下与乳糖组合时固态晶体无水形式具有良好的化学稳定性。

[0023] 固态晶体水合物形式和固态晶体无水形式显示具有相关(但不同)的晶体结构。

[0024] 附图简述

[0025] 图1显示从固态晶体水合物形式的式(I)化合物样品上所得到的XRPD图。

[0026] 图2显示从固态晶体无水形式的式(I)化合物样品上所得到的XRPD图。

[0027] 图3显示固态晶体水合物形式的式(I)化合物样品的DVS等温图。

[0028] 图4显示固态晶体水合物形式的式(I)化合物样品的DVS质量变化图。

[0029] 图5显示固态晶体无水形式的式(I)化合物样品的DVS等温图..

[0030] 图6显示固态晶体无水形式的式(I)化合物样品的DVS质量变化图。

[0031] 图7显示固态晶体水合物形式的式(I)化合物样品的IR光谱。

[0032] 图8显示固态晶体无水形式的式(I)化合物样品的IR光谱。

[0033] 图9显示固态晶体水合物形式的式(I)化合物样品的DSC热分析。

[0034] 图10显示固态晶体无水形式的式(I)化合物样品的DSC热分析。

[0035] 图11显示固态晶体水合物形式的式(I)化合物样品的TGA热分析。

[0036] 图12显示固态晶体无水形式的式(I)化合物样品的TGA热分析。

[0037] 图13显示微粉化的固态晶体无水形式的式(I)化合物样品的DVS等温图。

[0038] 图14显示固态晶体水合物形式的式(I)化合物与Lactohale200®的混合物样品的IR光谱。

[0039] 图15显示从固态晶体水合物形式的式(I)化合物与Lactohale200®的混合物样品所得到的XRPD图。

[0040] 图16显示固态晶体无水形式的式(I)化合物(微粉化)与Lactohale200®的混合物样品的IR光谱。

[0041] 图17显示从固态晶体无水形式的式(I)化合物(微粉化)与Lactohale200®的混合物样品所得到的XRPD图。

[0042] 图18显示固态晶体无水形式的式(I)化合物(微粉化)、Lactohale200®和硬脂酸镁的混合物样品的IR光谱。

[0043] 图19显示从固态晶体无水形式的式(I)化合物(微粉化)、Lactohale200®和硬脂酸镁的混合物样品所得到的XRPD图。

[0044] 发明详述

[0045] *式(I)化合物作为活性成分*

[0046] 式(I)化合物为PI3Kδ PI3Kγ的双重抑制剂，其中如本文所使用的术语抑制剂意在指在体外酶测定中降低(例如至少50%)或消除靶蛋白，例如PI3Kδ同工酶的生物活性的化合物。如本文所使用的术语δ/γ抑制剂意在指化合物抑制两种酶亚型至某种程度，尽管不一定达到相同程度的事实。式(I)化合物在细胞筛查系统中具有活性，因此证明其具有穿透细胞的合适性质并借此发挥胞内药理学作用。

[0047] WO2011/048111中公开了合成式(I)化合物的通用方法，其内容通过引用以其整体结合，并且可使用与实施例1相似的方法。同样参见WO2012/052753，其内容通过引用以其整体结合，其中在实施例中提供了用于合成式(I)化合物的具体方法。

[0048] 适当地，式(I)化合物在合成期间及之后例如通过使用琥珀色的玻璃器皿或不透光的包封(例如铝箔包封)避光。

[0049] 本发明药物制剂包含治疗有效量的式(I)化合物作为活性成分。式(I)化合物的治疗有效量定义为，对于给定剂量或多个分份剂量，当在治疗方案中给予受试者时在所述受试者中足够达到治疗上有意义的效果的量。

[0050] 适当地，本发明药物制剂为用于吸入的干粉药物制剂。

[0051] 在一个实施方案中，基于干粉药物制剂的重量以及基于式(I)化合物游离碱的重量，所述干粉药物制剂包含约0.004 wt.%-约50 wt.%的式(I)化合物，例如约0.02 wt.%-约50 wt.%、约0.02 wt.%-约25 wt.%或约0.02 wt.%-约15 wt.%或约0.02 wt.%-约20 wt.%。优选地，基于干粉药物制剂的重量，所述干粉药物制剂包含约0.1 wt.%-约20 wt.%例如约0.1 wt.%-约5 wt.%的式(I)化合物。

[0052] 本发明药物制剂可包含式(I)化合物作为单一活性成分。然而，药物制剂可包含另外的活性成分。药物制剂还可与一种或多种其它活性成分(或包含一种或多种活性成分的一种或多种药物制剂)一起共给予。示例的其它活性成分在下文提及。

[0053] 式(I)化合物适当地制备为颗粒形式，以便其适合用于干粉吸入。本发明药物制剂可典型地包含具有约0.5 μm-约10 μm特别是约1 μm-约5 μm的体积中数直径(D50)的药物颗粒。

[0054] 用于测定颗粒大小的适当方法为激光衍射，例如使用Malvern Instruments的Mastersizer 2000S仪器。仪器也可从Sympatec获得。对于颗粒大小分布，中数值D50为将颗粒大小分布以半数以上和半数以下分开的微米大小。从激光衍射获得的主要结果为体积分布，因此D50实际上为Dv50 (体积分布的中数)并且如本文所使用指使用激光衍射获得的颗粒大小分布。D10和D90值(当用于激光衍射的语境下，用来指Dv10和Dv90值)分别指其中10%的分布在D10值以下和90%的分布在D90值以下的颗粒大小。

[0055] 用于干粉吸入制剂的合适大小的颗粒可通过本领域技术人员已知的任何合适方法制备。用于吸入的合适大小的药物颗粒可通过颗粒大小降低方法包括研磨或更优选地微粉化，例如使用喷射研磨微粉化装置(例如Hosokawa Alpine所制造的)制备。或者，合适大小的颗粒可首先通过喷雾干燥、喷雾冷冻、控制结晶途径例如控制沉淀、超临界流体结晶、超声结晶或其它合适的结晶程序，例如在连续结晶装置中生产。因此，本发明的一个方面提供微粉化形式的式(I)化合物。

[0056] *溶剂化物-式(I)化合物的水合物形式*

[0057] 在一个实施方案中，提供了水合物形式的式(I)化合物。特别地，提供了通过将式

(I)化合物从二氯甲烷任选与甲醇混合(例如,包含至多20%,例如至多10%,例如4.8% v/v甲醇)在环境温度例如约22℃下结晶所得到的固态晶体水合物形式的式(I)化合物。发现水合物的形成不需要向反应混合物中添加水(即,溶剂中或前面反应步骤的产物所携带的任何残余的水和/或大气中的水气是足够的)。然而,水可添加到溶剂中,例如可添加0.1-5%的水。这样的式(I)化合物的固态晶体水合物的详细制备在实施例1中提供。

[0058] 在一个实施方案中,提供了具有大体上如图1所示的XRPD图的固态晶体水合物形式的式(I)化合物。获得XRPD数据的方法在通用方法和实施例3讨论的数据中描述。

[0059] 因此,提供了晶体形式的式(I)化合物水合物形式,其具有在5.6、7.6、9.6、11.1、12.2、12.6、13.3、13.9、15.9、17.0、18.9、20.3、21.8、23.1 (± 0.2度,2-θ值)含有至少一个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或全部14个)峰的X-射线粉末衍射图,这些峰是晶体水合物形式所特有的。9.6、13.3、13.9、17.0、18.9、20.3和23.1处的峰为水合物形式的特定特征,因此优选见到至少1个(例如1、2、3、4、5、6或所有7个)这些峰。

[0060] 不受理论限制,式(I)化合物的固态晶体水合物形式可为通道(channel)水合物形式。或者,水可存在于晶体的孔隙中或在晶体表面。在任何情况下,如实施例中所示,水不形成晶格的必要部分,并且晶体形式对去除或添加水稳定。

[0061] 对本文所公开的式(I)化合物的固态晶体水合物形式的物理和化学稳定性进行了研究。

[0062] 为了评估物理稳定性,将式(I)化合物的水合物形式样品储存在不同温度和相对湿度下的开放于环境大气的容器中。样品的物理稳定性使用热重量分析(TGA)、示差扫描量热法(DSC)、动态蒸气吸附(DVS)、红外光谱(IR)和X射线粉末衍射(XRPD)调查。完整实验程序在通用方法部分提供,并且结果在实施例4 (表3)中概述。如实施例4中所讨论的,发现式(I)化合物的水合物形式具有良好的整体物理稳定性。然而,在DVS分析下记录2.2%的失重并且发现获得的干产物具有吸湿性。对于干燥条件下的样品观察到IR和XRPD数据的小差异,然而,这些差异归因于DVS研究中观察到的失水,并且失水和后续再水化后晶体结构的完整性保留。

[0063] 为了评估化学稳定性,在甲醇中制备了式(I)化合物的水合物形式样品并通过HPLC分析。结果在实施例5 (表6)中概述,其中显示发现式(I)化合物的水合物形式虽然检测到一些光敏感性,但为化学上稳定的。

[0064] 干粉药物制剂典型地包含乳糖作为合适的活性成分载体。因此,研究了式(I)化合物的水合物形式的乳糖相容性。

[0065] 对式(I)化合物的固态晶体水合物形式与乳糖的物理和化学相容性二者都进行了研究。

[0066] 为了评估物理相容性,制备了式(I)化合物的水合物形式与乳糖的高浓度组合物,然后在各种温度和湿度下进行分析,如实施例6中概述的。显然,检验的混合物在所有调查条件下为物理上相容的。

[0067] 为了评估化学相容性,在甲醇中制备了式(I)化合物的水合物形式与乳糖的低浓度(相对于物理相容性研究中使用的那些)组合物,并用HPLC分析。结果在实施例7 (表9)中概述,其中显示式(I)化合物的水合物形式与乳糖为化学上相容的。

[0068] 作为本发明者的研究结果,可得出结论,式(I)化合物的水合物形式具有良好的物

理和化学稳定性。式(I)化合物的水合物形式与乳糖的组合具有化学和物理稳定性二者，表明适合用于药物制剂。

[0069] *式(I)化合物的无水形式*

[0070] 在一个实施方案中，提供了无水形式的式(I)化合物。特别地，提供了通过将式(I)化合物的水合物形式从1-丙醇结晶获得的固态晶体无水形式的式(I)化合物。适合地，1-丙醇为无水的，例如包含最多约0.9% w/w的水。在一个实施方案中，1-丙醇具有最多0.8%、0.7%、0.6%、0.5%、0.4%、0.3%、0.2%或0.05% w/w的水。合适地，1-丙醇具有最多0.2% w/w的水。合适地，结晶在金属清除剂的存在下进行。合适的金属清除剂为吸附金属同时容易从目的化合物(即，式(I)化合物)分离的物质。例如，官能化二氧化硅特别可用作金属清除剂，这是因为一旦吸附金属后，金属-二氧化硅络合物可接着通过过滤容易地从目的化合物分离。与金属离子形成稳定络合物的官能团包括包含一个或多个氮和/或硫中心的基团，并且为本领域技术人员所熟知。

[0071] 合适的可市售获得的金属清除剂的一个实例为SiliaMetS® Thiol (一种适于清除多种金属包括Pd、Pt、Cu、Ag和Pb的硫醇-衍生的硅胶)。合适地，金属清除剂以足够确保所得到的金属离子浓度在20 ppm以下、优选10 ppm以下的量存在。在一个实施方案中，基于式(I)化合物的重量，金属清除剂以1-10% w/w，例如2-8% w/w或5% w/w存在。合适地，结晶通过将式(I)化合物与溶剂的溶液从升高的温度连续(即，连续冷却)或阶段性(即，在冷却和将溶液保持在一特定温度之间变化)冷却进行。合适的用于冷却的温度梯度(连续或分开)包括95-15℃、95-20℃、90-20℃、80-20℃、95-90℃、95-85℃、95-80℃、90-85℃、80-20℃。在一个实施方案中，溶液从80-95℃冷却至环境温度(例如，约20-22℃)。这样的式(I)化合物的固态晶体无水形式的详细制备在实施例2中提供。

[0072] 在一个实施方案中，提供了具有大体上如图2所示的X-射线粉末衍射图的式(I)化合物的固态晶体无水形式。获得XRPD数据的方法在通用方法和实施例3讨论的数据中描述。

[0073] 因此，提供了晶体无水形式的式(I)化合物，其具有在5.6、7.9、11.2、12.3、15.6、17.6、18.4、21.4、22.5、24.2 (± 0.2度，2-θ值)含有至少一个(例如1、2、3、4、5、6、7、8、9或全部10个)峰的XRPD图，这些峰为晶体无水形式所特有。17.6、18.4、22.5和24.2处的峰为无水形式的特定特征，因此优选见到至少一个(例如1、2、3或全部4个)这些峰。

[0074] 对固态晶体无水形式的式(I)化合物的物理和化学稳定性进行了研究。

[0075] 为了评估物理稳定性，将未微粉化和微粉化形式的式(I)化合物的无水形式样品储存在不同温度和相对湿度下的开放于环境大气的容器中。物理稳定性使用如上所述用于式(I)化合物的水合物形式的TGA、DSC、DVS、IR和XRPD调查。结果在实施例4中概述。

[0076] 如实施例4中所讨论的，发现式(I)化合物的无水形式(未微粉化和微粉化二者)在所有的调查条件下为物理上稳定的。

[0077] 为了评估化学稳定性，在甲醇中制备了式(I)化合物的无水形式(未微粉化和微粉化形式)样品并用HPLC分析。结果在实施例5 (表7和8)中概述，其中表明发现式(I)化合物的无水形式(未微粉化和微粉化二者)是化学上稳定的，尽管检测到一些光敏感性。显然，式(I)化合物的无水形式的化学稳定性可与式(I)化合物的水合物形式的化学稳定性相比。

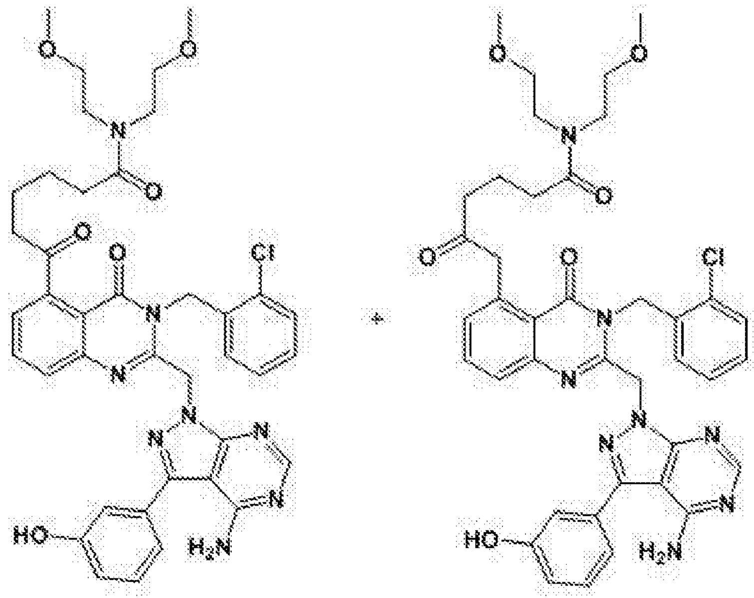
[0078] 对式(I)化合物的固态晶体无水形式的乳糖相容性进行了研究。

[0079] 对式(I)化合物的无水形式与乳糖的物理和化学相容性二者都进行了研究。

[0080]　为了评估物理相容性，制备了式(I)化合物的无水形式(微粉化)与乳糖的高浓度组合物，然后在各种温度和湿度下进行分析，如实施例6中概述的。显然，检验的混合物在所有调查条件下为物理上相容的。

[0081]　为了评估化学相容性，用HPLC分析了式(I)化合物的无水形式(微粉化)与乳糖的低浓度(相对于物理相容性研究中使用的那些)组合物。结果在实施例7 (表10)中概述，其中显示无水形式与乳糖的组合物在某些条件下遭遇降解。对降解产物进行研究，并通过质谱鉴定主要降解物为D019328所示两种物质中一种或两种：

[0082]

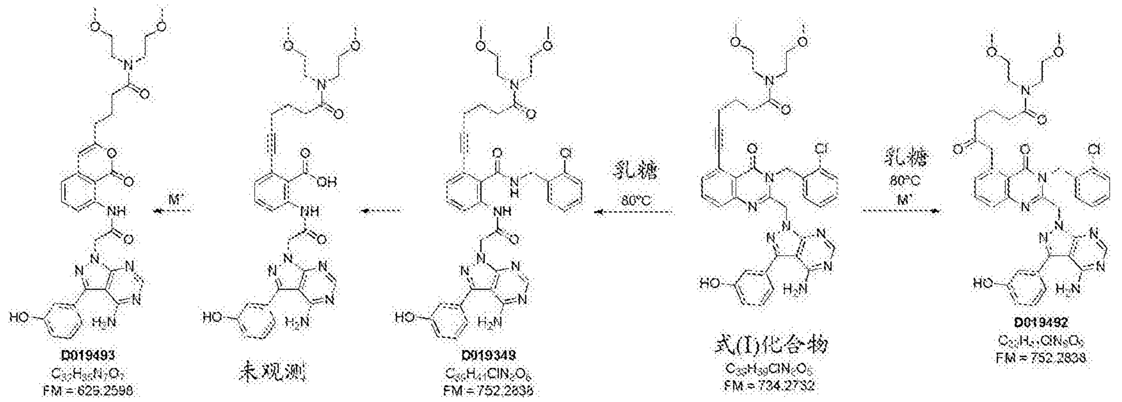


D019328
$C_{38}H_{41}ClN_8O_5$
FM = 752.2838

[0083]　该降解产物可能为通过炔的三键添加水的结果，并且根据通过三键添加水的取向，可以以两种形式之一存在(或可以以两种形式存在)。在用金属离子强制水解式(I)化合物无水形式期间观察到相同的降解物。作为进一步研究的结果，其显示式(I)化合物无水形式的降解需要金属离子和水，并且被升高的温度加速。

[0084]　涉及加速稳定性试验的进一步研究(即将药物物质置于密闭瓶中暴露于80℃，见实施例10)使本发明者确认至少产生了如流程1中D019492所示的降解产物(下文)。此外，本发明者还得出结论，进一步的降解产物(D019493)可由嘧啶酮环的水解性裂解以及后续与炔基的分子内反应产生。D019349为在稳定性试验的某些温度和RH环境下所观察到的假定的中间降解产物(数据未显示)。

[0085]　流程1

[0086] 

[0087] 就向式(I)化合物的无水形式与乳糖的组合中添加硬脂酸镁进行了研究。发现式(I)化合物的无水形式与乳糖和硬脂酸镁的组合为物理上稳定的(实施例8)。然而，令人惊讶地，发现添加硬脂酸镁导致式(I)化合物的无水形式与乳糖的组合的化学稳定性增加(实施例9)。使用其它硬脂酸金属盐特别是硬脂酸钠和硬脂酸钙发现了相似的稳定效果(实施例10)。

[0088] 不希望受理论束缚，其显示硬脂酸金属盐例如硬脂酸镁可用作对抗式(I)化合物中炔基的化学降解和对抗当式(I)化合物的无水形式在与乳糖混合时所观察到的式(I)化合物中嘧啶酮环的化学降解的保护剂。

[0089] 总而言之，本发明者已经发现单离的式(I)化合物的固态晶体无水形式具有比式(I)化合物的固态晶体水合物形式高的物理稳定性，但发现无水形式对乳糖较不稳定。然而，本发明者已经发现该问题可通过添加硬脂酸金属盐例如硬脂酸镁克服。本发明者将用硬脂酸金属盐的这些发现外推至硬脂酰延胡索酸金属盐。

[0090] *用于吸入的药物制剂*

[0091] 本发明提供包含本发明固态晶体形式与一种或多种稀释剂或载体混合的药物组合物。适合地，所述组合物包含乳糖作为稀释剂或载体。

[0092] 如本文所使用的，术语“乳糖”指包含乳糖的组分，包括α-乳糖一水合物、β-乳糖一水合物、α-无水乳糖、β-无水乳糖和非晶乳糖。乳糖组分可通过微粉化、筛分、研磨、压制、结块或喷雾干燥处理。还包括可市售获得的各种乳糖形式，例如Lactohale® (吸入级乳糖；Frieslandfoods)、InhaLac®70 (用于干粉吸入剂的过筛乳糖；Meggle)和Respitose®产品。在一个实施方案中，乳糖组分选自α-乳糖一水合物、α-无水乳糖和非晶乳糖。优选地，乳糖为α-乳糖一水合物。

[0093] 为了充分渗透至肺部，颗粒活性成分(在此情况下为式(I)化合物)必须为如上所述的合适大小。这些小颗粒将具有结块趋势。载体例如乳糖的使用防止这种结块并可改善流动性。此外，载体的使用确保正确及一致的剂量到达肺部。活性成分将通常在较大的乳糖颗粒上形成单层，然后在吸入过程中活性成分和载体分离，活性成分被吸入，而大多数载体则未吸入。如此，使用颗粒乳糖作为活性成分载体确保每剂干粉药物制剂释放相同量的活性成分。

[0094] 一般而言，为了防止小活性颗粒结块，使用颗粒大小约或至少活性成分大小十倍的载体例如乳糖(例如使用具有约或至少活性成分十倍的D50的乳糖)。

[0095] 在一个实施方案中，本发明干粉制剂包含D50在40-150 μm范围内的颗粒乳糖。

[0096] 本发明干粉药物制剂包含足够确保正确和一致剂量的活性成分到达肺部的量的颗粒乳糖作为载体。在一个实施方案中，基于干粉药物制剂的重量，所述干粉药物制剂包含约40 wt.%-约99.88或99.98 wt.%，例如约50 wt.%-约99.88或99.98 wt %、约65 wt.%-约99.88或99.98 wt.%或约75 wt.%-约99.88或99.98 wt.%的颗粒乳糖。优选地，基于干粉药物组合物的重量，所述干粉药物制剂包含约80 wt.%-约99.98 wt.%或例如约80 wt %-约99.9% wt %，例如约85 wt.%-约99.88或99.98 wt.%，例如约95 wt.%-约99 wt.%的颗粒乳糖。

[0097] 任选地(以及特别是当使用固态晶体无水形式时)，组合物包含选自硬脂酸金属盐例如硬脂酸镁和硬脂酰延胡索酸金属盐的稳定剂。

[0098] 硬脂酸金属盐的一个实例为硬脂酸镁。可使用的替代的硬脂酸金属盐包括与第I族和其它第II族金属形成的硬脂酸盐，例如硬脂酸钠、硬脂酸钙和硬脂酸锂。可提及的其它硬脂酸金属盐包括硬脂酸锌和硬脂酸铝。

[0099] 硬脂酰延胡索酸金属盐(例如硬脂酰延胡索酸钠)显示具有与硬脂酸金属盐相似的性质(见Shah等，Drug development and Industrial pharmacy 1986, Vol. 12 No. 8-9, 1329-1346)。在本发明者的观点中它们可在本发明中用作硬脂酸金属盐的替代物。

[0100] 如本文所使用的术语“硬脂酸镁”包括硬脂酸镁三水合物、硬脂酸镁二水合物、硬脂酸镁一水合物和非晶硬脂酸镁。如本文定义的硬脂酸镁包括其中任何被定义为“硬脂酸镁”的物质可包含至多25%(例如至多10%，例如至多5%，例如至多1%)的棕榈酸盐的容许量。

[0101] 更一般而言，硬脂酸金属盐或硬脂酰延胡索酸金属盐可以以无水形式或作为水合物使用并且可包含至多25%(例如至多10%，例如至多5%，例如至多1%)的棕榈酸盐。

[0102] 如本文所使用的，表述“选自硬脂酸金属盐例如硬脂酸镁和硬脂酰延胡索酸金属盐的稳定剂”可包括硬脂酸和/或硬脂酸延胡索酸的金属盐的混合物，尽管优选使用单一的盐。

[0103] 硬脂酸金属盐例如硬脂酸镁或硬脂酰延胡索酸金属盐典型地作为不需要微粉化的细粉获得。合适地硬脂酸金属盐例如硬脂酸镁或硬脂酰延胡索酸金属盐的D50大于5 μm例如约10 μm或大于10 μm例如在5-100 μm的范围内，例如5-50 μm，例如5-20 μm，例如10-20 μm。硬脂酸镁可例如从Avantor (Hyqual 2257商标)或Peter Greven获得。硬脂酸钠和硬脂酸钙可，例如，从Sigma-Aldrich获得。硬脂酰延胡索酸钠可，例如，从ScienceLab获得。

[0104] 本发明干粉药物制剂任选包含足够确保该制剂的化学稳定性的量(“稳定量”)的选自硬脂酸金属盐例如硬脂酸镁和硬脂酰延胡索酸金属盐的颗粒稳定剂。例如，当包含式(I)化合物的组合物于50℃储存4周后产生的降解物D019328 (一种或两种物质)处于小于0.2% wt. %的水平时，则证明具有化学稳定性。备选地或另外，例如，当包含式(I)化合物的组合物于80℃储存2周后产生的降解物D019493处于小于0.5% wt. %的水平时，则证明具有化学稳定性。备选地或另外，例如，当包含式(I)化合物的组合物于80℃储存2周后产生的降解物D019492处于小于0.4% wt. %的水平时，则证明具有化学稳定性。在一个实施方案中，基于干粉药物制剂的重量，干粉药物制剂包含约0.01 wt.%-约15 wt.%，例如0.1 wt.%-约10 wt.%、10 wt.%、5 wt.%、2 wt.%或1 wt.%的颗粒硬脂酸金属盐例如硬脂酸镁或硬脂酰延胡索酸金属盐。优选地，基于干粉药物组合物的重量，干粉药物制剂包含约0.5 wt.%-约5 wt.%例如1-2% w/w的颗粒硬脂酸金属盐例如硬脂酸镁或硬脂酰延胡索酸金属盐。合适地，

硬脂酸金属盐例如硬脂酸镁或硬脂酰延胡索酸金属盐以足够确保该制剂的物理稳定性的量存在。例如，当包含式(I)化合物的组合物于50℃储存4周后组合物的IR光谱和XRPD图(特别是有关式(I)化合物的特征峰)基本不变时，证明具有物理稳定性。

[0105]　在一个实施方案中，本发明用于吸入的干粉药物制剂包含：

[0106]　(i) 约0.02-50 wt %颗粒形式的固态晶体无水形式6-(2-((4-氨基-3-(3-羟苯基)-1*H*-吡唑并[3,4-d]嘧啶-1-基)甲基)-3-(2-氯苄基)-4-氧代-3,4-二氢喹唑啉-5-基)-*N*,*N*-双(2-甲氧乙基)己-5-炔酰胺作为活性成分；

[0107]　(ii) 约40-约99.88 wt.%的颗粒乳糖；和

[0108]　(iii) 约0.1-约10 wt.%的选自硬脂酸金属盐(例如硬脂酸镁)和硬脂酰延胡索酸金属盐的颗粒稳定剂。

[0109]　在进一步的实施方案中，本发明用于吸入的干粉药物制剂包含：

[0110]　(i) 约0.02-50 wt %颗粒形式的固态晶体水合物形式6-(2-((4-氨基-3-(3-羟苯基)-1*H*-吡唑并[3,4-d]嘧啶-1-基)甲基)-3-(2-氯苄基)-4-氧代-3,4-二氢喹唑啉-5-基)-*N*,*N*-双(2-甲氧乙基)己-5-炔酰胺作为活性成分；

[0111]　(ii) 约40-约99.88 wt.%的颗粒乳糖；和

[0112]　(iii) 任选约0.1-约10 wt.%的选自硬脂酸金属盐(例如硬脂酸镁)和硬脂酰延胡索酸金属盐的颗粒稳定剂。

[0113]　*药学用途和给予方法*

[0114]　根据本发明一个方面，提供了本发明固态晶体形式用作为药物的用途。

[0115]　在一个实施方案中提供了本发明药物制剂用于通过吸入即通过局部给予至肺部治疗COPD和/或哮喘，特别是COPD或严重哮喘的用途。有利地，对患者而言，给予至肺部使该化合物的有益效果得以实现，同时使副作用降至最低。

[0116]　在一个实施方案中，本发明药物制剂适于敏化患者对皮质类固醇的治疗。

[0117]　药物制剂可方便地以单位剂量形式给予，并且可通过任何药学领域所熟知的方法制备，例如如Remington’s Pharmaceutical Sciences, 17th ed., Mack Publishing Company, Easton, PA., (1985)中所述。

[0118]　局部给予至肺通过使用吸入装置达成。

[0119]　因此，本发明的一个方面包括包含一个或多个剂量的本发明药物制剂的吸入装置。用于干粉制剂的吸入装置典型地由呼吸操纵，使用受试者肺部的力量通过从嘴吸入，使该剂量得以从装置中提出并给与患者。然而，任选地，可提供外部能量帮助给剂。典型地吸入装置将包含多个剂量的本发明药物制剂，例如2或4或8或28或30或60或更多个剂量。因此吸入装置可包含一个月的供应剂量。在一个实施方案中，将一剂量计量入胶囊中，用于在适合吸入时将胶囊内容物递送至受试者的吸入装置中逐个使用。任选地，该剂量可分开，例如使得一剂量使用两次(或多次)吸入从吸入装置中给予。根据本发明一个实施方案，制剂的剂量在吸入装置中预先计量。例如，预计剂量可包含在泡罩条或盘的囊泡中或胶囊内。根据本发明另一个实施方案，剂量在使用时计量。因此吸入装置包含干粉储库并且该装置在给予前或给予时计量粉末剂量(典型地基于固定体积)。

[0120]　干粉吸入装置的实例包括SPINHALER、ECLIPSE、ROTAHALER、HANDIHALER、AEROLISER、CYCLOHALER、BREEZHALER/NEOHALER、FLOWCAPS、TWINCAPS、X-CAPS、TURBOSPIN、

ELPENHALER、DISKHALER、TURBUHALER、MIATHALER、TWISTHALER、NOVOLIZER、DISKUS、SKYEHALER、ORIEL干粉吸入器、MICRODOSE、ACCUHALER、PULVINAL、EASYHALER、ULTRAHALER、TAIFUN、PULMOJET、OMNIHALER、GYROHALER、TAPER、CONIX、XCELOVAIR、PROHALER和CLICKHALER。另一个实例为MONODOSE吸入器。

[0121] 任选地吸入装置可加外包装供储存，以避免水气进入。可任选于外包装内或装置内使用干燥剂。合适地，吸入装置内的本发明药物制剂避光。

[0122] 本发明药物制剂还可用于治疗呼吸病症，包括COPD、慢性支气管炎、肺气肿、哮喘、小儿哮喘、囊性纤维化、结节病和特发性肺纤维化，特别地哮喘、慢性支气管炎及COPD。

[0123] 本发明药物制剂可包含式(I)化合物作为单一的活性成分，或可包含额外的活性成分，例如，适于治疗上述病况的活性成分。例如用于治疗呼吸病症的可能的组合包括与类固醇(例如布地奈德(budesonide)、二丙酸倍氯米松(beclomethasone dipropionate)、丙酸氟替卡松(fluticasone propionate)、糠酸莫米松(mometasone furoate)、糠酸氟替卡松(fluticasone furoate)、氟尼缩松(flunisolide)、环索奈德(ciclesonide)、曲安奈德(triamcinolone))、β激动剂(例如特布他林(terbutaline)、班布特罗(bambuterol)、沙丁胺醇(salbutamol)、左旋沙丁胺醇(levalbuterol)、沙美特罗(salmeterol)、福莫特罗(formoterol)、克仑特罗(clenbuterol)、非诺特罗(fenoterol)、溴沙特罗(broxaterol)、茚达特罗(indacaterol)、瑞普特罗(reproterol)、丙卡特罗(procaterol)、维兰特罗(vilanterol))和/或黄嘌呤类(例如茶碱)、毒蕈碱拮抗剂(例如异丙托铵(ipratropium)、噻托溴铵(tiotropium)、氧托品(oxitropium)、葡萄糖吡咯(glycopyrronium)、格隆溴铵(glycopyrrolate)、阿地溴铵(aclidinium)、曲司铵(trospium))、白三烯拮抗剂(例如扎鲁司特(zafirlukast)、普仑司特(pranlukast)、齐留通(zileuton)、孟鲁司特(montelukast))和/或p38 MAP激酶抑制剂的组合。将理解的是，任何前述活性成分可以以药学上可接受盐的形式使用。

[0124] 在一个实施方案中，本发明药物制剂与抗病毒剂，例如阿昔洛韦(acyclovir)、奥塞米韦(oseltamivir) (Tamiflu®)、扎那米韦(zanamivir) (Relenza®)或干扰素组合给予。

[0125] 在一个实施方案中，式(I)化合物与其它活性成分的组合共同配制于本发明药物制剂中。在另一个实施方案中，其它活性成分在一个或多个分开的药物制剂中给予。

[0126] 在一个实施方案中，式(I)化合物与皮质类固醇共同配制在本发明药物制剂中或在分开的制剂中共同给予，例如用于哮喘、COPD或肺癌的维持治疗，包括预防肺癌。

[0127] 在一个实施方案中，本发明药物制剂通过吸入给予，皮质类固醇口服或通过吸入组合或分开给予。

[0128] 当先前患者的病况已经耐受皮质类固醇的治疗时，本发明药物制剂还可再敏化患者病况对皮质类固醇的治疗。

[0129] 在本发明一个实施方案中，使用的药物制剂剂量等于适合用作单一治疗的量但与皮质类固醇组合给予。

[0130] 在一个实施方案中，对于其中患者先前已经耐受皮质类固醇的情况，使用作为单一药剂为低剂量的药物制剂剂量，并且与皮质类固醇组合给予，借此恢复患者对皮质类固醇的反应。

[0131] 此外,本发明药物制剂可显示抗病毒活性并证明可用于治疗炎症病况例如哮喘和/或COPD的病毒性恶化。

[0132] 本发明药物制剂还可用于预防、治疗或改善流感病毒、鼻病毒和/或呼吸道融合细胞病毒。

[0133] 在一个实施方案中,本文公开的药物制剂可用于治疗或预防癌症,特别是肺癌,特别是通过局部给予至肺部。

[0134] 因此,在进一步的方面,本发明提供如本文所述用于治疗一种或多种上述病况的药物制剂。

[0135] 在进一步的方面,本发明提供如本文所述用于制备用于治疗一种或多种上述病况的药物的药物制剂。

[0136] 在进一步的方面,本发明提供治疗上述病况的方法,包括给予受试者有效量的本发明药物制剂。

[0137] 本文所述药物制剂还可用于制备用于治疗一种或多种上文所指疾病的药物。

[0138] 词“治疗”意在涵盖预防以及治疗性治疗。

[0139] 除非另外指明,否则本文使用的%值为按重量计的%值(wt.%)。

[0140] 本发明固态晶体形式,以及包含其的药物制剂,可具有以下优势:具有改善的结晶性(例如通过XRPD所测量)、改善的物理稳定性(例如,如通过XRPD、IR、DVS、DSC或TGA分析所测量)、改善的化学稳定性(例如通过HPLC所测量)、改善的对乳糖的物理相容性(任选当与其它赋形剂组合时)、改善的对乳糖的化学相容性(任选当与其它赋形剂组合时)、改善的给予时颗粒大小分布(例如由改善的细颗粒质量证明),或与现有技术的式(I)化合物固态形式相比,可具有其它有利的性质。

[0141] 缩写

aq	水性的
COPD	慢性阻塞性肺疾病
d	双重峰
DCM	二氯甲烷
DMAP	4-二甲基氨基吡啶
DMSO	二甲基亚砜
DPI	干粉吸入剂
DSC	示差扫描量热法
DVS	动态蒸气吸附
EDC.HCl	1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐
(ES+)	电喷射离子化，正电模式
EtOAc	乙酸乙酯
HPLC	高效液相色谱
HPLC-MS	高效液相色谱-质谱
hr	小时
IR	红外线
[0142] LPS	脂多糖
(M+H)+	质子化分子离子
MDI	计量吸入剂
MeOH	甲醇
MEK	甲基乙基酮
MHz	兆赫
min	分钟
mm	毫米
ms	质谱
mTOR	雷帕霉素的哺乳动物靶标
m/z	质量-电荷比率
NH4OAc	乙酸铵
NMR	核磁共振(光谱)
Pd(dppf)Cl_2	1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯钯(II)
ppm	百万分率
q	四重峰
quin	五重峰

RH	相对湿度
RRT	相对保留时间
R^t	保留时间
RT	室温
s	单峰
t	三重峰
TBDMSCl	叔丁基二甲基甲硅烷基氯
TGA	热重量分析
TNFα	肿瘤坏死因子α
XRPD	X-射线粉末衍射

实施例

[0143] 通用方法

[0144] *HPLC-MS*

[0145] 于Agilent HP1200系统上使用Agilent Extend C18 柱(1.8 μm, 4.6 x 30 mm)在40℃和2.5-4.5 mL min^{-1}的流速下用包含0.1% v/v甲酸的H_2O-MeCN梯度在4 min内洗脱来进行。梯度信息:0-3.00 min,从95% H_2O-5% MeCN变化至5% H_2O-95% MeCN;3.00-3.01 min,保持在5% H_2O-95% MeCN,流速增加至4.5 mL min^{-1};3.01-3.50 min,保持在5% H_2O-95% MeCN;3.50-3.60 min,回复到95% H_2O-5% MeCN;流速降至3.50 mL min^{-1};3.60-3.90 min,保持在95% H_2O-5% MeCN;3.90-4.00 min,保持在95% H_2O-5% MeCN,流速降至2.5 mL min^{-1}。UV检测于254 nm使用Agilent G1314B可变波长检测器进行。

[0146] *质谱(MS)*

[0147] 使用电喷射离子化(ESI)于m/z 60-2000的范围内使用Agilent G1956B以1.6秒/周期的取样速率、于m/z 150-850内使用Waters ZMD以2 Hz的取样速率或于m/z 100-1000内使用Shimadzu 2010 LC-MS系统以2 Hz的取样速率获得。

[0148] *NMR 光谱*

[0149] ^{1}H NMR光谱(实施例10除外)于Bruker Avance III光谱仪上以400 MHz使用残余未氘化溶剂作为参照获得。

[0150] 实施例10的^{1}H NMR光谱于Bruker Avance光谱仪上以600 MHz使用残余未氘化溶剂作为参照获得。

[0151] *动态蒸气吸附(DVS)*

[0152] 使用表面测量系统动态蒸气吸附模型DVS-1获得。使用约19 mg样品,25℃下相对于大气湿度所记录的重量变化使用下列参数测定:

[0153] 干燥:于无水氮气下60 min

[0154] 平衡:0.01%/min最少15 min并且最多60 min。

[0155] 数据间隔:0.05%或2.0 min。

[0156] RH (%)测量点:

[0157] 第1组:5,10,20,30,40,50,60,70,80,90,95,90,80,70,60,50,40,30,20,10,5

[0158] 第2组:10,20,30,40,50,60,70,80,90,95,90,80,70,60,50,40,30,20,10,5,0.

[0159] *X-射线粉末衍射(XRPD)*

[0160] XRPD图在装备有Cu LFF X-射线管(45 kV;40 mA;Bragg-Brentano;旋转台)的PANalytical (Philips) X'PertPRO MPD 衍射仪上使用Cu Kα放射线于下列测量条件下获得:

[0161] 扫描模式:连续

[0162] 扫描范围:3-50° 2θ

[0163] 步距:0.02°/步

[0164] 计算时间:30秒/步

[0165] 旋转器旋转时间:1秒

[0166] 放射线类型:CuKα

[0167] *入射光路径*

[0168] 程序发散狭缝:15 mm

[0169] 索勒狭缝:0.04 rad

[0170] 光罩:15 mm

[0171] 防散射狭缝:1°

[0172] 光束刀:+

[0173] *衍射光路径*

[0174] 长的防散射屏:+

[0175] 索勒狭缝:0.04 rad

[0176] Ni过滤器:+

[0177] 检测器:X'Celerator

[0178] 样品通过散布在零背景样本架上制备。

[0179] *红外光谱(IR)*

[0180] 使用微衰减全反射(microATR)并使用适合的microATR配件和下列测量条件分析样品:

[0181] 装置:Thermo Nexus 670 FTIR光谱仪

[0182] 扫描次数:32

[0183] 分辨率:1 cm^{-1}

[0184] 波长范围:4000-400 cm^{-1}

[0185] 检测器:含KBr窗口的DTGS

[0186] 分光器:Ge于KBr上

[0187] 微ATR 配件:含Si晶体的Harrick Split Pea

[0188] *视差扫描量热法(DSC)*

[0189] DSC数据在配制有RCS冷却元件的TA-Instruments Q2000 MTDSC 上收集。典型地,每个化合物3 mg,在标准铝TA-Instrument样品盘中,以10℃/min从25℃加热至250/300℃。于样品上保持以50 ml/min通入氮气。

[0190] *热重量分析(TGA)*

[0191] TGA数据在TA-Instruments Q500 热重量分析仪上收集。典型地将10 mg的各样品

转移至预先称重的铝盘上并以20℃/min从环境温度加热至300℃/min或< 80[(w/w)%]，除非另有说明。

[0192] *化学稳定性- HPLC*

[0193] HPLC分析使用下列操作条件进行：

[0194] 柱:Waters Xbridge C18 (150 x 3.0 x 3.5 mm)或同等物(若符合SST所指之效能并证明所有相关化合物皆可比较分离,则认为该柱是同等物)。

[0195] 柱温:35℃

[0196] 样品温度:10℃

[0197] 流速:0.45 ml/min

[0198] 注射体积:注射体积可调整,只要不超过系统(检测器和注射器)的规定限制并且主要化合物的峰形为可接受的。作为指南,认为30 μl是合适的。

[0199] 检测:于255 nm UV检测

[0200] 流动相制备及组合物：

[0201] A 10 mM乙酸铵(0.771 g/l) + 0.1%, v/v三氟乙酸/水

[0202] B 乙腈

[0203] 梯度:分析运行时间为41分钟

[0204]

溶剂	时间(分钟)					
	0	35	36	41	42	48
%A	95	30	0	0	95	95
%B	5	70	100	100	5	5

[0205] 以此HPLC方法,降解物D019492于RRT 0.86时洗脱。

[0206] *化学稳定性—超高压液相色谱(UPLC)*

[0207] UPLC分析使用下列操作条件进行：

[0208] 柱:Acquity BEH C_{18}; 2.1 x 150 mm;1.7 μm或同等物(若符合SST所指之效能并证明所有相关化合物皆可比较分离,则认为该柱是同等物)

[0209] 柱温:35℃

[0210] 样品温度:10℃

[0211] 流速:0.40 ml/min

[0212] 注射体积:注射体积可调整,只要不超过系统(检测器和注射器)的规定限制并且主要化合物的峰形为可接受的。作为指南,认为4 μl是合适的。

[0213] 检测:于255 nm UV检测

[0214] 流动相制备和组合物：

[0215] A 10 mM乙酸铵(0.771 g/l) + 0.1%, v/v三氟乙酸/水

[0216] B 乙腈

[0217] 梯度:分析运行时间为23分钟

[0218]

溶剂	时间(分钟)					
	0	19	20	23	23.5	28
%A	95	30	0	0	95	95
%B	5	70	100	100	5	5

[0219]　以该ULPC方法，降解物D019492于RRT 0.92-0.93时洗脱，降解物D019493于RRT 0.86-0.87时洗脱。

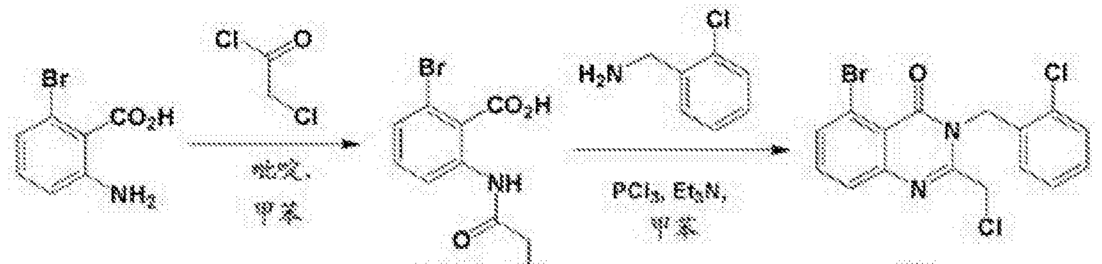
[0220]　*<u>试剂和供应商</u>*

[0221]　Lactohale200®：颗粒大小(Sympatec)：D10：5-15 μm；D50：50-100 μm；D90：120-160 μm。

[0222]　硬脂酸镁：Grade Hyqual® 2257，由Avantor供应。颗粒大小：D10：典型地3 μm；D50：典型地11.5 μm (10.5-16.5 μm)；D90：典型地24 μm (18-28 μm)。以细粉供应。

[0223]　实施例1-固态晶体水合物形式的6-(2-((4-氨基-3-(3-羟苯基)-1*H*-吡唑并[3,4-d]嘧啶-1-基)甲基)-3-(2-氯苄基)-4-氧代-3,4-二氢喹唑啉-5-基)-*N*,*N*-双(2-甲氧乙基)己-5-炔酰胺(式(I)化合物)的制备

[0224]　*5-溴-3-(2-氯苄基)-2-(氯甲基)喹唑啉-4(3H)-酮(2)*

[0225]


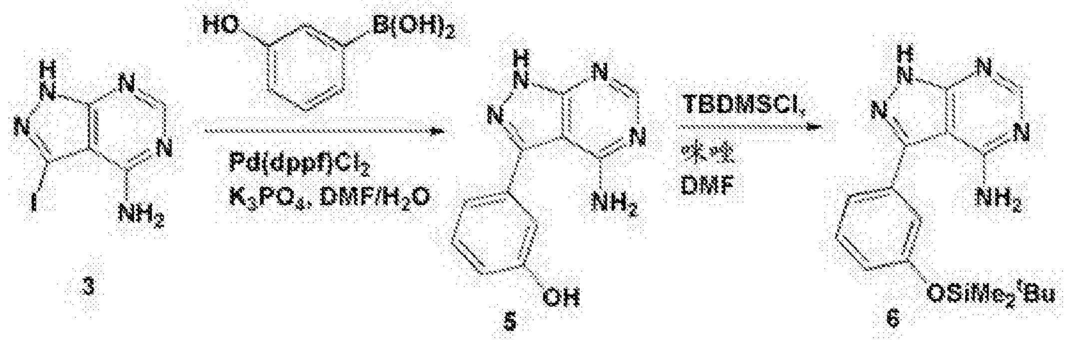
1a,b　　　　2

[0226]　向在冰浴中冷却至0℃的搅拌的2-氨基-6-溴-苯甲酸(3.06 g，14.2 mmol)/甲苯(75 mL)溶液中加入吡啶(0.60 mL，7.10 mmol)，接着于1 hr内逐滴加入氯乙酰氯(2.26 mL，28.4 mmol)/甲苯(75 mL)溶液。让反应混合物升温至RT，并于115℃加热3 hr，然后让其冷却至RT。通过真空蒸发使溶剂体积减半。置放过夜后，产物沉淀并通过过滤收集，得到呈白色固体状的2-溴-6-(2-氯乙酰胺基)苯甲酸(1a, X = Cl) (1.44 g)：m/z 290/292 $(M+H)^+$ (ES^+)。将滤液真空浓缩并将残余物用乙醇/庚烷研磨，得到2-溴-6-(2-羟基乙酰胺基)苯甲酸(1b X =OH) (1.02 g，组合产率，59%)：m/z 274/276 $(M+H)^+$ (ES^+)。1a和1b二者均可不经进一步纯化即用于下一步骤中。

[0227]　在1 hr内向搅拌的化合物(1a) (7.50 g，27.4 mmol)、2-氯苄基胺(5.00 mL，41.05 mmol)和三乙胺(5.70 mL，41.1 mmol)/甲苯(250 mL)的混合物中逐滴加入三氯化磷(2.60 mL，30.1 mmol)/甲苯(250 mL)溶液。反应混合物加热至110℃达24 hr，之后将热溶液倒出并真空浓缩。残余物用丙-2-醇(50 mL)研磨，得到呈黄色固体状的标题化合物(2) (6.41 g，59%)：R^t 2.67 min；m/z 397/399 $(M+H)^+$ (ES^+)。

[0228]　*3-(3-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)苯基-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-4-胺(6)*

[0229]

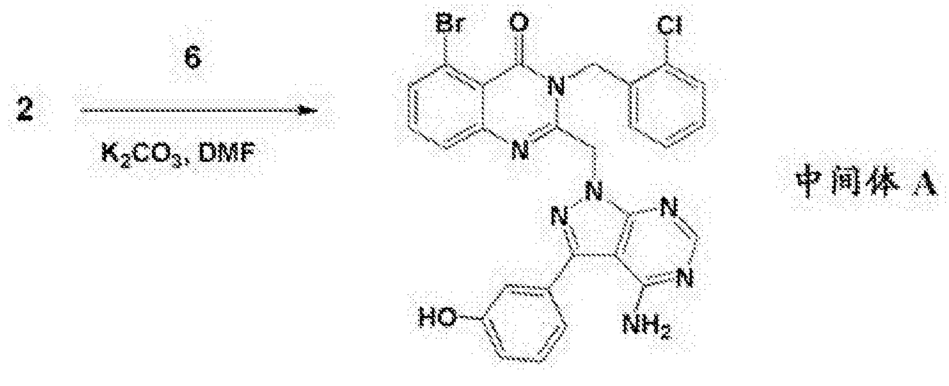


[0230] 向搅拌的3-碘-1*H*-吡唑并[3,4-*d*]嘧啶-4胺(3)(8.22 g,31.5 mmol)、3-苯酚硼酸(13.0 g,94.5 mmol)及磷酸钾(10.0 g,47.3 mmol)/脱气DMF/水(3:2, 140 mL)悬浮液中加入Pd(dppf)Cl_2 (13.0 g,15.7 mmol)。将反应混合物用氮气冲洗,于120℃加热2 hr然后冷却至RT。将反应混合物用EtOAc (500 mL)和盐酸(2 M,500 mL)稀释,并将所得悬浮液过滤。滤液用盐酸(2 M,2 x 500 mL)萃取。将合并的水性萃取液用饱和碳酸钠水溶液碱化至pH 10。将形成的沉淀过滤并用EtOAc (3 x 1 L)萃取滤液。将合并的有机萃取液干燥、过滤并真空去除溶剂,得到灰色固体。将后处理程序期间所产生的所有固体物质合并,用DCM研磨,得到呈灰色固体状的3-(4-氨基-1*H*-吡唑并[3,4-*d*]嘧啶-3-基)苯酚(5) (6.04 g,84%):m/z 228 $(M+H)^+$ (ES^+)。

[0231] 向搅拌的苯酚(5) (4.69 g,20.66 mmol)及咪唑(2.10 g,30.99 mmol)/无水DMF (100 mL)溶液中加入TBDMSCl (4.70 g,30.99 mmol)。16 hr后,加入其它等份的咪唑(2.10 g,30.99 mmol)和TBDMSCl (4.70 g,30.99 mmol)并将混合物搅拌48 hr。将反应混合物用水(120 ml)稀释并用DCM (2 x 200 mL)萃取。将合并的有机萃取相用水(2 x 200 mL)洗涤、干燥、过滤并通过真空蒸发将体积减少至约100 ml。将所得浆液过滤,固体用庚烷(50 mL)洗涤,得到呈灰白色固体状的标题化合物(6) (6.05 g, 85%):m/z 343 $(M+H)^+$ (ES^+)。

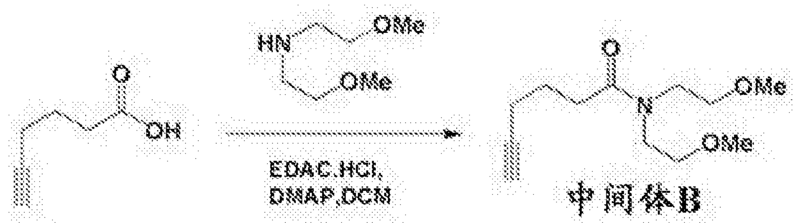
[0232] *中间体A:2-((4-氨基-3-(3-羟苯基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-1-基)甲基)-5-溴-3-(2-氯苄基)喹唑啉-4(3H)-酮*

[0233]



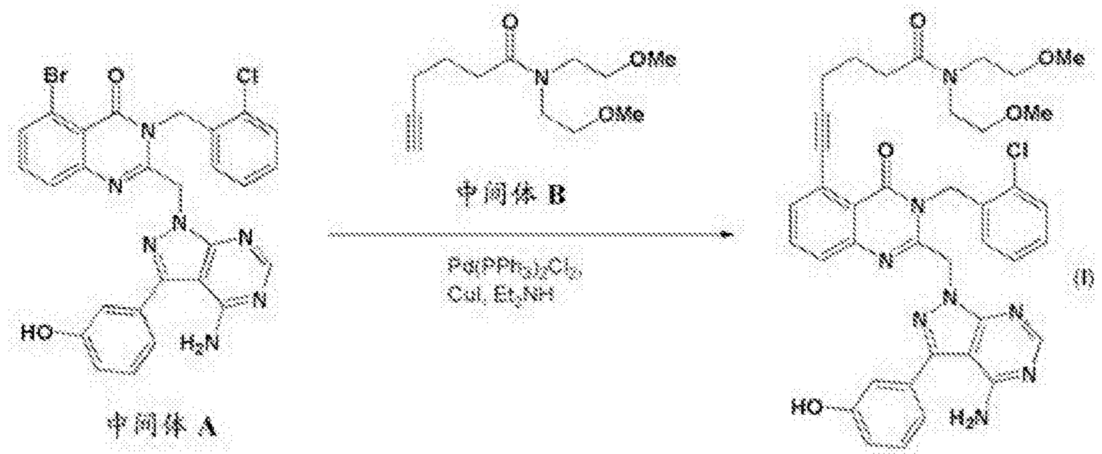
[0234] 向搅拌的5-溴-3-(2-氯苄基)-2-(氯甲基)喹唑啉-4(3*H*)-酮(2) (100 mg,0.25 mmol)及碳酸钾(42 mg,0.30 mmol)/DMF (2.5 mL)的混合物中加入3-(3-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)苯基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-4胺(6) (94 mg,0.28 mmol)/DMF (2.5mL)溶液,并于RT搅拌反应混合物18 hr。在30 hr内分三次加入碳酸钾(3 x 35 mg,0.75 mmol),之后真空去除溶剂并通过快速柱色谱用4.5%甲醇/DCM洗脱纯化粗物质,得到呈灰白色固体状的标题化合物中间体A (94 mg,64%):R^t 2.01 min; m/z 588/590 $(M+H)^+$, (ES^+)。

[0235] 中间体B:N,N-双(2-甲氧乙基)己-5-炔酰胺

[0236] 

[0237] 于0℃向己-5炔酸(7.11 g,63.4 mmol)、EDC.HCl (14.0 g,72.9 mmol)及DMAP (387 mg,3.17 mmol)/DCM (600 mL)溶液中加入双(2-甲氧乙基)胺(9.3 mL,63 mmol)。将所得混合物回温至RT达20 hr,然后用盐酸(1 M,2 x 500 mL)并用水(500 mL)洗涤。将有机层干燥并真空蒸发,得到呈黄色油状的标题化合物中间体B (16 g,97%):^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 1.88 (3H, m), 2.26 (2H, m), 2.49 (2H, m), 3.32 (6H, s), 3.51 (4H, m), 3.55 (4H, m)。

[0238] 6-(2-((4-氨基-3-(3-羟苯基)-1*H*-吡唑并[3,4-d]嘧啶-1-基)甲基)-3-(2-氯苄基)-4-氧代-3,4-二氢喹唑啉-5-基)-*N*,*N*-双(2-甲氧乙基)己-5-炔酰胺 (I)

[0239] 

[0240] 将中间体A ((2-((4-氨基-3-(3-羟苯基)-1*H*-吡唑并[3,4-*d*]嘧啶-1-基)甲基)-5-溴-3-(2-氯苄基)喹唑啉-4(3*H*)-酮(65.7 g,1.0 eq.))、碘化铜(I) (1.06 g,0.05摩尔/mol)、双(三苯基膦)氯化钯(II) (3.92 g,0.05摩尔/mol)、中间体B (N,N-双(2-甲氧乙基)己-5-炔酰胺(63.42 g,2.5摩尔/mol)及二乙胺(837.05 mL;591.21 g,7.5 L/mol)加入至2 L反应器中,并通过氩气净化将混合物进行脱气。将反应混合物在30分钟内温热至55℃ (回流温度),然后于55℃搅拌。2小时后将混合物冷却至22℃,然后真空浓缩产生深棕色半固体残余物(201.0 g)。然后将残余物溶解于MEK (781 mL)中,并加入水(223 mL)。剧烈搅拌5分钟后,分层并将水层丢弃。有机层用10% w/v NH_4OAc水溶液(300 mL)及2 % w/v NaCl水溶液(112 mL)洗涤,之后真空部分浓缩,得到非均相混合物/MEK (230 g)。将该混合物搅拌16小时然后过滤,沉淀用MEK (3 x 25 mL)洗涤。所得固体于50℃真空干燥18小时,得到"粗"6-(2-((4-氨基-3-(3-羟苯基)-1*H*-吡唑并[3,4-d]嘧啶-1-基)甲基)-3-(2-氯苄基)-4-氧代-3,4-二氢喹唑啉-5-基)-*N*,*N*-双(2-甲氧乙基)己-5-炔酰胺(式(I)化合物) (54.13 g;0.66当量; 65.97%产率)。

[0241] 将粗式(I)化合物(53.5 g;1.00当量)、甲醇(7.28 mL,0.1 L/mol)及二氯甲烷(145.53 mL,2 L/mol)在250 ml反应器中于22℃搅拌。4小时后将固体过滤并用二氯甲烷

(29 mL)洗涤，之后于40℃真空干燥18小时，获得呈灰白色固体状的水合物形式的式(I)化合物(标题化合物)(45.3 g; 0.85当量; 84.67%结晶产率)。

[0242] 实施例2-固态晶体无水形式的式(I)化合物的制备

[0243] 本实施例中所述的所有反应在氮气流下进行。将如在实施例1中所制备的水合物形式的式(I)化合物(14.0 g)和1-丙醇(210 mL,15 L/kg)加入至400 ml结晶容器中。将所得的非均相混合物搅拌并升温至90℃ (混合物在85℃变为均相)。一旦溶液达到90℃，加入金属清除剂(SiliaMetS®Thiol 0.7 g (5 % w/w))，并将混合物升温至95℃。于95℃搅拌15分钟后，将混合物冷却至90℃，并于90℃另再搅拌2小时。然后过滤出金属清除剂，将均相滤液再次搅拌并升温至95℃，之后冷却至85℃并搅拌8小时。然后将滤液在8小时内冷却至20℃，并于20℃另再搅拌6小时。然后将产物过滤出并用1-丙醇(6 ml)洗涤，之后于50℃真空干燥18小时，得到呈白色固体状的无水形式的式(I)化合物(12.6 g,90%)。

[0244] 上述方法可任选进行调整以用晶种促进结晶。

[0245] 实施例3-固态晶体水合物和无水形式的式(I)化合物的XRPD分析

[0246] 式(I)化合物的水合物和无水形式的XRPD分析使用通用方法中描述的方法进行。所得的衍射图在图1和2中示出。两个XRPD图均显示无卤素存在的衍射峰，因此表明两种物质为晶体。两种形式的峰和强度在下表1和2中给出：

[0247] *表1-水合物形式的式(I)化合物的特征XRPD峰*

[0248]

XRPD峰 (±0.2度, 2-θ值)
5.6
7.6
9.6
11.1
12.2
12.6
13.3
13.9
15.9
17.0
18.9
20.3
21.8
23.1

[0249] *表2-化合物(I)的无水形式的特征XRPD峰*

[0250]

XRPD峰 (±0.2度, 2-θ值)
5.6
7.9
11.2
12.3
15.6
17.6
18.4
21.4
22.5
24.2

[0251] 两个固态晶体形式具有一些共同的峰，表明其似乎具有相关(但不同的)晶体结构。

[0252] 实施例4-水合物和无水形式的式(I)化合物(无水形式经或未经微粉化)的热分析

[0253] 式(I)化合物的水合物形式和无水形式(无水形式未经或经微粉化)的热分析使用如通用方法中所描述的TGA、DVS、XRPD、IR和DSC进行。若适当，将环境温度和相对湿度下的样品(参照样品/“0”天)与不同温度和相对湿度下储存的样品(比较样品)进行比较。

[0254] 微粉化的式(I)化合物无水形式使用喷射研磨微粉化装置 (1.5巴) (Hosokawa Alpine制造)制备。颗粒大小分布使用激光衍射(Malvern Mastersizer仪器)测量。微粉化的式(I)化合物无水形式具有下列颗粒大小分布：D10 1.40μm;D50 2.77μm和D90 5.29μm。

[0255] 试验的储存条件为于RT<5% RH、RT 56% RH、RT 75% RH、50℃和40℃ 75% RH下4周。还得到80℃ 1周后的XRPD和IR数据。

[0256] 固态晶体水合物形式

[0257] TGA：参照样品(t=0)和比较样品(暴露于不同的储存条件)以20℃/min从RT加热至300℃。参照样品(t=0)的TGA曲线在图11中示出，所有样品的结果在表3中示出。从图11显然在RT上升至45℃的温度区间内观察到1.1%的失重，这是由于游离溶剂或吸湿水的蒸发(如29.39℃与44.82℃之间第一个峰所证明)。在45℃与190℃之间观察到1.5%的失重，这是由于结合溶剂的蒸发，190℃以上的失重是由于产物的蒸发和分解。将此失重性质与表3中比较样品的失重相比，未观察到显著差异。

[0258] DVS：参照样品的DVS等温图在图3中示出，DVS质量变化图如图4所示。在最初的干燥步骤期间，记录2.2%的失重，并且发现所得干燥产物具吸湿性。根据大气湿度，该吸湿性产物吸收至多2.1%的水分，并且在解吸周期期间完全干燥。吸附/解吸后所得产物用XRPD和IR研究，发现与参照样品是可比较的。这些数据表明水合物形式具有吸湿性。

[0259] XRPD和IR:参照样品(t=0)的XRPD衍射图如图1所示,IR迹线如图7所示。将此衍射图和IR迹线与比较样品(暴露于不同的储存条件下)的衍射图和IR迹线比较,结果在表3中示出。大部分样品的衍射图和IR迹线相同或非常相似,然而在50℃和80℃的升高温度以及干燥条件(RT/<5%RH)下储存后,与参照样品相比时,观察到XRPD衍射图及IR迹线中的一些小差异(如表3中"±Ref"条目所证明的)。在DVS后参照样品的XRPD图和IR迹线中也观察到相同的小差异,提示50℃、80℃及RT<5%RH样品中观察到的差异是由于产物的干燥。

[0260] DSC:将参照样品(t=0)和比较样品(暴露于不同的储存条件)以10℃/min从25℃加热至300℃。参照样品的DSC曲线如图9中所示,所有样品的结果在表3中示出。从图9,显然参照样品在约183.5℃分解熔化,其中在64.5℃时的吸热信号是由于溶剂蒸发。

[0261] 总而言之,显然该水合物具有良好的物理稳定性。产物显示具有吸湿性并且在干燥条件下有一些失水。然而晶体形式显示对失水和水分获得是稳定的。

[0262] 表3-式(I)化合物水合物形式的稳定性数据

[0263]

产物	条件	TGA		XRD	IR	DSC		外观
		<45 ℃	<190 ℃			Max (℃)	Extra (℃)	
水合物	0天*	1.1	1.5	Cryst., Ref	Cryst., Ref	183.5	64.5 (44 J/g)	白色
	RT/<5 % RH	0.7	0.9	±Ref	±Ref	183.6	62.7 (23 J/g)	白色
	RT/56% RH	1.0	1.1	~Ref	~Ref	183.5	66.0 (40 J/g)	白色
	RT/75 % RH	1.2	1.3	~Ref	~Ref	183.5	65.3 (40 J/g)	白色
	80℃ (1周)	-	-	±Ref	±Ref	-	-	白色
	50℃	1.0	1.0	±Ref	±Ref	183.7	64.7 (37 J/g)	白色
	40℃ /75%RH	0.9	1.0	~Ref	~Ref	183.4	66.9 (39 J/g)	白色

[0264] *环境温度和相对湿度

[0265] Cryst.:Ref: 晶体参照

[0266] ~Ref:与晶体参照相同

[0267] +/- Ref:与晶体参照是可比较的

[0268] 固态晶体无水形式(未经微粉化)

[0269] TGA (表4和图12):将参照样品和比较样品以20℃/min从室温加热至300℃。参照样品(t=0)的TGA曲线在图12中示出,所有样品的结果在表4中示出。从图12,显然对于参照样品,在从室温上升至100℃的温度区间内观察到0.2%的失重,这是由于游离溶剂和/或吸湿水的蒸发。在100℃与200℃之间观察到0.4%的失重,这可能是由于产物的蒸发和分解。将此失重概况与比较样品的失重概况比较,在RT/<5%RH的干燥条件下观察到差异,其中发生0.7%和0.9%的较低的%失重。

[0270] DVS:参照样品的DVS等温图如图5所示,DVS质量变化图如图6所示。最初的干燥步

骤期间，记录0.1%的失重。所获的干产物显示无吸湿行为并且在试验期间保持相同的固态形式。

[0271] XRPD和IR：参照样品的XRPD衍射图如图2所示，IR迹线如图8所示。将此衍射图和IR迹线与比较样品的衍射图和IR记录曲线比较，结果在表4中示出。发现所有样品的衍射图和IR迹线相同，表明在不同条件下储存后无固态变化发生。

[0272] DSC：将参照样品和比较样品以10℃/min从25℃加热至250℃。参照样品的DSC曲线如图10中所示，所有样品的结果在表4中示出。从图10，显然参照样品在约187℃熔化(可能分解)。比较参照样品的DSC数据和比较样品的数据，显然储存条件未改变该物质的熔点。

[0273] 总而言之，显然式(I)化合物的固态晶体无水形式在所有研究条件下为物理上稳定的。

[0274] *表4-式(I)化合物的无水形式(未微粉化)的稳定性数据*

[0275]

产物	条件	TGA		XRD	IR	DSC	外观
		<100	<200 ℃			Max (℃)	
无水形式(未经微粉化)	0天	0.2	0.4	Cryst., Ref	Cryst., Ref	187.0	白色
	80℃	-	-	~Ref	~Ref	-	白色
	RT/<5% RH	0.3	0.5	~Ref	~Ref	187.6	白色
	RT/56%RH	0.4	0.5	~Ref	~Ref	187.4	白色
	RT/75% RH	0.3	0.4	~Ref	~Ref	187.0	白色
	50℃	0.3	0.4	~Ref	~Ref	187.2	白色
	40℃/75%RH	0.4	0.5	~Ref	~Ref	187.2	白色

[0276] 固态晶体无水形式(微粉化)

[0277] TGA：将参照样品和比较样品以20℃/min从室温加热至300℃，并且所有样品的结果在表5中示出。

[0278] DVS：参照样品的DVS等温图如图13所示。在最初的干燥步骤期间，记录了0.1%的失重。观察到产物具有轻微吸湿性，根据大气情况，吸收至多0.9%的水分。解吸周期期间发现产物完全干燥。

[0279] XRPD和IR：将参照样品的衍射图和IR迹线与比较样品的衍射图和IR迹线比较，结果在图5中示出。发现所有样品的衍射图和IR迹线相同，表明在不同条件下储存后无固态变化发生。

[0280] DSC：将参照样品和比较样品以10℃/min从25℃加热到250℃。所有样品的结果在表5中示出。参照样品的DSC曲线显示产物在约186℃熔化(可能分解)。在约124℃观察到额外的放热信号，可能是由于研磨期间所产生的样品中存在的非晶物质或人造晶体的重结晶。

[0281] 总而言之，显然微粉化形式的式(I)化合物的固态晶体无水形式在所有研究条件下为物理上稳定的，尽管其具有轻微吸湿性。

[0282] *表5-式(I)化合物无水形式(微粉化)的稳定性数据*

[0283]

产物	条件	TGA		XRD	IR	DSC		外观
		<100	<200℃			Max(℃)	Extra(℃)	
无水形式(微粉化)	0天	0.2	0.4	Cryst.,Ref	Cryst.,Ref	185.6	123.4 (4 J/g)	白色
	80℃	-	-	~Ref	~Ref	-	-	白色
	RT/<5 %RH	0.3	0.4	~Ref	~Ref	185.7	123.7 (4 J/g)	白色
	RT/56%RH	0.4	0.4	~Ref	~Ref	185.5	123.0 (4 J/g)	白色
	RT/75 %RH	0.3	0.4	~Ref	~Ref	185.6	123.3 (4 J/g)	白色
	50℃	0.5	0.4	~Ref	~Ref	185.4	124.9 (4 J/g)	白色
	40 ℃/75%RH	0.2	0.3	~Ref	~Ref	185.7	124.5 (2 J/g)	白色

[0284] 实施例5-固态晶体水合物和固态晶体无水形式(无水形式—未经微粉化或微粉化)的式(I)化合物的HPLC分析

[0285] 通过比较环境温度和相对湿度下的样品(参照样品)和在各种温度和相对湿度下储存的样品(比较样品)，测定了式(I)化合物的固态晶体水合物形式和固态晶体无水形式(无水形式为未经微粉化或微粉化二者)的化学稳定性。样品在各种条件下储存1、4或8周，如表6、7和8所示。然后通过HPLC使用通用方法中的方法和通过目视检查分析样品。

[0286] 水合物形式

[0287] 从表6中所提供的数据，显然式(I)化合物的水合物形式为化学上稳定的，尽管观察到一些光敏感性。

[0288] *表6-式(I)化合物水合物形式的稳定性数据*

[0289]

产物	条件	HPLC 总杂质			外观		
		1周	4周	8周	1周	4周	8周
水合物	参照	1.52	-	-	白色	-	-
	0.3 天 ICH 光*	1.61	-	-	白色	-	-
	80℃	1.58	-	-	白色	-	-
	40 ℃/75 %RH	1.54	1.46	1.54	白色	白色	白色
	50℃	1.53	1.53	1.59	白色	白色	白色
	RT/<5%RH	-	1.50	1.53	-	白色	白色
	RT/56%RH	-	1.53	1.54	-	白色	白色
	RT/75%RH	-	1.48	1.60	-	白色	白色

[0290]　*模拟日光 (光柜700W/m^2)

[0291]　无水形式(未经微粉化)

[0292]　从表7中提供的数据，显然式(I)化合物的无水形式对光敏感。在ICH光中储存0.3天后，在RRT 1.12和RRT 1.24观察到降解产物。

[0293]　*表7-式(I)化合物无水形式(固态)的稳定性数据*

[0294]

产物	条件	HPLC 总杂质			外观		
		1周	4周	8周	1周	4周	8周
无水形式 (未经微粉化)	参照	0.72	-	-	白色	-	-
	0.3 天 ICH 光	1.08	-	-	淡黄色	-	-
	80℃	0.71	-	-	白色	-	-
	40℃/75%RH	0.71	0.72	0.72	白色	白色	白色
	50℃	0.71	0.71	0.73	白色	白色	白色
	RT/<5%RH	-	0.72	0.74	-	白色	白色
	RT/56%RH	-	0.71	0.77	-	白色	白色
	RT/75%RH	-	0.71	0.74	-	白色	白色

[0295]　无水形式(微粉化)

[0296]　从表8，显然微粉化形式的式(I)化合物无水形式对光敏感。在ICH光中储存0.3天后，于RRT 1.12观察到降解产物。

[0297]　*表8-式(I)化合物无水形式(微粉化)的稳定性数据*

[0298]

产物	条件	HPLC 总杂质			外观		
		1周	4周	8周	1周	4周	8周
无水形式 (微粉化)	参照	0.72	-	-	白色	-	-
	0.3天ICH光	0.89	-	-	淡黄色	-	-
	80℃	0.71	-	-	白色	-	-
	40℃/75%RH	0.72	0.71	0.76	白色	白色	白色
	50℃	0.71	0.71	0.76	白色	白色	白色
	RT/<5%RH	-	0.70	0.73	-	白色	白色
	RT/56%RH	-	0.71	0.74	-	白色	白色
	RT/75%RH	-	0.73	0.75	-	白色	白色

[0299]　HPLC研究表明式(I)化合物的水合物和无水形式(未经微粉化和微粉化二者)的化学稳定性是可比较的，尽管所有形式均显示一些光敏感性。

[0300]　实施例6-水合物形式的式(I)化合物与乳糖，以及无水形式的式(I)化合物与乳糖的XRPD/IR分析

[0301]　使用LactoHale®作为乳糖来源(DOMO®/Frieslandfoods供应)，制备了式(I)化合物的水合物形式与乳糖以及式(I)化合物的无水形式(微粉化)与乳糖的混合物(在各情况

下50%/50%)。将混合物在不同温度和湿度下储存，并通过XRPD和IR在时间零点以及储存1周和4周后加以分析。将1和4周稳定性样品的IR光谱和XRPD图与时间零点产生IR光谱和XRPD图比较。

[0302] 固态晶体水合物

[0303] 混合物制备：将约250 mg水合物形式的式(I)化合物和250 mg Lactohale200®加入玛瑙研钵中，然后使用研杵和塑料叶片(Feton)混合5分钟。将此物理混合物填入附有螺旋盖(密封)及无盖(开放)的棕色玻璃烧瓶中。使用下列储存条件：

[0304] 80℃：1周密封；

[0305] 50℃：1和4周密封；

[0306] 40℃/75%RH：1和4周开放。

[0307] 固态晶体水合物形式与乳糖混合物样品的参照IR光谱在图14中示出。IR光谱在各种储存条件之后获得。1和4周稳定性样品的IR光谱与时间零点的IR光谱之间未观察到差异。水合物形式与乳糖之间未观察到有相互作用，并且水合物形式在所有储存条件下保持稳定。

[0308] 固态晶体水合物形式与乳糖混合物样品的参照XRPD图在图15中示出。XRPD图在各种储存条件之后获得。1和4周稳定性样品所产生的XRPD图与时间零点的衍射图相似。明显地可看到水合物形式典型的衍射峰在Lactohale200®存在下并未改变，表明水合物形式在乳糖存在下为物理上稳定的。

[0309] IR光谱显示水合物形式与乳糖之间无相互作用，且XRPD结果显示无水合物形式的固态转化。因此，可得出结论，该水合物形式与乳糖为物理上相容的。

[0310] 固态晶体无水形式

[0311] 混合物制备：将约500 mg无水式(I)化合物(微粉化)和500 mg Lactohale200®加入玛瑙研钵中，然后使用研杵和塑料叶片(Feton)混合5分钟。将此物理混合物填入附有螺旋盖(密封)及无盖(开放)的棕色玻璃烧瓶中。使用下列储存条件：

[0312] 80℃：1周密封；

[0313] 50℃：1和4周密封；

[0314] 40℃/75%RH：1和4周开放。

[0315] 固态晶体无水形式(微粉化)与乳糖混合物样品的参照IR光谱在图16中示出。IR光谱在各种储存条件之后获得。1和4周稳定性样品的IR光谱与时间零点的IR光谱之间未观察到差异。无水形式与乳糖之间未观察到有相互作用，并且无水形式在所有储存条件下保持稳定。

[0316] 固态晶体无水形式(微粉化)与乳糖混合物的样品的参照XRPD图在图17中示出。XRPD图在各种储存条件之后获得。1和4周稳定性样品所产生的XRPD图与时间零点的衍射图相似。明显地可看到无水形式典型的衍射峰在Lactohale200®存在下并未改变，表明无水形式在乳糖存在下为物理上稳定的。

[0317] IR光谱显示无水形式与乳糖之间无相互作用，且XRPD结果显示无无水形式的固态转化。因此，可得出结论，该无水形式与乳糖为物理上相容的。

[0318] 实施例7-固态晶体水合物形式的式(I)化合物与乳糖以及固态晶体无水形式的式(I)化合物与乳糖的HPLC分析

[0319] 式(I)化合物的水合物形式和无水形式与乳糖组合的化学相容性通过HPLC分析测定。

[0320] 水合物

[0321] 混合物制备:将2 mg水合物形式与2 mg Lactohale200®加入玛瑙研钵中,然后使用研杵和塑料叶片(Feton)混合5分钟。将其它等份的Lactohale200® (从4 mg开始)混入该混合物中,每次均使混合物的体积加倍,直至该混合物总共包含6000 mg Lactohale200®。

[0322] 通过HPLC在时间零点和不同储存条件后分析混合物。样品在下列条件下储存:(i)于50℃下1、2和3周(ii) 80℃ 1周 (iii) 于40℃ / 75% RH下1、2和3周。从表9,显然式(I)化合物的水合物形式与乳糖组合多达3周时为稳定的,表明了其化学相容性。

[0323] *表9-式(I)化合物水合物形式与乳糖的稳定性数据*

[0324]

条件	RRT* 0.80	RRT* 0.84	RRT* 0.86	RRT* 1.11	RRT* 1.14	RRT* 1.32
T=零	0.15	0.13	0.15	0.09	0.15	0.92
1周 50℃	0.14		0.31		0.15	0.94
1周 80℃		0.15		0.12	0.15	0.91
1周 40℃/75%RH	0.16	0.13	0.18		0.24	0.93
2周 50℃	0.15	0.13	0.12	0.10	0.16	0.91
2周 40℃/75%RH	0.13	0.13	0.15	0.10	0.17	0.92
3周 50℃	0.14	0.11	0.17	0.08	0.14	0.99
3周 40℃/75%RH	0.14	0.10	0.13	0.08	0.14	1.00

[0325] *指示RRT时通过HPLC的面积%。式(I)化合物具有RRT = 1.0

[0326] 无水(微粉化)

[0327] 如实施例4中所述制备了微粉化的式(I)化合物无水形式。

[0328] 试验批次取自包含3.519 mg式(I)化合物无水形式(微粉化)和 6006.64 mg Lactohale200®的存货。

[0329] 通过HPLC在时间零点和不同储存条件后分析混合物。样品在下列条件下储存:(i)于50℃下1、2、3和4周 (ii) 80℃ 1周 (iii) 于40℃ / 75% RH下1、2、3和4周。

[0330] 表10表明80℃储存1周后观察到显著降解,在50℃的升高温度下储存后也观察到降解。这些结果提示式(I)化合物的无水形式(微粉化)与乳糖组合不是化学上稳定的,因此这两种组分在药物制剂中为不相容的。

[0331] RRT 0.86时的峰是由上文所示水合衍生物D019328所致。

[0332] *表10-式(I)化合物的固态晶体无水形式(微粉化)与乳糖的稳定性数据*

[0333]

条件	RRT* 0.80	RRT* 0.86	RRT* 0.97	RRT* 1.14	RRT* 1.32
T=零	0.21	0.12		0.12	0.13
1周 50℃	0.17	0.23		0.10	0.12
1周 80℃	0.52	2.53	0.78	0.19	0.12
1周 40℃/75%RH	0.19	0.12		0.11	0.13
2周 50℃	0.19	0.30		0.12	0.13
2周 40℃/75%RH	0.17	0.11		0.12	0.13
3周 50℃	0.19	0.38		0.12	0.14
3周 40℃/75%RH	0.19	0.08		0.11	0.14
4周 50℃	0.19	0.54		0.11	0.13
4周 40℃/75%RH	0.18	0.20		0.11	0.14

[0334]　*指示RRT时通过HPLC的面积% 。式(I)化合物具有RRT = 1.0

[0335]　实施例8-固态晶体无水形式的式(I)化合物与乳糖和硬脂酸镁的XRPD/IR分析

[0336]　式(I)化合物的固态晶体无水形式(微粉化)与乳糖的混合物以添加1%硬脂酸镁制备。混合物在不同温度和湿度下储存并在时间零点以及储存1周和4周后通过XRPD和IR分析。

[0337]　混合物制备:将约500 mg Lactohale200®和约10 mg硬脂酸镁加入玛瑙研钵中,然后使用研杵和塑料叶片(Feton)混合5分钟。将约500 mg的无水式(I)化合物(微粉化)加入混合物中并将混合物另再混合5分钟。然后将混合物样品在实施例6中所述各种条件下储存。

[0338]　固态晶体无水形式(微粉化)与乳糖和硬脂酸镁的混合物样品的参照IR光谱在图18中示出。IR光谱在各种储存条件之后获得。1和4周稳定性样品的IR光谱与时间零点的IR光谱之间未观察到差异。无水形式、乳糖和硬脂酸镁之间未观察到有相互作用,无水形式在所有储存条件下保持稳定。

[0339]　固态晶体无水形式(微粉化)与乳糖和硬脂酸镁混合物的样品的参照XRPD图在图19中示出。XRPD图在各种储存条件之后获得。1和4周稳定性样品所产生的XRPD图与时间零点的衍射图相似。明显地可看到无水形式典型的衍射峰在Lactohale200®和硬脂酸镁存在下并未改变,表明无水形式在乳糖和硬脂酸镁存在下为物理上稳定的。

[0340]　IR光谱显示无水形式、乳糖与硬脂酸镁之间无相互作用,且XRPD结果显示无无水形式的固态转化。因此,可得出结论,该无水形式与乳糖和硬脂酸镁为物理上相容的。

[0341]　实施例9-无水形式的式(I)化合物与乳糖和硬脂酸镁的HPLC分析

[0342]　式(I)化合物的固态晶体无水形式与乳糖和1%硬脂酸镁组合的化学相容性通过HPLC分析测定。

[0343]　试验批次取自包含3.704 mg式(I)化合物的无水形式(微粉化)、6017.90 mg Lactohale200和67.33 mg硬脂酸镁的存货。

[0344]　表11中显示的数据表明与不存在硬脂酸镁的相同组合物(见表10)相比化学稳定性显著增加,如80℃储存1周后仅观察到小量降解所证明(见例如RRT 0.86, 0.28%)。这些结果提示通过向组合物中添加硬脂酸镁显著改善了式(I)化合物无水形式(微粉化)与乳糖的化学稳定性。因此,添加硬脂酸镁改善了式(I)化合物的无水形式(微粉化)与乳糖组合的

化学相容性，从而使其可在药物制剂中相容。

[0345] *表11-式(I)化合物的无水形式(微粉化)与乳糖和硬脂酸镁的稳定性数据*

[0346]

条件	RRT* 0.80	RRT* 0.86	RRT* 1.14	RRT* 1.32
T=零	0.21	0.10	0.12	0.13
1周 50℃	0.20	0.11	0.11	0.13
1周 80℃	0.19	0.28	0.11	0.13
1周 40℃/75%RH	0.20	0.11	0.11	0.13
2周 50℃	0.20	0.08	0.11	0.14
2周 40℃/75%RH	0.21	0.11	0.11	0.13
3周 50℃	0.20	0.13	0.11	0.13
3周 40℃/75%RH	0.20	0.11	0.11	0.14
4周 50℃	0.19	0.12	0.11	0.14
4周 40℃/75%RH	0.20	0.10	0.10	0.13

[0347] *指示RRT时通过UPLC的面积%。式(I)化合物具有RRT = 1.0

[0348] 实施例10-无水形式的式(I)化合物与乳糖和硬脂酸金属盐的UPLC分析

[0349] 式(I)化合物的固态晶体无水形式(微粉化)与乳糖和1%硬脂酸金属盐(硬脂酸镁、硬脂酸钠和硬脂酸钙)的化学相容性通过UPLC分析测定(式(I)化合物的微粉化如实施例4中所述)。

[0350] 试验样品如下表12中所述制备：

[0351] *表12-加速稳定性试验后用于UPLC分析的试验样品*

[0352]

样品	式(I)化合物的固态晶体无水形式(微粉化) 样品1/样品2	Lactohale 200 样品1/样品2	硬脂酸金属盐 样品1/样品2
仅药物	0.50 mg / 0.47 mg		
药物和乳糖	0.58 mg / 0.47 mg	749.84 mg / 750.06 mg	
药物、乳糖、硬脂酸镁	0.46 mg / 0.51 mg	749.97 mg / 751.59 mg	7.40 mg / 7.55 mg
药物、乳糖、硬脂酸钙	0.49 mg / 0.45 mg	751.08 mg / 753.53 mg	7.67 mg / 7.80 mg
药物、乳糖、硬脂酸钠	0.48 mg / 0.45 mg	750.20 mg / 750.42 mg	7.78 mg / 7.59 mg

[0353] 将样品分散于小瓶中，用盖子密封并保持在80℃ 1或2周。样品1用于1周研究，样品2用于2周研究。

[0354] 结果在下表13中示出：

[0355] *表13-加速稳定性试验后的UPLC分析结果*

[0356]

样品	1周 80℃ RRT* 0.87	1周 80℃ RRT* 0.92	2周 80℃ RRT* 0.87	2周 80℃ RRT* 0.92
仅药物	0.00	0.08	0.00	0.08
药物和乳糖	0.58	0.39	1.80	0.77
药物、乳糖、硬脂酸镁	0.28	0.29	0.06	0.18
药物、乳糖、硬脂酸钙	0.11	0.19	0.17	0.19
药物、乳糖、硬脂酸钠	0.00	0.09	0.00	0.09

[0357] *指示RRT时通过UPLC的面积%。式(I)化合物具有RRT = 1.0

[0358] 质谱分析表明RRT 0.87时的物质为D019493,RRT 0.92时的物质为D019492 (通过NMR确认) (见流程1)。D019492的NMR共振测定在表14中给出:

[0359] *表14-D019492的^{1}H NMR共振测定*

[0360]

	^{1}H NMR 测定 (600 MHz, DMSO-d_6) δ ppm
D019492	1.59 (五重峰, *J*=7.30 Hz, 2 H) 2.20 (t, *J*=7.55 Hz, 2 H) 2.46 - 2.49 (m, 2 H) 3.18 (d, *J*=7.90 Hz, 6 H) 3.29 - 3.39 (m, 8 H) 4.23 (s, 2 H) 5.24 (s, 2 H) 5.76 (s, 2 H) 6.08 (d, *J*=7.55 Hz, 1 H) 6.75 (t, *J*=7.55 Hz, 1 H) 6.83 (dd, *J*=8.12, 1.70 Hz, 1 H) 6.90 (d, *J*=7.55 Hz, 1 H) 6.91 - 6.93 (m, 1 H) 7.01 (t, *J*=7.55 Hz, 1 H) 7.09 (d, *J*=7.55 Hz, 1 H) 7.29 (m, *J*=7.93, 7.93 Hz, 1 H) 7.32 (d, *J*=7.18 Hz, 1 H) 7.66 (d, *J*=7.93 Hz, 1 H) 7.77 - 7.82 (m, 1 H) 8.17 (s, 1 H) 9.67 (s, 1 H)

[0361] 表13中所示的数据表明与不存在硬脂酸金属盐的相同组合物相比,包含硬脂酸金属盐的制剂的化学稳定性显著增加,如80℃储存1或2周后观察到相当小量的降解所证明。这些结果提示通过向组合物中添加硬脂酸金属盐显著改善了式(I)化合物的无水形式与乳糖的化学稳定性。因此,添加硬脂酸金属盐改善了式(I)化合物的无水形式与乳糖组合的化学相容性,从而使它们可在药物制剂中相容。

[0362] 实施例11-本发明药物制剂的制备

[0363] 示例性的本发明药物制剂由0.5 wt.%式(I)化合物(固态晶体无水形式,微粉化)、98.5 wt.%乳糖一水合物(吸入级)和1.0 wt.% 硬脂酸镁组成,其中所有组分的wt.%基于干药物制剂的重量。

[0364] 实施例中公开的结果总述

[0365] 已经鉴定了式(I)化合物的固态晶体无水和水合物形式。

[0366] 从TGA、DVS、XRPD、IR和DSC研究,显然式(I)化合物的固态晶体无水形式(未经微粉化和微粉化形式二者)和固态晶体水合物形式均为稳定的,尽管水合物形式在干燥条件下有流失些许水分的倾向,但显然对其晶体结构无影响。式(I)化合物的水合物和无水形式的化学稳定性是可比较的。

[0367] 当检验固态晶体水合物和无水形式与乳糖的化学相容性时,尽管发现两种形式均为物理上相容的,在乳糖存在下固态晶体无水形式观察到有化学降解。

[0368] 然而,令人惊讶地发现,向式(I)化合物的固态晶体无水形式与乳糖的组合中添加硬脂酸镁、硬脂酸钙或硬脂酸钠(硬脂酸金属盐的实例)显著减少化学降解。因此,包含固态晶体无水形式的式(I)化合物、乳糖和硬脂酸金属盐例如硬脂酸镁的药物制剂具有良好的物理和化学稳定性。

[0369] 本申请中涉及的所有参考,包括专利和专利申请,通过引用以最充分可能的程度结合到本文中。

[0370] 在本说明书及后附权利要求书的全文中,除非上下文另有需要,否则词语“包括(comprise)”及变体例如“包括(comprises和comprising)”将理解为意指包括所述的整体、步骤、整体组或步骤组,但不排除任何其它整体、步骤、整体组或步骤组。

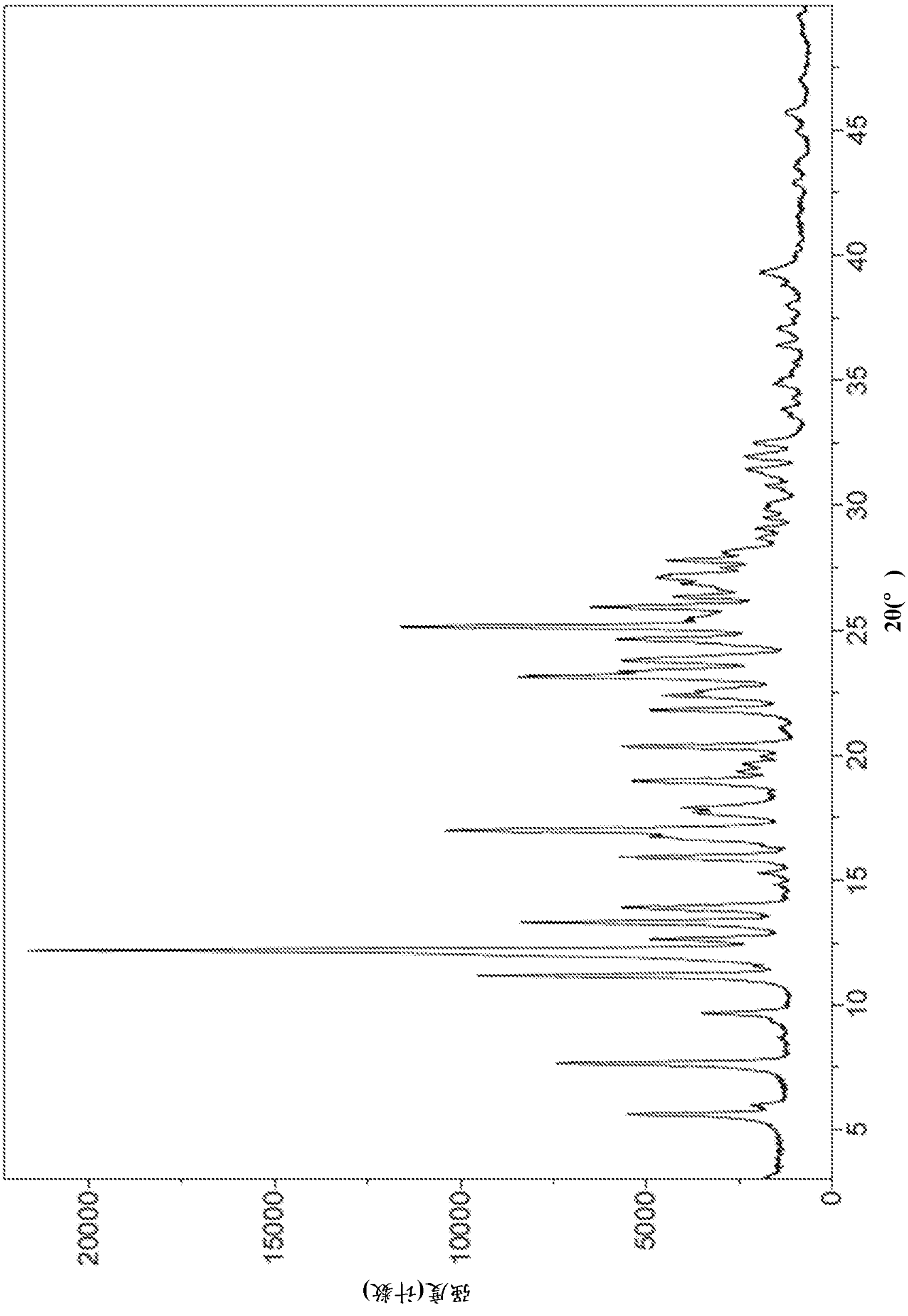


图 1

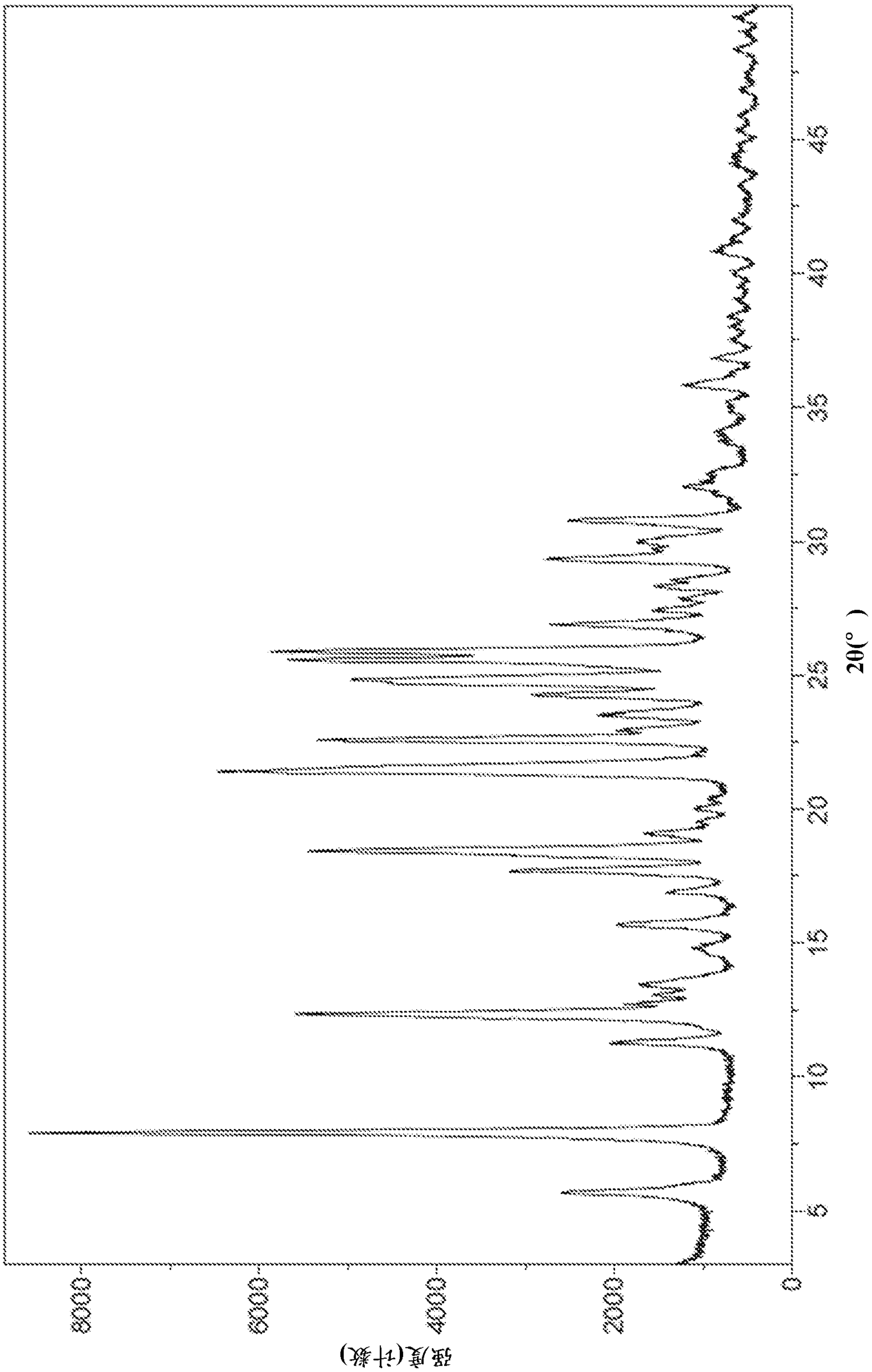


图 2

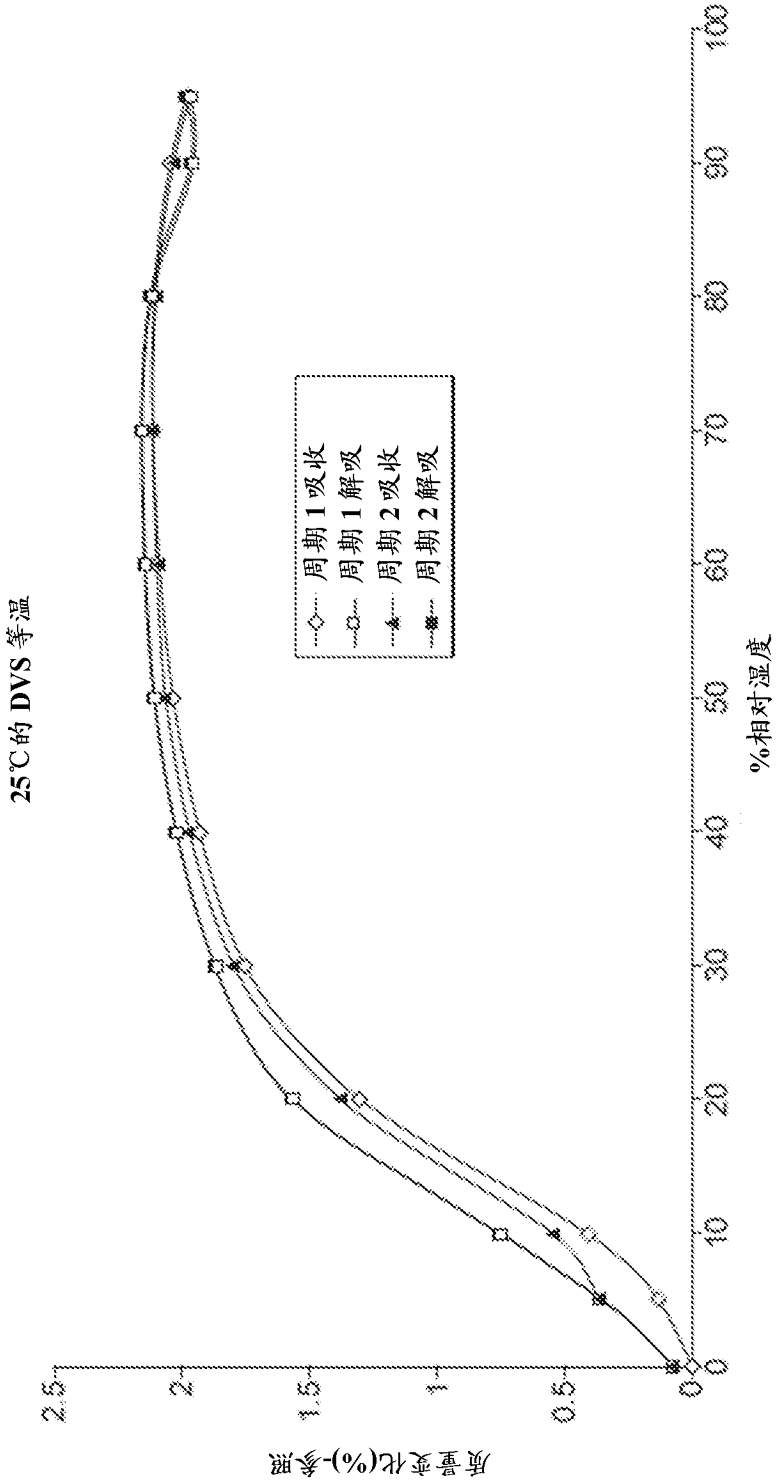

25℃的DVS等温
周期1吸收
周期1解吸
周期2吸收
周期2解吸
%相对湿度
质量变化(%)-参照
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100
0
0.5
1
1.5
2
2.5

图 3

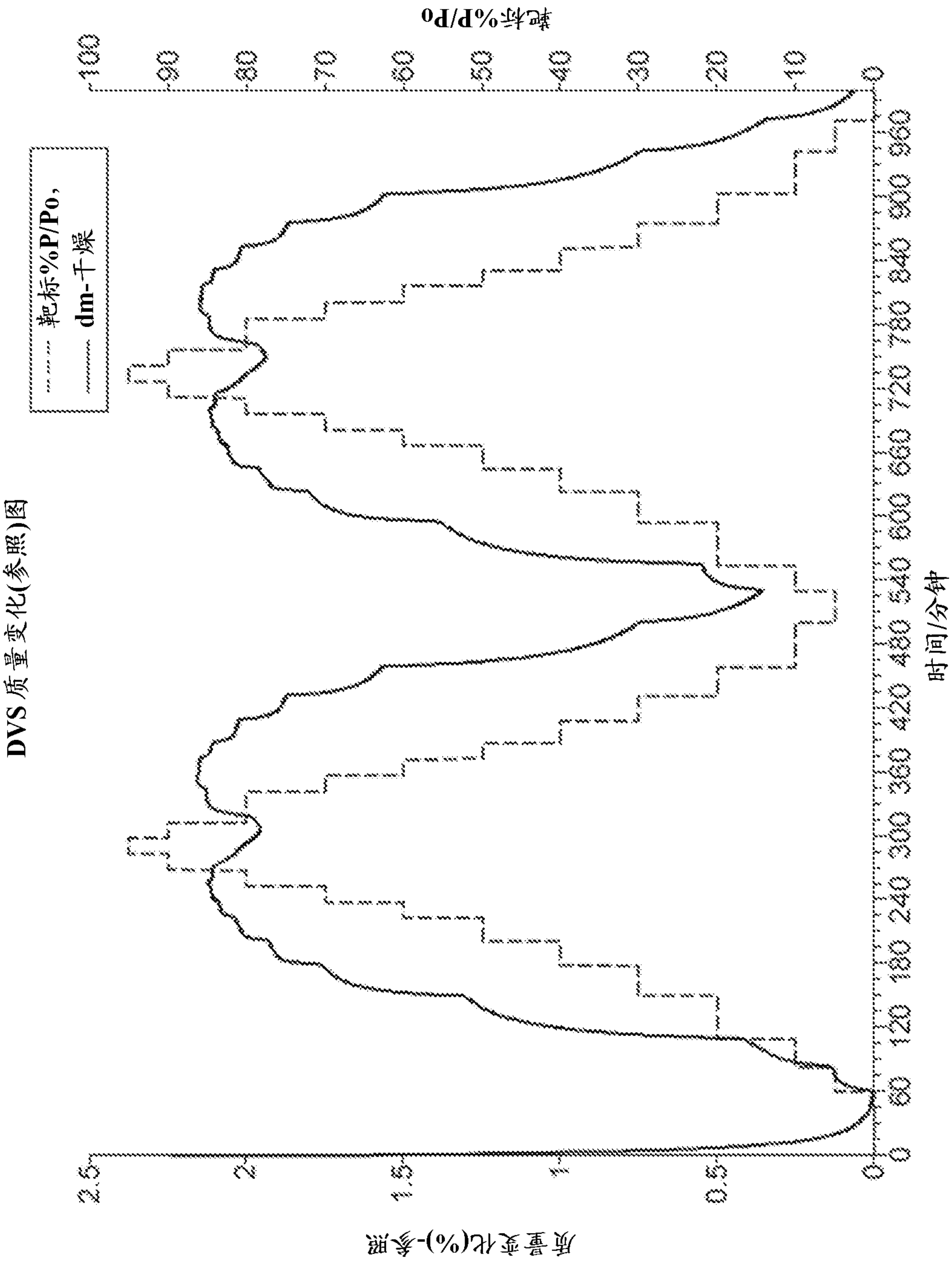


图 4

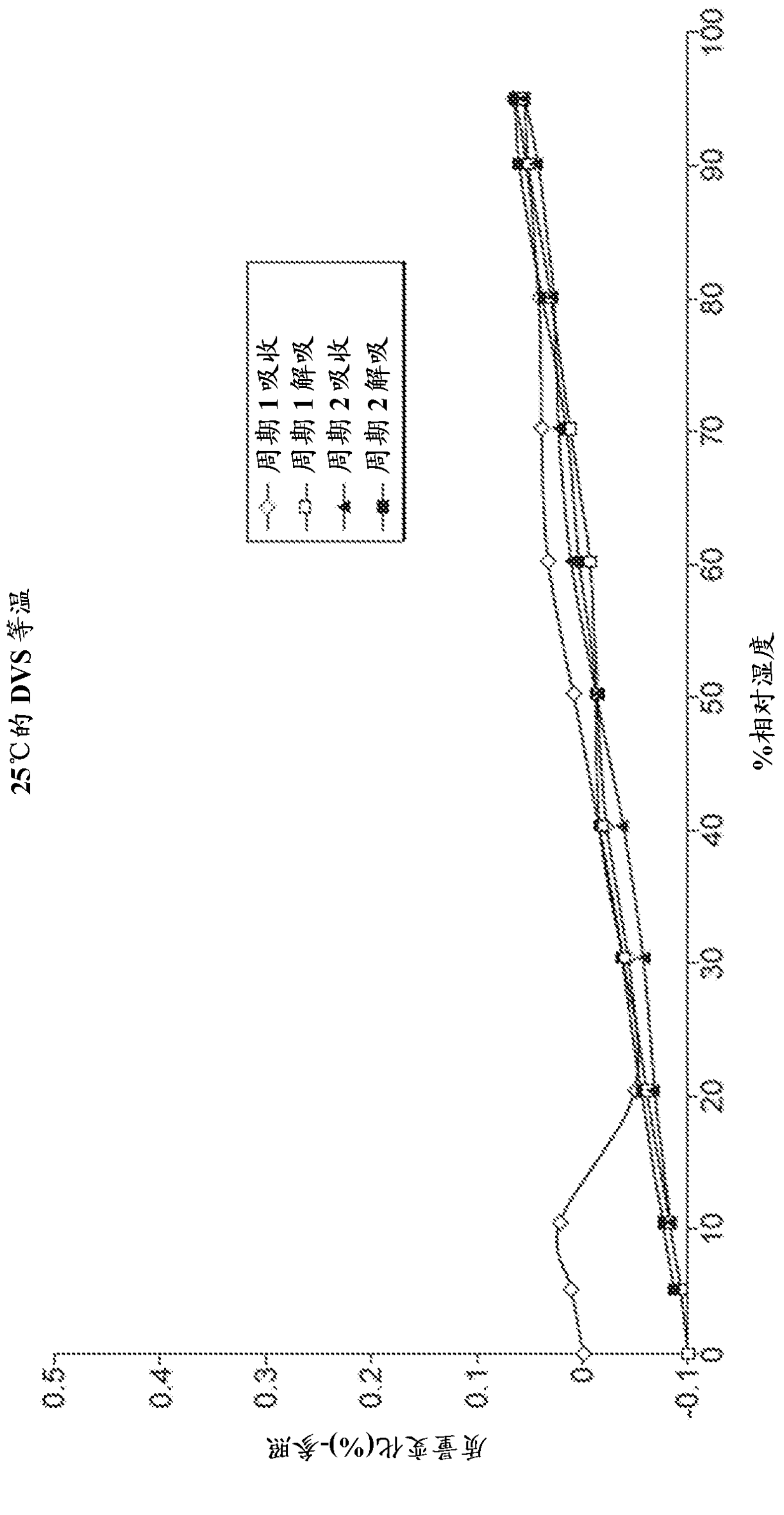

25℃的 DVS 等温
周期 1 吸收
周期 1 解吸
周期 2 吸收
周期 2 解吸
%相对湿度
质量变化(%)-参照
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100
-0.1
0
0.1
0.2
0.3
0.4
0.5

图 5

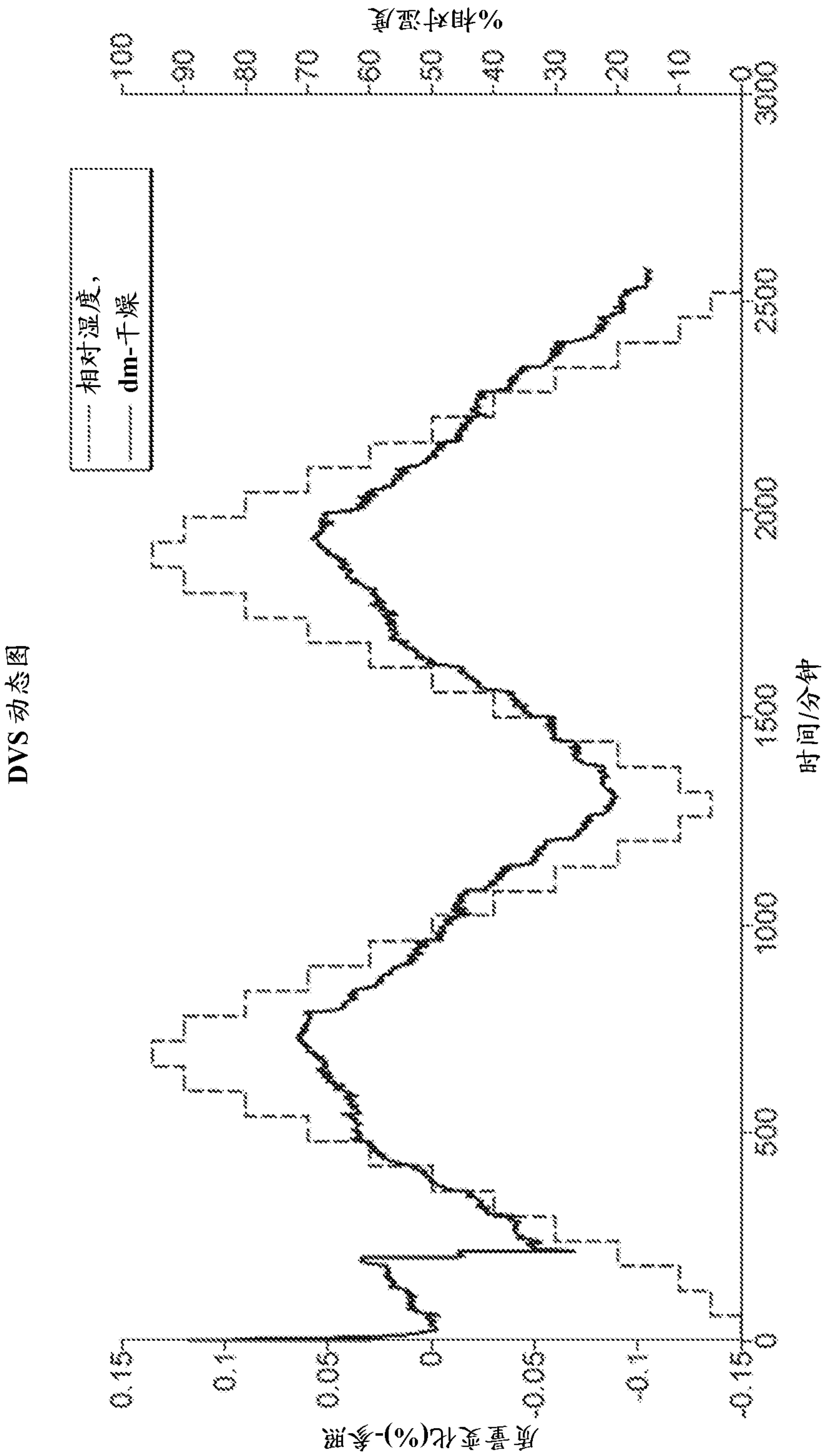


图 6

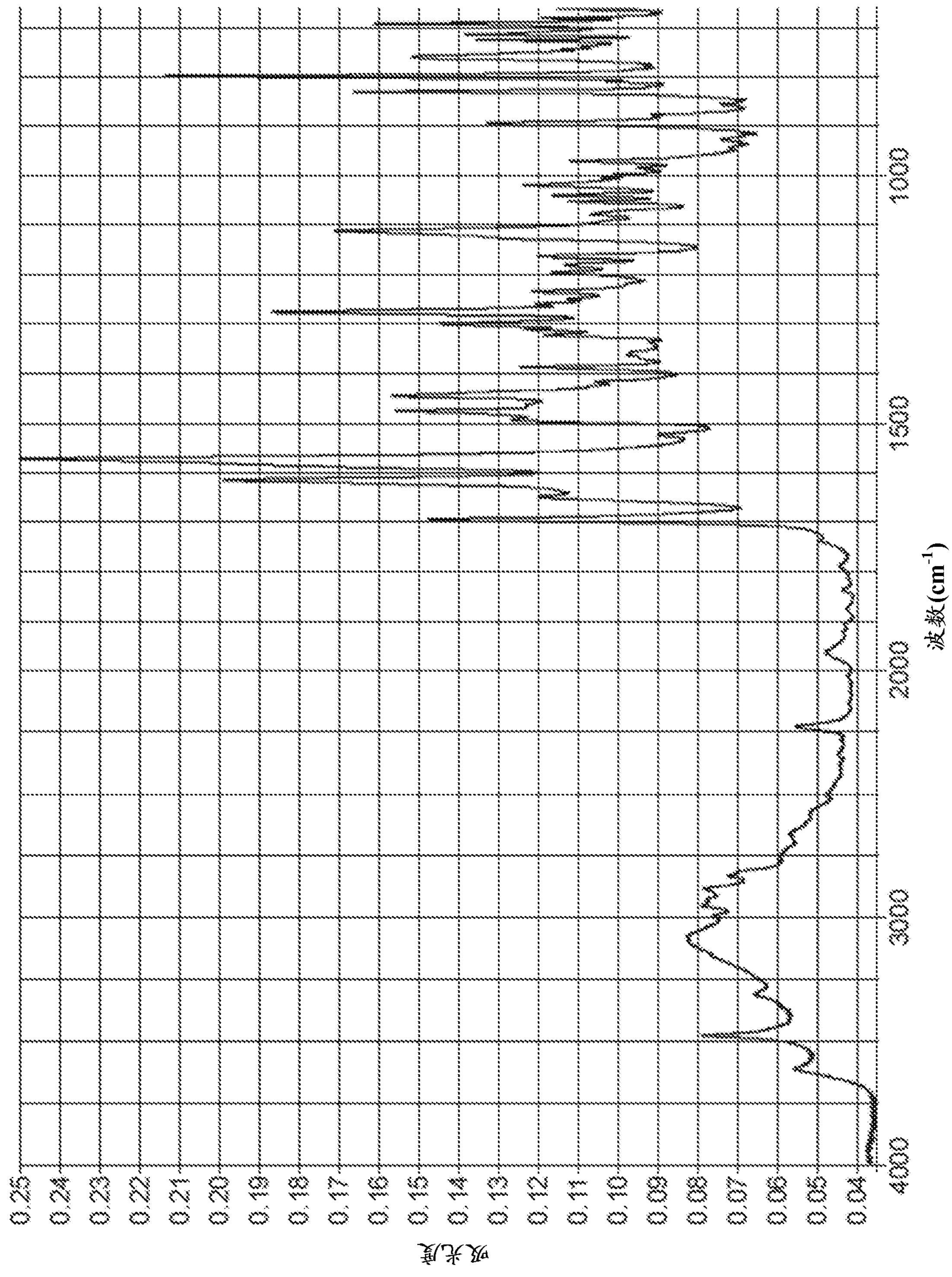

波数(cm-1)
吸光度
4000
3000
2000
1500
1000
0,25
0,24
0,23
0,22
0,21
0,20
0,19
0,18
0,17
0,16
0,15
0,14
0,13
0,12
0,11
0,10
0,09
0,08
0,07
0,06
0,05
0,04

图 7

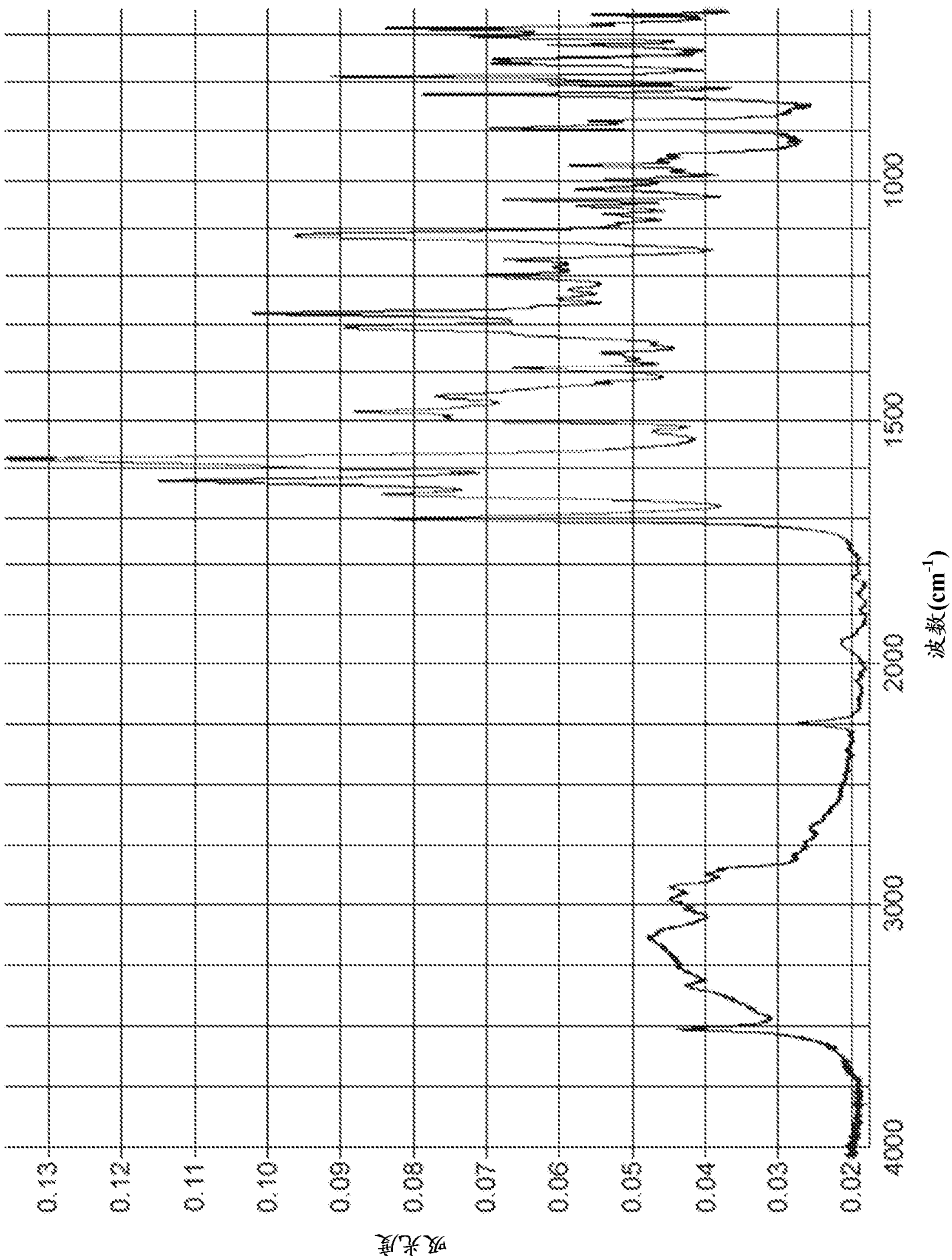

0.13
0.12
0.11
0.10
0.09
0.08
0.07
0.06
0.05
0.04
0.03
0.02
吸光度
4000
3000
2000
1500
1000
波数(cm-1)

图 8

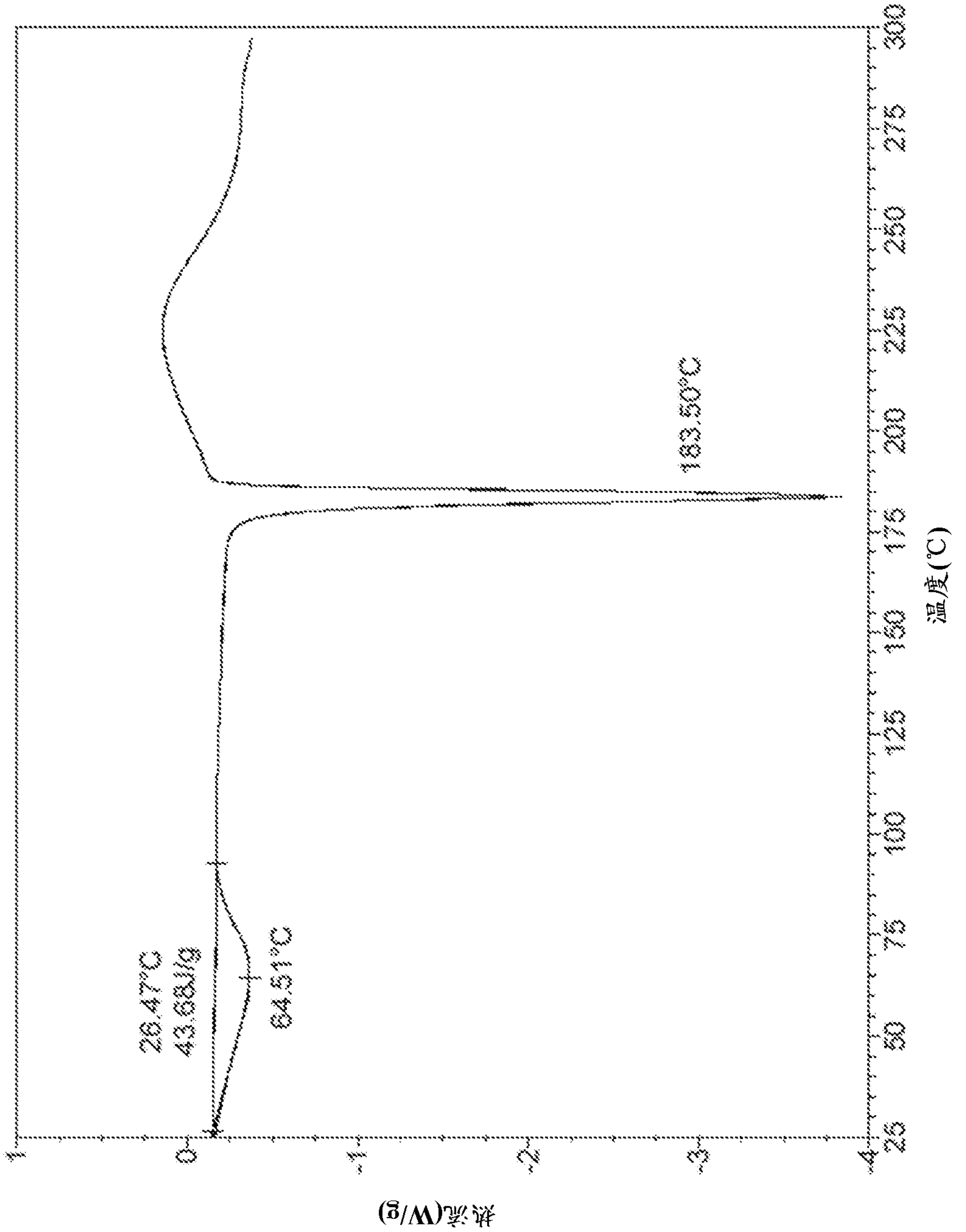

26.47°C
43.68J/g
64.51°C
183.50°C
温度(℃)
热流(W/g)
25
50
75
100
125
150
175
200
225
250
275
300
1
0
-1
-2
-3
-4

图 9

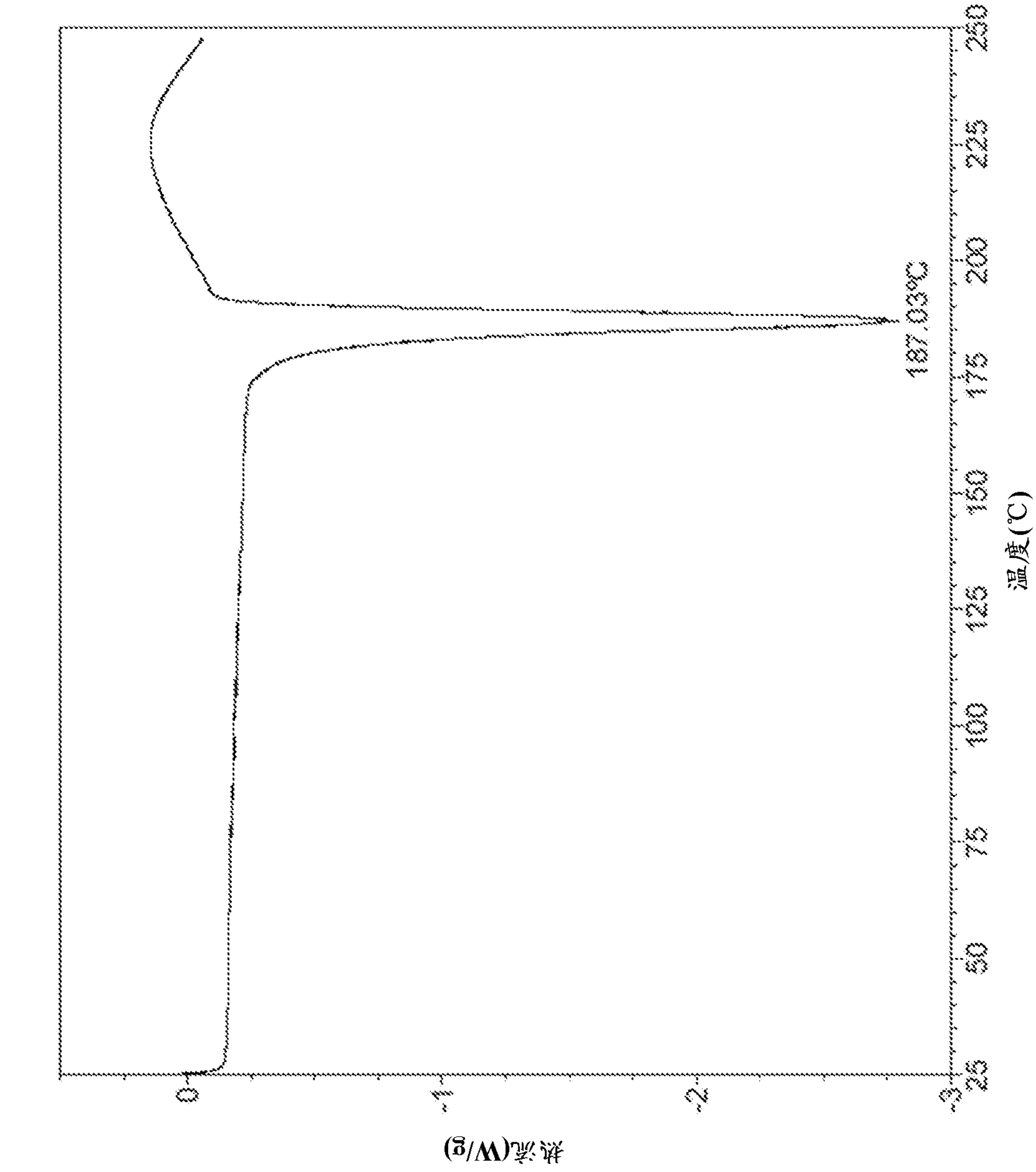


图 10

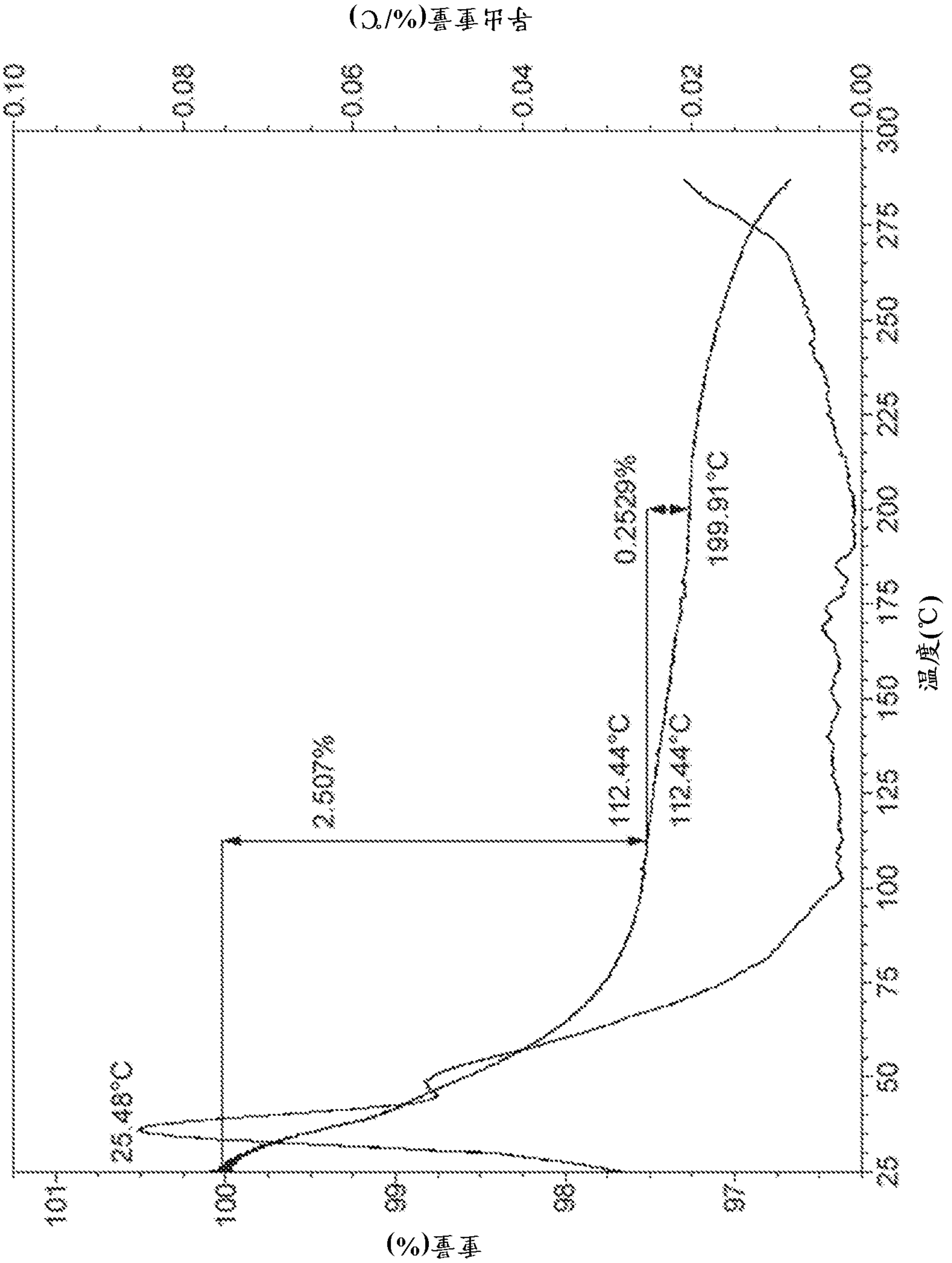
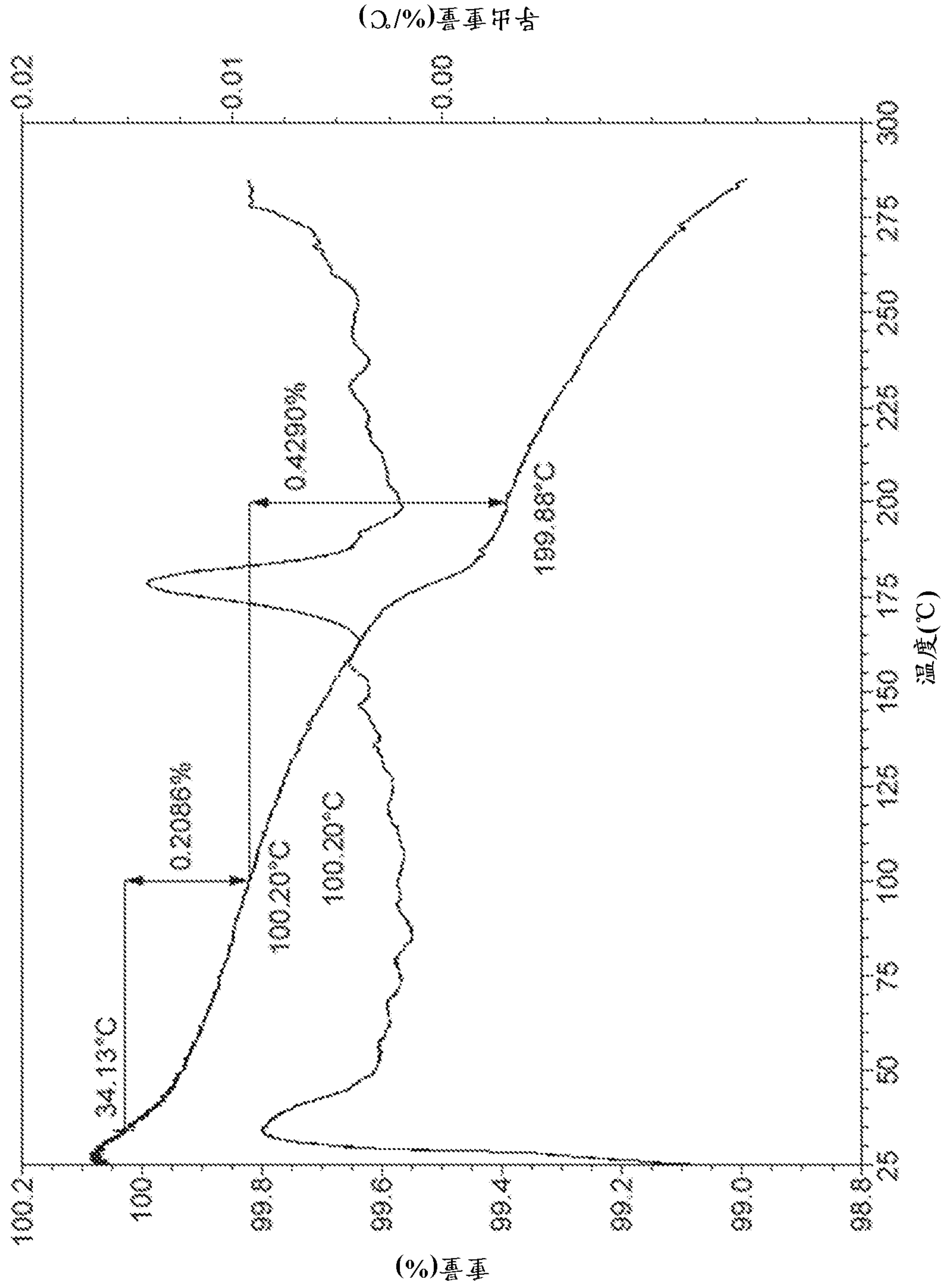

导出重量(%/℃)
0.10
0.08
0.06
0.04
0.02
0.00
25.48°C
2.507%
112.44°C
112.44°C
0.2529%
199.91°C
101
100
99
98
97
重量(%)
25
50
75
100
125
150
175
200
225
250
275
300
温度(℃)

图 11



0.02
0.01
0.00
100.2
100
99.8
99.6
99.4
99.2
99.0
98.8
25
50
75
100
125
150
175
200
225
250
275
300
温度(℃)
重量(%)
34.13°C
0.2086%
100.20°C
100.20°C
0.4290%
199.88°C

图 12

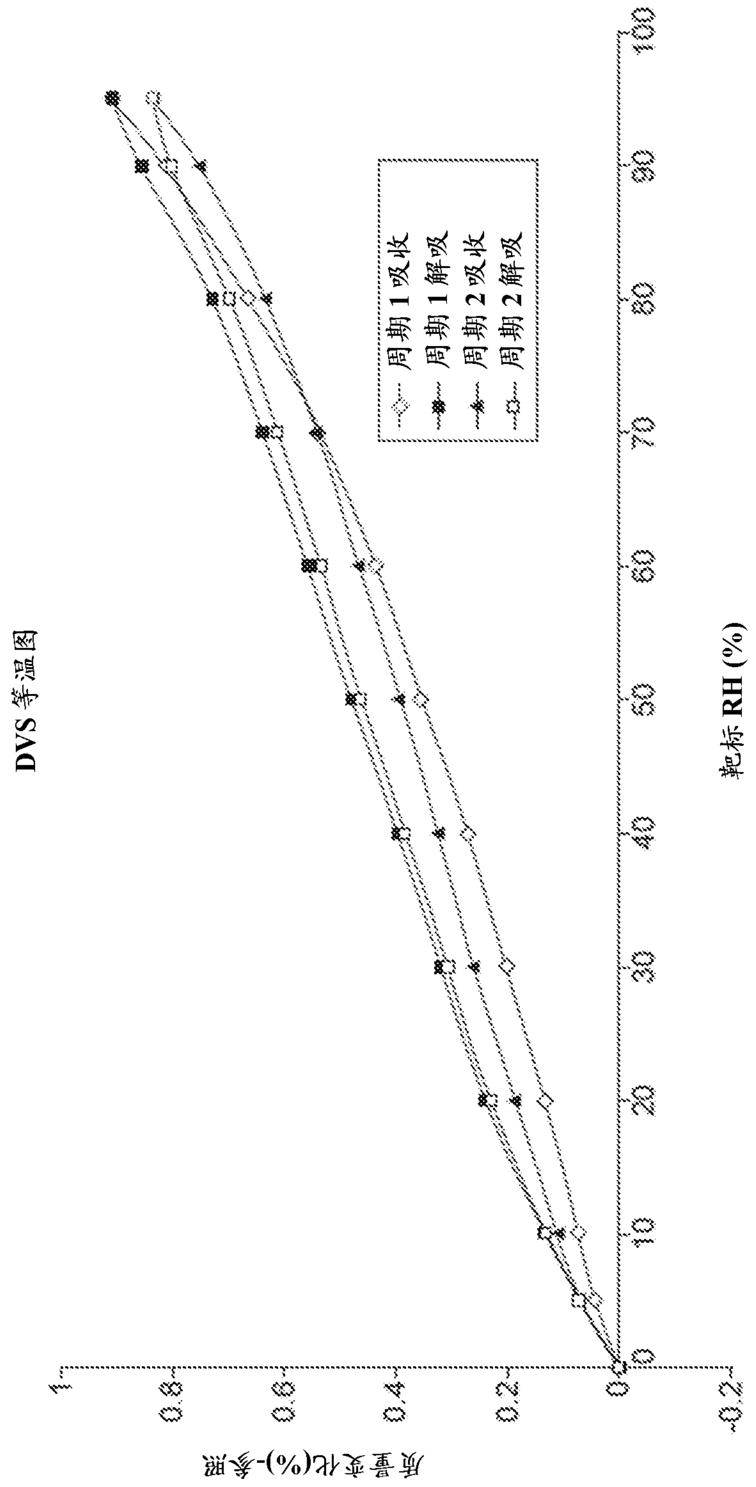

DVS 等温图
周期 1 吸收
周期 1 解吸
周期 2 吸收
周期 2 解吸
靶标 RH (%)
质量变化(%)-参照
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100
-0.2
0
0.2
0.4
0.6
0.8
1

图 13

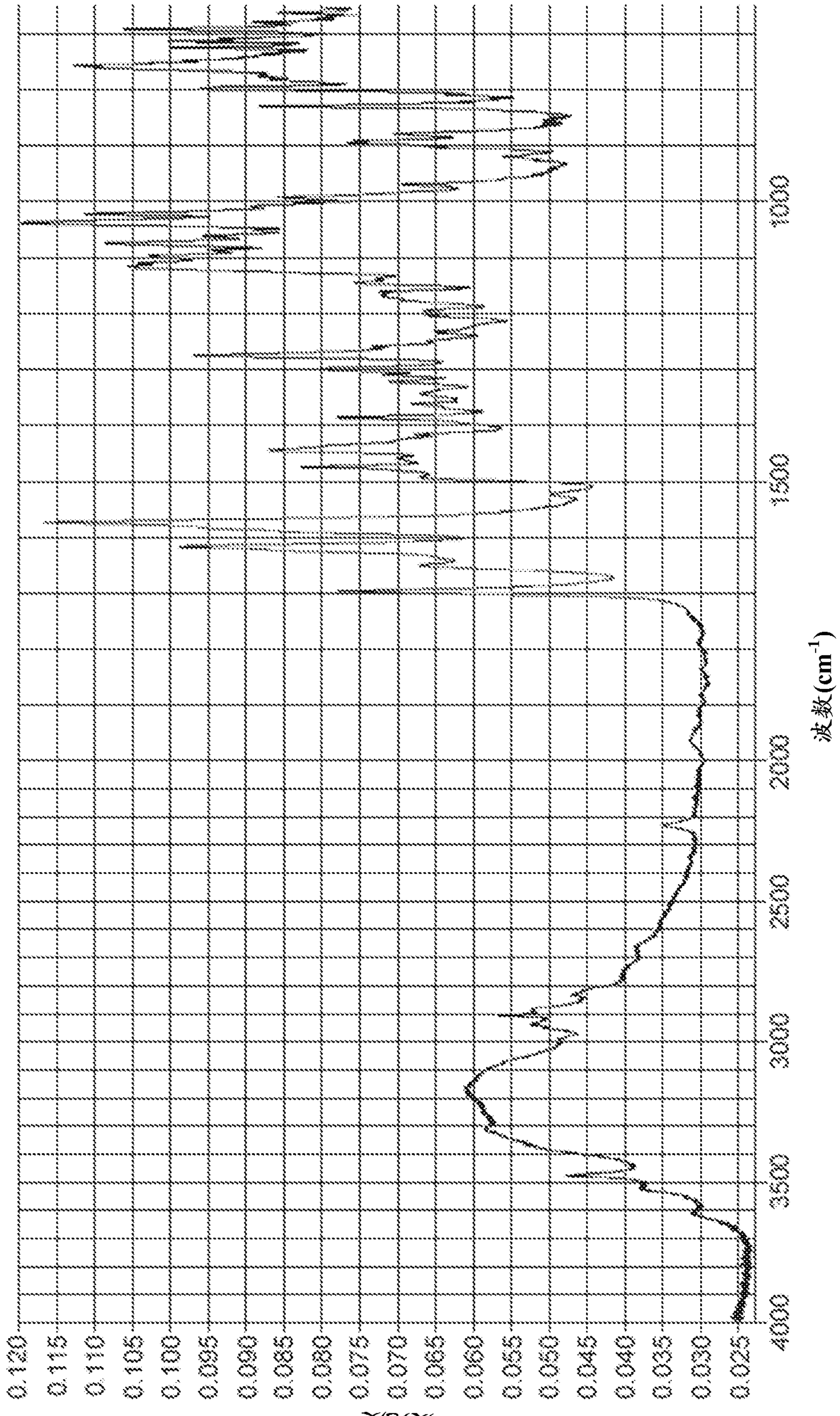

吸光度
0.120
0.115
0.110
0.105
0.100
0.095
0.090
0.085
0.080
0.075
0.070
0.065
0.060
0.055
0.050
0.045
0.040
0.035
0.030
0.025
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000
波数(cm-1)

图 14

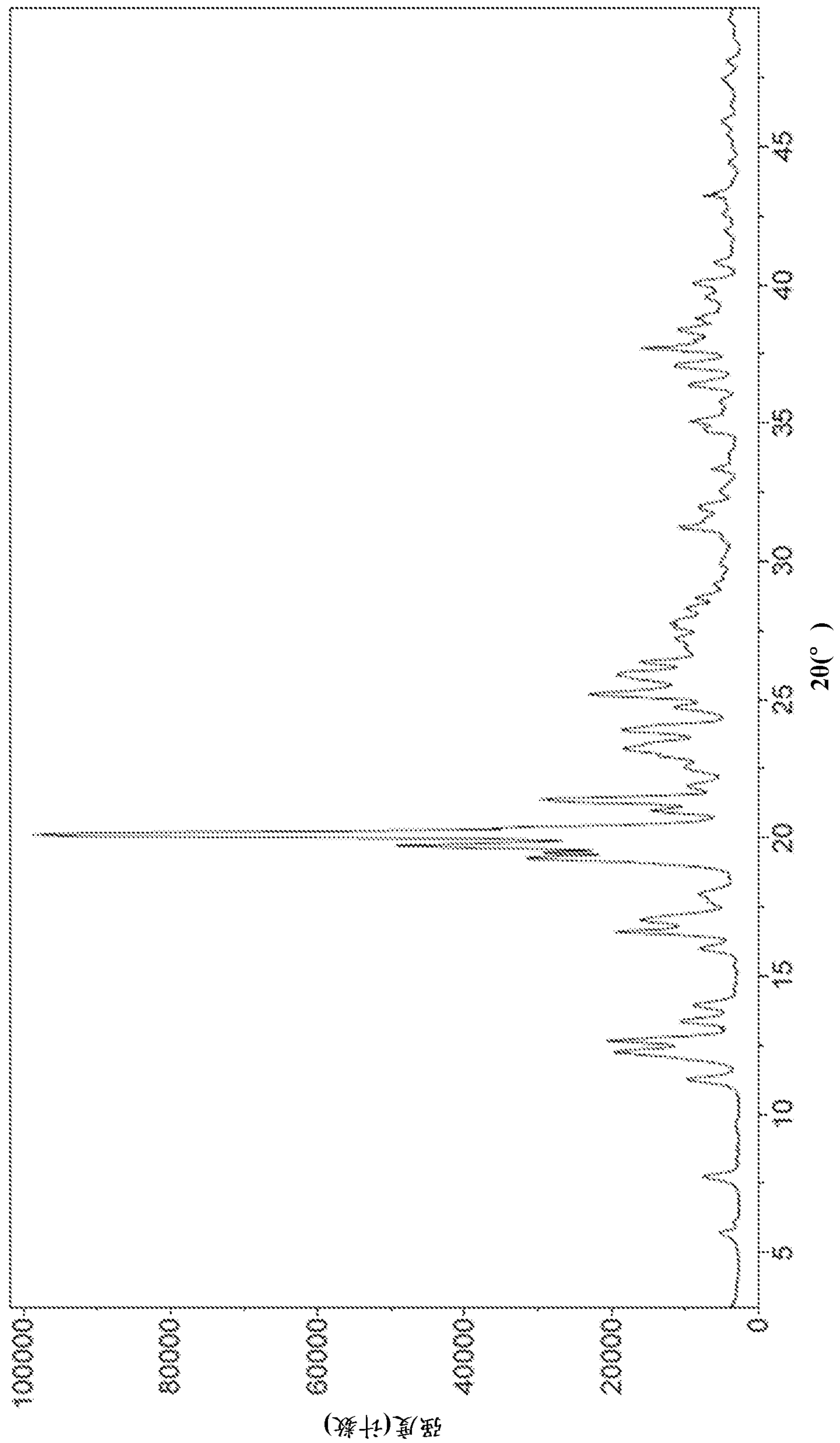

100000
80000
60000
40000
20000
0
强度(计数)
5
10
15
20
25
30
35
40
45
2θ(°)

图 15

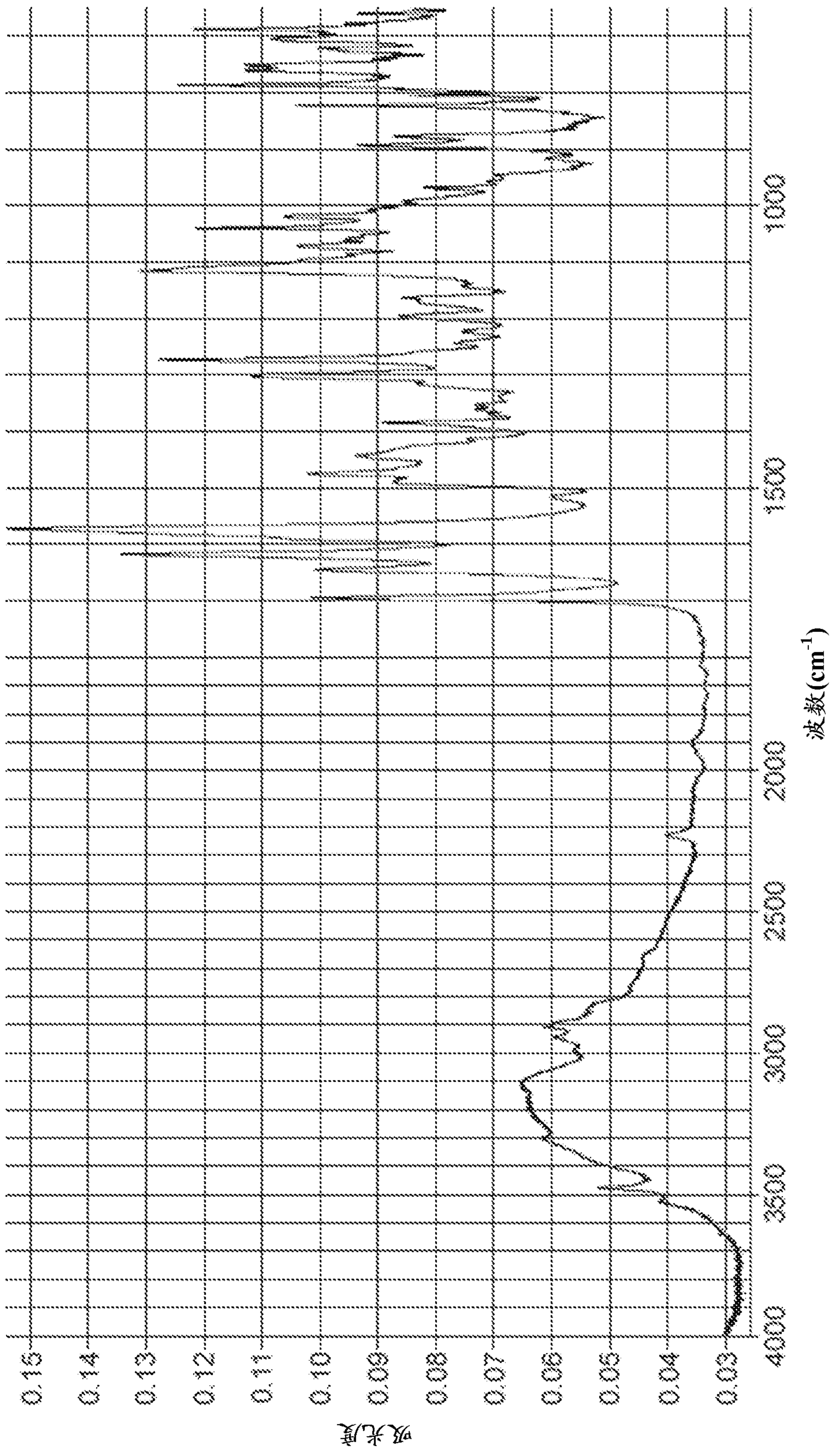

0.15
0.14
0.13
0.12
0.11
0.10
0.09
0.08
0.07
0.06
0.05
0.04
0.03
吸光度
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000
波数(cm-1)

图 16

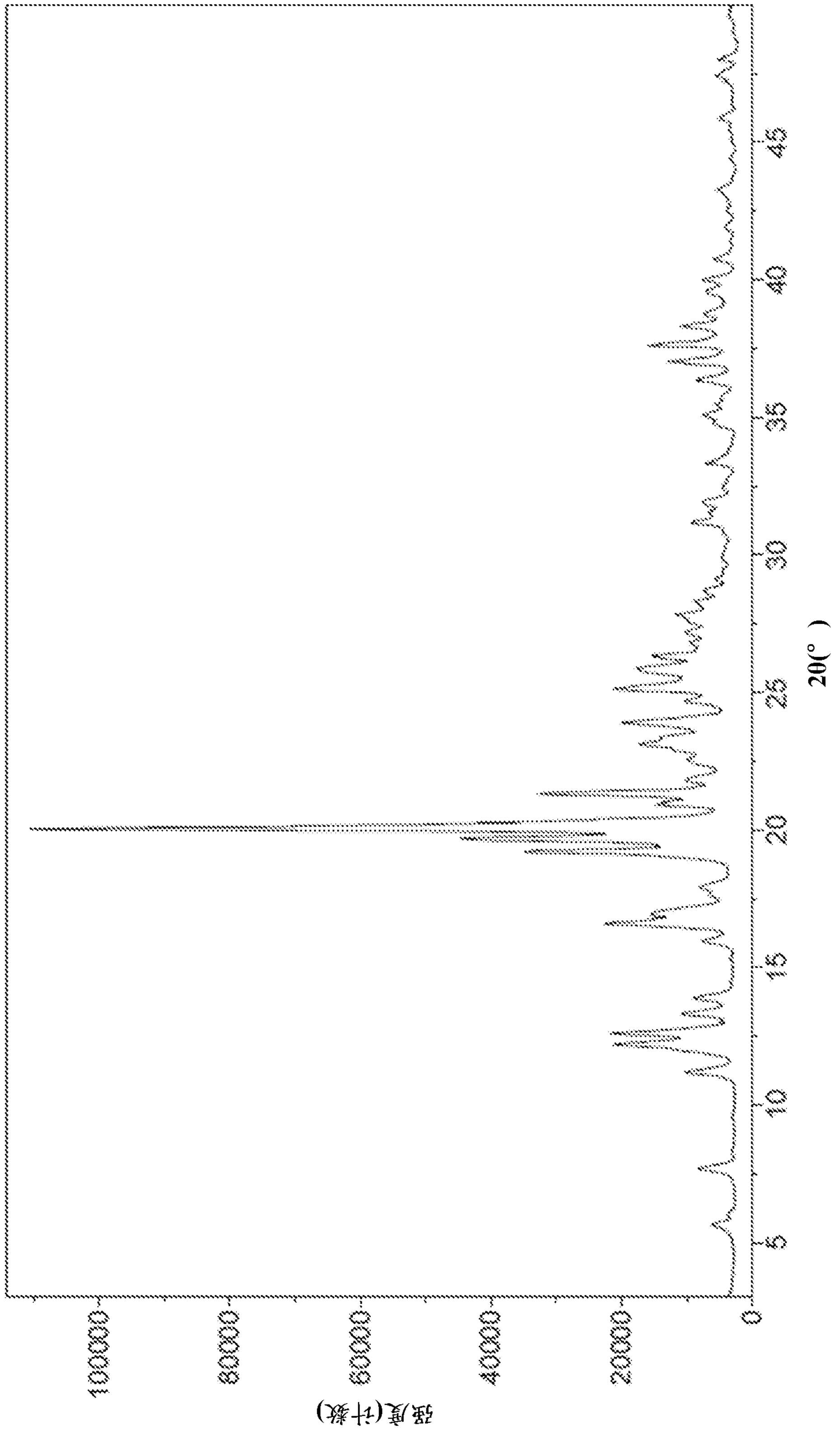

强度(计数)
100000
80000
60000
40000
20000
0
5
10
15
20
25
30
35
40
45
2θ(°)

图 17

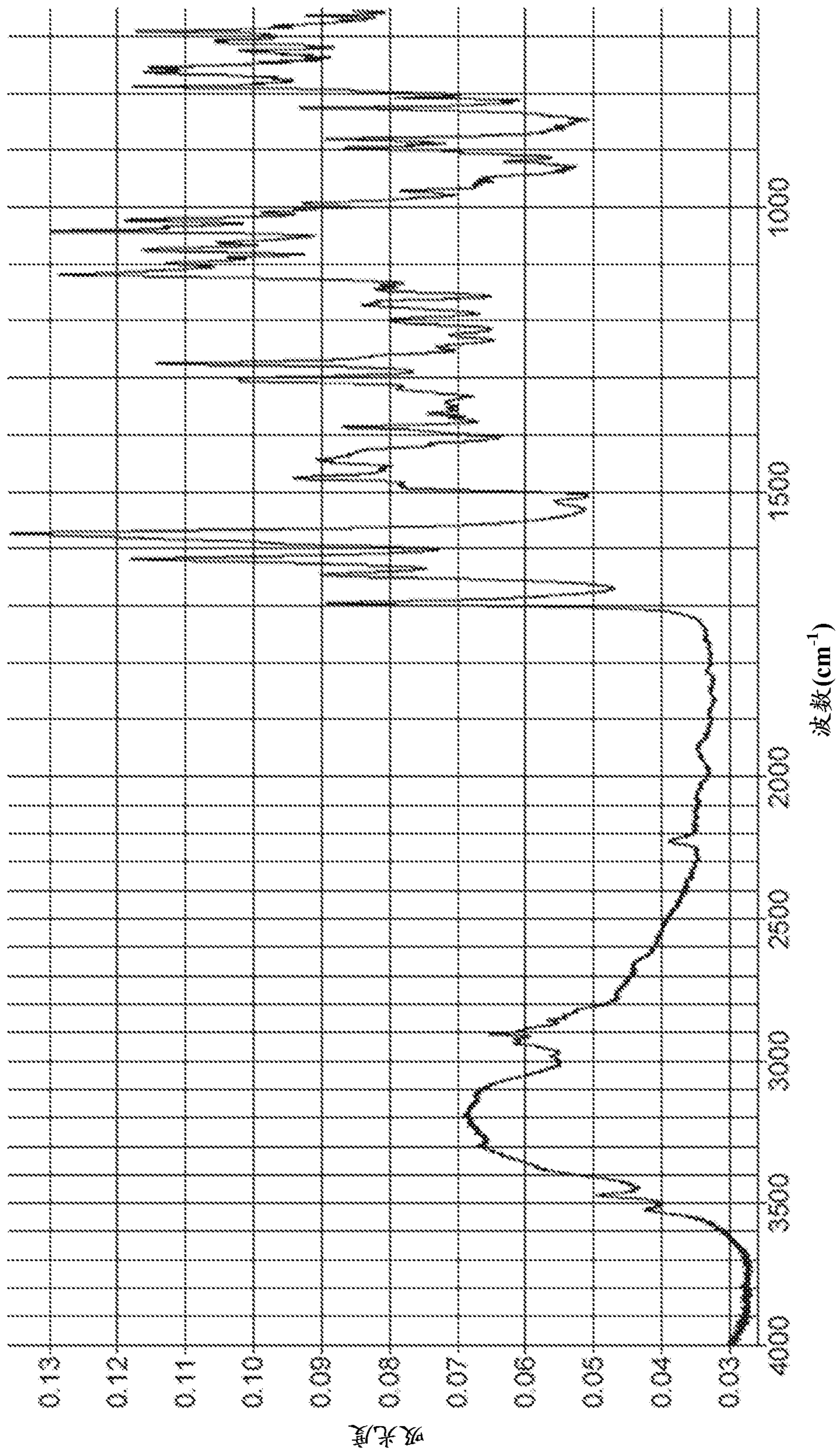

0.13
0.12
0.11
0.10
0.09
0.08
0.07
0.06
0.05
0.04
0.03
吸光度
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000
波数(cm-1)

图 18

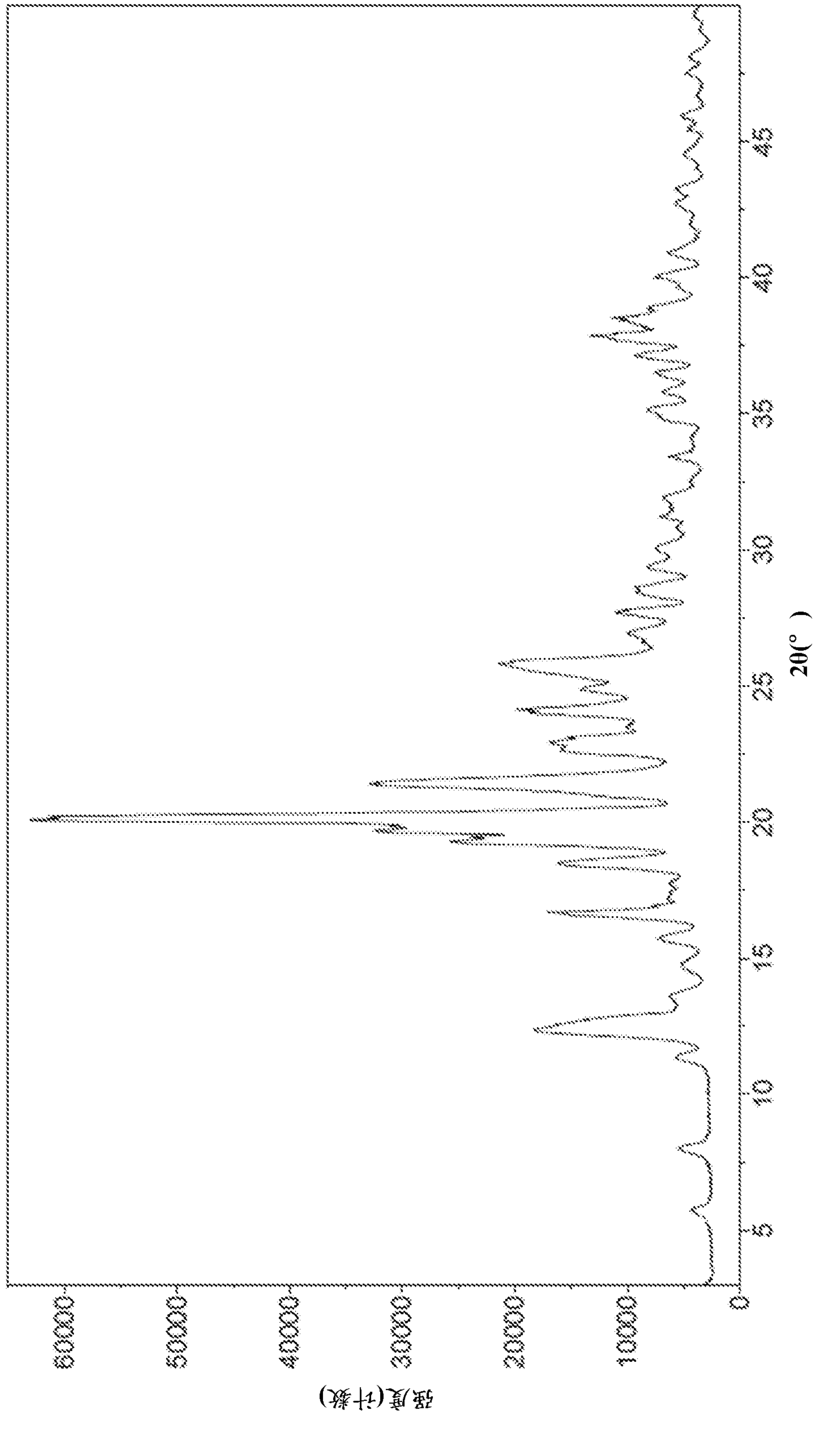

60000
50000
40000
30000
20000
10000
0
强度(计数)
5
10
15
20
25
30
35
40
45
2θ(°)

图 19