



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110325536 A

(43)申请公布日 2019.10.11

(21)申请号 201780086980.3

(22)申请日 2017.12.20

(30)优先权数据

62/437262 2016.12.21 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2019.08.20

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/JP2017/045731 2017.12.20

(87)PCT国际申请的公布数据

W02018/117153 EN 2018.06.28

(71)申请人 日本烟草产业株式会社

地址 日本东京都

(72)发明人 神谷幸宏 下山典昭 大仓隆平

野路悟

(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001

代理人 徐晶 林毅斌

(51)Int.Cl.

C07D 487/10(2006.01)

A61P 17/14(2006.01)

A61P 17/06(2006.01)

A61K 31/407(2006.01)

A61K 31/519(2006.01)

权利要求书4页 说明书39页 附图17页

(54)发明名称

Janus激酶抑制剂的晶体形式

(57)摘要

本发明涉及Janus激酶(JAK)抑制剂3-((3S, 4R)-3-甲基-6-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1,6-二氮杂螺[3.4]辛烷-1-基)-3-氧代丙腈(化合物A)的晶体形式以及其组合物、其制备方法、其使用方法和定量方法。

1. 具有形式β的3-((3S,4R)-3-甲基-6-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1,6-二氮杂螺[3.4]辛烷-1-基)-3-氧代丙腈的晶体形式。

2. 根据权利要求1的晶体形式,其具有包含 2θ (°) 在约11.8处的特征峰的X射线粉末衍射图。

3. 根据权利要求1的晶体形式,其具有包含两个或更多个 2θ (°) 选自约10.5、约11.8、约19.3和约22.0的特征峰的X射线粉末衍射图。

4. 根据权利要求1的晶体形式,其具有包含三个或更多个 2θ (°) 选自约7.8、约10.5、约11.8、约13.4、约13.9、约17.8、约19.3、约22.0、约23.6和约28.0的特征峰的X射线粉末衍射图。

5. 根据权利要求1至4中任一项的晶体形式,其具有其特征在于在约186°C处的吸热峰的DSC热分析图。

6. 根据权利要求1至5中任一项的晶体形式,其具有其特征在于至少一个在约165.1ppm处的峰的固态 ^{13}C NMR光谱。

7. 根据权利要求1至5中任一项的晶体形式,其具有其特征在于至少5个选自约16.5、约25.8、约26.5、约33.1、约34.8、约36.7、约38.8、约48.2、约53.4、约77.7、约79.5、约101.2、约102.6、约117.5、约120.6、约151.1、约154.3和约165.1ppm的峰的固态 ^{13}C NMR光谱。

8. 根据权利要求1至7中任一项的晶体形式,其具有包含以下晶胞参数的空间群P1:

[表1]

a (Å)	8.043
b (Å)	11.371
c (Å)	16.522
α (°)	97.537
β (°)	94.541
γ (°)	90.294

9. 根据权利要求1至8中任一项的晶体形式,其具有至少约50%的纯度。

10. 根据权利要求1至8中任一项的晶体形式,其具有至少约75%的纯度。

11. 根据权利要求1至8中任一项的晶体形式,其具有至少约85%的纯度。

12. 根据权利要求1至8中任一项的晶体形式,其具有至少约90%的纯度。

13. 根据权利要求1至8中任一项的晶体形式,其具有至少约95%的纯度。

14. 具有形式γ的3-((3S,4R)-3-甲基-6-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1,6-二氮杂螺[3.4]辛烷-1-基)-3-氧代丙腈的晶体形式。

15. 根据权利要求14的晶体形式,其具有包含 2θ (°) 在约16.5处的特征峰的X射线粉末衍射图。

16. 根据权利要求14的晶体形式,其具有包含两个或更多个 2θ (°) 选自约16.5、约17.7、约21.4、约21.8和约23.1的特征峰的X射线粉末衍射图。

17. 根据权利要求14的晶体形式,其具有包含三个或更多个 2θ (°) 选自约7.7、约10.6、

约13.3、约13.9、约15.5、约16.5、约17.7、约17.9、约19.0、约21.4、约21.8、约23.1、约23.7和约28.1的特征峰的X射线粉末衍射图。

18. 根据权利要求14至17中任一项的晶体形式,其具有其特征在于在约196°C处的吸热峰的DSC热分析图。

19. 根据权利要求14至18中任一项的晶体形式,其具有其特征在于至少一个在约162.9ppm处的峰的固态¹³C NMR光谱。

20. 根据权利要求14至19中任一项的晶体形式,其具有其特征在于至少5个选自约16.9、约26.5、约32.9、约36.4、约48.1、约53.7、约78.6、约102.6、约116.4、约117.9、约121.5、约151.8、约154.6和约162.9ppm的峰的固态¹³C NMR光谱。

21. 根据权利要求14至20中任一项的晶体形式,其具有包含以下晶胞参数的空间群P2₁:
[表2]

a (Å)	8.095
b (Å)	8.017
c (Å)	11.459
α (°)	90
β (°)	95.663
γ (°)	90

22. 根据权利要求14至21中任一项的晶体形式,其具有至少约50%的纯度。

23. 根据权利要求14至21中任一项的晶体形式,其具有至少约75%的纯度。

24. 根据权利要求14至21中任一项的晶体形式,其具有至少约85%的纯度。

25. 根据权利要求14至21中任一项的晶体形式,其具有至少约90%的纯度。

26. 根据权利要求14至21中任一项的晶体形式,其具有至少约95%的纯度。

27. 制备根据权利要求1至13中任一项的晶体形式的方法,包括使3-((3S,4R)-3-甲基-6-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1,6-二氮杂螺[3.4]辛烷-1-基)-3-氧代丙腈从溶剂结晶。

28. 根据权利要求27的方法,其中所述溶剂包括1-丁醇和乙腈。

29. 根据权利要求28的方法,其中1-丁醇与乙腈的比率为约1:3(v/v)。

30. 通过根据权利要求27至29中任一项的方法制备的晶体形式β。

31. 制备根据权利要求14至26中任一项的晶体形式的方法,包括将3-((3S,4R)-3-甲基-6-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1,6-二氮杂螺[3.4]辛烷-1-基)-3-氧代丙腈形式α转化为形式γ。

32. 根据权利要求31的方法,其包括在二甲基甲酰胺(DMF)中搅拌3-((3S,4R)-3-甲基-6-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1,6-二氮杂螺[3.4]辛烷-1-基)-3-氧代丙腈形式α。

33. 根据权利要求31的方法,其包括在甲酰胺中搅拌3-((3S,4R)-3-甲基-6-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1,6-二氮杂螺[3.4]辛烷-1-基)-3-氧代丙腈形式α。

34. 通过根据权利要求31至33中任一项的方法制备的晶体形式γ。

35. 包含形式α和形式β的晶体3-((3S,4R)-3-甲基-6-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-

1,6-二氮杂螺[3.4]辛烷-1-基)-3-氧代丙腈的组合物。

36. 根据权利要求35的组合物,其基本上由形式 α 和形式 β 组成。

37. 根据权利要求35或36的组合物,其中形式 β 相对于形式 α 以约1至约50%w/w的量存在。

38. 根据权利要求35或36的组合物,其中形式 β 相对于形式 α 以约1至约20%w/w的量存在。

39. 根据权利要求35或36的组合物,其中形式 β 相对于形式 α 以约1至约10%w/w的量存在。

40. 根据权利要求35或36的组合物,其中形式 β 相对于形式 α 以约1至约5%w/w的量存在。

41. 根据权利要求35至40中任一项的组合物,其还包含形式 γ 。

42. 包含形式 β 和形式 γ 的晶体3-((3S,4R)-3-甲基-6-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1,6-二氮杂螺[3.4]辛烷-1-基)-3-氧代丙腈的组合物。

43. 根据权利要求42的组合物,其基本上由形式 β 和形式 γ 组成。

44. 根据权利要求42或43的组合物,其中形式 γ 相对于形式 β 以约1至约50%w/w的量存在。

45. 根据权利要求42或43的组合物,其中形式 γ 相对于形式 β 以约1至约20%w/w的量存在。

46. 根据权利要求42或43的组合物,其中形式 γ 相对于形式 β 以约1至约10%w/w的量存在。

47. 根据权利要求42或43的组合物,其中形式 γ 相对于形式 β 以约1至约5%w/w的量存在。

48. 根据权利要求42至47中任一项的组合物,其还包含形式 α 。

49. 药物组合物,其包含权利要求1至48中任一项的晶体形式或组合物以及药学上可接受的载体。

50. 根据权利要求49的药物组合物,其还包含第二治疗剂。

51. 根据权利要求49或50的药物组合物,其适合于口服、肠胃外、肺部、局部(local)或局部(topical)给药。

52. 根据权利要求49或50的药物组合物,其适合于局部给药。

53. 根据权利要求49或50的药物组合物,其为片剂、胶囊剂、丸剂、粉末剂或软膏剂的形式。

54. 根据权利要求49或50的药物组合物,其为适合于在液体中重构用于IV、IM或SC给药的粉末剂形式。

55. 根据权利要求49或50的药物组合物,其包含白色软石蜡、硬石蜡、角鲨烯或其混合物。

56. 一种抑制Janus激酶的方法,包括使Janus激酶与权利要求1至55中任一项的晶体形式或组合物接触。

57. 根据权利要求56的方法,其中所述Janus激酶是Janus激酶3(JAK3)。

58. 根据权利要求56的方法,其中所述Janus激酶是Janus激酶2(JAK2)。

59. 一种治疗或预防选自器官移植排斥、移植后移植物抗宿主反应、自身免疫疾病、过

敏性疾病和慢性骨髓增生性疾病的疾病的方法,包括给予哺乳动物治疗有效量的权利要求1至55中任一项的晶体形式或组合物。

60. 一种治疗或预防类风湿性关节炎、牛皮癣、斑秃、干眼症、特应性皮炎、湿疹或手部湿疹的方法,包括给予哺乳动物治疗有效量的权利要求1至55中任一项的晶体形式或组合物。

61. 根据权利要求1至55中任一项的晶体形式或组合物,其用作药物活性成分。

62. 根据权利要求1至55中任一项的晶体形式或组合物,其用于治疗或预防器官移植排斥、移植后移植物抗宿主反应、自身免疫疾病、过敏性疾病或慢性骨髓增生性疾病。

63. 根据权利要求1至55中任一项的晶体形式,其用于治疗或预防类风湿性关节炎、牛皮癣、斑秃、干眼症、特应性皮炎、湿疹或手部湿疹。

64. 测定在3-((3S,4R)-3-甲基-6-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1,6-二氮杂螺[3.4]辛烷-1-基)-3-氧代丙腈形式 α 的制备中存在的形式 β 的量的方法,其包括测定形式 β 特有的XRPD峰的峰面积,并将所述峰面积与标准进行比较。

65. 根据权利要求64的方法,其中形式 β 特有的峰出现在约 10.6° 的 2θ 处。

66. 测定在3-((3S,4R)-3-甲基-6-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1,6-二氮杂螺[3.4]辛烷-1-基)-3-氧代丙腈形式 α 的制备中存在的形式 γ 的量的方法,其包括测定形式 γ 特有的XRPD峰的峰面积,并将所述峰面积与标准进行比较。

67. 根据权利要求66的方法,其中形式 γ 特有的峰出现在约 16.6° 的 2θ 处。

Janus激酶抑制剂的晶体形式

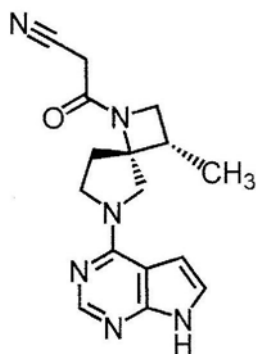
技术领域

[0001] 本发明涉及Janus激酶(JAK)抑制剂3-((3S,4R)-3-甲基-6-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1,6-二氮杂螺[3.4]辛烷-1-基)-3-氧代丙腈(化合物A)的晶体形式以及其组合物、其制备方法、其使用方法和定量方法。

背景技术

[0002] Janus激酶(JAK)抑制剂目前关注于治疗各种疾病,包括自身免疫疾病、炎症疾病和癌症。迄今为止,两种JAK抑制剂已经获得美国食品和药物管理局(FDA)的批准。芦可替尼(Ruxolitinib)已被批准用于治疗原发性骨髓纤维化和真性红细胞增多症(PV),并且托法替尼(tofacitinib)已经批准用于治疗类风湿性关节炎。其他JAK抑制剂也见述于文献中。化合物3-((3S,4R)-3-甲基-6-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1,6-二氮杂螺[3.4]辛烷-1-基)-3-氧代丙腈(化合物A)(参见下面的结构)是美国专利公开No.2011/0136778和国际专利公开No.PCT/JP2016/070046中报道的螺环JAK抑制剂的实例。

[0003] [化学式1]



[0004]

化合物 A

[0005] 药物化合物例如化合物A通常与其他药学上可接受的成分组合以形成适合给予患者的组合物。固体制剂通常要求药物化合物具有可行的固态特征,如对热和湿度的稳定性,易于处理,以及便于制备固体剂型的其他特征。因此,一直需要固体形式的现有药物分子。本文描述的化合物A的晶体形式针对此目的。

[0006] 发明概述

[0007] 本发明尤其涉及3-((3S,4R)-3-甲基-6-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1,6-二氮杂螺[3.4]辛烷-1-基)-3-氧代丙腈(化合物A)的晶体形式β和γ。

[0008] 本发明还涉及包含形式α与形式β或形式γ或两者的组合物。

[0009] 本发明还涉及包含一种或多种本发明的晶体形式或组合物的药物组合物。

[0010] 本发明还涉及制备本发明的晶体形式的方法。

[0011] 本发明还涉及定量本发明的晶体形式的方法。

[0012] 本发明还涉及抑制Janus激酶的方法,包括使本发明的晶体形式与Janus激酶接触。

[0013] 本发明还涉及治疗或预防患者的疾病的方法,包括给予患者治疗有效量的本发明的晶体形式或组合物。

[0014] 本发明还涉及用于预防或治疗的本发明的晶体形式或组合物。

[0015] 本发明还涉及本发明的晶体形式或组合物在制备用于治疗或预防的药物中的用途。

[0016] 附图简述

[0017] [图1]图1描绘了符合形式 α 的XRPD图。

[0018] [图2]图2描绘了符合形式 β 的XRPD图。

[0019] [图3]图3描绘了符合形式 γ 的XRPD图。

[0020] [图4]图4描绘了符合形式 α 的DSC热分析图。

[0021] [图5]图5描绘了符合形式 β 的DSC热分析图。

[0022] [图6]图6描绘了符合形式 γ 的DSC热分析图。

[0023] [图7]图7描绘了符合形式 α 的TG-DTA数据。

[0024] [图8]图8描绘了符合形式 β 的TG-DTA数据。

[0025] [图9]图9描绘了符合形式 γ 的TG-DTA数据。

[0026] [图10]图10描绘了符合形式 α 的固态 ^{13}C NMR数据。

[0027] [图11]图11描绘了符合形式 β 的固态 ^{13}C NMR数据。

[0028] [图12]图12描绘了符合形式 γ 的固态 ^{13}C NMR数据。

[0029] [图13]图13描绘了从包含0、2、5和10%的形式 β 的化合物A的标准样品获得的重叠的XRPD图(参见实施例4)。

[0030] [图14]图14描绘了从包含0、1、2、5和10%的形式 γ 的化合物A的标准样品获得的重叠的XRPD图(参见实施例4)。

[0031] [图15]图15描绘了实施例6中所用化合物A的形式 α 、所用化合物A的形式 β 、搅拌前化合物A的形式 α 和 β 的1:1(重量)混合物、以及搅拌后获得的晶体的XRPD图,从底部往上。

[0032] [图16]图16描绘了实施例7中所用化合物A的形式 α 、所用化合物A的形式 γ 、搅拌前化合物A的形式 α 和 γ 的1:1(重量)混合物、以及搅拌后获得的晶体的XRPD图,从底部往上。

[0033] [图17]图17描绘了实施例8中所用化合物A的形式 γ 、所用化合物A的形式 β 、搅拌前化合物A的形式 β 和 γ 的1:1(重量)混合物、从甲酰胺、从N,N-二甲基甲酰胺、从二甲基亚砷获得的晶体的XRPD图,从底部往上。

[0034] 实施方案描述

[0035] 本发明尤其提供了3-((3S,4R)-3-甲基-6-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1,6-二氮杂螺[3.4]辛烷-1-基)-3-氧代丙腈的晶体形式,其是Janus激酶(JAK)的抑制剂并可用于治疗与Janus激酶上调或过表达相关的各种疾病。在一些实施方案中,本发明的晶体形式抑制JAK3。在一些实施方案中,本发明的晶体形式抑制JAK2。

[0036] 本发明的一个方面如下。

[0037] [第1项]具有形式 β 的3-((3S,4R)-3-甲基-6-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1,6-二氮杂螺[3.4]辛烷-1-基)-3-氧代丙腈的晶体形式。

[0038] [第2项]第1项的晶体形式,其具有包含 2θ ($^\circ$) 在约11.8处的特征峰的X射线粉末衍

射图。

[0039] [第3项]第1项的晶体形式,其具有包含两个或更多个 2θ ($^{\circ}$)选自约10.5、约11.8、约19.3和约22.0的特征峰的X射线粉末衍射图。

[0040] [第4项]第1项的晶体形式,其具有包含三个或更多个 2θ ($^{\circ}$)选自约7.8、约10.5、约11.8、约13.4、约13.9、约17.8、约19.3、约22.0、约23.6和约28.0的特征峰的X射线粉末衍射图。

[0041] [第5项]第1至4项中任一项的晶体形式,其具有其特征在于在约186 $^{\circ}$ C处的吸热峰的DSC热分析图。

[0042] [第6项]第1至5项中任一项的晶体形式,其具有其特征在于至少一个在约165.1ppm处的峰的固态 ^{13}C NMR光谱。

[0043] [第7项]第1至5项中任一项的晶体形式,其具有其特征在于至少5个选自约16.5、约25.8、约26.5、约33.1、约34.8、约36.7、约38.8、约48.2、约53.4、约77.7、约79.5、约101.2、约102.6、约117.5、约120.6、约151.1、约154.3和约165.1ppm的峰的固态 ^{13}C NMR光谱。

[0044] [第8项]第1至7项中任一项的晶体形式,其具有包含以下晶胞参数的空间群P1:

[0045] [表1]

a (\AA)	8.043
b (\AA)	11.371
c (\AA)	16.522
α ($^{\circ}$)	97.537
β ($^{\circ}$)	94.541
γ ($^{\circ}$)	90.294

[0047] [第9项]第1至8项中任一项的晶体形式,其具有至少约50%的纯度。

[0048] [第10项]第1至8项中任一项的晶体形式,其具有至少约75%的纯度。

[0049] [第11项]第1至8项中任一项的晶体形式,其具有至少约85%的纯度。

[0050] [第12项]第1至8项中任一项的晶体形式,其具有至少约90%的纯度。

[0051] [第13项]第1至8项中任一项的晶体形式,其具有至少约95%的纯度。

[0052] [第14项]具有形式 γ 的3-((3S,4R)-3-甲基-6-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1,6-二氮杂螺[3.4]辛烷-1-基)-3-氧代丙腈的晶体形式。

[0053] [第15项]第14项的晶体形式,其具有包含 2θ ($^{\circ}$)在约16.5处的特征峰的X射线粉末衍射图。

[0054] [第16项]第14项的晶体形式,其具有包含两个或更多个 2θ ($^{\circ}$)选自约16.5、约17.7、约21.4、约21.8和约23.1的特征峰的X射线粉末衍射图。

[0055] [第17项]第14项的晶体形式,其具有包含三个或更多个 2θ ($^{\circ}$)选自约7.7、约10.6、约13.3、约13.9、约15.5、约16.5、约17.7、约17.9、约19.0、约21.4、约21.8、约23.1、约23.7和约28.1的特征峰的X射线粉末衍射图。

[0056] [第18项]第14至17项中任一项的晶体形式,其具有其特征在于在约196 $^{\circ}$ C处的吸

热峰的DSC热分析图。

[0057] [第19项]第14至18项中任一项的晶体形式,其具有其特征在于至少一个在约162.9ppm处的峰的固态¹³C NMR光谱。

[0058] [第20项]第14至19项中任一项的晶体形式,其具有其特征在于至少5个选自约16.9、约26.5、约32.9、约36.4、约48.1、约53.7、约78.6、约102.6、约116.4、约117.9、约121.5、约151.8、约154.6和约162.9ppm的峰的固态¹³C NMR光谱。

[0059] [第21项]第14至20项中任一项的晶体形式,其具有包含以下晶胞参数的空间群P2₁:

[0060] [表2]

a (Å)	8.095
b (Å)	8.017
c (Å)	11.459
α (°)	90
β (°)	95.663
γ (°)	90

[0062] [第22项]第14至21项中任一项的晶体形式,其具有至少约50%的纯度。

[0063] [第23项]第14至21项中任一项的晶体形式,其具有至少约75%的纯度。

[0064] [第24项]第14至21项中任一项的晶体形式,其具有至少约85%的纯度。

[0065] [第25项]第14至21项中任一项的晶体形式,其具有至少约90%的纯度。

[0066] [第26项]第14至21项中任一项的晶体形式,其具有至少约95%的纯度。

[0067] [第27项]制备第1至13项中任一项的晶体形式的方法,包括使3-((3S,4R)-3-甲基-6-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1,6-二氮杂螺[3.4]辛烷-1-基)-3-氧代丙腈从溶剂结晶。

[0068] [第28项]第27项的方法,其中所述溶剂包括1-丁醇和乙腈。

[0069] [第29项]第28项的方法,其中1-丁醇与乙腈的比率为约1:3(v/v)。

[0070] [第30项]通过第27至29项中任一项的方法制备的晶体形式β。

[0071] [第31项]制备第14至26项中任一项的晶体形式的方法,包括将3-((3S,4R)-3-甲基-6-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1,6-二氮杂螺[3.4]辛烷-1-基)-3-氧代丙腈形式α转化为形式γ。

[0072] [第32项]第31项的方法,其包括在二甲基甲酰胺(DMF)中搅拌3-((3S,4R)-3-甲基-6-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1,6-二氮杂螺[3.4]辛烷-1-基)-3-氧代丙腈形式α。

[0073] [第33项]第31项的方法,其包括在甲酰胺中搅拌3-((3S,4R)-3-甲基-6-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1,6-二氮杂螺[3.4]辛烷-1-基)-3-氧代丙腈形式α。

[0074] [第34项]通过第31至33项中任一项的方法制备的晶体形式γ。

[0075] [第35项]包含形式α和形式β的晶体3-((3S,4R)-3-甲基-6-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1,6-二氮杂螺[3.4]辛烷-1-基)-3-氧代丙腈的组合物。

[0076] [第36项]第35项的组合物,其基本上由形式α和形式β组成。

- [0077] [第37项] 第35或36项的组合物,其中形式β相对于形式α以约1至约50%w/w的量存在。
- [0078] [第38项] 第35或36项的组合物,其中形式β相对于形式α以约1至约20%w/w的量存在。
- [0079] [第39项] 第35或36项的组合物,其中形式β相对于形式α以约1至约10%w/w的量存在。
- [0080] [第40项] 第35或36项的组合物,其中形式β相对于形式α以约1至约5%w/w的量存在。
- [0081] [第41项] 第35至40项中任一项的组合物,其还包含形式γ。
- [0082] [第42项] 包含形式β和形式γ的晶体3-((3S,4R)-3-甲基-6-(7H-吡咯并[2,3-d]噻啉-4-基)-1,6-二氮杂螺[3.4]辛烷-1-基)-3-氧代丙腈的组合物。
- [0083] [第43项] 第42项的组合物,其基本上由形式β和形式γ组成。
- [0084] [第44项] 第42或43项的组合物,其中形式γ相对于形式β以约1至约50%w/w的量存在。
- [0085] [第45项] 第42或43项的组合物,其中形式γ相对于形式β以约1至约20%w/w的量存在。
- [0086] [第46项] 第42或43项的组合物,其中形式γ相对于形式β以约1至约10%w/w的量存在。
- [0087] [第47项] 第42或43项的组合物,其中形式γ相对于形式β以约1至约5%w/w的量存在。
- [0088] [第48项] 第42至47项中任一项的组合物,其还包含形式α。
- [0089] [第49项] 药物组合物,其包含第1至48项中任一项的晶体形式或组合物以及药学上可接受的载体。
- [0090] [第50项] 第49项的药物组合物,其还包含第二治疗剂。
- [0091] [第51项] 第49或50项的药物组合物,其适合于口服、肠胃外、肺部、局部(local)或局部(topical)给药。
- [0092] [第52项] 第49或50项的药物组合物,其适合于局部给药。
- [0093] [第53项] 第49或50项的药物组合物,其为片剂、胶囊剂、丸剂、粉末剂或软膏剂的形式。
- [0094] [第54项] 第49或50项的药物组合物,其为适合于在液体中重构用于IV、IM或SC给药的粉末剂形式。
- [0095] [第55项] 第49或50项的药物组合物,其包含白色软石蜡、硬石蜡、角鲨烯或其混合物。
- [0096] [第56项] 一种抑制Janus激酶的方法,包括使Janus激酶与第1至55中任一项的晶体形式或组合物接触。
- [0097] [第57项] 第56项的方法,其中所述Janus激酶是Janus激酶3(JAK3)。
- [0098] [第58项] 第56项的方法,其中所述Janus激酶是Janus激酶2(JAK2)。
- [0099] [第59项] 一种治疗或预防选自器官移植排斥、移植后移植物抗宿主反应、自身免疫疾病、过敏性疾病和慢性骨髓增生性疾病的疾病的方法,包括给予哺乳动物治疗有效量

的第1至55项中任一项的晶体形式或组合物。

[0100] [第60项]一种治疗或预防类风湿性关节炎、牛皮癣、斑秃、干眼症、特应性皮炎、湿疹或手部湿疹的方法,包括给予哺乳动物治疗有效量的第1至55中任一项的晶体形式或组合物。

[0101] [第61项]第1至55项中任一项的晶体形式或组合物,其用作药物活性成分。

[0102] [第62项]第1至55项中任一项的晶体形式或组合物,其用于治疗或预防器官移植排斥、移植后移植物抗宿主反应、自身免疫疾病、过敏性疾病或慢性骨髓增生性疾病。

[0103] [第63项]第1至55项中任一项的晶体形式,其用于治疗或预防类风湿性关节炎、牛皮癣、斑秃、干眼症、特应性皮炎、湿疹或手部湿疹。

[0104] [第64项]测定在3-((3S,4R)-3-甲基-6-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1,6-二氮杂螺[3.4]辛烷-1-基)-3-氧代丙腈形式 α 的制备中存在的形式 β 的量的方法,其包括测定形式 β 特有的XRPD峰的峰面积,并将所述峰面积与标准进行比较。

[0105] [第65项]第64项的方法,其中形式 β 特有的峰出现在约 10.6° 的 2θ 处。

[0106] [第66项]测定在3-((3S,4R)-3-甲基-6-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1,6-二氮杂螺[3.4]辛烷-1-基)-3-氧代丙腈形式 α 的制备中存在的形式 γ 的量的方法,其包括测定形式 γ 特有的XRPD峰的峰面积,并将所述峰面积与标准进行比较。

[0107] [第67项]第66项的方法,其中形式 γ 特有的峰出现在约 16.6° 的 2θ 处。

[0108] 如本文所用,“晶体形式”是指晶体物质的某种晶格构型。相同物质的不同晶体形式通常具有不同的晶格(例如,晶胞)和归因于它们的不同晶格的不同物理性质,并且在一些情况下,具有不同的水或溶剂含量。不同的晶格可以通过固态表征方法鉴定,如通过X射线粉末衍射(XRPD)。其他表征方法如差示扫描量热法(DSC)、热重分析(TGA)、动态蒸气吸附(DVS)、固态NMR等进一步有助于鉴定晶体形式以及帮助确定稳定性和溶剂/水含量。

[0109] 特定物质的不同晶体形式可包括该物质的无水形式和该物质的溶剂化/水合形式,其中每种无水形式和溶剂化/水合形式通过不同的XRPD图彼此区分,从而表示不同的晶格。在一些情况下,单晶形式(例如,通过独特的XRPD图鉴定)可具有可变的水或溶剂含量,其中晶格保持基本不变(XRPD图也一样),尽管在水和/或溶剂组成方面有变化。

[0110] 反射的XRPD图(峰)通常被认为是特定晶体形式的指纹。众所周知,XRPD峰的相对强度可以尤其根据样品制备技术、晶体尺寸分布、样品安装程序和所用的特定仪器而变化。在某些情况下,可能观察到新峰,或者已有的峰可能消失,取决于机器的类型或设置(例如,是否使用Ni过滤器)。此外,仪器变化和其他因素会影响 2θ 值。因此,峰值分配,如本文报道的那些,可以变化 $\pm 0.2^\circ$ 、 $\pm 0.1^\circ$ 或 $\pm 0.04^\circ$ (2θ),并且在本文的XRPD的上下文中使用的术语“基本上”意味着包括上述变化。

[0111] 同样,与DSC、TGA或其他热实验相关的温度读数可以变化约 $\pm 3^\circ\text{C}$,取决于仪器、具体设置、样品制备等。因此,温度值,如本文报道的那些,可以变化 $\pm 3^\circ\text{C}$,并且本文报道的具有“基本上”如图中任一个中所示的DSC热分析图或其他热分析图的晶体形式被理解为适应这样的变化。

[0112] 另外,在 ^{13}C NMR光谱中化学位移可以变化 $\pm 0.2\text{ppm}$,并且在本文的NMR数据的上下文中使用的术语“基本上”意味着包括这种变化。

[0113] 形式 β

[0114] 本发明提供了具有形式β的3-((3S,4R)-3-甲基-6-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1,6-二氮杂螺[3.4]辛烷-1-基)-3-氧代丙腈(化合物A)的晶体形式。认为对应于形式β的晶体形式是无水的,如通过例如DSC和TG-DTA所证明(参见实施例2)。在一些实施方案中,形式β具有包含 2θ (°)在约11.8处的特征峰的X射线粉末衍射图。在进一步的实施方案中,形式β具有包含两个或更多个 2θ (°)选自约10.5、约11.8、约19.3和约22.0的特征峰的X射线粉末衍射图。在更进一步的实施方案中,形式β具有包含三个或更多个 2θ (°)选自约7.8、约10.5、约11.8、约13.4、约13.9、约17.8、约19.3、约22.0、约23.6和约28.0的特征峰的X射线粉末衍射图。在更进一步的实施方案中,形式β具有包含 2θ (°)选自表2-1中列出任何峰的三个或更多个特征峰的X射线粉末衍射图(参见实施例2)。在更进一步的实施方案中,形式β具有基本上如图2中所示的XRPD图。

[0115] 在一些实施方案中,形式β具有其特征在于在约186°C处的吸热峰的DSC热分析图。在一些实施方案中,形式β具有其特征在于外推起始温度在约185°C处的DSC热分析图。在更进一步的实施方案中,形式β具有基本上如图5中所示的DSC热分析图。

[0116] 在一些实施方案中,形式β具有其特征在于至少一个在约165.1ppm处的峰的固态 ^{13}C NMR光谱。在进一步的实施方案中,形式β具有其特征在于至少5个选自约16.5、约25.8、约26.5、约33.1、约34.8、约36.7、约38.8、约48.2、约53.4、约77.7、约79.5、约101.2、约102.6、约117.5、约120.6、约151.1、约154.3和约165.1ppm的峰的固态 ^{13}C NMR光谱。在更进一步的实施方案中,形式β具有基本上如图11中所示的 ^{13}C NMR光谱。

[0117] 在一些实施方案中,形式β具有包含以下晶胞参数的空间群P1:

[0118] [表3]

[0119]

a (Å)	8.043
b (Å)	11.371
c (Å)	16.522
α (°)	97.537
β (°)	94.541
γ (°)	90.294

[0120] 如通过单晶X射线衍射确定(参见实施例5)。

[0121] 形式β可具有至少约50%、至少约75%、至少约85%、至少约90%或至少约95%的纯度水平。在一些实施方案中,形式β基本上是纯的。

[0122] 形式β可以通过使3-((3S,4R)-3-甲基-6-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1,6-二氮杂螺[3.4]辛烷-1-基)-3-氧代丙腈(化合物A)从溶剂结晶来制备。例如,化合物A(例如,作为形式α)可以与溶剂组合以形成溶液或浆液,由该溶液或浆液获得形式β的晶体。在一些实施方案中,溶剂包括腈如乙腈,或1-丁醇和乙腈的混合物。在一些实施方案中,溶剂分别包含约1:3(v/v)的1-丁醇和乙腈。在一些实施方案中,化合物A可与溶剂组合并加热至约30至约50°C的温度。在一些实施方案中,可将混合物加热至约35至约45°C,或至约40°C。在加热之后,可以将混合物冷却,如冷却至约室温(例如约23°C),以提供形式β的晶体产物。

[0123] 本发明进一步提供了通过任何一种上述方法制备的形式 β 。

[0124] 形式 γ

[0125] 本发明还提供了具有形式 γ 的3-((3S,4R)-3-甲基-6-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1,6-二氮杂螺[3.4]辛烷-1-基)-3-氧代丙腈(化合物A)的晶体形式。认为对应于形式 γ 的晶体形式是无水的,如通过例如DSC和TG-DTA所证明(参见实施例3)。在一些实施方案中,形式 γ 具有包含 2θ ($^\circ$)在约16.5处的特征峰的X射线粉末衍射图。在进一步的实施方案中,形式 γ 具有包含两个或更多个 2θ ($^\circ$)选自约16.5、约17.7、约21.4、约21.8和约23.1的特征峰的X射线粉末衍射图。在更进一步的实施方案中,形式 γ 具有包含三个或更多个 2θ ($^\circ$)选自约7.7、约10.6、约13.3、约13.9、约15.2、约16.5、约17.7、约17.9、约19.0、约21.4、约21.8、约23.1、约23.7和约28.1的特征峰的X射线粉末衍射图。在更进一步的实施方案中,形式 γ 具有包含 2θ ($^\circ$)选自表3-1中列出任何峰的三个或更多个特征峰的X射线粉末衍射图(参见实施例3)。在更进一步的实施方案中,形式 γ 具有基本上如图3中所示的XRPD图。

[0126] 在一些实施方案中,形式 γ 具有其特征在在于在约196 $^\circ\text{C}$ 处的吸热峰的DSC热分析图。在一些实施方案中,形式 γ 具有其特征在在于外推起始温度在约196 $^\circ\text{C}$ 处的DSC热分析图。在更进一步的实施方案中,形式 γ 具有基本上如图6中所示的DSC热分析图。

[0127] 在一些实施方案中,形式 γ 具有其特征在在于至少一个在约162.9ppm处的峰的固态 ^{13}C NMR光谱。在进一步的实施方案中,形式 γ 具有其特征在在于至少5个选自约16.9、约26.5、约32.9、约36.4、约48.1、约53.7、约78.6、约102.6、约116.4、约117.9、约121.5、约151.8、约154.6和约162.9ppm的峰的固态 ^{13}C NMR光谱。在更进一步的实施方案中,形式 γ 具有基本上如图11中所示的 ^{13}C NMR光谱。

[0128] 在一些实施方案中,形式 γ 具有包含以下晶胞参数的空间群 $P2_1$:

[0129] [表4]

a (\AA)	8.095
b (\AA)	8.017
c (\AA)	11.459
α ($^\circ$)	90
β ($^\circ$)	95.663
γ ($^\circ$)	90

[0130]

[0131] 如通过单晶X射线衍射测定(参见实施例5)。

[0132] 形式 γ 可具有至少约50%、至少约75%、至少约85%、至少约90%或至少约95%的纯度水平。在一些实施方案中,形式 γ 基本上是纯的。

[0133] 形式 γ 可以通过将3-((3S,4R)-3-甲基-6-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1,6-二氮杂螺[3.4]辛烷-1-基)-3-氧代丙腈的形式 α 转化为形式 γ 来制备。转化可以例如通过在二甲基甲酰胺(DMF)中搅拌形式 α 来进行。搅拌可以在例如室温下进行。或者,可以通过将化合物A与甲酰胺混合并加入形式 γ 晶种来制备形式 γ 。制备可以在室温下和任选的惰性气氛如氮气下进行。

[0134] 本发明进一步提供了通过上述任何一种方法制备的形式 γ 。

[0135] 组合物

[0136] 除了形式 β 和 γ 之外, 化合物A还可以作为无晶体形式 α 制备和获得, 这在实施例1中描述。因此, 本发明提供了化合物A的形式 α 、 β 和 γ 中的两种或更多种的混合物。

[0137] 在一些实施方案中, 本发明提供了包含形式 α 和形式 β 两者的晶体3-((3S, 4R)-3-甲基-6-(7H-吡咯并[2, 3-d] 嘧啶-4-基)-1, 6-二氮杂螺[3. 4] 辛烷-1-基)-3-氧代丙腈(化合物A) 的组合物。在一些实施方案中, 形式 β 相对于形式 α 以约1至约50%w/w的量存在。在进一步的实施方案中, 形式 β 相对于形式 α 以约1至约20%w/w的量存在。在更进一步的实施方案中, 形式 β 相对于形式 α 以约1至约10%w/w的量存在。并且在更进一步的实施方案中, 形式 β 相对于形式 α 以约1至约5%w/w的量存在。在一些实施方案中, 组合物包含形式 α 和形式 β 并且基本上不含化合物A的其他晶体形式。在进一步的实施方案中, 包含形式 α 和形式 β 的组合物还包含形式 γ 。在一些实施方案中, 组合物基本上由形式 α 和形式 β 组成。

[0138] 另外, 本发明提供了包含形式 β 和形式 γ 两者的晶体3-((3S, 4R)-3-甲基-6-(7H-吡咯并[2, 3-d] 嘧啶-4-基)-1, 6-二氮杂螺[3. 4] 辛烷-1-基)-3-氧代丙腈(化合物A) 的组合物。在一些实施方案中, 形式 γ 相对于形式 β 以约1至约50%w/w的量存在。在进一步的实施方案中, 形式 γ 相对于形式 β 以约1至约20%w/w的量存在。在更进一步的实施方案中, 形式 γ 相对于形式 β 以约1至约10%w/w的量存在。并且在更进一步的实施方案中, 形式 γ 相对于形式 β 以约1至约5%w/w的量存在。在一些实施方案中, 组合物包含形式 β 和形式 γ 并且基本上不含化合物A的其他晶体形式。在进一步的实施方案中, 包含形式 β 和形式 γ 的组合物还包含形式 α 。在一些实施方案中, 组合物基本上由形式 β 和形式 γ 组成。

[0139] 本发明还提供了包含形式 β 或形式 γ 和一种或多种其他物质的组合物。在一些实施方案中, 组合物包含至少约50%, 至少约70%, 至少约80%, 至少约90%, 至少约95%, 至少约97%, 至少约98%, 或至少约99%重量的形式 β 或形式 γ 。

[0140] 分析方法

[0141] 本发明提供了一种确定形式 α 的制备中存在的形式 β 的量的方法, 包括测定形式 β 特有的XRPD峰的峰面积, 并将所述峰面积与标准进行比较。在一些实施方案中, 形式 β 特有的峰出现在约 10.6° 的 2θ 处。标准可以从已知量的形式 α 中的形式 β 的峰面积计算的标准曲线。类似地, 本发明提供了测定形式 α 的制备中存在的形式 γ 的量的方法, 包括测定形式 γ 特有的XRPD峰的峰面积, 并将所述峰面积与标准进行比较。在一些实施方案中, 形式 γ 特有的峰出现在约 16.6° 的 2θ 处。标准可以从已知量的形式 α 中的形式 γ 的峰面积计算的标准曲线。

[0142] 药物组合物和用途

[0143] 本发明的晶体形式可以制备为药物组合物, 所述药物组合物包含本发明的晶体形式或本发明的组合物以及至少一种药学上可接受的载体(或赋形剂)。在一个实施方案中, 药物组合物适合于口服、肠胃外、肺部、局部(local)或局部(topical)给药。在一些实施方案中, 药物组合物是口服制剂的形式, 如片剂、胶囊剂、颗粒剂、粉末剂、锭剂、糖浆剂、乳液剂、混悬液或肠胃外制剂如外用制剂、栓剂、注射剂、滴剂、鼻用药物、肺部用药物。在一些实施方案中, 药物组合物适合局部施用, 如软膏。

[0144] 本发明的药物组合物可以根据药物制剂领域中的已知方法以适当的量将一种或

多种本发明的晶体形式或本发明的组合物与至少一种或多种药学上可接受的载体混合来制备。药物组合物中化合物A的量取决于其剂型、剂量等,并且可以是例如组合物重量的约0.1至100%。本发明的药物组合物可以是例如片剂、胶囊剂、丸剂、粉末剂或软膏的形式。在一些实施方案中,本发明的药物组合物可以是适合于在液体中重构用于静脉内(IV)、肌肉内(IM)或皮下(SC)给药的粉末形式。另外,本发明的药物组合物还可包含第二治疗剂。

[0145] “药学上可接受的载体”包括用于药物材料的各种常规有机或无机载体物质,例如稀释剂、崩解剂、粘合剂、流化剂和润滑剂(用于固体制剂),溶剂、增溶剂、悬浮剂、张力剂、缓冲剂和舒缓剂(用于液体制剂),以及碱、乳化剂、保湿剂、稳定剂(stabilizer)、稳定剂(stabilizing agent)、分散剂、增塑剂、pH调节剂、吸收促进剂、胶凝剂、消毒剂、填充剂、溶剂(resolvent)、增溶剂和悬浮剂(用于半固体制剂)。此外,如果需要,可以使用包括防腐剂、抗氧化剂、着色剂和甜味剂的添加剂。

[0146] 稀释剂的实例包括乳糖、蔗糖、D-甘露醇、D-山梨糖醇、玉米淀粉、糊精、微晶纤维素、晶体纤维素、羧甲基纤维素、羧甲基纤维素钙、羧甲基淀粉钠、低取代羟丙基纤维素、阿拉伯树胶等。

[0147] 崩解剂的实例包括羧甲基纤维素、羧甲基纤维素钙、羧甲基纤维素钠、羧甲基淀粉钠、交联羟甲基纤维素钠、交聚维酮、低取代的羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、晶体纤维素等。

[0148] 粘合剂的实例包括羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、聚维酮、晶体纤维素、蔗糖、糊精、淀粉、明胶、羧甲基纤维素钠、阿拉伯树胶等。

[0149] 流化剂的实例包括轻质无水硅酸、硬脂酸镁等。

[0150] 润滑剂的实例包括硬脂酸镁、硬脂酸钙、滑石等。

[0151] 溶剂介质的实例包括纯净水、乙醇、丙二醇、聚乙二醇、芝麻油、玉米油、橄榄油等。

[0152] 增溶剂的实例包括丙二醇、D-甘露糖醇、苯甲酸苄酯、乙醇、三乙醇胺、碳酸钠、柠檬酸钠等。

[0153] 悬浮剂的实例包括苯扎氯铵、羧甲基纤维素、羟丙基纤维素、丙二醇、聚维酮、甲基纤维素、单硬脂酸甘油酯等。

[0154] 张力剂的实例包括葡萄糖、D-山梨糖醇、氯化钠、D-甘露醇等。

[0155] 缓冲剂的实例包括磷酸氢钠、乙酸钠、碳酸钠、柠檬酸钠等。

[0156] 舒缓剂的实例包括苯甲醇等。

[0157] 防腐剂的实例包括对羟基苯甲酸乙酯、氯丁醇、苯甲醇、脱氢乙酸钠、山梨酸等。

[0158] 抗氧化剂的实例包括亚硫酸钠、抗坏血酸等。

[0159] 着色剂的实例包括食用染料(例如,食品红2号或3号、食品黄4号或5号等)、 β -胡萝卜素等。

[0160] 甜味剂的实例包括糖精钠、甘草酸二钾、阿斯巴甜等。

[0161] 本发明的药物组合物可以治疗有效量口服或肠胃外(例如,局部、直肠、静脉内等)给予患者如非人哺乳动物(例如,小鼠、大鼠、仓鼠、豚鼠、兔、猫、狗、猪、奶牛、马、绵羊、猴等)或人用于治疗或预防疾病。术语“哺乳动物”意在包括人和非人哺乳动物受试者二者。药物组合物的剂量取决于受试者、疾病、病症、剂型、给药途径。口服给予患有器官移植排斥、移植后移植物抗宿主反应、自身免疫疾病或过敏性疾病等的成年患者(体重:约60kg)的剂

量可以是例如每天约1mg至1g。该剂量可以一次给药或以几个分剂量给药。

[0162] 对于局部用药物组合物,载体(或稀释剂)可包含白色软石蜡、硬石蜡、角鲨烯或其组合。白色软石蜡、硬石蜡和角鲨烷可分别地以70至90重量%、5至10重量%和5至20重量%的共混比组合。一个示例性的制剂包含化合物A、白色软石蜡、 $5 \pm 2\%$ 重量的硬石蜡和 $10 \pm 2\%$ 重量的角鲨烷。

[0163] 局部用药剂可以例如通过施用、涂擦或喷雾施用,这取决于剂型等。可以根据活性成分的含量等选择局部用药剂对受影响区域的施用量,并且,局部用药剂可以例如每天施用一次或以几个分开量施用。在一些实施方案中,每天施用一次或每天施用两次。

[0164] 药物组合物可以根据可接受的药学程序制备,例如Remingtons Pharmaceutical Sciences,第17版,Alfonoso R.Gennaro编辑,Mack Publishing Company,Easton,PA (1985)中描述的那些,该文献通过引用整体并入本文。

[0165] 本发明的晶体形式可用于抑制Janus激酶(例如抑制JAK3、JAK2或两者)的方法,包括使本发明的晶体形式与Janus激酶抑制剂接触。该接触可以在体外或体内发生。

[0166] 本发明的晶体形式或组合物可用作治疗或预防患者的一种或多种以下疾病的方法中的活性成分:

[0167] (a) 器官移植排斥或移植后移植物抗宿主反应;

[0168] (b) 自身免疫疾病,包括类风湿性关节炎、牛皮癣、银屑病关节炎、多发性硬化症、溃疡性结肠炎、克罗恩病、系统性红斑狼疮、I型糖尿病、重症肌无力、Castleman's病、幼年特发性关节炎、干眼症;和

[0169] (c) 过敏性疾病包括哮喘、特应性皮炎、鼻炎。

[0170] 在一些实施方案中,本发明的晶体形式可用作类风湿性关节炎、牛皮癣、斑秃、干眼症、特应性皮炎、湿疹或手部湿疹的治疗或预防剂的活性成分。

[0171] 本发明的晶体形式可用作慢性骨髓增生性疾病的治疗或预防剂的活性成分,所述慢性骨髓增生性疾病包括真性红细胞增多症、原发性骨髓纤维化、原发性血小板增多症等。

[0172] 本文所用的术语化合物的“治疗有效量”是指足以治愈、缓解或部分阻止给定疾病及其并发症的临床表现的量。足以实现此目的的量被定义为“治疗有效量”。对于每种目的的有效量将取决于疾病或损伤的严重性以及受试者的体重和一般状态。

[0173] 本文所用的术语“治疗”包括改善症状、预防加重、维持缓解、预防恶化和预防复发。术语“治疗”还可以包括延迟疾病、病症或病况的进展,症状和并发症的改善、缓解或减轻,和/或疾病、病症或病况的治愈或消除。

[0174] 术语“治疗”还可以指出于对抗疾病、病症或病况的目的对患者的管理和护理。

[0175] 术语“预防”是指抑制症状的发生。

[0176] 联合治疗

[0177] 本发明的晶体形式可以与治疗有效量的一种或多种另外的治疗剂联合给予患者。本发明的晶体形式可以与另外的治疗剂同时(例如,一起)给予(例如,以单一固定剂型或分开的剂型)。类似地,本发明的晶体形式和另外的治疗剂可以依次给予患者。例如,在本发明的晶体形式发挥其治疗效果的同时施用另外的治疗剂,反之亦然。

[0178] 为了可以更有效地理解本文公开的发明,下面提供了实施例。应该理解的是,这些实施例仅用于说明目的,不应被解释为以任何方式限制本发明。

实施例

[0179] 实施例1

[0180] 3-((3S,4R)-3-甲基-6-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1,6-二氮杂螺[3.4]辛烷-1-基)-3-氧代丙腈(化合物A)的制备和晶体形式 α 的表征。

[0181] 化合物A的制备

[0182] 如PCT/JP2016/070046(实施例1-15)中所述,通过下面的合成方法制备化合物A。在结晶步骤中,使用晶种促进结晶,但是可以根据所述方法制备每种化合物的晶体而不用晶种。

[0183] 这里使用的缩写具有如下含义:

[0184] S-BAPO: (S)-2-(苄基氨基)丙-1-醇

[0185] S-BBMO: (S)-N-苄基-N-(1-羟基丙烷-2-基)甘氨酸叔丁酯

[0186] R-BCAB: (R)-N-苄基-N-(2-氯丙基)甘氨酸叔丁酯

[0187] S-MABB: (3S)-1-苄基-3-甲基氮杂环丁烷-2-甲酸叔丁酯

[0188] S-MABB-HC: (3S)-1-苄基-3-甲基氮杂环丁烷-2-甲酸叔丁酯盐酸盐

[0189] S-MACB-HC: (3S)-3-甲基氮杂环丁烷-2-甲酸叔丁酯盐酸盐

[0190] S-ZMAB: (3S)-3-甲基氮杂环丁烷-1,2-二甲酸2-苄酯2-(叔丁酯)

[0191] RS-ZMBB: (2R,3S)-2-(2-(叔丁氧基)-2-氧代乙基)-3-甲基氮杂环丁烷-1,2-二甲酸1-苄酯2-(叔丁酯)

[0192] RS-ZMAA: (2R,3S)-1-((苄氧基)羰基)-2-(羧甲基)-3-甲基氮杂环丁烷-2-甲酸

[0193] RS-ZMAA-DN \cdot 2H₂O: (2R,3S)-1-((苄氧基)羰基)-2-(羧甲基)-3-甲基氮杂环丁烷-2-甲酸二钠二水合物

[0194] RS-ZMOO: ((2R,3S))-2-(2-羟乙基)-2-(羟甲基)-3-甲基氮杂环丁烷-1-甲酸苄酯

[0195] RS-ZMSS: ((2R,3S))-3-甲基-2-(2-((甲基磺酰基)氧基)乙基)-2-((甲基磺酰基)氧基)甲基)氮杂环丁烷-1-甲酸苄酯

[0196] SR-ZMDB: (3S,4R)-6-苄基-3-甲基-1,6-二氮杂螺[3.4]辛烷-1-甲酸苄酯

[0197] SR-MDOZ: (3S,4R)-3-甲基-1,6-二氮杂螺[3.4]辛烷-1-甲酸苄酯

[0198] SR-MDOZ-OX: (3S,4R)-3-甲基-1,6-二氮杂螺[3.4]辛烷-1-甲酸苄酯草酸盐

[0199] SR-MDPZ: (3S,4R)-3-甲基-6-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1,6-二氮杂螺[3.4]辛烷-1-甲酸苄酯

[0200] SR-MDOP: 4-[(3S,4R)-3-甲基-1,6-二氮杂螺[3.4]-辛-6-基]-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶

[0201] 化合物A:

[0202] 3-((3S,4R)-3-甲基-6-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1,6-二氮杂螺[3.4]辛烷-1-基)-3-氧代丙腈

[0203] CPPY: 4-氯-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶

[0204] DPCN: 1-氰基乙酰基-3,5-二甲基-1H-吡唑

[0205] TBBA: 溴乙酸叔丁酯

[0206] THF: 四氢呋喃。

[0207] 使用的测定仪器和测定条件如下。

[0208] 使用四甲基硅烷作为内标,在 CDCl_3 或 DMSO-d_6 中分析 $^1\text{H-NMR}$ 光谱,并且所有 δ 值显示为ppm。除非另有说明,否则使用400MHz NMR仪器。

[0209] 实施例中的符号表示如下。

[0210] s:单峰

[0211] d:双峰

[0212] t:三重峰

[0213] q:四重峰

[0214] dd:双双峰

[0215] ddd:双双双峰

[0216] brs:宽单峰

[0217] m:多重峰

[0218] J:耦合常数

[0219] 通过取其3个观察数据的平均值来确定样品中的离子含量。

[0220] 测定仪器:离子色谱仪LC-20系统(SHIMADZU)

[0221] 测定条件:电导检测器SHIMADZU CDD-10AVP

[0222] 阴离子分析柱SHIMADZU SHIM-PAC IC-A3

[0223] 阳离子分析柱SHIMADZU SHIM-PAC IC-C1

[0224] 通过Karl Fischer方法测定样品中的水含量。

[0225] 测定仪器:Karl Fischer Moisture Meter CA-06 (MITSUBISHI CHEMICAL)

[0226] 测定条件:

[0227] 样品量:约20mg

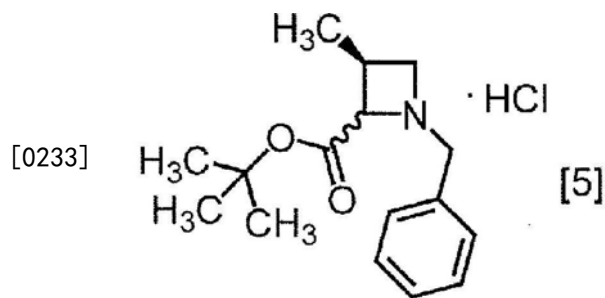
[0228] 试剂:阳极溶液Aquamicron AX (API Corporation)

[0229] Catholyte Aquamicron CXU (API Corporation)

[0230] 通过元素分析,测定样品中碳、氢和氮中的每种的重量%。

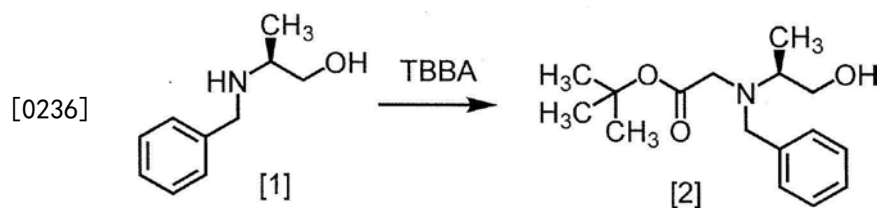
[0231] 步骤A.S-MABB-HC(化合物[5])的制备

[0232] [化学式2]



[0234] 步骤1

[0235] [化学式3]



[0237] 在室温下在氮气气氛下将S-BAPO[1] (35.0g, 212mmol) 加入水 (175mL) 中。在室温下向所得悬浮液中加入甲苯 (53mL) 和碳酸钾 (32.2g, 233mmol)。在室温下向所得溶液中逐滴加入TBBA (434.4g, 223mmol), 随后用过的滴液漏斗用甲苯 (17mL) 洗涤并将洗液加入反应混合物。将反应混合物在65°C下搅拌21小时, 随后冷却至室温。将甲苯 (105mL) 加入反应混合物中并随后搅拌混合物之后, 分离出有机层。用水 (175mL) 洗涤有机层, 除去水层, 随后真空除去有机层中的溶剂。将甲苯 (105mL) 加入残余物中并浓缩甲苯溶液。该操作再重复两次, 得到S-BBMO[2] (74.0g, 212mmol, 理论上)。将得到的S-BBMO的甲苯溶液用于下一步骤, 假定产率为100%。

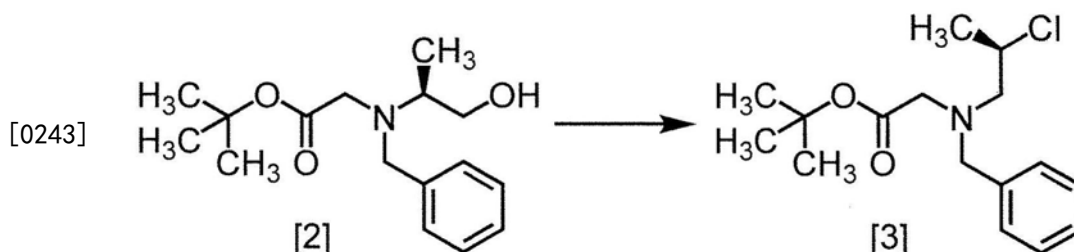
[0238] 将通过相同方法制备的S-BBMO粗产物蒸发至干燥, 随后测定NMR和MS。

[0239] $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ : 7.36-7.13 (5H, m), 4.26 (1H, dd, $J=6.8, 3.9\text{Hz}$), 3.72 (2H, dd, $J=14.2, 6.8\text{Hz}$), 3.47-3.38 (1H, m), 3.30-3.08 (3H, m), 2.79 (1H, sext, $J=6.8\text{Hz}$), 1.35 (9H, s), 0.96 (3H, d, $J=6.8\text{Hz}$)。

[0240] MS: $m/z=280$ [M+H] $^+$ 。

[0241] 第2步

[0242] [化学式4]



[0244] 在室温在氮气气氛下向S-BBMO[2] (74.0g, 212mmol) 的甲苯溶液中加入甲苯 (200mL)、四氢呋喃 (35mL), 随后加入三乙胺 (25.7g, 254mmol)。在0°C下向混合物中逐滴加入甲磺酰氯 (26.7g, 233mmol), 随后将用过的滴液漏斗用甲苯 (10mL) 洗涤并将洗液加入反应混合物中。将反应混合物在室温下搅拌2小时, 再在65°C下搅拌22小时, 随后冷却至室温。向反应混合物中加入碳酸氢钠/水 (105mL) 后, 随后搅拌混合物, 分离出有机层。用水 (105mL) 洗涤有机层, 除去水层, 随后真空除去有机层中的溶剂。将甲苯 (105mL) 加入残余物中, 并浓缩甲苯溶液。该操作再重复两次, 得到R-BCAB[3] (75.3g, 212mmol理论上) 的甲苯溶液。将得到的R-BCAB的甲苯溶液用于下一步骤, 假定产率为100%。

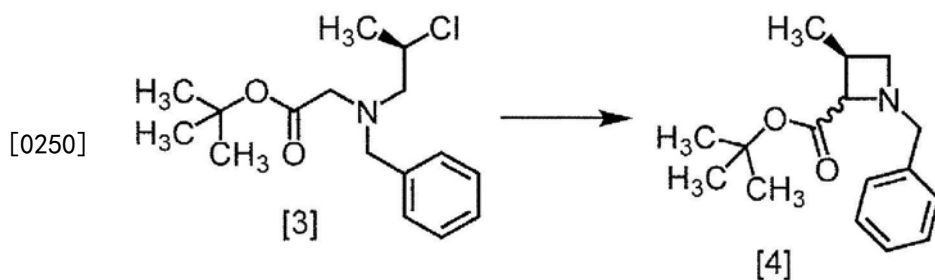
[0245] 将通过相同方法制备的R-BCAB粗产物蒸发至干燥, 随后测定NMR和MS。

[0246] $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ : 7.28-7.11 (5H, m), 4.24-4.11 (1H, m), 3.80 (2H, d, $J=3.6\text{Hz}$), 3.24 (2H, d, $J=3.6\text{Hz}$), 2.98-2.78 (2H, m), 1.46-1.37 (12H, m)。

[0247] MS: $m/z=298$ [M+H] $^+$ 。

[0248] 步骤3

[0249] [化学式5]



[0251] 在室温、氮气气氛下向R-BCAB[3] (75.3g, 212mmol) 的甲苯溶液中加入四氢呋喃 (88.0mL) 和1,3-二甲基-3,4,5,6-四氢-2(1H)-嘧啶酮 (42.0mL)。在0℃下向所得溶液中逐滴加入双(三甲基甲硅烷)氨基锂/四氢呋喃溶液 (195mL, 233mmol), 随后将用过的滴液漏斗用四氢呋喃 (17.0mL) 洗涤并将洗液加入反应混合物。将反应混合物在0℃下搅拌1小时, 随后温热至室温。将水 (175mL) 和甲苯 (175mL) 加入反应混合物中并随后搅拌混合物之后, 分离出有机层。将所得有机层用氯化铵水溶液 (175mL) 洗涤, 随后用水 (175mL) 洗涤, 并在真空中从有机层中除去溶剂。将乙酸乙酯 (175mL) 加入残余物中并浓缩乙酸乙酯溶液。该操作再重复两次, 得到S-MABB[4] (66.5g, 212mmol, 理论上) 的乙酸乙酯溶液。将得到的S-MABB的乙酸乙酯溶液用于下一步骤, 假定产率为100%。

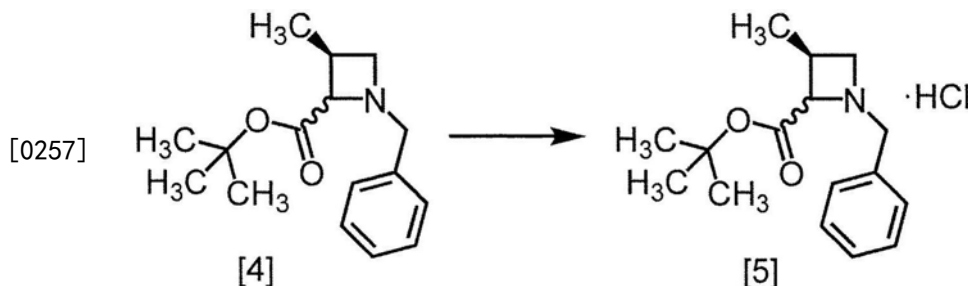
[0252] 将通过相同方法制备的S-MABB粗产物蒸发至干燥, 随后测定NMR和MS。

[0253] $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ : 7.28-7.25 (10H, m), 3.75 (1H, d, $J=12.7\text{Hz}$), 3.68 (1H, d, $J=1.4\text{Hz}$), 3.66 (1H, d, $J=6.7\text{Hz}$), 3.46 (2H, d, $J=12.7\text{Hz}$), 3.30-3.17 (2H, m), 2.95 (1H, dd, $J=6.2, 1.2\text{Hz}$), 2.77 (1H, dd, $J=6.1, 2.2\text{Hz}$), 2.65-2.55 (1H, m), 2.48-2.40 (2H, m), 1.35 (9H, s), 1.35 (9H, s), 1.12 (3H, d, $J=7.2\text{Hz}$), 1.09 (3H, d, $J=6.2\text{Hz}$)。

[0254] MS: $m/z=262$ [M+H] $^+$ 。

[0255] 步骤4

[0256] [化学式6]



[0258] 在氮气气氛下向S-MABB[4] (66.5g, 212mmol, 理论上) 的乙酸乙酯溶液中加入乙酸乙酯 (175mL) 和活性炭 (3.5g), 随后将混合物在室温下搅拌2小时。过滤除去活性炭, 用乙酸乙酯 (175mL) 洗涤过滤器上的残余物。将洗液加入滤液中。在0℃下向溶液中加入根据在此描述的方法制备的S-MABB-HC晶体 (17.5mg), 随后在0℃下向其中逐滴加入4M氯化氢/乙酸乙酯 (53.0mL, 212mmol)。将反应混合物在0℃下搅拌17小时, 随后在过滤器上收集沉淀的固体, 并用乙酸乙酯 (70mL) 洗涤。将所得的湿固体真空干燥, 得到S-MABB-HC[5] (48.3g, 162mmol, 产率: 76.4%)。

[0259] 测定通过相同方法制备的S-MABB-HC的NMR、MS和Cl-含量。

[0260] $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ : 11.08 (1H, br s), 10.94 (1H, br s), 7.52-7.42 (10H, m), 5.34 (1H, t, $J=8.4\text{Hz}$), 4.90 (1H, br s), 4.45-4.10 (5H, m), 3.92-3.49 (3H, br m), 3.10-2.73 (2H,

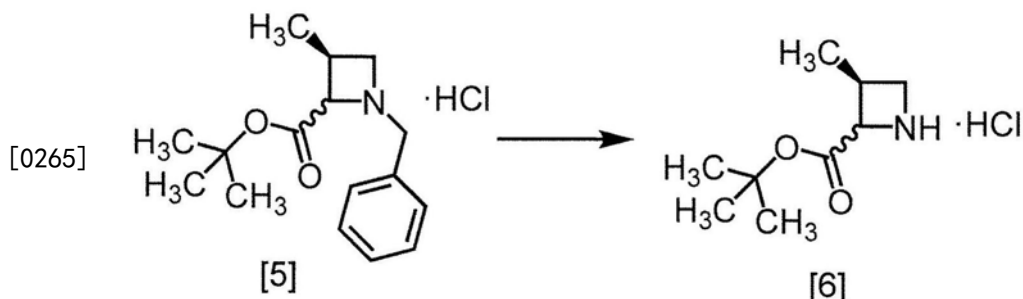
brm), 1.35 (9H, s), 1.29 (9H, s), 1.24 (3H, d, J=6.7Hz), 1.17 (3H, d, J=7.4Hz)。

[0261] MS:m/z=262[M+H-Cl]⁺

[0262] Cl含量(离子色谱法):11.9%(理论上:11.9%)。

[0263] 步骤B.S-MACB-HC(化合物[6])的制备

[0264] [化学式7]



[0266] 在室温、氮气气氛下向S-MABB-HC[5] (5.0g, 16.8mmol)的甲醇(15.0mL)溶液中加入5%钨碳(由Kawaken Fine Chemicals Co., Ltd.制造, PH型, 54.1%水含量, 1.0g)。向反应容器中充填氢气, 在室温下在0.4MPa的氢气压力下将反应混合物搅拌12小时, 用氮气置换反应容器中的氢气, 随后通过过滤除去该5%钨碳。用甲醇(10mL)洗涤反应容器和5%钨碳。将洗液加入滤液中, 得到S-MACB-HC[6] (24.8g, 16.8mmol, 理论上)的甲醇溶液。将得到的S-MACB-HC的甲醇溶液用于下一步骤, 假定产率为100%。

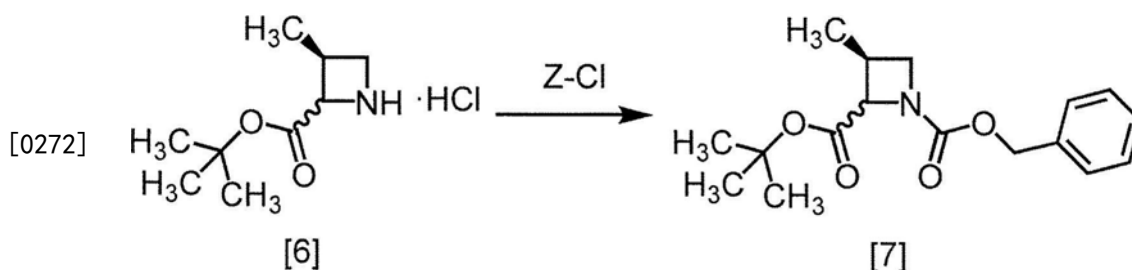
[0267] 将通过相同方法制备的S-MACB-HC粗产物蒸发至干燥, 随后测定NMR和MS。

[0268] ¹H-NMR(DMSO-d₆) δ: 9.60 (br s, 1H), 4.97 (d, 1H, J=9.2Hz), 4.61 (d, 1H, J=8.4Hz), 4.01 (dd, 1H, J=10.0, 8.4Hz), 3.78-3.74 (m, 1H), 3.54 (dd, 1H, J=9.6, 8.4Hz), 3.35 (dd, 1H, J=10.0, 6.0Hz), 3.15-3.03 (m, 1H), 3.00-2.88 (m, 1H), 1.49 (s, 9H), 1.47 (s, 9H), 1.22 (d, 3H, J=6.8Hz), 1.14 (d, 3H, J=7.2Hz)。

[0269] MS:m/z=172[M+H]⁺。(游离形式)

[0270] 步骤C.S-ZMAB(化合物[7])的制备

[0271] [化学式8]



[0273] 在室温、氮气气氛下向S-MACB-HC[6] (24.8g, 16.8mmol, 理论上)的甲醇溶液中逐滴加入N,N-二异丙基乙胺(4.8g, 36.9mmol), 随后将用过的滴液漏斗用四氢呋喃(2.5mL)洗涤并将洗液加入反应混合物中。在0℃下向所得反应混合物中逐滴加入氯甲酸苄酯(3.0g, 17.6mmol), 随后将用过的滴液漏斗用四氢呋喃(2.5mL)洗涤并将洗液加入反应混合物中。将反应混合物在0℃下搅拌1小时, 随后真空除去溶剂。在将甲苯(25.0mL)和柠檬酸水溶液(25.0mL)加入残余物中并随后搅拌混合物之后, 分离出有机层。将所得有机层用碳酸氢钠/水(25.0mL)洗涤, 随后用水(25.0mL)洗涤, 并将有机层中的溶剂从有机层真空除去。将甲苯

(15.0mL)加入残余物中,浓缩甲苯溶液。该操作再重复一次,得到S-ZMAB[7](6.9g, 16.8mmol,理论上)的甲苯溶液。将得到的S-ZMAB的甲苯溶液用于下一步骤,假定产率为100%。

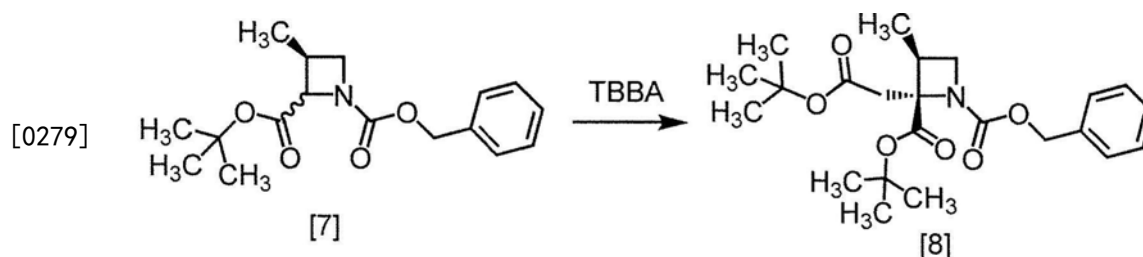
[0274] 将通过相同方法制备的S-ZMAB粗产物蒸发至干燥,随后测定NMR和MS。

[0275] $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 7.38-7.28 (m, 10H), 5.16-5.04 (m, 4H), 4.60 (d, 1H, $J=9.2\text{Hz}$), 4.18-4.12 (m, 2H), 4.04 (t, 1H, $J=8.6\text{Hz}$), 3.66 (dd, 1H, $J=7.6, 7.2\text{Hz}$), 3.50 (dd, 1H, $J=8.0, 5.2\text{Hz}$), 3.05-2.94 (m, 1H), 2.60-2.50 (m, 1H), 1.43 (br s, 18H), 1.33 (d, 3H, $J=6.5\text{Hz}$), 1.15 (d, 3H, $J=7.2\text{Hz}$)。

[0276] MS: $m/z=328[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。

[0277] 步骤D.RS-ZMBB(化合物[8])的制备

[0278] [化学式9]



[0280] 在室温、氮气气氛下向S-ZMAB[7](6.9g, 16.8mmol)的甲苯溶液中加入四氢呋喃(15.0mL)。在 -70°C 下向该甲苯溶液中逐滴加入双(三甲基甲硅烷)氨基锂/四氢呋喃溶液(14.7mL, 17.6mmol)。用四氢呋喃(2.5mL)洗涤用过的滴液漏斗并将洗液加入反应混合物中。在 -70°C 下将反应混合物搅拌6小时,随后在 -70°C 下向反应混合物中逐滴加入TBBA(3.4g, 17.6mmol)的四氢呋喃(2.5mL)溶液。用四氢呋喃(2.5mL)洗涤用过的滴液漏斗并将洗液加入反应混合物中。在 -70°C 下将反应混合物搅拌1小时,随后温热至室温。向反应混合物中加入氯化铵水溶液(25mL)和甲苯(25mL),随后搅拌混合物,分离出有机层。将得到的有机层用柠檬酸水溶液(25mL, x2)、碳酸氢钠/水(25mL)和水(25mL)洗涤,随后真空从有机层中除去溶剂。将乙腈(15mL)加入残余物中并浓缩乙腈溶液。该操作再重复两次。将乙腈(15mL)和活性炭(0.25g)加入残余物中,将混合物在室温下搅拌2小时。过滤除去活性炭,用乙腈(10mL)洗涤反应容器和过滤器上的残余物。将洗液加入该过滤物中,随后将过滤物真空浓缩,得到RS-ZMBB[8](13.2g, 16.8mmol,理论上)的乙腈溶液。将得到的RS-ZMBB的乙腈溶液用于下一步骤,假定产率为100%。

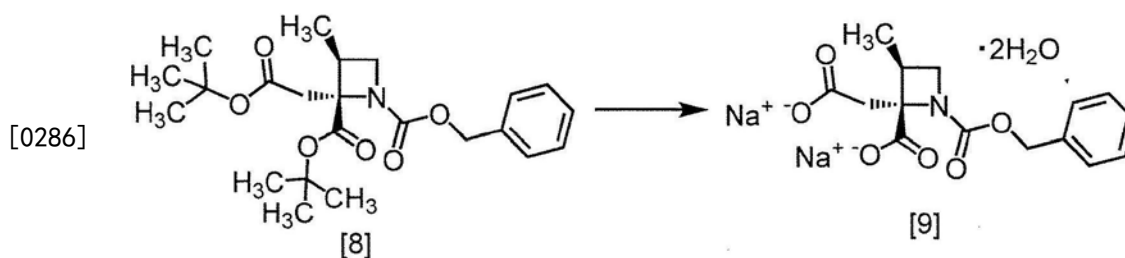
[0281] 将通过相同方法制备的RS-ZMBB粗产物蒸发至干燥,随后测定NMR和MS。

[0282] $^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6) δ : 7.38-7.29 (m, 5H), 5.09-4.96 (m, 2H), 3.91 (t, 0.4H, $J=8.0\text{Hz}$), 3.79 (t, 0.6H, $J=8.0\text{Hz}$), 3.55 (t, 0.4H, $J=7.2\text{Hz}$), 3.46 (t, 0.6H, $J=7.5\text{Hz}$), 3.14-3.04 (m, 1H), 2.83-2.72 (m, 2H), 1.38 (br s, 9H), 1.37 (br s, 3.6H), 1.34 (br s, 5.4H), 1.12-1.09 (m, 3H)。

[0283] MS: $m/z=420[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0284] 步骤E.RS-ZMAA-DN $2\text{H}_2\text{O}$ (化合物[9])的制备

[0285] [化学式10]



[0287] 在室温、氮气气氛下向RS-ZMBB[8] (13.2g, 16.8mmol, 理论上) 的乙腈溶液加入乙腈 (15mL)。在室温下将对甲苯磺酸一水合物 (6.4g, 33.6mmol) 加入该溶液。在50℃下将反应混合物搅拌12小时, 随后冷却至室温, 并将水 (7.5mL) 逐滴加入反应混合物中。将反应混合物冷却至0℃, 随后将4mol/L的氢氧化钠水溶液 (17.6mL, 70.5mmol) 逐滴加入其中。在室温下搅拌反应混合物1小时后, 在室温下向其中逐滴加入乙腈 (75mL), 并将反应混合物搅拌3小时。在过滤器上收集沉淀的固体, 并用乙腈:水=4:1的混合物 (10mL) 和随后的乙腈 (10mL) 洗涤。将得到的湿固体真空干燥, 得到RS-ZMAA-DN·2H₂O [9] (5.2g, 13.4mmol, 产率: 85.4%)。

[0288] 测定通过相同方法制备的RS-ZMAA-DN·2H₂O的NMR、MS、Na含量和水含量。

[0289] ¹H-NMR (DMSO-d₆) δ: 7.32-7.22 (m, 5H), 4.97 (d, 1H, J=12.7Hz), 4.84 (d, 1H, J=12.7Hz), 3.79 (t, 1H), J=8.0Hz), 3.29 (d, 1H, J=14.8Hz), 3.16-3.12 (m, 1H), 2.17-2.09 (m, 2H), 1.07 (d, 3H, J=6.9Hz)。

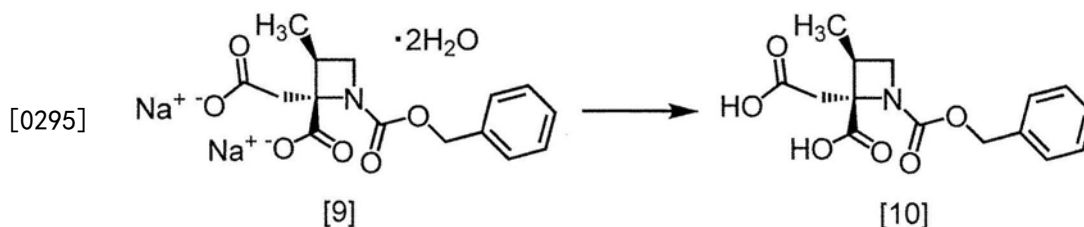
[0290] MS: m/z=352 [M+H]⁺。(无水物)

[0291] Na含量 (离子色谱法): 13.3% (校正水含量之后) (13.1%, 理论上)

[0292] 水含量 (Karl Fischer法): 9.8% (9.3%, 理论上)

[0293] 步骤F. RS-ZMAA (化合物[10]) 的制备

[0294] [化学式11]



[0296] 向1mol/L盐酸 (180mL) 中加入RS-ZMAA-DN·2H₂O [9] (30g, 77.5mmol) 和乙腈 (60mL), 并将混合物在室温下搅拌约15分钟。向反应混合物中加入乙酸乙酯 (240mL) 并随后搅拌混合物之后, 分离出有机层。用10%盐水 (60mL × 2) 洗涤有机层。有机层与硫酸镁 (6g) 一起搅拌, 过滤除去硫酸镁, 用乙酸乙酯 (60mL) 洗涤过滤器上的残余物。合并滤液和洗液, 真空除去溶剂。将四氢呋喃 (240mL) 加入残余物中并浓缩四氢呋喃溶液。该操作再重复两次。将四氢呋喃 (60mL) 加入残余物中, 得到RS-ZMAA [10] 的四氢呋喃溶液。将得到的RS-ZMAA的四氢呋喃溶液用于下一步骤, 假定产率为100%。

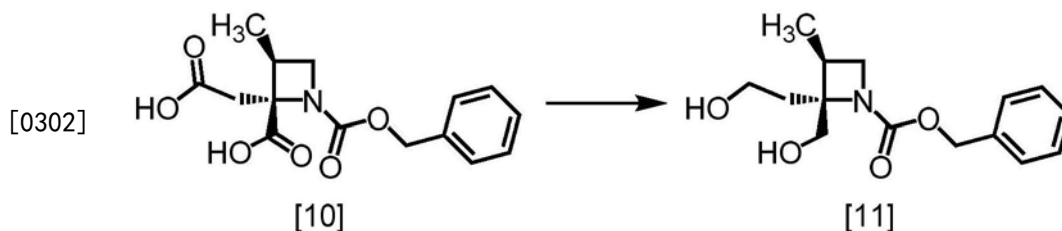
[0297] 测定通过相同方法制备的RS-ZMA的NMR和MSA。

[0298] ¹H-NMR (DMSO-D₆) δ: 7.35-7.28 (m, 5H), 5.06-4.94 (m, 2H), 3.86 (dt, 1H, J=48.4, 7.9Hz), 3.50 (dt, 1H, J=37.9, 7.4Hz), 3.16-3.02 (brm, 1H), 2.91-2.77 (brm, 2H), 1.08 (d, 3H, J=6.9Hz)。

[0299] MS:m/z=308 [M+H]⁺。

[0300] 步骤G.RS-ZM00(化合物[11])的制备

[0301] [化学式12]



[0303] 在氮气气氛下向RS-ZMAA[10] (25.8mmol,理论上)的四氢呋喃溶液中加入四氢呋喃(50mL)。在0℃至5℃下向其中逐滴加入三氟化硼醚合物复合物(4.40g)。用四氢呋喃(5mL)洗涤用过的滴液漏斗,将洗液加入反应混合物中。在0℃至5℃下向反应混合物中逐滴加入1.2mol/L硼烷-四氢呋喃复合物(43.0mL),并在0℃至5℃下将反应混合物搅拌约30分钟,随后在室温下进一步搅拌过夜。在0℃至5℃下向反应混合物中逐滴加入1.2mol/L硼烷-四氢呋喃复合物(21.1mL),随后将反应混合物在室温下搅拌过夜。搅拌之后,在0℃至15℃下将水(40mL)逐滴加入反应混合物中。在0℃至15℃下向反应混合物中加入碳酸氢钠(5.42g)。将留在容器中的碳酸氢钠用水(10mL)洗涤,并将洗液加入反应混合物中。将反应混合物在室温下搅拌2小时,随后向其中加入甲苯(50mL)并进一步搅拌反应混合物。分离出有机层。将得到的有机层用10%盐水(20mL×1);5%碳酸氢钠/水(20mL)和10%盐水(20mL)的混合物(×3);5%硫酸氢钾水溶液(10mL)和10%盐水(10mL)的混合物(×1)和随后的10%盐水(20mL×2)洗涤。有机层与硫酸镁(8.9g)一起搅拌,过滤除去硫酸镁,用甲苯(20mL)洗涤过滤器上的残余物。将洗液加入过滤物中,随后将滤液真空浓缩。向浓缩的残余物中加入甲苯(80mL)。将溶液真空浓缩,并向其中加入甲苯(15mL),得到RS-ZM00[11]的甲苯溶液。将得到的RS-ZM00的甲苯溶液用于下一步骤,假定产率为100%。

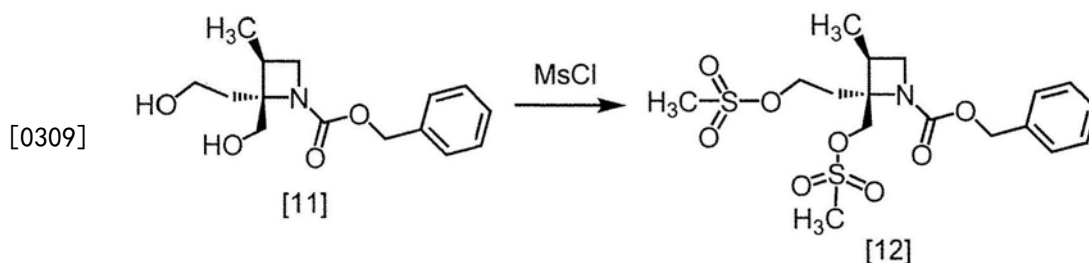
[0304] 测定通过相同方法制备的RS-ZM00的NMR和MS。

[0305] ¹H-NMR (CDCl₃) δ: 7.39-7.30 (m, 5H), 5.10 (s, 2H), 4.15-4.01 (brm, 2H), 3.83-3.73 (brm, 3H), 3.48 (dd, 1H, J=8.3, 6.4Hz), 2.59-2.50 (brm, 1H), 2.46-2.40 (brm, 1H), 2.07-1.99 (m, 1H), 1.14 (d, 3H, J=7.2Hz)。

[0306] MS:m/z=280 [M+H]⁺。

[0307] 步骤H.RS-ZMSS(化合物[12])的制备

[0308] [化学式13]



[0310] 在氮气气氛下向RS-ZM00[11] (23.7mmol,理论上)的甲苯溶液加入甲苯(55mL)。并且,在-10℃至10℃下逐滴加入三乙胺(5.27g),用甲苯(1.8mL)洗涤用过的滴液漏斗并将洗液加入反应混合物中。在-10℃至10℃下向该反应混合物中逐滴加入甲磺酰氯(5.69g),随

后用甲苯 (1.8mL) 洗涤用过的滴液漏斗, 并将洗液加入反应混合物中。在 0°C 至 10°C 下将反应混合物搅拌约 2 小时, 随后在 0°C 至 20°C 下向其中逐滴加入水 (28mL)。将反应混合物在 0°C 至 20°C 下搅拌约 30 分钟, 随后分离出有机层。将得到的有机层用 10% 盐水 (18mL) 洗涤两次。有机层与硫酸镁 (2.75g) 一起搅拌, 过滤除去硫酸镁, 用甲苯 (18mL) 洗涤过滤器上的残余物。将洗液加入滤液中, 随后真空除去滤液中的溶剂。向浓缩的残余物中加入甲苯至 18mL, 得到 RS-ZMSS [12] 的甲苯溶液。将得到的 RS-ZMSS 的甲苯溶液用于下一步骤, 假定产率为 100%。

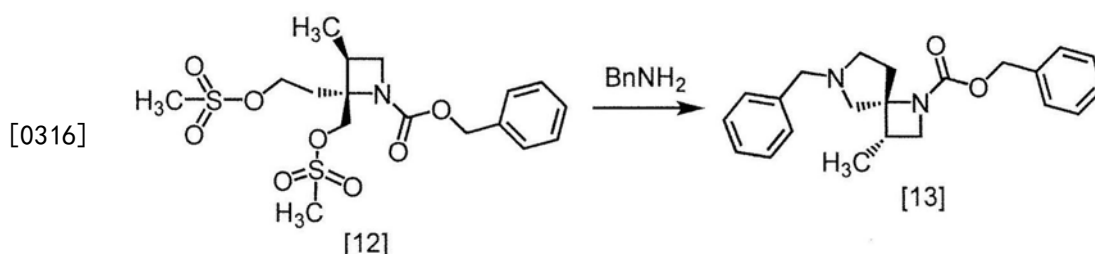
[0311] 测定通过相同方法制备的 RS-ZMSS 的 NMR 和 MS。

[0312] $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- D_6) δ : 7.37-7.27 (brm, 5H), 5.10-4.98 (m, 2H), 4.58-4.22 (brm, 4H), 3.84 (dt, 1H, $J=45.6, 8.1\text{Hz}$), 3.48-3.33 (brm, 1H), 3.17-3.10 (m, 6H), 2.81-2.74 (brm, 1H), 2.22-2.12 (m, 2H)。

[0313] MS: $m/z=436$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0314] 步骤 I. SR-ZMDB (化合物 [13]) 的制备

[0315] [化学式 14]



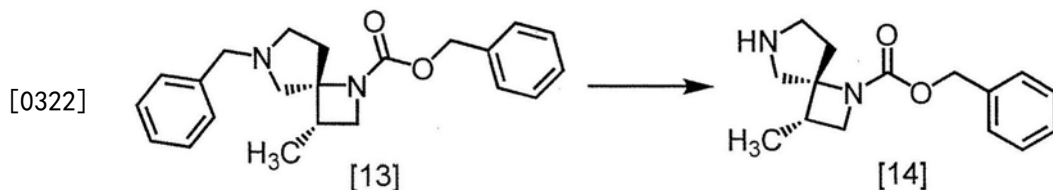
[0317] 在氮气气氛下向 RS-ZMSS [12] (23.7mmol, 理论上) 的甲苯溶液中加入甲苯 (55mL)。并且, 在室温下向其中逐滴加入苄胺 (17.8g), 用甲苯 (9.2mL) 洗涤用过的滴液漏斗, 并将洗液加入反应混合物中。将反应混合物在室温下搅拌约 1 小时, 在 55°C 至 65°C 下搅拌约 3 小时, 随后在 70°C 至 80°C 下搅拌 6 小时。将反应混合物冷却至室温后, 向其中逐滴加入 10% NaCl (28mL), 并将反应混合物在室温下搅拌约 30 分钟。将甲苯 (37mL) 加入反应混合物中并随后搅拌混合物之后, 分离出有机层。将得到的有机层用 10% 盐水 (18mL) 和乙酸 (2.84g) 的混合物 ($\times 2$) 洗涤, 随后用 10% 盐水 (11mL, $\times 1$) 洗涤。将有机层的溶剂真空除去至一半体积, 并在室温下将乙酸酐 (1.45g) 加入浓缩的残余物中。将混合物搅拌约 3 小时。在室温下向反应混合物中逐滴加入硫酸氢钾 (3.87g) 和水 (92mL) 的溶液。搅拌反应混合物, 随后分离出水层。在室温下将得到的水层用甲苯 (18mL) 洗涤, 将甲苯 (73mL) 和随后的碳酸氢钠 (6.56g) 加入水层中, 并搅拌混合物。分离出有机层, 并用 10% 盐水 (11mL) 洗涤。有机层与硫酸镁 (2.75g) 一起搅拌, 过滤除去硫酸镁。用甲苯 (18mL) 洗涤过滤器上的残余物, 将洗液加入滤液中, 随后将滤液真空浓缩。将甲苯 (44mL) 加入浓缩的残余物中, 得到 SR-ZMDB [13] 的甲苯溶液。将得到的 SR-ZMDB 的甲苯溶液用于下一步骤, 假定产率为 100%。

[0318] $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 7.35-7.20 (m, 10H), 5.08 (d, 2H, $J=23.6\text{Hz}$), 3.94 (q, 1H, $J=7.9\text{Hz}$), 3.73-3.42 (brm, 2H), 3.30-3.23 (m, 1H), 3.05 (dd, 1H, $J=19.7, 9.5\text{Hz}$), 2.79 (dt, 1H, $J=69.6, 6.1\text{Hz}$), 2.57-2.32 (brm, 4H), 1.96-1.89 (m, 1H), 1.09 (d, 3H, $J=6.9\text{Hz}$)。

[0319] MS: $m/z=351$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0320] 步骤 J. SR-MDOZ (化合物 [14]) 的制备

[0321] [化学式15]



[0323] 在0℃至10℃、氮气气氛下向氯甲酸1-氯乙酯(3.72g)的甲苯(28mL)溶液逐滴加入SR-ZMDB[13](23.7mmol,理论上)的甲苯溶液,随后用甲苯(4.6mL)洗涤用过的滴液漏斗,并将洗液加入反应混合物中。在0℃至10℃下向反应混合物中加入三乙胺(718mg),并将反应混合物在15℃至25℃下搅拌约2小时。随后,将甲醇(46mL)加入反应混合物中,并将混合物在50℃至60℃下搅拌另外约2小时。真空除去反应混合物的溶剂至体积约小于37mL。在15℃至20℃下向浓缩的残余物中逐滴加入2mol/L盐酸(46mL),搅拌混合物,分离出水层。将得到的水层用甲苯(28mL,×2)洗涤。向水层中加入20%盐水(46mL)和四氢呋喃(92mL),随后在0℃至10℃下向其中逐滴加入8mol/L氢氧化钠水溶液(18mL)。将有机层从反应混合物中分离出,用20%盐水(18mL,×2)洗涤,随后真空除去有机层的溶剂。向浓缩的残余物中加入四氢呋喃(92mL),并将溶液真空浓缩。该操作再重复一次。将浓缩的残余物溶于四氢呋喃(92mL)中。溶液与硫酸镁(2.75g)一起搅拌,过滤除去硫酸镁。过滤器上的残余物用四氢呋喃(28mL)洗涤,将洗液加入滤液中,并将滤液真空浓缩。用四氢呋喃将浓缩的残余物的体积调节至约20mL,得到SR-MDOZ[14]的四氢呋喃溶液(净重:4.01g,15.4mmol,产率:65.0%)。

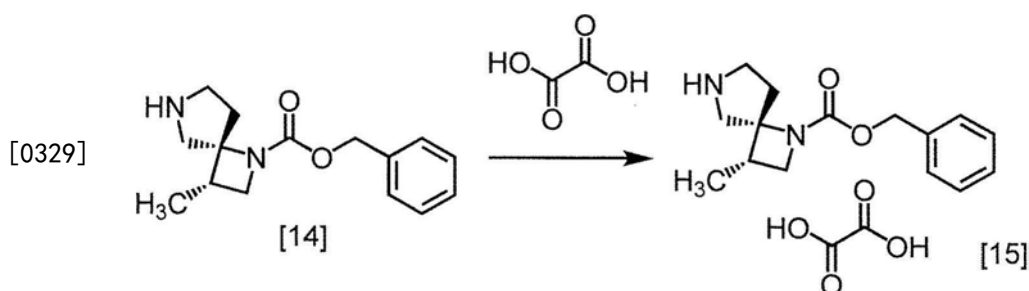
[0324] 将通过相同方法制备的SR-MDOZ蒸发至干燥,随后测定NMR和MS。

[0325] $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 7.37–7.28 (m, 5H), 5.08 (dd, 2H, $J=16.8, 12.8\text{Hz}$), 4.00 (dd, 1H, $J=17.1, 8.3\text{Hz}$), 3.40–3.31 (m, 1H), 3.24 (d, 1H, $J=12.7\text{Hz}$), 3.00 (dd, 1H, $J=54.9, 12.4\text{Hz}$), 2.87–2.57 (m, 3H), 2.47–2.27 (m, 1H), 1.91–1.80 (m, 1H), 1.14 (d, 3H, $J=7.2\text{Hz}$)。

[0326] MS: $m/z=261$ [$\text{M}+\text{H}$] $^+$ 。

[0327] 步骤K. SR-MDOZ-OX(化合物[15])的制备

[0328] [化学式16]



[0330] 在氮气气氛下,将草酸(761mg)溶解在四氢呋喃(40mL)中,在室温下将SR-MDOZ[14](3.84mmol,理论上)的四氢呋喃溶液逐滴加入该草酸溶液中。在室温下向该溶液中加入根据本文所述方法制备的SR-MDOZ-OX晶体(1mg),并将该混合物在室温下搅拌约3.5小时以沉淀晶体。在室温下向浆料溶液中逐滴加入SR-MDOZ(3.84mmol)的四氢呋喃溶液,将混合物在室温下搅拌约1小时。将浆料溶液加热,并在50℃至60℃下搅拌约2小时,随后在室温下搅拌过夜。将浆料溶液过滤,并用四氢呋喃(10mL)洗涤过滤器上的湿晶体,真空干燥,得到SR-MDOZ-OX[15](2.32g,6.62mmol,产率:86.2%)。

[0331] 测定通过相同方法制备的SR-MDOZ-OX的NMR、MS并进行元素分析。

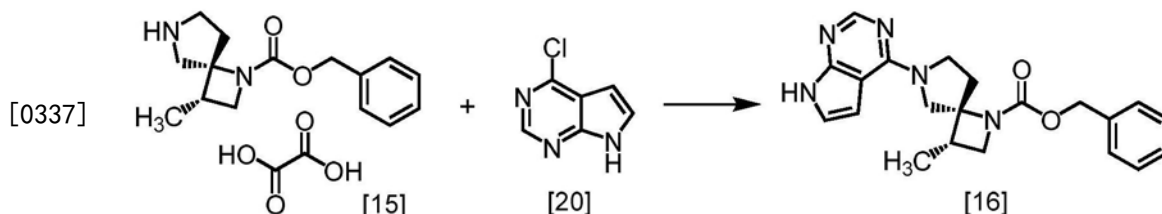
[0332] $^1\text{H-NMR}$ (DMSO-D_6) δ : 7.37-7.30 (m, 5H), 5.15-5.01 (m, 2H), 3.92 (dt, 1H, $J=43.5$, 8.4Hz), 3.48-3.12 (brm, 5H), 2.67-2.56 (m, 1H), 2.46-2.35 (m, 1H), 2.12-2.05 (m, 1H), 1.13 (d, 3H, $J=6.9\text{Hz}$)。

[0333] MS: $m/z=261$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0334] 元素分析: C 58.4wt%, H 6.4wt%, N 7.9wt% (理论上, C 58.3wt%, H 6.3wt%, N 8.0wt%)。

[0335] 步骤L. SR-MDPZ (化合物[16])的制备

[0336] [化学式17]



[0338] 在氮气气氛下向SR-MDOZ-OX [15] (12.0g, 34.2mmol) 中加入乙醇 (36mL)、水 (72mL)、CPPY [20] (5.36g, 34.9mmol) 并随后加入 K_3PO_4 (21.8g, 103mmol)。将反应混合物在80℃下搅拌5小时, 随后冷却至40℃。在40℃下向其中加入甲苯 (120mL), 分离出有机层。将所得有机层用20%碳酸钾水溶液 (48mL) 洗涤, 随后用水 (48mL) 洗涤两次。随后真空除去有机层的溶剂。将叔丁醇 (60mL) 加入残余物中, 浓缩叔丁醇溶液。该操作再重复两次。将叔丁醇 (36mL) 加入浓缩的残余物中, 得到SR-MDPZ [16] (61.1g, 34.2mmol, 理论上) 的叔丁醇溶液。将得到的SR-MDPZ的叔丁醇溶液用于下一步骤, 假定产率为100%。

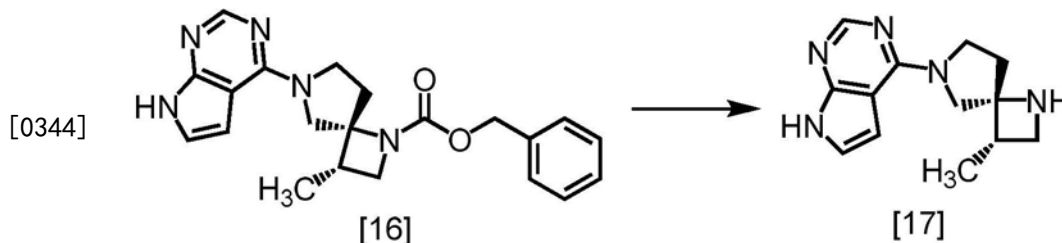
[0339] 将由相同方法制备的SR-MDPZ从乙酸乙酯和正庚烷的混合物中作为固体分离, 随后测定NMR和MS。

[0340] $^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6) δ : 11.59 (br s, 1H), 8.08 (s, 1H), 7.41-7.26 (brm, 3H), 7.22-7.08 (brm, 3H), 6.64-6.51 (brm, 1H), 5.07-4.91 (brm, 2H), 4.09-3.67 (brm, 5H), 3.47-3.32 (brm, 1H), 2.67-2.55 (brm, 2H), 2.21-2.15 (brm, 1H), 1.11 (d, 3H, $J=6.9\text{Hz}$)。

[0341] MS: $m/z=378$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0342] 步骤M. SR-MDOP (化合物[17])的制备

[0343] [化学式18]



[0345] 在氮气气氛下向SR-MDPZ [16] 的叔丁醇溶液 (34.2mmol, 理论上) 中加入甲酸铵 (10.8g, 171mmol)、水 (60mL) 和10%钨碳 (由Kawaken Fine Chemicals Co., Ltd. 制造, M型, 含水量52.6%, 1.20g)。将反应混合物在40℃下搅拌13小时, 随后冷却至室温, 过滤除去所得沉淀物。将反应容器和过滤器上的残余物用叔丁醇 (24mL) 洗涤, 将洗液加入滤液中, 将8M氢氧化钠水溶液 (25.7mL, 205mmol) 和氯化钠 (13.2g) 加入滤液中。将反应混合物在50℃下

搅拌2小时,随后在室温下向其中加入甲苯(84mL),分离出有机层。将所得有机层用20%盐水(60mL)洗涤,与无水硫酸钠一起搅拌,随后通过过滤除去硫酸钠。用甲苯:叔丁醇=1:1(48mL)的混合物洗涤过滤器上的残余物,将洗液加入滤液中,并将滤液真空浓缩。向浓缩的残余物中加入甲苯(60mL),将溶液在50℃下搅拌2小时,随后真空除去溶剂。向浓缩的残余物中再次加入甲苯(60mL),并浓缩溶液。向浓缩的残余物中加入甲苯(48mL),将溶液在室温下搅拌1小时,随后在冰温下搅拌1小时。将沉淀的固体收集在过滤器上,并用甲苯(24mL)洗涤。将所得的湿固体真空干燥,得到SR-MDOP[17](7.07g,29.1mmol,产率:84.8%)。

[0346] 测定通过相同方法制备的SR-MDOP的NMR和MS。

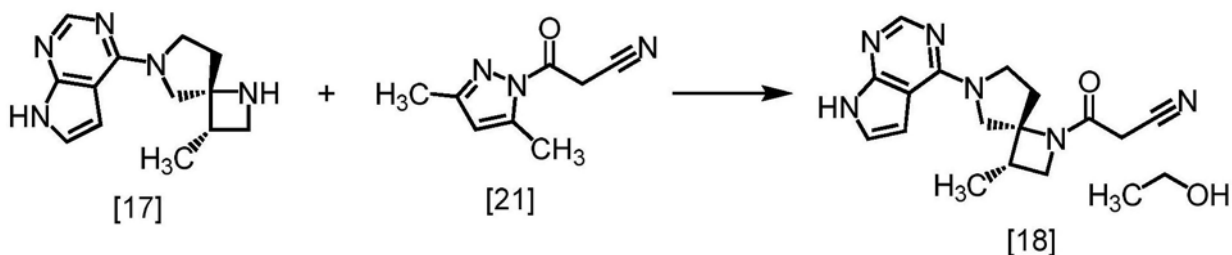
[0347] $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ : 11.57 (br s, 1H), 8.07 (s, 1H), 7.10 (d, 1H, $J=3.2\text{Hz}$), 6.58 (d, 1H, $J=3.2\text{Hz}$), 3.92-3.59 (brm, 4H), 3.49 (dd, 1H, $J=8.3, 7.2\text{Hz}$), 2.93 (dd, 1H, $J=7.2, 6.1\text{Hz}$), 2.61-2.53 (m, 2H), 2.12-2.01 (brm, 2H), 1.10 (d, 3H, $J=6.9\text{Hz}$)。

[0348] MS: $m/z=244$ [M+H] $^+$ 。

[0349] 步骤N. 化合物A单乙醇化物(化合物[18])的制备

[0350] [化学式19]

[0351]



[0352] 在氮气气氛下,将乙腈(60mL)和三乙胺(416mg,4.11mmol)加入SR-MDOP[17](5.00g,20.5mmol)中,并在45℃下向该溶液中逐滴加入DPCN[21](3.69g,22.6mmol)的乙腈(35mL)溶液,随后用过的滴液漏斗用乙腈(5.0mL)洗涤并将洗液加入反应混合物中。将反应混合物在45℃下搅拌3小时,随后冷却至室温。向反应混合物中加入5%碳酸氢钠/水(25mL)、10%盐水(25mL)和乙酸乙酯(50mL)并搅拌混合物之后,分离出有机层。真空除去有机层的溶剂。将四氢呋喃(50mL)加入残余物中,浓缩四氢呋喃溶液。该操作再重复三次。向浓缩的残余物中加入四氢呋喃(50mL),并向溶液中加入水以将水含量调节至5.5%。过滤除去所得的沉淀。将反应容器和过滤器上的残余物用四氢呋喃(15mL)洗涤,将洗液加入滤液中,并从滤液中真空除去溶剂。向浓缩的残余物中加入乙醇(50mL)和根据以下实施例15中所述的方法制备的化合物A晶体(5.1mg)。将混合物在室温下搅拌1小时,并真空浓缩。向残余物中加入乙醇(50mL),再次浓缩溶液。向浓缩的残余物中加入乙醇(15mL),并将溶液在室温下搅拌1小时。将沉淀的固体收集在过滤器上,并用乙醇(20mL)洗涤。将所得的湿固体真空干燥,得到化合物A单乙醇化物[18](6.26g,17.6mmol,产率:85.5%)。

[0353] 通过NMR和MS测定通过相同方法制备的化合物A单乙醇化物。

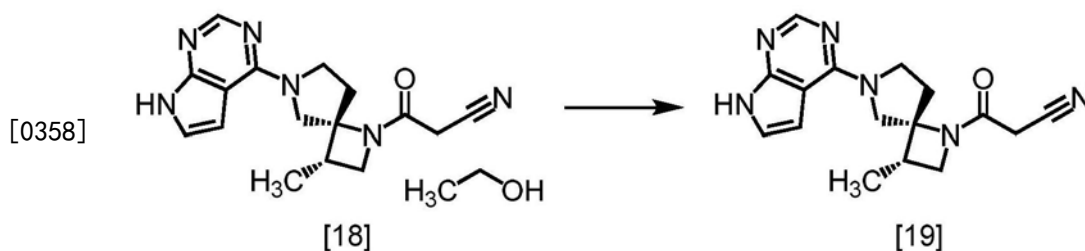
[0354] $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ : 11.59 (br s, 1H), 8.08 (s, 1H), 7.11 (dd, 1H, $J=3.5, 2.3\text{Hz}$), 6.58 (dd, 1H, $J=3.5, 1.8\text{Hz}$), 4.34 (t, 1H, $J=5.1\text{Hz}$), 4.16 (t, 1H, $J=8.3\text{Hz}$), 4.09-3.92 (m, 3H), 3.84-3.73 (m, 1H), 3.71 (d, 1H, $J=19.0\text{Hz}$), 3.65 (d, 1H, $J=19.0\text{Hz}$), 3.58 (dd, 1H, $J=8.2, 5.9\text{Hz}$), 3.44 (dq, 2H, $J=6.7, 5.1\text{Hz}$), 2.69-2.60 (m, 2H), 2.23-2.13 (brm, 1H), 1.12 (d,

3H, J=7.1Hz), 1.06 (t, 3H, J=6.7Hz).

[0355] MS:m/z=311 [M+H]⁺.

[0356] 步骤0. 化合物A (化合物[19]) 的纯化

[0357] [化学式20]



[0359] 在氮气气氛下将化合物A单乙醇化物[18] (4.00g, 11.2mmol) 和正丁醇 (32mL) 混合, 并将混合物在110℃下溶解。将混合物冷却至85℃, 向其中加入根据本文所述方法制备的化合物A晶体 (4.0mg), 并将混合物在85℃下搅拌2小时, 在75℃下搅拌1小时, 随后在室温下搅拌16小时。在过滤器上收集沉淀的固体, 并用正丁醇 (8.0mL) 和乙酸乙酯 (8.0mL) 洗涤。将所得的湿固体真空干燥, 得到化合物A[19] (3.18g, 10.2mmol, 产率: 91.3%)。

[0360] 通过NMR和MS测定通过相同方法制备的化合物A。

[0361] ¹H-NMR (DMSO-d₆) δ: 11.59 (br s, 1H), 8.08 (s, 1H), 7.11 (dd, 1H, J=3.5, 2.5Hz), 6.58 (dd, 1H, J=3.5, 1.8Hz), 4.16 (t, 1H, J=8.3Hz), 4.09-3.93 (m, 3H), 3.84-3.73 (m, 1H), 3.71 (d, 1H, J=19.0Hz), 3.65 (d, 1H, J=19.0Hz), 3.58 (dd, 1H, J=8.2, 5.9Hz), 2.69-2.59 (m, 2H), 2.23-2.13 (m, 1H), 1.12 (d, 3H, J=7.2Hz)。

[0362] MS:m/z=311 [M+H]⁺.

[0363] 使用通过相同方法制备的化合物A进行单晶X射线分析。

[0364] (1) 单晶的制备

[0365] 向在PhaROBO Vial (R) 2.0mL宽口小瓶中的10mg化合物A中加入0.5mL氯仿。用盖子盖住小瓶, 其中化合物A完全溶解。为了缓慢蒸发溶剂, 用TERUMO (R) 注射器的针在与盖子附接的隔膜上扎孔, 并将小瓶仍在室温下静置。所得的单晶用于结构分析。

[0366] (2) 测定仪器

[0367] 光束线: S Pring-8BL32B2

[0368] 检测器: RigakuR-AXIS V衍射仪

[0369] (3) 测定方法

[0370] 将0.71068 Å的辐射光照射到单晶上以测定X射线衍射数据。

[0371] (4) 分析方法

[0372] 使用所得化合物A氯仿-溶剂化物中氯原子的X射线异常散射效应, 鉴定化合物A的绝对构型为(3S, 4R)。基于所获得的化合物A的绝对构型, 鉴定了每种方法中间体的绝对构型。

[0373] 形式α的表征

[0374] X射线粉末衍射 (XRPD)

[0375] 使用Spectris Co., Ltd.的PANalytical仪器型号: X'PertPro在以下数据采集参数下通过XRPD表征形式α。

- | | | | |
|--------|--|---|----------------------------|
| [0376] | 表5 | | |
| | 辐射 | : | Cu-K α_1 /45kV/40mA |
| [0377] | 计数器单色仪 | : | 石墨计数器单色仪 |
| | 扫描范围 | : | 3.0 至 40.0° |
| | 索勒(Soller)狭缝 | : | 0.02 rad |
| | 发散狭缝 | : | 1/2 |
| | 防散射狭缝 | : | 1/2 |
| | 避光框 | | 4 毫米固定避光框 |
| | 模式 | : | 透射 |
| | 光学 | : | 聚焦镜 |
| [0378] | 摆动扫描 | | 摆动轴: omega |
| | | | 步数: 7 |
| | | | 步长: 1.000 |
| | | | 范围: 6 |
| | 样品架 | : | 96 孔板 |
| | 扫描步骤时间 | : | 20 秒 |
| | 扫描步骤 | : | 0.00334° |
| [0379] | 形式 α 的XRPD图如图1中所示,相应的数据提供在下表1-8中。 | | |
| [0380] | [表6-1] | | |

[0381]

表 1-8		
衍射角 [2θ ($^\circ$)]	相对强度 [%]	衍射强度 [cps]
7.8	33.39	3282.99
10.2	19.13	1880.69
11.4	11.24	1105.05
12.3	2.82	277.49
12.7	11.01	1082.97
13.4	12.90	1268.20
14.7	100.00	9832.97
15.9	20.81	2046.10
16.2	8.44	829.65
16.4	14.61	1436.83
17.1	8.78	863.45
17.9	61.50	6047.48
18.9	9.37	920.90
19.5	1.55	152.43
20.2	7.58	745.51
20.8	2.87	282.31
21.2	1.59	156.25
22.2	3.66	360.04
22.6	67.73	6659.41
22.9	17.99	1768.98
23.5	2.82	277.10
24.3	10.67	1048.90
24.8	5.71	561.67

[0382] 表[6-2]

[0383]	25.6	10.68	1049.68
	26.5	2.48	243.62
	27.0	47.44	4664.60
	27.7	1.63	160.56
	28.3	1.19	117.03
	29.6	1.28	125.94
	30.1	1.15	113.57
	30.9	1.71	168.29
	31.7	1.06	104.00
	32.6	1.63	159.85
	33.4	3.41	335.16
	34.0	1.52	149.80
	35.4	0.94	92.36
	36.1	1.45	142.86
	36.9	1.28	125.60
	37.9	0.61	59.60
	39.5	1.38	136.12

[0384] 差示扫描量热法 (DSC)

[0385] DSC数据在TA Instruments的Q2000型号仪器上收集,采用以下参数:

[0386] 样本大小:约3mg;

[0387] 盘:密封铝盘;

[0388] 范围:25-230°C;

[0389] 加热速率:在氮气流下2°C/min。

[0390] 形式α的DSC热分析图在图4中提供,显示单个吸热事件,峰值为188°C,起始温度为185°C。

[0391] 热重差热分析 (TG-DTA)

[0392] TG-DTA数据在Mettler Toledo型号:TGA/SDTA851e/SF仪器上收集,采用以下参数:

[0393] 样品:约5mg;

[0394] 范围:25-250°C;

[0395] 加热速率:氮气流下2°C/min。

[0396] 外推起始温度为186.29°C,并且在25至220°C的范围内未观察到重量损失。形式α的TG-DTA数据如图7中所示。

[0397] 固态¹³C NMR

[0398] 在BrukerBioSpin Corporation的AVANCE III 400仪器上收集固态¹³C NMR数据,

采用以下参数：

- [0399] 探针:4mm CP/MAS探针；
- [0400] 测定温度:室温；
- [0401] 参考材料:甘氨酸(外标:低磁场峰值设定在176.03ppm)；
- [0402] 测定芯: ^{13}C (100.6228303MHz)；
- [0403] 转速:14.3kHz；
- [0404] 脉冲重复时间:5秒；
- [0405] 累计数:3072次；
- [0406] 脉冲模式:CP/MAS测定；
- [0407] 形式 α 的固态 ^{13}C NMR数据显示在图10中,在以下各处显示峰:14.8,17.0,24.5,27.2,35.0,35.9,38.6,48.8,49.5,53.6,78.3,101.4,103.0,116.2,118.0,122.0,122.7,151.2,154.8,162.4和163.3ppm。
- [0408] 实施例2
- [0409] 化合物A形式 β 的制备和表征
- [0410] 制备
- [0411] 化合物A(3992.3g,晶体形式 α),其已通过500 μm 筛、用Spiral JetMill100AS(由HosokawaMicron Corporation制造)在以下条件下研磨,以得到研磨产物(3473.6g)和附着在喷嘴环零件上的化合物A(361.0g)。
- [0412] 研磨条件:
- [0413] 使用的气体:氮气；
- [0414] 研磨喷嘴:直径1.5mm \times 4；
- [0415] 喷射器喷嘴:直径1.3mm；
- [0416] 研磨空气压力:0.50至0.60MPa；
- [0417] 喷射器空气压力:0.50至0.60MPa；
- [0418] 供应化合物A的速率:8g/分钟。
- [0419] 将附着在喷嘴环零件上的化合物A(50.0g,161mmol)加入1-丁醇/乙腈(1:3v/v)的混合溶液(250mL)中,并将混合物在40 $^{\circ}\text{C}$ 下搅拌10天。将所得悬浮液冷却至室温并在室温下进一步搅拌24小时。在过滤器上收集沉淀的晶体物质。将收集的晶体产物用乙酸乙酯(50mL)洗涤两次,并在40 $^{\circ}\text{C}$ 下减压干燥,得到化合物A晶体形式 β (35.5g,产率71%)。
- [0420] 表征
- [0421] X射线粉末衍射
- [0422] 形式 β 的XRPD图如图2所示,相应的数据如下表2-1中所提供。仪器和数据采集参数如上文实施例1中针对形式 α 的表征所述。
- [0423] [表7]

表 2-1.

衍射角 [2θ ($^{\circ}$)]	相对强度 [%]	衍射强度 [cps]
7.8	20.40	699.45
10.5	18.12	621.23
11.8	6.39	218.98
12.3	9.47	324.65
13.4	47.83	1639.59
13.9	31.01	1063.00
14.3	14.01	480.22
14.7	18.95	649.62
15.6	20.90	716.30
17.1	6.64	227.53
17.8	100.00	3428.04
19.0	7.07	242.48
19.3	8.25	282.66
20.0	2.45	84.08
21.2	11.00	377.11
22.0	19.74	676.56
23.6	64.54	2212.58
24.7	6.14	210.37
26.0	4.10	140.49
26.9	6.97	238.82
28.0	33.58	1151.04
32.3	1.40	47.83
35.9	0.92	31.62
38.7	0.95	32.55

[0424]

[0425] 差示扫描量热法 (DSC)

[0426] DSC数据在TA Instruments的Q2000型号仪器上收集,采用以下参数:

[0427] 样本大小:约3mg;

[0428] 盘:密封铝盘;

[0429] 范围:25-230 $^{\circ}$ C;[0430] 加热速率:在氮气流下2 $^{\circ}$ C/min。[0431] 形式 β 的DSC热分析图在图5中提供,显示单个吸热事件,峰值为187 $^{\circ}$ C,起始温度为

185°C。

[0432] 热重差热分析(TG-DTA)

[0433] 如上文实施例1中所述收集TG-DTA数据,不同之处在于形式β的测定范围在25至230°C之间。在188.59°C处检测到吸热峰,外推起始温度为186.68°C,在25至220°C范围内未观察到重量损失。形式β的数据如图8所示。

[0434] 固态¹³C NMR

[0435] 如上文实施例1中所述收集形式β的固态¹³C NMR数据。¹³C NMR光谱提供在图11中,在以下各处显示峰:16.5,25.8,26.5,33.1,34.8,36.7,38.8,48.2,53.4,77.7,79.5,101.2,102.6,117.5,120.6,151.1,154.3和166.1ppm。

[0436] 实施例3

[0437] 化合物A形式γ的制备和表征

[0438] 制备1

[0439] 化合物A(2491.5g,晶体形式α),其已通过500μm筛、用Spiral Jet Mill 100AS(由HosokawaMicron Corporation制造)在以下条件下研磨,以得到研磨产物(2106.5g)和附着在喷嘴环零件上的化合物(247.9g)。

[0440] 研磨条件:

[0441] 使用的气体:氮气;

[0442] 研磨喷嘴:直径1.5mm×4;

[0443] 喷射器喷嘴:直径1.3mm;

[0444] 研磨空气压力:0.50至0.60MPa;

[0445] 喷射器空气压力:0.50至0.60MPa;

[0446] 供应化合物A的速率:4g/分钟。

[0447] 在氮气下将附着在喷嘴环零件上的化合物A(100g,322mmol)加入甲酰胺(330mL)中,并且将晶种(1.00g晶体形式γ,其可能也包含一些化合物A的形式β)加入混合物中。将混合物在室温下搅拌30天。在过滤器上收集晶体沉淀物并用乙酸乙酯(150mL)洗涤两次。在氮气下将所得湿晶体加入乙酸乙酯(300mL)中并将混合物在室温下搅拌30分钟。在过滤器上收集晶体沉淀物并用乙酸乙酯(150mL)洗涤两次,并在40°C下减压干燥,得到化合物A晶体形式γ(74.1g,产率74%)。

[0448] 制备2

[0449] 化合物A形式α(包含较少但未确定量的形式β)(100mg,0.322mmol)加入N,N-二甲基甲酰胺(0.2mL)中并将混合物在室温下搅拌6天。在过滤器上收集晶体沉淀物。将收集的湿晶体材料在室温下减压干燥18小时,得到化合物A形式γ(13.7mg,产率13.7%)。

[0450] 表征

[0451] X射线粉末衍射

[0452] 形式γ的XRPD图如图3中所示,相应的数据提供在下表3-1中。仪器和数据采集参数如上文实施例1中针对形式α的表征所述。

[0453] [表8-1]

[0454]

衍射角 [2θ ($^\circ$)]	相对强度 [%]	衍射强度 [cps]
7.7	10.32	692.73
10.6	7.64	512.67
13.3	100.00	6709.91
13.9	14.17	951.02
15.2	79.93	5363.01
15.6	16.12	1081.78
16.5	14.81	993.47
17.7	52.89	3549.06
17.9	45.66	3063.89
19.0	26.13	1753.04
19.9	2.07	139.16
21.0	10.34	693.77
21.4	7.31	490.71
21.8	36.03	2417.29
22.8	3.79	254.11
23.1	27.25	1828.29
23.7	51.32	3443.62
24.1	9.91	665.12
24.3	6.86	460.35
24.7	2.39	160.44
25.1	9.88	663.01

[0455] [表8-2]

[0456]

26.0	1.44	96.76
27.1	5.51	369.82
27.4	2.94	197.55
28.1	34.39	2307.33
29.7	4.91	329.16
30.2	5.33	357.79
30.7	1.40	93.96
31.6	1.81	121.53

32.4	1.65	110.79
33.2	1.40	93.71
34.0	3.22	216.08
34.3	2.79	187.09
34.7	2.99	200.46
35.3	2.19	146.78
35.9	2.71	181.75
38.0	1.21	80.94
38.7	1.36	91.15
39.7	2.32	155.67

[0457] 差示扫描量热法 (DSC)

[0458] DSC数据在TA Instruments型号Q2000仪器上收集,采用以下参数:

[0459] 样本大小:约3mg;

[0460] 盘:密封铝盘;

[0461] 范围:25-230°C

[0462] 加热速率:氮气流下2°C/min。

[0463] 形式 γ 的DSC热分析图在图6中提供,显示单个吸热事件,其峰值为196°C,起始温度为196°C。

[0464] 热重差热分析 (TG-DTA)

[0465] 如上文实施例1中所述收集TG-DTA数据。在198.68°C下检测到吸热峰,外推起始温度为197.38°C,并且在25至220°C的范围内未观察到重量损失。形式 γ 的数据在图9中所示。

[0466] 固态 ^{13}C NMR

[0467] 如上文实施例1中所述收集形式 γ 的固态 ^{13}C NMR数据。 ^{13}C NMR光谱提供在图12中,在以下各处显示峰:

[0468] 16.9, 26.5, 32.9, 36.4, 48.1, 53.7, 78.6, 102.6, 116.4, 117.9, 121.5, 151.8, 154.6和162.9ppm。

[0469] 实施例4

[0470] 形式 α 样品中形式 β 和 γ 的定量

[0471] 测试制造的化合物A形式 α 以及包含化合物A形式 α 的软膏制剂的批次的形式 β 和 γ 的存在。使用XRPD方法,可以检测到形式 β 和 γ 低至1w/w%水平。用于该分析的化合物A形式 α 的批次列于表4-1中。

[0472] [表9]

表 4-1	
批号	大小
P	22.40 kg
V	19.15 kg

[0473]

[0474] 用于该分析的包含化合物A形式 α (3%)的软膏的批次列于表4-2中。RH指的是相对湿度。M指持续时间(以月计)。

[0475] [表10]

表 4-2			
批号编号	药物物质 批号	大小	存储条件
[0476] 223-1A	P	60.00 kg	25°C/60%RH 18M
239-1A	P	60.00 kg	初始
266-1	V	4.00 kg	40°C/75%RH 6M
320	V	4.00 kg	初始

[0477] 使用在以下参数下操作的PAN-alytical X'Pert PRO粉末X射线衍射计定量测定上述批次和软膏的形式 β 和 γ 。

[0478] 表11

辐射	:	Cu-K α_1 /45kV/40mA
计数器单色仪	:	石墨计数器单色仪
扫描范围(形式 β)	:	9.5 至 12.5°
扫描范围(形式 γ)	:	15.0 至 17.5°
索勒(Soller)狭缝	:	0.02 rad
发散狭缝	:	1/2
防散射狭缝	:	1/2
[0479] 避光框	:	20 毫米固定避光框
模式	:	透射(transmission)
光学	:	聚焦镜
样品架	:	插入传输(Insert transmission) (产品编号 943001818251) 传输支架(Transmission holder) (产品编号 943001818401)
扫描步骤时间	:	3000 秒
扫描步骤	:	0.0008°或 0.0016°
膜	:	Mylar™膜

[0480] 形式 β 的测试

[0481] 测试样品(化合物A形式 α , 药物物质)的制备

- [0482] 将一部分化合物A测试样品在玛瑙研钵中研磨成细粉。将约10mg安装在样品架中。
- [0483] 测试样品(软膏)的制备
- [0484] 将约1g软膏测试样品悬浮于80mL正己烷中。将烧瓶加塞并剧烈摇动30秒。使用定量滤纸(5B)通过抽吸过滤混合物,用5mL正己烷洗涤五次。将约10mg沉淀物安装在样品架中。
- [0485] 标准样品的制备
- [0486] 向化合物A批号U(形式 α)中加入批号P-3273-58(形式 β)以获得2、5和10w/w%的最终浓度,使用研钵将其混合。将约10mg安装在样品架中。
- [0487] 方法
- [0488] 根据上述仪器设置和数据采集参数对测试样品和标准样品进行X射线粉末衍射测定(参见X-ray Powder Diffraction Method, General Tests, Processes and Apparatus, The Japanese Pharmacopoeia, 第17版, 2016年4月1日, 英文版, 第79-83页)。通过自动积分或手动积分确定从标准样品和测试样品获得的衍射峰(在 10.6° 处)的峰面积。使用从标准样品的峰面积产生的校准曲线计算测试样品的形式 β 的量(%)。
- [0489] 从包含0%、2%、5%和10%w/w的形式 β 的标准样品获得的X射线粉末衍射图显示在图13中。
- [0490] 形式 γ 的测试
- [0491] 测试样品(化合物A形式 α , 药物物质)的制备
- [0492] 将一部分化合物A测试样品在玛瑙研钵中研磨成细粉。将约10mg安装在样品架中。
- [0493] 测试样品(软膏)的制备
- [0494] 将约1g软膏试验样品悬浮于80mL正己烷中。将烧瓶加塞并剧烈摇动30秒。使用定量滤纸(5B)通过抽吸过滤混合物,用5mL正己烷洗涤五次。将约10mg沉淀物安装在样品架中。
- [0495] 标准样品的制备
- [0496] 向批次U(形式 α)中加入化合物A批次YKF56-28G(形式 γ)以获得1、2和5w/w%的最终浓度,使用研钵将其混合。将约10mg安装在样品架中。
- [0497] 方法
- [0498] 根据上述仪器设置和数据采集参数对测试样品和标准样品进行X射线粉末衍射测定(参见X-ray Powder Diffraction Method, General Tests, Processes and Apparatus, The Japanese Pharmacopoeia, 第17版, 2016年4月1日, 英文版, 第79-83页)。通过自动积分或手动积分确定从标准样品和测试样品获得的衍射峰(在 16.6° 处)的峰面积。如果测试样品的峰面积不超过1%标准样品的峰面积,则记录“不超过1%”。如果测试样品的峰面积大于1%标准样品的峰面积且不超过2%标准样品的峰面积,则记录“不超过2%”。如果测试样品的峰面积大于2%标准样品的峰面积且不超过5%标准样品的峰面积,则记录“不超过5%”。
- [0499] 从包含0%、1%、2%和5%w/w的形式 γ 的标准样品获得的X射线粉末衍射图显示在图14中。
- [0500] 结果
- [0501] 定量结果总结在表4-3中。化合物A、药物物质批号P和由药物物质批号P制造的JTE-052软膏批号223-1A和批号239-1A均包含可测定的量的形式 β 。

[0502] [表12]

表 4-3				
批号	药物物质 批号	储存条件	形式 β	形式 γ
批号 P	--	--	9.3%	$\leq 1\%$
批号 V	--	--	$\leq QL^a$	$\leq 1\%$
223-1A	P	25°C/60%RH 18M	6.4%	$\leq 1\%$
239-1A	P	初始	7.9%	$\leq 1\%$
266-1	V	40°C/75%RH 6M	$\leq QL$	$\leq 1\%$
320	V	初始	$\leq QL$	$\leq 1\%$
QL: 数量限制=1.12%, 根据 $QL=10(\sigma/\text{斜率})$ 计算。				

[0504] 实施例5

[0505] 单晶X射线数据

[0506] 根据以下参数, 获得形式 α 、 β 和 γ 的单晶X射线结构。晶体结构数据在表5-1中提供。

[0507] 对于形式 α , 使用照射波长 0.71068 \AA 用Rayonix MX225HE检测器和SPring-8 BL41XU光束获得单晶数据。

[0508] 对于形式 β 和 γ , 使用照射波长 0.71068 \AA 使用DECTRIS PILATUS3 6M检测器和SPring-8BL41XU光束获得单晶数据。

[0509] [表13]

晶体形式	β	γ	α
温度($^{\circ}\text{C}$)	100	100	100
空间群	P1 (#1)	P2 ₁ (#4)	P1 (#1)
Z值	4	2	2
Z'值	4	1	2
a (\AA)	8.043	8.095	7.8
b (\AA)	11.371	8.017	8.6
c (\AA)	16.522	11.459	11.5
α ($^{\circ}$)	97.537	90	95.2
β ($^{\circ}$)	94.541	95.663	99.0
γ ($^{\circ}$)	90.294	90	93.9
D _{计算} (g/cm^3)	1.381	1.393	1.356
体积 (\AA^3)	1493.1	740	760
R ₁ (%) (<10%)	7.49	6.28	9.51
R _{wp} (%) (<25%)	23.01	17.29	24.72
GOF (0.8-1.3)	1.036	0.984	1.068

[0511] 实施例6

[0512] 化合物A形式 α 和 β 之间的竞争性实验

[0513] 化合物A的形式 α 和 β 以1:1的重量比混合,向混合物(80mg)中加入1-丁醇(800 μL)。将得到的悬浮液在室温下搅拌12天。将所得物在相同温度下过滤,随后在室温下减压干燥19小时。通过粉末X射线衍射法测定所用化合物A的形式 α 和 β 、搅拌前化合物A的形式 α 和 β 的1:1重量比混合物以及所得晶体的衍射角 2θ 和衍射强度。这里的仪器和数据采集参数与上述用于表征实施例1中的形式 α 的那些参数相同。测得的光谱显示在图15中。该图显示了所用化合物A的形式 α 、所用化合物A的形式 β 、搅拌前化合物A的形式 α 和 β 的1:1(重量)混合物以及搅拌后所得晶体的光谱,从底部往上。

[0514] 对于形式 α 的衍射角 2θ 的 10.2° 峰和形式 β 的衍射角 2θ 的 10.6° 峰,比较搅拌之前和之后的衍射强度比。如下表所示,与搅拌前的比率相比,搅拌后的形式 β 的峰与形式 α 的峰的衍射强度比增加。

[0515] [表14]

[0516]

	10.2 $^{\circ}$ 的衍射强度(形式 α)[cps]	10.6 $^{\circ}$ 的衍射强度(形式 β)[cps]	衍射强度比(形式 β /形式 α)
搅拌前	601.66	225.88	0.38
搅拌后	819.03	673.08	0.82

[0517] 实施例7

[0518] 化合物A的形式 α 和 γ 之间的竞争性实验

[0519] 将化合物A的形式 α 和 γ 以1:1的重量比混合,向混合物(100mg)中加入1-丁醇

(1mL)。将得到的悬浮液在室温下搅拌11天。将所得物在相同温度下过滤。通过粉末X射线衍射法测定所用化合物A的形式 α 和 γ 、搅拌前化合物A的形式 α 和 γ 的1:1重量比混合物以及所得晶体的衍射角 2θ 和衍射强度。这里的仪器和数据采集参数与上述用于表征实施例1中的形式 α 的那些参数相同。测得的光谱显示在图16中。该图显示了所用化合物A的形式 α 、所用化合物A的形式 γ 、搅拌前化合物A的形式 α 和 γ 的1:1(重量)混合物、搅拌后所得晶体的光谱,从底部往上。

[0520] 对于形式 α 的衍射角 2θ 的 10.2° 峰和形式 γ 的衍射角 2θ 的 10.7° 峰,比较搅拌之前和之后的衍射强度比。如下表所示,与搅拌前的比率相比,搅拌后的形式 γ 的峰与形式 α 的峰的衍射强度比增加。

[0521] [表15]

[0522]

	10.2°的衍射强度(形式 α) [cps]	10.7°的衍射强度(形式 γ) [cps]	衍射强度比(形式 γ /形式 α)
搅拌前	1116.69	371.13	0.33
搅拌后	418.12	208.04	0.50

[0523] 实施例8

[0524] 化合物A的形式 β 和 γ 之间的竞争性实验

[0525] (1) 将化合物A的形式 β 和 γ 以1:1的重量比混合,向混合物(150mg)中加入甲酰胺(1mL)。将得到的悬浮液在室温下搅拌1天。将所得物在相同温度下过滤。

[0526] (2) 将化合物A的形式 β 和 γ 以1:1的重量比混合,并向混合物(150mg)中加入N,N-二甲基甲酰胺(1mL)。将得到的悬浮液在室温下搅拌1天。将所得物在相同温度下过滤。

[0527] (3) 将化合物A的形式 β 和 γ 以1:1的重量比混合,并向混合物(800mg)中加入二甲基亚砷(1mL)。将得到的悬浮液在室温下搅拌1天。将所得物在相同温度下过滤。

[0528] 通过粉末X射线衍射法测定所用化合物A的形式 β 和 γ 、搅拌前化合物A的形式 β 和 γ 的1:1重量比混合物以及在以上(1)、(2)和(3)中得到的晶体的衍射角 2θ 和衍射强度。这里的仪器和数据采集参数与上述用于表征实施例1中的形式 α 的那些参数相同。测得的光谱显示在图17中。该图显示了所用化合物A的形式 γ 、所用化合物A的形式 β 、搅拌前化合物A的形式 β 和 γ 的1:1重量比的混合物、从甲酰胺、从N,N-二甲基甲酰胺和从二甲基亚砷获得的晶体的光谱,从底部往上。

[0529] 根据上述(1)、(2)和(3)的结果,混合晶体形成 γ -单晶。

[0530] 实施例9

[0531] 溶解度测试

[0532] 将每个样品(即,化合物A的形式 α 、 β 和 γ)称重至体积为4mL的玻璃小瓶中。将试验溶液(3mL)加入小瓶中并将混合物悬浮。称取约150mg样品作为日本药典的溶解性试验的第一流体的测试溶液,称取约15mg作为日本药典的溶解性试验的第二流体的测试溶液和水。将各混合物用恒温培养箱振荡器(由TAITEC制造)在 20°C 下摇动3小时。摇动后,将上清液过

滤通过聚四氟乙烯圆盘过滤器 (Millex-LG; Millipore 制造), 过滤器的孔径为 $0.2\mu\text{m}$, 直径为 4mm 。通过高效液相色谱 (HPLC) 进行测定。结果如下表所示。

[0533] [表16]

溶剂	形式 α (无水形式)	形式 β	形式 γ
水	2.6 mg/mL	2.0 mg/mL	1.5 mg/mL
[0534] 用于溶解度测试的 JP 第一流体	45.0 mg/mL	39.1 mg/mL	36.4 mg/mL
用于溶解度测试的 JP 第二流体	2.7 mg/mL	2.1 mg/mL	1.5 mg/mL

[0535] 用于溶解度测试的 JP 第一流体 (日本药典): 将 2.0g 氯化钠溶解在 7.0mL 盐酸中, 并加水至 1000mL 。该溶液为澄清无色的, 其 pH 为约 1.2 。

[0536] 用于溶解度测试的 JP 第二流体 (日本药典): 将一体积水与一体积磷酸盐缓冲溶液混合, pH 为 6.8 。

[0537] 形式 α 在所测定的每种溶剂中显示出最高的溶解度, 而形式 γ 在所测定的每种溶剂中显示出最低的溶解度。

[0538] 实施例 10

[0539] 制剂

[0540] 包含化合物 A (例如, 作为形式 α 、形式 β 、形式 γ 或任何前述的混合物) 的制剂的实例在下文提供并且不旨在限制。

[0541] 制剂 1 (胶囊的制备)

- | | |
|--------------|-------|
| 1) 化合物 A | 30 mg |
| 2) 微晶纤维素 | 10 mg |
| [0542] 3) 乳糖 | 19 mg |
| 4) 硬脂酸镁 | 1 mg |

[0543] 将 1)、2)、3) 和 4) 混合以填充明胶胶囊。

[0544] 制剂 2 (片剂的制备)

- | | |
|----------------|------|
| 1) 化合物 A | 10 g |
| 2) 乳糖 | 50 g |
| [0545] 3) 玉米淀粉 | 15 g |
| 4) 羧甲基纤维素钙 | 44 g |
| 5) 硬脂酸镁 | 1 g |

[0546] 将 1)、2) 和 3) 的全部量和 30g 的 4) 与水合并, 真空干燥, 随后造粒。将得到的颗粒与 14g 4) 和 1g 5) 混合, 并用压片机压片。随后, 获得 1000 个片剂, 其中每片包含 10mg 化合物 A。

[0547] 除了本文所述的那些之外, 对于本领域技术人员而言, 本发明的各种修改也从前

面的描述中显而易见。这些修改也旨在落入所附权利要求的范围内。本申请中引用的每篇参考文献包括所有专利、专利申请和期刊文献，均通过引用整体并入本文。

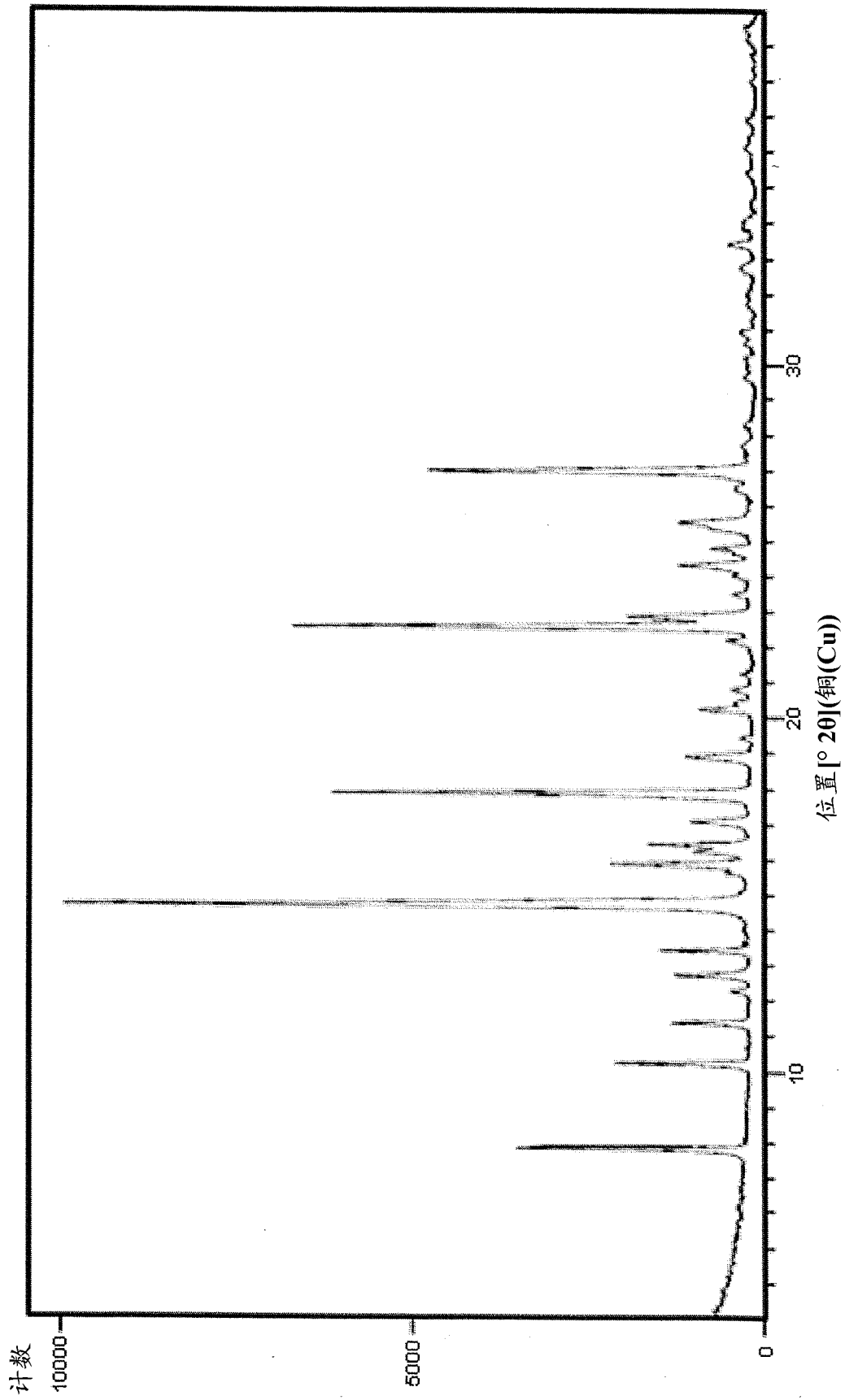


图 1

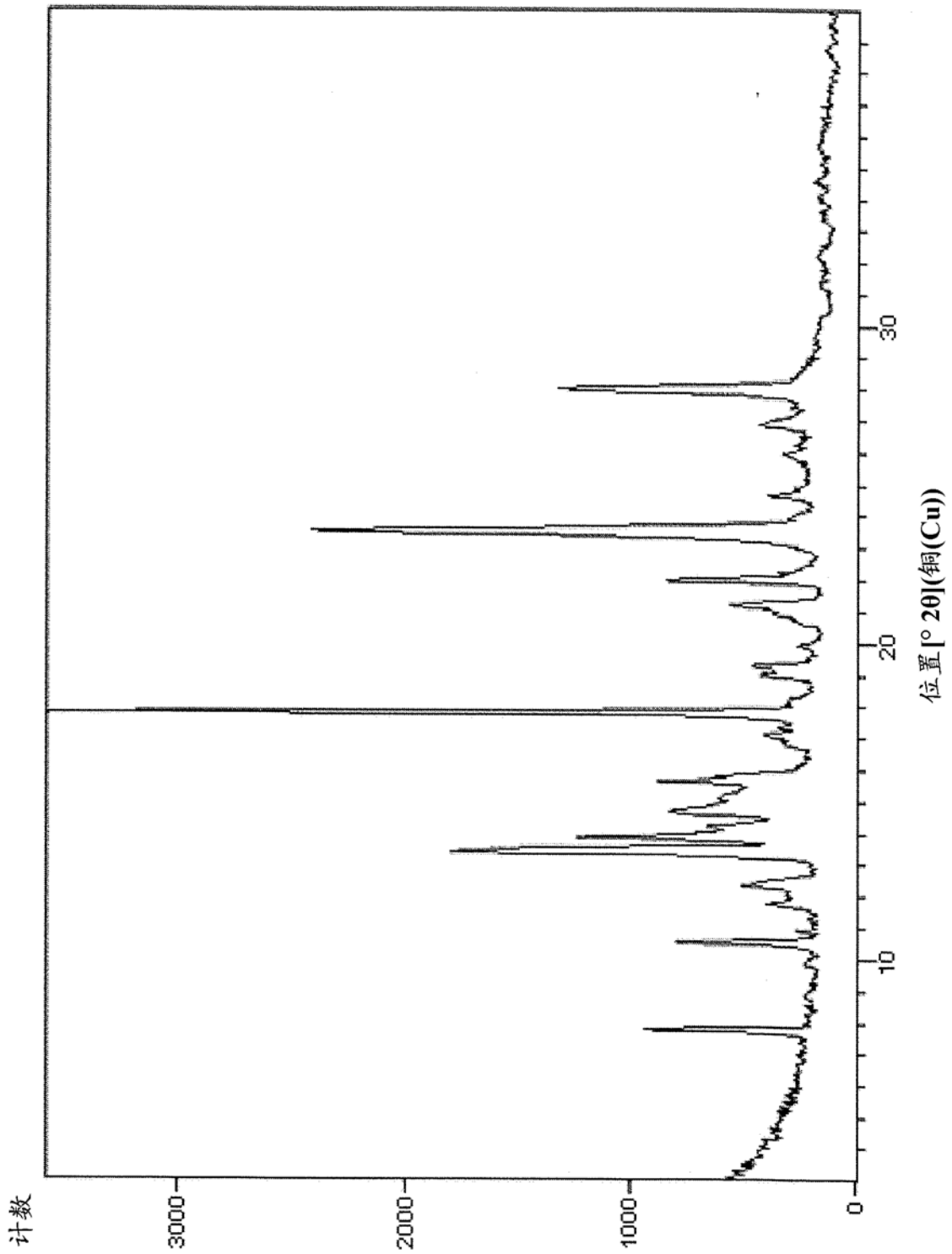


图 2

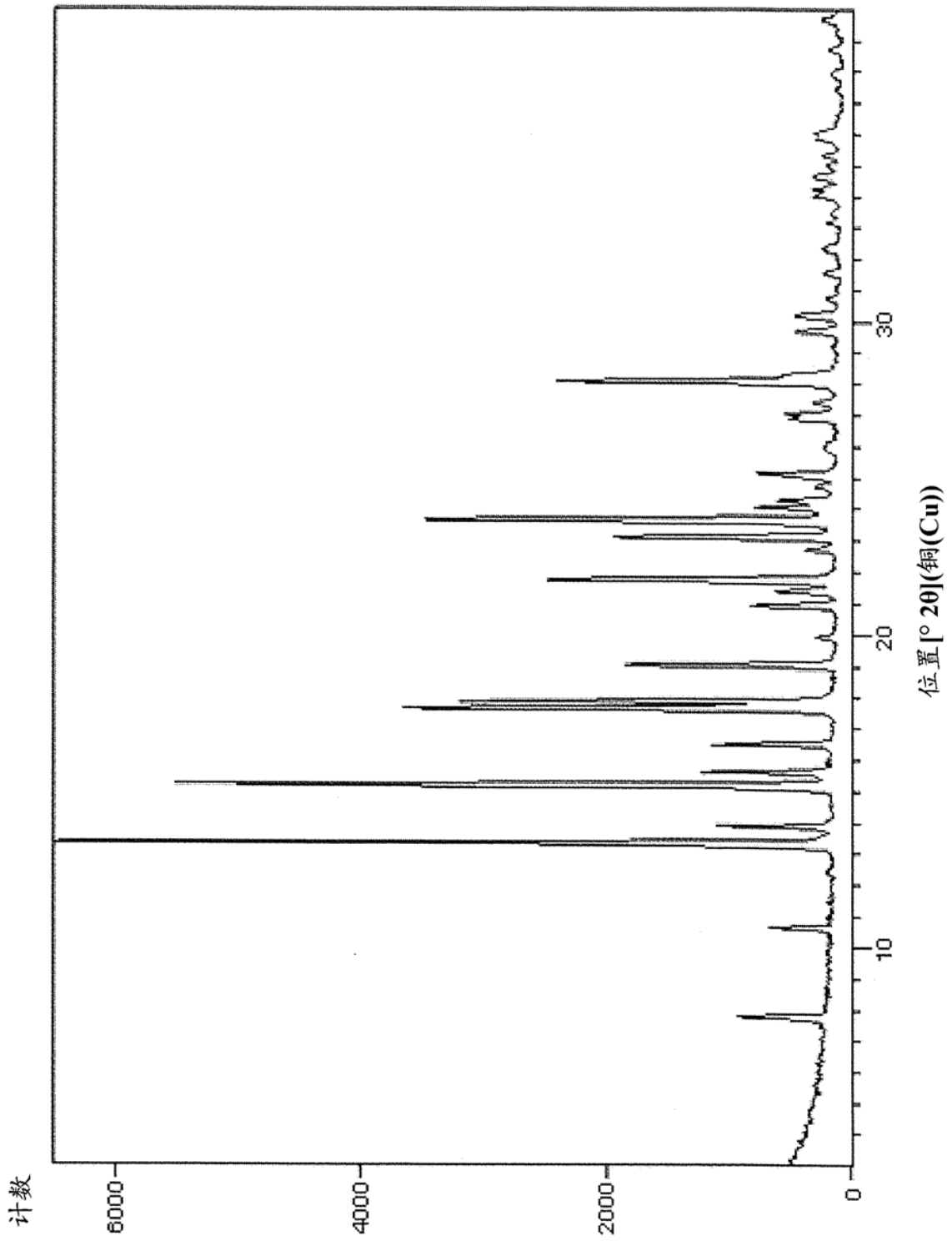


图 3

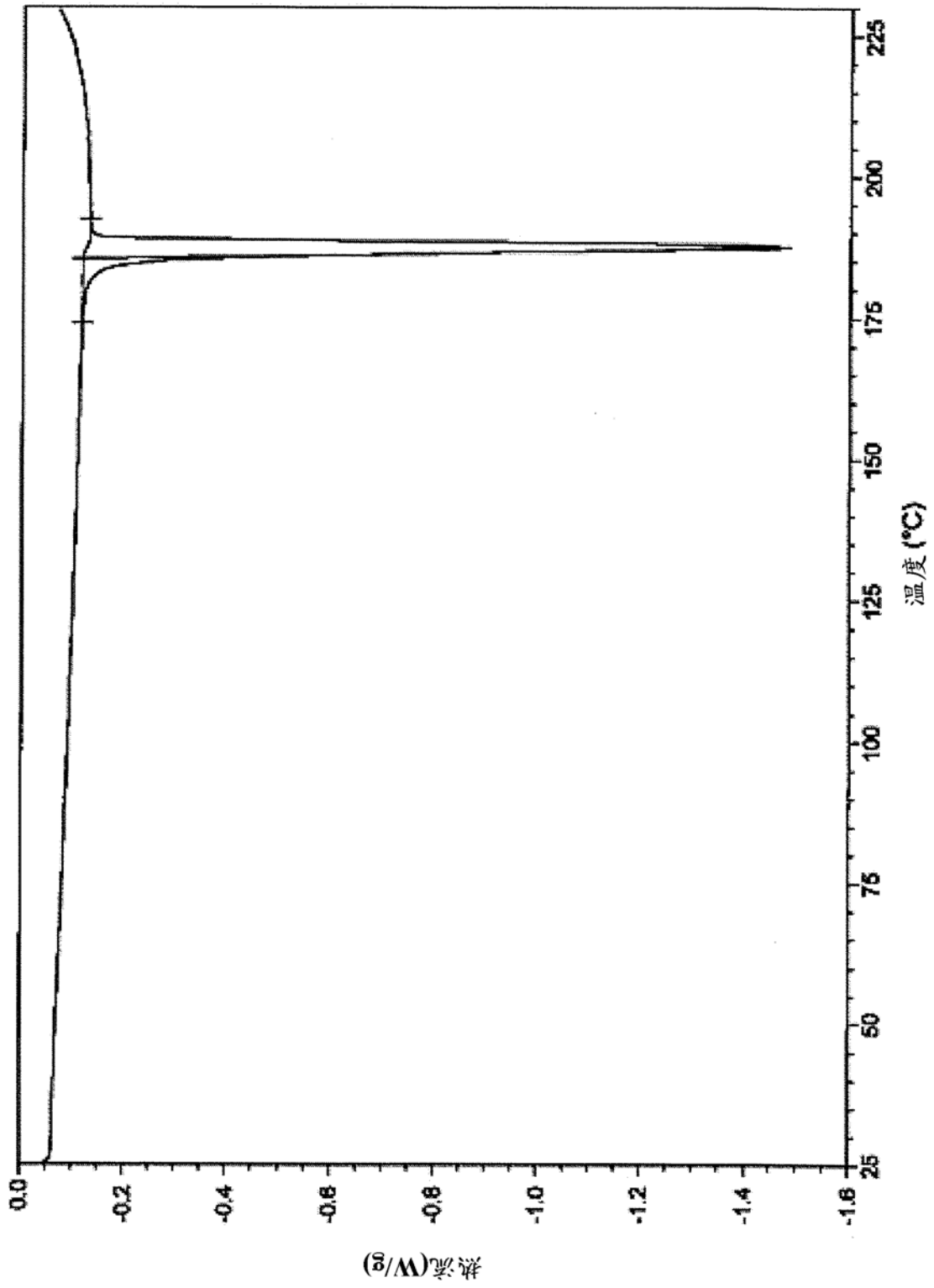


图 4

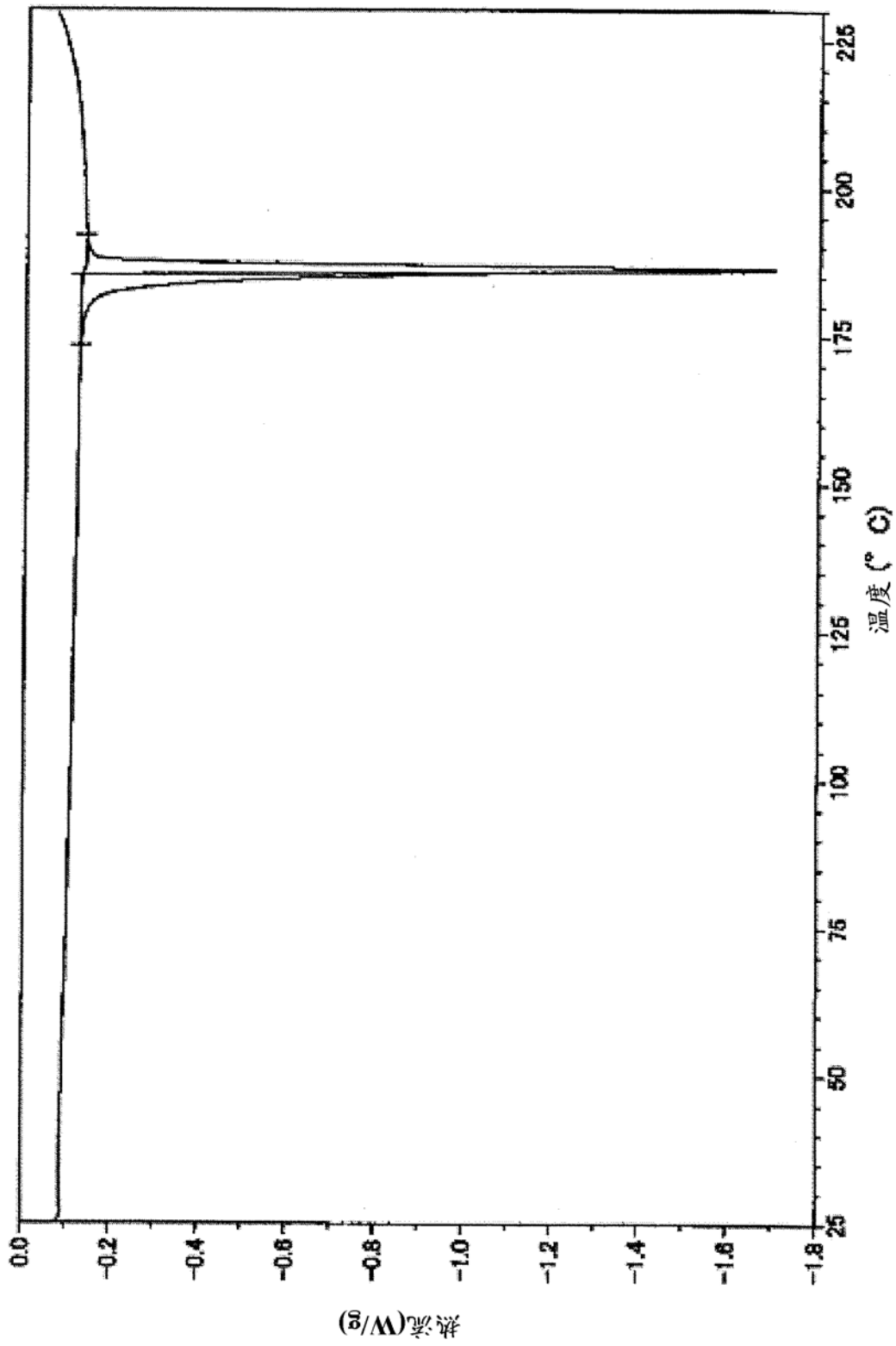


图 5

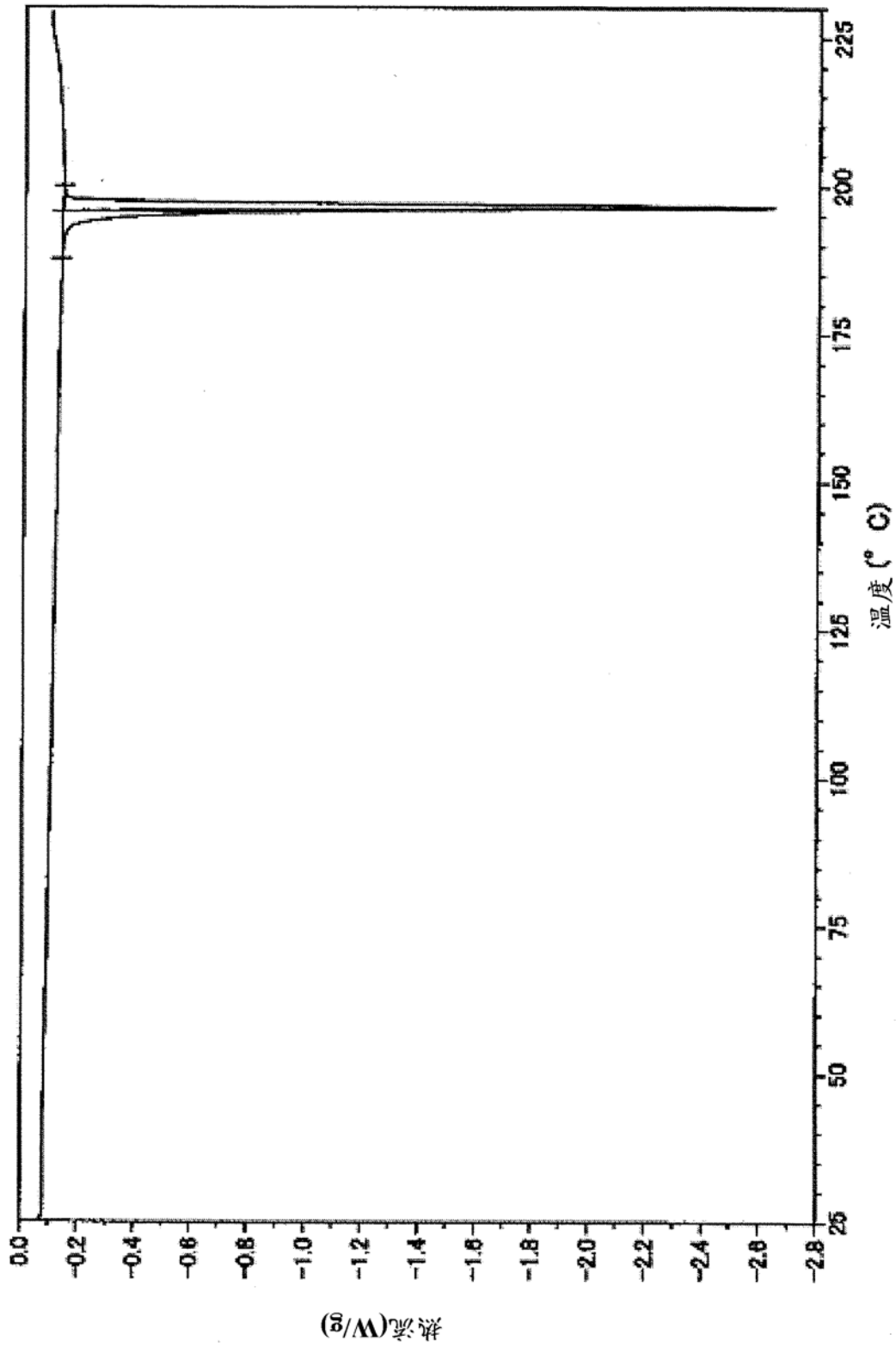


图 6



图 7

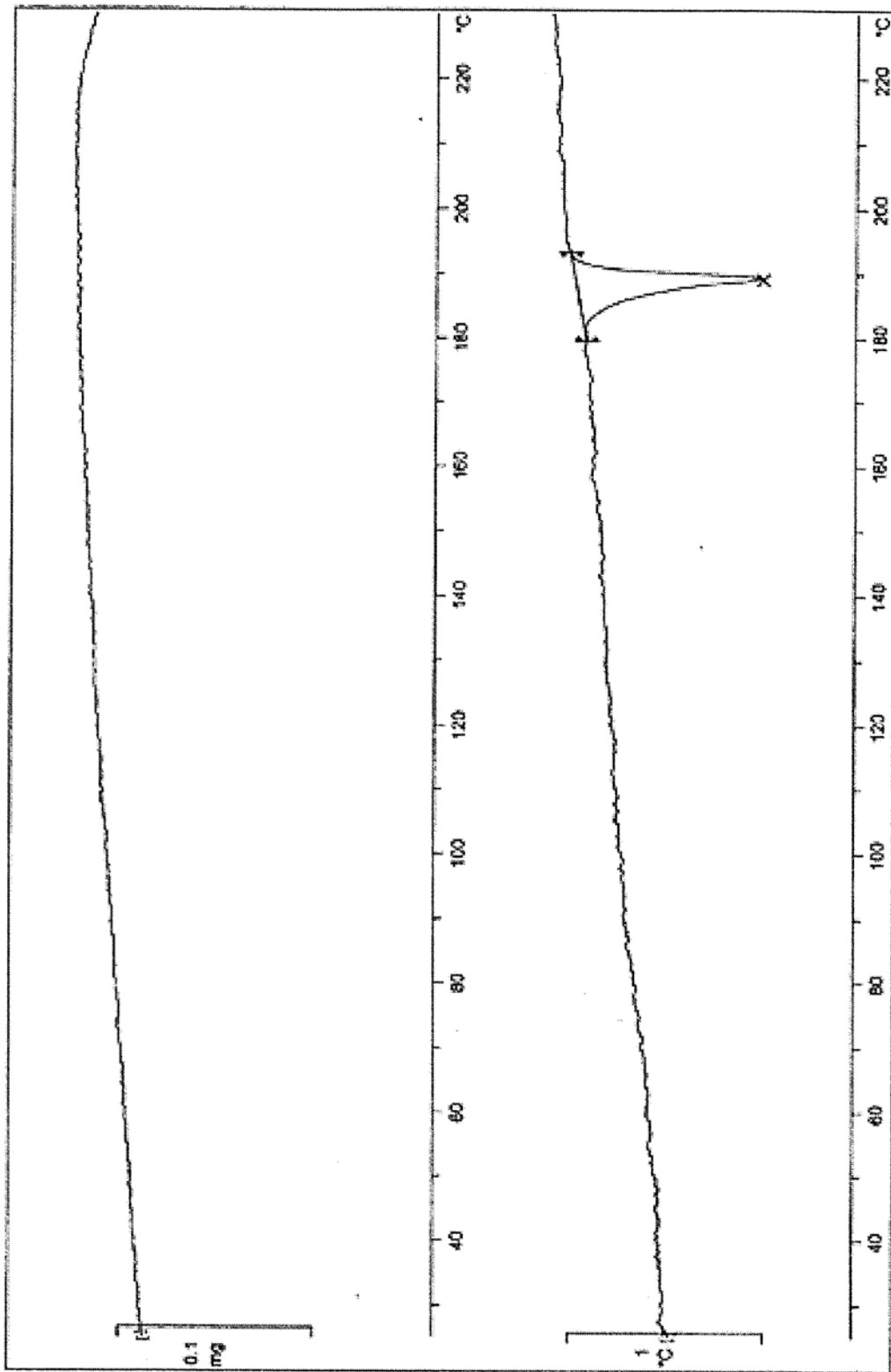


图 8

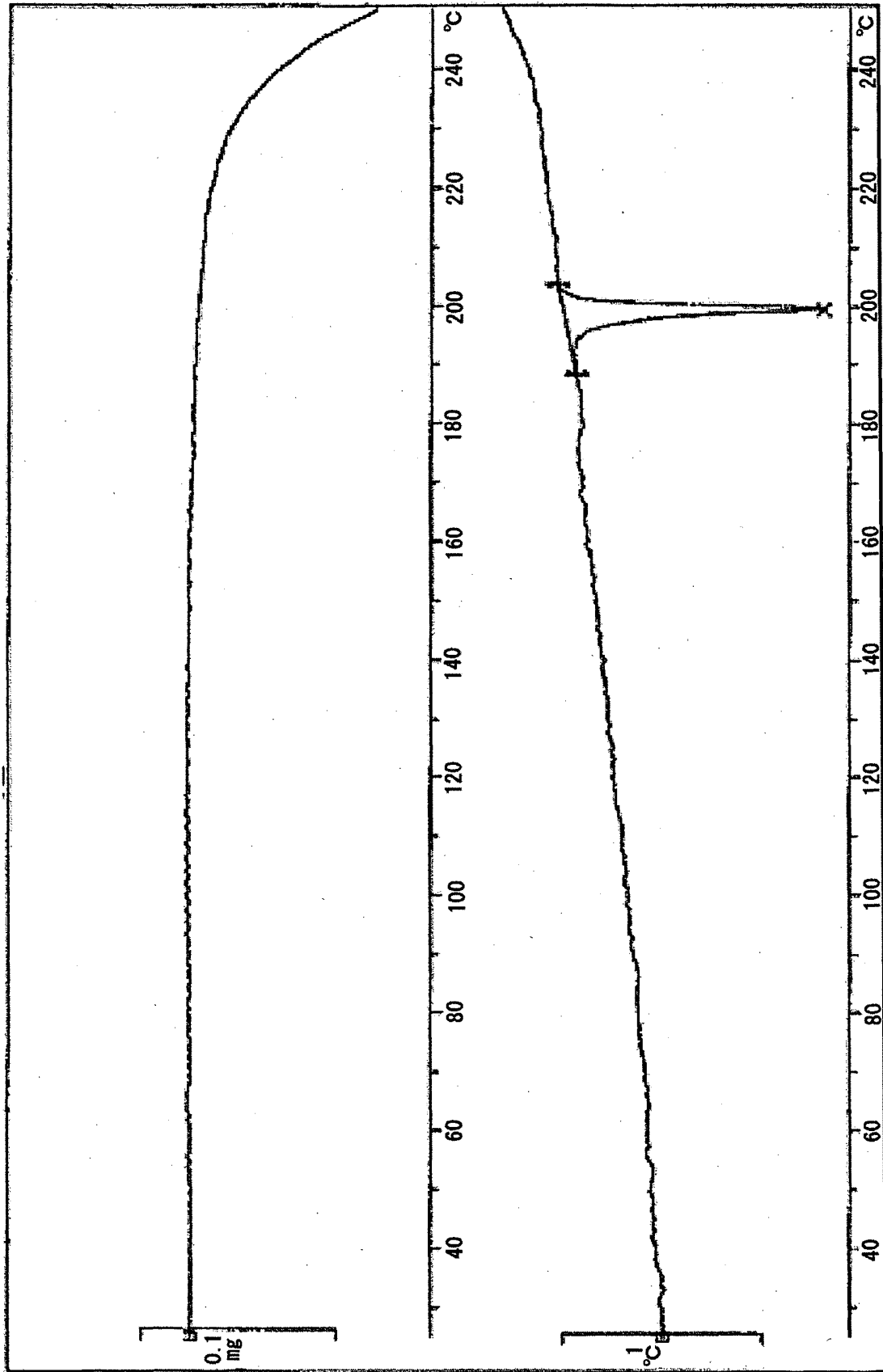


图 9

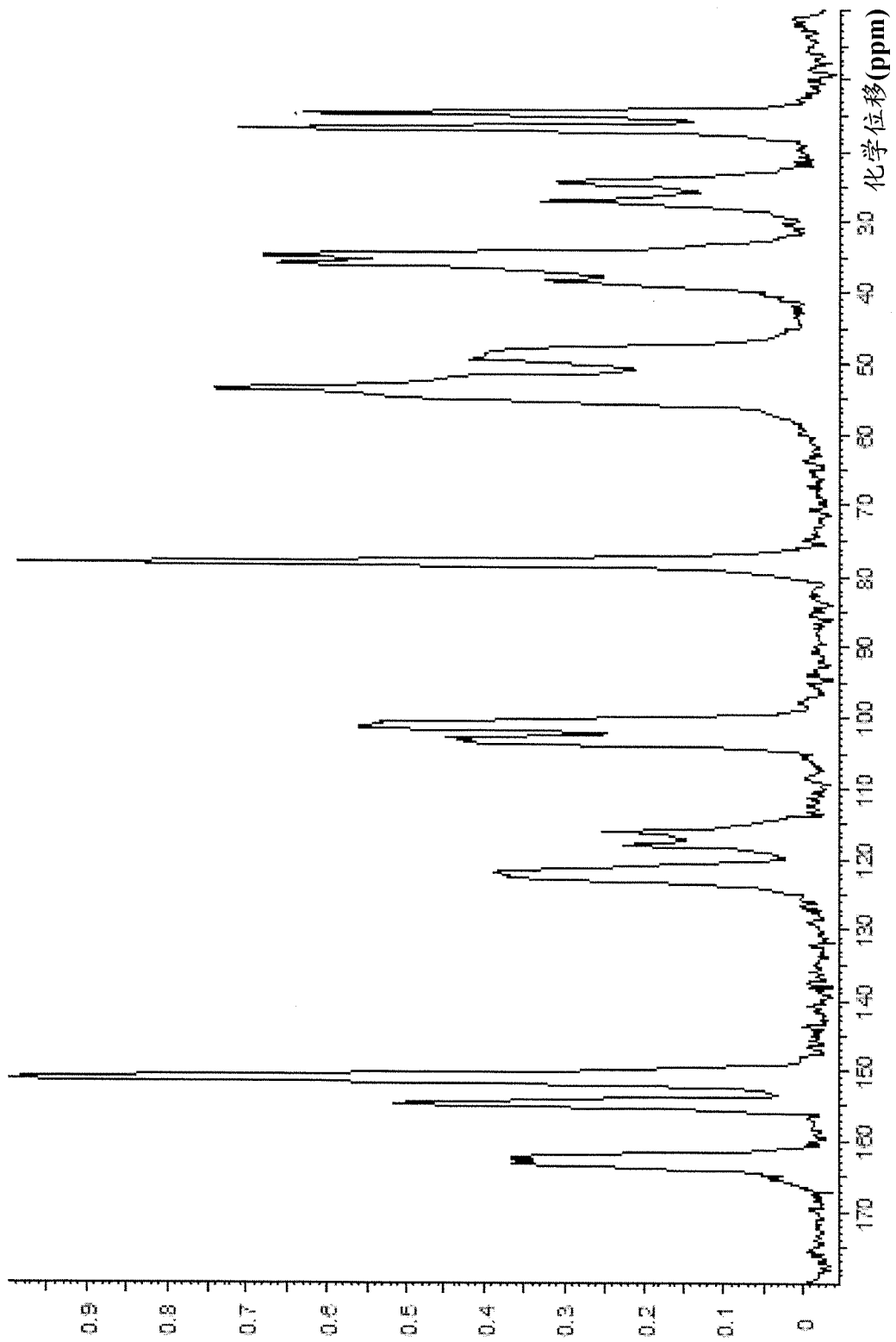


图 10

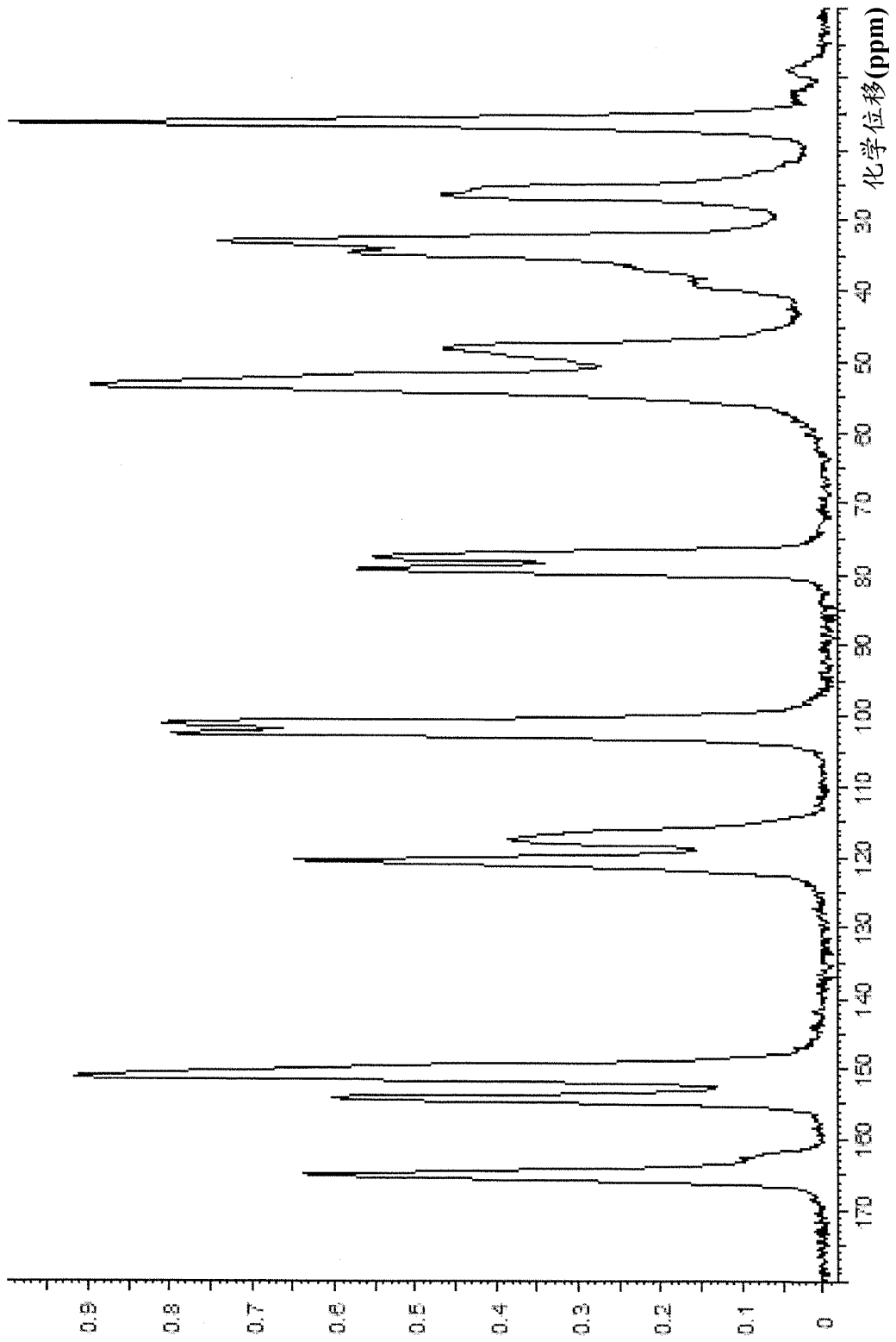


图 11

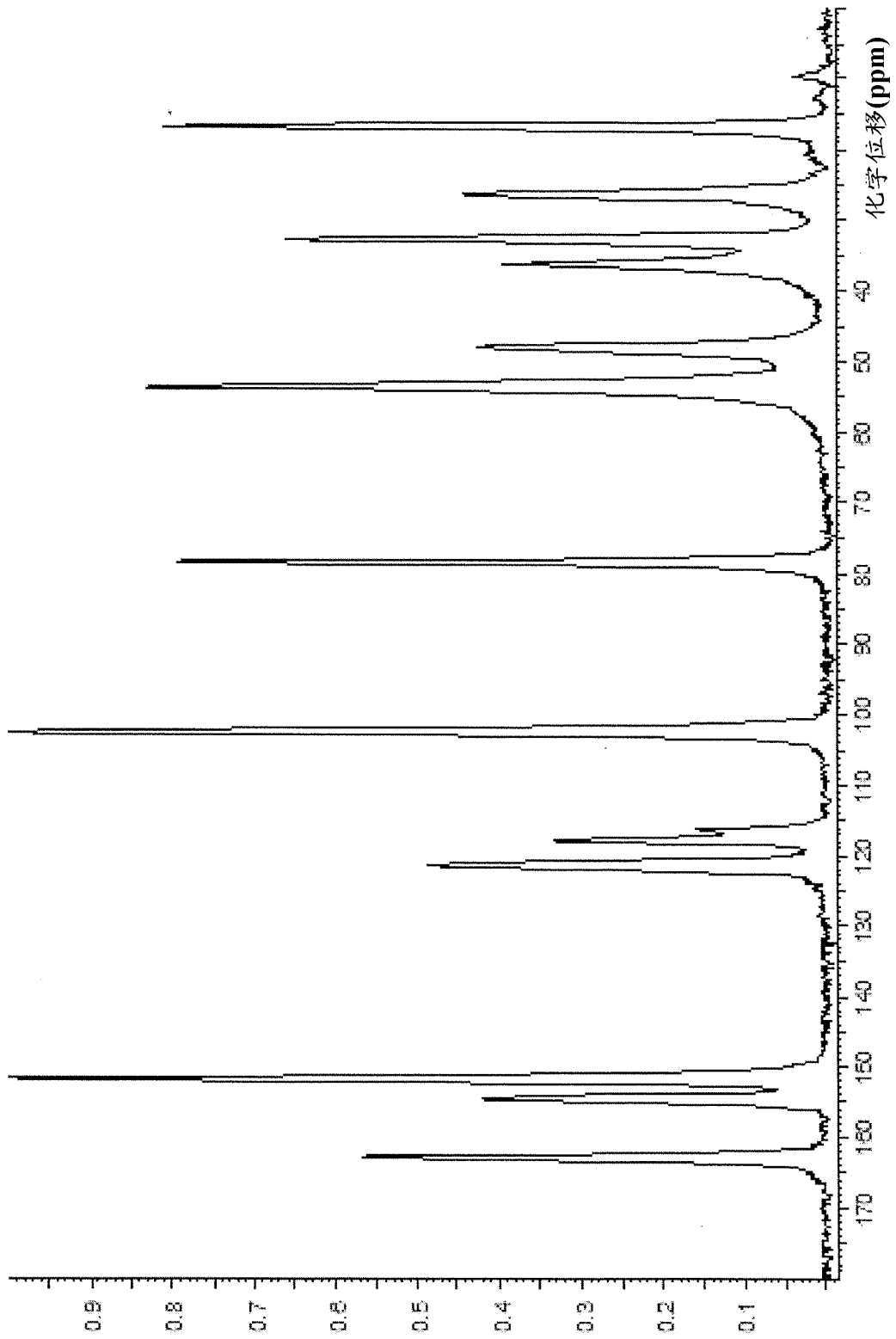


图 12

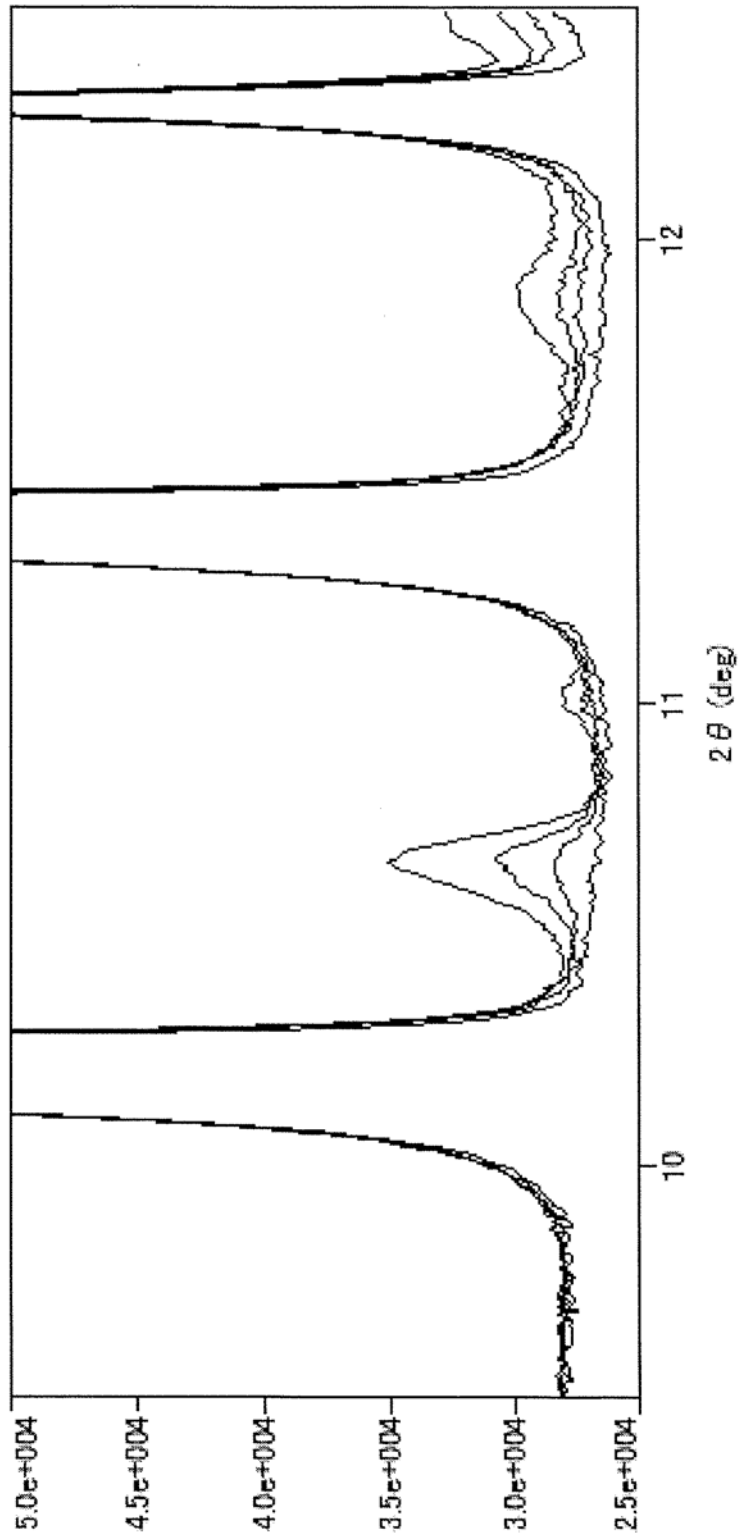


图 13

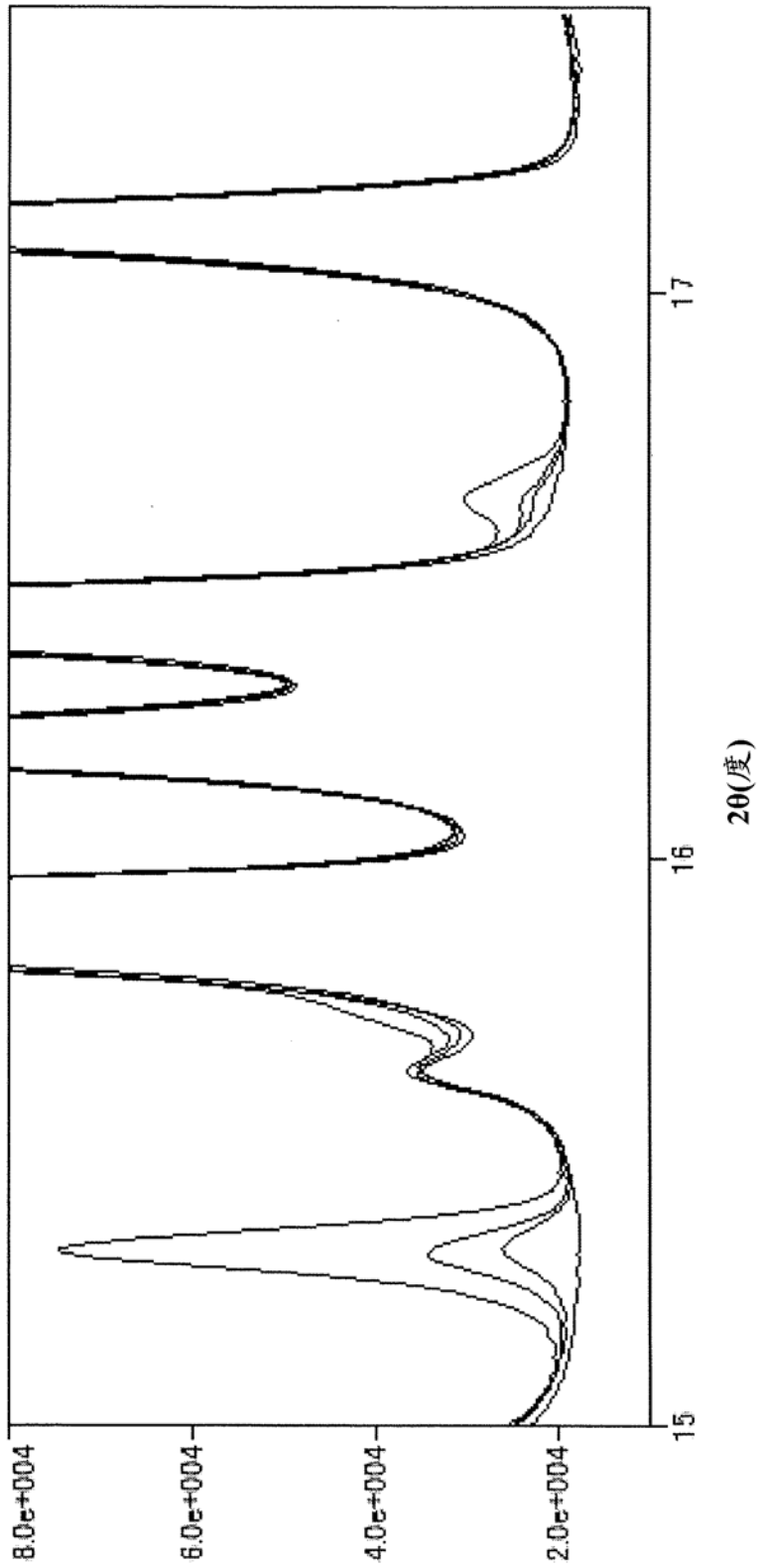


图 14

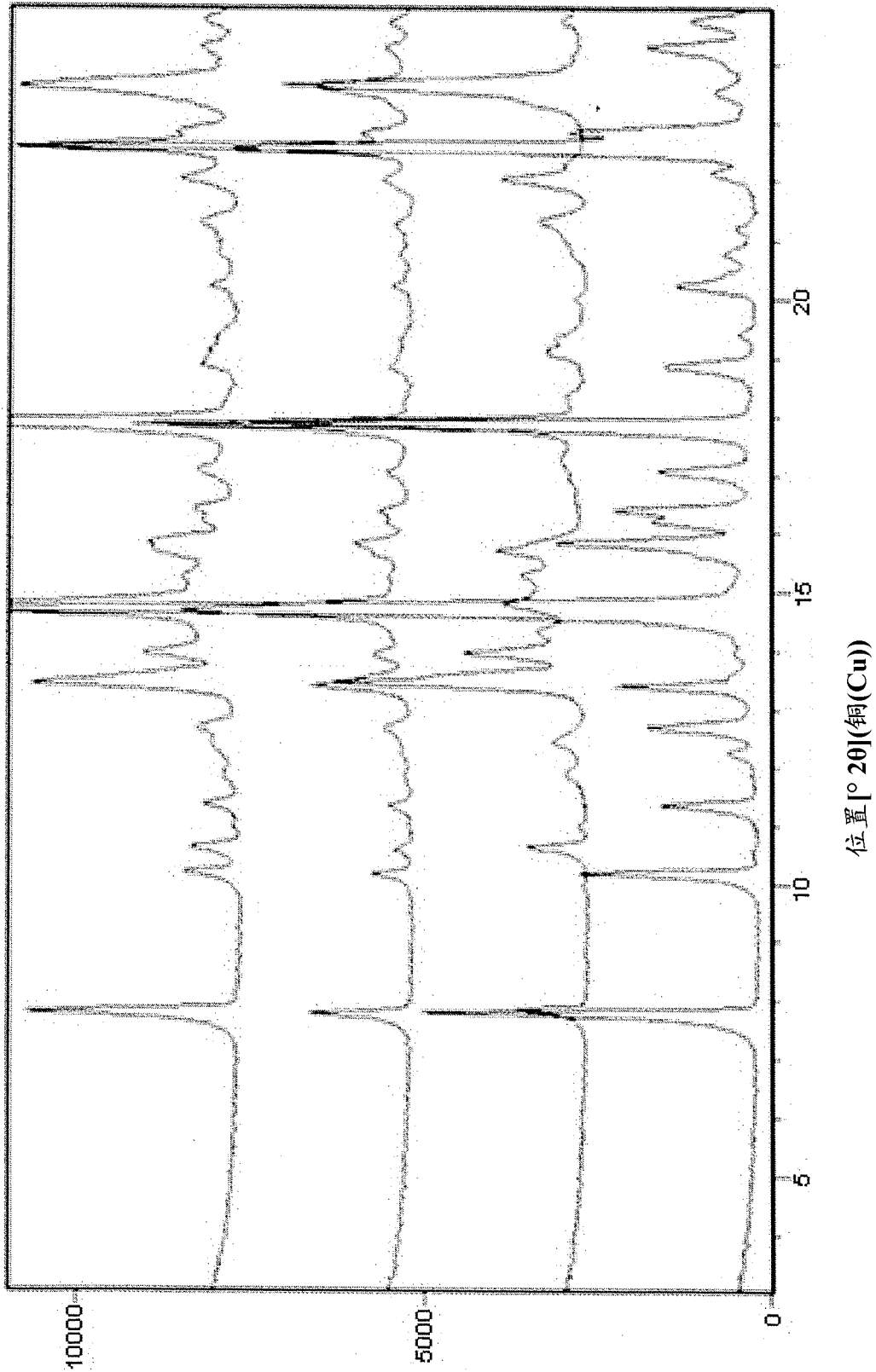


图 15

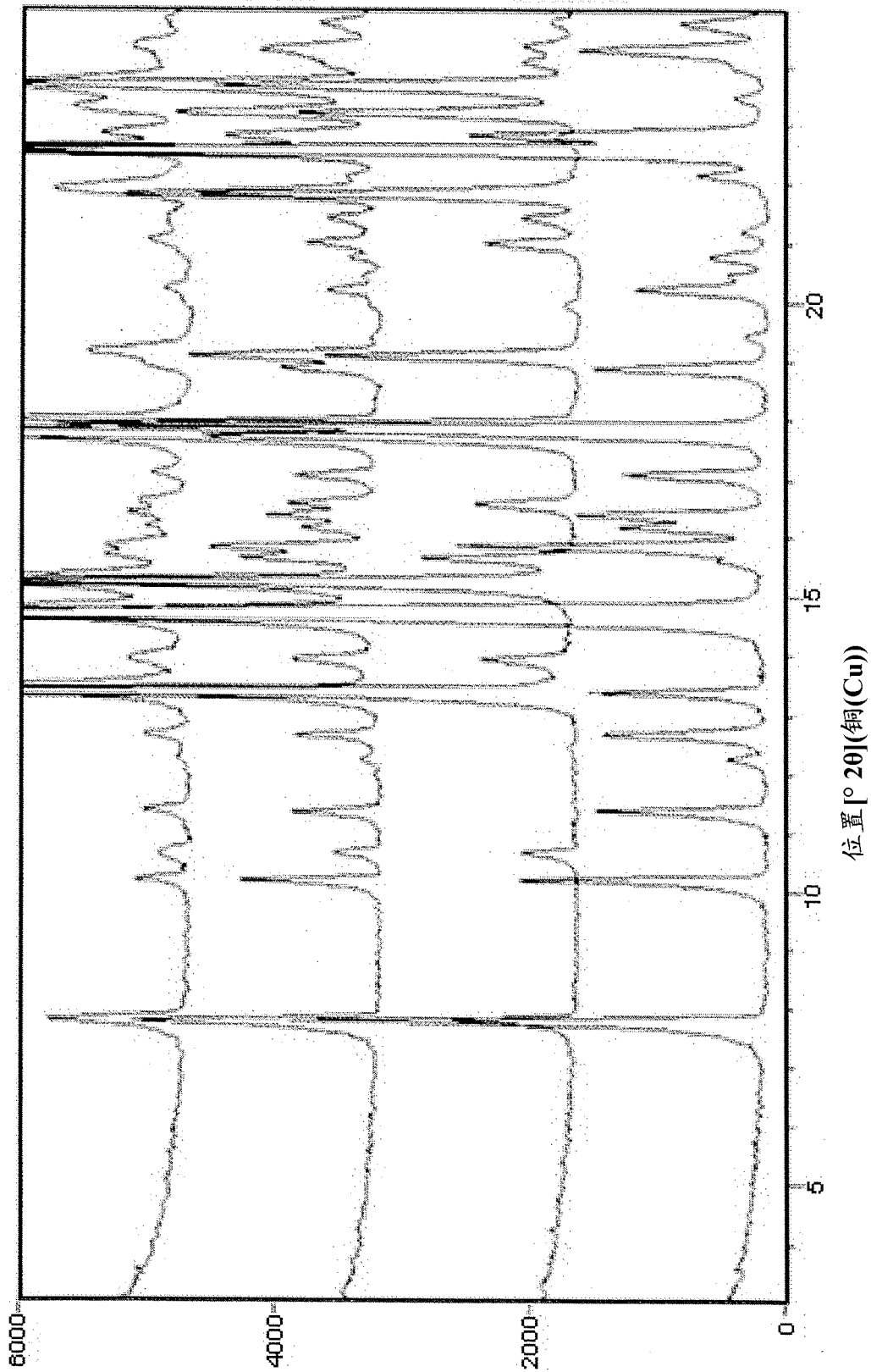


图 16

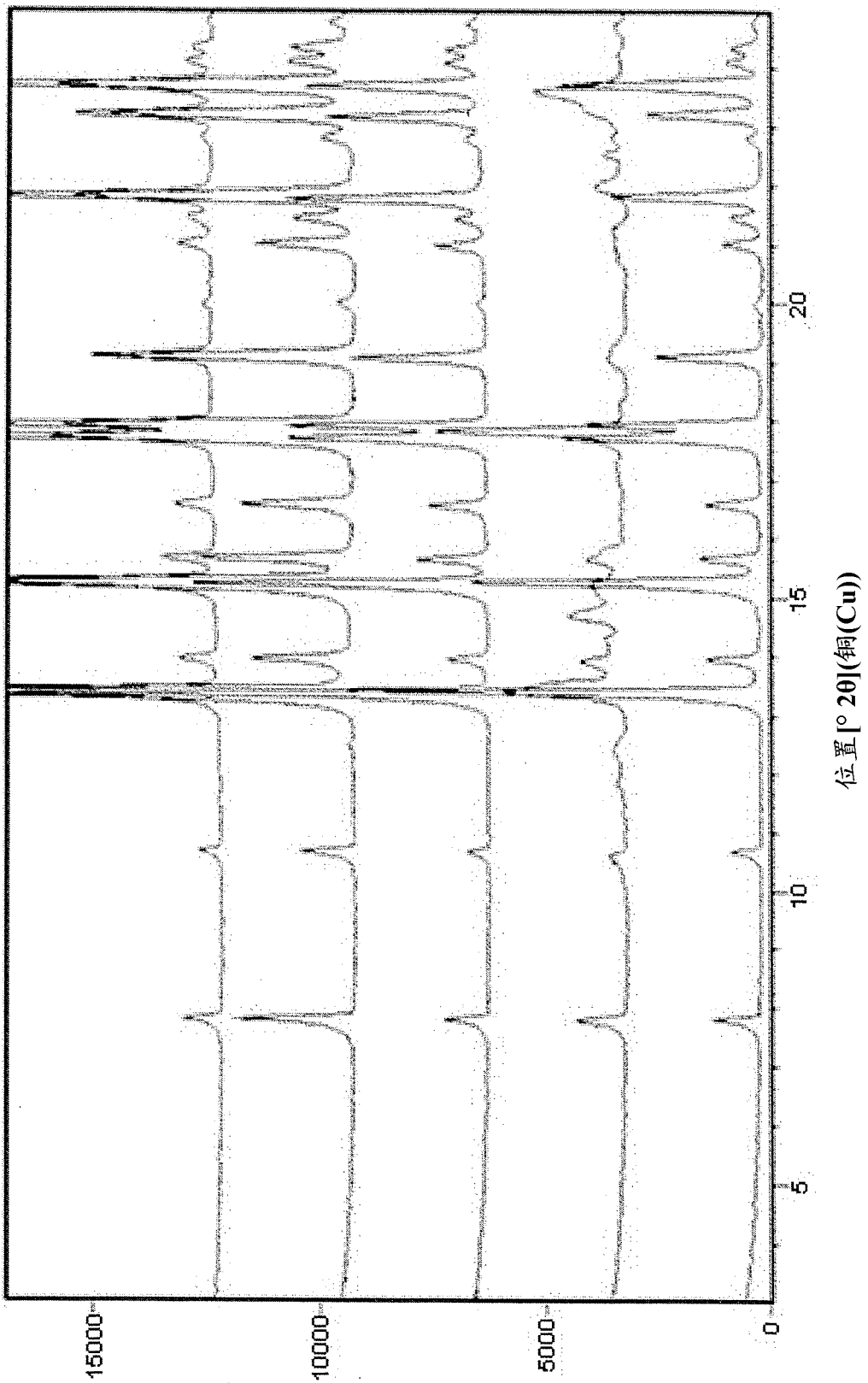


图 17