

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202490611 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2024.06.03

(51) Int. Cl. C07D 473/32 (2006.01)
A61K 31/52 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2022.09.23

(54) КРИСТАЛЛИЧЕСКАЯ ФОРМА ПРОИЗВОДНОГО ИМИДАЗОЛИНОНА

(31) 202111112867.2

(72) Изобретатель:

(32) 2021.09.23

Сюй Сюэчжэнь, Лэй Фэйцюань, Хэ
Люйсюэ, Вэй Юнган, Сунь И (CN)

(33) CN

(86) PCT/CN2022/120890

(74) Представитель:

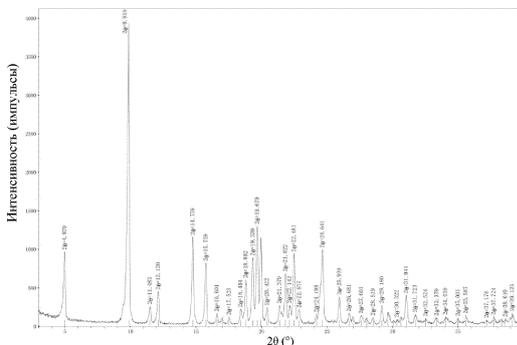
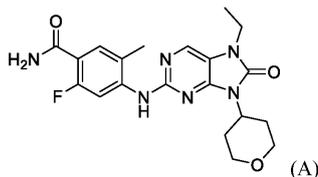
(87) WO 2023/046072 2023.03.30

Билык А.В., Поликарпов А.В.,
Соколова М.В., Путинцев А.И.,
Черкас Д.А., Игнатъев А.В., Дмитриев
А.В., Бельтюкова М.В. (RU)

(71) Заявитель:

ЧЭНДУ БАЙЮЙ
ФАРМАСЬЮТИКАЛ КО., ЛТД. (CN)

(57) Настоящее изобретение относится к кристаллической форме производного имидазолинона. Настоящее изобретение также относится к кристаллической форме замещенного производного имидазолинона и к содержащей ее фармацевтической композиции, а также к способу ее получения и ее применению в получении ингибитора ДНК-ПК. Конкретно, настоящее изобретение относится к кристаллическим формам I-VI соединения, представленного формулой (A), и к содержащим их фармацевтическим композициям, а также к способу их получения и к их применению в получении ингибитора ДНК-ПК.



A1

202490611

202490611

A1

КРИСТАЛЛИЧЕСКАЯ ФОРМА ПРОИЗВОДНОГО ИМИДАЗОЛИНОНА

Область техники

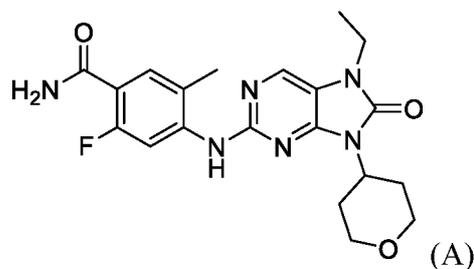
Настоящее изобретение относится к кристаллической форме производного имидазолинона или его гидрата или сольвата, а также к способу ее получения или содержащей ее фармацевтической композиции и ее применению в области получения ингибитора ДНК-ПК.

Предшествующий уровень техники

ДНК-зависимая протеинкиназа (ДНК-ПК) представляет собой ферментный комплекс ДНК-ПК, состоящий из гетеродимеров Ku70/Ku80 и ДНК-зависимых протеинкиназных каталитических субъединиц (ДНК-ПК). Этот ферментный комплекс нуждается в участии ДНК для того, чтобы активироваться для выполнения его соответствующей функции (George et al., 2019). Как серин/треонинпротеинкиназа ДНК-ПК является членом семейства PI3K (фосфатидилинозитол-3-киназа-связанная киназа), который не только играет важную роль в репарации внутриклеточных двухнитевых разрывов ДНК (DSB) и клеточной рекомбинации ДНК или антительной перестройке ДНК (V(D)J-рекомбинации), но и участвует в физиологических процессах, таких как модификация хромосом, транскрипционная регуляция и поддержание теломер.

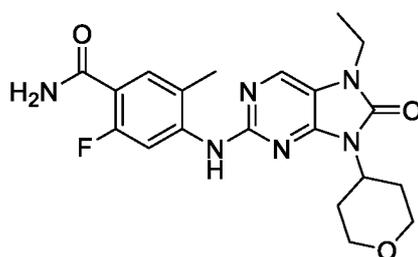
Комбинирование ингибиторов ДНК-ПК с противоопухолевыми препаратами, индуцирующими повреждение ДНК (например, ИК, химиотерапевтические реагенты и т.д.), может повысить терапевтическую эффективность. Применение ингибиторов ДНК-ПК может тем или иным образом влиять на функцию репарации ДНК нормальных клеток, но существуют различные комплементарные пути для ДНК в нормальных клетках. Опухолевые клетки более чувствительны к ингибиторам ДНК-ПК вследствие высокого давления со стороны репликации ДНК и отсутствия эффективного механизма репарации ДНК, и ингибирование активности ДНК-ПК в опухолевых клетках может усиливать цитотоксический эффект других противоопухолевых средств в опухолевых клетках.

В патентной заявке PCT/CN2021/087912 описан новый ингибитор ДНК-ПК со структурой, представленной формулой (A). Он обладает хорошим ингибирующим воздействием на активность ДНК-ПК и имеет потенциал в приготовлении противоопухолевых лекарственных средств.



Сущность изобретения

Согласно настоящему изобретению предложена кристаллическая форма 4-((7-этил-8-оксо-9-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)-8,9-дигидро-7H-пурин-2-ил)амино)-2-фтор-5-метилбензамида (Соединение А), который имеет следующую химическую структуру:



Кристаллическая форма по настоящему изобретению демонстрирует по меньшей мере одно из следующих преимуществ: хорошая растворимость, высокая стабильность, легкость в обращении, обработке и очистке, улучшенная пероральная биодоступность лекарственного средства, увеличенный срок хранения лекарственного средства, легкость в изготовлении различных лекарственных форм.

Кристаллическая форма по настоящему изобретению демонстрирует фармацевтические преимущества над аморфной формой Соединения А. В частности, кристаллическая форма имеет более высокую химическую и физическую стабильность и более благоприятна при приготовлении твердых лекарственных форм, содержащих фармакологически активные ингредиенты.

Кристаллическая форма по настоящему изобретению присутствует в количестве от примерно 5 масс. % до примерно 100 масс. % активного фармацевтического ингредиента (API). В некоторых воплощениях кристаллическая форма по настоящему изобретению присутствует в количестве от примерно 10 масс. % до примерно 100 масс. % API. В некоторых воплощениях кристаллическая форма по настоящему изобретению присутствует в количестве от примерно 15 масс. % до примерно 100 масс. % API. В некоторых воплощениях кристаллическая форма по настоящему изобретению присутствует в количестве от примерно 20 масс. % до примерно 100 масс. % API. В некоторых воплощениях кристаллическая форма по настоящему изобретению присутствует в количестве от примерно 25 масс. % до примерно 100 масс. % API. В

Соединение А по настоящему изобретению находится в аморфной форме, если конкретно не указано иное.

В воплощении настоящего изобретения кристаллическая форма представляет собой безводное Соединение А (кристаллическая форма I) и имеет характеристические дифракционные пики в положениях 2θ $9,859^{\circ}\pm 0,3^{\circ}$, $14,759^{\circ}\pm 0,3^{\circ}$, $19,679^{\circ}\pm 0,3^{\circ}$ и $19,961^{\circ}\pm 0,3^{\circ}$ на картине дифракции рентгеновских лучей на порошке, полученной под действием Cu-K α излучения.

В данном документе на картине дифракции рентгеновских лучей на порошке кристаллической формы I характеристические дифракционные пики также присутствуют в положениях 2θ $4,979^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$, $15,759^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$, $19,339^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$, $22,481^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$ и $24,641^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$.

Дополнительно, кристаллическая форма I дополнительно имеет характеристические дифракционные пики в положениях 2θ $12,120^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$, $18,802^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$, $21,822^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$ на картине дифракции рентгеновских лучей на порошке.

Кроме того, кристаллическая форма I дополнительно имеет характеристические дифракционные пики в положениях 2θ $11,483^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$, $20,422^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$, $21,379^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$, $22,142^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$, $25,939^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$, $29,180^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$, $31,041^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$ на картине дифракции рентгеновских лучей на порошке.

Еще больше, кристаллическая форма I имеет картину дифракции рентгеновских лучей на порошке по существу такую, как показано на Фиг. 1 или Фиг. 2.

В воплощении настоящего изобретения кристаллическая форма представляет собой кристаллическую форму II, которая имеет картину дифракции рентгеновских лучей на порошке по существу такую, как показано на Фиг. 6.

В воплощении настоящего изобретения кристаллическая форма представляет собой кристаллическую форму III, которая имеет картину дифракции рентгеновских лучей на порошке по существу такую, как показано на Фиг. 9.

В воплощении настоящего изобретения кристаллическая форма представляет собой кристаллическую форму IV, которая имеет картину дифракции рентгеновских лучей на порошке по существу такую, как показано на Фиг. 12.

В воплощении настоящего изобретения кристаллическая форма представляет собой кристаллическую форму V, которая имеет картину дифракции рентгеновских лучей на порошке по существу такую, как показано на Фиг. 15.

В воплощении настоящего изобретения кристаллическая форма представляет собой кристаллическую форму VI, которая имеет картину дифракции рентгеновских лучей на порошке по существу такую, как показано на Фиг. 18.

Настоящее изобретение также относится к способу получения кристаллической

формы I, который представляет собой Способ I или Способ II:

Способ I: растворение Соединения А в растворителе, нагревание до температуры дефлегмации до растворения твердого вещества и затем естественное охлаждение для кристаллизации с последующим фильтрованием и сушкой с получением кристаллической формы I;

Способ II: растворение Соединения А в растворителе, нагревание до 75-85°C до растворения твердого вещества, затем охлаждение до 55-65°C для кристаллизации и дальнейшее охлаждение до 15-25°C для кристаллизации с последующим фильтрованием и сушкой с получением кристаллической формы I;

где растворитель выбран из растворителя на спиртовой основе или смешанного растворителя из растворителя на спиртовой основе и воды.

Настоящее изобретение также относится к фармацевтической композиции, содержащей терапевтически эффективное количество соединения в кристаллической форме согласно настоящему изобретению и один или более фармацевтически приемлемых носителей или эксципиентов.

Кристаллические формы по настоящему изобретению в качестве активных фармацевтических ингредиентов или фармацевтическая композиция, в которой кристаллические формы использованы в качестве активных ингредиентов, предназначены для использования в получении ингибитора ДНК-ПК.

В данном документе ингибитор ДНК-ПК предназначен для использования в получении лекарственного средства для лечения и профилактики рака.

Картины дифракции рентгеновских лучей на порошке, раскрытые в данном документе, и картины, которые по существу такие же, входят в объем настоящего изобретения.

Если не утверждается обратное, термины, использованные в описании и формуле изобретения, имеют нижеследующие значения.

«Эффективная доза» означает искомое количество соединения, которое приводит к физиологическому или медицинскому ответу в ткани, системе или субъекте, включая количество соединения, достаточное для предупреждения возникновения или уменьшения в некоторой степени одного или нескольких симптомов заболевания или состояния, подлежащего лечению, при введении субъекту.

«IC₅₀» относится к половинной ингибирующей концентрации, означающей концентрацию, при которой достигается половина максимального ингибирующего эффекта.

Кристаллическая структура по настоящему изобретению может быть проанализирована с использованием различных аналитических методов, известных

специалистам в данной области техники, включая, но без ограничения, дифракцию рентгеновских лучей на порошке (ДРЛП).

Следует понимать, что значения, описанные и искомые для защиты настоящим изобретением, являются приблизительными значениями. Отклонения в пределах значений могут быть связаны с калибровкой оборудования, погрешностью оборудования, чистотой кристалла, размером кристалла, размером образца и другими факторами.

Следует понимать, что кристаллические формы по настоящему изобретению не ограничиваются характеристическими картинами, идентичными тем, которые проиллюстрированы в прилагаемых графических материалах, раскрытых в настоящем документе, таких как ДРЛП. Любые кристаллические формы, имеющие характеристическую картину, которая в значительной степени или по существу идентична тем картинам, которые проиллюстрированы в прилагаемых графических материалах, входят в объем настоящего изобретения.

Не отклоняясь от объема и замысла настоящего изобретения, различные модификации и альтернативы настоящего изобретения будут очевидны для специалистов в данной области техники при рассмотрении описания изобретения и методик в примерах по настоящему изобретению.

Краткое описание графических материалов

Фиг. 1 представляет собой картину дифракции рентгеновских лучей на порошке, полученную с использованием Си-Ка излучения, кристаллической формы I соединения А, полученной в Примере 2.

Фиг. 2 представляет собой картину дифракции рентгеновских лучей на порошке кристаллической формы I соединения А, полученной в Примере 3.

Фиг. 3 представляет собой диаграмму ТГА (термогравиметрический анализ) кристаллической формы I соединения А, полученной в Примере 3.

Фиг. 4 представляет собой диаграмму ДСК (дифференциальная сканирующая калориметрия) кристаллической формы I соединения А, полученной в Примере 3.

Фиг. 5 представляет собой диаграмму ДСП (динамическая сорбция паров) кристаллической формы I соединения А, полученной в Примере 3.

Фиг. 6 представляет собой картину дифракции рентгеновских лучей на порошке кристаллической формы II.

Фиг. 7 представляет собой диаграмму ТГА кристаллической формы II.

Фиг. 8 представляет собой диаграмму ДСК кристаллической формы II.

Фиг. 9 представляет собой картину дифракции рентгеновских лучей на порошке кристаллической формы III.

Фиг. 10 представляет собой диаграмму ТГА кристаллической формы III.

Фиг. 11 представляет собой диаграмму ДСК кристаллической формы III.

Фиг. 12 представляет собой картину дифракции рентгеновских лучей на порошке кристаллической формы IV.

Фиг. 13 представляет собой диаграмму ТГА кристаллической формы IV.

Фиг. 14 представляет собой диаграмму ДСК кристаллической формы IV.

Фиг. 15 представляет собой картину дифракции рентгеновских лучей на порошке кристаллической формы V.

Фиг. 16 представляет собой диаграмму ТГА кристаллической формы V.

Фиг. 17 представляет собой диаграмму ДСК кристаллической формы V.

Фиг. 18 представляет собой картину дифракции рентгеновских лучей на порошке кристаллической формы VI.

Фиг. 19 представляет собой диаграмму ТГА кристаллической формы VI.

Фиг. 20 представляет собой диаграмму ДСК кристаллической формы VI.

Подробное описание изобретения

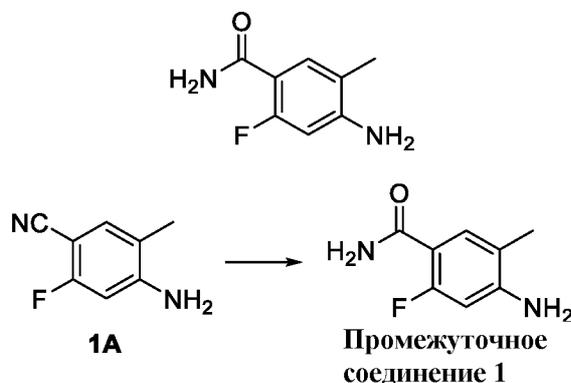
Нижеследующее подробное описание осуществления изобретения и положительных эффектов, производимых настоящим изобретением, посредством конкретных примеров предназначено для того, чтобы помочь читающему лучше понять сущность и характеристики настоящего изобретения, а не в качестве ограничения осуществляемого объема настоящего изобретения.

Если в примерах не указано иное, раствор относится к водному раствору.

Если конкретно не указано иное, экспериментальными условиями для кристаллизации обычно являются комнатная температура (20-30°C, относительная влажность 30-70%), и соотношение растворителей относится к объемному соотношению.

Промежуточное соединение 1

4-Амино-2-фтор-5-метилбензамид (**Промежуточное соединение 1**)



4-Амино-2-фтор-5-метилбензонитрил 1A (300 мг, 2 ммоль) и карбонат калия (41,4

мг, 0,3 ммоль) растворяли в 1 мл диметилсульфоксида и помещали в ледяную баню, добавляли 300 мкл перекиси водорода, затем постепенно нагревали до 60°C и перемешивали в течение 2 ч. Реакцию контролировали методом ТСХ (тонкослойная хроматография) до завершения реакции. Затем в реакционный раствор добавляли 5 мл воды, и белое твердое вещество выпадало в осадок. После фильтрования и удаления воды в роторном испарителе было получено указанное в заголовке соединение 4-амино-2-фтор-5-метилбензамид, **Промежуточное соединение 1** (белое твердое вещество, 160 мг, выход 47%).

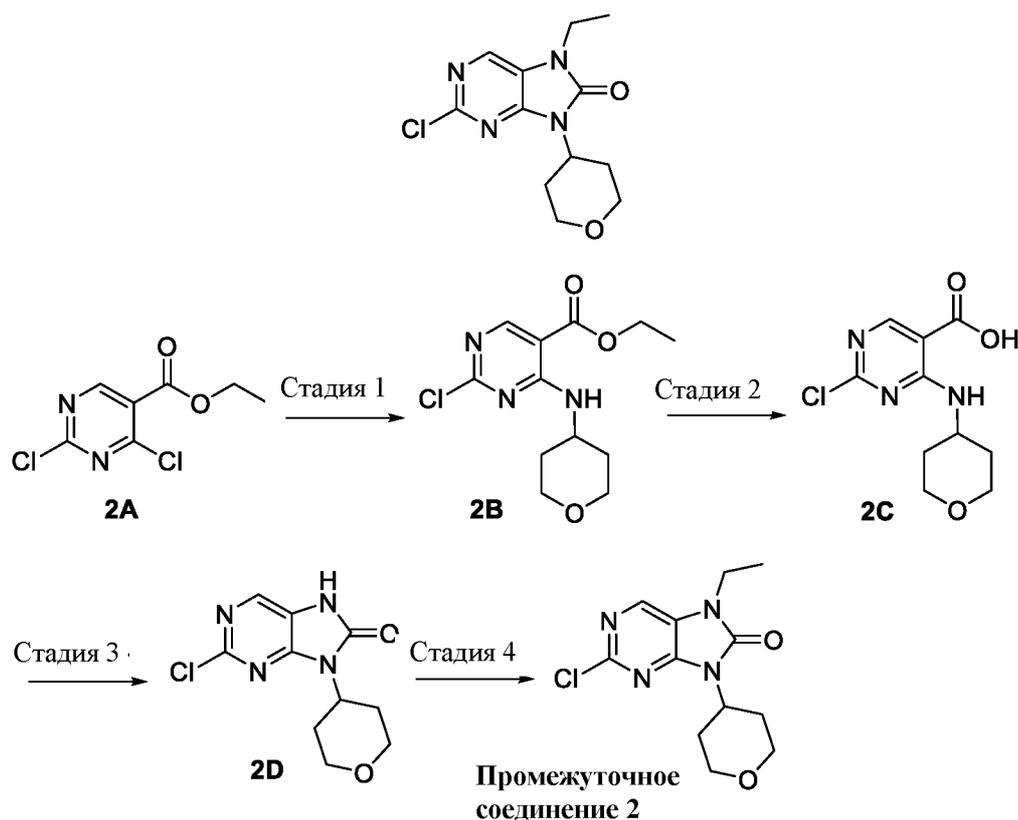
^1H ЯМР (400 МГц DMSO) δ 7.37 (d, 1H), 7.15 (s, 1H), 6.96 (s, 1H), 6.32 (d, 1H), 5.70 (s, 1H), 2.01 (s, 3H).

ЖХ/МС (жидкостная хроматография/масс-спектрометрия) m/z (ЭРИ (электрораспылительная ионизация)) = 169,10 [M+1].

Промежуточное соединение 2

2-Хлор-9-(тетрагидро-2Н-пиран-4-ил)-7,9-дигидро-8Н-пурин-8-он

(Промежуточное соединение 2)



Стадия 1:

Этил-2-хлор-4-((тетрагидро-2Н-пиран-4-ил)амино)пиримидин-5-карбоксилат (**2B**)

Этил-2,4-дихлорпиримидин-5-карбоксилат **2A** (30,00 г, 136,4 ммоль) и тетрагидро-2Н-пиран-4-амина гидрохлорид (18,66 г, 136,4 ммоль) растворяли в ацетонитриле (600 мл).

После перемешивания несколько раз добавляли карбонат калия (46,92 г, 340,9 ммоль) и перемешивали в течение 4 ч при комнатной температуре. После завершения реакции по результатам ТСХ реакционный раствор фильтровали, и остаток промывали этилацетатом (300 мл). Фильтрат концентрировали с получением неочищенного продукта, который очищали колоночным разделением (*n*-гексан:этилацетат (об./об.) = 1:1) с получением указанного в заголовке соединения, этил-2-хлор-4-((тетрагидро-2Н-пиран-4-ил)амино)пиримидин-5-карбоксилата **2В** (белое твердое вещество, 30,0 г, выход 77,4%).

^1H ЯМР (400 МГц DMSO) δ 8.62 (s, 1H), 8.32 (d, 1H), 4.30 (q, 2H), 4.21-4.16 (m, 1H), 3.86-3.83 (m, 2H), 3.48-3.42 (m, 2H), 1.88-1.85 (m, 2H), 1.62-1.53 (m, 2H), 1.31 (t, 3H).

ЖХ/МС m/z (ЭРИ) = 286,10 [M+1].

Стадия 2:

2-Хлор-4-((тетрагидро-2Н-пиран-4-ил)амино)пиримидин-5-карбоновая кислота (**2С**)

Этил-2-хлор-4-((тетрагидро-2Н-пиран-4-ил)амино)пиримидин-5-карбоксилат **2В** (30 г, 104,99 ммоль) растворяли в смеси тетрагидрофуран/вода (200 мл/200 мл), добавляли гидроксид лития (5,03 г, 209,99 ммоль) и перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. После завершения реакции по результатам ТСХ реакционный раствор концентрировали для удаления тетрагидрофурана, доводили до pH 5-6 н. соляной кислотой, и белое твердое вещество выпадало в осадок. После фильтрования остаток на фильтре промывали дважды петролейным эфиром, и твердое вещество собирали с получением указанного в заголовке соединения, 2-хлор-4-((тетрагидро-2Н-пиран-4-ил)амино)пиримидин-5-карбоновой кислоты **2С** (белое твердое вещество, 15,0 мг, выход 55,44%).

^1H ЯМР (400 МГц DMSO) δ 8.60 (s, 1H), 8.54 (d, 1H), 4.20-4.15 (m, 1H), 3.86-3.83 (m, 2H), 3.48-3.42 (m, 2H), 1.89-1.86 (m, 2H), 1.60-1.50 (m, 2H).

ЖХ/МС m/z(ЭРИ)= 258,10 [M+1].

Стадия 3:

2-Хлор-9-(тетрагидро-2Н-пиран-4-ил)-7,9-дигидро-8Н-пурин-8-он (**2D**)

2-Хлор-4-((тетрагидро-2Н-пиран-4-ил)амино)пиримидин-5-карбоновую кислоту **2С** (15 г, 58,21 ммоль) растворяли в диметилацетамиде (150 мл) и добавляли триэтиламин (7,38 мл, 58,21 ммоль) и дифенилазидофосфат (12,06 мл, 58,21 ммоль). Смесь постепенно нагревали до 120°C, и реакцию проводили при перемешивании в течение 1,5 ч. После завершения реакции по результатам ТСХ реакционный раствор вливали в ледяную воду. Твердое вещество, собранное фильтрованием, промывали три раза водой и концентрировали и сушили в вакууме с получением указанного в заголовке соединения, 2-хлор-9-(тетрагидро-2Н-пиран-4-ил)-7,9-дигидро-8Н-пурин-8-она **2D** (белое твердое

вещество, 13,0 мг, выход 87,69%).

^1H ЯМР (400 МГц DMSO) δ 11.63 (s, 1H), 8.11 (s, 1H), 4.43-4.37 (m, 1H), 3.98-3.94 (m, 2H), 2.59-2.38 (m, 2H), 1.73-1.65 (m, 2H).

ЖХ/МС m/z (ЭРИ) = 255,10 [M+1].

Стадия 4:

2-Хлор-7-этил-9-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)-7,9-дигидро-8H-пурин-8-он

(Промежуточное соединение 2)

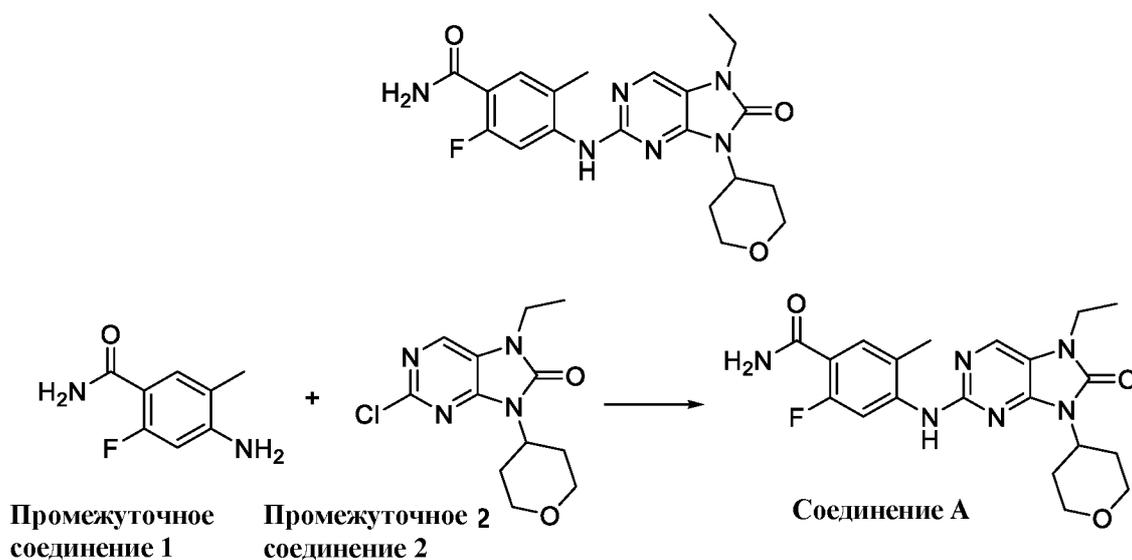
2-Хлор-9-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)-7,9-дигидро-8H-пурин-8-он **2D** (400 мг, 1,57 ммоль) растворяли в N,N-диметилформамиде (8 мл), добавляли карбонат церия (511 мг, 1,57 ммоль) и этилийодид (293 мг, 1,88 ммоль) при 0°C, и реакцию проводили при перемешивании в течение 1 ч. Протекание реакции контролировали методом ТСХ до завершения реакции, после чего добавляли 10 мл воды и экстрагировали три раза этилацетатом. Органическую фазу сушили безводным сульфатом натрия, концентрировали и выпаривали на ротаторном испарителе для удаления органического растворителя с получением указанного в заголовке соединения, 2-хлор-7-этил-9-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)-7,9-дигидро-8H-пурин-8-она, **Промежуточное соединение 2** (белое твердое вещество, 290 мг, выход 65,32%).

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 8.44 (s, 1H), 4.50-4.41 (m, 1H), 3.99-3.95 (m, 2H), 3.89 (q, 2H), 3.45 (t, 2H), 2.46-2.41 (m, 2H), 1.71-1.67 (m, 2H), 1.25 (t, 3H).

ЖХ/МС m/z (ЭРИ) = 283,10 [M+1].

Пример 1. Получение Соединения А

4-((7-Этил-8-оксо-9-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)-8,9-дигидро-7H-пурин-2-ил)амино)-2-фтор-5-метилбензамид (**Соединение А**)



4-Амино-2-фтор-5-метилбензамид (**Промежуточное соединение 1**) (350 мг, 2,12

ммоль), 2-хлор-7-этил-9-(тетрагидро-2Н-пиран-4-ил)-7,9-дигидро-8Н-пурин-8-он (**Промежуточное соединение 2**) (150 мг, 0,53 ммоль), карбонат цезия (690 мг, 2,12 ммоль) и метансульфонато(2-дициклогексилфосфино-3,6-диметоки-2',4',6'-триизопропил-1,1'-бифенил)(2'-амино-1,1'-бифенил-2-ил)палладий(II) (72 мг, 0,08 ммоль) растворяли в 1,4-диоксане (5 мл), продували азотом для защиты, и реакцию проводили при перемешивании при 110°C в течение 4 ч. Реакцию контролировали методом ТСХ до завершения реакции. Реакционный раствор концентрировали и очищали колоночной хроматографией на силикагеле (дихлорметан/метанол (об./об.) = 20/1) и затем подвергали препаративной ВЭЖХ с получением указанного в заголовке соединения, 4-((7-этил-8-оксо-9-(тетрагидро-2Н-пиран-4-ил)-8,9-дигидро-7Н-пурин-2-ил)амино)-2-фтор-5-метилбензамида (**Соединение А**) (белое твердое вещество, 38 мг, выход 17,28%).

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 8.53 (s, 1H), 8.25 (s, 1H), 7.89 (d, 1H), 7.55 (d, 1H), 7.42 (d, 2H), 4.48-4.40 (m, 1H), 3.98 (dd, 2H), 3.85 (q, 2H), 3.43 (t, 2H), 2.58-2.54 (m, 2H), 2.30 (s, 3H) 1.71-1.68 (m, 2H), 1.25 (t, 3H).

ЖХ/МС m/z(ЭРИ)= 415,20 [M+1].

Пример 2. Получение кристаллической формы I Соединения А

530 г твердого Соединения А переносили в реакционный котел и добавляли 15,9 л смешанного раствора (этанол:вода = 12,7 л:3,2 л). Смешанную суспензию нагревали до температуры дефлегмации (дефлегмация начиналась при 72°C с постепенным растворением твердого вещества и оставалась стабильной после нагревания до 76°C с растворением твердого вещества с образованием желтого раствора). После того как раствор становился прозрачным его нагревали с обратным холодильником и перемешивали в течение 1 ч. Раствор выдерживали в течение ночи, и кристаллы медленно осаждались. После фильтрования остаток на фильтре сушили при 60°C в течение 16 ч и затем распыляли пульверизатором. Затем твердое вещество снова сушили феном при 60°C в течение 16 часов.

Пример 3. Получение кристаллической формы I Соединения А

В реакционный котел последовательно добавляли 1,050 кг Соединения А, 23,0 кг этанола и 9,3 кг очищенной воды. Реакционный раствор нагревали до 80±5°C для растворения в течение 1 ч, а затем охлаждали до 65°C. Реакционный раствор выдерживали при 60±5°C в течение 1 ч для кристаллизации и затем охлаждали до 25°C и выдерживали при 20±5°C в течение 2 ч для дальнейшей кристаллизации. После фильтрации продукт сушили при 60±5°C в течение 16 ч.

Пример 4. Получение кристаллической формы II Соединения А

0,1 кг Соединения А, 2,3 кг этанола и 0,9 кг очищенной воды добавляли последовательно в реакционный котел. Раствор смеси нагревали до 80±5°C для растворения

в течение 1 ч, а затем охлаждали до $60\pm 5^{\circ}\text{C}$ и выдерживали в течение 1 ч. Затем температуру снижали до $20\pm 5^{\circ}\text{C}$ и выдерживали в течение 2 ч. Полученное вещество фильтровали и сушили при температуре $60\pm 5^{\circ}\text{C}$. Затем продукт добавляли в 1,4-диоксан, перемешивали при 50°C в течение 6 дней и сушили в вакууме при комнатной температуре в течение 1 суток с получением твердого вещества.

Пример 5. Получение кристаллической формы III Соединения А

В реакционный котел последовательно добавляли 0,1 кг Соединения А, 2,3 кг этанола и 0,9 кг очищенной воды. Раствор смеси нагревали до $80\pm 5^{\circ}\text{C}$ для растворения в течение 1 ч, а затем охлаждали до $60\pm 5^{\circ}\text{C}$ и выдерживали в течение 1 ч. Затем температуру снижали до $20\pm 5^{\circ}\text{C}$ и выдерживали в течение 2 ч. Полученное вещество фильтровали и сушили при температуре $60\pm 5^{\circ}\text{C}$. Затем продукт добавляли в 1,4-диоксан, суспендировали и перемешивали при 50°C в течение 4 суток и сушили в вакууме при комнатной температуре в течение 2 ч до получения твердого вещества.

Пример 6. Получение кристаллической формы IV Соединения А

В реакционный котел последовательно добавляли 0,1 кг Соединения А, 2,3 кг этанола и 0,9 кг очищенной воды. Реакционный раствор нагревали до $80\pm 5^{\circ}\text{C}$ для растворения в течение 1 ч, а затем охлаждали до $60\pm 5^{\circ}\text{C}$ и выдерживали в течение 1 ч. Температуру снижали до $20\pm 5^{\circ}\text{C}$ и выдерживали в течение 2 ч. Полученное вещество фильтровали и сушили при температуре $60\pm 5^{\circ}\text{C}$. Затем продукт добавляли в ацетон, суспендировали и перемешивали при комнатной температуре в течение 6 дней, и оставляли высушиваться при комнатной температуре до получения твердого вещества.

Пример 7. Получение кристаллической формы V Соединения А

В реакционный котел последовательно добавляли 0,1 кг Соединения А, 2,3 кг этанола и 0,9 кг очищенной воды. Раствор смеси нагревали до $80\pm 5^{\circ}\text{C}$ для растворения в течение 1 ч, а затем охлаждали до $60\pm 5^{\circ}\text{C}$ и выдерживали в течение 1 ч. Затем температуру снижали до $20\pm 5^{\circ}\text{C}$ и выдерживали в течение 2 ч. Полученное вещество фильтровали и сушили при температуре $60\pm 5^{\circ}\text{C}$. Затем продукт добавляли в 1,4-диоксан, суспендировали и перемешивали при 50°C в течение 4 суток. После вакуумной сушки при комнатной температуре полученное твердое вещество нагревали до 125°C и охлаждали до комнатной температуры.

Пример 8. Получение кристаллической формы VI Соединения А

В реакционный котел последовательно добавляли 0,1 кг Соединения А, 2,3 кг этанола и 0,9 кг очищенной воды. Раствор смеси нагревали до $80\pm 5^{\circ}\text{C}$ для растворения в течение 1 ч, а затем охлаждали до $60\pm 5^{\circ}\text{C}$ и выдерживали в течение 1 ч. Затем температуру снижали до $20\pm 5^{\circ}\text{C}$ и выдерживали в течение 2 ч. Полученное вещество фильтровали и

сушили при температуре $60 \pm 5^\circ\text{C}$. Затем продукт добавляли в ацетон, суспендировали и перемешивали при комнатной температуре в течение 6 дней. После сушки при комнатной температуре полученное твердое вещество нагревали до 130°C и охлаждали до комнатной температуры.

Пример тестирования 1

Кристаллическую форму I соединения А, полученную в Примере 2, облучали графитовым монохроматическим $\text{Cu K}\alpha$ -излучением ($\lambda = 1,54$) при комнатной температуре с использованием рентгеновского дифрактометра компании Dandong Haoyuan Instrument Co. Ltd. для получения картины дифракции на порошке, и данные были проанализированы.

Данные дифракции рентгеновских лучей на порошке кристаллической формы I соединения А, полученной в Примере 2, представлены в Таблице 1.

Таблица 1. Данные дифракции рентгеновских лучей на порошке кристаллической формы I соединения А, полученной в Примере 2

Номер пика	$2\theta [^\circ]$	Межплоскостное расстояние в кристалле	Высота пика	Ширина на половине высоты пика	Относительная высота пика
1	4,979	17,7328	897	0,202	23,1
2	9,859	8,9645	3883	0,177	100
3	11,483	7,7	221	0,178	5,7
4	12,12	7,2966	412	0,159	10,6
5	14,759	5,9972	1126	0,16	29
6	15,759	5,6189	785	0,152	20,2
7	16,601	5,3359	130	0,153	3,4
8	16,998	5,212	73	0,187	1,9
9	17,523	5,057	88	0,119	2,3
10	18,404	4,817	191	0,214	4,9
11	18,802	4,7158	567	0,169	14,6
12	19,339	4,5861	856	0,192	22
13	19,679	4,5076	1250	0,182	32,2
14	19,961	4,4445	1112	0,167	28,6
15	20,422	4,3453	212	0,156	5,5
16	21,379	4,1529	234	0,265	6
17	21,822	4,0696	646	0,227	16,6

18	22,142	4,0114	224	0,232	5,8
19	22,481	3,9516	902	0,164	23,2
20	22,877	3,8842	176	0,188	4,5
21	24,198	3,675	110	0,146	2,8
22	24,641	3,6099	946	0,228	24,4
23	25,939	3,4322	333	0,142	8,6
24	26,681	3,3384	128	0,177	3,3
25	26,961	3,3044	85	0,134	2,2
26	27,601	3,2292	100	0,215	2,6
27	28,038	3,1798	71	0,201	1,8
28	28,519	3,1273	81	0,146	2,1
29	29,18	3,0579	241	0,155	6,2
30	29,624	3,0131	148	0,22	3,8
31	30,077	2,9688	38	0,281	1
32	30,322	2,9453	61	0,275	1,6
33	30,619	2,9174	78	0,295	2
34	31,041	2,8787	360	0,201	9,3
35	31,723	2,8184	116	0,238	3
36	32,524	2,7508	66	0,256	1,7
37	33,379	2,6823	71	0,177	1,8
38	34,039	2,6317	84	0,284	2,2
39	35,001	2,5616	64	0,118	1,6
40	35,587	2,5207	103	0,269	2,7
41	37,178	2,4164	42	0,206	1,1
42	37,724	2,3827	73	0,138	1,9
43	38,319	2,347	51	0,307	1,3
44	38,61	2,33	46	0,195	1,2
45	39,125	2,3005	112	0,154	2,9

Картина дифракции рентгеновских лучей на порошке кристаллической формы I соединения А, полученной в Примере 2, представлена на Фиг. 1.

Пример тестирования 2

Результаты ДРЛП собирали на анализаторах дифракции рентгеновских лучей на порошке X'Pert3 и Empyrean для кристаллической формы I соединения А, полученной в Примере 3, и параметры сканирования представлены в Таблице 2.

Таблица 2. Параметры ДРЛП

Режим	Стандартное отражение	Вариабельная температура ДРЛП
Рентгеновские лучи	Cu, α ; $K\alpha_1$ (Å): 1,540598; $K\alpha_2$ (Å): 1,544426 Соотношение интенсивности $K\alpha_2/K\alpha_1$: 0,50	
Настройки рентгеновской трубки	45 кВ, 40 мА	45 кВ, 40 мА
Щель расходимости	1/8°	1/8°
Режим сканирования	Непрерывный	Непрерывный
Диапазон сканирования (°2Тета)	3° ~ 40°	3° ~ 40°
Шаг сканирования (°2Тета)	0,0263	0,0167
Время сканирования на шаг (с)	46,67	33,02
Время сканирования (с)	5 мин 04 с	10 мин 14 с

Данные дифракции рентгеновских лучей на порошке кристаллической формы I соединения А, полученной в Примере 3, представлены в Таблице 3.

Таблица 3. Данные дифракции рентгеновских лучей на порошке кристаллической формы I соединения А, полученной в Примере 3

Номер пика	2θ[°]	Межплоскостное расстояние в кристалле [Å]	Относительная высота пика [%]
1	4,93	17,92	26,40
2	9,80	9,02	100,00
3	11,46	7,72	1,11
4	12,08	7,33	2,23
5	14,70	6,02	23,34

Номер пика	2θ [°]	Межплоскостное расстояние в кристалле [Å]	Относительная высота пика [%]
6	15,73	5,64	4,63
7	16,63	5,33	0,39
8	18,43	4,81	0,44
9	18,80	4,72	1,82
10	19,30	4,60	2,49
11	19,63	4,52	21,61
12	19,94	4,45	7,25
13	20,45	4,34	0,56
14	21,36	4,16	0,55
15	21,86	4,07	2,40
16	22,47	3,96	2,80
17	22,89	3,89	0,79
18	24,60	3,62	11,12
19	25,90	3,44	0,78
20	26,81	3,33	0,23
21	27,63	3,23	0,37
22	29,14	3,06	1,70
23	29,61	3,02	1,71
24	31,01	2,88	0,87
25	31,73	2,82	0,42
26	33,35	2,69	0,28
27	34,00	2,64	0,52
28	35,03	2,56	0,20
29	35,65	2,52	0,30
30	37,73	2,38	0,28
31	38,93	2,31	0,32
32	39,20	2,30	0,10
33	39,81	2,26	1,55

Картина дифракции рентгеновских лучей на порошке кристаллической формы I соединения А, полученной в Примере 3, представлена на Фиг. 2.

Пример тестирования 3

Кристаллическую форму I соединения А, полученную в Примере 3, подвергли термогравиметрическому анализу (ТГА) и дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) соответственно, и данные ТГА и ДСК собирали на термогравиметрическом анализаторе TA Q5000/Discovery 5500 и дифференциальном сканирующем калориметре TA Discovery 2500 соответственно. Параметры ТГА и ДСК тестов приведены в таблице 4. Результаты тестирования представлены на Фиг. 3 и Фиг. 4 соответственно. Диаграмма ТГА показала потерю массы 0,95% при нагревании до 230,0°C; диаграмма ДСК показала максимальный эндотермический пик при 238,4°C.

Таблица 4. Параметры ТГА и ДСК тестов

Параметры	ТГА	ДСК
Метод	Линейный подъем температуры	Линейный подъем температуры
Диск с образцом	Алюминиевый диск, открытый	Алюминиевый диск с крышкой
Диапазон температур	от комнатной температуры до 350°C	от 25°C до 300°C
Скорость нагревания	10°C/мин	10°C/мин
Защитный газ	азот	азот

Пример тестирования 4

Кристаллическая форма I соединения А, полученная в Примере 3, была подвергнута тесту на динамическую сорбцию паров; кривые динамической сорбции паров (ДСП) строили на DVS Intrinsic SMS (Surface Measurement Systems (Системы измерения поверхности)). Относительную влажность при 25°C корректировали точками разжижения LiCl, Mg(NO₃)₂ и KCl. Параметры теста ДСП приведены в Таблице 5, и результаты тестов представлены на Фиг. 5. Как можно видеть из Фиг. 5, изменение массы образца кристаллической формы I соединения А по настоящему изобретению составляло менее 0,2% на протяжении 0%-95%-0%RH-0%RH при 25°C, что указывает на то, что образец не имел или почти не имел гигроскопичности. Сравнение картин дифракции рентгеновских лучей на порошке до и после ДСП показало, что до и после ДВС никакой трансформации кристаллической формы не происходило.

Таблица 5. Параметры теста ДСП

Параметры	ДСП
Температура	25°C

Параметры	ДСП
Количество образца	от 20 до 40 мг
Защитный газ и скорость потока	N ₂ , 200 мл/мин
dm/dt	0,002%/мин
Минимальное время уравнивания dm/dt	10 мин
Максимальное время уравнивания	180 мин
Диапазон RH	0%RH-95%RH-0%RH
Градиент RH	10%RH (0%RH-90%RH и 90%RH-0%RH) 5%RH (90%RH-95%RH и 95%RH-90%RH)

Пример тестирования 5

Получение результатов ДРЛП для кристаллической формы II осуществляли с использованием условий Примера тестирования 2. Данные дифракции рентгеновских лучей на порошке кристаллической формы II представлены в Таблице 6.

Таблица 6. Данные дифракции рентгеновских лучей на порошке кристаллической формы

II

Номер пика	2 θ [°]	Межплоскостное расстояние в кристалле [Å]	Относительная высота пика [%]
1	4,76	18,55	23,25
2	8,61	10,27	22,56
3	9,52	9,29	55,56
4	10,46	8,46	100,00
5	13,78	6,42	98,29
6	14,29	6,20	32,58
7	15,51	5,71	2,05
8	17,18	5,16	13,34
9	18,39	4,82	4,04
10	18,60	4,77	6,55
11	19,08	4,65	23,26
12	19,75	4,50	1,77
13	23,90	3,72	4,91
14	24,12	3,69	6,35

Номер пика	2θ [°]	Межплоскостное расстояние в кристалле [Å]	Относительная высота пика [%]
15	24,93	3,57	1,97
16	25,97	3,43	9,34
17	26,29	3,39	6,10
18	27,77	3,21	1,31
19	29,78	3,00	1,68
20	30,87	2,90	2,67
21	34,77	2,58	3,79
22	36,00	2,49	2,65
23	37,69	2,39	1,34
24	38,38	2,35	0,96

Картина дифракции рентгеновских лучей на порошке кристаллической формы II представлена на Фиг. 6.

Пример тестирования 6

Термогравиметрический анализ (ТГА) и дифференциальную сканирующую калориметрию (ДСК) кристаллической формы типа II проводили в условиях Примера тестирования 3; результаты тестирования представлены на Фиг. 7 и Фиг. 8 соответственно. Диаграмма ТГА демонстрирует ступенчатую потерю массы 4,47% при нагревании до 90°C; на диаграмме ДСК показаны два эндотермических пика при 97,5°C (температура пика) и 236,1°C (температура начала), и один экзотермический пик при 155,3°C (температура пика).

Пример тестирования 7

Получение результатов ДРЛП для кристаллической формы III осуществляли с использованием условий Примера тестирования 2. Данные дифракции рентгеновских лучей на порошке кристаллической формы III представлены в Таблице 7.

Таблица 7. Данные дифракции рентгеновских лучей на порошке кристаллической формы

III

Номер пика	2θ [°]	Межплоскостное расстояние в кристалле [Å]	Относительная высота пика [%]
1	8,49	10,42	100,00
2	9,02	9,81	20,62
3	9,27	9,54	40,05
4	13,49	6,56	5,34

Номер пика	2θ [°]	Межплоскостное расстояние в кристалле [Å]	Относительная высота пика [%]
5	15,32	5,78	28,54
6	15,78	5,61	15,30
7	17,82	4,98	34,66
8	18,07	4,91	65,14
9	18,28	4,85	20,65
10	18,56	4,78	11,45
11	18,99	4,67	22,46
12	19,97	4,45	5,15
13	20,96	4,24	9,50
14	22,54	3,94	9,32
15	23,04	3,86	14,02
16	23,45	3,79	87,65
17	24,21	3,68	19,98
18	24,65	3,61	16,11
19	25,61	3,48	13,80
20	26,26	3,39	22,82
21	28,16	3,17	3,62
22	29,14	3,06	26,27
23	30,18	2,96	12,97
24	35,01	2,56	3,39

Картина дифракции рентгеновских лучей на порошке кристаллической формы III представлена на Фиг. 9.

Пример тестирования 8

Термогравиметрический анализ (ТГА) и дифференциальную сканирующую калориметрию (ДСК) кристаллической формы типа III проводили в условиях Примера тестирования 3; результаты испытаний представлены на Фиг. 10 и Фиг. 11 соответственно. На диаграмме ТГА показана потеря массы 2,5% при нагревании до 100°C и ступенчатая потеря 17,7% при продолжении нагревания до 150°C. На диаграмме ДСК показан один эндотермический сигнал при 112,1°C (температура начала), предположительно обусловленный дегидратацией или растворителем, и два эндотермических пика при 234,7°C и 236,7°C (температура пика).

Пример тестирования 9

Получение результатов ДРЛП для кристаллической формы IV осуществляли с использованием условий Примера тестирования 2. Данные дифракции рентгеновских лучей на порошке кристаллической формы IV представлены в Таблице 8.

Таблица 8. Данные дифракции рентгеновских лучей на порошке кристаллической формы

IV

Номер пика	2θ [°]	Межплоскостное расстояние в кристалле [Å]	Относительная высота пика [%]
1	6,59	13,41	2,12
2	9,39	9,42	12,84
3	10,55	8,39	100,00
4	11,18	7,92	6,60
5	13,92	6,36	4,05
6	14,41	6,15	14,89
7	14,60	6,07	11,19
8	15,67	5,65	0,97
9	17,36	5,11	2,20
10	18,50	4,80	12,05
11	18,89	4,70	8,68
12	19,73	4,50	5,13
13	20,45	4,34	3,77
14	21,15	4,20	5,47
15	22,28	3,99	69,06
16	24,34	3,66	8,19
17	24,69	3,61	5,44
18	25,69	3,47	1,49
19	26,41	3,38	2,71
20	26,93	3,31	8,52
21	28,88	3,09	24,98
22	29,54	3,02	2,40
23	31,96	2,80	1,48
24	33,93	2,64	0,74
25	34,91	2,57	0,88
26	37,57	2,39	1,16

Картина дифракции рентгеновских лучей на порошке кристаллической формы VI представлена на Фиг. 12.

Пример тестирования 10

Термогравиметрический анализ (ТГА) и дифференциальную сканирующую калориметрию (ДСК) кристаллической формы типа IV проводили в условиях Примера тестирования 3; результаты тестирования представлены на Фиг. 13 и Фиг. 14 соответственно. Диаграмма ТГА показывает ступенчатую потерю массы 11,3% при нагревании до 120°C; на диаграмме ДСК показаны два эндотермических пика при 106,8°C и 235,4°C (температура начала).

Пример тестирования 11

Получение результатов ДРЛП для кристаллической формы V осуществляли с использованием условий Примера тестирования 2. Данные дифракции рентгеновских лучей на порошке кристаллической формы V представлены в Таблице 9.

Таблица 9. Данные по дифракции рентгеновских лучей на порошке кристаллической формы V

Номер пика	2 θ [°]	Межплоскостное расстояние в кристалле [Å]	Относительная высота пика [%]
1	4,87	18,13	4,79
2	8,91	9,93	24,23
3	9,76	9,06	15,99
4	10,48	8,44	100,00
5	11,35	7,79	3,62
6	12,47	7,10	5,28
7	13,83	6,40	4,44
8	14,96	5,92	13,14
9	15,69	5,65	13,64
10	16,22	5,47	3,93
11	17,84	4,97	10,06
12	18,63	4,76	5,66
13	19,66	4,52	9,73
14	20,80	4,27	5,76
15	21,78	4,08	11,99
16	22,42	3,97	21,98
17	24,93	3,57	48,20

18	25,82	3,45	4,67
19	26,59	3,35	1,88
20	27,42	3,25	2,23
21	28,08	3,18	2,98
22	29,49	3,03	1,33
23	30,84	2,90	2,05
24	32,82	2,73	4,02
25	36,06	2,49	1,57

Картина дифракции рентгеновских лучей на порошке кристаллической формы V представлена на Фиг. 15.

Пример тестирования 12

Термогравиметрический анализ (ТГА) и дифференциальную сканирующую калориметрию (ДСК) кристаллической формы типа V осуществляли с использованием условий Примера тестирования 3, и результаты теста представлены на Фиг. 16 и Фиг. 17 соответственно. Диаграмма ТГА демонстрирует потерю массы 1,8% при нагревании до 230°C; диаграмма ДСК демонстрирует два эндотермических сигнала при 234,7°C и 236,7°C (температура пика).

Пример тестирования 13

Получение результатов ДРЛП для кристаллической формы VI осуществляли с использованием условий Примера тестирования 2. Данные дифракции рентгеновских лучей на порошке кристаллической формы VI представлены в Таблице 10.

Таблица 10. Данные дифракции рентгеновских лучей на порошке кристаллической формы VI

Номер пика	2θ [°]	Межплоскостное расстояние в кристалле [Å]	Относительная высота пика [%]
1	10,66	8,30	2,32
2	11,52	7,68	100,00
3	14,44	6,13	9,59
4	14,96	5,92	8,51

Номер пика	2θ [°]	Межплоскостное расстояние в кристалле [Å]	Относительная высота пика [%]
5	15,44	5,74	2,95
6	16,39	5,41	10,92
7	18,85	4,71	2,78
8	19,35	4,59	3,12
9	20,78	4,28	1,53
10	21,45	4,14	4,31
11	22,12	4,02	4,58
12	22,41	3,97	5,15
13	23,39	3,80	49,07
14	24,60	3,62	2,36
15	25,27	3,52	3,41
16	30,15	2,96	16,10
17	33,19	2,70	1,73

Картина дифракции рентгеновских лучей на порошке кристаллической формы VI представлена на Фиг. 18.

Пример тестирования 14

Термогравиметрический анализ (ТГА) и дифференциальную сканирующую калориметрию (ДСК) кристаллического типа VI проводили в условиях Примера тестирования 3; результаты тестирования представлены на Фиг. 19 и Фиг. 20 соответственно. Диаграмма ТГА демонстрирует потерю массы 1,0% при нагревании до 200°C; диаграмма ДСК демонстрирует один эндотермический пик при 235,1°C (температура начала).

Пример тестирования 15

После выдерживания кристаллической формы I в закрытых условиях при 80°C и в закрытых условиях при 60°C в течение 1 суток, а также в открытых условиях при 25°C/60%RH и в открытых условиях при 40°C/75%RH в течение 1 недели не наблюдалось никакой кристаллической трансформации или снижения чистоты (физическую стабильность кристаллической формы оценивали путем тестирования ДРЛП, и химическую стабильность кристаллической формы оценивали путем тестирования на чистоту методом ВЭЖХ), что свидетельствует о том, что кристаллическая форма I обладает хорошей стабильностью в твердом состоянии в оцениваемых условиях.

Примеры биологических тестов

1. Анализ ингибирования киназы ДНК-ПК

Ингибирующую активность соединения по отношению к киназе ДНК-ПК определяли с использованием набора для анализа киназы ДНК-ПК (приобретенного у Promega, каталожный номер: V4107, номер партии: 0000366495). Результаты количественно оценивали с использованием хемиллюминесценции, следуя протоколу эксперимента:

1) построение стандартной кривой ADP (аденозиндифосфат) в разных концентрациях и флуоресценции в соответствии с инструкцией к набору;

2) приготовление 5 мкл реакционной системы в 384-луночном белом планшете с добавлением в каждую лунку 1 мкл соединения (с градиентом концентрации 1 мкМ, 200 нМ, 40 нМ, 8 нМ, 1,6 нМ, 0,32 нМ, 0,064 нМ, 0,013 нМ соответственно), 20 единиц киназы ДНК-ПК, 0,2 мкг/мкл субстрата, 10 мкг/мкл ДНК, 50 мкМ АТФ (аденозинтрифосфат) и 1% DMSO (диметилсульфоксид);

3) смешивание до однородности, центрифугирование (1000 об/мин, 30 с) и инкубирование при 37°C в течение 60 мин;

4) добавление 5 мкл реагента ADP-Glo™ для прекращения реакции, смешивание до однородности, центрифугирование (1000 об/мин, 30 с) и инкубирование при комнатной температуре в течение 40 мин;

5) добавление 10 мкл реагента для детектирования киназы, смешивание до однородности с встряхиванием, центрифугирование (1000 об/мин, 30 с) и инкубирование при комнатной температуре в течение 30 мин;

6) измерение флуоресценции с использованием микропланшет-ридера (Thermo fisher, Varioskan LUX). IC₅₀ вычисляли с использованием GraphPad Prism 8, и результаты представлены в таблице 11.

Таблица 11. Ингибирующая активность по отношению к киназе ДНК-ПК

Соединение №	IC ₅₀ (нМ)
Соединение А	4,17
+Контрольный пример	100,40

Примечание: Контрольный пример представляет собой Соединение 3 в *J. Med. Chem* (2020), 63(7), 3461-3471, и оно было получено согласно способу его получения.

Результаты показывают, что соединение по настоящему изобретению оказывает более выраженное ингибирующее воздействие на киназу ДНК-ПК по сравнению с

контрольным примером.

2. Фармакокинетический анализ

2.1 Тестовые материалы

Мыши ICR (приобретенные у Beijing Viton Lihua Laboratory Animal Technology Co.)

2.2 Методика эксперимента

(1) Были подготовлены здоровые самцы мышей ICR (18-22 г), по 18 мышей для каждого соединения, которые были разделены на 2 группы (группа в.в. (внутривенное введение) и группа п.о. (пероральное введение)) по 9 мышей в каждой, и 3 мыши были отобраны для забора крови в каждый момент времени.

(2) После голодания (свободное потребление воды) в течение ночи соединение по изобретению солюбилизировали (или суспендировали) с использованием 5% DMSO, 95% 30% HP- β -CD (гидроксипропил- β -циклодекстрин) (об.:об.) в качестве растворителя. Соединение вводили через хвостовую вену (в.в., 1 мг/кг) и через зонд (п.о., 10 мг/кг) соответственно.

(3) В группе в.в. 0,1 мл крови собирали из подчелюстной вены через 5 мин, 15 мин, 0,5 ч, 1 ч, 2 ч, 4 ч, 8 ч, 12 ч и 24 ч соответственно, и в кровь добавляли антикоагулянт EDTA-K2 и затем центрифугировали при 4°C в течение 5 мин для отделения плазмы, которую хранили при -20°C до измерения.

(4) В группе п.о. 0,1 мл крови собирали из подчелюстной вены до и после введения через 15 мин, 0,5 ч, 1ч, 2ч, 4ч, 6ч, 8ч, 12ч и 24ч соответственно и обрабатывали так же, как и в группе в.в.

(5) Концентрацию соединения по настоящему изобретению в плазме определяли методом ЖХ/МС/МС (жидкостная хроматография с тандемной масс-спектрометрией).

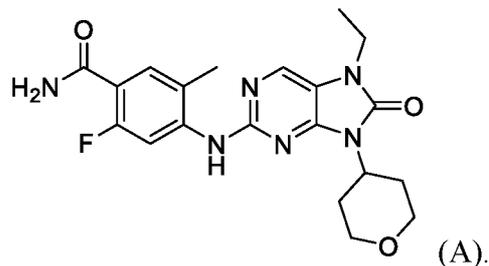
(6) Результаты вычисляли и выравнивали с использованием программного обеспечения Analyst 1.6 компании АВ.

Результаты тестов показывают, что Соединение А и кристаллические формы I, II, III, IV, V и VI имеют хорошие фармакокинетические свойства.

Конкретные воплощения подробно описаны в описании настоящего изобретения. Специалисты в данной области техники поймут, что приведенные выше воплощения являются иллюстративными и не должны толковаться как ограничение настоящего изобретения. Для специалистов в данной области техники в настоящее изобретение могут быть внесены различные усовершенствования и модификации, не отступая от принципов настоящего изобретения, и технические решения, полученные путем такого усовершенствования и модификации, также входят в объем притязаний настоящего изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Кристалл соединения, представленного формулой (А):



2. Кристалл по п. 1, где кристаллическая форма I имеет характеристические дифракционные пики в положениях 2θ $9,859^\circ \pm 0,3^\circ$, $14,759^\circ \pm 0,3^\circ$, $19,679^\circ \pm 0,3^\circ$ и $19,961^\circ \pm 0,3^\circ$ на картине дифракции рентгеновских лучей на порошке, полученной под действием Cu-K α излучения.

3. Кристалл по п. 2, где кристаллическая форма I дополнительно имеет характеристические дифракционные пики в положениях 2θ $4,979^\circ \pm 0,2^\circ$, $15,759^\circ \pm 0,2^\circ$, $19,339^\circ \pm 0,2^\circ$, $22,481^\circ \pm 0,2^\circ$ и $24,641^\circ \pm 0,2^\circ$ на картине дифракции рентгеновских лучей на порошке, полученной под действием Cu-K α излучения.

4. Кристалл по п. 3, где кристаллическая форма I дополнительно имеет характеристические дифракционные пики в положениях 2θ $12,120^\circ \pm 0,2^\circ$, $18,802^\circ \pm 0,2^\circ$ и $21,822^\circ \pm 0,2^\circ$ на картине дифракции рентгеновских лучей на порошке, полученной под действием Cu-K α излучения.

5. Кристалл по п. 4, где кристаллическая форма I имеет картину дифракции рентгеновских лучей на порошке, по существу такую, как показано на Фиг. 1 или Фиг. 2.

6. Кристалл по любому из пп. 2-5, где кристаллическая форма I имеет кривую ТГА (термогравиметрический анализ), по существу такую, как показано на Фиг. 3.

7. Кристалл по любому из пп. 2-5, где кристаллическая форма I имеет кривую ДСК (дифференциальная сканирующая калориметрия), по существу такую, как показано на Фиг. 4.

8. Кристалл по п. 1, где кристаллическая форма II имеет картину дифракции рентгеновских лучей на порошке, по существу такую, как показано на Фиг. 6.

9. Кристалл по п. 1, где кристаллическая форма III имеет картину дифракции рентгеновских лучей на порошке, по существу такую, как показано на Фиг. 9.

10. Кристалл по п. 1, где кристаллическая форма IV имеет картину дифракции рентгеновских лучей на порошке, по существу такую, как показано на Фиг. 12.

11. Кристалл по п. 1, где кристаллическая форма V имеет картину дифракции рентгеновских лучей на порошке, по существу такую, как показано на Фиг. 15.

12. Кристалл по п. 1, где кристаллическая форма VI имеет картину дифракции рентгеновских лучей на порошке, по существу такую, как показано на Фиг. 18.

13. Способ получения кристаллической формы I по любому из пп. 2-7, который представляет собой Способ I или Способ II:

Способ I: растворение Соединения А в растворителе, нагревание до температуры дефлегмации до растворения твердого вещества и затем естественное охлаждение для кристаллизации с последующими фильтрованием и сушкой с получением кристаллической формы I;

Способ II: растворение Соединения А в растворителе, нагревание до 75-85°C до растворения твердого вещества, затем охлаждение до 55-65°C для кристаллизации и дополнительно охлаждение до 15-25°C для кристаллизации с последующими фильтрованием и сушкой с получением кристаллической формы I;

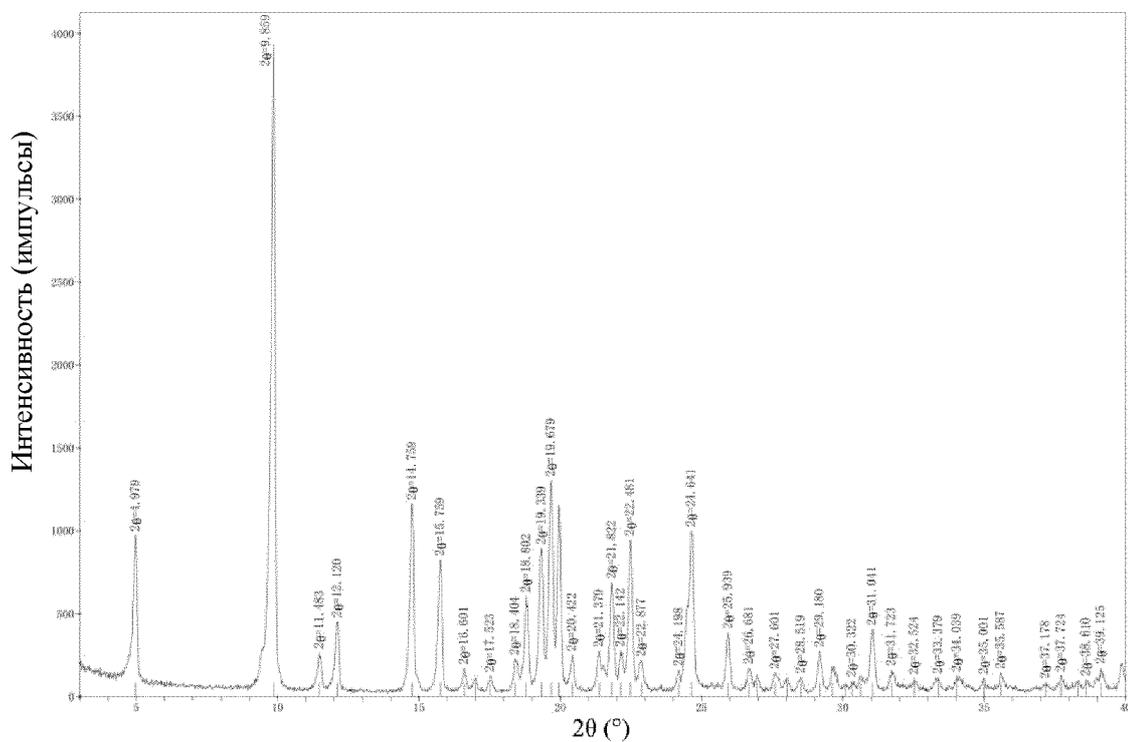
где растворитель выбран из растворителя на спиртовой основе и смешанного растворителя из растворителя на спиртовой основе и воды.

14. Фармацевтическая композиция, содержащая терапевтически эффективное количество кристаллической формы по любому из пп. 1-12 и фармацевтически приемлемый носитель или эксципиент.

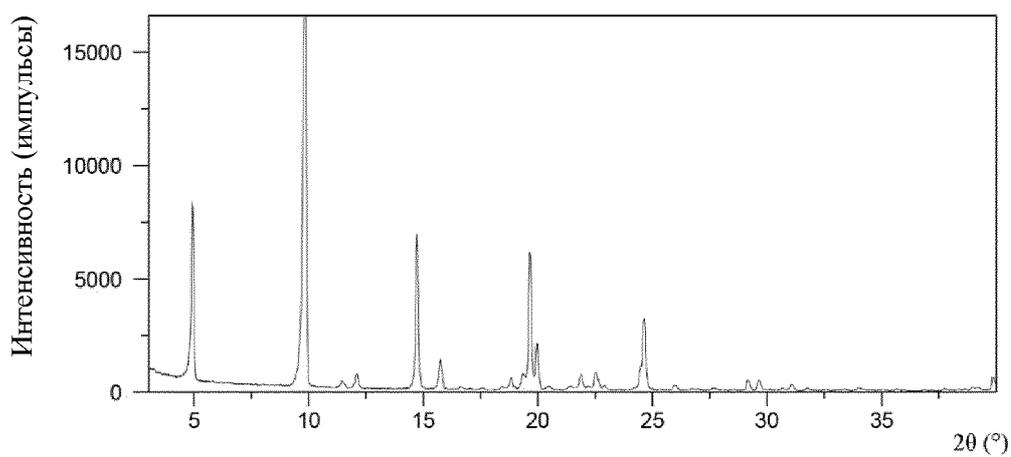
15. Применение кристаллической формы по любому из пп. 1-12 или фармацевтической композиции по п. 14 в получении ингибитора ДНК-ПК (ДНК-зависимая протеинкиназа).

16. Применение кристаллической формы по любому из пп. 1-12 или фармацевтической композиции по п. 14 в получении лекарственного средства для лечения и предупреждения рака.

1 Кристаллическая форма производного имидазолинона

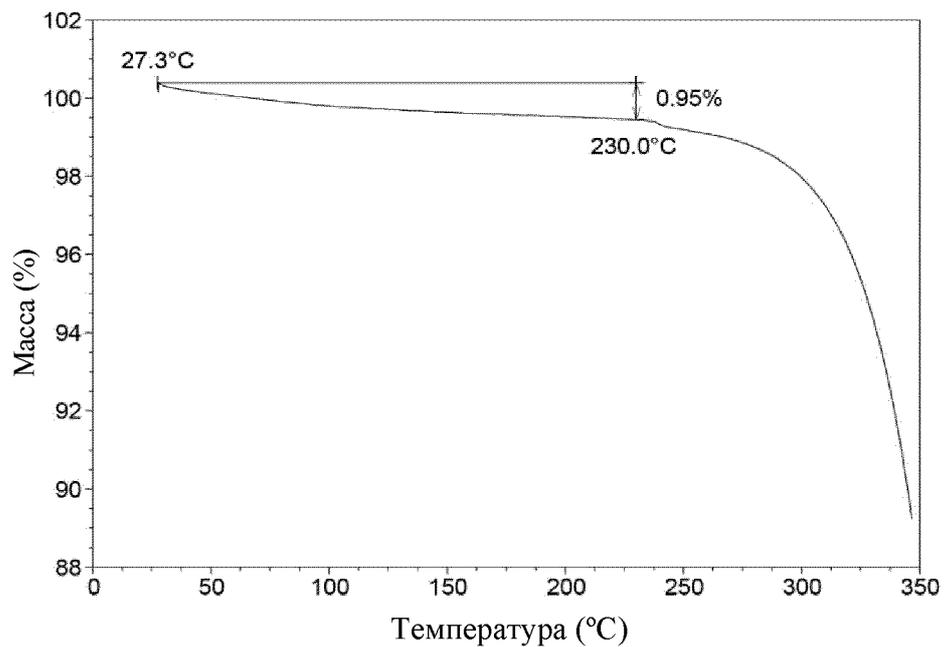


ФИГ. 1

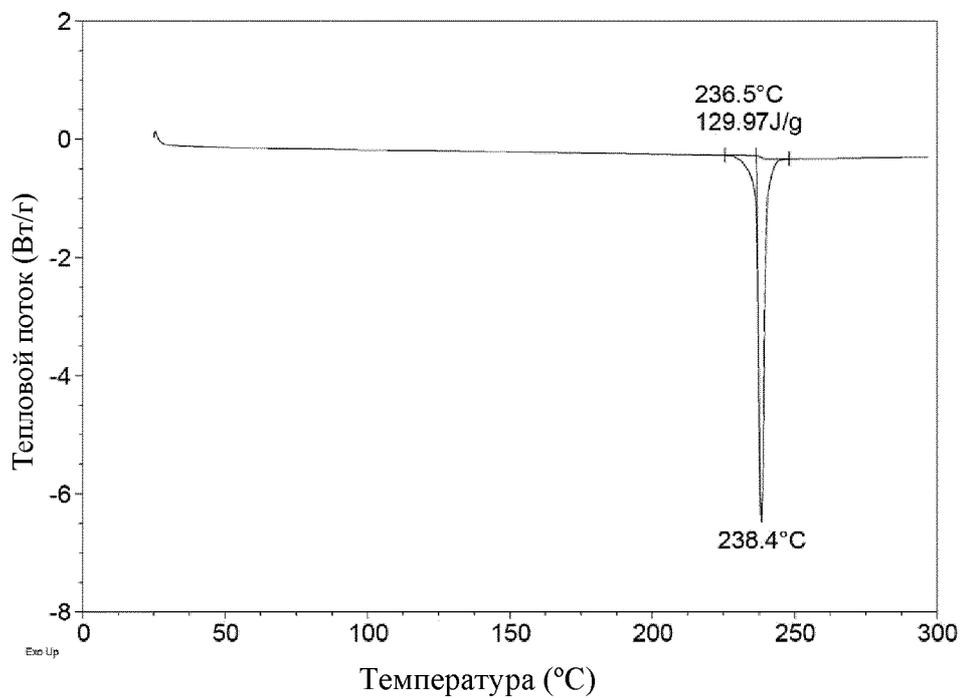


ФИГ. 2

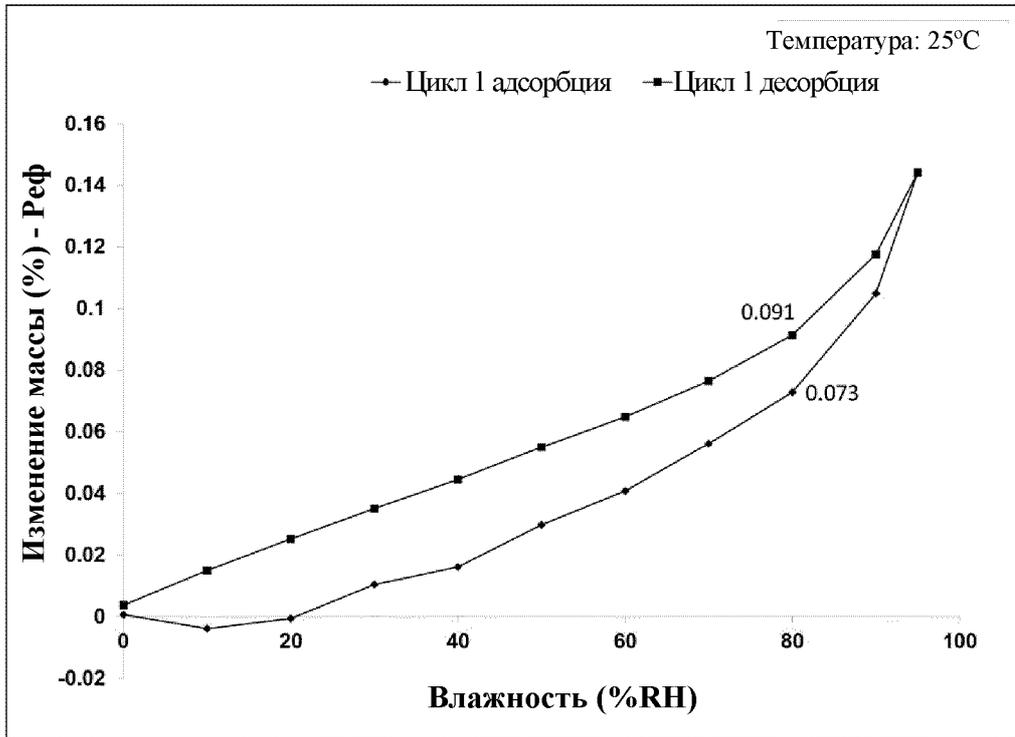
2 Кристаллическая форма производного имидазолинона



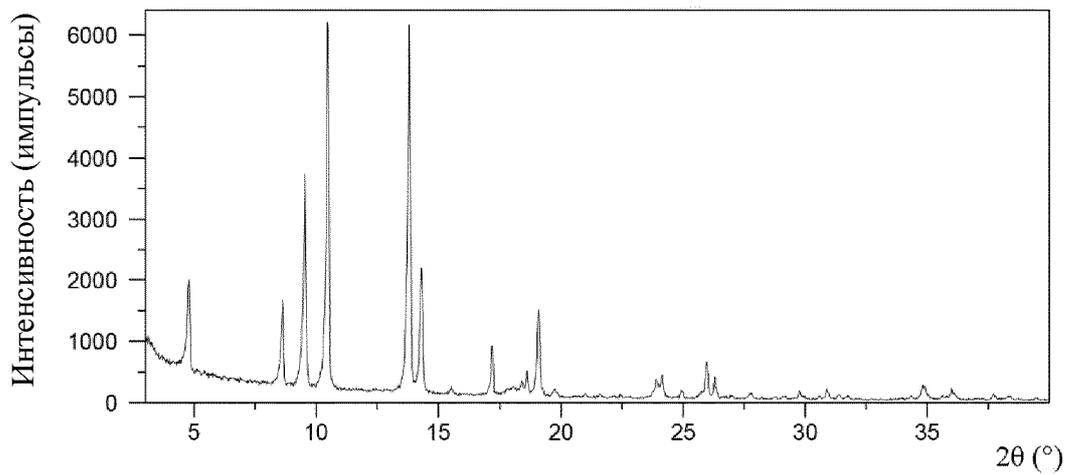
ФИГ. 3



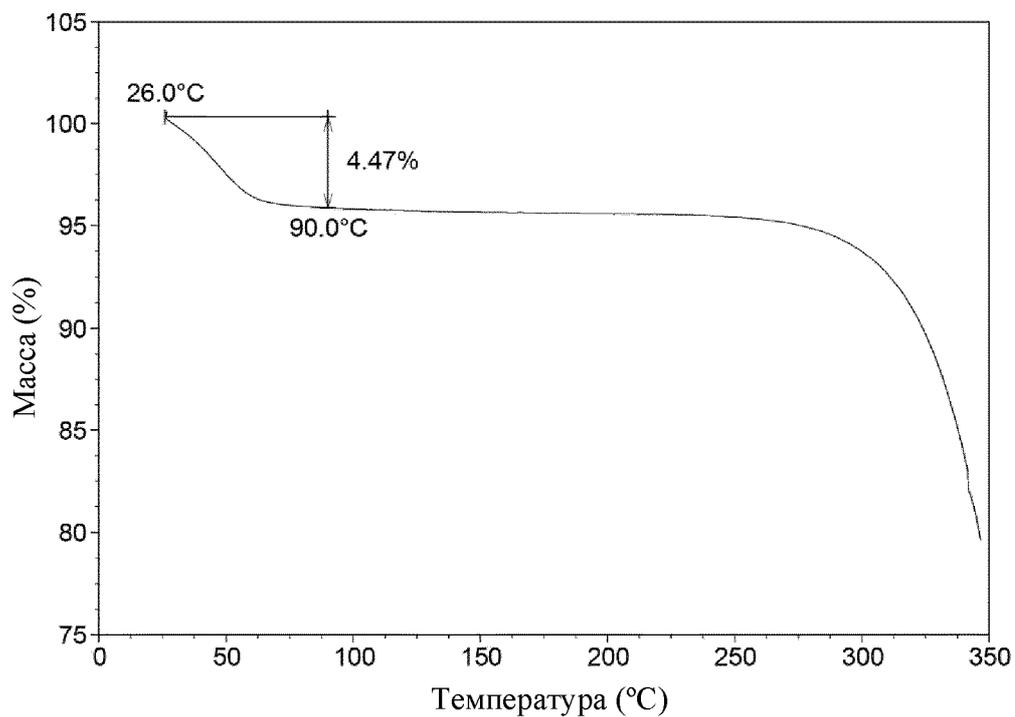
ФИГ. 4



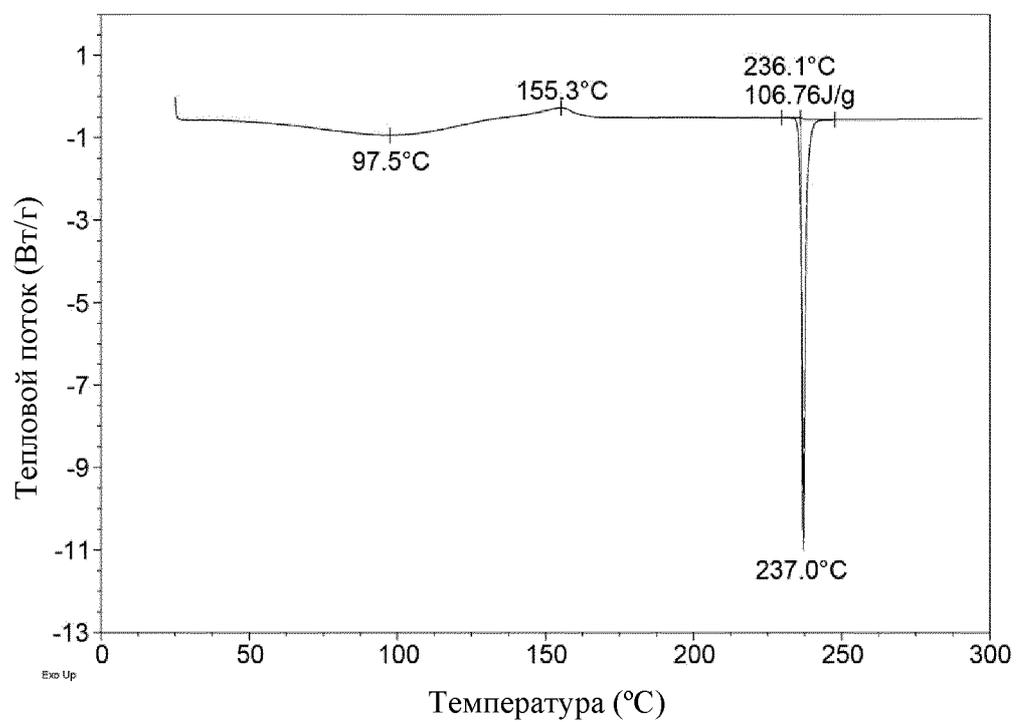
ФИГ. 5



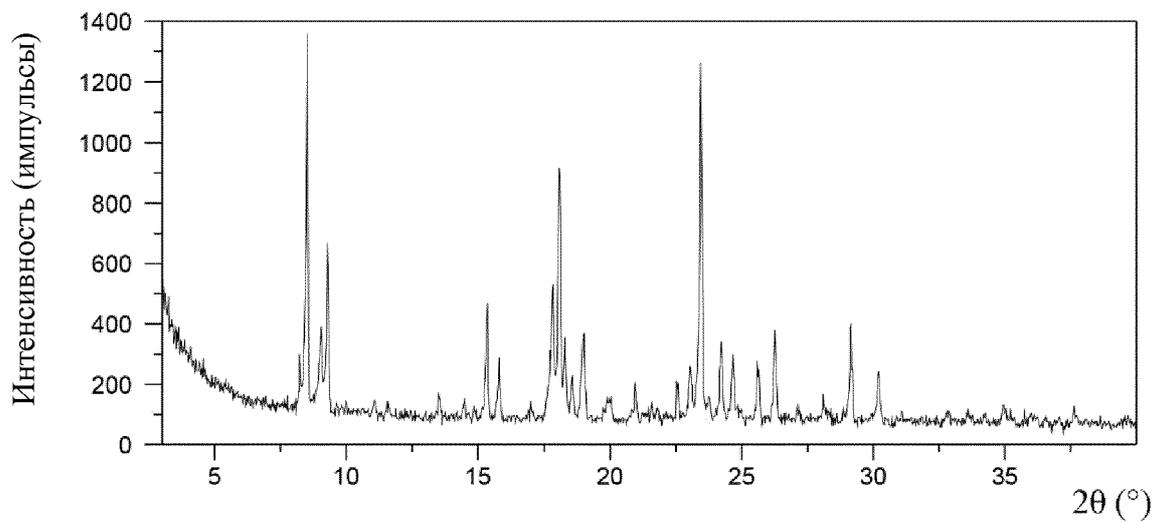
ФИГ. 6



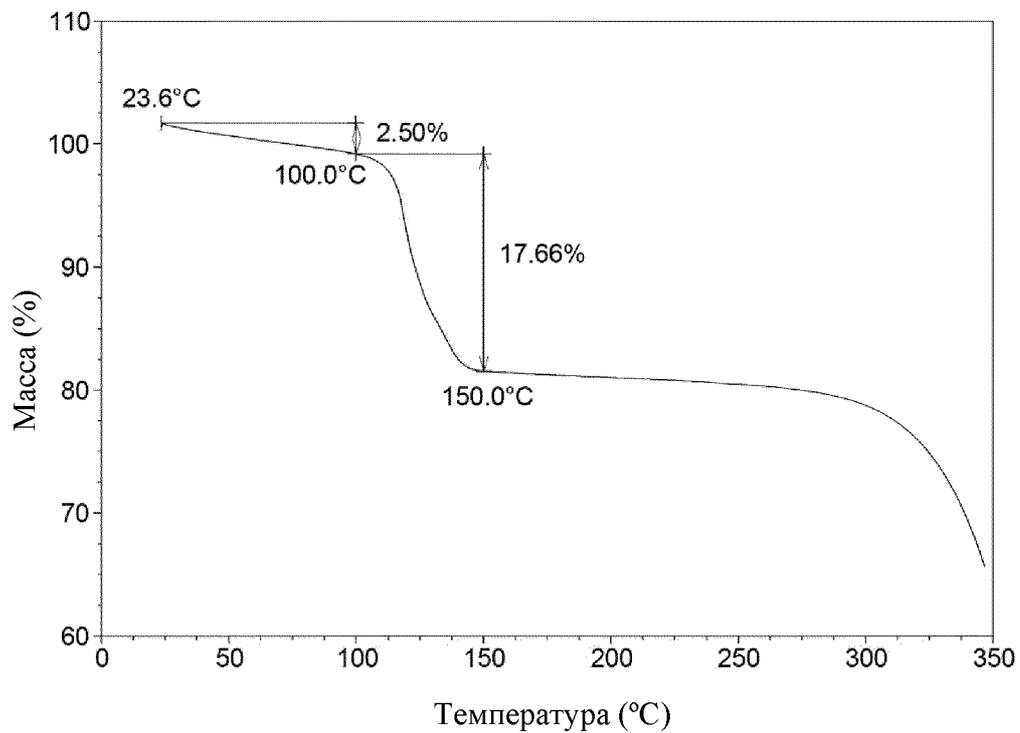
ФИГ. 7



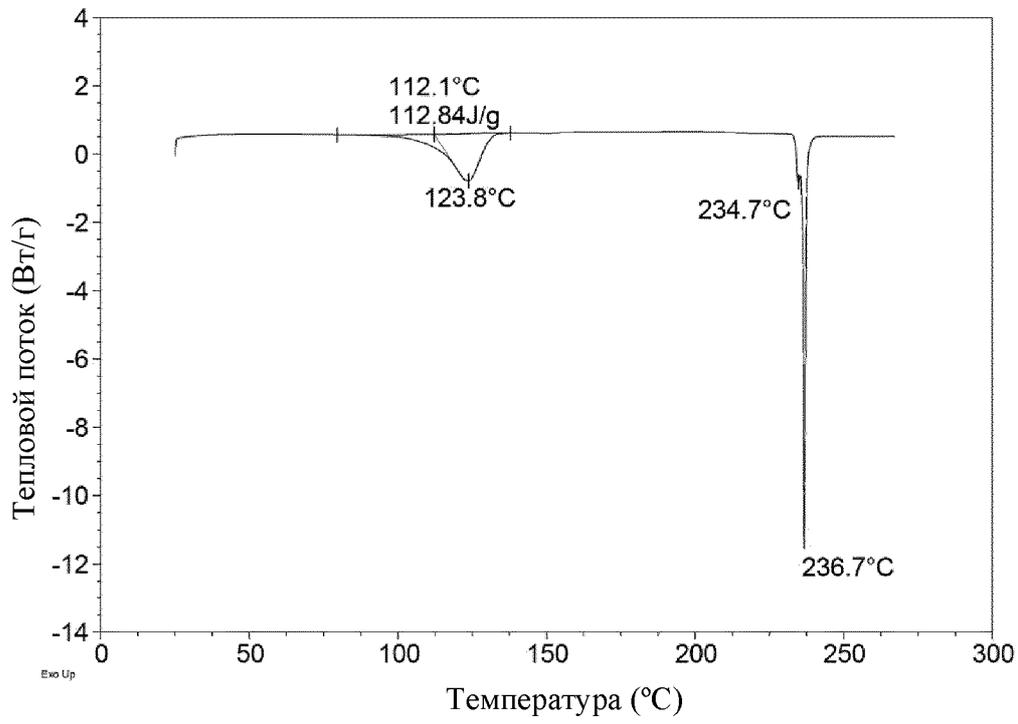
ФИГ. 8



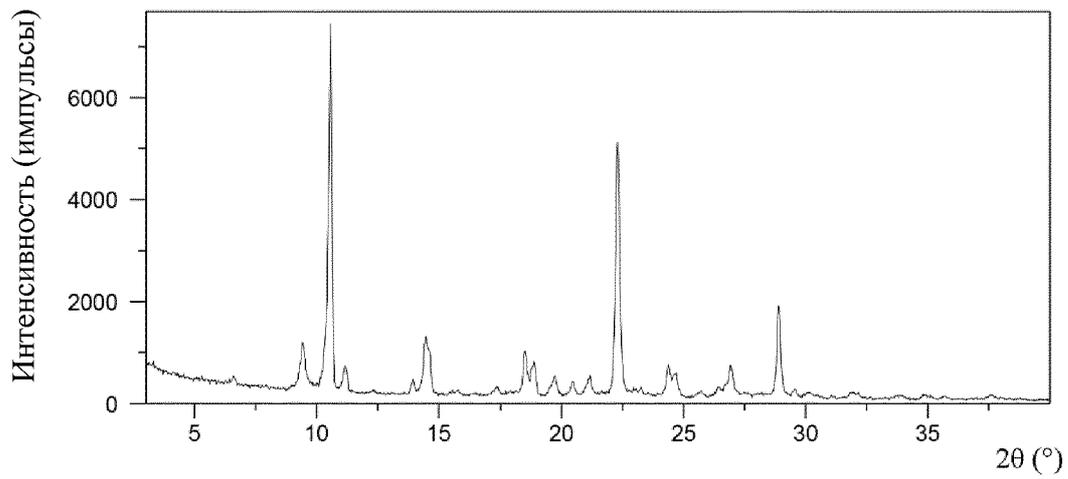
ФИГ. 9



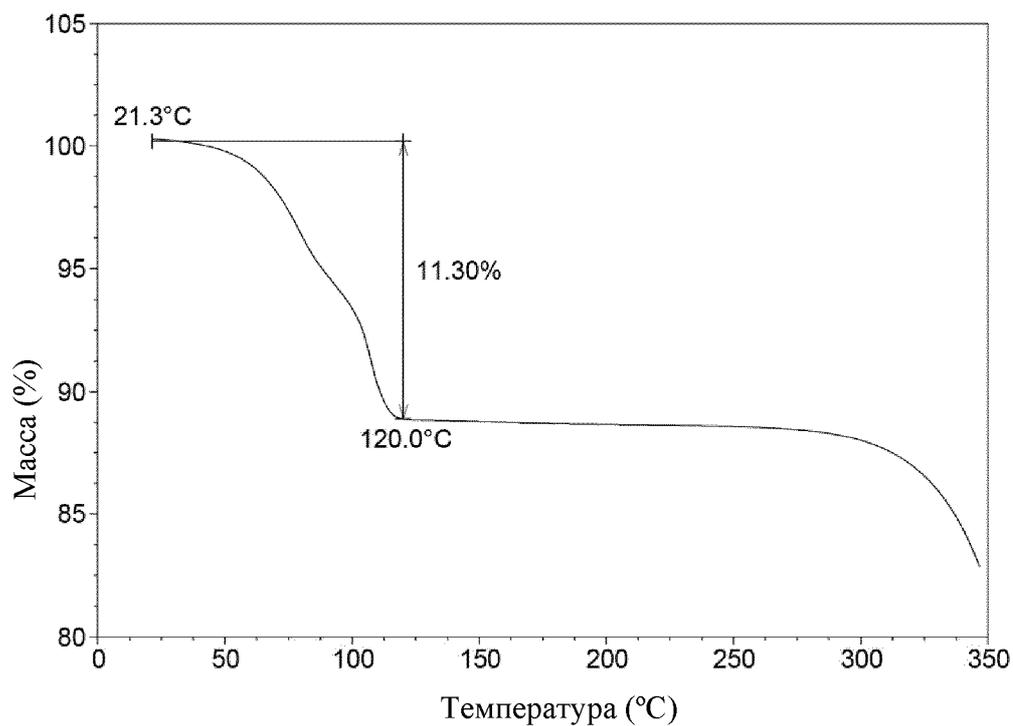
ФИГ. 10



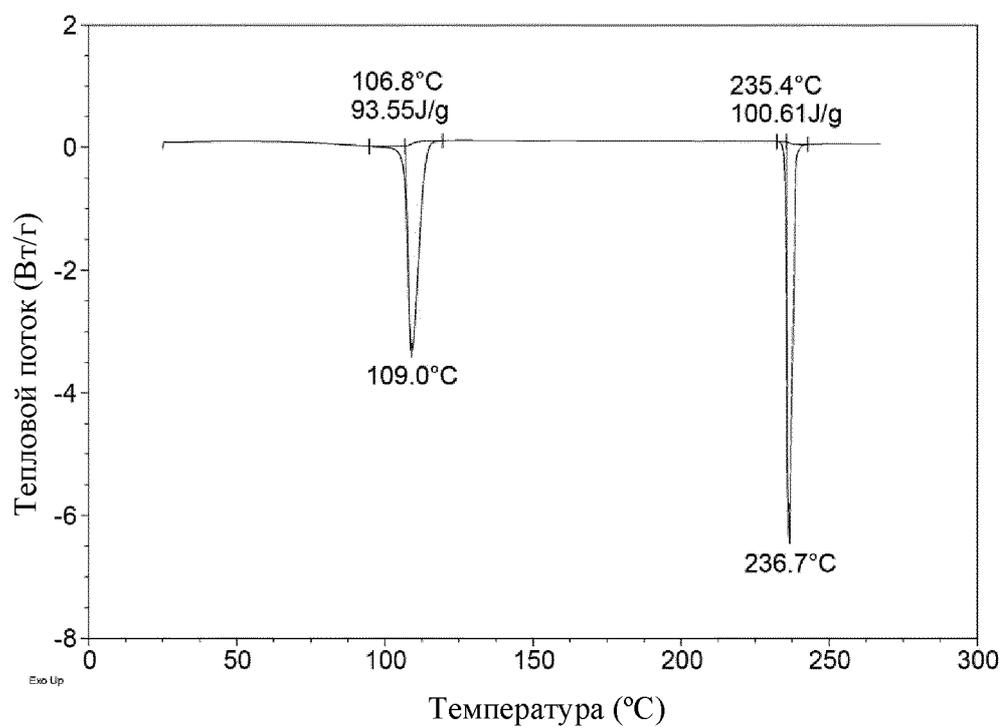
ФИГ. 11



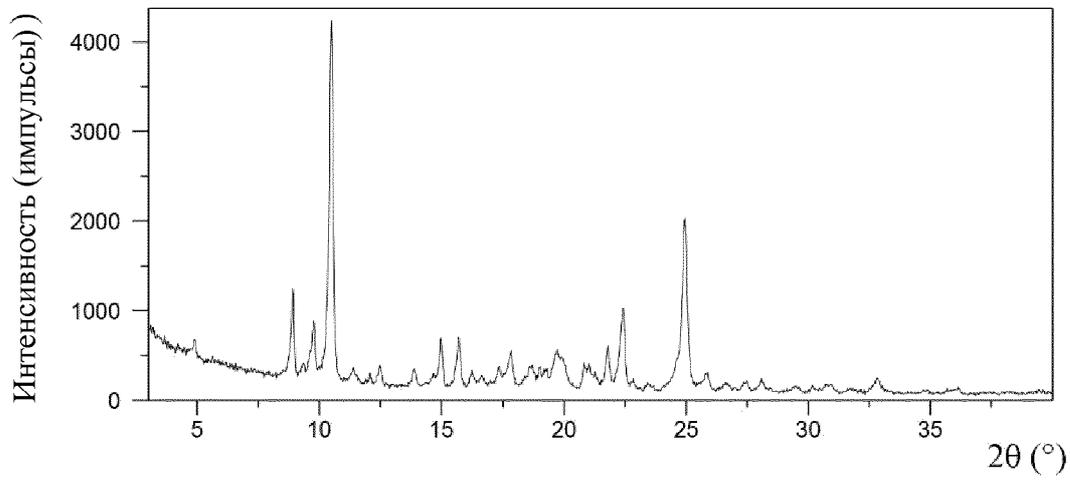
ФИГ. 12



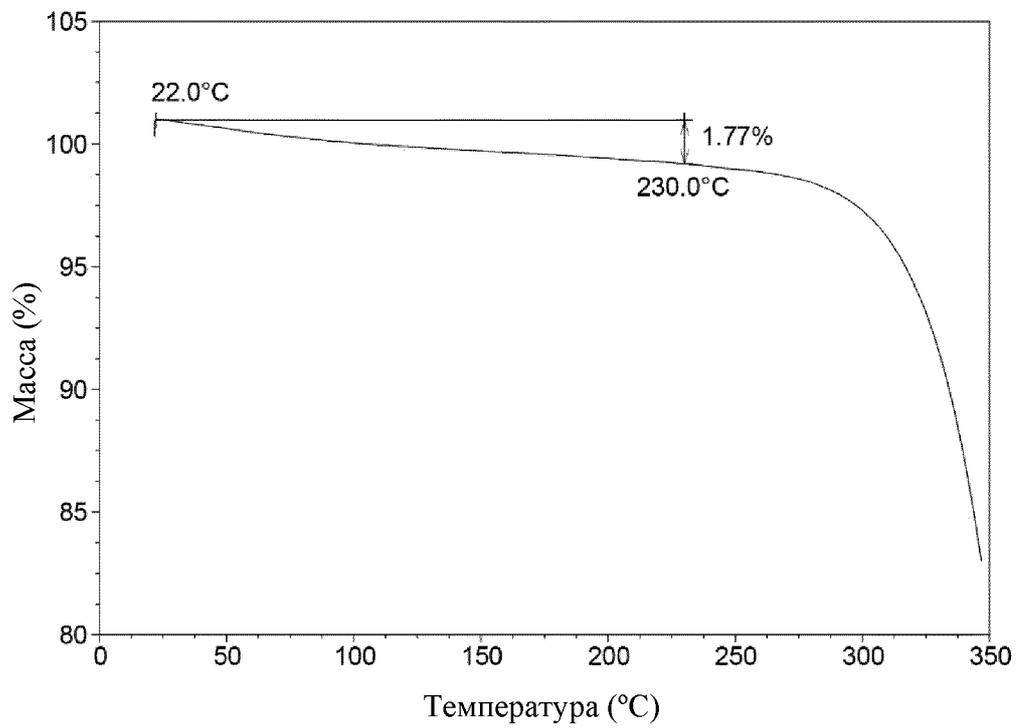
ФИГ. 13



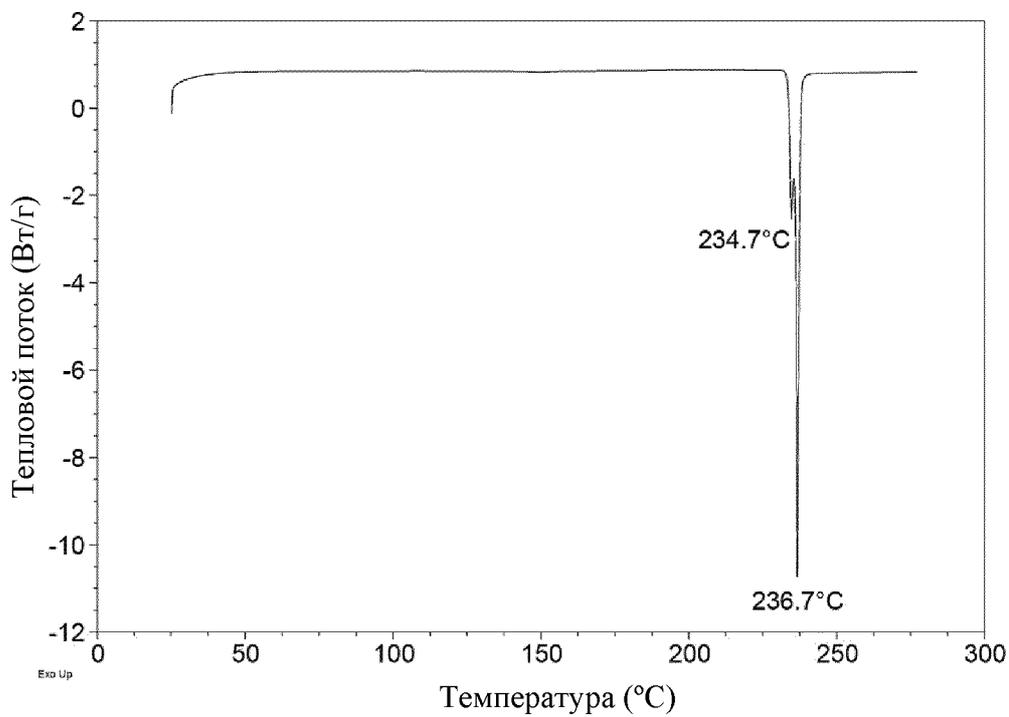
ФИГ. 14



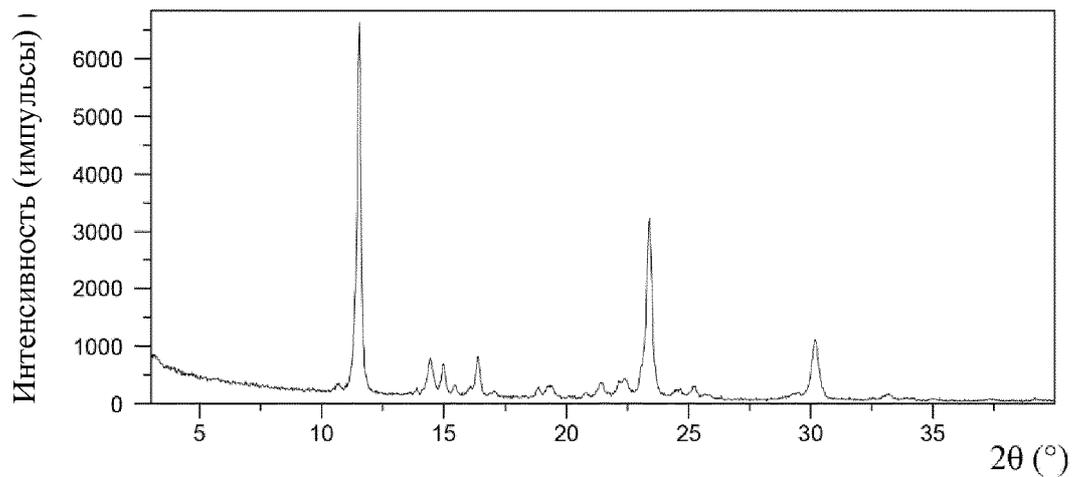
ФИГ. 15



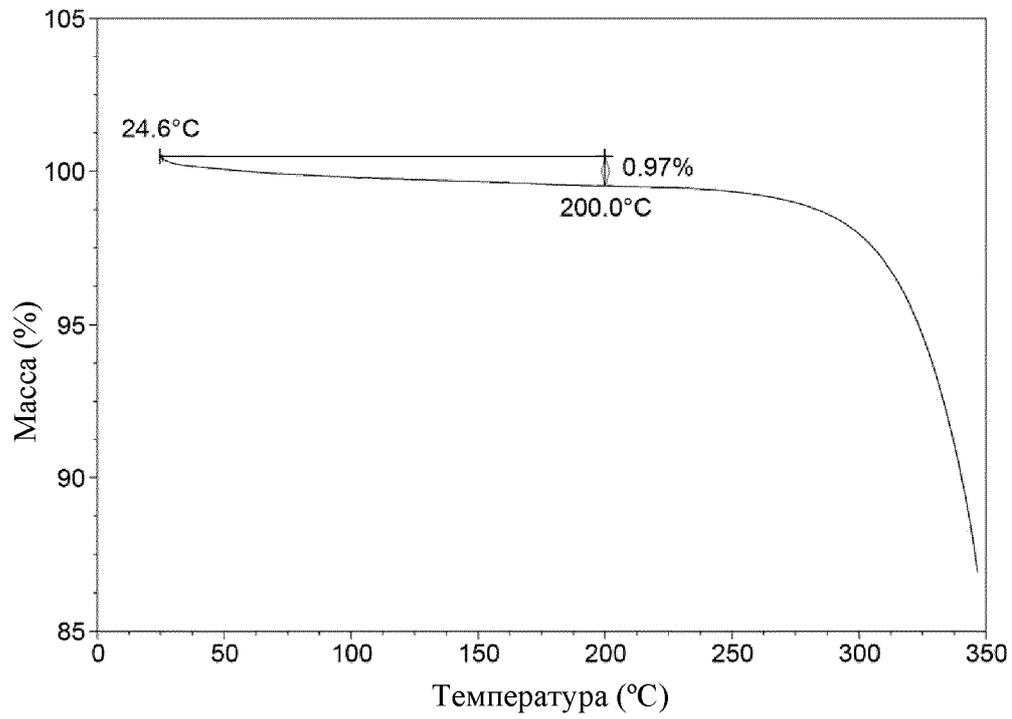
ФИГ. 16



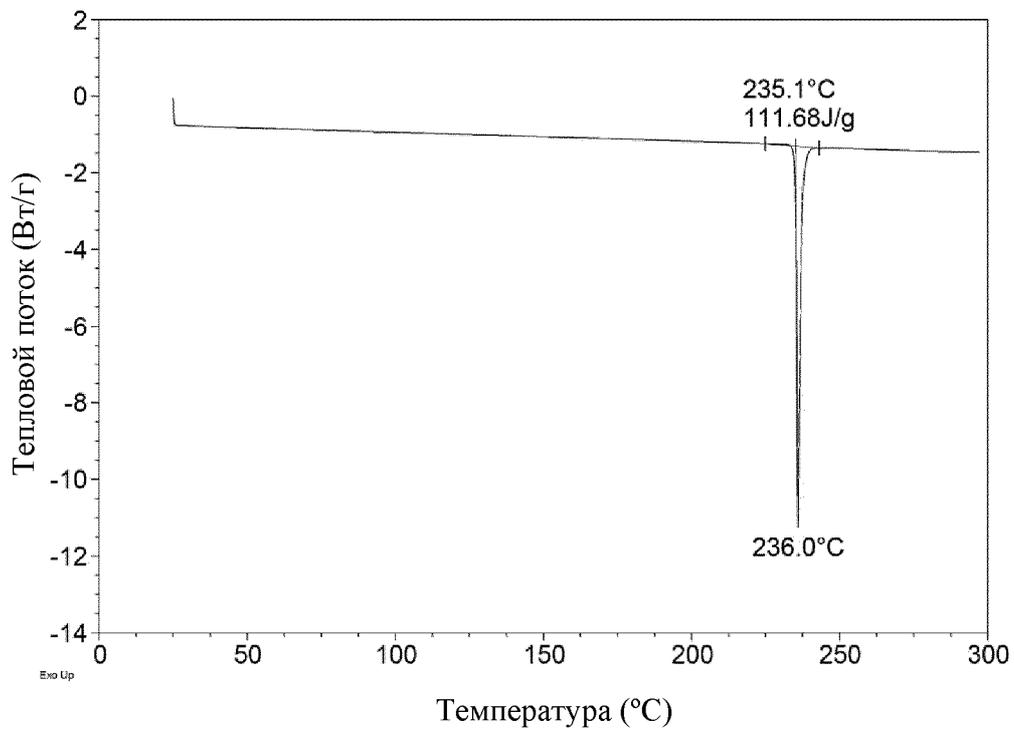
ФИГ. 17



ФИГ. 18



ФИГ. 19



ФИГ. 20