

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202491865 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2024.11.11

(22) Дата подачи заявки
2023.02.22

(51) Int. Cl. C07D 413/12 (2006.01)
C07D 267/10 (2006.01)
A61K 31/553 (2006.01)
A61P 11/00 (2006.01)

(54) ПОЛИМОРФ ИНГИБИТОРА ДИПЕПТИДИЛПЕПТИДАЗЫ 1, СПОСОБ ЕГО ПОЛУЧЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЕ

(31) 202210160848.5

(32) 2022.02.22

(33) CN

(86) PCT/CN2023/077649

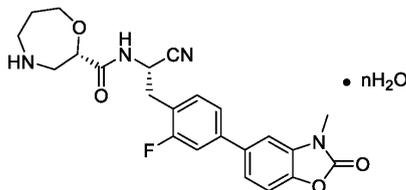
(87) WO 2023/160579 2023.08.31

(71) Заявитель:
ХАЙСКО ФАРМАСЬЮТИКАЛС
ПТЕ. ЛТД. (SG)

(72) Изобретатель:
Фань Цзян, Доу Ин, Гун Чжэн, Чжу
Фэнфэй (CN)

(74) Представитель:
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)

(57) В настоящем изобретении раскрыты полиморф соединения, представленного формулой I, и его способ получения и применение. Полиморф по настоящему изобретению предусматривает кристаллическую форму В, кристаллическую форму С и кристаллическую форму D. Полиморф характеризуется превосходными характеристиками: высокой чистотой, хорошей растворимостью, стабильными физическими и химическими свойствами, устойчивостью к воздействию высокой температуры, высокой влажности и яркого освещения, низкой гигроскопичностью и т.д.



A1

202491865

202491865

A1

ПОЛИМОРФ ИНГИБИТОРА ДИПЕПТИДИЛПЕПТИДАЗЫ 1, СПОСОБ ЕГО ПОЛУЧЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЕ

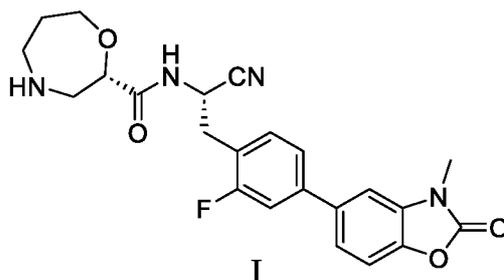
Область техники, к которой относится изобретение

[1] Настоящее изобретение принадлежит к области фармацевтики и, в частности, относится к полиморфу ингибитора дипептидилпептидазы 1, а также к способу его получения и к его применению.

Уровень техники

[2] Дипептидилпептидаза 1 (DPP1), также известная как катепсин С, представляет собой цистеинилпротеазу семейства лизосомальных папаинов, участвующую во внутриклеточном разрушении белка. Во время созревания нейтрофилов DPP1 активирует сериновые протеазы нейтрофилов (NSP), включая эластазу нейтрофилов (NE), протеиназу 3 (Pr3) и катепсин G (CatG), посредством отщепления N-концевого дипептида от белка-мишени. DPP1 участвует в ряде воспалительных заболеваний, включая гранулематоз Вегенера, ревматоидный артрит, воспаление легких и вирусную инфекцию. Исследования показали, что ингибирование DPP1 может оказывать хороший терапевтический эффект при воспалительных заболеваниях легких высокой степени тяжести, вызванных нейтрофилами, таких как бронхоэктаз, хроническая обструктивная болезнь легких (COPD) и острое повреждение легких. Следовательно, ингибирование сверхактивации NSP путем воздействия на DPP1 может оказывать потенциальный терапевтический эффект при бронхоэктазе.

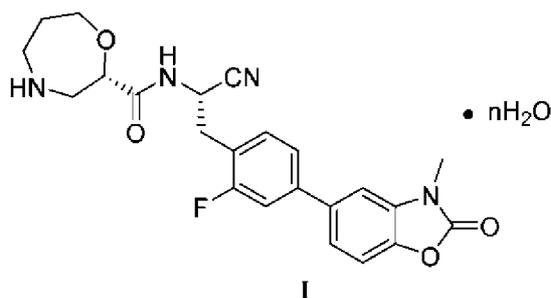
[3] В заявке на патент PCT/CN2020/114500 описано получение низкомолекулярного ингибитора DPP1, представленного нижеприведенной формулой. Соединение проявляет относительно высокую ингибирующую активность в отношении DPP1, и превосходную биодоступность и фармакокинетические характеристики, и обладает преимуществами, состоящими в низкой токсичности и высокой безопасности. Оно предназначено для использования с целью лечения заболеваний легких, таких как не связанный с муковисцидозом бронхоэктаз, хроническая обструктивная болезнь легких (COPD), острое повреждение легких и связанный с муковисцидозом бронхоэктаз. Таким образом, разработка кристаллической формы соединения, более подходящей для составления лекарственного средства, особенно кристаллической формы с улучшенной стабильностью, гигроскопичностью, сохраняемостью и/или эффективностью, чтобы достичь, таким образом, хороших результатов в фармацевтической промышленности, стала актуальной проблемой, требующей решения.



Сущность изобретения

[4] Настоящее изобретение предусматривает полиморф соединения, представленного формулой I, характеризующийся высокой пригодностью в качестве фармацевтического препарата. Полиморф обладает превосходными характеристиками: высокой чистотой, хорошей растворимостью, стабильными физическими и химическими свойствами, устойчивостью к воздействию высокой температуры, высокой влажности и яркого освещения, низкой гигроскопичностью и т. д.

[5] Полиморф соединения, представленного формулой I,



где n равняется 0 или 1.

[6] В некоторых вариантах осуществления полиморф соединения, представленного формулой I, представляет собой безводную кристаллическую форму, т. е. n равняется 0, и полиморф описан как кристаллическая форма В, которая характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, содержащей характеристические дифракционные пики при значениях 2θ , составляющих $12,32 \pm 0,2^\circ$, $14,30 \pm 0,2^\circ$, $15,43 \pm 0,2^\circ$, $16,38 \pm 0,2^\circ$ и $18,56 \pm 0,2^\circ$, как установлено с использованием Cu-K α -излучения.

[7] Кроме того, в некоторых вариантах осуществления кристаллическая форма В характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, дополнительно содержащей характеристические дифракционные пики при значениях 2θ , составляющих $17,06 \pm 0,2^\circ$, $18,21 \pm 0,2^\circ$, $18,94 \pm 0,2^\circ$, $19,59 \pm 0,2^\circ$, $20,79 \pm 0,2^\circ$, $21,19 \pm 0,2^\circ$, $22,55 \pm 0,2^\circ$, $22,97 \pm 0,2^\circ$, $23,37 \pm 0,2^\circ$, $24,25 \pm 0,2^\circ$ и $25,46 \pm 0,2^\circ$.

[8] Кроме того, в некоторых вариантах осуществления кристаллическая форма В характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, содержащей характеристические дифракционные пики в следующих положениях (2θ):

№	Полож. [$^{\circ}2\theta$]
1	4.68
2	8.97
3	12.32
4	14.30
5	15.43
6	16.38
7	17.06
8	18.21
9	18.56
10	18.94
11	19.59
12	20.79
13	21.19
14	22.55
15	22.97
16	23.37
17	24.25
18	25.46
19	31.03

[9] Кроме того, в некоторых вариантах осуществления кристаллическая форма В характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, по сути показанной на фигуре 1.

[10] Кроме того, в некоторых вариантах осуществления кристаллическая форма В характеризуется термограммой DSC, показанной на фигуре 2 и/или термограммой TGA, показанной на фигуре 3.

[11] В некоторых вариантах осуществления полиморф соединения, представленного формулой I, представляет собой моногидратную кристаллическую форму, т. е. n равняется 1, и полиморф описан как кристаллическая форма С, которая характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, содержащей характеристические дифракционные пики

при значениях 2θ , составляющих $8,93 \pm 0,2^\circ$, $12,10 \pm 0,2^\circ$, $14,14 \pm 0,2^\circ$, $20,38 \pm 0,2^\circ$, $23,86 \pm 0,2^\circ$ и $25,07 \pm 0,2^\circ$, как установлено с использованием $\text{Cu-K}\alpha$ -излучения.

[12] Кроме того, в некоторых вариантах осуществления кристаллическая форма С характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, дополнительно содержащей характеристические дифракционные пики при значениях 2θ , составляющих $15,19 \pm 0,2^\circ$, $15,92 \pm 0,2^\circ$, $16,06 \pm 0,2^\circ$, $17,55 \pm 0,2^\circ$, $17,90 \pm 0,2^\circ$, $18,90 \pm 0,2^\circ$, $19,10 \pm 0,2^\circ$, $20,81 \pm 0,2^\circ$ и $24,33 \pm 0,2^\circ$.

[13] Кроме того, в некоторых вариантах осуществления кристаллическая форма С характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, содержащей характеристические дифракционные пики в следующих положениях (2θ):

№	Полож. [$^\circ 2\theta$]
1	4.68
2	8.93
3	12.10
4	14.14
5	15.19
6	15.92
7	16.06
8	17.55
9	17.90
10	18.90
11	19.10
12	20.38
13	20.81
14	23.32
15	23.86
16	24.33
17	25.07
18	25.91
19	26.99
20	28.45
21	29.67
22	31.41

23	36.26
----	-------

[14] Кроме того, в некоторых вариантах осуществления кристаллическая форма С характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, по сути показанной на фигуре 6.

[15] Кроме того, в некоторых вариантах осуществления кристаллическая форма С характеризуется термограммой DSC, показанной на фигуре 7, и/или термограммой TGA, показанной на фигуре 8.

[16] В некоторых вариантах осуществления полиморф соединения, представленного формулой I, представляет собой безводную кристаллическую форму, т. е. n равняется 0, и полиморф описан как кристаллическая форма D, которая характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, содержащей характеристические дифракционные пики при значениях 2θ , составляющих $8,68 \pm 0,2^\circ$, $11,74 \pm 0,2^\circ$, $13,64 \pm 0,2^\circ$, $17,40 \pm 0,2^\circ$, $18,23 \pm 0,2^\circ$, $20,12 \pm 0,2^\circ$ и $26,21 \pm 0,2^\circ$, как установлено с использованием Cu-K α -излучения.

[17] Кроме того, в некоторых вариантах осуществления кристаллическая форма D характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, дополнительно содержащей характеристические дифракционные пики при значениях 2θ , составляющих $8,99 \pm 0,2^\circ$, $13,51 \pm 0,2^\circ$, $27,49 \pm 0,2^\circ$, $32,19 \pm 0,2^\circ$ и $32,97 \pm 0,2^\circ$.

[18] Кроме того, в некоторых вариантах осуществления кристаллическая форма D характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, содержащей характеристические дифракционные пики в следующих положениях (2θ):

№	Полож. [$^\circ 2\theta$]
1	4.49
2	8.68
3	8.99
4	11.74
5	13.51
6	13.64
7	14.80
8	15.59
9	17.40
10	18.23
11	20.12

№	Полож. [$^{\circ}2\theta$]
12	22.82
13	23.60
14	24.08
15	26.21
16	27.49
17	28.57
18	32.19
19	32.97
20	36.98

[19] Кроме того, в некоторых вариантах осуществления кристаллическая форма D характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, по сути показанной на фигуре 9.

[20] Кроме того, в некоторых вариантах осуществления, в случае кристаллической формы B, кристаллической формы C или кристаллической формы D по настоящему изобретению, кристалл характеризуется размером частиц менее 100 мкм; в некоторых вариантах осуществления кристалл характеризуется размером частиц менее 90 мкм; в некоторых вариантах осуществления кристалл характеризуется размером частиц менее 80 мкм; в некоторых вариантах осуществления кристалл характеризуется размером частиц менее 70 мкм; в некоторых вариантах осуществления кристалл характеризуется размером частиц менее 60 мкм; в некоторых вариантах осуществления кристалл характеризуется размером частиц менее 50 мкм; в некоторых вариантах осуществления кристалл характеризуется размером частиц менее 40 мкм; в некоторых вариантах осуществления кристалл характеризуется размером частиц менее 30 мкм, и в некоторых вариантах осуществления кристалл характеризуется размером частиц менее 20 мкм.

[21] Настоящее изобретение также предусматривает фармацевтическую композицию, содержащую терапевтически эффективное количество кристаллической формы B, кристаллической формы C или кристаллической формы D, а также фармацевтически приемлемый носитель и/или вспомогательное вещество.

[22] Настоящее изобретение также предусматривает применение кристаллической формы B, кристаллической формы C или кристаллической формы D или фармацевтической композиции, содержащей их, в получении лекарственного препарата для лечения DPP1-опосредованного заболевания.

[23] Кроме того, DPP1-опосредованное заболевание включает без ограничения не связанный с муковисцидозом бронхоэктаз, связанный с муковисцидозом бронхоэктаз, острое повреждение легких, обструктивное заболевание дыхательных путей, бронхоэктаз, муковисцидоз, астму, эмфизему и хроническое обструктивное заболевание легких.

[24] Кристаллическая форма В, кристаллическая форма С или кристаллическая форма D по настоящему изобретению присутствуют в количестве, составляющем от приблизительно 5 вес. % до приблизительно 100 вес. % в пересчете на нерасфасованное лекарственное средство; в определенных вариантах осуществления в количестве, составляющем от приблизительно 10 вес. % до приблизительно 100 вес. % в пересчете на нерасфасованное лекарственное средство; в определенных вариантах осуществления в количестве, составляющем от приблизительно 15 вес. % до приблизительно 100 вес. % в пересчете на нерасфасованное лекарственное средство; в определенных вариантах осуществления в количестве, составляющем от приблизительно 20 вес. % до приблизительно 100 вес. % в пересчете на нерасфасованное лекарственное средство; в определенных вариантах осуществления в количестве, составляющем от приблизительно 25 вес. % до приблизительно 100 вес. % в пересчете на нерасфасованное лекарственное средство; в определенных вариантах осуществления в количестве, составляющем от приблизительно 30 вес. % до приблизительно 100 вес. % в пересчете на нерасфасованное лекарственное средство; в определенных вариантах осуществления в количестве, составляющем от приблизительно 35 вес. % до приблизительно 100 вес. % в пересчете на нерасфасованное лекарственное средство; в определенных вариантах осуществления в количестве, составляющем от приблизительно 40 вес. % до приблизительно 100 вес. % в пересчете на нерасфасованное лекарственное средство; в определенных вариантах осуществления в количестве, составляющем от приблизительно 45 вес. % до приблизительно 100 вес. % в пересчете на нерасфасованное лекарственное средство; в определенных вариантах осуществления в количестве, составляющем от приблизительно 50 вес. % до приблизительно 100 вес. % в пересчете на нерасфасованное лекарственное средство; в определенных вариантах осуществления в количестве, составляющем от приблизительно 55 вес. % до приблизительно 100 вес. % в пересчете на нерасфасованное лекарственное средство; в определенных вариантах осуществления в количестве, составляющем от приблизительно 60 вес. % до приблизительно 100 вес. % в пересчете на нерасфасованное лекарственное средство; в определенных вариантах осуществления в количестве, составляющем от приблизительно 65 вес. % до приблизительно 100 вес. % в пересчете на нерасфасованное лекарственное средство; в определенных вариантах

осуществления в количестве, составляющем от приблизительно 70 вес. % до приблизительно 100 вес. % в пересчете на нерасфасованное лекарственное средство; в определенных вариантах осуществления в количестве, составляющем от приблизительно 75 вес. % до приблизительно 100 вес. % в пересчете на нерасфасованное лекарственное средство; в определенных вариантах осуществления в количестве, составляющем от приблизительно 80 вес. % до приблизительно 100 вес. % в пересчете на нерасфасованное лекарственное средство; в определенных вариантах осуществления в количестве, составляющем от приблизительно 85 вес. % до приблизительно 100 вес. % в пересчете на нерасфасованное лекарственное средство; в определенных вариантах осуществления в количестве, составляющем от приблизительно 90 вес. % до приблизительно 100 вес. % в пересчете на нерасфасованное лекарственное средство; в определенных вариантах осуществления в количестве, составляющем от приблизительно 95 вес. % до приблизительно 100 вес. % в пересчете на нерасфасованное лекарственное средство; в определенных вариантах осуществления в количестве, составляющем от приблизительно 98 вес. % до приблизительно 100 вес. % в пересчете на нерасфасованное лекарственное средство; в определенных вариантах осуществления в количестве, составляющем от приблизительно 99 вес. % до приблизительно 100 вес. % в пересчете на нерасфасованное лекарственное средство; и в определенных вариантах осуществления кристаллическая форма В, кристаллическая форма С или кристаллическая форма D присутствуют в количестве, по сути составляющем 100 вес. % в пересчете на нерасфасованное лекарственное средство, то есть нерасфасованное лекарственное средство представляет собой по сути чистый кристалл.

[25] Настоящее изобретение также предусматривает способ получения кристаллической формы В, кристаллической формы С или кристаллической формы D, при этом способ включает:

- (1) добавление неочищенного свободного основания соединения, представленного формулой I, к растворителю, суспендирование и перемешивание полученного и фильтрование смеси с получением кристаллической формы или
- (2) добавление неочищенного свободного основания соединения, представленного формулой I, к растворителю, нагревание смеси, пока раствор не станет прозрачным, охлаждение раствора для обеспечения кристаллизации и фильтрование смеси с получением кристаллической формы.

[26] В некоторых вариантах осуществления кристаллическую форму В получают путем суспендирования свободного основания соединения I в растворителе IPAc и перемешивания полученного в течение 2-5 дней.

[27] В некоторых вариантах осуществления кристаллическую форму В получают путем добавления свободного основания соединения I к смешанному растворителю из нитрильного растворителя и спиртового растворителя, нагревания смеси, пока раствор не станет прозрачным, а затем охлаждения раствора для обеспечения кристаллизации.

[28] В некоторых вариантах осуществления нитрильный растворитель выбран из ацетонитрила, а спиртовой растворитель выбран из метанола, этанола, пропилового спирта, изопропилового спирта или их комбинации.

[29] В некоторых вариантах осуществления растворитель представляет собой смешанный растворитель из ацетонитрила и этанола.

[30] В некоторых вариантах осуществления объемное отношение нитрильного растворителя к спиртовому растворителю составляет (1-3) : (1-3); в некоторых вариантах осуществления объемное отношение нитрильного растворителя к спиртовому растворителю составляет (1-2) : (1-2) и в некоторых вариантах осуществления объемное отношение нитрильного растворителя к спиртовому растворителю составляет 1 : 1.

[31] В некоторых вариантах осуществления кристаллическую форму получают путем начального охлаждения прозрачного раствора до 50°C - 60°C, добавления затравочного кристалла (который может быть получен другими способами, такими как способ, описанный в предыдущем варианте осуществления), а затем продолжения охлаждения раствора для обеспечения кристаллизации.

[32] В некоторых вариантах осуществления кристаллическую форму С получают путем суспендирования свободного основания соединения I в H₂O и перемешивания полученного в течение 2-5 дней.

[33] В некоторых вариантах осуществления кристаллическую форму D получают путем добавления свободного основания соединения I к спиртовому растворителю, нагревания смеси, пока раствор не станет прозрачным, и затем медленного охлаждения раствора для обеспечения кристаллизации. В некоторых вариантах осуществления спиртовой растворитель выбран из метанола, этанола, пропилового спирта, изопропилового спирта или их комбинации. В некоторых вариантах осуществления растворитель представляет собой метанол.

[34] Настоящее изобретение характеризуется следующими благоприятными эффектами.

Кристаллическая форма по настоящему изобретению характеризуется превосходными физическими и химическими свойствами, такими как хорошая текучесть и в значительной степени улучшенная вязкость, что может в значительной степени снизить время фильтрации, сократить производственный цикл и сэкономить расходы на процесс приготовления состава кристаллической формы по настоящему изобретению. Более того, кристаллическая форма по настоящему изобретению характеризуется хорошими светостойкостью, теплостойкостью и влагостойкостью, что может обеспечивать надежность кристаллической формы во время хранения и транспортировки, тем самым обеспечивая безопасность и долгосрочную эффективность состава. Кристаллическая форма не требует специальной упаковки, защищающей от воздействия света, температуры и влаги, обеспечивая таким образом снижение расходов. Кристаллическая форма не разрушается под воздействием света, высокой температуры и высокой влажности, и пациентам, принимающим кристаллическую форму, не нужно беспокоиться о реакциях фоточувствительности, вызываемых составом из-за воздействия солнечного света.

Кристаллическая форма также характеризуется относительно высокой растворимостью, что способствует растворению лекарственного средства и улучшает биодоступность.

[35] Кристаллическая форма по настоящему изобретению также характеризуется хорошей стабильностью. Например, кристаллическая форма по настоящему изобретению не изменяется после испытаний методом DVS (60%RH-95%RH-0%RH-95%RH или 0%RH-95%RH-0%RH) или после помещения в условия 25°C/60%RH и 40°C/75%RH на срок от 1 недели до 1 месяца. Кроме того, кристаллическая форма по настоящему изобретению дополнительно характеризуется стабильностью в отношении измельчения.

[36] Кроме того, кристаллическая форма по настоящему изобретению характеризуется простым и эффективным способом получения, и расширение ее производства легко реализуется. Кристаллическая форма обладает следующими преимуществами: хорошей текучестью, хорошей сжимаемостью, высокой объемной плотностью, низкой гигроскопичностью и равномерным распределением частиц по размеру, и является подходящей для получения состава.

[37] Состав, полученный с использованием кристаллической формы по настоящему изобретению, позволяет добиться уменьшенной степени раздражения и улучшенного поглощения, что, тем самым, позволяет решить проблемы скорости метаболизма, токсичности и безопасности и эффективным образом обеспечивает качество и эффективность состава.

[38] Можно понять, что, как хорошо известно в области термогравиметрического анализа (TGA) и дифференциальной сканирующей калориметрии (DSC), значения высоты пиков плавления на кривой TGA и кривой DSC зависят от многих факторов, связанных с получением образца и геометрическими формами приборов, а положения пиков являются относительно нечувствительными к подробностям эксперимента. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления кристаллизованные соединения по настоящему изобретению характеризуются термограммами TGA и DSC, содержащими положения характеристических пиков, которые обладают по сути такими же свойствами, что и термограммы TGA и DSC, предоставленные в графических материалах настоящего изобретения, при этом допустимая погрешность измеренных значений находится в пределах $\pm 5^{\circ}\text{C}$, при этом обычно требуется, чтобы она находилась в пределах $\pm 3^{\circ}\text{C}$.

[39] Можно понять, что численные значения, описанные и заявленные в настоящем изобретении, являются приблизительными значениями. Изменения в значениях могут быть связаны с калибровкой прибора, ошибками прибора, чистотой кристалла, размером кристалла, размером образца и другими факторами.

[40] Можно понять, что кристаллические формы по настоящему изобретению не ограничиваются характеристическими графиками, как, например, XRPD, DSC, TGA, DVS, и графиками изотермических кривых адсорбции, которые полностью идентичны тем, что изображены в графических материалах, раскрытых посредством настоящего изобретения, и любая кристаллическая форма, характеризующаяся характеристическим графиком, который является фактически или по сути таким же, как график, изображенный в графических материалах, попадает в пределы объема настоящего изобретения.

[41] Термин "терапевтически эффективное количество" означает количество, которое вызывает физиологический или медицинский ответ в ткани, системе или организме субъекта и является требуемым количеством, в том числе количество соединения, которое при введении субъекту, подлежащему лечению, является достаточным для предупреждения появления одного или нескольких симптомов заболевания или болезненного состояния, подлежащих лечению, или для уменьшения симптома(симптомов) до определенной степени.

[42] "Комнатная температура" относится к температуре 10°C - 30°C .

[43] Термин "носитель" означает систему, которая не вызывает значительного раздражения в организме, не нарушает биологическую активность и характеристики вводимого соединения и может изменить способ поступления лекарственного средства в организм человека и распределение лекарственного средства в организме, контролировать

скорость высвобождения лекарственного средства и доставку лекарственного средства в органы-мишени. Неограничивающие примеры носителя включают микрокапсулу, микросферу, наночастицу, липосому и т. д.

[44] Термин "вспомогательное вещество" относится к веществу, которое не является терапевтическим средством *per se*, но применяется в качестве разбавителя, вспомогательного средства, связывающего средства и/или среды-носителя для добавления в фармацевтическую композицию и тем самым улучшает ее свойства при использовании или хранении или обеспечивает получение соединения или фармацевтической композиции в стандартной дозированной форме, предназначенной для введения, или способствует таковому. Как известно специалистам в данной области техники, фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество может выполнять различные функции и может быть описано как смачивающее средство, буфер, суспендирующее вещество, смазывающее вещество, эмульгатор, средство для улучшения распадаемости, абсорбент, консервант, поверхностно-активное вещество, красящее вещество, ароматизатор и подсластитель. Примеры фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ включают без ограничения: (1) сахара, такие как лактоза, глюкоза и сахароза; (2) крахмал, такой как кукурузный крахмал и картофельный крахмал; (3) целлюлозу и ее производные, такие как карбоксиметилцеллюлоза натрия, этилцеллюлоза, ацетилцеллюлоза, гидроксипропилметилцеллюлоза, гидроксипропилцеллюлоза, микрокристаллическая целлюлоза и кроскармеллоза (такая как кроскармеллоза натрия); (4) порошок трагаканта; (5) солод; (6) желатин; (7) тальк; (8) вспомогательные вещества, такие как масло какао или воск для суппозиторий; (9) масла, такие как арахисовое масло, хлопчатниковое масло, сафлоровое масло, кунжутное масло, оливковое масло, кукурузное масло и соевое масло; (10) диолы, такие как пропиленгликоль; (11) полиолы, такие как глицерин, сорбит, маннит и полиэтиленгликоль; (12) сложные эфиры, такие как этилолеат и этиллаурат; (13) агар; (14) буферы, такие как гидроксид магния и гидроксид алюминия; (15) альгиновую кислоту; (16) апирогенную воду; (17) изотонический солевой раствор; (18) раствор Рингера; (19) этанол; (20) pH-буфер; (21) сложный полиэфир, поликарбонат и/или полиангидрид и (22) другие нетоксичные совместимые вещества, применяемые в фармацевтическом составе.

[45] Термины "кристаллическая форма", "кристалл" или "полиморф" означают любое твердое вещество, которое демонстрирует трехмерную структуру и в отличие от аморфного твердого вещества позволяет получить характеристическую дифрактограмму XRPD с четко выраженными пиками.

[46] Термин “затравочный кристалл” означает нерастворимую добавку, которую добавляют в способе кристаллизации для образования зародыша кристалла, тем самым ускоряя рост энантиомерных кристаллов, которые характеризуются такой же формой кристалла или стереоконфигурацией, что и добавка, или способствуя этому.

[47] Термин “порошковая рентгеновская дифрактограмма (дифрактограмма XRPD)” означает экспериментально наблюдаемую дифрактограмму или параметр, данные или величину, полученные посредством нее. Дифрактограмма XRPD, как правило, характеризуется положениями пиков (ось абсцисс) и/или интенсивностями пиков (ось ординат).

[48] Термин “ 2θ ” означает положение пика, выраженное в градусах ($^{\circ}$) и установленное на основе эксперимента, осуществляемого посредством рентгеновской дифракции, и, как правило, представляет собой единицу измерения по оси абсцисс на дифрактограмме. Если отраженный луч дифрагирует, когда падающий луч образует угол θ с плоскостью решетки, экспериментальная модель требует того, чтобы отраженный луч регистрировался под углом 2θ . Следует понимать, что конкретное значение 2θ для конкретной кристаллической формы, упомянутой в данном документе, предназначено для обозначения значения 2θ (выраженного в градусах), измеренного с применением описанных в данном документе экспериментальных условий рентгеновской дифракции.

[49] Термин «по сути такой же» или «по сути показанный на фигуре XX» в отношении рентгенодифракционных пиков означает, что принимаются во внимание положения репрезентативных пиков и изменения интенсивности. Например, специалистам в данной области техники будет понятно, что положения пиков (2θ) могут характеризоваться некоторым отклонением, как правило, отклонением не более $0,1-0,2^{\circ}$, а причиной некоторого отклонения может быть также прибор, применяемый для измерения дифракции. Кроме того, специалистам в данной области техники будет понятно, что относительная интенсивность пика может варьировать из-за различий между приборами, степени кристалличности, приоритетной ориентации, подготовленных поверхностей образца и других факторов, известных специалистам в данной области техники, и их следует учитывать только как качественные показатели измерений.

Краткое описание графических материалов

[50] На фигуре 1 показана порошковая рентгеновская дифрактограмма кристаллической формы В.

[51] На фигуре 2 показана спектрограмма, полученная посредством дифференциальной сканирующей калориметрии кристаллической формы В.

- [52] На фигуре 3 показана термограмма, полученная посредством термогравиметрического анализа кристаллической формы В.
- [53] На фигуре 4 показан спектр ядерного магнитного резонанса кристаллической формы В.
- [54] На фигуре 5 показана дифрактограмма XRPD-испытания при переменной температуре кристаллической формы В.
- [55] На фигуре 6 показана порошковая рентгеновская дифрактограмма кристаллической формы С.
- [56] На фигуре 7 показана спектрограмма, полученная посредством дифференциальной сканирующей калориметрии кристаллической формы С.
- [57] На фигуре 8 показана термограмма, полученная посредством термогравиметрического анализа кристаллической формы С.
- [58] На фигуре 9 показана порошковая рентгеновская дифрактограмма кристаллической формы D.
- [59] На фигуре 10 показано изображение, полученное посредством микроскопии в поляризованном свете (PLM), кристаллической формы В.
- [60] На фигуре 11 показано изображение, полученное посредством микроскопии в поляризованном свете (PLM), кристаллической формы С.
- [61] На фигуре 12 показан график, полученный посредством DVS кристаллической формы В.
- [62] На фигуре 13 показан график, полученный посредством DVS кристаллической формы С.

Подробное описание вариантов осуществления

[63] Содержание настоящего изобретения подробно описано с помощью следующих примеров. Если в примерах не указаны особые условия, то в экспериментальном способе применяются обычные условия. Перечисленные примеры предназначены для того, чтобы лучше проиллюстрировать содержание настоящего изобретения, но не должны рассматриваться как ограничивающие содержание настоящего изобретения. В соответствии с вышеизложенным содержанием настоящего изобретения специалисты в данной области техники могут вносить несущественные модификации и поправки в варианты осуществления, которые также попадают в пределы объема защиты настоящего изобретения.

Таблица 1. Сравнительная таблица названий реагентов, применяемых в экспериментах, на китайском и английском языках

Английский язык	Китайский язык	Английский язык	Китайский язык
EtOH	乙醇 (этанол)	ACN	乙腈 (ацетонитрил)
IPAc	乙酸异丙酯 (изопропилацетат)	H ₂ O	水 (вода)

[64] Результаты измерений, осуществленных методом XRPD, анализировали с применением порошкового рентгеновского дифрактометра Panalytical EMPYREAN. Параметры сканирования показаны в таблице 2.

Таблица 2. Параметры испытания методом XRPD

Параметр	Прибор 1	Прибор 2	Прибор 3
Модель	Empyrean	X' Pert3	X' Pert3
Рентгеновские лучи	Cu, K α , K α 1 (Å): 1,540598, K α 2 (Å): 1,544426 Соотношение интенсивностей K α 2/K α 1: 0,50	Cu, K α , K α 1 (Å): 1,540598, K α 2 (Å): 1,544426 Соотношение интенсивностей K α 2/K α 1: 0,50	Cu, K α , K α 1 (Å): 1,540598, K α 2 (Å): 1,544426 Соотношение интенсивностей K α 2/K α 1: 0,50
Настройки рентгеновской трубки	45 кВ, 40 мА	45 кВ, 40 мА	45 кВ, 40 мА
Щель расходимости	1/8°	1/8°	1/8°
Режим сканирования	Непрерывное	Непрерывное	Непрерывное
Диапазон сканирования (° 2-тета)	3-40	3-40	3-40
Время сканирования на шаг (с)	17.8	46.7	46.7
Величина шага	0.0167	0.0263	0.0263

Параметр	Прибор 1	Прибор 2	Прибор 3
сканирования (° 2-тета)			
Время испытания	Приблизительно 5 мин 30 с	Приблизительно 5 мин	Приблизительно 5 мин

[65] Измерения методами TGA и DSC проводили на термогравиметрическом анализаторе TA Q5000/5500 и дифференциальном сканирующем калориметре TA 2500 соответственно, и параметры испытаний показаны в таблице 3.

Таблица 3. Параметры испытаний методами DSC и TGA

Параметр	TGA	DSC
Способ	Линейное повышение температуры	Линейное повышение температуры
Лоток для образцов	Алюминиевый лоток, открытый	Алюминиевый лоток, с крышкой/без крышки
Диапазон значений температуры	Комнатная температура - установленная конечная температура	25°C - установленная конечная температура
Скорость сканирования (°C/мин)	10	10
Защитный газ	Газообразный азот	Газообразный азот

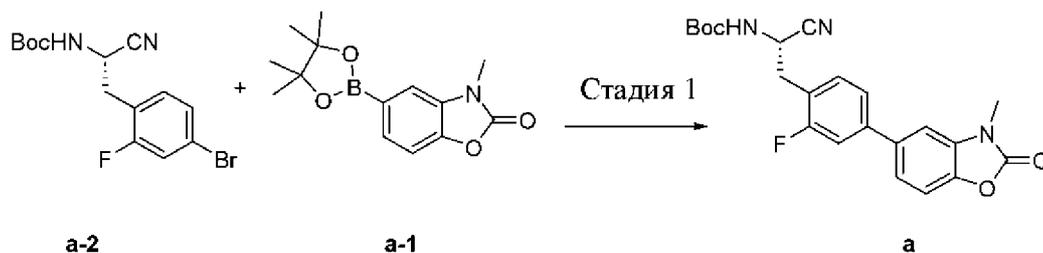
[66] Известные исходные материалы по настоящему изобретению могут быть синтезированы с помощью способов, известных из уровня техники, или в соответствии с ними или же могут быть приобретены у Titan Technology Co., Ltd., Energy Chemical Co., Ltd., Shanghai Demo Co., Ltd., Chengdu Kelong Chemical Co., Ltd., Accela ChemBio Co., Ltd., J&K Scientific Co., Ltd. и других компаний.

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

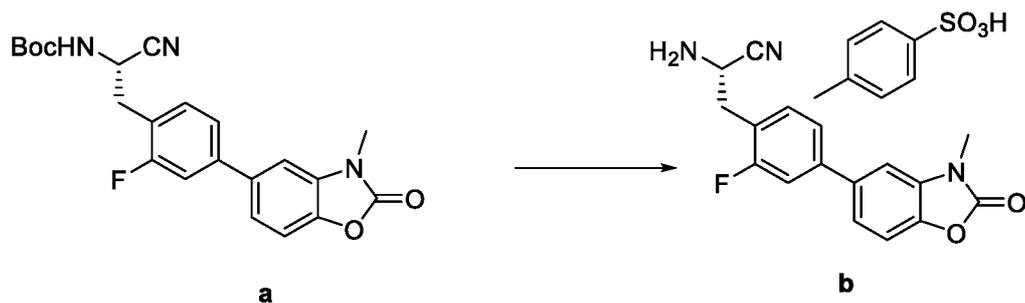
Пример 1. Получение соединения I

(S)-N-((S)-1-Циано-2-(2-фтор-4-(3-метил-2-оксо-2,3-дигидробензо[d]оксазол-5-ил)фенил)этил)-1,4-оксазепан-2-карбоксамид (соединение I)

Стадия 1.



- [68] Реакция: в реакционный котел на 50 л добавляли 1,4-диоксан (10,005 кг), соединение a-1 (1,600 кг, со ссылкой на способ из патента WO 2015110826A1) и соединение a-2 (2,000 кг, со ссылкой на способ из патента WO 2016139355A1) при перемешивании с последующим добавлением водного раствора карбоната калия (6,605 кг, который получали путем растворения карбоната калия (1,600 кг) в очищенной воде (5,005 кг)). После добавления смесь три раза подвергали замене атмосферы азотом. Добавляли комплекс дихлорида [1,1'-бис(дифенилфосфино)ферроцен]палладия и дихлорметана (100,0 г) и смесь однократно подвергали замене атмосферы азотом. В защитной атмосфере азота реакционную жидкость нагревали до $80^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ и обеспечивают прохождение реакции в течение приблизительно 2 часов. Затем отбирали образец и проводили его мониторинг с помощью HPLC, и когда целевое значение для внутрипроизводственного контроля, т. е. содержания соединения a-2, составляло $\leq 1,0\%$, реакцию прекращали.
- [69] Последующая обработка: к реакционной жидкости добавляли очищенную воду (5,000 кг) и смесь охлаждали до $10^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$. Добавляли очищенную воду (10,005 кг) и полученную смесь перемешивали, подвергали кристаллизации в течение приблизительно 1 часа при $10^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ и фильтровали. Осадок на фильтре дважды промывали очищенной водой (2,500 кг x 2) и собирали. Безводный этанол (12,605 кг) и осадок с фильтра добавляли в реакционный котел на 50 л, смесь перемешивали при $20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ в течение приблизительно 0,5 часа и фильтровали и осадок на фильтре дважды промывали безводным этанолом (1,000 кг x 2) и собирали.
- [70] Высушивание: осадок на фильтре высушивали при $55^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ в вакууме при давлении $\leq -0,07$ МПа в течение приблизительно 16 часов и собирали с получением соединения a (2,143 кг, молярный выход: 89,4%).
- [71] ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 7.90 (s, 1H), 7.72 – 7.30 (m, 6H), 4.72 (s, 1H), 3.41 (d, 3H), 3.09-3.21(m, 2H), 1.37 (s, 9H).
- [72] LCMS масса/заряд = 356,1 [M-56+H]⁺.
- Стадия 2.



[73] Реакция: в стеклянный реакционный котел на 50 л добавляли ацетонитрил (16,785 кг), соединение а (2,1381 кг) и моногидрат п-толуолсульфоновой кислоты (2,950 кг) при перемешивании. После добавления температуру контролировали на уровне $25^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ и обеспечивали протекание реакции в смеси в течение приблизительно 2 часов. Затем отбирали образец и проводили его мониторинг с помощью HPLC, и когда целевое значение для внутрипроизводственного контроля, т. е. содержания соединения а, составляло $\leq 1,0\%$, реакцию прекращали.

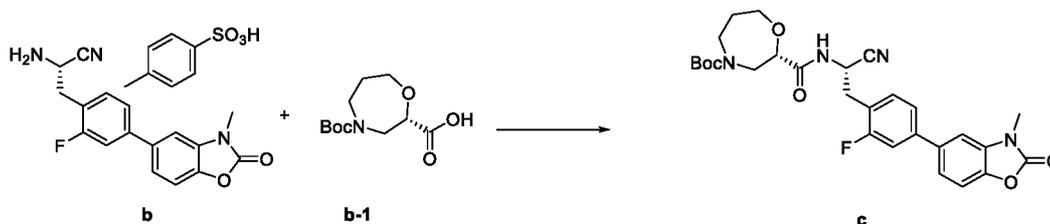
[74] Последующая обработка: реакционную смесь фильтровали и осадок на фильтре промывали ацетонитрилом (1,670 кг) и собирали. Ацетонитрил (2,1381 кг) и осадок с фильтра добавляли в реакционный котел и смесь нагревали до $80^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ и перемешивали в течение 3 часов. Полученную смесь охлаждали до $20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ и перемешивали в течение 1 часа. Реакционную смесь фильтровали и осадок на фильтре промывали ацетонитрилом (1,670 кг) и собирали.

[75] Высушивание: осадок на фильтре высушивали при $55^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ в вакууме при давлении $\leq -0,07$ МПа в течение приблизительно 16 часов и собирали с получением соединения b (2,141 кг, выход: 85,5%).

[76] ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.04 (s, 3H), 7.70 – 7.37 (m, 8H), 7.13 (d, 2H), 4.90 (dd, 1H), 3.41 (s, 3H), 3.29 (t, 2H), 2.29 (s, 3H).

[77] LCMS масса/заряд = 312,2 [M-172+H] $^+$.

Стадия 3.



[78] Реакция: в реакционный котел на 100 л добавляли этилацетат (19,060 кг), соединение b (2,1413 кг) и соединение b-1 (1,1300 кг, которое было приобретено у Pharmablock Sciences (Nanjing), Inc.) при перемешивании с последующим добавлением N,N-диизопропилэтиламина (1,725 кг). После добавления в защитной атмосфере азота

реакционную жидкость охлаждали до $5^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ и добавляли по каплям пропилфосфоновый ангидрид (4,240 кг), контролируя температуру на уровне $10^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$. После добавления температуру поддерживали на уровне $25^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ и обеспечивали протекание реакции в смеси в течение приблизительно 3-8 часов.

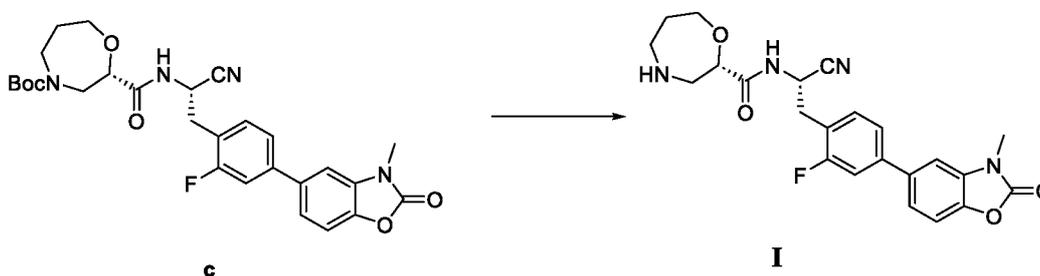
[79] Последующая обработка: реакционную жидкость последовательно промывали раствором бикарбоната натрия (который получали путем растворения 1,070 кг бикарбоната натрия в 20,350 кг воды), раствором лимонной кислоты (который получали путем растворения 2,150 кг моногидрата лимонной кислоты в 19,275 кг воды) и хлоридом натрия (который получали путем растворения 4,300 кг хлорида натрия в 17,135 кг воды). К органической фазе добавляли медицинский уголь (0,210 кг) и смесь перемешивали в течение приблизительно 0,5 часа. Полученную смесь фильтровали через слой целита (0,540 кг) и осадок на фильтре промывали этилацетатом (1,905 кг). Органическую фазу высушивали в течение приблизительно 0,5 часа путем добавления безводного сульфата натрия (1,070 кг). Смесь фильтровали, осадок на фильтре промывали этилацетатом (1,905 кг) и фильтраты объединяли.

[80] Концентрирование: полученный фильтрат концентрировали при пониженном давлении и при температуре $50^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ до явного прекращения выделения фракции с получением соединения с (2,385 кг, избыточный вес, и количество рассчитывали на основе выхода 100%). Соединение непосредственно применяли в следующей реакции.

[81] $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.54 – 7.01 (m, 7H), 5.18 (s, 1H), 4.25 – 3.94 (m, 3H), 3.54 (dd, 2H), 3.46 (s, 3H), 3.39 – 3.04 (m, 4H), 1.99 (d, 2H), 1.54 – 1.39 (m, 9H).

[82] LCMS масса/заряд = 483,2 [M-56+1]⁺.

Стадия 4.



[83] Реакция: в двухслойный стеклянный реакционный котел на 50 л, содержащий концентрат соединения с, добавляли ацетонитрил (9,305 кг) и моногидрат п-толуолсульфоновой кислоты (2,530 кг) при перемешивании. После добавления поддерживали температуру на уровне $25^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ и обеспечивали протекание реакции в смеси в течение приблизительно 2 часов. Затем отбирали образец и проводили его

мониторинг с помощью HPLC, и когда целевое значение для внутрипроизводственного контроля, т. е. содержания соединения с, составляло $\leq 1,0\%$, реакцию прекращали.

[84] Последующая обработка: реакционную жидкость охлаждали до $10^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ и по каплям добавляли разбавленный водный раствор аммиака (смесь из 1,075 кг водного раствора аммиака и 36,000 кг очищенной воды), контролируя температуру материала на уровне ниже 25°C . После добавления смесь охлаждали до $10^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ для обеспечения кристаллизации в течение 2 часов. Полученную смесь фильтровали и осадок на фильтре промывали очищенной водой (11,930 кг). Осадок с фильтра и этанол (14,890 кг) добавляли в двухслойный стеклянный реакционный котел на 50 л и смесь перемешивали при $20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ в течение 0,5 часа и фильтровали. Осадок на фильтре промывали этанолом (1,860 кг) и собирали. Осадок на фильтре высушивали при $55^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ в вакууме (степень вакуумирования составляет $\leq -0,07$ МПа) в течение приблизительно 13 часов и собирали с получением неочищенного соединения I (1,6627 кг, молярный выход: 85,6%).

[85] Очистка: в реакционный котел на 100 л добавляли ацетонитрил (9,100 кг), безводный этанол (9,220 кг) и неочищенное соединение I (1,6627 кг) при перемешивании и смесь нагревали до внутренней температуры $75^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$, перемешивали до получения прозрачного раствора и фильтровали, пока он был горячим. Фильтрат переносили в реакционный котел на 100 л (если из фильтрата выпадал осадок продукт, фильтрат нагревали, пока раствор не становился прозрачным) и охлаждали до $35^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ при перемешивании. Температуру поддерживали постоянной, пока твердое вещество не выпадало в осадок, и затем смесь перемешивали в течение приблизительно 0,5 часа при поддержании постоянной температуры. Затем полученную смесь охлаждали до $5^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ и температуру поддерживали постоянной для обеспечения кристаллизации в течение 2 часов. Смесь фильтровали и осадок на фильтре промывали этанолом (1,300 кг) и собирали.

[86] Высушивание: осадок на фильтре высушивали при $55^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ в вакууме (степень вакуумирования $\leq -0,07$ МПа) в течение приблизительно 25 часов с получением свободного основания соединения, представленного формулой I (1,4060 кг, молярный выход: 84,6%).

[87] ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.69 (d, 1H), 7.64 (d, 1H), 7.61 – 7.51 (m, 2H), 7.46 (t, 2H), 7.39 (d, 1H), 5.06 (q, 1H), 4.01 (dd, 1H), 3.87 (ddd, 1H), 3.73 (ddd, 1H), 3.40 (s, 3H), 3.34 – 3.28 (m, 1H), 3.20 (dd, 1H), 3.06 (dd, 1H), 2.78 (ddd, 1H), 2.69 – 2.54 (m, 2H), 2.21 (s, 1H), 1.84 – 1.63 (m, 2H).

[88] LCMS масса/заряд = 439,2 [M+1]⁺.

Пример 2. Получение кристаллической формы В соединения I

[89] Соединение (200 мг), полученное в примере 1, взвешивали, суспендировали в растворителе IPAc при комнатной температуре и перемешивали в течение 3 дней и смесь фильтровали и высушивали. Образец подвергали испытанию методом XRPD, и кристаллическая форма свободного основания была описана как кристаллическая форма В.

[90] Его дифрактограмма XRPD показана на фигуре 1, и дифракционные пики XRPD перечислены в таблице 4.

Таблица 4

Полож. [°2θ]	Высота [имп.]	ПШПВ слева [°2θ]	Межплоскостное расстояние d [Å]	Отн. инт. [%]
4.68	33.71	0.3070	18.99	4.87
8.97	60.17	0.3070	9.88	8.69
12.32	427.57	0.1023	7.20	61.76
14.30	591.05	0.1023	6.21	85.38
15.43	692.25	0.1023	5.75	100.00
16.38	393.10	0.1023	5.42	56.79
17.06	193.58	0.1023	5.21	27.96
18.21	196.03	0.0768	4.88	28.32
18.56	328.17	0.1279	4.79	47.41
18.94	127.20	0.1535	4.69	18.37
19.59	174.31	0.1279	4.54	25.18
20.79	106.65	0.2047	4.28	15.41
21.19	95.77	0.1535	4.20	13.84
22.55	72.39	0.1535	3.95	10.46
22.97	75.26	0.1535	3.88	10.87
23.37	88.23	0.1535	3.81	12.75
24.25	253.56	0.1279	3.67	36.63
25.46	97.34	0.1535	3.50	14.06
31.03	49.81	0.3070	2.88	7.20

[91] Результаты DSC/TGA представлены на фигурах 2 и 3, и они показали, что потеря веса образца составляла 2,3% при нагревании до 150°C, и он характеризовался наличием одного эндотермического пика при 181,9°C (исходная температура). Результаты ядерного

магнитного резонанса (фигура 4) показали, что молярное отношение остаточного растворителя IPAc к API в образце составляло 0,01 (что соответствует потере веса, составляющей 0,1 вес. %). Для изучения потери веса кристаллической формы В методом TGA, проводили XRPD-испытание при переменной температуре. Результаты (фигура 5) показали, что кристаллическая форма В свободного основания не изменяется, если кристаллическую форму продувать азотом в течение 20 минут, нагреть до 120°C или охладить до 30°C (некоторые дифракционные пики сдвигались при 120°C, и выстроено предположение, что сдвиг может быть обусловлен расширением решетки при высокой температуре). Следовательно, выстроено предположение, что кристаллическая форма В свободного основания представляет собой безводную кристаллическую форму.

Пример 3. Получение кристаллической формы В соединения I

[92] Отвешивали соединение (1,0 г), полученное в примере 1, и добавляли ацетонитрил (5 мл) и этанол (5 мл). Смесь нагревали до получения прозрачного раствора и затем медленно охлаждали до 50°C - 60°C, добавляли затравочный кристалл (пример 2) и полученную смесь охлаждали до комнатной температуры, фильтровали и высушивали. Определяли характеристики образца посредством XRPD, DSC и TGA; и он представлял собой кристаллическую форму В.

Пример 4. Получение кристаллической формы В соединения I

[93] Отвешивали соединение (4,0 г), полученное в примере 1, и добавляли диметилсульфоксид (15 мл). Смесь нагревали до 75°C до получения прозрачного раствора. После получения прозрачного раствора добавляли этанол (70 мл) и полученную смесь перемешивали в течение 30 мин при поддержании постоянной температуры. Добавляли затравочный кристалл, полученный в примере 3, и смесь охлаждали до комнатной температуры, фильтровали и высушивали с получением кристаллической формы В (3,36 г, выход: 84,0%).

Пример 5. Получение моногидратной кристаллической формы С соединения I

[94] Отвешивали соединение (200 мг), полученное в примере 1, суспендировали в H₂O при комнатной температуре и перемешивали в течение 3 дней и смесь фильтровали и высушивали. Образец подвергали испытанию методом XRPD, и кристаллическая форма была описана как кристаллическая форма С.

[95] Его дифрактограмма XRPD показана на фигуре 6, и дифракционные пики XRPD перечислены в таблице 5.

Полож. [°2θ]	Высота [имп.]	ПШПВ слева [°2θ]	Межплоскостное расстояние d [Å]	Отн. инт. [%]
4.68	219.33	0.1023	18.73	9.63
8.93	1290.12	0.1279	9.91	56.63
12.10	2277.96	0.1279	7.32	100.00
14.14	736.84	0.1023	6.26	32.35
15.19	380.97	0.1023	5.83	16.72
15.92	611.99	0.0768	5.57	26.87
16.06	571.05	0.0768	5.52	25.07
17.55	400.98	0.1279	5.06	17.60
17.90	269.48	0.1023	4.96	11.83
18.90	418.70	0.1023	4.70	18.38
19.10	517.76	0.1279	4.65	22.73
20.38	1834.01	0.1535	4.36	80.51
20.81	296.51	0.0768	4.27	13.02
23.32	159.67	0.1535	3.81	7.01
23.86	882.25	0.1023	3.73	38.73
24.33	262.17	0.1023	3.66	11.51
25.07	1679.46	0.1279	3.55	73.73
25.91	202.59	0.1023	3.44	8.89
26.99	160.46	0.1279	3.31	7.04
28.45	199.66	0.1535	3.14	8.76
29.67	46.66	0.5117	3.01	2.05
31.41	105.45	0.1535	2.85	4.63
36.26	124.59	0.1791	2.48	5.47

[96] Результаты DSC/TGA представлены на фигурах 7 и 8, и результаты показали, что потеря веса образца составляла 4,5% при нагревании до 150°C, и он характеризовался наличием трех эндотермических пиков при 103,5°C, 113,4°C и 183,0°C (пиковые значения температуры). Образец нагревали до 120°C и охлаждали до комнатной температуры, а затем проводили XRPD-испытание. Результаты показали, что кристаллическая форма С превращалась в кристаллическую форму В при нагревании. На основании факта преобразования кристаллов образца при нагревании в сочетании с поэтапной потерей веса

согласно TGA выдвинуто предположение, что кристаллическая форма С является моногидратной.

Пример 6. Получение кристаллической формы D соединения I

[97] Отвешивали соединение (200 мг), полученное в примере 1, и добавляли к метанолу (20 мг). Смесь нагревали с обратным холодильником и фильтровали, пока она была горячей. Полученную смесь медленно охлаждали до комнатной температуры для обеспечения кристаллизации, фильтровали и высушивали. Определяли характеристики образца методом XRPD, и кристаллическая форма была описана как кристаллическая форма D.

[98] Его дифрактограмма XRPD показана на фигуре 9, и дифракционные пики XRPD перечислены в таблице 6.

Таблица 6

Полож. [°2θ]	Высота [имп.]	ПШПВ слева [°2θ]	Межплоскостное расстояние d [Å]	Отн. инт. [%]
4.49	144.92	0.0502	19.66	8.96
8.68	1524.04	0.0502	10.19	94.18
8.99	238.85	0.0502	9.84	14.76
11.74	480.36	0.0502	7.54	29.69
13.51	250.83	0.0502	6.56	15.50
13.64	1618.17	0.0502	6.49	100.00
14.80	54.46	0.1004	5.99	3.37
15.59	91.61	0.0669	5.68	5.66
17.40	729.45	0.0836	5.10	45.08
18.23	392.36	0.0669	4.87	24.25
20.12	408.80	0.0669	4.41	25.26
22.82	54.82	0.1004	3.90	3.39
23.60	102.97	0.0836	3.77	6.36
24.08	100.02	0.1338	3.70	6.18
26.21	397.75	0.0502	3.40	24.58
27.49	221.83	0.0502	3.24	13.71
28.57	45.61	0.1004	3.12	2.82
32.19	335.63	0.0502	2.78	20.74
32.97	275.04	0.0502	2.72	17.00

Полож. [°2θ]	Высота [имп.]	ПШПВ слева [°2θ]	Межплоскостное расстояние d [Å]	Отн. инт. [%]
36.98	28.34	0.1673	2.43	1.75

Эксперименты по оценке кристаллической формы

1. Преобразование кристаллической формы

[99] Чтобы изучить взаимосвязь преобразования между гидратированной кристаллической формой С и безводной кристаллической формой В, проводили эксперимент с конкуренцией суспензий. Отвешивали некоторое количество свободного основания, добавляли соответствующий растворитель и смесь суспендировали и перемешивали при комнатной температуре в течение приблизительно 2 часов. Затем полученную смесь фильтровали через фильтровальную мембрану из PTFE с размером пор 0,45 мкм с получением насыщенного раствора. Отвешивали образец кристаллической формы В и кристаллической формы С свободного основания (5-7 мг) и добавляли во флакон для HPLC, добавляли насыщенный раствор (1,0 мл) и смесь суспендировали и перемешивали при комнатной температуре. Затем проводили испытание твердого вещества методом XRPD. Результаты сведены в таблице 7 и показывают, что кристаллическую форму В свободного основания получали в системе с активностью воды 0-0,2, а кристаллическую форму С получали в системе с активностью воды (а. в.) 0,4-1.

Таблица 7

Исходная кристаллическая форма	Растворитель (об./об.)	Растворитель (об./об.)	Температура	Время	Результаты
Кристаллические формы В+С	EtOH	EtOH (а. в. приблизительно 0)	Комнатная температура	2 дня	Кристаллическая форма В
	EtOH/H ₂ O	EtOH/H ₂ O (97:3, а. в. приблизительно 0,2)	Комнатная температура	2 дня	Кристаллическая форма В
	EtOH/H ₂ O	EtOH/H ₂ O (93:7, а. в. приблизительно 0,4)	Комнатная температура	2 дня	Кристаллическая форма С

	EtOH/H ₂ O	EtOH/H ₂ O (86:14, а. в. приблизительно 0,6)	Комнатная температура	2 дня	Кристаллическая форма С
	EtOH/H ₂ O	EtOH/H ₂ O (70:30, а. в. приблизительно 0,8)	Комнатная температура	2 дня	Кристаллическая форма С
	H ₂ O	H ₂ O (а. в. приблизительно 1,0)	Комнатная температура	2 дня	Кристаллическая форма С

2. PLM

[100] Определение характеристик посредством PLM проводили на кристаллической форме В и кристаллической форме С, и результаты (фигуры 10 и 11) показали, что размер частиц каждого образца составлял менее 20 мкм.

3. Гигроскопичность

[101] Гигроскопичность кристаллических форм В и С оценивали посредством прибора для анализа методом динамической сорбции паров (DVS). В ходе испытания собирали данные о процентной доле изменения массы образцов при изменении влажности (60%RH-95%RH-0%RH-95%RH или 0%RH-95%RH-0%RH) при постоянной температуре 25°C, где для кристаллической формы С испытание начинали при влажности окружающей среды (приблизительно 60%RH), а для кристаллической формы В испытание начинали при относительной влажности 0% (0%RH). Результаты испытаний показаны на фигурах 12 и 13 соответственно. Результаты показали, что поглощение влаги кристаллической формой В и кристаллической формой С при 25°C/80%RH составляло 0,19% и 0,97% соответственно. Кристаллическая форма всех образцов не изменялась после DVS-испытания. Это указывает на то, что кристаллическая форма по настоящему изобретению характеризуется низкой гигроскопичностью и низкими требованиями в отношении упаковки лекарственного средства и условий хранения.

4. Стабильность твердого вещества

Для соединений, применяемых в данном эксперименте, кристаллическую форму В получали в результате примера 3, а кристаллическую форму С получали в результате примера 5.

[102] Кристаллические формы В и С помещали в условия 25°C/60%RH и 40°C/75%RH без какой-либо защиты, а затем проводили испытания на их физическую и химическую стабильность посредством методов XRPD и UPLC соответственно. Результаты сведены в таблице 8. Результаты показали, что после того, как образцы были помещены в условия 25°C/60%RH и 40°C/75%RH на срок от 1 недели до 1 месяца, кристаллическая форма каждого образца не изменилась, и их чистота не снизилась в значительной степени, что указывает на хорошую стабильность.

Таблица 8

Исходный образец	Условие	Момент времени	Чистота	Изменение кристаллической формы	
Кристаллическая форма В	Исходное значение	-	99.86	-	
	25°C/60%RH	1 неделя	99.74	Нет	
		3 недели	99.74	Нет данных	
		1 месяц	99.76	Нет	
	40°C/75%RH	1 неделя	99.65	Нет	
		3 недели	99.57	Нет данных	
		1 месяц	99.63	Нет	
	Кристаллическая форма С	Исходное значение	-	99.87	-
		25°C/60%RH	1 неделя	99.70	Нет
40°C/75%RH		1 неделя	99.71	Нет	

5. Данные по стабильности

[103] Соединения, применяемые в данном эксперименте, получали в результате примера 4.

5.1. Исследование стабильности методом «ускоренного старения»

[104] Условия исследования: 40°C ± 2°C, 75%RH ± 5% RH.

[105] Упаковка: внутренний материал упаковки представляет собой двухслойный медицинский пакет из полиэтилена низкой плотности, наружный материал упаковки представляет собой медицинский составной пакет из сложного полиэфира/алюминия/полиэтилена.

Таблица 9. Результаты исследования стабильности методом «ускоренного старения»

Объект исследования	Момент времени (месяц)				
	0	1	2	3	6
Кристаллическая форма	Кристаллическая форма В				
Влажность	0.2%	0.3%	0.2%	0.2%	0.2%
Чистота	99.93%	99.87%	99.88%	99.87%	99.88 %
Содержание	100.5%	100.4%	101.1%	100.1%	101.3%

5.2. Долгосрочное исследование стабильности 1

[106] Условия исследования: 25°C ± 2°C, 60%RH ± 5%RH.

[107] Упаковка: внутренний материал упаковки представляет собой двухслойный медицинский пакет из полиэтилена низкой плотности, наружный материал упаковки представляет собой медицинский составной пакет из сложного полиэфира/алюминия/полиэтилена.

Таблица 10. Результаты долгосрочного исследования стабильности 1

Объект исследования	Момент времени (месяц)				
	0	3	6	9	12
Кристаллическая форма	Кристаллическая форма В				
Влажность	0.2%	0.3%	0.2%	0.1%	0.2%
Чистота	99.93%	99.87%	99.90%	99.89%	99.88%
Содержание	100.5%	100.6%	100.7%	101.6%	99.5%

5.3. Долгосрочное исследование стабильности 2

[108] Условия исследования: 30°C ± 2°C, 65%RH ± 5%RH.

[109] Упаковка: внутренний материал упаковки представляет собой двухслойный медицинский пакет из полиэтилена низкой плотности, наружный материал упаковки представляет собой медицинский составной пакет из сложного полиэфира/алюминия/полиэтилена.

Таблица 11. Результаты долгосрочного исследования стабильности 2

Объект исследования	Момент времени (месяц)				
	0	3	6	9	12
Кристаллическая форма	Кристаллическая форма В				
Влажность	0.2%	0.3%	0.2%	0.1%	0.2%
Чистота	99.93%	99.87%	99.90%	99.90%	99.89%
Содержание	100.5%	100.6%	101.6%	100.7%	99.2%

5.4. Долгосрочное исследование стабильности 3

[110] Условия исследования: 2°C-8°C.

[111] Упаковка: внутренний материал упаковки представляет собой двухслойный медицинский пакет из полиэтилена низкой плотности, наружный материал упаковки представляет собой медицинский составной пакет из сложного полиэфира/алюминия/полиэтилена.

Таблица 12. Результаты долгосрочного исследования стабильности 3

Объект исследования	Момент времени (месяц)				
	0	3	6	9	12
Кристаллическая форма	Кристаллическая форма В				
Влажность	0.2%	0.3%	0.3%	0.2%	0.2%
Чистота	99.93%	99.87%	99.89%	99.89%	99.89%
Содержание	100.5%	100.5 %	100.0%	101.6%	101.0%

[112] В частности, способ анализа чистоты имеет следующий вид.

Высокоэффективный жидкостной хроматограф (HPLC)		
Прибор	Модель	HPLC 1260infinity
Параметр и способ	Хроматографическая колонка	Hypersil GOLD™ C18, 4,6 мм × 250 мм, 5 мкм
	Предколонка	Колонка Ghost-Sniper 4,6 мм × 50 мм
	Температура колонки	30°C
	Расход	1,0 мл/мин
	Длина волны детектора	226 нм

	Вводимый объем	10 мкл		
	Время анализа	31 мин		
	Подвижная фаза	Подвижная фаза А: 0,02 моль/л раствор дигидрофосфата аммония (отрегулированный до рН 4,0 с помощью фосфорной кислоты); подвижная фаза В: метанол:ацетонитрил (50: 50).		
	Градиент в ходе анализа	Время (мин)	А (%)	В (%)
		0	60	40
		5	60	40
		10	40	60
		20	20	80
25		20	80	
26		60	40	
31	60	40		

Биоэксперименты

1. Анализ активности фермента DPP1 *in vitro*

[113] Рекombинантный фермент DPP1 человека (R&D Systems, № по кат. 1071-CY) в конечной концентрации 100 мкг/мл смешивали с рекombинантным катепсином L человека (R&D Systems, № по кат. 952-CY) в конечной концентрации 20 мкг/мл, смешивали и инкубировали при комнатной температуре в течение 1 часа для активации фермента DPP1. Активированный фермент DPP1 разбавляли в 100 раз и добавляли 5 мкл соединений при разных значениях концентрации и 5 мкл разбавленного фермента DPP1 в 384-луночный планшет и инкубировали при комнатной температуре в течение 30 минут. Затем добавляли 10 мкл субстрата Gly-Arg-AMC (Bachem, № по кат. I-1215) в концентрации 20 мкМ, инкубирование продолжали при комнатной температуре в течение 60 минут и интенсивность флуоресценции определяли с помощью микропланшет-ридера (длина волны света возбуждения = 380 нм, и длина волны света излучения = 460 нм). Значения IC₅₀ рассчитывали с применением функции DosResp программного обеспечения Origin2019.

Таблица 13. Ингибирующая активность DPP1

Номер соединения	IC ₅₀ /нМ
Соединение I	1.6

[114] Вывод: соединение I продемонстрировало относительно высокую ингибирующую активность в отношении рецептора DPP1.

2. Фармакокинетическое испытание на крысах

[115] 1.1. Подопытные животные: самцы крыс SD, приблизительно 220 г, в возрасте 6-8 недель, 6 крыс/соединение. Приобретены у Chengdu Ddossy Experimental Animals Co., Ltd.

[116] 1.2. Дизайн эксперимента: в день эксперимента 6 крыс SD распределяли по группам произвольным образом в зависимости от их массы тела. Животных лишали пищи при сохранении доступа к воде на 12-14 ч за один день до введения и кормили через 4 ч после введения.

Таблица 14. Информация о введении

Группа	Количество	Информация о введении					
		Испытуемое соединение	Дозировка вводимого соединения (мг/кг)	Концентрация вводимого соединения (мг/мл)	Объем вводимого соединения (мл/кг)	Собраные образцы	Режим введения
G1	3	INS1007	1	0.2	5	Плазма крови	Внутривенное введение
G2	3	Соединение I	1	0.2	5	Плазма крови	
G3	3	INS1007	3	0.3	10	Плазма крови	Внутрижелудочное введение
G4	3	Соединение I	3	0.3	10	Плазма крови	

[117] Среды-носители для внутривенного введения: 5% DMA + 5% солүтола + 90% солевого раствора; среда-носитель для внутрижелудочного введения: 0,5% MC; контрольное соединение INS1007, а именно соединение 2 согласно патенту WO 2015110826A1 получали со ссылкой на способ из патента.

[118] До и после введения из области глазниц у животных под анестезией изофлураном отбирали 0,1 мл крови и помещали ее в центрифужную пробирку с EDTAK2. Кровь центрифугировали при 5000 об/мин и 4°C в течение 10 мин для сбора плазмы крови. Моменты времени забора образцов крови для группы внутривенного введения: 0, 5 мин, 15 мин, 30 мин, 1 ч, 2 ч, 4 ч, 6 ч, 8 ч и 24 ч; и моменты времени забора образцов крови для

группы внутривенного введения: 0, 5 мин, 15 мин, 30 мин, 1 ч, 2 ч, 4 ч, 6 ч, 8 ч и 24 ч. Перед проведением анализа и обнаружения все образцы хранили при -80°C.

Таблица 15. Фармакокинетические параметры испытуемых соединений в плазме крови крыс

Испытуемые соединения	Режим введения	CL (мл/мин/кг)	Vd _{ss} (л/кг)	AUC _{0-t} (ч*нг/мл)	F (%)
INS1007	Внутривенное введение (1 мг/кг)	2.08	0.738	8396	-
Соединение I		1.66	0.753	9503	-
INS1007	Внутрижелудочное введение (3 мг/кг)	-	-	22201	88.1
Соединение I		-	-	31159	>100

[119] Вывод: соединение по настоящему изобретению характеризуется относительно хорошей биодоступностью и фармакокинетическими характеристиками.

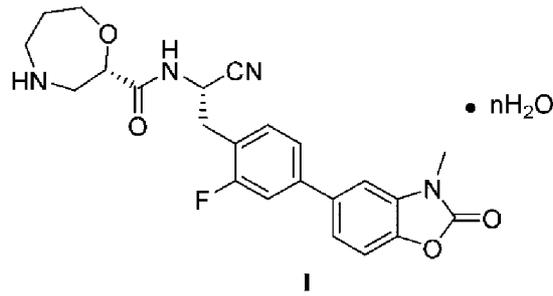
3. Эксперимент для определения токсичности у крыс после 14-дневного повторяющегося перорального введения

[120] Исходя из их веса тела, крыс SD произвольным образом разделяли на следующие группы: контрольная группа со средой-носителем (0,5% МС), группы с INS1007 (30, 100 и 300 мг/кг) и группы с соединением I (30, 100 и 300 мг/кг). В случае групп введения в каждую группу включали по 16 крыс, а в контрольную группу со средой-носителем включали 10 крыс, при этом в каждой из групп было равное количество самцов и самок крыс. Крысам перорально вводили через зонд лекарственное средство или среду-носитель в соответствующих концентрациях каждый день в течение 14 дней подряд с периодом восстановления 7 дней. В течение периода введения наблюдали общие симптомы и измеряли вес тела и потребление пищи в каждой группе. В конце периода введения и в конце периода восстановления проводили гематологические тесты, биохимический тест сыворотки крови и исследование макроскопической анатомии у крыс в каждой группе отдельно.

[121] Вывод: соединение по настоящему изобретению является менее токсичным, чем INS1007, и, таким образом, является более безопасным при такой же дозировке.

Формула изобретения

1. Полиморф соединения, представленного формулой I,



где n равняется 0 или 1.

2. Полиморф по п. 1, где n равняется 0, и полиморф представляет собой кристаллическую форму В, который характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, содержащей характеристические дифракционные пики при значениях 2θ , составляющих $12,32 \pm 0,2^\circ$, $14,30 \pm 0,2^\circ$, $15,43 \pm 0,2^\circ$, $16,38 \pm 0,2^\circ$ и $18,56 \pm 0,2^\circ$, как установлено с использованием Си-К α -излучения.

3. Полиморф по п. 2, где полиморф характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, дополнительно содержащей характеристические дифракционные пики при значениях 2θ , составляющих $17,06 \pm 0,2^\circ$, $18,21 \pm 0,2^\circ$, $18,94 \pm 0,2^\circ$, $19,59 \pm 0,2^\circ$, $20,79 \pm 0,2^\circ$, $21,19 \pm 0,2^\circ$, $22,55 \pm 0,2^\circ$, $22,97 \pm 0,2^\circ$, $23,37 \pm 0,2^\circ$, $24,25 \pm 0,2^\circ$ и $25,46 \pm 0,2^\circ$.

4. Полиморф по п. 2 или п. 3, где полиморф характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, по сути показанной на фигуре 1.

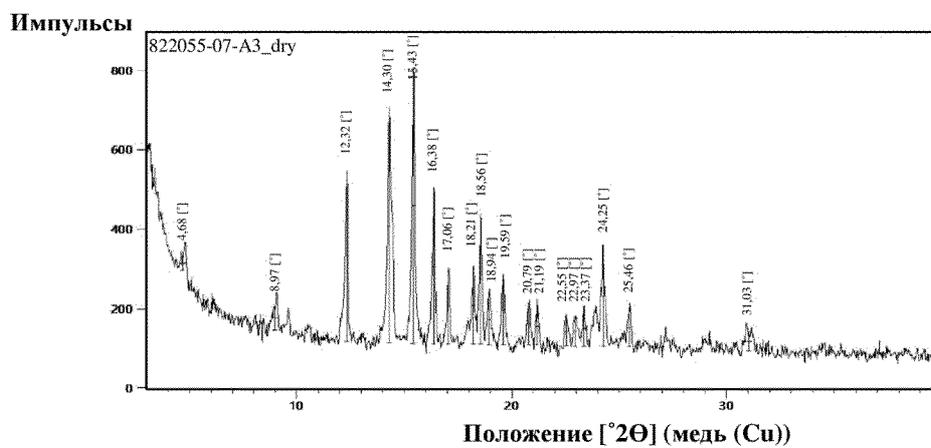
5. Полиморф по п. 2 или п. 3, где кристаллическая форма В характеризуется термограммой DSC, показанной на фигуре 2, и/или термограммой TGA, показанной на фигуре 3.

6. Полиморф по п. 1, где n равняется 1, и полиморф представляет собой кристаллическую форму С, который характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, содержащей характеристические дифракционные пики при значениях 2θ , составляющих $8,93 \pm 0,2^\circ$, $12,10 \pm 0,2^\circ$, $14,14 \pm 0,2^\circ$, $20,38 \pm 0,2^\circ$, $23,86 \pm 0,2^\circ$ и $25,07 \pm 0,2^\circ$, как установлено с использованием Си-К α -излучения.

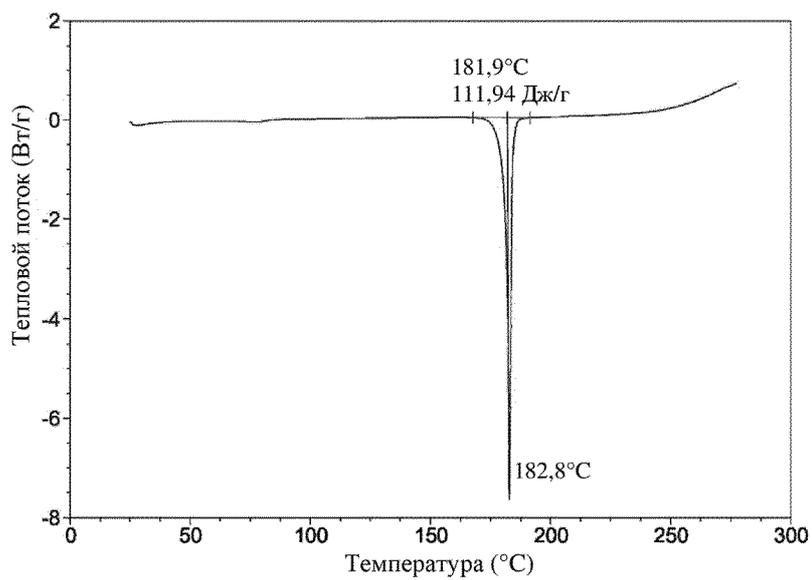
7. Полиморф по п. 6, где полиморф характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, дополнительно содержащей характеристические дифракционные пики при значениях 2θ , составляющих $15,19 \pm 0,2^\circ$, $15,92 \pm 0,2^\circ$, $16,06 \pm 0,2^\circ$, $17,55 \pm 0,2^\circ$, $17,90 \pm 0,2^\circ$, $18,90 \pm 0,2^\circ$, $19,10 \pm 0,2^\circ$, $20,81 \pm 0,2^\circ$ и $24,33 \pm 0,2^\circ$.

8. Полиморф по п. 6 или п. 7, где полиморф характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, по сути показанной на фигуре 6.

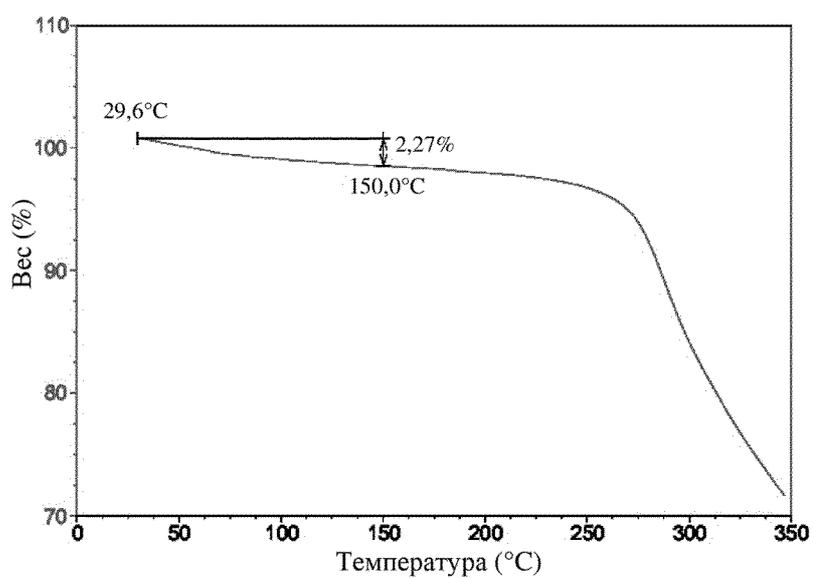
9. Полиморф по п. 6 или п. 7, где кристаллическая форма С характеризуется термограммой DSC, показанной на фигуре 7, и/или термограммой TGA, показанной на фигуре 8.
10. Полиморф по п. 1, где n равняется 0, и полиморф представляет собой кристаллическую форму D, который характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, содержащей характеристические дифракционные пики при значениях 2θ , составляющих $8,68 \pm 0,2^\circ$, $11,74 \pm 0,2^\circ$, $13,64 \pm 0,2^\circ$, $17,40 \pm 0,2^\circ$, $18,23 \pm 0,2^\circ$, $20,12 \pm 0,2^\circ$ и $26,21 \pm 0,2^\circ$, как установлено с использованием Cu-K α -излучения.
11. Полиморф по п. 10, где полиморф характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, дополнительно содержащей характеристические дифракционные пики при значениях 2θ , составляющих $8,99 \pm 0,2^\circ$, $13,51 \pm 0,2^\circ$, $27,49 \pm 0,2^\circ$, $32,19 \pm 0,2^\circ$ и $32,97 \pm 0,2^\circ$.
12. Полиморф по п. 10 или п. 11, где полиморф характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, по сути показанной на фигуре 9.
13. Фармацевтическая композиция, содержащая терапевтически эффективное количество полиморфа по любому из пп. 1-12 и фармацевтически приемлемый носитель и/или вспомогательное вещество.
14. Применение полиморфа по любому из пп. 1-12 или фармацевтической композиции по п. 13 в получении лекарственного препарата для лечения DPP1-опосредованного заболевания.
15. Применение по п. 14, где DPP1-опосредованное заболевание выбрано из не связанного с муковисцидозом бронхоэктаза, связанного с муковисцидозом бронхоэктаза, острого повреждения легких, обструктивного заболевания дыхательных путей, бронхоэктаза, муковисцидоза, астмы, эмфиземы и хронического обструктивного заболевания легких.



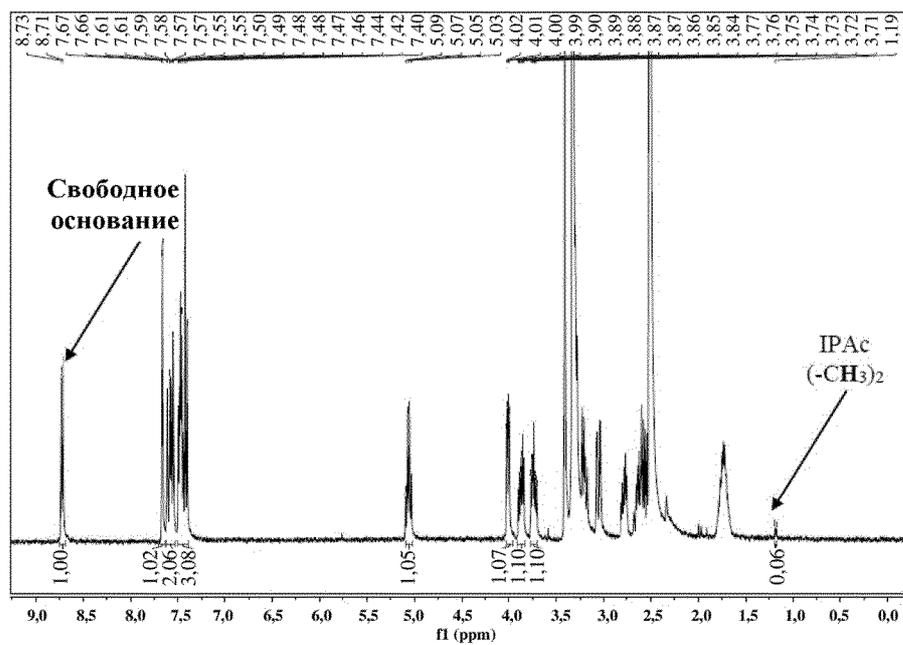
ФИГ. 1



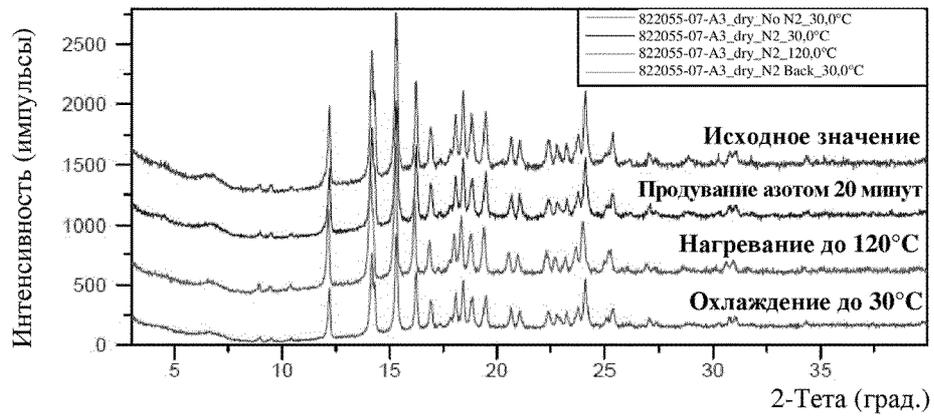
ФИГ. 2



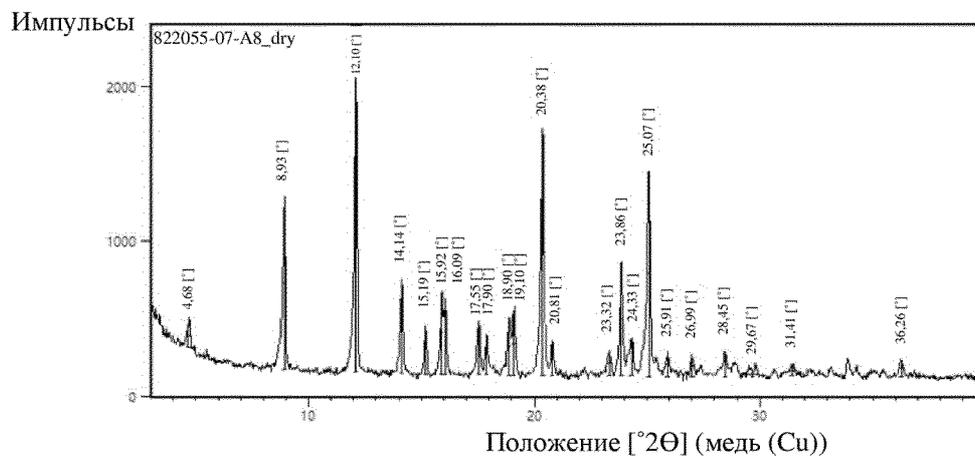
ФИГ. 3



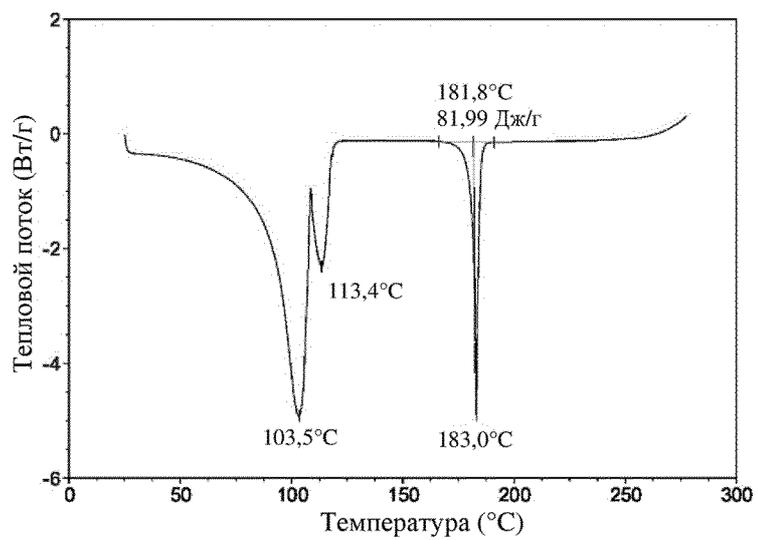
ФИГ. 4



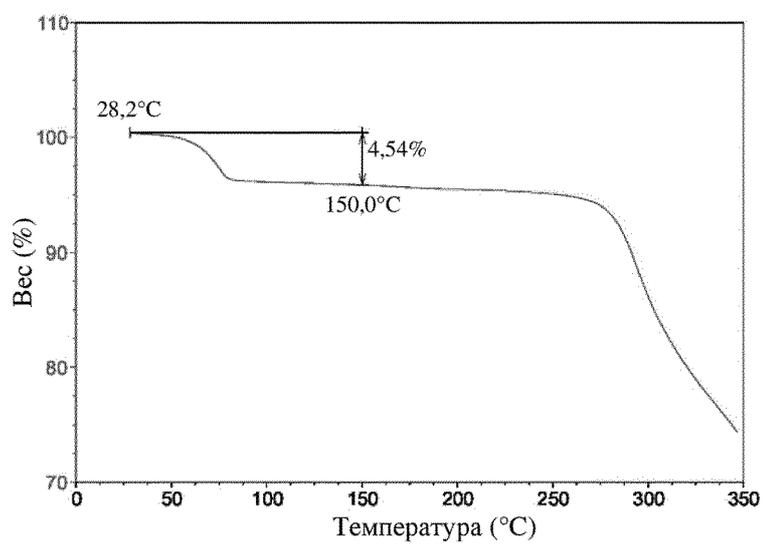
ФИГ. 5



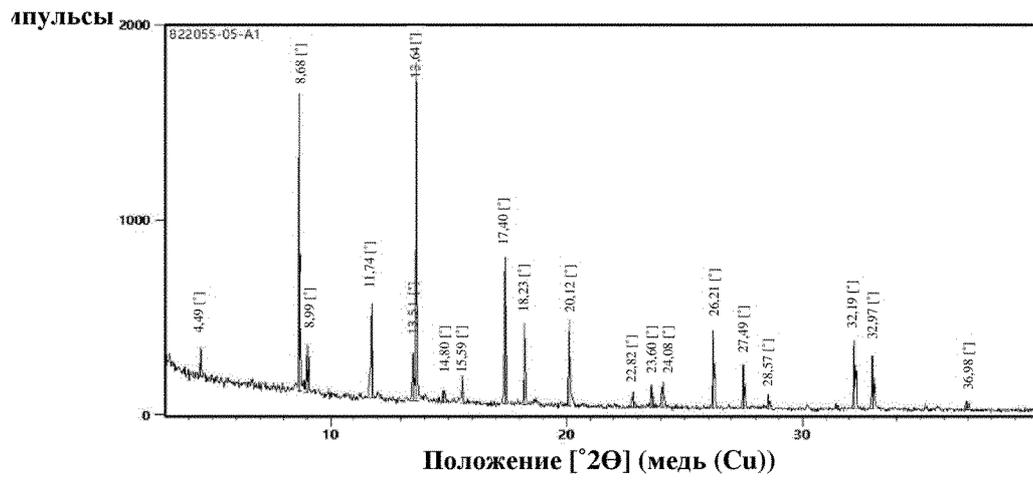
ФИГ. 6



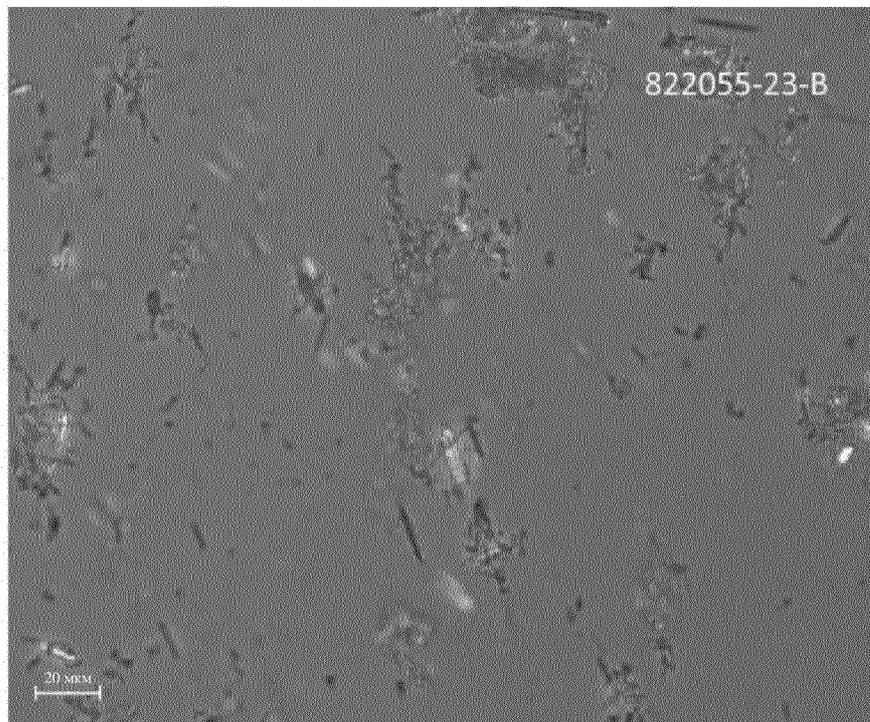
ФИГ. 7



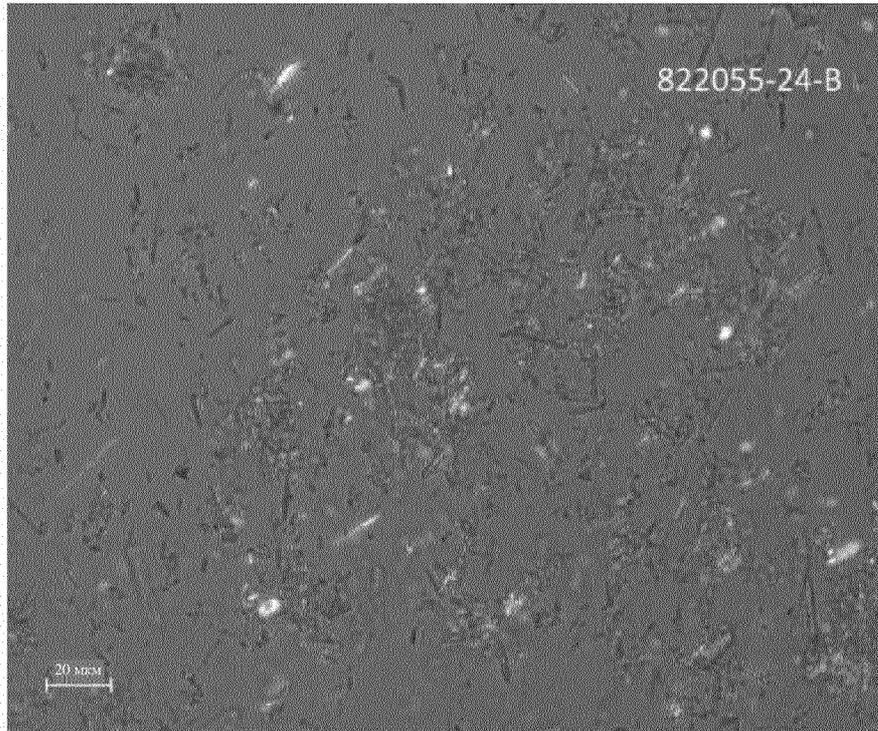
ФИГ. 8



ФИГ. 9



ФИГ. 10



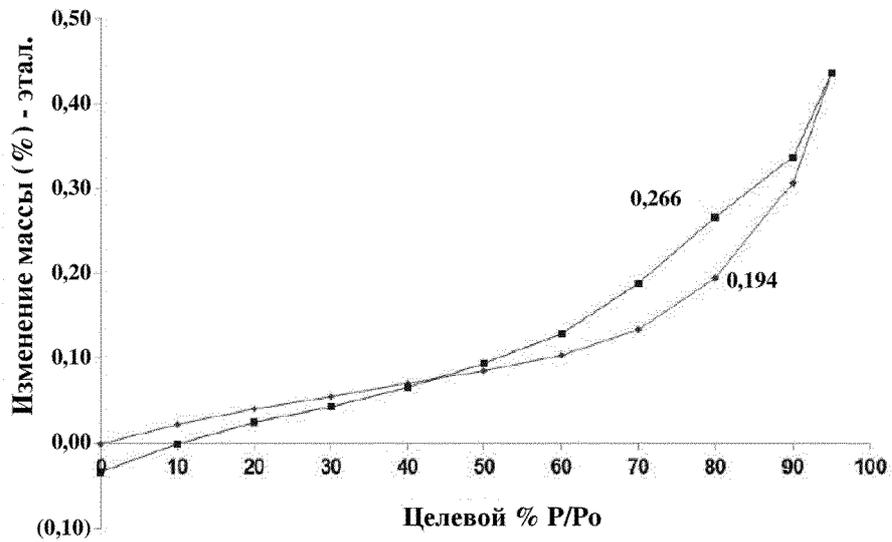
ФИГ. 11

Дата: 27 мая 2021 г.
 Время: 13:04
 Образец: 822055-23-B

График изотерм согласно DVS

Темп.: 25,0°C
 Мет.: 0-95-0
 МЭтал.: 9,2184

◆ Цикл 1, сорб. ■ Цикл 1, десорб.



Динамическая сорбция паров

© Surface Measurement Systems Ltd 1996-2020

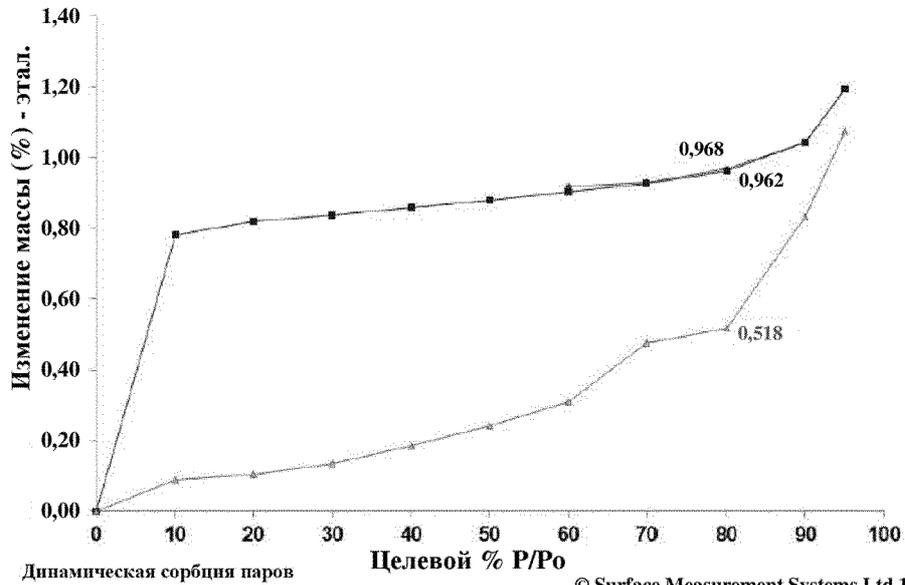
ФИГ. 12

Дата: 27 мая 2021 г.
 Время: 16:06
 Образец: 822055-24-B

График изотерм согласно DVS

Темп.: 25,0 °C
 Мет.: 60-95-0-95
 МЭтал.: 9,209

—▲— Цикл 1, сорб. —■— Цикл 1, десорб. —▲— Цикл 2, сорб.



ФИГ. 13