

(19)



Евразийское  
патентное  
ведомство

(21) 202091779 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки  
2020.10.14

(51) Int. Cl. *C07D 221/22* (2006.01)  
*A61K 31/439* (2006.01)  
*A61P 9/04* (2006.01)

(22) Дата подачи заявки  
2019.01.23

(54) КРИСТАЛЛИЧЕСКИЕ ФОРМЫ МЕЗАКОНИНА И СПОСОБЫ ИХ ПОЛУЧЕНИЯ

(31) 201810071927.2

(72) Изобретатель:

(32) 2018.01.24

Гэн Юэфэй, Гэн Фунэн, Ма Сюин, Чо  
Жубин (CN)

(33) CN

(86) PCT/CN2019/072874

(74) Представитель:

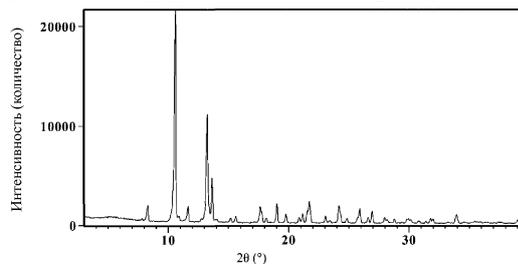
(87) WO 2019/144889 2019.08.01

Нилова М.И. (RU)

(71) Заявитель:

ГУДДОКТОР ФАРМАСЬЮТИКАЛ  
ГРУП КО., ЛТД. (CN)

(57) Настоящее изобретение относится к кристаллическим формам мезаконина. Конкретно, настоящее изобретение относится к кристаллической форме А мезаконина, кристаллической форме В мезаконина и кристаллической форме С мезаконина и способам их получения. В данном способе мезаконин кристаллизуется в растворе и затем сырые кристаллы сушат с получением целевой кристаллической формы. Согласно настоящему изобретению кристаллические формы мезаконина обладают хорошей растворимостью, хорошей стабильностью, низкой гигроскопичностью, способностью к долгосрочному хранению и хорошей воспроизводимостью, а также имеют хорошие перспективы для разработки фармацевтических препаратов на их основе.



A1

202091779

202091779

A1

## **КРИСТАЛЛИЧЕСКИЕ ФОРМЫ МЕЗАКОНИНА И СПОСОБЫ ИХ ПОЛУЧЕНИЯ**

### ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

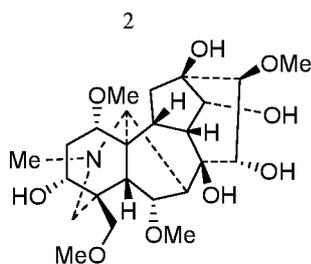
5 Настоящее изобретение относится к области кристаллических форм, в частности к кристаллическим формам мезаконина и способам их получения.

### УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

10 В традиционной китайской медицине аконит (борец) представляет собой переработанный продукт, получаемый из корней *Aconitum carmichaeli* Debx., который предотвращает развитие коллапса, сохраняя силу, защищая от ветра, холода и влаги, согревая меридиан, чтобы облегчить боль (том 1, Китайская фармакопея, издание 2015 года). Он широко используется в клиниках как известное средство традиционной китайской  
15 медицины.

В исследованиях установили, что мезаконин является главным кардиотоническим активным компонентом аконита, что отражено в следующих документах: Xiu-Xiu Liu, et al, Chem. Pharm. Bull, 2012, 60(1), 144-149; Xi-Xian Jian, et al, Nat. Prod. Commun, 2012, 7(6), 713-720; Chinese invention patent, 2012, CN102146057B; Zhong-Tang Zhang, et al, Nat. Prod.  
20 Commun, 2015, 10(12), 2075-2084. Соответственно, мезаконин является перспективным веществом для разработки лекарственных средств против сердечной недостаточности и лекарственных средств для лечения других заболеваний.

Мезаконин имеет химическое название N-метил-1 $\alpha$ ,6 $\alpha$ ,16 $\beta$ ,18-тетраметоксил-4-метил-аконит-3 $\alpha$ ,8 $\beta$ ,13 $\beta$ ,14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -пентол, молекулярную формулу C<sub>24</sub>H<sub>39</sub>NO<sub>9</sub> и номер CAS: 6792-  
25 09-2. Структура мезаконина представлена следующей структурной формулой.



Китайский патент на изобретение CN 102146057 В раскрывает способ получения мезаконина, и полученный этим способом мезаконин представляет собой аморфный порошок. Однако аморфный порошок быстро абсорбирует влагу и не подходит для  
5 длительного хранения.

В настоящий момент нет данных о кристаллической форме мезаконина, поэтому необходимо изучить и разработать его кристаллическую форму с улучшенными физическими и химическими свойствами и биодоступностью и т.п.

## 10 КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Целью настоящего изобретения является разработка кристаллических форм мезаконина, которые обладают улучшенной растворимостью, стабильностью, гигроскопичностью и способностью к обработке (фильтрация, сушка и т.д).

В первом аспекте настоящего изобретения предложена кристаллическая форма  
15 мезаконина, в дальнейшем называемая кристаллической формой А мезаконина, которая имеет следующие характеристические пики при  $2\theta$  на спектре рентгеновской порошковой дифрактометрии с использованием излучения Cu-K $\alpha$ :  $8.3^{\circ}\pm 0.2^{\circ}$ ,  $10.6^{\circ}\pm 0.2^{\circ}$ ,  $13.3^{\circ}\pm 0.2^{\circ}$ ,  $13.7^{\circ}\pm 0.2^{\circ}$  и  $19.0^{\circ}\pm 0.2^{\circ}$ .

Кроме того, кристаллическая форма А мезаконина согласно настоящему изобретению  
20 также имеет следующие характеристические пики при  $2\theta$  на спектре рентгеновской порошковой дифрактометрии с использованием излучения Cu-K $\alpha$ :  $11.6^{\circ}\pm 0.2^{\circ}$ ,  $19.8^{\circ}\pm 0.2^{\circ}$ ,  $24.2^{\circ}\pm 0.2^{\circ}$  и  $26.9^{\circ}\pm 0.2^{\circ}$ .

Без ограничения, кристаллическая форма А мезаконина согласно настоящему изобретению имеет спектр рентгеновской порошковой дифрактометрии (спектр XRPD),  
25 представленный на Фиг.1

Без ограничения, кристаллическая форма А мезаконина согласно настоящему изобретению имеет спектр термогравиметрического анализа (ТГА), представленный на Фиг. 2.

Без ограничения, согласно настоящему изобретению кристаллическая форма А мезаконина имеет спектр дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК), представленный на Фиг.3

Настоящее изобретение также обеспечивает способ получения кристаллической формы мезаконина, включающий следующие этапы:

(1) добавление мезаконина в растворитель с последующим нагреванием полученного раствора до 50~90°C (предпочтительно, 60~80°C) до растворения мезаконина с получением раствора мезаконина;

(2) охлаждение раствора мезаконина до -10~30°C (предпочтительно, 0~30°C, более предпочтительно, 20~30°C), перемешивание раствора для осаждения кристаллов, и затем осуществление фильтрации;

(3) сушка твердого вещества, полученного в результате фильтрации на этапе (2) под вакуумом с получением кристаллической формы А мезаконина.

В способе получения кристаллической формы А мезаконина согласно настоящему изобретению, растворитель представляет собой один или более растворителей, выбранных из группы, включающей воду, метанол, этанол, изопропанол, ацетон или ацетонитрил.

Во втором аспекте настоящего изобретения предложена другая кристаллическая форма мезаконина, называемая в дальнейшем кристаллической формой В мезаконина, которая имеет следующие характеристические пики при  $2\theta$  на спектре рентгеновской порошковой дифрактометрии с использованием излучения Cu-K $\alpha$ :  $6.6^\circ \pm 0.2^\circ$ ,  $9.2^\circ \pm 0.2^\circ$ ,  $13.4^\circ \pm 0.2^\circ$ ,  $14.3^\circ \pm 0.2^\circ$  и  $15.5^\circ \pm 0.2^\circ$ .

Кроме того, форма В мезаконина согласно настоящему изобретению кристаллическая имеет следующие характеристические пики при  $2\theta$  на спектре рентгеновской порошковой дифрактометрии с использованием излучения Cu-K $\alpha$ :  $18.3^\circ \pm 0.2^\circ$ ,  $20.2^\circ \pm 0.2^\circ$ ,  $23.6^\circ \pm 0.2^\circ$  и  $24.2^\circ \pm 0.2^\circ$ .

Без ограничения, кристаллическая форма В мезаконина согласно настоящему изобретению имеет спектр ПРД, представленный на Фиг. 6.

Без ограничения, кристаллическая форма В мезаконина согласно настоящему изобретению имеет спектр ТГА, представленный на Фиг. 7.

5 Без ограничения, кристаллическая форма В мезаконина согласно настоящему изобретению имеет спектр ДСК, представленный на Фиг. 8

Изобретение также предлагает способ получения кристаллической формы В мезаконина, включающий следующие этапы:

- 10 (1) суспендирование и перемешивание кристаллической формы А мезаконина в органическом растворителе при  $40\sim 60^{\circ}\text{C}$  с получением суспензии;
- (2) охлаждение суспензии до  $-10\sim 30^{\circ}\text{C}$  (предпочтительно  $0\sim 30^{\circ}\text{C}$ , более предпочтительно  $20\sim 30^{\circ}\text{C}$ ), перемешивание суспензии для осаждения кристаллов, а затем осуществление фильтрации,
- 15 (3) сушка твердого вещества, полученного в результате фильтрации на этапе (2) в вакууме для получения кристаллической формы В мезаконина.

В способе согласно настоящему изобретению для получения кристаллической формы В мезаконина органический растворитель представляет собой N-метилпиролидон.

В третьем аспекте настоящего изобретения предложена еще одна кристаллическая форма мезаконина, называемая в дальнейшем кристаллической формой С мезаконина, 20 которая имеет следующие характеристические пики при  $2\theta$  на спектре рентгеновской порошковой дифрактометрии с использованием излучения Cu-K $\alpha$ :  $7.90^{\circ}\pm 0.2^{\circ}$ ,  $10.1^{\circ}\pm 0.2^{\circ}$ ,  $13.0^{\circ}\pm 0.2^{\circ}$ ,  $17.4^{\circ}\pm 0.2^{\circ}$  и  $19.4^{\circ}\pm 0.2^{\circ}$ .

Кроме того, согласно настоящему изобретению кристаллическая форма С мезаконина имеет следующие характеристические пики при  $2\theta$  на спектре рентгеновской порошковой 25 дифрактометрии с использованием излучения Cu-K $\alpha$ :  $19.9^{\circ}\pm 0.2^{\circ}$ ,  $21.0^{\circ}\pm 0.2^{\circ}$ ,  $23.8^{\circ}\pm 0.2^{\circ}$  и  $26.6^{\circ}\pm 0.2^{\circ}$ .

Без ограничения, кристаллическая форма С согласно настоящему изобретению мезаконина имеет спектр ПРД, представленный на Фиг. 10

Без ограничения, кристаллическая форма С согласно настоящему изобретению мезаконина имеет спектр ТГА, представленный на Фиг. 11

Без ограничения, кристаллическая форма С согласно настоящему изобретению мезаконина имеет спектр ДСК, представленный на Фиг.12

5 Изобретение также предлагает способ получения кристаллической формы С мезаконина, включающий следующие этапы:

Нагревание кристаллической формы В мезаконина в вакууме для получения кристаллической формы С мезаконина.

10 В способе получения кристаллической формы С мезаконина согласно настоящему изобретению температура нагревания составляет 140~230°C, предпочтительно при 170~200°C.

В четвертом аспекте настоящего изобретения предложена фармацевтическая композиция, содержащая кристаллическую форму А мезаконина, кристаллическую форму В мезаконина или кристаллическую форму С настоящего изобретения и фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества.

В пятом аспекте настоящего изобретения предложено применение кристаллической формы А мезаконина, кристаллической формы В мезаконина или кристаллической формы С мезаконина или их фармацевтической композиции для получения кардиотонических лекарственных средств и лекарственных средств от сердечной недостаточности.

20 Кристаллические формы мезаконина, полученные в соответствии с настоящим изобретением, превосходят аморфный мезаконин по стабильности, гигроскопичности и технологичности.

#### КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

25 Фиг. 1 спектр XRPD кристаллической формы А мезаконина.

Фиг. 2 спектр ТГА кристаллической формы А мезаконина.

Фиг. 3 спектр ДСК кристаллической формы А мезаконина.

Фиг. 4 спектр XRPD сравнения образца кристаллической формы А мезаконина во время испытания на стабильность.

Фиг. 5 спектр XRPD сравнения кристаллической формы А мезаконина до и после нагревания при 180°C.

Фиг. 6 спектр XRPD кристаллической формы В мезаконина.

Фиг. 7 спектр ТГА кристаллической формы В мезаконина.

5 Фиг. 8 спектр ДСК кристаллической формы В мезаконина.

Фиг. 9 спектр XRPD сравнения кристаллической формы В мезаконина до и после нагревания при 115°C.

Фиг. 10 РПД спектр кристаллической формы С мезаконина.

Фиг. 11 спектр ТГА кристаллической формы С мезаконина.

10 Фиг. 12 спектр ДСК кристаллической формы С мезаконина.

### ВАРИАНТ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Следующие примеры иллюстрируют настоящее изобретение, не ограничивая его.

15 Мезаконин, использующийся в следующих примерах был получен в соответствии со следующим способом.

I. Экстрагирование общих алкалоидов из растения *Aconitum soongaricum* Stapf

(1) 10 кг высушенных корней растения *Aconitum soongaricum* Stapf измельчили, затем просеяли через сито #20 для получения порошка;

20 (2) порошок из растений *Aconitum soongaricum* Stapf экстрагировали последовательно 80 литрами, 36 литрами и 24 литрами водного раствора, содержащего 5% серную кислоту и 85% этанол, при кипячении с обратным холодильником 3 раза и в течение 2 часов для каждой экстракции, после чего смесь фильтровали и объединяли фильтрат;

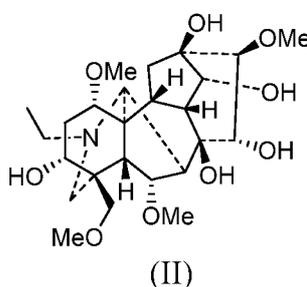
25 (3) фильтрат концентрировали при пониженном давлении до полного удаления этанола и достижения плотности жидкого экстракта 1.05-1.10, после чего собрали 0.46 кг жидкого экстракта;

(4) жидкий экстракт разбавили 1.4 литрами воды, подщелоченной раствором аммиака довели до pH=10, и затем экстрагировали в экстракторе этилацетатом (2л×3 раза) и перемешивали в течение 5-10 мин каждый раз, после чего собирали экстракт;

(5) полученный экстракт концентрировали при пониженном давлении до полного удаления этилацетата с получением 129 г общих алкалоидов. В образце общих алкалоидов методом ВЭЖХ определили содержание аконитина. Суммарное содержание аконитина (I) в общих алкалоидах составило 42.5 г, с выходом продукта, рассчитанным как содержание  
 5 вещества в % от сырой массы общих алкалоидов, 0.42%.

## II. Получение мезаконина

### (1) Получение аконина (II)



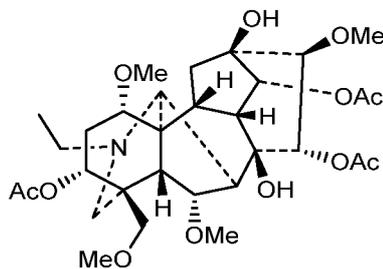
10

100 г общих алкалоидов (включая 33 г аконинита) растворили в 500 мл 95% этанола, затем добавили 7.2 г (78 ммоль) гидроксида натрия и перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч, после чего при пониженном давлении удалили растворитель для получения 120 г твердого вещества. Это твердое вещество разбавили в 1000 мл воды, после  
 15 чего экстрагировали дихлорметаном (500 мл × 2 раза). Концентрированной соляной кислотой довели рН водного слоя до 5, после чего при помощи разбавленного раствора гидроксида натрия в этаноле довели до рН=11~12. Полученную смесь концентрировали до сухости при пониженном давлении с получением 90 г твердого вещества. 900 мл смеси  
 20 дихлорметана и безводного этанола в соотношении 9:1 (об./об.) добавили к сухому остатку до растворения при нагревании. Полученную смесь отфильтровали и фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением твердого вещества. Полученное твердое вещество кристаллизовали в кипящей смеси изопропанол-вода (100:5) для получения 22.5 г целевого продукта.

Выход: 86%, белый аморфный порошок,  $C_{25}H_{41}NO_9$ .

25

### (2) Получение 3,14,15-триацетилаконина (III)



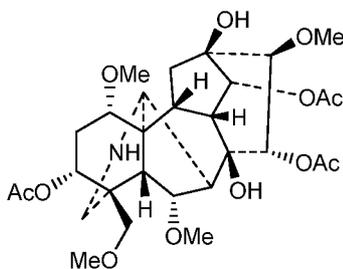
(III)

5

10.0 г (20 ммоль) аконина (II) смешали с 7.1 г (70 ммоль) уксусного ангидрида и 100 мл пиридина, и провели реакцию смеси при нагревании с обратным холодильником с обратным холодильником на 2.5 ч. После завершения реакции, полученную смесь концентрировали при пониженном давлении для получения остатка. Остаток разбавили 170 мл воды, подщелоченной аммиачной водой до pH=9~10, после чего полученную смесь экстрагировали с использованием дихлорметана (80 мл × 3). Экстракты объединили, высушили безводным сульфатом натрия, и концентрировали при пониженном давлении с получением твердого вещества. Полученный таким образом сухой остаток подвергли колоночной хроматографии на силикагеле, используя в качестве элюента смесь дихлорметана и безводного этанола (200:1) с получением 10.7 г целевого продукта.

Выход: 85,6%, белый аморфный порошок C<sub>31</sub>H<sub>47</sub>NO<sub>12</sub>.

### (3) Получение N-дезэтил-3,14,15-триацетилаконина (V)



(V)

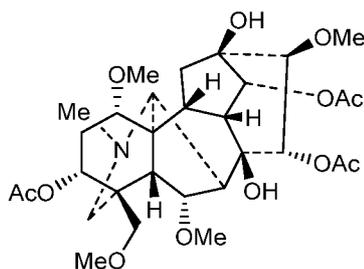
20

10.0 г (17 ммоль) 3,14,15-триацетилаконина (III) растворили в 100 мл ледяной уксусной кислоты, добавили 9.9 г (66 ммоль) N-бромсукцинимид и полученную смесь

перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Затем полученную смесь концентрировали при пониженном давлении с получением твердого вещества. Это твердое вещество растворили в небольшом количестве дихлорметана, затем добавили 150 мл воды. Полученную смесь подщелачивали концентрированной аммиачной водой до pH=10, и затем  
 5 экстрагировали дихлорметаном (80 мл × 2). Экстракты объединили, высушили при помощи безводного сульфата натрия, концентрировали при пониженном давлении с получением 10.5 г твердого вещества. Полученное твердое вещество подвергли колоночной хроматографии на силикагеле, используя в качестве элюента смесь петролейного эфира и ацетона (2:1) с получением 6.4 г целевого продукта.

10 Выход: 67.0%, белый аморфный порошок, C<sub>29</sub>H<sub>43</sub>NO<sub>12</sub>.

(4) Получение 3,14,15-триацетил мезаконина (VII)



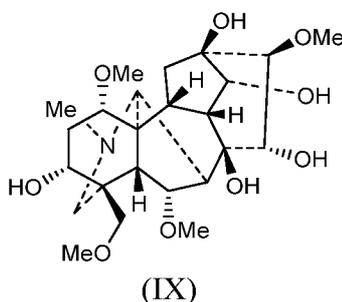
(VII)

15  
 10 г (17 ммоль) N-дезетил-3,14,15-триацетилаконина (V) растворили в 25 мл тетрагидрофурана, затем при комнатной температуре добавили 2 мл 40% водного раствора формальдегида и 1 мл ледяной уксусной кислоты, после чего оставили при перемешивании на 30 минут при комнатной температуре. Затем добавили 7.1 г (33.5 ммоль) NaBH(OAc)<sub>3</sub>  
 20 и перемешивали полученную смесь в течение 30 минут. Смесь довели концентрированной аммиачной водой до pH=9, после чего для разбавления добавили 15 мл воды. Полученную таким образом смесь дважды экстрагировали 20 мл дихлорметана, экстракты объединили, последовательно промыли водой, осушили безводным сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении до сухости с получением 5.5 г твердого  
 25 вещества. Это твердое вещество подвергли колоночной хроматографии на силикагеле,

используя в качестве эдьюента смесь хлороформа и этанола (9:1) с получением 5.41 г конечного продукта.

Выход: 53.1%, белый аморфный порошок C<sub>30</sub>H<sub>45</sub>NO<sub>12</sub>.

5 (5) Получение мезаконина (IX)



10 10 г (16.3 ммоль) 3,14,15-триацетил мезаконина (VII) растворили в 75 мл 95% раствора этанола, затем добавили 2.29 г (57.2 ммоль) гидроксида натрия и осуществили реакцию смеси при нагревании с обратным холодильником в течение 30 мин. Прореагировавший раствор охладили при комнатной температуре, при помощи концентрированной соляной кислоты довели до pH=5, затем при помощи разбавленного раствора гидроксида натрия в  
15 этаноле довели до pH=11~12. Не растворившееся вещество отфильтровали, и фильтрат сконцентрировали при пониженном давлении с получением твердого вещества. Это твердое вещество растворили в 110 мл смеси дихлорметана и абсолютного этанола (9:1, об./об.). Полученный таким образом раствор отфильтровали на нутч-фильтре и фильтрат сконцентрировали до сухости при пониженном давлении с получением 7.22 г мезаконина.  
20 Выход продукта составил 91.1%.

<sup>1</sup>H-ЯМР (400МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ: 3.07(1H, dd, J=8.4, 6.0Гц, H-1β), 3.75(1H, m, H-3β), 4.15(d, J=6.8Гц, H-6β), 3.93(1H, d, J=5.2Гц, H-14β), 4.49(1H, t, J=5.6Гц, H-15β), 3.19(1H, d, J=6.0Гц, H-16), 2.91(1H, s, H-17), 3.65, 3.74 (каждый 1H, АВq, J=9.6Гц, H2-18), 2.48, 2.79 (каждый 1H, АВq, J=11.2Гц, H2-19), 2.34(3H, s, NCH<sub>3</sub>), 3.26(3H, s, OCH<sub>3</sub>-1), 3.34(3H, s,  
25 OCH<sub>3</sub>-6), 3.64(3H, s, OCH<sub>3</sub>-16), 3.32(3H, s, OCH<sub>3</sub>-18).

**Пример 1: Получение кристаллической формы А мезаконина**

К 10 г мезаконина добавили 40 мл изопропанола, смесь нагрели на водяной бане в емкости с обратным холодильником до растворения мезаконина. Затем добавили 2 мл воды, при перемешивании мезаконин кристаллизовался. Полученную таким образом смесь оставили охлаждаться на ночь, и затем отфильтровали с использованием нутч-фильтра. Осадок на фильтре промыли небольшим количеством изопропанола, и дали жидкости из смеси стечь чтобы собрать кристаллы. Кристаллы сушили под вакуумом при 85°C в течение 8 ч с получением белых твердых кристаллов. После испытаний подтвердили, что белые твердые кристаллы являются кристаллической формой А мезаконина, и его спектр XRPD представлен на Фиг. 1. Выход продукта: 70%, ВЭЖХ: 99,7%.

**Пример 2: Получение кристаллической формы А мезаконина**

К 10 г мезаконина добавили 40 мл изопропанола, смесь нагрели на водяной бане в емкости с обратным холодильником до растворения мезаконина. Мезаконин кристаллизовался при перемешивании, и полученную смесь оставили охлаждаться естественным образом на ночь, после чего отфильтровали на нутч-фильтре. Осадок на фильтре промыли небольшим количеством изопропанола и дали жидкости из смеси стечь чтобы собрать кристаллы. Кристаллы сушили в вакууме при 85°C в течение 8 часов с получением целевого продукта, т.е. кристаллической формы А мезаконина. Ее спектр XRPD совпадал с представленным на Фиг. 1. Выход продукта: 78%, ВЭЖХ: 99.6%.

**Пример 3: Получение кристаллической формы А мезаконина**

К 10 г мезаконина добавили 30 мл этанола, смесь нагрели на водяной бане в емкости с обратным холодильником до растворения мезаконина. Мезаконин кристаллизовался при перемешивании, полученную таким образом смесь оставили охлаждаться естественным путем на ночь, после чего отфильтровали на нутч-фильтре. Осадок на фильтре промыли небольшим количеством этанола и дали жидкости из смеси стечь чтобы собрать кристаллы. Кристаллы сушили в вакууме при 85°C в течение 8 часов с получением целевого продукта,

т.е. кристаллической формы А мезаконина. Ее РПД спектр совпадал с представленным на Фиг. 1. Выход продукта: 58%, ВЭЖХ: 99.8%.

#### **Пример 4: Получение кристаллической формы А мезаконина**

5 К 10 г мезаконина добавили 30 мл метанола, смесь нагрели с обратным холодильником на водяной бане до растворения мезаконина. Мезаконин кристаллизовался при перемешивании, полученную таким образом смесь оставили охлаждаться естественным путем на ночь, и затем отфильтровали на нутч-фильтре. Осадок на фильтре промыли небольшим количеством метанола и дали жидкости из смеси стечь чтобы собрать

10 кристаллы. Кристаллы сушили в вакууме при 85°C в течение 8 часов с получением целевого продукта, т.е. кристаллической формы А мезаконина. Ее спектр XRPD спектр совпадал с представленным на Фиг. 1. Выход продукта: 38%, ВЭЖХ: 99.8%.

#### **Пример 5: Получение кристаллической формы А мезаконина**

15 К 10 г мезаконина добавили 30 мл изопропанола, смесь нагрели на водяной бане в емкости с обратным холодильником до растворения мезаконина. Затем добавили 10 мл этанола, мезаконин кристаллизовался при перемешивании, и полученную таким образом смесь оставили охлаждаться естественным путем на ночь, после чего отфильтровали на нутч-фильтре. Осадок на фильтре промыли небольшим количеством изопропанола и дали

20 жидкости из смеси стечь чтобы собрать кристаллы. Кристаллы высушили в вакууме при 85°C в течение 8 часов с получением целевого продукта, т.е. кристаллической формы А мезаконина. Ее спектр XRPD совпадал с представленным на Фиг. 1. Выход продукта: 68%, ВЭЖХ: 99.8%.

#### **25 Пример 6: Характеристика кристаллической формы мезаконина**

Образец кристаллической форма А мезаконина, полученной способом, описанным в Пример 1, оценили в следующих тестах.

##### **1. Порошковая рентгеновская дифрактометрия**

Образец кристаллической формы А мезаконина исследовали с использованием анализатора для порошковой рентгеновской диффрактометрии PANalytical Empyrean и X'Pert3 в следующих условиях:  $\text{Cu}, \text{K}\alpha, \text{K}\alpha 1$  (Å): 1.540598;  $\text{K}\alpha 2$  (Å): 1.544426,  $\text{K}\alpha 2/\text{K}\alpha 1$  отношение интенсивностей: 0.50, диапазон сканирования:  $3^\circ\sim 40^\circ$ . Спектр ПРД представлен на Фиг. 1 и основная информация по спектр XRPDу кристаллической формы А мезаконина представлена в Таблице 1.

Таблица 1

Угол дифракции ( $2\theta, ^\circ$ )	Межплоскостное расстояние (d, Å)	Относительная интенсивность (%)
8.29	10.66	7.39
10.61	8.34	100.00
11.64	7.60	7.38
13.26	6.68	51.22
13.65	6.49	21.16
19.03	4.66	9.06
19.78	4.49	4.07
24.15	3.68	8.13
26.91	3.31	5.52

Специалисты в данной области поймут, что эти дифракционные пики не раскрывают всех подробностей дифракционных пиков кристаллической формы А мезаконина. Значение при  $2\theta$  в ПРД(XRPD) может меняться в пределах границ погрешности контрольно-измерительных приборов, а также возможны изменения во время подготовки и изменении серий, и приведенное значение не должно рассматриваться как абсолютное. Кроме того, относительная интенсивность пиков может меняться в связи с ориентационным эффектом, поэтому значения интенсивности, полученные в результате ПРД, проведенной, согласно настоящему изобретению, является примерным и не может быть использовано для сравнения абсолютных величин.

## 2. Термический анализ

(1). Термогравиметрический анализ

Необходимое количество образца кристаллической формы А мезаконина поместили в термогравиметрический анализатор TA Q5000/Discovery 5500 в условиях использования

азота в качестве защитного газа, и повышали температуру с постоянной скоростью 10°C/мин от комнатной температуры до 350°C, чтобы определить изменение массы под влиянием температуры и построить кривую ТГА (см Фиг.2). На кривой ТГА видно, что потеря массы кристаллической формы А мезаконина при нагревании до 180°C составила 2.1%.

### (2) Дифференциальная сканирующая калориметрия

Необходимое количество образца кристаллической формы А мезаконина поместили в дифференциальный сканирующий калориметр TA Q2000/Discovery 2500 в условиях использования азота в качестве защитного газа, и повышали температуру с постоянной скоростью 10°C/мин от комнатной температуры до 250°C, чтобы определить кристаллическую форму А мезаконина и построить кривую ДСК (см. Фиг. 3). Результаты ДСК показали наличие острого эндотермического пика при 207.6°C (начальная температура), который представлял собой острый эндотермический пик плавления кристаллической формы А мезаконина.

15

### (3). Температура плавления

Отобрали образец кристаллической формы А мезаконина и определили температуру плавления согласно «методу определения температуры плавления» (первый метод 0612, общие правила, том 4, *Китайская фармакопея*, издание 2015 года). Результаты представлены в Таблице 2 ниже.

20

Таблица 2

Серии	Температура
Образец кристаллической формы А	206.6~208.4°C

Результаты исследования показывают, что явление плавления образца было очевидным и температура плавления находилась в диапазоне 206~209°C.

**Пример 7: Стабильность, растворимость и гигроскопичность кристаллической формы А мезаконина**

25

Образец кристаллической форма А мезаконина, полученной способом, описанным в Примере 1, подвергли следующим испытаниям:

#### **А. Стабильность кристаллической формы мезаконина**

5 Образцы кристаллической формы А мезаконина оставили на хранение при температуре 25°C, относительной влажности 60% и при температуре 40°C, относительной влажности 75% на 4 недели, после чего провели исследование методом ПРД. Результаты испытания сравнили со спектром XRPD образца сравнения кристаллической формы А мезаконина (спектр XRPD кристаллической формы А мезаконина до проведения теста на

10 стабильность), и результаты показаны на Фиг.4. Другой образец кристаллической формы А мезаконина нагрели до 180 °С, после чего провели исследование методом ПРД. Результаты сравнили с спектром образца сравнения кристаллической формы А мезаконина (спектр XRPD кристаллической формы А мезаконина до проведения теста на стабильность), и результаты представлены на Фиг. 5.

15 Согласно результатам, представленным на Фиг.4, после хранения образцов при температуре 25°C, относительной влажности 60% и при температуре 40°C, относительной влажности 75% в течение 4 недель, расположение и относительная интенсивность основного дифракционного пика на спектре XRPD статистически значимо не изменились, что свидетельствует о том, что кристаллическая форма не изменилась, и все еще

20 представляет собой кристаллическую форму А. Согласно результатам, представленным на Фиг. 5 после нагревания образца кристаллической формы А мезаконина до температуры 180°C, расположение и относительная интенсивность основных дифракционных пиков на спектре XRPD статистически значимо не изменились, что свидетельствовало о том, что кристаллическая форма не изменилась, и все еще представляла собой кристаллическую

25 форму А. Результаты проведенных выше испытаний показали, что кристаллическая форма А мезаконина обладает хорошей стабильностью.

Кроме того, образец кристаллической формы А мезаконина проверили на влияние факторов в соответствии с Руководящим принципом для испытания стабильности сырья для лекарств и препаратов (общее правило 9001, *Китайская фармакопея*, издание 2015 года).

Испытание при высоких температурах: образец поместили в легко открывающийся стаканчик для взвешивания и оставили при температуре 60°C в течение 10 дней. Затем образец испытали в соответствии с ключевыми показателями испытания на стабильность и исследовали методом порошковой рентгеновской дифрактометрии.

5 Испытание на влияние повышенной влажности: образец поместили в легко открывающийся стаканчик для взвешивания и оставили при температуре 25°C и относительной влажности 90% на 10 дней. Затем образец и в соответствии с ключевыми показателями испытания на стабильность и исследовали методом порошковой рентгеновской дифрактометрии.

10 Испытание с жестким освещением: образец поместили в хорошо открывающийся стаканчик для взвешивания под освещением 4500 Люкс в течение 10 дней. Затем образец испытали в соответствии с ключевыми показателями испытания на стабильность и исследовали методом порошковой рентгеновской дифрактометрии .

15 Результаты исследований показали, что расположение и относительная интенсивность основных дифракционных пиков на спектр XRPDe статистически значимо не изменились после того, как образцы были подвергнуты воздействию высокой температуры, высокой влажности и жесткого освещения в течение 10 дней.

20 В образце кристаллической формы А мезаконина определили температуру плавления согласно «методу определения температуры плавления» (первый метод 0612, общие правила, том 4, *Китайская фармакопея*, издание 2015 года). В результате после того как образцы были подвергнуты воздействию высокой температуры, высокой влажности и жесткому освещению в течение 10 дней, температура плавления образцов составила 207.0~208.9°C, 206.9~209.5°C and 207.3~209.2°C соответственно, что в основном соответствовало температуре плавления (206.6~208.4°C) образцов до испытания.

25 Результаты проведенных выше испытаний показали, что кристаллическая форма А мезаконина обладает хорошей стабильностью.

## **В. Растворимость кристаллической формы А мезаконина**

Образец кристаллической формы А мезаконина подвергли испытанию на растворимость согласно методу, описанному в Китайской фармакопее (издание 2015 года, общее правило). Полученные результаты представлены в таблице 3 ниже.

Таблица 3

Растворитель	Растворимость	Описание
Вода	Легко растворим	1 г вещества растворяется в 1-10 мл растворителя

- 5 Результаты, приведённые в таблице 3, показывают, что кристаллическая форма А мезаконина легко растворялась в воде, что свидетельствует о том, что кристаллическая форма А мезаконина обладает хорошей растворимостью в воде.

### С. Гигроскопичность кристаллической формы А мезаконина

- 10 Испытание провели в соответствии с руководящими принципами испытания на гигроскопичность согласно Китайской фармакопее (общее правило 9103, издание 2015 года). Испытали образцы двух серий кристаллической формы А мезаконина, результаты представлены в Таблице 4:

Таблица 4

Номер	Процент увеличения массы (%)	Процент среднего увеличения массы (%)
Образец 1	0.85	0.85
Образец 2	0.84	

- 15 Согласно определению гигроскопичности в Китайской фармакопее (общее правило 9103, том 4, издание 2015 года): если увеличение веса вследствие гигроскопичности составляет менее 2%, но более 0.2%, то вещество обладает слабой гигроскопичностью. Увеличение массы кристаллической формы А мезаконина равнялось 0.85% в условиях испытания, что свидетельствует о его слабой гигроскопичности и хорошей устойчивости к
- 20 поглощению влаги из воздуха.

### Пример 8: Получение кристаллической формы В мезаконина

130 мг кристаллической формы мезаконина А получили способом, описанным в Примере 1. Кристаллическую форму А мезаконина суспендировали в 0,3 мл N-метилпирролидона и перемешивали при 50°C в течение 24 ч. Затем смесь охладили до 20-30°C, перемешивали до осаждения кристаллов и затем отфильтровали. Полученный осадок на фильтре высушили в вакууме при 85°C в течение 10 часов с получением белых твердых кристаллов. После испытаний, подтвердили, что белые твердые кристаллы являются кристаллической формой В мезаконина и его спектр XRPD представлен на Фиг. 6. спектр ДСК (Фиг. 8) показывает, что кристаллическая форма В мезаконина в настоящем изобретении является сольватом мезаконина с N-метилпирролидоном.

10

#### **Пример 9: Получение кристаллической формы В мезаконина**

400 мг кристаллической формы мезаконина получили способом, описанным в Примере 1. Кристаллическую форму А мезаконина суспендировали в 0.9 мл N-метилпирролидона и перемешивали при 40°C в течение 36 ч. Затем смесь охладили до 20-30°C, перемешивали до осаждения кристаллов и затем отфильтровали. Полученный осадок на фильтре высушили в вакууме при 85°C в течение 12 часов с получением белых твердых кристаллов. После испытаний, подтвердили, что белые твердые кристаллы являются кристаллической формой В мезаконина и его спектр XRPD представлен на Фиг. 6.

#### **Пример 10: Характеристика кристаллической формы В мезаконина**

Кристаллическую форму В мезаконина получили способом, описанным в Примере 8, отобрали образец и подвергли следующим испытаниям.

##### **1. Порошковая рентгеновская дифрактометрия**

Образец кристаллической формы В мезаконина подвергли испытанию на порошковом рентгеновском дифракционном анализаторе PANalytical Empyrean и X'Pert3 при следующих условиях: Cu, Ka, Ka1 (Å): 1.540598; Ka2 (Å): 1.544426, Ka2/Ka1 отношение интенсивностей: 0.50, диапазон сканирования: 3°~40°. Спектр XRPD образца кристаллической формы В мезаконина представлен на Фиг. 6, и основная информация о спектре XRPD кристаллической формы В мезаконина представлена в Таблице 5.

Таблица 5

Угол дифракции ( $2\theta$ , °)	Межплоскостное расстояние ( $d$ , Å)	Относительная интенсивность (%)
6.60	13.39	89.65
9.16	9.66	74.01
13.40	6.61	100.00
14.31	6.19	11.74
15.46	5.73	15.48
18.30	4.85	9.27
20.19	4.40	8.67
23.56	3.78	9.08
24.20	3.68	8.03

Специалисты в данной области поймут, что данные дифракционные пики не раскрывают всех подробностей дифракционных пиков кристаллической формы В мезаконина. Значение при  $2\theta$  в ПРД может варьировать в пределах границ погрешности контрольно-измерительных приборов, а также изменений во время подготовки и изменении серий, и приведенное значение не должно рассматриваться как абсолютное. Кроме того, относительная интенсивность пиков может варьировать в связи с ориентационным эффектом, поэтому интенсивность, отраженная в результатах ПРД в настоящем раскрытии, является примерным и не может быть использовано для абсолютного сравнения.

## 2. Термический анализ

### (1). Термогравиметрический анализ

Необходимое количество образца кристаллической формы В мезаконина поместили в термографический анализатор TA Q5000/Discovery 5500 в условиях использования азота в качестве защитного газа, и повышали температуру с постоянной скоростью  $10^\circ\text{C}/\text{мин}$  от комнатной температуры до  $350^\circ\text{C}$ , чтобы определить изменение массы под действием температуры и построить ТГА кривую (см. Фиг. 7). На кривой ТГА видно, что потеря массы образца кристаллической формы А мезаконина при нагревании до  $115^\circ\text{C}$  составила 3%, при нагревании до  $185^\circ\text{C}$  потеря массы составила 16.1%.

### (2). Дифференциальная сканирующая калориметрия

Необходимое количество образца кристаллической формы В мезаконина поместили в дифференциальный сканирующий калориметр TA Q2000/Discovery 2500 в условиях использования азота в качестве защитного газа, и повышали температуру с постоянной скоростью 10°C/мин от комнатной температуры до 250°C, чтобы определить кристаллическую форму В мезаконина и построить ДСК кривую (см. Фиг. 8). Результаты ДСК показали наличие широкого эндотермического пика при 158,7°C (пиковая температура) и острый эндотермический пик при 222,4°C (начальная температура), который представлял собой эндотермический пик плавления кристаллической формы В мезаконина.

#### 10 **Пример 11: Стабильность кристаллической формы В мезаконина**

Образец кристаллической формы В мезаконина, полученной способом, описанным в Примере 8, подвергли следующим испытаниям.

Необходимое количество образца кристаллической формы В мезаконина нагрели до 115°C, после чего провели исследование методом ПРД. Результаты исследования сравнили со спектром образца сравнения кристаллической формы мезаконина (спектр XRPD кристаллической формы В мезаконина до проведения испытания на стабильность), и результаты представлены на Фиг.9.

Результаты показали, что положение и относительная интенсивность основных дифракционных пиков на спектре XRPD существенно не изменились после нагревания кристаллической формы В мезаконина до 115°C, что свидетельствует о том, что кристаллическая форма не изменилась, и это все еще кристаллическая форма В. Результаты испытания показали, что кристаллическая форма В мезаконина обладает хорошей стабильностью.

#### 25 **Пример 12: Получение кристаллической формы С мезаконина**

100 мг образца кристаллической формы В мезаконина получили способом, описанным в Примере 8. Образец кристаллической формы В мезаконина нагревали в вакууме до 185°C в течение 24 ч с получением белых твердых кристаллов. После испытаний подтвердили, что

белые твердые кристаллы являются кристаллической формой В мезаконина и его спектр XRPD представлен на Фиг. 10.

### Пример 13: Получение кристаллической формы С мезаконина

5 100 мг образца кристаллической формы В мезаконина получили способом, описанным в Примере 8. Образец кристаллической формы В мезаконина нагревали в вакууме при 190°C в течение 16 ч с получением белых твердых кристаллов. После испытаний подтвердили, что белые твердые кристаллы являются кристаллической формой В мезаконина и его спектр XRPD представлен на Фиг. 10.

10

### Пример 14: Характеристика кристаллической формы С мезаконина

Образец кристаллической формы мезаконина, полученной методом, описанным в Примере 11, подвергли следующим испытаниям.

#### 1. Порошковая рентгеновская дифрактометрия

15 Образец кристаллической формы С мезаконина подвергли испытанию на порошковом рентгеновском дифракционном анализаторе PANalytical Empyrean и X'Pert3 при следующих условиях: Cu, K $\alpha$ , K $\alpha$ 1 (Å): 1.540598; K $\alpha$ 2 (Å): 1.544426, K $\alpha$ 2/K $\alpha$ 1 отношение интенсивностей: 0.50, диапазон сканирования: 3°~40°. спектр XRPD образца кристаллической формы С мезаконина представлен на Фиг. 10 и основная информация с  
20 спектра XRPD кристаллической формы С мезаконина представлена в Таблице 6.

Таблица 6: Список дифракционных пиков ПРД кристаллической формы С мезаконина

Угол дифракции (2 $\theta$ , °)	Межплоскостное расстояние (d, Å)	Относительная интенсивность (%)
7.90	11.20	97.03
10.12	8.74	16.58
13.03	6.80	100.00
17.35	5.11	20.15
19.44	4.57	10.39
19.86	4.47	6.69
21.03	4.23	8.45

Угол дифракции и ( $2\theta$ , °)	Межплоскостное расстояние ( $d$ , Å)	Относительная интенсивность (%)
23.78	3.74	17.82
26.60	3.35	7.29

Специалисты в данной области поймут, что эти дифракционные пики не раскрывают всех подробностей дифракционных пиков кристаллической формы С мезаконина. Значение при  $2\theta$  в ПРД может варьировать в пределах границ погрешности контрольно-измерительных приборов, а также изменений во время подготовки и изменении серий, и  
5 приведенное значение не должно рассматриваться как абсолютное. Кроме того, относительная интенсивность пиков может меняться в связи с ориентационным эффектом, поэтому интенсивность, отраженная в результатах ПРД в настоящем раскрытии, является примерным и не может быть использовано для сравнения абсолютных величин.

## 1. Термический анализ

### 10 (1). Термогравиметрический анализ

Необходимое количество образца кристаллической формы С мезаконина поместили в термографический анализатор TA Q5000/Discovery 5500 в условиях использования азота в качестве защитного газа, и повышали температуру с постоянной скоростью  $10^\circ\text{C}/\text{мин}$  от комнатной температуры до  $350^\circ\text{C}$ , чтобы определить изменение массы под действием  
15 температуры и построить ТГА кривую (см Фиг. 11). На кривой ТГА видно, что потеря массы образца кристаллической формы А мезаконина при нагревании до  $185^\circ\text{C}$  составила 0.5%.

### (2). Дифференциальная сканирующая калориметрия

Необходимое количество образца кристаллической формы С мезаконина поместили в дифференциальный сканирующий калориметр TA Q2000/Discovery 2500 в условиях  
20 использования азота в качестве защитного газа, и повышали температуру с постоянной скоростью  $10^\circ\text{C}/\text{мин}$  от комнатной температуры до  $250^\circ\text{C}$ , чтобы определить кристаллическую форму В мезаконина и построить ДСК кривую (см. Фиг. 8). Результаты ДСК показали наличие острого эндотермического пика при  $222.4^\circ\text{C}$  (начальная температура), который представлял собой эндотермический пик плавления  
25 кристаллической формы С мезаконина.

## Формула изобретения

1. Кристаллическая форма А мезаконина, характеризующаяся тем, что указанная кристаллическая форма А мезаконина имеет следующие характеристические пики при  $2\theta$  в спектре рентгеновской порошковой дифрактометрии с использованием излучения Cu-K $\alpha$ :  $8.3^{\circ}\pm 0.2^{\circ}$ ,  $10.6^{\circ}\pm 0.2^{\circ}$ ,  $13.3^{\circ}\pm 0.2^{\circ}$ ,  $13.7^{\circ}\pm 0.2^{\circ}$  и  $19.0^{\circ}\pm 0.2^{\circ}$
2. Кристаллическая форма А по п. 1, характеризующаяся тем, что кристаллическая форма А мезаконина также имеет следующие характеристические пики при  $2\theta$  в спектре рентгеновской порошковой дифрактометрии с использованием излучения Cu-K $\alpha$ :  $11.6^{\circ}\pm 0.2^{\circ}$ ,  $19.8^{\circ}\pm 0.2^{\circ}$ ,  $24.2^{\circ}\pm 0.2^{\circ}$  и  $26.9^{\circ}\pm 0.2^{\circ}$ .
3. Способ получения кристаллической формы А мезаконина согласно п. 1 или 2, включающий следующие этапы:
- (1) добавление мезаконина в растворитель затем нагревание нагреванием полученного раствора до  $50\sim 90^{\circ}\text{C}$  для растворения мезаконина с получением раствора мезаконина;
- (2) охлаждение раствора мезаконина до  $-10\sim 30^{\circ}\text{C}$ , перемешивание раствора для осаждения кристаллов и затем осуществление фильтрации.
- (3) высушивание осадка, полученного на этапе фильтрации (2), в вакууме с получением кристаллической формы А мезаконина.
4. Способ по п. 3, характеризующийся тем, что растворитель представляет собой один или более из группы, состоящей из воды, метанола, этанола, изопропанола, ацетона и ацетонитрила.
5. Кристаллическая форма В мезаконина, характеризующаяся тем, что указанная кристаллическая форма В мезаконина имеет следующие характеристические пики при  $2\theta$  в спектре рентгеновской порошковой дифрактометрии с использованием излучения Cu-K $\alpha$ :  $6.6^{\circ}\pm 0.2^{\circ}$ ,  $9.2^{\circ}\pm 0.2^{\circ}$ ,  $13.4^{\circ}\pm 0.2^{\circ}$ ,  $14.3^{\circ}\pm 0.2^{\circ}$  и  $15.5^{\circ}\pm 0.2^{\circ}$ .

6. Кристаллическая форма В мезаконина по п. 5 характеризующаяся тем, что кристаллическая форма В мезаконина дополнительно имеет следующие характеристические пики при  $2\theta$  в спектре рентгеновской порошковой дифрактометрии с использованием излучения Cu-K $\alpha$ :  $18.3^\circ \pm 0.2^\circ$ ,  $20.2^\circ \pm 0.2^\circ$ ,  $23.6^\circ \pm 0.2^\circ$  и  $24.2^\circ \pm 0.2^\circ$

5

7. Способ получения кристаллической формы В мезаконина согласно п. 5 или п. 6, включающий следующие этапы:

(1) суспендирование и перемешивание кристаллической формы А мезаконина по п. 1 в органическом растворителе при  $40\sim 60^\circ\text{C}$  с получением суспензии;

10 (2) охлаждение суспензии до  $-10\sim 30^\circ\text{C}$ , перемешивание суспензии для осаждения кристаллов, и затем осуществление фильтрации;

(3) сушка твердого вещества, полученного в результате фильтрации на этапе (2), в вакууме с получением кристаллической формы В мезаконина.

15 8. Способ по п. 7 характеризующаяся тем, что органический растворитель представляет собой N-метилпирролидон.

9. Кристаллическая форма С мезаконина характеризующаяся тем, что указанная кристаллическая форма С мезаконина имеет следующие характеристические пики при  $2\theta$  в спектре рентгеновской порошковой дифрактометрии с использованием излучения Cu-K $\alpha$ :  $7.90^\circ \pm 0.2^\circ$ ,  $10.1^\circ \pm 0.2^\circ$ ,  $13.0^\circ \pm 0.2^\circ$ ,  $17.4^\circ \pm 0.2^\circ$  и  $19.4^\circ \pm 0.2^\circ$

20

10. Кристаллическая форма С по п. 9 характеризующаяся тем, что указанная кристаллическая форма С мезаконина также имеет следующие характеристические пики при  $2\theta$  в спектре рентгеновской порошковой дифрактометрии с использованием излучения Cu-K $\alpha$ :  $19.9^\circ \pm 0.2^\circ$ ,  $21.0^\circ \pm 0.2^\circ$ ,  $23.8^\circ \pm 0.2^\circ$  и  $26.6^\circ \pm 0.2^\circ$

25

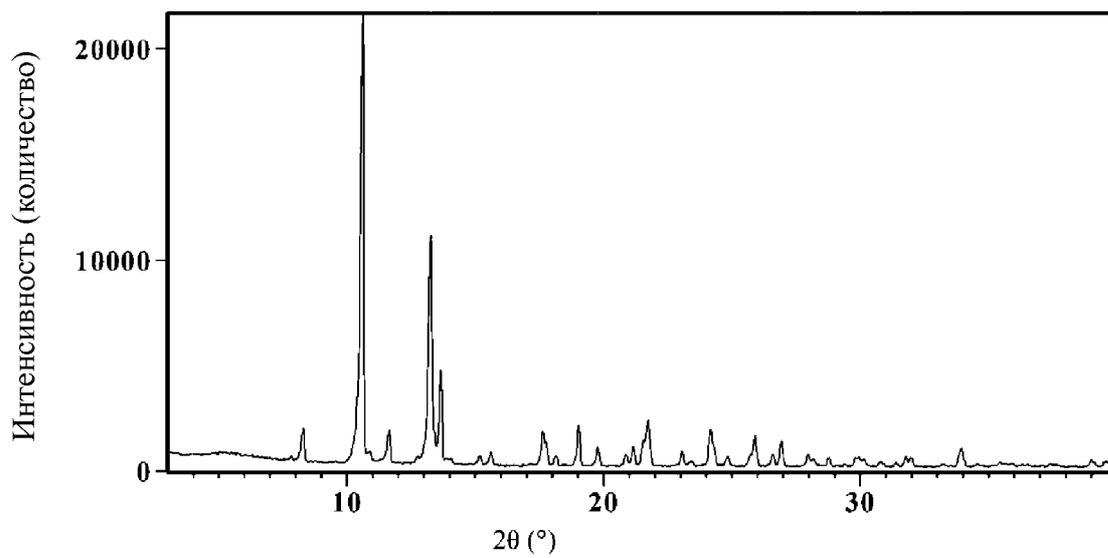
11. Способ получения кристаллической формы С мезаконина согласно п. 9 или п. 10, включающий этапы:

нагревания кристаллической формы В мезаконина согласно п. 5 с получением кристаллической формы С мезаконина.

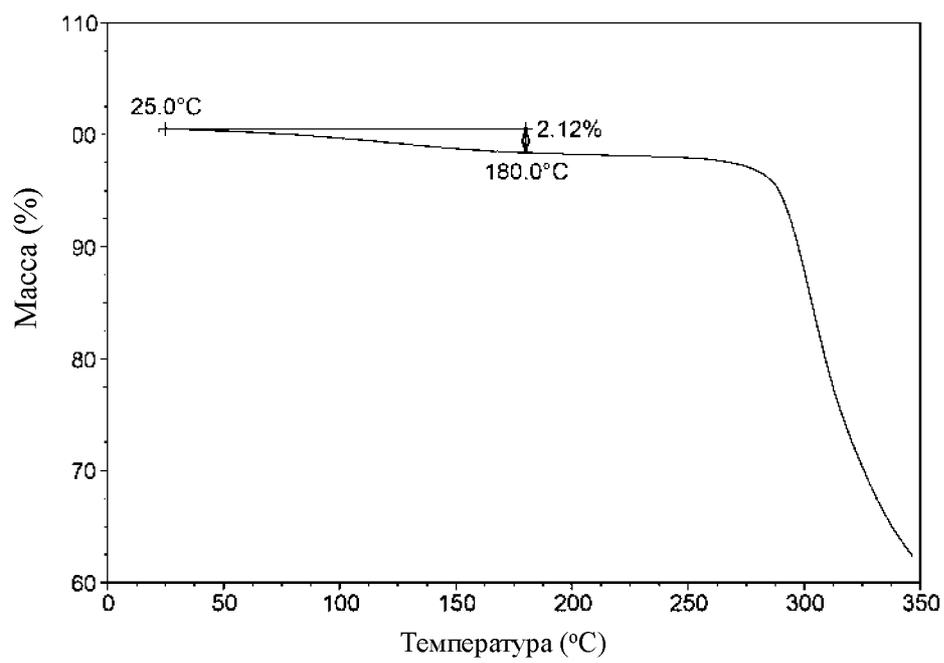
12. Способ по п. 11 характеризующийся тем, что температура нагревания составляет 5 140~230°C, предпочтительно 170~200°C.

13. Фармацевтическая композиция, включающая кристаллическую форму А мезаконина согласно п. 1 или п. 2, кристаллическую форму В мезаконина согласно п. 5 или п. 6, кристаллическую форму С мезаконина согласно п. 9 или п. 10, и фармацевтически 10 приемлемые вспомогательные вещества.

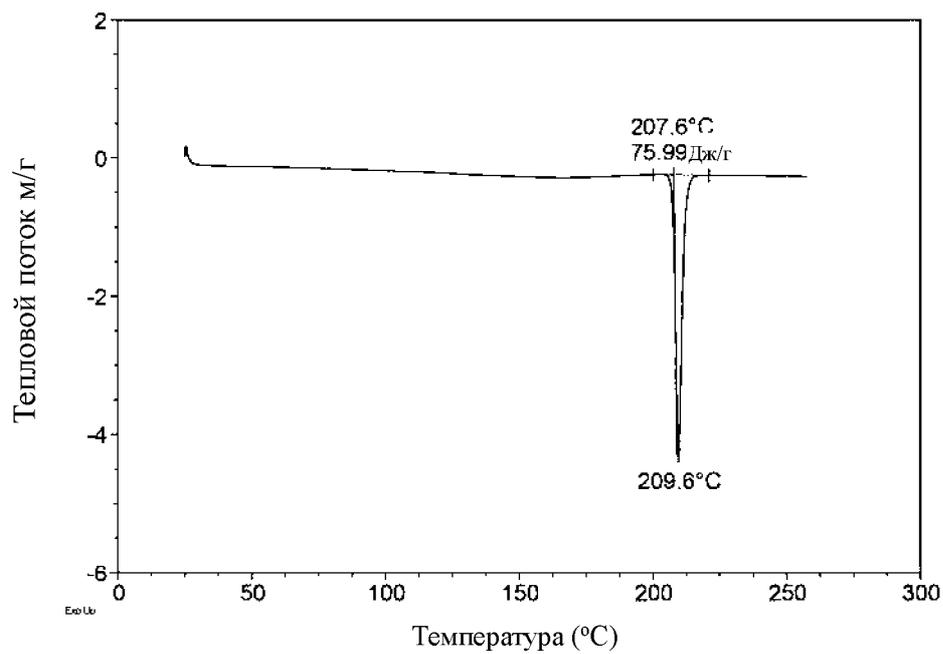
14. Применение кристаллической формы А мезаконина согласно п. 1 или п. 2, кристаллической формы В мезаконина согласно п. 5 или 6, кристаллической формы С мезаконина согласно п. 9 или 10, или фармацевтической композиции согласно п. 13 в 15 получении кардиотонических лекарственных средств и лекарственных средств против сердечной недостаточности.



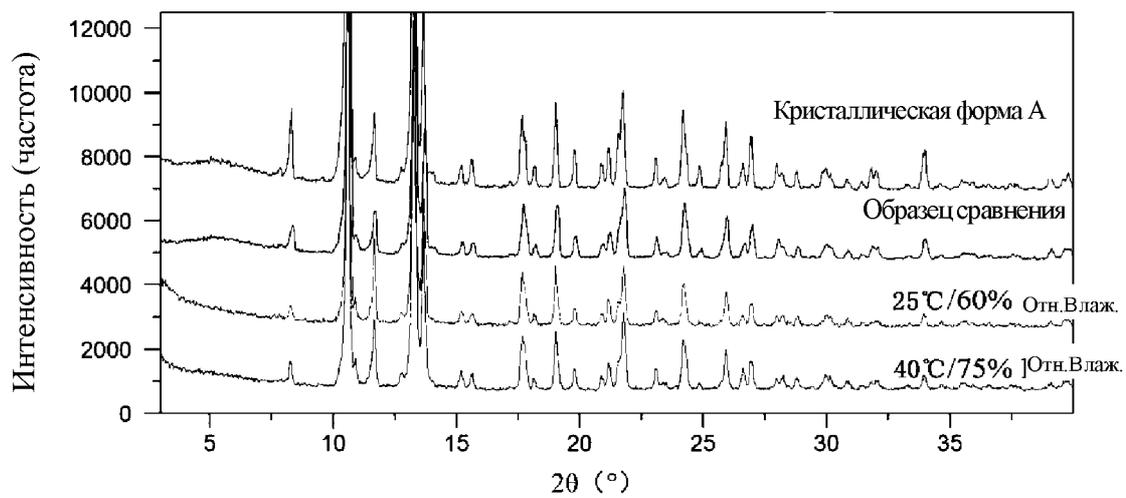
Фиг. 1



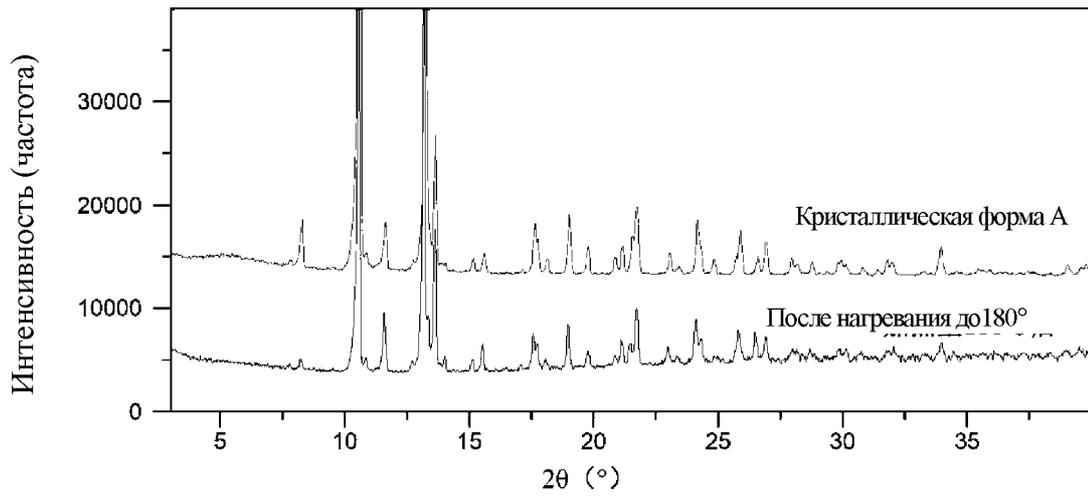
Фиг. 2



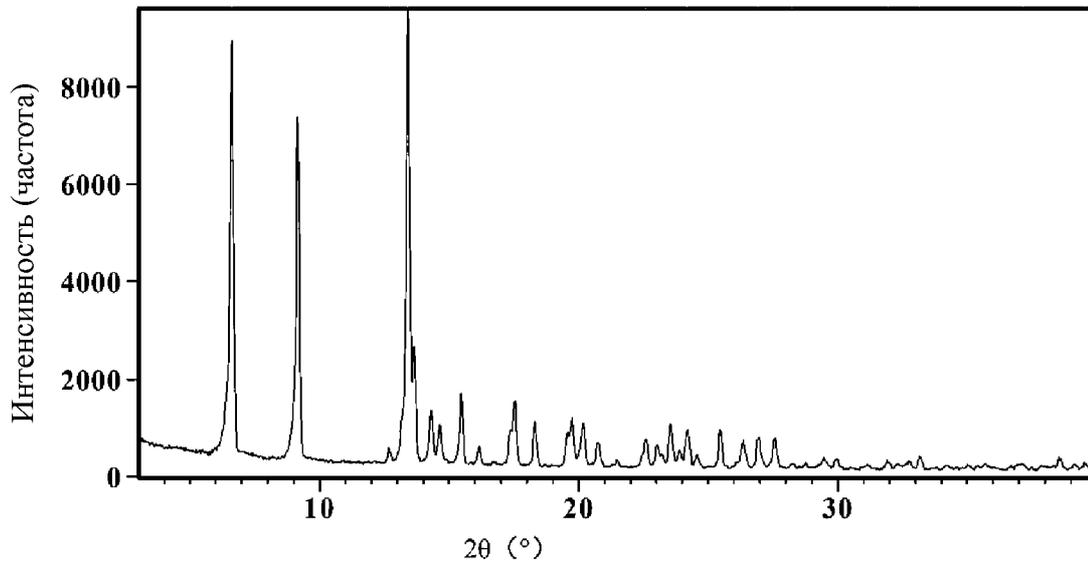
Фиг. 3



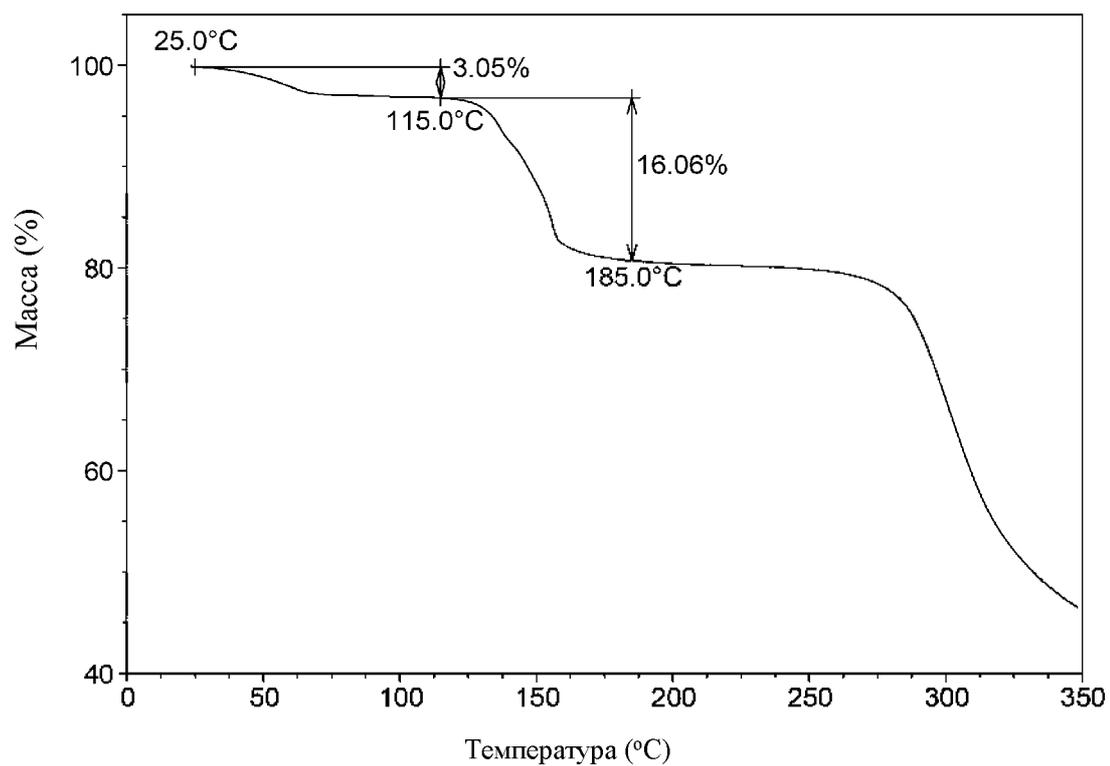
Фиг. 4



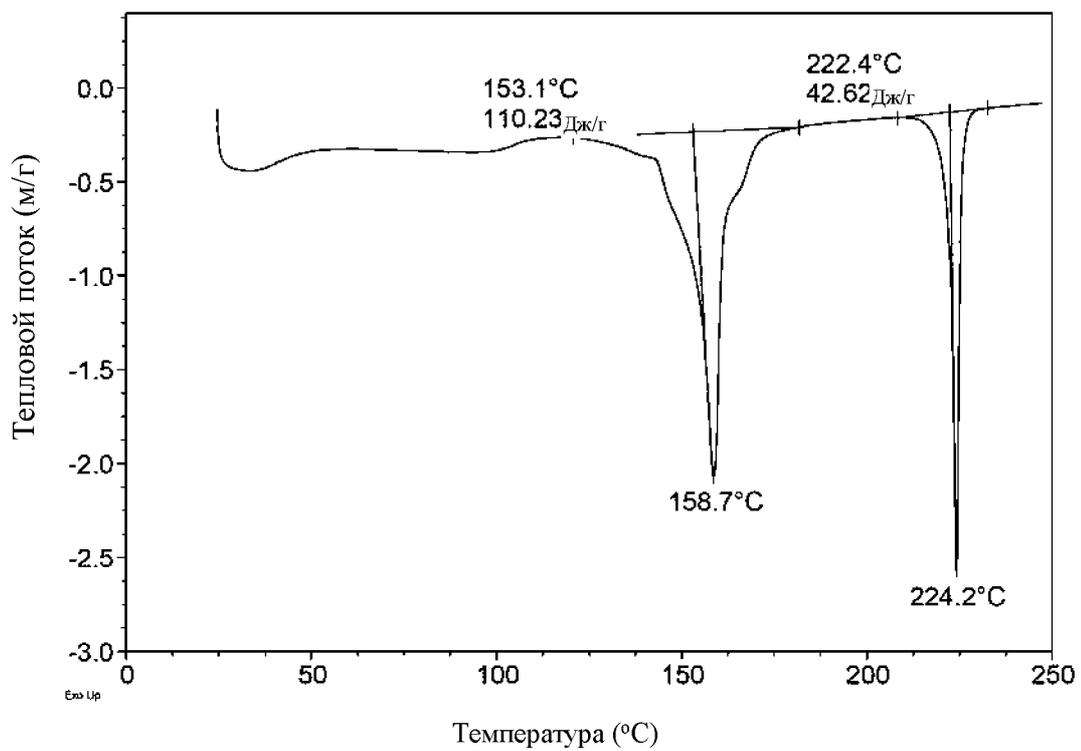
Фиг. 5



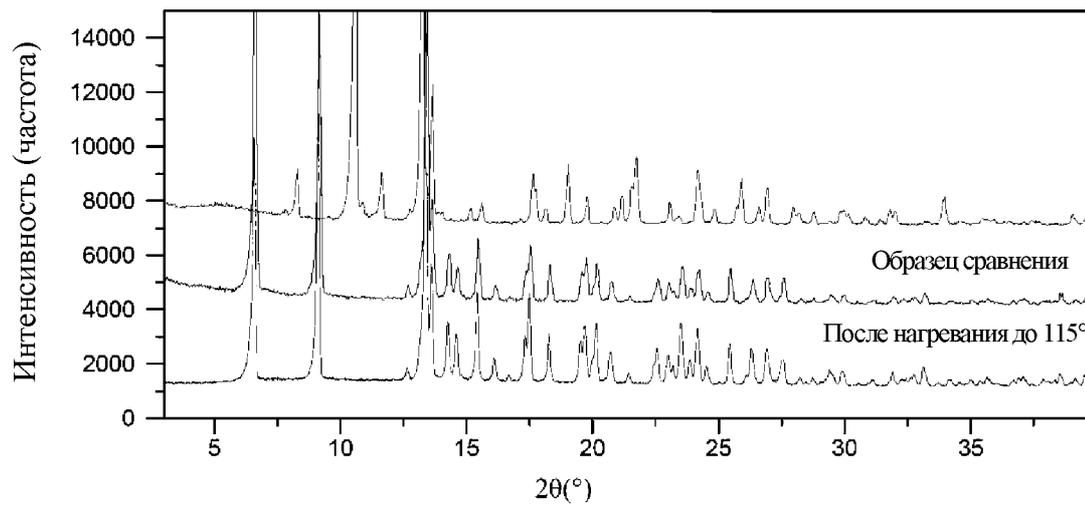
Фиг. 6



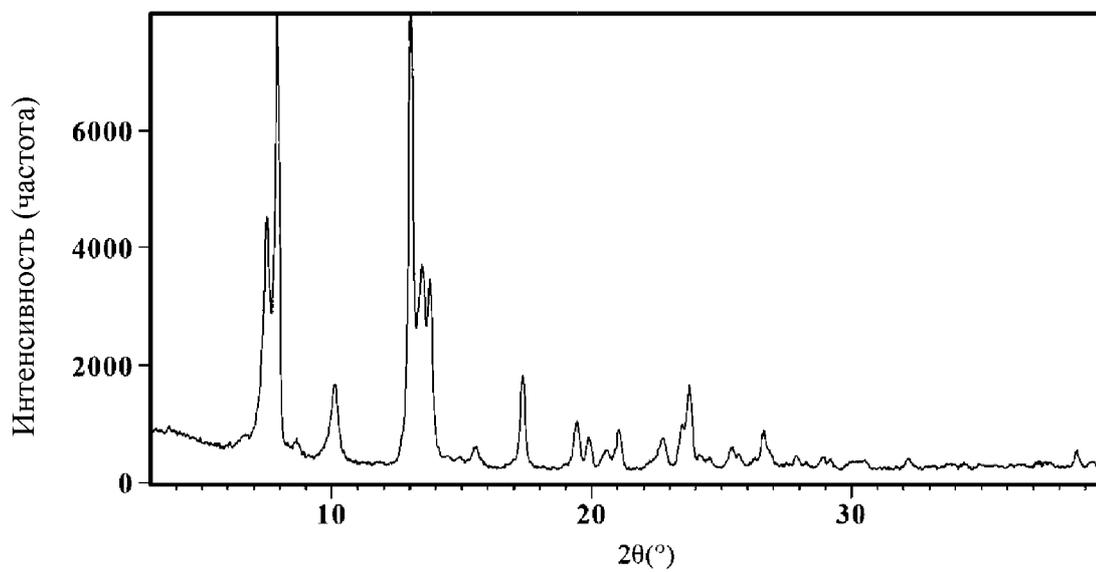
Фиг. 7



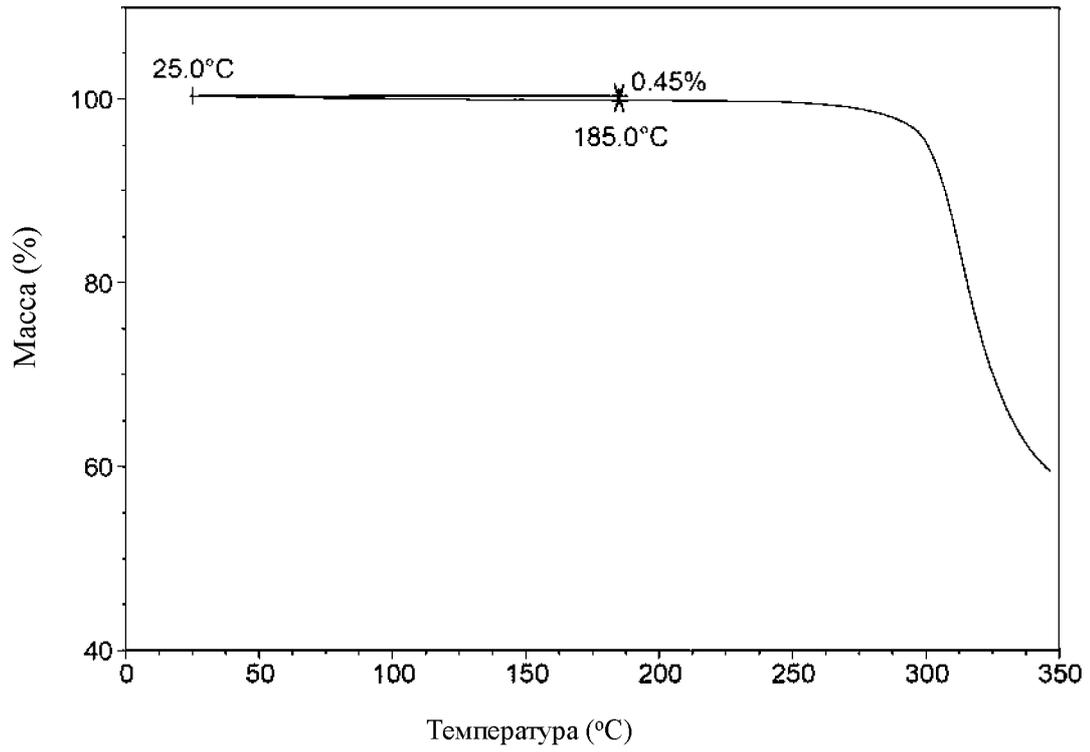
Фиг. 8



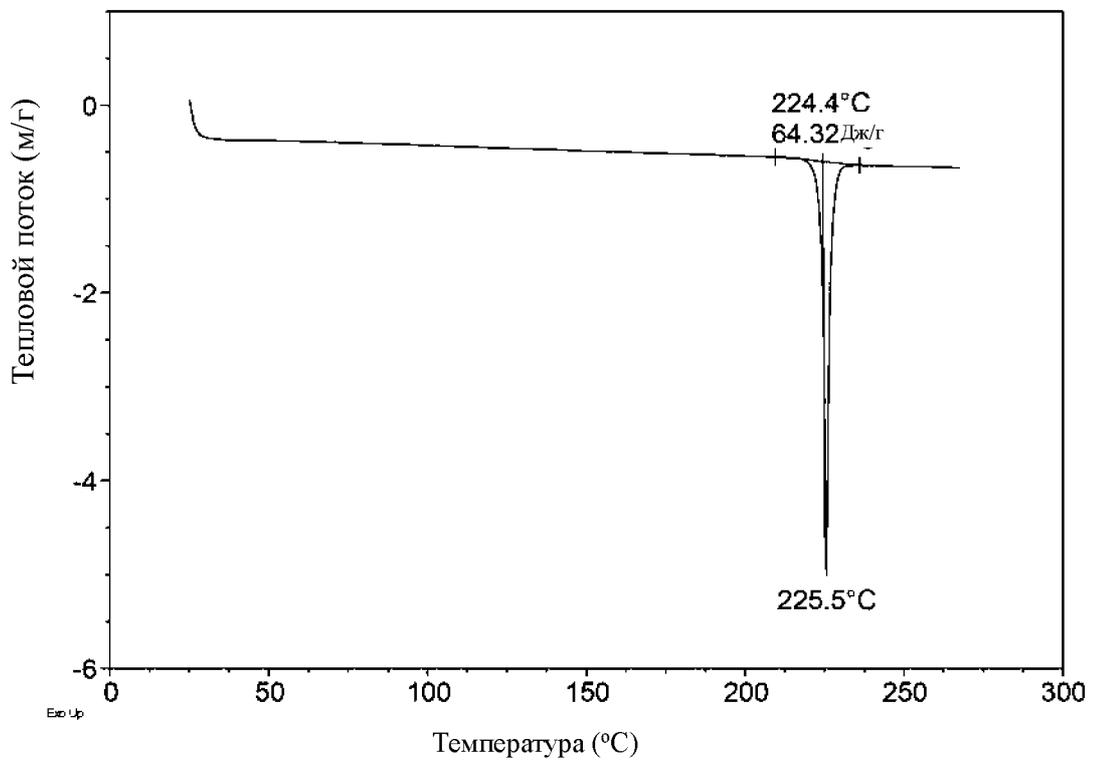
Фиг. 9



Фиг. 10



Фиг. 11



Фиг. 12