

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202390194 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.04.14(22) Дата подачи заявки
2021.06.24

(51) Int. Cl. C07D 471/04 (2006.01)
A61K 31/437 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)
A61P 11/14 (2006.01)
A61P 13/00 (2006.01)
A61P 11/00 (2006.01)
A61P 25/04 (2006.01)

(54) КРИСТАЛЛИЧЕСКАЯ ФОРМА ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКОГО СОЕДИНЕНИЯ, СПОСОБ ЕЕ ПОЛУЧЕНИЯ И ЕЕ ПРИМЕНЕНИЕ

(31) 202010610052.6

(32) 2020.06.29

(33) CN

(86) PCT/CN2021/102068

(87) WO 2022/001820 2022.01.06

(71) Заявитель:

УХАНЬ ЭлЭл САЕНС ЭНД
ТЕКНОЛОДЖИ ДЕВЕЛОПМЕНТ
КО., ЛТД. (CN)

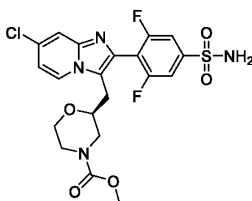
(72) Изобретатель:

Ван Лян, Лоу Цзюнь, Хун Хуаюнь, Го
Сяодань, Цянь Линьа, Чжан Ихань,
Чэн Юнкай, Ван Чаодун (CN)

(74) Представитель:

Кузнецова С.А. (RU)

(57) Представлены кристаллическая форма соединения, представленного формулой А, кристаллическая форма, являющаяся кристаллической формой I, кристаллической формой II, кристаллической формой III, кристаллической формой IV, кристаллической формой V, кристаллической формой VI, кристаллической формой VII, кристаллической формой VIII или кристаллической формой IX, способ их получения, их композиция и их применение в получении антагониста рецептора P2X3 или их применение в получении лекарственных средств, предотвращающих и/или лечащих боли, заболевания мочевыводящих путей или заболевания дыхательной системы. Соединение имеет высокую антагонистическую активность в отношении P2X3 и имеет хорошую селективность, низкую токсичность, хорошую метаболическую стабильность и незначительное влияние на вкус.



A1

202390194

202390194

A1

**КРИСТАЛЛИЧЕСКАЯ ФОРМА ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКОГО СОЕДИНЕНИЯ,
СПОСОБ ЕЕ ПОЛУЧЕНИЯ И ЕЕ ПРИМЕНЕНИЕ**

[1] Настоящая заявка испрашивает приоритет следующей заявки на патент Китая 2020106100526, поданной 29 июня 2020 г. Содержание вышеуказанной заявки на патент Китая включено в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

[2] Настоящее изобретение относится к области медицинской химии и, в частности, относится к кристаллической форме гетероциклического соединения, способу ее получения и ее применению.

ПРЕДПОСЫЛКИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

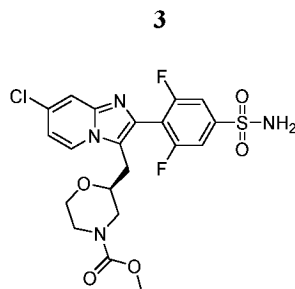
[3] Рецепторы АТФ классифицируются по двум основным семействам, пуринаргические рецепторы P2Y и P2X, на основе их молекулярной структуры, механизма трансдукции и фармакологических свойств. Пуринаргический рецептор P2X представляет собой семейство АТФ-зависимых катионных каналов, и несколько подтипов были клонированы, включая шесть гомополимерных рецепторов, P2X1, P2X2, P2X3, P2X4, P2X5 и P2X7; и три гомополимерных рецептора, P2X2/3, P2X4/6, P2X1/5. Было обнаружено, что рецептор P2X3 специфически экспрессируется в первичных афферентных нервных волокнах «полых органов», таких как нижние мочевыводящие пути и дыхательные пути.

[4] Кашель является основным симптомом респираторных заболеваний, и 70-80% пациентов в респираторных клиниках имеют симптомы кашля. С увеличением преобладания COPD и IPF и подобного кашель является основным симптомом большинства респираторных заболеваний, и потребность также увеличивается. Как защитный нервный рефлекс организма, кашель является полезным для очистки от респираторных секретов и вредных факторов, но частый и тяжелый кашель будет серьезно влиять на работу, жизнь и общественную деятельность пациентов.

[5] Нет множества разновидностей антагонистов P2X₃, специально разработанных для показаний при кашле, и проект с быстрым прогрессом представляет проект AF-219 от Roche, который имеет хороший эффект на рефрактерный кашель в последнем завершенном клиническом исследовании II фазы, но нарушение вкуса является серьезной проблемой.

[6] В настоящее время на рынке нет лекарственного средства для ингибирования пути P2X₃ для лечения множества заболеваний, включая хронический кашель. Таким образом, разработка новых соединений, которые могут ингибировать активность P2X₃, имеет положительное значение для лечения заболеваний.

[7] Патентная заявка CN201911379293.8 включает антагониста P2X₃, как показано ниже, который имеет высокую антагонистическую активность в отношении P2X₃ и имеет хорошую селективность, низкую токсичность, хорошую метаболическую стабильность и незначительное влияние на вкус. И антагонист имеет хорошие перспективы для разработки лекарственных средств. Однако он не включает кристаллическую форму соединения.

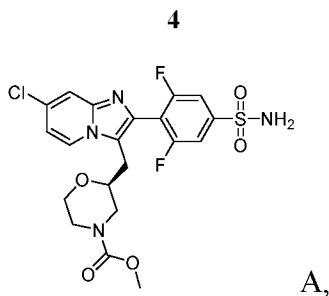


[8] Соединение обычно характеризуется полиморфизмом и обычно лекарственное средство может существовать в двух или более различных кристаллических формах. Существующая форма и количество полиморфных соединений являются непредсказуемыми, и различные кристаллические формы одного и того же лекарственного средства имеют значительные различия в растворимости, температуре плавления, плотности, стабильности и т.д., что влияет на тип температуры, гомогенность, биодоступность, эффективность и безопасность лекарственного средства в разной степени. Таким образом, в процессе исследования и разработки новых лекарственных средств необходимо проводить обстоятельный полиморфный скрининг соединений, и большое клиническое значение имеет выбор кристаллической формы, подходящей для разработки фармацевтических препаратов.

СОДЕРЖАНИЕ НАСТОЯЩЕГО ИЗОБРЕТЕНИЯ

[9] Настоящее изобретение предусматривает кристаллическую форму гетероциклического соединения, и способ ее получения, и ее применение. Кристаллические формы настоящего изобретения имеют хорошую стабильность и имеют важный показатель в отношении оптимизации и разработки лекарственных средств.

[10] Настоящее изобретение предусматривает кристаллическую форму соединения формулы А или ее сольват:



[11] кристаллическая форма выбрана из кристаллической формы I, кристаллической формы II, кристаллической формы III, кристаллической формы IV, кристаллической формы V, кристаллической формы VI, кристаллической формы VII, кристаллической формы VIII и кристаллической формы IX.

[12] Настоящее изобретение предусматривает кристаллическую форму III соединения формулы A, где кристаллическая форма III характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой (XRPD), содержащей характеристические дифракционные пики при следующих значениях угла 2θ : $12,91^\circ \pm 0,20^\circ$, $16,77^\circ \pm 0,20^\circ$, $19,27^\circ \pm 0,20^\circ$ и $22,80^\circ \pm 0,20^\circ$.

[13] В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения XRPD кристаллической формы III также содержит характеристические пики при следующих значениях угла 2θ : $13,75^\circ \pm 0,20^\circ$, $14,46^\circ \pm 0,20^\circ$ и $20,86^\circ \pm 0,20^\circ$; дополнительно содержит характеристические пики при следующих значениях угла 2θ : $21,08^\circ \pm 0,20^\circ$, $23,75^\circ \pm 0,20^\circ$ и $24,05^\circ \pm 0,20^\circ$.

[14] В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения кристаллическая форма III характеризуется дифрактограммой XRPD, представленной углом 2θ , по сути как показано на фиг. 1. На термограмме термogrавиметрического анализа (TGA) кристаллической формы III кристаллическая форма III характеризуется потерей веса, составляющей 1,5%, в диапазоне от комнатной температуры (к.т.) до

100°C и «%» представляет собой весовой процент. На термограмме дифференциальной сканирующей калориметрии (DSC) кристаллической формы III первый эндотермический пик соответствует удалению 0,4 воды, а второй эндотермический пик объясняется эндотермическим пиком плавления после дегидратации образца, и графики TGA и DSC предпочтительно являются такими, как показано на фиг. 2. После дегидратации кристаллической формы III кристалл быстро абсорбирует влагу при влажности окружающей среды и становится кристаллической формой III снова, и дифрактограммы XRPD перед и после нагревания для дегидратации предпочтительно являются такими, как показано на фиг. 3. График динамической адсорбции влаги (DVS) кристаллической формы III показывает, что образец имеет некоторую гигроскопичность, и содержание воды изменяется незначительно в широком диапазоне влажности, и график DVS предпочтительно является таким, как показано на фиг. 4. На дифрактограмме XRPD перед и после теста DVS кристаллической формы III нет очевидного изменения в XRPD перед тестом DVS и после него, и дифрактограмма XRPD перед тестом DVS и после него предпочтительно является такой, как показано на фиг. 5. На графике с поляризационного микроскопа (PLM) кристаллической формы III кристаллическая форма представляет собой кристалл неправильной формы размером приблизительно 2 мкм, и агломерация составляет 20-50 мкм, и график с PLM предпочтительно по сути является таким, как показано на фиг. 6. Чистота кристаллической формы III обычно составляет более 90%, предпочтительно более 95%.

[15] Настоящее изобретение предусматривает кристаллическую форму V соединения формулы A, где кристаллическая форма V характеризуется XRPD, содержащей

характеристические дифракционные пики при следующих значениях угла 2θ : $8,38^\circ \pm 0,20^\circ$, $9,15^\circ \pm 0,20^\circ$, $13,52^\circ \pm 0,20^\circ$ и $18,44^\circ \pm 0,20^\circ$.

[16] В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения XRPD кристаллической формы V также содержит характеристические пики при следующих значениях угла 2θ : $16,26^\circ \pm 0,20^\circ$, $16,89^\circ \pm 0,20^\circ$ и $17,86^\circ \pm 0,20^\circ$; дополнительно содержит характеристические пики при следующих значениях угла 2θ : $22,35^\circ \pm 0,20^\circ$, $23,56^\circ \pm 0,20^\circ$ и $24,74^\circ \pm 0,20^\circ$.

[17] В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения кристаллическая форма V характеризуется дифрактограммой XRPD, представленной углом 2θ , по сути как показано на фиг. 7. На термограмме TGA кристаллической формы V нет потери веса в диапазоне температур от к.т. до 230°C . На термограмме DSC кристаллической формы V присутствует эндотермический пик при $166^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$, и энтальпия плавления составляет 70 ± 2 Дж/г, и графики TGA и DSC предпочтительно являются такими, как показано на фиг. 8. При объединении графиков DSC и TGA можно увидеть, что продукт представляет собой безводную кристаллическую форму. График DVS кристаллической формы V показывает, что образец имеет некоторую гигроскопичность ($0,7\%$, $80\%\text{RH}$), и график DVS предпочтительно является таким, как показано на фиг. 9. На дифрактограмме XRPD перед и после теста DVS кристаллической формы V нет очевидного изменения в XRPD перед тестом DVS и после него, и дифрактограмма XRPD перед тестом DVS и после него предпочтительно является такой, как показано на фиг. 10. На графике с PLM кристаллической формы V кристаллическая форма представляет собой кристалл неправильной формы размером приблизительно 5 мкм, и график с PLM предпочтительно по сути является таким, как

показано на фиг. 11. Чистота кристаллической формы V обычно составляет более 90%, предпочтительно более 95%.

[18] Настоящее изобретение предусматривает кристаллическую форму I соединения формулы A, где кристаллическая форма I характеризуется XRPD, содержащей характеристические дифракционные пики при следующих значениях угла 2θ : $8,56^\circ \pm 0,20^\circ$, $12,48^\circ \pm 0,20^\circ$ и $22,13^\circ \pm 0,20^\circ$.

[19] В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения рентгеновская порошковая дифрактограмма кристаллической формы I также содержит характеристические пики при следующих значениях угла 2θ : $13,53^\circ \pm 0,20^\circ$, $14,25^\circ \pm 0,20^\circ$, $25,18^\circ \pm 0,20^\circ$ и $26,07^\circ \pm 0,20^\circ$; дополнительно содержит характеристические пики при следующих значениях угла 2θ : $22,32^\circ \pm 0,20^\circ$, $23,23^\circ \pm 0,20^\circ$ и $23,42^\circ \pm 0,20^\circ$.

[20] В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения кристаллическая форма I характеризуется дифрактограммой XRPD, представленной углом 2θ , по сути как показано на фиг. 12. На термограмме DSC кристаллической формы I присутствует эндотермический пик при $152^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$, и энтальпия плавления составляет 44 ± 2 Дж/г. На термограмме TGA кристаллической формы I нет потери веса в диапазоне температур от к.т. до 230°C . Термограмма TGA и DSC является таким, как показано на фиг. 13. При объединении графиков DSC и TGA можно увидеть, что продукт представляет собой безводную кристаллическую форму. График DVS кристаллической формы I является таким, как показано на фиг. 14, и когда относительная влажность составляет более 40%, вес кристаллической формы I быстро увеличивается. Когда относительная влажность падает до 40%, вся абсорбированная

вода удаляется. На дифрактограмме XRPD кристаллической формы I после абсорбции влаги кристаллическая форма I абсорбирует влагу и преобразуется в гидрат кристаллической формы IV в среде с высокой влажностью, который затем сушат в вакуумной печи при 30°C, и затем преобразуются в исходную кристаллическую форму I, и дифрактограмма XRPD перед и после абсорбции влаги предпочтительно по сути является такой, как показано на фиг. 15. Можно увидеть, что при объединении с результатами теста DVS (фиг. 14), когда относительная влажность среды выше 40%, кристаллическая форма I быстро абсорбирует влагу и преобразуется в гидрат; а когда относительная влажность менее 50%, абсорбированная вода быстро удаляется и преобразуется в кристаллическую форму I. А именно, преобразование между кристаллическими формами I и IV является обратимым. Кристаллическая форма I проявляет гигроскопичность (6,8%, 80%RH), и кристаллическая форма кристаллической формы I остается неизменной после теста DVS, и XRPD-дифрактограмма перед тестом DVS и после него является такой, как показано на фиг. 16. На графике с PLM кристаллической формы I кристаллическая форма представляет собой кристалл неправильной формы размером приблизительно 5 мкм, и график с PLM предпочтительно по сути является таким, как показано на фиг. 17. Чистота кристаллической формы I обычно составляет более 90%, предпочтительно более 95%.

[21] Настоящее изобретение предусматривает кристаллическую форму II сольвата на основе МТВЕ соединения формулы А, где кристаллическая форма II имеет XRPD, содержащую характеристические дифракционные пики при следующих значениях угла 2θ: $8,42^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $12,09^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $13,68^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$ и $20,87^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$.

[22] В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения XRPD кристаллической формы II также содержит характеристические пики при следующих значениях угла 2θ : $16,17^\circ \pm 0,20^\circ$, $16,93^\circ \pm 0,20^\circ$, $17,55^\circ \pm 0,20^\circ$ и $21,20^\circ \pm 0,20^\circ$; дополнительно содержит характеристические пики при следующих значениях угла 2θ : $22,60^\circ \pm 0,20^\circ$, $23,23^\circ \pm 0,20^\circ$ и $24,40^\circ \pm 0,20^\circ$.

[23] В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения кристаллическая форма II характеризуется дифрактограммой XRPD, представленной углом 2θ , по сути как показано на фиг. 18. На графике ядерного магнитного резонанса (Н-ЯМР) кристаллической формы II есть остаточные сигналы МТВЕ при химических сдвигах 1,11 и 3,08, и график Н-ЯМР остаточного МТВЕ является таким, как показано на фиг. 19. На термограмме TGA кристаллической формы II присутствует потеря веса 3,5% в диапазоне температур от 100°C до 160°C и потеря веса 2,9% в диапазоне от 160°C до 200°C . На термограмме DSC кристаллической формы II присутствуют два соседних эндотермических пика, и графики TGA и DSC предпочтительно являются такими, как показано на фиг. 20. По сравнению с графиком Н-ЯМР остаточного МТВЕ, как показано на фиг. 19, можно увидеть, что продукт представляет собой сольват на основе МТВЕ. На графике с PLM кристаллической формы III кристаллическая форма представляет собой кристалл неправильной формы размером приблизительно 2 мкм, и PLM предпочтительно по сути является таким, как показано на фиг. 21.

[24] Настоящее изобретение предусматривает кристаллическую форму IV гидрата соединения формулы А, где кристаллическая форма IV имеет XRPD, содержащую характеристические дифракционные пики при следующих значениях угла 2θ : $8,65^\circ \pm 0,20^\circ$, $12,69^\circ \pm 0,20^\circ$ и $22,56^\circ \pm 0,20^\circ$.

[25] В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения XRPD кристаллической формы IV также содержит характеристические пики при следующих значениях угла 2θ : $13,48^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $17,39^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $21,04^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$ и $23,63^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$; дополнительно содержит характеристические пики при следующих значениях угла 2θ : $14,39^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $25,60^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$ и $26,52^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$.

[26] В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения кристаллическая форма IV характеризуется дифрактограммой XRPD, представленной углом 2θ , по сути как показано на фиг. 22. На термограмме TGA кристаллической формы IV присутствует потеря веса 1,2% в диапазоне от к.т. до 60°C . На термограмме DSC кристаллической формы IV присутствуют два соседних эндотермических пика, первый широкий эндотермический пик, как предполагается, вызван дегидратацией, а следующий эндотермический пик представляет собой пик плавления, и графики TGA и DSC предпочтительно являются такими, как показано на фиг. 23. Кристаллическая форма IV стабильна только в среде с высокой влажностью, и после дегидратации кристаллическая форма IV быстро абсорбирует влагу при влажности окружающей среды и снова становится кристаллической формой I, и дифрактограмма XRPD перед нагреванием и после него для дегидратации предпочтительно является такой, как показано на фиг. 24. На графике с PLM кристаллической формы IV кристаллическая форма представляет кристалл неправильной формы размером приблизительно 5 мкм, и график с PLM предпочтительно по сути является таким, как показано на фиг. 25. Чистота кристаллической формы IV обычно составляет более 90%, предпочтительно более 95%.

[27] Настоящее изобретение предусматривает кристаллическую форму VI гидрата соединения формулы А, где кристаллическая форма VI характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, содержащей характеристические дифракционные пики при следующих значениях угла 2θ : $8,62^\circ \pm 0,20^\circ$, $12,69^\circ \pm 0,20^\circ$ и $22,59^\circ \pm 0,20^\circ$.

[28] В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения XRPD кристаллической формы VI также содержит характеристические пики при следующих значениях угла 2θ : $13,46^\circ \pm 0,20^\circ$, $17,41^\circ \pm 0,20^\circ$, $26,51^\circ \pm 0,20^\circ$, $25,62^\circ \pm 0,02^\circ$ и $25,24^\circ \pm 0,20^\circ$; дополнительно содержит характеристические пики при следующих значениях угла 2θ : $23,64^\circ \pm 0,20^\circ$, $21,00^\circ \pm 0,20^\circ$ и $27,85^\circ \pm 0,20^\circ$.

[29] В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения кристаллическая форма VI характеризуется дифрактограммой XRPD, представленной углом 2θ , по сути как показано на фиг. 26. На графике наложения XRPD кристаллической формы VI образец кристаллической формы преобразуется в кристаллическую форму I после помещения в условия влажности окружающей среды (35% RH) на несколько минут. Дифрактограмма XRPD является такой, как показано на фиг. 27. Это указывает на то, что кристаллическая форма VI может быть очень нестабильным гидратом. Чистота кристаллической формы VI обычно составляет более 90%, предпочтительно более 95%.

[30] Настоящее изобретение предусматривает кристаллическую форму VII сольвата на основе этиленгликоля соединения формулы А, где кристаллическая форма VII характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, содержащей характеристические дифракционные пики при следующих значениях угла 2θ : $8,36^\circ \pm$

$0,20^\circ$, $12,13^\circ \pm 0,20^\circ$, $12,45^\circ \pm 0,20^\circ$, $16,84^\circ \pm 0,20^\circ$ и $21,66^\circ \pm 0,20^\circ$.

[31] В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения XRPD кристаллической формы VII также содержит характеристические пики при следующих значениях угла 2θ : $21,07^\circ \pm 0,20^\circ$ и $24,82^\circ \pm 0,20^\circ$; дополнительно содержит характеристические пики при следующих значениях угла 2θ : $13,61^\circ \pm 0,20^\circ$, $23,22^\circ \pm 0,20^\circ$ и $24,57^\circ \pm 0,20^\circ$.

[32] В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения кристаллическая форма VII характеризуется дифрактограммой XRPD, представленной углом 2θ , по сути как показано на фиг. 28. На графике ^1H -ЯМР кристаллическая форма VII, химические сдвиги δ при 3,39 и 4,44 показывают остаточный растворитель, представляющий собой этиленгликоль, и график ^1H -ЯМР остаточного этиленгликоля предпочтительно является таким, как показано на фиг. 29. На термограмме TGA кристаллической формы VII присутствует потеря веса 25,7% в диапазоне от к.т. до $25,7^\circ\text{C}$. На термограмме DSC кристаллической формы VII присутствуют два широких эндотермических пика, первый эндотермический пик, как предполагается, вызван десольвентизацией, и графики TGA и DSC предпочтительно являются такими, как показано на фиг. 30. При объединении графиков DSC и TGA можно увидеть, что продукт представляет собой сольват на основе этиленгликоля. Чистота кристаллической формы VII обычно составляет более 90%, предпочтительно более 95%.

[33] Настоящее изобретение предусматривает кристаллическую форму VIII сольвата на основе THF соединения формулы A, где кристаллическая форма VII характеризуется

порошковой рентгеновской дифрактограммой, содержащей характеристические дифракционные пики при следующих значениях угла 2θ : $8,53^\circ \pm 0,20^\circ$, $12,38^\circ \pm 0,20^\circ$, $13,66^\circ \pm 0,20^\circ$ и $21,49^\circ \pm 0,20^\circ$.

[34] В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения рентгеновская порошковая дифрактограмма кристаллической формы VIII также содержит характеристические пики при следующих значениях угла 2θ : $20,99^\circ \pm 0,20^\circ$, $24,94^\circ \pm 0,20^\circ$ и $25,31^\circ \pm 0,20^\circ$; дополнительно содержит характеристические пики при следующих значениях угла 2θ : $17,14^\circ \pm 0,20^\circ$, $21,72^\circ \pm 0,20^\circ$ и $23,00^\circ \pm 0,20^\circ$.

[35] В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения кристаллическая форма VIII характеризуется дифрактограммой XRPD, представленной углом 2θ , по сути как показано на фиг. 31. На термограмме TGA кристаллической формы VIII присутствует потеря веса 5,7% в диапазоне от к.т. до 60°C . На термограмме DSC кристаллической формы VIII есть только один эндотермический пик, который является пиком плавления образца после десольвентизации. Таким образом, кристаллическая форма VIII представляет собой сольват, содержащий THF, и графики TGA и DSC предпочтительно являются такими, как показано на фиг. 32. На графике ^1H -ЯМР кристаллической формы VIII химические сдвиги δ при 1,76 и 3,60 показывают остаточный растворитель, представляющий собой THF, и график ^1H -ЯМР предпочтительно является таким, как показано на фиг. 33. Кристаллическая форма VIII нестабильна, и после десольвентизации (вакуумная сушка при 40°C в течение 3 часов) она преобразуется в кристаллическую форму I, и дифрактограмма XRPD перед сушкой и после нее предпочтительно является такой, как показано на фиг. 34. Чистота

кристаллической формы VIII обычно составляет более 90%, предпочтительно более 95%.

[36] Настоящее изобретение предусматривает кристаллическую форму IX сольвата на основе DMSO соединения формулы A, где кристаллическая форма IX имеет XRPD, содержащую характеристические дифракционные пики при следующих значениях угла 2θ : $8,55^\circ \pm 0,20^\circ$, $12,43^\circ \pm 0,20^\circ$, $21,75^\circ \pm 0,20^\circ$ и $25,07^\circ \pm 0,20^\circ$.

[37] В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения XRPD кристаллической формы IX также содержит характеристические пики при следующих значениях угла 2θ : $13,57^\circ \pm 0,20^\circ$, $17,18^\circ \pm 0,20^\circ$, $20,94^\circ \pm 0,20^\circ$ и $25,57^\circ \pm 0,20^\circ$; дополнительно содержит характеристические пики при следующих значениях угла 2θ : $21,37^\circ \pm 0,20^\circ$ и $23,12^\circ \pm 0,20^\circ$.

[38] В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения кристаллическая форма IX характеризуется дифрактограммой XRPD, представленной углом 2θ , по сути как показано на фиг. 35. На термограмме TGA кристаллической формы IX потеря веса в диапазоне температур от к.т. до 160°C составляет 18,23%, и присутствует соответствующий эндотермический пик, соответствующий потере веса при TGA на термограмме DSC, и графики TGA и DSC предпочтительно являются такими, как показано на фиг. 36. На графике ^1H -ЯМР кристаллической формы IX химический сдвиг δ при 2,68 показывает остаточный растворитель-DMSO, и график ^1H -ЯМР предпочтительно является таким, как показано на фиг. 60. При объединении графиков DSC и TGA можно увидеть, что продукт представляет собой сольват на

основе DMSO. Чистота кристаллической формы IX обычно составляет более 90%, предпочтительно более 95%.

[39] В настоящем раскрытии дифрактограмма XRPD измеряется с помощью спектра с $K\alpha$ -спектром.

[40] В настоящем раскрытии рентгеновская порошковая дифрактограмма измерена с помощью типа мишени с Cu-мишенью.

[41] Настоящее изобретение также предусматривает способ получения кристаллической формы III вещества A, при этом способ получения представлен схемой 1, схемой 2 или схемой 3;

[42] схема 1 включает следующие стадии: преобразование суспензии аморфной формы соединения формулы A и растворителя в кристаллическую форму III вещества A; растворитель представляет собой водный или спиртовой растворитель;

[43] схема 2 включает следующие стадии: добавление антирастворителя в раствор соединения формулы A и растворителя и обеспечение кристаллизации в кристаллическую форму III вещества A; растворитель выбран из группы, состоящей из спиртов, фуранов и DMSO; и антирастворитель представляет собой воду;

[44] схема 3 включает следующие стадии: добавление раствора соединения A и растворителя в водный раствор A и обеспечение кристаллизации в кристаллическую форму III вещества A, водный раствор A представляет собой суспензию затравочных кристаллов кристаллической формы III вещества A и воды; и растворитель представляет собой DMSO.

[45] В способе получения кристаллической формы III, когда принимается схема 1, растворитель предпочтительно является водой или метанолом.

[46] В способе получения кристаллической формы III, когда принимается схема 1, температура кристаллизации составляет от 20°C до 50°C, предпочтительно 40°C или 50°C.

[47] В способе получения кристаллической формы III, когда принимается схема 1, отношение веса и объема аморфной формы соединения формулы A к растворителю составляет 50 мг/мл.

[48] В способе получения кристаллической формы III, когда принимается схема 2, растворитель предпочтительно выбран из группы, состоящей из метанола, тетрагидрофурана и DMSO.

[49] В способе получения кристаллической формы III, когда принимается схема 2, объемное отношение растворителя к воде составляет от 3:1 до 1:1 (например, 1:1 или 3:1).

[50] В способе получения кристаллической формы III, когда принимается схема 3, объемное отношение растворителя к воде составляет от 1:1 до 1:4 (например, 1:1, 2:3, 1:2 или 1:4).

[51] В способе получения кристаллической формы III, когда принимается схема 1, способ получения предпочтительно включает следующие стадии: преобразование суспензии аморфной формы соединения A и растворителя; и растворитель представляет собой воду или метанол. Температура перемешивания составляет от 20°C до 50°C,

предпочтительно 40°C. Объемно-весовое отношение аморфной формы соединения А к растворителю составляет 50 мг/мл.

[52] В способе получения кристаллической формы III, когда принимается схема 2, способ получения кристаллической формы III предпочтительно включает следующие стадии: смешивание соединения А с растворителем, а затем медленное добавление по каплям в антирастворитель; растворитель выбран из группы, состоящей из метанола, тетрагидрофурана и DMSO; антирастворитель является водой; и объемное отношение растворителя к воде составляет от 3:1 до 1:1 (например, 3:1 или 1:1).

[53] В способе получения кристаллической формы III, когда принимается схема 3, способ получения кристаллической формы III предпочтительно включает следующие стадии: добавление раствора соединения А и растворителя в водный раствор А и обеспечение кристаллизации, при этом водный раствор А представляет собой суспензию затравочных кристаллов кристаллической формы III вещества А и воды; растворитель представляет собой DMSO; объемное отношение DMSO к воде составляет от 1:1 до 1:4 (например, 1:1, 2:3, 1:2 или 1:4).

[54] Настоящее изобретение также предусматривает способ получения кристаллической формы V соединения формулы А, при этом способ получения представлен схемой А или схемой В;

[55] схема А содержит следующие стадии: преобразование суспензии аморфной формы соединения формулы А и растворителя в кристаллическую форму V вещества А при 20-50°C; растворитель представляет собой воду или нитрильный растворитель;

[56] схема В содержит следующие стадии: обеспечение испарения растворителя из

раствора соединения формулы A и растворителя с получением кристаллической формы V соединения A; растворитель представляет собой спиртовой растворитель.

[57] На схеме A объемно-весовое отношение аморфной формы соединения A к растворителю составляет предпочтительно 3,0 мг/мл или 50 мг/мл.

[58] На схеме A растворитель предпочтительно представляет собой воду или ацетонитрил.

[59] На схеме A температура преобразования кристалла предпочтительно составляет 50°C.

[60] На схеме B растворитель предпочтительно представляет собой метанол.

[61] В некотором варианте осуществления схемы A схема содержит следующие стадии: преобразование суспензии аморфной формы соединения A и растворителя в кристаллическую форму V соединения при 20-50°C; растворитель представляет собой воду или ацетонитрил; температура кристаллизации предпочтительно составляет 50°C, и объемно-весовое отношение аморфной формы соединения A к растворителю составляет 50 мг/мл или 3,0 мг/мл.

[62] В некотором варианте осуществления схемы B схема включает следующие стадии: обеспечение испарения растворителя из раствора соединения A и растворителя с получением кристаллической формы V соединения A; растворитель представляет собой метанол, температура составляет 50°C.

[63] В настоящем изобретении аморфную форму соединения формулы А получают способом из патентной заявки CN201911379293.8 (см. примеры для подробной информации).

[64] Фармацевтическая композиция, содержащая вышеуказанную кристаллическую форму (например, кристаллическую форму, выбранную из группы, состоящей из кристаллической формы I, кристаллической формы II, кристаллической формы III, кристаллической формы IV, кристаллической формы V, кристаллической формы VI, кристаллической формы VII, кристаллической формы VIII и кристаллической формы IX) соединения, представленного формулой А, или его сольвата и/или вышеуказанную кристаллическую форму III вещества А и фармацевтическое вспомогательное вещество. В настоящем документе дозировка кристаллической формы может представлять собой терапевтически эффективное количество.

[65] Фармацевтическое вспомогательное вещество может быть вспомогательным веществом, широко используемым в области фармацевтического производства. Вспомогательное вещество в основном применяется для обеспечения безопасной, стабильной и функциональной фармацевтической композиции и также может обеспечивать способ, который способствует приему субъектом введения активного ингредиента для растворения с желаемой скоростью, или облегчения эффективного поглощения активного ингредиента после того, как субъект принимает введение композиции. Фармацевтическое вспомогательное вещество может представлять собой инертный наполнитель или может обеспечивать определенные функции, например, стабилизацию общего значения рН композиции или предотвращение разложения активных ингредиентов композиции. Фармацевтическое вспомогательное вещество

может быть выбрано из группы, состоящей из следующих вспомогательных веществ: связующее, суспендирующее средство, эмульгатор, разбавитель, наполнитель, гранулирующее средство, адгезив, разрыхлитель, смазывающее средство, противoadгезивное средство, вещество, способствующее скольжению, увлажняющее средство, гелеобразующее средство, замедлитель абсорбции, ингибитор растворения, средство, повышающее прочность, адсорбент, буфер, хелатообразующее средство, консервант, краситель, ароматизатор и подсластитель.

[66] Вещество, которое можно использовать в качестве фармацевтически приемлемого вспомогательного вещества, включает без ограничения ионообменную смолу, алюминий, стеарат алюминия, лецитин, сывороточный белок, например, человеческий сывороточный белок, буферное вещество, например, фосфат, глицин, сорбиновую кислоту, сорбат калия, смесь частичных глицеридов насыщенной растительной жирной кислоты, воду, соль или электролит, например, сульфат протамина, гидрофосфат динатрия, гидрофосфат калия, хлорид натрия, соль цинка, коллоидный диоксид кремния, трисиликат магния, поливинилпирролидон, полиакрилат, воск, блок-сополимер полиэтилена-полиоксипропилена, ланолин, сахар, например, лактозу, глюкозу и сахарозу; крахмал, например, кукурузный крахмал и картофельный крахмал и их производные, например, карбоксиметилцеллюлозу натрия, этилцеллюлозу и ацетат целлюлозы; порошок каучука из каучуконосного дерева; солод; желатин; порошок талька; например, какао-масло и воск для суппозиторий; например, арахисовое масло, хлопковое масло, масло сафлоры, кунжутное масло, оливковое масло, кукурузное масло и соевое масло; диольное соединение, например, пропиленгликоль и полиэтиленгликоль; такое как этилолеат и этиллаурат; агар; буферное средство, такое как гидроксид магния

и гидроксид алюминия; альгиновую кислоту; апирогенную воду; изотоническую соль; раствор Рингера; этанол, буферный раствор фосфорной кислоты, и другие нетоксичные подходящие смазывающие вещества, например, лаурилсульфат натрия и стеарат магния, краситель, антиадгезив, материал покрытия, подсластитель, ароматизатор и приправу, консервант и антиоксидант.

[67] Фармацевтическая композиция по настоящему изобретению может быть получена любыми способами, известными специалистам в данной области согласно настоящему изобретению. Например, обычными способами смешивания, растворения, гранулирования, эмульгирования, разжижения, инкапсуляции, захвата или лиофилизации.

[68] Настоящее изобретение предусматривает применение вышеуказанной кристаллической формы (например, кристаллической формы, выбранной из группы, состоящей из кристаллической формы I, кристаллической формы II, кристаллической формы III, кристаллической формы IV, кристаллической формы V, кристаллической формы VI, кристаллической формы VII, кристаллической формы VIII и кристаллической формы IX) соединения, представленного формулой A, или его сольвата, вышеуказанной кристаллической формы III вещества A в производстве ингибитора P2X₃. При применении ингибитор P2X₃ можно использовать в организмах млекопитающих; его также можно использовать *in vitro*, главным образом для экспериментальных целей, например, обеспечения сравнения как стандартного образца или контрольного образца, или получения набора согласно обычному методу в данной области, чтобы обеспечить быстрое обнаружение эффекта ингибирования P2X₃.

[69] Настоящее изобретение предусматривает применение вышеуказанной кристаллической формы (например, кристаллической формы, выбранной из группы, состоящей из кристаллической формы I, кристаллической формы II, кристаллической формы III, кристаллической формы IV, кристаллической формы V, кристаллической формы VI, кристаллической формы VII, кристаллической формы VIII и кристаллической формы IX) соединения, представленного формулой A, или его сольвата в производстве лекарственного средства, лекарственное средство представляет собой лекарственное средство, используемое для защиты, борьбы с, лечения или облегчения состояния при по меньшей мере части опосредованных P2X3 или связанных с активностью P2X3 заболеваний животных; альтернативно, лекарственное средство представляет собой лекарственное средство, используемое для лечения боли, заболевания мочевыводящих путей или респираторного заболевания.

[70] Настоящее изобретение предусматривает применение вышеуказанной кристаллической формы (например, кристаллической формы, выбранной из группы, состоящей из кристаллической формы I, кристаллической формы II, кристаллической формы III, кристаллической формы IV, кристаллической формы V, кристаллической формы VI, кристаллической формы VII, кристаллической формы VIII и кристаллической формы IX) соединения, представленного формулой A, или его сольвата, вышеуказанной кристаллической формы III вещества A или вышеуказанной фармацевтической композиции для защиты, борьбы с, лечения или облегчения состояния при по меньшей мере части опосредованных P2X3 или связанных с активностью P2X3 заболеваний животных (таких как человек). Заболевание включает без ограничения респираторное заболевание, кашель, хронический кашель,

идиопатический фиброз легких, хроническую обструкцию легких, астму, боль, недержание мочи, аутоиммунное заболевание, гиперактивность мочевого пузыря, дизурию, воспаление, болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, нарушения сна, эпилепсию, психическое заболевание, артрит, нейродегенеративное заболевание, травматическое повреждение мозга, инфаркт миокарда, ревматоидный артрит, инсульт, тромбоз, атеросклероз, синдром раздраженной толстой кишки, воспалительное заболевание кишечника, заболевание желудочно-кишечного тракта, дисфункцию желудочно-кишечного тракта, дыхательную недостаточность, сексуальные расстройства, сердечно-сосудистое заболевание, сердечную недостаточность, гипертензию, недержание мочи, цистит, артрит, эндометриоз, заболевание крови, нарушения развития опорно-двигательного аппарата и соединительной ткани и системные нарушения.

[71] В некоторых вариантах осуществления заболевание включает боль; боль включает без ограничения воспалительную боль, боль после хирургического вмешательства, висцеральную боль, зубную боль, предменструальную боль, центральную боль, боль из-за ожогов, мигрень и кластерную головную боль.

[72] В некоторых вариантах осуществления заболевание включает заболевание мочевыводящих путей; заболевание мочевыводящих путей включает недержание мочи, гиперактивность мочевого пузыря, дизурию и цистит.

[73] В некоторых вариантах осуществления заболевание включает респираторное заболевание, респираторное заболевание включает без ограничения нарушение дыхания, включающее идиопатический фиброз легких, хроническую обструкцию легких, астму,

бронхоспазм и хронический кашель.

[74] Настоящее изобретение предусматривает способ защиты, борьбы с, лечения или облегчения состояния при по меньшей мере части опосредованных P2X3 или связанных с активностью P2X3 заболеваний животных (таких как человек), включающий введение вышеуказанной кристаллической формы (например, кристаллической формы, выбранной из группы, состоящей из кристаллической формы I, кристаллической формы II, кристаллической формы III, кристаллической формы IV, кристаллической формы V, кристаллической формы VI, кристаллической формы VII, кристаллической формы VIII и кристаллической формы IX) соединения, представленного формулой A, или его сольвата, вышеуказанной кристаллической формы III вещества A и вышеуказанной фармацевтической композиции. Заболевание включает без ограничения респираторное заболевание, кашель, хронический кашель, идиопатический фиброз легких, хроническую обструкцию легких, астму, боль, недержание мочи, аутоиммунное заболевание, гиперактивность мочевого пузыря, дизурию, воспаление, болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, нарушения сна, эпилепсию, психическое заболевание, артрит, нейродегенеративное заболевание, травматическое повреждение мозга, инфаркт миокарда, ревматоидный артрит, инсульт, тромбоз, атеросклероз, синдром раздраженной толстой кишки, воспалительное заболевание кишечника, заболевание желудочно-кишечного тракта, дисфункцию желудочно-кишечного тракта, дыхательную недостаточность, сексуальные расстройства, сердечно-сосудистое заболевание, сердечную недостаточность, гипертензию, недержание мочи, цистит, артрит, эндометриоз, заболевание крови, нарушения развития опорно-двигательного аппарата и соединительной ткани и

системные нарушения.

[75] В некоторых вариантах осуществления заболевание включает боль; боль включает без ограничения воспалительную боль, боль после хирургического вмешательства, висцеральную боль, зубную боль, предменструальную боль, центральную боль, боль из-за ожогов, мигрень и кластерную головную боль.

[76] В некоторых вариантах осуществления заболевание включает заболевание мочевыводящих путей; заболевание мочевыводящих путей включает недержание мочи, гиперактивность мочевого пузыря, дизурию и цистит.

[77] В некоторых вариантах осуществления заболевание включает респираторное заболевание, респираторное заболевание включает без ограничения нарушение дыхания, включающее идиопатический фиброз легких, хроническую обструкцию легких, астму, бронхоспазм и хронический кашель.

[78] Вышеуказанная фармацевтическая композиция характеризуется тем, что побочные эффекты нарушений вкуса, связанных с лечением, снижаются путем введения фармацевтической композиции.

[79] Основываясь на общеизвестных знаниях в данной области, вышеупомянутые предпочтительные условия могут быть произвольно объединены для получения предпочтительных примеров настоящего изобретения.

[80] Реагенты и сырьевые материалы, используемые в данном изобретении, являются коммерчески доступными.

[81] Положительные прогрессивные эффекты, обеспечиваемые настоящим

изобретением, являются следующими.

[82] 1. Кристаллическая форма гетероциклического соединения не упоминалась в уровне техники, и множество новых кристаллических форм соединения были обнаружены в настоящем изобретении впервые. Путем большого числа экспериментов и скрининга настоящее изобретение, во-первых, получено для получения кристаллической формы I, кристаллической формы II, кристаллической формы III, кристаллической формы IV, кристаллической формы V, кристаллической формы VI, кристаллической формы VII, кристаллической формы VIII или кристаллической формы IX и применения в качестве кандидатов.

[83] 2. Часть кристаллических форм, полученных с помощью настоящего изобретения, имеют хорошую стабильность, удобны при хранении, могут избегать риска преобразования кристаллов в ходе разработки или получения лекарственных средств, избегать изменения биодоступности и эффективности, что может разрабатываться для лекарственной формы, подходящей для клинического использования с высокой экономической выгодой.

[84] 3. Настоящее изобретение также предусматривает способы получения кристаллической формы кристаллической формы I, кристаллической формы II, кристаллической формы III, кристаллической формы IV, кристаллической формы V, кристаллической формы VI, кристаллической формы VII, кристаллической формы VIII, соли кристаллической формы IX или ее сольвата, способы простые и легкие в работе, воспроизводимые, нелегки в отношении удержания растворителя, экологичны и подходят для различного крупномасштабного производства.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

[85] На фиг. 1 представлена дифрактограмма XRPD кристаллической формы III.

[86] На фиг. 2 представлен график наложения TGA/DSC кристаллической формы III.

[87] На фиг. 3 представлен график наложения XRPD кристаллической формы III перед и после нагревания для дегидратации.

[88] На фиг. 4 представлен график DVS кристаллической формы III.

[89] На фиг. 5 представлен график наложения XRPD перед тестом DVS кристаллической формы III и после него.

[90] На фиг. 6 представлен график с PLM кристаллической формы III.

[91] На фиг. 7 представлена дифрактограмма XRPD кристаллической формы V.

[92] На фиг. 8 представлен график наложения TGA/DSC кристаллической формы V.

[93] На фиг. 9 представлен график XRPD перед тестом DVS кристаллической формы V и после него.

[94] На фиг. 10 представлен график DVS кристаллической формы V.

[95] На фиг. 11 представлен график с PLM кристаллической формы V.

[96] На фиг. 12 представлена дифрактограмма XRPD кристаллической формы I.

[97] На фиг. 13 представлен график наложения TGA/DSC кристаллической формы I.

[98] На фиг. 14 представлен график DVS кристаллической формы I.

[99] На фиг. 15 представлена дифрактограмма XRPD кристаллической формы I после абсорбции влаги.

[100] На фиг. 16 представлен график наложения XRPD перед тестом DVS кристаллической формы I и после него.

[101] На фиг. 17 представлен график с PLM кристаллической формы I.

[102] На фиг. 18 представлена дифрактограмма XRPD кристаллической формы II.

[103] На фиг. 19 представлен график Н-ЯМР остаточного MTBE кристаллической формы II.

[104] На фиг. 20 представлен график наложения TGA/DSC кристаллической формы II.

[105] На фиг. 21 представлен график с PLM кристаллической формы II.

[106] На фиг. 22 представлена дифрактограмма XRPD кристаллической формы IV.

[107] На фиг. 23 представлен график наложения TGA/DSC кристаллической формы IV.

[108] На фиг. 24 представлен график наложения XRPD после дегидратации кристаллической формы IV.

[109] На фиг. 25 представлена дифрактограмма PLM кристаллической формы IV.

[110] На фиг. 26 представлена дифрактограмма XRPD кристаллической формы VI.

- [111] На фиг. 27 представлен график наложения XRPD кристаллической формы VI.
- [112] На фиг. 28 представлена дифрактограмма XRPD кристаллической формы VII.
- [113] На фиг. 29 представлен график Н-ЯМР остаточного этиленгликоля кристаллической формы VII.
- [114] На фиг. 30 представлен график наложения TGA/DSC кристаллической формы VII.
- [115] На фиг. 31 представлена дифрактограмма XRPD кристаллической формы VIII.
- [116] На фиг. 32 представлен график наложения TGA/DSC кристаллической формы VIII.
- [117] На фиг. 33 представлен график Н-ЯМР кристаллической формы VIII и сырьевого материала.
- [118] На фиг. 34 представлен график наложения XRPD кристаллической формы VIII и образца перед сушкой.
- [119] На фиг. 35 представлена дифрактограмма XRPD кристаллической формы IX.
- [120] На фиг. 36 представлен график наложения TGA/DSC кристаллической формы IX.
- [121] На фиг. 37 представлен график наложения XRPD кристаллической формы III, полученной из аморфного образца.

[122] На фиг. 38 представлен график наложения DSC и TGA кристаллической формы III, полученной из аморфного образца.

[123] На фиг. 39 представлен график наложения XRPD кристаллической формы III, суспендированной в смешанном растворителе с различными объемными отношениями.

[124] На фиг. 40 представлена диаграмма наложения XRPD 200 мг навески кристаллической формы III.

[125] На фиг. 41 представлен график с PLM 200 мг навески кристаллической формы III.

[126] На фиг. 42 представлен график наложения XRPD кристаллической формы III (3 г).

[127] На фиг. 43 представлен график наложения XRPD после дегидратации кристаллической формы III перед суспендированием в воде при комнатной температуре и после него.

[128] На фиг. 44 представлен результат теста в отношении активности воды кристаллической формы I.

[129] На фиг. 45 представлен результат теста в отношении активности воды кристаллической формы V.

[130] На фиг. 46 представлен график наложения XRPD сравнительного эксперимента суспендирования кристаллической формы I и кристаллической формы V.

[131] На фиг. 47 представлены результаты данных стабильности кристаллических форм I и V в твердом состоянии.

[132] На фиг. 48 представлен график наложения XRPD в тесте в отношении стабильности образца кристаллической формы I.

[133] На фиг. 49 представлен график наложения XRPD в тесте в отношении стабильности образца кристаллической формы III.

[134] На фиг. 50 представлен график наложения XRPD перед тестом с измельчением кристаллической формы I и после него.

[135] На фиг. 51 представлен график наложения XRPD перед тестом с давлением кристаллической формы I и после него.

[136] На фиг. 52 представлен график наложения XRPD перед тестом с измельчением кристаллической формы III и после него.

[137] На фиг. 53 представлен график наложения XRPD перед тестом с давлением кристаллической формы III и после него.

[138] На фиг. 54 представлен график данных растворимости кристаллических форм I, III и V.

[139] На фиг. 55 представлен график наложения XRPD оставшегося твердого вещества в тесте в отношении растворимости кристаллической формы I.

[140] На фиг. 56 представлен график наложения XRPD оставшегося твердого вещества в тесте в отношении растворимости кристаллической формы V.

[141] На фиг. 57 представлен график наложения XRPD оставшегося твердого вещества в тесте в отношении растворимости кристаллической формы III.

[142] На фиг. 58 представлен график с PLM аморфного образца.

[143] На фиг. 59 представлен график наложения DSC и TGA аморфного образца.

[144] На фиг. 60 представлен график ^1H -ЯМР кристаллической формы IX.

[145] На фиг. 61 представлен график наложения XRPD в тесте в отношении стабильности образца кристаллической формы V.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ПРЕДПОЧТИТЕЛЬНОГО ВАРИАНТА ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ

[146] Настоящее изобретение дополнительно описано ниже с помощью вариантов осуществления, однако при этом настоящее изобретение не ограничивается объемом описанных вариантов осуществления. Экспериментальные способы, для которых не определены конкретные условия в следующих примерах, выбраны согласно обычным способам и условиям или согласно техническим инструкциям.

[147] Настоящее изобретение будет далее описано более подробно со ссылкой на конкретные варианты осуществления. Для дополнительного понимания настоящего изобретения эти варианты осуществления используются для иллюстрации базовых принципов, основных признаков и преимуществ настоящего изобретения, и настоящее изобретение не ограничено следующими вариантами осуществления. Условия

реализации, применимые в примерах, можно дополнительно регулировать согласно конкретным требованиям, и не указанные условия реализации обычно являются таковыми, как в обычных экспериментах.

[148] В следующих вариантах осуществления экспериментальный способ обычно проводится согласно обычным условиям или обычным условиям тестирования, и соединение можно получать путем органического синтеза или путем коммерчески доступных способов. Соединение, используемое в следующем варианте осуществления, получается путем коммерчески доступного способа, и чистота достигает 99%.

[149] Сокращения, используемые в настоящем изобретении, поясняются следующим образом.

[150] XPRD—порошковая рентгеновская дифрактограмма

[151] TGA—термогравиметрический анализ

[152] DSC—дифференциальная сканирующая калориметрия

[153] DVS—динамическая сорбция паров

[154] PLM—микроскопия в поляризованном свете

[155] Условия тестирования являются следующими.

[156] XRPD

[157] Свойства твердых веществ определяли с помощью порошкового

рентгеновского дифрактометра (Brooke D8 advance или D2 Phase).

[158] Угол сканирования: 3° (2θ) - 40° (2θ).

[159] Размер шага: $0,02^{\circ}$ (2θ).

[160] Скорость сканирования: 0,3 с/шаг (D8), 0,2 с/шаг (D2).

[161] Напряжение на трубке: 40 кВ (D8), 30 кВ (D2).

[162] Ток на трубке: 40 мА (D8), 10 мА (D2).

[163] Вращение: Вкл.

[164] Поднос для образца: поднос для образца с нулевым фоном.

[165] TGA

[166] Образцы твердого вещества анализировали с помощью термогравиметрического анализа, используя прибор для термогравиметрического анализа Q500 от TA Instrument или Discovery TGA 55. После уравнивания подноса для образца образец подвешивали на подвесной проволоке и помещали на печь. После стабилизации образец нагревали со скоростью $10^{\circ}\text{C}/\text{мин.}$ до различных конечных температур.

[167] DSC

[168] Образцы твердого вещества анализировали с помощью DSC, используя дифференциальный сканирующий калориметр Q200 от TA Instrument и Discovery DSC 250. Образцы взвешивали и значения записывали, а затем образцы помещали в камеру

для образцов. Образец нагревали со скоростью 10°C/мин. от 25°C до различных конечных температур.

[169] DVS

[170] Твердое вещество анализировали с помощью DVS, используя прибор для динамической сорбции паров IGA sorp.

[171] Температура: 25°C.

[172] Поток газа: 250 мл/мин.

[173] Цикл сканирования: 2.

[174] Минимальное время тестирования: 30 мин.

[175] Максимальное время тестирования: 2 часа.

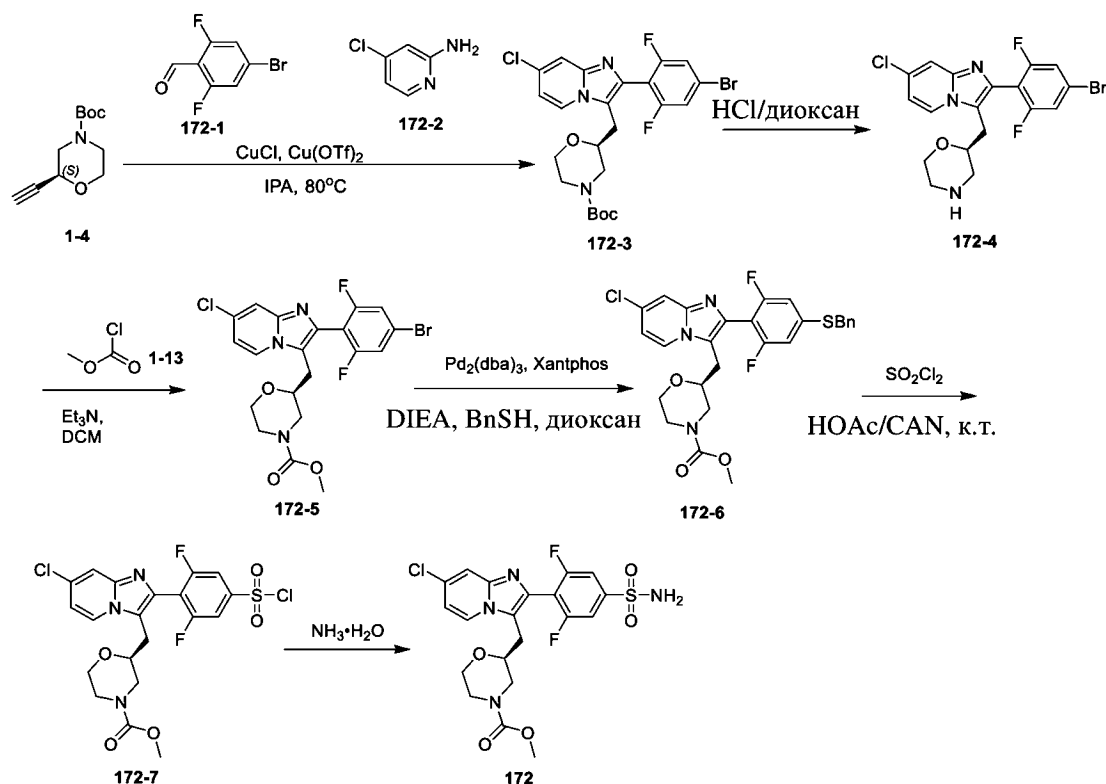
[176] Ожидание для уравнивания: 98%.

[177] PLM

[178] За образцом наблюдали с помощью поляризационного микроскопа Nikon Eclipse LV100N POL.

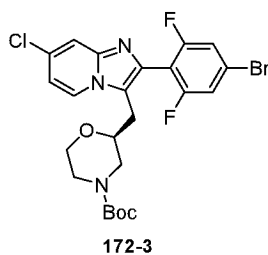
[179] Вариант осуществления 1. Получение соединения формулы А

36



[180] Стадия 1. Получение

трет-бутил-(*S*)-2-((2-(4-бром-2,6-дифторфенил)-7-хлоримидазо[1,2-*a*]пиридин-3-ил)метил)морфолин-4-карбоксилата



[181] *трет*-Бутил-(*S*)-2-этинилморфолин-4-карбоксилат (3,1 г, 1,0 экв., промежуточное соединение 1-4), 4-бром-2,6-дифторбензальдегид (2,76 г, 1,0 экв., соединение 172-1), 4-хлорпиридин-2-амин (1,61 г, 1,0 экв., соединение 172-2), CuCl (0,37 г, 0,3 экв.), Cu(OTf)₂ (1,36 г, 0,3 экв.) и изопропанол (50 мл) добавляли в круглодонную колбу объемом 100 мл по очереди, и реакционный раствор замещали

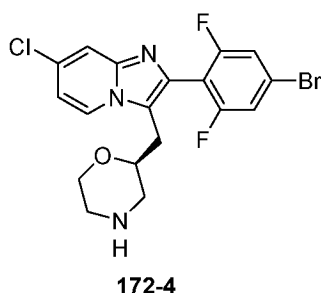
азотом 3 раза, а затем нагревали в течение ночи на масляной бане при 80°C, смесь определяли с помощью TLC, и TLC показала, что исходное соединение 172-2 исчезало. Изопропанол выпаривали досуха в роторном испарителе и смесь экстрагировали с помощью ЕА и аммиачной воды по очереди, а затем фазу ЕА отбирали, промывали насыщенным соевым раствором и лимонной кислотой, а затем сушили над безводным сульфатом натрия, смесь выпаривали досуха с помощью роторного испарителя и очищали на колонке с получением промежуточного соединения 172-3 в виде белого твердого вещества (3,0 г, чистота 78%). LC-MS: $[M+H]^+ = 542,2$.

[182] Стадия

2.

Получение

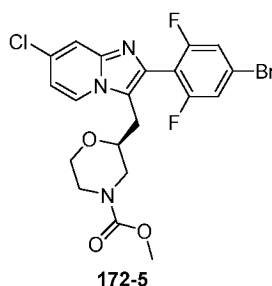
(S)-2-((2-(4-бром-2,6-дифторфенил)-7-хлоримидазо[1,2-*a*]пиридин-3-ил)метил)морфолина



[183] Промежуточное соединение 172-3 (2,67 г) растворяли в дихлорметане (24 мл), и в него добавляли гидрохлорид диоксана (24 мл), и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1,0 часа, и смесь обнаруживали с помощью LC-MS, и LC-MS показала, что реакция заканчивалась. Реакционный раствор выпаривали досуха с помощью роторного испарителя и добавляли воду (15 мл) и дихлорметан (15 мл), а затем водную фазу удаляли после экстракции, и pH водной фазы доводили до слабощелочной (pH=8-9) с помощью водного раствора бикарбоната натрия. Фазу

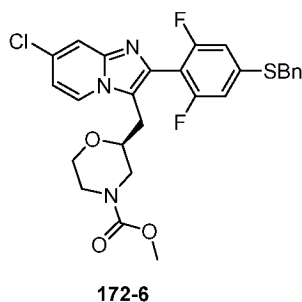
дихлорметана отделяли и водную фазу экстрагировали дихлорметаном (10 мл×2). Фазу дихлорметана объединяли, промывали насыщенным солевым раствором, и выпаривали досуха с помощью роторного испарителя с получением промежуточного соединения 172-4 в виде белого твердого вещества (1,70 г, чистота 88,6%). LC-MS: $[M+H]^+ = 442,1$.

[184] Стадия 3. Получение метил-(*S*)-2-((2-(4-бром-2,6-дифторфенил)-7-хлоримидazo[1,2-*a*]пиридин-3-ил)метил)морфолин-4-карбоксилата



[185] Промежуточное соединение 172-4 (1,4 г, 1,0 экв.) растворяли в дихлорметане (10 мл), затем триэтиламин (480 мг, 1,5 экв.) и метилхлорацетат (388 мг, 1,3 экв.) добавляли по каплям в него. LC-MS показала образование продукта через 1,0 час реакции. После завершения реакции воду (10 мл) добавляли и смесь перемешивали в течение 30 мин., а затем фазу дихлорметана отделяли и водную фазу экстрагировали дихлорметаном (10 мл×2). Фазу дихлорметана объединяли, промывали насыщенным хлоридом натрия, сушили над безводным сульфатом натрия и выпаривали досуха с помощью роторного испарителя и смесь очищали колонкой с получением промежуточного соединения 172-5 в виде белого твердого вещества (1,01 г, чистота 93,02%). LC-MS: $[M+H]^+ = 499,8$.

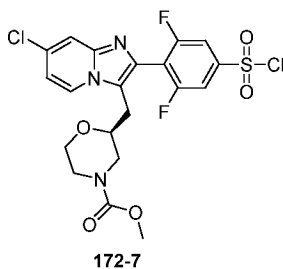
[186] Стадия 4. Получение метил-(*S*)-2-((2-(4-(бензилтио)-2,6-дифторфенил)-7-хлоримидазо[1,2-*a*]пиридин-3-ил)метил)морфолин-4-карбоксилата



[187] Промежуточное соединение 172-5 (0,73 г, 1,0 экв.) растворяли в диоксане (4 мл), затем в раствор добавляли BnSH (0,24 г, 1,3 экв.), Pd₂(dba)₃ (0,04 г, 0,03 экв.), Xantphos (0,04 г, 0,05 экв.) и DIEA (0,60 г, 3,0 экв.) и смесь замещали с помощью N₂ три раза и приводили в реакцию в течение ночи при 80°C. С помощью LCMS отслеживали что исходный материал полностью исчезал. В реакционный раствор добавляли дихлорметан (10 мл) и воду (10 мл), а затем фазу дихлорметана отделяли и водную фазу экстрагировали дихлорметаном (10 мл×2). Фазу дихлорметана объединяли, промывали насыщенным хлоридом натрия, сушили над безводным сульфатом натрия и выпаривали досуха с помощью роторного испарителя и смесь очищали колонкой с получением промежуточного соединения 172-6 в виде белого твердого вещества (0,82 г, чистота 91,53%). LC-MS: [M+H]⁺ = 544,2.

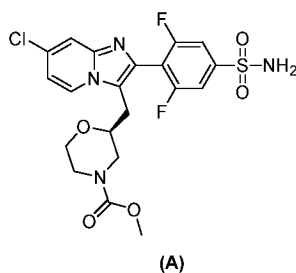
[188] Стадия 5. Получение метил-(*S*)-2-((7-хлор-2-(4-(хлорсульфонил)-2,6-дифторфенил)имидазо[1,2-*a*]пиридин-3-ил)метил)морфолин-4-карбоксилата

40



[189] Промежуточное соединение 172-6 (510 мг) добавляли в реакционную колбу и ацетонитрил (3 мл) добавляли для растворения, а затем в смесь добавляли ледяную уксусную кислоту (281 мг, 5,0 экв.) и SO_2Cl_2 (506 мг, 4,0 экв.) добавляли по каплям на ледяной бане. И затем обеспечивали осуществление реакции в смеси при 0°C в течение 1 часа. LCMS показала, что исходный материал исчезал и образовывалось промежуточное соединение 172-7. Реакционный раствор непосредственно применяли для следующей реакции без последующей обработки.

[190]	Стадия	6.	Получение
	метил-(<i>S</i>)-2-((7-хлор-2-(2,6-дифтор-4-сульфамойлфенил)имидазо[1,2- <i>a</i>]пиридин-3-ил)метил)морфолин-4-карбоксилата		



[191] При 0°C аммиачную воду (2 мл), разбавленную ацетонитрилом (1 мл), добавляли по каплям в вышеуказанный реакционный раствор, и смесь приводили в реакцию при комнатной температуре в течение 0,5 часа. LCMS показала, что исходный материал полностью исчезал и образовывался целевой продукт.

Реакционный раствор экстрагировали водой и этилацетатом 2 раза и промывали соевым раствором, а затем сушили над безводным сульфатом натрия, смесь концентрировали и разделяли, а затем очищали на колонке C18 (вода/ацетонитрил, $R_t=22,5$ минут). Соединение А, белое твердое вещество, получали в аморфном состоянии. (185 мг, чистота 99,74%). LC-MS: $[M+H]^+ = 501,1$.

[192] ^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) $\delta = 8,11$ (d, $J=7,4$, 1H), 7,29 (d, $J=1,6$, 1H), 7,22 (s, 2H), 7,14 (d, $J=6,6$, 2H), 6,60 (dd, $J=7,4$, 2,1, 1H), 3,33 (d, $J=12,8$, 1H), 3,13 (d, $J=11,3$, 2H), 3,07 (s, 3H), 2,97 (d, $J=7,8$, 1H), 2,77-2,69 (m, 1H), 2,69-2,61 (m, 1H), 2,53 (dd, $J=15,5$, 8,3, 1H).

[193] Вариант осуществления 2. Последующая обработка исходных материалов

[194] Получали всего 11,1 г соединения А, ссылаясь на вариант осуществления 1, и добавляли 20 мл ацетона, и смесь нагревали с обратным холодильником при 65°C (под защитой азота) в течение 2,0 часов, ацетон прямо выпаривали досуха с помощью роторного испарителя, и сушили под вакуумом при 40°C в течение 12 часов, а затем ядерный магнитный резонанс показал, что было приблизительно 1% остаточного ацетона. После вакуумной сушки при 80°C в течение 12 часов ^1H -ЯМР показал, что все еще был остаток ацетона. 5,3 г остатка снова сушили под вакуумом при 80°C в течение 12 часов и ядерный магнитный резонанс показал, что все еще был остаток ацетона. Партию продуктов добавляли в ацетонитрил (16 мл) и нагревали с обратным холодильником при 85°C (под защитой азота) в течение 2,0 часов, а затем ацетонитрил прямо выпаривали досуха с помощью роторного испарителя, а затем сушили под вакуумом при 80°C в течение 12 часов, и ядерный магнитный резонанс показал, что нет

остатка растворителя, и помещали на хранение для 5,2 г. Чистота продукта в виде белого порошка составляла 99,29%.

[195] График с PLM и результаты XRPD показали, что исходный материал представлял собой кристалл неправильной формы размером 10-50 мкм с общей кристалличностью и аморфным состоянием. Как показано на фиг. 37, график DSC показал, что исходный материал имеет два соединенных эндотермических пика от приблизительно 150 до 180°C и температуры пиков составляют $164\pm 2^\circ\text{C}$ и $173^\circ\text{C}\pm 2^\circ\text{C}$ соответственно, как показано на фиг. 38, график TGA показал, что образец был по сути невесомым до 230°C.

[196] Вариант осуществления 3. Получение и определение характеристик аморфной формы соединения формулы A

[197] 3.1 Соединение A растворяли в некотором количестве THF и концентрировали под пониженным давлением досуха с получением аморфного образца. Определение характеристик с помощью XRPD является таким, как показано на фиг. 37.

[198] Вариант осуществления 4. Получение и определение характеристик кристаллической формы I соединения формулы A

[199] 4.1 Выбирали девять видов растворителей. EtOH, IPA, NBA, MEK, ACN, ацетон, EA, IPAc, Непт, и смесь суспендировали и разжижали при комнатной температуре, концентрация суспензии составляла 60 мг/мл, с получением кристаллической формы I.

[200] 4.2 Выбирали шесть видов растворителей. IPA, NBA, MEK, ацетон, Tol, EA, и смесь суспендировали и разжижали при 50°C, концентрация суспензии составляла 100 мг/мл, с получением кристаллической формы I.

[201] 4.3 Выбор растворителя: IPAc, смесь суспендировали и разжижали при 50°C, концентрация суспензии составляла 50 мг/мл, с получением кристаллической формы I;

[202] 4.4 Кристаллическую форму I можно получать путем медленного охлаждения и кристаллизации в метаноле и этаноле при температуре от 50°C до к.т.;

[203] 4.5 Тетрагидрофуран использовали как хороший растворитель для растворения образца с образованием раствора образца с некоторой концентрацией и Tol, Нерт или воду медленно добавляли в раствор образца по каплям как антирастворители, с объемным отношением 1:10 соответственно, чтобы улучшить пересыщение и осаждение твердого вещества с получением кристаллической формы I.

[204] 4.6 EtOH выбирали в качестве растворителя для теста в отношении кристаллизации летучего вещества с получением кристаллической формы I.

[205] XRPD кристаллической формы I, представленная углом 2θ , является такой, как показано на фиг. 12. На термограмме DSC кристаллической формы I присутствует эндотермический пик при 152°C и энтальпия плавления составляет 44 ± 2 Дж/г. На термограмме TGA кристаллической формы I нет потери веса в диапазоне температур от к.т. до 230°C. График TGA и DSC является таким, как показано на фиг. 13. На объединенном графике DSC и TGA можно увидеть, что продукт представляет собой безводную кристаллическую форму. График DVS кристаллической формы I является таким, как показано на фиг. 14, и когда относительная влажность составляет более 40%,

вес кристаллической формы I быстро увеличивается. Когда относительная влажность падает до 40%, вся абсорбированная вода удаляется. На XRPD-дифрактограмме кристаллической формы I после абсорбции влаги кристаллическая форма I абсорбирует влагу и преобразуется в гидрат кристаллической формы IV в среде с высокой влажностью, который затем сушат в вакуумной печи при 30°C, и затем преобразуется в исходную кристаллическую форму I, и XRPD-дифрактограмма после абсорбции влаги является такой, как показано на фиг. 15. Можно увидеть, что в комбинации с результатами теста DVS (фиг. 14), когда относительная влажность окружающей среды выше 40%, кристаллическая форма I быстро абсорбирует влагу и преобразуется в гидрат; а когда относительная влажность менее 50%, абсорбированная вода быстро удаляется и преобразуется в кристаллическую форму I. А именно, преобразование между кристаллическими формами I и IV является обратимым. Кристаллическая форма I показывает гигроскопичность (6,8%, 80%RH), и кристаллическая форма остается неизменной после теста DVS, и XRPD-дифрактограмма перед тестом DVS и после него является такой, как показано на фиг. 16. На графике с PLM кристаллической формы I кристаллическая форма представляет собой кристалл неправильной формы размером приблизительно 5 мкм, и график с PLM является таким, как показано на фиг. 17.

[206] Вариант осуществления 5. Получение и определение характеристик кристаллической формы II соединения формулы A.

[207] 5.1 В МТВЕ смесь суспендировали и разжижали при комнатной температуре с получением кристаллической формы II.

[208] 5.2 Выбор растворителя: МТВЕ, смесь суспендировали и разжижали при 50°C, концентрация суспензии составляла 100 мг/мл с получением кристаллической формы II.

[209] 5.3 Тетрагидрофуран использовали как хороший растворитель для растворения образца с получением раствора образца с некоторой концентрацией, и МТВЕ медленно добавляли в раствор образца по каплям в качестве антирастворителей, с объемным отношением 1:10, чтобы улучшить пересыщение и осаждение твердого вещества с получением кристаллической формы II.

[210] Рентгеновская порошковая дифрактограмма кристаллической формы II, представленная углом 2θ , является такой, как показано на фиг. 18. На графике ядерного магнитного резонанса кристаллической формы II есть остаточные сигналы МТВЕ при химических сдвигах 1,10 и 3,08 с мольным отношением 0,39; график Н-ЯМР остаточного МТВЕ является таким, как показано на фиг. 19. На термограмме TGA кристаллической формы II присутствует потеря веса 3,5% в диапазоне температур от 100 до 160°C и присутствует потеря веса 2,9% в диапазоне от 160 до 200°C. На термограмме DSC кристаллической формы II есть два соседних эндотермических пика, и графики TGA и DSC являются такими, как показано на фиг. 20. Это эквивалентно графику Н-ЯМР остаточного МТВЕ, как показано на фиг. 19, можно увидеть, что продукт представляет собой сольват на основе МТВЕ. На графике с PLM кристаллической формы II кристаллическая форма является кристаллом неправильной формы размером приблизительно 2 мкм, и график с поляризационного микроскопа является таким, как показано на фиг. 21.

[211] Вариант осуществления 6. Получение и определение характеристик кристаллической формы III соединения формулы A.

[212] 6.1 Выбор растворителя: вода, смесь суспендировали и разжижали при 50°C, концентрация суспензии составляла 50 мг/мл с получением кристаллической формы III.

[213] 6.2 Аморфный образец суспендировали и разжижали в воде с получением кристаллической формы III при 40°C; в частности, образец растворяли в метаноле, фильтровали с получением раствора образца, а затем выпаривали с помощью роторного испарителя с получением 250 мг аморфного образца. Смесь суспендировали и разжижали при комнатной температуре через 20 часов с получением кристаллической формы III. Путем тестов в отношении определения характеристик с помощью XRPD, DSC и TGA затравочные кристаллы чистой кристаллической формы III успешно получали и использовали в качестве последующего эксперимента по расширению.

[214] 6.3 Кристаллическую форму III получали путем кристаллизации осаждением из растворителя-антирастворителя и вызванного затравочными кристаллами образования ядер путем добавления затравочного кристалла. В частности, образец растворяли в смешанном растворителе с конкретным отношением, как показано в таблице 1 заранее, и фильтровали с получением насыщенного раствора, кристаллическую форму III добавляли в насыщенный раствор как затравочный кристалл, а затем воду медленно добавляли как антирастворитель для осаждения твердого вещества и активации кристаллизации. Образец твердого вещества, полученный фильтрацией, тестировали с помощью XRPD. Результаты эксперимента являются такими, как показано в таблице 1, и результаты показывают, что кристаллическая форма III является нестабильной в

вышеуказанной системе и преобразуется в сольват или нестабильный гидрат. Рассматривая растворимость и предел остаточного растворителя, DMSO является третьим видом растворителя, и растворимость составляет свыше 100 мг/мл, поэтому DMSO выбран для следующего исследования.

[215] Таблица 1. Результаты эксперимента кристаллизации осаждением из растворителя-антирастворителя

Растворитель/антирастворитель	Об./об	Температура (°C)	Способ осуществления эксперимента	Результаты эксперимента
MeOH/вода	3/1	40	Кристаллическую форму III добавляли в насыщенный раствор как затравочный кристалл, а затем воду медленно добавляли и твердое вещество медленно осаждалось.	Кристаллическая форма IV Гидрат

THF/вода	1/1	40-К. т.	Кристаллическую форму III добавляли в насыщенный раствор как затравочный кристалл, а затем воду медленно добавляли для возникновения осаждения масла, и смесь охлаждали до комнатной температуры, и твердое вещество медленно осаждалось.	Кристаллическая форма VIII И затем твердое вещество преобразовалось в кристаллическую форму I после сушки.
DMSO/вода	3/1	40	Воду медленно добавляли для возникновения осаждения масла	Н. д.

DMSO/вода	1/1	40	Кристаллическую форму III добавляли в насыщенный раствор как затравочный кристалл, а затем воду медленно добавляли и твердое вещество медленно осаждалось.	Кристаллическая форма IX Сольват на основе DMSO
-----------	-----	----	--	--

[216] 6.4 Из результатов эксперимента 6.3 выше можно увидеть, что сложно получить целевую кристаллическую форму III путем добавления антирастворителя в способ кристаллизации раствора образца с хорошим растворителем, поэтому рассматривается получение целевой кристаллической формы путем кристаллизации соединения А путем добавления по каплям образцов, растворенных в органических растворителях, в водный раствор, в котором диспергирован затравочный кристалл. Конкретный способ работы является следующим: во-первых, образец растворяли в DMSO и фильтровали с получением раствора в DMSO, а затем смесь добавляли в водный раствор с затравочными кристаллами, диспергируемыми медленно. Осажденное твердое вещество преобразовалось в целевую кристаллическую форму III при воздействии затравочного кристалла. Как показано в таблице 2 и на фиг. 1, стабильность кристаллической формы III в различных пропорциях систем смешанных растворителей

из DMSO/воды исследовали для определения соответствующего отношения растворителя/антирастворителя, чтобы обеспечить стабильное существование кристаллической формы III в системе. Результаты эксперимента показали, что кристаллическая форма III может быть стабильной в смешанном растворителе DMSO/вода с содержанием воды свыше 60% (объемные проценты) без преобразования кристаллов при комнатной температуре. Когда содержание воды составляет менее 60%, кристаллическая форма III преобразуется в сольват на основе DMSO (кристаллическая форма IX).

[217] Таблица 2. Результаты стабильности кристаллической формы III в смешанных растворителях с различными объемными отношениями

Растворитель/антирастворитель	Об./об.	Способ осуществления эксперимента	Результаты эксперимента
DMSO/вода	1/1	Кристаллическую форму III суспендируют в смешанном растворителе в течение трех дней при комнатной температуре	Кристаллическая форма IX
	2/3		Сольват на основе DMSO
	1/2		Кристаллическая форма III
	1/4		

[218] Рассматривая выход целевого продукта, теоретические выходы кристаллической формы III при вышеуказанном отношении рассчитывали для дополнительного определения отношения смешанного растворителя. Как показано в

таблице 3, для отношений DMSO/вода 1:2, 1:3 и 1:4 теоретические выходы являются практически одинаковыми и все выходы составляют свыше 99%, поскольку растворимость кристаллической формы III в этих трех растворителях относительно мала.

[219] Таблица 3. Теоретические выходы кристаллической формы III в смешанных растворителях DMSO/вода с различными объемными отношениями

Растворитель	Растворимость (мг/мл, к.т.)	Теоретический выход (%)
DMSO	>200	/
DMSO/вода 1: 2	приблизительно 0,5	99,3%
DMSO/вода 1: 3	приблизительно 0,28	99,4%
DMSO/вода 1: 4	< 0,25	99,4%

[220] 6.5 Расширение кристаллической формы III (200 мг)

[221] При комнатной температуре образец растворяли в DMSO и фильтровали с получением раствора в DMSO, который медленно добавляли в воду по каплям с затравочными кристаллами кристаллической формы III, диспергированными со скоростью 25 мкл/мин., и с увеличением количества раствора DMSO, добавляемого по каплям, осаждение твердого вещества постепенно повышалось (DMSO/вода 1:2, объемное отношение). XRPD подтверждала (фиг. 2), что образцы твердого вещества, вновь осадившиеся, были практически аморфной формой, и с продлением времени реакции и влияния затравочного кристалла после перемешивания магнитной мешалкой

при комнатной температуре в течение 16 часов, все образцы твердого вещества преобразовались в кристаллическую форму III. Наблюдали, что после завершения реакции, смесь прекращали перемешивать, и твердое вещество быстро осаждалось на дне, и жидкость сверху была по сути прозрачной. После наблюдения с помощью PLM (фиг. 6) обнаружили, что полученный образец кристаллической формы III представлял собой кристалл размером приблизительно 2 мкм, но он легко агломерировался в большие частицы размером 20-50 мкм, поэтому, как только смесь прекращали перемешивать, твердое вещество осаждалось из-за агломерации. Таким образом, кристаллическую форму было легко отфильтровать. В общем, 200 мг образцов кристаллической формы III успешно получали путем кристаллизации осаждением в антирастворителе, с выходом 93,0%, и остаточный DMSO составлял 0,1 вес. % в ¹H-ЯМР, что соответствует пределу остатка растворения (< 0,5 вес. %).

[222] 6.6 Препарат для амплификации кристаллической формы III в граммах

[223] Снижение объема DMSO, повышение температуры реакции, снижение температуры до комнатной температуры после кристаллизации и соответствующего продления времени суспендирования являются полезными для снижения остатка растворителя и повышения выхода. На основе вышеуказанных соображений, препарат для амплификации весом 3 г кристаллической формы III был на основе системы 1:4 DMSO/вода при 40°C, количество затравочных кристаллов составляло 2 вес. %, и скорость добавления раствора DMSO (5 об.) по каплям контролировали на уровне 25 мкл/минуту. Для стимуляции увеличения производства якорную мешалку использовали при скорости вращения 150 об/мин. Реакционную систему суспендировали и разжижали при 40°C в течение 22 часов, и результаты XRPD

показали, что твердое вещество преобразовалось в кристаллическую форму III. Для дополнительного повышения выхода температуру реакции снижали до комнатной температуры, и смесь дополнительно суспендировали и разжижали при комнатной температуре, и через 22 часа образец твердого вещества фильтровали и разжижали водой для удаления остатка DMSO. Как показано на фиг. 42, 3 г кристаллической формы III успешно получали с амплификацией с выходом 96,7%. Как показано на фиг. 43, 0,7% остатка DMSO можно удалять разжижением в воде при комнатной температуре и без преобразования.

[224] Рассматривая проблемы производства соединения, использования растворителя, растворения остатка и выхода продукта, температура процесса кристаллизации конечной кристаллической формы III составляет 40°C, и реакционная система представляет собой 1: 4 DMSO/вода, и объем растворителя составляет 25 об. В общем, кристаллическую форму III можно получать повышением до уровня граммов с выходом до 97%.

[225] XRPD кристаллической формы III, представленная углом 2θ , является такой, как показано на фиг. 1. На термограмме TGA кристаллической формы III кристаллическая форма III характеризуется потерей веса, составляющей 1,5%, в диапазоне от комнатной температуры до 100°C, и «%» представляет весовой процент. При DSC кристаллической формы III первый эндотермический пик представляет удаление 0,4 воды, а второй эндотермический пик объясняется эндотермическим пиком плавления после дегидратации образца, и графики TGA и DSC являются такими, как показано на фиг. 2. После дегидратации кристаллической формы III кристаллическая форма III быстро абсорбирует влагу при влажности окружающей среды и снова

становится кристаллической формой III, и дифрактограмма XRPD перед нагреванием и после него для дегидратации является такой, как показано на фиг. 3. Динамическое поглощение влаги DVS кристаллической формы III показывает, что образец имеет некоторую гигроскопичность, и содержание воды несколько изменяется в широком диапазоне влажности, и график DVS является таким, как показано на фиг. 4. На дифрактограмме XRPD перед тестом DVS кристаллической формы III и после него нет очевидного изменения в XRPD перед тестом DVS и после него, и дифрактограмма XRPD является такой, как показано на фиг. 5. На графике с PLM кристаллической формы III кристаллическая форма представляет собой кристалл неправильной формы размером приблизительно 2 мкм, и агломерация представляет собой 20-50 мкм, и график с PLM является таким, как показано на фиг. 6.

[226] Вариант осуществления 7. Получение и определение характеристик кристаллической формы IV соединения формулы A.

[227] 7.1 Кристаллическую форму IV получают путем абсорбции влаги продукта, представляющего собой кристаллическую форму I, при условии высокой влажности.

[228] 7.2 Суспензию продукта, представляющего собой кристаллическую форму I, суспендируют в 50-95% вода/ацетон (об./об.) с получением кристаллической формы IV.

[229] XRPD кристаллической формы IV, представленная углом 2θ , по сути является такой, как показано на фиг. 22. На термограмме TGA кристаллической формы IV присутствует потеря веса 1,2% в диапазоне от к.т. до 60°C. На термограмме DSC кристаллической формы IV есть два соседних эндотермических пика, первый широкий эндотермический пик, как предполагается, вызван дегидратацией, а последующий

эндотермический пик представляет собой пик плавления, и графики TGA и DSC являются такими, как показано на фиг. 23. При объединении графиков DSC и TGA можно увидеть, что продукт является гидратом с приблизительно 0,34 молекул воды. После того, как кристаллическая форма IV стабилизируется только в среде с высокой влажностью, и после дегидратации кристаллическая форма IV быстро абсорбирует влагу при влажности окружающей среды и снова становится кристаллической формой I, и дифрактограмма XRPD перед нагреванием для дегидратации и после него является такой, как показано на фиг. 24. На графике с PLM кристаллической формы IV кристаллическая форма представляет собой кристалл неправильной формы размером приблизительно 5 мкм, и график с PLM является таким, как показано на фиг. 25.

[230] Вариант осуществления 8. Получение и определение характеристик кристаллической формы V соединения формулы A

[231] 8.1 Выбор растворителя: вода, смесь суспендировали и разжижали при 50°C, и концентрация суспензии составляла 50 мг/мл с получением кристаллической формы V.

[232] 8.2 Выбор растворителя: ACN, смесь суспендировали и разжижали при 50°C, концентрация суспензии составляла 3,0 мг/мл с получением кристаллической формы V.

[233] 8.3 MeOH выбирали как растворитель для теста в отношении кристаллизации летучих веществ с получением кристаллической формы V.

[234] XRPD кристаллической формы V, представленная углом 2θ , является такой, как показано на фиг. 7. На термограмме TGA кристаллической формы V нет потери веса в диапазоне температур от к.т. до 230°C. На термограмме DSC кристаллической формы II присутствует эндотермический пик при $166^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, и энтальпия плавления составляет

70±2 Дж/г, и графики TGA и DSC являются такими, как показано на фиг. 8. При объединении графиков DSC и TGA можно увидеть, что продукт представляет собой безводную кристаллическую форму. График DVS кристаллической формы V показывает на то, что образец имеет некоторую гигроскопичность (0,7%, 80%RH), и график DVS является таким, как показано на фиг. 9. На дифрактограмме XRPD перед тестом DVS кристаллической формы V и после него нет очевидного изменения в XRPD перед тестом DVS и после него, и дифрактограмма XRPD является такой, как показано на фиг. 10. На графике с PLM кристаллической формы V кристаллическая форма представляет собой кристалл неправильной формы размером приблизительно 5 мкм, и график с PLM является таким, как показано на фиг. 11.

[235] Вариант осуществления 9. Получение и определение характеристик кристаллической формы VI соединения формулы A.

[236] 9.1 Кристаллическую форму VI получают путем суспендирования кристаллической формы I или кристаллической формы V при 60 °C в смешанном растворе в вода/ацетон с содержанием воды 10% (объемное отношение) при 60°C.

[237] Рентгеновская порошковая дифрактограмма кристаллической формы VI, представленная углом 2θ , является такой, как показано на фиг. 26. На графике наложения XRPD кристаллической формы VI образец кристаллической формы преобразуется в кристаллическую форму I после помещения в условия влажности окружающей среды (35% RH) на несколько минут. Дифрактограмма XRPD является такой, как показано на фиг. 27. Это указывает на то, что кристаллическая форма VI может быть очень нестабильным гидратом.

[238] Вариант осуществления 10. Получение и определение характеристик кристаллической формы VII соединения формулы A.

[239] 10.1 Выбор растворителя: этиленгликоль, смесь суспендировали и разжижали при 90°C, концентрация суспензии составляла 320 мг/мл с получением кристаллической формы VII.

[240] 10.2 Аморфную форму соединения A медленно охлаждали и кристаллизовали в этиленгликоле при температура от 50°C до к.т. с получением кристаллической формы VII.

[241] XRPD кристаллической формы VII, представленная углом 2θ , является по сути показанной на фиг. 28. При ядерном магнитном резонансе ^1H -ЯМР кристаллической формы VII, химические сдвиги δ при 3,39 и 4,44 показывают остаточный растворитель, представляющий собой этиленгликоль, и график ^1H -ЯМР является таким, как показано на фиг. 29. На термограмме TGA кристаллической формы VII присутствует потеря веса 25,7% в диапазоне от к.т. до 120 °C. На термограмме DSC кристаллической формы VII присутствуют два широких эндотермических пика, первый эндотермический пик, как предполагается, вызван десольвентизацией, и графики TGA и DSC являются такими, как показано на фиг. 30. При объединении графиков DSC и TGA можно увидеть, что продукт представляет собой сольват, содержащий 2,79 молекул этиленгликоля.

[242] Вариант осуществления 11. Получение и определение характеристик кристаллической формы VIII соединения формулы A.

[243] 11.1. Кристаллическая форма III используется как затравочный кристалл при 40°C, воду добавляют в насыщенный раствор 50% THF/вода по каплям как антирастворитель, и смесь была маслянистой, и после охлаждения до комнатной температуры смесь продолжали суспендировать с получением кристаллической формы VIII (влажный осадок на фильтре).

[244] XRPD кристаллической формы VIII, представленная углом 2θ , по сути является такой, как показано на фиг. 31. На термограмме TGA кристаллической формы VIII присутствует потеря веса 5,7% в диапазоне от к.т. до 160°C. На термограмме DSC кристаллической формы VIII присутствует только один эндотермический пик, который является пиком плавления после десольватизации образца. Таким образом, кристаллическая форма VIII является сольватом, и графики TGA и DSC предпочтительно являются такими, как показано на фиг. 32. При ядерном магнитном резонансе ^1H -ЯМР кристаллической формы VIII химические сдвиги δ при 1,76 и 3,60 показывают остаточный растворитель, представляющий собой THF, и график ^1H -ЯМР является таким, как показано на фиг. 33. Кристаллическая форма VIII содержит 0,42 молекул THF. Кристаллическая форма VIII нестабильна и после дегидратации (вакуумная сушка при 40°C в течение 3 часов) она преобразуется в кристаллическую форму I, и дифрактограмма XRPD перед нагреванием и после него является такой, как показано на фиг. 34.

[245] Вариант осуществления 12. Получение и определение характеристик кристаллической формы IX соединения формулы A.

[246] 12.1 Кристаллическую форму III суспендировали в насыщенном растворе 50% DMSO/вода при 40°C с получением кристаллической формы IX.

[247] На термограмме TGA кристаллической формы IX потеря веса в диапазоне температур к.т.-160°C составляет 18,23%, на термограмме DSC кристаллической формы IX присутствует соответствующий эндотермический пик, соответствующий потере веса TGA на термограмме DSC, и графики TGA и DSC являются такими, как показано на фиг. 36. При ядерном магнитном резонансе ^1H -ЯМР кристаллической формы IX химический сдвиг δ при 2,68 показывает остаточный растворитель, представляющий собой DMSO, и график ^1H -ЯМР является таким, как показано на фиг. 60. При объединении графиков DSC и TGA можно увидеть, что продукт представляет собой сольват на основе DMSO.

[248] Вариант осуществления 13. Исследование преобразования кристаллов кристаллических форм

[249] Всего девять разных кристаллических форм получали путем экспериментов скрининга, включая две аморфные формы (кристаллическая форма I, кристаллическая форма V), четыре сольвата (кристаллическая форма II, кристаллическая форма VII, кристаллическая форма IX, кристаллическая форма VIII) и три гидрата (кристаллическая форма III, кристаллическая форма IV, кристаллическая форма VI).

[250] 13.1 Преобразование кристаллов между кристаллической формой I и кристаллической формой IV

[251] Кристаллическая форма I может быть повторно получена различными способами кристаллизации, но кристаллическая форма I показывала гигроскопичность,

и когда относительная влажность была выше 40%RH, кристалл кристаллической формы I преобразовался в гидрат кристаллической формы IV. Таким образом, кристаллическая форма I имеет риск преобразования кристалла при получении и масштабировании API.

[252] 13.2 Преобразование кристаллов между другой формой гидрата и кристаллической формой I

[253] За исключением кристаллической формы III, другие гидраты являются нестабильными и преобразуются в кристаллическую форму I после дегидратации.

[254] Кристаллическая форма III (полугидрат) имеет низкий риск преобразования кристалла.

[255] Кристаллическая форма IV (гидрат) преобразуется в кристаллическую форму I после дегидратации.

[256] Кристаллическая форма VI (гидрат) является очень нестабильной, и она быстро преобразуется в кристаллическую форму I при влажности окружающей среды.

[257] 13.3 Исследование преобразования кристаллов между аморфной формой и гидратом

[258] Проводили эксперимент в отношении активности воды. Кристаллические формы I и V (обе аморфные) суспендировали в смешанном растворителе в ацетон/вода с различными содержаниями воды при комнатной температуре и 60°C в течение трех дней, и через три дня образец твердого вещества фильтровали для теста XRPD, и результаты эксперимента являются такими, как показано в таблице 4. Как показано на

фиг. 44 и 45, кристаллические формы I и V преобразуются в гидрат кристаллической формы IV в системе ацетон/вода с содержанием воды 50-90% при комнатной температуре или высокой температуре. Когда содержание воды составляет 10%, при высокой температуре, кристаллическая форма I или V преобразуется в другой гидрат (кристаллическая форма VI). Обнаружили, что гидрат является очень нестабильным при влажности окружающей среды (35% RH) и он преобразуется в кристаллическую форму I после оттаивания в течение нескольких минут. При комнатной температуре кристаллическая форма V преобразовалась в кристаллическую форму I в этой системе растворителей.

[259] Таблица 4. Результаты экспериментов в отношении активности воды для кристаллических форм I и V

Образец	Содержание воды (%)	Температура реакции (°C)	Результаты эксперимента	Примечание
Кристаллическая форма I	10	к.т.	Кристаллическая форма I	Н. д.
	50		Кристаллическая форма IV	Н. д.
	90		Кристаллическая форма IV	Н. д.
	10	60	Кристаллическая форма VI	Очень нестабильная
	50		Кристаллическая форма IV	Н. д.

	90		Кристаллическая форма IV	Н. д.
Кристаллическая форма V	10	к.т.	Кристаллическая форма I	Н. д.
	50		Кристаллическая форма IV	Н. д.
	90		Кристаллическая форма IV	Н. д.
	10	60	Кристаллическая форма VI	Очень нестабильная
	50		Кристаллическая форма IV	Н. д.
	90		Кристаллическая форма IV	Н. д.

[260] Н. д. означает: не доступно

[261] 13.4 Сравнительный эксперимент суспендирования между безводными кристаллическими формами

[262] Проводили сравнительный эксперимент суспендирования: одинаковое количество кристаллических форм I и V взвешивали и равномерно перемешивали, затем XRPD тестировали, и результаты использовали как T₀ сравнительного эксперимента суспендирования. Смесь суспендировали в ацетоне, этаноле и воде при комнатной температуре и 60°C. Через три дня образцы твердых веществ получали фильтрацией и XRPD тестировали. Как показано на фиг. 46, в системе органических растворителей (ацетон или этанол) кристаллическую форму I можно получать при

комнатной температуре или высокой температуре; кристаллические формы I и V конкурентно суспендируются в воде и при комнатной температуре, поскольку растворимость является слишком низкой, и кристаллическая форма все еще является смешанным кристаллом, но при 60°C кристаллическая форма преобразуется в кристаллическую форму V. При объединении с результатами теста в отношении активности воды можно заключить, что кристаллическая форма I является более стабильной в системе органических растворителей или смешанном растворителе с низким содержанием воды ($\leq 10\%$), тогда как кристаллическая форма V стабильна при высокой температуре (60°C) в воде.

[263] 13.5 Преобразование кристаллов между аморфными формами

[264] После того, как одинаковое количество кристаллической формы I и кристаллической формы V слегка измельчали и равномерно перемешивали, смесь помещали в печь при 60°C и в сушилку при комнатной температуре (чтобы избежать абсорбции влаги кристаллической формой I) соответственно, и через одну неделю XRPD тестировали для изучения того, преобразовывались ли взаимно кристаллические формы. Как показано на фиг. 47, после помещения в вышеуказанные условия на одну неделю, кристаллическая форма I и кристаллическая форма V не имели тенденции к взаимному преобразованию кристаллов, указывая на то, что кристаллическая форма I и кристаллическая форма V являются стабильными в твердом состоянии.

[265] Вариант осуществления 14. Исследование стабильности кристаллических форм

[266] По сравнению с другими кристаллическими формами кристаллические формы I, III и V показывают хорошие свойства твердых веществ, поэтому их стабильность

тестировали соответственно.

[267] 14.1 Исследование физической и химической стабильности

[268] Приблизительно 10 мг кристаллических форм I, III и V помещали в коробки для определения стабильности при 40°C/75 %RH (в открытом состоянии) и 60°C (в закрытом состоянии) на семь дней, и некоторые образцы отбирали для тестов XRPD и HPLC в 0 и 7 дни соответственно, для исследования их физической и химической стабильности. Результаты являются такими, как показано в таблице 5, на фиг. 48, 49 и 61 кристаллические формы III и V не изменяются через семь дней при условиях вышеуказанных тестов без значительного снижения химической чистоты. Это указывает на то, что кристаллическая форма III и кристаллическая форма V имеют хорошую физическую и химическую стабильность. Что касается кристаллической формы I, при 40°C/75%RH (в открытом состоянии) кристаллическая форма абсорбировала влагу и преобразовалась в гидрат кристаллической формы IV. Этот результат согласуется с таковым для DVS. После оттаивания при 60°C в течение одной недели дифрактограмма XRPD кристаллической формы I показала изменение при 22-28 (2 θ), и согласно результатам TGA присутствовала потеря веса 1,5% в диапазоне от комнатной температуры до 60°C, а затем предполагали, что абсорбция воды вызывала изменение дифракционного пика. Однако кристаллическая форма I имеет хорошую химическую стабильность.

[269] Таблица 5. Результаты оценки стабильности

Образец	Исходная чистота	Чистота -7 дней (% площади пика)	XRPD
---------	------------------	----------------------------------	------

	(% площади пика)	40°C/75%RH	60°C	40°C/75%RH	60°C
Кристаллическая форма I (A10570-037)	99,38	99,38	99,37	Преобразование в кристаллическую форму IV	Аналогично кристаллической форме I
Кристаллическая форма V (A10570-031A1)	99,29	99,28	99,30	Постоянная	Постоянная
Кристаллическая форма III (A10571-096B1)	99,34	99,35	99,35	Постоянная	Постоянная

[270] 14.2 Тест в отношении механической стабильности

[271] Механическую стабильность кристаллических форм I и III исследовали путем измельчения и гранулирования. Метод тестирования с измельчением: образец, который необходимо измерить, помещали в ступку и измельчали в течение 2 минут и 5 минут соответственно, затем XRPD тестировали и наблюдали изменения кристаллической формы и кристалличности. Метод тестирования с гранулированием: образец помещали в штамп прессы для таблеток, выдерживали при 40 МПа в течение одной минуты, а затем кристаллическую форму отбирали для тестирования с помощью XRPD.

[272] Результаты стабильность кристаллической формы I и кристаллической формы III после измельчения (2 мин. и 5 мин.) и гранулирования (40 МПа, 1 мин.) были такими, как показано на фиг. 50 и 51, и кристалличность кристаллической формы I значительно снижалась после измельчения, но кристаллическая форма оставалась неизменной. Для кристаллической формы III нет очевидного изменения в кристаллической форме и кристалличности после измельчения (фиг. 52), но кристалличность снижается очевидно после гранулирования (фиг. 53).

[273] Пример 15. Исследование в отношении растворимости

[274] По сравнению с другими кристаллическими формами, кристаллические формы I, III и V показывают хорошие свойства твердых веществ, поэтому их растворимость тестировали соответственно. Тестировали растворимость кристаллических форм I, III и V в SGF, FaSSIF и FeSSIF соответственно, и имитированная температура тела составляла 37°C, и время тестирования составляло 24 часа.

[275] 10 мг образца взвешивали, а затем 2,0 мл буфера, представляющего собой биологическую среду (т.е. целевая концентрация составляла 5 мг/мл), добавляли с образованием суспензии. Смесь помещали в шейкер с водяной баней и постоянной температурой (37°C, 100 об/мин) и отбирали 500 мл через 0,5, 2 и 24 часа соответственно. После фильтрации значение pH и концентрацию фильтрата при HPLC тестировали соответственно, и твердый образец, полученный фильтрацией, тестировали с помощью XRPD.

[276] Результаты теста в отношении растворимости кристаллических форм I, III и V в биологической среде SGF, FaSSIF и FeSSIF были такими, как показано в таблице 6 и на

фиг. 54. Растворимость вышеуказанных трех кристаллических форм в различных биологических средах является подобной, и растворимость в SGF составляет более 5 мг/мл. Растворимость в FeSSIF в приблизительно 3 раза больше, чем в FaSSIF, что указывает на то, что пища может способствовать абсорбции лекарственных средств. При тестировании значение pH буфера, представляющего собой биологическую среду, очевидно не изменялось.

[277] Как показано на фиг. 55, кристаллическая форма I преобразуется в гидрат кристаллической формы IV в буфере FaSSIF и FeSSIF в течение 0,5 часа. Однако кристаллические формы III и V не изменяются при тестировании и результаты являются такими, как показано на фиг. 56 и на фиг. 57.

[278] Таблица 6. Результаты теста в отношении растворимости

Образец (номер)	Среда	Растворимость (мг/мл)			pH				XRPD		
		0,5 ч	2 ч	24 ч	0 ч	0,5 ч	2 ч	24 ч	0,5 ч	2 ч	24 ч
Кристаллическая форма I (A10570-037)	SGF	Отставление при растворении	/	/		1,2	1,3	1,2	Н. д.	Н. д.	Н. д.
	FaSSIF	0,026	0,025	0,034		6,4	6,4	6,4	Кристаллическая форма IV	Кристаллическая форма IV	Кристаллическая форма IV

	FeS SIF	0,072	0,083	0,107		5,0	5,1	5,1	Кристаллическая форма IV	Кристаллическая форма IV	Кристаллическая форма IV
Кристаллическая форма V (A10570-031)	SGF	4,331	Отставание при растворении	/		1,2	1,1	1,2	Н. д.	Н. д.	Н. д.
	FaS SIF	0,030	0,034	0,045		6,4	6,4	6,4	Неизменно	Неизменно	Неизменно
	FeS SIF	0,091	0,093	0,121		5,0	5,0	5,1	Неизменно	Неизменно	Неизменно
Кристаллическая форма III (A10570-096)	SGF	Отставание при растворении	/	/		1,0	/	/	Н. д.	Н. д.	Н. д.
	FaS SIF	0,023	0,025	0,033		6,4	6,4	6,4	Неизменно	Неизменно	Неизменно
	FeS SIF	0,074	0,088	0,120		4,9	4,8	4,9	Неизменно	Неизменно	Неизменно

[279] «Освещение при растворении»: указывает на то, что растворимость образца в среде составляет более 5 мг/мл при визуальном наблюдении;

[280] «н. д.»: указывает на отсутствие образца твердого вещества для тестирования с помощью XRPD.

[281] Вариант осуществления 16. Фармакокинетическое исследование

[282] Собаке породы бигль (среднего класса, Beijing Masi Biotechnology Co., Ltd.) давали соединение А однократно с помощью перорального зонда для изучения фармакокинетики соединения в плазме крови. Тестируемое лекарственное средство (дозировка 100 мг/кг, объем введения 5 мл/кг) давали с помощью зонда, и образцы собирали через 10 минут, 30 минут, 1 час, 2 часа, 4 часа, 6 часов, 8 часов, 10 часов, 24 часа и 48 часов после введения: проводили периферийную венопункцию, и приблизительно 1,0 мл цельной крови отбирали у каждого животного в каждый момент времени, и образцы крови собирали. В течение 60 минут после отбора крови 0,2 мл цельной крови отделяли в пробирку для криоконсервации и деионизированную воду добавляли в отношении 1:1, которую перемешивали, переворачивая вверх дном, а затем замораживали. Оставшиеся образцы центрифугировали при 2000 g при 2-8°C в течение 10 мин. с получением образцов плазмы крови и гемолиз каждого образца записывали и влияние на обнаружение оценивали, а затем цвет плазмы крови наблюдали и записывали в таблице отбора крови («-» означает отсутствие гемолиза, «+» означает розовый супернатант, а «++» означает красный супернатант).

[283] Концентрацию соединения А в плазме крови определяли методом LC-MS/MS (не являющийся качественной лабораторной практикой). Фармакокинетические параметры рассчитывали с помощью WinNonlin (Phoenix™, версия 8.1) или другого подобного программного обеспечения. Если доступны применимые данные

концентрация лекарственного средства в плазме крови-время, рассчитывали следующие фармакокинетические параметры: CL (клиренс), V_{ss} (кажущийся объем распределения в установившемся состоянии), $T_{1/2}$ (время полужизни при удалении), C_{max} (пиковая концентрация), T_{max} (пиковое время), AUC (площадь под кривой концентрации-времени), MRT (среднее время удержания). Фармакокинетические данные описывались описательной статистикой, например, среднее значение, стандартное отклонение и размер образца. Расчеты проводили с помощью Microsoft Excel 2007 или 2010.

[284] 16.1 Сравнение РК свойств между кристаллической формой I и кристаллической формой V

[285] Сравнение кристаллической формы I и кристаллической формы V является одинаковым для 3 собак (самцы), 10 мг/кг перорально, на голодный желудок, 0,5% СМС-Na, перемешивание в течение 3 часов, а затем введение (суспензия), и полученные данные являются такими, как показано в таблице 7.

[286] Таблица 7. Сравнение РК между кристаллической формой I и кристаллической формой V

Группа	C_{max} (нг/мл)	T_{max} (ч.)	$T_{1/2}$ (ч.)	AUC_{last} (нг/мл*ч)	AUC_{INF} (нг/мл*ч)	MRT_{last} (ч)	F(%)
Кристаллическая форма I	991,33	2,00	11,91	7926,33	8937,13	8,11	35,2%
Кристаллическая форма V	170,43	4,67	44,35	2637,43	14928,54	10,39	11,7%

[287] Расчет AUC (кристаллическая форма I): AUC (кристаллическая форма V) = 300,53%, обнаружили, что уровень воздействия и абсолютная биодоступность кристаллической формы V были меньше, чем таковые у кристаллической формы I.

[288] 16.2 Исследование фармакокинетики для кристаллической формы III

[289] Сравнивая различия у самок при пероральном введении кристаллической формы III и натощак или нет, 100 мг/кг, перорально, натощак и не на голодный желудок, 0,5% СМС-Na, после перемешивания в течение 8 часов и суспендирования, полученные данные являются такими, как показано в таблице 8.

[290] Таблица 8. Данные фармакокинетики для кристаллической формы III

Группа	Образец	Пол	C _{max} (нг/мл)	T _{max} (ч.)	T _{1/2} (ч.)	AUC _{last} (нг/мл*ч)	AUC _{INF} (нг/мл*ч)	AUC 0-24ч (нг/мл*ч)	MRT _{last} (ч)
Кристаллическая форма III, 100 мг/кг (перорально, на голодный желудок)	плазма крови	самцы	5696,67	9,00	Н. д.	81386,00	40212,50	48827,00	13,62
	плазма крови	самки	1683,00	1,33	12,00	8162,67	9205,33	7542,33	8,06
	кровь	самцы	14633,33	9,33	14,88	449055,58	521498,85	254535,58	19,48
	кровь	самки	10266,67	1,83	22,38	186670,70	241633,98	133666,70	14,07

ок)									
Криста личес кая форма III, 100 мг/кг (перор ально, не на голодн ый желуд ок)	плазма крови	самцы	18866 ,67	4,67	5,33	365963,0 0	366780,3 3	304669,3 3	11,83
	Плазма крови	самки	24000 ,00	7,33	5,14	465025,6 7	465964,0 0	377730,6 7	12,63
	кровь	самцы	19000 ,00	4,67	28,5 7	557471,5 6	817608,9 3	352991,5 6	18,85
	кровь	самки	23466 ,67	6,00	25,1 3	675026,5 6	954919,1 7	431706,5 6	18,69

[291] Н. д.: не доступно

[292] Результаты показали, что при условиях натошак есть некоторые различия в концентрациях лекарственного средства в плазме крови и цельной крови между самцами и самками собак, концентрация в плазме крови самцов была приблизительно в 6 раз выше, чем таковая у самцов и самок, и концентрация в цельной крови самцов была в 1,9 раза выше, чем таковая у самцов и самок. Однако при условии не на голодный желудок не было значительной разницы в концентрациях лекарственного средства в плазме крови и цельной крови между самцами и самками собак, а при условии натошак распределение эритроцитов у самцов и самок собак было различным (кровь самцов и самок: плазма крови = 1452% относительно 521%), но при условии не на голодный желудок не было значительной разницы (кровь самцов и самок: плазма крови = 114% относительно 116%), и концентрация лекарственного средства в плазме

крови и цельной крови при условии не на голодный желудок была выше, чем таковая при условии не на голодный желудок как для самцов, так и самок, а затем уровень увеличения концентрации лекарственного средства в плазме крови при условии не на голодный желудок выше, чем для цельной крови, и наибольшее влияние условия натошак или нет было на концентрацию лекарственного средства в плазме самок собак. Повышение концентрации лекарственного средства в цельной крови может быть из-за повышения абсорбции лекарственного средства при условии не на голодный желудок, что приводит к увеличению общего уровня воздействия *in vivo* и предполагается, что рацион приводит к абсорбции соединения А; однако, увеличение концентрации лекарственного средства в плазме крови выше, чем таковое для цельной крови, что может происходить из-за того, что:

[293] 1. концентрация лекарственного средства в эритроцитах насыщается, что приводит к аналогичному неожиданному увеличению концентрации лекарственного средства в плазме крови (вероятно наибольшая вероятность);

[294] 2. после первого дня введения натошак лекарственные средства продолжали накапливаться в эритроцитах, и 7-дневный период клининга был недостаточным для полного метаболизма лекарственных средств, распределенных в эритроцитах, поэтому второй раз введения не на голодный желудок приводил к значительному повышению концентрации лекарственного средства в плазме крови;

[295] 3. после введения натошак в первый день оно влияло на эритроциты, что снижало способность объединения эритроцитов с лекарственными средствами при втором введении не на голодный желудок, что приводило к значительному повышению

концентрации лекарственного средства в плазме крови.

[296] Биологический тест

[297] Пример А. Оценка биологической активности *in vitro*

[298] Антагонистические свойства соединений настоящего изобретения определяли с помощью метода FLIPR (ридера для планшетов с флуоресцентным изображением) и соединения были ингибиторами повышения внутриклеточного кальция, вызванного активацией hP2X3 (пуринергический рецептор P2X подтипа 3 человека, регистрационный номер в системе NM_002559.4), экспрессируемого в клетках HEK293 (линия эпителиальных клеток почек человека, ATCC).

[299] Клетки HEK293, стабильно экспрессирующие hP2X3, помещали и культивировали в инкубаторе для клеток с влажностью 5% при 37°C в среде DMEM с высоким содержанием глюкозы, содержащей 10% FBS (эмбриональная бычья сыворотка, Gibco, 10099-141), 1% пенициллина-стрептомицина (Gibco, 15140-122) и 1 мг/мл G418 (Invitrogen, 10131027). За 18-24 часа до эксперимента FLIPR клетки высевали в 384 лунки (10000 клеток/лунка) с плотностью 400000 клеток/мл и инкубировали в течение ночи в инкубаторе для клеточной культуры. В день эксперимента культуральную среду отбрасывали и клетки промывали буфером FLIPR (каждые 30 мл буфера, содержащего 0,3 мл пробенецида (Thermo, P36400), 0,6 мл 1M HEPES (Invitrogen, 15630080) и 29,1 мл HBSS (Invitrogen, 14065056)). 20 мкл 0,5×флуоресцентного красителя кальций 6 (Molecular Devices, R8190) добавляли на лунку и инкубировали с загрузкой красителя в течение 1,5 ч. при 37°C. 10 мкл тестируемого соединения (растворенного при 10 mM в DMSO и серийно разбавленного

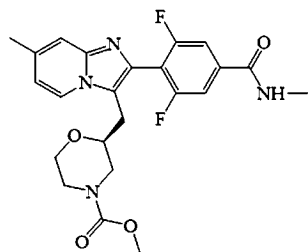
буфером) или среды-носителя затем добавляли в каждую лунку и позволяли достичь равновесия в течение 30 мин. при комнатной температуре. Клеточный планшет затем помещали в FLIPR для измерений базовой флуоресценции (возбуждение при 485 нм и излучение при 525-535 нм). Затем агонист (BZ-ATP (Sigma, B6396) в конечной концентрации 2,5 мкМ) или среду-носитель (ультрачистую воду) добавляли при 10 мкл/лунка, значение флуоресценции измеряли с 1-секундными интервалами в течение 2 минут, и наконец выход флуоресценции подсчитывали с помощью анализа.

[300] IC₅₀, полученная с помощью вышеуказанного метода, была такой, как показано в следующей таблице.

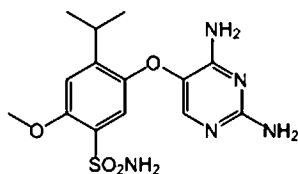
[301] Таблица 9. IC₅₀, полученная с применением вышеуказанного способа

Соединение	P2X3 IC ₅₀ (мкМ)
Соединение 172	0,0007
Соединение 1, представляющее собой положительный контроль	0,0115
Соединение 2, представляющее собой положительный контроль	0,0522

[302] Соединение 1, представляющее собой положительный контроль .



[303] Соединение 2, представляющее собой положительный контроль



[304] Вариант осуществления В. Оценка селективности в отношении рецептора P2X_{2/3} *in vitro*

[305] Селективность соединения настоящего изобретения в отношении рецептора P2X_{2/3} определяли с помощью способа FLIPR (ридер для планшетов с флуоресцентным изображением) и соединение было ингибитором повышения внутриклеточного кальция, вызванного активацией hP2X_{2/3} (гетеродимерные рецепторы, образованные пуриnergическим рецептором P2X подтипов 2 и 3 человека, регистрационный номер в системе для P2X₂ - NM_002559.4, регистрационный номер в системе для P2X₃ - NM_002559.4), экспрессируемого клетками HEK293 (линия эпителиальных клеток почек человека, ATCC).

[306] Клетки HEK293, стабильно экспрессирующие hP2X_{2/3}, помещали и культивировали в инкубаторе для клеток с влажностью 5% при 37°C в среде DMEM с высоким содержанием глюкозы, содержащей 10% FBS (эмбриональная бычья сыворотка, Gibco, 10099-141), 1% пенициллина-стрептомицина (Gibco, 15140-122) и 1 мг/мл G418 (Invitrogen, 10131027). За 18-24 часа до эксперимента FLIPR клетки высевали в 96 лунки (25000 клеток/лунка) с плотностью 250000 клеток/мл и инкубировали в течение ночи в инкубаторе для клеточной культуры. В день эксперимента культуральную среду отбрасывали и клетки промывали буфером FLIPR (каждые 30 мл буфера, содержащего 0,3 мл пробенецида (Thermo, P36400), 0,6 мл 1M HEPES (Invitrogen, 15630080) и 29,1 мл HBSS (Invitrogen, 14065056)). 75 мкл 1 mM

флуоресцентного красителя Fluo-4 AM (Thermo, F14202) добавляли в каждую лунку и загрузку красителя инкубировали в течение 1,0 часа при 37°C. Затем 96-луночный планшет промывали один раз буфером и 50 мкл буфера, содержащего тестируемое соединение или среду-носитель, добавляли в каждую лунку, и его инкубировали при комнатной температуре в течение 30 минут. Клеточный планшет затем помещали в FLIPR для измерений базовой флуоресценции (возбуждение при 485 нм и излучение при 525-535 нм). Затем агонист (BZ-ATP (Sigma, B6396) в конечной концентрации 5 мкМ) или среду-носитель (ультрачистую воду) добавляли при 50 мкл/лунка, значение флуоресценции измеряли с 1-секундными интервалами в течение 2 минут, и наконец выход флуоресценции подсчитывали с помощью анализа.

[307] IC_{50} , полученная с помощью вышеуказанного метода, была такой, как показано в следующей таблице.

[308] Таблица 10. IC_{50} , полученная с применением вышеуказанного способа

Соединение	IC_{50}	Множественная селективность
Соединение 172	>60	>85714
Соединение 1, представляющее собой положительный контроль	>60	>5217
Соединение 2, представляющее собой положительный	0,36	6,9

контроль		
----------	--	--

[309] Вариант осуществления С. Тест в отношении активности простой модели кашля из-за лимонной кислоты

[310] Самцов морских свинок линии Данкин-Хартли (300-350 г) помещали в коробку для животных с распылением, дверцу коробки с распылением закрывали, и ультразвуковой распылитель (Guangdong Yuehua) открывали в то же время, с максимальным количеством распыления (приблизительно 2 мл/минуту) 17,5% газообразной лимонной кислоты, которое заполняло коробку с распылением, в которую непрерывно распыляли в течение 20 секунд, и поведение животных при кашле непрерывно наблюдали в течение 10 мин. после начала распыления. В течение 10-минутного периода наблюдения требовался подсчет вручную событий кашля, и давалась оценка числу событий кашля согласно положению при кашле морских свинок, такому как подергивание брюшка, открытие рта, качание вниз головой и пр., а также звук кашля, число событий кашля в первые 5 минут и число событий кашля в первые 10 минут записывали, и инкубационный период для кашля для морских свинок также записывали, а именно, время от введения лимонной кислоты до первого события кашля, а также звук кашля.

[311] Таблица 11. Эксперименты на животных

Группа	Среднее время кашля	Скорость подавления кашля относительно	Скорость подавления кашля относительно	Средний латентный период до начала кашля
--------	---------------------	--	--	--

			среды-носителя (%)	базового значения (%)	
Группа среды- носителя	Перед введен ием	17,22	/	/	108,44
	После введен ия	18,33			105,78
Соеди нение 1, предст авляю щее собой полож ительн ый контро ль 30 мг/ кг	Перед введен ием	18,63	42,6	47,0	80,13
	После введен ия	9,88			226,75
Соеди нение 172 30 мг/ кг	Перед введен ием	19,56	43,9	50,6	87,56
	После введен ия	9,67			118,89

[312] Соединение 172 имело эффект снижения числа событий кашля и повышало инкубационный период для кашля и сравнимо по эффективности с соединением, представляющим собой положительный контроль.

[313] Вариант осуществления D. Тест в отношении активности модели кашля, вызванного АТФ-лимонной кислотой

[314] Самцов морских свинок линии Данкин-Хартли (300-400 г) помещали в коробку для сканирования объема всего тела на 3-5 минут, а затем подвергали действию распыленного АТФ в течение 2 минут с интервалом в 3 минуты с последующим распылением лимонной кислоты в течение 5 минут, и все скорости распыления составляли приблизительно 300 мкл/мин. Исходя из распыления лимонной кислоты записывали время событий кашля и латентный период кашля у животных в течение 10 мин. В течение 10-минутного периода наблюдения требовался подсчет вручную событий кашля, и давалась оценка числу событий кашля согласно положению при кашле морских свинок, такому как подергивание брюшка, открытие рта, качание вниз головой и пр., а также звук кашля, число событий кашля в первые 10 минут записывали, и инкубационный период для кашля для морских свинок также записывали.

[315] Животных делили на группу среды-носителя, группу, представляющую собой положительный контроль с декстрометорфаном (63 мг/кг), представляющую собой положительный контроль с AF-219 (30 мг/кг) и группу введения соединения 172 (3, 10, 30 мг/кг) варианта осуществления. Все соединения вводили перорально, за исключением декстрометорфана, который вводили за 40 минут до воздействия АТФ-лимонной кислоты, и остальные соединения представляли собой АТФ-лимонную

кислоту.

[316] Таблица 12. Отношение потребления хинина/воды, полученное для соединения

Соединение		Время событий кашля за 10 мин.	Скорость подавления кашля относительно среды (%)
Среда-носитель		20,83	
Группа декстрометорфана 63 мг/кг		8,00	61,60
AF-219	30 мг/кг	11,42	45,20
Соединение 172	3 мг/кг	14,42	30,80
	10 мг/кг	10,17	51,20
	30 мг/кг	9,83	52,80

[317] Как показано в таблице 5, после обработки все соединения имеют тенденцию к снижению числа событий кашля по сравнению с группой среды-носителя, в которой как группа, представляющая собой положительный контроль с декстрометорфаном, так и группа соединения 172 могут значительно снижать число событий кашля, и соединение 172 имеет дозозависимое ингибирующее действие. По сравнению с соединением 2, представляющим собой положительный контроль, соединение 172 имеет более сильное ингибирующее действие в отношении кашля.

[318] Вариант осуществления E. Тест в отношении цитотоксичности *in vitro*

[319] Тест в отношении цитотоксичности *in vitro* соединений в настоящем изобретении проводили на клетках HepG2 с помощью способа ССК-8. Клетки HepG2

в логарифмической фазе собирали, концентрацию клеточной суспензии регулировали, 96-луночный планшет для клеточной культуры с 50000 клеток/лунка высевали, и клетки инкубировали в течение ночи в 5%, 37°C инкубаторе для клеток, после того, как степень слияния клеток в планшете достигала 80-90%, раствор меняли и добавляли тестируемые соединения или среду-носитель (DMSO) с различными градиентами концентрации и инкубировали в течение 48 часов в 5%, 37°C инкубаторе для клеток. После обработки среду в планшете отбрасывали, промывали дважды с помощью PBS, 100 мкл рабочего раствора ССК-8 (Biyuntian Biotechnology) добавляли в каждую лунку и инкубировали при 37°C в течение 1,5 ч. в темноте и значения оптической плотности лунок при OD_{450 nm} анализировали для расчета CC₅₀ каждого соединения.

[320] Таблица 13. Значение IC₅₀ каждого соединения

Соединение	НepG2 CC ₅₀ (мкМ)
Соединение 172	57,05
Соединение 1, представляющее собой положительный контроль	128,4
Соединение 2, представляющее собой положительный контроль	>200

[321] Вариант осуществления F. Тест в отношении метаболической стабильности in vitro

[322] Метаболическую стабильность in vitro соединений настоящего изобретения определяли с помощью способа инкубации при температуре тела различных микрочастиц печени. В реакционной системе микросомальной фракции печени (1 мг/мл белка микросомальной фракции печени, 25 ед./мл глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, 1 mM NADP, 6 mM D-6-фосфата глюкозы, 5 mM

MgCl₂), надлежащее количество тестируемых соединений добавляли, и реакция реакционного раствора начиналась путем инкубации на водяной бане при 37°C, в каждый момент времени, 100 мкл реакционного раствора добавляли в центрифужную пробирку, содержащую 400 мкл внутреннего стандартного рабочего раствора, заранее охлажденного при 0°C (ацетонитрильный раствор, содержащий 200 нг/мл дексаметазона, диклофенак, толбутамид и лабеталол), реакцию останавливали, центрифугировали при 4°C в течение 10 мин., и супернатант отбирали и анализировали с помощью LC-MS для получения *in vitro* метаболического времени полужизни тестируемых соединений в различных микросомах печени.

[323] Таблица 14. Тест в отношении метаболической стабильности *in vitro*

Соединение	T _{1/2} микросом печени человека мин.	T _{1/2} микросом печени крысы мин.	T _{1/2} микросом печени морской свинки мин.
Вариант осуществления 172	824,3	223,4	410,3
Соединение 1, представляющее собой положительный контроль	1454,06	53,42	112,04
Соединение 2, представляющее собой положительный	Н. д.	1090,01	892,21

контроль			
----------	--	--	--

[324] Вариант осуществления G. Тест в отношении нарушения вкуса с помощью метода с двумя бутылками

[325] Самцы крыс SD из SPF (6-8 недель) получали 3 дня адаптивного обучения с питьевой водой сразу после хранения, и конкретное содержание обучения состояло в том, что животных удерживали в одной клетке и две бутылки воды (обе с обычной питьевой водой) помещали в каждой клетке, и при адаптивном обучении обработку водой запрещали всю ночь (бутылку с питьевой водой удаляли), и питьевую воду давали снова с 8:30 утра до 5:30 вечера, а затем этот цикл длился в течение 3 дней, и две бутылки воды заменяли каждый день, и в ходе всего периода адаптивного обучения животные ели без ограничений. Все бутылки с водой для животных удаляли за 20 часов до формального эксперимента и запрещали пить воду до времени эксперимента. В ходе формального эксперимента всех животных произвольно делили на группы и тестируемое соединение или среду-носитель давали до возобновления подачи воды, и лекарственное средство давали путем одной внутрибрюшинной инъекции и время введения определяли согласно $T_{\text{макс.}}$ тестируемого соединения. Затем животных помещали в одну клетку и давали две бутылки с питьевой водой, одна бутылка с обычной питьевой водой и одна бутылка с 0,3 мМ тонизирующей воды, и потребление воды животными наблюдали в течение 15 минут, и потребление воды с хинином/потребление обычной воды статистически анализировали с соединением 2, представляющим собой положительный контроль, в качестве положительного контроля нарушения вкуса.

[326] Таблица 15. Тест в отношении количества питьевой воды, потребляемой

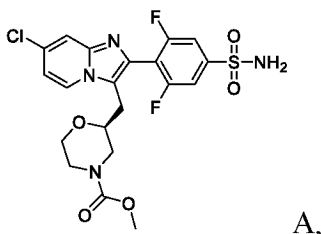
животными

Соединение		Хинин/водопроводная вода*100%
Среда-носитель		7,19%
Соединение 2, представляющее собой положительный контроль	10	18,62%
	20	34,99%
Соединение 172	5	7,05%
	10	7,41%
	20	8,66%

[327] Результаты показали, что по сравнению с холостой группой среды-носителя соединение 172 с концентрацией 5, 10 и 20 мг/кг не имело очевидного влияния на отношение хинина/воды у крыс, указывая на то, что соединение 172 имело незначительный эффект на вкус животных, и по сравнению с соединением 2, представляющим собой положительный контроль, пропорция потребления хинина/воды была значительно ниже, чем для соединения 2, представляющего собой положительный контроль, что указывает на то, что данные в отношении риска нарушения вкуса, вызванного соединением 172, намного лучше, чем у положительного соединения 2, представляющего собой положительный контроль, и безопасность является лучшей.

Формула изобретения

1. Кристаллическая форма соединения, представленного формулой A, или его сольвата:



при этом кристаллическая форма выбрана из кристаллической формы I, кристаллической формы II, кристаллической формы III, кристаллической формы IV, кристаллической формы V, кристаллической формы VI, кристаллической формы VII, кристаллической формы VIII и кристаллической формы IX;

где кристаллическая форма III гидрата соединения формулы A характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, содержащей характеристические дифракционные пики при следующих значениях угла 2θ : $12,91^\circ \pm 0,20^\circ$, $16,77^\circ \pm 0,20^\circ$, $19,27^\circ \pm 0,20^\circ$ и $22,80^\circ \pm 0,20^\circ$;

кристаллическая форма V соединения формулы A характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, содержащей характеристические дифракционные пики при следующих значениях угла 2θ : $8,38^\circ \pm 0,20^\circ$, $9,15^\circ \pm 0,20^\circ$, $13,52^\circ \pm 0,20^\circ$ и $18,44^\circ \pm 0,20^\circ$;

кристаллическая форма I соединения формулы A характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, содержащей характеристические дифракционные пики при следующих значениях угла 2θ : $8,56^\circ \pm 0,20^\circ$, $12,48^\circ \pm 0,20^\circ$ и $22,13^\circ \pm 0,20^\circ$;

кристаллическая форма II сольвата на основе МТВЕ соединения формулы А характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, содержащей характеристические дифракционные пики при следующих значениях угла 2θ : $8,42^\circ \pm 0,20^\circ$, $12,09^\circ \pm 0,20^\circ$, $13,68^\circ \pm 0,20^\circ$ и $20,87^\circ \pm 0,20^\circ$;

кристаллическая форма IV гидрата соединения формулы А характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, содержащей характеристические дифракционные пики при следующих значениях угла 2θ : $8,65^\circ \pm 0,20^\circ$, $12,69^\circ \pm 0,20^\circ$ и $22,56^\circ \pm 0,20^\circ$;

кристаллическая форма VI гидрата соединения формулы А характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, содержащей характеристические дифракционные пики при следующих значениях угла 2θ : $8,62^\circ \pm 0,20^\circ$, $12,69^\circ \pm 0,20^\circ$ и $22,59^\circ \pm 0,20^\circ$;

кристаллическая форма VII сольвата на основе этиленгликоля соединения формулы А характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, содержащей характеристические дифракционные пики при следующих значениях угла 2θ : $8,36^\circ \pm 0,20^\circ$, $12,13^\circ \pm 0,20^\circ$, $12,45^\circ \pm 0,20^\circ$, $16,84^\circ \pm 0,20^\circ$ и $21,66^\circ \pm 0,20^\circ$;

кристаллическая форма VIII сольвата на основе THF соединения формулы А характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, содержащей характеристические дифракционные пики при следующих значениях угла 2θ : $8,53^\circ \pm 0,20^\circ$, $12,38^\circ \pm 0,20^\circ$, $13,66^\circ \pm 0,20^\circ$ и $21,49^\circ \pm 0,20^\circ$;

кристаллическая форма IX сольвата на основе DMSO соединения формулы А характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, содержащей

характеристические дифракционные пики при следующих значениях угла 2θ : $8,55^\circ \pm 0,20^\circ$, $12,43^\circ \pm 0,20^\circ$, $21,75^\circ \pm 0,20^\circ$ и $25,07^\circ \pm 0,20^\circ$.

2. Кристаллическая форма соединения А или его сольвата по п. 1, где

кристаллическая форма III характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, содержащей характеристические дифракционные пики при следующих значениях угла 2θ : $12,91^\circ \pm 0,20^\circ$, $16,77^\circ \pm 0,20^\circ$, $19,27^\circ \pm 0,20^\circ$, $22,80^\circ \pm 0,20^\circ$, $13,75^\circ \pm 0,20^\circ$, $14,46^\circ \pm 0,20^\circ$ и $20,86^\circ \pm 0,20^\circ$;

и/или кристаллическая форма V характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, содержащей характеристические дифракционные пики при следующих значениях угла 2θ : $8,38^\circ \pm 0,20^\circ$, $9,15^\circ \pm 0,20^\circ$, $13,52^\circ \pm 0,20^\circ$, $18,44^\circ \pm 0,20^\circ$, $16,26^\circ \pm 0,20^\circ$, $16,89^\circ \pm 0,20^\circ$ и $17,86^\circ \pm 0,20^\circ$;

и/или кристаллическая форма I характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, содержащей характеристические дифракционные пики при следующих значениях угла 2θ : $8,56^\circ \pm 0,20^\circ$, $12,48^\circ \pm 0,20^\circ$, $22,13^\circ \pm 0,20^\circ$, $13,53^\circ \pm 0,20^\circ$, $14,25^\circ \pm 0,20^\circ$, $25,18^\circ \pm 0,20^\circ$ и $26,07^\circ \pm 0,20^\circ$;

и/или кристаллическая форма II характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, содержащей характеристические дифракционные пики при следующих значениях угла 2θ : $8,42^\circ \pm 0,20^\circ$, $12,09^\circ \pm 0,20^\circ$, $13,68^\circ \pm 0,20^\circ$, $20,87^\circ \pm 0,20^\circ$, $16,17^\circ \pm 0,20^\circ$, $16,93^\circ \pm 0,20^\circ$, $17,55^\circ \pm 0,20^\circ$ и $21,20^\circ \pm 0,20^\circ$;

и/или кристаллическая форма IV характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, содержащей характеристические дифракционные пики при следующих значениях угла 2θ : $8,65^\circ \pm 0,20^\circ$, $12,69^\circ \pm 0,20^\circ$, $22,56^\circ \pm 0,20^\circ$, $13,48^\circ \pm 0,20^\circ$,

$17,39^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $21,04^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$ и $23,63^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$;

и/или кристаллическая форма VI характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, содержащей характеристические дифракционные пики при следующих значениях угла 2θ : $8,62^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $12,69^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $22,59^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $13,46^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $17,41^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $26,51^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $25,62^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$ и $25,24^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$;

и/или кристаллическая форма VII характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, содержащей характеристические дифракционные пики при следующих значениях угла 2θ : $8,36^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $12,13^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $12,45^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $16,84^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $21,66^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $21,07^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$ и $24,82^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$;

и/или кристаллическая форма VIII характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, содержащей характеристические дифракционные пики при следующих значениях угла 2θ : $8,53^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $12,38^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $13,66^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $21,49^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $20,99^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $24,94^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$ и $25,31^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$;

и/или кристаллическая форма IX характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, содержащей характеристические дифракционные пики при следующих значениях угла 2θ : $8,55^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $12,43^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $21,75^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $25,07^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $13,57^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $17,18^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $20,94^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$ и $25,57^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$.

3. Кристаллическая форма соединения А или его сольвата по п. 2, где

кристаллическая форма III характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, содержащей характеристические дифракционные пики при следующих значениях угла 2θ : $12,91^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $16,77^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $19,27^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $22,80^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $13,75^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $14,46^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $20,86^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $21,08^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $23,75^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$ и $24,05^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$;

и/или на термограмме термогравиметрического анализа кристаллической формы III кристаллическая форма III характеризуется потерей веса, составляющей 1,5%, в диапазоне от комнатной температуры до 100°C;

и/или на термограмме дифференциальной сканирующей калориметрии кристаллической формы III первый эндотермический пик соответствует удалению 0,4 воды;

и/или кристаллическая форма V характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, содержащей характеристические дифракционные пики при следующих значениях угла 2θ : $8,38^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $9,15^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $13,52^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $18,44^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $16,26^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $16,89^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $17,86^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $22,35^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $23,56^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$ и $24,74^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$;

и/или на термограмме дифференциальной сканирующей калориметрии кристаллической формы I присутствует эндотермический пик при 166°C, и энтальпия плавления составляет 70 ± 2 Дж/г;

и/или кристаллическая форма I характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, содержащей характеристические дифракционные пики при следующих значениях угла 2θ : $8,56^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $12,48^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $22,13^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $13,53^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $14,25^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $25,18^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $26,07^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $22,32^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $23,23^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$ и $23,42^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$;

и/или на термограмме дифференциальной сканирующей калориметрии кристаллической формы I присутствует эндотермический пик при 152 °C, и энтальпия плавления составляет 44 ± 2 Дж/г;

и/или кристаллическая форма II характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, содержащей характеристические дифракционные пики при

следующих значениях угла 2θ : $8,42^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $12,09^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $13,68^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $20,87^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $16,17^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $16,93^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $17,55^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $21,20^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $22,60^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $23,23^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$ и $24,40^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$;

и/или на термограмме термогравиметрического анализа кристаллической формы II присутствует потеря веса, составляющая 3,5%, в диапазоне температур от 100 до 160°C и потеря веса, составляющая 2,9%, в диапазоне от 160 до 200°C;

и/или кристаллическая форма IV характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, содержащей характеристические дифракционные пики при следующих значениях угла 2θ : $8,65^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $12,69^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $22,56^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $13,48^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $17,39^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $21,04^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $23,63^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $14,39^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $25,60^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$ и $26,52^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$;

и/или на термограмме TGA кристаллической формы IV присутствует потеря веса, составляющая 1,2%, в диапазоне от к.т. до 60°C;

и/или кристаллическая форма VII характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, содержащей характеристические дифракционные пики при следующих значениях угла 2θ : $8,36^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $12,13^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $12,45^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $16,84^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $21,66^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $21,07^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $24,82^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $13,61^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $23,22^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$ и $24,57^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$;

и/или на термограмме TGA кристаллической формы VII присутствует потеря веса, составляющая 25,7%, в диапазоне от комнатной температуры до 120°C;

и/или кристаллическая форма VIII характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, содержащей характеристические дифракционные пики при следующих значениях угла 2θ : $8,53^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $12,38^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $13,66^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $21,49^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $20,99^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $24,94^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $25,31^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $17,14^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$, $21,72^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$ и $23,00^{\circ} \pm 0,20^{\circ}$;

и/или на термограмме термогравиметрического анализа кристаллической формы VIII присутствует потеря веса, составляющая 5,7%, в диапазоне от комнатной температуры до 160°C;

и/или кристаллическая форма IX характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, содержащей характеристические дифракционные пики при следующих значениях угла 2θ : $8,55^\circ \pm 0,20^\circ$, $12,43^\circ \pm 0,20^\circ$, $21,75^\circ \pm 0,20^\circ$, $25,07^\circ \pm 0,20^\circ$, $13,57^\circ \pm 0,20^\circ$, $17,18^\circ \pm 0,20^\circ$, $20,94^\circ \pm 0,20^\circ$, $25,57^\circ \pm 0,20^\circ$, $21,37^\circ \pm 0,20^\circ$ и $23,12^\circ \pm 0,20^\circ$;

и/или на термограмме TGA кристаллической формы IX присутствует потеря веса, составляющая 18,23%, в диапазоне от комнатной температуры до 60°C.

4. Кристаллическая форма соединения А или его сольвата по п. 3, где

кристаллическая форма III характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, представленной углом 2θ , по сути показанной на фиг. 1;

и/или кристаллическая форма III характеризуется термограммой термогравиметрического анализа и термограммой дифференциальной сканирующей калориметрии, по сути показанными на фиг. 2;

и/или кристаллическая форма III характеризуется графиком динамической адсорбции влаги, как показано на фиг. 4;

и/или кристаллическая форма III характеризуется изображением с поляризационного микроскопа, по сути показанным на фиг. 6;

и/или кристаллическая форма III содержит 0,4 эквивалента воды;

и/или кристаллическая форма V характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, представленной углом 2θ , по сути показанной на фиг. 7;

и/или кристаллическая форма V характеризуется графиком динамической адсорбции влаги, как показано на фиг. 9;

и/или кристаллическая форма V характеризуется термограммой термогравиметрического анализа и термограммой дифференциальной сканирующей калориметрии, по сути показанными на фиг. 8;

и/или кристаллическая форма V характеризуется изображением с поляризационного микроскопа, по сути показанным на фиг. 11;

и/или кристаллическая форма I характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, представленной углом 2θ , по сути показанной на фиг. 12;

и/или кристаллическая форма I характеризуется термограммой термогравиметрического анализа и термограммой дифференциальной сканирующей калориметрии, по сути показанными на фиг. 13;

и/или кристаллическая форма I характеризуется графиком динамической адсорбции влаги, как показано на фиг. 14;

и/или кристаллическая форма I характеризуется изображением с поляризационного микроскопа, по сути показанным на фиг. 17;

и/или кристаллическая форма II характеризуется спектром ядерного магнитного резонанса, как показано на фиг. 19;

и/или кристаллическая форма II характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, представленной углом 2θ , по сути показанной на фиг. 18;

и/или кристаллическая форма II характеризуется изображением с поляризационного микроскопа, по сути показанным на фиг. 21;

и/или кристаллическая форма II характеризуется термограммой термогравиметрического анализа и термограммой дифференциальной сканирующей калориметрии, по сути показанными на фиг. 20;

и/или кристаллическая форма IV характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, представленной углом 2θ , по сути показанной на фиг. 22;

и/или кристаллическая форма IV характеризуется термограммой термогравиметрического анализа и термограммой дифференциальной сканирующей калориметрии, как показано на фиг. 23;

и/или кристаллическая форма IV характеризуется изображением с поляризационного микроскопа, по сути показанным на фиг. 25;

и/или кристаллическая форма VI характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, представленной углом 2θ , по сути показанной на фиг. 26;

и/или кристаллическая форма VII характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, представленной углом 2θ , по сути показанной на фиг. 28;

и/или кристаллическая форма VII характеризуется спектром ядерного магнитного резонанса, как показано на фиг. 29;

и/или кристаллическая форма VII характеризуется термограммой термогравиметрического анализа и термограммой дифференциальной сканирующей калориметрии, по сути показанными на фиг. 30;

и/или кристаллическая форма VIII характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, представленной углом 2θ , по сути показанной на фиг. 31;

и/или кристаллическая форма VIII характеризуется термограммой термогравиметрического анализа и термограммой дифференциальной сканирующей калориметрии, по сути показанными на фиг. 32;

и/или кристаллическая форма VIII характеризуется спектром ядерного магнитного резонанса, как показано на фиг. 33;

и/или кристаллическая форма IX характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, представленной углом 2θ , по сути показанной на фиг. 35;

и/или кристаллическая форма IX характеризуется термограммой термогравиметрического анализа и термограммой дифференциальной сканирующей калориметрии, по сути показанными на фиг. 36;

5. Способ получения кристаллической формы III вещества A, при этом способ получения представлен схемой 1, схемой 2 или схемой 3; где

схема 1 включает следующие стадии: преобразование суспензии аморфной формы соединения формулы A и растворителя в кристаллическую форму III вещества A; при этом растворитель представляет собой водный или спиртовой растворитель;

схема 2 включает следующие стадии: добавление антирастворителя в раствор

соединения формулы А и растворителя и обеспечение кристаллизации в кристаллическую форму III вещества А; при этом растворитель выбран из группы, состоящей из спиртов, фуранов и DMSO; и антирастворитель представляет собой воду;

схема 3 включает следующие стадии: добавление раствора соединения А и растворителя в водный раствор А и обеспечение кристаллизации в кристаллическую форму III вещества А, где водный раствор А представляет собой суспензию затравочных кристаллов кристаллической формы III вещества А и воды; и растворитель представляет собой DMSO.

6. Способ получения по п. 5, где в схеме 1 растворитель представляет собой воду или метанол;

и/или в схеме 1 температура кристаллизации составляет от 20 до 50°C, предпочтительно 40°C или 50°C;

и/или в схеме 1 объемно-весовое отношение аморфного соединения А к растворителю составляет 50 мг/мл;

и/или в схеме 2 растворитель выбран из группы, состоящей из метанола, тетрагидрофурана и DMSO;

и/или в схеме 3 объемное отношение растворителя к воде составляет от 3:1 до 1:1;

и/или в схеме 3 объемное отношение DMSO к воде составляет от 1:1 до 1:4;

и/или, когда принимают схему 1, способ получения включает следующие стадии: преобразование суспензии смеси аморфной формы соединения А и растворителя; и при этом растворитель представляет собой воду или метанол; температура перемешивания

составляет от 20 до 50°C, предпочтительно 40°C; объемно-весовое отношение аморфной формы соединения А к растворителю составляет 50 мг/мл;

и/или, когда принимают схему 2, способ получения включает следующие стадии: смешивание соединения А с растворителем, а затем медленное добавление по каплям в антирастворитель; при этом растворитель выбран из группы, состоящей из метанола, тетрагидрофурана и DMSO; антирастворитель представляет собой воду; и объемное отношение растворителя к воде составляет от 3:1 до 1:1;

и/или, когда принимают схему 3, способ получения включает следующие стадии: добавление раствора соединения А и растворителя в водный раствор А и обеспечение кристаллизации, при этом водный раствор А представляет собой суспензию затравочных кристаллов кристаллической формы III вещества А и воды; растворитель представляет собой DMSO; объемное отношение DMSO к воде составляет от 1:1 до 1:4.

7. Кристаллическая форма III вещества А, где кристаллическая форма III вещества А получена согласно способу получения по п. 5 или п. 6.

8. Кристаллическая форма III вещества А по п. 7, где кристаллическая форма III вещества А представляет собой кристаллическую форму III гидрата соединения А по любому из пп. 1-4.

9. Способ получения кристаллической формы V соединения формулы А, где получение представлено схемой А или схемой В;

схема А включает следующие стадии: преобразование суспензии аморфной формы соединения формулы А и растворителя в кристаллическую форму V вещества А при 20-50°C; при этом растворитель представляет собой воду или нитрильный растворитель;

температура кристаллизации предпочтительно составляет 50°C;

схема В включает следующие стадии: обеспечение испарения растворителя из раствора соединения формулы А и растворителя с получением кристаллической формы V соединения А; при этом растворитель представляет собой спиртовой растворитель.

10. Способ получения по п. 9, где

в схеме А растворитель представляет собой воду или ацетонитрил;

и/или в схеме А объемно-весовое отношение аморфного соединения А к растворителю составляет 3,0 мг/мл или 50 мг/мл;

и/или в схеме А температура преобразования кристалла составляет 50°C;

и/или в схеме В растворитель представляет собой метанол;

и/или в схеме В температура преобразования кристалла составляет 50°C;

и/или когда принимают схему А, схема включает следующие стадии: преобразование суспензии аморфной формы соединения А и растворителя в кристаллическую форму V соединения при 20-50°C; растворитель представляет собой воду или ацетонитрил; температура кристаллизации предпочтительно составляет 50°C, и объемно-весовое отношение аморфной формы соединения А к растворителю составляет 50 мг/мл или 3,0 мг/мл;

и/или когда принимают схему В, схема включает следующие стадии: обеспечение испарения растворителя из раствора соединения А и растворителя с получением кристаллической формы V соединения А; при этом растворитель представляет собой

метанол, температура составляет 50°C.

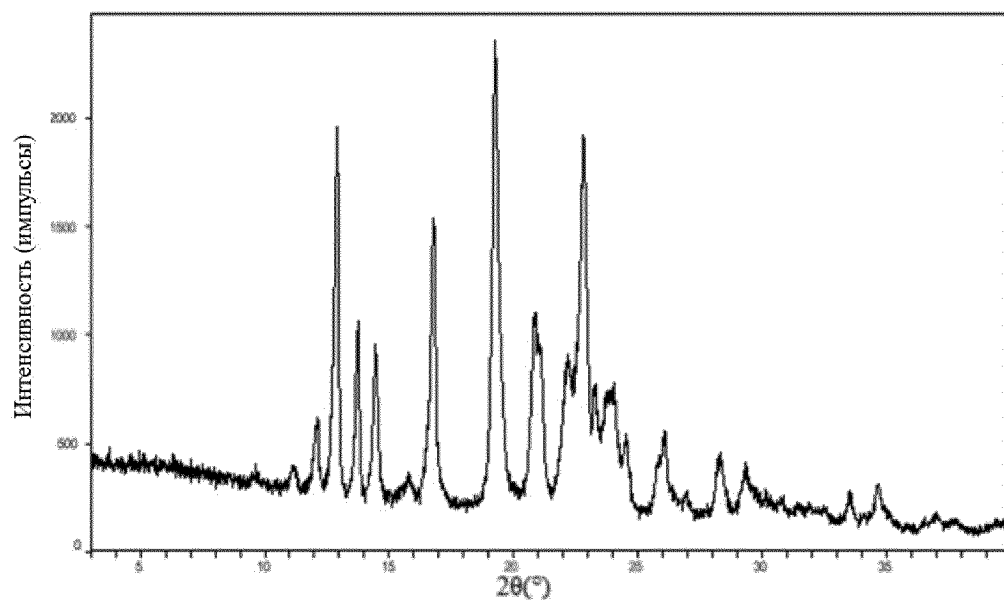
11. Фармацевтическая композиция, содержащая кристаллическую форму соединения формулы A или его сольвата по любому из пп. 1-4 и/или кристаллическую форму III вещества A по п. 7 или п. 8 и фармацевтическое вспомогательное вещество.

12. Применение кристаллической формы соединения формулы A или его сольвата по любому из пп. 1-4, кристаллической формы III вещества A по п. 7 или п. 8 в изготовлении антагониста рецептора P2X₃ или лекарственного средства, при этом лекарственное средство представляет собой лекарственное средство, которое может применяться для защиты от опосредованных P2X₃ или связанных с активностью P2X₃ заболеваний животных, борьбы с ними, их лечения или облегчения состояния при по меньшей мере части из них; в качестве альтернативы лекарственное средство представляет собой лекарственное средство, которое может применяться для лечения боли, заболевания мочевыводящих путей или респираторного заболевания.

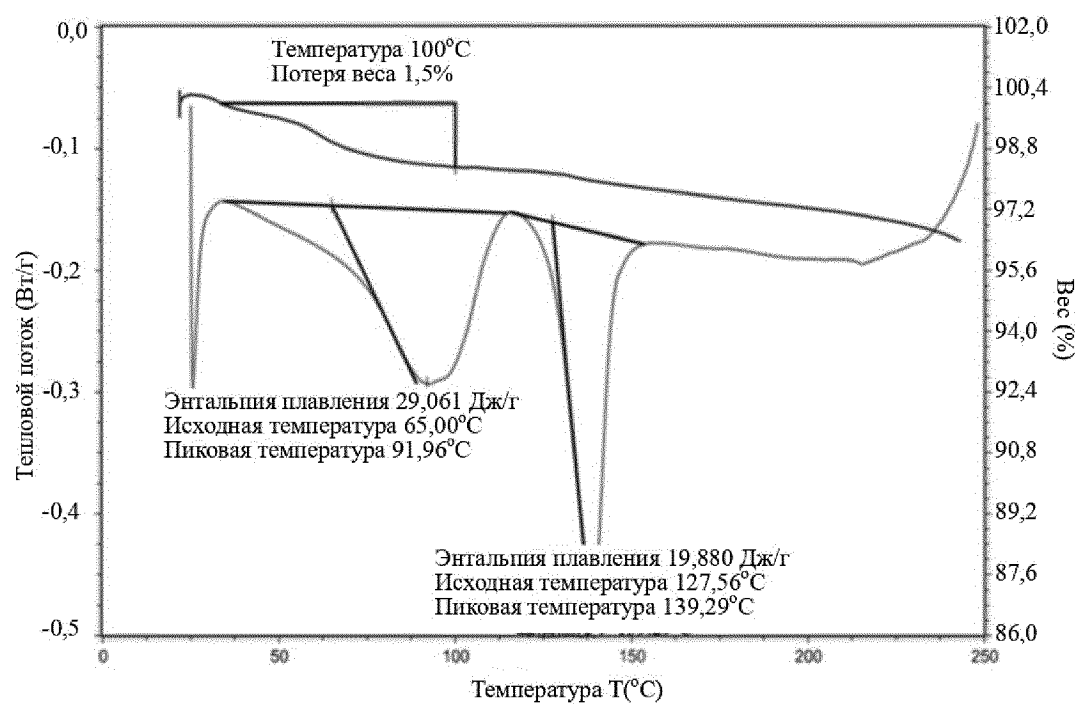
13. Применение по п. 12, где заболевание включает боль, заболевания мочевыводящих путей или респираторные заболевания; боль предпочтительно включает воспалительную боль, боль после хирургического вмешательства, висцеральную боль, зубную боль, предменструальную боль, центральную боль, боль из-за ожогов, мигрень и кластерную головную боль; заболевание мочевыводящих путей включает недержание мочи, гиперактивность мочевого пузыря, дизурию и цистит; респираторное заболевание предпочтительно включает нарушение дыхания, включающее идиопатический фиброз легких, хроническую обструкцию легких, астму, бронхоспазм и хронический кашель.

14. Фармацевтическая композиция по п. 13, где побочные эффекты нарушений

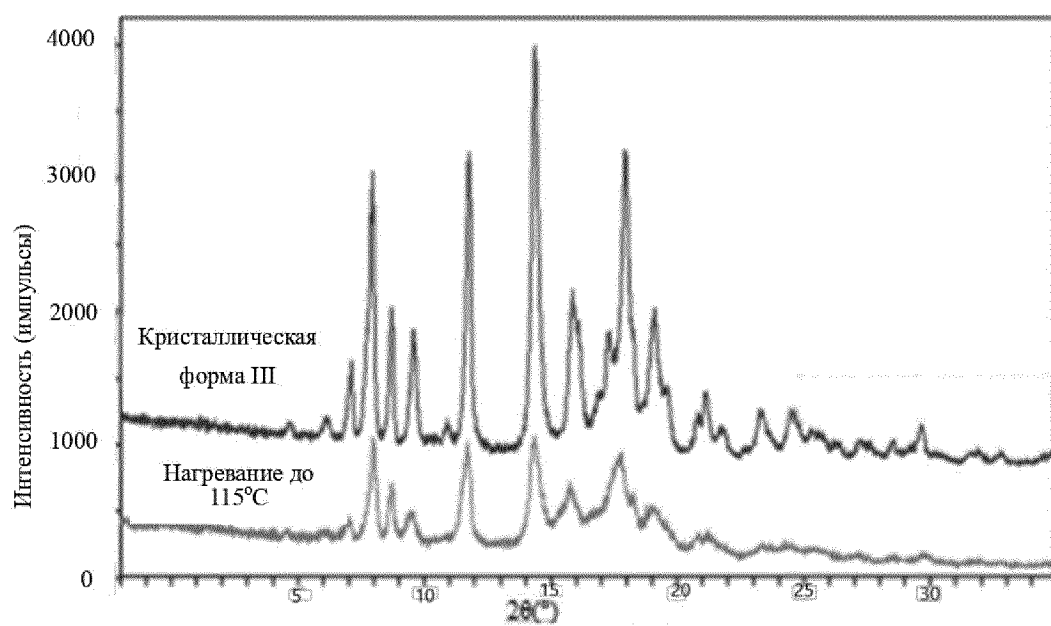
вкуса, ассоциированных с лечением, снижаются путем введения фармацевтической композиции.



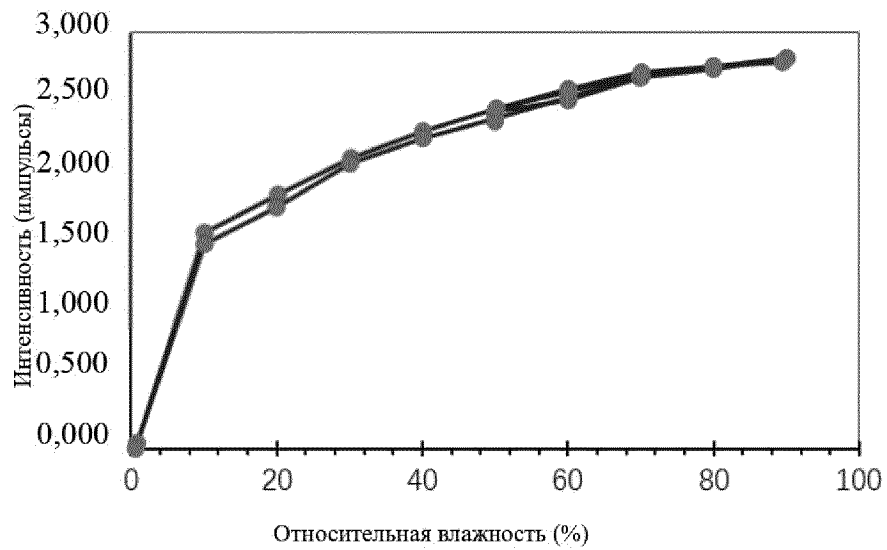
ФИГ.1



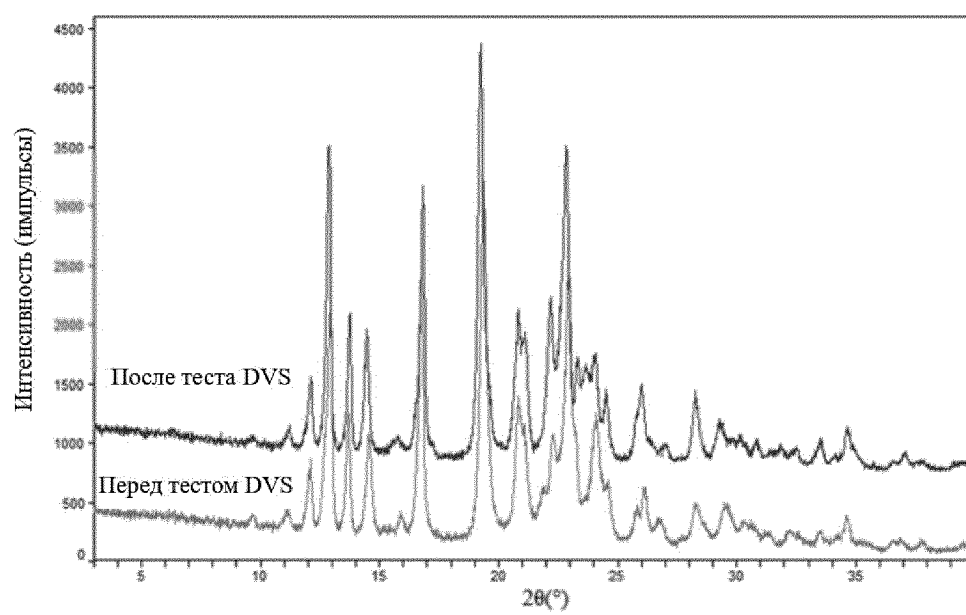
ФИГ.2



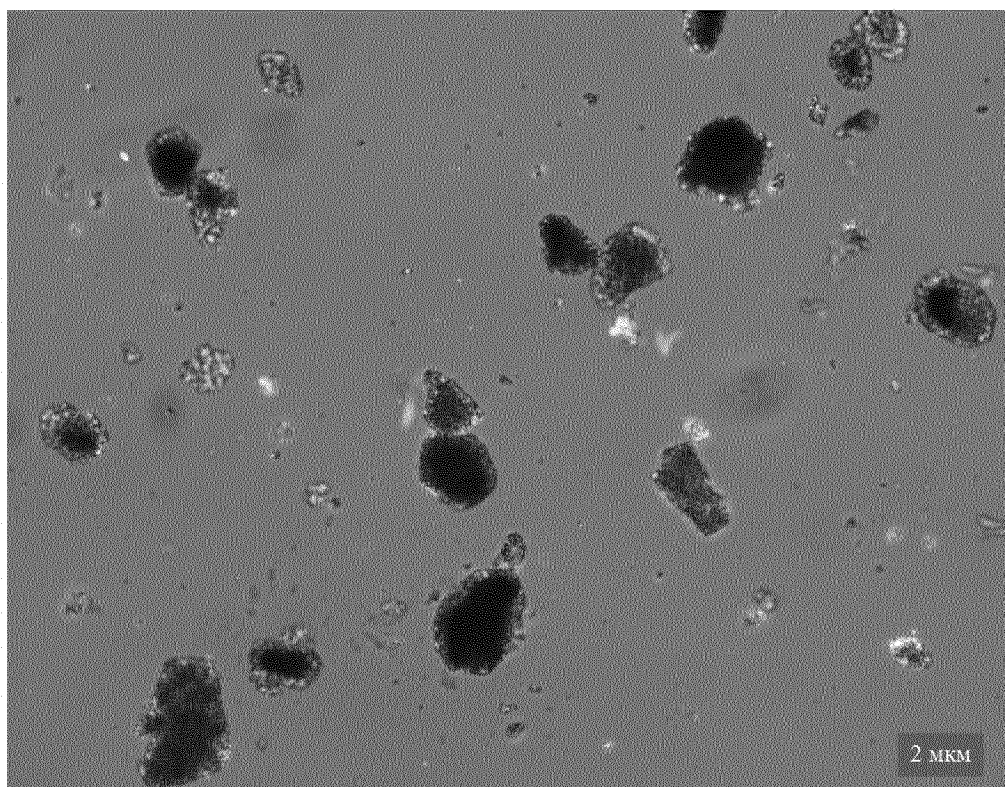
ФИГ.3



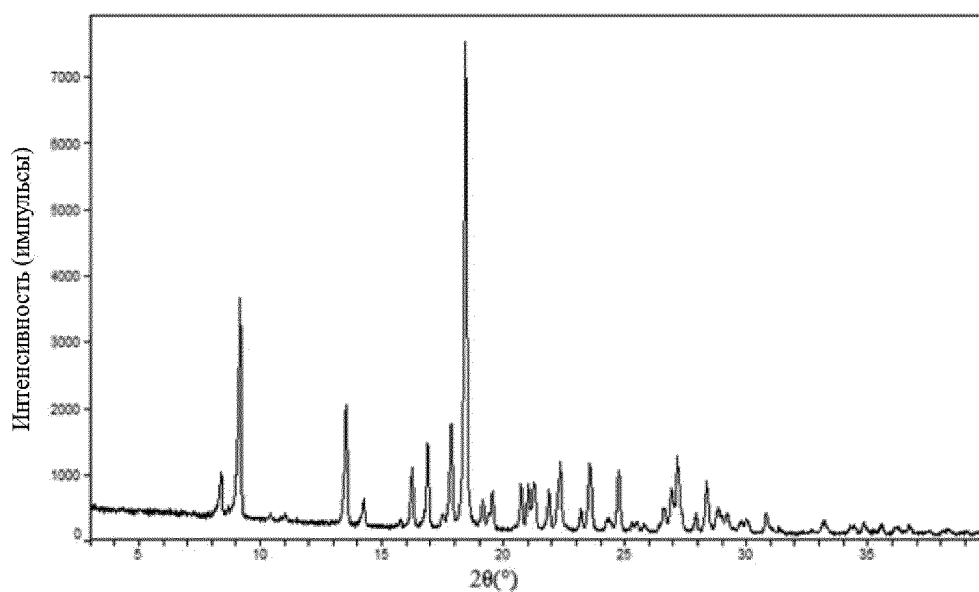
ФИГ.4



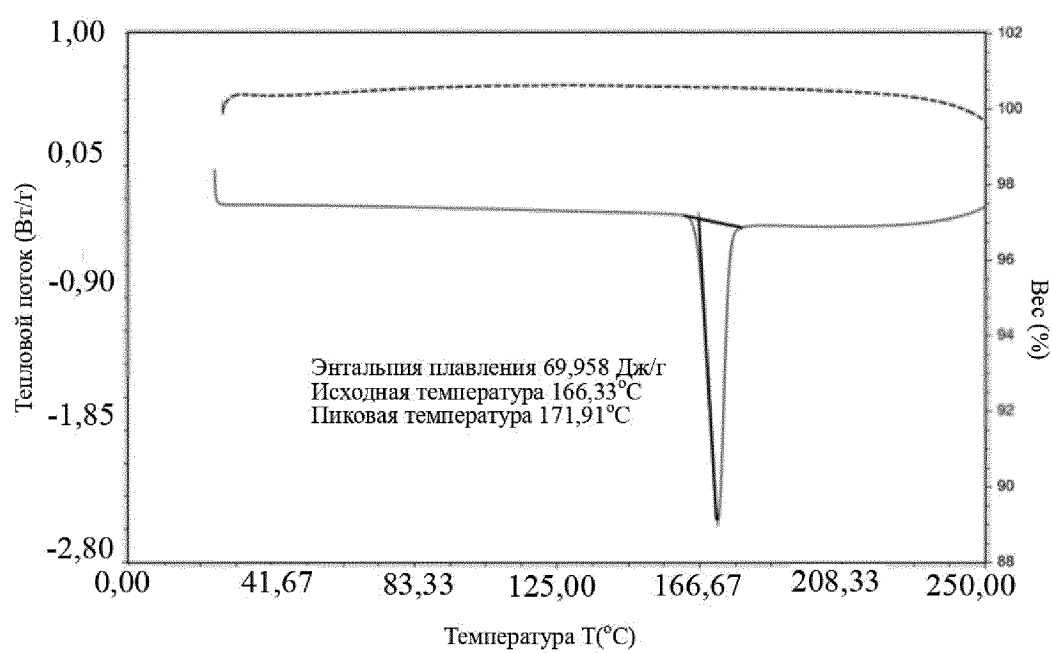
ФИГ.5



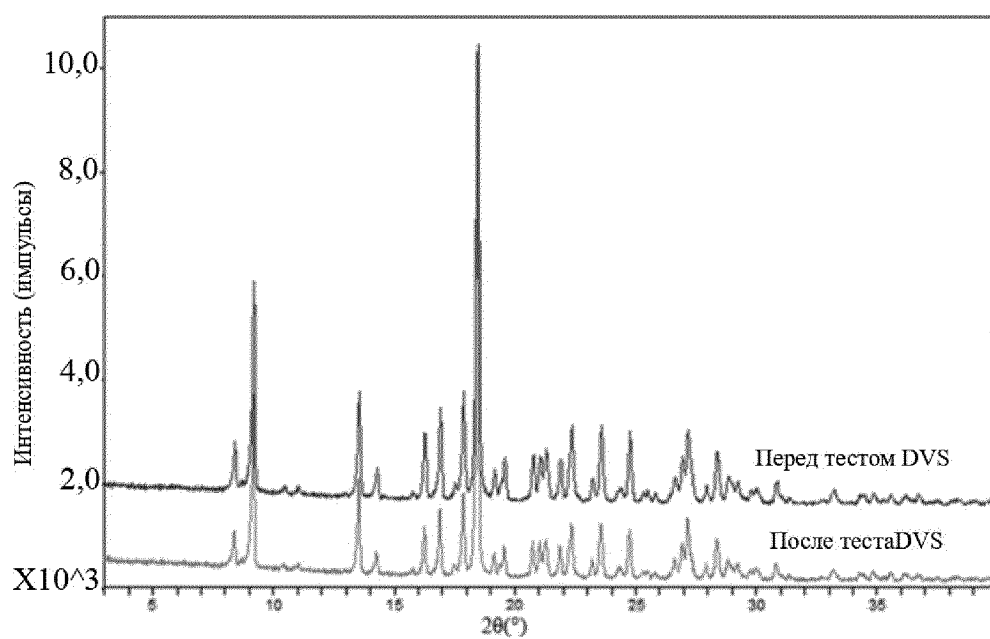
ФИГ.6



ФИГ.7

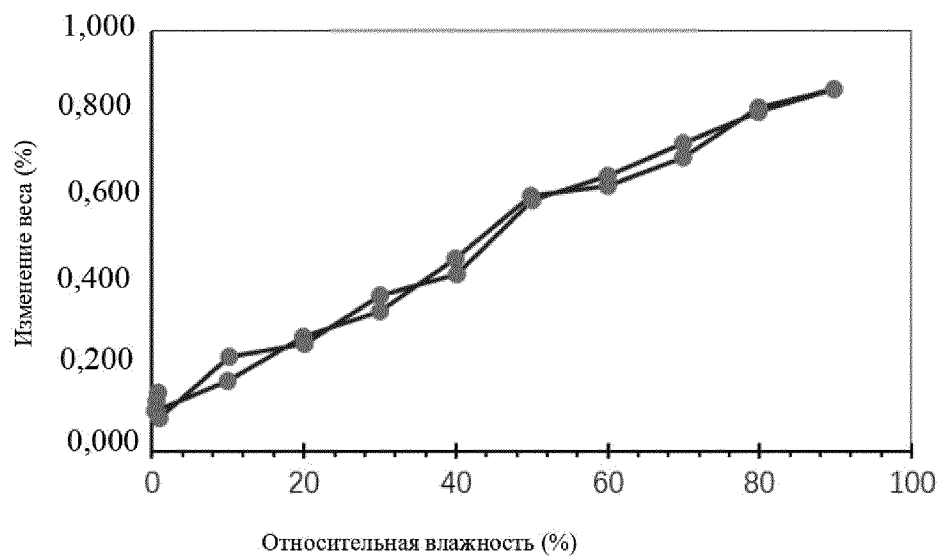


ФИГ.8

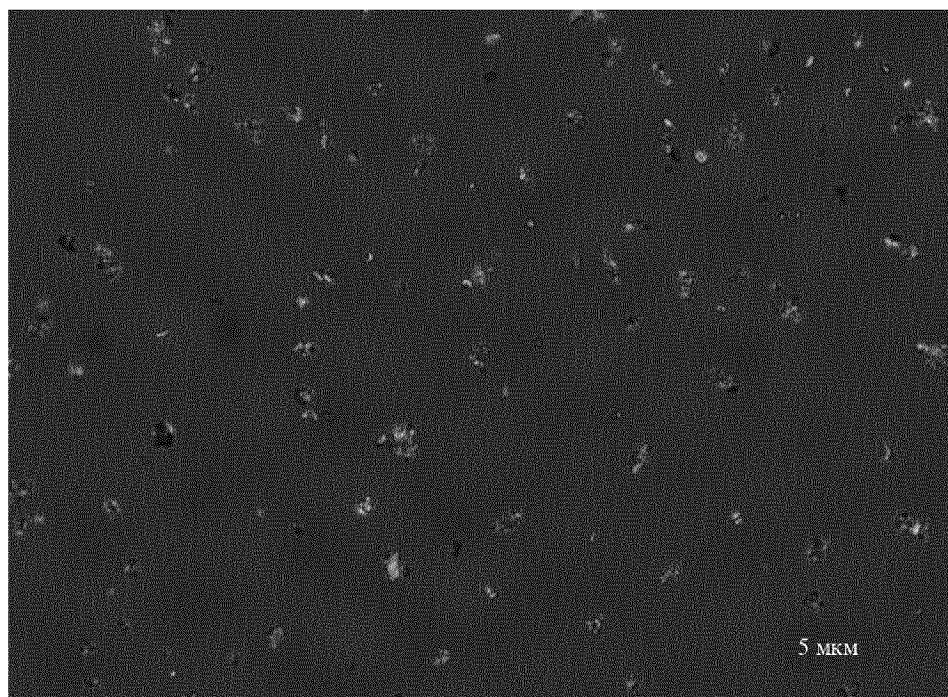


ФИГ.9

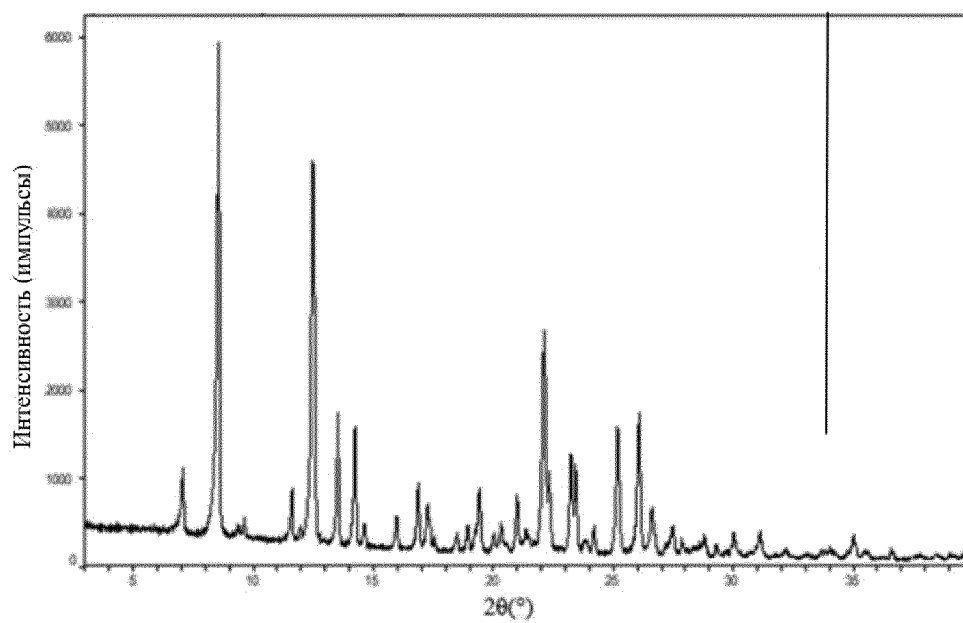
Результаты DVS кристаллической формы V



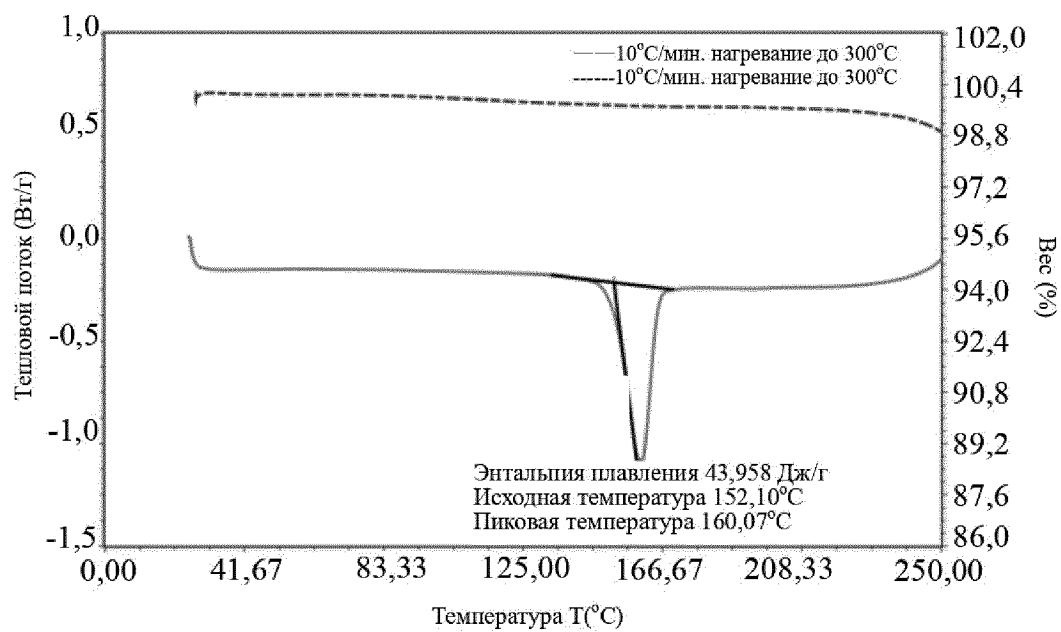
ФИГ.10



ФИГ.11

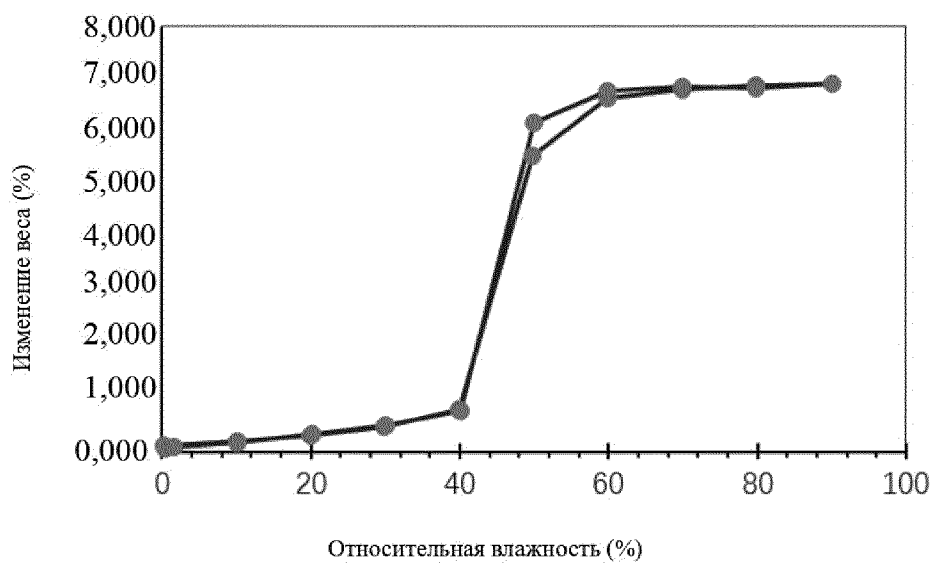


ФИГ.12

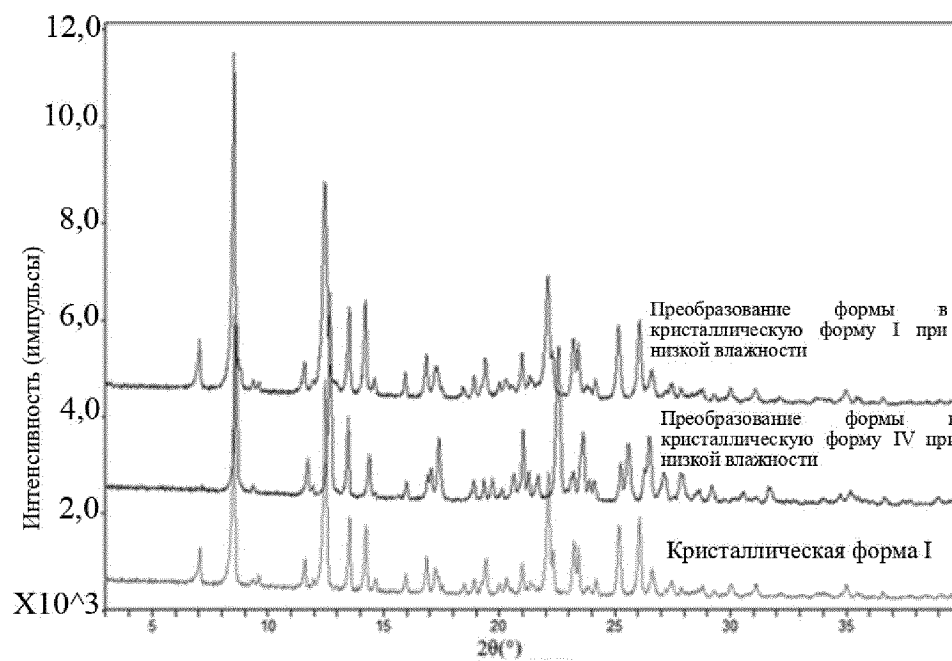


ФИГ.13

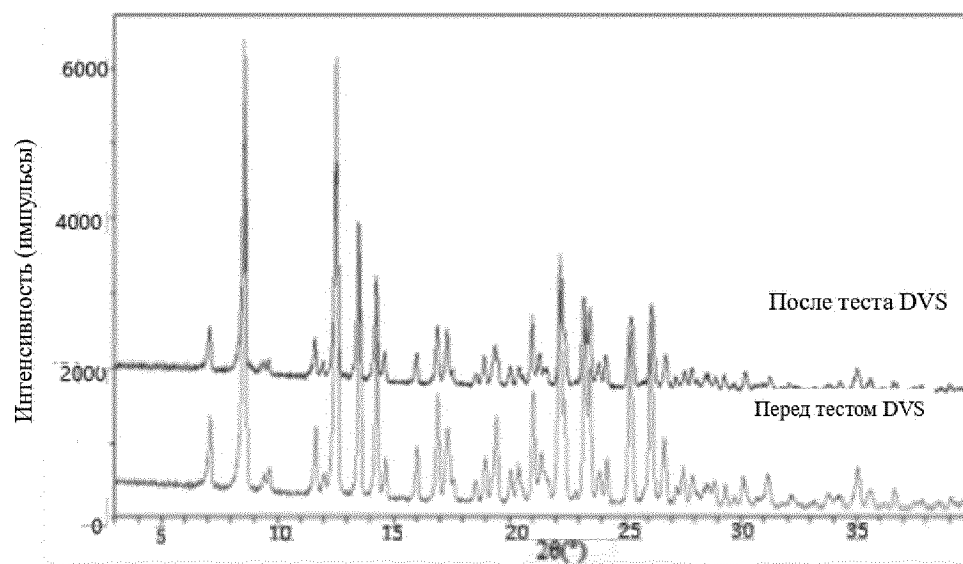
Результат DVS кристаллической формы I



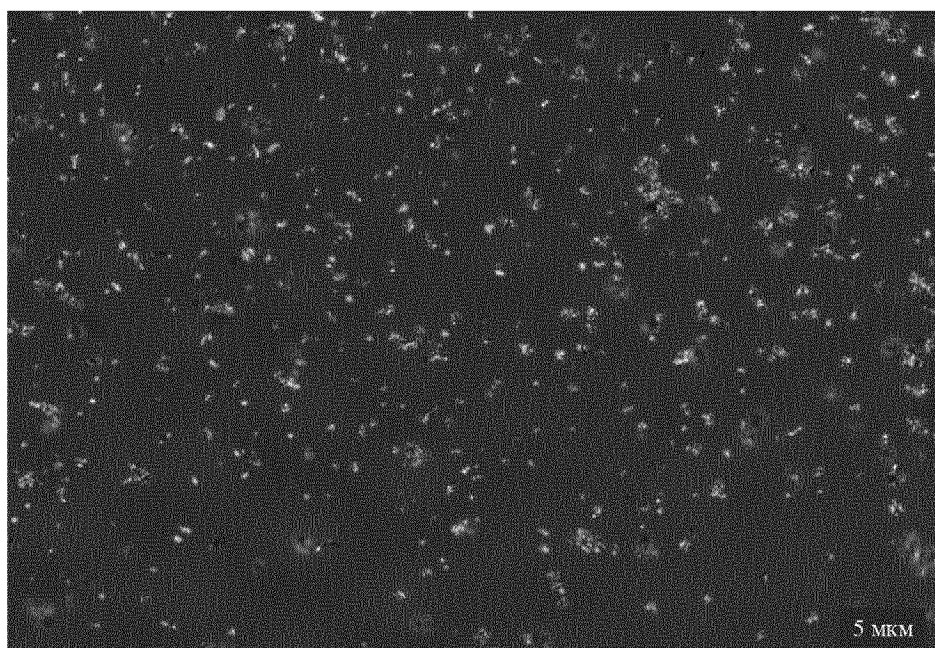
ФИГ.14



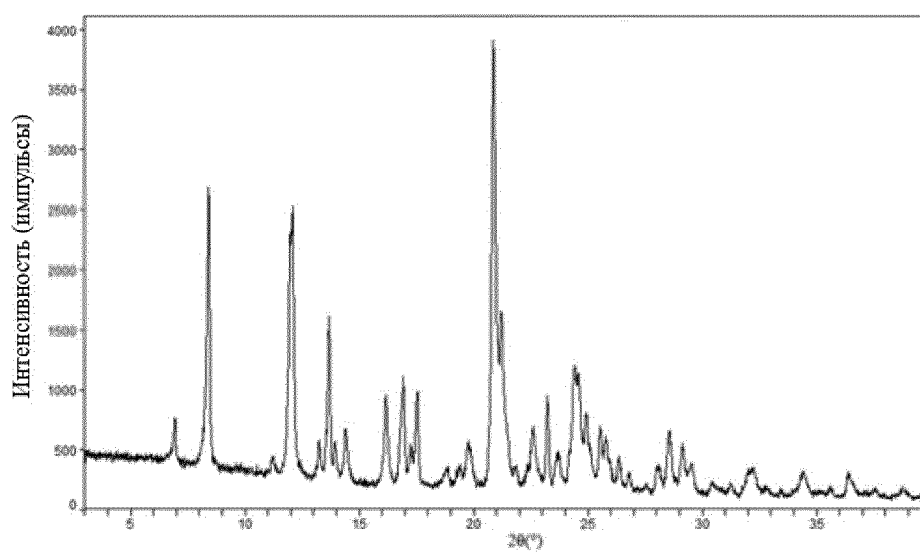
ФИГ.15



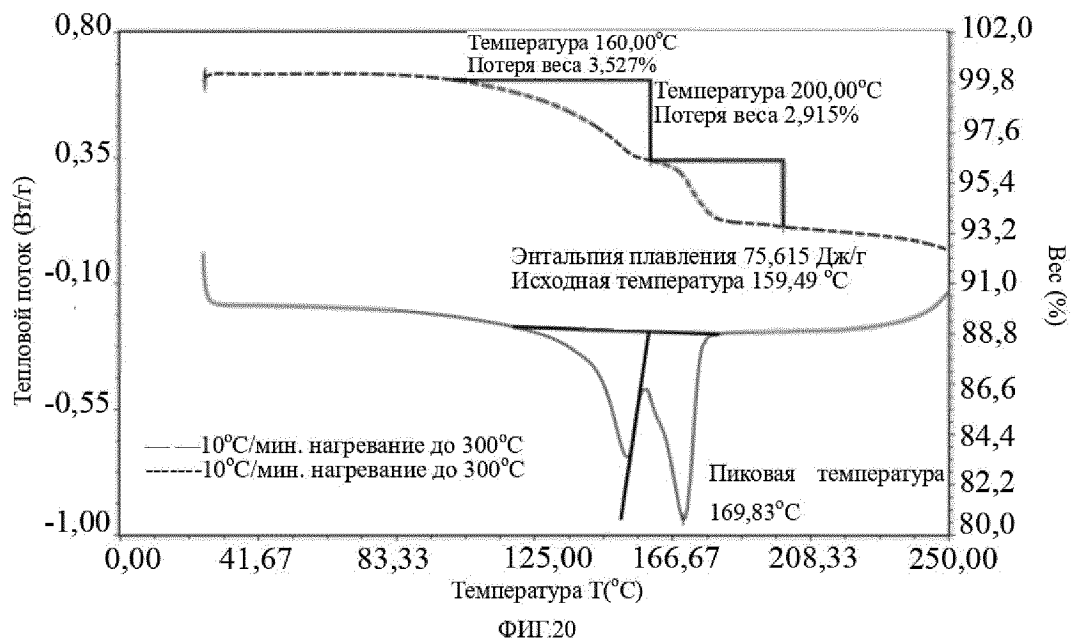
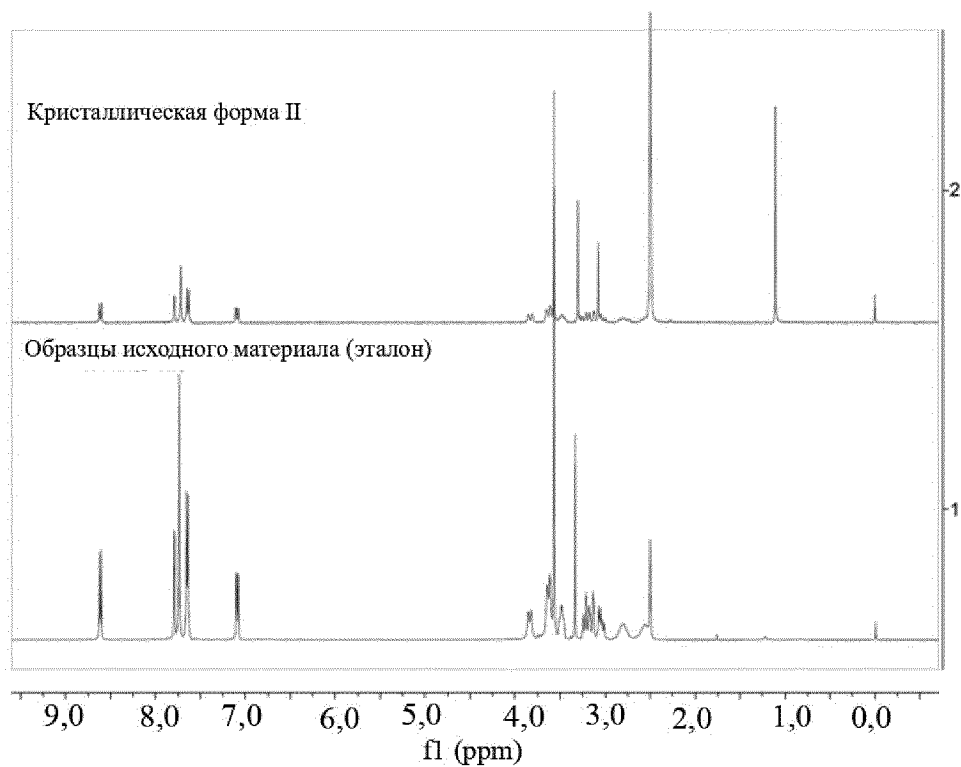
ФИГ.16



ФИГ.17

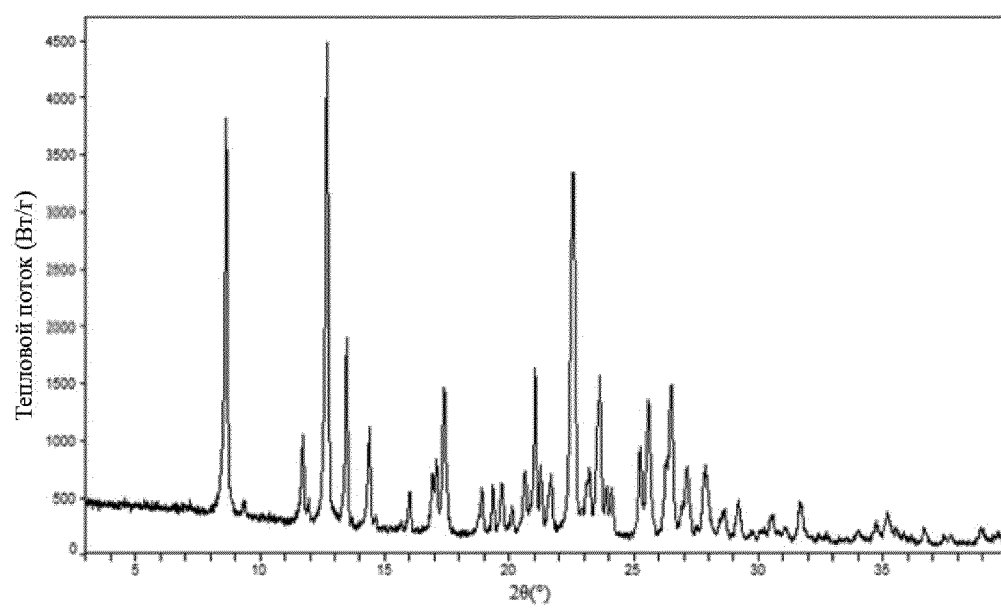


ФИГ.18

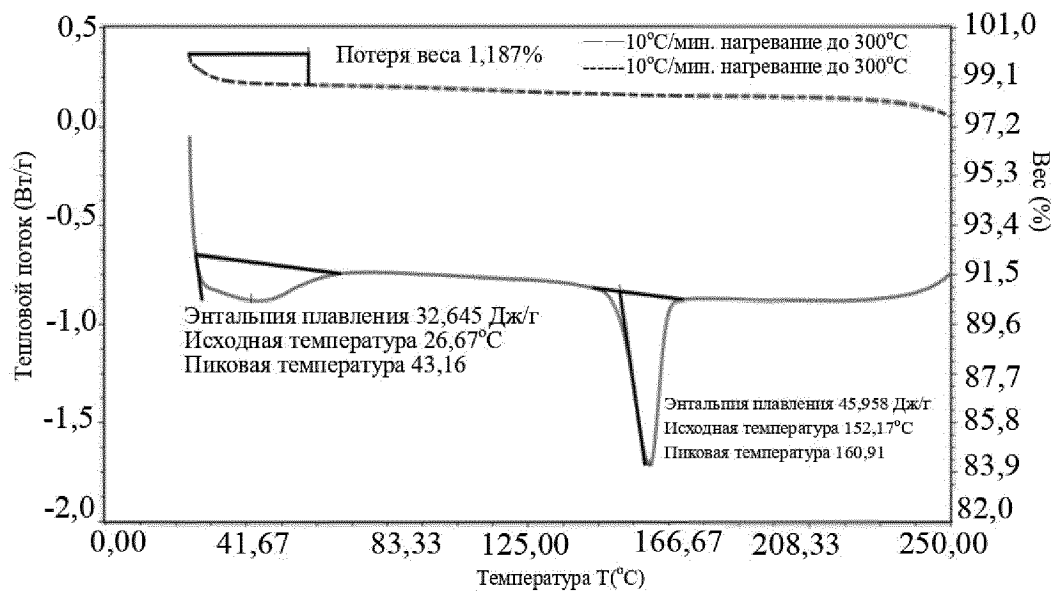




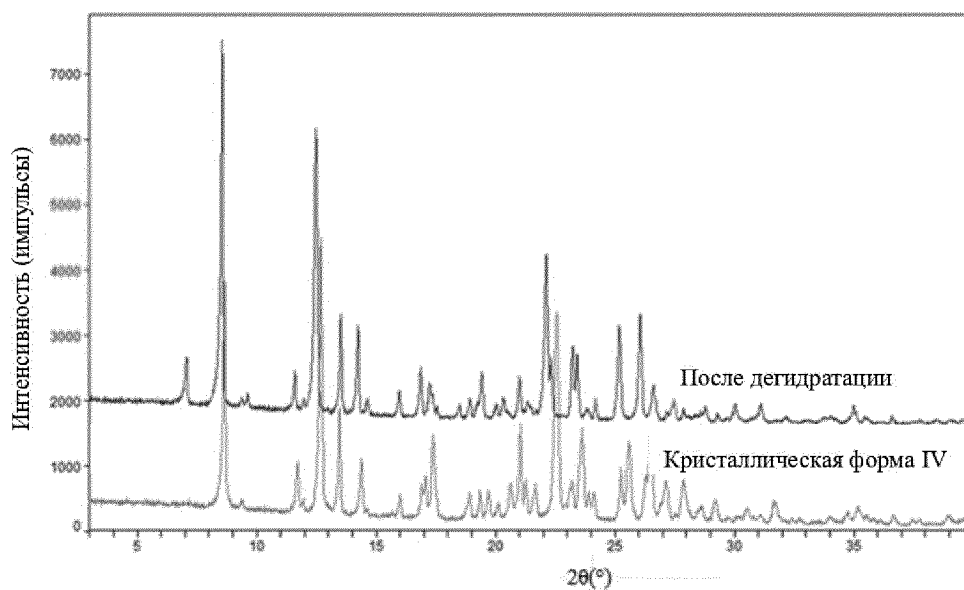
ФИГ.21



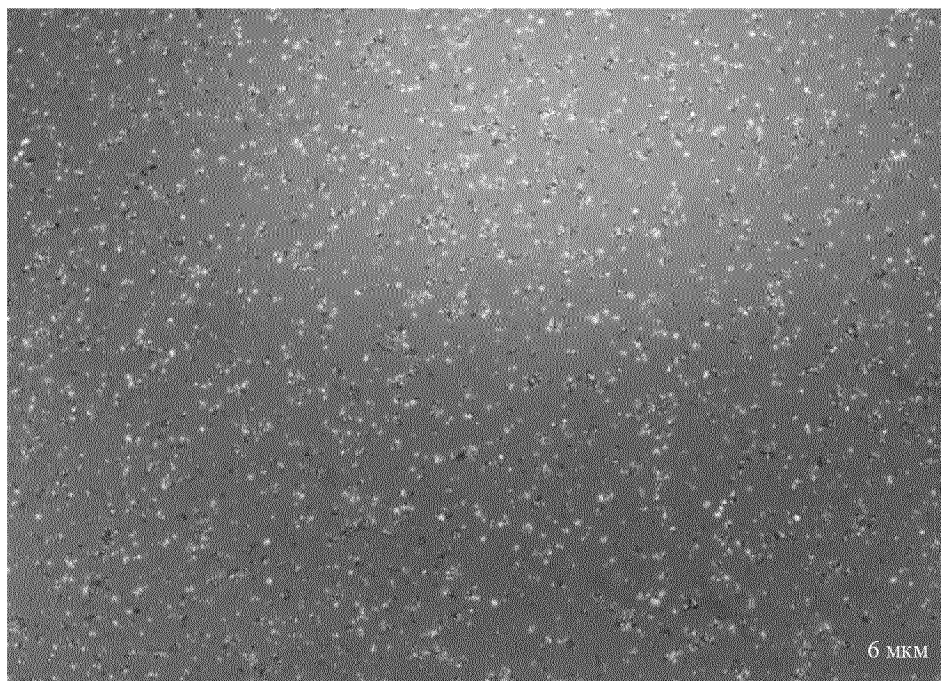
ФИГ.22



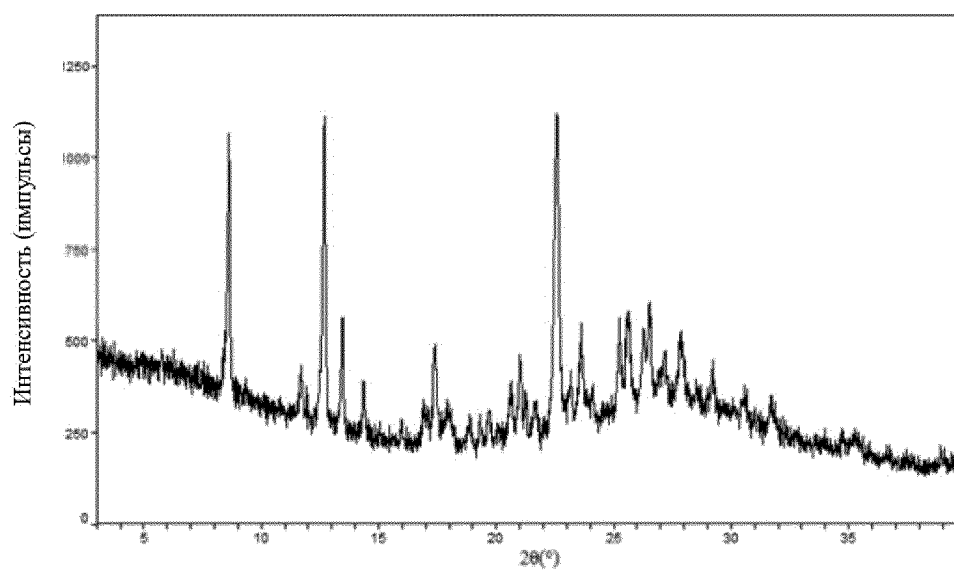
ФИГ.23



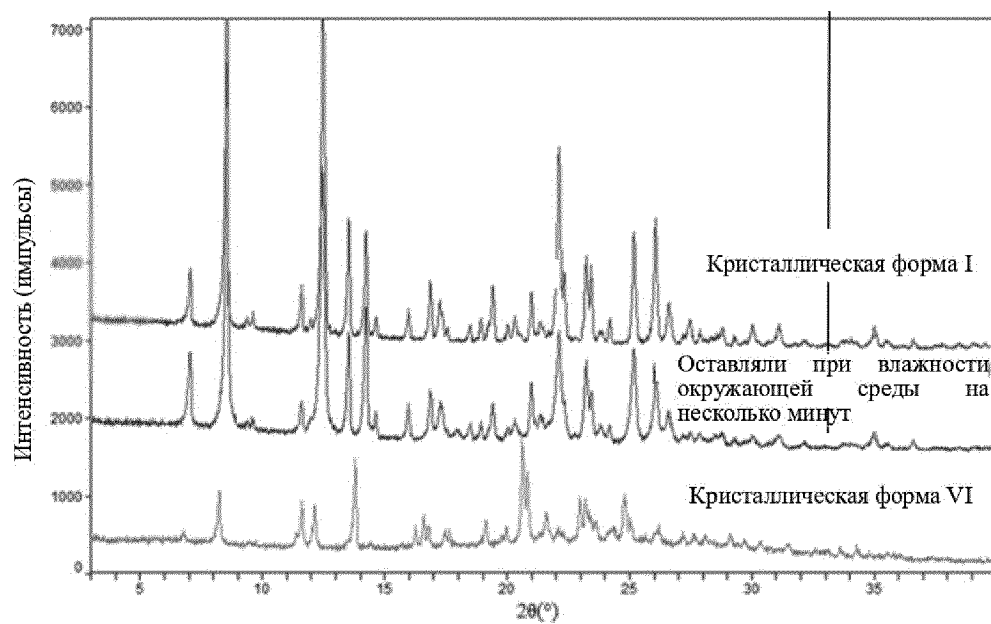
ФИГ.24



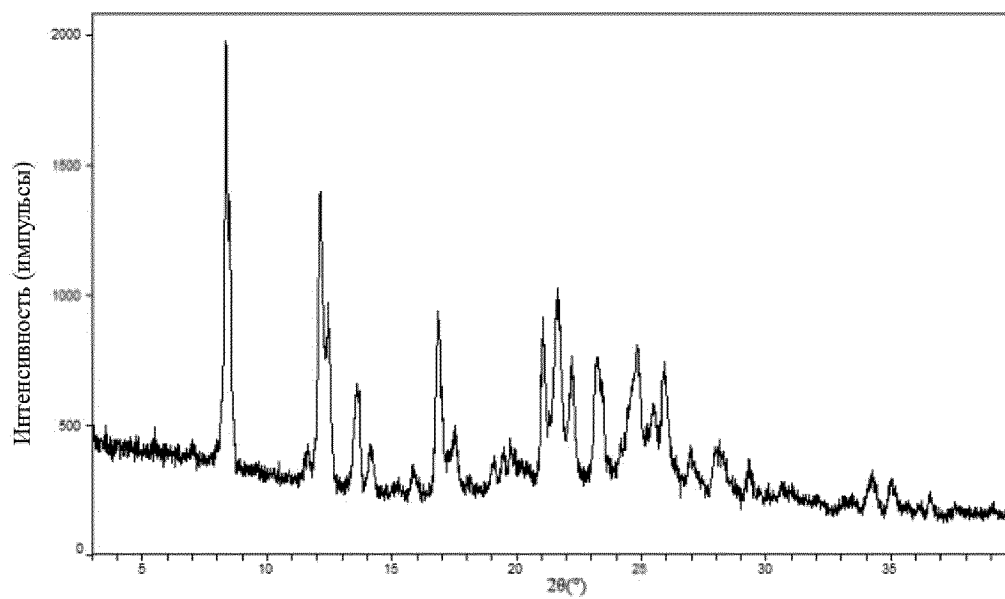
ФИГ.25



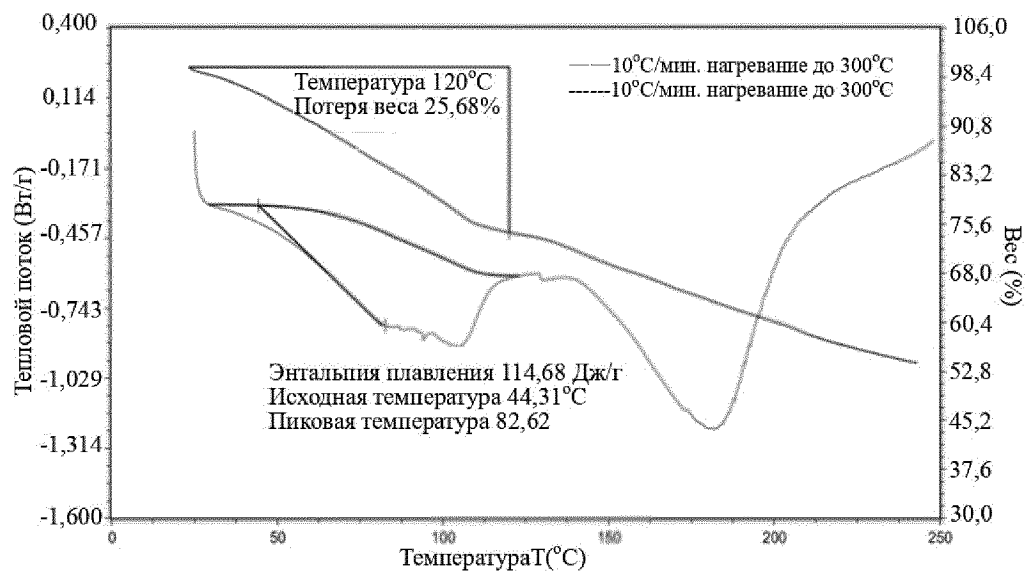
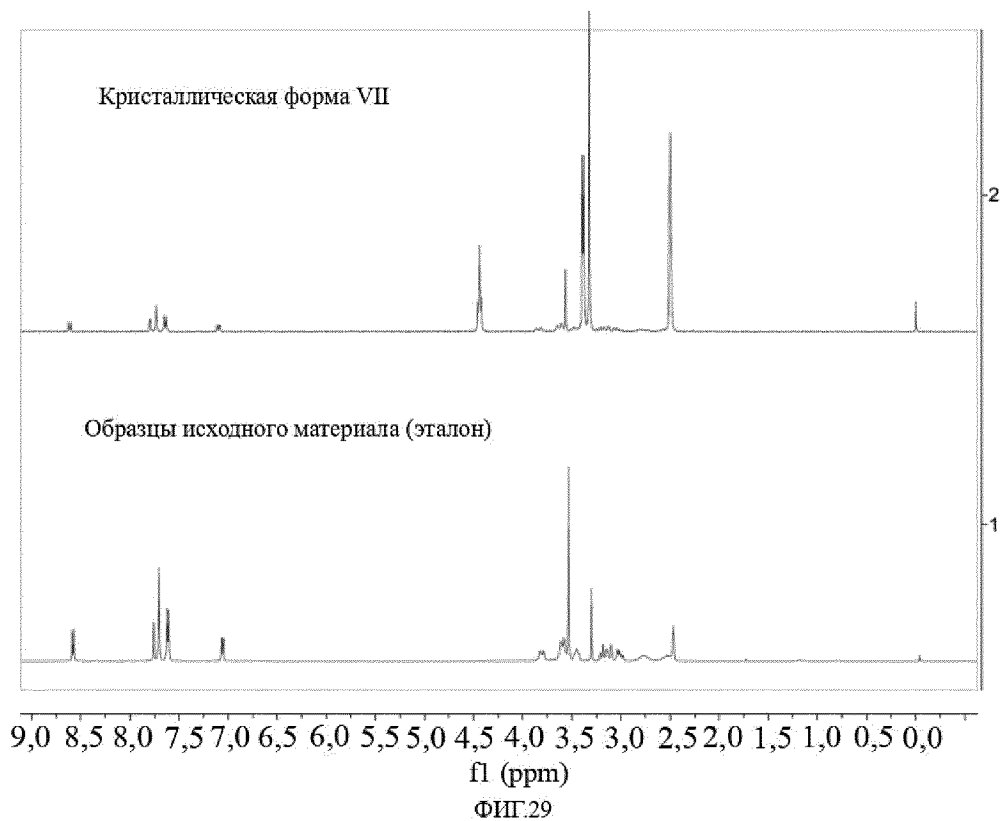
ФИГ.26

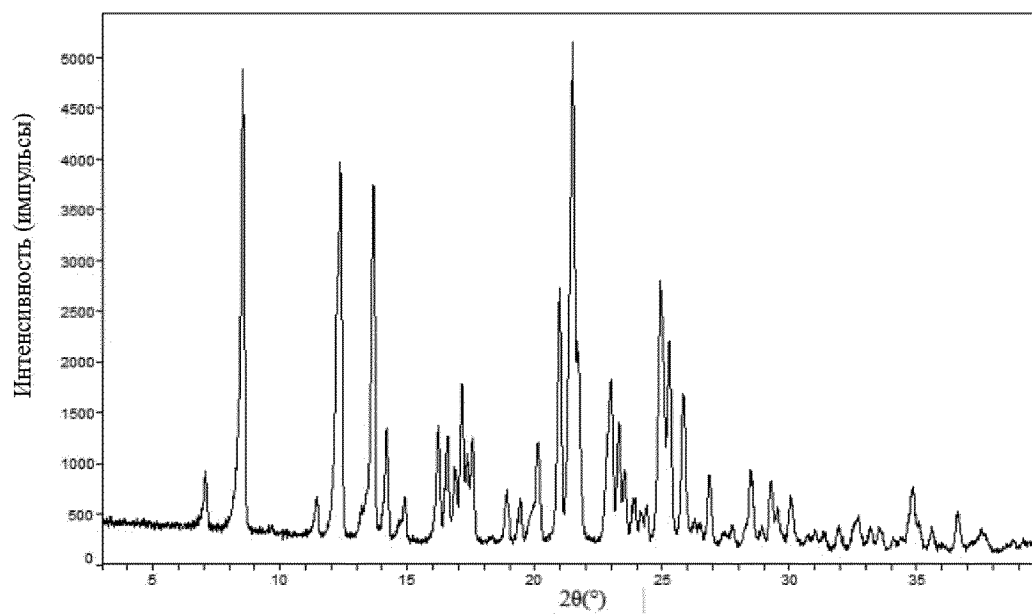


ФИГ.27

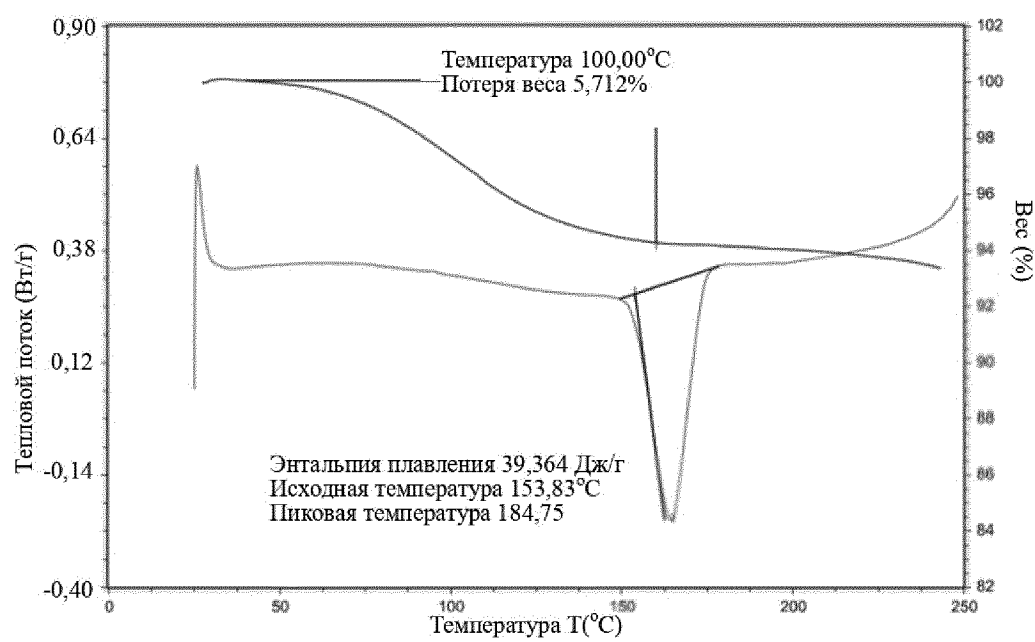


ФИГ.28

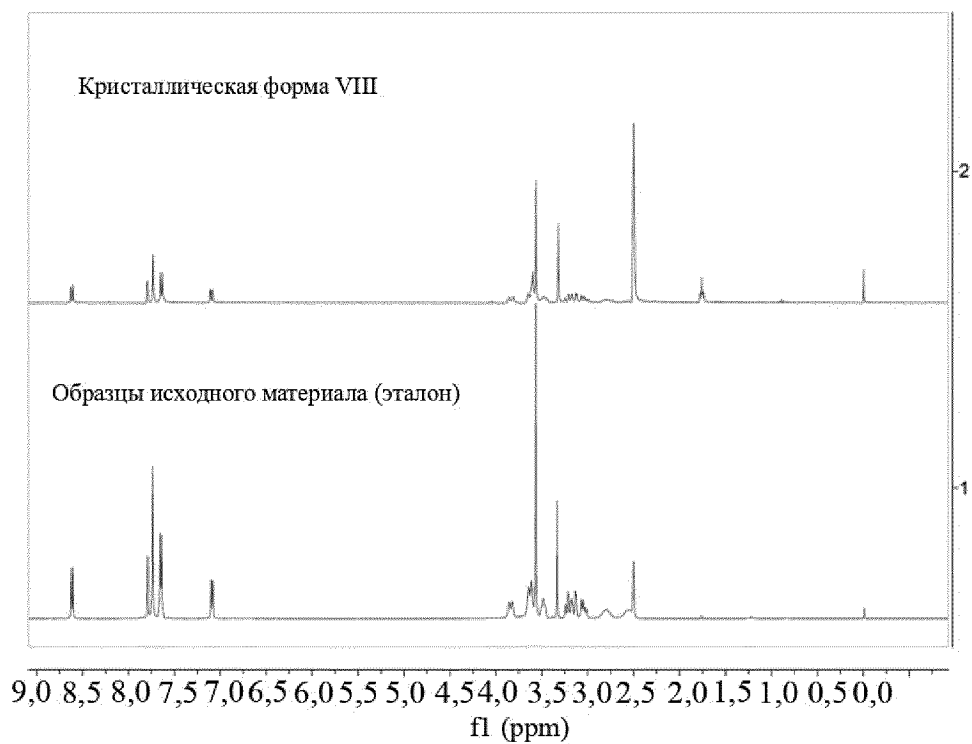




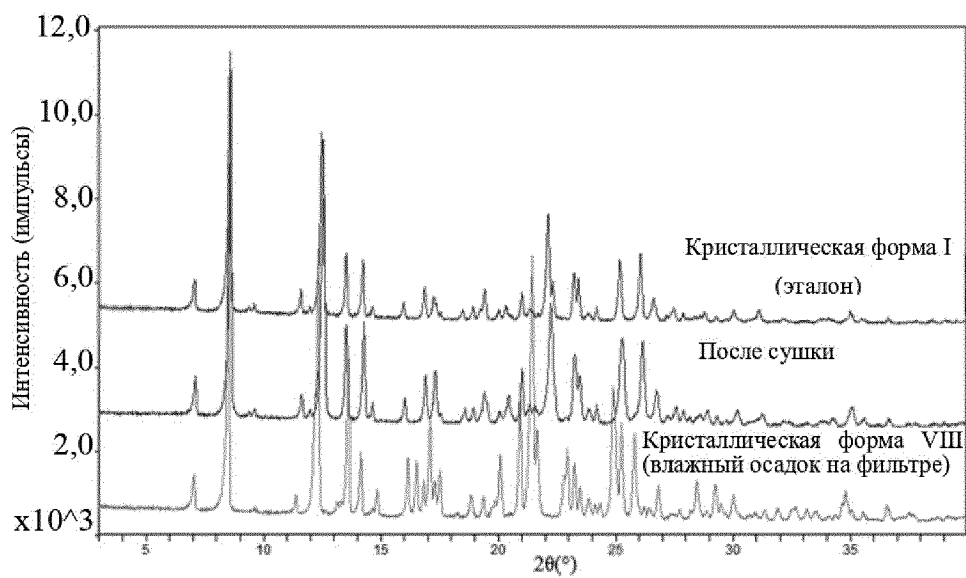
ФИГ.31



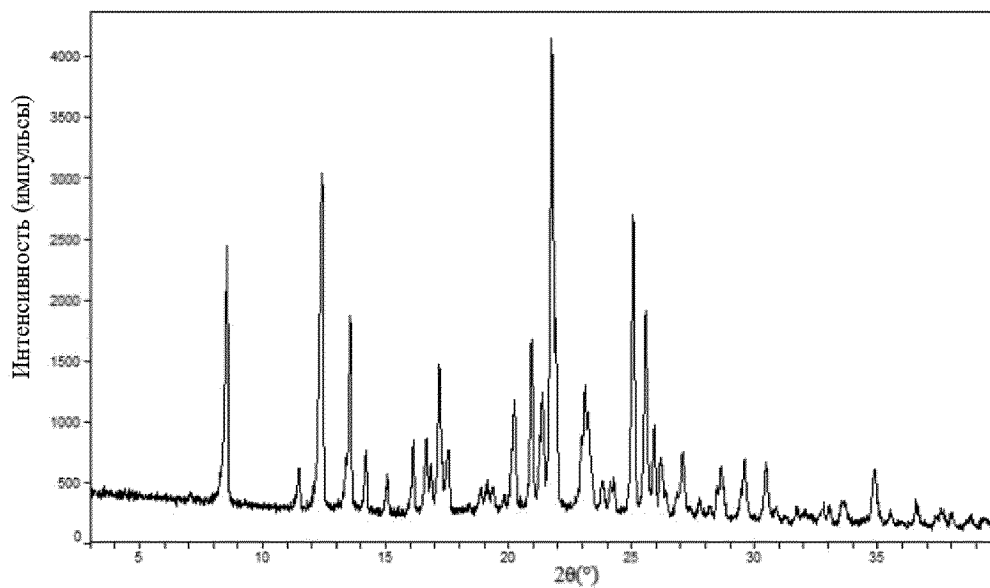
ФИГ.32



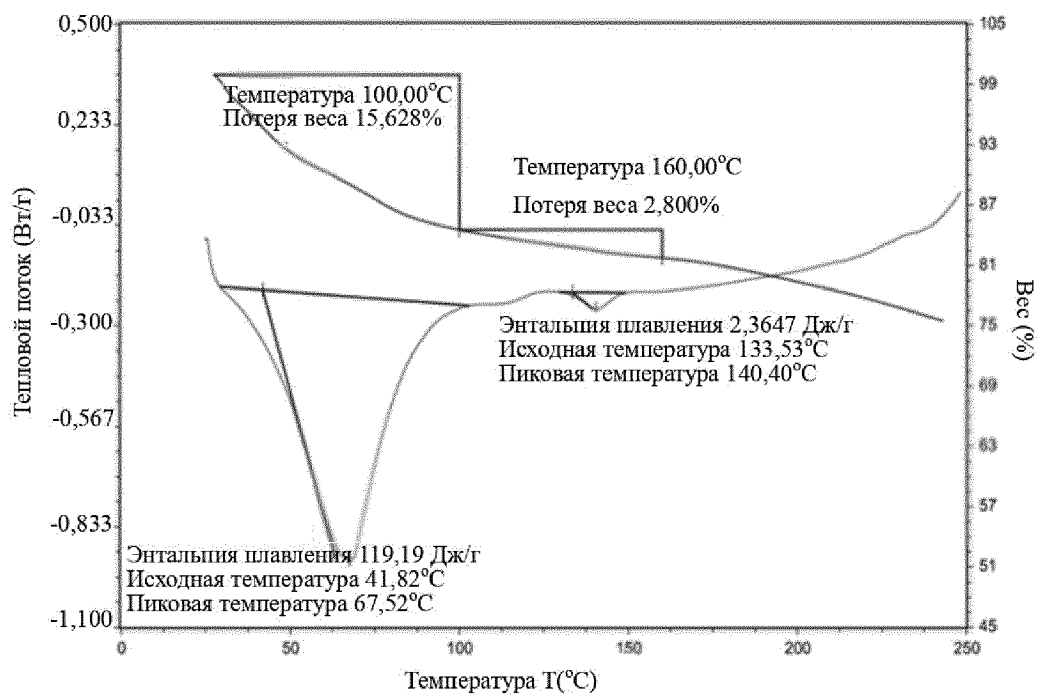
ФИГ.33



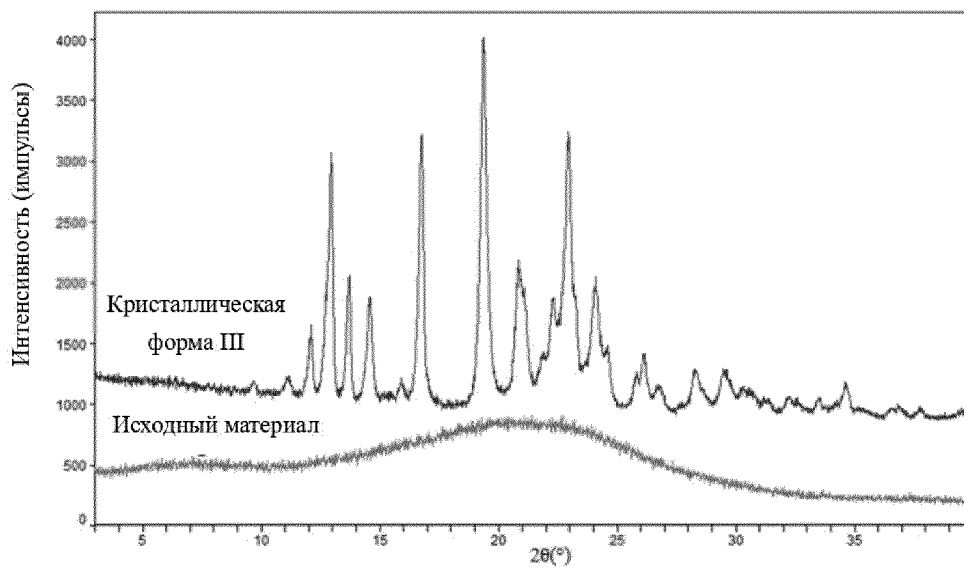
ФИГ.34



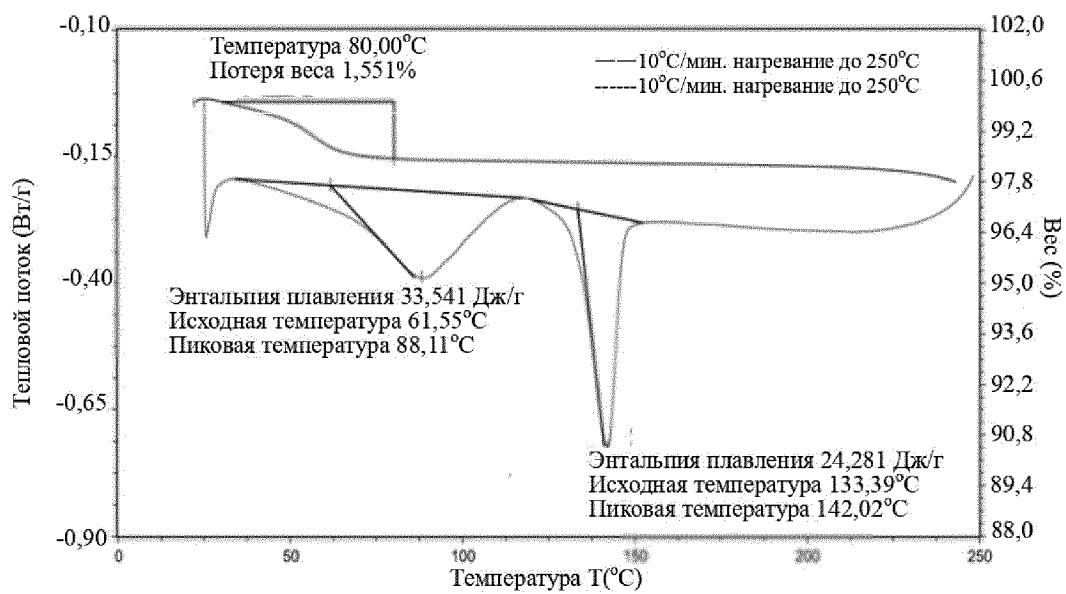
ФИГ.35



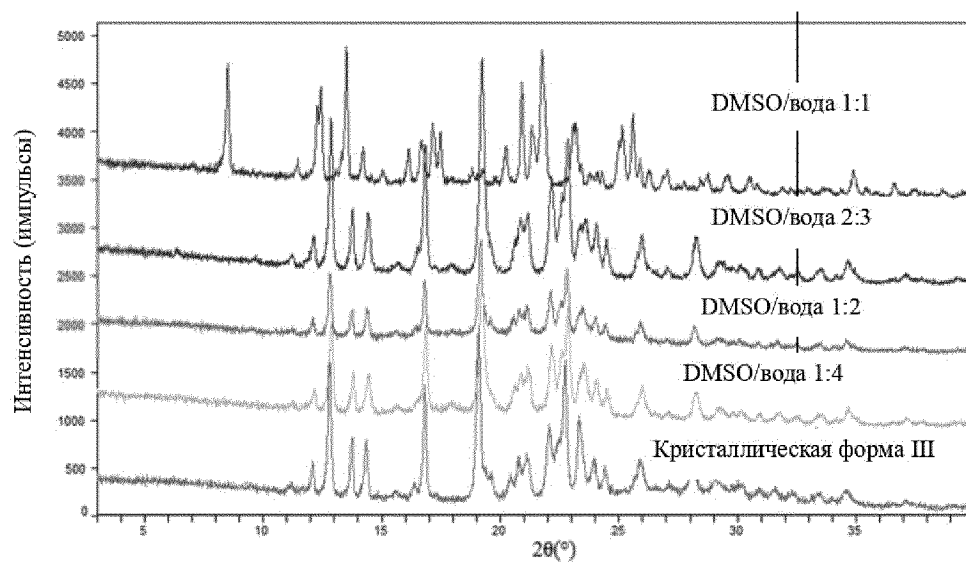
ФИГ.36



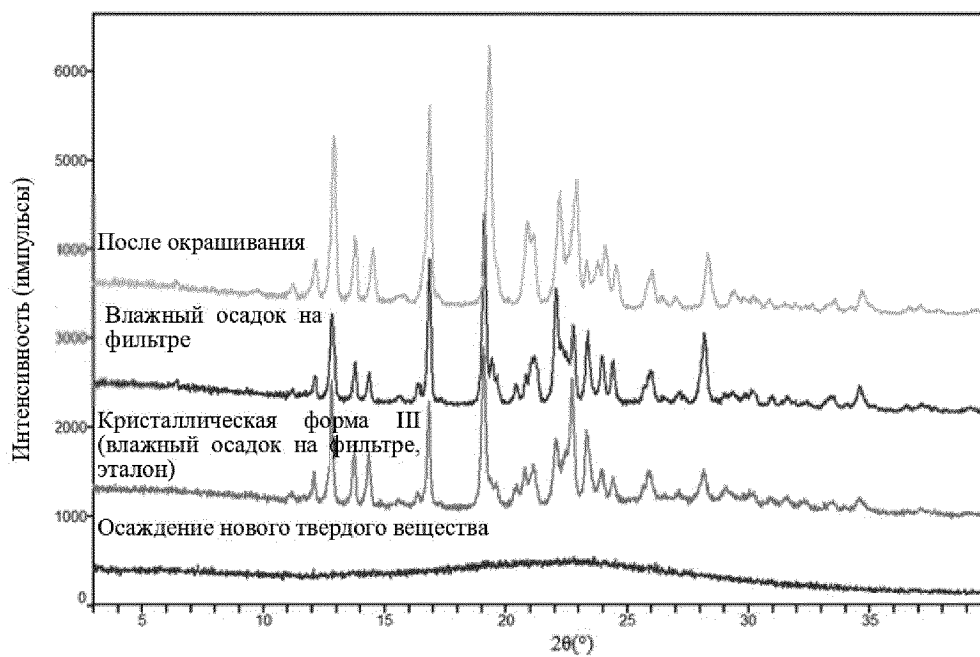
ФИГ.37



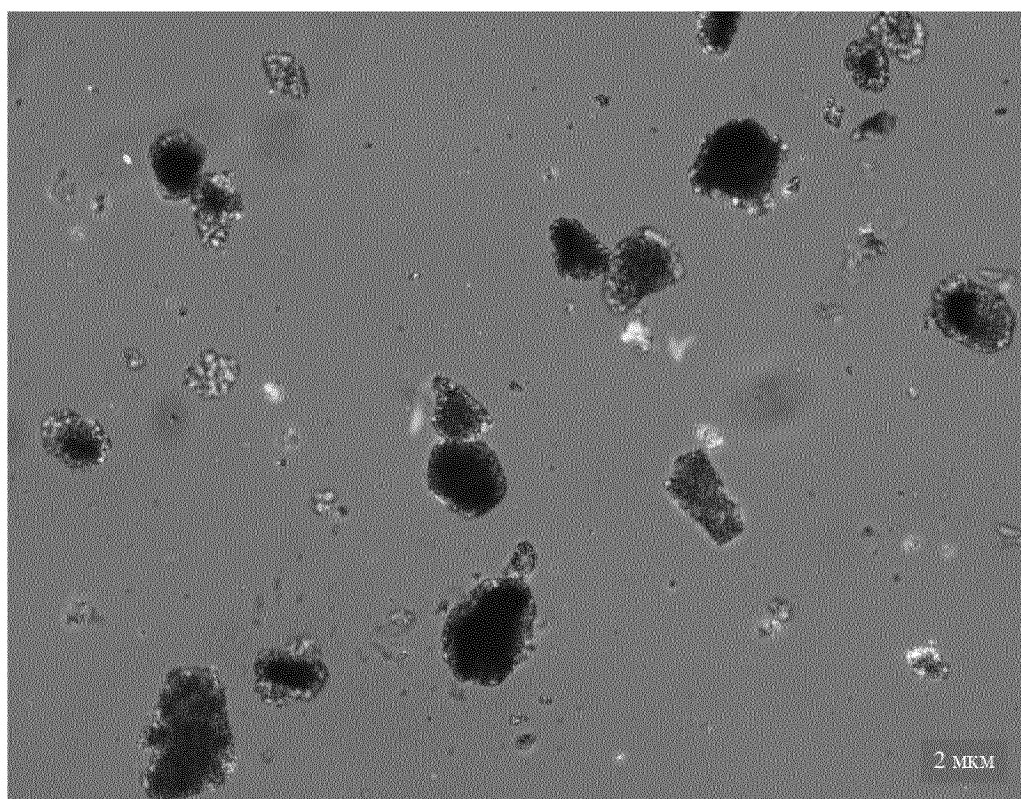
ФИГ.38



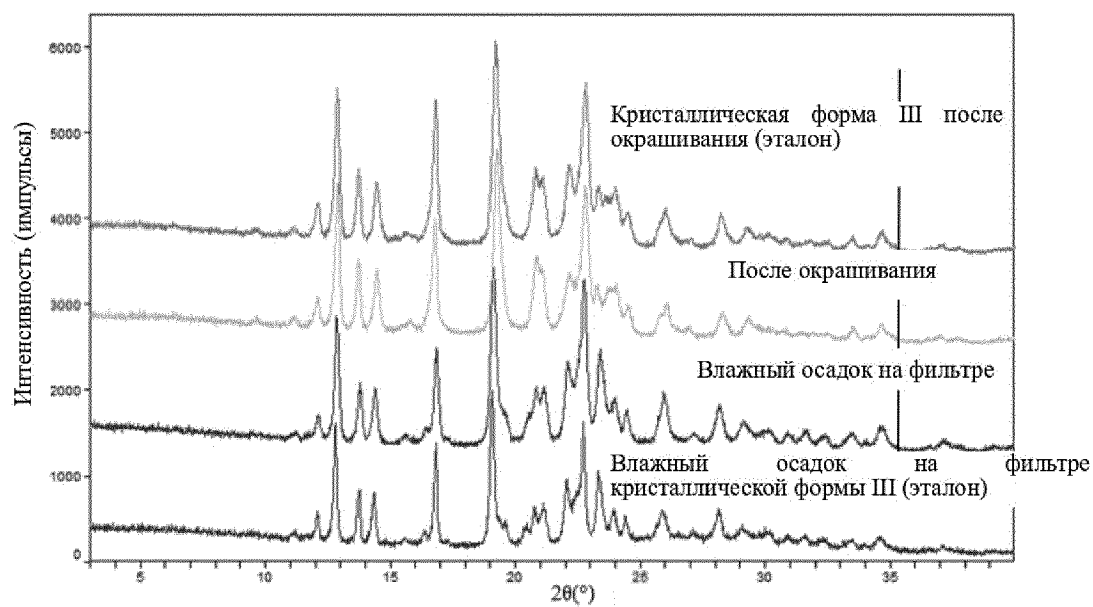
ФИГ.39



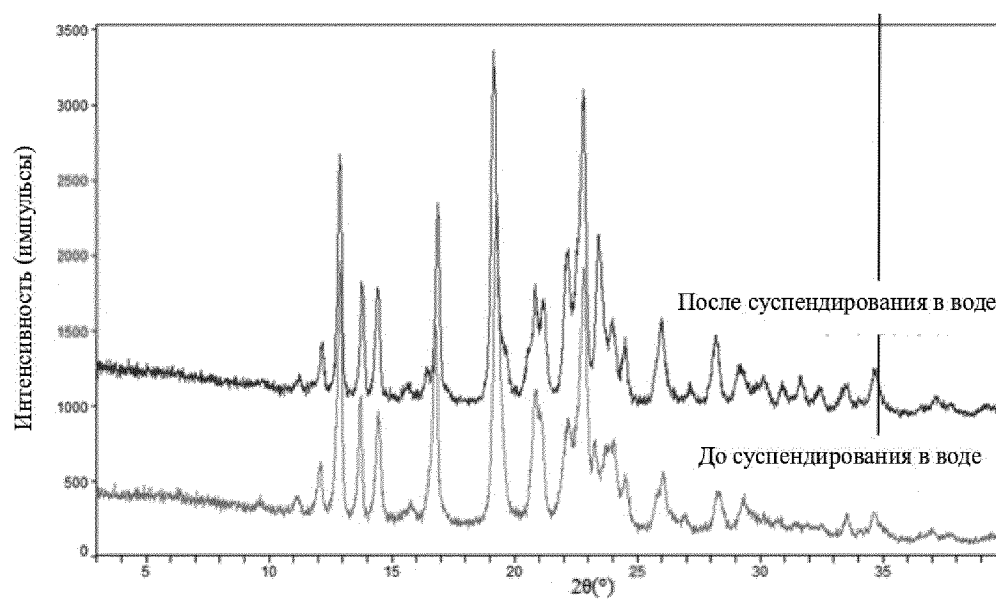
ФИГ.40



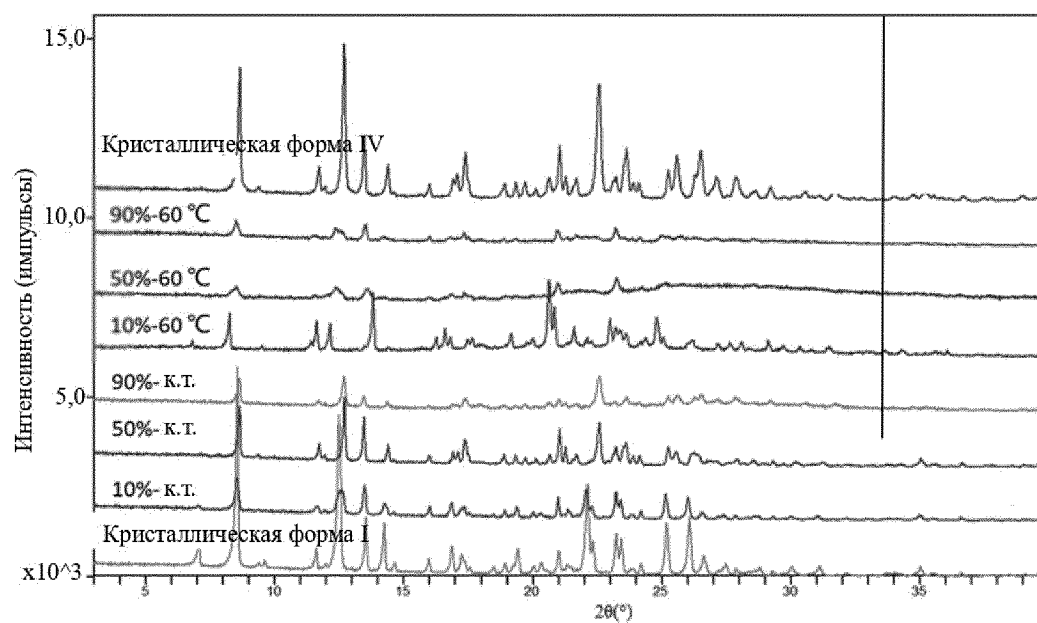
ФИГ.41



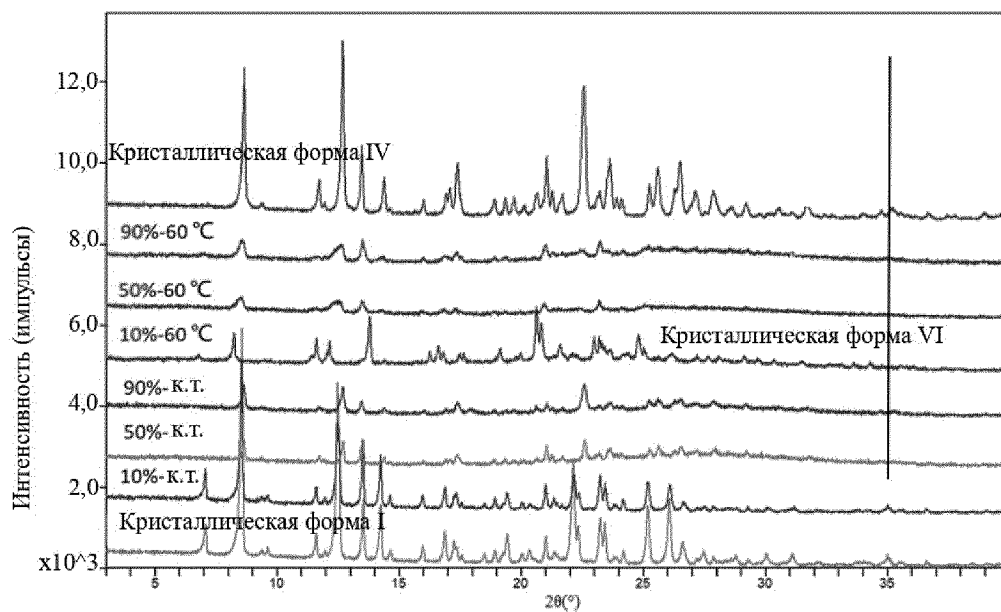
ФИГ.42



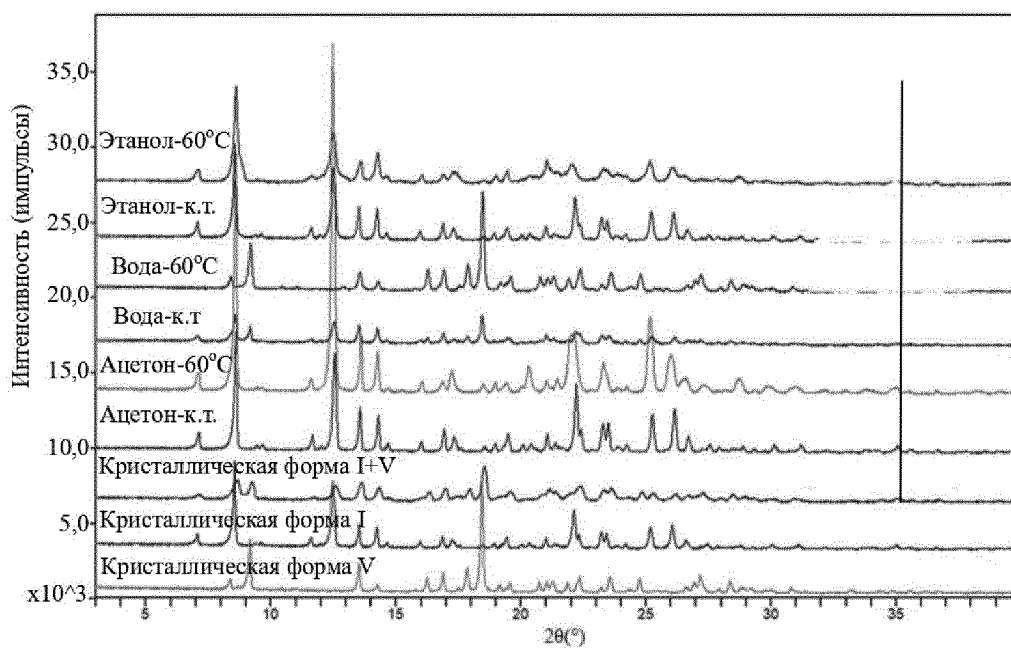
ФИГ.43



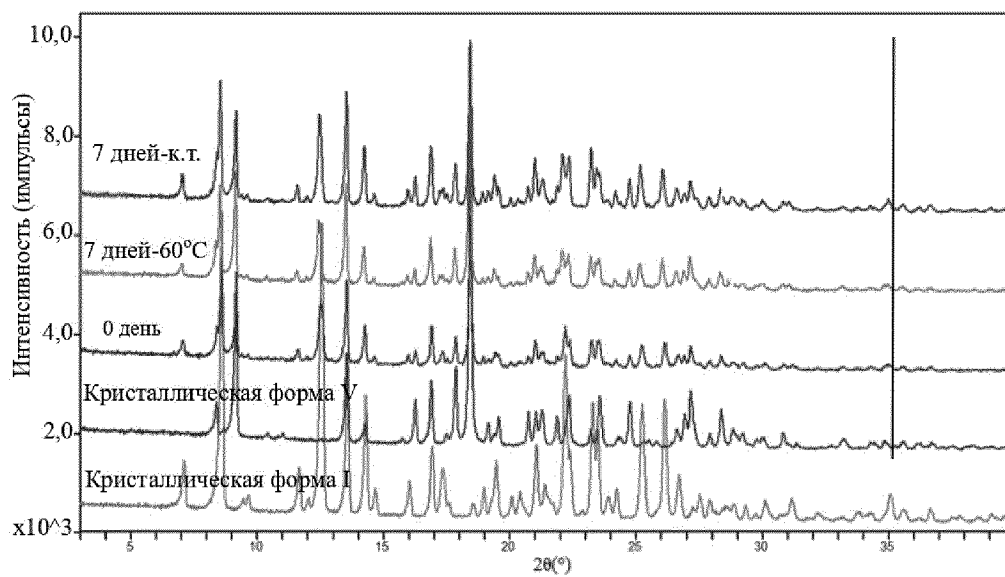
ФИГ.44



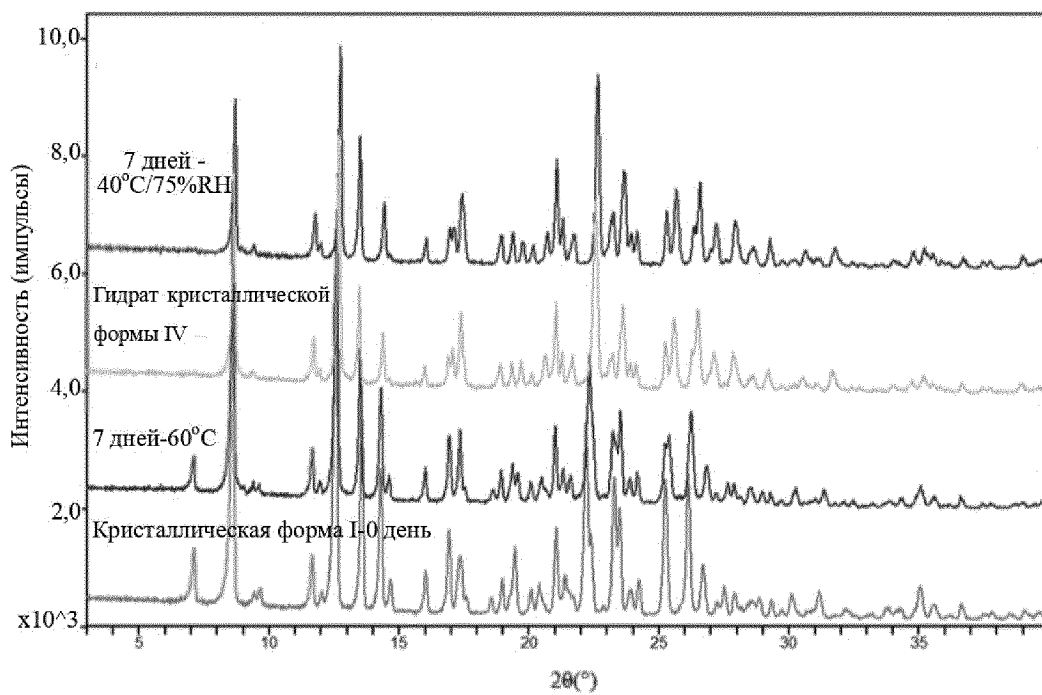
ФИГ.45



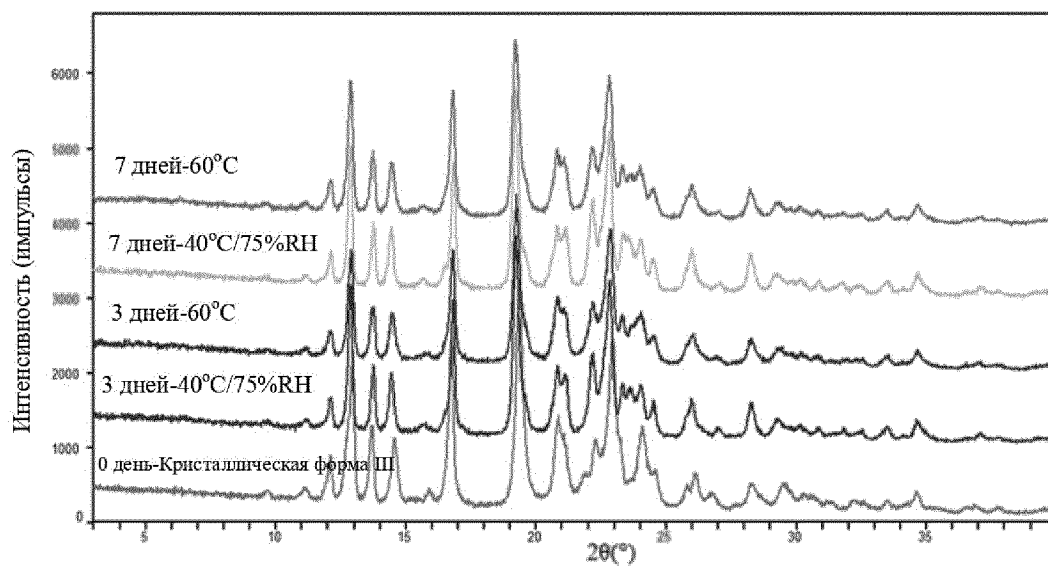
ФИГ.46



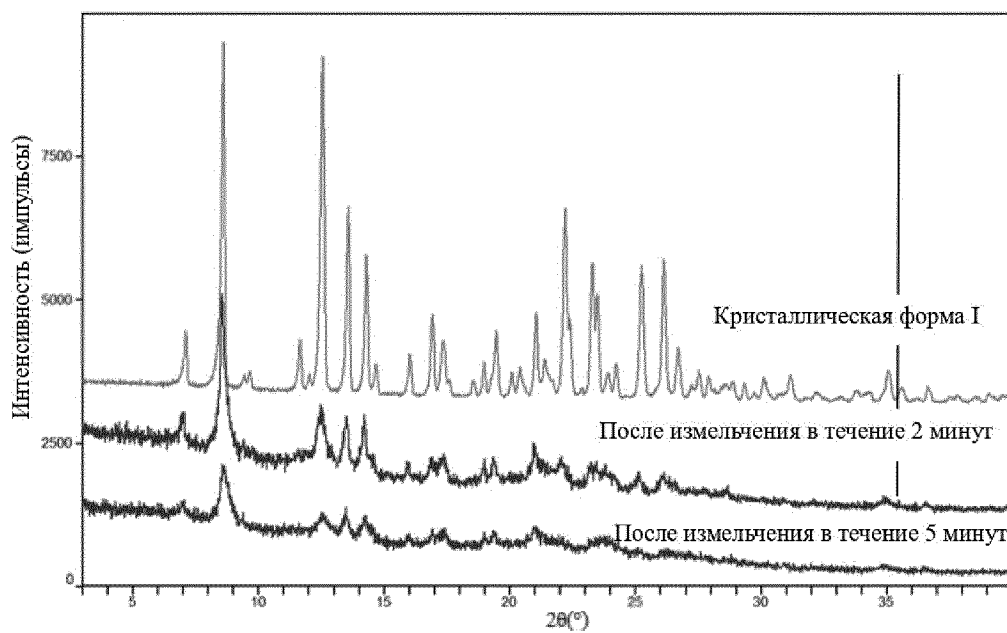
ФИГ.47



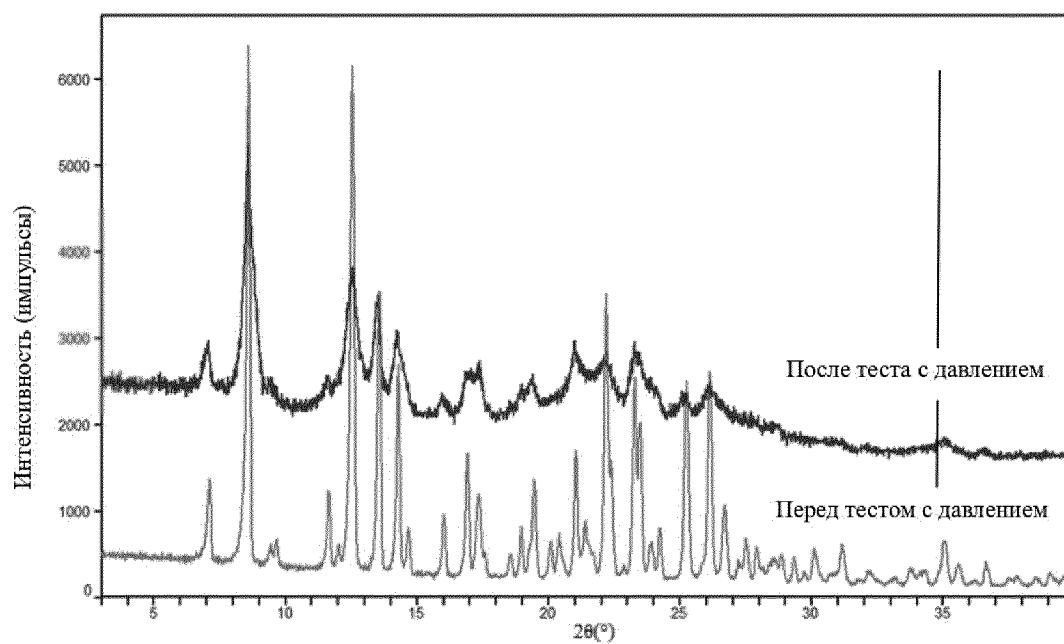
ФИГ.48



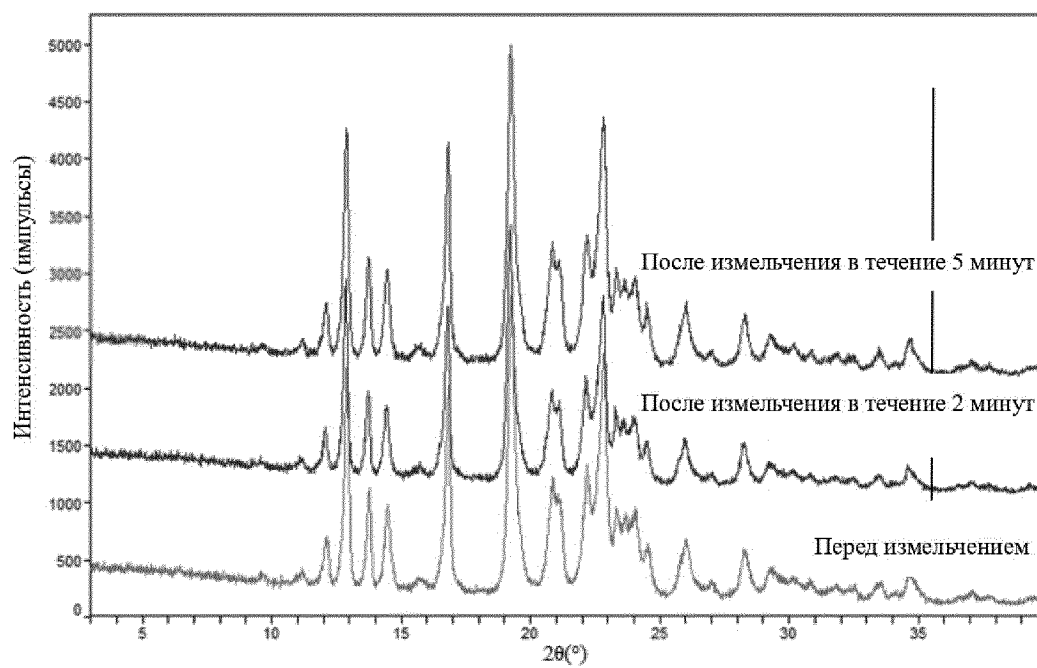
ФИГ.49



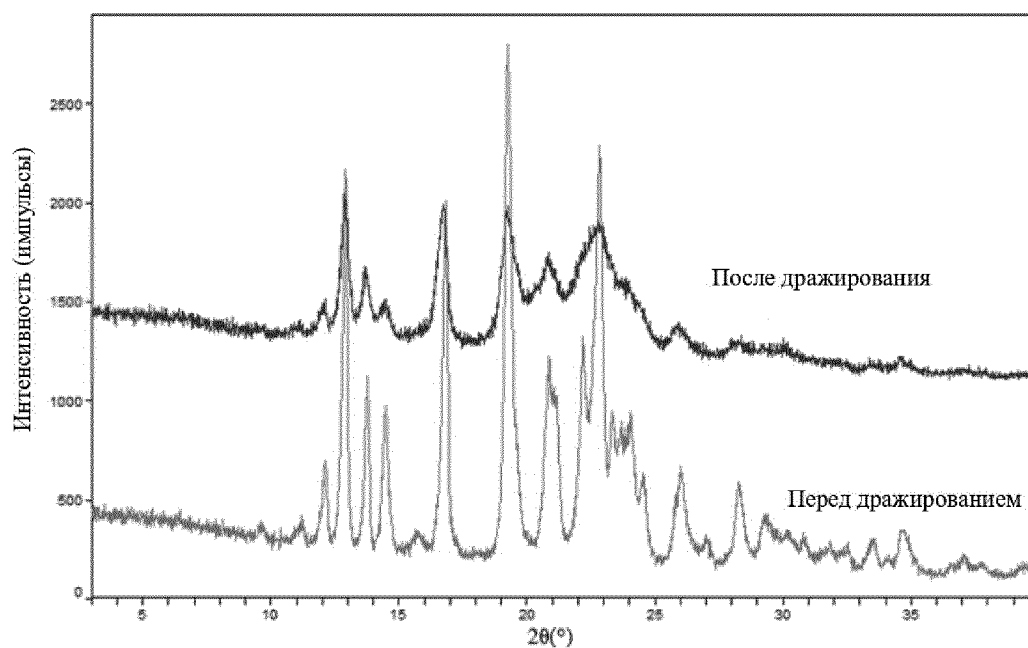
ФИГ.50



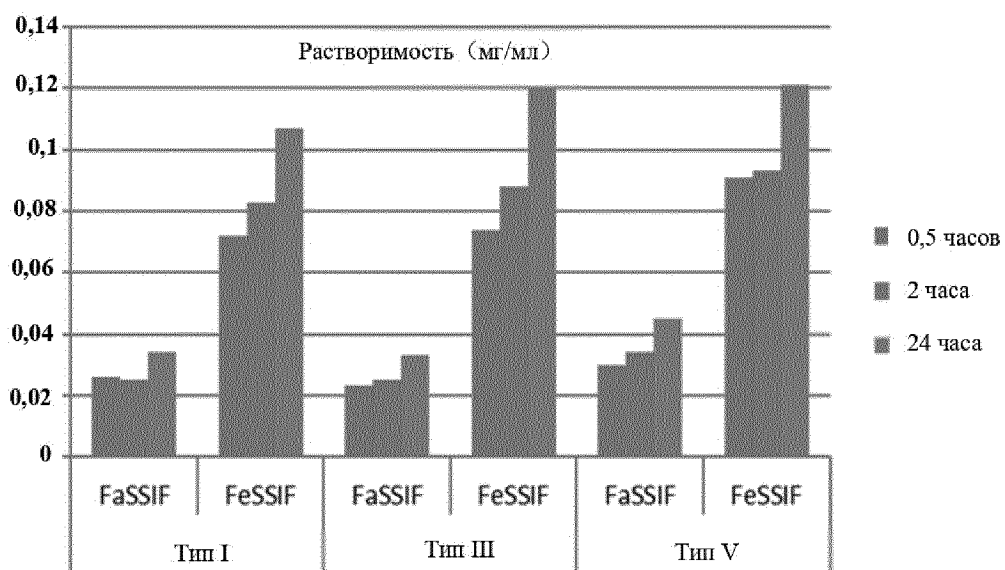
ФИГ.51



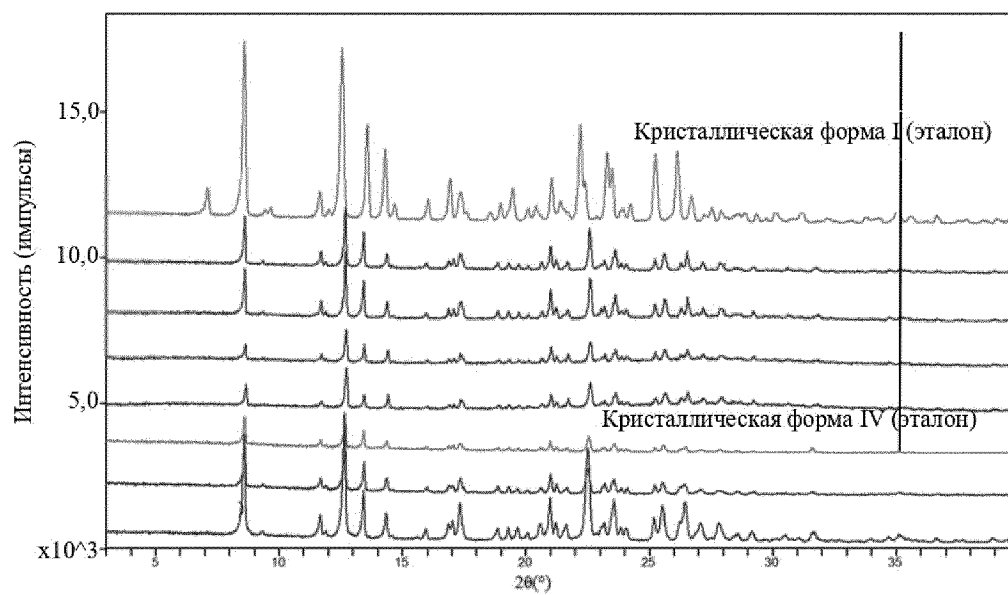
ФИГ.52



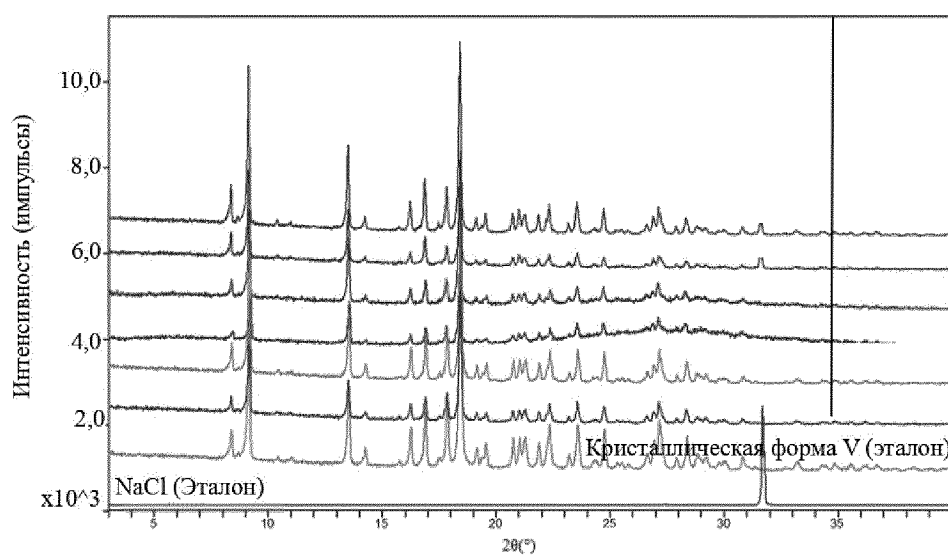
ФИГ.53



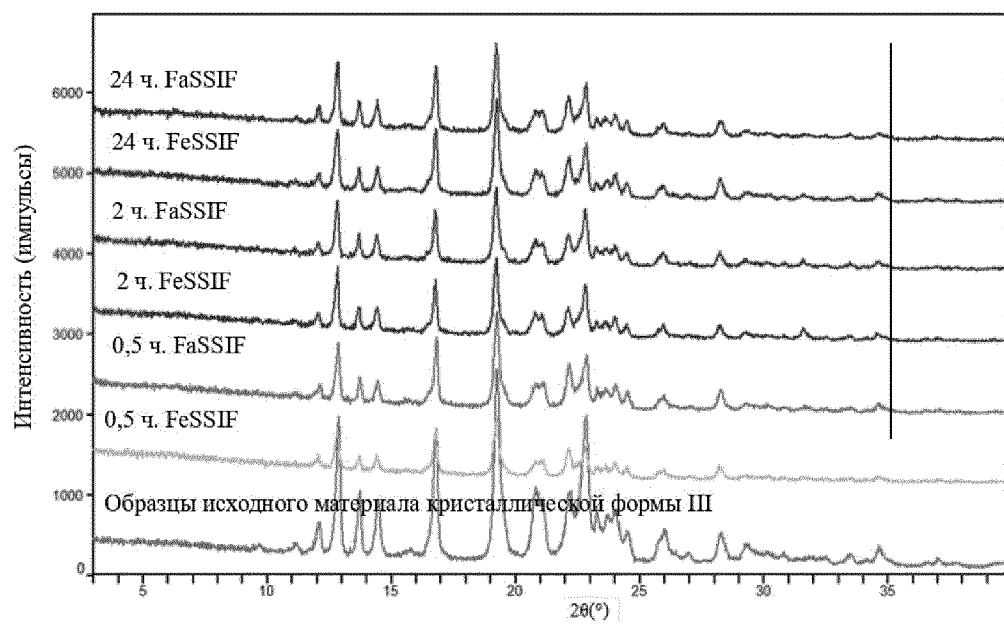
ФИГ.54



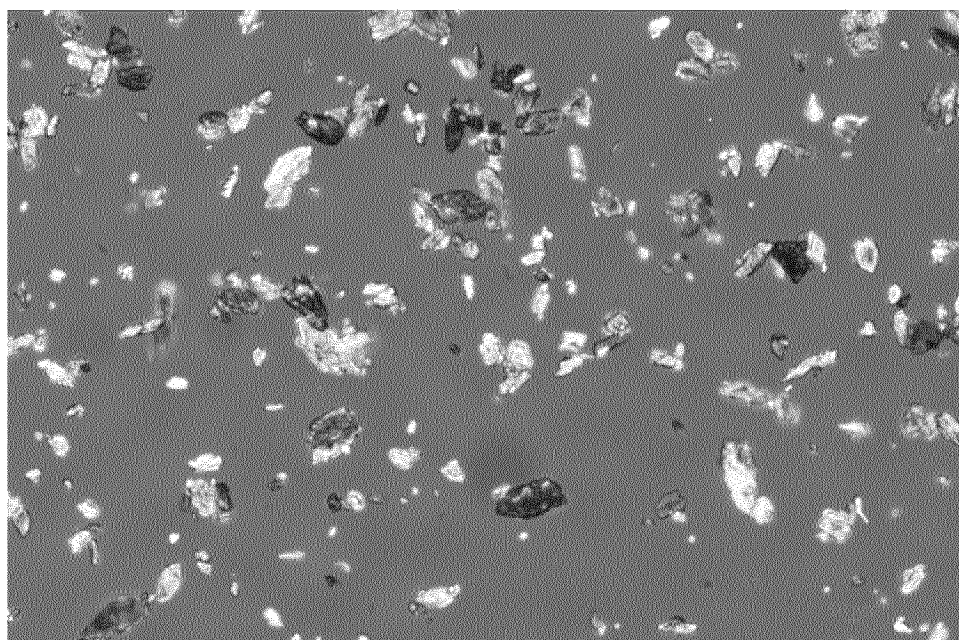
ФИГ.55



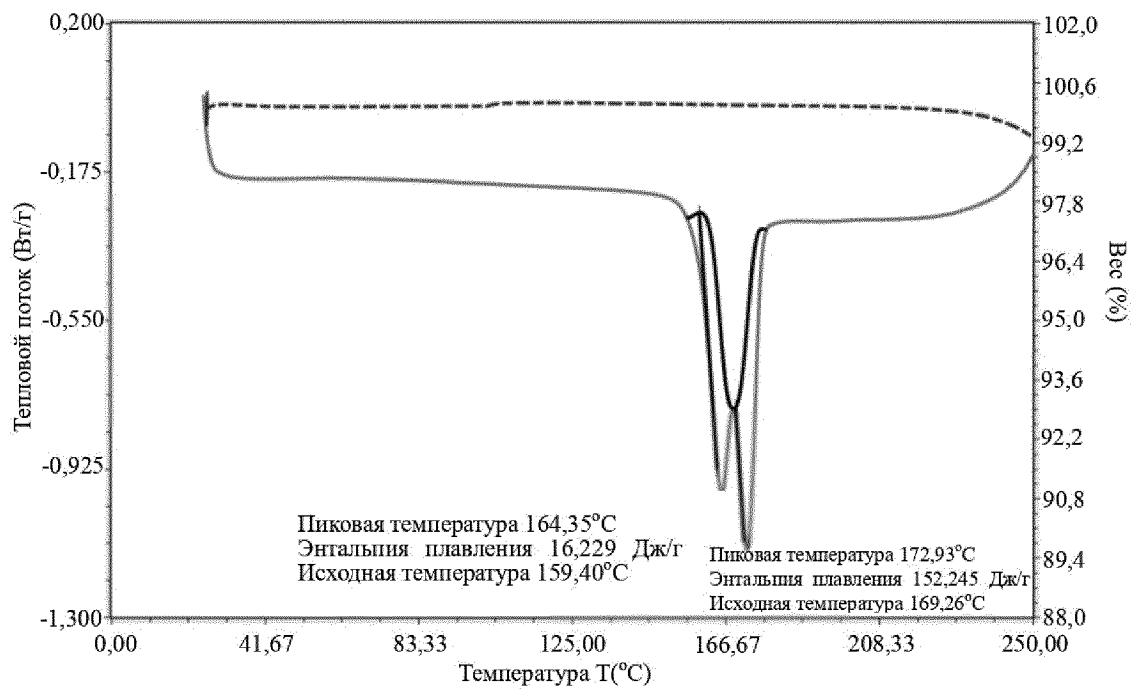
ФИГ.56



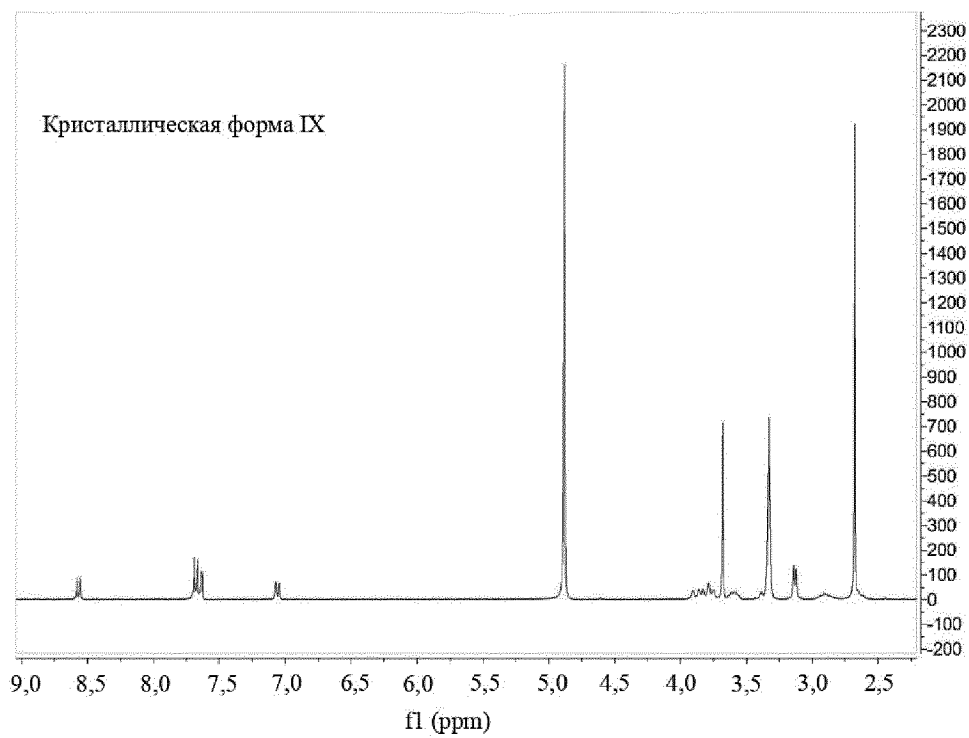
ФИГ.57



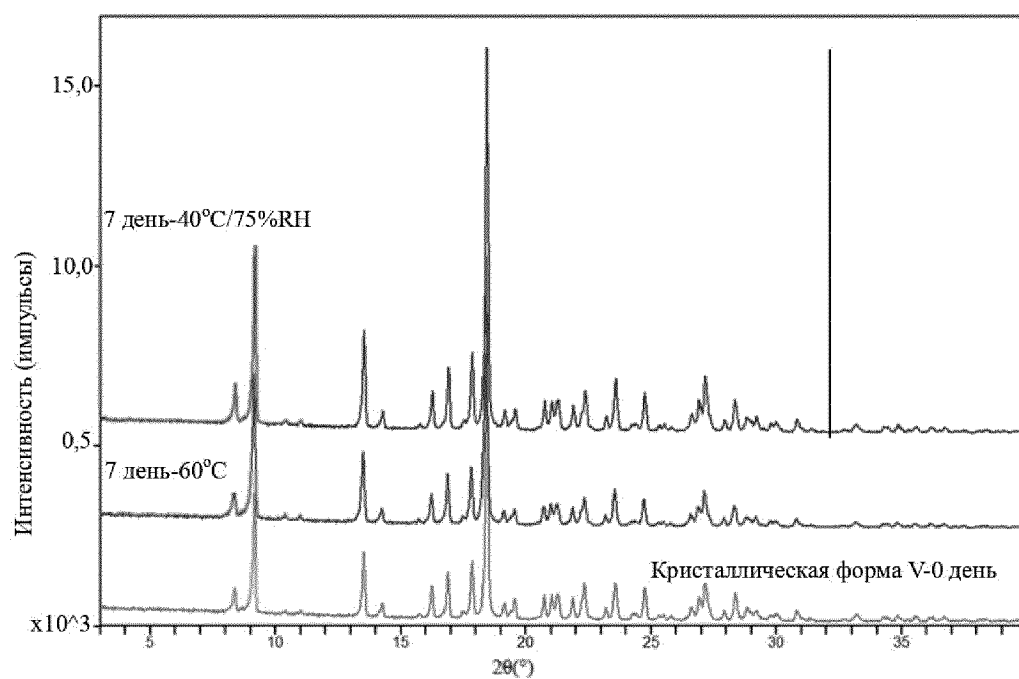
ФИГ.58



ФИГ.59



ФИГ.60



ФИГ.61