

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2023年2月9日 (09.02.2023)



(10) 国际公布号
WO 2023/011512 A1

(51) 国际专利分类号:

C07J 71/00 (2006.01) *A61P 11/00* (2006.01)

A61K 31/7048 (2006.01) *A61P 11/06* (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01) *A61P 11/08* (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2022/109901

(22) 国际申请日: 2022年8月3日 (03.08.2022)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:

202110891737.7 2021年8月4日 (04.08.2021) CN

(71) 申请人: 上海凯屹医药科技有限公司(SHANGHAI KE PHARMACEUTICAL CO., LTD) [CN/CN]; 中国上海市黄浦区汝南街63号主楼408G单元, Shanghai 200023 (CN)。

(72) 发明人: 马明(MA, Ming); 中国上海市黄浦区汝南街63号主楼408G单元, Shanghai 200023 (CN)。

(74) 代理人: 上海专利商标事务所有限公司(SHANGHAI PATENT & TRADEMARK LAW OFFICE, LLC); 中国上海市桂平路435号, Shanghai 200233 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

— 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

(54) **Title:** CRYSTAL FORMS OF KUDING SAPONIN A COMPOUND, PHARMACEUTICAL COMPOSITION AND USE THEREOF

(54) 发明名称: 苦丁皂苷A化合物的晶型、其药物组合物和用途

(57) **Abstract:** The present invention provides crystal forms of the compound Kuding saponin A, and a pharmaceutical composition and a use thereof. The crystal forms comprise crystal forms A, B, C, D, E, G, J, K and L. Characteristic peaks in the X-ray powder diffraction (XRPD) pattern of each crystal form are as described in the application. The crystal forms of the present invention are stable under suitable conditions, especially crystal forms A, C and J. The crystal forms of the present invention can be used to prepare a pharmaceutical composition for treating pulmonary disease.

(57) 摘要: 本发明提供苦丁皂苷A化合物的晶型、其药物组合物和用途, 所述晶型包括晶型A、B、C、D、E、G、J、K和L, 各晶型的X-射线粉末衍射(XRPD)图的特征峰如文中所述。本发明的晶型在合适的条件下可稳定存在, 尤其是晶型A、C和J。本发明的晶型可用于制备治疗肺部疾病的药物组合物。



WO 2023/011512 A1

苦丁皂苷 A 化合物的晶型、其药物组合物和用途

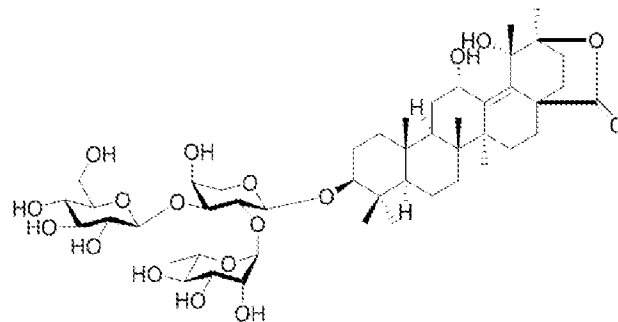
5 技术领域

本发明涉及化学医药、晶体制备技术领域，具体涉及苦丁皂苷 A 化合物的晶型、其药物组合物和用途。

背景技术

10 苦丁茶冬青为冬青科冬青属植物苦丁茶冬青的嫩叶或叶，是我国南部及西南地区民间传统的药用植物，运用广泛，历史悠久，具有清热解毒、杀菌消炎、健胃消积、止咳化痰、生津止渴、提神醒脑和明目益智的功效，可用于治疗头疼、齿疼、目赤、热病烦渴和痢疾等症；也具有活血脉、调节血脂的功效，可用于高血压和高血脂等疾病的治疗；还具有扩张支气管平滑肌的功效，适用于治疗各种呼吸道肺部疾病（如 COPD 和哮喘）。

15 从苦丁茶冬青中可提取分离出多种具有上述功效的苦丁皂苷类化合物（如苦丁皂苷 A），已有大量文献对其进行报道，例如可以参考屠鹏飞等（“苦丁茶冬青的化学成分及其降血脂作用的研究”，中国化学会第二十五届学术年会，2006 年）。苦丁皂苷 A，即 3 β -12 α -19 α -三羟基-乌苏烷-13(18)-烯-28,20 β -内酯-3-O- β -D-葡萄糖基-(1 \rightarrow 3)- α -L-鼠李糖基-(1 \rightarrow 2)]- α -L-阿拉伯糖苷的结构如式（I）所示：



(I)

20 一种药用化合物的晶型不同，会导致其具有不同的物理、化学性质，并且溶解度和稳定性也会存在差异，从而影响其在体内的降解和吸收，导致其临床药效的差异。因此，在研发药用化合物时，需要全面系统地筛选不同的晶型，探究其在体内的效用，以便选择最
25 适合开发的晶型。

发明内容

本发明通过在多种溶剂体系中运用多种结晶方式筛选得到苦丁皂苷 A 的 11 种晶型，分别记为晶型 A、B、C、D、E、G、I₁、I₂、J、K 和 L。其中，晶型 I₁ 和晶型 I₂ 为弱结晶态（或称低结晶态），不能稳定存在。

因此，本发明提供苦丁皂苷 A 的晶型 A、B、C、D、E、G、J、K 和 L。本发明也包
5 括任意两种以上的所述晶型的任意比例的混合物。本发明的晶型可在合适的条件下稳定存在，尤其是晶型 A、C 和 J，其在常温条件下能以干燥粉末的形式稳定存在。因此，在优选的实施方案中，本发明提供苦丁皂苷 A 的晶型 A、C 和 J 及其任意混合物。

具体而言，本发明提供苦丁皂苷 A 化合物的晶型 A，所述晶型 A 的 X-射线粉末衍射（XRPD）图上在下述 2 θ 角有特征峰：6.7°±0.2°，7.3°±0.2°，7.9°±0.2°，10.5°±0.2°，10.9°±0.2°，
10 14.1°±0.2°。

在优选的实施例中，所述晶型 A 的 X-射线粉末衍射（XRPD）图上在下述 2 θ 角还有特征峰：3.6°±0.2°，12.8°±0.2°，13.2°±0.2°，13.6°±0.2°，15.2°±0.2°，16.1°±0.2°，18.3°±0.2°，24.1°±0.2°。

在优选的实施例中，所述晶型 A 具有基本上如图 1a 所示的 X-射线粉末衍射（XRPD）
15 图。

在优选的实施例中，所述晶型 A 的 X-射线粉末衍射（XRPD）图上在表 1 所示的 2 θ 角有特征峰：

表 1：晶型 A 的 X-射线粉末衍射（XRPD）峰列表

2 θ °	d 间隔	相对强度 (%)
3.617	24.4057	100
4.396	20.0831	8.8
5.417	16.302	4.3
6.309	13.998	2.2
6.702	13.1788	15.2
7.28	12.1329	22.2
7.919	11.1546	19.8
8.843	9.9916	3.3
10.639	8.3085	24.8
10.899	8.1112	19.8
11.298	7.8252	5.5
12.523	7.0627	2.7
12.765	6.929	11.2
13.322	6.6405	9.6

13.642	6.4858	11.8
14.105	6.2737	20.9
14.708	6.0177	3.1
15.045	5.884	9.3
15.383	5.7553	13.7
16.105	5.4988	10.4
16.589	5.3394	6.2
17.168	5.1608	3.3
17.662	5.0175	4.3
18.349	4.831	12.1
18.689	4.7441	7.8
19.005	4.6657	7.2
19.285	4.5987	4.4
19.664	4.5109	7.4
20.548	4.3188	3.6
20.814	4.2642	3.5
21.408	4.1472	3.4
22.387	3.968	5.3
23.025	3.8594	1.9
23.366	3.8039	1.4
23.559	3.7732	2.3
24.067	3.6946	7.9
24.625	3.6122	5.7
25.148	3.5382	3.3
25.351	3.5104	4.1
26.065	3.4158	5.4
27.57	3.2327	3.4
28.573	3.1214	3.1
28.994	3.0771	2
30.269	2.9503	3.1
31.535	2.8347	1.1
32.408	2.7603	1.3
33.276	2.6903	2.3
33.618	2.6637	2.6

34.875	2.5704	2
37.24	2.4125	1.2
37.677	2.3855	1.4
38.671	2.3264	1.1
39.072	2.3035	1.2

在优选的实施例中，所述晶型 A 具有基本上如图 1b 所示的差示扫描量热 (DSC) 分析图。

在优选的实施例中，所述晶型 A 具有基本上如图 1c 所示的热重分析 (TGA) 图。

在优选的实施例中，所述晶型 A 具有基本上如图 1d 所示的动态水分吸附 (DVS) 图。

5 本发明提供的苦丁皂苷 A 化合物的晶型 C 的 X-射线粉末衍射 (XRPD) 图上在下述 2θ 角有特征峰： $7.8^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $12.7^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $14.4^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $14.9^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $16.3^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $18.6^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $25.1^\circ \pm 0.2^\circ$ 。

在优选的实施例中，所述晶型 C 的 X-射线粉末衍射 (XRPD) 图上在下述 2θ 角还有特征峰： $3.9^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $8.3^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $13.2^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $19.5^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $20.3^\circ \pm 0.2^\circ$ 。

10 在优选的实施例中，所述晶型 C 具有基本上如图 2a 所示的 X-射线粉末衍射 (XRPD) 图。

在优选的实施例中，所述晶型 C 的 X-射线粉末衍射 (XRPD) 图上在表 2 所示的 2θ 角有特征峰：

表 2：晶型 C 的 X-射线粉末衍射 (XRPD) 峰列表

$2\theta^\circ$	d 间隔	相对强度%
3.921	22.5186	28.5
6.329	13.9538	2.1
7.802	11.3216	16.4
8.343	10.5886	8.1
12.042	7.3433	1.5
12.664	6.9841	43.1
13.203	6.7	7.9
14.364	6.1611	28.8
14.886	5.9461	100
15.548	5.6944	3.4
16.346	5.4184	34.8
16.647	5.3209	6.6
18.109	4.8946	7.4

18.587	4.7698	24.2
19.466	4.5564	12.4
20.266	4.3782	13.6
20.587	4.3107	3.3
21.185	4.1903	2.8
21.981	4.0404	1.1
22.449	3.9572	7.1
23.725	3.7471	3.6
24.285	3.662	4.3
25.09	3.5463	13.9
26.171	3.4023	2.1
26.456	3.3662	0.9
26.949	3.3057	2.6
27.509	3.2397	4.7
28.01	3.1829	1.2
28.651	3.1131	2.5
29.593	3.0161	2.4
29.909	2.985	1.6
30.247	2.9524	0.9
30.668	2.9128	1.9
30.91	2.8905	1.6
31.433	2.8437	1.4
32.366	2.7638	1
32.869	2.7226	1.5
33.933	2.6396	1.6
34.595	2.5907	3.2
34.957	2.5646	1.2
35.325	2.5388	0.8
35.874	2.5011	1
39.254	2.2932	2

在优选的实施例中，所述晶型 C 具有基本上如图 2b 所示的差示扫描量热 (DSC) 分析图。

在优选的实施例中，所述晶型 C 具有基本上如图 2c 所示的热重分析 (TGA) 图。

在优选的实施例中，所述晶型 C 具有基本上如图 2d 所示的动态水分吸附 (DVS) 图。

本发明提供的苦丁皂苷 A 化合物的晶型 J 的 X-射线粉末衍射 (XRPD) 图上在下述 2θ 角有特征峰: $7.7^\circ \pm 0.2^\circ$, $9.3^\circ \pm 0.2^\circ$, $12.1^\circ \pm 0.2^\circ$, $14.1^\circ \pm 0.2^\circ$, $15.1^\circ \pm 0.2^\circ$, $16.6^\circ \pm 0.2^\circ$ 。

在优选的实施例中, 所述晶型 J 的 X-射线粉末衍射 (XRPD) 图上在下述 2θ 角还有特征峰: $3.5^\circ \pm 0.2^\circ$, $4.7^\circ \pm 0.2^\circ$, $12.7^\circ \pm 0.2^\circ$, $13.7^\circ \pm 0.2^\circ$, $15.5^\circ \pm 0.2^\circ$, $16.2^\circ \pm 0.2^\circ$, $18.1^\circ \pm 0.2^\circ$ 。

5 在优选的实施例中, 所述晶型 J 具有基本上如图 3a 所示的 X-射线粉末衍射 (XRPD) 图。

在优选的实施例中, 所述晶型 J 的 X-射线粉末衍射 (XRPD) 图上在表 3 所示的 2θ 角有特征峰:

表 3: 晶型 J 的 X-射线粉末衍射 (XRPD) 峰列表

$2\theta^\circ$	d 间隔	相对强度%
3.542	24.9274	100
4.663	18.9364	19.7
5.859	15.0718	3.6
6.461	13.668	3.3
7.001	12.6151	3.6
7.721	11.4402	19.9
9.323	9.4783	19.5
11.049	8.0008	2.8
12.143	7.2825	85.5
12.662	6.9853	12.2
13.703	6.4568	16.8
14.143	6.2571	59.1
14.663	6.0362	7.4
15.103	5.8614	25.3
15.46	5.7266	9.5
16.186	5.4716	13
16.565	5.3471	30.7
17.666	5.0164	7.9
18.106	4.8955	12.7
18.567	4.7748	5
18.767	4.7244	4.2
19.507	4.5469	7.6
19.782	4.4842	6.5
20.006	4.4346	7

20.526	4.3234	8.8
21.009	4.225	4.3
21.53	4.1239	9.8
22.264	3.9896	3.3
22.988	3.8656	3.7
23.734	3.7458	7.3
24.412	3.6433	3.4
25.116	3.5427	2.3
25.451	3.4968	4
26.292	3.3869	3.5
26.611	3.347	2.3
27.892	3.1961	4.7
29.254	3.0503	2
31.571	2.8315	1.8
31.876	2.8052	1.6
33.033	2.7095	1.8
33.876	2.6439	1.7
34.634	2.5878	2
35.966	2.4949	1.5
36.576	2.4548	1.7
38.087	2.3607	1.5

在优选的实施例中，所述晶型 J 具有基本上如图 3b 所示的差示扫描量热 (DSC) 分析图。

在优选的实施例中，所述晶型 J 具有基本上如图 3c 所示的热重分析 (TGA) 图。

在优选的实施例中，所述晶型 J 具有基本上如图 3d 所示的动态水分吸附 (DVS) 图。

5 本发明提供的苦丁皂苷 A 的晶型 B 的 X-射线粉末衍射 (XRPD) 图上在下述 2θ 角有特征峰： $7.4^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $7.9^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $11.8^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $12.5^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $14.3^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $15.4^\circ \pm 0.2^\circ$ 。

在优选的实施例中，所述晶型 B 的 X-射线粉末衍射 (XRPD) 图上在下述 2θ 角还有特征峰： $4.8^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $8.1^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $14.6^\circ \pm 0.2^\circ$ 。

10 在优选的实施方案中，所述晶型 B 的 X-射线粉末衍射 (XRPD) 图上在表 14 所示的 2θ 角有特征峰。

本发明提供的苦丁皂苷 A 的晶型 D 的 X-射线粉末衍射 (XRPD) 图上在下述 2θ 角有特征峰： $6.2^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $9.9^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $12.4^\circ \pm 0.2^\circ$ 。

在优选的实施例中，所述晶型 D 的 X-射线粉末衍射 (XRPD) 图上在下述 2θ 角还有特征峰： $4.5^\circ\pm 0.2^\circ$ ， $7.2^\circ\pm 0.2^\circ$ ， $12.9^\circ\pm 0.2^\circ$ ， $19.0^\circ\pm 0.2^\circ$ 。

在优选的实施方案中，所述晶型 D 的 X-射线粉末衍射 (XRPD) 图上在表 15 所示的 2θ 角有特征峰。

5 本发明提供的苦丁皂苷 A 的晶型 E 的 X-射线粉末衍射 (XRPD) 图上在下述 2θ 角有特征峰： $5.6^\circ\pm 0.2^\circ$ ， $11.1^\circ\pm 0.2^\circ$ ， $14.4^\circ\pm 0.2^\circ$ 。

在优选的实施例中，所述晶型 E 的 X-射线粉末衍射 (XRPD) 图上在下述 2θ 角还有特征峰： $4.5^\circ\pm 0.2^\circ$ ， $7.7^\circ\pm 0.2^\circ$ ， $13.6^\circ\pm 0.2^\circ$ ， $18.1^\circ\pm 0.2^\circ$ ， $19.8^\circ\pm 0.2^\circ$ ， $20.8^\circ\pm 0.2^\circ$ ， $28.0^\circ\pm 0.2^\circ$ 。

10 在优选的实施方案中，所述晶型 E 的 X-射线粉末衍射 (XRPD) 图上在表 16 所示的 2θ 角有特征峰。

本发明提供的苦丁皂苷 A 的晶型 G 的 X-射线粉末衍射 (XRPD) 图上在下述 2θ 角有特征峰： $5.7^\circ\pm 0.2^\circ$ ， $7.8^\circ\pm 0.2^\circ$ ， $9.2^\circ\pm 0.2^\circ$ ， $9.9^\circ\pm 0.2^\circ$ ， $17.5^\circ\pm 0.2^\circ$ ， $19.8^\circ\pm 0.2^\circ$ ， $20.0^\circ\pm 0.2^\circ$ ， $28.5^\circ\pm 0.2^\circ$ ， $37.8^\circ\pm 0.2^\circ$ 。

15 在优选的实施例中，所述晶型 G 的 X-射线粉末衍射 (XRPD) 图上在下述 2θ 角还有特征峰： $3.4^\circ\pm 0.2^\circ$ ， $7.3^\circ\pm 0.2^\circ$ ， $12.0^\circ\pm 0.2^\circ$ ， $14.4^\circ\pm 0.2^\circ$ ， $17.0^\circ\pm 0.2^\circ$ ， $18.8^\circ\pm 0.2^\circ$ ， $22.5^\circ\pm 0.2^\circ$ ， $25.5^\circ\pm 0.2^\circ$ ， $25.7^\circ\pm 0.2^\circ$ ， $26.1^\circ\pm 0.2^\circ$ 。

在优选的实施方案中，所述晶型 G 的 X-射线粉末衍射 (XRPD) 图上在表 17 所示的 2θ 角有特征峰。

20 本发明提供的苦丁皂苷 A 的晶型 K 的 X-射线粉末衍射 (XRPD) 图上在下述 2θ 角有特征峰： $7.6^\circ\pm 0.2^\circ$ ， $11.1^\circ\pm 0.2^\circ$ ， $12.1^\circ\pm 0.2^\circ$ ， $14.3^\circ\pm 0.2^\circ$ 。

在优选的实施例中，所述晶型 K 的 X-射线粉末衍射 (XRPD) 图上在下述 2θ 角还有特征峰： $4.5^\circ\pm 0.2^\circ$ ， $4.9^\circ\pm 0.2^\circ$ ， $5.5^\circ\pm 0.2^\circ$ ， $8.2^\circ\pm 0.2^\circ$ ， $13.5^\circ\pm 0.2^\circ$ ， $18.7^\circ\pm 0.2^\circ$ 。

在优选的实施方案中，所述晶型 K 的 X-射线粉末衍射 (XRPD) 图上在表 20 所示的 2θ 角有特征峰。

25 本发明提供的苦丁皂苷 A 的晶型 L 的 X-射线粉末衍射 (XRPD) 图上在下述 2θ 角有特征峰： $9.5^\circ\pm 0.2^\circ$ ， $12.3^\circ\pm 0.2^\circ$ ， $13.6^\circ\pm 0.2^\circ$ ， $14.5^\circ\pm 0.2^\circ$ ， $15.4^\circ\pm 0.2^\circ$ ， $16.2^\circ\pm 0.2^\circ$ 。

在优选的实施例中，所述晶型 L 的 X-射线粉末衍射 (XRPD) 图上在下述 2θ 角还有特征峰： $3.7^\circ\pm 0.2^\circ$ ， $7.9^\circ\pm 0.2^\circ$ ， $16.9^\circ\pm 0.2^\circ$ ， $17.3^\circ\pm 0.2^\circ$ ， $18.8^\circ\pm 0.2^\circ$ ， $20.4^\circ\pm 0.2^\circ$ 。

30 在优选的实施方案中，所述晶型 L 的 X-射线粉末衍射 (XRPD) 图上在表 21 所示的 2θ 角有特征峰。

本发明也提供了苦丁皂苷 A 化合物的晶型 A、C、J 的制备方法。

在一个较佳的实施例中，苦丁皂苷 A 的晶型 A 可由苦丁茶粉浸提纯化后在特定溶剂中

以结晶方式获得。

优选地，所述晶型 A 的制备方法为：取苦丁茶粉，经渗漉提取、浓缩后获得提取物浸膏；取浸膏稀释并离心，获得粗样品；将粗样品经两次高压色谱纯化后，再进行活性炭脱色、重结晶、冷冻干燥；最后粉碎得到苦丁皂苷 A 晶型（即晶型 A）。

5 在优选的实施方案中，用醇类溶剂（如乙醇）进行渗漉提取。例如使用纯乙醇或 50-90%（v/v）的乙醇水溶液进行渗漉提取。通常，苦丁茶粉与醇的质量比为 1:2.5-1:1.5。提取物浸膏可先后用水和无水乙醇稀释并离心，以获得粗样品。水的用量可以是苦丁茶粉质量的 0.5-1 倍，无水乙醇的用量可以是苦丁茶粉质量的 0.3-0.8 倍。

10 优选地，用醇溶解该粗样品，然后将其置于 10℃ 以下的条件下进行重结晶。醇可以是乙醇或其水溶液，如 20-50%（v/v）的乙醇溶液。溶解在较高的温度如 60-90℃ 下进行。可冷冻干燥（如在约 0℃ 冷冻干燥）所获得的晶体，然后升高至室温（如约 20-28℃）干燥，最后在如 32℃ 以上的温度下干燥，即可获得晶型 A。通常，冷冻干燥的时间可为 1-3 小时，室温干燥的时间可约为 3-5 小时，32℃ 以上的干燥时间可为 5-8 小时。

15 在另一个较佳的实施例中，苦丁皂苷 A 的晶型 A 可由无定型的苦丁皂苷 A 在特定溶剂中以结晶方式获得。

优选地，所述晶型 A 的制备方法可以采用以下三种中的任意一种：

方法一：用醇类溶剂溶解无定型苦丁皂苷 A，获得苦丁皂苷 A 的溶解液，浓缩该溶解液至白色沉淀析出且蒸出液收集容器入口处基本无液滴产生，此即为浓缩终点，获得浓缩液；冷冻干燥该浓缩液，从而获得晶型 A；

20 方法二：用醇类溶剂溶解无定型苦丁皂苷 A，获得苦丁皂苷 A 的溶解液，超声处理该溶解液，然后过滤，取滤液减压浓缩后得到干燥固体，即为晶型 A；

方法三：用醇类溶剂溶解无定型苦丁皂苷 A，获得苦丁皂苷 A 的溶解液，室温下使该溶解液自然挥发得到干燥固体，即为晶型 A。

25 优选地，所述醇类溶剂为甲醇或乙醇。优选地，方法一和二使用乙醇，如乙醇水溶液（如 70% 的乙醇溶液）溶解无定型苦丁皂苷 A。优选地，方法三中，使用甲醇溶解无定型苦丁皂苷 A。对醇类溶剂的用量无特殊限制，其用量应足以充分溶解该无定型苦丁皂苷 A。

30 优选地，方法一中，获得苦丁皂苷 A 的溶解液后，先过滤获得澄清溶液，再浓缩该澄清溶液。可采用滤孔 < 5 微米的滤膜进行过滤。可使用旋转蒸发器浓缩该溶解液或其澄清溶液。浓缩可在 50-60℃ 的水浴中进行，转速可控制为 30-80rpm，真空度可控制为不低于 0.08MPa。

在一个较佳的实施例中，苦丁皂苷 A 的晶型 C 可由晶型 A 在特定溶剂中重结晶获得。优选地，所述晶型 C 的制备方法可以采用以下三种中的任意一种：

方法四：用溶剂（如乙腈和异丙醚）溶解晶型 A，得到混悬液；室温下搅拌 3-5 天，离心；取所得固体在 25-30℃条件下真空干燥过夜，得到晶型 C；

方法五：用乙酸乙酯溶解晶型 A，得到混悬液；室温下搅拌 2-4 天，离心；取所得固体在 25-30℃条件下真空干燥过夜，得到晶型 C；

5 方法六：于 150-200℃之间加热晶型 A 3-10 分钟，得到晶型 C。

优选地，所述方法四中，乙腈与异丙醚的体积比为 1:1 到 1:5。优选地，晶型 A 与溶剂的质量体积比（克：毫升）为 1:20 到 1:50。

优选地，所述方法五中，晶型 A 与乙酸乙酯的质量体积比（克：毫升）为 1:10 到 1:30。

优选地，所述方法六中，在 170±5℃的温度下加热晶型 A 并保温 3-7 分钟。

10 在一个较佳的实施例中，苦丁皂苷 A 的晶型 J 可由晶型 A 在特定溶剂中重结晶获得。

优选地，所述晶型 J 的制备方法可以采用以下两种中的任意一种：

方法七：用乙酸乙酯饱和水溶液溶解晶型 A，得到混悬液；室温下搅拌 3-5 天，离心；取所得固体在 25-30℃条件下真空干燥过夜，得到晶型 J；

15 方法八：用水溶解晶型 A，得到混悬液；室温下搅拌 2-4 天，离心；取所得固体在 25-30℃条件下真空干燥过夜，得到晶型 J。

优选地，所述方法七中，晶型 A 与乙酸乙酯饱和水溶液的质量体积比（克：毫升）为 1:20 到 1:50。

优选地，所述方法八中，晶型 A 与水的质量体积比（克：毫升）为 1:10 到 1:30。

20 在另一个较佳的实施例中，苦丁皂苷 A 的晶型 J 可由无定型的苦丁皂苷 A 在特定溶剂中以结晶方式获得。

优选地，所述晶型 J 的制备方法可以采用以下两种中的任意一种：

方法九：用醇类溶剂溶解无定型苦丁皂苷 A；加入水，室温下搅拌过夜后，离心，然后将取所得固体在 25-30℃条件下真空干燥过夜，得到晶型 J；

25 方法十：用醇类溶剂和水溶解无定型苦丁皂苷 A 后，0-10℃搅拌过夜，离心，将所得固体在 25-30℃条件下真空干燥过夜，得到晶型 J。

优选地，所述方法九中，醇类溶剂为无水醇类溶剂，如无水乙醇。苦丁皂苷 A 与醇类溶剂的质量体积比（克：毫升）为 1:30 到 1:100。加入的水的量可以是醇类溶剂体积的 1-10 倍。通常，加入水后会析出白色固体，此时室温下搅拌过夜。

30 优选地，所述方法十中，所述醇类溶剂优选为无水醇类溶剂，如无水乙醇。醇类溶剂与水的体积比可为 1:1 到 1:5。苦丁皂苷 A 与醇类溶剂的质量体积比（克：毫升）为 1:10 到 1:50。混合醇类溶剂、水和苦丁皂苷 A 后，可在例如 60-80℃的水浴中加热至苦丁皂苷 A 完全溶解。通常在约 4℃搅拌过夜。

在一些实施方案中,晶型 B 由晶型 A 制备得到。具体而言,可将晶型 A 升温至 110-130°C 并保温 3-10 分钟,从而可获得晶型 B。

在一些实施方案中,混合醇类溶剂(如异丙醇)和苦丁皂苷 A,使其在例如 55°C 以上的水浴中完全溶解后慢慢析出固体,并缓慢降至室温,搅拌 3-6 天,离心,可得到晶型 D。

5 醇类溶剂与苦丁皂苷 A 的质量体积比(mg:mL)可以在 4-8:1 的范围内。

在一些实施方案中,混合苦丁皂苷 A、醇类溶剂和水,在 60°C 以上的温度下溶解后,缓慢冷却至室温,静置,使其析出固体,从而得到晶型 E。醇类溶剂可以是例如无水乙醇。对醇类溶剂和水的用量无特殊限制,只要其足以溶解苦丁皂苷 A 即可。

10 在一些实施方案中,混合苦丁皂苷 A 和有机溶剂(如四氢呋喃)以及水,使其完全溶解后室温下使溶剂挥发,从而可获得晶型 G。对有机溶剂和水的用量并无特殊限制,只要其足以溶解苦丁皂苷 A 即可。当然,若溶剂用量过多,会影响到挥发时间,导致制备时间过长。具体用量可由本领域技术人员根据实际生产情况确定。

在一些实施方案中,用无水乙醇溶解苦丁皂苷 A 后,在 25-30°C 下减压浓缩干燥,可获得晶型 K。

15 在一些实施方案中,将晶型 J 升温至 110°C 以上,保温 3-10 分钟,可获得晶型 L。

本发明提供了苦丁皂苷 A 化合物各晶型在制备治疗肺部疾病药物中的应用。

在一个优选的实施例中,所述肺部疾病为慢性阻塞性肺疾病或哮喘。

在一个实施方案中,所述苦丁皂苷 A 化合物各晶型是通过扩张(支)气管来实现治疗目的;在另一个实施方案中,所述苦丁皂苷 A 化合物各晶型是通过抗炎来实现治疗目的。

20 本发明也提供了一种治疗肺部疾病的药物组合物,其特征在于,所述药物组合物包括苦丁皂苷 A 化合物的晶型 A、B、C、D、E、G、J、K 和 L 中的一种或多种的混合物,以及药学上可接受的载体。优选地,所述药物组合物含有苦丁皂苷 A 的晶型 A、C 和 J 中的任意一种或多种。优选地,在所述药物组合物中,所述苦丁皂苷 A 化合物能够保持晶型状态。

25 在一个较佳的实施例中,所述苦丁皂苷 A 化合物的晶型为晶型 A、晶型 C 或晶型 J。

在一个较佳的实施例中,所述药物组合物的剂型为吸入制剂。

在一个优选的实施例中,所述吸入制剂为吸入粉雾剂、吸入气雾剂、吸入喷雾剂、吸入混悬剂或吸入溶液剂。

30 术语“药学上可接受的载体”应当与本发明药物组合物中的苦丁皂苷 A 化合物(晶型)相容,即能与其共混而不会在通常情况下大幅度降低药物组合物在肺部疾病(例如哮喘与慢性阻塞性肺疾病)治疗方面的效果。

在一个较佳的实施例中,所述药学上可接受的载体包括润滑剂、助流剂、抛射剂、助

溶剂、共溶剂、稀释剂、稳定剂和抑菌剂中的一种或多种。

在一个优选的实施例中，所述药学上的载体为乳糖。

在另一个优选的实施例中，所述药学上的载体为聚乙二醇 200、乙醇和 1,1,1,2-四氟乙烷 (R134a)。

5 在一些实施方案中，本发明提供一种扩张（支）气管的方法，该方法包括给予需要扩张（支）气管的对象有效量的本文任一实施方案所述的苦丁皂苷 A 化合物的晶型、或采用本文任一实施方案所述的方法制备得到的产物、或含有所述晶型或产物的药物组合物。在一些实施方案中，本发明提供一种抗炎方法，该方法包括给予需要抗炎的对象（尤其是气管、支气管和/或肺部具有炎症的对象）有效量的本文任一实施方案所述的苦丁皂苷 A 化
10 合物的晶型、或采用本文任一实施方案所述的方法制备得到的产物、或含有所述晶型或产物的药物组合物。在一些实施方案中，本发明提供一种治疗肺部疾病方法，该方法包括给予需要的对象有效量的本文任一实施方案所述的苦丁皂苷 A 化合物的晶型、或采用本文任一实施方案所述的方法制备得到的产物、或含有所述晶型或产物的药物组合物。优选地，这些方法中，所述晶型为晶型 A、C 或 J 或其任意混合物，所述产物含有晶型 A、C 或 J
15 或其任意混合物。优选地，这些方法中，所述对象为患有肺部疾病的对象，更优选为患有慢性阻塞性肺疾病或哮喘的患者。

附图说明

20 图 1a: 苦丁皂苷 A 的晶型 A 的 X-射线粉末衍射 (XRPD) 图，横坐标为 2θ 值 (度)，纵坐标为强度 (计数)。

图 1b: 苦丁皂苷 A 的晶型 A 的差示扫描量热 (DSC) 分析图，横坐标为温度 ($^{\circ}\text{C}$)，纵坐标为热流 (瓦/克)。

图 1c: 苦丁皂苷 A 的晶型 A 的热重分析 (TGA) 图，横坐标为温度 ($^{\circ}\text{C}$)，纵坐标为重量 (%)。

25 图 1d: 苦丁皂苷 A 的晶型 A 的动态水分吸附 (DVS) 图，横坐标为相对湿度 (%)，纵坐标为重量 (%)。

图 2a: 苦丁皂苷 A 的晶型 C 的 X-射线粉末衍射 (XRPD) 图，横坐标为 2θ 值 (度)，纵坐标为强度 (计数)。

30 图 2b: 苦丁皂苷 A 的晶型 C 的差示扫描量热 (DSC) 分析图，横坐标为温度 ($^{\circ}\text{C}$)，纵坐标为热流 (瓦/克)。

图 2c: 苦丁皂苷 A 的晶型 C 的热重分析 (TGA) 图，横坐标为温度 ($^{\circ}\text{C}$)，纵坐标为重量 (%)。

图 2d: 苦丁皂苷 A 的晶型 C 的动态水分吸附 (DVS) 图, 横坐标为相对湿度 (%) 纵坐标为重量 (%)。

图 3a: 苦丁皂苷 A 的晶型 J 的 X-射线粉末衍射 (XRPD) 图, 横坐标为 2θ 值 (度), 纵坐标为强度 (计数)。

5 图 3b: 苦丁皂苷 A 的晶型 J 的差示扫描量热 (DSC) 分析图, 横坐标为温度 ($^{\circ}\text{C}$), 纵坐标为热流 (瓦/克)。

图 3c: 苦丁皂苷 A 的晶型 J 的热重分析 (TGA) 图, 横坐标为温度 ($^{\circ}\text{C}$), 纵坐标为重量 (%)。

10 图 3d: 苦丁皂苷 A 的晶型 J 的动态水分吸附 (DVS) 图, 横坐标为相对湿度 (%) 纵坐标为重量 (%)。

图 4a: 长期试验和加速试验条件下苦丁皂苷 A 的晶型 J 的 X-射线粉末衍射 (XRPD) 图, 横坐标为 2θ 值 (度), 纵坐标为强度 (计数)。

图 4b: 长期试验和加速试验条件下苦丁皂苷 A 的晶型 J 的热重分析 (TGA) 图, 横坐标为温度 ($^{\circ}\text{C}$), 纵坐标为重量 (%)。

15 图 5a: 晶型 A 和晶型 J 竞争起始混合样与单一晶型的 X-射线粉末衍射 (XRPD) 图。横坐标为 2θ 值 (度), 纵坐标为强度 (计数)。

图 5b: 晶型 A 和晶型 J 竞争 3 天后的 X-射线粉末衍射 (XRPD) 图。横坐标为 2θ 值 (度), 纵坐标为强度 (计数)。

20 具体实施方案

在以下描述中, 阐述了某些具体细节以便提供对本发明各种实施方式的透彻理解。然而, 本领域技术人员将理解, 可以在没有这些细节的情况下实践本发明。以下对若干实施方式的描述是在理解本公开被视为所要求保护的主题的示例的情况下进行的, 并且无意将所附权利要求限制于所示的特定实施方式。贯穿本公开使用的标题仅是为了方便而提供的, 不应被解释为以任何方式限制权利要求。在任何标题下示出的实施方式可以与在任何其他标题下示出的实施方式组合。

25 除非上下文另有要求, 否则在整个说明书和权利要求书中, 词语“包括”及其变体以开放的、包含性的含义来解释, 即“包括但不限于”; 同时, “包括”及其变体如“包含”也包括“主要由.....组成”以及“由.....组成”。

30 整个本说明书中对“一个实施方式”或“一实施方式”的引用意味着结合该实施方式描述的特定特征、结构或特性包括在本发明的至少一个实施方式中。因此, 贯穿本说明书在各个地方出现的短语“在一个实施方式中”或“在一实施方式中”不一定都指的是同一

实施方式。此外，特定特征、结构或特性可以在一个或多个实施方式中以任何适当的方式组合。

本文中，“药学上可接受的载体”包括但不限于任何佐剂、载体、赋形剂、助流剂、甜味剂、稀释剂、防腐剂、染料/着色剂、增味剂、表面活性剂、润湿剂、分散剂、悬浮剂、
5 稳定剂、等渗剂、溶剂或乳化剂，其已被 FDA 或 NMPA 或其它相关机构批准为可接受用于人或家畜。

本文中，“药物组合物”是指本发明化合物以及本领域通常接受的用于递送生物活性化合物至哺乳动物（例如人类）的媒介物的制剂。此种媒介物包括为此的所有药学上可接受的赋形剂。

10 本文中，“有效量”或“治疗有效量”是指根据本发明的化合物的量，其当施用至有此需要的患者时，足以实现对于化合物具有效用的疾病状态、病症或障碍的治疗。这样的量将足以引起研究人员或临床医生所寻求的组织系统或患者的生物或医学反应。构成治疗有效量的根据本发明的化合物的量将根据诸如以下的因素而变化：化合物及其生物活性、用于施用的组合物、施用时间、施用途径、化合物排泄速率、治疗持续时间、所治疗的疾
15 病状态或病症的类型及其严重程度、与本发明化合物组合或一致使用的药物、以及患者的年龄、体重、一般健康、性别和饮食。本领域普通技术人员可以根据他们自身的知识、现有技术以及本公开而常规地确定此种治疗有效量。

除非另有说明，否则如本文所用的术语“治疗”是指逆转、减轻、抑制其进展、或预防此术语所适用的障碍或病症，或此种障碍或病症的一种或多种症状。“预防”是指导致
20 疾病或病症的临床症状不发展的疾病或病症的任何治疗。

本文中，“受试者”或“患者”是指已经为或将要为治疗、观察或实验对象的动物，例如哺乳动物（包括人）。本文描述的方法可用于人类治疗和/或兽医应用。在一些实施方式中，受试者是哺乳动物（或患者）。在一些实施方式中，受试者（或患者）是人、家畜（例如狗和猫）、农场动物（例如，牛、马、绵羊、山羊和猪）和/或实验室动物（例如，
25 小鼠、大鼠、仓鼠、豚鼠、猪、兔、狗和猴）。在一些实施方式中，受试者（或患者）是人。“有此需要的人（或患者）”是指可能患有或怀疑患有将受益于某些治疗的疾病或病症的人；例如，根据本申请用本文公开的化合物治疗。

本文对“约”值或参数的提及包括（并描述）针对该值或参数本身的实施方式。例如，提及“约 X”的描述包括“X”的描述。此外，单数形式“一”和“该”包括复数指代，除非上下文
30 另有明确规定。因此，例如，提及“该化合物”包括多种此类化合物，并且提及“该测定”包括提及一种或多种测定以及本领域技术人员已知的其等同物。

本文中，“药学上可接受的”或“生理学上可接受的”是指可用于制备适用于兽医或人类

药物用途的药物组合物的化合物、盐、组合物、剂量形式和其他物质。

本文中，“单位剂量形式”是适合作为受试者（例如，人类受试者和其他哺乳动物）的单位剂量的物理上离散的单位，每个单位含有预定量的经计算以产生所需的治疗效果的活性物质，连同合适的药用赋形剂。

5 本文中，当提及例如 XRPD 图谱、DSC 热谱图、DVS 图或 TGA 图时，术语“基本上如.....中所示”包括不一定与本文描述的那些完全相同，但当由本领域普通技术人员考虑时，落入实验误差或偏差的限度内的图谱、热谱图或图。

10 在一些实施方式中，就化合物的特定结晶形式而言，术语“基本上纯的”或“基本上不含”是指包含该结晶形式的组合物含有少于 20%，少于 15%，少于 10%，少于 5%，或少于 1% 重量的其他物质，包括其他结晶形式和/或杂质。在一些实施方式中，“基本上纯的”或“基本上不含”是指不含其他物质（包括其他结晶形式和/或杂质）的物质。例如，杂质可包括副产物或来自化学反应的剩余试剂、污染物、降解产物、其他结晶形式、水和溶剂。

本文中，对于晶型的特征粉末 X 射线衍射峰位置，角度位置 (2θ) 的容许误差为 $\pm 0.2^\circ$ 。该误差在比较两个粉末 X 射线衍射图时使用。如果一张图的某个衍射峰被指定作为测定的峰位置 $\pm 0.2^\circ$ 的一定的角度位置范围 (2θ)，而另一张图的一个衍射峰被指定作为测定的峰值位置 $\pm 0.2^\circ$ 的另一角度位置范围 (2θ)，而且如果这些峰值范围重叠，则这两个峰被认为有相同的角度位置 (2θ)。例如，如果一张图的衍射峰经测定位于 5.20° ，对比较来说，容许误差使该峰值可被指定在 5.00° - 5.40° 的范围。若另一衍射图的对照峰经测定位于 5.35° ，对比较来说，容许误差使该峰被指定在 5.15° - 5.55° 的范围。因为两个峰位范围之间存在重叠，故比较的两个峰被认为有相同的角度位置 (2θ)。在一些实施方案中，角度位置 (2θ) 的容许误差为 $\pm 0.1^\circ$ 。

本文中，“超声”或“超声处理”用于使溶液内的物质充分混匀或完全溶解。超声处理的工艺参数根据不同处理对象而不同，可由本领域技术人员根据实际使用情况设置。例如，可设置超声处理的功率为 60 瓦-2000 瓦，频率为 20 千赫兹到 80 千赫兹，时间为 5 分钟-150 分钟。

本发明采用多种仪器分析方法，一方面鉴定了制备所得的苦丁皂苷 A 的晶型 A、C、J（例如 X-射线粉末衍射分析）；另一方面探究了它们的性质（如差示扫描量热分析、热重分析和动态水分吸附分析）。

30 X-射线粉末衍射 (XRPD) 常用于晶体结构分析，其衍射强度由晶体晶胞中原子的元素种类、数目及其排列方式决定。测定晶体的 X-射线粉末衍射方法是本领域技术人员所熟知的，本发明运用 X-射线粉末衍射仪对苦丁皂苷 A 的晶型 A、C、J 进行测定，具体测量条件如表 4 所示（除非特别说明，样品在检测前未经研磨）；

表 4: X-射线粉末衍射仪及其测量参数

X-射线粉末衍射仪 (XRPD)		
仪器	型号	Bruker D8 Advance Diffractometer
	技术指标	铜靶波长为 1.54Å 的 K α radiation (40 kV, 40 mA), 0-20 测角仪, 镍片过滤, Lynxeye 探测器
	采集软件	Diffac Plus XRD Commander
	校准物质	刚玉 (Al ₂ O ₃)
	分析软件	MDI Jade
参数	检测角度	3-40° 2 θ /3-30° 2 θ (热台 XRPD)
	步长	0.02° 2 θ
	速度	0.2s. step ⁻¹
	检测样品量	>2 mg

经测定,可知晶型 A、C、J 在 X-射线粉末衍射图上有特定的特征峰;具体地,晶型 A、C、J 分别在如表 1、2、3 所示的 2 θ 角有特征峰。

5 差示扫描量热分析 (DSC) 是一种重要的热分析方法,它以样品吸热或放热的速率(单位:毫焦/秒)为纵坐标,以温度或时间为横坐标,用以测定多种热力学和动力学参数,例如结晶速率、熔融温度、物质相变温度等。对晶体进行差示扫描量热分析的方法是本领域技术人员所熟知的,本发明中运用差示扫描量热分析仪对苦丁皂苷 A 的晶型 A、C、J 进行测定,具体测量条件如表 5 所示。

表 5: 差示扫描量热分析扫描仪及其测量参数

差示扫描量热分析仪 (DSC)	
型号	METTLER TOLEDO DSC 3
控制软件	STARc
分析软件	STARc
样品盘	铝坩埚 (加盖打孔)
检测样品量	1 mg-10 mg
保护气体	氮气
气体流速	50 mL/min
常用检测参数	起始设置温度为 0°C; 以 10°C/min 的速度升温至 300°C/350°C

10 发明人运用上述方法主要对苦丁皂苷 A 的晶型 A、C、J 的脱溶剂峰和熔点等参数进行测定。

晶型 A 的差示扫描量热分析结果如图 1b 所示;其脱溶剂峰的温度范围约为 30°C ~120°C;其熔点约为 205°C。

晶型 C 的差示扫描量热分析结果如图 2b 所示：其脱溶剂峰的温度范围约为 20℃~60℃；其熔点约为 310℃。

晶型 J 的差示扫描量热分析结果如图 3b 所示：其脱溶剂峰的温度范围约为 20℃~120℃；其熔点约为 309℃。

- 5 热重量分析 (TGA) 简称热重分析，指在程序控制温度下，测量待测样品的质量与温度或时间变化关系的一种热分析方法，用来研究样品的热稳定性和可能产生的中间产物组分等与质量相联系的信息。其常与其他热分析方法共用，进行综合热分析。对晶体进行热重分析的方法是本领域技术人员所熟知的，本发明运用热重分析仪对苦丁皂苷 A 的晶型 A、C、J 进行测定，具体测量条件如表 6 所示。

10

表 6：热重分析仪及其测量参数

热重分析仪 (TGA)	
型号	METTLER TOLEDO TGA/DSC 3 ⁺
控制软件	STARc
分析软件	STARc
样品盘	陶瓷坩埚
检测样品量	1 mg-10 mg
保护气体	氮气
气体流速	50 mL/min
常用检测参数	第一阶段：起始温度为 25℃，以 10K/min 加温，直至到达 150℃。 第二阶段：起始温度为 150℃，以 10K/min 加温，直至到达 400℃。

晶型 A 的热重分析结果如图 1c 所示：其在 80℃前失重约 6.8%，且其分解温度约为 318℃。

晶型 C 的热重分析结果如图 2c 所示：其在 70℃前失重约 1.2%，且其分解温度约为 315℃。

- 15 晶型 J 的热重分析结果如图 3c 所示：其在 120℃前失重约 5.8%，且其分解温度约为 324℃。

动态水分吸附 (DVS) 法是一种用以分析样品水分吸附性能和记录水分吸附等温线的检测方法，通过鉴定化合物对水分的吸附能力来判断其稳定性。对晶体进行动态水分吸附分析的方法是本领域技术人员所熟知的，本发明运用动态水分吸附仪对苦丁皂苷 A 的晶型 A、C、J 进行吸湿性分析，具体测量条件如表 7 所示。

20

表 7：动态水分吸附仪及其测量参数

动态水分吸附仪 (DVS)		
仪器	型号	TA Instruments Q5000TGA

	控制软件	Thermal Advantage
	分析软件	Universal Analysis
	样品盘	铂金坩埚
参数	检测样品量	1 mg-10 mg
	保护气体	氮气
	气体流速	10 mL/min
	常用检测参数	<p>第一阶段：起始温度为 25℃，相对湿度 0%，维持等温 300 分钟，如果在 15 分钟重量变化小于 1%，则进入下一阶段。</p> <p>第二阶段：每 150 分钟增加 10%的湿度，直至湿度达到 80%，如果在 15 分钟重量变化小于 1%，则进入下一阶段。</p> <p>第三阶段：每 150 分钟减少 10%的湿度，直至湿度减少至 0%。</p>
判断标准	潮解	吸收足量水分形成液体
	极具引湿性	引湿增重不小于 15%
	有引湿性	引湿增重小于 15%但不小于 2%
	略有引湿性	引湿增重小于 2%但不小于 0.2%
	无或几乎无引湿性	引湿增重小于 0.2%

晶型 A 的热重分析结果如图 1d 所示：在相对湿度为 0%~80%范围内，其重量变化约为 12%，故晶型 A 为有引湿性。

晶型 C 的热重分析结果如图 2d 所示：在相对湿度为 0%~80%范围内，其重量变化约为 1.8%，故晶型 C 为略有引湿性。

5 晶型 J 的热重分析结果如图 3d 所示：相对湿度为 0%~80%范围内，其重量变化约为 4.7%，故晶型 J 为有引湿性。

本发明提到的上述特征，或实施例提到的特征可以任意组合。本案说明书所揭示的所有特征可与任何组合物形式并用，说明书所揭示的各个特征，可以任何可提供相同、均等
10 或相似目的的替代性特征取代。因此，除有特别说明，所揭示的特征仅为均等或相似特征的一般例子。

除非另行定义，文中所使用的所有专业与科学用语与本领域人员所熟悉的意义相同。此外，任何与所记载内容相似或均等的方法及材料均可应用于本发明方法中。本文中所述的较佳和优选实施例与材料仅作示范之用。

15 在本说明书中，如果没有特别的说明，所述数值或数值范围不论是否带有前行词“约”

均涵盖相关领域技术人员能够理解的与该数值或数值范围等同的约略范围，例如该数值或端值 $\pm 10\%$ 的范围，亦可是 $\pm 5\%$ 、 $\pm 3\%$ 、 $\pm 2\%$ 、 $\pm 1\%$ 或 $\pm 0.5\%$ 的范围。

下面将结合实施例进一步详细地描述本发明。然而应当理解，列举这些实施例只是为
5 了起说明作用，而并不是用来限制本发明的范围。

实施例 1：苦丁皂苷 A 晶型 A 的制备及其 X-射线粉末衍射测定

制备苦丁皂苷 A 晶型 A 的具体步骤如下：

取 20kg 苦丁茶粉，经 34.4kg 的 80%乙醇溶液渗漉提取、浓缩后获得提取物浸膏，加
10 入水得到最终浸膏 17kg；用 10.2kg 无水乙醇稀释并离心，获得粗样品。

将粗样品逐次经 30 μm 填料色谱柱和 10 μm 填料色谱柱，共两次高压色谱纯化后，再
进行活性炭脱色，得到苦丁皂苷 A 粗粉末；后用 35%乙醇在 80 $^{\circ}\text{C}$ 水浴条件下溶解苦丁皂
苷 A 粗粉末，将其置于 6 $^{\circ}\text{C}$ 水浴条件下析出结晶；将结晶在 0 $^{\circ}\text{C}$ 冷冻干燥两个小时，然后
15 升高到 25 $^{\circ}\text{C}$ 干燥 4 小时，最后在 35 $^{\circ}\text{C}$ 干燥 6 小时；最后粉碎得到苦丁皂苷 A 晶型（即晶
型 A）170g 左右。

取上述制得的晶型 A 进行 X-射线衍射测定，所用仪器与其参数如表 4 所示。得到的
数据如表 1 所示，即在如表 1 所示的 2 θ 角上有特征峰。

实施例 2：苦丁皂苷 A 晶型 C 的制备及其 X-射线粉末衍射测定

制备苦丁皂苷 A 晶型 C 的具体步骤如下：

a. 如实施例 1 所示制备方法，首先制得晶型 A；

b. 取晶型 A 100mg，加入 1mL 乙腈和 2mL 异丙醚，得到混悬液，在室温条件下，搅
拌 4 天，然后离心。取沉淀物，30 $^{\circ}\text{C}$ 真空干燥过夜，得到晶型 C。

取苦丁皂苷 A 晶型 C 进行 X-射线粉末衍射测定，所用仪器与其参数如表 4 所示，得
25 到的数据如表 2 所示，即在如表 2 所示的 2 θ 角上有特征峰。

实施例 3：苦丁皂苷 A 晶型 J 的制备及其 X-射线粉末衍射测定

制备苦丁皂苷 A 晶型 J 的具体步骤如下：

a. 如实施例 1 所示制备方法，首先制得晶型 A；

b. 取晶型 A 100mg，加入 3mL 乙酸乙酯饱和水溶液，得到混悬液，在室温条件下，
30 搅拌 4 天，离心，30 $^{\circ}\text{C}$ 真空干燥过夜，得到晶型 J。

取苦丁皂苷 A 晶型 J 进行 X-射线粉末衍射测定，所用仪器与其参数如表 4 所示，得到

的数据如表 3 所示，即在如表 3 所示的 2θ 角上有特征峰。

实施例 4：苦丁皂苷 A 晶型 A 的稳定性试验

取实施例 1 制得的晶型 A，按表 8 所示条件进行稳定性试验。其中，晶型 A 放置于低硼硅玻璃管制药瓶中，且在外套了一个药用复合袋（即铝箔袋加一小包硅胶干燥剂），抽真空后密封保存。

表 8：稳定性试验条件

项目	试验条件
加速试验	温度: $40^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$; 湿度: $75\%\pm 5\%$
长期试验一	温度: $25^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$; 湿度: $60\%\pm 5\%$
长期试验二	温度: $5^{\circ}\text{C}\pm 3^{\circ}\text{C}$;

采用高效液相色谱法对晶型 A 中性状、水分、苦丁皂苷 A 含量及有关物质进行测定，所用仪器为超高效液相色谱仪配备 DAD（或 PDA）检测器，相关参数如下：

- 10 色谱柱：安捷伦 C18（ $2.1*100\text{ mm}$ ， 1.8-Micron ）；
 流动相 A：乙腈；
 流动相 B：超纯水；
 检测波长： 225 nm ；
 流速： 0.6 mL/min ；
 15 进样量： $5\text{ }\mu\text{l}$ ；
 柱温： 38°C ；
 运行时间： 28 min ；
 等度洗脱：流动相 A:流动相 B = $26:74\text{ (V/V)}$ ；
 稀释液：乙腈:水= $30:70\text{ (V/V)}$ ；
 20 空白溶液：稀释液。

一、测定苦丁皂苷 A 含量的具体步骤如下：

25 **配制杂质 A 储备溶液**：取杂质 A（即苦丁皂苷 B）约 10 mg ，精密称定，置于 100 mL 容量瓶中，用稀释液溶解并稀释至刻度，混匀，制成每 1 mL 约含 $100\text{ }\mu\text{g}$ 杂质 A 溶液，为杂质 A 储备溶液。

配制杂质 D 储备溶液：同上述配制杂质 A 储备溶液步骤，将杂质 A 替换成杂质 D（即苦丁皂苷 C），制成每 1 mL 约含 $100\text{ }\mu\text{g}$ 杂质 D 溶液。

配制杂质 F 储备溶液：同上述配制杂质 A 储备溶液步骤，将杂质 A 替换成杂质 F（即

苦丁皂苷 D)，制成每 1 mL 约含 100 μg 杂质 F 溶液。

配制分离度溶液：称取苦丁皂苷 A 约 50 mg，精密称定，置于 100 mL 容量瓶中，用稀释液溶解稀释至刻度，混匀；然后精密量取该溶液 1 mL 及杂质 A、D、F 储备溶液各 0.6 mL 至 10 mL 容量瓶中，用稀释液稀释至刻度，混匀，制成每 1 mL 约含苦丁皂苷 A 50 μg 、杂质 A 6 μg 、杂质 D 6 μg 、杂质 F 6 μg 的溶液，作为分离度溶液。

配制标准溶液 1：称取苦丁皂苷 A 对照品约 50 mg，精密称定，置于 100 mL 容量瓶中，用稀释液溶解稀释至刻度，混匀；精密量取 1 mL 至 10 mL 容量瓶中，用稀液稀释至刻度，混匀，制成每 1 mL 约含 KA 50 μg 的溶液，作为标准溶液 1。

配制标准溶液 2：同上述配制标准溶液 1 步骤，平行配制作作为标准溶液 2。

配制供试品溶液：称取样品约 50 mg，精密称定，置于 100 mL 量瓶中，用稀释液溶解稀释至刻度，混匀；精密量取 1 mL 溶液至 10 mL 量瓶中，用稀释液稀释至刻度，混匀即得（供试品溶液浓度为 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）（平行配制两份）。

所有样品溶液需经 0.22 μm PTFE 针式过滤器滤过后才能进行 UPLC 分析。

进样程序：按照色谱条件分别进样空白溶液，分离度溶液，标准溶液 1，标准溶液 2，供试品溶液和标准溶液 1 回针，记录整个色谱过程。

结果计算：用标准溶液 1 以外标法计算苦丁皂苷 A 的含量。

二、测定有关物质含量的具体步骤如下：

首先，如上述测定苦丁皂苷 A 含量的方法，配制杂质 A、D、F 储备溶液，标准溶液 1、标准溶液 2。其次，配置如下溶液：

分离度溶液：取苦丁皂苷 A 60 mg，精密称定，置于 100 mL 量瓶中，分别加入杂质 A、杂质 D 和杂质 F 储备溶液各 0.9 mL，用稀释液稀释至刻度，混匀即得（苦丁皂苷 A、杂质 A、杂质 D 和杂质 F 的浓度分别为 600、0.9、0.9 和 0.9 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）。

灵敏度溶液：精密量取 1 mL 标准溶液 1 储备溶液至 100 mL 容量瓶中，用稀释液稀释至刻度，混匀；精密量取 3 mL 溶液至 100 mL 容量瓶中，用稀释液稀释至刻度，混匀，制成每 1 mL 约含 KA 0.15 μg 的溶液，作为灵敏度溶液（相当于 0.025% 杂质限度溶液）。

供试品溶液：取苦丁皂苷 A 60 mg，精密称定，置于 100 mL 量瓶中，用稀释液溶解并稀释至刻度，混匀即得。平行配制两份样品，命名为 TS1 和 TS2。

对照溶液：精密量取供试品溶液 1 mL 于 100 mL 量瓶中，用稀释液稀释至刻度。精密量取 1 mL 溶液至 10 mL 量瓶中，用稀释液稀释至刻度。平行配制两份样品，命名为 TSR1 和 TSR2。

所有样品溶液需过 0.22 μm PTFE 针式过滤器后才能进行 UPLC 分析。

进样程序: 按照色谱条件分别进样空白溶液、分离度溶液、灵敏度溶液、标准溶液 1、标准溶液 2、供试品溶液、对照溶液和标准溶液 1 回针, 记录整个色谱过程。

结果计算: 以加校正因子的自身对照法计算供试品溶液中各有关物质的含量。其中, 杂质 A (即苦丁皂苷 B)、杂质 D (即苦丁皂苷 C)、杂质 F (即苦丁皂苷 D) 的校正因子分别为 1.13、0.80、0.82。

利用以上方法, 得到晶型 A 的稳定性数据如表 9、10 和 11 所示。

表 9: 长期试验一

检测项目		限度要求	考察时间 (月)							
			0	1	3	4	6	9	12	24
性状		白色粉末	白色粉末	白色粉末	白色粉末	白色粉末	白色粉末	白色粉末	白色粉末	白色粉末
苦丁皂苷 A 含量		应为标示量的 98.0%~102.0%	100.2	101.4	100.2	99.2	98.3	98.8	99.8	100.2
有关物质	杂质 A 含量 (苦丁皂苷 B)	不得过 0.15%	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	杂质 D 含量 (苦丁皂苷 C)	不得过 0.15%	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	杂质 F 含量 (苦丁皂苷 D)	不得过 0.30%	0.09	0.09	0.12	0.13	0.15	0.19	0.19	0.21
	杂质含量总和	不得过 2.0%	0.09	0.09	0.12	0.13	0.15	0.19	0.19	0.35

注: N.D. 表示结果低于检测限(杂质 A、杂质 D、杂质 F 的检测限分别为 0.03%, 0.02%, 0.05%, 0.02%);

10

表 10: 长期试验二

检测项目		限度要求	考察时间 (月)							
			0	1	3	4	6	9	12	24
性状		白色粉末	白色粉末	白色粉末	白色粉末	白色粉末	白色粉末	白色粉末	白色粉末	白色粉末

苦丁皂苷 A 含量		应为标示量的 98.0%~102.0%	100.2	101.8	99.9	99.8	98.6	99.2	99.8	101.3
有关 物质	杂质 A 含量(苦 丁皂苷 B)	不得过 0.15%	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	杂质 D 含量(苦 丁皂苷 C)	不得过 0.15%	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	杂质 F 含量(苦 丁皂苷 D)	不得过 0.30%	0.09	0.08	0.10	0.08	0.09	0.09	0.09	0.08
	杂质含量总和	不得过 2.0%	0.09	0.08	0.10	0.08	0.09	0.09	0.09	0.08

注:N.D. 表示结果低于检测限(杂质 A、杂质 D、杂质 F 的检测限分别为 0.03%, 0.02%, 0.05%, 0.02%);

表 11: 加速试验

检测项目	限度要求	考察时间(月)						
		0	1	3	4	5	6	
性状	白色粉末	白色粉 末	白色粉 末	白色粉 末	白色粉 末	白色粉 末	白色粉 末	
苦丁皂苷 A 含量	应为标示量的 98.0% ~102.0%	100.2	101.7	99.0	98.0	98.9	98.4	
有关 物质	杂质 A 含量(苦丁 皂苷 B)	不得过 0.15%	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	杂质 D 含量(苦丁 皂苷 C)	不得过 0.15%	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	杂质 F 含量(苦丁 皂苷 D)	不得过 0.30%	0.09	0.17	0.26	0.29	0.29	0.29
	杂质含量总和	不得过 2.0%	0.09	0.17	0.43	0.52	0.60	0.66

5 注:N.D. 表示结果低于检测限(杂质 A、杂质 D、杂质 F 的检测限分别为 0.03%, 0.02%, 0.05%, 0.02%);

由表 9-11 所示的结果可知: 实施例 1 中制得的晶型 A, 无论在何种试验条件下, 其都符合所规定的质量标准, 说明其具有良好的稳定性。

实施例 5：苦丁皂苷 A 的晶型 A、C、J 的引湿性试验

取实施例 1-3 所制得的晶型 A、C、J 各约 10mg，采用动态水分吸附仪（DVS）分别测试其引湿性（试验条件：温度为 25℃，相对湿度为 0%~80%），并采用如下表 12 所示的标准判断各晶型的引湿性特征。此引湿性试验的方法步骤及判断标准详见《中华人民共和国药典 2020 年版（四部）》通则 9103——药物引湿性试验指导原则。

表 12：引湿性判断标准

引湿特征	增重界定
潮解	吸收足量水分形成液体
极具引湿性	引湿增重不小于 15%
有引湿性	引湿增重小于 15%但不小于 2%
略有引湿性	引湿增重小于 2%但不小于 0.2%
无或几乎无引湿性	引湿增重小于 0.2%

本试验中，晶型 A、C、J 的动态水分吸附（DVS）图分别如图 1d、2d、3d 所示。并且，其引湿性结果详见下表 13。

表 13：晶型 A、C、J 的引湿性测试结果

晶型	增重情况（相对湿度：0%~80%）	引湿特征
A	12%	有引湿性
C	1.8%	略有引湿性
J	4.7%	有引湿性

由表 13 可知：晶型 A、C、J 的引湿性由大到小为：A>J>C。按照 2020 年版引湿性标准，晶型 C 为略有引湿性；晶型 A 和 J 为有引湿性。晶型 C 在引湿性能方面具有明显优势。

实施例 6：苦丁皂苷 A 的晶型 J 的稳定性实验

取 25mg 晶型 J，将其平铺于培养皿中，在长期条件（温度：25℃±2℃；相对湿度：65%±10%）和加速条件（温度：40℃±2℃；相对湿度：75%±10%）下敞口避光放置 10 天，对其进行 X-射线粉末衍射测定及热重分析。所用的 X-射线粉末衍射仪及其参数如表 4 所示；所用热重分析仪及其参数如表 6 所示。测定结果如附图 4 所示。

由图 4a 可知：在长期试验和加速试验条件下，晶型 J 的 X-射线粉末衍射图上的特征峰均未发生改变，证明其晶型未变；由图 4b 可知：在长期试验和加速试验条件下，晶型 J 的失重情况并未发生改变。综上，晶型 J 稳定性能良好。

实施例 7：苦丁皂苷 A 的晶型 A 和晶型 J 的竞争实验

首先进行起始混合样配置：取等量苦丁皂苷 A 的晶型 A、晶型 J 样品，混合均匀，取样进行 XRPD 检测，所用仪器与其参数如表 4 所示，得到如图 5a 所示的对比图。

在样品中加入水形成悬浊液，室温下搅拌，3 天后离心，取样进行 XRPD 检测（湿样）；30℃真空干燥后测 XRPD（干样），所用仪器与其参数如表 4 所示，测定结果如图 5b 所示。

5 由附图 5b 可知，无论取的是干样还是湿样，经测定所得的水合物均为晶型 J。故可知：在一定条件下，晶型 A 趋向于转换成晶型 J。

实施例 8：苦丁皂苷 A 的其它新晶型的制备及其 X-射线粉末衍射测定

1. 晶型 B 的制备及其 X-射线粉末衍射测定

10 苦丁皂苷 A 晶型 B 的制备方法：如实施例 1 所示制备方法，首先制得晶型 A；取适量晶型 A 样品，热台升温至 120℃，保温 5 分钟，即得晶型 B。

取上述制得的晶型 B 进行 X-射线衍射测定，所用仪器与其参数如表 4 所示，得到的数据如表 14 所示：

表 14：晶型 B 的 X-射线粉末衍射峰列表

2 θ °	d 间隔	相对强度%
3.684	23.9619	5.5
4.822	18.3124	29.6
5.221	16.9132	4.1
6.043	14.613	4.1
6.765	13.0557	11.5
7.441	11.8709	100
7.878	11.2127	61.5
8.104	10.9015	17.6
8.804	10.0352	10.7
9.723	9.0891	11.7
11.842	7.4668	73.4
12.224	7.2348	15.6
12.525	7.0613	30
14.045	6.3003	16
14.305	6.1866	48.1
14.606	6.0596	17.5
15.088	5.8672	7.9
15.409	5.7458	28

15.865	5.5816	10.6
17.065	5.1915	7.2
17.825	4.972	8.8
18.185	4.8743	8.6
18.595	4.7678	6.6
19.008	4.6651	8.9
19.186	4.6222	11
20.006	4.4346	6.6
21.231	4.1813	4.3
23.892	3.7213	4.4
24.673	3.6053	4.4
24.901	3.5728	4
29.572	3.0182	4.2

晶型 B 在如上表 14 所述的 2θ 角上有特征峰。并且，晶型 B 只能在高温条件下稳定存在。

5 2. 晶型 D 的制备及其 X-射线粉末衍射测定

取约 100mg 无定型的苦丁皂苷 A，加入 15mL 异丙醇，超声，在 60℃ 水浴中搅拌至完全溶解，后慢慢析出固体，缓慢降至室温，搅拌 4 天，离心，得到晶型 D。

取上述制得的晶型 D 进行 X-射线衍射测定，所用仪器与其参数如表 4 所示，得到的数据如表 15 所示：

10

表 15: 晶型 D 的 X-射线粉末衍射峰列表

$2\theta^\circ$	d 间隔	相对强度%
4.505	19.5974	5.9
6.225	14.1873	14.5
7.184	12.2955	5.1
8.151	10.8384	1.1
9.867	8.9571	10.6
12.441	7.1088	100
12.86	6.8782	4.3
13.447	6.5792	3.3
14.012	6.3153	2.2
14.825	5.9706	0.8

15.145	5.8453	2
15.887	5.5737	1.2
16.65	5.32	2.8
16.86	5.2542	1.6
17.601	5.0346	1.1
17.93	4.943	1
18.346	4.832	2.6
18.667	4.7496	0.9
18.965	4.6755	5
19.432	4.5641	0.8
19.8	4.4802	1.2
20.782	4.2707	0.8
21.569	4.1167	1
22.049	4.0281	2.9
22.778	3.9007	0.8
23.284	3.8172	1
23.949	3.7126	2
24.472	3.6344	1.2
25.133	3.5404	4.1
26.831	3.32	1.2
27.06	3.2924	1
27.569	3.2328	0.7
28.33	3.1477	1.1
28.65	3.1133	0.9
29.866	2.9892	0.7
30.078	2.9686	1.2
32.477	2.7546	0.6
32.85	2.7241	0.6
33.938	2.6392	0.8
34.29	2.613	0.6
36.769	2.4423	0.6
39.516	2.2786	0.9

晶型 D 在如上表 15 所述的 2θ 角上有特征峰。并且，晶型 D 只能在保持湿润的湿样下稳定存在。

3. 晶型 E 的制备及其 X-射线粉末衍射测定

苦丁皂苷 A 晶型 E 的制备方法：取约 30mg 无定型的苦丁皂苷 A，加入 0.8mL 乙醇和 0.2mL 水，在 70℃ 水浴中加热至其完全溶解，缓慢降至室温，放置一夜后析出固体，得到晶型 E。

取上述制得的晶型 E 进行 X-射线衍射测定，所用仪器与其参数如表 4 所示，得到的数据如表 16 所示：

表 16：晶型 E 的 X-射线粉末衍射峰列表

$2\theta^\circ$	d 间隔	相对强度%
3.574	24.7011	1.3
4.541	19.4413	6.9
5.577	15.832	8.6
7.667	11.5208	3
9.329	9.4725	0.6
10.82	8.1702	0.5
11.137	7.9381	100
11.699	7.5582	1
12.145	7.2813	2
13.242	6.6806	0.5
13.588	6.5114	3.9
14.022	6.3107	0.7
14.37	6.1588	17.8
14.89	5.9446	0.4
15.454	5.7289	0.6
17.594	5.0368	0.6
18.148	4.8843	2.4
18.746	4.7296	1
19.846	4.4699	2.3
20.807	4.2655	2.8
21.106	4.2059	0.7
21.671	4.0975	0.4
22.328	3.9784	1.3
23.476	3.7863	0.7
24.269	3.6644	0.7

24.798	3.5873	0.5
25.43	3.4996	2.3
25.692	3.4646	1
26.19	3.3997	1.4
26.596	3.3488	0.3
27.411	3.251	0.6
28.013	3.1826	3.8
28.251	3.1563	1.5
28.738	3.1038	1.7
28.932	3.0835	1.1
30.089	2.9675	0.3
31.093	2.8739	1.7
31.992	2.7952	0.5
33.418	2.6791	1.1
33.956	2.6379	1
34.169	2.622	0.5
34.534	2.595	0.7
38.06	2.3624	0.2
38.47	2.3381	0.4
39.604	2.2737	0.3

晶型 E 在如上表 16 所述的 2θ 角上有特征峰。并且，晶型 E 只能在保持湿润的湿样下稳定存在。

4. 晶型 G 的制备及其 X-射线粉末衍射测定

5 苦丁皂苷 A 晶型 G 的制备方法：取约 100mg 无定型的苦丁皂苷 A，加入 3mL 四氢呋喃和 1.2mL 水，超声使其完全溶解，放置在室温下敞口挥发，得到晶型 G。

取上述制得的晶型 G 进行 X-射线衍射测定，所用仪器与其参数如表 4 所示，得到的数据如表 17 所示：

表 17：晶型 G 的 X-射线粉末衍射峰列表

$2\theta^\circ$	d 间隔	相对强度%
3.36	26.2771	100
5.682	15.5402	27.7
7.346	12.0233	15.9
7.781	11.3533	42.3

9.187	9.6179	37.5
9.943	8.8886	46.3
10.917	8.0975	7.9
11.442	7.7271	12.8
11.967	7.3893	16.8
12.547	7.0489	4.3
13.381	6.6116	6.3
13.726	6.4461	10
14.424	6.1359	23.6
14.812	5.9756	8.5
15.181	5.8315	5.6
16.459	5.3813	6.9
17.009	5.2086	19.2
17.504	5.0623	40.1
18.447	4.8056	23.8
18.788	4.7191	15.1
19.766	4.4879	64.9
20.027	4.43	36.1
20.468	4.3355	13.8
21.424	4.1441	12.4
22.488	3.9504	15.6
22.828	3.8924	13.6
23.328	3.81	6.5
24.108	3.6885	12.1
25.55	3.4835	17.1
25.951	3.4306	22.2
26.169	3.4025	18.5
27.59	3.2303	9.1
28.57	3.1218	30.3
29.017	3.0747	6.4
29.857	2.9901	3.5
30.331	2.9444	10.2
31.534	2.8347	7.8
32.052	2.7902	3.3

32.99	2.7129	5.3
33.394	2.681	7.3
33.712	2.6564	8.1
34.254	2.6156	13
34.955	2.5648	10.1
35.373	2.5354	11.3
36.129	2.4841	3.2
37.289	2.4094	5
37.794	2.3784	20.3
38.311	2.3475	7.6

晶型 G 在如上表 17 所述的 2θ 角上有特征峰。并且，晶型 G 只能在保持湿润的湿样下稳定存在。

5. 晶型 I₁ 的制备及其 X-射线粉末衍射测定

5 苦丁皂苷 A 晶型 I₁ 的制备方法：取约 30mg 无定型的苦丁皂苷 A，加入 1mL 三氟乙醇，超声使其完全溶解，室温下敞口挥发干燥，得到晶型 I₁。

取上述制得的晶型 I₁ 进行 X-射线衍射测定，所用仪器与其参数如表 4 所示，得到的数据如表 18 所示：

表 18：晶型 I₁ 的 X-射线粉末衍射峰列表

$2\theta^\circ$	d 间隔	相对强度%
5.108	17.2868	100
6.406	13.7853	94.3
7.684	11.4952	36.6
12.82	6.8993	38.5
13.998	6.3212	34
14.329	6.1761	29.4
14.705	6.0191	33.2
16.091	5.5036	26.4
19.227	4.6123	27.2
20.592	4.3097	18.9
25.806	3.4495	16.6

10 晶型 I₁ 在如上表 18 所述的 2θ 角上有特征峰。

6. 晶型 I₂ 的制备及其 X-射线粉末衍射测定

苦丁皂苷 A 晶型 I₂ 的制备方法：取约 100mg 无定型的苦丁皂苷 A，加入 3mL 三氟乙醇，超声至完全溶解过滤，室温下敞口挥发至干燥，得到晶型 I₂。

取上述制得的晶型 I₂ 进行 X-射线衍射测定，所用仪器与其参数如表 4 所示，得到的数据如表 19 所示：

5

表 19：晶型 I₂ 的 X-射线粉末衍射峰列表

2 θ °	d 间隔	相对强度%
5.525	15.9834	16.4
6.556	13.4717	18.7
7.937	11.1296	30.7
12.202	7.2476	16.9
13.848	6.3897	99.2
14.083	6.2837	100
15.604	5.6742	18.6
28.891	3.0878	10.2

晶型 I₂ 在如上表 19 所述的 2 θ 角上有特征峰。

7. 晶型 K 的制备及其 X-射线粉末衍射测定

苦丁皂苷 A 晶型 K 的制备方法：取约 100mg 无定型的苦丁皂苷 A，加入 15mL 乙醇，
10 超声至完全溶解过滤，在 28℃ 下减压浓缩干燥，得到晶型 K。

取上述制得的晶型 K 进行 X-射线衍射测定，所用仪器与其参数如表 4 所示，得到的数据如表 20 所示：

表 20：晶型 K 的 X-射线粉末衍射峰列表

2 θ °	d 间隔	相对强度%
4.48	19.7084	26.1
4.957	17.8136	5.8
5.537	15.9474	8.5
6.04	14.6212	4.4
7.603	11.6176	25.2
8.182	10.7975	9.2
8.982	9.8372	0.9
9.387	9.4139	2.1
10.158	8.7007	1.7
11.102	7.9632	91

11.666	7.5792	4.9
12.123	7.2948	100
13.544	6.5324	9.4
14.345	6.1694	20.2
15.285	5.792	4.2
15.989	5.5384	2.1
16.439	5.3878	1.6
17.553	5.0485	1.5
18.107	4.8951	6
18.705	4.74	5.5
19.83	4.4735	3.1
20.789	4.2693	2.8
21.103	4.2064	1.4
21.629	4.1053	1.4
22.133	4.0129	0.8
22.324	3.9791	1.5
23.081	3.8502	0.7
23.525	3.7786	1.6
23.973	3.709	1.5
24.348	3.6526	3
25.418	3.5013	1.6
25.721	3.4608	2
26.208	3.3975	1.4
27.169	3.2795	0.8
27.491	3.2418	2.2
28.051	3.1784	1.5
28.289	3.1522	0.6
28.968	3.0798	2.1
29.956	2.9804	0.8
30.374	2.9403	0.6
31.207	2.8638	1.2
32.035	2.7916	0.7
33.433	2.6779	1.3
34.134	2.6246	1.1

34.429	2.6027	1.1
34.594	2.5907	0.6
35.915	2.4984	0.5
36.751	2.4435	0.6
37.968	2.3679	0.5

晶型 K 在如上表 20 所述的 2θ 角上有特征峰。

8. 晶型 L 的制备及其 X-射线粉末衍射测定

苦丁皂苷 A 晶型 L 的制备方法：如实施例 3 所示制备方法，首先制得晶型 J；取适量晶型 J，加热升温至 120°C ，保温 5 分钟，得到晶型 L。

取上述制得的晶型 L 进行 X-射线衍射测定，所用仪器与其参数如表 4 所示，得到的数据如表 21 所示：

表 21：晶型 L 的 X-射线粉末衍射峰列表

$2\theta^{\circ}$	d 间隔	相对强度%
3.659	24.1299	13.9
4.76	18.5477	9
6.159	14.3378	1.8
7.902	11.179	11.6
9.541	9.2621	21.9
11.359	7.7833	2
12.284	7.1992	100
12.822	6.8983	3.8
13.604	6.5039	64.6
14.585	6.0682	48
15.424	5.7401	35
16.165	5.4784	41
16.926	5.2341	17.1
17.344	5.1086	17.5
18.165	4.8797	8.9
18.806	4.7147	17.3
19.348	4.5839	6.1
19.969	4.4427	4
20.426	4.3442	12.9
22.266	3.9893	4.6

22.829	3.8921	2.8
23.546	3.7753	6.2
24.767	3.5918	3.9
26.07	3.4152	6.6
26.547	3.3549	2.5
28.629	3.1155	4.7

晶型 L 在如上表 21 所述的 2θ 角上有特征峰。并且，晶型 L 只能在高温下稳定存在。

实施例 9：苦丁皂苷 A 的生物学活性

1. 苦丁皂苷 A 对支气管平滑肌的舒张作用

5 首先，配置不同浓度的苦丁皂苷 A 溶液：称取实施例 1 获得的苦丁皂苷 A 晶型 A 0.3253g，加入 1mL 二甲基亚砜（DMSO）溶解，配制成苦丁皂苷 A 晶型 A 储备液，然后用 DMSO 依次稀释成 1 μ M、3.2 μ M、10 μ M、32 μ M 苦丁皂苷 A 晶型 A 溶液。

其次，制备支气管环：取 6 周龄 C57BL/6J 小鼠，断颈致死，取出左右支气管后在体式显微镜下进行支气管剥离，获得左右支气管并剪成长度约 2mm 的支气管环。

10 再者，平衡支气管环张力：用两根金属丝固定支气管环，将其悬挂于装有 5mL 平衡盐溶液（Kreb 溶液）的 37 $^{\circ}$ C 水浴槽中，同时持续通入含 5%二氧化碳和 95%氧气的混合气体；然后，利用张力换能器平衡支气管环张力，使用 60mM 氯化钾预刺激后重新平衡。

最后，进行气道张力测定与给药：仪器校正，检测系统调零；待小鼠张力稳定时记录张力值 A；向 5mL Kreb 溶液中加入 5 μ L、10mM 黑色素浓缩激素，使其终浓度为 10 μ M，
15 待支气管环收缩张力达最高峰，分别加入 5 μ L 不同浓度（1 μ M、3.2 μ M、10 μ M、32 μ M）苦丁皂苷 A 晶型 A 溶液，观察记录支气管张力变化，计算气道张力松弛百分比，如表 22。其中，加入苦丁皂苷 A 溶液前 1 分钟的平均张力值记为 B，加入苦丁皂苷 A 后第 20 分钟的平均张力值记为 C，气道张力松弛百分比 = $(B - C) / (B - A)$ 。

表 22：不同浓度苦丁皂苷 A 下支气管平滑肌张力松弛比率

苦丁皂苷 A 浓度	张力平均松弛比率
1 μ M	-3.57%
3.2 μ M	21.40%
10 μ M	42.93%
32 μ M	50.09%

20

由上表 22 可知：在苦丁皂苷 A 的浓度为 1 μ M 条件下，其对支气管平滑肌无舒张作用；

而在苦丁皂苷 A 的浓度为 3.2 μ M、10 μ M、32 μ M 条件下，支气管平滑肌均得到一定程度的舒张，且 KA 浓度越高，对支气管平滑肌的舒张作用越强。

2. 苦丁皂苷 A 的抗炎作用

5 首先，配制不同浓度的苦丁皂苷 A 溶液，具体步骤如下：

(1) 配制 15mg/mL 苦丁皂苷 A 晶型 A 储备液：称取实施例 1 获得的苦丁皂苷 A 晶型 A 0.50990g，加入 33.993 mL 丙二醇超声溶解，得到约 40mL、15mg/mL 苦丁皂苷 A 晶型 A 储备液，室温避光保存；

10 (2) 配制 1.5mg/mL 苦丁皂苷 A 溶液：量取 15mg/mL 苦丁皂苷 A 晶型 A 储备液 2mL，加入 18mL 25%丙二醇稀释，得到 20mL 1.5mg/mL 苦丁皂苷 A 溶液，现配现用。

(3) 配制 0.3mg/mL 苦丁皂苷 A 溶液：量取 1.5mg/mL 苦丁皂苷 A 溶液 4mL，加入 16mL 32.5%丙二醇稀释，得到 20mL 0.3mg/mL 苦丁皂苷 A 溶液，现配现用。

(4) 配制 0.06mg/mL 苦丁皂苷 A 溶液：量取 0.3mg/mL 苦丁皂苷 A 工作液 3mL，加入 12mL 32.5%丙二醇稀释，得到 15mL 0.3mg/mL 苦丁皂苷 A 溶液，现配现用。

15 其次，构建具有明显肺部炎症的哮喘小鼠模型：第一天向 Balb/c 小鼠腹腔注射 100 μ L 6mg/mL 鸡卵清白蛋白和 4mg 氢氧化铝，第 8 天注射 100 μ L 3.6mg/mL 鸡卵清白蛋白和 4mg 氢氧化铝，第 15 天注射 100 μ L 1mg/mL 鸡卵清白蛋白和 4mg 氢氧化铝，并在第 20-23 天，每天使用 6mL 2%鸡卵清白蛋白雾化激发 30 分钟，构建具有明显肺部炎症的哮喘小鼠模型。其中，空白对照组小鼠中，采用 100 μ L PBS 替代鸡卵清白蛋白。

20 最后，进行雾化治疗：从第 24 天开始，每天给予 2 次，每次 30 分钟，共 12mL 不同浓度（0.06 mg/mL、0.3 mg/mL、1.5 mg/mL）的苦丁皂苷 A 溶液雾化治疗，在雾化治疗 1 小时后使用 6mL 2%鸡卵清白蛋白雾化激发 30 分钟，以此给药并激发 15 天；并在末次给药并激发实验 24 小时后，即第 39 天开始取样，取样前给予 2 次，每次 30 分钟，共 12mL 相应雾化治疗浓度的苦丁皂苷 A 溶液进行治疗，以上为不同剂量苦丁皂苷 A 雾化治疗的实验组方案，阴性对照组小鼠以 30%丙二醇替换苦丁皂苷 A，进行雾化给药。

25 采用流式细胞术检测小鼠肺泡灌洗液样品白细胞中嗜酸性粒细胞（EO）的占比情况。其中，空白组小鼠 15 只；阴性对照组小鼠 12 只；高、中、低浓度苦丁皂苷 A 实验组小鼠分别为 18 只、13 只、14 只。结果如下表 23 所示。

表 23：嗜酸性粒细胞（EO）占比统计结果

	空白对照 组	阴性对照 组	苦丁皂苷 A 组 (0.06 mg/mL)	苦丁皂苷 A 组 (0.3 mg/mL)	苦丁皂苷 A 组 (1.5mg/mL)
嗜酸性粒细胞	4.16	17.05	10.14	9.56	10.81

(EO) 占比					
---------	--	--	--	--	--

由表 23 的结果可知：相较于空白对照组，阴性对照组嗜酸性粒细胞比例明显提升，说明肺部炎症的哮喘小鼠模型构建成功；相较于阴性对照组，各种剂量苦丁皂苷 A 给药组嗜酸性粒细胞比例均下降，表明苦丁皂苷 A 具有一定的抗炎作用。

5

尽管本发明描述了具体的例子，但是有一点对于本领域技术人员来说是明显的，即在不脱离本发明的精神和范围的前提下可对本发明作各种变化和改动。因此，所附权利要求覆盖了所有这些在本发明范围内的变动。

权 利 要 求 书

1. 苦丁皂苷 A 化合物的晶型，选自下述晶型 A、C、J、B、D、E、G、K 和 L，其特征在于，

5 所述晶型 A 的 X-射线粉末衍射 (XRPD) 图上在下述 2θ 角有特征峰： $6.7^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $7.3^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $7.9^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $10.5^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $10.9^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $14.1^\circ \pm 0.2^\circ$ ；

所述晶型 C 的 X-射线粉末衍射 (XRPD) 图上在下述 2θ 角有特征峰： $7.8^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $12.7^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $14.4^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $14.9^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $16.3^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $18.6^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $25.1^\circ \pm 0.2^\circ$ ；

10 所述晶型 J 的 X-射线粉末衍射 (XRPD) 图上在下述 2θ 角有特征峰： $7.7^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $9.3^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $12.1^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $14.1^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $15.1^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $16.6^\circ \pm 0.2^\circ$ ；

所述晶型 B 的 X-射线粉末衍射 (XRPD) 图上在下述 2θ 角有特征峰： $7.4^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $7.9^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $11.8^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $12.5^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $14.3^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $15.4^\circ \pm 0.2^\circ$ ；

所述晶型 D 的 X-射线粉末衍射 (XRPD) 图上在下述 2θ 角有特征峰： $6.2^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $9.9^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $12.4^\circ \pm 0.2^\circ$ ；

15 所述晶型 E 的 X-射线粉末衍射 (XRPD) 图上在下述 2θ 角有特征峰： $5.6^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $11.1^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $14.4^\circ \pm 0.2^\circ$ ；

所述晶型 G 的 X-射线粉末衍射 (XRPD) 图上在下述 2θ 角有特征峰： $5.7^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $7.8^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $9.2^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $9.9^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $17.5^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $19.8^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $20.0^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $28.5^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $37.8^\circ \pm 0.2^\circ$ ；

20 所述晶型 K 的 X-射线粉末衍射 (XRPD) 图上在下述 2θ 角有特征峰： $7.6^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $11.1^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $12.1^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $14.3^\circ \pm 0.2^\circ$ ；

所述晶型 L 的 X-射线粉末衍射 (XRPD) 图上在下述 2θ 角有特征峰： $9.5^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $12.3^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $13.6^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $14.5^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $15.4^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $16.2^\circ \pm 0.2^\circ$ 。

2. 如权利要求 1 所述的晶型，其特征在于，

25 所述晶型 A 的 X-射线粉末衍射 (XRPD) 图上在下述 2θ 角还有特征峰： $3.6^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $12.8^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $13.2^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $13.6^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $15.2^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $16.1^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $18.3^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $24.1^\circ \pm 0.2^\circ$ ；

所述晶型 B 的 X-射线粉末衍射 (XRPD) 图上在下述 2θ 角还有特征峰： $4.8^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $8.1^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $14.6^\circ \pm 0.2^\circ$ ；

所述晶型 C 的 X-射线粉末衍射 (XRPD) 图上在下述 2θ 角还有特征峰： $3.9^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $8.3^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $13.2^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $19.5^\circ \pm 0.2^\circ$ ， $20.3^\circ \pm 0.2^\circ$ ；

30 所述晶型 D 的 X-射线粉末衍射 (XRPD) 图上在下述 2θ 角还有特征峰： $4.5^\circ \pm 0.2^\circ$ ，

7.2°±0.2°, 12.9°±0.2°, 19.0°±0.2°;

所述晶型 E 的 X-射线粉末衍射 (XRPD) 图上在下述 2 θ 角还有特征峰: 4.5°±0.2°, 7.7°±0.2°, 13.6°±0.2°, 18.1°±0.2°, 19.8°±0.2°, 20.8°±0.2°, 28.0°±0.2°;

所述晶型 G 的 X-射线粉末衍射 (XRPD) 图上在下述 2 θ 角还有特征峰: 3.4°±0.2°, 5 7.3°±0.2°, 12.0°±0.2°, 14.4°±0.2°, 17.0°±0.2°, 18.8°±0.2°, 22.5°±0.2°, 25.5°±0.2°, 25.7°±0.2°, 26.1°±0.2°;

所述晶型 J 的 X-射线粉末衍射 (XRPD) 图上在下述 2 θ 角还有特征峰: 3.5°±0.2°, 4.7°±0.2°, 12.7°±0.2°, 13.7°±0.2°, 15.5°±0.2°, 16.2°±0.2°, 18.1°±0.2°;

所述晶型 K 的 X-射线粉末衍射 (XRPD) 图上在下述 2 θ 角还有特征峰: 4.5°±0.2°, 10 4.9°±0.2°, 5.5°±0.2°, 8.2°±0.2°, 13.5°±0.2°, 18.7°±0.2°;

所述晶型 L 的 X-射线粉末衍射 (XRPD) 图上在下述 2 θ 角还有特征峰: 3.7°±0.2°, 7.9°±0.2°, 16.9°±0.2°, 17.3°±0.2°, 18.8°±0.2°, 20.4°±0.2°。

3. 如权利要求 1 或 2 所述的晶型, 其特征在于:

所述晶型 A 的 X-射线粉末衍射 (XRPD) 图上在表 1 所示的 2 θ 角有特征峰;
15 所述晶型 B 的 X-射线粉末衍射 (XRPD) 图上在表 14 所示的 2 θ 角有特征峰;
所述晶型 C 的 X-射线粉末衍射 (XRPD) 图上在表 2 所示的 2 θ 角有特征峰;
所述晶型 D 的 X-射线粉末衍射 (XRPD) 图上在表 15 所示的 2 θ 角有特征峰;
所述晶型 E 的 X-射线粉末衍射 (XRPD) 图上在表 16 所示的 2 θ 角有特征峰;
所述晶型 G 的 X-射线粉末衍射 (XRPD) 图上在表 17 所示的 2 θ 角有特征峰;
20 所述晶型 J 的 X-射线粉末衍射 (XRPD) 图上在表 3 所示的 2 θ 角有特征峰;
所述晶型 K 的 X-射线粉末衍射 (XRPD) 图上在表 20 所示的 2 θ 角有特征峰;
所述晶型 L 的 X-射线粉末衍射 (XRPD) 图上在表 21 所示的 2 θ 角有特征峰。

4. 如权利要求 1 所述的晶型, 其特征在于, 所述晶型 A 具有以下任意一项或多项特征:

25 (1) 具有基本上如图 1a 所示的 X-射线粉末衍射 (XRPD) 图;
(2) 具有基本上如图 1b 所示的差示扫描量热 (DSC) 分析图;
(3) 具有基本上如图 1c 所示的热重分析 (TGA) 图; 和
(4) 具有基本上如图 1d 所示的动态水分吸附 (DVS) 图。

5. 如权利要求 1 所述的晶型, 其特征在于, 所述晶型 C 具有以下任意一项或多项特征:

30 (1) 具有基本上如图 2a 所示的 X-射线粉末衍射 (XRPD) 图;

- (2) 具有基本上如图 2b 所示的差示扫描量热 (DSC) 分析图;
- (3) 具有基本上如图 2c 所示的热重分析 (TGA) 图; 和
- (4) 具有基本上如图 2d 所示的动态水分吸附 (DVS) 图。
6. 如权利要求 1 所述的晶型, 其特征在于, 所述晶型 J 具有以下任意一项或多项特征:
- 5 (1) 具有基本上如图 3a 所示的 X-射线粉末衍射 (XRPD) 图;
- (2) 具有基本上如图 3b 所示的差示扫描量热 (DSC) 分析图;
- (3) 具有基本上如图 3c 所示的热重分析 (TGA) 图; 和
- (4) 具有基本上如图 3d 所示的动态水分吸附 (DVS) 图。
7. 苦丁皂苷 A 化合物晶型 A 的制备方法, 包括:
- 10 苦丁茶经渗漉提取、浓缩后获得提取物浸膏; 取浸膏稀释并离心, 获得粗样品; 将粗样品经高压色谱纯化后, 再进行脱色、重结晶、冷冻干燥, 最后粉碎, 得到晶型 A; 或采用下述三种方法中的任意一种制备所述晶型 A:
- 方法一: 用醇类溶剂溶解无定型苦丁皂苷 A, 获得苦丁皂苷 A 的溶解液, 浓缩该溶解液至白色沉淀析出且蒸出液收集容器入口处基本无液滴产生, 此即为浓缩终点, 获得浓缩
- 15 液; 冷冻干燥该浓缩液, 从而获得晶型 A;
- 方法二: 用醇类溶剂溶解无定型苦丁皂苷 A, 获得苦丁皂苷 A 的溶解液, 超声处理该溶解液, 然后过滤, 取滤液减压浓缩后得到干燥固体, 即为晶型 A;
- 方法三: 用醇类溶剂溶解无定型苦丁皂苷 A, 获得苦丁皂苷 A 的溶解液, 室温下使该溶解液自然挥发得到干燥固体, 即为晶型 A。
- 20 8. 如权利要求 7 所述的方法, 其特征在于, 使用纯乙醇或 50-90% (v/v) 的乙醇水溶液进行渗漉提取, 苦丁茶粉与醇的质量比为 1:2.5-1:1.5; 提取物浸膏先后用水和无水乙醇稀释并离心, 以获得粗样品, 其中, 水的用量为苦丁茶粉质量的 0.5-1 倍, 无水乙醇的用量为苦丁茶粉质量的 0.3-0.8 倍; 用乙醇或其水溶液在 60-90°C 溶解该粗样品, 然后将其置于 10°C 以下的条件下进行重结晶; 在约 0°C 冷冻干燥所获得的晶体, 然后升高至室温干燥,
- 25 最后再在 32°C 以上的温度下干燥, 获得晶型 A, 其中冷冻干燥的时间为 1-3 小时, 室温干燥的时间为 3-5 小时, 32°C 以上的干燥时间为 5-8 小时。
9. 如权利要求 7 所述的方法, 其特征在于, 所述方法一和二使用乙醇水溶液溶解无定型苦丁皂苷 A; 所述方法三中, 使用甲醇溶解无定型苦丁皂苷 A; 所述方法一中, 获得苦丁皂苷 A 的溶解液后, 先过滤获得澄清溶液, 再浓缩该澄清溶液, 其中, 浓缩在 50-60°C
- 30 的水浴中进行, 转速控制为 30-80rpm, 真空度控制为不低于 0.08MPa。
10. 苦丁皂苷 A 化合物的晶型 C 或 J 的制备方法, 其特征在于, 采用以下方法四~方法六中的任意一种进行制备晶型 C:

方法四：用溶剂溶解晶型 A，得到混悬液；室温下搅拌 3-5 天，离心；取所得固体在 25-30℃条件下真空干燥过夜，得到晶型 C；

方法五：用乙酸乙酯溶解晶型 A，得到混悬液；室温下搅拌 2-4 天，离心；取所得固体在 25-30℃条件下真空干燥过夜，得到晶型 C；

5 方法六：于 150-200℃之间加热晶型 A 3-10 分钟，得到晶型 C；

采用以下方法七~方法十中的任意一种制备晶型 J：

方法七：用乙酸乙酯饱和水溶液溶解晶型 A，得到混悬液；室温下搅拌 3-5 天，离心；取所得固体在 25-30℃条件下真空干燥过夜，得到晶型 J；

10 方法八：用水溶解晶型 A，得到混悬液；室温下搅拌 2-4 天，离心；取所得固体在 25-30℃条件下真空干燥过夜，得到晶型 J；

方法九：用醇类溶剂溶解无定型苦丁皂苷 A；加入水，室温下搅拌过夜后，离心，然后将取所得固体在 25-30℃条件下真空干燥过夜，得到晶型 J；

方法十：用醇类溶剂和水溶解无定型苦丁皂苷 A 后，0-10℃搅拌过夜，离心，将所得固体在 25-30℃条件下真空干燥过夜，得到晶型 J。

15 11. 权利要求 10 所述的方法，其特征在于，

所述方法四中，乙腈与异丙醚的体积比为 1:1 到 1:5；晶型 A 与溶剂的质量体积比（克：毫升）为 1:20 到 1:50；

所述方法五中，晶型 A 与乙酸乙酯的质量体积比（克：毫升）为 1:10 到 1:30；

所述方法六中，在 $170\pm 5^\circ\text{C}$ 的温度下加热晶型 A 并保温 3-7 分钟；

20 所述方法七中，晶型 A 与乙酸乙酯饱和水溶液的质量体积比（克：毫升）为 1:20 到 1:50；

所述方法八中，晶型 A 与水的质量体积比（克：毫升）为 1:10 到 1:30；

所述方法九中，醇类溶剂为无水醇类溶剂，苦丁皂苷 A 与醇类溶剂的质量体积比（克：毫升）为 1:30 到 1:100，加入的水的量是醇类溶剂体积的 1-10 倍；

25 所述方法十中，所述醇类溶剂优选为无水醇类溶剂，醇类溶剂与水的体积比为 1:1 到 1:5，苦丁皂苷 A 与醇类溶剂的质量体积比（克：毫升）为 1:10 到 1:50。

12. 如权利要求 1-6 中任一项所述的苦丁皂苷 A 化合物的晶型或采用权利要求 7-11 中任一项所述的方法制备得到的产物在制备用于扩张气管、用于抗炎、或用于治疗肺部疾病的药物中的应用；

30 优选地，所述肺部疾病为慢性阻塞性肺疾病或哮喘；

优选地，所述晶型为晶型 A、C 或 J 或其任意混合物；

优选地，所述药物为吸入制剂；优选地，所述吸入制剂为吸入粉雾剂、吸入气雾剂、

吸入喷雾剂、吸入混悬剂或吸入溶液剂。

13. 一种治疗肺部疾病的药物组合物，其特征在于，该药物组合物包含治疗有效量的如权利要求 1-6 中任一项所述的苦丁皂苷 A 化合物的晶型或权利要求 7-11 中任一项所述的方法制备得到的产物以及药学上可接受的载体；

5 优选地，所述晶型为晶型 A、C 或 J 或其任意混合物，所述产物含有晶型 A、C 或 J 或其任意混合物；

优选地，所述药物组合物为吸入制剂；优选地，所述吸入制剂为吸入粉雾剂、吸入气雾剂、吸入喷雾剂、吸入混悬剂或吸入溶液剂。

10 14. 一种扩张气管、抗炎或治疗肺部疾病的方法，其特征在于，所述方法包括给予需要的患者有效量的权利要求 1-6 中任一项所述的苦丁皂苷 A 化合物的晶型或采用权利要求 7-11 中任一项所述的方法制备得到的产物，或含有所述晶型或产物的药物组合物；优选地，所述晶型为晶型 A、C 或 J 或其任意混合物，所述产物含有晶型 A、C 或 J 或其任意混合物。

15 15. 如权利要求 14 所述的方法，其特征在于，所述肺部疾病为慢性阻塞性肺疾病或哮喘。

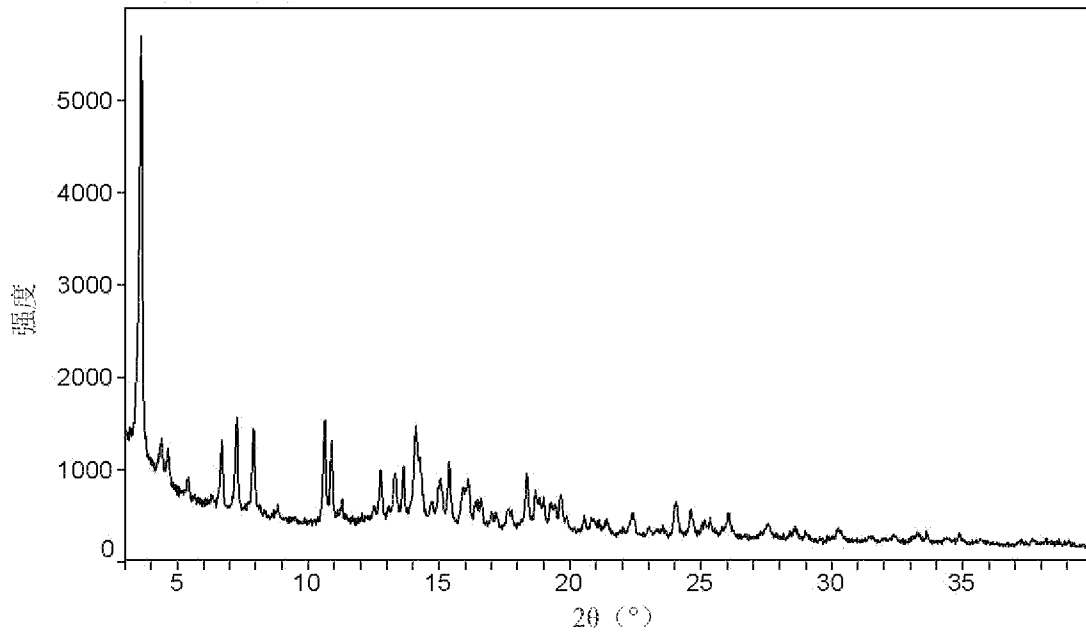


图 1a

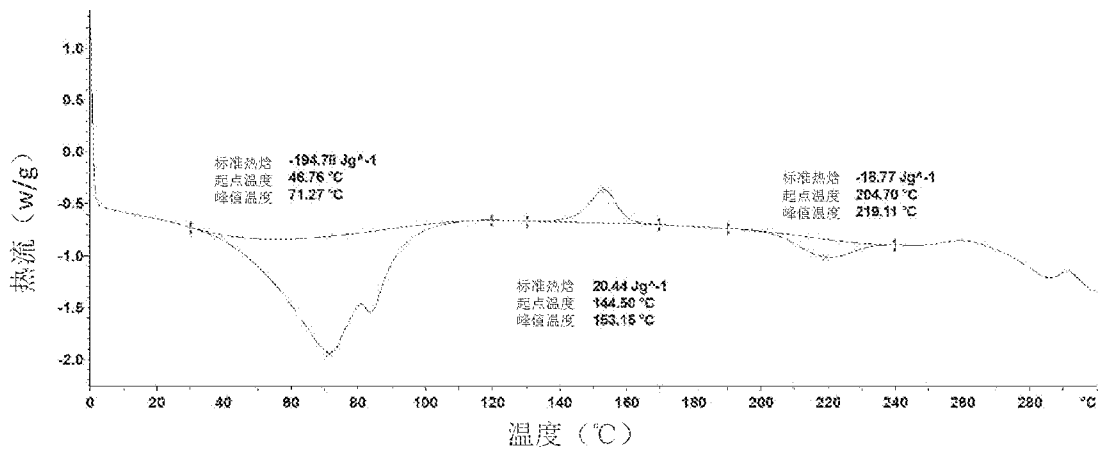


图 1b

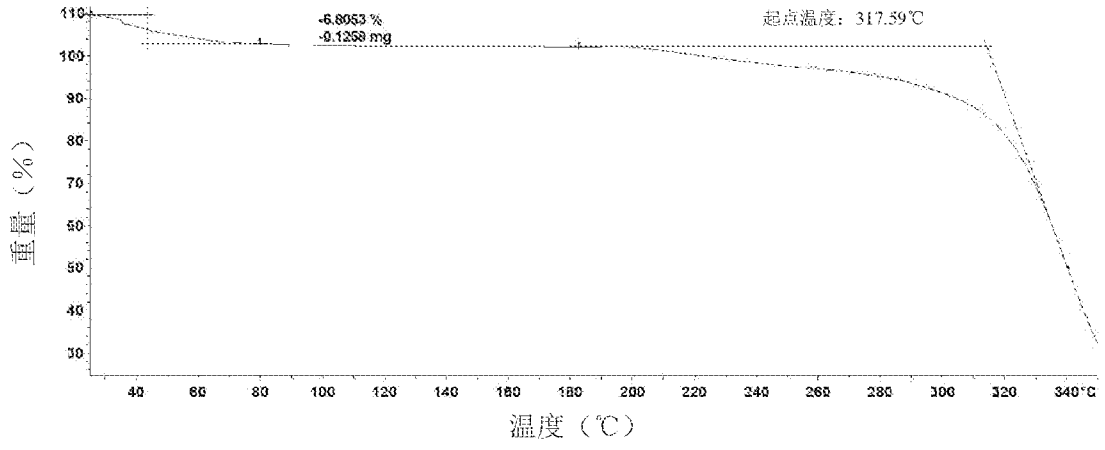


图 1c

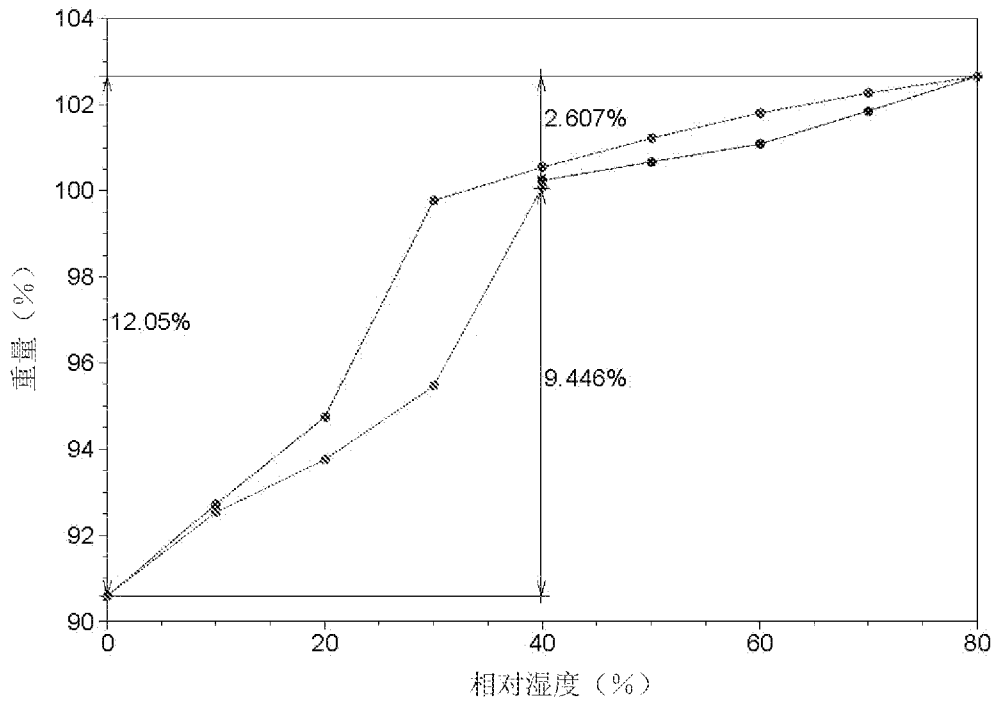


图 1d

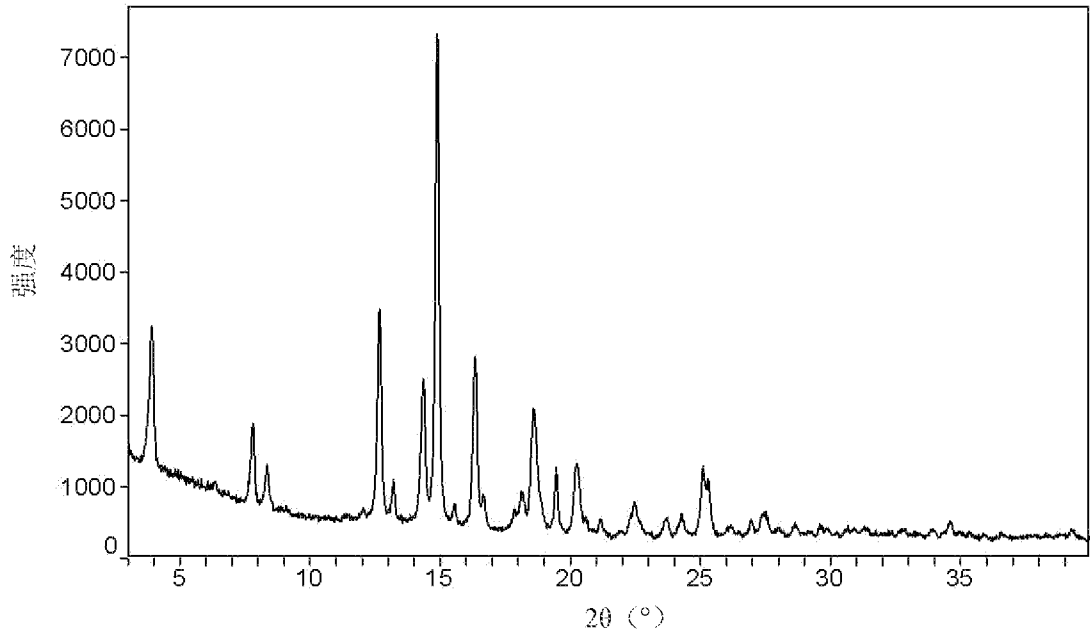


图 2a

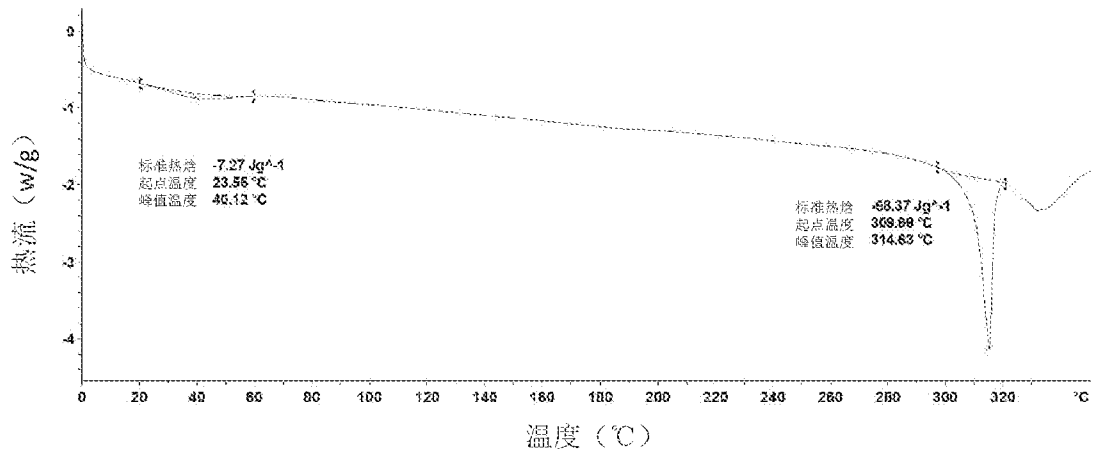


图 2b

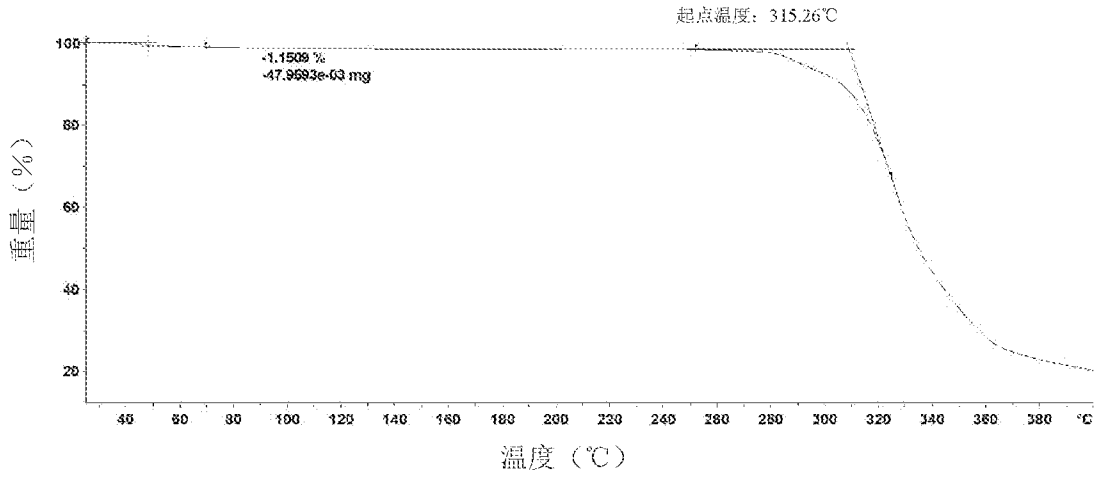


图 2c

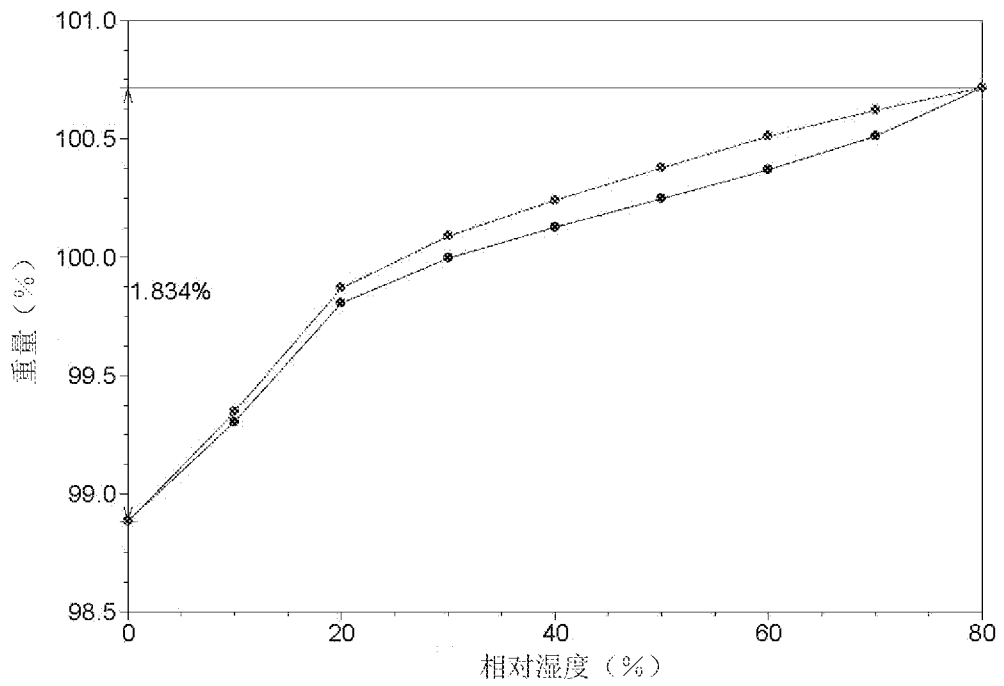


图 2d

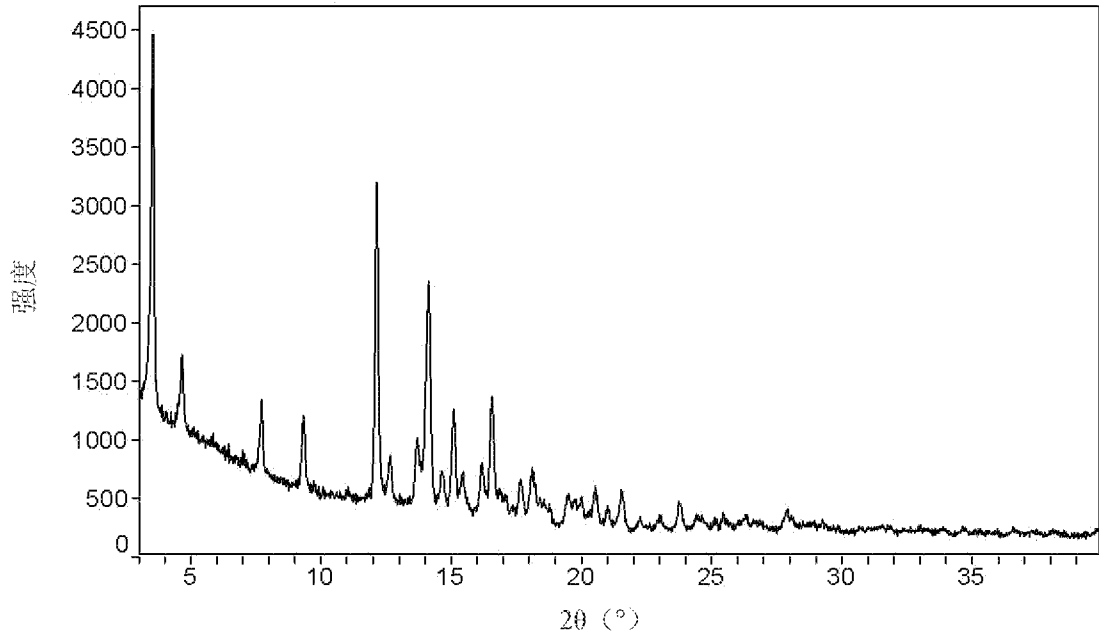


图 3a

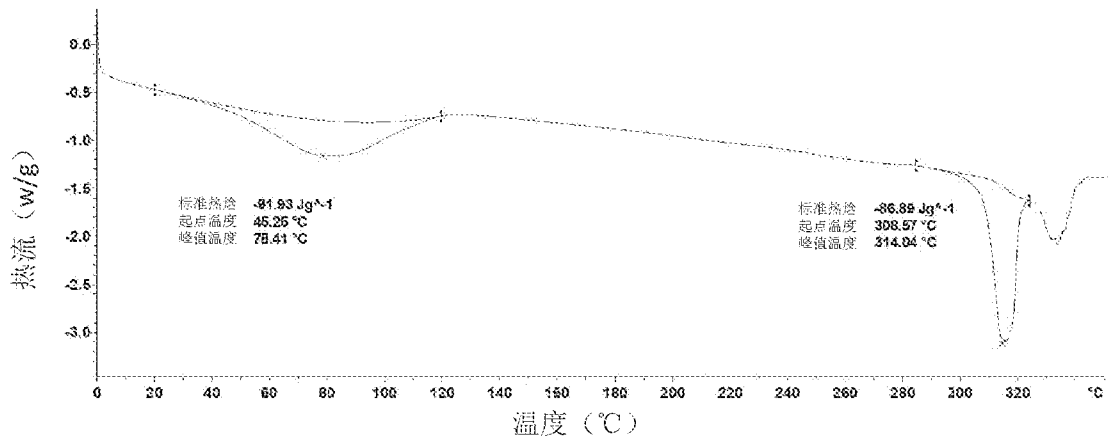


图 3b

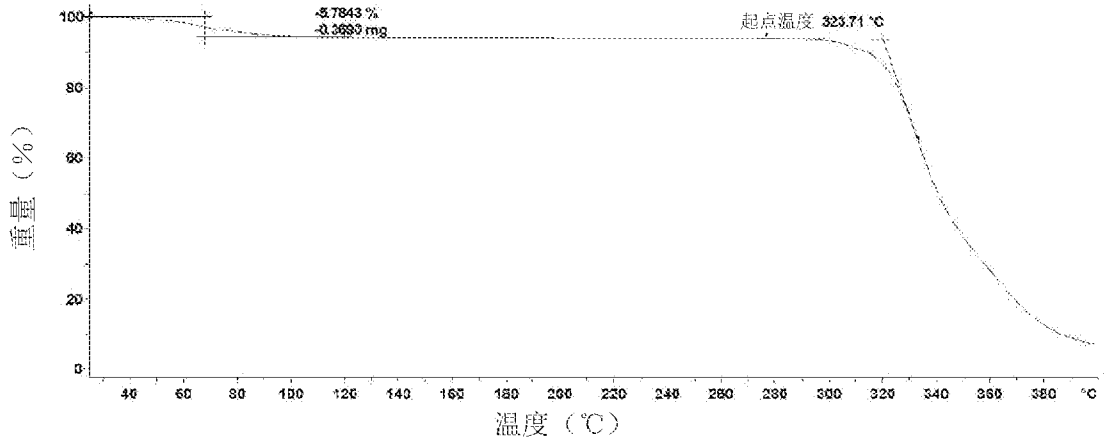


图 3c

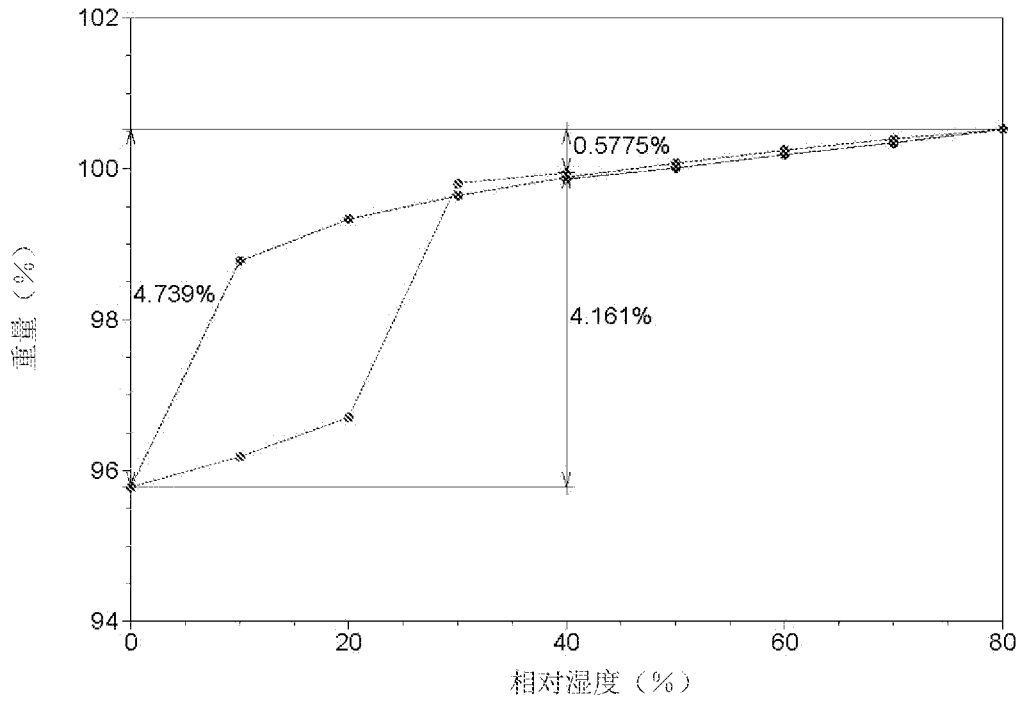


图 3d

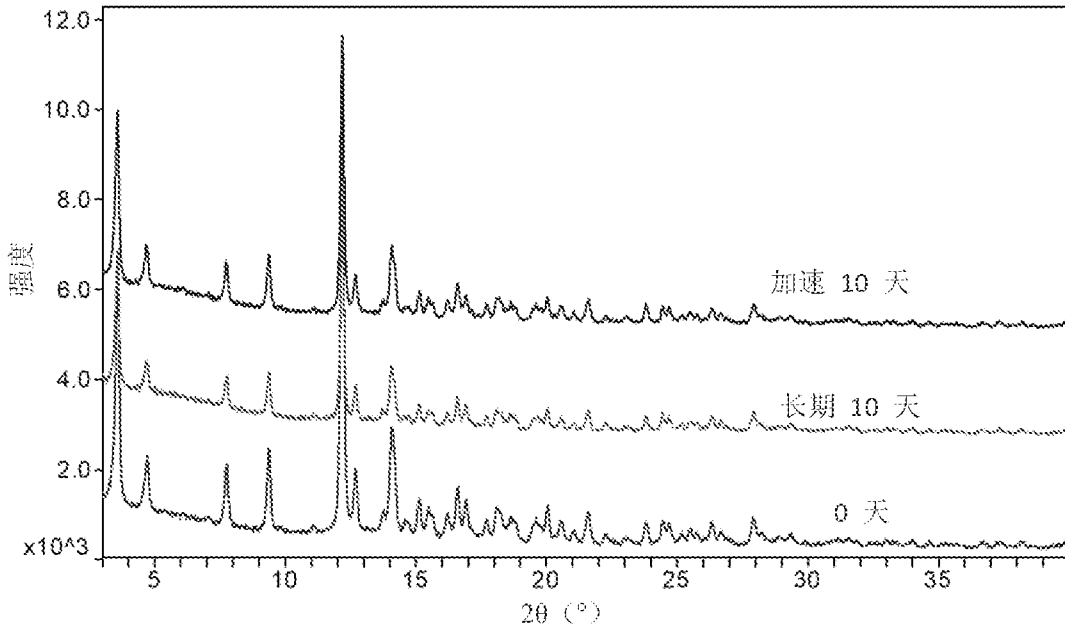


图 4a

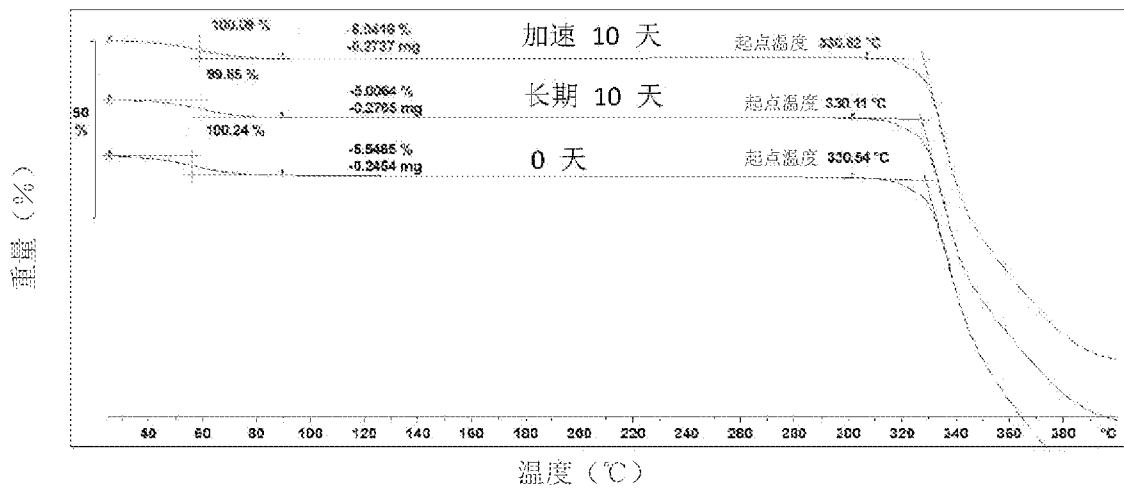


图 4b

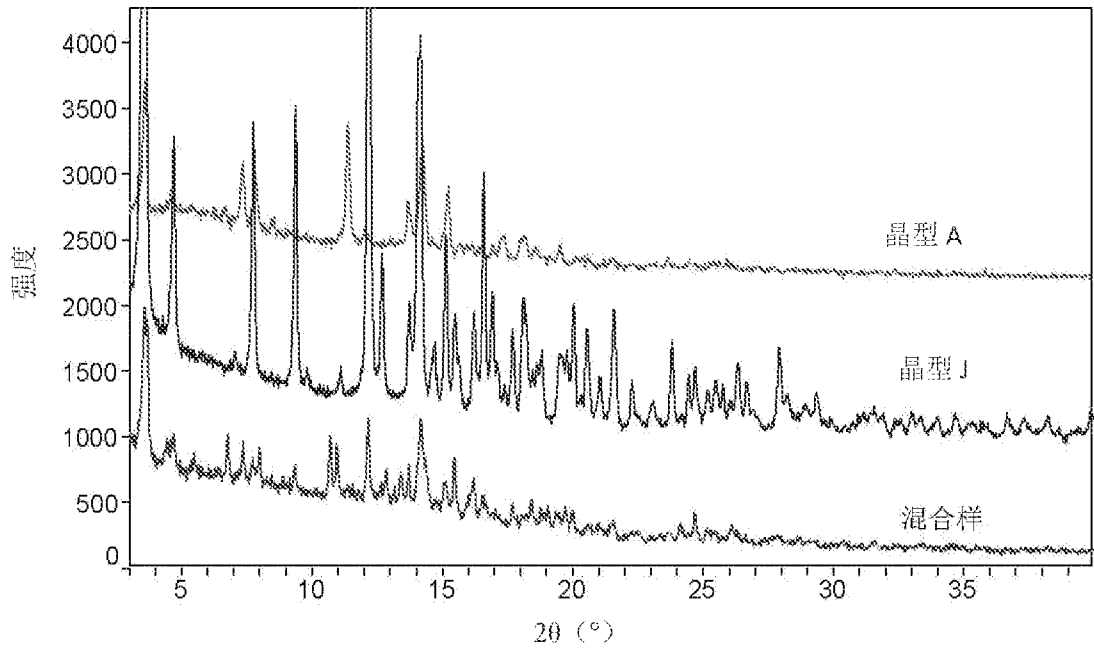


图 5a

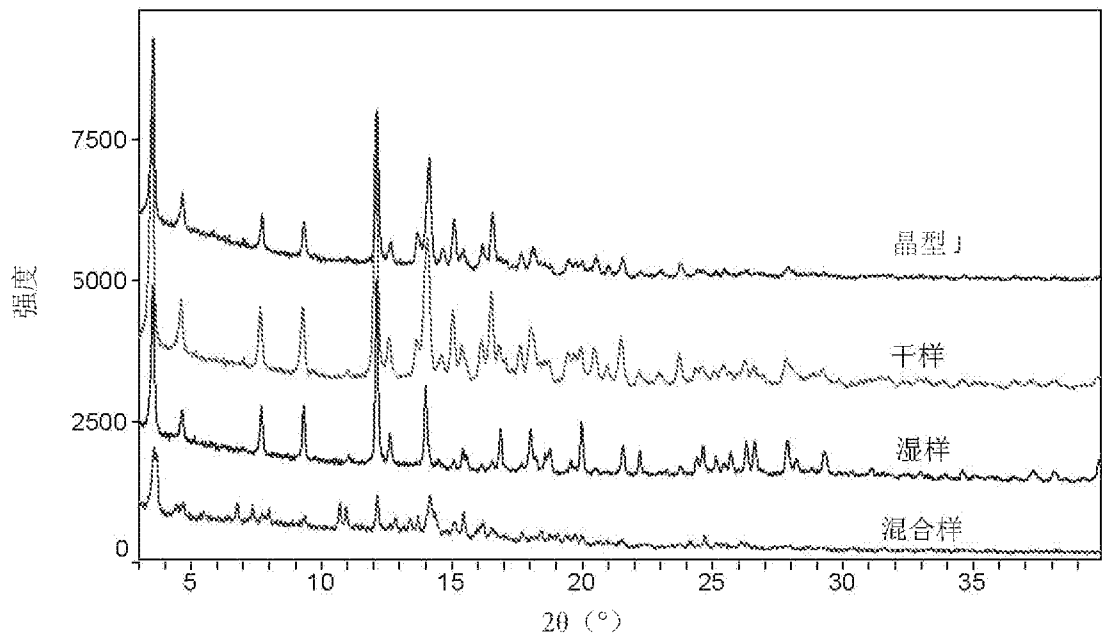


图 5b

<p>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</p> <p>C07J 71/00(2006.01)i; A61K 31/7048(2006.01)i; A61P 29/00(2006.01)i; A61P 11/00(2006.01)i; A61P 11/06(2006.01)i; A61P 11/08(2006.01)i</p> <p>According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC</p>														
<p>B. FIELDS SEARCHED</p> <p>Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)</p> <p>C07D; A61P; A61K</p> <p>Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched</p> <p>Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)</p> <p>CNKI; CNTXT; WPABS; DWPI; CJFD; PubMed; ScienceDirect; STN(Registry, CAplus): 苦丁茶冬青, 苦丁皂苷A, 苦丁皂甙A, 苦丁茶皂苷A, 苦丁苷A, 苦丁冬青苷A, 苦丁酮皂苷, 晶, 三萜, 抗炎, 哮喘, 肺病, kudinoside, kudincha, saponin, triterpenoid, crystal, antiinflammatory, asthma, pulmonary, COPD, 根据权利要求1苦丁皂苷A进行结构检索, a structural search conducted according to the kudingcha saponin A of claim 1, 根据苦丁皂苷A的CAS号 (1239453-06-5) 进行检索, a search conducted according to the CAS number of kudingcha saponin A</p>														
<p>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Category*</th> <th>Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages</th> <th>Relevant to claim No.</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>X</td> <td>CN 101775061 A (SHENYANG PHARMACEUTICAL UNIVERSITY) 14 July 2010 (2010-07-14) description paragraphs 36-38, 40, 55-85 and 91</td> <td>1-12, 14</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>CN 101775061 A (SHENYANG PHARMACEUTICAL UNIVERSITY) 14 July 2010 (2010-07-14) description paragraphs 36-38, 40, 55-85 and 91</td> <td>12-15</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>范春林 等 (FAN, Chunlin et al.). "大叶冬青的三萜皂苷类成分研究 (Triterpenoid Saponins from the Leaves of Ilex Llatifolia)" <i>中国药学杂志 (Chinese Pharmaceutical Journal)</i>, Vol. 45, No. 16, 22 August 2010 (2010-08-22), pages 1229-1230, sections 2-3</td> <td>1-6</td> </tr> </tbody> </table>			Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.	X	CN 101775061 A (SHENYANG PHARMACEUTICAL UNIVERSITY) 14 July 2010 (2010-07-14) description paragraphs 36-38, 40, 55-85 and 91	1-12, 14	Y	CN 101775061 A (SHENYANG PHARMACEUTICAL UNIVERSITY) 14 July 2010 (2010-07-14) description paragraphs 36-38, 40, 55-85 and 91	12-15	X	范春林 等 (FAN, Chunlin et al.). "大叶冬青的三萜皂苷类成分研究 (Triterpenoid Saponins from the Leaves of Ilex Llatifolia)" <i>中国药学杂志 (Chinese Pharmaceutical Journal)</i> , Vol. 45, No. 16, 22 August 2010 (2010-08-22), pages 1229-1230, sections 2-3	1-6
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.												
X	CN 101775061 A (SHENYANG PHARMACEUTICAL UNIVERSITY) 14 July 2010 (2010-07-14) description paragraphs 36-38, 40, 55-85 and 91	1-12, 14												
Y	CN 101775061 A (SHENYANG PHARMACEUTICAL UNIVERSITY) 14 July 2010 (2010-07-14) description paragraphs 36-38, 40, 55-85 and 91	12-15												
X	范春林 等 (FAN, Chunlin et al.). "大叶冬青的三萜皂苷类成分研究 (Triterpenoid Saponins from the Leaves of Ilex Llatifolia)" <i>中国药学杂志 (Chinese Pharmaceutical Journal)</i> , Vol. 45, No. 16, 22 August 2010 (2010-08-22), pages 1229-1230, sections 2-3	1-6												
<p><input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.</p>														
<p>* Special categories of cited documents:</p> <p>“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date</p> <p>“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> <p>“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</p> <p>“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</p> <p>“&” document member of the same patent family</p>														
<p>Date of the actual completion of the international search</p> <p>18 August 2022</p>		<p>Date of mailing of the international search report</p> <p>19 September 2022</p>												
<p>Name and mailing address of the ISA/CN</p> <p>China National Intellectual Property Administration (ISA/CN) No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088, China</p> <p>Facsimile No. (86-10)62019451</p>		<p>Authorized officer</p> <p>Telephone No.</p>												

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	范春林 等 (FAN, Chunlin et al.). "大叶冬青的三萜皂苷类成分研究 (Triterpenoid Saponins from the Leaves of Ilex Llatifolia)" <i>中国药学杂志 (Chinese Pharmaceutical Journal)</i> , Vol. 45, No. 16, 22 August 2010 (2010-08-22), pages 1229-1230, sections 2-3	7-15
X	CN 104402965 A (GUANGZHOU UNIVERSITY OF CHINESE MEDICINE) 11 March 2015 (2015-03-11) description, paragraphs 29-43	1-6
A	CN 104402965 A (GUANGZHOU UNIVERSITY OF CHINESE MEDICINE) 11 March 2015 (2015-03-11) description, paragraphs 29-43	7-15
Y	CN 112370462 A (NANJING MUCYTE BIOTECHNOLOGY CO., LTD.) 19 February 2021 (2021-02-19) claims 1 and 7-9, and description paragraph 161	12-15
A	CN 112370462 A (NANJING MUCYTE BIOTECHNOLOGY CO., LTD.) 19 February 2021 (2021-02-19) claims 1 and 7-9, and description paragraph 161	1-11
A	CN 106456657 A (NANJING MUCYTE BIOTECHNOLOGY CO., LTD.) 22 February 2017 (2017-02-22) entire document	1-15
A	CN 112755036 A (ZHU MINSHENG) 07 May 2021 (2021-05-07) entire document	1-15

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.: **14-15**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
 - [1] Claims 14-15 relate to a treatment method implemented on a human or animal body (PCT Rule 39.1(iv)). Nevertheless, a search was still conducted on the basis of the technical subject matter of a use of the compound crystal form or a product prepared, or a pharmaceutical composition of the crystal form and the product in the preparation of a corresponding drug.
2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No. PCT/CN2022/109901

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
CN 101775061 A	14 July 2010	None	
CN 104402965 A	11 March 2015	None	
CN 112370462 A	19 February 2021	None	
CN 106456657 A	22 February 2017	JP 2017526613 A EP 3131556 A1 WO 2015158216 A1 US 2018311265 A1 US 2017173057 A1	14 September 2017 22 February 2017 22 October 2015 01 November 2018 22 June 2017
CN 112755036 A	07 May 2021	None	

<p>A. 主题的分类</p> <p>C07J 71/00(2006.01)i; A61K 31/7048(2006.01)i; A61P 29/00(2006.01)i; A61P 11/00(2006.01)i; A61P 11/06(2006.01)i; A61P 11/08(2006.01)i</p> <p>按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类</p>																							
<p>B. 检索领域</p> <p>检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)</p> <p>C07D; A61P; A61K</p> <p>包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献</p> <p>在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))</p> <p>CNKI;CNTXT;WPABS;DWPI;CJFD;PubMed;ScienceDirect;STN(Registry,CAplus): 苦丁茶冬青, 苦丁皂苷A, 苦丁皂甙A, 苦丁茶皂苷A, 苦丁苷A, 苦丁冬青苷A, 苦丁酮皂苷, 晶, 三萜, 抗炎, 哮喘, 肺病, kudioside, kudincha, saponin, triterpenoid, crystal, antiinflammatory, asthma, pulmonary, COPD, 根据权利要求1苦丁皂苷A进行结构检索, 根据苦丁皂苷A的CAS号(1239453-06-5)进行检索</p>																							
<p>C. 相关文件</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>类型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>X</td> <td>CN 101775061 A (沈阳药科大学) 2010年7月14日 (2010 - 07 - 14) 说明书第36-38、40、55-85、91段</td> <td>1-12, 14</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>CN 101775061 A (沈阳药科大学) 2010年7月14日 (2010 - 07 - 14) 说明书第36-38、40、55-85、91段</td> <td>12-15</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>范春林 等. "大叶冬青的三萜皂苷类成分研究." 中国药学杂志, 第45卷, 第16期, 2010年8月22日 (2010 - 08 - 22), 第1229-1230页第2-3节</td> <td>1-6</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>范春林 等. "大叶冬青的三萜皂苷类成分研究." 中国药学杂志, 第45卷, 第16期, 2010年8月22日 (2010 - 08 - 22), 第1229-1230页第2-3节</td> <td>7-15</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>CN 104402965 A (广州中医药大学) 2015年3月11日 (2015 - 03 - 11) 说明书第29-43段</td> <td>1-6</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 104402965 A (广州中医药大学) 2015年3月11日 (2015 - 03 - 11) 说明书第29-43段</td> <td>7-15</td> </tr> </tbody> </table>			类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	X	CN 101775061 A (沈阳药科大学) 2010年7月14日 (2010 - 07 - 14) 说明书第36-38、40、55-85、91段	1-12, 14	Y	CN 101775061 A (沈阳药科大学) 2010年7月14日 (2010 - 07 - 14) 说明书第36-38、40、55-85、91段	12-15	X	范春林 等. "大叶冬青的三萜皂苷类成分研究." 中国药学杂志, 第45卷, 第16期, 2010年8月22日 (2010 - 08 - 22), 第1229-1230页第2-3节	1-6	A	范春林 等. "大叶冬青的三萜皂苷类成分研究." 中国药学杂志, 第45卷, 第16期, 2010年8月22日 (2010 - 08 - 22), 第1229-1230页第2-3节	7-15	X	CN 104402965 A (广州中医药大学) 2015年3月11日 (2015 - 03 - 11) 说明书第29-43段	1-6	A	CN 104402965 A (广州中医药大学) 2015年3月11日 (2015 - 03 - 11) 说明书第29-43段	7-15
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求																					
X	CN 101775061 A (沈阳药科大学) 2010年7月14日 (2010 - 07 - 14) 说明书第36-38、40、55-85、91段	1-12, 14																					
Y	CN 101775061 A (沈阳药科大学) 2010年7月14日 (2010 - 07 - 14) 说明书第36-38、40、55-85、91段	12-15																					
X	范春林 等. "大叶冬青的三萜皂苷类成分研究." 中国药学杂志, 第45卷, 第16期, 2010年8月22日 (2010 - 08 - 22), 第1229-1230页第2-3节	1-6																					
A	范春林 等. "大叶冬青的三萜皂苷类成分研究." 中国药学杂志, 第45卷, 第16期, 2010年8月22日 (2010 - 08 - 22), 第1229-1230页第2-3节	7-15																					
X	CN 104402965 A (广州中医药大学) 2015年3月11日 (2015 - 03 - 11) 说明书第29-43段	1-6																					
A	CN 104402965 A (广州中医药大学) 2015年3月11日 (2015 - 03 - 11) 说明书第29-43段	7-15																					
<p><input checked="" type="checkbox"/> 其余文件在C栏的续页中列出。 <input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。</p>																							
<p>* 引用文件的具体类型:</p> <p>"A" 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件</p> <p>"E" 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利</p> <p>"L" 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的)</p> <p>"O" 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件</p> <p>"P" 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件</p> <p>"T" 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件</p> <p>"X" 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性</p> <p>"Y" 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性</p> <p>"&" 同族专利的文件</p>																							
<p>国际检索实际完成的日期</p> <p>2022年8月18日</p>		<p>国际检索报告邮寄日期</p> <p>2022年9月19日</p>																					
<p>ISA/CN的名称和邮寄地址</p> <p>中国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088</p> <p>传真号 (86-10)62019451</p>		<p>授权官员</p> <p>张楠</p> <p>电话号码 010-62086351</p>																					

C. 相关文件		
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
Y	CN 112370462 A (上海凯屹医药科技有限公司) 2021年2月19日 (2021 - 02 - 19) 权利要求1、7-9, 说明书第161段	12-15
A	CN 112370462 A (上海凯屹医药科技有限公司) 2021年2月19日 (2021 - 02 - 19) 权利要求1、7-9, 说明书第161段	1-11
A	CN 106456657 A (上海凯屹医药科技有限公司) 2017年2月22日 (2017 - 02 - 22) 全文	1-15
A	CN 112755036 A (朱敏生) 2021年5月7日 (2021 - 05 - 07) 全文	1-15

第II栏 某些权利要求被认为是不能检索的意见(续第1页第2项)

根据条约第17条(2)(a)，对某些权利要求未做国际检索报告的理由如下：

1. 权利要求： 14-15
因为它们涉及不要求本单位进行检索的主题，即：
[1] 权利要求14-15涉及对人体或动物体实施的治疗方法（PCT细则39.1(iv)）。尽管如此，仍基于所述化合物晶型或制备得到的产物或所述晶型、产物的药物组合物在制备相应药物中的用途的技术主题进行了检索。
2. 权利要求：
因为它们涉及国际申请中不符合规定的要求的部分，以致不能进行任何有意义的国际检索，具体地说：
3. 权利要求：
因为它们是从属权利要求，并且没有按照细则6.4(a)第2句和第3句的要求撰写。

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2022/109901

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	101775061	A	2010年7月14日	无			
CN	104402965	A	2015年3月11日	无			
CN	112370462	A	2021年2月19日	无			
CN	106456657	A	2017年2月22日	JP	2017526613	A	2017年9月14日
				EP	3131556	A1	2017年2月22日
				WO	2015158216	A1	2015年10月22日
				US	2018311265	A1	2018年11月1日
				US	2017173057	A1	2017年6月22日
CN	112755036	A	2021年5月7日	无			