



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 112384282 B

(45) 授权公告日 2024.07.02

(21) 申请号 201980045496.5

(22) 申请日 2019.07.03

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 112384282 A

(43) 申请公布日 2021.02.19

(30) 优先权数据
62/694698 2018.07.06 US
62/776642 2018.12.07 US
62/855071 2019.05.31 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2021.01.06

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/IB2019/055683 2019.07.03

(87) PCT国际申请的公布数据
WO2020/008391 EN 2020.01.09

(73) 专利权人 辉瑞公司
地址 美国纽约州

(72) 发明人 K·K·阿罗拉 J·C·德富里斯特
A·K·希尔斯 B·P·琼斯
K·N·琼斯 C·A·路易斯
A·M·雷恩

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司
72001

专利代理人 张宇腾 李唐

(51) Int.Cl.

A61K 31/519 (2006.01)

A61P 1/00 (2006.01)

A61P 17/00 (2006.01)

A61P 17/06 (2006.01)

A61P 37/00 (2006.01)

C07D 249/08 (2006.01)

C07D 487/04 (2006.01)

A61K 31/4196 (2006.01)

(56) 对比文件

US 2014/0243312 A1, 2014.08.28

WO 2016/024185 A1, 2016.02.18

MICHAEL L. VAZQUEZ, ET

AL. Identification of N-{cis-3-[Methyl(7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)amino]cyclobutyl}propane-1-sulfonamide (P F-04965842): A Selective JAK1 Clinical Candidate for the Treatment of Autoimmune Diseases.《JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY》.2018,第61卷(第61期),表3,化合物25,合成图1,第1145页化合物25,第1147页化合物48b.

审查员 包宁疆

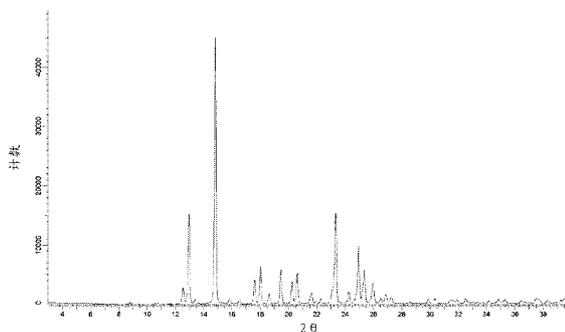
权利要求书2页 说明书21页 附图11页

(54) 发明名称

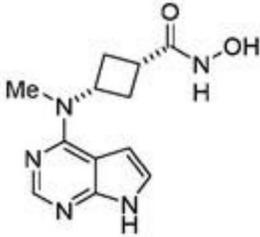
吡咯并[2,3-d]嘧啶化合物的制造方法与中间体及其用途

(57) 摘要

本发明涉及用于制备N-((1S,3S)-3-(甲基(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)氨基)环丁基)丙烷-1-磺酰胺的结晶或非结晶形式的制造方法和中间体。本发明还涉及盐形式和包含该结晶形式的药物组合物,并涉及使用由结晶形式制备的化合物治疗各种疾病的方法。

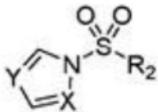


1. 具有以下结构的化合物 (1s,3s) -N-羟基-3- (甲基 (7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基) 氨基) 环丁烷-1-甲酰胺:



或其盐。

2. 具有以下结构的化合物:



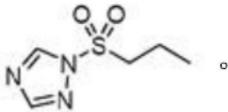
其中 R_2 为直链丙基;并且,

X选自 CR_3 和N,其中 R_3 选自:氢和(C_1-C_6)烷基;且Y为N。

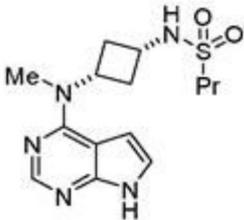
3. 权利要求2的化合物,其中X和Y均为N。

4. 权利要求2的化合物,其中X为 CR_3 ,其中 R_3 为氢;且Y为N。

5. 具有以下结构的化合物1-(丙基磺酰基)-1H-1,2,4-三唑:



6. 制备具有以下结构的化合物的方法:

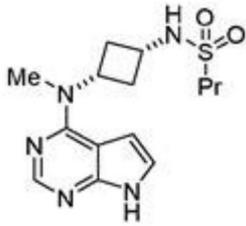


其包括由选自盐酸盐、磷酸盐、琥珀酸盐、柠檬酸盐、对甲苯磺酸盐、甲磺酸盐、半硫酸盐、半富马酸盐和丙二酸盐的酸式盐制备该化合物。

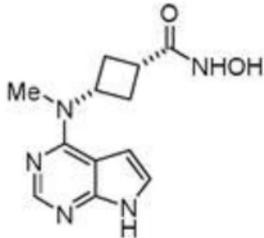
7. 权利要求6的方法,其包括由所述化合物的盐酸盐在合适的碱性条件下制备该化合物。

8. 权利要求6的方法,其中所述化合物的粉末X射线衍射图就 2θ 而言在 13.0° 、 14.8° 和 $23.3^\circ 2\theta \pm 0.2^\circ 2\theta$ 处包含峰。

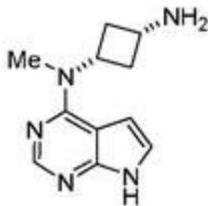
9. 制备具有以下结构的化合物的方法:



其包括 (a) 制备具有以下结构的羟胺化合物:

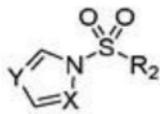


(b) 使所述羟胺化合物在合适的条件下反应以制备具有以下结构的氨基化合物:



并随后 (c) 用合适的正丙基磺化试剂在合适的条件下处理所述氨基化合物以形成所述化合物。

10. 权利要求9的方法, 其中正丙基磺化试剂是具有以下结构的化合物:

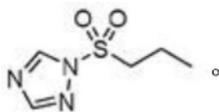


其中 R_2 是正丙基; 且,

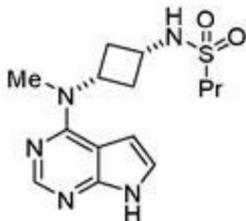
X和Y独立地选自 CR_3 和N, 其中 R_3 选自: 氢和 (C_1-C_6) 烷基。

11. 权利要求9的方法, 其中X和Y均为N。

12. 权利要求9的方法, 其中所述正丙基磺化试剂是具有以下结构的化合物1- (丙基磺酰基) -1H-1,2,4-三唑:



13. 权利要求9的方法, 其中具有以下结构的化合物:



是N-((1S,3S)-3-(甲基(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)氨基)环丁基)丙烷-1-磺酰胺的结晶形式, 其粉末X射线衍射图就 2θ 而言在 13.0° 、 14.8° 和 $23.3^\circ 2\theta \pm 0.2^\circ 2\theta$ 处包含峰。

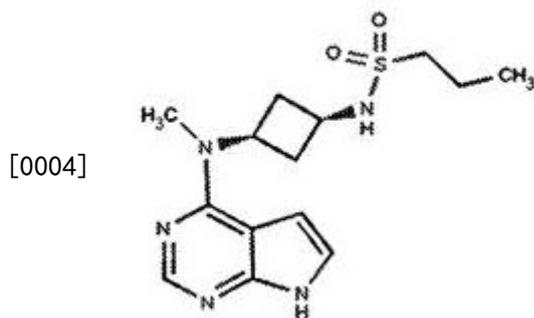
吡咯并[2,3-d]嘧啶化合物的制造方法与中间体及其用途

发明领域

[0001] 本发明涉及用于制备N-((1S,3S)-3-(甲基(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)氨基)环丁基)丙烷-1-磺酰胺的结晶或非结晶形式的制造方法与中间体。本发明还涉及包含该结晶形式的药物组合物,并涉及该结晶形式用于治疗各种疾病的方法。

[0002] 发明背景

[0003] N-((1S,3S)-3-(甲基(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)氨基)环丁基)丙烷-1-磺酰胺具有化学式 $C_{14}H_{21}N_5O_2S$ 和以下结构式:



[0005] N-((1S,3S)-3-(甲基(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)氨基)环丁基)丙烷-1-磺酰胺的制备合成描述在共同受让的US 9,035,074中,其内容经此引用全文并入本文。N-((1S,3S)-3-(甲基(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)氨基)环丁基)丙烷-1-磺酰胺游离碱的结晶形式可以用作蛋白激酶如Janus激酶(JAK)的抑制剂,并由此在治疗上可用作器官移植、异种移植、狼疮、多发性硬化、类风湿性关节炎、银屑病、I型糖尿病和来自糖尿病、癌症、哮喘、特应性皮炎、自身免疫性甲状腺疾病、溃疡性结肠炎、克罗恩氏病、阿尔茨海默氏症、白血病的并发症以及需要免疫抑制的其它适应症的免疫抑制剂。本发明涉及用于制备N-((1S,3S)-3-(甲基(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)氨基)环丁基)丙烷-1-磺酰胺的结晶或非结晶形式的制造方法与中间体,由此该结晶形式为用于制造药物剂型,特别是对口服和局部剂型提供了一些改进的性质。

[0006] 发明概述

[0007] 本发明涉及制备N-((1S,3S)-3-(甲基(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)氨基)环丁基)丙烷-1-磺酰胺游离碱的结晶或非结晶形式的方法。本发明还涉及含有结晶的3-((3R,4R)-4-甲基-3-[甲基-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-氨基]-哌啶-1-基)-3-氧代丙腈游离碱的组合物,包括药物组合物。本发明还提供了治疗哺乳动物疾病的方法,包括向需要其的哺乳动物施用治疗有效量的结晶的N-((1S,3S)-3-(甲基(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)氨基)环丁基)丙烷-1-磺酰胺或其可药用盐或药物组合物,所述疾病选自类风湿性关节炎、狼疮、银屑病、特应性皮炎、白癜风和炎性肠病。

[0008] 附图概述

[0009] 图1描绘了N-((1S,3S)-3-(甲基(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)氨基)环丁基)丙烷-1-磺酰胺的结晶形式的粉末X射线衍射图。

[0010] 图2描绘了N-((1S,3S)-3-(甲基(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)氨基)环丁基)丙

烷-1-磺酰胺的结晶形式的拉曼光谱。

[0011] 图3描绘了N-((1S,3S)-3-(甲基(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)氨基)环丁基)丙烷-1-磺酰胺的结晶形式的FT-IR光谱。

[0012] 图4描绘了N-((1S,3S)-3-(甲基(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)氨基)环丁基)丙烷-1-磺酰胺的结晶形式的固态¹³C核磁共振谱。用星号表示旋转边带。

[0013] 图5描绘了N-((1S,3S)-3-(甲基(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)氨基)环丁基)丙烷-1-磺酰胺的结晶形式(形式A,单HCl无水)的粉末X射线衍射图。

[0014] 图6描绘了N-((1S,3S)-3-(甲基(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)氨基)环丁基)丙烷-1-磺酰胺的结晶形式(形式B,单HCl一水合物)的粉末X射线衍射图。

[0015] 图7描绘了N-((1S,3S)-3-(甲基(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)氨基)环丁基)丙烷-1-磺酰胺的结晶形式(形式C,单HCl无水)的粉末X射线衍射图。

[0016] 图8描绘了N-((1S,3S)-3-(甲基(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)氨基)环丁基)丙烷-1-磺酰胺的结晶形式(形式E,单HCl二水合物)的粉末X射线衍射图。

[0017] 图9描绘了N-((1S,3S)-3-(甲基(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)氨基)环丁基)丙烷-1-磺酰胺的结晶形式(形式G,单HCl无水)的粉末X射线衍射图。

[0018] 图10描绘了N-((1S,3S)-3-(甲基(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)氨基)环丁基)丙烷-1-磺酰胺半硫酸盐的结晶形式的粉末X射线衍射图。

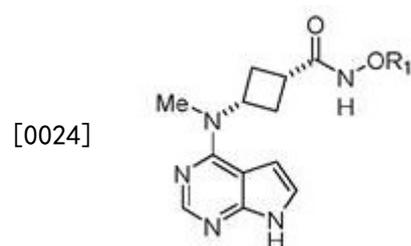
[0019] 图11描绘了N-((1S,3S)-3-(甲基(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)氨基)环丁基)丙烷-1-磺酰胺甲磺酸盐的结晶形式的粉末X射线衍射图。

[0020] 图12描绘了N-((1S,3S)-3-(甲基(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)氨基)环丁基)丙烷-1-磺酰胺对甲苯磺酸盐的结晶形式的粉末X射线衍射图。

[0021] 图13描绘了N-((1S,3S)-3-(甲基(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)氨基)环丁基)丙烷-1-磺酰胺半富马酸共晶体的结晶形式的粉末X射线衍射图。

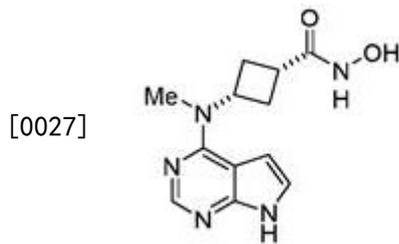
[0022] 发明详述

[0023] 本发明提供了可用于制造具有以下结构的N-((1S,3S)-3-(甲基(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)氨基)环丁基)丙烷-1-磺酰胺的化合物:



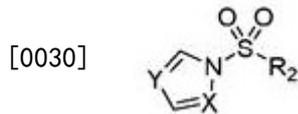
[0025] 其中R₁选自:氢、取代或未取代的苯基、取代或未取代的吡啶基、取代或未取代的咪唑基、(C₁-C₆)烷基、(C₃-C₁₀)环烷基,其可以任选被1、2或3个独立地选自卤素、(C₁-C₃)烷基和(C₁-C₃)烷氧基的基团取代,或其选自钠、钾、锂、镁和钙的盐。在一个特定方面,本发明提供了其中R₁为氢的所述化合物,或其盐。

[0026] 本发明还提供了具有以下结构的化合物(1s,3s)-N-羟基-3-(甲基(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)氨基)环丁烷-1-甲酰胺:

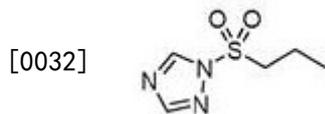


[0028] 或其盐。

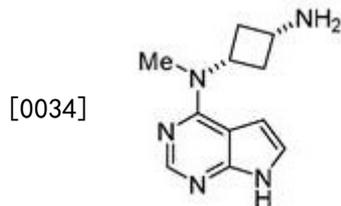
[0029] 本发明进一步提供了具有以下结构的化合物：



[0031] 其中 R_2 选自 (C_3-C_5) 烷基和 (C_3-C_4) 环烷基；并且X和Y独立地选自 CR_3 和N，其中 R_3 选自：氢和 (C_1-C_6) 烷基。在一些方面，本发明提供了其中X和Y均为N且 R_2 为 (C_3-C_5) 烷基的化合物。在一些其它方面，本发明提供了其中 R_2 为直链或支链丙基的化合物。在再一些其它方面，本发明提供了其中 R_2 为直链丙基的化合物。在一些其它方面，本发明提供了所述化合物，其中X为 CR_3 ，其中 R_3 为氢；且Y为N，并且进一步地，其中 R_2 为直链或支链丙基。在一个特定方面，本发明提供了其中 R_2 为直链丙基的化合物。因此，本发明提供了具有以下结构的化合物1-(丙基磺酰基)-1H-1,2,4-三唑：

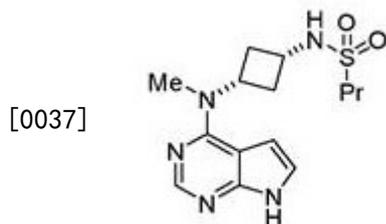


[0033] 本发明进一步提供了具有以下结构的化合物的盐：



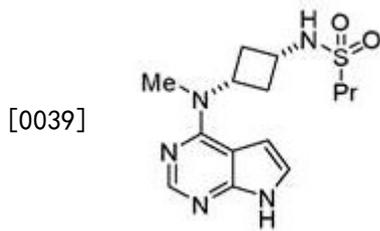
[0035] 所述盐选自盐酸盐、磷酸(单、二、三)盐、(1S)-(+)-10-樟脑磺酸盐、1,2-乙二磺酸盐、二苯甲酰-L-酒石酸盐、二苯甲酰-D-酒石酸盐、柠檬酸盐、琥珀酸盐、富马酸盐、马来酸盐、草酸盐、对甲苯磺酸盐、L-(+)-酒石酸盐、D-(-)-酒石酸盐、氢溴酸盐、酸盐、甲磺酸盐和丙二酸盐。在一个特定方面，本发明提供了该化合物的磷酸盐。

[0036] 本发明还提供了具有以下结构的化合物的酸式盐：



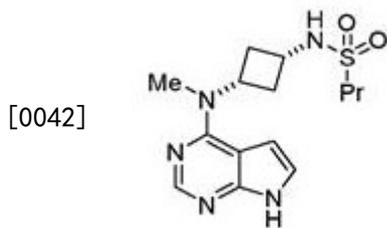
[0038] 其中所述酸式盐选自盐酸盐、磷酸盐、琥珀酸盐、柠檬酸盐、对甲苯磺酸盐、甲磺酸

盐、半硫酸盐、半富马酸盐和丙二酸盐。在一个特定方面,本发明提供了具有以下结构的化合物的酸式盐:



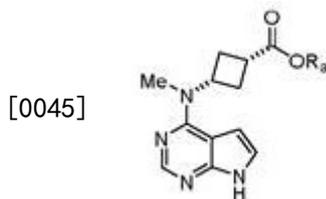
[0040] 其中该酸式盐是盐酸盐。

[0041] 本发明进一步提供了具有以下结构的化合物:



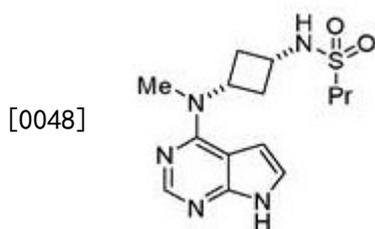
[0043] 其由选自盐酸盐、磷酸盐、琥珀酸盐、对甲苯磺酸盐、甲磺酸盐、半硫酸盐、柠檬酸盐、半富马酸盐和丙二酸盐的酸式盐制备。在一个特定方面,本发明提供了由所述化合物的盐酸盐在合适的碱性条件下制备的化合物。更特别地,本发明提供了所述化合物,其粉末X射线衍射图就 2θ 而言在 13.0° 、 14.8° 和 23.3° $2\theta \pm 0.2^\circ$ 2θ 处包含峰。

[0044] 本发明还提供了具有以下结构的化合物:



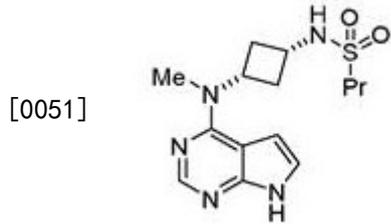
[0046] 其中 R_a 选自氢、 (C_1-C_6) 烷基、 (C_3-C_{10}) 环烷基和取代或未取代的苯基,其中所述烷基和环烷基可以任选被1、2或3个独立地选自卤素、 (C_1-C_3) 烷基和 (C_1-C_3) 烷氧基的基团取代,或其盐。在一个特定方面,本发明提供了上述化合物,其中 R_a 为氢。在另一特定方面,本发明提供了上述化合物,其中 R_a 为甲基或异丙基。

[0047] 此外,本发明提供了制备具有以下结构的化合物的方法:

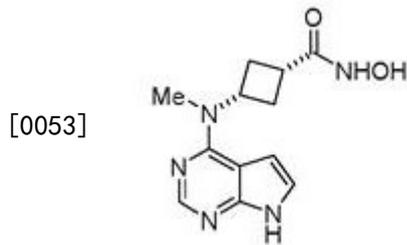


[0049] 其包括(a)在合适的条件下制备所述化合物的盐酸盐,并随后(b)使所述盐与合适的碱在合适的条件下反应以形成该化合物,其中所述合适的碱选自碳酸钠、碳酸钾、碳酸氢钠、碳酸氢钾、氢氧化钠、氢氧化钾或三乙胺。在一些方面,本发明提供了所述方法,其中所述合适的碱是碳酸氢钠或碳酸氢钾。

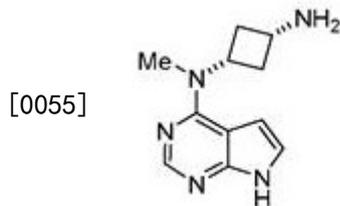
[0050] 本发明还提供了制备具有以下结构的化合物的方法：



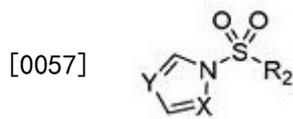
[0052] 其包括 (a) 制备具有以下结构的羟胺化合物：



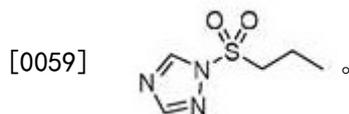
[0054] (b) 使所述羟胺化合物在合适的条件下反应以制备具有以下结构的氨基化合物：



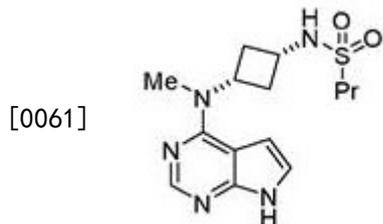
[0056] 并随后 (c) 用合适的正丙基磺化试剂在合适的条件下处理所述氨基化合物以形成该化合物。在一些方面,本发明提供了所述方法,其中正丙基磺化试剂是具有以下结构的化合物：



[0058] 其中R₂是正丙基;且X和Y独立地选自CR₃和N,其中R₃选自:氢和(C₁-C₆)烷基。在特定方面,本发明提供了所述方法,其中X和Y均为N。在其它方面,本发明进一步提供了所述方法,其中正丙基磺化试剂是具有以下结构的化合物1-(丙基磺酰基)-1H-1,2,4-三唑:



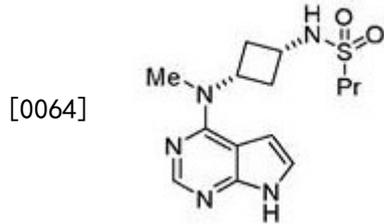
[0060] 在另一方面,本发明提供了所述方法,其中具有以下结构的化合物:



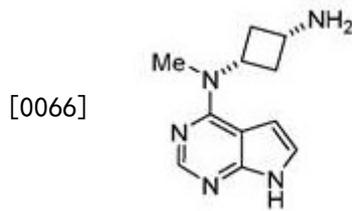
[0062] 是N-((1S,3S)-3-(甲基(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)氨基)环丁基)丙烷-1-磺

酰胺的结晶形式,其粉末X射线衍射图就 2θ 而言在 13.0° 、 14.8° 和 23.3° $2\theta \pm 0.2^\circ$ 2θ 处包含峰。

[0063] 本发明还提供了制备具有以下结构的化合物的方法:



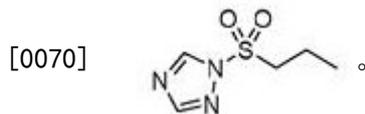
[0065] 其包括(a)制备具有以下结构的氨基化合物:



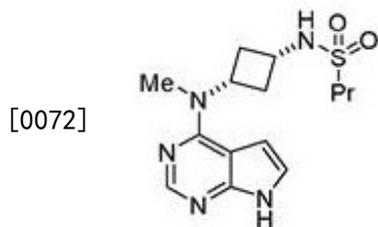
[0067] 并随后(b)用合适的正丙基磺化试剂在合适的条件下处理所述氨基化合物以形成该化合物。在一些方面,本发明提供了所述方法,其中该正丙基磺化试剂是具有以下结构的化合物:



[0069] 其中 R_2 是正丙基;并且,X和Y独立地选自 CR_3 和N,其中 R_3 选自氢和 (C_1-C_6) 烷基。在一些方面,本发明提供了所述方法,其中X和Y均为N。在另一些方面,本发明提供了所述方法,其中正丙基磺化试剂是具有以下结构的化合物1-(丙基磺酰基)-1H-1,2,4-三唑:

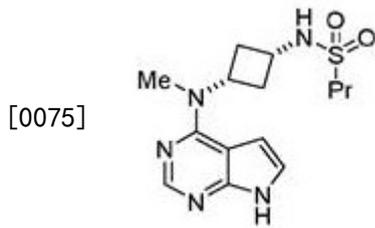


[0071] 本发明进一步提供了所述方法,其中具有以下结构的化合物:



[0073] 是N-((1S,3S)-3-(甲基(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)氨基)环丁基)丙烷-1-磺酰胺的结晶形式,其粉末X射线衍射图就 2θ 而言在 13.0° 、 14.8° 和 23.3° $2\theta \pm 0.2^\circ$ 2θ 处包含峰。

[0074] 此外,本发明提供了具有以下结构的化合物的药物组合物:



[0076] 其中所述组合物由具有结晶形式的所述化合物制备,所述化合物的粉末X射线衍射图就 2θ 而言在 13.0° 、 14.8° 和 23.3° $2\theta \pm 0.2^\circ$ 2θ 处包含峰;并进一步包含可药用载体。在一些方面,本发明提供了药物组合物,包括选自霜剂、透皮贴剂、软膏、滴眼剂、洗剂和凝胶的局部制剂。特别地,本发明提供了所述药物组合物,其中该局部制剂含有大约0.1%至大约5.0% (w/v) 的N-((1S,3S)-3-(甲基(7H-吡咯并[2,3-d]咪唑-4-基)氨基)环丁基)丙烷-1-磺酰胺。

[0077] 本发明进一步提供了治疗哺乳动物的疾病的方法,包括向需要其的哺乳动物施用治疗有效量的上文公开的药物组合物,其中疾病选自狼疮、类风湿性关节炎、IBD、溃疡性结肠炎、克罗恩氏病、白癜风、脱发、银屑病和特应性皮炎。

[0078] 本发明还提供了局部治疗哺乳动物疾病的方法,包括通过局部施用方式向需要其的哺乳动物施用治疗有效量的上文公开的药物组合物,其中疾病选自白癜风、脱发、银屑病和特应性皮炎。

[0079] 本发明进一步提供了用作药物的上文公开的药物组合物。

[0080] 本发明还提供了上文公开的药物组合物,其用于治疗选自狼疮、类风湿性关节炎、IBD、溃疡性结肠炎、克罗恩氏病、白癜风、脱发、银屑病和特应性皮炎的病症。

[0081] 本发明还提供了上文公开的药物组合物用于制备药物的用途,所述药物用于治疗选自狼疮、类风湿性关节炎、IBD、溃疡性结肠炎、克罗恩氏病、白癜风、脱发、银屑病和特应性皮炎的病症。

[0082] 仪器和分析方法

[0083] 计算的粉末图样:粉末图样由单晶X射线数据使用SHELXTL程序包来计算,所述程序包包括XFOG(SHELXTL, Bruker AXS, XFOG, 版本5.100, 1997)和XPOW(SHELXTL, Bruker AXS, XPOW, 版本5.102, 1997-2000)。使用XCH文件交换程序(SHELXTL, Bruker AXS, XCH, 版本5.0.4, 1995-2001)增加覆盖图形所需的适当波长。

[0084] 粉末X射线衍射:

[0085] 使用装有Cu辐射源并装有利用gobel镜的双主镜的Bruker AXS D8 Advance衍射仪进行粉末X射线衍射分析。通过具有电动狭缝的LYNXEYE_EX检测器检测衍射的辐射。主镜和副镜均装有2.5索勒狭缝。X射线管电压和安培数分别设定在40kV和40 mA。在Theta-Theta测角仪中使用0.50秒/步的扫描速度在 3.0 至 40.0° 2θ 的Cu K- α 波长的锁定耦合扫描中以1204步收集数据。通过放置在硅低背景样品架中并在收集过程中旋转来准备样品。使用Bruker DIFFRAC Plus软件收集数据。通过EVA diffract plus软件进行分析。在峰搜索之前未处理PXRD数据文件。使用EVA软件中的峰搜索算法,将选择具有1的阈值的峰用于初步峰分配。为了确保有效性,手工进行调整:目视检查自动分配的输出,并将峰位置调整为峰最大值。通常选择具有 $\geq 2\%$ 的相对强度的峰。没有选择未解析的或与噪声一致的峰。典型误差与来自最高达 $\pm 0.2^\circ$ 2θ 的USP中所述PXRD的峰位置相关(USP-941)。

[0086] PXRD反射分配: Eva Application 9.0软件用于可视化和评估PXRD光谱。在给定反射的最大强度处分配峰值。所有表现出大于10%的相对强度的反射均包括在下表中。

[0087] 本发明提供了由N-((1S,3S)-3-(甲基(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)氨基)-环丁基)丙烷-1-磺酰胺的结晶形式制备的药物组合物,所述结晶形式可以通过一种或多种固态分析方法来鉴定。

[0088] 该结晶形式在23°C下的PXRD峰列表显示在表1中。

[0089] 表1:形式1的PXRD峰列表。峰位置代表N-((1S,3S)-3-(甲基(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)氨基)-环丁基)丙烷-1-磺酰胺,形式1,无水游离碱的特征峰。

[0090]

角度 (2θ)	相对强度 (%)	角度 (2θ)	相对强度 (%)
12.6	6	24.3	4
13.0*	34	25.0	21
13.4	2	25.4	13
14.8*	100	26.0	7
15.9	2	26.5	2
16.6	2	26.9	3
17.6*	9	27.3	3
18.0*	14	29.9	2
18.6	4	30.3	2
19.5*	13	31.9	2
20.3	8	32.5	2
20.6*	11	34.9	2
21.6	4	35.3	2
22.3	2	37.5	2
23.1	6	37.7	2
23.3*	34	39.5	2

[0091] b) 定义为峰高度。强度可以根据CPMAS实验参数的实际设置和样品的受热历程而改变。CPMAS强度不一定是定量的。*峰肩。

[0092] 因此,本发明提供了由结晶形式制备的药物组合物,以及制备此类形式的方法,以及用于医学和用于治疗诸如狼疮、类风湿性关节炎、IBD、溃疡性结肠炎、克罗恩氏病、白癜风、脱发、银屑病和特应性皮炎的疾病的药物组合物。本发明还提供了此类药物组合物在制备药物中的用途,所述药物用于治疗诸如狼疮、类风湿性关节炎、IBD、溃疡性结肠炎、克罗恩氏病、白癜风、脱发、银屑病和特应性皮炎的疾病。

[0093] 治疗本文中列举的疾病和综合征的方法理解为包括向需要此类治疗的个体施用治疗有效量的根据本发明的方法制备的多晶型物的药物组合物。本文中所用的关于疾病的术语“治疗”理解为是指预防、抑制和/或减轻该疾病。

[0094] 如本文中所用,可互换使用的术语“个体”或“患者”是指任何动物,包括哺乳动物,优选小鼠、大鼠、其它啮齿动物、兔子、狗、猫、猪、牛、绵羊、山羊、马或灵长类动物,且最优选人类。本文中所用的短语“治疗有效量”是指引起研究人员、兽医、医师或其它临床医生所寻求的在组织、系统、动物、个体或人类中的生物学或医学反应的活性化合物或药剂的量,所

述生物学或医学反应包括以下的一种或多种：

[0095] (1) 预防疾病；例如，在可能易患疾病、病症或失调但尚未经历或显示该疾病的病理或症状的个体中预防疾病、病症或失调；

[0096] (2) 抑制疾病；例如，在经历或显示疾病、病症或失调的病理或症状的个体中抑制疾病、病症或失调（即阻止或减缓病理和/或症状的进一步发展）；和

[0097] (3) 减轻疾病；例如，在经历或显示疾病、病症或失调的病理或症状的个体中减轻疾病、病症或失调（即逆转该病理和/或症状）。

[0098] 剂量与制剂

[0099] 本发明还包括本文中所述的药物组合物，其包括一种或多种可药用载体、赋形剂、媒介物等等。本发明的药物组合物以有效治疗本文中所述病症的量施用，并可以由结晶化合物本身制备，或替代性地作为其可药用盐来制备。

[0100] 本发明的药物组合物通过任何合适的途径以适于此类途径的组合物的形式并以对预期治疗有效的剂量施用。本发明的化合物可以经口、经直肠、经阴道、肠胃外或局部施用。

[0101] 本发明的药物组合物可以口服施用。口服施用可以包括吞咽，以使化合物进入胃肠道，或可以采用含服或舌下施用，该化合物由此直接从口腔进入血流。

[0102] 在另一实施方案中，本发明的药物组合物还可以直接施用至血流、肌肉或内部器官中。适于肠胃外施用的方式包括静脉内、动脉内、腹膜内、鞘内、心室内、尿道内、胸骨内、颅内、肌内和皮下。适于肠胃外施用的装置包括针头（包括微针）注射器、无针头注射器和输注技术。

[0103] 在另一实施方案中，本发明的药物组合物还可以局部施用于皮肤或粘膜，即经皮或透皮。在另一实施方案中，本发明的药物组合物还可以鼻内施用或通过吸入施用。在另一实施方案中，本发明的化合物可以经直肠或阴道施用。在另一实施方案中，本发明的药物组合物还可以直接施用于眼睛或耳朵。

[0104] 本发明的药物组合物的给药方案基于多种因素，包括患者的类型、年龄、体重、性别和医学状况；病情严重程度；施用途径；以及所用特定化合物的活性。由此，给药方案可以广泛变化。在一个实施方案中，化合物的每日总剂量通常为大约0.01至大约100 mg/kg（即每千克体重本发明的化合物的毫克数）以便治疗本文中所述的指定病症。在另一实施方案中，该化合物的每日总剂量为大约0.1至大约50 mg/kg，且在另一实施方案中为大约0.5至大约30 mg/kg。

[0105] 对于口服施用，该组合物可以以片剂形式提供，该片剂含有0.01、0.05、0.1、0.5、1.0、2.5、5.0、10.0、15.0、25.0、50.0、75.0、100、125、150、175、200、250和500毫克的活性成分，以便根据症状调节对患者的剂量。药物通常含有大约0.01 mg至大约500 mg的活性成分，或在另一实施方案中含有大约1 mg至大约100 mg的活性成分。在恒定速率输注过程中，静脉内剂量可以为大约0.01至大约10毫克/千克/分钟。

[0106] 根据本发明合适的对象包括哺乳动物对象。根据本发明的哺乳动物包括犬科动物、猫科动物、牛族动物、山羊、马科动物、绵羊、猪、啮齿动物、兔形目动物、灵长类动物等等，并包括子宫中的哺乳动物。在一个实施方案中，人是合适的对象。人类对象可以具有任一性别，且处于任何发育阶段。

[0107] 在另一实施方案中,本发明包括含有化合物以及可药用载体的药物组合物。还可以存在其它药理活性物质。本文中所用的“可药用载体”包括生理相容的任何和所有溶剂、分散介质、包衣、抗细菌和抗真菌剂、等渗剂和吸收延迟剂等等。可药用载体的实例包括水、盐水、磷酸盐缓冲盐水、右旋糖、甘油、乙醇等等的一种或多种,以及其组合,并且在该组合物中可以包括等渗剂,例如糖、氯化钠或多元醇,如甘露醇或山梨糖醇。可药用物质(如润湿剂)或少量辅助物质(如润湿剂或乳化剂、防腐剂或缓冲剂)延长抗体或抗体部分的保质期或有效性。

[0108] 本发明的组合物可以具有多种形式。这些包括例如液体、半固体和固体剂型,如液体溶液(例如可注射和可输注的溶液)、分散体或混悬剂、片剂、丸剂、粉剂、脂质体和栓剂。形式取决于预期的施用方式和治疗应用。

[0109] 典型组合物为可注射或可输注溶液形式,如类似于通常用于人类被抗体被动免疫的那些的组合物。一种施用方式是肠胃外(例如静脉内、皮下、腹膜内或肌内)。在另一实施方案中,抗体通过静脉内输注或注射来施用。在再一实施方案中,通过肌内或皮下注射施用抗体。

[0110] 固体剂型的口服施用可以例如以离散单位存在,如硬或软胶囊、丸剂、扁囊剂、锭剂或片剂,各自含有预定量的至少一种本文中所述的化合物。在另一实施方案中,口服施用可以为粉末或颗粒形式。在另一实施方案中,该口服剂型是舌下的,如锭剂。在此类固体剂型中,结晶化合物通常与一种或多种佐剂组合。此类胶囊或片剂可以含有控释制剂。在胶囊、片剂和丸剂的情况下,该剂型还可以包含缓冲剂或可以用肠溶包衣制备。

[0111] 在另一实施方案中,口服施用可以为液体剂型。用于口服施用的液体剂型包括例如可药用的乳剂、溶液剂、混悬剂、糖浆剂和酏剂,其含有本领域中常用的惰性稀释剂(例如水)。此类组合物还可以包含佐剂,如润湿剂、乳化剂、悬浮剂、调味剂(例如甜味剂)和/或加香剂。

[0112] 在另一实施方案中,本发明包括肠胃外剂型。“肠胃外施用”包括例如皮下注射、静脉内注射、腹膜内、肌肉内注射、胸骨内注射和输注。可以根据已知技术使用合适的分散剂、湿润剂和/或悬浮剂来配制可注射制剂(即无菌可注射水性或油状混悬剂)。

[0113] 在另一实施方案中,本发明包括局部剂型。“局部施用”包括例如透皮施用,如经由透皮贴剂或离子电渗疗法设备、眼内施用或鼻内或吸入施用。用于局部施用的组合物还包括例如局部凝胶剂、喷雾剂、软膏剂和霜剂。局部制剂可以包括结晶化合物,其增强了活性成分通过皮肤或其它受影响区域的吸收或渗透。当本发明的结晶化合物通过透皮装置施用时,将使用储库和多孔膜类型或固体基质种类的贴剂来完成施用。用于此目的的典型制剂包括凝胶剂、水凝胶、洗剂、溶液剂、霜剂、软膏剂、撒粉、敷料、泡沫、薄膜、皮肤贴剂、膜片(wafers)、植入物、海绵、纤维、绷带和微乳剂。也可以使用脂质体。典型的载体包括乙醇、水、矿物油、液体矿脂、白矿脂、甘油、聚乙二醇和丙二醇。可以混入渗透促进剂,参见例如B. C. Finnin和T. M. Morgan, J. Pharm. Sci., 第88卷, 第955-958页, 1999。

[0114] 因此,根据本发明的方法由N-((1S,3S)-3-(甲基(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)氨基)环丁基)丙烷-1-磺酰胺的结晶或非结晶形式制备的局部制剂可以使用此类制剂来施用,所述制剂包括跨越身体表面和身体通道内衬(包括上皮和粘膜组织)的所有常规施用方法,包括透皮、表皮、含服、肺部、经眼、鼻内、阴道和直肠施用方式。典型的载体包括乙醇、

水、矿物油、液体矿脂、白矿脂、甘油、聚乙二醇和丙二醇。此类局部制剂可以结合附加的可药用赋形剂来制备。对于临床功效可能必须的赋形剂是一种或多种渗透促进剂,如为一种或多种饱和或顺式不饱和的C10-C18脂肪醇。此类脂肪醇包括C16-C18脂肪醇,且最优选为C18脂肪醇。顺式不饱和C16-C18脂肪醇的实例包括油醇、亚油醇、 γ -亚麻醇和亚麻醇。可用作渗透促进剂的饱和C10-C18脂肪醇包括癸醇、月桂醇、肉豆蔻醇、鲸蜡醇和硬脂醇。或者,可用于制备局部制剂的其它渗透促进剂包括C10-C18脂肪酸,其在饱和时可以包括癸酸、月桂酸、肉豆蔻酸、棕榈酸、硬脂酸和花生酸。或者,该渗透促进剂可以有用地是顺式不饱和脂肪酸,如棕榈油酸(顺式-9-十六碳烯酸)、油酸(顺式-9-十八碳烯酸)、顺式-异油酸(顺式-11-十八碳烯酸)、亚油酸(顺式-9,12-十八碳二烯酸)、 γ -亚麻酸(顺式-6,9,12-十八碳三烯酸)、亚麻酸(顺式-9,12,15-十八碳三烯酸)和花生四烯酸(顺式-5,8,11,14-二十碳四烯酸)。该渗透促进剂,例如选自C10-C18脂肪醇的一种,以大约0.1至大约5%(w/v)、更优选1至大约4%、再更优选1至大约3%(w/v)的量使用。

[0115] 局部制剂含有治疗有效量的N-((1S,3S)-3-(甲基(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)氨基)环丁基)丙烷-1-磺酰胺,其可以以每日或每日两次的剂量给予有需要的患者。这些量为大约0.1%至大约5.0%(w/v)、更优选大约0.1%至大约3.0%(w/v)。可以增强这些制剂的稳定性的其它赋形剂尤其包括醛清除剂(如甘油和丙二醇)和抗氧化剂,如丁基羟基茴香醚(BHA)、丁基羟基甲苯(BHT)、没食子酸丙酯、抗坏血酸(维生素C)、多酚、生育酚(维生素E)及其衍生物。

[0116] 适于局部施用于眼睛的制剂包括例如滴眼液,其中本发明的化合物溶解或悬浮在合适的载体中。适于经眼或经耳施用的典型制剂可以是在等渗的、pH调节的无菌盐水中的微粉化悬浮液或溶液的滴剂形式。适于经眼或经耳施用的其它制剂包括软膏、生物可降解的(即可吸收的凝胶海绵、胶原蛋白)和生物不可降解的(即硅酮)植入物、膜片、透镜和微粒状或囊泡体系,如泡囊或脂质体。聚合物如交联的聚丙烯酸、聚乙烯醇、透明质酸、纤维素聚合物(例如羟丙基甲基纤维素、羟乙基纤维素或甲基纤维素)或杂多糖聚合物(例如结冷胶)可以与防腐剂(如苯扎氯铵)一起混入。此类制剂也可以通过离子电渗疗法递送。

[0117] 对于鼻内施用或通过吸入施用,本发明的结晶化合物以溶液或悬浮液的形式从由患者挤压或泵送的泵喷雾容器方便地递送,或在使用合适的抛射剂的情况下来自加压容器或雾化器的气雾喷雾剂形式方便地递送。适于鼻内施用的制剂通常以干粉形式(单独使用,或作为混合物,例如与乳糖的干混剂,或作为混合组分颗粒,例如与磷脂如磷脂酰胆碱混合)由干粉吸入器来施用,或作为来自加压容器、泵、喷雾、喷雾器(优选使用电动流体力学以产生微细雾的喷雾器)或雾化器的气雾喷雾剂(其使用或不使用合适的抛射剂,如1,1,1,2-四氟乙烷或1,1,1,2,3,3,3-七氟丙烷)来施用。对于鼻内使用,该粉末可以包含生物粘附剂,如壳聚糖或环糊精。

[0118] 在另一实施方案中,本发明包括根据本发明的方法由N-((1S,3S)-3-(甲基(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)氨基)环丁基)丙烷-1-磺酰胺的结晶或非结晶形式制备的直肠剂型。此类直肠剂型可以为例如栓剂的形式。可可脂是传统的栓剂基料,但可以酌情使用各种替代品。

[0119] 也可以使用制药领域已知的其它载体材料和施用方式。本发明的药物组合物可以通过任何公知的药学技术来制备,如有效的配制和施用程序。关于有效配制和施用程序的

上述考虑在本领域是众所周知的,并描述在标准教科书中。例如在Hoover, John E., Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pennsylvania, 1975;Lieberman等人, Eds., Pharmaceutical Dosage Forms, Marcel Decker, New York, N.Y., 1980;和Kibbe等人, Eds., Handbook of Pharmaceutical Excipients (第3版), American Pharmaceutical Association, Washington, 1999中讨论了药物配制。

[0120] 根据本发明的方法的N-((1S,3S)-3-(甲基(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)氨基)环丁基)丙烷-1-磺酰胺的结晶或非结晶形式可以单独使用,或与其它治疗剂结合使用。本发明提供了本文中定义的任何用途、方法或组合物,其中本文中的结晶或非结晶形式或所述化合物的可药用溶剂合物与一种或多种本文中讨论的其它治疗剂结合使用。

[0121] 两种或多种化合物“结合”施用是指所有化合物在时间上足够紧密地施用,使得一种化合物的存在会改变任何其它化合物的生物学效果。两种或更多种化合物可以同时、并行或顺序施用。此外,同时施用可以通过在施用前混合该化合物或在相同的时间点以不同的剂型在相同或不同的施用部位施用该化合物来进行。

[0122] 短语“并行施用”、“共施用”、“同时施用”和“同时地施用”是指该化合物组合施用。

[0123] 在另一实施方案中,本发明提供了治疗方法,其包括结合一种或多种其它药剂施用根据本发明的方法的N-((1S,3S)-3-(甲基(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)氨基)环丁基)丙烷-1-磺酰胺的结晶或非结晶形式,其中一种或多种其它药剂可以选自本文中讨论的药剂。

[0124] 这些药剂和根据本发明的方法的N-((1S,3S)-3-(甲基(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)氨基)环丁基)丙烷-1-磺酰胺的结晶或非结晶形式可以与可药用媒介物如盐水、林格氏溶液、右旋糖溶液等等结合。特定给药方案(即剂量、时机和重复)将取决于特定个体和该个体的病史。

[0125] 可接受的载体、赋形剂或稳定剂在采用的剂量和浓度下对受体是无毒的,并可以包含缓冲剂如磷酸盐、柠檬酸盐和其它有机酸;盐,如氯化钠;抗氧化剂,包括抗坏血酸和蛋氨酸;防腐剂(如十八烷基二甲基苄基氯化铵;氯化六甲双铵;苯扎氯铵;苄索氯铵;苯酚、丁醇或苄醇;对羟基苯甲酸烷基酯,例如对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯;邻苯二酚;间苯二酚;环己醇;3-戊醇;和间甲酚);低分子量(少于大约10个残基)多肽;蛋白质,如血清白蛋白、明胶或Igs;亲水性聚合物如聚乙烯吡咯烷酮;氨基酸,如甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、组氨酸、精氨酸或赖氨酸;单糖、二糖和其它碳水化合物,包括葡萄糖、甘露糖或糊精;螯合剂,如EDTA;糖,如蔗糖、甘露醇、海藻糖或山梨糖醇;成盐的抗衡离子如钠;金属络合物(例如锌-蛋白络合物);和/或非离子表面活性剂,如TWEENTM、PLURONICSTM或聚乙二醇(PEG)。

[0126] 含有这些试剂和/或本发明的化合物的脂质体通过本领域已知的方法(如描述在美国专利号4,485,045和4,544,545中)来制备。在美国专利号5,013,556中公开了具有延长的循环时间的脂质体。特别有用的脂质体可以通过反相蒸发法用包含磷脂酰胆碱、胆固醇和PEG-衍生的磷脂酰乙醇胺(PEG-PE)的脂质组合物来产生。脂质体通过具有有限孔径的过滤器挤出,以产生具有所需直径的脂质体。

[0127] 这些试剂和/或根据本发明的方法的N-((1S,3S)-3-(甲基(7H-吡咯并[2,3-d]嘧

啉-4-基)氨基)环丁基)丙烷-1-磺酰胺的结晶或非结晶形式还可以掺入在微胶囊(所述微胶囊例如通过凝聚技术或通过界面聚合来制备,分别例如羟甲基纤维素或明胶-微胶囊和聚(甲基丙烯酸甲酯)微胶囊)中、胶体药物递送体系(例如脂质体、白蛋白微球、微乳剂、纳米粒子和纳米胶囊)中或粗滴乳液中。此类技术公开在Remington, The Science and Practice of Pharmacy, 第20版, Mack Publishing (2000)中。

[0128] 可以使用缓释制剂。缓释制剂的合适实例包括含有本发明的抗体/化合物的固体疏水性聚合物的半透性基质,该基质为成形制品形式,例如薄膜或微胶囊。缓释基质的实例包括聚酯、水凝胶(例如,聚(甲基丙烯酸2-羟乙酯)或聚(乙烯醇))、聚乳酸(美国专利号3,773,919)、L-谷氨酸和7-乙基-L-谷氨酸酯的共聚物、不可降解的乙烯-乙酸乙烯酯、可降解的乳酸-乙醇酸共聚物(如用于LUPRON DEPOT™的那些(由乳酸-乙醇酸共聚物和醋酸亮丙瑞林组成的可注射微球))、蔗糖乙酸异丁酸酯和聚-D-(-)-3-羟基丁酸。

[0129] 待用于静脉内施用的制剂必须是无菌的。这容易地通过例如经由无菌过滤膜的过滤来实现。根据本发明的方法的N-((1S,3S)-3-(甲基(7H-吡咯并[2,3-d]咪啉-4-基)氨基)环丁基)丙烷-1-磺酰胺的结晶或非结晶形式通常置入具有无菌入口的容器中,例如具有可以被皮下注射针刺穿的塞子的静脉内溶液袋或小瓶。

[0130] 合适的乳液可以使用市售脂肪乳液,如Intralipid™、Liposyn™、Infontrol™、Lipofundin™和Lipiphysan™来制备。活性成分可以溶解在预混合的乳液组合中,或者替代性地其可以溶解在油(例如大豆油、红花油、棉籽油、芝麻油、玉米油或杏仁油)中,并在与磷脂(例如卵磷脂、大豆磷脂或大豆卵磷脂)和水混合后形成乳液。要理解的是,可以添加其它成分,例如甘油或葡萄糖,以调节乳液的张度。合适的乳液通常将含有最多20%的油,例如5至20%。该脂肪乳液可以包含0.1至1.0 μm、特别是0.1至0.5 μm的脂肪液滴,并具有5.5至8.0的pH。

[0131] 用于根据这些教导的本发明的方法制备N-((1S,3S)-3-(甲基(7H-吡咯并[2,3-d]咪啉-4-基)氨基)环丁基)丙烷-1-磺酰胺的结晶或非结晶形式的试剂可以是市售的或可以通过文献中描述的标准程序来制备。例如,本发明的结晶或非结晶形式可以根据以下实施例中所示的方法来制备。

[0132] 本发明的描述利用了本领域技术人员公知的各种缩写,包括以下:

[0133] aq.:水性

[0134] CH₃CN:乙腈

[0135] DCM:二氯甲烷

[0136] DMF:N,N-二甲基甲酰胺

[0137] DMSO:二甲亚砜

[0138] EtOAc:乙酸乙酯

[0139] EtOH:乙醇

[0140] FT-IR:傅立叶变换红外

[0141] HOAc:乙酸

[0142] MeOH:甲醇

[0143] PXRD:粉末X射线衍射

[0144] ss ¹³C NMR:固态¹³C核磁共振

[0145] THF:四氢呋喃

[0146] TLC:薄层色谱法。

实施例

[0147] 仅为说明本发明提出以下非限制性实施例。技术人员将理解存在许多并未例示但仍构成本教导的一部分的等价方案和变体。

[0148] 实施例1

[0149] 制备N-((1S,3S)-3-(甲基(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)氨基)-环丁基)丙烷-1-磺酰胺形式I

[0150] 根据美国专利号9,035,074的实施例2制备标题化合物。将原料在10体积(100 mg/ml) 2:1 EtOH/水中升温至80°C(直到完全溶解)并然后通过精密过滤,并缓慢冷却直到产物结晶。在过滤后,该材料在真空中在45-55°C下干燥。

[0151] 实施例2

[0152] 替代制备N-((1S,3S)-3-(甲基(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)氨基)环丁基)丙烷-1-磺酰胺

[0153] 3-氧代环丁烷-1-甲酸异丙酯(A)

[0154] 将市售3-环丁酮甲酸(175克)溶解在2-丙醇(1050毫升)中并加入对甲苯磺酸一水合物(11.85克,4摩尔%)。将溶液加热至80°C并搅拌19小时。通过UPLCMS证实反应完全并冷却。将反应浓缩为淡黄色油,并用1000毫升MTBE稀释。溶液用300毫升饱和碳酸氢钠洗涤并分离。将水层丢弃并用附加的200毫升饱和碳酸氢钠洗涤。将各层分离,并将水层丢弃。MTBE层用200毫升盐水并随后用硫酸镁干燥。MTBE溶液随后浓缩至浅黄色油。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 4.95 (hept, J = 6.3 Hz, 1H), 3.38-3.18 (m, 5H), 1.22 (d, J = 6.3 Hz, 6H)。

[0155] (1s,3s)-3-(甲基氨基)环丁烷-1-甲酸异丙酯(游离碱)(B)

[0156] 将甲胺的水溶液(75毫升,40重量%)装入反应器,随后加入由磷酸二氢钾和磷酸氢二钾组成的磷酸盐缓冲液(700毫升,pH 7.2,100 mM)。通过缓慢加入浓盐酸将溶液的pH调节至8.8。随后加入NADP⁺(700毫克)、GDH(350毫克)和葡萄糖(150克)。将IREDO酶(50毫升裂解物)装入反应器中。3-氧代环丁烷-1-甲酸异丙酯底物(100克)用DMSO(25毫升)稀释并装入。反应升温至30°C,并通过使用pH探针和加料单元(2N 氢氧化钠)将pH保持在7.5。反应通过GC和UPLC分析来监控。当反应被认为完成时,混合物经Celite™(50克)过滤,且Celite™滤饼用水(100毫升)洗涤。将水溶液加入到分液漏斗中,并装入MTBE(500毫升)并摇振。将MTBE层分离并丢弃。水层随后用氢氧化钠(50%水溶液)碱化至pH为12。随后加入MTBE(1升)并摇振漏斗。将各相分离,并收集MTBE并静置。水层用附加的MTBE(700毫升)再一次萃取,并分离各层。将水层丢弃,并将MTBE溶液各自经附加的Celite™(36.5克)过滤。MTBE溶液随后合并并在无水硫酸钠上干燥。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 4.86 (hept, J = 6.3 Hz, 1H), 2.96 (tt, J = 8.7, 7.0 Hz, 1H), 2.67 (tt, J = 9.7, 8.1 Hz, 1H), 2.41 - 2.26 (m, 2H), 2.15 (s, 3H), 1.78 (dtd, J = 9.8, 8.8, 2.6 Hz, 2H), 1.17 (d, J = 6.2 Hz, 6H)。

[0157] (1s,3s)-3-(甲基氨基)环丁烷-1-甲酸异丙酯(琥珀酸盐)(B琥珀酸盐)

[0158] 将粗生物催化反应(1125毫升)浓缩至大约一半体积(530毫升)。在另一个反应器中装入琥珀酸(75.6克)和2MeTHF(1100毫升),并加热至60°C以溶解酸。将溶液冷却至50°C并加入大约一半的胺溶液。将所得浑浊溶液保持30分钟,并为稀浆料。随后装入其余胺溶液。该溶液冷却至20°C并随后升温至最高达50°C,获得浆料。该浆料在50°C下保持30分钟并随后冷却至20°C并搅拌整夜。将浆料过滤并用两份2-MeTHF(各100 mL)洗涤,并将该材料在烘箱中干燥。分离出95.7克(产率52%)。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 4.88 (hept, *J* = 6.2 Hz, 1H), 3.30 (tt, *J* = 8.8, 7.3 Hz, 1H), 2.82 (tt, *J* = 9.8, 8.2 Hz, 1H), 2.43 - 2.34 (m, 2H), 2.31 (d, *J* = 2.5 Hz, 7H), 2.13 - 2.00 (m, 2H), 1.18 (d, *J* = 6.3 Hz, 6H)。

[0159] (1s,3s)-3-(甲基氨基)环丁烷-1-甲酸异丙酯(B HCl盐)

[0160] 将粗胺(8克)溶解在MTBE(80毫升)中并加热至50°C。随后加入二氧杂环己烷中的盐酸(11毫升,4M)。观察到可搅拌的浆料,并将反应在50°C下保持1小时。将该浆料冷却至20°C并随后过滤,并用两份MTBE(各20毫升)洗涤。该材料随后在真空下干燥。分离出8.7克(96%产率)。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.26 (s, 2H), 4.89 (hept, *J* = 6.3 Hz, 1H), 3.52 (tt, *J* = 9.0, 7.5 Hz, 1H), 2.92 (tt, *J* = 9.8, 8.2 Hz, 1H), 2.45 - 2.35 (m, 5H), 2.34 - 2.24 (m, 2H), 1.18 (d, *J* = 6.3 Hz, 6H)。

[0161] (1s,3s)-3-(甲基(7H-吡咯并[2,3-*d*]咪啉-4-基)氨基)环丁烷-1-甲酸异丙酯(C; CSNAr)

[0162] 在反应器中将胺的琥珀酸盐(B琥珀酸盐,75.4克)和氯吡咯并咪啉(40.0克)合并。装入2-丙醇(200毫升),获得浆料。装入二异丙基乙胺(114毫升),得到稀浆料。将反应加热至80°C,得到溶液。将反应保持在80°C,直到通过UPLCMS确认反应完成(大约48小时)。将反应冷却至20°C,并成为浆料。将固体过滤并用两份2-丙醇(各80毫升)洗涤。分离出61克材料(81%)。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11.64 (s, 1H), 8.11 (s, 1H), 7.16 (dd, *J* = 3.6, 2.4 Hz, 1H), 6.62 (dd, *J* = 3.6, 1.9 Hz, 1H), 5.24 (tt, *J* = 9.4, 8.0 Hz, 1H), 4.91 (hept, *J* = 6.3 Hz, 1H), 3.25 (s, 3H), 2.87 (tt, *J* = 9.2, 8.0 Hz, 1H), 2.48 - 2.35 (m, 4H), 1.20 (d, *J* = 6.3 Hz, 6H)。

[0163] (1s,3s)-*N*-羟基-3-(甲基(7H-吡咯并[2,3-*d*]咪啉-4-基)氨基)环丁烷-1-甲酰胺(D;异羟肟酰胺)

[0164] 在氮气下向反应器中装入甲醇(500毫升)和在甲醇中的甲醇钠(93.7毫升,25质量%)。向室温反应中装入羟胺盐酸盐(15.1克),导致轻微吸热。随后添加(1s,3s)-3-(甲基(7H-吡咯并[2,3-*d*]咪啉-4-基)氨基)环丁烷-1-甲酸异丙酯(C;50克),得到白色浆料。将反应升温至40°C并搅拌整夜,并通过UPLCMS确认反应完成。随后向稠浆料中装入盐酸(1M)直到达到7.0的pH值。该浆料随后过滤并用甲醇(100毫升)冲洗。该材料在真空烘箱中干燥整夜,得到42.7克白色固体(94%产率)。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11.63 (s, 1H), 10.46 (s, 1H), 8.75 (s, 1H), 8.10 (s, 1H), 7.15 (dd, *J* = 3.6, 1.9 Hz, 1H), 6.61 (dd, *J* = 3.7, 1.4 Hz, 1H), 5.21 (p, *J* = 9.6 Hz, 1H), 3.28 (s, 3H), 2.60 (p, *J* = 8.3 Hz, 1H), 2.49 - 2.37 (m, 2H), 2.35 - 2.26 (m, 2H)。

[0165] (1s,3s)-*N*1-甲基-*N*1-(7H-吡咯并[2,3-*d*]咪啉-4-基)环丁烷-1,3-二胺(E;磷酸盐)

[0166] 将异羟肟酰胺D (19.4克) 装入反应器, 随后装入2-MeTHF (388毫升), 得到白色浆料。将该浆料升温至30°C并加入羰基二咪唑 (16.1克)。该反应搅拌整夜。通过UPLCMS证实反应完全。将磷酸溶液 (14.7 M在水中, 25.5毫升) 用水 (78毫升) 稀释, 并缓慢添加到该浆料中。该浆料溶解, 并将该反应加热至60°C并保持几小时。该反应被认为完全, 并加入氢氧化钠 (20质量%在水中, 16.4 M) 以获得大约6的pH。随后将该反应升温至80°C, 并随后冷却至25°C。缓慢加入2-丙醇 (58毫升) 并过滤固体。滤饼用2-丙醇/水 (1:1, 40毫升) 洗涤, 并在真空烘箱中干燥, 得到19.1克 (81%产率)。¹H NMR (600 MHz, 氧化氘, 35°C) δ 8.08 (s, 1H), 7.20 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H), 6.66 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H), 4.81 (tt, *J* = 9.6, 7.4 Hz, 1H), 3.67 (tt, *J* = 8.9, 7.3 Hz, 1H), 3.28 (s, 3H), 2.96 - 2.73 (m, 2H), 2.47 (qd, *J* = 9.4, 2.9 Hz, 2H)。³¹P NMR (243 MHz, 氧化氘, 35°C) δ 0.31。

[0167] (1s, 3s) -N¹-甲基-N¹-(7H-吡咯并[2,3-d]咪啉-4-基) 环丁烷-1,3-二胺(游离胺)

[0168] 将氨基磷酸盐E (10克) 溶解在H₂O (30毫升) 中。加入盐酸 (6N) 直到pH为2, 得到澄清溶液。使用氢氧化钠 (50重量%) 将pH升高至12, 得到浓悬浮液。使用反相色谱法 (10:90 CH₃CN:H₂O 2CV, 经4CV梯度至40:60 CH₃CN:H₂O) 纯化浆料。收集适当的级分, 合并并真空浓缩, 得到白色固体形式的胺游离碱E (6.05克, 88%产率)。¹H NMR (400 MHz, 氧化氘) δ 7.78 (s, 1H), 6.91 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H), 6.24 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H), 4.25 (ddd, *J* = 9.7, 7.4, 2.3 Hz, 1H), 3.08 (td, *J* = 7.9, 7.1, 1.8 Hz, 1H), 2.95 (s, 3H), 2.58 - 2.39 (m, 2H), 1.86 (dd, *J* = 9.4, 2.8 Hz, 2H)。

[0169] 1-(丙基磺酰基)-1H-1,2,4-三唑(三唑试剂)

[0170] 将1,2,4-三唑 (11.98克) 和THF (40毫升) 装入装有顶置搅拌的反应器中。将悬浮液搅拌10分钟, 随后在20°C下加入1-丙磺酰氯 (7.89毫升, 68.0毫摩尔)。将所得浆液在20°C下搅拌直到通过¹H NMR判断原料耗尽。一旦完成, 将反应过滤, 并将滤液转移到分液漏斗中, 在其中用水 (20毫升) 进行稀释, 并用二氯甲烷 (50毫升) 萃取。将各层分离, 并用水 (2×20毫升) 和盐水 (1×20毫升) 洗涤DCM层。有机层用MgSO₄干燥, 过滤并真空浓缩, 得到粘稠的澄清无色油形式的磺酰基三唑 (10.66克, 89%产率)。¹H NMR (400 MHz, 氯仿-*d*) δ 8.67 (s, 1H), 8.13 (s, 1H), 3.55 - 3.46 (m, 2H), 1.76 (h, *J* = 7.5 Hz, 2H), 1.03 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H)。

[0171] 实施例3

[0172] 替代制备N-((1S,3S)-3-(甲基(7H-吡咯并[2,3-d]咪啉-4-基)-氨基)环丁基)丙烷-1-磺酰胺

[0173] 使用三唑试剂1-(丙基磺酰基)-1H-1,2,4-三唑的磺酰化

[0174] 将水 (18毫升) 和胺磷酸盐E (3克) 装入反应器, 随后装入在水中的氢氧化钠 (19 M, 1.5毫升)。该反应略微放热, 并冷却至25°C。将1-(丙基磺酰基)-1H-1,2,4-三唑 (4.3克) 溶解在THF (12毫升) 中并添加到氢氧化物反应中。一旦反应被认为完全, 加入水 (18毫升) 并将材料过滤和干燥。获得2.57克 (84%产率)。

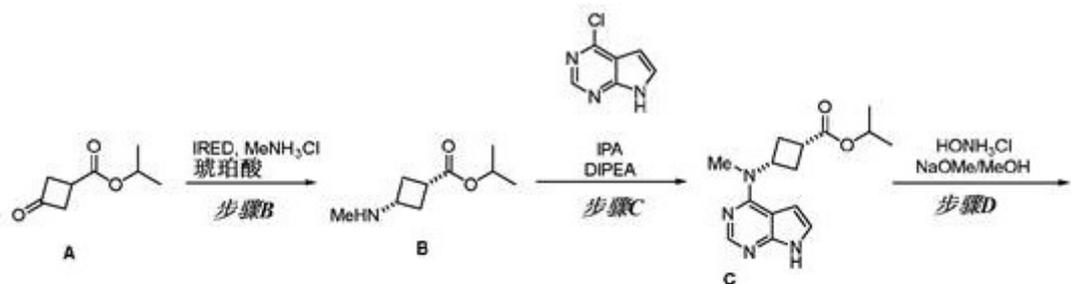
[0175] 原位制备试剂

[0176] 在20°C下将1,2,4-三唑的锂盐 (1.0克) 和THF (8毫升) 装入反应器。随后装入1-丙磺酰氯 (1.47毫升)。该浆料在20°C下搅拌直到¹H NMR判定磺酰氯已经耗尽。在另一烧瓶中, 在20°C下将氨基磷酸盐 (2.0克) 溶解在H₂O (12毫升) 中, 并随后加入氢氧化钠 (1.0毫升, 50

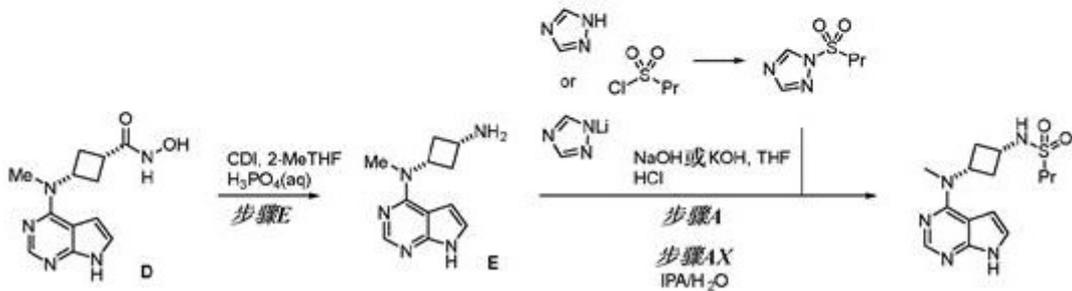
重量%),保持温度低于30℃。将水溶液冷却至10℃,随后添加1-丙磺酰基-三唑试剂的THF溶液,保持温度低于20℃。搅拌所得悬浮液,直到根据UPCLMS剩余<5%的胺,随后加入氢氧化钠(0.67毫升,50重量%)并将反应加热至50℃。一旦通过UPLC确定磺酰三唑试剂耗尽,将反应冷却至20℃,并用盐酸(6N)调节pH至5-6。将所得浆料冷却至10℃并保持30分钟并过滤。滤饼用75:25 H₂O:THF(10毫升)冲洗,并将固体在真空烘箱中在50℃下干燥,得到灰白色固体形式的所需产物。

[0177] 使用1-丙磺酰氯进行磺酰化

[0178] 将胺磷酸盐E(3.07克)装入反应器,随后装入水(18毫升)。随后向浆料中加入氢氧化钠(2.9毫升,10 M),并在室温下搅拌混合物。加入2-MeTHF(12毫升)并将混合物冷却至10℃。添加1-丙磺酰氯(1.6毫升),产生放热。监控反应并确认反应完全。随后加入水(18毫升),并在10℃下该浆料粒化。将浆料过滤,用水(5毫升)洗涤,并真空干燥。分离出3.0克浅黄色固体(96%产率)。

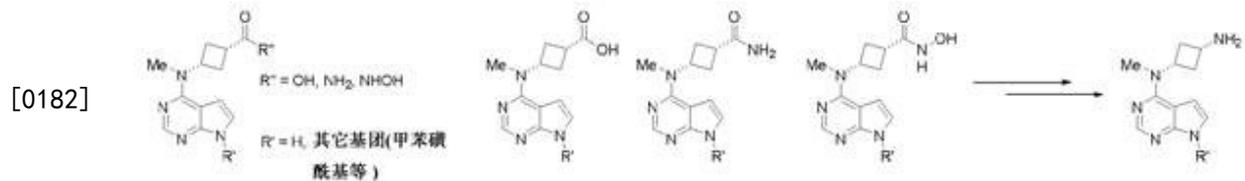


[0179]

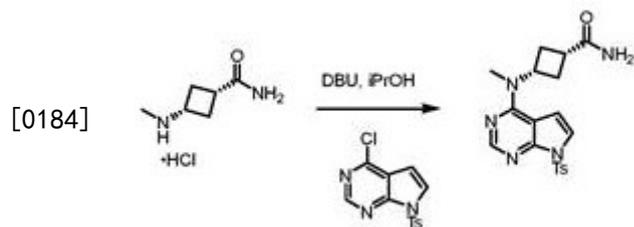


[0180] 实施例4

[0181] 替代制备 (1s,3s)-N¹-甲基-N¹-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)环丁烷-1,3-二胺



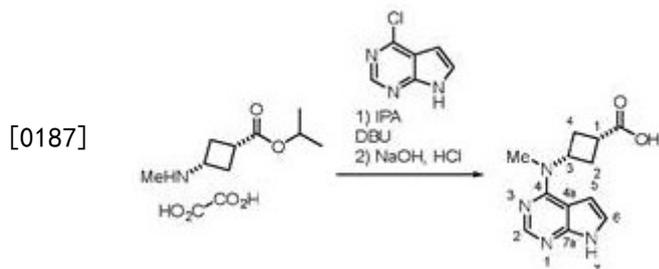
[0183] 制备 (1s,3s)-3-(甲基-(7-甲苯磺酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)氨基)环丁烷-1-甲酰胺



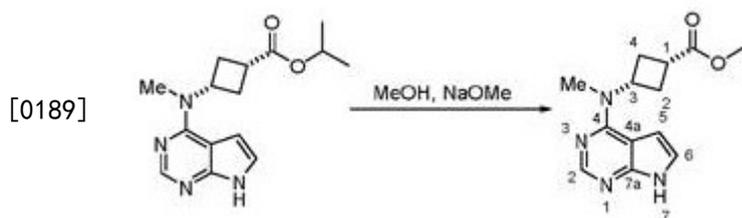
[0184]

[0185] 向20毫升舒伦克管中装入氨基酰胺盐酸盐(500毫克,3.04毫摩尔,1.0当量)和异丙醇(4毫升),随后加入氯吡咯并嘧啶(1.03克,3.34毫摩尔,1.1当量)和DBU(0.97克,6.38毫摩尔,2.1当量)。将所得混合物加热至85℃,并搅拌直至通过UPLC证实反应完全。一旦完全,将混合物冷却至40℃,此时加入水(20毫升),得到澄清溶液。继续冷却至20℃,从反应中沉淀出固体。将固体过滤并用H₂O(30毫升)冲洗滤饼。粗固体(1.18克)通过反相色谱法纯化(梯度4:6 MeOH:H₂O至100%MeOH,20 CV)。将所需级分合并,并真空除去甲醇,沉淀固体。将固体过滤,用H₂O(10毫升)冲洗并在真空烘箱中在50℃下干燥,得到所需的S_NAr产物,为白色固体(686毫克,57%产率)。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.24 (s, 1H), 7.97 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.63 (d, *J* = 4.1 Hz, 1H), 7.43 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.31 (s, 1H), 6.96 (d, *J* = 4.1 Hz, 1H), 6.82 (s, 1H), 5.07 (p, *J* = 8.6 Hz, 1H), 3.22 (s, 3H), 2.70 (p, *J* = 8.6 Hz, 1H), 2.40 - 2.26 (m, 7H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ 175.6, 157.1, 152.8, 151.7, 146.2, 134.9, 130.4, 128.2, 122.0, 106.9, 104.8, 47.3, 32.2, 31.7, 31.0, 21.6。

[0186] 制备(1s,3s)-3-(甲基(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)氨基)环丁烷-1-甲酸



[0188] 向反应器中装入氯吡咯并嘧啶(10.0克)和氨基酰胺草酸盐(18.7克)。加入IPA(100毫升)并搅拌浆料,加入DBU(39毫升),并将混合物加热至80℃。一旦反应被认为完全,加入水和氢氧化钠,并将反应在80℃下搅拌直到其变为浓浆料。加入IPA(60毫升),并搅拌该浆料并过滤。分离出26.39克酸-DBU加合物。将10.0克DBU加合物在45℃下溶解在水(125毫升)中。加入盐酸(4毫升,6M),并将所得沉淀物搅拌并过滤。该固体用水(10毫升)洗涤。将固体干燥(2.47克)。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 2.44 (d, *J* = 8.8 Hz, 4H), 2.44 (d, *J* = 8.8 Hz, 4H), 2.77-2.91 (m, 1H), 3.26 (s, 3H), 3.31-3.41 (m, 1H), 5.23 (t, *J* = 8.7 Hz, 1H), 6.54-6.72 (m, 1H), 7.08-7.26 (m, 1H), 8.12 (s, 1H), 11.65 (br s, 1H), 12.13-12.43 (m, 1H)。



[0190] 制备(1s,3s)-3-(甲基(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)氨基)环丁烷-1-甲酸甲酯

[0191] 将该异丙酯——(1s,3s)-3-(甲基(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)氨基)环丁烷-1-甲酸异丙酯(15.03克)装入含有甲醇(75毫升)的反应器并在25℃下搅拌。逐滴添加甲醇钠(25质量%在甲醇中,15毫升),并搅拌反应直到通过UPLCMS认为完全。将固体过滤,用甲醇

(20毫升)洗涤并在真空烘箱中干燥以获得11.27克白色固体。¹H NMR (400 MHz, 氯仿-*d*) δ 11.48 (s, 1H), 8.33 (s, 1H), 7.09 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H), 6.58 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H), 5.58 - 5.23 (m, 1H), 3.72 (s, 3H), 3.39 (s, 3H), 2.88 (dq, $J = 10.0, 8.1$ Hz, 1H), 2.69 - 2.52 (m, 4H). ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 175.36, 157.64, 152.11, 150.87, 120.46, 103.41, 102.02, 52.06, 47.38, 32.03, 31.80, 31.20。

[0192] 实施例5

[0193] 化合物E成盐的一般程序:

[0194] 化合物E溶解在表1中列举的各种溶剂中,随后添加最多达4当量的表2中列举的抗衡离子/共形成物。所有样品进行温度循环,并分离固体以便表征。

[0195] 表1

[0196]

编号	溶剂
1	水
2	MeOH
3	MeCN
4	THF
5	IPA
6	丙酮
7	EtOAc
8	DCM
9	MTBE
10	甲苯
11	MIBK
12	1,4-二氧杂环己烷

[0197] 表2

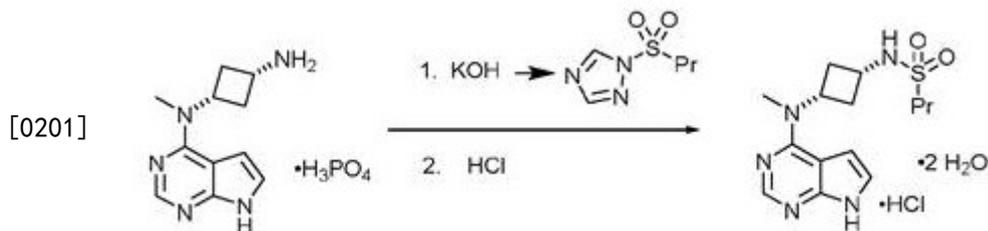
[0198]

编号	抗衡离子/共形成物
1	盐酸
2	硫酸
3	对甲苯磺酸
4	苯磺酸
5	磷酸
6	丙二酸
7	L-酒石酸
8	L-苹果酸
9	琥珀酸
10	乙酸
11	甲磺酸
12	氢溴酸
13	L-焦谷氨酸
14	烟酸

15	烟酰胺
16	间苯二酚
17	3-羟基苯甲酸
18	4-羟基苯甲酸

[0199] 实施例6

[0200] 由氨基环丁烷替代制备N-((1S,3S)-3-(甲基(7H-吡咯并[2,3-d]咪啉-4-基)氨基)环丁基)丙烷-1-磺酰胺



[0202] 制备磺酰基三唑:

[0203] 在250毫升烧瓶中装入水(75毫升)和1,2,4-三唑(37.24克,1.7当量),并搅拌直到溶解。一旦溶液均匀,将其转移至含有THF(400毫升)并装有顶置搅拌的2升容器中。将溶液升温至35℃,随后装入无水LiOH粉末(13.18克,1.7当量)。将所得悬浮液搅拌30分钟或直到所有固体已经溶解。一旦均匀,缓慢加入1-丙磺酰氯(58.84毫升,1.6当量),保持内部温度低于40℃。一旦添加完成,在35℃下继续搅拌溶液30分钟,随后冷却至0℃并保持直到胺磷酸盐E的游离碱化完成。

[0204] 由磷酸盐E形成游离碱E:

[0205] 在装有顶置搅拌的1升容器中装入水(300毫升)和THF(200毫升),随后加入11.5 M KOH水溶液(82.75毫升,3.0当量)并升温至25℃。分5份装入胺磷酸盐E(100克,1.0当量),并继续搅拌直到所有固体已经溶解。停止搅拌并使各相分离。弃去水(底部)相。继续搅拌有机相,同时冷却至8℃。

[0206] 主要程序:

[0207] 将冷却的胺(游离碱)溶液加入磺酰基三唑溶液中,保持内部温度低于10℃。如有必要,用最少量的THF冲洗含胺容器。一旦转移完成,以1℃/分钟将所得溶液升温至20℃。搅拌90分钟,随后装入11.5 M KOH水溶液(13.8毫升,0.5当量)。持续搅拌直到保留<5%的胺E。完成后,加入水(1.14升),随后加入11.5 M KOH水溶液(110.3毫升,4当量)。将混合物加热至40℃并保持4小时,随后冷却至10℃。一旦冷却,开始真空蒸馏(100毫巴),缓慢升温至内部温度为45-50℃,此时最终溶液体积为1.65-1.70升,表明蒸馏完成。将混合物冷却至40℃,随后加入浓HCl(149毫升,5.7当量),使pH值达到2.0-3.0,内部温度保持在40-45℃之间。将混合物升温至65℃,保持15分钟,随后以0.5 °/分钟冷却至53℃。一旦达到,装入N-((1S,3S)-3-(甲基(7H-吡咯并[2,3-d]咪啉-4-基)氨基)-环丁基)丙烷-1-磺酰胺HCl晶种(500毫克,0.005 g/g)。冷却至50℃并搅拌30分钟,接着以0.1℃/分钟的速率冷却至10℃。在10℃下搅拌1小时,随后经600毫升粗玻璃料布氏漏斗过滤。用冷却至10℃的H₂O(200毫升)冲洗滤饼。干燥漏斗上的固体,通过Karl Fisher滴定使最终水含量达到9.5%。¹H NMR(400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12.81 (s, 1H), 8.34 (s, 1H), 7.64 (d, *J* = 9.3 Hz, 1H),

7.52 - 7.43 (m, 1H), 7.00 (dd, $J = 3.7, 1.8$ Hz, 1H), 4.75 (t, $J = 8.3$ Hz, 1H), 3.63 (h, $J = 8.4$ Hz, 1H), 3.00 - 2.90 (m, 2H), 2.73 (dtd, $J = 10.0, 7.4, 2.9$ Hz, 2H), 2.35 (qd, $J = 9.1, 2.7$ Hz, 2H), 1.68 (h, $J = 7.5$ Hz, 2H), 0.98 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ 152.2, 146.3, 143.2, 124.5, 105.0, 102.2, 54.2, 47.2, 41.3, 36.6, 34.0, 17.3, 13.2.

[0208] N-((1S,3S)-3-(甲基(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)氨基)环丁基)丙烷-1-磺酰胺

[0209] 将N-((1S,3S)-3-(甲基(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)氨基)环丁基)丙烷-1-磺酰胺HCl (8克)装入反应器,随后装入异丙醇(56毫升)和水(20毫升)。将混合物加热至60°C。制备碳酸氢钾(2.4克)在水(8毫升)中的溶液并添加到加热的混合物中。将混合物加热至80°C,随后冷却至65°C。装入标题化合物的晶种(70毫克)。反应器随后冷却至20°C并随后研磨。该材料真空过滤并用两份2/1异丙醇/水洗液(各14毫升)洗涤。滤饼在真空下干燥以获得6.09克(87%产率)的标题化合物。 ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 11.65 (s, 1H), 8.13 (s, 1H), 7.50 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 7.15 (dd, $J = 3.6, 1.6$ Hz, 1H), 6.63 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H), 4.91 (tt, $J = 9.6, 7.4$ Hz, 1H), 3.70 - 3.47 (m, 1H), 3.26 (s, 3H), 3.04 - 2.87 (m, 2H), 2.61 (ddd, $J = 11.7, 8.9, 5.2$ Hz, 2H), 2.24 (dt, $J = 11.8, 9.1$ Hz, 2H), 1.79 - 1.55 (m, 2H), 0.98 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H)。

[0210] 实施例7

[0211] N-((1S,3S)-3-(甲基(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)氨基)环丁基)丙烷-1-磺酰胺的盐的一般制备

[0212] 将N-((1S,3S)-3-(甲基(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)氨基)环丁基)丙烷-1-磺酰胺溶解在丙酮、乙醇、异丙醇、水或其共混物中。加入一定量的酸(盐酸、甲磺酸、对甲苯磺酸、富马酸或硫酸),并对样品进行温度循环。分离固体以进行表征。

[0213] 在不背离本教导的精神和基本特征的情况下,本领域技术人员将想到本文中描述的内容的变化、修改和其它实施方式。因此,本教导的范围并非由先前的说明性描述限定,而是由所附的权利要求限定,并且落入权利要求书的含义与等同范围内的所有改变均意在包含在其中。

[0214] 在本说明书中描述或引用的印刷出版物(包括但不限于专利、专利申请、书籍、技术论文、商业出版物和期刊文章)中的每一篇均经此引用全文并为所有目的并入本文。

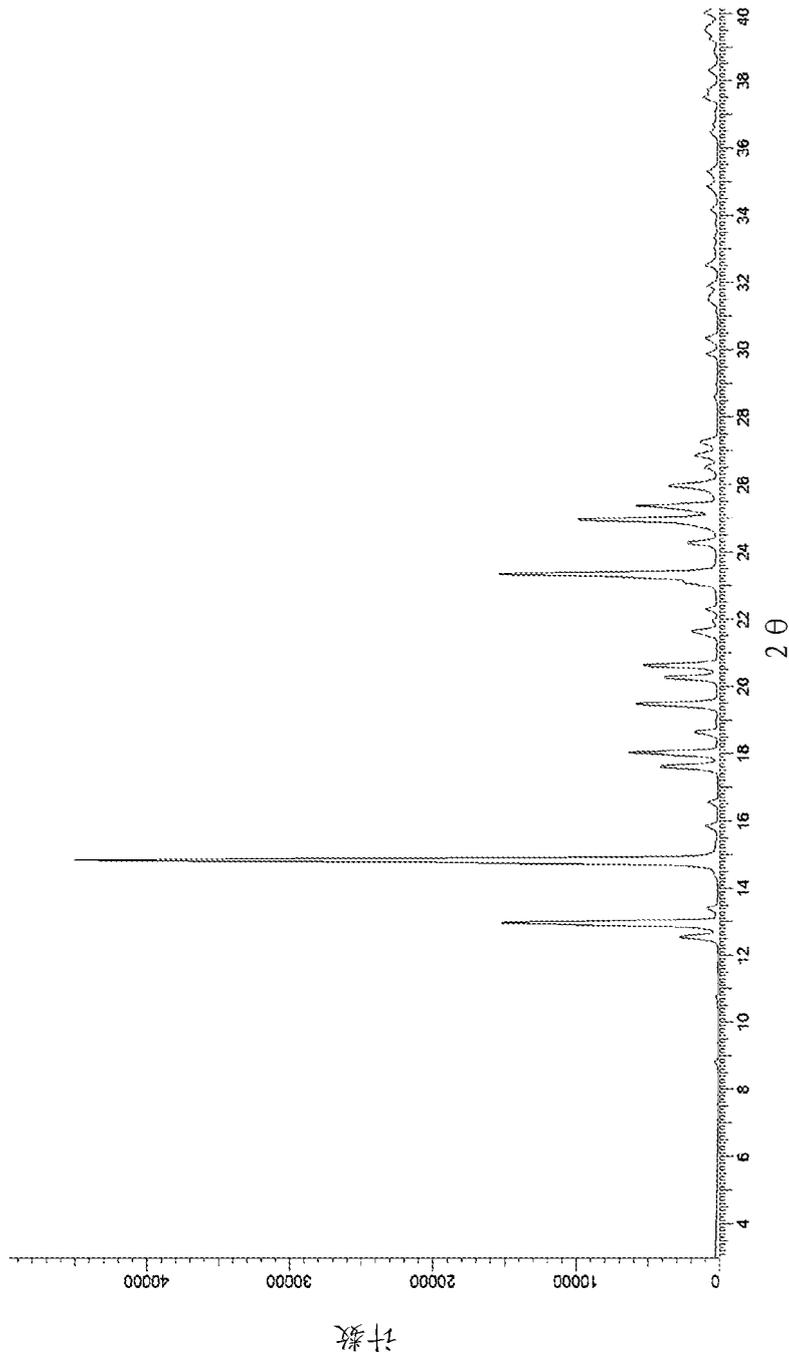


图 1

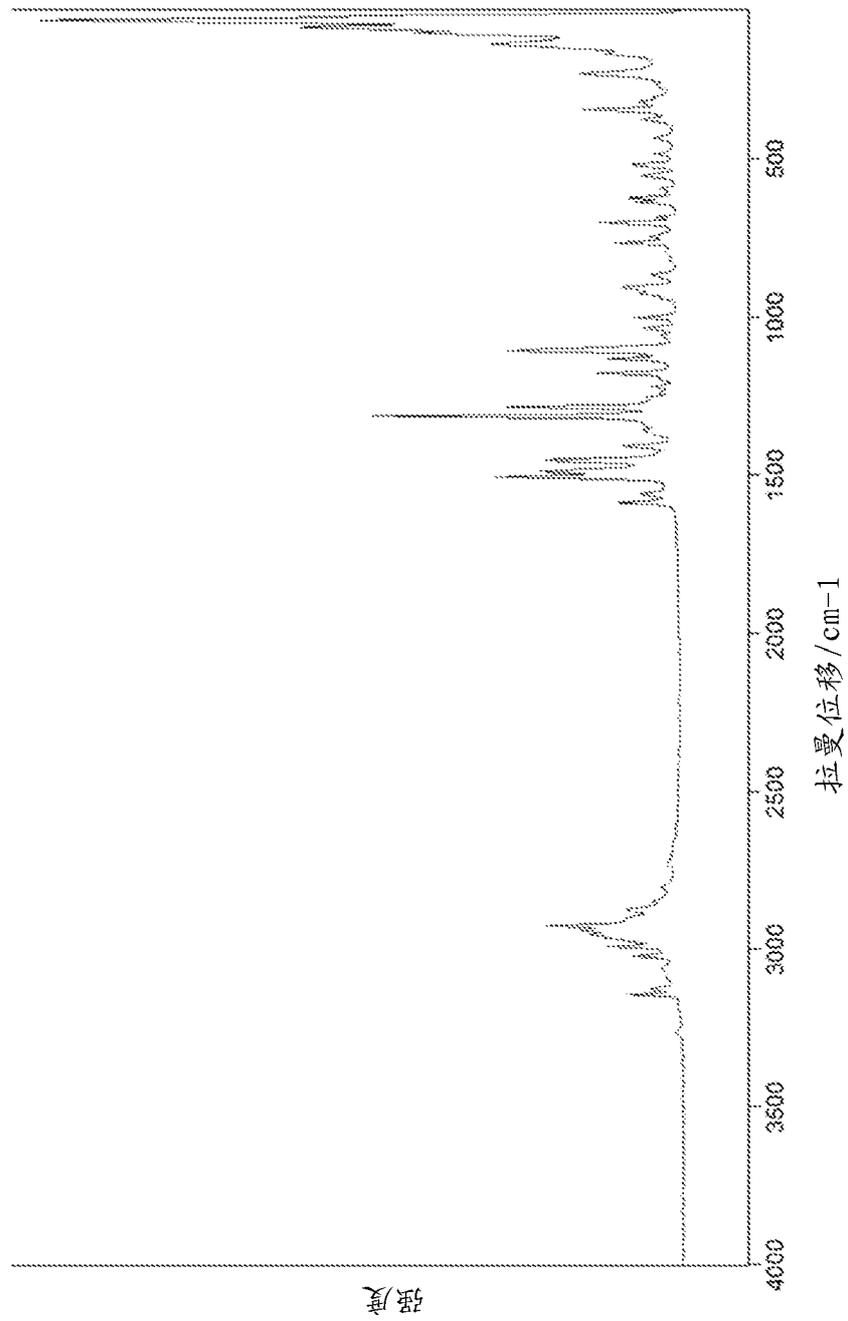


图 2

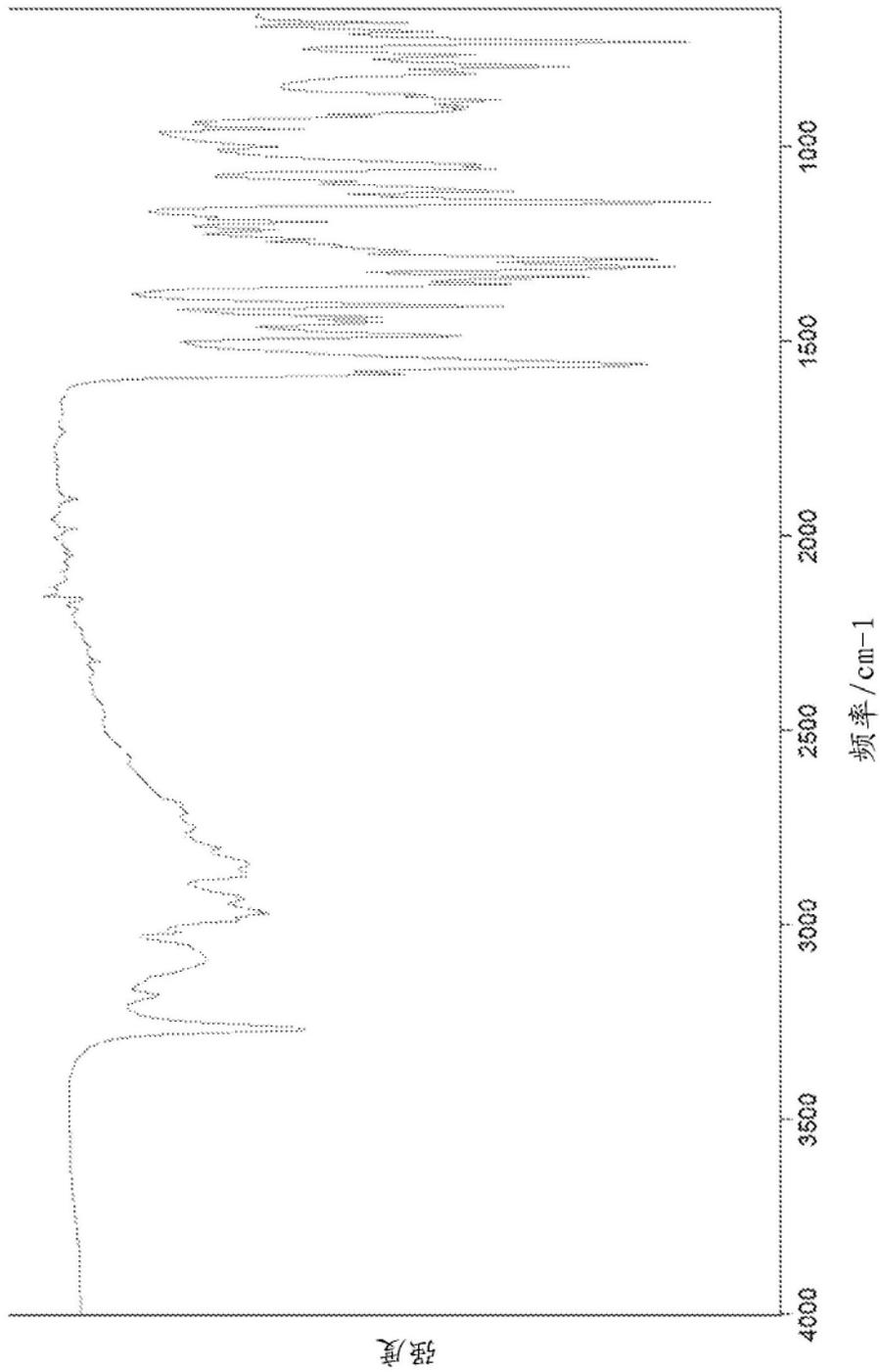


图 3

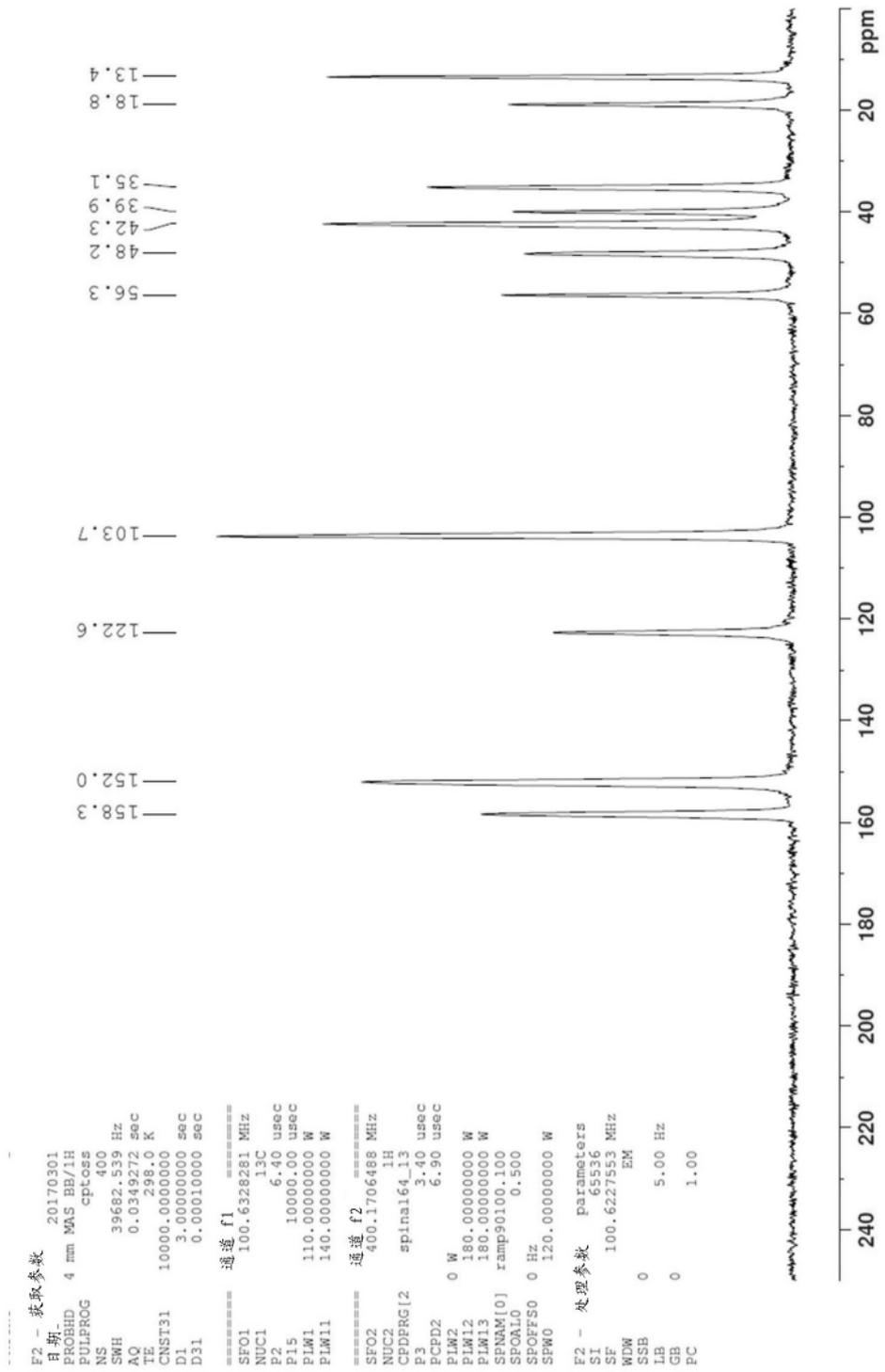


图 4

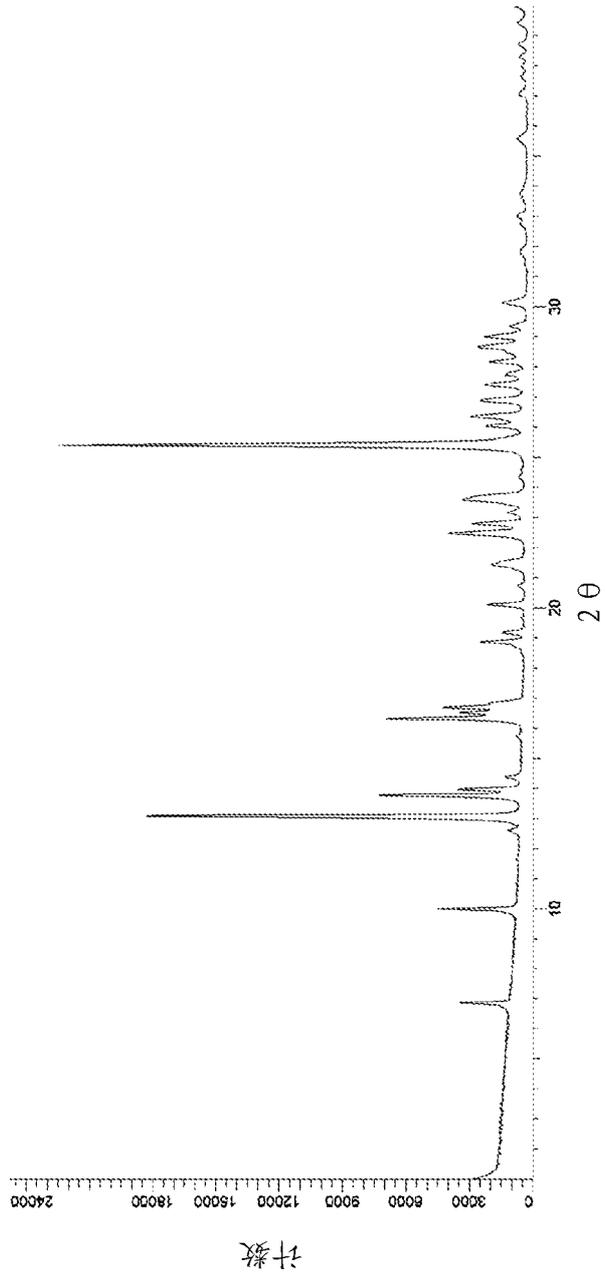


图 5

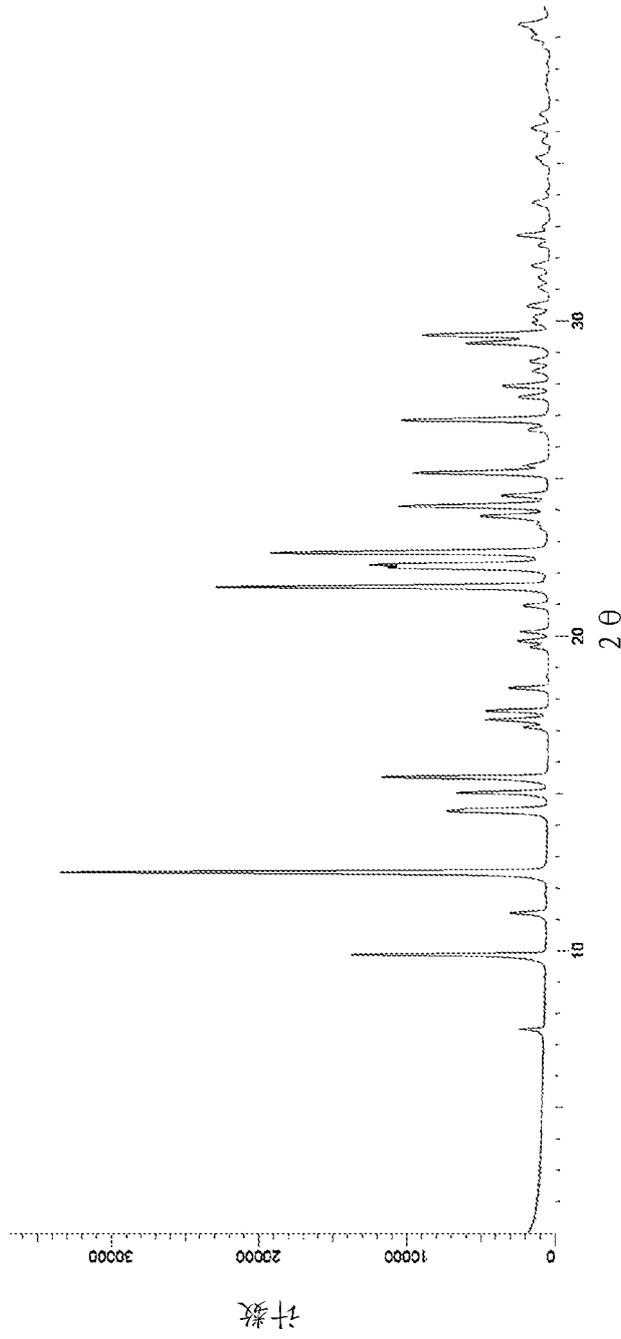


图 6

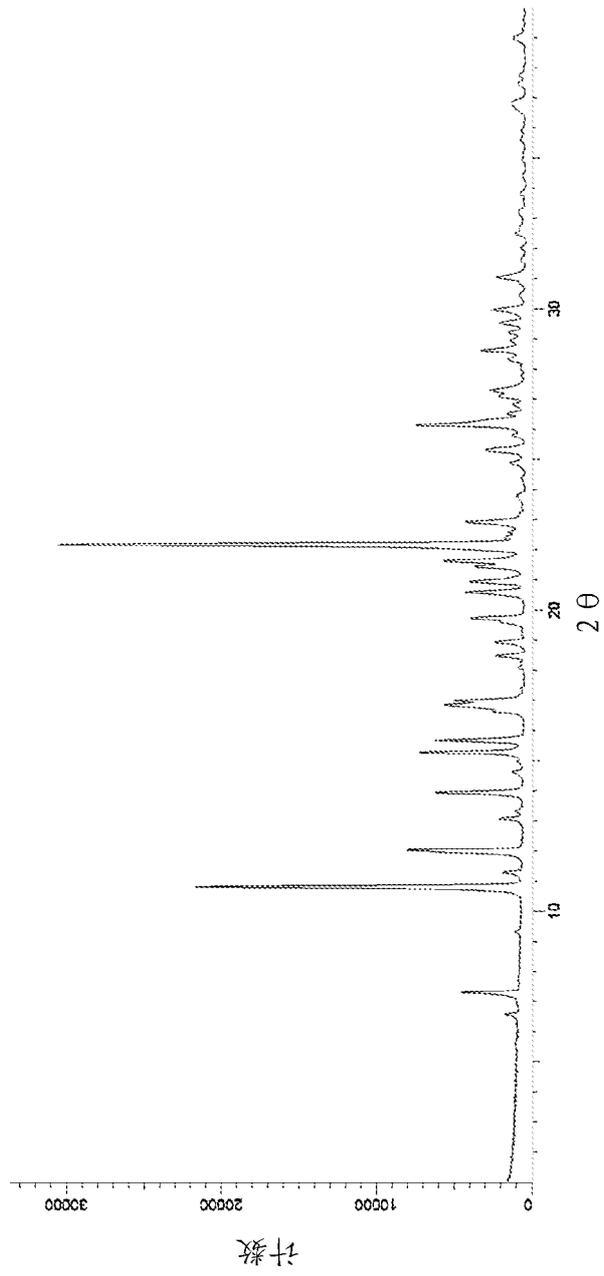


图 7

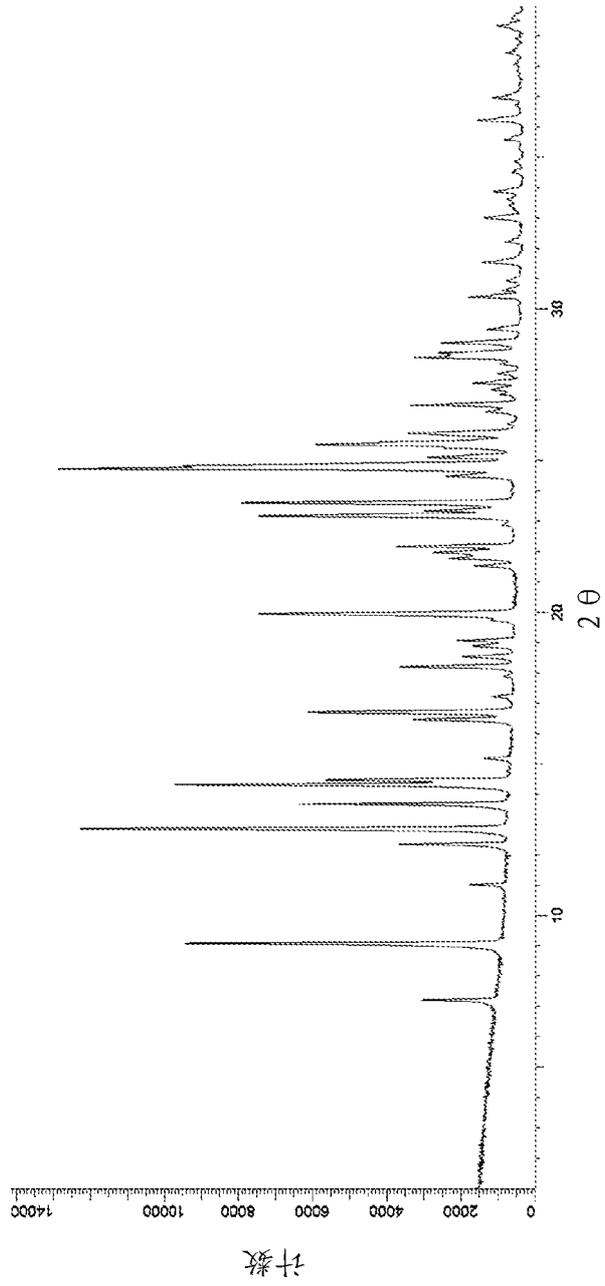


图 8

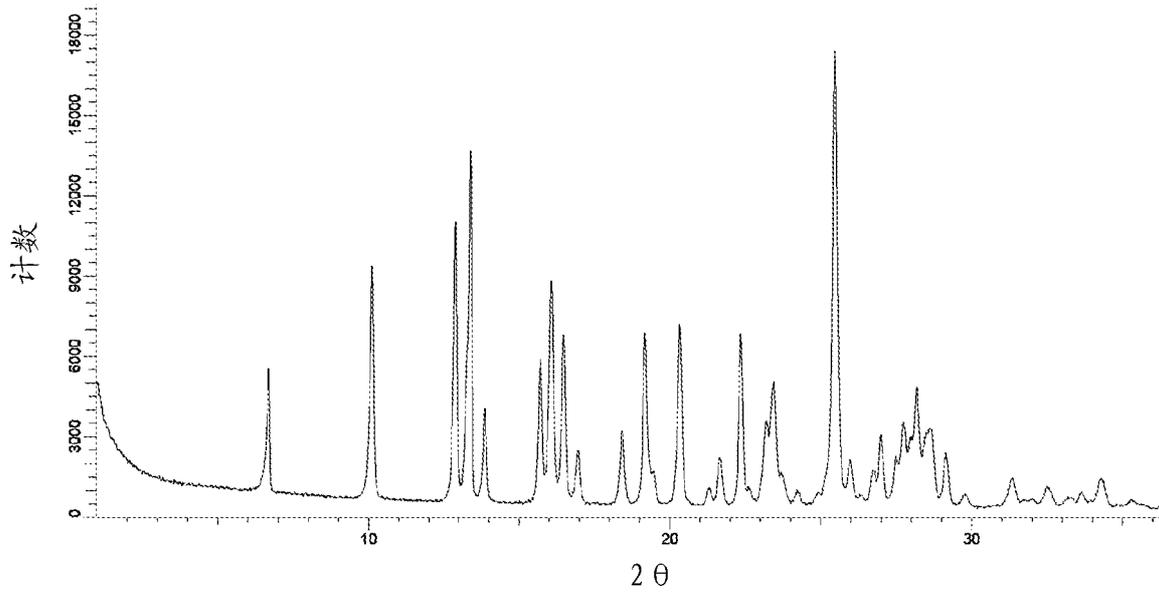


图 9

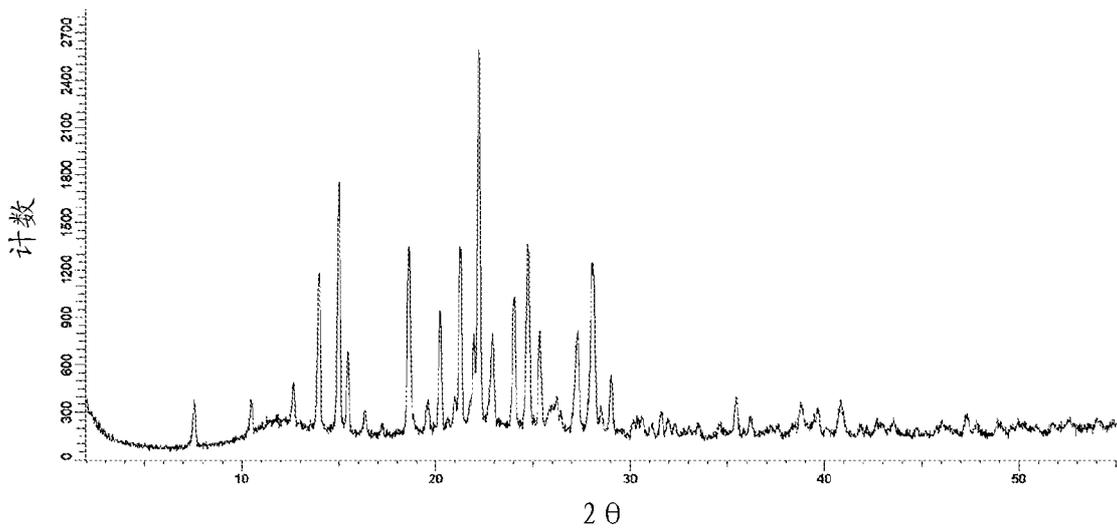


图 10

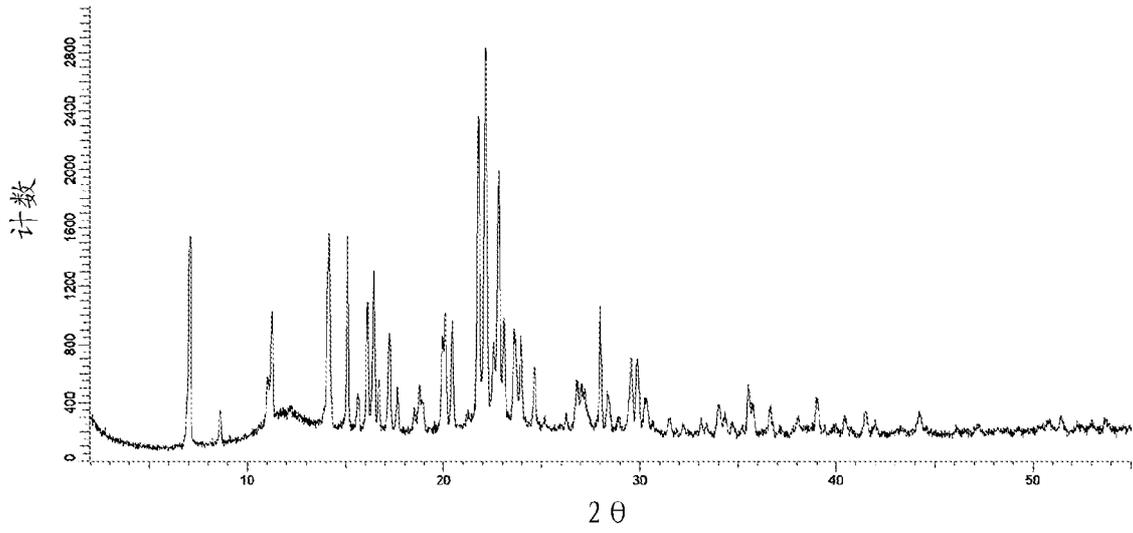


图 11

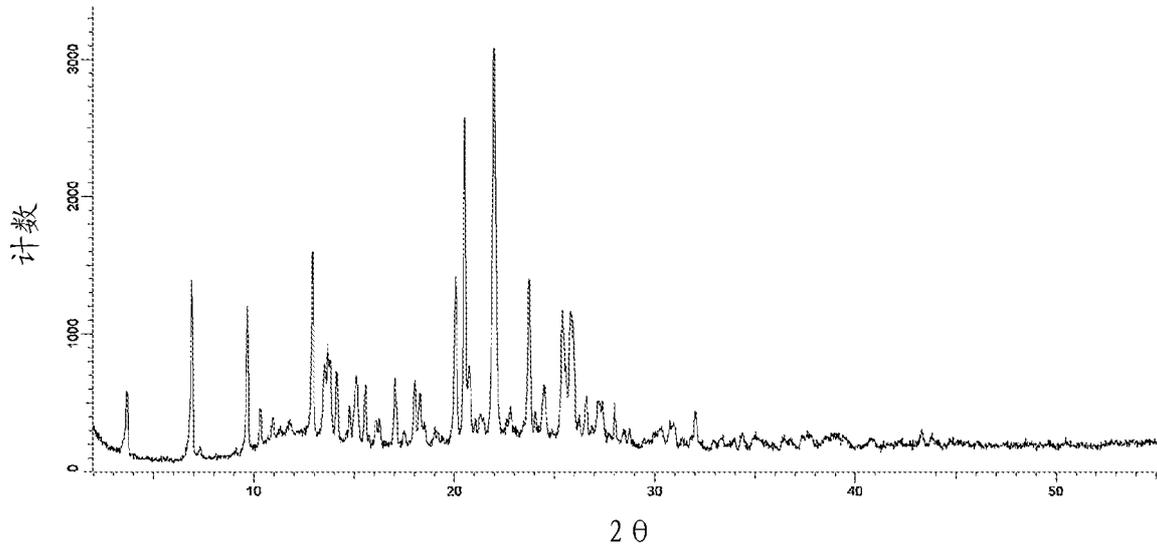


图 12

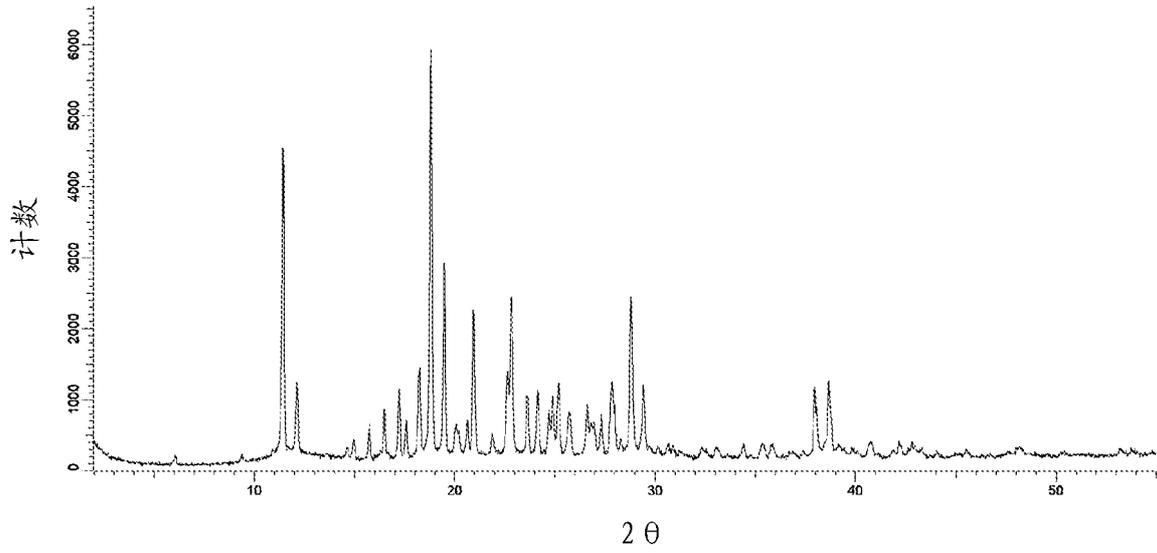


图 13