

化合物的新晶型及其制备方法与应用

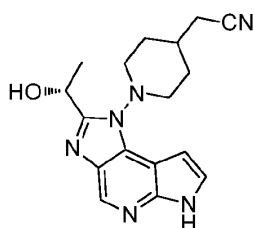
技术领域

本发明涉及化学医药技术领域，特别是涉及一种化合物的新晶型、晶型的制备方法、含有所述晶型的药物组合物以及所述晶型和药物组合物的用途。

5 背景技术

多晶型或者多晶现象是某些分子和分子组合物的特有性质，相同的分子可能因不同的排列形式而形成不同晶体，而这些晶体具有不同的晶体结构和物理性质，如溶解度、稳定性、吸湿性、X 射线衍射图谱等。药物分子的多晶型现象越来越引起人们的广泛关注。许多具有药物活性的有机化合物可以以一种以上的三维晶体结构进行结晶。但是，通常无法
10 预测特定有机药物化合物是否会形成不同的结晶形式，更不可能预测晶型本身的结构和性质。探索可药用化合物的新晶型或多晶型物可为提高医药产品的整体性能提供机会。

对于化合物 (R) -2- (1- (2- (1-羟乙基) 咪唑并[4, 5-d]吡咯并[2, 3-b]吡啶-1 (6H) -基) 哌啶-4-基) 乙腈，其结构式如式 (I) 所示：



15

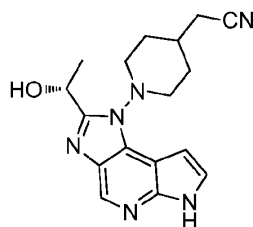
(I)

目前，该化合物的晶型研究还处于空白状态。本发明提供的式 (I) 化合物的新晶型，具有稳定性好、溶解度高、生物利用度高的特点，具有广泛的应用前景。

发明内容

本发明的目的在于提供一种化合物 (R) -2- (1- (2- (1-羟乙基) 咪唑并[4, 5-d]吡咯并[2, 3-b]吡啶-1 (6H) -基) 哌啶-4-基) 乙腈 (以下称式 (I) 化合物) 的新晶型。
20

本发明提供了一种式 (I) 化合物的晶型 A，



(I)

所述晶型 A 的 X 射线粉末衍射图在 2θ 角为 8.6°±0.2°、9.8°±0.2°、10.7°±0.2°、11.2°±0.2°、12.3°±0.2°、12.9°±0.2°、16.0°±0.2°和 19.0°±0.2°处有特征峰。

在一些实施方式中，所述晶型 A 的 X 射线粉末衍射图在 2θ 角为 8.6°±0.2°、9.8°±0.2°、10.7°±0.2°、11.2°±0.2°、12.3°±0.2°、12.9°±0.2°、16.0°±0.2°、17.0°±0.2°、17.4°±0.2°、17.8°±0.2°、
5 19.0°±0.2°、19.9°±0.2°和 21.2°±0.2°处有特征峰。

在一些实施方式中，所述晶型 A 的 X 射线粉末衍射图的主要数据如表 1 所示。

表 1

编号	衍射角 2θ (°)	晶面间距 (Å)	相对强度
1	8.6	10.28	15.8%
2	9.8	8.98	100.0%
3	10.7	8.23	11.6%
4	11.2	7.86	28.1%
5	12.3	7.19	21.3%
6	12.9	6.85	7.5%
7	13.7	6.44	7.3%
8	13.9	6.35	10.0%
9	16.0	5.52	6.4%
10	17.0	5.21	8.8%
11	17.4	5.09	27.4%
12	17.8	4.98	51.4%
13	18.4	4.82	2.2%
14	18.6	4.77	2.5%
15	19.0	4.68	31.1%
16	19.9	4.46	7.3%
17	20.4	4.34	22.8%
18	20.6	4.30	26.0%
19	21.2	4.20	11.3%
20	22.8	3.90	6.0%
21	23.4	3.81	4.7%
22	24.7	3.60	2.5%
23	25.0	3.55	2.8%
24	26.3	3.39	2.7%
25	26.6	3.35	3.7%
26	27.0	3.31	4.9%
27	27.6	3.23	4.4%
28	27.8	3.20	5.1%
29	28.3	3.15	3.6%
30	28.6	3.12	3.1%
31	29.0	3.07	1.5%

编号	衍射角 2θ (°)	晶面间距 (Å)	相对强度
32	30.2	2.96	1.8%
33	31.2	2.87	5.3%
34	31.5	2.84	1.7%
35	31.9	2.80	2.1%
36	32.7	2.74	2.2%
37	36.3	2.47	1.3%
38	37.4	2.40	1.2%
39	37.8	2.38	2.5%
40	38.1	2.36	5.3%
41	38.7	2.33	1.0%

在一些实施方式中，所述晶型 A 具有基本上如图 2 所示的 X 射线粉末衍射图。

在一些实施方式中，所述晶型 A 具有基本上如图 3 所示的差示扫描量热 (DSC) 图谱和热重分析 (TGA) 图谱的叠图。

在一些实施方式中，所述晶型 A 的立体结构图如图 4 所示。

5 在一些实施方式中，所述晶型 A 为无水晶型。

本发明进一步提供了晶型 A 的制备方法，该方法包括以下步骤：

- 1)使式 (I) 化合物溶解于结晶溶剂中；
- 2)浓缩、过滤；

其中，所述结晶溶剂选自乙醇 (EtOH)、正庚烷 (n-heptane)、异丙醇 (IPA)、2-丁醇 (2-Butanol)、丁酮 (MEK)、乙酸乙酯 (EtOAc)、2-甲基四氢呋喃 (2-MeTHF)、四氢呋喃 (THF)、甲基叔丁基醚 (MTBE) 或任意两种以上溶剂的混合溶剂。

在本发明的部分实施方式中，所述结晶溶剂选自乙醇。

本发明进一步提供了一种晶型A的制备方法，包括：将式 (I) 化合物溶于乙醇中至澄清，然后浓缩；将得到的浓缩液搅拌，析出固体；过滤，干燥，得到所述晶型A。

15 在一些实施方式中，所述浓缩的温度为 35℃-55℃。

在一些实施方式中，所述浓缩液的浓度为 0.5-2g/mL。

在一些实施方式中，所述搅拌温度为 5℃-15℃。

本发明进一步提供了一种式 (I) 化合物的晶型H，所述晶型H的X射线粉末衍射图在2θ角为9.4°±0.2°、11.0°±0.2°、14.1°±0.2°、16.0°±0.2°、17.8°±0.2°、19.3°±0.2°、21.9°±0.2°处有特征峰。

20 在一些实施方式中，所述晶型 H 的 X 射线粉末衍射图在 2θ角为 9.4°±0.2°、11.0°±0.2°、

11.7°±0.2°、14.1°±0.2°、15.4°±0.2°、16.0°±0.2°、17.8°±0.2°、19.3°±0.2°、20.9°±0.2°、21.9°±0.2°处有特征峰。

在一些实施方式中，所述晶型 H 具有基本上如图 5 所示的 X 射线粉末衍射图。

在一些实施方式中，所述晶型 H 具有基本上如图 6 所示的差示扫描量热（DSC）图谱
5 和热重分析（TGA）图谱的叠图。

在一些实施方式中，所述晶型 H 为无水晶型。

本发明进一步提供了一种式（I）化合物的晶型 S，所述晶型 S 的 X 射线粉末衍射图在 2θ 角为 9.1°±0.2°、10.1°±0.2°、13.4°±0.2°、15.5°±0.2°、16.0°±0.2°、17.8°±0.2°、19.7°±0.2°、21.8°±0.2°处有特征峰。

10 在一些实施方式中，所述晶型 S 的 X 射线粉末衍射图在 2θ 角为 9.1°±0.2°、10.1°±0.2°、13.4°±0.2°、15.5°±0.2°、16.0°±0.2°、17.8°±0.2°、19.7°±0.2°、21.0°±0.2°、21.8°±0.2°、23.3°±0.2°、24.0°±0.2°、24.8°±0.2°处有特征峰。

在一些实施方式中，所述晶型 S 具有基本上如图 7 所示的 X 射线粉末衍射图。

在一些实施方式中，所述晶型 S 具有基本上如图 8 所示的差示扫描量热（DSC）图谱
15 和热重分析（TGA）图谱的叠图。

在一些实施方式中，所述晶型 S 为无水晶型。

本发明进一步提供了一种式（I）所示化合物的晶型 O，所述晶型 O 的 X 射线粉末衍射图在 2θ 角为 10.3°±0.2°、11.9°±0.2°、14.2°±0.2°、15.3°±0.2°、19.6°±0.2°、20.3°±0.2°、20.5°±0.2°、21.4°±0.2°处有特征峰。

20 在一些实施方式中，所述晶型 O 的 X 射线粉末衍射图在 2θ 角为 10.3°±0.2°、11.9°±0.2°、14.2°±0.2°、15.3°±0.2°、19.6°±0.2°、20.3°±0.2°、20.5°±0.2°、21.4°±0.2°、25.6°±0.2°、28.6°±0.2°、29.4°±0.2°、30.0°±0.2°处有特征峰。

在一些实施方式中，所述晶型 O 具有基本上如图 9 所示的 X 射线粉末衍射图。

在一些实施方式中，所述晶型 O 具有基本上如图 10 所示的差示扫描量热（DSC）图
25 谱和热重分析（TGA）图谱的叠图。

在一些实施方式中，所述晶型 O 为无水晶型。

本发明进一步提供了一种式（I）化合物的晶型 P，所述晶型 P 的 X 射线粉末衍射图在 2θ 角为 9.5°±0.2°、16.5°±0.2°、19.6°±0.2°、20.3°±0.2°、23.9°±0.2°、25.1°±0.2°处有特征峰。

在一些实施方式中，所述晶型 P 的 X 射线粉末衍射图在 2θ 角为 9.5°±0.2°、16.5°±0.2°、
30 19.6°±0.2°、20.3°±0.2°、23.9°±0.2°、25.1°±0.2°、26.3°±0.2°、28.9°±0.2°处有特征峰。

在一些实施方式中，所述晶型 P 具有基本上如图 11 所示的 X 射线粉末衍射图。

在一些实施方式中，所述晶型 P 具有基本上如图 12 所示的差示扫描量热 (DSC) 图谱和热重分析 (TGA) 图谱的叠图。

在一些实施方式中，所述晶型 P 为无水晶型。

5 本发明进一步提供了一种式 (I) 化合物的晶型 Q，所述晶型 Q 的 X 射线粉末衍射图在 2θ 角为 8.5°±0.2°、14.5°±0.2°、15.0°±0.2°、16.8°±0.2°、19.4°±0.2°、23.6°±0.2°、24.8°±0.2°、26.3°±0.2°、27.4°±0.2° 处有特征峰。

 在一些实施方式中，所述晶型 Q 的 X 射线粉末衍射图在 2θ 角为 8.5°±0.2°、14.5°±0.2°、15.0°±0.2°、15.8°±0.2°、16.8°±0.2°、18.8°±0.2°、19.4°±0.2°、20.1°±0.2°、23.6°±0.2°、24.8°±0.2°、
10 26.3°±0.2°、27.4°±0.2° 处有特征峰。

 在一些实施方式中，所述晶型 Q 的 X 射线粉末衍射图的主要数据如表 2 所示。

表 2

编号	衍射角 2θ (°)	晶面间距 (Å)	相对强度 (%)
1	8.5	10.37	100
2	14.5	6.13	39.46
3	15.0	5.91	48.64
4	15.8	5.60	12.22
5	16.8	5.26	17.81
6	17.2	5.16	5.43
7	17.5	5.07	4.04
8	18.8	4.71	9.87
9	19.4	4.57	44
10	20.1	4.42	12.97
11	21.3	4.18	2.44
12	22.6	3.94	5.51
13	23.2	3.84	2.04
14	23.6	3.78	18.48
15	24.8	3.59	80.59
16	26.3	3.39	37.28

编号	衍射角 2θ (°)	晶面间距 (Å)	相对强度 (%)
17	27.4	3.26	16.8
18	28.8	3.10	7.1
19	30.4	2.94	10.21
20	33.5	2.67	4.11
21	38.0	2.37	3.57

在一些实施方式中，所述晶型 Q 具有基本上如图 13 所示的 X 射线粉末衍射图。

在一些实施方式中，所述晶型 Q 具有基本上如图 14 所示的偏光显微镜照片。

在一些实施方式中，所述晶型 Q 具有基本上如图 15 所示的差示扫描量热 (DSC) 图谱和热重分析 (TGA) 图谱的叠图。

5 在一些实施方式中，所述晶型 Q 具有基本上如图 16 所示的核磁共振氢谱图 (¹H-NMR 图谱)。

在一些实施方式中，所述晶型 Q 具有基本上如图 17 所示的动态气相吸附图谱。

在一些实施方式中，所述晶型 Q 为式 (I) 化合物的水合物晶型。

本发明进一步提供了一种晶型 Q 的制备方法，包括：将晶型 A 在乙醇水溶液中搅拌；

10 离心分离，干燥，得到所述晶型 Q。

在一些实施方式中，所述乙醇水溶液的水活度为 0.6-0.8。

本发明进一步提供了一种式 (I) 化合物的晶型 M，所述晶型 M 的 X 射线粉末衍射图在 2θ 角为 8.7°±0.2°、9.9°±0.2°、17.4°±0.2°、18.6°±0.2°、18.9°±0.2°、20.6°±0.2°、26.5°±0.2° 处有特征峰。

15 在一些实施方式中，所述晶型 M 的 X 射线粉末衍射图在 2θ 角为 8.7°±0.2°、9.9°±0.2°、13.1°±0.2°、17.4°±0.2°、18.6°±0.2°、18.9°±0.2°、20.6°±0.2°、26.5°±0.2°、28.1°±0.2°、31.1°±0.2° 处有特征峰。

在一些实施方式中，所述晶型 M 具有基本上如图 18 所示的 X 射线粉末衍射图。

20 在一些实施方式中，所述晶型 M 具有基本上如图 19 所示的差示扫描量热 (DSC) 图谱和热重分析 (TGA) 图谱的叠图。

在一些实施方式中，所述晶型 M 具有基本上如图 20 所示的核磁共振氢谱图 (¹H-NMR 图谱)。

在一些实施方式中，所述晶型 M 为式 (I) 化合物的水合物晶型。

本发明进一步提供所述晶型的晶型组合物。在本发明的部分实施方式中，所述晶型 A 占晶型组合物重量 50%以上，较好的是 80%以上，更好的是 90%以上，最好的是 95%以上。

5 本发明进一步提供了一种药物组合物，包含有效治疗量的晶型A或晶型Q或其混合物及药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。

本发明进一步提供了一种兽药组合物，包含有效治疗量的晶型A或晶型Q或其混合物及药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。

本发明进一步提供了晶型 A 或晶型 Q 或其混合物在制备药物中的用途。

10 在一些实施方式中，所述药物用于治疗、预防、延迟变应性反应、变应性皮炎、特应性皮炎、湿疹、瘙痒或银屑病。

在一些实施方式中，所述药物用于治疗、预防、延迟哺乳动物中的变应性反应、变应性皮炎、特应性皮炎、湿疹、瘙痒或银屑病。

在一些实施方式中，所述哺乳动物包括伴侣动物。

在一些实施方式中，所述哺乳动物包括家畜。

15 在一些实施方式中，所述药物用于治疗由JAK激酶（JAK1）介导的疾病。

本发明进一步提供了一种用于治疗 and/或预防疾病的方法，所述方法向有需要的哺乳动物施用治疗有效量的晶型A或晶型Q或其混合物。

在一些实施方式中，所述治疗有效量是从0.01mg/kg体重/天到100mg/kg体重/天。

在一些实施方式中，所述治疗有效量是从0.1mg/kg体重/天到30mg/kg体重/天。

20 在一些实施方式中，所述疾病为由 JAK 激酶（JAK1）介导。

在一些实施方式中，所述哺乳动物包括伴侣动物。

在一些实施方式中，所述哺乳动物包括家畜。

在一些实施方式中，经口、胃肠外或局部地施用晶型A或晶型Q或其混合物。

25 本发明提供的化合物（R）-2-（1-（2-（1-羟乙基）咪唑并[4，5-d]吡咯并[2，3-b]吡啶-1（6H）-基）哌啶-4-基）乙腈的新晶型，具有稳定性好、溶解度高、生物利用度高的特点，具有广泛的应用前景。当然，实施本发明的任一产品或方法并不一定需要同时达到以上所述的所有优点。

相关定义与说明

30 本发明中，“具有基本上如图 1 所示的 X 射线粉末衍射图”或“其 X 射线粉末衍射图基本上如图 1 所示”中所使用的术语“基本上”是表示附图中的峰的精确位置不应当被解释为

绝对值。因为本领域技术人员可知，X 射线粉末衍射图的 2θ 值可能会由于不同的测量条件（如所使用的设备和仪器）和不同的样品而产生误差，X 射线粉末衍射图的衍射角的测量误差为 5% 或更小，通常，给定的值的 $\pm 0.2^\circ$ 的差别会被认为是恰当的。还应理解，峰值的相对强度可能随实验条件和样品制备诸如颗粒在样品中的优选的取向而波动。自动或固定的发散狭缝的使用也将会影响相对强度的计算。在这里所包括的 XRPD 曲线所示强度只是示例性的，不能被用作绝对比较。

本发明所述的水活度，是指乙醇水溶液中水的平衡蒸气压与相同温度下纯水的饱和蒸气压的比值。

本发明对于干燥的温度不做限定，只要能够实现本申请的目的即可，例如，可以在 10°C 至 -30°C 温度范围内干燥。

本发明所述的治疗有效量，指一种药物用于治疗对象时对于治疗一种疾病、或一种疾病或病症的至少一种临床症状时，足以影响对疾病、病症或症状的这种治疗的量。治疗有效量可以随着药物、疾病或病症的症状，疾病或病症的症状的严重程度等变化。在任意可能的情况下，一个合适的剂量对那些本领域的技术人员可以是显而易见的，也可以是用常规实验确定的。

本发明所述的药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂，指不会不利地影响与其共同配制的晶型的药理活性的且对于动物使用也是安全的无毒性的载体、稀释剂或赋形剂。可以在本发明的晶型中使用的药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂包括但不限于离子交换剂、氧化铝、硬脂酸铝、硬脂酸镁、卵磷脂、血清蛋白、缓冲物质如磷酸盐、甘氨酸、山梨酸、山梨酸钾、饱和的植物脂肪酸的偏甘油酯混合物、水、盐或电解质如硫酸鱼精蛋白、磷酸氢二钠、磷酸氢钾、氯化钠、锌盐、硅胶、三硅酸镁、聚乙烯吡咯烷酮、纤维素类物质（例如微晶纤维素、羟丙基甲基纤维素、乳糖一水合物、月桂基硫酸钠和交联羧甲基纤维素钠）、聚乙二醇、羧甲基纤维素钠、聚丙烯酸酯、蜡、聚乙烯-聚环氧丙烷嵌段聚合物、聚乙二醇和羊毛脂等。

包含本发明晶型的药物组合物可通过口服、鼻吸入、直肠、肠胃外或局部施用等方式进行给药。用于口服时，药物组合物可以制成诸如片剂、粉剂、颗粒剂、胶囊剂等常规的固体剂型，诸如水或油悬浮剂的液体剂型，或诸如糖浆、溶液、悬浮液等的其他液体剂型；用于肠胃外给药时，药物组合物可以制成溶液、水溶液、油性悬浮剂、冻干粉针等。

附图说明

为了更清楚地说明本发明实施例和现有技术的技术方案，下面对实施例和现有技术中

所需要使用的附图作简单地介绍，显而易见地，下面描述中的附图仅仅是本发明的一些实施例，对于本领域普通技术人员来讲，还可以根据这些附图获得其他的附图。

图 1 为无定形化合物的 X-射线粉末衍射图；

图2 晶型A的X-射线粉末衍射图；

5 图3 晶型A的差示扫描量热图谱和热重分析图谱的叠图；

图4 晶型A的立体结构图；

图5 晶型H的X-射线粉末衍射图；

图6 晶型H的差示扫描量热图谱和热重分析图谱的叠图；

图7 晶型S的X-射线粉末衍射图；

10 图8 晶型S的差示扫描量热图谱和热重分析图谱的叠图；

图9 晶型O的X-射线粉末衍射图；

图10 晶型O的差示扫描量热图谱和热重分析图谱的叠图；

图11 晶型P的X-射线粉末衍射图；

图12 晶型P的差示扫描量热图谱和热重分析图谱的叠图；

15 图13 晶型Q的X-射线粉末衍射图；

图14 晶型Q的偏光显微镜照片；

图15 晶型Q的差示扫描量热图谱和热重分析图谱的叠图；

图16 晶型Q的核磁共振氢谱图；

图17 晶型Q的动态气相吸附图；

20 图18 晶型M的X-射线粉末衍射图；

图19 晶型M的差示扫描量热图谱和热重分析图谱的叠图；

图20 晶型M的核磁共振氢谱图；

图21 晶型A对特应性皮炎动物模型治疗期间各组皮肤厚度变化图；

图22 晶型A对特应性皮炎动物模型治疗期间各组平均耳廓厚度变化图；

25 图23 晶型A对特应性皮炎动物模型治疗期间各组皮损严重性指数严重性指数评分变化图；

图24 晶型A对银屑病动物模型治疗期间各组皮肤厚度变化图；

图25 晶型A对银屑病动物模型治疗期间各组银屑病面积与严重性指数评分变化图。

缩略语：

- XRPD: X 射线粉末衍射;
- TGA: 热重分析;
- DSC: 差示扫描量热仪;
- ¹H-NMR: 核磁共振氢谱;
- 5 PLM: 偏光显微镜;
- DVS: 动态蒸汽吸附仪;
- SXRD: 单晶 X 射线衍射;
- HPLC: 高效液相色谱;
- LC-MS/MS: 液相色谱串联质谱;
- 10 ACN: 乙腈;
- DCM: 二氯甲烷;
- n-heptane: 正庚烷;
- MeOH: 甲醇;
- EtOH: 乙醇;
- 15 EtOAc: 乙酸乙酯;
- IPA: 异丙醇;
- 2-MeTHF: 2-甲基四氢呋喃;
- 2-Butanol: 2-丁醇;
- MEK: 丁酮;
- 20 THF: 四氢呋喃;
- MTBE: 甲基叔丁基醚;
- FaSSIF: 模拟禁食肠液;
- SIF: 模拟肠液;
- FeSSIF: 模拟进食肠液;
- 25 SGF: 模拟胃液;
- RH: 相对湿度;
- AD: 特应性皮炎;
- SI: 皮损严重性指数;
- PASI: 银屑病面积与严重性指数;

Mean±SD: 平均值±标准偏差;

Mean±SEM: 平均值±标准误差;

AAALAC: 国际实验动物评估和认可委员会;

SPF: 无特定病原体动物;

5 IVC: 独立通气笼盒。

具体实施方式

为使本发明的目的、技术方案及优点更加清楚明白，以下参照附图并举实施例，对本发明进一步详细说明。显然，所描述的实施例仅仅是本发明一部分实施例，而不是全部的实施例。基于本发明中的实施例，本领域普通技术人员所获得的所有其他实施例，都属于
10 本发明保护的范围。

除非另有说明，本发明所用到的检测仪器信息和检测方法如下：

(1) X-射线粉末衍射分析

使用布鲁克D2型号X-射线粉末衍射仪，在环境条件下收集样品的X-射线粉末衍射数据，X-射线发射器功率为300W。样品台无背景信号，步速为0.15 s/步，总步数为1837步，步长
15 为 $2\theta = 0.02^\circ$ ，电压为30 kV，电流为10 mA。X-射线管采用Cu靶 ($K\alpha$)， $K\alpha_2/K\alpha_1$ 强度比为0.50 ($1.54439 \text{ \AA}/1.5406 \text{ \AA}$)。

(2) 热重分析

使用 TA Discovery 系列的热重仪 TGA550 收集样品的热重数据。取若干毫克样品放入 Tzero 铝盘中，在 N₂ 保护下从室温加热到 300.0 °C，N₂ 流速为 25 mL/分钟，升温速率为 10
20 °C/分钟。

(3) 差示扫描量热分析

使用 TA Discovery 系列的差式扫描量热仪 DSC2500 收集样品的热数据。称量若干毫克样品在 Tzero 铝盘中，用 Tzero 密封盖密封。在 N₂ 保护下加热到 300.0 °C，N₂ 流速为 50
25 mL/分钟，升温速率为 10 °C/分钟。

(4) 偏光显微镜

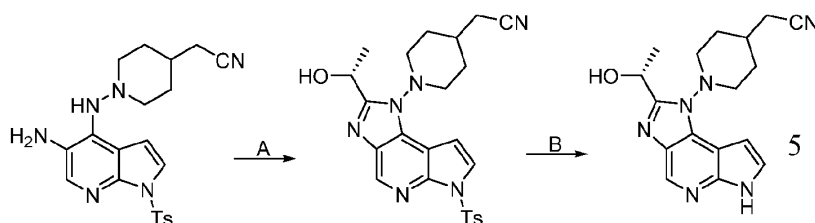
使用 Olympus 的 BX3M-KMA-S 型号偏光显微镜，在室温条件下观察晶型的形状，拍摄得到 PLM 照片。

(5) 动态气相吸附仪

使用 ADVENTURE 系列动态气相吸附仪在 N₂ 保护下收集样品的吸湿性数据。样品用
30 量约 30 mg。

以下结合具体实施例对本发明进行详细说明。

实施例1：式(I)化合物的无定形物的制备



步骤1：将三乙基氧膦四氟化硼(251mg, 1.32mmol)和R-乳酰胺(118mg, 1.32mmol)溶解在8mL四氢呋喃中，室温下搅拌反应2小时。减压浓缩得到无色油状物，将其溶解在5mL无水乙醇中，加至溶解有化合物2-(1-((5-氨基-1-对甲苯磺酰基-1H-吡咯并[2, 3-b]吡啶-4-基)氨基)哌啶-4-基)乙腈(189mg, 0.44mmol)的5mL无水乙醇中。升温至75℃搅拌反应1小时。反应完成后用碳酸氢钠水溶液淬灭，加入30mL水，用乙酸乙酯萃取(3×30mL)，合并有机相，用50mL饱和食盐水洗涤，无水硫酸钠干燥。抽滤，减压浓缩滤液，硅胶柱柱层析得化合物(R)-2-(1-(2-(1-羟乙基)-6-对甲苯磺酰咪唑并[4, 5-d]吡咯并[2, 3-b]吡啶-1(6H)-基)哌啶-4-基)乙腈(110mg, 产率52%)。LCMS ESI(+) m/z: 479.1 (M+1)。

步骤2：将化合物(R)-2-(1-(2-(1-羟乙基)-6-对甲苯磺酰咪唑并[4, 5-d]吡咯并[2, 3-b]吡啶-1(6H)-基)哌啶-4-基)乙腈(110mg, 0.23mmol)溶解在9mL甲醇中，加入1N氢氧化钠水溶液3mL，室温搅拌反应16小时。反应完成后用乙酸调pH至7-8，减压浓缩，硅胶柱柱层析和高效液相制备得到化合物(R)-2-(1-(2-(1-羟乙基)-咪唑并[4, 5-d]吡咯并[2, 3-b]吡啶-1(6H)-基)哌啶-4-基)乙腈(30mg, 产率40%)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 11.92 (s, 1H), 8.55 (s, 1H), 7.50 (d, J=3.4Hz, 1H), 6.73 (d, J=3.4Hz, 1H), 5.31 (s, 1H), 5.16 (q, J=6.6Hz, 1H), 3.65-3.53 (m, 2H), 3.15 (dd, J=30.2, 10.0Hz, 2H), 2.64 (d, J=6.4Hz, 2H), 2.17-2.04 (m, 1H), 1.98-1.89 (m, 2H), 1.72-1.60 (m, 2H), 1.56 (d, J=6.6Hz, 3H)。LCMS ESI(+) m/z: 325.0 (M+1)。经测定，其XRPD图谱如图1所示，所得终产物为无定形物。

(该制备方法已记载在申请人所拥有的化合物专利WO2021051899A1说明书第11页中。)

实施例2：式(I)化合物晶型A的制备

在4 mL玻璃瓶中称量15 mg式(I)无定形物，加入乙醇至溶清样品，并将其放入装有4 mL正庚烷的20 mL玻璃瓶中。将20 mL玻璃瓶盖紧，放置在室温条件下，直至有固体析出，分离固体，经XRPD、TGA、DSC测定，所得固体为晶型A。

实施例3：式（I）化合物晶型A的制备

取1.5kg式（I）无定形物溶于15L乙醇中，75℃-85℃搅拌，使物料溶清。然后在35℃-55℃下浓缩至1.5L-3L，将得到的浓缩液在5℃-15℃的温度下搅拌1-2小时，析出固体；过滤，干燥，得到0.95kg固体，经XRPD、TGA、DSC测定，所得固体为晶型A。

5 实施例4：式（I）化合物晶型H的制备

称量15 mg晶型A样品，加入0.4 mL ACN，并在室温条件下进行磁力搅拌，得到悬浊液。约一周后分离固体，经XRPD、TGA、DSC测定，所得固体为晶型H。

实施例5：式（I）化合物晶型S的制备

10 将晶型Q（实施例8）加热到165℃，得到固体，经XRPD、TGA、DSC测定，所得固体为晶型S。

实施例6：式（I）化合物晶型O的制备

称量15 mg晶型A样品，加入0.4 mL DCM/n-heptane溶液（2:1，v/v），并在室温条件下进行磁力搅拌，得到悬浊液。约一周后分离固体，N₂保护下加热所得固体到165℃后冷却至室温，经XRPD、TGA、DSC测定，所得固体为晶型O。

15 实施例7：式（I）化合物晶型P的制备

称取15 mg晶型A样品，加入MeOH溶剂，室温搅拌实验得到澄清的储备液。将储备液分装在20 mL玻璃瓶中，在磁力搅拌条件下，向玻璃瓶中逐步加入0.2mL-0.5 mL相应的水直至出现固体，分离固体，加热固体至120℃后得到固体，经XRPD、TGA、DSC测定，所得固体为晶型P。

20 实施例8：式（I）化合物晶型Q的制备

将晶型A在水活度为0.6-0.8的乙醇水溶液中搅拌至产生固体，离心分离，将收集的固体干燥，经XRPD、TGA、DSC测定，所得固体为晶型Q。

实施例9：式（I）化合物晶型M的制备

25 称取15 mg晶型A样品，加入EtOH溶剂，室温搅拌实验得到澄清的储备液。将储备液分装在20 mL玻璃瓶中，在磁力搅拌条件下，向玻璃瓶中逐步加入0.2mL-0.5 mL相应的EtOAc溶液，室温缓慢挥发，经XRPD、TGA、DSC测定，所得固体为晶型M。

实施例10：单晶X射线衍射（SXRD）实验

30 晶体制备：称量15mg式（I）化合物晶型A样品于15mL试管中，加入1mL二氯甲烷溶解，再加入2mL乙醇。试管口覆封口膜，用针头在封口膜上扎5-10个小洞，静止挥发。约三周后溶液挥发完毕，于试管底部得无色块状晶体。

对晶体进行单晶X射线衍射分析。结果表明晶体呈无色块状，衍射分析所用晶体大小为0.09×0.09×0.08mm³，属于单斜晶系，空间群为P1211，晶胞参数：a=9.6796(4)Å，α=90°，

b=14.0338(6)Å, β=108.829.218(2)°, c=14.5745(6)Å, γ=90°, 晶胞体积 V=1873.87(14)Å³, 晶胞内分子数 Z=4, 单位晶格的独立区域内含有 1 个分子。

实施例 11：热力学分析实验

将晶型H和晶型S分别在N₂保护下加热至适当温度，冷却至室温后测定固体的XRPD。
5 结果：1) 晶型H加热到162 °C，晶型H样品部分转为晶型A；加热到210 °C，样品完全转为晶型A。2) 晶型S加热到215 °C，晶型S样品转化为晶型A。

分析：1) 结合晶型H的TGA/DSC图谱可知，加热到210 °C样品失重为0.6%，且DSC在熔融前有两处放热峰。根据Burger-Ramberger规则，晶型H和晶型A为单变关系。

2) 结合晶型S的TGA/DSC图谱可知，加热到210 °C样品失重为1.6%，且DSC在熔融前
10 有1处放热峰。根据Burger-Ramberger规则，晶型S和晶型A为单变关系。

本实验证明相比于晶型H和晶型S，晶型A的热力学更稳定。

实施例 12：混悬竞争实验

在室温和60 °C两个条件下，将晶型A、晶型O或晶型P以IPA和2-MeTHF为溶剂设置混悬竞争实验。

15 具体操作为：称量4份过量晶型A到4个HPLC小瓶中，2份加入0.5 mL IPA，另2份加入0.5 mL 2-MeTHF，分别放置在室温和60 °C磁力搅拌约1 小时，用预热的尼龙膜（孔径22 μm）过滤得到饱和溶液；向饱和滤液中加入晶型A、晶型O和晶型P各1mg-2 mg，在室温或60 °C磁力搅拌约1天，离心分离固体用于XRPD测试。混悬竞争实验结果如表3所示。

表3 混悬竞争实验结果

起始晶型	溶剂	温度 (°C)	所得晶型
晶型 A/晶型 O/晶型 P	IPA	室温	晶型 A
	2-MeTHF		晶型 A
	IPA	60	晶型 A
	2-MeTHF		晶型 A

20 结果表明，室温和60 °C条件下两种溶剂中所得固体均为晶型A，说明相比晶型O和晶型P，晶型A在室温和60 °C下均更稳定。

实施例 13：动态溶解度

在 37 °C 条件下测试晶型 A 和晶型 Q 在 3 种生物溶媒（模拟胃液、模拟禁食肠液、模拟进食肠液）中的动态溶解度，用来评价两晶型的溶解度和稳定性。

25 生物溶媒制备的具体操作如下：

(1) FaSSIF 的制备方法：a.在 100 mL 烧杯中称取 42 mg NaOH、395 mg NaH₂PO₄•H₂O 和 619 mg NaCl，加入 90 mL 去离子水溶解；b.用 1N NaOH 或 1N HCl 调节 pH 至 6.5；用

去离子水定容至 100 mL, 得到 FaSSIF 空白溶媒; c. 称取 224 mg 模拟肠液 (Simulated Intestinal Fluid, 下文称为 SIF 粉) 加入 50 mL 上述 FaSSIF 空白溶媒, 搅拌至完全溶解; 用 FaSSIF 空白溶媒定容至 100 mL, 制得溶媒 FaSSIF; d. 使用前室温静置 2 小时。

(2) FeSSIF 的制备方法: a. 在 100 mL 烧杯中称取 404 mg NaOH、865 mg 冰醋酸和 1189 mg NaCl, 加入 90 mL 去离子水溶解; b. 用 1N NaOH 或 1N HCl 调节 pH 至 5.0; 用去离子水定容至 100 mL, 得到 FeSSIF 空白溶媒; c. 称取 1120 mg SIF 粉加入 50 mL 上述 FeSSIF 空白溶媒, 搅拌至溶解; 用 FeSSIF 空白溶媒定容至 100 mL, 制得溶媒 FeSSIF; d. 使用前室温静置, 确保为澄清溶液。

(3) SGF 的制备方法: a. 100 mL 烧杯中称取 200 mg NaCl, 加入 90 mL 去离子水溶解; b. 用 1N HCl 调节 pH 至 1.6; 用去离子水定容至 100 mL, 得到 SGF 空白溶媒; c. 称取 6 mg SIF 粉加入 50 mL 上述 SGF 空白溶媒, 搅拌至溶解; 用 SGF 空白溶媒定容至 100 mL, 制得溶媒 SGF; d. 使用前室温静置, 确保为澄清溶液。

动态溶解度测试的具体方法为: 将约 40 mg 晶型 A 或晶型 Q 分别加入 4 mL 3 种生物溶媒中, 恒温 37°C 振荡 (100 rpm)。1、4、24 小时分别取悬浊液 (或澄清溶液) 1.3 mL, 悬浊液离心 5 分钟, 所得固体用于晶型检测 (XRPD)、上清液/澄清液过滤后用于溶解度测试和 pH 测试。

使用高效液相色谱仪 (配有图像二极管阵列检测器) 收集样品的溶解度数据。
测试结果: 动态溶解度测试结果如表 4 所示。

表 4 动态溶解度的测定结果

37 °C 下 SGF 中的动态溶解度									
样品	1 小时			4 小时			24 小时		
	溶解度	pH	晶型变化	溶解度	pH	晶型变化	溶解度	pH	晶型变化
晶型 A	0.72	2.92	无变化	0.79	2.99	--	0.82	2.95	无变化
晶型 Q	0.62	2.60	无变化	0.69	2.98	--	0.67	2.71	无变化
37 °C 下 FaSSIF 中的动态溶解度									
样品	1 小时			4 小时			24 小时		
	溶解度	pH	晶型变化	溶解度	pH	晶型变化	溶解度	pH	晶型变化
晶型 A	0.05	6.41	无变化	0.06	6.49	--	0.05	6.54	无变化
晶型 Q	0.03	6.45	无变化	0.04	6.40	--	0.03	6.49	无变化
37 °C 下 FeSSIF 中的动态溶解度									
样品	1 小时			4 小时			24 小时		

	溶解度	pH	晶型变化	溶解度	pH	晶型变化	溶解度	pH	晶型变化
晶型 A	0.08	4.92	无变化	0.08	4.95	--	0.09	4.99	无变化
晶型 Q	0.05	4.96	--	0.04	4.98	--	0.05	5.00	无变化

注：起始样品：晶型 A，晶型 Q
--：24 小时未溶样品晶型与起始样品相同，因此未测试 1 小时或 4 小时未溶样品晶型。

结果表明：37℃ 下 24 小时内，1）晶型 A 在 3 种溶媒（SGF/FaSSIF/FeSSIF）中的溶解度均比晶型 Q 大；2）晶型 A 和晶型 Q 在 SGF/FaSSIF/FeSSIF 中悬浮搅拌 24 小时，晶型均稳定不变。

实施例 14：固态稳定性

测试方法：分别称取 17-20 mg 晶型 A 和晶型 Q 样品在 HPLC 小瓶中，敞口置于 1）25℃/60%RH，2）40℃/75%RH，3）60℃ 三种条件下。对起始样品、储存一周的样品和储存两周的样品进行纯度测试（通过 HPLC）和晶型检测（通过 XRPD）。具体结果如表 5 所示。

表 5 晶型 A 和晶型 Q 的 2 周稳定性研究数据

起始样品		条件	1 周		2 周	
晶型	纯度（%）		纯度（%）	晶型变化	纯度（%）	晶型变化
晶型 A	99.59	25℃/60%RH	99.64	无变化	99.60	无变化
		40℃/75%RH	99.62		99.60	
		60℃	99.62		99.66	
晶型 Q	99.87	25℃/60%RH	99.80	无变化	99.87	无变化
		40℃/75%RH	99.93		99.87	
		60℃	99.91		99.92	

结果表明：1）纯度：在所选条件下放置一周和两周后，晶型 A 和晶型 Q 纯度无明显变化。2）晶型变化：晶型 A 和 Q 在 3 种不同条件下储存 0、1、2 周的 XRPD 对比结果表明，在所选条件下放置一周和两周后，晶型 A 和晶型 Q 的晶型均无改变。

结论：晶型 A 和晶型 Q 两种晶型均具有较好的固态稳定性。

实施例 15：晶型稳定性试验

将晶型M在温度为25℃、湿度为55%RH下储存35天，测试固体的XRPD，经检测，晶型M转变为晶型A。

结果表明，在环境温度及湿度下，晶型M不稳定，容易转变为稳定的晶型A。

实施例 16：引湿性实验

参照中国药典 2020 版四部通则 9103 药物引湿性试验指导原则测定上述晶型的吸湿

性。

引湿性的判断标准为：

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%；

5 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%。

由检测结果可知，晶型 A 引湿增重为 0.05%，为无或几乎无引湿性。相比本专利记载的其他晶型，更适合于固体制剂的制备。

10 实施例 17：影响因素试验

测定本发明的晶型在加速试验条件下的稳定性。将晶型 A、晶型 H、晶型 S、晶型 O、晶型 P、晶型 Q 和晶型 M 分别置于 5000Lx 光照环境、60℃ 高温环境和 90%RH±5%RH 高湿环境下进行稳定性测试，分别于第 0 天、第 5 天、第 10 天和第 30 天取样，所取样品记录含量、总杂质，XRPD 图并与初始数据比较。比较结果发现，晶型 A、晶型 H、晶型 S、晶型 O、晶型 P、晶型 Q 和晶型 M 具有较好的稳定性，尤其是晶型 A 具有更好的稳定性。

15 晶型 A 的影响因素试验数据如下表 5a 所示：

表 5a 晶型 A 的影响因素试验数据

考察项目	0d	高温试验			高湿试验			光照试验		
		(60℃)			(25℃, 90±5%RH)			(照度 5000Lx 和紫外灯能量 0.9W/m²)		
		5d	10d	30d	5d	10d	30d	5d	10d	30d
总杂质	0.325%	0.34%	0.33%	0.35%	0.32%	0.31%	0.32%	0.34%	0.36%	0.43%
含量 (%)	99.1%	100.2%	100.4%	100.3%	100.1%	100.1%	100.1%	99.5%	98.9%	99.4%
XRPD 测试	晶型 A	晶型 A	晶型 A	晶型 A	晶型 A	晶型 A	晶型 A	晶型 A	晶型 A	晶型 A

实施例 18：药代动力学实验

SD 大鼠 12 只，分为两组，每组 6 只，雌雄各半，分别单次灌胃给药；分别在指定的

20 时间点通过眼底静脉丛采血，分离血浆，放入-80℃冰箱保存。

上述血浆样品，乙腈沉淀蛋白后，取上清用水稀释，取 5μL 至 LC-MS/MS 检测。

结果发现，晶型 A 样品在体内的生物利用度高，满足药物开发的需要。

药理药效实验

实施例 A 特应性皮炎动物模型的药效作用。

1、实验材料

(1) 实验动物及饲养方法

5 BALB/C 小鼠，55 只，雌性，购买时周龄 6 周，实验时周龄 8 周，体重 18g-20g。动物来源于上海灵畅生物科技有限公司（SCXK（沪）2018-0003），实验动物生产合格证编号 20180003012342；实验动物使用许可证号：SYXK（沪）2020-0001（维亚生物科技（上海）有限公司）。

10 所有的小鼠饲养于 SPF 级动物房 IVC 恒温恒压系统中，其中温度 20℃-26℃，湿度 40%-70%，光照周期 12 小时明 12 小时暗。每个笼盒内饲养 6 只小鼠，笼盒大小为 325 mm × 210 mm × 180 mm，笼盒内使用垫料每周更换两次。在整个实验过程中，所有实验小鼠均可以自由饮食，饲料和水均经过高压灭菌，每周更换 2 次。

(2) 受试样品

- 15 a.托法替尼（Tofacitinib），游离碱，纯度为 98%，总量为 200 mg，保存温度为 4℃。
b.乌帕替尼（Upadacitinib），游离碱，纯度为 98%，总量为 70mg，保存温度为 4℃。
c.晶型 A，游离碱，纯度为 99.7%，总量为 300 mg，保存温度为 4℃。

2、实验步骤与方法

20 建模和给药方法：将每只动物从头顶到背部约 5cm×2cm 的区域的毛发用脱毛膏进行脱毛，脱毛膏涂抹时间控制在 2 分钟内，用温水清洗脱毛区域，将脱毛剂洗净，立即用吹风机将动物毛发吹干，并将动物置于 37℃ 恒温电热毯上 1h-2h，动物正常自由活动后置于饲养笼内正常饲养恢复 1 天（如有动物脱毛后皮肤红肿破损将其剔除）。第二天挑选 42 只皮肤正常的动物按照体重进行随机分组，每组 6 只，共 7 组。除 G1 正常对照组外，其余各组每只动物连续三天每天背部和耳廓均匀涂抹 200μL 的 0.5wt%二硝基氯苯溶液（溶剂为质量比为 3：1 的丙酮和橄榄油）进行诱导（诱导第一阶段），第 14 天后开始第二阶段诱导，每三天一次用 1wt%二硝基氯苯溶液（溶剂为质量比为 3：1 的丙酮和橄榄油）进行诱导直到实验结束，同时开始治疗给药，分组给药见表 6。

表 6 AD 模型药效实验的给药途径、给药剂量及分组

组号	动物数	二硝基氯苯	给药组	给药剂量 (mg/kg)	给药途径	给药频率
1	6	-	空白对照组	-	-	-
2	6	+	阴性对照组	-	口服	每天2次*14天
3	6	+	托法替尼	30	口服	每天2次*14天
4	6	+	乌帕替尼	10	口服	每天2次*14天

5	6	+	晶型A	3	口服	每天2次*14天
6	6	+	晶型A	10	口服	每天2次*14天
7	6	+	晶型A	30	口服	每天2次*14天

受试药物的配制方法：如表 7 所示。

表 7 受试药物的配制方法

样品名称	配制方法	给药浓度（mg/mL）	储存
托法替尼	0.5 g甲基纤维素+0.25 mL吐温20， 加无菌去离子水至100 mL，然后加入300 mg托法替尼超声震荡至全溶	3mg/mL，每天2次	4℃
晶型A	取三份0.5 g甲基纤维素， 分别加无菌去离子水至100 mL，然后分别 加入300 mg，100 mg，30 mg 晶型A超声震荡至全溶	3mg/mL，1mg/mL， 0.3mg/mL， 每天2次	4℃
乌帕替尼	0.5 g甲基纤维素 +0.25 mL吐温20， 加无菌去离子水至100 mL，然后加入100 mg乌帕替尼超声震荡至全溶	1mg/mL，每天2次	4℃

3、实验观察

在整个实验过程中，对实验动物的使用和观察均按照 AAALAC 动物使用和管理的相关规定进行。

4、评估指标

皮肤厚度（双层）：在建模前 1 天，建模后第 14 天，第 17 天，第 20 天，第 23 天，第 26 天，第 28 天使用游标卡尺测量背部皮肤双层厚度。

耳廓厚度：在建模前 1 天，建模后第 14 天，第 17 天，第 20 天，第 23 天，第 26 天，第 28 天使用游标卡尺测量右耳廓厚度。

AD-SI 评分：病情评分参照临床 SI 评分标准，对皮色/红斑，鳞屑红斑，鳞屑/脱皮/苔藓化，增厚，增厚/水肿程度三个指标进行评分，总分 12 分，评分标准如下：

红斑/皮肤颜色：0 分，无；1 分，轻微：呈淡红色；2 分，中度：红色；3 分，显著：深红色；4 分，非常明显：红色极深。

鳞屑/脱皮/苔藓化：0 分，无；1 分，轻微：部分表皮上有鳞屑/脱皮/苔藓化，以细微的为主；2 分，中度：大部分皮肤表面完全或不完全覆盖有鳞屑/脱皮/苔藓化，呈片状；3 分，显著：几乎全部皮肤覆盖有鳞屑/脱皮/苔藓化，鳞屑/脱皮/苔藓化较厚成层；4 分，非常明显：全部皮肤覆盖有鳞屑/脱皮/苔藓化，很厚成层。

增厚/水肿：0 分，无：与正常皮肤齐平；1 分，轻微：轻微高出正常皮肤表面；2 分，中度：中等隆起，斑块边缘为园或者斜坡型；3 分，显著：斑块肥厚，隆起明显；4 分，非

常显著：高度增厚，隆起非常明显。

皮肤/耳廓增生抑制率(%)=1-【(治疗组的皮肤/耳廓厚度-空白对照组皮肤/耳廓厚度)/阴性对照组皮肤/耳廓厚度-空白对照组皮肤/耳廓厚度)】%。

5、实验终止

5 治疗 14 天后结束实验，安乐死动物，解剖分离小鼠背部皮肤和耳廓，一半福尔马林固定保存，一半-80℃保存。

6、数据分析

所有数据均采用 Mean±SD 或 Mean±SEM 表示，使用统计学分析软件 SPSS23.0 对数据进行正态分布和方差齐性检验，根据结果选择和方差齐性检验，根据结果选择单因素方差分析法。*P<0.05 将被认为具有统计学意义的显著性差异。

10

7、实验结果

(1) 受试药物对皮肤厚度的影响

在治疗第 10 天时，各组平均皮肤厚度变化以及抑制效果见表 8、表 9 和图 21。图 21 为治疗期间各组皮肤厚度变化图（注：*P<0.05，**P<0.01，***P<0.001 均与 G2 阴性对照

15 组比较）。

表 8 平均皮肤厚度（双层）变化数据（Mean±SEM）（n=6）

组别	平均皮肤厚度（双层）（mm）				
	第0天	第1天	第4天	第7天	第10天
G1 空白对照组	0.61±0.01	0.87±0.02	0.81±0.02	0.57±0.01	0.63±0.01
G2 阴性对照组	0.60±0.02	1.04±0.02	1.66±0.17	2.67±0.3	2.64±0.2
G3.托法替尼30mg/kg	0.63±0.03	0.99±0.03	1.13±0.1*	1.78±0.11	2.08±0.13
G4.乌帕替尼 10mg/kg	0.60±0.02	0.89±0.04	1.07±0.05*	2.06±0.25	2.23±0.14
G5.晶型A 3mg/kg	0.63±0.01	0.98±0.01	1.08±0.01**	1.85±0.12	2.35±0.15
G6.晶型A 10mg/kg	0.60±0.02	0.94±0.02	1.14±0.04	1.49±0.09*	2.23±0.17
G7.晶型A 30mg/kg	0.62±0.02	0.79±0.05	1.05±0.03**	1.01±0.08***	1.56±0.21*

注：*P<0.05，**P<0.01，***P<0.001 均与 G2 阴性对照组比较

表 9 治疗第 10 天时各治疗组的皮肤增厚抑制情况（n=6）

组别	第10天平均皮肤厚度（mm）	抑制率	P值
G1 空白对照组	0.63	/	
G2 阴性对照组	2.64	/	
G3.托法替尼 30mg/kg	2.08	27.86%	0.118
G4.乌帕替尼 10mg/kg	2.23	20.40%	0.390
G5.晶型A 3mg/kg	2.35	14.43%	0.580
G6.晶型A 10mg/kg	2.23	20.40%	0.312
G7.晶型A 30mg/kg	1.56	53.73%	0.007**

注：*P<0.05，**P<0.01，***P<0.001 均与 G2 阴性对照组比较

(2) 受试药物对耳廓厚度的影响

在治疗第 10 天时，各组平均耳廓厚度变化以及抑制效果见表 10、表 11 和图 22。图 22 为治疗期间各组平均耳廓厚度变化图（注：*P<0.05，**P<0.01，***P<0.001 均与 G2 阴性对照组比较）。

表 10 平均耳廓厚度数据（Mean±SEM）（n=6）

组别	平均皮肤厚度（双层）（mm）				
	第0天	第1天	第4天	第7天	第10天
G1 空白对照组	0.21±0.00	0.24±0.00	0.23±0.01	0.20±0.00	0.21±0.01
G2 阴性对照组	0.20±0.00	0.23±0.00	0.41±0.03	0.58±0.04	0.79±0.09
G3.托法替尼 30mg/kg	0.19±0.01	0.22±0.01	0.28±0.01***	0.44±0.03	0.64±0.05
G4.乌帕替尼 10mg/kg	0.20±0.01	0.24±0.01	0.32±0.03**	0.51±0.05	0.65±0.03
G5.晶型A 3mg/kg	0.20±0.00	0.22±0.01	0.30±0.01***	0.39±0.03*	0.57±0.04
G6.晶型A 10mg/kg	0.20±0.01	0.23±0.01	0.32±0.01**	0.43±0.03	0.54±0.07*
G7.晶型A 30mg/kg	0.21±0.01	0.22±0.01	0.29±0.02***	0.32±0.01***	0.50±0.03**

注：*P<0.05，**P<0.01，***P<0.001 均与 G2 阴性对照组比较

表 11 治疗第 10 天时各治疗组的耳廓增厚抑制情况（n=6）

组别	第10天平均皮肤厚度（mm）	抑制率	P值
G1 空白对照组	0.21	/	
G2 阴性对照组	0.79	/	
G3.托法替尼 30mg/kg	0.64	25.86%	0.289
G4.乌帕替尼 10mg/kg	0.65	24.14%	0.410
G5.晶型A 3mg/kg	0.57	37.93%	0.056
G6.晶型A 10mg/kg	0.54	43.10%	0.035*
G7.晶型A 30mg/kg	0.50	50.00%	0.006**

注：*P<0.05，**P<0.01，***P<0.001 均与 G2 阴性对照组比较

10 (3) 受试药物对 AD 模型动物 AD-SI 评分的影响

截止到治疗第 10 天时，各组 AD-SI 评分变化（n=6）见表 12 和图 23。图 23 为治疗期间各组 AD-SI 评分变化图。

表 12 治疗期间 AD-SI 评分数据

组别	AD-SI评分（Mean±SD）				
	第0天	第1天	第4天	第7天	第10天
G1 空白对照组	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
G2 阴性对照组	0.00	0.00	4.17±1.17	11.50±0.55	10.67±0.52
G3.托法替尼 30mg/kg	0.00	0.00	0.17±0.41***	7.17±0.98	6.33±1.37
G4.乌帕替尼 10mg/kg	0.00	0.00	1.00±0.00	6.50±1.05*	7.17±1.47
G5.晶型A 3mg/kg	0.00	0.00	1.00±0.00	6.50±1.05*	5.83±0.75*

G6.晶型A 10mg/kg	0.00	0.00	0.50±0.55**	5.83±1.17**	4.67±0.52**
G7.晶型A 30mg/kg	0.00	0.00	0.50±0.55**	3.00±2.19***	3.50±1.39***

注：*P<0.05，**P<0.01，***P<0.001 均与 G2 阴性对照组比较

结果分析：在治疗第 10 天时，使用晶型 A（30 mg/kg，每天 2 次）治疗的 G7 组平均背部双层皮肤厚度为 1.56mm，耳廓平均厚度为 0.5mm，平均评分为 3.5 分，与 G2 阴性对照组（平均背部双层皮肤厚度为 2.64mm，耳廓平均厚度为 0.79mm，平均 AD-SI 评分为 10.67 分）比较，有明显抑制背部皮肤炎性增厚，明显改善 AD 病症表现的作用，背部皮肤厚度抑制率为 53.73%，耳廓厚度抑制率为 50%，并且统计学上均有显著性差异（P<0.01）。

使用晶型 A（10 mg/kg，每天 2 次）治疗的 G6 组在治疗第 10 天时，平均耳廓平均厚度为 0.54mm，平均 AD-SI 评分为 4.67 分，与 G2 阴性对照组（耳廓平均厚度为 0.79mm，平均 AD-SI 评分为 10.67 分）比较，有明显抑制耳廓炎性增厚，改善 AD 病症表现的作用，耳廓厚度抑制率为 43.1%，并且统计学上均有显著性差异（P<0.05）；晶型 A（10 mg/kg，每天 2 次）治疗组的平均背部双层皮肤厚度为 2.23mm，与 G2 阴性对照组比较，有抑制背部皮肤炎性增厚作用，抑制率为 20.4%。

实施例 B：银屑病动物模型的药效作用。

1、实验材料

（1）实验动物及饲养方法

C57/BL 6J 小鼠，75 只，雌性，周龄 7-8 周，体重 18g-20g。动物来源于浙江维通利华实验动物技术有限公司（SCXK（浙）2019-0001），实验动物生产合格证编号 20210107Abzz0619000247；实验动物使用许可证号：SYXK（沪）2020-0001（维亚生物科技（上海）有限公司）。

所有的小鼠饲养于 SPF 级动物房 IVC 恒温恒压系统中，其中温度 20℃-26℃，湿度 40%-70%，光照周期 12 小时明 12 小时暗。每个笼盒内饲养 3-5 只小鼠，笼盒大小为 325 mm × 210 mm × 180 mm，笼盒内使用垫料每周更换两次。在整个实验过程中，所有实验小鼠均可以自由饮食，饲料和水均经过高压灭菌，每周更换 2 次。

（2）受试样品

- a.托法替尼（Tofacitinib），游离碱，纯度为 98%，总量为 100 mg，保存温度为 4℃。
- b.晶型 A，纯度为 99.7%，总量为 200 mg，保存温度为 4℃。

2、实验步骤与方法

建模和给药方法：将每只动物背部约 2cm×3cm 的区域的毛发用脱毛膏进行脱毛，脱毛膏涂抹时间控制在 2 分钟内，用温水清洗脱毛区域，将脱毛剂洗净，立即用吹风机将动物毛发吹干，并将动物置于 37℃恒温电热毯上 1h-2h，动物正常自由活动后置于饲养笼

内正常饲养恢复 1 天（如有动物脱毛后皮肤红肿破损将其剔除）。第二天挑 54 只皮肤为正常的动物按照体重进行随机分组，每组 9 只，共 6 组。G2-G6 组每只动物每天背部均匀涂抹 60mg（60μL）的 5wt%咪喹莫特乳膏（Aldara），连续七天。银屑病模型药效实验的给药途径，给药剂量及分组如表 13 所示。

5表 13 银屑病模型药效实验的给药途径、给药剂量及分组

组号	动物数	咪喹莫特乳膏	给药组	给药剂量 (mg/kg)	给药途径	给药频率
1	9	-	空白对照组	-	-	-
2	9	+	阴性对照组	-	口服	每天2次*7
3	9	+	托法替尼	30	口服	每天2次*7
4	9	+	晶型A	0.5	口服	每天2次*7
5	9	+	晶型A	1.5	口服	每天2次*7
6	9	+	晶型A	5	口服	每天2次*7

受试药物的配制方法：如表 14 所示。

表 14 受试药物的配制方法

样品名称	配制方法	给药浓度 (mg/mL)	储存
托法替尼	0.5g 甲基纤维素+0.25mL 吐温20，加无菌去离子水至100 mL，然后加入600 mg托法替尼超声震荡至全溶	6mg/mL，每天2次	4℃
晶型A	取三份0.5 g 甲基纤维素，分别加无菌去离子水至100 mL，然后分别加入10 mg，30 mg，100 mg 晶型A超声震荡至全溶	0.1mg/mL，0.3mg/mL，1mg/mL，每天2次	4℃

3、实验观察

在整个实验过程中，对实验动物的使用和观察均按照 AAALAC 动物使用和管理的相关规定进行。

4、评估指标

皮肤厚度（双层）：在给药和建模前，给药后第 1 天，第 3 天，第 5 天，第 7 天使用游标卡尺测量背部皮肤双层厚度。

15 PASI 评分：病情评分参照临床 PASI 评分标准，对红斑，鳞屑，增厚程度三个指标进行评分，总分 12 分，评分标准如下：

红斑：0 分，无；1 分，轻微：呈淡红色；2 分，中度：红色；3 分，显著：深红色；4 分，非常明显：红色极深。

20 鳞屑：0 分，无；1 分，轻微：部分表皮上有鳞屑，以细微的鳞屑为主；2 分，中度：大部分皮肤表面完全或不完全覆盖有鳞屑，呈片状；3 分，显著：几乎全部皮肤覆盖有鳞屑，鳞屑较厚成层；4 分，非常明显：全部皮肤覆盖有鳞屑，鳞屑很厚成层。

斑块增厚程度：0分，无：与正常皮肤齐平；1分，轻微：轻微高出皮肤表面；2分，中度：中等隆起，斑块边缘为圆或者斜坡型；3分，显著：斑块肥厚，隆起明显；4分，非常显著：高度增厚，隆起非常明显。

皮肤增生抑制率（%）=1-【（治疗组第7天的皮肤厚度-空白对照组第7天皮肤厚度）/（阴性对照组第7天皮肤厚度-空白对照组第7天皮肤厚度）】%。

实验结束后解剖分离小鼠背部皮肤，福尔马林固定保存。

5、实验终止

治疗7天后，安乐死动物，解剖分离小鼠背部皮肤，福尔马林固定保存。

6、数据分析

10 所有数据均采用 Mean±SEM 表示，使用统计学分析软件 SPSS23.0 对数据进行正态分布和方差齐性检验，根据结果选择和方差齐性检验，根据结果选择单因素方差分析法。
*P<0.05 将被认为具有统计学意义的显著性差异。

7、实验结果

（1）受试药物对皮肤厚度的影响

15 在治疗第7天时，各组平均皮肤厚度变化以及抑制效果见表15、表16和图24。图24为治疗期间各组皮肤厚度变化图。

表 15 平均皮肤厚度（双层）变化数据（Mean±SEM）（n=9）

组别	平均皮肤厚度（双层）（mm）				
	第0天	第1天	第3天	第5天	第7天
G1 空白对照组	0.51±0.01	0.54±0.01	0.54 ±0.01	0.67 ±0.02	0.81±0.03
G2 阴性对照组	0.51±0.01	0.62±0.02	1.73 ±0.11	2.04 ±0.13	1.59±0.12
G3.托法替尼 30mg/kg	0.51±0.01	0.66±0.02	1.28±0.09**	1.09±0.06***	1.05±0.04***
G4.晶型A 0.5mg/kg	0.50±0.01	0.60±0.01	1.57 ±0.11	1.27±0.1***	1.32±0.09
G5.晶型A 1.5mg/kg	0.50±0.01	0.61±0.02	1.76 ±0.15	1.53±0.08**	1.15±0.04**
G6.晶型A 5mg/kg	0.50±0.01	0.64±0.01	1.35 ±0.10*	1.24±0.11***	1.03±0.03***

注：*P<0.05， **P<0.01， ***P<0.001 均与 G2 阴性对照组比较

表 16 治疗第7天时各治疗组的皮肤增厚抑制情况（n=9）

组别	第7天平均皮肤厚度（mm）	抑制率	P值
G1 空白对照组	0.81	/	
G2 阴性对照组	1.59	/	
G3.托法替尼 30mg/kg	1.05	69.2%	0.000
G4.晶型A 0.5mg/kg	1.32	34.6%	0.159
G5.晶型A 1.5mg/kg	1.15	56.4%	0.017
G6.晶型A 5mg/kg	1.03	71.8%	0.000

注：*P<0.05， **P<0.01， ***P<0.001 均与 G2 阴性对照组比较

(2) 受试药物对银屑病模型动物疾病严重指数（PASI）评分的影响

治疗第 7 天时，各组 PASI 评分变化（n=9）见表 17 和图 25。图 25 为治疗期间各组 PASI 评分变化图。

5 表 17 治疗期间 PASI 评分数据

组别	PASI评分（Mean±SEM）				
	第0天	第1天	第3天	第5天	第7天
G1 空白对照组	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
G2 阴性对照组	0.0	0.0	6.1±0.59	8.3±0.65	9.6±0.29
G3.托法替尼 30mg/kg	0.0	0.0	4.6±0.50	4.9±0.42***	2.8±0.43***
G4.晶型A 0.5mg/kg	0.0	0.0	6.6±0.69	5.9±0.79**	6.1±0.56***
G5.晶型A 1.5mg/kg	0.0	0.0	6.1±0.56	7.0±0.53	4.9±0.39***
G6.晶型A 5mg/kg	0.0	0.0	4.9±0.48	4.7±0.58***	3.6±0.44***

注：*P<0.05， **P<0.01， ***P<0.001 均与 G2 阴性对照组比较

结果分析：使用晶型 A（0.5 mg/kg，每天 2 次）治疗的 G4 组在治疗第 7 天时，PASI 平均评分为 6.1 分与 G2 阴性对照组比较，有明显改善银屑病病症表现的作用，并且统计学上有显著性差异（P<0.05）。

10 使用晶型 A（1.5 mg/kg，每天 2 次）治疗的 G5 组和晶型 A（5 mg/kg，每天 2 次）治疗的 G6 组在治疗第 7 天时，平均背部双层皮肤厚度分别为 1.15mm 和 1.03mm，PASI 平均评分为 4.9 分和 3.6 分，与 G2 阴性对照组比较，有明显抑制背部皮肤炎性增厚，明显改善银屑病病症表现的作用，背部皮肤增厚抑制率为 56.4%和 71.8%，统计学上均有极显著差异（P<0.001）。

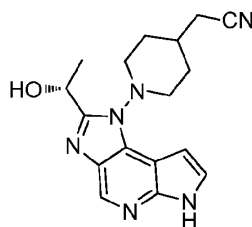
15 由上述内容可知，本发明提供的化合物（R）-2-（1-（2-（1-羟乙基）咪唑并[4，5-d]吡咯并[2，3-b]吡啶-1（6H）-基）哌啶-4-基）乙腈游离碱的新的晶型，稳定性好、溶解度高，且有抑制小鼠背部皮肤炎性增厚、耳廓炎性增厚等效果，可以有效改善特异性皮炎、银屑病的发病情况；制备方法操作简单、重现性好，可满足大规模工业化生产。

20 本说明书中的各个实施例均采用相关的方式描述，各个实施例之间相同相似的部分互相参见即可，每个实施例重点说明的都是与其他实施例的不同之处。

以上所述仅为本发明的较佳实施例而已，并不用以限制本发明，凡在本发明的精神和原则之内，所做的任何修改、等同替换、改进等，均应包含在本发明保护的范围之内。

权 利 要 求

1.一种式 (I) 化合物的晶型A, 其特征在于,



(I)

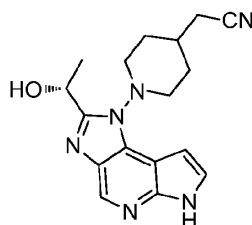
5 X射线粉末衍射图在 2θ 角为 $8.6^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $9.8^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $10.7^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $11.2^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $12.3^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $12.9^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $16.0^\circ \pm 0.2^\circ$ 和 $19.0^\circ \pm 0.2^\circ$ 处有特征峰。

2.根据权利要求1所述的晶型A, 其特征在于, X射线粉末衍射图在 2θ 角为 $8.6^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $9.8^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $10.7^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $11.2^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $12.3^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $12.9^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $16.0^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $17.0^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $17.4^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $17.8^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $19.0^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $19.9^\circ \pm 0.2^\circ$ 和 $21.2^\circ \pm 0.2^\circ$ 处有特征峰。

10 3.根据权利要求1或2中所述的晶型A, 其特征在于, X射线粉末衍射图基本上如表1所示。

4.根据权利要求1-3中任一项所述的晶型A, 其特征在于, X射线粉末衍射图基本上如图2所示。

5.一种式 (I) 化合物的晶型Q, 其特征在于,



(I)

15 X射线粉末衍射图在 2θ 角为 $8.5^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $14.5^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $15.0^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $16.8^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $19.4^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $23.6^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $24.8^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $26.3^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $27.4^\circ \pm 0.2^\circ$ 处有特征峰。

20 6.根据权利要求5所述的晶型Q, 其特征在于, X射线粉末衍射图在 2θ 角为 $8.5^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $14.5^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $15.0^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $15.8^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $16.8^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $18.8^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $19.4^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $20.1^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $23.6^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $24.8^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $26.3^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $27.4^\circ \pm 0.2^\circ$ 处有特征峰。

7.根据权利要求5或6所述的晶型Q, 其特征在于, X射线粉末衍射图基本上如图13所示。

8.一种药物组合物，其特征在于，包含有效治疗量的权利要求1-4中任一项所述的晶型A或权利要求5-7中任一项所述的晶型Q或其混合物及药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。

9.一种兽药组合物，其特征在于，包含有效治疗量的权利要求1-4中任一项所述的晶型A或权利要求5-7中任一项所述的晶型Q或其混合物及药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。

10.一种制备权利要求1-4中任一项所述晶型A的方法，其特征在于，包括：将式（I）化合物溶于乙醇中至澄清，然后浓缩；将得到的浓缩液搅拌，析出固体；过滤，干燥，得到所述晶型A。

11.权利要求1-4中任一项所述的晶型A或权利要求5-7中任一项所述的晶型Q或权利要求8所述的药物组合物或权利要求9所述的兽药组合物在制备药物中的用途。

12.权利要求11所述的用途，其特征在于，所述药物用于治疗、预防、延迟变应性反应、变应性皮炎、特应性皮炎、湿疹、瘙痒或银屑病。

13.权利要求12所述的用途，其特征在于，所述药物用于治疗、预防、延迟哺乳动物中的变应性反应、变应性皮炎、特应性皮炎、湿疹、瘙痒或银屑病。

14.权利要求13所述的用途，其特征在于，所述哺乳动物包括伴侣动物。

15.权利要求13或14所述的用途，其特征在于，所述哺乳动物包括家畜。

16.权利要求11-15中任一项所述的用途，其特征在于，所述药物用于治疗由JAK激酶介导的疾病。

17.一种用于治疗和/或预防疾病的方法，其特征在于，所述方法向有需要的哺乳动物施用治疗有效量的权利要求1-7中任一项所述的晶型或权利要求8所述的药物组合物或权利要求9所述的兽药组合物。

18.权利要求17所述的方法，其特征在于，所述治疗有效量是从0.01mg/kg体重/天到100mg/kg体重/天。

19.权利要求17或18所述的方法，其特征在于，所述治疗有效量是从0.1mg/kg体重/天到30mg/kg体重/天。

20.权利要求17-19中任一项所述的方法，其特征在于，所述疾病为由JAK激酶介导。

21.权利要求17-20中任一项所述的方法，其特征在于，所述哺乳动物包括伴侣动物。

22.权利要求17-21中任一项所述的方法，其特征在于，所述哺乳动物包括家畜。

23.权利要求17-22中任一项所述的方法，其特征在于，经口、胃肠外或局部地施用。