

Згідно з даною заявкою заявлений пріоритет за попередньою заявкою на патент США № 62/885977, поданою 13 серпня 2019 року. Повний зміст вищезгаданої заявки включений у даний документ за допомогою посилання.

Активін-рецептороподібна кіназа-2 (ALK2) кодується геном I типу рецептора активіну A (ACVR1). ALK2 являє собою серин/треонінову кіназу у шляху за участю кісткового морфогенетичного білка (BMP) (Shore et al., Nature Genetics 2006, 38: 525-27). Інгібітори ALK2 і мутантних форм ALK2 мають потенціал для лікування ряду захворювань, у тому числі прогресуючої осифікуючої фібродисплазії (FOP); гетеротопічної осифікації (HO), яка викликана, наприклад, значними хірургічними втручаннями, травмою (такою як черепно-мозкова травма або контузія), тривалою іммобілізацією або тяжкими опіками; дифузної гліоми стовбура головного мозку (DIPG) - рідкісної форми раку головного мозку; та анемії, асоційованої з хронічним запальним, інфекційним або неопластичним захворюванням.

CC(C)N1CC[C@H](C1)C(=O)O[C@H]2CC[C@H](C2)C(=O)N3CCN(C3)c4cnc5cc(cc45)-c6ccncc6C(=O)OCC

Успішна розробка фармацевтично активних засобів, таких як сполука (I), як правило, потребує ідентифікації твердої форми з властивостями, що забезпечують можливість легкого виділення та очищення після синтезу, форми, яка придатна для великомасштабного виробництва, яку можна зберігати протягом тривалих періодів часу з мінімальною абсорбцією води, розпадом або перетворенням на інші тверді форми, яка є підходящою для одержання складів, і яка може легко абсорбуватися після введення суб'єкту (наприклад, є розчинною у воді та у шлунковому соці).

Було виявлено, що вільна основа сполуки (I) є фізично нестабільною у вологих середовищах і проявляє тенденцію до перетворення у смолисту речовину при впливі води. Як наслідок, виявилось, що сполуку (I) важко виділяти при одержанні у промисловому масштабі.

На даний час також було виявлено, що 1,5:1 сіль бурштинової кислоти (тобто сесквісукцинатну сіль), 1:1 сіль хлороводневої кислоти (1:1 гідрохлоридну сіль) і 1:1 сіль фумарової кислоти (1:1 фумаратну сіль) можна кристалізувати у чітко визначених умовах з одержанням негігроскопічних кристалічних форм (див. приклади 2-7). Ці три солі також характеризуються хорошою розчинністю в воді та в імітації шлункового соку (див. таблицю 2), характеризуються високими температурами початку плавлення та є підходящими для великомасштабного синтезу. 1,5:1 Сіль бурштинової кислоти має додаткову перевагу, яка полягає в тому, що вона існує у вигляді одного поліморфу та не піддається тепловим переходам нижче своєї температури плавлення, що вказує на високий ступінь стабільності форми (див. приклад 2.4). Позначення «1:1» являє собою молярне співвідношення між кислотою (хлороводневою кислотою або фумаровою кислотою) та сполукою (I); і позначення «1,5:1» являє собою молярне співвідношення між кислотою (бурштиновою кислотою) та сполукою (I). Внаслідок наявності двох груп карбонової кислоти на бурштиновій кислоті та трьох основних атомів азоту у сполуці (I) можливими є декілька стехіометричних складів. Наприклад, сполука (I) утворює як 1:1 сіль хлороводневої кислоти, так і 2:1 сіль хлороводневої кислоти. 1:1 Сіль хлороводневої кислоти і сполуки (I) називається у даному документі «сполука (I)-HCl 1:1»; і 1,5:1 сіль бурштинової кислоти називається у даному документі «1,5:1 сесквісукцинатом сполуки (I)».

Сполуку (I)-HCl, фумарат сполуки (I) і сесквісукцинат сполуки (I) ідентифікували у результаті скринінгу солей із тринадцятьма різними кислотами (див. приклад 1). У результаті цього скринінгу солей ідентифікували тільки вісім кристалічних форм. Кристалічні солі утворювали з бензолсульфопоною кислотою, бензойною кислотою, фумаровою кислотою, HCl (1 та 2 молярними еквівалентами), малеїновою кислотою, саліциловою кислотою та бурштиновою кислотою. Із цих восьми солей безилат, малеат і HCl 2:1 виявились невідповідними внаслідок низького ступеня кристалічності та нестабільності у вологому навколишньому середовищі (поглинання вологи з

атмосфери); бензоат виявився невідходящим внаслідок слабкої розчинності у воді та високої втрати маси при плавленні; та саліцилат виявився невідходящим внаслідок слабкої розчинності у воді, високої втрати маси при плавленні та можливого поліморфізму.

Згідно з с одним аспектом дане розкриття відноситься до сукцинатної солі сполуки (I), причому молярне співвідношення між сполукою (I) і бурштиною кислотою становить 1:1,5. Як зазначено вище, цю сіль також називають у даному документі «1,5:1 сесквісукцинатом сполуки (I)».

Згідно з ще одним аспектом дане розкриття відноситься до солі сполуки (I) і HCl, причому молярне співвідношення між сполукою (I) і кислотою HCl становить 1:1. Як зазначено вище, цю сіль також називають у даному документі «1:1 сіль HCl і сполуки (I)».

Згідно з ще одним аспектом дане розкриття відноситься до фумаратної солі сполуки (I), причому молярне співвідношення між сполукою (I) і фумаровою кислотою становить 1:1. Цю сіль також називають у даному документі «1:1 фумаратна сіль сполуки (I)».

Згідно з іншим аспектом дане розкриття відноситься до фармацевтичної композиції, що містить 1,5:1 сесквісукцинат сполуки (I) (або 1:1 сіль сполуки (I) і HCl або 1:1 фумаратну сіль сполуки (I)) і фармацевтично прийнятний носій або розріджувач.

Дане розкриття відноситься до способу лікування або ослаблення прогресуючої осифікуючої фібродисплазії у суб'єкта, що передбачає введення суб'єкту, який потребує цього, фармацевтично ефективної кількості солі, розкритої у даному документі, або відповідної фармацевтичної композиції.

Дане розкриття відноситься до способу лікування або ослаблення дифузної гліоми стовбура головного мозку у суб'єкта, що передбачає введення суб'єкту, який потребує цього, фармацевтично ефективної кількості солі, розкритої у даному документі, або відповідної фармацевтичної композиції.

Дане розкриття також відноситься до способу інгібування аберантної активності ALK2 у суб'єкта, що передбачає введення суб'єкту, який потребує цього, фармацевтично ефективної кількості солі, розкритої у даному документі, або відповідної фармацевтичної композиції.

Дане розкриття також відноситься до застосування солі згідно з даним розкриттям або її фармацевтичної композиції, що містить дану сіль, у будь-яких із способів за даним розкриттям, описаних вище. Згідно з одним варіантом здійснення забезпечена сіль за даним розкриттям або її фармацевтична композиція, що містить дану сіль, для застосування у будь-якому зі способів згідно з даним розкриттям, описаних у даному документі. Згідно з ще одним варіантом здійснення забезпечене застосування солі за даним розкриттям або її фармацевтичної композиції, що містить дану сіль, для виробництва лікарського препарату для будь-якого з описаних способів згідно з даним розкриттям.

Короткий опис креслень

На фіг. 1 наведена порошкова рентгенівська дифрактограма (XRPD) для 1,5:1 сесквісукцинату сполуки (I).

На фіг. 2 наведені термограми термогравіметричного аналізу (TGA) та аналізу методом диференціальної скануючої калориметрії (DSC) для 1,5:1 сесквісукцинату сполуки (I).

На фіг. 3 наведені результати ¹H-спектроскопії ядерного магнітного резонансу (¹H-ЯМР) для 1,5:1 сесквісукцинату сполуки (I).

На фіг. 4 наведені ізоТЕРМИ DVS для 1,5:1 сесквісукцинату сполуки (I).

На фіг. 5 наведена XRPD дифрактограма для 1,5:1 сесквісукцинату сполуки (I) (форма A) до (внизу) та після (вгорі) вимірювання DVS.

На фіг. 6 наведені XRPD дифрактограми при змінній вологості для 1,5:1 сесквісукцинату сполуки (I) (форма A). Знизу догори наведена кожна з XRPD дифрактограм, одержаних *in situ* на столику зі змінною вологістю при 40 % RH, 60 % RH, 90 % RH, 40 % RH, 0 % RH і з поверненням до 40 % RH.

На фіг. 7 наведена XRPD дифрактограма при змінній температурі для 1,5:1 сесквісукцинату сполуки (I) (форма A). Знизу догори наведена кожна XRPD дифрактограма, одержана *in situ* на столику зі змінною температурою при умовах навколишнього середовища, при 40 °C, 60 °C, 80 °C, 100 °C, 120 °C, 140 °C, 160 °C і з поверненням до 25 °C.

На фіг. 8 наведена XRPD дифрактограма для моногідрату кристалічної 1:1 солі HCl і сполуки (I) (форма A).

На фіг. 9 наведені термограми TGA та DSC 1:1 моногідрату кристалічної солі HCl і сполуки (I) (форма A).

На фіг. 10 наведений ¹H-ЯМР для моногідрату кристалічної 1:1 солі HCl і сполуки

(I) (форма A).

На фіг. 11 наведені ізоТЕРМИ DVS для моногідрату кристалічної 1:1 солі HCl і сполуки (I) (форма A).

На фіг. 12 наведена XRPD дифрактограма для моногідрату кристалічної 1:1 солі HCl і сполуки (I) (форма A) до (внизу) та після (вгорі) вимірювання DVS. Додаткові піки, які спостерігали після DVS, позначені стрілками.

На фіг. 13 наведена XRPD дифрактограма при змінній вологості для моногідрату кристалічної 1:1 солі HCl і сполуки (I) (форма A). Знизу догори наведена кожна з XRPD дифрактограм, одержаних *in situ* на столику зі змінною вологістю при умовах навколишнього середовища, 40 % RH, 90 % RH, 0 % RH і з поверненням до 40 % RH.

На фіг. 14 наведена XRPD дифрактограма при змінній температурі для моногідрату кристалічної 1:1 солі HCl і сполуки (I) (форма A). Зверху догори наведена кожна з XRPD дифрактограм, одержаних *in situ* на столику зі змінною температурою при умовах навколишнього середовища, при 50 °C, 100 °C, 160 °C і з поверненням до 25 °C.

На фіг. 15 наведені XRPD дифрактограми для безводної кристалічної 1:1 солі HCl і сполуки (I) (форма D), які спостерігають під час початкового скринінгу (внизу) та при одержанні у збільшеному масштабі (вгорі).

На фіг. 16 наведені термограми TGA і DSC для безводної кристалічної 1:1 солі HCl і сполуки (I) (форма D).

На фіг. 17 наведений ¹H-ЯМР для безводної кристалічної 1:1 солі HCl і сполуки (I) (форма D).

На фіг. 18 наведені XRPD дифрактограми для безводної кристалічної 1:1 солі HCl і сполуки (I) (форма G), які спостерігають під час скринінгу (внизу), при одержанні у збільшеному масштабі (у вологому стані) (посередині) та в сухому стані (вгорі).

На фіг. 19 наведені термограми TGA та DSC для безводної кристалічної 1:1 солі HCl і сполуки (I) (форма G).

На фіг. 20 наведений ^1H -ЯМР для безводної кристалічної 1:1 солі HCl і сполуки (I) (форма G).

На фіг. 21 наведені XRPD дифрактограми для безводної кристалічної 1:1 солі HCl і сполуки (I) (форма I), які спостерігають під час попереднього скринінгу (внизу) та при одержанні у збільшеному масштабі (вгорі).

На фіг. 22 наведені термограми TGA та DSC для безводної кристалічної 1:1 солі HCl і сполуки (I) (форма I).

На фіг. 23 наведений ^1H -ЯМР для безводної кристалічної 1:1 солі HCl і сполуки (I) (форма I).

На фіг. 24 наведені ізотерми DVS для вільної основи сполуки (I).

На фіг. 25 наведена XRPD дифрактограма для кристалічної 2:1 солі HCl і сполуки (I) (форма B).

На фіг. 26 наведені XRPD дифрактограми для безводної кристалічної 1:1 фумаратної солі сполуки (I) (форма A), які спостерігають під час попереднього скринінгу (внизу) та при одержанні у збільшеному масштабі (вгорі).

На фіг. 27 наведені термограми TGA та DSC для безводної кристалічної 1:1 фумаратної солі сполуки (I) (форма A).

На фіг. 28 наведений ^1H -ЯМР для безводної кристалічної 1:1 фумаратної солі сполуки (I) (форма A).

На фіг. 29 наведена XRPD дифрактограма для кристалічної 1:1 фумаратної солі сполуки (I) (форма C).

На фіг. 30 наведена XRPD дифрактограма для кристалічної 1:1 фумаратної солі сполуки (I) (форма D).

Детальне розкриття даного винаходу

Дане розкриття спрямоване на нову сукцинатну сіль (тобто 1:1,5 сесквісукцинатну сіль) сполуки (I), нову сіль хлороводневої кислоти (тобто 1:1 гідрохлоридну сіль) і сполуки (I) та нову сіль фумарової кислоти (тобто 1:1 фумаратну сіль), а також на поліморфні форми кожної з вищенаведених.

«Гідратована форма» відноситься до твердої або кристалічної форми сполуки (I) у вигляді вільної основи або солі, в якій вода об'єднана з вільною основою сполуки (I) або відповідною сіллю в стехіометричному співвідношенні (наприклад, молярне співвідношення сполука (I):вода 1:1 або 1:2) у вигляді складової частини твердої речовини або кристалу. «Негідратована форма» відноситься до форми, яка не має стехіометричного співвідношення між водою та вільною основою сполуки (I) або відповідною сіллю сполуки (I), і вода, по суті, (наприклад, менш ніж 10 % за масою при аналізі за методом Карла Фішера) не присутня у твердій формі. Нові тверді форми, розкриті в даному розкритті, включають у себе гідратовані форми та негідратовані форми.

При використанні у контексті даного документа термін «кристалічний» відноситься до твердої речовини, що має кристалічну структуру, в якій окремі молекули мають високооднорідну регулярну тривимірну конфігурацію.

Розкриті кристалічні солі сполуки (I) можуть являти собою кристали однієї кристалічної форми або суміш кристалів відмінних окремих кристалічних форм. Одна кристалічна форма означає, що сполука (I) являє собою один кристал або множину кристалів, в якій кожний кристал має однакову форму кристала.

У випадку кристалічних форм сполуки (I), розкритих у даному документі, щонайменше конкретний процент за масою 1,5:1 солі сполуки (I) присутній в одній кристалічній формі. Конкретні масові проценти включають у себе 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 %, 99,9 %, або масовий процент, який становить 70 %-75 %, 75 %-80 %, 80 %-85 %, 85 %-90 %, 90 %-95 %, 95 %-100 %, 70-80 %, 80-90 %, 90-100 % за масою солі сполуки (I), присутній в одній кристалічній формі. Слід розуміти, що всі значення та діапазони між цими значеннями та діапазонами охоплені даним розкриттям.

Коли кристалічна сіль сполуки (I) визначена як певний процент однієї конкретної кристалічної форми солі сполуки (I), іншу частину складає аморфна форма та/або кристалічні форми, відмінні від однієї або більше конкретних форм, які визначені. Приклади окремих кристалічних форм включають у себе 1,5:1 сесквісукцинат сполуки (I) (форма A), 1:1 сіль HCl і сполуки (I) (форми A, D, G та I) та 1:1 фумарат сполуки (I) (форми A, C та D), що характеризуються однією або декількома властивостями, які обговорюються у даному документі.

Сполука (I) має хіральний центр. Сполука (I) у солях і поліморфах, розкритих у даному документі, є щонайменше на 80 %, 90 %, 99 % або 99,9 % за масою чистою відносно інших стереоізомерів, тобто відношення маси стереоізомера до маси всіх стереоізомерів.

Кристалічні солі сполуки (I), розкриті у даному документі, демонструють чіткі унікальні XRPD дифрактограми з гострими піками, що відповідають кутовим положенням піків при значеннях кута 2θ , і плоским початковим рівнем, що вказує на матеріал з високим ступенем кристалічності (наприклад, див. фіг. 1). XRPD дифрактограми, розкриті в даній заявці, одержують за допомогою мідного джерела радіоактивного випромінювання ($\text{Cu K}\alpha 1$; $\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$).

Характеристика кристалічних форм 1,5:1 сесквісукцинату сполуки (I)

Згідно з одним варіантом здійснення 1,5:1 сесквісукцинату сполуки (I) являє собою одну кристалічну форму, форму A, що характеризується порошковою рентгенівською дифрактограмою, яка містить піки при значеннях кута 2θ , що становлять $8,5^\circ$, $15,4^\circ$ та $21,3^\circ \pm 0,2$. Згідно з ще одним варіантом здійснення форма A характеризується порошковою рентгенівською дифрактограмою, яка містить щонайменше три піки (або чотири піки), вибрані зі значень кута 2θ , що становлять $4,3^\circ$, $8,5^\circ$, $14,0^\circ$, $15,4^\circ$ та $21,3^\circ \pm 0,2$. Згідно з ще одним варіантом здійснення форма A характеризується порошковою рентгенівською дифрактограмою, яка містить піки при значеннях кута 2θ , що становлять $4,3^\circ$, $8,5^\circ$, $14,0^\circ$, $15,4^\circ$ та $21,3^\circ \pm 0,2$. Згідно з ще одним варіантом здійснення форма A характеризується порошковою рентгенівською дифрактограмою, яка містить піки при значеннях кута 2θ , що становлять $4,3^\circ$, $6,7^\circ$, $8,5^\circ$, $12,8^\circ$, $14,0^\circ$, $15,4^\circ$, $17,0^\circ$ та $21,3^\circ \pm 0,2$. Згідно з ще одним варіантом здійснення форма A характеризується порошковою рентгенівською дифрактограмою, яка містить піки при значеннях кута 2θ , що становлять $4,3^\circ$, $6,7^\circ$, $8,5^\circ$, $12,8^\circ$, $14,0^\circ$, $15,4^\circ$, $15,7^\circ$, $16,6^\circ$, $17,0^\circ$, $18,1^\circ$, $19,4^\circ$, $19,8^\circ$, $20,1^\circ$, $20,7^\circ$, $21,3^\circ$, $22,3^\circ$, $25,0^\circ$, $29,1^\circ$ та $34,4^\circ \pm 0,2$. Згідно з ще одним варіантом здійснення форма A характеризується порошковою рентгенівською дифрактограмою, яка є, по суті, подібною фігурі 1.

У галузі кристалографії добре відомо, що для будь-якої заданої кристалічної форми кутове положення піка може незначно варіювати внаслідок таких факторів, як коливання температури, зміщення зразка та присутність

або відсутність внутрішнього стандарту. В даному розкритті коливання кутового положення піка становить $\pm 0,2$ кута 2θ . Окрім того, відносні інтенсивності піків для заданої кристалічної форми можуть коливатись внаслідок відмінностей у розмірах кристалів і не випадкових орієнтацій кристалітів при приготуванні зразка для аналізу методом XRPD. У рівні техніки добре відомо, що ці коливання будуть враховувати вищезазначені фактори, не утруднюючи однозначну ідентифікацію кристалічної форми.

Згідно з ще одним варіантом здійснення форма А 1,5:1 сесквісукцинату сполуки (I) характеризується піковими температурами фазового переходу за результатами диференціальної скануючої калориметрії (DSC), що становлять 177 ± 2 °C.

Характеристика кристалічних форм 1:1 гідрохлоридної солі сполуки (I)

Згідно з одним варіантом здійснення форма А характеризується порошковою рентгенівською дифрактограмою, яка містить щонайменше три піки (або чотири піки), вибрані зі значень кута 2θ , що становлять $12,9^\circ$, $17,0^\circ$, $19,0^\circ$, $21,1^\circ$ та $22,8^\circ \pm 0,2$. Згідно з ще одним варіантом здійснення 1:1 гідрохлоридна сіль сполуки (I) являє собою одну кристалічну форму, форму А, що характеризується порошковою рентгенівською дифрактограмою, яка містить піки при значеннях кута 2θ , що становлять $12,9^\circ$, $17,0^\circ$, $19,0^\circ$, $21,1^\circ$ та $22,8^\circ \pm 0,2$. Згідно з ще одним варіантом здійснення форма А характеризується порошковою рентгенівською дифрактограмою, яка містить піки при значеннях кута 2θ , що становлять $12,9^\circ$, $13,8^\circ$, $15,1^\circ$, $17,0^\circ$, $19,0^\circ$, $19,6^\circ$, $21,1^\circ$ та $22,8^\circ \pm 0,2$. Згідно з ще одним варіантом здійснення форма А характеризується порошковою рентгенівською дифрактограмою, яка містить піки при значеннях кута 2θ , що становлять $5,7^\circ$, $10,1^\circ$, $12,6^\circ$, $12,9^\circ$, $13,8^\circ$, $15,1^\circ$, $17,0^\circ$, $19,0^\circ$, $19,6^\circ$, $20,3^\circ$, $21,1^\circ$, $22,1^\circ$, $22,8^\circ$, $23,4^\circ$, $24,0^\circ$, $24,8^\circ$, $25,5^\circ$, $26,1^\circ$ та $28,6^\circ \pm 0,2$. Згідно з ще одним варіантом здійснення форма А характеризується порошковою рентгенівською дифрактограмою, яка є, по суті, подібною фігурі 8.

Згідно з ще одним варіантом здійснення форма А 1:1 гідрохлоридної солі сполуки (I) характеризується піковими температурами фазового переходу за результатами диференціальної скануючої калориметрії (DSC), що становлять 207 ± 2 °C.

Згідно з одним варіантом здійснення 1:1 гідрохлоридна сіль сполуки (I) являє собою одну кристалічну форму, форму D, що характеризується порошковою рентгенівською дифрактограмою, яка містить щонайменше три піки (або чотири піки), вибрані зі значень кута 2θ , що становлять $10,8^\circ$, $16,9^\circ$, $18,8^\circ$, $22,1^\circ$ та $24,7^\circ \pm 0,2$. Згідно з ще одним варіантом здійснення 1:1 гідрохлоридна сіль сполуки (I) являє собою одну кристалічну форму, форму D, що характеризується порошковою рентгенівською дифрактограмою, яка містить піки при значеннях кута 2θ , що становлять $10,8^\circ$, $16,9^\circ$, $18,8^\circ$, $22,1^\circ$ та $24,7^\circ \pm 0,2$. Згідно з ще одним варіантом здійснення форма D характеризується порошковою рентгенівською дифрактограмою, яка містить піки при значеннях кута 2θ , що становлять $10,8^\circ$, $13,3^\circ$, $16,9^\circ$, $18,8^\circ$, $22,1^\circ$ та $24,7^\circ \pm 0,2$. Згідно з ще одним варіантом здійснення форма D характеризується порошковою рентгенівською дифрактограмою, яка містить піки при значеннях кута 2θ , що становлять $10,8^\circ$, $13,1^\circ$, $13,3^\circ$, $16,6^\circ$, $16,9^\circ$, $17,4^\circ$, $18,8^\circ$, $20,8^\circ$, $22,1^\circ$ та $24,7^\circ \pm 0,2$. Згідно з ще одним варіантом здійснення форма D характеризується порошковою рентгенівською дифрактограмою, яка є, по суті, подібною фігурі 15.

Згідно з ще одним варіантом здійснення форма D 1:1 гідрохлоридної солі сполуки (I) характеризується піковими температурами фазового переходу за результатами диференціальної скануючої калориметрії (DSC), що становлять 207 ± 2 °C.

Згідно з одним варіантом здійснення 1:1 гідрохлоридна сіль сполуки (I) являє собою одну кристалічну форму, форму G, що характеризується порошковою рентгенівською дифрактограмою, яка містить щонайменше три піки (або чотири піки), вибрані зі значень кута 2θ , що становлять $10,2^\circ$, $12,8^\circ$, $16,7^\circ$, $17,4^\circ$, $18,4^\circ$ та $22,5^\circ \pm 0,2$. Згідно з ще одним варіантом здійснення 1:1 гідрохлоридна сіль сполуки (I) являє собою одну кристалічну форму, форму G, що характеризується порошковою рентгенівською дифрактограмою, яка містить піки при значеннях кута 2θ , що становлять $10,2^\circ$, $12,8^\circ$, $16,7^\circ$, $17,4^\circ$, $18,4^\circ$ та $22,5^\circ \pm 0,2$. Згідно з ще одним варіантом здійснення форма G характеризується порошковою рентгенівською дифрактограмою, яка містить піки при значеннях кута 2θ , що становлять $10,2^\circ$, $12,8^\circ$, $16,7^\circ$, $17,4^\circ$, $18,4^\circ$, $21,3^\circ$, $22,0^\circ$, $22,5^\circ$ та $24,3^\circ \pm 0,2$. Згідно з ще одним варіантом здійснення форма G характеризується порошковою рентгенівською дифрактограмою, яка містить піки при значеннях кута 2θ , що становлять $10,2^\circ$, $12,8^\circ$, $14,9^\circ$, $16,7^\circ$, $17,4^\circ$, $18,4^\circ$, $20,5^\circ$, $21,3^\circ$, $22,0^\circ$, $22,5^\circ$ та $24,3^\circ \pm 0,2$. Згідно з ще одним варіантом здійснення форма D характеризується порошковою рентгенівською дифрактограмою, яка є, по суті, подібною фігурі 18.

Згідно з ще одним варіантом здійснення форма G 1:1 гідрохлоридної солі сполуки (I) характеризується піковими температурами фазового переходу за результатами диференціальної скануючої калориметрії (DSC), що становлять 175 ± 4 °C та 197 ± 4 °C.

Згідно з одним варіантом здійснення 1:1 гідрохлоридна сіль сполуки (I) являє собою одну кристалічну форму, форму I, що характеризується порошковою рентгенівською дифрактограмою, яка містить щонайменше три піки (або чотири піки), вибрані зі значень кута 2θ , що становлять $5,4^\circ$, $8,2^\circ$, $16,3^\circ$, $16,5^\circ$, $18,4^\circ$ та $21,5^\circ \pm 0,2$. Згідно з ще одним варіантом здійснення 1:1 гідрохлоридна сіль сполуки (I) являє собою одну кристалічну форму, форму I, що характеризується порошковою рентгенівською дифрактограмою, яка містить піки при значеннях кута 2θ , що становлять $5,4^\circ$, $8,2^\circ$, $16,3^\circ$, $16,5^\circ$, $18,4^\circ$ та $21,5^\circ \pm 0,2$. Згідно з ще одним варіантом здійснення форма I характеризується порошковою рентгенівською дифрактограмою, яка містить піки при значеннях кута 2θ , що становлять $5,4^\circ$, $8,2^\circ$, $10,2^\circ$, $13,1^\circ$, $16,3^\circ$, $16,5^\circ$, $17,1^\circ$, $18,4^\circ$, $21,5^\circ$ та $21,8^\circ \pm 0,2$. Згідно з ще одним варіантом здійснення форма I характеризується порошковою рентгенівською дифрактограмою, яка є, по суті, подібною фігурі 21.

Згідно з одним варіантом здійснення 1:1 фумарат сполуки (I) являє собою одну кристалічну форму, форму С, у суміші з формою D, причому форма С характеризується порошковою рентгенівською дифрактограмою, яка містить піки при значеннях кута 2θ , що становлять $4,5^\circ$, $6,3^\circ$, $9,0^\circ$, $13,5^\circ$, $14,7^\circ$, $18,9^\circ$, $19,7^\circ$, $21,0^\circ$, $22,5^\circ$ та $23,6^\circ \pm 0,2$; та форма D характеризується порошковою рентгенівською дифрактограмою, яка містить піки при значеннях кута 2θ , що становлять $4,6^\circ$, $11,0^\circ$, $15,1^\circ$, $18,5^\circ$, $19,4^\circ$, $20,5^\circ$, $21,0^\circ$ та $25,0^\circ \pm 0,2$.

Згідно з одним варіантом здійснення 1:1 фумарат сполуки (I) являє собою одну кристалічну форму, форму С, у суміші з формою D, причому форма С характеризується порошковою рентгенівською дифрактограмою, яка містить піки при значеннях кута 2θ , що становлять $4,5^\circ$, $6,3^\circ$, $7,4^\circ$, $9,0^\circ$, $13,5^\circ$, $14,7^\circ$, $16,2^\circ$, $16,8^\circ$, $17,4^\circ$, $17,8^\circ$, $18,4^\circ$, $18,9^\circ$, $19,7^\circ$, $21,0^\circ$, $22,5^\circ$, $23,6^\circ$, $25,5^\circ$, $26,2^\circ$, $27,5^\circ$ та $28,3^\circ \pm 0,2$; та форма D характеризується порошковою рентгенівською дифрактограмою, яка містить піки при значеннях кута 2θ , що становлять $4,6^\circ$, $11,0^\circ$, $12,0^\circ$, $14,3^\circ$, $15,1^\circ$, $18,5^\circ$, $19,4^\circ$, $20,5^\circ$, $21,0^\circ$, $22,8^\circ$, $23,6^\circ$ та $25,0^\circ \pm 0,2$.

Фармацевтичні композиції

Фармацевтичні композиції згідно з даним розкриттям містять сіль сполуки (I) або її кристалічну форму, описані у даному документі, та один або більше фармацевтично прийнятних носіїв або розріджувачів. Термін «фармацевтично прийнятний носій» відноситься до фармацевтично прийнятного матеріалу, композиції або середовища, такого як рідкий або твердий наповнювач, розріджувач, допоміжна речовина, розчинник або інкапсулювальний матеріал, що задіяні у переносі або транспорті будь-якої заявленої композиції або її компонента. Такий носій має бути «прийнятним» у тому сенсі, що він є сумісним із заявленою композицією та її компонентами та не є шкідливим для суб'єкта. Деякі приклади матеріалів, які можуть служити в якості фармацевтично прийнятних носіїв, включають у себе: (1) цукри, такі як лактоза, глюкоза та сахароза; (2) крохмалі, такі як кукурудзяний крохмаль та картопляний крохмаль; (3) целюлозу та її похідні, такі як карбоксиметилцелюлоза натрію, етилцелюлоза та ацетат целюлози; (4) порошкову трагакантову камедь; (5) солод; (6) желатин; (7) тальк; (8) допоміжні речовини, такі як какао-масло та воски для супозиторіїв; (9) олії, такі як арахісова олія, бавовникова олія, сафлорова олія, кунжутна олія, кукурудзяна олія та соєва олія; (10) гліколі, такі як пропіленгліколь; (11) поліолі, такі як гліцерин, сорбіт, маніт і поліетиленгліколь; (12) складні ефіри, такі як етилолеат і етиллаурат; (13) агар; (14) буферні засоби, такі як гідроксид магнію та гідроксид алюмінію; (15) альгінову кислоту; (16) апірогенну воду; (17) ізотонічний сольовий розчин; (18) розчин Рінгера; (19) етиловий спирт; (20) фосфатно-буферні розчини та (21) інші нетоксичні сумісні речовини, які використовують у фармацевтичних складах.

Композиції згідно з даним розкриттям можна вводити перорально, парентерально, за допомогою інгаляції розчину, що розпливається, місцево, ректально, назально, букально, вагінально або за допомогою імплантованого резервуару. Термін «парентеральний», що використовується в контексті даного документа, включає у себе методику підшкірної, внутрішньовенної, внутрішньом'язової, внутрішньосуглобової, інтрасиновіальної, інтрастеральної, інтратекальної, внутрішньопечінкової, внутрішньовогнищної та внутрішньочерепної ін'єкції або інфузії. Згідно з варіантом здійснення композиції за даним розкриттям вводять перорально, внутрішньочеревно або внутрішньовенно. Стерильні ін'єкційні форми композицій згідно з даним розкриттям можуть являти собою водну або масляну суспензію. Ці суспензії можуть бути складені згідно з методиками, відомими у рівні техніки, з застосуванням підходящих диспергувальних або змочувальних засобів і суспендувальних засобів. Стерильний ін'єкційний препарат також може являти собою стерильний ін'єкційний розчин або суспензію в нетоксичному прийнятному для парентерального введення розріджувачі або розчиннику, наприклад, у вигляді розчину в 1,3-бутандіолі. Серед прийнятних середовищ і розчинників, які можна використовувати, зазначена вода, розчин Рінгера та ізотонічний розчин хлориду натрію. Окрім того, стерильні жирні масла звичайно використовують в якості розчинника або суспендувального середовища.

З цією метою можна використовувати будь-яке легке жирне масло, у тому числі синтетичні моно- або дигліцериди. Жирні кислоти, такі як олеїнова кислота та її гліцеридні похідні, є придатними у приготуванні ін'єкційних розчинів, які являють собою натуральні фармацевтично прийнятні масла, такі як оливкова олія або рицинова олія, особливо, в їх поліоксіетильованих варіантах. Ці масляні розчини або суспензії також можуть містити розріджувач або диспергатор у вигляді довголанцюгового спирту, такого як карбоксиметилцелюлоза, або подібні диспергувальні засоби, які звичайно застосовують при складанні фармацевтично прийнятних лікарських форм, у тому числі емульсій і суспензій. Інші поверхнево-активні речовини, які звичайно застосовують, такі як Tween, Spans, та інші емульгувальні засоби або засоби, що посилюють біологічну доступність, які звичайно застосовують у виробництві фармацевтично прийнятних твердих, рідких або інших лікарських форм, також можна застосовувати з метою одержання складів.

Фармацевтично прийнятні композиції згідно з даним розкриттям можна вводити перорально у будь-якій прийнятній для перорального введення лікарській формі, у тому числі, без обмеження, в формі капсул, таблеток, водних суспензій або розчинів. У випадку таблеток для перорального застосування носії, які звичайно застосовують, включають у себе лактозу та кукурудзяний крохмаль. Як правило, також додають змачувальні речовини, такі як стеарат магнію. У випадку перорального введення в формі капсули придатні розріджувачі включають у себе лактозу та висушений кукурудзяний крохмаль. Коли для перорального застосування потрібні водні суспензії, активний інгредієнт поєднують з емульгувальними та суспендувальними засобами. Якщо це бажано, також можна додавати певні підсолджувачі, ароматизатори або барвники.

В якості альтернативи, фармацевтично прийнятні композиції згідно з даним розкриттям можна вводити в формі супозиторіїв для ректального введення. Їх можна готувати шляхом змішування засобу з підходящим допоміжним засобом, що не викликає подразнення і є твердим при кімнатній температурі, але рідким при температурі у прямій кишці та, отже, буде танути у прямій кишці з вивільненням лікарського засобу. Такі матеріали включають у себе какао-масло, бджолиний віск та поліетиленгліколі.

Фармацевтично прийнятні композиції згідно з даним розкриттям також можна застосовувати місцево, особливо, коли мішень для лікування включає у себе області або органи, які легко доступні для місцевого

нанесення, у тому числі для лікування захворювань ока, шкіри або нижніх відділів кишечника. Підходящі місцеві склади легко приготувати для кожної з цих областей або органів. Місцеве застосування для нижніх відділів кишечника можна здійснювати у складі ректального супозиторія (див. вище) або у підходящому складі клізми. Також можна застосовувати місцеві трансдермальні пластири.

У випадку місцевих застосувань фармацевтично прийнятні композиції можна складати у підходящій мазі, що містить активний компонент, суспендований або розчинений в одному або більше носіях. Носії для місцевого введення сполук згідно з даним розкриттям включають у себе, без обмеження, мінеральне масло, вазелінове масло, білий вазелін, пропіленгліколь, поліоксіетиленову, поліоксипропіленову сполуку, емульгувальний віск і воду. В якості альтернативи, фармацевтично прийнятні композиції можна складати у підходящому лосьйоні або кремі, що містить активні компоненти, суспендовані або розчинені в одному або більше фармацевтично прийнятних носіях. Підходящі носії включають у себе, без обмеження, мінеральне масло, сорбітанмоностеарат, полісорбат 60, віск цетилових ефірів, цетеариловий спирт, 2-октилдодекано́л, бензиловий спирт і воду.

Фармацевтично прийнятні композиції згідно з даним розкриттям також можна вводити за допомогою назального аерозолі або інгаляції. Такі композиції одержують згідно з методиками, добре відомими у галузі одержання фармацевтичних складів, і їх можна одержувати у вигляді розчинів у сольовому розчині, використовуючи бензиловий спирт або інші підходящі консерванти, стимулятори абсорбції для підвищення біологічної доступності, формувальні та/або інші традиційні солубілізуючі або диспергувальні засоби.

Кількість сполук згідно з даним розкриттям, які можна поєднувати з носієм з одержанням композиції в одній лікарській формі, буде варіювати залежно від хазяїна, що отримує лікування, конкретного способу введення та інших факторів, які визначаються особою, що вводить одну лікарську форму.

Дози

Токсичність і терапевтичну ефективність солі сполуки (I) або її кристалічної форми, описаної у даному документі, можна визначати за допомогою стандартних фармацевтичних процедур на культурах клітин або на експериментальних тваринах. LD₅₀ являє собою дозу, летальну для 50 % популяції. ED₅₀ являє собою дозу, терапевтично ефективну у 50 % популяції. Співвідношення між токсичними та терапевтичними ефектами (LD₅₀/ED₅₀) дози являє собою терапевтичний індекс. Переважними є сіль сполуки (I) або її кристалічна форма, які характеризуються більшими терапевтичними індексами. Незважаючи на те, що можна застосовувати сіль сполуки (I) або її кристалічну форму, описані у даному документі, які проявляють токсичні побічні ефекти, слід приділити увагу створенню системи доставки, що направляє таку сіль або кристалічну форму до місця розташування враженої тканини з метою зведення до мінімуму можливого ушкодження невражених клітин і, таким чином, знижуючи побічні ефекти.

Дані, одержані у результаті аналізів у культурах клітин, а також у дослідженнях на тваринах, можна застосовувати у визначенні діапазону доз для застосування у людей. Доза таких солей або кристалічних форм може знаходитись у межах діапазону концентрацій у кровотоці, які включають у себе ED₅₀ з малою токсичністю або без токсичності. Доза може змінюватись в межах цього діапазону залежно від дози та шляху введення, що використовують. Для будь-якої солі сполуки (I) або її кристалічної форми, описаних у даному документі, терапевтично ефективну дозу можна попередньо оцінити на основі аналізів на культурах клітин. Дозу можна визначати у моделях на тваринах для досягнення діапазону концентрацій у плазмі крові, що включає у себе IC₅₀ (тобто концентрація досліджуваної сполуки, яка досягає напівмаксимального пригнічення симптомів), яку визначають в культурі клітин. Таку інформацію можна застосовувати для того, щоб більш точно визначити придатні дози у людей. Рівні у плазмі крові можна вимірювати, наприклад, за допомогою високоефективної рідинної хроматографії.

Також слід розуміти, що конкретна доза та схема лікування для будь-якого конкретного суб'єкта будуть залежати від ряду факторів, у тому числі, без обмеження, від активності конкретної сполуки, яку використовують, від віку, маси тіла, загального стану здоров'я, статі, раціону, часу введення, швидкості екскреції, комбінації з лікарським засобом та рішення лікаря, а також від тяжкості конкретного захворювання, лікування якого здійснюють. Кількість солі сполуки (I) або кристалічної форми згідно з даним розкриттям у композиції також буде залежати від конкретної сполуки в композиції.

Способи лікування

«Суб'єкт» являє собою ссавця, переважно, людину, але він також може являти собою тварину, що потребує лікування ветеринара, наприклад, домашніх тварин (наприклад, собак, кішок і т.п.), сільськогосподарських тварин (наприклад, корів, овець, свиней, коней і т.п.) та лабораторних тварин (наприклад, щурів, мишей, морських свинок і т.п.).

Схема «лікування» суб'єкта за допомогою ефективної кількості сполуки згідно з даним розкриттям може складатися з однократного введення або, в якості альтернативи, може включати серію застосувань. Наприклад, 1:1 фумарат сполуки (I) і 1:1 малеат сполуки (I) можна вводити щонайменше один раз на тиждень. Тим не менш, згідно з ще одним варіантом здійснення сполуку можна вводити суб'єкту від приблизно одного разу на тиждень до одного разу на добу для заданого лікування. Тривалість періоду лікування залежить від ряду факторів, таких як тяжкість захворювання, вік суб'єкта, концентрація та активність сполук згідно з даним розкриттям або їх комбінація. Також буде зрозуміло, що ефективну дозу сполуки, яку застосовують для лікування або профілактики, можна підвищувати або знижувати під час здійснення конкретної схеми лікування або профілактичної схеми. Зміни дозування можуть давати результати, та їх виявляють за допомогою стандартних діагностичних аналізів, відомих у рівні техніки. У деяких випадках може бути потрібне тривале введення.

Мутації в ALK2 призводять до неналежної активності кінази та асоційовані з різними захворюваннями. Сполука (I), її сіль і кристалічні форми, розкриті у даному документі, інгібують мутантний ген ALK2, наприклад, мутантний ген ALK2, який приводить до експресії фермента ALK2, що має модифікацію амінокислоти. Згідно з ще одним аспектом сполука (I), її сіль і кристалічні форми, розкриті у даному документі, інгібують як білок ALK2 дикого типу (WT), так і мутантні форми білка ALK2. У контексті даного розкриття інформація про послідовності

для ALK2 знаходиться на веб-сторінці Національного центру біотехнологічної інформації (National Center for Biological Information) (NCBI) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) за визначенням ACVR1 рецептор активіна A 1 типу [Homo sapiens (человек)]; Entrez Gene ID (NCBI): 90. Він також відомий як: FOP; ALK2; SKR1; TSRI; ACTRI; ACVR1A; ACVRLK2; зазначена інформація про послідовності включена в даний документ.

Згідно з варіантом здійснення дане розкриття відноситься до способу інгібування аберантної активності ALK2 у суб'єкта, що передбачає стадію введення суб'єкту, який потребує цього, фармацевтично ефективною кількістю сполуки (I), або солі, кристалічної форми, або фармацевтичної композиції, описаних у даному документі. Згідно з варіантом здійснення аберантна активність ALK2 викликана мутацією в гені ALK2, яка приводить у результаті до експресії фермента ALK2, що має модифікацію амінокислоти, вибрану з однієї або більше з L196P, PF197-8L, R202I, R206H, Q207E, R258S, R258G, R325A, G328A, G328V, G328W, G328E, G328R, G356D та R375P. Згідно з варіантом здійснення фермент ALK2 має модифікацію амінокислоти R206H.

Завдяки їх активності по відношенню до ALK2 сполуку (I), або сіль, кристалічну форму, або фармацевтичну композицію, описані у даному документі, можна застосовувати для лікування суб'єкта зі станом, асоційованим з аберантною активністю ALK2. Згідно з варіантом здійснення стан, асоційований з аберантною активністю ALK2, являє собою прогресуючу осифікуючу фібродисплазію. Діагностика FOP заснована на наявності вроджених вад розвитку великих пальців стопи (hallux valgus) та утворенні фіброзних вузликів у м'яких тканинах. Вузлики можуть перетворюватися або не перетворюватися у гетеротопічну кістку. Ці вузлики у м'яких тканинах часто спочатку помічають на голові, шиї або спині. ~97 % суб'єктів із FOP мають однакову мутацію c.617G>A; R206H у гені ACVR1 (ALK2). Існує генетичний тест, доступний від Пенсильванського університету (University of Pennsylvania) (Kaplan et al, Pediatrics 2008, 121(5): e1295-e1300).

Інші поширені аномалії розвитку включають у себе вади розвитку великих пальців стопи, короткі широкі шийки стегнової кістки, остеохондром великогомілкової кістки та зрощені фасеткові суглоби в шийному відділі хребта. Зрощені фасеткові суглоби в шиї часто приводять до того, що діти, які вчаться ходити, переміщуються на своїх сідницях замість повзання. FOP часто помилково діагностують (~80 %; рак або фіброматоз), та суб'єктів часто піддають недоречним діагностичним процедурам, таким як біопсії, які загострюють захворювання та призводять до інвалідності.

Згідно з варіантом здійснення дане розкриття відноситься до способу лікування або ослаблення прогресуючої осифікуючої фібродисплазії у суб'єкта, що передбачає введення суб'єкту, який потребує цього, фармацевтично ефективною кількістю сполуки (I), або солі, кристалічної форми, або фармацевтичної композиції, описаних у даному документі.

Згідно з варіантом здійснення стан, асоційований з аберантною активністю ALK2, являє собою прогресуючу осифікуючу фібродисплазію (FOP), і суб'єкт має мутацію в гені ALK2, яка приводить у результаті до експресії фермента ALK2, що має модифікацію амінокислоти, вибрану з однієї або більше з L196P, PF197-8L, R202I, R206H, Q207E, R258S, R258G, R325A, G328A, G328W, G328E, G328R, G356D та R375P. Згідно з одним аспектом цього варіанту здійснення фермент ALK2 має модифікацію амінокислоти R206H.

Дане розкриття включає у себе способи ідентифікації та/або діагностики суб'єктів для лікування за допомогою сполуки (I), або солі, кристалічної форми, або фармацевтичної композиції, описаних у даному документі. Згідно з варіантом здійснення дане розкриття відноситься до способу виявлення стану, асоційованого з аберантною активністю ALK2, наприклад, FOP, у суб'єкта, причому спосіб включає у себе а. одержання зразка, наприклад, плазми крові, від суб'єкта, наприклад, суб'єкта-людини; та б. виявлення того, чи присутні у зразку одна або більше мутацій у гені ALK2, які описані у даному документі. Згідно з ще одним варіантом здійснення дане розкриття відноситься до способу діагностики стану, асоційованого з аберантною активністю ALK2 у суб'єкта, причому зазначений спосіб передбачає: а. одержання зразка від суб'єкта; б. виявлення того, чи присутні у зразку одна або більше мутацій у гені ALK2, які описані у даному документі, з застосуванням способу виявлення, описаного у даному документі; та с. діагностування у суб'єкта стану, якщо виявляють присутність однієї або більше мутацій. Способи виявлення мутації включають у себе, без обмеження, способи на основі гібридизації, способи на основі ампліфікації, аналіз на мікроматрицях, аналіз методом проточної цитометрії, секвенування ДНК, секвенування нового покоління (NGS), добуудову праймерів, ПЛР, гібридизацію in situ, дот-блотинг і саузерн-блотинг. Згідно з варіантом здійснення дане розкриття відноситься до способу діагностики та лікування стану, асоційованого з аберантною активністю ALK2 у суб'єкта, причому зазначений спосіб передбачає а. одержання зразка від суб'єкта; б. виявлення того, чи присутні у зразку одна або більше мутацій у гені ALK2, які описані у даному документі; діагностування у суб'єкта стану, якщо виявляють присутність у зразку однієї або більше мутацій; та введення ефективною кількістю сполуки (I), або солі, кристалічної форми, або фармацевтичної композиції, описаних у даному документі, діагностованому суб'єкту. Згідно з варіантом здійснення дане розкриття відноситься до способу лікування стану, асоційованого з аберантною активністю ALK2 у суб'єкта, причому зазначений спосіб передбачає а. визначення того, чи має суб'єкт одну або більше мутацій у гені ALK2, які описані у даному документі, використання результатів визначення того, чи має суб'єкт одну або більше мутацій у гені ALK2, які описані у даному документі, або одержання інформації про те, що суб'єкт має одну або більше мутацій у гені ALK2, які описані у даному документі; б. ідентифікацію суб'єкта як такого, що відповідає на одну або декілька сполук або фармацевтичну композицію, описані у даному документі; та с. введення суб'єкту ефективною кількістю сполуки (I), або солі, кристалічної форми, або фармацевтичної композиції.

Згідно з варіантом здійснення стан, асоційований з аберантною активністю ALK2, являє собою пухлину головного мозку, наприклад, гліальну пухлину. Згідно з варіантом здійснення гліальна пухлина являє собою дифузну гліому стовбура головного мозку (DIPG). Згідно з варіантом здійснення дане розкриття відноситься до способу лікування або ослаблення дифузної гліоми стовбура головного мозку у суб'єкта, що передбачає введення суб'єкту, який потребує цього, фармацевтично ефективною кількістю сполуки (I), або солі, кристалічної форми, або фармацевтичної композиції, описаних у даному документі.

Згідно з варіантом здійснення стан, асоційований з аберантною активністю ALK2, являє собою дифузну гліому стовбура головного мозку, та суб'єкт має мутацію в гені ALK2, яка приводить у результаті до експресії фермента ALK2, що має модифікацію амінокислоти, вибрану з однієї або більше з R206H, G328V, G328W, G328E та G356D. Згідно з одним аспектом цього варіанту здійснення фермент ALK2 має модифікацію амінокислоти R206H.

Згідно з варіантом здійснення стан, асоційований з аберантною активністю ALK2, являє собою анемію, асоційовану з запаленням, раком або хронічним захворюванням.

Згідно з варіантом здійснення стан, асоційований з аберантною активністю ALK2, являє собою викликану травмою або хірургічним втручанням гетеротопічну осифікацію.

Згідно з варіантом здійснення сполуку згідно з даним розкриттям вводять разом (або у складі комбінованої лікарської форми, або у вигляді окремої лікарської форми, яку вводять перед введенням, послідовно з введенням або після введення) з другим терапевтичним засобом, придатним для лікування захворювання, що підлягає лікуванню, наприклад, FOP. Згідно з одним аспектом цього варіанту здійснення сполуку за даним розкриттям вводять разом зі стероїдом (наприклад, преднізоном) або іншими протиалергічними засобами, такими як омалізумаб.

Згідно з варіантом здійснення сполуку за даним розкриттям вводять разом з агоністом RAR-γ або антитілом до активіну для лікування захворювання, що підлягає лікуванню, наприклад, FOP. Згідно з варіантом здійснення агоніст RAR-γ, що підлягає спільному введенню, являє собою паловаротен. Згідно з варіантом здійснення антитіло до активіну, яке підлягає спільному введенню, являє собою REGN2477.

Згідно з варіантом здійснення сполуку за даним розкриттям вводять разом із терапевтичними засобами, які цілеспрямовано діють на гладкі клітини та придатні в лікуванні FOP. Згідно з варіантом здійснення сполуку за даним розкриттям вводять разом з інгібітором гладких клітин, у тому числі, без обмеження, з інгібітором KIT. Згідно з варіантом здійснення інгібітор гладких клітин, що підлягає спільному введенню, є вибраним із кромоліну натрію (або кромоглікату натрію); брентуксимабу (ADCETRIS®); ібрутинібу (IMBRUVICA®); омалізумабу (XOLAIR®); антилейкотрієнових засобів (наприклад, монтелукасту (SINGULAIR®) або zileuton (ZYFLO® або ZYFLO CR®)) та інгібіторів KIT (наприклад, іматинібу (GLEEVEC®), мідостаурину (PKC412A), маситинібу (MASIVET® або KINAVET®), авапритинібу, DCC-2618, PLX9486).

Наступні приклади розглядають як ілюстративні, та не передбачається, що вони будь-яким чином обмежують обсяг даного винаходу.

ПРИКЛАДИ
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

Скорочення:			
Скорочення	Розчинник	Скорочення	Розчинник
ACN	Ацетонітрил	BA	Бензиловий спирт
DCM	Дихлорметан	DEE	Діетиловий ефір
DMAc	N,N-диметилацетамід		
DMF	N,N-диметилформамід	DMSO	Диметилсульфоксид
EtOAc	Етилацетат	EtOH	Етанол
IPA	2-Пропанол	IPOAc/IPAc	Ізопропілацетат
MBK	Метилбутилкетон	MCH	Метилциклогексан
MEK	Метилетилкетон	MeOAc	Метилацетат
MeOH	Метанол	MIBK	4-Метил-2-пентанон
MtBE	Трет-бутилметиловий ефір	NMP	N-метилпіролідон
1-PA	1-Пропанол	TFA	Трифтороцтова кислота
TFE	Трифторетанол	THF	Тетрагідрофуран

Інструменти	
Повна назва	Скорочення
Диференціальна скануюча калориметрія	DSC
Динамічна сорбція парів	DVS
Високоєфективна рідинна хроматографія	HPLC
Титрування за методом Карла Фішера	KF
Ядерно-магнітний резонанс	ЯМР
Порошкова рентгенівська дифракція	XRPD
Термогравіметричний аналіз	TGA

Одиниці	
Повна назва	Скорочення
Цельсій	°C
Градуси	°
Еквіваленти	екв.
Грам	г
Година	год.
Кельвін	К
Літри	л
Міліграми	мг
Мілілітри	мл

Одиниці	
Повна назва	Скорочення
Хвилина	хв.
Міліампер	мА
Кіловольт	кВ
Відносна вологість	RH
Кімнатна температура	RT
Секунда	с
Об'єм	об.
Об'ємне відношення	об./об.
Ват	Вт
Маса	мас.
Масовий процент	мас. %

Умови аналізу

Порошкова рентгенівська дифракція (XRPD)

Порошкову рентгенівську дифракцію визначали з застосуванням інструмента Rigaku MiniFlex 600 або Bruker D8 Advance, оснащеного детектором Lynxeye, у режимі відбиття (тобто з геометрією Брега-Брентано). Зразки готували на кремнієвих пластинах Si zero-return wafers. Типове сканування проводять при значеннях кута 2θ від 4 до 30 градусів з величиною кроку 0,05 градуса протягом п'яти хвилин з напругою 40 кВ і силою струму 15 мА. Сканування з високою роздільною здатністю проводять при значеннях кута 2θ від 4 до 40 градусів з величиною кроку 0,05 градуса протягом тридцяти хвилин з напругою 40 кВ і силою струму 15 мА. Типові параметри для XRPD наведено нижче.

Параметри для режиму відбиття	
Довжина хвилі рентгенівського випромінювання	Cu $K\alpha_1$, 1,540598 Å,
Налаштування рентгенівської трубки	40 кВ, 40 мА (або 15 мА)
Параметри щілини	система з щілиною змінного + фіксованого розміру (розсіююча щілина 0,6 мм + 2,5° щілина Солера)
Режим сканування	покроковий або безперервний
Діапазон сканування ($^\circ 2\theta$)	4-30
Довжина кроку ($^\circ 2\theta$)	0,02 або 0,05
Тривалість опромінення(с/крок)	0,15
Швидкість сканування ($^\circ$ /хв.)	5
Обертання	є (0,5 Гц)

Термогравіметричний аналіз і диференціальна скануюча калориметрія (TGA та DSC)

Термогравіметричний аналіз і диференціальну скануючу калориметрію здійснювали на одному зразку одночасно з застосуванням Mettler Toledo TGA/DSC³⁺. Необхідну кількість зразка відвішують одразу в герметичний алюмінієвий тигель з мікроотвором. Типова маса зразка для вимірювання становить 5-10 мг. Типовий температурний діапазон складає від 30 °C до 300 °C при швидкості нагрівання 10 °C за хвилину (загальний час 27 хвилин). Захисні та продувочні гази являють собою азот (20-30 мл/хв. і 50-100 мл/хв.). Типові параметри для DSC/TGA наведено нижче.

Параметри	
Метод	Лінійна зміна
Розмір зразка	5-10 мг
Швидкість нагрівання	10,0 °C/хв.
Температурний діапазон	30-300 °C

Диференціальна скануюча калориметрія (DSC)

1-5 мг матеріалу відвішували в алюмінієвий тигель для DSC та негерметично закривали алюмінієвою кришкою. Тигель зі зразком потім завантажували у калориметр TA Instruments Q2000 (оснащений холодильником). Після того як стабільну відповідь у вигляді теплового потоку одержували при температурі 30 °C, зразок та порівняльний зразок нагрівали до 300 °C зі швидкістю 10 °C/хв. і відслідковували відповідь у вигляді теплового потоку, яку одержують у результаті. Перед аналізом інструмент калібрували за температурою та тепловому потоку з застосуванням індієвого еталонного стандарту. Аналіз зразка здійснювали за допомогою програмного забезпечення TA Universal Analysis 2000, в якому температури термічних явищ виражені у вигляді температури початку явища та пікової температури, виміряних згідно з інструкціями виробника. Газ, що використовується у методі: N₂ зі швидкістю потоку 60,00 мл/хв.

¹H-спектроскопія ядерного магнітного резонансу (¹H-ЯМР)

Протонний ЯМР виконували на спектрометрі Bruker Avance 300 МГц. Тверді речовини розчиняли в 0,75 мл дейтерованого розчинника в пляшечці об'ємом 4 мл та переносили в трубку для ЯМР (Wilmad 5 мм тонкостінна 8")

200 МГц, 506-PP-8). Типове вимірювання звичайно складає 16 сканувань. Типові параметри для ЯМР наведено нижче.

Параметри - Bruker Avance 300	
Інструмент	Спектрометр Bruker Avance 300 МГц
Температура	300 К
Зонд	5 мм PABBO BB-1H/DZ-GRD Z104275/0170
Число сканувань	16
Релаксаційна затримка	1,000 с
Ширина імпульсу	14,2500 мкс
Час експозиції	2,9999 с
Частота спектрометра	300,15 Гц
Ядро	¹ H

Динамічна сорбція парів (DVS)

Динамічну сорбцію парів (DVS) проводили з застосуванням приладу DVS Intrinsic 1. Зразок завантажували в контейнер для зразка та поміщали на мікроваги. Типова маса зразка для вимірювання DVS становить 25 мг. Газоподібний азот, який барботують через дистильовану воду, забезпечує бажану відносну вологість. Зразок витримували протягом мінімум 5 хв. при кожному рівні вологості та переносили на наступний рівень вологості, тільки якщо була присутня <0,002 % зміна маси між вимірюваннями (інтервал: 60 секунд), або якщо пройшло 240 хв. Типове вимірювання включає стадії:

1 - Врівноваження до 50 % RH

2 - з 50 % до 2 %. (50 %, 40 %, 30 %, 20 %, 10 % та 2 %)

а. Витримування протягом періоду від мінімум 5 хвилин до максимум 60 хвилин при кожному рівні вологості.

Критерієм проходження є зміна менш ніж на 0,002 %

3 - з 2 % до 95 % (2 %, 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 %)

а. Витримування протягом періоду від мінімум 5 хвилин до максимум 60 хвилин при кожному рівні вологості.

Критерієм проходження є зміна менш ніж на 0,002 %

4 - з 95 % до 2 % (95 %, 80 %, 70 %, 60 %, 50 %, 40 %, 30 %, 20 %, 10 %, 2 %)

а. Витримування протягом періоду від мінімум 5 хвилин до максимум 60 хвилин при кожному рівні вологості.

Критерієм проходження є зміна менш ніж на 0,002 %

5 - з 2 % до 50 % (2 %, 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %)

а. Витримування протягом періоду від мінімум 5 хвилин до максимум 60 хвилин при кожному рівні вологості.

Критерієм проходження є зміна менш ніж на 0,002 %

Високоєфективна рідинна хроматографія (HPLC)

Agilent 1220 Infinity LC: Високоєфективну рідинну хроматографію (HPLC) проводили з застосуванням хроматографа Agilent 1220 Infinity LC. Діапазон значень швидкості потоку становить 0,2-5,0 мл/хв., робочий діапазон тиску становить 0-600 бар, температурний діапазон складає від значення на 5 °C вище температури навколишнього середовища до 60 °C, і діапазон значень довжини хвилі становить 190-600 нм.

Параметри			
Рухома фаза А	0,05 % TFA в дистильованій воді		
Рухома фаза В	0,05 % TFA в ACN		
Розріджувач	ACN:вода (25:75 за об'ємом)		
Об'єм, що впорскують	5 мкл		
Довжина хвилі при моніторингу	256 нм		
Колонка	Supelco Ascentis Express, C18, 4,6×150 мм, 2,7 мкм		
Температура колонки	30 °C		
Метод створення градієнта	Час (хв.)	% А	Швидкість потоку (мл/хв.)
	0	90	1,50
	4	80	1,50
	15	70	1,50
	20	5	1,50
	23	5	1,50
	23,1	90	1,50
	28	90	1,50

Титрування за методом Карла Фішера

Титрування за методом Карла Фішера для визначення вмісту води здійснювали з застосуванням інструмента Mettler Toledo C20S

Кулонометричний прилад для титрування KF, оснащений хімічним джерелом струму з діафрагмою та подвійним платиновим голковим електродом. Реактив Aquastar™ CombiCoulomat fritless використовували як в анодній, так і в катодній камерах. Зразки масою приблизно 0,03- 0,10 г розчиняли в анодній камері та титрували доти, поки потенціал розчину не падав нижче 100 мВ. Стандарт води Hydranal 1 мас. % використовують для валідації перед аналізом зразка.

Мікроскопія

Оптичну мікроскопію здійснювали з застосуванням мікроскопа Zeiss AxioScope A1, оснащеного 2,5-кратним, 10-кратним, 20-кратним та 40-кратним об'єктивами та поляризаційною призмою. Фотографії одержували за допомогою вбудованої цифрової камери AxioCam 105 та піддавали обробці з застосуванням програмного забезпечення ZEN 2 (blue edition), яка забезпечила компанія Zeiss.

Приклад 1. Комбінаторний скринінг солей

1.1 Скринінг солей

Вільна основа сполуки (I) має декілька значень рКа згідно з прогнозами за допомогою програмного забезпечення Marvin Sketch. Сполука має три основних атоми азоту з теоретичними значеннями рКа, що становлять 8,95, 3,57 та 2,86. Теоретичне значення log P становить 2,98.

Скринінг солей здійснювали з застосуванням 13 різних протиіонів. Усі протиіони досліджували у кількості 1,1 еквівалента. HCl також досліджували з застосуванням 2,2 еквівалента протиіона, та сірчану кислоту досліджували з застосуванням 0,5 еквівалента протиіона. Перелік протиіонів наведений у таблиці 1.

Маточний розчин сполуки (I) готували у безводному EtOH (20 мас. %, густина 0,8547 г/мл). Маточні розчини всіх протиіонів також готували в EtOH. Маточні розчини протиіонів для твердих протиіонів готували в концентрації 0,02 г/мл, а рідкі протиіони готували в концентрації 10 % за об'ємом.

Утворення солі здійснювали при кімнатній температурі у пляшечках об'ємом 2 мл. 25 мг сполуки (I) (145,6 мл маточного розчину) та 1,1 еквівалента протиіона додавали у кожну пляшечку. У випадку сірчаної кислоти додавали 0,55 та 1,1 еквівалента протиіона.

У випадку HCl додавали 1,1 та 2,2 еквівалента протиіона. Розчиннику дозволяли випаровуватись при температурі 30 °C при перемішуванні протягом ночі, а потім поміщали в умови з температурою 50 °C та при зниженому тиску для повного висушування протягом 4 годин.

Приблизно 25 об'ємів розчинника (0,625 мл) додавали в кожну пляшечку для скринінгу. Три вибраних розчинників являли собою EtOH, EtOAc і суміш IPA:вода (9:1 за об'ємом). Після того як додавали розчинники, суміші (або розчини) нагрівали до 45 °C, витримували протягом 1,5 години, охолоджували до кімнатної температури та перемішували протягом ночі. Коли утворювались зависі, тверді речовини фільтрували для аналізу XRPD.

Аналіз XRPD виконували на трьох столиках. XRPD вологого осаду виконували для усіх зразків (у випадках, коли спостерігали тверді речовини). Окремі тверді речовини потім залишали на пластинах для XRPD і сушили при зниженому тиску при температурі 50 °C протягом щонайменше 3 годин. Потім виконували XRPD окремих сухих твердих речовин. Тверді речовини потім піддавали впливу умов з відносною вологістю >90 % протягом однієї доби та виконували XRPD на одержаних у результаті твердих речовинах. Вологе навколишнє середовище створювали шляхом поміщення хімічного стакану з насиченим сульфатом калію у воді у запечатаний контейнер. Усі XRPD дифрактограми порівнювали з XRPD дифрактограмами протиіона та відомими дифрактограмами вільної молекули.

Якщо тверді речовини не утворювались з першими трьома розчинниками (EtOH, EtOAc, суміш IPA:вода), які використовували у скринінзі, кришки відкривали та розчиннику дозволяли випаровуватись при 30 °C при перемішуванні. Тверді речовини випаровували до висихання шляхом поміщення в умови зі зниженим тиском та температурою 50 °C протягом 3-4 годин і додавали групу розчинників (IPOAc, MBK, MtBE), які використовували у другому раунді. Якщо тверді речовини не утворювались з розчинниками, які використовували у другому раунді, розчинник знов випаровували до висихання та додавали DEE.

Таблиця 1

Протиіони, які використовували при початковому скринінзі солей, та асоційовані значення рКа

ID	Протиіон	рКа (найнижча)	Еквіваленти, які використовували для скринінгу
1	Оцтова кислота	4,75	1,1
2	Бензолсульфонова кислота	-2,8	1,1
3	Бензойна кислота	4,19	1,1
4	Лимонна кислота	3,08	1,1
5	Фумарова кислота	3,03	1,1
6	Хлороводнева кислота	-7	1,1, 2,2
7	Яблучна кислота	3,4	1,1
8	Малеїнова кислота	1,9	1,1
9	Фосфорна кислота	2,15	1,1
10	Саліцилова кислота	2,97	1,1
11	Сірчана кислота	-3	0,55, 1,1
12	Бурштинова кислота	4,2	1,1
13	Винна кислота	2,89	1,1

Кристалічні тверді речовини спостерігали при скринінзі з використанням бензолсульфонові кислоти (BSA), бензойної кислоти, фумарові кислоти, HCl (1 та 2 еквівалента), малеїнової кислоти, саліцилової кислоти та бурштинової кислоти. Одну унікальну XRPD дифрактограму спостерігали з BSA, бензойною кислотою, HCl (2 екв.), саліциловою кислотою та бурштиною кислотою. Декілька дифрактограм спостерігали з HCl (1 екв.) і фумаровою кислотою. Дві дифрактограми спостерігали з малеїною кислотою, та обидві не поглинали вологу з атмосфери при впливі вологості. З числа кристалічних твердих речовин тверді речовини, які одержують у результаті скринінгу з бензойною кислотою, фумаровою кислотою, HCl (1 екв.), саліциловою кислотою та бурштиною кислотою, не поглинали вологу з атмосфери при впливі вологості.

Кристалічні солі характеризували та оцінювали щодо перспективності, виходячи з температури плавлення, ступеня кристалічності, стабільності при висушуванні та впливі вологості, розчинності у воді, поліморфізму та прийнятності протиіону.

Моно-HCl сіль, сукцинат і фумарат вибрали для подальшого вивчення, беручи до уваги прийнятні фізико-хімічні властивості. Вільну основу також було включено в подальшу характеристику з метою порівняння.

Бензоат не вибрали внаслідок слабкої розчинності у воді та високої втрати маси при плавленні. Саліцилат не вибрали внаслідок слабкої розчинності у воді, високої втрати маси при плавленні та можливого поліморфізму. Безилат, малеат і біс-HCl не вибрали внаслідок низького ступеня кристалічності та нестабільності у вологому навколишньому середовищі (поглинання вологи з атмосфери).

Зразок вільної основи демонстрував початок плавлення при температурі 116,19 °C при DSC. Термограма TGA демонструвала поступову втрату маси на 0,16 мас. % перед плавленням і поетапну втрату маси на 0,05 мас. % при плавленні. Тверду речовину ретельно вивчали за допомогою мікроскопії. Титрування вільної основи за методом Карла Фішера демонструвало 0,37 мас. % води.

Вільна основа демонструвала високу розчинність у багатьох системах органічних розчинників (>200 мг/мл при кімнатній температурі в більшості органічних розчинників, які застосовували), високу розчинність у імітаціях середовищ організму (0,08 мг/мл води, ~17 мг/мл імітації шлункового соку натще, ~7 мг/мл імітації кишечного соку натще), прийнятне плавлення (початок 116 °C) і низький залишковий вміст розчинника (<0,20 мас. % за результатами термогравіметричного аналізу). Недоліки вільної основи полягають у тому, що вона була поліморфною (4 патерни спостерігали під час обмеженого скринінгу) та була фізично нестабільною у вологому навколишньому середовищі (>90 % відносна вологість) і перетворювалась на липку смолисту речовину протягом 4 діб, і вона злипалась у воді. Результати у лабораторному масштабі також вказують на те, що вільну основу буде складно виділяти у вигляді кристалічної твердої речовини у промисловому масштабі.

Моно-HCl сіль демонструвала високу температуру плавлення (початок 203 °C), являла собою гідрат (канальний гідрат) і характеризувалася високим ступенем кристалічності за результатами порошкової рентгенівської дифракції. Вона характеризується високою розчинністю у воді та імітаціях середовищ організму (>30 мг/мл води та імітації шлункового соку натще, ~7 мг/мл імітації кишечного соку натще). Недоліки моно-HCl солі включають у себе чутливість до кількості еквівалентів (біс-HCl сіль утворювалась уже з 1,3 молярного еквівалента HCl), які додають, і чутливість до висушування.

Сукцинат демонстрував тільки один патерн під час скринінгу, був стабільним при висушуванні та при впливі вологості, був менш гігроскопічним, ніж моно-HCl сіль і вільна основа, демонстрував високу розчинність у воді та імітаціях середовищ організму (>22 мг/мл у всіх текучих середовищах), високу температуру плавлення (початок при 173 °C) і прийнятну втрату маси за результатами термогравіметричного аналізу при плавленні (0,27 мас. %).

Фумарат демонстрував високу розчинність у воді та імітаціях середовищ організму (>15 мг/мл у всіх середовищах організму), і гіпотетичний гідрат, позначений як форма B, був стабільним при висушуванні та впливі вологості. Форма A (безводна) демонструвала високу температуру плавлення (початок при 221 °C).

Короткий опис фізико-хімічних властивостей вільної основи та вибраних солей наведено у таблиці 2 нижче.

Таблиця 2

Фізико-хімічні властивості вільної основи та вибраних солей

Сіль	Температура (температури) початку при DSC, °C	Втрата маси згідно з TGA (мас. %)	Зміна маси згідно з DVS (мас. %)	Стехіометричне відношення	Розчинність при 37 °C (мг/мл)		
					Вода	FaSSIF	FaSSGF
Вільна основа	116,2	0,22	0,88-0,92	Немає даних	0,08	17,9	7,29
форма A моно-HCl	47,4, (дегідратація) 203,0	2,82, 0,44	1,30-1,43	моно-	33,4	30,9	6,96
форма A сукцинату	172,9	0,27	0,59-0,60	сескві-	>34,0	>22,2	>25,9
форма A фумарату	221,4	1,27 (до 220 °C)		моно-			

1.2 Вплив вологості на вільну основу

Кристалічну форму вільної основи піддавали впливу високої вологості (>90 % RH) протягом ночі. Вологе навколишнє середовище створювали шляхом розміщення хімічного стакана з насиченим сульфатом калію у воді у запечатаному контейнері.

Тверді речовини залишались у тій же кристалічній формі після впливу вологості протягом ночі, але втрачали певну кристалічність. Той же зразок поміщали назад у вологе навколишнє середовище після аналізу XRPD. Після одного тижня помітили, що зразок поглинав вологу з атмосфери на пластині для XRPD. Другий експеримент починали у таких же умовах. Тверда речовина ставала більш темною та липкою. XRPD для зразка одержували через 6 діб. Інтенсивність піків була нижчою, та спостерігали зміну у початковому рівні, що вказує на підвищений вміст аморфної речовини.

Приклад 2. Процедури одержання та характеристики кристалічної форми 1,5:1 сесквісукцинату сполуки (I) (форма A)

2.1 Одержання

Спосіб A:

Сполуку (I) у формі вільної основи відвішували у пляшечку об'ємом 4 мл і додавали 1,1 еквівалента бурштинової кислоти. EtOH (15 об'ємів) потім додавали при кімнатній температурі. Тверді речовини розчинялись і залишались у розчині. Завись нагрівали до 45 °С та витримували протягом двох годин при перемішуванні з подальшим природним охолодженням до кімнатної температури. Тверді речовини все ще залишались у розчині, тому у розчин вносили затравку у вигляді сукцинату зі зразка, одержаного у результаті скринінгу. Затравка зберігалася та швидко утворювалась біла завись. Завись перемішували при кімнатній температурі протягом ночі. Перед фільтруванням завись являла собою бежеву/брудно-білу завись середньої густоти. Завись фільтрували і промивали двічі 2 об'ємами EtOH, потім сушили при температурі 50 °С при зниженому тиску протягом ночі. Чистота згідно з результатами HPLC становила 99,79 % площі. Одержану тверду речовину додатково характеризували за допомогою XRPD (див. фіг. 1 і таблицю 3), TGA-DSC (фіг. 2), ¹H ЯМР (фіг. 3) і рентгенівської кристалографії окремого кристала.

Початкова втрата маси згідно з результатами TGA становила 0,19 мас. % з подальшою втратою 0,30 мас. % при плавленні, див. фіг. 2. Термограма DSC демонструвала плавлення з початком при температурі 172,9 °С, за яким слідувало розкладання зразка при температурі вище 200 °С.

Таблиця 3.

XRPD для сесквісукцинату сполуки (I) (форма А)

2θ (градуси)	Міжатомна відстань (ангстрем)	Відносна інтенсивність (%)
4,28	20,61	25
6,71	13,16	10
8,50	10,39	42
12,76	6,93	20
14,04	6,30	25
15,42	5,74	57
15,66	5,65	10
16,61	5,33	8
17,00	5,21	22
18,13	4,89	8
19,43	4,56	8
19,76	4,49	13
20,12	4,41	17
20,74	4,28	11
21,29	4,17	100
22,36	3,97	6
24,98	3,56	7
29,10	3,07	7
34,35	2,61	7

Спосіб В:

Утворення солі здійснювали з застосуванням декількох різних систем розчинників із застосуванням вільної основи сполуки (I) і 1,6 еквівалента бурштинової кислоти. Приблизно 30 мг вільної основи відвішували у пляшечку об'ємом 2 мл і додавали 10 об'ємів розчинника. У всіх розчинниках, за виключенням MtBE, вільна основа розчинялась при кімнатній температурі. Бурштинову кислоту потім додавали у вигляді маточного розчину в EtOH, доводячи кожну композицію розчинника до 40 % EtOH за об'ємом. Розчини/зависі перемішували при кімнатній температурі доти, поки не спостерігали осадження, а потім тверді речовини збирали для аналізу XRPD. Стисла інформація про тверді речовини, одержані у результаті експериментів з утворення солі, наведена у таблиці 4.

Таблиця 4

Стисла інформація про тверді речовини, одержані у результаті експериментів з утворення солі

Розчинник	XRPD дифрактограма	Спостереження
ацетон:EtOH (62:38 за об'ємом)	форма А	розчинялась, потім утворювала густу завись після ~5 годин
EtOH	форма А	розчинялась, потім утворювала завись протягом 5 хвилин
IPA:EtOH (62:38 за об'ємом)	форма А	розчинялась, потім утворювала завись протягом 5 хвилин, трохи в'язка
EtOAc:EtOH (62:38 за об'ємом)	форма А	розчинялась, потім утворювала завись протягом 5 хвилин, брудно-білий порошок
1,4-діоксан:EtOH (62:38 за об'ємом)	форма А	персиковий розчин, потім утворювала завись після 1 доби
ACN:EtOH (62:38 за об'ємом)	форма А	розчинялась, потім утворювала густу завись за ~1,5 години

об'ємом) толуол:EtOH (62:38 за об'ємом)	форма А	розчинялась, потім утворювала текучу брудно-білу завись за~1,5 години
MtBE:EtOH (62:38 за об'ємом)	форма А	розчинялась при додаванні SA, утворювала завись протягом 5 хвилин

Спосіб С: Аморфні зависі

Приблизно 30 мг сесквісукцинату сполуки (I) розплавляли у пляшечках об'ємом 2 мл з одержанням аморфної склоподібної твердої речовини. Розчинник (450 мкл) додавали в кожну пляшечку разом з якорем магнітної мішалки при кімнатній температурі.

У всіх випадках склоподібна тверда речовина приклеювалася до дна пляшечки, тому шпатель застосовували для розпушення твердої речовини та забезпечення належного перемішування. У багатьох випадках світло-коричнева завись утворювалась одразу ж після розпушення твердих речовин. Зразки зависі для аналізу XRPD забирали, коли спостерігали осадження. Найбільш раннім моментом часу для забору зразків був момент часу приблизно через 30 хвилин після додавання розчинника. Результати і спостереження в експериментах з аморфною зависсю стисло викладені у таблиці 5.

Таблиця 5

Стисла інформація про XRPD дифрактограми для твердих речовин,
одержаних у експериментах з аморфною зависсю

Розчинник	Час забору зразків (години)	XRPD дифрактограма	Спостереження
ацетон	0,5	форма А	світло-коричнева завись/бежева тверда речовина
EtOH	0,5	форма А	світло-коричнева завись/бежева тверда речовина
IPA	0,5	форма А	світло-коричнева завись/бежева тверда речовина
EtOAc	4,25	форма А	спочатку коричнева смолиста речовина, потім брудно-біла завись + коричнева смолиста речовина
IPOAc	0,5	форма А	брудно-біла завись + коричнева смолиста речовина/світла тверда речовина
1,4-діоксан	0,5	форма А	світло-коричневий розчин потім осідав у світло- коричневу завись
толуол		розчин	коричнева смолиста речовина
MtBE	0,5	форма А (низький ступінь кристалічності)	світло-коричнева завись + коричнева смолиста речовина
MIBK	4,25	форма А	світло-коричневий розчин, потім брудно- біла завись + біла плівка на пляшечці
ACN	0,5	форма А	світло-коричнева завись

Спосіб D: Дифузія парів у аморфну речовину

Приблизно 10 мг аморфного сесквісукцинату сполуки (I) поміщали у пляшечки об'ємом 4 мл. Кожну пляшечку об'ємом 4 мл потім поміщали у пляшечку об'ємом 20 мл, що містить 3 мл розчинника, та запечатували. Пляшечки витримували при кімнатній температурі протягом вихідних перед забором зразків твердих речовин для XRPD. Більшість твердих речовин змінювали зовнішній вигляд зі світло-бежевого скла (розколотого з аморфної піни) на білий/брудно-білий порошок. Аморфна тверда речовина під впливом вологої атмосфери (вода в якості розчинника) ставала жовтою пастою. Стисла інформація про тверді речовини, одержана у результаті експериментів з дифузії парів у аморфну речовину, наведена у таблиці 6.

Таблиця 6

Стисла інформація про тверді речовини, одержана у результаті експериментів
з дифузії парів у аморфну речовину

Розчинник	XRPD дифрактограма	Спостереження
EtOH	форма А	білий/брудно-білий порошок
ацетон	форма А	білий/брудно-білий порошок
EtOAc	форма А	білий/брудно-білий порошок, інколи прилипав до дна пляшечки
1,4-діоксан	форма А	білий/брудно-білий порошок - волога текстура
толуол	форма А	білий/брудно-білий порошок - прилипав до дна пляшечки
DMSO	форма А	білий/брудно-білий порошок - волога текстура
MIBK	форма А	білі/брудно-білі грудки - прилипали до пляшечки
вода	форма А	жовта паста (волога)

При скринінзі сесквісукцинату сполуки (I) щодо поліморфів солі утворювали з застосуванням більш ніж 10 способів кристалізації або утворення солі, у тому числі в експериментах з використанням аморфної твердої речовини. Тільки кристалічну форму А та аморфну тверду речовину спостерігали під час скринінгу сесквісукцинату сполуки (I) щодо поліморфів.

Зразок аморфної твердої речовини (сесквісукцинат сполуки (I)) нагрівали до 140 °C з наступним охолодженням до кімнатної температури. Одержані у результаті тверді речовини являли собою кристалічну форму А згідно з результатами XRPD.

Аморфну тверду речовину (сесквісукцинат сполуки (I)) піддавали впливу умов з 75 % RH/40 °C протягом одного тижня. Тверді речовини змінювали зовнішній вигляд зі світло-бежево-жовтої твердої речовини на тверде жовте скло. XRPD твердих речовин демонструвала кристалічну форму А.

Форма А, як виявилось, була кристалічною з температурою початку плавлення 173 °C, була стабільною при висушуванні та впливі вологості і демонструвала високу розчинність у воді й імітаціях середовищ організму (>22 мг/мл у всіх середовищах організму).

Спосіб Е:

Проміжну сполуку 6-(5-(4-етокси-1-ізопропілпіридин-4-іл)піридин-2-іл)-4-(піперазин-1-іл)піроло[1,2-b]піридазин (3,5 кг, 7,8 моля), яку було розкрито у патенті США № 10233186, розчиняли в ізопропілацетаті (IPAc, 2,75 об'єму), що містить (R)-тетрагідрофуран-3-іл-1Н-імідазол-1-карбоксилат (1,2 еквівалента) і струшували до повного перетворення. Додатковий IPAc (4 об'єми) додавали по мірі того, як реакцію гасили водним розчином аміаку (2 об'єми). Процедури розділення фаз, промивання водою та перегонка дають розчин сполуки (I) у сухому IPAc (~3,5 кг у 3 об'ємах). При нагріванні до температури 40-60 °C додавали бурштинову кислоту в етанолі (1,45 еквівалента в 10 об'ємах). Суміш нагрівали до температури 75-85 °C протягом 30 хвилин. Після охолодження до температури 70- 75 °C у розчин вносили затравку у вигляді сесквісукцинату сполуки (I) і охолоджували до температури 10 °C за 8 годин. Суспензію виділяли за допомогою фільтрування та промивали етанолом (2×3 об'єми) з одержанням форми А сесквісукцинату сполуки (I).

2.2 Вплив вологості

Сесквісукцинат, одержаний у прикладі 2.1, піддавали впливу умов з відносною вологістю 75 % і температурою 40 °C протягом одного тижня. Зразки поміщали у пляшечку об'ємом 4 мл, накриту Kimwipe®, а потім поміщали у пляшечку об'ємом 20 мл, що містить 3-4 мл насиченого розчину NaCl у воді. Пляшечки об'ємом 20 мл запечатували та витримували при температурі 40 °C. Тверді речовини збирали для аналізу XRPD після одного тижня. Форма А була фізично стабільною згідно з результатами XRPD після одного тижня у вологих умовах.

2.3 DVS

DVS демонструвала зміну маси, що становила 0,59-0,60 мас. %, при відносній вологості від 2 до 95 % і температурі 25 °C (фіг. 4). При цьому зміна маси на 0,34-0,35 мас. % відбувалась при відносній вологості вище 80 %. XRPD після вимірювання DVS виявила, що сполука залишалася у формі А (фіг. 5).

DVS також проводили на вільній основі сполуки (I) (фіг. 24), яка демонструвала оборотну зміну маси, що складає 0,88-0,92 мас. %, при відносній вологості від 2 до 95 % і температурі 25 °C. При цьому зміна маси на 0,46-0,53 мас. % відбувалась при відносній вологості вище 70 %.

2.4 VT-XRPD і VH-XRPD

Експерименти при змінній вологості з формою А сесквісукцинатної солі сполуки (I), які проводили з застосуванням XRPD, демонструють, що не спостерігається зміна у кристалічній структурі під впливом вологості (див. фіг. 6).

Експерименти при змінній температурі з формою А сесквісукцинатної солі сполуки (I), які проводили з застосуванням XRPD, демонструють, що не спостерігається зміна у кристалічній структурі при температурі нижче 160 °C, тобто при температурі плавлення (див. фіг. 7).

Приклад 3. Процедури одержання та характеристики моногідрату кристалічної 1:1 солі HCl і сполуки (I)

3.1 Одержання

Спосіб А:

Спочатку 25- 35 мг вільної основи сполуки (I) відвішували у пляшечки об'ємом 2 мл. Потім у пляшечку додавали розчинник (25 об'ємів або 5 об'ємів) із подальшим додаванням 0,9, 1,1, 1,5, 2,2 та 3,5 молярних еквівалентів маточного розчину HCl в IPA.

Спочатку суміш IPA:вода (9:1 за об'ємом) додавали з одержанням сумарно 25 об'ємів (включаючи об'єм маточного розчину HCl). Спочатку всі кількості утворювали розчини. Експеримент з 1,1 екв. демонстрував осадження протягом ночі, але все інші залишалися у розчині. Це може бути обумовлено відмінностями у композиціях розчинників, тому інші розчини (0,9, 1,5, 2,2 та 3,5 екв.) випаровували до висихання при температурі 50 °C в атмосфері, а потім при температурі 50 °C та активному зниженні тиску протягом приблизно 3 годин. Для додаткового експеримента з 1,1 екв. зразок готували аналогічним чином шляхом додавання 5 об'ємів IPA та відповідної кількості маточного розчину HCl з подальшим випаровуванням до висихання при температурі 50 °C та слабкому зниженні тиску, а потім при 50 °C та активному зниженні тиску протягом приблизно 3 годин.

До твердих речовин, які піддавали випаровуванню, додавали 25 об'ємів EtOAc і забезпечували можливість перемішування протягом ночі при кімнатній температурі. Зависі утворювали у всіх випадках. Колір зависей варіював від білої зависі (0,9 екв.) до яскраво-/темно-жовтої зависі (1,5 екв. та вище).

Зависі потім фільтрували і тверді речовини виділяли для аналізу XRPD. Солі, утворені з 0,9 та 1,1 екв., показували форму А (моно-HCl) згідно з результатами XRPD (фіг. 8). Застосування 1,3 і 1,5 екв. давало у результаті суміш форми А (моно-HCl) і форми В (біс-HCl). Застосування 2,2 і 3,5 екв. давало у результаті форму В (біс-HCl).

Форму А кристалічної солі HCl і сполуки (I) додатково характеризували за допомогою TGA-DSC (фіг. 9), ¹H ЯМР (фіг. 10) і рентгенівської кристалографії окремого кристалу (таблиця 7). Зразок демонстрував початок плавлення при температурі 202,86 °C при DSC (фіг. 9). Термограма TGA демонструвала втрату маси на 2,81

мас. % перед плавленням (асоційовану з дуже широкою ендотермою при DSC) та поетапну втрату маси на 0,44 мас. % при плавленні. Титрування солі HCl за методом Карла Фішера демонструвало 3,17 мас. % води, що підтверджує те, що одержана кристалічна сіль HCl являє собою моногідрат. Теоретична кількість води у моногідраті солі HCl становить 3,0 мас. %.

Таблиця 7

Перелік піків на XRPD дифрактограмі для моногідрату кристалічної 1:1 солі HCl і сполуки (I) (форма A)

2θ (градуси)	Міжatomна відстань(ангстрєми)	Відносна інтенсивність (%)
5,69	15,53	8
10,14	8,72	15
12,63	7,00	11
12,91	6,85	42
13,79	6,42	16
15,14	5,85	16
17,02	5,21	100
18,98	4,67	33
19,59	4,53	21
20,32	4,37	14
21,12	4,20	28
22,17	4,01	14
22,76	3,90	35
23,35	3,81	17
23,98	3,71	36
24,80	3,59	11
25,47	3,49	17
26,12	3,41	5
28,58	3,12	6

Спосіб B:

Вільну основу сполуки (I) (4,3 кг) розчиняли в ізопропілацетаті (5,5 об'єму) та ізопропіловому спирті (2,5 об'єму). Суміш нагрівали зі зворотним холодильником і HCl (16,5 % за масою у воді, 0,95 еквівалента) завантажували за 0,75 години. Після нагрівання зі зворотним холодильником протягом 1 години розчин охолоджували до 20-25 °C протягом 2 годин і витримували протягом 0,5 години. Кристалічний продукт виділяли шляхом фільтрування та промивали IPAс, сумішшю IPA та води з одержанням моногідрату кристалічної 1:1 солі HCl і сполуки (I), форма A.

3.2 Вплив вологості

Форму A моногідрату солі HCl поміщали в умови з температурою 40 °C/відносною вологістю 75 % на один тиждень. Зразок масою приблизно 10 мг поміщали у пляшечку об'ємом 4 мл, накриту Kimwire®. Пляшечку потім поміщали всередину запечатаної пляшечки об'ємом 20 мл, що містить насичений водний хлорид натрію. Деякі незначні зсуви піків спостерігали при XRPD після одного тижня впливу вологості. Зсуви піків також спостерігали на XRPD дифрактограмах для деяких зависей, які зберігали тривалий період часу, що вказує на те, що форма A моногідрату солі HCl являє собою канальний гідрат, і можливо, що зсуви піків обумовлені коливаннями вмісту води.

У добу забору зразків після впливу вологості протягом тижня (75 % RH і 40 °C) у лабораторії спостерігалась низька вологість (<25 % RH).

Зразки твердих речовин забирали знов після відстоювання у запечатаному флаконі (умови навколишнього середовища) протягом 14 діб. Тверді речовини являли собою моногідрат кристалічної 1:1 солі HCl і сполуки (I) (форма A) згідно з результатами XRPD.

3.3 DVS форми A моногідрату солі HCl

DVS виконували на формі A моногідрату солі HCl (фіг. 11). Вона демонструвала зміну маси, що складає 1,30-1,43 мас. %, при відносній вологості від 2 до 95 % і температурі 25 °C. При цьому зміна маси на 0,99-1,11 мас. % відбувалась при відносній вологості нижче 20 %.

XRPD у зразці аналізували після вимірювання DVS (фіг. 12). Усі піки для форми A моногідрату солі HCl були присутні при XRPD, але спостерігали і додаткові піки.

3.4 VT-XRPD і VH-XRPD

Експерименти зі змінною вологістю, які виконували на формі A моногідрату солі HCl, що проводили з застосуванням XRPD, наведено на фіг. 13. Невеликий зсув до більших значень кута, тобто до менших міжatomних відстаней, який спостерігали при 0 % RH у піків при приблизно 10 та 13° (2), відповідає кристалічній структурі, що стиснулась після втрати води та, отже, відповідає канальному гідрату.

Експерименти при змінній температурі, які проводили з застосуванням XRPD, наведені на фіг. 14. Це підтверджує, що зміни, які спостерігали при температурі 100 °C і вище, на дифрактограмах, по суті, обумовлені термічним розширенням, а також стисненням елементарної комірки внаслідок видалення молекули води. Не виявляють, що кристалічна структура руйнується та/або перебудовується порівняно з присутністю зв'язаної води/кристалізаційної води, що також відповідає канальному гідрату.

3.5 Вплив умов висушування та повторного зволоження

Моногідрат кристалічної 1:1 солі HCl і сполуки (I), який одержували у прикладі 3.1, піддавали впливу різних умов висушування, а потім аналізували за допомогою XRPD.

Умови були наступними: (1) кімнатна температура у пляшечці, що містить P₂O₅, при температурі 50 °C, (2) 60 °C при зниженому тиску і (3) нагрівання до 140 °C при DSC.

У всіх трьох випадках спостерігали нову XRPD дифрактограму, яку ідентифікували як безводну форму 1:1 солі HCl і сполуки (I). Відносна вологість у лабораторії є достатньою для регідратації зразка на столі. DVS не демонструвала значну втрату маси доти, поки відносна вологість не ставала нижчою 20 %.

Зразки солі HCl, яка була піддана впливу P₂O₅ при температурі 50 °C, забирали для XRPD на 7 добу. XRPD одразу після забору зразка демонструвала форму D. Зразок залишали на столі (22-23 °C, 28 % RH) протягом 2,25 години та аналізували за допомогою XRPD. Тверда речовина перетворювалась на форму A. Той же зразок аналізували за допомогою XRPD після відстоювання на столі протягом ночі, і згідно з результатами XRPD залишалась форма A. XRPD дифрактограми наведено на фіг. 12.

Приклад 4. Процедури одержання та характеристики безводної кристалічної 1:1 солі HCl і сполуки (I) (форма D)

4.1 Одержання

Безводну кристалічну 1:1 сіль HCl і сполуки (I) (форма D) одержували шляхом тривалого висушування форми A (моногідрат) у запечатаній пляшечці, що містить пентоксид фосфора, при температурі 50 °C. Зокрема, 100 мг форми A (моногідрат), одержаної у прикладі 4.1, поміщали в сухе навколишнє середовище на 4 доби. Відкриту пляшечку об'ємом 4 мл, що містить зразок, поміщали у запечатану пляшечку об'ємом 20 мл, яка містить P₂O₅, при температурі 50 °C протягом двох діб перед забором зразків.

Його ідентифікували як нову кристалічну форму (форма D) за допомогою XRPD (фіг. 15).

Спостерігали, що форма D перетворювалась у форму A під впливом умов навколишнього середовища (22 °C, 35 % RH) протягом 2,25 години. Таким чином, характеристику форми D виконували при мінімальному впливі умов навколишнього середовища.

Термограма DSC для зразка форми D демонструвала початок ендотермічної реакції при температурі 202,4 °C (фіг. 16). TGA для зразка форми D демонструвала загальну втрату маси, що складає 1,10 мас. % (фіг. 16). Форма A (моногідрат) також демонструє DSC з початком ендотермічної реакції при температурі 202-203 °C після дегідратації.

Титрування за методом Карла Фішера показало вміст води 0,72 мас. % у випадку зразка форми D. Зразок форми D демонстрував кубічну морфологію при мікроскопії. Морфологія не відрізнялась значно від початкового матеріалу (форма A). Чистота зразка форми D становила 98,82 процента площі згідно з результатами HPLC.

Форма D перетворювалась у форму A (моногідрат) під впливом вологості (>90 % RH) протягом ночі та 74 % RH/40 °C протягом одного тижня).

Форму D кристалічної солі HCl і сполуки (I) додатково характеризували за допомогою ¹H ЯМР (фіг. 17).

Таблиця 8

Перелік піків на XRPD дифрактограмі для безводної кристалічної 1:1 солі HCl і сполуки (I) (форма D)

2θ (градуси)	Міжатомна відстань (ангстрєми)	Відносна інтенсивність (%)
9,36	9,44	8
9,79	9,02	5
10,81	8,18	29
13,05	6,78	25
13,25	6,68	30
13,89	6,37	10
14,32	6,18	5
15,24	5,81	8
15,68	5,65	5
16,62	5,33	27
16,87	5,25	63
17,35	5,11	27
18,02	4,92	1
18,83	4,71	62
19,88	4,46	1
20,84	4,26	25
21,64	4,10	18
22,18	4,00	100
23,69	3,75	9
24,65	3,61	31
26,04	3,42	15
27,81	3,21	12

Приклад 5. Процедури одержання та характеристики безводної кристалічної 1:1 солі HCl і сполуки (I) (форма G)

5.1 Одержання

Форму G спостерігали під час швидкого охолодження з розчину IPA, а також з аморфних зависей у EtOAc та MtBE (низький ступінь кристалічності). Форму G одержували у збільшеному масштабі шляхом швидкого охолодження в IPA. Приблизно 200 мг щойно одержаної солі HCl відвішували у пляшечку об'ємом 20 мл і 60 об'ємів IPA додавали з перемішуванням при температурі 50 °C. Тверді речовини розчинялись, і розчин переносили у хімічний стакан із крижаною водою (0 °C). У розчин вносили затравку у вигляді зразка форми G при температурі 0 °C. Затравка зберігалась, але густа завись не утворювалась. Розчин переносили у морозильник з температурою -20 °C, де тверді речовини осаджувались протягом вихідних.

Утворена у результаті завись виглядала пухкою. Фільтрування проходило вкрай повільно, і тверда речовина була трохи липкою. Зібрані тверді речовини були достатньо вологими внаслідок поганої фільтрації. Зібрані тверді речовини сушили при температурі 50 °C при зниженому тиску протягом ночі. Тверді речовини, які одержали при одержанні в збільшеному масштабі, мали нижчий ступінь кристалічності, ніж той, що спостерігали під час скринінгу (фіг. 18).

Термограма DSC для форми G демонструє два ендотермічних явища з початком при температурах 163,1 °C і 189,6 °C, за якими слідував розклад (фіг. 19). Термограма TGA демонструвала поступову початкову втрату маси на 2,62 мас. % перед першим ендотермічним явищем з подальшими меншими втратами маси під час ендотермічних явищ (0,35 мас. % та 0,07 мас. %). Результати DSC, яку проводили окремо, добре узгоджуються з даними DSC-TGA, які проводили разом, а також демонструють широку ендотерму між 80 і 130 °C. Зразок форми G нагрівали при DSC до температури вище широкої ендотерми з наступним охолодженням до кімнатної температури. Не спостерігали зміни при XRPD.

Титрування за методом Карла Фішера показало вміст води 2,79 мас. % для зразка.

Мікроскопія зразка форми G показала грудки твердої речовини та деяку кількість частинок, що мають неправильну форму/дрібних частинок. Чистота зразка форми G становила 98,89 процента площі згідно з результатами HPLC.

Зразок форми G частково перетворювався у форму A протягом ночі у навколишньому середовищі з високою вологістю (>90 % RH). Форма G була стабільною (згідно з результатами XRPD) після одного тижня впливу вологості (75 % RH/40 °C).

Таблиця 9

Перелік піків на XRPD дифрактограмі для безводної кристалічної 1:1 солі HCl і сполуки (I) (форма G)

2θ (градуси)	Міжатомна відстань (ангстрєми)	Відносна інтенсивність (%)
10,19	8,67	38
12,84	6,89	73
14,88	5,95	14
15,50	5,71	10
16,65	5,32	100
17,35	5,11	39
18,43	4,81	17
19,37	4,58	4
20,00	4,44	1
20,51	4,33	19
21,25	4,18	26
22,02	4,03	23
22,49	3,95	47
24,25	3,67	25
25,25	3,52	5
26,04	3,42	4
28,22	3,16	7

Приклад 6. Процедури одержання та характеристики безводної кристалічної 1:1 солі HCl і сполуки (I) (форма I)

6.1 Одержання

Форму I спостерігали при виконанні експериментів з утворенням солі у безводних системах розчинників (MtBE:IPA та циклогексан:IPA). Форму I одержували у збільшеному масштабі шляхом проведення утворення солі в суміші циклогексан:IPA. Спочатку приблизно 200 мг вільної основи сполуки (I) відвішували у пляшечку об'ємом 4 мл і 15 об'ємів циклогексану додавали з утворенням зависі. 1,1 Молярного еквівалента HCl додавали у вигляді 0,55 М розчину в IPA протягом 30 хвилин. Розчин HCl дозували краплинно у вигляді трьох аліквот. Після першої аліквоти утворювалась жовта завись із подальшим перетворенням у смолисту речовину. Перетворення у смолисту речовину зберігалось до додавання двох кінцевих аліквот. Пляшечку потім нагрівали до температури 45 °C, витримували протягом однієї години та вносили у вигляді затравки зразок форми I. Після внесення затравки зразок охолоджували у природних умовах до кімнатної температури. Після внесення затравки спостерігали білу тверду речовину, і після охолодження до кімнатної температури зразок переважно являв собою білу завись з деякою кількістю жовтої смолистої речовини на стінках пляшечки. Завись фільтрували і промивали двічі двома об'ємами циклогексану.

Термограма DSC для зразка форми I демонструє ендотермічне явище з початком при температурі 180,5 °C з наступним невеликим ендотермічним явищем із початком при температурі 198 °C (фіг. 22). Термограма TGA демонструє поступову втрату маси на 2,34 мас. % перед плавленням і втрату маси на 0,26 мас. % при плавленні.

Результати DSC, яку проводили окремо, добре узгоджуються з даними DSC-TGA, які проводили разом, а також демонструє ендотермічне явище між 90 і 120 °C. Зразок форми I нагрівали до температури 150 °C при DSC з наступним охолодженням до кімнатної температури для аналізу XRPD. Не спостерігали зміни на XRPD дифрактограмі. Усі піки зміщувались до трохи більших значень кута два-тета, що має бути обумовлено зміщенням зразка.

Титрування за методом Карла Фішера показало вміст води 2,64 мас. % у випадку зразка форми I.

Мікроскопія демонструвала дрібні частинки (голки) та агломерати. Чистота форми I становила 99,51 процента площі згідно з результатами HPLC.

Дифрактограми порошкової рентгенівської дифракції (XRPD) для безводної кристалічної 1:1 солі HCl і сполуки (I) (форма I) наведені на фіг. 21.

Зразок форми I частково перетворювався у форму A протягом ночі у навколишньому середовищі з високою вологістю (>90 % RH).

Таблиця 10

Перелік піків на XRPD дифрактограмі для безводної кристалічної 1:1 солі HCl і сполуки (I) (форма I)

2θ (градуси)	Міжатомна відстань (ангстрєми)	Відносна інтенсивність (%)
5,44	16,23	52
8,22	10,75	60
10,21	8,66	37
13,06	6,77	51
14,94	5,92	23
15,40	5,75	25
16,33	5,42	100
16,51	5,37	57
17,05	5,19	30
18,35	4,83	57
18,98	4,67	22
20,05	4,43	9
20,42	4,34	28
21,49	4,13	65
21,78	4,08	43
22,49	3,95	10
23,70	3,75	11
24,10	3,69	28
25,00	3,56	7
25,55	3,48	12
26,45	3,37	10
27,30	3,26	12
30,78	2,90	5
34,03	2,63	14
35,09	2,56	4
35,87	2,50	11

Приклад 7. Процедури одержання та характеристики безводної кристалічної 1:1 фумаратної солі сполуки (I) (форма A)

7.1 Одержання

Форму A фумарату одержували у збільшеному масштабі шляхом відвішування вільної основи сполуки (I) у пляшечку об'ємом 4 мл і додавання 1,1 еквівалента фумарової кислоти. EtOAc (15 об'ємів) потім додавали при кімнатній температурі. Тверді речовини переважно розчинялись (завись ставала більш рідкою), а потім тверді речовини осаджувались, утворюючи густу білу завись. Додаткові 5 об'ємів EtOAc додавали для поліпшення змішування. Завись нагрівали до 45 °C і витримували протягом двох годин при перемішуванні з наступним природним охолодженням до кімнатної температури. Завись перемішували при кімнатній температурі протягом ночі. Перед фільтруванням завись являла собою густу білу завись. Завись фільтрували та двічі промивали 2 об'ємами EtOAc, потім сушили при температурі 50 °C при зниженому тиску протягом ночі. Одержану тверду речовину додатково характеризували за допомогою XRPD (див. фіг. 26 і таблицю 11), TGA-DSC (фіг. 27), ¹H ЯМР (фіг. 28).

Таблиця 11

Перелік піків на XRPD дифрактограмі для безводної кристалічної 1:1 фумаратної солі сполуки (I) (форма A)

2θ (градуси)	Міжатомна відстань (ангстрєми)	Відносна інтенсивність (%)
--------------	--------------------------------	----------------------------

5,72	15,45	100
7,54	11,72	28
9,76	9,05	24
10,29	8,59	28
11,21	7,89	15
12,25	7,22	30
14,79	5,99	21
15,25	5,80	74
16,21	5,46	13
16,86	5,25	90
17,16	5,16	28
17,52	5,06	42
18,26	4,86	23
18,78	4,72	17
19,87	4,47	24
20,66	4,30	14
21,46	4,14	5
22,39	3,97	51
23,04	3,87	50
23,49	3,78	8
25,79	3,45	29

Приклад 8. Процедури одержання та характеристики безводної кристалічної 1:1 фумаратної солі сполуки (I) (форма C)

8.1 Одержання

До вільної основи сполуки (I) у пляшечці об'ємом 4 мл додавали 1,1 еквівалента фумарової кислоти. IPAc (15 об'ємів) потім додавали при кімнатній температурі. Тверді речовини переважно розчинялись (завись ставала дуже рідкою), а потім тверді речовини осаджувались у вигляді брудно-білої зависі. Завись нагрівали до 45 °C і витримували протягом двох годин при перемішуванні з наступним природним охолодженням до кімнатної температури. Завись перемішували при кімнатній температурі протягом ночі. Перед фільтруванням завись являла собою густу білу завись. Завись фільтрували та двічі промивали 2 об'ємами IPAc, потім сушили при температурі 50 °C при зниженому тиску протягом ночі. Одержану тверду речовину додатково суспендували в EtOH і EtOAc та характеризували за допомогою XRPD (див. фіг. 29 і таблицю 12).

Таблиця 12

Перелік піків на XRPD дифрактограмі для безводної кристалічної 1:1 фумаратної солі сполуки (I) (форма C)

2θ (градуси)	Міжатомна відстань (ангстрєми)	Відносна інтенсивність (%)
4,45	19,82	41
6,30	14,02	48
7,41	11,91	16
8,96	9,86	76
13,50	6,55	75
14,68	6,03	32
16,24	5,45	10
16,78	5,28	20
17,35	5,11	13
17,78	4,98	8
18,36	4,83	15
18,92	4,69	100
19,65	4,52	43
21,04	4,22	54
22,50	3,95	72
23,63	3,76	40
25,46	3,50	16
26,22	3,40	13
27,51	3,24	22
28,31	3,15	13

Приклад 9. Процедури одержання та характеристики безводної кристалічної 1:1 фумаратної солі сполуки (I) (форма D)

9.1 Одержання

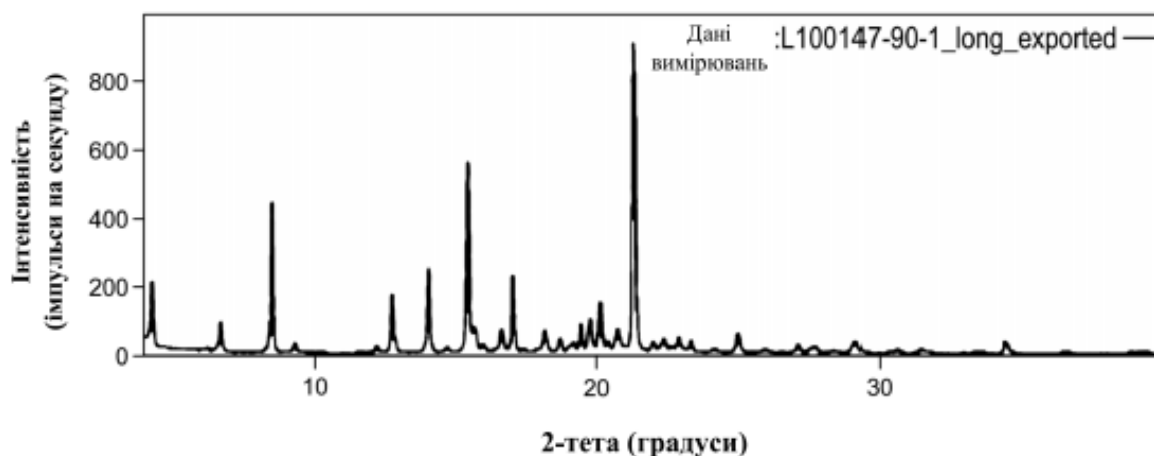
До вільної основи сполуки (I) у пляшечці об'ємом 4 мл додавали 1,1 еквівалента фумарової кислоти. IPAc (15 об'ємів) потім додавали при кімнатній температурі. Тверді речовини переважно розчинялись (завись ставала дуже рідкою), а потім тверді речовини осаджувались у вигляді брудно-білої зависі. Завись нагрівали до 45 °C і

витримували протягом двох годин при перемішуванні з наступним природним охолодженням до кімнатної температури. Завись перемішували при кімнатній температурі протягом ночі. Перед фільтруванням завись являла собою густу білу завись. Завись фільтрували і двічі промивали 2 об'ємами IPAс, потім сушили при температурі 50 °С при зниженому тиску протягом ночі. Одержану тверду речовину додатково суспендували у суміші IPA:вода (95:5 за об'ємом) і характеризували за допомогою XRPD (див. фіг. 30 і таблицю 13).

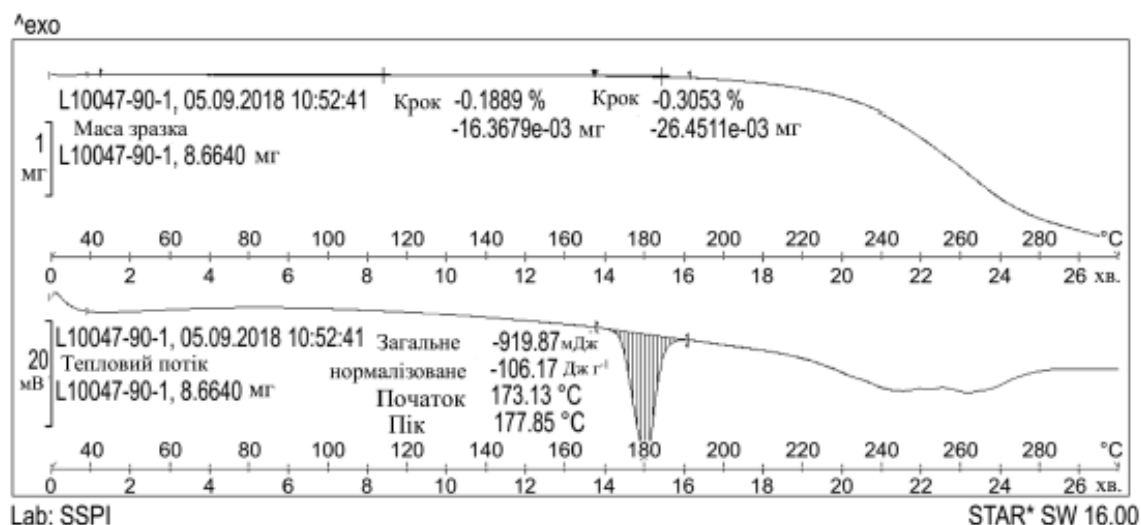
Таблиця 13

Перелік піків на XRPD дифрактограмі для безводної кристалічної 1:1 фумаратної солі сполуки (I) (форма D)

2θ (градуси)	Міжатомна відстань (ангстрєми)	Відносна інтенсивність (%)
4,62	19,10	100
10,98	8,05	26
11,94	7,41	7
14,25	6,21	5
15,08	5,87	7
18,45	4,80	23
19,40	4,57	8
20,48	4,33	9
20,98	4,23	8
22,78	3,90	6
23,62	3,76	5
24,97	3,56	7



Фіг. 1



Фіг. 2

L100147-90-1.11.fid

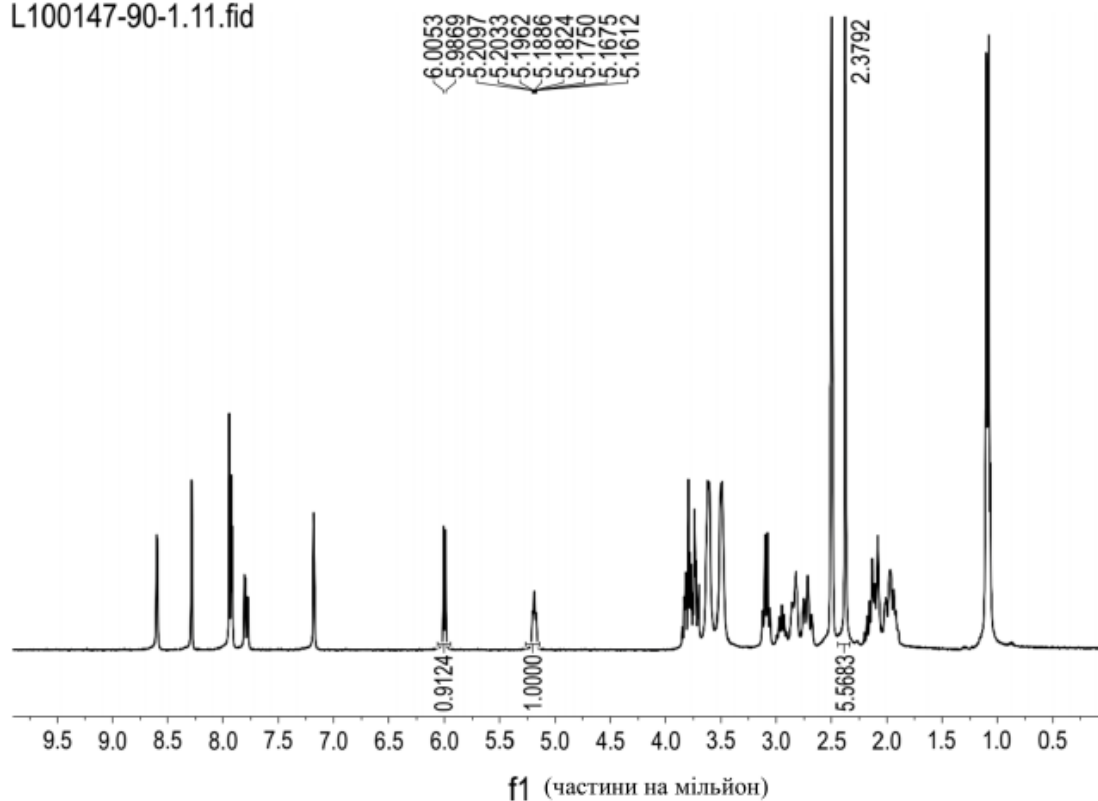


Fig. 3

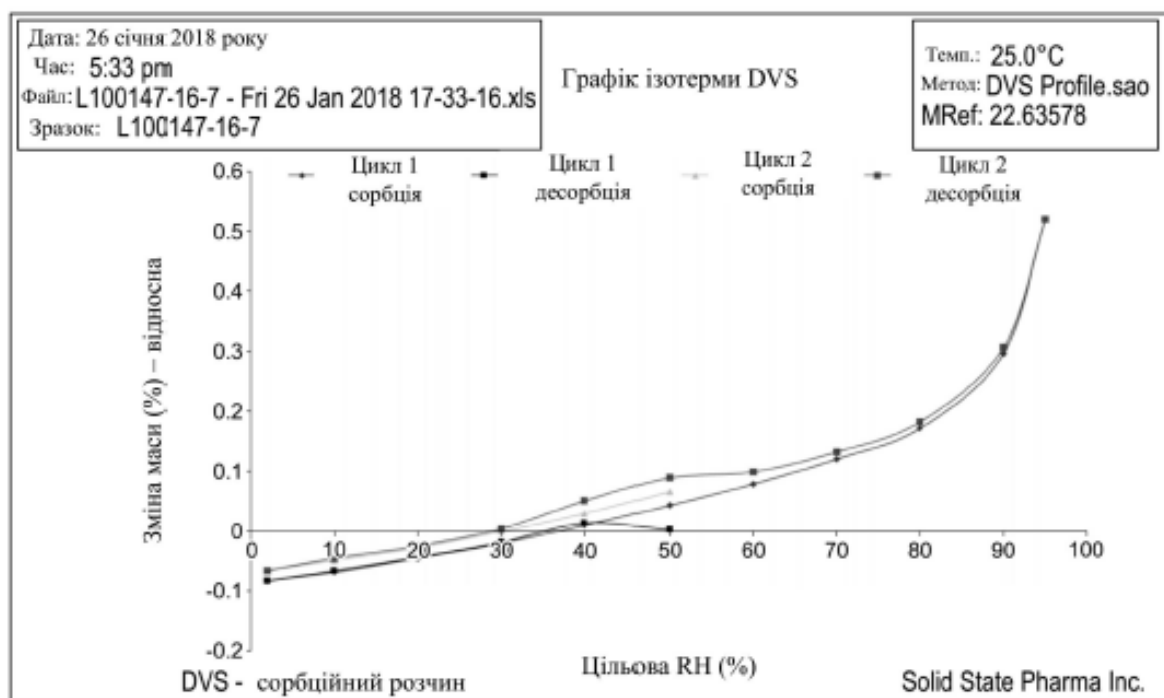


Fig. 4

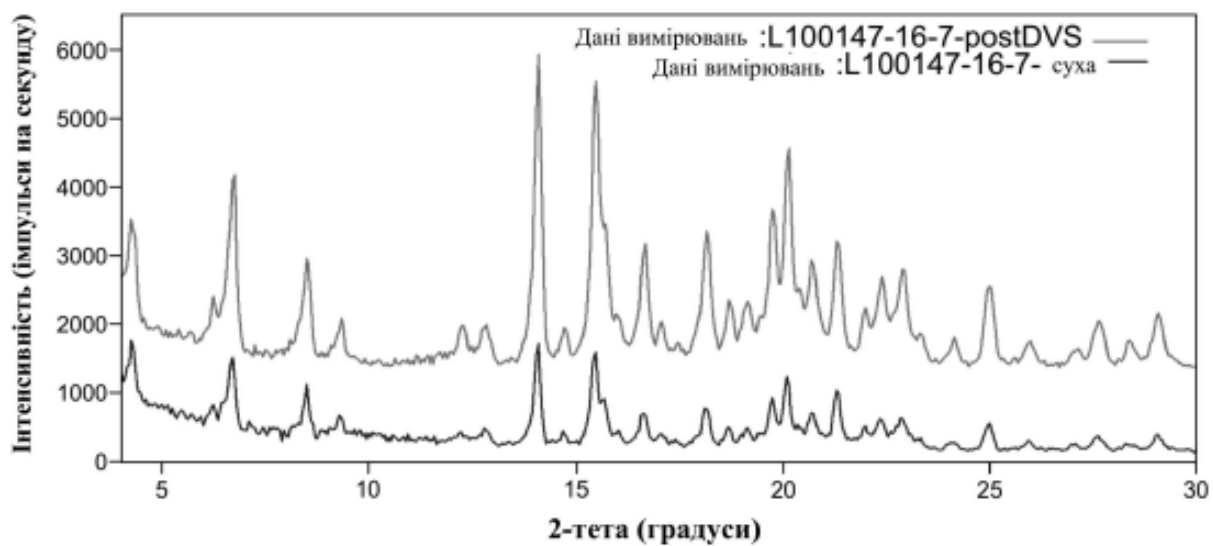


Fig. 5

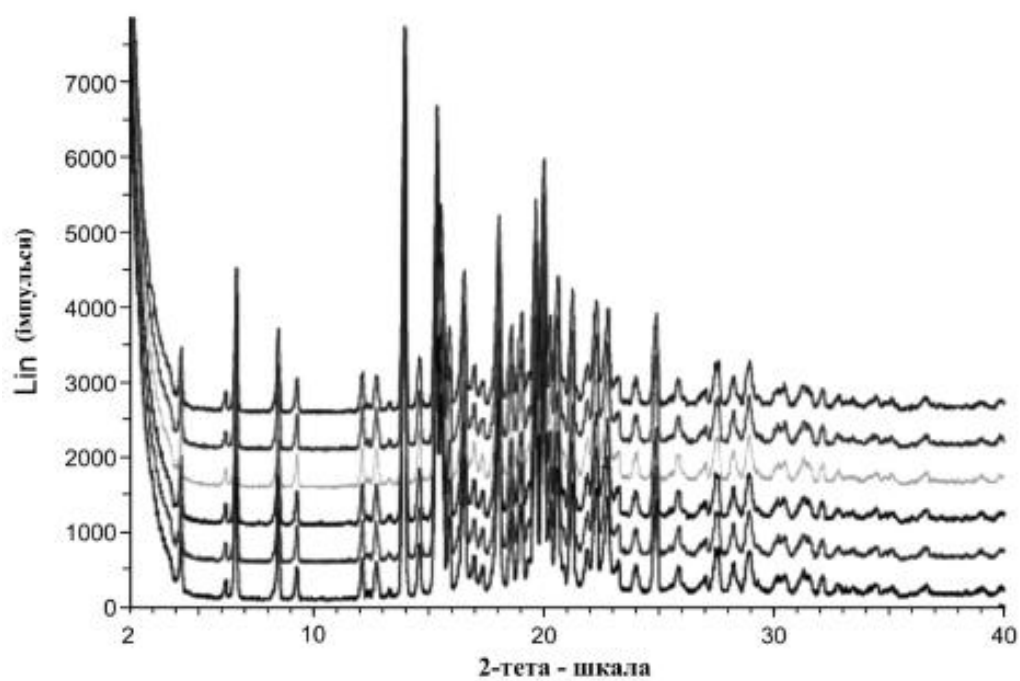


Fig. 6

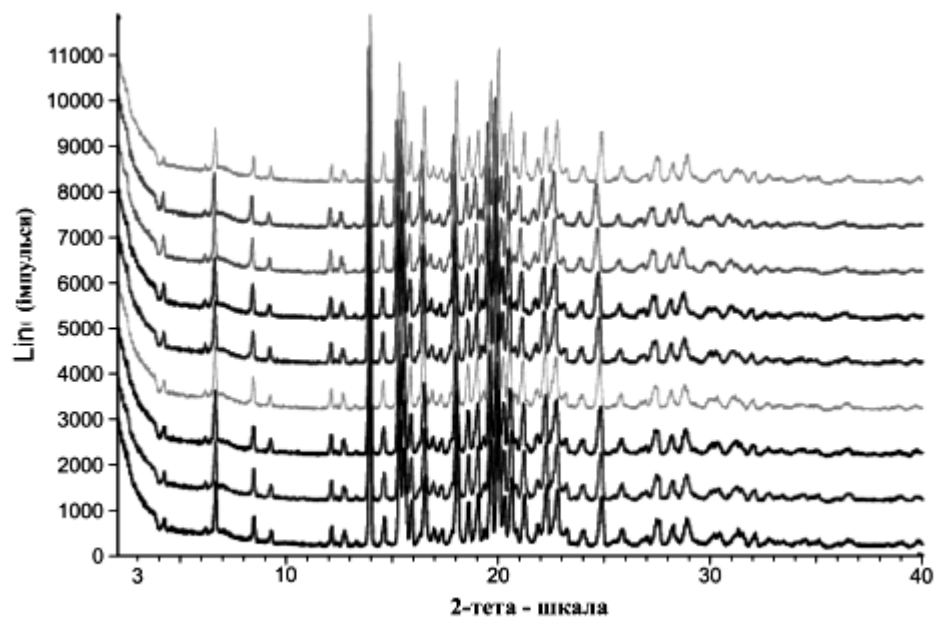


Fig. 7

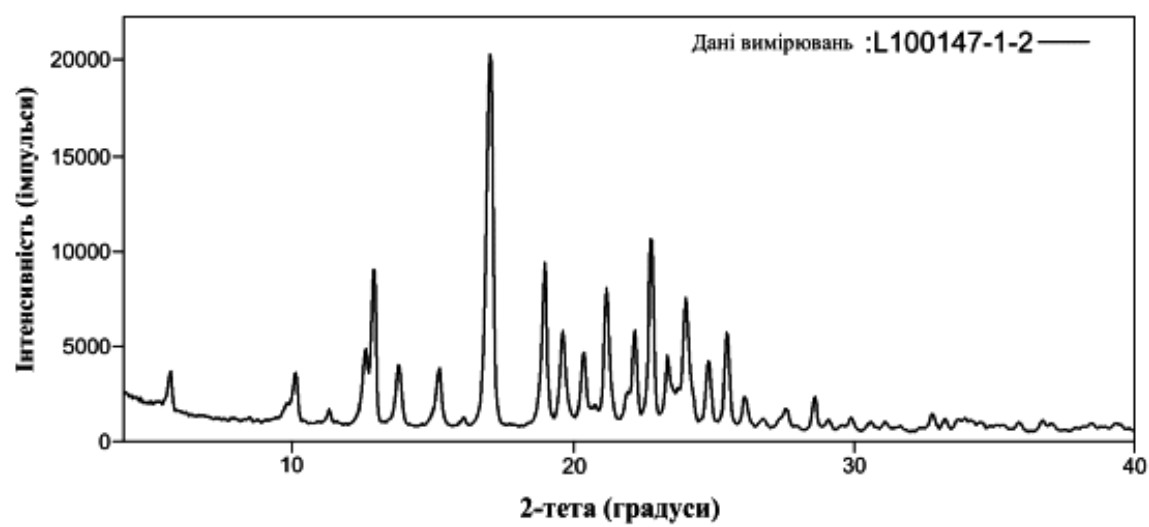
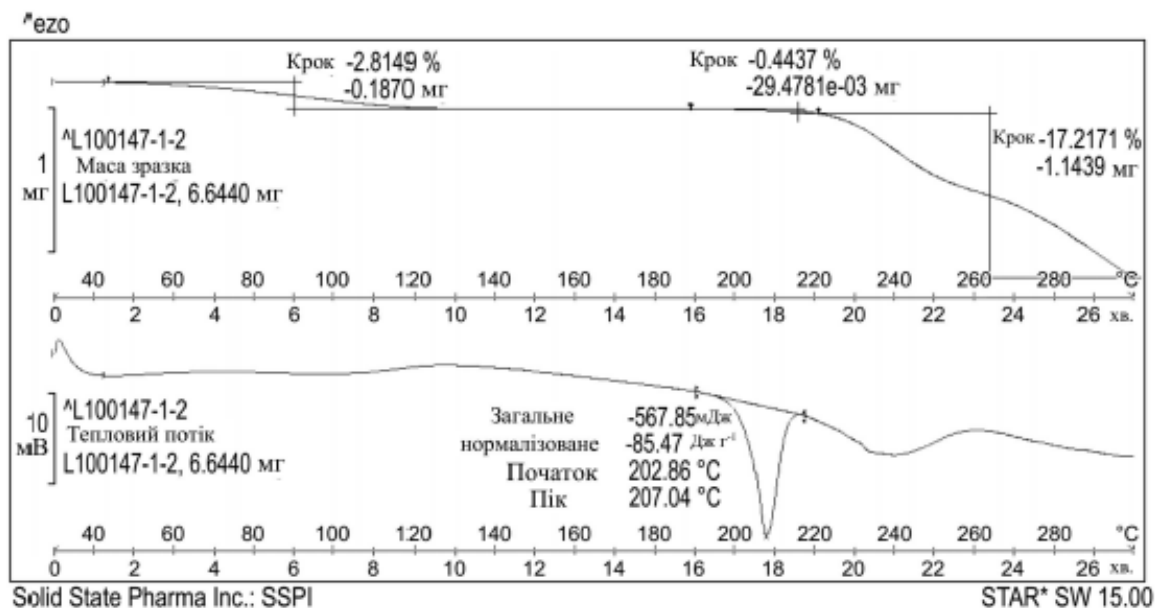
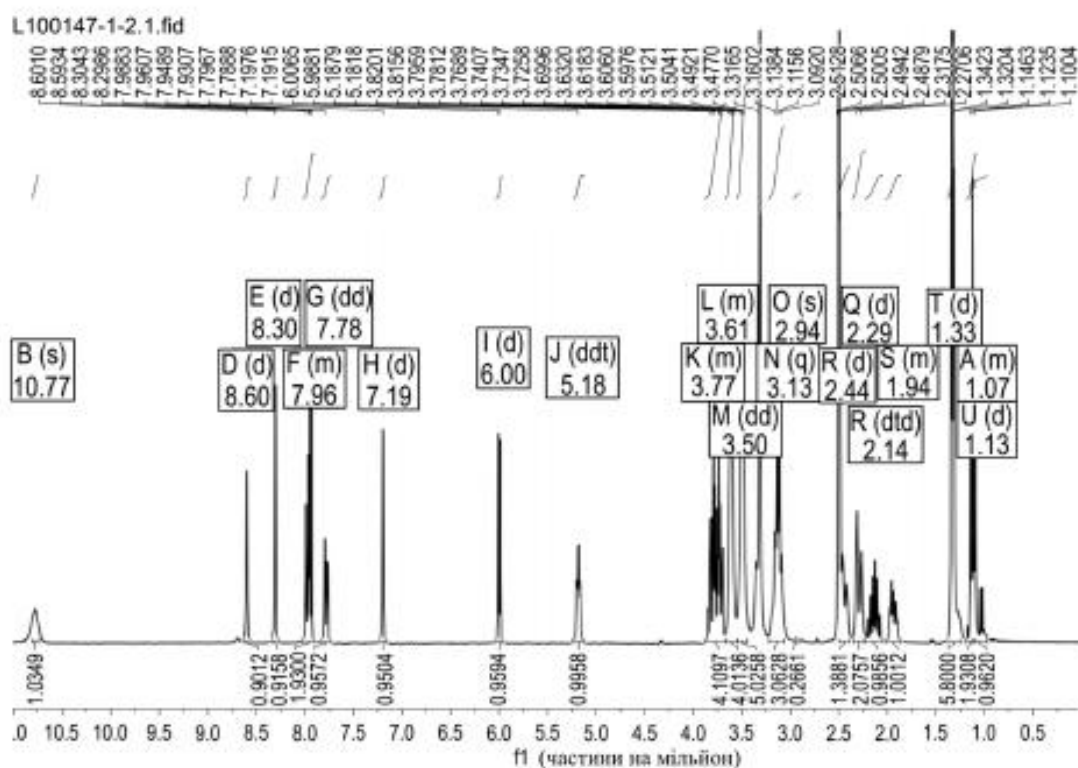


Fig. 8



Фіг. 9



Фіг. 10

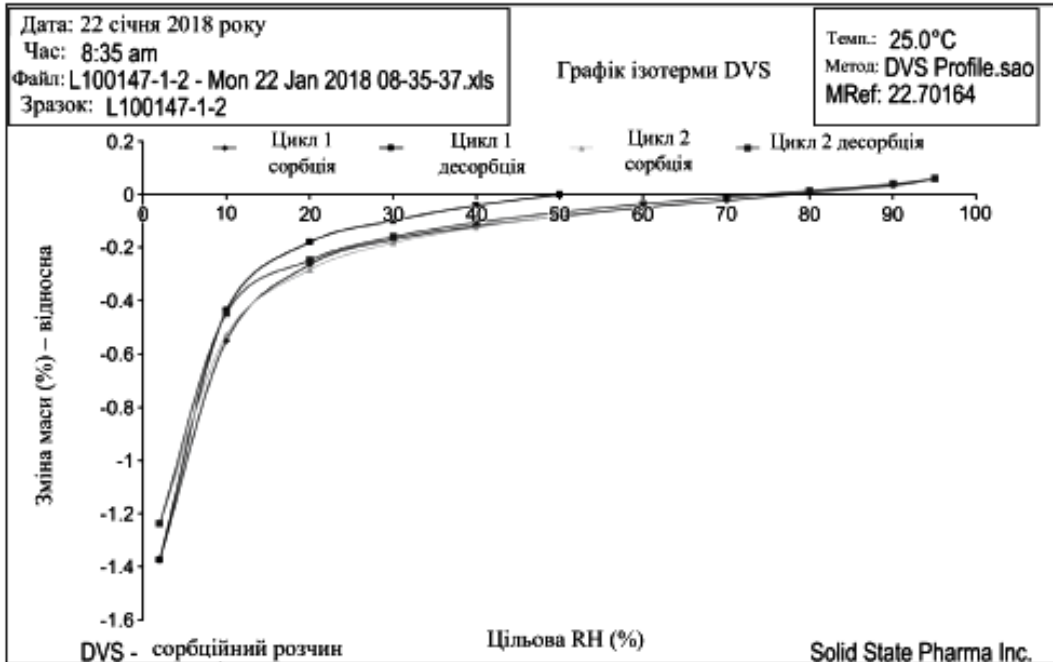


Fig. 11

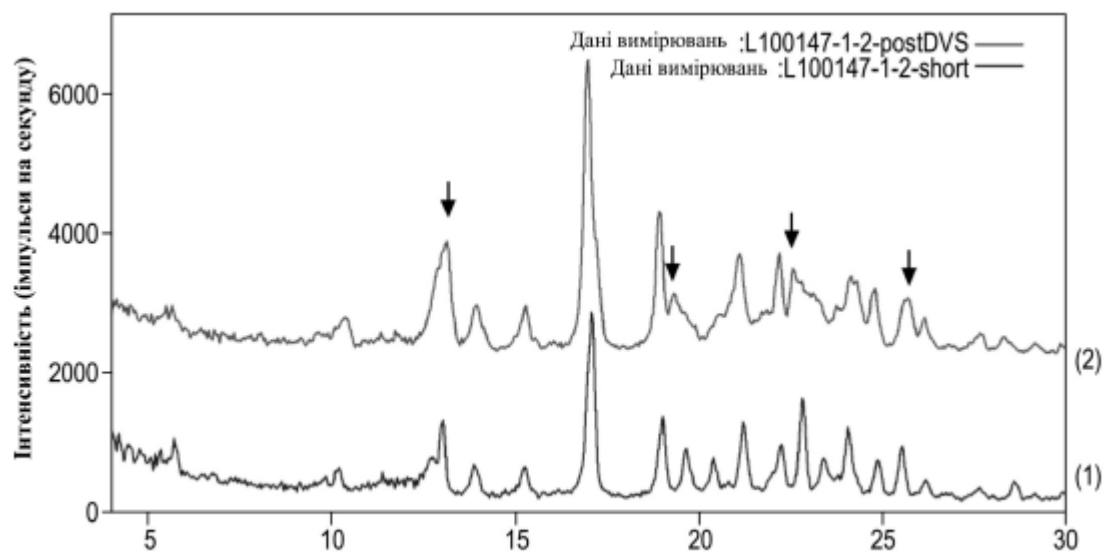
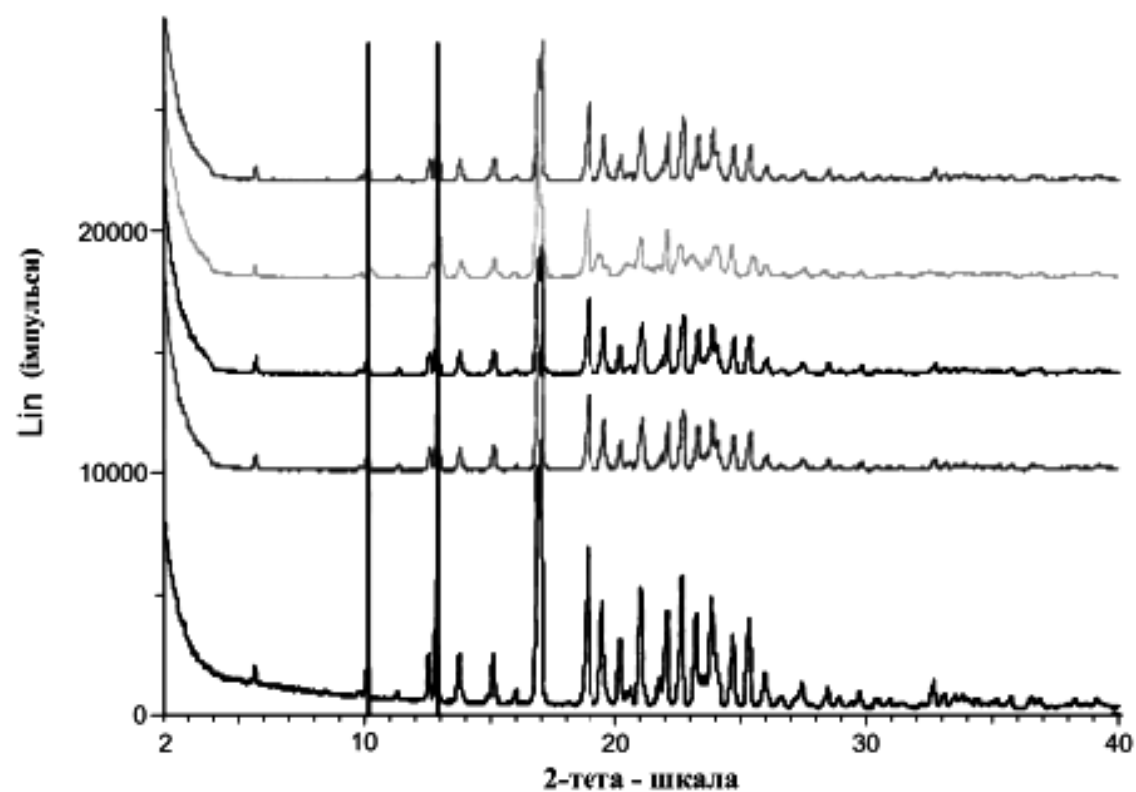
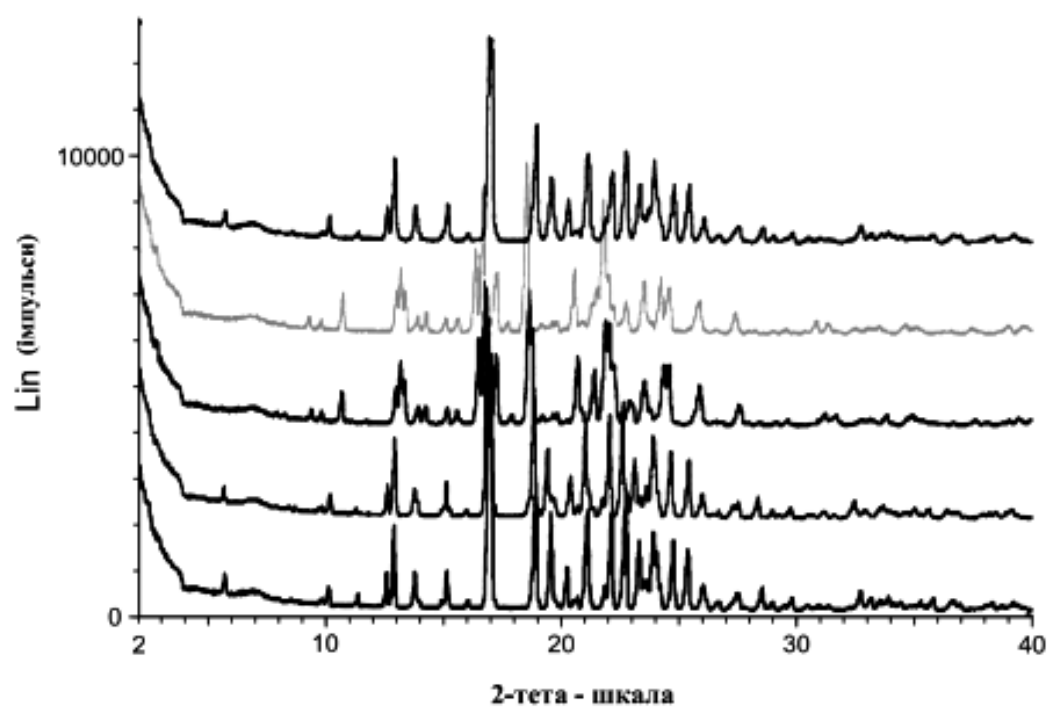


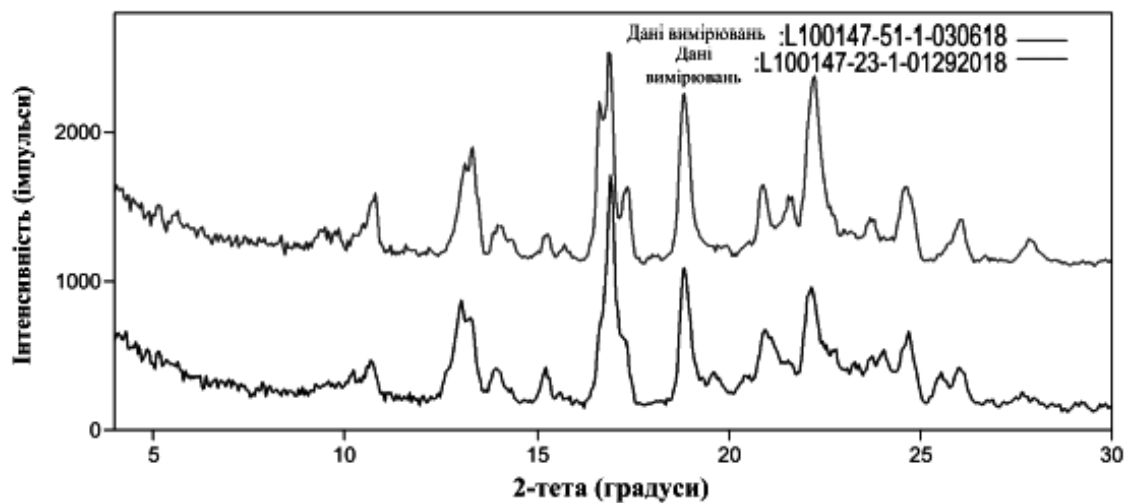
Fig. 12



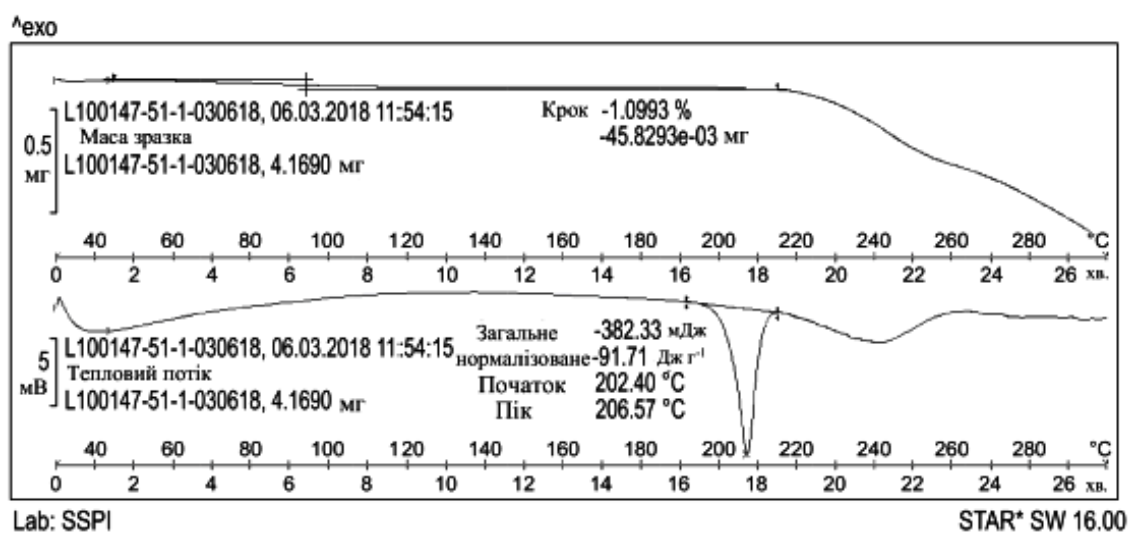
Фіг. 13



Фіг. 14



Фіг. 15



Фіг. 16

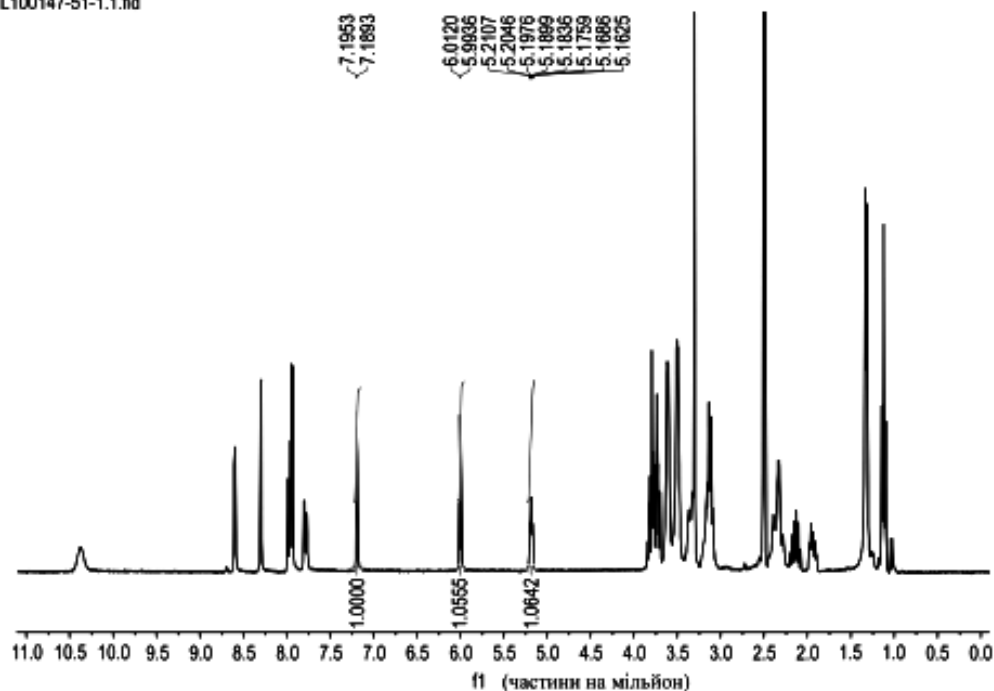


Fig. 17

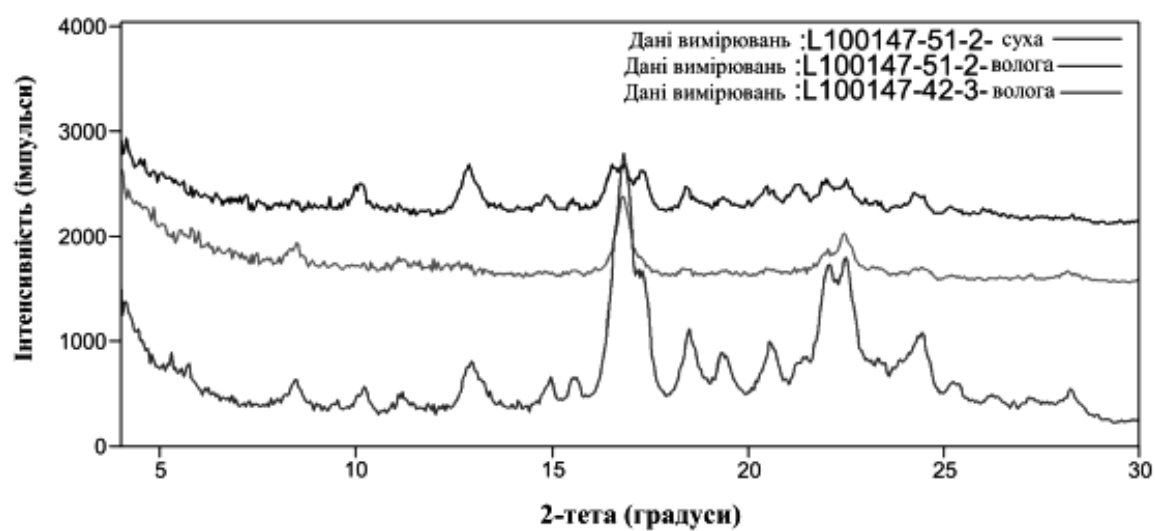
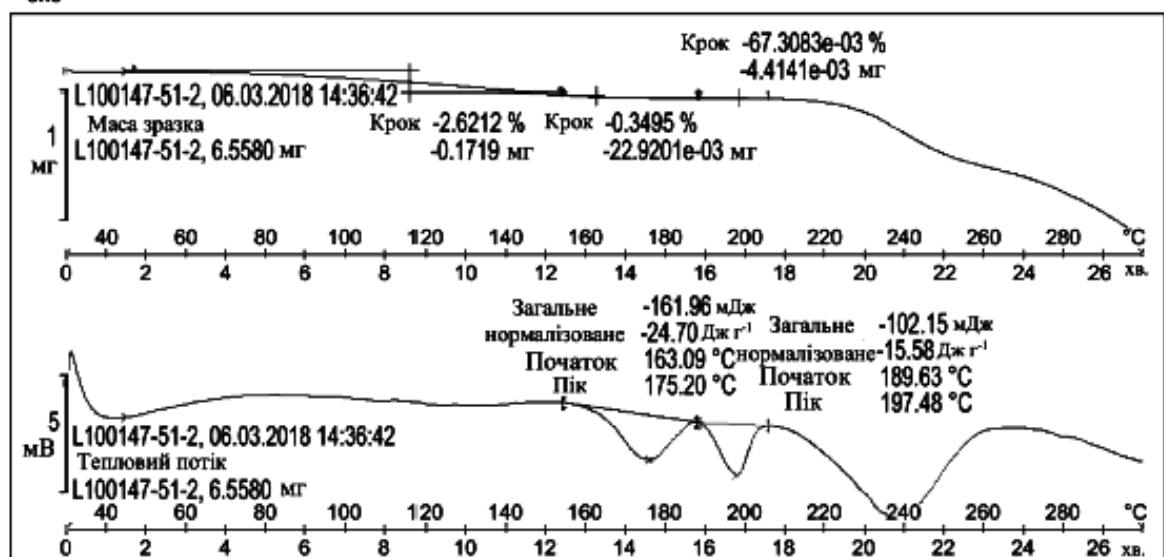


Fig. 18

Λ_{exo}



Lab: SSPI

STAR* SW 16.00

Fig. 19

L100147-51-2.1.fid

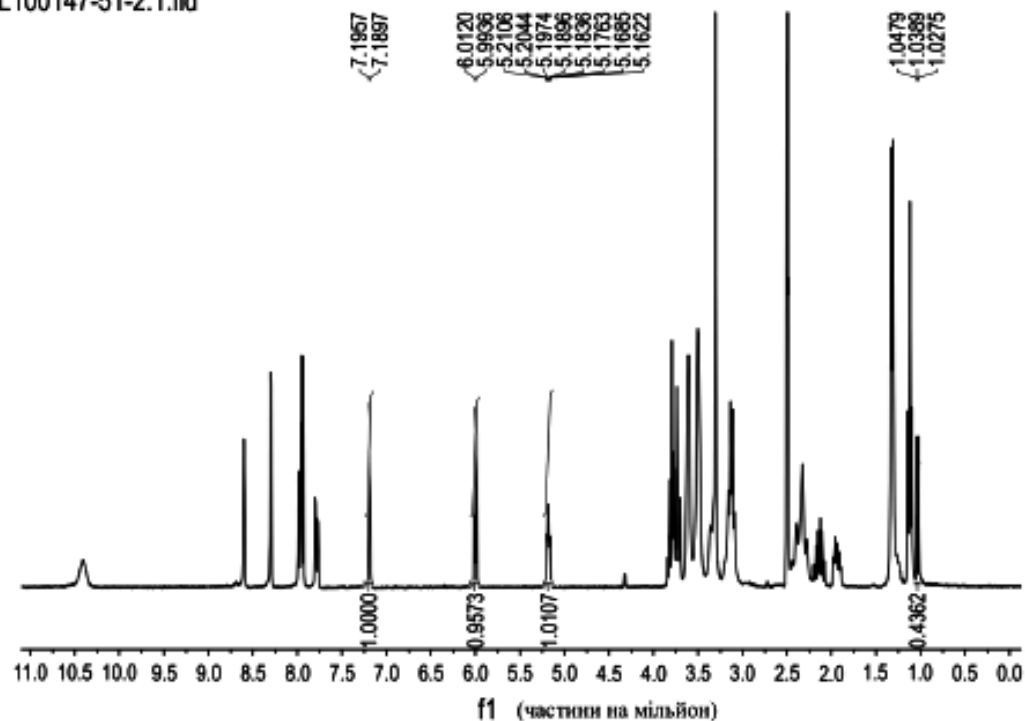
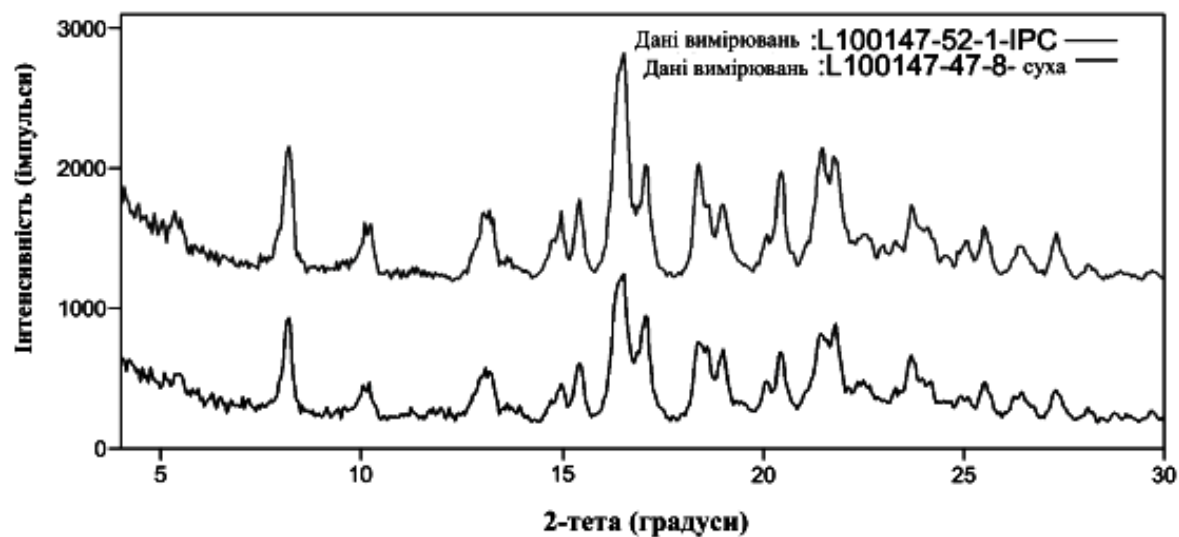
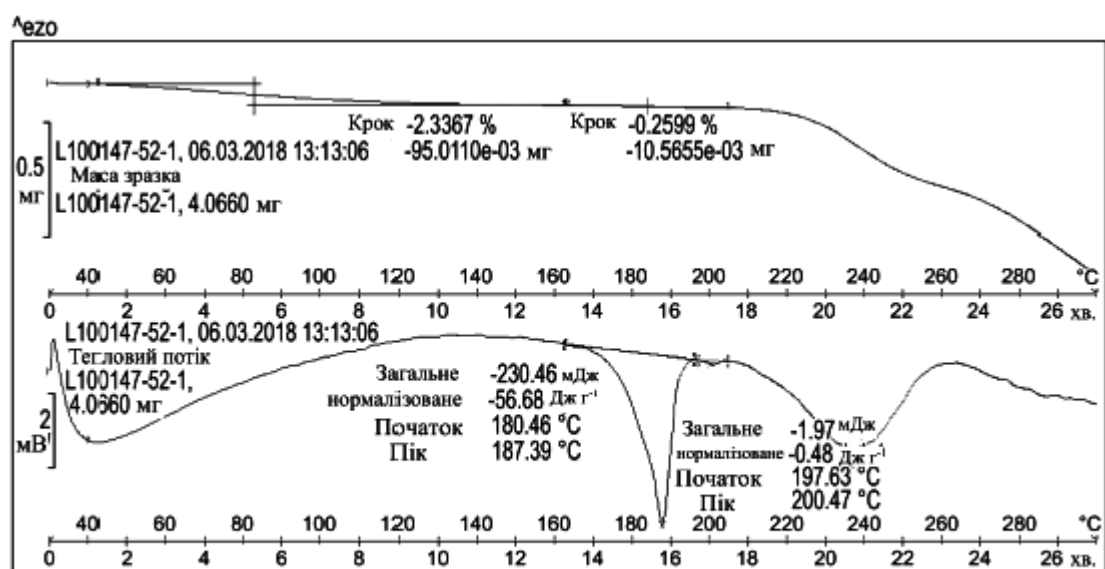


Fig. 20



Фіг. 21

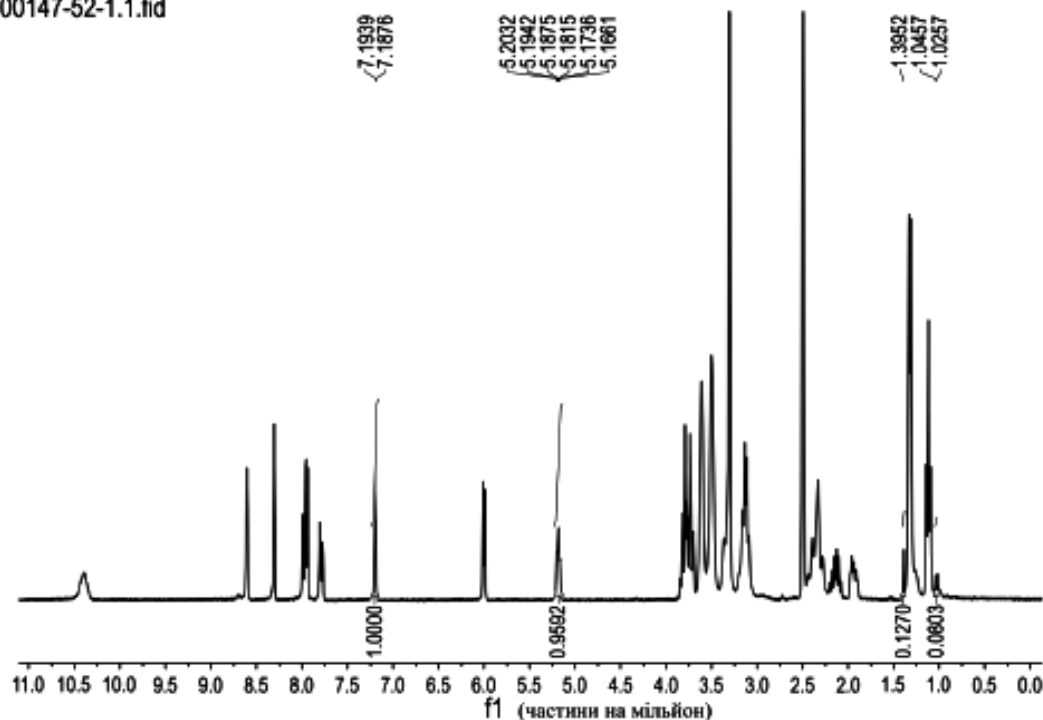


Solid State Pharma Inc.: SSPI

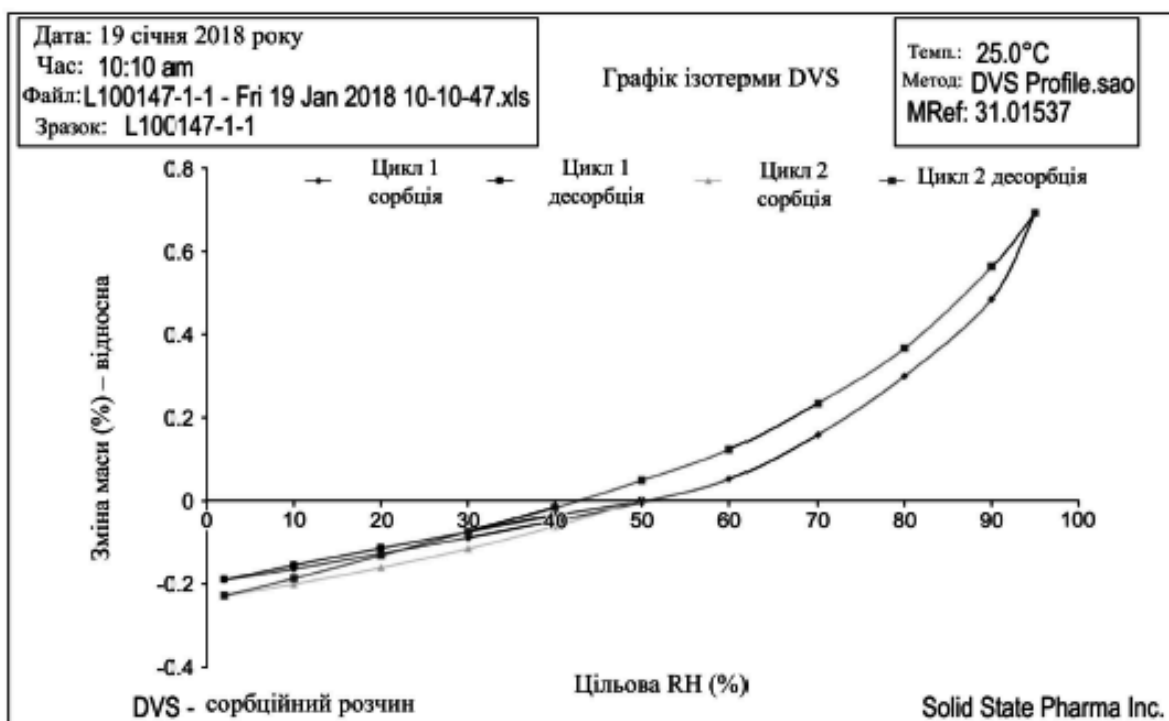
STAR* SW 16.00

Фіг. 22

L100147-52-1.1.fid



Фіг. 23



Фіг. 24

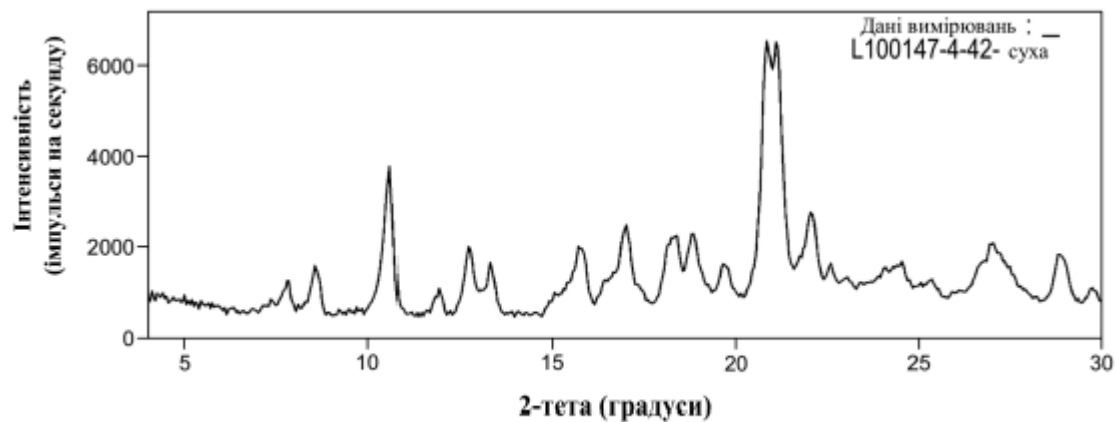


Fig. 25

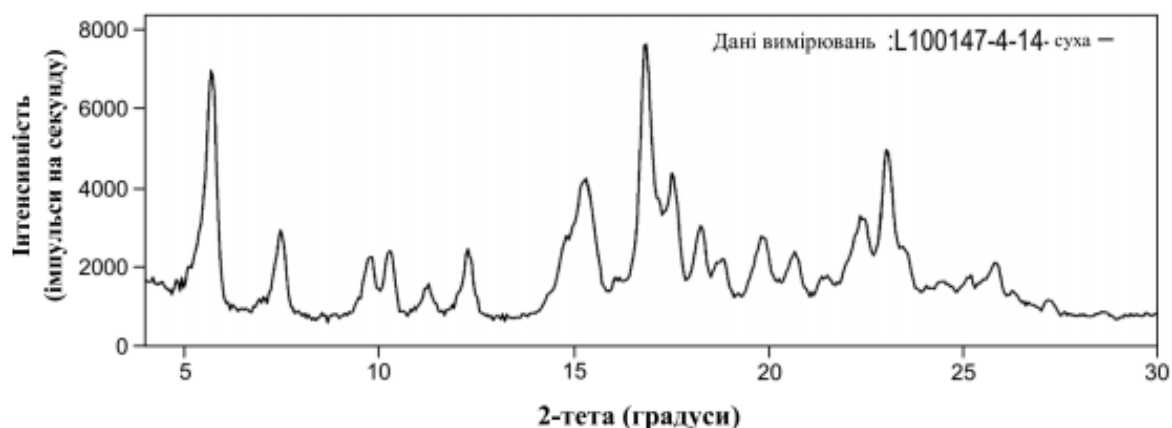
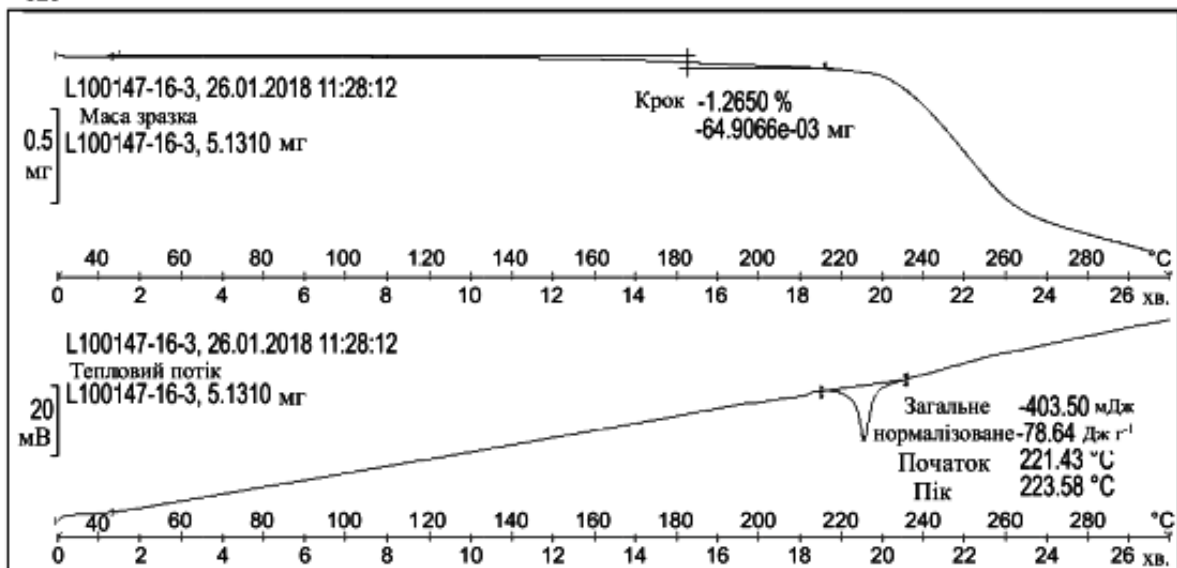


Fig. 26

Λ920

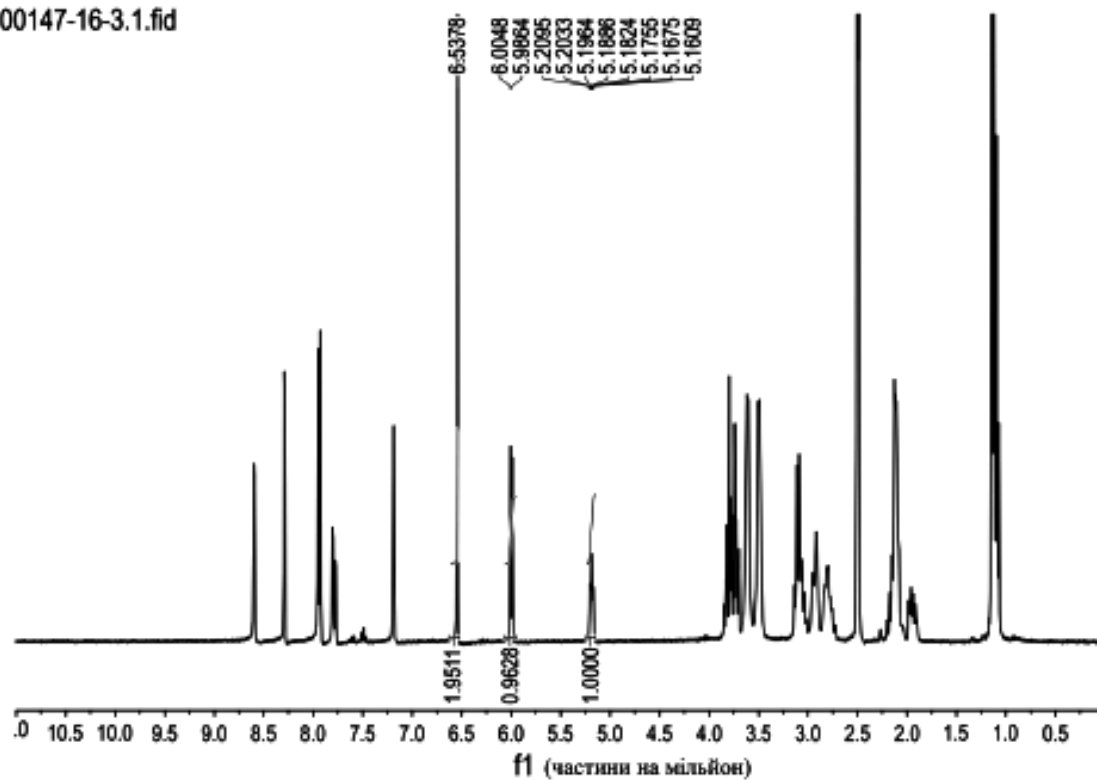


Solid State Pharma Inc.: SSPI

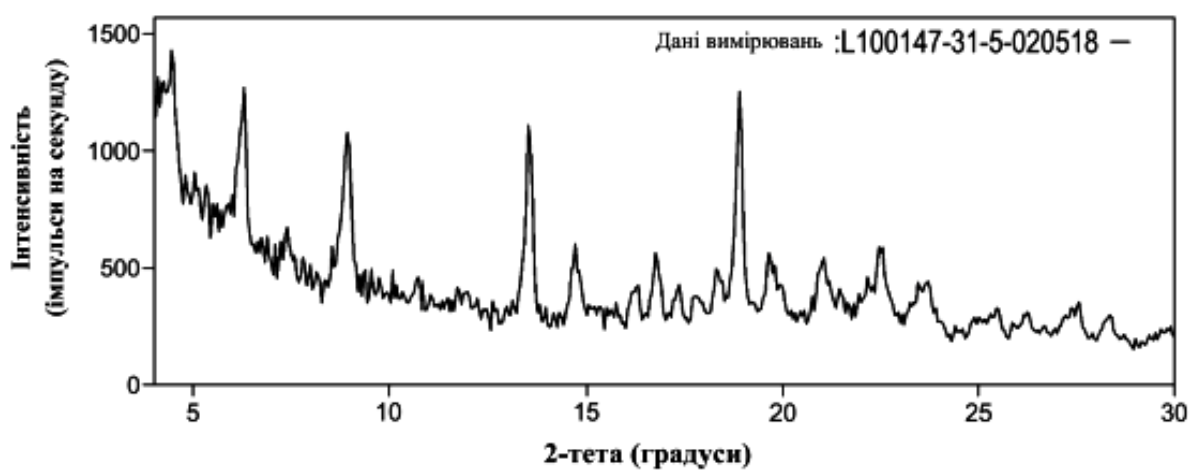
STAR* SW 16.00

Fig. 27

L100147-16-3.1.fid



Фіг. 28



Фіг. 29

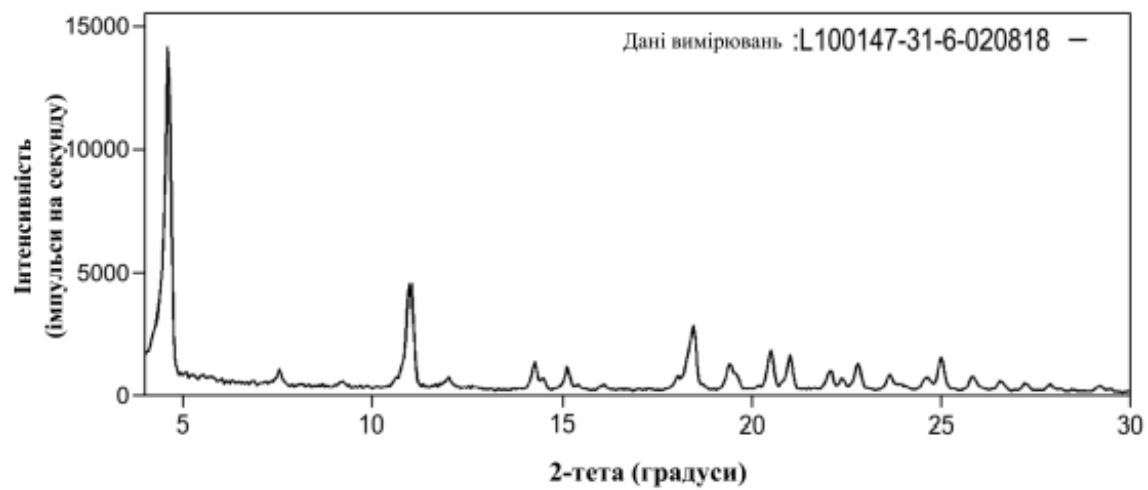


Fig. 30