

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 201792254 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2018.02.28

(22) Дата подачи заявки
2016.04.14

(51) Int. Cl. *C07D 405/14* (2006.01)
C07D 471/04 (2006.01)
A61K 31/4184 (2006.01)
A61K 31/4355 (2006.01)
A61K 31/5585 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(54) МАЛЕАТНЫЕ СОЛИ ИНГИБИТОРА BRAF КИНАЗЫ, КРИСТАЛЛИЧЕСКИЕ ФОРМЫ, СПОСОБЫ ИХ ПОЛУЧЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ

(31) PCT/CN2015/076639

(32) 2015.04.15

(33) CN

(86) PCT/CN2016/079251

(87) WO 2016/165626 2016.10.20

(71) Заявитель:
БЕЙДЖИН, ЛТД. (КУ)

(72) Изобретатель:
Чжан Голян (CN), Чжоу Чаню (US)

(74) Представитель:
Харин А.В., Котов И.О., Буре Н.Н.,
Стойко Г.В. (RU)

(57) Изобретение относится к малеатным солям 5-(((1R,1aS,6bR)-1-(6-(трифторметил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)-1a,6b-дигидро-1H-циклопропа[b]бензофуран-5-ил)окси)-3,4-дигидро-1,8-нафтиридин-2(1H)-она (соединение 1), в частности сескви-малеатной соли и ее кристаллическим формам, способам получения, фармацевтическим композициям и терапевтическим применениям для лечения заболеваний или расстройств, опосредованных BRAF или другими киназами.

A1

201792254

201792254

A1

МАЛЕАТНЫЕ СОЛИ ИНГИБИТОРА BRAF КИНАЗЫ, КРИСТАЛЛИЧЕСКИЕ ФОРМЫ, СПОСОБЫ ИХ ПОЛУЧЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ

Область техники

Настоящее изобретение относится к малеатным солям ингибитора BRAF киназы, т.е. 5-(((1R,1aS,6bR)-1-(6-(трифторметил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)-1a,6b-дигидро-1H-циклопропа[b]бензофуран-5-ил)окси)-3,4-дигидро-1,8-нафтиридин-2(1H)-ону (называемому в данном документе соединение 1), в частности к сескви-малеату соединения 1, и кристаллическим формам(полиморфам) сескви-малеатов и способам их получения и применения.

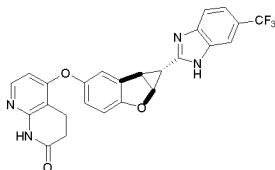
Предшествующий уровень техники

BRAF представляет собой киназу, являющуюся частью RAF-MEK-ERK MAPK пути, ключевого для пролиферации клеток и выживания. Мутации в BRAF были открыты в более чем в 7% случаев рака человека, включая меланому (43%) (см. H. Davies, et al., *Nature*, 417 (2002), 949-54; D.R. English, et al., *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 17 (2008), 1774-80; G.V. Long, et al., *Lancet Oncol.*, 13 (2012), 1087-95), рак щитовидной железы (27%) (см. Y. Cohen, *J Natl Cancer Inst*, 95 (2003), 625-7; E.T.Kimura, et al., *Cancer Res*, 63 (2003), 1454-7), колоректальный рак (14%) (см. H. Davies, et al., *Nature*, 417 (2002), 949-54; D.R. English, et al., *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 17 (2008), 1774-80; S. Ogino, et al., *Gut*, 58 (2009), 90-6; C.P.Vaughn, *Genes Chromosomes Cancer*, 50 (2011), 307-12), рак яичников (15%) (см. H. Davies, et al., *Nature*, 417 (2002), 949-54; S.E.Russell, *J Pathol*, 203 (2004), 617-9), и рак легких (2%) (см. M.S.Brose, et al., *Cancer Res*, 62(2002), 6997-7000). Более чем 90% мутаций BRAF, обнаруженных при меланоме, представляют собой замену глутаминовой кислоты на валин в 600-сотой аминокислоте белковой цепи BRAF (V600E), что приводит к нерегулируемой активации.

Клинический опыт применения ингибиторов BRAF, таких как вемурафениб и дабрафениб, у пациентов с меланомой имел доказанную эффективность, которая подтвердила концепцию направленного воздействия на опухоль в зависимости от сигнальных путей BRAF и MAPK. Селективное ингибирование у пациентов с меланомой, имеющих мутацию BRAF V600E в опухолях дало значительную частоту объективных ответов и пролонгированную выживаемость без прогрессирования. Однако первое поколение ингибиторов BRAF, включая вемурафениб и дабрафениб, имеет ряд ограничений, например, 1) развитие кератоакантом или плоскоклеточного рака кожи из-за парадоксального повышения передачи сигнала по сигнальному пути MAPK за счет индукции гетеродимера BRAF/C-RAF в случае мутированного или активированного RAS;

и 2) ограниченной клинической активности вне меланомы с мутациями BRAF V600E (например, колоректальный рак). Таким образом, сильно желательно второе поколение ингибиторов, которое может быть улучшено в этих отношениях.

5-(((1R,1aS,6bR)-1-(6-(трифторметил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)-1a,6b-дигидро-1H-циклопропа[b]бензофуран-5-ил)окси)-3,4-дигидро-1,8-нафтиридин-2(1H)-он (свободное основание, соединение 1) описано в качестве второго поколения ингибитора BRAF, демонстрирующего потенциальную ингибиторную активность в отношении серин/треониновых киназ семейства RAF. См. WO 2013/097224 A1.



Соединение 1

Соединение 1 представляет собой молекулярно нацеленный терапевтический агент для лечения видов рака с абберациями в сигнальном пути RAF-MEK-ERK митоген-активируемой протеинкиназы (MAPK), включая мутации BRAF и K-RAS/N-RAS, в качестве или монотерапии или в сочетании с другими терапиями рака. Однако относительно низкая оральная адсорбция свободного основания соединения 1 делает его непригодным для разработки лекарственного средства.

Также было обнаружено, что свободное основание соединения 1 было исходно получено в виде аморфного твердого вещества, на основании результатов XRPD (рентгеновская порошковая дифрактограмма) на Фиг.1, и что свободное основание соединения 1 по существу является нерастворимым в воде менее предела количественного определения при 0,001 мг/мл, и является несколько гигроскопичным с 2,2% увеличением воды при относительной влажности 0 - 80%.

Кроме того, синтез соединения 1 неэффективен. Различные факторы, например, необходимость в хиральной ВЭЖХ (высокоэффективная жидкостная хроматография) колонке для получения оптически чистого изомера и тенденция свободного основания соединения 1 в аморфной форме препятствовать удалению примесей, сильно осложняет крупномасштабное получение и очистку соединения 1.

Практически сложно предсказать с уверенностью, какие соли отдельного соединения будут стабильными и пригодны для фармацевтического процесса. Еще сложнее предсказать будет или нет отдельное соединение формировать различные кристаллические твердые формы, и предсказать физические свойства данных твердых кристаллических форм.

Поэтому существует сильная потребность в некоторых формах соединения 1, которое будет иметь намного большую биодоступность и обладать химической и физической стабильностью в течение получения и хранения данного лекарственного средства, а также в способе, пригодном для крупномасштабного получения соединения 1 с хорошим качеством и воспроизводимостью.

Краткое описание изобретения

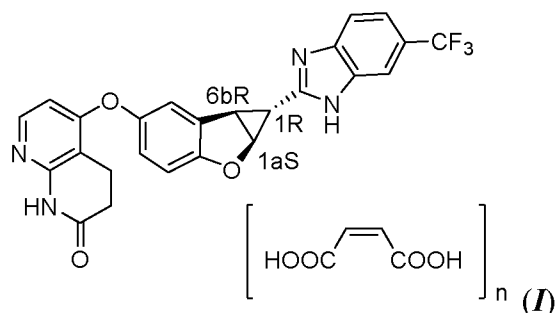
Настоящая заявка раскрывает изобретение в отношении вышеизложенных качеств и необходимости обеспечения стабильных солей соединения 1 и его кристаллических форм.

В первом аспекте, предложенное представляет собой соль 5-(((1R,1aS,6bR)-1-(6-(трифторметил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)-1a,6b-дигидро-1H-циклопропа[b]бензофуран-5-ил)окси)-3,4-дигидро-1,8-нафтиридин-2(1H)-она (“соединение 1”), выбранную из гидрохлорида, метансульфоната, 2-гидроксиэтансульфоната, L-тартрата, малеата и оксалата соединения 1. В одном воплощении соль является фармацевтически пригодной. В другом воплощении соль представляет собой твердое вещество. В одном предпочтительном воплощении соль представлена в кристаллической форме. Соли по настоящей заявке представляют собой твердую форму и демонстрируют различные кристаллические формы свободного основания соединения 1, обозначая их как потенциальных солей-кандидатов. Соли кристаллической формы в настоящей заявке обладают превосходными физическими свойствами, пригодными для фармацевтических препаратов и могут быть произведены в крупном коммерческом масштабе с высоким качеством и хорошей воспроизводимостью.

Среди кристаллических форм гидрохлорида, метансульфоната, 2-гидроксиэтансульфоната, L-тартрата, малеата и оксалата соединения 1, авторы настоящего изобретения неожиданно открыли, что соединение 1 может формировать малеатные соли, в частности сескви-малеатную соль, в кристаллических формах. В частности, неожиданно было обнаружено, что малеатная соль соединения 1 (в данном документе иногда упоминаемая как “малеатная соль соединения 1” или “малеат соединения 1”) может существовать в ряде кристаллических форм (полиморфах), которые в данном документе рассматривают как кристаллические формы A*, A**, A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L и M. Малеатная соль соединения 1 и ее кристаллические формы, в частности кристаллическая форма A* и A, обладают превосходными свойствами, такими как улучшенная растворимость и стабильность, в частности долговременная химическая/физическая стабильность, подобно другим солям, что делает их пригодными кандидатами для получения и клинических применений. В частности, улучшенная

растворимость и/или долговременная химическая/физическая стабильность форм А*, А и других форм малеатных солей соединения 1, обеспечивает таким формам лучшую растворимость *in vivo* и *in vitro*, и таким образом, повышение биодоступности по сравнению со свободным основанием.

Во втором аспекте предложенное представляет собой соединение формулы (I), которое представляет собой малеатную соль 5-(((1R,1aS,6bR)-1-(6-(трифторметил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)-1a,6b-дигидро-1H-циклопропа[b]бензофуран-5-ил)окси)-3,4-дигидро-1,8-нафтиридин-2(1H)-она:



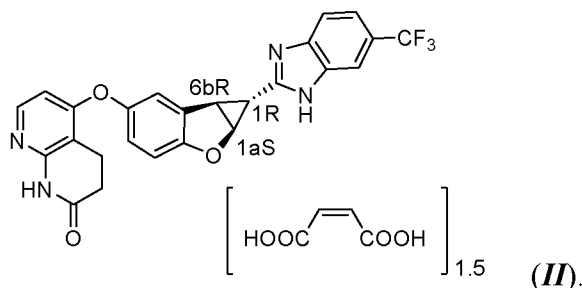
где n представляет собой число от 0,3 до приблизительно 1,5.

В одном воплощении в соединении формулы (I), n представляет собой число, выбранное из группы, состоящей из $0,5 \pm 0,05$, $1,0 \pm 0,1$, и $1,5 \pm 0,2$.

В другом воплощении в соединении формулы (I), n представляет собой 0,5, 1,0 или 1,5.

В другом предпочтительном воплощении соединение формулы (I) имеет кристаллическую форму.

В другом предпочтительном воплощении n представляет собой 1,5, и соединение представляет собой кристаллическую сескви-малеатную соль 5-(((1R,1aS,6bR)-1-(6-(трифторметил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)-1a,6b-дигидро-1H-циклопропа[b]бензофуран-5-ил)окси)-3,4-дигидро-1,8-нафтиридин-2(1H)-она формулы (II):



В одном воплощении соединение формулы (II) представляет собой кристаллическую форму А*, которая охарактеризована рентгеновской порошковой дифрактограммой, содержащий семь или более дифракционных пиков, имеющих значения углов 2θ , независимо выбранные из группы, состоящей из: $6,3 \pm 0,2$, $8,9 \pm 0,2$, $9,4 \pm 0,2$, $11,2 \pm 0,2$, $12,6 \pm 0,2$, $13,4 \pm 0,2$, $17,9 \pm 0,2$, $18,6 \pm 0,2$, $18,8 \pm 0,2$, $19,3 \pm 0,2$, $20,1 \pm 0,2$,

20,7±0,2, 21,2±0,2, 21,8±0,2, 22,4±0,2, 22,6±0,2, 23,3±0,2, 23,8±0,2, 24,7±0,2, 25,6±0,2, 26,1±0,2, 27,4±0,2, 28,3±0,2, 28,6±0,2, 29,0±0,2, 29,4±0,2, и 30,4±0,2 градуса.

В другом воплощении соединение формулы (II) представляет собой монокристалл в виде кристаллической формы A**.

В другом воплощении соединение формулы (II) представлено в виде кристаллической формы A, охарактеризованной посредством порошковой рентгеновской дифрактограммы, содержащей три или более дифракционных пика, имеющих значения углов 2θ, независимо выбранные из группы, состоящей из: 8,3±0,2, 11,2±0,2, 17,9±0,2, 18,4±0,2, 18,6±0,2, 19,3±0,2, 20,8±0,2, и 22,5±0,2 градуса.

В другом воплощении соединение формулы (I) представляет собой кристаллическую форму B, охарактеризованную порошковой рентгеновской дифрактограммой, содержащей три или более дифракционных пиков, имеющих значения углов 2θ, независимо выбранные из группы, состоящей из: 11,1±0,2, 15,8±0,2, 17,7±0,2, 18,4±0,2, 19,6±0,2, 22,3±0,2, 23,1±0,2, и 28,8±0,2 градусов.

В другом воплощении соединение формулы (I) представляет собой кристаллическую форму C, охарактеризованную порошковой рентгеновской дифрактограммой, содержащей три или более дифракционных пиков, имеющих значения углов 2θ, независимо выбранные из группы, состоящей из: 3,1±0,2, 8,8±0,2, 11,2±0,2, 17,8±0,2, 18,5±0,2, 19,3±0,2, 20,1±0,2, 20,7±0,2, 21,9±0,2 и 22,4±0,2 градусов.

В другом воплощении соединение формулы (I) представляет собой кристаллическую форму D, охарактеризованную порошковой рентгеновской дифрактограммой, содержащей три или более дифракционных пиков, имеющих значения углов 2θ, независимо выбранные из группы, состоящей из: 8,9±0,2, 14,9±0,2, 16,7±0,2, 17,8±0,2, 19,9±0,2, 20,4±0,2, 20,9±0,2, и 26,9±0,2 градусов.

В другом воплощении соединение формулы (I) представляет собой кристаллическую форму F, охарактеризованную порошковой рентгеновской дифрактограммой, содержащей три или более дифракционных пика, имеющих значения углов 2θ, независимо выбранные из группы, состоящей из: 12,9±0,2, 17,0±0,2, 18,5±0,2, 19,4±0,2, 20,5±0,2, 22,5±0,2, и 24,1±0,2 градусов.

В другом воплощении соединение формулы (I) представляет собой кристаллическую форму G, охарактеризованную порошковой рентгеновской дифрактограммой, содержащей семь или более дифракционных пиков, имеющих значения углов 2θ, независимо выбранные из группы, состоящей из: 3,4±0,2, 5,6±0,2, 7,0±0,2, 10,3±0,2, 10,9±0,2, 11,7±0,2, 12,4±0,2, 13,1±0,2, 14,0±0,2, 14,9±0,2, 16,4±0,2, 17,4±0,2,

18,6±0,2, 19,3±0,2, 20,1±0,2, 21,0±0,2, 21,9±0,2, 23,6±0,2, 24,2±0,2, 25,6±0,2 и 26,4±0,2 градусов.

В другом воплощении соединение формулы (I) представляет собой кристаллическую форму Н, охарактеризованную порошковой рентгеновской дифрактограммой, содержащей семь или более дифракционных пиков, имеющих значения угла 2θ , независимо выбранные из группы, состоящей из: 6,3±0,2, 9,0±0,2, 10,1±0,2, 11,2±0,2, 12,7±0,2, 14,5±0,2, 16,1±0,2, 16,6±0,2, 17,9±0,2, 18,1±0,2, 18,5±0,2, 19,0±0,2, 20,1±0,2, 21,9±0,2, 22,4±0,2, 23,9±0,2, 25,1±0,2, 26,2±0,2 и 28,7±0,2 градусов.

В другом воплощении соединение формулы (I) представляет собой кристаллическую форму I, охарактеризованную порошковой рентгеновской дифрактограммой, содержащей пять или более дифракционных пиков, имеющих значения углов 2θ , независимо выбранные из группы, состоящей из: 3,1±0,2, 5,5±0,2, 6,8±0,2, 10,8±0,2, 11,5±0,2, 13,7±0,2, 16,1±0,2, 16,3±0,2, 17,8±0,2, 19,8±0,2, 21,5±0,2, 23,8±0,2, 24,4±0,2 и 28,3±0,2 градусов.

В другом воплощении соединение формулы (I) представляет собой кристаллическую форму J, охарактеризованную порошковой рентгеновской дифрактограммой, содержащей семь или более дифракционных пиков, имеющих значения угла 2θ , независимо выбранные из группы, состоящей из: 5,5±0,2, 8,2±0,2, 10,9±0,2, 11,3±0,2, 13,6±0,2, 14,8±0,2, 15,8±0,2, 17,4±0,2, 18,0±0,2, 19,1±0,2, 19,8±0,2, 20,0±0,2, 20,4±0,2, 21,1±0,2, 21,9±0,2, 22,6±0,2, 23,4±0,2, 24,1±0,2, 25,0±0,2, 26,1±0,2, 26,9±0,2, 27,3±0,2, 28,4±0,2, 29,1±0,2, 33,1±0,2 и 35,9±0,2 градусов.

В другом воплощении соединение формулы (I) представляет собой кристаллическую форму К, охарактеризованную порошковой рентгеновской дифрактограммой, содержащей семь или более дифракционных пиков, имеющих значения угла 2θ , независимо выбранные из группы, состоящей из: 3,1±0,2, 8,9±0,2, 9,3±0,2, 11,2±0,2, 16,7±0,2, 17,9±0,2, 18,6±0,2, 18,8±0,2, 19,4±0,2, 20,2±0,2, 21,9±0,2, 22,4±0,2, 23,4±0,2, 23,9±0,2, 24,6±0,2, 26,2±0,2, 27,4±0,2, 28,5±0,2, 29,4±0,2 и 30,4±0,2 градусов.

В другом воплощении соединение формулы (I) представляет собой кристаллическую форму L, охарактеризованную порошковой рентгеновской дифрактограммой, содержащей дифракционные пики, имеющие значения угла 2θ : 9,7±0,2 и 14,1±0,2 градусов.

В другом воплощении соединение формулы (I) представляет собой кристаллическую форму М, охарактеризованную порошковой рентгеновской дифрактограммой, содержащей семь или более дифракционных пиков, имеющих значения угла 2θ , независимо выбранные из группы, состоящей из: 5,0±0,2, 9,3±0,2, 11,3±0,2,

14,9±0,2, 15,9±0,2, 17,4±0,2, 18,0±0,2, 18,7±0,2, 19,4±0,2, 20,2±0,2, 22,1±0,2, 23,4±0,2, 24,3±0,2, 25,4±0,2, 26,5±0,2, 27,5±0,2, 28,5±0,2 и 29,3±0,2 градусов.

В некотором воплощении в соединении формулы (I), n представляет собой 1, т.е. малеат соединения 1 (1:1). В другом воплощении предложенное в данном документе представляет собой малеат соединения 1 (1:1) кристаллической формы N, охарактеризованной порошковой рентгеновской дифрактограммой, содержащей семь или более дифракционных пиков, имеющих значения угла 2θ, независимо выбранные из группы, состоящей из: 3,30±0,2, 6,61±0,2, 9,88±0,2, 11,73±0,2, 13,14±0,2, 15,23±0,2, 16,56±0,2, 17,94±0,2, 18,72±0,2, 19,34±0,2, 19,93±0,2, 20,76±0,2, 22,04±0,2, 22,95±0,2, 23,86±0,2, 25,19±0,2, 26,61±0,2, 28,36±0,2, 30,13±0,2, 31,36±0,2, 33,49±0,2 и 37,22±0,2.

В другом воплощении соединение формулы (I) представляет собой кристаллическую форму, по существу охарактеризованную порошковой рентгеновской дифрактограммой, выбранной из группы, состоящей из Фиг.2, Фиг.16, Фиг.17, Фиг.18, Фиг.19, Фиг.20, Фиг.21, Фиг.22, Фиг.23, Фиг.24, Фиг.25, Фиг.26, Фиг.27, Фиг.28 и Фиг.33.

В некотором воплощении малеат соединения 1 (1:1) кристаллической формы N представляет собой химически стабильную кристаллическую форму по существу охарактеризованную порошковой рентгеновской дифрактограммой, как показано на Фиг.33.

В другом аспекте предложенное в данном документе представляет собой способ получения кристаллической формы малеатной соли 5-(((1R,1aS,6bR)-1-(6-(трифторметил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)-1a,6b-дигидро-1H-циклопропа[b]бензофуран-5-ил)окси)-3,4-дигидро-1,8-нафтиридин-2(1H)-она формулы (I), содержащий по меньшей мере один из следующих способов:

(a) растворение свободного основания или соли, иной нежели малеатная соль 5-(((1R,1aS,6bR)-1-(6-(трифторметил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)-1a,6b-дигидро-1H-циклопропа[b]бензофуран-5-ил)окси)-3,4-дигидро-1,8-нафтиридин-2(1H)-она в растворителе или смеси растворителей до образования раствора или суспензии; смешивание полученного раствора или суспензии с малеиновой кислотой до образования смеси; и осаждение малеатной соли 5-(((1R,1aS,6bR)-1-(6-(трифторметил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)-1a,6b-дигидро-1H-циклопропа[b]бензофуран-5-ил)окси)-3,4-дигидро-1,8-нафтиридин-2(1H)-она в целевую кристаллическую форму;

(b) растворение или суспендирование сескви-малеатной соли 5-(((1R,1aS,6bR)-1-(6-(трифторметил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)-1a,6b-дигидро-1H-циклопропа[b]бензофуран-5-ил)окси)-3,4-дигидро-1,8-нафтиридин-2(1H)-она в растворителе или смеси растворителей; и осаждение малеатной соли 5-(((1R,1aS,6bR)-1-(6-(трифторметил)-1H-

бензо[d]имидазол-2-ил)-1a,6b-дигидро-1H-циклопропа[b]бензофуран-5-ил)окси)-3,4-дигидро-1,8-нафтиридин-2(1H)-она в целевую кристаллическую форму;

(с) хранение кристаллической сескви-малеатной соли 5-(((1R,1aS,6bR)-1-(6-(трифторметил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)-1a,6b-дигидро-1H-циклопропа[b]бензофуран-5-ил)окси)-3,4-дигидро-1,8-нафтиридин-2(1H)-она в течение продолжительного периода для получения целевой кристаллической формы;

(d) нагревание кристаллической или аморфной сескви-малеатной соли 5-(((1R,1aS,6bR)-1-(6-(трифторметил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)-1a,6b-дигидро-1H-циклопропа[b]бензофуран-5-ил)окси)-3,4-дигидро-1,8-нафтиридин-2(1H)-она до повышенной температуры, и охлаждение соли до получения целевой кристаллической формы; и

(е) подвергание кристаллической или аморфной maleатной соли 5-(((1R,1aS,6bR)-1-(6-(трифторметил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)-1a,6b-дигидро-1H-циклопропа[b]бензофуран-5-ил)окси)-3,4-дигидро-1,8-нафтиридин-2(1H)-она действию паров растворителя до получения целевой кристаллической формы.

В одном воплощении данного аспекта способ (а) или (b) дополнительно содержит один или более способов, независимо выбранных из нагревания, фильтрования для удаления нерастворившихся примесей, дистилляции растворителя, добавления противорастворителя или смеси растворителей, добавление затравочных кристаллов, добавление агента(ов), вызывающего осаждение, охлаждение, осаждение и фильтрование с целью сбора кристаллического продукта.

В другом воплощении данного аспекта способ (а) или (b), где растворитель или смесь растворителей выбран из группы, состоящей из воды, низших алкильных спиртов, кетонов, эфиров, сложных эфиров, низших алифатических карбоновых кислот, низших алифатических нитрилов, необязательно галогенированных ароматических растворителей и их комбинаций.

В другом воплощении данного аспекта при способе (а) или (b) растворитель представляет собой изопропанол, этанол, метанол, ацетон, ТГФ, 1,4-диоксан, уксусную кислоту, ацетонитрил, воду, или их комбинацию.

В другом воплощении данного аспекта при способе (а) свободное основание представляет собой выделенное или очищенное свободное основание, выделенное, но неочищенное свободное основание или неочищенный продукт реакции, содержащий свободное основание.

В другом воплощении данного аспекта при способе (с) продолжительный период составляет по меньшей мере три дня, по меньшей мере одну неделю или по меньшей мере две недели.

В другом воплощении данного аспекта при способе (d) повышенная температура составляет по меньшей мере 40°C, по меньшей мере 60°C, по меньшей мере 80°C или по меньшей мере 100°C, но является меньшей чем температура разложения сескви-малеатной соли.

В другом воплощении данного аспекта при способе (е) испарение представляет собой испарение уксусной кислоты.

В другом воплощении данного аспекта способ выбран из:

1) способа (a) или (b) с применением изопропанол-вода (об/об более 60/40) в качестве растворителя для получения кристаллической формы A*;

2) способа (a) или (b) с применением ацетона в качестве растворителя для получения кристаллической формы A**;

3) способа (a) или (b) с применением смеси IPA (2-пропанол)-вода (о:о=4:1) в качестве растворителя для получения кристаллической формы A;

4) способа (a) или (b) с применением 1,4-диоксана в качестве растворителя для получения кристаллической формы B;

5) способа (a) или (b) с применением этанола в качестве растворителя для получения кристаллической формы C;

6) способа (a) или (b) с применением метанола в качестве растворителя для получения кристаллической формы D;

7) способа (a) или (b) с применением смеси ацетонитрил-вода (о:о=1:1) в качестве растворителя для получения кристаллической формы F;

8) способа (a) или (b) с применением смеси уксусная кислота-вода в качестве растворителя для получения кристаллической формы G;

9) способа (a) или (b) с применением тетрагидрофурана (ТГФ) в качестве растворителя для получения кристаллической формы H;

10) способа (a) или (b) с применением смеси IPA-вода (о:о=3:1) в качестве растворителя для получения кристаллической формы I;

11) способа (с) хранения кристаллической формы D при температуре окружающей среды в течение двух недель для получения кристаллической формы K;

12) способа (с) хранения кристаллической формы J при температуре окружающей среды в течение двух недель для получения кристаллической формы M;

13) способа (d) нагревания кристаллической формы G до 140 °C и затем охлаждения до температуры окружающей среды для получения кристаллической формы L; и

14) способа (e), позволяющего кристаллической форме A взаимодействовать с паром уксусной кислоты для получения кристаллической формы J.

В некотором воплощении предложенное в данном документе представляет собой способ получения кристаллической формы сескви-малеатной соли соединения 1 (в данном документе иногда называемой “соединение 1 сескви-малеатная соль” или “соединение 1 сескви-малеат”), содержащий смешивание при температуре ниже температуры рефлюкса, например, смешивание при приблизительно 50 °C смеси соединения 1 и малеиновой кислоты в смешанном растворителе i-PrOH и H₂O, или смешивание при температуре ниже температуры рефлюкса, например, смешивание при приблизительно 50 °C соединения 1 со смесью или суспензией или раствором малеиновой кислоты в смешанном растворителе i-PrOH и H₂O, или смешивание при температуре ниже температуры рефлюкса, например, смешивание при приблизительно 50 °C смеси или суспензии или раствора соединения 1 в смешанном растворителе i-PrOH и H₂O с малеиновой кислотой, где количество i-PrOH составляет более чем 40 об.% от общего объема i-PrOH и воды, предпочтительно 60 об.%, и более предпочтительно 90 об.%. В некотором предпочтительном воплощении вышеуказанный смешанный растворитель замещен i-PrOH. В другом воплощении способ дополнительно содержит добавление нескольких затравочных кристаллов в полученную смесь после охлаждения до комнатной температуры, и затем смесь оставляют на определенной период, такой как 12 часов, 24 часа, 2, 3 или 4 дня или 1 неделю, 2 недели.

В некотором воплощении предложенное в данном документе представляет собой способ получения кристаллической формы малеата соединения 1 (1:1), содержащий смешивание кристаллической формы сескви-малеата соединения 1 с метанолом. В некотором воплощении вышеуказанное смешивание проводят при помощи перемешивания. В некотором воплощении кристаллическая форма малеата соединения 1 (1:1) представляет собой форму N, как раскрыто в данном документе. В некотором воплощении кристаллическая форма малеата соединения 1 представляет собой любую таковую, выбранную из группы, состоящей из кристаллических форм A*, A**, A, B, C, D, F, G, H, I, J, K, L и M. В некотором воплощении вышеуказанное смешивание осуществляют в течение приблизительно одного дня или двух дней, или 3 дней или 4 дней, 5 дней или 6 дней или одной недели или 2 недель. Данное превращение сескви-малеатной соли соединения 1 (1:1.5) в малеатную соль (1:1) обеспечивает экономически выгодный способ получения и/или дальнейшей очистки активного фармацевтического

ингредиента соединения 1 при помощи очень простого способа, например, при помощи простого перемешивания сескви-малеата соединения 1, например, любой из кристаллических форм A*, A** и A, в метаноле при комнатной температуре или повышенной температуре. Оказалось, что данное превращение приводит к снижению размеру кристаллических частиц для полученного кристаллического вещества (т.е. кристаллической формы малеата соединения 1 (1:1)), которое может, напротив, повышать скорость растворения лекарственного средства и в дальнейшем повышать химическую чистоту лекарственного средства. В данном отношении предполагалось, что превращение в дальнейшем упростит процесс производства лекарственного средства, например, без применения микронизации и вальцевания.

В другом аспекте предложенное в данном документе представляет собой фармацевтическую композицию, содержащую соединение формулы (I) или формулы (II) по любому из воплощений, описанных в данном документе, и фармацевтически приемлемый носитель.

В одном воплощении фармацевтическая композиция подходит для перорального применения.

В другом воплощении фармацевтическая композиция представлена в виде таблетки или капсулы.

В другом воплощении единичная дозированная форма таблетки или капсулы составляет 5-80 мг.

В другом воплощении массовая доля соединения в фармацевтической композиции составляет 1-99%.

В другом аспекте предложенное в данном документе представляет собой способ лечения или предупреждения заболевания или расстройства у субъекта, такого как человек, содержащий введение указанному субъекту терапевтически эффективного количества соединения формулы (I) или формулы (II) согласно любому из воплощений, описанных в данном документе или фармацевтической композиции, содержащей соединение формулы (I) или формулы (II).

В одном воплощении заболевание или расстройство представляет собой рак, выбранный из группы, состоящей из рака мозга, рака легкого, рака почки, рака кости, рака печени, рака мочевого пузыря, рака молочной железы, рака головы и рака шеи, рака яичника, меланомы, рака кожи, рака надпочечника, цервикального рака, колоректального рака, лимфомы или опухолей щитовидной железы и их осложнений.

В другом воплощении заболевание выбрано из группы, состоящей из BRAF, NRAS и KRAS мутантного рака мозга, рака легкого, рака почки, рака кости, рака печени, рака

мочевого пузыря, рака молочных желез, рака головы и рака шеи, рака яичников, меланомы, рака кожи, рака надпочечника, цервикального рака, колоректального рака, лимфомы или опухолей щитовидной железы и их осложнений.

В другом воплощении вводимая доза соединения составляет 1-100 мг/сутки, и частота введения составляет один – три раза в сутки.

В другом воплощении вводимая доза соединения составляет 5-50 мг/сутки, и частота введения составляет один-три раза в сутки.

В другом воплощении вводимая доза соединения составляет 10-40 мг/сутки, и частота введения составляет один раз в сутки.

В другом воплощении соединение представляет собой малеат 5-(((1R,1aS,6bR)-1-(6-(трифторметил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)-1a,6b-дигидро-1H-циклопропа[b]бензофуран-5-ил)окси)-3,4-дигидро-1,8-нафтиридин-2(1H)-она в кристаллической форме, выбранной из группы, состоящей из кристаллических форм A*, A**, A, B, C, D, F, G, H, I, J, K, L, M и N.

В другом аспекте предложенное в данном документе представляет собой применение соединения формулы (I) или формулы (II) согласно любому из воплощений, описанных в данном документе при производстве лекарственного препарата для лечения заболевания или расстройства, ассоциированного с активностями BRAF, NRAS и KRAS.

В предпочтительном воплощении заболевание представляет собой рак.

В другом предпочтительном воплощении соединение представляет собой малеат 5-(((1R,1aS,6bR)-1-(6-(трифторметил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)-1a,6b-дигидро-1H-циклопропа[b]бензофуран-5-ил)окси)-3,4-дигидро-1,8-нафтиридин-2(1H)-она в кристаллической форме, выбранной из группы, состоящей из кристаллических форм A*, A**, A, B, C, D, F, G, H, I, J, K, L, M и N. Данные и другие аспекты настоящего изобретения станут более понятны при рассмотрении следующих графических материалов, подробного описания и формулы изобретения.

Краткое описание графических материалов

Фиг. 1 показывает рентгеновскую дифрактограмму соединения 1 в аморфной форме.

Фиг. 2 показывает рентгеновскую дифрактограмму кристаллической формы A* сескви-малеата соединения 1 (кристаллизация из изопропанол/вода).

Фиг. 3 показывает рентгеновскую дифрактограмму гидрохлоридной соли соединения 1 (1:1).

Фиг. 4 показывает рентгеновскую дифрактограмму метансульфонатной соли соединения 1 (1:1).

Фиг.5 изображает рентгеновскую дифрактограмму 2-гидроксиэтансульфонатной соли соединения 1 (1:1).

Фиг. 6 изображает рентгеновскую дифрактограмму L-тарtratной соли соединения 1 (1:1).

Фиг. 7 изображает рентгеновскую дифрактограмму оксалата соединения 1 (1:1).

Фиг. 8 изображает рентгеновские дифрактограммы твердых веществ, полученных из соединения 1 с фосфорной кислотой (1:1), толуолсульфоновой кислотой (1:1), этандисульфоновой кислотой (1:1), серной кислотой (1:1), API (активные фармацевтические ингредиенты) суспензионного контроля и API.

Фиг. 9 изображает рентгеновские дифрактограммы твердых веществ, полученных из соединения 1 с L-молочной кислотой (1:1), L-малеиновой кислотой (1:1), малоновой кислотой (1:1), никотинамидом (1:1), сахарином (1:1), янтарной кислотой (1:1), API суспензионным контролем и API.

Фиг. 10 изображает рентгеновские дифрактограммы твердых веществ, полученных из соединения 1 с бензойной кислотой (1:1), лимонной кислотой (1:1), фумаровой кислотой (1:1), гентизиновой кислотой (1:1), гликолевой кислотой (1:1), API суспензионным контролем и API.

Фиг. 11 изображает рентгеновские дифрактограммы твердых веществ, полученных из соединения 1 с никотиновой кислотой (1:1), суспензионным контролем никтониной кислоты, API суспензионным контролем и API.

Фиг. 12 изображает рентгеновские дифрактограммы твердого вещества, полученного из соединения 1 с адипиновой кислотой (1:1), суспензионным контролем адипиновой кислоты, API суспензионным контролем и API.

Фиг. 13 изображает абсолютную структуру монокристаллической формы A** сескви-малеата соединения 1 (монокристаллы, полученные посредством кристаллизации из ацетона).

Фиг. 14 иллюстрирует водородные связи монокристаллической формы A** сескви-малеата соединения 1.

Фиг. 15 изображает кристаллическую структуру монокристаллической формы A** сескви-малеата соединения 1.

Фиг. 16 изображает теоретическую порошковую рентгеновскую дифракцию монокристаллической формы A** сескви-малеата соединения 1, вычисленную согласно программному обеспечению MERCURY.

Фиг. 17 изображает рентгеновскую дифрактограмму кристаллической формы А сескви-малеата соединения 1 (полученного посредством перекристаллизации из изопропанол/воды).

Фиг. 18 изображает рентгеновскую дифрактограмму кристаллической формы В малеата соединения 1.

Фиг. 19 изображает рентгеновскую дифрактограмму кристаллической формы С малеата соединения 1.

Фиг. 20 изображает рентгеновскую дифрактограмму кристаллической формы D малеата соединения 1.

Фиг. 21 изображает рентгеновскую дифрактограмму кристаллической формы F малеата соединения 1.

Фиг. 22 изображает рентгеновскую дифрактограмму кристаллической формы G малеата соединения 1.

Фиг. 23 изображает рентгеновскую дифрактограмму кристаллической формы H малеата соединения 1.

Фиг. 24 изображает рентгеновскую дифрактограмму кристаллической формы I малеата соединения 1.

Фиг. 25 изображает рентгеновскую дифрактограмму кристаллической формы J малеата соединения 1.

Фиг. 26 изображает рентгеновскую дифрактограмму кристаллической формы K малеата соединения 1.

Фиг. 27 изображает рентгеновскую дифрактограмму кристаллической формы L малеата соединения 1.

Фиг. 28 изображает рентгеновскую дифрактограмму кристаллической формы M малеата соединения 1.

Фиг. 29 изображает ^1H -ЯМР спектр кристаллической формы А* сескви-малеата соединения 1.

Фиг. 30 изображает ^{13}C -ЯМР спектр кристаллической формы А* сескви-малеата соединения 1.

Фиг. 31 изображает гигроскопичность (т.е. сорбцию влаги) кристаллической формы А* сескви-малеата соединения 1 посредством ДСП.

Фиг. 32 изображает ^1H -ЯМР спектр кристаллической формы N малеатной соли соединения 1 (1:1).

Фиг. 33 изображает рентгеновскую дифрактограмму кристаллической формы N малеата соединения 1 (1:1).

Фиг. 34 изображает ^1H -ЯМР спектр кристаллической формы сескви-малеата соединения 1.

Фиг. 35 изображает ^1H -ЯМР спектр кристаллической формы В maleата соединения 1 (1:1,2).

Фиг. 36 изображает ^1H -ЯМР спектр кристаллической формы С maleата соединения 1 (1:1,3).

Фиг. 37 изображает ^1H -ЯМР спектр кристаллической формы D maleата соединения 1 (1:1).

Фиг. 38 изображает ^1H -ЯМР спектр кристаллической формы F maleата соединения 1 (1:0,5).

Фиг. 39 изображает ^1H -ЯМР спектр кристаллической формы G maleата соединения 1 (1:0,5).

Фиг. 40 изображает ^1H -ЯМР спектр кристаллической формы H maleата соединения 1 (1:1).

Фиг. 41 изображает ^1H -ЯМР спектр кристаллической формы I maleата соединения 1 (1:0,5).

Фиг. 42 изображает ^1H -ЯМР спектр кристаллической формы J maleата соединения 1 (1:1).

Фиг. 43 изображает ^1H -ЯМР спектр кристаллической формы K maleата соединения 1 (1:1).

Фиг. 44 изображает ^1H -ЯМР спектр кристаллической формы L maleата соединения 1 (1:0,3).

Фиг. 45 изображает ^1H -ЯМР спектр кристаллической формы M maleата соединения 1 (1:1,3).

Подробное описание изобретения

При получении солей по настоящему изобретению были исследованы многие солеобразующие агенты, обычно применяемые в фармацевтической промышленности. В частности, солеобразующие агенты, исследованные в настоящем изобретении, включают следующие 25 кислот или солеобразующих агентов, выбранных из группы, состоящей из соляной кислоты, серной кислоты, фосфорной кислоты, метансульфоновой кислоты, 2-гидроксиэтансульфоновой кислоты, бензолсульфоновой кислоты, гликолевой кислоты, 1-молочной кислоты, фумаровой кислоты, 1-винной кислоты, лимонной кислоты, 1-малеиновой кислоты, янтарной кислоты, гиппуровой кислоты, малеиновой кислоты, адипиновой кислоты, бензойной кислоты, гентизиновой кислоты, малоновой кислоты,

этанedisульфонової кислоти, толуолсyльфонової кислоти, щавелевої кислоти, нікотинової кислоти, нікотинаміда і сахарина.

Однако реакция соединения 1 с только шестью солями показала образование солей. В частности твердые формы солей соединения 1 с шестью кислотами, включая соляную кислоту (Фиг. 3), метансyльфоновою кислоту (Фиг. 4), 2-гидроксиэтансyльфоновою кислоту (Фиг. 5), L-винную кислоту (Фиг. 6), малеиновую кислоту (Фиг. 2, Фиг. 17 и т.д.) и щавелевую кислоту (Фиг. 7) дали различные кристаллические формы из свободных оснований, API контроля и твердого контроля кислоты. По сравнению с шестью вышеуказанными кристаллическими солями настоящей заявки, другие соли не кристаллизовались.

В одном аспекте предложенное в данном документе представляет собой сескви-малеатную соль соединения 1, полученную посредством способа, раскрытого в данном документе в больших концентрациях. Как показано на Фиг. 2, сескви-малеатная соль соединения 1 представлена в кристаллической форме (называемой в данном документе кристаллическая форма A*), и ее порошковая рентгеновская дифрактограмма имеет следующий пик дифракционных углов (где “период решетки” показан в виде “d-значения” на Фиг. 2):

Таблица 1: порошковая дифрактограмма сескви-малеата соединения 1 (кристаллическая форма A*)

Пик#	дифракционный угол (2-тета)	Период решетки	Относительная интенсивность
1	6,253	14,13519	10,0
2	8,906	9,92940	30,9
3	9,378	9,43099	28,13
4	11,212	7,89173	38,55
5	12,5523	7,06862	8,177
6	13,362	6,62652	13,20
7	17,898	4,95609	88,46
8	18,550	4,78320	100,0
9	18,800	4,72011	43,37
10	19,316	4,59525	36,49
11	20,131	4,41102	83,24
12	20,740	4,28292	17,94
13	21,190	4,19287	16,90

14	21,821	4,07307	36,93
15	22,381	3,97242	56,88
16	22,559	3,94149	32,65
17	23,341	3,81112	24,44
18	23,849	3,73111	29,73
19	24,708	3,60331	11,49
20	25,581	3,48226	11,77
21	26,117	3,41211	20,07
22	27,395	3,25570	21,16
23	28,280	3,15580	15,24
24	28,596	3,12169	16,38
25	29,032	3,07578	16,13
26	29,354	3,04276	14,76
27	30,372	2,94304	10,81

Кристаллическая форма А* сескви-малеата соединения 1 является достаточно стабильной кристаллической формой. После микронизации до хорошего распределения мелких частиц, имеющих средний размер частиц (D90) приблизительно 1-10 микрон, она может быть быстро сформирована в лекарственное средство для клинического применения.

В другом воплощении предложенное в данном документе представляет собой монокристаллическую форму А** сескви-малеата соединения 1. Структуру кристаллической формы А** сескви-малеата соединения 1 определяли при помощи набора дифракционных данных, собранных от монокристалла, выращенного посредством медленного охлаждения в ацетоне. Данные кристалла и данные уточнения структуры приведены в Таблице 2.

Таблица 2: Данные монокристалла и уточнения структуры сескви-малеата соединения 1 (кристаллическая форма А**)

Эмпирическая формула	$C_{25}H_{17}F_3N_4O_3 \cdot 1,5 C_4H_4O_4$	-
Масса по формуле	652,5	
Температура	173(2)K	-
Длина волны	1,54178 Å	-

Кристаллическая система, пространственная группа	моноклиническая	C2
Размеры элементарной ячейки	a=19,7026(5)Å b=5,1350(2)Å c=28,4299(8)Å	альфа=90,00 град бета=93,692(2) град гамма=90,00 град
Объем	2870,36(16)Å ³	-
Z, вычисленная плотность	4	1,505 Мг/м ³
Коэффициент абсорбции	1,076 мм ⁻¹	-
F(000)	1336	-
Размер кристалла	0,09x0,08x0,05 мм	-
Тета диапазон собранных данных	4,50 - 66,10 град	-
Ограничивающие индексы	-20<= <i>h</i> <=23, -6<= <i>k</i> <=5, -30<= <i>l</i> <=32	- - -
Полученные отражения/уникальность	7195/3684 [R(int)=0,0272]	-
Целостность	92,6%	-
Способ уточнения	Методика наименьших квадратов в полноматричном приближении по F ²	
Данные/ограничения /параметры	3684/2/436	-
Соответствие по F ²	1,033	-
Конечные R индексы [I>2сигма(I)]	R1=0,0818	wR2=0,2276
Параметр абсолютной структуры	0,1(5)	
Наибольший диф.пик и дыра	0,535 и -0,411 е.А ⁻³	-

Монокристаллическая структура малеата соединения 1, показанная на Фиг.13, подтверждает сескви-малеатную соль, в которой имидазольный атом азота молекулы свободного основания протонирован. Абсолютные конфигурации C1(S), C2(R) и C3(R) определяли с большой вероятностью как показано посредством абсолютного структурного параметра 0,1(5). Водород-связывающие взаимодействия продемонстрированы на Фиг. 14. Структура демонстрирует двух-размерную структуру в плоскости *bc*. Молекулы свободного основания соединения 1 и малеатные анионы связаны посредством внутримолекулярного взаимодействия (N3...N3 2,797Å) и водородной связи (N2-H2...O4 2,760Å) вдоль оси *b*. Ленточные структуры затем сшивают

при помощи малеатных анионов посредством внутримолекулярных взаимодействий ($N3...O7$ 3,008 Å и $N4...O7$ 2,715 Å) и водородной связи ($N1-H1...O8$ 2,659 Å) вдоль оси с с образованием двумерной структуры. Кристаллическая структура сескви-малеатной соли соединения 1 показана на Фиг. 15. Теоретическая рентгеновская порошковая дифрактограмма монокристаллической формы A** сескви-малеата соединения 1, вычисленная при помощи программного обеспечения MERCURY приведена на Фиг. 16.

В другом воплощении предложенное в данном документе представляет собой кристаллическую форму A сескви-малеата соединения 1. Как показано на Фиг. 17, рентгеновская порошковая дифрактограмма кристаллической формы A' обычно имеет следующий пик дифракционных углов (где "период решетки" показан в виде "значения d" на Фиг. 17):

Таблица 3. рентгеновская дифрактограмма сескви-малеата соединения 1 (кристаллическая форма A)

Пик#	Дифракционный угол (2 тета)	Период решетки	Относительная интенсивность
1	8,27	9,90600	30,76
2	11,238	7,87344	7,95
3	17,881	4,96051	100
4	18,353	4,83408	11,84
5	18,569	4,77847	14,65
6	19,336	4,59064	24,76
7	20,757	4,27949	8,36
8	22,543	3,94417	9,52

В другом воплощении предложенное в данном документе представляет собой кристаллическую форму B малеата соединения 1. Как показано на Фиг. 18, рентгеновская порошковая дифрактограмма кристаллической формы B обычно имеет следующий пик дифракционных углов (где "период решетки" показан в виде "значения d" на Фиг. 18):

Таблица 4. Рентгеновская дифрактограмма малеата соединения 1 (кристаллическая форма В)

Пик#	Дифракционный угол (2 тета)	Период решетки	Относительная интенсивность
1	11,064	7,99711	25,70
2	15,830	5,59824	23,75
3	17,735	5,00106	60,43
4	18,433	4,81337	100,00
5	19,569	4,53629	49,28
6	22,298	3,98695	15,61
7	23,136	3,84440	11,05
8	28,772	3,10295	8,09

В другом воплощении предложенное в данном документе представляет собой кристаллическую форму С малеата соединения 1. Как показано на Фиг. 19, рентгеновская порошковая дифрактограмма кристаллической формы С обычно имеет следующий пик дифракционных углов (где “период решетки” показан в виде “значения d” на Фиг. 19):

Таблица 5. Рентгеновская дифрактограмма малеата соединения 1 (кристаллическая форма С)

Пик#	Дифракционный угол (2 тета)	Период решетки	Относительная интенсивность
1	3,088	28,60902	9,98
2	8,848	9,99908	46,62
3	11,189	7,90827	9,76
4	17,789	4,98615	100
5	18,537	4,78670	36,03
6	19,308	4,59714	14,97
7	20,139	4,40940	27,63
8	20,710	4,28897	14,07
9	21,851	4,06750	12,59
10	22,427	3,96427	24,96

В другом воплощении предложенное в данном документе представляет собой кристаллическую форму D малеата соединения 1. Как показано на Фиг. 20, рентгеновская порошковая дифрактограмма кристаллической формы D обычно имеет следующий пик дифракционных углов (где “период решетки” показан в виде “значения d” на Фиг. 20):

Таблица 6. Рентгеновская дифрактограмма малеата соединения 1 (кристаллическая форма D)

Пик#	Дифракционный угол (2 тета)	Период решетки	Относительная интенсивность
1	8,8814	9,95688	100
2	14,852	5,96478	62,23
3	16,662	5,32061	21,84
4	17,849	4,96938	63,17
5	19,866	4,46927	14,65
6	20,427	4,34779	23,50
7	20,875	4,25534	77,17
8	26,946	3,30884	10,36

В другом воплощении предложенное в данном документе представляет собой кристаллическую форму F малеата соединения 1. Как показано на Фиг. 21, рентгеновская порошковая дифрактограмма кристаллической формы F обычно имеет следующий пик дифракционных углов (где “период решетки” показан в виде “значения d” на Фиг. 21):

Таблица 7. Рентгеновская дифрактограмма малеата соединения 1 (кристаллическая форма F)

Пик#	Дифракционный угол (2 тета)	Период решетки	Относительная интенсивность
1	12,8950	6,86490	48,90
2	17,002	5,21500	100,00
3	18,539	4,78590	80,53
4	19,376	4,58097	25,72

5	20,526	4,32695	12,38
6	22,450	3,96024	26,20
7	24,109	3,69134	27,52

В другом воплощении предложенное в данном документе представляет собой кристаллическую форму G малеата соединения 1. Как показано на Фиг. 22, рентгеновская порошковая дифрактограмма кристаллической формы G обычно имеет следующий пик дифракционных углов (где “период решетки” показан в виде “значения d” на Фиг. 22):

Таблица 8. Рентгеновская дифрактограмма малеата соединения 1 (кристаллическая форма G)

Пик#	Дифракционный угол (2 тета)	Период решетки	Относительная интенсивность
1	3,351422	26,36357	14,43
2	5,638473	15,67420	27,54
3	6,998775	12,63047	67,95
4	10,329730	8,56388	29,94
5	10,919920	8,10232	23,42
6	11,694360	7,56744	16,36
7	12,362260	7,16005	22,10
8	13,112730	6,75191	30,97
9	13,984910	6,33272	28,84
10	14,943380	5,92863	16,07
11	16,407270	5,40281	74,55
12	17,376000	5,10373	18,05
13	18,558810	4,78103	16,17
14	19,308660	4,59702	31,06
15	20,132270	4,41078	100,00
16	21,012040	4,22805	22,15
17	21,881810	4,06192	23,11
18	23,564930	3,77547	44,67
19	24,154400	3,68465	51,53
20	25,587090	3,48149	13,17

21	26,364010	3,38063	21,61
----	-----------	---------	-------

В другом воплощении предложенное в данном документе представляет собой кристаллическую форму Н малеата соединения 1. Как показано на Фиг. 23, рентгеновская порошковая дифрактограмма кристаллической формы Н обычно имеет следующий пик дифракционных углов (где “период решетки” показано в виде “значения d” на Фиг. 23.):

Таблица 9. Рентгеновская дифрактограмма малеата соединения 1 (кристаллическая форма Н)

Пик#	Дифракционный угол (2 тета)	Период решетки	Относительная интенсивность
1	6,294908	14,04108	9,99
2	9,040457	9,78209	10,48
3	10,074560	8,78021	24,60
4	11,204790	7,89696	11,80
5	12,692280	6,97462	14,26
6	14,473290	6,12011	14,35
7	16,101530	5,50471	36,24
8	16,622550	5,33332	17,30
9	17,855220	4,96781	29,67
10	18,097650	4,90181	32,61
11	18,501470	4,79572	41,68
12	19,042360	4,66070	36,42
13	20,114010	4,41474	100,00
14	21,917240	4,05543	16,94
15	22,433180	3,96331	18,58
16	23,879340	3,72646	18,50
17	25,098100	3,54820	15,92
18	26,213960	3,39964	12,23
19	28,673350	3,11340	10,18

В другом воплощении предложенное в данном документе представляет собой кристаллическую форму I малеата соединения 1. Как показано на Фиг. 24, рентгеновская

порошковая дифрактограмма кристаллической формы I обычно имеет следующий пик дифракционных углов (где “период решетки” показан в виде “значения d” на Фиг. 24):

Таблица 10. Рентгеновская дифрактограмма малеата соединения 1 (кристаллическая форма I)

Пик#	Дифракционный угол (2 тета)	Период решетки	Относительная интенсивность
1	3,086569	28,62517	15,12
2	5,525770	15,99363	47,95
3	6,845361	12,91319	33,34
4	10,789930	8,19964	14,63
5	11,528000	7,67627	16,64
6	13,741150	6,44451	12,46
7	16,140190	5,49161	100,00
8	16,329510	5,42837	53,02
9	17,837260	4,97277	17,37
10	19,805120	4,48289	19,75
11	21,490820	4,13492	29,27
12	23,778480	3,74204	24,24
13	24,430650	3,64361	10,93
14	28,340390	3,14921	14,75

В другом воплощении предложенное в данном документе представляет собой кристаллическую форму J малеата соединения 1. как показано на Фиг. 25, рентгеновская порошковая дифрактограмма кристаллической формы J обычно имеет следующий пик дифракционных углов (где “период решетки” показан в виде “значения d” на Фиг. 25):

Таблица 11. Дифрактограмма малеата соединения 1 (кристаллическая форма J)

Пик#	Дифракционный угол (2 тета)	Период решетки	Относительная интенсивность
1	5,453070	16,20669	13,27
2	8,181307	10,80732	37,62

3	10,914730	8,10616	29,43
4	11,306440	7,82619	30,63
5	13,644550	6,48992	46,61
6	14,758270	6,00257	28,91
7	15,798340	5,60966	68,33
8	17,372670	5,10470	20,50
9	17,962700	4,93833	27,49
10	19,145700	4,63578	65,51
11	19,832200	4,47683	45,48
12	20,015630	4,43622	50,52
13	20,387440	4,35614	51,65
14	21,088800	4,21283	25,59
15	21,899390	4,05869	100,00
16	22,560170	3,94129	22,65
17	23,370140	3,80649	29,34
18	24,136010	3,68742	44,18
19	25,034500	3,55707	14,16
20	26,132190	3,41010	33,46
21	26,873870	3,31764	35,15
22	27,263660	3,27109	37,17
23	28,403150	3,14240	21,20
24	29,067850	3,07204	12,67
25	33,124220	2,70452	10,36
26	35,894930	2,50187	10,55

В другом воплощении предложенное в данном документе представляет собой кристаллическую форму К малеата соединения 1. Как показано на Фиг. 26, рентгеновская порошковая дифрактограмма кристаллической формы К обычно имеет следующий пик дифракционных углов (где “период решетки” показан в виде “значения d” на Фиг. 26):

Таблица 12. Рентгеновская дифрактограмма малеата соединения 1 (кристаллическая форма К)

Пик#	Дифракционный угол (2 тета)	Период решетки	Относительная интенсивность
1	3,115252	28,36168	18,53
2	8,922593	9,91104	19,50
3	9,344002	9,46499	13,34
4	11,217130	7,88830	20,74
5	16,682200	5,31439	15,77
6	17,929610	4,94737	63,98
7	18,580880	4,77540	75,23
8	18,842720	4,70963	66,62
9	19,380270	4,58020	32,04
10	20,168150	4,40301	100,00
11	21,857140	4,06644	45,71
12	22,422840	3,96512	62,91
13	23,410410	3,80004	32,07
14	23,929130	3,71882	36,53
15	24,623550	3,61550	14,68
16	26,159740	3,40657	37,04
17	27,437630	3,25074	23,90
18	28,503550	3,13156	17,59
19	29,361540	3,04197	13,34
20	30,382770	2,94201	10,52

В другом воплощении предложенное в данном документе представляет собой кристаллическую форму L малеата соединения 1. Как показано на Фиг. 27, рентгеновская порошковая дифрактограмма кристаллической формы L обычно имеет следующий пик дифракционных углов (где “период решетки” показан в виде “значения d” на Фиг. 27):

Таблица 13. Рентгеновская дифрактограмма малеата соединения 1
(кристаллическая форма L)

Пик#	Дифракционный угол (2 тета)	Период решетки	Относительная интенсивность
1	9,698117	9,12016	77,30
2	14,051610	6,30281	100,00

В другом воплощении предложенное в данном документе представляет собой кристаллическую форму М малеата соединения 1. Как показано на Фиг. 28, рентгеновская порошковая дифрактограмма обычно имеет следующий пик дифракционных углов (где “период решетки” показан в виде “значения d” на Фиг. 28):

Таблица 14. Рентгеновская дифрактограмма малеата соединения 1
(кристаллическая форма М)

Мик#	Дифракционный угол (2 тета)	Период решетки	Относительная интенсивность
1	5,034370	17,55360	12,31
2	9,305185	9,50438	13,27
3	11,256770	7,86061	27,54
4	14,880450	5,95356	11,84
5	15,926370	5,56486	19,75
6	17,354960	5,10987	30,82
7	18,013680	4,92447	72,36
8	18,719310	4,74040	61,47
9	19,383410	4,57946	43,82
10	20,210580	4,39386	100,00
11	22,125110	4,01780	70,61
12	23,388940	3,80347	42,17
13	24,313510	3,66090	42,06
14	25,384410	3,50883	55,22
15	26,475530	3,36665	60,01
16	27,463200	3,24777	45,10

17	28,476490	3,13447	29,51
18	29,269130	3,05137	22,64

В другом воплощении предложенное в данном документе представляет собой кристаллическую форму N малеата соединения 1 (1:1). Как показано на Фиг.33, рентгеновская порошковая дифрактограмма кристаллической формы N обычно имеет следующий пик дифракционных углов (где “период решетки” показан в виде “значения d” на Фиг. 33):

Таблица 15. рентгеновская дифрактограмма малеата соединения 1 (1:1) (кристаллическая форма N)

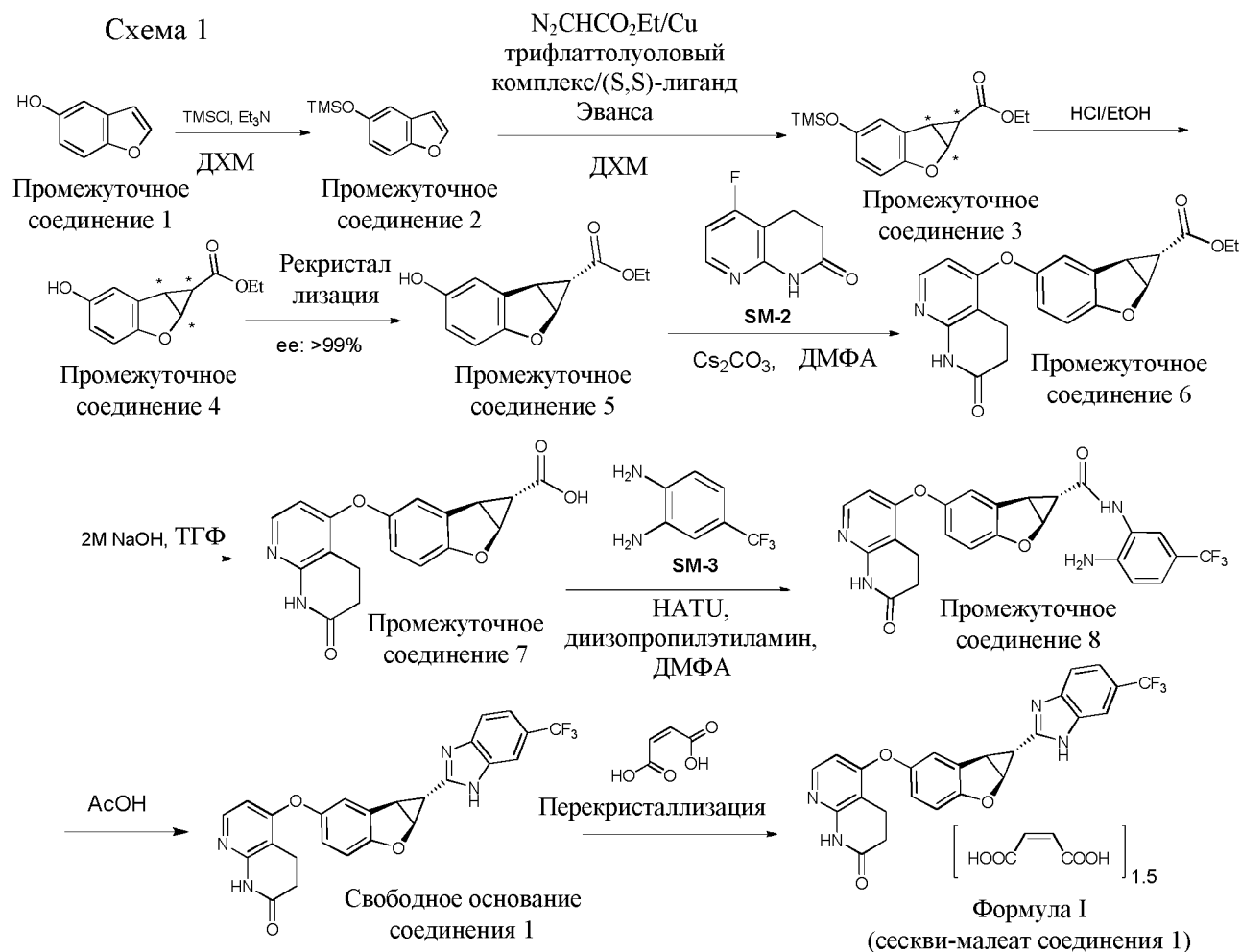
Пик#	Дифракционный угол (2 тета)	Период решетки	Относительная интенсивность
1	3,295141	26,81374	29,53
2	6,606152	13,38023	31,10
3	9,875418	8,95682	37,94
4	11,729470	7,54487	10,71
5	13,142240	6,73681	18,08
6	15,234010	5,81617	12,66
7	16,564110	5,35201	61,06
8	17,935520	4,94575	21,08
9	18,719110	4,74045	49,78
10	19,339860	4,58967	65,12
11	19,929920	4,45510	45,61
12	20,761080	4,27858	100,00
13	22,042190	4,03272	35,16
14	22,951470	3,87497	23,00
15	23,861870	3,72915	19,25
16	25,185120	3,53614	33,97
17	26,607380	3,35026	29,63
18	28,356330	3,14748	18,66
19	30,131030	2,96602	10,90
20	31,356510	2,85284	4,92

21	33,490100	2,67581	4,87
22	37,224360	2,41551	4,86

Для кристаллических форм A*, A**, A, B, C, D, F, G, H, I, J, K, L, M и N, описанных выше, суммированы только основные пики (т.е. наиболее характерные, значимые, уникальные и/или воспроизводимые пики); дополнительные пики могут быть получены из дифракционного спектра обычными способами. Основные пики, описанные выше, могут быть воспроизведены внутри допустимого предела ошибки (плюс или минус 2 при заданном числе десятичных знаков, или плюс или минус 0,2 при установленном значении).

В другом аспекте предложенное в данном документе представляет собой способ получения соединения формулы (I) или формулы (II).

В одном воплощении предложенное в данном документе представляет собой кристаллическую форму A* сескви-малеата соединения 1, полученную или очищенную согласно способам, изображенным на Схеме 1. Новые способы синтеза и способы кристаллизации/перекристаллизации, раскрытые в данном документе преодолевают многие сложности, ассоциированные со способами, описанными ранее, такими как получение ключевого хирального промежуточного соединения с оптической чистотой более 99% и обеспечивает многие преимущества по сравнению с существующими способами. Существенно, способы, раскрытые в данном документе в частности пригодны для воспроизведения производства в коммерческом масштабе сескви-малеатной соли соединения 1 высокого качества и с хорошим выходом.



Кристаллические формы сескви-малеатной соли соединения 1 могут быть получены при помощи следующего общего способа: кристаллическую форму А* сескви-малеатной соли соединения 1 нагревают с растворителем до полного растворения. После фильтрования, охлаждения, кристаллизации, фильтрования и высушивания, получают соответствующие различные кристаллические формы. Пример способа кристаллизации для получения кристаллической формы А сескви-малеатной соли соединения 1 приведен в примере 3 (ниже). Кристаллизация, описанная выше, может быть проведена в единственном растворителе, смеси органических растворителей или смеси воды и органического растворителя(ей). Приемлемые органические растворители для кристаллизации могут быть выбраны из, но не ограничены, низших алкильных спиртов, кетонов, эфиров, сложных эфиров, галогенированных углеводородов, алканов, галогенированного бензола, алифатического нитрила, и других ароматических растворителей. Предпочтительные растворители включают например, изопропанол,

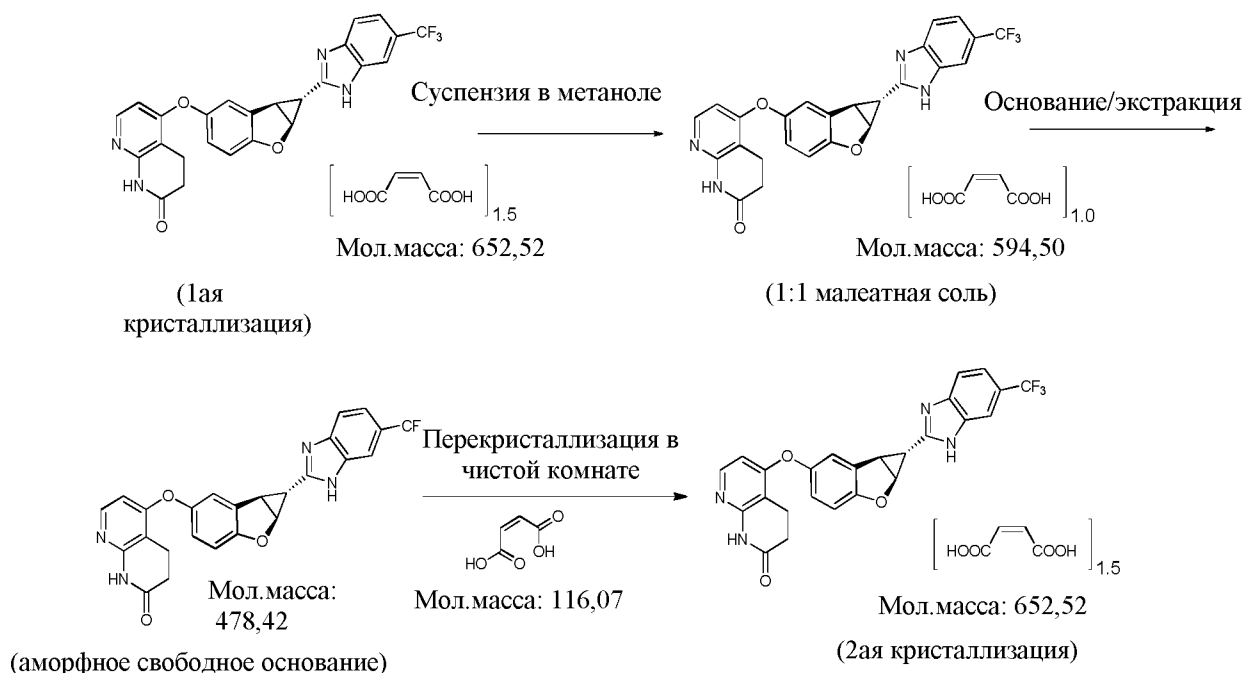
этилацетат, воду, N,N-диметилформамид, метанол, этанол, ацетон, ацетонитрил и их смеси.

Свободное основание соединения 1 получали исходно в качестве аморфного твердого вещества, которое слабо гигроскопично с 2,2% увеличением воды от 0 до 80% относительной влажности. После динамической сорбции паров (ДСП) трансформации не наблюдалось. Наблюдалось явление двоякого преломления с неправильной формой от поляризационного микроскопа.

Раскрытое в данном документе представляет собой гидрохлорид, метансульфонат, 2-гидроксиэтансульфонат, L-тарtrat, малеат и оксалатные соли соединения 1, где малеатная соль, в частности сескви-малеатная соль как неожиданно было обнаружено, обладала желаемыми свойствами кандидата в лекарственное средство. Например, соединение 1 не показало образования кристаллической тарtratной соли и оксалатная соль была слабо кристаллической. В то время как 2-гидроксиэтансульфонатная, мезилатная и соли HCl показали относительно хорошую растворимость в воде, соль HCl химически нестабильна со значительной деградацией через одну неделю при 60 °C и 40 °C/75% относительной влажности, и 2-гидроксиэтансульфонатная и мезилатная соли обе являются гигроскопичными с приблизительно 4% увеличением массы при относительной влажности 0 - 80%. 2-гидроксиэтансульфонатная и мезилатная соли также показали деградацию через одну неделю при 60 °C и 40 °C/75% относительной влажности, и таким образом, предполагали недостаток желаемой длительной химической стабильности. С другой стороны сескви-малеатная соль (1:1,5 свободное основание/малеиновая кислота) обладает хорошей кристаллическостью, как показано посредством рентгеновских порошковых дифрактограмм, раскрытых в данном документе, слабо растворима в воде, и не проявляет деградации через одну неделю при 60 °C и 40 °C/75% относительной влажности, показывая возможную длительную стабильность; поэтому сескви-малеатная соль выбрана для дальнейшей разработки.

При желании или необходимости, чистота сескви-малеатной соли соединения 1 может быть в дальнейшем улучшена за счет превращения сескви-малеатной соли в малеатную соль (1:1 соотношение свободное основание/кислота) посредством метанол-суспензионного способа. Образование 1:1 малеатной кристаллической соли приводило к эффективному удалению примесей. Аморфная форма свободного основания также может быть изготовлена с высокой чистотой посредством обработки 1:1 малеатной соли основанием и последующей экстракцией растворителем. Сескви-малеатную кристаллическую соль с намного более высокой чистотой получали посредством обработки свободного основания малеиновой кислотой (Схема 2).

Схема 2



Термин «низшие алкильные спирты» в данном документе включает алкильные спирты с прямой или разветвленной цепью C_1 - C_8 , предпочтительно C_1 - C_6 , более предпочтительно C_1 - C_4 . Конкретные примеры включают, но не ограничены указанными, метанол, этанол, изопропанол и бутанол.

Термин «приблизительно как употреблено в данном документе, если не указано иное, означает, что число (например, температура, pH, объем, и т.д.) может варьировать в пределах $\pm 10\%$, предпочтительно в пределах $\pm 5\%$.

Кристаллизация кристаллических форм по настоящему изобретению также может быть проведена в приемлемой системе растворителей, содержащей по меньшей мере один растворитель за счет выпаривания растворителя, охлаждения и/или добавления антирастворителей (растворителей, которые менее способны растворять сескви-малеат соединения 1, включая, но не ограничено таковыми, описанными в данном документе) до достижения супернасыщения в системе растворителей.

Кристаллизация может быть выполнена с или без затравочных кристаллов, которые описаны в настоящем изобретении.

Отдельные кристаллические формы, предложенные настоящим изобретением, развиваются при определенных условиях в зависимости от отдельных термодинамических и равновесных свойств процесса кристаллизации. Таким образом, специалисту в области техники будет известно, что сформированные кристаллы представляют собой следствие

кинетических и термодинамических свойств способа кристаллизации. При определенных условиях (например, растворитель, температура, давление и концентрация соединения), отдельная кристаллическая форма может быть более стабильной, чем другая кристаллическая форма (или фактически более стабильна, чем другие кристаллические формы). Однако, относительно низкая термодинамическая стабильность отдельных кристаллов может иметь преимущество кинетической стабильности. Дополнительные факторы, отличные от кинетических, такие как время, распределение примесей, перемешивание, присутствие или отсутствие затравочных кристаллов и т.д., могут также влиять на кристаллическую форму.

В другом аспекте, предложенное в данном документе, представляет собой фармацевтические композиции, где каждая содержит эффективное количество малеата соединения 1 в любой из вышеописанных кристаллических форм A*, A**, A, B, C, D, F, G, H, I, J, K, L, M и N в частности кристаллической формы A* сескви-малеата соединения 1 и фармацевтически приемлемого носителя. Активное соединение(я) может составлять 1-99 масс.%, предпочтительно 1-70 масс.% или более предпочтительно 1-50 масс.% или наиболее предпочтительно 5-40 масс.% композиции.

Фармацевтические композиции могут быть введены перорально в формах, таких как капсулы, таблетки, пилюли, порошки, инъекции замедленного высвобождения в таких формах, как стерильный раствор, суспензия или эмульсия; посредством местных лекарственных форм, таких как паста, крем или мазь; или посредством ректальной формы, такой как свечи. Фармацевтические композиции могут быть в виде единичной дозированной формы, подходящей для применений с точным дозированием. Кроме того, фармацевтические композиции могут включать другие активные ингредиенты.

Приемлемые фармацевтические носители включают воду, различные органические растворители и различные инертные разбавители или наполнители. Если необходимо, фармацевтические композиции могут содержать различные добавки, такие как специи, адгезивные вещества и эксципиенты. Для орального применения таблетки и капсулы могут содержать различные эксципиенты, такие как лимонная кислота, различные дезинтегрирующие агенты, такие как крахмал, альгиновые кислоты и некоторые силикаты и ряд адгезивных веществ, таких как сахароза, желатин и аравийская камедь. Кроме того, при производстве таблеток широко применяют лубриканты, включая стеарат магния и тальковые наполнители. Те же типы твердых компонентов также могут быть применены для образования мягких и твердых желатиновых капсул. В случае когда для перорального применения необходима водная суспензия активного соединения может быть смешана с рядом подсластителей или ароматизаторов, комбинаций пигментов или красителей. Если

необходимо может быть применен ряд эмульгаторов или образователей суспензий; могут быть применены разбавители, такие как вода, этанол, пропиленгликоль, глицерин или их комбинации.

Вышеописанные фармацевтические композиции предпочтительны для перорального применения.

Вышеописанные фармацевтические композиции предпочтительны в виде капсул или таблеток.

В другом аспекте предложенное в данном документе представляет собой применение соединений по настоящей заявке (т.е. малеата соединения 1 и любой из вышеописанных кристаллических форм A*, A**, A, B, C, D, F, G, H, I, J, K, L, M и N) в производстве лекарственных препаратов, применяемых в лечении видов рака, чувствительных к ингибированию Braf киназы или других киназ, таких как EGFR, VEGFR, ERHA, ERHB или т.п.

В одном воплощении предложенное в данном документе представляет собой применение соединений по настоящей заявке (т.е. малеат соединения 1 и любая из вышеописанных кристаллических форм A*, A**, A, B, C, D, F, G, H, I, J, K, L, M и N) при производстве лекарственных препаратов, применяемых в лечении или предупреждении панкреатита млекопитающих, болезни почки, рака, ангиогенеза или ангиогенез-связанных заболеваний.

Малеат соединения 1 и любая из кристаллических форм A*, A**, A, B, C, D, F, G, H, I, J, K, L, M и N или кристаллическая форма N малеата соединения 1 (1:1) по настоящей заявке может быть применена для лечения и предупреждения заболеваний, выбранных из, но не ограничиваясь указанными, ангиогенеза опухоли, хронических воспалительных заболеваний, таких как ревматоидный артрит, атеросклероз, заболеваний кожи, таких как псориаз и склеродермия, кожных заболеваний, индуцированных диабетом, диабетической ретинопатией, ретинопатией недоношенных, возрастных дегенеративных пятен, гемангиомы, глиомы, опухоли Капоши, рака яичников, рака молочных желез, рака легкого, рака поджелудочной железы, лимфомы, простаты, опухолей толстой кишки и кожи, и их осложнений. Среди млекопитающих указанных в данном документе человек предпочтителен.

Мишенные заболевания для вышеописанных способов лечения предпочтительно выбраны из опухолей при мутантных BRAF, NRAS и K-RAS, таких как BRAF или NRAS или K-RAS мутантный немелкоклеточный рак легкого, колоректальный рак, рак эндометрия, рак почки, рак кости, рак печени, рак мочевого пузыря, рак груди, рак шеи, рак пищевода, рак желудка, рак толстого кишечника, ректальный рак, рак молочной

железы, рак яичника, меланома, рак кожи, рак надпочечника, цервикальный рак, лимфома или опухолей щитовидной железы и их осложнений.

Вышеописанные способы могут быть применены в сочетании с любой химической терапией (например, ингибиторы МЕК), биологической терапией или радиационной терапией.

Дозирование активного ингредиента или соединения, в случае введения будет определяться индивидуальными потребностями пациента, подлежащего лечению, путем введения, тяжестью заболевания или болезни, режимом дозирования, а также оценкой и решением ответственного врача. Однако на основании активного соединения предпочтительный диапазон эффективного дозирования может составлять приблизительно 0,01-120 мг ежедневно на килограмм массы тела; или более предпочтительно 0,1-10 мг на килограмм массы тела в одной или различных дозах. В некоторых случаях более пригодно применение нижней части вышеуказанных описанных диапазонов дозирования, в то время как в других случаях могут быть применены более высокие дозировки без вредных побочных эффектов.

Другой аспект настоящей заявки предлагает сескви-малеат соединения 1 для клинических применений. В частности, настоящее изобретение относится к клиническому лечению малеатом соединения 1 с последующими вариантами лечения раковых пациентов: дозировка малеата соединения 1 и/или кристаллической формы А*, А**, А, В, С, D, F, G, H, I, J, K, L, M и N может представлять собой 1-100 мг/сутки частотой введения 1-3 раз/сутки; предпочтительная дозировка составляет 5-50 мг/сутки частотой введения 1-3 раза в сутки; более предпочтительная дозировка составляет 5-60 мг/сутки частотой введения 1 раз/сутки; и даже более предпочтительная дозировка составляет 10-50 мг/сутки частотой введения 1 раз в сутки.

Следующие способы синтеза, конкретные примеры и тесты эффективности в дальнейшем описывают конкретные аспекты настоящего изобретения. Они не должны ограничивать или сужать объем настоящего изобретения каким-либо образом.

ПРИМЕРЫ

Нижеприведенные примеры предназначены для иллюстрации и в целях обеспечения точности в отношении примененных численных значения (например, количеств, температуры и т.д.), но должны быть учтены некоторые экспериментальные ошибки и отклонения. Если не указано иное, температура приведена в градусах по Цельсию. Реагенты закупали у коммерческих поставщиков, таких как Sigma-Aldrich, Alfa Aesar или TCI, и применяли без дальнейшей очистки, если не указано иное.

Если не указано иное, реакции, приведенные ниже, проводят при положительном давлении азота или аргона или при помощи осушающей трубки в безводных растворителях; реакционных флаконов, оснащенных резиновой перегородкой для введения субстратов и реагентов при помощи шприца; и стеклянную посуду высушивали в печи и/или высушивали нагреванием.

Если не указано иное, очистку при помощи колоночной хроматографии проводили на системе Biotage (производитель: Dyax Corporation), имеющей силикагелевую колонку или кремниевый картридж SepPak (Waters), или проводили на системе очистки Teledyne Isco Combiflash при помощи предварительно упакованных силикагелевых картриджей.

^1H ЯМР спектр и ^{13}C ЯМР записывали на оборудовании Varian, работающем при 400 МГц с применением DMSO-d_6 в качестве растворителя.

Данные интенсивности рентгеновского излучение из бесцветного плоского кристалла измеряли при 173(2) К при помощи дифрактометра aBruker APEX-II CCD ($\text{Cu K}\alpha$ излучения, $\lambda = 1,54178 \text{ \AA}$). Изображение с поляризационного светового микроскопа получали при комнатной температуре.

В следующих примерах могут быть применены аббревиатуры, приведенные ниже:

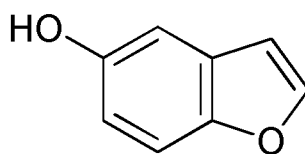
AcOH	уксусная кислота
ACN	ацетонитрил
API	активный фармацевтический ингредиент, иногда далее в данном документе называемый как соединение 1
Aq	водный
Brine	насыщенный водный раствор хлорида натрия
Bn	бензил
BnBr	бензилбромид
CH_2Cl_2	дихлорметан
DMF	N,N-диметилформамид
Dppf	1,1'-бис(дифенилфосфино)ферроцен
DBU	1,8-диазабицикло[5.4.0]ундек-7-ен
DIEA or DIPEA	N,N-диизопропилэтиламин
DMAP	4-N,N-диметиламинопиридин
DMF	N,N-диметилформамид
DMSO	диметилсульфоксид
EtOAc	этилацетат
EtOH	этанол

Et ₂ O или эфир	диэтиловый эфир
г	граммы
ч	час
HATU	O-(7-азабензотриазол-1-ил)-N,N,N',N'-тетраметилуроний гексафторфосфат
HCl	соляная кислота
ВЭЖХ	высокоэффективная жидкостная хроматография
IPA	2-пропанол
i-PrOH	изопропиловый спирт
мг	миллиграмм
мл	миллилитр
ммоль	миллимоль
MeCN	ацетонитрил
MeOH	метанол
мин	минуты
ms или MS	масс-спектр
Na ₂ SO ₄	сульфат натрия
PE	петролейный эфир
PPA	полифосфорная кислота
Rt	время удерживания
КТ или кт	комнатная температура
TBAF	фторид тетрабутил аммония
TBSCl	Трет-бутил диметилсилил хлорид
TFA	трифторуксусная кислота
ТГФ	тетрагидрофуран
ТСХ	тонкослойная хроматография
TMSCl	триметилсилил хлорид
мкл	микролитры

Пример 1: образование солей соединения 1 с различными солеобразующими агентами

Пример 1А: получение свободного основания соединения 1 и кристаллической формы А* сескви-малеата соединения 1

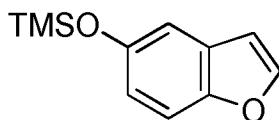
Стадия 1: синтез промежуточного соединения 1



Промежуточное соединение 1 (INT-1)

К перемешанному раствору EtONa (154 кг) в ДМФ (989 кг) добавляли этантиол (68,6 кг) при внутренней температуре не более 35 °С в защитной атмосфере азота. Смесь перемешивали в течение 60-90 мин при внутренней температуре не более 35 °С. Добавляли 5-метоксибензофуран (58,75 кг) в ДМФ (55,0 кг). Смесь нагревали до 110-130 °С, перемешивали в течение 45 часов и затем концентрировали в вакууме при менее 90 °С. Затем смесь охлаждали до 10-20 °С, добавляли по капле 2Н HCl (1326 кг), с последующим добавлением EtOAc (531 кг) и H₂O₂ (129 кг) при внутренней температуре не более 35 °С. Смесь перемешивали в течение 30-60 мин. После отделения органического слоя, водную фазу экстрагировали при помощи EtOAc. Комбинированную органическую фазу промывали насыщенным солевым раствором дважды, и затем раствор выпаривали до сухости. MeOH и раствор NaOH (44,5 кг) в воде (185 кг) добавляли по капле к осадку при 40 °С. Смесь перемешивали в течение 5-7 часов при 30-40 °С. Добавляли активированный уголь (74 кг), гидратированный водой (77 кг). Смесь перемешивали в течение 4-6 часов при 30-40 °С и фильтровали; и фильтрационный осадок промывали MeOH и водой. ДХМ добавляли в фильтрат, и pH подвели до 1 35% водн. HCl при менее 40 °С. Водную фазу экстрагировали ДХМ и органическую фазу промывали 25% NaCl и концентрировали при менее 40 °С. Осадок применяли непосредственно на следующей стадии. ¹H ЯМР (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9,14 (s, 1H), 7,86 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H), 7,36 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 6,94 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H), 6,79 (dd, *J* = 2,0, 0,9 Hz, 1H), 6,74 (dd, *J* = 8,8, 2,4 Hz, 1H) млн⁻¹. MS: M/e 135 (M+1)⁺.

Стадия 2: синтез промежуточного соединения 2

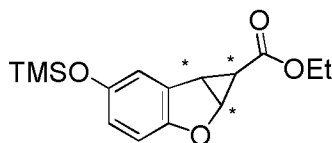


Промежуточное соединение 2 (INT-2)

К перемешанному раствору бензофуран-5-ола (промежуточное соединение 1, 33,1 кг) и Et₃N (50,8 кг) в ДХМ (155 кг) добавляли по капле раствор TMSCl (30,4 кг) в ДХМ (50 кг) при от -5 до 0 °С. Смесь нагревали до 0-10 °С и перемешивали при температуре в течение 2 часов (IPC проверенное INT-1/INT-2=37,4%). Смесь охлаждали до от -5 до 0 °С, и добавляли по капле раствор TMSCl (10,6 кг) в ДХМ (8 кг), и затем смесь нагревали до 0-10 °С и перемешивали при температуре в течение 1 часа. Смесь концентрировали при

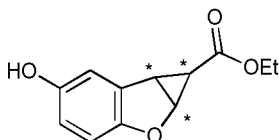
менее 40 °С, и к смеси добавляли н-гептан. Смесь перемешивали в течение 20-30 мин и фильтровали, и осадок промывали н-гептаном. Растворитель отгоняли из фильтрата для получения неочищенного промежуточного соединения 2 (INT-2%: 62,7%, KF: 0,01%). К перемешанному раствору вышеуказанного промежуточного соединения 2 и Et₃N (8,6 кг) в ДХМ (149 кг) добавляли по капле раствор TMSCl (9,0 кг) в ДХМ (10 кг) при от -5 до 0 °С. Смесь нагревали до 0-10°С и перемешивали при температуре в течение 1 ч (ТСХ показала окончание реакции). Реакционную смесь концентрировали при менее 40 °С, и к смеси добавляли н-гептан. Смесь перемешивали в течение 20-30 мин и затем фильтровали и осадок промывали н-гептаном. Растворитель отгоняли из фильтрата для получения промежуточного соединения 2 (41,5 кг, INT-2 %: 98,1%) в виде бесцветного масла. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,69 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H), 7,21 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 6,84 (d, *J* = 2,5 Hz, 1H), 6,61 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H), 6,56 (dd, *J* = 8,8, 2,5 Hz, 1H), 0,00 (s, 9H) млн⁻¹.

Стадия 3: синтез промежуточного соединения 3

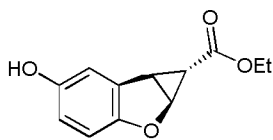


Промежуточное соединение 3 (INT-3)

Трифлат меди (I) (2:1 комплекс с толуолом, 0,41 кг) и (S, S)-лигандом Эванса (0,552 кг) перемешивали в ДХМ (160 кг) при температуре окружающей среды при атмосфере N₂ в течение 1-2 часов. Добавляли промежуточное соединение 2 (37,0 кг), с последующим медленным добавлением этилдиазоэтаноата (58 кг) в ДХМ (450 кг) при 20-30°С. Реакцию перемешивали в течение 0,5-1 ч при 20-30°С (IPC: INT-2/INT-3 не более 0,2%, остаточный N₂CHCO₂Et: 0,05% не более 1,0%). Раствор динатриевой ЭДТК (этилендиаминтетрауксусная кислота) (0,05 моль/л, 150 кг) добавляли к реакционной смеси в течение 40-50 мин при 20-30°С за три раза. Органическую фазу промывали 25% водным NaCl при 20-30°С два раза и концентрировали при менее 30 °С. Осадок отгоняли при пониженном давлении и неочищенное промежуточное соединение 3 (36,26 кг, 84,5%) собирали при 120-144 °С. Неочищенное соединение включало эндо-энантиомер, который удаляли на следующей стадии. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 6,79 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H), 6,59 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 6,42 (dd, *J* = 8,4, 2,4 Hz, 1H), 4,95 (dd, *J* = 5,4, 1,0 Hz, 1H), 3,08 (dd, *J* = 5,4, 3,2 Hz, 1H), 1,02 (dd, *J* = 3,1, 1,2 Hz, 1H), 0,00 (s, 9H) млн⁻¹.

Стадии 4 и 5: синтез промежуточного соединения 5 и промежуточного соединения 6

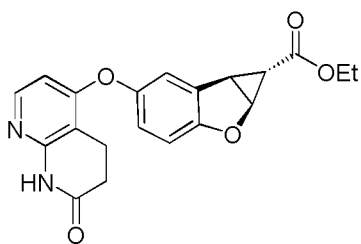
Промежуточное соединение 5



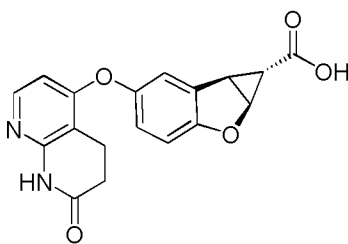
Промежуточное соединение 6

К раствору промежуточного соединения 4 (36,3 кг) в MeOH (108 кг) добавляли раствор HCl/MeOH (5M, 0,11 кг) при 20-30°C, и смесь перемешивали в течение 2-3 часов (IPC: L/M: 0,5%, хиральная чистота 90,0%). Et₃N (0,22 кг) добавляли по капле при 20-30°C. Смесь концентрировали и осадок отгоняли при помощи н-гептан/EtOAc (4:1) и затем концентрировали. После подведения температуры до 10-20°C и перемешивания в течение 2-4 часов при 10-20°C, смесь фильтровали для получения влажного продукта (промежуточное соединение 5: 94,0%, хиральная чистота: 90,5%). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9,05 (s, 1H), 6,89 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H), 6,72 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 6,55 (dd, *J* = 8,4, 2,4 Hz, 1H), 5,11 (dd, *J* = 5,4, 1,0 Hz, 1H), 3,27 (dd, *J* = 5,4, 3,0 Hz, 1H), 1,19 - 1,17 (m, 1H) млн⁻¹.

Неочищенный продукт суспендировали при помощи н-гептан/EtOAc (20:1) три раза для получения светло-желтого твердого вещества, которое высушивали в течение 12-16 часов при 40-50°C для получения 16,55 кг продукта (промежуточное соединение 6: 98,6%; хиральная чистота: 99,3%).

Стадии 6 и 7: синтез промежуточного соединения 7 и промежуточного соединения 8

промежуточное соединение 7

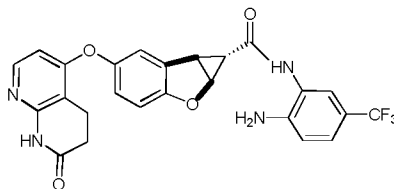


промежуточное соединение 8

К раствору промежуточного соединения 6 (14 кг) и 5-фтор-3,4-дигидро-1,8-нафтиридин-2(1H)-она (SM2, 11,2 кг) в ДМФ (66 кг) добавляли Cs₂CO₃ (26 кг) при 40-60 °C, и смесь нагревали до 110-120 °C и перемешивали в течение 3 часов при 110-120 °C. pH реакции подводили до 6 уксусной кислотой (12,0 кг) при 25-35 °C. Добавляли воду (520 кг) и смесь нагревали в течение 1-2 часов. После фильтрования твердое вещество суспендировали при помощи ЭА (78 кг) для получения влажного продукта (чистота:

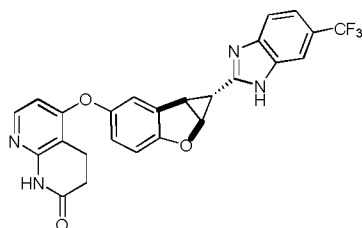
(промежуточное соединение 7 + промежуточное соединение 8) %: 98%). Водный раствор гидроксида натрия (125 кг, 2 М) добавляли к перемешанному раствору влажного продукта в ТГФ (240 кг) и перемешивали в течение 2-3 часов при 20-30 °С (IPC: INT-7/INT-8: 0,9%). рН смеси доводили до 4-5 при помощи 4 Н НСl (37 кг) при 20-30 °С и затем перемешивали в течение 0,5-1 ч. Смесь концентрировали при менее 50 °С и твердое вещество осаждали из раствора. После фильтрования влажный продукт ресуспендировали в ТГФ при 35-45°С в течение 1-2 часов и затем фильтровали. Полученный влажный продукт высушивали в течение 40 часов при 45-65°С для получения целевого промежуточного соединения 8 (18,95 кг: химическая чистота 99%, хиральная чистота 100%). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12,59 (s, 1H), 10,43 (s, 1H), 7,92 (d, *J* = 5,8 Hz, 1H), 7,29 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H), 6,97 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 6,93 (dd, *J* = 8,8, 2,4 Hz, 1H), 6,21 (d, *J* = 5,8 Hz, 1H), 5,21 (dd, *J* = 5,4, 1,0 Hz, 1H), 3,27 – 3,25 (m, 1H), 2,89 (t, *J* = 7,8 Hz, 2H), 2,51 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 1,19 (dd, *J* = 3,0, 1,0 Hz, 1H) млн⁻¹. MS: M/e 339 (M+1)⁺.

Стадия 8: синтез промежуточного соединения 9



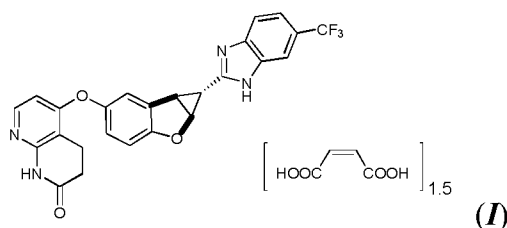
промежуточное соединение 9

Раствор промежуточного соединения 8 (13,3 кг), DIPEA (16 кг) и HATU (18,1 кг) в ДМФ (167 кг) добавляли по капле в смесь 4-(трифторметил)бензол-1,2-диамин (SM3, 7,6 кг) в ДМФ (74 кг) при 0-15 °С. Смесь перемешивали при 20-25 °С в течение 4-6 часов (IPC: INT-9/INT-9: не детектировали). Активированный уголь (5,3 кг) в ДМФ (7,5 кг) добавляли в реакционную смесь, перемешивали в течение 2-4 часов при 40-45 °С, и затем фильтровали. Воду (846 кг) добавляли по капле к фильтрату при 15-30 °С, и твердое вещество осаждали из раствора при перемешивании в течение 1-2 ч. Осадок собирали и суспендировали в EtOH при 20-30 °С в течение 2-4 часов. После фильтрования влажный продукт высушивали в течение 37 часов при 45-60 °С для получения целевого промежуточного соединения 9 (17,60 кг: 95,5%).

Стадия 9: синтез свободного основания соединения 1

свободное основание соединения 1

Раствор промежуточного соединения 9 (17 кг) и воды (1,5 кг) в AcOH (360 кг) перемешивали при 65-70 °C в течение 20 часов (IPC: R/S не более 1,0%). Смесь концентрировали до сухости при менее 55 °C, и активированный уголь (17 кг) с MeOH (32 кг) добавляли к осадку. Смесь перемешивали в течение 1 ч при приблизительно 50 °C. После фильтрования фильтрат концентрировали для удаления растворителя при менее 45 °C. ЭА (160 кг) и воду (330 кг) добавляли к осадку, с последующим добавлением водного раствора NaOH (2 моль/л) до pH 8-9 при 20-30 °C. Органический слой отделяли и водную фазу экстрагировали ЭА. Комбинированную органическую фазу промывали дважды водой, концентрировали до сухости для получения соединения 1 в виде свободного основания. ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12,84 (s, 1H), 10,47 (s, 1H), 7,98 (d, J = 5,8 Hz, 1H), 7,86 (d, J = 1,2 Hz, 1H), 7,69 (m, 1H), 7,48 (t, J = 6,2 Hz, 1H), 7,38 (d, J = 2,6 Hz, 1H), 7,08 (d, J = 8,7 Hz, 1H), 7,02 (dd, J = 8,7, 2,6 Hz, 1H), 6,29 (d, J = 5,8 Hz, 1H), 5,43 (dd, J = 5,4, 1,2 Hz, 1H), 3,55 (dd, J = 5,3, 3,3 Hz, 1H), 2,95 (t, J = 7,7 Hz, 2H), 2,55 (t, J = 7,7 Hz, 2H), 1,97 (d, J = 1,3 Hz, 1H) млн⁻¹.

Стадия 10: синтез сескви-малеата соединения 1

сескви-малеат соединения 1

IPA (83 кг) добавляли к осадку со стадии 9. Малеиновую кислоту (5 кг) в воде (29 кг) добавляли к смеси и перемешивали в течение 4 часов при приблизительно 50 °C, затем охлаждали до 35 °C и перемешивали в течение 12 часов при комнатной температуре. Полученное твердое вещество фильтровали, высушивали при 40-60 °C, и микронизировали в микронайзере для получения белого порошка (сескви-малеатная соль соединения 1, 8,36 кг) с размерами частиц D90=4,1 мкм, D10=1,5 мкм, D50=2,4 мкм.

Способ порошковой рентгеновской дифрактограммы применяли для характеристики структуры кристаллической формы A*, см. Фиг.2. ¹H-ЯМР спектр кристаллической формы A* сескви-малеата соединения 1 показан на Фиг. 29. ¹³C-ЯМР спектр кристаллической формы A* сескви-малеата соединения 1 показан на Фиг. 30.

Исследование растворимости показало намного лучшую растворимость в воде (0,020 мг/мл) кристаллической формы A* сескви-малеата соединения 1, чем растворимость в воде (менее предела количественного определения при 0,001 мг/мл) свободного основания соединения 1.

Кристаллическая форма A* сескви-малеата соединения 1 оказалась негигроскопичной, впитывая лишь 0,1801% воды при относительной влажности 95%, как показано на Фиг. 31.

Пример 1В: получение солей соединения 1 при помощи других солеобразующих агентов.

Приблизительно 150 мг свободного основания соединения 1 растворяли в 40 мл стеклянном сосуде при помощи 2 мл IPA. Раствор соответствующих солеобразующих агентов в IPA (солеобразующие агенты предварительно растворенные в IPA, для тех солеобразующих агентов, которые не могут быть растворены, для растворения суспензии нагревали) согласно молярному отношению, приведенному в таблице 16, медленно титровали в раствор свободного основания с магнитной мешалкой и затем продолжали перемешивание при комнатной температуре в течение 24 часов до осаждения твердого вещества. Если твердое вещество не было получено, анти-растворитель (например, гептан) медленно добавляли в раствор для получения осадка. Отцентрифугированное твердое вещество определяли при помощи XRPD для определения того, получена ли новая кристаллическая форма, и затем высушивали в вакууме при 40 °C в течение ночи для дальнейшей характеристики. API и чистую твердую кислоту, суспендированную в IPA, применяли в качестве контроля API чистого твердого солеобразующего агента для различения образования соль/сокристалл и полиморфизма API или твердых солеобразующих агентов.

В дополнение к образованию кристаллических солей с малеиновой кислотой твердые вещества кристаллических форм также были обнаружены у следующих пяти кислот, включая соляную кислоту (фиг. 3), метансульфоновую кислоту (фиг. 4), 2-гидроксиэтансульфоновую кислоту (фиг. 5), L-винную кислоту (фиг. 6, настоящая соль винной кислоты может быть не образована ни являться лишь полиморфной формой свободного основания, поскольку для тартрата не был обнаружен химический сдвиг), и щавелевую кислоту (фиг. 7), которая показала различные кристаллические формы из

свободного основания, API контроля и контроля твердой кислоты. Среди полученных кристаллических солей 2-гидроксиэтансульфонат и малеат имеют лучшую кристалличность, чем другие четыре (соляная кислота, метансульфоновая кислота, L-винная кислота и щавелевая кислота).

Твердые вещества, полученные из солеобразующих агентов все представляли собой аморфные формы (фиг. 8, фиг. 9, фиг. 10) или такие же формы с чистыми твердыми солеобразующими агентами (фиг. 11 и фиг. 12), подтверждая что получают свободную форму или аморфные соли или смесь солеобразующих агентов со свободной формой.

Таблица 16. Суммарно образование солей соединения 1 с различными солеобразующими агентами

Соляная кислота	1:1	белая суспензия	нет	кристаллический
Серная кислота	1:1	гелеобразный	нет	аморфный
Ортофосфорная кислота	1:1	белая суспензия	нет	аморфный
Метансульфоновая кислота	1:1	гелеобразный	нет	кристаллический
2-гидроксиэтансульфоновая кислота	1:1	белая суспензия	нет	кристаллический
Бензолсульфоновая кислота	1:1	гелеобразный	нет	аморфный
Гликолевая кислота	1:1	белый осадок	да	аморфный
L-молочная кислота	1:1	белый осадок	да	аморфный
Фумаровая кислота	1:1	белый осадок	да	аморфный
L-винная кислота	1:1	гелеобразный	нет	кристаллический
Лимонная кислота	1:1	белый осадок	да	аморфный
L-малеиновая кислота	1:1	белый осадок	да	аморфный
Янтарная кислота	1:1	белый осадок	да	аморфный
Гиппуровая кислота	1:1	без осадка	да	аморфный
Адипиновая кислота	1:1	белый осадок	да	кристаллический (адипиновая кислота)
Бензойная кислота	1:1	белый осадок	да	аморфный
Гентизиновая кислота	1:1	белый осадок	да	аморфный
Малоновая кислота	1:1	белый осадок	да	аморфный
Этандисульфоновая кислота	1:1	белая суспензия	нет	аморфный
Толуолсульфоновая кислота	1:1	гелеобразный	нет	аморфный

Щавелевая кислота	1:1	белая суспензия	нет	кристаллический
Никотиновая кислота	1:1	белая суспензия	нет	Кристаллический (никотиновая кислота)
Никотинамид	1:1	белый осадок	да	аморфный
Сахарин	1:1	белый осадок	да	аморфный

Пример 2: получение монокристаллической формы А сескви-малеата соединения 1**

Скрининг роста монокристалла проводили при 94 различных условиях за счет варьирования растворителя, температуры и способов перекристаллизации, в результате чего монокристаллы пригодные по определению структуры были получены посредством охлаждения в ацетоне.

Пример 3: получение кристаллической формы А сескви-малеата соединения 1

Свободное основание соединения 1 (145 г) комбинировали с 63,5 г малеиновой кислоты (1,8 эквивалент) в 1750 мл *i*-PrOH/H₂O (V:V = 4:1). Смесь кипятили с обратным холодильником до растворения всех твердых веществ. Чистый раствор охлаждали до комнатной температуры, добавляли некоторое количество затравочных кристаллов и затем смесь оставляли на 24 ч. Белые твердые вещества осаждали и фильтровали. Фильтрационный осадок промывали при помощи приблизительно 500 мл *i*-PrOH/H₂O (V:V = 4:1) и высушивали при высоком вакууме при 50 °C в течение 48 часов до получения целевого продукта (112 г) в качестве кристаллических кристаллов. Способ порошковой рентгеновской дифрактограммы применяли для характеристики структуры кристаллической формы А; см. Фиг. 17. ТГА показал потерю массы 0,3 масс.% при 120 °C. ДСК показала эндотерму плавления при 194,2 °C (температура начала). ¹H-ЯМР спектр показал стехеометрическое соотношение 1/1,5 свободное основание/малеиновая кислота (см. Фиг. 34).

Пример 1А относится к массовой продукции кристаллической формы сескви-малеата соединения 1 (т.е. обозначенной как форма А*) и пример 3 относится к лабораторному получению кристаллической формы сескви-малеата соединения 1 (т.е. обозначенному как форма А). Рентгеновская порошковая дифрактограмма, ¹H-ЯМР спектр и другие способы показали соответствие между двумя кристаллическими формами кристаллической формой А* и кристаллической формой А.

Пример 4: получение кристаллической формы В малеата соединения 1

Кристаллическую форму В малеата соединения 1 получали посредством охлаждения 1,4-диоксанового раствора кристаллической формы А сескви-малеата с 60 °С до 5 °С со скоростью 0,1 °С/мин для кристаллизации. Способ: взвешивали 20,0 мг твердого вещества формы А в 3-мл стеклянном сосуде и в сосуд добавляли 1 мл 1,4-диоксана; перемешивали смесь при 50 °С при помощи магнитной мешалки со скоростью 800 об/мин; фильтровали образец после уравнивания при 60 °С в течение 2 часов при помощи 0,45 мкм нейлонной мембраны; и охлаждали фильтрат со скоростью 0,1 °С/мин с 60 °С до 5 °С. Образец хранили при 5 °С до выделения. Способ порошковой рентгеновской дифрактограммы применяли для характеристики структуры кристаллической формы В; см. фиг. 18. ТГА показал потерю массы 15,1 масс.% при 150 °С (содержал молекулы кристаллического 1,4-диоксан сольвата/гидрата). ДСК показала множество перекрывающихся эндотерм (181,4 и 189,6 °С) до разложения. ¹Н-ЯМР спектр показал стехеометрическое отношение 1/1,2 свободное основание/малеиновая кислота (см. Фиг. 35).

Пример 5: получение кристаллической формы С малеата соединения 1

Кристаллическую форму С малеата соединения 1 получали посредством охлаждения этанольного раствора соединения 1 с 60 °С до 5 °С со скоростью 0,1 °С/мин для кристаллизации. Способы: взвешивали 21,3 мг твердого вещества формы А в 3 мл стеклянный сосуд, и в сосуд добавляли 1 мл этанола, перемешивали смесь при 50 °С при помощи магнитной мешалки со скоростью 800 об/мин; фильтровали образец после уравнивания при 60 °С в течение 2 часов при помощи 0,45 мкм нейлонной мембраны; и охлаждали фильтрат со скоростью 0,1 °С/мин с 60 °С до 5 °С. Образец хранили при 5 °С до выделения. Способ порошковой рентгеновской дифрактограммы применяли для характеристики структуры кристаллической формы С; см. фиг. 19. ТГА показал потерю массы 7,0 масс.% при 180 °С (содержали молекулы кристаллического гидрата). ДСК показала четыре эндотермы (107,5, 162,7, 179,3 и 196,0 °С) до разложения. ¹Н-ЯМР спектр показал стехеометрическое отношение приблизительно 1/1,3 свободное основание/малеиновая кислота (см. Фиг. 36.).

Пример 6: получение кристаллической формы D малеата соединения 1

Кристаллическую форму D малеата соединения 1 получали посредством медленного выпаривания раствора MeOH из кристаллической формы А сескви-малеата соединения 1 в присутствии [dmin]CF₃COO ионной жидкости при комнатной температуре. Способы: взвешивали 150,2 мг твердого вещества формы А в 20 мл стеклянный сосуд, и в

сосуд добавляли 10,2 мл MeOH; фильтровали смесь для получения насыщенного маточного раствора при помощи 0,45 мкм нейлонной мембраны; добавляли 2,8 мг [dmin]CF₃COO ионной жидкости в 1 мл маточный раствор MeOH; и перемешивали при комнатной температуре для индуцирования осаждения. Способ порошковой рентгеновской дифрактограммы применяли для характеристики структуры кристаллической формы D; см. Фиг.20. ТГА показал потерю массы 6,3 масс.% при 120 °C (содержала молекулы кристаллического гидрата). ДСК показала две эндотермы (75,8 и 161,4 °C) до разложения. ¹H-ЯМР спектр показал стехеометрическое отношение приблизительно 1/1 свободное основание/малеиновая кислота (см. Фиг. 37).

Пример 7: получение кристаллической формы F малеата соединения 1

Кристаллическую форму F малеата соединения 1 получали при помощи кристаллизации кристаллической формы A сескви-малеата соединения 1 из раствора ACN/H₂O (1:1, об/об). Способы: взвешивали 18,9 мг твердого вещества формы A в 3 мл стеклянный сосуд и в сосуд добавляли 1,5 мл ACN/H₂O (1:1, об/об); и в суспензию добавляли приблизительно 2 мг полимерной смеси (поливинилпирролидон (ПВП), поливиниловый спирт (ПВС), поливинилхлорид (ПВХ), поливинилацетат (ПВАЦ), гипромеллоза (НРМС), и метилцеллюлоза (МЦ) в массовом соотношении 1:1:1:1:1) и перемешивали при комнатной температуре для инициации осаждения.

Способ порошковой рентгеновской дифрактограммы применяли для характеристики структуры кристаллической формы F; см. Фиг. 21. ТГА показал потерю массы 3,2 масс.% при 130 °C (содержала молекулы ACN сольвата/гидрата). ДСК показала три эндотермы (62,4, 156,9 и 169,3 °C) до разложения. ¹H-ЯМР спектр показал стехеометрическое соотношение приблизительно 1/0,5 свободное основание/малеиновая кислота (см. фиг. 38).

Пример 8: получение кристаллической формы G малеата соединения 1

Кристаллическую форму G малеата соединения 1 получали при помощи добавления воды в раствор уксусной кислоты кристаллической формы A сескви-малеата соединения 1. Способы: взвешивали 20,2 мг твердого вещества формы A в 20 мл стеклянный сосуд; в сосуд добавляли 1,0 мл уксусной кислоты и перемешивали при комнатной температуре для получения прозрачного раствора; и постепенно в раствор добавляли 5 мл воды для инициации осаждения.

Способ порошковой рентгеновской дифрактограммы применяли для характеристики структуры кристаллической формы G; см. Фиг. 22. ТГА показал потерю массы 11,0 масс.% при 120 °C (содержала молекулы кристаллического гидрата). ДСК показала четыре эндотермы (84,3, 126,9, 139,4 и 187,3 °C) до разложения. ¹H-ЯМР спектр

показал стехеометрическое соотношение приблизительно 1/0,5 свободное основание/малеиновая кислота (см. Фиг. 39).

Пример 9: получение кристаллической формы Н малеата соединения 1

Кристаллическую форму Н малеата соединения 1 получали при помощи суспендирования кристаллической формы А сескви-малеата соединения 1 в ТГФ при комнатной температуре. Процессы: взвешивали 17,7 мг твердого вещества формы А в 1,5 мл сосуде и в сосуд добавляли 0,3 мл ТГФ для получения суспензии; и смесь перемешивали при комнатной температуре с использованием магнитной мешалки со скоростью 800 об/мин в течение 3 дней. Способ порошковой рентгеновской дифрактограммы применяли для характеристики структуры кристаллической формы Н; см. Фиг. 23. ТГА показал двухстадийную потерю массы 13,0 масс.% при 150 °С (содержала молекулы кристаллического ТГФ сольвата/гидрата). ДСК показала 2 эндотермы (124,5 и 178,0 °С) до разложения. ¹Н-ЯМР спектр показал стехеометрическое соотношение приблизительно 1/1 свободное основание/малеиновая кислота (см. Фиг. 40).

Пример 10: получение кристаллической формы I малеата соединения 1

Кристаллическую форму I малеата соединения 1 получали посредством медленного выпаривания раствора IPA/H₂O (3:1, об/об) из кристаллической формы А сескви-малеата соединения 1 при комнатной температуре. Способ: взвешивали 13,8 мг твердого вещества формы А в 3 мл стеклянном сосуде и в сосуд добавляли 1,5 мл IPA/H₂O (3:1, об/об) для получения прозрачного раствора; растворитель выпаривали из раствора при комнатной температуре для инициации осаждения. Способ порошковой рентгеновской дифрактограммы применяли для характеристики структуры кристаллической формы I; см. фиг. 24. ТГА показал двухстадийную потерю массы 20,7 масс.% при 180 °С (содержала молекулы кристаллического IPA сольвата/гидрата). ДСК показала 4 перекрывающиеся эндотермы (85,8, 115,1 и 138,2 °С) до разложения. ¹Н-ЯМР спектр показал стехеометрическое соотношение приблизительно 1/0,5 свободное основание/малеиновая кислота (см. Фиг. 41).

Пример 11: получение кристаллической формы J малеата соединения 1

Кристаллическую форму J малеата соединения 1 получали посредством взаимодействия между твердыми веществами кристаллической формой А соединения 1 и паром уксусной кислоты. Процессы: взвешивали 14,2 мг твердого вещества формы А в 3 мл стеклянном сосуде; запаивали 3 мл стеклянный сосуд в 20 мл стеклянный сосуд, содержащий 2 мл уксусной кислоты; и хранили систему при комнатной температуре в течение 8 дней, позволяя пару взаимодействовать с твердым веществом. Способ порошковой рентгеновской дифрактограммы применяли для характеристики структуры

кристаллической формы J; см. Фиг. 25. ТГА показал потерю массы 19,3 масс.% при 130 °C (содержала молекулы кристаллического сольвата/гидрата уксусной кислоты). ДСК показал три эндотермы (102,9, 155,7 и 187,7 °C) до разложения. ¹H-ЯМР спектр показал стехеометрическое соотношение приблизительно 1/1 свободное основание/малеиновая кислота (см. Фиг. 42).

Пример 12: получение кристаллической формы K малеата соединения 1

Кристаллическую форму K малеата соединения 1 получали после хранения кристаллической формы D малеата соединения 1 при температуре окружающей среды в течение двух недель. Способ порошковой рентгеновской дифрактограммы применяли для характеристики структуры кристаллической формы K; см. Фиг. 26. ТГА показал потерю массы 4,2 масс.% при 150 °C (содержала молекулы кристаллического гидрата). ДСК показала две эндотермы (59,6 и 163,5 °C) до плавления при 186,6 °C (пиковая температура). ¹H-ЯМР спектр показал стехеометрическое соотношение приблизительно 1/1 свободное основание/малеиновая кислота (см. Фиг. 43).

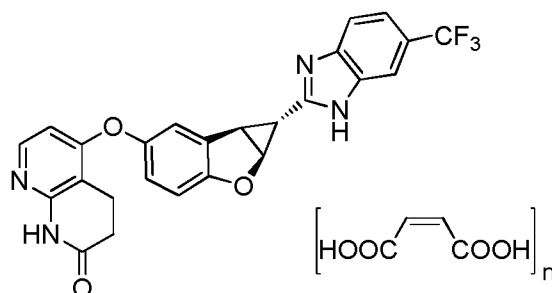
Пример 13: получение кристаллической формы L малеата соединения 1

Кристаллическую форму L малеата соединения 1 получали посредством нагревания кристаллической формы G малеата соединения 1 до 140 °C и охлаждения до комнатной температуры. Способ порошковой рентгеновской дифрактограммы применяли для характеристики структуры кристаллической формы L; см. Фиг. 27. ТГА показал потерю массы 3,9 масс.% при 120 °C (содержала молекулы кристаллического гидрата). ДСК показала одну эндотерму (141,1 °C, температура начала) до плавления при 183,9 °C (пиковая температура). ¹H-ЯМР спектр показал стехеометрическое соотношение приблизительно 1/0,3 свободное основание/малеиновая кислота (см. Фиг. 44).

Пример 14: получение кристаллической формы M малеата соединения 1

Кристаллическую форму M малеата соединения 1 получали после хранения кристаллической формы J малеата соединения 1 при температуре окружающей среды в течение двух недель. Способ порошковой рентгеновской дифрактограммы применяли для характеристики структуры кристаллической формы L; см. Фиг. 28. ТГА показал потерю массы 1,4 масс.% при 140 °C (содержала молекулы кристаллического гидрата/гидрата уксусной кислоты). ДСК показала множественные эндотермы (123,0, 156,5, 171,9, 176,1 и 195,3 °C). ¹H-ЯМР спектр показал стехеометрическое соотношение приблизительно 1/1,3 свободное основание/малеиновая кислота (см. Фиг. 45).

Пример 15: скрининг условий образования малеата и сескви-малеата соединения 1



Условие 1: соединение 1 реагировало с малеиновой кислотой в EtOAc.

К перемешанному раствору соединения 1 (47,8 мг) в EtOAc (5 мл) добавляли раствор малеиновой кислоты в EtOAc (0,2 моль/л, об/мл) при комнатной температуре. Смесь перемешивали в течение 30 мин. Твердое вещество фильтровали и высушивали при высоком вакууме для получения целевой соли. Неожиданно, когда применяли 0,5, 0,9, 1,8, или 3,0 экв. малеиновой кислоты, кристаллическую соль сескви-малеата соединения 1 (1:1,5) получали при всех условиях.

Условие 2: соединение 1 реагировало с малеиновой кислотой в EtOH.

Способ: смесь соединения 1 и малеиновой кислоты в EtOH кипятили с обратным холодильником в течение 20 мин до растворения всех твердых веществ. Раствор охлаждали до температуры окружающей среды и оставляли на 3 часа. Белое твердое вещество осаждали и фильтровали, и высушивали при высоком вакууме для получения целевого соединения. Неожиданно было обнаружено, что в случае, когда применяли один эквивалент малеиновой кислоты, получали кристаллическую соль малеата соединения 1 (1:1); но в случае повышения количества малеиновой кислоты до 1,3, 1,5, или 3,5 экв, все условия давали кристаллическую сескви малеатную соль соединения 1 (1:1,5) в качестве продукта.

Условие 3: соединение 3 реагировало с малеиновой кислотой в MeOH.

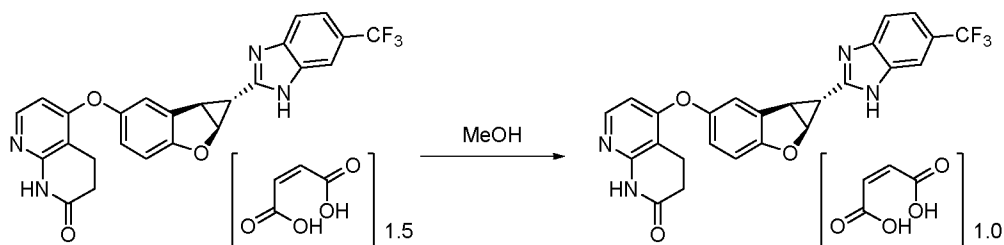
Способ: смесь соединения 1 и малеиновой кислоты в MeOH кипятили с обратным холодильником в течение 20 мин до растворения всех твердых веществ. Раствор охлаждали до температуры окружающей среды и оставляли на 3 часа. Осаждалось белое твердое вещество и его отфильтровывали и высушивали при высоком вакууме для получения малеатной соли соединения 1 (1:1). Неожиданно при применении MeOH в качестве растворителя, в случае применения 1,0, 1,5, или 3,5 экв. малеиновой кислоты, продукт соответственно представлял собой порошкообразную малеатную соль соединения 1 (1:1).

Условие 4: соединение 1 реагировало с малеиновой кислотой в i-PrOH/вода.

Способ: смесь соединения 1 (145 г, 0,3 моль) и малеиновой кислоты (63 г, 0,54 моль) в смешанном растворителе (i-PrOH:H₂O=4:1 по объему, 1,7 л) кипятили с обратным холодильником до растворения всех твердых веществ. Смеси позволяли остыть до комнатной температуры, добавляли некоторое количество затравочных кристаллов, и смесь оставляли на 24 часа. Белые кристаллы осаждались и их отфильтровывали. Фильтрационный осадок промывали 500 мл смешанного растворителя, высушивали при высоком вакууме при 50 °С в течение 48 часов для получения сескви-малеатной соли соединения 1 (112 г, 56,7%) в виде кристаллических игл. Интересно, что в случае применения в качестве растворителя 40 об.% i-PrOH, получали кристаллическую полумалеатную соль соединения 1 (1:0,5); в то время, как при применении в качестве растворителя 60 об.% i-PrOH, 90 об.% i-PrOH или 100% i-PrOH, все условия давали кристаллическую сескви-малеатную соль соединения 1 (1:1,5).

Условие 5: соединение 1 реагировало с малеиновой кислотой в других растворителях.

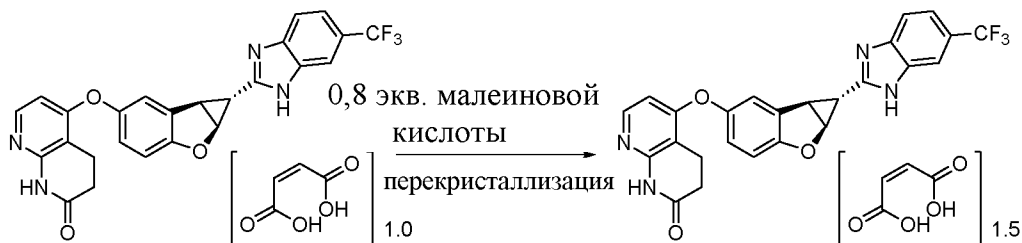
В случае применения других растворителей (ТГФ, ацетон, ДМЭ, 1,4-диоксан), согласно сходным способам, описанным выше, полученный продукт представлял собой соответственно сескви-малеатную соль соединения 1 (1:1,5).

Условие 6: превращение сескви-малеатной соли соединения 1 (1:1,5) в малеатную соль (1:1).

Кристалл сескви-малеатной соли соединения 1 (1,0 г, 1,53 ммоль) суспендировали в MeOH (20 мл) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 дня. Белое твердое вещество фильтровали. Фильтрационный осадок промывали MeOH (10 мл), и высушивали при инфракрасной лампе при 50 °С в течение 16 часов для получения малеатной соли соединения 1 (1:1) (820 мг, 90%) в качестве белого кристаллического твердого вещества. ¹H ЯМР (400 MHz, dmsO) δ 10,50 (s, 1H), 7,97 (d, *J* = 5,6 Hz, 1H), 7,86 (s, 1H), 7,68 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 7,47 (dd, *J* = 8,4, 1,2 Hz, 1H), 7,38 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H), 7,08 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 7,01 (dd, *J* = 8,8, 2,4 Hz, 1H), 6,31 – 6,24 (m, 3H), 5,43 (dd, *J* = 5,2, 1,2 Hz, 1H), 3,55 (dd, *J* = 5,2, 3,2 Hz, 1H), 2,94 (t, *J* = 7,6 Hz, 2H), 2,54 (t, *J* = 7,6 Hz, 2H), 1,97 (dd, *J* = 3,2, 1,2 Hz, 1H) (подробный спектр см. Фиг. 32).

Порошковую рентгеновскую дифрактограмму применяли для определения структуры полученного белого кристаллического твердого вещества при условии 6 и называемого кристаллической формой N малеата соединения 1 (1:1) (Фиг. 33).

Условие 7: превращение малеатной соли соединения 1 (1:1) в сескви-малеатную соль.



Смесь малеатной соли соединения 1 (1:1) (4,3 г) и малеиновой кислоты (0,67 г, 0,8 экв малеиновой кислоты) в смеси i-PrOH/H₂O (4:1, об/об, 50 мл) кипятили с обратным холодильником в течение 1 часа. Оставалось небольшое количество твердого вещества. Добавляли еще 5 мл смешанного растворителя и полученную смесь кипятили с обратным холодильником в течение 30 минут, и все твердые вещества растворялись. Смесь оставляли остывать до комнатной температуры и затем оставляли на 16 часов. Осаждались белые кристаллы и их фильтровали. Фильтрационный осадок промывали 20 мл смешанного растворителя, высушивали при инфракрасной лампе в течение 24 часов для получения сескви-малеатной соли соединения 1 (3,2 г, 68%) в виде кристаллических игл.

Пример 16

Исключение примесей соединения 1 API: 28,5 кг 1^{го} кристаллизованного сескви-малеата (химическая чистота = 98,82 %) смешивали с метанолом при 45-50°C в течение 4-5 ч. Суспензионную смесь затем охлаждали при 20-30 °C в течение 3-4 ч, фильтровали для получения влажного осадка (30,3 кг; химическая чистота = 99,76 %). Влажный осадок смешивали с этилацетатом и водой, обрабатывали водным карбонатом натрия до pH = 7-8 и затем промывали водой. Получали свободное основание соединения 1 в этилацетате (16,2 кг, химическая чистота = 99,81 %). Этилацетат замещали изопропанолом посредством дистилляции. Свободное основание в i-PrOH перемешивали с водным раствором малеиновой кислоты и затравочными кристаллами сескви-малеата. Смесь перемешивали при 40-50 °C в течение нескольких часов и при 20-30 °C в течение нескольких часов. Полученное твердое вещество фильтровали для получения 2^{ой} кристаллизованной сескви-малеатной соли (19,6 кг; химическая чистота = 99,82 %; оптическая чистота = 100%).

Пример 17: изучение стабильности солей кристаллических форм соединения 1**Пример 17А: изучение кратковременной стабильности**

Изучение кратковременной стабильности выполняли для оценки соли соляной кислоты, мезилатной соли, 2-гидроксиэтансульфонатной соли и малеатной соли.

Взвешивали приблизительно 2 мг (для XRPD: 10 мг) каждой из вышеуказанных солей в 40 мл стеклянном сосуде, отдельно. Форму свободного основания применяли в качестве контроля. Закрытые образцы закрывали и запаивали парафином, в то время как открытые образцы накрывали алюминиевой фольгой с небольшим отверстием. Все образцы хранили в климатической камере или сушильной печи при соответствующих условиях (60 °C и 40 °C/75% относительной влажности) в течение 1 недели.

Соль соляной кислоты оказалась светло-желтым порошком при обоих условиях, после 1 недели, образование 2-гидроксиэтансульфонат мезилата и малеата не привело к визуальным изменениям. Результаты XRPD показали отсутствие перехода в кристаллическую форму во всех образцах солей.

Результаты химической стабильности суммированы в таблице 17. Различные деградации наблюдались при повышении TRS (HCl соль более 2-гидроксиэтансульфоната более мезилата более малеата более свободного основания). Напротив, условия температурного стресса могли оказывать более сильное влияние, чем условия стресса влажности на образование соли соединения 1, так как трансмиссионная рамановская спектроскопия (TRS) образцов солей возрасла при более при 60 °C.

Таблица 17. Результаты изучения кратковременной стабильности

Образец соли	TRS %		
	0 сутки	60 °C	40 °C/75% ОВ
API свободное основание	0,12	0,12	0,11
Соль соляной кислоты	0,66	8,76	2,76
2-гидроксиэтансульфонат	0,08	1,16	0,51
Мезилат	0,11	0,55	0,14
Кристаллическая форма А* сескви малеата соединения 1	0,08	0,17	0,10

Пример 17В: изучение долгосрочной стабильности

Изучения долгосрочной стабильности кристаллической формы А* сескви-малеата соединения 1 показало отсутствие существенных изменений в химической чистоте при хранении при 25 °C/60%ОВ в течение вплоть до 18 месяцев (анализ масс./масс.: Т0 = 99,1

% и T18 = 98,8 %) и при 40 °C / 75 %ОВ условиях в течение вплоть до 6 месяцев (анализ масс./масс.: T0 = 99,1% и T6 = 98,9 %). Результаты показали, что кристаллическая форма А* сескви-малеата соединения 1 все еще сохраняла чистоту 98,5 % после 24 месяцев изучения стабильности при 25 °C/75 % ОВ. Кроме того, наблюдалось отсутствие изменений кристаллической формы и оптической чистоты при хранении при 25 °C/60%ОВ в течение вплоть до 18 месяцев и при 40°C / 75 %ОВ в течение вплоть до 6 месяцев.

Исследования эффективности

Тест 1: ингибирование и селективность киназ сескви малеатом соединения 1 (тестировали кристаллическую форму А*)

Способы:

Ферментативное исследование Raf киназы:

Кристаллическую форму А* сескви-малеата соединения 1 тестировали относительно рекомбинантных BRAF (V600E) (PV3849), C-Raf (Y340D/Y341D) (PV3805) и Braf (PV3848) дикого типа от Life Technologies в исследовании киназной активности на основании гомогенной флуоресценции с временным разрешением (HTRF) (Cisbio Bioassays). Исследования проводили в реакционной смеси, содержащей киназы RAF, АТР при КМ-концентрации, GST-меченную MEK1 (K97R) и кристаллическую форму А* сескви малеата соединения 1 или ДМСО в буфере, содержащем 25 мМ Трис pH7,4, 10 мМ MgCl₂, 0,5 мМ EGTA, 0,5 мМ Na₃VO₄, 5 мМ бета-глицерофосфат, 0,01% Triton X-100, 2,5 мМ DTT и 0,1% БСА. Киназы инкубировали с кристаллической формой А* сескви малеата соединения 1 в течение 1 часа при комнатной температуре (КТ) и реакцию инициировали посредством добавления АТР и GST-MEK1 (полноразмерный белок с мутацией K97R, рекомбинантный белок, очищенный из бактериальной экспрессионной системы). После реакции при КТ в течение 1 часа, добавляли раствор для остановки/определения согласно инструкции производителя (Cisbio Bioassays). Раствор для остановки/определения содержал Eu³⁺ криптит-конъюгированные поликлональные кроличьи антитела к фосфо MEK1/2 (Ser217/221) и d2-конъюгированные мышинные моноклональные антитела к GST в буфере, содержащем 25 мМ Трис pH7,4, 400 мМ KF, 50 мМ ЭДТК, 0,1% БСА и 0,01% Triton X-100. TR-FRET сигналы (отношение испускания флуоресценции при 665 нм к испусканию при 620 нм с возбуждением при длине волны 337 нм) измеряли на планшетном ридере PHERAstar FS (BMG Labtech) после 1,5 ч инкубации. Фосфорилирование MEK1 приводило к связыванию антитела к фосфо-MEK1/2 с белком GST-MEK1, который помещает донор флуоресценции (Eu³⁺ криптит) в непосредственной близости с акцептором d2 на антителе к GST, таким образом приводя к

высокой степени резонансного переноса энергии флуоресценции от донорного флуорофора (при 620 нм) к акцепторному флуорофору (при 665 нм). IC₅₀ для кристаллической формы А* сескви-малеата соединения 1 получали в результате обработки данных дозозависимого ингибирования с четырехпараметрической логистической моделью при помощи программного обеспечения Graphpad Prism.

Киназные исследования для EGFR, EPHA2, PDGFR-бета, TXK, FLT3, VEGFR2, RET, BTK, ITK, TEC и SRC

Кристаллическую форму А* сескви-малеата соединения 1 тестировали в отношении рекомбинантной EGFR/EPHA2/BTK (от Cerna Biosciences), ITK/TEC/SRC/PDGFR-бета/TXK/FLT3/VEGFR2/RET (от Life Technologies), и HER2 (aa676-1255, рекомбинантный белок, очищенный из экспрессионной системы насекомого) в HTRF KinEASE-TK анализе от Cisbio Bioassays согласно инструкциям производителя. Исследование проводили в реакционной смеси, содержащей киназы, АТФ в КМ-концентрации, биотинилированный пептидный субстрат (61TK0BLC, Cisbio Bioassays) и кристаллическую форму А* сескви-малеата соединения 1. Киназу инкубировали с кристаллической формой А* сескви-малеата соединения 1 при комнатной температуре в течение 1 ч или 2 ч (для EGFR) и реакцию инициировали за счет добавления АТФ и субстрата. После реакции добавляли раствор для остановки/детекции согласно инструкции производителя. Раствор для остановки/детекции содержал Eu³⁺ криптант-конъюгированное антитело к фосфотирозину (61T66kLB, CisBio Bioassays) и Streptavidin-XL665 (610SAXLB, CisBio Bioassays) в буфере, содержащем 25 мМ Трис pH7,4, 400 мМ KF, 50 мМ ЭДТК, 0,01 % БСА, 0,01% Triton X-100. TR-FRET сигналы (соотношение испускания флуоресценции при 665 нм и испускания флуоресценции при 620 нм с возбуждением при длине волны 337 нм) регистрировали при помощи планшетного ридера PHERAstar FS (BMG Labtech) после 1 ч инкубации. Фосфорилирование биотинилированного пептидного субстрата приводило к связыванию как Eu³⁺ криптант-конъюгированного антитела к фосфотирозину, так и стрептавидин-XL665 к биотинилированному пептиду. Близкое расположение донора (Eu³⁺ криптант) и акцепторного (XL665) флуорофора приводило к высокой степени резонансного переноса энергии флуоресценции от донорного флуорофора (при 620 нм) к акцепторному флуорофору (при 665 нм). IC₅₀ для кристаллической формы А* сескви-малеата соединения 1 получали в результате обработки данных дозозависимого ингибирования к четырехпараметрической модели посредством программного обеспечения Graphpad Prism.

Результаты:

Сескви-малеат соединения 1 (кристаллическая форма А*) представляет собой потенциальный и обратимый ингибитор V600E мутантной BRAF, BRAF дикого типа и ферментов C-RAF. Кроме того, среди следующих киназ, которые должны быть протестированы на данной стадии, сескви-малеат соединения 1 действительно EGFR, EPHA2, PDGFR-бета, FLT3, VEGFR2 и RET, и имеет слабое ингибирование в отношении HER2, SRC и TXK и отсутствие ингибирования в отношении BTK, ITK и TEC. Многие из данных киназ, которые ингибирует сескви-малеат соединения 1 идентифицированы в качестве потенциальных мишеней для антираковой терапии и соответственно могут повышать потенциальную применимость сескви-малеата соединения 1 для широкого диапазона опухолей.

Таблица 18. Ферментативные ингибирующие активности кристаллической формы А* сескви-малеата соединения 1.

Фермент	IC50 (нМ)	Фермент	IC50 (нМ)
BRAF V600E (416-766)	26	TEC	более 10000
CRAF Y340,341D	3,5	HER2	2573
WT-BRAF	69	SRC	917
WT-EGFR	44	PDGFR-бета	17
EPHA2	61	BTK	более 10 000
ITK	более 10 000	TXK	4800
FLT3	25	RET	18
VEGFR2	22		

Тест 2: *In Vitro* ингибирование роста клеточной линии опухоли человека при помощи сескви-малеата соединения 1 (тестировали кристаллическую форму А*)

Способы:

Клеточные линии A375, Sk-Mel-28, HT29, Colo205, A431 и HCC827 закупили у American Type Culture Collection. Все клеточные линии, примененные в исследовании, культивировали в определенной среде, дополненной 10 % фетальной бычьей сывороткой (FBS, Thermo Scientific), 100 единицами/мл пенициллина (Gibco), 0,1 мг/мл стрептомицина (Gibco) и в увлажненной 37 °C среде с 5% CO₂. Клеточные линии восстанавливали из замороженных стоков, полученных в пределах трех пассажей из исходных клеток, закупленных и пересеянных не более 30 раз.

Клеточные фосфо-ERK и фосфо-EGFR измеряли при помощи TR-FRET-основанного метода. Клетки засеивали 3×10^4 на лунку 96-луночного планшета и оставляли прикрепляться в течение 16 часов. Ростовую среду затем замещали 100 мкл среды, не содержащей сыворотку. Затем клетки обрабатывали 10-кратными титрами соединения. После 1 ч обработки соединением 50 мкл лизисного буфера (Cisbio) добавляли в каждую лунку. Затем планшеты инкубировали при комнатной температуре с покачиванием в течение 30 мин. Всего 16 мкл клеточного лизата из каждой лунки 96-луночного планшета переносили в 384-луночный белый планшет небольшого объема. Лизат из каждой лунки инкубировали с 2 мкл Eu^{3+} - или Tb^{3+} - криптат (донор) меченных антител к ERK или EGFR (Cisbio) и 2 мкл D2 (акцептор) меченных антител к фосфо-ERK или фосфо-EGFR (Cisbio) в течение 2 ч при комнатной температуре. FRET сигналы измеряли при помощи ридера PHERAstar FS (BMG Labtech). IC_{50} значения для фосфорилирования ERK или EGFR определяли при помощи программного обеспечения GraphPad Prism.

Ингибирующую рост активность соединений в панели раковых клеток меланомы, рака толстой кишки, рака молочной железы и рака легкого определяли при помощи CellTiter-Glo люминесцентного анализа жизнеспособности клеток (Promega). Число клеток, засеваемых в лунку 96-луночного планшета оптимизировали для каждой клеточной линии для обеспечения логарифмического роста спустя 3 дневного периода обработки. Клетки оставляли прикрепляться в течение 16 ч и затем обрабатывали 10-кратными сериями разведений в дубликate. Следующие 3 дня воздействия на соединение добавляли объем реагента CellTiter-Glo равный объему среде для культивирования клеток, присутствующей в каждой лунке. Смесь помещали на орбитальный встряхиватель на 2 минуты для лизиса клеток, с последующими 10 минутами инкубации при комнатной температуре для развития и стабилизации люминесцентного сигнала. Люминесцентный сигнал измеряли при помощи ридера PHERAstar FS (BMG Labtech). Значения EC_{50} клеточной жизнеспособности определяли при помощи программного обеспечения GraphPad Prism.

Результаты:

Клеточные исследования подтвердили, что сескви-малеат соединения 1 ингибирует ряд прямых сигнальных медиаторов ниже RAFs. Например, сескви-малеат соединения 1 ингибировал фосфорилирование ERK с IC_{50} 32 и 77 нМ у BRAF V600E мутантной меланомы A375 и Sk-Mel-28 клеток. Он также ингибирует фосфорилирование ERK с IC_{50} 103 и 53 нМ у BRAF V600E мутантных HT29 и Colo205 колоректальных раковых клеток. Кроме того, сескви-малеат соединения 1 ингибирует фосфорилирование EGFR с IC_{50} 385 и 161 нМ у клеточной линии A431, сверхэкспрессирующей EGFR и EGFR мутантной

HCC827 клеточной линии рака легкого. Сескви-малеат соединения 1 оценивали по его антипролиферативной активности в панели раковых клеточных линий. Он проявил антипролиферативную активность в отношении ряда клеточных линий, несущих мутацию BRAF (таблица 19).

Таблица 19. Кристаллическая форма A* сескви-малата соединения 1 ингибировала BRAF V600E клеточную пролиферацию.

Клеточная линия	BRAF статус	Соединение 1 EC ₅₀ (среднее ± CO)	N
A375	V600E	137 ± 0,5	2
Sk-Mel-28	V600E	251 ± 54	2
HT-29	V600E	138 ± 13	2
Colo-205	V600E	147 ± 0,6	2

Тест 3: *In Vivo* фармакология кристаллической формы A* сескви малеата соединения 1

Способы трансплантации опухолей:

Клетки рака человека инокулировали подкожно в область правой подмышечной впадины безтимусных мышей BALB/C для образования опухолевого ксенографта. В день имплантации среду для культивирования клеток замещали свежей средой. Спустя три часа среду удаляли и клетки собирали и ресуспендировали в холодном (4 °C) PBS перед инокуляцией. Правую подмышечную область каждой мыши очищали 70% этанолом перед инокуляцией клеток. Каждому животному вводили подкожно желаемые клетки в 200 мкл клеточной суспензии в правую переднюю часть через иглу (размер 26). после имплантации объемы опухолей измеряли дважды в неделю в двух измерениях при помощи штангенциркуля. Объем опухоли вычисляли при помощи формулы: $V = 0,5 \times (a \times b^2)$, где a и b представляют собой длинный и короткий диаметры опухоли, соответственно.

Для исследований эффективности *in vivo* в случае, когда средний размер опухоли достигал 100-200 мм³, животных распределяли по желаемому числу групп по 6-10 мышей на группу при помощи стратифицированной рандомизации. Группы состояли из контрольной группы (без обработки лекарственным средством), и групп, обработанных различными дозами кристаллической формы A* сескви-малеата соединения 1 (варьирующими от 1-20 мг/кг). Все дозы основывали на массе свободного основания. Лекарственные средства вводили через желудочный зонд один (одно) или два (би) раза в сутки; частота дозирования зависела от индивидуального случая роста опухоли.

Лекарственные препараты вводили через желудочный зонд (п.о.) в объеме 10 мл/кг массы тела. Массу тела оценивали непосредственно перед дозированием и соответственно подвели объем дозы. Индивидуальные массы тела и объемы опухолей определяли дважды в неделю, мышей наблюдали ежедневно в отношении клинических признаков токсичности в течение исследования. Мышей подвергали эвтаназии при помощи углекислоты как только объем опухоли достигал не менее 2000 мм³, опухоль изъязвлялась или потеря массы тела превышала 20 %. Все группы данных анализировали при помощи t-теста. Если значение p составляло менее 0,05, их считали статистически значимыми.

Ингибирование роста опухоли (ИРО) вычисляли по следующей формуле:

$$\% \text{ ингибирования} = 100 \times \left(1 - \left(\frac{t(\text{обработанные } t) - t(\text{обработанные } t_0)}{t(\text{плацебо } t) - t(\text{плацебо } t_0)} \right) \right)$$

обработанные t = объем обработанной опухоли во время t

обработанные t₀ = объем обработанной опухоли во время 0

плацебо t = объем опухоли, обработанной плацебо во время t

плацебо t₀ = объем опухоли, обработанной плацебо во время 0

Для исследования фармакодинамики в случае, когда опухоль достигала среднего размера 140-900 мм³, животных распределяли по желаемому числу групп по 4 мыши в группу при помощи стратифицированной рандомизации. Группы состояли из контрольной группы (без обработки лекарственным средством), и групп, обработанных различными дозами кристаллической формы А* сескви-малеата соединения 1 (варьирующими в пределах 1-20 мг/кг). Все дозы основывали на массе свободного основания. Лекарственные средства вводили через желудочный зонд один (одно) или два (два) раза в сутки. Все лекарственные препараты вводили через желудочный зонд (п.о.) в объеме 10 мл/кг массы тела. Массу тела оценивали непосредственно перед дозированием и соответственно подвели объем дозы. Мышей подвергали эвтаназии при помощи углекислоты в желаемые временные точки после дозирования. Опухолевые ткани иссекали непосредственно после эвтаназии и быстро замораживали в пробирках предварительно наполненных МР-шариками (шариками из металлических частиц) при помощи жидкого азота и хранили при -80 °С перед p-ERK анализом. Пятьсот микролитров полного лизисного буфера добавляли к замороженным опухолям с МР-шариками. Гомогенизацию опухолевых тканей проводили в МР-гомогенизаторе и затем лизаты быстро осаждали при 13 000 об/мин в течение 10 мин при 4 °С для удаления нерастворимого материала. Два микрограмма белковых лизатов применяли для измерения

уровня фосфорилирования ERK1/2 при помощи AlphaScreen® SureFire® p-ERK1/2 анализа (PerkinElmer).

Результаты:

Сескви-малеат соединения 1 (кристаллическая форма A*) обладает сильной киназной ингибиторной активностью в отношении BRAF V600E, антипролиферативной активностью в клеточных исследованиях и противоопухолевой активностью в ксенографтных моделях. Сескви-малеат соединения 1 (кристаллическая форма A*) проявил противоопухолевую активность в отношении ксенографтов меланомы человека A375 (BRAF V600E мутация), меланомы LOX (BRAF V600E мутация), колоректальной карциномы Colo205 (BRAF V600E мутация), колоректальной карциномы HT29 (мутация BRAF V600E), колоректальной карциномы WiDr (мутация BRAF V600E), карциномы легкого HCC827 (мутация EGFR), и эпидермоидной карциномы A431 (повышенная экспрессия EGFR) у безтимусных мышей. Кроме того, сескви-малеат соединения 1 (кристаллическая форма A*) проявил существенную противоопухолевую активность в отношении человеческой аденокарциномы легкого Calu-6 (мутация K-RAS) в случае сочетания с доцетакселом или ингибитором MEK, селуметинибом (AZD6244).

Пероральное введение кристаллической формы A* сескви малеата соединения 1 к время-зависимому и дозозависимому ингибированию фосфорилирования ERK1/2 в ксенографтах A375 у мышей. Ингибирование уровней p-ERK в опухолевых тканях хорошо коррелирует с концентрациями лекарственного средства (соединение 1) в плазме и опухолевых тканях. Кроме того, сескви малеат соединения 1 (кристаллическая форма A*) и ингибитор MEK AZD6244 продемонстрировали сильный синергетический эффект при ингибировании p-ERK у ксенографтных моделей Calu-6 K-RAS мутантной немелкоклеточной аденокарциномы легкого.

Тест 5: токсикология сескви малеата соединения 1 (кристаллической формы A*)

Обширное неклиническое исследование токсикологии, включающее 28-дневные GLP исследования на крысах и собак и некоторые экспериментальные исследования проводили для оценки преclinical безопасности сескви-малеата соединения 1 (кристаллическая форма A*). Данные исследования учитывали доступные регуляторные руководства для преclinical разработки противораковых лекарственных средств. В данных исследованиях сескви-малеат соединения 1 продемонстрировал благоприятную токсикологию и профиль фармакологической безопасности. Результаты тестов по фармакологической безопасности показали, что сескви-малеат соединения 1 (кристаллическая форма A*) не оказывал эффекта на дыхание, кровяное давление и

функцию кровообращения и не влиял на активность вегетативной нервной системы или центральной нервной системы. Результаты дополнительного тестирования токсичности показали отсутствие тератогенной, мутагенной или репродуктивной токсичности.

Тест 6: фармакокинетическая характеристика кристаллической формы А* сескви малеата соединения 1

Полностью валидированный способ LC-MS/MS был применен для фармакокинетических (ФК) исследований кристаллической формы А* сескви-малеата соединения 1 у крыс линии Спраг Доули и собак породы Бигль при одно- и многодозовых введениях.

Кристаллическая форма А* сескви-малеата соединения 1 обладает высокой оральной биодоступностью как у крыс (51 % - 102 %), так и у собак (41 % - 82 %). Ее период полужизни варьировал от 4,4 до 9,4 часов у крыс или 3,3 - 4,9 часов у собак после перорального введения.

Кинетические закономерности были линейными при диапазоне дозы 0,5 - 15 мг/кг у крыс и 1,5 - 15 мг/кг у собак. После множественного дозирования наблюдалась небольшая аккумуляция у крыс (~2-кратное). Данное небольшое аккумулярование было статистически значимым у самок крыс, но не у самцов. После множественного дозирования у собак аккумулярования не наблюдалось.

Тест 7: ADME кристаллической формы А* сескви малеата соединения 1

Соединение 1 было широко распределено в различных тканях, но в меньшей степени в ткани мозга, свидетельствуя о том, что лекарственное средство нелегко пересекает гематоэнцефалический барьер. Не было обнаружено существенного индукционного эффекта на ферменты Р450 в печени крыс, для сескви-малеата соединения 1 отсутствовала ингибиторная активность в отношении ферментов метаболизма лекарственного средства, за исключением слабого ингибирования CYP2C8 (IC₅₀ = 1,03 мМ) и CYP2C19 (IC₅₀ = 1,96 мМ). CYP3A представлял собой главную изоформу CYP ответственную за метаболизм соединения 1 в то время как CYP1A2, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, и CYP2D6 соответствовал метаболизму соединения 1 в меньшей степени.

Тест 8: фармакокинетическое сравнение кристаллической формы А* сескви-малеата и свободного основания соединения 1

Лекарственное средство и реагенты: кристаллическая форма А* сескви-малеата соединения 1 с размерами частиц D₉₀=4,1 мкм, D₁₀=1,5 мкм, D₅₀=2,4 мкм после микронизации. Содержание материала (чистота) составляла не менее 98,0 %.

Экспериментальные животные: собаки породы Бигль, самцы и самки.

Фармацевтический препарат: Взвешивали соответствующее количество каждого

вещества и диспергировали в 0,5% карбоксиметилцеллюлозы натрия (для свободного основания соединения 1) или 0,5% растворе метилцеллюлозы (для сескви-малеата соединения 1). Готовили суспензию с желаемой концентрацией соединения 1. Все дозы и концентрации соединения 1 вычисляли при помощи свободного основания в данном исследовании.

Введение и сбор образцов: Растворы доз готовили непосредственно перед введением. Соответственно регистрировали актуальные массы тела и актуальный инъецируемый объем. Собаки не ели в течение ночи, и им позволяли есть спустя четыре часа после введения дозы. Каждую суспензию вводили перорально собакам в дозе, варьирующей от 0,5 до 15 мг/кг. Образцы крови (~1,0 мл) собирали из сплетения головной вены до введения дозы и в различные временные точки вплоть до 36 часов после введения дозы. Цельную кровь центрифугировали и образцы плазмы собирали и хранили в морозильнике перед анализом. Образцы плазмы обрабатывали для осаждения белков. Концентрации соединения 1 в образцах плазмы определяли при помощи способа валидированной жидкостной хроматографии-тандемной масс-спектрометрии (LC-MS/MS). Данные концентрация в плазме-время анализировали при помощи некомпартментной модели с применением Pharsight WinNonlin.

Таблица 20. $C_{\max}$ и область под кривой концентрация-время для свободного основания и солей соединения 1.

Соединение 1	Пероральная доза (мг/кг)	$C_{\max}$ (нг/мл)	Нормализованная по дозе $AUC_{0-\infty}$ (нг·ч·кг·мл ⁻¹ ·мг ⁻¹)
Свободное основание (лиофилизированная аморфная форма)	1	257	1512
HCl соль соединения 1	1	470	3640
Сескви малеат (микрометризованная кристаллическая форма A*)	0,5	342	4178
	1	607	2960
	1,5	861	3726
	4,5	2884	4390
	15	5307	2841

Вышеуказанный эксперимент показал, что $C_{\max}$ (нг/мл) и $AUC_{0-\infty}$ (нг·ч/мл) кристаллической формы A* сескви-малеата соединения 1 были вплоть до приблизительно

2-3 раза выше, чем для формы свободного основания. Таким образом, кристаллическая форма А* сескви-малеата соединения 1 существенно превосходила по относительной биодоступности свободное основание соединения 1 (аморфная форма).

Тест 9: клинические испытания

С применением кристаллической формы А* сескви-малеата соединения 1 для приготовления капсул, была проведена первая фаза исследования по клинической безопасности на 25 субъектах, которым вводили однократные дозы 5, 10, 20, 30, 40 и 50 мг. Результаты показали, что однократные дозы 5-50 мг были безопасны и хорошо переносились. Обработка соединением 1 вызывала частичные ответы у пациентов с меланомой BRAF V600E, частичные ответы у пациентов BRAF V600E PTC и некоторые противоопухолевые активности у пациентов с BRAF V600E CRC. 16 пациентов с раком KRAS были также включены в исследование и получали препарат, 3 с частичным выздоровлением и по меньшей мере 12 пациентов были живы в течение более чем 2,2 месяцев (среднее время от момента начала исследования до прогрессирования заболевания/летального исхода, сообщенное для пациентов с раком KRAS без лечения, см. *Oncotarget*, 5, 19, 2014). Данные предварительные результаты продемонстрировали, что сескви-малеат соединения 1 (кристаллическая форма А*) был эффективен при лечении Braf- и K-ras мутантных видов рака.

Вышеизложенные примеры и описание конкретных воплощений должны рассматриваться лишь как иллюстративные, а не как ограничивающие настоящее изобретение, определенное формулой изобретения. Как можно легко оценить, может быть применено большое число вариаций и комбинаций вышеописанных свойств без отклонения от настоящего изобретения, определенного формулой изобретения. Все такие вариации предназначены быть включенными в объем настоящего изобретения. Все процитированные ссылки включены в данный документ посредством ссылки во всей их полноте.

Следует понимать, что если любая публикация предшествующего уровня техники процитирована в данном документе, то такая ссылка не означает, что публикация формирует часть обычного общего знания области техники в любой стране.

В последующей формуле изобретения и предшествующем описании изобретения, за исключением случаев, где в контексте явно не указано или очевидно не подразумевается иное, слово "содержит" или его вариации, такие как "содержат" или "содержащий" применяют в широком смысле, т.е. для конкретизации присутствия установленных свойств, но не исключения присутствия или добавления дополнительных свойств в различных воплощениях изобретения.

Раскрытия всех публикаций, патентов, заявок на патент и опубликованный заявок на патент, указанные в данном документе посредством цитирования таким образом включены в данный документ во всей их полноте.

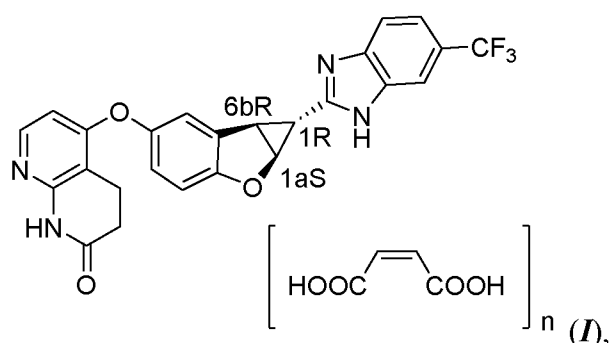
ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соль 5-(((1R,1aS,6bR)-1-(6-(трифторметил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)-1a,6b-дигидро-1H-циклопропа[b]бензофуран-5-ил)окси)-3,4-дигидро-1,8-нафтиридин-2(1H)-она, выбранная из гидрохлорида, метансульфоната, 2-гидроксиэтансульфоната, малеата и оксалата.

2. Соль по п. 1, представляющая собой твердое вещество.

3. Соль по п. 2, представленная в кристаллической форме.

4. Соединение формулы (I), представляющее собой малеатную соль 5-(((1R,1aS,6bR)-1-(6-(трифторметил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)-1a,6b-дигидро-1H-циклопропа[b]бензофуран-5-ил)окси)-3,4-дигидро-1,8-нафтиридин-2(1H)-она:



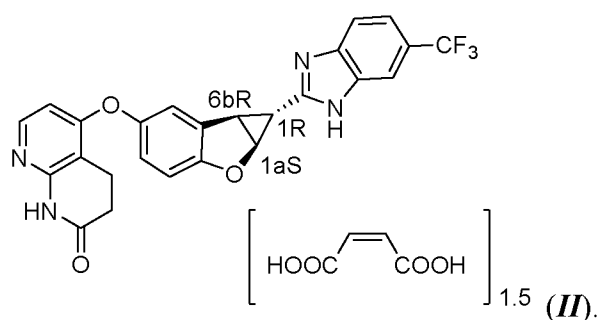
где n представляет собой число от приблизительно 0,3 до приблизительно 1,5.

5. Соединение по п. 4, где n представляет собой число, выбранное из группы, состоящей из $0,5 \pm 0,05$, $1,0 \pm 0,1$ и $1,5 \pm 0,2$.

6. Соединение по п. 4, где n представляет собой 0,5, 1,0 или 1,5.

7. Соединение по любому из пп. 4-6, где соединение представлено в кристаллической форме.

8. Соединение по п. 7, где n представляет собой 1,5, и соединение представляет собой кристаллическую сескви-малеатную соль 5-(((1R,1aS,6bR)-1-(6-(трифторметил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)-1a,6b-дигидро-1H-циклопропа[b]бензофуран-5-ил)окси)-3,4-дигидро-1,8-нафтиридин-2(1H)-она формулы:



9. Соединение по п. 8, представленное в кристаллической форме A* и характеризующееся порошковой рентгеновской дифрактограммой, содержащей семь или

более дифракционных пиков, имеющих значения углов 2θ , независимо выбранные из группы, состоящей из: $6,3\pm 0,2$, $8,9\pm 0,2$, $9,4\pm 0,2$, $11,2\pm 0,2$, $12,6\pm 0,2$, $13,4\pm 0,2$, $17,9\pm 0,2$, $18,6\pm 0,2$, $18,8\pm 0,2$, $19,3\pm 0,2$, $20,1\pm 0,2$, $20,7\pm 0,2$, $21,2\pm 0,2$, $21,8\pm 0,2$, $22,4\pm 0,2$, $22,6\pm 0,2$, $23,3\pm 0,2$, $23,8\pm 0,2$, $24,7\pm 0,2$, $25,6\pm 0,2$, $26,1\pm 0,2$, $27,4\pm 0,2$, $28,3\pm 0,2$, $28,6\pm 0,2$, $29,0\pm 0,2$, $29,4\pm 0,2$ и $30,4\pm 0,2$ градусов.

10. Соединение по п. 8, представленное в кристаллической форме A** и представляющее собой монокристалл, по существу проиллюстрированный на Фиг. 13, Фиг. 14 и Фиг. 15.

11. Соединение по п. 8, представленное в кристаллической форме A и характеризующееся рентгеновской порошковой дифрактограммой, содержащей три или более дифракционных пика, имеющих значения углов 2θ , независимо выбранные из группы, состоящей из: $8,3\pm 0,2$, $11,2\pm 0,2$, $17,9\pm 0,2$, $18,4\pm 0,2$, $18,6\pm 0,2$, $19,3\pm 0,2$, $20,8\pm 0,2$ и $22,5\pm 0,2$ градусов.

12. Соединение по п. 4, представленное в кристаллической форме B и характеризующееся порошковой рентгеновской дифрактограммой, содержащей три или более дифракционных пика, имеющих значения углов 2θ , независимо выбранные из группы, состоящей из: $11,1\pm 0,2$, $15,8\pm 0,2$, $17,7\pm 0,2$, $18,4\pm 0,2$, $19,6\pm 0,2$, $22,3\pm 0,2$, $23,1\pm 0,2$ и $28,8\pm 0,2$ градусов.

13. Соединение по п. 4, представленное в кристаллической форме C и характеризующееся порошковой рентгеновской дифрактограммой, содержащей три или более дифракционных пика, имеющих значения углов 2θ , независимо выбранные из группы, состоящей из: $3,1\pm 0,2$, $8,8\pm 0,2$, $11,2\pm 0,2$, $17,8\pm 0,2$, $18,5\pm 0,2$, $19,3\pm 0,2$, $20,1\pm 0,2$, $20,7\pm 0,2$, $21,9\pm 0,2$ и $22,4\pm 0,2$ градусов.

14. Соединение по п. 4, представленное в кристаллической форме D и характеризующееся порошковой рентгеновской дифрактограммой, содержащей три или более дифракционных пика, имеющих значения углов 2θ , независимо выбранные из группы, состоящей из: $8,9\pm 0,2$, $14,9\pm 0,2$, $16,7\pm 0,2$, $17,8\pm 0,2$, $19,9\pm 0,2$, $20,4\pm 0,2$, $20,9\pm 0,2$ и $26,9\pm 0,2$ градусов.

15. Соединение по п. 4, представленное в кристаллической форме F и характеризующееся порошковой рентгеновской дифрактограммой, содержащей три или более дифракционных пика, имеющих значения углов 2θ , независимо выбранные из группы, состоящей из: $12,9\pm 0,2$, $17,0\pm 0,2$, $18,5\pm 0,2$, $19,4\pm 0,2$, $20,5\pm 0,2$, $22,5\pm 0,2$ и $24,1\pm 0,2$ градусов.

16. Соединение по п. 4, представленное в кристаллической форме G и характеризующееся порошковой рентгеновской дифрактограммой, содержащей семь или

более дифракционных пиков, имеющих значения углов 2θ , независимо выбранные из группы, состоящей из: $3,4\pm 0,2$, $5,6\pm 0,2$, $7,0\pm 0,2$, $10,3\pm 0,2$, $10,9\pm 0,2$, $11,7\pm 0,2$, $12,4\pm 0,2$, $13,1\pm 0,2$, $14,0\pm 0,2$, $14,9\pm 0,2$, $16,4\pm 0,2$, $17,4\pm 0,2$, $18,6\pm 0,2$, $19,3\pm 0,2$, $20,1\pm 0,2$, $21,0\pm 0,2$, $21,9\pm 0,2$, $23,6\pm 0,2$, $24,2\pm 0,2$, $25,6\pm 0,2$ и $26,4\pm 0,2$ градусов.

17. Соединение по п. 4, представленное в кристаллической форме Н и характеризующееся порошковой рентгеновской дифрактограммой, содержащей семь или более дифракционных пиков, имеющих значения углов 2θ , независимо выбранные из группы, состоящей из: $6,3\pm 0,2$, $9,0\pm 0,2$, $10,1\pm 0,2$, $11,2\pm 0,2$, $12,7\pm 0,2$, $14,5\pm 0,2$, $16,1\pm 0,2$, $16,6\pm 0,2$, $17,9\pm 0,2$, $18,1\pm 0,2$, $18,5\pm 0,2$, $19,0\pm 0,2$, $20,1\pm 0,2$, $21,9\pm 0,2$, $22,4\pm 0,2$, $23,9\pm 0,2$, $25,1\pm 0,2$, $26,2\pm 0,2$ и $28,7\pm 0,2$ градусов.

18. Соединение по п. 4, представленное в кристаллической форме I и характеризующееся порошковой рентгеновской дифрактограммой, содержащей пять или более дифракционных пиков, имеющих значения углов 2θ , независимо выбранные из группы, состоящей из: $3,1\pm 0,2$, $5,5\pm 0,2$, $6,8\pm 0,2$, $10,8\pm 0,2$, $11,5\pm 0,2$, $13,7\pm 0,2$, $16,1\pm 0,2$, $16,3\pm 0,2$, $17,8\pm 0,2$, $19,8\pm 0,2$, $21,5\pm 0,2$, $23,8\pm 0,2$, $24,4\pm 0,2$ и $28,3\pm 0,2$ градусов.

19. Соединение по п. 4, представленное в кристаллической форме J и характеризующееся порошковой рентгеновской дифрактограммой, содержащей семь или более дифракционных пиков, имеющих значения углов 2θ , независимо выбранные из группы, состоящей из: $5,5\pm 0,2$, $8,2\pm 0,2$, $10,9\pm 0,2$, $11,3\pm 0,2$, $13,6\pm 0,2$, $14,8\pm 0,2$, $15,8\pm 0,2$, $17,4\pm 0,2$, $18,0\pm 0,2$, $19,1\pm 0,2$, $19,8\pm 0,2$, $20,0\pm 0,2$, $20,4\pm 0,2$, $21,1\pm 0,2$, $21,9\pm 0,2$, $22,6\pm 0,2$, $23,4\pm 0,2$, $24,1\pm 0,2$, $25,0\pm 0,2$, $26,1\pm 0,2$, $26,9\pm 0,2$, $27,3\pm 0,2$, $28,4\pm 0,2$, $29,1\pm 0,2$, $33,1\pm 0,2$ и $35,9\pm 0,2$ градусов.

20. Соединение по п. 4, представленное в кристаллической форме K и характеризующееся порошковой рентгеновской дифрактограммой, содержащей семь или более дифракционных пиков, имеющих значения углов 2θ , независимо выбранные из группы, состоящей из: $3,1\pm 0,2$, $8,9\pm 0,2$, $9,3\pm 0,2$, $11,2\pm 0,2$, $16,7\pm 0,2$, $17,9\pm 0,2$, $18,6\pm 0,2$, $18,8\pm 0,2$, $19,4\pm 0,2$, $20,2\pm 0,2$, $21,9\pm 0,2$, $22,4\pm 0,2$, $23,4\pm 0,2$, $23,9\pm 0,2$, $24,6\pm 0,2$, $26,2\pm 0,2$, $27,4\pm 0,2$, $28,5\pm 0,2$, $29,4\pm 0,2$ и $30,4\pm 0,2$ градусов.

21. Соединение по п. 4, представленное в кристаллической форме L и характеризующееся порошковой рентгеновской дифрактограммой, содержащей дифракционные пики, имеющие следующие значения углов 2θ : $9,7\pm 0,2$ и $14,1\pm 0,2$ градусов.

22. Соединение по п. 4, представленное в кристаллической форме M и характеризующееся порошковой рентгеновской дифрактограммой, содержащей семь или более дифракционных пиков, имеющих значения углов 2θ , независимо выбранные из

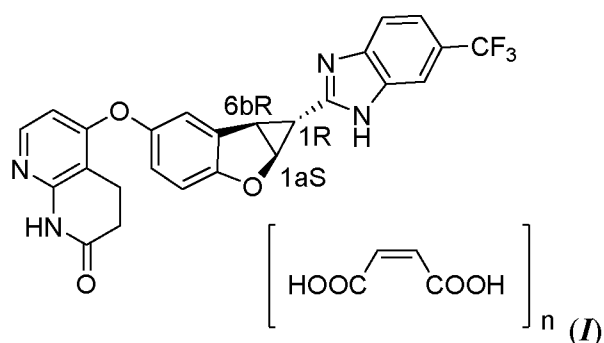
группы, состоящей из: $5,0 \pm 0,2$, $9,3 \pm 0,2$, $11,3 \pm 0,2$, $14,9 \pm 0,2$, $15,9 \pm 0,2$, $17,4 \pm 0,2$, $18,0 \pm 0,2$, $18,7 \pm 0,2$, $19,4 \pm 0,2$, $20,2 \pm 0,2$, $22,1 \pm 0,2$, $23,4 \pm 0,2$, $24,3 \pm 0,2$, $25,4 \pm 0,2$, $26,5 \pm 0,2$, $27,5 \pm 0,2$, $28,5 \pm 0,2$ и $29,3 \pm 0,2$ градусов.

23. Соединение по п. 4, по существу характеризующееся порошковой рентгеновской дифрактограммой, выбранной из группы, состоящей из: Фиг. 2, Фиг. 16, Фиг. 17, Фиг. 18, Фиг. 19, Фиг. 20, Фиг. 21, Фиг. 22, Фиг. 23, Фиг. 24, Фиг. 25, Фиг. 26, Фиг. 27, Фиг. 28 и Фиг. 33.

24. Соединение малеат 5-(((1R,1aS,6bR)-1-(6-(трифторметил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)-1a,6b-дигидро-1H-циклопропа[b]бензофуран-5-ил)окси)-3,4-дигидро-1,8-нафтиридин-2(1H)-она (1:1), представленное в кристаллической форме N и характеризующееся порошковой рентгеновской дифрактограммой, содержащей семь или более дифракционных пиков, имеющих значения углов 2θ , независимо выбранные из группы, состоящей из: $3,30 \pm 0,2$, $6,61 \pm 0,2$, $9,88 \pm 0,2$, $11,73 \pm 0,2$, $13,14 \pm 0,2$, $15,23 \pm 0,2$, $16,56 \pm 0,2$, $17,94 \pm 0,2$, $18,72 \pm 0,2$, $19,34 \pm 0,2$, $19,93 \pm 0,2$, $20,76 \pm 0,2$, $22,04 \pm 0,2$, $22,95 \pm 0,2$, $23,86 \pm 0,2$, $25,19 \pm 0,2$, $26,61 \pm 0,2$, $28,36 \pm 0,2$, $30,13 \pm 0,2$, $31,36 \pm 0,2$, $33,49 \pm 0,2$ и $37,22 \pm 0,2$.

25. Соединение по п. 24, по существу характеризующееся порошковой рентгеновской дифрактограммой, как показано на Фиг. 33.

26. Способ получения кристаллической формы малеатной соли 5-(((1R,1aS,6bR)-1-(6-(трифторметил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)-1a,6b-дигидро-1H-циклопропа[b]бензофуран-5-ил)окси)-3,4-дигидро-1,8-нафтиридин-2(1H)-она формулы (I), включающий любой из следующих процессов:



(а) растворение свободного основания или соли, отличной от малеата 5-(((1R,1aS,6bR)-1-(6-(трифторметил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)-1a,6b-дигидро-1H-циклопропа[b]бензофуран-5-ил)окси)-3,4-дигидро-1,8-нафтиридин-2(1H)-она, в растворителе или смеси растворителей с образованием раствора или суспензии; смешивание полученного раствора или суспензии с малеиновой кислотой с образованием смеси; и осаждение малеатной соли 5-(((1R,1aS,6bR)-1-(6-(трифторметил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)-1a,6b-дигидро-1H-циклопропа[b]бензофуран-5-ил)окси)-3,4-дигидро-1,8-нафтиридин-2(1H)-она в целевой кристаллической форме;

(b) растворение или суспендирование сескви-малеатной соли 5-(((1R,1aS,6bR)-1-(6-(трифторметил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)-1a,6b-дигидро-1H-циклопропа[b]бензофуран-5-ил)окси)-3,4-дигидро-1,8-нафтиридин-2(1H)-она в растворителе или смеси растворителей; и осаждение малеатной соли 5-(((1R,1aS,6bR)-1-(6-(трифторметил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)-1a,6b-дигидро-1H-циклопропа[b]бензофуран-5-ил)окси)-3,4-дигидро-1,8-нафтиридин-2(1H)-она в целевой кристаллической форме;

(c) хранение кристаллической малеатной соли 5-(((1R,1aS,6bR)-1-(6-(трифторметил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)-1a,6b-дигидро-1H-циклопропа[b]бензофуран-5-ил)окси)-3,4-дигидро-1,8-нафтиридин-2(1H)-она в течение продолжительного периода для получения целевой кристаллической формы;

(d) нагревание кристаллической или аморфной малеатной соли 5-(((1R,1aS,6bR)-1-(6-(трифторметил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)-1a,6b-дигидро-1H-циклопропа[b]бензофуран-5-ил)окси)-3,4-дигидро-1,8-нафтиридин-2(1H)-она до повышенной температуры и охлаждение соли для получения целевой кристаллической формы; и

(e) подвергание кристаллической или аморфной малеатной соли 5-(((1R,1aS,6bR)-1-(6-(трифторметил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)-1a,6b-дигидро-1H-циклопропа[b]бензофуран-5-ил)окси)-3,4-дигидро-1,8-нафтиридин-2(1H)-она воздействию пара растворителя для получения целевой кристаллической формы.

27. Способ по п. 26, где указанный процесс (a) или (b) дополнительно включает один или более процесс, независимо выбранный из нагревания, фильтрования для удаления нерастворенных примесей, дистилляции растворителя, добавления противорастворителя или смеси растворителей, добавления затравочных кристаллов, добавления агента(-ов), инициирующих осаждение, охлаждения, осаждения и фильтрования для сбора кристаллического продукта.

28. Способ по п. 26 или п. 27, включающий указанный процесс (a) или (b), где растворитель или смесь растворителей выбраны из группы, состоящей из воды, низших алкильных спиртов, кетонов, эфиров, сложных эфиров, низших алифатических карбоновых кислот, низших алифатических нитрилов, необязательно галогенированных ароматических растворителей и их комбинаций

29. Способ по п. 26 или п. 27, где растворитель представляет собой изопропанол, этанол, метанол, ацетон, ТГФ (тетрагидрофуран), 1,4-диоксан, уксусную кислоту, ацетонитрил, воду или их комбинацию.

30. Способ по п. 26, включающий указанный процесс (a), где указанное свободное основание представляет собой выделенное и очищенное свободное основание,

выделенное, но неочищенное свободное основание или неочищенный продукт реакции, содержащий свободное основание.

31. Способ по п. 26, включающий указанный процесс (с), где указанный продолжительный период составляет по меньшей мере три дня, по меньшей мере одну неделю или по меньшей мере две недели.

32. Способ по п. 26, включающий указанный процесс (d), где указанная повышенная температура составляет по меньшей мере 40 °C, по меньшей мере 60 °C, по меньшей мере 80 °C или по меньшей мере 100 °C, но менее чем температура разложения сескви-малеатной соли.

33. Способ по п. 26, включающий указанный процесс (е), где указанный пар представляет собой пар уксусной кислоты.

34. Способ по п. 26, где:

1) указанный процесс (a) или (b) включает применение изопропанола и воды (об/об более 60/40) в качестве растворителя для получения кристаллической формы A*;

2) указанный процесс (a) или (b) включает применение ацетона в качестве растворителя для получения кристаллической формы A**;

3) указанный процесс (a) или (b) включает применение смеси IPA (2-пропанол) и воды (об/об равно 4:1) в качестве растворителя для получения кристаллической формы A;

4) указанный процесс (a) или (b) включает применение 1,4-диоксана в качестве растворителя для получения кристаллической формы B;

5) указанный процесс (a) или (b) включает применение этанола в качестве растворителя для получения кристаллической формы C;

6) указанный процесс (a) или (b) включает применение метанола в качестве растворителя для получения кристаллической формы D;

7) указанный процесс (a) или (b) включает применение смеси ацетонитрила и воды (об/об равно 1:1) в качестве растворителя для получения кристаллической формы F;

8) указанный процесс (a) или (b) включает применение смеси уксусной кислоты и воды в качестве растворителя для получения кристаллической формы G;

9) указанный процесс (a) или (b) включает применение тетрагидрофурана (ТГФ) в качестве растворителя для получения кристаллической формы H;

10) указанный процесс (a) или (b) включает применение смеси IPA и воды (об/об равно 3:1) в качестве растворителя для получения кристаллической формы I;

11) указанный процесс (с) включает хранение кристаллической формы D при комнатной температуре в течение двух недель для получения кристаллической формы K;

12) указанный процесс (с) включает хранение кристаллической формы J при комнатной температуре в течение двух недель для получения кристаллической формы M; и

13) указанный процесс (d) включает нагревание кристаллической формы G до 140 °C и затем охлаждение до комнатной температуры для получения кристаллической формы L; и

14) указанный процесс (е) включает взаимодействие кристаллической формы A с паром уксусной кислоты для получения кристаллической формы J.

35. Фармацевтическая композиция, содержащая терапевтически эффективное количество соединения по любому из пп. 4-25 и фармацевтически приемлемый носитель.

36. Фармацевтическая композиция по п. 35, где фармацевтическая композиция пригодна для перорального введения.

37. Фармацевтическая композиция по п. 35, где фармацевтическая композиция представлена в форме таблетки или капсулы.

38. Фармацевтическая композиция по п. 35, где единичная лекарственная форма, представляющая собой таблетку или капсулу, составляет 5-80 мг.

39. Фармацевтическая композиция по п. 35, где массовая доля соединения в фармацевтической композиции составляет 1-99 %.

40. Способ лечения или предупреждения заболевания или расстройства у субъекта, включающий введение указанному субъекту терапевтически эффективного количества соединения по любому из пп. 4-25 или фармацевтической композиции по любому из пп. 35-39.

41. Способ по п. 40, где заболевание или расстройство представляет собой рак.

42. Способ по п. 41, где заболевание или расстройство представляет собой рак, выбранный из группы, состоящей из рака мозга, рака легкого, рака почки, рака кости, рака печени, рака мочевого пузыря, рака молочной железы, рака головы и шеи, рака яичника, меланомы, рака кожи, рака надпочечника, рак шейки матки, колоректального рака, лимфомы или опухолей щитовидной железы и их осложнений.

43. Способ по п. 40, где заболевание выбрано из группы, состоящей из рака мозга при мутациях BRAF, NRAS и KRAS, рака легкого, рака почки, рака кости, рака печени, рака мочевого пузыря, рака молочной железы, рака головы и шеи, рака яичника, меланомы, рака кожи, рака надпочечника, рака шейки матки, колоректального рака, лимфомы или опухолей щитовидной железы и их осложнений.

44. Способ по п. 43, где введенная доза соединения по любому из пп. 4-25, составляет 1-100 мг/сутки, и частота введения составляет один-три раза в сутки.

45. Способ по п. 43, где введенная доза соединения по любому из пп. 4-25 составляет 5-50 мг/сутки, и частота введения составляет один-три раза в сутки.

46. Способ по п. 43, где введенная доза соединения по любому из пп. 4-25 составляет 10-40 мг/сутки, и частота введения составляет один раз в сутки.

47. Способ по любому из пп. 40-45, где указанное соединение представляет собой малеат 5-(((1R,1aS,6bR)-1-(6-(трифторметил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)-1a,6b-дигидро-1H-циклопропа[b]бензофуран-5-ил)окси)-3,4-дигидро-1,8-нафтиридин-2(1H)-она в кристаллической форме, выбранной из группы, состоящей из кристаллических форм A*, A**, A, B, C, D, F, G, H, I, J, K, L, M и N.

48. Способ получения кристаллического сескви-малеата 5-(((1R,1aS,6bR)-1-(6-(трифторметил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)-1a,6b-дигидро-1H-циклопропа[b]бензофуран-5-ил)окси)-3,4-дигидро-1,8-нафтиридин-2(1H)-она, включающий:

а) смешивание при приблизительно 50 °C смеси 5-(((1R,1aS,6bR)-1-(6-(трифторметил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)-1a,6b-дигидро-1H-циклопропа[b]бензофуран-5-ил)окси)-3,4-дигидро-1,8-нафтиридин-2(1H)-она и малеиновой кислоты в смешанном растворителе i-PrOH и H₂O, или

б) смешивание при приблизительно 50 °C 5-(((1R,1aS,6bR)-1-(6-(трифторметил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)-1a,6b-дигидро-1H-циклопропа[b]бензофуран-5-ил)окси)-3,4-дигидро-1,8-нафтиридин-2(1H)-она со смесью, или суспензией, или раствором малеиновой кислоты в смешанном растворителе i-PrOH и H₂O, или

с) смешивание при приблизительно 50 °C смеси, или суспензии, или раствора 5-(((1R,1aS,6bR)-1-(6-(трифторметил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)-1a,6b-дигидро-1H-циклопропа[b]бензофуран-5-ил)окси)-3,4-дигидро-1,8-нафтиридин-2(1H)-она в смешанном растворителе i-PrOH и H₂O с малеиновой кислотой,

где в каждом (а), (б) и (с) количество i-PrOH составляет более 40 об.% от общего объема i-PrOH и воды.

49. Способ по п. 48, где в каждом из (а), (б) и (с) количество i-PrOH составляет более 60 об.%, и предпочтительно 90 об.% от общего объема i-PrOH и воды.

50. Способ по п. 48, где смешанный растворитель замещают i-PrOH.

51. Способ по любому из пп. 48-50, дополнительно включающий добавление некоторого количества затравочных кристаллов в полученную смесь после охлаждения до комнатной температуры и затем выдерживание смеси в течение определенного периода времени.

52. Способ получения кристаллической формы малеата 5-(((1R,1aS,6bR)-1-(6-(трифторметил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)-1a,6b-дигидро-1H-циклопропа[b]бензофуран-

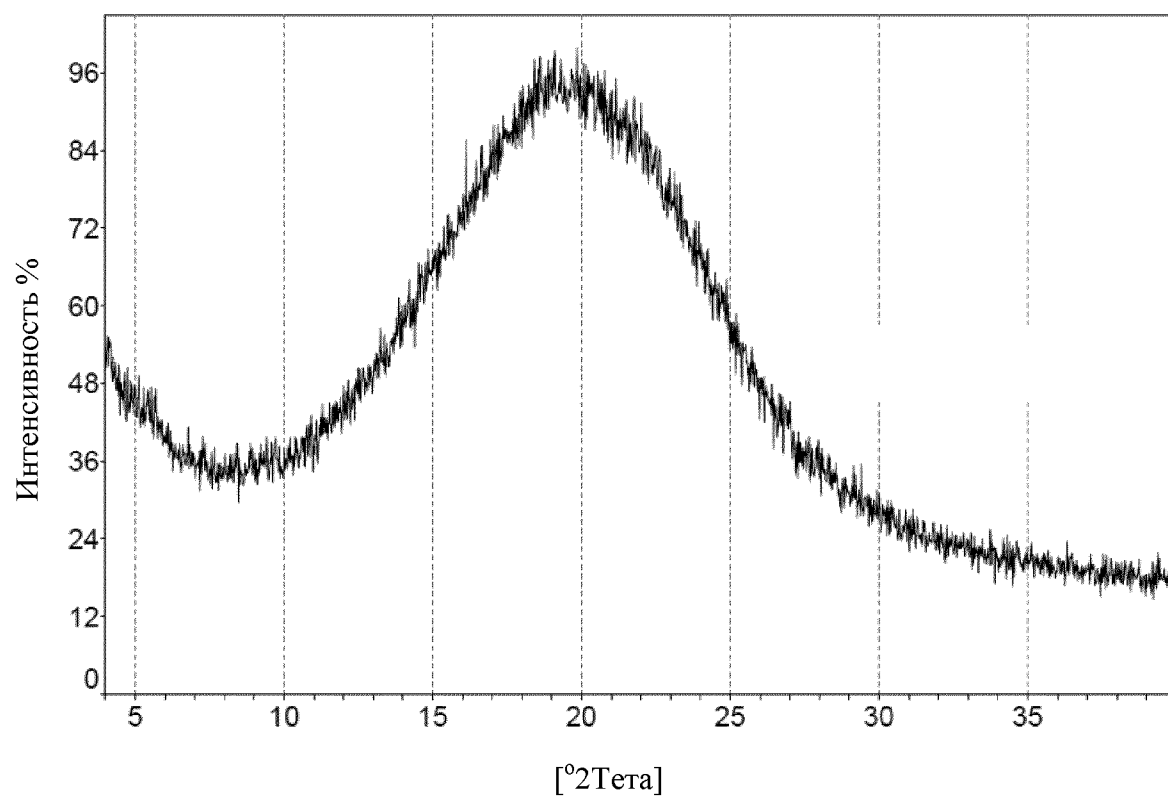
5-ил)окси)-3,4-дигидро-1,8-нафтиридин-2(1H)-она (1:1), включающий смешивание кристаллической формы сескви-малеата 5-(((1R,1aS,6bR)-1-(6-(трифторметил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)-1a,6b-дигидро-1H-циклопропа[b]бензофуран-5-ил)окси)-3,4-дигидро-1,8-нафтиридин-2(1H)-она с метанолом.

53. Способ по п. 52, где смешивание проводят при помощи перемешивания.

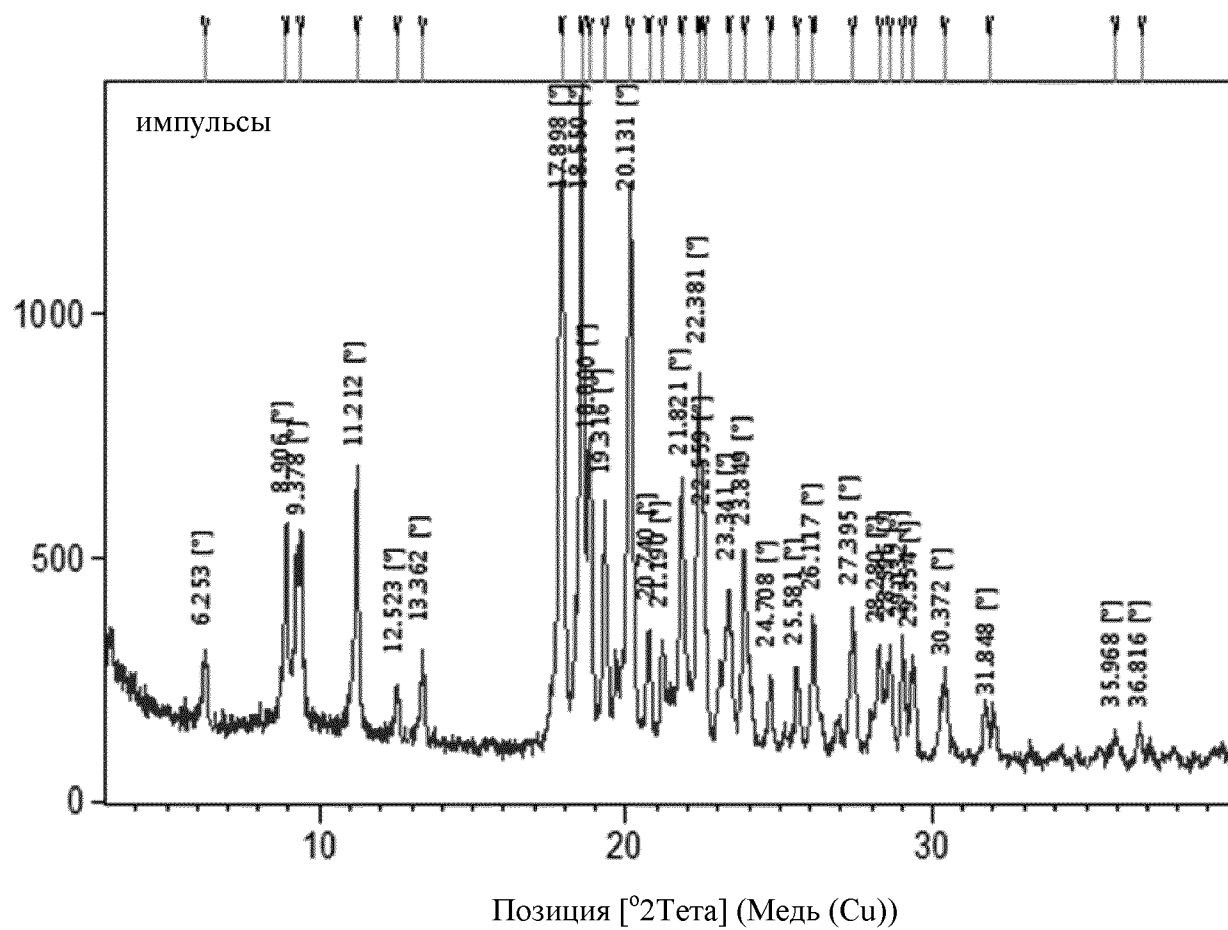
54. Способ по п. 52 или п. 53, где кристаллическая форма малеата 5-(((1R,1aS,6bR)-1-(6-(трифторметил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)-1a,6b-дигидро-1H-циклопропа[b]бензофуран-5-ил)окси)-3,4-дигидро-1,8-нафтиридин-2(1H)-она (1:1) представлена в форме N.

55. Способ по любому из пп. 52, 53 или 54, где кристаллическая форма малеата 5-(((1R,1aS,6bR)-1-(6-(трифторметил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)-1a,6b-дигидро-1H-циклопропа[b]бензофуран-5-ил)окси)-3,4-дигидро-1,8-нафтиридин-2(1H)-она представлена в любой форме, выбранной из группы, состоящей из кристаллических форм A*, A**, A, B, C, D, F, G, H, I, J, K, L и M.

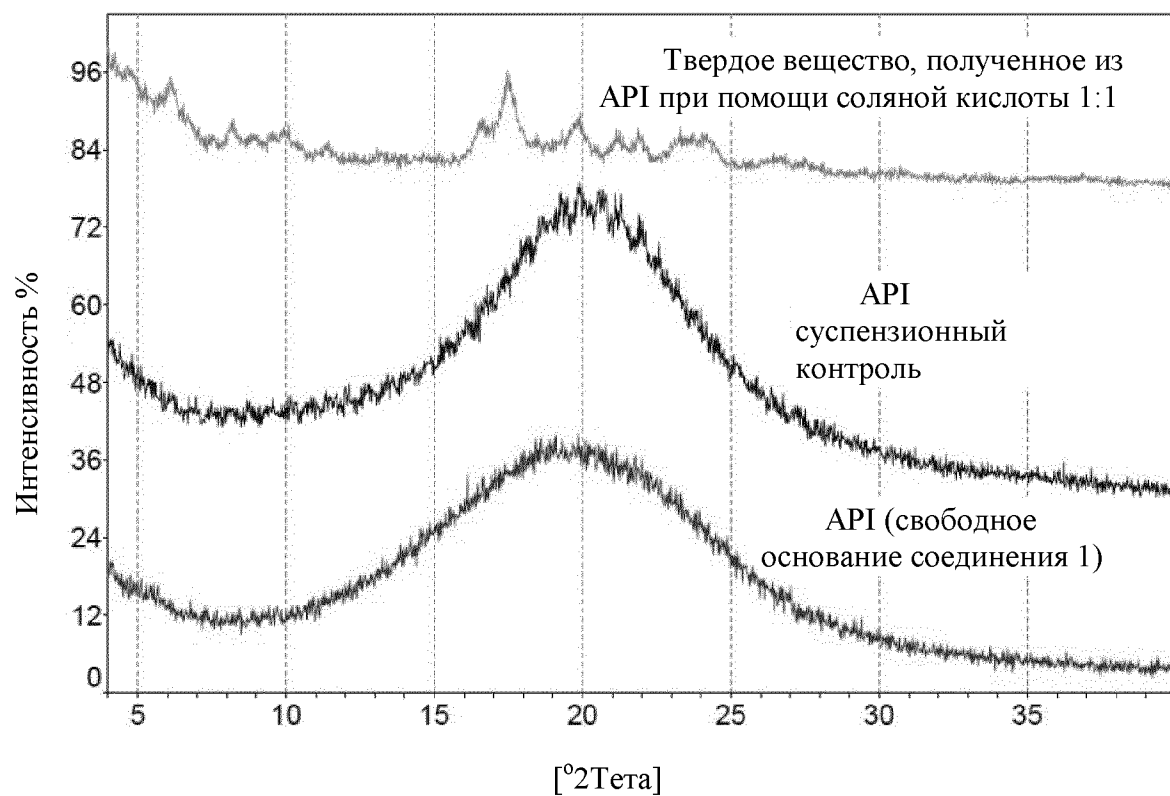
Фиг. 1



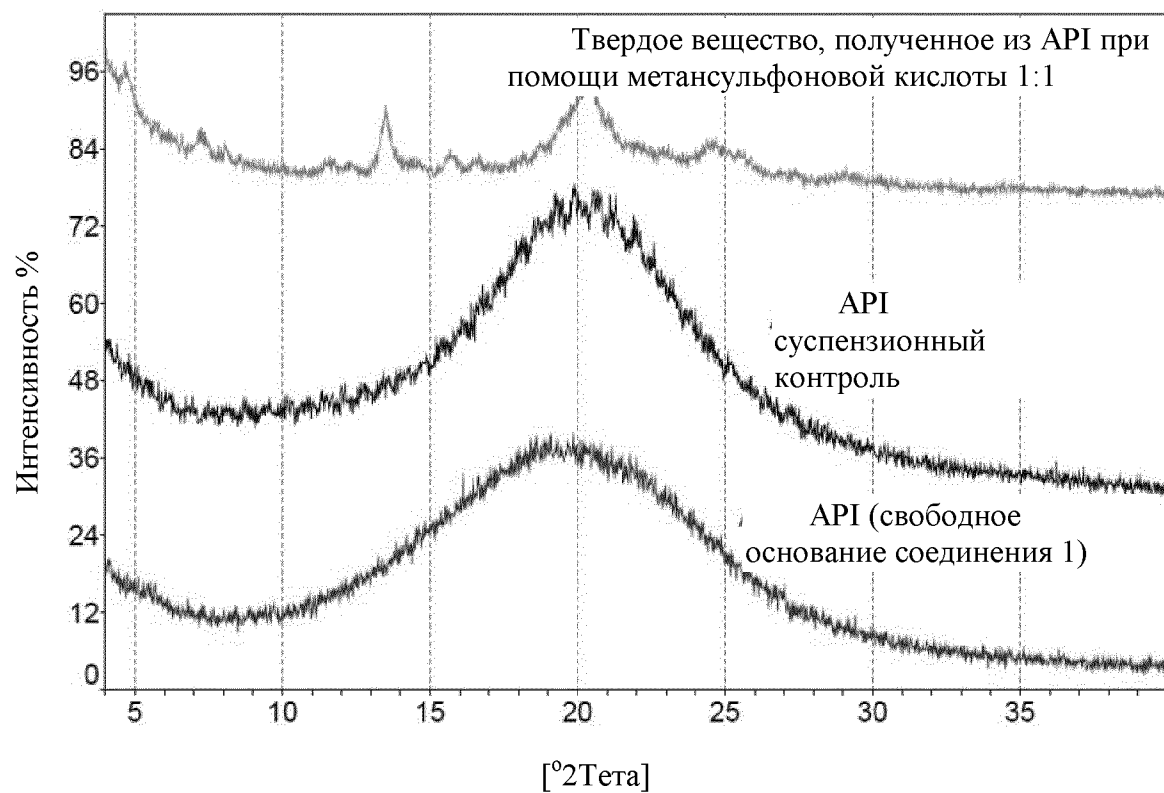
Фиг. 2



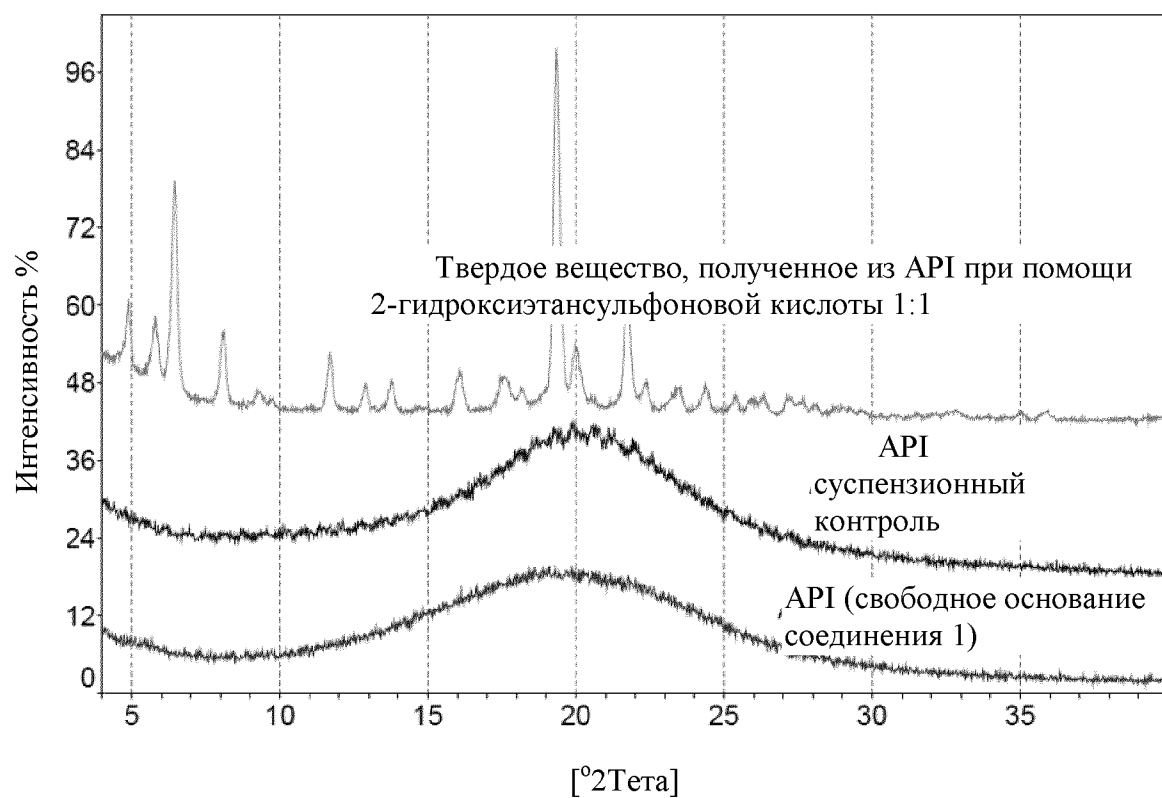
Фиг. 3



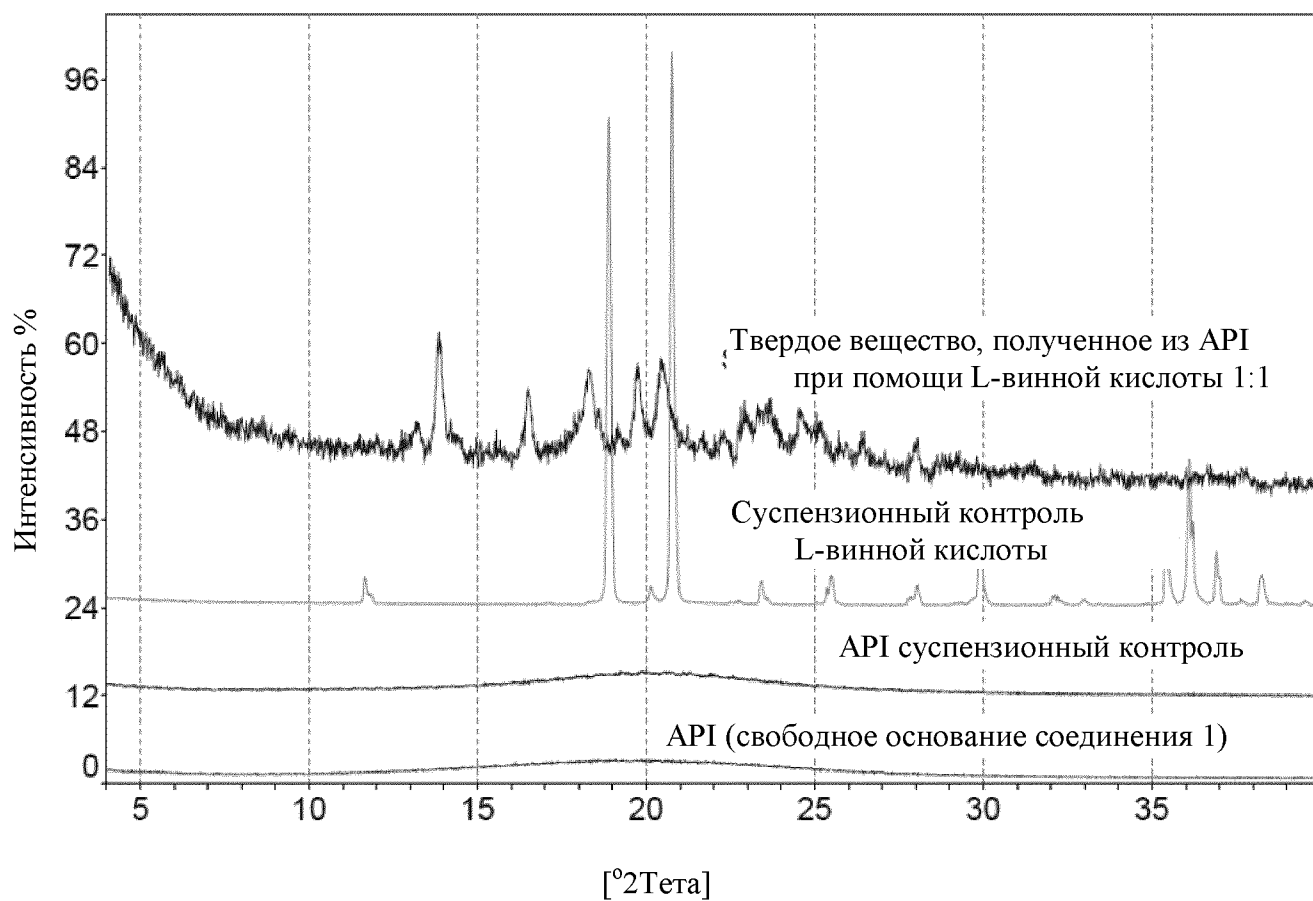
Фиг. 4



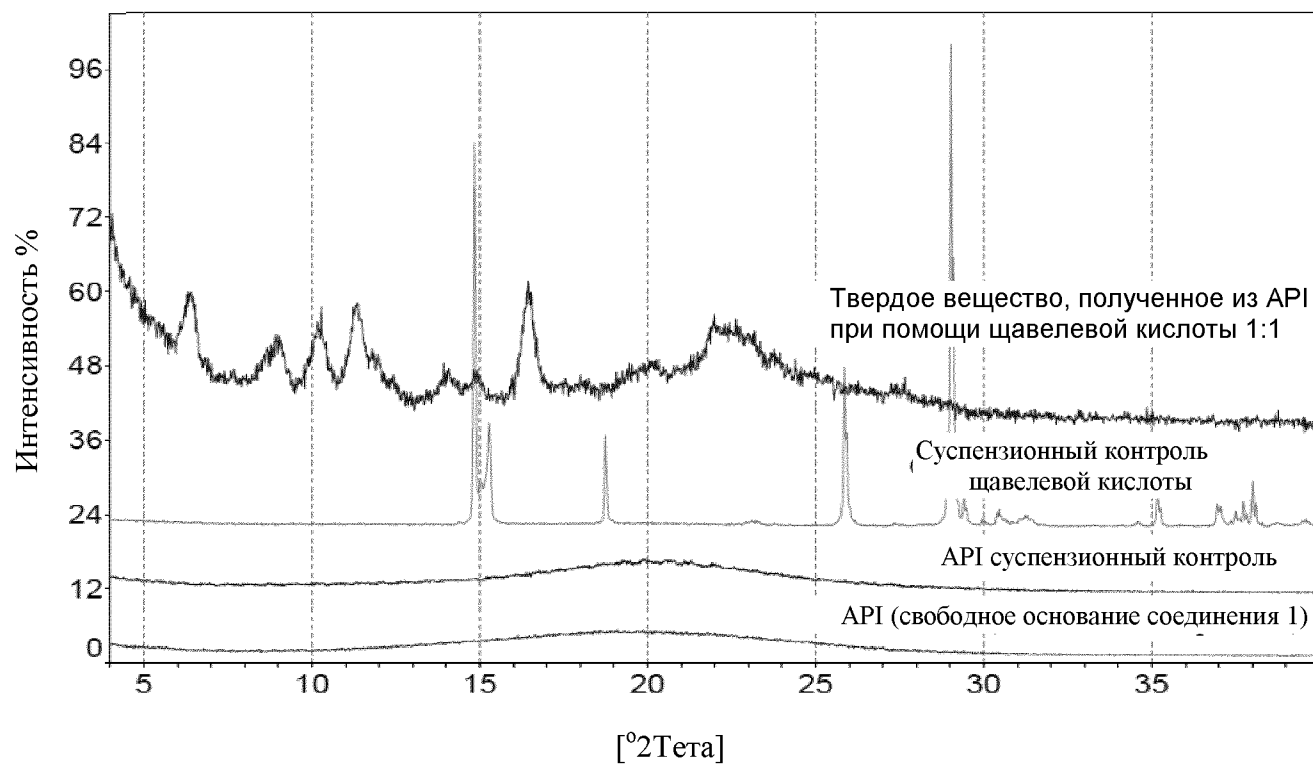
Фиг. 5



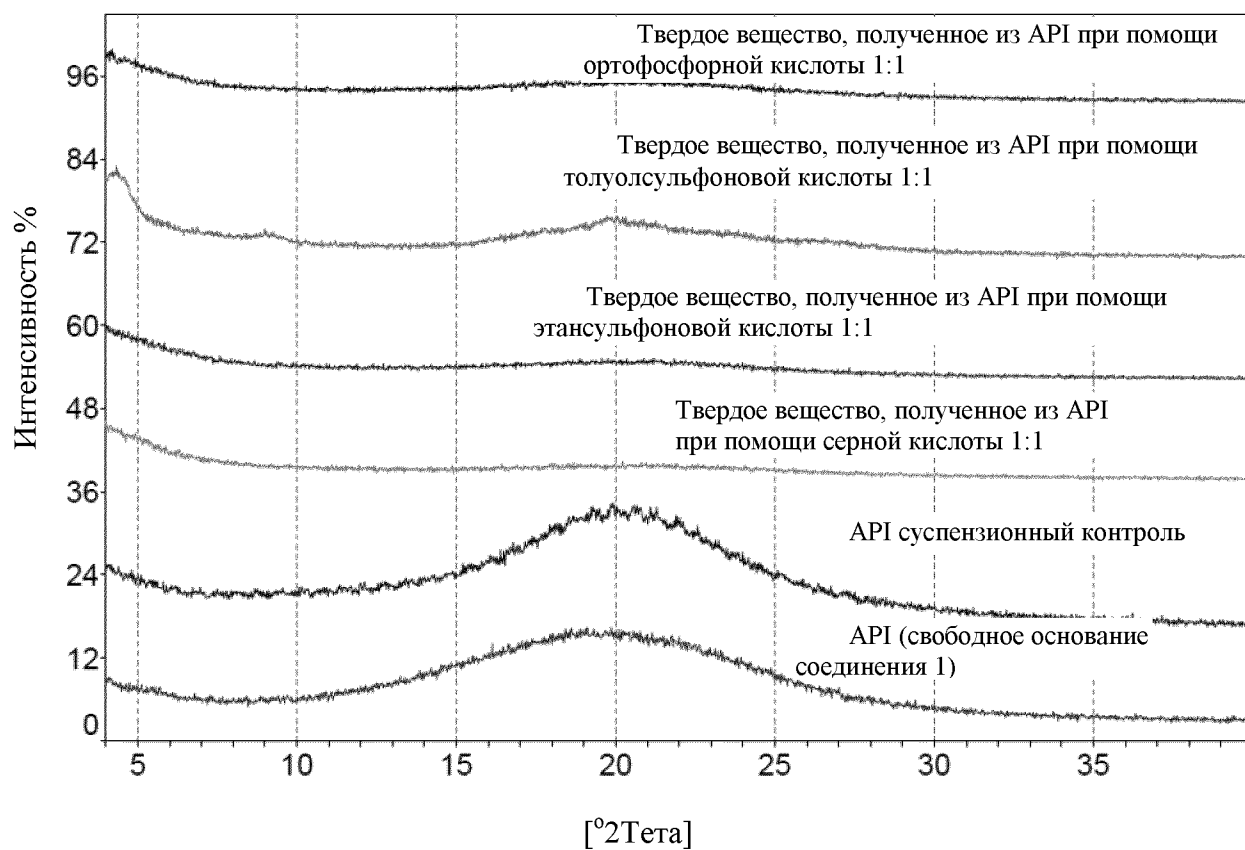
Фиг. 6



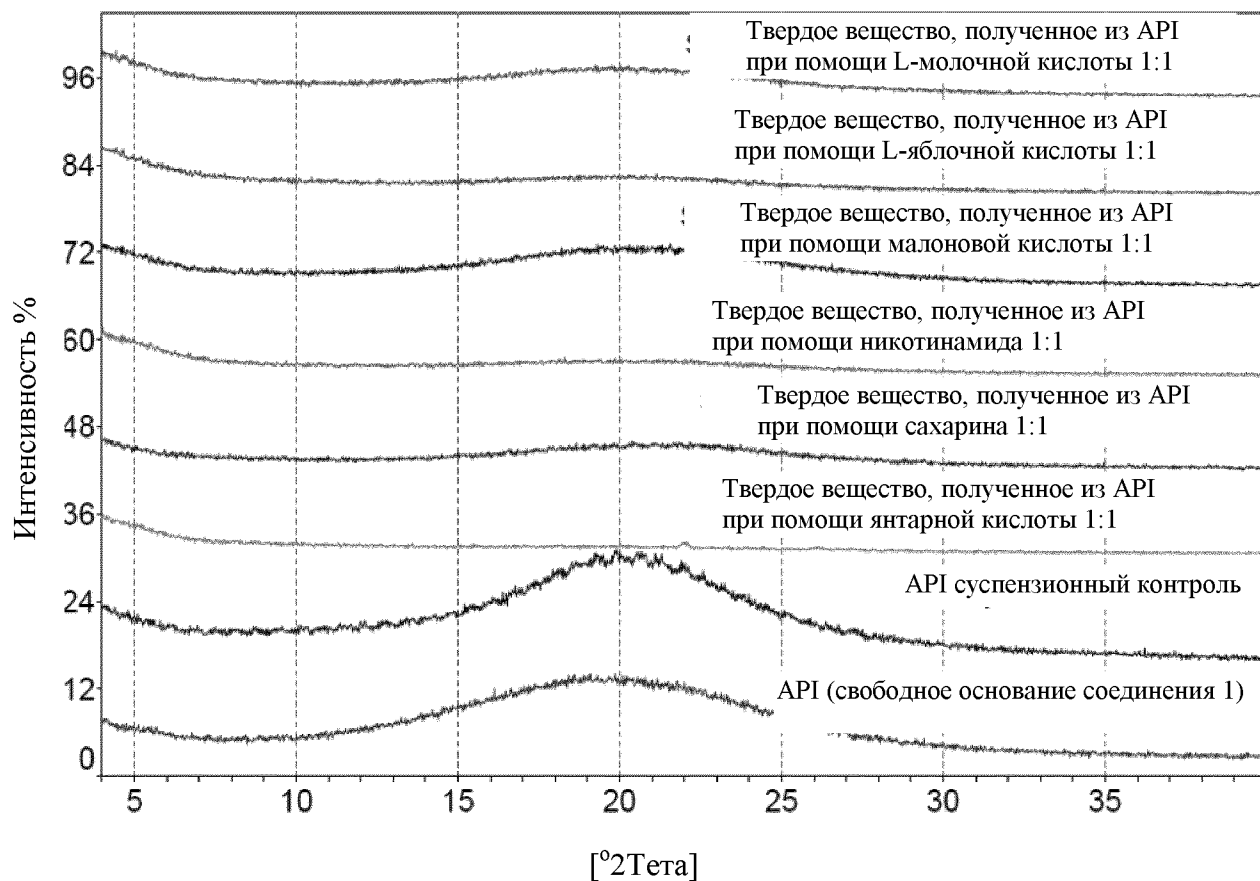
Фиг. 7



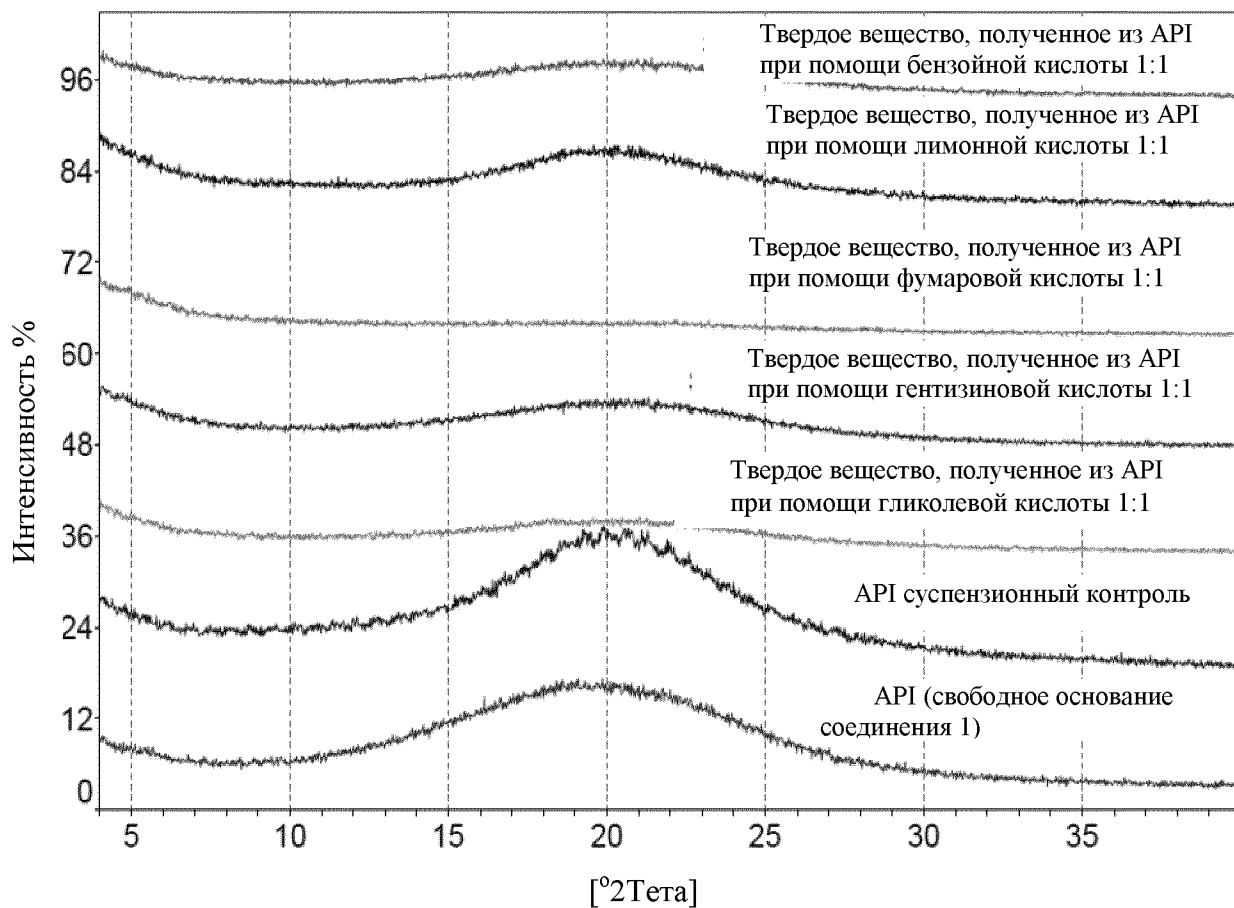
Фиг. 8



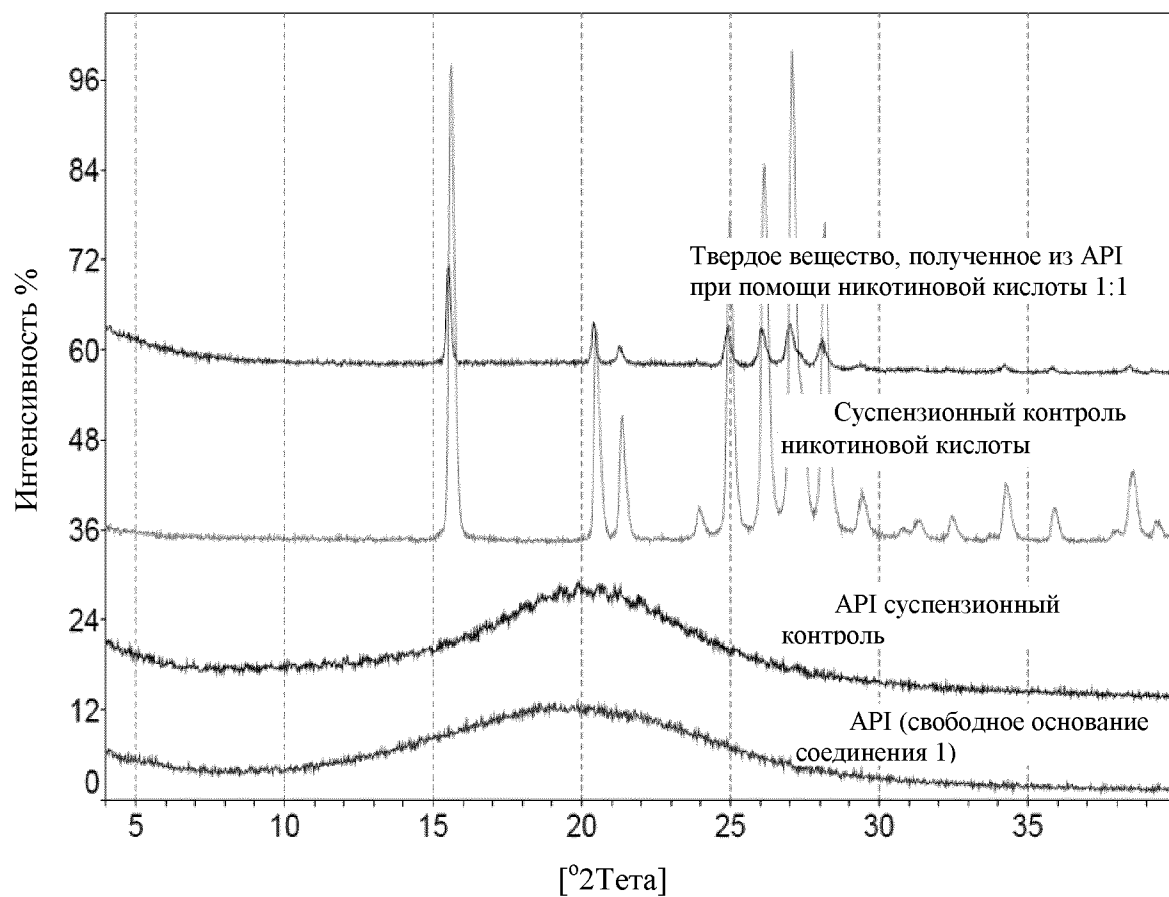
Фиг. 9



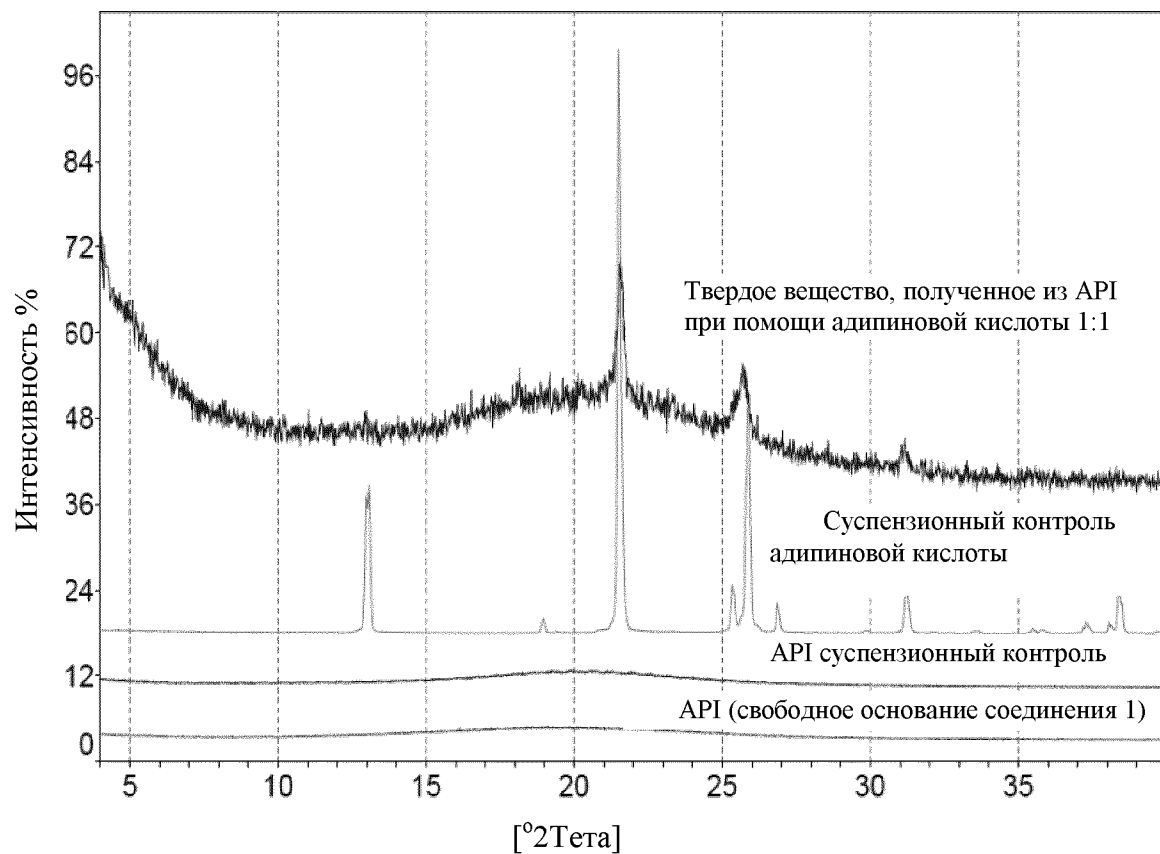
Фиг. 10



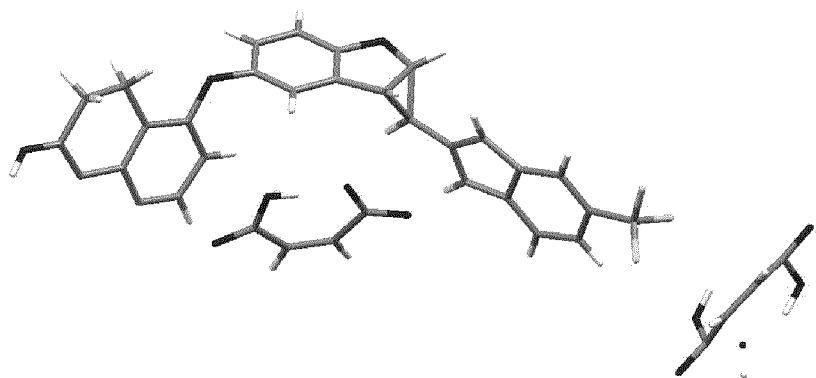
Фиг. 11



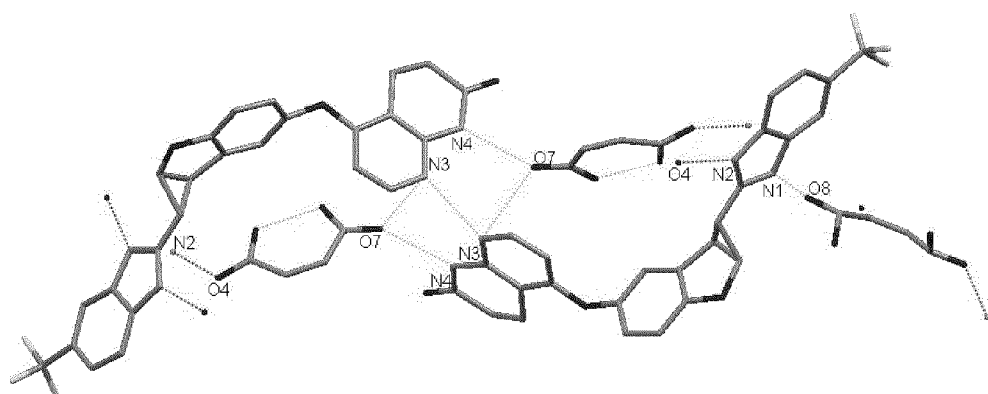
Фиг. 12



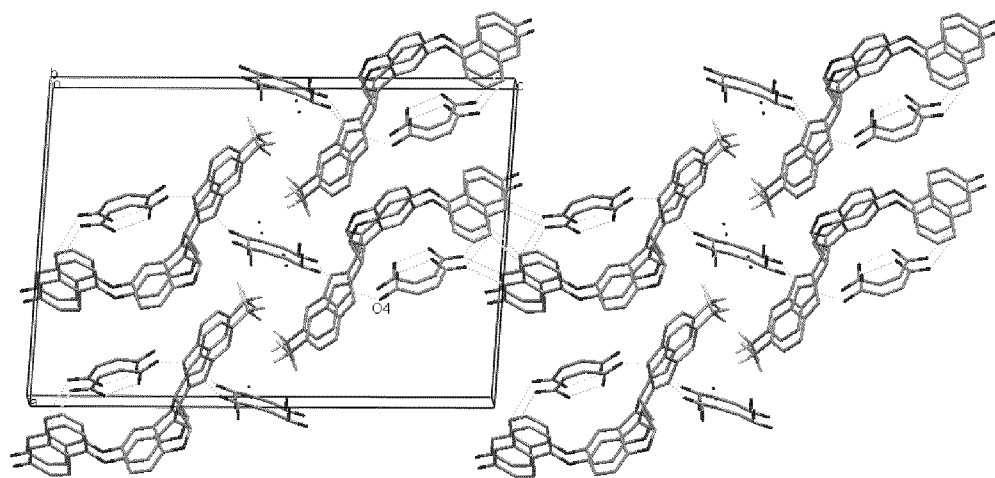
Фиг. 13



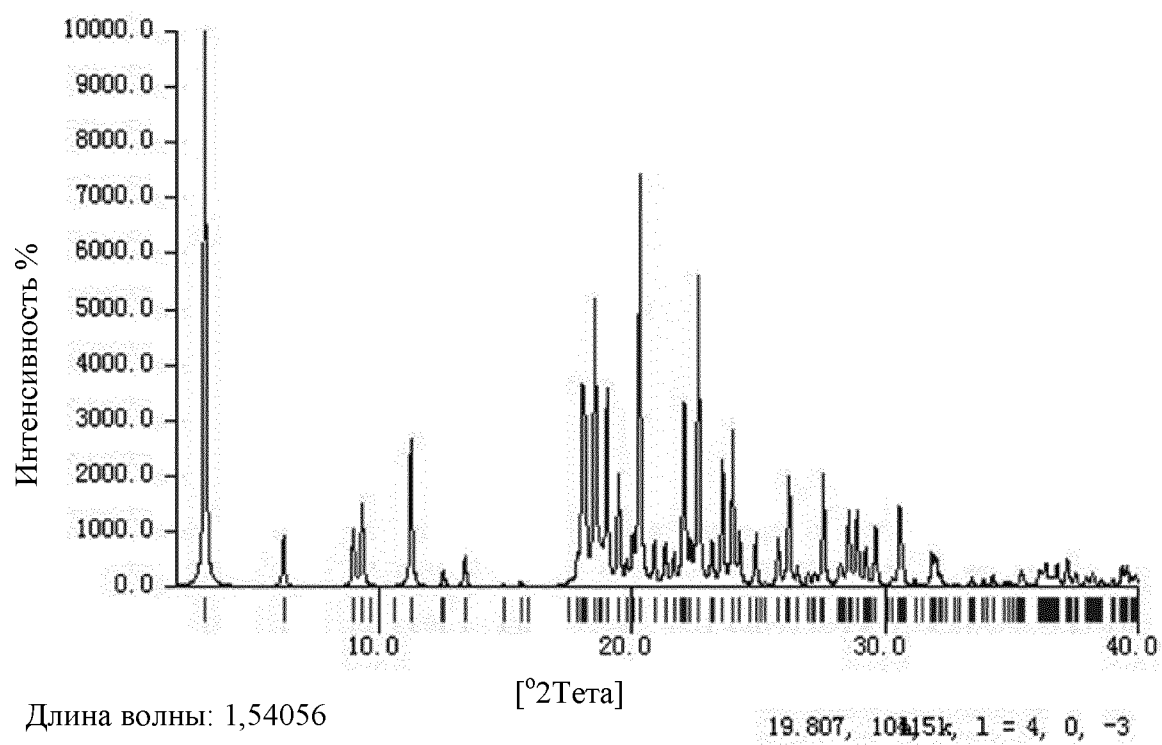
Фиг. 14



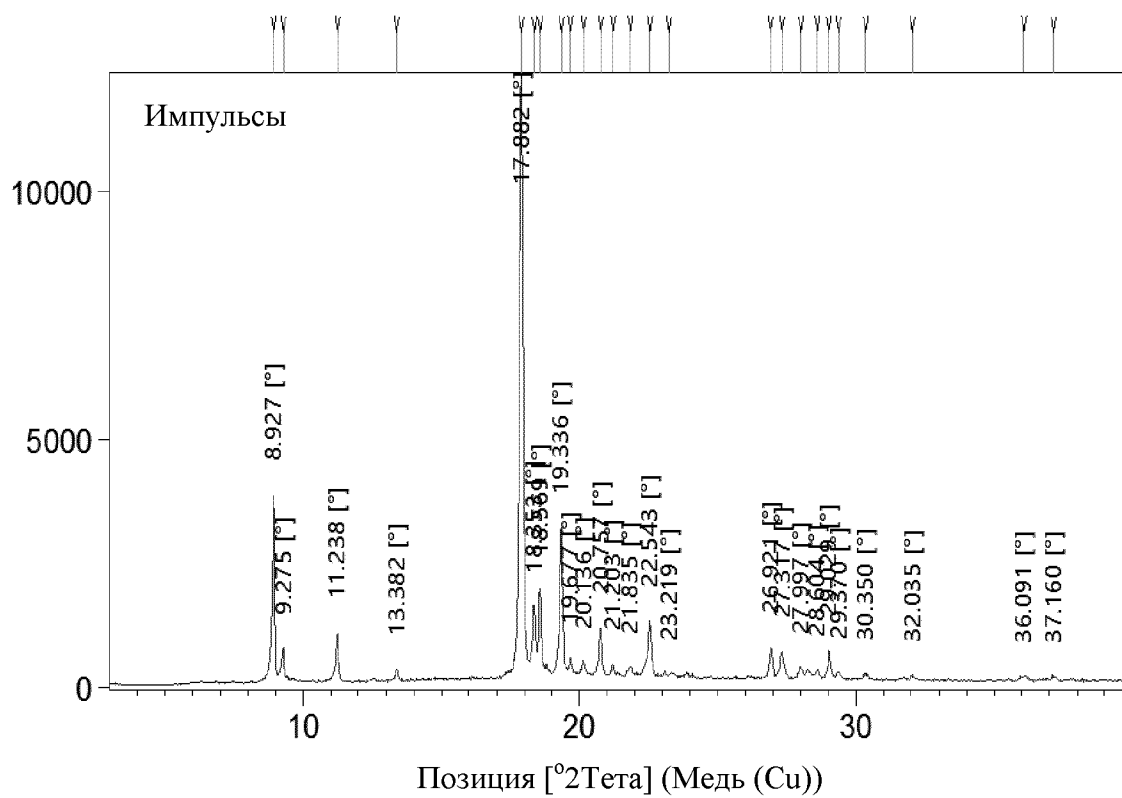
Фиг. 15



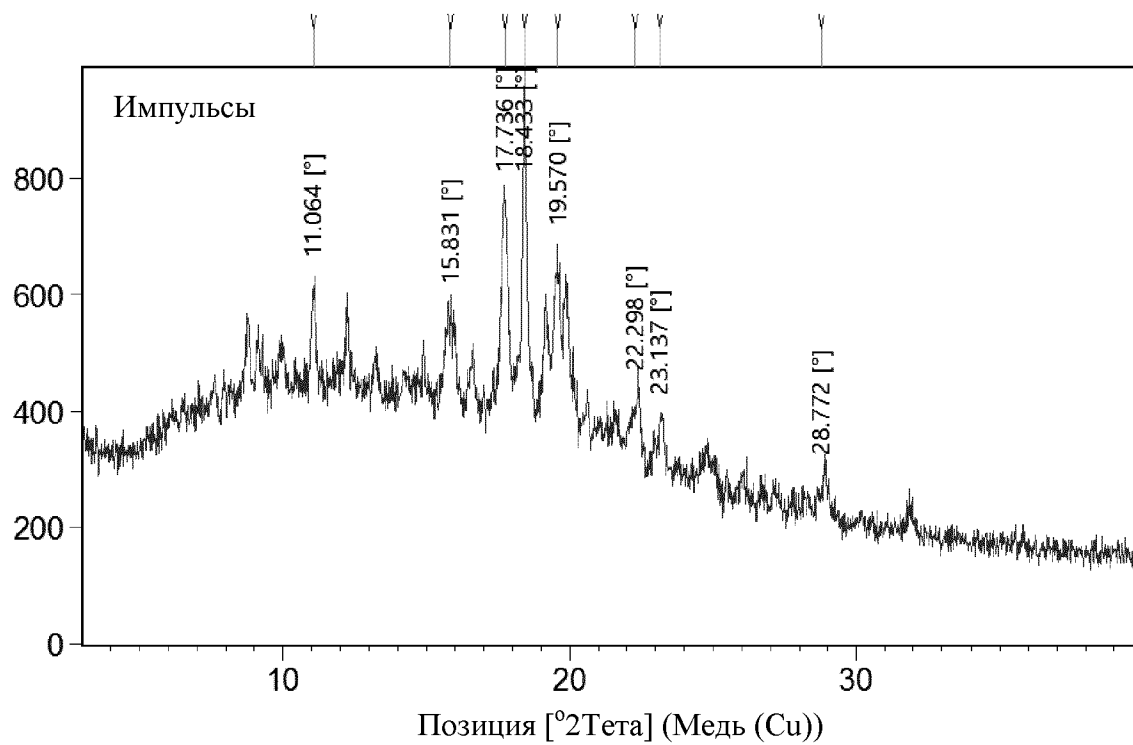
Фиг. 16



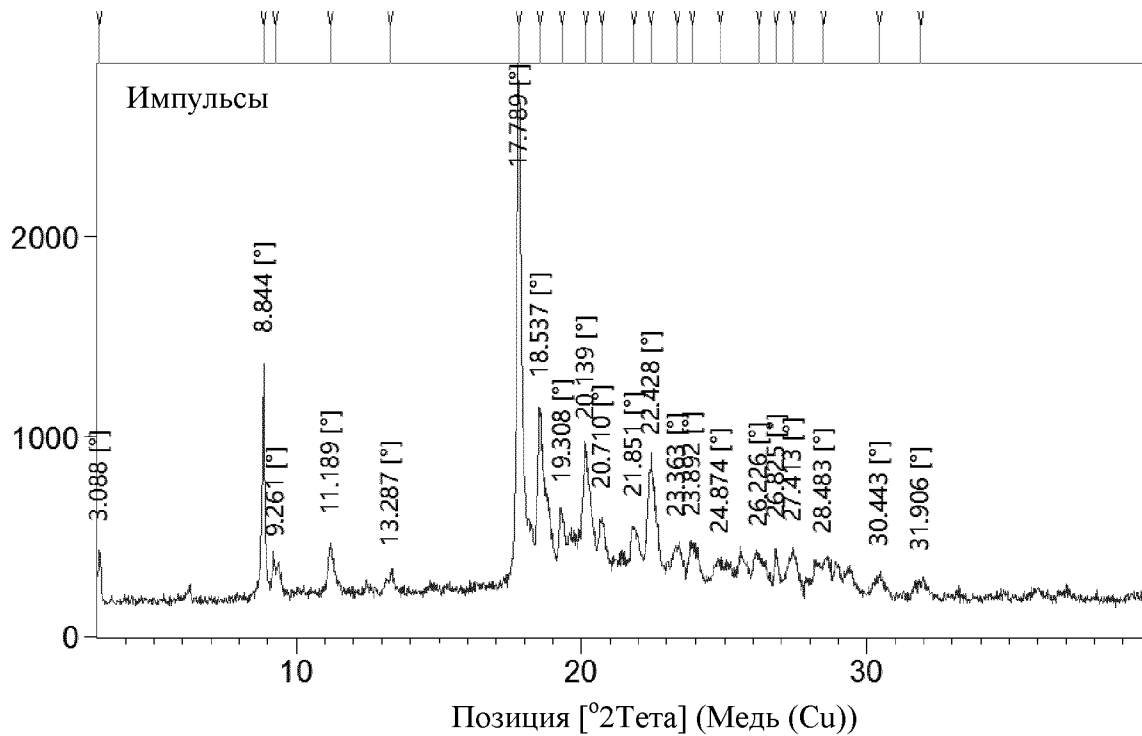
Фиг. 17



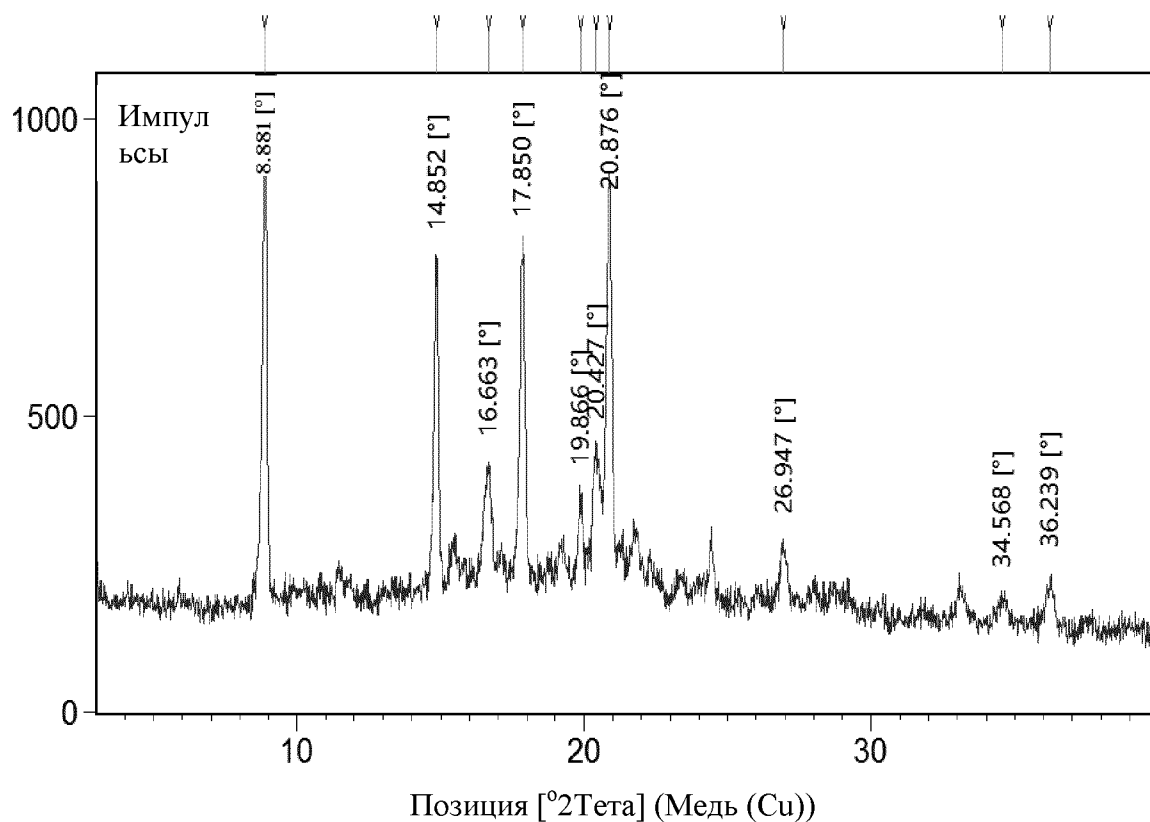
Фиг. 18



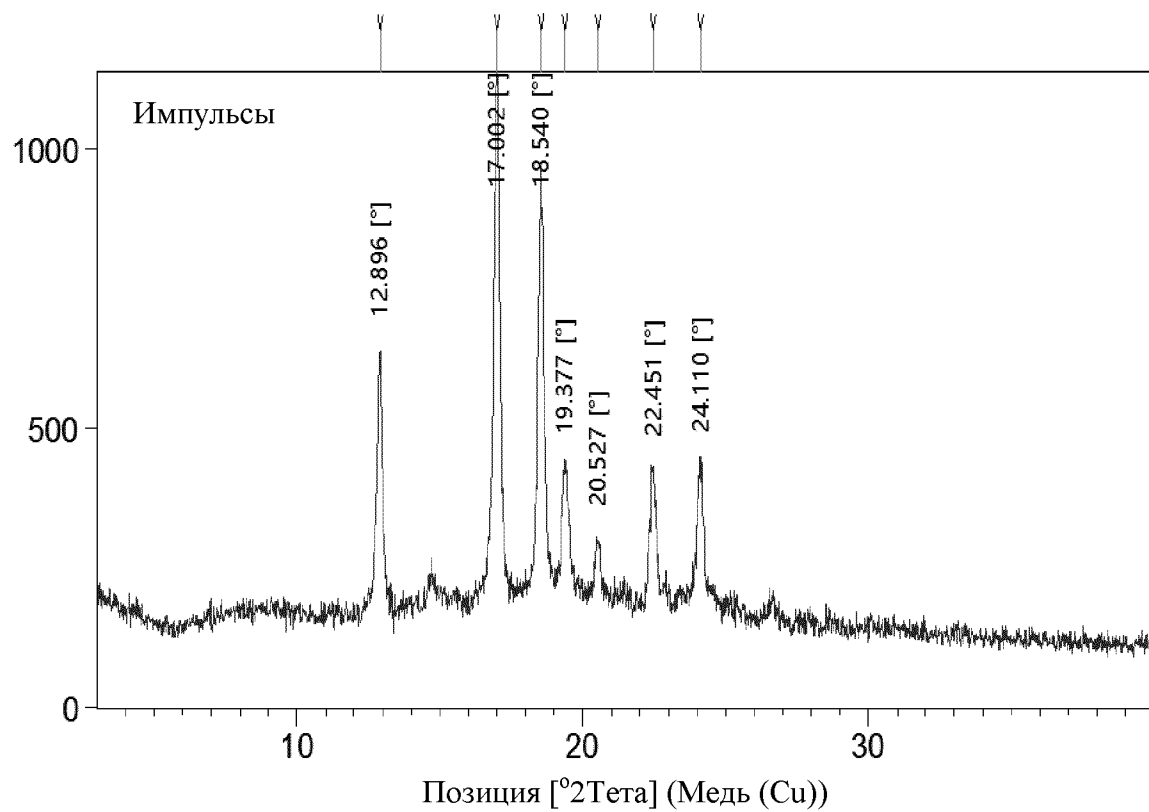
Фиг. 19



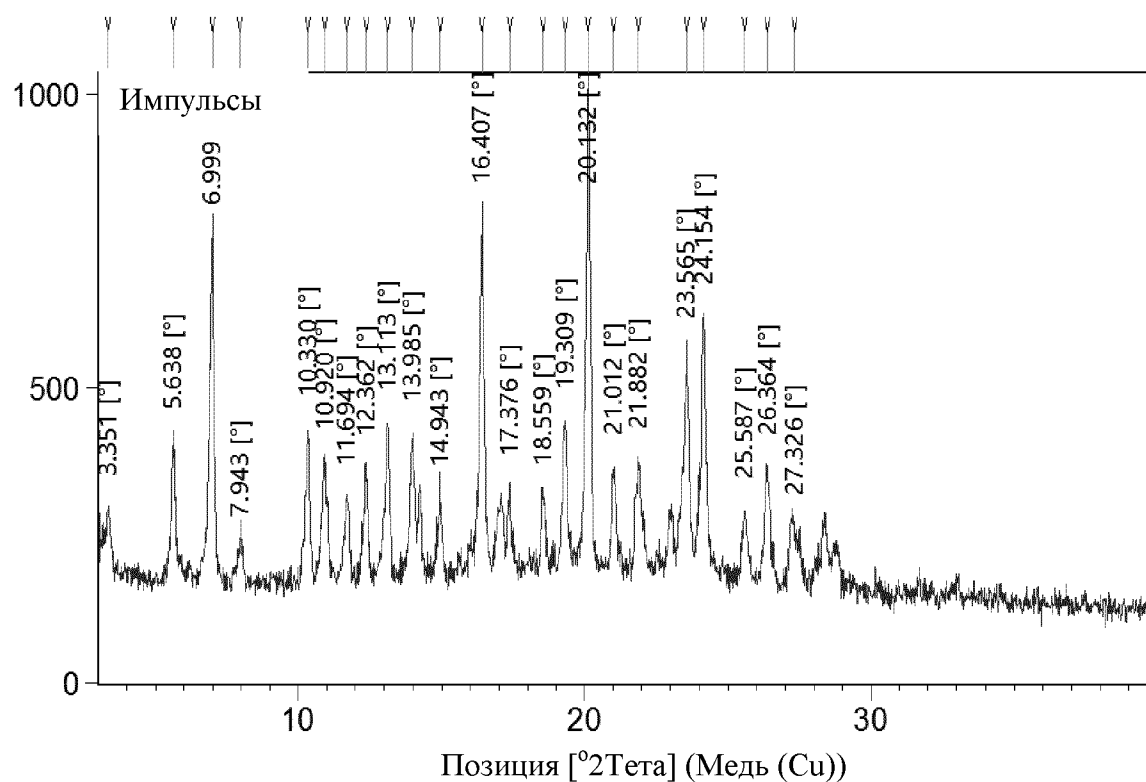
Фиг. 20



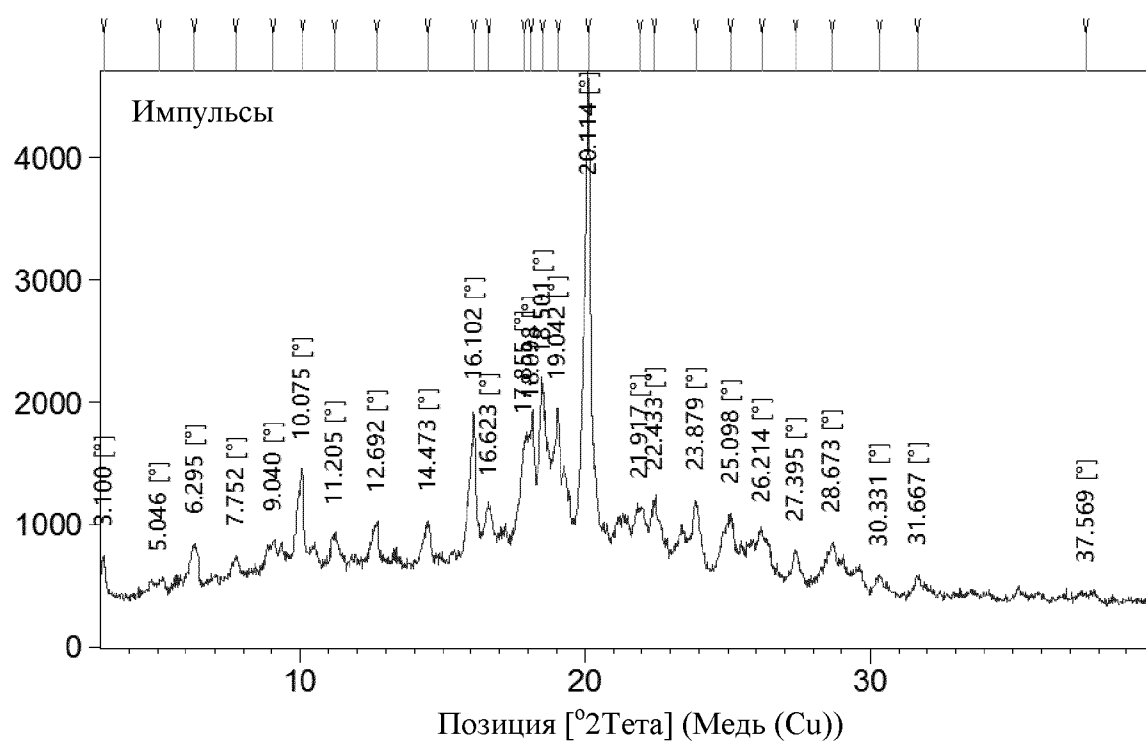
Фиг. 21



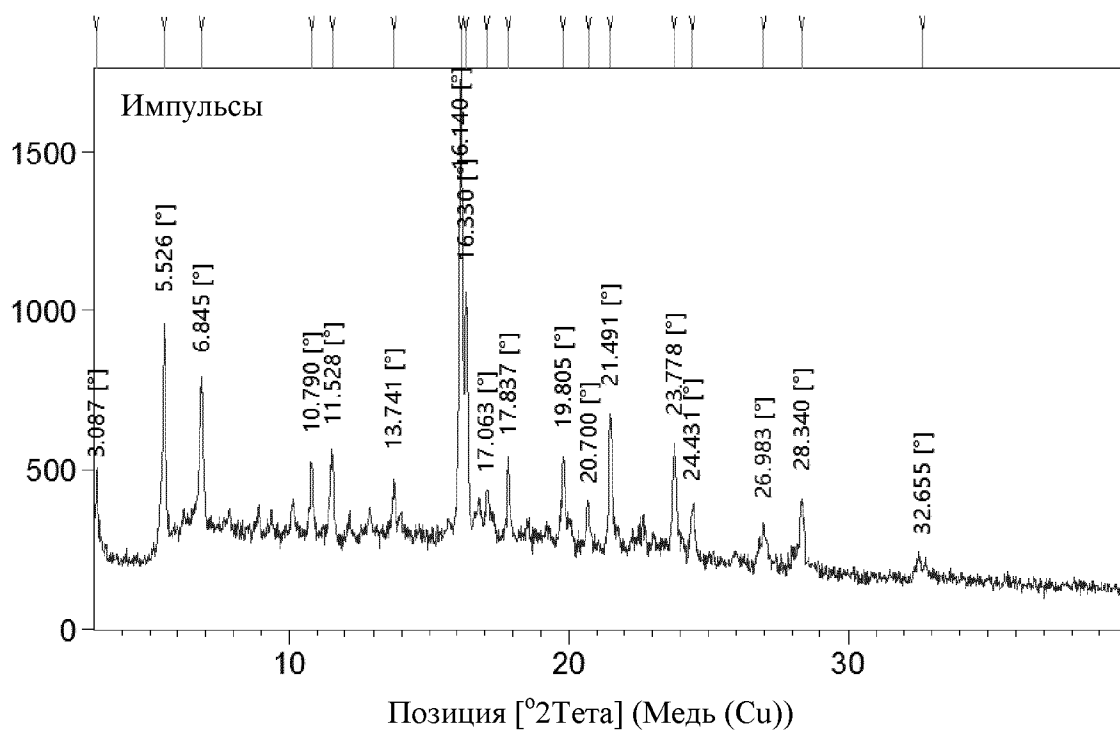
Фиг. 22



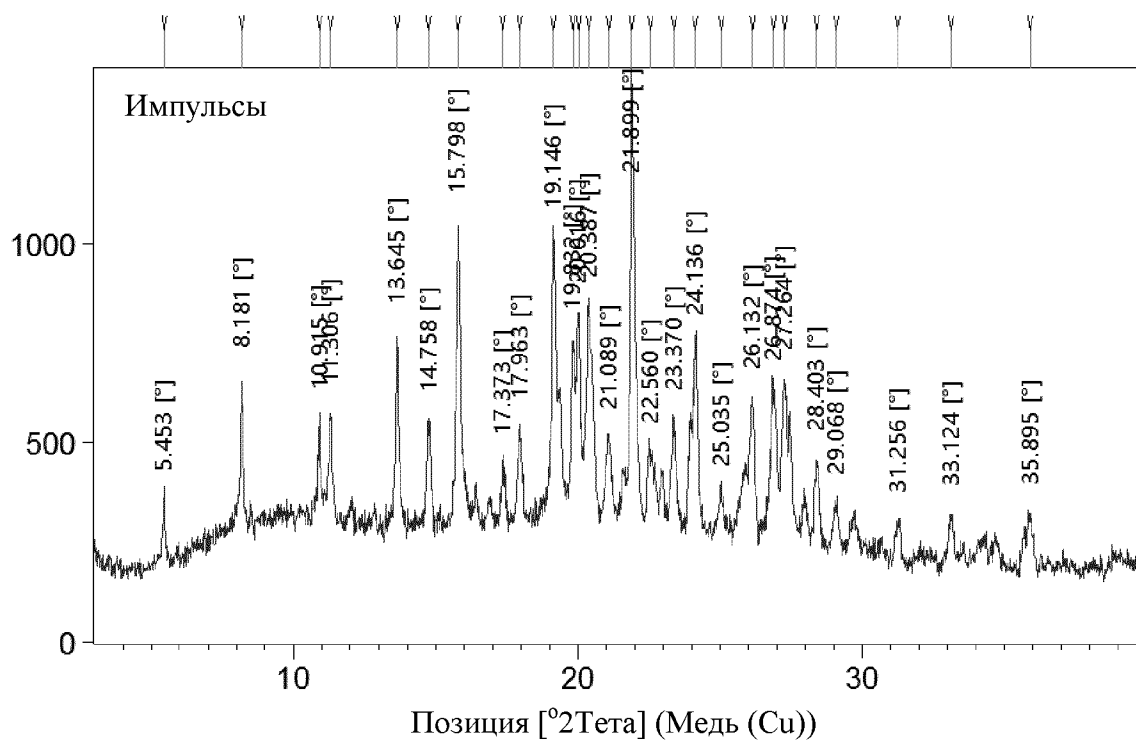
Фиг. 23



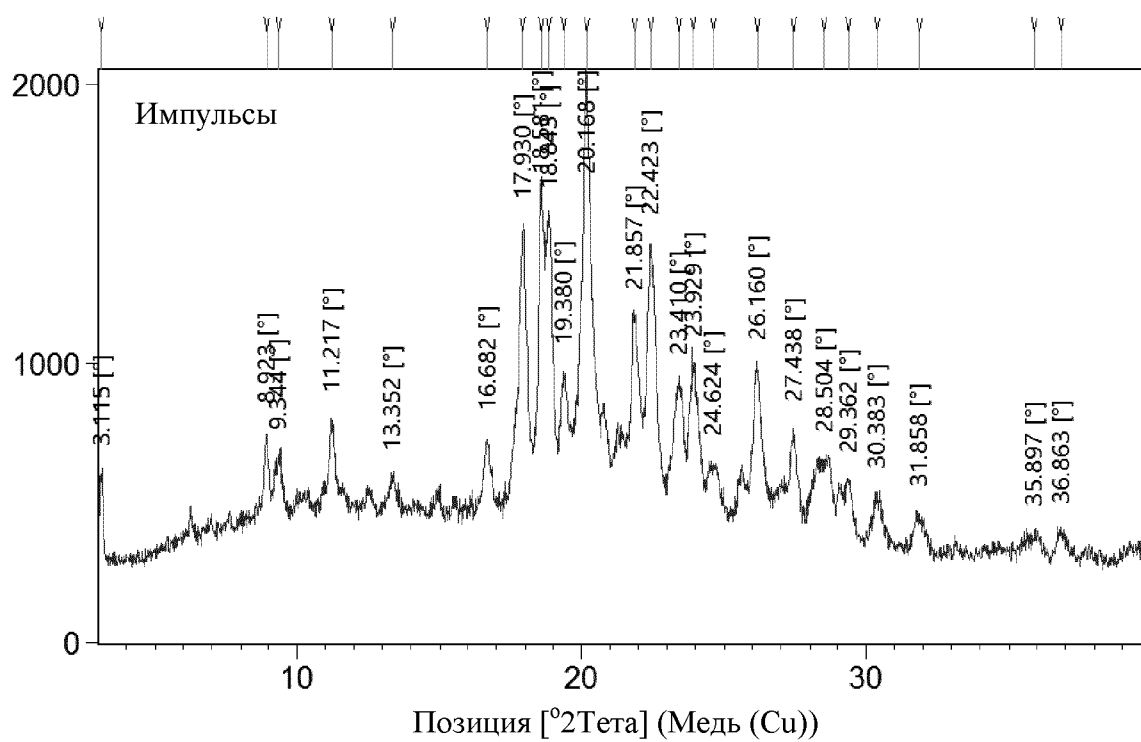
Фиг. 24



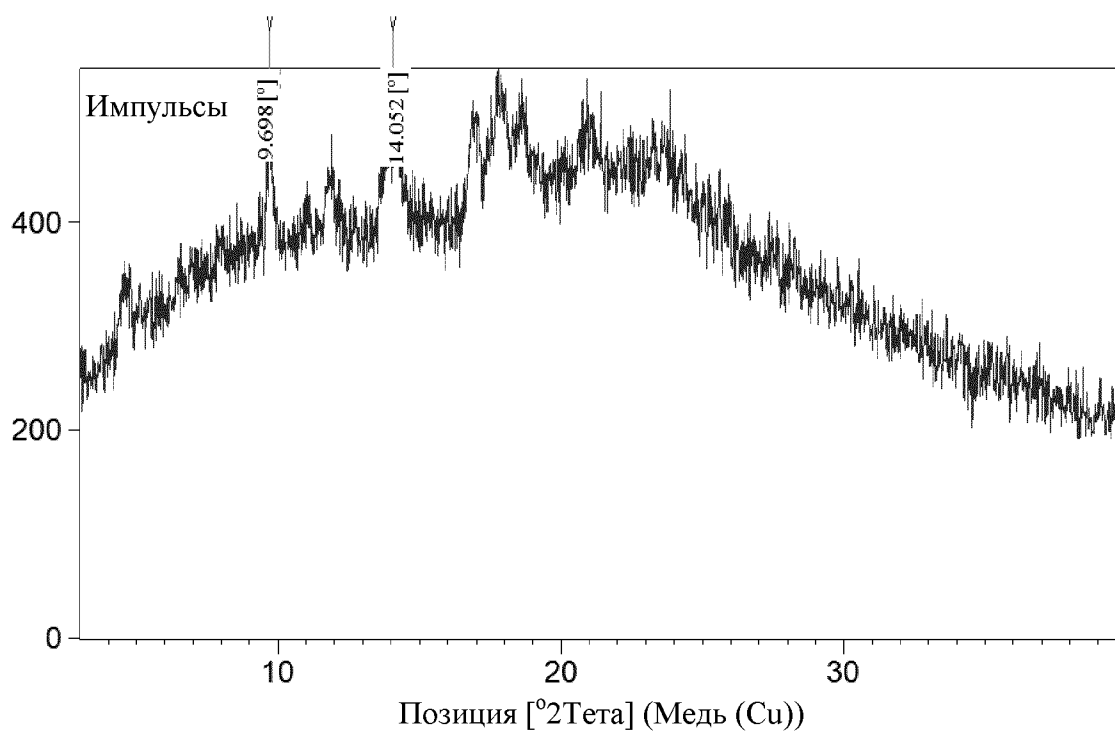
Фиг. 25



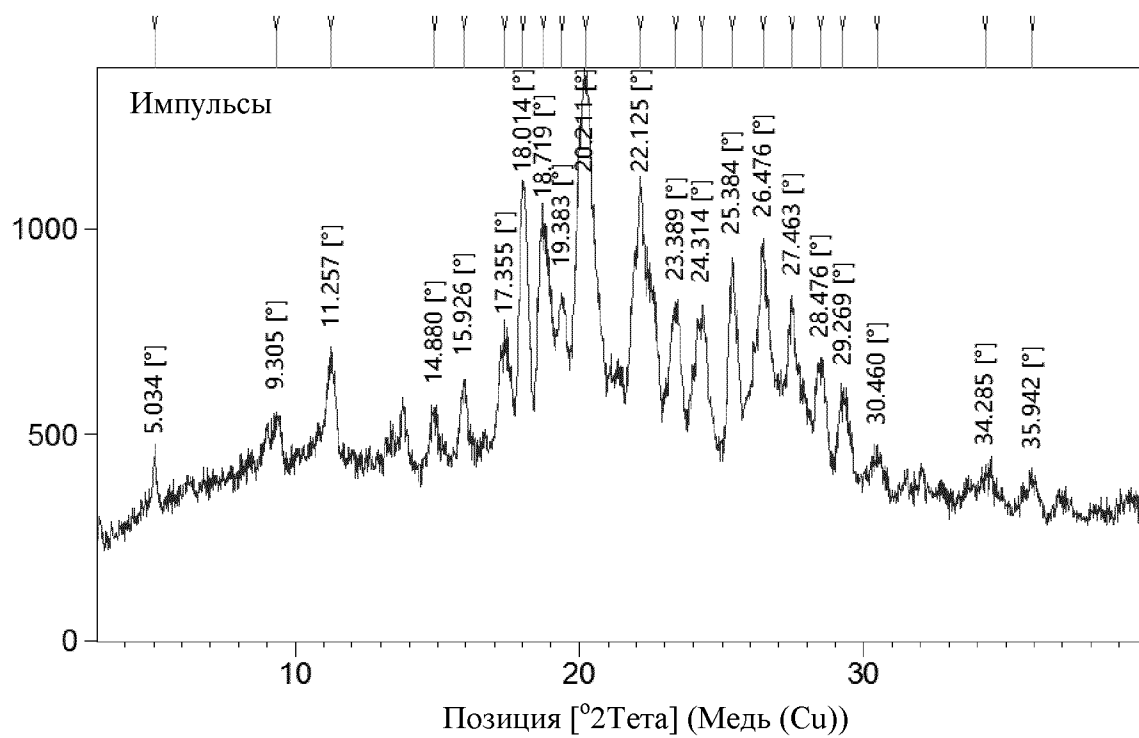
Фиг. 26



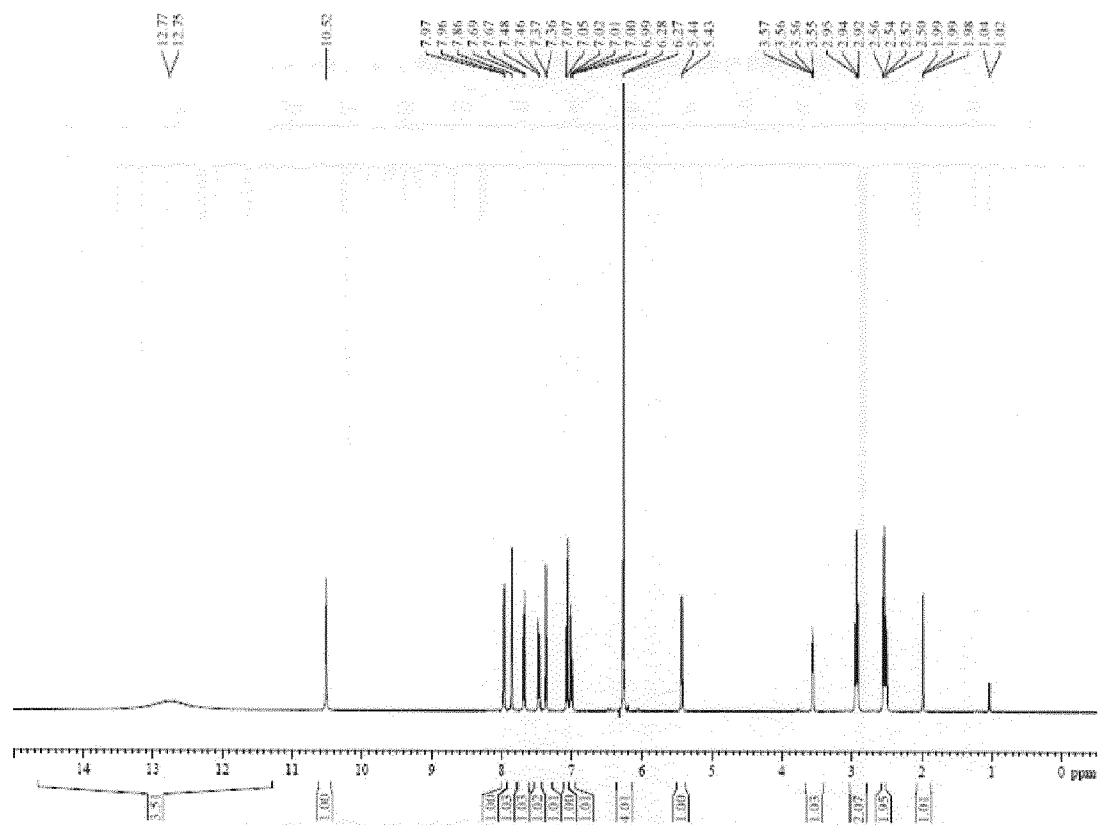
Фиг. 27



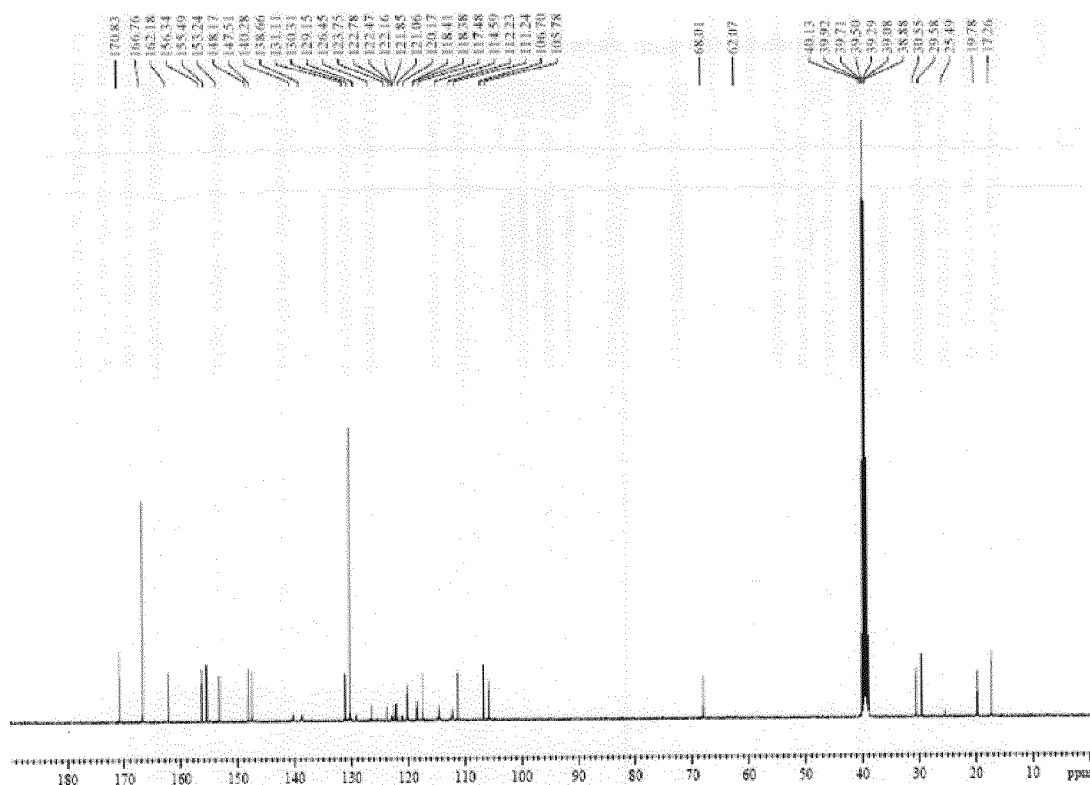
Фиг. 28



Фиг. 29



Фиг. 30



Фиг. 31

Гигроскопичность (поглощение влаги) посредством ДСП

Дата: 24 Авг 2012

Время: 18:07

Файл: BGV-C-Fri4 Aug 2012 18-07-24.xls

Образец: BGV-C-2

Изотерма ДСП

Темп: 25,1°C

Способ: Test compound method-lily.sao

M(0): 11,435

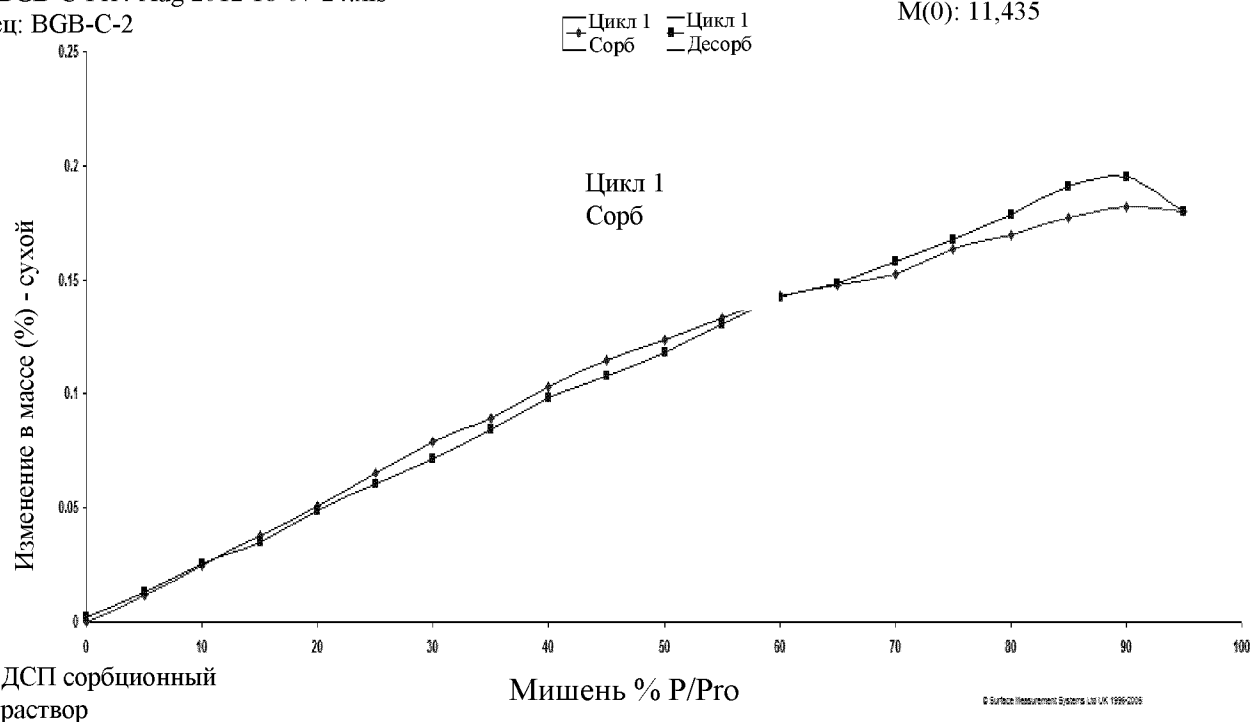
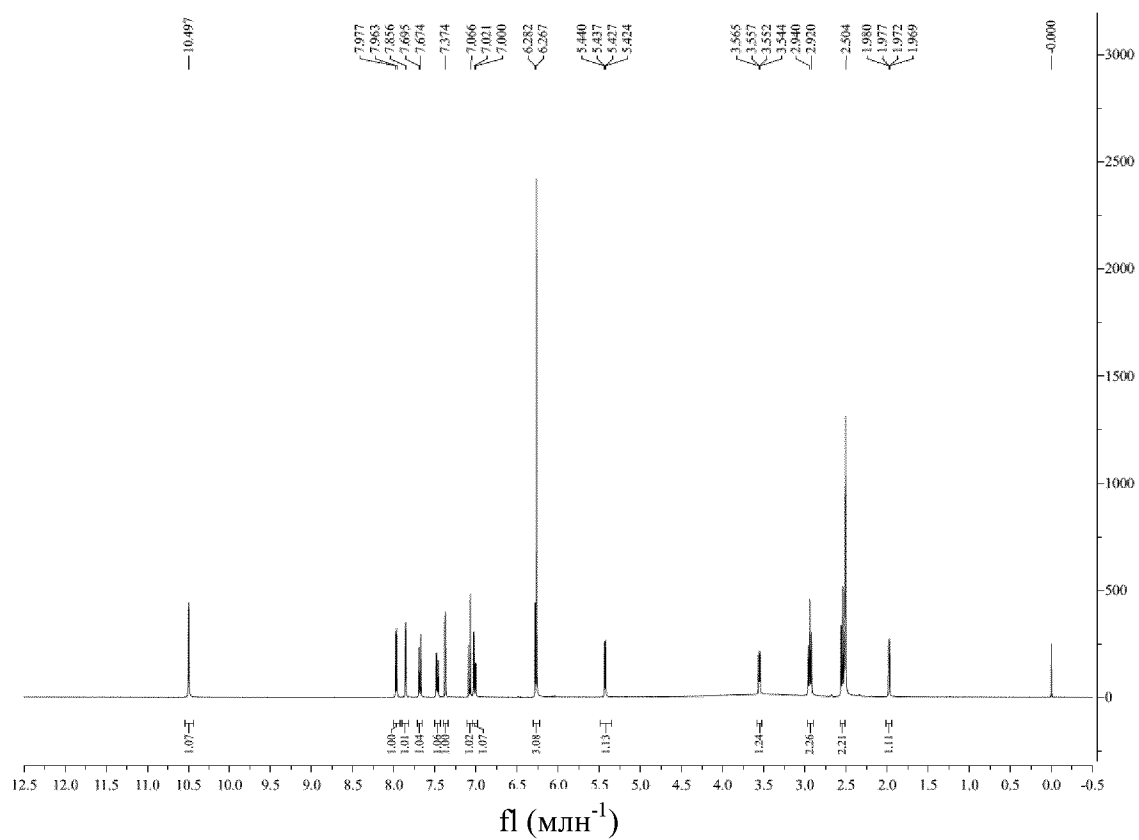
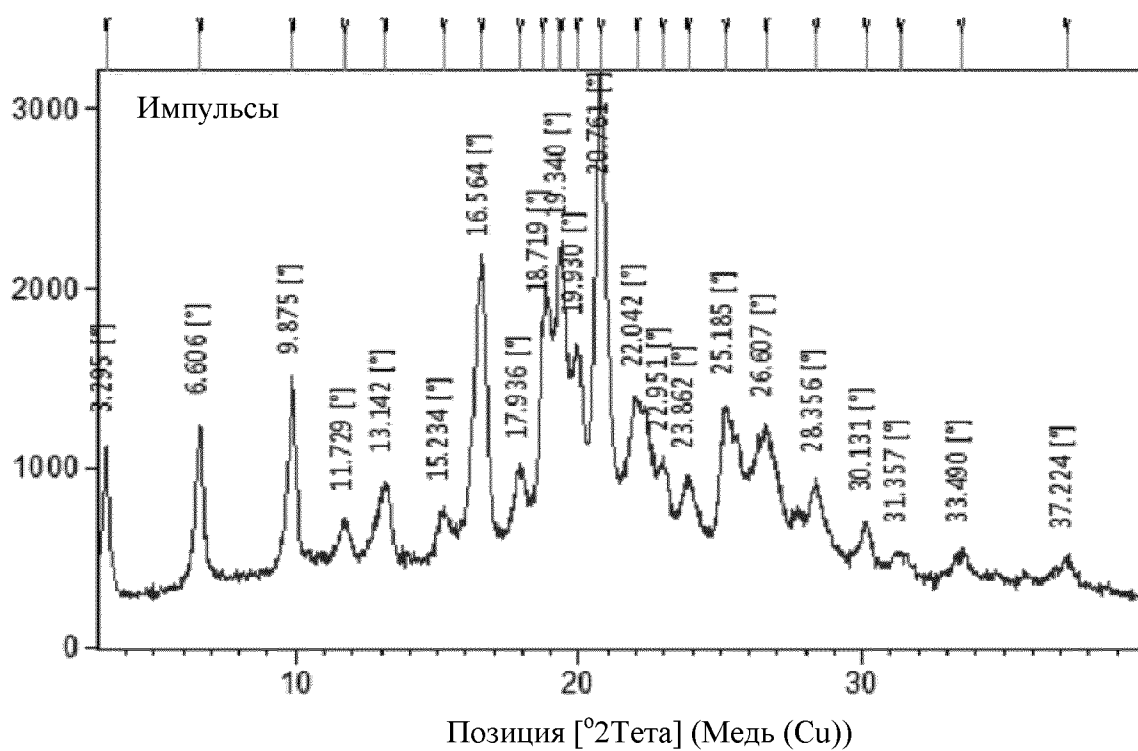


График изотерм ДСП кристаллической формы А* сескви-малеата соединения 1

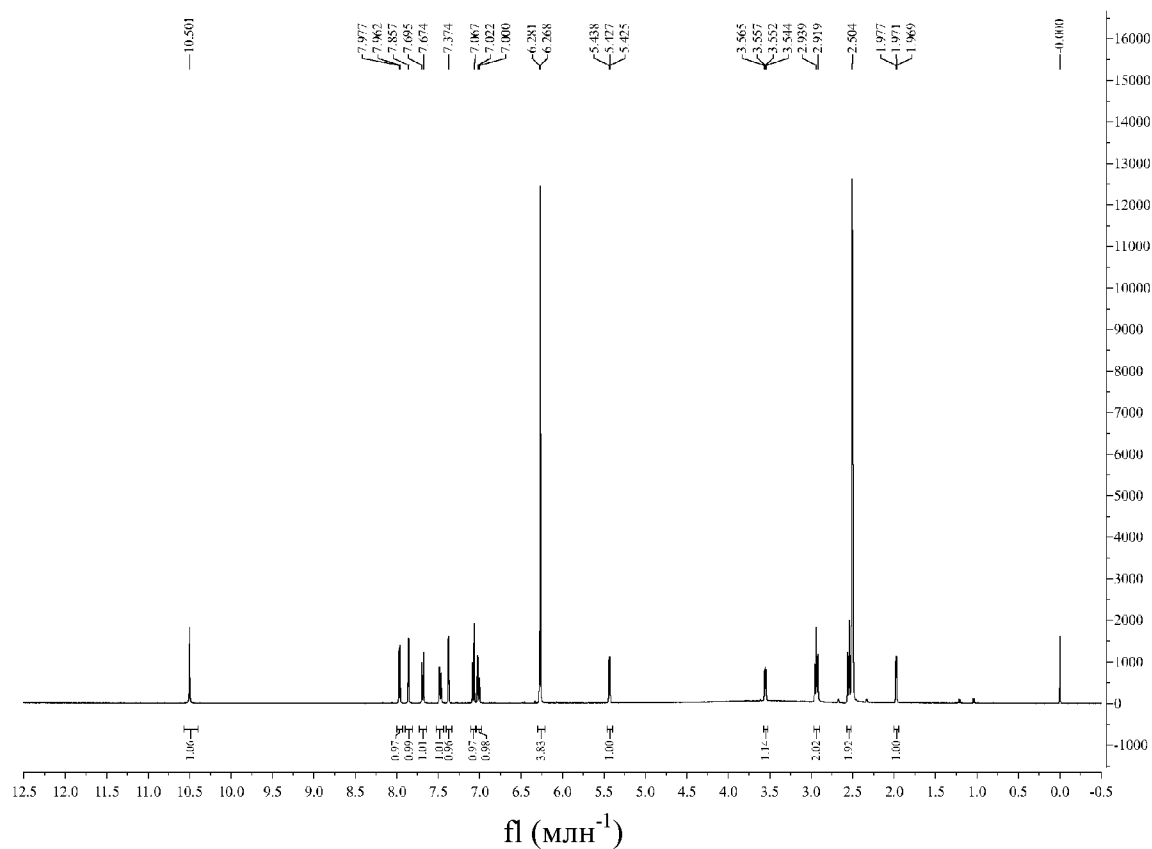
Фиг. 32



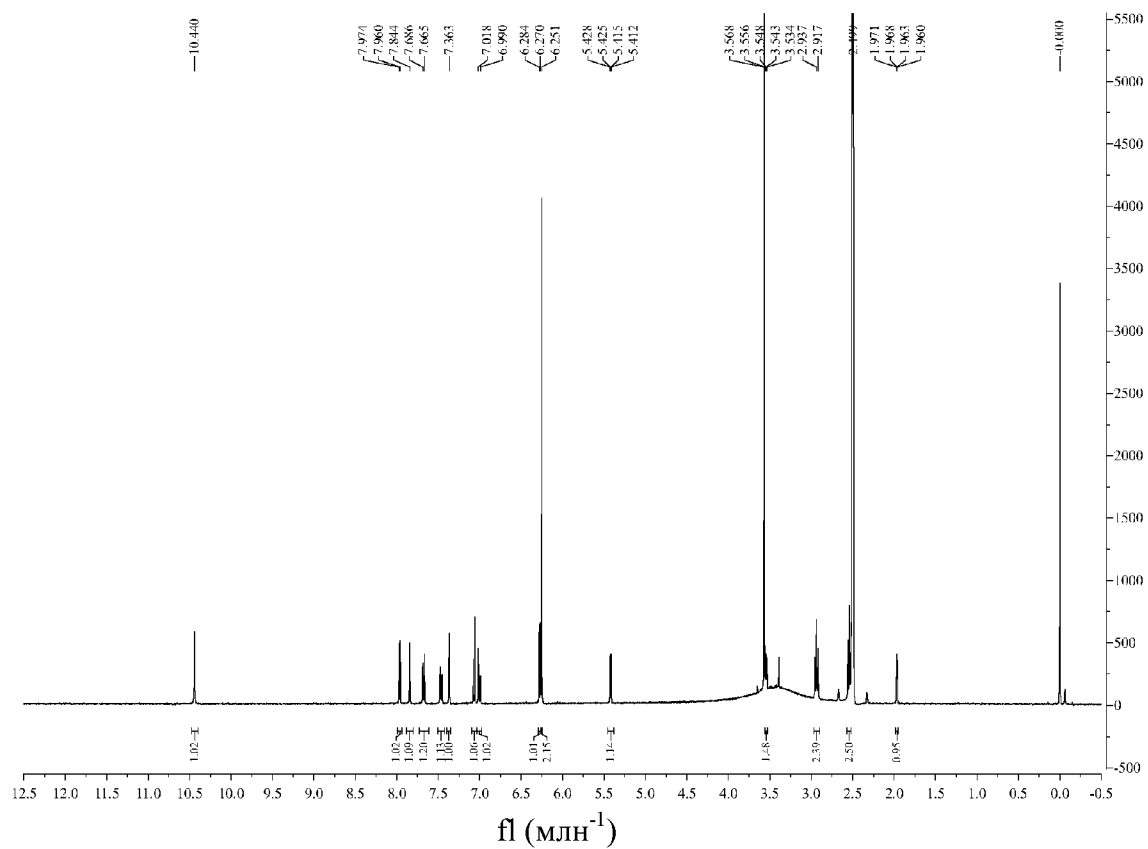
Фиг. 33



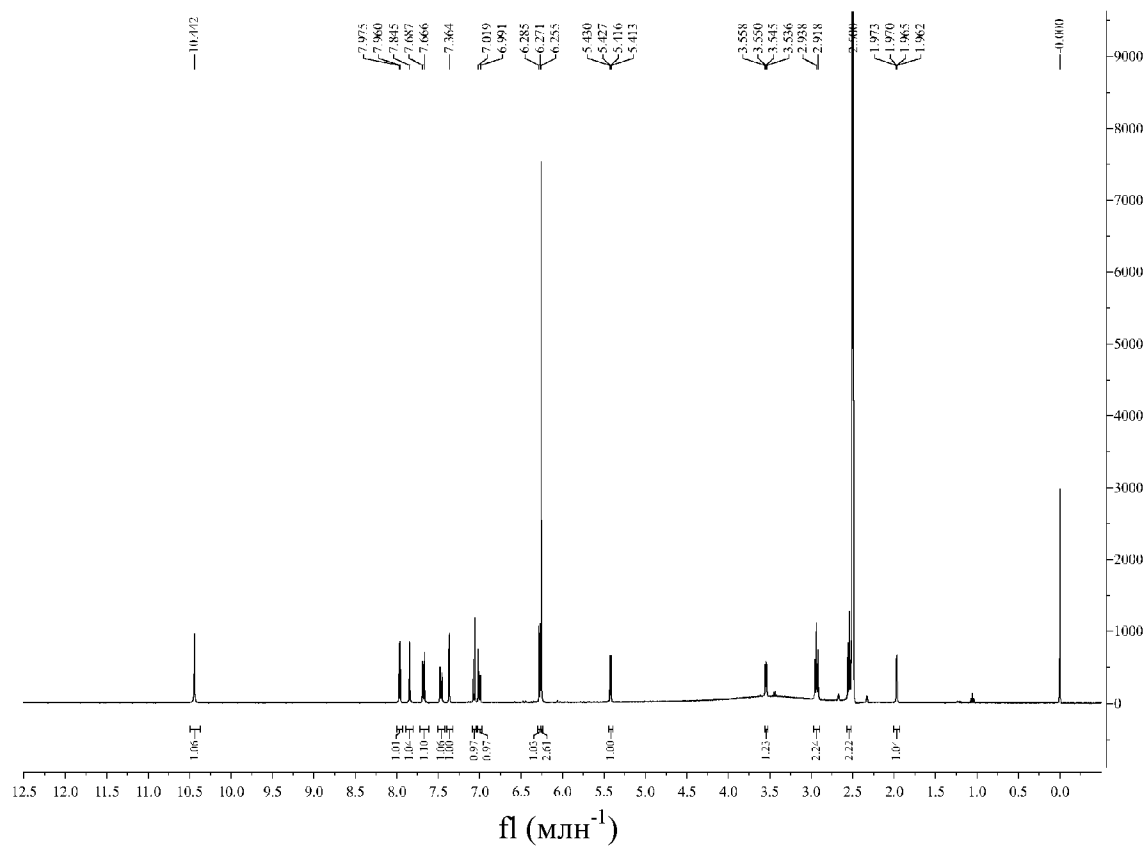
Фиг. 34



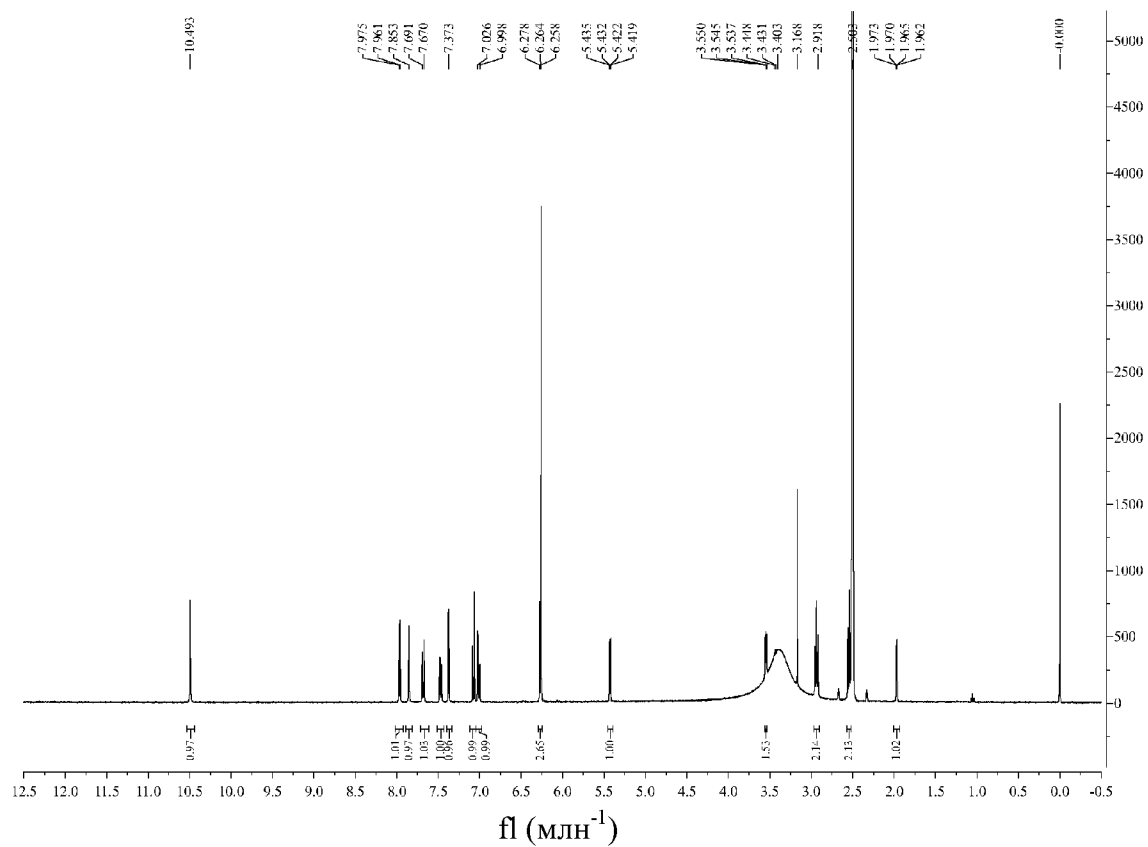
Фиг. 35



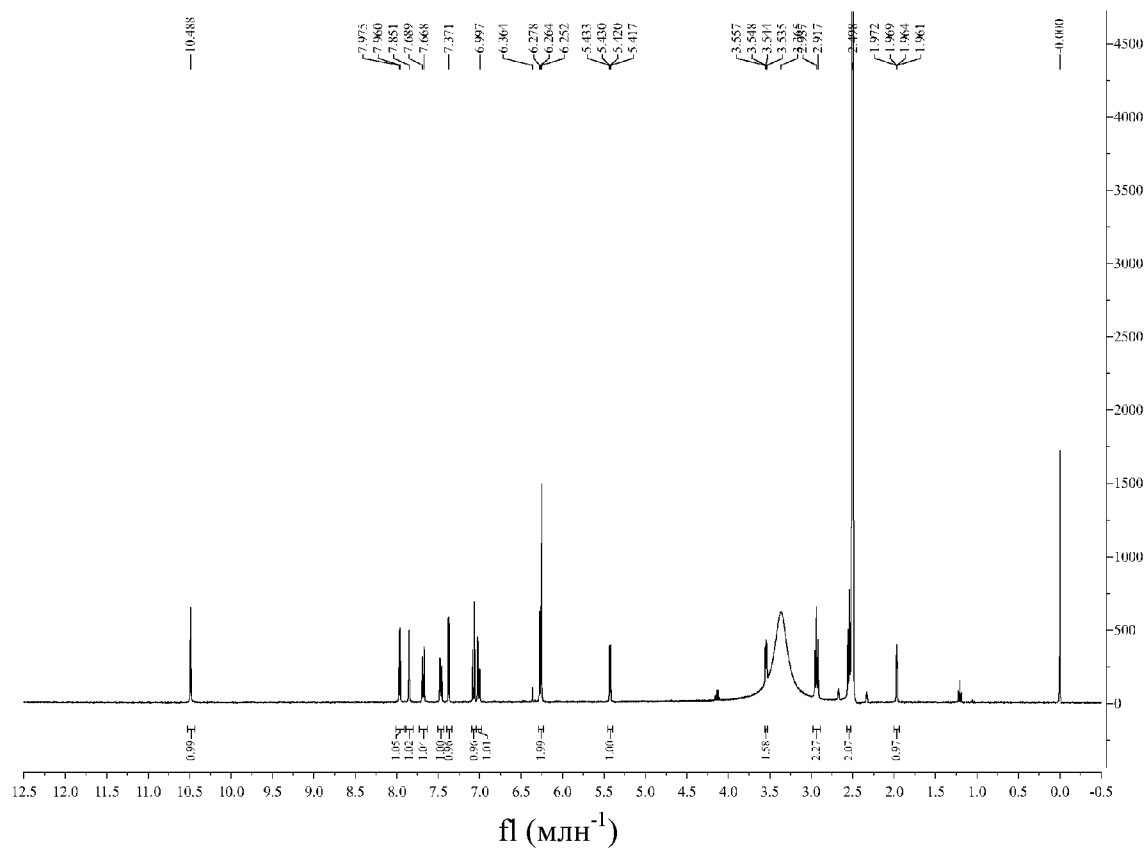
Фиг. 36



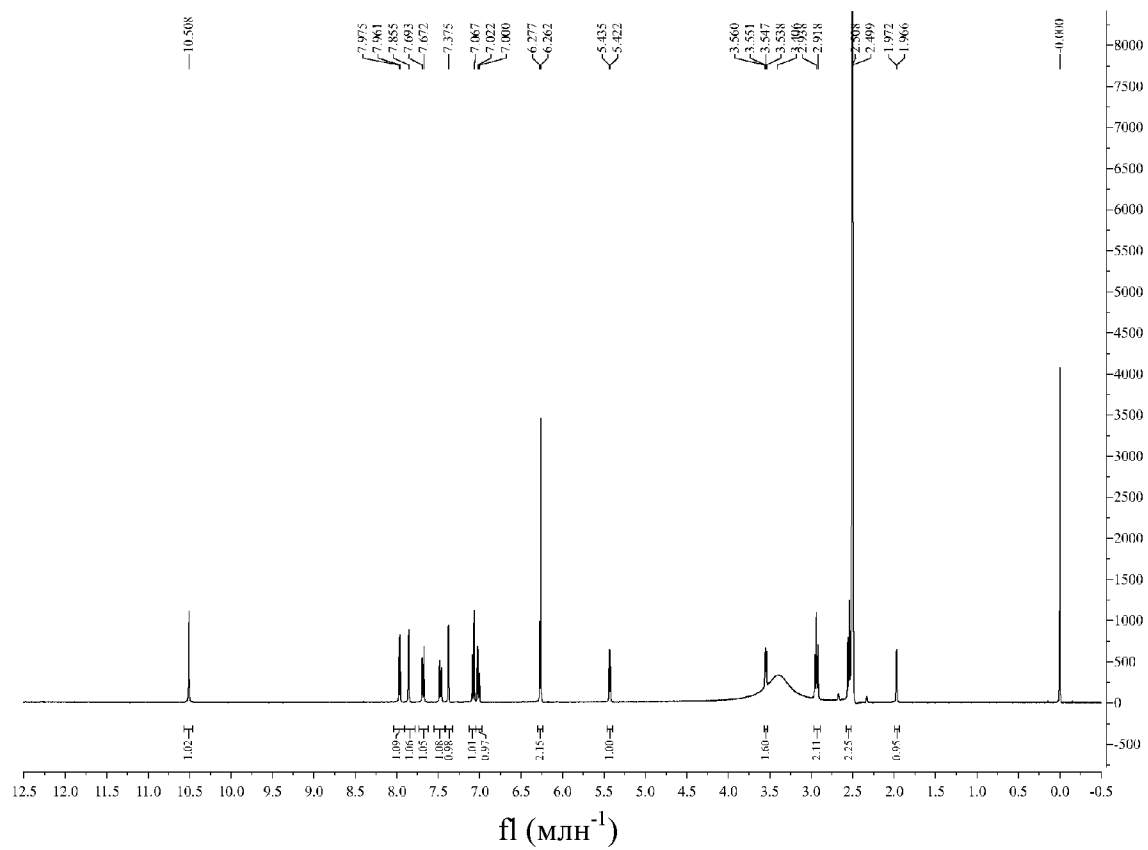
Фиг. 37



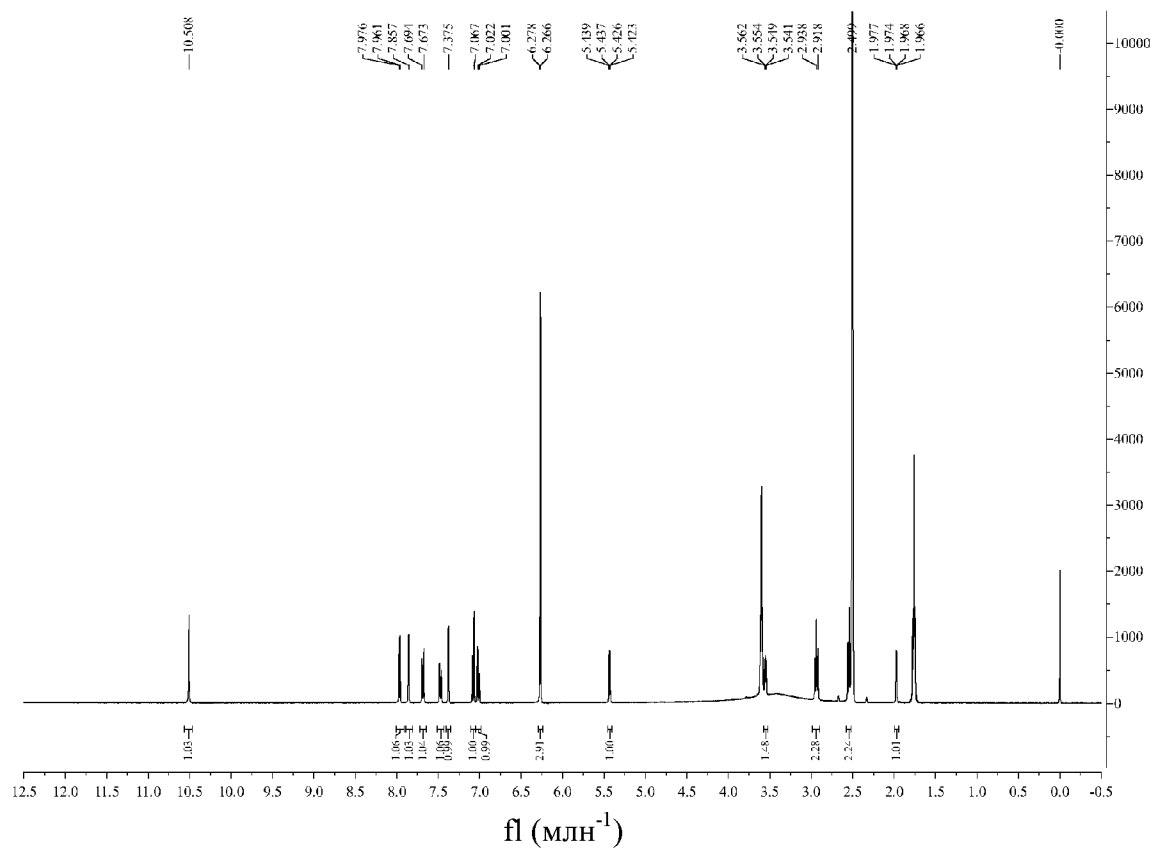
Фиг. 38



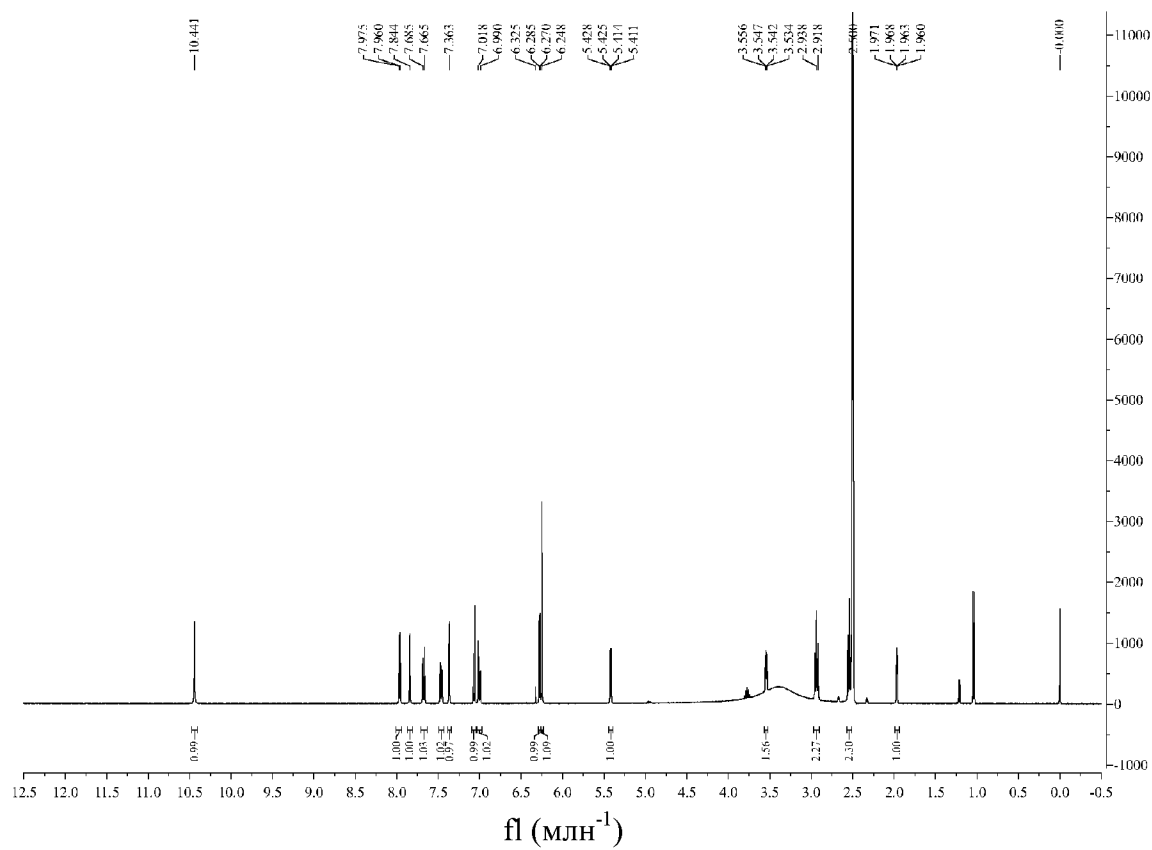
Фиг. 39



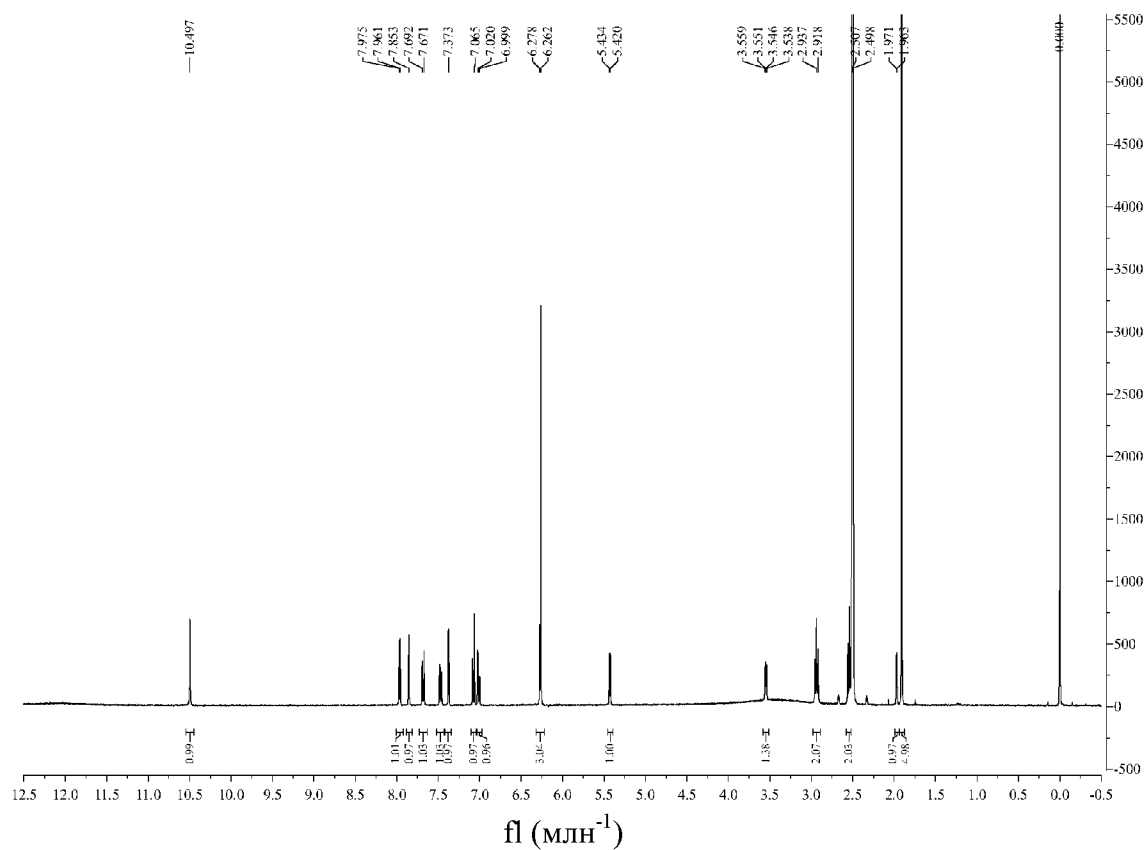
Фиг. 40



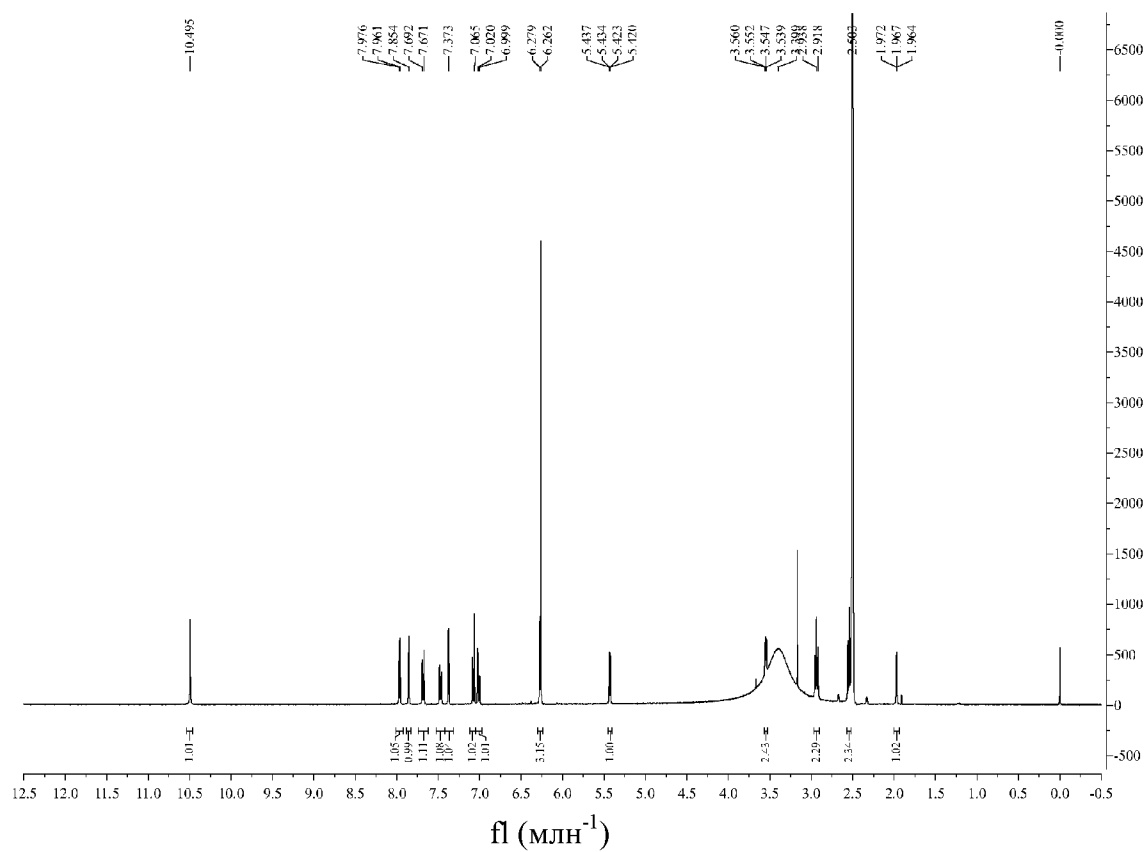
Фиг. 41



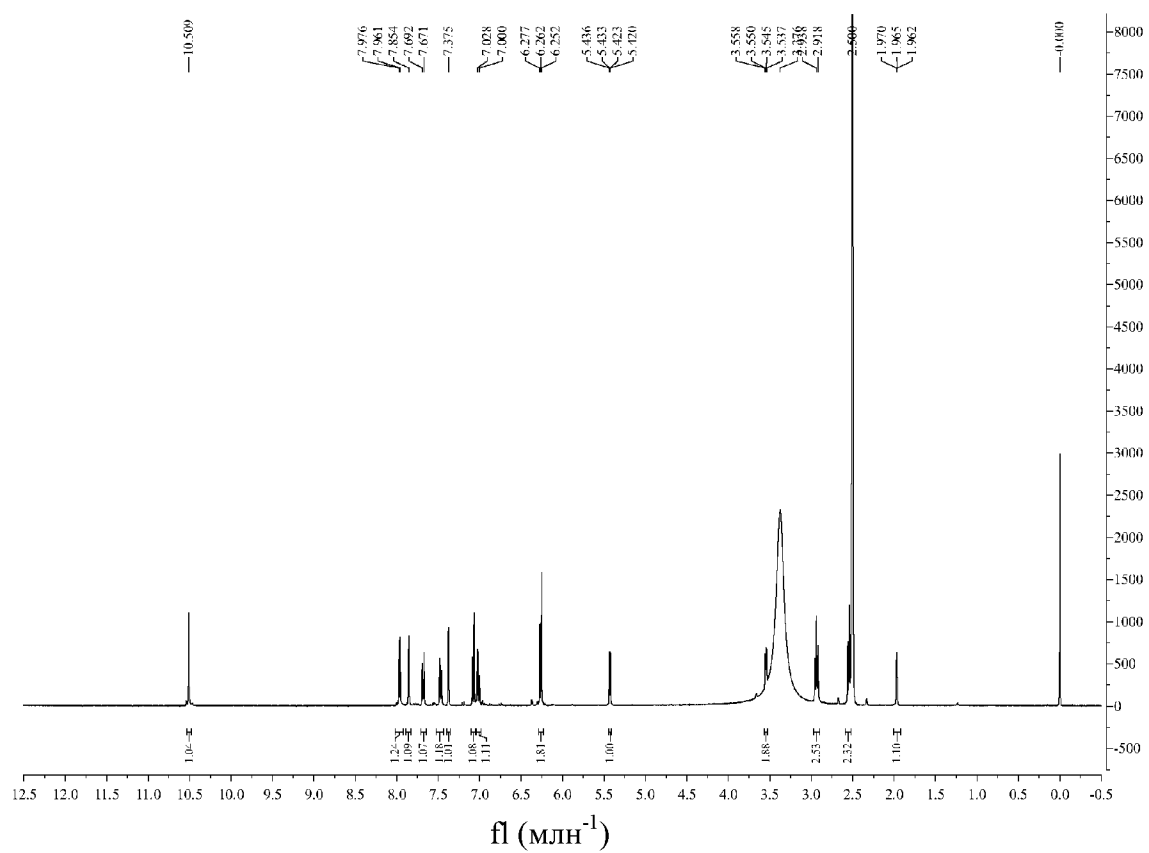
Фиг. 42



Фиг. 43



Фиг. 44



Фиг. 45

