

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(11) **039713**

(13) **B1**

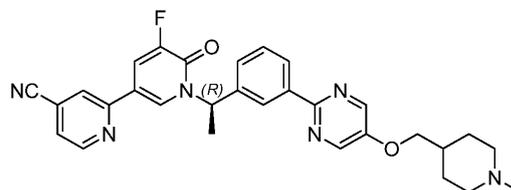
(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

- |                                       |               |                               |
|---------------------------------------|---------------|-------------------------------|
| (45) Дата публикации и выдачи патента | (51) Int. Cl. | <i>C07D 213/00</i> (2006.01)  |
| <b>2022.03.03</b>                     |               | <i>C07D 401/00</i> (2006.01)  |
| (21) Номер заявки                     |               | <i>C07D 401/14</i> (2006.01)  |
| <b>202092558</b>                      |               | <i>C07D 403/14</i> (2006.01)  |
| (22) Дата подачи заявки               |               | <i>A61K 31/505</i> (2006.01)  |
| <b>2019.04.26</b>                     |               | <i>A61K 31/435</i> (2006.01)  |
|                                       |               | <i>A61K 31/4412</i> (2006.01) |
|                                       |               | <i>A61K 31/444</i> (2006.01)  |
|                                       |               | <i>A61P 35/00</i> (2006.01)   |

(54) **КРИСТАЛЛИЧЕСКАЯ ФОРМА ИНГИБИТОРА С-МЕТ, ЕГО СОЛЕВАЯ ФОРМА И СПОСОБ ИХ ПОЛУЧЕНИЯ**

- |   |                   |
|---|-------------------|
| (31) <b>201810387693.2</b>  | (56) CN-A-1930126 |
| (32) <b>2018.04.26</b>  |                   |
| (33) CN   |                   |
| (43) <b>2021.02.28</b>  |                   |
| (86) <b>PCT/CN2019/084515</b>   |                   |
| (87) <b>WO 2019/206268 2019.10.31</b>   |                   |
| (71)(73) Заявитель и патентовладелец:<br><b>ФУЦЗЯНЬ КОСАНТЕР<br/>ФАРМАСЬЮТИКАЛ КО., ЛТД. (CN)</b>   |                   |
| (72) Изобретатель:<br><b>Сюй Сюнбинь, Ли Ган, Яо Тин, Ван<br/>Кунь, Ху Лихун, Дин Чарлз З. (CN)</b> |                   |
| (74) Представитель:<br><b>Носырева Е.Л. (RU)</b>  |                   |

(57) Раскрыты кристаллическая форма ингибитора с-МЕТ, его солевая форма и способ их получения. В частности, включено соединение, представленное формулой (I), и его солевая форма и кристаллическая форма, а также включено применение кристаллической формы и солевой формы для получения лекарственных препаратов, предназначенных для лечения видов рака.



(I)

**039713**  
**B1**

**039713**  
**B1**

Данная заявка испрашивает приоритет заявки на патент Китая № CN 201810387693.2, поданной 26 апреля 2018 г. Содержание указанной заявки на патент Китая включено в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

#### Область техники

Данная заявка относится к кристаллической форме ингибитора с-MET, к его солевой форме и к способу их получения, также в данную заявку включено применение кристаллической формы и солевой формы в изготовлении лекарственного препарата для лечения опухоли.

#### Уровень техники

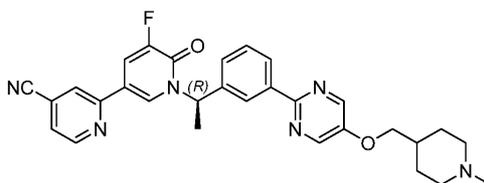
с-Met, кодированный протоонкогеном Met, представляет собой рецепторную тирозинкиназу с высокой аффинностью, относящуюся к подгруппе RON. Он представляет собой единственный известный рецептор фактора рассеяния или фактора роста гепатоцитов (HGF). HGF индуцирует фосфорилирование с-Met путем связывания с его внеклеточным доменом и рекрутирует различные интерстициальные факторы, такие как GAB1 (белок, связывающий рецептор фактора роста-1) и GAB2 (белок, связывающий рецептор фактора роста-2) в C-концевом многофункциональном домене, дополнительно притягивая молекулы, такие как SHP2, PI3K, для связывания в данной области, с активацией таким образом путей RAS/MAPK, PI3K/AKT, JAK/STAT и т.д., и регулирует таким образом рост, миграцию, пролиферацию и выживание клеток. Патологическое действие пути с-Met приводит к онкогенезу и метастазированию, и патологическая высокая экспрессия с-Met была обнаружена в различных человеческих злокачественных новообразованиях, таких как рак мочевого пузыря, рак желудка, рак легкого и рак молочной железы.

Кроме того, с-Met также связан с резистентностью в отношении лекарственного средства для нескольких ингибиторов киназы в опухолях. Взаимодействие между с-Met и различными мембранными рецепторами (взаимное влияние) составляет сложную сетевую систему. Взаимное влияние между с-Met и рецептором адгезии CD44 усиливает ответ сигнального пептида; взаимное влияние между с-Met и белковым рецептором в головном мозге активирует уровень независимого лиганда HGF в с-Met, а затем усиливает инвазивный эффект; взаимное влияние между с-Met и проапоптотическим рецептором FAS ускоряет апоптоз; взаимное влияние между с-Met и различными рецепторными тирозинкиназами, такими как EGFR, VEGFR, регулирует активацию между ними и таким образом воздействует на процесс ангиогенеза. Взаимное влияние с-Met и данных мембранных рецепторов стимулирует онкогенез, метастазирование и индуцирует резистентность в отношении лекарственного средства.

В настоящее время существует два типа противоопухолевых лекарственных средств, нацеленных на путь с-Met: один представляет собой моноклональное антитело к HGF или с-Met; другой представляет собой низкомолекулярный ингибитор с-Met. Низкомолекулярные ингибиторы, которые уже вошли в стадию клинических исследований или проходят исследования, включают PF-2341066, EMD-1214063, XL-184 и ARQ-197 и т.д. Среди них тепотиниб обладает наилучшей противоопухолевой активностью и оказывает сильное ингибирующее действие в отношении различных опухолевых клеток, в которых сверхэкспрессируется с-Met (активность в отношении фермента с-MET  $IC_{50}=3,67$  нМ, в отношении клеток МНСС97-Н  $IC_{50}=6,2$  нМ), и он вступил в фазу II клинических исследований. Тем не менее, несмотря на то, что тепотиниб обладает высокой селективностью, он все же имеет недостатки, заключающиеся в низкой метаболической стабильности и высокой скорости выведения *in vivo*. Следовательно, для компенсации дефицита срочно необходимы метаболически стабильные ингибиторы с-Met.

#### Содержание изобретения

В настоящем изобретении предусмотрена кристаллическая форма А соединения, представленного формулой (I), при этом ее порошковая рентгеновская дифрактограмма имеет характеристические дифракционные пики при следующих значениях угла  $2\theta$ :  $4,54\pm 0,2^\circ$ ,  $13,70\pm 0,2^\circ$ ,  $17,84\pm 0,2^\circ$ ,  $21,24\pm 0,2^\circ$  и  $26,62\pm 0,2^\circ$ .



(I)

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения порошковая рентгеновская дифрактограмма кристаллической формы А содержит характеристические дифракционные пики при следующих значениях угла  $2\theta$ :

$4,54\pm 0,2^\circ$ ,  $13,70\pm 0,2^\circ$ ,  $15,14\pm 0,2^\circ$ ,  $17,84\pm 0,2^\circ$ ,  $18,40\pm 0,2^\circ$ ,  $21,24\pm 0,2^\circ$ ,  $24,06\pm 0,2^\circ$ ,  $26,62\pm 0,2^\circ$  и  $27,44\pm 0,2^\circ$ .

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения порошковая рентгеновская дифрактограмма кристаллической формы А показана на фиг. 1.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения порошковая рентгеновская дифрактограмма кристаллической формы А содержит характеристические дифракционные пики при сле-

дующих значениях угла  $2\theta$ : 4,538, 9,021, 11,300, 13,699, 15,141, 16,640, 17,840, 18,399, 19,039, 19,620, 20,441, 21,241, 22,598, 24,060, 24,962, 25,660, 26,621, 27,440, 28,258, 29,159, 31,081, 32,465, 34,780, 35,400, 36,920 и 38,760°.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения аналитические данные порошковой рентгеновской дифрактограммы кристаллической формы А показаны в табл. 1.

Таблица 1. Аналитические данные дифрактограммы XRPD кристаллической формы А соединения, представленного формулой (I)

№	Угол $2\theta$ (°)	Межплоскостное расстояние d (Å)	Относительная интенсивность (%)	№	Угол $2\theta$ (°)	Межплоскостное расстояние d (Å)	Относительная интенсивность (%)
1	4,538	19,4556	100	14	24,060	3,6958	68,4
2	9,021	9,7948	57,2	15	24,962	3,5643	16,0
3	11,300	7,8240	27,4	16	25,660	3,4688	13,3
4	13,699	6,4587	97,2	17	26,621	3,3459	95,9
5	15,141	5,8467	68,5	18	27,440	3,2478	66,2
6	16,640	5,3233	40,6	19	28,258	3,1556	16,6
7	17,840	4,9679	72,6	20	29,159	3,0601	20,2
8	18,399	4,8181	68,8	21	31,081	2,8751	18,4
9	19,039	4,6576	55,8	22	32,465	2,7556	1,5
10	19,620	4,5210	32,1	23	34,780	2,5773	14,7
11	20,441	4,3412	26,7	24	35,400	2,5336	9,5
12	21,241	4,1796	74,7	25	36,920	2,4327	6,5
13	22,598	3,9314	23,1	26	38,760	2,3214	12,1

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения кристаллическая форма А также может характеризоваться дифрактограммой DSC с температурой начала плавления, составляющей 171,90°C, и пиковой температурой, составляющей 173,09°C.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения кривая дифференциальной сканирующей калориметрии кристаллической формы А имеет эндотермический пик при 171,90±3°C.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения кривая дифференциальной сканирующей калориметрии кристаллической формы А показана на фиг. 2.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения кристаллическая форма А может характеризоваться термограммой TGA, демонстрирующей потерю веса, составляющую 0,1870%, возникающую при 223,23°C, последующую потерю веса, составляющую 10,03%, возникающую при 305,06°C, и значительную потерю веса, возникающую после 205,06°C.

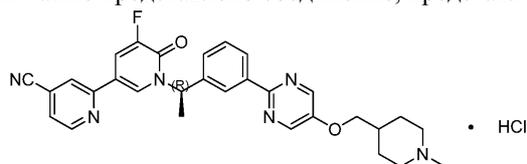
В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения кривая термогравиметрического анализа кристаллической формы А демонстрирует потерю веса, составляющую 0,1870%, возникающую при 223,23±3°C, и потерю веса, составляющую 10,22%, возникающую при 305,06±3°C.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения кривая термогравиметрического анализа кристаллической формы А показана на фиг. 3.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения инфракрасная спектрограмма кристаллической формы А имеет характеристические пики поглощения при:

3046  $\text{cm}^{-1} \pm 5 \text{ cm}^{-1}$ , 2938  $\text{cm}^{-1} \pm 5 \text{ cm}^{-1}$ , 2914  $\text{cm}^{-1} \pm 5 \text{ cm}^{-1}$ , 2884  $\text{cm}^{-1} \pm 5 \text{ cm}^{-1}$ ,  
 2849  $\text{cm}^{-1} \pm 5 \text{ cm}^{-1}$ , 2780  $\text{cm}^{-1} \pm 5 \text{ cm}^{-1}$ , 2734  $\text{cm}^{-1} \pm 5 \text{ cm}^{-1}$ , 2679  $\text{cm}^{-1} \pm 5 \text{ cm}^{-1}$ ,  
 2242  $\text{cm}^{-1} \pm 5 \text{ cm}^{-1}$ , 1732  $\text{cm}^{-1} \pm 2 \text{ cm}^{-1}$ , 1716  $\text{cm}^{-1} \pm 2 \text{ cm}^{-1}$ , 1671  $\text{cm}^{-1} \pm 2 \text{ cm}^{-1}$ ,  
 1631  $\text{cm}^{-1} \pm 2 \text{ cm}^{-1}$ , 1595  $\text{cm}^{-1} \pm 2 \text{ cm}^{-1}$ , 1556  $\text{cm}^{-1} \pm 2 \text{ cm}^{-1}$ , 1547  $\text{cm}^{-1} \pm 2 \text{ cm}^{-1}$ ,  
 1507  $\text{cm}^{-1} \pm 2 \text{ cm}^{-1}$ , 1482  $\text{cm}^{-1} \pm 2 \text{ cm}^{-1}$ , 1387  $\text{cm}^{-1} \pm 2 \text{ cm}^{-1}$ , 1070  $\text{cm}^{-1} \pm 2 \text{ cm}^{-1}$  и  
 1196  $\text{cm}^{-1} \pm 2 \text{ cm}^{-1}$ .

В настоящем изобретении также представлено соединение, представленное формулой (II).



(II)

В настоящем изобретении также предусмотрена кристаллическая форма В соединения, представленного формулой (II), при этом ее порошковая рентгеновская дифрактограмма имеет характеристические дифракционные пики при следующих значениях угла  $2\theta$ : 4,34±0,2°, 12,99±0,2°, 15,35±0,2° и 25,50±0,2°.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения порошковая рентгеновская ди-

фрактограмма кристаллической формы В содержит характеристические дифракционные пики при следующих значениях угла  $2\theta$ :  $4,34\pm 0,2^\circ$ ,  $6,50\pm 0,2^\circ$ ,  $8,65\pm 0,2^\circ$ ,  $10,82\pm 0,2^\circ$ ,  $12,99\pm 0,2^\circ$ ,  $15,35\pm 0,2^\circ$ ,  $17,96\pm 0,2^\circ$  и  $25,50\pm 0,2^\circ$ .

Таблица 2. Аналитические данные дифрактограммы XRPD кристаллической формы В соединения, представленного формулой (II)

№	Угол $2\theta$ ( $^\circ$ )	Межплоскостное расстояние d (Å)	Относительная интенсивность (%)	№	Угол $2\theta$ ( $^\circ$ )	Межплоскостное расстояние d (Å)	Относительная интенсивность (%)
1	4,335	20,367	100	17	22,752	3,9052	6,8
2	6,502	13,5825	44	18	23,907	3,7191	8,3
3	8,645	10,2196	54,7	19	24,407	3,644	5,3
4	10,816	8,1731	34,4	20	25,499	3,4903	71,4
5	12,986	6,8119	96,2	21	26,248	3,3924	8,9
6	15,349	5,7678	58,4	22	26,886	3,3133	21
7	15,782	5,6105	23,5	23	27,725	3,2149	13,8
8	16,109	5,4974	9,9	24	28,004	3,1836	11,2
9	17,955	4,9361	51,3	25	28,653	3,1129	22,9
10	18,447	4,8056	23,3	26	29,127	3,0633	16,6
11	19,057	4,6533	21,8	27	29,779	2,9977	5,6
12	19,534	4,5406	38,3	28	30,432	2,9348	14,5
13	19,816	4,4767	33,3	29	31,064	2,8766	11,6
14	20,531	4,3224	5,1	30	33,734	2,6548	6,1
15	21,16	4,1953	19	31	37,02	2,4263	4,7
16	22,265	3,9895	49,9				

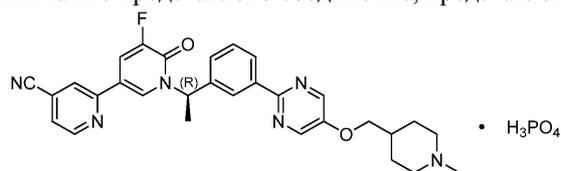
В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения кривая дифференциальной сканирующей калориметрии кристаллической формы В имеет эндотермические пики при  $43,98\pm 3^\circ\text{C}$  и  $219,64\pm 3^\circ\text{C}$ .

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения кривая дифференциальной сканирующей калориметрии кристаллической формы В показана на фиг. 5.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения кривая термогравиметрического анализа кристаллической формы В демонстрирует потерю веса, составляющую 0,5270%, возникающую при  $73,64\pm 3^\circ\text{C}$ , и потерю веса, составляющую 1,542%, возникающую при  $230,90\pm 3^\circ\text{C}$ .

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения кривая термогравиметрического анализа кристаллической формы В показана на фиг. 6.

В настоящем изобретении также представлено соединение, представленное формулой (III).



(III)

В настоящем изобретении также предусмотрена кристаллическая форма С соединения, представленного формулой (III), при этом ее порошковая рентгеновская дифрактограмма имеет характеристические дифракционные пики при следующих значениях угла  $2\theta$ :  $6,94\pm 0,2^\circ$ ,  $19,08\pm 0,2^\circ$ ,  $21,05\pm 0,2^\circ$  и  $24,73\pm 0,2^\circ$ .

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения порошковая рентгеновская дифрактограмма кристаллической формы С содержит характеристические дифракционные пики при следующих значениях угла  $2\theta$ :  $6,94\pm 0,2^\circ$ ,  $9,94\pm 0,2^\circ$ ,  $17,29\pm 0,2^\circ$ ,  $18,04\pm 0,2^\circ$ ,  $19,08\pm 0,2^\circ$ ,  $21,05\pm 0,2^\circ$ ,  $24,12\pm 0,2^\circ$  и  $24,73\pm 0,2^\circ$ .

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения порошковая рентгеновская дифрактограмма кристаллической формы С показана на фиг. 7.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения порошковая рентгеновская дифрактограмма кристаллической формы С содержит характеристические дифракционные пики при следующих значениях угла  $2\theta$ :  $6,94$ ,  $9,94$ ,  $13,36$ ,  $15,271$ ,  $16,83$ ,  $17,286$ ,  $18,038$ ,  $18,767$ ,  $19,082$ ,  $20,605$ ,  $21,054^\circ$ ,  $21,884$ ,  $22,615$ ,  $23,228$ ,  $24,118$ ,  $24,728$ ,  $25,182$ ,  $25,813$ ,  $28,182$ ,  $30,757$ ,  $31,498$ ,  $33,318$ ,  $33,77$  и  $34,595^\circ$ .

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения аналитические данные порошковой рентгеновской дифрактограммы кристаллической формы С показаны в табл.3.

Таблица 3. Аналитические данные дифрактограммы XRPD кристаллической формы С соединения, представленного формулой (III)

№	Угол 2θ (°)	Межплоскостное расстояние d (Å)	Относительная интенсивность (%)	№	Угол 2θ (°)	Межплоскостное расстояние d (Å)	Относительная интенсивность (%)
1	6,94	12,7261	100	13	22,615	3,9285	8,8
2	9,94	8,8916	43,5	14	23,228	3,8263	25,7
3	13,36	6,6218	20,6	15	24,118	3,687	33,7
4	15,271	5,7972	16,9	16	24,728	3,5974	53,8
5	16,83	5,2636	18,7	17	25,182	3,5335	28,4
6	17,286	5,1258	47,6	18	25,813	3,4485	17
7	18,038	4,9136	49	19	28,182	3,1638	12,3
8	18,767	4,7244	35,5	20	30,757	2,9046	5,3
9	19,082	4,6471	67,4	21	31,498	2,838	7,3
10	20,605	4,3069	9,3	22	33,318	2,687	3,3
11	21,054	4,216	52	23	33,77	2,652	6,4
12	21,884	4,058	5,5	24	34,595	2,5907	8,7

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения кривая дифференциальной сканирующей калориметрии кристаллической формы С имеет эндотермический пик при 198,16±3°C.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения кривая дифференциальной сканирующей калориметрии кристаллической формы С показана на фиг. 8.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения кривая термогравиметрического анализа кристаллической формы С демонстрирует потерю веса, составляющую 0,4541%, возникающую при 204,73±3°C.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения кривая термогравиметрического анализа кристаллической формы С показана на фиг. 9.

В настоящем изобретении также представлено применение соединений или кристаллических форм в изготовлении лекарственного препарата для лечения рака.

В настоящем изобретении также представлены соединения или кристаллические формы для лечения рака.

В настоящем изобретении также представлен способ лечения рака путем введения соединений или кристаллических форм.

В настоящем изобретении термин "рак" предпочтительно означает рак печени.

Технический эффект.

Способ получения солевых форм и кристаллических форм соединения, представленного формулой (I), по настоящему изобретению является простым, и кристаллические формы являются относительно стабильными при воздействии высокой температуры и высокой влажности и являются удобными для получения препаратов.

Определения и объяснения.

Если не указано иное, предполагается, что следующие термины и выражения, используемые в настоящем документе, имеют следующие значения. Конкретный термин или выражение при отсутствии точного определения не следует считать неопределенными или неясными, а следует понимать в соответствии с общепринятым значением. Если в данном документе встречается торговое название, то предполагается, что оно относится к соответствующему продукту или его активному ингредиенту.

Промежуточные соединения по настоящему изобретению могут быть получены с помощью различных способов синтеза, известных специалисту в данной области техники, в том числе вариантов осуществления, описанных ниже, вариантов осуществления, образованных путем объединения вариантов осуществления, описанных ниже, с другими способами химического синтеза, и эквивалентных альтернатив, общеизвестных специалисту в данной области техники. Предпочтительные варианты осуществления включают без ограничения варианты осуществления настоящего изобретения.

Химические реакции в вариантах осуществления настоящего изобретения осуществляют в подходящем растворителе, и растворитель должен быть подходящим для химического изменения, и с применением необходимых реагентов и материалов в соответствии с настоящим изобретением. С целью получения соединения по настоящему изобретению, специалистам в данной области техники иногда необходимо модифицировать или выбирать стадии синтеза или схемы реакций на основе существующих вариантов осуществления.

Настоящее изобретение будет конкретно описано ниже с помощью вариантов осуществления, но объем настоящего изобретения ими не ограничивается.

Все растворители, применяемые в настоящем изобретении, являются коммерчески доступными и могут непосредственно применяться без дополнительной очистки.

В настоящем изобретении используются следующие сокращения:

(R)-CB S: (3aR)-1-метил-3,3-дифенил-3a,4,5,6-тетрагидропирроло[1,2-c][1,3,2]оксазаборол;

DIEA: N,N-диизопропилэтиламин;  
 DMF: N,N-диметилформамид;  
 THF: тетрагидрофуран;  
 Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>: [1,1'-бис(дифенилфосфино)ферроцен]палладия дихлорид;  
 Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: бис(трифенилфосфин)палладия дихлорид.

Названия соединениям давали самостоятельно или с помощью программного обеспечения Chem-Draw®, а в случае коммерчески доступных соединений применяют их названия в соответствии с каталогом поставщика.

Способ анализа с помощью рентгеновского порошкового дифрактометра (XRPD) в настоящем изобретении.

Модель прибора: Рентгеновский дифрактометр D8 Advance от Bruker.

Способ обнаружения: для обнаружения XRPD применяли приблизительно 10-20 мг образца.

Подробные параметры XRPD были следующими:

рентгеновская трубка: Cu,  $k\alpha$ , ( $\lambda = 1,54056 \text{ \AA}$ );  
 напряжение на рентгеновской трубке: 40 кВ, сила тока на рентгеновской трубке: 40 мА;  
 щель расходимости: 0,60 мм;  
 щель детектора: 10,50 мм;  
 антирассеивающая щель: 7,10 мм;  
 диапазон сканирования: 3 или 4-40 град.;  
 размер шага: 0,02 град.;  
 время шага: 0,12 с;  
 Скорость вращения лотка для образцов: 15 об./мин.

Способ с применением дифференциального сканирующего калориметра (DSC) в настоящем изобретении.

Модель прибора: дифференциальный сканирующий калориметр TADSCQ2000.

Способ обнаружения: помещали 0,5-1 мг образца в алюминиевый тигель для DSC для проведения испытания в условиях 50 мл/мин. N<sub>2</sub> со скоростью нагревания 10°C/мин, образец нагревали от комнатной температуры (25°C) до 300 или 350°C.

Способ с применением термогравиметрического анализатора (TGA) в настоящем изобретении.

Модель прибора: термогравиметрический анализатор TAQ5000.

Способ обнаружения: помещали 2-5 мг образца в платиновый тигель для TGA для проведения испытания в условиях 25 мл/мин. N<sub>2</sub> со скоростью нагревания 10°C/мин, образец нагревали от комнатной температуры (25°C) до 300, 350°C или до потери веса 20%.

Анализатор динамической сорбции пара (DVS).

Модель прибора: DVS Advantage-1 (SMS).

Условия обнаружения: применяли приблизительно 10-15 мг образца для обнаружения посредством DVS.

Равновесие:  $dm/dt=0,01\%/мин$ : (время: 10 мин, наибольшее: 180 мин).

Высушивание: относительная влажность 0%, 120 мин.

Градиент относительной влажности (%) для проведения испытания: 10%.

Диапазон градиента относительной влажности (%) для проведения испытания: 0-90-0%.

Гигроскопичность оценивали с использованием шкалы в следующей табл.4.

Таблица 4. Шкала гигроскопичности

Шкала гигроскопичности	Гигроскопичное увеличение веса*
Расплывание	Поглощение достаточного количества воды для образования жидкости
Высокая гигроскопичность	$\Delta W\% \geq 15\%$
Средняя гигроскопичность	$15\% > \Delta W\% \geq 2\%$
Низкая гигроскопичность	$2\% > \Delta W\% \geq 0,2\%$
Отсутствующая или практически отсутствующая гигроскопичность	$\Delta W\% < 0,2\%$

\*Гигроскопичное увеличение веса при 25°C/относительной влажности 80%.

Способ для высокоэффективного жидкостного хроматографа (HPLC) в настоящем изобретении.

Модель прибора: высокоэффективный жидкостный хроматограф Agilent 1200.

Способ анализа является следующим.

Таблица 5. Способ анализа посредством HPLC  
для испытания на количество сопутствующих примесей

Прибор	Высокоэффективный жидкостный хроматограф Agilent 1200			
Колонка	Ascentis Express C18, 4,6 × 150 мм, 2,7 мкм (№94)			
Подвижная фаза А	0,1% водный раствор фосфорной кислоты			
Подвижная фаза В	Раствор ацетонитрила			
Расход	1,0 мл/мин.;			
Объем введения	5,0 мкл			
Длина волны детектора	220 нм/272 нм			
Температура колонки	40°С			
Растворитель	3/1 (об./об.) ацетонитрил:чистая вода			
Программа элюирования	градиентного	Длительность (мин.)	Подвижная фаза А (%)	Подвижная фаза В (%)
		0,00	95	5
		14,00	70	30
		20,00	65	35
		25,00	30	70
		28,00	10	90
		33,00	10	90
		33,01	95	5
		38,00	95	5

#### Краткое описание графических материалов

На фиг. 1 изображена XRPD кристаллической формы А соединения, представленного формулой (I).

На фиг. 2 изображена DSC кристаллической формы А соединения, представленного формулой (I).

На фиг. 3 изображена TGA кристаллической формы А соединения, представленного формулой (I).

На фиг. 4 изображена XRPD кристаллической формы В соединения, представленного формулой

(II).

На фиг. 5 изображена DSC кристаллической формы В соединения, представленного формулой (II).

На фиг. 6 изображена TGA кристаллической формы В соединения, представленного формулой (II).

На фиг. 7 изображена XRPD кристаллической формы С соединения, представленного формулой

(III).

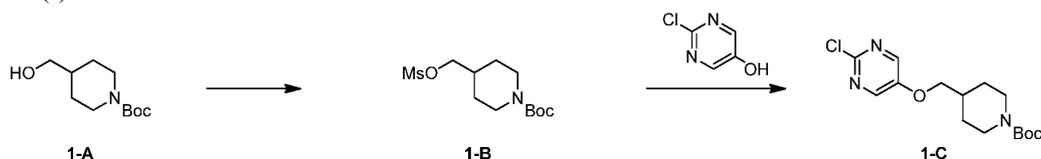
На фиг. 8 изображена DSC кристаллической формы С соединения, представленного формулой (III).

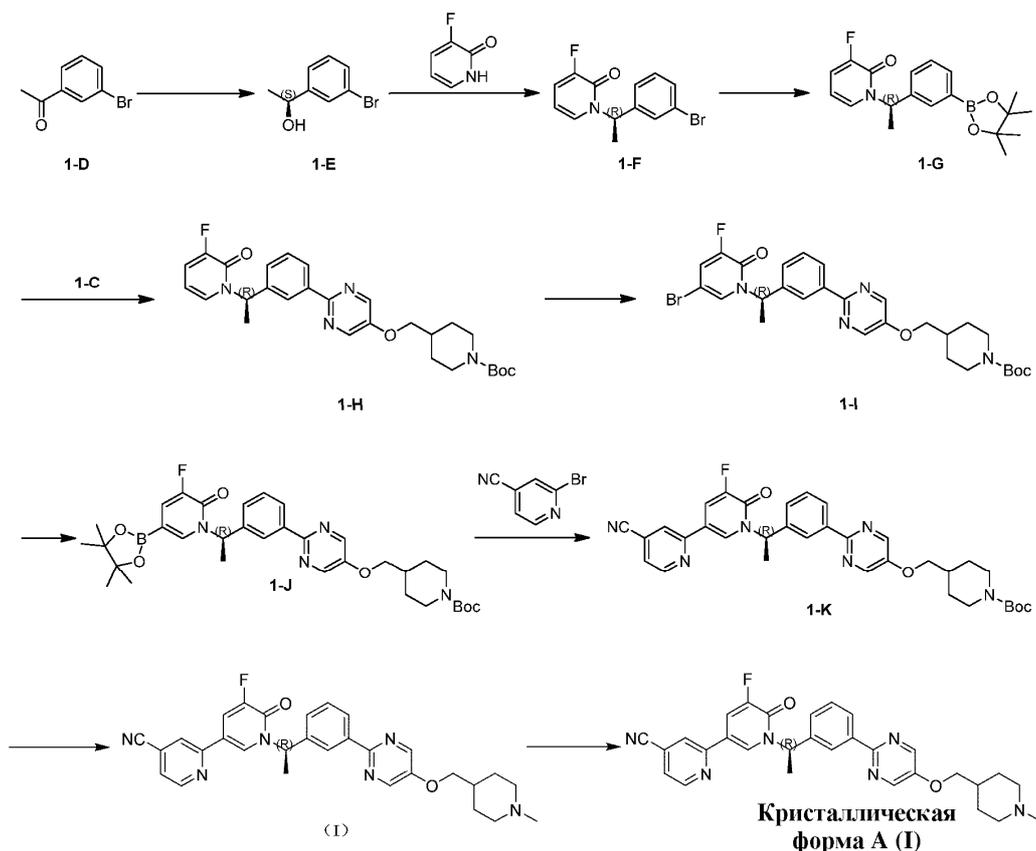
На фиг. 9 изображена TGA кристаллической формы С соединения, представленного формулой (III).

#### Подробное описание варианта осуществления

С целью лучшего понимания содержания настоящего изобретения следующие варианты осуществления дополнительно иллюстрируют настоящее изобретение, но настоящее изобретение не ограничивается ими.

Вариант осуществления 1. Получение кристаллической формы А соединения, представленного формулой (I).





#### Получение 1-B.

В атмосфере азота при  $-30^{\circ}\text{C}$  при перемешивании добавляли по каплям диизопропилэтиламин (2,9 кг, 22,67 моль) и метансульфонилхлорид (2,2 кг, 19,51 моль) в раствор соединения 1-A (4 кг, 25,19 моль) в дихлорметане (20 л). После завершения добавления смесь перемешивали при  $-10^{\circ}\text{C}$  в течение 1 ч. С помощью LCMS определяли завершение реакции. Реакционный раствор промывали насыщенным раствором хлорида аммония (12 л $\times$ 2), высушивали над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали с получением промежуточного соединения 1-B, которое применяли непосредственно на следующей стадии без дополнительной очистки. LCMS (ESI) масса/заряд: 316,0  $[\text{M}+\text{Na}]^{+}$ .

#### Получение 1-C.

В атмосфере азота добавляли карбонат калия (1,54 кг, 11,15 моль) в раствор промежуточного соединения 1-B (5,45 кг, 18,58 моль) и 2-хлорпиримидин-5-ола (2,42 кг, 18,56 моль) в DMF (25 л). Реакцию осуществляли при  $90^{\circ}\text{C}$  в течение 16 ч с помощью LCMS определяли завершение реакции. Реакционную смесь выливали в воду (75 л) и перемешивали в течение 16 ч, а затем фильтровали. Осадок на фильтре добавляли в воду (20 л) и перемешивали в течение 16 ч, фильтровали, а затем осадок на фильтре высушивали с получением промежуточного соединения 1-C. LCMS (ESI) масса/заряд: 328,1  $[\text{M}+\text{H}]^{+}$ ;  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm 1,21-1,36 (m, 2 H) 1,44-1,49 (m, 9 H) 1,81 (br d,  $J=12,10$  Гц, 2 H) 1,91-2,08 (m, 1H) 2,75 (br t,  $J=11,98$  Гц, 2 H) 3,90 (d,  $J=6,24$  Гц, 2 H) 4,01-4,37 (m, 2 H) 8,28 (s, 2 H).

#### Получение 1-E.

В атмосфере азота при  $-30^{\circ}\text{C}$  добавляли раствор соединения 1-D (5 кг, 25,19 моль) в тетрагидрофуране (5 л) в смешанный раствор (R)-CBS (12,5 л, 1 моль/л) и комплекса боран-диметилсульфид (5 л, 10 моль/л). Реакцию осуществляли при  $-30^{\circ}\text{C}$  в течение 1 ч и с помощью LCMS определяли завершение реакции. В реакционный раствор добавляли по каплям метанол (10 л) для гашения реакции и затем концентрировали при пониженном давлении. К остатку добавляли этилацетат (2 л) и н-гексан (20). После растворения остатка добавляли хлористоводородную кислоту (10 л, 2 моль/л) и перемешивали в течение 1 ч, фильтровали и фильтрат промывали хлористоводородной кислотой (12 л $\times$ 3,2 моль/л) и насыщенным соевым раствором (15 л). Органический слой высушивали над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали с получением промежуточного соединения 1-E.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  ppm 1,31 (d,  $J=6,53$  Гц, 3 H), 4,61-4,84 (m, 1H), 5,30 (d,  $J=4,39$  Гц, 1H), 7,25-7,31 (m, 1H), 7,31-7,37 (m, 1 H), 7,41 (brd,  $J=7,65$  Гц, 1H), 7,53 (s, 1H).

#### Получение 1-F.

В атмосфере азота последовательно добавляли 3-фтор-1H-пиридин-2-он (723,39 г, 6,4 моль), три-н-бутилфосфин (1,39 кг, 6,88 моль) и 1,1'-(азодикарбонил)дипиперидин (1,74 кг, 6,89 моль) в раствор промежуточного соединения 1-E (1,2 кг, 5,97 моль) в толуоле (30 л). Реакционный раствор нагревали до

90°C и реакцию осуществляли в течение 2 ч, после чего с помощью LCMS определяли завершение реакции. Реакционный раствор охлаждали до комнатной температуры и центрифугировали, фильтрат промывали хлористоводородной кислотой (9 л×2,4 моль/л) и концентрировали при пониженном давлении. Остаток добавляли в метил-трет-бутиловый эфир (12 л). После растворения остатка смесь промывали отдельно хлористоводородной кислотой (9 л×3,4 моль/л) и насыщенным солевым раствором (9 л×2). Органическую фазу высушивали над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. К остатку добавляли н-гексан (10 л) и смесь перемешивали в течение 16 ч, а затем фильтровали. Осадок на фильтре высушивали с получением промежуточного соединения 1-F. LCMS (ESI) масса/заряд: 297,9 [M+H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 1,74 (d, J=7,09 Гц, 3 H), 6,10 (td, J=7,24, 4,58 Гц, 1H), 6,46 (q, J=7,01 Гц, 1H), 6,95 (dt, J=7,09, 1,53 Гц, 1H), 7,08 (ddd, J=9,20, 7,43, 1,71 Гц, 1 H), 7,22-7,32 (m, 2 H), 7,43-7,53 (m, 2 H).

Получение 1-G.

В атмосфере азота нагревали раствор промежуточного соединения 1-F (2 кг, 6,75 моль), бис(пинаколато)дибора (1,89 кг, 7,43 моль), бис(трифенилфосфин)палладия дихлорида (48,51 г, 67,54 ммоль) и ацетата калия (1,34 кг, 13,51 моль) в 1,4-диоксане (20 л) нагревали до 90°C и реакцию осуществляли в течение 2 ч, после чего с помощью LCMS определяли завершение реакции. Реакционный раствор соединения 1-G применяли непосредственно на следующей стадии без дополнительной очистки.

Получение 1-H.

В атмосфере азота последовательно добавляли промежуточное соединение 1-C (2,44 кг, 7,43 моль), карбонат натрия (1,43 кг, 13,51 моль), Pd(dppf)Cl<sub>2</sub> (299,60 г, 405,22 ммоль) и воду (4 л) в реакционный раствор соединения 1-G. Реакционный раствор нагревали до 100°C и реакцию осуществляли в течение 16 ч. С помощью LCMS определяли завершение реакции. Реакционный раствор охлаждали до 80°C, а затем фильтровали. К фильтрату добавляли по каплям воду (12 л) и перемешивали в течение 16 ч, а затем фильтровали. Осадок на фильтре промывали водой, высушивали и к нему добавляли метил-трет-бутиловый эфир (35 л) и ацетон (1 л), и перемешивали в течение 16 ч. Смесь фильтровали и осадок на фильтре собирали и высушивали с получением промежуточного соединения 1-H. LCMS (ESI) масса/заряд: 531,1 [M+Na]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 1,10-1,26 (m, 2H) 1,40 (s, 9H) 1,77 (brd, J=7,15 Гц, 5H) 1,97 (brd, J=3,64 Гц, 1H) 2,63-2,90 (m, 2H) 3,88-4,03 (m, 2H) 4,06 (d, J=6,40 Гц, 2H), 6,17-6,36 (m, 2H), 7,31-7,63 (m, 4H), 8,17-8,30 (m, 2H), 8,64 (s, 2H).

Получение 1-I.

В атмосфере азота при 30°C добавляли 1,3-дибром-5,5-диметил-имидазолин-2,4-дион (1 кг, 3,5 моль) в раствор промежуточного соединения 1-H (2,63 кг, 5,17 моль) в DMF (27 л), реакцию осуществляли при 30°C в течение 1 ч, после чего с помощью LCMS определяли завершение реакции. В реакционный раствор добавляли по каплям воду (16,2 л) и перемешивали в течение 16 ч, а затем фильтровали. Осадок на фильтре промывали водой и высушивали, а затем добавляли в ацетон (17,6 л). Смесь нагревали с обратным холодильником и перемешивали в течение 1 ч, затем добавляли по каплям воду (12 л) и перемешивали в течение 16 ч. Смесь фильтровали и осадок на фильтре высушивали с получением промежуточного соединения 1-I. LCMS (ESI) масса/заряд: 611,1 [M+Na]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 1,10-1,27 (m, 2H), 1,40 (s, 9H), 1,71-1,87 (m, 5H), 1,93-2,06 (m, 1H), 2,67-2,85 (m, 2H), 3,99 (brd, J=11,67 Гц, 2H), 4,07 (brd, J=6,27 Гц, 2H), 6,23 (q, J=6,86 Гц, 1H), 7,42-7,57 (m, 2H), 7,71 (dd, J=9,29, 1,76 Гц, 1H), 7,85 (s, 1H), 8,18-8,30 (m, 2H), 8,65 (s, 2H).

Получение 1-J.

В атмосфере азота нагревали раствор промежуточного соединения 1-I (2,1 кг, 3,58 моль), бис(пинаколато)дибора (1,82 кг, 7,17 моль), бис(трифенилфосфин)палладия дихлорида (127,09 г, 110 ммоль) и ацетата калия (719,68 кг, 7,16 моль) в 1,2-диметоксиэтаноле (21 л) до 85°C и реакцию осуществляли в течение 2 ч, после чего с помощью LCMS определяли завершение реакции. Реакционный раствор соединения 1-K применяли непосредственно на следующей стадии без дополнительной очистки.

Получение 1-K.

В атмосфере азота в реакционный раствор соединения 1-J добавляли 2-бромпиридин-4-карбонитрил (707 г, 3,86 моль), карбонат натрия (741 г, 6,99 моль), тетраakis(трифенилфосфин)палладий (163 г, 141 ммоль) и воду (4,2 л). Реакционный раствор нагревали до 85°C и реакцию осуществляли в течение 16 ч. С помощью LCMS определяли завершение реакции. После охлаждения реакционного раствора до 50°C в реакционный раствор добавляли по каплям воду (12,6 л) и перемешивали в течение 16 ч, а затем фильтровали. Осадок на фильтре высушивали, а затем суспендировали путем добавления смешанного растворителя изопропанол:вод=30:1 за 3 раза. Твердое вещество собирали и высушивали с получением промежуточного соединения 1-K. LCMS (ESI) масса/заряд: 633,2 [M+Na]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 1,09-1,26 (m, 2H), 1,40 (s, 9H), 1,76 (brd, J=11,17 Гц, 2H), 1,91 (d, J=7,15 Гц, 3H), 1,93-2,05 (m, 1H), 2,57-2,92 (m, 2H) 3,98 (brd, J=10,92 Гц, 2H), 4,05 (d, J=6,40 Гц, 2H), 6,35 (q, J=7,03 Гц, 1H), 7,47-7,56 (m, 2H), 7,73 (dd, J=5,02, 1,00 Гц, 1H), 8,19 (dd, J=11,29, 2,13 Гц, 1H), 8,22-8,27 (m, 1H), 8,30 (s, 1H), 8,40 (s, 1H), 8,48 (s, 1H), 8,64 (s, 2H), 8,79 (d, J=5,02 Гц, 1H).

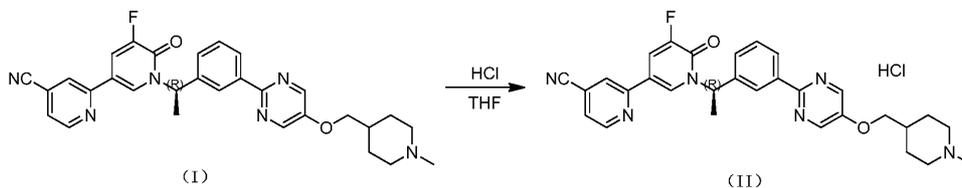
Получение соединения, представленного формулой (I).

В атмосфере азота добавляли порциями промежуточное соединение 1-К (2,4 кг, 3,93 моль) в раствор метансульфоновой кислоты (758,66 г, 7,89 моль) в метаноле (7,2 л) и реакционный раствор нагревали до 50°C и перемешивали в течение 2 ч. С помощью LCMS определяли, что промежуточное соединение 1-К было полностью израсходовано, а затем в реакционный раствор последовательно добавляли метанол (16,8 л), ацетат натрия (645,54 г, 7,87 моль), формальдегид (639,63 г, 7,88 моль, 37% водный раствор) и триацетоксиборгидрид натрия (1,25 кг, 5,91 моль). Реакционную смесь перемешивали в течение 16 ч и с помощью LCMS определяли завершение реакции. Реакционную смесь фильтровали, к фильтрату добавляли по каплям гидроксид аммония (3 л) и воду (4,5 л) и перемешивали в течение 6 ч, а затем фильтровали. Осадок на фильтре промывали водой и высушивали. Твердое вещество добавляли в тетрагидрофуран (13 л) и нагревали до 50°C. После растворения твердого вещества добавляли смолу на основе тиомочевины (650 г) и перемешивали при 50°C в течение 2 ч, а затем фильтровали. К фильтрату добавляли смолу на основе тиомочевины (650 г) и перемешивали при 50°C в течение 2 ч, а затем фильтровали. К фильтрату добавляли порошкообразный активированный уголь (150 г), затем нагревали до 66°C и перемешивали в течение 2 ч, фильтровали и фильтрат концентрировали при пониженном давлении. К остатку добавляли этилацетат (16,8 л) и смесь перемешивали с обратным холодильником до растворения твердого вещества. Смесь фильтровали в горячем состоянии и обеспечивали медленное охлаждение фильтрата до 20°C, а затем его фильтровали. Осадок на фильтре собирали и высушивали с получением соединения, представленного формулой (I). LCMS (ESI) масса/заряд: 525,2 [M+H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CD<sub>3</sub>OD) δ ppm 8,72 (d, J=5,01 Гц, 1H), 8,52 (s, 2H), 8,38 (s, 1H), 8,24-8,33 (m, 2H), 8,06-8,15 (m, 2H), 7,46-7,57 (m, 3H), 6,49 (q, J=7,17 Гц, 1H), 4,03 (d, J=5,75 Гц, 2H), 2,95 (brd, J=11,74 Гц, 2H), 2,31 (s, 3H), 2,04-2,14 (m, 2H), 1,96 (d, J=7,09 Гц, 3H), 1,80-1,92 (m, 3H), 1,40-1,58 (m, 2H).

Получение кристаллической формы А соединения, представленного формулой (I).

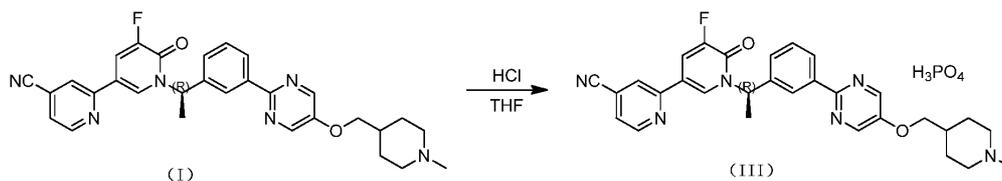
Добавляли соединение, представленное формулой (I) (850 г), добавляли в этилацетат (6,8 л), нагревали до температуры образования флегмы и перемешивали в течение 2 ч. Реакционный раствор медленно охлаждали до 35°C и перемешивали в течение 16 ч, фильтровали и осадок на фильтре собирали и высушивали с получением кристаллической формы А соединения, представленного формулой (I). <sup>1</sup>H NMR (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 1,23-1,40 (m, 2H), 1,65-1,78 (m, 3H), 1,79-1,89 (m, 2H), 1,91 (d, J=7,21 Гц, 3H), 2,15 (s, 3H), 2,78 (br d, J=11,25 Гц, 2H), 4,03 (d, J=5,99 Гц, 2H), 6,35 (d, J=7,09 Гц, 1H), 7,46-7,58 (m, 2H), 7,73 (dd, J=5,01, 1,22 Гц, 1H), 8,18 (dd, J=11,31, 2,14 Гц, 1H), 8,21-8,27 (m, 1 H), 8,30 (s, 1H), 8,40 (d, J=1,34 Гц, 1H), 8,48 (s, 1H), 8,63 (s, 2H), 8,79 (d, J=5,01 Гц, 1H).

Вариант осуществления 2. Получение кристаллической формы В соединения, представленного формулой (II).



Взвешивали 400 мг соединения, представленного формулой (I), и добавляли в колбу объемом 40 мл, добавляли 6 мл THF, полученный образец помещали на магнитную мешалку (40°C) и перемешивали в течение 5 мин для растворения, а затем медленно добавляли соответствующее количество хлористоводородной кислоты (молярное соотношение соединения, представленного формулой (I), и хлористоводородной кислоты составляло 1:1,05, хлористоводородную кислоту добавляли после разбавления с помощью THF) и наблюдали эффект. Образец помещали на магнитную мешалку (40°C) и перемешивали в течение ночи. Из реакционной смеси осаждалось белое твердое вещество. Раствор образца быстро центрифугировали и надосадочную жидкость отбрасывали. Полученное твердое вещество высушивали в печи для вакуумной сушки при 30°C в течение ночи с получением кристаллической формы В соединения формулы (II).

Вариант осуществления 3. Получение кристаллической формы С соединения, представленного формулой (III).



Взвешивали 400 мг соединения, представленного формулой (I), и добавляли в колбу объемом 40 мл, туда же добавляли 6 мл THF, образец помещали на магнитную мешалку (40°C) и перемешивали в течение 5 мин для растворения, а затем добавляли соответствующее количество фосфорной кислоты (моляр-

ное соотношение соединения, представленного формулой (I), и фосфорной кислоты составляло 1:1,05, фосфорную кислоту добавляли после разбавления с помощью THF) и наблюдали эффект. Образец помещали на магнитную мешалку (40°C) и перемешивали в течение ночи. Из реакционной смеси осаждалось белое твердое вещество. Раствор образца быстро центрифугировали и надосадочную жидкость отбрасывали. Полученное твердое вещество высушивали в печи для вакуумной сушки при 30°C в течение ночи с получением кристаллической формы С соединения формулы (III). <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 1,49 (q, J=10,88 Гц, 2H), 1,71-2,05 (m, 6H), 2,28-2,49 (m, 6H), 3,07 (brd, J=10,79 Гц, 2H), 4,06 (brd, J=6,27 Гц, 2H), 6,34 (q, J=6,94 Гц, 1H), 7,44-7,62 (m, 2H), 7,73 (dd, J=4,89, 1,13 Гц, 1H), 8,18 (dd, J=11,29, 2,26 Гц, 1H), 8,21-8,27 (m, 1H), 8,29 (s, 1H), 8,40 (s, 1H), 8,47 (s, 1H), 8,64 (s, 2H), 8,78 (d, J=5,02 Гц, 1H).

Вариант осуществления 4. Испытание стабильности кристаллической формы А соединения, представленного формулой (I).

Взвешивали приблизительно 10 мг кристаллической формы А соединения, представленного формулой (I), и помещали в условия для испытания стабильности, образцы собирали и анализировали через 10 дней, 1 месяц и 2 месяца. Результаты экспериментов показаны в табл.6.

Таблица 6. Результаты испытания стабильности кристаллической формы А соединения, представленного формулой (I)

Относительное время удержания (мин.)		0,93	0,99	1,05	1,07	1,39	1,43	1,48	Общее содержание примесей	
Содержание примесей (%)	0 дней	0,14			0,52				0,67	
	60°C	5 дней	0,12	0,13		0,47	0,17		0,1	0,99
		10 дней	0,12	0,19	0,14	0,45	0,41	0,11	0,23	1,64
	Относительная влажность 92,5%	5 дней	0,14			0,53				0,67
		10 дней	0,14			0,52				0,67
	Свет (общая освещенность = 1,2 × 10 <sup>6</sup> люкс·ч. / ультрафиолетовая область спектра = 200 Вт·ч./м <sup>2</sup> )		0,11	0,29	0,8	0,46	3,98	1,18	1,62	13,45
	40°C Относительная влажность 75%	10 дней	0,14			0,5				0,58
		1 месяц	0,12			0,45				0,63
		2 месяца	0,15			0,52				0,66
	60°C Относительная влажность 75%	10 дней	0,14			0,53				0,67
		1 месяц	0,13			0,49				0,62
		2 месяца	0,17			0,59				0,75

Примечание: пропуск означает "не обнаружено".

Из результатов экспериментов видно, что кристаллическая форма А соединения, представленного формулой (I), не имеет существенного изменения содержания примесей в условиях высоких температуры и влажности, а также обладает надлежащей стабильностью.

Вариант осуществления 5. Испытание стабильности кристаллической формы В соединения, представленного формулой (II).

Взвешивали приблизительно 10 мг кристаллической формы В соединения, представленного формулой (II), и помещали в условия для испытания стабильности, образцы собирали и анализировали через 5 дней, 10 дней и 1 месяц. Результаты экспериментов показаны в табл.7.

Таблица 7. Результаты испытания стабильности кристаллической формы В соединения, представленного формулой (II)

Относительное время удержания (мин.)		0,77	1,04	1,4	1,41	1,43	1,49	Общее содержание примесей	
Содержание примесей (%)	0 дней	0,05	2,18					2,24	
	40°C Относительная влажность 75%	10 дней	0,18	2,02					2,2
		1 месяц	0,23	1,95					2,18
	60°C Относительная влажность 75%	10 дней	0,42	1,72					2,13
		1 месяц	0,36	1,76					2,12
	Свет (общая освещенность = $1,2 \times 10^6$ люкс·ч. / ближняя ультрафиолетовая область спектра = $200 \text{ Вт} \cdot \text{ч} / \text{м}^2$ )			2,22	0,17				2,39
	60°C	5 дней	0,06	2,18	0,06				2,3
		10 дней		2,16	0,12				2,29
		1 месяц	0,05	2,27	0,28	0,07	0,06	0,05	2,78
	Относительная влажность 92,5%	5 дней	0,13	2,08					2,21
		10 дней	0,16	2,04					2,2
		1 месяц	0,2	2,03					2,23

Примечание: пропуск означает "не обнаружено".

Из результатов экспериментов видно, что кристаллическая форма В соединения, представленного формулой (II), является стабильной в условиях высоких температуры и освещения.

Вариант осуществления 6. Испытание стабильности кристаллической формы С соединения, представленного формулой (III).

Взвешивали приблизительно 10 мг кристаллической формы С соединения, представленного формулой (III), и помещали в условия испытания стабильности, образцы собирали и анализировали через 5 дней, 10 дней и 1 месяц соответственно. Результаты экспериментов показаны в табл.8.

Таблица 8. Результаты испытания стабильности кристаллической формы С соединения, представленного формулой (III)

Относительное время удержания (мин.)	0,45	0,7	0,75	0,77	0,81	0,87	0,94	1,04	1,07	1,4	Общее содержание примесей								
Содержание примесей (%)											2,22								
0 дней											0,1		0,09	1,98	0,05		2,22		
40°C Относительная влажность 75%	10 дней											0,15		0,09	1,97	0,05	2,26		
	1 месяц											0,25	0,05	0,09	1,86	0,06	2,31		
60°C Относительная влажность 75%	10 дней											4,04	0,57	0,09	1,28	0,07	6,04		
	1 месяц											10,4	1,36	0,08	0,61	0,06	1,23	12,75	
Свет (общая освещенность = $1,2 \times 10^6$ люкс·ч. / ближняя ультрафиолетовая область спектра = $200 \text{ Вт·ч/м}^2$ )											0,05	0,12	0,05	0,33	0,11	0,24	2	0,05	2,94
60°C	5 дней											0,09		0,09	2,04	0,05		2,27	
	10 дней											0,11		0,09	2,1	0,06		2,35	
	1 месяц											0,12		0,1	2,03	0,05	0,07	2,35	
Относительная влажность 92,5%	5 дней											0,11		0,09	2,03	0,02		2,29	
	10 дней											0,13		0,09	1,96	0,05		2,22	
	1 месяц											0,21		0,09	1,93	0,05		2,28	

Примечание: пропуск означает "не обнаружено".

Из результатов экспериментов видно, что кристаллическая форма С соединения, представленного формулой (III), является относительно стабильной в условиях высокой температуры и высокой влажности соответственно.

Вариант осуществления 7. Исследование гигроскопичности кристаллической формы А соединения, представленного формулой (I).

Помещали 3 сухих стеклянных флакона для взвешивания с пробкой (внешний диаметр 50 мм, высота 30 мм) в сушильный аппарат, на дне которого находился насыщенный раствор хлорида аммония, флаконы для взвешивания оставляли открытыми и сушильный аппарат закрывали крышкой и помещали в установку термостата при 25°C в течение ночи.

Флаконы для взвешивания извлекали и точно взвешивали, значения веса отмечали как  $m_1$ ,  $m_2$  и  $m_3$  соответственно.

Соответствующее количество кристаллической формы А соединения, представленного формулой (I), распределяли по взвешенным флаконам для взвешивания (толщина образца составляла около 1 мм), а затем точно взвешивали, значения веса отмечали как  $m_2$ ,  $m_2$  и  $m_3$  соответственно.

Открытые флаконы для взвешивания и пробки для флаконов помещали в сушильный аппарат с помещенным на дно насыщенным раствором хлорида аммония и сушильный аппарат закрывали крышкой и помещали в установку термостата при 25°C на 24 ч.

После выдерживания в течение 24 ч флаконы для взвешивания закрывали пробками, затем точно взвешивали, и значения веса отмечали как  $m_3$ ,  $m_3$  и  $m_3$ .

Рассчитывали гигроскопичное увеличение веса, формула расчета была следующей.

Процент повышения =  $100\% \times (m_3 - m_2) / (m_2 - m_1)$ .

Таблица 9. Гигроскопичность кристаллической формы А соединения, представленного формулой (I)

№ образца	$m_1$ (мг)	$m_2$ (мг)	$m_3$ (мг)	Процент повышения (%)	Среднее значение (%)
1	36264,06	37307,72	37308,04	0,03	0,060
2	33778,57	34860,10	34860,94	0,08	
3	35815,99	36999,50	37000,34	0,07	

В соответствии с результатами испытания гигроскопичности, средняя гигроскопичность кристал-

лической формы А соединения, представленного формулой (I), составляет 0,060% (<0,2%), так что кристаллическая форма А соединения, представленного формулой (I), не обладает гигроскопичностью или практически не обладает гигроскопичностью.

Вариант осуществления 8. Испытание растворимости кристаллической формы А соединения, представленного формулой (I).

Помещали 10 мг кристаллической формы А соединения, представленного формулой (I), в стеклянный флакон, туда же добавляли 1 мл растворителя и флакон энергично встряхивали в течение 30 с каждые 5 мин при  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , растворение наблюдали в течение 30 мин. Соответствующие данные приведены в таблице.

В случае нерастворимых образцов в стеклянный флакон помещали еще 1 мг кристаллической формы А соединения, представленного формулой (I), туда же добавляли соответствующий растворитель и флакон энергично встряхивали в течение 30 с каждые 5 мин при  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , растворение наблюдали в течение 30 мин. Соответствующие данные приведены в табл.10.

Таблица 10. Растворимость кристаллической формы А соединения, представленного формулой (I), в различных растворителях

Растворитель	Классификация растворимости	Растворитель	Классификация растворимости
Вода	Очень легкорастворимое	Ацетон	Малорастворимое
Тетрагидрофуран	Умеренно растворимое	0,1 н. HCl	Растворимое
Этилацетат	Очень малорастворимое	0,1 н. NaOH	Практически нерастворимое или нерастворимое
Ацетонитрил	Очень малорастворимое	Трифторуксусная кислота	Умеренно растворимое
n-Гексан	Практически нерастворимое или нерастворимое	Этанол	Очень малорастворимое
Диэтиламин	Практически нерастворимое или нерастворимое	N-Метилпирролидон	Очень легкорастворимое

Из результатов эксперимента видно, что кристаллическая форма А соединения, представленного формулой (I), является очень легкорастворимой в воде или N-метилпирролидоне, растворимой в 0,1 н. HCl, умеренно растворимой в тетрагидрофуране или трифторуксусной кислоте и очень малорастворимой в этилацетате, ацетонитриле или этаноле; она является практически нерастворимой или нерастворимой в n-гексане, диэтиламине или 0,1 н. растворе гидроксида натрия.

Вариант осуществления 9. Испытание ферментативной активности кристаллической формы А соединения, представленного формулой (I).

Реагенты и расходные материалы:

sMET (invitrogen PV3143),

Tracer 236 (№ партии: 10815978),

Eu-Anti-His AB (MAb Anti 6HIS-K),

Envision от корпорации PerkinElmer с детекцией при 665 нм и 615 нм,

384-луночный планшет для титрования методом "шахматной доски", (PerkinElmer №6007299).

Принцип эксперимента.

В данном эксперименте применяли LanthaScreen™ Eu Kinase Binding Assay, как показано на фиг. 1, детекцию конъюгатов Alexa Fluor или меченного вещества, которое связывается с киназой, выполняли путем добавления антитела, меченного Eu. Связывание меченного вещества и антитела и киназы привело к высокому стандарту FRET, тогда как применение ингибитора киназы вместо меченного вещества привело бы к потере FRET.

Способ проведения эксперимента.

1) Разбавляли антитело Eu-Anti-His AB, фермент sMET, меченное вещество Tracer 236.

2) Получение соединения. Разбавляли 10 мМ тестируемое соединение и эталонное соединение с помощью 100% DMSO до 0,667 мМ, затем применяли полностью автоматизированную систему предварительной обработки микропланшетов ECHO для разбавления с применением 3-кратного градиента с 8 значениями концентрации. Были установлены лунки для двойных повторностей по 75 нл каждая.

3) В планшет с соединением добавляли смесь 7,5 мкл антитела (1/375 нМ) и киназы (10 нМ), после чего добавляли 7,5 мкл Tracer (60 нМ). Конечная концентрация: sMET: 5 нМ, Tracer 236: 30 нМ, Eu-Anti-His AB (MAb Anti 6HIS-K): 1/750 нМ.

4) Через 60 мин инкубации при  $4^\circ\text{C}$  планшеты считывали с помощью многоканального считывающего устройства для микропланшетов Envision (анализ данных значений сигнала 665 нм/615 нм с помощью Prism 5; свет возбуждения Ex: зеркало лазера 446, свет излучения Em: 615 и 665 нМ).

Результаты эксперимента: см. табл.11.

Таблица 11. Значение  $IC_{50}$  соединения, представленного формулой (I), в отношении ингибирования киназной активности

Тестируемое соединение	c-MET $IC_{50}$ (нМ)
Соединение, представленное формулой (I)	1,09

Результат эксперимента демонстрирует, что соединение, представленное формулой (I), характеризуется сильной ингибиторной активностью в отношении фермента c-MET.

Вариант осуществления 10. Эксперимент ингибирования пролиферации клеток в отношении соединения, представленного формулой (I).

Данный эксперимент направлен на изучение ингибирующего эффекта соединения, представленного формулой (I), в отношении клеток рака предстательной железы LNCaP, в которых сверхэкспрессируется АКТ.

Реагенты и расходные материалы.

- 1) Клеточная культура: клеточная среда DMEM, фетальная бычья сыворотка, DPBS.
- 2) Клеточная линия: МНСС97-Н.
- 3) Реагент для детектирования: комплект для детектирования живых клеток CellTiter-Glo.
- 4) Другие основные расходные материалы и реагенты: планшет для разбавления соединения, промежуточный планшет, планшет для испытания, DMSO.

Способ проведения эксперимента.

(1) Получение планшетов для клеток.

Клетки МНСС97-Н высевали отдельно в 384-луночные планшеты, при этом каждая из лунок содержала 500 клеток. Планшеты с клетками помещали и инкубировали в инкубаторе с диоксидом углерода в течение ночи.

(2) Получение соединения.

Для 4-кратного разбавления применяли ЕСНО и получали 9 значений концентрации, готовых для анализа в лунках в двойных повторностях.

(3) Обработка клеток соединением.

Соединение переносили в планшеты для клеток с начальной концентрацией 10 мкМ. Планшеты для клеток инкубировали в инкубаторе с диоксидом углерода в течение 3 дней.

(4) Обнаружение.

В планшеты с клетками добавляли реагент Cell Titer-Glo от Promega и планшеты инкубировали при комнатной температуре в течение 10 минут до тех пор, пока сигнал люминесценции не становился стабильным. Планшеты считывали с помощью многоканального анализатора Envision от PerkinElmer.

Результаты экспериментов: см. табл.12.

Таблица 12. Значение  $IC_{50}$  соединения, представленного формулой (I), в отношении ингибирования пролиферации клеток

Название клетки	$IC_{50}$ (нМ)
	Соединение, представленное формулой (I)
МНСС97Н	8,80

Результат эксперимента показывает, что соединение, представленное формулой (I), обладает надлежащей ингибиторной активностью в отношении клетки МНСС97Н.

Вариант осуществления 11. Испытание эффективности *in vivo* соединения, представленного формулой (I)

Культивирование клеток

Клетки МНСС97Н культивировали в один слой *in-vitro*. Условия культивирования: среда RPMI1640 с добавлением 10% термически инактивированной фетальной бычьей сыворотки, 1% двойного антибиотика пенициллин-стрептомицин при 37°C, 5% диоксида углерода. Проводили традиционную обработку для открепления клеток с помощью трипсин-EDTA два раза в неделю для пассирования. Когда клетки находились в фазе экспоненциального роста, клетки собирали, подсчитывали и инокулировали.

Животное: бестимусные мыши BALB/c, самцы; возраст 6-8 недель, масса тела 18-22 г.

Инокуляция опухоли.

0,2 мл клеточной суспензии, содержащей  $5 \times 10^6$  МНСС97Н, подкожно инокулировали в правую часть спины каждой мыши. Лекарственные средства вводили по группам после того, как средний объем опухоли достигал приблизительно  $172 \text{ мм}^3$ . Разделение на экспериментальные группы и режим дозирования показаны в таблице ниже.

Цель исследования.

Исследование того, происходило ли подавление, замедление или устранение роста опухоли. Диаметры опухоли измеряли два раза в неделю с использованием штангенциркуля с нониусом. Формула для расчета объема опухоли:  $V=0,5a \times b^2$ , где a и b представляют собой диаметры опухоли по длинной и короткой оси соответственно. Противоопухолевый эффект (TGI) соединения оценивали как T-C (дни) и T/C (%).

Результат эксперимента: см. таблицу 13.

Таблица 13. Оценка противоопухолевой эффективности тестируемого лекарственного средства на модели рака печени человека, полученной на основе ксенотрансплантатной опухоли из клеток МНСС97Н (рассчитано на основании объема опухоли в день 24 после введения)

Разделение на группы	Объем опухоли (мм <sup>3</sup> ) <sup>a</sup> (24-й день)	T/C (%)	TGI (%)	p-значение <sup>b</sup>
Контрольная	2059 ± 305	-	-	-
Тепотиниб	255 ± 5	12,4	95,6	<0,001
Соединение, представленное формулой (I)	153 ± 12	7,4	101,0	<0,001

Примечание:

a) среднее значение ± SEM;

b) p-значение рассчитывали на основании объема опухоли.

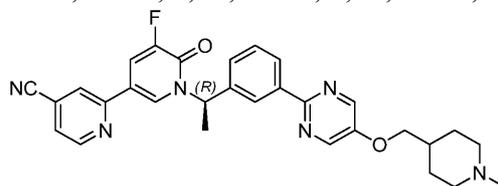
Заключение: соединение, представленное формулой (I), демонстрирует более сильный эффект подавления роста опухоли, чем тепотиниб в фармакодинамическом эксперименте на модели рака печени, полученной на основе подкожной ксенотрансплантатной опухоли из клеток МНСС97Н.

Соединение, представленное формулой (I), имеет лучшую метаболическую стабильность, чем тепотиниб.  $t_{1/2}$  соединения, представленного формулой (I), посредством метаболизма микросом печени человека, крысы и мыши составило 62,1 мин, 36,5 мин и 49,1 мин соответственно; в тех же условиях  $t_{1/2}$  тепотиниба посредством метаболизма микросом печени человека, крысы и мыши составило 48,3 мин, 10,5 мин и 12,4 мин соответственно. Соединение, представленное в настоящем изобретении, характеризуется увеличенным периодом полувыведения, в результате чего имеет более длительное время действия в отношении мишени, повышенную стабильность при метаболизме и лучшую ингибиторную активность. Увеличение периода полувыведения обеспечит возможность поддержания концентрации лекарственного средства в крови в течение более длительного периода времени. Исходя из этого, можно сделать предположение, что соединение обеспечит возможность снижения дозы или частоты введения по сравнению с аналогичными лекарственными средствами при применении для лечения опухоли, и соблюдение режима пациентом будет значительно улучшено.

Когда с-MET связывается с HGF, активируются MAPK, PI3K/AKT, Cdc42/Rac1 и другие пути, что приводит к выживанию и пролиферации опухолевых клеток и таким образом ускоряет рост опухоли. Следовательно соединения на основе пиридона в качестве ингибиторов с-Met имеют большие перспективы применения в лекарственных средствах направленной терапии, таких как лекарственные средства для лечения рака печени, мелкоклеточного рака легкого и рака желудка. В частности, при лечении рака печени данные соединения оказывают точный терапевтический эффект в отношении рака печени с высокой экспрессией с-MET. Следовательно ожидается, что соединение, представленное формулой (I), в качестве ингибитора с-MET на основе пиридона будет представлять собой более терапевтически эффективное новое лекарственное средство, чем другие аналогичные продукты, ввиду его существенной ингибиторной активности *in vivo* и *in vitro*, а также его надлежащей стабильности при метаболизме.

#### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Кристаллическая форма А соединения, представленного формулой (I), где порошковая рентгеновская дифрактограмма кристаллической формы А содержит характеристические дифракционные пики при следующих значениях угла  $2\theta$ :  $4,54^\circ \pm 0,2^\circ$ ,  $13,70^\circ \pm 0,2^\circ$ ,  $17,84^\circ \pm 0,2^\circ$ ,  $21,24^\circ \pm 0,2^\circ$  и  $26,62^\circ \pm 0,2^\circ$ ;



(I)

2. Кристаллическая форма А по п.1, где порошковая рентгеновская дифрактограмма кристаллической формы А содержит характеристические дифракционные пики при следующих значениях угла  $2\theta$ :  $4,54 \pm 0,2^\circ$ ,  $13,70 \pm 0,2^\circ$ ,  $15,14 \pm 0,2^\circ$ ,  $17,84 \pm 0,2^\circ$ ,  $18,40 \pm 0,2^\circ$ ,  $21,24 \pm 0,2^\circ$ ,  $24,06 \pm 0,2^\circ$ ,  $26,62 \pm 0,2^\circ$  и  $27,44 \pm 0,2^\circ$ ;

и/или кривая дифференциальной сканирующей калориметрии кристаллической формы А имеет эндотермический пик с температурой начала плавления, составляющей  $171,90 \pm 3^\circ\text{C}$ ;

и/или кривая термогравиметрического анализа кристаллической формы А демонстрирует потерю веса, составляющую 0,1870%, возникающую при  $223,23 \pm 3^\circ\text{C}$ , и потерю веса, составляющую 10,22%, возникающую при  $305,06 \pm 3^\circ\text{C}$ .

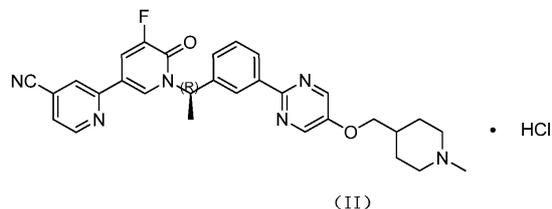
3. Кристаллическая форма А по любому из п.1 или 2, где порошковая рентгеновская дифрактограмма кристаллической формы А содержит характеристические дифракционные пики при следующих значениях угла  $2\theta$ : 4,538, 9,021, 11,300, 13,699, 15,141, 16,640, 17,840, 18,399, 19,039, 19,620, 20,441, 21,241,

22,598, 24,060, 24,962, 25,660, 26,621, 27,440, 28,258, 29,159, 31,081, 32,465, 34,780, 35,400, 36,920 и 38,760°;

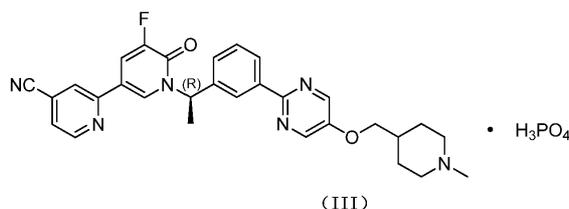
и/или кривая дифференциальной сканирующей калориметрии кристаллической формы А показана на фиг. 2;

и/или кривая термогравиметрического анализа кристаллической формы А показана на фиг. 3.

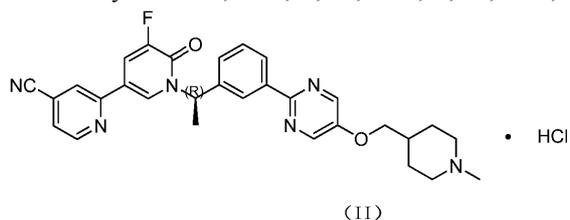
4. Соединение, представленное формулой (II) или (III),



или



5. Кристаллическая форма В соединения, представленного формулой (II), по п.4, где порошковая рентгеновская дифрактограмма кристаллической формы В содержит характеристические дифракционные пики при следующих значениях угла  $2\theta$ :  $4,34\pm 0,2^\circ$ ,  $12,99\pm 0,2^\circ$ ,  $15,35\pm 0,2^\circ$  и  $25,50\pm 0,2^\circ$ ;



6. Кристаллическая форма В по п.5, где порошковая рентгеновская дифрактограмма кристаллической формы В содержит характеристические дифракционные пики при следующих значениях угла  $2\theta$ :  $4,34\pm 0,2^\circ$ ,  $6,50\pm 0,2^\circ$ ,  $8,65\pm 0,2^\circ$ ,  $10,82\pm 0,2^\circ$ ,  $12,99\pm 0,2^\circ$ ,  $15,35\pm 0,2^\circ$ ,  $17,96\pm 0,2^\circ$  и  $25,50\pm 0,2^\circ$ ;

и/или кривая дифференциальной сканирующей калориметрии кристаллической формы В имеет эндотермические пики с температурой начала плавления, составляющей  $43,98\pm 3^\circ\text{C}$  и  $219,64\pm 3^\circ\text{C}$ ;

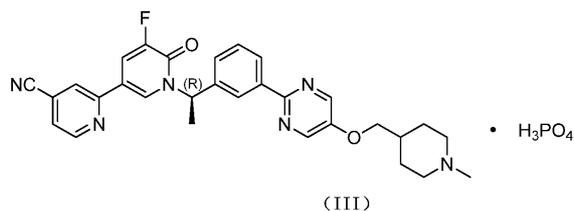
и/или кривая термогравиметрического анализа кристаллической формы В демонстрирует потерю веса, составляющую 0,5270%, возникающую при  $73,64\pm 3^\circ\text{C}$ , и потерю веса, составляющую 1,542%, возникающую при  $230,90\pm 3^\circ\text{C}$ .

7. Кристаллическая форма В по любому из п.5 или 6, где порошковая рентгеновская дифрактограмма кристаллической формы В содержит характеристические дифракционные пики при следующих значениях угла  $2\theta$ : 4,335, 6,502, 8,645, 10,816, 12,986, 15,349, 15,782, 16,109, 17,955, 18,447, 19,057, 19,534, 19,816, 20,531, 21,16, 22,265, 22,752, 23,907, 24,407, 25,499, 26,248, 26,886, 27,725, 28,004, 28,653, 29,127, 29,779, 30,432, 31,064, 33,734 и  $37,02^\circ$ ;

и/или кривая дифференциальной сканирующей калориметрии кристаллической формы В показана на фиг. 5;

и/или кривая термогравиметрического анализа кристаллической формы В показана на фиг. 6.

8. Кристаллическая форма С соединения, представленного формулой (III), по п.4, где порошковая рентгеновская дифрактограмма кристаллической формы С содержит характеристические дифракционные пики при следующих значениях угла  $2\theta$ :  $6,94\pm 0,2^\circ$ ,  $19,08\pm 0,2^\circ$ ,  $21,05\pm 0,2^\circ$  и  $24,73\pm 0,2^\circ$ ;



9. Кристаллическая форма С по п.8, где порошковая рентгеновская дифрактограмма кристаллической формы С содержит характеристические дифракционные пики при следующих значениях угла  $2\theta$ :  $6,94\pm 0,2^\circ$ ,  $9,94\pm 0,2^\circ$ ,  $17,29\pm 0,2^\circ$ ,  $18,04\pm 0,2^\circ$ ,  $19,08\pm 0,2^\circ$ ,  $21,05\pm 0,2^\circ$ ,  $24,12\pm 0,2^\circ$  и  $24,73\pm 0,2^\circ$ ;

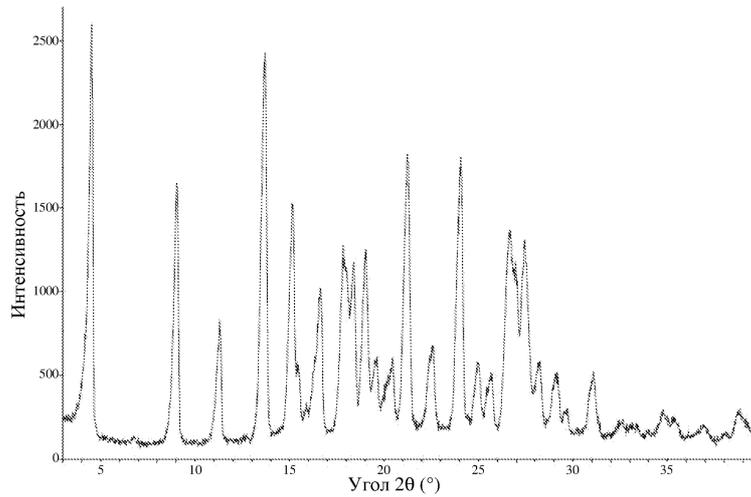
и/или кривая дифференциальной сканирующей калориметрии кристаллической формы С имеет эндотермический пик с температурой начала плавления, составляющей  $198,16 \pm 3^\circ\text{C}$ ;

и/или кривая термогравиметрического анализа кристаллической формы С демонстрирует потерю веса, составляющую 0,4541%, возникающую при  $204,73 \pm 3^\circ\text{C}$ .

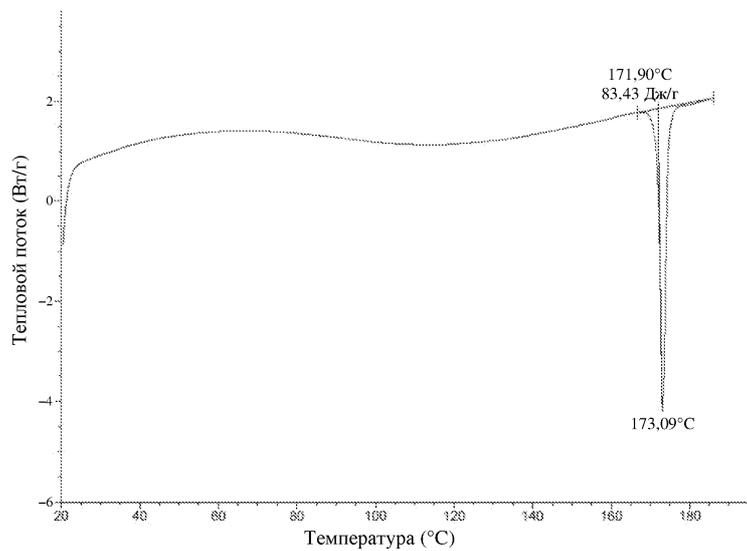
10. Кристаллическая форма С по любому из п.8 или 9, где порошковая рентгеновская дифрактограмма кристаллической формы С содержит характеристические дифракционные пики при следующих значениях угла  $2\theta$ : 6,94, 9,94, 13,36, 15,271, 16,83, 17,286, 18,038, 18,767, 19,082, 20,605, 21,054, 21,884, 22,615, 23,228, 24,118, 24,728, 25,182, 25,813, 28,182, 30,757, 31,498, 33,318, 33,77 и  $34,595^\circ$ ;

и/или кривая дифференциальной сканирующей калориметрии кристаллической формы С показана на фиг. 8;

и/или кривая термогравиметрического анализа кристаллической формы С показана на фиг. 9.

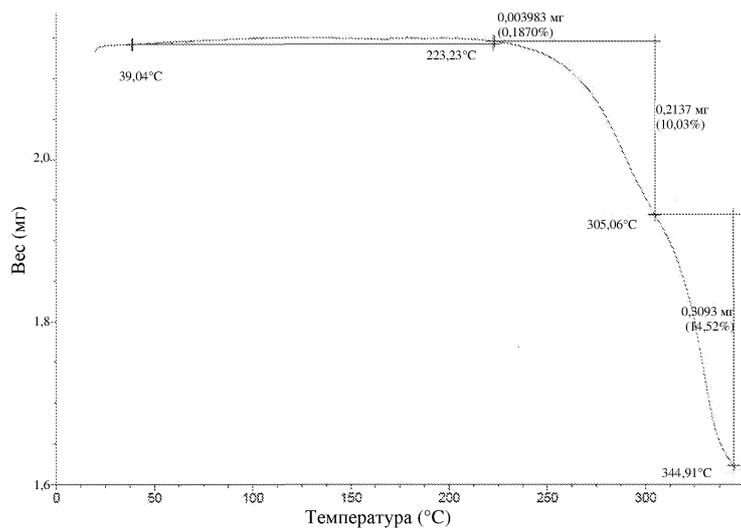


Фиг. 1

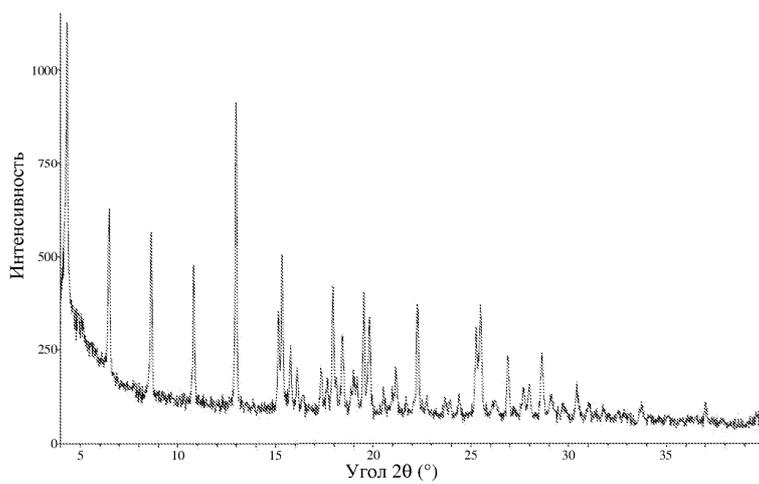


Фиг. 2

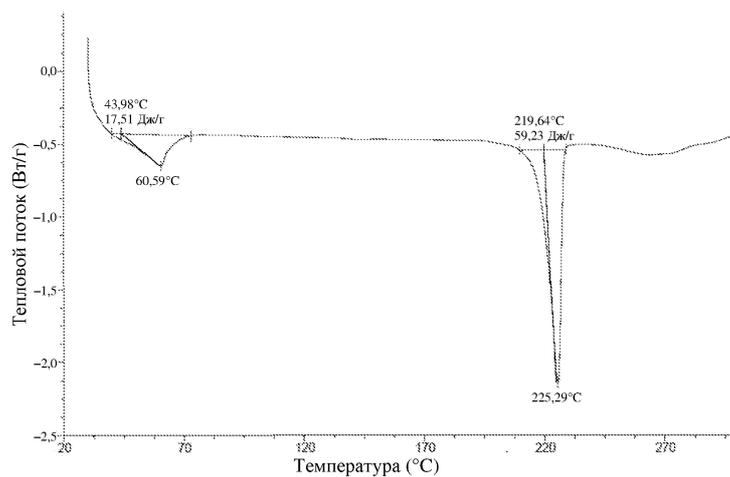
039713



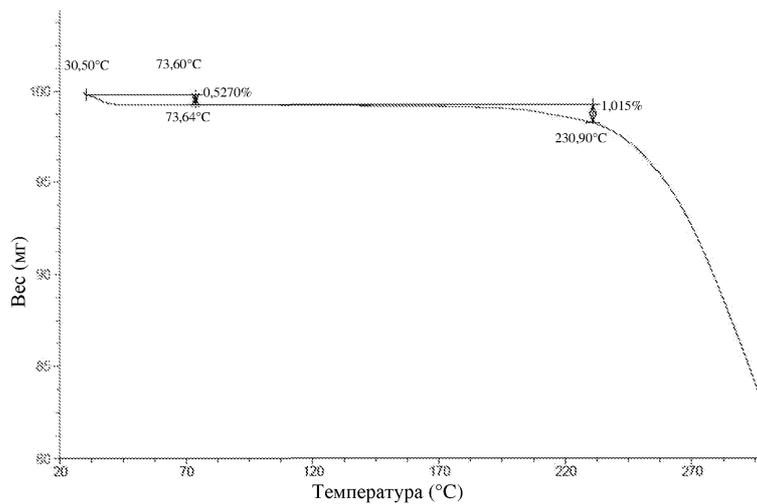
Фиг. 3



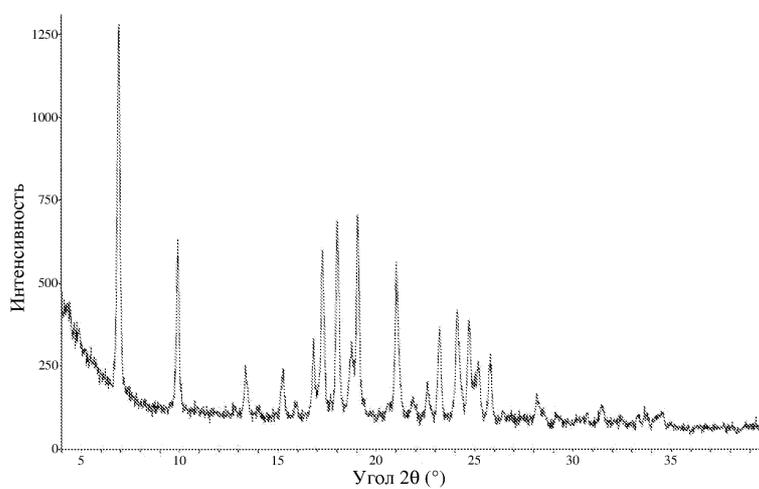
Фиг. 4



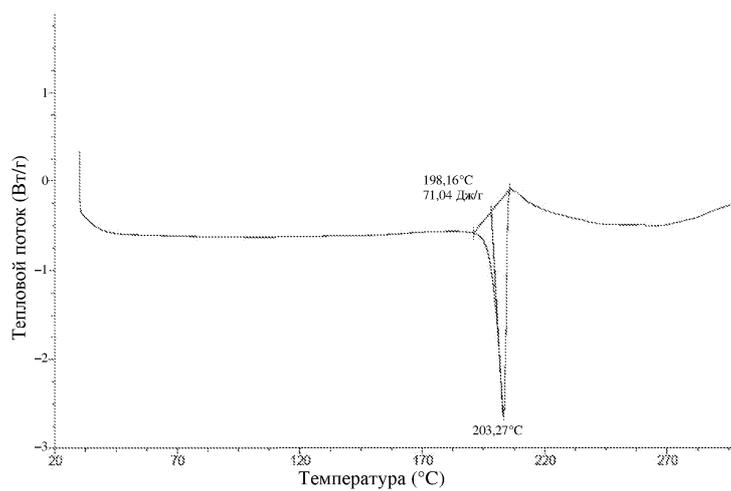
Фиг. 5



Фиг. 6

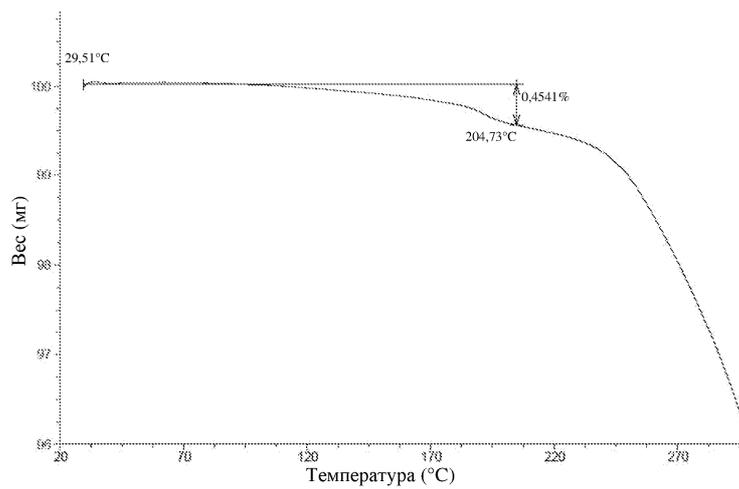


Фиг. 7



Фиг. 8

039713



Фиг. 9



Евразийская патентная организация, ЕАПВ  
Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2