

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(11) 042666

(13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.03.09

(21) Номер заявки
202091277

(22) Дата подачи заявки
2018.11.21

(51) Int. Cl. C07D 215/36 (2006.01)
A61P 7/06 (2006.01)
A61K 31/4709 (2006.01)

(54) КРИСТАЛЛИЧЕСКИЕ ФОРМЫ N-(4-(4-(ЦИКЛОПРОПИЛМЕТИЛ)ПИПЕРАЗИН-1-КАРБОНИЛ)ФЕНИЛ)ХИНОЛИН-8-СУЛЬФОНАМИДА

(31) 62/589,822; 62/691,709

(32) 2017.11.22; 2018.06.29

(33) US

(43) 2020.10.08

(86) PCT/US2018/062197

(87) WO 2019/104134 2019.05.31

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
АДЖИОС ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ,
ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
Сайзмор Джейкоб П. (US), Го Литин
(CN), Мирмехраби Махмуд, Су Йецин
(CA)

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(56) WO-A1-2016201227
US-B2-8785450
DATABASE REGISTRY [Online] CHEMICAL
ABSTRACTS SERVICE, COLUMBUS, OHIO, US; 5
December 2017 (2017-12-05), XP002788333, Database
accession no. 2151847-10-6, abstract

DATABASE IMSRESEARCH [Online] IQVIA,
LONDON, UK; 13 December 2018 (2018-12-13),
XP002788334, Database accession no. 2014:8, abstract

BERGE ET AL.: "PHARMACEUTICALS
SALTS", JOURNAL OF PHARMACEUTICAL
SCIENCES, vol. 66, no. 1, 1 January 1977 (1977-01-01),
pages 1-19, XP000562636, ISSN: 0022-3549, DOI:
10.1002/JPS.2600660104, Page 1, paragraph bridging left
and right columns; page 2, table 1.

STAHL ET AL.: "Pharmaceutical Salts: Properties,
Selections and Use, passages", 1 January 2002
(2002-01-01), HANDBOOK OF PHARMACEUTICAL

SALTS: PROPERTIES, SELECTION, AND USE,
ZÜRICH: VERL. HELVETICA CHIMICA ACTA;
WEINHEIM [U.A.]: WILEY-VCH, DE, PAGE(S) 212-214,
254, 305, XP002550486, ISBN: 978-3-906390-26-0, pages
212-214, 254, 305-306, Page 212, section 8.1.2; page 306:
sulfuric acid. Cited as common general knowledge.

BYRN ET AL.: "Pharmaceutical Solids: A
Strategic Approach to Regulatory Considerations",
PHARMACEUTICAL RESEARCH, vol. 12, no. 7, 1
January 1995 (1995-01-01), pages 945-954, XP055531015,
DOI: 10.1023/A:1016241927429, Abstract; page 945, left
column paragraph 1 to right column, paragraph 1; page 946,
figure 1 and right column, paragraphs 2-3; page 949, figure
6 and left column, paragraph 2; page 952, figure 11 and left
column, paragraph 2. Cited as common general knowledge.

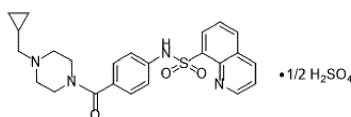
CAIRA: "Crystalline Polymorphism of Organic
Compounds", TOPICS IN CURRENT CHEMISTRY, vol.
198, 1 January 1998 (1998-01-01), pages 163-208,
XP008166276, ISSN: 0340-1022, Paragraph bridging pages
165 and 166. Cited as common general knowledge.

HARWOOD; MOODY: "Experimental organic
chemistry - Principles and practice", 1 January 1989
(1989-01-01), Blackwell Science, XP003025361, ISBN:
978-0-632-02016-4, pages 127-132, Pages 127-132, chapter:
"Crystallization". Cited as common general knowledge.

"Chapter 11, Tools for Purifying the Product:
Column Chromatography, Crystallization and Reslurrying";
In: Anderson: "Practical Process Research & Development",
1 January 2000 (2000-01-01), Academic Press, San Diego,
XP002565895, ISBN: 978-0-12-059475-7 pages 223-224,
Paragraph bridging, pages 223-224. Cited as common
general knowledge.

HANCOCK; ZOGRAFI: "Characteristics and
Significance of the Amorphous State in Pharmaceutical
Systems", JOURNAL OF PHARMACEUTICAL
SCIENCES, vol. 86, no. 1, 1 January 1997 (1997-01-01),
pages 1-12, XP055274556, DOI: 10.1021/js9601896, Page
1, abstract; page 1, left column and figure 1. Cited as
common general knowledge.

(57) В данном документе представлены аморфная и кристаллическая формы гемисульфатной соли формулы (I)



042666 B1

042666 B1

Также представлены фармацевтические композиции, содержащие аморфную и кристаллическую формы гемисульфатной соли, способы их изготовления и пути применения для лечения состояний, ассоциированных с пируваткиназой, таких как, например, дефицит пируваткиназы.

042666 B1

042666 B1

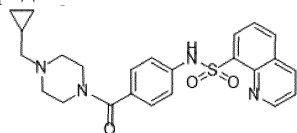
Родственные заявки

Данная заявка заявляет приоритет согласно предварительной заявке на патент США № 62/589822, поданной 22 ноября 2017 г., и предварительной заявке на патент США № 62/691709, поданной 29 июня 2018 г., каждая из которых включена в данный документ во всей ее полноте.

Уровень техники

Дефицит пируваткиназы (PKD) представляет собой заболевание, поражающее эритроциты, обусловленное дефицитом фермента пируваткиназы R (PKR), вызванным рецессивными мутациями гена PKLR (Wijk et al. Human Mutation, 2008, 30 (3) 446-453). Активаторы PKR могут быть полезными для лечения PKD, талассемии (например, бета-талассемии), абетаполипротеинемии или синдрома Бассена-Корнцвейга, серповидноклеточного заболевания, пароксизмальной ночной гемоглобинурии, анемии (например, врожденных анемий (например, энзимопатий), гемолитической анемии (например, наследственной и/или врожденной гемолитической анемии, приобретенной гемолитической анемии, хронической гемолитической анемии, обусловленной дефицитом фосфоглицераткиназы, анемии при хронических заболеваниях, несфероцитарной гемолитической анемии или наследственного сфероцитоза). Лечение PKD является поддерживающим лечением, включающим переливания крови, спленэктомию, хелатную терапию для устранения перенасыщения железом и/или вмешательства для других связанных с заболеванием осложнений. Однако в настоящее время отсутствует одобренный лекарственный препарат, который лечит лежащую в основе причину PKD и, таким образом, этиологию пожизненной гемолитической анемии.

N-(4-(4-(Циклопропилметил)пиперазин-1-карбонил)фенил)хинолин-8-сульфонамид, в данном документе называемый соединением 1, представляет собой аллостерический активатор изоформы пируваткиназы в эритроцитах (PKR). См., например, WO 2011/002817 и WO 2016/201227, содержания которых включены в данный документ посредством ссылки.

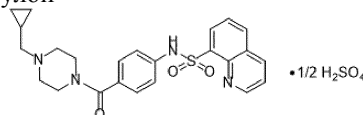


(Соединение 1)

Соединение 1 разработали для лечения PKD, и оно в настоящее время исследуется на фазе 2 клинических испытаний. См., например, идентификатор базы данных по клиническим испытаниям США NCT 02476916. Учитывая его терапевтические преимущества, существует необходимость в разработке альтернативных форм соединения 1 в попытке облегчить выделение, изготовление и разработку состава, а также улучшить устойчивость при хранении.

Краткое описание изобретения

В данном документе представлены аморфная и кристаллическая формы гемисульфатной соли соединения, характеризующейся формулой



Также в данном документе представлены фармацевтические композиции, содержащие аморфную и кристаллическую формы гемисульфатной соли, способы их изготовления и их пути применения для лечения состояний, ассоциированных с пируваткиназой, таких как, например, PKD.

Краткое описание графических материалов

На фиг. 1 изображена порошковая рентгеновская дифрактограмма (XRPD) для кристаллической формы А гемисульфатной соли.

На фиг. 2 изображены объединенные термограмма термogravиметрического анализа (TGA) и термограмма дифференциальной сканирующей калориметрии (DSC) для кристаллической формы А гемисульфатной соли.

На фиг. 3 изображена термограмма дифференциальной сканирующей калориметрии (DSC) для кристаллической формы А гемисульфатной соли.

На фиг. 4 изображена изотерма динамической сорбции пара (DVS) для кристаллической формы А гемисульфатной соли.

На фиг. 5 (i) изображено наложение порошковой рентгеновской дифрактограммы (XRPD) для кристаллической формы А гемисульфатной соли и после подвергания воздействию 11, 48 и 75% относительной влажности и 40°C в течение двух недель. XRPD осталась неизменной после двухнедельного испытания в данных трех условиях влажности. На фиг. 5 (ii) изображено наложение XRPD для кристаллической формы А гемисульфатной соли и после подвергания воздействию гранул пентаоксида фосфора (P₂O₅) при комнатной температуре и 50°C в течение одной недели, а также при температуре окружающей среды во флаконе в течение 24 ч. Наблюдали, что на дифрактограмме XRPD отсутствовали изменения при комнатной температуре через одну неделю, но некоторые пики были незначительно смещены при 50°C. Однако данные пики сместились назад в исходные положения после воздействия условий окру-

жающей среды в течение 24 ч., что указывает на то, что данные изменения были обратимыми.

На фиг. 6 изображена порошковая рентгеновская дифрактограмма (XRPD) для кристаллической формы В гемисульфатной соли, полученной в MeOH:EtOH (3:7).

На фиг. 7 (i) изображены объединенные термограмма термогравиметрического анализа (TGA) и термограмма дифференциальной сканирующей калориметрии (DSC) для кристаллической формы В гемисульфатной соли. на фиг. 7 (ii) изображена XRPD для кристаллической формы В гемисульфатной соли перед динамической сорбцией пара (DVS) и после нее. После DVS форма В была преобразована в другую форму К.

На фиг. 8 изображена порошковая рентгеновская дифрактограмма (XRPD) для кристаллической формы D гемисульфатной соли.

На фиг. 9 изображены термограмма термогравиметрического анализа (TGA) и термограмма дифференциальной сканирующей калориметрии (DSC) для кристаллической формы D гемисульфатной соли.

На фиг. 10 изображена порошковая рентгеновская дифрактограмма (XRPD) для кристаллической формы D гемисульфатной соли перед динамической сорбцией пара (DVS) и после нее.

На фиг. 11 изображена порошковая рентгеновская дифрактограмма (XRPD) для кристаллической формы E гемисульфатной соли.

На фиг. 12 изображена порошковая рентгеновская дифрактограмма (XRPD) для кристаллической формы F гемисульфатной соли.

На фиг. 13 изображены термограмма термогравиметрического анализа (TGA) и термограмма дифференциальной сканирующей калориметрии (DSC) для кристаллической формы F гемисульфатной соли.

На фиг. 14 изображена порошковая рентгеновская дифрактограмма (XRPD) для кристаллической формы G гемисульфатной соли.

На фиг. 15 изображены термограмма термогравиметрического анализа (TGA) и термограмма дифференциальной сканирующей калориметрии (DSC) для кристаллической формы G гемисульфатной соли.

На фиг. 16 изображена порошковая рентгеновская дифрактограмма (XRPD) для кристаллической формы H гемисульфатной соли.

На фиг. 17 изображена порошковая рентгеновская дифрактограмма (XRPD) для кристаллической формы I гемисульфатной соли.

На фиг. 18 изображены термограмма термогравиметрического анализа (TGA) и термограмма дифференциальной сканирующей калориметрии (DSC) для кристаллической формы I гемисульфатной соли.

На фиг. 19 изображена порошковая рентгеновская дифрактограмма (XRPD) для кристаллической формы J гемисульфатной соли.

На фиг. 20 изображена порошковая рентгеновская дифрактограмма (XRPD) для аморфной формы гемисульфатной соли соединения 1.

На фиг. 21 изображены термограмма термогравиметрического анализа (TGA) и термограмма дифференциальной сканирующей калориметрии (DSC) для аморфной гемисульфатной соли соединения 1, высушенной в вакуумной печи при 50°C в течение ночи.

На фиг. 22 изображены профили зависимости средней концентрации в плазме крови от времени для кристаллической формы А после РО дозы в различных формах при 200 мг/кг у крыс SD (N=6). Дозу кристаллической формы А рассчитывают на основе эквивалентности 200 мг/кг соединения 1.

На фиг. 23 изображена порошковая рентгеновская дифрактограмма (XRPD) для аморфной формы свободного основания соединения 1.

На фиг. 24 изображены термограммы TGA и DSC для аморфной формы свободного основания соединения 1.

На фиг. 25 изображена порошковая рентгеновская дифрактограмма (XRPD) для кристаллической формы свободного основания соединения 1.

Подробное описание изобретения

Определения

В случае использования отдельно термины "форма А", "форма В", "форма С", "форма D", "форма Е", "форма F", "форма G", "форма H", "форма I" и "форма J" означают кристаллические формы А, В, С, D, E, F, G, H, I и J гемисульфатной соли соединения 1 соответственно. Термины "форма А", "кристаллическая форма А" и "кристаллическая форма А гемисульфатной соли соединения 1" используют взаимозаменяемо. Аналогично, термины "форма В", "кристаллическая форма В" и "кристаллическая форма В гемисульфатной соли соединения 1" используют взаимозаменяемо. Аналогично, термины "форма С", "кристаллическая форма С" и "кристаллическая форма С гемисульфатной соли соединения 1" используют взаимозаменяемо. Аналогично, термины "форма D", "кристаллическая форма D" и "кристаллическая форма D гемисульфатной соли соединения 1" используют взаимозаменяемо. Аналогично, термины "форма Е", "кристаллическая форма Е" и "кристаллическая форма Е гемисульфатной соли соединения 1" используют взаимозаменяемо. Аналогично, термины "форма F", "кристаллическая форма F" и "кристаллическая форма F гемисульфатной соли соединения 1" используют взаимозаменяемо. Аналогично, термины "форма G", "кристаллическая форма G" и "кристаллическая форма G гемисульфатной соли соединения 1" используют взаимозаменяемо. Аналогично, термины "форма H", "кристаллическая форма H" и

"кристаллическая форма Н гемисульфатной соли соединения 1" используют взаимозаменяемо. Аналогично, термины "форма I", "кристаллическая форма I" и "кристаллическая форма I гемисульфатной соли соединения 1" используют взаимозаменяемо. Аналогично, термины "форма J" и "кристаллическая форма J", "кристаллическая форма J гемисульфатной соли соединения 1" используют взаимозаменяемо.

"Дифрактограмма А", "дифрактограмма В", "дифрактограмма С", "дифрактограмма D", "дифрактограмма Е", "дифрактограмма F", "дифрактограмма G", "дифрактограмма Н", "дифрактограмма I" и "дифрактограмма J" означают порошковые рентгеновские дифрактограммы (XRPD) для кристаллических форм А, В, С, D, Е, F, G, Н, I и J гемисульфатной соли соответственно.

Термины "кристаллическое свободное основание", "кристаллическая форма соединения 1 в виде свободного основания", "кристаллическая форма свободного основания соединения 1" и "кристаллическое свободное основание соединения 1" используют взаимозаменяемо, и они означают свободное основание или несольевую форму соединения 1, которые представлены в кристаллической форме.

При использовании в данном документе термин "безводный" означает, что указанная кристаллическая форма по сути не содержит воды в кристаллической решетке, например, содержит менее 0,1% по весу, что определено с помощью анализа по Карлу Фишеру.

Термин "аморфный" означает твердое вещество, которое присутствует в отличных от кристаллических состояниях или форме. Аморфные твердые вещества представляют собой неупорядоченные группировки молекул, и, таким образом, не обладают различной кристаллической решеткой или элементарной ячейкой, и, следовательно, не обладают дальним порядком структуры. Порядок кристаллического состояния твердых веществ может быть определен с помощью стандартных методик, известных из уровня техники, например, с помощью порошковой рентгеновской дифракции (XRPD) или дифференциальной сканирующей калориметрии (DSC). Аморфные твердые вещества также можно отличить от кристаллических твердых веществ, например, с помощью двойного лучепреломления с применением микроскопии в поляризованном свете.

При использовании в данном документе термин "химическая чистота" означает степень, в которой раскрытая форма не содержит материалов, имеющих разные химические структуры. Химическая чистота соединения в раскрытых кристаллических формах означает вес соединения, деленный на сумму весов соединения и материалов/примесей, имеющих разные химические структуры, умноженный на 100%, т. е. процент по весу. В одном варианте осуществления соединение в раскрытых кристаллических формах характеризуется химической чистотой, составляющей по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 99% по весу.

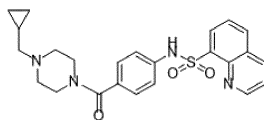
При использовании в данном документе термин "кристаллический" означает твердую форму соединения, где существует дальний атомный порядок в положениях атомов. Кристаллическая природа твердого вещества может быть подтверждена, например, путем изучения порошковой рентгеновской дифрактограммы. Если с помощью XRPD демонстрируют острые пики интенсивности на дифрактограмме XRPD, то соединение является кристаллическим.

Термин "сольват" означает кристаллическое соединение, в котором в структуру кристалла включено стехиометрическое или нестехиометрическое количество растворителя или смеси растворителей.

Термин "гидрат" означает кристаллическое соединение, в котором в структуру кристалла включено стехиометрическое или нестехиометрическое количество воды. Гидрат представляет собой сольват, в котором включенным в структуру кристалла растворителем является вода. Термин "безводный", в случае использования в отношении соединения, означает, что в структуру кристалла по сути не включен растворитель.

Монокристаллическая форма раскрытой кристаллической гемисульфатной соли означает, что гемисульфатная соль N-(4-(4-(циклопропилметил)пиперазин-1-карбонил)фенил)хинолин-8-сульфонамида присутствует в виде монокристалла или множества кристаллов, в котором каждый кристалл имеет одинаковую кристаллическую форму (т. е. форму А, В, С, D, Е, F, G, Н, I или J). Если кристаллическая форма определена в виде указанного процента одной конкретной монокристаллической формы соединения, остальную часть составляет аморфная форма и/или кристаллические формы, отличные от одной или более конкретных форм, которые указаны. В одном варианте осуществления кристаллическая форма представляет собой на по меньшей мере 60% монокристаллическую форму, на по меньшей мере 70% монокристаллическую форму, на по меньшей мере 80% монокристаллическую форму, на по меньшей мере 90% монокристаллическую форму, на по меньшей мере 95% монокристаллическую форму или на по меньшей мере 99% монокристаллическую форму по весу. Процент по весу конкретной кристаллической формы определяется как вес конкретной кристаллической формы, деленный на сумму веса конкретного кристалла, и веса других присутствующих кристаллических форм, и веса присутствующей аморфной формы, умноженный на 100%.

При использовании в данном документе термин "N-(4-(4-(циклопропилметил)пиперазин-1-карбонил)фенил)хинолин-8-сульфонамид" используют взаимозаменяемо с "соединением 1", "свободным основанием соединения 1" со следующей структурой:



Значения угла 2-тета на порошковых рентгеновских дифрактограммах для кристаллических форм, описанных в данном документе, могут незначительно варьироваться от одного прибора к другому, а также в зависимости от вариаций в получении образца и вариации между партиями. Следовательно, если не указано иное, дифрактограммы XRPD/присвоения значений, приведенные в данном документе, не следует рассматривать как абсолютные, и они могут варьироваться в пределах $\pm 0,2^\circ$. Значения угла 2-тета, представленные в данном документе, получали с применением излучения $\text{CuK}\alpha 1$.

Значения температуры, например, для пиков DSC, в данном документе могут незначительно варьироваться от одного прибора до другого, а также в зависимости от вариаций в получении образца, вариации между партиями и факторов окружающей среды. Следовательно, если не указано иное, значения температуры, приведенные в данном документе, не следует рассматривать как абсолютные, и они могут варьироваться в пределах $\pm 5^\circ$ или $\pm 2^\circ$.

"По сути одинаковая дифрактограмма XRPD" или "порошковая рентгеновская дифрактограмма, по сути подобная" определенной фигуре означает, что для целей сравнения присутствуют по меньшей мере 90% показанных пиков. Следует также понимать, что для целей сравнения допускается некоторая вариативность в значениях интенсивности пиков по сравнению с показанными, такая как в пределах $\pm 0,2^\circ$.

"Терапевтически эффективное количество" соединения, описанного в данном документе, представляет собой количество, достаточное для обеспечения благоприятного терапевтического эффекта при лечении состояния или для задержки или сведения к минимуму одного или более симптомов, ассоциированных с состоянием. Термины "терапевтически эффективное количество" и "эффективное количество" используют взаимозаменяемо. В одном аспекте терапевтически эффективное количество соединения означает количество терапевтического средства, отдельно или в комбинации с другими средствами терапии, которое обеспечивает благоприятный терапевтический эффект при лечении состояния. Термин "терапевтически эффективное количество" может охватывать количество, которое улучшает в целом терапию, уменьшает или устраняет симптомы, признаки или причины состояния и/или повышает терапевтическую эффективность другого терапевтического средства. В определенных вариантах осуществления терапевтически эффективное количество представляет собой количество, достаточное для обеспечения измеряемого уровня активации PKR дикого типа или ее мутантной формы. В определенных вариантах осуществления терапевтически эффективное количество представляет собой количество, достаточное для регуляции уровней 2,3-дифосфоглицерата в крови, в отношении которой существует такая необходимость, или для лечения дефицита пируваткиназы (PKD), гемолитической анемии (например, хронической гемолитической анемии, наследственной несфероцитарной анемии), серповидноклеточного заболевания, талассемии (например, альфа-талассемии, бета-талассемии или трансфузионно-независимой талассемии), наследственного сфероцитоза, наследственного эллиптоцитоза, абетаполипротеинемии (или синдрома Бассена-Корнцвейга), пароксизмальной ночной гемоглобинурии, приобретенной гемолитической анемии (например, видов врожденной анемии (например, энзимопатий)), анемии при хронических заболеваниях, или для лечения заболеваний или состояний, которые ассоциированы с повышенными уровнями 2,3-дифосфоглицерата (например, заболеваний печени). В определенных вариантах осуществления терапевтически эффективное количество представляет собой количество, достаточное для обеспечения измеряемого уровня активации PKR дикого типа или ее мутантной формы и для регуляции уровней 2,3-дифосфоглицерата в крови, в отношении которой существует такая необходимость, или для лечения дефицита пируваткиназы (PKD), гемолитической анемии (например, хронической гемолитической анемии, наследственной несфероцитарной анемии), серповидноклеточного заболевания, талассемии (например, альфа-талассемии, бета-талассемии или трансфузионно-независимой талассемии), наследственного сфероцитоза, наследственного эллиптоцитоза, абетаполипротеинемии (или синдрома Бассена-Корнцвейга), пароксизмальной ночной гемоглобинурии, приобретенной гемолитической анемии (например, видов врожденной анемии (например, энзимопатий)), анемии при хронических заболеваниях, или для лечения заболеваний или состояний, которые ассоциированы с повышенными уровнями 2,3-дифосфоглицерата (например, заболеваний печени). В одном аспекте терапевтически эффективное количество представляет собой количество, требуемое для обеспечения у субъекта ответа в отношении гемоглобина, представляющего собой увеличение концентрации Hb относительно исходного уровня, составляющее $\geq 1,0$ г/дл (например, $\geq 1,5$ г/дл или $\geq 2,0$ г/дл). В одном аспекте исходная концентрация Hb у субъекта представляет собой среднее значение всех доступных значений концентрации Hb перед лечением с помощью соединения, описанного в данном документе. В определенных аспектах терапевтически эффективное количество представляет собой количество, требуемое для уменьшения общего количества переливаний крови, которые необходимы пациенту. В одном аспекте терапевтически эффективное количество находится в диапазоне 0,01-100 мг/кг массы тела/сутки представленного соединения, как, например, 0,1-100 мг/кг массы тела/сутки.

При использовании в данном документе уменьшение общего необходимого количества переливаний крови означает уменьшение по меньшей мере на 20% количества единиц RBC, переливание которых осуществляют в течение по меньшей мере 5 недель лечения. В определенных вариантах осуществления уменьшение общего необходимого количества переливаний крови представляет собой уменьшение на $\geq 33\%$ количества единиц RBC, переливание которых осуществляют в течение по меньшей мере 5 недель лечения. В определенных вариантах осуществления уменьшение общего необходимого количества переливаний крови представляет собой уменьшение на $\geq 33\%$ количества единиц RBC, переливание которых осуществляют в течение по меньшей мере 10 недель (например, по меньшей мере 20 недель или по меньшей мере 24 недель) лечения.

При использовании в данном документе серповидноклеточное заболевание (SCD), заболевание, обусловленное генотипом SS гемоглобина, и серповидноклеточная анемия используются взаимозаменяемо. Серповидноклеточное заболевание (SCD) представляет собой наследственное нарушение со стороны крови, обусловленное присутствием гемоглобина, обуславливающего серповидную форму эритроцитов (HbS). В определенных вариантах осуществления у субъектов с SCD в их эритроцитах имеется аномальный гемоглобин, называемый гемоглобином S или гемоглобином, обуславливающим серповидную форму эритроцитов. В определенных вариантах осуществления у людей с SCD имеется по меньшей мере один аномальный ген, обуславливающий продуцирование гемоглобина S в организме. В определенных вариантах осуществления у людей с SCD имеется два гена гемоглобина S, генотип SS гемоглобина.

Талассемия представляет собой наследственное нарушение со стороны крови, при котором нарушено нормальное соотношение продуцирования α - и β -глобинов вследствие обуславливающего заболевание варианта в 1 или более из генов глобинов. В определенных вариантах осуществления агрегаты альфа-глобина (обнаруживаемые при β -талассемии) легко образуют осадок, что нарушает целостность мембраны эритроцитов (RBC) и приводит к окислительному стрессу. В определенных вариантах осуществления тетрамеры бета-глобина (HbH, обнаруживаемые при α -талассемии), как правило, являются более растворимыми, но все еще являются нестабильными и могут образовывать осадки. Дисбаланс синтеза цепи глобинов может привести к общему снижению значений концентрации Hb и имеет значительное влияние на выживание предшественников RBC, что в конечном итоге приводит к их преждевременному разрушению в костном мозге и в экстрамедуллярных участках (Cappellini et al., 2014). В определенных вариантах осуществления нарушение приводит в результате к разрушению больших количеств эритроцитов, что вызывает анемию. В определенных вариантах осуществления талассемия представляет собой альфа-талассемию. В определенных вариантах осуществления талассемия представляет собой бета-талассемию. В других вариантах осуществления талассемия представляет собой трансфузионно-независимую талассемию. В других вариантах осуществления талассемия представляет собой промежуточную форму бета-талассемии. В других вариантах осуществления талассемия представляет собой HbE-бета-талассемию. В других вариантах осуществления талассемия представляет собой бета-талассемию с 1 или более мутациями в генах альфа-цепей.

Термин "активирующее средство" при использовании в данном документе означает средство, которое (на измеряемом уровне) увеличивает активность пируваткиназы R дикого типа (wt PKR) или вызывает увеличение активности пируваткиназы R дикого типа (wt PKR) до уровня, который превышает исходные уровни активности wt PKR, или средство, которое (на измеряемом уровне) увеличивает активность мутантной формы пируваткиназы R (mPKR) или вызывает увеличение активности мутантной формы пируваткиназы R (mPKR) до уровня, который превышает исходные уровни активности мутантной формы PKR, например, до уровня, который составляет 20, 40, 50, 60, 70, 80, 90 или 100% от активности PKR дикого типа.

Термин "эритроцитарная масса" или PRBC, при использовании в данном документе означает эритроциты, полученные из единицы цельной крови путем центрифугирования и удаления большей части плазмы крови. В определенных вариантах осуществления единица PRBC характеризуется гематокритным числом, составляющим по меньшей мере приблизительно 95%. В определенных вариантах осуществления единица PRBC характеризуется гематокритным числом, составляющим по меньшей мере приблизительно 90%. В определенных вариантах осуществления единица PRBC характеризуется гематокритным числом, составляющим по меньшей мере приблизительно 80%. В определенных вариантах осуществления единица PRBC характеризуется гематокритным числом, составляющим по меньшей мере приблизительно 70%. В определенных вариантах осуществления единица PRBC характеризуется гематокритным числом, составляющим по меньшей мере приблизительно 60%. В определенных вариантах осуществления единица PRBC характеризуется гематокритным числом, составляющим по меньшей мере приблизительно 50%. В определенных вариантах осуществления единица PRBC характеризуется гематокритным числом, составляющим по меньшей мере приблизительно 40%. В определенных вариантах осуществления единица PRBC характеризуется гематокритным числом, составляющим по меньшей мере приблизительно 30%. В определенных вариантах осуществления единица PRBC характеризуется гематокритным числом, составляющим по меньшей мере приблизительно 20%. В определенных вариантах осуществ-

вления единица PRBC характеризуется гематокритным числом, составляющим по меньшей мере приблизительно 10%.

Термины "лечение", "лечить" и "осуществление лечения" означают устранение, облегчение, снижение вероятности развития или подавление прогрессирования заболевания или нарушения или их одного или более симптомов, описанных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления лечение можно осуществлять после развития одного или более симптомов, т.е. осуществлять терапевтическое лечение. В других вариантах осуществления лечение можно осуществлять при отсутствии симптомов. Например, лечение можно осуществлять в отношении предрасположенного к заболеванию индивидуума до проявления симптомов (например, с учетом анамнеза симптомов и/или с учетом генетических или других обуславливающих предрасположенность к заболеванию факторов), т.е. осуществлять профилактическое лечение. Лечение также можно продолжать после устранения симптомов, например, для снижения вероятности или задержки их повторного появления.

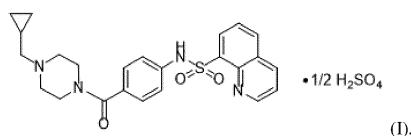
При использовании в данном документе термины "субъект" и "пациент" могут использоваться взаимозаменяемо и означают млекопитающее, нуждающееся в лечении, например, домашних животных (например, собак, кошек и т.п.), сельскохозяйственных животных (например, коров, свиней, лошадей, овец, коз и т.п.) и лабораторных животных (например, крыс, мышей, морских свинок и т.п.). Как правило, субъектом является человек, нуждающийся в лечении. В определенных вариантах осуществления термин "субъект" означает субъекта-человека, нуждающегося в лечении заболевания. В определенных вариантах осуществления термин "субъект" означает субъекта-человека, нуждающегося в лечении PKD. В определенных вариантах осуществления термин "субъект" означает субъекта-человека, нуждающегося в лечении талассемии. В определенных вариантах осуществления термин "субъект" означает субъекта-человека, нуждающегося в лечении серповидноклеточного заболевания. В определенных вариантах осуществления термин "субъект" означает взрослого человека в возрасте старше 18 лет, нуждающегося в лечении заболевания. В определенных вариантах осуществления термин "субъект" означает ребенка в возрасте не старше 18 лет, нуждающегося в лечении заболевания. В определенных вариантах осуществления субъектом является пациент, нуждающийся в регулярных переливаниях крови. При использовании в данном документе регулярное переливание крови означает по меньшей мере 4 процедуры переливания за 52-недельный период перед лечением. В определенных вариантах осуществления регулярное переливание крови означает по меньшей мере 5 процедур переливания за 52-недельный период перед лечением. В определенных вариантах осуществления регулярное переливание крови означает по меньшей мере 6 процедур переливания за 52-недельный период перед лечением. В определенных вариантах осуществления регулярное переливание крови означает по меньшей мере 7 процедур переливания за 52-недельный период перед лечением. В определенных вариантах осуществления субъекта с по меньшей мере одним из показаний, выбранных из серповидноклеточного заболевания, талассемии, PKD при регулярном переливании и трансфузионно-независимую PKD, не подвергали действию сотатерцепта (ACE-011), луспатерцепта (ACE-536), руколитиниба или генной терапии. В определенных вариантах осуществления такой субъект не принимает ингибиторы цитохрома P450 (CYP)3A4, сильные индукторы CYP3A4, сильные ингибиторы P-гликопротеина (P-gr) или дигоксина. В определенных вариантах осуществления такой субъект не получает средств антикоагулянтной терапии в течение продолжительного периода времени, анаболических стероидов, средств, стимулирующих кроветворение (например, эритропоэтины, гранулоцитарные колониестимулирующие факторы, тромбопоэтины) или имеет аллергию на сульфонамиды.

Термин "фармацевтически приемлемый носитель" означает нетоксичный носитель, вспомогательное средство или среду-носитель, которые не оказывают отрицательного влияния на фармакологическую активность соединения, с которым они составлены, и которые также являются безопасными для применения в отношении человека.

При использовании в данном документе термины "приблизительно" и "примерно", в случае использования в комбинации с числовым значением или диапазоном значений, используемых для описания характеристик конкретной кристаллической формы, аморфной формы соединения или их смеси, означает, что значение или диапазон значений могут отклоняться до степени, считающейся приемлемой специалистом в данной области техники, при этом описывая конкретную кристаллическую форму, аморфную форму или их смесь.

Соединения

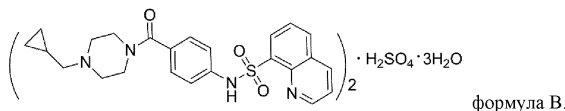
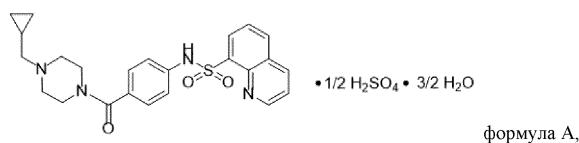
В данном документе представлена кристаллическая форма А гемисульфатной соли соединения, характеризующейся формулой (I)



где гемисульфатная соль соединения в кристаллической форме А представляет собой сесквигидрат.

При использовании в данном документе кристаллическая форма А представляет собой сесквигидрат гемисульфата соединения 1, N-(4-(4-(циклопропилметил)пиперазин-1-карбонил)фенил)хинолин-8-

сульфонамида. Следует понимать, что кристаллическую форму А можно назвать "сесквигидратом гемисульфата 1-(циклопропилметил)-4-(4-(хинолин-8-сульфонамидо)бензоил)пиперазин-1-ия", характеризующимся формулой А, или, в качестве альтернативы, "тригидратом сульфата 1-(циклопропилметил)-4-(4-(хинолин-8-сульфонамидо)бензоил)пиперазин-1-ия", характеризующимся формулой В, показанными ниже:



Следует понимать, что кристаллическая форма А может соответствовать либо формуле А, либо формуле В взаимозаменяемо.

При использовании в данном документе термин "гемисульфат" означает, что стехиометрическое соотношение соединения 1 и H_2SO_4 составляет 2:1 в кристаллической форме (т.е. кристаллическая форма содержит две молекулы соединения 1 на одну молекулу H_2SO_4).

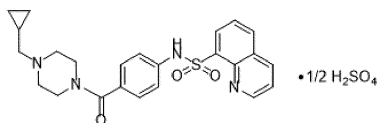
При использовании в данном документе термины "сесквигидрат" или "тригидрат" означают, что стехиометрическое соотношение соединения 1 и H_2O составляет 2:3 в кристаллической форме А (т.е. кристаллическая форма А содержит две молекулы соединения 1 на три молекулы воды).

В одном аспекте кристаллическая форма А характеризуется пиками порошковой рентгеновской дифракции при значениях угла 2θ ($\pm 0,2^\circ$), составляющих 9,9, 15,8 и $22,6^\circ$. В определенных вариантах осуществления кристаллическая форма А характеризуется пиками порошковой рентгеновской дифракции при значениях угла 2θ ($\pm 0,2^\circ$), составляющих 9,9, 15,8 и $22,6^\circ$, и по меньшей мере одним дополнительным пиком порошковой рентгеновской дифракции при значениях угла 2θ ($\pm 0,2^\circ$), выбранных из 15,0, 17,1, 21,3 и $21,9^\circ$. В определенных вариантах осуществления кристаллическая форма А характеризуется пиками порошковой рентгеновской дифракции при значениях угла 2θ ($\pm 0,2^\circ$), составляющих 9,9, 15,8 и $22,6^\circ$; и по меньшей мере двумя дополнительными пиками порошковой рентгеновской дифракции при значениях угла 2θ ($\pm 0,2^\circ$), выбранных из 15,0, 17,1, 21,3 и $21,9^\circ$. В еще одном альтернативном варианте кристаллическая форма А характеризуется пиками порошковой рентгеновской дифракции при значениях угла 2θ ($\pm 0,2^\circ$), составляющих 9,9, 15,8 и $22,6^\circ$; и по меньшей мере тремя дополнительными пиками порошковой рентгеновской дифракции при значениях угла 2θ ($\pm 0,2^\circ$), выбранных из 15,0, 17,1, 21,3 и $21,9^\circ$. В определенных вариантах осуществления кристаллическая форма А характеризуется пиками порошковой рентгеновской дифракции при значениях угла 2θ ($\pm 0,2^\circ$), составляющих 9,9, 15,0, 15,8, 17,1, 21,3, 21,9 и $22,6^\circ$. В определенных вариантах осуществления кристаллическая форма А характеризуется пиками порошковой рентгеновской дифракции при значениях угла 2θ ($\pm 0,2^\circ$), составляющих 9,9, 11,4, 15,0, 15,3, 15,8, 17,1, 17,7, 21,3, 21,9, 22,6 и $23,5^\circ$. В определенных вариантах осуществления кристаллическая форма А характеризуется пиками порошковой рентгеновской дифракции при значениях угла 2θ ($\pm 0,2^\circ$), составляющих 4,9, 9,9, 11,0, 11,4, 11,7, 12,3, 12,8, 13,6, 13,9, 14,2, 15,0, 15,3, 15,8, 17,1, 17,4, 17,7, 18,8, 19,1, 19,8, 21,3, 21,9, 22,6, 23,0, 23,2, 23,5, 23,8, 24,1, 24,5, 25,3, 25,6, 26,1, 27,1, 28,1 и $29,8^\circ$. В определенных вариантах осуществления кристаллическая форма А характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, по сути подобной показанной на фиг. 1. В еще одном альтернативном варианте кристаллическая форма А характеризуется термограммой дифференциальной сканирующей калориметрии (DSC), содержащей эндотермические пики при приблизительно $159^\circ\text{C} \pm 5^\circ\text{C}$ и $199^\circ\text{C} \pm 5^\circ\text{C}$. В еще одном альтернативном варианте кристаллическая форма А характеризуется термограммой дифференциальной сканирующей калориметрии (DSC), по сути подобной термограмме, изображенной на фиг. 2. В еще одном альтернативном варианте кристаллическая форма А характеризуется термограммой термогравиметрического анализа (TGA), содержащей значение потери веса, составляющее приблизительно $4,5 \pm 0,5\%$, при $180^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$. В еще одном альтернативном варианте кристаллическая форма А характеризуется термограммой термогравиметрического анализа (TGA), по сути подобной термограмме, изображенной на фиг. 2. В еще одном альтернативном варианте кристаллическая форма А характеризуется термограммой DSC, по сути подобной термограмме, изображенной на фиг. 3.

Как более подробно обсуждается в примерах, было обнаружено, что кристаллическая форма А гемисульфатной соли соединения, характеризующейся формулой (I) обладает рядом предпочтительных физико-химических свойств, в том числе высокой кристалличностью, стабильностью в нескольких системах растворителей (например, в частности, содержащих воду), относительно небольшим размером частиц (например, менее 20 мкм под микроскопом, что обеспечивает возможность потенциально избежать последующей микронизации) и стабильностью в условиях влажности (например, при по меньшей мере

20% RH или при активности воды по меньшей мере 0,2), и демонстрирует предпочтительные профили зависимости концентрации в плазме крови от времени и фармакокинетические параметры.

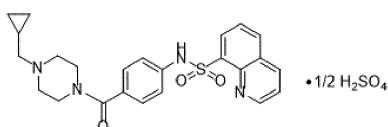
Также в данном документе представлена кристаллическая форма В гемисульфатной соли соединения, характеризующейся формулой



где гемисульфатная соль соединения в кристаллической форме В представляет собой сольват с этанолом.

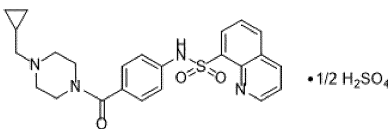
В одном аспекте кристаллическая форма В характеризуется по меньшей мере тремя пиками на порошковой рентгеновской дифракции при значениях угла 2θ ($\pm 0,2^\circ$), выбранных из 9,9, 10,6, 12,7, 15,7, 16,9, 22,0 и $22,5^\circ$. В качестве альтернативы, кристаллическая форма В характеризуется по меньшей мере четырьмя пиками порошковой рентгеновской дифракции при значениях угла 2θ ($\pm 0,2^\circ$), выбранных из 9,9, 10,6, 12,7, 15,7, 16,9, 22,0 и $22,5^\circ$. В другом альтернативном варианте кристаллическая форма В характеризуется пятью тремя пиками порошковой рентгеновской дифракции при значениях угла 2θ ($\pm 0,2^\circ$), выбранных из 9,9, 10,6, 12,7, 15,7, 16,9, 22,0 и $22,5^\circ$. В еще одном альтернативном варианте кристаллическая форма В характеризуется по меньшей мере шестью пиками порошковой рентгеновской дифракции при значениях угла 2θ ($\pm 0,2^\circ$), выбранных из 9,9, 10,6, 12,7, 15,7, 16,9, 22,0 и $22,5^\circ$. В еще одном альтернативном варианте кристаллическая форма В характеризуется пиками порошковой рентгеновской дифракции при значениях угла 2θ ($\pm 0,2^\circ$), составляющих 9,9, 10,6, 12,7, 15,7, 16,9, 22,0 и $22,5^\circ$. В еще одном альтернативном варианте кристаллическая форма В характеризуется пиками порошковой рентгеновской дифракции при значениях угла 2θ ($\pm 0,2^\circ$), составляющих 9,9, 10,6, 12,7, 13,9, 14,6, 15,7, 16,9, 22,0, $22,5^\circ$ и $27,6^\circ$. В еще одном альтернативном варианте кристаллическая форма В характеризуется пиками порошковой рентгеновской дифракции при значениях угла 2θ ($\pm 0,2^\circ$), составляющих 7,0, 7,8, 9,9, 10,6, 11,7, 12,7, 13,1, 13,5, 13,9, 14,6, 14,9, 15,3, 15,7, 16,1, 16,9, 17,6, 19,3, 19,7, 20,7, 21,2, 22,0, $22,5^\circ$, $23,3^\circ$, $24,0^\circ$, $24,7^\circ$, $25,1^\circ$, $25,7^\circ$, $26,1^\circ$, $27,2^\circ$, $27,6^\circ$, $28,4^\circ$, $29,3^\circ$ и $29,8^\circ$. В еще одном альтернативном варианте кристаллическая форма В характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, по сути подобной показанной на фиг. 6. В еще одном альтернативном варианте кристаллическая форма В характеризуется термограммой TGA или DSC, по сути подобной показанной на фиг. 7. В еще одном альтернативном варианте кристаллическая форма В характеризуется термограммой дифференциальной сканирующей калориметрии (DSC), содержащей эндотермические пики при приблизительно $154 \pm 5^\circ\text{C}$. В еще одном альтернативном варианте кристаллическая форма В характеризуется термограммой TGA, содержащей значение потери веса, составляющее приблизительно $4,3 \pm 0,5\%$, при $200^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$.

Также в данном документе представлена кристаллическая форма С гемисульфатной соли соединения, характеризующейся формулой



В одном аспекте кристаллическая форма С характеризуется пиками порошковой рентгеновской дифракции при значениях угла 2θ ($\pm 0,2^\circ$), составляющих 6,9, 10,4 и $12,0^\circ$.

Также в данном документе представлена кристаллическая форма D гемисульфатной соли соединения, характеризующейся формулой

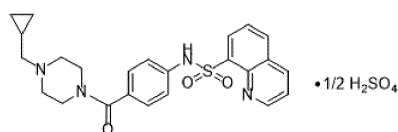


где гемисульфатная соль соединения в форме D является безводной.

В одном аспекте кристаллическая форма D характеризуется по меньшей мере тремя пиками порошковой рентгеновской дифракции при значениях угла 2θ ($\pm 0,2^\circ$), выбранных из 5,8, 10,0, 10,2, 19,3, 22,9, $23,3^\circ$ и $25,2^\circ$. В качестве альтернативы, кристаллическая форма D характеризуется по меньшей мере четырьмя пиками порошковой рентгеновской дифракции при значениях угла 2θ ($\pm 0,2^\circ$), выбранных из 5,8, 10,0, 10,2, 19,3, 22,9, $23,3^\circ$ и $25,2^\circ$. В другом альтернативном варианте кристаллическая форма D характеризуется по меньшей мере пятью пиками порошковой рентгеновской дифракции при значениях угла 2θ ($\pm 0,2^\circ$), выбранных из 5,8, 10,0, 10,2, 19,3, 22,9, $23,3^\circ$ и $25,2^\circ$. В еще одном альтернативном варианте кристаллическая форма D характеризуется по меньшей мере шестью пиками порошковой рентгеновской дифракции при значениях угла 2θ ($\pm 0,2^\circ$), выбранных из 5,8, 10,0, 10,2, 19,3, 22,9, $23,3^\circ$ и $25,2^\circ$. В еще одном альтернативном варианте кристаллическая форма D характеризуется пиками порошковой рентге-

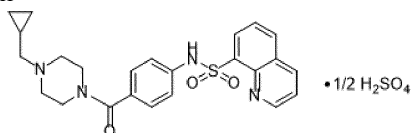
новской дифракции при значениях угла 2θ ($\pm 0,2^\circ$), составляющих 5,8, 10,0, 10,2, 19,3, 22,9, 23,3 и $25,2^\circ$. В еще одном альтернативном варианте кристаллическая форма D характеризуется пиками порошковой рентгеновской дифракции при значениях угла 2θ ($\pm 0,2^\circ$), составляющих 5,8, 10,0, 10,2, 12,2, 17,3, 17,6, 19,3, 22,9, 23,3, 23,6 и $25,2^\circ$. В еще одном альтернативном варианте кристаллическая форма D характеризуется пиками порошковой рентгеновской дифракции при значениях угла 2θ ($\pm 0,2^\circ$), составляющих 5,8, 10,0, 10,2, 11,3, 11,5, 12,2, 13,6, 14,1, 14,7, 15,4, 16,0, 17,3, 17,6, 19,3, 20,0, 20,8, 22,1, 22,9, 23,3, 23,6, 24,4, 25,2, 26,4, 27,4, 28,3 и $29,6^\circ$. В еще одном альтернативном варианте кристаллическая форма D характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, по сути подобной показанной на фиг. 8. В еще одном альтернативном варианте кристаллическая форма D характеризуется термограммой дифференциальной сканирующей калориметрии (DSC), содержащей пик при $239,0^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$. В еще одном альтернативном варианте кристаллическая форма D характеризуется термограммой DSC, по сути подобной показанной на фиг. 9. В еще одном альтернативном варианте кристаллическая форма D характеризуется термограммой TGA, содержащей значение потери веса, составляющее приблизительно $0,62 \pm 0,5\%$, при $220^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$. В еще одном альтернативном варианте кристаллическая форма D характеризуется термограммой TGA, по сути подобной показанной на фиг. 9.

Также представлена кристаллическая форма E гемисульфатной соли соединения, характеризующейся формулой



В одном аспекте кристаллическая форма E характеризуется пиками порошковой рентгеновской дифракции при значениях угла 2θ ($\pm 0,2^\circ$), выбранных из 4,6, 9,0, 13,5 и $22,5^\circ$. В другом аспекте кристаллическая форма E характеризуется пиками порошковой рентгеновской дифракции при значениях угла 2θ ($\pm 0,2^\circ$), составляющих 4,6, 9,0, 13,5, 15,1, 18,5, 21,7 и $22,5^\circ$. В другом альтернативном варианте кристаллическая форма E характеризуется пиками порошковой рентгеновской дифракции при значениях угла 2θ ($\pm 0,2^\circ$), составляющих 4,6, 9,0, 9,9, 11,0, 13,5, 15,1, 15,8, 18,5, 19,8, 20,4, 21,7, 22,5 и $28,1^\circ$. В еще одном альтернативном варианте кристаллическая форма E характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, по сути подобной показанной на фиг. 11.

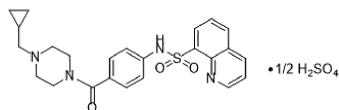
Также в данном документе представлена кристаллическая форма F гемисульфатной соли соединения, характеризующейся формулой



В одном аспекте кристаллическая форма F характеризуется пиками порошковой рентгеновской дифракции при значениях угла 2θ ($\pm 0,2^\circ$), выбранных из 5,0, 9,9 и $14,7^\circ$. В качестве альтернативы, кристаллическая форма F характеризуется пиками порошковой рентгеновской дифракции при значениях угла 2θ ($\pm 0,2^\circ$), выбранных из 5,0, 9,9, 14,7, 16,5, 19,6, 21,6 и $24,4^\circ$. В другом альтернативном варианте кристаллическая форма F характеризуется пиками порошковой рентгеновской дифракции при значениях угла 2θ ($\pm 0,2^\circ$), составляющих 5,0, 9,9, 11,1, 14,7, 16,5, 19,6, 21,6, 22,8 и $24,4^\circ$. В еще одном альтернативном варианте кристаллическая форма F характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, по сути подобной показанной на фиг. 12.

В еще одном альтернативном варианте кристаллическая форма F характеризуется термограммой DSC, содержащей пик при $101,0^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$. В еще одном альтернативном варианте кристаллическая форма F характеризуется термограммой TGA, содержащей значение потери веса, составляющее приблизительно $8,8 \pm 0,5\%$, при $182^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$. В еще одном альтернативном варианте кристаллическая форма F характеризуется термограммой TGA или DSC, по сути подобной показанной на фиг. 13.

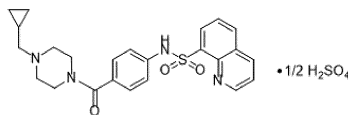
Также представлена кристаллическая форма G гемисульфатной соли соединения, характеризующейся формулой



В одном аспекте кристаллическая форма G характеризуется пиками порошковой рентгеновской дифракции при значениях угла 2θ ($\pm 0,2^\circ$), выбранных из 4,7, 9,4 и $14,1^\circ$. В качестве альтернативы, кристаллическая форма G характеризуется пиками порошковой рентгеновской дифракции при значениях угла 2θ ($\pm 0,2^\circ$), выбранных из 4,7, 9,4, 11,0, 14,1, 18,9, 21,2 и $23,8^\circ$. В другом альтернативном варианте кристаллическая форма G характеризуется пиками порошковой рентгеновской дифракции при значениях угла 2θ ($\pm 0,2^\circ$), составляющих 4,7, 9,4, 11,0, 13,3, 14,1, 15,9, 16,2, 18,9, 21,2, 22,8, 23,8, 26,7 и $28,5^\circ$. В еще

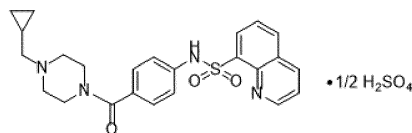
одном альтернативном варианте кристаллическая форма G характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, по сути подобной показанной на фиг. 14. В еще одном альтернативном варианте кристаллическая форма G характеризуется термограммой DSC, содержащей пик при $156,7^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. В еще одном альтернативном варианте кристаллическая форма G характеризуется термограммой TGA, содержащей значение потери веса, составляющее приблизительно $2,6 \pm 0,5\%$, при $176^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. В еще одном альтернативном варианте кристаллическая форма G характеризуется термограммой TGA или DSC, по сути подобной показанной на фиг. 15.

Также представлена кристаллическая форма H гемисульфатной соли соединения, характеризующейся формулой



В одном аспекте кристаллическая форма H характеризуется по меньшей мере тремя пиками порошковой рентгеновской дифракции при значениях угла 2θ ($\pm 0,2^{\circ}$), выбранных из 4,6, 7,4, 9,2, 11,1, 13,5, 14,9 и $22,3^{\circ}$. В качестве альтернативы, кристаллическая форма H характеризуется по меньшей мере четырьмя пиками порошковой рентгеновской дифракции при значениях угла 2θ ($\pm 0,2^{\circ}$), выбранных из 4,6, 7,4, 9,2, 11,1, 13,5, 14,9 и $22,3^{\circ}$. В другом альтернативном варианте кристаллическая форма H характеризуется по меньшей мере пятью пиками порошковой рентгеновской дифракции при значениях угла 2θ ($\pm 0,2^{\circ}$), выбранных из 4,6, 7,4, 9,2, 11,1, 13,5, 14,9 и $22,3^{\circ}$. В еще одном альтернативном варианте кристаллическая форма H характеризуется по меньшей мере шестью пиками порошковой рентгеновской дифракции при значениях угла 2θ ($\pm 0,2^{\circ}$), выбранных из 4,6, 7,4, 9,2, 11,1, 13,5, 14,9 и $22,3^{\circ}$. В еще одном альтернативном варианте кристаллическая форма H характеризуется пиками порошковой рентгеновской дифракции при значениях угла 2θ ($\pm 0,2^{\circ}$), составляющих 4,6, 7,4, 9,2, 11,1, 13,5, 14,9 и $22,3^{\circ}$. В еще одном альтернативном варианте кристаллическая форма H характеризуется пиками порошковой рентгеновской дифракции при значениях угла 2θ ($\pm 0,2^{\circ}$), составляющих 4,6, 5,4, 7,4, 9,2, 10,3, 11,1, 13,5, 13,8, 14,9, 16,9, 17,6, 18,4, 19,5, 20,7, 22,3, 22,9, 23,4, 24,1, 24,8, 26,5, 27,2 и $29,5^{\circ}$. В еще одном альтернативном варианте кристаллическая форма H характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, по сути подобной показанной на фиг. 16.

Также представлена кристаллическая форма I гемисульфатной соли соединения, характеризующейся формулой

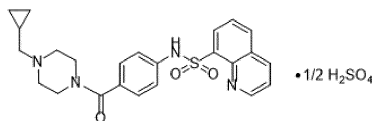


где гемисульфатная соль соединения в кристаллической форме I представляет собой сольват с этанолом.

В одном аспекте кристаллическая форма I характеризуется пиками порошковой рентгеновской дифракции при значениях угла 2θ ($\pm 0,2^{\circ}$), составляющей 6,7, 9,5 и $19,7^{\circ}$. В качестве альтернативы, кристаллическая форма I характеризуется пиками порошковой рентгеновской дифракции при значениях угла 2θ ($\pm 0,2^{\circ}$), составляющих 6,7, 9,5 и $19,7^{\circ}$; и по меньшей мере одним дополнительным пиком порошковой рентгеновской дифракции при значениях угла 2θ ($\pm 0,2^{\circ}$), выбранных из 9,9, 12,6, 15,8, 21,9 и $22,3^{\circ}$. В другом альтернативном варианте кристаллическая форма I характеризуется пиками порошковой рентгеновской дифракции при значениях угла 2θ ($\pm 0,2^{\circ}$), составляющих 6,7, 9,5 и $19,7^{\circ}$; и по меньшей мере двумя дополнительными пиками порошковой рентгеновской дифракции при значениях угла 2θ ($\pm 0,2^{\circ}$), выбранных из 9,9, 12,6, 15,8, 21,9 и $22,3^{\circ}$. В еще одном альтернативном варианте кристаллическая форма I характеризуется пиками порошковой рентгеновской дифракции при значениях угла 2θ ($\pm 0,2^{\circ}$), составляющих 6,7, 9,5 и $19,7^{\circ}$; и по меньшей мере тремя дополнительными пиками порошковой рентгеновской дифракции при значениях угла 2θ ($\pm 0,2^{\circ}$), выбранных из 9,9, 12,6, 15,8, 21,9 и $22,3^{\circ}$. В еще одном альтернативном варианте кристаллическая форма I характеризуется пиками порошковой рентгеновской дифракции при значениях угла 2θ ($\pm 0,2^{\circ}$), составляющих 6,7, 9,5, 9,9, 12,6, 15,8, 19,7, 21,9 и $22,3^{\circ}$. В еще одном альтернативном варианте кристаллическая форма I характеризуется пиками порошковой рентгеновской дифракции при значениях угла 2θ ($\pm 0,2^{\circ}$), составляющих 6,7, 7,7, 9,5, 9,9, 10,5, 11,6, 12,6, 13,4, 13,8, 14,3, 15,2, 15,8, 16,8, 17,2, 19,0, 19,7, 20,5, 20,9, 21,9, 22,3, 23,9, 24,6, 25,5, 26,0, 27,5, 28,3 и $29,3^{\circ}$. В еще одном альтернативном варианте кристаллическая форма I характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, по сути подобной показанной на фиг. 17. В еще одном альтернативном варианте кристаллическая форма I характеризуется термограммой DSC, содержащей пик при $134,7^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. В еще одном альтернативном варианте кристаллическая форма I характеризуется термограммой TGA, содержащей значение потери веса, составляющее приблизительно $6,9 \pm 0,5\%$, при $180^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. В еще одном альтернативном варианте кристаллическая форма I характеризуется термограммой TGA или DSC, по

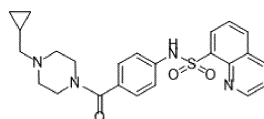
сути подобной показанной на фиг. 18.

Также представлена кристаллическая форма J гемисульфатной соли соединения, характеризующейся формулой



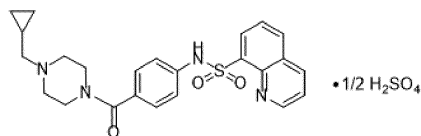
В одном аспекте кристаллическая форма J характеризуется пиками порошковой рентгеновской дифракции при значениях угла 2θ ($\pm 0,2^\circ$), выбранных из 12,4, 13,2, 14,6, 20,4 и $23,7^\circ$. В качестве альтернативы, кристаллическая форма J характеризуется пиками порошковой рентгеновской дифракции при значениях угла 2θ ($\pm 0,2^\circ$), выбранных из 12,4, 13,2, 14,6, 15,7, 20,4, 23,3 и $23,7^\circ$. В другом альтернативном варианте кристаллическая форма J характеризуется пиками порошковой рентгеновской дифракции при значениях угла 2θ ($\pm 0,2^\circ$), составляющих 12,4, 13,2, 14,6, 15,7, 20,4, 22,0, 23,3, 23,7 и $28,0^\circ$. В другом альтернативном варианте кристаллическая форма J характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, по сути подобной показанной на фиг. 19.

Также в данном документе представлена кристаллическая форма свободного основания соединения 1, характеризующегося формулой



В одном аспекте кристаллическая форма свободного основания соединения 1 характеризуется пиками порошковой рентгеновской дифракции при значениях угла 2θ ($\pm 0,2^\circ$), выбранных из 6,9, 13,5, 19,8 и $20,3^\circ$. В качестве альтернативы, кристаллическая форма свободного основания соединения 1 характеризуется пиками порошковой рентгеновской дифракции при значениях угла 2θ ($\pm 0,2^\circ$), выбранных из 6,9, 13,5, 19,8, 20,3 и $25,7^\circ$. В другом альтернативном варианте кристаллическая форма свободного основания соединения 1 характеризуется пиками порошковой рентгеновской дифракции при значениях угла 2θ ($\pm 0,2^\circ$), составляющих 6,9, 13,5, 15,7, 15,9, 19,8, 20,3, 23,6 и $25,7^\circ$. В еще одном альтернативном варианте кристаллическая форма свободного основания соединения 1 характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, по сути подобной показанной на фиг. 25.

Также в данном документе представлена аморфная форма гемисульфатной соли соединения, характеризующейся формулой



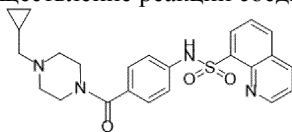
В одном аспекте соединения, описанные в данном документе, представляют собой на по меньшей мере 60% монокристаллическую форму, на по меньшей мере 70% монокристаллическую форму, на по меньшей мере 80% монокристаллическую форму, на по меньшей мере 90% монокристаллическую форму, на по меньшей мере 95% монокристаллическую форму или на по меньшей мере 99% монокристаллическую форму по весу.

В одном аспекте соединения, описанные в данном документе, характеризуются химической чистотой, составляющей по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 99% по весу.

В одном аспекте соединения, описанные в данном документе, по сути не содержат аморфных форм, т.е. присутствует менее 10% аморфной формы, например, присутствует менее 5%, менее 3%, менее 2% или менее 1% аморфной формы.

Также представлены способы получения раскрытых кристаллических и аморфных форм.

В одном аспекте в данном документе представлен способ образования кристаллической формы A, при этом способ предусматривает осуществление реакции соединения 1



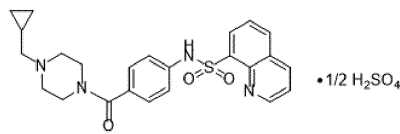
(1);

с H_2SO_4 в спиртовом растворе. В одном аспекте молярное соотношение соединения формулы 1 и H_2SO_4 составляет приблизительно 2:1. В другом аспекте спиртовой раствор дополнительно содержит воду. В одном аспекте способ образования кристаллической формы A, описанной выше, дополнительно предусматривает стадию - которую проводят после осуществления реакции с H_2SO_4 - добавления достаточного количества воды с осаждением кристаллической формы. В одном аспекте спирт представляет собой метанол или этанол. В другом аспекте раствор дополнительно содержит ароматический растворитель.

тель. В другом аспекте ароматический растворитель представляет собой толуол.

В одном альтернативном варианте кристаллическую форму А получают путем осуществления реакции соединения 1 с H_2SO_4 в растворе, содержащем ацетон и воду. В одном аспекте раствор представляет собой смесь ацетон:вода (9:1/об.:об.).

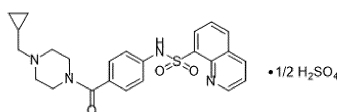
Также представлен способ образования гемисульфатной соли соединения, характеризующейся формулой



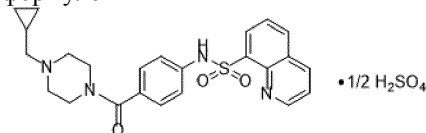
при этом способ предусматривает осуществление реакции отличного от кристаллического свободного основания соединения 1 с раствором серной кислоты в EtOAc. В одном аспекте концентрация серной кислоты в EtOAc составляет от приблизительно 15 до приблизительно 30 вес.%. В определенных вариантах осуществления концентрация серной кислоты в EtOAc составляет приблизительно 24 вес.%.

В одном альтернативном варианте гемисульфатную соль получают путем осуществления реакции соединения 1 с H_2SO_4 в растворе, содержащем воду и спирт, такой как MeOH или EtOH.

Также представлен способ образования аморфной формы гемисульфатной соли соединения формулы



при этом способ предусматривает осуществление кристаллизации формы А гемисульфатной соли соединения, характеризующейся формулой



путем выпаривания из MeOH. В качестве альтернативы, аморфную форму гемисульфатной соли можно получить путем осуществления кристаллизации кристаллической формы А гемисульфатной соли из THF. В одном аспекте кристаллизацию выпариванием проводят в метаноле или THF при приблизительно 50°C.

Композиции и введение

В данном документе представлены фармацевтические композиции, содержащие одну или более раскрытых кристаллических форм (например, кристаллическую форму А) или раскрытую аморфную форму вместе с фармацевтически приемлемым носителем. Количество кристаллической или аморфной формы в представленной композиции является таким, чтобы оно являлось эффективным для модуляции PKR на измеряемом уровне у субъекта.

Фармацевтические композиции, описанные в данном документе, можно получать с помощью любого способа, известного из области фармакологии. В целом, такие способы получения включают стадии приведения одной или более раскрытых кристаллических форм (например, кристаллической формы А) в контакт с носителем и/или одним или более другими вспомогательными ингредиентами, а затем, если необходимо и/или желательно, формования и/или упаковывания продукта в необходимый контейнер для одной или нескольких доз.

Фармацевтически приемлемые носители, применяемые в изготовлении представленных фармацевтических композиций, включают инертные разбавители, диспергирующие средства и/или средства для гранулирования, поверхностно-активные средства и/или эмульгаторы, разрыхлители, связующие, консерванты, буферные средства, смазывающие средства и/или масла. Носители, такие как масло какао и воски для суппозитория, красящие средства, средства для нанесения покрытия, подсластители, ароматизаторы и ароматизирующие средства, также могут присутствовать в композиции.

Иллюстративные разбавители включают карбонат кальция, карбонат натрия, фосфат кальция, фосфат дикальция, сульфат кальция, двузамещенный фосфат кальция, фосфат натрия, лактозу, сахарозу, целлюлозу, микрокристаллическую целлюлозу, каолин, маннит, сорбит, инозит, хлорид натрия, сухой крахмал, кукурузный крахмал, сахарную пудру и их смеси.

Иллюстративные средства для гранулирования и/или диспергирующие средства включают картофельный крахмал, кукурузный крахмал, маниоковый крахмал, крахмалгликолят натрия, глины, альгинатную кислоту, гуаровую камедь, цитрусовую пульпу, агар, бентонит, целлюлозу и продукты на основе древесины, природную губку, катионообменные смолы, карбонат кальция, силикаты, карбонат натрия, сшитый поли(винилпирролидон) (кросповидон), карбоксиметилкрахмал натрия (крахмалгликолят натрия), карбоксиметилцеллюлозу, сшитую карбоксиметилцеллюлозу (кроскармеллозу) натрия, метилцеллюлозу, прежелатинизированный крахмал (крахмал 1500), микрокристаллический крахмал, нераствори-

мый в воде крахмал, карбоксиметилцеллюлозу кальция, алюмосиликат магния (Veegum), лаурилсульфат натрия, соединения четвертичного аммония и их смеси.

Иллюстративные поверхностно-активные средства и/или эмульгаторы включают природные эмульгаторы (например, аравийскую камедь, агар, альгиновую кислоту, альгинат натрия, трагакант, карраген, холестерин, ксантан, пектин, желатин, яичный желток, казеин, шерстяной жир, холестерин, воск и лецитин), коллоидные глины (например, бентонит (силикат алюминия) и Veegum (алюмосиликат магния)), производные длинноцепочечных аминокислот, высокомолекулярные спирты (например, стеариловый спирт, цетиловый спирт, олеиловый спирт, триацетинмоноостеарат, дистеарат этиленгликоля, глицерилмоноостеарат и моноостеарат пропиленгликоля, поливиниловый спирт), карбомеры (например, карбокси-полиметилен, полиакриловую кислоту, полимер на основе акриловой кислоты и карбоксивиниловый полимер), каррагенан, производные целлюлозы (например, карбоксиметилцеллюлозу натрия, порошкообразную целлюлозу, гидроксиметилцеллюлозу, гидроксипропилцеллюлозу, гидроксипропилметилцеллюлозу, метилцеллюлозу), сложные эфиры сорбитана и жирных кислот (например, полиоксиэтиленсорбитанмонолаурат (Tween 20), полиоксиэтиленсорбитан (Tween 60), полиоксиэтиленсорбитанмоноолеат (Tween 80), сорбитанмонопальмитат (Span 40), сорбитанмоноостеарат (Span 60), сорбитантристеарат (Span 65), глицерилмоноолеат, сорбитанмоноолеат (Span 80)), сложные эфиры полиоксиэтилена (например, полиоксиэтиленмоноостеарат (Mugj 45), полиоксиэтилен-гидрогенизированное касторовое масло, полиэтоксированное касторовое масло, полиоксиметиленстеарат и Solutol), сложные эфиры сахарозы и жирных кислот, сложные эфиры полиэтиленгликоля и жирных кислот (например, CremophorTM), простые эфиры полиоксиэтилена, (например, полиоксиэтиленлауриловый простой эфир (Brij 30)), поли(винилпирролидон), диэтиленгликольмонолаурат, олеат триэтаноламина, олеат натрия, олеат калия, этилолеат, олеиновую кислоту, этиллаурат, лаурилсульфат натрия, Pluronic F-68, Poloxamer-188, бромид цетримония, хлорид цетилпиридиния, хлорид бензалкония, докузат натрия и/или их смеси.

Иллюстративные связующие включают крахмал (например, кукурузный крахмал и крахмальный клейстер), желатин, сахара (например, сахарозу, глюкозу, декстрозу, декстрин, виды мелассы, лактозу, лактит, маннит и т. д.), природные и синтетические камеди (например, аравийскую камедь, альгинат натрия, экстракт ирландского мха, камедь кассии, камедь гхатти, слизь шелухи подорожника, карбоксиметилцеллюлозу, метилцеллюлозу, этилцеллюлозу, гидроксипропилцеллюлозу, гидроксипропилметилцеллюлозу, микрокристаллическую целлюлозу, ацетилцеллюлозу, поли(винилпирролидон), алюмосиликат магния (Veegum) и арабиногалактан лиственницы), альгинаты, полиэтиленоксид, полиэтиленгликоль, неорганические соли кальция, кремневую кислоту, полиметакрилаты, воски, воду, спирт и/или их смеси.

Иллюстративные консерванты включают антиоксиданты, хелатообразующие средства, противомикробные консерванты, противогрибковые консерванты, спиртовые консерванты, кислотные консерванты и другие консерванты. В определенных вариантах осуществления консервант представляет собой антиоксидант. В других вариантах осуществления консервант представляет собой хелатообразующее средство.

Иллюстративные антиоксиданты включают альфа-токоферол, аскорбиновую кислоту, аскорбилпальмитат, бутилированный гидроксианизол, бутилированный гидрокситолуол, монотиоглицерин, метабисульфит калия, пропионовую кислоту, пропилгаллат, аскорбат натрия, бисульфит натрия, метабисульфит натрия и сульфит натрия.

Иллюстративные хелатообразующие средства включают этилендиаминтетрауксусную кислоту (EDTA) и ее соли и гидраты (например, эдетат натрия, эдетат динатрия, эдетат тринатрия, эдетат кальция-динатрия, эдетат дикалия и т.п.), лимонную кислоту и ее соли и гидраты (например, моногидрат лимонной кислоты), фумаровую кислоту и ее соли и гидраты, яблочную кислоту и ее соли и гидраты, фосфорную кислоту и ее соли и гидраты и винную кислоту и ее соли и гидраты. Иллюстративные противомикробные консерванты включают хлорид бензалкония, хлорид бензетония, бензиловый спирт, бронопол, цетримид, хлорид цетилпиридиния, хлоргексидин, хлорбутанол, хлоркрезол, хлороксиленол, крезол, этиловый спирт, глицерин, гексэтидин, имидамочевину, фенол, феноксиэтанол, фенилэтиловый спирт, нитрат фенилтрети, пропиленгликоль и тиомерсал.

Иллюстративные противогрибковые консерванты включают бутилпарабен, метилпарабен, этилпарабен, пропилпарабен, бензойную кислоту, гидроксibenзойную кислоту, бензоат калия, сорбат калия, бензоат натрия, пропионат натрия и сорбиновую кислоту.

Иллюстративные спиртовые консерванты включают этанол, полиэтиленгликоль, фенол, фенольные соединения, бисфенол, хлорбутанол, гидроксibenзоат и фенилэтиловый спирт.

Иллюстративные кислотные консерванты включают витамин А, витамин С, витамин Е, бета-каротин, лимонную кислоту, уксусную кислоту, дегидроуксусную кислоту, аскорбиновую кислоту, сорбиновую кислоту и фитиновую кислоту.

Другие консерванты включают токоферол, токоферола ацетат, детероксима мезилат, цетримид, бутилированный гидроксианизол (BHA), бутилированный гидрокситолуол (BHT), этилендиамин, лаурилсульфат натрия (SLS), лаурилэфирсульфат натрия (SLES), бисульфит натрия, метабисульфит натрия, сульфит калия, метабисульфит калия, Glydant Plus, Phenonip, метилпарабен, Germall 115, Germaben II,

Neolone, Kathon и Euxyl.

Иллюстративные буферные средства включают цитратные буферные растворы, ацетатные буферные растворы, фосфатные буферные растворы, хлорид аммония, карбонат кальция, хлорид кальция, цитрат кальция, глюбионат кальция, глюцептат кальция, глюконат кальция, D-глюконовую кислоту, глицерофосфат кальция, лактат кальция, пропановую кислоту, левулинат кальция, пентановую кислоту, двухосновный фосфат кальция, фосфорную кислоту, трехосновный фосфат кальция, гидроксифосфат кальция, ацетат калия, хлорид калия, глюконат калия, смеси солей калия, двухосновный фосфат калия, одноосновный фосфат калия, смеси фосфатов калия, ацетат натрия, бикарбонат натрия, хлорид натрия, цитрат натрия, лактат натрия, двухосновный фосфат натрия, одноосновный фосфат натрия, смеси фосфатов натрия, трометамин, гидроксид магния, гидроксид алюминия, альгиновую кислоту, апирогенную воду, изотонический солевой раствор, раствор Рингера, этиловый спирт и их смеси.

Иллюстративные смазывающие средства включают стеарат магния, стеарат кальция, стеариновую кислоту, диоксид кремния, тальк, солод, глицерилбегенат, гидрогенизированные растительные масла, полиэтиленгликоль, бензоат натрия, ацетат натрия, хлорид натрия, лейцин, лаурилсульфат магния, лаурилсульфат натрия, стеарилфумарат натрия и их смеси.

Иллюстративные природные масла включают миндальное масло, масло абрикосовых косточек, авокадо, бабассу, бергамота, семян черной смородины, огуречной травы, можжевельника, ромашки, канолы, тмина обыкновенного, карнаубы, касторовое масло, масло корицы, масло какао, кокосовое масло, масло печени трески, кофейное, кукурузное масло, масло семян хлопчатника, жир эму, масло эвкалипта, примулы вечерней, рыбий жир, масло семян льна, герани, тыквы, семян винограда, лещины обыкновенной, иссопа, изопропилмиристат, масло жожоба, плодов свечного дерева, лавандина, лаванды, лимона, литцеи кубеба, ореха макадамии, мальвы, семян манго, семян пенника лугового, жир норки, масло мускатного ореха, оливковое масло, масло апельсина, жир атлантического большеголова, пальмовое, пальмоядровое масло, масло персиковых косточек, арахисовое масло, масло семян мака, семян тыквы, рапсовое масло, масло рисовых отрубей, розмарина, сафлоровое масло, масло сандалового дерева, масло камелии сасанква, масло чабера, облепихи крушиновидной, кунжутное масло, масло дерева ши, силиконовое, соевое, подсолнечное масло, масло чайного дерева, чертополоха, камелии, ветивертии, грецкого ореха и масло из зародышей пшеницы. Иллюстративные синтетические масла включают без ограничения бутилстеарат, триглицерид каприловой кислоты, триглицерид каприновой кислоты, циклометикон, диэтилсебацат, диметикон 360, изопропилмиристат, минеральное масло, октилдодеканол, олеиловый спирт, силиконовое масло и их смеси.

Композиции, описанные в данном документе, можно вводить перорально, парентерально, с помощью спрея для ингаляции, местно, ректально, назально, трансбуккально, трансмукозально или в виде офтальмологического препарата. Термин "парентеральный" при использовании в данном документе включает методики подкожной, внутривенной, внутримышечной, внутрисуставной, интрасиновиальной, внутригрудинной, интратекальной, внутрипеченочной, внутриочаговой и внутричерепной инъекции или инфузии. В одном аспекте фармацевтические композиции, представленные в данном документе, вводят перорально в приемлемой для перорального применения лекарственной форме, включающей без ограничения капсулы, таблетки, эмульсии и водные суспензии, дисперсии и растворы. В случае таблеток для перорального применения обычно применяемые носители включают лактозу и кукурузный крахмал. Также, как правило, добавляют смазывающие средства, такие как стеарат магния. Для перорального введения в форме капсулы пригодные разбавители включают лактозу и сухой кукурузный крахмал. Если водные суспензии и/или эмульсии вводят перорально, активный ингредиент может быть супендирован или растворен в масляной фазе, объединенной с эмульгирующими и/или супендирующими средствами. При необходимости можно добавлять определенные подслащивающие, и/или ароматизирующие, и/или красящие средства.

Количество представленной кристаллической или аморфной формы, которое можно объединять с материалами-носителями с получением композиции в единичной лекарственной форме, будет изменяться в зависимости от субъекта, подлежащего лечению, и конкретного режима введения. Например, конкретная доза и схема лечения для любого конкретного субъекта будет зависеть от ряда факторов, включающих возраст, вес тела, общее состояние здоровья, пол, диету, время введения, скорость экскреции, комбинацию лекарственных средств, решение лечащего врача и тяжесть конкретного заболевания, подлежащего лечению. Количество представленной кристаллической формы в композиции также будет зависеть от конкретной формы (например, формы A, B, C, D, E, F, G, H, I или J) в композиции. В одном аспекте представленная композиция может быть составлена таким образом, чтобы субъекту, получающему данные композиции, можно было вводить дозу, эквивалентную от приблизительно 0,001 до приблизительно 100 мг/кг массы тела/сутки соединения 1 (например, от приблизительно 0,5 до приблизительно 100 мг/кг соединения 1). В качестве альтернативы, также являются приемлемыми дозы, эквивалентные от 1 до 1000 мг/кг соединения 1 каждые 4-120 ч. При использовании в данном документе доза означает количество соединения 1 в конкретной кристаллической форме. Количество конкретной кристаллической формы будет рассчитано на основе эквивалентности форме свободного основания соединения 1.

- 15 -

[illegible]

В одном аспекте раскрытая форма (кристаллическая форма A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, кристаллическая форма свободного основания или аморфная форма) составлена в виде композиции для получения таблеток вместе с фармацевтически приемлемым носителем. В одном аспекте носитель выбран из одного или более из микрокристаллической целлюлозы, маннита, кроскармеллозы натрия и стеарилфumarата натрия. В одном аспекте носитель представляет собой микрокристаллическую целлюлозу, например, присутствующую в количестве от 50 до 70% вес./вес. ($\pm 2\%$), от 55 до 65% вес./вес. ($\pm 2\%$), от 58 до 62% вес./вес. ($\pm 2\%$), 59% вес./вес. ($\pm 2\%$), 60% вес./вес. ($\pm 2\%$), 61% вес./вес. ($\pm 2\%$), 62% вес./вес. ($\pm 2\%$), 61% вес./вес. или 62% вес./вес. В другом аспекте носитель представляет собой маннит, например, присутствующий в количестве от 15 ($\pm 2\%$) до 35% вес./вес. ($\pm 2\%$), от 20 ($\pm 2\%$) до 30% вес./вес. ($\pm 2\%$), от 22 ($\pm 2\%$) до 26% вес./вес. ($\pm 2\%$), 22% вес./вес. ($\pm 2\%$), 23% вес./вес. ($\pm 2\%$), 24% вес./вес. ($\pm 2\%$) или 23% вес./вес. В другом аспекте носитель представляет собой кроскармеллозу натрия, например, присутствующую в количестве от 1 до 5% вес./вес. ($\pm 2\%$), от 2 до 4% вес./вес. ($\pm 2\%$), 2% вес./вес. ($\pm 2\%$), 3% вес./вес. ($\pm 2\%$), 4% вес./вес. ($\pm 2\%$) или 3% вес./вес. В другом аспекте носитель представляет собой стеарилфumarат, напри-

мер, присутствующий в количестве от 1 до 5% вес./вес. ($\pm 2\%$), от 2 до 4% вес./вес. ($\pm 2\%$), 1% вес./вес. ($\pm 2\%$), 2% вес./вес. ($\pm 2\%$), 3% вес./вес. ($\pm 2\%$) или 2% вес./вес. В некоторых вариантах осуществления кристаллическая форма А присутствует в композиции для получения таблеток в количестве, эквивалентном от приблизительно 1 до приблизительно 200 мг соединения 1. В некоторых вариантах осуществления кристаллическая форма А присутствует в композиции для получения таблеток в количестве, эквивалентном от приблизительно 1 до приблизительно 150 мг соединения 1. В некоторых вариантах осуществления кристаллическая форма А присутствует в композиции для получения таблеток в количестве, эквивалентном от приблизительно 1 до приблизительно 100 мг соединения 1. В некоторых вариантах осуществления кристаллическая форма А присутствует в композиции для получения таблеток в количестве, эквивалентном приблизительно 5 мг соединения 1. В некоторых вариантах осуществления кристаллическая форма А присутствует в композиции для получения таблеток в количестве, эквивалентном приблизительно 20 мг соединения 1. В некоторых вариантах осуществления кристаллическая форма А присутствует в композиции для получения таблеток в количестве, эквивалентном приблизительно 50 мг соединения 1. В некоторых вариантах осуществления кристаллическая форма А присутствует в композиции для получения таблеток в количестве, эквивалентном приблизительно 75 мг соединения 1. В некоторых вариантах осуществления кристаллическая форма А присутствует в композиции для получения таблеток в количестве, эквивалентном приблизительно 100 мг соединения 1.

При использовании в данном документе соответствующее дозе количество кристаллической формы А, В, С, D, E, F, G, H, I, J или аморфной формы основано на эквивалентности формы свободного основания соединения 1. Например, выражение "кристаллическая форма А, присутствующая в композиции в количестве, эквивалентном приблизительно 1,0 мг соединения 1" означает, что в композиции присутствует приблизительно 1,18 мг кристаллической формы А и это эквивалентно приблизительно 1,0 мг свободного основания соединения 1.

В одном аспекте композиция для получения таблеток содержит 10% вес./вес. ($\pm 1\%$) кристаллического свободного основания; 62% вес./вес. ($\pm 2\%$) микрокристаллической целлюлозы; 23% вес./вес. ($\pm 2\%$) маннита, 3% вес./вес. ($\pm 2\%$) кроскармеллозы натрия и 2% вес./вес. ($\pm 2\%$) стеарилфумарата.

В одном аспекте композиция для получения таблеток содержит 11,78% вес./вес. ($\pm 1\%$) кристаллической формы А; 62% вес./вес. ($\pm 2\%$) микрокристаллической целлюлозы; 23% вес./вес. ($\pm 2\%$) маннита; 3% вес./вес. ($\pm 2\%$) кроскармеллозы натрия и 2% вес./вес. ($\pm 2\%$) стеарилфумарата.

В определенных вариантах осуществления представлена фармацевтическая композиция, содержащая кристаллическую форму А и фармацевтически приемлемый носитель. В определенных вариантах осуществления представлена фармацевтическая композиция, содержащая кристаллическую форму А, которая по сути не содержит соединения IM-1 и/или соединения IM-2 (см. примеры). В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая форму А, по сути не содержит других кристаллических форм гемисульфатной соли соединения 1. В определенных вариантах осуществления один или более носителей обработаны с образованием частиц соответствующего размера. В определенных вариантах осуществления обработка порошка (т. е. кристаллической формы А) предусматривает измельчение порошка в течение количества времени, достаточного для обеспечения необходимого размера частиц ("измельченный порошок"). В некоторых вариантах осуществления размер частиц измельченного порошка составляет менее чем приблизительно 400 мкм. В некоторых вариантах осуществления размер частиц измельченного порошка составляет менее чем приблизительно 300 мкм. В некоторых вариантах осуществления размер частиц измельченного порошка составляет менее чем приблизительно 200 мкм. В некоторых вариантах осуществления размер частиц измельченного порошка составляет менее чем приблизительно 100 мкм. В некоторых вариантах осуществления размер частиц измельченного порошка составляет менее чем приблизительно 90 мкм. В некоторых вариантах осуществления размер частиц измельченного порошка составляет менее чем приблизительно 80 мкм. В некоторых вариантах осуществления размер частиц измельченного порошка составляет менее чем приблизительно 70 мкм. В некоторых вариантах осуществления размер частиц измельченного порошка составляет менее чем приблизительно 60 мкм. В некоторых вариантах осуществления размер частиц измельченного порошка составляет менее чем приблизительно 50 мкм. В некоторых вариантах осуществления размер частиц измельченного порошка составляет менее чем приблизительно 40 мкм. В некоторых вариантах осуществления размер частиц измельченного порошка составляет менее чем приблизительно 30 мкм. В некоторых вариантах осуществления размер частиц измельченного порошка составляет менее чем приблизительно 20 мкм. В некоторых вариантах осуществления размер частиц измельченного порошка находится в диапазоне от приблизительно 10 до приблизительно 400 мкм. В некоторых вариантах осуществления размер частиц измельченного порошка находится в диапазоне от приблизительно 10 до приблизительно 300 мкм. В некоторых вариантах осуществления размер частиц измельченного порошка находится в диапазоне от приблизительно 10 до приблизительно 200 мкм. В некоторых вариантах осуществления размер частиц измельченного порошка находится в диапазоне от приблизительно 10 до приблизительно 100 мкм. В некоторых вариантах осуществления размер частиц измельченного порошка находится в диапазоне от приблизительно 10 до приблизительно 80 мкм. В некоторых вариантах осуществления размер

частиц измельченного порошка находится в диапазоне от приблизительно 10 до приблизительно 70 мкм. В некоторых вариантах осуществления размер частиц измельченного порошка находится в диапазоне от приблизительно 10 до приблизительно 60 мкм. В некоторых вариантах осуществления размер частиц измельченного порошка находится в диапазоне от приблизительно 20 до приблизительно 60 мкм. Термин "приблизительно" при использовании в данном документе по отношению к размеру частиц означает +/- 5 мкм.

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 90% иллюстративного образца измельченного порошка характеризуется размером частиц менее приблизительно 100, приблизительно 80, приблизительно 70, приблизительно 60, приблизительно 50, приблизительно 40, приблизительно 30, приблизительно 20 или приблизительно 10 мкм. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере приблизительно 90% иллюстративного образца измельченного порошка характеризуется размером частиц менее чем приблизительно 60 мкм.

Способы лечения и пути применения соединений и композиций

В одном аспекте кристаллические и аморфные формы, описанные в данном документе, и композиции на их основе являются аллостерическими активаторами PKR и, как правило, пригодными для лечения лежащего в основе состояния PKD.

Таким образом, в данном документе представлены способы лечения дефицита пируваткиназы (PKD) у субъекта, нуждающегося в этом, предусматривающие введение субъекту эффективного количества кристаллической формы A, B, C, D, E, F, G, H, I или J, или аморфной формы соединения формулы (I), или фармацевтической композиции на их основе. Также представлены кристаллическая форма A, B, C, D, E, F, G, H, I или J или аморфная форма соединения формулы (I), или фармацевтическая композиция на их основе для применения в лечении дефицита пируваткиназы (PKD) у субъекта, нуждающегося в этом. Дополнительно представлено применение кристаллической формы A, B, C, D, E, F, G, H, I или J, или аморфной формы соединения формулы (I), или фармацевтической композиции на их основе в изготовлении лекарственного препарата для лечения дефицита пируваткиназы (PKD). Приведенные в качестве примера состояния, связанные с PKD, включают без ограничения виды анемии, холецистолитиаз, камни в желчном пузыре, тахикардию, гемохроматоз, желтые белки глаз, спленомегалию, язвы ног, желтуху, утомляемость и одышку. Как описано в данном документе, PKD представляет собой дефицит PKR. В определенных вариантах осуществления дефицит PKR ассоциирован с мутацией PKR.

Дефицит пируваткиназы (PKD) представляет собой гликолитическую энзимопатию, которая приводит к пожизненной гемолитической анемии. В определенных вариантах осуществления субъектом, имеющим PKD, является пациент, имеющий по меньшей мере 2 мутантные аллели в гене PKLR. В определенных вариантах осуществления субъектом, имеющим PKD, является пациент, имеющий по меньшей мере 2 мутантные аллели в гене PKLR, и при этом по меньшей мере одна из них является миссенс-мутацией. См. Canu. et.al, Blood Cells, Molecules and Diseases 2016, 57, стр. 100-109. В определенных вариантах осуществления субъект, имеющий PKD, имеет концентрацию Hb, которая меньше или равняется 10,0 г/дл. В определенных вариантах осуществления субъектом, имеющим PKD, является взрослый человек, которого не подвергают регулярным переливаниям крови (например, подвергали не более чем 4 процедурам переливания за 12-месячный период перед лечением). В определенных вариантах осуществления субъектом, имеющим PKD, является взрослый человек, не имеющий потребности в переливаниях крови (например, которого подвергали переливанию не более чем 3 единиц RBC за 12-месячный период до лечения). В определенных вариантах осуществления субъектом, имеющим PKD, является взрослый человек, которого подвергают регулярным переливаниям крови (например, подвергают по меньшей мере 4 процедурам переливания (например, по меньшей мере 6 процедурам переливания) за 12-месячный период до лечения). В определенных вариантах осуществления субъекта, имеющего PKD, подвергали в общем количестве по меньшей мере 5 процедур переливания за все время жизни субъекта. В определенных вариантах осуществления субъекта, имеющего PKD, подвергали в общем количестве по меньшей мере 10 процедур переливания за все время жизни субъекта. В определенных вариантах осуществления субъекта, имеющего PKD, подвергали в общем количестве по меньшей мере 15 процедур переливания за все время жизни субъекта. В определенных вариантах осуществления субъекта, имеющего PKD, подвергали в общем количестве по меньшей мере 20 процедур переливания за все время жизни субъекта. В определенных вариантах осуществления субъекта, имеющего PKD, подвергали в общем количестве по меньшей мере 25 процедур переливания за все время жизни субъекта. В определенных вариантах осуществления субъекта, имеющего PKD, подвергали в общем количестве по меньшей мере 30 процедур переливания за все время жизни субъекта. В определенных вариантах осуществления субъекта, имеющего PKD, подвергали в общем количестве по меньшей мере 40 процедур переливания за все время жизни субъекта. В определенных вариантах осуществления субъекта, имеющего PKD, подвергали в общем количестве по меньшей мере 50 процедур переливания за все время жизни субъекта. В определенных вариантах осуществления субъекта, имеющего PKD, подвергали в общем количестве по меньшей мере 60 процедур переливания за все время жизни субъекта. В определенных вариантах осуществления субъекта, имеющего PKD, подвергали в общем количестве по меньшей мере 70 процедур переливания за все время жизни субъекта. В определенных вариантах осуществления субъект, имеющий

PKD, не имеет гомозиготной мутации R479H или не имеет 2 мутаций, отличных от миссенс-мутации, в гене PKLR. В определенных вариантах осуществления субъект, имеющий PKD, при регулярном переливании крови характеризуется уровнем гемоглобина (Hb) $\leq 12,0$ г/дл (если мужского пола) или $\leq 11,0$ г/дл (если женского пола) до лечения. В определенных вариантах осуществления у субъекта, имеющего PKD, при регулярном переливании крови переливание осуществляют в среднем один раз каждые три недели или меньше. В определенных вариантах осуществления субъект, имеющий PKD, получил по меньшей мере 0,8 мг (например, по меньшей мере 1,0 мг) фолиевой кислоты в сутки (например, в течение по меньшей мере 21 дня) до лечения. В определенных вариантах осуществления у субъекта с PKD при регулярном переливании крови достигается уменьшение общего необходимого количества переливаний крови (например, уменьшение на по меньшей мере 33% количества единиц RBC, переливание которых осуществляют) в течение 5 недель, 10 недель, 15 недель, 20 недель или 24 недель, 28 недель или 32 недель лечения. В определенных вариантах осуществления субъект, имеющий PKD, которого не подвергают регулярным переливаниям крови (подвергают не более 4 процедурам переливания за 12-месячный период до лечения и/или не подвергали переливанию в течение 3 месяцев до лечения) характеризуется уровнем гемоглобина (Hb) $\leq 10,0$ г/дл независимо от пола до лечения. В определенных вариантах осуществления субъекта, имеющего PKD, подвергали спленэктомии.

В определенных вариантах осуществления у субъекта с PKD достигается ответ в отношении гемоглобина, представляющий собой увеличение концентрации Hb после лечения по сравнению с исходным уровнем до лечения, составляющее по меньшей мере 1,0 г/дл. В определенных вариантах осуществления у субъекта с PKD достигается ответ в отношении гемоглобина, представляющий собой увеличение концентрации Hb относительно исходного уровня до лечения, составляющее по меньшей мере 1,5 г/дл. В определенных вариантах осуществления у субъекта с PKD достигается ответ в отношении гемоглобина, представляющий собой увеличение концентрации Hb относительно исходного уровня до лечения, составляющее по меньшей мере 2,0 г/дл.

В одном варианте осуществления мутантная форма PKR выбрана из группы, состоящей из A31V, A36G, G37Q, R40W, R40Q, L73P, S80P, P82H, R86P, I90N,

T93I, G95R, M107T, G111R, A115P, S120F, H121Q, S130P, S130Y, V134D, R135D, A137T, G143S, I153T, A154T, L155P, G159V, R163C, R163L, T164N, G165V, L167M, G169G, E172Q, W201R, I219T, A221Y, D221N, G222A, I224T, G232C, N253D, G263R, G263W, E266K, V269F, L272V, L272P, G275R, G275R, E277K, V280G, D281N, F287V, F287L, V288L, D293N, D293V, A295I, A295V, I310N, I314T, E315K, N316K, V320L, V320M, S330R, D331N, D331G, D331E, G332S, V335M, A336S, R337W, R337P, R337Q, D339N, D339Q, G341A, G341D, I342F, K348N, A352D, I357T, G358R, G358E, R359C, R359H, C360Y, N361D, G364D, K365M, V368F, T371I, L374P, S376I, T384M, R385W, R385K, E387G, D390N, A392T, N393D, N393S, N393K, A394S, A394D, A394V, V395L, D397V, G398A, M403I, G406R, E407K, E407G, T408P, T408A, T408I, K410E, G411S, G411A, Q421K, A423A, A423A, R426W, R426Q, E427A, E427N, A431T, R449C, I457V, G458D, A459V, V460M, A468V, A468G, A470D, T477A, R479C, R479H, S485F, R486W, R486L, R488Q, R490W, I494T, A495T, A495V, R498C, R498H, A503V, R504L, Q505E, V506I, R510Q, G511R, G511E, R518S, R531C, R532W, R532Q, E538D, G540R, D550V, V552M, G557A, R559G, R559P, N566K, M568V, R569Q, R569L, Q58X, E174X, W201X, E241X, R270X, E440X, R486X, Q501X, L508X, R510X, E538X, R559X.

Такие мутации описаны в Canu et.al., Blood Cells, Molecules and Diseases 2016, 57, стр. 100-109. В одном варианте осуществления мутантная форма PKR выбрана из G332S, G364D, T384M, K410E, R479H, R479K, R486W, R532W, R510Q и R490W. В определенных вариантах осуществления мутантная форма PKR выбрана из A468V, A495V, I90N, T408I, и Q421K, и R498H. В определенных вариантах осуществления мутантная форма PKR представляет собой R532W, K410E или R510Q. В определенных вариантах осуществления мутантная форма PKR представляет собой R510Q, R486W или R479H.

В других аспектах представлены способы лечения заболевания, выбранного из гемолитической анемии, серповидноклеточного заболевания, талассемии, наследственного сфероцитоза, наследственного эллиптоцитоза, абетаполипротеинемии, синдрома Бассена-Корнцвейга и пароксизмальной ночной гемоглобинурии, у субъекта, нуждающегося в этом, предусматривающие введение субъекту эффективного количества кристаллической формы A, B, C, D, E, F, G, H, I или J, или аморфной формы соединения формулы (I), или фармацевтической композиции на их основе. Также представлены кристаллическая форма A, B, C, D, E, F, G, H, I или J, или аморфная форма соединения формулы (I), или фармацевтическая композиция на их основе для применения в лечении заболевания, выбранного из гемолитической анемии, серповидноклеточного заболевания, талассемии, наследственного сфероцитоза, наследственного эллиптоцитоза, абетаполипротеинемии, синдрома Бассена-Корнцвейга и пароксизмальной ночной гемоглобинурии, у субъекта. Дополнительно представлено применение кристаллической формы A, B, C, D, E,

F, G, H, I или J, или аморфной формы соединения формулы (I), или фармацевтической композиции на их основе в изготовлении лекарственного препарата для лечения заболевания, выбранного из гемолитической анемии, серповидноклеточного заболевания, талассемии, наследственного сфероцитоза, наследственного эллиптоцитоза, абетапопротеинемии, синдрома Бассена-Корнцвейга и пароксизмальной ночной гемоглобинурии, у субъекта, нуждающегося в этом. В одном аспекте заболевание, подлежащее лечению, представляет собой гемолитическую анемию.

В других аспектах в данном документе представлены способы лечения талассемии (например, бета-талассемии или трансфузионно-независимой талассемии) у субъекта, нуждающегося в этом, предусматривающие введение субъекту эффективного количества кристаллической формы A, B, C, D, E, F, G, H, I или J, или аморфной формы соединения формулы (I), или фармацевтической композиции на их основе. Также представлены кристаллическая форма A, B, C, D, E, F, G, H, I или J, или аморфная форма соединения формулы (I), или фармацевтическая композиция на их основе для применения в лечении талассемии (например, бета-талассемии или трансфузионно-независимой талассемии). Дополнительно представлено применение кристаллической формы A, B, C, D, E, F, G, H, I или J, или аморфной формы соединения формулы (I), или фармацевтической композиции на их основе в изготовлении лекарственного препарата для лечения талассемии (например, бета-талассемии или трансфузионно-независимой талассемии).

В других аспектах в данном документе представлены способы лечения талассемии (например, бета-талассемии или трансфузионно-независимой талассемии) у субъекта, нуждающегося в этом, предусматривающие введение субъекту эффективного количества кристаллической формы A или фармацевтической композиции на ее основе. Также представлена кристаллическая форма A или фармацевтическая композиция на ее основе для применения в лечении талассемии (например, бета-талассемии или трансфузионно-независимой талассемии). Дополнительно представлено применение кристаллической формы A или фармацевтической композиции на ее основе в изготовлении лекарственного препарата для лечения талассемии (например, бета-талассемии или трансфузионно-независимой талассемии).

В других аспектах в данном документе представлены способы лечения талассемии (например, бета-талассемии или трансфузионно-независимой талассемии) у субъекта, нуждающегося в этом, предусматривающие введение субъекту эффективного количества кристаллической формы D или фармацевтической композиции на ее основе. Также представлены кристаллическая форма D или фармацевтическая композиция на ее основе для применения в лечении талассемии (например, бета-талассемии или трансфузионно-независимой талассемии). Дополнительно представлено применение кристаллической формы D или фармацевтической композиции на ее основе в изготовлении лекарственного препарата для лечения талассемии (например, бета-талассемии или трансфузионно-независимой талассемии).

В определенных вариантах осуществления субъектом является взрослый субъект с талассемией. В определенных вариантах осуществления у субъекта имеется талассемия, такая как промежуточная форма β -талассемии, HbE- β -талассемия, α -талассемия (заболевание, связанное с HbH) или β -талассемия с мутациями в 1 или более генах α -цепей. В определенных вариантах осуществления у субъекта имеется бета-талассемия или трансфузионно-независимая талассемия. В определенных вариантах осуществления субъектом является взрослый субъект мужского пола с талассемией, такой как бета-талассемия или трансфузионно-независимая талассемия. В определенных вариантах осуществления субъектом является субъект женского пола с талассемией, такой как бета-талассемия или трансфузионно-независимая талассемия. В определенных вариантах осуществления субъектом является взрослый субъект женского пола с талассемией, такой как бета-талассемия или трансфузионно-независимая талассемия. В определенных вариантах осуществления концентрация гемоглобина у субъекта составляет 6,0 г/дл или меньше. В определенных вариантах осуществления концентрация гемоглобина у субъекта составляет 7,0 г/дл или меньше. В определенных вариантах осуществления концентрация гемоглобина у субъекта составляет 8,0 г/дл или меньше. В определенных вариантах осуществления концентрация гемоглобина у субъекта составляет 9,0 г/дл или меньше. В определенных аспектах субъект, имеющий трансфузионно-независимую талассемию, не имеет известного анамнеза (например, был диагностирован в прошлом) HbS- или HbC-форм талассемии. В определенных вариантах осуществления термин "трансфузионно-независимая" талассемия относится к субъектам с талассемией, характеризующимся не более чем 4 (например, пятью) единицами RBC, переливание которых осуществляют в течение 24-недельного периода до первого дня введения кристаллической или аморфной формы, описанной в данном документе, и/или отсутствием переливания RBC за 8 недель до первого дня введения кристаллической или аморфной формы, описанной в данном документе.

В других аспектах в данном документе представлены способы увеличения продолжительности жизни эритроцитов (RBC) у субъекта, нуждающегося в этом, предусматривающие введение субъекту эффективного количества кристаллической формы A, B, C, D, E, F, G, H, I или J, или аморфной формы соединения формулы (I), или фармацевтической композиции на их основе. Также представлены кристаллическая форма A, B, C, D, E, F, G, H, I или J, или аморфная форма соединения формулы (I), или фармацевтическая композиция на их основе для применения в увеличении продолжительности жизни эритроцитов (RBC) у субъекта, нуждающегося в этом. Дополнительно представлено применение кристалличе-

ской формы A, B, C, D, E, F, G, H, I или J, или аморфной формы соединения формулы (I), или фармацевтической композиции на их основе в изготовлении лекарственного препарата для увеличения продолжительности жизни эритроцитов (RBC). В одном аспекте кристаллическую форму A, B, C, D, E, F, G, H, I или J, или аморфную форму соединения формулы (I), или фармацевтическую композицию на их основе экстракорпорально добавляют непосредственно к цельной крови или эритроцитарной массе.

В других аспектах в данном документе представлены способы регуляции уровней 2,3-дифосфоглицерата в крови у субъекта, нуждающегося в этом, предусматривающие приведение крови в контакт с эффективным количеством кристаллической формы A, B, C, D, E, F, G, H, I или J, или аморфной формы соединения формулы (I), или фармацевтической композиции на их основе. Также представлены кристаллическая форма A, B, C, D, E, F, G, H, I или J, или аморфная форма соединения формулы (I), или фармацевтическая композиция на их основе для применения в регуляции уровней 2,3-дифосфоглицерата в крови у субъекта, нуждающегося в этом. Дополнительно представлено применение кристаллической формы A, B, C, D, E, F, G, H, I или J, или аморфной формы соединения формулы (I), или фармацевтической композиции на их основе в изготовлении лекарственного препарата для регуляции уровней 2,3-дифосфоглицерата в крови.

В других аспектах в данном документе представлены способы лечения анемии у субъекта, нуждающегося в этом, предусматривающие введение субъекту эффективного количества кристаллической формы A, B, C, D, E, F, G, H, I или J, или аморфной формы соединения формулы (I), или фармацевтической композиции на их основе. Также представлены кристаллическая форма A, B, C, D, E, F, G, H, I или J, или аморфная форма соединения формулы (I), или фармацевтическая композиция на их основе для применения в лечении анемии у субъекта, нуждающегося в этом. Дополнительно представлено применение кристаллической формы A, B, C, D, E, F, G, H, I или J, или аморфной формы соединения формулы (I), или фармацевтической композиции на их основе в изготовлении лекарственного препарата для лечения анемии. В одном аспекте анемия, подлежащая лечению, представляет собой дизэритропоэтическую анемию.

В определенных вариантах осуществления анемия представляет собой дизэритропоэтическую анемию, такую как врожденная дизэритропоэтическая анемия типа I, II, III или IV. В определенных вариантах осуществления анемия представляет собой гемолитическую анемию. В определенных вариантах осуществления гемолитическая анемия представляет собой врожденную и/или наследственную форму гемолитической анемии, такую как PKD, серповидноклеточное заболевание, виды талассемии (например, альфа- или бета- или трансфузионно-независимую талассемию), наследственный сфероцитоз, наследственный эллиптоцитоз), пароксизмальную ночную гемоглобинурию, абетаполипротеинемия (синдром Бассена-Корнцвейга). В определенных вариантах осуществления гемолитическая анемия представляет собой приобретенную гемолитическую анемию, такую как, например, аутоиммунная гемолитическая анемия, гемолитическая анемия, индуцированная лекарственным средством. В определенных вариантах осуществления гемолитическая анемия представляет собой анемию, являющуюся составляющей мультисистемного заболевания, такую как анемия при врожденной эритропоэтической протопорфирии, анемия Фанкони, анемия Даймонда-Блекфена.

При использовании в данном документе термин "анемия" означает дефицит эритроцитов (RBC) и/или гемоглобина. При использовании в данном документе анемия включает все типы клинически выраженной анемии, например (без ограничения), микроцитарную анемию, железодефицитную анемию, гемоглобинопатию, нарушение синтеза гема, нарушение синтеза глобина, сидеробластную анемию, нормоцитарную анемию, анемию при хроническом заболевании, апластическую анемию, гемолитическую анемию, макроцитарную анемию, мегалобластическую анемию, пернициозную анемию, диморфную анемию, анемию у недоношенных, анемию Фанкони, наследственный сфероцитоз, серповидноклеточное заболевание, аутоиммунную гемолитическую анемию теплого типа, гемолитическую анемию с Холодовыми агглютинидами, остеопетроз, талассемию и миелодиспластический синдром.

В определенных вариантах осуществления анемию можно диагностировать по развернутому клиническому анализу крови. В определенных вариантах осуществления анемию можно диагностировать на основе измерения одного или более маркеров гемолиза (например, количества RBC, гемоглобина, ретикулоцитов, шистоцитов, лактатдегидрогеназы (LDH), гаптоглобина, билирубина и ферритина), и/или среднего объема эритроцита (MCV) при гемосидеринурии, и/или ширины распределения эритроцитов по объему (RDW). В контексте настоящего изобретения анемия присутствует в том случае, если концентрация гемоглобина (Hb) у индивидуума находится на уровне ниже требуемого, например, концентрация Hb составляет менее 14 г/дл, более предпочтительно менее 13 г/дл, более предпочтительно менее 12 г/дл, более предпочтительно менее 11 г/дл или наиболее предпочтительно менее 10 г/дл.

В определенных вариантах осуществления в данном документе представлен способ повышения количества гемоглобина у субъекта путем введения эффективного количества кристаллической формы A, B, C, D, E, F, G, H, I или J, или аморфной формы соединения формулы (I), или фармацевтической композиции на их основе, описанных в данном документе. В определенных вариантах осуществления также в данном документе представлен способ повышения количества гемоглобина у субъекта, имеющего талассемию, предусматривающий введение субъекту эффективного количества кристаллической формы A, B,

С, D, E, F, G, H, I или J, или кристаллического свободного основания, или аморфной формы соединения формулы (I), или фармацевтической композиции на их основе. Дополнительно представлен способ повышения количества гемоглобина у субъектов, имеющих трансфузионно-независимую талассемию, предусматривающий введение субъекту эффективного количества кристаллической формы A, B, C, D, E, F, G, H, I или J, или кристаллического свободного основания, или аморфной формы соединения формулы (I), или фармацевтической композиции на их основе, описанных в данном документе. В определенных вариантах осуществления представлены способы повышения концентрации гемоглобина у субъекта. В определенных вариантах осуществления представлены способы повышения концентрации Hb до требуемого уровня, например, более 10 г/дл, более предпочтительно более 11 г/дл, более предпочтительно более 12 г/дл, более предпочтительно более 13 г/дл или наиболее предпочтительно более 14 г/дл. В определенных вариантах осуществления представлены способы повышения концентрации Hb на по меньшей мере приблизительно 0,5 г/дл. В определенных вариантах осуществления представлены способы повышения концентрации Hb на по меньшей мере приблизительно 1,0 г/дл. В определенных вариантах осуществления представлены способы повышения концентрации Hb на по меньшей мере приблизительно 1,5 г/дл. В определенных вариантах осуществления представлены способы повышения концентрации Hb на по меньшей мере приблизительно 2,0 г/дл. В определенных вариантах осуществления представлены способы повышения концентрации Hb на по меньшей мере приблизительно 2,5 г/дл. В определенных вариантах осуществления представлены способы повышения концентрации Hb на по меньшей мере приблизительно 3,0 г/дл. В определенных вариантах осуществления представлены способы повышения концентрации Hb на по меньшей мере приблизительно 3,5 г/дл. В определенных вариантах осуществления представлены способы повышения концентрации Hb на по меньшей мере приблизительно 4,0 г/дл. В определенных вариантах осуществления представлены способы повышения концентрации Hb на по меньшей мере приблизительно 4,5 г/дл. В определенных вариантах осуществления представлены способы повышения концентрации Hb на по меньшей мере приблизительно 5,0 г/дл. В определенных вариантах осуществления представлены способы повышения концентрации Hb на по меньшей мере приблизительно 5,5 г/дл. В определенных вариантах осуществления представлены способы повышения концентрации Hb на по меньшей мере приблизительно 6,0 г/дл. В определенных вариантах осуществления повышение концентрации Hb определяется относительно исходного уровня при одном или более оценках между недель 1 и недель 20 (например, между недель 2 и недель 15, между недель 3 и недель 15 и между недель 4 и недель 12) лечения с помощью эффективного количества кристаллической формы A, B, C, D, E, F, G, H, I или J, или кристаллического свободного основания, или аморфной формы соединения формулы (I), или фармацевтической композиции на их основе, описанных в данном документе. В определенных вариантах осуществления представлены способы повышения концентрации Hb, как описано выше, у субъектов женского пола, имеющих талассемию (например, бета-талассемию или трансфузионно-независимую талассемию). В определенных вариантах осуществления представлены способы повышения концентрации Hb относительно исходного уровня до приблизительно 12 г/дл у субъектов женского пола, имеющих талассемию (например, бета-талассемию или трансфузионно-независимую талассемию). В определенных вариантах осуществления представлены способы повышения концентрации Hb, как описано выше, у субъектов мужского пола, имеющих талассемию (например, бета-талассемию или трансфузионно-независимую талассемию). В определенных вариантах осуществления представлены способы повышения концентрации Hb относительно исходного уровня до приблизительно 13 г/дл у субъектов мужского пола, имеющих талассемию (например, бета-талассемию или трансфузионно-независимую талассемию).

В некоторых аспектах в данном документе представлены способы лечения гемолитической анемии у субъекта, нуждающегося в этом, предусматривающие введение субъекту эффективного количества кристаллической формы A, B, C, D, E, F, G, H, I или J, или аморфной формы соединения формулы (I), или фармацевтической композиции на их основе. Также представлены кристаллическая форма A, B, C, D, E, F, G, H, I или J, или аморфная форма соединения формулы (I), или фармацевтическая композиция на их основе для применения в лечении гемолитической анемии у субъекта, нуждающегося в этом. Дополнительно представлено применение кристаллической формы A, B, C, D, E, F, G, H, I или J, или аморфной формы соединения формулы (I), или фармацевтической композиции на их основе в изготовлении лекарственного препарата для лечения гемолитической анемии. В одном аспекте гемолитическая анемия, подлежащая лечению, представляет собой наследственную и/или врожденную гемолитическую анемию, приобретенную гемолитическую анемию или анемию, являющуюся составляющей мульти-системного заболевания.

В некоторых аспектах в данном документе представлены способы лечения серповидноклеточного заболевания у субъекта, нуждающегося в этом, предусматривающие введение субъекту эффективного количества кристаллической формы A, B, C, D, E, F, G, H, I или J, или аморфной формы соединения формулы (I), или фармацевтической композиции на их основе. Также представлены кристаллическая форма A, B, C, D, E, F, G, H, I или J, или аморфная форма соединения формулы (I), или фармацевтическая композиция на их основе для применения в лечении серповидноклеточного заболевания у субъекта, нуждающегося в этом. Дополнительно представлено применение кристаллической формы A, B, C, D, E,

F, G, H, I или J, или аморфной формы соединения формулы (I), или фармацевтической композиции на их основе в изготовлении лекарственного препарата для лечения серповидноклеточного заболевания.

В некоторых аспектах в данном документе представлены способы лечения талассемии, наследственного сфероцитоза, наследственного эллиптоцитоза, абеталипопротеинемии или синдрома Бассена-Корнцвейга, серповидноклеточного заболевания, пароксизмальной ночной гемоглобинурии, приобретенной гемолитической анемии или анемии при хронических заболеваниях у субъекта, нуждающегося в этом, предусматривающие введение субъекту эффективного количества кристаллической формы A, B, C, D, E, F, G, H, I или J, или аморфной формы соединения формулы (I), или фармацевтической композиции на их основе. Также представлены кристаллическая форма A, B, C, D, E, F, G, H, I или J, или аморфная форма соединения формулы (I), или фармацевтическая композиция на их основе для применения в лечении талассемии, наследственного сфероцитоза, наследственного эллиптоцитоза, абеталипопротеинемии или синдрома Бассена-Корнцвейга, серповидноклеточного заболевания, пароксизмальной ночной гемоглобинурии, приобретенной гемолитической анемии или анемии у субъекта, нуждающегося в этом. Дополнительно представлено применение кристаллической формы A, B, C, D, E, F, G, H, I или J, или аморфной формы соединения формулы (I), или фармацевтической композиции на их основе в изготовлении лекарственного препарата для лечения талассемии, наследственного сфероцитоза, наследственного эллиптоцитоза, абеталипопротеинемии или синдрома Бассена-Корнцвейга, серповидноклеточного заболевания, пароксизмальной ночной гемоглобинурии, приобретенной гемолитической анемии или анемии.

В некоторых аспектах в данном документе представлены способы активации PKR дикого типа или мутантной формы PKR в эритроцитах у субъекта, нуждающегося в этом, предусматривающие введение субъекту эффективного количества кристаллической формы A, B, C, D, E, F, G, H, I или J, или аморфной формы соединения формулы (I), или фармацевтической композиции на их основе. Также представлены кристаллическая форма A, B, C, D, E, F, G, H, I или J, или аморфная форма соединения формулы (I), или фармацевтическая композиция на их основе для применения в активации PKR дикого типа или мутантной формы PKR в эритроцитах у субъекта, нуждающегося в этом. Дополнительно представлено применение кристаллической формы A, B, C, D, E, F, G, H, I или J, или аморфной формы соединения формулы (I), или фармацевтической композиции на их основе в изготовлении лекарственного препарата для активации PKR дикого типа или мутантной формы PKR в эритроцитах.

Представленные кристаллическая форма A, B, C, D, E, F, G, H, I или J или аморфная форма соединения формулы (I) и фармацевтические композиции, описанные в данном документе, являются активаторами мутантных форм PKR, характеризующихся более низкими уровнями активности по сравнению с таковыми у дикого типа, поэтому они являются применимыми для способов по настоящему изобретению. Такие мутации в PKR могут влиять на активность фермента (каталитическую эффективность), регуляторные свойства (модуляцию с помощью бисфосфата фруктозы (FBP)/ATP) и/или термостабильность фермента. Примеры таких мутаций описаны в Valentini et al., JBC 2002. Некоторые примеры мутантных форм, которые активируются соединениями, описанными в данном документе, включают G332S, G364D, T384M, R479H, R479K, R486W, R532W, R510Q и R490W. Без ограничения какой-либо теорией, в определенных вариантах осуществления соединения, описанные в данном документе, влияют на уровни активности мутантных форм PKR путем активирования мутантных форм PKR, не восприимчивых к FBP, восстановления термостабильности у мутантных форм с пониженной стабильностью или восстановления каталитической эффективности у мутантных форм с нарушенной функцией. Активирующую активность соединений по настоящему изобретению в отношении мутантных форм PKR можно исследовать в соответствии со способом, описанным в примерах. Соединения, описанные в данном документе, также являются активаторами PKR дикого типа.

В определенных вариантах осуществления представленные кристаллическая форма A, B, C, D, E, F, G, H, I или J или аморфная форма соединения формулы (I) и фармацевтические композиции, описанные в данном документе, увеличивают аффинность PKR к фосфоенолпирувату (PEP). В определенных вариантах осуществления представленные кристаллическая форма A, B, C, D, E, F, G, H, I или J или аморфная форма соединения формулы (I) и фармацевтические композиции, описанные в данном документе, восстанавливают способность RBC превращать PEP и ADP в пируват и ATP.

В определенных вариантах осуществления в данном документе представлены способы снижения частоты переливания крови у субъекта с PKD, предусматривающие введение субъекту кристаллической формы A, B, C, D, E, F, G, H, I или J или аморфной формы соединения формулы (I) и фармацевтических композиций, описанных в данном документе. В определенных вариантах осуществления вводят кристаллическую форму A. В определенных вариантах осуществления частоту переливания крови снижают на по меньшей мере 5% количества единиц RBC, переливание которых осуществляют в течение по меньшей мере 15 недель. В определенных вариантах осуществления частоту переливания крови снижают на по меньшей мере 10% количества единиц RBC, переливание которых осуществляют в течение по меньшей мере 15 недель. В определенных вариантах осуществления частоту переливания крови снижают на по меньшей мере 15% количества единиц RBC, переливание которых осуществляют в течение по меньшей мере 15 недель. В определенных вариантах осуществления частоту переливания крови снижают на по меньшей мере 20% количества единиц RBC, переливание которых осуществляют в течение по мень-

шей мере 15 недель. В определенных вариантах осуществления частоту переливания крови снижают на по меньшей мере 25% количества единиц RBC, переливание которых осуществляют в течение по меньшей мере 15 недель. В определенных вариантах осуществления частоту переливания крови снижают на по меньшей мере 30% количества единиц RBC, переливание которых осуществляют в течение по меньшей мере 15 недель. В определенных вариантах осуществления частоту переливания крови снижают на по меньшей мере 35% количества единиц RBC, переливание которых осуществляют в течение по меньшей мере 15 недель. В определенных вариантах осуществления частоту переливания крови снижают на по меньшей мере 40% количества единиц RBC, переливание которых осуществляют в течение по меньшей мере 20 недель. В определенных вариантах осуществления частоту переливания крови снижают на по меньшей мере 5% количества единиц RBC, переливание которых осуществляют в течение по меньшей мере 20 недель. В определенных вариантах осуществления частоту переливания крови снижают на по меньшей мере 10% количества единиц RBC, переливание которых осуществляют в течение по меньшей мере 20 недель. В определенных вариантах осуществления частоту переливания крови снижают на по меньшей мере 15% количества единиц RBC, переливание которых осуществляют в течение по меньшей мере 20 недель. В определенных вариантах осуществления частоту переливания крови снижают на по меньшей мере 20% количества единиц RBC, переливание которых осуществляют в течение по меньшей мере 20 недель. В определенных вариантах осуществления частоту переливания крови снижают на по меньшей мере 25% количества единиц RBC, переливание которых осуществляют в течение по меньшей мере 20 недель. В определенных вариантах осуществления частоту переливания крови снижают на по меньшей мере 30% количества единиц RBC, переливание которых осуществляют в течение по меньшей мере 20 недель. В определенных вариантах осуществления частоту переливания крови снижают на по меньшей мере 35% количества единиц RBC, переливание которых осуществляют в течение по меньшей мере 20 недель. В определенных вариантах осуществления частоту переливания крови снижают на по меньшей мере 40% количества единиц RBC, переливание которых осуществляют в течение по меньшей мере 20 недель.

В некоторых аспектах в данном документе представлены способы оценивания субъекта, при этом способ предусматривает введение субъекту кристаллической формы A, B, C, D, E, F, G, H, I или J, или аморфной формы соединения формулы (I), или фармацевтической композиции на их основе и получение значения для уровня кристаллической или аморфной формы, уровня 2,3-дифосфоглицерата (2,3-DPG), уровня аденозинтрифосфата (АТФ) или уровня активности PKR у субъекта с обеспечением, таким образом, оценивания субъекта. В некоторых аспектах значение для уровня получают путем анализа концентрации в плазме крови кристаллической или аморфной формы. В некоторых аспектах уровень 2,3-DPG получают путем анализа концентрации 2,3-DPG в крови. В некоторых аспектах уровень АТФ получают путем анализа концентрации АТФ в крови. В некоторых аспектах уровень активности PKR получают путем анализа концентрации С-метки в крови. В некоторых аспектах анализ проводят путем анализа образцов биологической жидкости. В некоторых аспектах биологическая жидкость представляет собой кровь. В некоторых аспектах анализ проводят с помощью масс-спектрометрии. В некоторых аспектах анализ проводят с помощью LC-MS.

В некоторых аспектах в данном документе представлены способы оценивания субъекта, при этом способ предусматривает получение значения для уровня кристаллической формы A, B, C, D, E, F, G, H, I или J, или аморфной формы соединения формулы (I), или фармацевтической композиции на их основе, уровня 2,3-DPG, уровня АТФ или уровня активности PKR у субъекта, которого подвергали лечению с помощью кристаллической формы A, B, C, D, E, F, G, H, I или J, или аморфной формы соединения формулы (I), или фармацевтической композиции на их основе, с обеспечением, таким образом, оценивания субъекта. В некоторых аспектах получение предусматривает получение образца от субъекта. В некоторых аспектах получение предусматривает передачу значения другим лицам. В некоторых аспектах другое лицо представляет собой лицо, которое осуществляло введение кристаллической формы A, B, C, D, E, F, G, H, I или J, или аморфной формы соединения формулы (I), или фармацевтической композиции на их основе.

В некоторых аспектах в данном документе представлены способы лечения субъекта, при этом способ предусматривает введение субъекту терапевтически эффективного количества кристаллической формы A, B, C, D, E, F, G, H, I или J, или аморфной формы соединения формулы (I), или фармацевтической композиции на их основе и получение значения для уровня кристаллической или аморфной формы, уровня 2,3-дифосфоглицерата (2,3-DPG), уровня аденозинтрифосфата (АТФ) или уровня активности PKR у субъекта с обеспечением, таким образом, лечения субъекта.

В другом аспекте в данном документе представлены способы лечения дефицита пируваткиназы (PKD) у субъекта, нуждающегося в этом, предусматривающие введение субъекту эффективного количества кристаллической формы свободного основания соединения 1 или фармацевтической композиции на ее основе. В определенных вариантах осуществления дефицит PKR ассоциирован с мутацией PKR. Также представлена кристаллическая форма свободного основания соединения 1 или фармацевтическая композиция на ее основе для применения в лечении дефицита пируваткиназы (PKD) у субъекта, нуждающегося в этом. Дополнительно представлено применение кристаллической формы свободного осно-

вания соединения 1 или фармацевтической композиции на ее основе в изготовлении лекарственного препарата для лечения дефицита пируваткиназы (PKD).

В других аспектах представлены способы лечения заболевания, выбранного из гемолитической анемии, серповидноклеточной анемии, талассемии, наследственного сфероцитоза, наследственного эллиптоцитоза, абетаполипротеинемии, синдрома Бассена-Корнцвейга и пароксизмальной ночной гемоглобинурии, у субъекта, нуждающегося в этом, предусматривающие введение субъекту эффективного количества кристаллической формы свободного основания соединения 1 или фармацевтической композиции на ее основе. В одном аспекте заболевание, подлежащее лечению, представляет собой гемолитическую анемию.

В других аспектах в данном документе представлены способы лечения гемолитической анемии, предусматривающие введение субъекту эффективного количества кристаллической формы свободного основания соединения 1 или фармацевтической композиции на их основе. Также представлены кристаллическая форма свободного основания соединения 1 или фармацевтической композиции на ее основе для применения в лечении гемолитической анемии у субъекта, нуждающегося в этом. Дополнительно представлено применение кристаллической формы свободного основания соединения 1 или фармацевтической композиции на ее основе в изготовлении лекарственного препарата для лечения гемолитической анемии.

В других аспектах в данном документе представлены способы лечения серповидноклеточного заболевания, предусматривающие введение субъекту эффективного количества кристаллической формы свободного основания соединения 1 или фармацевтической композиции на ее основе. Также представлены кристаллическая форма свободного основания соединения 1 или фармацевтической композиции на ее основе для применения в лечении серповидноклеточного заболевания у субъекта, нуждающегося в этом. Дополнительно представлено применение кристаллической формы свободного основания соединения 1 или фармацевтической композиции на ее основе в изготовлении лекарственного препарата для лечения серповидноклеточного заболевания.

В других аспектах в данном документе представлены способы лечения талассемии (например, бета-талассемии), предусматривающие введение субъекту эффективного количества кристаллической формы свободного основания соединения 1 или фармацевтической композиции на ее основе. Также представлена кристаллическая форма свободного основания соединения 1 или фармацевтической композиции на ее основе для применения в лечении талассемии (например, бета-талассемии) у субъекта, нуждающегося в этом. Дополнительно представлено применение кристаллической формы свободного основания соединения 1 или фармацевтической композиции на ее основе в изготовлении лекарственного препарата для лечения талассемии (например, бета-талассемии).

В других аспектах в данном документе представлены способы увеличения продолжительности жизни эритроцитов (RBC) у субъекта, нуждающегося в этом, предусматривающие введение субъекту эффективного количества кристаллической формы свободного основания соединения 1 или фармацевтической композиции на ее основе. В одном аспекте кристаллическую форму свободного основания соединения 1 или фармацевтическую композицию на ее основе экстракорпорально добавляют непосредственно к цельной крови или эритроцитарной массе. Также представлена кристаллическая форма свободного основания соединения 1 или фармацевтической композиции на ее основе для применения в увеличении продолжительности жизни эритроцитов (RBC) у субъекта, нуждающегося в этом. Дополнительно представлено применение кристаллической формы свободного основания соединения 1 или фармацевтической композиции на ее основе в изготовлении лекарственного препарата для увеличения продолжительности жизни эритроцитов (RBC).

В других аспектах в данном документе представлены способы регуляции уровней 2,3-дифосфоглицерата в крови у субъекта, нуждающегося в этом, предусматривающие приведение крови в контакт с эффективным количеством кристаллической формы свободного основания соединения 1 или фармацевтической композиции на ее основе. Также представлены кристаллическая форма свободного основания соединения 1 или фармацевтической композиции на ее основе для применения в регуляции уровней 2,3-дифосфоглицерата в крови у субъекта, нуждающегося в этом. Дополнительно представлено применение кристаллической формы свободного основания соединения 1 или фармацевтической композиции на ее основе в изготовлении лекарственного препарата для регуляции уровней 2,3-дифосфоглицерата в крови.

В других аспектах в данном документе представлены способы лечения анемии у субъекта, нуждающегося в этом, предусматривающие введение субъекту эффективного количества кристаллической формы свободного основания соединения 1 или фармацевтической композиции на ее основе. В одном аспекте анемия, подлежащая лечению, представляет собой дизэритропоэтическую анемию. Также представлена кристаллическая форма свободного основания соединения 1 или фармацевтической композиции на ее основе для применения в лечении анемии в крови у субъекта, нуждающегося в этом. Дополнительно представлено применение кристаллической формы свободного основания соединения 1 или фармацевтической композиции на ее основе в изготовлении лекарственного препарата для лечения анемии.

В определенных вариантах осуществления в данном документе представлен способ повышения ко-

личества гемоглобина у субъекта путем введения эффективного количества кристаллической формы свободного основания соединения 1 или фармацевтической композиции на ее основе. Также представлена кристаллическая форма свободного основания соединения 1 или фармацевтическая композиция на ее основе для применения в повышении количества гемоглобина у субъекта, нуждающегося в этом. Дополнительно представлено применение кристаллической формы свободного основания соединения 1 или фармацевтической композиции на ее основе в изготовлении лекарственного препарата для повышения количества гемоглобина.

В некоторых аспектах терапевтически эффективное количество раскрытой формы (кристаллической формы A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, кристаллического свободного основания или аморфной формы) можно вводить в клетки в культуре, например, *in vitro* или *ex vivo*, или субъекту, например, *in vivo*, для лечения, предупреждения и/или диагностики ряда нарушений, в том числе нарушений, описанных в данном документе ниже.

В одном аспекте раскрытые композиции, способы лечения и пути их применения, предусматривающие раскрытую форму (кристаллическую форму A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, кристаллическую форму свободного основания или аморфную форму), дополнительно предусматривают введение или применение фолиевой кислоты. Введение или применение фолиевой кислоты можно осуществлять перед введением или применением кристаллической или аморфной форм, описанных в данном документе, во время и/или после него. Однако в одном аспекте фолиевую кислоту вводят или применяют до раскрытой формы (кристаллической формы A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, кристаллического свободного основания или аморфной формы) и/или одновременно с ней. Таким образом, в одном аспекте в данном документе представлен способ лечения состояния, описанного в данном документе (например, PKD, анемии, такой как гемолитическая анемия, приобретенная гемолитическая анемия и серповидноклеточная анемия, талассемии (например, бета-талассемии, альфа-талассемии, трансфузионно-независимой талассемии и т.д.), серповидноклеточного заболевания, наследственного сфероцитоза, наследственного эллиптоцитоза, абета-липопротеинемии, синдрома Бассена-Корнцвейга и пароксизмальной ночной гемоглобинурии); увеличения продолжительности жизни RBC; регуляции уровней 2,3-дифосфоглицерата в крови; активации PKR дикого типа или мутантной формы PKR в эритроцитах; повышения количества гемоглобина; оценивания уровня 2,3-дифосфоглицерата (2,3-DPG), уровня аденозинтрифосфата (АТФ) или уровня активности PKR; оценивания уровня 2,3-дифосфоглицерата (2,3-DPG), уровня аденозинтрифосфата (АТФ) или уровня активности PKR у субъекта, нуждающегося в этом, предусматривающий введение субъекту эффективного количества раскрытой формы (кристаллической формы A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, кристаллического свободного основания или аморфной формы) и фолиевой кислоты.

В аспектах, где фолиевую кислоту вводят или применяют до раскрытой формы (кристаллической формы A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, кристаллического свободного основания или аморфной формы), фолиевую кислоту можно применять за по меньшей мере 5 дней, по меньшей мере 10 дней, по меньшей мере 15 дней, по меньшей мере 20 дней или по меньшей мере 25 дней до введения или применения раскрытой формы. В одном аспекте фолиевую кислоту вводят или применяют за по меньшей мере 20, по меньшей мере 21, по меньшей мере 22, по меньшей мере 23, по меньшей мере 24 или по меньшей мере 25 дней до введения или применения раскрытой формы. В другом аспекте фолиевую кислоту вводят за по меньшей мере 21 день до введения или применения раскрытой формы. В другом аспекте фолиевую кислоту вводят или применяют за 1-30 дней до введения или применения раскрытой формы. В другом аспекте фолиевую кислоту вводят или применяют за 5-25 дней до введения или применения раскрытой формы. В другом аспекте фолиевую кислоту вводят или применяют за 10-30 дней до введения или применения раскрытой формы. В другом аспекте фолиевую кислоту вводят или применяют за 10-25 дней до введения или применения раскрытой формы. В другом аспекте фолиевую кислоту вводят или применяют за 15-25 дней до введения или применения раскрытой формы. В другом аспекте фолиевую кислоту вводят или применяют за 20-25 дней до введения или применения раскрытой формы.

Конкретные количества фолиевой кислоты, подлежащей введению или применению с раскрытой формой, будут изменяться в зависимости от субъекта, подлежащего лечению, и конкретного режима введения. В определенных аспектах эффективное количество фолиевой кислоты составляет от приблизительно 0,1 мг до приблизительно 10 мг в сутки. В определенных аспектах эффективное количество фолиевой кислоты составляет по меньшей мере 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9 или 1,0 мг в сутки. В одном аспекте эффективное количество фолиевой кислоты составляет по меньшей мере 0,8 мг в сутки или по меньшей мере 1,0 мг в сутки.

Предполагается, что количество фолиевой кислоты можно объединять с любым количеством раскрытой формы, описанной в данном документе. Таким образом, в определенных аспектах в данном документе представлен способ лечения состояния, описанного в данном документе (например, PKD, анемии, такой как гемолитическая анемия, приобретенная гемолитическая анемия и серповидноклеточная анемия, талассемии (например, бета-талассемии, альфа-талассемии, трансфузионно-независимой талассемии и т.д.), серповидноклеточного заболевания, наследственного сфероцитоза, наследственного эллиптоцитоза, абета-липопротеинемии, синдрома Бассена-Корнцвейга и пароксизмальной ночной гемоглобинурии); увеличения продолжительности жизни RBC; регуляции уровней 2,3-дифосфоглицерата в крови;

активации PKR дикого типа или мутантной формы PKR в эритроцитах; повышения количества гемоглобина; оценивания уровня 2,3-дифосфоглицерата (2,3-DPG), уровня аденозинтрифосфата (АТФ) или уровня активности PKR; оценивания уровня 2,3-дифосфоглицерата (2,3-DPG), уровня аденозинтрифосфата (АТФ) или уровня активности PKR у субъекта, нуждающегося в этом, предусматривающий введение субъекту эффективного количества раскрытой формы, описанной в данном документе (кристаллической формы А, В, С, D, E, F, G, H, I, J, кристаллической формы свободного основания или аморфной формы), и фолиевой кислоты, где фолиевую кислоту вводят до раскрытой формы (например, за по меньшей мере 21 день до этого) и/или одновременно с ней, при этом раскрытую форму (например, форму А) вводят в количестве 5, 20 или 50 мг BID, и при этом фолиевую кислоту вводят в количестве по меньшей мере 0,8 мг/сутки.

Пояснение на примерах

Как показано в примерах ниже, кристаллические и аморфные формы получают в соответствии со следующими общими процедурами.

Типичные используемые сокращения приведены ниже.

Растворители	
Название	Сокращение
1-пропанол	1-PA
2-пропанол	IPA
Ацетонитрил	ACN
Бензиловый спирт	BA
Дихлорметан	DCM
Диметилсульфоксид	DMSO
Этанол	EtOH
Этилацетат	EtOAc
Изопропилацетат	IPAc
Метанол	MeOH
Метилацетат	MeOAc
Метилбутилкетон	MBK
Метилэтилкетон	MEK
Метилизобутилкетон	MIBK
N, N-диметилацетамид	DMAc
N, N-диметилформамид	DMF
N-метилпирролидон	NMP
Трет-бутилметилэфир	MtBE
Тетрагидрофуран	THF
Трифторуксусная кислота	TFA
Трифторэтанол	TFE

Единицы измерения	
Название	Сокращение
Цельсия	С
Градусы	°
Эквиваленты	экв.
Грамм	г
Час	ч.
Кельвин	К
Литры	л
Миллиграммы	мг
Миллилитры	мл
Минута	мин.
Вторичный	втор.
Объем	об.
Ватт	Вт
Вес	вес.

Анализ порошковой рентгеновской дифракции осуществляли с использованием Rigaku MiniFlex 600. Образцы получали на пластинах из Si с нулевым отражением. Обычное сканирование осуществляет-

ся при значениях 2θ от 4 до 30° с размером шага 0,05° за 5 мин при 40 кВ и 15 мА. Сканирование с высоким разрешением осуществляется при значениях 2θ от 4 до 40° с размером шага 0,05° за 30 мин при 40 кВ и 15 мА. Типичные параметры XRPD перечислены ниже.

Параметры режима отражения	
Длина волны рентгеновского излучения	Cu K α 1, 1,540598 Å,
Установка рентгеновской трубки	40 кВ, 15 мА
Параметры щели	Система с щелью переменного размера+с щелью фиксированного размера
Режим сканирования	Непрерывно
Диапазон сканирования (°2 θ)	4-30
Размер шага (°2 θ)	0,05
Скорость сканирования (°/мин.)	5

Анализ с помощью дифференциальной сканирующей калориметрии осуществляли с использованием Mettler Toledo DSC³⁺. Необходимое количество образца взвешивали непосредственно в герметичном алюминиевом тигле с микроотверстием. Обычная масса образца составляет 3-5 мг. Обычный диапазон температур составляет от 30 до 300°C при скорости нагревания 10°C в минуту (общее время 27 мин). Типичные параметры для DSC перечислены ниже.

Параметры	
Способ	Быстрое линейное изменение
Размер образца	3-5 мг
Скорость нагревания	10,0°C/мин.
Диапазон температур	от 30 до 300°C
Газ, используемый в способе	N ₂ при 60,00 мл/мин.

Термогравиметрический анализ и дифференциальную сканирующую калориметрию осуществляли с использованием Mettler Toledo TGA/DSC³⁺. Необходимое количество образца взвешивали непосредственно в герметичном алюминиевом тигле с микроотверстием. Обычная масса образца для измерения составляет 5-10 мг. Обычный диапазон температур составляет от 30 до 300°C при скорости нагревания 10°C в минуту (общее время 27 мин). Защитные и продувочные газы представляют собой азот (20-30 мл/мин и 50-100 мл/мин.). Типичные параметры DSC/TGA перечислены ниже.

Параметры	
Способ	Быстрое линейное изменение
Размер образца	5-10 мг
Скорость нагревания	10,0°C/мин.
Диапазон температур	от 30 до 300°C

Анализ с помощью динамической сорбции пара (DVS) выполняли с использованием DVS Intrinsic 1. Образец загружали в тигель для образца и суспендировали из микровесов. Обычная масса образца для измерения посредством DVS составляет 25 мг. Газообразный азот, барботированный через дистиллированную воду, обеспечивает необходимую относительную влажность. Обычное измерение включает следующие стадии.

1. Уравновешивание при 50% RH.
2. От 50 до 2% (50, 40, 30, 20, 10 и 2%).

Выдерживание в течение минимум 5 мин и максимум в течение 60 мин при каждом значении влажности. Критерий прохождения составляет менее 0,002% изменения.

3. От 2 до 95% (2, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95%). Выдерживание в течение минимум 5 мин и максимум в течение 60 мин при каждом значении влажности. Критерий прохождения составляет менее 0,002% изменения.

4. От 95 до 2% (95, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10, 2%). Выдерживание в течение минимум 5 мин и максимум в течение 60 мин при каждом значении влажности. Критерий прохождения составляет менее 0,002% изменения.

5. От 2 до 50% (2, 10, 20, 30, 40, 50%).

Выдерживание в течение минимум 5 мин и максимум в течение 60 мин при каждом значении влажности. Критерий прохождения составляет менее 0,002% изменения.

Протонный ЯМР осуществляли на спектрометре Bruker Avance 300 МГц. Твердые вещества растворяли в 0,75 мл дейтерированного растворителя во флаконе объемом 4 мл и переносили в трубку для

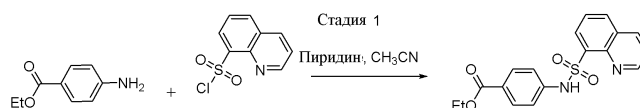
ЯМР-спектроскопии (Wilmad с тонкой стенкой 5 мм, 8", 200 МГц, 506-PP-8). Обычное измерение обычно представляет собой 16 сканирований. Типичные параметры ЯМР перечислены ниже.

Параметры	
Прибор	Спектрометр Bruker Avance 300 МГц Спектрометр Bruker Avance 500 МГц
Температура	300 К
Зонд	5 мм PABBO BB-1H/DZ-GRD Z104275/0170
Количество сканирований	16
Задержка релаксации	1,000 с
Длительность импульса	14,2500 мкс
Время исследования	2,9999 с
Частота спектрометра	300,15 Гц 500,13 Гц
Ядро	¹ H

Титрование по методу Карла-Фишера для определения воды осуществляли с использованием 785 DMP Titrimo и 703 Ti Stand, оснащенных двойными платиновыми проволочными электродами 6.0338.100. Образцы растворяли в метаноле со степенью чистоты, пригодной для HPLC, или в безводном метаноле и титровали с помощью Hydranal-Composite 5. Обычная масса образца для измерения составляет 0,03-0,10 г. Для калибровки используют Hydranal, стандарт воды, 1 вес. %.

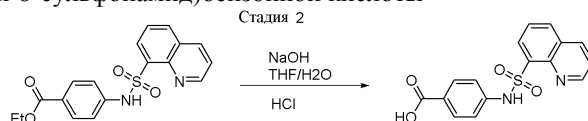
Соединение 1, а именно некристаллическое свободное основание, может быть получено в соответствии с процедурами, описанными ниже.

Получение этил-4-(хинолин-8-сульфонамидо)бензоата



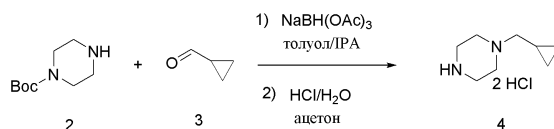
Раствор, содержащий этил-4-аминобензоат (16,0 г, 97 ммоль) и пиридин (14,0 г, 177 ммоль) в ацетонитриле (55 мл), добавляли в течение 1,2 ч к перемешиваемой суспензии хинолин-8-сульфонилхлорида (20,0 г, 88 ммоль) в безводном ацетонитриле (100 мл) при 65°C. Смесь перемешивали в течение 3,5 ч при 65°C, охлаждали до 20°C в течение 1,5 ч и выдерживали до тех пор, пока не добавляли воду (140 мл) в течение 1 ч. Твердые вещества извлекали посредством фильтрации, промывали 2 раза (по 100 мл каждый раз) с помощью смеси ацетонитрил/вода (40/60 вес./вес.) и высушивали до достижения постоянного веса в вакуумной печи при 85°C. В результате анализа белого твердого вещества (30,8 г, 87 ммоль) обнаружили, что (А) чистота этил-4-(хинолин-8-сульфонамидо)бензоата согласно HPLC составляет 99,4%, (В) LC-MS соответствует структуре (M+1) = 357 (колонка C18 с элюированием с помощью 95-5 CH₃CN/воды, модифицированных с помощью муравьиной кислоты, в течение 2 мин), и (С) ¹H ЯМР соответствует структуре (400 МГц, DMSO-d₆* = δ 10,71 (s, 1H), 9,09 (dd, J=4,3, 1,6 Гц, 1H), 8,46 (ddt, J=15,1, 7,3, 1,5 Гц, 2H), 8,26 (dd, J=8,3, 1,4 Гц, 1H), 7,84-7,54 (m, 4H), 7,18 (dd, J=8,6, 1,3 Гц, 2H), 4,26-4,07 (m, 2H), 1,19 (td, J=7,1, 1,2 Гц, 3H).

Получение 4-(хинолин-8-сульфонамид)бензойной кислоты



Раствор NaOH (16,2 г, 122 ммоль) добавляли в течение 30 мин к перемешиваемой суспензии этил-4-(хинолин-8-сульфонамидо)бензоата (20,0 г, 56,2 ммоль) в воде (125 мл) при 75°C. Смесь перемешивали при 75-80°C в течение 3 ч, охлаждали до 20°C и выдерживали до тех пор, пока не добавляли THF (150 мл). Хлористоводородную кислоту (11% HCl, 81 мл, 132 ммоль) добавляли в течение периода более 1 ч до достижения pH 3,0. Твердые вещества извлекали посредством фильтрации при 5°C, промывали водой (2×100 мл) и высушивали до постоянного веса в вакуумной печи при 85°C. В результате анализа белого твердого вещества (16,7 г, 51 ммоль) обнаружили, что (А) чистота 4-(хинолин-8-сульфонамид)бензойной кислоты согласно HPLC = >99,9%, LC-MS соответствует структуре (M+1) = 329 (колонка C18 с элюированием с помощью 95-5 CH₃CN/воды, модифицированных с помощью муравьиной кислоты, в течение 2 минут), и ¹H ЯМР соответствует структуре (400 МГц, DMSO-d₆) = δ 12,60 (s, 1H), 10,67 (s, 1H), 9,09 (dd, J=4,2, 1,7 Гц, 1H), 8,46 (ddt, J=13,1, 7,3, 1,5 Гц, 2H), 8,26 (dd, J=8,2, 1,5 Гц, 1H), 7,77-7,62 (m, 3H), 7,64 (d, J=1,3 Гц, 1H), 7,16 (dd, J=8,7, 1,4 Гц, 2H).

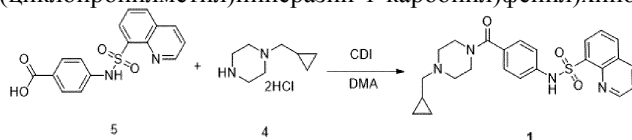
Получение 1-(циклопропилметил)пиперазиндигидрохлорида (4)



В реактор объемом 1 л в атмосфере N_2 загружали трет-бутилпиперазин-1-карбоксилат (2) (100,0 г, 536,9 ммоль), циклопропанкарбальдегид (3) (41,4 г, 590,7 ммоль), толуол (500,0 мл) и 2-пропанол (50,0 мл). К полученному раствору добавляли $NaBH(OAc)_3$ (136,6 г, 644,5 ммоль) по частям при 25-35°C и смесь перемешивали при 25°C в течение 2 ч. Добавляли воду (300,0 мл) с последующим добавлением раствора NaOH (30%, 225,0 мл) до достижения значения pH, равного 12. Слои разделяли и органический слой промывали водой (100,0 мл $\times$ 2). К органическому слою добавляли хлористоводородную кислоту (37%, 135,0 мл, 1,62 моль) и смесь перемешивали при 25°C в течение 6 ч. Слои разделяли и водный слой добавляли к ацетону (2,0 л) при 25°C в течение 1 ч. Полученную суспензию охлаждали до 0°C. Твердое вещество фильтровали при 0°C, промывали с помощью ацетона (100,0 мл $\times$ 2) и высушивали с получением соединения 4 (105,0 г) с 92% фактическим выходом. Посредством LC-MS (колонка C18 с элюированием 90-10 с помощью CH_3CN /воды в течение 2 мин) обнаружили, что $(M+1)=141$.

1H ЯМР (400 МГц, $DMSO-d_6$) δ 11,93 (br.s, 1H), 10,08 (br., 2H), 3,65 (br.s, 2H), 3,46 (br.s, 6H), 3,04 (d, $J=7,3$ Гц, 2H), 1,14-1,04 (m, 1H), 0,65-0,54 (m, 2H), 0,45-0,34 (m, 2H) ppm.

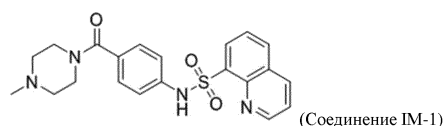
Получение N-(4-(4-(циклопропилметил)пиперазин-1-карбонил)фенил)хинолин-8-сульфонамида (1)



В реактор объемом 2 л в атмосфере N_2 загружали 4-(хинолин-8-сульфонамидо)бензойную кислоту (5) (100,0 г, 304,5 ммоль) и DMA (500,0 мл). К полученной суспензии добавляли CDI (74,0 г, 456,4 ммоль) по частям при 25°C и смесь перемешивали при 25°C в течение 2 ч. К полученной суспензии добавляли 1-(циклопропилметил)пиперазина дигидрохлорид (4) (97,4 г, 457,0 ммоль) в виде одной части при 25°C и смесь перемешивали при 25°C в течение 4 ч. Добавляли воду (1,0 л) в течение 2 ч. Твердое вещество фильтровали при 25°C, промывали с помощью воды и высушивали под вакуумом при 65°C с получением соединения 1 (124,0 г) с 90% фактическим выходом. Посредством LC-MS (колонка C18 с элюированием 90-10 с помощью CH_3CN /воды в течение 2 мин) обнаружили, что $(M+1)=451$.

1H ЯМР (400 МГц, $DMSO-d_6$) δ 10,40 (br.s, 1H), 9,11 (dd, $J=4,3$, 1,6 Гц, 1H), 8,48 (dd, $J=8,4$, 1,7 Гц, 1H), 8,40 (dt, $J=7,4$, 1,1 Гц, 1H), 8,25 (dd, $J=8,3$, 1,3 Гц, 1H), 7,76-7,63 (m, 2H), 7,17-7,05 (m, 4H), 3,57-3,06 (m, 4H), 2,44-2,23 (m, 4H), 2,13 (d, $J=6,6$ Гц, 2H), 0,79-0,72 (m, 1H), 0,45-0,34 (m, 2H), 0,07-0,01 (m, 2H) ppm.

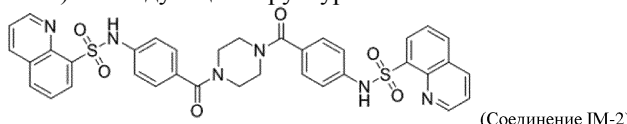
На данной стадии синтеза также идентифицировали две примеси. Первая примесь представляла собой соединение IM-1 (процент площади приблизительно 0,11% на основе иллюстративной HPLC) со следующей структурой.



(Соединение IM-1)

Соединение IM-1 получали за счет присутствия N-метилпиперазина, примеси в соединении 2, и переносили для осуществления реакции с соединением 5. Посредством LC-MS обнаружили, что $(M+1)=411,2$; $(M-1)=409,2$. 1H ЯМР (400 МГц, $DMSO-d_6$) δ 10,43 (br.s, 1H), 9,13-9,12 (m, 1H), 8,52-8,50 (m, 1H), 8,43-8,41 (m, 1H), 8,26 (d, $J=4,0$ Гц, 1H), 7,73-7,70 (m, 2H), 7,15-7,097,69 (m, 4H), 3,60-3,25 (br.s, 4H), 2,21 (br.s, 4H), 2,13 (s, 3H).

Вторая примесь представляла собой соединение IM-2 (процент площади приблизительно 0,07% на основе иллюстративной HPLC) со следующей структурой.



(Соединение IM-2)

Соединение IM-2 получали за счет присутствия пиперазина, примеси, образованной посредством удаления защитной группы из соединения 2. Пиперазиновый остаток переносили для взаимодействия с двумя молекулами соединения 5 с получением соединения IM-2. Посредством LC-MS обнаружили, что $(M+1)=707$.

1H ЯМР (400 МГц, CF_3COOD) δ 9,30-9,23 (m, 4H), 8,51 (s, 4H), 8,20-8,00 (m, 4H), 7,38-7,28 (m, 8H), 4,02-3,54 (m, 8H).

Эксперименты по растворимости

Измерения растворимости проводили посредством гравиметрического метода в 20 различных растворителях при двух значениях температуры (23 и 50°C). Взвешивали приблизительно 20-30 мг формы

А, синтез которой описан ниже, и добавляли 0,75 мл растворителя с образованием взвеси. Взвесить затем перемешивали в течение двух суток при указанной температуре. Флакон центрифугировали и надосадочную жидкость собирали для измерения растворимости посредством гравиметрического метода. Насыщенную надосадочную жидкость переносили в предварительно взвешенные флаконы для HPLC объемом 2 мл и взвешивали снова (флакон+жидкость). Не закрытый флакон затем оставляли на горячей плите при 50°C для медленного выпаривания растворителя в течение ночи. Флаконы затем оставляли в печи при 50°C и под вакуумом для удаления остаточного количества растворителя, таким образом, оставалось только растворенное твердое вещество. Флакон затем взвешивали (флакон+твердое вещество). В результате этих трех взвешиваний, флакон, флакон+жидкость и флакон+твердое вещество, рассчитывали вес растворенного твердого вещества и растворителя. Затем, используя значение плотности растворителя, рассчитывали значение растворимости в виде мг твердого вещества/мл растворителя. Данные по растворимости обобщены в табл. 1.

Таблица 1

Растворитель (соотношения приведены по объему)	Растворимость, мг твердого вещества/мл растворителя	
	23°C	50°C
MeOH	393	>765
EtOH	0	1
IPA	0	2
Ацетон	1	6
MeBE	1	3
EtOAc	0	2
Ацетонитрил	4	6
Циклогексан	1	1
MEK:вода (20:1)	0	2
Толуол:EtOH:вода (10:5:1)	несмешиваемое	несмешиваемо е
Толуол:EtOH:вода (10:5:0,5)	1	4
Толуол	0	2
THF	2	26
IPAc	0	1
ацетон:вода (8:2)	5	16
THF:вода (8:2)	14	77
IPA:DMSO (8:2)	11	28
IPA:DMSO:вода (80:18:2)	1	6
IPA:DMSO:вода (70:25:5)	2	9
IPA:DMSO:вода (70:20:10)	1	8
DCM	2	н/д

Поскольку растворимость в метаноле была значительно выше, измерение продолжали до получения большего количества систем растворителей, смешанных с метанолом. Результаты показаны в табл. 2. 20-30 мг формы А отвешивали во флакон объемом 2 мл и добавляли 500 мкл системы растворителей на основе MeOH, как указано в таблице. Если происходило растворение, добавляли большее количество твердых веществ для образования взвеси. Затем взвеси перемешивали в течение двух суток. Флаконы центрифугировали и надосадочную жидкость собирали для измерения растворимости посредством гравиметрического метода путем выпаривания при 50°C. Анализ XRPD проводили в отношении твердого вещества после фильтрации взвесей.

Вода оказывала значительное влияние на растворимость формы А. Например, в системе MeOH:вода (1:1) растворимость при комнатной температуре составляла 208 мг/мл, 118, 39 и 5 для соответственно 0 об.%, 1, 2,5 и 5%. Следовательно, простое добавление 5 об.% воды уменьшало растворимость в 42 раза. Использовали три композиции растворителей MeOH:вода (99:1 по об.), (98:2) и (95:5). Приблизительно 25 мг формы А отвешивали во флакон объемом 2 мл и добавляли 6 объемов растворителя, затем медленно нагревали для растворения. Для эксперимента с 5% воды проводили дополнительный тест с 8 об. растворителей. См. табл. 3.

Таблица 2

Растворитель (соотношения приведены по объему)	Растворимость, мг твердого вещества/мл растворителя	
	23°C	50°C
MeOH:вода (1:1)	7	27
MeOH:вода (8:2)	10	59
EtOAc:MeOH (1:1)	21	240
EtOAc:MeOH (9:1)	0	9
EtOAc:MeOH (1:9)	359	531
EtOH:MeOH (1:1)	2	11
EtOAc:MeOH (1:1) и 5 об. % воды	3	12
MeOAc:MeOH (1:1) и 5 об. % воды	5	26
MeOAc:MeOH (1:1)	208	340
MeOAc:MeOH (1:1) и 1 об. % воды	118	236
MeOAc:MeOH (1:1) и 2,5 об. % воды	39	143

Таблица 3

Растворитель	Объем раствори теля	Температура при растворении, °C	Растворимость, мг твердого вещества/мл растворителя	Дополнительн ое количество воды	Дифрактог рамма XRPD
MeOH:вода (99:1)	6 об.	23	>167	н/д	В+дополни тельное количество
MeOH:вода (98:2)	6 об.	35	167	н/д	В
MeOH:вода (95:5)	6 об.	60	167	4 об.	А
MeOH:вода (95:5)	8 об.	50	125	4 об.	А

С целью сравнения растворимость соединения 1, т.е. некристаллического свободного основания, также измеряли в двух системах растворителей для наблюдения влияния воды. 2,5 об.% воды не оказывало какого-либо влияния на растворимость соединения 1. См. табл. 4.

Таблица 4

Растворитель	Растворимость, мг твердого вещества/мл растворителя	
	23°C	50°C
MeOAc:MeOH (1:1)	15	34
MeOAc:MeOH (1:1) и 2,5 об. % воды	15	36

Эксперименты по скринингу

1. Взвеси с коротким сроком существования

Твердые вещества из взвеси, полученные в процессе экспериментов по измерению растворимости, собирали для анализа XRPD, показанного в табл. 5. Структура А оставалась неизменной в большинстве систем растворителей во взвеси со сроком двое суток. В некоторых случаях она теряла свою кристалличность, что указывало на то, что более длительное перемешивание, возможно, приведет к изменению формы. Наблюдали три новых структуры: структура В в EtOH при к.т. и 50°C; структура А+С в IPA при к.т.; структура D в IPA и ацетонитриле при 50°C. Структура D+кристаллическое свободное основание в IPA:DMSO (8:2) при 50°C.

Кроме того, взвесь сроком 2 суток получали в смесях растворителей на основе метанола, и результаты приведены в табл. 6. В случае, если присутствовало по меньшей мере 2,5 об.% воды структура А оставалась неизменной. При наличии только 1% воды структура А теряла свою кристалличность при 50°C, при этом она оставалась неизменной при комнатной температуре во взвеси со сроком двое суток. В безводных смесях, где присутствовало значительное количество метанола, структура А была нестабильной.

Таблица 5
Дифрактограмма XRPD для взвеси через 2

Растворитель	суток	
	23°C	50°C
MeOH	A	Структура A с низкой степенью кристалличности
EtOH	B	B
IPA	A+C	D
Ацетон	A	A (дополнительный пик при ~ 5,8)
MtBE	A	A
EtOAc	A	A
Ацетонитрил	A	D
Циклогексан	A	A
MEK:вода (20:1)	A	A
Толуол:EtOH:вода (10:5:0,5)	A	A
Толуол	A	A
THF	A	A
IPAc	A	A
ацетон:вода (8:2)	A	A
THF:вода (8:2)	A	A
IPA:DMSO (8:2)	A	D+кристаллическое свободное основание
IPA:DMSO:вода (80:18:12)	A	A
IPA:DMSO:вода (70:25:5)	A	A
IPA:DMSO:вода (70:20:10)	A	A
DCM	A	н/д

Таблица 6

Растворитель	Дифрактограмма XRPD после образования взвеси	
	к. т.	50°C
MeOH:вода (1:1)	A	A
MeOH:вода (8:2)	A	A
EtOAc:MeOH (1:1)	B	D
EtOAc:MeOH (9:1)	A	A
EtOAc:MeOH (1:9)	A	Структура A с низкой степенью кристалличности
EtOH:MeOH (1:1)	B	B
EtOAc:MeOH (1:1) и 5 об. % воды	A	A
MeOAc:MeOH (1:1) и 5 об. % воды	A	A
MeOAc:MeOH (1:1)	A	Структура A с низкой степенью кристалличности
MeOAc:MeOH (1:1) и 1 об. % воды	A	Структура A с низкой степенью кристалличности
MeOAc:MeOH (1:1) и 2,5 об. % воды	A	A

2. Эксперименты со взвесью кристаллического свободного основания Соединения 1, т.е. кристаллическое свободное основание, также суспендировали в нескольких системах растворителей, в которых гемисульфатная соль демонстрировала различные дифрактограммы XRPD с целью сравнения. Свободное основание оставалось неизменным во взвеси через двое суток. Результаты показаны в табл. 7.

Таблица 7

Растворитель	Дифрактограмма XRPD после образования взвеси	
	23°C	50°C
MeOAc:MeOH (1:1)	FB-A	FB-A
MeOAc:MeOH (1:1) и 2,5 об. % воды	FB-A	FB-A
EtOH	Не выполняли	FB-A
ACN	Не выполняли	FB-A
IPA:вода (8:2)	Не выполняли	FB-A

FB-A относится к кристаллической форме свободного основания соединения 1

3. Эксперименты с образованием аморфной формы

Лиофилизацию в ACN:воде (2:1 об.) осуществляли для образования аморфного материала. Приблизительно 250 мг формы А отвешивали во флакон объемом 20 мл и добавляли 6 мл смеси растворителя, затем смесь нагревали до 40°C и выдерживали в течение 0,5 ч, затем помещали в морозильную камеру (-20°C). Часть замороженной смеси (приблизительно половину) улавливали на фильтре перед плавлением для анализа. Другую половину расплавляли, затем добавляли 1 мл смеси ACN:вода (2:1 по об.) и 1 мл воды и снова помещали ее в морозильную камеру. Наконец данную смесь выдерживали в сублимационной сушилке в течение ночи. Проводили анализ XRPD полученных твердых веществ. См. табл. 8.

Таблица 8

Растворитель	Дифрактограмма XRPD	Способ
6 мл ACN:вода (2:1)	Форма Е (влажная, отфильтрованная, и XRD проведен немедленно, 57-1-влажная)	Фильтрация
	Форма F (сухая вакуумная печь, 57-1-сухая) Форма Е превращалась в форму А, когда влажный осадок формы Е оставляли во флаконе на ночь	
1 мл ACN:вода (2:1) + 2 мл воды	Форма А	Сублимационная сушка

На основании результата кристаллизации посредством выпаривания образование аморфного материала наблюдали для образца в THF. Данный эксперимент повторяли, но вместо этого наблюдали структуру D. См. табл. 9.

Таблица 9

Растворитель	Объем растворителя, мкл	Дифрактограмма XRPD
THF	13380	Форма D

Кристаллизация выпариванием в растворителе на основе MeOH приводила к образованию аморфного материала. Данный эксперимент повторно осуществляли при 55°C посредством добавления 1,5 об. метанола для растворения формы А. Затем раствор помещали в вакуумную печь при 50°C на ночь. XRPD демонстрировала, что полученное твердое вещество являлось аморфным. TGA/DSC также демонстрировала небольшой эндотермический процесс, который сопровождался постепенной потерей веса, составляющей 2,7%. См. табл. 10.

Таблица 10

Растворитель	Объем растворителя, мкл	Дифрактограмма XRPD
MeOH	70	Аморфная форма

Способ получения аморфной формы свободного основания соединения 1 был обнаружен и описан далее.

Приблизительно 4 мл ацетонитрила объединяли с 2 мл воды. В сцинтилляционном флаконе объемом 20 мл суспендировали избыточное количество твердого вещества соединения 1 в смеси растворителей таким образом, что твердые вещества растворялись не полностью. Сцинтилляционный флакон закрывали и систему помещали в ванну для ультразвуковой обработки при комнатной температуре в течение 10-15 мин. Суспензию фильтровали через 0,45-мкм шприцевой фильтр в круглодонную колбу объемом 100 мл для получения чистого раствора. Раствор замораживали с использованием бани с сухим льдом/ацетоном и замороженный раствор помещали в лиофилизатор на по меньшей мере 18 ч с получением аморфной формы соединения 1. XRPD полученной аморфной формы показана на фиг. 23. Термограммы TGA и DSC для аморфного свободного основания соединения 1 показаны на фиг. 24.

4. Кристаллизация выпариванием

Приблизительно 0,3 мл-0,5 мл насыщенного раствора формы А в различных системах растворителей выпаривали до сухого состояния и проводили применимый анализ XRPD. Выпаривание осуществляли при 50°C и при атмосферном давлении (табл. 11). Во многих случаях количество твердого вещества было очень малым вследствие слабой растворимости. Дифрактограмма XRPD демонстрировала сохра-

нившуюся структуру А для образцов в MeOH при к.т., в смеси ацетон:вода (8:2) при к.т. и 50°C; свободное основание с низкой степенью кристалличности наблюдали в ACN при к.т. и 50°C; аморфная форма образовывалась в MeOH при 50°C и в THF при 50°C.

Таблица 11

Растворитель	Дифрактограмма XRPD, полученная при кристаллизации выпариванием	
	Образование взвеси при 23°C	Образование взвеси при 50°C
MeOH	Форма А	аморфная форма
EtOH	небольшое количество твердого вещества	небольшое количество твердого вещества
IPA	небольшое количество твердого вещества	небольшое количество твердого вещества
Ацетон	небольшое количество твердого вещества	небольшое количество твердого вещества
MeBE	небольшое количество твердого вещества	небольшое количество твердого вещества
EtOAc	небольшое количество твердого вещества	небольшое количество твердого вещества
ACN	Свободное основание с низкой степенью кристалличности	Свободное основание с низкой степенью кристалличности
Циклогексан	небольшое количество твердого вещества	небольшое количество твердого вещества
MEK:вода (20:1)	небольшое количество твердого вещества	небольшое количество твердого вещества
Толуол:EtOH:вода (10:5:1)	небольшое количество твердого вещества	небольшое количество твердого вещества
Толуол	небольшое количество твердого вещества	небольшое количество твердого вещества
THF	небольшое количество твердого вещества	аморфная форма
IPAc	небольшое количество твердого вещества	небольшое количество твердого вещества
	твердого вещества	твердого вещества
Ацетон:вода (8:2)	Форма А	Форма А
THF:вода (8:2)	небольшое количество твердого вещества	Форма А с низкой степенью кристалличности
IPA:DMSO (8:2)	небольшое количество твердого вещества	небольшое количество твердого вещества
IPA:DMSO:вода (80:18:12)	небольшое количество твердого вещества	небольшое количество твердого вещества
IPA:DMSO:вода (70:25:5)	небольшое количество твердого вещества	небольшое количество твердого вещества
IPA:DMSO:вода (70:20:10)	небольшое количество твердого вещества	небольшое количество твердого вещества
DCM	небольшое количество твердого вещества	н/д

Кристаллизацию выпариванием выполняли в системе растворителей на основе MeOH после измерения растворимости. Результаты показаны в табл. 12. В некоторых случаях количество твердого вещества было очень малым вследствие слабой растворимости. Дифрактограмма XRPD демонстрировала сохранившуюся структуру А для образцов в смеси MeOH:вода (1:1) при 50°C, в смеси MeOH:вода (8:2) при к.т. и 50°C и в смеси EtOAc:MeOH:вода (1:1:0,05) при 50°C; структура В обнаруживалась в смеси EtOH:MeOH (1:1) при 50°C; структуру F наблюдали в смеси MeOAc:MeOH (1:1:0,05) при 50°C; аморфная форма образовывалась в смеси EtOAc:MeOH (1:1) при 50°C и MeOAc:MeOH(1:9) при к.т. и 50°C.

Таблица 12

Растворитель	Дифрактограмма XRPD, полученная при кристаллизации выпариванием	
	Образование взвеси при 23°C	Образование взвеси при 50°C
MeOH:вода (1:1)	Небольшое количество твердого вещества	Форма А
MeOH:вода (8:2)	Форма А	Форма А
EtOAc:MeOH (1:1)	Небольшое количество твердого вещества	Аморфная форма
EtOAc:MeOH (9:1)	Небольшое количество твердого вещества	Небольшое количество твердого вещества
EtOAc:MeOH (1:9)	Аморфная форма	Аморфная форма
EtOH:MeOH (1:1)	Небольшое количество твердого вещества	Форма В
EtOAc:MeOH (1:1) и 5 об. % воды	Небольшое количество твердого вещества	Форма А
MeOAc:MeOH (1:1) и 5 об. % воды	Небольшое количество твердого вещества	Форма F

5. Кристаллизация с медленным и быстрым охлаждением

Эксперименты с медленным и быстрым охлаждением проводили для исследования полиморфного характера формы А. В экспериментах с медленным охлаждением приблизительно 20-35 мг формы А растворяли при 55°C в разных системах растворителей и затем охлаждали до к.т. (23°C) в течение 5 ч, и если не наблюдалось осаждения, образцы охлаждали до 5°C в течение 1 ч. В экспериментах с быстрым охлаждением растворы формы А при 55°C быстро охлаждали до 0°C посредством помещения флакона в баню с ледяной водой и, если не происходило осаждения, образцы помещали в морозильную камеру при -20°C без перемешивания для дополнительного охлаждения.

Как в экспериментах с быстрым, так и с медленным охлаждением, не наблюдали осаждения в смеси IPA:DMSO (7:3) и в смеси IPA:DMSO:вода (65:30:5). Форма А не растворялась в 77 объемах смеси MeOH:EtOH (3:7). Взвесь в смеси MeOH:EtOH (3:7) фильтровали и подвергали анализу, который демонстрировал превращение в структуру В. В эксперименте с быстрым охлаждением получали две новые структуры: структуру G в смеси ацетон:вода (8:2) и структуру H в смеси MeOH:EtOAc (1:1). В экспериментах с медленным охлаждением полученная твердая структура представляла собой структуру А в смеси ацетон:вода (8:2) и структуру В в смеси MeOH:EtOAc (1:1). См. табл. 13.

Таблица 13

Растворитель	Объем растворителя	Дифрактограмма XRPD, полученная при кристаллизации охлаждением	
		Быстрое	Медленное
Ацетон:вода (8:2)	72	Форма G	Форма А
IPA:DMSO (7:3)	14	Нет осаждения	Нет осаждения
MeOH:EtOAc (1:1)	17	Форма H	Форма В
IPA:DMSO:вода (65:30:5)	196	Нет осаждения	Нет осаждения
MeOH:EtOH (3:7)	77	Не растворялась	Не растворялась (взвесь представляла собой структуру В)

6. Кристаллизация с использованием антирастворителя

Эксперименты с использованием антирастворителя проводили для дополнительного исследования полиморфного характера формы А. В экспериментах с прямым использованием антирастворителя антирастворитель добавляли к раствору 20-25 мг формы А, растворенной в 3 объемах MeOH, с добавлениями по 25 мкл каждый раз. В экспериментах с обратным добавлением раствор добавляли сразу к 6 объемам антирастворителя. Эксперименты проводили при к.т. Результаты показаны в табл. 14. Только в системе MeOH/EtOH образовывались твердые вещества в ходе экспериментов.

Таблица 14

Растворитель (3 об.)	Антирастворитель (6 об.)	Кристаллизация с использованием антирастворителя		Дифрактограмма XRPD	
		Прямая	Обратная	Прямая	Обратная
MeOH	EtOAc	Быстрое осаждение и растворение (не наблюдалось твердого вещества)	Быстрое осаждение и растворение (не наблюдалось твердого вещества)	н/д	н/д
MeOH	IPAc	Наблюдалось осаждение и образование разбавленной взвеси, небольшое количество твердого вещества после фильтрации	Наблюдалось осаждение и образование клейкого вещества	н/д	н/д
MeOH	Ацетон	Нет осаждения	Нет осаждения	н/д	н/д
MeOH	Этанол	Осаждение	Образование клейкого вещества	Форма В	Форма В с низкой степенью кристалличности
MeOH	Вода	Нет осаждения	Нет осаждения	н/д	н/д

7. Эксперимент с измельчением при добавлении капель растворителя соли структуры А

Эксперименты с измельчением при добавлении капель растворителя проводили для оценки полиморфного характера формы А. Приблизительно 25 мг формы А взвешивали в капсуле шаровой мельницы, затем добавляли 25 мкл растворителя.

Твердое вещество измельчали три раза по 30 с каждый раз. Твердое вещество каждый раз соскабливали со стенки капсулы для предотвращения комкования. Кроме того, сухое измельчение формы А в отсутствие растворителя было представлено в качестве эталона. Посредством XRPD показано, что полученные твердые вещества оставались неизменными после осуществления процесса измельчения при добавлении капель растворителя, за исключением образца, полученного при сухом измельчении, что привело к получению формы А с низкой степенью кристалличности, практически аморфной формы. См. табл. 15.

Таблица 15

Растворитель	Объем растворителя, мкл	Дифрактограмма XRPD
MeOH:вода (95:5)	25	Форма А
Ацетон:вода (8:2)	25	Форма А
MeOH:MeOAc (1:1)	25	Форма А
IPAc	25	Форма А с низкой степенью кристалличности
Анизол	25	Форма А
Сухое твердое вещество	Без растворителя	Практически аморфная форма

8. Образование гемисульфатной соли

Получение соли осуществляли посредством суспендирования соединения 1, т.е. некристаллического свободного основания в различных растворителях с последующим добавлением раствора серной кислоты в EtOAc. В начале получали раствор серной кислоты в EtOAc (концентрация примерно 24 вес.%). Затем 25-30 мг некристаллического свободного основания соединения 1 взвешивали во флаконе объемом 2 мл с последующим добавлением 15 об. растворителя. Затем добавляли необходимое количество эквивалентов серной кислоты. Взвеси нагревали до 45°C и выдерживали в течение 1 ч и затем охлаждали до к.т. в течение 2 ч, затем выдерживали в течение ночи. Взвесь фильтровали и затем анализировали посредством XRPD. Результаты показаны в табл. 16.

Таблица 16

Растворитель	наблюдение		Дифрактограмма XRPD	
	0,5 экв. серной кислоты	1,0 экв. серной кислоты	0,5 экв. серной кислоты	1,0 экв. серной кислоты
IPA	разбавленная взвесь и незначительное количество клейкого вещества	разбавленная взвесь и незначительное количество клейкого вещества	FB-A с низкой степенью кристалличности и	FB-A с низкой степенью кристалличности и
Ацетонитрил	разбавленная взвесь и незначительное количество клейкого вещества	Раствор для образования взвеси	Форма A с низкой степенью кристалличности и	Форма D
MeOAc:MeOH (1:1)	Раствор*	Раствор*	Аморфная форма	Аморфная форма
EtOAc:MeOH (1:1)	Раствор*	Раствор*	Аморфная форма	Аморфная форма
MeOAc:MeOH (1:1); 5% воды	Раствор*	Раствор*	Форма A с низкой степенью кристалличности и	Аморфная форма
EtOAc:MeOH (1:1); 5% воды	раствор для образования взвеси	Раствор*	Форма A	Аморфная форма
MeOAc:MeOH (1:1); 10% воды	Раствор*	Раствор*	Форма A	Аморфная форма
Ацетон	Взвесь	разбавленная взвесь и незначительное количество клейкого вещества	FB-A с низкой степенью кристалличности и	Форма D
THF	Взвесь	Взвесь	FB-A с низкой степенью кристалличности и	FB-A с низкой степенью кристалличности и
Этанол	Взвесь	раствор для образования взвеси	Форма I	Форма D
IPAc	разбавленная взвесь и незначительное количество клейкого вещества	разбавленная взвесь и незначительное количество клейкого вещества	FB-A	FB-A с низкой степенью кристалличности и
MeOAc:MeOH (1:1); 1% воды	Раствор*	Раствор*	FB-A с низкой степенью кристалличности и	Аморфная форма

* Осаждения не наблюдалось через 3-4 ч перемешивания, затем растворитель выпаривали. FB-A относится к кристаллической форме свободного основания соединения 1

Гемисульфат также образовывался в смеси MeOAc:MeOH (1:1) в присутствии и в отсутствие воды. Готовили раствор серной кислоты в воде 43 вес.% (плотность: 1,3072 г/мл) и применяли его для образования полусоли. См. табл. 17.

Таблица 17. Образование соли в системе растворителей MeOAc:MeOH с помощью раствора 0,52 экв. серной кислоты в воде (40-50 вес.%)

Серная кислота, экв.	Раствор серной кислоты в воде, мкл	Растворитель, мкл	Описание эксперимента	Дифрактограмма XRPD - влажное твердое вещество
0,52	19,4	578,4	Добавляли 6 объемов смеси MeOAc:MeOH (1:1) при к. т.; добавляли 0,52 экв. кислоты; раствор достигал некоторых свойств твердого вещества. Добавляли структуру А в качестве затравки. Добавляли структуру В в качестве затравки. Выдерживали 1 час до загущения. Подготовка образцов для XRPD. Нагревали до 50°C	Форма J
0,52	18,6	555	Добавляли 6 объемов смеси MeOAc:MeOH (1:1) при к. т. Добавляли 0,52 экв. кислоты; раствор достигал некоторых свойств твердого вещества. По каплям добавляли 0,4 об. % воды. Выдерживали 2 часа для загущения.	Форма А
			Фильтровали для XRPD	
0,52	19,8	591	Добавляли 6 объемов смеси MeOAc:MeOH (1:1) при к. т. Нагревали до 45C Добавляли 0,52 экв. кислоты; раствор достигал некоторых свойств твердого вещества. По каплям добавляли 0,4 об. % воды. Выдерживали в течение 30 мин. и охлаждали до к. т. в течение 1 ч. Выдерживали 1 час до загущения. Фильтровали для XRPD	Форма А
0,52	18,6	555,6	Добавляли 6 объемов смеси MeOAc:MeOH (1:1) при к. т. Добавляли 0,52 экв. кислоты; раствор достигал некоторых свойств твердого вещества. Добавляли 1 об. % воды в течение 2 часов Выдерживали 1 час до загущения. Фильтровали для XRPD	Форма А

Получение гемисульфатной соли также проводили посредством суспендирования соединения 1 в метаноле с последующим добавлением раствора серной кислоты в воде (43 вес.% водн.). Приблизительно 100 мг соединения 1, некристаллического свободного основания, взвешивали во флаконе объемом 4 мл с последующим добавлением 6 об. растворителя. Затем добавляли 0,52 эквивалента раствора серной кислоты в воде (концентрация примерно 43 вес.%), что приводило к полному растворению при комнатной температуре. Для эксперимента 1 сначала по каплям добавляли один объем воды, в качестве затравки добавляли очень малое количество структуры А, затем в течение 1 ч добавляли 5 объемов воды; для эксперимента 2 воду не добавляли, обе структуры А и В добавляли в качестве затравки; для эксперимен-

та 3 добавляли шесть объемов воды в течение 2 ч без затравки. Все флаконы перемешивали в течение ночи (O/N). Взвесь фильтровали и затем анализировали посредством XRPD. Выход составлял приблизительно 80% для эксперимента с добавлением воды и приблизительно 60% для эксперимента без добавления воды, что приведено в табл. 18.

Таблица 18

Растворитель	Объем растворителя, мкл	Серная кислота в воде, мкл	Добавленная вода, мкл	Конечная композиция	Добавленная затравка	Дифрактограмма XRPD	Выход
MeOH	572	19,2	595	MeOH:вода (50:50)	Форма А	Форма А	84%
MeOH	552	18,4	без воды	MeOH:вода (98,5:1,5)	Форма А+В	Форма В	63%
MeOH	577	19,4	600	MeOH:вода (50:50)	без затравки	Форма А	82%

Образование гемисульфатной соли также проводили в смеси метанол:вода (95:5) с использованием свободного основания и серной кислоты. Приблизительно 150 мг соединения 1 отвешивали во флакон объемом 4 мл и добавляли 8 объемов растворителя. Смесь перемешивали при 500 об./мин и затем добавляли 0,52 экв. раствора серной кислоты в воде (концентрация примерно 43 вес.%). Данную смесь нагревали до 45°C, что приводило к полному растворению с последующим добавлением 0,5 объемов воды, затем охлаждали до к.т. и выдерживали в течение ночи. Это приводило к образованию жидкотекучей взвеси. Затем добавляли 3,5 об. воды и фильтровали. Анализ XRPD демонстрировал структуру А. Выход составлял приблизительно 84%. Результаты представлены в табл. 19.

Таблица 19

Растворитель	Растворитель, мкл	Серная кислота в воде, мкл	Температура (нагревали до), °C	Конечная композиция	Дифрактограмма XRPD	Выход
MeOH:вода (95:5)	1200	30,2	45	MeOH:вода (63:37)	Форма А	84%

Масштабированный эксперимент для формы А проходил следующим образом.

Приблизительно 1,0253 г соединения 1 добавляли в колбу объемом 100 мл. Затем добавляли 8 об. растворителя на основе MeOH:вода (95:5 по об.) (8,2 мл) и смесь перемешивали при 300 об./мин с использованием турбинной мешалки с 4-мя наклонными лопастями (4-PBT) диаметром 3,5 см. Вручную добавляли 0,52 экв. серной кислоты в воде (~43 вес.%) (206 мкл) и смесь нагревали от 23 до 45°C в течение 10 мин, что приводило к полному растворению. Добавляли 0,5 об. воды (0,512 мл) и раствор выдерживали в течение 10 мин, охлаждали до 23°C в течение 1 ч и выдерживали при перемешивании в течение ночи. Осаждения не наблюдали. Затем в течение 1 ч добавляли 4 об. воды и раствор оставался прозрачным в течение всего времени добавления воды при комнатной температуре. Вскоре (15-30 мин) после завершения добавления воды начиналось осаждение. Образец анализировали посредством XRPD, которая показывала структуру А. Смесь затем охлаждали до 15°C в течение 1 ч, выдерживали в течение 3 ч при перемешивании и затем фильтровали и промывали с помощью 2 об. MeOH:вода (1:1). Анализ XRPD влажного осадка демонстрировал структуру А. Продукт высушивали в течение ночи в вакуумной печи при 50°C. Выход составлял 1,1143 г соли структуры А, продемонстрированной посредством XRPD. Остаточное количество метанола составляло 0,18 вес.% согласно ЯМР. pH фильтрата измеряли с использованием pH-метра и было показано значение, равное 2,63.

9. Масштабирование гемисульфатной соли

Гемисульфатную соль получали в масштабе 2 г, как подробно описано ниже. Полученное твердое вещество представляло собой гемисульфатную соль формы А. Выход составлял приблизительно 88%.

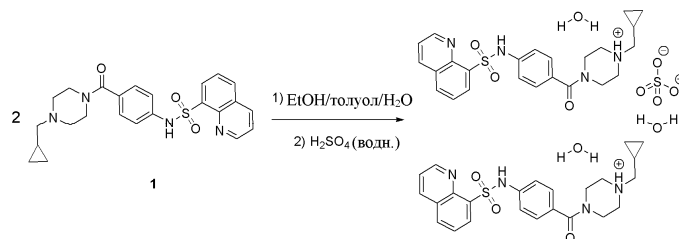
Приблизительно 1,9581 г соединения 1 добавляли в колбу объемом 100 мл. Добавляли 8 об. растворителя на основе MeOH:вода (95:5 по об.) (15,9 мл) и смесь перемешивали при 300 об./мин с использованием 4-PBT-мешалки диаметром 3,5 см. Вручную добавляли 0,52 экв. серной кислоты в воде (~43 вес.%) (399 мкл). Смесь нагревали от 23 до 45°C в течение 10 мин, что приводило к полному растворению. Добавляли 0,5 об. воды (0,993 мл) и раствор выдерживали в течение 10 мин и охлаждали до 23°C в течение 1 ч. Добавляли 4 об. воды в течение 1 ч. И наблюдали зародышеобразование после приблизительно 45 мин выдерживания при перемешивании. Смесь охлаждали до 15°C в течение 1 ч, выдерживали в течение приблизительно 30 мин при перемешивании и фильтровали и промывали с помощью 2 об. MeOH:вода (1:1). Анализ XRPD влажного осадка демонстрировал структуру А. Продукт высушивали в течение ночи в вакуумной печи при 50°C. Это обеспечивало получение 2,04 г (88%) соли структуры А, обнаруженной посредством XRPD. Остаточное количество метанола составляло 0,16 вес.%, как продемонстрировано посредством ЯМР.

10. Оптимизированная процедура масштабирования гемисульфатной соли кристаллической формы А

Оптимизированное получение формы А в виде гемисульфатной сесквигидратной соли в присутст-

вии и в отсутствие введения затравки представлено ниже.

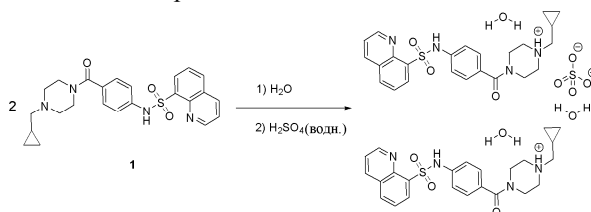
Получение 1-(циклопропилметил)-4-(4-(хинолин-8-сульфонамидо)бензоил)пиперазин-1-ия сульфата тригидрата (формы А) посредством введения затравки



В реактор объемом 2 л в атмосфере N_2 загружали N-(4-(4-(циклопропилметил)пиперазин-1-карбонил)фенил)хинолин-8-сульфонамид (5) (111,0 г, 246,4 ммоль) и предварительно смешанный технологический растворитель на основе этанола (638,6 г), толуола (266,1 г) и воды (159,6 г). Суспензию перемешивали и нагревали до более 60°C для растворения твердых веществ и затем полученный раствор охлаждали до 50°C. К раствору добавляли водный раствор H_2SO_4 (2,4 М, 14,1 мл, 33,8 ммоль), с последующим добавлением 1-(циклопропилметил)-4-(4-(хинолин-8-сульфонамидо)бензоил)пиперазин-1-ия сульфата тригидрата (6) (1,1 г, 2,1 ммоль). После перемешивания в течение 1 ч к суспензии добавляли водный раствор H_2SO_4 (2,4 М, 42,3 мл, 101,5 ммоль) в течение 5 ч. Суспензию охлаждали до 22°C и перемешивали в течение 8 ч. Твердые вещества фильтровали при 22°C, промывали с помощью свежеприготовленного технологического растворителя (2×175 г) и высушивали с получением продукта (121,6 г) с 94% фактическим выходом. Посредством LC-MS (колонка C18 с элюированием с помощью 90-10 CH_3CN /вода в течение 2 мин) обнаружили, что $(M+1) = 451$.

1H ЯМР (400 МГц, $DMSO-d_6$) δ 10,45 (s, 1H), 9,11 (dd, $J=4,2$, 1,7 Гц, 1H), 8,50 (dd, $J=8,4$, 1,7 Гц, 1H), 8,41 (dd, $J=7,3$, 1,5 Гц, 1H), 8,27 (dd, $J=8,2$, 1,5 Гц, 1H), 7,79-7,60 (m, 2H), 7,17 (d, $J=8,4$ Гц, 2H), 7,11 (d, $J=8,4$ Гц, 2H), 3,44 (d, $J=8,9$ Гц, 5H), 3,03-2,50 (m, 6H), 0,88 (p, $J=6,3$ Гц, 1H), 0,50 (d, $J=7,6$ Гц, 2H), 0,17 (d, $J=4,9$ Гц, 2H).

Получение 1-(циклопропилметил)-4-(4-(хинолин-8-сульфонамидо)бензоил)пиперазин-1-ия сульфата тригидрата (форма А) без введения затравки



В реактор объемом 50 л загружали N-(4-(4-(циклопропилметил)пиперазин-1-карбонил)фенил)хинолин-8-сульфонамид (5) (1,20 кг, 2,66 моль) и воду (23,23 л) при 28°C. При перемешивании суспензии по каплям добавляли водный раствор H_2SO_4 (1,0 М, 261 г) в течение 2 ч. Реакционную смесь перемешивали при 25-30°C в течение 24 ч. Твердые вещества фильтровали и высушивали под вакуумом при температуре ниже 30°C в течение 96 ч с получением продукта (1,26 кг) с 90% фактическим выходом.

11. Воспроизводство и получение различных структур

Для определения характеристик воспроизводили структуры, наблюдаемые во время предыдущих экспериментов. Структуры В, D, E, F являлись воспроизводимыми. Структура G была воспроизведена с низкой степенью кристалличности. Структура I была воспроизведена, хотя не наблюдалось нескольких пиков. Результаты представлены в табл. 20.

Таблица 20

Целевая структура	Фактическая структура	Растворитель	Способ	Описание
Форма В	Форма В	EtOH	суспендирование при к. т.	Удерживает метанол или этанол. При высушивании теряет кристалличность.
Форма С+А	Форма А	IPA	суспендирование при к. т.	Структура С не была воспроизводимой, поскольку она могла быть довольно нестабильной и превращаться в структуру А
Форма D	Форма A+D	ACN	суспендирование при 50°C	Структура D является безводной
Форма В	Форма В	EtOH:MeOH (3:7)	суспендирование при 55°C	Полученная структура В
Форма E	Форма E	ACN:вода (2:1)	кристаллизация охлаждением при - 20°C	Очень низкий выход (5%). Нестабильная при высушивании и превращается в форму F
Форма F	Форма F	н/д	Получали путем	Приблизительно 8
			высушивания структуры E при 50°C и в вакууме	вес. % потери при TGA, что должно представлять собой воду исходя из анализа посредством ЯМР
Форма G	Форма G с низкой степенью кристалличности	ACN:вода (8:2)	Быстрая кристаллизация охлаждением при - 20°C	Приблизительно 5 вес. % потери при TGA, что должно представлять собой воду исходя из анализа посредством ЯМР
Форма H	Почти аморфное твердое вещество. Отсутствует большинство пиков	MeOH:EtOAc (1:1)	Быстрая кристаллизация охлаждением при - 20°C	Возможно образование сольвата с очень низкой степенью кристалличности
Форма В	Форма В	MeOH:вода (99:1)	Растворение при к. т. и введение затравки со структурой А и В	Полученная структура В.
Форма I	Форма I - отсутствуют несколько пиков	EtOH	Образование соли со свободным основанием и серной кислотой в EtOAc	Содержит 8,5 вес. % EtOH. Возможное образование сольвата
Форма D	Форма D	ACN	Образование соли со свободным основанием и серной кислотой в EtOAc	Структура D является безводной

Форма В.

Форма В может быть получена посредством суспендирования формы А в приблизительно 10 объемах этанола при комнатной температуре в течение нескольких суток до получения формы В. Форму В обычно высушивали посредством высушивания при 50°C под вакуумом. Другие способы получения формы В описаны выше, например, в табл. 5, 6, 12-14, 18 и 20.

Форма С.

Форму С получают в виде смеси с формой А после суспендирования формы А в IPA в течение 2 суток при приблизительно 23°C. См., например, табл. 5. Пики XRPD для формы С получены в результате вычитания пиков формы А.

Форма D.

Форму D получали путем добавления 15 об. ацетонитрила и затем 0,52 экв. серной кислоты к соединению 1 и нагревания смеси до 50°C. Смесь затем выдерживали при 50°C в течение 30 мин и охлаждали до к.т. Полученный продукт, форму D, затем фильтровали и высушивали. Альтернативно форма А может быть суспендирована в IPA или ацетонитриле при температуре более 50°C по меньшей мере в течение 2 суток для превращения в форму D. Последний способ был не так надежен, как первая процедура, в которой используют свободное основание. Дополнительные способы описаны выше, например, в табл. 5, 6, 9, 16 и 20.

Форма E.

Форма E может быть получена посредством добавления 24 объемов смеси ацетонитрил:вода (2:1) к форме А и нагревания смеси до 50°C для растворения материала. Раствор затем охлаждали до -20°C и выдерживали в течение ночи. Полученный продукт, форму E, затем фильтровали. См., например, табл. 8 и 20.

Форма F.

Форма F может быть получена посредством высушивания формы E при 50°C под вакуумом. См., например, табл. 20. Дополнительные способы описаны выше, например, в табл. 8 и 12.

Форма G.

Форма G может быть получена посредством добавления 72 объемов смеси ацетонитрил:вода (8:2) к форме А и затем нагревания смеси до 50°C для растворения твердых веществ. Раствор затем быстро охлаждали до -20°C и выдерживали в течение ночи для получения формы G. См., например, табл. 20. Дополнительные способы описаны выше, например, в табл. 13.

Форма H.

Форма H может быть получена посредством растворения формы А в 40 объемах смеси MeOH:EtOAc (1:1) при 50°C и затем помещения раствора на лед для резкого охлаждения раствора и затем охлаждения раствора до -20°C. Образовавшийся осадок, форму H, затем фильтровали и анализировали как влажный осадок. См., например, табл. 20. Воспроизведение структуры H привело к образованию аморфного твердого вещества, которое не имеет пиков формы H. Дополнительные способы описаны выше, например, в табл. 13.

Форма I

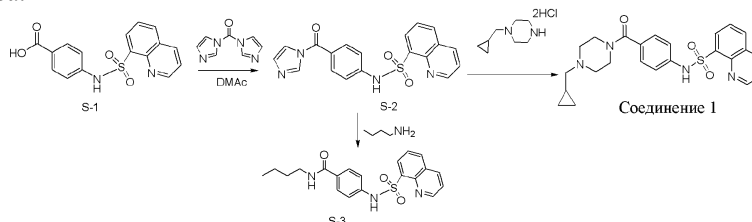
Форма I представляет собой возможный сольват, который можно получить путем добавления 15 объемов этанола к соединению 1 и нагревания смеси до 45°C с получением взвеси. Затем добавляли 0,52 экв. серной кислоты в EtOAc и смесь выдерживали в течение 1 ч, затем охлаждали до комнатной температуры в течение 2 ч, выдерживали в течение 1 ч и фильтровали. Продукт, форму I, затем высушивали при 50°C и в вакууме. См., например, табл. 16 и 20.

Форма J.

Форма J может быть получена путем добавления соединения 1 и 6 объемов смеси MeOAc:MeOH (1:1) при комнатной температуре. Затем добавляли 0,52 экв. серной кислоты, разбавленной до 43 вес.% в воде. Взвесь затем нагревали до 60°C для растворения смеси и раствор охлаждали до к.т. и фильтровали. Форму J получали в виде влажного осадка, который при высушивании превращался в форму А. См., например, табл. 17.

Кристаллическая форма свободного основания соединения 1

Кристаллическая форма свободного основания соединения 1 может быть получена посредством следующего способа.



14,8 кг соединения S-1 и 120 кг DMAc загружали в круглодонную колбу, защищенную посредством N₂, и реакционную смесь перемешивали при 30°C под защитой N₂ в течение 40 мин с получением прозрачного желтого раствора. Добавляли 7,5 кг CDI (1,02 экв.) и реакционную смесь перемешивали при 30°C в течение 2,5 ч под защитой N₂. Добавляли 0,6 кг CDI (0,08 экв.) при 30°C и смесь перемешивали при 30°C в течение 2 ч под защитой N₂. Реакционную смесь снова тестировали на расходование материала. 11,0 кг (1,14 экв.) 1-(циклопропилметил)пиперазинхлорида загружали в круглодонную колбу при

30°C и реакционную смесь перемешивали под защитой N₂ в течение 6 ч (прозрачный раствор). По каплям добавляли 7,5 X H₂O в течение 2 ч, образовывалось некоторое количество твердого вещества и реакционную смесь перемешивали в течение 1 ч при 30°C. Добавляли 16,8 X H₂O в течение 2,5 ч и реакционную смесь перемешивали в течение 2,5 ч. Добавляли 3,8 кг (0,25 X) NaOH (30%, вес./вес., 0,6 экв.) и реакционную смесь перемешивали в течение 3 ч при 30°C. Реакционную смесь фильтровали и влажный осадок промывали с помощью H₂O/DMAc=44 кг/15 кг. Получали 23,35 кг влажного осадка (KF: 4%). Образец перекристаллизовали путем добавления 10,0 X DMAc и перемешивания в течение 1 ч при 70°C, прозрачный раствор; добавляли 4,7 X H₂O в течение 2 ч при 70°C и реакционную смесь перемешивали в течение 2 ч при 70°C; по каплям добавляли 12,8 X H₂O в течение 3 ч и перемешивали в течение 2 ч при 70°C; реакционную смесь доводили до 30°C в течение 5 ч и перемешивали в течение 2 ч. При 30°C реакционную смесь фильтровали и влажный осадок промывали с помощью DMAc/H₂O=15 кг/29 кг и 150 кг H₂O. Получали 19,2 кг влажного осадка. Материал перекристаллизовывали снова следующим образом. Ко влажному осадку добавляли 10,0 X DMAc и реакционную смесь перемешивали в течение 1 ч при 70°C с получением прозрачного раствора. По каплям добавляли 16,4 X H₂O при 70°C и реакционную смесь перемешивали в течение 2 ч при 70°C. Реакционную смесь доводили до 30°C в течение 5,5 ч и перемешивали в течение 2 ч при 30°C. Реакционную смесь центрифугировали и получали 21,75 кг влажного осадка. Материал высушивали под вакуумом при 70°C в течение 25 ч. Получали 16,55 кг кристаллической формы свободного основания соединения 1. Чистота составляла 99,6%.

12. Растворимость в воде и в имитационной жидкости

Растворимость структур A, B и D измеряли в воде. Твердые вещества суспендировали в жидкостях в течение двух суток и при 37°C. Надосадочную жидкость фильтровали через шприцевой фильтр и применяли для анализа посредством HPLC. Для структур A и D повторяли измерение растворимости и образец отбирали через 1 ч после образования взвеси. Калибровочную кривую получали с использованием структуры A. Этот анализ не был скорректирован и, следовательно, значения растворимости основаны на значениях для гемисульфатной сесквигидратной соли.

Обе структуры B и D превращались в структуру A спустя двое суток после образования взвеси. Структура D также превращалась в структуру A в течение 1 ч после образования взвеси в имитированном желудочном соке натошак (FaSSGF) или в воде. Только в имитированном кишечном соке натошак (FaSSIF) структуры A и B являлись диспропорциональными по отношению к кристаллическому свободному основанию через двое суток после образования взвеси и демонстрировали более низкую растворимость. Однако структура D не являлась диспропорциональной в FaSSIF и вместо этого превращалась в структуру D. Растворимость в воде и в имитированной жидкости для трех структур существенно не отличались. Это может быть обусловлено превращением структур B и D в структуру A. Данные касательно растворимости и полученная в результате дифрактограмма XRPD после измерения представлены в табл. 21.

Таблица 21. Растворимость в имитированных жидкостях при 37°C

	Структура	Растворимость мг твердого вещества/мл растворителя	Структура	Время существова ния взвеси
Вода	A	2,69	A	2 суток
Вода	B	3,02	A	2 суток
Вода	D	2,71	A	2 суток
FaSSIF	A	0,24	FB	2 суток
FaSSIF	B	0,20	FB	2 суток
FaSSIF	D	3,49	A	2 суток
FaSSGF	A	6,80	Недостаточное количество твердого вещества для осуществления XRPD	2 суток
FaSSGF	B	6,53	A	2 суток
FaSSGF	D	5,94	A	2 суток
Вода	A	3,05	A	1 час
FaSSGF	A	7,07	A	1 час
Вода	D	2,62	A	1 час
FaSSGF	D	5,43	A	1 час

FB означает кристаллическое свободное основание соединения 1.

13. Сравнительная взвесь

Четыре различных растворителя применяли для экспериментов со сравнительной взвесью. Четыре системы растворителей были выбраны для сравнительной взвеси при двух различных значениях темпе-

ратуры. Растворители представляли собой ацетон, смесь ацетон:вода (9:1), IPA и смесь MeOH:вода (95:5) и значения температур составляли 23 и 50°C. Все растворители изначально насыщали путем суспендирования структуры А при целевых значениях температуры в течение приблизительно 2 ч, затем убирали магнитные мешалки и выдерживали флакон при целевой температуре, обеспечивая осаждение твердого вещества. Затем насыщенную надосадочную жидкость переносили в новые пустые флаконы, которые уже были нагреты до целевых значений температуры на горячей плите. Затем в данные насыщенные растворы добавляли 5-10 мг каждой из структур А, В и D. Твердую смесь суспендировали с применением якоря магнитной мешалки и первый образец отбирали через 2 суток после образования взвеси. Второй образец отбирали через 1 неделю. Структура А была стабильной в растворителях, которые содержали воду. Структура D была стабильной в безводных системах, особенно при более высоких значениях температуры. Выяснено, что структура D, которая представляет собой безводное твердое вещество, является наиболее стабильным твердым веществом при использовании безводных органических растворителей. См. табл. 22.

Таблица 22

Растворитель	Исходная структура	Дифрактограмма XRPD - 2 суток		Дифрактограмма XRPD - 1 неделя	
		к. т.	50°C	к. т.	50°C
Ацетон	A+B+D	A+D	D	A+D	D
Ацетон:вода (9:1)	A+B+D	A	A	A	A
IPA	A+B+D	D	D	D	D
MeOH:вода (95:5)	A+B+D	A	Недостаточное количество образца для осуществления анализа XRPD	A	---

14. Исследование стабильности

При исследовании стабильности формы А не наблюдали какого-либо разрушения в следующих трех состояниях: один месяц при 40±2°C/75±5% RH, три месяца при 25±2°C/60±5% RH, три месяца при 30±2°C/65±5% RH, три месяца при 40±2°C/75% RH, двенадцать месяцев при 25±2°C/60±5% RH.

15. Иллюстративный состав таблетки

Форма А была составлена в виде таблеток либо посредством прямого прессования состава, полученного прямым смешиванием, либо посредством процесса сухого гранулирования или влажного гранулирования. Могут быть добавлены другие вспомогательные вещества, такие как связующие и/или поверхностно-активные вещества, и покрывающие пленки для способствования целостности таблетки, маскированию вкуса и эстетических свойств. Иллюстративный состав таблетки является следующим.

Компонент	% вес/вес компонента
Форма А	11,70%
Микрокристаллическая целлюлоза NF	60,18%
Маннит	23,12%
Кроскармеллоза натрия	3,00%
Стеарилфумарат натрия	2,00%
Всего, %	100,00%

15. Краткое описание характеристик

Форма А.

XRPD для формы А показана на фиг. 1 и перечни пиков показаны в табл. 23.

Таблица 23

Угол, 2-θ	Межатомное расстояние (Å°)	Высота (импульсы)	Отн. интенс.
4,9	17,8305	40	0,28%
9,9	8,9545	9363	66,02%
11,0	8,02613	2418	17,05%
11,4	7,7313	4177	29,45%
11,7	7,56421	3209	22,63%
12,3	7,16163	635	4,48%
12,8	6,93632	2500	17,63%
13,6	6,51539	2286	16,12%

13,9	6,38771	1644	11,59%
14,2	6,23136	3520	24,82%
15,0	5,88897	5689	40,11%
15,3	5,78752	4085	28,80%
15,8	5,60806	12313	86,82%
17,1	5,17018	7400	52,18%
17,4	5,07818	2144	15,12%
17,7	4,99463	4146	29,23%
18,8	4,71113	2437	17,18%
19,1	4,63884	1177	8,30%
19,8	4,49007	3657	25,79%
21,3	4,17694	6577	46,38%
21,9	4,04794	6503	45,85%
22,6	3,92853	14182	100,00%
23,0	3,86945	1915	13,50%
23,2	3,82274	2764	19,49%
23,5	3,78695	4288	30,24%
23,8	3,73813	2177	15,35%
24,1	3,68699	1723	12,15%
24,5	3,63374	2387	16,83%
25,3	3,51767	3957	27,90%
25,6	3,47637	2258	15,92%
26,1	3,41137	1463	10,32%
27,1	3,28258	3975	28,03%
28,1	3,17265	2581	18,20%
29,8	3,00049	2969	20,93%

Анализ TGA формы А продемонстрировал потерю веса приблизительно 4,5% вплоть до 180°C. См. фиг. 2. Содержание воды, определенное по методу Карла-Фишера, составляло приблизительно 5,3%. Два термических события наблюдали на термограмме DSC с первым пиком при 159,9°C и вторым пиком при 199,1°C. См. фиг. 3. На первом пике также было показано плечо. Анализ динамической сорбции пара соли формы А при 25°C демонстрировал, что твердое вещество поглощает приблизительно 1,3% влаги при относительной влажности от 2 до 95%. См. фиг. 4. DVS демонстрировала быструю потерю веса при влажности менее 10%, которая была обратимой при цикле сорбции. Изотерма DVS при 40°C была по сути такой же, что и изотерма при 25°C. XRPD оставалась неизменной после DVS при обоих значениях температуры. Испытание на влажность проводили на форме А с воздействием 11, 48 и 75% относительной влажности при 40°C в течение 2 недель с последующим анализом XRPD. XRPD оставалась неизменной после двухнедельного теста. См. фиг. 5. Кристаллографические данные для формы А являются следующими.

Эмпирическая формула: $C_{48}H_6N_8O_{13}S_3$

Молекулярная масса по формуле соединения: 1053,22

Температура: 173(2) К

Длина волны: 1,54178 Å

Кристаллическая система, пространственная группа: моноклинная, C 2/c

Постоянные решетки:

a=3,0748(5) Å

b=10,2638(4) Å

c=36,1371(12) Å

$\alpha=90$ град.

$\beta=97,340(3)$ град.

$\gamma=90$ град.

Объем: 4809,8(3) Å³

Z=4

Рассчитанная плотность: 1,454 мг/м³

Коэффициент поглощения: 2,046 мм⁻¹

F(000): 2224

Размер кристалла: 0,171×0,156×0,061 мм³

Диапазон тета для сбора данных: от 2,47 до 72,03°, град.

Ограничивающие показатели:

$-15 \leq h \leq 16$

$-12 \leq k \leq 12$

$-43 \leq l \leq 44$

Собранные/уникальные отражения 16676/4532 [$R(\text{int}) = 0,0767$].

Полнота: 95,6%

Метод уточнения: Наименьшие квадраты по полной матрице относительно F^2

Данные/ограничения/параметры 4532/0/336

Критерий согласия по F^2 1,096

Форма В.

XRPD для формы В показана на фиг. 6 и перечни пиков показаны в табл. 24.

Таблица 24

Угол, 2- Θ	Межатомное расстояние ($\text{\AA}^\circ$)	Высота (импульсы)	Отн. интенс.
7,0	12,57535	1083	8,57%
7,8	11,27583	1748	13,83%
9,9	8,89921	10912	86,36%
10,6	8,33283	3619	28,64%
11,7	7,55341	2313	18,31%
12,7	6,95632	7739	61,25%
13,1	6,7694	1609	12,73%
13,5	6,53423	2490	19,71%
13,9	6,38636	3216	25,45%
14,6	6,06413	3446	27,27%
14,9	5,94981	2751	21,77%
15,3	5,79313	2471	19,56%
15,7	5,62485	4393	34,77%
16,1	5,51086	1536	12,16%
16,9	5,2332	7462	59,06%
17,6	5,02985	2722	21,54%
19,3	4,60381	2787	22,06%
19,7	4,50087	2503	19,81%
20,7	4,29561	2454	19,42%
21,2	4,18049	1540	12,19%
22,0	4,03572	8193	64,84%
22,5	3,95619	12635	100,00%
23,3	3,81776	1530	12,11%
24,0	3,70488	985	7,80%
24,7	3,60111	2053	16,25%
25,1	3,54205	2015	15,95%
25,7	3,46451	521	4,12%
26,1	3,41725	1020	8,07%
27,2	3,27757	1417	11,21%
27,6	3,23088	3271	25,89%
28,4	3,1406	1887	14,93%
29,3	3,04578	1720	13,61%
29,8	2,99111	750	5,94%

Форма В может удерживать значительное количество растворителя. Однако данные TGA не соответствуют данным ЯМР для органического растворителя, что могло быть обусловлено гигроскопичной природой формы В. См., например, фиг. 7.

Анализ DVS формы В продемонстрировал, что твердое вещество поглощает приблизительно 14% влаги при относительной влажности от 2 до 95%.

Форма D.

XRPD для формы D показана на фиг. 9 и перечни пиков показаны в табл. 26.

Таблица 26

Угол, 2- θ	Межатомное расстояние ($\text{\AA}^\circ$)	Высота (импульсы)	Отн. интенс.
5,8	15,28058	4971	70,74%
10,0	8,87509	4389	62,46%
10,2	8,65751	6043	86,00%
11,3	7,82263	2566	36,52%
11,5	7,66971	749	10,66%
12,2	7,27684	3233	46,01%
13,6	6,51388	2448	34,84%
14,1	6,28225	1365	19,43%
14,7	6,01924	2881	41,00%
15,4	5,74733	250	3,56%
16,0	5,52579	1652	23,51%
17,3	5,13037	3250	46,25%
17,6	5,03792	3136	44,63%
19,3	4,59918	5083	72,34%
20,0	4,42807	1495	21,28%
20,8	4,26377	1928	27,44%
22,1	4,01598	1363	19,40%
22,9	3,88059	4961	70,60%
23,3	3,81849	7027	100,00%
23,6	3,76707	3176	45,20%
24,4	3,6518	1755	24,98%
25,2	3,52644	4136	58,86%
26,4	3,37296	1305	18,57%
27,4	3,25211	610	8,68%
28,3	3,15078	553	7,87%
29,6	3,01482	615	8,75%

Форму D определяли как безводную с пиком плавления при 239°C. См., например, фиг. 9. Проводили анализ DVS для структуры D и твердое вещество поглощало приблизительно 2% влаги при относительной влажности от 2 до 95%. См. фиг. 10. Дифрактограмма оставалась неизменной после проведения анализа DVS, и воздействие относительной влажности 75% в течение одной недели при 40°C также не вызывало изменения формы.

Форма E.

XRPD для формы E показана на фиг. 11 и перечни пиков показаны в табл. 27.

Таблица 27

Угол, 2- θ	Межатомное расстояние ($\text{\AA}^\circ$)	Высота (импульсы)	Отн. интенс.
4,6	19,33569	1738,68	42,25%
9,0	9,8034	4115,26	100,00%
9,9	8,90634	170,17	4,14%
11,0	8,05091	182,67	4,44%
13,5	6,56847	2221,93	53,99%
15,1	5,86939	909,83	22,11%
15,8	5,59154	280,55	6,82%
18,5	4,78855	309,99	7,53%
19,8	4,48316	260,12	6,32%
20,4	4,34963	461,71	11,22%
21,7	4,09107	862,85	20,97%
22,5	3,94718	1259,97	30,62%
28,1	3,1714	143,14	3,48%

Форма F.

XRPD для формы F показана на фиг. 12 и перечни пиков показаны в табл. 28. Объединенные TGA и DSC показаны на фиг. 13.

Таблица 28

Угол, 2- Θ	Межатомное расстояние ($\text{\AA}^\circ$)	Высота (импульсы)	Отн. интенс.
5,0	17,63127	3501,15	68,88%
9,9	8,953	5083,17	100,00%
11,1	7,95783	175,54	3,45%
14,7	6,02129	1144,71	22,52%
16,5	5,3774	319,64	6,29%
19,6	4,52559	557,84	10,97%
21,6	4,11341	625,78	12,31%
22,8	3,89996	383,12	7,54%
24,4	3,64257	313,08	6,16%

Форма G.

XRPD для формы G показана на фиг. 14 и перечни пиков показаны в табл. 29. Объединенные TGA и DSC показаны на фиг. 15.

Таблица 29

Угол, 2- Θ	Межатомное расстояние ($\text{\AA}^\circ$)	Высота (импульсы)	Отн. интенс.
4,7	18,70556	1242,62	59,33%
9,4	9,36302	2094,33	100,00%
11,0	8,02324	393,11	18,77%
13,3	6,67148	95,37	4,55%
14,1	6,2664	1061,57	50,69%
15,9	5,58681	287,25	13,72%
16,2	5,46454	135,26	6,46%
18,9	4,69155	302,27	14,43%
21,1	4,20095	210,62	10,06%
21,2	4,17959	623,95	29,79%
22,8	3,89083	287,75	13,74%
23,8	3,74261	339,41	16,21%
26,7	3,3332	36,96	1,76%
28,5	3,12882	200,93	9,59%

Форма H.

XRPD для формы H показана на фиг. 16 и перечни пиков показаны в табл. 30.

Таблица 30

Угол, 2- Θ	Межатомное расстояние ($\text{\AA}^\circ$)	Высота (импульсы)	Отн. интенс.
4,6	19,00577	2892,58	100,00%
5,4	16,21955	656,39	22,69%
7,4	11,92606	1637,2	56,60%
9,2	9,58199	2031,32	70,23%
10,3	8,60629	244,93	8,47%
11,1	7,96834	1041,86	36,02%
13,5	6,53326	1064,3	36,79%
13,8	6,3908	495,71	17,14%

14,9	5,92137	1640,91	56,73%
16,9	5,24557	238,8	8,26%
17,6	5,03079	330,16	11,41%
18,4	4,82818	764,47	26,43%
19,5	4,55426	201,62	6,97%
20,7	4,28199	421,57	14,57%
22,3	3,98173	914,58	31,62%
22,9	3,88793	641,59	22,18%
23,4	3,80422	445,25	15,39%
24,1	3,68517	219,37	7,58%
24,8	3,58024	766,52	26,50%
26,5	3,36223	292,29	10,10%
27,2	3,27175	129,95	4,49%
29,5	3,0237	272,48	9,42%

Форма I.

ХРРД для формы I показана на фиг. 17 и перечни пиков показаны в табл. 31. Объединенные TGA и DSC показаны на фиг. 18. Анализ ЯМР выявил наличие приблизительно 4,6% EtOH, указывающее на возможный сольват.

Таблица 31

Угол, 2- θ	Межатомное расстояние (Å°)	Высота (импульсы)	Отн. интенс.
6,7	13,16055	3581,49	96,93%
7,7	11,44901	740,16	20,03%
9,5	9,319	1710,55	46,29%
9,9	8,97128	3519,19	95,24%
10,5	8,45555	1052,24	28,48%
11,6	7,61244	855,25	23,15%
12,6	7,01279	1799,14	48,69%
13,4	6,60237	1385,62	37,50%
13,8	6,43395	850,03	23,00%
14,3	6,19667	516,23	13,97%
15,2	5,8277	722,04	19,54%
15,8	5,59406	1926,11	52,13%
16,8	5,26642	1316,92	35,64%
17,2	5,1627	745,55	20,18%
19,0	4,65907	716,28	19,39%
19,7	4,50851	3694,98	100,00%
20,5	4,32796	526,56	14,25%
20,9	4,25526	540,88	14,64%
21,9	4,05301	2830,08	76,59%
22,3	3,97817	2205,69	59,69%
23,9	3,71963	1226,09	33,18%
24,6	3,61051	976,08	26,42%
25,5	3,48946	531,17	14,38%
26,0	3,42073	440,36	11,92%
27,5	3,24167	511,68	13,85%
28,3	3,15203	747,77	20,24%
29,3	3,0427	455,27	12,32%

Форма J.

ХРРД для формы J показана на фиг. 19 и перечни пиков показаны в табл. 32.

Таблица 32

Угол, 2- Θ	Межатомное расстояние ($\text{\AA}$)	Высота (импульсы)	Отн. интенс.
12,4	7,14209	722,37	100,00%
13,2	6,69075	254,54	35,24%
14,6	6,06522	348,12	48,19%
15,7	5,64077	168,89	23,38%
20,4	4,34313	213,59	29,57%
22,0	4,0429	79,01	10,94%
23,3	3,8076	179,4	24,83%
23,7	3,74601	213,97	29,62%
28,0	3,18475	87,25	12,08%

Кристаллическое свободное основание соединения 1

XRPD кристаллической формы свободного основания соединения 1 показано на фиг. 25 и перечни пиков показаны в табл. 33.

Таблица 33

Угол, 2- Θ	Межатомное расстояние ($\text{\AA}$)	Отн. интенсивность (%)
6,9	12,8	46,1
10,6	8,4	1,9
12,1	7,3	0,8
13,5	6,5	100
14,3	6,2	2,2
15,7	5,6	10,3
15,9	5,6	10,1
17,3	5,1	5,9
17,9	4,9	2,9
19,8	4,5	32,6
20,3	4,4	44,0
21,0	4,2	3,0
21,7	4,1	2,8
22,2	4,0	1,0
23,6	3,8	13,5
24,0	3,7	7,8
24,8	3,6	10,6
25,7	3,5	23,1
26,0	3,4	2,2
26,7	3,3	1,7
27,1	3,3	2,9
27,6	3,2	0,6
28,4	3,1	4,0
29,7	3,0	9,7
30,6	2,9	3,3
31,0	2,9	0,7
31,5	2,8	1,4
32,1	2,8	5,8
33,9	2,6	2,2
35,6	2,5	0,4
36,3	2,5	0,7
37,1	2,4	0,8
39,0	2,3	0,6
39,5	2,3	2,9

Фармакокинетическая оценка**Методы**

Однократную дозу в суспензии с использованием кристаллической формы А, микронизированной и немикронизированной, и кристаллического свободного основания соединения 1 вводили самцу крысы Спрег-Доули в дозе 200 мг/кг. Образцы крови отбирали в присутствии K_2EDTA и центрифугировали с

получением плазмы. Затем плазму анализировали касательно данных соединений посредством LC/MS.

Получение тестируемого препарата для введения доз суспензии у крыс

Всех животных, включенных в режим дозирования, взвешивали и им присваивали номера. Все суспензионные составы были свежеприготовленными перед применением. Каждый раствор получали при 40 мг/мл в 0,5% растворе метилцеллюлозы в воде. Содержимое пробирок перемешивали вихревым способом в течение 2 мин и подвергали обработке ультразвуком в течение 30 мин с получением гомогенной суспензии белого цвета.

Все животные (n=6/группа) получали дозу перорально в объеме 5 мл/кг. После введения дозы у каждой крысы брали кровь в каждый из указанных моментов времени. Образцы крови отбирали из хвостовой вены. Аликвоты крови (150 мкл) собирали в пробирки, покрытые K₂EDTA, аккуратно перемешивали, затем выдерживали на льду и центрифугировали при 2000 g в течение 5 мин при 4°C на протяжении периода 15 мин после отбора. Собирали слой плазмы и выдерживали замороженными при -70°C до дальнейшей обработки.

Биоаналитические методы

Проводили биоаналитическое количественное определение с использованием HPLC/тройной квадрупольной масс-спектрометрии (HPLC-MS). Концентрации в плазме и T1/2 были рассчитаны и приведены.

Анализ плазмы:

1 мг/мл стандартный раствор в DMSO: метанол (20:80, об./об.) разбавляли в 50 раз и затем серийно разбавляли в 50% растворе метанола в воде. Смешивали аликвоты (10 мкл) серийных разбавлений со 190 мкл контрольной плазмы для применения в качестве стандартной кривой. Образцы плазмы (50 мкл) и стандартные образцы (неразбавленные) разбавляли в 10 раз охлажденным на льду ацетонитрилом, содержащим 40 нг/мл дексаметазона в качестве внутреннего стандарта. Образцы и стандарты, осажденные ацетонитрилом, перемешивали вихревым способом при 5 g в течение 2 мин (встряхиватель ПСА), затем центрифугировали при 5000 g в течение 10 мин.

Для 10-кратного разбавления стандартных образцов добавляли аликвоту в виде 5 мкл образца и 45 мкл контрольной плазмы для получения разбавленных образцов. Если требовался стандартный образец 50-кратного разбавления: добавляли 10 мкл аликвоты разбавленного в 10 раз образца и 40 мкл холостой плазмы для получения конечных разбавленных образцов. Затем процедура исследования для разбавленных образцов была такой же, что и для неразбавленных образцов.

Образцы и стандарты (10 мкл) вводили в систему LC-MS, как описано ниже. Концентрации дозируемых растворов указывали в мг/мл.

Анализ посредством LC-MS

LC: 7,5 мкл каждого образца и стандарта вводили в колонку Waters BEH C18 (2,1 × 50 мм, 1,7 мкм, выдерживаемую при 60°C) со скоростью 0,6 мл/мин, с помощью UPLC. Колонку уравнивали с помощью 10% ацетонитрила. Соединения элюировали с помощью градиента до 95% ацетонитрила. Вся подвижная фаза содержала 0,025% (об./об.) муравьиной кислоты с 1 мМ ацетатом аммония.

Таблица 34. Условия хроматографического элюирования

Время (мин.)	Подвижная фаза В (%)
Начало	10
0,20	10
0,60	95
1,10	95
1,15	10
1,50	10

MS: Элюент из колонки анализировали посредством электрораспылительной ионизации в системе тройного квадрупольного масс-спектрометра. Состав элюента анализировали на характеристики ионной пары по отношению к внутреннему стандарту и аналиту соответственно.

Фармакокинетические анализы

Экспериментальные образцы сравнивали с кривыми стандартных образцов для определения концентраций соединений. Средние концентрации соединений (в нг/мл ± стандартное отклонение) приводили для каждого момента времени. Предел обнаружения (LLOQ) был приведен как образец с самой низкой стандартной кривой, демонстрирующий отклонение менее 20% от номинальной концентрации. РК-анализ проводили на Phoenix WinNonlin; C_{max} определяли в качестве максимальной средней концентрации, наблюдаемой в указанной точке, площадь под кривой (AUC) указывали для момента от t₀ до t_{последн.} в часах.

Как показано на фиг. 22 и в табл. 35, кристаллическая форма А (микронизированная) и кристаллическая форма А (немикронизированная) являются более растворимыми в фосфатном буфере с pH 7,4 по сравнению с кристаллическим свободным основанием соединения 1. Когда профили зависимости концентрации в плазме крови от времени и фармакокинетические параметры кристаллической формы А

(микронизированной и немикронизированной) сравнивали с кристаллическим свободным основанием соединения 1 после перорального введения дозы в виде суспензии самцам крыс Спрег-Доули натошак, AUC и Cmax значительно различались. Микронизированная и немикронизированная кристаллическая форма А демонстрировала AUC в 3,8 и 2,7 раза выше по сравнению с кристаллическим свободным основанием соединения 1 соответственно. Аналогично микронизированная и немикронизированная кристаллическая форма А демонстрировала Cmax в 2 и в 1,6 раза выше по сравнению с кристаллическим свободным основанием соединения 1 соответственно. В отличие от этого между микронизированными и немикронизированными формами кристаллической формы А не было обнаружено значительных различий.

Таблица 35. Краткое описание характеристик соединений, применяемых в фармакокинетическом исследовании

Материалы	PSD
Кристаллическая форма А (микронизированная)	D90: 10/D50= 4,6/D10=1
Кристаллическая форма А (немикронизированная)	D90= 71/D50= 32,6/D10 =11,55
Кристаллическое свободное основание соединения 1	D90= 521/D50=206/ D10 =32

Таблица 36. Фармакокинетические параметры после перорального введения крысам Спрег-Доули

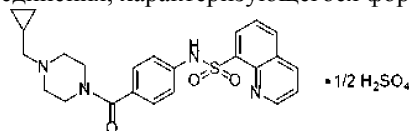
Форма соединения	Кристаллическая форма А (микронизированная)	Кристаллическая форма А (немикронизированная)	Кристаллическое свободное основание соединения 1
Пероральная доза (мг/кг)*	200	200	200
Cmax (нг/мл)	36700 ± 6800	29800 ± 5300	17900 ± 3600
AUC от 0 до последнего (нг/ч./мл)	478000 ± 87900	355900 ± 82900	124800 ± 85800

*Доза демонстрирует эквивалентность формы свободного основания соединения 1.

Хотя был описан ряд вариантов осуществления, объем настоящего изобретения должен определяться прилагаемой формулой изобретения, а не конкретными вариантами осуществления, которые были представлены в качестве примера. Содержимое всех ссылок (включая литературные источники, выданные патенты, опубликованные заявки на патенты и одновременно заявленные заявки на патент), цитируемых по всей данной заявке, таким образом, явным образом включено в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. Если не определено иное, то все технические и научные термины, используемые в данном документе, соответствуют значению, обычно известному специалисту в данной области техники.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Кристаллическая форма соединения, характеризующегося формулой



где кристаллическая форма представляет собой сесквигидрат, и где кристаллическая форма представляет собой кристаллическую форму А, характеризующуюся пиками порошковой рентгеновской дифракции при значениях угла 2θ ($\pm 0,2^\circ$) 9,9, 15,8 и 22,6°.

2. Кристаллическая форма А по п.1, где кристаллическая форма характеризуется пиками порошковой рентгеновской дифракции при значениях угла 2θ ($\pm 0,2^\circ$), составляющих 9,9, 15,8 и 22,6°; и по меньшей мере одним, по меньшей мере двумя или по меньшей мере тремя дополнительными пиками порошковой рентгеновской дифракции при значениях угла 2θ ($\pm 0,2^\circ$), выбранных из 15,0, 17,1, 21,3 и 21,9°.

3. Кристаллическая форма А по п.2, где кристаллическая форма характеризуется пиками порошковой рентгеновской дифракции при значениях угла 2θ ($\pm 0,2^\circ$), составляющих 9,9, 11,4, 15,0, 15,3, 15,8, 17,1, 17,7, 21,3, 21,9, 22,6 и 23,5°.

4. Кристаллическая форма А по п.3, где кристаллическая форма характеризуется пиками порошковой рентгеновской дифракции при значениях угла 2θ ($\pm 0,2^\circ$), составляющих 4,9, 9,9, 11,0, 11,4, 11,7, 12,3, 12,8, 13,6, 13,9, 14,2, 15,0, 15,3, 15,8, 17,1, 17,4, 17,7, 18,8, 19,1, 19,8, 21,3, 21,9, 22,6, 23,0, 23,2, 23,5, 23,8, 24,1, 24,5, 25,3, 25,6, 26,1, 27,1, 28,1 и 29,8°.

5. Фармацевтическая композиция, содержащая кристаллическую форму А, по любому из пп.1-4 и фармацевтически приемлемый носитель.

6. Композиция для получения таблеток, содержащая кристаллическую форму А, по любому из пп.1-4 и

фармацевтически приемлемый носитель.

7. Композиция по п.5 или композиция для получения таблеток по п.6, где носитель выбран из одного или более из микрокристаллической целлюлозы, маннита, кроскармеллозы натрия и стеарилфумарата натрия.

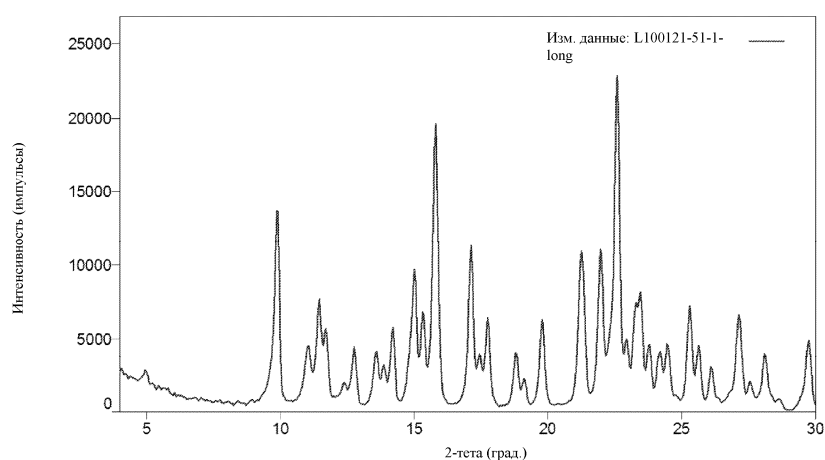
8. Композиция для получения таблеток по п.6 или 7, где композиция содержит от приблизительно 5,7 до приблизительно 5,9 мг, от приблизительно 23,4 до приблизительно 23,6 мг или от приблизительно 58,7 до приблизительно 58,9 мг кристаллической формы А; 62% вес./вес. ($\pm 2\%$) микрокристаллической целлюлозы; 23% вес./вес. ($\pm 2\%$) маннита, 3% вес./вес. ($\pm 2\%$) кроскармеллозы натрия и 2% вес./вес. ($\pm 2\%$) стеарилфумарата.

9. Применение кристаллической формы А по любому из пп.1-4 для лечения дефицита пируваткиназы (PKD).

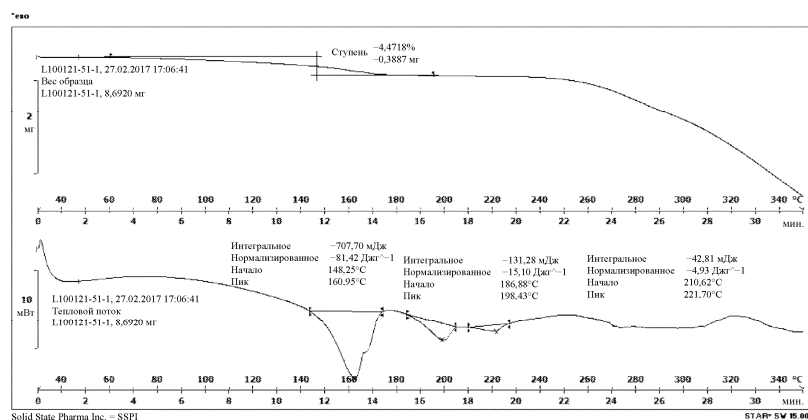
10. Применение кристаллической формы А по любому из пп.1-4 для лечения серповидноклеточного заболевания (SCD).

11. Применение кристаллической формы А по любому из пп.1-4 для лечения талассемии.

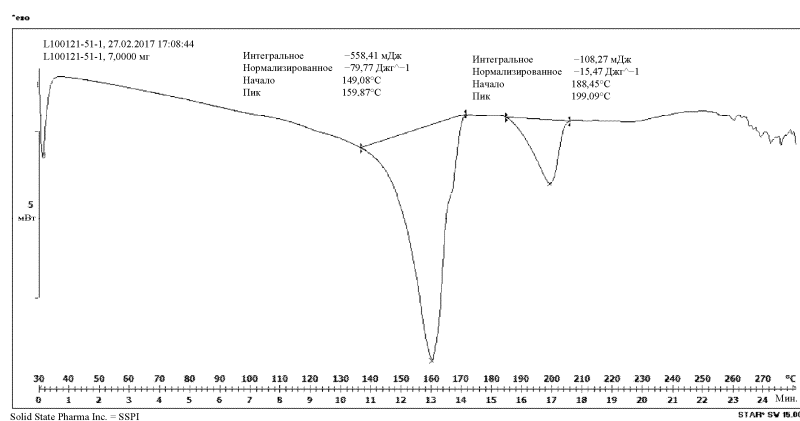
12. Применение кристаллической формы А по любому из пп.1-4 для лечения гемолитической анемии.



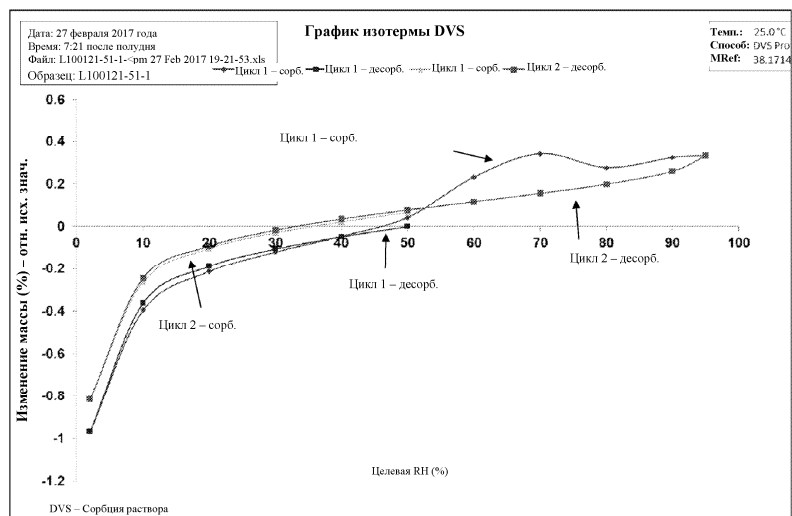
Фиг. 1



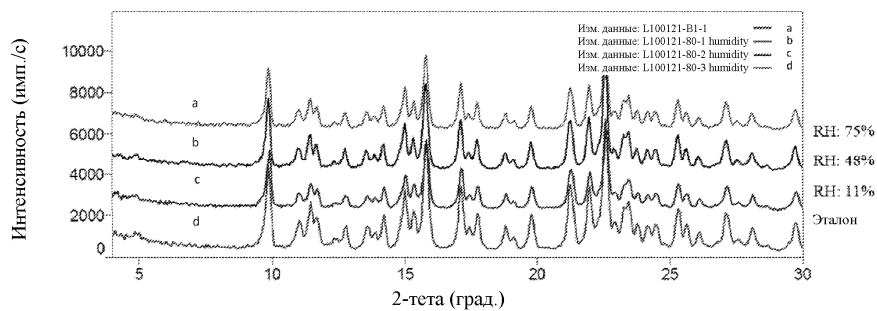
Фиг. 2



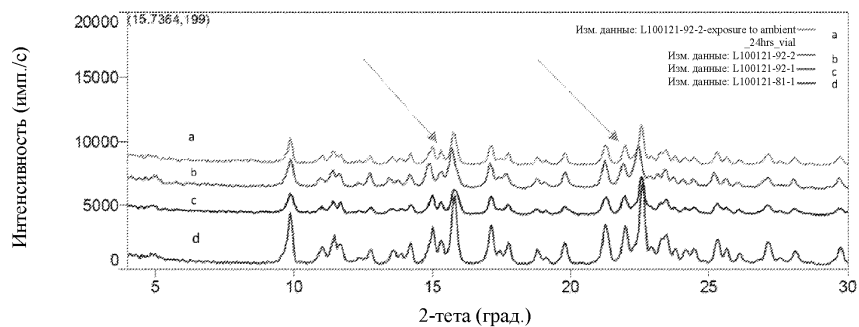
Фиг. 3



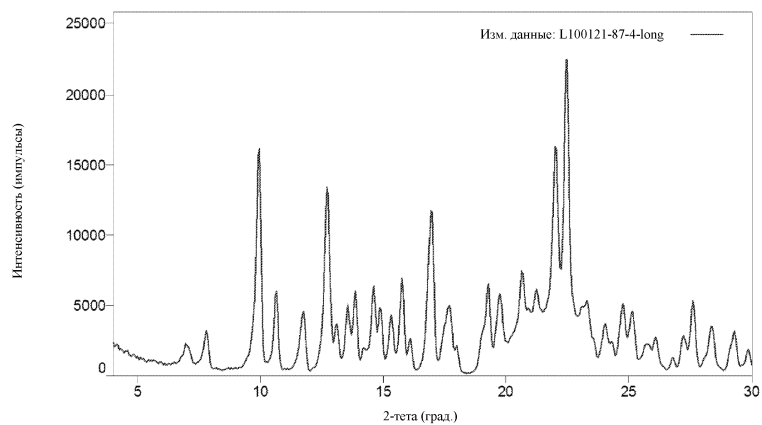
Фиг. 4



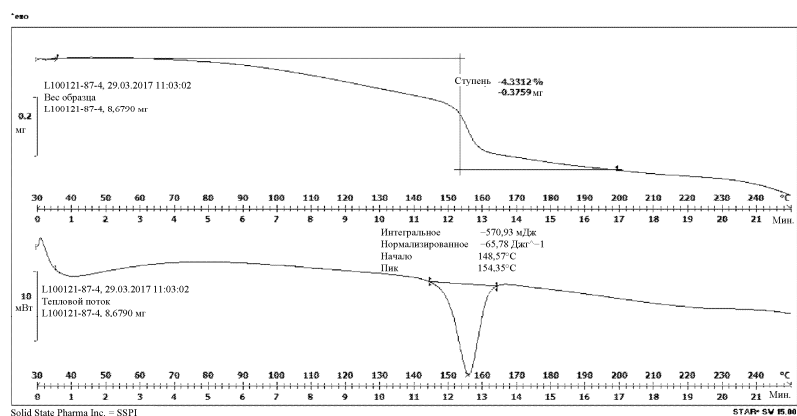
Фиг. 5(i)



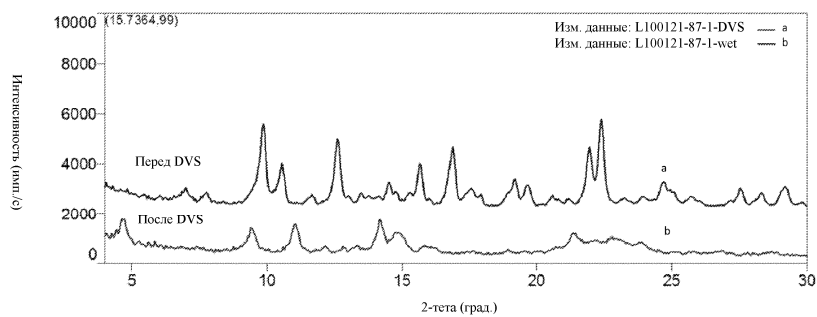
Фиг. 5(ii)



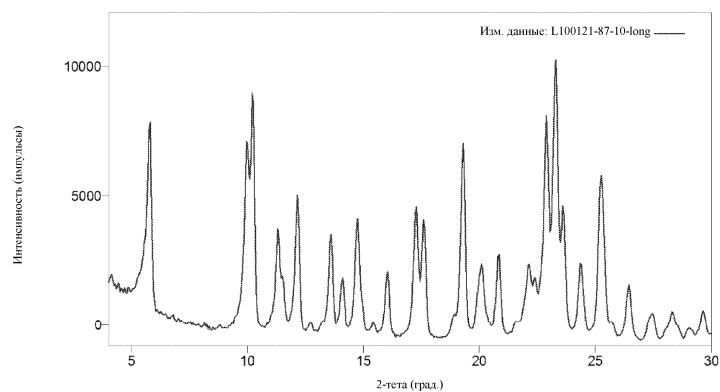
Фиг. 6



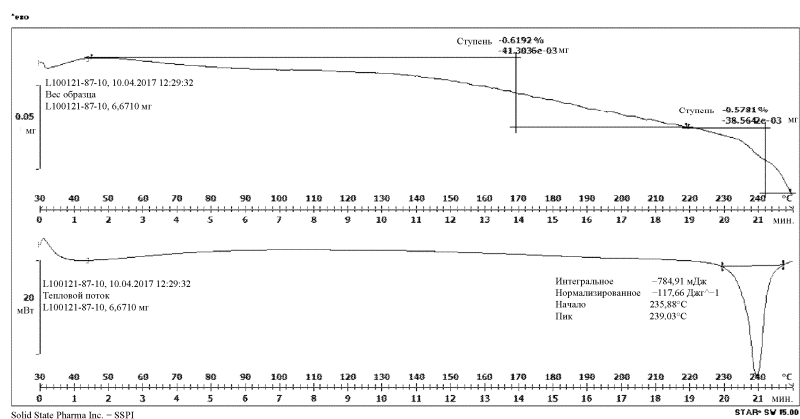
Фиг. 7(i)



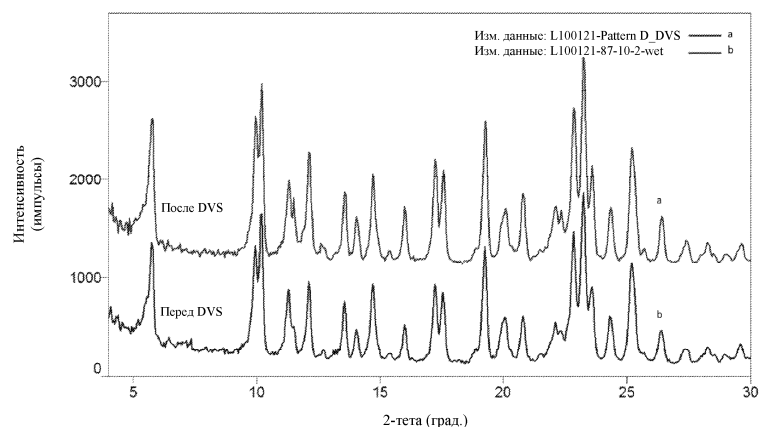
Фиг. 7(ii)



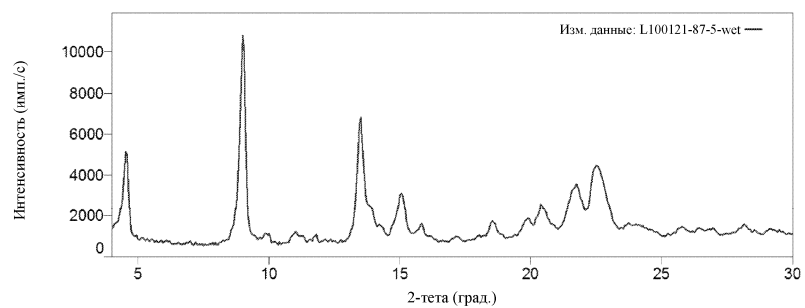
Фиг. 8



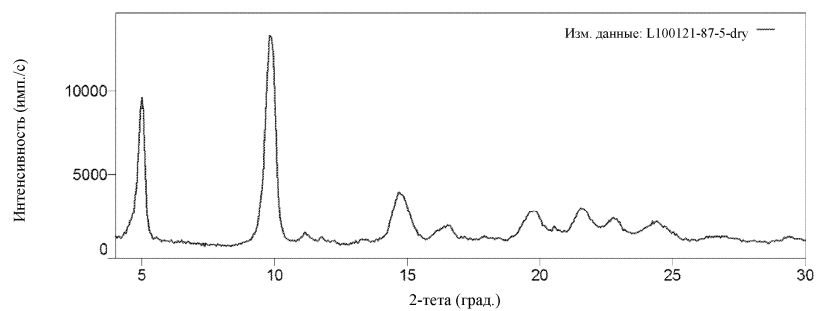
Фиг. 9



Фиг. 10

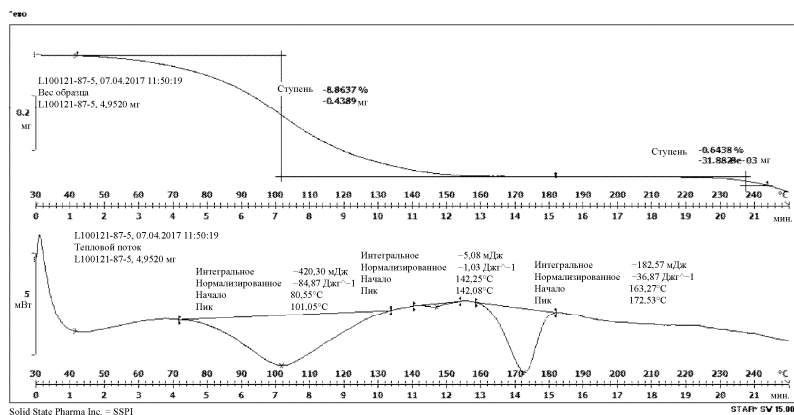


Фиг. 11

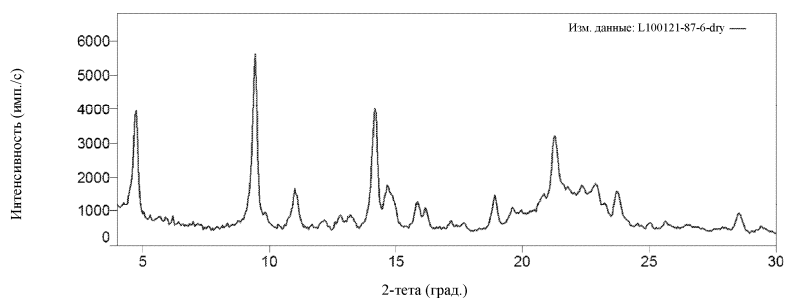


Фиг. 12

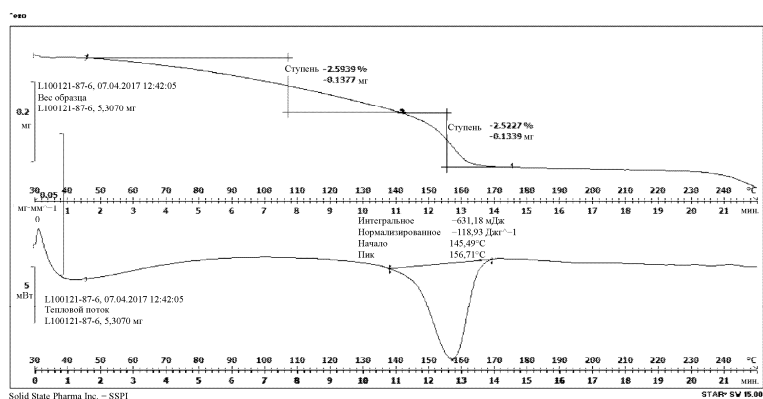
042666



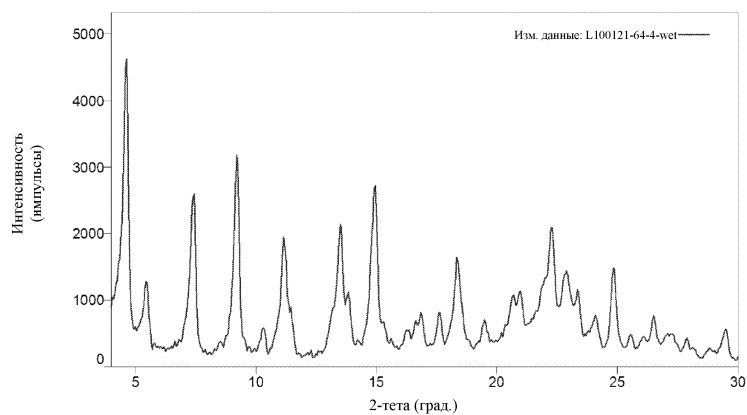
Фиг. 13



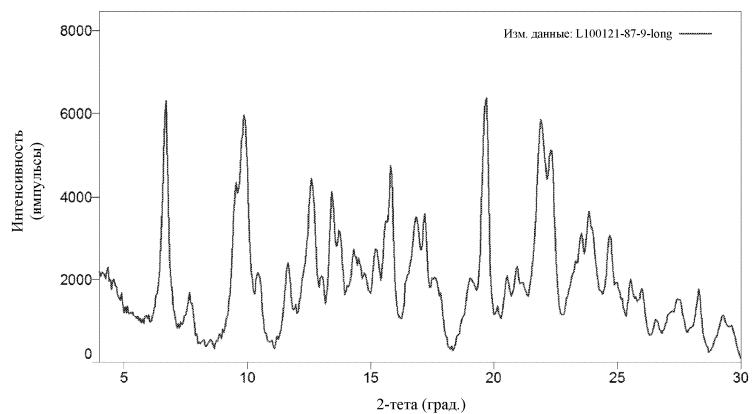
Фиг. 14



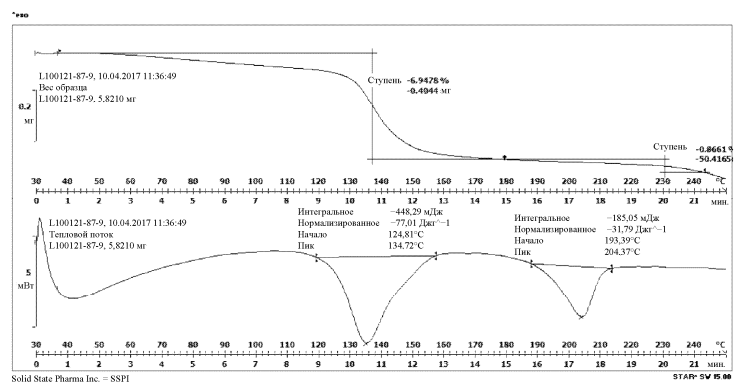
Фиг. 15



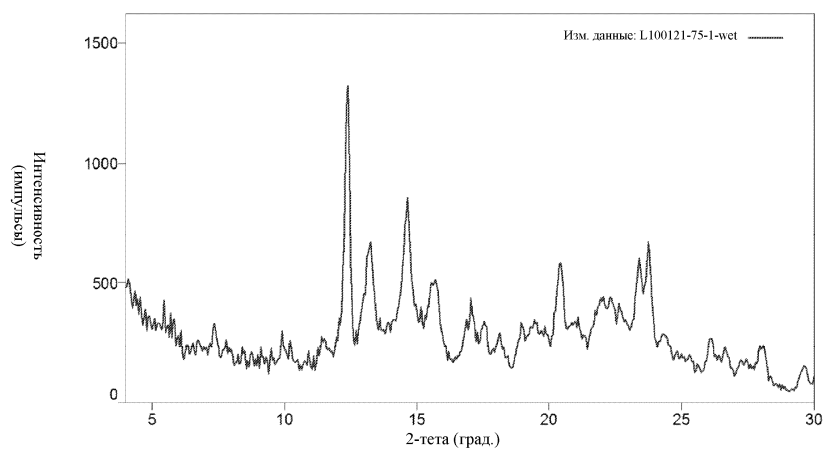
Фиг. 16



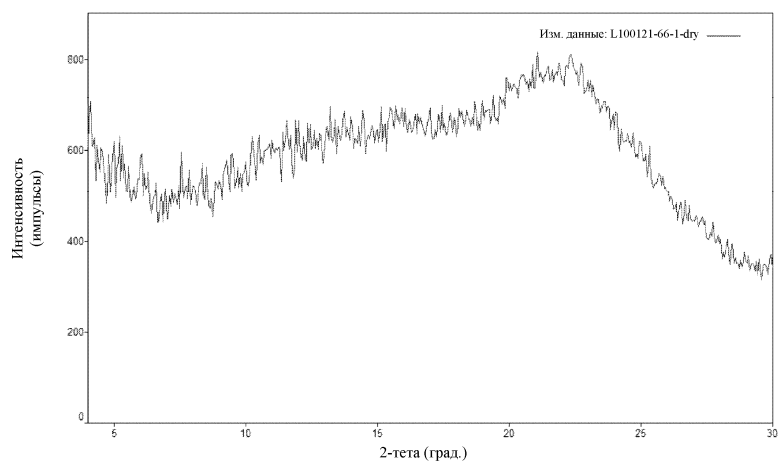
Фиг. 17



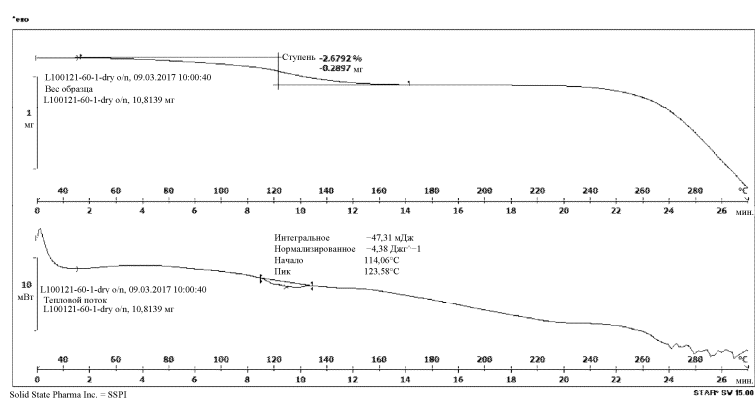
Фиг. 18



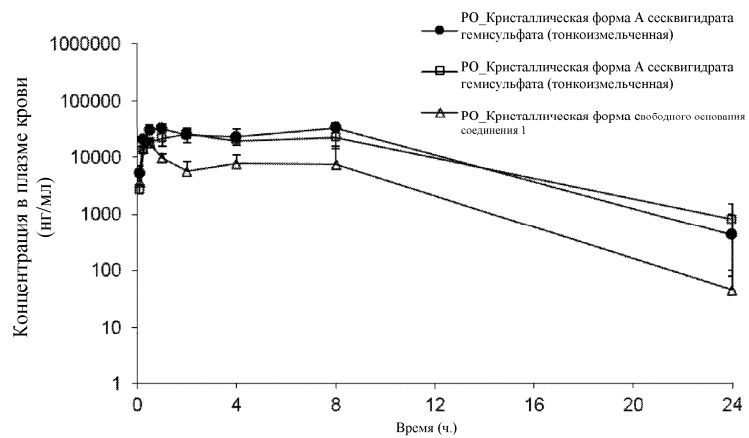
Фиг. 19



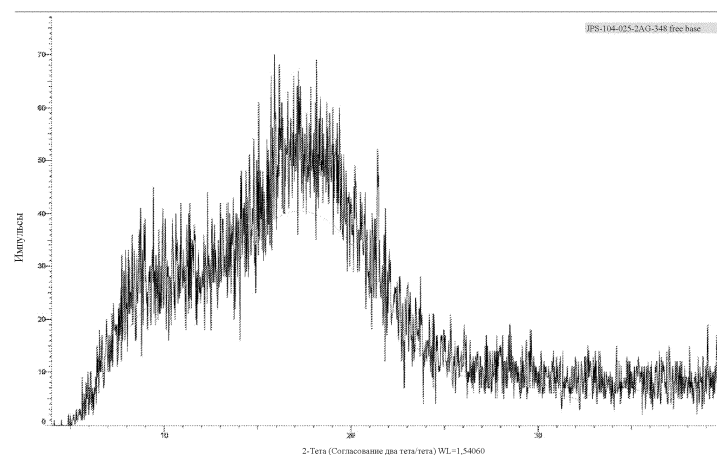
Фиг. 20



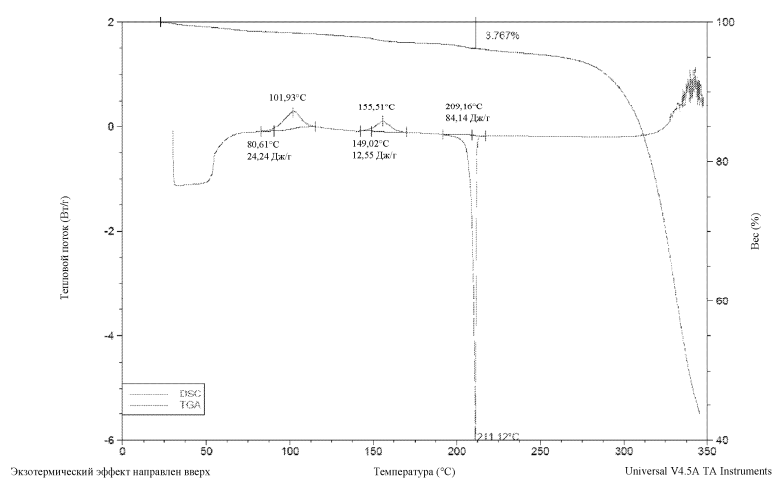
Фиг. 21



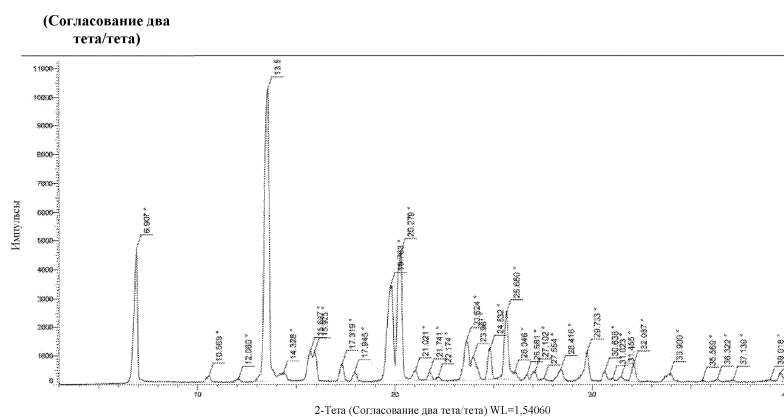
Фиг. 22



Фиг. 23



Фиг. 24



Фиг. 25

