



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 111433197 A

(43)申请公布日 2020.07.17

(21)申请号 201880077596.1

埃德温·阿雷塔 希兰·甘迪

(22)申请日 2018.11.29

鲁边·亨里克斯·卡罗勒斯·阿德

(30)优先权数据

里安努斯·蒂图斯·勒列夫尔德

1719881.3 2017.11.29 GB

埃玛·凯·夏普

62/592,140 2017.11.29 US

里查德·西蒙·托德

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

(74)专利代理机构 中科专利商标代理有限责任
公司 11021

2020.05.29

代理人 吴小明

(86)PCT国际申请的申请数据

(51)Int.Cl.

PCT/GB2018/053466 2018.11.29

C07D 401/14(2006.01)

(87)PCT国际申请的公布数据

A61P 3/10(2006.01)

W02019/106377 EN 2019.06.06

A61K 31/444(2006.01)

(71)申请人 卡尔维斯塔制药有限公司

地址 英国威尔特郡

权利要求书6页 说明书42页 附图20页

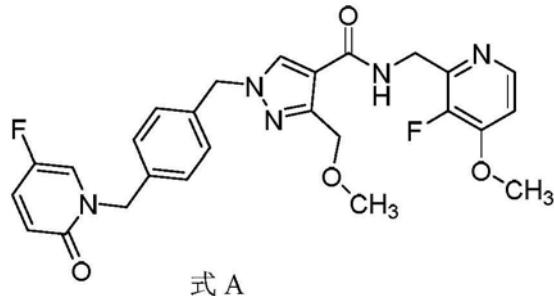
(54)发明名称

血浆激肽释放酶抑制剂及其盐的固体形式

(57)摘要

描述了血浆激肽释放酶抑制剂1-(4-[5-氟-2-氧代吡啶-1-基]甲基]苯基}甲基)-N-[(3-氟-4-甲氧基吡啶-2-基)甲基]-3-(甲氧基甲基)吡唑-4-甲酰胺及其盐的新型固体形式。

1. 一种式A的化合物的固体形式，



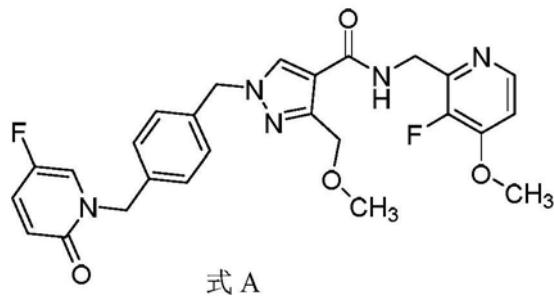
其至少展现出以下在大约11.6、14.7、18.1、20.1和21.4处的特征X射线粉末衍射峰 (Cu K α 射线, 以20度表示)。

2. 根据权利要求1所述的固体形式, 其具有与图1所示的X射线粉末衍射图基本上相同的X射线粉末衍射图。

3. 根据权利要求1或2所述的固体形式, 其在其STA热图像中展现出在148±3℃处的吸热峰。

4. 根据权利要求1至3中任一项所述的固体形式, 其具有与图2所示的STA热图像基本上相同的STA热图像。

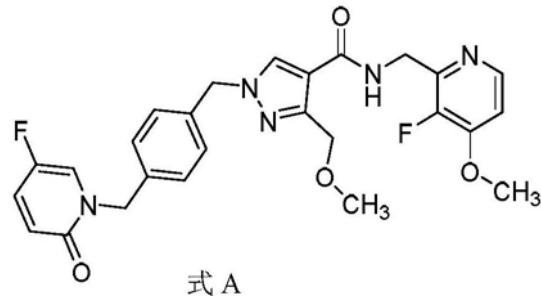
5. 一种式A的化合物的固体形式，



其在其STA热图像中展现出在148±3℃处的吸热峰。

6. 根据权利要求5所述的固体形式, 其具有与图2所示的STA热图像基本上相同的STA热图像。

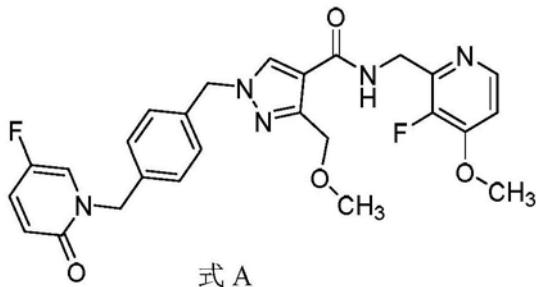
7. 一种式A的化合物的固体形式，



其至少展现出以下在大约5.7、9.9、13.0、15.0和17.2处的特征X射线粉末衍射峰 (Cu K α 射线, 以20度表示)。

8. 根据权利要求1所述的固体形式, 其具有与图3所示的X射线粉末衍射图基本上相同的X射线粉末衍射图。

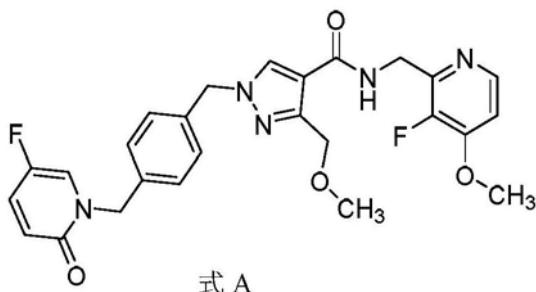
9. 一种式A的化合物的固体形式，



其至少展现出以下在大约7.0、10.3、14.1、16.3和18.2处的特征X射线粉末衍射峰 (Cu K α 射线,以20度表示)。

10. 根据权利要求1所述的固体形式,其具有与图4所示的X射线粉末衍射图基本上相同的X射线粉末衍射图。

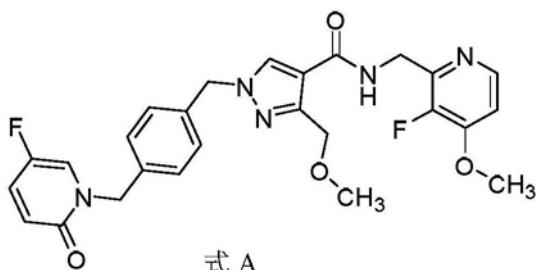
11. 一种式A的化合物的固体形式,



其至少展现出以下在大约4.8、9.5、11.0、14.3和15.3处的特征X射线粉末衍射峰 (Cu K α 射线,以20度表示)。

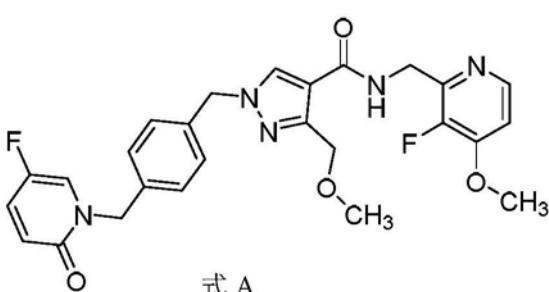
12. 根据权利要求1所述的固体形式,其具有与图5所示的X射线粉末衍射图基本上相同的X射线粉末衍射图。

13. 一种式A的化合物的盐酸盐的固体形式,



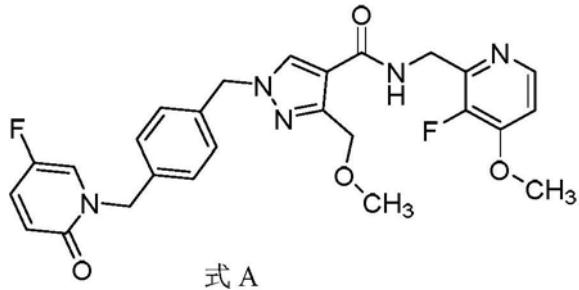
其具有与图6所示的X射线粉末衍射图基本上相同的X射线粉末衍射图。

14. 一种式A的化合物的盐酸盐的固体形式,



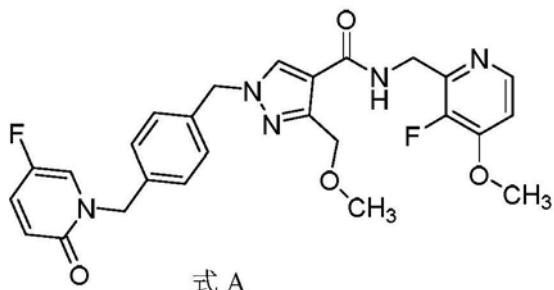
其具有与图7所示的X射线粉末衍射图基本上相同的X射线粉末衍射图。

15. 一种式A的化合物的硫酸盐的固体形式，



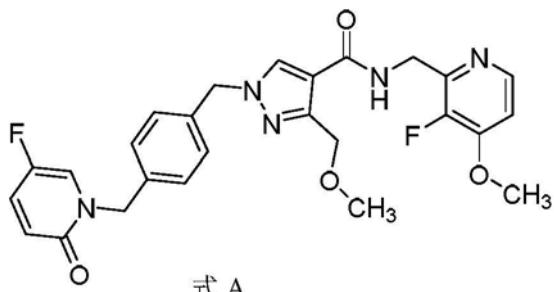
其具有与图8所示的X射线粉末衍射图基本上相同的X射线粉末衍射图。

16. 一种式A的化合物的磷酸盐的固体形式，



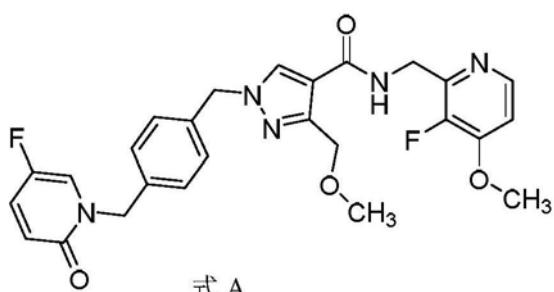
其具有与图9所示的X射线粉末衍射图基本上相同的X射线粉末衍射图。

17. 一种式A的化合物的甲磺酸盐的固体形式，



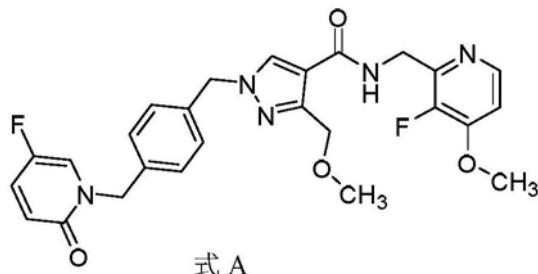
其具有与图10所示的X射线粉末衍射图基本上相同的X射线粉末衍射图。

18. 一种式A的化合物的甲磺酸盐的固体形式，



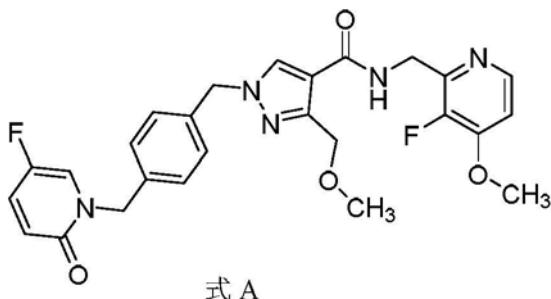
其具有与图11所示的X射线粉末衍射图基本上相同的X射线粉末衍射图。

19. 一种式A的化合物的甲苯磺酸盐的固体形式，



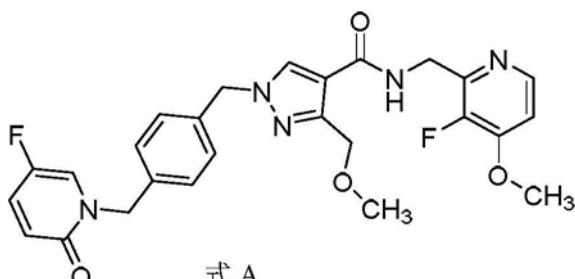
其具有与图12所示的X射线粉末衍射图基本上相同的X射线粉末衍射图。

20. 一种式A的化合物的乙二磺酸盐的固体形式，



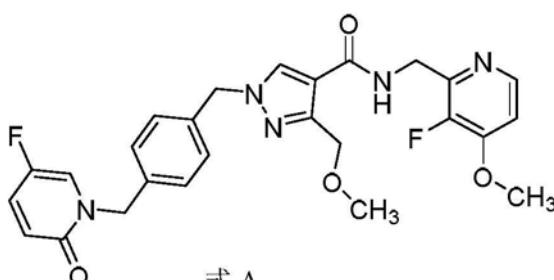
其具有与图13所示的X射线粉末衍射图基本上相同的X射线粉末衍射图。

21. 一种式A的化合物的苯磺酸盐的固体形式，



其具有与图14所示的X射线粉末衍射图基本上相同的X射线粉末衍射图。

22. 一种式A的化合物的固体形式，



其至少展现出以下在大约9.6、13.2、15.4、18.0和20.7处的特征X射线粉末衍射峰(Cu K α 射线,以20度表示)。

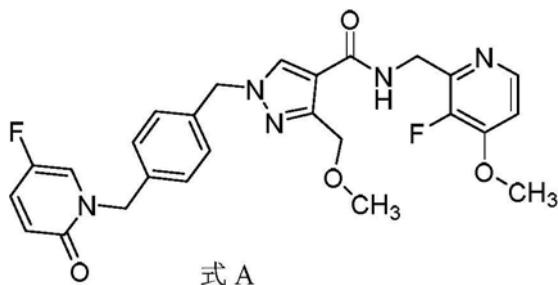
23. 根据权利要求22所述的固体形式,其具有与图15所示的X射线粉末衍射图基本上相同的X射线粉末衍射图。

24. 根据权利要求22或23所述的固体形式,其在其DSC热图像中展现出在158±3°C处的吸热峰。

25. 根据权利要求22至24中任一项所述的固体形式,其具有与图16所示的DSC热图像基

本上相同的DSC热图像。

26. 一种式A的化合物的盐酸盐的固体形式，



其至少展现出以下在大约10.0、10.7、12.4、13.9和16.6处的特征X射线粉末衍射峰 (Cu K α 射线, 以20度表示)。

27. 根据权利要求26所述的固体形式, 其具有与图18所示的X射线粉末衍射图基本上相同的X射线粉末衍射图。

28. 根据权利要求26或27所述的固体形式, 其在其DSC热图像中展现出在166±3°C处的吸热峰。

29. 根据权利要求26至28中任一项所述的固体形式, 其具有与图19所示的TGA/DSC热图像基本上相同的TGA/DSC热图像。

30. 一种药物组合物, 所述药物组合物包含根据权利要求1至29中任一项所述的固体形式以及药用辅剂、稀释剂和/或载体。

31. 根据权利要求1至29中任一项所述的固体形式, 其用于治疗。

32. 根据权利要求1至29中任一项所述的固体形式, 其用于治疗由血浆激肽释放酶介导的疾病或病况。

33. 一种治疗由血浆激肽释放酶介导的疾病或病况的方法, 所述方法包括向需要这样的治疗的哺乳动物施用治疗有效量的根据权利要求1至29中任一项所述的固体形式。

34. 根据权利要求1至29中任一项所述的固体形式在制备用于治疗由血浆激肽释放酶介导的疾病或病况的药物中的用途。

35. 根据权利要求32所述的固体形式、根据权利要求33所述的方法或根据权利要求34所述的用途, 其中所述由血浆激肽释放酶介导的疾病或病况选自受损的视敏度、糖尿病性视网膜病、与糖尿病性视网膜病相关的视网膜血管通透性、糖尿病性黄斑水肿、遗传性血管性水肿、视网膜血管阻塞、糖尿病、胰腺炎、脑出血、肾病、心肌病、神经病、炎性肠病、关节炎、炎症、败血性休克、低血压、癌症、成人呼吸窘迫综合征、弥漫性血管内凝血、心肺转流手术期间的血液凝固和外科手术后出血。

36. 根据权利要求32所述的固体形式、根据权利要求33所述的方法或根据权利要求34所述的用途, 其中所述由血浆激肽释放酶介导的疾病或病况选自与糖尿病性视网膜病相关的视网膜血管通透性、糖尿病性黄斑水肿和遗传性血管性水肿。

37. 根据权利要求32所述的固体形式、根据权利要求33所述的方法或根据权利要求34所述的用途, 其中所述由血浆激肽释放酶介导的疾病或病况选自与糖尿病性视网膜病相关的视网膜血管通透性和糖尿病性黄斑水肿。

38. 根据权利要求32所述的固体形式、根据权利要求33所述的方法或根据权利要求34所述的用途, 其中所述由血浆激肽释放酶介导的疾病或病况是遗传性血管性水肿。

39. 根据权利要求32所述的固体形式、根据权利要求33所述的方法或根据权利要求34所述的用途，其中所述由血浆激肽释放酶介导的疾病或病况是糖尿病性黄斑水肿。

40. 根据权利要求37或权利要求39所述的固体形式，其中所述固体形式以适合于注射至患者的眼部区域内的形式、特别是以适合于玻璃体内注射的形式施用。

41. 一种用于制备根据权利要求1至6或22至25中任一项所述的固体形式的方法，所述方法包括使所述固体形式从所述式A的化合物与溶剂或溶剂混合物的混合物中结晶。

42. 根据权利要求41所述的方法，其中所述溶剂或溶剂混合物包含异丙醇。

43. 根据权利要求42所述的方法，其中所述溶剂是异丙醇。

44. 根据权利要求41所述的方法，其中所述溶剂或溶剂混合物包含乙腈。

45. 根据权利要求44所述的方法，其中所述溶剂是乙腈。

46. 根据权利要求41-45中任一项所述的方法，其中将所述混合物加热至大约60-85°C的温度。

47. 根据权利要求46所述的方法，其中，在加热后，将所述混合物冷却至大约0-40°C的温度。

48. 一种用于制备根据权利要求13、14和26至29中任一项所述的固体形式的方法，所述方法包括使所述固体形式从所述式A的化合物的盐酸盐在溶剂或溶剂混合物中的溶液中结晶。

49. 根据权利要求48所述的方法，其中所述溶剂或溶剂混合物包含选自由以下组成的组的溶剂：甲醇、乙醇、异丙醇、丙酮、甲基乙基酮、四氢呋喃和乙腈。

50. 根据权利要求49所述的方法，其中所述溶剂或溶剂混合物包含选自由以下组成的组的溶剂：甲醇、乙醇、异丙醇和乙腈。

血浆激肽释放酶抑制剂及其盐的固体形式

[0001] 本发明涉及血浆激肽释放酶抑制剂的新固体形式、含有它们的药物组合物以及它们在治疗中的用途。还提供了用于制备本发明的固体形式的方法。

[0002] 发明背景

[0003] 血浆激肽释放酶的抑制剂具有多种治疗应用，特别是在与糖尿病性视网膜病 (diabetic retinopathy) 相关的视网膜血管通透性 (retinal vascular permeability)、糖尿病性黄斑水肿 (diabetic macular edema) 和遗传性血管性水肿 (hereditary angioedema) 的治疗中。

[0004] 血浆激肽释放酶是一种可以从激肽原释放激肽的胰蛋白酶样丝氨酸蛋白酶 (参见 K.D.Bhoola 等人, “Kallikrein-Kinin Cascade (激肽释放酶-激肽级联)”, Encyclopedia of Respiratory Medicine, p483-493; J.W.Bryant 等人, “Human plasma kallikrein-kinin system: physiological and biochemical parameters (人血浆激肽释放酶-激肽系统: 生理和生化参数)”, Cardiovascular and haematological agents in medicinal chemistry, 7, p234-250, 2009; K.D.Bhoola 等人, Pharmacological Rev., 1992, 44, 1; 和 D.J.Campbell, “Towards understanding the kallikrein-kinin system: insights from the measurement of kinin peptides (对激肽释放酶-激肽系统的理解: 来自激肽肽类测量的观察结果)”, Brazilian Journal of Medical and Biological Research 2000, 33, 665-677)。虽然它在内源性凝血级联中的作用不涉及缓激肽的释放或酶促裂解, 但是它是该级联的必需成员。血浆前激肽释放酶由单一基因编码并且在肝脏中合成。其作为无活性的血浆前激肽释放酶由肝细胞分泌, 该血浆前激肽释放酶作为与高分子量激肽原结合的异二聚体复合物在血浆中循环, 其被活化而产生具有活性的血浆激肽释放酶。激肽是通过G蛋白偶联受体起作用的炎症的有效介体, 并且先前已经研究激肽的拮抗剂 (诸如缓激肽拮抗剂) 作为用于治疗多种病症的潜在治疗剂 (F.Marceau 和 D.Regoli, Nature Rev., Drug Discovery, 2004, 3, 845-852)。

[0005] 血浆激肽释放酶被认为在多种炎性病症中起作用。血浆激肽释放酶的主要抑制剂为丝氨酸蛋白酶抑制蛋白C1酯酶抑制剂 (serpin C1 esterase inhibitor)。存在C1酯酶抑制剂遗传缺陷的患者发生遗传性血管性水肿 (HAE), 其导致脸、手、咽喉、胃肠道和生殖器的间歇性肿胀。急性发作期间形成的水泡含有高水平的血浆激肽释放酶, 其裂解高分子量激肽原释放缓激肽, 导致血管通透性增加。使用大蛋白血浆激肽释放酶抑制剂的治疗已显示通过阻止引起血管通透性增加的缓激肽的释放而有效治疗HAE (A.Lehmann “Ecballantide (DX-88), a plasma kallikrein inhibitor for the treatment of hereditary angioedema and the prevention of blood loss in on-pump cardiothoracic surgery (艾卡拉肽 (DX-88), 一种用于治疗遗传性血管性水肿和防止泵上心胸外科手术中失血的血浆激肽释放酶抑制剂)”, Expert Opin.Biol.Ther. 8, p1187-99)。

[0006] 血浆激肽释放酶-激肽系统在患有晚期糖尿病性黄斑水肿的患者中异常地丰富。最近已公开, 血浆激肽释放酶有助于糖尿病大鼠的视网膜血管功能障碍 (A.Clermont 等人 “Plasma kallikrein mediates retinal vascular dysfunction and induces retinal

thickening in diabetic rats(血浆激肽释放酶介导视网膜血管功能障碍并且诱导糖尿病大鼠中的视网膜增厚)"*Diabetes*, 2011, 60, p1590-98)。此外,施用血浆激肽释放酶抑制剂ASP-440改善糖尿病大鼠中的视网膜血管通透性和视网膜血液流动异常二者。因此,血浆激肽释放酶抑制剂应当具有作为减轻与糖尿病性视网膜病相关的视网膜血管通透性和糖尿病性黄斑水肿的治疗的效用。

[0007] 血浆激肽释放酶也在凝血中起作用。内源性凝血级联可以通过因子XII (FXII) 活化。一旦FXII被活化(活化为FXIIa), FXIIa通过因子XI (FXI) 的活化而触发纤维蛋白形成, 由此引起凝血。血浆激肽释放酶是内源性凝血级联中的关键组分, 因为其将FXII活化为FXIIa, 由此引起内源性凝血途径的活化。此外, FXIIa还进一步活化血浆前激肽释放酶, 得到血浆激肽释放酶。这引起血浆激肽释放酶系统和内源性凝血途径的正反馈放大(Tanaka等人(*Thrombosis Research* 2004, 113, 333-339); Bird等人(*Thrombosis and Haemostasis*, 2012, 107, 1141-50)。

[0008] 血液中的FXII与带负电表面(诸如在心肺转流手术期间的血液所经过的氧合器的外部管道或膜的表面)的接触引发酶原FXII的构象改变, 得到少量的活性FXII (FXIIa)。如上所述, FXIIa的形成触发血浆激肽释放酶的形成, 引起凝血。FXII活化为FXIIa也可以通过与在各种来源(例如败血症期间的细菌, 来自降解细胞的RNA)上的带负电表面接触而在体内发生, 由此引起弥漫性血管内凝血(Tanaka等人(*Thrombosis Research* 2004, 113, 333-339))。

[0009] 因此, 血浆激肽释放酶的抑制将抑制上述凝血级联, 并且因此将可用于治疗其中不希望凝血的弥漫性血管内凝血和心肺转流手术期间的血液凝固。例如, Katsuura等人(*Thrombosis Research*, 1996, 82, 361-368)显示, 针对LPS诱导的弥漫性血管内凝血施用血浆激肽释放酶抑制剂PKSI-527显著地抑制了通常在弥漫性血管内凝血中发生的血小板计数和纤维蛋白原水平的降低以及FDP水平的增加。Bird等人(*Thrombosis and Haemostasis*, 2012, 107, 1141-50)显示, 在血浆激肽释放酶缺陷小鼠中, 凝血时间增加, 并且血栓显著减少。Revenko等人(*Blood*, 2011, 118, 5302-5311)显示, 在使用反义寡核苷酸治疗的小鼠中血浆前激肽释放酶水平的降低产生了抗血栓形成效果。Tanaka等人(*Thrombosis Research* 2004, 113, 333-339)显示, 使血液与DX-88(一种血浆激肽释放酶抑制剂)接触导致活化凝血时间(ACT)增加。Lehmann等人(*Expert Opin. Biol. Ther.* 2008, 1187-99)显示, 发现艾卡拉肽(Ecallantide)(一种血浆激肽释放酶抑制剂)使接触活化诱导凝血(contact activated induced coagulation)延缓。Lehmann等人得出结论, 艾卡拉肽“因为其通过抑制血浆激肽释放酶来抑制内源性凝血途径而具有体外抗凝血效果”。

[0010] 血浆激肽释放酶还在血小板活化的抑制中起作用, 因此在止血中起作用。血小板活化是凝血中的最早步骤之一, 其导致血管损害后的血小板栓子形成和快速止血。在血管损伤位置处, 暴露的胶原蛋白和血小板之间的相互作用对于血小板的保留和活化以及随后的止血来说是至关重要的。

[0011] 一旦活化, 血浆激肽释放酶即与胶原蛋白结合, 并且由此干扰由GPVI受体介导的胶原蛋白介导的血小板活化(Liu等人(*Nat Med.*, 2011, 17, 206-210))。如以上所讨论的, 血浆激肽释放酶抑制剂通过抑制血浆激肽释放酶介导的因子XII的活化来降低血浆前激肽释放酶活化并且由此通过接触活化系统来降低激肽释放酶系统的正反馈放大。

[0012] 因此,血浆激肽释放酶的抑制减少了血浆激肽释放酶与胶原蛋白的结合,由此减少在止血中的血浆激肽释放酶的干扰。因此,血浆激肽释放酶抑制剂将可用于治疗脑出血和外科手术后出血。例如,Liu等人(Nat Med.,2011,17,206-210)证明,全身施用小分子PK抑制剂ASP-440减少了大鼠中的血肿扩大(hematoma expansion)。脑血肿可以在脑内出血之后发生并且由作为血管损伤结果的从血管向周围脑组织中的出血而引起。由Liu等人报道的在脑出血模型中的出血由涉及使血管受损的脑实质中的切口的外科手术引发。这些数据证明,血浆激肽释放酶抑制使来自外科手术后的出血和血肿体积减少。Björkqvist等人(Thrombosis and Haemostasis,2013,110,399-407)证明,拟酶肽(一种抑制包括血浆激肽释放酶在内的丝氨酸蛋白酶的蛋白质)可以用于降低手术后出血。

[0013] 糖尿病的其他并发症诸如脑出血、肾病、心肌病和神经病(其都与血浆激肽释放酶相关)也可以被认为是血浆激肽释放酶抑制剂的靶标。

[0014] 先前已经描述了合成的和小分子的血浆激肽释放酶抑制剂,例如Garrett等人(“Peptide aldehyde....”J.Peptide Res.52,p62-71(1998)),T.Griesbacher等人(“Involvement of tissue kallikrein but not plasma kallikrein in the development of symptoms mediated by endogenous kinins in acute pancreatitis in rats(由大鼠急性胰腺炎中的内源性激肽介导的症状的发展中涉及组织激肽释放酶而不是血浆激肽释放酶)”British Journal of Pharmacology 137,p692-700(2002)),Evans(“Selective dipeptide inhibitors of kallikrein(激肽释放酶的选择性二肽抑制剂)”W003/076458),Szelke等人(“Kininogenase inhibitors(激肽原酶抑制剂)”W092/04371),D.M.Evans等人(Immunopharmacology,32,p115-116(1996)),Szelke等人(“Kininogen inhibitors(激肽原抑制剂)”W095/07921),Antonsson等人(“New peptides derivatives(新型肽衍生物)”W094/29335),J.Corte等人(“Six membered heterocycles useful as serine protease inhibitors(可用作丝氨酸蛋白酶抑制剂的六元杂环)”W02005/123680),J.Stürzbecher等人(Brazilian J.Med.Biol.Res 27,p1929-34(1994)),Kettner等人(US 5,187,157),N.Teno等人(Chem.Pharm.Bull.41,p1079-1090(1993)),W.B.Young等人(“Small molecule inhibitors of plasma kallikrein(血浆激肽释放酶的小分子抑制剂)”Bioorg.Med.Chem.Letts.16,p2034-2036(2006)),Okada等人(“Development of potent and selective plasmin and plasma kallikrein inhibitors and studies on the structure-activity relationship(有效且选择性的纤溶酶和血浆激肽释放酶抑制剂的开发以及构效关系的研究)”Chem.Pharm.Bull.48,p1964-72(2000)),Steinmetzer等人(“Trypsin-like serine protease inhibitors and their preparation and use(胰蛋白酶样丝氨酸蛋白酶抑制剂及其制备和用途)”W008/049595),Zhang等人(“Discovery of highly potent small molecule kallikrein inhibitors(高度有效的小分子激肽释放酶抑制剂的发现)”Medicinal Chemistry 2,p545-553(2006)),Sinha等人(“Inhibitors of plasma kallikrein(血浆激肽释放酶抑制剂)”W008/016883),Shigenaga等人(“Plasma Kallikrein Inhibitors(血浆激肽释放酶抑制剂)”W02011/118672),和Kolte等人(“Biochemical characterization of a novel high-affinity and specific kallikrein inhibitor(新型高亲和性和特异性激肽释放酶抑制剂的生化表征)”,British Journal of Pharmacology (2011),162 (7),1639-1649)。此外,Steinmetzer等人(“Serine

protease inhibitors (丝氨酸蛋白酶抑制剂)” WO2012/004678) 描述了作为人纤溶酶和血浆激肽释放酶的抑制剂的环状肽类似物。

[0015] 迄今为止,唯一的经批准用于医疗用途的选择性血浆激肽释放酶抑制剂是艾卡拉肽。艾卡拉肽被配制为注射用溶液。其是存在过敏性反应风险的大蛋白血浆激肽释放酶抑制剂。本领域已知的其他血浆激肽释放酶抑制剂通常是小分子,其中一些包括高度极性和可离子化的官能团,诸如胍或脒。最近,已经报导了不以胍或脒官能团为特征的血浆激肽释放酶抑制剂。

[0016] 例如,Brandl等人

[0017] (“N-((6-amino-pyridin-3-yl)methyl)-heteroaryl-carboxamides as inhibitors of plasma kallikrein(作为血浆激肽释放酶抑制剂的N-((6-氨基-吡啶-3-基)甲基)-杂芳基-甲酰胺)” WO2012/017020), Evans等人(“Benzylamine derivatives as inhibitors of plasma kallikrein(作为血浆激肽释放酶抑制剂的苄胺衍生物)” WO2013/005045), Allan等人(“Benzylamine derivatives(苄胺衍生物)” WO2014/108679), Davie等人(“Heterocyclic derivates(杂环衍生物)” WO2014/188211), 以及Davie等人(“N-((het) arylmethyl)-heteroaryl-carboxamides compounds as plasma kallikrein inhibitors(作为血浆激肽释放酶抑制剂的N-((杂)芳基甲基)-杂芳基-甲酰胺化合物)” WO2016/083820)。

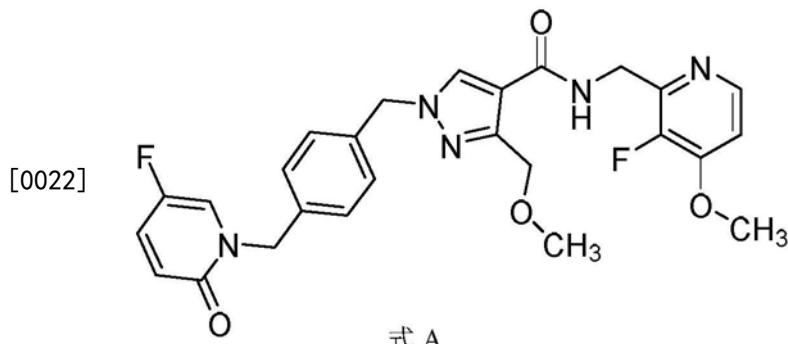
[0018] 在药物制剂的制造中,重要的是活性化合物的形式可以方便地操作和处理从而得到商业可行的制造过程。因此,活性化合物的化学稳定性和物理稳定性是重要的因素。活性化合物和含有其的制剂必须能够在相当长的时间段内有效储存,而不展现出活性化合物的理化特征(例如,化学组成、密度、吸湿性和溶解性)的任何明显变化。

[0019] 已知制造药物成分的特定固态形式可以影响其固态特性的许多方面并且提供在溶解性、溶解速率、化学稳定性、机械性能、技术可行性、可加工性、药代动力学和生物利用度方面的优点。在“Handbook of Pharmaceutical Salts; Properties, Selection and Use(药用盐手册;性能、选择和使用)”, P.Heinrich Stahl, Camille G.Wermuth(编辑) (Verlag Helvetica Chimica Acta, Zurich) 中描述了这些中的一些。还在“Practical Process Research and Development(实用过程研究和开发)”, Neal G. Anderson (Academic Press, San Diego) 和“Polymorphism: In the Pharmaceutical Industry(多晶型:在制药行业中)”, Rolf Hilfiker (Ed) (Wiley VCH) 中描述了制造固态形式的方法。在Byrn (Byrn, S.R., Pfeiffer, R.R., Stowell, J.G., “Solid-State Chemistry of Drugs(药物的固态化学)”, SSCI Inc., West Lafayette, Indiana, 1999)、Brittain, H.G., “Polymorphism in Pharmaceutical Solids(药物固体中的多晶型)”, Marcel Dekker, Inc., New York, Basel, 1999 或Bernstein (Bernstein, J., “Polymorphism in Molecular Crystals(分子晶体中的多晶型)”, Oxford University Press, 2002) 中描述了药物晶体中的多晶型。

[0020] 申请人已经开发了作为血浆激肽释放酶的抑制剂的一系列新型化合物,其在PCT/GB2017/051546(公开为WO2017/207983)中公开。这些化合物显示出对血浆激肽释放酶的良好选择性并且有潜力用于治疗糖尿病性视网膜病、黄斑水肿和遗传性血管性水肿。一种这样的化合物是1-(4-[5-氟-2-氧代吡啶-1-基]甲基)苯基}甲基)-N-[3-氟-4-甲氧基吡啶-2-基]甲基]-3-(甲氧基甲基)吡唑-4-甲酰胺(PCT/GB2017/051546(WO2017/207983)的

实施例30)。

[0021] 名称1-({4-[(5-氟-2-氧代吡啶-1-基) 甲基] 苯基} 甲基)-N-[(3-氟-4-甲氧基吡啶-2-基) 甲基]-3-(甲氧基甲基) 吡唑-4-甲酰胺表示式A所示的结构。



[0023] 发明描述

[0024] 申请人现在已经开发了式A的化合物的五种新型固体形式，在本文中被称为“1型”、“2型”、“3型”、“4型”和“14型”。新型固体形式具有使其适合于开发的有利理化性质，特别是它们借助结晶的制备是简单的并且可放大的。结晶固体形式的一个优点是它们更容易处理。也就是说，其借助结晶的制备是用于移除不希望的杂质的常用并且容易放大的程序。

[0025] 此外，已经发现式A的化合物显示出惊人的良好药代动力学性质，特别是体外透过性和体外代谢稳定性。

[0026] 因此，根据本发明的一个方面，提供了式A的化合物的固体形式。在本申请中，这些形式被称为“1型”、“2型”、“3型”、“4型”和“14型”。优选地，式A的化合物的固体形式是1型。备选地，优选地，式A的化合物的固体形式是14型。

[0027] 式A的化合物的游离碱在水中的溶解性相对较低(0.29mg/mL)，并且因此研究了式A的化合物的盐。

[0028] 申请人还开发了式A的化合物的盐的新型固体形式，尤其是式A的化合物的盐酸盐、硫酸盐、磷酸盐、甲磺酸盐、甲苯磺酸盐、乙二磺酸盐和苯磺酸盐。新型固体形式具有使其适合于开发的有利理化性质，特别是它们借助结晶的制备是简单的并且可放大的。

[0029] 本发明提供了式A的化合物的盐酸盐的特定固体形式，其在本文中被称为“5型”和“6型”和“15型”。优选地，式A的化合物的盐酸盐是5型。备选地，优选地，式A的化合物的盐酸盐是15型。

[0030] 本发明提供了式A的化合物的硫酸盐的特定固体形式，其在本文中被称为“7型”。

[0031] 当提及式A的化合物的盐时，如在本文中使用的术语“硫酸盐”旨在涵盖单硫酸盐和半硫酸盐二者。在一个实施方案中，式A的化合物的7型是单硫酸盐。在备选的实施方案中，式A的化合物的7型是半硫酸盐。

[0032] 本发明提供了式A的化合物的磷酸盐的特定固体形式，其在本文中被称为“8型”。

[0033] 当提及式A的化合物的盐时，如在本文中使用的术语“磷酸盐”旨在涵盖单磷酸盐和半磷酸盐二者。在一个实施方案中，式A的化合物的8型是单磷酸盐。在备选的实施方案中，式A的化合物的8型是半磷酸盐。

[0034] 本发明提供了式A的化合物的甲磺酸盐的特定固体形式，其在本文中被称为“9型”和“10型”。

[0035] 本发明提供了式A的化合物的甲苯磺酸盐的特定固体形式，其在本文中被称为“11型”。

[0036] 本发明提供了式A的化合物的乙二磺酸盐的特定固体形式，其在本文中被称为“12型”。

[0037] 当提及式A的化合物的盐时，如在本文中使用的术语“乙二磺酸盐”旨在涵盖单乙二磺酸盐和半乙二磺酸盐二者。在一个实施方案中，式A的化合物的12型是单乙二磺酸盐。在备选的实施方案中，式A的化合物的12型是半乙二磺酸盐。

[0038] 本发明提供了式A的化合物的苯磺酸盐的特定固体形式，其在本文中被称为“13型”。

[0039] 本发明的新型晶体盐具有使其适合于开发的有利的理化性质。例如，如在本文中公开的多晶型筛选期间鉴别的单一固体形式所证明的，式A的化合物的硫酸盐和苯磺酸盐显示出低的多晶型倾向。

[0040] 本文中所述的术语“固体形式”包括晶体形式。任选地，本发明的固体形式是晶体形式。

[0041] 在本说明书中，使用Cu K α 射线测量X射线粉末衍射峰(以2 θ 度表示)。

[0042] 本发明提供了式A的化合物的固体形式(1型)，其至少展现出在大约以下各项处的以下特征X射线粉末衍射峰(Cu K α 射线，以2 θ 度表示)：

[0043] (1) 11.6、14.7、18.1、20.1和21.4；或

[0044] (2) 7.7、11.6、14.7、18.1、19.4、20.1和21.4；或

[0045] (3) 7.7、11.6、14.7、18.1、19.4、20.1、21.4、22.5和23.4。

[0046] 在该上下文中术语“大约”意指存在±0.3(以2 θ 度表示)、优选±0.2(以2 θ 度表示)的20度的测量的不确定性。

[0047] 本发明还提供了式A的化合物的固体形式(1型)，其具有包含在大约7.7、11.6、12.6、12.8、14.7、18.1、19.4、20.1、21.4、22.5和23.4处的特征峰(以2 θ 度表示)的X射线粉末衍射图。

[0048] 本发明还提供了式A的化合物的固体形式(1型)，其具有与图1所示的X射线粉末衍射图基本上相同的X射线粉末衍射图。

[0049] 固体形式的X射线粉末衍射图可以在本文中被描述为与在附图中所描绘的“基本上”相同。应该理解的是，归因于对于技术人员来说已知的各种因素，在X射线粉末衍射图中的峰的位置和相对强度可以略微偏移。例如，归因于所使用的设备、样品制备的方法、优选的包装和朝向、射线来源和数据收集的方法和长度，可能发生图的峰位置或峰的相对强度的偏移。然而，技术人员将能够将在本文中的附图中显示的X射线粉末衍射图与未知的固体形式的那些进行比较以确认固体形式的身份。

[0050] 本发明提供了式A的化合物的固体形式(2型)，其至少展现出在大约以下各项处的以下特征X射线粉末衍射峰(Cu K α 射线，以2 θ 度表示)：

[0051] (1) 5.7、9.9、13.0、15.0和17.2；或

[0052] (2) 5.7、9.9、13.0、15.0、16.0、17.2和19.6；或

[0053] (3) 5.7、9.9、13.0、15.0、16.0、17.2、18.6、19.6和22.2。

[0054] 本发明还提供了式A的化合物的固体形式(2型)，其具有包含在大约5.7、9.9、

13.0、15.0、16.0、17.2、17.7、18.6、19.6和22.2处的特征峰(以20度表示)的X射线粉末衍射图。

[0055] 本发明还提供了式A的化合物的固体形式(2型),其具有与图3所示的X射线粉末衍射图基本上相同的X射线粉末衍射图。

[0056] 本发明提供了式A的化合物的固体形式(3型),其至少展现出在大约以下各项处的以下特征X射线粉末衍射峰(Cu K α 射线,以20度表示):

[0057] (1) 7.0、10.3、14.1、16.3和18.2;或

[0058] (2) 7.0、9.5、10.3、10.8、14.1、16.3和18.2;或

[0059] (3) 7.0、9.5、10.3、10.8、12.0、14.1、16.3、18.2和24.1。

[0060] 本发明还提供了式A的化合物的固体形式(3型),其具有包含在大约7.0、9.5、10.3、10.8、11.4、12.0、14.1、16.3、18.2、24.1和25.3处的特征峰(以20度表示)的X射线粉末衍射图。

[0061] 本发明还提供了式A的化合物的固体形式(3型),其具有与图4所示的X射线粉末衍射图基本上相同的X射线粉末衍射图。

[0062] 本发明提供了式A的化合物的固体形式(4型),其至少展现出在大约以下各项处的以下特征X射线粉末衍射峰(Cu K α 射线,以20度表示):

[0063] (1) 4.8、9.5、11.0、14.3和15.3;或

[0064] (2) 4.8、7.8、9.5、11.0、11.7、14.3和15.3;或

[0065] (3) 4.8、7.8、9.5、11.0、11.7、14.3、15.3、18.2和20.2。

[0066] 本发明还提供了式A的化合物的固体形式(4型),其具有包含在大约4.8、7.8、9.5、11.0、11.7、14.3、15.3、15.9、18.2、20.2和22.2处的特征峰(以20度表示)的X射线粉末衍射图。

[0067] 本发明还提供了式A的化合物的固体形式(4型),其具有与图5所示的X射线粉末衍射图基本上相同的X射线粉末衍射图。

[0068] 本发明还提供了式A的化合物的盐酸盐的固体形式(5型),其具有与图6所示的X射线粉末衍射图基本上相同的X射线粉末衍射图。

[0069] 本发明还提供了式A的化合物的盐酸盐的固体形式(6型),其具有与图7所示的X射线粉末衍射图基本上相同的X射线粉末衍射图。

[0070] 本发明还提供了式A的化合物的硫酸盐的固体形式(7型),其具有与图8所示的X射线粉末衍射图基本上相同的X射线粉末衍射图。

[0071] 本发明还提供了式A的化合物的磷酸盐的固体形式(8型),其具有与图9所示的X射线粉末衍射图基本上相同的X射线粉末衍射图。

[0072] 本发明还提供了式A的化合物的甲磺酸盐的固体形式(9型),其具有与图10所示的X射线粉末衍射图基本上相同的X射线粉末衍射图。

[0073] 本发明还提供了式A的化合物的甲磺酸盐的固体形式(10型),其具有与图11所示的X射线粉末衍射图基本上相同的X射线粉末衍射图。

[0074] 本发明还提供了式A的化合物的甲苯磺酸盐的固体形式(11型),其具有与图12所示的X射线粉末衍射图基本上相同的X射线粉末衍射图。

[0075] 本发明还提供了式A的化合物的乙二磺酸盐的固体形式(12型),其具有与图13所

示的X射线粉末衍射图基本上相同的X射线粉末衍射图。

[0076] 本发明还提供了式A的化合物的苯磺酸盐的固体形式(13型),其具有与图14所示的X射线粉末衍射图基本上相同的X射线粉末衍射图。

[0077] 本发明提供了式A的化合物的固体形式(14型),其至少展现出在大约以下各项处的以下特征X射线粉末衍射峰(Cu K α 射线,以2 θ 度表示):

[0078] (1) 9.6、13.2、15.4、18.0和20.7;或

[0079] (2) 9.6、13.2、15.4、18.0、19.5、20.7和23.2;或

[0080] (3) 9.6、13.2、15.4、18.0、19.5、20.7、23.2、23.3、24.2和24.4。

[0081] 本发明还提供了式A的化合物的固体形式(14型),其具有包含在大约9.6、13.2、15.4、18.0、19.5、20.7、23.2、23.3、24.2、24.4、25.7和26.2处的特征峰(以2 θ 度表示)的X射线粉末衍射图。

[0082] 本发明还提供了式A的化合物的固体形式(14型),其具有与图15所示的X射线粉末衍射图基本上相同的X射线粉末衍射图。

[0083] 本发明提供了式A的化合物的盐酸盐的固体形式(15型),其至少展现出在大约以下各项处的以下特征X射线粉末衍射峰(Cu K α 射线,以2 θ 度表示):

[0084] (1) 10.0、10.7、12.4、13.9和16.6;或

[0085] (2) 9.2、10.0、10.7、12.4、13.9、16.6和20;或

[0086] (3) 9.2、10.0、10.7、12.4、13.9、15.8、16.6、20.0和24.8。

[0087] 本发明还提供了式A的化合物的盐酸盐的固体形式(15型),其具有包含在大约9.2、10.0、10.7、12.4、13.9、15.8、16.6、17.4、18.4和24.8处的特征峰(以2 θ 度表示)的X射线粉末衍射图。

[0088] 本发明还提供了式A的化合物的盐酸盐的固体形式(15型),其具有与图18所示的X射线粉末衍射图基本上相同的X射线粉末衍射图。

[0089] 技术人员熟知用于测量XRPD图的技术。特别地,可以使用Philips X-Pert MPD衍射仪使用以下实验条件记录化合物的样品的X射线粉末衍射图:

[0090] 扫描参数:

扫描轴:	角(Gonio)
开始位置[°2θ]:	4.0084
结束位置[°2θ]:	39.9804
步长[°2θ]:	0.0170
扫描步长时间[s]:	10.1600
扫描类型:	连续
PSD 模式:	扫描
PSD 长度[°2θ]:	2.12
补偿[°2θ]:	0.0000
发散狭缝类型:	自动
辐照长度[mm]	10.00
试样长度[mm]:	10.00
测量温度[°C]:	25.00
阳极材料:	Cu
K-α1 [Å]:	1.54060
K-α2 [Å]:	1.54443
K-A2/K-A1 比率:	0.50000
发电机设定:	40 mA, 40 kV
衍射仪类型:	0000000011038600
衍射仪编号:	0
测角仪半径[mm]:	240.00
Dist.Focus-Diverg. 狹缝[mm]:	100.00
入射束单色器:	否
旋转:	是

[0091] 样品: 将大约5mg的被分析的样品轻轻地压在XRPD零背景单斜切二氧化硅样品支架上。

[0092] 本发明提供了式A的化合物的固体形式(1型), 其在其STA热图像中展现出在148±3°C、优选148±2°C、更优选148±1°C处的吸热峰。

[0093] 本发明提供了式A的化合物的固体形式(1型), 其具有与图2所示的STA热图像基本上相同的STA热图像。

[0094] 本发明提供了式A的化合物的固体形式(14型), 其在其DSC热图像中展现出在158±3°C、优选158±2°C、更优选158±1°C处的吸热峰。

[0095] 本发明提供了式A的化合物的固体形式(14型), 其具有与图16所示的DSC热图像基

本上相同的DSC热图像。

[0096] 本发明提供了式A的化合物的盐酸盐的固体形式(15型),其在其DSC热图像中展现出在166±3℃、优选166±2℃、更优选166±1℃处的吸热峰。

[0097] 本发明提供了式A的化合物的盐酸盐的固体形式(15型),其具有与图19所示的TGA/DSC热图像基本上相同的TGA/DSC热图像。

[0098] 技术人员熟知用于测量STA热图像的技术。特别地,可以通过以下方式记录化合物的样品的STA热图像:

[0099] (a) 将大约5mg的样品称重至陶瓷坩埚中;

[0100] (b) 在环境温度下将样品加载至Perkin-Elmer STA 600TGA/DTA分析仪的腔室中;

[0101] (c) 以10℃/min的速率将样品从25℃加热至300℃,并且在使用20cm³/min氮气吹扫的同时监测样品的重量变化以及DTA信号。

[0102] 技术人员将熟知用于单独测量热重量分析(TGA)热图像和差示扫描量热法热图像的技术,而不是一起使用STA技术。

[0103] 特别地,可以通过以下方式记录化合物的样品的TGA热图像:

[0104] (a) 将大约5至10mg的样品称重至预先去皮的(pre-tared)铝DSC盘中;

[0105] (b) 在环境温度下将样品加载至配备有16位自动进样器的TA仪器Q500TGA的腔室中;

[0106] (c) 在将60ml/min的氮气吹扫保持于样品上的同时以10℃/min的速率将样品从环境温度加热至350℃。

[0107] 可以通过以下方式记录化合物的样品的DSC热图像:

[0108] (a) 将大约0.5-3mg的样品称重至针孔式铝DSC盘中;

[0109] (b) 在环境温度下将样品加载至配备有50位自动进样器的TA仪器Q2000或TA仪器Discovery DSC的腔室中;

[0110] (c) 在将50ml/min的氮气吹扫保持于样品上的同时以10℃/min的速率将样品从25℃加热至250℃。

[0111] 本发明提供了式A的化合物的固体形式(1型),其具有如上所述的的X射线粉末衍射图和如上所述的STA热图像。

[0112] 本发明提供了式A的化合物的固体形式(14型),其具有如上所述的的X射线粉末衍射图和如上所述的STA热图像。

[0113] 本发明提供了式A的化合物的盐酸盐的固体形式(15型),其具有如上所述的的X射线粉末衍射图和如上所述的DSC热图像。

[0114] 本发明的固体形式可以以非溶剂化和溶剂化形式二者存在。术语“溶剂化物”在本文中用来描述包含本发明的化合物和一定量的一种或多种药用溶剂(例如,乙醇)的分子复合物。当溶剂为水时,采用术语“水合物”。

[0115] 本发明涵盖本文所述的式A的化合物及其盐的固体形式的溶剂化物(例如水合物)。

[0116] 在本发明的一个方面,式A的化合物的1型不是溶剂化物或水合物。

[0117] 在本发明的一个方面,式A的化合物的14型不是溶剂化物或水合物。

[0118] 在本发明的一个方面,式A的化合物的盐酸盐的5型不是溶剂化物或水合物。

[0119] 在本发明的一个方面，式A的化合物的盐酸盐的15型不是溶剂化物或水合物。

[0120] 提及的特定化合物也包括所有同位素变体。

[0121] 本发明还涵盖用于制备本发明的1型的方法，所述方法包括使所述固体形式从式A的化合物在溶剂或溶剂混合物中的溶液中结晶。溶剂或溶剂混合物可以包括异丙醇(IPA)。优选地，溶剂是异丙醇。在将式A的化合物添加至溶剂或溶剂混合物(例如异丙醇)之后，可以将合并的混合物(化合物加一种或多种溶剂)加热至大约60–85°C的温度。备选地，可以将合并的混合物加热至大约70–85°C的温度。备选地，可以将合并的混合物加热至大约80–85°C的温度。备选地，可以将合并的混合物加热至大约80、81、82、83、84或85°C的温度。备选地，可以将合并的混合物加热至大约82°C的温度。备选地，可以将合并的混合物加热至回流。加热后，可以将合并的混合物冷却。备选地，可以将合并的混合物冷却至大约0–40°C的温度。备选地，可以将合并的混合物冷却至大约10–30°C的温度。备选地，可以将合并的混合物冷却至室温。备选地，可以将合并的混合物冷却至大约0°C。

[0122] 本发明还涵盖用于制备本发明的5型的方法，所述方法包括使所述固体形式从式A的化合物的盐酸盐在溶剂或溶剂混合物中的溶液中结晶。任选地，式A的化合物的盐酸盐的所述溶液可以通过向式A的化合物在溶剂或溶剂混合物中的溶液或悬浮液加入盐酸而形成。优选地，溶剂是THF、丙酮或乙腈。更优选地，溶剂是THF。可以通过混合物的温度循环进行结晶。温度循环可以包括使混合物的温度在约30–50°C至环境温度之间、任选在约40°C至环境温度之间循环。优选地，温度循环进行约18至约24小时。溶剂或溶剂混合物可以通过以下方式移除：将溶剂或溶剂混合物倾析掉，和/或在惰性气体流下、优选在氮气流下蒸发溶剂或溶剂混合物。

[0123] 本发明还涵盖用于制备本发明的6型的方法，所述方法包括使所述固体形式从式A的化合物的盐酸盐在溶剂或溶剂混合物中的溶液中结晶。任选地，式A的化合物的盐酸盐的所述溶液可以通过向式A的化合物在溶剂或溶剂混合物中的溶液或悬浮液加入盐酸而形成。优选地，溶剂是乙酸乙酯。可以通过混合物的温度循环进行结晶。温度循环可以包括使混合物的温度在约30–50°C至环境温度之间、任选在约40°C至环境温度之间循环。优选地，温度循环进行约18至约24小时。溶剂或溶剂混合物可以通过以下方式移除：将溶剂或溶剂混合物倾析掉，和/或在惰性气体流下、优选在氮气流下蒸发溶剂或溶剂混合物。

[0124] 本发明还涵盖用于制备本发明的7型的方法，所述方法包括使所述固体形式从式A的化合物的硫酸盐在溶剂或溶剂混合物中的溶液中结晶。任选地，式A的化合物的硫酸盐的所述溶液可以通过向式A的化合物在溶剂或溶剂混合物中的溶液或悬浮液加入硫酸而形成。优选地，溶剂是乙酸乙酯、THF、丙酮或乙腈。更优选地，溶剂是丙酮。可以通过混合物的温度循环进行结晶。温度循环可以包括使混合物的温度在约30–50°C至环境温度之间、任选在约40°C至环境温度之间循环。优选地，温度循环进行约18至约24小时。溶剂或溶剂混合物可以通过以下方式移除：将溶剂或溶剂混合物倾析掉，和/或在惰性气体流下、优选在氮气流下蒸发溶剂或溶剂混合物。

[0125] 本发明还涵盖用于制备本发明的8型的方法，所述方法包括使所述固体形式从式A的化合物的磷酸盐在溶剂或溶剂混合物中的溶液中结晶。任选地，式A的化合物的磷酸盐的所述溶液可以通过向式A的化合物在溶剂或溶剂混合物中的溶液或悬浮液加入正磷酸而形成。优选地，溶剂是丙酮或乙腈。更优选地，溶剂是丙酮。可以通过混合物的温度循环进行结

晶。温度循环可以包括使混合物的温度在约30–50°C至环境温度之间、任选在约40°C至环境温度之间循环。优选地，温度循环进行约18至约24小时。溶剂或溶剂混合物可以通过以下方式移除：将溶剂或溶剂混合物倾析掉，和/或在惰性气体流下、优选在氮气流下蒸发溶剂或溶剂混合物。

[0126] 本发明还涵盖用于制备本发明的9型的方法，所述方法包括使所述固体形式从式A的化合物的甲磺酸盐在溶剂或溶剂混合物中的溶液中结晶。任选地，式A的化合物的甲磺酸盐的所述溶液可以通过向式A的化合物在溶剂或溶剂混合物中的溶液或悬浮液加入甲磺酸而形成。优选地，溶剂是乙酸乙酯或丙酮。更优选地，溶剂是乙酸乙酯。可以通过混合物的温度循环进行结晶。温度循环可以包括使混合物的温度在约30–50°C至环境温度之间、任选在约40°C至环境温度之间循环。优选地，温度循环进行约18至约24小时。溶剂或溶剂混合物可以通过以下方式移除：将溶剂或溶剂混合物倾析掉，和/或在惰性气体流下、优选在氮气流下蒸发溶剂或溶剂混合物。

[0127] 本发明还涵盖用于制备本发明的10型的方法，所述方法包括使所述固体形式从式A的化合物的甲磺酸盐在溶剂或溶剂混合物中的溶液中结晶。任选地，式A的化合物的甲磺酸盐的所述溶液可以通过向式A的化合物在溶剂或溶剂混合物中的溶液或悬浮液加入甲磺酸而形成。优选地，溶剂是THF。可以通过混合物的温度循环进行结晶。温度循环可以包括使混合物的温度在约30–50°C至环境温度之间、任选在约40°C至环境温度之间循环。优选地，温度循环进行约18至约24小时。溶剂或溶剂混合物可以通过以下方式移除：将溶剂或溶剂混合物倾析掉，和/或在惰性气体流下、优选在氮气流下蒸发溶剂或溶剂混合物。

[0128] 本发明还涵盖用于制备本发明的11型的方法，所述方法包括使所述固体形式从式A的化合物的甲苯磺酸盐在溶剂或溶剂混合物中的溶液中结晶。任选地，式A的化合物的甲苯磺酸盐的所述溶液可以通过向式A的化合物在溶剂或溶剂混合物中的溶液或悬浮液加入对甲苯磺酸而形成。优选地，溶剂是乙酸乙酯、THF、丙酮或乙腈。更优选地，溶剂是丙酮。可以通过混合物的温度循环进行结晶。温度循环可以包括使混合物的温度在约30–50°C至环境温度之间、任选在约40°C至环境温度之间循环。优选地，温度循环进行约18至约24小时。溶剂或溶剂混合物可以通过以下方式移除：将溶剂或溶剂混合物倾析掉，和/或在惰性气体流下、优选在氮气流下蒸发溶剂或溶剂混合物。

[0129] 本发明还涵盖用于制备本发明的12型的方法，所述方法包括使所述固体形式从式A的化合物的乙二磺酸盐在溶剂或溶剂混合物中的溶液中结晶。任选地，式A的化合物的乙二磺酸盐的所述溶液可以通过向式A的化合物在溶剂或溶剂混合物中的溶液或悬浮液加入1,2-乙二磺酸而形成。优选地，溶剂是乙酸乙酯、THF、丙酮或乙腈。更优选地，溶剂是乙腈。可以通过混合物的温度循环进行结晶。温度循环可以包括使混合物的温度在约30–50°C至环境温度之间、任选在约40°C至环境温度之间循环。优选地，温度循环进行约18至约24小时。溶剂或溶剂混合物可以通过以下方式移除：将溶剂或溶剂混合物倾析掉，和/或在惰性气体流下、优选在氮气流下蒸发溶剂或溶剂混合物。

[0130] 本发明还涵盖用于制备本发明的13型的方法，所述方法包括使所述固体形式从式A的化合物的苯磺酸盐在溶剂或溶剂混合物中的溶液中结晶。任选地，式A的化合物的苯磺酸盐的所述溶液可以通过向式A的化合物在溶剂或溶剂混合物中的溶液或悬浮液加入苯磺酸而形成。优选地，溶剂是乙酸乙酯、THF、丙酮或乙腈。更优选地，溶剂是丙酮。可以通过混

合物的温度循环进行结晶。温度循环可以包括使混合物的温度在约30–50°C至环境温度之间、任选在约40°C至环境温度之间循环。优选地，温度循环进行约18至约24小时。溶剂或溶剂混合物可以通过以下方式移除：将溶剂或溶剂混合物倾析掉，和/或在惰性气体流下、优选在氮气流下蒸发溶剂或溶剂混合物。

[0131] 本发明还涵盖用于制备本发明的14型的方法，所述方法包括使所述固体形式从式A的化合物在溶剂或溶剂混合物中的溶液中结晶。溶剂或溶剂混合物可以包括乙腈。优选地，溶剂是乙腈。在将式A的化合物添加至溶剂或溶剂混合物（例如乙腈）之后，可以将合并的混合物（化合物加一种或多种溶剂）加热至大约60–85°C的温度。备选地，可以将合并的混合物加热至大约70–85°C的温度。备选地，可以将合并的混合物加热至大约75–80°C的温度。备选地，可以将合并的混合物加热至大约75、76、77、78、79或80°C的温度。备选地，可以将合并的混合物加热至大约79°C的温度。备选地，可以将合并的混合物加热至回流。加热后，可以将合并的混合物在大约45–60°C的温度下保持20至40分钟的时间段（特别是大约30分钟），同时进行搅拌。备选地，可以将合并的混合物在大约50–55°C的温度下保持20至40分钟的时间段（特别是大约30分钟），同时进行搅拌。此后，可以将合并的混合物冷却。备选地，可以将合并的混合物冷却至大约0–40°C的温度。备选地，可以将合并的混合物冷却至大约10–30°C的温度。备选地，可以将合并的混合物冷却至室温。备选地，可以将合并的混合物冷却至大约0°C。在冷却期间或冷却后，可以将本发明的固体形式（例如1型或14型，特别是14型）的晶种添加至合并的混合物中。溶剂或溶剂混合物可以通过以下方式移除：将溶剂或溶剂混合物过滤掉，或将溶剂或溶剂混合物倾析掉，和/或在惰性气体流下、优选在氮气流下蒸发溶剂或溶剂混合物。

[0132] 本发明还涵盖用于制备本发明的15型的方法，所述方法包括使所述固体形式从式A的化合物的盐酸盐在溶剂或溶剂混合物中的溶液中结晶。任选地，式A的化合物的盐酸盐的所述溶液可以通过向式A的化合物在溶剂或溶剂混合物中的溶液或悬浮液加入盐酸而形成。优选地，溶剂是乙醇、甲醇、异丙醇、丙酮、甲基乙基酮、THF或乙腈。优选地，溶剂是乙醇、甲醇、异丙醇或乙腈。更优选地，溶剂是乙腈。可以通过合并的混合物的温度循环进行结晶。温度循环可以包括使合并的混合物的温度在约30–50°C至环境温度之间、任选在40°C至环境温度之间循环。优选地，温度循环进行约18至约24小时。备选地，结晶可以通过以下方式进行：在1至48小时内，备选地在6至24小时内，备选地在10至20小时内，备选地在约16小时内，从大约65°C开始并且于10°C缓慢冷却合并的混合物。可以将混合物冷却至大约0–40°C的温度。备选地，可以将合并的混合物冷却至大约10–30°C的温度。备选地，可以将合并的混合物冷却至室温。备选地，可以将合并的混合物冷却至大约0°C。备选地，可以将合并的混合物冷却至大约10°C。溶剂或溶剂混合物可以通过以下方式移除：将溶剂或溶剂混合物过滤掉，或将溶剂或溶剂混合物倾析掉，和/或在惰性气体流下或在真空下、优选在氮气流下蒸发溶剂或溶剂混合物。

[0133] 本发明的方法还可以包括另外的步骤，其中在结晶之前过滤式A的化合物或式A的化合物的盐在溶剂或溶剂混合物中的溶液。

[0134] 本发明的方法还可以包括添加本发明的固体形式的晶种。

[0135] 在一个方面，本发明提供了当通过根据本发明的方法制造时的本发明的固体形式。

[0136] 如先前所提及的,本发明的固体形式具有多种治疗应用,特别是在由血浆激肽释放酶介导的疾病或病况的治疗中。

[0137] 因此,本发明提供了如上文所限定的式A的化合物及其盐的固体形式,其用于治疗。在优选的实施方案中,固体形式是1型。在备选的优选实施方案中,固体形式是14型。在备选的优选实施方案中,固体形式是式A的化合物的盐酸盐的5型。在另外的备选的优选实施方案中,固体形式是式A的化合物的盐酸盐的15型。

[0138] 本发明还提供了如上文所限定的式A的化合物及其盐的固体形式在制备用于治疗由血浆激肽释放酶介导的疾病或病况的药物中的用途。在优选的实施方案中,固体形式是1型。在备选的优选实施方案中,固体形式是14型。在备选的优选实施方案中,固体形式是式A的化合物的盐酸盐的5型。在另外的备选的优选实施方案中,固体形式是式A的化合物的盐酸盐的15型。

[0139] 本发明还提供了如上文所限定的式A的化合物及其盐的固体形式,其用于治疗由血浆激肽释放酶介导的疾病或病况的方法。在优选的实施方案中,固体形式是1型。在备选的优选实施方案中,固体形式是14型。在备选的优选实施方案中,固体形式是式A的化合物的盐酸盐的5型。在另外的备选的优选实施方案中,固体形式是式A的化合物的盐酸盐的15型。

[0140] 本发明还提供了一种治疗由血浆激肽释放酶介导的疾病或病况的方法,所述方法包括向需要这样的治疗的哺乳动物施用治疗有效量的如上文所限定的式A的化合物及其盐的固体形式。在优选的实施方案中,固体形式是1型。在备选的优选实施方案中,固体形式是14型。在备选的优选实施方案中,固体形式是式A的化合物的盐酸盐的5型。在另外的备选的优选实施方案中,固体形式是式A的化合物的盐酸盐的15型。

[0141] 在一个方面,由血浆激肽释放酶介导的疾病或病况选自受损的视敏度(impaired visual acuity)、糖尿病性视网膜病(diabetic retinopathy)、与糖尿病性视网膜病相关的视网膜血管通透性(retinal vascular permeability associated with diabetic retinopathy)、糖尿病性黄斑水肿(diabetic macular edema)、遗传性血管性水肿(hereditary angioedema)、视网膜血管阻塞(retinal vein occlusion)、糖尿病(diabetes)、胰腺炎(pancreatitis)、脑出血(cerebral haemorrhage)、肾病(nephropathy)、心肌病(cardiomyopathy)、神经病(neuropathy)、炎性肠病(inflammatory bowel disease)、关节炎(arthritis)、炎症(inflammation)、败血性休克(septic shock)、低血压(hypotension)、癌症(cancer)、成人呼吸窘迫综合征(adult respiratory distress syndrome)、弥漫性血管内凝血(disseminated intravascular coagulation)、心肺转流手术期间的血液凝固(blood coagulation during cardiopulmonary bypass surgery)和外科手术后出血(bleeding from post-operative surgery)。在一个优选实施方案中,由血浆激肽释放酶介导的疾病或病况是糖尿病性黄斑水肿。在另一个优选实施方案中,由血浆激肽释放酶介导的疾病或病况是遗传性血管性水肿。

[0142] 备选地,由血浆激肽释放酶介导的疾病或病况可以选自与糖尿病性视网膜病相关的视网膜血管通透性、糖尿病性黄斑水肿和遗传性血管性水肿。备选地,由血浆激肽释放酶介导的疾病或病况可以是与糖尿病性视网膜病相关的视网膜血管通透性或糖尿病性黄斑水肿。式A的化合物及其盐的固体形式可以适合于注射至患者的眼部区域内的形式、特别

是以适合于玻璃体内注射的形式施用。

[0143] 在本发明的上下文中,本文中提及的“治疗”包括对治愈性、缓解性(palliative)和预防性治疗的提及,除非相反地存在具体指示。术语“治疗”、“治疗的”和“治疗地”应当以相同的方式解释。

[0144] 本发明的固体形式可以单独施用或者与一种或多种其他药物组合施用。通常,其将作为与一种或多种药用赋形剂联合的制剂施用。术语“赋形剂”在本文中用来描述不同于本发明的化合物的任何成分,其可以对所述制剂赋予功能性(即,药物释放速率控制)和/或非功能性(即,加工助剂或稀释剂)特性。赋形剂的选择很大程度上将取决于诸如具体施用模式、赋形剂对溶解度和稳定性的影响以及剂型的性质等因素。

[0145] 在另一个方面,本发明的化合物可以与视网膜激光治疗组合施用。激光疗法与VEGF抑制剂的玻璃体内注射的组合用于治疗糖尿病性黄斑水肿是已知的(Elman M,Aiello L,Beck R等人“Randomized trial evaluating ranibizumab plus prompt or deferred laser or triamcinolone plus prompt laser for diabetic macular edema(评价用于糖尿病性黄斑水肿的雷珠单抗加瞬时或延迟激光或者曲安西龙加瞬时激光的随机化试验)”.Ophthalmology.2010年4月27日)。

[0146] 适合于递送本发明的固体形式的药物组合物和用于其制备的方法对于本领域技术人员是明显的。这样的组合物和用于其制备的方法可以例如在雷明顿药物科学(Remington's Pharmaceutical Sciences)第19版(Mack Publishing Company,1995)中找到。

[0147] 对于人类患者的施用,本发明的固体形式的总日剂量典型地在0.1mg至约10,000mg、或1mg至5000mg、或10mg至1000mg的范围内,这当然取决于施用模式。如果通过玻璃体内注射施用,则设想每只眼睛0.0001mg(0.1 μ g)至0.2mg(200 μ g)的较低剂量,或者每只眼睛0.0005mg(0.5 μ g)至0.05mg(50 μ g)。

[0148] 总日剂量可以以单个或分开的剂量施用,并且根据医师判断可以落在本文给出的典型范围之外。这些剂量基于体重为约60kg至70kg的普通人类受试者。医师将能够容易地确定体重不在此范围内的受试者(诸如婴儿和老人)的剂量。

[0149] 因此,本发明提供了包含如上文所限定的式A的化合物的固体形式和药用载体、稀释剂和/或赋形剂的药物组合物。在优选的实施方案中,固体形式是1型。在备选的优选实施方案中,固体形式是14型。在备选的优选实施方案中,固体形式是式A的化合物的盐酸盐的5型。在另外的备选的优选实施方案中,固体形式是式A的化合物的盐酸盐的15型。

[0150] 应该理解的是,提及如上文所限定的式A的化合物的固体形式包括在上文中已经描述的游离碱及其盐二者。

[0151] 药物组合物可以:以例如滴眼剂、乳膏、溶液剂、混悬剂、七氟烷烃(HFA)气雾剂和干粉制剂的形式局部施用(例如施用至眼睛、施用至皮肤或施用至肺和/或气道);或例如以片剂、胶囊、糖浆、粉剂或颗粒的形式通过口服施用而全身施用;或以溶液剂或混悬剂的形式通过肠胃外施用来施用;或通过皮下施用来施用;或以栓剂的形式通过直肠施用来施用;或经皮施用。在另一个实施方案中,药物组合物是混悬剂、片剂、胶囊、粉剂、颗粒或栓剂的形式。

[0152] 在本发明的一个实施方案中,口服施用活性成分。口服施用可以包括吞咽,以使化

合物进入肠胃道,和/或经颊、经舌或舌下施用,化合物由此从口腔直接进入血流。

[0153] 适用于口服施用的制剂包括固体栓剂、固体微颗粒、半固体和液体(包括多相或分散体系)诸如片剂;软或硬胶囊,其容纳多颗粒或纳米颗粒,液体,乳液或粉末;锭剂(包括液体填充的锭剂);咀嚼剂;凝胶;快速分散剂型;膜剂(film);胚珠剂(ovules);喷雾剂;和颊贴片/粘膜粘附贴片。

[0154] 液体(包括多相及分散体系)制剂包括乳剂、混悬剂、溶液剂、糖浆和酏剂。这样的制剂可以呈现为软或硬胶囊中的填料。液体制剂也可以通过重构例如来自药囊的固体来制备。

[0155] 本发明的固体形式也可以以快速溶解、快速崩解剂型施用,诸如在Liang和Chen, Expert Opinion in Therapeutic Patents(治疗专利中的专家意见),2001,11(6),981-986中描述的那些。

[0156] H.Lieberman和L.Lachman的Pharmaceutical Dosage Forms:Tablets(药物剂型:片剂),Vol.1(Marcel Dekker,New York,1980)中讨论了片剂的配制。

[0157] 现在将通过以下非限制性实施例来说明本发明。在实施例中,提供以下附图:

[0158] 图1:式A的化合物的1型的X射线粉末衍射图(实施例1)。

[0159] 图2:式A的化合物的1型的STA(实施例1)。

[0160] 图3:式A的化合物的2型的X射线粉末衍射图(实施例2)。

[0161] 图4:式A的化合物的3型的X射线粉末衍射图(实施例3)。

[0162] 图5:式A的化合物的4型的X射线粉末衍射图(实施例4)。

[0163] 图6:式A的化合物的盐酸盐的5型的X射线粉末衍射图(实施例5)。

[0164] 图7:式A的化合物的盐酸盐的6型的X射线粉末衍射图(实施例6)。

[0165] 图8:式A的化合物的硫酸盐的7型的X射线粉末衍射图(实施例7)。

[0166] 图9:式A的化合物的磷酸盐的8型的X射线粉末衍射图(实施例8)。

[0167] 图10:式A的化合物的甲磺酸盐的9型的X射线粉末衍射图(实施例9)。

[0168] 图11:式A的化合物的甲磺酸盐的10型的X射线粉末衍射图(实施例10)。

[0169] 图12:式A的化合物的甲苯磺酸盐的11型的X射线粉末衍射图(实施例11)。

[0170] 图13:式A的化合物的乙二磺酸盐的12型的X射线粉末衍射图(实施例12)。

[0171] 图14:式A的化合物的苯磺酸盐的13型的X射线粉末衍射图(实施例13)。

[0172] 图15:式A的化合物的14型的X射线粉末衍射图(实施例14)。

[0173] 图16:式A的化合物的14型的DSC(实施例14)。

[0174] 图17:式A的化合物的14型的X射线粉末衍射图(实施例14A)。

[0175] 图18:式A的化合物的盐酸盐的15型的X射线粉末衍射图(实施例15)。

[0176] 图19:式A的化合物的盐酸盐的15型的TGA/DSC(实施例15)。

[0177] 图20:式A的化合物的盐酸盐的15型的X射线粉末衍射图(实施例15A)。

[0178] 一般实验细节

[0179] 在以下实施例中,使用以下缩写和定义:

[0180]	Aq	水溶液
	DCM	二氯甲烷
	DMF	N,N-二甲基甲酰胺
[0181]	DMSO	二甲亚砜
	DSC	差示扫描量热法
	EtOAc	乙酸乙酯
	HATU	2-(3H-[1,2,3]三唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-1,1,3,3-四甲基异脲鎓六氟磷酸盐(V)
	Hrs	小时
	HOEt	羟基苯并三唑
	IPA	2-丙醇/丙-2-醇/异丙醇
	LCMS	液相色谱质谱
	Me	甲基
	MeCN	乙腈
	MeOH	甲醇
	Min	分钟
	MS	质谱
	NMR	核磁共振谱 - NMR 谱在 400MHz 的频率下记录，除非另外指出
	Pet. Ether	沸点在 60-80°C 的石油醚馏份
	Ph	苯基
	STA	同步热分析
	SWFI	注射用无菌水
	rt	室温
	THF	四氢呋喃
	TFA	三氟乙酸
	XRPD	X 射线粉末衍射

[0182] 除非另外说明，所有反应都在氮气气氛下进行。

[0183] 在Bruker (400MHz) 或JEOL (400MHz) 光谱仪上参照氘溶剂并且在室温记录¹H NMR 谱。

[0184] 使用LCMS(其使用Chromolith Speedrod RP-18e柱,50x 4.6mm进行,在13分钟内利用在0.1%HCO₂H/H₂O中的10%至90%0.1%HCO₂H/MeCN线性梯度,流速1.5mL/min)或使用Agilent,X-Select,酸性,5-95%MeCN/水(在4分钟内)获得分子离子。使用与Thermofinnigan Surveyor LC系统结合的具有电喷离子化的Thermofinnigan Surveyor MSQ质谱仪收集数据。

[0185] 备选地,使用LCMS获得分子离子,所述LCMS使用Agilent Poroshe1120EC-C18(2.7μm,3.0x 50mm)柱,利用在水中的0.1%v/v甲酸[洗脱剂A];MeCN[洗脱剂B];流速0.8mL/min和1.5分钟的样品间平衡时间、以下所示的梯度进行。质量检测使用API 2000质谱仪(电喷雾)提供。

[0186] 梯度:

[0187]

时间(分钟)	洗脱剂A(%)	洗脱剂B(%)
0.00	95	5
0.20	95	5
2.00	5	95
3.00	5	95
3.25	95	5
3.50	95	5

[0188] 在产物通过快速色谱法纯化的情况下,“二氧化硅(silica)”是指用于色谱法的硅胶,0.035至0.070mm(220至440目)(例如Merck硅胶60),并且施加的氮气压力直至10p.s.i加速柱洗脱。反相制备型HPLC纯化使用Waters 2525二元梯度泵送系统以典型地20mL/min流速利用Waters 2996光电二极管阵列检测器进行。

[0189] 所有溶剂和商购试剂以原样使用。

[0190] 使用自动化软件诸如作为来自MDL Information Systems的ISIS Draw软件包的一部分提供的Autonom软件或作为MarvinSketch的组件或作为IDBS E-WorkBook的组件提供的Chemaxon软件生成化学名称。

[0191] 在指定的情况下,X射线粉末衍射图在Philips X-Pert MPD衍射仪上收集并且使用以下实验条件分析(方法A):

[0192] 扫描参数:

[0193]

扫描轴:	角(Gonio)
开始位置[°2θ]:	4.0084
结束位置[°2θ]:	39.9804

[0194]	步长[°2θ]:	0.0170
	扫描步长时间[s]:	10.1600
	扫描类型:	连续
	PSD 模式:	扫描
	PSD 长度[°2θ]:	2.12
	补偿[°2θ]:	0.0000
	发散狭缝类型:	自动
	辐照长度[mm]	10.00
	试样长度[mm]:	10.00
	测量温度[°C]:	25.00
	阳极材料:	Cu
	K-α1 [Å]:	1.54060
	K-α2 [Å]:	1.54443
	K-A2/K-A1 比率:	0.50000
	发电机设定:	40 mA, 40 kV
	衍射仪类型:	0000000011038600
	衍射仪编号:	0
	测角仪半径[mm]:	240.00
	Dist.Focus-Diverg. 狹缝[mm]:	100.00
	入射束单色器:	否
	旋转:	是

[0195] 将大约5mg的被分析的样品轻轻地压在XRPD零背景单斜切二氧化硅样品支架上。然后将样品加载至衍射仪中用于分析。

[0196] 同步热分析 (STA) 数据使用以下方法收集: 将大约5mg的样品准确地称重至陶瓷坩埚中并且在环境温度下将其放入Perkin-Elmer STA 600TGA/DTA分析仪的腔室中。然后以10°C/min的速率加热样品, 通常从25°C 加热至300°C, 在此期间监测重量的变化以及DTA信号。所使用的吹扫气体是流速为20cm³/min的氮气。

[0197] 在指定的情况下,X射线粉末衍射图使用以下方法(方法B)收集:

[0198] 根据方法B, 使用以Bragg-Brentano配置的Bruker AXS D2 PHASER (D2-205355) (设备#2353) 进行X射线粉末衍射研究。使用在30kV、10mA下的Cu阳极, 具有光束截捕器的样品台标准旋转(5/min), 以及通过Kβ-滤波器(0.59%Ni)的单色化。所使用的狭缝是1.0mm (=0.61°) 固定发散狭缝, 2.5°一级轴向Soller狭缝和2.5°二级轴向Soller狭缝。检测器是具有接收狭缝5°检测器开口的线性检测器LYNXEYE。标准样品支架(在(510)硅晶片中的

0.1mm空腔)对背景信号的贡献最小。测量条件是:扫描范围5–45° 2θ ,样品旋转5rpm,0.5s/步,0.010°/步,3.0mm检测器狭缝;并且所有测量条件记录在仪器控制文件中。用于数据收集的软件是Diffrac.Commander v4.0。使用Diffrac.Eva V4.1评价软件进行数据分析。并未将背景校正或平滑化应用于图中。

[0199] 在指定的情况下,X射线粉末衍射图使用以下方法(方法C)收集:

[0200] 根据方法C,在使用Cu Ka射线的Bruker D8衍射仪(40kV,40mA)和装有Ge单色器的0–20测角仪上收集XRPD衍射图。入射束穿过2.0mm发散狭缝,然后通过0.2mm反散射狭缝和刀口。衍射束通过带有2.5°Soller狭缝的8.0mm接收狭缝,然后通过Lynxeye检测器。用于数据收集和分析的软件分别是Diffrac Plus XRD Commander和Diffrac Plus EVA。原样使用粉末,将样品在环境条件下作为平板样本运行。通过轻轻地压在平坦表面上或填充到切割腔中,在抛光的零背景(510)硅晶片上制备样品。将样品在其自己的平面上旋转。标准数据收集方法的细节为:

[0201] • 角度范围:2至42° 2θ

[0202] • 步长:0.05° 2θ

[0203] • 收集时间:0.5s/步(总收集时间:6.40min)

[0204] 在指定的情况下,X射线粉末衍射图使用以下方法(方法D)收集:

[0205] 根据方法D,以透射几何使用Cu Ka射线(45kV,40mA)在PANalytical Empyrean衍射仪上收集XRPD衍射图。在入射束上使用0.5°狭缝、4mm掩模和带有聚焦镜的0.04rad Soller狭缝。置于衍射束上的PIXcel3D检测器装有接收狭缝和0.04rad Soller狭缝。用于数据收集的软件是使用X' Pert操作员界面的X' Pert数据收集器。使用Diffrac Plus EVA或HighScore Plus分析和显示数据。

[0206] 制备样品并且在金属96孔板中以透射模式分析。在金属板之间使用X射线透明膜,并且按原样使用粉末(大约1–2mg)。扫描模式使用角扫描轴。

[0207] 标准筛选数据收集方法的细节为:

[0208] • 角度范围:2.5至32.0° 2θ

[0209] • 步长:0.0130° 2θ

[0210] • 收集时间:12.75s/步(总收集时间为2.07min)

[0211] 热重量分析(TGA)数据使用以下方法收集:将大约5–10mg的样品准确地称量至预先去皮的铝DSC盘中,并且在环境温度下将其放入配备有16位自动进样器的TA仪器Q500 TGA的腔室中。然后以10°C/min的速率将样品从环境温度加热至350°C,在此期间监测重量的变化。以60ml/min的流速使用氮气作为吹扫气体。仪器控制软件是Q系列和Thermal Advantage的Advantage,并且使用Universal Analysis分析数据。

[0212] 差示扫描量热法(DSC)数据使用以下方法收集:将大约0.5–3mg的样品准确地称量至针孔式铝DSC盘中,并且在环境温度下将其放入配备有50位自动进样器的TA仪器Discovery DSC的腔室中。然后以10°C/min的速率将样品从25°C加热至250°C。在样品上所使用的吹扫气体是流速为50ml/min的氮气。

[0213] 仪器控制软件是TRIOS,并且使用Universal Analysis分析数据。

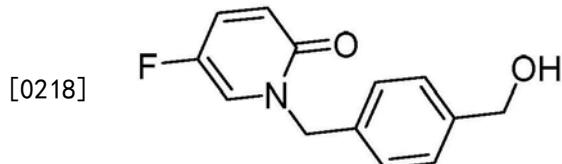
[0214] 在指定的情况下,使用Mettler Toledo DSC1 STARe系统(方法D)收集差示扫描量热法(DSC)数据。通常将5–10mg的样品加载至预先称重的Al坩埚中,并且在20°C保持5分钟,

此后将其以 $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 从 20°C 加热至 350°C ，并且保持在 350°C 保持1分钟。在样品上维持 $40\text{ml}/\text{min}$ 的氮气吹扫。用于数据收集和评价的软件是STARe软件v15.0。

[0215] 合成实施例

[0216] 实施例1-1-({4-[(5-氟-2-氧代吡啶-1-基) 甲基] 苯基} 甲基) -N-[(3-氟-4-甲氧基吡啶-2-基) 甲基]-3-(甲氧基甲基) 吡唑-4-甲酰胺的1型

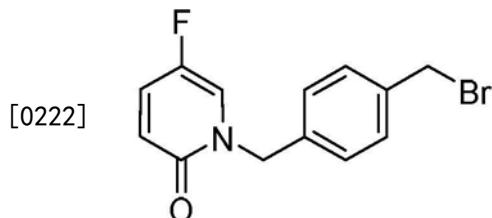
[0217] 5-氟-1-(4-羟基甲基-苄基)-1H-吡啶-2-酮



[0219] 向丙酮(150mL)中的4-(氯甲基)苄醇(4.50g, 28.7mmol)中添加5-氟-2-羟基吡啶(3.57g, 31.6mmol)和K₂CO₃(11.9g, 24.2mmol)，并且将反应混合物在50℃搅拌36小时。将反应混合物冷却并且在真空中移除溶剂。将残余物吸收在CHCl₃(150mL)中，并且用水(30mL)洗涤，干燥(Na₂SO₄)，过滤并且蒸发。将水层用20% IPA-氯仿(3x 50mL)萃取。合并所有有机层。使残余物吸附在二氧化硅上，并且通过自动快速色谱法纯化，用MeOH-DCM洗脱，得到白色固体，其被鉴定为标题化合物(5.65g, 24.2mmol, 84%)。

[0220] [M+H]⁺=234.2

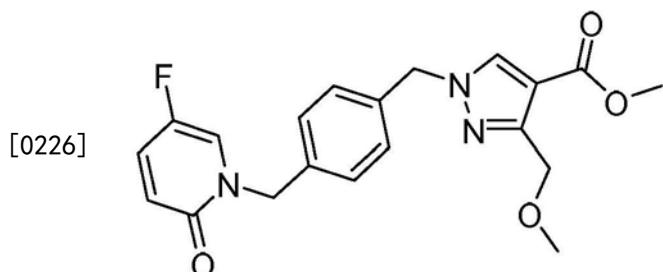
[0221] 1-(4-溴甲基-苄基)-5-氟-1H-吡啶-2-酮



[0223] 向DCM(100mL)中的5-氟-1-(4-羟基甲基-苄基)-1H-吡啶-2-酮(1.65g, 7.1mmol)中添加三溴化磷(665mL, 7.1mmol)，并且将反应在室温搅拌2小时。将反应混合物用CHCl₃(100mL)稀释，并且用饱和NaHCO₃(aq)(50mL)、水(10mL)和盐水(10mL)洗涤。将有机层干燥(Na₂SO₄)，过滤并且蒸发，得到无色胶状物，其被鉴定为标题化合物，其在不进行进一步纯化的情况下使用(1.85g, 6.3mmol, 88%)。

[0224] [M+Na]⁺=318.2

[0225] 1-[4-(5-氟-2-氧代-2H-吡啶-1-基甲基)-苄基]-3-甲氧基甲基-1H-吡唑-4-甲酸甲酯



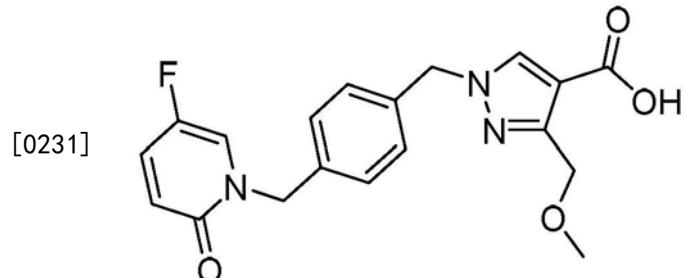
[0227] 向DMF(2mL)中的3-甲氧基甲基-1H-吡唑-4-甲酸甲酯(259mg, 1.5mmol)中添加1-(4-溴甲基-苄基)-5-氟-1H-吡啶-2-酮(450mg, 1.5mmol)和K₂CO₃(420mg, 3.04mmol)。将反应

混合物在室温搅拌18小时。将反应混合物浓缩，然后在EtOAc (60mL) 和水 (20mL) 之间分配，并且依次用水 (3x 10mL) 和盐水 (10mL) 洗涤。将有机层干燥 (Na_2SO_4)，过滤并且蒸发。将粗制残余物通过自动快速色谱法纯化，用EtOAc/乙腈-甲醇洗脱，得到两种区域异构体。区域异构体通过 ^1H NOESY鉴定，并且标题化合物被分离为灰白色固体 (327mg, 0.85mmol, 55%)。

[0228] $[\text{M}+\text{H}]^+ = 385.8$

[0229] ^1H NMR (CDCl_3) 3.49 (3H, s), 3.81 (3H, s), 4.74 (2H, s), 5.10 (2H, s), 5.30 (2H, s), 6.61 (1H, dd, $J=10.4, 5.4\text{Hz}$), 7.16 (1H, t, $J=3.5\text{Hz}$), 7.25–7.26 (2H, m), 7.29–7.33 (3H, m), 7.81 (1H, s)

[0230] 1-[4-(5-氟-2-氧代-2H-吡啶-1-基甲基)-苄基]-3-甲氧基甲基-1H-吡唑-4-甲酸



[0232] 向乙醇 (50mL) 中的1-[4-(5-氟-2-氧代-2H-吡啶-1-基甲基)-苄基]-3-甲氧基甲基-1H-吡唑-4-甲酸甲酯 (327mg, 0.85mmol) 中添加NaOH (339mg, 8.5mmol)，并且在剧烈回流下加热24小时。将反应混合物冷却并且浓缩。将粗制残余物用水 (5mL) 稀释并且用DCM (7mL) 洗涤。将水相取出并且用2M HCl调节至pH 2，然后用90% $\text{CH}_3\text{Cl}/10\%$ IPA (6x 15mL) 萃取。将有机层干燥 (Na_2SO_4)，过滤并且浓缩，得到淡黄色固体，其在不进行进一步纯化的情况下使用。

[0233] 3-氟-4-甲氧基-吡啶-2-甲腈

[0234] 向大的微波小瓶中，将氰基铜 (1.304g, 14.6mmol) 添加到2-溴-3-氟-4-甲氧基吡啶 (1g, 4.9mmol) 在DMF (5mL) 中的溶液中。将反应小瓶密封并且加热至100°C达16小时。将反应混合物用水 (20mL) 和EtOAc (20mL) 稀释。对粘稠悬浮液进行超声处理并且需要额外的水 (40mL) 和EtOAc (2x50mL)，利用超声处理破碎沉淀的固体。将合并的层通过硅藻土塞过滤并且将有机层分离，用盐水 (50mL) 洗涤，用 MgSO_4 干燥，过滤，并且将溶剂在减压下移除，得到淡绿色固体，其被鉴定为3-氟-4-甲氧基-吡啶-2-甲腈 (100mg, 0.58mmol, 12% 收率)。

[0235] (3-氟-4-甲氧基-吡啶-2-基甲基)-氨基甲酸叔丁酯

[0236] 将3-氟-4-甲氧基-吡啶-2-甲腈 (100mg, 0.58mmol) 溶解在无水MeOH (10mL, 247mmol) 中，并且加入六水合氯化镍 (14mg, 0.058mmol)，随后加入二碳酸二叔丁酯 (255mg, 1.16mmol)。将所得淡绿色溶液在冰盐浴中冷却至-5°C，然后逐份加入硼氢化钠 (153mg, 4.1mmol)，将反应温度保持在~0°C。将深褐色溶液在0°C搅拌，并且使其缓慢温热至室温，然后在室温搅拌3小时。将反应混合物在40°C蒸发至干燥，得到黑色残余物，将其用DCM (10mL) 稀释并且用碳酸氢钠 (aq) (10mL) 洗涤。形成乳液，然后有机物经由相分离柱分离并且浓缩。将粗制液体通过色谱法纯化，用EtOAc/异己烷洗脱，得到(3-氟-4-甲氧基-吡啶-2-基甲基)-氨基甲酸叔丁酯，为澄清黄色油状物 (108mg, 62% 收率)。

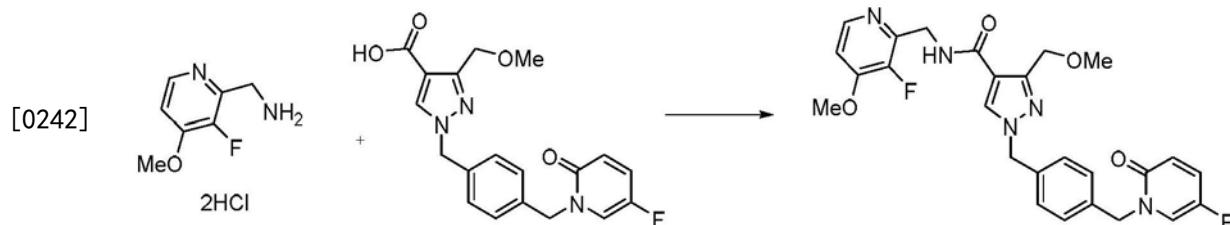
[0237] $[\text{MH}]^+ = 257$

[0238] (3-氟-4-甲氧基-吡啶-2-基)-甲胺二盐酸盐

[0239] 将(3-氟-4-甲氧基-吡啶-2-基甲基)-氨基甲酸叔丁酯(108mg,0.36mmol)溶解在异丙醇(1mL)中,然后在室温加入HCl(6N,在异丙醇中)(1mL,0.58mmol),并且在40℃搅拌2小时。将反应混合物在减压下浓缩,然后用二乙醚研磨,并且进行超声处理,得到奶油色固体(75mg,55%收率),其被鉴定为(3-氟-4-甲氧基-吡啶-2-基)-甲胺二盐酸盐。

[0240] $[\text{MH}]^+ = 157$

[0241] 1-({4-[(5-氟-2-氧代吡啶-1-基) 甲基] 苯基} 甲基)-N-[(3-氟-4-甲氧基吡啶-2-基) 甲基]-3-(甲氧基甲基) 吡唑-4-甲酰胺的1型



[0243] 将1,1'-羰基二咪唑(8.45g,52.1mmol)添加到1-(4-((5-氟-2-氧代吡啶-1(2H)-基)甲基)-3-(甲氧基甲基)-1H-吡唑-4-甲酸(19.4g,52.1mmol)在DMF(112mL)中的溶液中,并且将反应混合物加热至50℃达2小时。此后,将(3-氟-4-甲氧基吡啶-2-基)甲胺二盐酸盐(12.0g,52.1mmol)添加到反应混合物中,并且在50℃继续加热过夜。将反应混合物冷却至室温,然后在剧烈搅拌下逐滴添加到水(1L)中。完成添加后,继续搅拌1小时。将产物通过过滤收集并且用水(250mL)洗涤。将湿物料溶解在DCM中,并且将水分离。将有机层用Na₂SO₄干燥,并且通过硅藻土过滤。将溶剂在真空中移除,得到21.9g。

[0244] 将残余物在回流下从IPA(170mL)中重结晶,冷却至室温,然后过滤,然后在DCM中溶解两次,用碳酸氢钠(aq)洗涤,用Na₂SO₄干燥,过滤,并且在减压下浓缩。将残余物在回流下从IPA(160mL)中重结晶,冷却至室温,然后过滤。用冷的叔丁基甲基醚研磨并且干燥得到1-({4-[(5-氟-2-氧代吡啶-1-基) 甲基] 苯基} 甲基)-N-[(3-氟-4-甲氧基吡啶-2-基) 甲基]-3-(甲氧基甲基) 吡唑-4-甲酰胺的1型(17g)。

[0245] ¹H NMR (400Mhz, d6-DMSO) δ 3.17 (3H, s) , 3.83 (3H, s) , 4.42 (2H, s) , 4.44 (2H, d, J=3.2Hz) , 4.92 (2H, s) , 5.19 (2H, s) , 6.35 (1H, dd, J=10.0, 5.5Hz) , 7.09 (1H, t, J=6.0Hz) , 7.14 (2H, d, J=8.2Hz) , 7.20 (2H, d, J=8.2Hz) , 7.46-7.51 (1H, m) , 7.92 (1H, t, J=0.9Hz) , 8.14 (1H, d, J=5.5Hz) , 8.17 (1H, s) , 8.34 (1H, t, J=5.3Hz) ppm。

[0246] 1型的XRPD衍射图(方法A)在图1中显示。

[0247] 峰位置表:

[0248]

编号	位置[°2θ]	高度[cts]	相对强度[%]
1	7.7	290.2	12.1
2	8.3	91.1	3.8
3	10.7	34.0	1.4
4	11.6	385.3	16.1
5	12.6	247.8	10.3
6	12.8	139.4	5.8
7	13.7	39.4	1.6
8	14.1	48.2	2.0

[0249]	9	14.7	1090.1	45.4
	10	15.2	200.8	8.4
	11	15.5	112.2	4.7
	12	16.4	54.7	2.3
	13	17.1	193.3	8.1
	14	17.6	409.3	17.1
	15	17.9	1246.2	52.0
	16	18.1	1785.6	74.4
	17	19.4	1386.7	57.8
	18	20.1	2398.9	100.0
	19	20.8	583.3	24.3
	20	21.4	1207.4	50.3
	21	22.1	567.3	23.7
	22	22.5	1106.6	46.1
	23	23.4	925.6	38.6
	24	23.9	567.5	23.7
	25	24.2	362.1	15.1
	26	24.5	375.2	15.6
	27	25.3	563.5	23.5
	28	26.0	404.1	16.9
	29	26.8	448.1	18.7
	30	27.2	229.3	9.6
	31	28.3	183.9	7.7
	32	29.2	413.8	17.3
	33	29.6	441.4	18.4
	34	30.2	159.3	6.6
	35	31.3	250.7	10.5
	36	32.2	198.3	8.3
	37	33.6	175.8	7.3

[0250]	38	34.7	169.1	7.1
	39	37.0	83.7	3.5
	40	38.1	77.8	3.2
	41	38.6	48.5	2.0

[0251] 同步热分析 (STA)

[0252] 1型的STA数据在图2中显示。

[0253] 实施例2-1-({4-[(5-氟-2-氧代吡啶-1-基) 甲基] 苯基} 甲基) -N-[(3-氟-4-甲氧基吡啶-2-基) 甲基]-3-(甲氧基甲基) 吡唑-4-甲酰胺的2型

[0254] 在加热的情况下将1-({4-[(5-氟-2-氧代吡啶-1-基) 甲基] 苯基} 甲基) -N-[(3-氟-4-甲氧基吡啶-2-基) 甲基]-3-(甲氧基甲基) 吡唑-4-甲酰胺溶解在1:1MeOH/水中, 得到200mg/mL溶液。使溶剂在氮气下蒸发, 得到1-({4-[(5-氟-2-氧代吡啶-1-基) 甲基] 苯基} 甲基) -N-[(3-氟-4-甲氧基吡啶-2-基) 甲基]-3-(甲氧基甲基) 吡唑-4-甲酰胺的2型。

[0255] 2型的XRPD衍射图(方法A)在图3中显示。

[0256] 峰位置表:

编号	位置[°2θ]	高度[cts]	相对强度[%]
1	5.7	200.7	54.3
2	7.5	29.5	8.0
3	9.9	134.5	36.4
4	13.0	369.8	100.0
5	15.0	205.4	55.5
6	16.0	75.7	20.5
7	17.2	103.0	27.9
8	17.7	42.2	11.4
9	18.6	54.8	14.8
10	19.6	57.8	15.6
11	22.2	203.4	55.0

12	23.1	140.3	37.9
13	25.0	32.0	8.7
14	25.7	72.2	19.5
15	28.8	49.6	13.4

[0259] 实施例3-1-({4-[{5-氟-2-氧代吡啶-1-基}甲基]苯基}甲基)-N-[{3-氟-4-甲氧基吡啶-2-基}甲基]-3-(甲氧基甲基)吡唑-4-甲酰胺的3型

[0260] 将1-({4-[{5-氟-2-氧代吡啶-1-基}甲基]苯基}甲基)-N-[{3-氟-4-甲氧基吡啶-2-基}甲基]-3-(甲氧基甲基)吡唑-4-甲酰胺(10mg)添加到EtOH(50μL)中，并且将混合物加热直至固体已经溶解。然后通过浸入液氮中将温热溶液快速冷却。然后，将溶剂在氮气流下蒸发，得到1-({4-[{5-氟-2-氧代吡啶-1-基}甲基]苯基}甲基)-N-[{3-氟-4-甲氧基吡啶-2-基}甲基]-3-(甲氧基甲基)吡唑-4-甲酰胺的3型。

[0261] 3型的XRPD衍射图(方法A)在图4中显示。

[0262] 峰位置表：

编号	位置[°2θ]	高度[cts]	相对强度[%]
1	4.7	18.7	2.2
2	5.3	16.8	2.0
3	7.0	848.9	100.0
4	9.5	147.1	17.3
5	10.3	166.1	19.6
6	10.8	108.6	12.8
7	11.4	68.6	8.1
8	12.0	68.0	8.0
9	13.0	18.4	2.2
10	14.1	246.1	29.0
11	15.0	70.5	8.3
12	16.0	65.6	7.7
13	16.3	170.5	20.1

[0263]

[0264]

14	17.2	71.3	8.4
15	17.8	100.7	11.9
16	18.2	260.7	30.7
17	18.6	71.3	8.4
18	19.8	64.9	7.6
19	20.2	103.0	12.1
20	20.9	53.3	6.3
21	21.5	85.4	10.1
22	22.4	96.6	11.4
23	23.4	167.3	19.7
24	24.1	344.1	40.5
25	24.4	235.3	27.7
26	25.3	379.9	44.8
27	25.6	182.6	21.5
28	26.2	141.3	16.6
29	26.7	92.0	10.8
30	28.0	71.8	8.5
31	29.9	41.2	4.9
32	33.1	17.9	2.1
33	35.8	13.7	1.6

[0265] 实施例4-1-({4-[(5-氟-2-氧代吡啶-1-基) 甲基] 苯基} 甲基)-N-[(3-氟-4-甲氧基吡啶-2-基) 甲基]-3-(甲氧基甲基) 吡唑-4-甲酰胺的4型

[0266] 制备1-({4-[(5-氟-2-氧代吡啶-1-基) 甲基] 苯基} 甲基)-N-[(3-氟-4-甲氧基吡啶-2-基) 甲基]-3-(甲氧基甲基) 吡唑-4-甲酰胺(10mg) 在90:10IPA/水(50μL) 中的浆液。通过2天的温度循环使浆液老化, 所述温度循环通过以下方式进行: 在平台上振荡, 同时将大气温度升至40℃达四小时, 然后关闭加热器/温育器的电源达四小时, 然后以该方式重复温度循环直到2天。

[0267] 然后, 将溶剂在环境温度下在氮气流下蒸发, 得到1-({4-[(5-氟-2-氧代吡啶-1-基) 甲基] 苯基} 甲基)-N-[(3-氟-4-甲氧基吡啶-2-基) 甲基]-3-(甲氧基甲基) 吡唑-4-甲酰胺的4型。

[0268] 4型的XRPD衍射图(方法A) 在图5中显示。

[0269] 峰位置表:

编号	位置[$^{\circ}2\theta$]	高度[cts]	相对强度[%]
1	4.8	3604.2	100.0
2	7.8	193.9	5.4
3	9.5	404.2	11.2
4	10.3	66.7	1.9
5	11.0	1004.9	27.9
6	11.7	214.9	6.0
7	12.7	118.00	3.3
8	12.9	33.6	0.9
9	14.3	721.1	20.0
10	14.8	230.6	6.4
11	15.3	441.1	12.2
[0270]	12	91.3	2.5
	13	248.9	6.9
	14	76.6	2.1
	15	61.6	1.7
	16	133.2	3.7
	17	271.7	7.5
	18	123.2	3.4
	19	93.0	2.6
	20	274.4	7.6
	21	242.7	6.7
	22	423.6	11.8
	23	98.9	2.7
	24	266.1	7.4
	25	160.8	4.5

[0271]	26	22.2	367.3	10.2
	27	22.6	190.6	5.3
	28	23.2	146.2	4.1
	29	23.5	138 .14	3.8
	30	24.0	352.2	9.8
	31	24.6	128 .63	3.6
	32	25.4	202.1	5.6
	33	26.1	95.8	2.7
	34	26.3	50.5	1.4
	35	26.8	229.8	6.4
	36	27.2	64.2	1.8
	37	27.8	49.4	1.4
	38	28.4	95.2	2.6
	39	29.2	151.5	4.2
	40	29.8	68.0	1.9
	41	31.1	53.1	1.5
	42	31.4	57.8	1.6
	43	32.4	36.9	1.0
	44	33.0	36.4	1.0
	45	33.8	35.1	1.0
	46	35.6	27.5	0.8
	47	37.1	16.9	0.5
	48	37.7	23.4	0.7
	49	38.2	20.8	0.6
	50	39.2	25.8	0.7

[0272] 实施例5-1-({4-[(5-氟-2-氧代吡啶-1-基) 甲基] 苯基} 甲基)-N-[(3-氟-4-甲氧基吡啶-2-基) 甲基]-3-(甲氧基甲基) 吡唑-4-甲酰胺盐酸盐的5型

[0273] 向THF (150μL) 中的1-({4-[(5-氟-2-氧代吡啶-1-基) 甲基] 苯基} 甲基)-N-[(3-氟-4-甲氧基吡啶-2-基) 甲基]-3-(甲氧基甲基) 吡唑-4-甲酰胺 (15mg) 中添加1.1当量的5M 盐酸。用手充分振摇混合物，并且使混合物温度在环境温度和40℃之间循环18-24小时。将

上清液倾析掉，并且通过在氮气下蒸发来干燥固体，得到1-($\{4-[5\text{-氟}-2\text{-氧代吡啶}-1\text{-基})\text{甲基}]\text{苯基}\}$ 甲基)-N-[$(3\text{-氟}-4\text{-甲氧基吡啶}-2\text{-基})\text{甲基}$]-3-(甲氧基甲基)吡唑-4-甲酰胺盐酸盐的5型。

[0274] 5型的XRPD衍射图(方法A)在图6中显示。

[0275] 1-($\{4-[5\text{-氟}-2\text{-氧代吡啶}-1\text{-基})\text{甲基}]\text{苯基}\}$ 甲基)-N-[$(3\text{-氟}-4\text{-甲氧基吡啶}-2\text{-基})\text{甲基}$]-3-(甲氧基甲基)吡唑-4-甲酰胺盐酸盐的5型还通过将上述程序中的THF替换为丙酮或乙腈来形成。

[0276] 实施例6-1-($\{4-[5\text{-氟}-2\text{-氧代吡啶}-1\text{-基})\text{甲基}]\text{苯基}\}$ 甲基)-N-[$(3\text{-氟}-4\text{-甲氧基吡啶}-2\text{-基})\text{甲基}$]-3-(甲氧基甲基)吡唑-4-甲酰胺盐酸盐的6型

[0277] 向乙酸乙酯($150\mu\text{L}$)中的1-($\{4-[5\text{-氟}-2\text{-氧代吡啶}-1\text{-基})\text{甲基}]\text{苯基}\}$ 甲基)-N-[$(3\text{-氟}-4\text{-甲氧基吡啶}-2\text{-基})\text{甲基}$]-3-(甲氧基甲基)吡唑-4-甲酰胺(15mg)中添加1.1当量的5M盐酸。用手充分振摇混合物，并且使混合物温度在环境温度和 40°C 之间循环18-24小时。使溶剂在氮气下蒸发，得到1-($\{4-[5\text{-氟}-2\text{-氧代吡啶}-1\text{-基})\text{甲基}]\text{苯基}\}$ 甲基)-N-[$(3\text{-氟}-4\text{-甲氧基吡啶}-2\text{-基})\text{甲基}$]-3-(甲氧基甲基)吡唑-4-甲酰胺盐酸盐的6型。

[0278] 6型的XRPD衍射图(方法A)在图7中显示。

[0279] 实施例7-1-($\{4-[5\text{-氟}-2\text{-氧代吡啶}-1\text{-基})\text{甲基}]\text{苯基}\}$ 甲基)-N-[$(3\text{-氟}-4\text{-甲氧基吡啶}-2\text{-基})\text{甲基}$]-3-(甲氧基甲基)吡唑-4-甲酰胺硫酸盐的7型

[0280] 向丙酮($150\mu\text{L}$)中的1-($\{4-[5\text{-氟}-2\text{-氧代吡啶}-1\text{-基})\text{甲基}]\text{苯基}\}$ 甲基)-N-[$(3\text{-氟}-4\text{-甲氧基吡啶}-2\text{-基})\text{甲基}$]-3-(甲氧基甲基)吡唑-4-甲酰胺(15mg)中添加1.1当量的6M硫酸。用手充分振摇混合物，并且使混合物温度在环境温度和 40°C 之间循环18-24小时。将上清液倾析掉，并且通过在氮气下蒸发来干燥固体，得到1-($\{4-[5\text{-氟}-2\text{-氧代吡啶}-1\text{-基})\text{甲基}]\text{苯基}\}$ 甲基)-N-[$(3\text{-氟}-4\text{-甲氧基吡啶}-2\text{-基})\text{甲基}$]-3-(甲氧基甲基)吡唑-4-甲酰胺硫酸盐的7型。

[0281] 7型的XRPD衍射图(方法A)在图8中显示。

[0282] 1-($\{4-[5\text{-氟}-2\text{-氧代吡啶}-1\text{-基})\text{甲基}]\text{苯基}\}$ 甲基)-N-[$(3\text{-氟}-4\text{-甲氧基吡啶}-2\text{-基})\text{甲基}$]-3-(甲氧基甲基)吡唑-4-甲酰胺硫酸盐的7型还通过将上述程序中的丙酮替换为乙酸乙酯、THF或乙腈来形成。

[0283] 实施例8-1-($\{4-[5\text{-氟}-2\text{-氧代吡啶}-1\text{-基})\text{甲基}]\text{苯基}\}$ 甲基)-N-[$(3\text{-氟}-4\text{-甲氧基吡啶}-2\text{-基})\text{甲基}$]-3-(甲氧基甲基)吡唑-4-甲酰胺磷酸盐的8型

[0284] 向丙酮($150\mu\text{L}$)中的1-($\{4-[5\text{-氟}-2\text{-氧代吡啶}-1\text{-基})\text{甲基}]\text{苯基}\}$ 甲基)-N-[$(3\text{-氟}-4\text{-甲氧基吡啶}-2\text{-基})\text{甲基}$]-3-(甲氧基甲基)吡唑-4-甲酰胺(15mg)中添加1.1当量的5M正磷酸。用手充分振摇混合物，并且使混合物温度在环境温度和 40°C 之间循环18-24小时。将上清液倾析掉，并且通过在氮气下蒸发来干燥固体，得到1-($\{4-[5\text{-氟}-2\text{-氧代吡啶}-1\text{-基})\text{甲基}]\text{苯基}\}$ 甲基)-N-[$(3\text{-氟}-4\text{-甲氧基吡啶}-2\text{-基})\text{甲基}$]-3-(甲氧基甲基)吡唑-4-甲酰胺磷酸盐的8型。

[0285] 8型的XRPD衍射图(方法A)在图9中显示。

[0286] 1-($\{4-[5\text{-氟}-2\text{-氧代吡啶}-1\text{-基})\text{甲基}]\text{苯基}\}$ 甲基)-N-[$(3\text{-氟}-4\text{-甲氧基吡啶}-2\text{-基})\text{甲基}$]-3-(甲氧基甲基)吡唑-4-甲酰胺磷酸盐的8型还通过将上述程序中的丙酮替换为乙腈来形成。

[0287] 实施例9-1-({4-[5-氟-2-氧代吡啶-1-基]甲基}苯基)甲基)-N-[3-氟-4-甲氧基吡啶-2-基]甲基]-3-(甲氧基甲基)吡唑-4-甲酰胺甲磺酸盐的9型

[0288] 向乙酸乙酯(150 μ L)中的1-({4-[5-氟-2-氧代吡啶-1-基]甲基}苯基)甲基)-N-[3-氟-4-甲氧基吡啶-2-基]甲基]-3-(甲氧基甲基)吡唑-4-甲酰胺(15mg)中添加1.1当量的甲磺酸。用手充分振摇混合物，并且使混合物温度在环境温度和40℃之间循环18-24小时。将上清液倾析掉，并且通过在氮气下蒸发来干燥固体，得到1-({4-[5-氟-2-氧代吡啶-1-基]甲基}苯基)甲基)-N-[3-氟-4-甲氧基吡啶-2-基]甲基]-3-(甲氧基甲基)吡唑-4-甲酰胺甲磺酸盐的9型。

[0289] 9型的XRPD衍射图(方法A)在图10中显示。

[0290] 1-({4-[5-氟-2-氧代吡啶-1-基]甲基}苯基)甲基)-N-[3-氟-4-甲氧基吡啶-2-基]甲基]-3-(甲氧基甲基)吡唑-4-甲酰胺甲磺酸盐的9型还通过将上述程序中的乙酸乙酯替换为丙酮来形成。

[0291] 实施例10-1-({4-[5-氟-2-氧代吡啶-1-基]甲基}苯基)甲基)-N-[3-氟-4-甲氧基吡啶-2-基]甲基]-3-(甲氧基甲基)吡唑-4-甲酰胺甲磺酸盐的10型

[0292] 向THF(150 μ L)中的1-({4-[5-氟-2-氧代吡啶-1-基]甲基}苯基)甲基)-N-[3-氟-4-甲氧基吡啶-2-基]甲基]-3-(甲氧基甲基)吡唑-4-甲酰胺(15mg)中添加1.1当量的甲磺酸。用手充分振摇混合物，并且使混合物温度在环境温度和40℃之间循环18-24小时。将上清液倾析掉，并且通过在氮气下蒸发来干燥固体，得到1-({4-[5-氟-2-氧代吡啶-1-基]甲基}苯基)甲基)-N-[3-氟-4-甲氧基吡啶-2-基]甲基]-3-(甲氧基甲基)吡唑-4-甲酰胺甲磺酸盐的10型。

[0293] 10型的XRPD衍射图(方法A)在图11中显示。

[0294] 实施例11-1-({4-[5-氟-2-氧代吡啶-1-基]甲基}苯基)甲基)-N-[3-氟-4-甲氧基吡啶-2-基]甲基]-3-(甲氧基甲基)吡唑-4-甲酰胺甲苯磺酸盐的11型

[0295] 向丙酮(150 μ L)中的1-({4-[5-氟-2-氧代吡啶-1-基]甲基}苯基)甲基)-N-[3-氟-4-甲氧基吡啶-2-基]甲基]-3-(甲氧基甲基)吡唑-4-甲酰胺(15mg)中添加1.1当量的对甲苯磺酸。用手充分振摇混合物，并且使混合物温度在环境温度和40℃之间循环18-24小时。将上清液倾析掉，并且通过在氮气下蒸发来干燥固体，得到1-({4-[5-氟-2-氧代吡啶-1-基]甲基}苯基)甲基)-N-[3-氟-4-甲氧基吡啶-2-基]甲基]-3-(甲氧基甲基)吡唑-4-甲酰胺甲苯磺酸盐的11型。

[0296] 11型的XRPD衍射图(方法A)在图12中显示。

[0297] 1-({4-[5-氟-2-氧代吡啶-1-基]甲基}苯基)甲基)-N-[3-氟-4-甲氧基吡啶-2-基]甲基]-3-(甲氧基甲基)吡唑-4-甲酰胺甲苯磺酸盐的11型还通过将上述程序中的丙酮替换为乙酸乙酯、THF或乙腈来形成。

[0298] 实施例12-1-({4-[5-氟-2-氧代吡啶-1-基]甲基}苯基)甲基)-N-[3-氟-4-甲氧基吡啶-2-基]甲基]-3-(甲氧基甲基)吡唑-4-甲酰胺乙二磺酸盐的12型

[0299] 向乙腈(150 μ L)中的1-({4-[5-氟-2-氧代吡啶-1-基]甲基}苯基)甲基)-N-[3-氟-4-甲氧基吡啶-2-基]甲基]-3-(甲氧基甲基)吡唑-4-甲酰胺(15mg)中添加1.1当量的1,2-乙二磺酸。用手充分振摇混合物，并且使混合物温度在环境温度和40℃之间循环18-24小时。将上清液倾析掉，并且通过在氮气下蒸发来干燥固体，得到1-({4-[5-氟-2-氧代吡啶-1-基]甲基}苯基)甲基)-N-[3-氟-4-甲氧基吡啶-2-基]甲基]-3-(甲氧基甲基)吡唑-4-甲酰胺乙二磺酸盐的12型。

1-基)甲基]苯基}甲基)-N-[(3-氟-4-甲氧基吡啶-2-基)甲基]-3-(甲氧基甲基)吡唑-4-甲酰胺乙二磺酸盐的12型。

[0300] 12型的XRPD衍射图(方法A)在图13中显示。

[0301] 1-({4-[(5-氟-2-氧代吡啶-1-基)甲基]苯基}甲基)-N-[(3-氟-4-甲氧基吡啶-2-基)甲基]-3-(甲氧基甲基)吡唑-4-甲酰胺乙二磺酸盐的12型还通过将上述程序中的乙腈替换为乙酸乙酯、THF或丙酮来形成。

[0302] 实施例13-1- ({4-[(5-氟-2-氧代吡啶-1-基)甲基]苯基}甲基)-N-[(3-氟-4-甲氧基吡啶-2-基)甲基]-3-(甲氧基甲基)吡唑-4-甲酰胺苯磺酸盐的13型

[0303] 向丙酮(150 μ L)中的1-({4-[(5-氟-2-氧代吡啶-1-基)甲基]苯基}甲基)-N-[(3-氟-4-甲氧基吡啶-2-基)甲基]-3-(甲氧基甲基)吡唑-4-甲酰胺(15mg)中添加1.1当量的苯磺酸(作为苯磺酸(100mg)在丙酮(1mL)中的储备溶液)。用手充分振摇混合物,并且使混合物温度在环境温度和40℃之间循环18-24小时。将上清液倾析掉,并且通过在氮气下蒸发来干燥固体,得到1-({4-[(5-氟-2-氧代吡啶-1-基)甲基]苯基}甲基)-N-[(3-氟-4-甲氧基吡啶-2-基)甲基]-3-(甲氧基甲基)吡唑-4-甲酰胺苯磺酸盐的13型。

[0304] 13型的XRPD衍射图(方法A)在图14中显示。

[0305] 1-({4-[(5-氟-2-氧代吡啶-1-基)甲基]苯基}甲基)-N-[(3-氟-4-甲氧基吡啶-2-基)甲基]-3-(甲氧基甲基)吡唑-4-甲酰胺苯磺酸盐的13型还通过将上述程序中的丙酮替换为乙酸乙酯、THF或乙腈来形成。

[0306] 实施例14-1- ({4-[(5-氟-2-氧代吡啶-1-基)甲基]苯基}甲基)-N-[(3-氟-4-甲氧基吡啶-2-基)甲基]-3-(甲氧基甲基)吡唑-4-甲酰胺的14型

[0307] 将乙腈(2.35kg)中的1-({4-[(5-氟-2-氧代吡啶-1-基)甲基]苯基}甲基)-N-[(3-氟-4-甲氧基吡啶-2-基)甲基]-3-(甲氧基甲基)吡唑-4-甲酰胺(200g)在150rpm下搅拌并且加热至79℃,得到混浊的溶液。然后进行加工(polishing)过滤。将所得溶液保持于大约55℃的温度下,并且用1-({4-[(5-氟-2-氧代吡啶-1-基)甲基]苯基}甲基)-N-[(3-氟-4-甲氧基吡啶-2-基)甲基]-3-(甲氧基甲基)吡唑-4-甲酰胺的1型(1.01g)接种。备选地,所得溶液可以已经用1-({4-[(5-氟-2-氧代吡啶-1-基)甲基]苯基}甲基)-N-[(3-氟-4-甲氧基吡啶-2-基)甲基]-3-(甲氧基甲基)吡唑-4-甲酰胺的14型接种。将所得悬浮液在50-55℃搅拌30分钟,之后冷却至0-5℃(以0.5℃/min的速率)并且搅拌30分钟。将固体通过过滤分离,用冷(0-5℃)的乙腈洗涤,并且在真空下干燥,得到1-({4-[(5-氟-2-氧代吡啶-1-基)甲基]苯基}甲基)-N-[(3-氟-4-甲氧基吡啶-2-基)甲基]-3-(甲氧基甲基)吡唑-4-甲酰胺的14型。

[0308] 14型的XRPD衍射图(方法B)在图15中显示。

[0309] 峰位置表:

编号	位置[°2θ]	高度[cts]	相对强度[%]
[0310]	1	6.1	1350.0
	2	9.6	1410.0
	3	11.3	686.0
	4	12.0	2050.0
	5	12.2	5660.0
	6	13.2	6890.0
	7	14.2	1210.0
	8	14.5	991.0
	9	15.4	5740.0
	10	16.8	446.0
	11	18.0	20200.0
	12	18.2	8280.0
	13	18.6	3740.0
	14	19.5	1560.0
	15	20.7	12600.0
	16	21.4	663.0
	17	22.4	3440.0

	18	23.2	40500.0	100.0
	19	23.3	35300.0	87.2
	20	24.2	19500.0	48.1
	21	24.4	22800.0	56.3
	22	25.0	2450.0	6.0
	23	25.7	10000.0	24.7
	24	26.2	9560.0	23.6
	25	26.6	1590.0	3.9
	26	27.1	677.0	1.7
	27	27.7	6300.0	15.6
	28	28.3	4950.0	12.2
	29	29.1	14000.0	34.6
	30	29.9	903.0	2.2
	31	30.5	5820.0	14.4
[0311]	32	31.2	1320.0	3.3
	33	32.2	855.0	2.1
	34	33.3	1490.0	3.7
	35	33.8	820.0	2.0
	36	35.1	641.0	1.6
	37	35.9	870.0	2.1
	38	36.3	986.0	2.4
	39	36.8	764.0	1.9
	40	37.2	615.0	1.5
	41	38.3	1140.0	2.8
	42	39.3	230.0	0.6
	43	39.7	781.0	1.9
	44	41.3	750.0	1.9
	45	42.3	467.0	1.2
	46	43.2	573.0	1.4

[0312]	47	43.4	693.0	1.7
	48	44.5	383.0	0.9

[0313] 差示扫描量热法(DSC)

[0314] 14型的DSC数据在图16中显示。

[0315] 实施例14A-1-({4-[5-氟-2-氧代吡啶-1-基]甲基}苯基)甲基)-N-[3-氟-4-甲氧基吡啶-2-基]甲基]-3-(甲氧基甲基)吡唑-4-甲酰胺的14型

[0316] 将1-({4-[5-氟-2-氧代吡啶-1-基]甲基}苯基)甲基)-N-[3-氟-4-甲氧基吡啶-2-基]甲基]-3-(甲氧基甲基)吡唑-4-甲酰胺盐酸盐的5型(5.4mg)悬浮于pH 7.4柠檬酸-磷酸钠缓冲液(0.5mL)(通过将0.1M柠檬酸溶液(4.5ml)转移至50ml容量瓶中并且用0.2M磷酸氢二钠定容而制备)中。将悬浮液在25°C/750rpm下振荡24小时。对混合物进行pH检查，并且在24小时时间段内用0.2M NaOH周期地调节以保持在pH 7.4±0.1范围内。将混合物过滤，并且保留残余物固体用于XRPD。XRPD鉴定固体残余物为1-({4-[5-氟-2-氧代吡啶-1-基]甲基}苯基)甲基)-N-[3-氟-4-甲氧基吡啶-2-基]甲基]-3-(甲氧基甲基)吡唑-4-甲酰胺的14型。

[0317] 14型的XRPD衍射图(方法D)在图17中显示。

[0318] 峰位置表：

编号	位置[°2θ]	相对强度[%]
1	6	8.4
2	9.6	25.1
3	11.3	11.6
4	13.3	100
5	14.2	31.5
6	14.5	20.4
7	15.4	27.1
8	16.9	8.8
9	18	41.1
10	18.7	21.7

[0320]	11	19.5	27.1
	12	20.6	20.6
	13	20.8	34.7
	14	21	19.8
	15	21.3	13.8
	16	21.6	10.6
	17	22.4	15.7
	18	22.7	25.4
	19	23.2	67.2
	20	23.4	32.3
	21	24.1	18.9
	22	24.4	11
	23	25	11.3
	24	25.5	17.2
	25	25.7	24.7
	26	26.3	11.8
	27	26.6	13.6
	28	27.1	8.6
	29	27.7	23.7
	30	28.3	10.6
	31	29.1	19.4
	32	29.7	10
	33	29.9	8
	34	30.5	7.6
	35	31.3	9

[0321] 实施例15-1-({4-[(5-氟-2-氧代吡啶-1-基) 甲基] 苯基} 甲基)-N-[(3-氟-4-甲氧基吡啶-2-基) 甲基]-3-(甲氧基甲基) 吡唑-4-甲酰胺盐酸盐的15型

[0322] 在高达70℃下将1-({4-[(5-氟-2-氧代吡啶-1-基) 甲基] 苯基} 甲基)-N-[(3-氟-4-甲氧基吡啶-2-基) 甲基]-3-(甲氧基甲基) 吡唑-4-甲酰胺(2.002g)在乙腈(20ml)中悬浮并且搅拌大约5小时。向悬浮液中添加1.1当量的乙腈中的5.8M盐酸(通过用乙腈稀释37%

HC1而制备)。将所得溶液搅拌15分钟,然后使其冷却至室温。将所得悬浮液以4小时的循环在室温至40℃的温育箱中进行温度循环达23小时。将悬浮液过滤,用乙腈洗涤,并且在真空下干燥,得到1-({4-[(5-氟-2-氧代吡啶-1-基) 甲基] 苯基} 甲基) -N-[(3-氟-4-甲氧基吡啶-2-基) 甲基]-3-(甲氧基甲基) 吡唑-4-甲酰胺盐酸盐的15型。

[0323] 15型的XRPD衍射图(方法C)在图18中显示。

[0324] 峰位置表:

编号	位置[°2θ]	相对强度[%]
1	9.2	10.0
2	10.0	100.0
3	10.7	18.2
4	12.4	45.8
5	13.9	39.2
6	14.8	6.1
7	15.8	10.7
8	16.6	17.5
9	17.4	7.0
10	18.4	12.2
11	18.6	11.0
12	18.9	12.0
13	20.0	38.3
14	20.5	5.6
15	21.3	14.1
16	21.9	15.2
17	22.1	12.0
18	22.7	12.4
19	24.2	10.5

[0325]

[0326]	20	24.8	59.2
	21	25.2	14.3
	22	25.8	13.7
	23	27.0	15.1
	24	27.2	19.7
	25	27.8	11.7
	26	28.3	6.2
	27	28.5	7.0
	28	28.9	7.5
	29	29.1	7.5
	30	29.4	7.3
	31	29.5	8.3
	32	30.4	9.4
	33	31.8	10.2

[0327] 热重量分析和差示扫描量热法

[0328] 15型的TGA和DSC数据在图19中显示。

[0329] 实施例15A-1-({4-[(5-氟-2-氧代吡啶-1-基) 甲基] 苯基} 甲基)-N-[(3-氟-4-甲氧基吡啶-2-基) 甲基]-3-(甲氧基甲基) 吡唑-4-甲酰胺盐酸盐的15型

[0330] 在搅拌的同时,在65°C,将1-({4-[(5-氟-2-氧代吡啶-1-基) 甲基] 苯基} 甲基)-N-[(3-氟-4-甲氧基吡啶-2-基) 甲基]-3-(甲氧基甲基) 吡唑-4-甲酰胺(2.5g)溶解在乙腈(50mL)中。向溶液中加入水中的37%HCl(443μl)。将混合物在65°C保持1小时。在16小时内将样品以线性冷却速率冷却至10°C。将物料在室温在真空下干燥16小时。

[0331] 15型的XRPD衍射图(方法B)在图20中显示。

[0332] 生物学方法

[0333] 式A的化合物抑制血浆激肽释放酶的能力可以使用以下生物学测定确定。还提供了参考化合物即W02016/083820实施例41(N-[(3-氟-4-甲氧基吡啶-2-基) 甲基]-3-(甲氧基甲基)-1-({4-[(2-氧代吡啶-1-基) 甲基] 苯基} 甲基) 吡唑-4-甲酰胺)的数据用于比较目的。

[0334] 血浆激肽释放酶的IC₅₀的确定

[0335] 血浆激肽释放酶体外抑制活性使用标准公开的方法确定(参见例如Johansen等人,Int.J.Tiss.Reac.1986,8,185;Shori等人,Biochem.Pharmacol.,1992,43,1209;Stü rzebecher等人,Biol.Chem.Hoppe-Seyler,1992,373,1025)。将人血浆激肽释放酶(Protagen)与荧光底物H-DPro-Phe-Arg-AFC和各种浓度的测试化合物在25°C温育。残留的酶活性(初始反应速率)通过测量在410nm的光学吸光度的变化来确定,并且确定测试化合

物的IC₅₀值。

[0336] 从该测定获得的数据在表1中显示。

[0337] 进一步筛选化合物对于相关酶KLK1的抑制活性。化合物抑制KLK1的能力可以使用以下生物学测定确定：

[0338] KLK1的IC₅₀的确定

[0339] KLK1体外抑制活性使用标准公开的方法确定(参见例如Johansen等人,Int.J.Tiss.Reac.1986,8,185;Shori等人,Biochem.Pharmacol.,1992,43,1209;Stürzebecher等人,Biol.Chem.Hoppe-Seyler,1992,373,1025)。将人KLK1(Callbiochem)与荧光底物H-DVal-Leu-Arg-AFC和各种浓度的测试化合物在25℃温育。残留的酶活性(初始反应速率)通过测量在410nm的光学吸光度的变化来确定,并且确定测试化合物的IC₅₀值。

[0340] 从该测定获得的数据在表1中显示。

[0341] 还筛选化合物对于相关酶FXIa的抑制活性。化合物抑制FXIa的能力可以使用以下生物学测定确定：

[0342] FXIa的%抑制的确定

[0343] FXIa体外抑制活性使用标准公开的方法确定(参见例如Johansen等人,Int.J.Tiss.Reac.1986,8,185;Shori等人,Biochem.Pharmacol.,1992,43,1209;Stürzebecher等人,Biol.Chem.Hoppe-Seyler,1992,373,1025)。将人FXIa(Enzyme Research Laboratories)与荧光底物Z-Gly-Pro-Arg-AFC和40μM的测试化合物(备选地,各种浓度的测试化合物以确定IC₅₀)在25℃温育。残留的酶活性(初始反应速率)通过测量在410nm的光学吸光度的变化来确定,并且确定测试化合物的IC₅₀值。

[0344] 从该测定获得的数据在表1中显示。

[0345] 还筛选化合物对于相关酶FXIIa的抑制活性。化合物抑制FXIIa的能力可以使用以下生物学测定确定：

[0346] FXIIa的IC₅₀的确定

[0347] 因子XIIa体外抑制活性使用标准公开的方法确定(参见例如Shori等人,Biochem.Pharmacol.,1992,43,1209;Baeriswyl等人,ACS Chem.Biol.,2015,10(8) 1861;Bouckaert等人,European Journal of Medicinal Chemistry 110 (2016) 181)。将人因子XIIa(Enzyme Research Laboratories)与荧光底物H-DPro-Phe-Arg-AFC和各种浓度的测试化合物在25℃温育。残留的酶活性(初始反应速率)通过测量在410nm的光学吸光度的变化来确定,并且确定测试化合物的IC₅₀值。

[0348] 从该测定获得的数据在表1中显示。

[0349] 表1

化合物	IC₅₀ (人 PKal) nM	IC₅₀ (人 KLK1) nM	IC₅₀ (人 FXIa) nM	% 抑制 @ 40 μM (人 FXIa)	IC₅₀ (人 FXIIa) nM
WO2016/083820 的实施例 41	3.3	>40,000	>40,000	0	>40,000
式 A 的化合物	6.7	>40,000	>40,000	7	>40,000

[0351] 酶选择性的确定

[0352] 使用适当荧光底物测定人丝氨酸蛋白酶纤溶酶、凝血酶和胰蛋白酶的酶活性。蛋白酶活性通过监测在5分钟内从底物释放的荧光的累积进行测量。每分钟荧光增加的线性速率表示为百分比(%)活性。每种底物裂解的Km通过Michaelis-Menten方程的标准转换确定。以底物Km浓度进行化合物抑制剂测定并且将活性计算为获得未抑制的酶活性(100%)的50%抑制的抑制剂的浓度(IC₅₀)。

[0353] 从这些测定获得的数据在下表2中显示：

[0354] 表2-选择性数据

化合物	IC₅₀ (nM)		
	纤溶酶	凝血酶	胰蛋白酶
式 A 的化合物	>40000	>40000	>40000

[0356] 溶解度数据

[0357] 在水和0.1N HCl(aq)中确定溶解度。在37°C在摇床(500rpm)上将测试化合物以1mg/mL温育24小时。在1、4和24小时采样并且以15,000g离心10分钟。通过LCMS针对标准曲线确定上清液中的测试化合物浓度。结果在下表3中显示。

[0358] 表3-溶解度数据

化合物	0.1N HCl (aq) (mg/mL)	水 (mg/mL)
式A的化合物	0.94	0.29

[0360] 体外ADME数据

[0361] 使用Caco-2模型针对口服吸收确定体外渗透性。方法修改自标准公开的方法(Wang Z, Hop C.E., Leung K.H. 和Pang J. (2000) J Mass Spectrom 35 (1); 71-76)。在其中在应用于渗透性测定之前向每个插入物接种200,000个细胞并且保持3天的Biocoat™ HTS纤维状胶原蛋白24孔多孔插入物系统(1.0μm, PET膜, Corning 354803)中建立Caco-2单层。对于测定, 将50μM测试化合物添加到插入物的顶面并且在37°C在摇床(120rpm)上温育1小时。通过在1小时温育之后借助LCMS测量两个区室中的测试物品来确定顶部到基底外侧的输送。通过两种方法确认Caco-2单层的完整性: (i) 实验前后的经上皮电阻(transepithelial electrical resistance, TEER)的比较和(ii) 荧光黄通量(Lucifer Yellow flux)的评估。结果在下表4中显示。

[0362] 使用标准公开的方法(Obach RS (1999) Drug Metab Dispos 27 (11); 1350-135)确

定代谢稳定性。将人肝脏微粒体(1mg/mL;Corning)与5 μ M测试化合物在37℃在摇床(150rpm)上温育。在0和60分钟取样。通过LCMS峰面积比率确定60分钟时剩余的测试化合物百分比。结果在下表4中显示。

[0363] 表4-体外ADME数据

	化合物	60分钟时的剩余%	Caco-2 (Papp $\times 10^{-6}$ cm/s)
[0364]	WO2016/083820 的实施例 41	未测定	9
	式 A 的化合物	25%	24

[0365] 药代动力学

[0366] 在雄性Sprague-Dawley大鼠中单个口服剂量后,进行表5中的化合物的药代动力学研究以评价药代动力学。向两只大鼠给予测试化合物在赋形剂中的标称2mg/mL(10mg/kg)组合物的5mL/kg单次口服剂量。给药后,在24小时的时间段内收集血液样品。取样时间为5、15和30分钟,然后是1、2、4、6、8和12小时。收集后,将血液样品离心并且通过LCMS分析血浆级分中的测试化合物浓度。从这些研究获得的口服暴露数据在下表5中显示:

[0367] 表5-口服暴露数据

	化合物	赋形剂	口服剂量 (mg/kg)	Cmax (ng/mL)	Tmax (min)
[0368]	WO2016/083820 的实施例 41	10% DMSO / 10%克列莫佛 (cremophor)/ 80% SWFI	10.5	1534	180
	式 A 的化合物	10% DMSO / 10%克列莫佛/ 80% SWFI	4.3	756	38

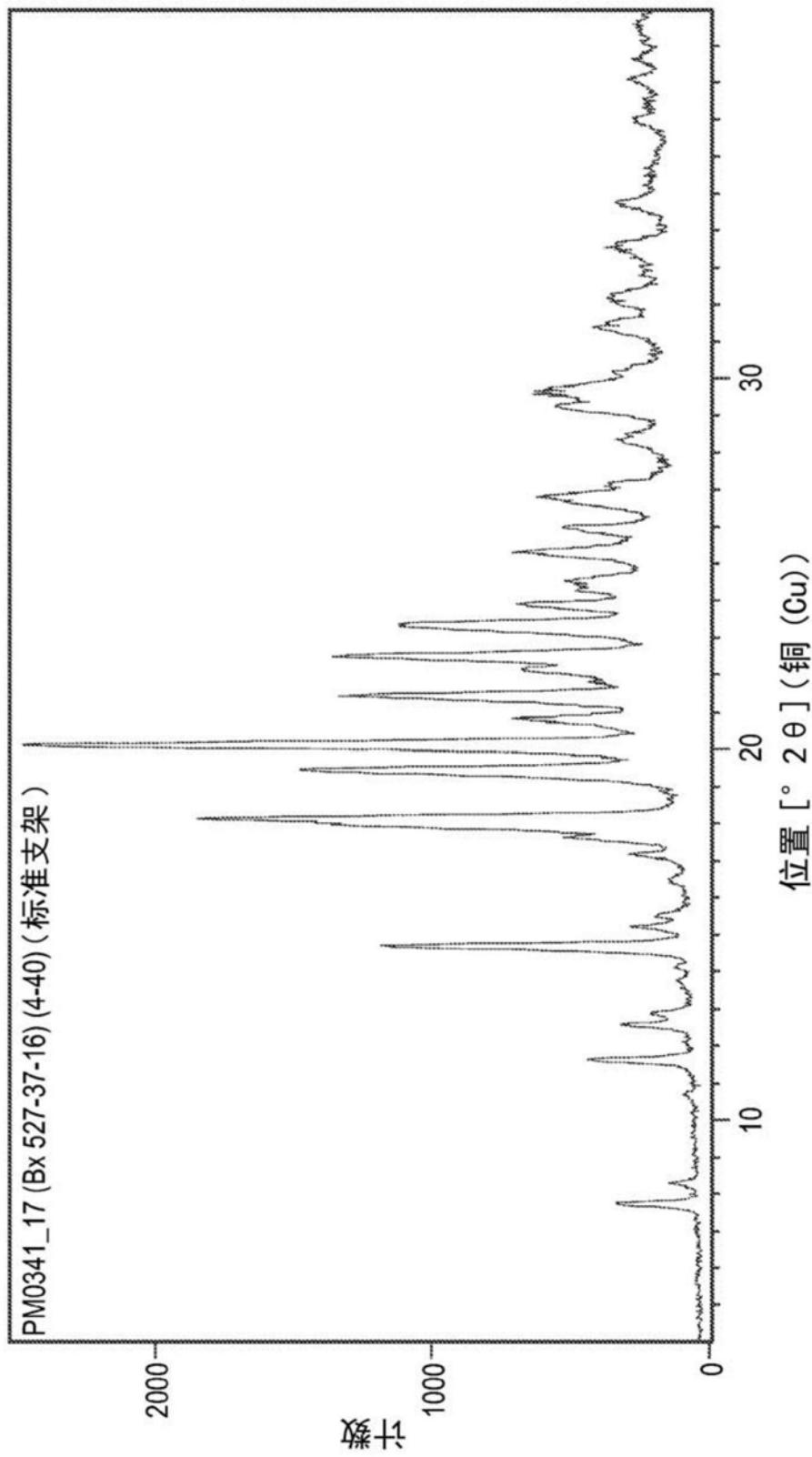
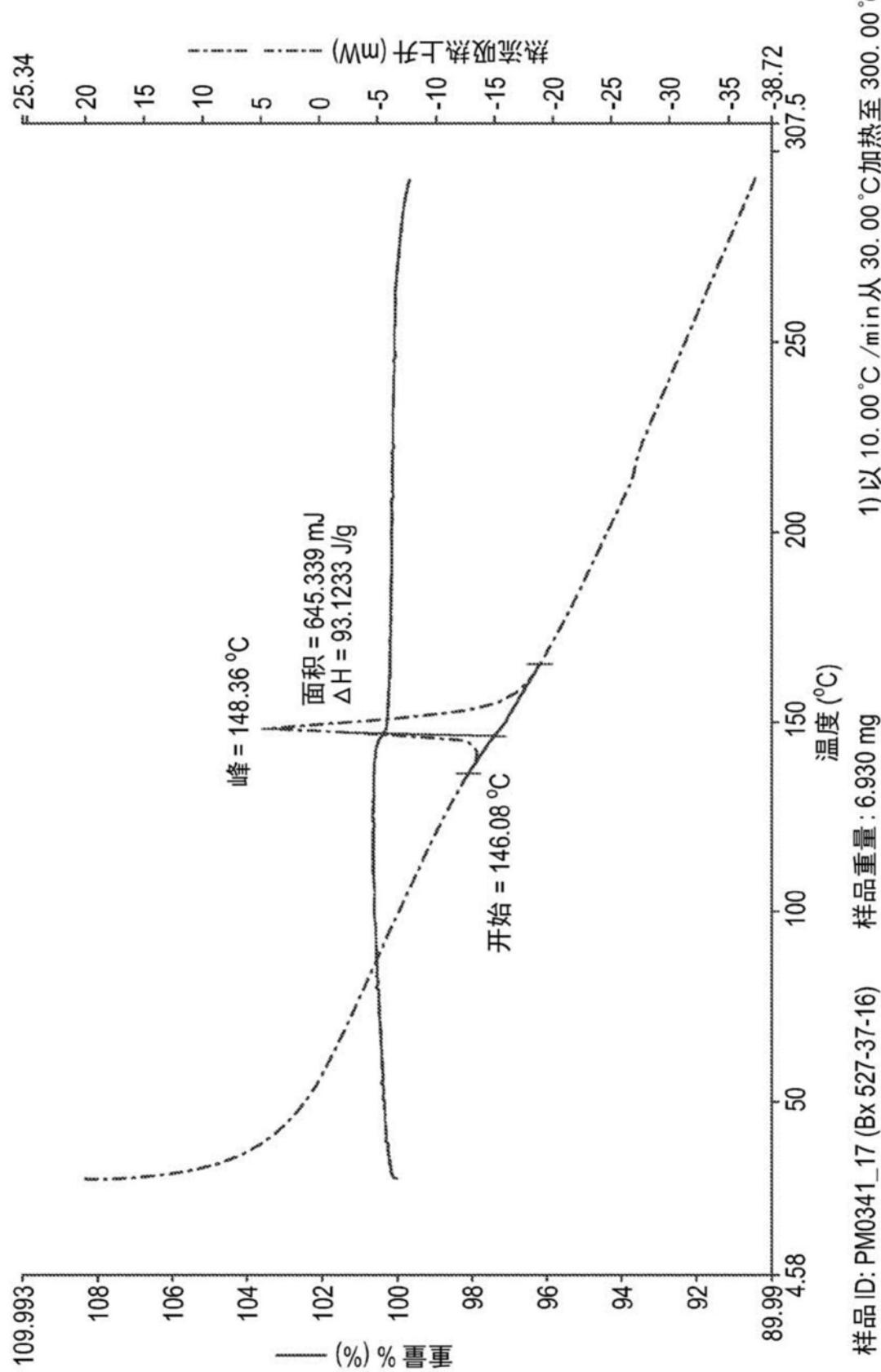


图1



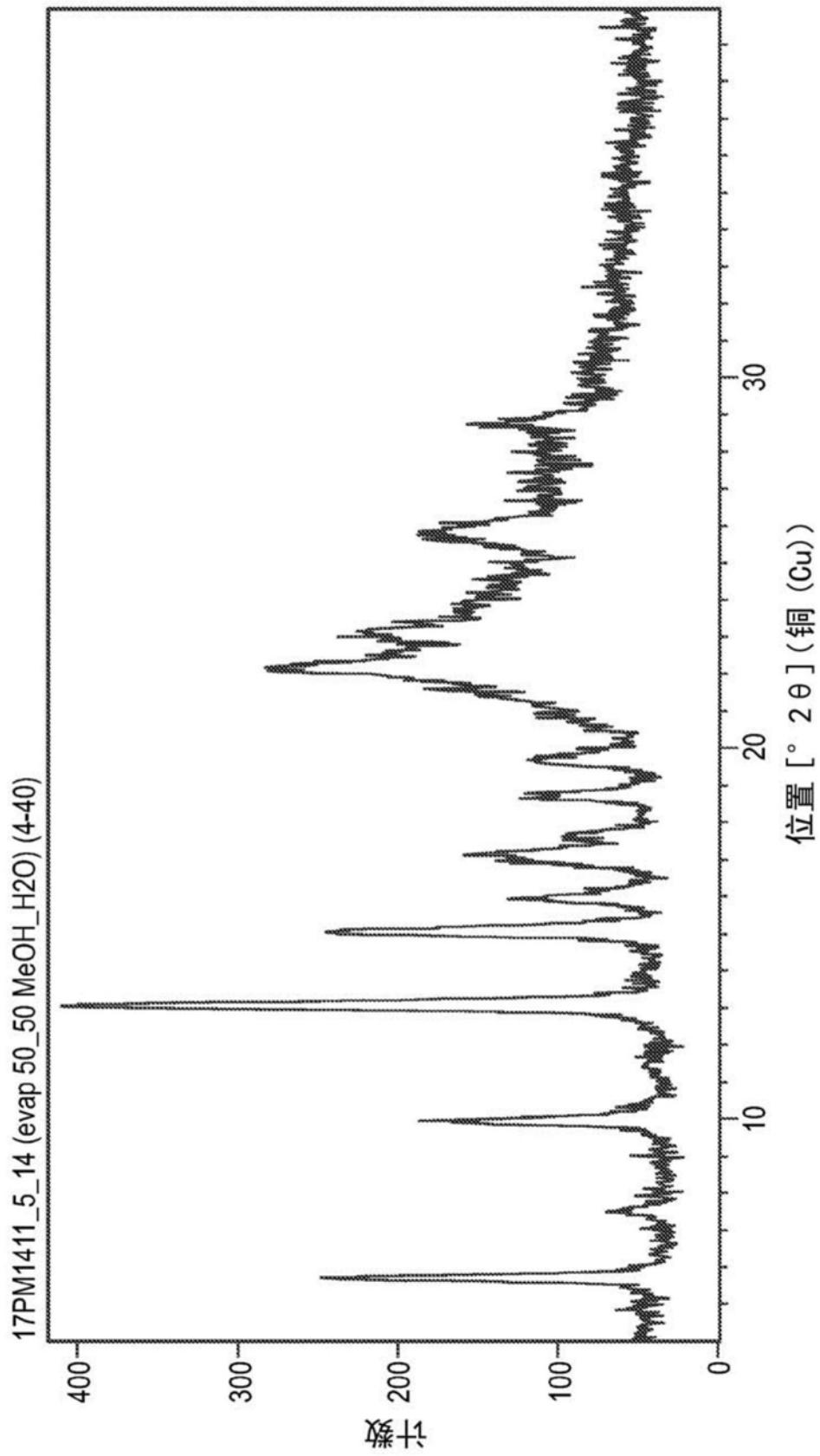


图3

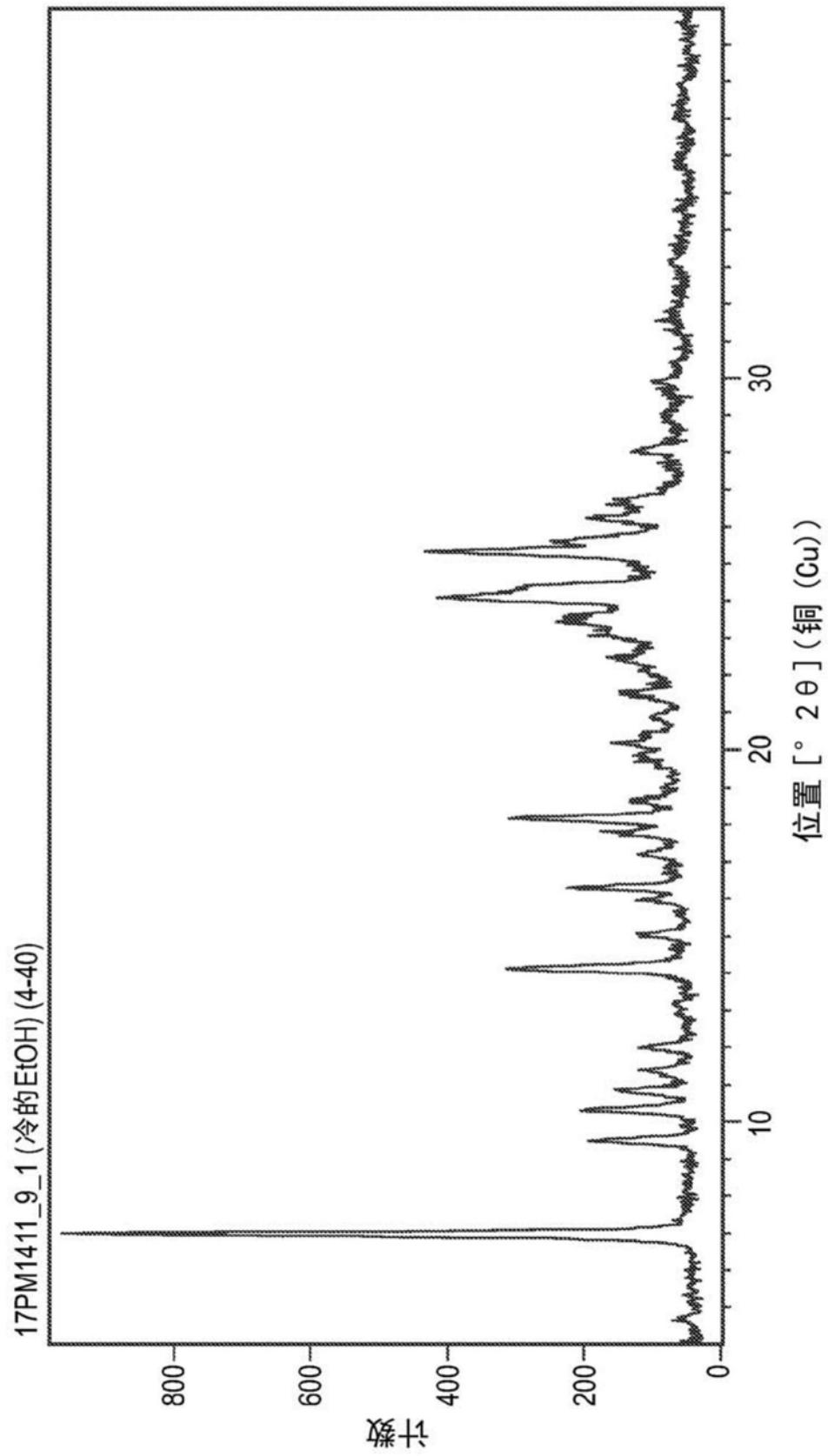


图4

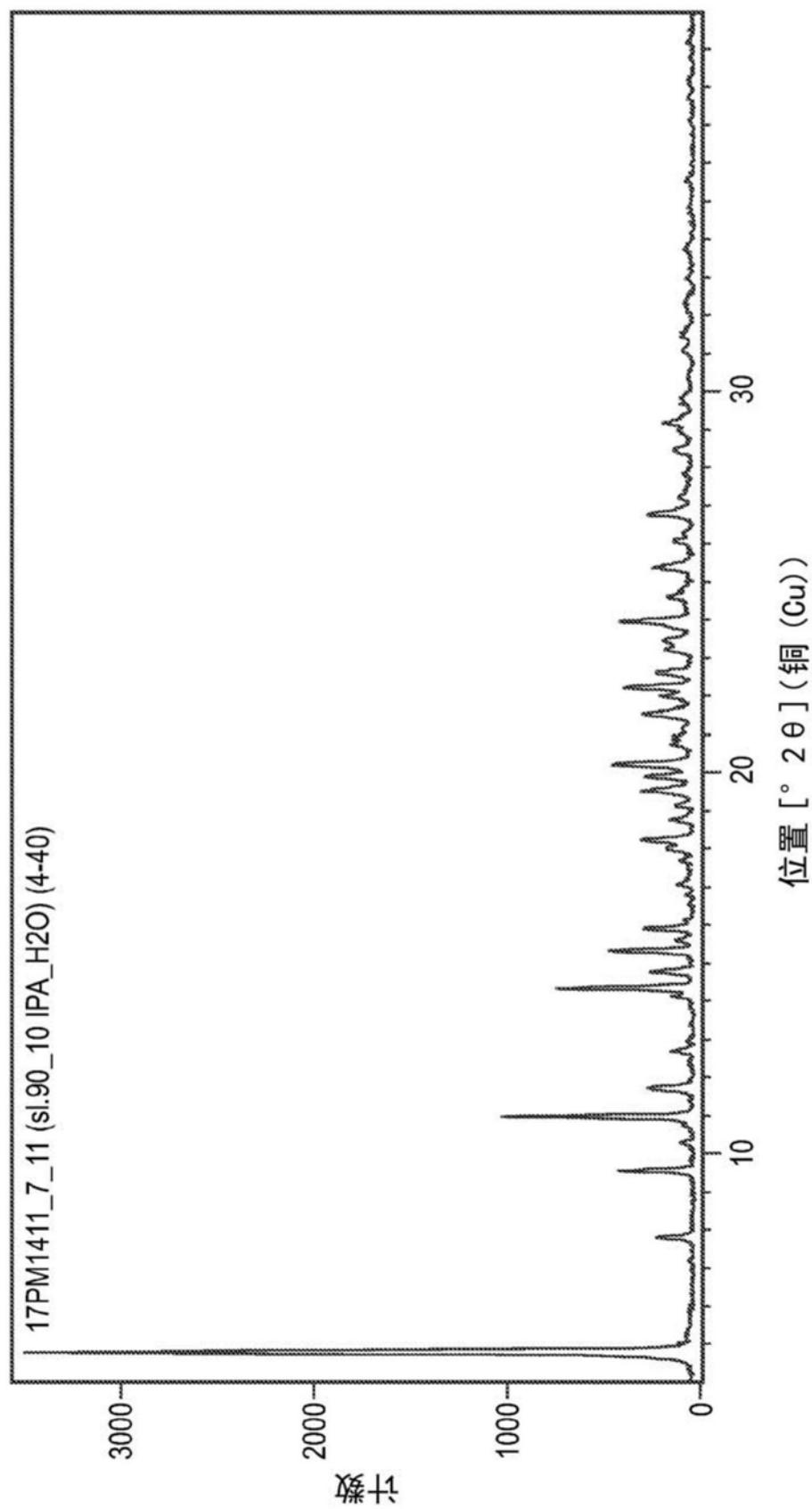


图5

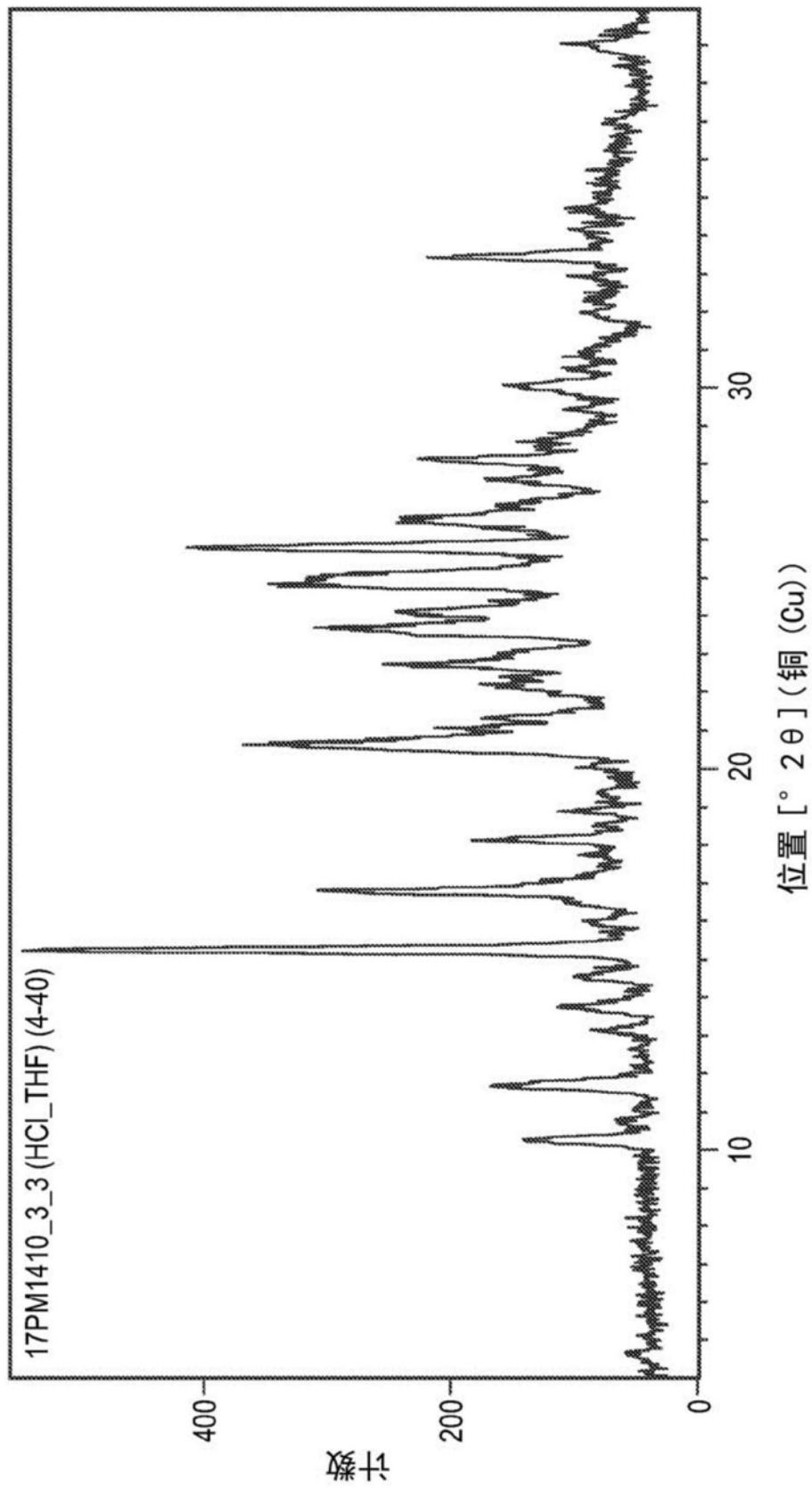


图6

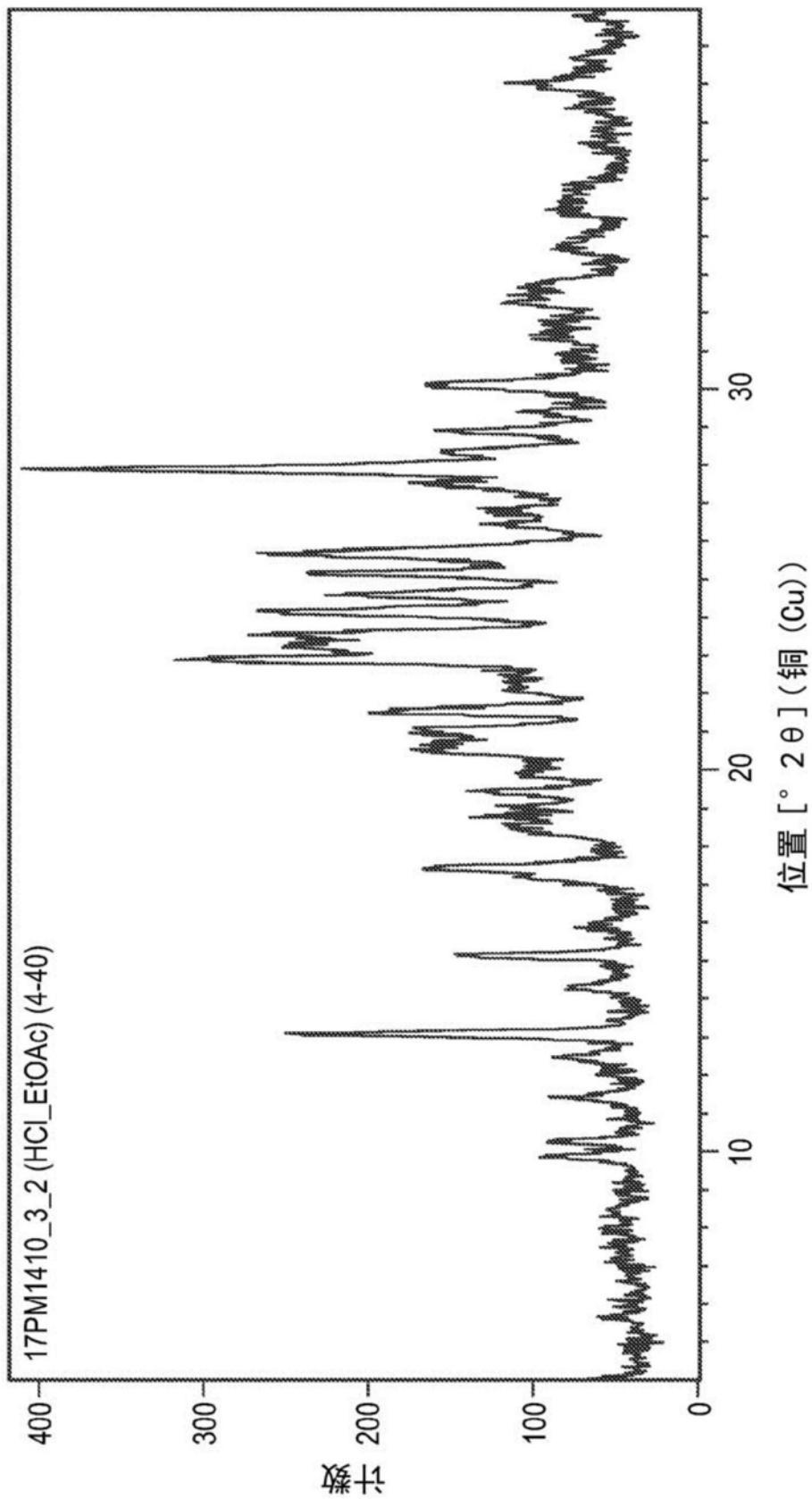


图7

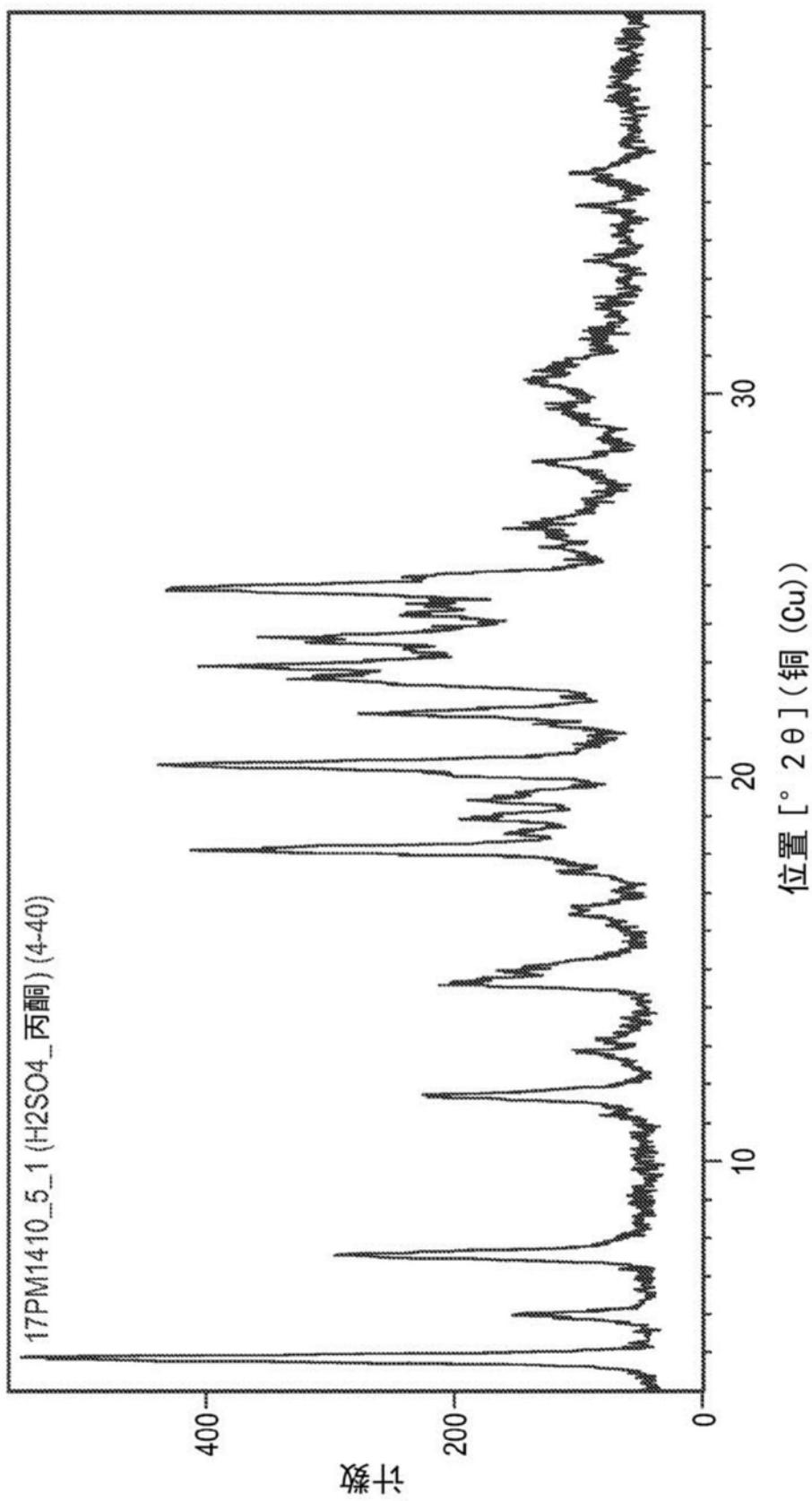


图8

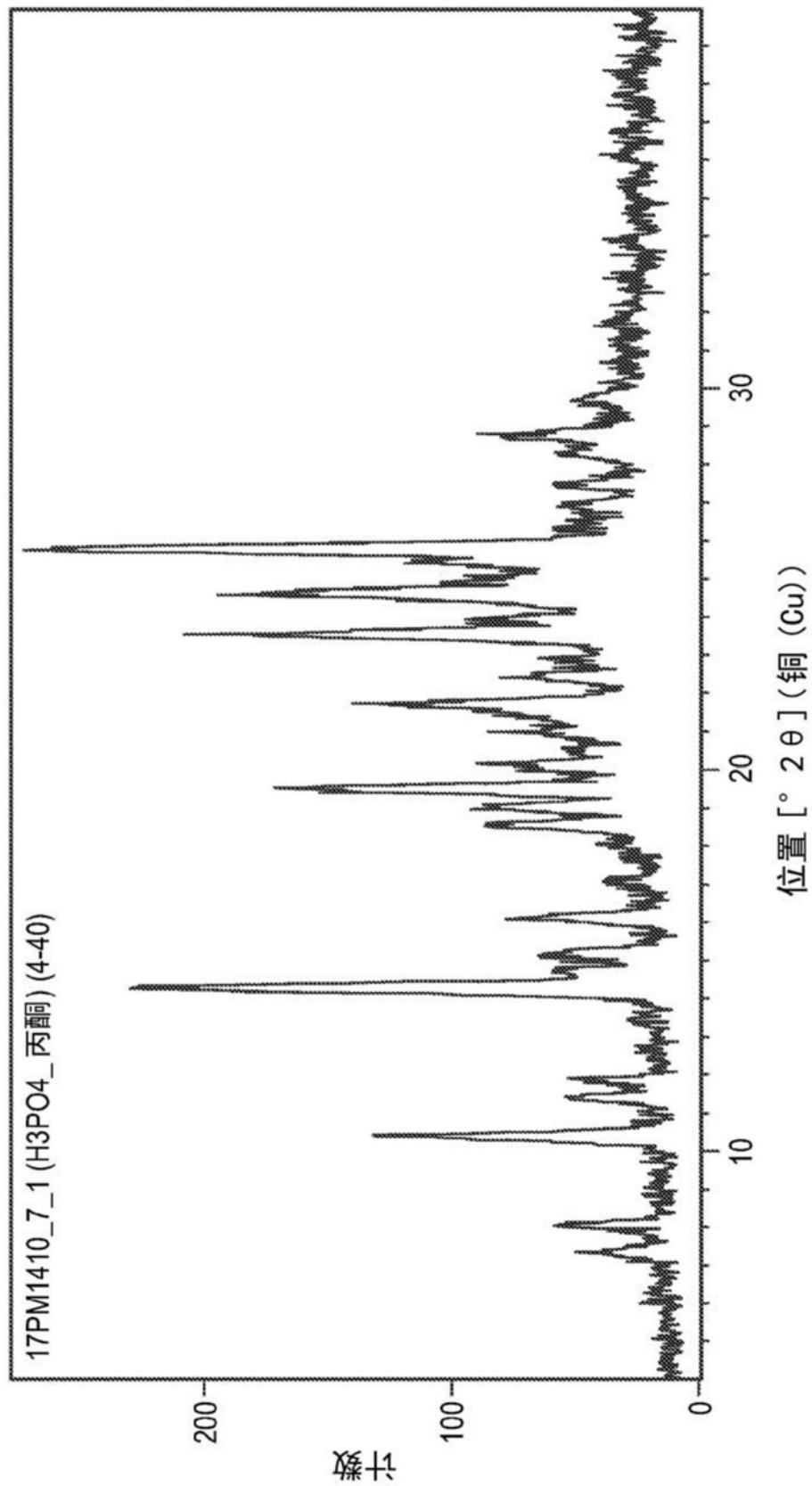


图9

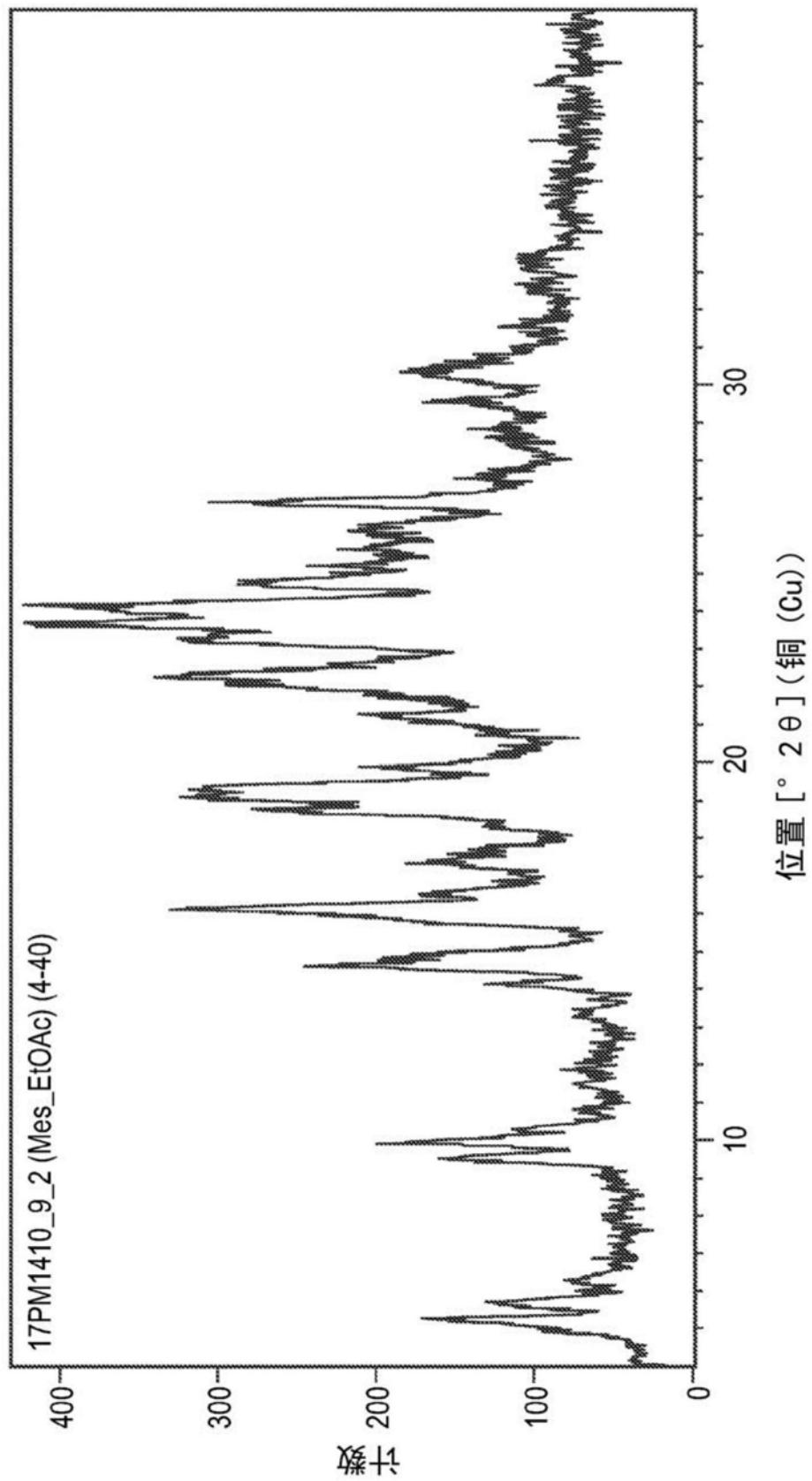


图10

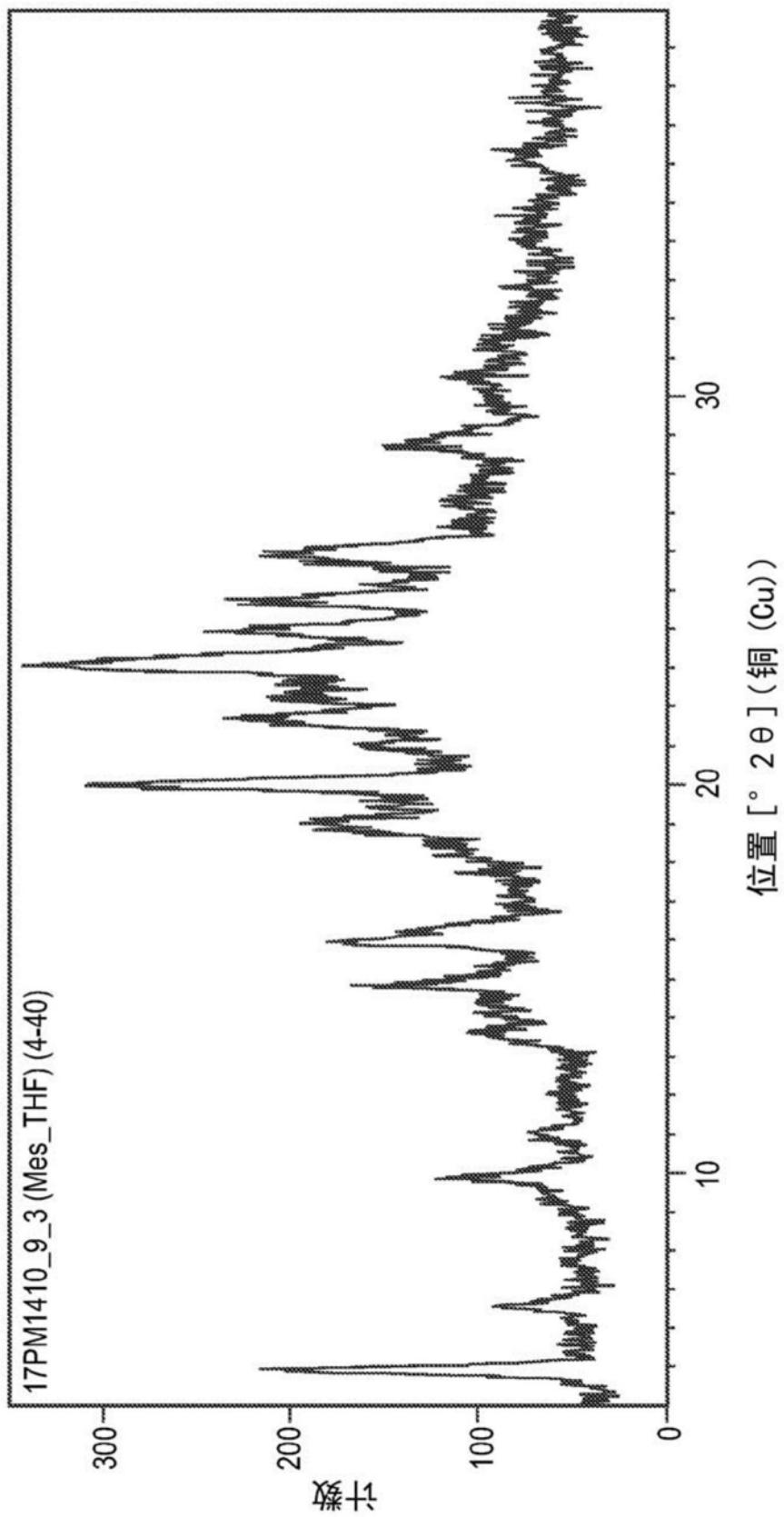


图11

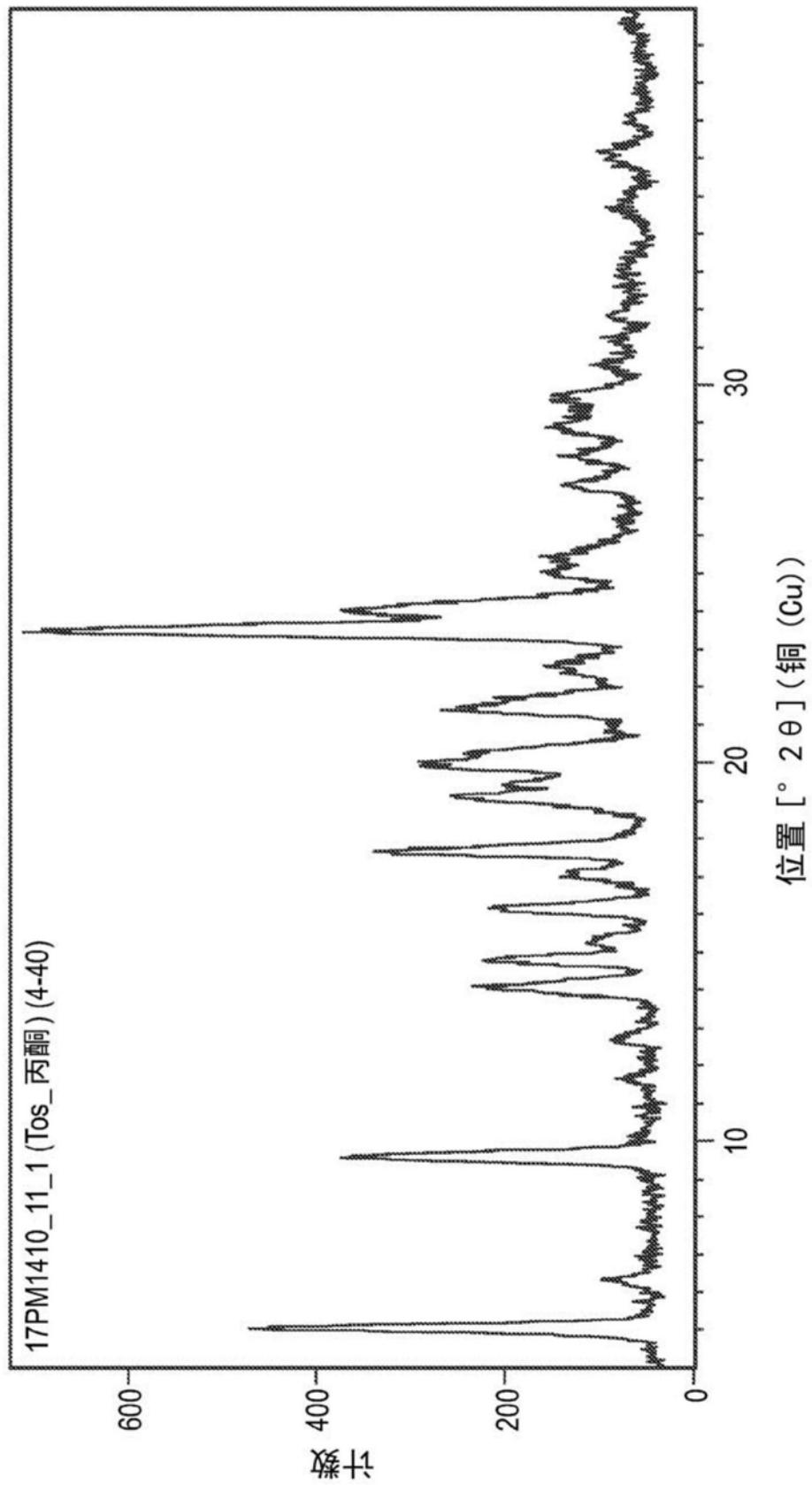


图12

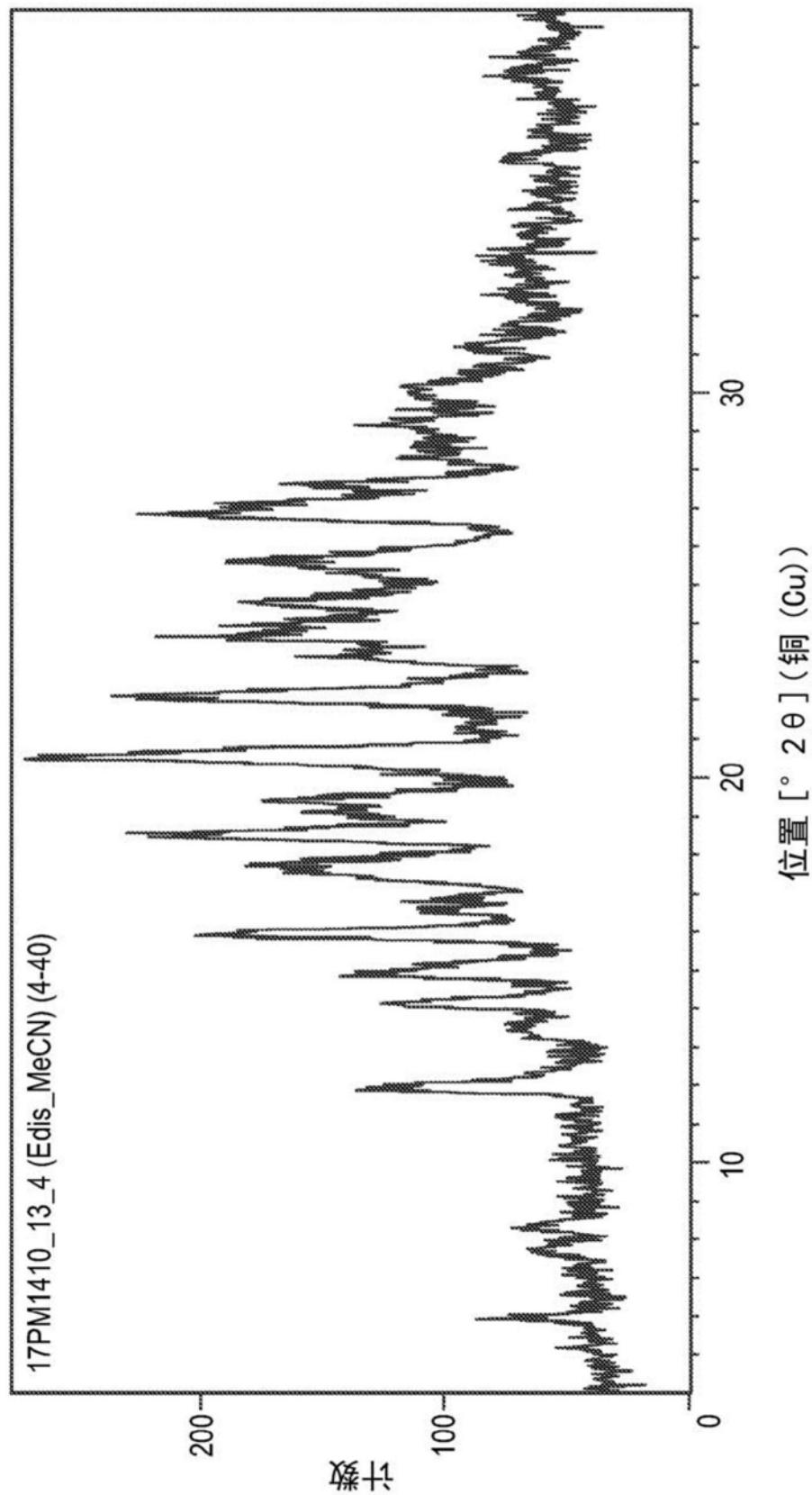


图13

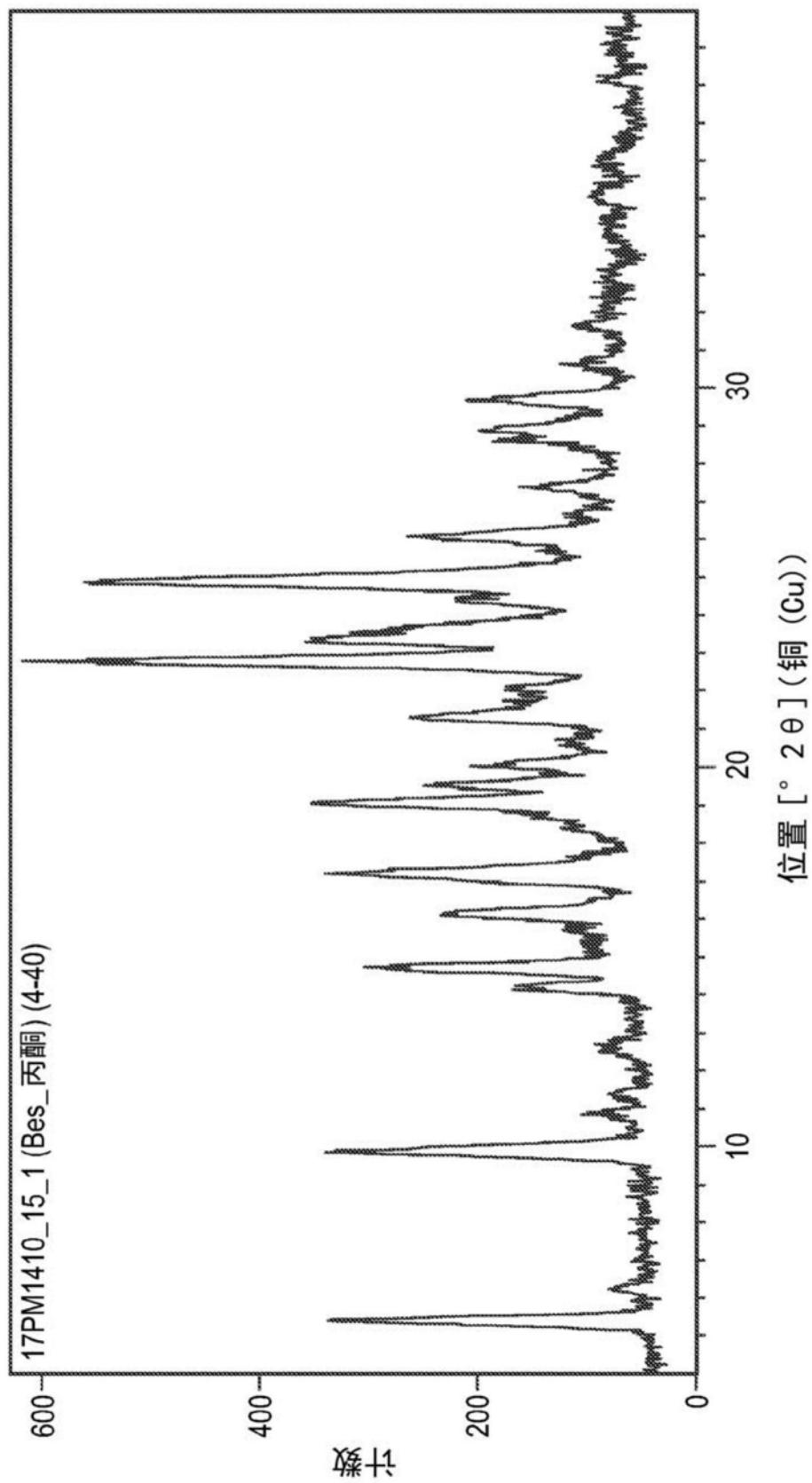


图14

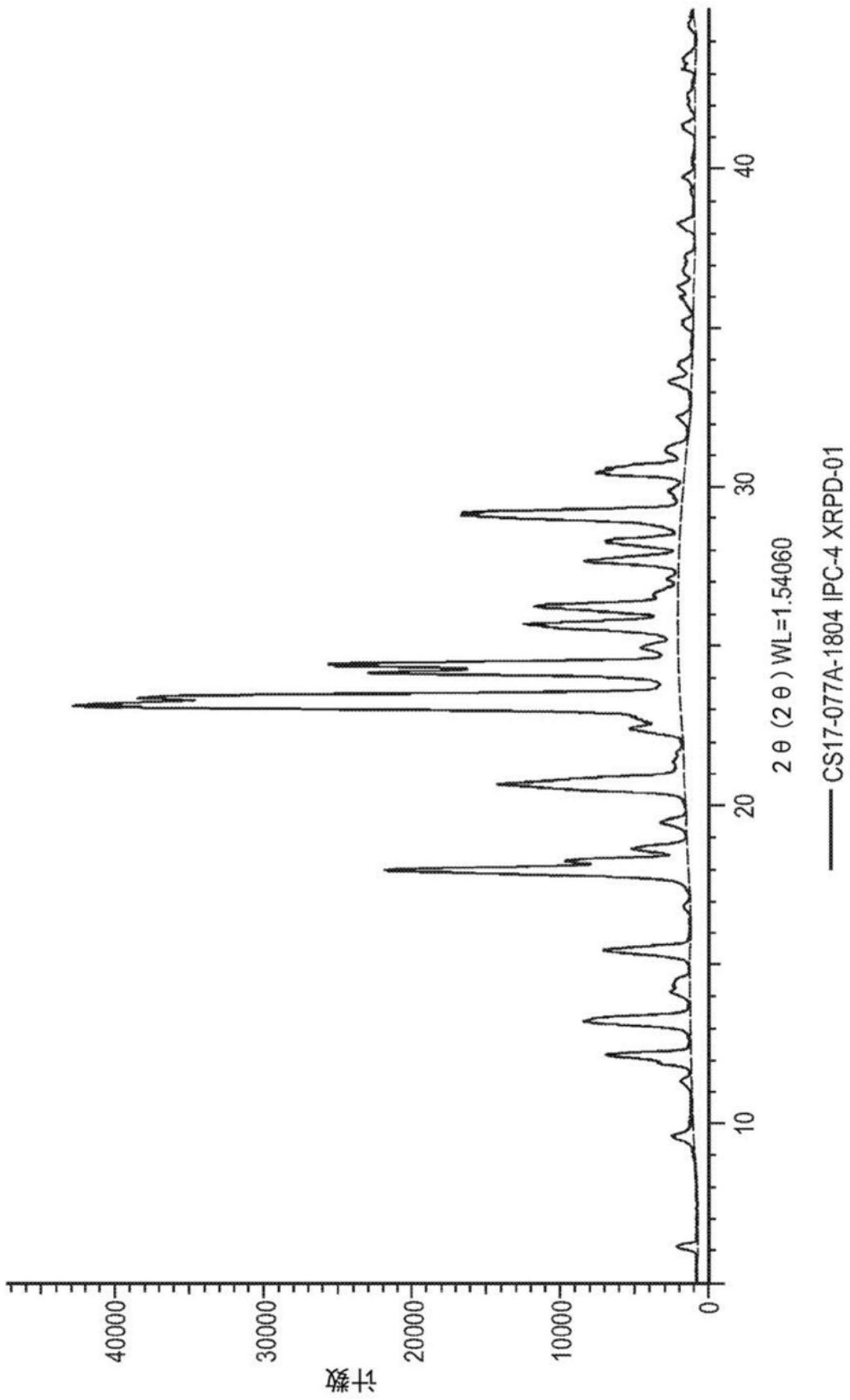


图15

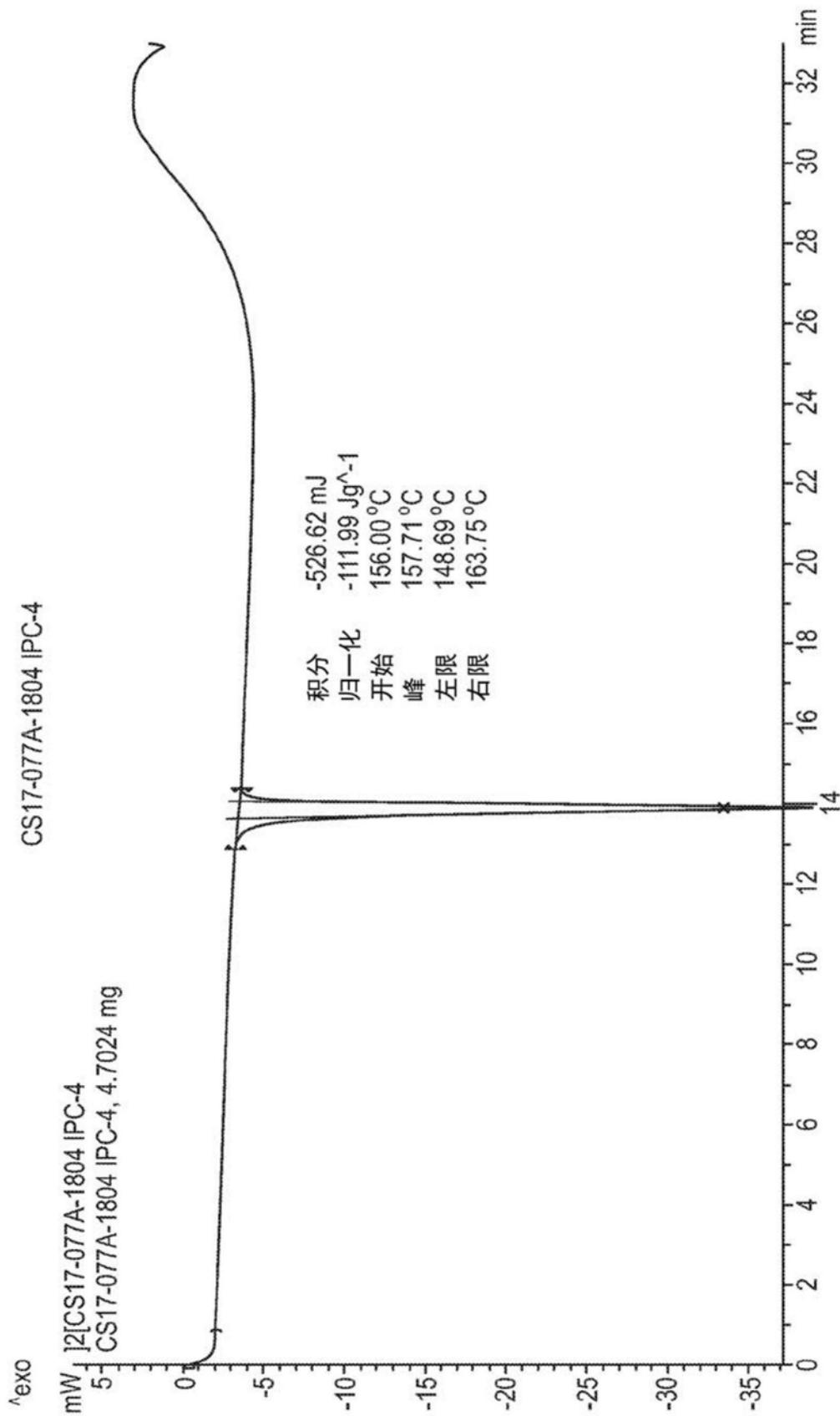
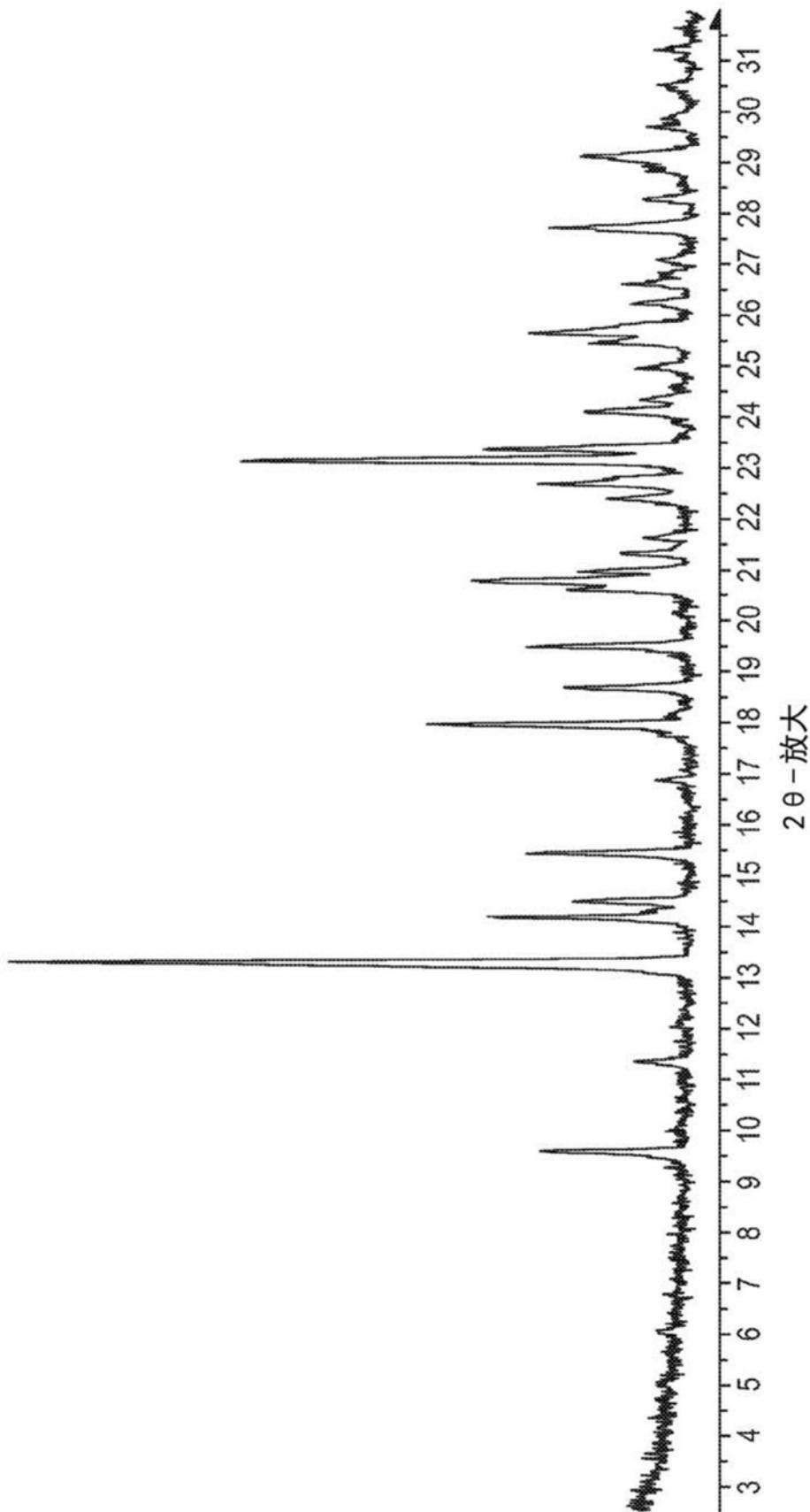


图16



■ 文件 : EKS-1607_16_01_solN_24hr_EMP_01.raw

图17

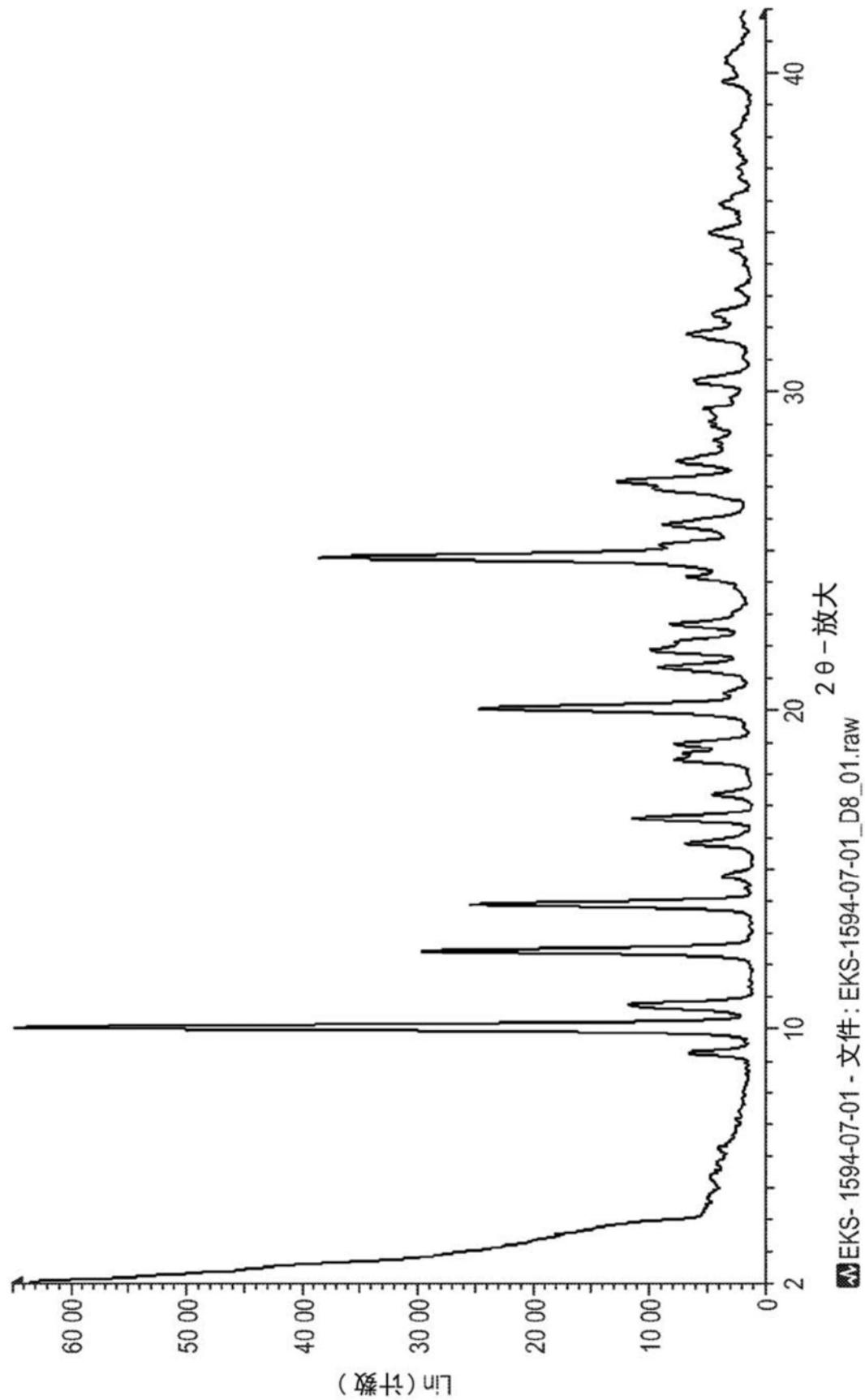


图18

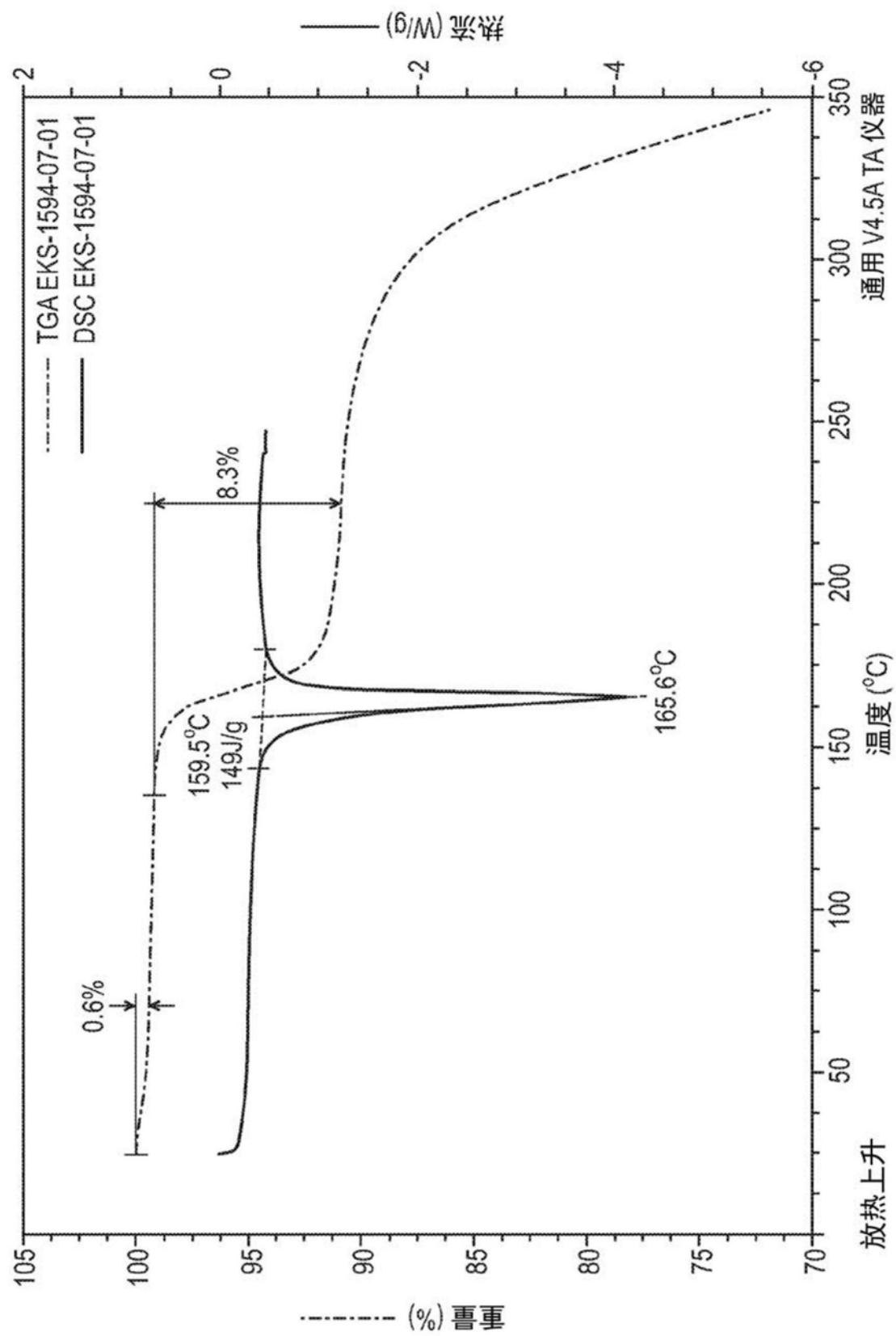


图19

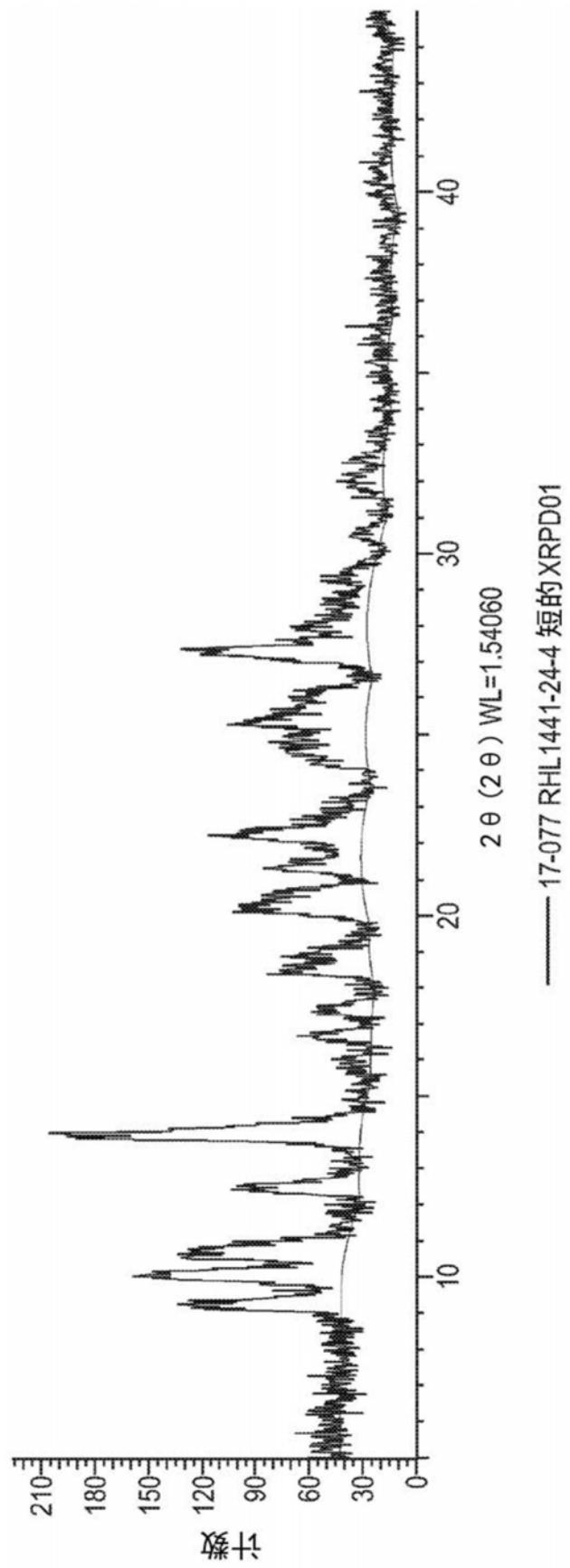


图20