



(21)申請案號：109124109

(22)申請日：中華民國 109 (2020) 年 07 月 16 日

(51)Int. Cl. : **C07D413/12 (2006.01)****A61K31/4245(2006.01)****A61P9/04 (2006.01)**

(30)優先權：2019/07/17 美國

62/875,355

(71)申請人：美商胞質動力學公司 (美國) CYTOKINETICS, INC. (US)

美國

(72)發明人：湯姆 諾瑪 TOM, NORMA (US)；安德森 丹尼斯 ANDERSEN, DENISE (US)

(74)代理人：何愛文；王仁君

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：37 項 圖式數：3 共 62 頁

(54)名稱

(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4- 二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之多形體

(57)摘要

本文中提供(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4- 二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之多形體、其組合物、其製備方法及其使用方法。

Provided herein are polymorphs of (R)-N-(5-(5-isopropyl-1,2,4-oxadiazol-3-yl)-2,3-dihydro-1H-inden-1-yl)-2-methyl-2H-tetrazole-5-carboxamide, compositions thereof, methods of preparation thereof, and methods of their uses.

指定代表圖：

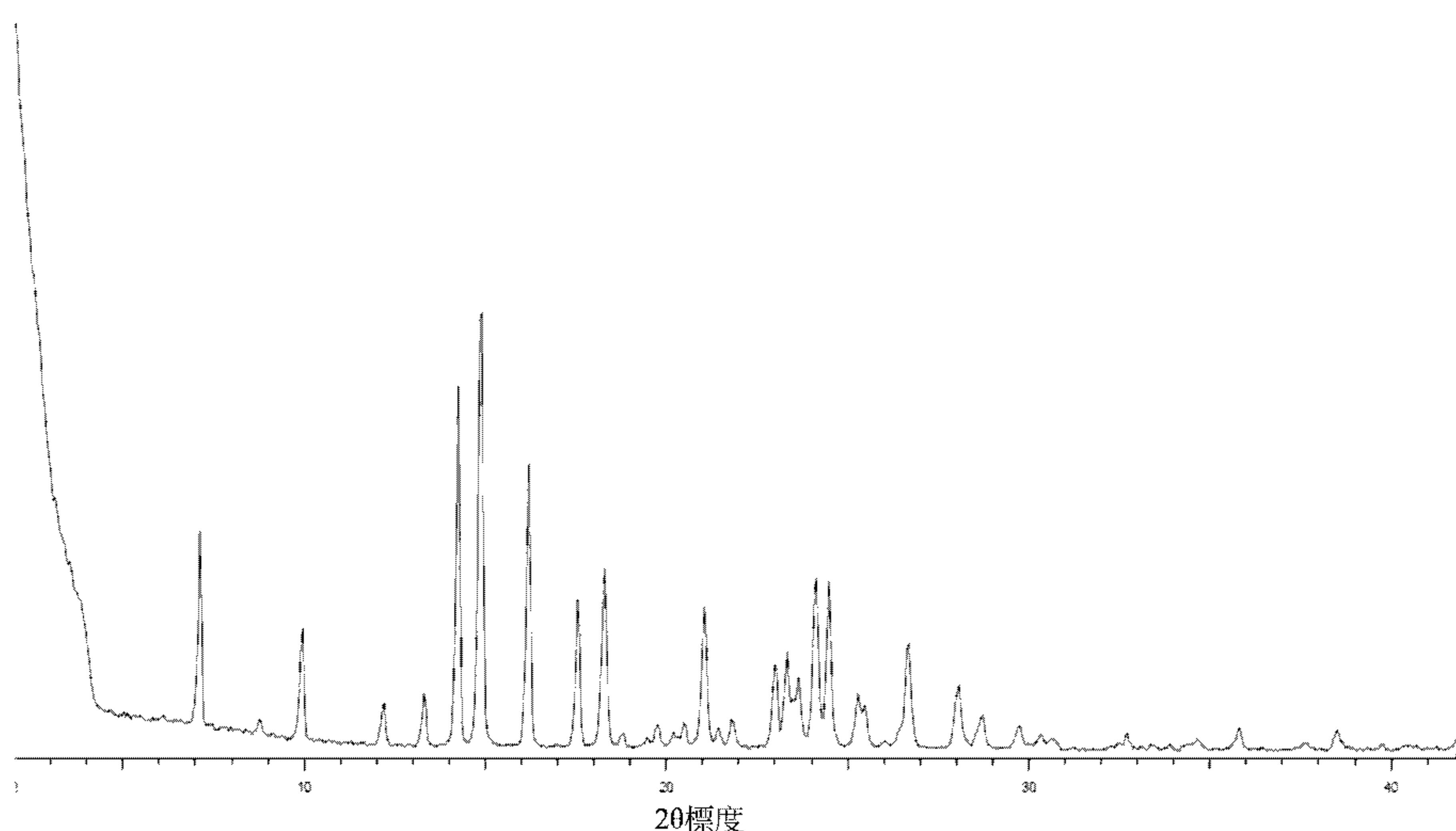


圖1A

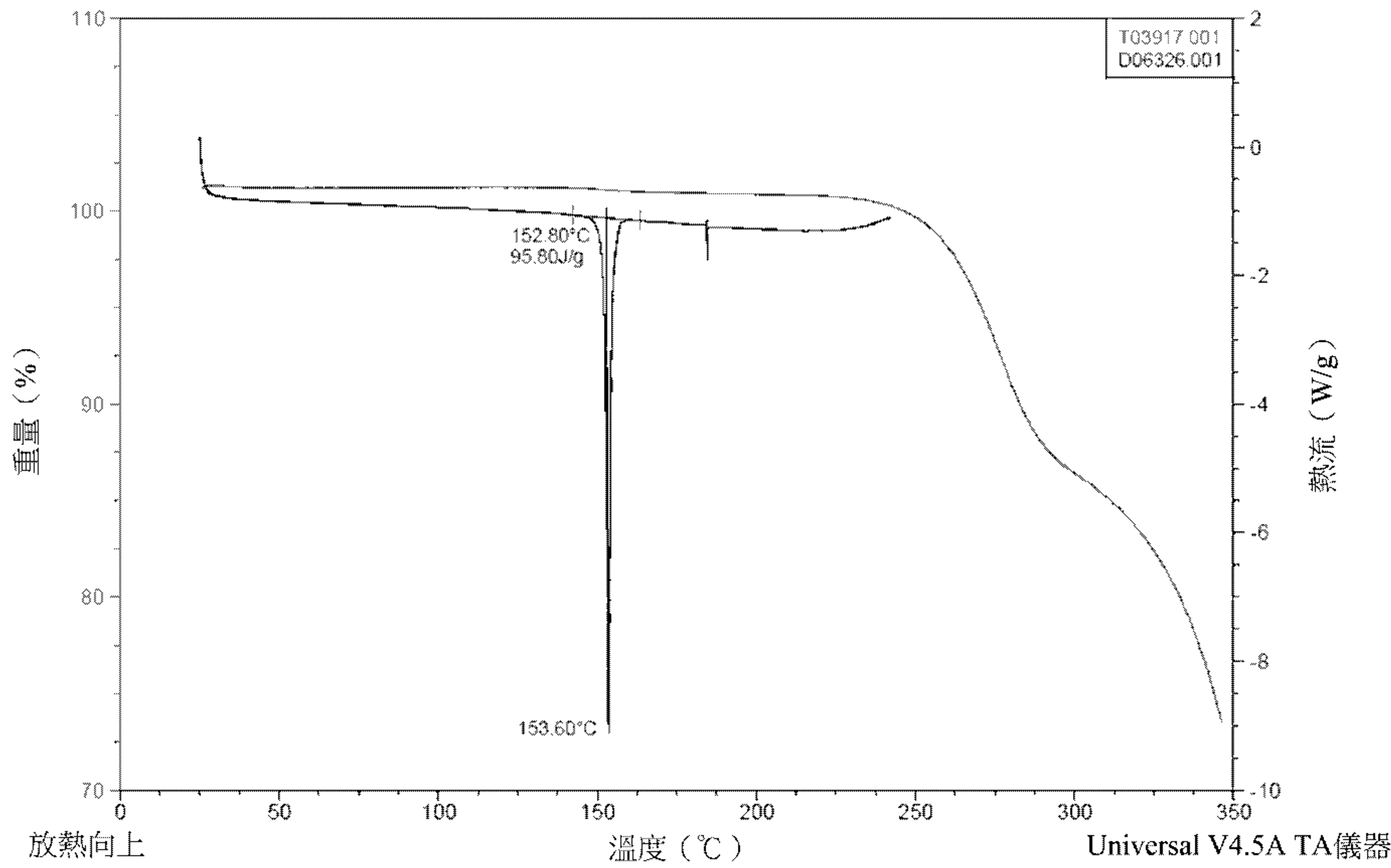


圖1B

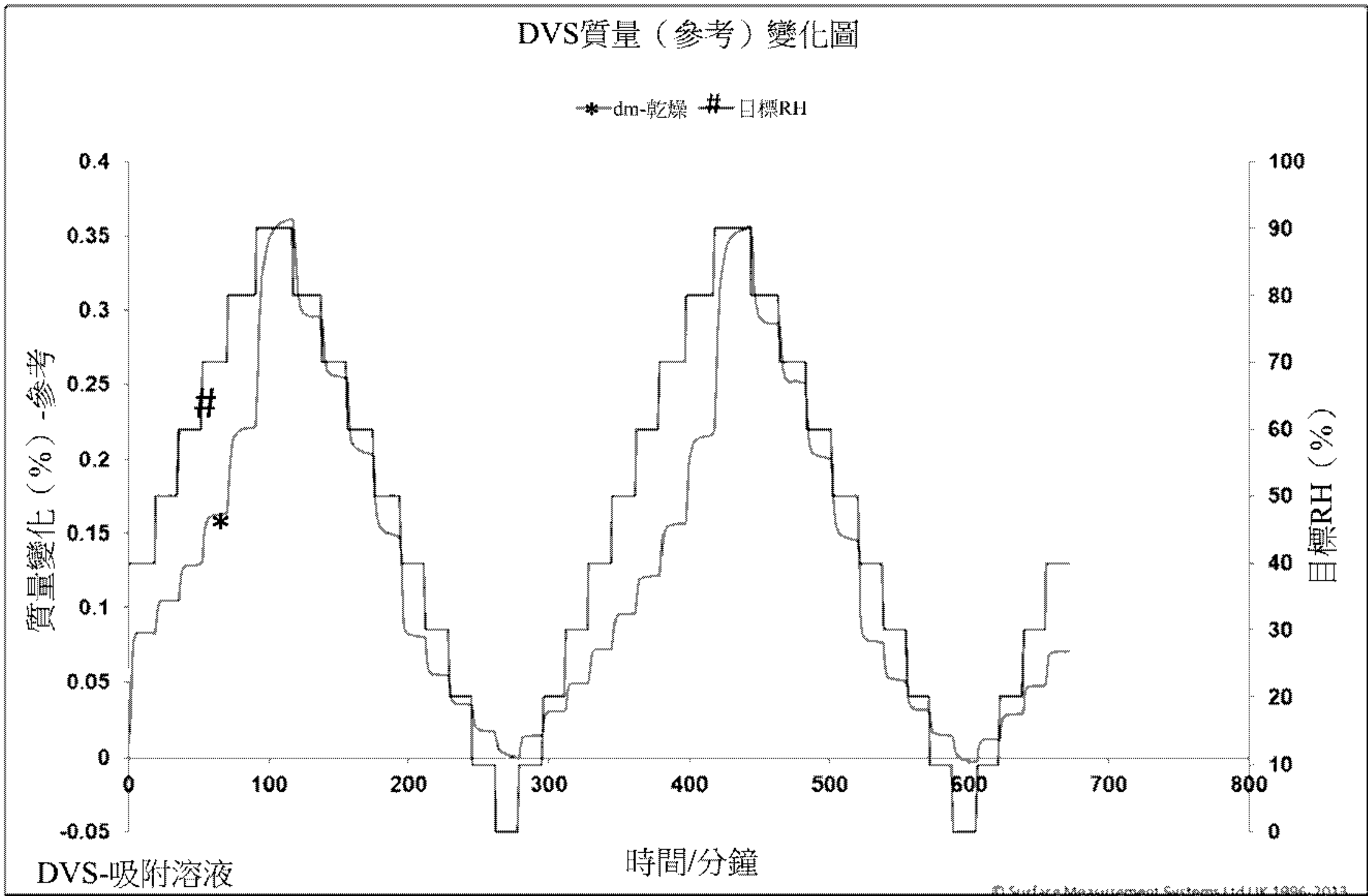


圖1C

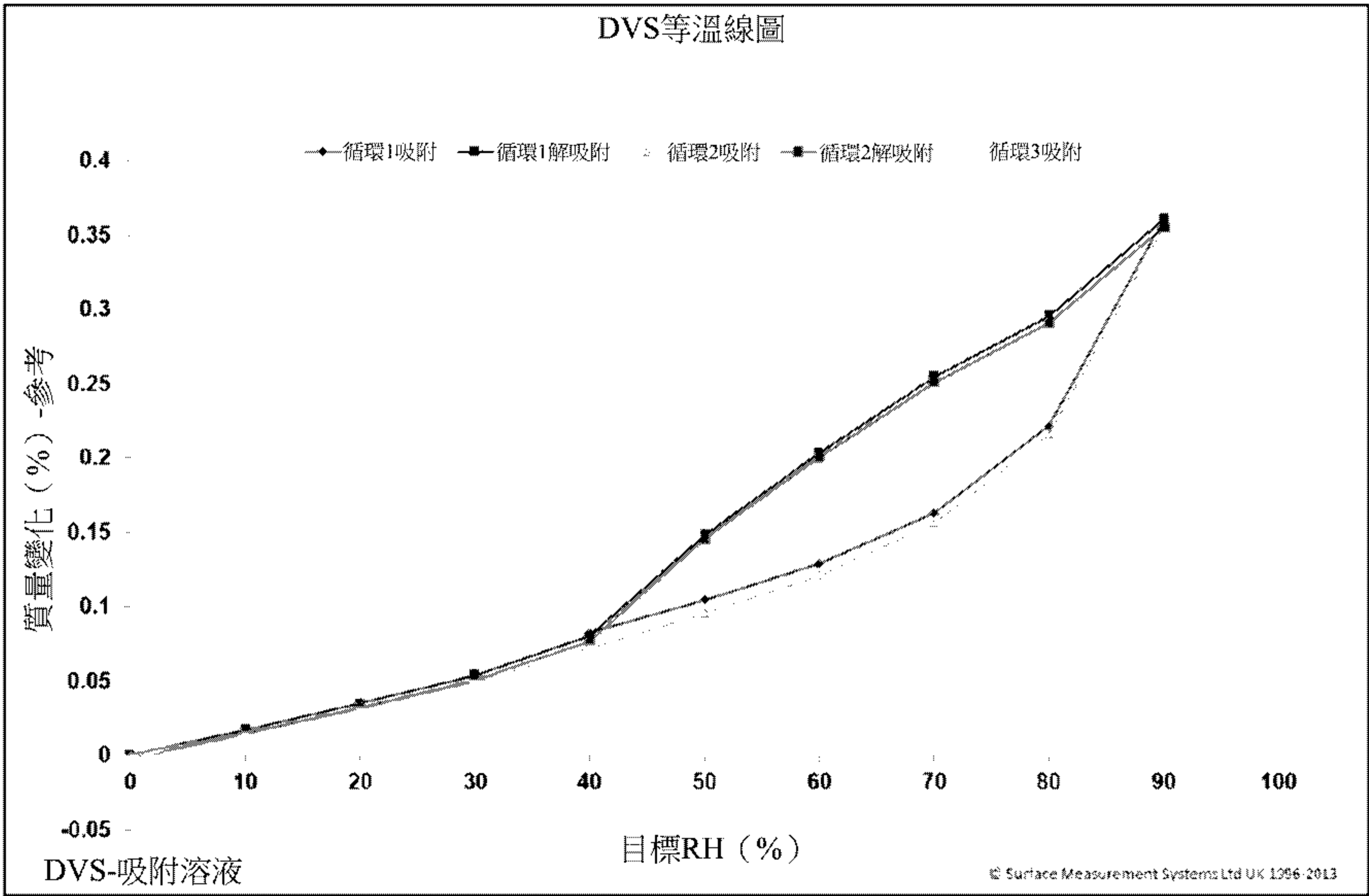


圖1D

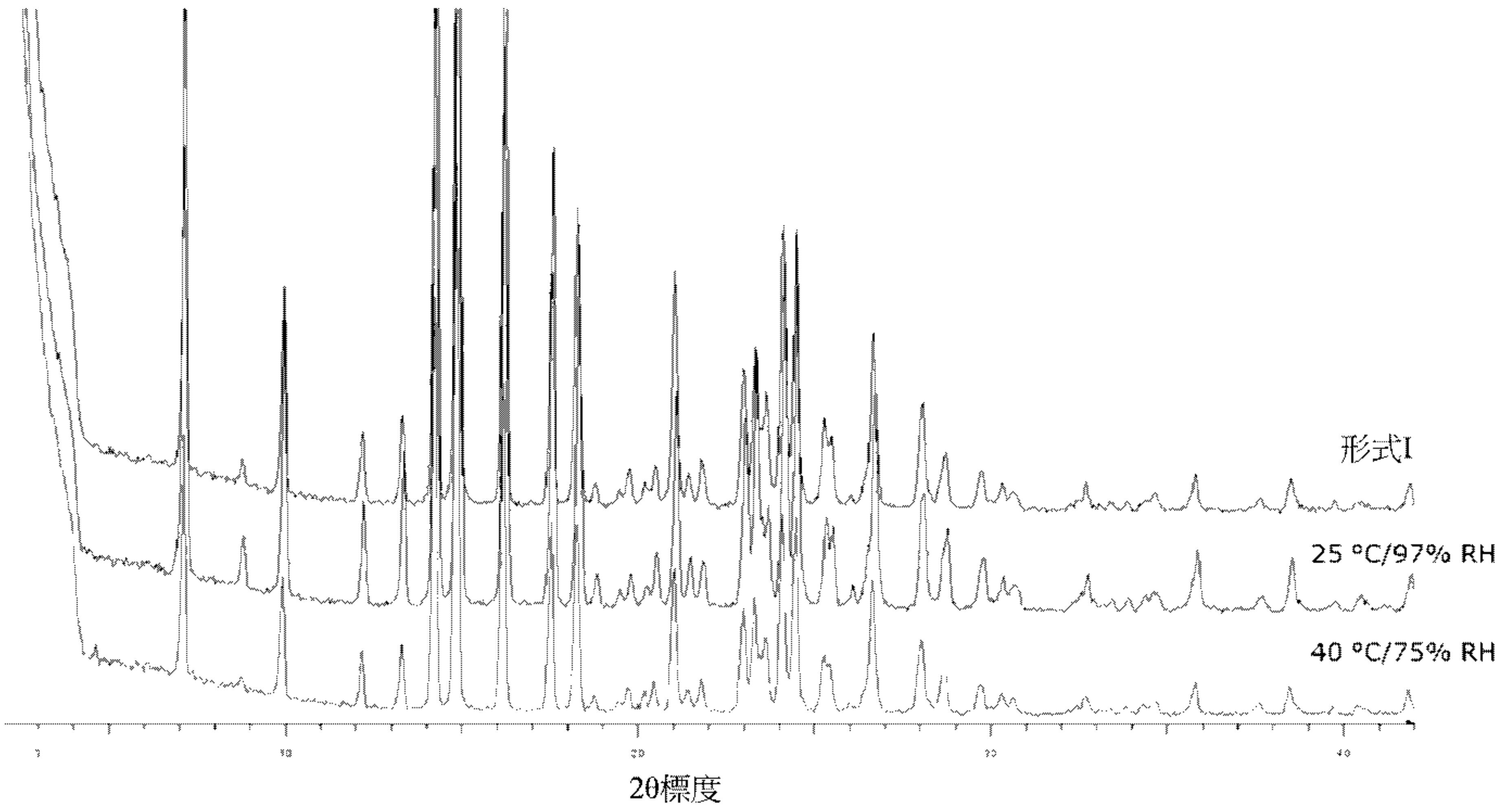


圖1E

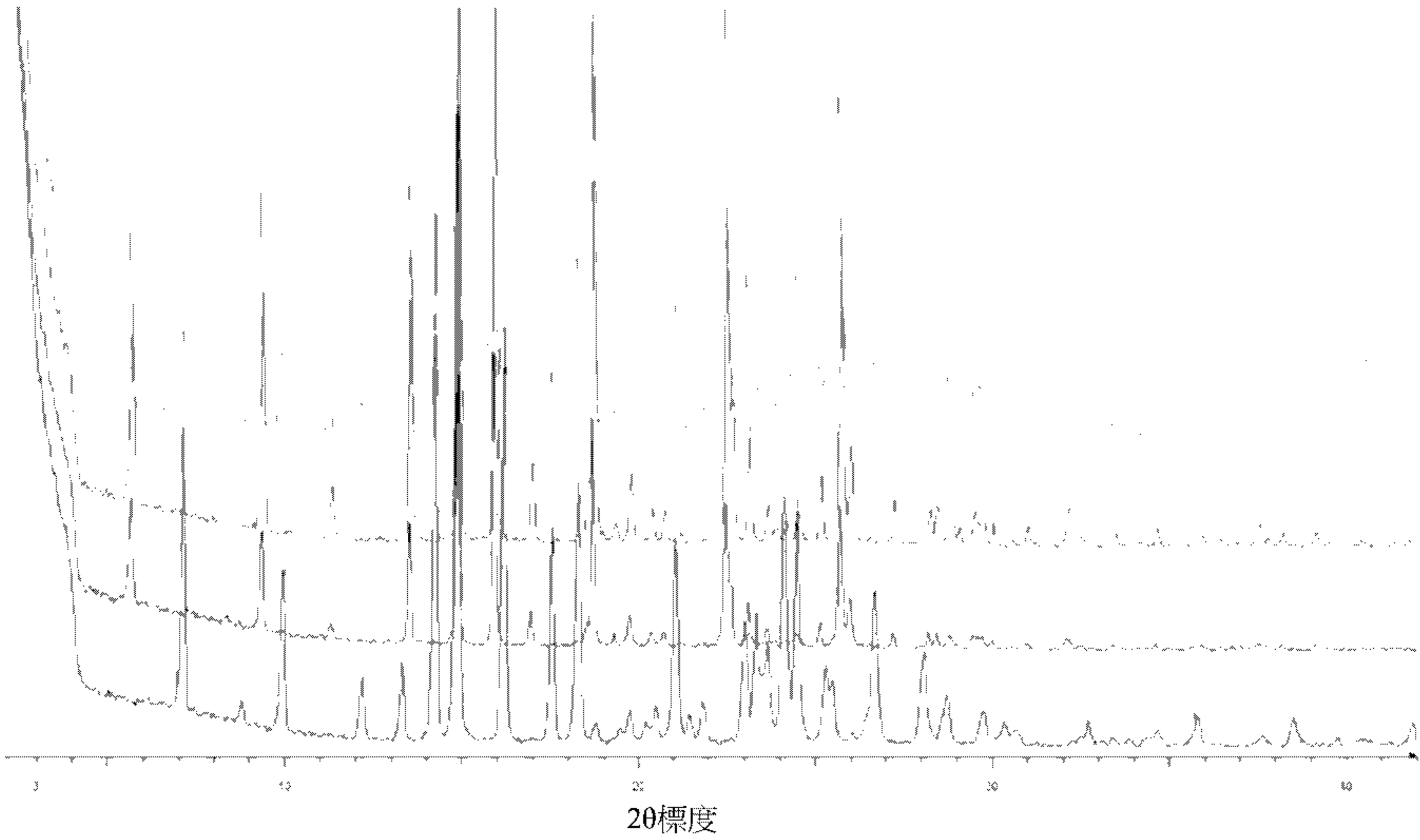


圖2A

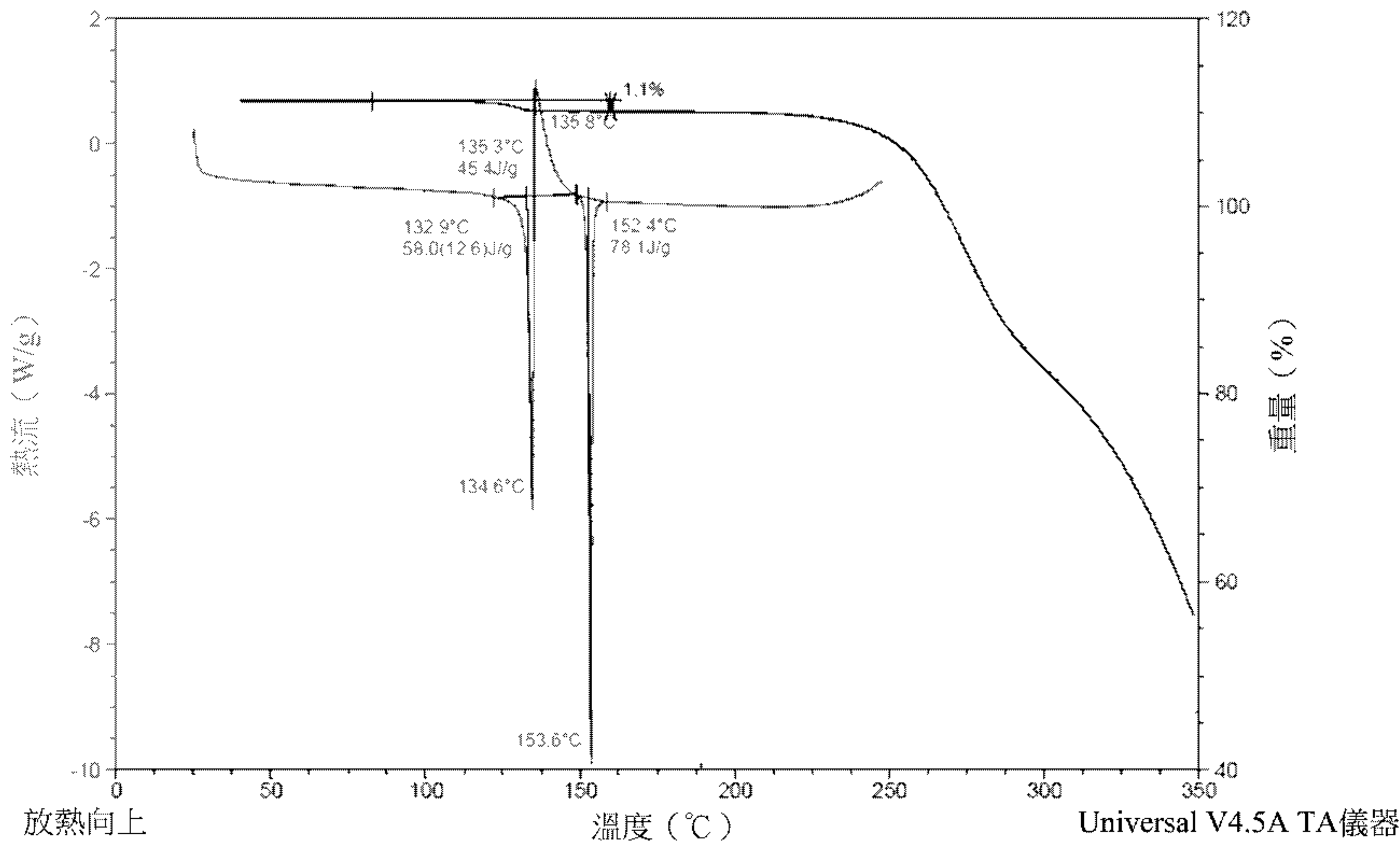


圖2B

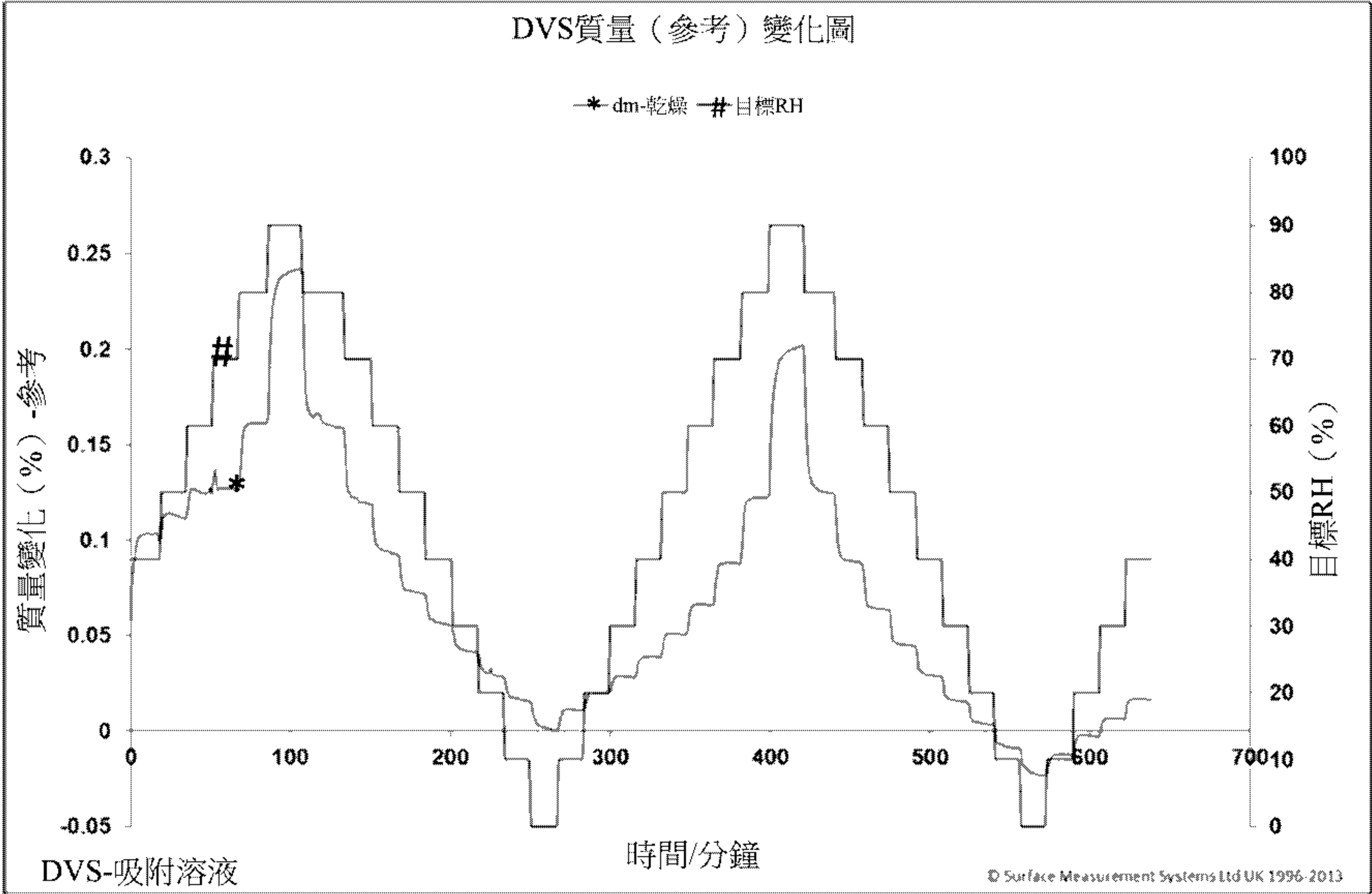


圖2C

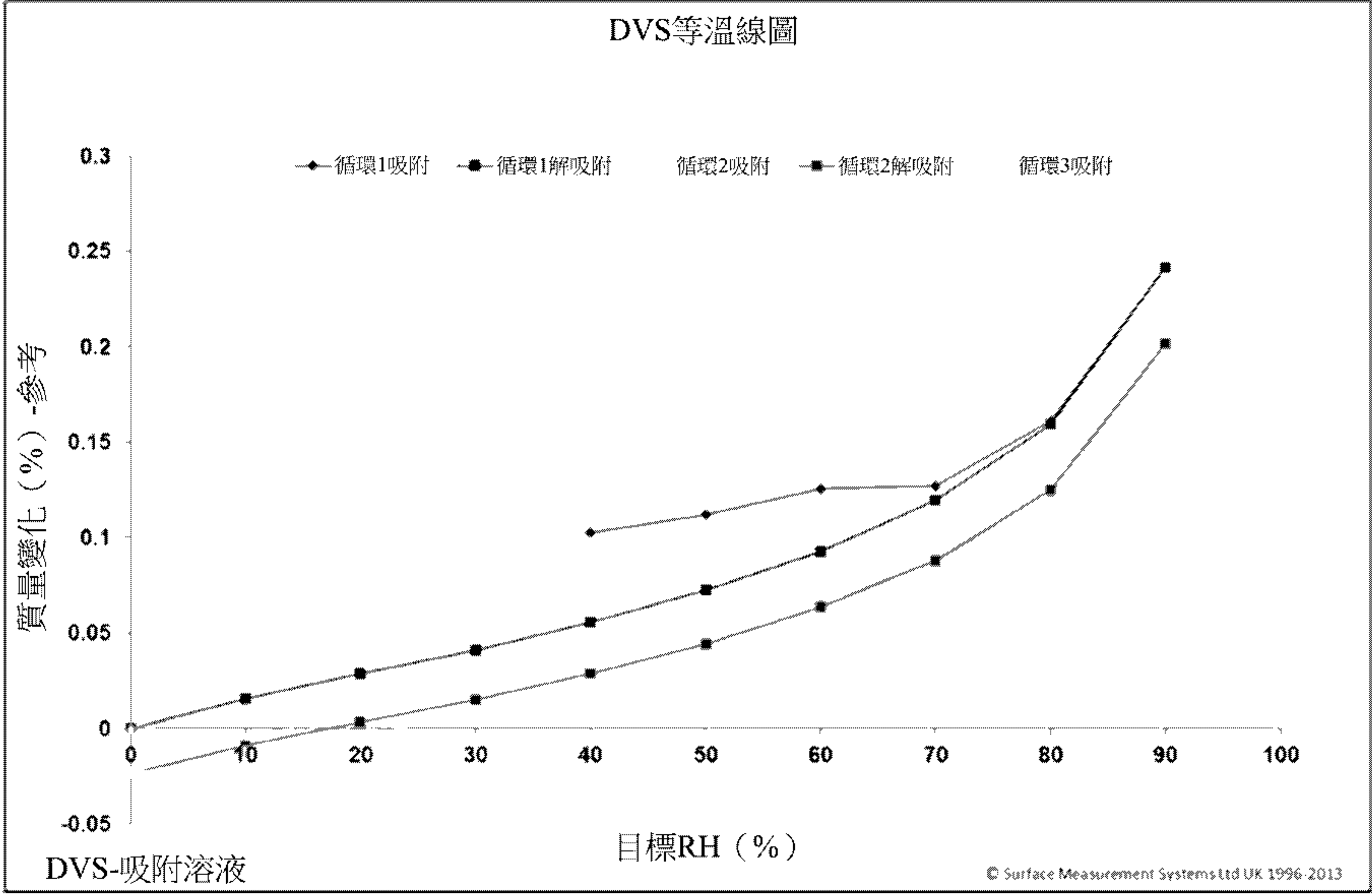


圖2D

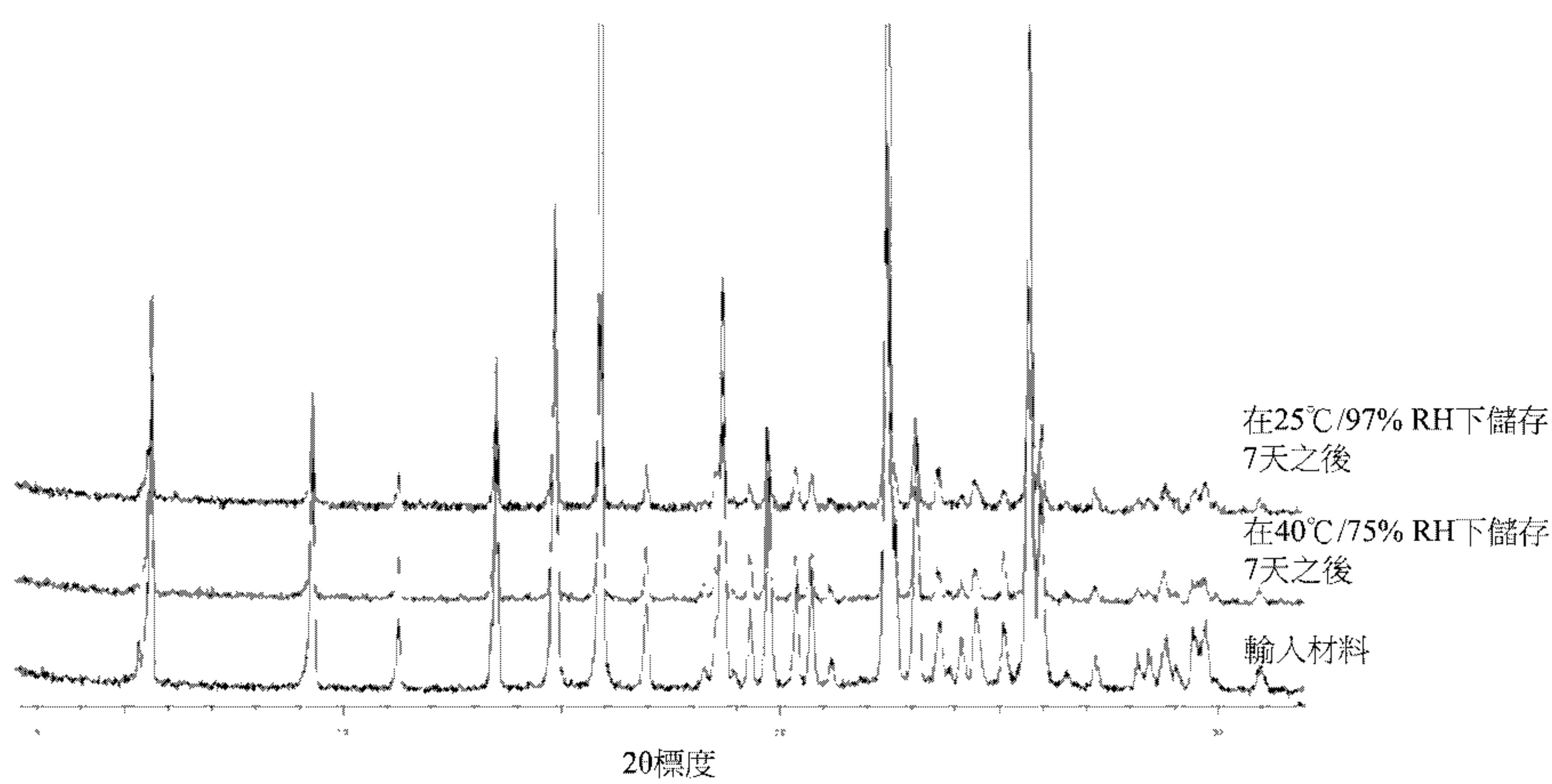
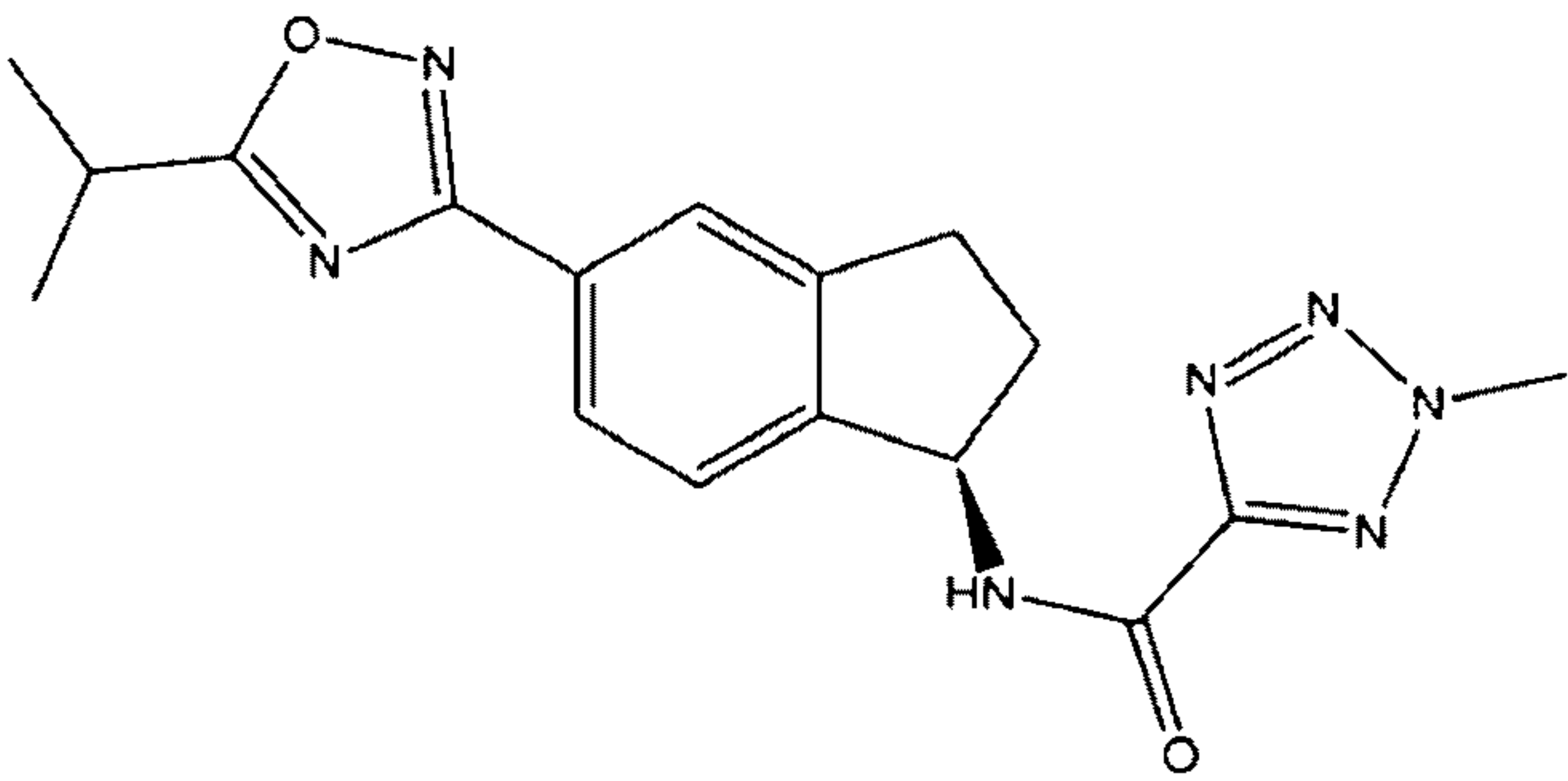


圖2E

特徵化學式：





202116764

【發明摘要】

【中文發明名稱】

(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茚-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之多形體

【英文發明名稱】

POLYMORPHS OF (R)-N-(5-(5-ISOPROPYL-1,2,4-OXADIAZOL-3-YL)-2,3-DIHYDRO-1H-INDEN-1-YL)-2-METHYL-2H-TETRAZOLE-5-CARBOXAMIDE

【中文】

本文中提供(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茚-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之多形體、其組合物、其製備方法及其使用方法。

【英文】

Provided herein are polymorphs of (R)-N-(5-(5-isopropyl-1,2,4-oxadiazol-3-yl)-2,3-dihydro-1H-inden-1-yl)-2-methyl-2H-tetrazole-5-carboxamide, compositions thereof, methods of preparation thereof, and methods of their uses.

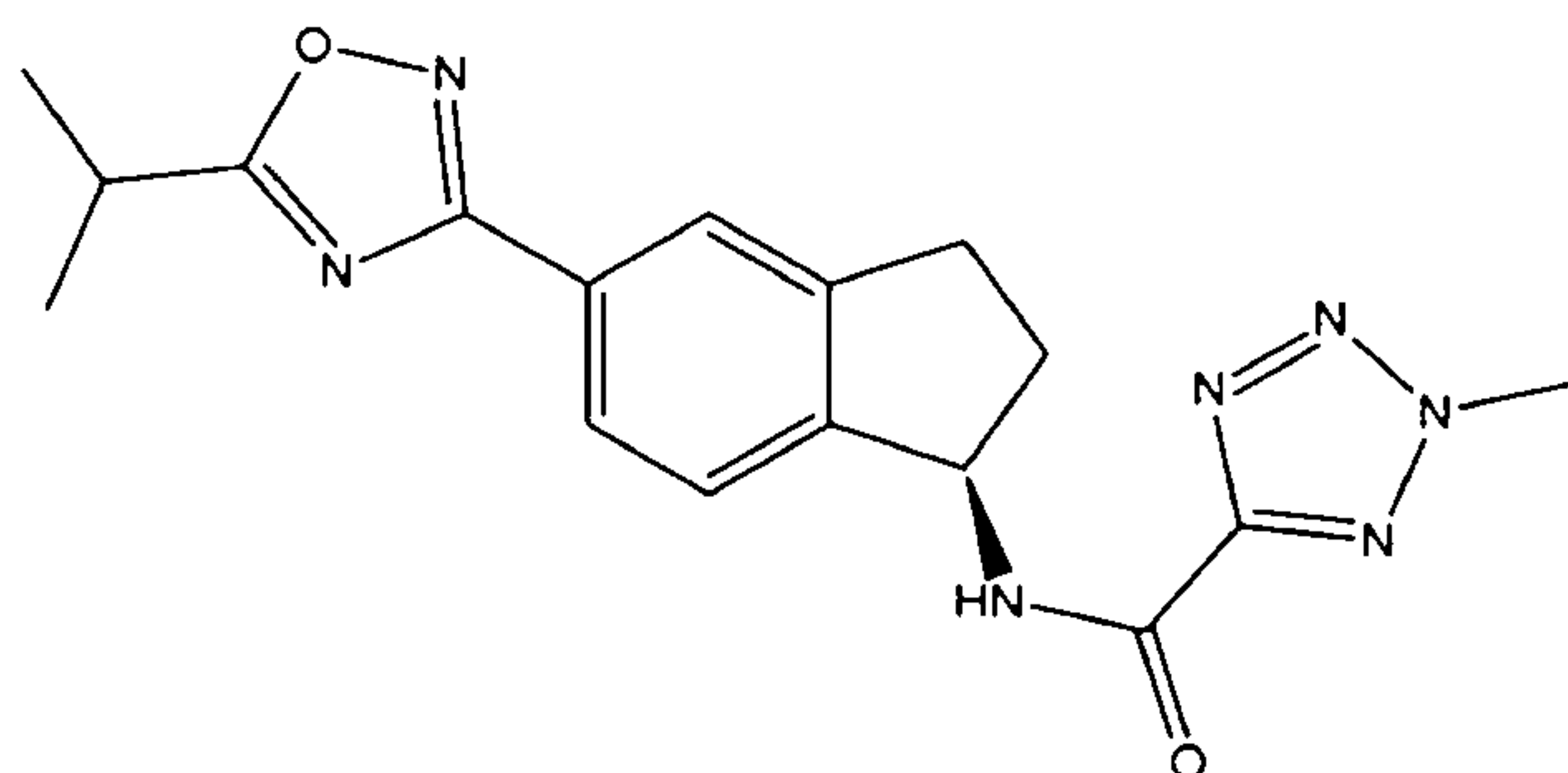
【指定代表圖】

圖 1A~圖 2E

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】



【發明說明書】

【中文發明名稱】

(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之多形體

【英文發明名稱】

POLYMORPHS OF (R)-N-(5-(5-ISOPROPYL-1,2,4-OXADIAZOL-3-YL)-2,3-DIHYDRO-1H-INDEN-1-YL)-2-METHYL-2H-TETRAZOLE-5-CARBOXAMIDE

【技術領域】

【0001】本文中提供(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之多形體、其組合物、其製備方法及其使用方法。

相關申請案之交叉參考

【0002】本申請案主張 2019 年 7 月 17 日提交之美國臨時申請案第 62/875,355 號之優先權及權利，其全部揭示內容以全文引用之方式併入本文中。

【先前技術】

【0003】心臟肌節由調節心肌功能之收縮及結構蛋白之網狀物構成。心臟肌節之組分呈現用於治療各種心臟疾病及病狀之目標，例如藉由提高收縮性或促進完全鬆弛以分別調節收縮及舒張功能。心肌收縮之力量及速度為器官功能之主要決定因素且由肌動蛋白及肌凝蛋白之循環相互作用調節。肌動蛋白及肌凝蛋白結合之調節由肌絲調節性蛋白質之網狀物及細胞內 Ca^{2+} 之含量決定。肌鈣蛋白複合物及肌旋蛋白為薄的絲狀蛋白質，其控管肌動蛋白結合位點之可用性，且必需及調節性輕鏈以及肌凝蛋白結合蛋白質 C 調節肌凝蛋白之位置及機械特性。

【0004】已鑑別心臟肌節異常為多種心臟疾病及病狀之起因，諸如肥厚性心肌症（HCM）及射血分數保留的心臟衰竭（HFpEF）。肌節之蛋白質之

突變藉由使心肌收縮『過度』或『不足』引起疾病。可使用心臟肌節調節劑使收縮性恢復平衡及停止或逆轉疾病之病程。

【0005】 現有的靶向心臟肌節之藥劑（諸如促進心肌收縮劑，一種提高心臟之收縮能力之藥物）對心臟組織之選擇性不足，其引起公認的副作用，從而限制其用途。此等副作用包括由能量消耗速率增加引起之細胞損傷、鬆弛異常之惡化及潛在心律失常性副作用，其可由以收縮方式刺激之心肌中之胞溶質 Ca^{++} 及環狀 AMP 濃度增加引起。鑒於現有藥劑之侷限性，需要新的方法以改良 HCM 及 HFpEF 中之心臟功能。

【0006】 仍極需要採用新的作用機制且可在症狀緩解、安全性及患者死亡率（短期及長期）方面具有更好的結果之藥劑。與現有藥劑相比具有改良之治療指數之新型藥劑將提供用於實現此等臨床結果之方法。已鑑別針對心臟肌節之藥劑之選擇性（例如，藉由靶向心臟肌凝蛋白）為實現此經改良之治療指數之重要手段。(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺為心臟肌凝蛋白之選擇性異位抑制劑，其對平滑肌凝蛋白幾乎無影響。此化合物之益處包括更寬的治療指數、對心臟鬆弛之影響更低、更好的藥物動力學及更好的安全性，且因此其提供用於心臟疾病及病狀之潛在治療。

【0007】 為了使候選藥物（諸如(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺）成為可用的醫藥產品，重要的是理解候選藥物是否具有多晶形式，以及此等形式在大規模生產、運輸、儲存及使用前準備時可能遭遇之條件下之相對穩定性及相互轉化。藉由穩定的製造方法來控制及產生穩定的多形體之能力對於監管機構批准及市售而言可為重要的。可藉由使用特定多晶形式來改良高純度(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之大規模生產方法。因此，需要(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之具有不同化學及物理穩定性之各種新的結晶形式，以及其調配物及用途。

【發明內容】

【0008】 在一個態樣中，本文中提供(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之多形體。

【0009】 在另一態樣中，本文中提供用於製備(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之多形體之方法。

【0010】 在另一態樣中，本文中提供含有如本文中所描述之(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之多形體之組合物。

【0011】 在另一態樣中，本文中提供使用(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之多形體治療有需要之個體中之心臟病之方法。

【圖式簡單說明】

【0012】 圖 1A 展示(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之多晶形式 I 之實驗性 X 射線粉末繞射 (XRPD) 圖案。

【0013】 圖 1B 展示(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之多晶形式 I 之差示掃描熱量測定 (DSC) 及熱解重量分析 (TGA) 曲線。

【0014】 圖 1C 展示(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之多晶形式 I 之動態蒸汽吸附 (DVS) 曲線之動力學圖。

【0015】 圖 1D 展示(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之多晶形式 I 之 DVS 曲線之等溫線圖。

【0016】 圖 1E 展示在 40°C/75% RH 及 25°C/97% RH 下儲存 7 天之後，(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之多晶形式 I 之 XRPD 圖案。

【0017】 圖 2A 展示(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之多晶形式 I 及形式 II 以及其混合物之 XRPD 圖案 (自上而下：形式 I 與形式 II 之混合物、形式 II、形式 II、形式 I)。

【0018】圖 2B 展示(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之多晶形式 II 之 DSC 及 TGA 曲線。當量測 DSC 曲線時，樣本係以 10°C/分鐘加熱。

【0019】圖 2C 展示(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之多晶形式 II 之 DVS 曲線之動力學圖。

【0020】圖 2D 展示(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之多晶形式 II 之 DVS 曲線之等溫線圖。

【0021】圖 2E 展示在 40°C/75% RH 及 25°C/97% RH 下儲存 7 天之後，(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之多晶形式 II 之 XRPD 圖案。

【0022】圖 3 展示形式 I 與形式 II 之間的競爭性漿料實驗之結果。

【實施方式】

定義

【0023】除非上下文另外明確指示，否則如在本文中及隨附申請專利範圍中所使用，單數形式「一(a/an)」及「該(the)」包括複數形式。

【0024】如本文中所使用且除非另有規定，否則術語「約」及「大約」當與組合物或劑型之成分的劑量、量或重量百分比結合使用時，意謂提供與由指定劑量、量或重量百分比獲得之藥理學作用等效的一般熟習此項技術者所認可之劑量、量或重量百分比。特定言之，當在此情形中使用時，術語「約」及「大約」涵蓋與界定劑量、量或重量百分比相差在 15%內、10%內、5%內、4%內、3%內、2%內、1%內或 0.5%內之劑量、量或重量百分比。

【0025】如本文中所使用，術語「多形體」或「多晶形式」係指化合物之結晶形式。作為分子或離子在晶格中之排列或構形之結果，不同多形體可具有不同物理性質，諸如熔融溫度、熔解熱、溶解度、溶解速率及/或振動譜。多形體所呈現之物理特性之差異可影響醫藥學參數，諸如儲存穩定性、可壓縮性、密度（在調配物及產品製造中重要）及溶解速率（生物可用性中之重要因素）。穩定性之差異可由化學反應性之變化(例如差異氧化，使得包含一種多形體之劑型比包含另一多形體之劑型更快速地變色)、機械變化(例如錠劑在儲存時由於動力學上有利之多形體轉變成熱力學上更穩定之多形體而破

碎)或其兩者(例如一種多形體之錠劑在高濕度下更易於破裂)引起。在極端情況下，由於溶解度/溶解差異，一些多晶型轉變可引起效能不足或在其他極端情況下，產生毒性。此外，結晶形式之物理性質可在處理中為重要的；舉例而言，一種多形體可能更有可能形成溶劑合物或可能難以濾除及洗去雜質(例如多形體之粒子形狀及尺寸分佈可能不同)。

【0026】 如本文中所使用，「治療有效量」指示產生針對病狀之所需藥理學及/或生理學作用之量。該作用就完全或部分預防病狀或其症狀而言可為預防性，及/或就部分或完全治癒病狀及/或可歸因於該病狀之不良作用而言可為治療性。

【0027】 如本文中所使用，術語「醫藥學上可接受之載劑」及其同源術語係指熟習此項技術者已知的適用於投予個體(例如哺乳動物或非哺乳動物)之佐劑、黏合劑、稀釋劑等。亦涵蓋兩種或更多種載劑之組合。如熟習此項技術者將認識到，如本文中所描述之醫藥學上可接受之載劑及任何其他組分應與用於特定劑型之所欲投藥途徑(例如口服、非經腸)相容。

【0028】 術語「治療(Treat/treating/treatment)」意謂包括緩解或消除病症、疾病或病狀、或與病症、疾病或病狀相關之一或多種症狀；或減慢疾病、病症或病狀或其一或多種症狀之進程、擴散或惡化。通常，個體自治療劑獲得之有益作用不引起疾病、病症或病狀之完全治癒。

【0029】 術語「個體」係指動物，包括(但不限於)靈長類動物(例如，人類)、猴、牛、豬、綿羊、山羊、馬、犬、貓、兔、大鼠或小鼠。術語「個體」及「患者」在本文中可互換地用於指例如哺乳動物個體，諸如人類。

【0030】 如本文中所使用，當提及例如 XRPD 圖案、DSC 曲線、TGA 曲線或 GVS 曲線時，術語「實質上如……中所示」包括未必與本文中所描繪之圖案或曲線一致，但被一般熟習此項技術者視為屬於實驗誤差或偏差之限制內之圖案或曲線。

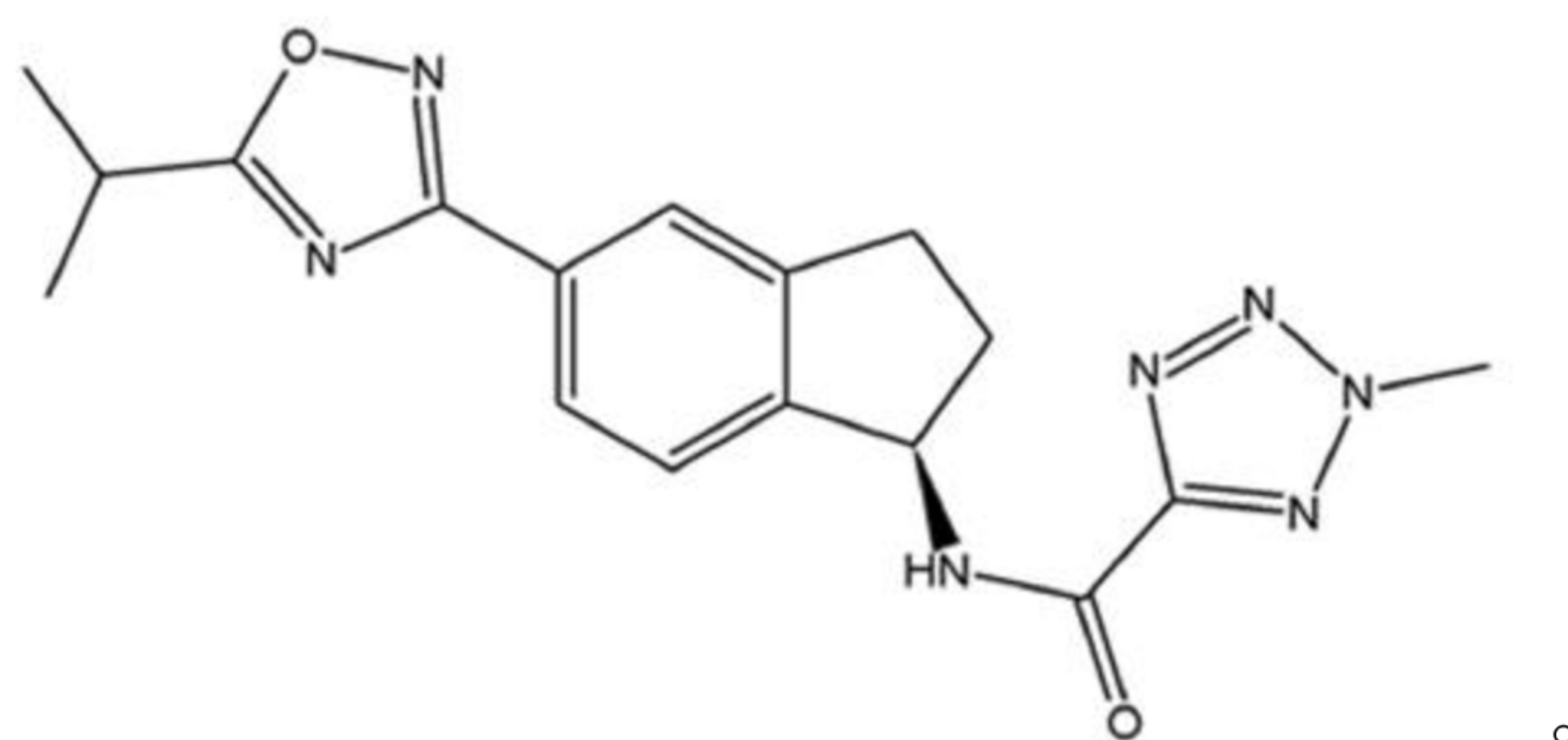
【0031】 在一些實施例中，術語「實質上純」意謂多晶形式含有約小於 30 重量%、約小於 20 重量%、約小於 15 重量%、約小於 10 重量%、約小於 5 重量%或約小於 1 重量%之雜質。在其他實施例中，「實質上純」係指不含雜質之物質。雜質可例如包括來自化學反應之副產物或剩餘試劑、污染物、降

解產物、其他多晶形式、水及溶劑。

【0032】如本文中所使用，術語「實質上不含」意謂包含多晶形式之組合物含有小於 50 重量%、小於 40 重量%、小於 30 重量%、小於 20 重量%、小於 15 重量%、小於 10 重量%、小於 5 重量%、小於 4 重量%、小於 3 重量%、小於 2 重量%或小於 1 重量%之所指示物質。

多形體

【0033】在一個態樣中，本文中提供(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之多形體，一種具有以下展示之結構之化合物，



多形體可具有在某些條件下適用於醫學或醫藥學用途之特性，諸如生物可用性及穩定性。

【0034】(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之多形體可提供生物可用性及穩定性之優點且可適用作醫藥組合物中之活性劑。醫藥學藥物之晶體結構之變化可影響醫藥學藥物產品之溶解速率（其可影響生物可用性等）、可製造性（例如易於操作、易於純化、始終製備具有已知強度之劑量之能力等）及穩定性（例如熱穩定性、存放期（包括抗降解性）等）。此類變化可影響呈不同劑量或遞送形式（諸如包括錠劑及膠囊之固體口服劑型）之醫藥組合物之製備或調配之方法。與諸如非結晶或非晶形式之其他形式相比，多形體可提供所需或適合的吸濕性、粒度控制、溶解速率、溶解性、純度、物理及化學穩定性、可製造性、產率及/或過程控制。因此，(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之多形體可提供以下優點：改良活性劑之製造方法或活性劑之藥物產品形式之穩定性或儲存性，或具有適用作活性劑之生物可用性及/或穩定性。

【0035】 已發現使用某些條件（諸如使用不同溶劑及/或溫度）可產生(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之不同多形體，包括本文中所描述之多晶形式 I 及 II，其可呈現一或多種本文中所描述之有利特徵。用於製備本文中所描述之多形體及表徵此等多形體之方法更詳細地描述於下文中。

形式 I

【0036】 在一些實施例中，本文中提供(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之多晶形式 I。

【0037】 在一些實施例中，形式 I 具有實質上如圖 1A 中所示之 XRPD 圖案。可使用 XRPD 觀測到的形式 I 之 2θ 角及相對峰強度展示於表 1 中。

表 1

角度/2θ	強度/%	角度/2θ	強度/%
7.1	50.7	21.0	33.6
8.8	8.5	21.4	6.5
9.9	29	21.8	8.4
12.2	12.2	23.0	20.6
13.3	14.3	23.3	23.4
14.2	83.5	23.6	17.6
14.9	100	24.1	40
16.2	65.9	24.5	39.5
17.6	35.3	25.3	14.1
18.3	42.3	25.5	11.9
18.7	5.2	26.7	25.4
19.4	4.2	28.1	16.1
19.7	7.1	28.7	9.3
20.2	5.4	29.8	6.9
20.5	7.6	30.4	5.2

【0038】 在一些實施例中，多晶形式 I 之 XRPD 圖案呈現具有實質上如圖 1A 中所示或如表 1 中所提供之 XRPD 圖案中之最大強度的 2θ 角處之峰中之至少兩者、至少三者、至少四者、至少五者、至少六者、至少七者、至少八者、至少九者或至少十者。應理解，相對強度可視多種因素而變化，包括樣本製備、安裝以及用於獲得譜圖之儀器及分析程序及設置。相對峰強度及峰分配可具有實驗誤差。在一些實施例中，本文中所列舉之峰分配（包括多晶形式 I）可相差約±0.6 度、±0.4 度、±0.2 度或±0.1 度 2θ。

【0039】 在一些實施例中，多晶形式 I 具有包含 7.1 ± 0.2 、 8.8 ± 0.2 、 9.9 ± 0.2 、 12.2 ± 0.2 、 13.3 ± 0.2 、 14.2 ± 0.2 、 14.9 ± 0.2 、 16.2 ± 0.2 、 17.6 ± 0.2 、 18.3 ± 0.2 、 18.7 ± 0.2 、 19.4 ± 0.2 、 19.7 ± 0.2 、 20.2 ± 0.2 、 20.5 ± 0.2 、 21.0 ± 0.2 、 21.4 ± 0.2 、 21.8 ± 0.2 、 23.0 ± 0.2 、 23.3 ± 0.2 、 23.6 ± 0.2 、 24.1 ± 0.2 、 24.5 ± 0.2 、 25.3 ± 0.2 、 25.5 ± 0.2 、 26.7 ± 0.2 、 28.1 ± 0.2 、 28.7 ± 0.2 、 29.8 ± 0.2 及 30.4 ± 0.2 度之 2θ 角處之峰之 XRPD 圖案。在一些實施例中，多晶形式 I 具有包含 7.1 ± 0.2 、 9.9 ± 0.2 、 14.2 ± 0.2 、 14.9 ± 0.2 、 16.2 ± 0.2 、 17.6 ± 0.2 、 18.3 ± 0.2 、 21.0 ± 0.2 、 24.1 ± 0.2 及 24.5 ± 0.2 度之 2θ 角處之峰之 XRPD 圖案。在一些實施例中，多晶形式 I 具有包含 7.1 ± 0.2 、 14.2 ± 0.2 、 14.9 ± 0.2 、 16.2 ± 0.2 及 18.3 ± 0.2 度之 2θ 角處之峰之 XRPD 圖案。應理解，可觀測到除圖 1A 中所示或如表 1 中所提供以外的 XRPD 圖案中之其他峰，舉例而言，由於存在雜質、溶劑或測試樣本中之其他多形體或非晶形式。

【0040】 在一些實施例中，形式 I 具有實質上如圖 1B 中所示之 DSC 曲線。在一些實施例中，形式 I 之特徵在於具有在約 153°C 下開始之吸熱作用，如藉由 DSC 所測定。在一些實施例中，形式 I 之特徵在於具有在 $153\pm2^{\circ}\text{C}$ （例如 $153\pm1.9^{\circ}\text{C}$ 、 $153\pm1.8^{\circ}\text{C}$ 、 $153\pm1.7^{\circ}\text{C}$ 、 $153\pm1.6^{\circ}\text{C}$ 、 $153\pm1.5^{\circ}\text{C}$ 、 $153\pm1.4^{\circ}\text{C}$ 、 $153\pm1.3^{\circ}\text{C}$ 、 $192\pm1.2^{\circ}\text{C}$ 、 153 ± 1 、 $153\pm0.9^{\circ}\text{C}$ 、 $153\pm0.8^{\circ}\text{C}$ 、 $153\pm0.7^{\circ}\text{C}$ 、 $153\pm0.6^{\circ}\text{C}$ 、 $153\pm0.5^{\circ}\text{C}$ 、 $153\pm0.4^{\circ}\text{C}$ 、 $153\pm0.3^{\circ}\text{C}$ 、 $153\pm0.2^{\circ}\text{C}$ 或 $153\pm0.1^{\circ}\text{C}$ ）下開始之吸熱作用，如藉由 DSC 所測定。

【0041】 在一些實施例中，形式 I 具有實質上如圖 1B 中所示之 TGA 曲線。在一些實施例中，形式 I 之特徵在於在降解（其在約 230°C 下開始）之前不展示重量損失，如藉由 TGA 所測定。

【0042】 在一些實施例中，形式 I 具有實質上如圖 1C 或圖 1D 中所示之 DVS 曲線。在一些實施例中，形式 I 具有實質上如圖 1C 中所示之 DVS 曲線。在一些實施例中，形式 I 具有實質上如圖 1D 中所示之 DVS 曲線。

【0043】 在形式 I 之一些實施例中，以下 (a) -(f) 中之至少一者、至少兩者、至少三者、至少四者、至少五者或全部適用：

(a) 形式 I 具有包含 7.1 ± 0.2 、 14.2 ± 0.2 、 14.9 ± 0.2 、 16.2 ± 0.2 及 18.3 ± 0.2 度之 2θ 角處之峰之 XRPD 圖案；包含 7.1 ± 0.2 、 9.9 ± 0.2 、 14.2 ± 0.2 、 14.9 ± 0.2 、 16.2 ± 0.2 、 17.6 ± 0.2 、 18.3 ± 0.2 、 21.0 ± 0.2 、 24.1 ± 0.2 及 24.5 ± 0.2 度之 2θ 角處之

峰之 XRPD 圖案；或包含 7.1 ± 0.2 、 8.8 ± 0.2 、 9.9 ± 0.2 、 12.2 ± 0.2 、 13.3 ± 0.2 、 14.2 ± 0.2 、 14.9 ± 0.2 、 16.2 ± 0.2 、 17.6 ± 0.2 、 18.3 ± 0.2 、 18.7 ± 0.2 、 19.4 ± 0.2 、 19.7 ± 0.2 、 20.2 ± 0.2 、 20.5 ± 0.2 、 21.0 ± 0.2 、 21.4 ± 0.2 、 21.8 ± 0.2 、 23.0 ± 0.2 、 23.3 ± 0.2 、 23.6 ± 0.2 、 24.1 ± 0.2 、 24.5 ± 0.2 、 25.3 ± 0.2 、 25.5 ± 0.2 、 26.7 ± 0.2 、 28.1 ± 0.2 、 28.7 ± 0.2 、 29.8 ± 0.2 及 30.4 ± 0.2 度之 2θ 角處之峰之 XRPD 圖案；

- (b) 形式 I 具有實質上如圖 1A 中所示之 XRPD 圖案；
- (c) 形式 I 具有實質上如圖 1B 中所示之 DSC 曲線；
- (d) 形式 I 之特徵在於具有在約 153°C 下開始之吸熱作用，如藉由 DSC 所測定；
- (e) 形式 I 具有實質上如圖 1B 中所示之 TGA 曲線；及
- (f) 形式 I 具有實質上如圖 1C 或圖 1D 中所示之 DVS 曲線。

形式 II

【0044】 在一些實施例中，本文中提供(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之多晶形式 II。

【0045】 在一些實施例中，形式 II 具有實質上如圖 2A 中所示之 XRPD 圖案。可使用 XRPD 觀測到的形式 II 之 2θ 角及相對峰強度展示於表 2 中。

表 2

角度/ 2θ	強度/%	角度/ 2θ	強度/%
5.7	31.4	23.6	6.1
9.4	33.2	23.9	3.3
11.3	8.6	24.2	3.9
13.6	38.2	24.5	5.7
14.9	87.3	25.1	10.5
16.0	100	25.8	42.1
17.0	12.4	26.0	13.6
18.8	59.9	27.3	6.7
19.4	3.7	28.3	5.6
19.8	10.1	28.5	6
20.4	5.7	28.8	4.9
20.8	5.5	29.5	5.3
22.5	43.2	29.8	4.2
22.7	20.2	30.1	3.8
23.1	16		

【0046】 在一些實施例中，多晶形式 II 之 XRPD 圖案呈現具有實質上如

圖 2A 中所示或如表 2 中所提供之 XRPD 圖案中之最大強度的 2θ 角處之峰中之至少兩者、至少三者、至少四者、至少五者、至少六者、至少七者、至少八者、至少九者或至少十者。應理解，相對強度可視多種因素而變化，包括樣本製備、安裝以及用於獲得譜圖之儀器及分析程序及設置。相對峰強度及峰分配可具有實驗誤差。在一些實施例中，本文中所列舉之峰分配（包括多晶形式 II）可相差約 ± 0.6 度、 ± 0.4 度、 ± 0.2 度或 ± 0.1 度 2θ 。

【0047】 在一些實施例中，多晶形式 II 具有包含 5.7 ± 0.2 、 9.4 ± 0.2 、 11.3 ± 0.2 、 13.6 ± 0.2 、 14.9 ± 0.2 、 16.0 ± 0.2 、 17.0 ± 0.2 、 18.8 ± 0.2 、 19.4 ± 0.2 、 19.8 ± 0.2 、 20.4 ± 0.2 、 20.8 ± 0.2 、 22.5 ± 0.2 、 22.7 ± 0.2 、 23.1 ± 0.2 、 23.6 ± 0.2 、 23.9 ± 0.2 、 24.2 ± 0.2 、 24.5 ± 0.2 、 25.1 ± 0.2 、 25.8 ± 0.2 、 26.0 ± 0.2 、 27.3 ± 0.2 、 28.3 ± 0.2 、 28.5 ± 0.2 、 28.8 ± 0.2 、 29.5 ± 0.2 、 29.8 ± 0.2 及 30.1 ± 0.2 度之 2θ 角處之峰之 XRPD 圖案。在一些實施例中，多晶形式 II 具有包含 5.7 ± 0.2 、 9.4 ± 0.2 、 13.6 ± 0.2 、 14.9 ± 0.2 、 16.0 ± 0.2 、 18.8 ± 0.2 、 22.5 ± 0.2 、 22.7 ± 0.2 、 23.1 ± 0.2 及 25.8 ± 0.2 度之 2θ 角處之峰之 XRPD 圖案。在一些實施例中，多晶形式 II 具有包含 14.9 ± 0.2 、 16.0 ± 0.2 、 18.8 ± 0.2 、 22.5 ± 0.2 及 25.8 ± 0.2 度之 2θ 角處之峰之 XRPD 圖案。應理解，可觀測到除圖 2A 中所示或如表 2 中所提供以外的 XRPD 圖案中之其他峰，舉例而言，由於存在雜質、溶劑或測試樣本中之其他多形體或非晶形式。

【0048】 在一些實施例中，形式 II 具有實質上如圖 2B 中所示之 DSC 曲線。在一些實施例中，形式 I 之特徵在於具有在約 133°C 下開始之吸熱作用（如藉由 DSC 所測定）及/或在約 135°C 下開始之放熱作用（如藉由 DSC 所測定），及/或在約 152°C 下開始之吸熱作用（如藉由 DSC 所測定）。在一些實施例中，形式 II 之特徵在於具有在 $133 \pm 2^\circ\text{C}$ （例如 $133 \pm 1.9^\circ\text{C}$ 、 $133 \pm 1.8^\circ\text{C}$ 、 $133 \pm 1.7^\circ\text{C}$ 、 $133 \pm 1.6^\circ\text{C}$ 、 $133 \pm 1.5^\circ\text{C}$ 、 $133 \pm 1.4^\circ\text{C}$ 、 $133 \pm 1.3^\circ\text{C}$ 、 $192 \pm 1.2^\circ\text{C}$ 、 133 ± 1 、 $133 \pm 0.9^\circ\text{C}$ 、 $133 \pm 0.8^\circ\text{C}$ 、 $133 \pm 0.7^\circ\text{C}$ 、 $133 \pm 0.6^\circ\text{C}$ 、 $133 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 、 $133 \pm 0.4^\circ\text{C}$ 、 $133 \pm 0.3^\circ\text{C}$ 、 $133 \pm 0.2^\circ\text{C}$ 或 $133 \pm 0.1^\circ\text{C}$ ）下開始之吸熱作用，如藉由 DSC 所測定，及/或在 $135 \pm 2^\circ\text{C}$ （例如 $135 \pm 1.9^\circ\text{C}$ 、 $135 \pm 1.8^\circ\text{C}$ 、 $135 \pm 1.7^\circ\text{C}$ 、 $135 \pm 1.6^\circ\text{C}$ 、 $135 \pm 1.5^\circ\text{C}$ 、 $135 \pm 1.4^\circ\text{C}$ 、 $135 \pm 1.3^\circ\text{C}$ 、 $192 \pm 1.2^\circ\text{C}$ 、 135 ± 1 、 $135 \pm 0.9^\circ\text{C}$ 、 $135 \pm 0.8^\circ\text{C}$ 、 $135 \pm 0.7^\circ\text{C}$ 、 $135 \pm 0.6^\circ\text{C}$ 、 $135 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 、 $135 \pm 0.4^\circ\text{C}$ 、 $135 \pm 0.3^\circ\text{C}$ 、 $135 \pm 0.2^\circ\text{C}$ 或 $135 \pm 0.1^\circ\text{C}$ ）下開始之放熱作用，如藉由 DSC 所測定，及/或在 $152 \pm 2^\circ\text{C}$ （例如 $152 \pm 1.9^\circ\text{C}$ 、

152±1.8°C、152±1.7°C、152±1.6°C、152±1.5°C、152±1.4°C、152±1.3°C、192±1.2°C、152±1、152±0.9°C、152±0.8°C、152±0.7°C、152±0.6°C、152±0.5°C、152±0.4°C、152±0.3°C、152±0.2°C或 152±0.1°C) 下開始之吸熱作用，如藉由 DSC 所測定。

【0049】 在一些實施例中，形式 II 具有實質上如圖 2B 中所示之 TGA 曲線。在一些實施例中，形式 II 之特徵在於在降解之前，在約 83°C 與約 160°C 之間展示約 1.1%之重量損失，如藉由 TGA 所測定。

【0050】 在一些實施例中，形式 II 具有實質上如圖 2C 或圖 2D 中所示之 DVS 曲線。在一些實施例中，形式 II 具有實質上如圖 2C 中所示之 DVS 曲線。在一些實施例中，形式 II 具有實質上如圖 2D 中所示之 DVS 曲線。

【0051】 在形式 II 之一些實施例中，以下 (a) -(e) 中之至少一者、至少兩者、至少三者、至少四者、至少五者或全部適用：

(a) 形式 II 具有包含 14.9±0.2、16.0±0.2、18.8±0.2、22.5±0.2 及 25.8±0.2 度之 2θ 角處之峰之 XRPD 圖案；包含 5.7±0.2、9.4±0.2、13.6±0.2、14.9±0.2、16.0±0.2、18.8±0.2、22.5±0.2、22.7±0.2、23.1±0.2 及 25.8±0.2 度之 2θ 角處之峰之 XRPD 圖案；或包含 5.7±0.2、9.4±0.2、11.3±0.2、13.6±0.2、14.9±0.2、16.0±0.2、17.0±0.2、18.8±0.2、19.4±0.2、19.8±0.2、20.4±0.2、20.8±0.2、22.5±0.2、22.7±0.2、23.1±0.2、23.6±0.2、23.9±0.2、24.2±0.2、24.5±0.2、25.1±0.2、25.8±0.2、26.0±0.2、27.3±0.2、28.3±0.2、28.5±0.2、28.8±0.2、29.5±0.2、29.8±0.2 及 30.1±0.2 度之 2θ 角處之峰之 XRPD 圖案；

(b) 形式 II 具有實質上如圖 2A 中所示之 XRPD 圖案；

(c) 形式 II 具有實質上如圖 2B 中所示之 DSC 曲線；

(d) 形式 II 具有在約 133°C 下開始之吸熱作用，如藉由 DSC 所測定，及/或在約 135°C 下開始之放熱作用，如藉由 DSC 所測定，及/或在約 152°C 下開始之吸熱作用，如藉由 DSC 所測定；

(e) 形式 II 具有實質上如圖 2B 中所示之 TGA 曲線；及

(f) 形式 II 具有實質上如圖 2C 或圖 2D 中所示之 DVS 曲線。

組合物

【0052】 本文中亦提供含有本文中所描述之多形體(諸如形式 I、形式 II

或其混合物)之組合物。在一些實施例中，組合物含有形式 I。在一些實施例中，組合物含有形式 II。在一些實施例中，組合物進一步包含醫藥學上可接受之載劑。

【0053】 在一些實施例中，提供一種組合物，其含有(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之形式 I。在一些實施例中，組合物實質上不含(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之多晶形式 II。在一些實施例中，組合物實質上不含(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之非晶形或非結晶形式。在一些實施例中，組合物實質上不含(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之鹽。

【0054】 在含有(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之形式 I 之組合物之一些實施例中，形式 I 占全部組合物之至少約 0.1 重量%、至少約 0.3 重量%、至少約 0.5 重量%、至少約 0.8 重量%、至少約 1.0 重量%、至少約 5.0 重量%、至少約 10 重量%、至少約 20 重量%、至少約 30 重量%、至少約 40 重量%、至少約 50 重量%、至少約 60 重量%、至少約 70 重量%、至少約 80 重量%、至少約 85 重量%、至少約 90 重量%、至少約 95 重量%、至少約 96 重量%、至少約 97 重量%、至少約 98 重量%、至少約 99 重量%或至少 99.9 重量%。在含有(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之形式 I 之組合物之一些實施例中，至少約 0.1 重量%、至少約 0.3 重量%、至少約 0.5 重量%、至少約 0.8 重量%、至少約 1.0 重量%、至少約 5.0 重量%、至少約 10 重量%、至少約 20 重量%、至少約 30 重量%、至少約 40 重量%、至少約 50 重量%、至少約 60 重量%、至少約 70 重量%、至少約 80 重量%、至少約 85 重量%、至少約 90 重量%、至少約 95 重量%、至少約 96 重量%、至少約 97 重量%、至少約 98 重量%、至少約 99 重量%或至少 99.9 重量%之(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺係以形式 I 存在。

【0055】 在一些實施例中，提供一種組合物，其含有(R)-N-(5-(5-異丙基

-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之形式 II。在一些實施例中，組合物實質上不含(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之多晶形式 I。在一些實施例中，組合物實質上不含(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之非晶形或非結晶形式。在一些實施例中，組合物實質上不含(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之鹽。

【0056】 在含有(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之形式 II 之組合物之一些實施例中，形式 II 占全部組合物之至少約 0.1 重量%、至少約 0.3 重量%、至少約 0.5 重量%、至少約 0.8 重量%、至少約 1.0 重量%、至少約 5.0 重量%、至少約 10 重量%、至少約 20 重量%、至少約 30 重量%、至少約 40 重量%、至少約 50 重量%、至少約 60 重量%、至少約 70 重量%、至少約 80 重量%、至少約 85 重量%、至少約 90 重量%、至少約 95 重量%、至少約 96 重量%、至少約 97 重量%、至少約 98 重量%、至少約 99 重量%或至少 99.9 重量%。在含有(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之形式 II 之組合物之一些實施例中，至少約 0.1 重量%、至少約 0.3 重量%、至少約 0.5 重量%、至少約 0.8 重量%、至少約 1.0 重量%、至少約 5.0 重量%、至少約 10 重量%、至少約 20 重量%、至少約 30 重量%、至少約 40 重量%、至少約 50 重量%、至少約 60 重量%、至少約 70 重量%、至少約 80 重量%、至少約 85 重量%、至少約 90 重量%、至少約 95 重量%、至少約 96 重量%、至少約 97 重量%、至少約 98 重量%、至少約 99 重量%或至少 99.9 重量%之(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺係以形式 II 存在。

【0057】 在一些實施例中，提供一種組合物，其含有(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之形式 I 及形式 II。在一些實施例中，形式 I 及形式 II 係以 99:1、90:10、80:20、70:30、60:40、50:50、40:60、30:70、20:80、10:90 或 1:99 之重量比存在。在一些實施例中，形式 I 與形式 II 之重量比在 90:10 與 99:1 之間。在含有形式 I 及形式

II 之組合物之一些實施例中，形式 I 占全部組合物之至少約 0.1 重量%、至少約 0.3 重量%、至少約 0.5 重量%、至少約 0.8 重量%、至少約 1.0 重量%、至少約 5.0 重量%、至少約 10 重量%、至少約 20 重量%、至少約 30 重量%、至少約 40 重量%、至少約 50 重量%、至少約 60 重量%、至少約 70 重量%、至少約 80 重量%、至少約 85 重量%、至少約 90 重量%、至少約 95 重量%、至少約 96 重量%、至少約 97 重量%、至少約 98 重量%、至少約 99 重量%或至少 99.9 重量%。在含有形式 I 及形式 II 之組合物之一些實施例中，至少約 0.1 重量%、至少約 0.3 重量%、至少約 0.5 重量%、至少約 0.8 重量%、至少約 1.0 重量%、至少約 5.0 重量%、至少約 10 重量%、至少約 20 重量%、至少約 30 重量%、至少約 40 重量%、至少約 50 重量%、至少約 60 重量%、至少約 70 重量%、至少約 80 重量%、至少約 85 重量%、至少約 90 重量%、至少約 95 重量%、至少約 96 重量%、至少約 97 重量%、至少約 98 重量%、至少約 99 重量%或至少 99.9 重量%之(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茚-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺係以形式 I 存在。在含有形式 I 及形式 II 之組合物之一些實施例中，形式 II 占全部組合物之至少約 0.1 重量%、至少約 0.3 重量%、至少約 0.5 重量%、至少約 0.8 重量%、至少約 1.0 重量%、至少約 5.0 重量%、至少約 10 重量%、至少約 20 重量%、至少約 30 重量%、至少約 40 重量%、至少約 50 重量%、至少約 60 重量%、至少約 70 重量%、至少約 80 重量%、至少約 85 重量%、至少約 90 重量%、至少約 95 重量%、至少約 96 重量%、至少約 97 重量%、至少約 98 重量%、至少約 99 重量%或至少 99.9 重量%。在含有形式 I 及形式 II 之組合物之一些實施例中，至少約 0.1 重量%、至少約 0.3 重量%、至少約 0.5 重量%、至少約 0.8 重量%、至少約 1.0 重量%、至少約 5.0 重量%、至少約 10 重量%、至少約 20 重量%、至少約 30 重量%、至少約 40 重量%、至少約 50 重量%、至少約 60 重量%、至少約 70 重量%、至少約 80 重量%、至少約 85 重量%、至少約 90 重量%、至少約 95 重量%、至少約 96 重量%、至少約 97 重量%、至少約 98 重量%、至少約 99 重量%或至少 99.9 重量%之(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茚-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺係以形式 II 存在。

【0058】 在一些實施例中，提供一種錠劑或膠囊，其含有本文中所描述

之多晶形式（例如形式 I、II 或其混合物）中之一或多者及一或多種醫藥學上可接受之載劑。在一些實施例中，提供一種錠劑或膠囊，其含有實質上純的(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之多晶形式 I 及一或多種醫藥學上可接受之載劑。在一些實施例中，提供一種錠劑或膠囊，其含有實質上純的(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之多晶形式 II 及一或多種醫藥學上可接受之載劑。

製備方法

形式 I

【0059】 在一些實施例中，提供一種用於製備(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之多晶形式 I 之方法，其包含：(1) 形成(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺與溶劑之混合物；及(2) 冷卻或蒸發步驟(1)之混合物。在一些實施例中，溶劑包含醇（例如甲醇、乙醇或丙醇）、乙酸酯（例如乙酸異丙酯或乙酸乙酯）、醚（例如甲基第三丁基醚、乙醚或 2-甲基四氫呋喃）、酮（例如甲基乙基酮或甲基異丁基酮）、腈（例如乙腈）、醯胺（例如 N,N-二甲基甲醯胺）、非芳族烴（例如己烷）、芳族烴（例如甲苯）或水，或其混合物。在一些實施例中，溶劑包含正庚烷、乙醚、乙酸乙酯、乙酸異丙酯（iProAc）、甲基異丁基酮（MIBK）、2-丙醇（IPA）、甲基乙基酮（MEK）、1-丙醇、丙酮、乙醇（EtOH）、二甲亞砜（DMSO）、水、甲醇（MeOH）、第三丁基甲基醚（TBME）、環己烷、1,4-二噁烷、甲苯、氯仿、1,2-二甲氧基乙烷、四氫呋喃（THF）、二氯甲烷（DCM）、2-甲氧基乙醇、2-甲基-1-丙醇、N,N-二甲基甲醯胺（DMF）、乙腈（MeCN）、乙二醇、硝基甲烷或 N-甲基吡咯啉酮（NMP）或其混合物。在一些實施例中，溶劑包含乙腈。在一些實施例中，步驟(1) 包含將混合物加熱至高溫，諸如約 80°C、約 75°C、約 70°C、約 65°C、約 60°C、約 55°C、約 50°C、約 45°C、約 40°C 或約 35°C。在一些實施例中，步驟(1) 包含將混合物加熱至約 70°C。在一些實施例中，在進行(2) 之前添加反溶劑。在一些實施例中，反溶劑為水或 IPA。在一些實施例中，反溶劑為水。在一些實施例中，步驟(2) 包含冷卻步驟(1) 之混合

物。在一些實施例中，步驟（2）包含蒸發步驟（1）之混合物。在一些實施例中，步驟（2）包含使步驟（1）之混合物冷卻至低於用於進行步驟（1）之溫度之溫度，諸如使步驟（1）之混合物冷卻至約 20°C、約 15°C、約 10°C、約 5°C、約 0°C、約 -5°C、約 -10°C、約 -15°C 或約 -20°C。在一些實施例中，步驟（2）包含使步驟（1）之混合物冷卻至周圍溫度。在一些實施例中，步驟（1）包含將混合物加熱至約 70°C 且步驟（2）包含使步驟（1）之混合物冷卻至周圍溫度。應理解，亦可使用如以下實例 3 中所描述之適合的方法製備形式 I。

【0060】 在一些實施例中，製備(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之多晶形式 I 之方法進一步包含製備(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之方法，其包含：(a) 使 2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺與(R)-1-胺基-2,3-二氫-1H-茛-5-甲腈鹽酸鹽反應，藉此產生(R)-N-(5-氰基-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺；(b) 使(R)-N-(5-氰基-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺與脛胺反應，藉此產生(R,Z)-N-(5-(N'-脛基甲脞基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺；及(c) 使(R,Z)-N-(5-(N'-脛基甲脞基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺與異丁酸反應，藉此產生(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺。

形式 II

【0061】 在一些實施例中，提供一種用於製備(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之多晶形式 II 之方法，其包含：(1) 形成(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之多晶形式 I 與溶劑之混合物；及(2) 移除溶劑。在一些實施例中，溶劑包含乙酸酯（例如乙酸異丙酯或乙酸乙酯）。在一些實施例中，溶劑包含乙酸正丙酯。在一些實施例中，步驟（1）包含將混合物加熱至高溫，諸如約 80°C、約 75°C、約 70°C、約 65°C、約 60°C、約 55°C、約 50°C、約 45°C、約 40°C 或約 35°C。在一些實施例中，步驟（1）包含將混合物加熱至約 50°C。在一些實施例中，在進行步驟（2）之前攪拌步

驟（1）之混合物。在一些實施例中，將步驟（1）之混合物攪拌約 10 分鐘、約 20 分鐘、約 30 分鐘、約 40 分鐘、約 50 分鐘、約 1 小時、約 2 小時、約 3 小時、約 4 小時、約 5 小時或約 6 小時。在一些實施例中，將步驟（1）之混合物攪拌約 10 分鐘。應理解，亦可使用如以下實例 3 中所描述之適合的方法製備形式 I。

使用方法

【0062】 本文中所提供之多晶形式及組合物可用於治療或預防個人或個體中之疾病或病狀。

【0063】 不受理論束縛，咸信所提供之多晶形式及組合物係藉由抑制肌凝蛋白來起作用。此抑制作用潛在地降低與絲狀肌動蛋白相互作用之獨立的肌凝蛋白頭之數目，從而減少收縮量。減少心肌之收縮對於治療其中收縮過度為一種問題之心臟病而言可為重要的。在一些實施例中，提供用於治療或預防個人或個體中之心臟病之方法，其包含向有需要之個人或個體投予本文中所提供之多晶形式或組合物。在一些實施例中，提供用於治療或預防有需要之個體中之心臟病之方法，其包含向個體投予治療有效量之本文中所提供之多晶形式或組合物。在一些實施例中，提供用於治療有需要之個體中之心臟病之方法，其包含向個體投予治療有效量之本文中所提供之多晶形式或組合物。在一些實施例中，提供用於治療有需要之個體中之心臟病之方法，其包含向個體投予治療有效量之本文中所提供之多晶形式或組合物。在一些實施例中，提供用於預防有需要之個體中之心臟病之方法，其包含向個體投予治療有效量之本文中所提供之多晶形式或組合物。

【0064】 本文中亦提供本文中所提供之多晶形式或組合物之用途，其係用於製造用以治療個體中之心臟病之藥劑。在一些態樣中，提供如本文中所描述之多晶形式或組合物，其係用於藉由療法來治療人類或動物之方法。在一些實施例中，本文中提供多晶形式，諸如形式 I 或形式 II 或其組合物，其係用於藉由療法來治療人類或動物體之方法。在一些實施例中，本文中提供多晶形式，諸如形式 I 或形式 II 或其組合物，其係用於治療或預防心臟病。在一些實施例中，本文中提供多晶形式，諸如形式 I 或形式 II 或其組合物，其係用於治療心臟病。在一些實施例中，本文中提供多晶形式，諸如形式 I

或形式 II 或其組合物，其係用於治療確定性或診斷性心臟病。在一些實施例中，本文中提供多晶形式，諸如形式 I 或形式 II 或其組合物，其係用於預防心臟病。在一些實施例中，本文中提供多晶形式，諸如形式 I 或形式 II 或 VI 或其組合物，其係用於治療與 HCM 相關之疾病或病狀。在一些實施例中，本文中提供多晶形式，諸如形式 I 或形式 II 或其組合物，其係用於治療與繼發性左心室壁增厚相關之疾病或病狀。在一些實施例中，本文中提供多晶形式，諸如形式 I 或形式 II 或其組合物，其係用於改善與心臟病相關之症狀。在其他實施例中，本文中提供多晶形式，諸如形式 I 或形式 II 或其組合物，其係用於降低與心臟病相關之症狀之風險。在其他實施例中，本文中提供多晶形式，諸如形式 I 或形式 II 或其組合物，其係用於治療與左心室腔過小、腔閉塞、高動力性左心室收縮、左心室之血液流出受阻、心臟肥大、心搏出量過小、左心室鬆弛減弱、左心室填充壓力過高、心肌缺血或心臟纖維化相關之疾病或病狀。在一些實施例中，本文中提供多晶形式，諸如形式 I 或形式 II 或其組合物，其係用於治療與左心室腔過小及腔閉塞、高動力性左心室收縮、心肌缺血或心臟纖維化相關之疾病或病狀。在一些實施例中，本文中提供多晶形式，諸如形式 I 或形式 II 或其組合物，其係用於治療肌肉萎縮症。在一些實施例中，本文中提供多晶形式，諸如形式 I 或形式 II 或其組合物，其係用於治療肝糖貯積症。在一些實施例中，本文中提供多晶形式，諸如形式 I 或形式 II 或其組合物，其係用於調節心臟肌節，諸如抑制心臟肌節。在一些實施例中，本文中提供多晶形式，諸如形式 I 或形式 II 或其組合物，其係用於增強心臟肌凝蛋白。

【0065】 在一些實施例中，個體為哺乳動物。在一些實施例中，個體為小鼠、大鼠、犬、貓、豬、羊、馬、牛或人類。在一些實施例中，個體為人類。在一些實施例中，個體患有確定性或診斷性心臟病。在一些實施例中，個體患有確定性或診斷性肥厚性心肌症（HCM）。在一些實施例中，個體具有產生心臟病之風險。在一些實施例中，個體具有可增加心臟病風險之突變。在一些實施例中，個體具有可增加肥厚性心肌症（HCM）風險之突變。在一些實施例中，突變為肌節突變。在一些實施例中，突變為肌凝蛋白重鏈 β （MHC- β ）、心肌肌鈣蛋白 T（cTnT）、肌旋蛋白 α -1 鏈（TPM1）、心臟型肌凝

蛋白結合蛋白質 C (MYBPC3)、心臟肌鈣蛋白 I (cTnI)、肌凝蛋白必需輕鏈 (ELC)、肌聯蛋白 (TTN)、肌凝蛋白調節性輕鏈 2 心室/心肌同功異型物 (MLC-2)、心肌 α 肌動蛋白、肌肉 LIM 蛋白質 (MLP) 或蛋白激酶 AMP 活化之非催化性次單元 $\gamma 2$ (PRKAG2) 中之突變。在一些實施例中，突變為 MHC- β 中之突變。在一些實施例中，個體患有不具有經證實之遺傳病因之確定性或診斷性肥厚性心肌症。

【0066】 在一些實施例中，個體具有高進行性症狀之風險。在一些實施例中，個體具有高心房微顫、室性心動過速、中風及/或猝死之風險。在一些實施例中，個體具有降低之運動能力。在一些實施例中，降低之運動能力係與年齡匹配之對照群體相比。在一些實施例中，個體符合用於治療心臟病之手術介入或經皮消融術之條件。

【0067】 在一些實施例中，心臟病為肥厚性心肌症 (HCM)。在一些實施例中，心臟病為阻塞性 HCM。在一些實施例中，心臟病為非阻塞性 HCM。在一些實施例中，HCM 與肌節突變相關。在一些實施例中，HCM 與非肌節突變相關。在一些實施例中，心臟病為由肌節及/或非肌節突變引起之阻塞性或非阻塞性 HCM。在一些實施例中，肌節突變為肌凝蛋白重鏈 β (MHC- β)、心臟肌鈣蛋白 T (cTnT)、肌旋蛋白 α -1 鏈 (TPM1)、心臟型肌凝蛋白結合蛋白質 C (MYBPC3)、心臟肌鈣蛋白 I (cTnI)、肌凝蛋白必需輕鏈 (ELC)、肌聯蛋白 (TTN)、肌凝蛋白調節性輕鏈 2 心室/心肌同功異型物 (MLC-2)、心肌 α 肌動蛋白或肌肉 LIM 蛋白質 (MLP) 中之突變。在一些實施例中，肌節突變為 MHC- β 中之突變。在一些實施例中，非肌節突變為蛋白激酶 AMP 活化之非催化性次單元 $\gamma 2$ (PRKAG2) 中之突變。

【0068】 在一些實施例中，本文中提供用於治療與 HCM 相關之疾病或病狀之方法，其包含向有需要之個人或個體投予本文中所提供之多晶形式或組合物。在一些實施例中，疾病或病狀為法布里氏病 (Fabry's)、達農氏病 (Danon Disease)、粒線體心肌病或努南氏症候群 (Noonan Syndrome)。

【0069】 本文中亦提供本文中所提供之多晶形式或組合物之用途，其係用於製造用以治療與 HCM 相關之疾病或病狀之藥劑。

【0070】 在一些實施例中，心臟病為射血分數保留(preserved ejection

fraction)的心臟衰竭 (HFpEF)。在一些實施例中，心臟病為舒張功能障礙。在一些實施例中，心臟病為心肌病。在一些實施例中，心臟病為原發性或繼發性限制型心肌病。在一些實施例中，心臟病為由冠狀動脈疾病引起之病狀或症狀。在一些實施例中，心臟病為心肌梗塞或心絞痛。在一些實施例中，心臟病為左心室流出道阻塞。在一些實施例中，心臟病為高血壓性心臟病。在一些實施例中，心臟病為先天性心臟病。在一些實施例中，心臟病為心臟缺血及/或冠心病。在一些實施例中，心臟病為糖尿病性心臟病。在其他實施例中，心臟病為充血性心臟衰竭。在一些實施例中，心臟病為右心臟衰竭。在其他實施例中，心臟病為心腎症候群。在一些實施例中，心臟病為浸潤性心肌病。在一些實施例中，心臟病為心臟衰老或由衰老引起之舒張功能障礙病狀或與心臟衰老或由衰老引起之舒張功能障礙相關之病狀。在一些實施例中，心臟病為左心室肥大及/或同心性左心室重構病狀或與左心室肥大及/或同心性左心室重構相關之病狀。

【0071】 在一些實施例中，提供用於治療個人或個體中之與繼發性左心室壁增厚相關之疾病或病狀之方法，其包含向有需要之個人或個體投予本文中所提供之多晶形式或組合物。在一些實施例中，疾病為高血壓、瓣膜性心臟病（主動脈瓣狹窄、二尖瓣反流）、代謝症候群（糖尿病、肥胖症）、末期腎病、硬皮病、睡眠呼吸暫停、澱粉樣變性、法布里氏病、弗里德賴希氏共濟失調（Friedreich Ataxia）、達農氏病、努南氏症候群及龐培氏病（Pompe disease）。

【0072】 本文中亦提供本文中所提供之多晶形式或組合物之用途，其係用於製造用以治療與繼發性左心室壁增厚相關之疾病或病狀之藥劑。

【0073】 在一些實施例中，提供用於改善個體中之與心臟病相關之症狀之方法，其包含向有需要之個人或個體投予本文中所提供之多晶形式或組合物，其中該症狀為一或多種選自以下之症狀：心臟彈性不良或降低、舒張性左心室鬆弛不良或降低、左心房壓力異常（例如左心房壓力異常高）、突發性或永久性心房微顫、左心房及肺毛細血管楔壓增加、左心室舒張壓力增加、暈厥、在舒張期間之心室鬆弛、心室纖維化、左心室肥大、左心室質量、左心室壁厚度增加、左心室中腔阻塞、二尖瓣之收縮期前向運動增加、左心室

流出道阻塞、胸部疼痛、勞力性呼吸困難、暈厥前、運動能力異常及疲勞。

【0074】 在一些實施例中，提供用於治療個人或個體中之與左心室腔過小、腔閉塞、高動力性左心室收縮、左心室之血液流出受阻、心臟肥大、心搏出量過小、左心室鬆弛減弱、左心室填充壓力過高、心肌缺血或心臟纖維化相關之疾病或病狀之方法，其包含向有需要之個人或個體投予本文中所提供之多晶形式或組合物。

【0075】 在一些實施例中，提供用於治療個人或個體中之與左心室腔過小及腔閉塞、高動力性左心室收縮、心肌缺血或心臟纖維化相關之疾病或病狀之方法，其包含向有需要之個人或個體投予本文中所提供之多晶形式或組合物。

【0076】 本文中亦提供本文中所提供之多晶形式或組合物之用途，其係用於製造用以治療與左心室腔過小及腔閉塞、高動力性左心室收縮、心肌缺血或心臟纖維化相關之疾病或病狀之藥劑。

【0077】 在一些實施例中，提供用於治療個人或個體中之肌肉萎縮症（例如杜氏肌營養不良（Duchenne muscular dystrophy））之方法，其包含向有需要之個人或個體投予本文中所提供之多晶形式或組合物。本文中亦提供本文中所提供之多晶形式或組合物之用途，其係用於製造用以治療肌肉萎縮症（例如杜氏肌營養不良）之藥劑。

【0078】 在一些實施例中，提供用於治療個人或個體中之肝糖貯積症之方法，其包含向有需要之個人或個體投予本文中所提供之多晶形式或組合物。本文中亦提供本文中所提供之多晶形式或組合物之用途，其係用於製造用以治療肝糖貯積症之藥劑。

【0079】 亦提供用於調節個人或個體之心臟肌節之方法，該方法包含向有需要之個人或個體投予治療有效量之至少一種如本文中所描述之化學實體。在一些實施例中，提供用於抑制心臟肌節之方法，其包含使心臟肌節與至少一種如本文中所描述之化學實體（諸如本文中所提供之多晶形式或組合物）接觸。本文中亦提供至少一種如本文中所描述之化學實體（諸如本文中所提供之多晶形式或組合物）之用途，其係用於製造用以抑制個人或個體之心臟肌節之藥劑。

【0080】亦提供用於增強個人或個體之心臟肌凝蛋白之方法，該方法包含向有需要之個人或個體投予治療有效量之至少一種如本文中所描述之化學實體，諸如本文中所提供之多晶形式或組合物。本文中亦提供至少一種如本文中所描述之化學實體（諸如本文中所提供之多晶形式或組合物）之用途，其係用於製造用以增強個人或個體之心臟肌凝蛋白之藥劑。

【0081】在一些實施例中，本文中提供之方法進一步包含監測治療之有效性。指標之實例包括（但不限於）以下中之一或多者之改良：紐約心臟協會（New York Heart Association；NYHA）功能分類、運動能力、心臟彈性、舒張性左心室鬆弛、左心房壓力、突發性或永久性心房微顫、左心房及肺毛細血管楔壓、左心室舒張壓力、暈厥、在舒張期間之心室鬆弛、心室纖維化、左心室肥大、左心室質量、左心室壁厚度、左心室中腔阻塞、二尖瓣之收縮期前向運動增加、左心室流出道阻塞、胸部疼痛、勞力性呼吸困難、暈厥前、運動能力異常及疲勞。此等指標可藉由此項技術中已知的技術監測，包括自我報導；ECG，包括動態 ECG；超音波心動描記術；心臟 MRI；CT；活體組織切片；心肺運動測試（CPET）；及體動記錄儀。

【0082】在一些實施例中，本文中所描述之多晶形式或組合物降低心肌細胞之收縮性。在一些實施例中，多晶形式或組合物使心肌細胞之收縮性降低超過 40%，諸如超過 45%、50%、60%、70%、80%或 90%。在一些實施例中，多晶形式或組合物使心肌細胞之收縮性降低 40%-90%，諸如 40%-80%、40-70%、50%-90%、50%-80%或 50%-70%。在一些實施例中，多晶形式或組合物不顯著改變心肌細胞中之鈣瞬變。在一些實施例中，多晶形式或組合物降低心肌細胞中之 ATP 酶活性。用於量測收縮性、ATP 酶活性及鈣瞬變之方法為此項技術中已知的，例如藉由鈣標記、電生理學記錄及微觀成像。在一些實施例中，多晶形式或組合物不顯著抑制或誘導細胞色素 P450（CYP）蛋白質。

【0083】在一些實施例中，在治療之前，個體之左心室壁厚度高於正常值。在一些實施例中，在治療之前，個體之左心室壁厚度大於 15 mm，諸如大於 18 mm、20 mm、22 mm、25 mm 或 30 mm。在一些實施例中，在治療後，左心室壁厚度降低超過 5%，諸如超過 8%、10%、12%、15%、20%或 30%。

可藉由此項技術中已知之方法量測左心室壁厚度，諸如藉由超音波心動描記術、CT 掃描或心臟 MRI。

【0084】 在一些實施例中，在治療之前，個體患有異常心臟纖維化。在一些實施例中，在治療後，異常心臟纖維化降低超過 5%，諸如超過 8%、10%、12%、15%、20%或 30%。可藉由此項技術中已知之方法量測心臟纖維化，諸如藉由活體組織切片或心臟 MRI。

【0085】 在一些實施例中，在治療之前，個體患有運動能力降低。在一些實施例中，在治療後，個體之運動能力增加超過 5%，諸如超過 8%、10%、12%、15%、20%或 30%。在一些實施例中，藉由心肺運動測試（CPET）量測運動能力。CPET 量測耗氧量（最大 VO_2 ）之變化。量測 CPET 及最大 VO_2 之方法為此項技術中熟知的(Malhotra 等人, JACC: Heart Failure, 2016, 4(8): 607-616；Guazzi 等人, J Amer College Cardiol, 2017, 70 (13): 1618-1636；Rowin 等人, JACC: Cardiovasc Imaging, 2017, 10(11):1374-1386)。在一些實施例中，在治療後，最大 VO_2 改良超過 1 mL/kg/m²，諸如超過 1.2 mL/kg/m²、1.4 mL/kg/m²、1.5 mL/kg/m²、1.7 mL/kg/m²、2 mL/kg/m²、2.2 mL/kg/m²、2.5 mL/kg/m²、3 mL/kg/m²、3.2 mL/kg/m²或 3.5 mL/kg/m²。

【0086】 在一些實施例中，在治療之前，個體之紐約心臟協會（NYHA）功能分類為 II、III 或 IV。在一些實施例中，在治療之前，個體之紐約心臟協會（NYHA）功能分類為 III 或 IV。在一些實施例中，在治療之前，個體之紐約心臟協會（NYHA）功能分類為 IV。在一些實施例中，在治療後，個體保持相同的 NYHA 功能類別或具有降低之 NYHA 功能類別。

【0087】 在一些實施例中，在治療後，最大 VO_2 改良超過 1 mL/kg/m²，諸如超過 1.2 mL/kg/m²、1.4 mL/kg/m²、1.5 mL/kg/m²、1.7 mL/kg/m² 或 2 mL/kg/m²，且個體具有降低之 NYHA 功能類別。在一些實施例中，在治療後，最大 VO_2 改良超過 2.5 mL/kg/m²、3 mL/kg/m²、3.2 mL/kg/m²或 3.5 mL/kg/m² 且個體保持相同的 NYHA 功能類別或具有降低之 NYHA 功能類別。

【0088】 在一些實施例中，在治療後，個體之每天功能及/或活性水準得到改良。經改良之每天功能及/或活動水準可例如藉由日誌或體動記錄儀（諸如 FitBit 或 FitBit 類監測器）量測。

【0089】 在一些實施例中，在治療後，個體具有以下中之一或多者：呼吸短促降低、胸部疼痛降低、心律不整負荷（諸如心房微顫及心室性心律不齊）降低、心臟衰竭之發病率降低及心室流出阻塞降低。

劑量

【0090】 本文中所揭示及/或描述之多晶形式及組合物係以治療有效劑量（例如，足以提供疾病病況之治療之劑量）投予。儘管本文中所描述之化學個體之人類劑量水準尚待最佳化，但通常，日劑量在每公斤體重約 0.01 至 100 mg 範圍內；在一些實施例中，在每公斤體重約 0.05 至 10.0 mg 範圍內且在一些實施例中，在每公斤體重約 0.10 至 1.4 mg 範圍內。因此，對於向 70 kg 個體投藥，在一些實施例中，劑量範圍將為約 0.7 至 7000 毫克/天；在一些實施例中，約 3.5 至 700.0 毫克/天且在一些實施例中，約 7 至 100.0 毫克/天。所投予之化學實體之量將例如視所治療之個體及疾病病況、病痛之嚴重程度、投藥方式及時程以及處方醫師之判斷而定。舉例而言，口服投藥之例示性劑量範圍為約 5 毫克至約 500 毫克/天，且例示性靜脈內投藥劑量為約 5 毫克至約 500 毫克/天，各自視藥物動力學而定。

【0091】 日劑量為一天投予之總量。日劑量可（但不限於）每天、每隔一天、每週、每 2 週、每個月或以不同間隔投予。在一些實施例中，日劑量之投藥時段在一天至個體終生之範圍內。在一些實施例中，日劑量係一天一次投予。在一些實施例中，日劑量係以多個分次劑量形式，諸如以 2、3 或 4 個分次劑量形式投予。在一些實施例中，日劑量係以 2 個分次劑量形式投予。

【0092】 本文中所描述之多晶形式及組合物之投藥可經由任何可接受的用於治療劑之投藥模式進行，包括（但不限於）口服、舌下、皮下、非經腸、靜脈內、鼻內、局部、經皮、腹膜內、肌肉內、肺內、經陰道、經直腸或眼內投藥。在一些實施例中，多晶形式或組合物係經口或靜脈內投予。在一些實施例中，本文中所揭示及/或描述之多晶形式或組合物係經口投予。

【0093】 醫藥學上可接受之組合物包括固體、半固體、液體及氣溶膠劑型，諸如錠劑、膠囊、粉末、液體、懸浮液、栓劑及氣溶膠形式。本文中所揭示及/或描述之多晶形式亦可以持續或控制釋放劑型（例如控制/持續釋放丸劑、儲槽式注射劑、滲透泵或經皮（包括電傳送）貼片形式）投予，以用於

以預定速率進行之長期定時及/或脈衝投藥。在一些實施例中，組合物係以適用於精密劑量之單次給藥之單位劑型形式提供。

【0094】 本文中所描述之多晶形式可單獨或與一或多種習知醫藥學載劑或賦形劑（例如甘露糖醇、乳糖、澱粉、硬脂酸鎂、糖精鈉、滑石、纖維素、交聯羧甲基纖維素鈉、葡萄糖、明膠、蔗糖、碳酸鎂）組合投予。視需要，醫藥組合物亦可含有少量無毒輔助物質，諸如濕潤劑、乳化劑、增溶劑、pH 值緩衝劑及其類似物（例如乙酸鈉、檸檬酸鈉、環糊精衍生物、脫水山梨糖醇單月桂酸酯、三乙醇胺乙酸酯、三乙醇胺油酸酯）。通常，視所欲投藥模式而定，醫藥組合物將含有約 0.005 重量%至 95 重量%或約 0.5 重量%至 50 重量%之本文中所揭示及/或描述之多晶形式。製備此類劑型之實際方法為已知的，或將對熟習此項技術者顯而易見；例如，參見 *Remington's Pharmaceutical Sciences*, Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania。

【0095】 在一些實施例中，組合物將呈丸劑或錠劑形式且因此，除本文中所揭示及/或描述之多晶形式以外，組合物可含有稀釋劑（例如乳糖、蔗糖、磷酸二鈣）、潤滑劑（例如硬脂酸鎂）及/或黏合劑（例如澱粉、阿拉伯膠（gum acacia）、聚乙烯吡咯啉酮、明膠、纖維素、纖維素衍生物）中之一或多者。其他固體劑型包括囊封於明膠膠囊中之粉末、球形粒、溶液或懸浮液（例如在碳酸伸丙酯、植物油或三酸甘油酯中）。

【0096】 液態醫藥學上可投予之組合物可例如藉由使本文中所揭示及/或描述之多晶形式及視情況選用之醫藥添加劑在載劑（例如水、生理食鹽水、右旋糖水溶液、甘油、二醇、乙醇或其類似物）中溶解、分散或懸浮等，以形成溶液或懸浮液來製備。可注射劑可以習知形式，以液體溶液或懸浮液形式、以乳液形式或以適合於在注射之前在液體中溶解或懸浮的固體形式製備。此類非經腸組合物中所含的多晶形式之百分比視例如多晶形式之物理性質、多晶形式之活性及個體之要求而定。然而，可使用 0.01%至 10%之活性成分於溶液中之百分比且若組合物為隨後將稀釋至另一濃度之固體，則該百分比可更高。在一些實施例中，組合物將在溶液中包含約 0.2 至 2%之本文中所揭示及/或描述之多晶形式。

【0097】 本文中所描述之多晶形式及組合物之醫藥組合物亦可以用於

噴霧器之氣溶膠或溶液形式或以用於吹入之微細粉末形式單獨或與惰性載劑（諸如乳糖）組合投予至呼吸道。在此類情況下，醫藥組合物之粒子之直徑小於 50 微米或在一些實施例中，小於 10 微米。

【0098】此外，醫藥組合物可包括本文中所揭示及/或描述之多晶形式及一或多種其他藥劑、醫藥劑、佐劑及其類似物。適合的藥劑及醫藥劑包括本文中所描述之藥劑及醫藥劑。

套組

【0099】亦提供製品及套組，其含有本文中所提供之多晶形式或組合物中之任一者。製品可包含具有標籤之容器。適合的容器包括例如瓶子、小瓶及試管。容器可由各種材料形成，諸如玻璃或塑膠。容器可容納本文中所提供之醫藥組合物。容器上之標籤可指示醫藥組合物係用於預防、治療或抑制本文中所描述之病狀，且亦可指示用於活體內或活體外用途之說明。

【0100】在一個態樣中，本文中提供一種套組，其含有本文中所描述之多晶形式或組合物及使用說明書。套組可含有用於治療有需要之個人或個體中之心臟病之使用說明書。套組亦可含有可用於多晶形式或組合物之投藥之任何材料或設備，諸如小瓶、注射器或 IV 袋。套組亦可含有無菌封裝。

組合

【0101】本文中所描述之多晶形式及組合物可單獨或與其他適用於治療前述病症、疾病或病狀之療法及/或治療劑組合投予。

【0102】本文中所描述之多晶形式及組合物可與一或多種其他療法組合以治療心臟病，諸如 HCM 或 HFpEF。在一些實施例中，該一或多種療法包括藉由下調心臟之神經激素刺激來阻滯心臟衰竭之進程及嘗試防止心臟重構之療法（例如 ACE 抑制劑、血管收縮素受體阻斷劑（ARB）、 β -阻斷劑、醛固酮受體拮抗劑或神經內肽酶抑制劑）。在一些實施例中，該一或多種療法包括藉由刺激心肌收縮性來改良心臟功能之療法（例如正性心肌收縮劑，諸如 β -腎上腺素促效劑多巴酚丁胺（dobutamine）或磷酸二酯酶抑制劑米利酮（milrinone））。在其他實施例中，該一或多種療法包括降低心臟前負荷（例如利尿劑，諸如呋喃苯胺酸（furosemide））或後負荷（任何類別之血管擴張劑，包括（但不限於）鈣離子通道阻斷劑、磷酸二酯酶抑制劑、內皮素受體拮抗

劑、腎素抑制劑或平滑肌凝蛋白調節劑)之療法。

【0103】本文中所描述之多晶形式及組合物可與一或多種其他療法組合以治療 HCM 或 HFpEF。在一些實施例中，多晶形式及組合物可與 β -阻斷劑、維拉帕米 (verapamil) 及/或丙吡胺 (disopyramide) 組合。

【0104】一些例示性實施例提供於下文中：

1. 一種(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之多形體。
2. 如實施例 1 之多形體，其特徵在於具有包含 7.1 ± 0.2 、 14.2 ± 0.2 、 14.9 ± 0.2 、 16.2 ± 0.2 及 18.3 ± 0.2 度之 2θ 角處之峰之 XRPD 圖案。
3. 如實施例 1 或 2 之多形體，其特徵在於具有包含 7.1 ± 0.2 、 9.9 ± 0.2 、 14.2 ± 0.2 、 14.9 ± 0.2 、 16.2 ± 0.2 、 17.6 ± 0.2 、 18.3 ± 0.2 、 21.0 ± 0.2 、 24.1 ± 0.2 及 24.5 ± 0.2 度之 2θ 角處之峰之 XRPD 圖案。
4. 如實施例 1 至 3 中任一項之多形體，其特徵在於具有實質上如圖 1A 中所示之 XRPD 圖案。
5. 如實施例 1 至 4 中任一項之多形體，其特徵在於具有實質上如圖 1B 中所示之 DSC 曲線。
6. 如實施例 1 至 5 中任一項之多形體，其特徵在於具有在約 153°C 下開始之吸熱作用，如藉由 DSC 所測定。
7. 如實施例 1 至 6 中任一項之多形體，其特徵在於具有實質上如圖 1B 中所示之 TGA 曲線。
8. 如實施例 1 至 7 中任一項之多形體，其特徵在於具有實質上如圖 1C 或圖 1D 中所示之 DVS 曲線。
9. 如實施例 1 之多形體，其特徵在於具有包含 14.9 ± 0.2 、 16.0 ± 0.2 、 18.8 ± 0.2 、 22.5 ± 0.2 及 25.8 ± 0.2 度之 2θ 角處之峰之 XRPD 圖案。
10. 如實施例 1 或 9 之多形體，其特徵在於具有包含 5.7 ± 0.2 、 9.4 ± 0.2 、 13.6 ± 0.2 、 14.9 ± 0.2 、 16.0 ± 0.2 、 18.8 ± 0.2 、 22.5 ± 0.2 、 22.7 ± 0.2 、 23.1 ± 0.2 及 25.8 ± 0.2 度之 2θ 角處之峰之 XRPD 圖案。
11. 如實施例 1、9 及 10 中任一項之多形體，其特徵在於具有實質上如圖 2A 中所示之 XRPD 圖案。

12. 如實施例 1 及 9 至 11 中任一項之多形體，其特徵在於具有實質上如圖 2B 中所示之 DSC 曲線。

13. 如實施例 1 及 9 至 12 中任一項之多形體，其特徵在於具有在約 133°C 下開始之吸熱作用，如藉由 DSC 所測定，及/或在約 135°C 下開始之放熱作用，如藉由 DSC 所測定，及/或在約 152°C 下開始之吸熱作用，如藉由 DSC 所測定。

14. 如實施例 1 及 9 至 13 中任一項之多形體，其特徵在於具有實質上如圖 2B 中所示之 TGA 曲線。

15. 如實施例 1 及 9 至 14 中任一項之多形體，其特徵在於具有實質上如圖 2C 或圖 2D 中所示之 DVS 曲線。

16. 一種用於製備如實施例 2 至 8 中任一項之多形體之方法，其包含：

(1) 形成(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺與溶劑之混合物；及

(2) 冷卻或蒸發步驟(1)之混合物。

17. 如實施例 16 之方法，其中該溶劑包含乙腈。

18. 如實施例 16 或 17 之方法，其中步驟(1)包含將混合物加熱至約 70°C。

19. 如實施例 16 至 18 中任一項之方法，其中步驟(2)包含使步驟(1)之混合物冷卻至周圍溫度。

20. 如實施例 16 至 19 中任一項之方法，其中在進行步驟(2)之前添加反溶劑，其中反溶劑為水。

21. 一種用於製備如實施例 9 至 15 中任一項之多形體之方法，其包含：

(1) 形成(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之多晶形式 I 與溶劑之混合物；及

(2) 移除溶劑。

22. 如實施例 21 之方法，其中該溶劑包含乙酸正丙酯。

23. 如實施例 21 或 22 之方法，其中步驟(1)包含將混合物加熱至約 50°C。

24. 一種醫藥組合物，其包含如實施例 1 至 15 中任一項之多形體及醫藥

學上可接受之賦形劑。

25. 一種用於治療有需要之個體中之心臟病之方法，其包含向個體投予如實施例 1 至 15 中任一項之多形體或如實施例 24 之醫藥組合物。

26. 如實施例 25 之方法，其中心臟病為肥厚性心肌症（HCM）。

27. 如實施例 26 之方法，其中 HCM 為阻塞性或非阻塞性或與肌節及/或非肌節突變相關。

28. 如實施例 25 之方法，其中心臟病為射血分數保留的心臟衰竭（HFpEF）。

29. 如實施例 25 之方法，其中心臟病係選自由以下組成之群：舒張功能障礙、原發性或繼發性限制型心肌病、心肌梗塞及心絞痛、左心室流出道阻塞、高血壓性心臟病、先天性心臟病、心臟缺血、冠心病、糖尿病性心臟病、充血性心臟衰竭、右心臟衰竭、心腎症候群及浸潤性心肌病。

30. 如實施例 25 之方法，其中心臟病為一或多種選自由以下組成之群之病狀或與其相關：心臟衰老、由衰老引起之舒張功能障礙、左心室肥大及同心性左心室重構。

31. 一種用於治療有需要之個體中之與 HCM 相關之疾病或病狀之方法，其包含向個體投予如實施例 1 至 15 中任一項之多形體或如實施例 24 之醫藥組合物。

32. 如實施例 31 之方法，其中疾病或病狀係選自由以下組成之群：法布里氏病、達農氏病、粒線體心肌病及努南氏症候群。

33. 一種用於治療有需要之個體中之與繼發性左心室壁增厚相關之疾病或病狀之方法，其包含向個體投予如實施例 1 至 15 中任一項之多形體或如實施例 24 之醫藥組合物。

34. 如實施例 33 之方法，其中疾病或病狀係選自由以下組成之群：高血壓、瓣膜性心臟病、代謝症候群、末期腎病、硬皮病、睡眠呼吸暫停、澱粉樣變性、法布里氏病、弗里德賴希氏共濟失調、達農氏病、努南氏症候群及龐培氏病。

35. 一種用於治療有需要之個體中之與左心室腔過小及腔閉塞、高動力性左心室收縮、心肌缺血或心臟纖維化相關之疾病或病狀之方法，其包含向個

體投予如實施例 1 至 15 中任一項之多形體或如實施例 24 之醫藥組合物。

36. 一種用於治療有需要之個體中之選自肌肉萎縮症及肝糖貯積症之疾病或病狀之方法，其包含向個體投予如實施例 1 至 15 中任一項之多形體或如實施例 24 之醫藥組合物。

37. 一種用於抑制心臟肌節之方法，其包含使心臟肌節與如實施例 1 至 15 中任一項之多形體或如實施例 24 之醫藥組合物接觸。

實例

【0105】 提供以下實例以幫助進一步理解本申請案中揭示之實施例，且假設一般熟習此項技術者熟知與實例有關之習知方法之理解。下文描述之特定材料及條件意欲例示本文中所揭示之實施例之特定態樣且不應視為限制其合理的範疇。

【0106】 本文中可使用以下縮寫：

XRPD	X 射線粉末繞射
DSC	差示掃描熱量測定
TGA	熱解重量分析
DVS	動態蒸汽吸附
2-MeTHF	2-甲基四氫呋喃
equiv. or eq.	當量
vol	體積
RH	相對濕度
ca.	約
RT	室溫
MEK	甲基乙基酮
iProAc	乙酸異丙酯
MIBK	甲基異丁基酮
EtOH	乙醇
DMSO	二甲亞砜
TBME	第三丁基甲基醚
THF	四氫呋喃
DCM	二氯甲烷
MeOH	甲醇
DMF	N,N-二甲基甲醯胺
MeCN	乙腈
NMP	N-甲基吡咯啉酮
IPA	2-丙醇

【0107】 使用下文所描述之程序，藉由各種分析技術來表徵(R)-N-(5-(5-

異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之多晶形式。

XRPD

【0108】 在透射幾何中使用 Cu K α 輻射 (45 kV, 40 mA), 用 PANalytical Empyrean 繞射儀收集 XRPD 繞射圖。對入射光束使用 0.5° 狹縫、4 mm 遮罩及 0.04 拉德索勒狹縫 (Soller slits) 以及聚焦鏡。置放於繞射光束上之 PIXcel^{3D} 偵測器裝備有接收狹縫及 0.04 拉德索勒狹縫。用於資料收集之軟體為使用 X'Pert 操作員介面之 X'Pert 資料收集器。使用 Diffrac Plus EVA 或 HighScore Plus 分析及呈現資料。

【0109】 在金屬或 Millipore 96 孔盤中，在透射模式下製備及分析樣本。在金屬孔盤上之金屬片之間使用 X 射線透明膜且粉末 (約 1-2 mg) 係按原樣使用。使用 Millipore 盤，藉由直接向盤中添加少量懸浮液，接著在光真空中過濾來分離及分析來自懸浮液之固體。

【0110】 金屬盤之掃描模式使用角掃描軸，而 Millipore 盤利用 2 θ 掃描。

【0111】 標準篩選資料收集方法之細節為：

- 角度範圍：2.5 至 32.0° 2 θ ；
- 步長：0.0130° 2 θ ；
- 收集時間：12.75 秒/步驟 (總收集時間為 2.07 分鐘)。

DSC

【0112】 用配備有 50 位置自動取樣器之 TA Instruments Q2000 或配備有 50 位置自動取樣器之 TA Instruments Discovery DSC 收集 DSC 資料。典型地，在銷孔型鋁盤中，0.5-3 mg 各樣本以 10°C/分鐘自 25°C 加熱至 350°C。在樣本上保持以 50 毫升/分鐘進行之乾燥氮氣吹掃。儀器控制軟體為 TRIOS 且使用 TRIOS 或 Universal Analysis 分析資料。對於 TA Instruments Q2000，儀器控制軟體為 Advantage for Q Series 及 Thermal Advantage 且使用 Universal Analysis 或 TRIOS 分析資料。對於 TA Instruments Discovery DSC，儀器控制軟體為 TRIOS 且使用 TRIOS 或 Universal Analysis 分析資料。

TGA

【0113】 用配備有 16 位置自動取樣器之 TA Instruments Q500 TGA 或配

備有 25 位置自動取樣器之 TA Instruments Discovery TGA 收集 TGA 資料。對於 TA Instruments Q500 TGA，通常將 5-10 mg 各樣本裝載至經預先配衡之鋁 DSC 盤上且以 10°C/分鐘自周圍溫度加熱至 350°C。在樣本上保持以 60 毫升/分鐘進行之氮氣吹掃。儀器控制軟體為 Advantage for Q Series 及 Thermal Advantage 且使用 Universal Analysis 或 TRIOS 分析資料。對於 TA Instruments Discovery TGA，通常將 5-10 mg 各樣本裝載至經預先配衡之鋁 DSC 盤上且以 10°C/分鐘自周圍溫度加熱至 350°C。在樣本上保持以 25 毫升/分鐘進行之氮氣吹掃。儀器控制軟體為 TRIOS 且使用 TRIOS 或 Universal Analysis 分析資料。

DVS

【0114】 使用由 DVS Intrinsic Control 軟體控制之 SMS DVS Intrinsic 水分吸附分析儀獲得 DVS 資料。藉由儀器控制使樣本溫度保持為 25°C。藉由乾燥與濕潤氮氣之混合流控制濕度，總流動速率為 200 ml/min。藉由位於樣本附近之經校準之 Rotronic 探針（動態範圍為 1.0-100 %RH）量測相對濕度。藉由微量天平（準確性為±0.005 mg）持續監測隨%RH 而變之樣本之重量變化（質量鬆弛）。

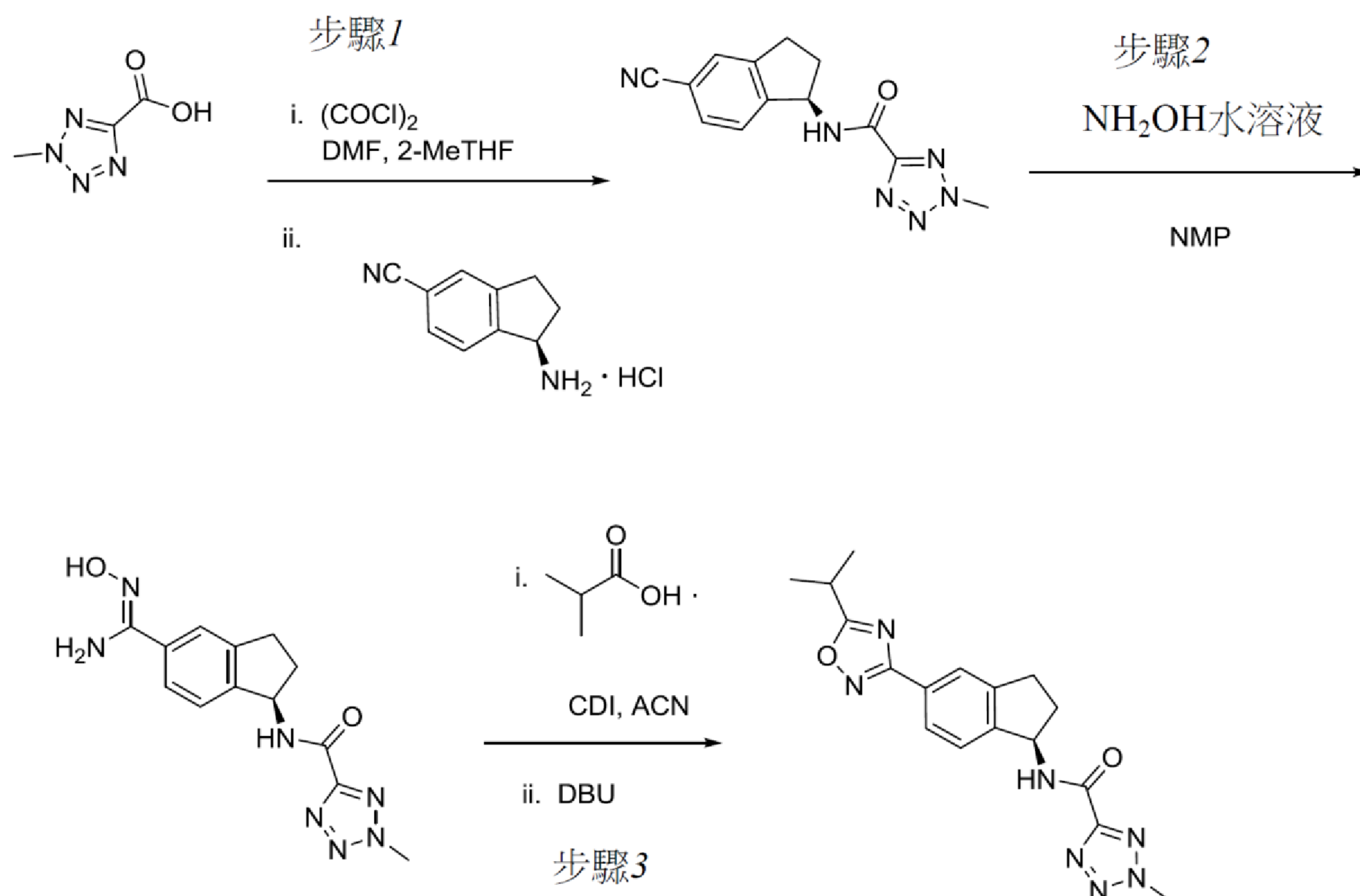
【0115】 典型地，在周圍條件下，將 5-30 mg 樣本置放於經配衡之網狀不鏽鋼籃中。在 40% RH 及 25°C (典型室內條件)下裝載及卸載樣本。如下文中所概述進行水分吸附等溫線（每個完整循環進行 2 次掃描）。在 25°C 下，在 0-90 %RH 範圍內，以 10 %RH 間隔進行標準等溫線。典型地，進行雙重循環（4 次掃描）。使用 DVS Analysis Suite 在 Microsoft Excel 內進行資料分析。

SMS DVS Intrinsic 實驗之方法參數

參數	值
吸附-掃描 1	40-90
解吸附、吸附-掃描 2	90-0，0-40
間隔（%RH）	10
掃描次數	4
流動速率（ml/min）	200
溫度（°C）	25
穩定性（°C/分鐘）	0.2
吸附時間（小時）	計時 6 小時
循環數目	2

實例 1. 製備形式 I

【0116】 根據以下提供之流程製備(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茚-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之多晶形式 I。



【0117】 步驟 1：製備(R)-N-(5-氰基-2,3-二氫-1H-茚-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺。在周圍溫度下攪拌 2-甲基-2H-四唑-5-甲酸（78.7 g，0.614 mol，1.2 當量）及 *N,N*-二甲基甲醯胺（0.4 mL，0.005 mol，0.01 當量）於 2-MeTHF（630 mL，6.3 倍體積）中之混合物。緩慢添加乙二醯氯（50.7 mL，0.591 mol，1.15 當量）且攪拌反應混合物直至剩餘≤15%之起始物質 2-甲基-2H-四唑-5-甲酸。在周圍溫度下，用含氫氧化鈉溶液（72.2 g，1805 mmol，3.5 當量）之水（510 mL）處理(R)-1-胺基-2,3-二氫-1H-茚-5-甲腈鹽酸鹽（100 g，0.514 mol，1.0 當量）於 2-MeTHF（630 mL，6.3 倍體積）中之混合物。在周圍溫度下攪拌所得混合物至少 30 分鐘（容器 2）。將新近製備之 2-甲基-2H-四唑-5-甲酸氯化物溶液添加至反應混合物中，同時保持溫度<30℃。用 2-MeTHF（65 mL，0.65 倍體積）正向沖洗酸氯化物溶液。在完成添加之後，使混合物在周圍溫度下反應直至剩餘≤5%之中間物(R)-1-胺基-2,3-二氫-1H-茚-5-甲腈鹽酸鹽。在確認反應終點後，經 1 小時添加正庚烷（950 mL，9.5 倍體積）。接著，過濾混合物。用水（3×630 mL，6.3 倍體積）洗滌所得濾餅。接著，乾燥及分

離固體。獲得 126.5 g (91.8%) (R)-N-(5-氰基-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺。

【0118】步驟 2：製備(R,Z)-N-(5-(N'-羥基甲脒基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺。向(R)-N-(5-氰基-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺 (121.3 g, 0.452 mol, 1.0 當量) 於 N-甲基-2-吡咯啉酮 (NMP, 600 mL, 5.0 倍體積) 之溶液中緩慢添加羥胺水溶液 (90.0 mL, 1.47 mol, 3.2 當量)。在周圍溫度下攪拌所得混合物直至反應完成 (剩餘 $\leq 2\%$ 之 CK-3831269)。用水 (1200 mL, 10 倍體積) 淬滅反應混合物, 同時保持溫度低於 40°C 且過濾所得混合物。濾餅用水 (3 $\times$ 600 mL, 5 倍體積) 洗滌且在周圍溫度下, 在真空中乾燥且分離。獲得 129.8 g (95.3%) (R,Z)-N-(5-(N'-羥基甲脒基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺。

【0119】步驟 3：製備(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之多晶形式 I。在周圍溫度下攪拌異丁酸 (310.3 g, 3.52 mol, 1.10 當量) 及 1,1'-羰基二咪唑 (CDI, 549.5 g, 3.39 mol, 1.06 當量) 於乙腈 (7.65 kg) 中之混合物直至剩餘不超過 20% 之未反應之酸。將(R,Z)-N-(5-(N'-羥基甲脒基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺 (964 g, 3.20 mol, 1 當量) 添加至經活化之酸中。用乙腈 (381 g) 沖洗。將反應混合物之溫度調節至 50 $\pm$ 5°C 且在 50 $\pm$ 5°C 下攪拌混合物直至剩餘的 (R,Z)-N-(5-(N'-羥基甲脒基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺 $\leq 2\%$ 。在確認反應完成後, 將 1,8-二氮雜雙環[5.4.0]十一-7-烯 (DBU) (975.1 g, 6.41 mol, 2.0 當量) 添加至反應混合物中。將混合物之溫度調節至 70 $\pm$ 5°C 且在 70 $\pm$ 5°C 下攪拌混合物直至剩餘不超過 2% 的未環化之中間物。在確認反應完成之後, 用水 (28.96 kg) 淬滅反應混合物。使混合物緩慢冷卻至周圍溫度且保持。過濾混合物且在真空中乾燥產物。獲得總共 1,018 g (90% 產率) 呈淺灰色粉末狀之(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之多晶形式 I。

【0120】藉由 XRPD、DSC、TGA 及 DVS 分析(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之多晶形式 I。圖 1A 展示形式 I 之 XRPD 圖案。圖 1B 展示形式 I 之 DSC 及 TGA 曲線。如 DSC

曲線中所示，觀測到在約 153°C 下開始之吸熱作用。如 TGA 曲線中所示，未觀測到降解(其在約 230°C 下開始)之前的重量損失。圖 1C 展示形式 I 之 DVS 曲線之動力學圖。圖 1D 展示形式 I 之 DVS 曲線之等溫線圖。如圖 1C 及 1D 中所示，觀測到在 0-90% 相對濕度 (RH) 範圍內之 0.36% w/w 之水分吸收，如藉由 DVS 所測定。亦進行形式 I 之化學穩定性研究。在形式 I 之樣本在 40°C/75% RH 及 25°C/97% RH 下儲存 7 天之後量測 XRPD 圖案。結果展示於圖 1E 中。未觀測到在儲存之後的 XRPD 圖案之顯著變化。

實例 2. 製備形式 II

【0121】使(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茚-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之多晶形式 I (500 mg) 懸浮於乙酸正丙酯 (50 倍體積) 中且在 50°C 下攪拌。在 10 分鐘之後，獲得澄清溶液。在減壓下移除溶劑 (100 ml 圓底燒瓶)。藉由 XRPD 分析所獲得之固體且測定為形式 I 及形式 II 之混合物。使固體懸浮於乙酸正丙酯 (40 倍體積) 中且在 50°C 下攪拌。在 10 分鐘之後，獲得澄清溶液。在較大燒瓶 (250 ml 圓底燒瓶) 中，在減壓下移除溶劑。藉由 XRPD、DSC、TGA 及 GVS 分析所得固體且測定為形式 II。圖 2A 展示多晶形式 I 及形式 II 以及其混合物之 XRPD 圖案 (自上而下：形式 I 及形式 II 之混合物、形式 II、形式 II、形式 I)。圖 2B 展示多晶形式 II 之 DSC 及 TGA 曲線。如 DSC 曲線 (以 10°C/分鐘加熱之樣本) 中所示，觀測到在約 133°C 下開始之吸熱作用、在約 135°C 下開始之放熱作用及在約 152°C 下開始之吸熱作用。如 TGA 曲線中所示，觀測到在降解之前，在約 83°C 與約 160°C 之間的約 1.1% 之重量損失。圖 2C 展示形式 II 之 DVS 曲線之動力學圖。圖 2D 展示多晶形式 II 之 DVS 曲線之等溫線圖。如圖 2C 及 2D 中所示，觀測到在 0-90% RH 範圍內之 0.24% w/w 之水分吸收，如藉由 DVS 所測定。亦進行形式 II 之化學穩定性研究。在形式 II 之樣本在 40°C/75% RH 及 25°C/97% RH 下儲存 7 天之後量測 XRPD 圖案。結果展示於圖 2E 中。未觀測到在儲存之後的 XRPD 圖案之顯著變化。

實例 3. 多形體篩選

【0122】如下文詳細描述來進行(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茚-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之多形體篩選。

實例 3.1. 溶解性評估

【0123】 用逐漸增加的溶劑之等分試樣處理(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之多晶形式 I (約 15 mg) 直至觀測到溶解或添加至多 100 倍體積。在室溫下進行溶解性評估。在每次添加溶劑之間振盪樣本。

【0124】 所獲得之溶液在 5°C 下儲存。使自具有低冷凍點（低於 20°C）之溶劑獲得之溶液在周圍條件下蒸發。在 4 天之後，使保持呈溶液形式之樣本在周圍條件下蒸發。

【0125】 安置所獲得之懸浮液以使其成熟（RT/50°C，4 小時循環）保持 4 天。在 XRPD 之前，各懸浮液之等分試樣經由 Millipore 盤過濾且乾燥 5 分鐘。藉由 XRPD 分析自篩網分離之固體且結果展示於以下表 3 中。自大部分經分離之固體獲得形式 I。藉由乙酸正丙酯之蒸發而分離形式 II。藉由 MEK 之蒸發而分離形式 I 及形式 II 之混合物。

表 3

溶劑	處理	4 天後之觀測結果	其他處理	XRPD
正庚烷	成熟	懸浮液	-	形式 I
乙醚	成熟	懸浮液	-	形式 I
乙酸正丙酯	成熟	溶液	在 RT 下蒸發	形式 II
乙酸乙酯	在 5°C 下儲存	溶液	在 RT 下蒸發	形式 I
iProAc	在 5°C 下儲存	溶液	在 RT 下蒸發	形式 I
MIBK	在 5°C 下儲存	溶液	在 RT 下蒸發	形式 I
IPA	成熟	溶液	在 RT 下蒸發	形式 I
MEK	在 5°C 下儲存	溶液	在 RT 下蒸發	形式 I 及 II 之混合物
1-丙醇	成熟	溶液	在 RT 下蒸發	形式 I
丙酮	在 5°C 下儲存	溶液	在 RT 下蒸發	形式 I
EtOH	成熟	溶液	在 RT 下蒸發	形式 I
DMSO	蒸發	溶液	在 RT 下蒸發	與形式 I 類似
H ₂ O	成熟	懸浮液	-	形式 I
TBME	成熟	懸浮液	-	形式 I
2-甲基-1-丙醇	成熟	溶液	在 RT 下蒸發	形式 I
環己烷	成熟	懸浮液	-	形式 I
1,4-二噁烷	蒸發	溶液	在 RT 下蒸發	形式 I
甲苯	成熟	溶液	在 RT 下蒸發	形式 I
氯仿	在 5°C 下儲存	溶液	在 RT 下蒸發	形式 I
1,2-二甲氧基乙烷	在 5°C 下儲存	溶液	在 RT 下蒸發	形式 I

THF	在 5°C 下儲存	溶液	在 RT 下蒸發	形式 I
DCM	在 5°C 下儲存	溶液	在 RT 下蒸發	形式 I
2-甲氧基乙醇	在 5°C 下儲存	溶液	在 RT 下蒸發	形式 I
MeOH	成熟	溶液	在 RT 下蒸發	形式 I
DMF	在 5°C 下儲存	溶液	在 RT 下蒸發	形式 I
MeCN	在 5°C 下儲存	溶液	在 RT 下蒸發	形式 I
乙二醇	成熟	懸浮液	-	形式 I
硝基甲烷	在 5°C 下儲存	溶液	在 RT 下蒸發	形式 I
NMP	在 5°C 下儲存		在 RT 下蒸發	n/a - 溶液
THF:水 (95:5 v/v)	在 5°C 下儲存	溶液	在 RT 下蒸發	形式 I
IPA:水 (95:5 v/v)	成熟	溶液	在 RT 下蒸發	形式 I
EtOH:水 (95:5 v/v)	成熟	溶液	在 RT 下蒸發	形式 I
丙酮:水 (95:5 v/v)	在 5°C 下儲存	溶液	在 RT 下蒸發	形式 I
MeOH:水 (95:5 v/v)	成熟	溶液	在 RT 下蒸發	形式 I

實例 3.2. 等溫成熟

【0126】 使(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茚-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之多晶形式 I (約 2 g) 懸浮於 MeCN:H₂O (90 倍體積) 中且在 50°C 下攪拌 40 分鐘。過濾澄清溶液且在乾冰/丙酮浴中急驟冷凍且經安置以進行凍乾。藉由 XRPD 分析所分離之固體且測定為不良的結晶形式 I。

【0127】 將不良的結晶形式 I (約 15 mg) 分配至 HPLC 小瓶中。添加溶劑(10 倍體積)且在 50°C 下振盪/攪拌樣本。在 6 天之後，懸浮液經由 Millipore 過濾器板過濾且在抽吸下乾燥 30 分鐘，隨後進行 XPRD 分析。如以下表 4 中所示，未鑑別新的形式，表明在所研究之條件下，形式 I 為最穩定的形式。

表 4

溶劑	初始觀測結果	6 天後之觀測結果	其他處理	XRPD 分析
正庚烷	懸浮液	懸浮液	-	形式 I
乙醚	懸浮液	懸浮液	-	形式 I
乙酸正丙酯	懸浮液	懸浮液	-	形式 I
乙酸乙酯	懸浮液	溶液	蒸發	形式 I
iProAc	懸浮液	懸浮液	-	形式 I
MIBK	懸浮液	懸浮液	-	形式 I
IPA	懸浮液	懸浮液	-	不良的結晶形式 I
MEK	懸浮液	溶液	蒸發	形式 I
1-丙醇	懸浮液	懸浮液	-	形式 I
丙酮	懸浮液	溶液	蒸發	形式 I
EtOH	懸浮液	懸浮液	-	形式 I
DMSO	溶液	溶液	蒸發	形式 I

H ₂ O	懸浮液	懸浮液	-	形式 I*
TBME	懸浮液	懸浮液	-	形式 I
2-甲基-1-丙醇	懸浮液	懸浮液	-	形式 I
環己烷	懸浮液	懸浮液	-	不良的結晶形式 I
1,4-二噁烷	溶液	溶液	蒸發	形式 I
甲苯	懸浮液	懸浮液	-	不良的結晶形式 I
氯仿	溶液	溶液	蒸發	形式 I
1,2-二甲氧基乙烷	懸浮液	溶液	蒸發	形式 I
THF	溶液	溶液	蒸發	形式 I
DCM	溶液	溶液	蒸發	形式 I
2-甲氧基乙醇	懸浮液	懸浮液	-	形式 I
MeOH	懸浮液	懸浮液	-	形式 I
DMF	懸浮液	溶液	蒸發	形式 I
MeCN	懸浮液	溶液	蒸發	形式 I
乙二醇	懸浮液	懸浮液	-	形式 I*
硝基甲烷	溶液	溶液	蒸發	形式 I
NMP	溶液	溶液	蒸發	n/a - 溶液
THF:水 (95:5 v/v)	溶液	溶液	蒸發	形式 I
IPA:水 (95:5 v/v)	懸浮液	懸浮液	-	不良的結晶形式 I
EtOH:水 (95:5 v/v)	懸浮液	懸浮液	-	形式 I
丙酮:水 (95:5 v/v)	懸浮液	溶液	蒸發	形式 I
MeOH:水 (95:5 v/v)	懸浮液	懸浮液	-	形式 I

*初始無繞射（可能樣本不足），因此重新分析樣本

實例 3.3. 液體輔助研磨

【0128】 將(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茚-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之多晶形式 I 分配至 HPLC 小瓶中且添加兩個不鏽鋼研磨球（直徑為 3 mm）。添加溶劑（10 μl）且樣本在 Fritsch 行星式研磨機上經歷研磨（500 rpm，2 小時持續時間）。藉由 XRPD 分析在研磨後所獲得之固體。如以下表 5 中所示，自所有實驗獲得形式 I。未鑑別新的形式，表明在所研究之條件下，形式 I 為最穩定的形式。

表 5

溶劑	XRPD	溶劑	XRPD
正庚烷	形式 I	甲苯	形式 I
乙醚	形式 I	氯仿	形式 I
乙酸正丙酯	形式 I	1,2-二甲氧基乙烷	形式 I
乙酸乙酯	形式 I	THF	形式 I
iProAc	形式 I	DCM	形式 I
MIBK	形式 I	2-甲氧基乙醇	形式 I

IPA	形式 I	2-甲基-1-丙醇	形式 I
MEK	形式 I	DMF	形式 I
1-丙醇	形式 I	MeCN	形式 I
丙酮	形式 I	乙二醇	形式 I
EtOH	形式 I	硝基甲烷	形式 I
DMSO	形式 I	NMP	形式 I
H ₂ O	形式 I	THF:水 (95:5 v/v)	形式 I
MeOH	形式 I	IPA:水 (95:5 v/v)	形式 I
TBME	形式 I	EtOH:水 (95:5 v/v)	形式 I
環己烷	形式 I	丙酮:水 (95:5 v/v)	形式 I
1,4-二噁烷	形式 I	MeOH:水 (95:5 v/v)	形式 I

實例 3.4. 溫度循環成熟

【0129】 將(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茚-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之多晶形式 I (20 mg) 分配至 HPLC 小瓶中。向各樣本中添加所選擇的溶劑 (5 倍體積)，接著經安置以進行成熟 (RT/50°C，在各溫度下循環 4 小時)。在 2 天之後，自成熟室移出樣本。懸浮液經由 Millipore 盤過濾且在抽吸下乾燥 20 分鐘，接著進行 XRPD 分析。用逐漸增加之反溶劑之等分試樣處理所獲得之溶液直至獲得懸浮液或添加至多 5 當量。在 25°C 下振盪樣本 30 分鐘。在振盪之後獲得之懸浮液經由 Millipore 盤過濾且在抽吸下乾燥 20 分鐘，接著進行 XRPD 分析。在 25°C 下振盪溶液及含有少量固體之樣本隔夜，同時使所獲得之任何溶液在室溫下蒸發。所獲得之懸浮液經由 Millipore 盤過濾且在抽吸下乾燥 20 分鐘，接著進行 XRPD 分析。

【0130】 如以下表 6 中所示，自成熟後之懸浮液獲得形式 I。向保持呈溶液形式之樣本中添加反溶劑。如以下表 7 中所示，亦由反溶劑篩選獲得形式 I。未鑑別新的形式，表明在所研究之條件下，形式 I 為最穩定的形式。

表 6

溶劑	2 天後之觀測結果	其他處理	XRPD 分析
正庚烷	懸浮液	-	形式 I
乙醚	懸浮液	-	形式 I
乙酸正丙酯	懸浮液	-	形式 I
乙酸乙酯	懸浮液	-	形式 I
iProAc	懸浮液	-	形式 I
MIBK	懸浮液	-	形式 I
IPA	懸浮液	-	形式 I
MEK	懸浮液	-	形式 I

1-丙醇	懸浮液	-	形式 I
丙酮	溶液	n/a*	形式 I
EtOH	懸浮液	-	形式 I
DMSO	溶液	用反溶劑處理	不良的結晶形式 I
H ₂ O	懸浮液	-	不良的結晶形式 I
MeOH	懸浮液	-	形式 I
TBME	懸浮液	-	形式 I
環己烷	懸浮液	-	形式 I
1,4-二噁烷	溶液	用反溶劑處理	形式 I
甲苯	懸浮液	-	形式 I
氯仿	溶液	用反溶劑處理	形式 I
1,2-二甲氧基乙烷	懸浮液	-	形式 I
THF	溶液	用反溶劑處理	形式 I
DCM	溶液	用反溶劑處理	不良的結晶形式 I
2-甲氧基乙醇	懸浮液	-	形式 I
2-甲基-1-丙醇	懸浮液	-	形式 I
DMF	溶液	用反溶劑處理	形式 I
MeCN	溶液	用反溶劑處理	形式 I
乙二醇	懸浮液	-	形式 I
硝基甲烷	溶液	用反溶劑處理	形式 I
NMP	溶液	用反溶劑處理	形式 I
THF:水 (95:5 v/v)	溶液	用反溶劑處理	形式 I
IPA:水 (95:5 v/v)	懸浮液	-	形式 I
EtOH:水 (95:5 v/v)	懸浮液	-	形式 I
丙酮:水 (95:5 v/v)	溶液	n/a*	形式 I
MeOH:水 (95:5 v/v)	懸浮液	-	形式 I

表 7

溶劑	反溶劑	處理	在 25°C 下振盪 30 分鐘之後的 觀測結果	在 25°C 下振盪 隔夜之後的觀 測結果	XRPD 分析
DMSO	水	在 25°C 下 之等溫成 熟	懸浮液	-	不良的結晶 形式 I
1,4-二噁烷	水		懸浮液	-	形式 I
氯仿	IPA		一些固體	-	形式 I
THF	IPA		懸浮液	懸浮液	形式 I
DCM	IPA		懸浮液	-	不良的結晶 形式 I
DMF	水		懸浮液	-	形式 I
MeCN	水		懸浮液	-	形式 I
硝基甲烷	IPA		溶液	溶液*	形式 I
NMP	水		懸浮液	-	形式 I
THF:水 (95:5 v/v)	IPA		溶液	溶液*	形式 I

實例 3.5. 反溶劑實驗

【0131】 將(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茚-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之多晶形式 I (20 mg) 分配至 HPLC 小瓶中且溶解於所選擇的溶劑 (10 倍體積) 中。添加逐漸增加之反溶劑之等分試樣直至獲得懸浮液或添加至多 5 當量。在 25°C 下振盪樣本 30 分鐘。

【0132】 所獲得之懸浮液經由 Millipore 盤過濾且在抽吸下乾燥 20 分鐘，接著進行 XRPD 分析。溶液及混濁溶液在 25°C 下振盪隔夜。所獲得之懸浮液經由 Millipore 盤過濾且在抽吸下乾燥 20 分鐘，接著進行 XRPD 分析。使在振盪後獲得之溶液在周圍條件下蒸發。

【0133】 使用 IPA、庚烷、水及 TBME 作為反溶劑來進行反溶劑實驗。實驗之觀測結果可見於以下表 8 及 9 中。自大部分實驗獲得形式 I。使用氯仿及 TBME，自實驗獲得形式 I 及 II 之潛在混合物。

表 8

溶劑	反溶劑	處理	在 25°C 下振盪 30 分鐘之後的觀測結果	在 25°C 下振盪隔夜之後的觀測結果	在蒸發之後的觀測結果	XRPD 分析
DMSO	IPA	在 25°C 下之等溫成熟	溶液	溶液	白色固體	形式 I
1,4-二噁烷	庚烷		懸浮液	n/a	n/a	形式 I
THF	庚烷		懸浮液	n/a	n/a	形式 I
DCM	庚烷		懸浮液	n/a	n/a	形式 I
硝基甲烷	IPA		溶液	溶液	白色針狀物	形式 I
NMP	庚烷	實驗停止	n/a	n/a	n/a	n/a
THF:水 (95:5 v/v)	水	在 25°C 下之等溫成熟	懸浮液	n/a	n/a	形式 I
氯仿	庚烷		懸浮液	n/a	n/a	形式 I (不良的結晶)

表 9

溶劑	反溶劑	處理	30 分鐘後之觀測結果	在 25°C 下振盪隔夜之後的觀測結果	在蒸發之後的觀測結果	XRPD 分析
DMSO	TBME	在 25°C 下之等溫成熟	溶液	溶液	膏狀物	形式 I
1,4-二噁烷	TBME				白色固體	形式 I
THF	TBME				白色固體	形式 I
DCM	TBME				白色針狀物	形式 I
硝基甲烷	TBME				白色固體	形式 I
NMP	TBME				溶液	n/a - 溶液
THF:水 (95:5 v/v)	IPA				白色固體	形式 I

氯仿	TBME				白色固體	形式 I+II 之可能的不良的結晶混合物
----	------	--	--	--	------	----------------------

實例 4. 形式 I 與形式 II 之間的競爭性漿料實驗

【0134】 進行在不同溶劑中的形式 I 與形式 II 之間的競爭性漿料實驗。在 50℃ 及 5℃ 下，使形式 I 懸浮於所選擇的溶劑中且攪拌至少 1 小時，隨後過濾以產生飽和溶液。在 HPLC 小瓶中組合形式 I（約 10 mg）及形式 II（約 10 mg）。用 0.5 ml 所選擇的飽和溶液處理各樣本。在所選擇的溫度下攪拌樣本 6 天。過濾所獲得之固體且在抽吸下乾燥幾分鐘，隨後進行表徵。在 XRPD 分析期間，將樣本略微濕潤。實驗之結果展示於圖 3 中且概述於表 10 中。

表 10

樣本 ID	溶劑	溫度/℃	XRPD 分析
01	MeCN	5	形式 I
02	乙酸正丙酯	5	形式 I
03	MEK	5	形式 I
04	H ₂ O:MeCN（25:75）	5	形式 I
05	H ₂ O:MeCN（75:25）	5	形式 I
06	MeCN	50	形式 I
07	乙酸正丙酯	50	形式 I
08*	MEK	50	溶液
09*	H ₂ O:MeCN（25:75）	50	形式 I
10	H ₂ O:MeCN（75:25）	50	形式 I
11	MEK	50	形式 I
12	H ₂ O:MeCN（25:75）	50	形式 I

* 亦用純淨的溶劑處理樣本，因為飽和溶液不足。此等實驗作為 11 及 12 重新進行。

實例 5. 肌原纖維分析法

【0135】 為了評估在原生肌節之情形下，(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺對全長心臟肌凝蛋白之 ATP 酶活性之作用，進行去皮肌原纖維分析法。藉由在存在清潔劑（諸如 triton X-100）之情況下將牛心臟左心室組織均質化來獲得牛心臟肌原纖維。此類處理移除膜及大部分可溶性細胞質蛋白質，但保留完整的心臟肌節肌動肌凝蛋白裝置。肌原纖維製劑保留以 Ca²⁺調節方式水解 ATP 之能力。在活化至最大比率之既定分數（亦即，25%、75%）之 Ca²⁺濃度下分析此類肌原纖

維製劑在存在及不存在化合物之情況下之 ATP 酶活性。使用丙酮酸激酶及乳酸脫氫酶 (PK/LDH) 偶合酶系統評估小分子試劑抑制牛心臟肌原纖維之穩態 ATP 酶活性之能力。此分析法藉由氧化 NADH 來使肌凝蛋白產生之 ADP 再生成 ATP，產生在 340 nm 下之吸光度變化。在測試小分子試劑之前，評估牛心臟肌原纖維之鈣反應且選擇實現肌原纖維系統之 50% (pCa_{50}) 或 75% (pCa_{75}) 活化之鈣濃度作為用於評估小分子試劑之抑制活性之最終條件。在 pH 6.8 下，在含有 12 mM PIPES (哌啶-N,N'-雙(2-乙烷磺酸))、2 mM 氯化鎂之緩衝溶液 (PM 12 緩衝液) 中量測所有酶活性。最終分析條件為 1 mg/mL 之牛心臟肌原纖維、4 U/mL 之丙酮酸激酶、6 U/mL 之乳酸脫氫酶、50 μ M ATP、0.1 mg/mL 之 BSA (牛血清白蛋白)、10 ppm 消泡劑、1 mM DTT、0.5 mM NADH、1.5 mM PEP、0.6 mM EGTA 及足以實現肌原纖維 ATP 酶活性之 50% 或 75% 活化的量之 $CaCl_2$ 。(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之 IC_{15} (CDMF75) 為 0.5 μ M 且 (R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之 IC_{50} (CDMF75) 為 2.4 μ M。

實例 6. 肌細胞分析法

【0136】 將成年雄性史泊格多利大鼠 (Sprague-Dawley rats) 麻醉且快速切除心臟，沖洗且將升主動脈插管。在 60 cm H_2O 之灌注壓力下，對心臟開始連續逆行灌注。首先用標稱不含 Ca^{2+} 之經改良之克雷布斯溶液 (Krebs solution) 灌注心臟，該溶液具有以下組成：113 mM NaCl、4.7 mM KCl、0.6 mM KH_2PO_4 、0.6 mM Na_2HPO_4 、1.2 mM $MgSO_4$ 、12 mM $NaHCO_3$ 、10 mM $KHCO_3$ 、30 mM 牛膽素、5.5 mM 葡萄糖及 10 mM Hepes (皆來自 Sigma)。此培養基不進行再循環且用 95% O_2 /5% CO_2 混合物持續充氣。在約 3 分鐘之後，用補充有膠原蛋白酶 (Worthington) 及 12.5 μ M 最終鈣濃度之經改良之克雷布斯緩衝液灌注心臟。在心臟之外觀呈現發白及柔軟之後，自插管移除心臟。移除心房及血管且用鑷子將心室輕緩地剝離成較小片狀物。藉由重複滴管研磨將組織均質化且用 10% 小牛血清 (BCS) 停止膠原蛋白酶反應，在含有 5% BCS 及 12.5 μ M $CaCl_2$ 之灌注緩衝液中沈降及再懸浮。藉由逐步添加 $CaCl_2$ 溶液達到 1.2 mM 之最終濃度來使肌細胞具有鈣耐受性。接著，洗滌細

胞且再懸浮於台氏緩衝液（Tyrode's buffer）（137 mM NaCl、3.7 mM KCl、0.5 mM MgCl₂、11 mM 葡萄糖、4 mM Hepes 及 1.2 mM CaCl₂，pH 7.4）中。細胞在開始實驗之前，在 37°C 下保持 60 分鐘且在分離後 5 小時內使用。僅在細胞首先藉由顯示針對標準（>基礎之 150%）及異丙基腎上腺素（ISO；>基礎之 250%）處理之收縮反應而符合 QC 準則時才使用細胞製劑。此外，在用化合物進行之後續實驗中，僅使用基礎收縮性在 3%與 8%之間的細胞。

【0137】 將含肌細胞之台氏緩衝液之等分試樣置放於具有加熱平台之灌注室（20 RC-27NE 系列；Warner Instruments）中。使肌細胞連接，將灌注室加熱至 37°C 且用 37°C 台氏緩衝液灌注細胞。用鉑電極在 1 Hz 下對肌細胞進行場刺激（比閾值高 20%）。僅使用具有清晰條紋且在起搏之前靜止之細胞進行收縮性實驗。為了測定基礎收縮性，經由 40 倍物鏡對肌細胞進行成像。使用可變訊框率（60-240 Hz）電荷耦合器件相機，將影像數位化且以 240 Hz 之取樣速度呈現於電腦螢幕上（IonOptix Milton, MA）。在細胞收縮隨時間推移而穩定後，歷時 5 分鐘將測試化合物（0.01-15 μM）灌注至肌細胞上之腔室中。接著，使用邊緣偵測來記錄肌細胞之收縮性以及收縮及鬆弛速度。

【0138】 對於每種化合物，由兩種或更多種不同的肌細胞製劑測試五個或更多個個別肌細胞。對於每個細胞，將基礎（定義為化合物輸注之前 1 分鐘）及在化合物添加之後（定義為在開始化合物灌注之後的 5 分鐘）的二十次或更多次收縮性瞬變求平均值且比較。使用 IonWizard 軟體（IonOptix）分析此等平均瞬變，以測定舒張長度及縮短分數之變化。縮短分數計算為：（（靜息長度-峰值收縮時之長度）除以靜息長度）。縮短分數自基線之變化百分比計算為：（（給藥後縮短分數/基礎縮短分數）×100）。縮短分數自基線之降低百分比計算為：（100-縮短分數自基線之變化百分比）。亦測定最大收縮及鬆弛速度（μm/sec）。將個別細胞之結果求平均值且計算 SEM。(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茚-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之作用提供於下文中。

濃度（μM）	%FS（自基線之降低百分比） ± SEM	測試細胞之數目
5	67.8 ±5.4	5

%FS=每個細胞之（基線後峰高度百分比/基線前峰高度百分比）×100 之

平均值

實例 7. 大鼠心肌收縮性中之急性藥效學作用之超音波心動描記術評估

【0139】 在異氟醚（1-3%）麻醉下，在雄性史泊格多利大鼠中進行藉由超音波心動描記術進行之活體內心臟功能評估。在藉由連續 IV 輸注或經口管飼來投予化合物之前、期間及之後，在胸骨旁左室長軸切面中獲取左心室之 2-D M 模式影像。用以下計算藉由 M 模式影像分析來測定活體內縮短分數： $((\text{舒張末期直徑}-\text{收縮末期直徑})/\text{舒張末期直徑}\times 100)$ 。對於連續 IV 輸注實驗，在輸注化合物之前，以 1 分鐘間隔獲取三個給藥前基線 M 模式影像。在 50%丙二醇（PG）:16%卡布迪索（Captisol）:10%二甲基乙醯胺（DMA）中調配化合物且經由頸靜脈導管以 1 mL/kg/h 之速率遞送。在輸注期間，以 5 分鐘間隔獲取 M 模式影像。在縮短分數達到自基線降低 60%時停止輸注。獲取血液樣本以測定化合物之血漿濃度。資料報導為所評估之 IC₅₀ 值，其為使得縮短分數為給藥前基線收縮性之 50%之濃度。所獲得之(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之 IC₅₀ 值為 2.7±0.12 μM（平均值±S.D.）。

【0140】 對於口服給藥研究，在化合物投藥之前，以 1 分鐘間隔獲取三個給藥前基線 M 模式影像。在 0.5%羥基丙基甲基纖維素 2910（HPMC 2910）:0.1% Tween 80 懸浮液中調配(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺且藉由經口灌食(oral gavage)以單次劑量（5 mL/kg）遞送。在 24 小時時段內，在所選擇的時間點時將大鼠輕微麻醉以獲得 M 模式超音波心動描記術量測值。評估不同的劑量水準。在所評估之最高劑量下，化合物對心臟縮短分數之作用以基線縮短分數（=100%）之降低百分比形式呈現於下文中。

劑量 (mg/kg)	給藥後 1-2 小時之 FS (自基線之降低百分比) (平均值 ± S.D.)	給藥後 4 小時之 FS (自 基線之降低百分比) (平均值 ± S.D.)
6	40 ± 9	18 ± 11

【0141】 在進行超音波心動描記術量測時，獲取血液樣本以測定相應的化合物血漿濃度。所評估之 IC₅₀ 及 IC₁₀ 值（其分別為使得縮短分數為給藥前基線收縮性之 50%及 10%之濃度）為 2.9 μM（IC₅₀）及 0.7 μM（IC₁₀）。

【0142】本文中所引用之所有文獻（包括專利案、專利申請案及公開案（包括其中所引用之所有文獻）、表格及圖式）皆以全文引用之方式明確地併入本文中以用於所有目的。

【0143】儘管本文所描述之化合物、用途及方法之前述書面說明允許一般熟習此項技術者製造及使用本文所描述之化合物、用途及方法，但一般熟習此項技術者將理解且瞭解存在本文中之特定實施例、方法及實例之變化形式、組合及等效物。因此，本文中所提供之化合物、用途及方法不應受上述實施例、方法或實例限制，而是涵蓋在本文中所提供之化合物、用途及方法之範疇及精神內的所有實施例及方法。

【符號說明】

無

【發明申請專利範圍】

【請求項1】 一種(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茚-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之多形體。

【請求項2】 如請求項 1 之多形體，其特徵在於具有包含 7.1 ± 0.2 、 14.2 ± 0.2 、 14.9 ± 0.2 、 16.2 ± 0.2 及 18.3 ± 0.2 度之 2θ 角處之峰之 XRPD 圖案。

【請求項3】 如請求項 1 或 2 之多形體，其特徵在於具有包含 7.1 ± 0.2 、 9.9 ± 0.2 、 14.2 ± 0.2 、 14.9 ± 0.2 、 16.2 ± 0.2 、 17.6 ± 0.2 、 18.3 ± 0.2 、 21.0 ± 0.2 、 24.1 ± 0.2 及 24.5 ± 0.2 度之 2θ 角處之峰之 XRPD 圖案。

【請求項4】 如請求項 1 至 3 中任一項之多形體，其特徵在於具有實質上如圖 1A 中所示之 XRPD 圖案。

【請求項5】 如請求項 1 至 4 中任一項之多形體，其特徵在於具有實質上如圖 1B 中所示之 DSC 曲線。

【請求項6】 如請求項 1 至 5 中任一項之多形體，其特徵在於具有在約 153°C 下開始之吸熱作用，如藉由 DSC 所測定。

【請求項7】 如請求項 1 至 6 中任一項之多形體，其特徵在於具有實質上如圖 1B 中所示之 TGA 曲線。

【請求項8】 如請求項 1 至 7 中任一項之多形體，其特徵在於具有實質上如圖 1C 或圖 1D 中所示之 DVS 曲線。

【請求項9】 如請求項 1 之多形體，其特徵在於具有包含 14.9 ± 0.2 、 16.0 ± 0.2 、 18.8 ± 0.2 、 22.5 ± 0.2 及 25.8 ± 0.2 度之 2θ 角處之峰之 XRPD 圖案。

【請求項10】 如請求項 1 或 9 之多形體，其特徵在於具有包含 5.7 ± 0.2 、 9.4 ± 0.2 、 13.6 ± 0.2 、 14.9 ± 0.2 、 16.0 ± 0.2 、 18.8 ± 0.2 、 22.5 ± 0.2 、 22.7 ± 0.2 、 23.1 ± 0.2 及 25.8 ± 0.2 度之 2θ 角處之峰之 XRPD 圖案。

【請求項11】 如請求項 1、9 及 10 中任一項之多形體，其特徵在於具有實質上如圖 2A 中所示之 XRPD 圖案。

【請求項12】 如請求項 1 及 9 至 11 中任一項之多形體，其特徵在於具有實質上如圖 2B 中所示之 DSC 曲線。

【請求項13】 如請求項 1 及 9 至 12 中任一項之多形體，其特徵在於具有在約 133°C 下開始之吸熱作用，如藉由 DSC 所測定，及/或在約 135°C 下開始

之放熱作用，如藉由 DSC 所測定，及/或在約 152°C 下開始之吸熱作用，如藉由 DSC 所測定。

【請求項14】 如請求項 1 及 9 至 13 中任一項之多形體，其特徵在於具有實質上如圖 2B 中所示之 TGA 曲線。

【請求項15】 如請求項 1 及 9 至 14 中任一項之多形體，其特徵在於具有實質上如圖 2C 或圖 2D 中所示之 DVS 曲線。

【請求項16】 一種用於製備如請求項 2 至 8 中任一項之多形體之方法，其包含：

(1) 形成(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺與溶劑之混合物；及

(2) 冷卻或蒸發該步驟 (1) 之混合物。

【請求項17】 如請求項 16 之方法，其中該溶劑包含乙腈。

【請求項18】 如請求項 16 或 17 之方法，其中步驟 (1) 包含將該混合物加熱至約 70°C。

【請求項19】 如請求項 16 至 18 中任一項之方法，其中步驟 (2) 包含使該步驟 (1) 之混合物冷卻至周圍溫度。

【請求項20】 如請求項 16 至 19 中任一項之方法，其中在進行步驟 (2) 之前添加反溶劑，其中該反溶劑為水。

【請求項21】 一種用於製備如請求項 9 至 15 中任一項之多形體之方法，其包含：

(1) 形成(R)-N-(5-(5-異丙基-1,2,4-噁二唑-3-基)-2,3-二氫-1H-茛-1-基)-2-甲基-2H-四唑-5-甲醯胺之多晶形式 I 與溶劑之混合物；及

(2) 移除該溶劑。

【請求項22】 如請求項 21 之方法，其中該溶劑包含乙酸正丙酯。

【請求項23】 如請求項 21 或 22 之方法，其中步驟 (1) 包含將該混合物加熱至約 50°C。

【請求項24】 一種醫藥組合物，其包含如請求項 1 至 15 中任一項之多形體及醫藥學上可接受之賦形劑。

【請求項25】 一種用於治療有需要之個體中之心臟病之方法，其包含向該個體投予如請求項 1 至 15 中任一項之多形體或如請求項 24 之醫藥組合物。

【請求項26】 如請求項 25 之方法，其中該心臟病為肥厚性心肌症（HCM）。

【請求項27】 如請求項 26 之方法，其中該 HCM 為阻塞性或非阻塞性或與肌節及/或非肌節突變相關。

【請求項28】 如請求項 25 之方法，其中該心臟病為射血分數保留的心臟衰竭（HFpEF）。

【請求項29】 如請求項 25 之方法，其中該心臟病係選自由以下組成之群組：舒張功能障礙、原發性或繼發性限制型心肌病、心肌梗塞及心絞痛、左心室流出道阻塞、高血壓性心臟病、先天性心臟病、心臟缺血、冠心病、糖尿病性心臟病、充血性心臟衰竭、右心臟衰竭、心腎症候群及浸潤性心肌病。

【請求項30】 如請求項 25 之方法，其中該心臟病為一或多種選自由以下組成之群之病狀或與其相關：心臟衰老、由衰老引起之舒張功能障礙、左心室肥大及同心性左心室重構。

【請求項31】 一種用於治療有需要之個體中之與 HCM 相關之疾病或病狀之方法，其包含向該個體投予如請求項 1 至 15 中任一項之多形體或如請求項 24 之醫藥組合物。

【請求項32】 如請求項 31 之方法，其中該疾病或病狀係選自由以下組成之群：法布里氏病（Fabry's Disease）、達農氏病（Danon Disease）、粒線體心肌病及努南氏症候群（Noonan Syndrome）。

【請求項33】 一種用於治療有需要之個體中之與繼發性左心室壁增厚相關之疾病或病狀之方法，其包含向該個體投予如請求項 1 至 15 中任一項之多形體或如請求項 24 之醫藥組合物。

【請求項34】 如請求項 33 之方法，其中該疾病或病狀係選自由以下組成之群組：高血壓、瓣膜性心臟病、代謝症候群、末期腎病、硬皮病、睡眠呼吸暫停、澱粉樣變性、法布里氏病、弗里德賴希氏共濟失調（Friedreich Ataxia）、達農氏病、努南氏症候群及龐培氏病（Pompe disease）。

【請求項35】 一種用於治療有需要之個體中之與左心室腔過小及腔閉塞、高動力性左心室收縮、心肌缺血或心臟纖維化相關之疾病或病狀之方法，其包含向該個體投予如請求項 1 至 15 中任一項之多形體或如請求項 24 之醫藥組合物。

【請求項36】 一種用於治療有需要之個體中之選自肌肉萎縮症及肝糖貯積症之疾病或病狀之方法，其包含向該個體投予如請求項 1 至 15 中任一項之多形體或如請求項 24 之醫藥組合物。

【請求項37】 一種用於抑制心臟肌節之方法，其包含使該心臟肌節與如請求項 1 至 15 中任一項之多形體或如請求項 24 之醫藥組合物接觸。

【發明圖式】

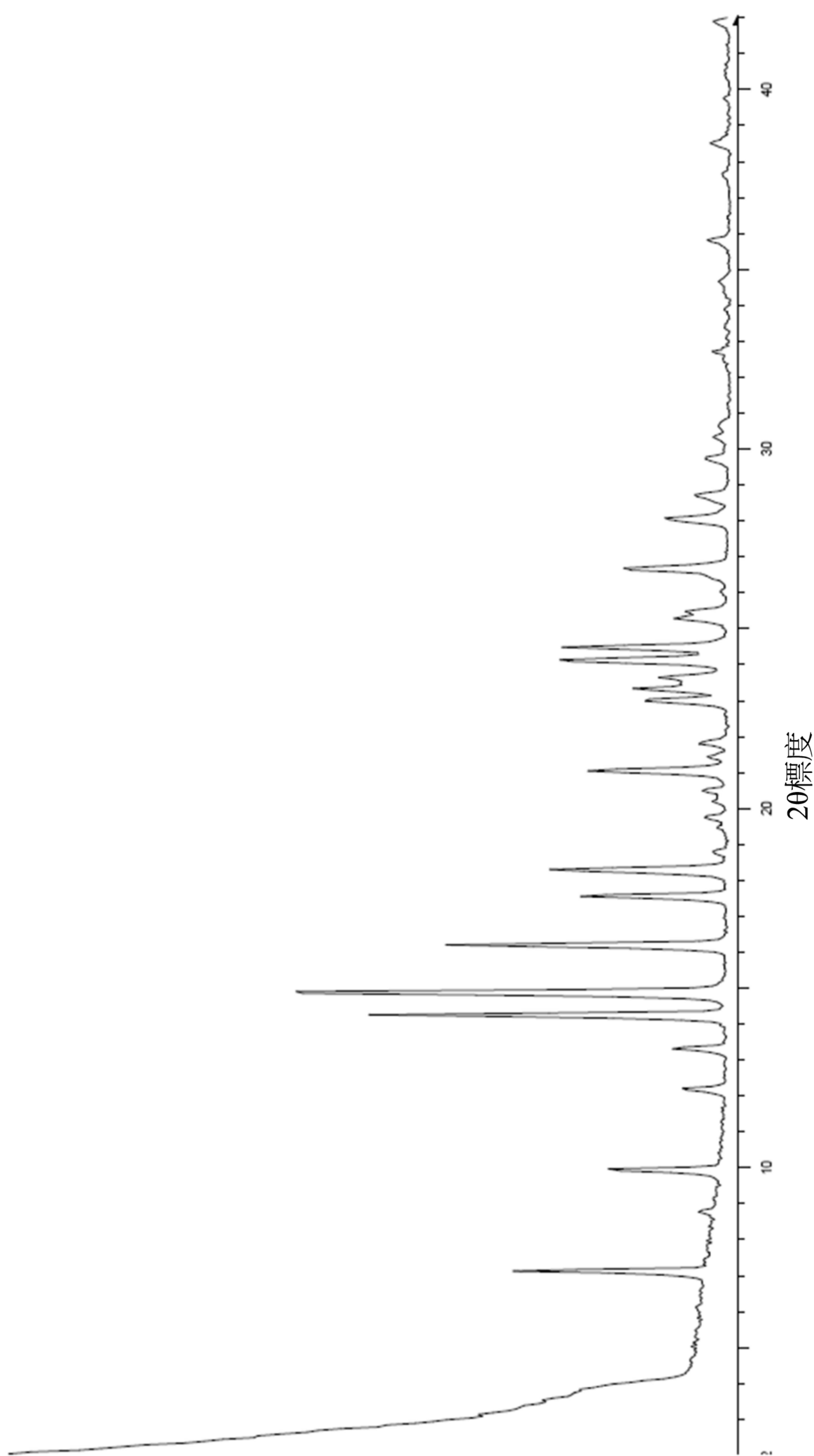


圖1A

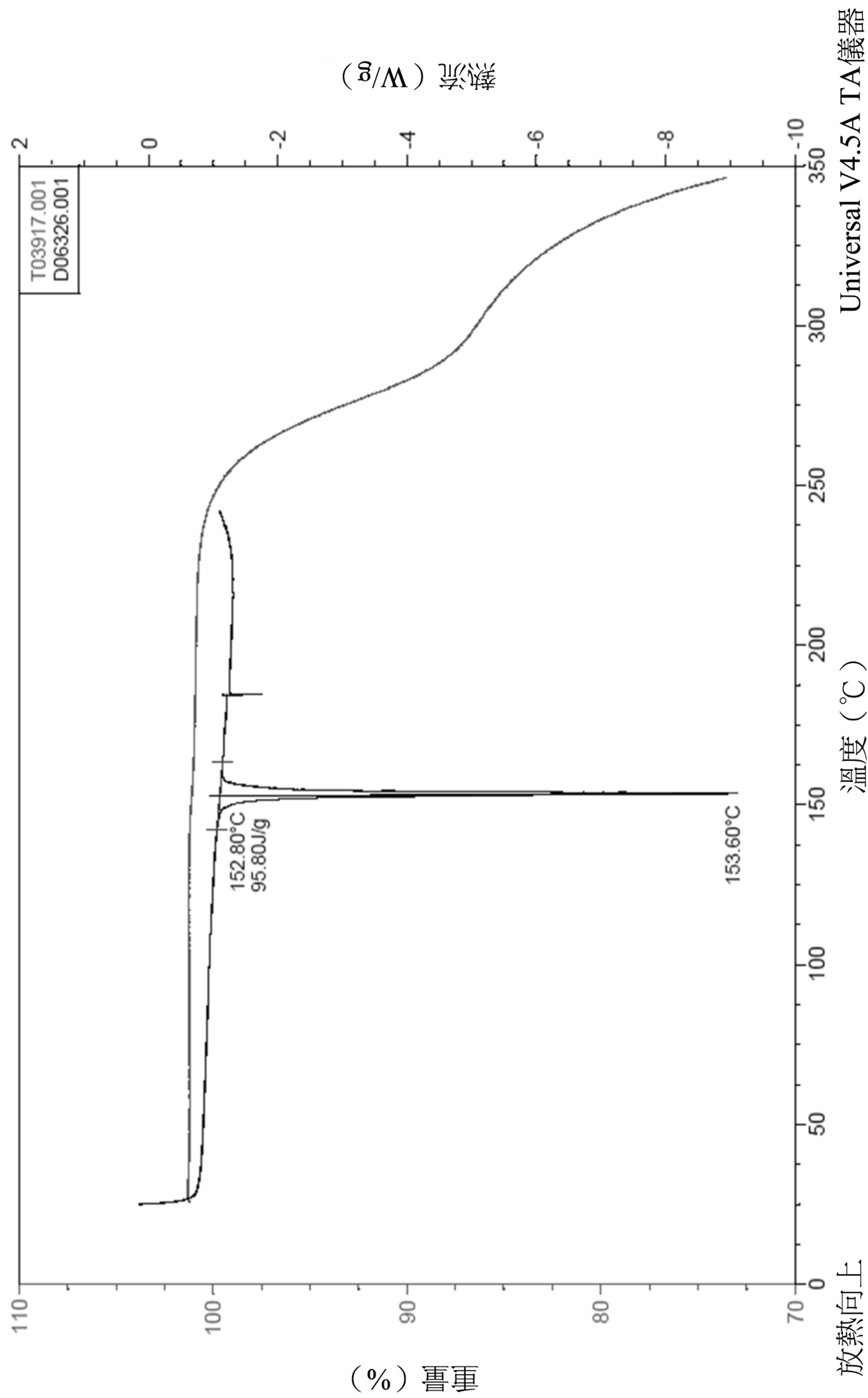


圖1B

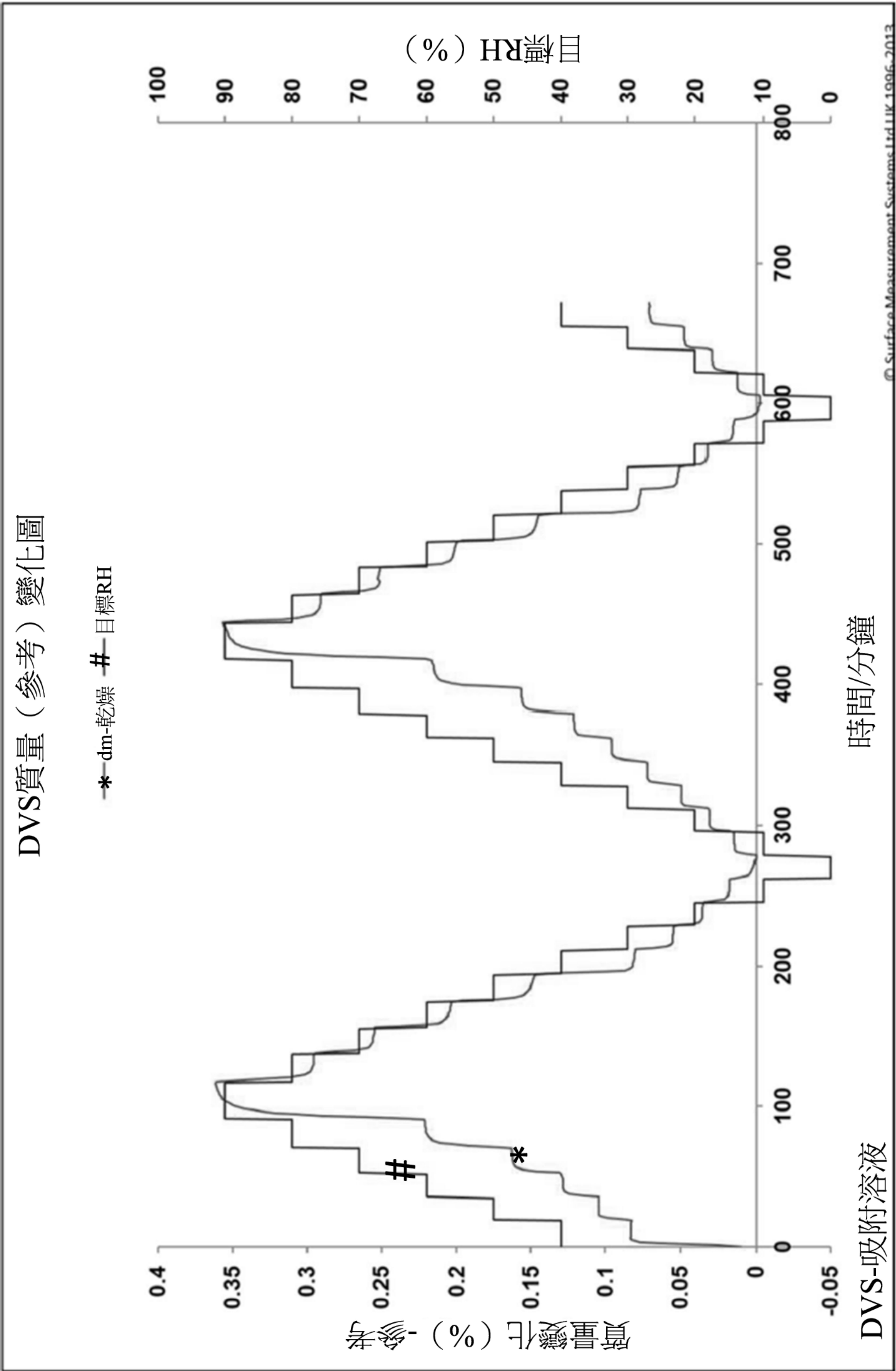


圖1C

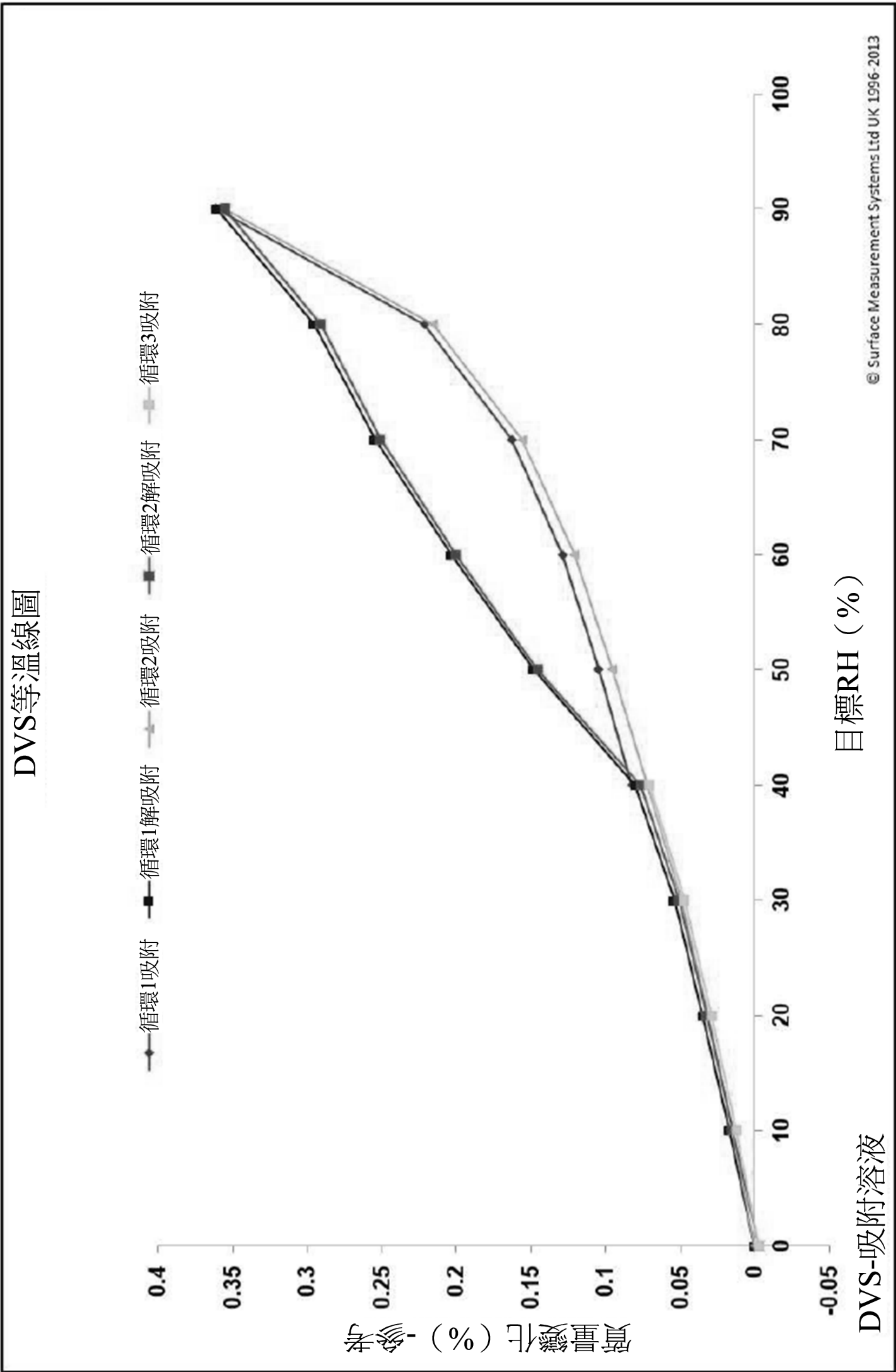


圖1D

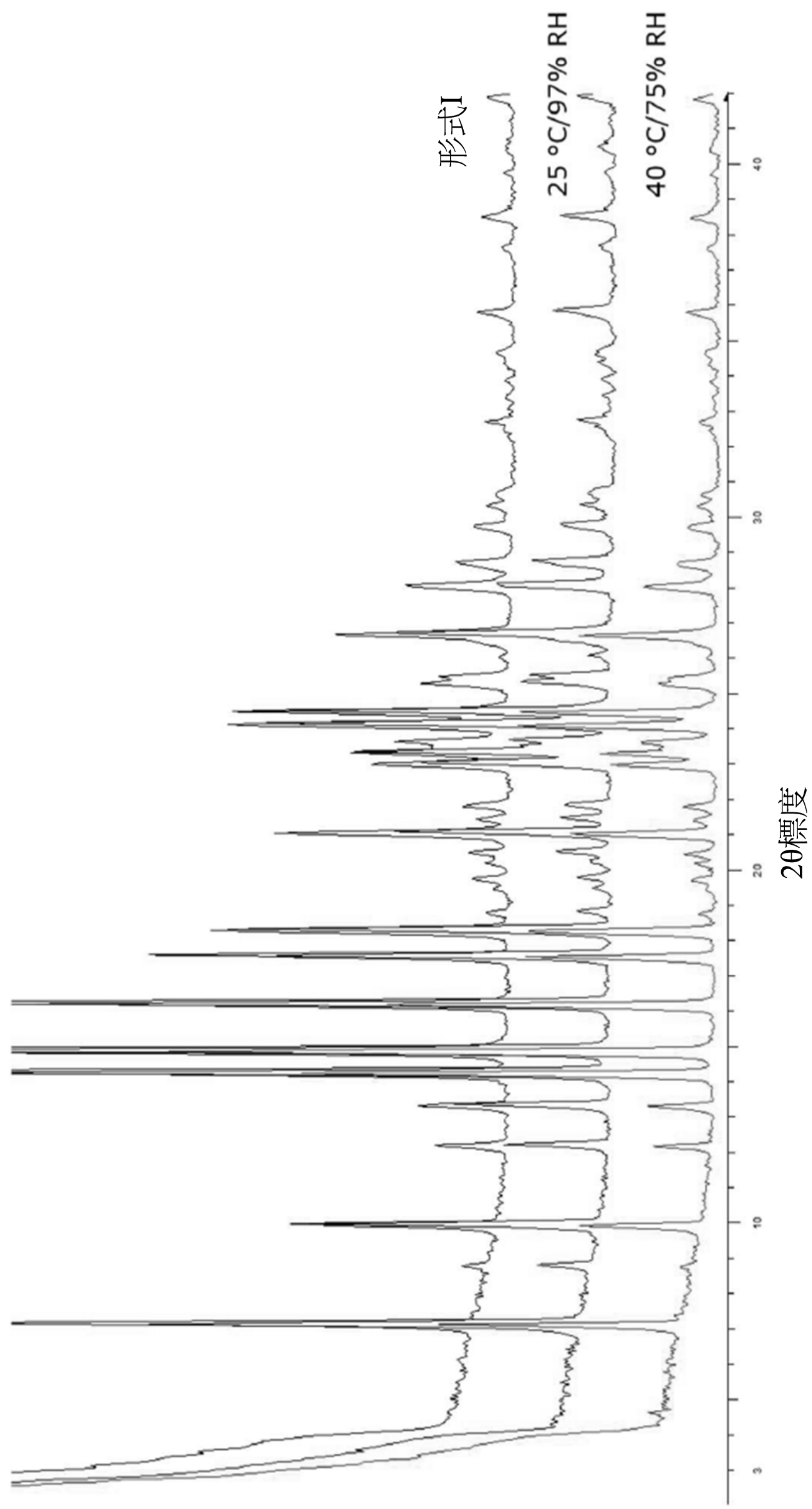


圖1E

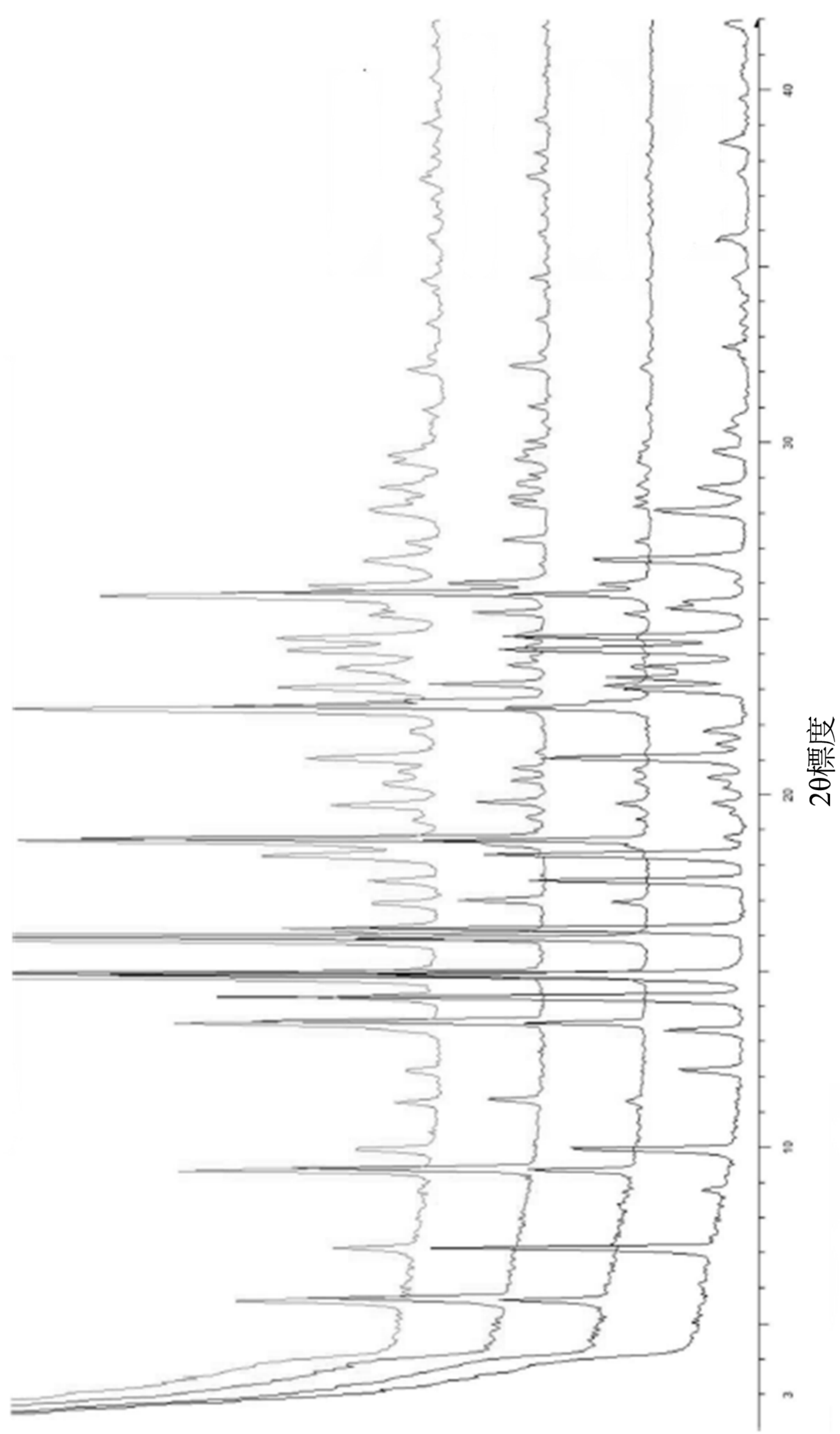


圖2A

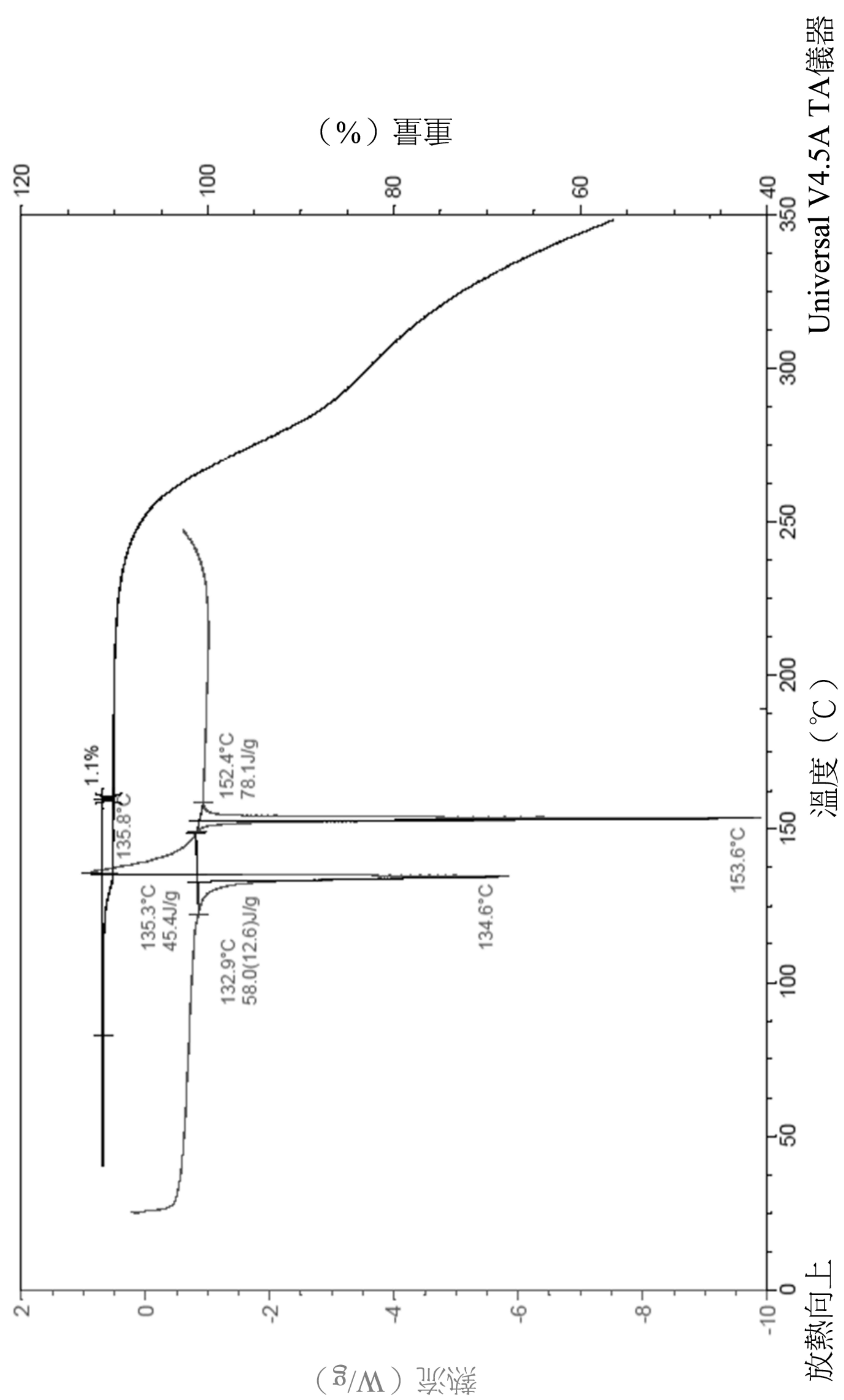


圖2B

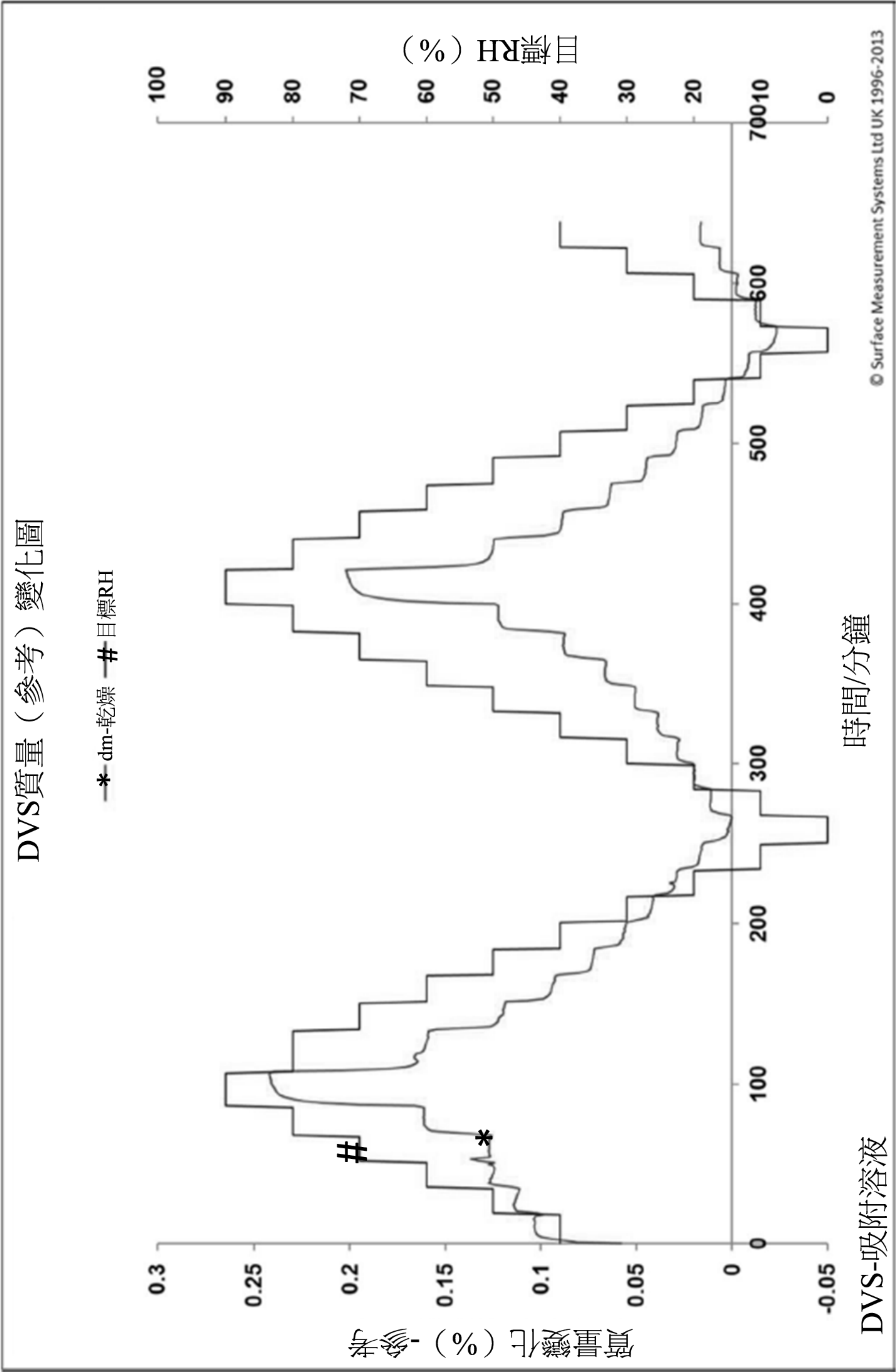


圖2C

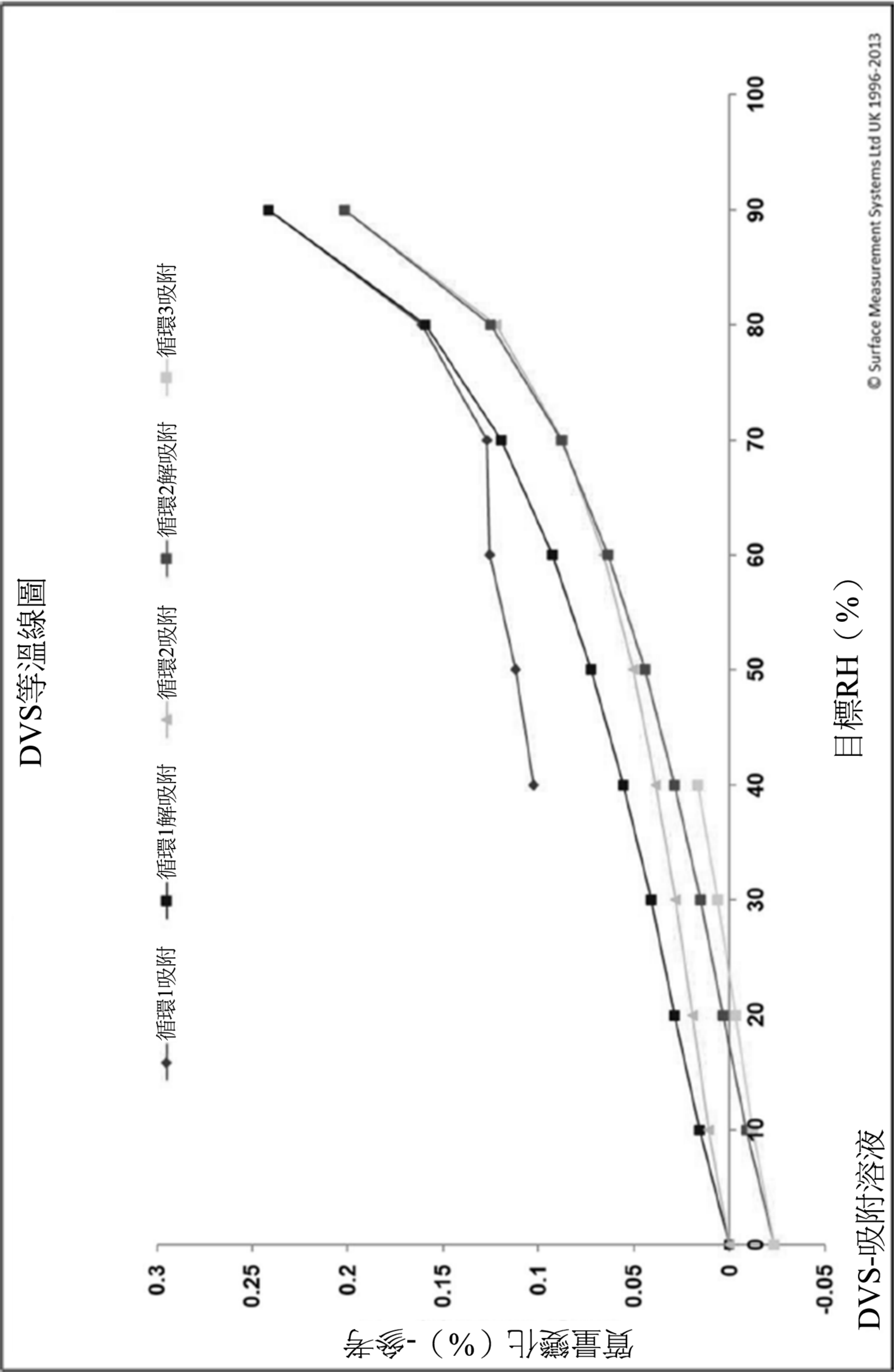


圖2D

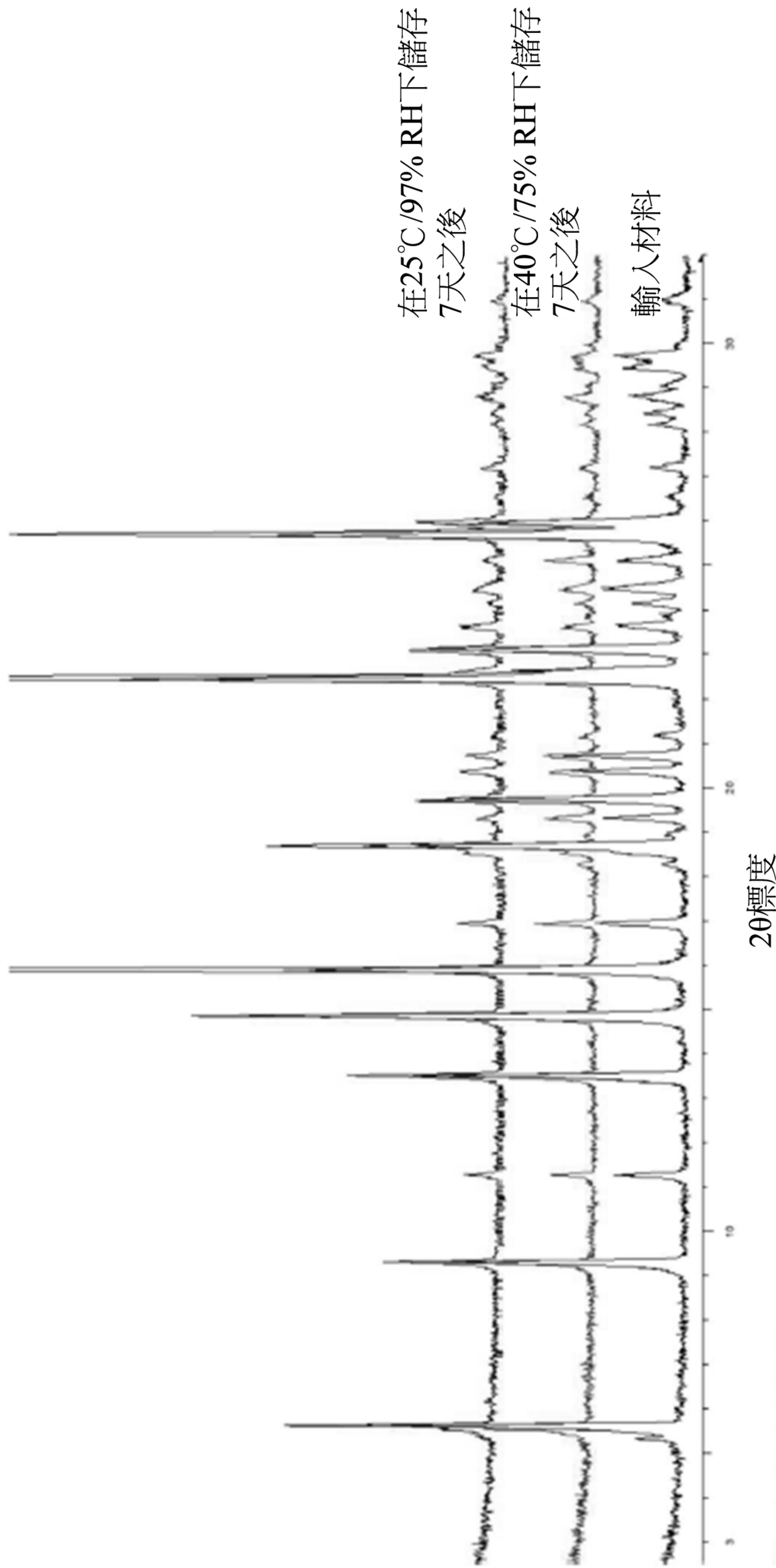


圖2E

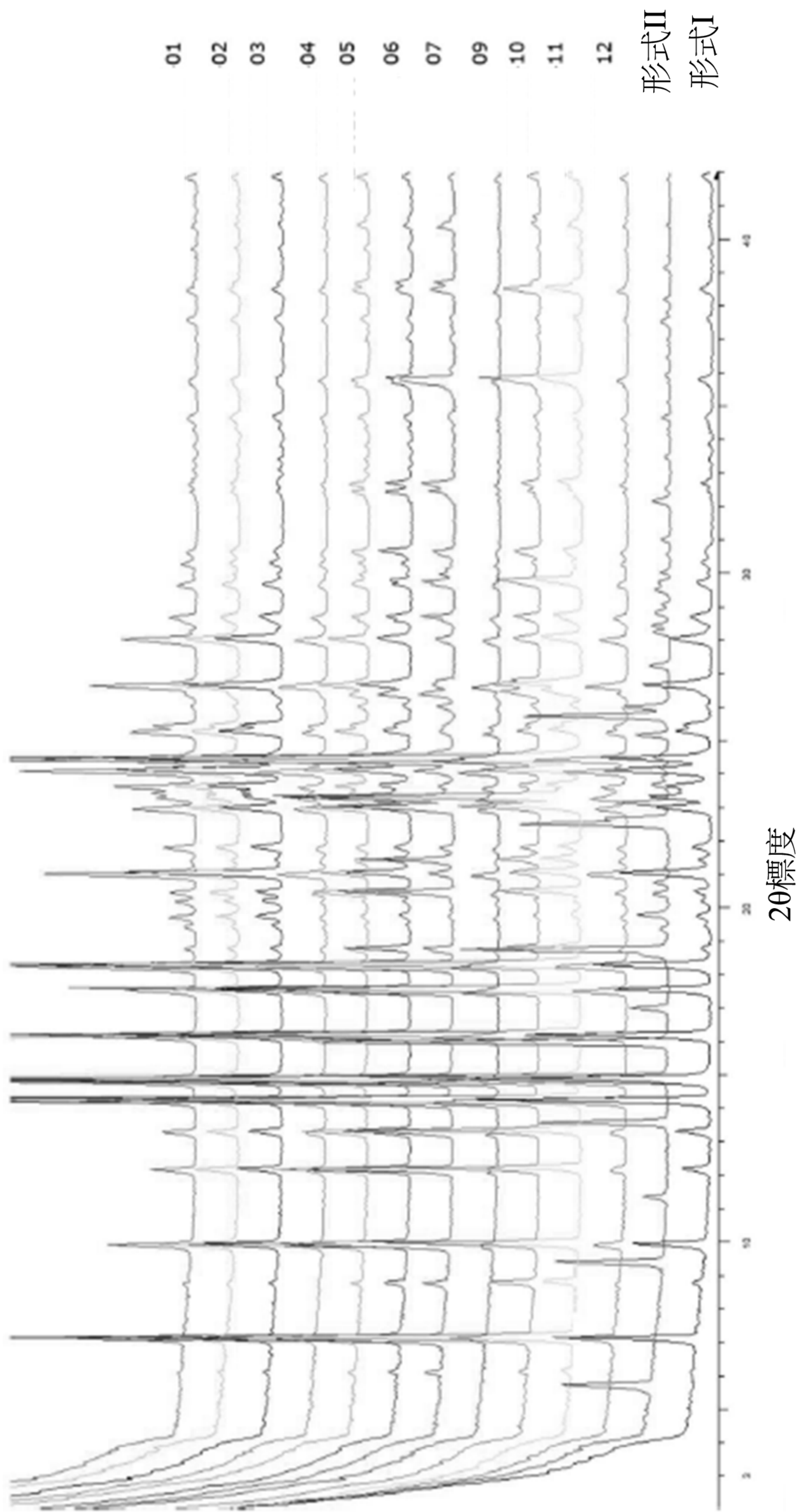


圖3