



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109369524 A

(43)申请公布日 2019.02.22

(21)申请号 201810750543.3

(74)专利代理机构 北京市君合律师事务所

(22)申请日 2013.07.15

11517

(30)优先权数据

61/672,191 2012.07.16 US

代理人 赵昊 何等

61/768,297 2013.02.22 US

(51)Int.Cl.

61/832,566 2013.06.07 US

C07D 217/26(2006.01)

(62)分案原申请数据

A61K 31/472(2006.01)

201380037479.X 2013.07.15

A61P 9/10(2006.01)

A61P 39/00(2006.01)

(71)申请人 菲布罗根有限公司

权利要求书4页 说明书42页 附图19页

地址 美国加利福尼亚州

(72)发明人 克劳迪娅·维兹 朴贞玟

迈克尔·道格拉斯·汤普森

迈克尔·约翰·马蒂内利

大卫·A·尤为尔

迈克尔·P·阿伦德

(54)发明名称

脯氨酰羟化酶抑制剂的晶体形态

(57)摘要

本发明涉及[(4-羟基-1-甲基-7-苯氧基-异喹啉-3-羰基)-氨基]-乙酸的结晶固体形态,制备该形态的方法,以及其药物组合物和使用方法。

1. 晶体[(4-羟基-1-甲基-7-苯氧基-异喹啉-3-羰基)-氨基]-乙酸(化合物A形态A),其特征在于,X-射线粉末衍射图包括以下峰:8.5、16.2和27.4° $2\theta \pm 0.2^\circ 2\theta$ 。
2. 如权利要求1所述的化合物A形态A,其中,所述衍射图还包括处于12.8、21.6和22.9° $2\theta \pm 0.2^\circ 2\theta$ 的峰。
3. 如权利要求1所述的化合物A形态A,其中,所述衍射图基本上如图1所示。
4. 如权利要求1所述的化合物A形态A,其特征在于,差示扫描量热(DSC)曲线包括于约223°C处的吸热。
5. 如权利要求4所述的化合物A形态A,其中,所述DSC曲线基本上如图2所示。
6. 晶体[(4-羟基-1-甲基-7-苯氧基-异喹啉-3-羰基)-氨基]-乙酸半水合物(化合物A形态B),其特征在于,X-射线粉末衍射图包括以下峰:4.2、8.3和16.6° $2\theta \pm 0.2^\circ 2\theta$ 。
7. 如权利要求6所述的化合物A形态B,其中,所述衍射图还包括处于12.5、14.1和17.4° $2\theta \pm 0.2^\circ 2\theta$ 的峰。
8. 如权利要求6所述的化合物A形态B,其中,所述衍射图基本上如图3所示。
9. 如权利要求6所述的化合物A形态B,其特征在于,差示扫描量热(DSC)曲线包括于约222°C处的吸热。
10. 如权利要求9所述的化合物A形态B,其中,所述DSC曲线基本上如图4所示。
11. 晶体[(4-羟基-1-甲基-7-苯氧基-异喹啉-3-羰基)-氨基]-乙酸六氟丙-2-醇溶剂合物(化合物A形态C),其特征在于X-射线粉末衍射图包括以下峰:4.5、13.7和16.4° $2\theta \pm 0.2^\circ 2\theta$ 。
12. 如权利要求11所述的化合物A形态C,其中,所述衍射图还包括处于15.4、15.5和20.6° $2\theta \pm 0.2^\circ 2\theta$ 的峰。
13. 如权利要求11所述的化合物A形态C,其中,所述衍射图基本上如图5所示。
14. 如权利要求11所述的化合物A形态C,其特征在于差示扫描量热(DSC)曲线包括于约222°C处的吸热。
15. 如权利要求14所述的化合物A形态C,其中,所述DSC曲线基本上如图6所示。
16. 晶体[(4-羟基-1-甲基-7-苯氧基-异喹啉-3-羰基)-氨基]-乙酸DMSO:水溶剂合物(化合物A形态D),其特征在于,X-射线粉末衍射图包括以下峰:8.4、8.5和16.8° $2\theta \pm 0.2^\circ 2\theta$ 。
17. 如权利要求16所述的化合物A形态D,其中,所述衍射图还包括处于4.2、12.6和28.4° $2\theta \pm 0.2^\circ 2\theta$ 的峰。
18. 如权利要求16所述的化合物A形态D,其中,所述衍射图基本上如图7所示。
19. 如权利要求16所述的化合物A形态D,其特征在于,差示扫描量热(DSC)曲线包括于约222°C处的吸热。
20. 如权利要求19所述的化合物A形态D,其中,所述DSC曲线基本上如图8所示。
21. 晶体[(4-羟基-1-甲基-7-苯氧基-异喹啉-3-羰基)-氨基]-乙酸钠盐(化合物A的钠盐),其特征在于,X-射线粉末衍射图包括以下峰:5.3、16.0和21.6° $2\theta \pm 0.2^\circ 2\theta$ 。
22. 如权利要求21所述的化合物A的钠盐,其中,所述衍射图还包括处于18.7、19.2和24.0° $2\theta \pm 0.2^\circ 2\theta$ 的峰。
23. 如权利要求21所述的化合物A的钠盐,其中,所述衍射图基本上如图9所示。

24. 如权利要求21所述的化合物A的钠盐,其特征在于,差示扫描量热(DSC)曲线包括于约314°C处的吸热。

25. 如权利要求24所述的化合物A的钠盐,其中,所述DSC曲线基本上如图10所示。

26. 晶体[(4-羟基-1-甲基-7-苯氧基-异喹啉-3-羰基)-氨基]-乙酸L-精氨酸盐(化合物A的L-精氨酸盐),其特征在于,X-射线粉末衍射图包括以下峰:20.8、21.8和25.4°2θ±0.2°2θ。

27. 如权利要求26所述的化合物A的L-精氨酸盐,其中,所述衍射图还包括处于22.7、23.4和26.4°2θ±0.2°2θ的峰。

28. 如权利要求26所述的化合物A的L-精氨酸盐,其中,所述衍射图基本上如图11所示。

29. 如权利要求26所述的化合物A的L-精氨酸盐,其特征在于,差示扫描量热(DSC)曲线包括于约210°C处的吸热。

30. 如权利要求29所述的化合物A的L-精氨酸盐,其中,所述DSC曲线基本上如图12所示。

31. 晶体[(4-羟基-1-甲基-7-苯氧基-异喹啉-3-羰基)-氨基]-乙酸L-赖氨酸盐(化合物A的L-赖氨酸盐),其特征在于,X-射线粉末衍射图包括以下峰:19.8、20.7和21.2°2θ±0.2°2θ。

32. 如权利要求31所述的化合物A的L-赖氨酸盐,其中,所述衍射图还包括处于10.2、16.9和18.4°2θ±0.2°2θ的峰。

33. 如权利要求31所述的化合物A的L-赖氨酸盐,其中,所述衍射图基本上如图13所示。

34. 如权利要求31所述的化合物A的L-赖氨酸盐,其特征在于,差示扫描量热(DSC)曲线包括于约237°C处的吸热。

35. 如权利要求34所述的化合物A的L-赖氨酸盐,其中,所述DSC曲线基本上如图14所示。

36. 晶体[(4-羟基-1-甲基-7-苯氧基-异喹啉-3-羰基)-氨基]-乙酸乙醇胺盐(化合物A的乙醇胺盐),其特征在于,X-射线粉末衍射图包括以下峰:21.8、22.7和27.1°2θ±0.2°2θ。

37. 如权利要求36所述的化合物A的乙醇胺盐,其中,所述衍射图还包括处于21.1、26.2和26.6°2θ±0.2°2θ的峰。

38. 如权利要求36所述的化合物A的乙醇胺盐,其中,所述衍射图基本上如图15所示。

39. 如权利要求36所述的化合物A的乙醇胺盐,其特征在于,差示扫描量热(DSC)曲线包括于约171°C处的吸热。

40. 如权利要求39所述的化合物A的乙醇胺盐,其中,所述DSC曲线基本上如图16所示。

41. 晶体[(4-羟基-1-甲基-7-苯氧基-异喹啉-3-羰基)-氨基]-乙酸二乙醇胺盐(化合物A的二乙醇胺盐),其特征在于,X-射线粉末衍射图包括以下峰:16.9、23.7和25.0°2θ±0.2°2θ。

42. 如权利要求41所述的化合物A的二乙醇胺盐,其中,所述衍射图还包括处于19.6、22.6和26.0°2θ±0.2°2θ的峰。

43. 如权利要求41所述的化合物A的二乙醇胺盐,其中,所述衍射图基本上如图17所示。

44. 如权利要求41所述的化合物A的二乙醇胺盐,其特征在于,差示扫描量热(DSC)曲线包括于约150°C处的吸热。

45. 如权利要求44所述的化合物A的二乙醇胺盐,其中,所述DSC曲线基本上如图18所示。

46. 晶体[(4-羟基-1-甲基-7-苯氧基-异喹啉-3-羰基)-氨基]-乙酸氨丁三醇盐(化合物A的氨丁三醇盐),其特征在于,X-射线粉末衍射图包括以下峰:10.1、14.2和21.1° 2θ ±0.2° 2θ 。

47. 如权利要求46所述的化合物A的氨丁三醇盐,其中,所述衍射图还包括处于20.1、25.7和28.4° 2θ ±0.2° 2θ 的峰。

48. 如权利要求46所述的化合物A的氨丁三醇盐,其中,所述衍射图基本上如图19所示。

49. 如权利要求46所述的化合物A的氨丁三醇盐,其特征在于,差示扫描量热(DSC)曲线包括于约176°C处的吸热。

50. 如权利要求49所述的化合物A的氨丁三醇盐,其中,所述DSC曲线基本上如图20所示。

51. 非晶态[(4-羟基-1-甲基-7-苯氧基-异喹啉-3-羰基)-氨基]-乙酸(非晶态化合物A)。

52. 基本上非晶态的[(4-羟基-1-甲基-7-苯氧基-异喹啉-3-羰基)-氨基]-乙酸钾盐(化合物A的钾盐)。

53. 如权利要求52所述的化合物A的钾盐,其特征在于,差示扫描量热(DSC)曲线包括于约291°C处的吸热。

54. 如权利要求53所述的化合物A的钾盐,其中,所述DSC曲线基本上如图22所示。

55. 药物组合物,包含选自下组的化合物:权利要求1所述的化合物A形态A、权利要求6所述的化合物A形态B、权利要求11所述的化合物A形态C、权利要求16所述的化合物A形态D、权利要求21所述的化合物A的钠盐、权利要求26所述的化合物A的L-精氨酸盐、权利要求31所述的化合物A的L-赖氨酸盐、权利要求36的所述化合物A的乙醇胺盐、权利要求41所述的化合物A的二乙醇胺盐、权利要求46所述的化合物A的氨丁三醇盐、权利要求51所述的非晶态化合物A以及权利要求52所述的化合物A的钾盐,以及药用赋形剂。

56. 如权利要求55所述的药物组合物,包含形态A的化合物A。

57. 如权利要求56所述的药物组合物,其中,至少约85%的化合物A为形态A。

58. 如权利要求56所述的药物组合物,其中,至少约90%的化合物A为形态A。

59. 如权利要求56所述的药物组合物,其中,至少约95%的化合物A为形态A。

60. 如权利要求56所述的药物组合物,其中,至少约99%的化合物A处于形态A。

61. 如权利要求56所述的药物组合物,其中,至少约99.5%的化合物A为形态A。

62. 如权利要求56所述的药物组合物,其中,至少约99.9%的化合物A为形态A。

63. 如权利要求56所述的方法,其中,至少约99.99%的化合物A为形态A。

64. 选自下组的化合物在制造用于在有需要的患者中治疗、预处理或延缓至少部分受低氧诱导因子(HIF)介导的病症的发作或恶化的药物中的用途:权利要求1所述的化合物A形态A、权利要求6所述的化合物A形态B、权利要求11所述的化合物A形态C、权利要求16所述的化合物A形态D、权利要求21所述的化合物A的钠盐、权利要求26所述的化合物A的L-精氨酸盐、权利要求31所述的化合物A的L-赖氨酸盐、权利要求36所述的化合物A的乙醇胺盐、权利要求41所述的化合物A的二乙醇胺盐、权利要求46所述的化合物A的氨丁三醇盐、权利要

求51所述的非晶态化合物A以及权利要求52所述的化合物A的钾盐。

65. 如权利要求64所述的用途,其中,所述至少部分受HIF介导的病症为与局部缺血或缺氧相关的组织损伤。

66. 如权利要求65所述的用途,其中,所述局部缺血与选自下组的急性事件相关:心肌梗塞、肺栓塞、肠梗塞、慢性肾衰竭、缺血性中风和肾缺血再灌注损伤。

67. 如权利要求65所述的用途,其中,所述局部缺血与选自下组的慢性事件相关:心脏硬化、瞬时缺血发作、黄斑退化、外周动脉疾病和充血性心脏衰竭。

68. 选自下组的化合物在制造用于在有需要的患者中治疗、预处理或延缓至少部分受红细胞生成素(EPO)介导的病症的发作或恶化的药物中的用途:权利要求1所述的化合物A形态A、权利要求6所述的化合物A形态B、权利要求11所述的化合物A形态C、权利要求16所述的化合物A形态D、权利要求21所述的化合物A的钠盐、权利要求26所述的化合物A的L-精氨酸盐、权利要求31所述的化合物A的L-赖氨酸盐、权利要求36所述的化合物A的乙醇胺盐、权利要求41所述的化合物A的二乙醇胺盐、权利要求46所述的化合物A的氨丁三醇盐、权利要求51所述的非晶态化合物A以及权利要求52所述的化合物A的钾盐。

69. 选自下组的化合物在制造用于在有需要的患者中治疗、预处理或延缓贫血症的发作或恶化的药物中的用途:权利要求所述1的化合物A形态A、权利要求6所述的化合物A形态B、权利要求11所述的化合物A形态C、权利要求16所述的化合物A形态D、权利要求21所述的化合物A的钠盐、权利要求26所述的化合物A的L-精氨酸盐、权利要求31所述的化合物A的L-赖氨酸盐、权利要求36所述的化合物A的乙醇胺盐、权利要求41所述的化合物A的二乙醇胺盐、权利要求46所述的化合物A的氨丁三醇盐、权利要求51所述的非晶态化合物A以及权利要求52所述的化合物A的钾盐。

70. 如权利要求64、68或69所述的用途,其中,所述化合物为化合物A形态A。

71. 如权利要求64、68或69所述的用途,其中,至少约85%的所述化合物为化合物A形态A。

72. 如权利要求64、68或69所述的用途,其中,至少约90%的所述化合物为化合物A形态A。

73. 如权利要求64、68或69所述的用途,其中,至少约95%的所述化合物为化合物A形态A。

74. 如权利要求64、68或69所述的用途,其中,至少约99%的所述化合物为化合物A形态A。

75. 如权利要求64、68或69所述的用途,其中,至少约99.5%的所述化合物为化合物A形态A。

76. 如权利要求64、68或69所述的用途,其中,至少约99.9%的所述化合物为化合物A形态A。

77. 如权利要求64、68或69所述的用途,其中,至少约99.99%的所述化合物为化合物A形态A。

脯氨酰羟化酶抑制剂的晶体形态

[0001] 本申请是申请日为2013年7月15日,申请号为201380037479.X,发明名称为“脯氨酰羟化酶抑制剂的晶体形态”的申请的分案申请。

技术领域

[0002] 本发明涉及[(4-羟基-1-甲基-7-苯氧基-异喹啉-3-羰基)-氨基]-乙酸的结晶固体形态,制备该形态的方法,及其药物组合物和使用方法。

背景技术

[0003] 化合物可以以一种或多种晶体形态存在。药物物质的晶体形态可具有不同的物理属性,包括熔点、溶解度、溶出率、光学和机械属性、蒸汽压力、吸湿性、微粒形状、密度和流动性。这些属性可对作为药物产品的化合物加工和/或制造能力具有直接影响。晶体形态也可以表现出不同的稳定性和生物利用度。通常在药物产品开发期间根据其转化成另一种晶体形态的最小可能性和其更高的化学稳定性来选出药物产品的最稳定晶体形态。为了确保药物产品的质量、安全和效能,重要的是选择稳定、可再生产地制造和具有有利物理化学属性的晶体形态。

[0004] 如美国专利号7,323,475中所述,[(4-羟基-1-甲基-7-苯氧基-异喹啉-3-羰基)-氨基]-乙酸(在下文中称为化合物A)是低氧诱导因子(HIF)脯氨酰羟化酶的有效抑制剂。HIF脯氨酰羟化酶抑制剂可用于增加HIF的稳定性和/或活性,并且可用于治疗和预防与HIF相关的失调等,包括贫血、局部缺血和缺氧。

发明概述

[0006] 通过提供化合物A、盐和溶剂合物的晶体形态,本发明公开的内容满足了这些和其他需求。本发明也提供了化合物A的非晶态形态。本发明也提供了包含非晶态或一种或多种晶体形态化合物A的药物组合物。本发明也提供了用于制造非晶态和结晶固体形态的方法,以及将其用于治疗和预防包括涉及贫血、局部缺血和缺氧病症的与HIF相关的失调的方法。

[0007] 因此,所提供的一个实施方案为晶体[(4-羟基-1-甲基-7-苯氧基-异喹啉-3-羰基)-氨基]-乙酸(化合物A形态A),其特征在于X-射线粉末衍射图包括以下峰:8.5、16.2和27.4° $2\theta \pm 0.2^\circ 2\theta$ 。

[0008] 所提供的另一个实施方案为晶体[(4-羟基-1-甲基-7-苯氧基-异喹啉-3-羰基)-氨基]-乙酸半水合物(化合物A形态B),其特征在于X-射线粉末衍射图包括以下峰:4.2、8.3和16.6° $2\theta \pm 0.2^\circ 2\theta$ 。

[0009] 所提供的又一个实施方案为晶体[(4-羟基-1-甲基-7-苯氧基-异喹啉-3-羰基)-氨基]-乙酸六氟丙-2-醇溶剂合物(化合物A形态C),其特征在于X-射线粉末衍射图包括以下峰:4.5、13.7和16.4° $2\theta \pm 0.2^\circ 2\theta$ 。

[0010] 所提供的又一个实施方案为晶体[(4-羟基-1-甲基-7-苯氧基-异喹啉-3-羰基)-氨基]-乙酸DMSO:水溶剂合物(化合物A形态D),其特征在于X-射线粉末衍射图包括以下峰:8.4、8.5和16.8° $2\theta \pm 0.2^\circ 2\theta$ 。

[0011] 所提供的又一个实施方案为晶体[(4-羟基-1-甲基-7-苯氧基-异喹啉-3-羰基)-氨基]-乙酸钠盐(化合物A的钠盐),其特征在于X-射线粉末衍射图包括以下峰:5.3、16.0和21.6° $2\theta \pm 0.2^\circ 2\theta$ 。

[0012] 所提供的又一个实施方案为晶体[(4-羟基-1-甲基-7-苯氧基-异喹啉-3-羰基)-氨基]-乙酸L-精氨酸盐(化合物A的L-精氨酸盐),其特征在于X-射线粉末衍射图包括以下峰:20.8、21.8和25.4° $2\theta \pm 0.2^\circ 2\theta$ 。

[0013] 所提供的又一个实施方案为晶体[(4-羟基-1-甲基-7-苯氧基-异喹啉-3-羰基)-氨基]-乙酸L-赖氨酸盐(化合物A的L-赖氨酸盐),其特征在于X-射线粉末衍射图包括以下峰:19.8、20.7和21.2° $2\theta \pm 0.2^\circ 2\theta$ 。

[0014] 所提供的又一个实施方案为晶体[(4-羟基-1-甲基-7-苯氧基-异喹啉-3-羰基)-氨基]-乙酸乙醇胺盐(化合物A的乙醇胺盐),其特征在于X-射线粉末衍射图包括以下峰:21.8、22.7和27.1° $2\theta \pm 0.2^\circ 2\theta$ 。

[0015] 所提供的又一个实施方案为晶体[(4-羟基-1-甲基-7-苯氧基-异喹啉-3-羰基)-氨基]-乙酸二乙醇胺盐(化合物A的二乙醇胺盐),其特征在于X-射线粉末衍射图包括以下峰:16.9、23.7和25.0° $2\theta \pm 0.2^\circ 2\theta$ 。

[0016] 所提供的又一个实施方案为晶体[(4-羟基-1-甲基-7-苯氧基-异喹啉-3-羰基)-氨基]-乙酸氨丁三醇盐(化合物A的氨丁三醇盐),其特征在于X-射线粉末衍射图包括以下峰:10.1、14.2和21.1° $2\theta \pm 0.2^\circ 2\theta$ 。

[0017] 所提供的又一个实施方案为非晶态[(4-羟基-1-甲基-7-苯氧基-异喹啉-3-羰基)-氨基]-乙酸(非晶态化合物A)。

[0018] 所提供的又一个实施方案为基本上非晶态的[(4-羟基-1-甲基-7-苯氧基-异喹啉-3-羰基)-氨基]-乙酸钾盐(化合物A的钾盐)。

[0019] 还提供的另一个实施方案涉及包含晶体或非晶态形态的化合物A或其盐以及药用赋形剂的药物组合物。

[0020] 另外,本公开在一个实施方案中提供了用于治疗、预处理或延缓至少部分受低氧诱导因子(HIF)介导的病症的发作或恶化的方法。所述方法包括给有需要的患者施用治疗上有效量的选自下组的通常如上所述的化合物:化合物A形态A、化合物A形态B、化合物A形态C、化合物A形态D、化合物A的钠盐、化合物A的L-精氨酸盐、化合物A的L-赖氨酸盐、化合物A的乙醇胺盐、化合物A的二乙醇胺盐、化合物A的氨丁三醇盐、非晶态化合物A、化合物A的钾盐。

[0021] 还提供了用于治疗、预处理或延缓至少部分受红细胞生成素(EPO)介导的病症的发作或恶化的方法。所述方法包括给有需要的患者施用治疗上有效量的选自下组的通常如上所述的化合物:化合物A形态A、化合物A形态B、化合物A形态C、化合物A形态D、化合物A的钠盐、化合物A的L-精氨酸盐、化合物A的L-赖氨酸盐、化合物A的乙醇胺盐、化合物A的二乙醇胺盐、化合物A的氨丁三醇盐、非晶态化合物A、化合物A的钾盐。

[0022] 还提供了用于治疗、预处理或延缓贫血症的发作或恶化的方法。所述方法包括给有需要的患者施用治疗上有效量的选自下组的通常如上所述的化合物:化合物A形态A、化合物A形态B、化合物A形态C、化合物A形态D、化合物A的钠盐、化合物A的L-精氨酸盐、化合物A的L-赖氨酸盐、化合物A的乙醇胺盐、化合物A的二乙醇胺盐、化合物A的氨丁三醇盐、非晶

态化合物A、化合物A的钾盐。

[0023] 也提供了抑制HIF羟化酶活性的方法。所述方法包括将HIF羟化酶与治疗上有效量的选自下组的通常如上所述的化合物接触：化合物A形态A、化合物A形态B、化合物A形态C、化合物A形态D、化合物A的钠盐、化合物A的L-精氨酸盐、化合物A的L-赖氨酸盐、化合物A的L-赖氨酸盐、化合物A的乙醇胺盐、化合物A的二乙醇胺盐、化合物A的氨丁三醇盐、非晶态化合物A、化合物A的钾盐。

附图说明

- [0024] 图1为化合物A形态A的X-射线粉末衍射图案。
- [0025] 图2为化合物A形态A的差示扫描量热(DSC)曲线。
- [0026] 图3为用化合物A形态A的X-射线粉末衍射图案(顶部)标绘的化合物A形态B的X-射线粉末衍射图案(底部)。
- [0027] 图4为化合物A形态B的热重分析(TGA)(顶部)和差示扫描量热(DSC)曲线(底部)。
- [0028] 图5为用化合物A形态A的X-射线粉末衍射图案(顶部)标绘的化合物A形态C的X-射线粉末衍射图案(底部)。
- [0029] 图6为化合物A形态C的差示扫描量热(DSC)曲线(顶部)和热重分析(TGA)(底部)。
- [0030] 图7为化合物A形态D的X-射线粉末衍射图案。
- [0031] 图8为化合物A形态D的热重分析(TGA)(顶部)和差示扫描量热(DSC)曲线(底部)。
- [0032] 图9为分离的(底部)和在40℃/75%RH下(顶部)的化合物A的钠盐的X-射线粉末衍射图案。
- [0033] 图10为化合物A的钠盐的热重分析(TGA)(顶部)和差示扫描量热(DSC)曲线(底部)。
- [0034] 图11为分离的(底部)和在40℃/75%RH下(顶部)的化合物A的L-精氨酸盐的X-射线粉末衍射图案。
- [0035] 图12为化合物A的L-精氨酸盐的热重分析(TGA)(顶部)和差示扫描量热(DSC)曲线(底部)。
- [0036] 图13为分离的(底部)和在40℃/75%RH下(顶部)的化合物A的L-赖氨酸盐的X-射线粉末衍射图案。
- [0037] 图14为化合物A的L-赖氨酸盐的热重分析(TGA)(顶部)和差示扫描量热(DSC)曲线(底部)。
- [0038] 图15为化合物A形态A的X-射线粉末衍射图案(底部),分离的化合物A的乙醇胺盐图案1(次底部),在40℃/75%RH下的化合物A的乙醇胺盐的图案3(中间),分离的化合物A的乙醇胺盐的图案2(次顶部)和在40℃/75%RH下的化合物A的乙醇胺盐图案2(顶部)。
- [0039] 图16为化合物A的乙醇胺盐的热重分析(TGA)(顶部)和差示扫描量热(DSC)曲线(底部)。
- [0040] 图17为化合物A形态A的X-射线粉末衍射图案(底部),来自丙酮的化合物A的二乙醇胺盐的图案1(次底部),来自THF的化合物A的二乙醇胺盐的图案1(次顶部),和在40℃/75%RH下化合物A的乙醇胺盐(图案2,顶部)。
- [0041] 图18为化合物A的二乙醇胺盐的热重分析(TGA)(顶部)和差示扫描量热(DSC)曲线

(底部)。

[0042] 图19为化合物A形态A(底部)和分离的(中间)及在40℃/75%RH下(顶部)的化合物A的氨丁三醇盐的X-射线粉末衍射图案。

[0043] 图20为化合物A的氨丁三醇盐的热重分析(TGA)(顶部)和差示扫描量热(DSC)曲线(底部)。

[0044] 图21为分离的(底部)和在40℃/75%RH下(顶部)的化合物A的钾盐的X-射线粉末衍射图案。

[0045] 图22为化合物A的钾盐的热重分析(TGA)(顶部)和差示扫描量热(DSC)曲线(底部)。

[0046] 图23为非晶态化合物A的X-射线粉末衍射图案。

[0047] 图24为化合物A形态A的热重分析(TGA)。

[0048] 图25为化合物A形态A(底部)和分离的(中间)及在40℃/75%RH下(顶部)的化合物A的盐酸盐的X-射线粉末衍射图案。

[0049] 图26为化合物A的盐酸盐的热重分析(TGA)(顶部)和差示扫描量热(DSC)曲线(底部)。

[0050] 图27为化合物形态A(底部)和分离的(中间)及在40℃/75%RH下(顶部)的化合物A的硫酸盐的X-射线粉末衍射图案。

[0051] 图28为化合物A的硫酸盐的热重分析(TGA)(顶部)和差示扫描量热(DSC)曲线(底部)。

[0052] 图29为化合物A形态A的X-射线粉末衍射图案(底部),分离的(次底部)和在40℃/75%RH下(中间)的化合物A的甲磺酸盐的图案1,以及分离的(次顶部)和在40℃/75%RH下(顶部)的化合物A的甲磺酸盐的图案2。

[0053] 图30为化合物A的甲磺酸盐的热重分析(TGA)(顶部)和差示扫描量热(DSC)曲线(底部)。

[0054] 图31为化合物A形态A(底部),分离的化合物A的双三乙胺盐(中间)和在40℃/75%RH下化合物A的双三乙胺盐(顶部)的X-射线粉末衍射图案。

[0055] 图32为化合物A的双三乙胺盐的热重分析(TGA)(顶部)和差示扫描量热(DSC)曲线(底部)。

[0056] 图33为化合物A形态A(底部)以及化合物A的半钙盐(次顶部)在40℃/75%RH下(顶部)的X-射线粉末衍射图案。

[0057] 图34为化合物A的半钙盐的热重分析(TGA)(顶部)和差示扫描量热(DSC)曲线(底部)。

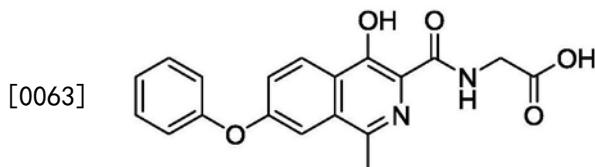
[0058] 图35为化合物A形态A(底部),以及化合物A的半镁盐(次顶部)在40℃/75%RH下(顶部)的X-射线粉末衍射图案。

[0059] 图36为化合物A的半镁盐的差示扫描量热(DSC)曲线。

[0060] 图37为化合物A形态A的分子结构。

[0061] 发明详述

[0062] 化合物[(4-羟基-1-甲基-7-苯氧基-异喹啉-3-羧基)-氨基]-乙酸(化合物A)为低氧诱导因子(HIF)脯氨酰羟化酶的有效抑制剂并具有下式:



化合物 A

[0064] 本公开提供了化合物A的晶体形态、化合物A的盐和化合物A的溶剂合物。本公开也提供了化合物A的非晶态形态。本公开还提供了包含化合物A的非晶态或晶体形态的药物组合物。本公开还提供了制备非晶态和结晶固体形态的方法和使用其治疗和预防包括贫血症、局部缺血和缺氧的与HIF相关的失调的方法。

[0065] 在进一步详细讨论之前,将定义以下术语。

[0066] 1. 定义

[0067] 如此处所用,以下术语具有下面的含义。

[0068] 单数形式“一个/种(a)”、“一个/种(an)”和“所述(the)”等包括复数指示物,除非上下文另有清楚说明。因此,例如,提到“化合物(a compound)”的引用包括单个化合物和多个不同的化合物。

[0069] 术语“约”当在包括范围的数字标号,例如温度、时间、数量和浓度之前使用时,表示能够以±10%、±5%或±1%变化的近似值。

[0070] 术语“溶剂合物”指的是由化合物A和溶剂结合形成的络合物。

[0071] 术语“基本上非晶态”和“大多数为非晶态”指的是可能存在少量的晶体化合物A的非晶态化合物A。在一些实施方案中,晶体化合物A的量小于约10%,或小于约5%,或小于约2%,或小于约1%,或小于约0.2%,或小于约0.1%。

[0072] “施用”指的是将药剂引入患者体内。可以施用治疗量,其可以由治疗医生等来决定。对于此处所描述的晶体形态的化合物A,优选口服给药途径。相关术语和短语“施用(administrating)”或“施用(administration of)”当与化合物或药物组合物(和语法上的等同物)联用时,指的是直接施用和/或间接施用,所述直接施用可以通过医疗专业人员给患者施用或患者自己施用,所述间接施用可以是开药物处方的行为。例如,医师指示患者自己施用药物和/或给患者提供药物的处方为给患者施用所述药物。在任何情况下,施用需要将药物递送给患者。

[0073] 如此处所用的“赋形剂”指的是药品生产中所用的惰性或非活性物质,包括不限于任何用作粘合剂、崩解剂、包衣、压缩/封装助剂、乳剂或洗剂、润滑剂、胃肠外注射物、甜味剂或调味剂、悬浮/胶凝剂或湿润造粒剂的物质。粘合剂包括例如聚羧乙烯、聚维酮、黄原胶树胶等;包衣包括例如邻苯二甲酸乙酸纤维素、乙基纤维素、结冷胶、麦芽糖糊精等;压缩/封装助剂包括例如碳酸钙、葡萄糖、果糖、蜂蜜、乳糖(脱水或一水合物;可选地与阿斯巴甜、纤维素或微晶纤维素结合)、淀粉、蔗糖等;崩解剂包括例如交联甲羧纤维素钠、结冷胶、羧甲基淀粉钠等;乳剂或洗剂包括例如麦芽糖糊精、角叉菜胶等;润滑剂包括例如硬脂酸镁、硬脂酸、硬脂富马酸钠等;用于咀嚼片剂的材料包括例如葡萄糖、果糖、乳糖(一水合物,可选地与阿巴斯甜或纤维素结合)等;胃肠外注射物包括例如甘露醇、聚维酮等;增塑剂包括例如癸二酸二丁酯、聚乙酸乙烯邻苯二甲酸酯等;悬浮/胶凝剂包括例如卡拉胶、羧甲基淀粉钠、黄原胶树胶等;甜味剂包括例如阿巴斯甜、葡萄糖、果糖、山梨醇、蔗糖等;以及湿润造粒剂包括例如碳酸钙、麦芽糊精、微晶纤维素等。

[0074] “治疗有效量”或“治疗量”指的是当施用于患有病症的患者时的药物或药剂的量，其将具有预料的治疗效果，例如减轻、改善、缓解或消除患者所患病症的一种或多种临床表现。治疗有效量会取决于下述因素而变化：被治疗的个体或病症，个体的重量和年龄，病症的严重性，所选的具体组合物或赋形剂，待遵守的剂量给药方案，给药时间，给药方式等，其所有这些因素都可容易地由本领域技术人员确定。总体的治疗效果不必通过施用一个剂量产生，而是可能只在服用一系列剂量后才产生。因此，治疗有效量可能以一次或多次给药来施用。例如但不限于，在治疗贫血症的情况下治疗有效数量指的是减轻、改善、缓解或消除患者的一个或多个贫血症状的药剂量。

[0075] “治疗(treatment)”、“治疗(treating)”以及“治疗(treat)”被定义为用药剂作用于疾病、失调或病症，以减少或改善所述疾病、失调或病症和/或其症状的有害或任何其他不期望的作用。此处使用的治疗包括对人类患者的治疗，并包括：(a)减少患者产生病症的风险，所述患者被确定为倾向患病但还没有诊断为患有病症，(b)阻止病症的发展，和/或(c)减轻病症，即引起病症的消退和/或减轻病症的一种或多种症状。

[0076] “XRPD图案”为在x-轴上具有衍射角(即 $^{\circ}2\theta$)并在y-轴上具有强度的x-y图。这种图案中的峰可以用于表征晶体固态形态。在任何数据测量结果的情况下，XRPD数据存在可变性。数据经常唯一地由峰的衍射角来表示，而不包括峰的强度，因为峰的强度可能对样品的制备特别敏感(例如，粒径、水分含量、溶剂含量和优选的取向效果影响敏感性)，因此在不同条件下制备的相同材料的样品可能产生略微不同的图案；这一可变性通常大于衍射角的可变性。衍射角的可变性也可以对样品的制备敏感。其他可变性的来源来自仪器参数和对原始X-射线数据的处理：不同的X-射线仪器操作使用不同的参数并且这些可能导致与相同的固体形态略微不同的XRPD图案，并且类似地，不同软件包以不同方式处理X-射线数据并且这也导致可变性。可变性的这些和其他的来源对药学领域中的技术人员来说是已知的。由于该可变性的来源，通常对XRPD图案中的衍射角分配 $\pm 0.2^{\circ}2\theta$ 的可变性。

[0077] 2. 化合物A的固体形态

[0078] 通常如上文所述，本公开提供了[(4-羟基-1-甲基-7-苯氧基-异喹啉-3-羰基)-氨基]-乙酸的固体形态。

[0079] 化合物A形态A的特征在于，X-射线粉末衍射图包括处于 8.5 、 16.2 和 $27.4^{\circ}2\theta \pm 0.2^{\circ}2\theta$ 的峰。衍射图包括处于 12.8 、 21.6 和 $22.9^{\circ}2\theta \pm 0.2^{\circ}2\theta$ 的另外的峰。形态A的特征还在于，其整个X-射线粉末衍射图基本上如图1所示。

[0080] 在一些实施方案中，形态A的特征在于，其差示扫描量热(DSC)曲线包括于约 223°C 处的吸热。形态A的特征还在于其整个DSC曲线基本上如图2所示。

[0081] 化合物A形态B的特征在于X-射线粉末衍射图包括处于 4.2 、 8.3 和 $16.6^{\circ}2\theta \pm 0.2^{\circ}2\theta$ 的峰。衍射图包括处于 12.5 、 14.1 和 $17.4^{\circ}2\theta \pm 0.2^{\circ}2\theta$ 的另外的峰。形态B的特征还在于其整个X-射线粉末衍射图基本上如图3所示。

[0082] 在一些实施方案中，形态B的特征在于其差示扫描量热(DSC)曲线包括于约 222°C 处的吸热。形态B的特征还在于其整个DSC曲线基本上如图4所示。

[0083] 化合物A形态C的特征在于X-射线粉末衍射图包括处于 4.5 、 13.7 和 $16.4^{\circ}2\theta \pm 0.2^{\circ}2\theta$ 的峰。衍射图包括处于 15.4 、 15.5 和 $20.6^{\circ}2\theta \pm 0.2^{\circ}2\theta$ 的另外的峰。形态C的特征还在于其整个X-射线粉末衍射图基本上如图5所示。

[0084] 在一些实施方案中,形态C的特征在于其差示扫描量热 (DSC) 曲线包括于约222°C处的吸热。形态C的特征还在于其整个DSC曲线基本上如图6所示。

[0085] 化合物A形态D的特征在于X-射线粉末衍射图包括处于8.4、8.5和16.8° $2\theta \pm 0.2^\circ$ 的峰。衍射图包括处于4.2、12.6和28.4° $2\theta \pm 0.2^\circ$ 的另外的峰。形态D的特征还在于其整个X-射线粉末衍射图基本上如图7所示。

[0086] 在一些实施方案中,形态D的特征在于其差示扫描量热 (DSC) 曲线包括于约222°C处的吸热。形态D的特征还在于其整个DSC曲线基本上如图8所示。

[0087] 化合物A的钠盐的特征在于X-射线粉末衍射图包括处于5.3、16.0和21.6° $2\theta \pm 0.2^\circ$ 的峰。衍射图包括处于18.7、19.2和24.0° $2\theta \pm 0.2^\circ$ 另外的峰。化合物A的钠盐的特征还在于其整个X-射线粉末衍射图基本上如图9所示。

[0088] 在一些实施方案中,化合物A的钠盐的特征在于其差示扫描量热 (DSC) 曲线包括于约314°C处的吸热。化合物A的钠盐的特征还在于其整个DSC曲线基本上如图10所示。

[0089] 化合物A的L-精氨酸盐的特征在于X-射线粉末衍射图包括处于20.8、21.8和25.4° $2\theta \pm 0.2^\circ$ 的峰。衍射图包括处于22.7、23.4和26.4° $2\theta \pm 0.2^\circ$ 另外的峰。化合物A的L-精氨酸盐的特征还在于其整个X-射线粉末衍射图基本上如图11所示。

[0090] 在一些实施方案中,化合物A的L-精氨酸盐的特征在于其差示扫描量热 (DSC) 曲线包括于约210°C处的吸热。化合物A的L-精氨酸盐的特征还在于其整个DSC曲线基本上如图12所示。

[0091] 化合物A的L-赖氨酸盐的特征在于X-射线粉末衍射图包括处于19.8、20.7和21.2° $2\theta \pm 0.2^\circ$ 的峰。衍射图包括处于10.2、16.9和18.4° $2\theta \pm 0.2^\circ$ 另外的峰。化合物A的L-赖氨酸盐的特征还在于其整个X-射线粉末衍射图基本上如图13所示。

[0092] 在一些实施方案中,化合物A的L-赖氨酸盐的特征在于其差示扫描量热 (DSC) 曲线包括于约237°C处的吸热。化合物A的L-赖氨酸盐的特征还在于其整个DSC曲线基本上如图14所示。

[0093] 化合物A的乙醇胺盐的特征在于X-射线粉末衍射图包括处于21.8、22.7和27.1° $2\theta \pm 0.2^\circ$ 的峰。衍射图包括处于21.1、26.2和26.6° $2\theta \pm 0.2^\circ$ 另外的峰。化合物A的乙醇胺盐的特征还在于其整个X-射线粉末衍射图基本上如图15所示。

[0094] 在一些实施方案中,化合物A的乙醇胺盐的特征在于其差示扫描量热 (DSC) 曲线包括于约171°C处的吸热。化合物A的乙醇胺盐的特征还在于其整个DSC曲线基本上如图16所示。

[0095] 化合物A的二乙醇胺盐的特征在于X-射线粉末衍射图包括处于16.9、23.7和25.0° $2\theta \pm 0.2^\circ$ 的峰。衍射图包括处于19.6、22.6和26.0° $2\theta \pm 0.2^\circ$ 另外的峰。化合物A的二乙醇胺盐的特征还在于其整个X-射线粉末衍射图基本上如图17所示。

[0096] 在一些实施方案中,化合物A的二乙醇胺盐的特征在于其差示扫描量热 (DSC) 曲线包括于约150°C处的吸热。化合物A的二乙醇胺盐的特征还在于其整个DSC曲线基本上如图18所示。

[0097] 化合物A的氨丁三醇盐的特征在于X-射线粉末衍射图包括处于10.1、14.2和21.1° $2\theta \pm 0.2^\circ$ 的峰。衍射图包括处于20.1、25.7和28.4° $2\theta \pm 0.2^\circ$ 另外的峰。化合物A的氨丁三醇盐的特征还在于其整个X-射线粉末衍射图基本上如图19所示。

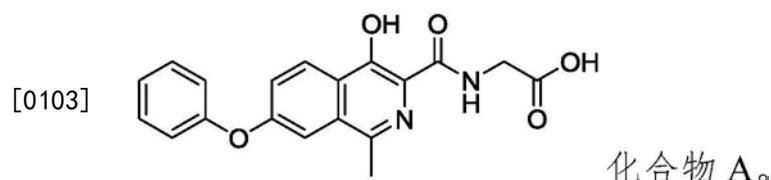
[0098] 在一些实施方案中,化合物A的氨丁三醇盐的特征在于其差示扫描量热(DSC)曲线包括于约176°C处的吸热。化合物A的氨丁三醇盐的特征还在于其整个DSC曲线基本上如图20所示。

[0099] 还提供了非晶态[(4-羟基-1-甲基-7-苯氧基-异喹啉-3-羰基)-氨基]-乙酸(非晶态化合物A)和基本上非晶态的[(4-羟基-1-甲基-7-苯氧基-异喹啉-3-羰基)-氨基]-乙酸钾盐(化合物A的钾盐)。基本上非晶态的化合物A的钾盐的特征在于其差示扫描量热(DSC)曲线包括于约291°C处的吸热(图22)。

[0100] 如下文实施例所述,形态A是化合物A形态B、C和D中最稳定的晶体形态。

[0101] 3. 药物组合物、制剂和给药途径

[0102] 在一个方面中,本公开涉及一种药物组合物,其包含具有下面结构的[(4-羟基-1-甲基-7-苯氧基-异喹啉-3-羰基)-氨基]-乙酸(化合物A)或其盐的一种或多种晶体形态和至少一种药用赋形剂:



[0104] 在一个实施方案中,所述药物组合物包含选自下组的化合物:通常如上文所述的化合物A形态A、化合物A形态B、化合物A形态C、化合物A形态D、化合物A的钠盐、化合物A的L-精氨酸盐、化合物A的L-赖氨酸盐、化合物A的乙醇胺盐、化合物A的二乙醇胺盐、化合物A的氨丁三醇盐、非晶态化合物A和化合物A的钾盐,和至少一种药用赋形剂。

[0105] 在一个实施方案中,药物组合物包含形态A的化合物A。在一个实施方案中,药物组合物包含化合物A,其中至少约85%的化合物A为形态A。在一个实施方案中,药物组合物包含化合物A,其中至少约90%的化合物A为形态A。在一个实施方案中,药物组合物包含化合物A,其中至少约95%的化合物A为形态A。在一个实施方案中,药物组合物包含化合物A,其中至少约99%的化合物A为形态A。在一个实施方案中,药物组合物包含化合物A,其中至少约99.5%的化合物A为形态A。在一个实施方案中,药物组合物包含化合物A,其中至少约99.9%的化合物A为形态A。在一个实施方案中,药物组合物包含化合物A,其中至少约99.99%的化合物A为形态A。

[0106] 在一个实施方案中,药物组合物还包含选自下组的其他治疗剂:维生素B12、叶酸、硫酸亚铁、重组人类红细胞生成素和红细胞生成激动剂(ESA)。在另一个实施方案中,药物组合物经配制用于口服递送。在另一个实施方案中,将药物组合物配制为片剂或胶囊。

[0107] 本公开的晶体形态可以被直接或采取与合适的赋形剂一起以药物组合物的形式递送,这在本领域中是熟知的。此处所体现的各种治疗方法可以包括向有需要的个体施用有效量的本公开的晶体形态,例如,由于例如慢性肾衰竭、糖尿病、癌症、AIDS、放射治疗、化疗、肾透析或外科手术而患有或处于贫血症风险的个体。在一个实施方案中,所述个体为哺乳动物个体,而在一个实施方案中,所述个体为人类个体。

[0108] 晶体形态的有效量可容易地由常规试验确定,如同最有效和最方便的给药途径和最合适的选择一样。在一个实施方案中,剂量可以为从每天0.05mg/kg至约700mg/kg。通常,剂量可以为从约0.1mg/kg至约500mg/kg;从约0.5mg/kg至约250mg/kg;从约1mg/kg至约

100mg/kg；从约1mg/kg至约10mg/kg；从约1mg/kg至约5mg/kg；或从约1mg/kg至约2mg/kg。例如，剂量可以为约1.0mg/kg；约1.2mg/kg；约1.5mg/kg；约2.0mg/kg；或约2.5mg/kg。各种配方和药物递送系统在本领域中是可获得的（参见，例如Gennaro, A.R., ed. (1995) Remington's Pharmaceutical Sciences (雷明顿药物学)）。

[0109] 合适的给药途径可以例如包括口服、直肠、透粘膜、鼻内或小肠给药，以及胃肠外递送包括肌肉内注射、皮下注射、髓内注射以及鞘内注射、直接心室内注射、静脉注射、腹膜内注射、鼻内或眼内注射。晶体形态或其组合物可以以局部而不是全身的方式施用。例如，晶体形态或其组合物可以经由注射或以靶向药物递送系统，比如长效(depot)配方或缓释放配方来输送。在一个实施方案中，给药途径为口服。

[0110] 本公开的药物组合物可以通过任何本领域熟知的任何方法来制造，比如通过常规混合、溶解、粒化、糖衣丸制造、磨细、乳化、封装、包载(entrapping)或冻干处理。如上所指出的，组合物可包含一种或多种药用赋形剂，其有助于将活性分子加工成药物用途的制剂。

[0111] 合适的制剂取决于选择的给药途径。对于注射，例如，可以将组合物配制于水溶液，优选生理上兼容的缓冲液中，比如Hanks溶液、林格氏溶液或生理盐水缓冲液。对于透粘膜或鼻内给药，将适用于待渗透的障碍的渗透剂用于所述配方中。这种渗透剂在本领域通常是已知的。在本公开的优选实施方案中，将本晶体形态制备成用于口服给药的配方。对于口服给药，其可以容易地通过将晶体形态与本领域熟知的药用赋形剂组合来配制。这类赋形剂使得本公开的晶体形态能配制成片剂、丸剂、糖衣丸、胶囊、液体、凝胶、糖浆、料浆、悬浮剂等，用于个体的口服摄入。也可以将晶体形态配制成直肠组合物，比如栓剂或保留灌肠剂，例如包含常规栓剂基质如可可脂或其他甘油酯栓剂。

[0112] 使用固体赋形剂，可选地，如果需要，在加入合适的助剂后，研磨所得的混合物，并加工颗粒混合物，以获得片剂或糖衣丸核心，可以制得口服使用的药物制剂。合适的赋形剂例如为装填物如糖，包括乳糖、蔗糖、甘露醇或山梨醇；纤维素制剂，比如，例如玉米淀粉、小麦淀粉、大米淀粉、马铃薯淀粉、明胶、黄蓍胶、甲基纤维素、羟丙甲基纤维素、羧甲基纤维素钠、微晶纤维素和/或聚乙烯吡咯烷酮(PVP或聚维酮)。如果需要，可以添加崩解剂，如交联聚乙烯吡咯烷酮、琼脂、交联羧甲纤维素钠或海藻酸或其盐，比如海藻酸钠等。还可以包括润湿剂如十二烷基硫酸钠或润滑剂如硬脂酸镁。

[0113] 为糖衣丸核心提供有合适的包衣。出于这个目的，可以使用浓缩的糖溶液，其可以任选地包含阿拉伯树胶、滑石、聚乙烯基吡咯烷酮、聚羧乙烯凝胶、聚乙二醇和/或二氧化钛、漆溶液和合适的有机溶剂或溶剂混合物。可以将染料或颜料添加到片剂或糖衣丸包衣，用于识别或描述不同组合的活性剂量。

[0114] 用于口服给药的药物制剂包括由明胶制成的推入式胶囊(push-fit capsule)，以及由明胶和增塑剂制成的软密封胶囊，如甘油或山梨糖醇。推入式胶囊可以包含活性成分，其添加有填充剂如乳糖，粘合剂如淀粉，和/或润滑剂如滑石或硬脂酸镁，且可选地稳定剂。在软胶囊中，可以将晶体形态溶解或悬浮在合适的液体中，如脂肪油、液体石蜡或液体聚乙二醇。此外，可以添加稳定剂。所有口服给药的制剂都应该采用适合这类给药的剂量。

[0115] 在一个实施方案中，此处所述的结晶形态可以通过透皮地如通过皮肤贴剂施用或局部施用。在一个方面，透皮或局部制剂还可以包含一种或多种渗透增强剂或其他效应物，包括提高递送的化合物的迁移的试剂。透皮或局部给药可能是优选的，例如，在需要定位递

送的情况下。

[0116] 对于通过吸入给药,以来自加压包或喷雾器的气溶胶喷雾呈递的形式,使用合适的推进剂,例如二氯二氟甲烷、三氯氟甲烷、二氯四氟乙烷、二氧化碳或任何其他合适的气体,便利地递送本公开所用的晶体形态。对于加压气溶胶的情况,可以通过提供一个阀以递送计量的数量来确定适当的剂量单位。可以配置用于吸入器或吹药器中的例如明胶胶囊和药盒。这些通常包含晶体形态与合适的粉末基底如乳糖或淀粉的粉末混合物。

[0117] 经配制用于通过注射胃肠外给药的组合物,例如通过快速浓注或连续输注,可以以单位剂型,例如在安瓶或多剂量容器中,同时添加防腐剂来呈现。该组合物可以采取如悬浮液、溶液或在油性或水性载体中的乳剂的形式,并可以包含制剂,如悬浮剂、稳定剂和/或分散剂。胃肠外给药配方包括水溶液或水溶性形式的其他组合物。

[0118] 晶体形态的悬浮剂也可以制备成适当的油性注射悬浮剂液。合适的亲脂性溶剂或载体包括脂肪油如芝麻油和合成脂肪酸酯如油酸乙酯或甘油三酯或脂质体。含水注射悬浮剂可包含增加悬浮剂粘度的物质,如羧甲基纤维素钠、山梨糖醇或葡聚糖。可选地,悬浮剂还可包含合适的稳定剂或增加晶体形态溶解度的物质,以容许制备高浓缩溶液。或者,活性成分可以采用粉末形式,供在使用之前用合适载体例如无菌无热原质水构建。

[0119] 正如上面提到的,还可以将目前公开的组成配制为长效(depot)配方。这类长效配方可以通过植入(例如,皮下或肌肉内注射)或通过肌肉内注射来施用。因此,例如目前的晶体形态可以与合适的聚合物或疏水材料(例如作为在可接受的油中的乳液)或离子交换树脂,或作为难溶性衍生物,例如作为难溶性盐来配制。

[0120] 对于用于在此体现的各种治疗方法中的任何组合物,可以使用本领域已知的各种技术初步估计治疗有效剂量。例如,在细胞培养测定中,可以在动物模型中配制剂量,以获得一个循环的浓度范围,其包括在细胞培养中所确定的IC₅₀。例如,使用从细胞培养分析和非人类的动物研究中获得的数据,可以确定适合人类个体的剂量范围。在一个实施方案中,定期施用的剂量可以为从0.05mg/kg至约700mg/kg。施用的剂量可以为一天一次,每隔一天一次,一个星期一、二、三次,或其他适当的间隔,这可以容易地由有能力的医疗从业者确定。通常,所施服的剂量是一个星期2或3次。通常,剂量可以为从约0.1mg/kg至约500mg/kg;从约0.5mg/kg至约250mg/kg;从约1mg/kg至约100mg/kg;从约1mg/kg至约10mg/kg;从约1mg/kg至约5mg/kg;或从约1mg/kg至约2mg/kg。例如,剂量可以为约1.0mg/kg;约1.2mg/kg;约1.5mg/kg;约2.0mg/kg;或约2.5mg/kg。

[0121] 化合物的治疗有效剂量指的是导致个体的症状改善或生存延长的化合物的量。该分子的毒性和治疗功效可以由在细胞培养或实验动物中通过标准制药过程确定,例如,通过确定LD₅₀(对50%群体致死的剂量)和ED₅₀(在50%的群体中治疗有效的剂量)。毒性与治疗效果的剂量比率是治疗指数,其可以表示为LD₅₀/ED₅₀比率。优选表现出高治疗指数的化合物。

[0122] 优选地,剂量落入包括ED₅₀的具有较小或没有毒性的循环浓度范围内。剂量可以在该范围内变化,这取决于采用的剂型和使用的给药途径。应根据本领域已知的方法,针对个体病症的特性,选择准确的配方、给药途径和剂量。

[0123] 可以单独调整剂量和间隔,以提供足以调节所需的参数的活性部分血浆水平,如内源性红细胞生成素血浆水平,即最小有效浓度(MEC)。MEC会因每个化合物而改变,但可以

由例如体外数据估计。获得MEC需要的剂量会取决于个体特征和给药途径。应当使用维持血浆水平高于MEC约10-90%的治疗持续时间,优选约30-90%的治疗持续时间,且最优先介于50-90%的治疗持续时间的治疗方案,施用化合物或其组合物。在局部给药或选择性吸收的情况下,药物的有效局部浓度可能不与血浆浓度相关。或者,对所需参数的调节,例如刺激内源性红细胞生成素,可能通过以下方式实现:1)施用负荷剂量,随后施用维持剂量,2)施用诱导剂量以在目标范围内迅速达到所需的参数,如红细胞生成素水平,随后施用低维持剂量来将例如血细胞容积率保持在所需的目标范围内,或3)重复间歇剂量给药。

[0124] 所施用的化合物或组合物的量当然将取决于多种因素,包括被治疗个体的性别、年龄和体重,痛苦的严重程度,给药方式和处方医生的判断。

[0125] 如果需要,可以将本发明的组合物呈现于含有一个或多个单位剂型的包装或分配器装置中,所述单位剂型包含包含活性成分。这类包或装置可以,例如包含金属或塑料箔,如罩板包装。所述包装或分配器装置可以伴有使用说明书。也可以将包含在可兼容的药物赋形剂中配制的本公开的晶体形态的组合物制备或放置在合适的容器中并标记,用于治疗所示病症。在标签上标示的合适的病症可包括治疗病症、失调或疾病,其中贫血是一个主要的指标。

[0126] 4. 使用方法

[0127] 本公开的一个方面提供了一种或多种晶体或非晶态[(4-羟基-1-甲基-7-苯氧基-异喹啉-3-羰基)-氨基]-乙酸(化合物A)或包含一种或多种晶体或非晶形态的化合物A或其溶剂合物或盐的组合物,在制造用于治疗此处所述的各种病症或失调的药物中的用途。其还提供了使用晶体或非晶态形态或其组合物或药物来治疗、预处理或延迟本文所述的各种病症或失调的恶化或发作的方法。在一个实施方案中,该方法所用的化合物A的晶体形态为形态A。在一个实施方案中,该方法所用的化合物A的晶体形态为形态B、形态C或形态D。如这一节“使用方法”和相应的方法权利要求中所使用,“化合物”指的是晶体或非晶体形态的化合物A或其溶剂合物或盐。

[0128] 在一个实施方案中,所述方法所用的至少约85%的化合物为化合物A形态A。在一个实施方案中,所述方法所用的至少约90%的化合物为化合物A形态A。在一个实施方案中,所述方法所用的至少约95%的化合物为化合物A形态A。在一个实施方案中,所述方法所用的至少约99%的化合物为化合物A形态A。在一个实施方案中,所述方法所用的至少约99.5%的化合物为化合物A形态A。在一个实施方案中,所述方法所用的至少约99.99%的化合物为化合物A形态A。

[0129] 药物或组合物可以用来调节HIF的稳定性和/或活性,由此激活HIF调节的基因表达。所述晶体或非晶形态或其组合物或药物,可用于方法中,以治疗、预处理、或延缓与HIF相关的疾病的恶化或发作,包括但不限于贫血、缺血和缺氧病症。在各种实施方案中,在病症产生急性缺血,如心肌梗死、肺栓塞、肠梗塞、缺血性中风和肾缺血再灌注损伤之后,立即施用所述晶体或非晶形态或其组合物或药物。在另一个实施方案中,将所述晶体或非晶形态或其组合物或药物施用于患者,该患者被诊断出患有与慢性缺血的发展相关的病症,例如心源性肝硬化、黄斑变性、肺栓塞、急性呼吸衰竭、新生儿呼吸窘迫综合征以及充血性心力衰竭。在另一实施方案中,在创伤或受伤后立即施用所述晶体或非晶形态或其组合物或药物。在其他实施方案中,基于先兆病症,例如高血压、糖尿病、动脉闭塞性疾病、慢性静脉

功能不全、雷诺氏病、慢性皮肤溃疡、肝硬化、充血性心力衰竭和系统性硬化症,将所述晶体或非晶形态或其组合物或药物施用于个体。在其他实施方案中,可以施用所述晶体或非晶形态或其组合物或药物,以预处理个体来降低或预防与局部缺血或缺氧有关的组织损伤的发展。

[0130] 所述晶体或非晶形态或其组合物或药物也可以用来增加内源性红细胞生成素(EPO)。可以施用所述晶体或非晶形态或其组合物或药物,以预防、预处理或治疗EPO相关病症,包括例如与贫血和神经系统失调相关的病症。与贫血相关的病症包括诸如急性或慢性肾脏疾病的失调,糖尿病、癌症、溃疡,病毒例如HIV、细菌或寄生虫感染;炎症等。贫血病症还可以包括与程序或治疗相关的那些病症,包括例如放射治疗、化疗、透析和外科手术。与贫血相关的失调还包括异常血红蛋白和/或红细胞,如在诸如小红细胞贫血、血蛋白过少的贫血、再生障碍性贫血等失调中发现的。

[0131] 本公开还涉及使用晶体或非晶形态或其组合物或药物来治疗、预处理或推迟与选自下组的失调相关的病症的发作:贫血性失调症;神经系统失调和/或损伤,包括中风、创伤、癫痫,和神经变性疾病;心肌缺血,包括但不限于心肌梗塞和充血性心力衰竭;肝缺血包括但不限于心源性肝硬化;肾缺血,包括但不限于急性肾衰竭和慢性肾衰竭;外周血管失调、溃疡、烧伤和慢性伤口;肺栓塞;和缺血再灌注损伤。

[0132] 本公开也涉及抑制至少一种修饰缺氧诱导因子 α 亚单位的羟化酶的活性的方法。HIF的羟化酶可以是脯氨酰羟化酶,其包括但不限于EGLN1、EGLN2和EGLN3(也分别称为PHD2、PHD1和PHD3),并由Taylor(2001, Gene 275:125-132)作了描述,由Aravind and Koonin(2001, Genome Biol 2:RESEARCH0007)、Epstein et al.(2001, Cell 107:43-54)以及Bruick and McKnight(2001, Science 294:1337-1340)进行了表征。所述方法包括使所述酶与抑制有效量的一种或多种化合物A的晶体或非晶形态接触。在一些实施方案中,HIF羟化酶是天冬酰胺酰羟化酶或脯氨酰羟化酶。在其他实施方案中,HIF羟化酶是抑制HIF的因子、人类EGLN1、EGLN2或EGLN3。

[0133] 虽然已结合具体实施方案和实施例而对本公开进行了描述,但鉴于所述技术和本公开,对于本领域技术人员显而易见的是,所具体公开的材料和方法的等效物也适用于本公开;并且旨在将这类等效物包括在所附权利要求书的范围内。

实施例

[0134] 除非另有说明,整个说明书所用的下列缩略语具有以下定义:

[0135]

°C	摄氏度
Ac	乙酰基
ca.	约
d	双联体
dd	双联体的双联体
DMA	二甲胺
DMEM	伊格尔氏极限必需培养基
DMF	二甲基甲酰胺
DMSO	二甲基亚砜
DSC	差示扫描量热仪
EDTA	乙二胺四乙酸
EtOAc	乙酸乙酯
eq.	当量
FBS	胎牛血清
g	克

Gly	甘氨酸
h	小时
HEPES	4-(2-羟乙基)-1-哌嗪乙磺酸
HPLC	高效液相色谱
IPA	异丙醇
iPrOAc	乙酸异丙酯
J	焦耳
J	耦合常量
kg	千克
kV	千伏
m	多重态
M	摩尔浓度(摩尔/升)
M+	质量峰
mA	毫安
Me	甲基
MEC	最小有效浓度
MeCN	乙腈
MEK	甲乙酮
mg	毫克
MHz	兆赫
MIBK	甲基异丁酮
min	分钟
mIU	毫国际单位
mL	毫升
mm	毫米
mM	毫摩尔/升
mol	摩尔
MS	质谱分析
NMR	核磁共振
PBS	磷酸盐缓冲系统
Ph	苯基
RH	相对湿度
rpm	每分钟转数
s	单峰
s	秒
TEA	三乙胺
TGA	热重量分析
THF	四氢呋喃
Ts	甲苯磺酰基
vol	体积
w	重量
XRPD	X-射线粉末衍射
δ	化学位移
μL	微升
μM	微摩尔/升

[0136]

[0137] X-射线粉末衍射 (XRPD)

[0138] 使用铜 (Cu) K α 辐射 (40kV, 40mA)、自动XYZ阶段、用于自动样品定位的激光视频显

微镜和HiStar二维区域检测器,在Bruker AXS C2GADDS衍射仪上采集X-射线粉末衍射图案。X射线光学器件由连接有0.3mm的针孔准直器的单个Gobel多层镜构成。使用认证标准NIST1976刚玉(Corundum) (平板) 进行每周性能检查。

[0139] 光束发散度,即在样品上的X射线束的有效尺寸,为约4mm。采用θ-θ连续扫描模式,其具有20cm的样品-探测器距离,所述距离提供了3.2°-29.7°的有效2θ范围。通常,会将样品暴露于x射线光束下达120秒。用于数据收集的软件为WNT4.1.16的GADDS,且使用DiffracPlusEVAv11.0.0.2或v13.0.0.2分析和呈现数据。

[0140] 或者,使用铜K α 辐射(40kV,40mA)、θ-2θ测角仪和V4发散和接收狭缝、锗(Ge)单色仪和Lynxeye检测器,在Bruker D8衍射仪上采集X射线粉末衍射图案。使用认证的刚玉(Corundum)标准(NIST 1976)检查仪器的性能。用于数据收集的软件是DiffracPlusXRD Commander v2.5.0,且使用DiffracPlus EVAv11.0.0.2或v13.0.0.2分析并呈现数据。

[0141] 使用所接收的粉末,样品在环境条件下作为平板标本运行。将样品轻轻包装在被切成抛光、零背景(510)硅片的腔中。在分析时,样品在其自身的平面中转动。数据收集的详情是:

[0142] • 角范围:2至42°2θ

[0143] • 步长(step size):0.05°2θ

[0144] • 收集时间:0.5s/步

[0145] • 分析持续时间:7min

[0146] 差示扫描量热法(DSC)

[0147] 将在配有50-位自动取样器的TA仪器Q2000上收集DSC。使用蓝宝石进行热容量的校准,且使用合格的铟进行能量和温度校准。通常,将0.5-3mg每一样品在销孔铝锅内以10°C/min从25°C被加热到300°C。在样品上以50ml/min保持干燥氮气的吹洗。使用2°C/min基础加热速度和每隔60秒(周期)的±0.318°C(振幅)的温度调节参数,进行调节温度的DSC。仪器控制软件为Q系列的Advantage v2.8.0.392和Thermal Advantage v4.8.3,并使用Universal Analysis v4.4A分析数据。

[0148] 或者,将在配有34-位自动取样器的Mettler DSC 823e上收集DSC数据。使用合格的铟校准仪器的能量和温度。通常,将0.5-3mg每一样品,在销孔的铝锅内以10°C/min从25°C加热到300°C或从25°C到320°C。在样品上以50ml/min保持氮气的吹洗。仪器控制和数据分析软件为STARe v9.20。

[0149] 热重分析(TGA)

[0150] 在配有34-位自动取样器的Mettler TGNSDT A851e上收集TGA数据。使用合格的铟对仪器进行温度校准。通常,将1-30mg每一样品加载到预先称量好的铝坩埚上,并以10°C/min从环境温度加热到350°C。在样品上以50ml/min保持氮气的吹洗。仪器控制和数据分析软件为STARe v9.20。

[0151] 实施例1.化合物A形态A的制备

[0152] 方法

[0153] 通过以下方法制备晶体[(4-羟基-1-甲基-7-苯氧基-异喹啉-3-羰基)-氨基]-乙酸(化合物A形态A)。

[0154] 方法I

[0155] 晶体化合物A形态A(参见实施例1,方法I)用于这种方法。使用15mg的晶体材料,同时以增量添加每种溶剂,直到获得干净的溶液或直到添加50体积(750μL)的溶剂。在添加每种溶剂后,对样品进行超声处理5秒。当不溶时,将料浆在25℃和50℃之间(在每个温度为4h)以500rpm搅拌从16个小时至六天的时间。然后使所得的任何溶液在室温下蒸发。通过XRPD分析从这个实验获得的固体。

[0156] 用于上述方法I的每种下述溶剂提供了形态A:乙酸、丙酮、苯乙酮、苄腈、苯甲醇、丁腈、氯苯、环己酮、1,2-二氯苯、1,2-二氯乙烷、二甲氧基乙烷、二甲基乙酰胺、DMSO、1,4-二噁烷、乙二醇、EtOAc、甲酰胺、六氟苯、己烷、IPA、IPA:10%水、iPrOAc、MeCN、MEK、MIBK、硝基甲烷、全氟己烷、丙腈、环丁砜、叔丁基甲基醚、叔丁醇、四氢化萘、THF和甲苯。

[0157] 使用方法I,六氟丙-2-醇、甲醇和乙醇并未提供形态A。

[0158] 方法II

[0159] 将晶体化合物A形态A(参见实施例1,方法VIII)用于这种方法中。使用15mg的晶体材料和30体积(450μL)溶剂,例外是使用5体积的DMSO和DMA。将料浆超声处理5秒。将料浆在5℃以500rpm搅拌六天时间。然后使所得的任何溶液被在室温下蒸发。通过XRPD行获得的固体。

[0160] 用于上述方法II的下述每种溶剂提供了形态A:苄腈、环丁砜、甲酰胺、四氢化萘、苯乙酮、苯甲醇、乙二醇、1,2-二氯苯、氯苯、环己酮、丁腈、乙酸、硝基甲烷、丙腈、二甲氧基乙烷、1,2-二氯乙烷、六氟苯、叔丁醇、己烷和全氟己烷。

[0161] 使用方法II,六氟丙-2-醇并未提供形态A。

[0162] 方法III

[0163] 晶体化合物A形态A(参见实施例1,方法VIII)用于这种方法。方法3实质上如上文的方法II所述,除了将料浆在50℃以500rpm搅拌六天的时间之外。获得的固体通过XRPD进行分析。

[0164] 用于上述方法3的下述每种溶剂提供了形态A:苄腈、环丁砜、甲酰胺、四氢化萘、苯乙酮、苯甲醇、乙二醇、1,2-二氯苯、氯苯、环己酮、丁腈、乙酸、硝基甲烷、丙腈、二甲氧基乙烷、1,2-二氯乙烷、六氟苯、叔丁醇、己烷和全氟己烷。

[0165] 使用方法III,二甲基乙酰胺、叔丁基甲基醚和六氟丙-2-醇并未提供形态A。

[0166] 方法IV

[0167] 晶体化合物A形态B(参见实施例2)用于这种方法。使用15mg的晶体材料和30体积(450μL)溶剂,例外是使用5体积的DMSO和DMA。将料浆超声处理5秒。将料浆以500rpm在25℃和50℃之间循环(在每个温度下为4小时)搅拌六天。然后静置所得的任何溶液,以在室温下快速蒸发。固体通过XRPD进行分析。

[0168] 用于上述方法IV的下述每种溶剂提供了形态A:苄腈、环丁砜、甲酰胺、四氢化萘、苯乙酮、苯甲醇、乙二醇、1,2-二氯苯、氯苯、环己酮、丁腈、乙酸、叔丁基甲基醚、硝基甲烷、丙腈、二甲氧基乙烷、1,2-二氯乙烷、六氟苯、叔丁醇、己烷、全氟己烷和六氟丙-2-醇。

[0169] 方法V

[0170] 晶体化合物A形态A(参见实施例1,方法VIII)用于这种方法。在添加10体积(200μL)的溶剂之前,将20mg的水晶材料溶解在四氢呋喃(410μL)中,例外是使用5体积的DMSO和DMA。将料浆以500rpm在25℃和50℃之间循环(在每个温度下为4小时)搅拌48小时。使在热/

冷循环之后获得的任何溶液在室温下蒸发。获得的固体通过XRPD进行分析。

[0171] 用于上述方法V的下述每种溶剂提供了形态A: 苯腈、环丁砜、甲酰胺、四氢化萘、苯乙酮、苯甲醇、乙二醇、DMSO、1,2-二氯苯、氯苯、环己酮、丁腈、乙酸、叔丁基甲基醚、丙腈、二甲氧基乙烷、1,2-二氯乙烷、六氟苯、叔丁醇和己烷。

[0172] 使用方法V, 硝基甲烷、六氟丙-2-醇和全氟己烷并未提供形态A。

[0173] 方法VI

[0174] 将晶体化合物A形态A (30mg, 参见实施例1, 方法VIII) 溶解在10mL的丙酮中。将该溶液在旋转蒸发器 (40°C, 35–50Torr) 上进行快速溶剂蒸发。将12.85mg所得材料与10体积 (128.5μL) 的溶剂一起使用, 例外是使用5体积的DMSO和DMA。将料浆进行超声处理5秒。将料浆以500rpm在25°C和50°C之间 (8小时循环) 搅拌6天时间。然后使任何所得溶液在室温下蒸发。获得的固体通过XRPD进行分析。

[0175] 用于上述方法VI的下述每种溶剂提供了形态A: 苯腈、环丁砜、甲酰胺、四氢化萘、苯乙酮、苯甲醇、乙二醇、DMSO、1,2-二氯苯、氯苯、丁腈、乙酸、叔丁基甲基醚、硝基甲烷、丙腈、二甲氧基乙烷、1,2-二氯乙烷、六氟苯、叔丁醇和己烷。

[0176] 使用方法VI, 环己酮、六氟丙-2-醇和全氟己烷并未提供形态A。

[0177] 方法VII

[0178] 晶体化合物A形态A (参见实施例1, 方法VIII) 用于这种方法。将30mg悬浮在7体积的溶剂 (10%含水) 中。将料浆超声处理5秒。将料浆以500rpm在25°C和50°C之间循环 (8小时循环) 搅拌4天时间。获得的固体通过XRPD进行分析。

[0179] 用于上述方法VII的下述每种溶剂提供了形态A: 丙酮、乙腈、乙醇、甲醇、2-甲基-四氢呋喃和异丙醇。

[0180] 方法VIII

[0181] 将氢氧化钠水溶液在一温度范围内 (10°C至90°C) 慢慢添加至化合物A在水中的搅拌的悬浮液。然后将乙酸水溶液在一温度范围内 (10°C至90°C) 慢慢加入并搅拌混合物。过滤固体, 水洗, 并在真空下干燥至恒定重量。获得了白色至淡黄色结晶固体化合物A形态A。

[0182] 数据

[0183] 化合物A形态A的XRPD图案如图1所示, 且在XRPD图案中的峰和其相关强度如下面的表1所示。

[0184] 表1化合物A形态A的XRPD图案中的峰

峰的位置 (°2θ)	相对强度 (%)
8.5	100
10.1	3.5
11.4	9.2
12.8	20.6
14.5	3.2
15.9	13.4

峰的位置 ($^{\circ}2\theta$)	相对强度 (%)
16.2	45.5
16.9	18.5
17.1	11.5
17.5	19.0
19.0	12.5
19.9	7.7
20.2	2.8
21.6	31.9
21.8	16.0
22.0	11.9
22.2	17.2
22.6	17.4
22.9	36.4
23.6	4.7
23.8	6.5
24.1	3.4
24.7	11.0
25.2	3.0
25.6	9.8
25.8	16.5
27.4	60.6
28.2	7.7
28.4	3.7
29.1	7.6
29.2	5.8
29.6	5.3
30.0	2.7
30.4	2.3
31.3	2.8
31.9	5.9
32.0	6.1
32.8	3.0
33.4	15.6
33.6	16.1
34.1	5.2
34.6	2.8
35.1	4.3
35.2	4.2
35.3	3.2
35.7	4.0
36.5	2.2

[0186]

峰的位置 (°2θ)	相对强度 (%)
36.6	2.2
36.9	2.4
37.0	2.4
37.3	4.0
37.4	2.8
37.7	2.3
37.8	2.3
38.2	2.9
38.5	3.2
38.9	2.4
39.3	2.4
40.8	2.8
41.5	4.9

[0187] [0188] 化合物A形态A的差示扫描量热法和热重分析的结果分别如图2和24所示。热重分析显示了在25°C和225°C之间可忽略的约0.4%的重量损失,随后在225°C以上是一个稳定的重量损失,表明材料在这些温度下的升华或分解(图24)。化合物A形态A的差示扫描量热法分析显示了在约80-190°C的范围内非常浅的放热线,随后是一个在约224.3°C的急剧吸热线(最大峰值)。急剧吸热线对应于材料融化,如通过热台显微镜(hotstage microscopy)所确定的。

[0189] [0189] 化合物A形态A的热台显微镜显示低于其熔点的材料的较小变化。在约150-200°C的范围内记录了双折射中的一些变化。样品在约218.5-222.4°C的温度范围内融化。

[0190] [0190] 化合物A形态A的水分吸附数据显示了可忽略的重量增加,获得了约0.2%介于5%至95%之间的相对湿度的重量增加,其在解吸时就损失。化合物A形态A的较小水分吸附表示动力非吸水材料。

[0191] [0191] 实施例2.化合物A形态B的制备

[0192] [0192] 方法

[0193] [0193] 在1,4-二噁烷:水(2:1)的混合物中通过冻干形态A提供晶体化合物A形态B。将20mg晶体化合物A形态B溶解在20体积的1,4-二噁烷中,之后添加20体积的助溶剂。使溶剂系统在通风橱中于室温下蒸发。从这个实验获得的固体通过XRPD进行分析。

[0194] [0194] 用于上述方法的下述每种助溶剂提供了形态B。1,4-二噁烷:水(1:1)、1,4-二噁烷:水(1:1)、1,4-二噁烷:甲醇(1:1)、1,4-二噁烷:乙醇、1,4-二噁烷:丙酮(1:1)、1,4-二噁烷:四氢呋喃(1:1)和1,4-二噁烷:庚烷(1:1)。

[0195] [0195] 数据

[0196] [0196] 化合物A形态B的XRPD图案如图3所示,且在XRPD图案中的峰值及其相关强度如下面的表2所示。在样品在25°C/96%RH下储存12天后,晶体图案发生变化,返回至形态A。

[0197] [0197] 表2.化合物A形态B的XRPD图案中的峰

峰的位置 (°2θ)	相对强度 (%)
4.2	53.9
8.3	100
9.8	1.3
10.5	1.1
11.5	1.0
12.5	12.9
12.7	8.3
12.9	1.3
14.1	13.7
15.8	3.9
16.6	76.3
17.4	10.4
19.2	3.7
20.9	8.2
21.0	3.7
21.8	3.7
22.7	3.0
22.9	4.6
24.9	2.7
25.0	4.9
25.9	1.5
27.5	1.5
28.4	2.1

[0198]

峰的位置 (°2θ)	相对强度 (%)
28.8	1.7
29.3	9.0
30.0	1.3
30.8	1.4
31.6	1.2
33.5	6.9
33.6	9.9
35.2	1.5
37.0	1.2
37.9	4.3
41.6	0.8

[0199]

[0200] 除了水,没有观察到残留溶剂。在室温和90°C之间在TGA热谱中2.8%w/w的重量损失表明存在0.5当量的水(理论的2.5%w/w)(图4)。DSC热谱显示了与重量损失相关的吸热事件(图4)。一个强烈吸热事件发生在222.3°C (-127.8J/g),其与形态A的融化匹配。

[0201] 采集超过一个月的高分辨率XRPD数据。在处于环境温度的整一个月后(32天),样品(形态B)几乎完全恢复到无水形态A。

[0202] 实施例3.化合物A形态C的制备

[0203] 方法

[0204] 遵循在实施例1的方法I、II、III和IV中所述的步骤,使用六氟丙-2-醇作为溶剂,制备晶体[(4-羟基-1-甲基-7-苯氧基-异喹啉-3-羧基)-氨基]-乙酸六氟丙-2-醇溶剂合物(化合物A形态C)。

[0205] 数据

[0206] 化合物A形态C的XRPD图案C如图5所示,且在XRPD图案中的峰值及其相关强度如下面的表3所示。

[0207] 表3.化合物A形态C的XRPD图案中的峰

峰的位置 (°2θ)	相对强度 (%)
4.5	100
8.5	1.6
9.1	7.9
10.2	1.9

[0209]

峰的位置 (°2θ)	相对强度 (%)
11.2	2.5
11.8	1.2
12.5	1.2
13.7	37
15.4	9.2
15.5	8.3
15.6	3
16.4	11.5
16.9	2.5
17.7	3.3
18.3	2.7
18.7	1.2
19.0	2.3
19.8	2.5
20.6	8
21.9	3.5
22.4	1.5
22.5	2.3
22.9	6.3
23.3	3.1
23.8	3.4
24.6	2
25.2	2.3
25.4	3.1
25.7	1.9
26.0	1.5
27.5	1.2
27.9	2.3
28.4	2.6
29.1	1.4
29.4	1
29.8	1
30.2	1
30.8	2.1
31.6	1.2
31.7	1.5
32.2	1.3
32.3	1.1

峰的位置 (°2θ)	相对强度 (%)
33.1	0.9
34.1	1.4
34.2	1.5
35.1	0.9
35.5	0.8
37.0	0.9
37.8	1.1
38.7	1
40.2	0.7
40.9	1.1
41.8	1.2

[0210] [0211] 通过质子核磁共振观察残留溶剂,且将其确定为六氟丙-2-醇。还对该样品上进行了热分析(图6)。在室温和130℃之间在TGA热谱中7.8%w/w的重量损失,表明样品中存在1/6当量的六氟丙-2-醇(理论的7.36%w/w)。DSC热谱显示了与重量损失相关的吸热事件,随后为小的放热事件(ca.130℃)(图6)。强烈的吸热事件发生在222.2℃(-17.9J/g),其与形态A的融化匹配。总之,六氟丙-2-醇分离的材料在环境条件下为亚稳定的溶剂合物并转化成形态A。

[0212] [0213] 实施例4.化合物A形态D的制备

[0214] [0215] 方法

[0216] 由多数为非晶态化合物A或形态A的THF/DMSO(20体积THF/5体积DMSO)的缓慢蒸发,制备晶体[(4-羟基-1-甲基-7-苯氧基-异喹啉-3-羰基)-氨基]-乙酸DMSO:水溶剂合物(化合物A形态D)。

[0217] [0218] 数据

[0219] 化合物A形态D的XRPD图案如图8所示,且在XRPD图案中的峰值及其相关强度如下面的表4所示。当在环境温度下干燥时,样品(形态D)转化成形态A。

[0220] 表4.化合物A形态D的XRPD图案中的峰

峰的位置 (°2θ)	相对强度 (%)
4.2	32.7

峰的位置 (°2θ)	相对强度 (%)
4.3	29.4
8.4	65
8.5	65
12.6	30.9
15.8	20.6
16.8	100
18.9	5.5
19.3	19.1
20.7	6.2
21.7	3.8
22.1	23
22.6	4.6
23.1	11.7
24.0	8.7
24.5	3.1
25.3	12.1
25.4	10.3
26.8	4
27.1	4.4
27.3	3.9
28.4	43
31.2	7.7
32.0	3.4
33.3	4.4
33.4	3
34.0	6.2
35.8	3.7
38.3	7.6
39.1	3.6
40.9	2.5
41.6	3.6

[0219]

[0220] 通过质子核磁共振观察到残留溶剂,且将其确定为DMSO。TGA热谱和DSC热谱如图8所示。TGA在40–150°C之间显示了18.5% (水和DMSO的组合) 的第一重量损失和在170–220°C之间显示了第二重量损失 (可能的DMSO)。由于水和DMSO的损失,在37.6°C和90.4°C处的两个宽吸热线是可能的。由于形态A的融化,在222.0°C处观察到小吸热。

[0221] 实施例5. 化合物A的盐类的制备

[0222] 方法

[0223] 用晶体化合物A形态A制备下面的盐。将化合物A形态A (每次实验50mg) 在50°C溶解

在丙酮或四氢呋喃(50体积,2.1ml)中。用1.1mol eq.的相应的反离子(例如,1.0M氢氧化钠、氢氧化钾或盐酸水溶液),处理所述溶液。将温度在50℃维持20min,然后以0.1℃/min冷却到0℃,同时搅拌。在0℃达20h后,将固体过滤、空气干燥10min,并通过适当的技术进行分析。

[0224] 数据

[0225] 化合物A的钠盐

[0226] 化合物A的钠盐的XRPD图案如图9所示,且在XRPD图案中的峰值及其相关强度如下面的表5所示。

[0227] 表5.化合物A的钠盐的XRPD图案中的峰

[0228]

峰的位置(°2θ)	相对强度(%)
5.3	22.0
8.1	4.4
11.1	10.9
13.5	9.3
15.1	5.2
16.0	100.0
17.0	9.6
18.7	20.0
19.2	13.3
21.6	30.7
22.9	7.7
24.0	12.6
25.3	7.5
26.2	11.0
28.9	10.1

[0229] 通过离子色谱法(Metrohm761Compact IC, IC Net软件v2.3),将化学计量(离子化合物A:反离子)确定为1:1。TGA热谱和DSC热谱如图10所示。TGA热谱在40-90℃之间显示了11.5%的重量损失。DSC热谱在64.1℃处显示了宽的吸热,其次是在150.5℃和190.3℃显示了两个放热和在313.6℃处显示了急剧融化。纯度经确定为约99.6%。

[0230] 化合物A的钾盐

[0231] 通过离子色谱法(Metrohm761Compact IC, IC Net软件v2.3),将化学计量(离子化合物A:反离子)确定为1:1。化合物A的钾盐的XRPD图案如图21所示。正如在所述图中所观察到的,钾盐基本上为非晶态。热分析表明了水的可能损失,随后是再结晶事件,以产生在291℃融化的非溶剂化的晶体形态(图22)。

[0232] 化合物A的L-精氨酸盐

[0233] 化合物A的L-精氨酸盐的XRPD图案如图11所示,且在XRPD图案中的峰值及其相关强度如下面的表6所示。

[0234] 表6.化合物A的L-精氨酸盐的XRPD图案中的峰

[0235]

峰的位置 (°2θ)	相对强度 (%)
10.8	24.5
11.4	13.1
12.0	15.1
15.8	31.7
17.1	18.2
18.0	20.9
19.4	41.9
20.8	100.0
21.8	59.7
22.7	53.7
23.4	56.8
24.4	37.5
25.4	64.4
26.4	53.7
26.8	48.8
27.5	52.3
28.5	40.4
29.7	30.5

[0236] 通过NMR, 化学计量(离子化合物A:反离子)经确定为约1:1。TGA热谱和DSC热谱如图12所示。TGA热谱在40–100°C之间显示了4.5%的重量损失。DSC热谱在79.6°C和143.3°C处显示了两个宽的吸热, 在172.5°C显示了放热, 随后是在210.1°C处显示了吸热。纯度经确定为约99.5%。

[0237] 化合物A的L-赖氨酸盐

[0238] 化合物A的L-赖氨酸盐的XRPD图案如图13所示, 且在XRPD图案中的峰值及其相关强度如下面的表7所示。

[0239] 表7. 化合物A的L-赖氨酸盐的XRPD图案中的峰

[0240]

峰的位置 (°2θ)	相对强度 (%)
6.8	11.5
9.5	36.4
9.9	57.4
10.2	71.5
13.1	13.9
13.8	18.4
14.4	44.8
14.6	41.6
16.9	78.8

17.3	55.4
18.4	65.1
19.0	50.1
19.8	92.4
20.7	100.0
21.2	95.1
22.1	53.7
23.6	58.0
25.5	59.8
25.0	64.7
26.1	63.9
27.4	54.3
28.4	53.4
28.6	53.8
28.8	52.3
30.0	41.7
30.6	38.2

[0241] 通过NMR,化学计量(离子化合物A:反离子)经确定为约1:1。TGA热谱和DSC热谱如图14所示。TGA热谱在235-270℃之间显示了12.1%的重量损失。DSC热谱在230.7℃处显示了急剧融化和在237.1℃显示了宽的吸热,纯度经确定为约99.6%。

[0242] 化合物A的乙醇胺盐

[0243] 化合物A的乙醇胺盐的XRPD图案如图15所示,且在XRPD图案中的峰值及其相关强度如下面的表8、9和10所示。从由丙酮观察图案1,从四氢呋喃观察图案2,并在40C/75%RH下观察图案3。

[0244] 表8.化合物A的乙醇胺盐的XRPD图案中的峰(图案1)

[0245]

峰的位置 (°2θ)	相对强度 (%)
3.8	15.6
4.6	6.3
5.1	8.3
7.7	4.8
10.9	32.8
12.5	10.0
15.0	28.2
15.5	23.5
17.9	14.0
18.6	20.1
21.1	45.2
21.8	54.9

22.7	77.7
24.4	30.3
26.2	53.6
26.6	47.6
27.1	100.0

[0246] 表9. 化合物A的乙醇胺盐的XRPD图案中的峰 (图案2)

峰的位置 (°2θ)	相对强度 (%)
12.5	25.5
13.1	22.4
14.9	12.8
15.9	37.4
16.7	29.3
17.1	68.0
17.8	19.4
18.5	79.6

峰的位置 (°2θ)	相对强度 (%)
20.2	42.4
21.4	73.3
22.8	100.0
23.8	80.2
24.7	34.6
25.7	57.9
26.8	28.9
27.4	19.0
28.0	32.7
29.5	41.4
30.8	19.6

[0249] 表10. 化合物A的乙醇胺盐的XRPD图案中的峰 (图案3)

[0250]

峰的位置 (°2θ)	相对强度 (%)
7.2	18.1
10.3	15.2
10.8	39.7
13.4	8.1
14.1	37.3
16.2	52.9
16.9	37.5
18.1	17.7
21.3	100.0

21.7	64.8
22.3	21.7
22.9	42.3
23.1	39.6
23.7	36.1
25.3	29.9
26.2	23.3
26.9	50.5
27.8	75.0
29.0	22.7
18.5	11.8

[0251] 对于四氢呋喃和丙酮,通过NMR,化学计量(离子化合物A:反离子)经确定为约1:1。来源于丙酮的化合物A的乙醇胺盐的TGA热谱和DSC热谱如图16所示。TGA热谱显示了在155-250°C之间的10.1%的重量损失(0.8当量的乙醇胺)。DSC热谱显示了在171.4°C处的急剧融化和在186.0°C处宽的吸热。纯度经确定为约99.0%。对于来源于四氢呋喃的化合物A的乙醇胺盐,TGA热谱在155-250°C之间显示了10.1%的重量损失(0.8当量的乙醇胺),且DSC热谱在172.4°C显示了急剧融化和在185.5°C显示了宽的吸热。纯度经确定为约99.1%。

[0252] 化合物A的二乙醇胺盐

[0253] 化合物A的二乙醇胺盐的XRPD图案如图17所示,且在XRPD图案中的峰值及其相关强度如下面的表11和12所示。从丙酮观察图案1,并在40C/75%RH下观察图案2。

[0254] 表11.化合物A的二乙醇胺盐的XRPD图案中的峰(图案1)

[0255]

峰的位置 (°2θ)	相对强度 (%)
6.6	6.6
11.2	12.5
11.8	21.6
13.0	9.5
14.5	13.6
15.6	22.9
16.9	100.0
19.6	37.5
20.5	27.7
21.4	23.1
22.6	37.3
23.7	42.9
25.0	46.9
26.0	36.5
27.1	35.3
28.3	20.8

29.4	17.1
30.6	13.2

[0256] 表12. 化合物A的二乙醇胺盐的XRPD图案中的峰 (图案2)

峰的位置 (°2θ)	相对强度 (%)
5.9	9.4
8.9	5.9
11.1	23.9
11.5	13.9

峰的位置 (°2θ)	相对强度 (%)
11.9	12.7
13.9	7.0
14.9	27.7
16.0	100.0
18.3	20.0
20.0	11.9
20.9	32.5
21.5	20.5
22.3	26.4
23.3	54.6
24.0	17.1
24.8	33.5
25.6	22.4
27.6	27.7
29.0	20.1

[0259] 通过NMR, 化学计量(离子化合物A:反离子)经确定为约1:1。TGA热谱和DSC热谱如图18所示。TGA热谱在155-250℃之间显示了12.6%的重量损失。DSC热谱在150.2℃处显示了急剧融化和在172.2℃显示了宽的吸热。纯度经确定为约99.7%。

[0260] 化合物A的氨丁三醇盐

[0261] 化合物A的氨丁三醇盐的XRPD图案如图19所示, 且在XRPD图案中的峰值及其相关强度如下面的表13所示。

[0262] 表13. 化合物A的氨丁三醇盐的XRPD图案中的峰

[0263]

峰的位置 (°2θ)	相对强度 (%)
9.4	4.3
10.1	100.0
11.8	8.5
13.4	15.3
14.2	53.0
15.0	5.1
16.9	20.3
19.2	12.9
20.1	23.5
21.1	69.2
22.3	21.4

[0264]

峰的位置 (°2θ)	相对强度 (%)
23.4	14.7
24.3	13.6
25.1	10.5
25.7	21.5
26.3	16.9
28.4	22.9
29.2	12.0
30.0	17.1

[0265] 通过NMR, 化学计量(离子化合物A:反离子)经确定为约1:1。TGA热谱和DSC热谱如图20所示。TGA热谱在180–260 °C之间显示了11.0%的重量损失。DSC热谱在176.5 °C处显示了急剧融化和在182.6 °C显示了宽泛的吸热。纯度经确定为约99.7%。

[0266] 化合物A的氢氯酸盐

[0267] 化合物A的氢氯酸盐的XRPD图案如图25所示, 且在XRPD图案中的峰值及其相关强度如下面的表14所示。

[0268] 表14. 化合物A的氢氯酸盐的XRPD图案中的峰

[0269]

峰的位置 (°2θ)	相对强度 (%)
8.2	6.4
10.2	18.3
10.7	13.6
12.5	10.9
13.6	36.1
19.0	27.1
19.8	21.1
20.3	30.6
20.9	42.7

21.3	17.4
22.5	68.5
24.1	100.0
27.6	36.4
29.0	17.9
25.6	21.5

[0270] 通过离子色谱,化学计量(离子化合物A:反离子)经确定为约1:1。TGA热谱和DSC热谱如图26所示。TGA热谱在100–170°C之间显示了6.5%的重量损失和在185–210°C之间显示了3.4%的第二重量损失。DSC热谱在154.3和201.6°C处显示了两个小的吸热,以及在223.0°C显示了急剧融化。纯度经确定为约99.1%。

[0271] 化合物A的硫酸盐

[0272] 化合物A的硫酸盐的XRPD图案如图27所示,为盐和形态A的混合物。在XRPD图案中的峰值及其相对强度如下面的表15所示。

[0273] 表15.化合物A的硫酸盐的XRPD图案中的峰

[0274]

峰的位置 (°2θ)	相对强度 (%)
6.1	48.8
8.5	36.2
15.4	15.0
16.1	82.4
17.1	32.4
17.4	75.9
19.8	82.9
22.9	100.0
23.7	33.4
24.7	99.5
26.1	73.0
27.3	70.9
28.1	29.8
28.8	35.1
29.6	35.1

[0275] TGA热谱和DSC热谱如图28所示。TGA热谱在10–110°C之间显示了6.5%的重量损失和在180–280°C之间显示了27.4%的第二重量损失。DSC热谱在31.8、55.7和91.0处显示了与第一重量损失相关的三个小的吸热,以及由于分解在201.4°C显示了大的、宽吸热。

[0276] 化合物A的甲磺酸盐

[0277] 化合物A的甲磺酸盐的XRPD图案如图29所示,且在XRPD图案中的峰值及其相关强度如下面的表16和17所示。从丙酮观察图案1,并从四氢呋喃观察图案2。图案1在40C/75% RH下返回至形态A,图案2在40C/75% RH下返回至形态A和图案1的混合物。

[0278] 表16.化合物A的甲磺酸盐的XRPD图案中的峰(图案1)

[0279]

峰的位置 (°2θ)	相对强度 (%)
4.9	100.0
9.8	21.0
12.9	24.9
14.9	25.8
17.0	43.9
19.4	49.7
21.5	25.3
23.7	23.4
24.8	21.5

[0280] 表17. 化合物A的甲磺酸盐的XRPD图案中的峰(图案2)

[0281]

峰的位置 (°2θ)	相对强度 (%)
4.6	25.8
6.9	18.4
7.1	12.7
9.7	8.3
12.2	26.6
11.6	8.8
13.6	15.5
14.0	20.1
17.7	31.7
18.7	100.0
20.5	93.8
22.1	44.8
23.1	24.7
23.7	30.7
24.6	54.3
25.6	30.3
26.4	21.6
27.0	36.7
28.4	17.2
29.3	25.4
30.5	14.1

[0282] 对于四氢呋喃和丙酮,通过NMR,化学计量(离子化合物A:反离子)经确定为约1:1。来源于四氢呋喃的化合物A的甲磺酸盐的TGA热谱和DSC热谱如图30所示。TGA热谱在40–100 °C之间显示了2.1%的重量损失。DSC热谱在153.5 °C显示了小的吸热和在166.9 °C显示了急剧吸热。纯度经确定为约99.3%。对于来源于丙酮的化合物A的甲磺酸盐,TGA热谱显示直到

样品在约180°C降解无重量损失,且DSC热谱显示在144.5°C处由于样品融化的吸热。纯度确定为约98.9%。

[0283] 实施例6. 非晶态A的制备

[0284] 非晶态化合物A获得如下。将晶体化合物A形态A(500mg)在室温下溶解在四氢呋喃(1.5mL)中。过滤溶液以去除任何残留的晶体材料。通过在旋转蒸发器中迅速蒸发而被移除溶剂。通过XRPD检查一小份所获得的固体。或者,通过冻干来自1,4-二噁烷:水(2:1v/v)混合物的化合物A形态A,或通过将化合物A包装并密封在毛细管中,并将样品于约240°C在Kofler热台上融化一分钟和在环境温度下冷却,得到非晶态化合物A。非晶态化合物A的XRPD如图23所示。

[0285] 实施例7. 化合物A的双三乙胺的制备

[0286] 方法

[0287] 将晶体化合物A形态A(50mg)在50°C下溶解在丙酮(50体积)中。用2.1mol eq.的三乙胺(TEA)处理溶液。将温度于50°C维持20min,然后以0.1°C/min冷却到0°C,同时搅拌。在0°C 72h之后,将固体过滤、空气干燥5min并通过XRPD分析。将溶液设置为在环境条件下缓慢蒸发。

[0288] 数据

[0289] 化合物A的双TEA盐的XRPD图案如图31所示,且在XRPD图案中的峰值及其相关强度如下表18所示。

[0290] 表18. 化合物A的双三乙胺盐的XRPD图案中的峰

[0291]	峰的位置 (°2θ)	相对强度 (%)
	5.5	4.2
	9.2	5.0

峰的位置 (°2θ)	相对强度 (%)
10.1	29.4
11.7	13.2
13.3	8.0
13.7	17.3
14.5	42.5
14.7	52.1
15.2	9.3
15.7	14.3
16.3	16.0
17.0	36.9
18.4	11.9
19.4	31.5
20.4	21.7
20.7	27.3
22.6	100.0
22.9	23.9
23.9	29.9
24.8	14.6
25.5	38.5
26.3	16.7
27.2	37.1
28.1	62.2

[0292]

[0293] TGA热谱和DSC热谱如图32所示。将TEA分离为双盐,然而在40°C/75%RH下存储一个星期后,盐开始离解成形态A。

[0294] 实施例8.半钙盐和镁盐的制备

[0295] 方法

[0296] 通过离子交换从钠盐中制备化合物A的钙和镁盐。将化合物A (450mg) 在50°C下溶解在丙酮 (50体积, 22.5ml) 中。用1.1mol eq.的氢氧化钠 (1M的水溶液) 处理溶液。在添加后形成悬浮液,然后其以0.1°C/min将其冷却到0°C。在0°C经过48h后,将固体过滤、空气干燥10min并通过XRPD进行分析。在室温下将钠盐 (50mg) 溶解在甲醇 (20体积, 1ml) 中。将溶液加热到50°C并使用相应的反离子 (1M的甲醇溶液) 处理。将混合物以0.1°C/min冷却到0°C。在0°C经过24h后,将固体过滤、空气干燥5min并通过XRPD分析 (第一批)。将液体保存和设置为在环境条件下缓慢蒸发,以提供第二批。从Ca⁺²和Mg⁺²半盐实验中分离的材料在40°C/75% RH下孵育一周后结晶。

[0297] 数据

[0298] 化合物A的半钙和镁盐的XRPD图案分别如图33和图35所示。在XRPD图案中的峰值及其相关强度如下表19和20所示。

[0299] 表19.化合物A的半钙盐的XRPD图案中的峰

[0300]

峰的位置 (°2θ)	相对强度 (%)
5.7	8.8
6.6	10.5
8.6	10.2
9.7	8.1
10.9	24.0
11.5	63.5
12.9	36.4
13.4	20.5
14.4	32.8
14.6	34.0
15.3	20.8
17.0	27.6
17.7	19.6
20.0	29.0
21.6	31.0
23.1	51.9
23.8	39.2
24.4	52.4
25.9	100.0
27.0	88.1
28.1	40.3
29.3	25.7

[0301] 表20. 化合物A的半镁盐的XRPD图案中的峰

峰的位置 (°2θ)	相对强度 (%)
5.0	12.7
7.1	37.2
7.5	24.9
8.0	30.0
10.0	30.2

[0302]

峰的位置 (°2θ)	相对强度 (%)
11.4	35.4
11.9	37.5
12.6	33.9
'12.9	37.5
15.9	45.4
17.8	50.4
18.9	44.4
20.1	67.6
21.0	59.0
21.7	67.9
22.8	100.0

- [0303] [0304] 化合物A的半钙和镁盐的DSC热谱分别如图34和图36所示。
- [0305] [0306] 实施例9. 化合物A形态A的单晶体
- [0307] 由质量足以用于通过单晶X射线衍射进行结构测定的丙酮生长单一晶体。
- [0308] 该结构溶液通过直接的方法而得到, 对 F^2 进行全矩阵最小二乘法修正, 具有加权 $w^{-1} = \sigma^2 (F_o^2) + (0.0697P)^2 + (0.3149P)$, 其中 $P = (F_o^2 + 2F_c^2)/3$, 各向异性位移参数, 使用球面谐波的经验吸收校正, 在SCALE3ABSPACK缩放算法实施。对于所有的数据, 最后 $wR^2 = \{ \sum [w (F_o^2 - 2F_c^2)^2] / \sum [w (F_o^2)^2]^{1/2} \} = 0.1376$, 对具有 $F_o > 4\sigma (F_o)$ 的2496反射的 F 值, 通常 $R_1 = 0.0467$, 对所有的数据和248个参数, $S = 1.045$ 。最终 $\Delta / \sigma (\max) = 0.000$, $\Delta / \sigma (\text{平均}) = 0.000$ 。最后差分在 $+0.211$ 和 $-0.318 \text{ e}\text{\AA}^{-3}$ 之间映射。
- [0309] 图37根据示出了使用的编号方案的晶体结构显示了化合物A形态A的分子视图。非氢原子的各向异性原子位移椭圆体以50%的概率水平示出。氢原子以任意小的半径显示。
- [0310] [0309] 表21. 提交的用于单个晶体X-射线衍射研究的样品

分子式	C ₁₉ H ₁₆ N ₂ O ₅
分子量	352.34

结晶系	三斜晶系					
空间群	<i>P</i> - <i>I</i>	<i>a</i>	8.5208(13) Å,	α	98.415(11)°,	
		<i>b</i>	9.2233(13) Å,	β	108.788(12)°,	
		<i>c</i>	11.1859(14) Å	γ	102.841(12)°	
V	788.50(19) Å ³					
Z	2					
<i>D_c</i>	1.484 g·cm ⁻³					
μ	0.909 mm ⁻¹					
[0311]	来源, λ	Cu-K α , 1.54178 Å				
	<i>F</i> (000)	368				
	<i>T</i>	100(2) K				
	晶体	无色棱柱, 0.11 x 0.05 x 0.02mm				
	数据缩短至	0.80 Å				
	θ_{\max}	77.18°				
	完整性	98.2%				
	反射	12441				
	独特反射	3282				
	<i>R_{int}</i>	0.0406				

[0312] 实施例10. 化合物A的制备

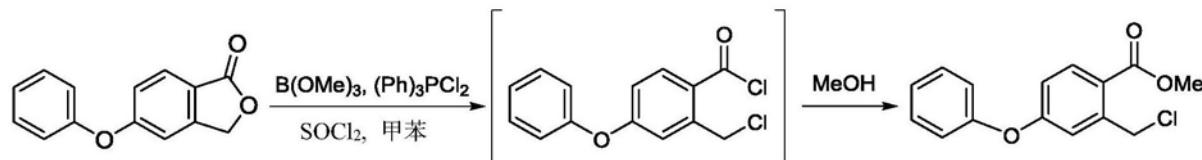
[0313] a) 5-苯氧基苯酞



[0315] 将用DMF (68Kg) 装入反应器, 并开始搅拌。然后用苯酚 (51Kg)、乙酰丙酮 (8Kg)、5-溴苯酞 (85Kg)、溴化铜 (9Kg) 和碳酸钾 (77Kg) 填充反应器。将混合物加热超过85℃并保持到反应完成, 然后冷却。添加水。过滤固体并用水洗涤。将固体溶解在二氯甲烷中、用含水HCl洗涤, 然后用水洗涤。在压力下移除溶剂并添加甲醇。搅拌和过滤混合物。用甲醇洗涤固体并在烤箱中干燥, 从而产生5-苯氧基苯酞 (产率: 72%, HPLC: 99.6%)。

[0316] b) 2-氯甲基-4-苯氧基苯甲酸甲酯

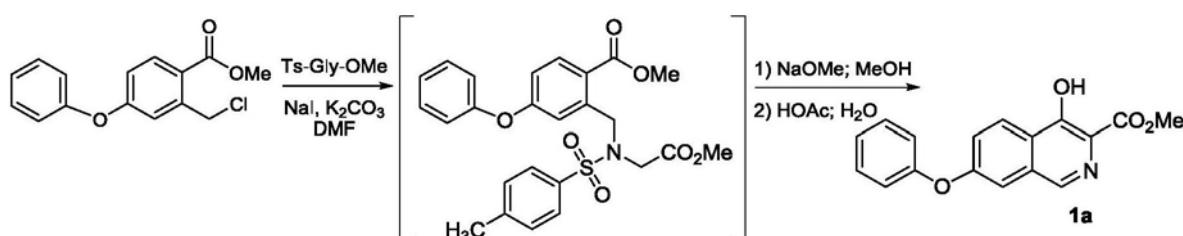
[0317]



[0318] 将甲苯 (24Kg) 装入反应器，并开始搅拌。然后向反应器加入5-苯氧基苯酞 (56Kg)、亚硫酰氯 (41Kg)、硼酸三甲酯 (1Kg)、二氯三苯基正膦 (2.5Kg)，和碳酸钾 (77Kg)。加热混合物以回流，直至反应完成，然后移除溶剂，留下2-氯甲基-4-苯氧基苯甲酰氯化物。装入甲醇，并将混合物加热超过50℃，直到反应完成。移除溶剂并用DMF替代。在下一步中，直接使用产品甲基2-氯甲基-4-苯氧基苯甲酸甲酯在DMF中的溶液 (HPLC:85%)。

[0319] c) 4-羟基-7-苯氧基异喹啉-3-羧酸甲酯 (1a)

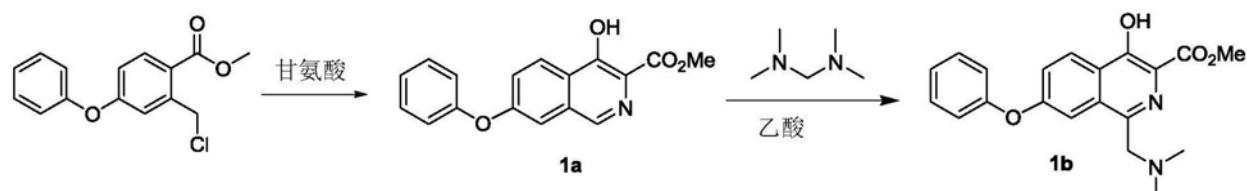
[0320]



[0321] 将2-氯甲基-4-苯氧基苯甲酸甲酯在DMF中的溶液 (约68Kg) 装入反应器，并开始搅拌。然后将对甲苯磺酰甘氨酸甲酯 (66Kg)、碳酸钾 (60Kg) 和碘化钠 (4Kg) 装入反应器。将混合物加热至至少50℃，直到反应完成。冷却混合物。加入甲醇钠的甲醇溶液，搅拌混合物直到反应完成。加入乙酸和水，搅拌混合物，过滤并用水洗涤。用丙酮粉末纯化固体，并在烤箱中干燥，从而产生1a (来自步骤b的产率) : 58% ; HPLC: 99.4%)。¹H NMR (200MHz, DMSO-d6) δ 11.60 (s, 1H) , 8.74 (s, 1H) , 8.32 (d, J=9.0赫兹, 1H) , 7.60 (dd, J=2.3和9.0赫兹, 1H) 7.49 (m, 3H) , 7.24 (m, 3H) , 3.96 (s, 3H) ; MS- (+) -离子M+1=296.09。

[0322] d) 1-((二甲氨基)甲基)-4-羟基-7-苯氧基异喹啉-3-羧酸甲酯 (1b)

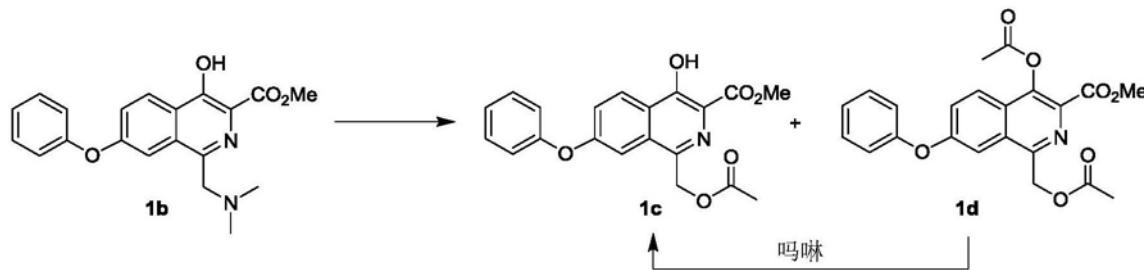
[0323]



[0324] 将1a (29.5g) 和乙酸 (44.3g ± 5%) 装入烧瓶，然后搅拌。缓慢加入双-二甲氨基甲烷 (12.8g ± 2%)。将混合物加热至55±5℃并保持到反应完成。通过MS、HPLC和¹H NMR估算反应产物。¹H NMR (200MHz, DMSO-d6) δ 11.7 (s, 1H) , 8.38 (d, J=9.0赫兹, 1H) , 7.61 (dd, J=9.0, 2.7赫兹, 1H) , 7.49 (m, 3H) , 7.21 (m, 3H) , 5.34 (s, 2H) , 3.97 (s, 3H) , 1.98 (s, 3H) ; MS- (+) -离子M+1=368.12。

[0325] e) 1-((乙酰氧基)甲基)-4-羟基-7-苯氧基异喹啉-3-羧酸甲酯 (1c)

[0326]

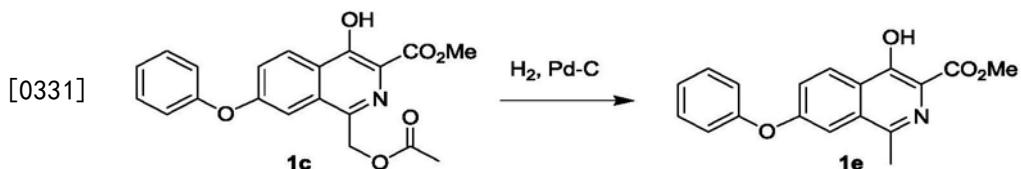


[0327] 将来自上述a)的1b的溶液冷却至25℃以下,此时添加乙酸酐(28.6g±3.5%),以保持温度低于50℃。将所得混合物加热到100±5℃,直至反应完成。

[0328] 将来自上述的1c和1d的溶液冷却至低于65±5℃。缓慢加入水(250mL)。然后将混合物冷却到低于20±5℃并过滤。潮湿的结块用水洗涤(3x 50mL),并加入至一个新烧瓶中。添加二氯甲烷(90mL)和水(30mL),且搅拌所得混合物。分离并通过HPLC估算二氯甲烷层。

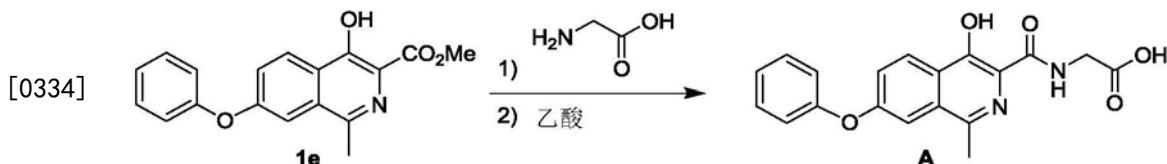
[0329] 将有机层添加到烧瓶并冷却5°±5℃。加入吗啉,且搅拌混合物直到反应完成。用丙酮/甲醇的混合物取代溶剂。冷却后,化合物1c沉淀并被过滤、清洗和在烤箱中干燥(产率:81%,HPLC:>99.7%)。¹H NMR(200MHz,DMSO-d6)δ11.6(s,1H),8.31(d,J=9.0赫兹,1H),7.87(d,J=2.3赫兹,1H),7.49(m,3H),7.24(m,3H),3.95(s,3H),3.68(s,2H),2.08(s,6H);MS-(+)-离子M+1=357.17。

[0330] f) 4-羟基-1-甲基-7-苯氧基异喹啉-3-羧酸甲酯(1e)



[0332] 将1c(16.0g)、Pd/C(2.08g)、无水碳酸钠(2.56g)和乙酸乙酯(120mL)装入反应器。将烧瓶用氮(3X)进行真空吹洗并用氢(3X)进行真空吹洗。然后用氢对烧瓶加压,并在约60℃下搅拌,直到完成反应。将烧瓶冷却到20-25℃,将压力释放到环境,用氮气吹洗头部空间三次,并过滤混合物。浓缩滤液。加入甲醇。搅拌然后冷却混合物。将产品沉淀并过滤和在烤箱中干燥(产率:90%,HPLC:99.7%)。

[0333] g) [(4-羟基-1-甲基-7-苯氧基-异喹啉-3-羧基)-氨基]-乙酸(化合物A)



[0335] 将1e(30.92g)、甘氨酸(22.52g)、甲醇(155mL)、甲醇钠溶液(64.81g)装入压力烧瓶并将其密封(作为替代,甘氨酸钠用于替代甘氨酸和甲醇钠)。将反应加热到约110℃,直至反应完成。将混合物冷却、过滤、用甲醇洗涤、在真空下干燥、溶解在水中以及用乙酸乙酯洗涤。将乙酸乙酯移除,并且将乙酸(18.0g)溶液加入至所得的含水层。在室温下搅拌悬浮液、过滤,用水(3x 30mL)、冷丙酮(5-10℃,2x 20mL)洗涤固体,在真空下干燥,以获得化合物A(产率:86.1%,HPLC:99.8%)。

[0336] 实施例11.生物试验

[0337] 本文所提供的固体形态可用于抑制HIF羟化酶的活性,从而增加低氧诱导因子

(HIF) 的稳定性和/或活性,并可用于治疗和预防低氧诱导因子相关的病症和失调(参见,例如,美国专利No.7,323,475,美国专利申请公开No.2007/0004627,美国专利申请公开No.2006/0276477,和美国专利申请公开No.2007/0259960,此处通过引用并入)。

[0338] 本文所提供的固体形态的生物活性,可使用任何常规已知方法来评估。在具体实施例中,源自动物组织、优选人体组织的细胞,当受到本发明化合物的刺激时,能表达红细胞生成素,被培养以用于在体外生产内源性蛋白。考虑用于该方法的细胞包括但不限于来源于肝、造血、肾、神经组织的细胞。

[0339] 在现有技术中通常有可用的细胞培养技术,并包括维持细胞的生存力和促进内源性蛋白表达的任何方法。通常将细胞培养在针对细胞生长、生存力和蛋白质产量而优化的生长培养基中。细胞可以在悬浮液中或附着于基质,并且可以以批量喂料或连续流通方案供应培养基。将本发明的化合物以刺激红细胞生成素产生而不影响细胞活力的水平添加到培养基。细胞所产生的红细胞生成素被分泌到培养基中。然后收集培养基,并使用本领域技术人员已知的方法纯化红细胞生成素(参见,例如,Lai et al.(1987)美国专利号4,667,016;和Egrie(1985)美国专利号4,558,006)。

[0340] 合适的测定方法是本领域众所周知的。下面的内容仅作为实例而不作为限制而给出。

[0341] 基于细胞的HIF α 稳定性分析

[0342] 将源于各种组织的人类细胞(例如,来自肝细胞组织的Hep3B细胞)分别接种到35mm的培养皿中,并在37°C、20%O₂、5%CO₂下,在标准培养基中生长,例如,DMEM(达尔伯克氏改良伊格尔培养基),10%的FBS(胎牛血清)。当细胞层达到融合时,用OPTI-MEM培养基(Invitrogen Life Technologies,Carlsbad,CA)替换所述培养基,且将细胞层于37°C下,在20%O₂、5%CO₂中孵育约24小时。然后将化合物A或0.013%DMSO(二甲亚砜)加入现有培养基中,并持续孵育过夜。

[0343] 孵育后,移除培养基,离心并存储用于分析(参见下文基于细胞的VEGF和EPO测定)。在冷磷酸缓冲盐(PBS)中将细胞洗涤两次,然后在1mL 10mMTris(pH值7.4)、1mM EDTA、150mM NaCl、0.5%IGEPAL(Sigma-Aldrich,密苏里州圣路易斯市)和蛋白酶抑制剂混合物(Roche Molecular Biochemicals)中,在冰上裂解15min。将细胞裂解产物以3000xg在4°C经离心5min,且收集胞质部分(上清液)。将细胞核(颗粒)再悬浮并在100μL的20mM HEPES(pH值为7.2)、400mM NaCl、1mM EDTA、1mM二硫苏糖醇和蛋白酶混合物(Roche Molecular Biochemicals)中裂解,以13,000xg在4°C离心5min,且收集核蛋白质部分(上清液)。

[0344] 使用QUANTIKINE免疫测定(R&D Systems, Inc., Minneapolis MN),根据制造商的说明书,分析收集的核蛋白质部分的HIF-1 α 。

[0345] 基于细胞的EPO分析

[0346] 以每孔25,000个细胞,将Hep3B细胞(来自ATCC的人类肝癌细胞,cat#HB-8064)接种于96孔板。第二天,将细胞用DMEM(Cel11gro,cat#10-013-CM)+0.5%胎牛血清(Cel11gro,cat#35-010-CV)洗涤一次,并与各种浓度的化合物或载体(vehicle)对照(0.15%DMSO)在DMEM+0.5%胎牛血清中孵育72小时。通过转移到锥形底部的96孔板并以2000rpm离心5min,产生无细胞的培养上清液。使用人类EPO的ELISA试剂盒(R&D Systems,cat#DEP 00),将上清液的EPO定量。

[0347] 本文所报道的化合物的EPO值(例如,表22)为细胞加化合物的测量值减去用于相同细胞制备的载体对照的值。用于细胞制备的载体对照的EPO值在0-12.5mIU/mL内变化。

[0348] HIF-PH测定

[0349] 酮戊二酸 α -[1- ^{14}C]-钠盐、 α -酮戊二酸钠盐和HPLC纯化肽分别从例如珀金埃尔默(Perkin-Elmer, Wellesley MA)、西格玛奥德里奇(Sigma-Aldrich)和SynPep集团(SynPep Corp, Dublin CA)等商业来源获得。用于测定的肽是如上所述的或在国际公开W02005/118836所公开的HIF α 片段,其此处通过引用而并入。例如,用于HIF-PH测定的HIF肽为[甲氧基香豆素]-DLDLEALAPYIPADDDFQL-酰胺。HIF-PH,例如HIF-PH2(也称为EGLN1或PHD2),在例如,昆虫Hi5细胞中表达,并例如通过SP离子交换层析柱部分纯化。酶的活性通过使用由Kivirikko和Myllyla(1982, Methods Enzymol, 82:245-304)所描述的测定捕获 $^{14}\text{CO}_2$ 而测定。测定反应包含50mM HEPES(pH 7.4)、100 μM α -酮戊二酸钠盐、0.30 $\mu\text{Ci}/\text{mL}$ α -酮戊二酸[1- ^{14}C]钠盐、40 μM FeSO₄、1mM抗坏血酸盐、1541.8单位/mL过氧化氢酶,有或没有50 μM 肽基质和各种浓度的本发明化合物。通过添加HIF-PH酶开始反应。

[0350] 通过从存在基质肽的百分数周转中减去缺乏基质肽百分数周转计算肽-依赖性百分数周转。使用在给定抑制剂浓度下的肽-依赖性百分数周转来计算抑制百分比和IC₅₀。使用GraFit软件(Erihacus Software Ltd., Surrey UK)来计算每种抑制剂的IC₅₀值。结果总结在表22中。

[0351] 下面的表21用于证明化合物A的药理效用。通过抑制HIF脯氨酰羟化酶(例如PHD2,也称为EGLN1),化合物A稳定HIF α ,其由此结合HIF β ,以形成活性转录因子,所述活性转录因子增加了参与应答缺氧和缺血病症的许多基因的表达,包括红细胞生成素(EPO)。因此,化合物A可用于预防、预处理或治疗与HIF和或EPO相关的病症,包括贫血、缺血和缺氧病症。

[0352] 表22

[0353]		IC₅₀	细胞 EPO*
		PHD2 (μM)	(mIU/mL)
	化合物 A 形态 A	2.1	182

[0354] *与仅DMSO的对照相比,以在DMSO中30 μM 化合物所测的细胞EPO

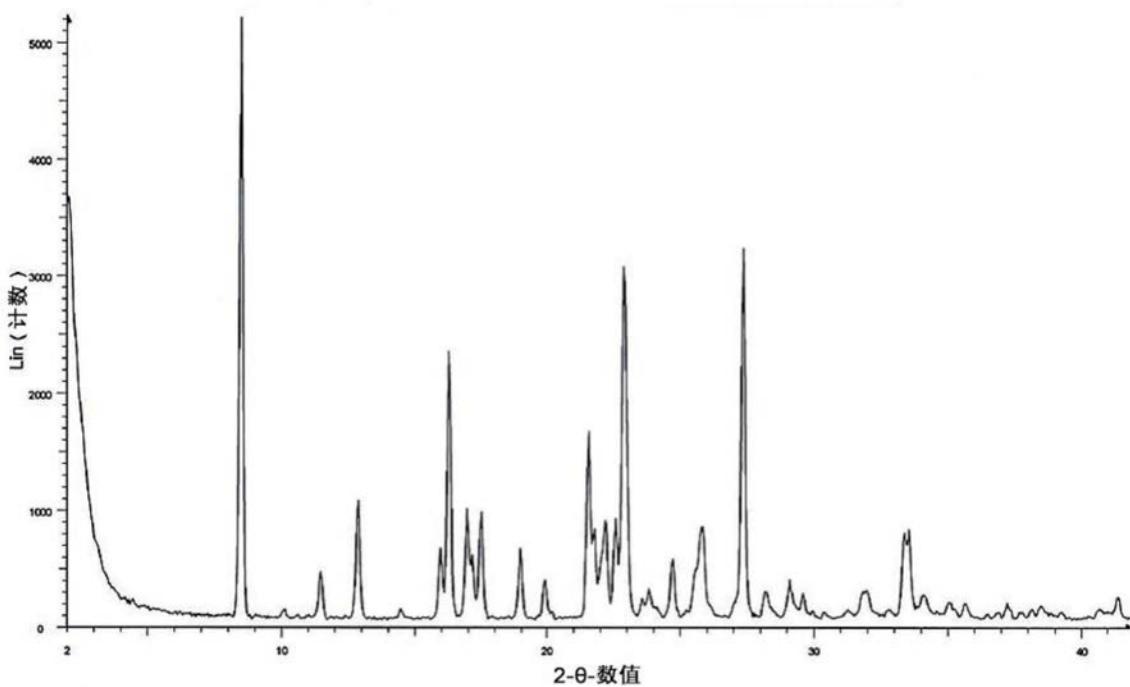


图1

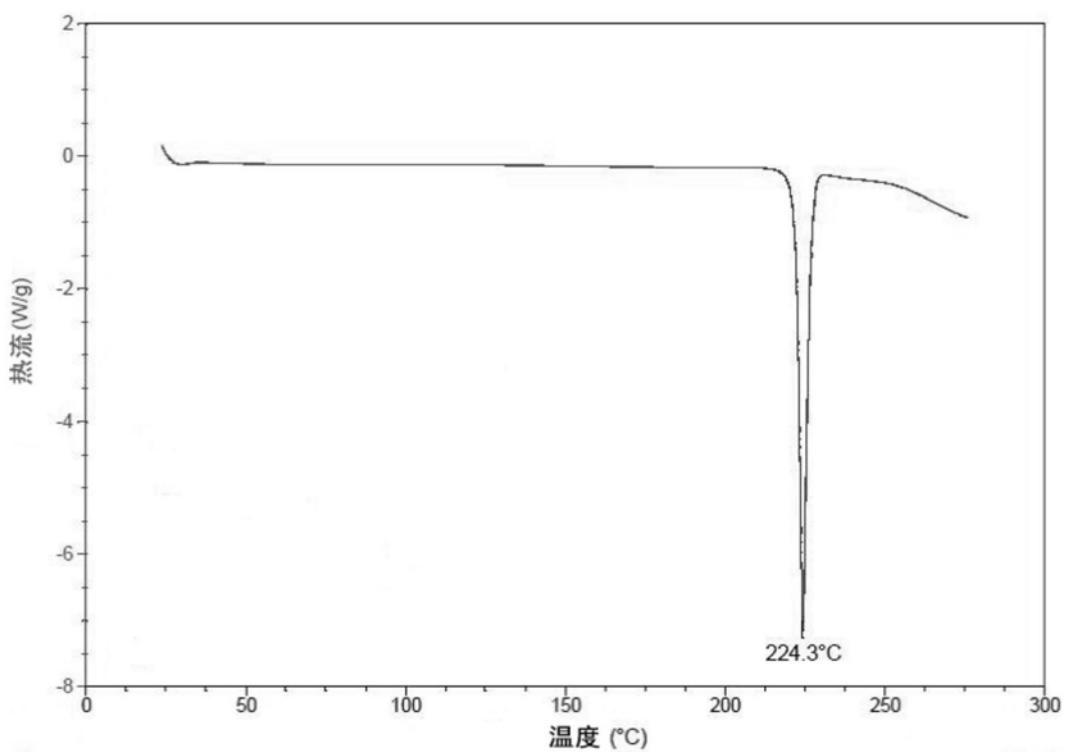


图2

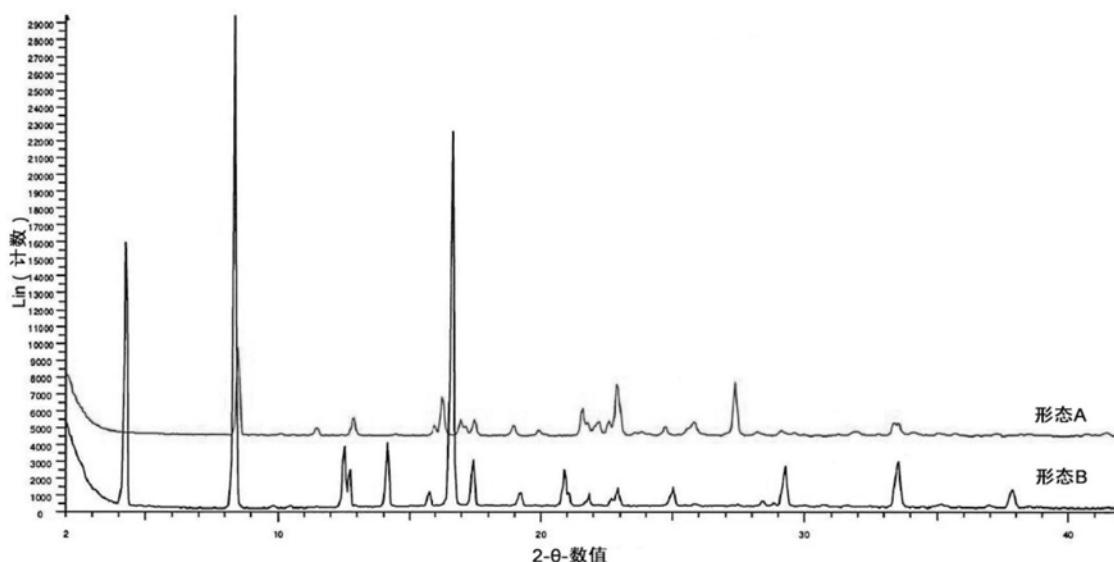


图3

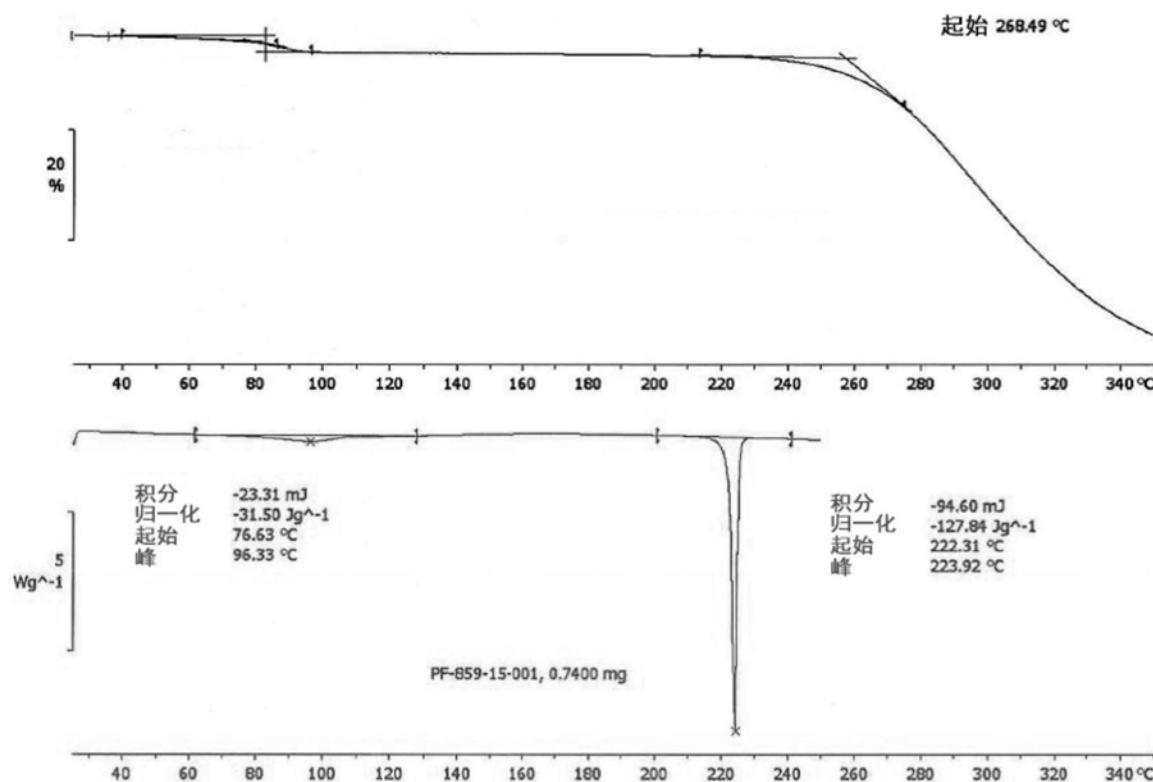


图4

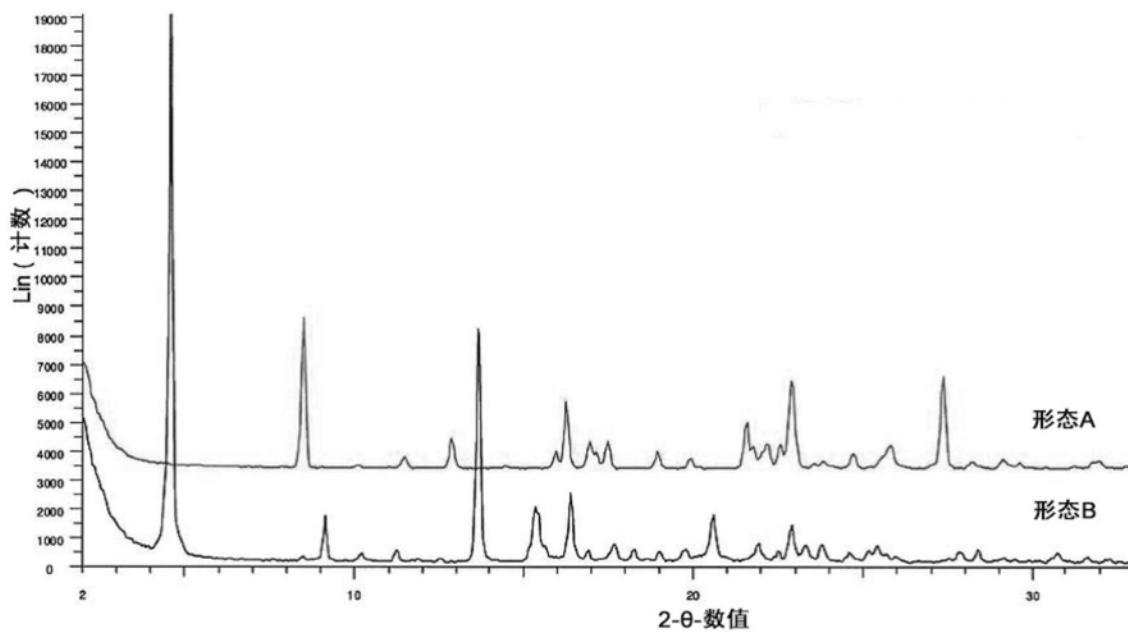


图5

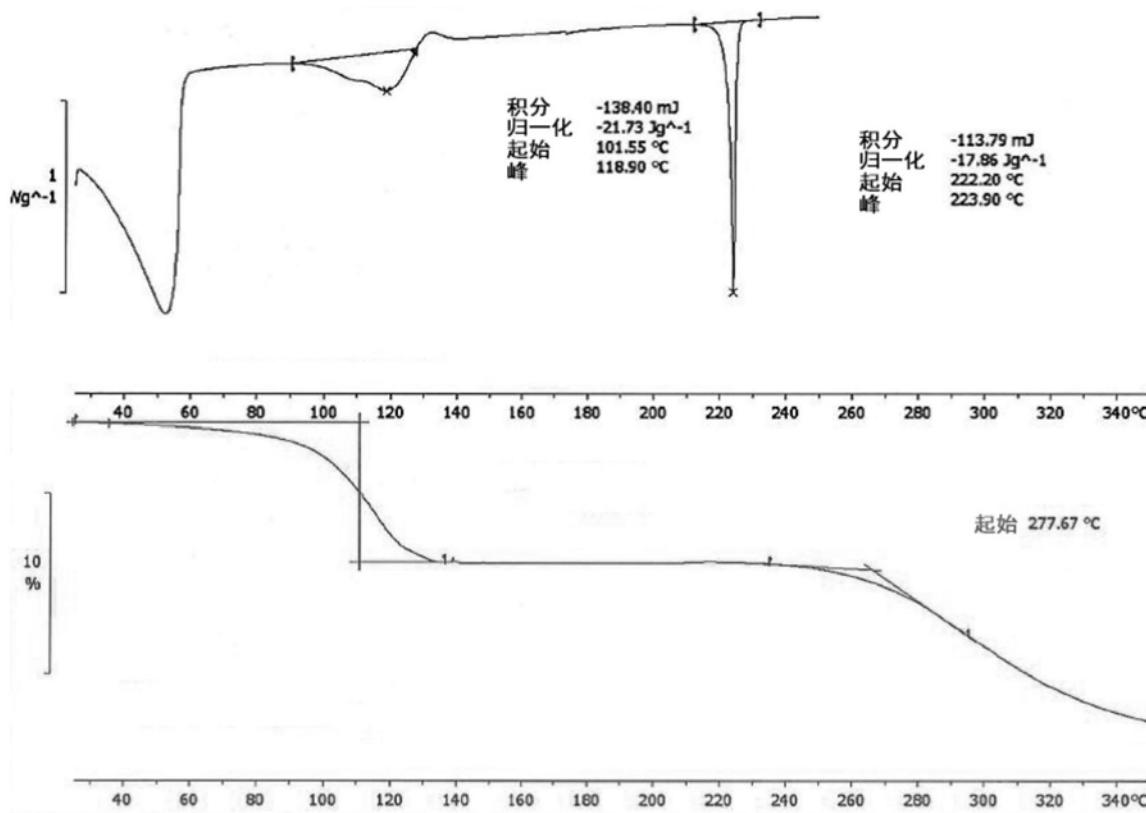


图6

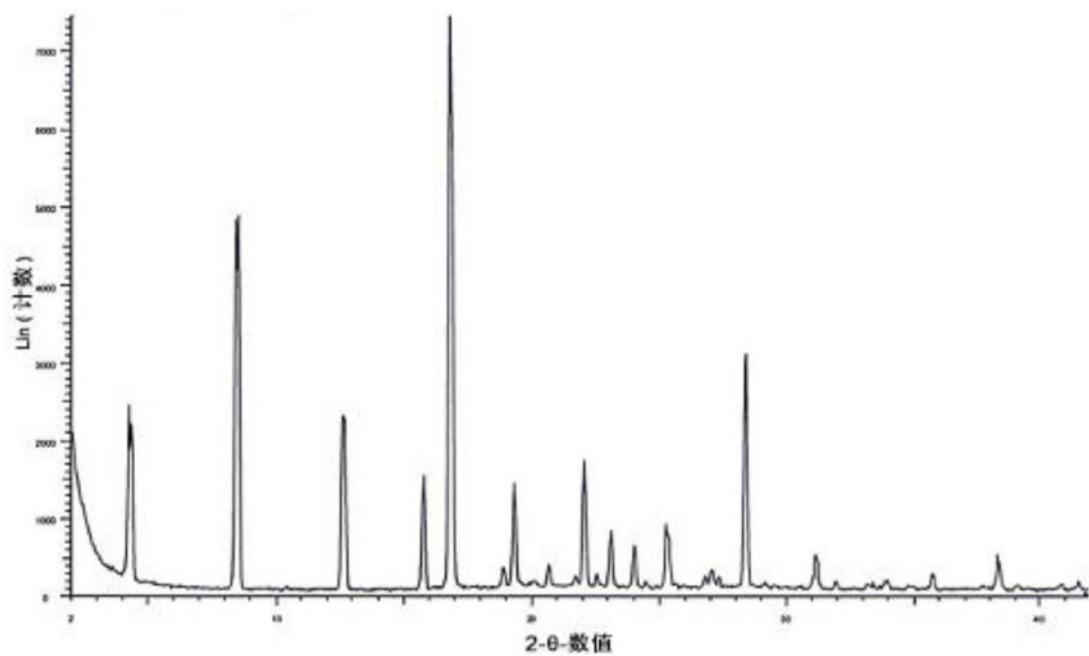


图7

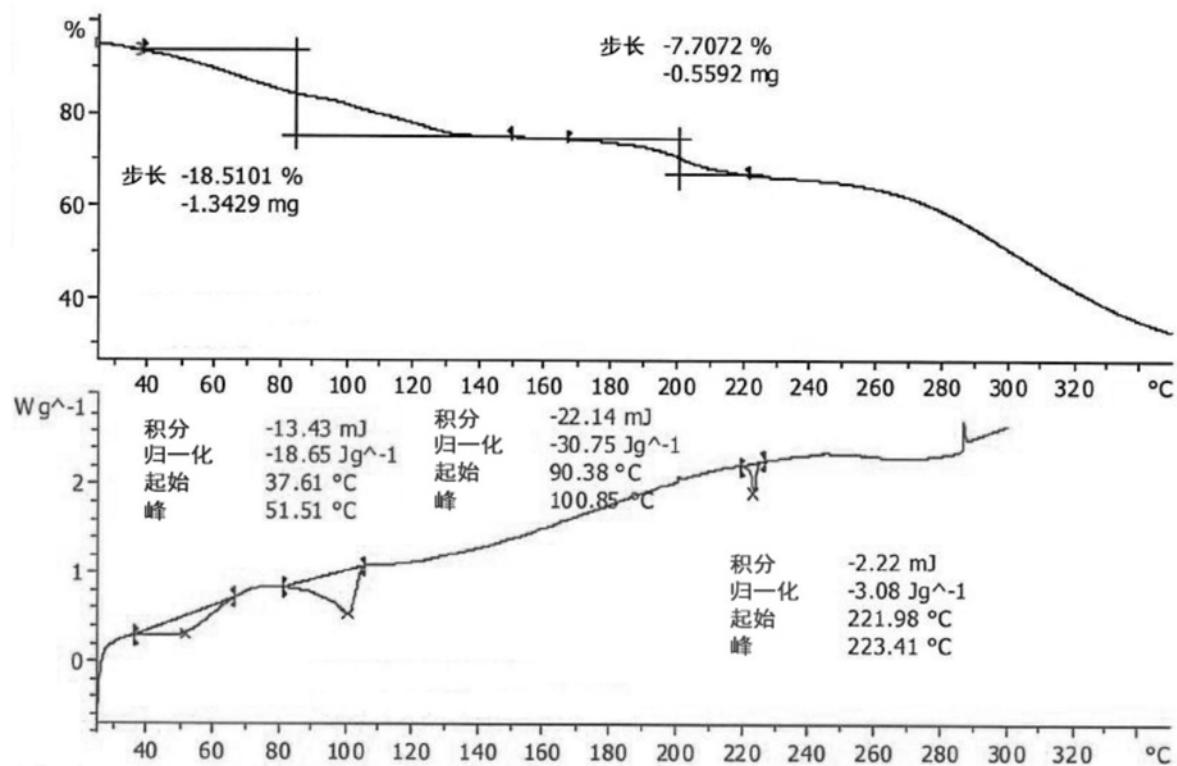


图8

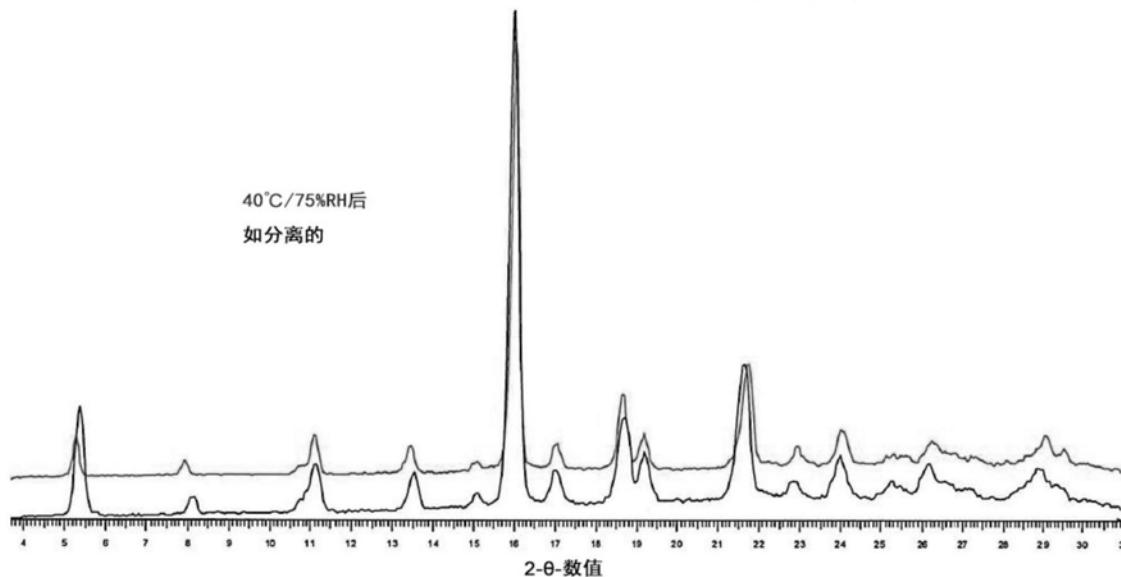


图9

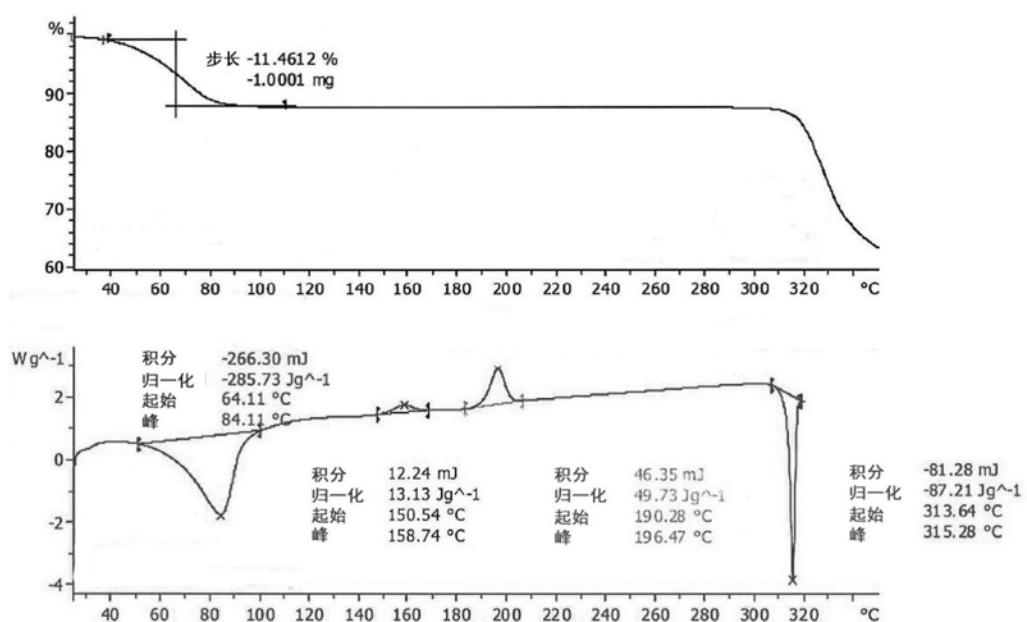


图10

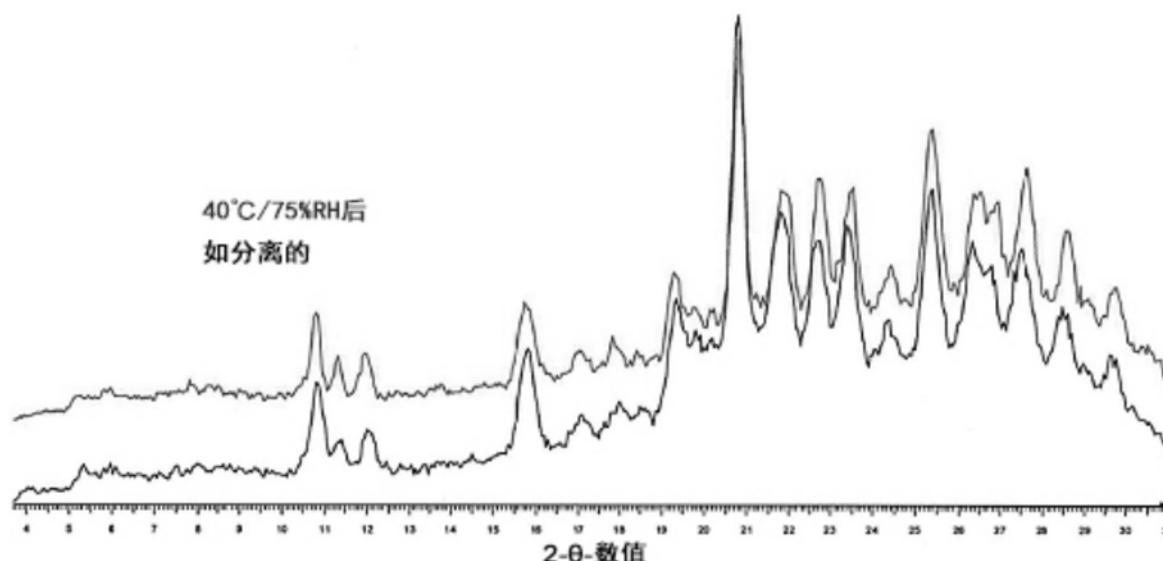


图11

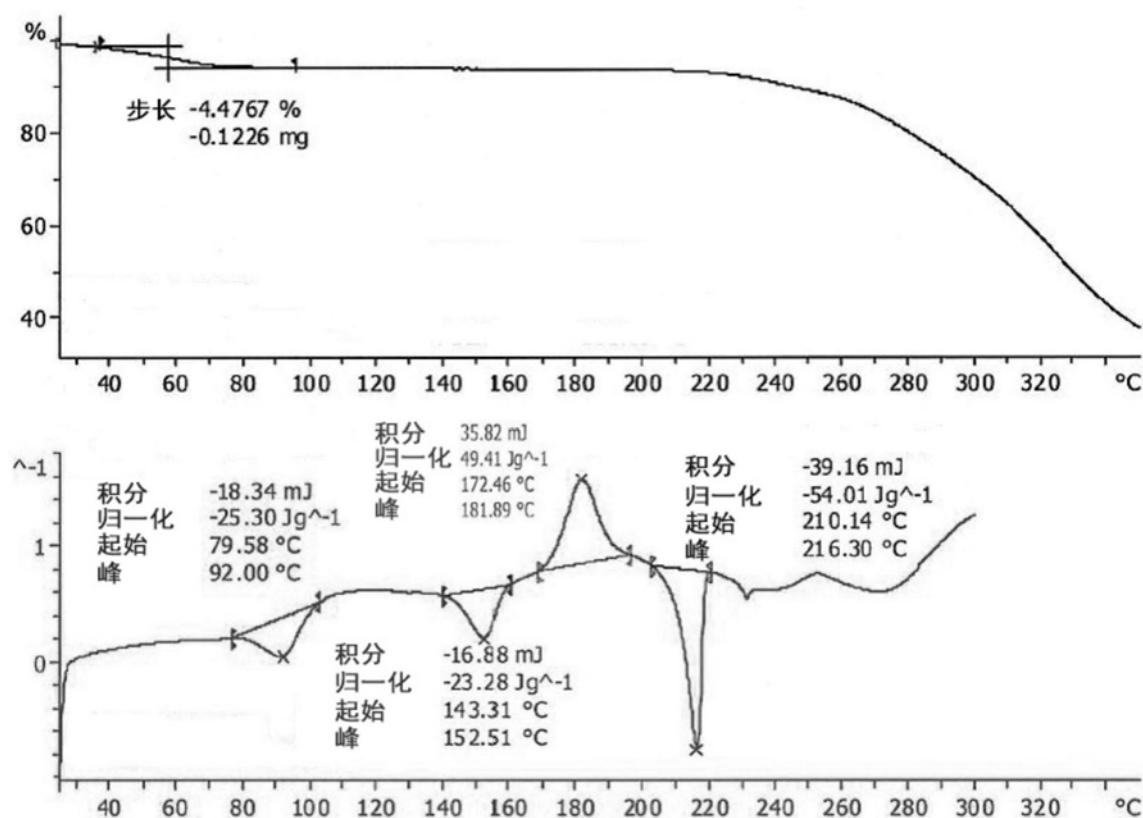


图12

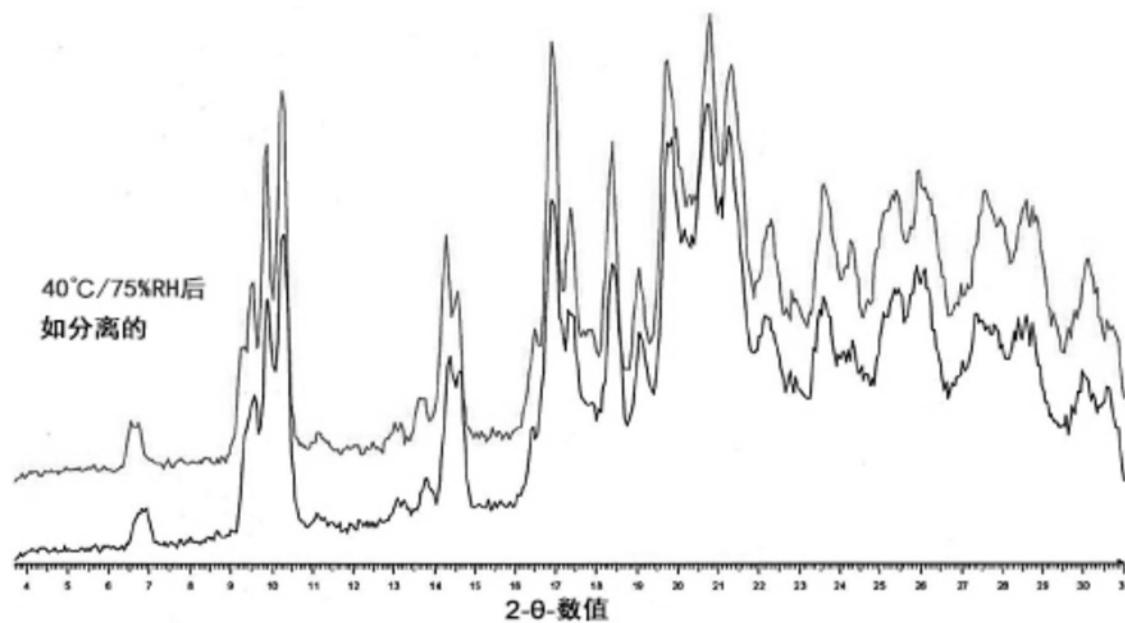


图13

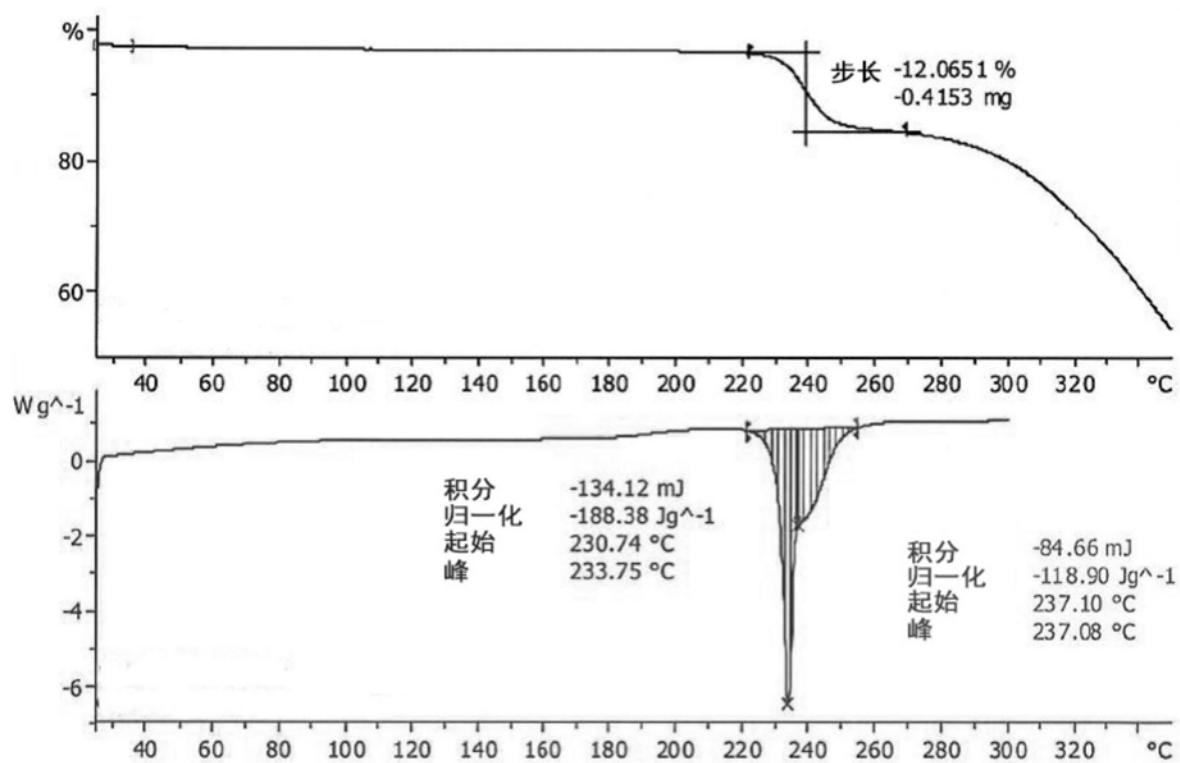


图14

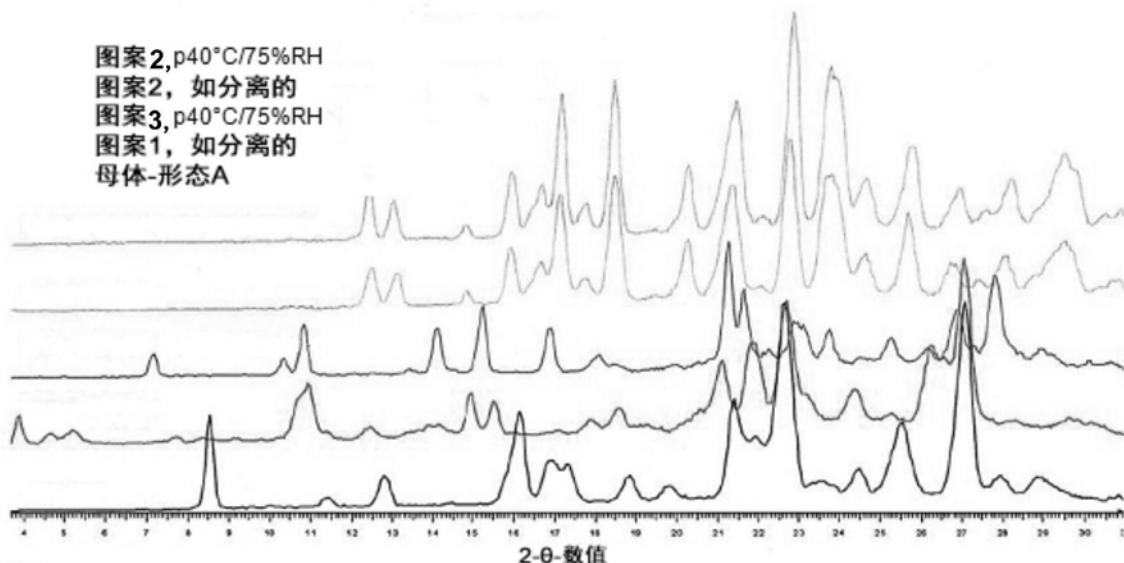


图15

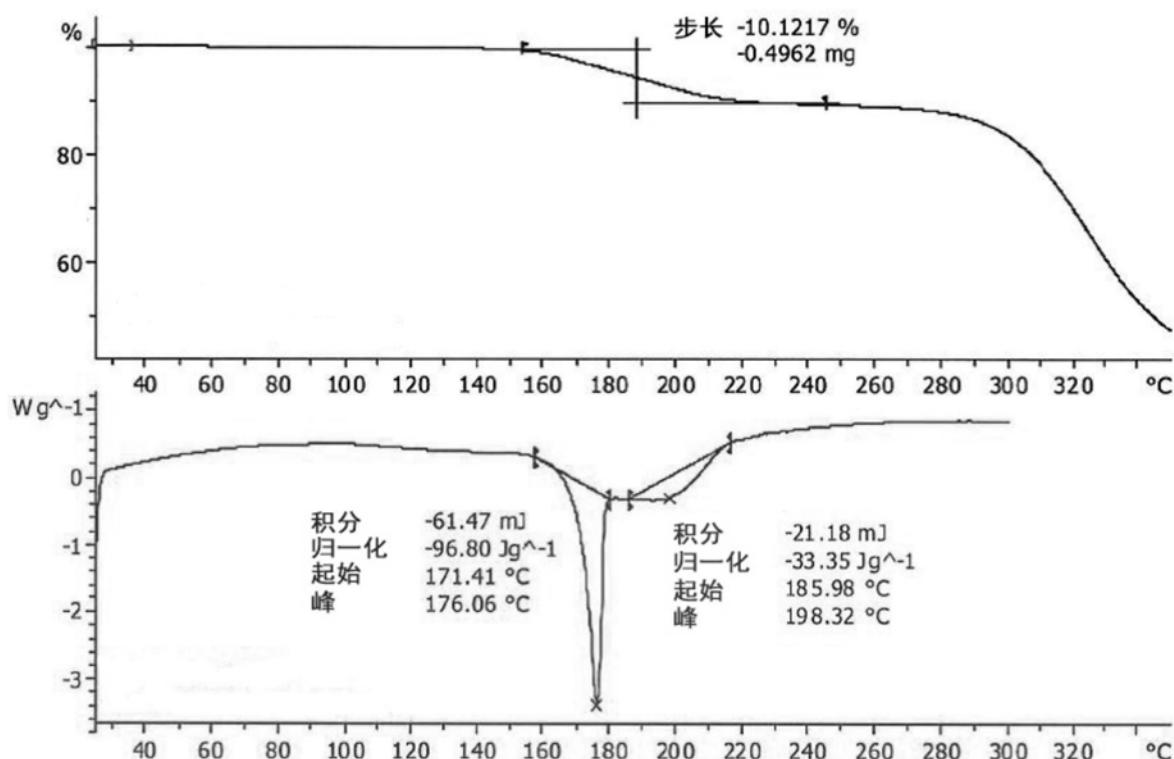


图16

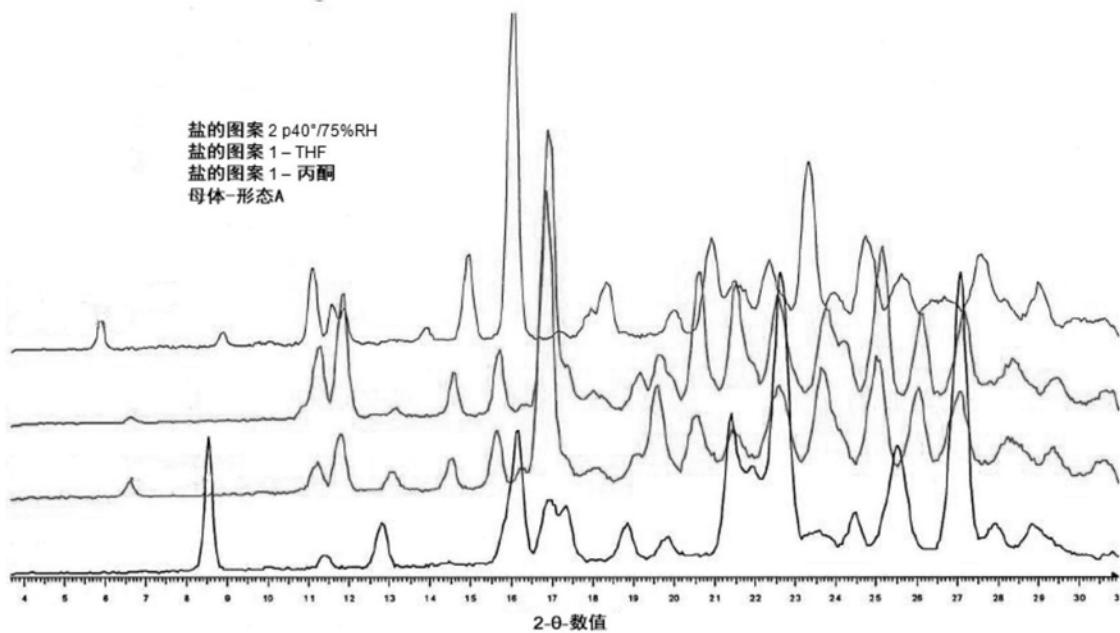


图17

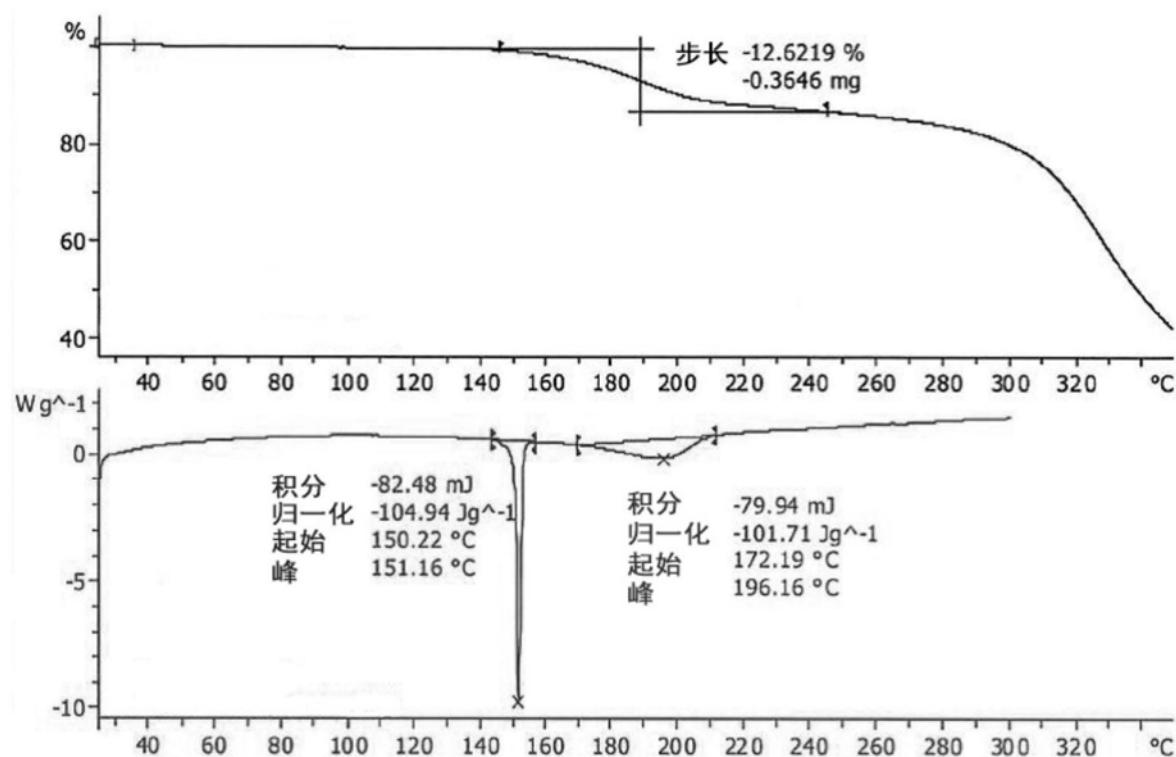


图18

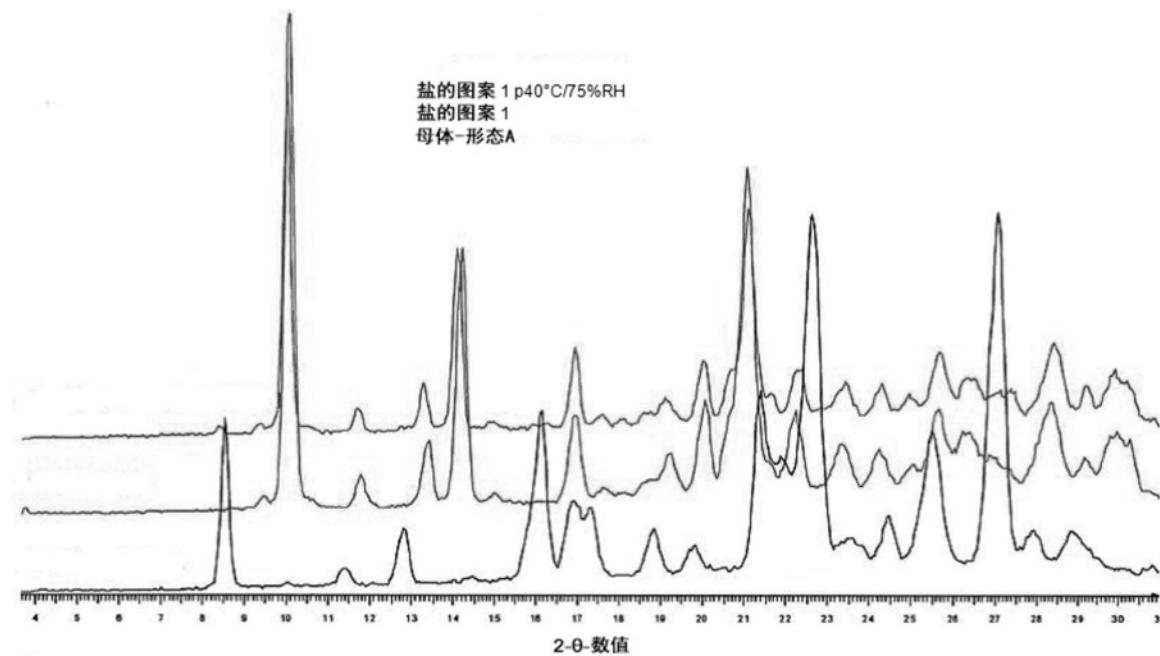


图19

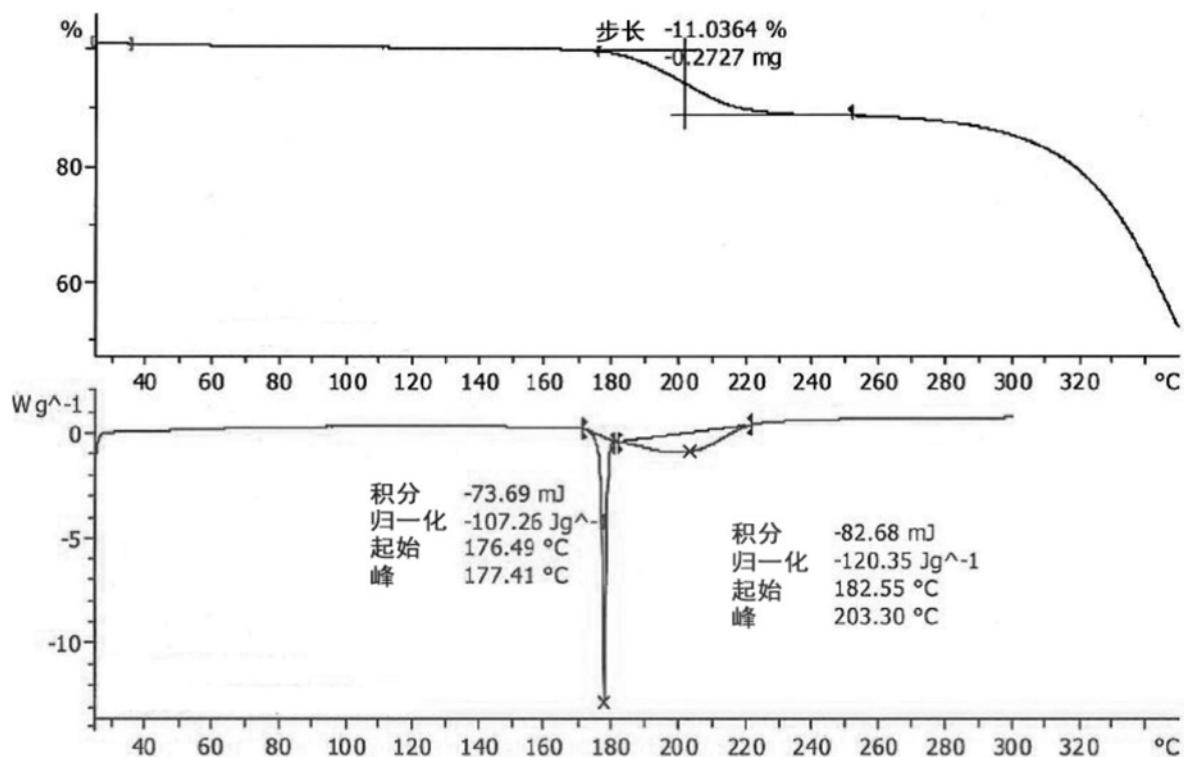


图20

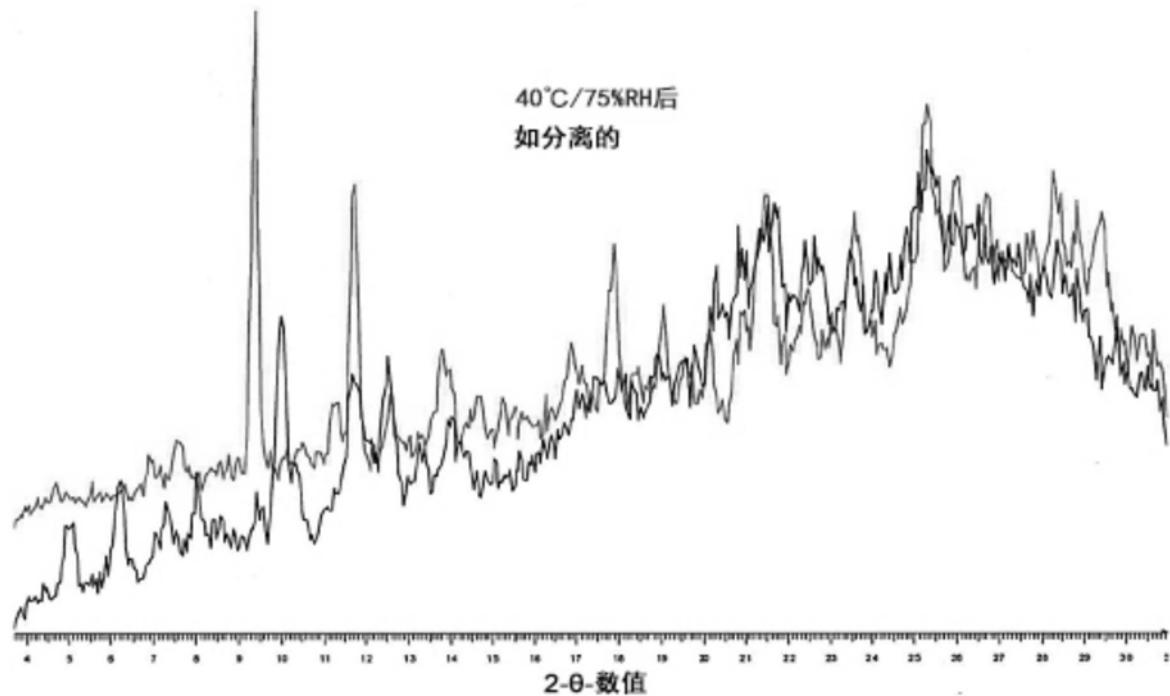


图21

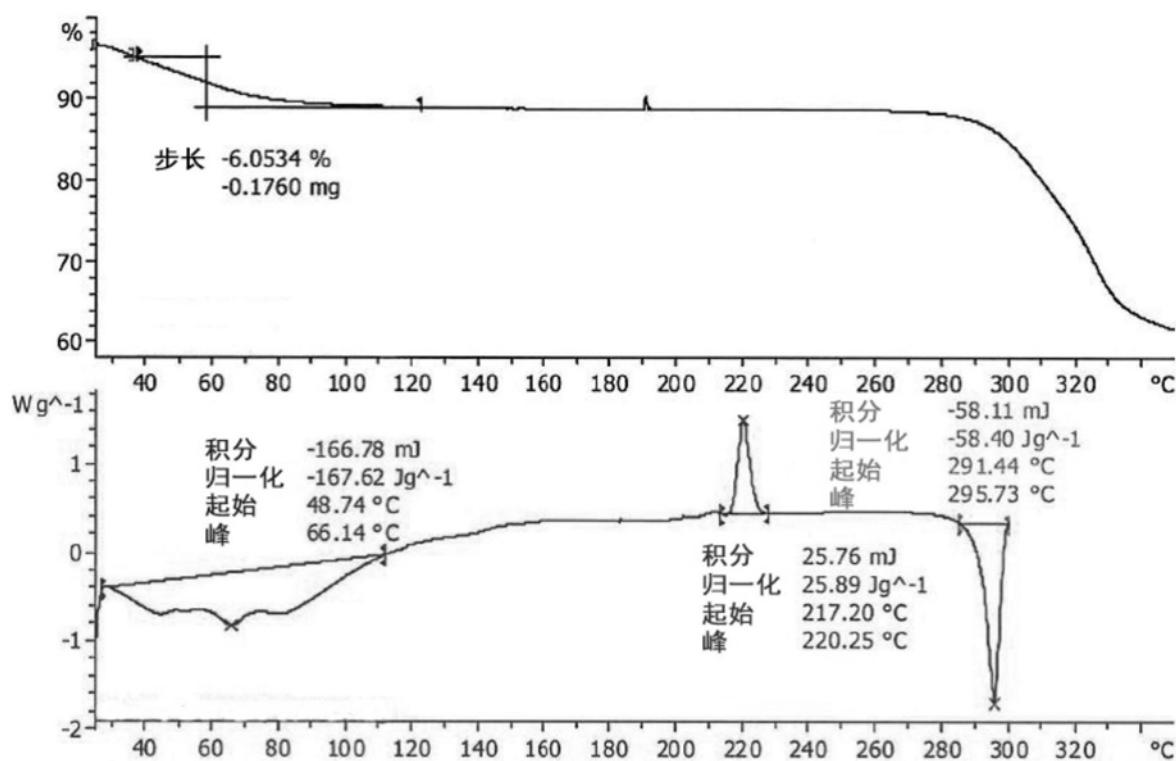


图22

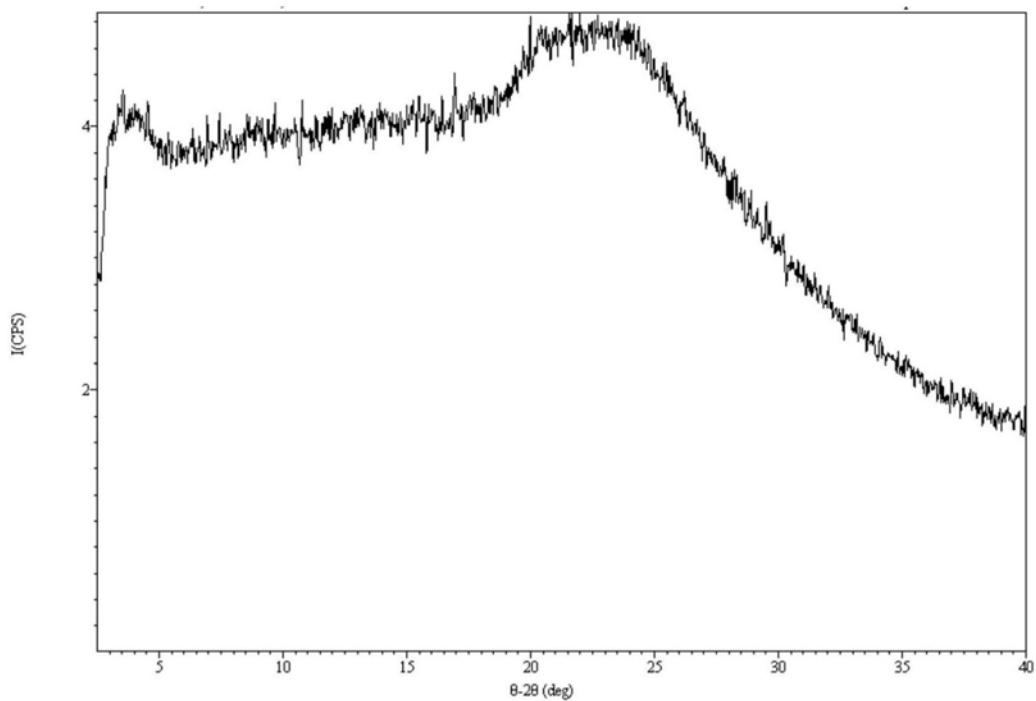


图23

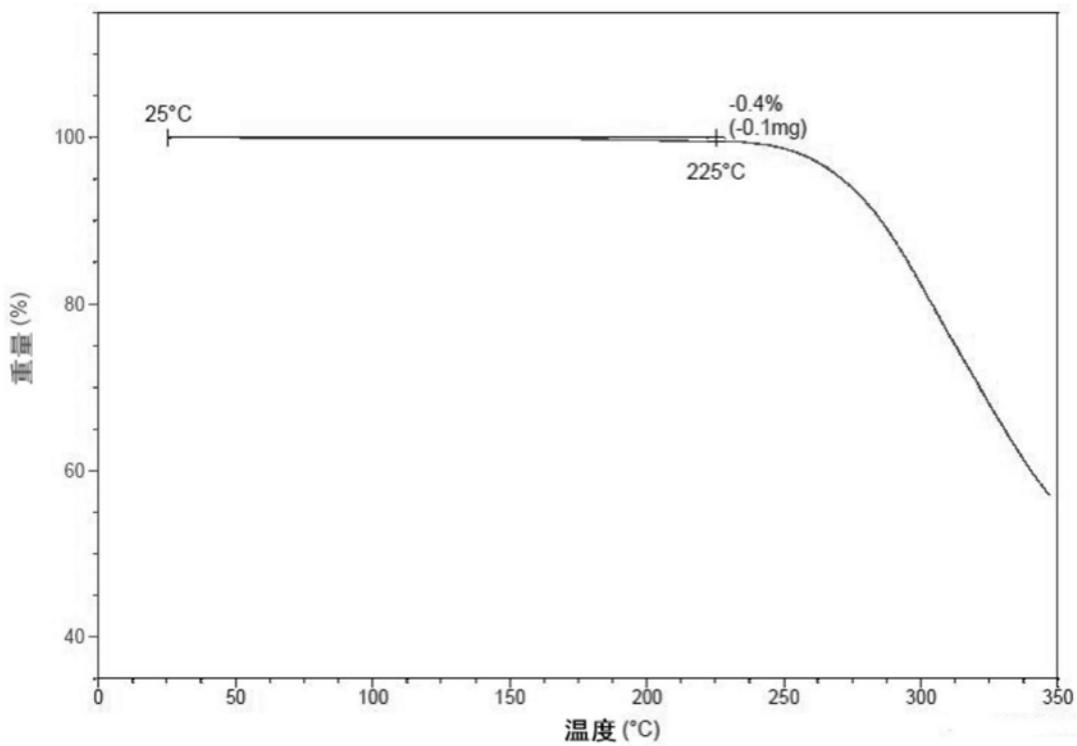


图24

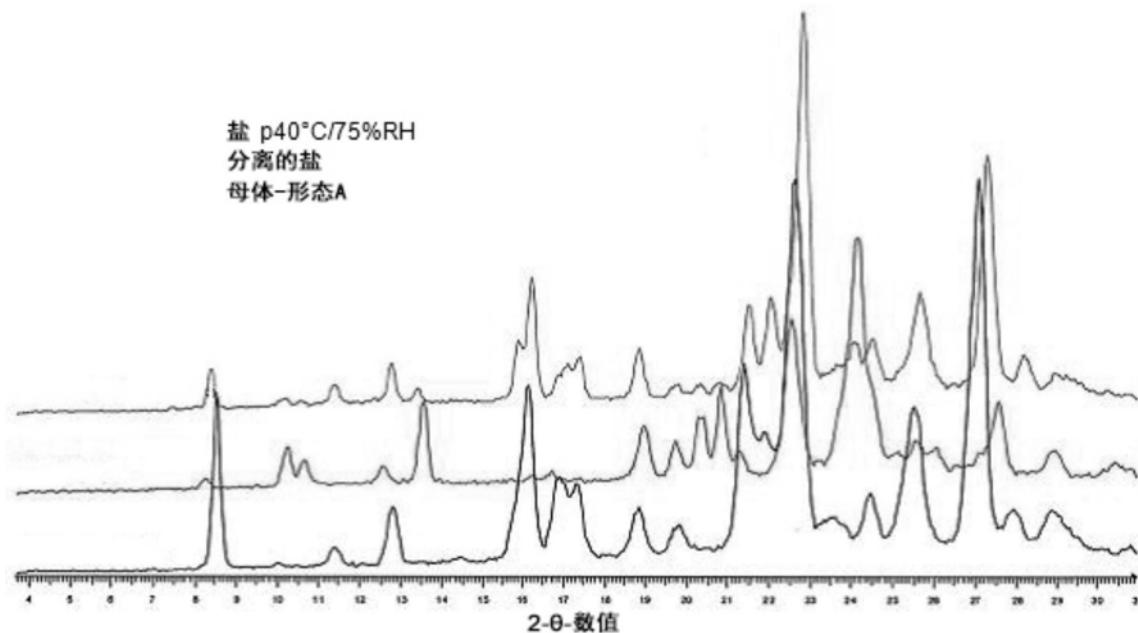


图25

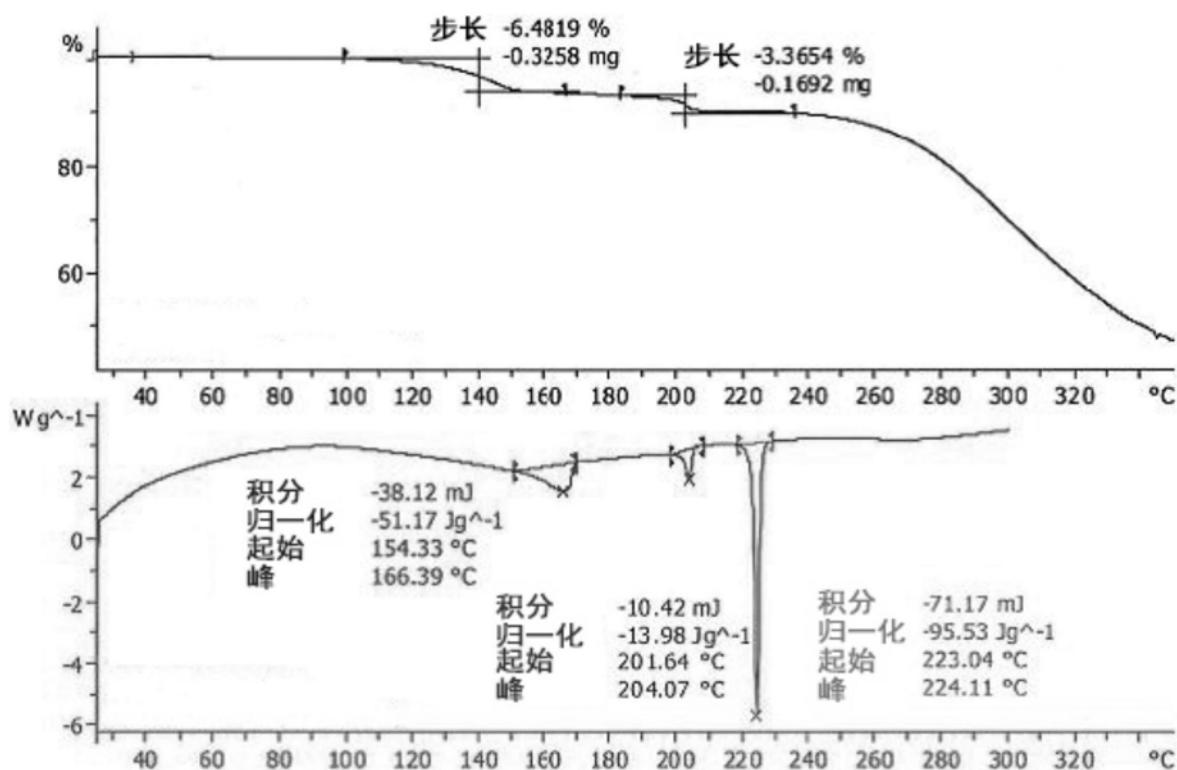


图26

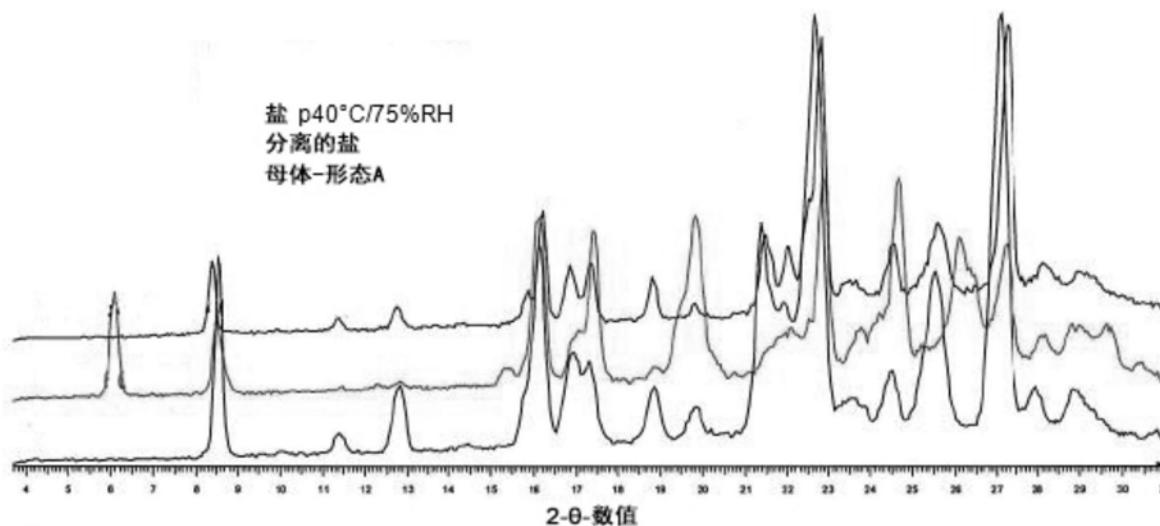


图27

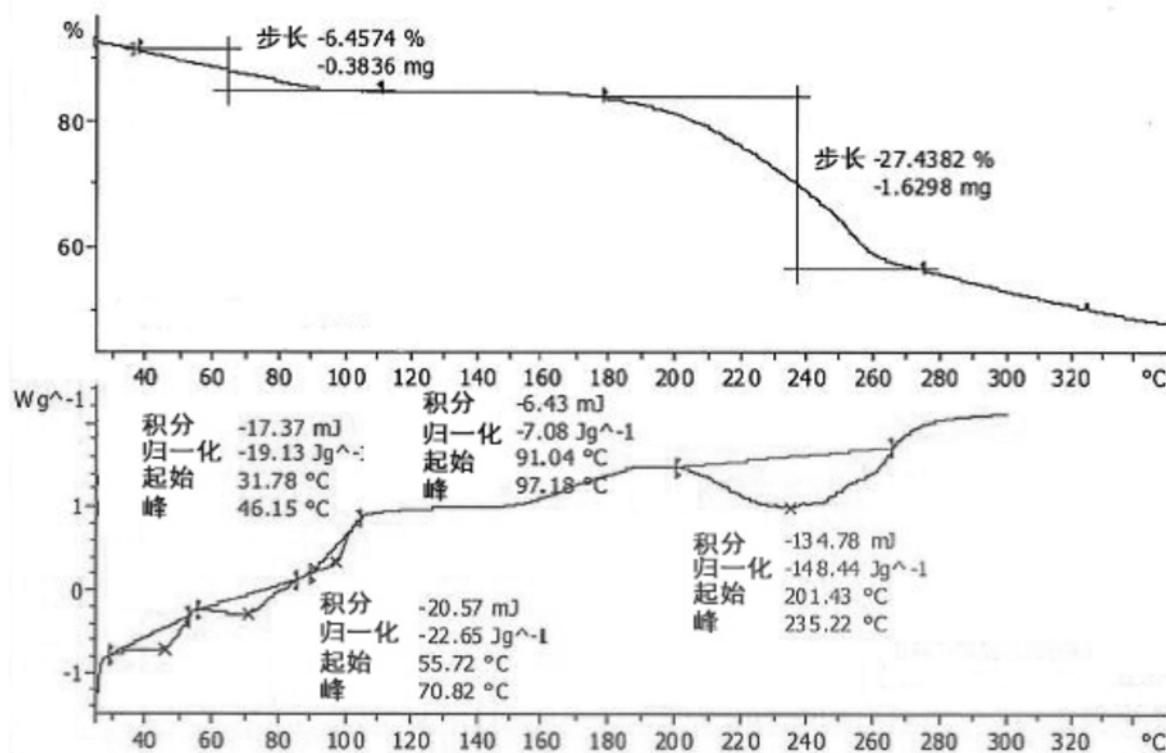


图28

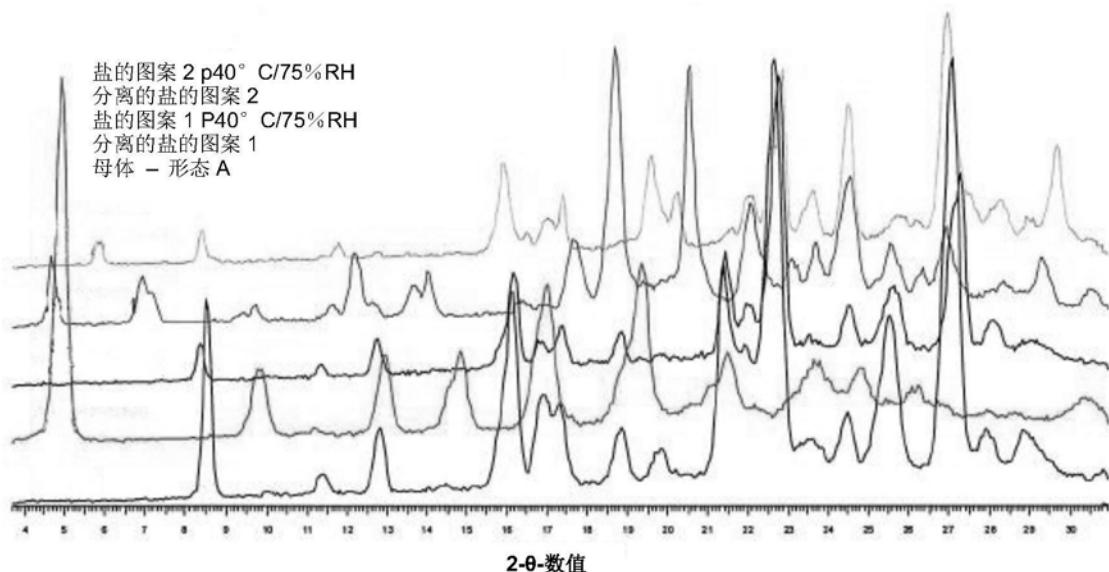


图29

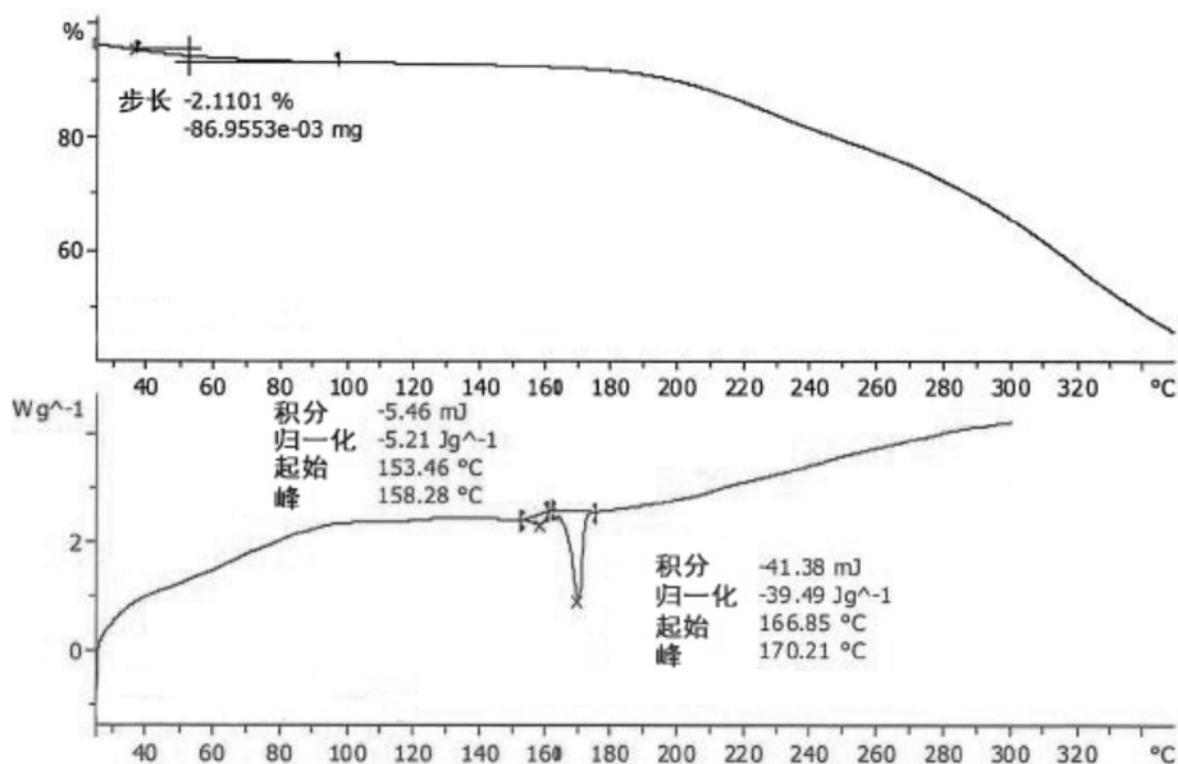


图30

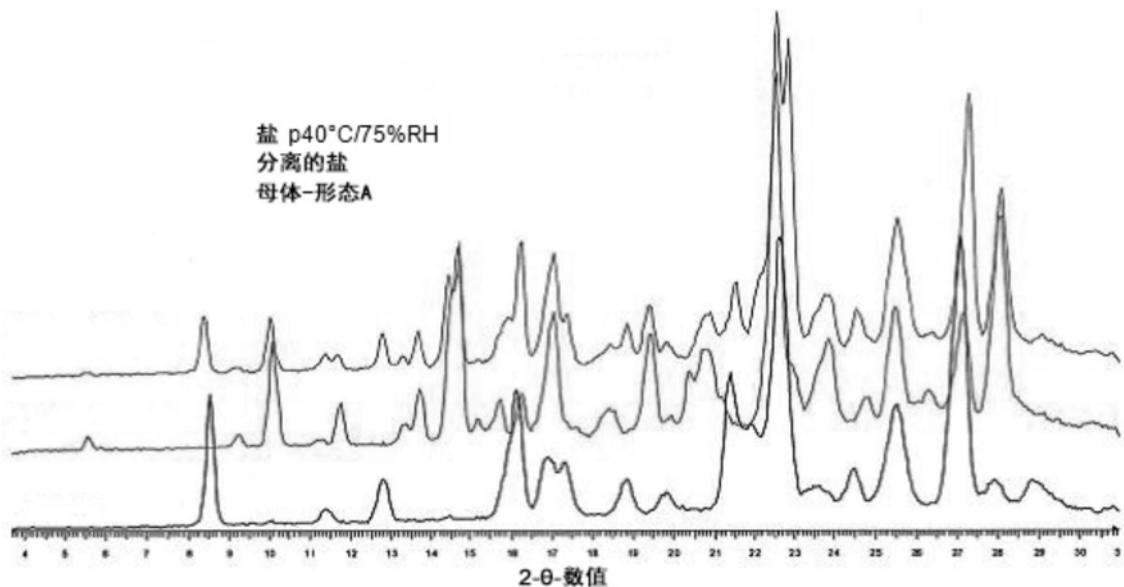


图31

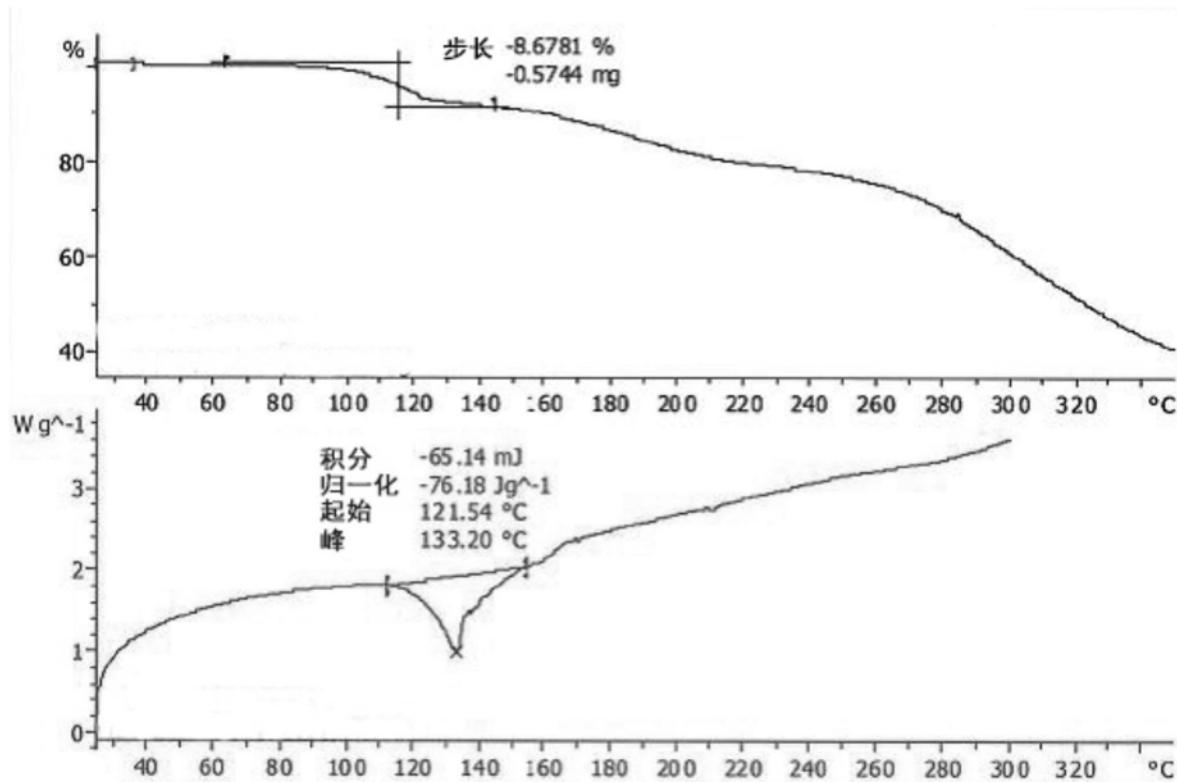


图32

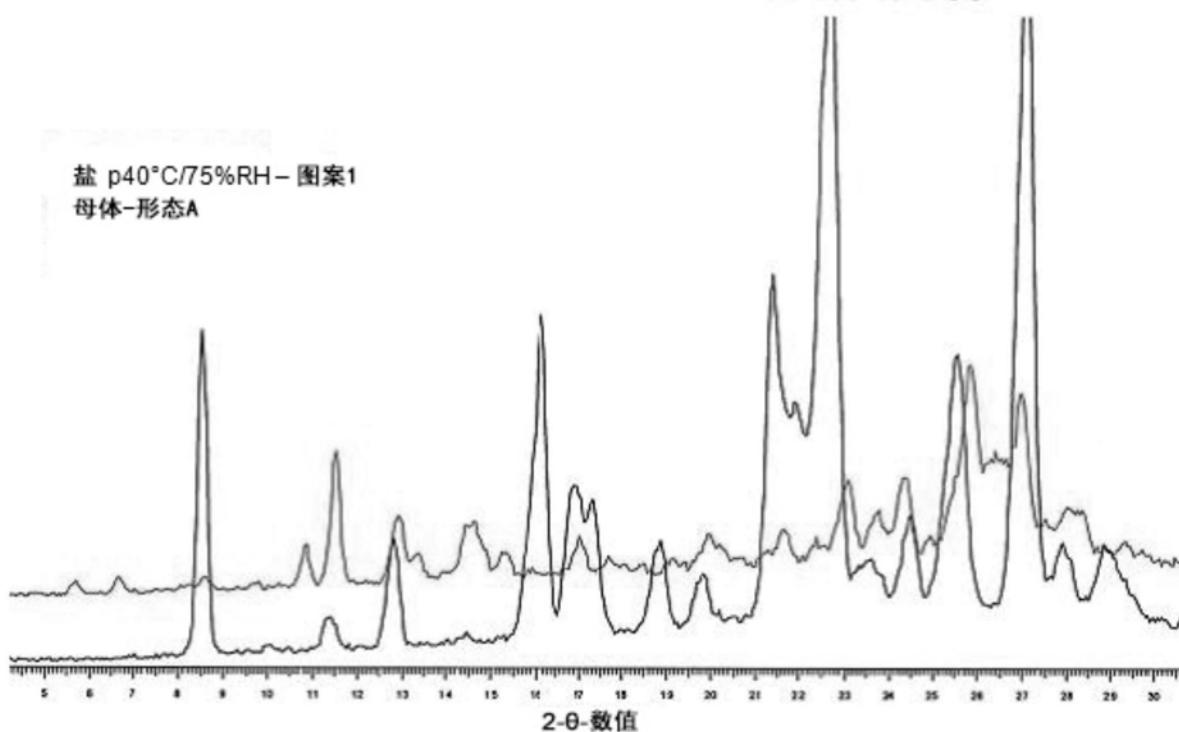


图33

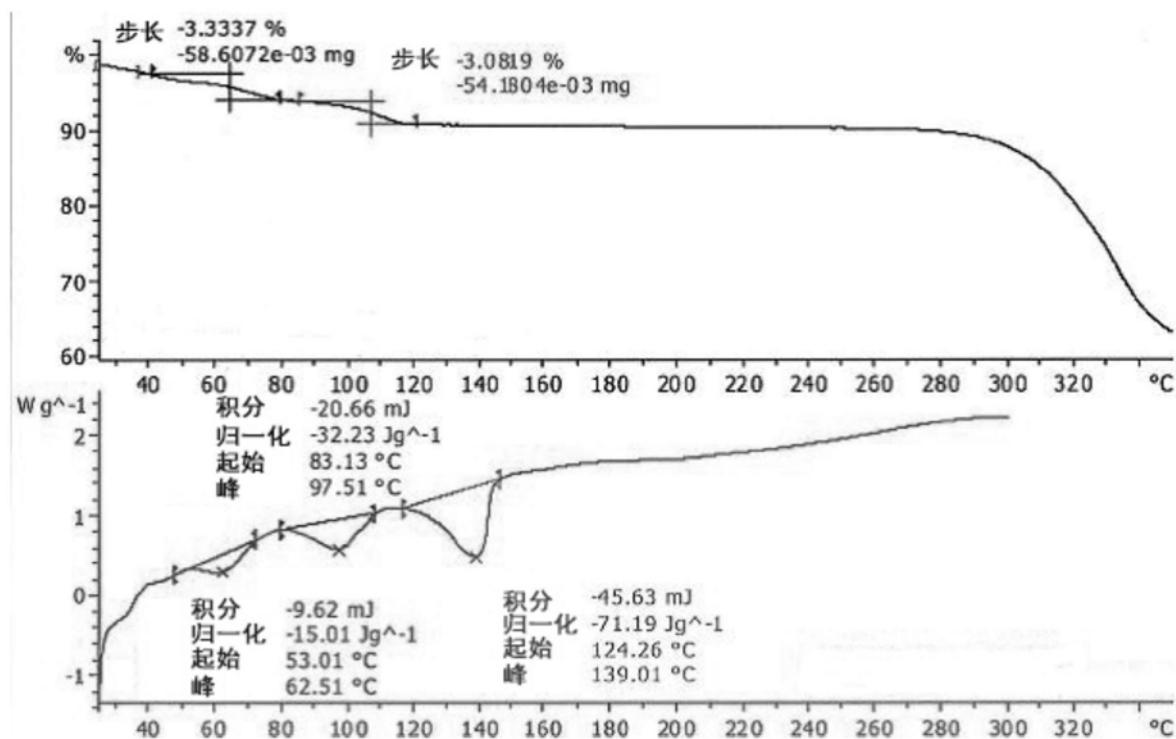


图34

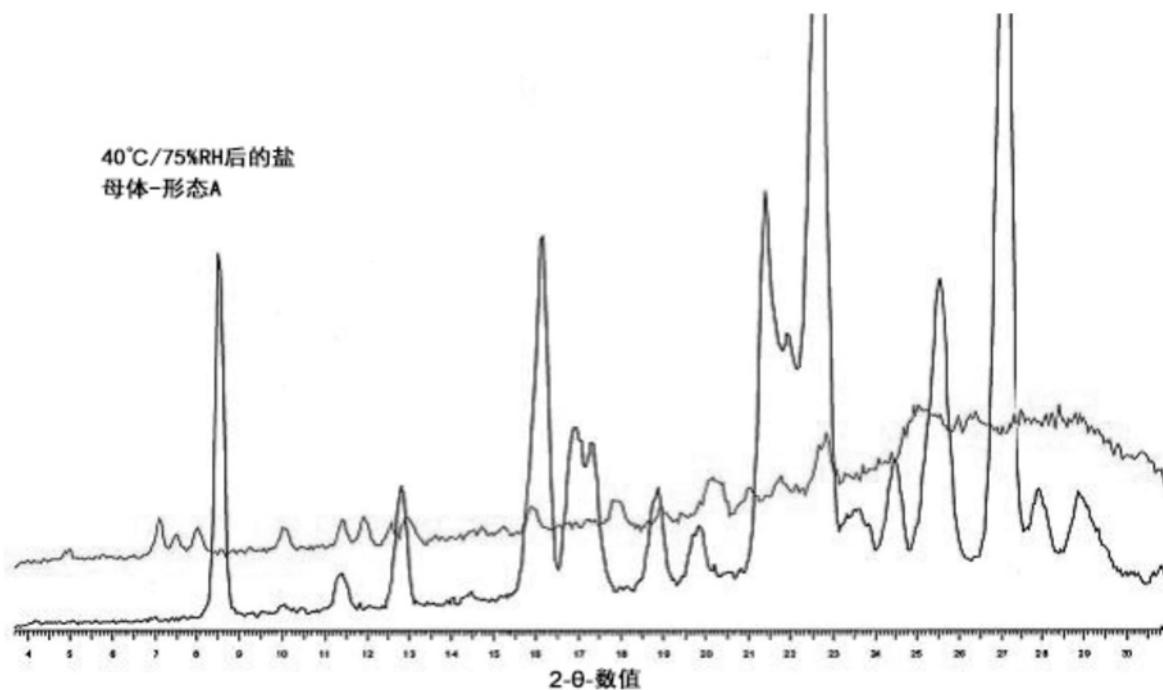


图35

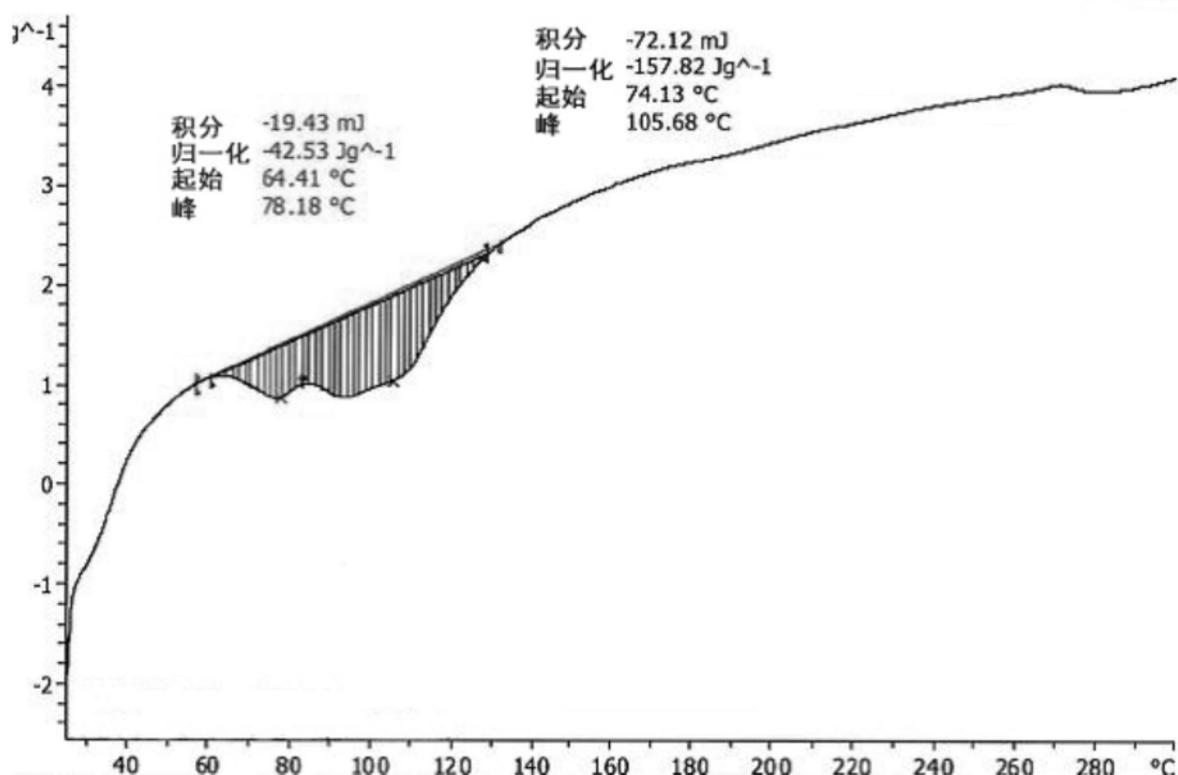


图36

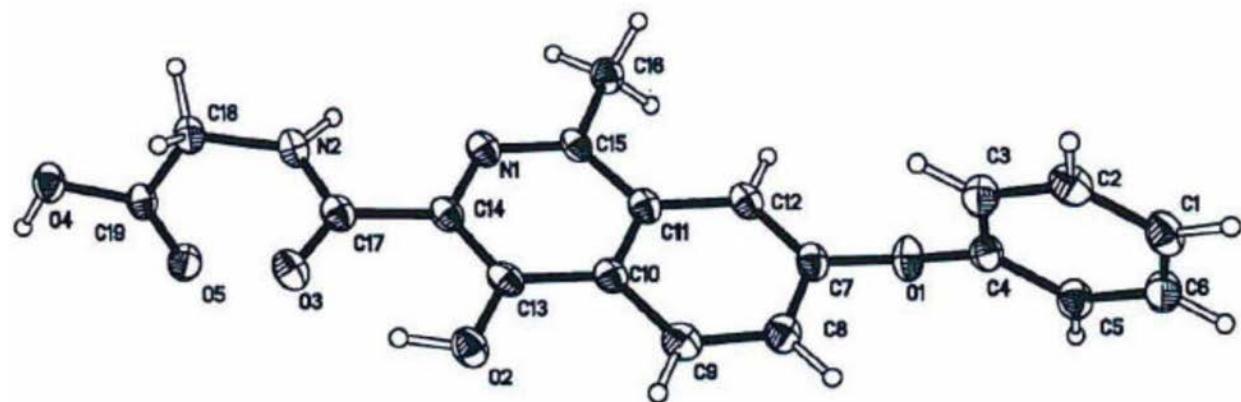


图37