



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 105452227 B

(45)授权公告日 2018.05.29

(21)申请号 201480016402.9

迈克尔·P·阿伦

(22)申请日 2014.01.23

(74)专利代理机构 北京路浩知识产权代理有限公司 11002

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 105452227 A

代理人 王朋飞 瞿卫军

(43)申请公布日 2016.03.30

(51)Int.Cl.

(30)优先权数据

61/756,361 2013.01.24 US

C07D 217/26(2006.01)

A61K 31/472(2006.01)

A61P 7/06(2006.01)

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2015.09.16

(56)对比文件

WO 2009/075826 A1,2009.06.18,

WO 2009/075826 A1,2009.06.18,

CN 101374815 A,2009.02.25,

Mino R.Caira.Crystalline

Polymorphism of Organic Compounds.《Topics in Current Chemistry》.1998,第198卷164-208.

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2014/012780 2014.01.23

(87)PCT国际申请的公布数据

W02014/116849 EN 2014.07.31

(73)专利权人 菲布罗根有限公司

地址 美国加利福尼亚州

审查员 张洁

(72)发明人 克劳迪娅·维奇

迈克尔·D·汤普森 朴郑民

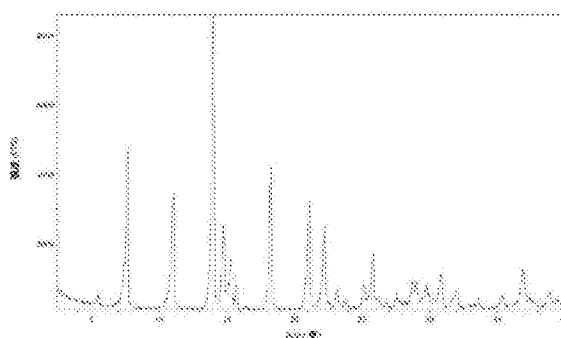
权利要求书3页 说明书24页 附图12页

(54)发明名称

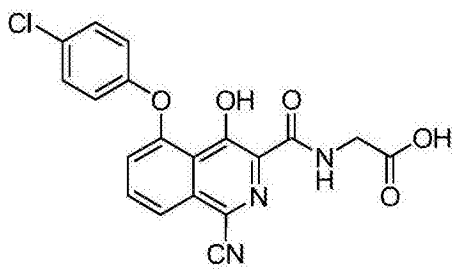
{[1-氰基-5-(4-氯苯氧基)-4-羟基-异喹啉-3-羰基]-氨基}-乙酸的晶形

(57)摘要

本发明涉及{[1-氰基-5-(4-氯苯氧基)-4-羟基-异喹啉-3-羰基]-氨基}-乙酸(化合物A)的晶形,化合物A晶形的制备方法,含有所述晶形的药物组合物以及该组合物的使用方法。



1. 化合物A {[1-氰基-5-(4-氯苯氧基)-4-羟基-异喹啉-3-羰基]-氨基}-乙酸的晶形2, 其具有以下结构:



其特征在于,所述的晶形2的X射线粉末衍射图包含在 $10.6, 11.5$, 和 $19.3^{\circ}2\theta \pm 0.2^{\circ}2\theta$ 处的峰,并且所述X射线粉末衍射图还包含选自 $8.1, 14.5, 16.2, 21.5, 21.9, 22.7, 24.5$ 和 $26.6^{\circ}2\theta \pm 0.2^{\circ}2\theta$ 的至少一个峰,所述的X射线粉末衍射图是使用Cu-K α 照射所得。

2. 如权利要求1所述的化合物A的晶形2,其中所述衍射图还在 $14.5, 16.2, 24.5$ 和 $26.6^{\circ}2\theta \pm 0.2^{\circ}2\theta$ 处有峰。

3. 如权利要求1所述的化合物A的晶形2,其中所述衍射图包含在 $7.2, 8.1, 10.6, 11.5, 13.9, 14.5, 16.2, 19.3, 21.5, 21.9, 22.7, 23.2, 24.5, 25.9, 26.6, 27.8$ 和 $29.1^{\circ}2\theta \pm 0.2^{\circ}2\theta$ 处的峰。

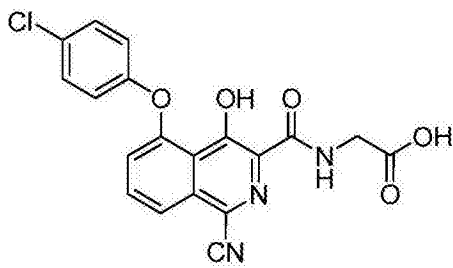
4. 如权利要求3所述的化合物A的晶形2,其中所述衍射图大体上如图3中所示。

5. 如权利要求1所述的化合物A的晶形2,其特征在于在 249°C 处有吸热峰的差示扫描量热曲线。

6. 如权利要求5所述的化合物A的晶形2,其中所述差示扫描量热曲线大体上如图4中所示。

7. 如权利要求1所述的化合物A的晶形2,具有大体上如图3中所示的衍射图和大体上如图4中所示的差示扫描量热曲线。

8. 一种药物组合物包含化合物A {[1-氰基-5-(4-氯苯氧基)-4-羟基-异喹啉-3-羰基]-氨基}-乙酸的一种或多种晶形和至少一种药学上可接受的赋形剂,所述化合物A具有以下结构:



其特征在于,所述化合物A的晶形包含权利要求1-7任一项所述的晶形2。

9. 如权利要求8所述的药物组合物,其中所述晶形是化合物A的晶形2。

10. 如权利要求8所述的药物组合物,其中至少95%的所述晶形是化合物A的晶形2。

11. 如权利要求8所述的药物组合物,其中至少99%的所述晶形是化合物A的晶形2。

12. 如权利要求8所述的药物组合物,其中至少99.9%的所述晶形是化合物A的晶形2。

13. 如权利要求8所述的药物组合物,其中至少99.99%的所述晶形是化合物A的晶形2。

14. 如权利要求8所述的药物组合物,其中所述组合物被配制为用于口服给药。

15. 如权利要求8所述的药物组合物,其中所述组合物被配制为片剂或胶囊剂。
16. 一种权利要求8所述的组合物在制备用于治疗、或预防与低氧诱导因子有关或至少部分由其介导的病症,或延迟所述病症的发病的药物中的用途。
17. 一种权利要求8所述的组合物在制备用于治疗、或预防与红细胞生成素有关或至少部分由其介导的病症,或延迟所述病症的发病的药物中的用途。
18. 一种权利要求8所述的组合物在制备用于治疗、或预防贫血或延迟贫血发病的药物中的用途。
19. 制备权利要求1-7任一项所述的化合物A {[1-氰基-5-(4-氯苯氧基)-4-羟基-异喹啉-3-羰基]-氨基}-乙酸的晶形2的方法,其包括:
- a) 加热包含 {[1-氰基-5-(4-氯苯氧基)-4-羟基-异喹啉-3-羰基]-氨基}-乙酸的盐的混合物;
 - b) 向所述混合物中加入酸并继续加热;
 - c) 冷却所述混合物;以及
 - d) 分离化合物A的晶形2。
20. 如权利要求19所述的方法,其中所述化合物A的盐通过将化合物A与碱混合来提供。
21. 如权利要求20所述的方法,其中所述碱是氢氧化钠。
22. 如权利要求19所述的方法,其中所述方法在水中进行。
23. 如权利要求19所述的方法,其中所述加热是大于80℃的温度。
24. 如权利要求19所述的方法,其中所述加热是80-85℃的温度。
25. 如权利要求19所述的方法,其中所述酸是乙酸。
26. 如权利要求19所述的方法,其中所述化合物A的盐通过将乙基1-氰基-5-(4-氯苯氧基)-4-羟基-异喹啉-3-羧酸酯、甘氨酸和碱混合来提供。
27. 如权利要求26所述的方法,其中所述碱是甲醇钠。
28. 制备权利要求1-7任一项所述的化合物A {[1-氰基-5-(4-氯苯氧基)-4-羟基-异喹啉-3-羰基]-氨基}-乙酸的晶形2的方法,其包括:
- a) 在水中将包含 {[1-氰基-5-(4-氯苯氧基)-4-羟基-异喹啉-3-羰基]-氨基}-乙酸的钠盐的混合物加热至80-85℃;
 - b) 向所述混合物中加入乙酸,并在80-85℃继续加热;
 - c) 冷却所述混合物;以及
 - d) 分离化合物A的晶形2。
29. 如权利要求28所述的方法,其中所述化合物A的钠盐通过将化合物A与氢氧化钠混合来提供。
30. 制备权利要求1-7任一项所述的化合物A {[1-氰基-5-(4-氯苯氧基)-4-羟基-异喹啉-3-羰基]-氨基}-乙酸的晶形2的方法,其包括在适合的溶剂中加热所述化合物A,和分离所述化合物A的晶形2。
31. 如权利要求30所述的方法,其中所述适合的溶剂是乙酸异丙酯且加热在回流下进行。
32. 如权利要求30所述的方法,其中所述适合的溶剂是水且加热在80℃下进行。
33. 制备权利要求1-7任一项所述的化合物A {[1-氰基-5-(4-氯苯氧基)-4-羟基-异喹

啉-3-羰基]-氨基}-乙酸的晶形2的方法,其包括加热所述的化合物A的晶形1,其中晶形1的特征在于,所述的晶形1的X射线粉末衍射图包含在 11.2 和 $18.3^{\circ}2\theta \pm 0.2^{\circ}2\theta$ 处的峰,并且所述X射线粉末衍射图还包含选自 7.7 、 13.8 、 14.7 、 15.3 、 15.8 、 21.1 和 $22.2^{\circ}2\theta \pm 0.2^{\circ}2\theta$ 的至少一个峰,所述的X射线粉末衍射图是使用Cu-K α 照射所得。

34.如权利要求33所述的方法,其中所述晶形1的衍射图还在 7.7 、 13.8 、 21.1 和 $22.2^{\circ}2\theta \pm 0.2^{\circ}2\theta$ 处有峰。

35.如权利要求33所述的方法,其中所述晶形1的衍射图还在 7.7 、 11.2 、 13.8 、 14.7 、 15.3 、 15.8 、 18.3 、 21.1 、 22.2 、 23.2 、 25.2 、 25.9 和 $27.7^{\circ}2\theta \pm 0.2^{\circ}2\theta$ 处有峰。

36.如权利要求35所述的方法,其中所述晶形1的衍射图大体上如图1中所示。

37.如权利要求33所述的方法,其中所述晶形1的特征在于在 251°C 处有吸热峰的差示扫描量热曲线。

38.如权利要求37所述的方法,其中所述晶形1还在 210°C 处有放热峰。

39.如权利要求38所述的方法,其中所述晶形1的差示扫描量热曲线大体上如图2中所示。

40.如权利要求33所述的方法,其中所述晶形1具有大体上如图1中所示的衍射图,以及大体上如图2中所示的差示扫描量热曲线。

[[1-氰基-5-(4-氯苯氧基)-4-羟基-异喹啉-3-羰基]-氨基]-乙酸的晶形

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求根据美国法典35U.S.C.§119(e)于2013年1月24日提交的申请号61/756361的美国临时申请的权益,其全部内容通过引用的方式并入本文。

背景技术

[0003] 领域

[0004] 本发明涉及[[1-氰基-5-(4-氯苯氧基)-4-羟基-异喹啉-3-羰基]-氨基]-乙酸(化合物A)的晶形,化合物A晶形的制备方法,含有所述晶形的药物组合物以及该组合物的使用方法。

[0005] 现有技术状态

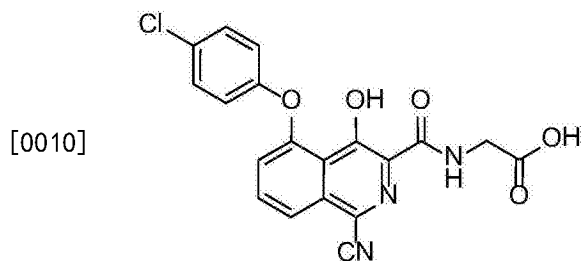
[0006] [[1-氰基-5-(4-氯苯氧基)-4-羟基-异喹啉-3-羰基]-氨基]-乙酸(下文中称为化合物A)是低氧诱导因子(HIF)脯氨酰羟化酶的强效抑制剂。HIF脯氨酰羟化酶抑制剂有利于提高HIF的稳定性和/或活性,且有利于治疗和预防与HIF有关的紊乱,包括贫血、缺血和低氧。美国专利号7928120描述了包括化合物A的化合物家族,包括其结构、合成和使用方法,其全部内容通过引用的方式并入本文。

[0007] 一种化合物可以以一种或多种晶体的形式存在。一种药物物质的各种晶形可以具有不同的化学和物理性质,包括熔点、化学反应性、溶解度、溶解速率、光学和机械性能、蒸汽压、吸湿性、颗粒形状、密度、流动性以及相容性。这些性质对加工和/或制造作为药物产品的化合物的能力有直接影响。晶形也可以显示出不同的稳定性和生物利用度。药物研发期间,常基于转化为另一种晶形的最小潜能和其较高的化学稳定性来选择药物产品最稳定的晶形。为了确保药物产品的质量、安全性和功效,选择稳定的、可再生产制备的且具有有利物化性质的晶形很重要。因此,本文提供的是化合物A的晶形,其可被制造为药物产品,且可用于治疗和预防与HIF有关的紊乱,包括涉及贫血、缺血和低氧的病症。

发明内容

[0008] 本发明涉及化合物A的晶形和晶形的制备方法。

[0009] 本发明的一个方面涉及具有以下结构的[[1-氰基-5-(4-氯苯氧基)-4-羟基-异喹啉-3-羰基]-氨基]-乙酸(化合物A)的晶形:



[0011] 在一个实施方案中,提供了[[1-氰基-5-(4-氯苯氧基)-4-羟基-异喹啉-3-羰基]-

氨基}-乙酸(化合物A)的晶形1。在一个实施方案中,化合物A形式1的特征在于如使用Cu-K α 照射的衍射图中所确定的,具有包含选自7.7、11.2、13.8、14.7、15.3、15.8、18.3、21.1和22.2°2 θ ±0.2°2 θ 的至少一个峰的X射线粉末衍射图(XRPD)。在一个实施方案中,形式1的特征在于具有在18.3±0.2°2 θ 处有峰的X射线粉末衍射图。在另一个实施方案中,形式1的衍射图还在11.2±0.2°2 θ 处有峰。在另一个实施方案中,形式1的衍射图还在7.7、13.8、21.1和22.2°2 θ ±0.2°2 θ 处有峰。在另一个实施方案中,化合物A形式1的衍射图大体上如图1中所示。

[0012] 在一个实施方案中,化合物A形式1的特征在于在约251℃处有吸热峰(endotherm)的差示扫描量热(DSC)曲线。在另一个实施方案中,形式1的DSC曲线还在约210℃处有放热峰。在另一个实施方案中,化合物A形式1的DSC曲线大体上如图2中所示。

[0013] 在一个实施方案中,化合物A形式1的特征在于如使用Cu-K α 照射的衍射图中所确定的,具有包含选自7.7、11.2、13.8、14.7、15.3、15.8、18.3、21.1和22.2°2 θ ±0.2°2 θ 的至少一个峰的X射线粉末衍射图;且在于在约251℃处有吸热峰的差示扫描量热(DSC)曲线。在一个实施方案中,形式1的特征在于具有在18.3±0.2°2 θ 有峰的X射线粉末衍射图;且在于在约251℃处有吸热峰的差示扫描量热(DSC)曲线。在另一个实施方案中,形式1的衍射图还在11.2、7.7、13.8、21.1和22.2°2 θ ±0.2°2 θ 处有峰;且形式1的DSC曲线还在约210℃处有放热峰。在另一个实施方案中,化合物A形式1的衍射图大体上如图1中所示;且化合物A形式1的DSC曲线大体上如图2中所示。

[0014] 在一个实施方案中,本发明提供了{[1-氰基-5-(4-氯苯氧基)-4-羟基-异喹啉-3-羰基]-氨基}-乙酸(化合物A)的晶形2。在一个实施方案中,化合物A形式2的特征在于如使用Cu-K α 照射的衍射图中所确定的,具有在选自8.1、10.6、11.5、14.5、16.2、19.3、21.5、21.9、22.7、24.5和26.6°2 θ ±0.2°2 θ 处有至少一个峰的X射线粉末衍射图。在一个实施方案中,形式2的特征在于具有在19.3±0.2°2 θ 处有峰的X射线粉末衍射图。在另一个实施方案中,形式2的衍射图还在10.6和11.5°2 θ ±0.2°2 θ 处有峰。在另一个实施方案中,形式2的衍射图还在14.5、16.2、24.5和26.6°2 θ ±0.2°2 θ 处有峰。在另一个实施方案中,化合物A形式2的衍射图大体上如图3中所示。

[0015] 在一个实施方案中,化合物A形式2的特征在于在约249℃处有吸热峰的差示扫描量热(DSC)曲线。在另一个实施方案中,化合物A形式2的DSC曲线大体上如图4中所示。

[0016] 在一个实施方案中,化合物A形式2的特征在于如使用Cu-K α 照射的衍射图中所确定的,具有在选自8.1、10.6、11.5、14.5、16.2、19.3、21.5、21.9、22.7、24.5和26.6°2 θ ±0.2°2 θ 处有至少一个峰的X射线粉末衍射图;且在于在约249℃处有吸热峰的差示扫描量热(DSC)曲线。在一个实施方案中,形式2的特征在于具有在19.3±0.2°2 θ 处有峰的X射线粉末衍射图;且在于在约249℃处有吸热峰的DSC曲线。在另一个实施方案中,形式2的衍射图还在10.6、11.5、14.5、16.2、24.5和26.6°2 θ ±0.2°2 θ 处有峰;且在于在约249℃处有吸热峰的DSC曲线。在另一个实施方案中,化合物A形式2的衍射图大体上如图3中所示;且化合物A形式2的DSC曲线大体上如图4中所示。

[0017] 在另一个方面中,本发明涉及制备{[1-氰基-5-(4-氯苯氧基)-4-羟基-异喹啉-3-羰基]-氨基}-乙酸(化合物A)的晶形1的方法。在一个实施方案中,该方法包括:

[0018] a) 可选地在碱的存在下加热包含{[1-氰基-5-(4-氯苯氧基)-4-羟基-异喹啉-3-

羰基]-氨基)-乙酸(化合物A)的盐的混合物;

[0019] b) 冷却该混合物;以及

[0020] c) 向该混合物中加入酸。

[0021] 在一个实施方案中,该方法还包括分离化合物A的形式1。

[0022] 在某些实施方案中,制备{[1-氰基-5-(4-氯苯氧基)-4-羟基-异喹啉-3-羰基]-氨基}-乙酸(化合物A)的晶形1的方法包括:

[0023] a) 在甲醇中加热包含乙基1-氰基-5-(4-氯苯氧基)-4-羟基-异喹啉-3-羧酸酯、甘氨酸和甲氧基钠的混合物;

[0024] b) 冷却该混合物;以及

[0025] c) 向该混合物中加入盐酸。

[0026] 在一个实施方案中,该方法还包括分离化合物A的形式1。

[0027] 在一个实施方案中,制备{[1-氰基-5-(4-氯苯氧基)-4-羟基-异喹啉-3-羰基]-氨基}-乙酸(化合物A)的晶形1的方法包括在适合的溶剂中加热化合物A。在一个实施方案中,该方法还包括分离化合物A的形式1。

[0028] 在另一个方面中,本发明涉及制备{[1-氰基-5-(4-氯苯氧基)-4-羟基-异喹啉-3-羰基]-氨基}-乙酸(化合物A)的晶形2的方法。在一个实施方案中,该方法包括:

[0029] a) 加热包含{[1-氰基-5-(4-氯苯氧基)-4-羟基-异喹啉-3-羰基]-氨基}-乙酸(化合物A)的盐的混合物;

[0030] b) 向混合物中加入酸并继续加热;以及

[0031] c) 冷却该混合物。

[0032] 在一个实施方案中,该方法还包括分离化合物A的形式2。

[0033] 在某些实施方案中,制备{[1-氰基-5-(4-氯苯氧基)-4-羟基-异喹啉-3-羰基]-氨基}-乙酸(化合物A)的晶形2的方法包括:

[0034] a) 在水中将包含{[1-氰基-5-(4-氯苯氧基)-4-羟基-异喹啉-3-羰基]-氨基}-乙酸(化合物A)的钠盐的混合物加热至约80-85℃;

[0035] b) 向该混合物中加入乙酸,并在约80-85℃继续加热;以及

[0036] c) 冷却该混合物。

[0037] 在一个实施方案中,该方法还包括分离化合物A的形式2。

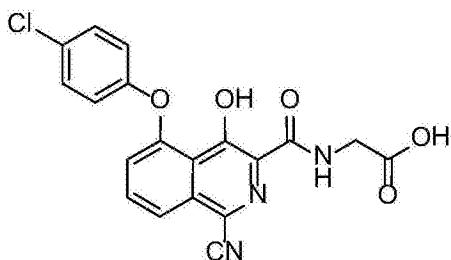
[0038] 在一个实施方案中,制备{[1-氰基-5-(4-氯苯氧基)-4-羟基-异喹啉-3-羰基]-氨基}-乙酸(化合物A)的晶形2的方法包括在适合的溶剂中加热化合物A。在一个实施方案中,该方法还包括分离化合物A的形式2。

[0039] 在一个实施方案中,制备{[1-氰基-5-(4-氯苯氧基)-4-羟基-异喹啉-3-羰基]-氨基}-乙酸(化合物A)的晶形2的方法包括加热化合物A的形式1。

[0040] 在一个实施方案,该方法还包括分离化合物A形式2。

[0041] 在另一个方面中,本发明涉及包含具有以下结构的{[1-氰基-5-(4-氯苯氧基)-4-羟基-异喹啉-3-羰基]-氨基}-乙酸(化合物A)的一种或多种晶形和至少一种药学上可接受的赋形剂的药物组合物:

[0042]



[0043] 在一个实施方案中,药物组合物包含化合物A形式1和至少一种药学上可接受的赋形剂。在另一个实施方案中,药物组合物包含其至少90%以形式1存在的化合物A和至少一种药学上可接受的赋形剂。在又一个实施方案中,药物组合物包含其至少95%、98%、99%、99.5%、99.8%、99.9%、99.95%、99.98%或99.99%以形式1存在的化合物A和至少一种药学上可接受的赋形剂。在另一个实施方案中,药物组合物包含其至少90%-99.99%以形式1存在的化合物A和至少一种药学上可接受的赋形剂。

[0044] 在一个实施方案中,药物组合物包含化合物A形式2和至少一种药学上可接受的赋形剂。在另一个实施方案中,药物组合物包含其至少90%以形式2存在的化合物A和至少一种药学上可接受的赋形剂。在又一个实施方案中,药物组合物包含其至少95%、98%、99%、99.5%、99.8%、99.9%、99.95%、99.98%或99.99%以形式2存在的化合物A和至少一种药学上可接受的赋形剂。在另一个实施方案中,药物组合物包含其至少90%-99.9%以形式2存在的化合物A和至少一种药学上可接受的赋形剂。在一个实施方案中,药物组合物包含其至多10%、5%、2%、1%、0.5%、0.2%、0.1%、0.05%、0.02%或0.01%以形式1存在的化合物A和至少一种药学上可接受的赋形剂。在一个实施方案中,药物组合物包含其至多0.1%-10%以形式1存在的化合物A和至少一种药学上可接受的赋形剂。

[0045] 在一个实施方案中,药物组合物还包含选自维生素B12、叶酸、硫酸亚铁、重组人红细胞生成素和红血球生成刺激剂(ESA)的其它治疗剂。在另一个实施方案中,药物组合物被配制为用于口服给药(oral delivery)。在另一个实施方案中,药物组合物被配制为片剂或胶囊剂。

[0046] 在另一个方面中,本发明涉及治疗、预防或延迟与低氧诱导因子(HIF)有关或至少部分由其介导的病症的发病的方法,该方法包括对患者施用治疗有效量的包含化合物A一种或多种晶形的药物组合物。在一个实施方案中,与HIF有关或至少部分由其介导的病症是与缺血或低氧有关的组织损伤。在另一个实施方案中,缺血与选自心肌梗塞、肺栓塞、肠梗塞、慢性肾衰竭、缺血性中风、肾缺血再灌注损伤、心源性肝硬化、短暂性脑缺血发作、黄斑变性、外周动脉疾病和充血性心力衰竭的缺血性事件有关。在该方法的一个实施方案中,药物组合物包含化合物A形式1。在该方法的一个实施方案中,药物组合物包含化合物A形式2。

[0047] 在另一个方面中,本发明涉及治疗、预防或延迟与红细胞生成素(EPO)有关或至少部分由其介导的病症的发病的方法,该方法包括对患者施用治疗有效量的包含化合物A一种或多种晶形的药物组合物。在该方法的一个实施方案中,药物组合物包含化合物A形式1。在该方法的一个实施方案中,药物组合物包含化合物A形式2。

[0048] 在另一个方面中,本发明涉及治疗、预防或延迟贫血发病的方法,该方法包括对患者施用治疗有效量的包含化合物A一种或多种晶形的药物组合物。在一个实施方案中,贫

血与选自糖尿病、癌症、溃疡、肾病、免疫抑制性疾病、感染和炎症的慢性疾病或病症有关。在另一个实施方案中,贫血与选自放射治疗、化疗、透析和手术的程序(procedure)或治疗有关。在另一个实施方案中,贫血与由出血失调、创伤、损伤、手术等引起的失血有关。在又一个实施方案中,贫血与异常血红蛋白、异常红细胞或铁运输、处理或利用中的缺陷有关。在该方法的一个实施方案中,药物组合物包含组合物A形式1。在该方法的一个实施方案中,药物组合物包含化合物A形式2。

[0049] 附图简要说明

[0050] 图1是化合物A晶形1的XRPD图谱。

[0051] 图2是化合物A晶形1的DSC图谱。

[0052] 图3是化合物A晶形2的XRPD图谱。

[0053] 图4是化合物A晶形2的DSC图谱。

[0054] 图5示出化合物A溶剂化物XRPD3和XRPD4的XRPD图谱。

[0055] 图6示出化合物A形式2和化合物A溶剂化物XRPD 3、XRPD 4、XRPD 5、XRPD 6和XRPD 7的XRPD图谱。

[0056] 图7示出化合物A形式2和化合物A溶剂化物XRPD 3、XRPD 4、XRPD 5、XRPD 6和XRPD 7的¹H-NMR光谱。

[0057] 图8展示出对小鼠间歇给药一周之后,化合物A增加了血细胞比容(hematocrit)和血红蛋白。

[0058] 图9展示出对正常猴每日给药2周后,化合物A增加了血细胞比容和血红蛋白。

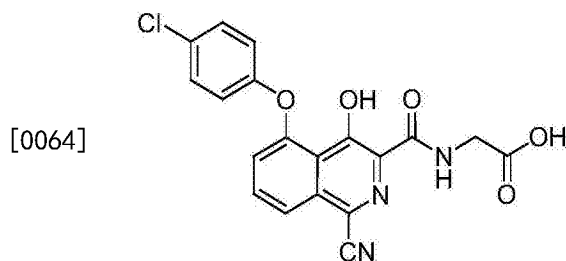
[0059] 图10展示出化合物A增加了大鼠慢性疾病贫血中的血细胞比容和血红蛋白。

[0060] 图11展示出化合物A缓解了大鼠慢性肾病的贫血。

[0061] 图12示出化合物A增加了人类红细胞生成素的平均最大血浆水平。

[0062] 详细说明

[0063] 如上所看到的,本发明部分涉及具有以下结构的{[1-氰基-5-(4-氯苯氧基)-4-羟基-异喹啉-3-羰基]-氨基}-乙酸(化合物A)的晶形:



[0065] 在进一步详细讨论之前,将对以下术语进行定义。

[0066] 1. 定义

[0067] 本文中使用的以下术语具有以下含义。

[0068] 除非上下文另外清楚地指明,单数形式的“一个(a)”、“一种(an)”以及“该(the)”等包括复数的所指对象(referent)。因此,例如,对“一种化合物”的提及即包括单种化合物还包括多种不同化合物。

[0069] 数字表达例如温度、时间、量和浓度(包括范围)之前使用的术语“约(about)”表示可能有±10%、±5%或±1%变化的近似值。

[0070] “给药/施用(administration)”指的是将药剂引入患者。可以施用的治疗量可由治疗医生等确定。对于本文中描述化合物A晶形,优选口服给药途径。有关的术语和短语“给药/施用(administering)”和“给药/施用(administration of)”当与一种化合物或药物组合物(以及语法上的等同物)联合使用时都指的是可由医学专业人士对患者施用或由患者自己施用的直接给药,和/或指的是可以为开药物处方行为的间接给药。例如,指导患者自己施用药物和/或给患者提供药物处方的医生对患者施用药物。无论如何,给药指将药物递送给患者。

[0071] “表征(characterization)”指的是获得可用于鉴定和区分化合物固体形式的数据,例如,鉴定固体形式是无定形的还是结晶的以及其是非溶剂化的还是溶剂化的。表征固体形式的方法包括分析收集的关于多晶型的数据,从而使本领域普通技术人员将一种固体形式同含有相同材料的其它固体形式区分开。固体形式的化学鉴定常可用溶液态技术(solution-state technique)如 ^{13}C NMR或 ^1H NMR来确定。虽然这些技术可有助于鉴定材料和溶剂化物的溶剂分子,但这种溶液态技术本身可能不提供关于固体状态的信息。然而,可用于提供关于固态结构的信息和区分多晶型固体形式的固态分析技术,如单晶X射线衍射法、X射线粉末衍射法(XRPD)、固态核磁共振法(SS-NMR)和红外拉曼光谱法,以及热技术如差示扫描量热法(DSC)、热重量分析法(TG)、熔点和热台显微镜法是存在的。

[0072] 要“表征”一种化合物的固体形式,技术人员可以例如收集关于化合物固体形式的XRPD数据并比较该形式的XRPD峰。例如,当仅比较两种固体形式1和2且在形式2图谱中没有出现峰的角度处形式1图谱示出峰时,那么对于该化合物,此峰将形式1和形式2区分开且还用于表征形式1。将形式1同其它已知形式区分开的峰的集合是可用于表征形式1的峰的集合。本领域普通技术人员将认识到常有多种方式,包括使用相同分析技术的多种方式,以表征固体形式。还可以(但不必需)使用其它峰以表征多达和包括整个衍射图谱的形式。虽然整个XRPD图谱内的所有峰可用于表征这种形式,该数据子集可以且典型地用于表征该形式。

[0073] 化合物A的“晶形”是化合物A的结晶固体形式,例如形式1或形式2。形式1或形式2的晶格基本上没有结晶溶剂。然而,存在的任何溶剂没有包含在晶格内,而随意分布在晶格外。因此,大量的形式1或形式2的结晶可含有在晶格外的少量的一种或多种溶剂,如其合成或结晶中使用的溶剂。如上所使用的“基本上没有”和“少量”指的是存在优选少于每百万份中10000份(ppm)或更优选少于500ppm的溶剂。

[0074] 本文中使用的“赋形剂”指的是药物产品生产中使用的惰性或不活泼的物质,包括但不限于用作粘合剂、崩解剂、涂料、压缩/封装助剂、乳膏剂或洗剂、润滑剂、注射用药物(parenteral)、甜味剂或调味剂、悬浮/胶凝剂或湿法制粒剂的任何物质。粘合剂包括例如羧乙烯聚合物(carbopol)、聚维酮(povidone)、黄原胶等;涂料包括例如邻苯二甲酸乙酸纤维素、乙基纤维素、结冷胶(gellan gum)、麦芽糊精等;压缩/封装助剂包括例如碳酸钙、右旋糖、果糖dc(dc=“可直接压缩的”)、蜂蜜dc、乳糖(无水物或一水合物;可选地与阿斯巴甜、纤维素或微晶纤维素结合)、淀粉dc、蔗糖等;崩解剂包括例如交联羧甲基纤维素钠、结冷胶、羧基乙酸淀粉钠等;乳膏剂和洗剂包括例如麦芽糊精、卡拉胶等;润滑剂包括例如硬脂酸镁、硬脂酸、硬脂酰醇富马酸钠等;用于咀嚼片的材料包括例如右旋糖、果糖dc、乳糖(一水合物,可选地与阿斯巴甜或纤维素结合)等;注射用药物包括例如甘露醇、聚维酮等;

塑化剂包括例如癸二酸二丁酯、聚酯酸乙烯酞酸酯等；悬浮/胶凝剂包括例如卡拉胶、羧基乙酸淀粉钠、黄原胶等；甜味剂包括例如阿斯巴甜、右旋糖、果糖dc、山梨醇、蔗糖dc等；以及湿法制粒剂包括例如碳酸钙、麦芽糊精、微晶纤维素等。

[0075] “成熟 (maturation)”或“熟化 (maturing)”指的是在特定溶剂中培养固体材料混合物,进行一特定时间段的加热/冷却循环。例如,于室温下进行熟化4h,接着于50℃下培养另外4h(于50℃/室温下(4h-循环)培养),共经历16-24小时。

[0076] “室温”指的是(22±5)℃。

[0077] “治疗有效量”或“治疗量”指的是当被施用于患有病症的患者时将具有预期治疗效果例如缓解、改善、减轻或消除患者病症的一种或多种临床表现的药物或药剂的量。该治疗有效量会随治疗的个体和病症、个体的重量和年龄、病症严重程度、选择的特定组合物或赋形剂、待遵循的给药方案、给药时间、给药方式等变化,所有这些可由本领域普通技术人员容易地确定。完全治疗效果并不一定会通过施用一次剂量发生,仅可能在施用一系列剂量之后发生。因此,治疗有效量可以在一次或多次给药中施用。例如,但并非限制,在治疗贫血的情况下,治疗有效量的药剂指的是缓解、改善、减轻或消除患者贫血的一种或多种症状的药剂的量。

[0078] “治疗 (treatment)”、“治疗 (treating)”和“治疗 (treat)”被定义为用药剂作用于疾病、紊乱或病症,以降低或改善疾病、紊乱或病症和/或其症状的有害或任何其它不期望的效果。本文中使用的治疗涵盖了对人类患者的治疗,且包括:(a)降低确定易患疾病但还未诊断出患有病症的患者的病症发生的风险,(b)阻止病症的发展,和/或(c)减轻病症,即引起病症消退和/或减轻病症的一种或多种症状。

[0079] “XRPD图谱”是x轴为衍射角(典型地 2θ)和y轴为强度的x-y图。该图谱内的峰可用于表征结晶固体形式。与任何数据测量一样,XRPD数据有可变性。数据通常仅由峰的衍射角来表示,而不包括峰的强度,因为峰强度会对样品制备特别敏感(例如,粒径、含水量、溶剂含量和优选的定向效应影响该敏感性),因此在不同条件下制备的相同材料的样品可产生略微不同的图谱;该可变性通常比衍射角的可变性大。衍射角可变性也会对样品制备敏感。可变性的其它来源来自仪器参数和原始X射线数据的处理:不同X射线仪器使用不同参数进行操作,且这些变化可能引起相同固体形式的XRPD图谱略微不同,且类似地,不同软件包按不同方式处理X射线数据,且这也引起可变性。可变性的这些和其它来源是制药领域的普通技术人员已知的。由于这种可变性的来源,通常XRPD图谱中衍射角分配有 $\pm 0.2^\circ 2\theta$ 的可变性。

[0080] 2. 化合物A晶形的制备

[0081] 在一个方面中,本发明涉及制备{[1-氰基-5-(4-氯苯氧基)-4-羟基-异喹啉-3-羰基]-氨基}-乙酸(化合物A)的晶形1的方法。在一个实施方案中,该方法包括:

[0082] a) 可选地在碱的存在下加热包含{[1-氰基-5-(4-氯苯氧基)-4-羟基-异喹啉-3-羰基]-氨基}-乙酸(化合物A)的盐的混合物;

[0083] b) 冷却该混合物;以及

[0084] c) 向该混合物中加入酸。

[0085] 对于该方法典型地,碱(如果被加入)对于盐过量。例如,对于1当量盐,加入约2至约20当量的碱、约5至约15当量的碱、约10至约15当量的碱或约10、约11、约12、约13、约14或

约15当量的碱。对于该方法典型地,加热在约60℃至约85℃、约65℃至约82℃或约65℃、约80℃或约82℃下进行,直到通过LC-MS确定反应完成。典型地,加入酸以使混合物pH为约1至约4、pH为约2至约3或pH为约3。

[0086] 在一个实施方案中,本方法还包括分离化合物A形式1。

[0087] 在一个实施方案中,通过将乙基1-氰基-5-(4-氯苯氧基)-4-羟基-异喹啉-3-羧酸酯、甘氨酸和碱混合来提供{[1-氰基-5-(4-氯苯氧基)-4-羟基-异喹啉-3-羰基]-氨基}-乙酸(化合物A)的盐。对于该方法典型地,对于1当量的乙基1-氰基-5-(4-氯苯氧基)-4-羟基-异喹啉-3-羧酸酯,加入约15至约25当量的甘氨酸和约10至约20当量的碱,或约20当量的甘氨酸和约15当量的碱。

[0088] 在一个实施方案中,碱是甲氧基钠。

[0089] 在一个实施方案中,酸是盐酸。

[0090] 在一个实施方案中,该方法在甲醇中进行。

[0091] 在另一个实施方案中,制备化合物A晶形1的方法包括:

[0092] a) 在甲醇中加热包含乙基1-氰基-5-(4-氯苯氧基)-4-羟基-异喹啉-3-羧酸酯、甘氨酸和甲氧基钠的混合物;

[0093] b) 冷却该混合物;

[0094] c) 向该混合物中加入盐酸;以及

[0095] d) 分离化合物A形式1。

[0096] 对于该方法典型地,对于1当量的乙基1-氰基-5-(4-氯苯氧基)-4-羟基-异喹啉-3-羧酸酯,加入约15至约25当量的甘氨酸和约10至约20当量的甲氧基钠,或约20当量的甘氨酸和约15当量的甲氧基钠。对于该方法典型地,加热在回流下进行,直到通过LC-MS确定反应完成。典型地,加入酸以使混合物pH为约1至约4、pH为约2至约3或pH为约3。

[0097] 在一个实施方案中,本发明提供了制备{[1-氰基-5-(4-氯苯氧基)-4-羟基-异喹啉-3-羰基]-氨基}-乙酸(化合物A)的晶形1的方法,包括在适合的溶剂中加热化合物A。在一个实施方案中,本方法还包括分离化合物A形式1。

[0098] 在一个实施方案中,适合的溶剂是乙腈,且加热在回流(通常约81-82℃)下进行。典型地,进行加热直至形成清澈的溶液。典型地,将该溶液冷却至约室温,然后冷却至低温例如约5℃。

[0099] 在一个实施方案中,适合的溶剂是纯乙酸,且加热在约80℃下进行。

[0100] 在另一个实施方案中,制备化合物A晶形1的方法包括:

[0101] a) 于回流下在乙腈中加热化合物A;

[0102] b) 冷却该混合物;以及

[0103] c) 分离化合物A形式1。

[0104] 典型地,冷却至约室温。

[0105] 在另一个实施方案中,制备化合物A晶形1的方法包括:

[0106] a) 于约80℃下在纯乙酸中加热化合物A;

[0107] b) 冷却该混合物;以及

[0108] c) 分离化合物A形式1。

[0109] 典型地,冷却至约室温。

[0110] 在一个实施方案中,本发明提供了制备{[1-氰基-5-(4-氯苯氧基)-4-羟基-异喹啉-3-羰基]-氨基}-乙酸(化合物A)的晶形1的方法,包括将化合物A的XRPD 3或XRPD 4加热至大于约40℃的温度。

[0111] 在上述实施方案中,分离步骤可包括下述步骤中的一个或多个:冷却混合物、搅拌混合物、过滤、洗涤和在真空干燥箱中将固体干燥至恒重。

[0112] 在另一个方面中,本发明涉及制备{[1-氰基-5-(4-氯苯氧基)-4-羟基-异喹啉-3-羰基]-氨基}-乙酸(化合物A)的晶形2的方法。在一个实施方案中,该方法包括:

[0113] a) 加热包含{[1-氰基-5-(4-氯苯氧基)-4-羟基-异喹啉-3-羰基]-氨基}-乙酸(化合物A)的盐的混合物;

[0114] b) 向混合物中加入酸并继续加热;以及

[0115] c) 冷却该混合物。

[0116] 典型地,加入约3至约6当量或约5当量的酸。典型地,加热至约80℃。典型地,冷却至约室温。

[0117] 在一个实施方案中,该方法还包括分离化合物A形式2。

[0118] 在一个实施方案中,通过将化合物A与碱混合提供化合物A的盐。典型地,使用约1至1.5当量或约1.25当量的碱。

[0119] 在一个实施方案中,碱是氢氧化钠。

[0120] 在一个实施方案中,该方法在水中进行。

[0121] 在一个实施方案中,加热是大于约80℃的温度。在某些实施方案中,加热是约80-85℃的温度。

[0122] 在一个实施方案中,酸是乙酸。

[0123] 在一个实施方案中,通过将乙基1-氰基-5-(4-氯苯氧基)-4-羟基-异喹啉-3-羧酸酯、甘氨酸和碱混合来提供化合物A的盐。

[0124] 在一个实施方案中,碱是甲氧基钠。

[0125] 在另一个实施方案中,本发明提供了制备{[1-氰基-5-(4-氯苯氧基)-4-羟基-异喹啉-3-羰基]-氨基}-乙酸(化合物A)的晶形2的方法,包括:

[0126] a) 在水中将包含{[1-氰基-5-(4-氯苯氧基)-4-羟基-异喹啉-3-羰基]-氨基}-乙酸(化合物A)的钠盐的混合物加热至约80-85℃;

[0127] b) 向该混合物中加入乙酸,并在约80-85℃继续加热;

[0128] c) 冷却该混合物;以及

[0129] d) 分离化合物A形式2。

[0130] 在一个实施方案中,通过将化合物A与氢氧化钠混合来提供化合物A的钠盐。典型地,向化合物A中加入约1至1.5当量或约1.25当量的氢氧化钠。

[0131] 在一个实施方案中,制备化合物A晶形2的方法包括:

[0132] a) 在水中将包含化合物A和氢氧化钠的混合物加热至约80-85℃;

[0133] b) 向该混合物中加入乙酸,并在约80-85℃继续加热;

[0134] c) 冷却该混合物;以及

[0135] d) 分离化合物A形式2。

[0136] 在另一个实施方案中,本发明提供了制备{[1-氰基-5-(4-氯苯氧基)-4-羟基-异

喹啉-3-羰基]-氨基}-乙酸(化合物A)的晶形2的方法,包括在适合的溶剂中加热化合物A。在一个实施方案中,该方法还包括分离化合物A形式2。

[0137] 在一个实施方案中,适合的溶剂是乙酸异丙酯,且加热在回流下进行。典型地,在该实施方案中,加热进行1小时至过夜。

[0138] 在一个实施方案中,适合的溶剂是水,且加热在约80℃下进行。典型地,在该实施方案中,加热进行1小时至过夜。

[0139] 在一个实施方案中,制备化合物A晶形2的方法包括:

[0140] a) 在乙酸异丙酯中加热化合物A至回流;和

[0141] b) 分离化合物A形式2。

[0142] 在另一个实施方案中,制备化合物A晶形2的方法包括:

[0143] a) 于约80℃下在水中加热化合物A;和

[0144] b) 分离化合物A形式2。

[0145] 在另一个实施方案中,制备化合物A晶形2的方法包括于升温(例如约50℃)和某相对湿度(RH)(例如约75%RH)下使化合物A形式1熟化,由此形成化合物A形式2。在一个实施方案中,该方法还包括分离化合物A形式2。

[0146] 在另一个实施方案中,制备化合物A晶形2的方法包括加热化合物A晶形1,由此形成化合物A形式2。在一个实施方案中,加热包括约200℃的温度。在一个实施方案中,该方法还包括分离化合物A形式2。

[0147] 在另一个实施方案中,制备化合物A晶形2的方法中包括将化合物A的XRPD 5、XRPD 6或XRPD 7加热至大于约40℃的温度。

[0148] 在上述实施方案中,分离步骤可包括以下步骤的一个或多个:冷却混合物、搅拌混合物、过滤、洗涤和在真空干燥箱中干燥固体至恒重。

[0149] 3. 化合物A晶形的表征

[0150] 由如下讨论的各种方法表征{[1-氰基-5-(4-氯苯氧基)-4-羟基-异喹啉-3-羰基]-氨基}-乙酸(化合物A)的晶形。

[0151] X射线粉末衍射(XRPD)

[0152] 在一个实施方案中,化合物A形式1的特征在于如使用Cu-K α 照射的衍射图中所确定的,具有包含选自7.7、11.2、13.8、14.7、15.3、15.8、18.3、21.1和22.2°2 θ ±0.2°2 θ 的至少一个峰的X射线粉末衍射图。在一个实施方案中,形式1的特征在于具有在18.3±0.2°2 θ 处有峰的X射线粉末衍射图。在另一个实施方案中,形式1的衍射图还在11.2±0.2°2 θ 处有峰。在另一个实施方案中,形式1的衍射图还在7.7、13.8、21.1和22.2°2 θ ±0.2°2 θ 处有峰。在另一个实施方案中,化合物A形式1的衍射图大体上如图1中所示。

[0153] 在一个实施方案中,化合物A形式2的特征在于如使用Cu-K α 照射的衍射图中所确定的,具有包含选自8.1、10.6、11.5、14.5、16.2、19.3、21.5、21.9、22.7、24.5和26.6°2 θ ±0.2°2 θ 的至少一个峰的X射线粉末衍射图。在一个实施方案中,形式2的特征在于具有在19.3±0.2°2 θ 处有峰的X射线粉末衍射图。在另一个实施方案中,形式2的衍射图还在10.6和11.5°2 θ ±0.2°2 θ 处有峰。在另一个实施方案中,形式2的衍射图还在14.5、16.2、24.5和26.6°2 θ ±0.2°2 θ 处有峰。在另一个实施方案中,化合物A形式2的衍射图大体上如图3中所示。

[0154] 差示扫描量热法 (DSC)

[0155] 在一个实施方案中,化合物A形式1的特征在于在约251℃处有吸热峰的差示扫描量热 (DSC) 曲线。在另一个实施方案中,形式1的DSC曲线还在约210℃处有放热峰。在另一个实施方案中,化合物A形式1的DSC曲线大体上如图2中所示。

[0156] 在一个实施方案中,化合物A形式2的特征在于在约249℃处有吸热峰的差示扫描量热 (DSC) 曲线。在另一个实施方案中,化合物A形式2的DSC曲线大体上如图4中所示。

[0157] 在一个实施方案中,化合物A形式1的特征在于如使用Cu-K α 照射的衍射图中所确定的,具有包含选自7.7、11.2、13.8、14.7、15.3、15.8、18.3、21.1和22.2°2 θ ±0.2°2 θ 的至少一个峰的X射线粉末衍射图;且在于在约251℃处有吸热峰的差示扫描量热 (DSC) 曲线。在一个实施方案中,形式1的特征在于具有在18.3±0.2°2 θ 处有峰的X射线粉末衍射图;且在于在约251℃处有吸热峰的差示扫描量热 (DSC) 曲线。在另一个实施方案中,形式1的衍射图还在11.2、7.7、13.8、21.1和22.2°2 θ ±0.2°2 θ 处有峰;且形式1的DSC曲线还在约210℃处有放热峰。在另一个实施方案中,化合物A形式1的衍射图大体上如图1中所示;且化合物A形式1的DSC曲线大体上如图2中所示。

[0158] 在一个实施方案中,化合物A形式2的特征在于如使用Cu-K α 照射的衍射图中所确定的,具有包含选自8.1、10.6、11.5、14.5、16.2、19.3、21.5、21.9、22.7、24.5和26.6°2 θ ±0.2°2 θ 的至少一个峰的X射线粉末衍射图;且在于在约249℃处有吸热峰的差示扫描量热 (DSC) 曲线。在一个实施方案中,形式2的特征在于具有在19.3±0.2°2 θ 处有峰的X射线粉末衍射图;且在于在约249℃处有吸热峰的DSC曲线。在另一个实施方案中,形式2的衍射图还在10.6、11.5、14.5、16.2、24.5和26.6°2 θ ±0.2°2 θ 处有峰;且在于在约249℃处有吸热峰的DSC曲线。在另一个实施方案中,化合物A形式2的衍射图大体上如图3中所示;且化合物A的DSC曲线大体上如图4中所示。

[0159] 热重分析 (TGA)

[0160] 在一个实施方案中,化合物A形式1的热重分析显示直到在约260℃处开始降解时才有重量损失。

[0161] 在一个实施方案中,化合物A形式2的热重分析显示直到在约260℃处开始降解时才有重量损失。

[0162] 4. 化合物A晶形的稳定性

[0163] 已在不同条件下研究形式1和形式2的相对稳定性 (参见实施例3)。形式1和形式2都对湿度和高达至少200℃的温度稳定,且两种形式都表现出低吸湿性。

[0164] 一些实验 (参见实施例3) 示出形式1在以下各种条件下转化为形式2: 加热至200℃以上; 于5℃、25℃和50℃下在乙酸异丙酯 (IPAc) 中熟化; 于50℃/室温下在水中熟化; 以及通过在水中回流。未观察到形式2转化为形式1。然而,形式1于25℃下在水中6天后保持不变。

[0165] 因此,在研究的条件下形式2在热动力学上比形式1更稳定,因而形式2可在制造和配制化合物A方面提供优势。

[0166] 5. 化合物A的其它溶剂化物

[0167] 本发明还提供化合物A的溶剂化物。化合物A形式1在不同溶剂中的熟化生成一些化合物A的溶剂化物 (参见实施例4)。这些溶剂化物由XRPD表征并以其XRPD图谱命名:

[0168] XRPD 3和XRPD 4,一组来自甲苯、正庚烷、四氢呋喃(THF)、乙酸乙酯(EtOAc)、异丙醇(IPA)、乙醇(EtOH)、硝基甲烷或EtOH-水的同构溶剂化物。

[0169] XRPD 5,二甲基甲酰胺(DMF)溶剂化物;

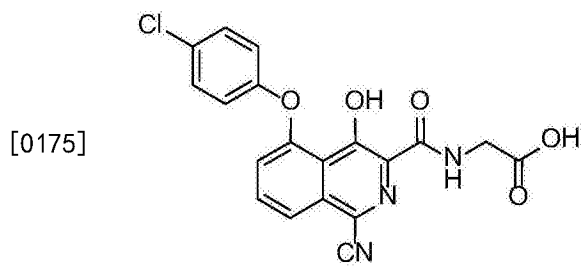
[0170] XRPD 6,正甲基吡咯烷酮(NMP)溶剂化物;以及

[0171] XRPD 7,1,4-二氧六环溶剂化物。

[0172] ^1H NMR分析、DSC和TGA热分析证实这些固体是溶剂化物,而不是多晶型物(参见实施例4)。

[0173] 6. 药物组合物、制剂和给药途径

[0174] 在一个方面中,本发明涉及包含具有以下结构的{[1-氰基-5-(4-氯苯氧基)-4-羟基-异喹啉-3-羰基]-氨基}-乙酸(化合物A)的一种或多种晶形和至少一种药学上可接受的赋形剂的药物组合物:



[0176] 在一个实施方案中,药物组合物包含化合物A形式1和至少一种药学上可接受的赋形剂。在另一个实施方案中,药物组合物包含其至少90%以形式1存在的化合物A和至少一种药学上可接受的赋形剂。在又一个实施方案中,药物组合物包含其至少95%、98%、99%、99.5%、99.8%、99.9%、99.95%、99.98%或99.99%以形式1存在的化合物A和至少一种药学上可接受的赋形剂。

[0177] 在一个实施方案中,药物组合物包含化合物A形式2和至少一种药学上可接受的赋形剂。在另一个实施方案中,药物组合物包含其至少90%以形式2存在的化合物A和至少一种药学上可接受的赋形剂。在又一个实施方案中,药物组合物包含其至少95%、98%、99%、99.5%、99.8%、99.9%、99.95%、99.98%或99.99%以形式2存在的化合物A和至少一种药学上可接受的赋形剂。在一个实施方案中,药物组合物包含其至多10%、5%、2%、1%、0.5%、0.2%、0.1%、0.05%、0.02%或0.01%以晶形1存在的化合物A和至少一种药学上可接受的赋形剂。

[0178] 在一个实施方案中,药物组合物还包含选自维生素B12、叶酸、硫酸亚铁、重组人红细胞生成素和红血球生成刺激剂(ESA)的其它治疗剂。在另一个实施方案中,药物组合物被配制为用于口服给药。在另一个实施方案中,药物组合物被配制为片剂或胶囊剂。

[0179] 如本领域中众所周知的,本发明的晶形可被直接地或与适合的赋形剂一起在药物组合物中被递送。本文中实施的各种治疗可以包括对有需要的个体,例如由于诸如慢性肾衰竭、糖尿病、癌症、AIDS、放射治疗、化疗、肾透析或手术而患有贫血或有贫血风险的个体施用有效量的本发明的晶形。在一个实施方案中,个体是哺乳动物个体,和在一个实施方案中,个体是人类个体。

[0180] 晶形的有效量可容易地由常规实验确定,给药最有效方便的途径和最适当的制剂也是如此。在一个实施方案中,剂量可以是每天0.1mg/kg至约700mg/kg。各种制剂和药物递

送系统是本领域中可获得的。参见例如Gennaro, A. R., ed. (1995) Remington's Pharmaceutical Sciences, *supra*。

[0181] 适合的给药途径可以例如包括口服给药、直肠给药、经粘膜给药、鼻腔给药或肠道给药,以及包括肌肉注射、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、腹腔内注射、鼻内注射或眼内注射的注射给药 (parenteral delivery)。其晶形或组合物可以局部而不是全身的方式施用。例如,其晶形或组合物可通过注射或在靶向药物递送系统如长效 (depot) 或缓释制剂中递送。在一个实施方案中,给药途径是口服。

[0182] 本发明的药物组合物可以通过本领域中众所周知的任何方法制造,如通过常规混合、溶解、粒化、制糖衣、磨细、乳化、封装、包埋 (entrapping) 或冻干工序制造。如上所提到的,组合物可以包括利于活性分子被加工为用于制药用途的制剂的一种或多种药学上可接受的赋形剂。

[0183] 适合的制剂取决于所选的给药途径。例如对于注射,组合物可在水溶液中配制,优选在生理学上可相容的缓冲液如汉克斯溶液 (Hanks' solution)、林格氏溶液 (Ringer's solution) 或生理盐水中配制。对于经粘膜或鼻腔给药,在制剂中使用适用于待渗透屏障的渗透液。这种渗透液通常是本领域中已知的。在本发明的一个优选实施方案中,该晶形制备为预期用于口服给药的制剂。对于口服给药,可容易地通过将晶形与本领域众所周知的药学上可接受的赋形剂进行结合来配制。这种赋形剂使本发明的晶形可被配制为用于个体口服给药 (oral ingestion) 的片剂、丸剂、糖衣丸、胶囊剂、液体剂、胶凝剂、糖浆剂、浆剂、悬浮剂等。晶形还可被配制为例如含有常规栓剂基质如可可油或其它甘油酯的直肠组合物,如栓剂或保留灌肠剂 (retention enemas)。

[0184] 可使用固体赋形剂,可选地研磨所得混合物并在加入适合的辅料 (若需要) 之后加工颗粒的混合物以获得片剂或糖衣丸芯而获得用于口服用途的药物制剂。适合的赋形剂例如为填充剂如糖类包括乳糖、蔗糖、甘露醇或山梨醇;纤维素制剂如例如玉米淀粉、小麦淀粉、大米淀粉、土豆淀粉、明胶、黄蓍胶、甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、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)。若需要,可加入崩解剂,如交联聚乙烯吡咯烷酮、琼脂、交联羧甲基纤维素钠或海藻酸或其盐如海藻酸钠。而且,可包括湿润剂如十二烷基硫酸钠或硬脂酸镁。

[0185] 糖衣丸芯具有适合的涂层。为此目的,可使用浓缩的糖溶液,其可选地含有阿拉伯胶、滑石、聚乙烯吡咯烷酮、卡波姆凝胶、聚乙二醇和/或二氧化钛、漆溶液 (lacquer solution),以及适合的有机溶剂或溶剂混合物。可向片剂或糖衣丸包衣中加入颜料或色素,用于识别或表征活性剂量的不同组合。

[0186] 用于口服给药的药物制剂包括由明胶构成的推合式胶囊剂 (push-fit capsule),以及由明胶和塑化剂如丙三醇或山梨醇构成的软密封胶囊剂。推合式胶囊剂可含有与填充剂如乳糖、粘合剂如淀粉和/或润滑剂如滑石或硬脂酸镁以及可选的稳定剂混合的活性成分。在软胶囊剂中,晶形可溶解或悬浮于适合的液体如脂肪油、液体石蜡或液体聚乙二醇中。另外,可加入稳定剂。用于口服给药的所有制剂应是适用于这种给药的剂量形式。

[0187] 在一个实施方案中,本文中描述的晶形可经皮施用如通过皮肤贴片施用或局部施用。在一个方面中,经皮或局部施用制剂还可包含一种或多种渗透促进剂或其它效应物,包括增强所递送化合物迁移的药剂。例如,在需要位置特定递送的情况中可优选经皮或局部

给药。

[0188] 对于吸入给药,用于本发明应用的晶形是以来自加压包或喷雾器的气雾剂喷雾呈现的形式并使用适合的推进剂(propellant)例如二氯二氟甲烷、三氯氟甲烷、二氯四氟乙烷、二氧化碳或任何其它适合的气体来方便地递送。在加压气雾剂的情况下,适合的剂量单位可通过提供递送测量的量的阀来确定。可配制用于吸入器或吹药器的例如明胶的胶囊剂和盒剂(cartridge)。这些剂型通常含有晶形和适合的粉末基质如果糖或淀粉的粉末混合物。

[0189] 配制用于通过注射给药例如通过快速浓注(bolus injection)或连续输注的注射给药的组合物可以单位剂型例如加有防腐剂的安瓿或多剂量容器呈现。组合物可将这种形式配制为油性或水性载体中的悬浮剂、溶液剂或乳剂,且可含有配方剂如助悬剂、稳定剂和/或分散剂。用于注射给药的制剂包括水溶液或水溶形式的其它组合物。

[0190] 晶形的悬浮液也可制备为适合的油性注射悬浮剂。适合的亲脂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。含水注射悬浮剂可含有增加悬浮液粘度的物质,如羧甲基纤维素钠、山梨醇或葡聚糖。可选地,悬浮剂还可含有适合的稳定剂或增加晶形溶解度的药剂以允许制备高浓缩的溶液。或者,活性成分在使用之前可以是由适合的载体如无菌无热原水组成的粉末形式。

[0191] 如上所述,本发明的组合物也可配制为长效制剂。这种长效制剂可以通过(例如皮下或肌内)植入或通过肌肉注射施用。因此,例如,该晶形可用适合的聚合或疏水材料(例如可接受的油中的乳剂)或离子交换树脂来配制,或配制为微溶衍生物例如微溶盐。

[0192] 对于本文中实施的各种治疗中使用的任何组合物,可使用本领域众所周知的各种技术初步估计治疗上有效的剂量。例如,在细胞培养试验中,可以在动物模型中配制一个剂量以获得包括细胞培养中确定的 IC_{50} 的循环浓度范围。例如,可以使用由细胞培养试验和非人类动物研究获得的数据来确定适用于人类个体的剂量范围。

[0193] 化合物的治疗有效剂量指的是导致个体的症状缓解或存活期延长的化合物的量。这种分子的毒性和疗效可以通过细胞培养或实验动物的标准药物程序来确定,例如通过测定 LD_{50} (使50%种群致死的剂量)和 ED_{50} (对50%种群有疗效的剂量)来确定。毒性与疗效的剂量比是治疗指数,表示为比例 LD_{50}/ED_{50} 。优选显示出高治疗指数的化合物。

[0194] 剂量优选落入包括具有很少或没有毒性的 ED_{50} 的循环浓度范围。剂量可随使用的剂型和利用的给药途径在该范围内变化。应根据本领域中已知的方法并结合个体病症的特性选择精确的配方、给药途径和剂量。

[0195] 剂量的量和间隔可按个体调节,以提供足以调节所需参数的活性部分的血浆水平,例如内源红细胞生成素血浆水平,即最小有效浓度(MEC)。各化合物的MEC会有所不同,但可由例如体外数据预估。实现MEC必需的剂量将取决于个体特征和给药途径。其化合物或组合物应按在约10-90%的治疗时间,优选约30-90%的治疗时间,和最优选在50-90%的治疗时间内使血浆水平都维持在MEC以上的方案来施用。在局部给药或选择性摄入的情况下,药物的有效局部浓度可与血浆浓度无关。或者,对所需参数的调节,例如内源红细胞生成素的刺激,可通过以下方法实现:1)施用速效负荷剂量(loading dose),然后施用维持剂量;2)施用诱导剂量以快速实现目标范围内的所需参数例如红细胞生成素,然后施用较低维持剂量以将例如血细胞比容维持在所需目标范围内;或3)重复间歇性给药。

[0196] 当然,所施用的化合物或组合物的量会取决于各种因素,包括待治疗个体的性别、年龄和重量、痛苦程度、给药方式以及处方医生的判断。

[0197] 可以使用本领域众所周知的各种技术初步估计有效剂量(或治疗上有效的剂量)。例如,在细胞培养试验中,可以在动物模型中配制一个剂量以实现包括细胞培养中确定的IC₅₀的循环浓度范围。例如,使用由细胞培养试验和非人类动物研究获得的数据可以确定适用于人类个体的剂量范围。在一个实施方案中,剂量可以为0.001mg/kg至约100mg/kg。典型地,剂量可以为约0.002mg/kg至约50mg/kg、约0.005mg/kg至约10mg/kg、约0.008mg/kg至约1mg/kg、约0.01mg/kg至约0.5mg/kg、约0.05mg/kg至约0.4mg/kg或约0.15mg/kg至约0.4mg/kg。例如,剂量可以为约0.01mg/kg、约0.02mg/kg、约0.03mg/kg、约0.04mg/kg、约0.05mg/kg、约0.06mg/kg、约0.07mg/kg、约0.08mg/kg、约0.09mg/kg、约0.1mg/kg、约0.15mg/kg、约0.2mg/kg、约0.25mg/kg、约0.3mg/kg、约0.4mg/kg、约0.5mg/kg、约0.6mg/kg、约0.7mg/kg、约0.8mg/kg、约0.9mg/kg、或约1mg/kg。剂量可按各种间隔施用,例如一天四次、一天三次、一天两次、每天、每隔一天、一周1、2或3次等。

[0198] 若需要,该组合物可存在于含有一个或多个包含活性成分的单位剂型的包或分配器装置中。这种包或装置可,例如,包含金属或塑料箔如泡罩包(blister pack)。包或分配器装置可附有给药说明书。也可制备在相容药物赋形剂中配制的包含本发明晶形的组合物,将其放置在合适的容器中,并进行标记以用于所指示病症的治疗。标签上指示的适合病症可包括对以贫血为主要适应症的病症、紊乱或疾病的治疗。

[0199] 7.使用方法

[0200] 本发明的一个方面提供了{[1-氰基-5-(4-氯苯氧基)-4-羟基-异喹啉-3-羰基]-氨基}-乙酸(化合物A)的一种或多种晶形或包含化合物A的一种或多种晶形的组合物用于制备用于治疗本文中描述的各种病症或紊乱的药物的用途。还提供了使用该晶形或其组合物或药物来治疗、预防或延迟本文中描述的各种病症或紊乱的进展或发病的方法。在一个实施方案中,该方法中使用的化合物A的晶形是形式1。在一个实施方案中,该方法中使用的化合物A的晶形是形式2。

[0201] 药物或组合物可用于调节HIF的稳定性和/或活性,从而激活HIF调节的基因表达。晶形或其组合物或药物可用在方法中以治疗、预防或延迟与HIF有关的病症的进展或发病,该病症包括但不限于贫血性、缺血性和缺氧性病症。在各种实施方案中,在产生急性缺血的病症例如心肌梗塞、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该晶形或其组合物或药物。在另一个实施方案中,对诊断有与慢性缺血的发展有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和充血性心力衰竭的患者施用该晶形或其组合物或药物。在又一个实施方案中,创伤或受伤后立即施用该晶形或其组合物或药物。在其它实施方案中,基于诱发病症例如高血压、糖尿病、闭塞动脉症、慢性静脉功能不全、雷诺氏病(Raynaud's disease)、慢性皮肤溃疡、肝硬化、充血性心力衰竭和系统性硬化,可以对个体施用该晶形或其组合物或药物。在另一其它实施方案中,可施用该晶形或其组合物或药物以预防个体以降低或预防与缺血或缺氧有关的组织损伤的发展。

[0202] 该晶形或其组合物或药物也可用于增加内源性红细胞生成素(EPO)。该晶形或其组合物或药物可被施用以预防、预防或治疗与EPO有关的病症,包括例如与贫血和神经紊

乱有关的病症。与贫血有关的病症包括紊乱如急性或慢性肾疾病、糖尿病、癌症、溃疡、病毒例如HIV、细菌或寄生虫的感染；炎症等。贫血病症还可包括与过程或治疗有关的那些病症，包括例如放射治疗、化疗、透析和手术。与贫血有关的紊乱还可包括如在紊乱诸如小红细胞性贫血、低色指数性贫血、再生障碍性贫血等中所发现的异常血红蛋白和/或红细胞。

[0203] 本发明还涉及晶形或其组合物或药物的治疗、预防或延迟与紊乱有关的病症的发病的用途，该紊乱选自贫血紊乱；神经紊乱和/或损伤，包括中风、创伤、癫痫和神经变性疾病的情况；心脏缺血，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；周围血管紊乱、溃疡、烧伤和慢性创伤；肺栓塞；以及缺血再灌注损伤。

[0204] 本发明还涉及抑制调节低氧诱导因子的 α 亚基的至少一种羟化酶的活性的方法。HIF羟化酶可以是脯氨酰羟化酶，包括但不限于由Taylor (2001, Gene 275:125-132) 描述和由Aravind和Koonin (2001, Genome Biol 2:RESEARCH0007), Epstein等 (2001, Cell 107:43-54) 以及Bruick和McKnight (2001, Science 294:1337-1340) 所表征的EGLN1、EGLN2和EGLN3。该方法包括使酶与抑制有效量的一种或多种化合物A的晶形接触。

[0205] 虽然已结合具体实施方案和实施例描述了本发明，对于已了解本领域普通技术和本发明的本领域技术人员显而易见的是，具体公开的材料和方法的等同物也将适用于本发明；且这种等同物预期包括在权利要求书内。

实施例

[0206] 除非另有说明，整个说明书中使用的以下缩写词具有以下定义：

[0207]	d	双重峰 (doublet)
[0208]	DCM	二氯甲烷、亚甲基氯
[0209]	DMF	二甲基甲酰胺
[0210]	DMSO	二甲亚砜
[0211]	DSC	差示扫描量热法
[0212]	EDTA	乙二胺四乙酸
[0213]	eq.	当量，等同物
[0214]	EtOAc	乙酸乙酯
[0215]	EtOH	乙醇、乙基醇
[0216]	g	克
[0217]	HPLC	高效液相色谱法
[0218]	Hr或h	小时
[0219]	Hz	赫兹
[0220]	IPA	异丙基醇、丙-2-醇
[0221]	IPAc	乙酸异丙酯
[0222]	IR	红外线
[0223]	J	偶合常数
[0224]	kg	千克
[0225]	kV	千伏

[0226]	L	升
[0227]	LOD	检测极限
[0228]	M	摩尔
[0229]	m	多重峰 (multiplet)
[0230]	mA	毫安
[0231]	Me	甲基
[0232]	MeO	甲氧基
[0233]	MeOH	甲醇
[0234]	mg	毫克
[0235]	min.	分钟
[0236]	mL	毫升
[0237]	mm	毫米
[0238]	MTBE	甲基叔丁醚
[0239]	N	正常
[0240]	NaOMe	甲氧基钠
[0241]	nM	纳摩尔
[0242]	NMP	正-甲基吡咯烷酮
[0243]	NMR	核磁共振
[0244]	s	单峰 (singlet)
[0245]	RH	相对湿度
[0246]	SS-NMR	固态核磁共振
[0247]	TGA	热重分析
[0248]	THF	四氢呋喃
[0249]	XRPD	X射线粉末衍射
[0250]	VT-XRPD	变温X射线粉末衍射

[0251] DSC-差示扫描量热法

[0252] 在配有50位置自动采样器的Mettler DSC 823e上采集DSC数据。使用认证的钢校准仪器的能量和温度。典型地,在针孔铝锅中,将0.5-3mg各样品以10°C/min (分钟) 从25°C 加热至350°C。维持样品上50ml/min的氮吹扫。仪器控制和数据分析软件是STARe v 9.10。

[0253] 在配有50位置自动采样器的TA仪器Q2000上采集调节的DSC数据。使用蓝宝石进行热容量的校准,并使用认证的钢进行能量和温度的校准。典型地,在针孔铝锅中,将0.5-2mg各样品在使用2°C/min的基础加热速率和±0.2°C/min和40秒的温度调节参数下加热。仪器控制软件是Advantage for Q Series v2.8.0.392和Thermal Advantage v4.8.3,并使用Universal Analysis v4.3A分析数据。

[0254] NMR-核磁共振:¹H和¹³C NMR

[0255] 在配有自动采样器和由DRX400控制台控制的Bruker 400MHz仪器上采集NMR谱。使用ICON-NMR v4.0.4 (build 1), 与使用标准Bruker负载实验的Topspin v 1.3 (patch level 8) 一起运行,从而获得自动化实验。对于非常规光谱,通过单独使用Topspin采集数据。除非另有说明,在d₆-DMSO中制备样品。使用ACD SpecManager v 9.09 (build 7703) 进

行离线分析。

[0256] TGA-热重分析

[0257] 在配有34位置自动采样器的Mettler TGA/SDTA 851e上采集TGA数据。使用认证的钢对仪器进行温度校准。典型地,将5-30mg各样品装载至预称重的铝坩埚上,并以10℃/min从环境温度加热至350℃。维持样品上50ml/min的氮吹扫。仪器控制和数据分析软件是STARe v 9.10。

[0258] XRPD-X射线粉末衍射

[0259] 在使用Cu K α 照射(40kV,40mA)、自动化XYZ阶段、用于自动样品定位的激光视频显微镜以及HiStar二维区域探测器的Bruker AXS C2 GADDS衍射计上采集X射线粉末衍射图谱。X射线光学器件由联接有0.3mm针孔准直仪的单Göbel多层镜组成。

[0260] 光束发散度即样品上的X射线光束的有效尺寸为大约4mm。使用样品-检测器距离为20cm的 θ - θ 连续扫描模式,产生有效 2θ 范围为3.2°-29.7°。典型地,将样品暴露于X射线光束下120秒。用于数据采集的软件是GADDS for WNT 4.1.16,并使用Diffraction Plus EVA v 9.0.0.2或v13.0.0.2分析和呈现数据。

[0261] 使用接收的未经研磨的粉末制备在环境条件下运行的作为平板试样的样品。将约1-2mg样品轻微压在载玻片上以获得平面。

[0262] 将非环境条件下运行的样品安装在有导热化合物的硅片上。然后将样品以约20℃·min⁻¹加热至适合的温度,之后在开始数据采集之前保持恒温约1分钟。

[0263] 还在使用Cu K α 照射(40kV,40mA)、 θ - 2θ 测角仪和V4散度以及接收狭缝、Ge单色仪和Lynxeye检测器的Bruker D8衍射计上采集X射线粉末衍射图谱。使用认证的金刚砂标准品(NIST 1976)检查仪器的性能。用于数据采集的软件是Diffraction Plus XRD Commander v 2.5.0,使用Diffraction Plus EVA v 9.0.0.2或v 13.0.0.2分析和呈现数据。

[0264] 使用实施例1和2制备的粉末在环境条件下运行作为平板试样的样品。将约50-100mg样品轻轻包入切成抛光的零-背景(510)硅片的腔中。分析期间,样品以其自身平面旋转。数据采集的详细信息是:

[0265] • 角范围:2-42° 2θ

[0266] • 步长:0.05° 2θ

[0267] • 采集时间:0.5s·步⁻¹.

[0268] 实施例1 化合物A晶形1的制备

[0269] 方法1

[0270] 于室温下将乙基1-氰基-5-(4-氯苯氧基)-4-羟基-异喹啉-3-羧酸酯(74.4g,一般合成方法可参见美国专利7928120)和甘氨酸(302.9g,20eq.)悬浮于甲醇(4.0L)中。加入NaOMe(25%,692mL,15eq.),并将混合物加热至回流,并搅拌过夜。LC-MS示出反应完成之后,冷却悬浮液,并用1N HCl酸化至pH~3。过滤所得混合物,用水洗涤,并在真空干燥箱(40℃)中干燥至恒重,得到灰白色固体化合物A形式1(77.8g)

[0271] 方法2

[0272] 将化合物A(12g,一般合成方法可参见美国专利7928120)悬浮于乙腈(620mL)中。搅拌该混合物,并加热至回流30分钟,生成清澈淡黄色溶液。将其缓慢冷却至室温,然后冷却至5℃,搅拌30分钟,过滤,用冷乙腈洗涤,并在真空干燥箱(65℃)中干燥至恒重,得到白

色固体化合物A形式1 (10.0g)。

[0273] 方法3

[0274] 将化合物A (0.5g) 悬浮于纯乙酸 (10mL) 中, 并于80℃搅拌16h。将该混合物冷却至室温, 过滤, 并在真空干燥箱 (80℃) 中干燥至恒重, 得到灰白色固体化合物A形式1 (0.44g)。

[0275] 化合物A形式1的XRPD示出图1的图谱。如使用Cu-K α 照射的衍射图上确定的, 在7.7、11.2、13.8、14.7、15.3、15.8、18.3、21.1、22.2、23.2、25.2、25.9°和27.7° $2\theta \pm 0.2^\circ 2\theta$ 处有峰。为了表征, 使用这些峰中的至少一个, 优选至少两个, 更优选至少三个。

[0276] 化合物A形式1的DSC分析示出图2中的图谱。图2中DSC曲线示出在约251℃处有吸热峰, 且在约210℃处有放热峰。

[0277] 溶液中化合物A的¹H-NMR与其结构一致。¹H-NMR (400MHz, dmsO-d₆, 298K): 14.92 (s, 1H), 12.88 (bs, 1H), 9.61 (bt, 1H, J 6.06), 8.10 (dd, 1H, J 1.01, 8.34), 8.03 (dd, 1H, J 7.58, 8.34), 7.51 (dd, 1H, J 1.01, 7.58), 7.42 (d, 2H, J 9.09), 6.99 (d, 2H, J 9.09) 和4.02 (d, 2H, J 6.32) ppm。

[0278] 实施例2 化合物A晶形2的制备

[0279] 方法1

[0280] 将化合物A的钠盐 (1.22Kg) 溶解于水中, 搅拌并加热至80℃。经3h缓慢加入乙酸 (830g)。于80℃下将该混合物搅拌2h (以确保固体转化为形式2)。将其冷却至20-25℃, 搅拌1h, 过滤, 并用水 (31L) 洗涤。在真空干燥箱 (80℃) 中将固体干燥至恒重, 得到灰白色固体化合物A形式2 (880g)。

[0281] 方法2

[0282] 在水中搅拌化合物A (7.5g) 和1N NaOH (23.6mL), 并加热至80℃, 直至固体溶解。缓慢加入乙酸 (2.25g)。于80℃下搅拌混合物2h。将该混合物冷却至约20℃, 过滤, 用水洗涤, 并在真空干燥箱 (80℃) 中干燥至恒重, 得到白色固体化合物A形式2 (7.25g)。

[0283] 方法3

[0284] 用乙酸异丙酯 (约30mL) 将化合物A (0.6g) 回流过夜, 冷却至室温, 过滤, 用乙酸异丙酯洗涤, 并干燥至恒重以得到白色固体化合物A形式2 (0.4g)。

[0285] 方法4

[0286] 将化合物A (26g) 悬浮于水中, 加热至80℃, 搅拌1h, 冷却至室温, 过滤, 用水洗涤, 并在真空干燥箱 (80℃) 中干燥至恒重, 以得到灰白色固体化合物A形式2 (25.3g)。

[0287] 化合物A形式2的XRPD示出图3中的图谱。如使用Cu-K α 照射的衍射图上确定的, 在7.2、8.1、10.6、11.5、13.9、14.5、16.2、19.3、21.5、21.9、22.7、23.2、24.5、25.9、26.6、27.8和29.1° $2\theta \pm 0.2^\circ 2\theta$ 处有峰。为了表征, 使用这些峰中的至少一个, 优选至少两个, 更优选至少三个。

[0288] 化合物A形式2的DSC分析示出图4中的图谱。图4中的DSC曲线示出在约249℃处有吸热峰。

[0289] 溶液中化合物A的¹H-NMR与其结构一致。¹H-NMR (400MHz, dmsO-d₆, 298K): 14.92 (s, 1H), 12.88 (bs, 1H), 9.61 (bt, 1H, J 6.06), 8.10 (dd, 1H, J 1.01, 8.34), 8.03 (dd, 1H, J 7.58, 8.34), 7.51 (dd, 1H, J 1.01, 7.58), 7.42 (d, 2H, J 9.09), 6.99 (d, 2H, J 9.09) 和4.02 (d, 2H, J 6.32) ppm。

[0290] 实施例3 化合物A形式1和形式2的稳定性

[0291] 交叉种晶 (cross-seeding) 实验

[0292] 将含约50%形式1和约50%形式2(在IPAc中熟化而获得)的固体混合物(~10mg)置于6个不同小瓶中。这些小瓶中的三个用DCM(各小瓶中~50μL)处理,而其它三个用IPAc(各小瓶中~50μL)处理。于5℃、25℃和50℃下将DCM和IPAc中固体混合物的浆液晃动10天。

[0293] 在环境条件下干燥后,通过XRPD分析来自DCM的固体,结晶图谱与形式1匹配。

[0294] 在环境条件下干燥后,通过XRPD分析来自IPAc的固体,结晶图谱与形式2匹配。

[0295] 有形式2晶种的情况下在水中熟化形式1

[0296] 于50℃/室温(4h-循环)和75%RH下将水中形式1和形式2的固体混合物(1:1)的悬浮液培养4天。在此之后,通过XRPD分析固体。结晶图谱与形式2匹配,且在该分析中没有检测到形式1的痕迹。

[0297] 没有形式2晶种的情况下在水中熟化形式1

[0298] 将形式1悬浮于水中,并于50℃/室温(4h-循环)和75%RH下培养。在这种情况下,形式1至形式2的转化较慢。4天后,清楚显示出形成形式2,但也留下了大量的形式1。在这些条件下15天后,形式1完全转化为形式2。

[0299] 形式2的稳定性

[0300] 在湿度箱中40℃和75%RH下一周后,形式2保持不变。

[0301] 在水中回流形式1

[0302] 在水中回流形式1,并通过XRPD监控固体的结晶度。2.5h(小时)后,可观察到与形式2对应的几个新衍射峰。回流10h后,完成形式1至形式2的转化。

[0303] 25℃下水中形式1的稳定性

[0304] 于25℃下将形式1悬浮于水中,并经一定时间通过XRPD分析固体的结晶度。于25℃下在水悬浮液中6天后,形式1的结晶图谱中没有观察到变化。

[0305] 这些研究表明形式2在热动力学上比形式1稳定。

[0306] 实施例4 化合物A溶剂化物的制备和表征

[0307] 制备和通过XRPD的表征

[0308] 将形式1(200mg)悬浮于相应溶剂(参见表1)中,于40℃/室温(4h循环)下培养16h。然后在真空下除去溶剂(除了在环境条件下进行干燥的1,4-二氧六环的实验之外),并通过XRPD分析固体。图5示出化合物A溶剂化物XRPD3和XRPD4的XRPD图谱。图6示出化合物A形式2和化合物A溶剂化物XRPD3、XRPD4、XRPD5、XRPD6和XRPD7的XRPD图谱。

[0309] 表1. 化合物A的溶剂化物

[0310]

溶剂	通过XRPD表征的溶剂化物	40℃/75%RH下的稳定性
IPAc (10体积)	形式2	形式2
THF (3体积)	XRPD 3	形式1
甲苯 (5体积)	XRPD 4	形式1
DMF (4体积)	XRPD 5	形式2
NMP (4体积)	XRPD 6	形式2-不完全
1,4-二氧六环 (5体积)	XRPD 7	形式2

[0311] 稳定性

[0312] 然后将固体在40℃和75%RH下的湿度箱中保存一周,以在这些条件下评价其稳定性并通过XRPD重新分析。

[0313] 在40℃和75%RH下的湿度箱中一周后形式2保持不变。在这些条件下保存一周后,XRPD 3和XRPD 4的固体都转化为形式1。在40℃和75%RH一周后,XRPD 5、XRPD 6和XRPD 7固体变为形式2。在由NMP获得的固体(XRPD 6)的情况下,转化不完全,且在其粉末图谱中仍可观察到来自最初晶形的一些峰。结果概括在表1中。

[0314] ¹H-NMR分析

[0315] 对化合物A形式2和化合物A溶剂化物进行¹H-NMR分析(图7)。光谱与提出的结构一致。通过整合图7中突出显示的信号,对于具有结晶图谱XRPD 3、XRPD 4、XRPD 5、XRPD 6和XRPD 7的固体鉴定并量化一些剩余溶剂。该结果表明这些固体是溶剂化物,而不是新的多晶型物。

[0316] 热分析

[0317] 也对化合物A形式2和化合物A溶剂化物进行热分析。

[0318] 直到~260℃开始降解时,形式2的TGA热谱图中才观察到重量损失。DSC热谱图仅示出吸热事件,其与形式2的熔化对应(249℃开始,熔融焓-132.5J/g)。

[0319] XRPD 3固体的TGA热谱图中在45-140℃之间观察到~7.5%的重量损失。该重量损失与¹H-NMR光谱中观察到的剩余THF量有关,且其与DSC热谱图中的宽吸热事件,可能是去溶剂化至形式1有关。~200℃开始的小放热事件表明发生了形式1的固固相变,生成形式2。然后材料在251℃时熔化。样品的降解开始于~260℃。

[0320] XRPD 4固体的TGA热谱图中在60-160℃之间观察到~4.5%的重量损失。该重量损失与¹H-NMR光谱中观察到的剩余甲苯量有关,且其与DSC热谱图中的吸热事件,可能是去溶剂化至形式1有关。~193℃开始的小放热事件表明发生了形式1的固固相变,生成形式2。然后材料在251℃时熔化。样品的降解开始于~260℃。

[0321] XRPD 5固体的TGA热谱图中在100-150℃之间观察到~15.3%的重量损失。该重量损失与¹H-NMR光谱中观察到的剩余DMF量有关,且其与DSC热谱图中的吸热事件,可能是去溶剂化以产生形式2有关。对于XRPD 3和XRPD 4在~200℃没有观察到放热事件表明该材料的去溶剂化没有产生形式1,而产生了形式2,这通过在250℃下的熔化确定。样品的降解开始于~260℃。

[0322] XRPD 6固体的TGA热谱图中在100-170℃之间观察到~19.8%的重量损失。该重量损失与¹H-NMR光谱中观察到的剩余NMP量有关,且其与DSC热谱图中的吸热事件,可能是去溶剂化以产生形式2有关。对于XRPD 5材料,去溶剂化没有产生形式1,而产生了形式2。然后材料在250℃熔化。样品的降解开始于~260℃。

[0323] XRPD 7固体的TGA热谱图中在80-110℃之间观察到~16.9%的重量损失。该重量损失与¹H-NMR光谱中观察到的剩余1,4-二氧六环的量有关,且其与DSC热谱图中的吸热事件,可能是去溶剂化以产生形式2有关。然后材料在249℃熔化。样品的降解开始于~260℃。

[0324] 实施例5. 化合物A增加了小鼠中的血红蛋白和血细胞比容水平

[0325] 一周内在周一、周三和周五口服施用化合物A(2、6、20、60、100或200mg/kg,口服填喂)或载体对照3次(4-8只雄性瑞士Webster小鼠/组)。最后给药的三天后,使所有动物安乐

死,并收集血液和血清用于全血计数(CBC)和血清化学分析。

[0326] 当与载体对照相比时,所有化合物A给药组中的平均血红蛋白(Hb)、血细胞比容(HCT)和红血计数(RBC)水平显著较高(图8)。所有三个参数的平均水平在2-20mg/kg之间的剂量时具有剂量依赖性,而在20-60mg/kg之间达到稳定水平。在瑞士韦伯斯特(Webster)鼠的该一周研究中,在测试的最低剂量2mg/kg时Hb水平的增加超过1g/dL。化合物A给药导致红血球生成的血液学参数以剂量依赖方式显著增加。

[0327] 实施例6 化合物A增加猴子中的血红蛋白和血细胞比容水平

[0328] 雄性食蟹猴(n=5/剂量组)连续14天接受0、0.1、0.3、1、3、10和30mg/kg化合物A的每日口服给药。初次给药前和第8和第14天给药之前收集血液用于全血计数(CBC)。

[0329] 连续14天对食蟹猴以0、0.1、0.3、1、3、10和30mg/kg剂量的化合物A口服给药(口腔填喂)与在 ≥ 1 mg/kg/天时的血液学变化有关。在第8和第14天,网状细胞(RET)在 ≥ 1 mg/kg/天和 ≥ 3 mg/kg/天时以剂量有关的方式增加(54%-724%),以及RBC增加(13%-41%)、Hb增加(18%-38%)和HCT增加(14%-46%)。图9示出每日给药2周后的HCT、Hb和RBC水平。

[0330] 实施例7 慢性病贫血的治疗

[0331] 慢性病贫血(ACD)与各种炎症病症包括关节炎和肿瘤病有关。贫血的特征在于EPO生成不足、铁代谢改变、红血细胞寿命减少以及骨髓的红血球生成应答受损。

[0332] 雌性路易斯鼠经肽聚糖-多糖聚合物(PG-PS)挑战而被诱导关节炎和贫血。在用化合物A(口腔填喂,8或20mg/kg)或载体(n=8/组)的治疗开始之前,使关节炎和贫血发展28天。按每周施用3次(周一、周三和周五)治疗两周。通过测量足肿胀和血液学参数来监控模型的进展。分析血液样品的血细胞生成和铁参数。该研究还包括三个未经挑战的对照组(n=5/组),该对照组用盐水而不是PG-PS注射,然后用PG-PS动物中描述的载体或化合物A(8或20mg/kg)治疗。

[0333] 用PG-PS聚合物挑战雌性路易斯鼠导致PG-PS挑战4周后明显出现贫血。该模型显示出功能性缺铁特征,包括小红细胞症(平均细胞容积降低)和血红蛋白过少(平均红细胞血红蛋白减少)、血清铁减少和总铁结合力(TIBC)和不饱和铁结合力(UIBC)增加;以及贫血特征,包括血红蛋白、血细胞比容和红细胞计数显著下降。除贫血之外,如白血细胞计数上升和四肢肿胀所表明的,PG-PS挑战的大鼠患上系统性炎症和关节炎。用载体治疗的贫血的PG-PS挑战的动物在研究过程中未显示出血液学参数方面的显著变化。

[0334] 用化合物A(8或20mg/kg)间歇治疗2周矫正了由PG-PS挑战诱导的Hb、HCT、RBC、MCH减少和TIBC增加,在20mg/kg剂量时在统计学上有显著效果(图10)。

[0335] 总之,化合物A间歇治疗显著缓解了与慢性疾病贫血有关的贫血。

[0336] 实施例8 对慢性肾病诱导的贫血的治疗

[0337] 肾是成年哺乳动物中红细胞生成素生成的主要来源;因此,贫血和红细胞生成素生成下降是肾衰竭的常见后遗症。大鼠剩余肾模型(由5/6肾切除术所诱导的)是进展型肾衰竭贫血确立的模型。

[0338] 对雌性威斯塔大鼠进行肾大部分(5/6)切除术,以通过将左肾结扎至2/3肾梗塞,同时对右肾进行全肾切除术来诱导慢性肾病。在不进行肾切除术的情况下,对其它动物进行假手术作为对照。手术5周后,通过临床病理学证实进行了肾切除术的动物有贫血和慢性肾病,然后将动物分至三个治疗组(n=8/组)中的一个,用0(载体)、8或20mg/kg化合物A治

疗。假手术组 (n=8) 接受0mg/kg (载体)。手术6周后开始,通过口服填喂对所有动物施用TIW (在周一、周三和周五) 2周。手术5、7和8周后采集全血样品。

[0339] 与假手术组相比,进行了肾切除术的动物显示出典型贫血特征,即Hb、HCT和RBC下降,以及术后5和8周时收缩血压上升。另外,载体治疗的进行了肾切除术的动物在术后5周时显示出慢性肾病,血清化学参数明显的显著变化。治疗2周后,与载体对照组相比,8和20mg/kg的化合物A给药使Hb、HCT和RBC显著增加(图11)。施用20mg/kg化合物A使所有三个参数标准化,与(非贫血)假手术对照组水平相似。另外,化合物A治疗似乎导致进行了肾切除术的动物中较高的MCV和MCH值;然而,治疗2周后只有20mg/kg时的MCV显著较高。

[0340] 结论是通过对与5/6肾切除术有关的小红细胞症和血红蛋白过少的部分矫正所证实,化合物A间歇治疗2周矫正了贫血并改善了铁利用。

[0341] 实施例9 化合物A增加了人类中红细胞生成素、网状细胞和血红蛋白的水平

[0342] 对健康的男志愿者口服施用单剂量的化合物A (形式2, 胶囊剂)。化合物A以1mg和5mg胶囊剂来提供,将剂量四舍五入至最接近的完整胶囊剂。在群组 (cohort) 1-4中,剂量分别为0.05mg/kg、0.15mg/kg、0.3mg/kg和0.4mg/kg。血液采集的时间点为:初次给药前、给药后第8、12、16、20、24、30、48、72、96和120小时,第8、10、12和15天。

[0343] 红细胞生成素

[0344] 图12示出服用化合物A后,红细胞生成素的平均最大血浆水平增加。

[0345] 群组1中,与基线(预治疗)相比,服用化合物A后所有个体的血浆红细胞生成素浓度增加。红细胞生成素峰值水平出现在大约第16.8小时,与基线的11.4mIU/mL的平均血浆红细胞生成素浓度相比,其平均最大血浆红细胞生成素浓度为27.2mIU/mL。

[0346] 群组2中,服用化合物A后所有个体的血浆红细胞生成素浓度增加,除了一个个体显示出较强红细胞生成素应答外,其余几乎与剂量成比例增加。红细胞生成素峰值水平出现在服用化合物A平均14小时后,中值最大红细胞生成素浓度为81.7mIU/mL。大约5天后,平均红细胞生成素水平趋于回到基线。

[0347] 群组3中,红细胞生成素峰值水平出现在给药平均23小时后,平均最大浓度为约620mIU/mL。与群组2相比,群组3中的红细胞生成素水平相对于剂量超比例增加。

[0348] 群组4中,与基线(预治疗)相比,服用化合物A后所有个体的血浆红细胞生成素浓度增加。如图12中所示,群组3 (0.3mg/kg) 和群组4 (0.4mg/kg) 之间最大红细胞生成素 (EPO) 浓度 (C_{max}) 和减去基线的EPO C_{max} (C_{max}-BL) 相对于剂量超比例增加。除高于定量上限的一个样本有待重新分析,群组4中所有个体的平均最大血浆红细胞生成素浓度为2900mIU/mL。到最大EPO浓度的中值时间是20小时。

[0349] 网状细胞计数

[0350] 群组1-4中有网状细胞计数增加的趋势,表明化合物A对其生物靶标有活性,从而刺激红血球生成应答(表2)。

[0351] 表2. 网状细胞计数变化

[0352]

网状细胞值 (基线%±SD)	群组 1	群组 2	群组 3	群组 4
	0.05 mg/kg	0.15 mg/kg	0.3 mg/kg	0.4 mg/kg
	(N=5)	(N=7)	(N=6)	(N=6)
第 0 天	100	100	100	100
第 3 天	104 ± 8	111 ± 19	127 ± 3	163 ± 21
第 5 天	111 ± 10	121 ± 22	141 ± 22	134 ± 22
第 8 天	120 ± 20	180 ± 53	231 ± 40	376 ± 60

[0353] 血红蛋白水平

[0354] 在群组1中,第0天至第8天,平均血红蛋白水平无变化。在群组2中,平均血红蛋白在第8天增加0.3g/dL;在群组3中,平均血红蛋白在第8天增加0.8g/dL;以及在群组4中,平均血红蛋白在第8天增加0.7g/dL,在第15天增加1.1g/dL。

[0355] 这些数据说明,当以晶形2施用,化合物A有效地增加血浆EPO,提高网状细胞水平,以及提高平均血红蛋白水平。

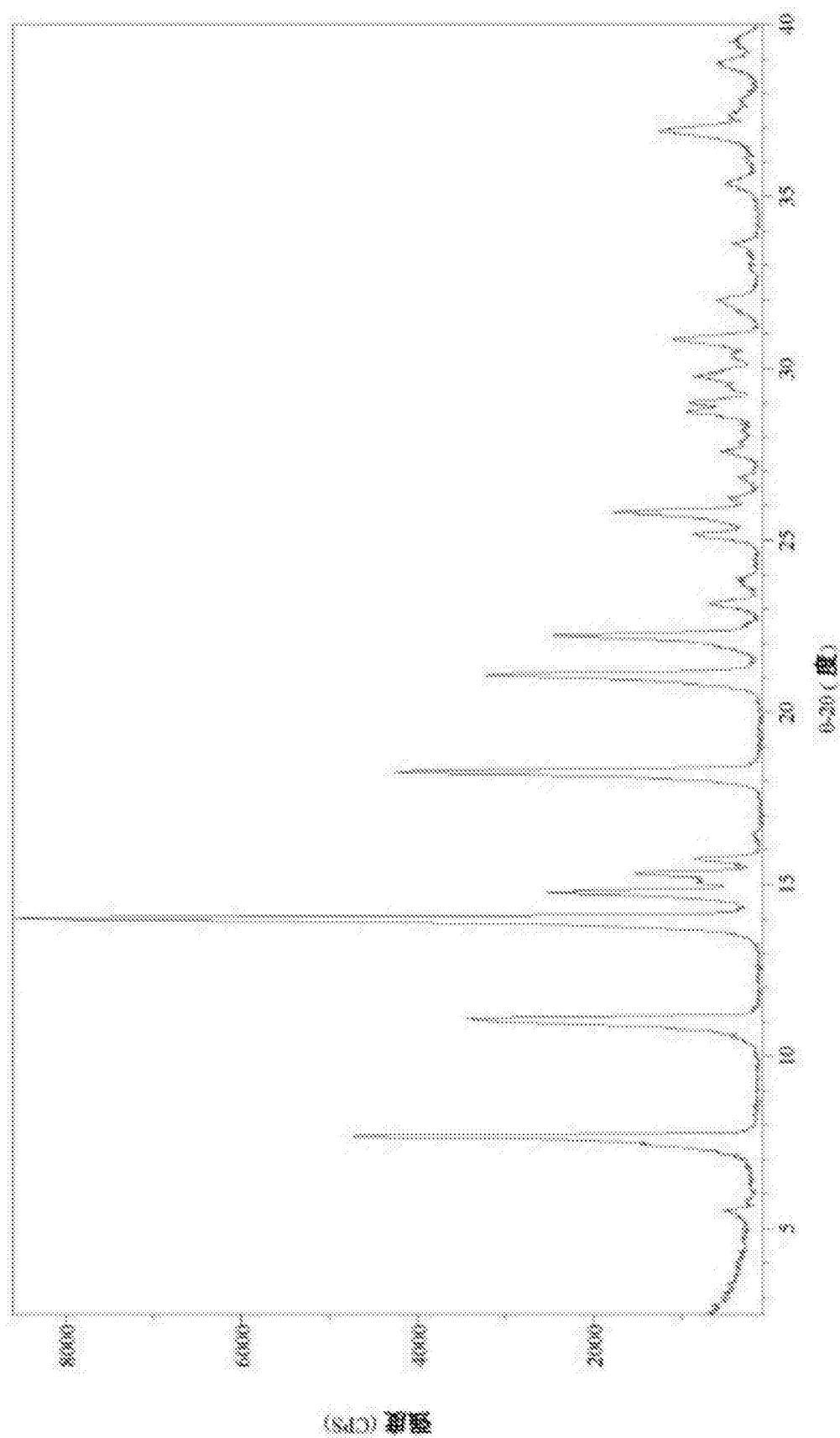


图1

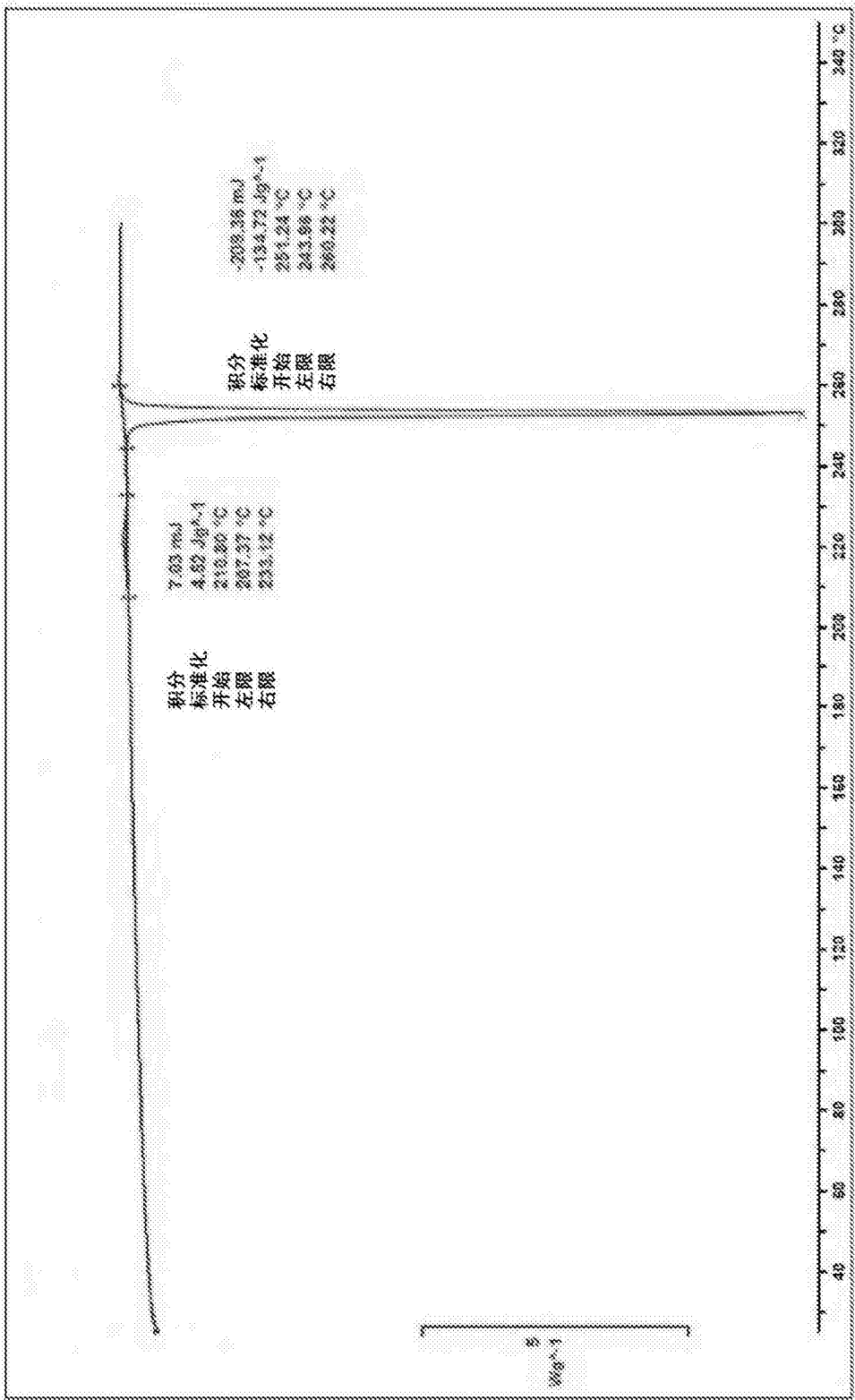


图2

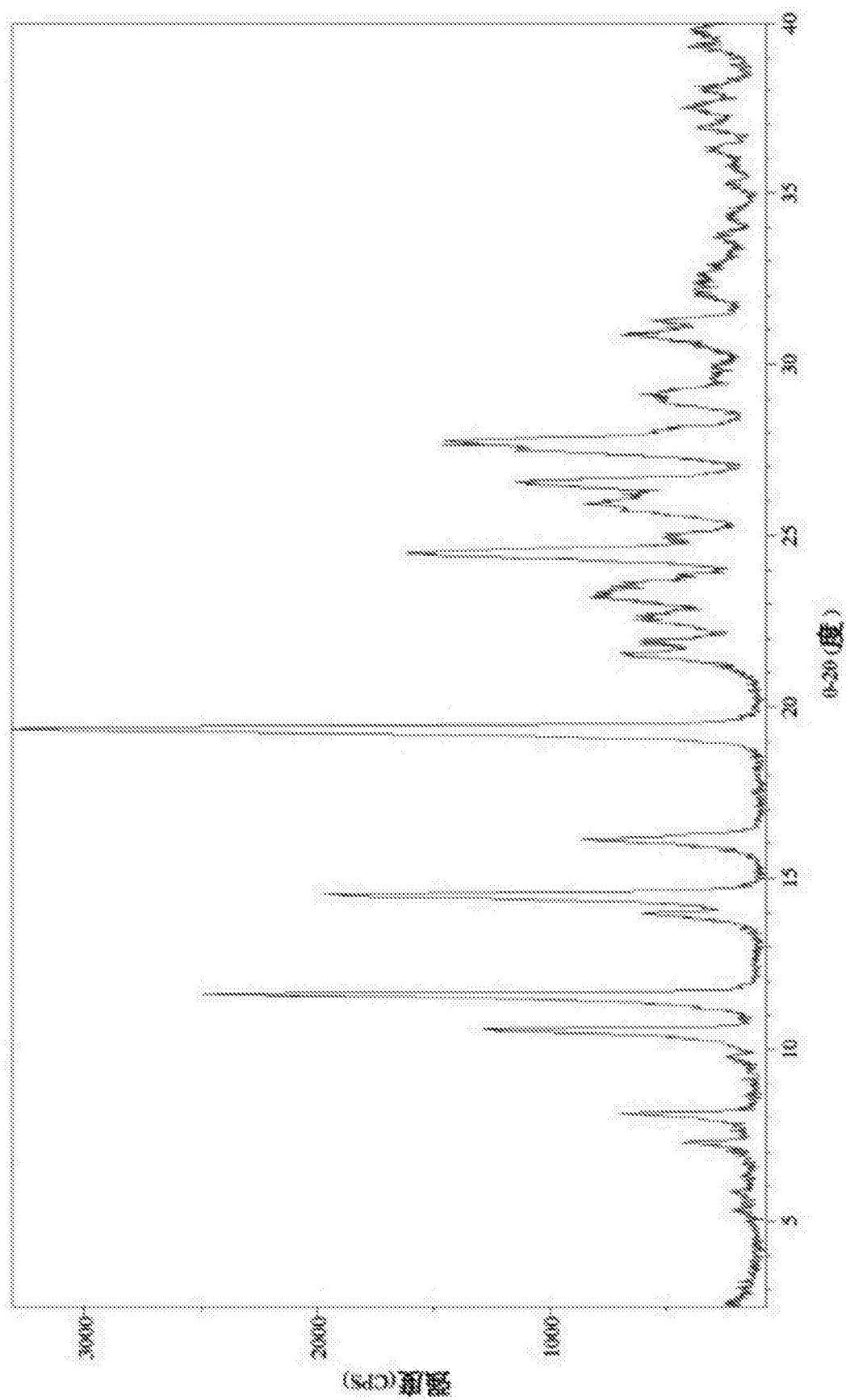


图3

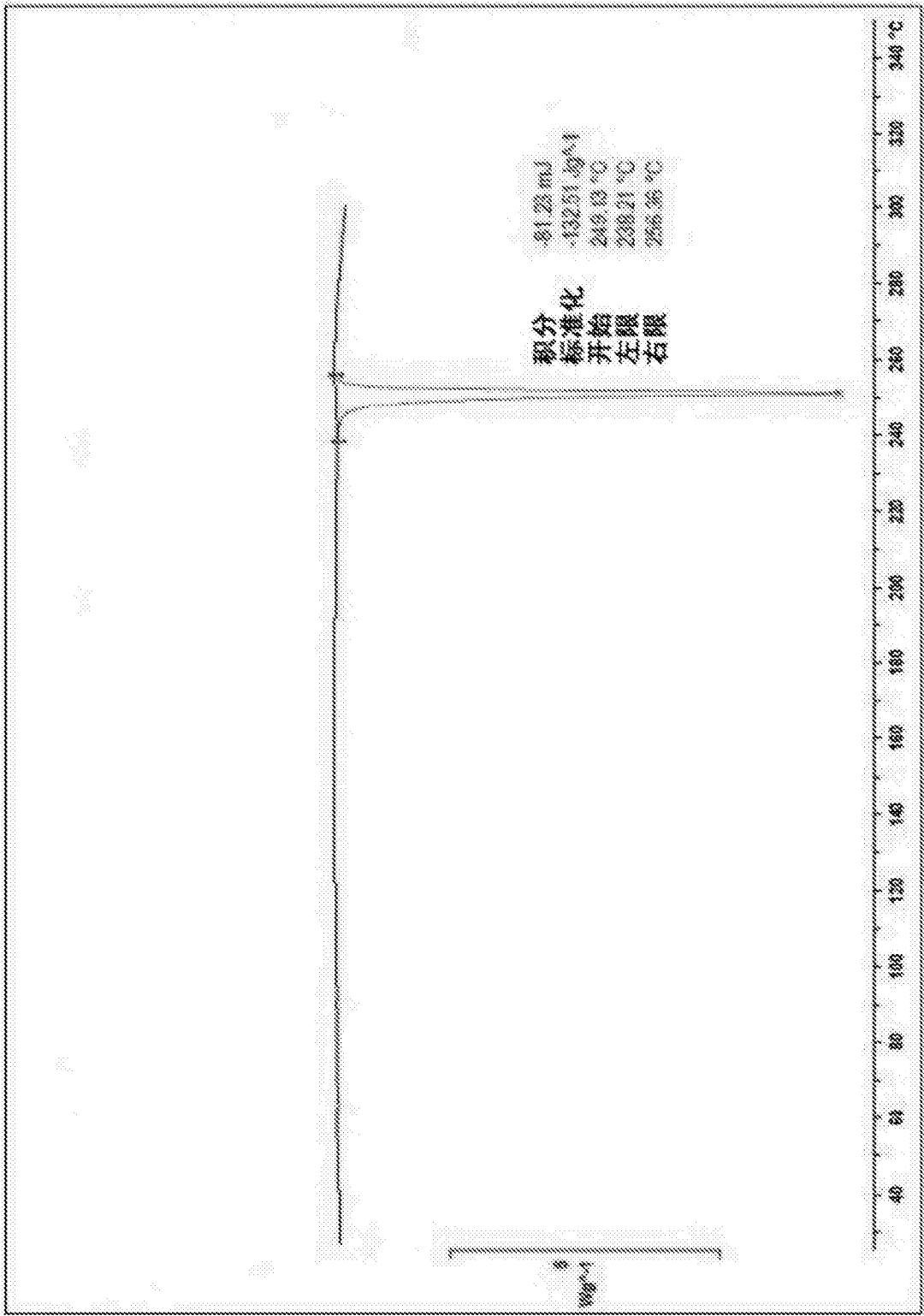


图4

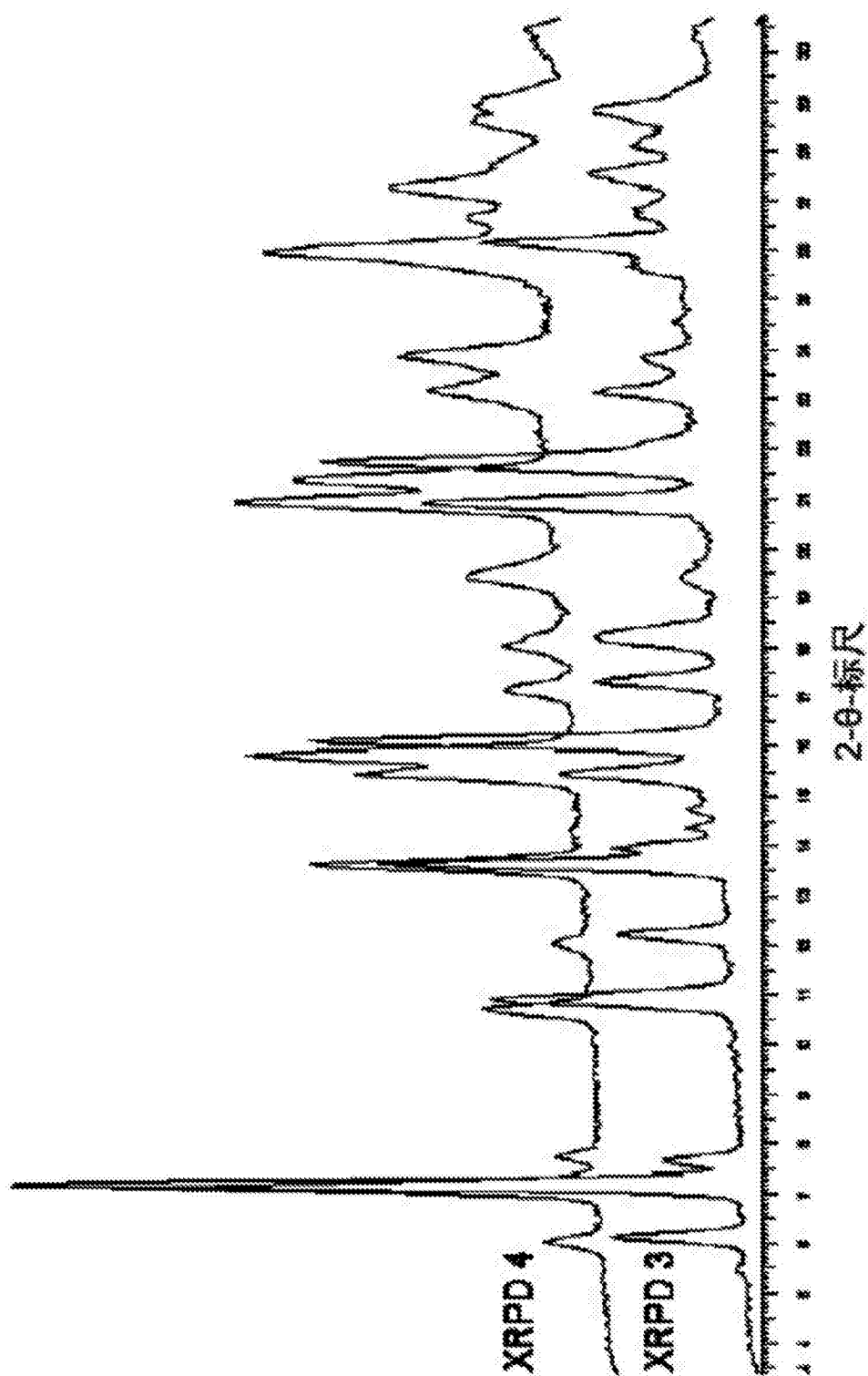


图5

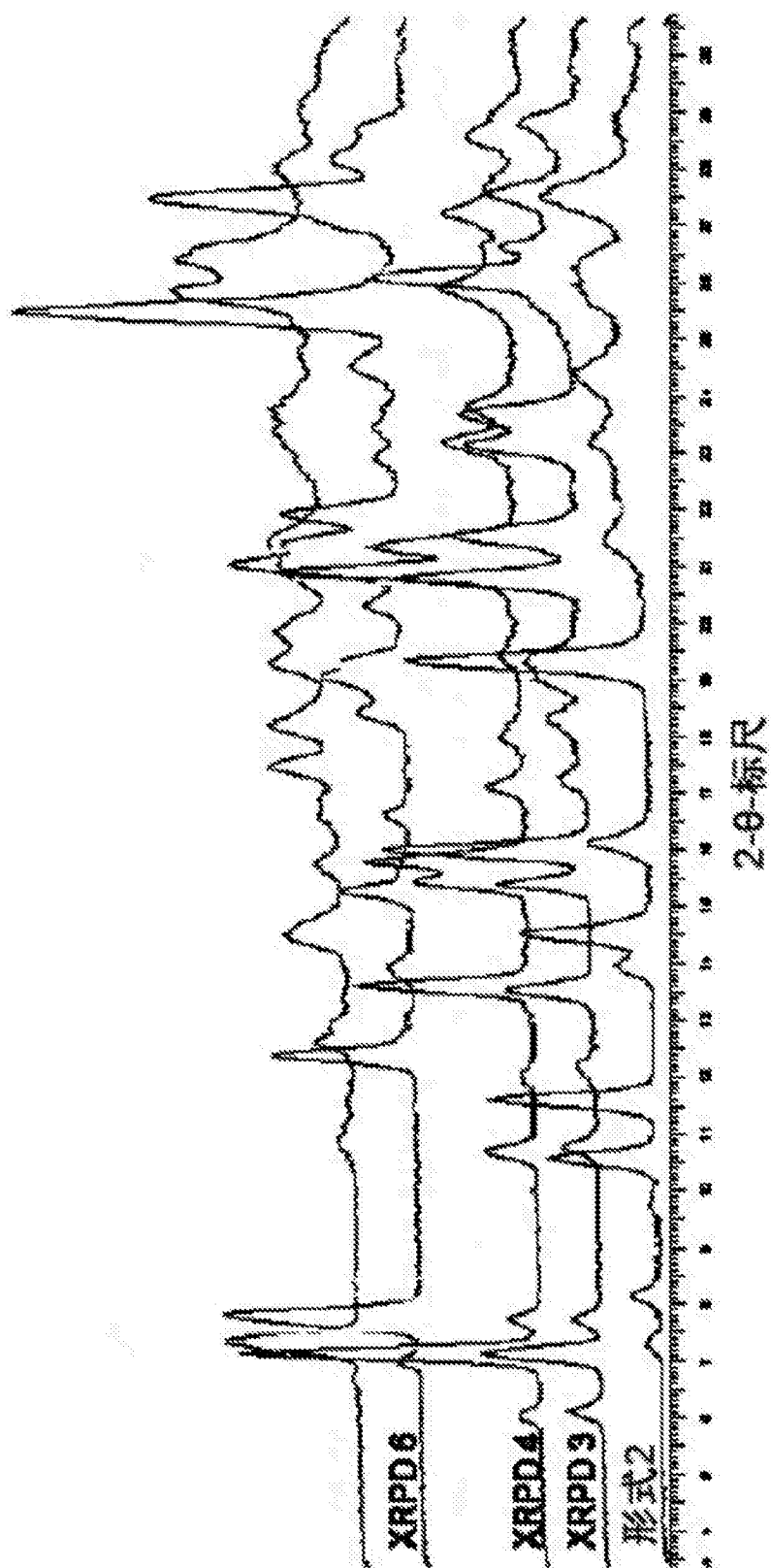


图6

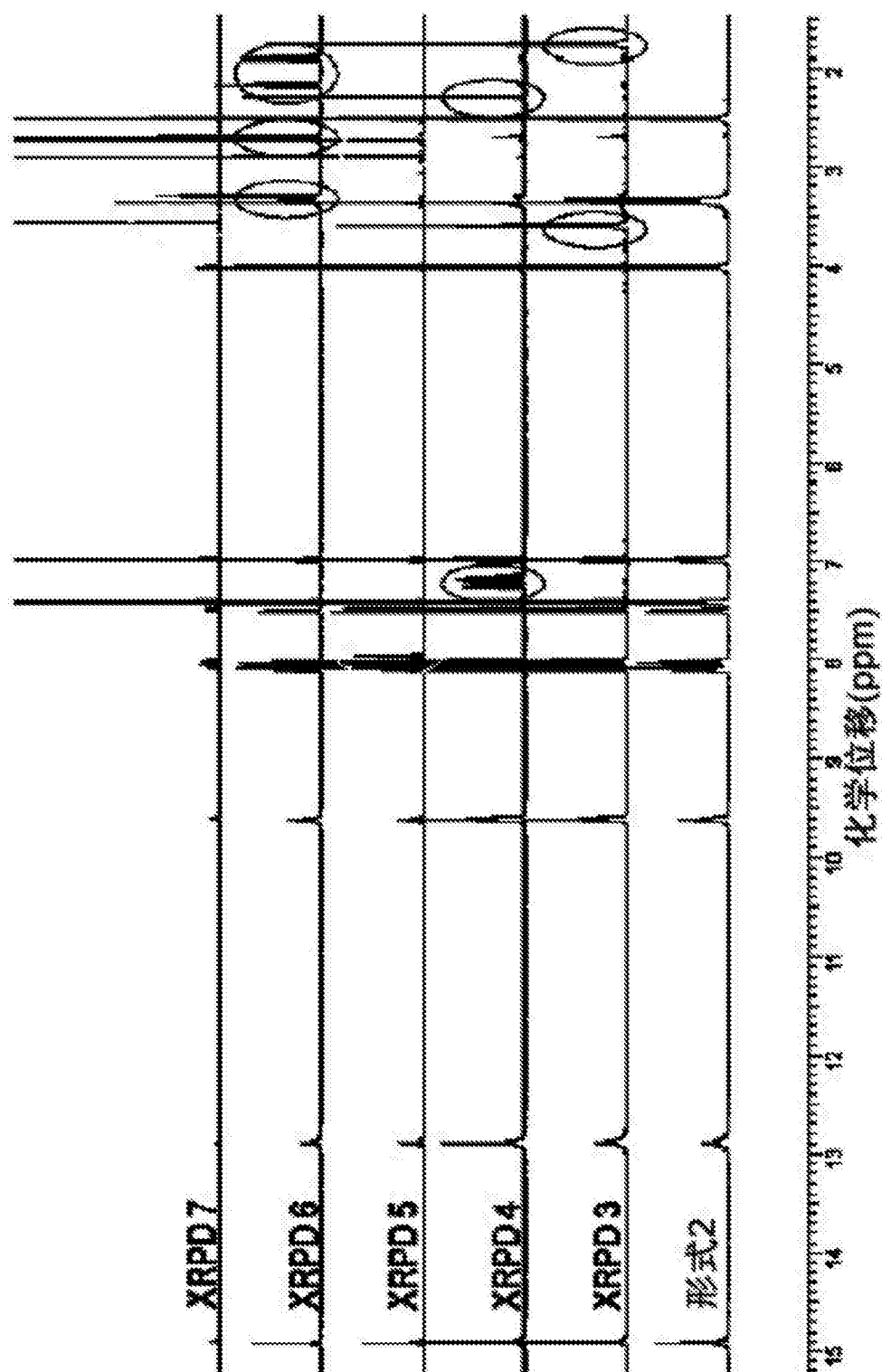
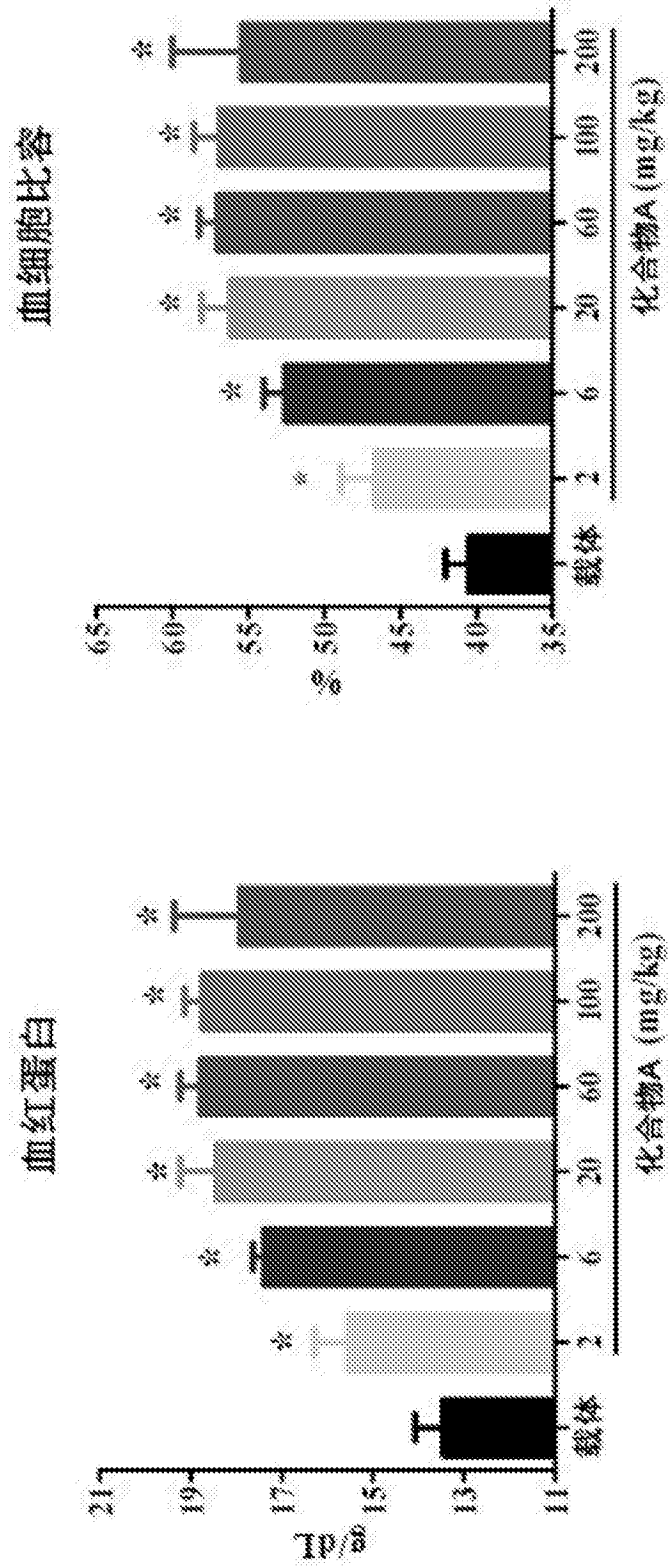
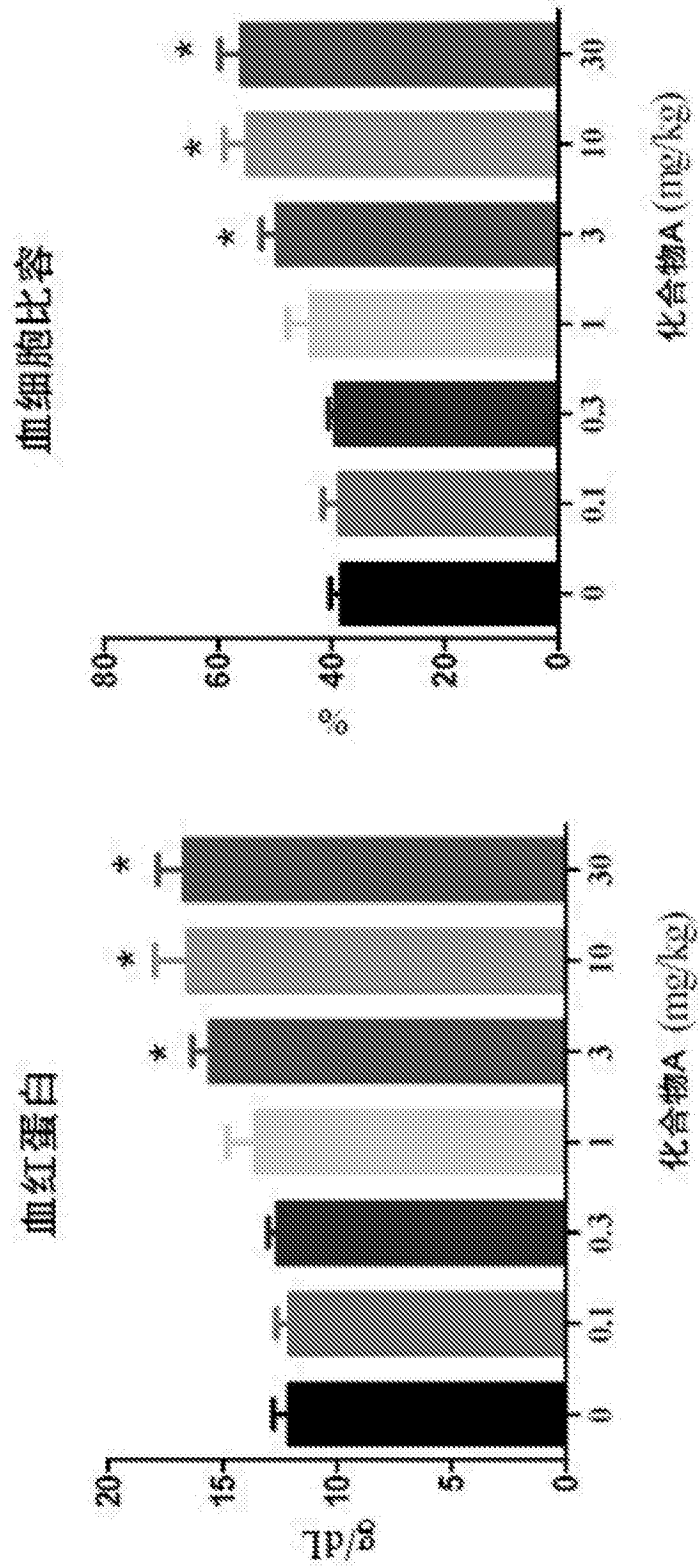


图7



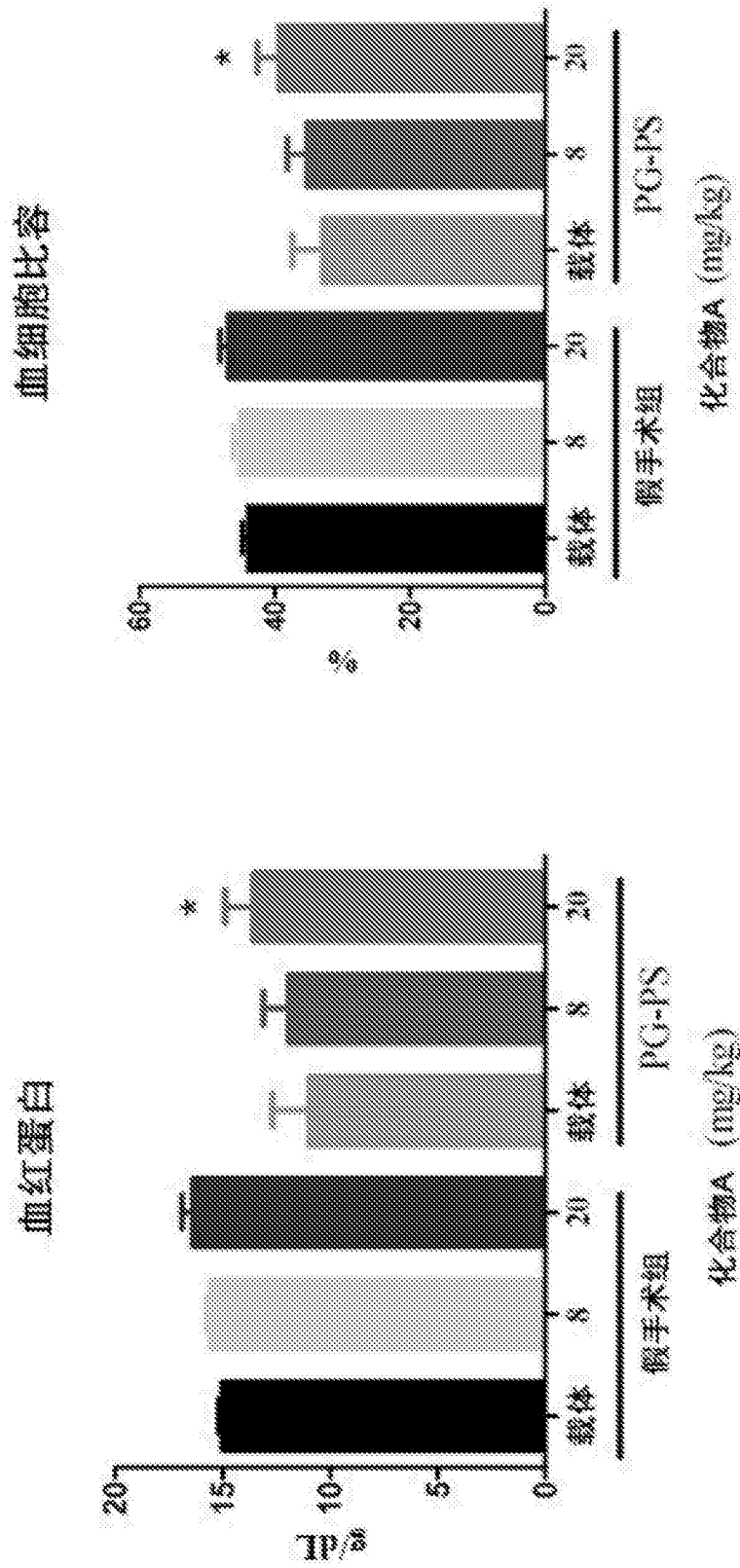
平均 $\pm$ SD; * $P < 0.05$ 相对于载体组

图8



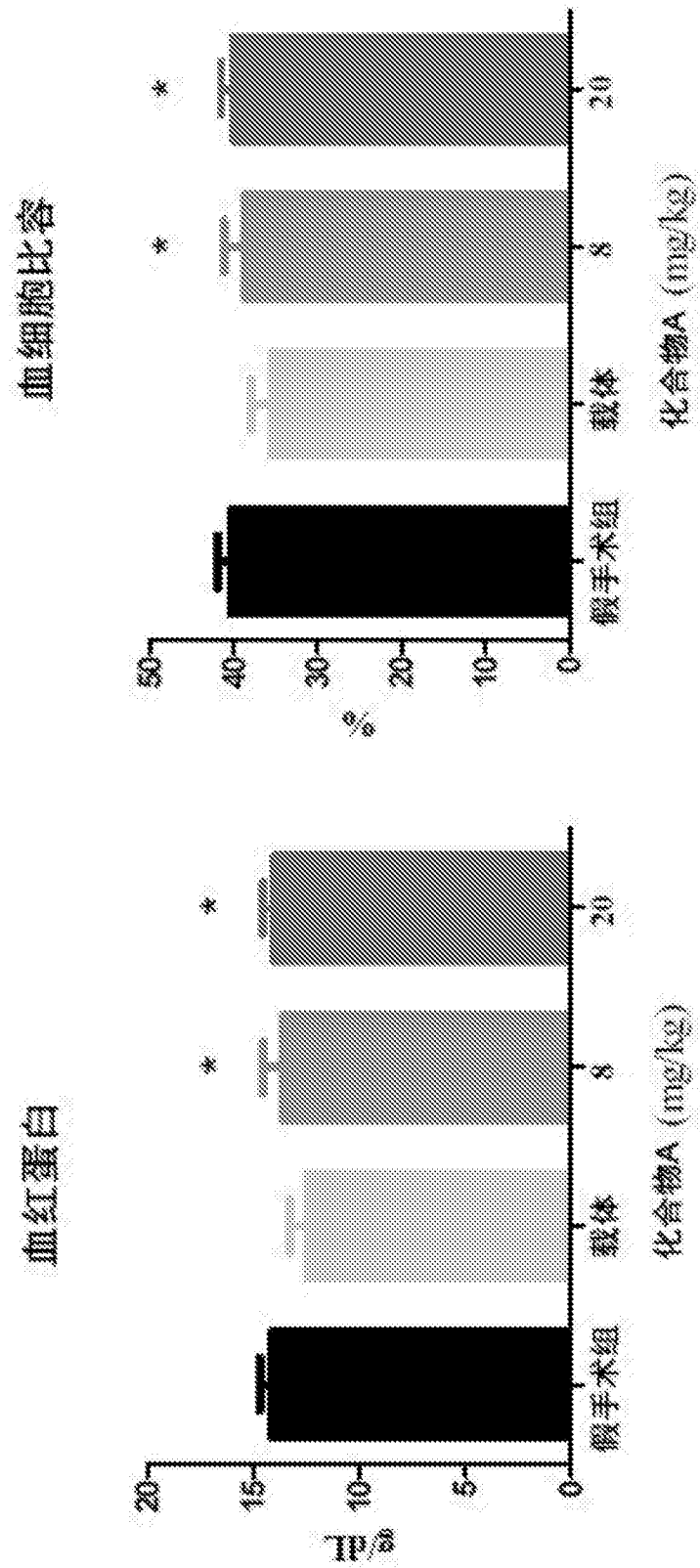
平均 $\pm$ SD; *P<0.05相对于0 mg/kg组

图9



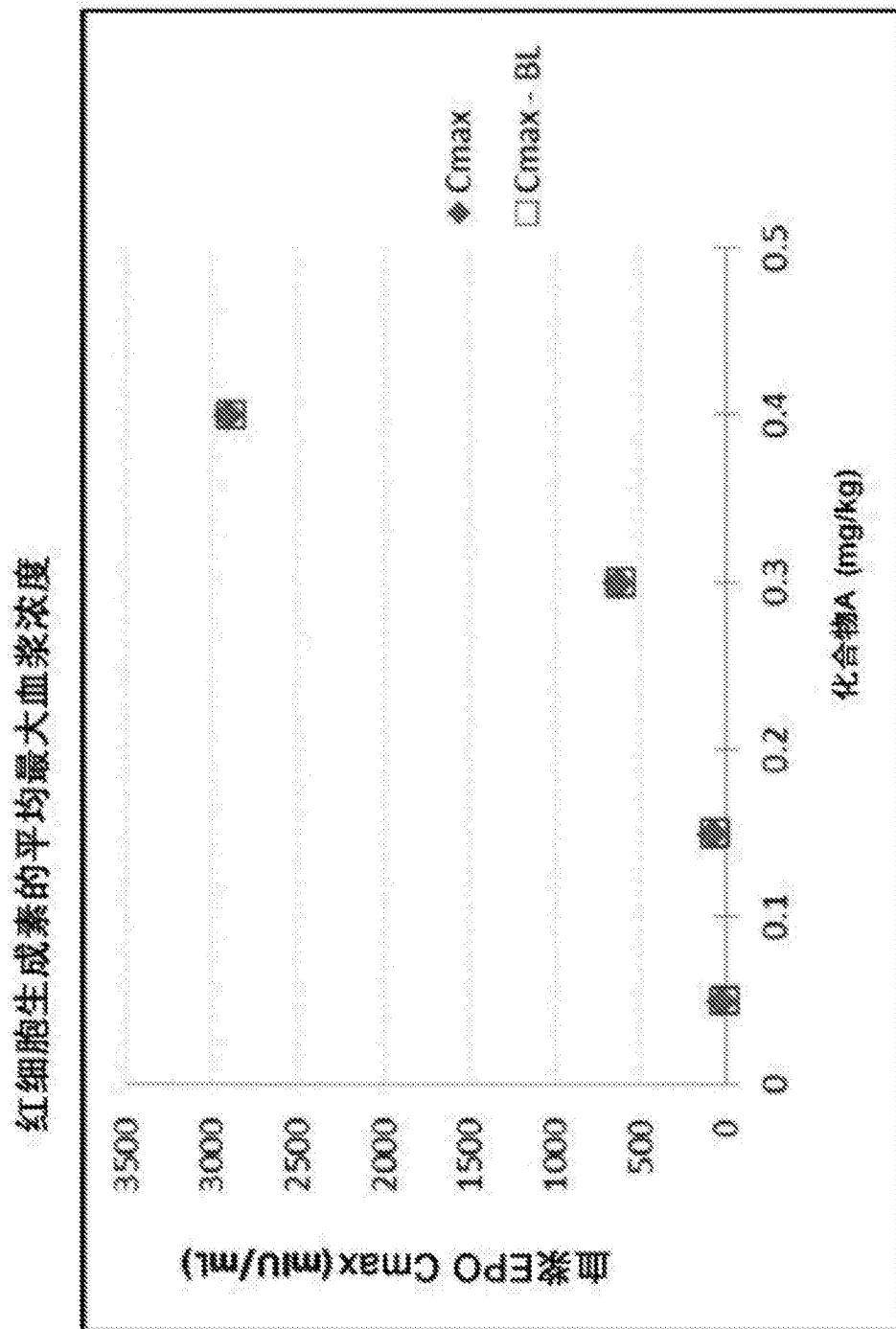
平均 $\pm$ SD; * $P < 0.05$ 相对于 PG-PS 载体组

图10



平均 $\pm$ SD; * $P < 0.05$ 相对于载体组

图11



BL = 基线

图12