

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(11) 030726

(13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2018.09.28

(51) Int. Cl. C07D 471/04 (2006.01)
A61K 31/4985 (2006.01)

(21) Номер заявки
201591989

(22) Дата подачи заявки
2014.04.16

(54) **ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ СОСТАВЫ, СПОСОБЫ, ТВЕРДЫЕ ФОРМЫ И СПОСОБЫ
ПРИМЕНЕНИЯ, ОТНОСЯЩИЕСЯ К 1-ЭТИЛ-7-(2-МЕТИЛ-6-(1Н-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-
ИЛ)ПИРИДИН-3-ИЛ)-3,4-ДИГИДРОПИРАЗИНО[2,3-в]ПИРАЗИН-2(1Н)-ОНУ**

(31) 61/813,064; 61/911,201

(56) WO-A1-2011053518

(32) 2013.04.17; 2013.12.03

WO-A1-2010062571

(33) US

Furniss B.S.; Hannaford A.J.; Smith P.W.G.;
Tatchell A.R.: "Vogel's Textbook of Practical
Organic Chemistry Fifth Edition", 1989, Longman,
XP002727202, ISBN: 0-582-46236-3, page 131-133,
135-143, Acidic/Basic characteristics for purification;
page 132, paragraph 2nd - paragraph 4th, Different
solubilities for crystallisation Common solvents for
recrystallisation; page 136, paragraph 2nd - page 137;
table 2.8, page 140, paragraph Use of Decolourising
Carbon

(43) 2016.04.29

CAIRA M.R.: "CRYSTALLINE
POLYMORPHISM OF ORGANIC COMPOUNDS",
TOPICS IN CURRENT CHEMISTRY, SPRINGER,
BERLIN, DE, vol. 198, 1 January 1998
(1998-01-01), pages 163-208, XP001156954, ISSN:
0340-1022, DOI: 10.1007/3-540-69178-2_5, Chapter
3.1, Paragraph bridging pages 165-166

(86) PCT/US2014/034301

(87) WO 2014/172423 2014.10.23

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**СИГНАЛ ФАРМАСЬЮТИКАЛ,
ЭлЭлСи (US)**

(72) Изобретатель:

**Менон Анил, Парикх Даршан К.,
Виски Дора, Крейлейн Мэттью
Майл, Беурсен Нейтан, Ли Томас, Ли
Ин, Сью Джин, Лян Сяочжан, Леонг
Уилльям Вэй-Хва, Коэн Бенджамин
(US)**

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) Изобретение относится к составам, способам, твердым формам и способам применения, относящимся к 1-этил-7-(2-метил-6-(1Н-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-в]пиразин-2(1Н)-ону.

B1

030726

030726
B1

По заявке на данное изобретение испрашивается приоритет предварительной патентной заявки США № 61/813064, поданной 17 апреля 2013 г., и предварительной патентной заявки № 61/911201, поданной 3 декабря 2013 г., полное содержание которых включено в настоящее изобретение посредством ссылки.

1. Область техники, к которой относится изобретение

Изобретение относится к составам, способам, твердым формам и способам применения, относящимся к 1-этил-7-(2-метил-6-(1Н-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-*b*]пиразин-2(1Н)-ону.

2. Уровень техники изобретения

Связь между нарушенным фосфорилированием белков и причиной или следствием заболеваний известна в течение более 20 лет. Соответственно, протеинкиназы стали очень важной группой мишней для лекарственных средств. См. Cohen, Nat. Rev. Drug Discov. 1(4):309-15 (2002). Различные ингибиторы протеинкиназ применяют клинически в лечении широкого диапазона заболеваний, таких как рак и хронические воспалительные заболевания, включая диабет и инсульт. См. Cohen, Eur. J. Biochem., 268:5001-5010 (2001).

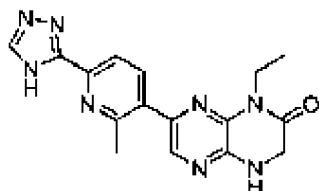
Выяснение сложности протеинкиназных путей и сложности взаимосвязи и взаимодействия среди и между различными протеинкиназами и киназными путями указывает на важность разработки фармацевтических агентов, способных действовать в качестве модуляторов, регуляторов или ингибиторов протеинкиназ, которые обладают полезной активностью относительно нескольких киназ или нескольких киназных путей. Соответственно, сохраняется необходимость в новых киназных модуляторах.

Белок, называемый mTOR (мишень рапамицина в клетках млекопитающих), который также называют FRAP, RAPT1 или RAPT1), представляет собой 2549-аминокислотную Ser/Thr протеинкиназу, которая, как показано, является самым важным белком в mTOR/PI3K/Akt пути, который регулирует рост и пролиферацию клеток. Georgakis and Younes Expert Rev. Anticancer Ther. 6(1):131-140 (2006). mTOR существует в двух комплексах, mTORC1 и mTORC2. mTORC1 является чувствительным к аналогам рапамицина (таким как темсиролимус или эверолимус), и mTORC2 является в основном нечувствительным к рапамицину. Несколько ингибиторов mTOR оценивали или продолжают оценивать в клинических исследованиях для лечения рака. Темсиролимус одобрен для применения при почечно-клеточной карциноме в 2007, и эверолимус одобрен в 2009 для пациентов с почечно-клеточной карциномой, у которых заболевание прогрессирует при введении ингибиторов рецептора 2 сосудистого эндотелиального фактора роста. Кроме того, сиролимус одобрен в 1999 для профилактики отторжения почечного трансплантата. Интересный, но ограниченный успех данных mTORC1 соединений показывает пригодность mTOR ингибиторов в лечении рака и отторжения трансплантата и повышенный потенциал и для mTORC1 и для mTORC2 ингибирующей активности.

Цитирование или указание любой ссылки в разделе 2 настоящего описания не следует интерпретировать как допущение того, что ссылка является предшествующим уровнем техники для настоящего изобретения.

3. Сущность изобретения

Изобретение относится к способам получения соединения 1



имеющего название 1-этил-7-(2-метил-6-(1Н-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-*b*]пиразин-2(1Н)-он или его таутомера, например 1-этил-7-(2-метил-6-(4Н-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-*b*]пиразин-2(1Н)-она или 1-этил-7-(2-метил-6-(1Н-1,2,4-триазол-5-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-*b*]пиразин-2(1Н)-она, и их фармацевтически приемлемых солей, изотопологов, метаболитов и стереоизомеров.

Настоящее изобретение также относится к твердым формам соединения 1 или его фармацевтически приемлемой соли.

Настоящее изобретение также относится к составам соединения 1 и его фармацевтически приемлемых солей, таутомеров, изотопологов, метаболитов и стереоизомеров.

В определенных вариантах осуществления соединение 1 и его фармацевтически приемлемые соли, таутомеры, изотопологии, метаболиты, твердые формы и стереоизомеры являются пригодными в лечении или предотвращении рака и состояний, вылечиваемых или предотвращаемых ингибированием киназного пути, например mTOR/PBK/Akt пути.

Настоящие варианты осуществления можно понять более полно со ссылкой на подробное описание и примеры, которые предполагаются для иллюстрации неограничивающих вариантов осуществления.

4. Краткое описание чертежей

Фиг. 1 показывает набор кривых рентгеновской порошковой дифрактограммы форм соединения 1;
 фиг. 2 - рентгеновскую порошковую дифрактограмму формы А соединения 1;
 фиг. 3 - термогравиметрическую термограмму формы А соединения 1;
 фиг. 4 - дифференциальную сканирующую калориметрическую термограмму формы А соединения 1;
 фиг. 5 - график динамической сорбции паров формы А соединения 1;
 фиг. 6 - рентгеновскую порошковую дифрактограмму формы А соединения 1 после прессования при 2000 пси в течение 1 мин;
 фиг. 7 - рентгеновскую порошковую дифрактограмму формы В соединения 1;
 фиг. 8 - термогравиметрическую термограмму формы В соединения 1;
 фиг. 9 - дифференциальную сканирующую калориметрическую термограмму формы В соединения 1;
 фиг. 10 - ^1H ЯМР спектр формы В соединения 1;
 фиг. 11 - график динамической сорбции паров формы В соединения 1;
 фиг. 12 - рентгеновскую порошковую дифрактограмму формы С соединения 1;
 фиг. 13 - термогравиметрическую термограмму формы С соединения 1;
 фиг. 14 - дифференциальную сканирующую калориметрическую термограмму формы С соединения 1;
 фиг. 15 - ^1H ЯМР спектр формы С соединения 1;
 фиг. 16 - график динамической сорбции паров формы С соединения 1;
 фиг. 17 - рентгеновскую порошковую дифрактограмму формы D соединения 1;
 фиг. 18 - термогравиметрическую термограмму формы D соединения 1;
 фиг. 19 - дифференциальную сканирующую калориметрическую термограмму формы D соединения 1;
 фиг. 20 - ^1H ЯМР спектр формы D соединения 1;
 фиг. 21 - рентгеновскую порошковую дифрактограмму формы Е соединения 1;
 фиг. 22 - термогравиметрическую термограмму формы Е соединения 1;
 фиг. 23 - дифференциальную сканирующую калориметрическую термограмму формы Е соединения 1;
 фиг. 24 - ^1H ЯМР спектр формы Е соединения 1;
 фиг. 25 - график динамической сорбции паров формы Е соединения 1;
 фиг. 26 - таутомеры соединения 1;
 фиг. 27 - ^1H ЯМР спектры основного таутомера соединения 1;
 фиг. 28 - ^1H ЯМР спектры неосновного таутомера соединения 1;
 фиг. 29 - ^{13}C ЯМР спектры основного таутомера соединения 1;
 фиг. 30 - ^{13}C ЯМР спектры неосновного таутомера соединения 1;
 фиг. 31 - средние величины растворения для составов с низкой дозой;
 фиг. 32 - средние величины растворения для составов с высокой дозой;
 фиг. 33 - общий дизайн исследования на биодоступность. *Перекрестную последовательность лечения рандомизируют в блоки по 4 субъекта. Каждый субъект получает все 3 терапии.

5. Подробное описание

5.1. Определения.

Как применяют в настоящем изобретении, термин "фармацевтически приемлемая соль (соли)" относится к соли, полученной из фармацевтически приемлемой нетоксичной кислоты или основания, включая неорганическую кислоту и основание, и органическую кислоту и основание. Подходящие фармацевтически приемлемые соли присоединения основания включают, но не ограничиваются, соли металлов, полученные из алюминия, кальция, лития, магния, калия, натрия и цинка, или органические соли, полученные из лизина, N,N'-дibenзилэтилендиамина, хлорпрокайна, холина, диэтаноламина, этилендиамина, меглумина (N-метилглюамина) и прокайна. Подходящие нетоксичной кислоты включают, но не ограничиваются, неорганические и органические кислоты, такие как уксусная, альгиновая, антракилловая, бензолсульфоновая, бензойная, камфорсульфоновая, лимонная, этенсульфоновая, муравьиная, фумаровая, фуранкарбоновая, галактуроновая, глюконовая, глюкуроновая, глютаминовая, гликоловая, бромистоводородная, хлористоводородная, изэтионовая, молочная, малеиновая, яблочная, миндальная, метансульфоновая, слизевая, азотная, памовая, пантотеновая, фенилуксусная, фосфорная, пропионовая, салициловая, стеариновая, янтарная, сульфаниловая, серная, винная кислота и п-толуолсульфоновая кислота. Конкретные нетоксичные кислоты включают соляную, бромистоводородную, фосфорную, серную и метансульфоновую кислоты. Таким образом, примеры конкретных солей включают гидрохлоридные и мезилатные соли. Другие являются хорошо известными в данной области техники, см., например, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18-е издание, Mack Publishing, Easton PA (1990) или Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19-е издание, Mack Publishing, Easton PA (1995).

Как применяют в настоящем изобретении и если не указано иначе, термин "стереоизомер" или "стереомерно чистый" обозначает один стереоизомер соединения, который, по существу, не содержит других стереоизомеров данного соединения. Например, стереоизомерно чистое соединение, содержащее один хиральный центр, будет, по существу, не содержать противоположного энантиомера соединения. Стереоизомерно чистое соединение, содержащее два хиральных центра, будет, по существу, не содержать других диастереомеров данного соединения. Типичное стереоизомерно чистое соединение содержит более чем приблизительно 80 вес.% одного стереоизомера соединения и меньше чем приблизительно 20 вес.% других стереоизомеров данного соединения, более чем приблизительно 90 вес.% одного стереоизомера данного соединения и меньше чем приблизительно 10 вес.% других стереоизомеров соединения, более чем приблизительно 95 вес.% одного стереоизомера данного соединения и меньше чем приблизительно 5 вес.% других стереоизомеров данного соединения, или более чем приблизительно 97 вес.% одного стереоизомера данного соединения и меньше чем приблизительно 3 вес.% других стереоизомеров данного соединения. Соединения могут содержать хиральные центры и могут существовать в виде рацематов, отдельных энантиомеров или диастереомеров и их смесей. Все данные изомерные формы включены в варианты осуществления, описанные в настоящем изобретении, включая их смеси. Применение стереомерно чистых форм данных соединений, а также применение смесей данных форм включено вariantами осуществления, описанными в настоящем изобретении. Например, смеси, содержащие равные или неравные количества энантиомеров конкретного соединения, можно применять в способах и композициях, описанных в настоящем изобретении. Данные изомеры можно получить асимметрически или разделять, применяя стандартные способы, такие как хиральные колонки или хиральные разделяющие агенты. См., например, Jacques J. et al., Enantiomers, Racemates and Resolutions (Wiley-Interscience, New York, 1981); Wilen S.H. et al., Tetrahedron 33:2725 (1977); Eliel E.L., Stereochemistry of Carbon Compounds (McGraw-Hill, NY, 1962); и Wilen S.H., Tables of Resolving Agents and Optical Resolutions, p. 268 (E.L.Eliel, Ed., Univ. of Notre Dame Press, Notre Dame, IN, 1972).

Следует также отметить, что соединения могут включать Е- и Z-изомеры или их смесь и цис- и транс-изомеры или их смесь. В определенных вариантах осуществления соединения выделяют в виде или цис- или транс-изомера. В других вариантах осуществления соединения представляют собой смесь цис- и транс-изомеров.

"Таутомеры" относится к изомерным формам соединения, которые находятся в равновесии друг с другом. Концентрации изомерных форм будут зависеть от окружения, в котором находится соединение, и могут отличаться в зависимости, например, от того, является ли соединение твердым или в органическом или водном растворе. Например, в водном растворе, пиразолы могут иметь следующие изомерные формы, которые называют таутомерами друг друга



Как ясно специалисту в данной области техники, большой набор функциональных групп и других структур могут проявлять таутомерию, и все таутомеры соединения 1 включены в объем настоящего изобретения.

Следует также отметить, что соединение может содержать неприродные соотношения атомных изотопов для одного или более атомов. Например, соединение 1 может быть радиомеченым радиоактивными изотопами, такими как, например, тритий (^3H) или углерод-14 (^{14}C), или может быть изотопно обогащенным, например, дейтерием (^2H), углеродом-13 (^{13}C) или азотом-15 (^{15}N). Как применяют в настоящем изобретении, "изотополог" представляет собой изотопно обогащенное соединение. Термин "изотопно обогащенный" относится к атому, имеющему изотопный состав, отличный от природного изотопного состава данного атома. "Изотопно обогащенный" может также относиться к соединению, содержащему по меньшей мере один атом, имеющий изотопный состав, отличный от природного изотопного состава данного атома. Термин "изотопный состав" относится к количеству каждого изотопа, присутствующего для указанного атома. Радиомеченные и изотопно обогащенные соединения являются пригодными в качестве терапевтических агентов, например терапевтических агентов для лечения рака и воспаления, реагентов для исследований, например реагентов для анализа на связывание, и диагностических агентов, например в качестве агентов для получения изображений *in vivo*. Все изотопные варианты соединения 1, радиоактивные они или нет, предполагаются включенными в объем вариантов осуществления, относящихся к настоящему изобретению. В некоторых вариантах осуществления обеспечивают изотопологии соединения 1, например изотопологи представляют собой соединение 1, обогащенное дейтерием, углеродом-13 или азотом-15.

Термин "твердая форма" относится к физической форме, которая не находится преимущественно в жидком или газообразном состоянии. Как применяют в настоящем изобретении и если не указано иначе, термин "твердая форма", при применении в настоящем изобретении для ссылки на соединение 1, относится к физической форме, содержащей соединение 1, которое не находится преимущественно в жидком или газообразном состоянии. Твердая форма может представлять собой кристаллическую форму, аморфную форму или их смесь. В определенных вариантах осуществления твердая форма может представлять

собой жидкий кристалл. В определенных вариантах осуществления термин "твёрдая форма, содержащая соединение 1" включает кристаллические формы, содержащие соединение 1, аморфные формы, содержащие соединение 1, и их смеси. В определенных вариантах осуществления твёрдая форма соединения 1 представляет собой форму А, форму В, форму С, форму Д или форму Е.

Как применяют в настоящем изобретении и если не указано иначе, термин "кристаллическое" при применении для описания соединения, вещества, модификации, материала, компонента или продукта, если не указано иначе, обозначает то, что соединение, вещество, модификация, материал, компонент или продукт является, по существу, кристаллическим, как определено дифракцией рентгеновских лучей. См., например, Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21-е изд., Lippincott, Williams and Wilkins, Baltimore, MD (2005); The United States Pharmacopeia, 23-е изд., 1843-1844 (1995).

Термин "кристаллическая форма" относится к твердой форме, которая является кристаллической. В определенных вариантах осуществления кристаллические формы включают соли. В определенных вариантах осуществления кристаллическая форма вещества может, по существу, не содержать аморфных форм и/или других кристаллических форм. В определенных вариантах осуществления кристаллическая форма вещества может содержать меньше чем приблизительно 1%, меньше чем приблизительно 2%, меньше чем приблизительно 3%, меньше чем приблизительно 4%, меньше чем приблизительно 5%, меньше чем приблизительно 6%, меньше чем приблизительно 7%, меньше чем приблизительно 8%, меньше чем приблизительно 9%, меньше чем приблизительно 10%, меньше чем приблизительно 15%, меньше чем приблизительно 20%, меньше чем приблизительно 25%, меньше чем приблизительно 30%, меньше чем приблизительно 35%, меньше чем приблизительно 40%, меньше чем приблизительно 45% или меньше чем приблизительно 50 вес.% одной или более аморфных форм и/или других кристаллических форм. В определенных вариантах осуществления кристаллическая форма вещества может быть физически и/или химически чистой. В определенных вариантах осуществления кристаллическая форма вещества может быть на приблизительно 99%, приблизительно 98%, приблизительно 97%, приблизительно 96%, приблизительно 95%, приблизительно 94%, приблизительно 93%, приблизительно 92%, приблизительно 91% или приблизительно 90% физически и/или химически чистой.

Термин "аморфное" или "аморфная форма" обозначает то, что указанное вещество, компонент или исследуемый продукт не является, по существу, кристаллическим, как определено дифракцией рентгеновских лучей. В частности, термин "аморфная форма" описывает неупорядоченную твердую форму, т.е. твердую форму, у которой отсутствует дальний порядок кристаллической структуры. В определенных вариантах осуществления аморфная форма вещества может, по существу, не содержать других аморфных форм и/или кристаллических форм. В определенных вариантах осуществления аморфная форма вещества может содержать меньше чем приблизительно 1%, меньше чем приблизительно 2%, меньше чем приблизительно 3%, меньше чем приблизительно 4%, меньше чем приблизительно 5%, меньше чем приблизительно 10%, меньше чем приблизительно 15%, меньше чем приблизительно 20%, меньше чем приблизительно 25%, меньше чем приблизительно 30%, меньше чем приблизительно 35%, меньше чем приблизительно 40%, меньше чем приблизительно 45% или меньше чем приблизительно 50 вес.% одной или более других аморфных форм и/или кристаллических форм по весу. В определенных вариантах осуществления аморфная форма вещества может быть физически и/или химически чистой. В определенных вариантах осуществления аморфная форма вещества является приблизительно на 99%, приблизительно 98%, приблизительно 97%, приблизительно 96%, приблизительно 95%, приблизительно 94%, приблизительно 93%, приблизительно 92%, приблизительно 91% или приблизительно 90% физически и/или химически чистой.

"Лечение", как применяют в настоящем изобретении, обозначает облегчение, в целом или частично, заболевания или расстройства, или симптомов, связанных с заболеванием или расстройством, или замедление или остановку последующего развития или ухудшения заболевания или расстройства или симптомов, связанных с заболеванием или расстройством.

"Предотвращение", как применяют в настоящем изобретении, обозначает предотвращение возникновения рецидива или распространения заболевания или расстройства или симптомов, связанных с заболеванием или расстройством, у пациентов с риском развития заболевания или расстройства.

Термин "эффективное количество" в связи с соединением 1 обозначает в одном варианте осуществления количество, способное облегчать, в целом или частично, симптомы, связанные с заболеванием или расстройством, или замедлять или останавливать последующее развитие или ухудшение данных симптомов, или, в другом варианте осуществления, количество, способное предотвращать или обеспечивать профилактику заболевания или расстройства у субъекта с риском развития заболевания или расстройства, как описано в настоящем изобретении, такого как рак. В одном варианте осуществления эффективное количество соединения 1 представляет собой количество, которое ингибитирует киназу в клетке, так как, например, *in vitro* или *in vivo*. В одном варианте осуществления киназа представляет собой mTOR, ДНК-ПК, PI3K или их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления, эффективное количество соединения 1 ингибирует киназу в клетке на 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 или 99% по сравнению с активностью киназы в необработанной клетке. Эффективное количество соединения 1, например, в фармацевтической композиции, может составлять количество, которое будет проявлять требуемый эффект;

например, от приблизительно 0,005 мг/кг веса тела субъекта до приблизительно 100 мг/кг веса тела пациента в единичной форме и для перорального и для парентерального введения. Как ясно специалисту в данной области техники, ожидают, что эффективное количество соединения 1, описанного в настоящем изобретении, может изменяться в зависимости от заболевания, которое лечат, например эффективное количество соединения 1 будет, вероятно, отличаться для лечения пациентов, страдающих от или подверженных риску воспалительных заболеваний, относительно эффективного количества соединения 1 для лечения пациентов, страдающих от или подверженных риску отличного расстройства, например, рака или метаболического расстройства.

Термин "пациент" включает животное, включая, но не ограничиваясь, животное, такое как корова, обезьяна, лошадь, овца, свинья, курица, индюшка, перепел, кошка, собака, мышь, крыса, кролик или морская свинка, в одном варианте осуществления млекопитающее, в другом варианте осуществления человека.

Термин "рак" относится к любому из различных злокачественных новообразований, характеризующемуся пролиферацией клеток, которые могут инвазировать окружающие ткани и метастазировать в новые части тела. И доброкачественные, и злокачественные опухоли классифицируют согласно типу ткани, в которой они находятся. Например, фибромы представляют собой новообразования грубоволокнистой соединительной ткани, и меланомы представляют собой нарушенный рост пигментных (меланиновых) клеток. Злокачественные опухоли, возникающие в эпителиальной ткани, например в коже, бронхах и желудке, называют карциномами. Злокачественные образования эпителиальной железистой ткани, такой как обнаруживается в груди, простате и толстой кишке, называютadenокарциномами. Злокачественный рост соединительной ткани, например мышц, хрящей, лимфоидной ткани и костей, называют саркомами. Лимфомы и лейкемии представляют собой злокачественные опухоли, возникающие среди белых кровяных клеток. Посредством процесса метастаза миграция опухолевых клеток к другим областям порождает новообразования в областях, находящихся вдали от места первоначального возникновения. Костная ткань представляет собой одно из самых подходящих мест для метастазов злокачественных опухолей, возникая приблизительно в 30% из всех случаев рака. Известно, что среди злокачественных опухолей рак легких, груди, простаты или подобные, вероятно, метастазируют в кости.

В контексте новообразования, рака, роста опухоли или роста опухолевых клеток, ингибиование можно оценить задержанным возникновением первичной или вторичной опухолей, замедленным развитием первичной или вторичной опухолей, пониженней частотой возникновения первичной или вторичной опухолей, замедленной или пониженной тяжестью вторичных эффектов заболевания, остановкой роста опухоли и регрессией опухоли, среди прочих. В пределе полное ингибиование называют в настоящем изобретении предотвращением или хемопревенцией. В данном контексте термин "предотвращение" включает или предотвращение возникновения клинически выраженного новообразования в целом или предотвращение возникновения предклинически выраженной стадии новообразования у индивидов, подверженных риску. Также предполагается включенным данным определением предотвращение трансформации в злокачественные клетки или остановка или обращение развития предраковых клеток в злокачественные клетки. Это включает профилактическое лечение пациентов, подверженных риску развития новообразования.

В определенных вариантах осуществления лечение лимфомы можно оценить международными экспертными критериями (IWC) для неходжкинской лимфомы (НХЛ) (см. Cheson B.D., Pfistner B., Juweid M.E. et. al. Revised Response Criteria for Malignant Lymphoma. J. Clin. Oncol: 2007: (25) 579-586), применяя критерии ответа и конечной точки, показанные ниже

ответ	критерий	узловые образования	селезенка, печень	костный мозг
ПР	исчезновение всех симптомов заболевания	(a) с повышенным накоплением ФДГ или ПЭТ положительное перед терапией; образование любого допустимого размера, если ПЭТ негативное (b) изменчивое с повышенным накоплением ФДГ или ПЭТ негативное; регрессия до нормального размера по КТ	неощущимая, узлы исчезают	инфилтрат светлеет при повторной биопсии; если не определяется морфологией, иммуногистохимия должна быть отрицательной
ЧР	регрессия измеряемых проявлений заболевания и отсутствие новых очагов поражения	≥50% снижение СПД вплоть до 6 наибольших основных образований; отсутствие увеличения размера других узлов (a) с повышенным накоплением ФДГ или ПЭТ положительное перед терапией; один или более ПЭТ положительных в ранее пораженном месте (b) изменчивое с повышенным накоплением ФДГ или ПЭТ негативное; регрессия по КТ	≥50% снижение СПД узлов (для одного узла наибольшего поперечного диаметра); отсутствие увеличения печени или селезенки	неважен, если положительный перед терапией; тип клеток должен быть указан
СЗ	неспособность достичь ПР/ЧР или ПЗ	(a) с повышенным накоплением ФДГ или ПЭТ положительное перед терапией; ПЭТ положительное в ранее пораженных заболеванием местах и отсутствие новых мест поражения по КТ или ПЭТ (b) изменчивое с повышенным накоплением ФДГ или ПЭТ негативное; отсутствие изменения размера предшествующих очагов поражения по КТ		
ПЗ или рецидивирующее заболевание	любой новый очаг поражения или увеличение ≥50% первоначально пораженных мест относительно наименьшей величины	возникновение нового очага поражения (поражений) ≥1,5 см по любой оси, ≥50% увеличение СПД более чем одного узла или ≥50% увеличение наибольшего диаметра ранее обнаруженного узла ≥1 см по короткой оси, очаги поражения ПЭТ положительные, если лимфома с повышенным накоплением ФДГ или ПЭТ положительная перед терапией	≥50% увеличение относительно наименьшей величины СПД любых предшествующих очагов поражения	новое или рецидивирующее поражение

Сокращения: ПР - полная ремиссия; ФДГ - $[^{18}\text{F}]$ фтордезоксиглюкоза; ПЭТ - позитрон-эмиссионная томография; КТ - компьютерная томография; ЧР - частичная ремиссия; СПД - сумма произведений диаметров; СЗ - стабильное заболевание; ПГ - прогрессирующее заболевание.

конечная точка	пациенты	критерий	измеряемая относительно
Первичная общая выживаемость выживаемость прогрессирования заболевания	без без	Все	смерть в результате любой причины
		Все	прогрессирование заболевания или смерть в результате любой причины
Вторичная бессобытийная выживаемость	все		ненеэффективность лечения или смерть в результате любой причины
время до регрессии	все		время до прогрессирования или смерти в результате лимфомы
выживаемость заболевания	без с ПР		время до рецидива или смерти в результате лимфомы или острой токсичности лечения
продолжительность ответа	С ПР или ЧР		время до рецидива или прогрессирования
лимфомаспецифическая выживаемость	все		время до смерти в результате лимфомы
время до следующей терапии	все		время до новой терапии
			конец первичной терапии

Сокращения: ПР - полная ремиссия; ЧР - частичная ремиссия.

В одном варианте осуществления конечная точка для лимфомы представляет собой данные о клинической пользе. Клиническая польза может отражать улучшение качества жизни или ослабление симптомов у пациента, снижение необходимости в переливании крови, снижение частоты инфекций или других параметров. Время до повторного возникновения или прогрессирования симптомов, связанных с лимфомой, можно также применять в данной конечной точке.

В определенных вариантах осуществления лечение ХЛЛ можно оценить международным экспертым руководством для ХЛЛ (см. Hallek M., Cheson B.D., Catovsky D. et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia: a report from the International Workshop on Chronic lymphocytic leukemia updating the National Cancer Institute - Working Group 1996 guidelines. Blood, 2008; (111) 12: 5446-5456), применяя критерии ответа и конечной точки, показанные в нем и, в частности, в нижеприведенной таблице.

параметр	ПР	ЧР	ПЗ
группа А			
лимфаденопатия	Нет >1,5 см	Снижение ≥50%	Увеличение ≥50%
гепатомегалия	нет	Снижение ≥50%	Увеличение ≥50%
спленомегалия	нет	Снижение ≥50%	Увеличение ≥50%
лимфоциты крови	<4000 мкл	Снижение ≥50% относительно исходной величины	Увеличение ≥50% относительно первоначальной величины
костный мозг	нормоцеллюлярная, <30% лимфоциты, отсутствие В-лимфатических бляшек, гипоцеллюлярный костный мозг определяет полную ремиссию с неполным восстановлением костного мозга (5.1.6)	50% снижение инфильтраты костного мозга или В-лимфатических бляшек	
группа В			
количество тромбоцитов	>100000/мкл	>100000/мкл или увеличение ≥50% относительно первоначальной величины	снижение ≥50% относительно первоначальной величины, вторично к ХЛЛ
гемоглобин	>11,0 г/дл	>11 г/дл или увеличение ≥50% относительно первоначальной величины	снижение >2 г/дл относительно первоначальной величины, вторично к ХЛЛ
нейтрофилы	>1500/мкл	>1500/мкл или увеличение ≥50% относительно первоначальной величины	

Критерии для группы А определяют опухолевую массу; критерии группы В определяют функцию гематопоэтической системы (или костного мозга). ПР (полная ремиссия): все из критериев должны быть удовлетворены, и пациенты не должны обладать системными симптомами, связанными с заболеванием; PR (частичная ремиссия): по меньшей мере два из критериев группы А плюс один критерий из группы В должны быть удовлетворены; СЗ представляет собой отсутствие прогрессирующего заболевания (PD) и неспособность достигнуть, по меньшей мере, ЧР; ПЗ: по меньшей мере один из приведенных выше критериев группы А или группы В должен быть удовлетворен. Сумма произведений нескольких лимфатических узлов (как оценено КТ сканами в клинических исследованиях или физическим осмотром в кабинете терапевта). Данные параметры являются неприменимыми для некоторых категорий ответа.

В определенных вариантах осуществления лечения множественной миеломы можно оценить международными едиными критериями ответа для множественной миеломы (IURC) (см. Durie B.G.M., Harousseau J.-L., Miguel J.S. et al. International Uniform Response Criteria for multiple myeloma. Leukemia, 2006; (10) 10: 1-7), применяя критерии ответа и конечной точки, показанные ниже.

подкатегория ответа	критерии ответа ^a
СЛО	как определено ниже, плюс нормальное соотношение СЛЦ и отсутствие клонированных клеток в костном мозге ^b иммуногистохимией или иммунофлуоресценцией ^c
ПО	негативная иммунофиксация в сыворотке и моче и исчезновение любых плазмоцитом мягких тканей и <5% плазмоцитов в костном мозге ^b
ОХЧО	М-белок в сыворотке и моче, детектируемый иммунофиксацией, но не электрофорезом, или 90% или большее снижение М-белка в сыворотке плюс концентрация М-белка в моче <100 мг за 24 часа
ПО	≥ снижение N-белка в сыворотке и снижение М-белка в моче за 24 часа до ≥90% или до <200 мг за 24 часа Если М-белок в сыворотке и моче является неизмеримым ^d , ≥50% снижение разницы между концентрациями вовлеченных и невовлеченных СЛЦ требуется вместо критерия М-белка Если М-белок в сыворотке и моче является неизмеримым, и анализ свободных легких цепей в сыворотке также является неосуществимым, ≥50% снижение плазмоцитов требуется вместо М-белка, при условии, что исходный процент плазмоцитов в костном мозге был ≥30% В добавление к указанным выше критериям, если присутствует на исходном уровне, также требуется ≥50% снижение размера плазмоцитом мягких тканей
СЗ (не рекомендовано для применения в качестве показателя ответа; стабильность заболевания лучше всего описывают обеспечением оценки времени до прогрессирования)	не удовлетворяет критериям для ПО, ОХЧО, ЧО или прогрессирующего заболевания

Сокращения: ПР - полный ответ; СЛЦ - свободная легкая цепь; PR - частичный ответ; SD - стабильное заболевание; sCR - строгий полный ответ; VGPR - очень хороший частичный ответ.

^a Все категории ответа требуют двух последовательных обследований, выполненных в любое время перед назначением любой новой терапии; все категории также не требуют имеющихся данных о прогрессирующем или новом поражении кости, если осуществляли рентгенографические исследования. Рентгенографические исследования не требуются для удовлетворения данных требований к ответу.

^b Подтверждение с повторной биопсией костного мозга не требуется.

^c Наличие/отсутствие клонированных клеток основано на к/λ соотношении. Отклоняющееся соотношение к/λ иммуногистохимией и/или иммунофлуоресценцией требует минимум 100 плазмоцитов для анализа. Отклоняющееся соотношение, отражающее наличие идиобластов, составляет к/λ>4:1 или <1:2.

^d Измеримые проявления заболевания, определяемые по меньшей мере одним из следующих показателей: плазматиты костного мозга ≥30%; сывороточный М-белок ≥1 г/дл ($\geq 10 \text{ mg/l}$) [10 g/l]; М-белок в моче $\geq 200 \text{ mg/24 ч}$; анализ СЛЦ в сыворотке: концентрация вовлеченных СЛЦ $\geq 10 \text{ mg/dl}$ ($\geq 100 \text{ mg/l}$); при условии, что соотношение СЛЦ в сыворотке является отклоняющимся.

В определенных вариантах осуществления лечения рака можно оценить критерием оценки ответа при солидных опухолях (RECIST 1.1) (см. Thereasse P. et al. New Guidelines to Evaluate the Response to Treatment in Solid Tumors. J. of the National Cancer Institute; 2000; (92): 205-216 и Eisenhauer E.A., Therasse P., Bogaerts J., et al. New response evaluation Criteria in solid tumours: Revised RECIST guideline (версия 1.1). European J. Cancer; 2009; (45): 228-247). Суммарный ответ для всех возможных комбинаций

ответов опухоли на лечение в целевых и нецелевых очагах повреждения с или без возникновения новых поражений является следующим:

целевые очаги поражения	нечелевые очаги поражения	новые очаги поражения	суммарный ответ
ПО	ПО	нет	ПО
ПО	неполный ответ/СЗ	нет	ЧО
ЧО	не ПЗ	нет	ЧО
СЗ	не ПЗ	нет	СЗ
ПЗ	любое	да или нет	ПЗ
любое	ПЗ	да или нет	ПЗ
любое	любое	да	ПЗ

ПО - полный ответ; ЧО - частичный ответ; СЗ - стабильное заболевание и ПЗ - прогрессирующее заболевание.

Относительно оценки целевых очагов повреждения полный ответ (CR) представляет собой исчезновение всех целевых очагов повреждения, частичный ответ (PR) представляет собой по меньшей мере 30% снижение в сумме наибольшего диаметра целевых очагов повреждения, принимая за эталон исходный суммарный наибольший диаметр, прогрессирующее заболевание (PD) представляет собой по меньшей мере 20% увеличение в сумме наибольшего диаметра целевых очагов повреждения, принимая за эталон наименьший суммарный наибольший диаметр, зарегистрированный после начала лечения или возникновения одного или более новых очагов повреждения, и стабильное заболевание (SD) представляет собой ни достаточное снижение для отнесения к частичному ответу, ни достаточное повышение для отнесения к прогрессированию заболевания, принимая за эталон наименьший суммарный наибольший диаметр с момента начала лечения.

Относительно оценки нецелевых очагов повреждения полный ответ (CR) представляет собой исчезновение всех нецелевых очагов повреждения и нормализацию уровня опухолевых маркеров; неполный ответ/стабильное заболевание (SD) представляет собой наличие одного или более нецелевых очагов повреждения и/или сохранение концентрации опухолевых маркеров выше нормальных пределов, и прогрессирующее заболевание (PD) представляет собой возникновение одного или более новых очагов повреждения и/или явное прогрессирование существующих нецелевых поражений.

Способы, соглашения и критерии, описанные ниже, обеспечивают руководство для осуществления рекомендаций группы оценки ответа для нейроонкологии (RANO), относящихся к критериям ответа для глиомы высокой степени злокачественности (Wen P., Macdonald D.R., Reardon D.A. et al. Updated response assessment Criteria for highgrade gliomas: Response assessment in neuro-oncology working group. J. Clin. Oncol. 2010; 28: 1963-1972). Первичные модификации RANO критериев для критериев ответа в зависимости от времени (TPR) могут включать добавление операционных соглашений для определения изменений в дозе глюкокортикоида и удаление клинически вредного для субъекта компонента для фокусировки на объективной рентгенографической оценке. Исходное MRI сканирование определяют как оценку, проведенную в конце периода восстановления после хирургической операции, перед повторным началом лечения соединением. Исходное MRI применяют в качестве эталона для оценки полного ответа (CR) и частичного ответа (PR). Тогда как наименьшая СПД (сумма произведений диаметров), полученная или на исходном уровне или при последующих оценках, будет обозначать оценку самого низкого уровня и будет применяться в качестве эталона для определения прогрессирования. В течение 5 дней, предшествующих любому определенному протоколом MRI скану, субъекты или не получают глюкокортикоиды или получают стабильную дозу глюкокортикоидов. Стабильную дозу определяют как одинаковую дневную дозу для 5 последовательных дней, предшествующих MRI сканированию. Если изменяют предписанную дозу глюкокортикоида в пределах 5 дней до исходного сканирования, требуется новое исходное сканирование с применением глюкокортикоида, удовлетворяющее критерию, описанному выше. Будут применять следующие критерии.

Измеримые очаги повреждения: измеримые очаги повреждения представляют собой очаги повреждения, накапливающие контраст, которые можно измерить двухмерно. Осуществляют измерение максимального диаметра накапливающей опухоли (также известного как наибольший диаметр, LD). Наибольший перпендикулярный диаметр измеряют на том же изображении. Перекрестие двухмерных измерений должно пересекаться, и будут рассчитывать сумму данных диаметров.

Минимальный диаметр: T1-взвешенное изображение, на котором участки имеют размер 5 мм с 1 мм пропуском. Минимальный LD измеряемого очага повреждения устанавливают на 5 на 5 мм. Большой диаметр может требоваться для включения и/или обозначения в качестве целевых очагов повреждения. После исходных измерений, целевые очаги повреждения, которые стали меньше, чем минимальное требование для измерения, или стали более не поддающимися двухмерному измерению, будут записы-

вать при установленном значении 5 мм для каждого диаметра меньше 5 мм. Очаги повреждения, которые исчезли, будут записывать как 0 на 0 мм.

Многофокусные очаги повреждения: очаги повреждения, которые считают многофокусными (в противоположность непрерывным), представляют собой очаги повреждения, когда имеется нормальная промежуточная ткань мозга между двумя (или более) очагами повреждения. Что касается многофокусных очагов повреждения, которые представляют собой дискретные очаги накопления, подход заключается в отдельном измерении каждого накапливающего очага повреждения, который удовлетворяет критерию включения. Если нормальная ткань мозга между двумя (или более) очагами повреждения отсутствует, их будут считать одним очагом повреждения.

Неизмеримые очаги повреждения: все очаги повреждения, которые не удовлетворяют критерию для измеряемых проявлений заболевания, как определено выше, будут считать неизмеримыми очагами повреждения, а также все ненакапливающие и другие действительно неизмеримые очаги повреждения. Неизмеримые очаги повреждения включают очаги накопления, которые имеют диаметр, меньше чем указанный наименьший диаметр (т.е. меньше чем 5 на 5 мм), ненакапливающие очаги повреждения (например, как видно на T1-взвешенных изображениях после введения контрастного вещества, T2-взвешенных изображениях или изображениях в режиме с подавлением сигнала свободной воды (FLAIR)), геморрагические или преимущественно кистозные или некротические очаги повреждения, и лептоменингальную опухоль. Геморрагические очаги повреждения часть обладают собственной T1-взвешенной гиперинтенсивностью, которую можно ошибочно интерпретировать как накапливающая опухоль, и по этой причине T1-взвешенное изображение перед введением контрастного вещества можно исследовать для исключения исходного или промежуточного подострого кровоизлияния.

На исходном уровне очаги повреждения будут классифицировать следующим образом: целевые очаги повреждения: вплоть до 5 измеримых очагов повреждения можно выбирать в качестве целевых очагов повреждения, причем каждый измеряют по меньшей мере 10 мм на 5 мм, репрезентирующие заболевание субъекта; нецелевые очаги повреждения: все другие очаги повреждения, включая все неизмеримые очаги повреждения (включая масс-эффекты и T2/FLAIR показания) и любой измеримый очаг повреждения, не выбранный в качестве целевого очага повреждения. На исходном уровне целевые очаги повреждения следует измерять, как описано в определении для измеримых очагов повреждения, и следует определять СПД всех целевых очагов повреждения. Следует записывать наличие всех других очагов повреждения. При всех оценках после лечения исходную классификацию очагов повреждения в качестве целевых и нецелевых очагов повреждения будут сохранять и очаги повреждения будут записывать и описывать одинаковым способом с течением времени (например, записывать в том же порядке в исходных документах и eCRF). Все измеримые и неизмеримые очаги повреждения нужно оценивать, применяя такой же способ, как на исходном уровне (например, изображения субъектов следует получать на одном MRI сканере или, по меньшей мере, с одинаковой мощностью магнита) в процессе исследования, снижая различия в интерпретации изменений. При каждой оценке целевые очаги повреждения будут измерять и рассчитывать СПД. Нецелевые очаги повреждения будут оценивать качественно, и новые очаги повреждения, если они есть, будут записывать отдельно. При каждой оценке ответ в зависимости от момента времени будут определять для целевых очагов повреждения, нецелевых очагов повреждения и нового очага повреждения. Прогрессирование опухоли можно установить, даже если оценивают поднабор очагов повреждения. Однако, если прогрессирование не наблюдают, объективный статус (стабильное заболевание, ЧО или ПО) можно определить, только когда оценивают все очаги повреждения.

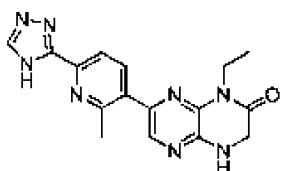
Подтверждающие оценки для суммарных ответов в определенные моменты времени ПР и ЧР будут осуществлять при следующей запланированной оценке, но подтверждение можно не осуществлять, если сканы имеют интервал <28 дней. Наилучший ответ, вводящий требования для подтверждения, будут получать для серии моментов времени.

В определенных вариантах осуществления лечение рака можно оценить ингибирированием фосфорилирования S6RP, 4E-BP1, АКТ и/или ДНК-ПК в циркулирующей крови и/или опухолевых клетках и/или биопсии кожи или биопсии/аспирации опухоли перед, в процессе и/или после лечения TOR киназным ингибитором. Например, ингибирирование фосфорилирования S6RP, 4E-BP1, АКТ и/или ДНК-ПК оценивают в В-клетках, Т-клетках и/или моноцитах. В других вариантах осуществления лечения рака можно оценить ингибирированием активности ДНК-зависимой протеинкиназы (ДНК-ПК) в образцах кожи и/или биопсии/аспирации опухоли, такой как оценка количества фДНК-ПК S2056 в качестве биомаркера путей повреждения ДНК перед, в процессе или после лечения TOR киназным ингибитором. В одном варианте осуществления образец кожи облучают УФ светом.

В пределе полное ингибирирование называют в настоящем изобретении предотвращением или хемопревенцией. В данном контексте термин "предотвращение" включает или предотвращение возникновения клинически заметного рака в целом или предотвращение возникновения преклинически заметной стадии рака. Также предполагается включенными настоящим определением предотвращение трансформации в злокачественные клетки или остановку или обращение развития предраковых клеток в раковые клетки. Это включает профилактическое лечение пациентов, подверженных риску развития рака.

5.2. Соединение 1.

Способы, составы, твердые формы и способы применения, относящиеся к настоящему изобретению, относятся к соединению 1

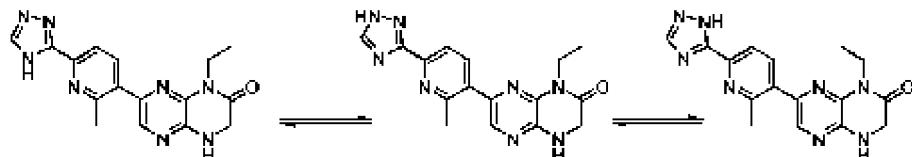


1

имеющему название 1-этил-7-(2-метил-6-(1Н-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-*b*]пиразин-2(1Н)-он или его таутомеру, например 1-этил-7-(2-метил-6-(4Н-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-*b*]пиразин-2(1Н)-ону, или 1-этил-7-(2-метил-6-(1Н-1,2,4-триазол-5-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-*b*]пиразин-2(1Н)-ону,

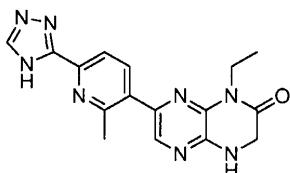
и его фармацевтически приемлемым солям, изотопологам, метаболитам и стереоизомерам.

Таутомеры соединения 1 включают следующие таутомеры:



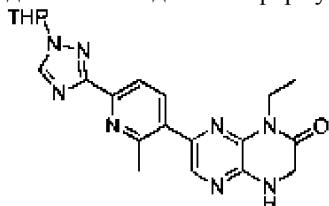
5.3. Способы получения соединения 1.

Изобретение относится к способам получения соединения 1



Соединение 1

причем способы включает взаимодействие соединения формулы G

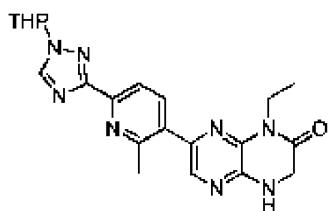


G

с кислотой, необязательно в растворителе, с последующей нейтрализацией основанием.

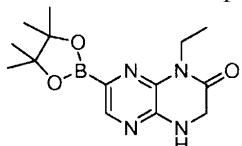
В определенных вариантах осуществления растворитель включает один или более из 1-пропанола, метанола, этанола или изопропанола. В конкретном варианте осуществления кислота представляет собой водную CH₃COOH, уксусную кислоту или трифторуксусную кислоту. В определенных вариантах осуществления основание представляет собой водный KHSO₃ или водный NH₄OH. В одном варианте осуществления растворитель дополнительно включает бутилированный гидрокситолуол. В определенных вариантах осуществления способы включают (а) растворение защищенного соединения G в смеси этанола, воды и CH₃Cl; (б) нейтрализацию NH₄OH; (в) фильтрование смеси; (г) собирание твердого вещества; (д) растворение деблокированного соединения в смеси этанола, воды и CH₃Cl; (е) обработку раствора активированным углем; (ж) удаление активированного угля фильтрованием; (з) нейтрализацию NH₄OH; и (и) фильтрование смеси.

В некоторых данных вариантах осуществления способы дополнительно включают получение соединения формулы G



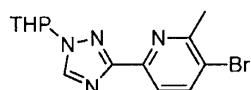
G,

причем способы включают взаимодействие соединения формулы E



E

с соединением формулы F

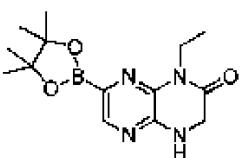


F

в присутствии палладиевого катализатора, растворителя и основания.

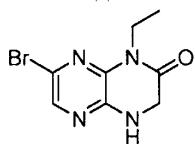
В определенных вариантах осуществления палладиевый катализатор представляет собой PdAmphos₂Cl₂. В определенных вариантах осуществления растворитель представляет собой смесь тетрагидрофурана и воды. В определенных вариантах осуществления основание представляет собой K₂CO₃ или KHCO₃. В определенных вариантах осуществления способы дополнительно включает применение активированного угля для удаления примесей. В определенных вариантах осуществления способы включают (a) контакт KHCO₃, PdAmphos₂Cl₂ и соединений Е и F в тетрагидрофуране и воде; (b) обработку раствора активированным углем; (c) удаление активированного угля фильтрованием; (d) концентрирование фильтрата до приблизительно 70% первоначального объема; (e) охлаждение фильтрата; (f) контакт фильтрата с водой; (g) внесение затравки в фильтрат G и (h) фильтрование смеси.

В некоторых данных вариантах осуществления способы дополнительно включают получение соединение формулы E



E,

причем способы включают взаимодействие соединения формулы D

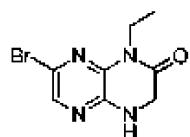


D

с источником бора и палладиевым катализатором в присутствии основания в растворителе.

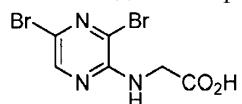
В одном варианте осуществления источник бора представляет собой бис-(пинаколато)дигор. В одном варианте осуществления палладиевый катализатор представляет собой PdAmphos₂Cl₂. В одном варианте осуществления основание представляет собой KOAc. В одном варианте осуществления растворитель представляет собой тетрагидрофуран. В определенных вариантах осуществления способы дополнительно включают применение активированного угля для удаления примесей. В определенных вариантах осуществления способы включают: (a) контакт соединения D с бис-(пинаколато)дигором, PdAmphos₂Cl₂ и ацетатом калия в тетрагидрофуране; (b) фильтрование смеси; (c) обработку теплого тетрагидрофуранового раствора соединения E активированным углем; (d) удаление активированного угля фильтрованием; (e) концентрирование фильтрата до приблизительно 20% первоначального объема; (f) охлаждение фильтрата; (g) контакт фильтрата с гептаном; и (h) фильтрование смеси.

В некоторых данных вариантах осуществления способы дополнительно включают получение соединение формулы D



D,

причем способы включают взаимодействие соединения формулы C

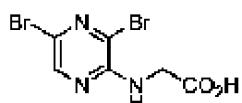


C

с EtNH₂, необязательно в присутствии основания, необязательно в растворителе, с последующим подкислением.

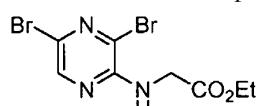
В определенных вариантах осуществления основание представляет собой EtNH₂ или основание Хунига. В определенных вариантах осуществления растворитель представляет собой воду. В определенных вариантах осуществления подкисление осуществляют добавлением водного H₃PO₄. В определенных вариантах осуществления способы включают: (а) взаимодействие соединения С с избытком этиламина в воде; (б) обработку раствора фосфорной кислотой; и (с) фильтрование смеси.

В некоторых данных вариантах осуществления способы дополнительно включают получение соединение формулы C



C,

причем способы включают взаимодействие соединения формулы B



B

с основанием, необязательно в растворителе, с последующей нейтрализацией кислотой.

В определенных вариантах осуществления основание представляет собой NaOH. В определенных вариантах осуществления растворитель представляет собой тетрагидрофуран. В определенных вариантах осуществления нейтрализацию осуществляют добавлением водной H₃PO₄. В определенных вариантах осуществления способы включают:

- (a) взаимодействие соединения B с NaOH в тетрагидрофурене и воде;
- (b) обработку раствора фосфорной кислотой и гептаном;
- (c) концентрирование органического слоя;
- (d) отгонку с добавлением гептана;
- (e) внесение затравки кристаллического соединения С в раствор;
- (f) отгонку с добавлением гептана;
- (g) охлаждение суспензии и
- (h) фильтрование смеси.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к способам перекристаллизации соединения 1, которые включают стадии:

- (a) растворение соединения 1 в смеси этанола, воды и HCl при повышенной температуре, например, приблизительно 45°C;
- (b) нейтрализация смеси NH₄OH при повышенной температуре, например, приблизительно 45°C;
- (c) фильтрование смеси, например, при комнатной температуре.

В некоторых вариантах осуществления, способы дополнительно включают обработку раствора соединения 1 активированным углем при повышенной температуре, например, приблизительно 45°C, и удаление активированного угля перед нейтрализацией. В некоторых вариантах осуществления способы дополнительно включают обработку раствора соединения 1 скавенджером для металлов при повышенной температуре, например 60°C, и удаление скавенджера для металлов перед обработкой активированным углем.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения относится к способам перекристаллизации соединения 1, которые включают стадии:

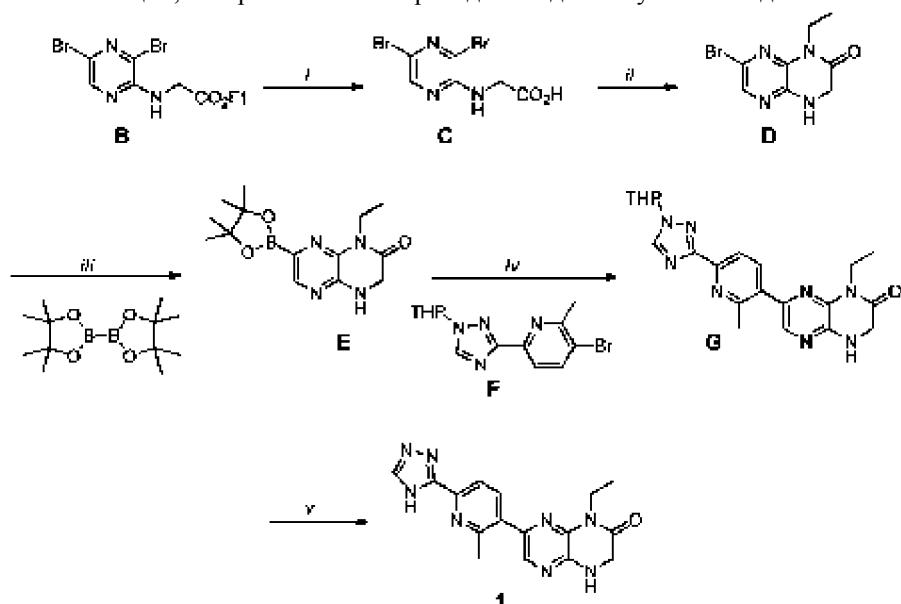
(а) растворение соединения 1 в смеси 1-пропанола, воды и HCl;

(б) нейтрализация смеси водным основанием, например NH₄OH или KHSO₃, при повышенной температуре, например от приблизительно 45 до приблизительно 60°C; и

(с) фильтрование смеси, например, при комнатной температуре.

В некоторых вариантах осуществления способы дополнительно включают обработку раствора соединения 1 активированным углем при повышенной температуре, например, приблизительно 45°C и удаление активированного угля перед нейтрализацией. В некоторых вариантах осуществления способы дополнительно включают обработку раствора соединения 1 скавенджером для металлов при повышенной температуре, например 60°C, и удаление скавенджера для металлов перед обработкой активированным углем.

В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения относится к стадиям получения i-v, включая их комбинации, которые являются пригодными для получения соединения 1



где стадия i) включает:

(а) взаимодействие соединения В с водным NaOH в тетрагидрофуране;

(б) обработку раствора фосфорной кислотой и гептаном;

(с) концентрирование органического слоя;

(д) отгонку с добавлением гептана;

(е) внесение затравки кристаллического соединения С в раствор;

(f) отгонку с добавлением гептана;

(g) охлаждение суспензии и

(h) фильтрование смеси;

стадия ii) включает:

(а) взаимодействие соединения С с избытком этиламина в воде;

(б) обработку раствора фосфорной кислотой и

(c) фильтрование смеси;

стадия iii) включает:

(а) взаимодействие соединения D с бис-(пинаколато)дибором, PdAmphos₂Cl₂ и ацетатом калия в тетрагидрофуране;

(b) фильтрование смеси;

(c) обработку теплого тетрагидрофуранового раствора соединения Е активированным углем;

(d) удаление активированного угля фильтрованием;

(e) концентрирование фильтрата;

(f) охлаждение фильтрата;

(g) внесения затравки кристаллического соединения Е в раствор;

(h) взаимодействие фильтрата с гептаном и

(i) фильтрование смеси;

стадия iv) включает:

(а) взаимодействие KHSO₃ или K₂CO₃, PdAmphos₂Cl₂ и соединений Е и F в тетрагидрофуране и воде;

(b) обработку раствора активированным углем;

- (c) удаление активированного угля фильтрованием;
- (d) концентрирование фильтрата;
- (e) охлаждение фильтрата;
- (f) взаимодействие фильтрата с водой;
- (g) внесение затравки кристаллического соединения G в фильтрат и
- (h) фильтрование смеси;
- стадия v) включает:
- (a) растворение защищенного соединения G в смеси этанола, воды и HCl при повышенной температуре, например приблизительно 45°C;
- (b) нейтрализацию NH₄OH;
- (c) фильтрование смеси;
- (d) собирание твердого вещества;
- (e) растворение деблокированного соединения в смеси этанола, воды и HCl при повышенной температуре, например приблизительно 45°C;
- (f) обработку раствора активированным углем;
- (g) удаление активированного угля фильтрованием;
- (h) нейтрализацию NH₄OH при повышенной температуре, например, приблизительно 45°C;
- (g) внесение затравки кристаллического соединения 1 в раствор;
- (h) нейтрализацию NH₄OH;
- (i) охлаждение фильтрата и
- (i) фильтрование смеси.

Способы получения соединения 1 дополнительно проиллюстрированы демонстрационными примерами, приведенными в настоящем изобретении.

В одном варианте осуществления определенные изотопологии соединения 1 получают следующим способом:



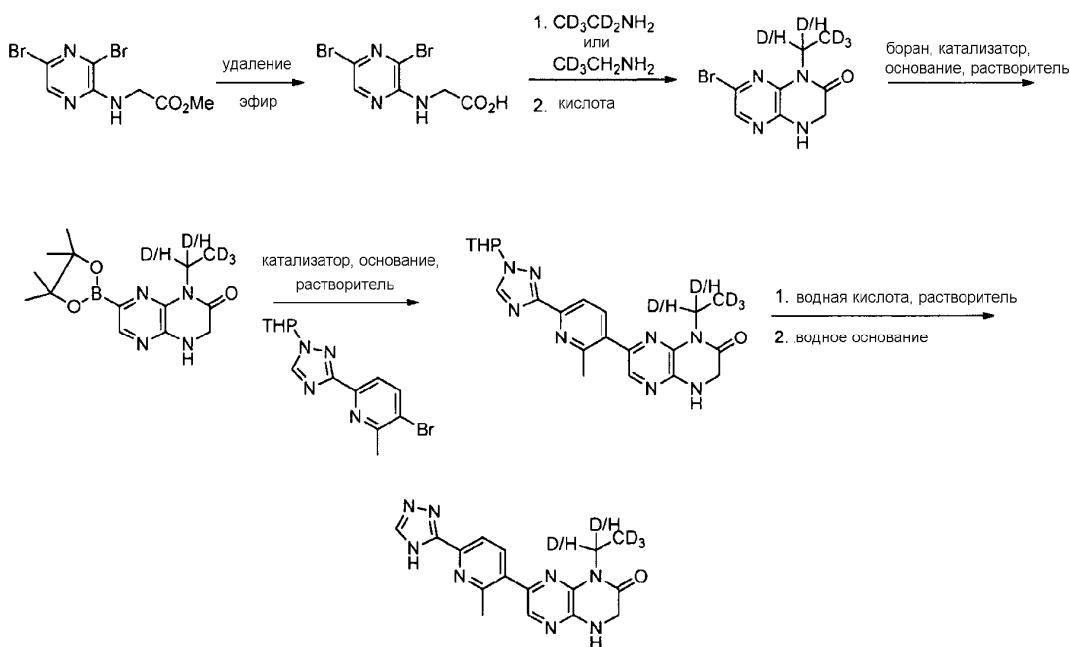
где "D/H" показывает, что каждый из азотов амина или триазола может быть независимо заменендейтерием и где основание и источник дейтерия выбирают для осуществления изотопного обогащения, как известно специалисту в данной области техники.

В определенных вариантах осуществления основание, применяемое для того, чтобы вызвать превращение соединения 1 в изотополог (т.е. взаимодействие соединения 1 с основанием и обменным источником дейтерия) представляет собой C₁₋₁₄алкоксид натрия, C₁₋₁₄алкооксид калия, гидрид натрия, гидрид калия, гидрид кальция, карбонат цезия, гексаметилдисилазид лития (LiHMDS), дизопропиламид лития (LDA), 2-трет-бутил-1,1,3,3-тетраметилгуанидин (основание Бартона), 1,8-диазабицикло[5.4.0]ундец-7-ен (DBU), 1,5-диазабицикло[4,3,0]нон-5-ен (DBN), 1,4-диазабицикло(2,2,2)октан (DABCO), N,N-диизопропилэтапмин (DIPEA или основание Хунига), пиридин, 2,6-ди-трет-бутилпиридин, 2,6-лутидин, тетраметилпиперидин лития (LiTMP или основание типа "гарпун"), 7-метил-1,5,7-триазабицикло[4,4,0]дек-5-ен (MTBD), 1,2,2,6,6-пентаметилпиперидин (PMP), 2,2,6,6-тетраметилпиперидин (TMP), трибутиламин, 2,4,6-три-трет-бутилпиридин, трис(trimethylsilyl)амин, н-бутиллитий, втор-бутиллитий, трет-бутиллитий, бис-(trimethylsilyl)амид калия, трет-бутоксид натрия, трет-бутилимино-трис(диметиламино)фосфоран или 2-трет-бутилимино-2-диэтиламино-1,3-диметилпергидро-1,3,2-диазафосфорин. В некоторых вариантах осуществления основание представляет собой трет-бутоксид калия.

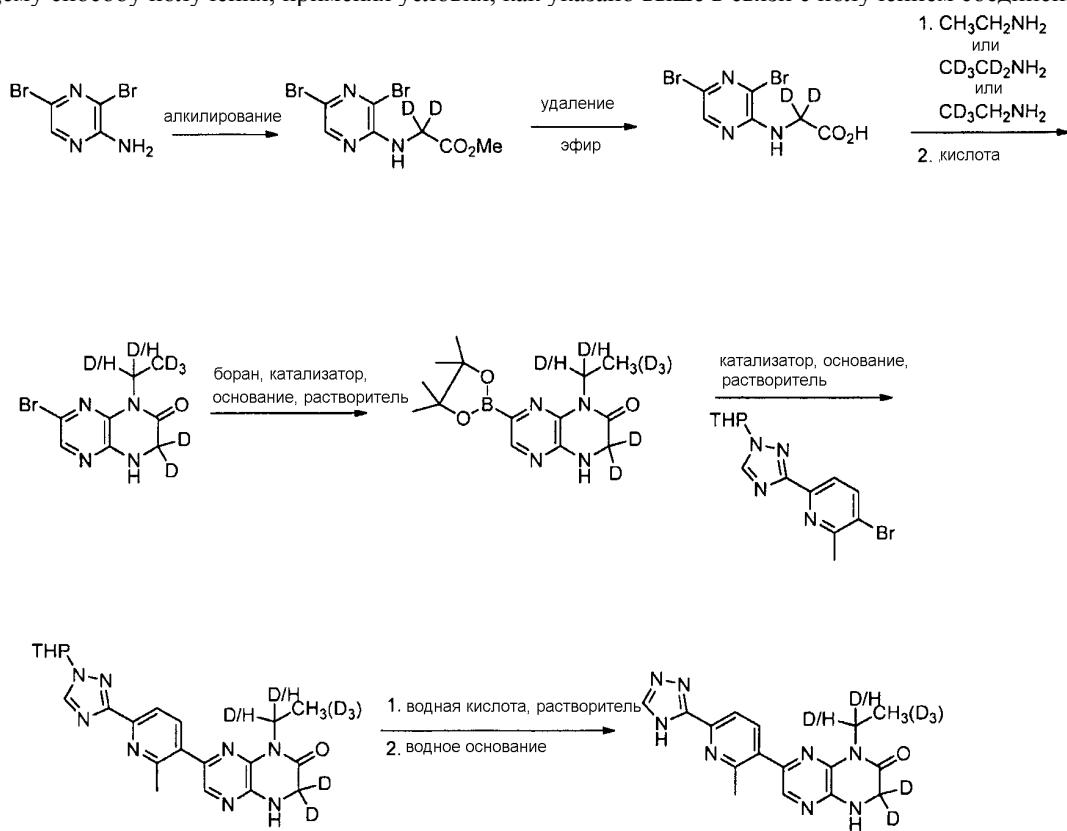
В определенных вариантах осуществления источник дейтерия, применяемый для того, чтобы вызвать превращение соединения 1 в изотополог (т.е. контакт соединение 1 с основанием и обменным источником дейтерия) выбирают из группы, состоящей из D₂O, C₁₋₁₄алкил-OD, C₁₋₁₄алкил-COO_D, арил-OD, гетероарил-OD, арил-SO₃D, хлорида дейтерий, бромида дейтерий, йодида дейтерий, серной кислоты-D₂ и азотной кислоты-D₁. В некоторых вариантах осуществления источник дейтерия представляет собой монодейтерированный трет-бутиловый спирт (трет-BuOD).

В некоторых вариантах осуществления основание, применяемое для того, чтобы вызвать превращение соединения 1 в изотополог, представляет собой трет-бутоксид калия, и источник дейтерия представляет собой монодейтерированный трет-бутиловый спирт (трет-BuOD).

В одном варианте осуществления определенные изотопологии соединения 1 получают согласно следующему способу получения, применяя условия, как указано выше в связи с получением соединения 1



В одном варианте осуществления определенные изотопологи соединения 1 получают согласно следующему способу получения, применяя условия, как указано выше в связи с получением соединения 1



5.4. Твердые формы соединения 1.

В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение относится к твердым формам соединения 1 или его фармацевтически приемлемой соли. В определенных вариантах осуществления твердая форма является кристаллической. В определенных вариантах осуществления твердая форма представляет собой однокомпонентную твердую форму. В определенных вариантах осуществления твердая форма является безводной.

Не желая быть связанными конкретной теорией, определенные твердые формы характеризуются физическими свойствами, например стабильностью, растворимостью и скоростью растворения, подходящими для фармацевтических и терапевтических лекарственных форм. Более того, не желая быть связанными конкретной теорией, определенные твердые формы характеризуются физическими свойствами (например, плотностью, прессуемостью, твердостью, морфологией, расщеплением, липкостью, раствори-

римостью, поглощением воды, диэлектрическими свойства, термическим поведением, твердофазной реакционноспособностью, физической стабильностью и химической стабильностью), влияющими на конкретные процессы (например, выход, фильтрацию, промывку, сушку, измельчение, смешение, таблетирование, текучесть, растворение, формулирование и лиофилизацию), которые делают определенные твердые формы подходящими для получения твердой лекарственной формы. Данные свойства можно определить, применяя конкретные аналитические химические способы, включая твердофазные аналитические способы (например, дифракцию рентгеновских лучей, микроскопию, спектроскопию и термоанализ), как описано в настоящем изобретении и известно в данной области техники.

Твердые формы, относящиеся к настоящему изобретению (например, форма А, форма В, форма С, форма D и форма Е соединения 1), можно охарактеризовывать, применяя ряд способов, известных специалисту в данной области техники, включая, но не ограничиваясь, дифракцию рентгеновских лучей монокристаллов, порошковую рентгеновскую дифракцию (XRPD), микроскопию (например, сканирующую электронную микроскопию (SEM)), термоанализ (например, дифференциальную сканирующую калориметрию (ДСК), термогравиметрический анализ (ТГА) и высокотемпературную микроскопию) и спектроскопию (например, инфракрасную, рамановскую и твердофазный ядерный магнитный резонанс). Размер частиц и распределение размеров частиц твердой формы, относящейся к настоящему изобретению, можно определить общепринятыми способами, такими как способ рассеяния лазерного излучения.

Чистоту твердой формы, относящейся к настоящему изобретению, можно определить стандартными аналитическими способами, такими как тонкослойная хроматография (TCX), гель-электрофорез, газовая хроматография, высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) и масс-спектрометрия (MS).

Ясно, что числовые величины пиков порошковой рентгеновской дифрактограммы могут слегка изменяться от прибора к прибору или от образца к образцу, и поэтому указанные величины не следует рассматривать как абсолютные, но с допустимой погрешностью, такой как $\pm 0,2^\circ$ 2 тета (см. фармакопею США, с. 2228 (2003)). Набор кривых порошковой рентгеновской дифрактограммы для различных твердых форм соединения 1 показан на фиг. 1.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к форме А соединения 1. В одном варианте осуществления форма А соединения 1 является безводной. В другом варианте осуществления, форма А соединения 1 является негидроскопической. В другом варианте осуществления форма А соединения 1 является кристаллической. В одном варианте осуществления форма А соединения 1 имеет порошковую рентгеновскую дифрактограмму, по существу, как показано на фиг. 2. В одном варианте осуществления форма А соединения 1 имеет один или более характеристических пиков порошковой рентгеновской дифракции с углами 2-тета приблизительно 8,0, 9,8, 12,0, 15,9, 17,4, 17,9, 18,3, 19,5, 21,6, 21,9, 22,3, 24,0, 25,2, 26,4, 26,5, 27,1, 28,0, 29,4, 30,1, 31,3, 32,1, 36,4, 38,6 или 39,4°. В конкретном варианте осуществления форма А соединения 1 имеет один, два, три, четыре, пять, шесть, семь или восемь характеристических пиков порошковой рентгеновской дифракции с углами 2-тета приблизительно 9,8, 12,0, 15,9, 17,4, 17,9, 21,9, 25,2 или 27,1°. В другом варианте осуществления форма А соединения 1 имеет один, два, три или четыре характеристических пика порошковой рентгеновской дифракции с углами 2-тета приблизительно 9,8, 12,0, 17,9 или 25,2°. В другом варианте осуществления, форма А соединения 1 имеет один, два, три, четыре, пять, шесть, семь или восемь характеристических пиков порошковой рентгеновской дифракции, как показано в табл. 2.

В другом варианте осуществления форма А соединения 1 имеет термогравиметрическую термограмму, по существу, как показано на фиг. 3. В определенных вариантах осуществления форма А соединения 1 показывает меньше чем приблизительно 10%, меньше чем приблизительно 5%, меньше чем приблизительно 3%, меньше чем приблизительно 2%, меньше чем приблизительно 1%, меньше чем приблизительно 0,5%, меньше чем приблизительно 0,2%, меньше чем приблизительно 0,1%, меньше чем приблизительно 0,05% или меньше чем приблизительно 0,01%, например приблизительно 0,009% потерю массы от приблизительно 25°C до приблизительно 100°C на термогравиметрической термограмме. В определенных вариантах осуществления форма А соединения 1 показывает меньше чем приблизительно 0,1% потерю массы от приблизительно 25°C до приблизительно 100°C на термогравиметрической термограмме. В определенных вариантах осуществления форма А соединения 1 показывает приблизительно 0,01% потерю массы от приблизительно 25°C до приблизительно 100°C на термогравиметрической термограмме. В определенных вариантах осуществления форма А соединения 1 не показывает потерю массы до разложения приблизительно при 260°C на термогравиметрической термограмме. В определенных вариантах осуществления форма А соединения 1 является безводной. В определенных вариантах осуществления форма А соединения 1 является несольватированной.

В еще другом варианте осуществления форма А соединения 1 имеет термограмму дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК), по существу, как показано на фиг. 4. В определенных вариантах осуществления форма А соединения 1 имеет эндотерму с пиковой температурой приблизительно 270°C на ДСК термограмме. В определенных вариантах осуществления форма А соединения 1 имеет эндотерму с температурой начала разложения приблизительно 268°C на ДСК термограмме. В определенных вариантах осуществления форма А соединения 1 имеет эндотерму с пиковой температурой приблизительно

270°C и температурой начала разложения приблизительно 268°C на ДСК термограмме. В одном варианте осуществления форма А соединения 1 имеет температуру плавления приблизительно 268-270°C. В определенном варианте осуществления форма А соединения 1 имеет температуру плавления приблизительно 270°C.

В еще другом варианте осуществления форма А соединения 1 имеет диаграмму динамической сорбции паров (ДСП), по существу, как показано на фиг. 5. В еще другом варианте осуществления форма А соединения 1 является негидроскопической, например показывает набор массы меньше чем приблизительно 0,35% мас./мас. при повышении влажности от приблизительно 0% до приблизительно 80% относительной влажности (RH). В другом варианте осуществления форма А соединения показывает набор массы приблизительно 0,08% мас./мас. при повышении влажности от приблизительно 80% до приблизительно 90% относительной влажности. В определенных вариантах осуществления форма А соединения 1 не показывает более чем приблизительно 2% мас./мас., не более чем приблизительно 1% мас./мас., не более чем приблизительно 0,6% мас./мас., не более чем приблизительно 0,5% мас./мас. набора массы в ответ на увеличение влажности от приблизительно 0% до приблизительно 95% относительной влажности приблизительно при 25°C. В определенных вариантах осуществления форма А соединения 1 показывает приблизительно 0,5% мас./мас. увеличение массы в ответ на увеличение влажности от приблизительно 0% до приблизительно 95% относительной влажности приблизительно при 25°C. В определенных вариантах осуществления форма А соединения 1 показывает не более чем приблизительно 2% мас./мас., не более чем приблизительно 1% мас./мас., не более чем приблизительно 0,6% мас./мас., не более чем приблизительно 0,4% мас./мас., не более чем приблизительно 0,2% мас./мас. увеличение массы в ответ на увеличение влажности от приблизительно 0% до приблизительно 50% относительной влажности приблизительно при 25°C. В определенных вариантах осуществления форма А соединения 1 показывает приблизительно 0,2% мас./мас. увеличение массы в ответ на увеличение влажности от приблизительно 0% до приблизительно 50% относительной влажности приблизительно при 25°C.

В одном варианте осуществления форма А соединения 1 является стабильным при высоком давлении. В одном варианте осуществления форма А соединения 1, при воздействии давления 2000 пси в течение приблизительно 1 мин, имеет порошковую рентгеновскую дифрактограмму, по существу, как показано на фиг. 6. В одном варианте осуществления форма А соединения 1 при воздействии давления 2000 пси в течение приблизительно 1 мин имеет один или более характеристических пиков порошковой рентгеновской дифракции с углами 2-тета приблизительно 8,0, 9,9, 12,1, 15,9, 17,3, 18,1, 18,3, 19,5, 21,8, 25,2, или 27,1°. В конкретном варианте осуществления форма А соединения 1 при воздействии давления 2000 пси в течение приблизительно 1 мин имеет один, два, три, четыре, пять, шесть, семь или восемь характеристических пиков порошковой рентгеновской дифракции с углами 2-тета приблизительно 8,0, 9,9, 12,1, 15,9, 17,3, 18,1, 21,8, или 25,2°. В другом варианте осуществления форма А соединения 1 при воздействии давления 2000 пси в течение приблизительно 1 мин имеет один, два, три или четыре характеристических пика порошковой рентгеновской дифракции с углами 2-тета приблизительно 9,9, 12,1, 18,1, или 25,2°. В конкретном варианте осуществления форма А соединения 1 при воздействии давления 2000 пси в течение приблизительно 1 мин имеет один, два, три, четыре, пять, шесть, семь или восемь характеристических пиков порошковой рентгеновской дифракции с углами 2-тета приблизительно 8,0, 10,0, 12,0, 16,0, 17,5, 18,0, 22,0, или 25,0°. В другом варианте осуществления форма А соединения 1 при воздействии давления 2000 пси в течение приблизительно 1 мин имеет один, два, три или четыре характеристических пика порошковой рентгеновской дифракции с углами 2-тета приблизительно 10,0, 12,0, 18,0 или 25,0°.

В еще другом варианте осуществления форма А соединения 1 является, по существу, чистой. В определенных вариантах осуществления, по существу, чистая форма А соединения 1, по существу, не содержит других твердых форм, например аморфной формы. В определенных вариантах осуществления чистота, по существу, чистой формы А соединения 1 является не меньшей чем приблизительно 95%, не меньшей чем приблизительно 96%, не меньшей чем приблизительно 97%, не меньшей чем приблизительно 98%, не меньшей чем приблизительно 98,5%, не меньшей чем приблизительно 99%, не меньшей чем приблизительно 99,5% или не меньшей чем приблизительно 99,8%.

В одном варианте осуществления настояще изобретение относится к форме В соединения 1. В одном варианте осуществления форма В соединения 1 представляет собой гидрат. В другом варианте осуществления форма В соединения 1 является кристаллической. В одном варианте осуществления форма В соединения 1 имеет порошковую рентгеновскую дифрактограмму, по существу, как показано на фиг. 7. В одном варианте осуществления форма В соединения 1 имеет один или более характеристических пиков порошковой рентгеновской дифракции с углами 2-тета приблизительно 4,9, 7,5, 8,6, 10,4, 10,9, 11,7, 12,1, 12,7, 14,4, 15,0, 16,2, 17,5, 17,9, 18,5, 19,9, 20,4, 21,9, 22,4, 23,6, 24,5, 25,5, 26,4, 27,3, 29,0, 29,8 или 30,5°. В конкретном варианте осуществления форма В соединения 1 имеет один, два, три, четыре, пять, шесть, семь или восемь характеристических пиков порошковой рентгеновской дифракции с углами 2-тета приблизительно 4,9, 7,5, 8,6, 10,4, 11,7, 12,7, 17,9 или 25,5°. В другом варианте осуществления форма В соединения 1 имеет один, два, три или четыре характеристических пика порошковой рентгеновской дифракции с углами 2-тета приблизительно 7,5, 8,6, 10,4 или 11,7°. В другом варианте осуществления

форма В соединения 1 имеет один, два, три, четыре, пять, шесть, семь или восемь характеристических пиков порошковой рентгеновской дифракции, как показано в табл. 3.

В другом варианте осуществления форма В соединения 1 имеет термогравиметрическую термограмму, по существу, как показано на фиг. 8. В определенных вариантах осуществления форма В соединения 1 показывает меньше чем приблизительно 20%, меньше чем приблизительно 15%, меньше чем приблизительно 10%, например, приблизительно 9,5% потерю массы от приблизительно 25°C до приблизительно 100°C на термогравиметрической термограмме. В определенных вариантах осуществления форма В соединения 1 показывает меньше чем приблизительно 10% потерю массы от приблизительно 25°C до приблизительно 100°C на термогравиметрической термограмме. В определенных вариантах осуществления формы В соединения 1 представляет собой гидрат. В определенных вариантах осуществления формы В соединения 1 является несольватированной.

В еще другом варианте осуществления форма В соединения 1 имеет термограмму дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК), по существу, как показано на фиг. 9. В определенных вариантах осуществления форма В соединения 1 имеет эндотерму с пиковой температурой приблизительно 268°C на ДСК термограмме. В определенных вариантах осуществления форма В соединения 1 имеет эндотерму с температурой начала разложения приблизительно 265°C на ДСК термограмме. В определенных вариантах осуществления форма В соединения 1 имеет эндотерму с пиковой температурой приблизительно 268°C и температурой начала разложения приблизительно 265°C на ДСК термограмме. В одном варианте осуществления форма В соединения 1 имеет температуру плавления приблизительно 265-268°C. В определенном варианте осуществления, форма В соединения 1 имеет температуру плавления приблизительно 268°C.

В другом варианте осуществления форма В соединения 1 имеет ¹H ЯМР спектр, по существу, как показано на фиг. 10.

В еще другом варианте осуществления форма В соединения 1 имеет диаграмму динамической сорбции паров (ДСП), по существу, как показано на фиг. 11.

В еще другом варианте осуществления форма В соединения 1 является, по существу, чистой. В определенных вариантах осуществления, по существу, чистая форма В соединения 1, по существу, не содержит других твердых форм, например аморфной формы. В определенных вариантах осуществления чистота, по существу, чистой формы В соединения 1 является не меньшей чем приблизительно 95%, не меньшей чем приблизительно 96%, не меньшей чем приблизительно 97%, не меньшей чем приблизительно 98%, не меньшей чем приблизительно 98,5%, не меньшей чем приблизительно 99%, не меньшей чем приблизительно 99,5% или не меньшей чем приблизительно 99,8%.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к форме С соединения 1. В одном варианте осуществления форма С соединения 1 представляет собой гидрат. В другом варианте осуществления форма С соединения 1 является кристаллической. В одном варианте осуществления форма С соединения 1 имеет порошковую рентгеновскую дифрактограмму, по существу, как показано на фиг. 12. В одном варианте осуществления форма С соединения 1 имеет один или более характеристических пиков порошковой рентгеновской дифракции с углами 2-тета приблизительно 5,9, 6,1, 7,4, 9,3, 11,7, 12,2, 12,3, 14,4, 14,7, 17,3, 17,9, 18,3, 18,7, 19,9, 23,7, 24,0, 24,3, 25,0, 25,7, 26,2, 26,5, 27,1, 28,3, 28,4, 28,9, 29,6, 29,9, 30,3, 31,1, 31,6, 34,8 или 35,1°. В конкретном варианте осуществления, форма С соединения 1 имеет один, два, три, четыре, пять, шесть, семь или восемь характеристических пиков порошковой рентгеновской дифракции с углами 2-тета приблизительно 5,9, 7,4, 9,3, 11,7, 12,2, 17,3, 19,9 или 23,7°. В другом варианте осуществления форма С соединения 1 имеет один, два, три или четыре характеристических пика порошковой рентгеновской дифракции с углами 2-тета приблизительно 7,4, 9,3, 11,7 или 19,9°. В другом варианте осуществления форма С соединения 1 имеет один, два, три, четыре, пять, шесть, семь или восемь характеристических пиков порошковой рентгеновской дифракции, как показано в табл. 4.

В другом варианте осуществления форма С соединения 1 имеет термогравиметрическую термограмму, по существу, как показано на фиг. 13. В определенных вариантах осуществления форма С соединения 1 показывает меньше чем приблизительно 20%, меньше чем приблизительно 15%, меньше чем приблизительно 10%, например приблизительно 9,8%, потерю массы от приблизительно 25 до приблизительно 100°C на термогравиметрической термограмме. В определенных вариантах осуществления форма С соединения 1 показывает меньше чем приблизительно 10% потерю массы от приблизительно 25 до приблизительно 100°C на термогравиметрической термограмме. В определенных вариантах осуществления форма С соединения 1 представляет собой дигидрат. В определенных вариантах осуществления форма С соединения 1 является несольватированной.

В еще другом варианте осуществления форма С соединения 1 имеет термограмму дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК), по существу, как показано на фиг. 14. В определенных вариантах осуществления форма С соединения 1 имеет эндотерму с пиковой температурой приблизительно 268°C на ДСК термограмме. В определенных вариантах осуществления форма С соединения 1 имеет эндотерму с температурой начала разложения приблизительно 265°C на ДСК термограмме. В определенных вариантах осуществления форма С соединения 1 имеет эндотерму с пиковой температурой приблизительно 268°C и температурой начала разложения приблизительно 265°C на ДСК термограмме. В одном

варианте осуществления форма С соединения 1 имеет температуру плавления приблизительно 265-268°C. В определенном варианте осуществления форма С соединения 1 имеет температуру плавления приблизительно 268°C.

В другом варианте осуществления форма С соединения 1 имеет ^1H ЯМР спектр, по существу, как показано на фиг. 15.

В еще другом варианте осуществления форма С соединения 1 имеет диаграмму динамической сорбции паров (ДСП), по существу, как показано на фиг. 16.

В еще другом варианте осуществления форма С соединения 1 является, по существу, чистой. В определенных вариантах осуществления, по существу, чистая форма С соединения 1, по существу, не содержит других твердых форм, например аморфной формы. В определенных вариантах осуществления чистота, по существу, чистой формы С соединения 1 является не меньшей чем приблизительно 95%, не меньшей чем приблизительно 96%, не меньшей чем приблизительно 97%, не меньшей чем приблизительно 98%, не меньшей чем приблизительно 98,5%, не меньшей чем приблизительно 99%, не меньшей чем приблизительно 99,5% или не меньшей чем приблизительно 99,8%.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к форме D соединения 1. В одном варианте осуществления форма D соединения 1 представляет собой DMSO сольват. В другом варианте осуществления форма D соединения 1 является кристаллической. В одном варианте осуществления форма D соединения 1 имеет порошковую рентгеновскую дифрактограмму, по существу, как показано на фиг. 17. В одном варианте осуществления форма D соединения 1 имеет один или более характеристических пиков порошковой рентгеновской дифракции с углами 2-тета приблизительно 6,1, 6,5, 8,3, 10,2, 10,7, 11,0, 13,0, 14,0, 14,1, 16,6, 17,1, 18,2, 19,2, 19,6, 20,2, 20,7, 21,9, 22,7, 23,4, 23,8, 24,3, 24,8, 24,9, 25,4, 26,1, 26,3, 26,9, 27,2, 27,9, 28,6, 29,4, 29,7, 30,5, 31,3, 31,7, 32,4, 32,8, 33,4, 33,8, 34,2, 35,0, 35,7, 36,4, 37,3 или 39,0°. В конкретном варианте осуществления форма D соединения 1 имеет один, два, три, четыре, пять, шесть, семь или восемь характеристических пиков порошковой рентгеновской дифракции с углами 2-тета приблизительно 6,5, 11,0, 14,0, 18,2, 19,6, 20,2, 21,9 или 23,4°. В другом варианте осуществления форма D соединения 1 имеет один, два, три или четыре характеристических пика порошковой рентгеновской дифракции с углами 2-тета приблизительно 11,0, 20,2, 21,9 или 23,4°. В другом варианте осуществления форма С соединения 1 имеет один, два, три, четыре, пять, шесть, семь или восемь характеристических пиков порошковой рентгеновской дифракции, как показано в табл. 5.

В другом варианте осуществления форма D соединения 1 имеет термогравиметрическую термограмму, по существу, как показано на фиг. 18. В определенных вариантах осуществления форма D соединения 1 показывает меньше чем приблизительно 30%, меньше чем приблизительно 25%, меньше чем приблизительно 20%, например, приблизительно 19%, потерю массы от приблизительно 25 до приблизительно 150°C на термогравиметрической термограмме. В определенных вариантах осуществления форма D соединения 1 показывает меньше чем приблизительно 20% потерю массы от приблизительно 25 до приблизительно 150°C на термогравиметрической термограмме. В определенных вариантах осуществления форма D соединения 1 не показывает потери массы до разложения приблизительно при 120°C на термогравиметрической термограмме. В определенных вариантах осуществления форма D соединения 1 представляет собой сольват.

В еще другом варианте осуществления форма D соединения 1 имеет термограмму дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК), по существу, как показано на фиг. 19. В определенных вариантах осуществления форма D соединения 1 имеет эндотерму с пиковой температурой приблизительно 269°C на ДСК термограмме. В определенных вариантах осуществления форма D соединения 1 имеет эндотерму с температурой начала разложения приблизительно 268°C на ДСК термограмме. В определенных вариантах осуществления форма D соединения 1 имеет эндотерму с пиковой температурой приблизительно 269°C и температурой начала разложения приблизительно 268°C на ДСК термограмме. В одном варианте осуществления форма D соединения 1 имеет температуру плавления приблизительно 268-269°C. В определенном варианте осуществления, форма D соединения 1 имеет температуру плавления приблизительно 269°C.

В другом варианте осуществления форма D соединения 1 имеет ^1H ЯМР спектр, по существу, как показано на фиг. 20.

В еще другом варианте осуществления форма D соединения 1 является, по существу, чистой. В определенных вариантах осуществления, по существу, чистая форма D соединения 1, по существу, не содержит других твердых форм, например аморфной формы. В определенных вариантах осуществления чистота, по существу, чистой формы D соединения 1 является не меньшей чем приблизительно 95%, не меньшей чем приблизительно 96%, не меньшей чем приблизительно 97%, не меньшей чем приблизительно 98%, не меньшей чем приблизительно 98,5%, не меньшей чем приблизительно 99%, не меньшей чем приблизительно 99,5% или не меньшей чем приблизительно 99,8%.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к форме E соединения 1. В одном варианте осуществления форма E соединения 1 представляет собой гидрат. В другом варианте осуществления форма E соединения 1 является кристаллической. В одном варианте осуществления форма E соединения 1 имеет порошковую рентгеновскую дифрактограмму, по существу, как показано на фиг. 21.

В одном варианте осуществления форма Е соединения 1 имеет один или более характеристических пиков порошковой рентгеновской дифракции с углами 2-тета приблизительно 3,5, 7,0, 9,3, 10,5, 12,1, 12,7, 15,3, 16,1, 18,6, 19,6, 21,5, 22,1, 23,2, 24,7, 25,5, 26,5 или 28,1°. В конкретном варианте осуществления форма Е соединения 1 имеет один, два, три, четыре, пять, шесть, семь или восемь характеристических пиков порошковой рентгеновской дифракции с углами 2-тета приблизительно 7,0, 9,3, 10,5, 12,7, 15,3, 18,6, 21,5 или 23,2°. В другом варианте осуществления форма Е соединения 1 имеет один, два, три или четыре характеристических пика порошковой рентгеновской дифракции с углами 2-тета приблизительно 9,3, 10,5, 15,3 или 18,6°. В другом варианте осуществления форма Е соединения 1 имеет один, два, три, четыре, пять, шесть, семь или восемь характеристических пиков порошковой рентгеновской дифракции, как показано в табл. 6.

В другом варианте осуществления форма Е соединения 1 термогравиметрическую термограмму, по существу, как показано на фиг. 22. В определенных вариантах осуществления форма Е соединения 1 показывает меньше чем приблизительно 10%, меньше чем приблизительно 5%, меньше чем приблизительно 4%, например, приблизительно 3,1%, потерю массы от приблизительно 25°C до приблизительно 100°C на термогравиметрической термограмме. В определенных вариантах осуществления форма Е соединения 1 показывает меньше чем приблизительно 3,2% потерю массы от приблизительно 25 до приблизительно 100°C на термогравиметрической термограмме. В определенных вариантах осуществления форма Е соединения 1 показывает приблизительно 3,1% потерю массы от приблизительно 25 до приблизительно 100°C на термогравиметрической термограмме. В определенных вариантах осуществления форма Е соединения 1 представляет собой гидрат. В определенных вариантах осуществления форма Е соединения 1 является несольватированной.

В еще другом варианте осуществления форма Е соединения 1 имеет термограмму дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК), по существу, как показано на фиг. 23. В определенных вариантах осуществления форма Е соединения 1 имеет эндотерму с пиковой температурой приблизительно 270°C на ДСК термограмме. В определенных вариантах осуществления форма Е соединения 1 имеет эндотерму с температурой начала разложения приблизительно 268°C на ДСК термограмме. В определенных вариантах осуществления форма Е соединения 1 имеет эндотерму с пиковой температурой приблизительно 270°C и температурой начала разложения приблизительно 268°C на ДСК термограмме. В одном варианте осуществления форма Е соединения 1 имеет температуру плавления приблизительно 268-270°C. В определенном варианте осуществления форма Е соединения 1 имеет температуру плавления приблизительно 270°C.

В другом варианте осуществления форма Е соединения 1 имеет ¹H ЯМР спектр, по существу, как показано на фиг. 24.

В еще другом варианте осуществления форма Е соединения 1 имеет диаграмму динамической сорбции паров (ДСП), по существу, как показано на фиг. 25. В еще другом варианте осуществления форма Е соединения 1 является негидроскопической, например показывает набор массы меньше чем приблизительно 4% мас./мас. при повышении влажности от приблизительно 0 до приблизительно 80% относительной влажности (RH). В другом варианте осуществления форма Е соединения показывает набор массы приблизительно 1,1% мас./мас. при повышении влажности от приблизительно 80 до приблизительно 90% относительной влажности. В определенных вариантах осуществления форма Е соединения 1 показывает не более чем приблизительно 10% мас./мас., не более чем приблизительно 7% мас./мас., не более чем приблизительно 6% мас./мас. увеличение массы в ответ на увеличение влажности от приблизительно 0% до приблизительно 95% относительной влажности приблизительно при 25°C. В определенных вариантах осуществления форма Е соединения 1 показывает приблизительно 5,8% мас./мас. увеличение массы в ответ на увеличение влажности от приблизительно 0% до приблизительно 95% относительной влажности приблизительно при 25°C. В определенных вариантах осуществления форма Е соединения 1 показывает не более чем приблизительно 10% мас./мас., не более чем приблизительно 5% мас./мас., не более чем приблизительно 46% мас./мас., не более чем приблизительно 3% мас./мас. увеличение массы в ответ на увеличение влажности от приблизительно 0% до приблизительно 50% относительной влажности приблизительно при 25°C. В определенных вариантах осуществления форма Е соединения 1 показывает приблизительно 2,3% мас./мас. увеличение массы в ответ на увеличение влажности от приблизительно 0% до приблизительно 50% относительной влажности приблизительно при 25°C.

В еще другом варианте осуществления форма Е соединения 1 является, по существу, чистой. В определенных вариантах осуществления, по существу, чистая форма Е соединения 1, по существу, не содержит других твердых форм, например, аморфной формы. В определенных вариантах осуществления чистота, по существу, чистой формы Е соединения 1 является не меньшей чем приблизительно 95%, не меньшей чем приблизительно 96%, не меньшей чем приблизительно 97%, не меньшей чем приблизительно 98%, не меньшей чем приблизительно 98,5%, не меньшей чем приблизительно 99%, не меньшей чем приблизительно 99,5% или не меньшей чем приблизительно 99,8%.

В определенных вариантах осуществления настояще изобретение относится к способам получения формы А соединения 1, включающим растворение соединение 1 в DMF, нагревание и затем охлаждение до комнатной температуры, сорбование твердого вещества фильтрованием, промывку и сушку. Дополни-

тельные способы получения формы А приведены в примерах, относящихся к настоящему изобретению.

В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение относится к способам получения формы В соединения 1, включающим растворение соединения 1 в MeOH, нагревание, и затем охлаждение до комнатной температуры, сортирование твердого вещества фильтрованием, промывку и сушку. В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение относится к способам получения формы В соединения 1, включающим растворение соединения 1 в MeOH приблизительно при 50-70°C, быстрое охлаждение раствора (такое как помещение в холодильник), сортирование твердого вещества фильтрованием после приблизительно 24 ч и сушку на воздухе.

В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение относится к способам получения формы С соединения 1, включающим растворение соединения 1 в смеси MeOH и H₂O (1:1), нагревание и затем охлаждение до комнатной температуры, сортирование твердого вещества фильтрованием, промывку и сушку. В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение относится к способам получения формы С соединения 1, включающим растворение соединения 1 в смеси MeOH и H₂O (1:1) приблизительно при 50-70°C, быстрое охлаждение раствора (такое как помещение в холодильник), сортирование твердого вещества фильтрованием через приблизительно 24 ч и сушку на воздухе.

В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение относится к способам получения формы С соединения 1, включающим растворение соединения 1 в смеси EtOH и H₂O (1:1), нагревание и затем охлаждение до комнатной температуры, сортирование твердого вещества фильтрованием, промывку и сушку. В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение относится к способам получения формы С соединения 1, включающим растворение соединения 1 в смеси EtOH и H₂O (1:1) приблизительно при 50-70°C, быстрое охлаждение раствора (такое как помещение в холодильник), сортирование твердого вещества фильтрованием через приблизительно 24 ч и сушку на воздухе.

В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение относится к способам получения формы D соединения 1, включающим растворение соединения 1 в DMSO, добавление MTBE, перемешивание суспензии, сортирование твердого вещества фильтрованием, промывку и сушку. В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение относится к способам получения формы D соединения 1, включающим полное растворение соединения 1 в DMSO при комнатной температуре, добавление MTBE к смеси при перемешивании в течение ночи, сортирование твердого вещества фильтрованием и сушку на воздухе.

В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение относится к способам получения формы Е соединения 1, включающим получение суспензии соединения 1 в 1:1 смеси MeOH и DCM, перемешивание суспензии, сортирование фильтрованием (таким как фильтрованием на центрифуге), необязательно промывку и сушку.

Фармацевтически приемлемые соли гетероарильных соединений можно получить общепринятыми и известными способами, такими как реакцией гетероарильного соединения с подходящей кислотой, как описано выше. Данные соли обычно получают с высоким выходом при умеренных температурах и часто получают просто выделением соединения из подходящей кислотной промывки на конечной стадии получения. Кислоту, образующую соль, можно растворять в подходящем органическом растворителе или водном органическом растворителе, таком как алканол, кетон или эфир. С другой стороны, если гетероарильное соединение требуется в виде свободного основания, его можно выделить на стадии конечной основной промывки, согласно известным способам. Например, стандартный способ получения гидрохлоридной соли заключается в растворении свободного основания в подходящем растворителе и тщательную сушку раствора, такую как над молекулярными ситами, перед барботированием через него газообразного хлороводорода.

5.5. Способы применения.

Изобретение относится к способам лечения или предотвращения рака, включающим введение состава соединения 1, относящегося к настоящему изобретению, пациенту, страдающему от рака.

В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой запущенную нерезектабельную солидную опухоль или гематологическую злокачественную опухоль. Например, гематологическая злокачественная опухоль представляет собой ХЛЛ, НХЛ или ММ. В некоторых данных вариантах осуществления рак прогрессирует при осуществлении стандартной противораковой терапии, или пациент не способен переносить стандартную противораковую терапию. В еще других вариантах рак представляет собой рак, для которого существует одобренная терапия. В некоторых вариантах осуществления рак является устойчивым к стандартной терапии. В другом варианте пациент переносит рецидив после стандартной терапии. В одном варианте осуществления рак представляет собой опухолевый метастаз.

В определенных вариантах осуществления рак представляет собой переносимую с кровью опухоль.

В определенных вариантах осуществления рак представляет собой лимфому, лейкемию или множественную миелому.

В определенных вариантах осуществления рак представляет собой неходжкинскую лимфому. В определенных вариантах осуществления неходжкинская лимфома представляет собой диффузную В-крупноклеточную лимфому (DLBCL), фолликулярную лимфому (FL), острую миелоцитарную лейкемию (AML), лимфому из клеток мантийной зоны (MCL) или ALK⁺ анапластическую крупноклеточную

лимфому. В одном варианте осуществления неходжкинская лимфома представляет собой запущенную солидную неходжкинскую лимфому. В одном варианте осуществления неходжкинская лимфома представляет собой диффузную В-крупноклеточную лимфому (DLBCL).

В определенных вариантах осуществления рак представляет собой В-клеточную лимфому.

В определенных вариантах осуществления В-клеточная лимфома представляет собой В-клеточную неходжкинскую лимфому, выбранную из диффузной В-крупноклеточной лимфомы, лимфомы/лейкемии Беркитта, лимфомы из клеток мантийной зоны, медиастинальной (тимической) крупноклеточной В-клеточной лимфомы, фолликулярной лимфомы, лимфомы маргинальной зоны (включая экстраподальную В-клеточную лимфому из клеток маргинальной зоны и узловую В-клеточную лимфому из клеток маргинальной зоны), лимфоплазмоцитарной лимфомы/макроглобулинемии Вальденстрема. В некоторых вариантах осуществления В-клеточная лимфома представляет собой хроническую лимфоцитарную лейкемию/мелкоклеточную лимфоцитарную лимфому (ХЛЛ/МЛЛ). В одном варианте осуществления В-клеточная лимфома представляет собой макроглобулинемию Вальденстрема.

В одном варианте осуществления рак представляет собой Т-клеточный пролимфоцитарный лейкоз (Т-ПЛЛ).

В одном варианте осуществления В-клеточная неходжкинская лимфома представляет собой устойчивую В-клеточную неходжкинскую лимфому. В одном варианте осуществления В-клеточная неходжкинская лимфома представляет собой рецидивную В-клеточную неходжкинскую лимфому.

В определенных вариантах осуществления рак представляет собой Т-клеточную лимфому.

В-клеточные заболевания, хроническая лимфоцитарная лейкемия/мелкоклеточная лимфоцитарная лимфома (ХЛЛ/МЛЛ), представляют собой 2 конца спектра одного болезненного процесса, отличающиеся степенью поражения крови/костного мозга (ХЛЛ) относительно поражения лимфатической железы (МЛЛ).

В другом варианте осуществления рак представляет собой ХЛЛ, характеризующуюся делецией хромосомы 11q22, потерей экспрессии ATM, мутацией IgVH, IgVH дикого типа, p53/ATM дикого типа, мутацией p53 или дисфункциональным p53.

В другом варианте осуществления рак представляет собой Т-ПЛЛ, характеризующуюся делецией хромосомы 11q22, потерей экспрессии ATM, мутацией IgVH, IgVH дикого типа, p53/ATM дикого типа, мутацией p53 или дисфункциональным p53.

В других вариантах осуществления рак представляет собой множественную миелому.

В определенных вариантах осуществления рак представляет собой рак головы, шеи, глаз, рта, горла, пищевода, бронхов, гортани, глотки, груди, кости, легких, толстой кишки, прямой кишки, желудка, простаты, мочевого пузыря, матки, шейки матки, молочной железы, яичников, яичек или других репродуктивных органов, кожи, щитовидной железы, крови, лимфатических узлов, почек, печени, поджелудочной железы и мозга или центральной нервной системы.

В других вариантах осуществления рак представляет собой солидную опухоль. В определенных вариантах осуществления солидная опухоль представляет собой рецидивирующую или устойчивую солидную опухоль.

В одном варианте осуществления солидная опухоль представляет собой нейроэндокринную опухоль. В определенных вариантах осуществления нейроэндокринная опухоль представляет собой нейроэндокринную опухоль кишечного происхождения. В определенных вариантах осуществления нейроэндокринная опухоль является непанкреатического происхождения. В определенных вариантах осуществления нейроэндокринная опухоль является непанкреатического кишечного происхождения. В определенных вариантах осуществления нейроэндокринная опухоль имеет неизвестный первичный источник. В определенных вариантах осуществления нейроэндокринная опухоль представляет собой симптоматическую эндокринную продуцирующую опухоль или нефункциональную опухоль. В определенных вариантах осуществления нейроэндокринная опухоль является локально нерезекtableйной, метастатически умеренной, высокодифференцированной, низкозлокачественной (степень 1) или промежуточной (степень 2).

В одном варианте осуществления солидная опухоль представляет собой немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ).

В других вариантах осуществления солидная опухоль представляет собой мультиформную глиобластому (МГБ).

В другом варианте осуществления солидная опухоль представляет собой гепатоклеточную карциному (ГКК).

В другом варианте осуществления солидная опухоль представляет собой рак молочной железы. В одном варианте осуществления рак молочной железы является гормон-рецептор-положительным. В одном варианте осуществления рак молочной железы является эстроген-рецептор-положительным (ER+, ER+/Her2 или ER+/Her2+). В одном варианте осуществления рак молочной железы эстроген-рецептор-негативным (ER-/Her2+). В одном варианте осуществления рак молочной железы является трижды негативным(TN) (рак молочной железы, который не экспрессирует гены и/или белок, соответствующий рецептору эстрогена (ER), рецептору прогестерона (PR), и который не сверхэкспрессирует белок Her2/neu).

В одном варианте осуществления солидная опухоль представляет собой запущенную солидную опухоль.

В другом варианте осуществления рак представляет собой плоскоклеточный рак головы и шеи.

В другом варианте осуществления рак представляет собой сверхэкспрессирующий Е-двадцать шесть (ETS) кастрационно-резистентный рак предстательной железы.

В другом варианте осуществления рак представляет собой сверхэкспрессирующую Е-двадцать шесть (ETS) саркому Юинга.

В другом варианте осуществления рак представляет собой плоскоклеточный рак головы и шеи (HNSCC), характеризующийся делецией хромосомы 11q22 или потерей экспрессии мутированной тел-ангиглутинатической атаксии (ATM).

В другом варианте осуществления рак представляет собой мультиформную глиобластому (GBM), характеризующуюся метилированием Об-метилгуанин-DNA метилтрансферазы (MGMT).

В других вариантах осуществления рак представляет собой рак, связанный с путями, включающими mTOR, PI3K или Akt киназы и их мутанты или изоформы. Другие типы рака в объеме способов, относящихся к настоящему изобретению, включают типы рака, связанные с путями следующих киназ: РВКα, РВКβ, РВКδ, KDR, GSK3α, GSK3, ATM, ATX, ATR, cFMS и/или ДНК-ПК киназы и их мутанты или изоформы. В некоторых вариантах осуществления рака, связанный с путями mTOR/PI3K/Akt, включает солидные и передающиеся через кровь опухоли, например множественную миелому, лимфому из клеток мантийной зоны, диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому, острую миелоидную лимфому, фолликулярную лимфому, хроническую лимфоцитарную лейкемию; и солидные опухоли, например рак молочной железы, легких, эндометрия, яичников, желудка, шейки матки и простаты; глиобластому; рак почки; гепатоклеточную карциному; рак толстой кишки; нейроэндокринные опухоли; опухоли головы и шеи; и саркомы, такие как саркома Юинга.

В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение относится к способам достижения критериев оценки ответа при солидных опухолях (например, RECIST 1.1) полного ответа, частичного ответа или стабильного заболевания у пациента, имеющего опухоль, включающим введение состава соединения 1, относящегося к настоящему изобретению, указанному пациенту. В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение относится к способам достижения критериев группы экспертов, спонсируемых национальным институтом онкологии США, по хронической лимфоцитарной лейкемии (NCI-WG CLL) полного ответа, частичного ответа или стабильного заболевания у пациента, страдающего от лейкемии, включающим введение состава соединения 1, относящегося к настоящему изобретению, указанному пациенту. В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение относится к способам достижения критерия второй рабочей группы по раку простаты (PCWG2) полного ответа, частичного ответа или стабильного заболевания у пациента, страдающего от рака простаты, включающим введение состава соединения 1, относящегося к настоящему изобретению, указанному пациенту. В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение относится к способам достижения международных экспертиз критериев (IWC) для неходжкинской лимфомы полного ответа, частичного ответа или стабильного заболевания у пациента, страдающего от неходжкинской лимфомы, включающим введение состава соединения 1, относящегося к настоящему изобретению, указанному пациенту. В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение относится к способам достижения международных единых критериев ответа (IURC) для множественной миеломы полного ответа, частичного ответа или стабильного заболевания у пациента, страдающего от множественной миеломы, включающим введение состава соединения 1, относящегося к настоящему изобретению, указанному пациенту. В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение относится к способам достижения экспертиз критериев ответа по нейроонкологии (RANO) для мультиформной глиобластомы полного ответа, частичного ответа или стабильного заболевания у пациента, страдающего от мультиформной глиобластому, включающим введение состава соединения 1, относящегося к настоящему изобретению, указанному пациенту.

В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение относится к способам повышение выживаемости без прогрессирования заболевания у пациента, страдающего от рака, включающим введение состава соединения 1, относящегося к настоящему изобретению, указанному пациенту.

В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение относится к способам лечения рака, причем способы включают введение состава соединения 1, относящегося к настоящему изобретению, пациенту, страдающему от рака, где лечение приводит в результате к предотвращению или замедлению клинического течения, такого как кахексия, связанная с раком, или усиленная боль.

В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к способам лечения рака, причем способы включают введение состава соединения 1, относящегося к настоящему изобретению, пациенту, страдающему от рака, где лечение приводит в результате к одному или более из ингибирования прогрессирования заболевания, увеличенного времени до прогрессирования заболевания (TTP), повышенной выживаемости без прогрессирования заболевания (PFS) и/или повышенной общей выживаемости (OS), среди других.

5.6. Фармацевтические композиции.

Соединение 1, полученное способом, относящимся к настоящему изобретению, является пригодным для получения фармацевтических композиций, содержащих эффективное количество соединения 1 и фармацевтически приемлемый носитель или среду. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция, описанная в настоящем изобретении, является пригодной для перорального, парентерального, мукозального, трансдермального или местного введения.

В одном варианте осуществления фармацевтические композиции, относящиеся к настоящему изобретению, содержат соединение 1 и один или более фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ или носителей. В одном варианте осуществления фармацевтические композиции, относящиеся к настоящему изобретению, содержат форму А соединения 1 и один или более фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ или носителей. В одном варианте осуществления фармацевтические композиции, относящиеся к настоящему изобретению, содержат форму В соединения 1 и один или более фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ или носителей. В одном варианте осуществления фармацевтические композиции, относящиеся к настоящему изобретению, содержат форму С соединения 1 и один или более фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ или носителей. В одном варианте осуществления фармацевтические композиции, относящиеся к настоящему изобретению, содержат форму D соединения 1 и один или более фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ или носителей. В одном варианте осуществления фармацевтические композиции, относящиеся к настоящему изобретению, содержат форму Е соединения 1 и один или более фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ или носителей.

В одном варианте осуществления фармацевтические композиции, относящиеся к настоящему изобретению, содержат фармацевтически приемлемые соли, таутомеры, изотопологи, метаболиты и стереоизомеры соединения 1 и один или более фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ или носителей.

В одном варианте осуществления фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества и носители выбирают из связующих, разбавителей, разрыхлителей и смазывающих агентов. В другом варианте осуществления фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества и носители дополнительно включают один или более антиоксидантов (например, EDTA или BHT).

В определенных вариантах осуществления связующие включают, но не ограничиваются, целлюлозу (например, микрокристаллическую целлюлозу, такую как AVICEL® PH 101 и AVICEL® PH 102) и крахмал (например, предварительно желатинизированный крахмал (КРАХМАЛ 1500®)). В одном варианте осуществления связующее представляет собой целлюлозу. В другом варианте осуществления связующее представляет собой микрокристаллическую целлюлозу. В еще другом варианте осуществления связующее представляет собой AVICEL® PH 101. В еще другом варианте осуществления связующее представляет собой AVICEL® PH 102. В еще другом варианте осуществления связующее представляет собой крахмал. В еще другом варианте осуществления связующее представляет собой предварительно желатинизированный крахмал. В еще другом варианте осуществления связующее представляет собой STARCH 1500®.

В определенных вариантах осуществления разбавители включают, но не ограничиваются, лактозу (например, моногидрат лактозы (FAST FLO® 316) и безводную лактозу), целлюлозу (например, микрокристаллическую целлюлозу, такую как AVICEL® PH 101 и AVICEL® PH 102). В одном варианте осуществления разбавитель представляет собой лактозу. В другом варианте осуществления разбавитель представляет собой моногидрат лактозы. В еще другом варианте осуществления разбавитель представляет собой FAST FLO® 316. В еще другом варианте осуществления разбавитель представляет собой безводную лактозу. В еще другом варианте осуществления разбавитель представляет собой целлюлозу. В еще другом варианте осуществления разбавитель представляет собой микрокристаллическую целлюлозу. В еще другом варианте осуществления разбавитель представляет собой AVICEL® PH 101. В еще другом варианте осуществления разбавитель представляет собой AVICEL® PH 102.

В определенных вариантах осуществления разрыхлители включают, но не ограничиваются, крахмал (например, кукурузный крахмал) и карбоксиметилцеллюлозу (например, кроскармеллозу натрия, такую как AC-DI-SOL®). В одном варианте осуществления разрыхлитель представляет собой крахмал. В другом варианте осуществления разрыхлитель представляет собой кукурузный крахмал. В еще другом варианте осуществления разрыхлитель представляет собой карбоксиметилцеллюлозу. В еще другом варианте осуществления разрыхлитель представляет собой кроскармеллозу натрия. В еще другом варианте осуществления разрыхлитель представляет собой AC-DI-SOL®.

В определенных вариантах осуществления смазывающие агенты включают, но не ограничиваются, крахмал (например, кукурузный крахмал), стеарат магния и стеариновую кислоту. В одном варианте осуществления смазывающий агент представляет собой крахмал. В другом варианте осуществления смазывающий агент представляет собой кукурузный крахмал. В еще другом варианте осуществления смазывающий агент представляет собой стеарат магния. В еще другом варианте осуществления смазывающий агент представляет собой стеариновую кислоту.

3 вес.% карбоксиметилцеллюлозы натрия и приблизительно 1 вес.% стеарата магния.

В другом варианте осуществления фармацевтические композиции, относящиеся к настоящему изобретению, содержат приблизительно 0,7 вес.% соединения 1 и приблизительно 75,3 вес.% микрокристаллической целлюлозы (например, РН 102), приблизительно 20 вес.% предварительно желатинизированного крахмала, приблизительно 3 вес.% карбоксиметилцеллюлозы натрия и приблизительно 1 вес.% стеарата магния.

В другом варианте осуществления фармацевтические композиции, относящиеся к настоящему изобретению, содержат приблизительно 0,7 вес.% соединения 1 и приблизительно 38,1 вес.% микрокристаллической целлюлозы (например, РН 102), приблизительно 57,2 вес.% моногидрата лактозы, приблизительно 3 вес.% карбоксиметилцеллюлозы натрия и приблизительно 1 вес.% стеарата магния.

В другом варианте осуществления фармацевтические композиции, относящиеся к настоящему изобретению, содержат приблизительно 25 вес.% соединения 1 и приблизительно 28,4 вес.% микрокристаллической целлюлозы (например, РН 102), приблизительно 42,6 вес.% маннитола, приблизительно 3 вес.% карбоксиметилцеллюлозы натрия и приблизительно 1 вес.% стеарата магния.

В другом варианте осуществления фармацевтические композиции, относящиеся к настоящему изобретению, содержат приблизительно 25 вес.% соединения 1 и приблизительно 51 вес.% микрокристаллической целлюлозы (например, РН 102), приблизительно 20 вес.% предварительно желатинизированного крахмала, приблизительно 3 вес.% карбоксиметилцеллюлозы натрия, приблизительно 1 вес.% стеарата магния.

В другом варианте осуществления фармацевтические композиции, относящиеся к настоящему изобретению, содержат приблизительно 25 вес.% соединения 1 и приблизительно 28,4 вес.% микрокристаллической целлюлозы (например, РН 102), приблизительно 42,6 вес.% моногидрата лактозы, приблизительно 3 вес.% карбоксиметилцеллюлозы натрия и приблизительно 1 вес.% стеарата магния.

В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение относится к фармацевтическим композициям, содержащим непрозрачное покрытие. Не будучи связанными теорией, было обнаружено, что более непрозрачное покрытие защищает лекарственный продукт от разрушения. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическую композицию формулируют в виде таблетки. В некоторых данных вариантах осуществления, таблетка имеет пленочное покрытие. В некоторых вариантах осуществления таблетка покрыта пленкой с увеличением массы 1-8%. В других, пленочное покрытие составляет приблизительно 4 вес.% таблетки.

В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение относится к фармацевтическим композициям, в которых количества перечисленных компонентов может независимо изменяться на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20 или 25%.

Фармацевтические композиции, относящиеся к настоящему изобретению, можно обеспечивать в виде единичной лекарственной формы или многодозовой формы. Единичная лекарственная форма, как применяют в настоящем изобретении, относится к физически дискретной единице, подходящей для введения человеку и животному, и упакованной отдельно, как это известно в данной области техники. Каждая единичная доза содержит предварительно определенное количество активного ингредиента (ингредиентов), достаточное для того, чтобы вызвать требуемый терапевтический эффект, в сочетании с требуемыми фармацевтическими носителями или вспомогательными веществами. Примеры единичных лекарственных форм включают отдельно упакованную таблетку или капсулу. Единичную лекарственную форму можно вводить ее частями или в виде ее любого кратного количества. Множественная лекарственная форма представляет собой ряд идентичных единичных лекарственных форм, упакованных в один контейнер, которые будут вводить в виде отдельной единичной лекарственной формы.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к единичным лекарственным составам, которые содержат от приблизительно 0,1 до приблизительно 2000 мг, от приблизительно 1 до 200 мг, приблизительно 35 мг приблизительно 1400 мг, приблизительно 125-1000 мг, приблизительно 250-1000 мг или приблизительно 500-1000 мг соединения 1 или его фармацевтически приемлемой соли, изотополога или твердой формы.

В конкретном варианте осуществления настоящее изобретение относится к единичному лекарственному составу, содержащему приблизительно 0,1 мг, приблизительно 0,25 мг, приблизительно 0,5 мг, приблизительно 1 мг, приблизительно 2,5 мг, приблизительно 5 мг, приблизительно 7,5 мг, приблизительно 8 мг, приблизительно 10 мг, приблизительно 15 мг, приблизительно 20 мг, приблизительно 25 мг, приблизительно 30 мг, приблизительно 35 мг, приблизительно 40 мг, приблизительно 45 мг, приблизительно 50 мг, приблизительно 60 мг, приблизительно 70 мг, приблизительно 75 мг, приблизительно 100 мг, приблизительно 125 мг, приблизительно 140 мг, приблизительно 150 мг, приблизительно 175 мг, приблизительно 200 мг, приблизительно 250 мг, приблизительно 280 мг, приблизительно 300 мг, приблизительно 350 мг, приблизительно 400 мг, приблизительно 500 мг, приблизительно 560 мг, приблизительно 600 мг, приблизительно 700 мг, приблизительно 750 мг, приблизительно 800 мг, приблизительно 1000 мг или приблизительно 1400 мг DHPP. В конкретном варианте осуществления, настоящее изобретение относится к единичным лекарственным составам, которые содержат приблизительно 2,5 мг, приблизительно 5 мг, приблизительно 7,5 мг, приблизительно 8 мг, приблизительно 10 мг, приблизительно

15 мг, приблизительно 20 мг, приблизительно 25 мг, приблизительно 30 мг, приблизительно 40 мг, приблизительно 45 мг, приблизительно 50 мг, приблизительно 60 мг или приблизительно 100 мг соединения 1 или его фармацевтически приемлемой соли, таутомера, изотополога или стереоизомера. В конкретном варианте осуществления, настоящее изобретение относится к единичным лекарственным составам, которые содержат приблизительно 5 мг, приблизительно 7,5 мг, приблизительно 8 мг и приблизительно 10 мг.

В некоторых вариантах осуществления единичную лекарственную форму, содержащую соединение 1 или его фармацевтически приемлемую соль, изотополог или твердую формы, можно вводить один раз в день (QD), дважды в день (BID), три раза в день, четыре раза в день или более часто.

В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения относится к способам получения композиции, относящейся к настоящему изобретению, включающим (i) взвешивание требуемого количества соединения 1 или его фармацевтически приемлемой соли, изотополога или твердой формы (такой как форма A, форма B, форма C, форма D или форма E) и требуемого количества вспомогательных веществ (таких как моногидрат лактозы, кроскармеллоза натрия и/или микрокристаллическая целлюлоза); (ii) смешение или комбинирование соединения 1 или его фармацевтически приемлемой соли, изотополога или твердой формы и вспомогательных веществ; (iii) пропускание смеси соединения 1 или его фармацевтически приемлемой соли, изотополога или твердой формы и вспомогательных веществ через сита (такие как 25 мэш сита); (iv) смешение или комбинирование соединения 1 или его фармацевтически приемлемой соли, изотополога или твердой формы и вспомогательных веществ после пропускания через сита; (v) взвешивание требуемого количества смазывающих агентов (таких как стеариновая кислота и стеарат магния); (vi) пропускание смазывающих агентов через сита (такие как 35 мэш сита); (vii) смешение или комбинирование соединения 1 или его фармацевтически приемлемой соли, изотополога или твердой формы, вспомогательных веществ и смазывающих агентов; (viii) прессование смеси соединения 1 или его фармацевтически приемлемой соли, изотополога или твердой формы, вспомогательных веществ и смазывающих агентов (такое как в виде таблеток); и необязательно (ix) нанесение покрытия на прессованную смесь соединения 1 или его фармацевтически приемлемой соли, изотополога или твердой формы, вспомогательных веществ и смазывающих агентов покрывающим агентом (таким как опадрай розовый, желтый или бежевый). В определенных вариантах осуществления способы получения композиции, относящиеся к изобретению, осуществляют в темноте, в желтом свете или в отсутствии УФ-лучей.

В определенных вариантах осуществления фармацевтические композиции, относящиеся к настоящему изобретению, содержат форму А соединения А, включая, по существу, чистую форму А.

6. Примеры

Следующие примеры представлены в целях иллюстрации, а не ограничения. Следующие сокращения применяют в описании и примерах:

AmPhos - п-диметиламинофенил-ди-трет-бутилfosфин;

Boc - трет-буксикарбонил;

dba - дibenзилиденакетон;

DIPEA - N,N-диизопропилэтамин;

DMSO - диметилсульфоксид;

EDTA - этилендиаминтетраацетат или этилендиаминтетрауксусная кислота;

ESI - электроспрей ионизация;

HPLC - высокоэффективная жидкостная хроматография;

mp - температура плавления;

MS - масс-спектрометрия;

Ms - мезилат или метансульфонил;

NBS - N-бромсукидинимид;

NMR - ядерный магнитный резонанс;

NMP - N-метилпирролидинон;

Tf - трифлат или трифторметансульфонил;

TFA - трифтормуксусная кислота;

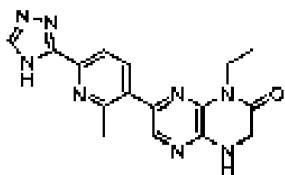
TLC - тонкослойная хроматография;

MTBE - метил трет-бутиловый эфир.

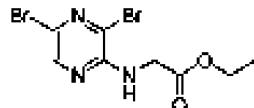
6.1. Примеры получения.

Следующие неограничивающие примеры получения показывают способы получения соединений, относящихся к настоящему изобретению. Chem-4D Draw (ChemInnovation Software, Inc., San Diego, CA) или ChemDraw Ultra (CambridgeSoft, Cambridge, MA) применяют для получения названий для химических структур.

Пример 1. 1-Этил-7-(2-метил-6-(4Н-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-*b*]пиразин-2(1Н)-он



А. Этил 2-(3,5-дибромпиразин-2-иламино)ацетат

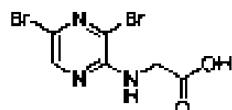


Амино-3,5-дибромпиразин (1 экв.) в диметилформамиде охлаждали до 0°C и обрабатывали карбонатом цезия (1,3 экв.) и этилхлорацетатом (1,2 экв.). Раствор нагревали до 25°C и дополнительно нагревали до 65°C. Реакционную смесь охлаждали до 25°C, фильтровали и твердый остаток промывали диметилформамидом. Фильтрата добавляли к смеси воды со льдом и суспензию встряхивали. Полученный в результате твердый остаток отделяли, промывали водой и сушили. Неочищенный продукт растворяли в метил трет-бутиловом эфире при нагревании, охлаждали до комнатной температуры и концентрировали досуха.

Твердый остаток растворяли в этилацетате и концентрировали до густой суспензии. Продукт растирали с 2% этилацетатом в гептане, фильтровали, промывали гептаном и сушили, получая заявленное в заголовке соединение в виде твердого остатка.

MS (ESI) m/z 337,8 [M-1]⁺, 339,8 [M+1]⁺, 341,8 [M+3]⁺.

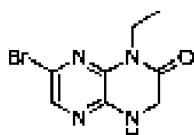
Б. 2-((3,5-Дибромпиразин-2-ил)амино)уксусная кислота и этиламин



Этил 2-(3,5-дибромпиразин-2-иламино)ацетат (1 экв.), тетрагидрофуран и гидроксид натрия в воде (1,1 экв.) смешивали и перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Реакционную смесь обрабатывали разбавленной фосфорной кислотой (1,9 экв.) и гептаном. Органический слой концентрировали до приблизительно 75% его первоначального объема и дополнительно отгоняли с добавлением гептана до того, как реакционная смесь имела температуру 80°C. В раствор вносили затравку и отгонку с добавлением гептана продолжали до достижения 85°C. Суспензию охлаждали и фильтровали и твердый остаток промывали гептаном и сушили, получая 2-((3,5-дибромпиразин-2-ил)амино)уксусную кислоту в виде твердого остатка.

MS (ESI) m/z 309,9 [M+1].

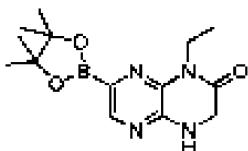
С. 7-Бром-1-этил-3,4-дигидропиразино[2,3-*b*]пиразин-2(1Н)-он



2-((3,5-Дибромпиразин-2-ил)амино)уксусную кислоту и этиламин (4 экв, 70 вес.% раствор) смешивали в воде и смесь перемешивали при 90°C. Реакционную смесь охлаждали до 80°C и обрабатывали фосфорной кислотой (4 экв.) и смесь охлаждали до комнатной температуры и твердый остаток собирали фильтрованием. Продукт сушили, получая 7-бром-1-этил-3,4-дигидропиразино[2,3-*b*]пиразин-2(1Н)-он в виде твердого остатка.

MS (ESI) m/z 256,9

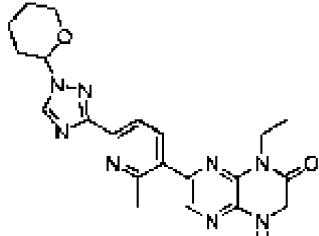
Д. 1-Этил-7-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-*b*]пиразин-2(1Н)-он



Смесь 7-бром-1-этил-3,4-дигидропиразино[2,3-*b*]пиразин-2(1Н)-она (1 экв.), бис-(пинаколато)-дибора (1,5 экв.) и ацетата калия (3,0 экв.) смешивали в тетрагидрофуране. Реакционную смесь нагревали до кипения, охлаждали, обрабатывали PdCl₂Amphos₂ (0,001 экв.) и нагревали до кипения. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, фильтровали и собранное твердое вещество промывали

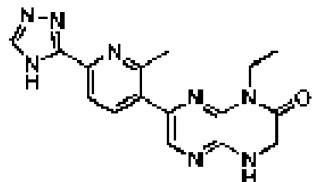
тетрагидрофураном. Фильтрат обрабатывали активированным углем при 50°C, фильтровали, обрабатывали активированным углем при 50°C второй раз и фильтровали. Фильтрат концентрировали до 20% первоначального объема, охлаждали и обрабатывали гептаном. Полученный в результате твердый остаток собирали фильтрованием, промывали и сушили, получая 1-этил-7-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-*b*]пиразин-2(1H)-он в виде белого твердого остатка.

Е. 1-Этил-7-(2-метил-6-(1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-*b*]пиразин-2(1H)-он



Часть 1-этил-7-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-*b*]пиразин-2(1H)-она (1 экв.), 3-бром-2-метил-6-(1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-1,2,4-триазол-3-ил) пиридин (0,95 экв.), гидрокарбонат калия (2,3 экв.) и PdCl₂Amphos₂ (0,001 экв.) обрабатывали смесью тетрагидрофурана и воды и реакционную смесь нагревали до 55°C. Реакционную смесь охлаждали и органический слой обрабатывали активированным углем при температуре окружающей среды и фильтровали. Фильтрат упаривали до 70% его первоначального объема, охлаждали, обрабатывали водой, вносили затравку и обрабатывали дополнительным количеством воды. Твердый остаток фильтровали и промывали смесью тетрагидрофуран/вода и сушили, получая 1-этил-7-(2-метил-6-(1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-*b*]пиразин-2(1H)-он в виде твердого остатка.

Ф. 1-Этил-7-(2-метил-6-(4Н-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-*b*]пиразин-2(1H)-он



Часть 1-этил-7-(2-метил-6-(1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-*b*]пиразин-2(1H)-она (1 экв.), бутилированный гидрокситолуол (0,002 экв.), смесь спиртов (90% этанол, 5% метанол, 5% изопропанол) и разбавленную водную хлороводородную кислоту (1 экв.) смешивали и нагревали до 60°C. Реакционную смесь охлаждали до 45°C, нейтрализовали разбавленным водным гидроксидом аммония и фильтровали. Собранный твердый остаток промывали смесью спиртов и воды и сушили, получая неочищенный 1-этил-7-(2-метил-6-(4Н-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-*b*]пиразин-2(1H)-он в виде твердого остатка. Неочищенный 1-этил-7-(2-метил-6-(4Н-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-*b*]пиразин-2(1H)-он (1 экв.), бутилированный гидрокситолуол (0,002 экв.), смесь спиртов (90% этанол, 5% метанол, 5% изопропанол) и воду (4:1) и разбавленную водную хлороводородную кислоту (2 экв.) смешивали и нагревали до 45°C, обрабатывали скавенджером для металлов (Siliatforcd® Thiol) (10 вес.-%), нагревали до 60°C, охлаждали до 45°C и фильтровали. Фильтрат обрабатывали активированным углем (10 вес.-%), нагревали до 45°C и фильтровали. Фильтрат нагревали до 45°C, обрабатывали разбавленным водным гидроксидом аммония, вносили затравку кристаллической формы А, обрабатывали дополнительным количеством разбавленного водного гидроксида аммония, охлаждали и фильтровали. Собранный твердый остаток промывали смесью спиртов и воды и сушили, получая 1-этил-7-(2-метил-6-(4Н-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-*b*]пиразин-2(1H)-он в виде формы А.

Г. 1-Этил-7-(2-метил-6-(4Н-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-*b*]пиразин-2(1H)-он (альтернативный подход). Неочищенный 1-этил-7-(2-метил-6-(4Н-1,2,4-триазол-3-ил) пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-*b*]пиразин-2(1H)-он (1 экв.) и бутилированный гидрокситолуол (0,002 экв.) в смеси 1-пропанола и воды (1:1) обрабатывали разбавленной водной хлористоводородной кислотой (2,5 экв.), обрабатывали скавенджером для металлов (Siliatforcd® Thiol) (10 вес.-%) и фильтровали. Фильтрат обрабатывали активированным углем (10 вес.-%) и фильтровали. Раствор обрабатывали разбавленным водным раствором гидроксида аммония при 60°C и реакционную смесь охлаждали, фильтровали и промывали 1-пропанолом/водой, получая 1-этил-7-(2-метил-6-(4Н-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-*b*]пиразин-2(1H)-он в виде формы А.

Н. 1-Этил-7-(2-метил-6-(4Н-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-*b*]пиразин-2(1H)-он (альтернативный подход). Неочищенный 1-этил-7-(2-метил-6-(4Н-1,2,4-триазол-3-ил) пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-*b*]пиразин-2(1H)-он (1 экв.) и бутилированный гидрокситолуол

(0,002 экв.) в смеси 1-пропанола и воды (1:1) обрабатывали разбавленной водной хлористоводородной кислотой (2 экв.). Раствор обрабатывали скавенджером для металлов (Siliatforced® Thiol) (10 вес.%) и фильтровали. Фильтрат обрабатывали активированным углем (10 вес.%) и фильтровали. Фильтрата обрабатывали разбавленным водным раствором гидроксида аммония при 45°C, вносили затравку, обрабатывали дополнительным количеством разбавленного водного раствора NH₄OH, охлаждали, фильтровали и промывали 1-пропанолом/водой, получая 1-этил-7-(2-метил-6-(4Н-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-*b*]пиразин-2(1Н)-он в виде формы А.

MS (ESI) m/z 337,6 [M+1]⁺.

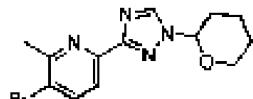
¹³C ЯМР(75 МГц, ДМСО-d₆) δ 164,1, 160,9, 155,8 155,4, 153,4, 152,0, 144,3, 142,9, 137,6, 137,1, 136,5, 135,2, 134,7, 133,2, 132,0, 119,1, 118,8, 45,7, 34,4, 23,9, 12.

¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО-d₆) δ 14,62 (шир. с, 4Н), 14,26 (шир. с, 2Н), 8,68 (шир. с, 2Н), 8,09 (шир. с, 4Н), 8,04-7,82 (м, 18Н), 7,72 (шир. с, 6Н), 4,28-4,17 (м, 12 Н), 4,05 (д, J=7,2 Гц, 9Н), 4,13-3,93 (м, 3Н), 3,35 (шир. с, 2Н), 2,73 (шир. с, 18Н), 1,18 (т, J=7,0 Гц, 19Н), 1,06 (с, 1Н).

Пример 2. Получение структурных элементов.

Следующие структурные элементы получали и применяли в получении, как описано в настоящем изобретении или их вариациях, известных в данной области техники.

3-Бром-2-метил-6-(1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин



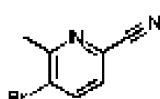
A. 3-Бром-6-йод-2-метилпиридин



Йодид натрия (2 экв.) и 3,6-дибром-2-метилпиридин (1 экв.) смешивали в пропионитриле и полученную в результате суспензию обрабатывали йодметилсиланом (0,2 экв.) и нагревали до 95°C при перемешивании в атмосфере азота в течение 24 ч. Суспензию охлаждали до комнатной температуры, разбавляли 1:1 смесью этилацетата и воды и водную и органическую фазу разделяли. Органического слоя промывали насыщенным водным раствором бикарбоната натрия, тиосульфатом натрия (5% водный раствор) и насыщенным водным раствором хлорида натрия. Органическую фазу сушили, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении, получая требуемый продукт в виде масла, которое кристаллизовалось до твердого вещества.

MS (ESI) m/z 297,8 [M]⁺, 299,8 [M+2]⁺.

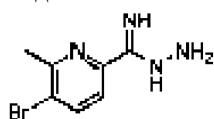
B. 5-Бром-6-метилпиколинонитрил



3-Бром-6-йод-2-метилпиридин (1 экв.) и ацетонитрил смешивали и добавляли цианид меди (0,5 экв.) и цианид натрия (0,8 экв.). Реакционную суспензию нагревали до 80°C в течение 24 ч. Реакционный раствор охлаждали до комнатной температуры и разбавляли гидроксидом аммония (0,5 М водный раствор). Смесь перемешивали 15-30 мин, фильтровали через диатомовую землю и остаток на фильтре промывали этилацетатом. Фильтрат и промывку смешивали и разбавляли этилацетатом. Водный и органические слои разделяли и органический слой промывали гидроксидом аммония (0,5 М водный раствор) и насыщенным водным хлоридом натрия, сушили, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении, получая 5-бром-6-метилпиколинонитрил в виде формы А.

MS (ESI) m/z 196,9 [M]⁺, 198,9 [M+2]⁺.

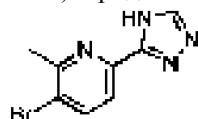
C. 5-Бром-6-метилпиколинимидогидразид



Моногидрат гидразина (2 экв.) добавляли к перемешиваемой 1,2 М суспензии 5-бром-6-метилпиколинонитрила (1 экв.) в этаноле. Реакционную смесь нагревали при 50°C в течение 24 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и фильтровали. Собранный твердый остаток промывали этанолом и трет-бутилметиловым эфиром. Твердый остаток сушили в вакууме, получая заявленное в заголовке соединение в виде твердого остатка.

MS (ESI) m/z 228,9 [M]⁺, 230,9 [M+2]⁺.

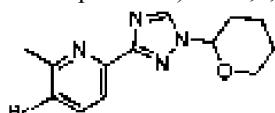
D. 3-Бром-2-метил-6-(4Н-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин



5-Бром-6-метилпиколинимидогидразид (1 экв.) и муравьиную кислоту (15 экв.) смешивали и нагревали при 100°C в течение 6 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и разбавляли метанолом. Полученную в результате суспензию частично концентрировали при пониженном давлении и полученную в результате смесь разбавляли метанолом и частично концентрировали при пониженном давлении. Полученный в результате твердый остаток собирали фильтрованием, промывали водой и сушили, получая требуемый продукт в виде твердого остатка.

MS (ESI) m/z 238,9 [M]⁺, 240,9 [M+2]⁺.

E. 3-Бром-2-метил-6-(1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин



3-Бром-2-метил-6-(4Н-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин (1 экв.), 3,4-дигидро-2Н-пиран (2 экв.) и метансульфокислоту (0,1 экв.) смешивали в тетрагидрофуране. Реакционную смесь нагревали при 68°C в течение 3,5 ч, охлаждали до комнатной температуры и обрабатывали триэтиламином (0,4 экв.). Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении, обрабатывали ацетонитрилом и концентрировали при пониженном давлении при 35°C. Остаток растворяли в ацетонитриле (1 объем) и воде (2,25 объема) и твердый остаток собирали фильтрованием, промывали 20% раствора ацетонитрила в воде и сушили. Неочищенный продукт растирали с гексаном, фильтровали, промывали гексаном и сушили, получая требуемый продукт в виде твердого остатка.

MS (ESI) m/z 324,9 [M+2]⁺.

6.2. Твердые формы.

6.2.1. Анализ полиморфов.

Анализ полиморфов соединения 1 осуществляли для исследования, можно ли получить различные твердые формы в различных условиях, таких как различные растворители и изменение температуры и влажности. В сумме, было обнаружено пять кристаллических форм. Было обнаружено, что форма А является стабильной безводной и негидроскопичной кристаллической формой, которая плавится приблизительно при 270°C. Было обнаружено, что формы В, С и Е являются гидратами. Было обнаружено, что форма D является сольватом DMSO.

Таблица 1

Физические характеристики твердых форм соединения 1

Форма	репрезентативный растворитель для кристаллизации	XRPD/морфология	ДСК пик (°C)	потеря по ТГА (% по весу)	вода по КF (% масс./масс.)	поглощение влаги (% по весу при 90% RH)	комментарии
A	исходное соединение, различные условия	кристаллическая иррегулярная	269,6	0,01	n/a	0,4	безводная
B	метанол	кристаллическая игольчатая	98,4, 133,8, 143,5 [▲] 158,8 [▲] 267,8	9,48	11,2	20,7	гидрат
C	MeOH/вода EtOH/вода	кристаллическая игольчатая	95,6, 122,7, 135,9 [▲] 270,3	9,82	12,8	12,2	дигидрат
D	DMSO/MTBE DMSO/EtOAc	кристаллическая чешуйчатая	141,4, 269,0	18,6	n/a	n/a	сольват
E	MeOH/DCM сuspension	кристаллическая	65,4, 180,4 [▲] 268,0	3,14, 2,07	4,8	5,9	гидрат

Экзотермический пик на кривой ДСК; n/a - не анализировали.

Форма A.

Порошковая рентгеновская дифрактограмма, кристаллическая структура, ТГА и ДСК термограммы формы А соединения 1 показаны на фиг. 2-4. Было обнаружено, что форма А теряет вплоть до 0,01% летучих компонентов в процессе ТГА анализа до 100°C и показывает один пик плавления при 269,6°C. Свойства сорбции/десорбции влаги формы А определяли ДСП и результаты суммированы на фиг. 5. Форма А показывает 0,46% изменение массы относительно сухой массы, когда относительную влажность повышали с 0 до 95%. Это указывает на то, что материал не является гидроскопичным. После осуществления полного цикла сорбции/десорбции порошковая рентгеновская дифрактограмма образца по-

казала, что материал не изменялся относительно первоначальной формы А. На основе данных исследований характеристик и исследований, описанных ниже, было обнаружено, что форма А представляет собой стабильный безводный и негидроскопичный кристаллический материал.

Таблица 2

Пики дифракции рентгеновских лучей для формы А соединения 1

угол два тета (°) (числа в скобках не округлены)	d-пространство (Å)	относительная интенсивность (%)
8,0 (7,96)	11,1039	7,4
9,8 (9,81)	9,0136	100,0
12,0 (11,99)	7,3830	33,8
15,9 (15,93)	5,5636	15,4
17,4 (17,37)	5,1060	8,7
17,9 (17,95)	4,9415	27,7
18,3 (18,35)	4,8356	3,8
19,5 (19,51)	4,5506	3,9
21,6 (21,61)	4,1131	3,9
21,9 (21,91)	4,0565	8,3
22,3 (22,29)	3,9877	6,0
24,0 (23,97)	3,7132	1,5
25,2 (25,19)	3,5357	21,4
26,4 (26,39)	3,3748	4,5
26,5 (26,48)	3,3657	5,6
27,1 (27,08)	3,2932	11,5
28,0 (27,96)	3,1917	5,0
29,4 (29,45)	3,0335	2,9
30,1 (30,09)	2,9701	2,7
31,3 (31,29)	2,8583	1,5
32,1 (32,14)	2,7852	1,6
36,4 (36,44)	2,4657	3,7
38,6 (38,65)	2,3297	2,0
39,4 (39,38)	2,2881	1,5

Форма В.

Форма В имеет кристаллическую порошковую рентгеновскую дифрактограмму, как показано на фиг. 7. ТГА и ДСК термограммы формы В показаны на фиг. 8 и 9 соответственно. Было обнаружено, что форма В теряет вплоть до 9,48% летучих компонентов в процессе ТГА анализа до 150°C и показывает несколько эндо- и экзотермических процессов до конечного плавления при 267,8°C, указывая на сольват или гидрат. ¹Н ЯМР спектр образца формы В не показал сигналы органического растворителя, что указывает на то, что форма В является, наиболее вероятно, гидратом (фиг. 10). Образец формы В дополнительно анализировали KF и он показал 11,2 вес.% воды, подтверждая гидрат.

Таблица 3
Пики дифракции рентгеновских лучей для формы В соединения 1

угол два тета ($^{\circ}$) (числа в скобках не округлены)	d-пространство (\AA)	относительная интенсивность (%)
4, 9 (4, 92)	17, 9597	36, 3
7, 5 (7, 52)	11, 7609	80, 1
8, 6 (8, 57)	10, 3161	39, 4
10, 4 (10, 42)	8, 4877	100, 0
10, 9 (10, 92)	8, 0986	17, 0
11, 7 (11, 71)	7, 5559	64, 5
12, 1 (12, 11)	7, 3062	23, 1
12, 7 (12, 74)	6, 9469	27, 4
14, 4 (14, 43)	6, 1398	9, 1
15, 0 (15, 02)	5, 8970	6, 6
16, 2 (16, 25)	5, 4557	13, 2
17, 5 (17, 55)	5, 0541	9, 7
17, 9 (17, 94)	4, 9456	33, 5
18, 5 (18, 54)	4, 7852	8, 0
19, 9 (19, 92)	4, 4563	6, 1
20, 4 (20, 39)	4, 3547	6, 8
21, 9 (21, 93)	4, 0527	12, 0
22, 4 (22, 42)	3, 9653	15, 0
23, 6 (23, 59)	3, 7709	12, 4
24, 5 (24, 53)	3, 6291	18, 6
25, 5 (25, 53)	3, 4898	24, 5
26, 4 (26, 41)	3, 3752	9, 9
27, 3 (27, 28)	3, 2694	16, 0
29, 0 (29, 03)	3, 0762	5, 1
29, 8 (29, 79)	2, 9994	6, 8
30, 5 (30, 47)	2, 9337	6, 3

Форма С.

Форму С получали перекристаллизацией из MeOH/воды или EtOH/воды.

Форма С имеет кристаллическую порошковую рентгеновскую дифрактограмму, как показано на фиг. 12. ТГА и ДСК термограммы формы С показаны на фиг. 13 и 14 соответственно. Было обнаружено, что форма С теряет вплоть до 9,82% летучих компонентов в процессе ТГА анализа до 150°C и показывает несколько эндо- и экзотермических процессов до конечного плавления в районе 270,3°C, указывая на сольват или гидрат. ^1H ЯМР спектр образца формы С, перекристаллизованный из EtOH/воды, не показал сигналов органического растворителя, что указывает на то, что форма С, наиболее вероятно, является гидратом. См. фиг. 15.

Таблица 4
Пики дифракции рентгеновских лучей для формы С соединения 1

угол два тета ($^{\circ}$) (числа в скобках не округлены)	d-пространство (\AA)	относительная интенсивность (%)
5, 9 (5, 86)	15,0746	5, 2
6, 1 (6, 07)	14,5697	3, 9
7, 4 (7, 42)	11,9142	8, 8
9, 3 (9, 35)	9,4565	56, 0
11, 7 (11, 75)	7,5317	100, 0
12, 2 (12, 16)	7,2798	5, 6
12, 3 (12, 30)	7,1935	3, 6
14, 4 (14, 39)	6,1570	3, 1
14, 7 (14, 67)	6,0405	1, 7
17, 3 (17, 34)	5,1129	6, 0
17, 9 (17, 92)	4,9504	3, 2
18, 3 (18, 27)	4,8550	1, 0
18, 7 (18, 75)	4,7329	2, 4
19, 9 (19, 94)	4,4535	10, 4
23, 7 (23, 67)	3,7597	8, 5
24, 0 (24, 00)	3,7080	5, 5
24, 3 (24, 35)	3,6552	1, 9
25, 0 (25, 03)	3,5576	1, 7
25, 7 (25, 73)	3,4627	1, 4
26, 2 (26, 22)	3,3986	3, 1
26, 5 (26, 52)	3,3611	2, 5
27, 1 (27, 15)	3,2851	1, 0
28, 3 (28, 28)	3,1537	4, 3
28, 4 (28, 36)	3,1518	3, 5
28, 9 (28, 87)	3,0905	2, 6
29, 6 (29, 64)	3,0111	1, 4
29, 9 (29, 95)	2,9814	2, 6
30, 3 (30, 34)	2,9436	1, 6
31, 1 (31, 15)	2,8691	2, 3
31, 6 (31, 56)	2,8322	2, 0
34, 8 (34, 85)	2,5723	3, 6
35, 1 (35, 08)	2,5560	3, 3

Форма D.

Форму D получали перекристаллизацией из растворителя/антирастворителя DMSO/MTBE или DMSO/EtOAc. Форма D имеет кристаллическую порошковую рентгеновскую дифрактограмму, как показано на фиг. 17. ТГА и ДСК термограммы формы D показаны на фиг. 18 и 19 соответственно. Было обнаружено, что форма D теряет вплоть до 18,6% летучих компонентов в процессе ТГА анализа до 150°C и показывает процесс десольватирования в районе 140°C, указывая на сольват или гидрат. ^1H ЯМР спектр образца формы D показал приблизительно один молярный эквивалент (т.е. 18,9 вес.%) DMSO (фиг. 20), в соответствии с наблюдаемой ТГА потерей массы. Данные результаты указывают на то, что форма D представляет собой сольват DMSO.

Таблица 5
Пики дифракции рентгеновских лучей для формы D соединения 1

угол два тета ($^{\circ}$) (числа в скобках не округлены)	d-пространство (\AA)	относительная интенсивность (%)
6,1 (6,07)	14,5687	7,6
6,5 (6,55)	13,5026	37,3
8,3 (8,29)	10,6607	22,3
10,2 (10,21)	8,6616	19,9
6,1 (6,07)	14,5687	7,6
6,5 (6,55)	13,5026	37,3
10,7 (10,72)	8,2534	31,7
11,0 (11,04)	8,0126	78,9
13,0 (13,05)	6,7853	25,0
14,0 (14,02)	6,3152	37,3
14,1 (14,14)	6,2654	35,7
16,6 (16,57)	5,3500	28,7
17,1 (17,10)	5,1855	10,2
18,2 (18,18)	4,8794	41,1
19,2 (19,24)	4,6121	7,1
19,6 (19,58)	4,5347	43,3
20,2 (20,24)	4,3881	100,0
20,7 (20,71)	4,2894	25,8
21,9 (21,94)	4,0513	78,1
22,7 (22,66)	3,9243	31,7
23,4 (23,44)	3,7948	45,8
23,8 (23,81)	3,7369	25,6
24,3 (24,34)	3,6570	30,9
24,8 (24,85)	3,5796	22,8
24,9 (24,91)	3,5742	22,9
25,4 (25,44)	3,5007	27,6
26,1 (26,09)	3,4159	30,1
26,3 (26,30)	3,3885	22,5
26,9 (26,91)	3,3133	18,5
27,2 (27,22)	3,2764	11,1
27,9 (27,94)	3,1934	4,0
28,6 (28,65)	3,1161	9,6
29,4 (29,39)	3,0386	3,7
29,7 (29,69)	3,0090	3,0
30,5 (30,48)	2,9331	13,5
31,3 (31,31)	2,8567	8,8
31,7 (31,66)	2,8258	5,9
32,4 (32,43)	2,7612	3,3
32,8 (32,84)	2,7271	10,2
33,4 (33,40)	2,6826	31,0
33,8 (33,85)	2,6483	2,5
34,2 (34,19)	2,6227	2,1
35,0 (34,98)	2,5653	9,3
35,7 (35,66)	2,5181	3,5
36,4 (36,43)	2,4666	8,6
37,3 (37,31)	2,4104	3,6
39,0 (39,03)	2,3080	7,6

Форма Е.

Форму Е получали из суспензии формы А в MeOH/DCM (1:1). Форма Е имела кристаллическую порошковую рентгеновскую дифрактограмму, как показано на фиг. 21. ТГА и ДСК термограммы формы D показаны на фиг. 22 и 23 соответственно, форма Е показал две стадии потери массы ТГА: 3,14 вес.%

при 30-90°C и 2,10 вес.% при 90-210°C. Первая потеря массы соответствовала широкой эндотермической ДСК приблизительно при 60°C. Вторая потеря массы, по-видимому, совпадает с экзотермой ДСК приблизительно при 180°C. ¹H ЯМР спектр формы Е соответствовал структуре соединения 1 и не показал значительного количества органического растворителя. Анализ КF образца формы Е показал 4,8 вес.% воды. Данные результаты указывают на то, что форма Е, наиболее вероятно, является гидратом, а не сольватом. Содержание воды и суммарная потеря массы по ТГА соответствовали моногидрату соединения 1, который имеет теоретическое содержание воды 5,1 вес.%.

Таблица 6

Пики дифракции рентгеновских лучей для формы Е соединения

угол два тета (°) (числа в скобках не округлены)	d-пространство (Å)	относительная интенсивность (%)
3,5 (3,46)	25,5444	7,1
7,0 (7,01)	12,6185	17,7
9,3 (9,28)	9,5264	100,0
10,5 (10,53)	8,3986	20,0
12,1 (12,15)	7,2824	6,6
12,7 (12,66)	6,9922	11,1
15,3 (15,34)	5,7775	23,8
16,1 (16,14)	5,4911	5,0
18,6 (18,65)	4,7582	29,5
19,6 (19,63)	4,5229	7,7
21,5 (21,47)	4,1383	11,0
22,1 (22,06)	4,0301	6,0
23,2 (23,16)	3,8403	13,1
24,7 (24,74)	3,5991	2,8
25,5 (25,49)	3,4941	3,4
26,5 (26,46)	3,3683	1,6
28,1 (28,15)	3,1703	3,8

Растворители, применяемые в анализе полиморфов, являлись или растворителями для ВЭЖХ или чистыми для анализа, включая ацетон, ацетонитрил (ACN), н-бутиловый спирт (n-BuOH), абсолютный этанол (EtOH), этанол/вода (1:1), метanol (MeOH), 2-пропанол (IPA), этилацетат (EtOAc), хлористый метилен (DCM), метилэтилкетон (MEK), метил трет-бутиловый эфир (MTBE), гептан, толуол, тетрагидрофуран (THF), диметилсульфоксид (DMSO), N-метилпирролидон (NMP), N,N-диметилформамид (DMF) и вода.

Все твердые образцы, получаемые в анализе полиморфов, анализировали XRPD. XRPD анализ проводили на порошковом рентгеновском дифрактометре Thermo ARL X'TRA, применяя СУ Кα излучение при 1,54 Å. Прибор снабжали рентгеновской трубкой с острой фокусировкой. Напряжение и ток в амперах генератора рентгеновского излучения устанавливали на 45 кВ и 40 мА соответственно. Щели расходности устанавливали на 4 и 2 мм и принимающие щели устанавливали на 0,5 и 0,2 мм. Дифрагированное излучение измеряли, применяя Si (Li) твердотельный детектор с термоэлектрическим охлаждением. Применили 2-тета непрерывное сканирование при 2,40 мин (0,5 с/0,02° стадия) от 1,5 до 40° 2θ. Стандарт спеченного глинозема применяли для проверки положений пиков.

ДСК анализы проводили на дифференциальном сканирующем калориметре TA instrument Q2000. Индий применяли в качестве калибровочного стандарта. Приблизительно 2-5 мг образца помещали в ДСК кювету. Образец нагревали в атмосфере азота при скорости 10°C/мин вплоть до конечной температуры 300°C. Температуры плавления приводили в виде экстраполированных температур начала разложения.

ТГА анализ проводили на термогравиметрическом анализаторе TA instrument Q5000. Оксалат кальция применяли для эксплуатационной проверки. Приблизительно 5-20 мг точно взвешенного образца помещали в кювету и помещали в ТГА печь. Образец нагревали в атмосфере азота при скорости 10°C/мин, вплоть до конечной температуры 300°C.

Анализ морфологии образцов осуществляли на микроскопе Olympus.

Небольшие количества образцов дисперсировали в минеральном масле на предметном стекле с покровным стеклом и наблюдали с 20× или 50× увеличением.

Гидроскопичность определяли на Surface Measurement Systems ДСП. Обычно размер образца 2-10 мг загружали на кювету для образцов ДСП прибора и образец анализировали на ДСП автоматизированном анализаторе сорбции при комнатной температуре. Относительную влажность повышали от 0 до 90% RH с шагом 10% RH, затем 95% RH. Затем относительную влажность понижали аналогичным способом, получая полный цикл сорбции/десорбции. Для выборочных гидратированных форм, анализ начинали при 50% RH и повышали до 90% RH при шаге 10% RH. Затем, относительную влажность понижали анало-

гичным способом до 0% RH с последующим повышением до 50% RH.

¹H ЯМР спектры получали на Bruker 300 MHz NMR спектрометре. Образцы формы В, формы С и формы Е растворяли в DMSO-d₆. Образец формы Д растворяли в DMF-d₆.

6.2.2. Эксперименты на растворимость и стабильность.

Растворимость формы А в отобранных водных и органических растворителях определяли смешением твердого вещества с растворителями при комнатной температуре. Образцы для определения растворимости фильтровали после 24 ч встряхивания и подвергали количественному анализу ВЭЖХ способом, за исключением DMSO, для которого растворимость оценивали визуальным наблюдением полного растворения после добавления растворителя. Растворимость формы В и форма С в воде также определяли тем же ВЭЖХ способом. Результаты показаны в табл. 7.

Таблица 7

Растворимость формы А соединения 1 в отобранных растворителях

растворитель	растворимость (мг/мл) (комнатная температура)
вода	0,08
0,9% NaCl	0,03
0,1N HCl	7,10
ацетатный буфер pH 4,0	0,06
фосфатный буфер pH 6,8	0,05
ацетонитрил	0,14
ацетон	0,46
метанол	1,13
этанол	0,50
изопропанол	0,28
этилацетат	0,32
тетрагидрофуран	5,50
гептан	<0,005
диметилсульфоксид	>50

Reference: NB# 5536-29

Для оценки термодинамической стабильности формы А суспензирование формы А осуществляли при комнатной температуре в течение 2 недель в различных растворителях, включая ACN, MeOH, MTBE, воду и EtOH/воду (1:1). См. табл. 8 и 9. Эксперименты осуществляли добавлением избытка формы А к 2 мл испытуемого растворителя. Полученную в результате смесь встряхивали в течение по меньшей мере 24 ч при комнатной температуре и 50°C отдельно. После достижения равновесия насыщенный надосадочный раствор удаляли и медленно упаривали в открытой пробирке в атмосфере азота при комнатной температуре и 50°C соответственно. Твердый остаток, полученный в результате уравновешивания, фильтровали и сушили на воздухе перед анализом

Таблица 8

Эксперименты на равновесие формы А при комнатной температуре

Растворитель	XRPD результат через 24 часа
ацетон	Форма А
ацетонитрил	Форма А
н-бутанол	Форма А
этанол	Форма А
этилацетат	Форма А
гептан	Форма А
метанол	Форма А
хлористый метилен	Форма А
метилэтилкетон	Форма А
метил трет-бутиловый эфир	Форма А
2-пропанол	Форма А
толуол	Форма А
тетрагидрофуран	Форма А
Вода	Форма А
этанол/вода (1:1)	Форма А

Таблица 9

Эксперименты на суспензирование формы А при 50°C

Растворитель	XRPD результат через 24 часа
ацетон	Форма А
ацетонитрил	Форма А
н-бутанол	Форма А
этанол	Форма А
этилацетат	Форма А
гептан	Форма А
метанол	Форма А
метилэтилкетон	Форма А
2-пропанол	Форма А
толуол	Форма А
тетрагидрофуран	Форма А
Вода	Форма А
этанол/вода (1:1)	Форма А

Эксперименты на испаряемость осуществляли добавлением избытка соединения 1 к 2 мл испытуемого растворителя. Полученную в результате смесь встряхивали в течение по меньшей мере 24 ч при комнатной температуре и 50°C отдельно. После достижения равновесия насыщенный надосадочный раствор удаляли и позволяли медленно испариться в открытой пробирке в атмосфере азота при комнатной температуре и 50°C соответственно. Твердый остаток, полученный в результате уравновешивания, фильтровали и сушили на воздухе перед анализом. Результаты суммированы в табл. 10.

Таблица 10

Эксперименты на испаряемость формы А при 50°C

Растворитель	XRPD результат через 24 часа
метанол	форма А+В (полукристаллическая)
тетрагидрофуран	аморфная, разрушается

Твердый остаток, полученный из MeOH, давал полукристаллическую порошковую рентгеновскую дифрактограмму с пиками соединения А и дополнительные уникальные пики, которые, как было позднее обнаружено, приписывали форме В. Аморфное твердое вещество, полученное из THF, изменяло цвет на темно-коричневый и LC-MS результат показал, что протекает окисление в процессе эксперимента на

испаряемость.

Эксперименты на перекристаллизацию при быстром охлаждении осуществляли, применяя один растворитель или смесь растворителей согласно следующему способу. Отобранные растворители (MeOH, MeOH/H₂O, EtOH/H₂O, THF/H₂O и DMF) насыщали соединением 1 приблизительно при 50-70°C. После того как твердый остаток полностью растворился, раствор быстро охлаждали помещением в холодильник. Твердое вещество выделяли через 24 ч.

Результаты суммированы в табл. 11. Три твердые формы были обнаружены в данных экспериментах. Форму А получали из DMF; форму В получали из MeOH; и уникальную форму, обозначенную как форма С, получали из MeOH/H₂O (1:1) и EtOH/H₂O (1:1).

Таблица 11

Перекристаллизация при быстром охлаждении

Растворитель	способ	XRPD результат
MeOH	растворяли при кипячении с обратным холодильником 4°C	Форма В
MeOH/H ₂ O (1:1)	растворяли при кипячении с обратным холодильником 4°C	Форма С
этанол/H ₂ O (1:1)	растворяли при 50°C охлаждали до 4°C	Форма С
THF/H ₂ O (1:1)	растворяли при 50°C охлаждали до 4°C	Форма А+С
DMF	растворяли при -50°C охлаждали до 4°C	Форма А

Эксперименты на перекристаллизацию с добавлением антирастворителя осуществляли, как описано ниже, применяя DMSO или DMF в качестве первичного растворителя и MTBE, воду или EtOAc в качестве антирастворителей. Отобранные растворители (DMSO и NMP) насыщали соединением 1 при комнатной температуре. После того как твердый остаток полностью растворился, добавляли к раствору антирастворитель (этилацетат, MTBE или воду). Смеси перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Если осаждение не протекало, пробирку дополнительно охлаждали помещением в холодильник. Твердый остаток, полученный в результате перекристаллизации, фильтровали и сушили на воздухе перед анализом.

Результаты суммированы в табл. 12. Уникальную форму, обозначенную как форма D, получали при кристаллизации, применяя DMSO/MTBE или DMSO/EtOAc. Каждая из других комбинаций растворителей давала форму А.

Таблица 12

Перекристаллизация с добавлением антирастворителей

Растворитель	антирастворитель	соотношение (растворитель / антирастворитель)	XRPD результат
DMSO	MTBE	1:15	Форма D
DMSO	Вода	1:7,5	Форма А
DMSO	этилацетат	1:15	Форма D
NMP	MTBE	1:15	Форма А
NMP	Вода	1:7,5	Форма А
NMP	этилацетат	1:15	Форма А

Стабильность формы А демонстрировали воздействием на образец условиями 40°C/75% RH в течение 1 месяца. Твердая форма материала, подвергавшегося воздействию, не изменялась по сравнению с первоначальным образцом, не подвергавшимся воздействию. См. табл. 13. Было также обнаружено, что форма А является стабильной при воздействии давления 2000 пси в течение приблизительно 1 мин (фиг. 6) с небольшим повышением содержания аморфной формы.

Таблица 13

Стабильность формы А

исходная форма	условия испытания	XRPD результат
Форма А	40°C/75% RH, 4 недели, открытая пробирка	Форма А
Форма А	40°C/75% RH, 4 недели, закрытая пробирка	Форма А

Получение конкурентных суспензий формы А и формы В или формы А и формы С также проводили в MeOH и EtOH/вода (1:1). Все твердые вещества, выделенные из данных суспензий, соответствовали форме А. См. табл. 14. Данные результаты указывают на то, что форма А представляет собой наиболее стабильную форму.

Таблица 14

Эксперименты по изменению формы

исходная форма	Растворитель	форма затравки	продолжительность	XRPD результат
Форма А	H ₂ O	нет	2 недели	Форма А
Форма А	MeOH	нет	2 недели	Форма А
Форма А	MTBE	нет	2 недели	Форма А
Форма А	этанол/вода (1:1)	нет	2 недели	Форма А
Форма А	ацетонитрил	нет	2 недели	Форма А
Форма В	ацетонитрил	нет	3 дня	Форма А
Форма С	ацетонитрил	нет	3 дня	Форма А
Форма С	MeOH/вода (1:1)	нет	1 неделя	Форма С
Форма С	H ₂ O	нет	1 неделя	Форма С
Форма Е	ацетонитрил	нет	1 неделя	Форма А
Форма Е	MeOH/вода (1:1)	нет	1 неделя	Форма С
Форма А	MeOH	Форма В	1 неделя	Форма А
Форма А	MeOH	Форма С	1 неделя	Форма А
Форма А	EtOH/H ₂ O(1:1)	Форма В	1 неделя	Форма А
Форма А	EtOH/H ₂ O(1:1)	Форма С	1 неделя	Форма А
Форма А	H ₂ O	Форма В	1 неделя	Форма А
Форма А	H ₂ O	Форма С	7 недель	Форма А+С

6.3. Биологические примеры.

6.3.1. Биохимические анализы.

TOR HTR-FRET анализ. Следующее далее представляет собой пример анализа, который можно применять для определения ингибирующей TOR киназу активности соединения 1. Соединение 1 растворяли в DMSO и получали в виде 10 мМ исходных растворов и разбавляли подходящим способом для экспериментов. Реагенты получали следующим способом.

"Простой TOR буфер" (применили для разбавления TOR фракции с высоким содержанием глицерина): 10 мМ Tris pH 7,4, 100 мМ NaCl, 0,1% Tween-20, 1 мМ DTT. Рекомбинантный TOR фермент фирмы Invitrogen (cat# PV4753) разбавляли в данном буфере до концентрации для анализа 0,200 мкг/мл.

АТФ/субстратный раствор: 0,075 мМ АТФ, 12,5 мМ MnCl₂, 50 мМ Hepes, pH 7,4, 50 мМ β-GOP, 250 нМ микроцистин LR, 0,25 мМ EDTA, 5 мМ DTT и 3,5 мкг/мл GST-p70S6.

Раствор для детекции реагентов: 50 мМ HEPES, pH 7,4, 0,01% Triton X-100, 0,01% BSA, 0,1 мМ EDTA, 12,7 мкг/мл Cy5-aGST Amersham (Cat#PA92002V), 9 нг/мл α-фосфо p70S6 (Thr389) (Cell Signaling Mouse Monoclonal #9206L), 627 нг/мл α-мышьиный Lance Eu (Perkin Elmer Cat#AD0077).

К 20 мкл простого TOR буфера добавляли 0,5 мкл испытуемого соединения в DMSO. Для того чтобы начать реакцию 5 мкл АТФ/субстратного раствора, добавляли к 20 мкл раствора простого TOR буфера (контроль) и к раствору соединения, полученному выше. Анализ прекращали через 60 мин добавлением 5 мкл 60 mM раствора EDTA; затем добавляли 10 мкл раствора для детекции реагентов и смесь выдерживали в течение по меньшей мере 2 ч перед считыванием показаний Perkin-Elmer Envision микропланшетного ридера, установленного на детектирование LANCE Eu TR-FRET (возбуждение при 320 нм и излучение при 495/520 нм).

ДНК-ПК анализ. ДНК-ПК анализ проводили, применяя способы, поставляемые в Promega ДНК-ПК аналитическом наборе (catalog # V7870). ДНК-ПК фермент можно получить у Promega (Promega cat#V5811).

6.4. Примеры составов.

Определенные составы, содержащие соединение 1, получали и испытывали на ряд физических и химических свойств. Затем вводили модификации и также испытывали последующие составы, до того как обнаруживали составы, обладающие требуемыми физическими и химическими свойствами. Следующий пример описывает данные составы и их испытание.

Исследование 1. 2³⁻¹ исследование оформляли для оценки влияния разбавителей, разрыхлителя и содержания лекарственного средства на физические свойства и химическую стабильность таблеток. Составы лекарственных форм показаны в табл. 15. Первоначальное формирование таблетки осуществляли при нормальном комнатном ультрафиолетовом излучении. Состав примесей показан в табл. 16.

Таблица 15

Состав лекарственной формы различных составов в виде таблеток

партия таблеток с покрытием	HPD020-A-001	HPD020-A-002	HPD020-B-001	HPD020-B-002
партия таблеток без покрытия	PDO1-001	PDO 1-002	PDO 1-003	PDO 1-004
соединение 1 (мг)	0,5	0,5	5	5
микрокристаллическая целлюлоза (мг)	63,75	83,75	59,25	79,25
частично предварительно желатинизированный кукурузный крахмал (мг)		10		10
моногидрат лактозы, высушенный распылением (мг)	30		30	
кросповидон (мг)		4	4	
кроаскармеллоза Na (мг)	4			4
диоксид кремния (мг)	1	1	1	1
стеаратмагния (мг)	0,75	0,75	0,75	0,75
суммарная таблетка без покрытия (мг)	100	100	100	100
покрытие опадрай II (мг)	4	4	4	4
суммарная таблетка с покрытием (мг)	104	104	104	104
цвет	розовый	розовый	желтый	желтый

Таблица 16

Состав примесей

соответствующие примеси @ нулевой момент времени	HPD020-A-001	HPD020-A-002	HPD020-B-001	HPD020-B-002
RRT0,87 (окисл. 1)	0,27	0,31	0,26	0,24
RRT 0,94 (окисл. 2)	0,32	0,33	0,22	0,25
RRT 0,96 (окисл. 3)	0,56	0,56	0,47	0,48
суммарно окисленные	1,15	1,2	0,95	0,97
примеси @ t ₀				

Выводы: соединение 1 склонно к окислению, особенно в присутствии света и ставит проблемы, связанные с химической стабильностью.

Исследование 2. Исследование проводили для оценки эффекта антиоксиданта (бутилированного гидрокситолуола, ВНТ) и хелатообразующего агента (эдэтата динатрия, Na₂-EDTA) на стабильность соединения 1 в сформулированном продукте. Также оценивали влияние лекарственной формы (таблетка в сравнении с капсулой) на стабильность соединения 1.

Составы лекарственных форм показаны в табл. 17, тогда как данные относительно стабильности представлены в табл. 18. Все способы осуществляли в темноте.

Таблица 17

Состав лекарственной формы

ингредиент	% масс./масс.					
	122711-1	122711-2	122711-3	122711-4	122711-5	122711-6
	капсула	капсула	капсула	капсула	таблетка	капсула
соединение 1	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
маннитол (Mannogem EZ)	84	94,1		93,6	83,6	
МСС РН 12	10		94,1		10	
лактоза						93,6
крахмалгликолят натрия	3	3	3	3	3	3
стеариновая кислота	1	1	1	1	1	1
бутилированный гидрокситолуол		0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
Na ₂ -EDTA	0,5			0,5	0,5	0,5
стеарат Mg	1	1	1	1	1	1
в сумме	100	100	100	100	100	100

Таблица 18

Данные относительно стабильности

партия #	122711-1		122711-2		122711-3	
лекарственная форма	капсула		капсула		капсула	
продолжительность	T ₀	4 недели	T ₀	4 недели	T ₀	4 недели
RRT 0,87	0,11	0,14	0,11	0,13	0,11	0,14
RRT 0,94	0,08	0,10	0,09	0,11	0,08	0,11
RRT 0,96	0,15	0,15	0,16	0,18	0,16	0,19
сумма всех примесей в результате окисления	0,34	0,39	0,36	0,42	0,35	0,44
партия #	122711-4		122711-5		122711-6	
лекарственная форма	капсула		таблетка		капсула	
продолжительность	T ₀	4 недели	T ₀	4 недели	T ₀	4 недели
RRT 0,87	0,12	0,13	0,11	0,13	0,12	0,14
RRT 0,94	0,08	0,10	0,08	0,10	0,08	0,10
RRT 0,96	0,14	0,16	0,14	0,16	0,15	0,17
сумма всех примесей в результате окисления	0,34	0,39	0,33	0,39	0,35	0,41

Вывод: добавление ВНТ и Na₂-EDTA вместе с избеганием комнатного света, по-видимому, улучшает профиль стабильности соединения 1 в сформированном продукте. Различия не наблюдали между профилем стабильности лекарственных форм в виде таблеток и капсул.

Исследование 3. Дополнительное исследование проводили для изучения влияния покрытия и осушителя на стабильность таблеток соединения 1. Все способы осуществляли при желтом свете, препятствуя любому воздействию УФ света на составы соединения 1.

Состав лекарственной формы приведен в табл. 19 и данные относительно стабильность представлены в табл. 20.

Таблица 19
Состав лекарственной формы в виде таблеток

ингредиент	% масс./масс.
соединение 1	0,5
маннитол (Mannogem EZ)	83,6
MCC RH 12	10
крахмалгликолят натрия	3
стеариновая кислота	1
бутилированный гидрокситолуол	0,4
Na ₂ -EDTA	0,5
стеарат Mg	1
в сумме	100

Таблица 20

Данные относительно стабильности

	суммарно 40/75					RRTO, 87 40/75				
	0	2	4	8	12	0	2	4	8	12
Продолжительность, недель	0	2	4	8	12	0	2	4	8	12
без покрытия	0,84	1,04	0,95	1,83	2,12	0,18	0,31	0,31	0,60	0,76
с покрытием	0,62	0,67	0,60	0,96	1,10	0,14	0,17	0,19	0,25	0,30
с покрытием/ осушитель	0,60	0,60	0,54	0,79	0,90	0,13	0,15	0,16	0,21	0,26
	RRTO, 94 40/75					RRTO, 96 40/75				
Продолжительность, недель	0	2	4	8	12	0	2	4	8	12
без покрытия	0,16	0,23	0,23	0,45	0,50	0,29	0,37	0,34	0,64	0,67
с покрытием	0,10	0,13	0,14	0,20	0,25	0,18	0,23	0,23	0,34	0,36
с покрытием/ осушитель	0,09	0,09	0,10	0,13	0,16	0,18	0,20	0,21	0,27	0,30

Вывод: таблетки с покрытием показали меньшие количества примесей в результате окисления по сравнению с таблетками без покрытия. Наличие осушителя показало увеличение стабильности.

Исследование 4. Оценивали эффект ВНТ и EDTA в составе в виде таблеток на стабильность соединения 1. Все способы осуществляли в желтом свете, препятствуя любому воздействию УФ-света на составы соединения 1.

Составы лекарственных форм показаны в табл. 21 и данные относительно стабильности представлены в виде qs - сколько нужно или в достаточном количестве (достаточном для достижения 100%).

Таблица 22. Таблетки с пленочным покрытием получали, применяя способ смешения/просевания/смешения с последующим прессованием и нанесением покрытия. Весь способ осуществляли в желтом свете для сведения к минимуму окисления. Было обнаружено, что бутилированный гидрокситолуол (ВНТ) и EDTA динатрия увеличивают химическую стабильность активного ингредиента в составе.

Таблица 21

Примерные составы таблеток

	% масс./масс.						
	1 (PDO1-070)	2 (PDO1-071)	3 (PDO1-069)	4 (PDO1-068)	5 (PDO1-074)	6 (PDO1-075)	7
партия #							
ингредиенты							
соединение 1 (активный ингредиент)	10	10	10	10	5	5	5
маннитол (Mannogem EZ)	qs	qs	qs	qs	64,85	64,85	64,35
микрокристаллическая целлюлоза (РН 112)	25	25	25	25	25	25	25
крахмалгликолят натрия	3	3	3	3	3	3	3
диоксид кремния	1	1	1	1	1	1	1
стеариновая кислота	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
EDTA динатрия			0,5	0,5			0,5
ВНТ		0,4		0,4			
стеарат магния	0,65	0,65	0,65	0,65	0,65	0,65	0,65
в сумме	100	100	100	100	100	100	100
цвет	желтый	желтый	желтый	желтый	желтый	розовый	

qs - сколько нужно или в достаточном количестве (достаточное для достижения 100%).

Таблица 22

Данные относительно стабильности

	примеси в сумме при 40°C/75% RH			
	1 (PDO1-070)	2 (PDO1-071)	3 (PDO1-069)	4 (PDO1-068)
время 0	0,77	0,66	0,58	0,62
1 месяц	0,69	0,6	0,62	0,65
2 месяца	0,79	0,69	0,72	0,75
3 месяца	1,07	0,91	0,87	0,85

Вывод: оба состава с EDTA и/или ВНТ показали меньше примесей в результате окисления по сравнению с составами без EDTA и ВНТ.

Эксперименты на совместимость смеси. На основе результатов двойной совместимости вспомогательных веществ исследовали совместимость смесей, определяя, какие комбинации вспомогательных веществ являются совместимыми с соединением 1. После воздействия в течение 4 недель при 40°C/75% RH, соединение было стабильным со всеми комбинациями вспомогательных веществ. Следуя исследования по совместимости смесей, таблетки прессовали, применяя 3 состава, при двух дозах, низкой (1 мг) и высокой (25 мг) исследуя крайние величины для состава (табл. 23-28 ниже). Из-за максимального взаимодействия между АФИ и вспомогательными веществами формировали таблетки с низкой дозой для определения химической стабильности активного ингредиента в таблетке. Таблетки с высокой дозой формировали для определения, как АФИ обуславливает механические свойства таблетки и для обнаружения любых потенциальных помех для составов.

Получение таблеток. Смеси согласно табл. 23-28 получали следующим способом. Микрокристаллическую целлюлозу взвешивали и добавляли в прямосторонний желтый лабораторный стакан. Крышку закрывали и стакан встряхивали для того, чтобы покрыть внутреннюю часть стакана. Затем добавляли активный ингредиент (соединение 1) и смешивали в течение 10 мин при 46 об/мин, применяя мешалку Turbula. Смесь пропускали через сита 25 мэш и смешивали снова в течение 10 мин при 46 об/мин, применяя мешалку Turbula. Полученную в результате смесь пропускали через сита 35 мэш. Затем добавляли оставшиеся вспомогательные вещества, за исключением смазывающего агента (стеарата магния). Полученную в результате смесь смешивали в течение 10 мин при 46 об/мин, применяя мешалку Turbula. 6 г полученной в результате смеси добавляли в желтый лабораторный стакан, добавляли смазывающий агент и смешивали в течение 1 мин и 35 с при 46 об/мин, применяя мешалку Turbula. Для составов таблеток с низкой дозой 140 мг таблетки получали, применяя 7,14 мм пуансон и матрицу. Для составов таблеток с высокой дозой 400 мг таблетки получали, применяя 10,3 мм пуансон и матрицу.

Таблица 23

Состав таблеток с низкой дозой # 1

марка	ингредиент	источник	количество (% по весу)
	соединение 1		0,7
Avicel PH-102	микрокристаллическая целлюлоза	FMC Biopolymer	38,1
Pearlitol 160C	маннитол	Roquette	57,2
Ac-di-Sol	карбоксиметилцеллюлоза натрия	FMC Biopolymer	3,0
Tablube	стеарат магния	Nitika Chemicals	1,0

Таблица 24

Состав таблеток с низкой дозой #2

марка	ингредиент	источник	количество (% по весу)
	соединение 1		0,7
Avicel PH-102	микрокристаллическая целлюлоза	FMC Biopolymer	75,3
Starch 1500	предварительно желатинизированный крахмал	Colorcon	20,0
Ac-di-Sol	карбоксиметилцеллюлоза натрия	FMC Biopolymer	3,0
Tablube	стеарат магния	Nitika Chemicals	1,0

Таблица 25

Состав таблеток с низкой дозой #3

марка	ингредиент	источник	количество (% по весу)
	соединение 1		0,7
Avicel PH-102	микрокристаллическая целлюлоза	FMC Biopolymer	38,1
Tublettose 80	моногидрат лактозы	Meggle Pharma	57,2
Ac-di-Sol	карбоксиметилцеллюлоза натрия	FMC Biopolymer	3,0
Tablube	стеарат магния	Nitika Chemicals	1,0

Таблица 26
Состав таблеток с высокой дозой #1

марка	ингредиент	источник	количество (% по весу)
	соединение 1		25,0
Avicel PH-102	микрокристаллическая целлюлоза	FMC Biopolymer	28,4
Pearlitol 160C	маннитол	Roquette	42,6
Ac-di-Sol	карбоксиметилцеллюлоза натрия	FMC Biopolymer	3,0
Tablube	стеарат магния	Nitika Chemicals	1,0

Таблица 27
Состав таблеток с высокой дозой #2

марка	ингредиент	источник	количество (% по весу)
	соединение 1		25,0
Avicel PH-102	микрокристаллическая целлюлоза	FMC Biopolymer	51,0
Starch 1500	предварительно желатинизированный крахмал	Colorcon	20,0
Ac-di-Sol	карбоксиметилцеллюлоза натрия	FMC Biopolymer	3,0
Tablube	стеарат магния	Nitika Chemicals	1,0

Таблица 28
Состав таблеток с высокой дозой #3

марка	ингредиент	источник	количество (% по весу)
	соединение 1		25,0
Avicel PH-102	микрокристаллическая целлюлоза	FMC Biopolymer	28,4
Tublettose 80	моногидрат лактозы	Meggle Pharma	42,6
Ac-di-Sol	карбоксиметилцеллюлоза натрия	FMC Biopolymer	3,0
Tablube	стеарат магния	Nitika Chemicals	1,0

Приведенные выше составы подвергали 6-недельному исследованию на стабильность.

ВЭЖХ анализ осуществляли, применяя Kinetex C18, 4,6×100 мм, 2,6 мкм колонку. Подвижная фаза А: 20 мМ ацетат аммония:ацетонитрил (95:5 v/v); подвижная фаза В: 20 мМ ацетат аммония:ацетонитрил (10:90 v/v), применяя следующий градиент:

время (мин)	A%	B%	кривая
0	100	0	линейный
1	100	0	линейный
10	0	100	линейный
10, 1	100	0	линейный
16	100	0	линейный

Скорость потока: 1 мл/мин; температура колонки: 40°C; УФ-детектор 250 нм; вводимый объем: 12 мкл; продолжительность цикла: 16 мин.

Таблетки с низкой дозой подвергали стрессовому воздействию в течение 6 недель при 50°C/80%

RH; при проведении анализа и исследования растворения. Через 6 недель при 50°C/80% RH, анализ таблеток с низкой дозой (1 мг) сравнивали с первоначальным моментом времени для 3 составов, исследуемых на стабильность. Первоначальное растворение и растворение через 6 недель для таблеток с низкой дозой были сравнимы в пределах $\pm 1\text{-}5\%$ для состава 1 и $\pm 10\%$ для составов 5 и 9.

неделя	анализ	чистота
состав 1		
0	96,0%	98,2%
6	98,6%	98,6%
состав 5		
0	96,1%	98,3%
6	94,1%	98,6%
состав 9		
0	105,7%	98,4%
6	106,2%	98,7%

Таблетки с высокой дозой подвергали стрессовому воздействию в течение 4 недель при 40°C/75% RH. Первоначально состав содержал 25% лекарственного средства. Однако физико-механические свойства соединения допускают создание таблеток с приемлемыми физико-химическими свойствами. Следовательно, содержание лекарственного средства снижают до 10%. При меньшем содержании лекарственного средства, состав обладает гораздо более приемлемыми свойствами для таблетирования на быстродействующем прессе. Через 4 недели при 40°C/75% RH не наблюдали значительных изменений в растворении таблеток с высокой дозой (25 мг) для 3 составов.

На основании результатов экспериментов сделан вывод, что трудно формулировать таблетку, когда содержание лекарственного средства является большим чем 10%. При больших содержаниях лекарственного средства физико-механические свойства состава определяются АФИ, а не вспомогательными веществами. При высоких содержаниях лекарственного средства плохие физические свойства АФИ приводят к склонности и низкой сыпучести. Состав с плохой сыпучестью делает трудным воспроизведение получение таблеток на высокоскоростном таблеточном прессе. Для таблеток и с низкой и с высокой дозой состав 1 давал профили растворения с наименьшими изменениями после исследования на стабильность.

6.5. Таутомерия соединения 1.

ЯМР исследования осуществляли для анализа таутомеров соединения 1. Два таутомера наблюдали при относительной распространенности 70/30 ЯМР. См. фиг. 26. Наблюдали отличительный ^{13}C химический сдвиг приблизительно 161 ppm для положения 5 минорного таутомера по сравнению с приблизительно 150 ppm химическим сдвигом для положения 5 основного таутомера. HMBC корреляция между ^1H и ^{13}C /5C подтверждала данный результат. ЯМР данные показаны на фиг. 27-30 и в табл. 29 и 30 ниже. Все данные получали на Varian Inova 500 NMR спектрометре в DMSO-d_6 при 25°C с Varian pentaprobe, применяя импульсную последовательность, предоставляемую продавцом. Количественные ^1H и ^{13}C данные получали с 10-секундной задержкой релаксации в присутствии Cr(III) ацетил-ацетоната.

Таблица 29

^1H и ^{13}C ЯМР сигналы для таутомеров соединения 1

положение	^{13}C	^1H
3	152.0	8.07
4	NA	14.60
5	153.4	NA
6	144.3	NA
7	118.8	7.97
9	157.7	8.01
10	133.2	NA
11	155.8	NA
12	136.4	NA
13	155.2	7.92
15	134.7	NA
17	142.9	NA
18	NA	7.70
20	154.1	NA
21	45.7	4.21
22	34.6	4.04
23	12.4	3.17
25	23.9	2.72

Таблица 30
¹Н и ¹³С ЯМР сигналы для
 тautомеров соединения 1

<u>Position</u>	<u>¹³C</u>	<u>¹H</u>
1	NA	14.24
3	144.5	8.67
5	160.9	NA
6	148.1	NA
7	119.1	7.97
9	137.1	7.92
10	132.0	NA
11	155.4	NA
12	137.0	NA
13	135.0	7.93
15	134.7	NA
17	142.8	NA
18	NA	7.84
20	164.1	NA
21	45.7	4.21
22	34.8	4.04
23	12.4	1.17
25	23.9	3.86

6.6. Исследование биодоступности/зависимости эффективности препарата от приема пищи/от состава и времени приема пищи.

Состав для таблеток соединения 1 разрабатывали в качестве альтернативы активного фармацевтического ингредиента (АФИ)-в-капсуле (АВК) для будущих клинических исследований, в случае сравнения фармакокинетических (РК) профилей двух составов. РК соединения 1 хорошо охарактеризованы на субъектах, которым вводили различные дозы и подвергали различным режимам дозирования АВК соединения 1. Данное дополнительное исследование биодоступности/зависимости эффективности препарата от приема пищи/от состава и времени приема пищи имело целью обеспечить внутрииндивидуальные РК сравнения для настоящего АВК и впервые сформулированной таблетки и оценить влияние приема пищи на биодоступность соединения 1, определяя, можно ли отменять ограничения на воздержание от приема пищи вблизи дозирования соединения 1. Исследование биодоступности будет включать вплоть до 12 подлежащих оценке взрослых пациентов с любой солидной опухолью.

В предшествующем клиническом исследовании соединение 1 считали хорошо переносимым во всем оцениваемом диапазоне доз и оно показывало профиль безопасности, соответствующий опубликованными данными для других агентов, мишенью которых является mTOR и родственные клеточные пути. На протокол определяли, что и 25 мг ежедневно 10 мг два раза в сутки являются режимами максимально переносимой дозы (MTD), причем последний выбран для дополнительной оценки.

На основании хорошей переносимости соединения 1 интенсивность способов традиционного мониторинга снижали в данном дополнительном исследовании, ограничивая исследуемый материал субъектами без компромиссной безопасности.

Основные задачи данного дополнительного исследования, которое ограничено взрослыми субъектами 18 лет или старше с любой запущенной солидной опухолью, представляют собой: (1) охарактеризование и оценку фармакокинетики соединения 1, вводимого в виде единичной пероральной дозы таблетки и составов типа АФИ-в-капсуле, и (2) охарактеризование влияния приема пищи на фармакокинетику соединения 1, вводимого в виде единичной пероральной дозы соединения 1 с пищей с высоким содержанием жира.

Основная конечная точка будет характеризовать фармакокинетику соединения 1 в плазме и моче у одних и тех же субъектов в условиях натощак после введения АВК соединения 1 и таблетки и в условиях приема лекарственного средства после еды и натощак после введения сформулированной таблетки, для следующих переменных: C_{max}, AUC_{0-inf}, AUC_{0-t}, T_{max}, t_{1/2}, CL/F и Vz/F. РК параметры будут оценивать, применяя модельно-независимые способы.

Исследование имело рандомизированный, однодозовый план без контроля плацебо с 3 обработками, 3 периодами и 3 последовательностями для 12 субъектов. Субъекты будут завершать данное дополнительное исследование РК в течение периода приблизительно 10-19 дней перед началом основной фазы исследования (фиг. 33). Три терапии будут осуществлять в 3 отдельных периода одним и тем же субъектам после ночного голодания по меньшей мере в течение 6 ч следующим способом.

Терапия 1: одна 10 мг АВК соединение 1, вводимая натощак.

Терапия 2: одна 10 мг таблетка испытуемого соединение 1, вводимая натощак.

Терапия 3: одна 10 мг таблетка испытуемого соединения 1, вводимая в условиях приема лекарственного средства после еды.

В 1 день 1 периода, субъектов будут распределять случайным образом в одну из следующих 3 последовательностей введения лекарственных средств.

Последовательность 1 (n=4): терапия 1→терапия 2→терапия 3.

Последовательность 2 (n=4): терапия 2→терапия 3→терапия 1.

Последовательность 3 (n=4): терапия 3→терапия 1→терапия 2.

В 1 день терапии 1 и 2, субъектам будут вводить единичную дозу АВК или таблетки соединение 1, соответственно с приблизительно 240 мл негазированной воды комнатной температуры. Взятие образцов крови для определения РК будут осуществлять перед введением дозы и через 0,5 ч ±5 мин, 1 ч ±5 мин, 1,5 ч ±10 мин, 3 ч ±10 мин, 5 ч ±15 мин, 8 ч ±15 мин, 24 ч ±30 мин и 48 ч ±60 мин после введения дозы.

В 1 день терапии 3, через 30 мин ±5 мин после кормления под наблюдением стандартным завтраком, субъектам будут вводить единичную дозу таблетки соединения 1. Взятие образцов крови для определения РК будут осуществлять перед введением дозы и через 0,5 ч ±5 мин, 1 ч ±5 мин, 1,5 ч ±10 мин, 3 ч ±10 мин, 5 ч ±15 мин, 8 ч ±15 мин, 24 ч ±30 мин и 48 ч ±60 мин после введения дозы.

Отбор образов крови через 48 ч можно не осуществлять, если первоначальные результаты для субъектов показали, что это не необходимо.

Стандартную пищу с высоким содержанием жиров, предоставляемую в исследовательский центр, будут давать приблизительно за 30 мин перед терапией 3. Будут записывать начальный и конечный момент приема пищи и приблизительный процент потребленной пищи. Данный прием пищи включает высокожировое (приблизительно 50% суммарного калорийного содержания пищи), высококалорийное (приблизительно 800-1000 калорий) питание с приблизительно 150, 250 и 500-600 калорий, разделенными между белками, углеводами и жирами, соответственно. Стандартная высокожировая пища состоит из 2 яиц, обжаренных в масле, 2 полосок бекона, 2 ломтиков хлеба с маслом, 4 унций картофельных оладий и 8 унций цельного молока. Можно делать замены при условии, что пища обеспечивает аналогичное количество калорий из белков, углеводов и жиров и имеет сравнимый объем и вязкость пищи.

Таблетку будут вводить с приблизительно 240 мл негазированной воды комнатной температуры. После введения дозы субъектов продолжали держать натощак в течение по меньшей мере 3 ч после введения дозы.

Отмывочный интервал между дозами между 1 днем 1 периода и 1 днем 2 периода и 1 днем 2 периода и 1 днем 3 периода может быть в диапазоне 48-168 ч (2-7 дней) в зависимости от потребностей субъекта/графика.

Подлежащий оценке субъект представляет собой субъекта, который завершает, по меньшей мере, или терапии 1 и 2, или терапии 2 и 3; за исключением специальных обстоятельств, одобренных спонсором, оценки всех 3 терапий будет завершаться каждым субъектом. Неподлежащие оценке субъекты будут заменяться по усмотрению спонсора.

После отбора конечного образца для РК в 3 день 3 периода субъекты начинают терапию и фазу оценочного исследования непрерывного дозирования ежедневных 28-дневных циклов АВК капсул соединения 1 без необходимости повторного скрининга.

Критериями включения являются:

(1) понимание и добровольное подписание документа об информированном согласии перед проведением любых обследований/процедур, предусмотренных исследованием;

(2) мужчина и женщина, 18 лет или старше с гистологическим или цитологическим подтверждением запущенных нерезектабельных солидных опухолей, ХЛЛ, НХЛ или ММ, включая мужчин и женщин, у которых заболевание прогрессирует (или которые неспособны переносить) при стандартной противораковой терапии или для которых не существует другой общепринятой терапии; субъекты с саркомой Юинга могут иметь возраст 12 лет или старше;

(3) согласие на проведении биопсии опухоли;

(4) ECOG PS 0 или 1;

(5) следующие данные лабораторных анализов:

(i) абсолютное содержание нейтрофилов (ANC) >1,5×10⁹/л;

(ii) гемоглобин (Hgb) >9 г/дл;

(iii) тромбоциты (pit) >100×10⁹/л;

(iv) калий в нормальном диапазоне или корректируемый пищевыми добавками;

(v) AST/SGOT и ALT/SGPT <2,5 × верхний предел нормы (ВПН) или <5,0 × ВПН, если присутствует опухоль печени;

(vi) суммарный билирубин в сыворотке <1,5 × ВПН или <2 × ВПН, если присутствует опухоль печени;

(vii) креатинин в сыворотке <1,5 × ВПН или 24-часовой клиренс >50 мл/мин; и

(viii) отрицательный серологический тест на беременность или тест мочи на беременность в пределах 72 ч перед началом исследуемого типа терапии у женщин со способностью к деторождению; и

(6) возможность придерживаться графика визитов, предусмотренных исследованием и других требований протокола.

Критериями исключения являются:

- (1) симптоматические метастазы в центральной нервной системе;
- (2) имеющийся острый или хронический панкреатит;
- (3) любая периферическая нейропатия >2 степени NCI CTCAE;
- (4) упорный понос или малабсорбция >NCI 2 степени CTCAE, несмотря на лечение нарушение глотания;
- (5) нарушенная сердечная функция или клинически значимое сердечное заболевание, включая любое из следующих:
 - (i) ФВЛЖ <45% как определено MUGA сканом или эхокардиографией;
 - (ii) полная блокада левого пучка Гиса или двухпучковая блокада;
 - (iii) врожденный синдром удлиненного интервала QT;
 - (iv) постоянная или в анамнезе клинически значимая желудочковая аритмия или фибрилляция предсердий;
 - (v) QTcF >460 мс на скрининговой ЭКГ (среднее трех регистраций);
 - (vi) нестабильная стенокардия или инфаркт миокарда <3 месяцев до начал введения соединения 1;
 - (vii) другое клинически значимое заболевание сердца, такое как застойная сердечная недостаточность, требующая лечения или неконтролируемая гипертония (кровяное давление >160/95 мм рт.ст.);
- (6) сахарный диабет при активном лечении или субъекты с одним из следующих:
 - (i) уровень глюкозы в крови натощак (FBG) >126 мг/дл (7,0 ммоль/л) или
 - (ii) HbA1c >6,5%;
- (7) другие тяжелые и/или неконтролируемые сопутствующие заболевания (например, активную или неконтролируемую инфекцию), которые могут вызывать неприемлемую угрозу безопасности или негативно сказываться на соблюдении протокола;
- (8) предшествующее системное противораковое лечение или исследовательские способы <5 периодов полувыведения или 4 недель в зависимости от того, какой срок является более коротким, перед началом введения исследуемого препарата или субъекты, которые не восстановились от побочных эффектов данной терапии;
- (9) радикальная хирургия <2 недель перед началом введения исследуемого препарата или субъекты, которые не восстановились от побочных эффектов данной терапии. Субъекты должны восстановиться от любых эффектов недавней радиотерапии, которые могут исказить оценку безопасности исследуемого препарата. Аутологичный трансплантант стволовых клеток <3 месяцев перед началом введения исследуемого препарата;
- (10) беременность или грудное кормление;
- (11) взрослые, способные к деторождению, не применяющие двух форм контрацепции:
 - (i) женщины, способные к деторождению, должны быть согласны применять две адекватные формы способов контрацепции одновременно (одна должна быть негормональной) с момента подачи информированного согласия до 28 дней после последней дозы соединения 1. Женщины, способные к деторождению, определенные как половозрелые женщины, которые не подвергались удалению матки или двусторонней овариэктомии или которые не являются естественно постменопаузальными (т.е. которые не менструируют вообще) в течение >24 последовательных месяцев; и
 - (ii) мужчины имеющие партнеров, которые являются женщинами, способными к деторождению, должны быть согласны, что они и/или их партнеры будут применять по меньшей мере два эффективных способа контрацепции (включая один барьерный способ) при занятии репродуктивной половой активностью в течение исследования с момента информированного согласия и будут избегать зачатия в течение 28 дней после последней дозы соединения 1;
- (12) имеющаяся инфекция вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ);
- (13) имеющаяся хроническая инфекция вирусом гепатита В или С (ВГВ/ВГС), если она не является сопутствующим заболеванием у субъектов с ГКК;
- (14) любое значительное заболевание, отклонения лабораторных показателей от нормы или психиатическое заболевание, которые будут препятствовать субъектам участвовать в исследовании, включая неспособность проглатывать капсулы в отсутствии желудочной/тонкокишечной питательной трубки;
- (15) любое заболевание, включающее наличие отклонений лабораторных показателей от нормы, которое подвергает субъектов неприемлемому риску, если они собираются принимать участие в данном исследовании;
- (16) любое заболевание, которое нарушает способность интерпретировать данные исследования; и
- (17) сопутствующая активная вторичная злокачественная опухоль, для которой субъект получает терапию и сключая немеланоматозный рак кожи или карциному шеи.

Субъекты с гематологическими злокачественными опухолями или МГБ специально исключают из участия, как и любых субъектов моложе 18 лет.

Субъектов будут обследовать по телефону или в клинические 28±2 дни до последней дозы соединения 1, определяя статус любых непроясненных вредных эффектов и будут ли возникать новые осложнения.

Концентрации в плазме соединения 1 и РК параметры после осуществления терапии 1, 2 и 3 будут обобщать, применяя описательную статистику. РК параметры для плазмы будут рассчитывать, применяя модельно-независимые способы и фактические моменты времени отбора образцов крови.

Описательные РК сводные данные (например, N, среднее, SD, CV%, геометрическое среднее, геометрический CV%, медиану, мин и макс) будут представлять по необходимости. Будут генерировать графики отдельных и средних концентраций относительно времени. Дисперсионный анализ (ANOVA) будут проводить по трансформированной по натуральному $\log AUC_{0-t}$, $AUC_{0-\infty}$ и C_{\max} для соединения 1. Модель ANOVA будет включать терапию (1, 2 или 3), последовательность и период в качестве фиксированных эффектов и субъекта, включенного в последовательность, в качестве случайного эффекта. Будут представлять отношения геометрических средних (терапия 2/1 и 3/2) и их 90% доверительные интервалы. Для T_{\max} непараметрический анализ будут применять для получения медианных расхождений.

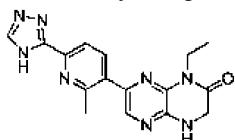
Варианты осуществления, описанные в настоящем изобретении, не ограничиваются объемом конкретных вариантов осуществления, описанных в примерах, которые предполагаются для иллюстрации некоторых аспектов описанных вариантов осуществления и любые варианты осуществления, которые являются функционально эквивалентными, включены в настоящее изобретение.

Действительно, различные модификации вариантов осуществления, описанных в настоящем изобретении, являются дополнением к вариантам осуществления, показанным и описанным в настоящем изобретении, ясны специалистам в данной области техники и предполагаются включенными в объем прилагаемой формулы изобретения.

Цитируют ряд ссылок, содержание которых включено в настоящее изобретение с помощью ссылки во всей своей полноте.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

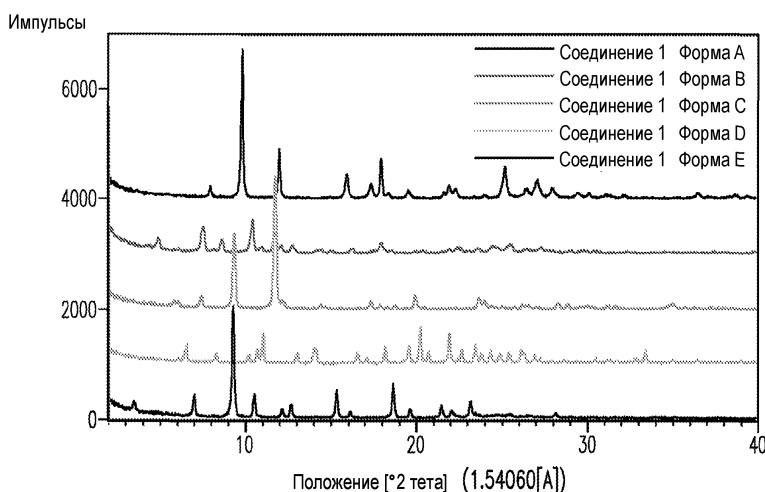
1. Твердая форма А соединения 1 или его таутомер



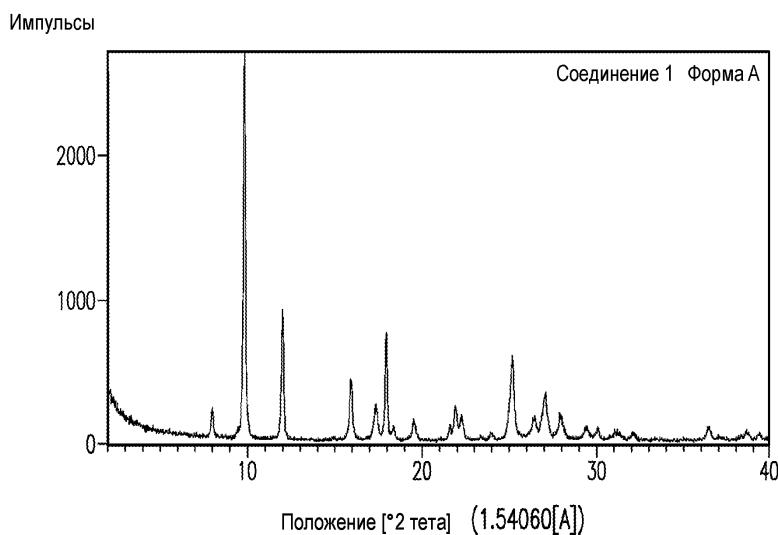
1

имеющая дифракционные пики на порошковой рентгенограмме при угле дифракции 2θ приблизительно 9,8, 12,0 и 17,9°.

2. Фармацевтическая композиция, содержащая твердую форму соединения 1 или его таутомер по п.1 и один или более фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ или носителей, причем каждый независимо выбран из карбоксиметилцеллюлозы, целлюлозы, лактозы, стеарата магния, крахмала и стеариновой кислоты.

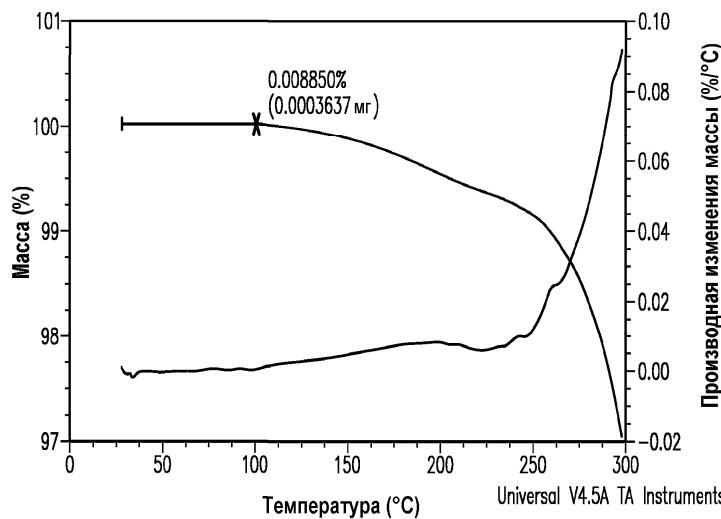


Фиг. 1



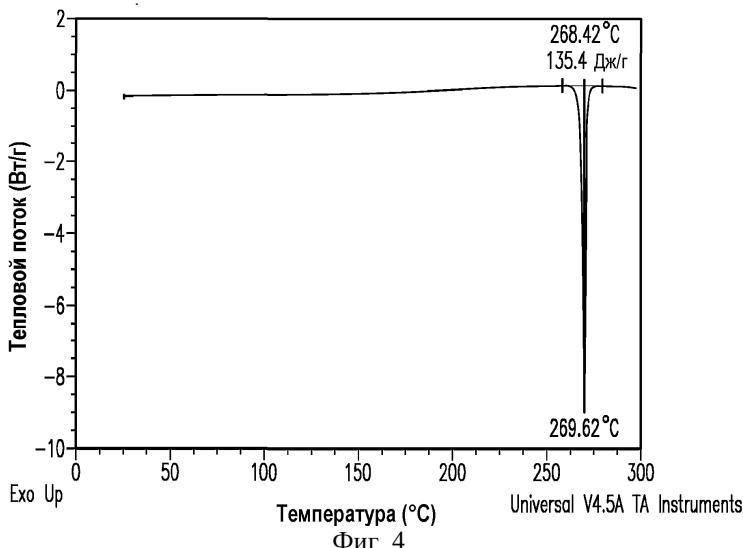
Фиг. 2

Размер: 4.1090 мг ТГА Дата выполнения: 12-Mar-2010 11:00
Прибор: TGA Q5000 V3.10 Build 258

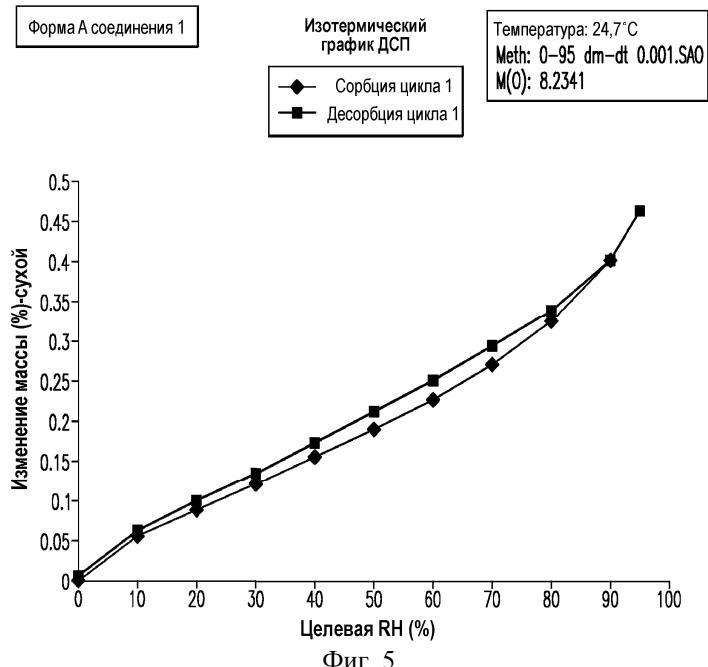


Фиг. 3

Размер: 2.3730 x 0.0000 мг ДСК Дата выполнения: 12-Mar-2010 10:58
Способ: линейный Прибор: DSC Q2000 V24.4 Build 116

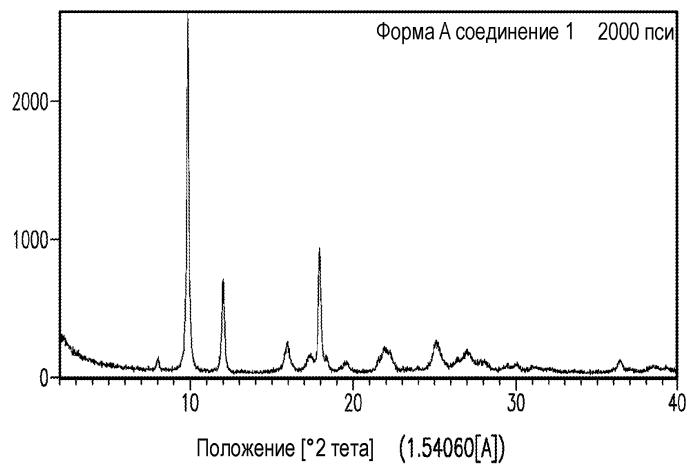


Фиг. 4



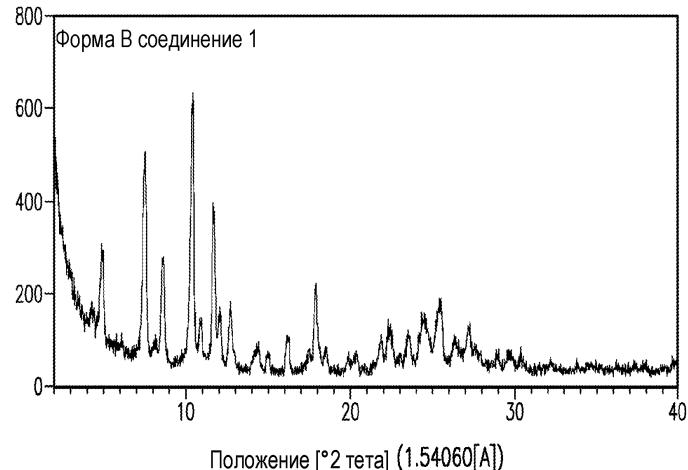
Фиг. 5

Импульсы



Фиг. 6

Импульсы

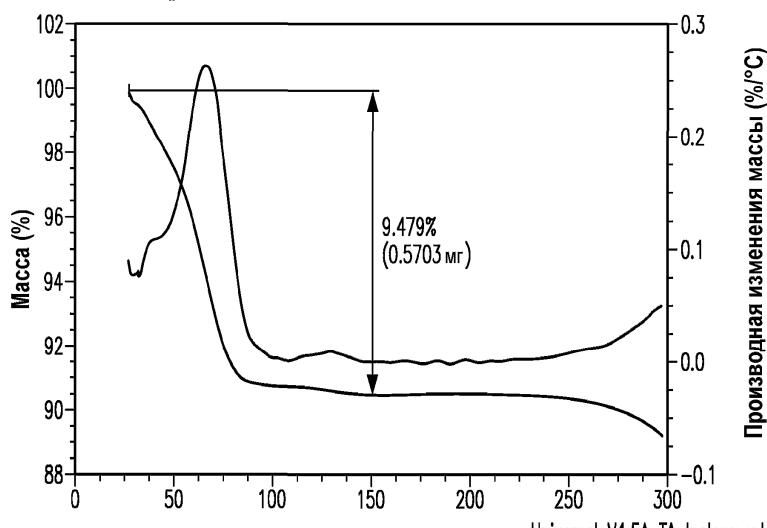


Фиг. 7

Размер: 6.1060 мг
Комментарий: партия #7541-096-G

ТГА

Дата выполнения: 29-Mar-2010 10:26
Прибор: TGA Q5000 v3.10 Build 258

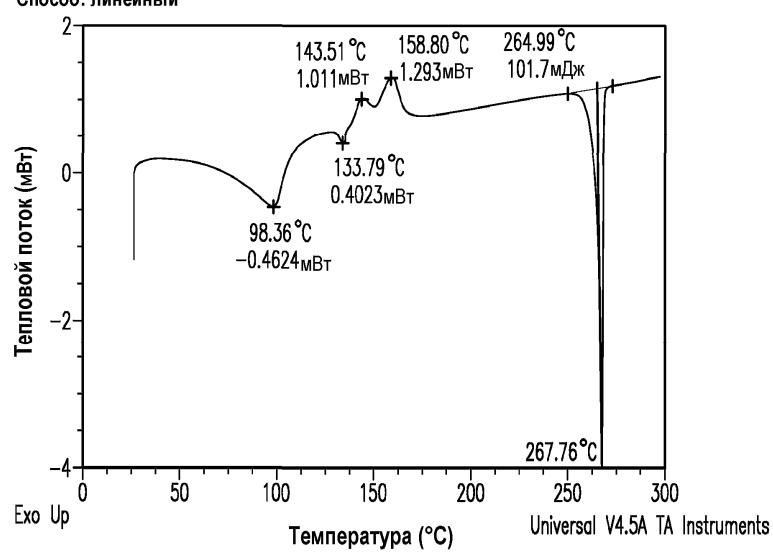


Фиг. 8

Размер: 0.0000 x 0.0000 мг
Способ: линейный

ДСК

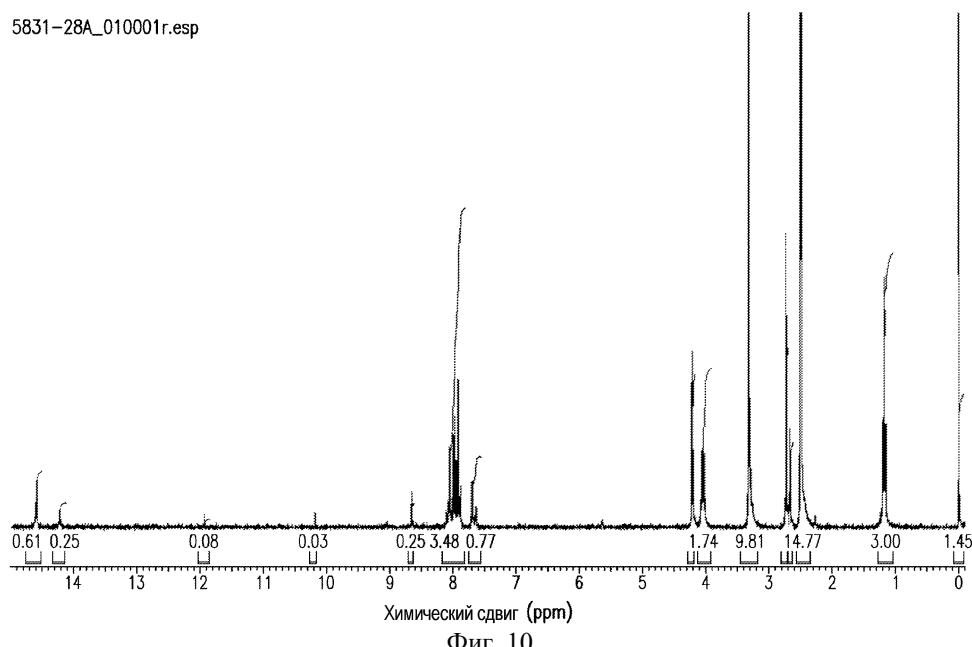
Дата выполнения: 24-Mar-2010 14:07
Прибор: DSC Q2000 V24.4 Build 116



Фиг. 9

030726

5831-28A_010001r.esp



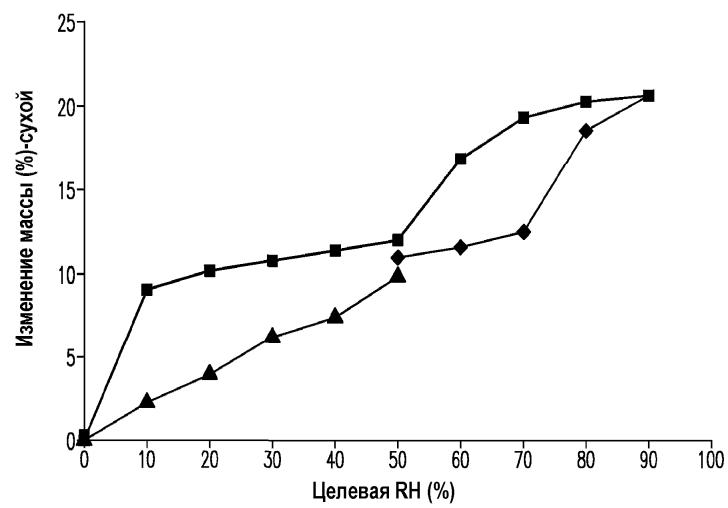
Фиг. 10

Форма В соединения 1

Изотермический
график ДСП

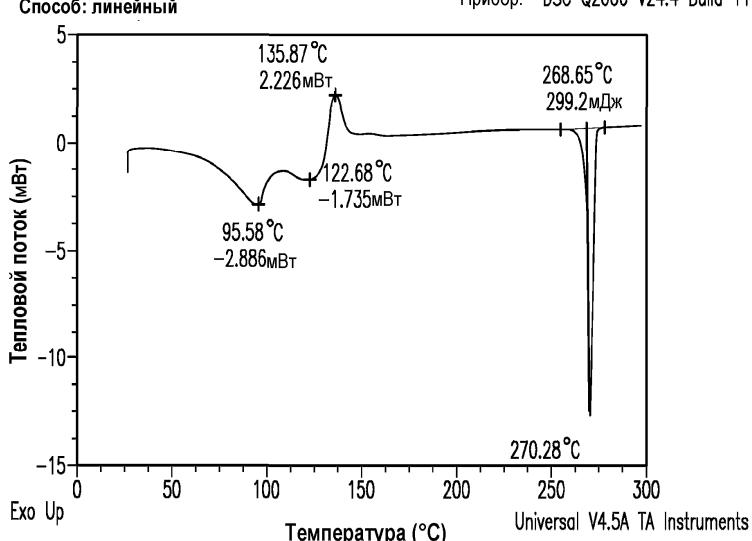
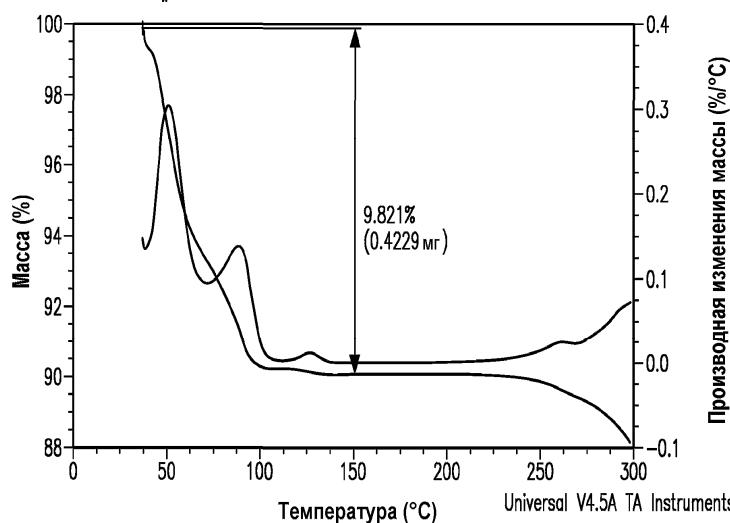
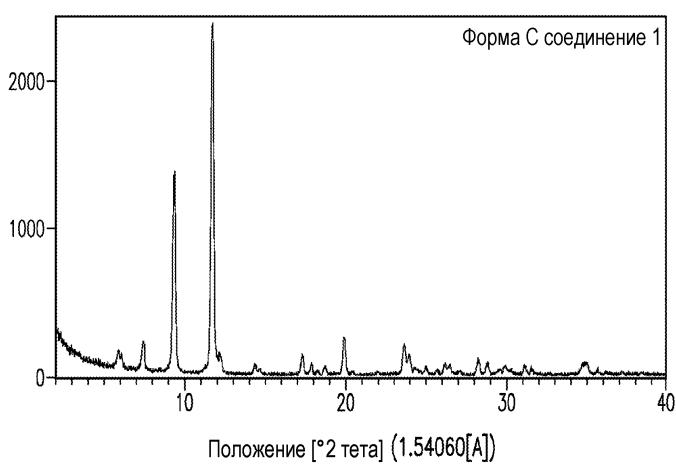
Температура: 23,8°C
Meth: 50-90-0-50.SAO
M(0): 5.3124

- ◆ Сорбция цикла 1
- Десорбция цикла 1
- ▲ Сорбция цикла 2

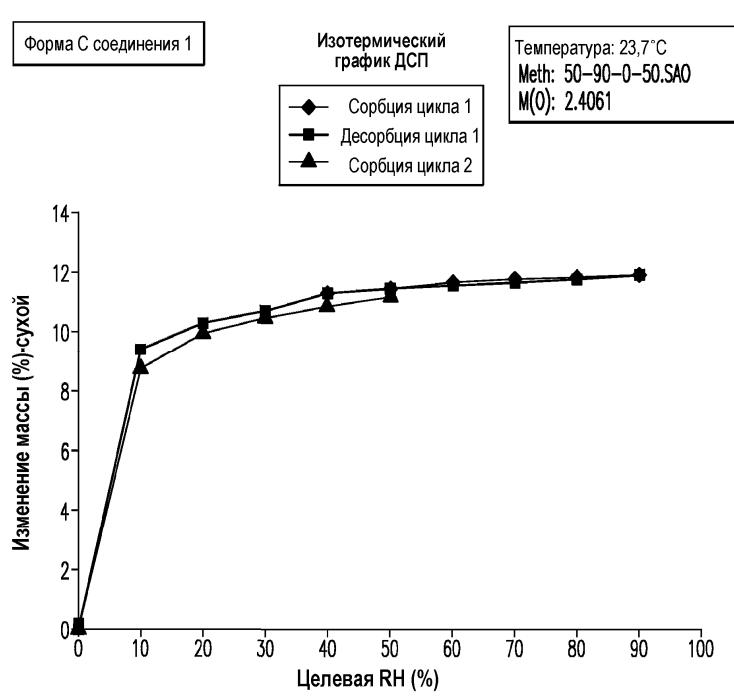
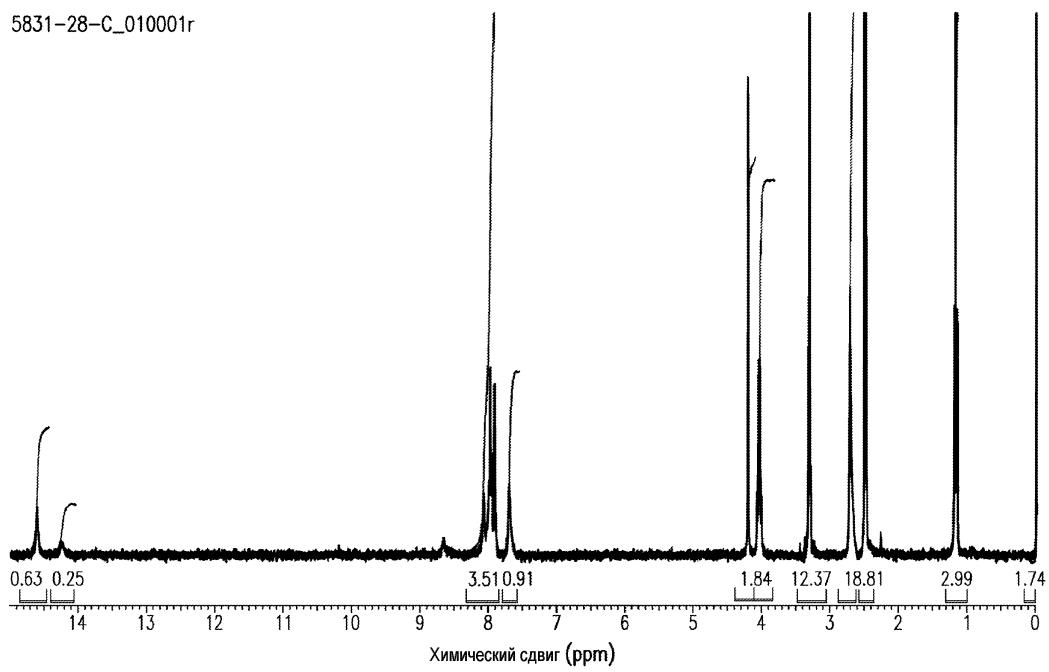


Фиг. 11

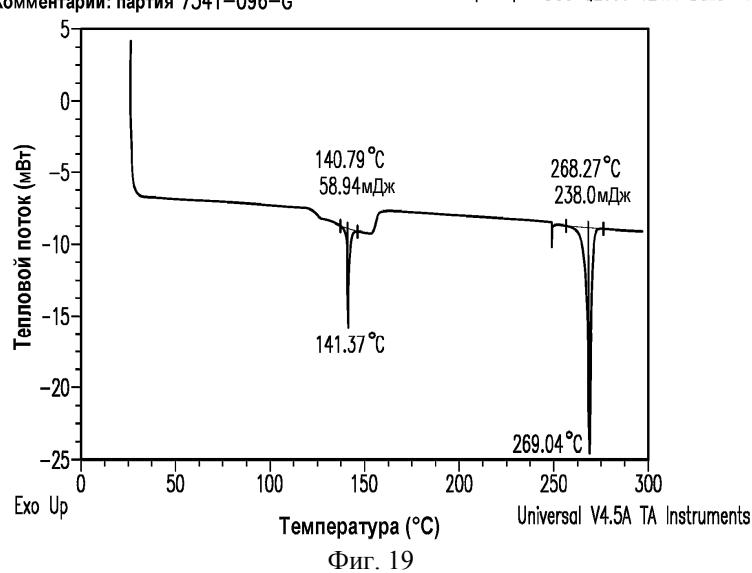
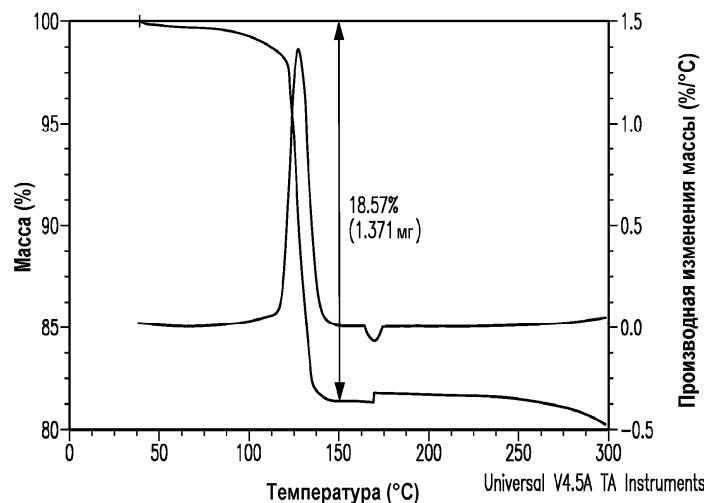
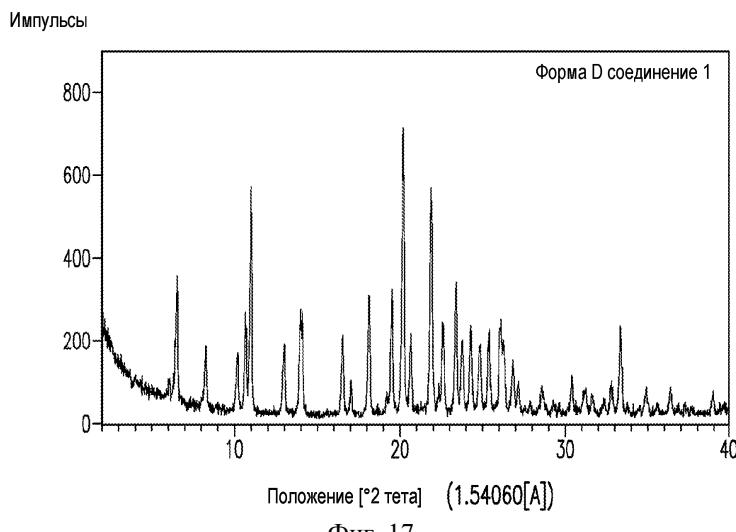
Импульсы



030726

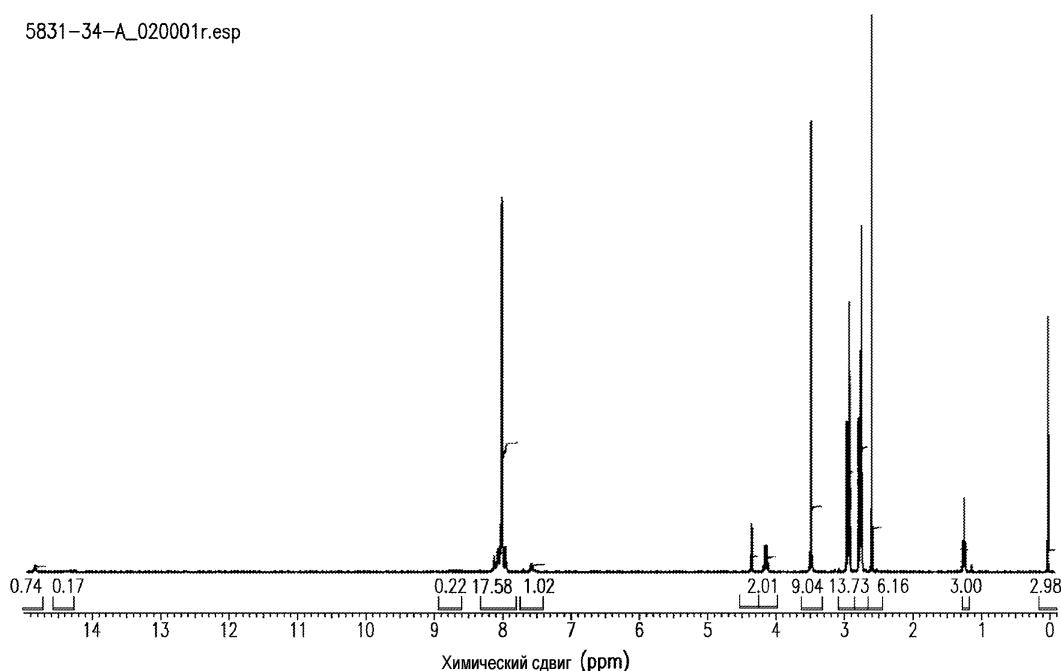


030726



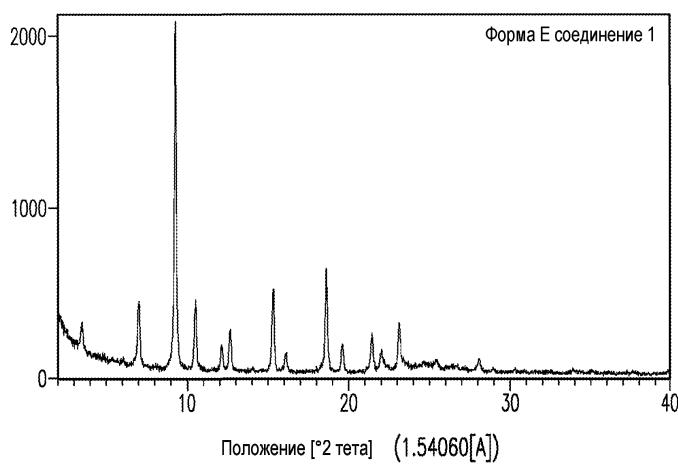
030726

5831-34-A_020001r.esp



Фиг. 20

Импульсы



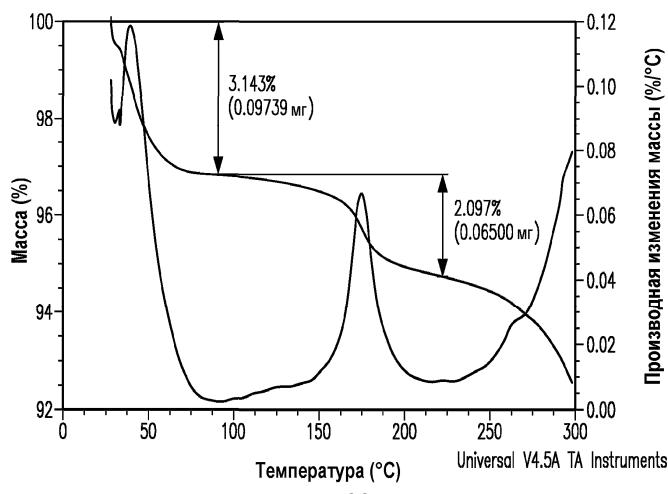
Фиг. 21

Размер: 3.0990 мг

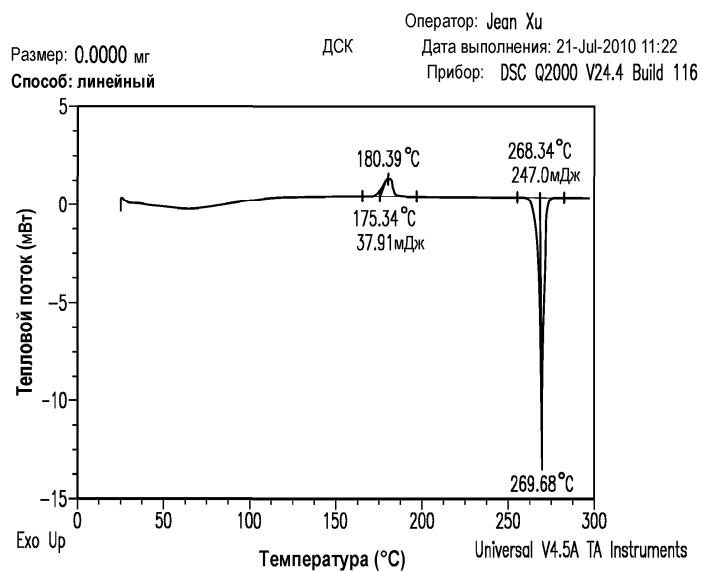
ТГА

Дата выполнения: 21-Jul-2010 15:03

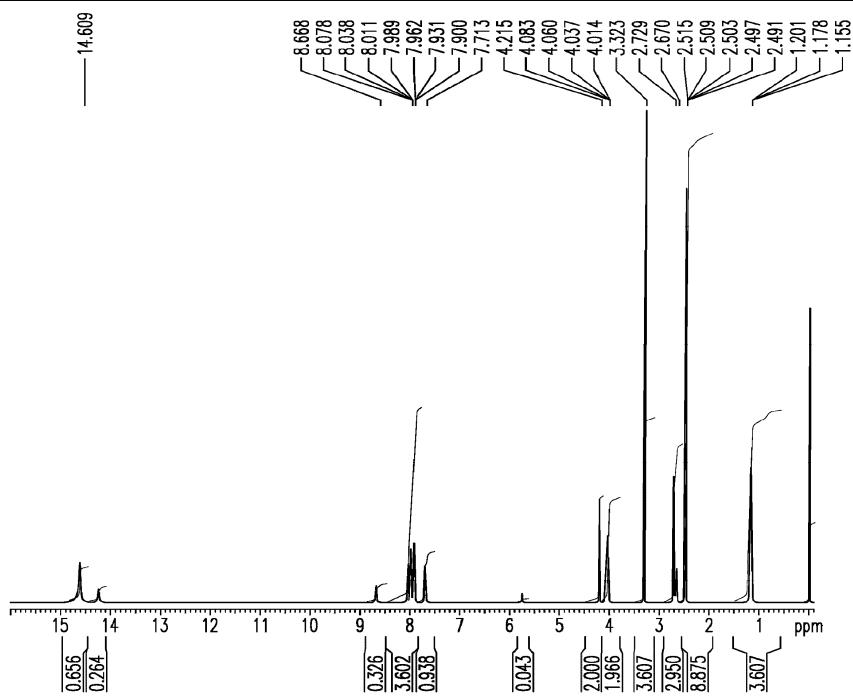
Прибор: TGA Q5000 V3.10 Build 258



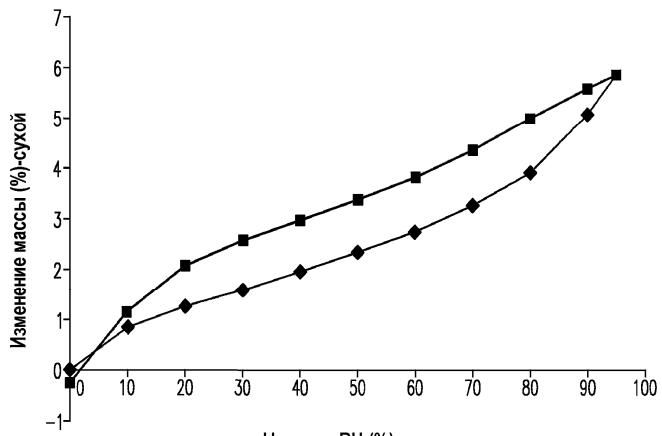
Фиг. 22



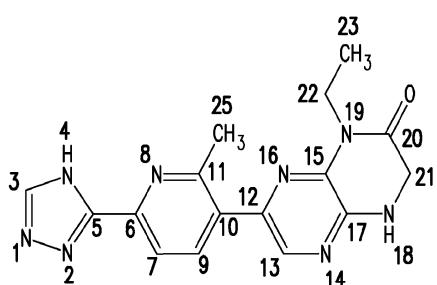
Фиг. 23



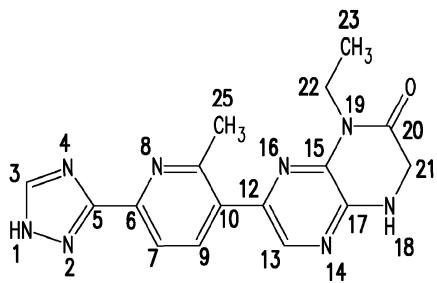
Фиг. 24



Фиг. 25



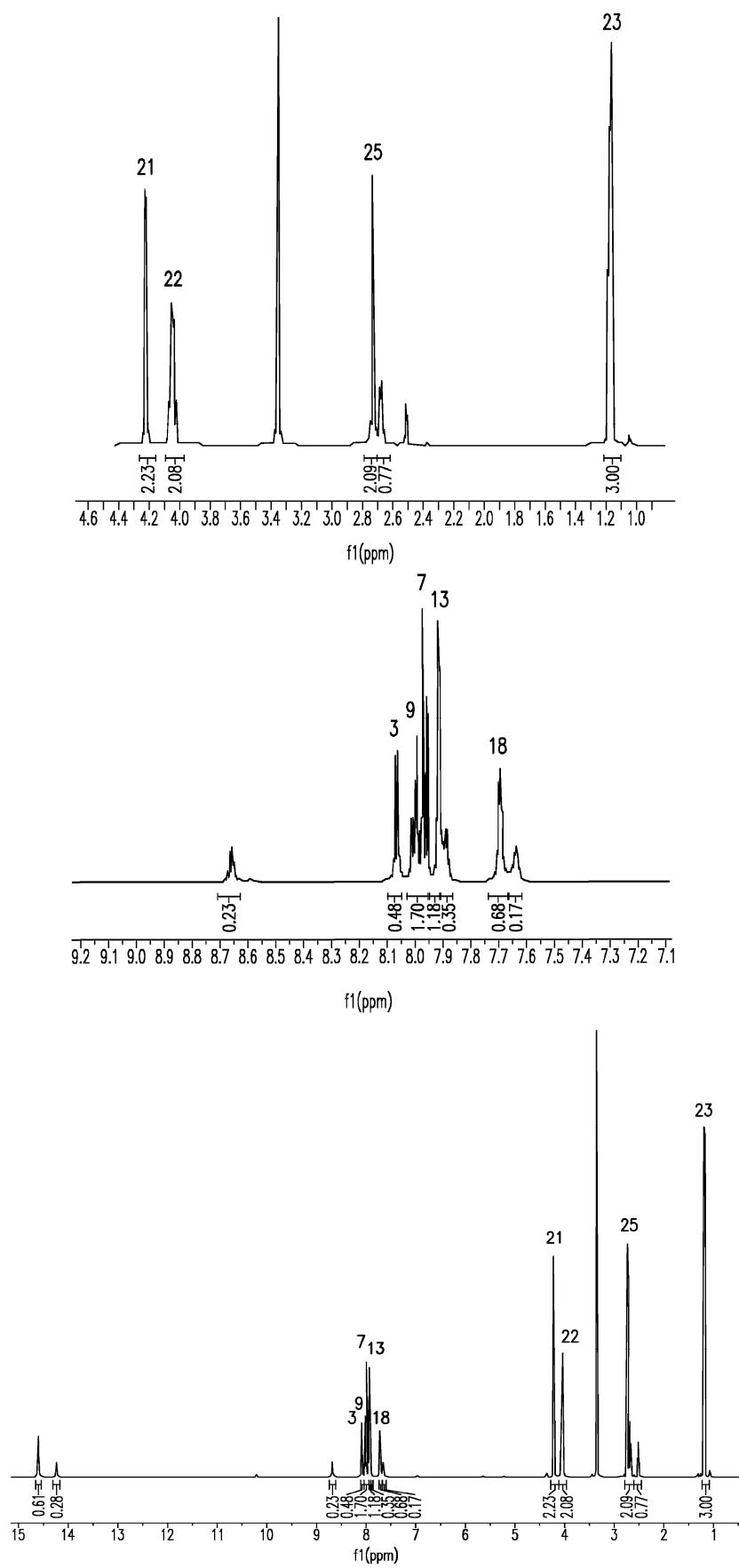
(70% основной таутомер)



(30% неосновной таутомер)

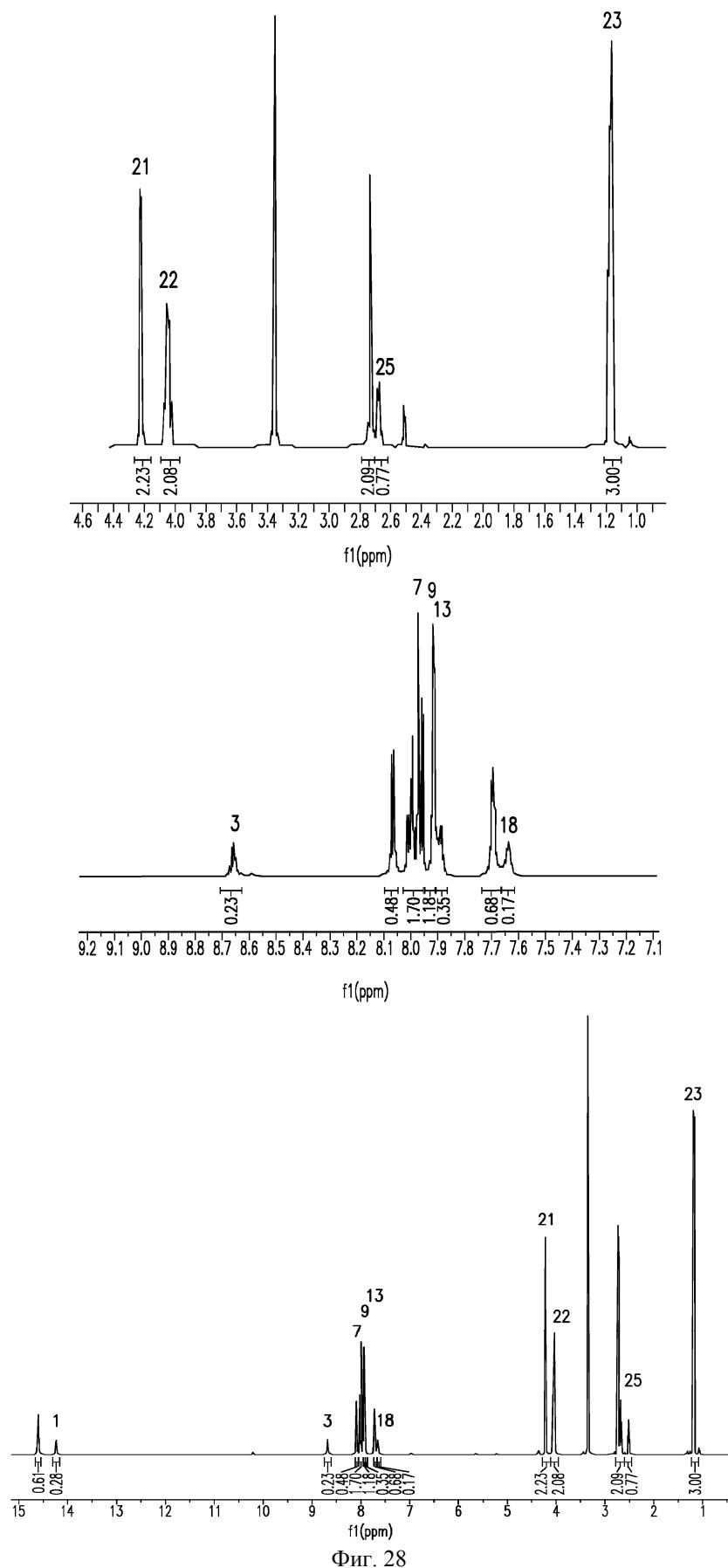
Фиг. 26

030726

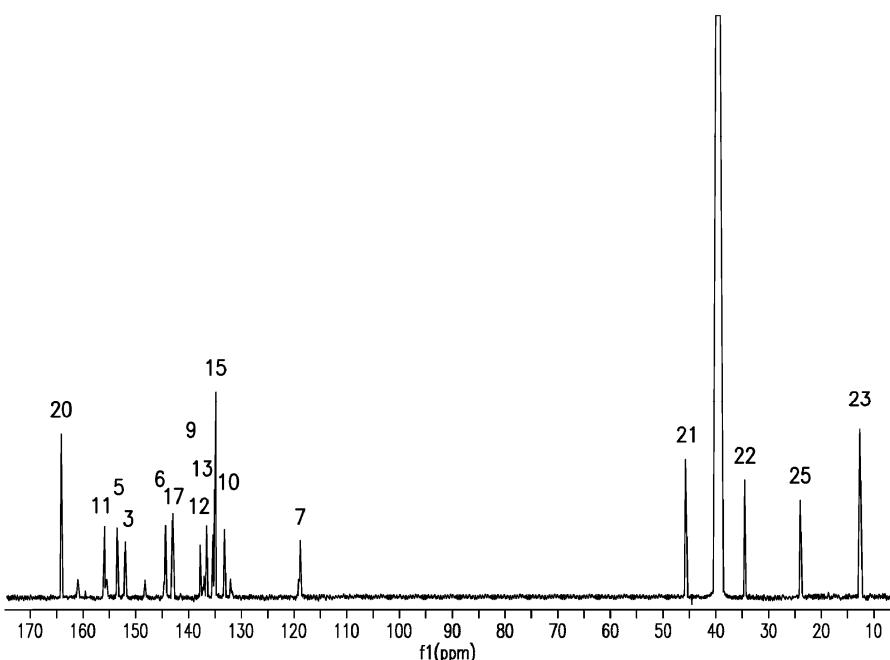
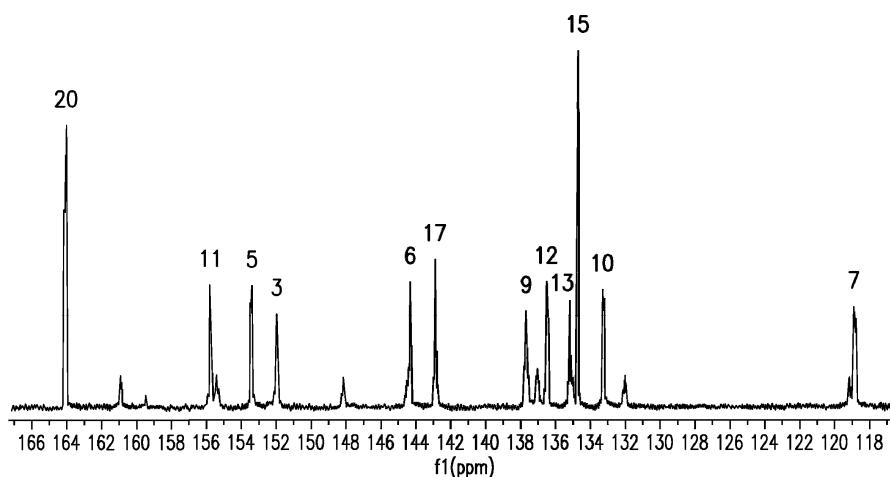


Фиг. 27

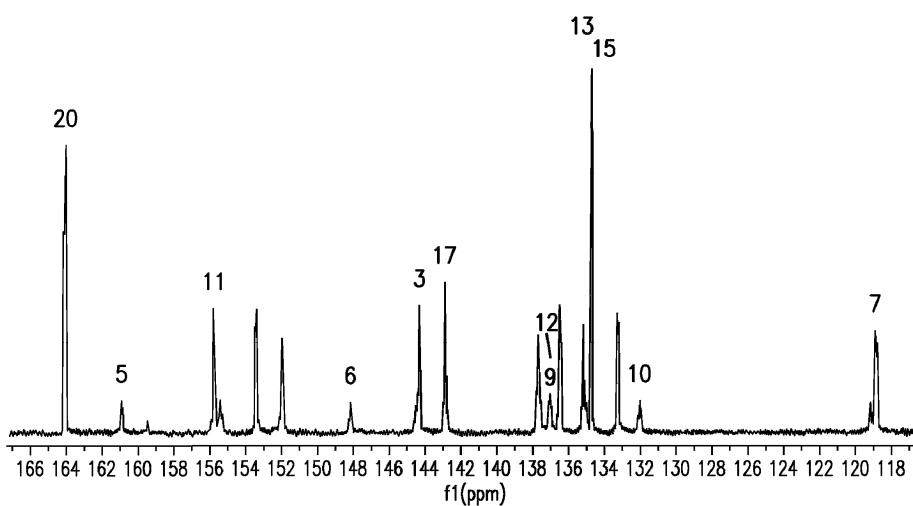
030726

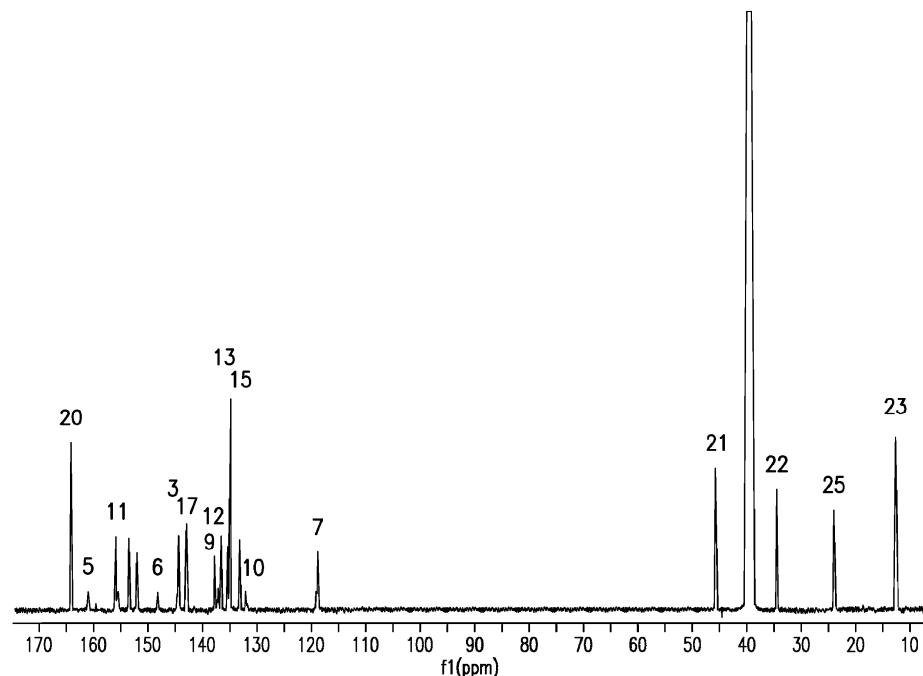


Фиг. 28

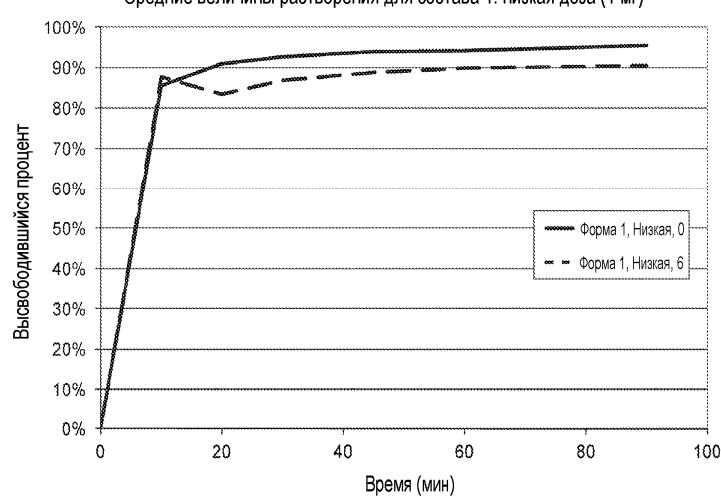


ФИГ. 29

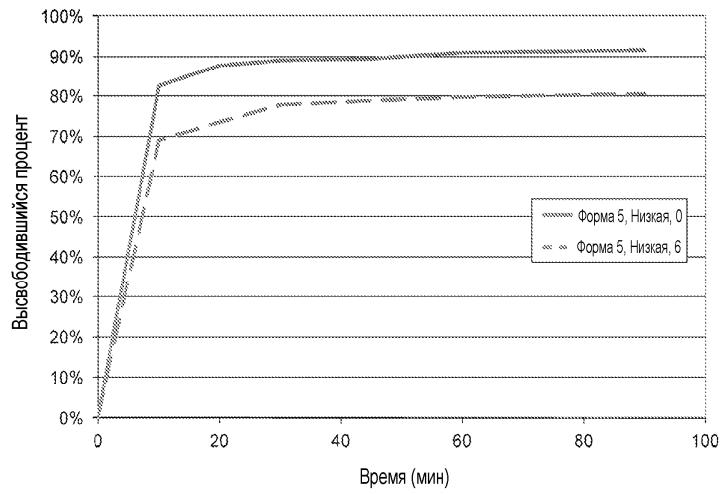


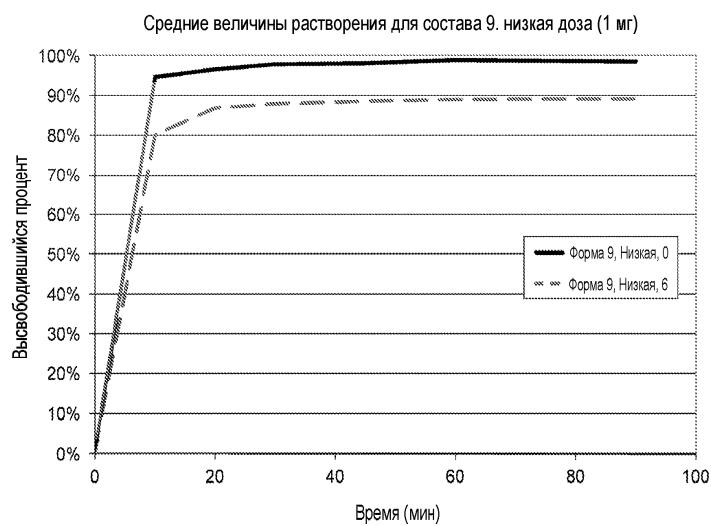


Средние величины растворения для состава 1. низкая доза (1 мг)

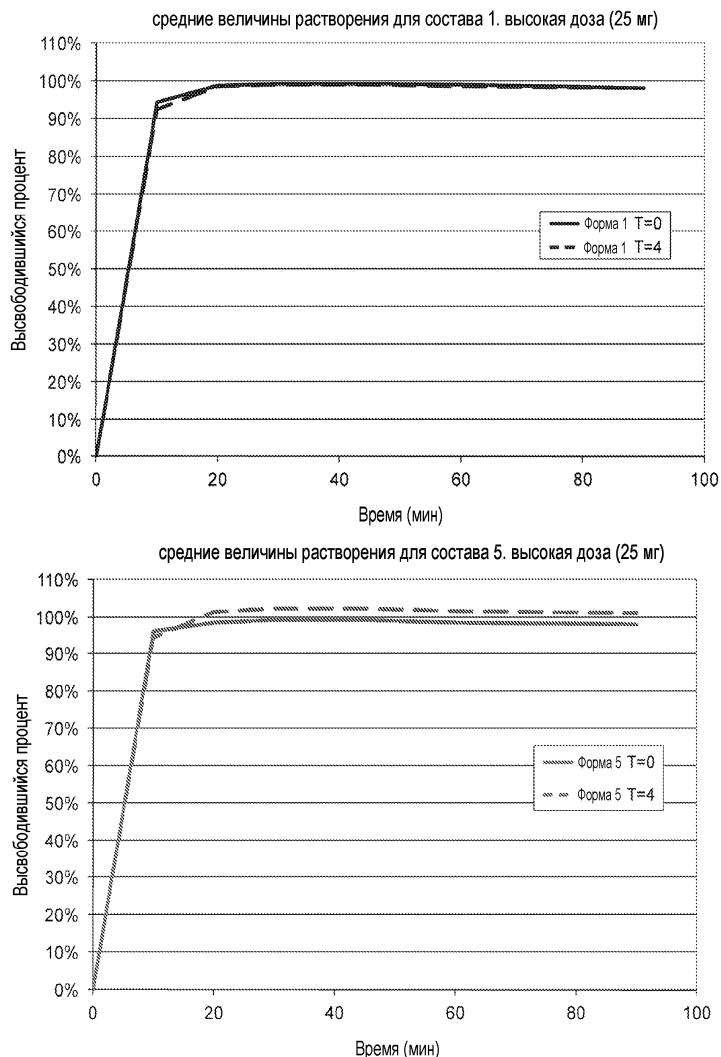


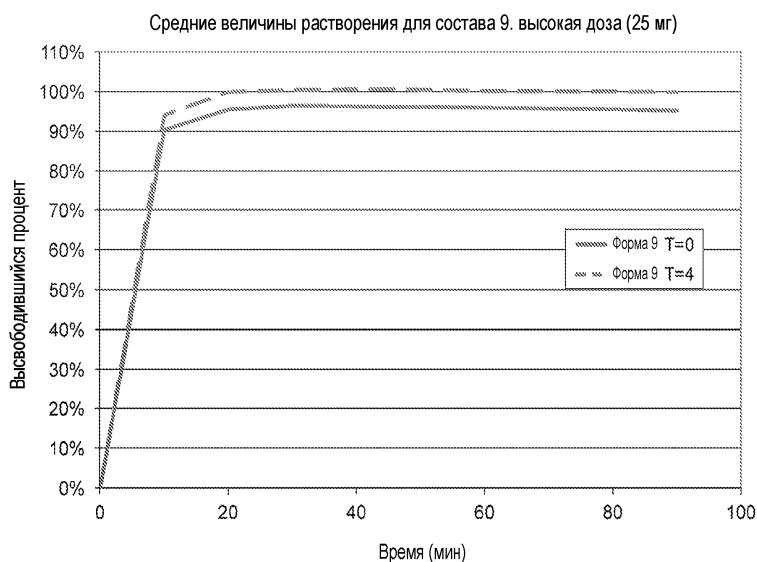
Средние величины растворения для состава 5. низкая доза (1 мг)



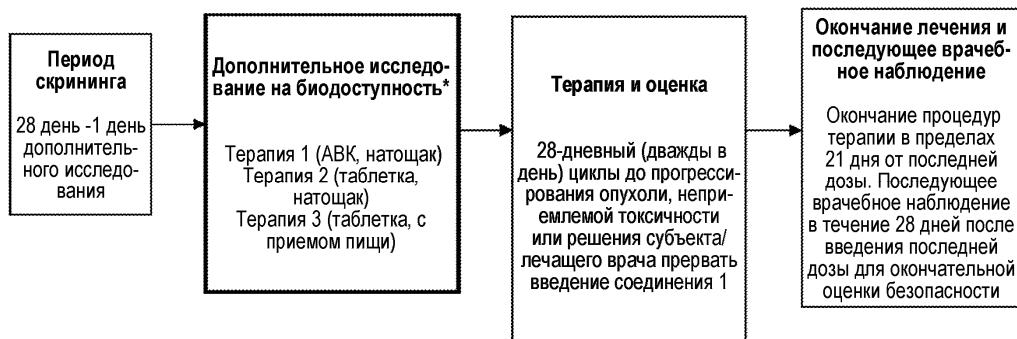


Фиг. 31





Фиг. 32



Фиг. 33



Евразийская патентная организация, ЕАПО

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2