



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 119095836 A

(43) 申请公布日 2024. 12. 06

(21) 申请号 202380027478.0

(22) 申请日 2023.03.20

(30) 优先权数据

63/323,005 2022.03.23 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2024.09.13

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/IB2023/052709 2023.03.20

(87) PCT国际申请的公布数据

W02023/180898 EN 2023.09.28

(71) 申请人 ARRAY生物制药公司

地址 美国

(72) 发明人 K·K·布朗 C·J·考德瑞

A·K·古德温

(74) 专利代理机构 中国贸促会专利商标事务所
有限公司 11038

专利代理师 王娜

(51) Int.Cl.

C07D 401/14 (2006.01)

A61K 31/53 (2006.01)

A61K 45/06 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61P 35/02 (2006.01)

C07C 55/10 (2006.01)

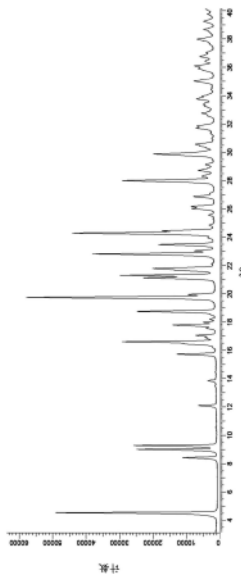
权利要求书3页 说明书32页 附图8页

(54) 发明名称

SHP2抑制剂的结晶盐形式

(57) 摘要

本发明涉及(S)-1'-(6-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫基)-1,2,4-三嗪-3-基)-1,3-二氢螺[茚-2,4'-哌啶]-1-胺单丁二酸盐形式1的结晶无水形式。本发明还涉及包含该结晶形式的药物组合物,以及使用该结晶形式和这样的组合物治疗哺乳动物中的异常细胞生长如癌症的方法。



1. 一种(S)-1'- (6- ((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫基)-1,2,4-三嗪-3-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺单丁二酸盐的结晶无水形式。

2. 权利要求1的结晶形式,其特征在于以下中的一个:1) 粉末X射线衍射图包含在以下2 θ 值处的峰:19.7、24.3、9.3和 $16.6 \pm 0.2^\circ 2\theta$; (2) 拉曼光谱包含以下波数值:1041和 $1217\text{cm}^{-1} \pm 2\text{cm}^{-1}$; 或 (3) ^{13}C 固态NMR光谱包含以下共振值:179.0ppm $\pm 0.2\text{ppm}$ 。

3. 权利要求1或2的结晶形式,其特征在于以下中的两个:1) 粉末X射线衍射图包含在以下2 θ 值处的峰:19.7、24.3、9.3和 $16.6 \pm 0.2^\circ 2\theta$; (2) 拉曼光谱包含以下波数值:1041和 $1217\text{cm}^{-1} \pm 2\text{cm}^{-1}$; 或 (3) ^{13}C 固态NMR光谱包含以下共振值:179.0ppm $\pm 0.2\text{ppm}$ 。

4. 权利要求1至3中任一项的结晶形式,其特征在于:1) 粉末X射线衍射图包含在以下2 θ 值处的峰:19.7、24.3、9.3和 $16.6 \pm 0.2^\circ 2\theta$; (2) 拉曼光谱包含以下波数值:1041和 $1217\text{cm}^{-1} \pm 2\text{cm}^{-1}$; 和 (3) ^{13}C 固态NMR光谱包含以下共振值:179.0ppm $\pm 0.2\text{ppm}$ 。

5. 权利要求1至4中任一项的结晶形式,其粉末X射线衍射图包含在以下2 θ 值处的峰:19.7、24.3、9.3和 $16.6 \pm 0.2^\circ 2\theta$ 。

6. 权利要求1至5中任一项的结晶形式,其粉末X射线衍射图进一步包含在以下2 θ 值处的峰: $9.0 \pm 0.2^\circ 2\theta$ 。

7. 权利要求1至6中任一项的结晶形式,其粉末X射线衍射图进一步包含在以下2 θ 值处的峰: $28.0 \pm 0.2^\circ 2\theta$ 。

8. 权利要求1至7中任一项的结晶形式,其粉末X射线衍射图进一步包含在以下2 θ 值处的峰: $18.8 \pm 0.2^\circ 2\theta$ 。

9. 权利要求1至8中任一项的结晶形式,其粉末X射线衍射图进一步包含在以下2 θ 值处的峰: $15.7 \pm 0.2^\circ 2\theta$ 。

10. 权利要求1至9中任一项的结晶形式,其粉末X射线衍射图进一步包含在以下2 θ 值处的峰: $12.1 \pm 0.2^\circ 2\theta$ 。

11. 权利要求1至10中任一项的结晶形式,其拉曼光谱包含以下波数(cm^{-1}) 值:1041及 $1217\text{cm}^{-1} \pm 2\text{cm}^{-1}$ 。

12. 权利要求11的结晶形式,其拉曼光谱包含以下波数(cm^{-1}) 值:1026及 $1555\text{cm}^{-1} \pm 2\text{cm}^{-1}$ 。

13. 权利要求1至12中任一项的结晶形式,其 ^{13}C 固态NMR光谱包含以下共振(ppm) 值:179.0ppm $\pm 0.2\text{ppm}$ 。

14. 权利要求1至13中任一项的结晶形式,其 ^{13}C 固态NMR光谱包含以下共振(ppm) 值:46.4ppm $\pm 0.2\text{ppm}$ 。

15. 权利要求1至14中任一项的结晶形式,其 ^{13}C 固态NMR光谱包含以下共振(ppm) 值:38.0ppm $\pm 0.2\text{ppm}$ 。

16. 权利要求1至15中任一项的结晶形式,其 ^{13}C 固态NMR光谱包含以下共振(ppm) 值:141.7ppm $\pm 0.2\text{ppm}$ 。

17. 权利要求13至16中任一项的结晶形式,其 ^{13}C 固态NMR光谱包含以下共振(ppm) 值:27.1ppm $\pm 0.2\text{ppm}$ 。

18. 权利要求1至17中任一项的结晶形式,其是基本纯的且无替代形式。

19. 一种药物组合物,其包含根据权利要求1至18中任一项的(S)-1'- (6- ((2-氨基-3-

氯吡啶-4-基) 硫基)-1,2,4-三嗪-3-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺单丁二酸盐的结晶无水形式,和至少一种药学上可接受的赋形剂。

20. 权利要求1至18中任一项的结晶形式,其用作药物。

21. 一种用于治疗哺乳动物中异常细胞生长的方法,包括将治疗有效量的根据权利要求1至18中任一项的(S)-1'- (6- ((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫基)-1,2,4-三嗪-3-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺单丁二酸盐的结晶无水形式施用于哺乳动物。

22. 权利要求21的方法,其中所述哺乳动物是人类。

23. 根据权利要求1至18中任一项的(S)-1'- (6- ((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫基)-1,2,4-三嗪-3-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺单丁二酸盐的结晶无水形式,其用于治疗异常细胞生长的方法中。

24. 根据权利要求1至18中任一项的(S)-1'- (6- ((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫基)-1,2,4-三嗪-3-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺单丁二酸盐的结晶无水形式用于制备药物的用途。

25. 根据权利要求1至18中任一项的(S)-1'- (6- ((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫基)-1,2,4-三嗪-3-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺单丁二酸盐的结晶无水形式用于制备治疗异常细胞生长的药物的用途。

26. 根据权利要求21、22、23或24中任一项的方法、化合物或用途,其中所述异常细胞生长是癌症。

27. 权利要求26的方法、化合物或用途,其中所述癌症选自以下组成的组:黑色素瘤、幼年型粒单核细胞白血病、神经母细胞瘤、费城染色体阳性慢性髓系白血病、费城染色体阳性急性淋巴细胞白血病、急性髓系白血病、骨髓增殖性肿瘤(如真性红细胞增多症、特发性血小板增多症和原发性骨髓纤维化)、乳腺癌、肺癌、肝癌、结直肠癌、食管癌、胃癌、头颈部鳞状细胞癌、成胶质细胞瘤、间变性大细胞淋巴瘤、甲状腺癌和斯皮茨痣样(spitzoid)肿瘤。

28. 权利要求26的方法、化合物或用途,其中所述癌症选自以下组成的组:非小细胞肺癌、结肠癌、食管癌、直肠癌、幼年型粒单核细胞白血病、乳腺癌、黑色素瘤和胰腺癌。

29. 权利要求26的方法、化合物或用途,其中所述癌症选自以下组成的组:ALK阳性NSCLC、ROS1阳性NSCLC、BRAF V600E突变结直肠癌、RAS突变实体瘤、NF1突变实体瘤和BRAF 3类突变实体瘤。

30. 权利要求29的方法、化合物或用途,其中所述癌症是ALK阳性NSCLC。

31. 权利要求30的方法、化合物或用途,其中所治疗的癌症先前经劳拉替尼(lorlatinib)治疗和先前经基于铂的化学疗法治疗。

32. 权利要求30的方法、化合物或用途,其中所治疗的癌症先前经劳拉替尼治疗和先前未经基于铂的化学疗法治疗。

33. 权利要求30的方法、化合物或用途,其中所治疗的癌症先前未经劳拉替尼治疗。

34. 权利要求29的方法、化合物或用途,其中所述癌症是BRAF V600E突变结直肠癌。

35. 权利要求34的方法、化合物或用途,其中所治疗的癌症对BRAF抑制剂加表皮生长因子受体抑制剂治疗具有抗性。

36. 权利要求34的方法、化合物或用途,其中所治疗的癌症是难治性BRAFi加EGFRi治

疗。

37. 权利要求34的方法、化合物或用途,其中所治疗的癌症先前未经BRAFi加EGFRi治疗。

38. 权利要求29的方法、化合物或用途,其中所述癌症是RAS突变实体瘤。

39. 权利要求38的方法、化合物或用途,其中所治疗的癌症已接受先前的标准护理。

40. 权利要求29的方法、化合物或用途,其中所述癌症是NF1突变实体瘤。

41. 权利要求40的方法、化合物或用途,其中所治疗的癌症已接受先前的标准护理。

42. 权利要求29的方法、化合物或用途,其中所述癌症是BRAF3类突变实体瘤。

43. 权利要求42的方法、化合物或用途,其中所述BRAF 3类突变选自人类BRAF中的以下氨基酸置换中的一种或多种:D287H;P367R;V459L;G466V;G466E;G466A;S467L;G469E;N581S;N581I;D594N;D594G;D594A;D594H;F595L;G596D;G596R和A762E。

44. 权利要求42或43的方法、化合物或用途,其中所治疗的癌症已接受先前的标准护理。

45. 权利要求26的方法、化合物或用途,其中所述癌症是KRAS突变癌症。

46. 权利要求45的方法、化合物或用途,其中所述癌症选自KRASG12A突变、KRASG12C突变、KRASG12D突变、KRASG12F突变、KRASG12I突变、KRASG12L突变、KRASG12R突变、KRASG12S突变、KRASG12V突变和KRASG12Y突变。

47. 权利要求21至46中任一项的方法、化合物或用途,其中根据权利要求1至18中任一项的化合物与另外的治疗性化合物组合使用。

48. 权利要求47的方法、化合物或用途,其中所述另外的治疗剂选自由以下组成的组:劳拉替尼、贝美替尼(binimetinib)、西妥昔单抗(cetuximab)和康奈非尼(encorafenib)。

49. 权利要求48的方法、化合物或用途,其中所述另外的治疗性化合物是劳拉替尼。

50. 权利要求48的方法、化合物或用途,其中所述另外的治疗性化合物是贝美替尼。

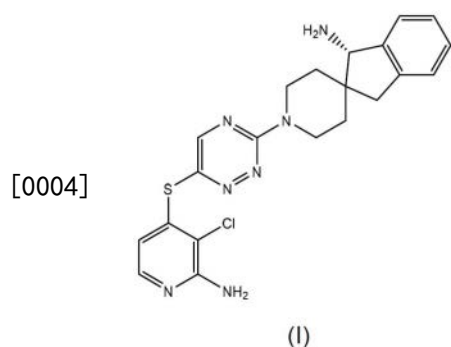
51. 权利要求48的方法、化合物或用途,其中所述另外的治疗性化合物是西妥昔单抗和康奈非尼。

SHP2抑制剂的结晶盐形式

[0001] 发明背景

[0002] 本发明涉及(S)-1'- (6- ((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫基) -1,2,4-三嗪-3-基) -1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺的结晶盐,包含结晶盐的药物组合物,和使用结晶盐治疗哺乳动物(尤其人类)中异常细胞生长如癌症的方法。一种结晶盐是(S)-1'- (6- ((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫基) -1,2,4-三嗪-3-基) -1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺单丁二酸盐(“形式1”)的结晶无水形式,包含丁二酸盐形式1的药物组合物,以及使用丁二酸盐形式1和这样的组合物治疗哺乳动物(尤其人类)的异常细胞生长如癌症的方法。

[0003] 化合物(S)-1'- (6- ((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫基) -1,2,4-三嗪-3-基) -1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺是SHP2抑制剂,其具有式(I):



[0005] (S)-1'- (6- ((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫基) -1,2,4-三嗪-3-基) -1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺的制备公开于国际专利公开WO 2020/201991 (国际申请号PCT/IB2020/053019,2020年10月8日公开;也见实施例1),其内容通过引用以其整体并入本文。

[0006] (S)-1'- (6- ((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫基) -1,2,4-三嗪-3-基) -1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺游离碱形式1的半水合物结晶形式的制备公开于美国临时专利申请63/169,340(也见实施例2)。

[0007] 因此,仍需要(S)-1'- (6- ((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫基) -1,2,4-三嗪-3-基) -1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺的改善的形式,其具有期望的特性,如高结晶度、高纯度、稳定性和溶解性。

[0008] 发明概述

[0009] 本发明部分提供了(S)-1'- (6- ((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫基) -1,2,4-三嗪-3-基) -1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺的结晶盐形式。盐形式可用于治疗异常细胞生长。还提供了药物组合物,其包含单独或与另外的治疗剂组合的盐形式。本发明还部分提供了用于制备这样的化合物的方法和使用前述的方法。提供本概述以便以简化形式引入下文详细描述中进一步描述的一系列概念。本发明概述并不意图确定所要求保护的的主题的关键特征或基本特征,也不意图孤立地用作确定所要求保护的的主题的范围的辅助手段。下述的每个实施方案可以与本文所述的任何其他实施方案组合,而不会与和其所组合的实施方案不一致。

[0010] 本发明的一个实施方案部分提供(S)-1'- (6- ((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫基) -1,2,4-三嗪-3-基) -1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺单丁二酸盐形式1的结晶无水形式。丁

二酸盐形式1化合物可用于治疗异常细胞生长。还提供药物组合物,其包含单独或与另外的治疗剂组合的丁二酸盐形式1。本发明还部分提供用于制备这样的化合物的方法和使用前述的方法。

[0011] 根据本发明的实施方案,提供(S)-1'- (6- ((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫基) -1,2,4-三嗪-3-基) -1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺单丁二酸盐形式1的结晶无水形式。丁二酸盐形式1可以用粉末X射线衍射("PXRD") (2 θ)、拉曼光谱(cm^{-1})和/或 ^{13}C 固态核磁共振("NMR") (ppm) 表征。

[0012] 根据本发明的另一实施方案,提供一种药物组合物,其包含(S)-1'- (6- ((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫基) -1,2,4-三嗪-3-基) -1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺单丁二酸盐形式1的结晶无水形式。

[0013] 根据本发明的另一实施方案,提供(S)-1'- (6- ((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫基) -1,2,4-三嗪-3-基) -1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺单丁二酸盐形式1的结晶无水形式,其用作药物。

[0014] 根据本发明的另一实施方案,提供治疗异常细胞生长的方法,其包括施用有效量的(S)-1'- (6- ((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫基) -1,2,4-三嗪-3-基) -1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺单丁二酸盐形式1的结晶无水形式。

[0015] 根据本发明的另一实施方案,提供(S)-1'- (6- ((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫基) -1,2,4-三嗪-3-基) -1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺单丁二酸盐形式1的结晶无水形式,其用于治疗异常细胞生长的方法中。

[0016] 根据本发明的另一实施方案,提供(S)-1'- (6- ((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫基) -1,2,4-三嗪-3-基) -1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺单丁二酸盐形式1的结晶无水形式用于制备药物的用途。

[0017] 下文所述为本发明的实施方案,从实施方案1(E1) 开始。

[0018] 应理解,前文一般描述与以下详细描述均仅是示例性和解释性的,并且不限制所要求保护的本发明。

[0019] 附图简要说明

[0020] 图1显示(S)-1'- (6- ((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫基) -1,2,4-三嗪-3-基) -1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺单丁二酸盐形式1的结晶无水形式的PXRD图。

[0021] 图2显示(S)-1'- (6- ((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫基) -1,2,4-三嗪-3-基) -1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺单丁二酸盐形式1的结晶无水形式的 ^{13}C ssNMR光谱。

[0022] 图3显示(S)-1'- (6- ((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫基) -1,2,4-三嗪-3-基) -1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺单丁二酸盐形式1的结晶无水形式的拉曼光谱。

[0023] 图4显示(S)-1'- (6- ((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫基) -1,2,4-三嗪-3-基) -1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺磷酸盐(模式1) 的结晶形式的PXRD图。

[0024] 图5显示(S)-1'- (6- ((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫基) -1,2,4-三嗪-3-基) -1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺磷酸盐(模式2) 的结晶形式的PXRD图。

[0025] 图6显示(S)-1'- (6- ((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫基) -1,2,4-三嗪-3-基) -1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺反丁烯二酸盐的结晶形式的PXRD图。

[0026] 图7显示(S)-1'- (6- ((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫基) -1,2,4-三嗪-3-基) -1,3-二

氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺酒石酸盐的结晶形式的PXRD图。

[0027] 图8显示(S)-1'- (6- ((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫基) -1,2,4-三嗪-3-基) -1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺盐酸盐的结晶形式的PXRD图。

[0028] 发明详述

[0029] 通过参考以下对本发明的实施方案和其中所包括的实施例的详细描述可以更容易理解本发明。应理解,本发明不限于具体合成制备方法,其当然可以有所变化。还应理解,本文所用的术语仅出于描述具体实施方案的目的并且不意图是限制性的。

[0030] 已发现(S)-1'- (6- ((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫基) -1,2,4-三嗪-3-基) -1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺单丁二酸盐形式1的结晶无水形式。图1显示丁二酸盐形式1的PXRD图。图2显示丁二酸盐形式1的¹³CssNMR光谱。图3显示丁二酸盐形式1的拉曼光谱。如本文所描述和要求保护的,本发明化合物的峰位置(°2θ)、波数值(cm⁻¹)和共振值(ppm)应基本上相同。如本文所使用,术语“基本上相同”是指考虑特定方法的典型可变性。例如,参考X射线衍射峰位置,术语“基本上相同”是指考虑峰位置和强度的典型可变性。本领域的技术人员将理解峰位置(2θ)将显示一些可变性,通常多达±0.2°。另外,本领域的技术人员将理解相对峰强度将显示设备间可变性,以及由于结晶度、优选取向、所制备的样品表面和本领域的技术人员已知的其他因素引起的可变性,并且应仅作为定性测量。对于波数值,本领域的技术人员将理解波数值将显示一些可变性,通常多达±2cm⁻¹。对于共振值,本领域的技术人员将理解波数值将显示一些可变性,通常多达±0.2ppm。

[0031] E1(S)-1'- (6- ((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫基) -1,2,4-三嗪-3-基) -1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺单丁二酸盐的结晶无水形式。

[0032] E2 E1的化合物,其特征在于:(1)粉末X射线衍射图包含在以下2θ值处的峰:19.7、24.3、9.3和16.6±0.2°2θ;(2)拉曼光谱包含以下波数(cm⁻¹)值:1041和1217cm⁻¹±2cm⁻¹;或(3)¹³C固态NMR光谱包含以下共振(ppm)值:179.0ppm±0.2ppm。

[0033] E3 E1或E2的化合物,其特征在于以下中的两个:(1)粉末X射线衍射图包含在以下2θ值处的峰:19.7、24.3、9.3和16.6±0.2°2θ;(2)拉曼光谱包含以下波数值:1041和1217cm⁻¹±2cm⁻¹;或(3)¹³C固态NMR光谱包含以下共振值:179.0ppm±0.2ppm。

[0034] E4实施方案E1至E3中任一项的化合物,其特征在于:(1)粉末X射线衍射图包含在以下2θ值处的峰:19.7、24.3、9.3和16.6±0.2°2θ;(2)拉曼光谱包含以下波数值:1041和1217cm⁻¹±2cm⁻¹;和(3)¹³C固态NMR光谱包含以下共振值:179.0ppm±0.2ppm。

[0035] E5实施方案E1至E4中任一项的化合物,其粉末X射线衍射图包含在以下2θ值处的峰:19.7、24.3、9.3和16.6±0.2°2θ。

[0036] E6实施方案E6的化合物,其粉末X射线衍射图进一步包含在以下2θ值处的峰:9.0±0.2°2θ。

[0037] E7实施方案E5至E6中任一项的化合物,其粉末X射线衍射图进一步包含在以下2θ值处的峰:28.0±0.2°2θ。

[0038] E8实施方案E5至E7中任一项的化合物,其粉末X射线衍射图进一步包含在以下2θ值处的峰:18.8±0.2°2θ。

[0039] E9实施方案E5至E8中任一项的化合物,其粉末X射线衍射图进一步包含在以下2θ值处的峰:15.7±0.2°2θ。

[0040] E10实施方案E5至E9中任一项的化合物,其粉末X射线衍射图进一步包含在以下 2θ 值处的峰: $12.1 \pm 0.2^\circ 2\theta$ 。

[0041] E11实施方案E5至E10中任一项的化合物,其粉末X射线衍射图进一步包含在以下 2θ 值处的峰:4.5、8.4、13.9、16.5、17.1、17.6、17.8、18.0、19.9、21.1、21.3、21.7、21.8、22.8、23.0、23.5、24.0、24.4、25.6、26.0、26.2、26.9、28.3、28.7、29.1、29.9、30.5、31.7、31.8、32.8、33.4、33.8、35.0、35.9、36.1、36.4、36.8、37.1、38.0、38.7和 $39.3 \pm 0.2^\circ 2\theta$ 。

[0042] E12实施方案E5至E11中任一项的化合物,其PXRD基本上与图1相同。

[0043] E13实施方案E1至E12中任一项的化合物,其拉曼光谱包含以下波数(cm^{-1})值:1041和 $1217\text{cm}^{-1} \pm 2\text{cm}^{-1}$ 。

[0044] E14实施方案E13的化合物,其拉曼光谱进一步包含以下波数(cm^{-1})值:1026和 $1555\text{cm}^{-1} \pm 2\text{cm}^{-1}$ 。

[0045] E15实施方案E13至E14中任一项的化合物,其拉曼光谱基本上与图2相同。

[0046] E16实施方案E1至E15中任一项的化合物,其 ^{13}C 固态NMR光谱包含以下共振(ppm)值: $179.0\text{ppm} \pm 0.2\text{ppm}$ 。

[0047] E17实施方案E1至E16中任一项的化合物,其 ^{13}C 固态NMR光谱进一步包含以下共振(ppm)值: $46.4\text{ppm} \pm 0.2\text{ppm}$ 。

[0048] E18实施方案E1至E17中任一项的化合物,其 ^{13}C 固态NMR光谱进一步包含以下共振(ppm)值: $38.0\text{ppm} \pm 0.2\text{ppm}$ 。

[0049] E19实施方案E1至E18中任一项的化合物,其 ^{13}C 固态NMR光谱进一步包含以下共振(ppm)值: $141.7\text{ppm} \pm 0.2\text{ppm}$ 。

[0050] E20实施方案E16至E19中任一项的化合物,其 ^{13}C 固态NMR光谱进一步包含以下共振(ppm)值: $27.1\text{ppm} \pm 0.2\text{ppm}$ 。

[0051] E21实施方案E16至E20中任一项的化合物,其 ^{13}C 固态NMR光谱基本上与图3相同。

[0052] E22实施方案E1至E21中任一项的化合物,其是基本纯的并且无其他形式。

[0053] E23实施方案E1至E22中任一项的化合物,其中丁二酸盐形式1是大于95%基本纯的。

[0054] E24实施方案E1至E23中任一项的化合物,其中丁二酸盐形式1是大于97%基本纯的。

[0055] E25实施方案E1至E24中任一项的化合物,其中丁二酸盐形式1是大于99%基本纯的。

[0056] 本发明还涵盖包含丁二酸盐形式1的药物组合物。典型的制剂或组合物通过将本文所描述的化合物与载体或赋形剂混合来制备。合适的载体和赋形剂已为本领域的技术人员所熟知并且详细描述于例如,Ansel, Howard C., 等人., Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems. Philadelphia: Lippincott, Williams and Wilkins, 2004; Gennaro, Alfonso R., 等人. Remington: The Science and Practice of Pharmacy. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins, 2000; 和 Rowe, Raymond C. Handbook of Pharmaceutical Excipients. Chicago, Pharmaceutical Press, 2005, 其公开内容通过引用并入本文。

[0057] E26药物组合物,其包含实施方案E1至E25中任一项的化合物和至少一种药学上可

接受的赋形剂。

[0058] 本发明的组合物可以呈多种形式。这些形式包括例如液体、半固体和固体剂型,诸如液体溶液(例如可注射和可输注的溶液)、分散剂或混悬剂、片剂、胶囊剂、丸剂、散剂、脂质体和栓剂。形式取决于预期的施用方式和治疗应用。

[0059] 典型组合物呈可注射或可输注溶液的形式,诸如与通常用于用抗体对人类进行被动免疫的组合物类似的组合物。一种施用方式是胃肠外(例如,静脉内、皮下、腹膜内、肌肉内)。在另一实施方案中,化合物通过静脉内输注或注射施用。在又一实施方案中,化合物通过肌肉内或皮下注射施用。

[0060] 固体剂型的口服施用可以是例如以离散单元呈现,诸如硬或软胶囊剂、丸剂、扁囊剂、锭剂或片剂,各自含有预定量的至少一种本发明的化合物。在另一实施方案中,口服施用可以是以粉末或颗粒形式。在另一实施方案中,口服剂型是舌下的,诸如,例如锭剂。在这样的固体剂型中,本发明的化合物通常与一种或多种辅助剂组合。这样的胶囊剂或片剂可以包含控释制剂。在胶囊剂、片剂和丸剂的情况下,剂型还可以包含缓冲剂或可以用肠溶包衣制备。

[0061] 也可以使用药学领域中已知的其他赋形剂和施用方式。本发明的药物组合物可以通过众所周知的药学技术中的任一种,诸如有效的制剂和施用程序制备。上文关于有效的制剂和施用程序的考虑在本领域是众所周知的并且描述于标准教科书中。药物的配制论述于例如Ansel(见上文)和Gennaro(见上文)中。

[0062] 本发明还涵盖(S)-1'-(6-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫基)-1,2,4-三嗪-3-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺单丁二酸盐形式1的结晶无水形式,其用作药物。

[0063] E27实施方案E1至E26中任一项的化合物,其用作药物。

[0064] 本发明还涵盖治疗方法,其包括施用根据本文所述的实施方案中任一项的(S)-1'-(6-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫基)-1,2,4-三嗪-3-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺单丁二酸盐形式1的结晶无水形式。特别地,治疗方法是针对有需要的受试者。在大多数实施方案中,受试者是哺乳动物。在一些实施方案中,受试者是人类。

[0065] E28治疗异常细胞生长的方法,其包括向有需要的受试者施用有效量的治疗有效量的实施方案E1至E26中任一项的化合物。

[0066] E29治疗哺乳动物中异常细胞生长的方法,其包括向哺乳动物施用有效量的治疗有效量的实施方案E1至E26中任一项的化合物。

[0067] E30实施方案E29的方法,其中哺乳动物是人类。

[0068] E31实施方案E28至E30中任一项的方法,其中异常细胞生长是癌症。

[0069] 本发明还涵盖(S)-1'-(6-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫基)-1,2,4-三嗪-3-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺单丁二酸盐形式1的结晶无水形式,其用于治疗异常细胞生长。

[0070] E32实施方案E1至E26中任一项的化合物,其用于治疗异常细胞生长。

[0071] E33实施方案E1至E26中任一项的化合物,其用于治疗哺乳动物中异常细胞生长。

[0072] E34实施方案E1至E26中任一项的化合物,其用于治疗人类中异常细胞生长。

[0073] E35实施方案E32至E34中任一项的化合物,其中异常细胞生长为癌症。

[0074] 本发明还涵盖(S)-1'-(6-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫基)-1,2,4-三嗪-3-基)-

1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺单丁二酸盐形式1的结晶无水形式用于制备药物的用途。

[0075] E36实施方案E1至E26中任一项的化合物用于制备药物的用途。

[0076] E37实施方案E1至E26中任一项的化合物用于制备用于治疗异常细胞生长的药物的用途。

[0077] E38实施方案E1至E26中任一项的化合物用于制备用于治疗哺乳动物中异常细胞生长的药物的用途。

[0078] E39实施方案E1至E26中任一项的化合物用于制备治疗人类中异常细胞生长的药物的用途。

[0079] E40实施方案E36至E39中任一项的用途,其中异常细胞生长是癌症。

[0080] 在本文所提供的方法的常见实施方案中,异常细胞生长是癌症。本文所用,“癌症”是指哺乳动物中通常以异常的或不受调节的细胞生长为特征的生理病症。癌症包括以形成它们的细胞的类型命名的实体瘤,血液、骨髓或淋巴系统的癌症。实体瘤的实例包括肉瘤和癌。血液癌症包括但不限于白血病、淋巴瘤和骨髓瘤。癌症还包括起源于身体特定部位处的原发性癌症、从它开始的位置扩散至身体其他部分的转移性癌症、初始原发性癌症在缓解之后的复发和作为个体的新原发性癌症的第二原发性癌症,该个体具有与后一癌症的类型不同的先前癌症病史。

[0081] 所提供的方法产生一种或多种以下效果:(1)抑制癌细胞增殖;(2)抑制癌细胞侵袭;(3)诱导癌细胞凋亡;(4)抑制癌细胞转移;或(5)抑制血管生成。

[0082] 通过(S)-1'-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫基)-1,2,4-三嗪-3-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺单丁二酸盐形式1的结晶无水形式所实现的治疗通过参考以下中的任一项来定义:部分响应(PR)、完全响应(CR)、整体响应(OR)、无进展生存期(PFS)、无疾病生存期(DFS)和总生存期(OS)。PFS(也称为“肿瘤进展时间”)指示在治疗期间及之后癌症不生长的时间长度,并且包括患者经历CR或PR的时间量以及患者经历疾病稳定期(SD)的时间量。DFS是指在治疗期间及之后患者保持无疾病的时间长度。OS是指相比于未处理或未经治疗的受试者或患者的预期寿命的延长。在一些实施方案中,对本发明的组合的响应是使用实体瘤响应评价标准(Response Evaluation Criteria in Solid Tumors, RECIST)1.1响应标准评估的PR、CR、PFS、DFS、OR或OS中的任一项。

[0083] E41实施方案E31、E35或E40中任一项的方法、化合物或用途,其中癌症选自自由以下组成的组:黑色素瘤、幼年型粒单核细胞白血病、神经母细胞瘤、费城染色体阳性(Philadelphia chromosome positive)慢性髓系白血病、费城染色体阳性急性淋巴细胞白血病、急性髓系白血病、骨髓增殖性肿瘤(如真性红细胞增多症、特发性血小板增多症和原发性骨髓纤维化)、乳腺癌、肺癌、肝癌、结直肠癌、食管癌、胃癌、头颈部鳞状细胞癌、成胶质细胞瘤、间变性大细胞淋巴瘤、甲状腺癌和斯皮茨痣样(spitzoid)肿瘤。

[0084] E42实施方案E41的方法、化合物或用途,其中癌症是黑色素瘤。

[0085] E43实施方案E41的方法、化合物或用途,其中癌症是幼年型粒单核细胞白血病。

[0086] E44实施方案E41的方法、化合物或用途,其中癌症是神经母细胞瘤。

[0087] E45实施方案E41的方法、化合物或用途,其中癌症是费城染色体阳性慢性髓系白血病。

[0088] E46实施方案E41的方法、化合物或用途,其中癌症是费城染色体阳性急性淋巴细

胞白血病。

[0089] E47实施方案E41的方法、化合物或用途,其中癌症是急性髓系白血病。

[0090] E48实施方案E41的方法、化合物或用途,其中癌症是骨髓增殖性肿瘤(如真性红细胞增多症、特发性血小板增多症和原发性骨髓纤维化)。

[0091] E49实施方案E48的方法、化合物或用途,其中癌症是真性红细胞增多症。

[0092] E50实施方案E48的方法、化合物或用途,其中癌症是特发性血小板增多症。

[0093] E51实施方案E48的方法、化合物或用途,其中癌症是原发性骨髓纤维化。

[0094] E52实施方案E41的方法、化合物或用途,其中癌症是乳腺癌。

[0095] E53实施方案E41的方法、化合物或用途,其中癌症是肺癌。

[0096] E54实施方案E41的方法、化合物或用途,其中癌症是肝癌。

[0097] E55实施方案E41的方法、化合物或用途,其中癌症是结直肠癌。

[0098] E56实施方案E41的方法、化合物或用途,其中癌症是食管癌。

[0099] E57实施方案E41的方法、化合物或用途,其中癌症是胃癌。

[0100] E58实施方案E41的方法、化合物或用途,其中癌症是头颈部鳞状细胞癌。

[0101] E59实施方案E41的方法、化合物或用途,其中癌症是成胶质细胞瘤。

[0102] E60实施方案E41的方法、化合物或用途,其中癌症是间变性大细胞淋巴瘤。

[0103] E61实施方案E41的方法、化合物或用途,其中癌症是甲状腺癌。

[0104] E62实施方案E41的方法、化合物或用途,其中癌症是斯皮茨痣样肿瘤。

[0105] E63实施方案E31、E35或E40中任一项的方法、化合物或用途,其中癌症选自自由以下组成的组:非小细胞肺癌(“NSCLC”)、结肠癌、食管癌、直肠癌、幼年型粒单核细胞白血病(“JMML”)、乳腺癌、黑色素瘤和胰腺癌。

[0106] E64实施方案E63的方法、化合物或用途,其中癌症是NSCLC。

[0107] E65实施方案E63的方法、化合物或用途,其中癌症是结肠癌。

[0108] E66实施方案E63的方法、化合物或用途,其中癌症是食管癌。

[0109] E67实施方案E63的方法、化合物或用途,其中癌症是直肠癌。

[0110] E68实施方案E63的方法、化合物或用途,其中癌症是JMML。

[0111] E69实施方案E63的方法、化合物或用途,其中癌症是乳腺癌。

[0112] E70实施方案E63的方法、化合物或用途,其中癌症是黑色素瘤。

[0113] E71实施方案E63的方法、化合物或用途,其中癌症是胰腺癌。

[0114] E72实施方案E31、E35或E40中任一项的方法、化合物或用途,其中癌症选自自由以下组成的组:ALK阳性NSCLC、ROS1阳性NSCLC、BRAF V600E突变结直肠癌、RAS突变实体瘤、NF1突变实体瘤和BRAF 3类突变实体瘤。

[0115] E73实施方案E72的方法、化合物或用途,其中癌症是ALK阳性NSCLC。

[0116] E74实施方案E73的方法、化合物或用途,其中所治疗的癌症先前经劳拉替尼(lorlatinib)治疗和先前经基于铂的化学疗法治疗。

[0117] E75实施方案E73的方法、化合物或用途,其中所治疗的癌症先前经劳拉替尼治疗和先前未经基于铂的化学疗法治疗。

[0118] E76实施方案E73的方法、化合物或用途,其中所治疗的癌症未经先前的劳拉替尼治疗。

- [0119] E77实施方案E72的方法、化合物或用途,其中癌症是ROS1阳性NSCLC。
- [0120] E78实施方案E72的方法、化合物或用途,其中癌症是BRAF V600E突变结直肠癌。
- [0121] E79实施方案E78的方法、化合物或用途,其中所治疗的癌症对BRAF抑制剂(“BRAFi”)加表皮生长因子受体抑制剂(“EGFRi”)治疗具有抗性。
- [0122] E80实施方案E78的方法、化合物或用途,其中所治疗的癌症是难治性BRAFi加EGFRi治疗。
- [0123] E81实施方案E78的方法、化合物或用途,其中所治疗的癌症未经先前的BRAFi加EGFRi治疗。
- [0124] E82实施方案E72的方法、化合物或用途,其中癌症是RAS突变实体瘤。
- [0125] E83实施方案E81的方法、化合物或用途,其中所治疗的癌症已接受先前的标准护理。
- [0126] E84实施方案E72的方法、化合物或用途,其中癌症是NF1突变实体瘤。
- [0127] E85实施方案E84的方法、化合物或用途,其中所治疗的癌症已接受先前的标准护理。
- [0128] E86实施方案E72的方法、化合物或用途,其中癌症是BRAF 3类突变型实体瘤。
- [0129] E87实施方案E86的方法、化合物或用途,其中BRAF 3类突变选自人类BRAF中的以下氨基酸置换中的一种或多种:D287H;P367R;V459L;G466V;G466E;G466A;S467L;G469E;N581S;N581I;D594N;D594G;D594A;D594H;F595L;G596D;G596R和A762E。
- [0130] E88实施方案E86或E87的方法、化合物或用途,其中所治疗的癌症已接受先前的标准护理。
- [0131] E89实施方案E31、E35或E40的方法、化合物或用途,其中所治疗的癌症是KRAS突变癌症。
- [0132] E90实施方案E89的方法、化合物或用途,其中癌症选自KRAS^{G12A}突变、KRAS^{G12C}突变、KRAS^{G12D}突变、KRAS^{G12F}突变、KRAS^{G12I}突变、KRAS^{G12L}突变、KRAS^{G12R}突变、KRAS^{G12S}突变、KRAS^{G12V}突变和KRAS^{G12Y}突变。
- [0133] 本发明还涵盖(S)-1'-(6-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫基)-1,2,4-三嗪-3-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺单丁二酸盐形式1的结晶无水形式与另外的治疗性化合物组合使用。
- [0134] 两种或多种化合物“组合”施用是指所有化合物的施用时间足够紧密以影响受试者的治疗。根据治疗方案,两种或更多种化合物可以同时或序贯,通过相同或不同施用途径,按照相同或不同施用时间表以及在有或没有具体时间限制的情况下进行施用。另外,同时施用可以通过在施用之前混合化合物或通过在同一时间点但在相同或不同的施用部位作为单独的剂型施用化合物进行。“组合”的实例包括但不限于“并行施用”、“共同施用”、“同时施用”、“序贯施用”和“同时地施用”。
- [0135] (S)-1'-(6-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫基)-1,2,4-三嗪-3-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺单丁二酸盐形式1的结晶无水形式和一种或多种其他治疗剂可以作为活性成分的固定或非固定组合施用。术语“固定组合”是指(S)-1'-(6-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫基)-1,2,4-三嗪-3-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺单丁二酸盐形式1的结晶无水形式和一种或多种治疗剂均以单一组合物或剂量同时施用于受试者。术语“非固

定组合”是指(S)-1'- (6- ((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫基) -1,2,4-三嗪-3-基) -1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺单丁二酸盐形式1的结晶无水形式和一种或多种治疗剂被配制为单独组合物或剂量,使得它们可以同时或在具有可变的间隔时间限制的不同时间施用于有需要的受试者,其中这样的施用在受试者的体内提供有效水平的两种或更多种化合物。

[0136] E91实施方案E27至E90中任一项的方法、化合物或用途,其中实施方案E1至E26中任一项的化合物与另外的治疗性化合物组合使用。

[0137] E92实施方案E91的方法、化合物或用途,其中另外的治疗性化合物选自以下组成的组:劳拉替尼、贝美替尼(binimetinib)、西妥昔单抗(cetuximab)和康奈非尼(encorafenib)。

[0138] E93实施方案E91或E92的方法、化合物或用途,其中另外的治疗性化合物是劳拉替尼。

[0139] E94实施方案E91或E92的方法、化合物或用途,其中另外的治疗性化合物是贝美替尼。

[0140] E95实施方案E91或E92的方法、化合物或用途,其中另外的治疗性化合物是西妥昔单抗和康奈非尼。

[0141] E96实施方案E91或E92的方法、化合物或用途,其中另外的治疗性化合物是西妥昔单抗。

[0142] E97实施方案E91或E92的方法、化合物或用途,其中另外的治疗性化合物是康奈非尼。

[0143] 定义

[0144] 除非另外规定,否则如本文所用,单数形式“一个”、“一种”和“该(the)”包括复数指代物。例如,“一个”取代基包括一个或多个取代基。

[0145] 当由本领域的普通技术人员考虑时,术语“约”是指具有落在平均值的可接受的误差标准内的值。

[0146] 如本文所使用,术语“结晶”是指具有分子或外表面平面的规则重复排列。晶型可能在热力学稳定性、物理参数、x射线结构和制备方法方面有所不同。

[0147] 本文所述的发明可以在不存在本文未具体公开的任何要素的情况下适当地实践。因此,例如,在本文中的每个实例中,术语“包含”、“基本上由...组成”和“由...组成”中的任一者可以被其他两个术语中的任一者置换。

[0148] 术语“基本纯的”是指特定结晶形式包括按重量计少于10%、优选少于5%、优选少于3%、优选少于1%的该化合物的任何其他物理形式。

[0149] 如本文所用,“药物组合物”是指根据本文所述的实施方案中任一项的(S)-1'- (6- ((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫基) -1,2,4-三嗪-3-基) -1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺单丁二酸盐形式1的结晶无水形式作为活性成分,和至少一种药学上可接受的赋形剂。

[0150] 如本文所用,“药学上可接受的载体”是指不对生物体造成显著的刺激并且不消除所施用的化合物的生物活性和特性的载体或稀释剂。

[0151] 术语“赋形剂”在本文中用于描述除(S)-1'- (6- ((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫基) -1,2,4-三嗪-3-基) -1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺单丁二酸盐形式1的结晶无水形式以外的任何成分。赋形剂的选择将在很大程度上取决于诸如施用方式、赋形剂对溶解性和稳

定性的影响和剂型的性质的因素。赋形剂包括任何和全部溶剂、分散介质、包衣、抗菌剂和抗真菌剂、等张剂和吸收延迟剂、载体、稀释剂等,其是生理相容的。赋形剂的实例包括水、盐水、磷酸盐缓冲盐水、右旋糖、甘油、乙醇等中的一种或多种以及其组合,并且可以包括组合物中的等张剂,例如糖、氯化钠或多元醇,诸如甘露糖醇或山梨糖醇。赋形剂的实例也包括各种有机溶剂(诸如水合物和溶剂化物)。如果期望,药物组合物可以含有另外的赋形剂,诸如调味剂、粘合剂(binder/binding agent)、润滑剂、崩解剂、甜味剂或调味剂、着色剂或染料等。例如,对于口服施用,含有各种赋形剂(诸如柠檬酸)的片剂可以与各种崩解剂(诸如淀粉、藻酸和某些复杂硅酸盐)和粘合剂(诸如蔗糖、明胶和阿拉伯胶)一起使用。赋形剂的实例非限制性地包括碳酸钙、磷酸钙、各种糖和各种类型的淀粉、纤维素衍生物、明胶、植物油和聚乙二醇。此外,润滑剂诸如硬脂酸镁、十二烷基硫酸钠和滑石粉常用于压片的目的。类似类型的固体组合物也可以以软和硬填充的明胶胶囊剂使用。因此,赋形剂的非限制性实例也包括乳糖(lactose/milk sugar)和高分子量聚乙二醇。当期望口服施用水性混悬剂或酏剂时,可以将其中的活性化合物与各种甜味剂或调味剂、着色剂或染料和乳化剂或助悬剂(如果期望),以及与另外的赋形剂(诸如水、乙醇、丙二醇、甘油或其组合)一起组合。

[0152] 赋形剂的实例也包括药学上可接受的物质,诸如润湿剂或诸如润湿剂或乳化剂、防腐剂或缓冲剂的少量辅助物质,其增强化合物的储存期或有效性。

[0153] 如本文所用,药物、化合物或药物组合物的“有效剂量”或“有效量”是足以影响疾病、其并发症和在疾病发展期间展现的中间病理表型的任何一种或多种有益或期望的症状(包括生物化学、组织学和/或行为症状)的量。对于治疗用途,“治疗有效量”是指将在一定程度上缓解所治疗的障碍的症状中的一种或多种的所施用的化合物的量。参考癌症治疗,治疗有效量是指具有以下效果的量:(1)减小肿瘤大小;(2)抑制(即,在一定程度上减缓,优选停止)肿瘤转移;(3)在一定程度上抑制(即,在一定程度上减缓,优选停止)肿瘤生长或肿瘤侵袭;(4)在一定程度上减轻(或优选地,消除)与癌症相关的一种或多种体征或症状;(5)减少治疗疾病所需的其他药物的剂量;和/或(6)增强另一药物的效果;和/或(7)延迟患者中疾病的进展。

[0154] 如本文所用,“哺乳动物”是指患有本文所述疾病或处于患上本文所述疾病的风险中的温血动物,并且包括但不限于豚鼠、狗、猫、大鼠、小鼠、仓鼠和灵长类动物,包括人类。

[0155] 如本文所用,“受试者”是指人类或动物受试者。在某些实施方案中,受试者是哺乳动物。在某些优选实施方案中,受试者是人类。

[0156] 如本文所用,“治疗(Treat/treating)”是指将(S)-1'- (6-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫基)-1,2,4-三嗪-3-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺单丁二酸盐形式1的结晶无水形式施用于患有待治疗的病症的受试者以实现至少一种积极的治疗效果。例如,治疗癌症是指将(S)-1'- (6-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫基)-1,2,4-三嗪-3-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺单丁二酸盐形式1的结晶无水形式施用于患有癌症或经诊断患有癌症的受试者以实现至少一种积极的治疗效果,诸如,例如,减少癌细胞数量,减小肿瘤大小,减小癌细胞浸润至外周器官中的速率或减小肿瘤转移或肿瘤生长的速率,逆转、缓解、抑制此术语适用的障碍或病症的进展,或预防此术语适用的障碍或病症,或这样的障碍或病症的一种或多种症状。如本文所用,除非另外指示,否则术语“治疗(treatment)”是指如紧接

上文所定义的“治疗(treating)”的治疗行为。术语“治疗”也包括对受试者的辅助治疗和新辅助治疗。

实施例

[0157] 下文提供的实施例和制备进一步说明且举例说明本发明的特定方面和实施方案。应理解,以下实施例的范围不限制本发明的范围。本文描述的化合物和中间体是使用由 ChemDraw Professional 版本 19.0.0.22 (Perkin Elmer Informatics, Inc., Waltham, Mass.) 提供的命名规则进行命名。

[0158] 实施例1

[0159] 非晶形 (S) -1'- (6- ((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫基) -1,2,4-三嗪-3-基) -1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺游离碱

[0160] 将 (R) -N- ((S) -1'- (6- ((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫基) -1,2,4-三嗪-3-基) -1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-基) -2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺 (20mg, 0.037mmol) 用二氧杂环己烷 (1mL) 稀释,接着加入 HCl (92μL, 0.37mmol)。在搅拌30分钟之后,用二氯甲烷 (“DCM”) 和饱和碳酸氢钠水溶液稀释反应。在搅拌混合物10分钟之后,分离各层,并且将 DCM 经 MgSO₄ 干燥,过滤并且浓缩。材料在硅胶上纯化,用20% 甲醇/乙酸乙酯洗脱,得到非晶形 (S) -1'- (6- ((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫基) -1,2,4-三嗪-3-基) -1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺游离碱 (15mg, 0.034mmol, 93% 产率)。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 8.2 (s, 1H), 7.76 (d, 1H, J = 5.2Hz), 7.2-7.35 (m, 4H), 6.15 (d, 1H, J = 5.2Hz), 4.92 (br, 2H), 4.78 (br, 1H), 4.01 (s, 1H), 3.37 (m, 2H), 3.14 (d, 1H, J = 15.6Hz), 2.78 (d, 1H, J = 15.6), 1.3-1.91 (m, 7H); m/z (esi/APCI) M⁺1 = 440.1。

[0161] 实施例2

[0162] 结晶 (S) -1'- (6- ((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫基) -1,2,4-三嗪-3-基) -1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺游离碱半水合物 (形式1)

[0163] 在20-30℃下,使 (S) -1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺二盐酸盐 (3.89Kg) 和3,6-二溴-1,2,4-三嗪 (3.71Kg) 与三乙胺 (6.45Kg) 在1,4-二氧杂环己烷 (34.3Kg) 中反应,原位得到 (S) -1'- (6-溴-1,2,4-三嗪-3-基) -1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺。在20-30℃下,使 (S) -1'- (6-溴-1,2,4-三嗪-3-基) -1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺与2-氨基-3-氯吡啶-4-硫醇钠 (3.08Kg) 和三乙胺 (6.45Kg) 在1,4-二氧杂环己烷 (2.05Kg) 中反应,并且将混合物加热至70-75℃约12.5小时,得到 (S) -1'- (6- ((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫基) -1,2,4-三嗪-3-基) -1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺。将混合物冷却至约15-30℃。在15-30℃下将 Celite® (1.95Kg) 加入至反应中,并且搅拌约1小时,并且过滤浆料,且用1,4-二氧杂环己烷冲洗。进行溶剂交换,以用四氢呋喃置换1,4-二氧杂环己烷。粗 (S) -1'- (6- ((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫基) -1,2,4-三嗪-3-基) -1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺通过硅胶(用异丙醇预处理) 层析法,使用二氯甲烷、甲醇、乙醇、正己烷和三乙胺的混合物作为洗脱剂来纯化。在层析之后,在15-30℃下,将产物 (1.57Kg) 与甲醇 (24.0Kg) 和水 (1.6Kg) 合并。将混合物加热至40℃并且施加减压直至剩余约22-25L混合物。在15-30℃下,再加入甲醇 (24.0Kg) 和水 (1.6Kg)。将混合物加热至40℃并且施加减压直至剩余约22-25L混合物。在15-30℃下,再加入水 (15.70Kg)。在15-25℃下搅拌混合物12小时以诱导结晶。通过过滤收集产物,并且

用甲醇 (3.7Kg) 与水 (1.6Kg) 混合物冲洗滤饼, 得到纯化的结晶 (S) -1'- (6- ((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫基) -1,2,4-三嗪-3-基) -1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺游离碱半水合物 (形式1) (1.39Kg)。

[0164] 使用配备有铜 (Cu) 辐射源的Bruker AXSD8 Endeavor衍射仪进行粉末X射线衍射分析。发散狭缝设定为15mm连续照明。采用PSD-Lynx Eye探测器检测衍射辐射, 探测器PSD开口设定为2.99度。将X射线管电压和电流分别设定为40kV和40mA。在 θ - θ 测角计中, 使用0.00998度的步长和1.0秒的步进时间, 在从3.0至40.0度 2θ 的Cu波长($\text{CuK}\alpha=1.5418\text{ \AA}$)下收集数据。将防散射屏幕设定为3.0mm的固定距离。在收集期间以15/分钟旋转样品。通过将样品放置在低硅含量背景样品固定器中准备样品, 并且在收集期间旋转。使用Bruker DIFFRAC Plus软件收集数据, 并且通过EVA diffract plus软件进行分析。在峰搜寻之前不处理PXRD数据文件。使用EVA软件中的峰搜寻算法, 使用具有阈值1的所选峰来进行初步峰值分配。为确保有效性, 手动进行调整; 目视检查自动分配的输出, 并且将峰位置调整至峰值最大值。通常选择具有相对强度 $\geq 3\%$ 的峰。通常不选择未解析出或与噪声一致的峰。与USP所规定的PXRD峰位置相关的典型误差至多 $\pm 0.2^\circ 2\theta$ (USP-941)。

[0165] 实施例2的化合物, 游离碱半水合物形式1的PXRD峰列表 ($2\theta^\circ$) 和相对强度数据提供于下表1中:

[0166] 表1

[0167]

角度 ($2\theta^\circ$) $\pm 0.2^\circ 2\theta$	相对强度 (%)	角度 ($2\theta^\circ$) $\pm 0.2^\circ 2\theta$	相对强度 (%)
5.4	6.8	26.8	13.9
10.9	60.1	27.1	51.2
12.1	5.2	27.3	50.9
13.5	3.4	27.8	11.6
14.0	40.2	28.2	71.3
15.4	54.9	29.3	16.6
15.5	44.5	29.5	41.5
16.0	61.8	30.0	5.6
16.4	23.1	31.5	12.6
17.2	49.8	31.9	3.9
17.7	16.5	32.2	9.9
19.0	19.1	33.2	12.1
19.3	45.5	33.3	10.0
19.6	41.2	33.9	4.5
19.7	41.5	34.1	5.7
20.5	39.6	34.7	7.4
21.8	33.4	35.2	11.7
22.2	15.0	35.4	12.6
22.5	100.0	36.1	5.9
23.5	5.5	36.9	3.3
24.3	18.4	37.2	5.0

25.1	68.5	37.5	3.2
25.4	5.3	38.0	5.6
25.7	12.5	38.6	3.5
26.0	7.2	39.0	4.5

[0168] 实施例2的化合物,游离碱半水合物形式1的特征PXRD峰列表(2 θ)和相对强度数据提供于下表2中:

[0169] 表2

角度(°2- θ) $\pm$ 0.2°2 θ	相对强度(%)
10.9	60.1
16.0	61.8
14.0	40.2

[0170]

15.4	54.9
15.5	44.5
25.1	68.5
20.5	39.6
29.5	41.5

[0171]

[0172] 在交叉极化魔角旋转(“CPMAS”)探针上进行固态NMR(“ssNMR”)分析,该探针放置在Bruker-BioSpin Avance III 500MHz(¹H频率)NMR光谱仪中。将材料封装于4mm ZrO₂转子中。使用了14.0kHz的魔角旋转速率。在环境温度(温度不受控制)下收集光谱。

[0173] 使用质子解耦CPMAS实验采集¹³C ssNMR光谱。在光谱采集期间施加80-100kHz的相位调制质子去耦场。将交叉极化接触时间设定为2毫秒并且再循环延迟设定为11.4秒。调整扫描次数以获得足够的信噪比。¹³C化学位移标度使用¹³C CPMAS实验对结晶金刚烷的外部标准进行参考,将其上场共振设定为29.5ppm。

[0174] 使用Bruker-BioSpin TopSpin 3.6版软件进行自动化峰值选取。通常,5%相对强度的阈值用于初步峰选择。目视检查自动化峰值选取的输出以确保有效性,并且必要时进行手动调整。尽管在本文中报告了具体固态NMR峰值,但由于仪器、样品和样品制备的差异,这些峰值确实存在范围。由于峰位置的固有的变化,这在固态NMR技术中是常见的做法。对于结晶固体,¹³C化学位移x轴值的典型可变性是约正或负0.2ppm量级。本文报告的固态NMR峰高度是相对强度。固态NMR强度可以取决于CPMAS实验参数的实际设置和样品的热历程而变化。

[0175] 对于结晶(S)-1'-(6-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫基)-1,2,4-三嗪-3-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺游离碱半水合物(形式1),确定出五个特征峰:¹³C化学位移为在44.4、47.7、149.2、36.6和26.9 $\pm$ 0.2ppm。选择该特征峰是因为其具有高强度、窄峰形,是固体形式所独有的,并且可能在药品光谱中不被遮蔽。

[0176] 实施例2,游离碱半水合物形式1的¹³C ssNMR光谱(ppm)提供于下表3中:

[0177] 表3

¹³ C化学位移(ppm) $\pm$ 0.2ppm	相对强度(%)
26.9	51

[0178]

33.8	39
35.0	59
36.6	37
39.0	82
39.4	67
40.2	67
41.3	38
43.4	81
44.4	74
47.7	63
66.0	49
68.9	38
109.0	93
124.5	100
127.0	41
127.9	70
128.9	51
129.8	43
139.7	88
140.9	48
145.1	57
145.4	79
146.5	39
149.2	49
154.5	48
155.9	64
158.9	38

[0179] 使用连接至FT-IR工作台的Thermo Scientific iS50 FT-拉曼附件采集拉曼光谱。在FT-拉曼配制中使用CaF₂光束分离器。光谱仪配备有1064nm二极管激光器和室温InGaAs探测器。数据采集之前,使用聚苯乙烯进行仪器性能和校准验证。在数据采集期间,在玻璃NMR管中分析作为片剂的样品,或在合适样品固定器中保持静态的样品。使用0.1至0.5W之间的激光功率和512次共累加(co-added)扫描来收集光谱。收集范围是3700至100cm⁻¹。使用2cm⁻¹分辨率记录API光谱,并且对所有光谱都采用Happ-Genzel切趾法。记录了多个光谱,并且所报告的光谱代表两个点。

[0180] 在选取峰之前,将强度标度标准化为1。使用Thermo Nicolet Omnic 9.7.46软件手动确定峰。在峰值最大值处选取峰位置,并且仅在每侧上均存在斜坡时才确定为峰;峰的肩部不包括在内。对于无溶剂的(neat)游离碱半水合物形式1,在峰选取期间使用0.006的绝对阈值和75的灵敏度。已使用标准操作(0.5舍进,0.4舍去)将峰位置四舍五入到最接近的整数。将标准化峰强度介于(1-0.75)、(0.74-0.30)、(0.29-0)之间的峰分别标记为强、中

和弱。

[0181] 基于强度以及峰位置选择游离碱半水合物形式1的特征峰。将游离碱半水合物形式1与安慰剂和活性共混物 (6和15 % DL) 进行比较以确保游离碱半水合物形式1的独特性。

[0182] 实施例2的化合物,游离碱半水合物形式1的FT-拉曼光谱峰列表(cm^{-1})和标准化强度数据提供于下表4中:

[0183] 表4

[0184]

峰位置 (cm^{-1}) $\pm 0.2 \text{ cm}^{-1}$	标准化强度	分类	峰位置 (cm^{-1}) ± 0.2 cm^{-1}	标准化强度	分类
210	0.33	m	1231	0.38	m
227	0.40	m	1260	0.37	m
246	0.25	w	1267	0.32	m
281	0.45	m	1286	0.15	w
320	0.26	w	1305	0.14	w
377	0.14	w	1322	0.32	m
402	0.25	w	1362	0.23	w
421	0.13	w	1379	0.10	w
432	0.13	w	1431	0.24	w
448	0.13	w	1435	0.24	w
486	0.32	m	1462	0.58	m
495	0.28	w	1529	1.00	s
512	0.19	w	1573	0.21	w
543	0.13	w	1587	0.23	w
555	0.21	w	1609	0.26	w
607	0.69	m	1904	0.02	w
649	0.22	w	2166	0.04	w
654	0.20	w	2379	0.02	w
719	0.27	w	2517	0.02	w
727	0.16	w	2701	0.02	w
747	0.15	w	2749	0.03	w
780	0.52	m	2843	0.26	w
803	0.29	w	2859	0.28	w
868	0.04	w	2881	0.19	w
896	0.06	w	2900	0.23	w
919	0.16	w	2925	0.45	m
931	0.19	w	2986	0.11	w
948	0.09	w	3016	0.41	m
967	0.13	w	3045	0.35	m
1022	0.62	m	3077	0.28	w
1051	0.52	m	3172	0.08	w
1084	0.36	m	3280	0.14	w
1109	0.18	w	3296	0.12	w
1134	0.75	s	3334	0.09	w

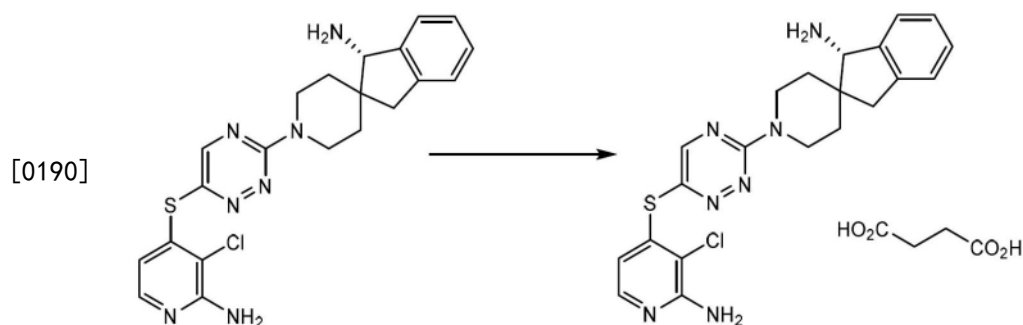
[0185]	1156	0.43	m	3456	0.01	w
	1202	0.23	w	3512	0.02	w
	1210	0.30	m			

[0186] 实施例2的化合物,游离碱半水合物形式1的特征FT-拉曼光谱峰列表(cm^{-1})和标准化强度数据提供于下表5中:

[0187] 表5

[0188]	峰位置 (cm^{-1})	标准化强度	分类
	607	0.69	m
	1462	0.58	m
	1051	0.52	m
	1573	0.21	w

[0189] 实施例3



[0191] 结晶无水(S)-1'- (6-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫基)-1,2,4-三嗪-3-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺单丁二酸盐形式1

[0192] 在约55至65℃下,将结晶(S)-1'- (6-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫基)-1,2,4-三嗪-3-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺游离碱半水合物(形式1)(实施例2;8.99Kg)悬浮于MeOH(500L)中。将溶解于MeOH(17.8Kg)中的丁二酸(2.52Kg)加入悬浮液中。在约55至65℃下搅拌溶液约2至10小时,并且在溶液中出现固体。将溶液冷却至约40至50℃。在约40至50℃下,将甲基叔丁基醚("MTBE",33.3Kg)逐滴加入。在加入之后,将混合物冷却至约2至15℃并且在约2至15℃下再搅拌2小时。在约2至15℃下,将浆料湿磨约25至90分钟。将浆料过滤并且用MTBE(40Kg)洗涤并且干燥,得到结晶无水(S)-1'- (6-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫基)-1,2,4-三嗪-3-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺单丁二酸盐形式1(9.4Kg,81%产率,99.6%纯度)。

[0193] 使用配备有铜(Cu)辐射源的Bruker AXSD8 Endeavor衍射仪进行粉末X射线衍射分析。发散狭缝设定为15mm连续照明。采用PSD-Lynx Eye探测器检测衍射辐射,探测器PSD开口设定为2.99度。将X射线管电压和电流分别设定为40kV和40mA。在 θ - θ 测角计中,使用0.00998度的步长和1.0秒的步进时间,在从3.0至40.0度 2θ 的Cu波长($\text{CuK}\alpha=1.5418 \text{ \AA}$)下收集数据。将防散射屏幕设定为3.0mm的固定距离。在收集期间以15/分钟旋转样品。样品通过将其放置在低硅含量背景样品固定器中来准备,并且在收集期间旋转。使用Bruker DIFFRAC Plus软件收集数据,并且通过EVA diffract plus软件进行分析。在峰搜寻之前不

处理PXRD数据文件。使用EVA软件中的峰搜寻算法,使用具有阈值1的所选峰来进行初步峰值分配。为确保有效性,手动进行调整;目视检查自动分配的输出,并且将峰位置调整至峰值最大值。通常选择相对强度 $\geq 3\%$ 的峰。通常不选择未解析出或与噪声一致的峰。与USP所规定的PXRD峰位置相关的典型误差至多 $\pm 0.2^\circ 2\theta$ (USP-941)。

[0194] 实施例3,形式1无水丁二酸盐的PXRD图如图1所示。实施例3的化合物,形式1无水丁二酸盐的PXRD峰列表($2\theta^\circ$)和相对强度数据提供于下表6中:

[0195] 表6

[0196]

角度($2\theta^\circ$) $\pm 0.2^\circ 2\theta$	相对强度(%)	角度($2\theta^\circ$) $\pm 0.2^\circ 2\theta$	相对强度(%)
4.5	85.5	24.4	27.4
8.4	18.3	25.6	3.0
9.0	42.3	26.0	12.1
9.3	44.1	26.2	12.1
12.1	9.3	26.9	10.7
13.9	4.2	28.0	48.4
15.7	20.6	28.3	5.7
16.5	16.9	28.7	7.6
16.6	49.4	29.1	4.1
17.1	10.4	29.9	31.7
17.6	4.8	30.5	9.0
17.8	22.3	31.7	9.2
18.0	6.2	31.8	8.3
18.8	41.2	32.8	6.3
19.7	100.0	33.4	5.3
19.9	14.1	33.8	8.9
21.1	37.5	35.0	10.2
21.3	50.3	35.9	7.6
21.7	21.4	36.1	9.5
21.8	32.6	36.4	4.2
22.8	64.5	36.8	7.0
23.0	10.3	37.1	3.7
23.5	29.4	38.0	8.5
24.0	3.4	38.7	4.9
24.3	75.0	39.3	4.7

[0197] 实施例3的化合物,形式1无水丁二酸盐($2\theta^\circ$)的特征PXRD峰列表和相对强度数据提供于下表7中:

[0198] 表7

	角度(°2-θ)	相对强度(%)
[0199]	19.7	100.0
	24.3	75.0
	9.3	44.1
[0200]	16.6	49.4
	9.0	42.3
	28.0	48.4
	18.8	41.2
	15.7	20.6
	12.1	9.3

[0201] 在CPMAS探针上进行固态NMR(ssNMR)分析,该探针放置在Bruker-BioSpin Avance III 500MHz (1H频率)NMR光谱仪中。将材料封装于4mm ZrO₂转子中。使用了14.0kHz的魔角旋转速率。在环境温度(温度不受控制)下采集光谱。

[0202] 使用质子解耦交叉极化魔角旋转(CPMAS)实验采集¹³C ssNMR光谱。在光谱采集期间施加80-100kHz的相位调制质子去耦场。将交叉极化接触时间设定为2毫秒并且再循环延迟设定为11.4秒((S)-1'-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫基)-1,2,4-三嗪-3-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺游离碱(形式1)的半水合物结晶形式)或10.5秒(结晶无水(S)-1'-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫基)-1,2,4-三嗪-3-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺单丁二酸盐形式1)。调整扫描次数以获得足够的信噪比。¹³C化学位移标度使用¹³C CPMAS实验对结晶金刚烷的外部标准进行参考,将其上场共振设定为29.5ppm。

[0203] 使用Bruker-BioSpin TopSpin 3.6版软件进行自动化峰值选取。通常,5%相对强度的阈值用于初步峰选择。目视检查自动化峰值选取的输出以确保有效性,并且必要时进行手动调整。尽管在本文中报告了具体固态NMR峰值,但由于仪器、样品和样品制备的差异,这些峰值确实存在范围。由于峰位置的固有的变化,这在固态NMR技术中是常见的做法。对于结晶固体,¹³C化学位移x轴值的典型可变性是约正或负0.2ppm。本文报告的固态NMR峰高度是相对强度。固态NMR强度可以取决于CPMAS实验参数的实际设置和样品的热历程而变化。

[0204] 实施例3,形式1无水丁二酸盐的¹³C ssNMR光谱如图2所示。通过井号符号(hash mark)标记的峰是旋转边带。实施例3的化合物,形式1无水丁二酸盐的ssNMR峰列表和相对强度数据提供于下表8中:

[0205] 表8

[0206]

¹³ C 化学位移 (ppm)	相对强度 (%)	¹³ C 化学位移 (ppm)	相对强度 (%)
27.1	52	127.5	55
32.7	49	128.7	61
33.3	63	139.7	49
34.7	54	141.7	54
38.0	62	146.5	36
40.5	91	148.0	42
46.4	66	155.1	37
63.2	45	156.6	32
114.8	32	158.7	31
124.5	37	179.0	100
126.5	49		

[0207] 实施例3的化合物,形式1无水丁二酸盐的特征ssNMR峰列表数据提供于下表9中:

[0208] 表9

[0209]

¹³ C 化学位移 (ppm)	优先级
179.0	1
46.4	2
38.0	3
141.7	4
27.1	5

[0210] 使用连接至FT-IR工作台的Thermo Scientific iS50 FT-拉曼附件采集拉曼光谱。在FT-拉曼配置中使用CaF₂光束分离器。光谱仪配备有1064nm二极管激光器和室温InGaAs探测器。数据采集之前,使用聚苯乙烯进行仪器性能和校准验证。在数据采集期间,在玻璃NMR管中分析呈片剂形式的样品,或在合适样品固定器中保持静态的样品。使用0.1至0.5W的激光功率和512次共累加扫描来收集光谱。收集范围是3700至100cm⁻¹。使用2cm⁻¹分辨率记录API光谱,并且对所有光谱都采用Happ-Genzel切趾法。记录了多个光谱,并且所报告的光谱代表两个点。

[0211] 在选取峰之前,将强度标度标准化为1。使用Thermo Nicolet Omnic 9.7.46软件手动确定峰。在峰值最大值处选取峰位置,并且仅在每侧上均存在斜坡时才确定为峰;峰的肩部不包括在内。对于无溶剂的结晶无水(S)-1'- (6- ((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫基)-1,2,4-三嗪-3-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺单丁二酸盐形式1,在峰选取期间使用0.06的绝对阈值和75的灵敏度。已使用标准操作(0.5舍进,0.4舍去)将峰位置四舍五入到最接近的整数。将标准化峰强度介于(1-0.75)、(0.74-0.30)、(0.29-0)之间的峰分别标记为强、中和弱。相对峰强度值也在此报告中说明。

[0212] 基于强度以和峰位置选择结晶无水(S)-1'- (6- ((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫基)-1,2,4-三嗪-3-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺单丁二酸盐形式1的特征峰。将结晶无水(S)-1'- (6- ((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫基)-1,2,4-三嗪-3-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺单丁二酸盐形式1与安慰剂和活性共混物(6和15% DL)进行比较,以确保结晶无水(S)-1'- (6- ((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫基)-1,2,4-三嗪-3-基)-1,3-二氢螺[茛-

2,4'-吡啶]-1-胺单丁二酸盐形式1的独特性。

[0213] 实施例3,形式1无水丁二酸盐的完整拉曼光谱如图3所示。实施例3,形式1无水丁二酸盐的完整拉曼峰列表提供于下表10中:

[0214] 表10

[0215]

峰位置(cm^{-1})	标准化强度	分类	峰位置(cm^{-1})	标准化强度	分类
213	0.57	m	1217	0.64	m
229	0.38	m	1230	0.50	m
242	0.34	m	1256	0.41	m
268	0.36	m	1270	0.50	m
284	0.58	m	1297	0.20	w
315	0.36	m	1305	0.23	w
323	0.33	m	1316	0.25	w
374	0.20	w	1334	0.55	m
411	0.38	m	1353	0.22	w
448	0.18	w	1374	0.53	m
478	0.37	m	1385	0.21	w
494	0.37	m	1421	0.22	w
500	0.43	m	1436	0.57	m
521	0.30	w	1448	0.22	w
552	0.13	w	1468	0.80	s
600	0.37	m	1493	0.12	w
615	0.55	m	1530	0.83	s
621	0.54	m	1555	0.54	m
642	0.23	w	1589	0.41	m
652	0.34	m	1607	0.21	w
664	0.14	w	1690	0.12	w
717	0.33	m	1938	0.05	w
726	0.43	m	2158	0.06	w
752	0.17	w	2204	0.05	w
762	0.34	m	2373	0.06	w
782	0.68	m	2459	0.06	w
800	0.74	m	2529	0.07	w
817	0.16	w	2667	0.07	w
847	0.12	w	2739	0.08	w
873	0.10	w	2848	0.31	m
903	0.21	w	2902	0.75	s
916	0.29	w	2920	0.72	m
930	0.40	m	2943	1.00	s
941	0.26	w	2964	0.41	m
965	0.16	w	2986	0.18	w
1026	0.83	s	3018	0.45	m

[0216]

1041	0.90	s	3047	0.49	m
1080	0.48	m	3059	0.58	m
1106	0.34	m	3079	0.53	m
1143	0.59	m	3175	0.06	w
1157	0.34	m	3299	0.04	w
1169	0.63	m	3460	0.03	w
1189	0.25	w	3513	0.02	w
1208	0.46	m			

[0217] w=弱,峰强度>0.30;m=中,峰强度0.31至0.74;s=强,峰强度<0.74

[0218] 实施例3的化合物,形式1无水丁二酸盐的特征拉曼峰列表数据提供于下表11中:

[0219] 表11

[0220]

峰位置 (cm ⁻¹)	标准化强度	分类
1041	0.90	s
1217	0.64	m
1555	0.54	m
1026	0.83	s

[0221] 实施例4

[0222] 结晶(S)-1'- (6- ((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫基) -1,2,4-三嗪-3-基) -1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺磷酸盐(模式1)

[0223] 将(S)-1'- (6- ((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫基) -1,2,4-三嗪-3-基) -1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺游离碱(200mg)称量到20mL的玻璃闪烁瓶中。将90%乙醇/10%水(5mL;%v/v)加入至闪烁瓶中以形成浆料。将纯净的(neat)磷酸(65.2μL;2.1当量)加入至浆料中。随后将浆料在搅拌下在环境温度和40℃之间温度循环(4小时循环)18小时。通过离心机过滤分离出子样品。XPRD分析显示磷酸盐模式1。使用含有Whatmann 1级滤纸的布氏(Buchner)漏斗分离其余浆料。随后在40℃下,在真空下,将被分离的固体干燥约24小时。

[0224] 实施例5

[0225] 结晶(S)-1'- (6- ((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫基) -1,2,4-三嗪-3-基) -1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺磷酸盐(模式2)

[0226] 将(S)-1'- (6- ((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫基) -1,2,4-三嗪-3-基) -1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺游离碱(200mg)称量到20mL的玻璃闪烁瓶中。将90%乙醇/10%水(5mL;%v/v)加入至闪烁瓶中以形成浆料。将纯净的磷酸(32.6μL;1.05当量)加入至浆料中。随后将浆料在搅拌下在环境温度和40℃之间温度循环(4小时循环)18小时。使用旋转蒸发器移除溶剂。将90%甲基乙基酮/10%水(%v/v)加入至经被干燥的固体中以形成浆料。使用含有Whatmann 1级滤纸的布氏漏斗分离材料。在40℃下,在真空下,将被分离的固体干燥约24小时。该步骤产生模式1与模式2磷酸盐的混合物。

[0227] 实施例6

[0228] 结晶(S)-1'- (6- ((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫基) -1,2,4-三嗪-3-基) -1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺反丁烯二酸盐

[0229] 将(S)-1'- (6- ((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫基) -1,2,4-三嗪-3-基) -1,3-二氢螺

[茛-2,4'-哌啶]-1-胺游离碱(200mg)称量到20mL的玻璃闪烁瓶中。将丙酮(5mL)加入至闪烁瓶中以形成浆料。将纯净的反丁烯二酸(55.96mg;1.05当量)加入至浆料中。随后将浆料在搅拌下在环境温度和40℃之间温度循环(4小时循环)18小时。离心过滤用于分离。

[0230] 实施例7

[0231] 结晶(S)-1'-(6-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫基)-1,2,4-三嗪-3-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺酒石酸盐

[0232] 将(S)-1'-(6-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫基)-1,2,4-三嗪-3-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺游离碱(200mg)称量到20mL的玻璃闪烁瓶中。将90%乙醇/10%水(5mL;%v/v)加入至闪烁瓶以形成浆料。将纯净的L-酒石酸(72.36mg;1.05当量)加入至浆料中。随后将浆料在搅拌下在环境温度和40℃之间温度循环(4小时循环)18小时。离心过滤用于分离。

[0233] 实施例8

[0234] 结晶(S)-1'-(6-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫基)-1,2,4-三嗪-3-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺盐酸盐

[0235] 将(S)-1'-(6-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫基)-1,2,4-三嗪-3-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺游离碱(40mg)称量到HPLC小瓶中。将90%2-丙醇/10%水(1mL;%v/v)加入至小瓶中以形成浆料。将纯净的盐酸(16.0μL;2.1当量)加入至浆料中。随后将浆料在搅拌下在环境温度和40℃之间温度循环(4小时循环)96小时。离心过滤用于分离。

[0236] 实施例9

[0237] (S)-1'-(6-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫基)-1,2,4-三嗪-3-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺的盐形式之间的比较分析

[0238] 溶解度

[0239] 通过将3mg化合物(实施例2或实施例3)加入至500μL各自合适的缓冲液(pH 2HCl、pH 4乙酸盐和pH 6磷酸盐)中来测定溶解度(表12和表13)。当加入缓冲溶液后,涡旋样品。样品在Envirogenie恒温混匀仪(thermomixer)中在40℃下旋转8小时、在15℃旋转5小时和25℃下旋转12小时。在恒温混匀循环之后,通过离心过滤分离浆料并且通过HPLC分析被分离的母液。

[0240] HPLC方法(表12和表13):采用加装Waters XSelect HSS T3柱(100埃,4.6×150mm,5μm)的Agilent 1290UPLC仪器。柱温设定为20℃,UV波长设定为254nm,进样体积是10μL,流动速率是1.0毫升/分钟。使用调节至pH 4.8的10mM乙酸铵作为流动相A,并且乙腈用作流动相B。梯度方法设定为在0分钟达到15%流动相B;在17分钟达到95%流动相B,保持直至22分钟;在22.1分钟达到15%流动相B,保持直至28分钟。

[0241] 通过将20mg盐(实施例3至实施例8)加入至3个HPLC小瓶中,向每个小瓶中加入磁性搅拌棒和1mL合适的缓冲系统(pH 1.2HCl、pH 4.5乙酸钠或pH 6.8磷酸盐)来测定溶解度(表14)。在37℃下搅拌样品18小时。在24小时之后,通过离心过滤分离浆料并且通过HPLC分析被分离的母液。

[0242] HPLC方法(表14):采用加装Waters XSelect HSS T3柱(100埃,4.6×150mm,5μm)的Dionex Ultimate 3000HPLC仪器。柱温设定为20℃,UV波长设定为254nm,进样体积是10μL,流动速率是1.0毫升/分钟。使用调节至pH 4.8的10mM乙酸铵作为流动相A,并且乙腈用作

流动相B。梯度方法设定为在0分钟达到15%流动相B;在17分钟达到95%流动相B,保持直至22分钟;在22.1分钟达到15%流动相B,保持直至28分钟。

[0243] 结晶度

[0244] 用Leitz Orthoplan光学显微镜进行偏光显微术(“PLM”) (表12)。样品分散在带有玻璃盖板的平面玻璃基材上的显微镜浸油(A型)中。在正交偏光下用530nm的波片观察样品。

[0245] 使用配备有Cu辐射源的Bruker AXSD8 Endeavor衍射仪进行粉末X射线衍射(“PXRD”) (表12) 分析。发散狭缝设定为10mm连续照明。通过PSD-Lynx Eye探测器检测衍射辐射,探测器PSD开口设定为2.99度。将X射线管电压和电流分别设定为40kV和40mA。在 θ - θ 测角计中,使用0.02度的步长和0.3秒的步进时间,在从3.0至40.0度 2θ 的Cu波长下收集数据。将防散射屏幕设定为1.5mm的固定距离。在收集期间以15/分钟旋转样品。通过将样品放置在低硅含量背景样品固定器中来准备样品,并且在收集期间旋转。使用Bruker DIFFRAC Plus软件收集数据,并且通过EVA diffract plus软件进行分析。使用小凹坑(divot)样品固定器。

[0246] 使用添加至显微镜载玻片上的小于1mg的API材料来进行PLM(表13),使用一滴高粘度显微镜浸油,并且施加盖玻片。随后在Olympus Bx53偏光显微镜上用530nm的波片在正交偏光下观察载玻片。用整合的Olympus相机收集样品影像,并且用Olympus Stream软件拍摄照片。

[0247] PXRD(表13):测量参数:所使用的Rigaku MiniFlex 6G衍射仪配备有Cu辐射源。通过D/teX Ultra2探测器来探测衍射辐射。将X射线管电压和电流分别设定为40kV和15mA。在Miniflex测角计中,使用0.01°的步长和3.00°/分钟的步速,在从3.0至45.0° 2θ 的Cu波长下收集数据。入射狭缝盒设定为1.25°,并且长度限制狭缝设定为10mm。在收集期间以10RPM旋转样品。使用Rigaku软件SmartLab Studio II分析数据。样品准备:通过放置在低硅含量背景样品固定器(2mm×0.5mm孔)中来准备样品。在测量之前,确认样品是平整且填满的。使用以上仪器参数对样品进行分析。

[0248] PLM(表14):使用配备有交叉极化透镜和Motic相机的Olympus BX50显微镜测定结晶的存在。使用Motic Images Plus 2.0捕获影像。使用20×物镜记录全部影像。

[0249] 在PANalytical X'pert pro与PIXcel探测器(128通道)上进行PXRD(表14)分析,在3与35° 2θ 之间扫描样品。温和研磨材料以释放任何聚结物并且将材料装载于以Kapton或Mylar聚合物膜支撑样品的多孔盘上。随后将多孔盘放置在衍射仪中,并且使用40kV/50mA发生器设置,使用以透射模式(步长0.0130° 2θ ,步进时间18.87秒)运行的Cu K辐射($\alpha_1 \lambda=1.54060 \text{ \AA}$; $\alpha_2=1.54443 \text{ \AA}$; $\beta=1.39225 \text{ \AA}$; $\alpha_1:\alpha_2$ 比率=0.5)进行分析。使用HighScore Plus 4.7桌面应用(PANalytical,2017)可视化数据并且产生影像。

[0250] 稳定性

[0251] 样品制备(表12):结晶(S)-1'-(6-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫基)-1,2,4-三嗪-3-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺游离碱半水合物(形式1)一对照:将化合物(15.46mg)称量到50mL琥珀色量瓶中。将甲醇(约35mL)加入至烧瓶中,在间歇搅拌下超声处理4分钟,平衡至室温,用甲醇定容并且反复倒置烧瓶使其充分混合。结晶(S)-1'-(6-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫基)-1,2,4-三嗪-3-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺游离碱

半水合物(形式1) —70℃/5%相对湿度(“RH”)/1周:将化合物(14.83mg)称量到50mL琥珀色量瓶中。将甲醇(约35mL)加入至烧瓶中,在间歇搅拌下超声处理4分钟,平衡至室温,用甲醇定容并且反复倒置烧瓶使其充分混合。结晶(S)-1'- (6-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫基)-1,2,4-三嗪-3-基)-1,3-二氢螺[茚-2,4'-哌啶]-1-胺游离碱半水合物(形式1) —70℃/75% RH/1周:将化合物(14.99mg)称量到50mL琥珀色量瓶中。将甲醇(约35mL)加入至烧瓶中,在间歇搅拌下超声处理4分钟,平衡至室温,用甲醇定容并且反复倒置烧瓶使其充分混合。

[0252] 化学稳定性(HPLC)(表12):采用加装Waters XSelect HSS T3柱(100埃,4.6×150mm,5μm)的Waters Acquity H类仪器。柱温设定为20℃,UV波长设定为254nm,进样体积是10μL,流动速率是1.0毫升/分钟。调节至pH 4.8的10mM乙酸铵用作流动相A,并且乙腈用作流动相B。梯度方法设定为在0分钟达到15%流动相B;在17分钟达到95%流动相B,保持直至22分钟,15%流动相。

[0253] 物理稳定性(PXRD)(表12):使用配备有Cu辐射源的Bruker AXS D8 Endeavor衍射仪进行粉末X射线衍射分析。发散狭缝设定为10mm连续照明。通过PSD-Lynx Eye探测器检测衍射辐射,探测器PSD开口设定为2.99度。将X射线管电压和电流分别设定为40kV和40mA。在θ-θ测角计中,使用0.02度的步长和0.3秒的步进时间,在从3.0至40.0度2θ的Cu波长下收集数据。将防散射屏幕设定为1.5mm的固定距离。在收集期间以15/分钟旋转样品。通过将样品放置在低硅含量背景样品固定器中来准备样品,并且在收集期间旋转。使用Bruker DIFFRAC Plus软件收集数据,并且通过EVA diffract plus软件进行分析。使用小凹坑样品固定器。

[0254] 光稳定性(表12):样品准备:对照一将约1g样品转移至称量瓶中并且盖上玻璃盖。将样品用铝箔包裹以避光并且放置在光稳定性腔室中。光稳定性样品:将约1g样品转移至称量瓶中,随后放置在光稳定性腔室中。储存条件:光稳定性样品按照ICH光稳定性选项2储存:冷白色荧光灯,其被设计以产生类似于ISO 10977(1993)中规定的输出;近UV荧光灯,其具有320nm至400nm的光谱分布,以及350nm至370nm之间的最大能量发射;相当大一部分UV应在320至360nm和360至400nm两个波段。将光稳定性和暗对照样品暴露于提供光强度是5000±500Lx(近紫外辐射能量0.84W/m²±10%)的光照设备中,并且照射12天(将样品暴露于提供不低于120万勒克司小时(lux hour)的总照明和不低于200瓦时/平方米的综合近UV能量的光线下)。

[0255] 光稳定性(HPLC)(表12):采用加装Waters XSelect HSS T3柱(100埃,4.6×150mm,5μm)的Agilent 1100HPLC。柱温设定为20℃,UV波长设定为254nm,进样体积是10μL,流动速率是1.0毫升/分钟。调节至pH 4.8的10mM乙酸铵用作流动相A,并且乙腈用作流动相B。梯度方法设定为在0分钟达到15%流动相B;在17分钟达到95%流动相B,保持直至22分钟,15%流动相。

[0256] 样品制备(表13):

[0257] 70℃/75% RH样品:将约20mg结晶无水(S)-1'- (6-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫基)-1,2,4-三嗪-3-基)-1,3-二氢螺[茚-2,4'-哌啶]-1-胺单丁二酸盐形式1放置在70℃/75% RH腔室中的开口琥珀色小瓶中

[0258] 70℃/5% RH样品:约20mg结晶无水(S)-1'- (6-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫基)-

1,2,4-三嗪-3-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺单丁二酸盐形式1放置在湿度不受控制的70℃腔室中的封闭的琥珀色小瓶中,瓶盖用胶带封住

[0259] 对照样品:约20mg结晶无水(S)-1'-(6-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫基)-1,2,4-三嗪-3-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺单丁二酸盐形式1放置在冰箱中的封闭的琥珀色小瓶中

[0260] 通过将1mg材料转移至琥珀色小瓶中,加入3mL甲醇,并且涡流混合以溶解来制备约0.3mg/mL的每个丁二酸盐形式1样品。

[0261] 化学稳定性(HPLC)(表13):采用加装Waters XSelect HSS T3柱(100埃,4.6×150mm,5μm)的Waters Acquity UPLC I类仪器。柱温设定为20℃,UV波长设定为254nm,进样体积是10μL,流动速率是1.0毫升/分钟。调节至pH 4.8的乙酸铵(10mM)用作流动相A,并且乙腈用作流动相B。梯度方法设定为在0分钟达到15%流动相B,在17分钟达到95%流动相B;保持直至22分钟,15%流动相。

[0262] 物理稳定性(PXRD)(表13):使用配备有Cu辐射源的Rigaku MiniFlex 6G衍射仪。通过D/teX Ultra2探测器来检测衍射辐射。将X射线管电压和电流量分别设定为40kV和15mA。在Miniflex测角计中,使用0.02°的步长和2.00°/分钟的步速,在3.0至45.0°2θ的Cu波长下收集数据。入射狭缝盒设定为1.25°,并且长度限制狭缝设定为10mm。在收集期间以10RPM旋转样品。使用Rigaku软件SmartLab Studio II分析数据。

[0263] 通过放置在低硅含量背景样品固定器(0.2凹槽板)中来准备样品。在测量之前,确认样品是平整且填满的。在放入样品固定器中之前,不研磨样品(通过研钵和研杵,或通过任何其他方式)。

[0264] 光稳定性(表13):结晶无水(S)-1'-(6-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫基)-1,2,4-三嗪-3-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺单丁二酸盐形式1-光降解对照(被箔包裹)1:将1.716mg称量到5mL量瓶中,将约3mL甲醇加入至烧瓶中,在间歇搅拌下超声处理3分钟,平衡至室温,用甲醇定容并且反复倒置烧瓶使其充分混合。

[0265] 2×ICH光降解:将1.569mg称量到5mL量瓶中,将约3mL甲醇加入至瓶中,在间歇搅拌下超声处理3分钟,平衡至室温,用甲醇定容并且反复倒置瓶使其充分混合。

[0266] 化学稳定性(HPLC)(表13):采用加装Waters XSelect HSS T3柱(100埃,4.6×150mm,5μm)的Waters Acquity H类仪器。柱温设定为20℃,UV波长设定为254nm,进样体积是10μL,流动速率是1.0毫升/分钟。调节至pH 4.8的乙酸铵(10mM)用作流动相A,并且乙腈用作流动相B。梯度方法设定为在0分钟达到15%流动相B,在17分钟达到95%流动相B;保持直至22分钟,15%流动相。

[0267] 物理(PXRD)(表13):使用配备有Cu辐射源的Bruker AXSD8Endeavor衍射仪进行粉末X射线衍射分析。发散狭缝设定为10mm连续照明。通过PSD-Lynx Eye探测器检测衍射辐射,探测器PSD开口设定为2.99度。将X射线管电压和电流量分别设定为40kV和40mA。在θ-θ测角计中,使用0.02度的步长和0.3秒的步进时间,在3.0至40.0度2θ的Cu波长下收集数据。将防散射屏幕设定为1.5mm的固定距离。在收集期间以15/分钟旋转样品。通过将样品放置在低硅背景样品固定器中来准备样品,并且在收集期间旋转。使用Bruker DIFFRAC Plus软件收集数据,并且通过EVA diffract plus软件进行分析。

[0268] 热解重量分析("TGA")(表12):使用Discovery TGA(TA仪器)热重分析仪进行热解

重量分析。将约10mg样品称量到铝盘中并且在氮气吹扫(样品腔室和天平均是10毫升/分钟)下以10℃/分钟的加热速率从环境温度加热至300℃。

[0269] 差示扫描热量测定(“DSC”(表12):用配备有被冷冻的冷却附件的Discovery DSC (TA仪器)进行DSC测量。在标准/Tzero铝盘中进行所有实验。使用铟确定晶胞常数并且使用铟和锡作为标准进行温度校准。在持续的干燥氮气吹扫(50毫升/分钟)下完成所有测量。将约1-5mg的固体样品称量到Tzero铝盘中,以非气密方式密封并且以10℃/分钟的加热速率从0℃加热至250℃。使用市售软件(TA Universal Analysis 2000/Trios软件,TA仪器)分析实验数据。

[0270] 动态蒸汽吸附(“DVS”(表12):使用100mg标准砝码校准微量天平。相对湿度传感器使用饱和盐溶液在5.0、11.3、32.8、52.8、75.3和84.3% RH(25℃)下校准,以及使用聚乙烯吡咯酮在80% RH(25℃)下校准。将8-10mg的粉末样品放置在铂样品盘中。此方法无干燥步骤。RH首先保持在30%的RH,随后降低至10%的RH,并且随后降低至3%的RH,使用当样品的重量变化在5分钟内或达到60分钟的最大平衡时间后<0.001重量%时继续进行的标准。随后RH以10%的增量逐渐增加至90%,接着以10%的RH增量减少至10%的最终RH。同样,当样品的重量变化在5分钟内或到最大平衡时间的120分钟时<0.001重量%时,假定达到平衡。

[0271] DVS(表13):用DVS-Resolution分析水吸附和解吸附。每月用100mg标准砝码校准微量天平。将约5mg的API加入至半透明样品盘中并且放置在DVS-Resolution的腔室A内。相对湿度百分比在0%保持1小时,并且以10%的增量增加至90%,随后以10%的增量匀变回至0%。当在达到最少30分钟或最大120分钟的步进时间的情况下观察到 dm/dt 变化<0.001%时,认为步骤完成。

[0272] TGA/DSC(表13):同步DSC/TGA仪器用于热分析。将约3.2mg的API放置在铝Tzero DSC盘中,通过自动进样器装载至仪器中。在分析之前,将样品在仪器中平衡至35℃,并且以10℃/分钟的匀变速率匀变至400℃。使用来自内部供应的干燥氮气。

[0273] TGA/DSC(表14):将约5-10mg的材料加入至经预先去皮重的开口铝盘中,并且装载至TA Instruments Discovery SDT 650自动-同步DSC中,并且在室温下保持。随后以10℃/分钟的速率将样品从20℃(环境温度)加热至400℃,在此期间记录样品重量的变化以及热流响应(DSC)。使用流量为200cm³/分钟的氮气作为样品吹扫气体。

[0274] DSC(表14):将约1-5mg的材料称量到铝DSC盘中,并且用铝盖以非气密方式密封。随后将样品盘装载至配备有RC90冷却器的TA Instruments Discovery DSC 2500差示扫描量热计中。将样品和参照物以10℃/分钟的扫描速率加热至310℃,并且监测由此产生的热流响应。将样品再冷却至20℃并且随后再次加热至205℃,均以10℃/分钟进行。使用流速为50cm³/分钟的氮气作为吹扫气体。

[0275] DVS(表14):将约10-20mg的样品放置在网状蒸汽吸附天平盘中并且通过表面测量系统(Surface Measurement Systems)装载至DVS Intrinsic动态蒸汽吸附天平中。在25℃下,使样品以10%增量经受40-90%相对湿度(RH)的匀变曲线,在每步保持样品直至达到稳定重量(dm/dt 0.004%,最小步长30分钟,最大步长500分钟)。在完成吸附循环之后,使用相同的程序将样品干燥至0% RH,并且随后进行第二吸附循环回到40% RH。进行两个循环。对吸附/解吸附循环期间的重量变化作图,从而测定样品的吸湿性质。接着对所保留的

任何固体进行XRPD分析。将约10-20mg的样品放置在网状蒸汽吸附天平盘中并且通过表面测量系统(Surface Measurement Systems)装载至DVS Advantage动态蒸汽吸附天平中。在25℃下,使样品以10%增量经受从40-90%相对湿度(RH)的匀变曲线,在每步保持样品直至达到稳定重量(dm/dt 0.004%,最小步长30分钟,最大步长500分钟)。在完成吸附循环之后,使用相同程序将样品干燥至0% RH,并且随后进行第二吸附循环回到40% RH。进行两个循环。对吸附/解吸附循环期间的重量变化作图,从而测定样品的吸湿性质。接着对所保留的任何固体进行XRPD分析。

[0276] NMR(表14):在配备有DCH低温探针的Bruker AVIIIHD光谱仪上进行NMR实验,对于质子在500.12MHz下运行。在氘代二甲亚砜($(CD_3)_2SO$)和甲醇(CD_3OD)中进行实验,并且将各样品制备成约10mM浓度。

[0277] 表12显示实施例2的结晶游离碱半水合物形式1的特性。表13显示实施例3的结晶单丁二酸盐形式1的特性。

[0278] 表12

[0279]

结晶游离碱半水合物形式 1 (实施例 2)				
溶解度	浓度(µg/mL)	最终 pH	纯度%	最终 XRD
pH 3	2044.85	4.51	98.34	游离碱形式 1
pH 4	301.79	5.12	90.87	游离碱形式 1
pH 5	58.53	6.06	82.5	游离碱形式 1
pH 6	32.25	6.95	89.75	游离碱形式 1
pH 7	10.05	8.19	91.26	游离碱形式 1
pH 8	0.56	9.13	36.92	不充足的固体
pH 9	0.26	10.2	16.42	不充足的固体
pH 10	0.45	3.94	32.48	不充足的固体
水	0.24	9.19	15.04	另外的峰值在 8°处
结晶度				
结晶度 XRD/PLM	高度结晶的			
研磨评估	在形式或结晶度上无变化			
稳定性				
化学稳定性(70°C/75% RH)		纯度降低 0.09%		
化学稳定性(70°C/5% RH)		纯度降低 0.25%		
物理稳定性(70°C/75% RH)		无变化		
物理稳定性(70°C/75% RH)		无变化		
光稳定性(2xICH)		两种光降解: RRT 1.16~0.36%, RRT 1.62~0.32%		
热分析及吸湿性				
熔化开始(°C)		约 147		
脱水开始(°C)		约 72		
分解开始(°C)		约 240		
重量损失		150°C时, 约 2.4%		
吸湿性		在 25°C时无吸湿性, 并且在暴露于 90%相对湿度时展现出小于~0.3%的重量增加		

[0280] 表13

[0281]

结晶单丁二酸盐形式 1 (实施例 3)				
溶解度	浓度($\mu\text{g/mL}$)	最终 pH	纯度%	最终 XRD
pH 3	4215.04	4.5	97.76	丁二酸盐形式 1
pH 4	6398.51	4.16	99.29	不充足的固体
pH 5	4439.44	5.08	99.11	丁二酸盐形式 1

[0282]

pH 6	597.17	5.37	97.34	游离碱形式 1
pH 7	17.11	6.81	90.52	不充足的固体
pH 8	2.66	7.78	64.4	游离碱形式 1
pH 9	0.18	9.01	13.1	游离碱形式 1
pH 10	0.17	9.82	10.16	游离碱形式 1
水	8177.63	5.01	98.66	丁二酸盐形式 1
结晶度				
结晶度 XRD/PLM	高度结晶的			
研磨评估	结晶度减小			
稳定性				
化学稳定性(70°C/75% RH)		纯度降低 0.19%		
化学稳定性(70°C/5% RH)		纯度降低 0.13%		
物理稳定性(70°C/75% RH)		无变化		
物理稳定性(70°C/75% RH)		无变化		
光稳定性(2xICH)		纯度降低 0.53%		
热分析及吸湿性				
熔化开始(°C)		约 194		
脱水开始(°C)		N/A		
分解开始(°C)		约 180		
重量损失		2%		
吸湿性		重量增加 0.9%，不吸湿		

[0283] 表14显示(S)-1'-((2-氨基-3-氯吡啶-4-基)硫基)-1,2,4-三嗪-3-基)-1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺的盐的比较数据。

[0284] 表14

[0285]

表征		丁二酸盐 (实施例 3)	磷酸盐 (实施例 4)	磷酸盐 (实施例 5)
PXRD		高度结晶的	不良结晶的	高度结晶的
TGA/DSC		在 197.3°C下熔化/ 降解	在 100°C下熔化/ 降解	在 174°C下熔化/ 降解
PLM		双折射棒	无清晰形态的双 折射	双折射棒
NMR		单丁二酸盐	单磷酸盐	单磷酸盐
溶解度	pH 1.2 HCl (mg/mL)	> 20	> 20	> 20
	pH 4.5 乙酸钠	0.2	0.3	0.4
	Ph 6.8 磷酸盐	1.3	9.3	1.9

[0286]

(mg/mL)				
DVS		至多 70% RH 时 稍微吸湿 0.7% 重量*。 70% RH 以上时可能水合	吸湿 6.3%*	吸湿 7.6%*
表征		反丁烯二酸盐 (实施例 6)	酒石酸盐 (实施例 7)	HCl (实施例 8)
PXRD		高度结晶的	高度结晶的	不良结晶的
TGA/DSC		在 225.7°C 下熔化/ 降解	在 187°C 下熔化/ 降解	无充足的固体供 分析
PLM		具有形态的双折 射混合物	双折射板	未报告
NMR		单反丁烯二酸盐	单酒石酸盐	观测到扩大及偏 移
溶解度	pH 1.2 HCl (mg/mL)	> 20	> 20	无充足的固体供 分析
	pH 4.5 乙酸钠	0.2	0.4	无充足的固体供 分析
	Ph 6.8 磷酸盐 (mg/mL)	0.4	1.2	无充足的固体供 分析
DVS		吸湿 2.1%*	吸湿 5.8%	无充足的固体供 分析

[0287] *DVS后的PXRD分析指示无多晶型形式变化。

[0288] 实施例10

[0289] 结晶无水 (S) -1'- (6- ((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫基) -1,2,4-三嗪-3-基) -1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺单丁二酸盐形式1的药物制剂

[0290] (S) -1'- (6- ((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫基) -1,2,4-三嗪-3-基) -1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺单丁二酸盐形式1经配制以制成10mg、25mg (常见混合物50mg/g, 用于10mg和25mg片剂) 和100mg速释片剂。表15和16中提供的制剂由微晶纤维素和无水磷酸氢钙 (稀释剂)、交联聚维酮 (崩解剂) 和硬脂基反丁烯二酸钠 (润滑剂) 构成。(S) -1'- (6- ((2-氨基-3-氯吡啶-4-基) 硫基) -1,2,4-三嗪-3-基) -1,3-二氢螺[茛-2,4'-哌啶]-1-胺单丁二酸盐形式1片芯使用干法制粒制备。

[0291] 使用50mg/g活性成分的常见混合物所制备的10mg和25mg片剂的片剂组成显示于表15中, 并且100mg片剂的片剂组成显示于表16中。

[0292] 表15

[0293]

				片剂规格	
成分	组成%	参考标准	功能	10 mg	25 mg
				单位配方(mg/片剂)	
				片芯组成	
丁二酸盐形式 ¹	6.34	Pfizer	活性成分	12.674	31.686
微晶纤维素 ²	59.11	NF/Ph Eur/JP	稀释剂	118.226	295.564
磷酸氢钙	29.55	NF/Ph Eur/JP	稀释剂	59.100	147.750
交联聚维酮	3.00	NF/Ph Eur/JP	崩解剂	6.000	15.000
硬脂基反丁烯二酸钠(非牛源)	2.00	NF/Ph Eur/JP	润滑剂	4.000	10.000
片芯重量	100.00			200.000	500.000

[0294] ¹基于0.789的理论效力。量可以根据实际药物物质的效力价调整。

[0295] ²微晶纤维素的量可以根据药物物质的轻微效力变化调整,以确保片剂重量恒定。

[0296] NF = (美国) 国家处方集; Ph Eur = 欧洲药典; JP = 日本药典

[0297] 表16

[0298]

				片剂规格	
成分	组成%	参考标准	功能	100 mg	
				单位配方(mg/片剂)	
				片芯组成	
丁二酸盐形式 ¹	14.92	Pfizer	活性成分	126.743	
微晶纤维素 ²	53.38	NF/Ph Eur/JP	稀释剂	453.807	
磷酸氢钙	26.70	NF/Ph Eur/JP	稀释剂	226.950	
交联聚维酮	3.00	NF/Ph Eur/JP	崩解剂	25.500	
硬脂基反丁烯二酸钠(非牛源)	2.00	NF/Ph Eur/JP	润滑剂	17.000	
片芯重量	100.00			850.000	

[0299] ¹基于0.789的理论效力。量可以根据实际药物物质的效力调整。

[0300] ²微晶纤维素的量可以根据药物物质的轻微效力变化调整,以确保片剂重量恒定。

[0301] (S) - 1' - (6 - ((2 - 氨基 - 3 - 氯吡啶 - 4 - 基) 硫基) - 1, 2, 4 - 三嗪 - 3 - 基) - 1, 3 - 二氢螺[茛 - 2, 4' - 哌啶] - 1 - 胺单丁二酸盐形式1速释10、25和100mg片芯使用为固体口服速释片剂的分批干法制粒设计和开发的平台来制备。

[0302] 首先将稀释剂(微晶纤维素2部分中的第1部分)和崩解剂混合,接着加入活性成分并且混合。将其余的微晶纤维素(2部分中的第2部分)和活性混合物(前一步骤)穿过共磨机(co-mill)以使任何聚集体解聚。随后进行混合以实现研磨后的均匀性。用硬脂基反丁烯二

酸钠进行润滑以制备均匀的混合物。对该混合物进行干法制粒(使用辊压或冲压(slugging)),并且研磨(使用在线磨机(in-line mill)或共磨机)所获得的块。混合被研磨的颗粒以得到均匀分布的颗粒粒子。对颗粒进行润滑以获得均匀的被润滑的颗粒。最后将均匀的混合物传送至压片机以进行片芯的压制。

[0303] 本说明书中所引用的所有公开和专利申请均通过引用以其整体并入本文。

[0304] 本说明书中所引用的所有公开和专利申请均通过引用以其整体并入本文。对于本领域普通技术人员将显而易见的是,可以在不脱离所附权利要求书的精神或范围的情况下对其作出某些改变和修改。

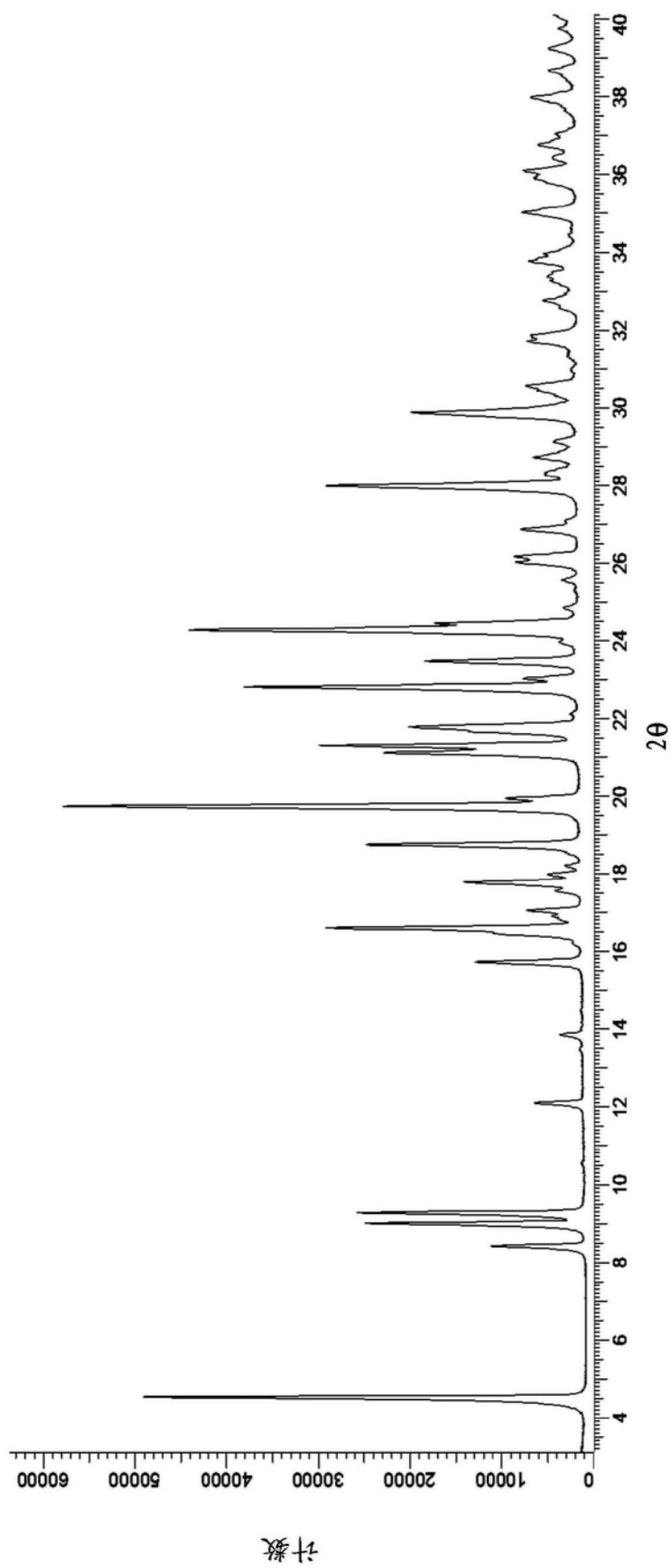


图1

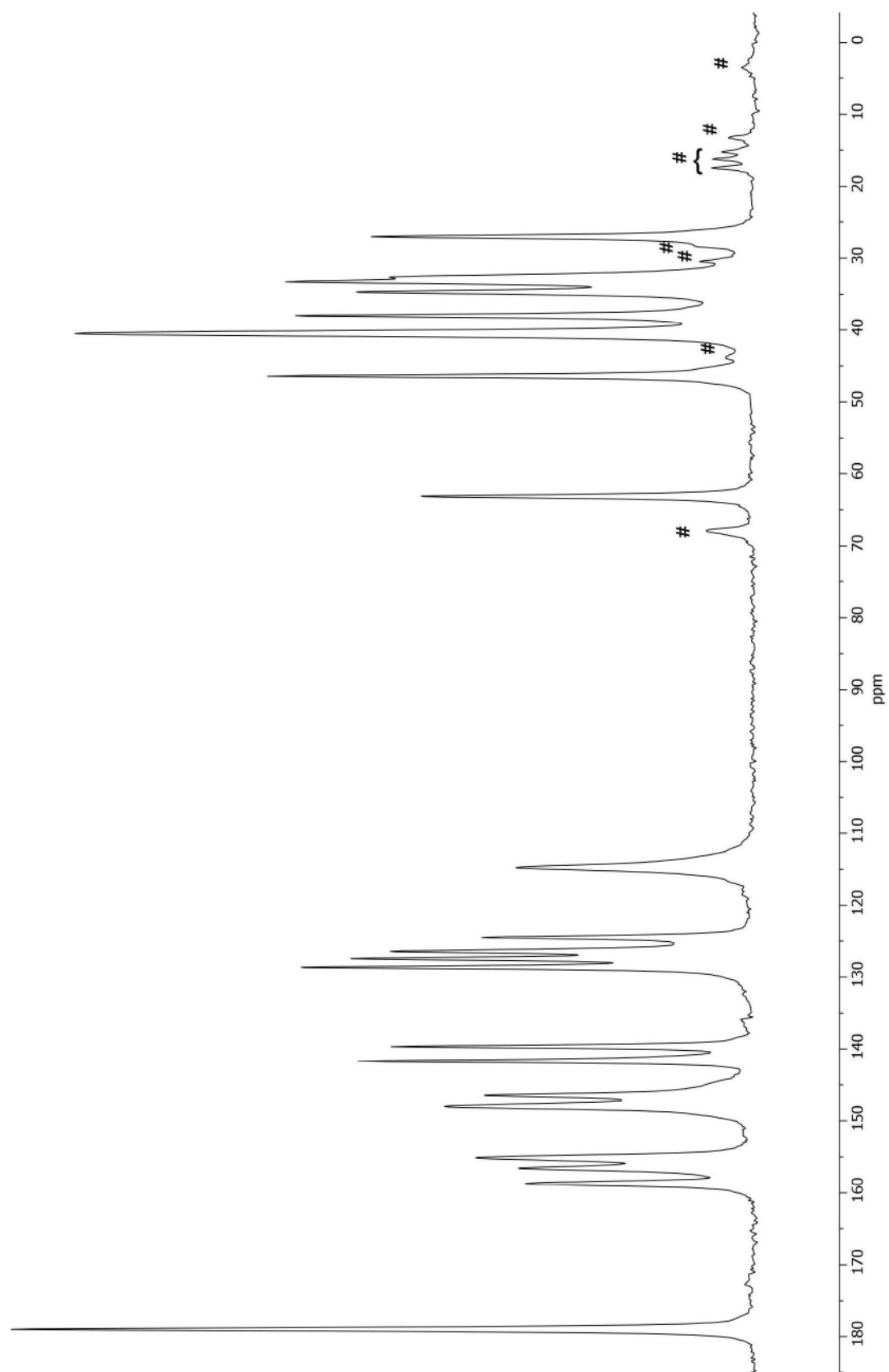


图2

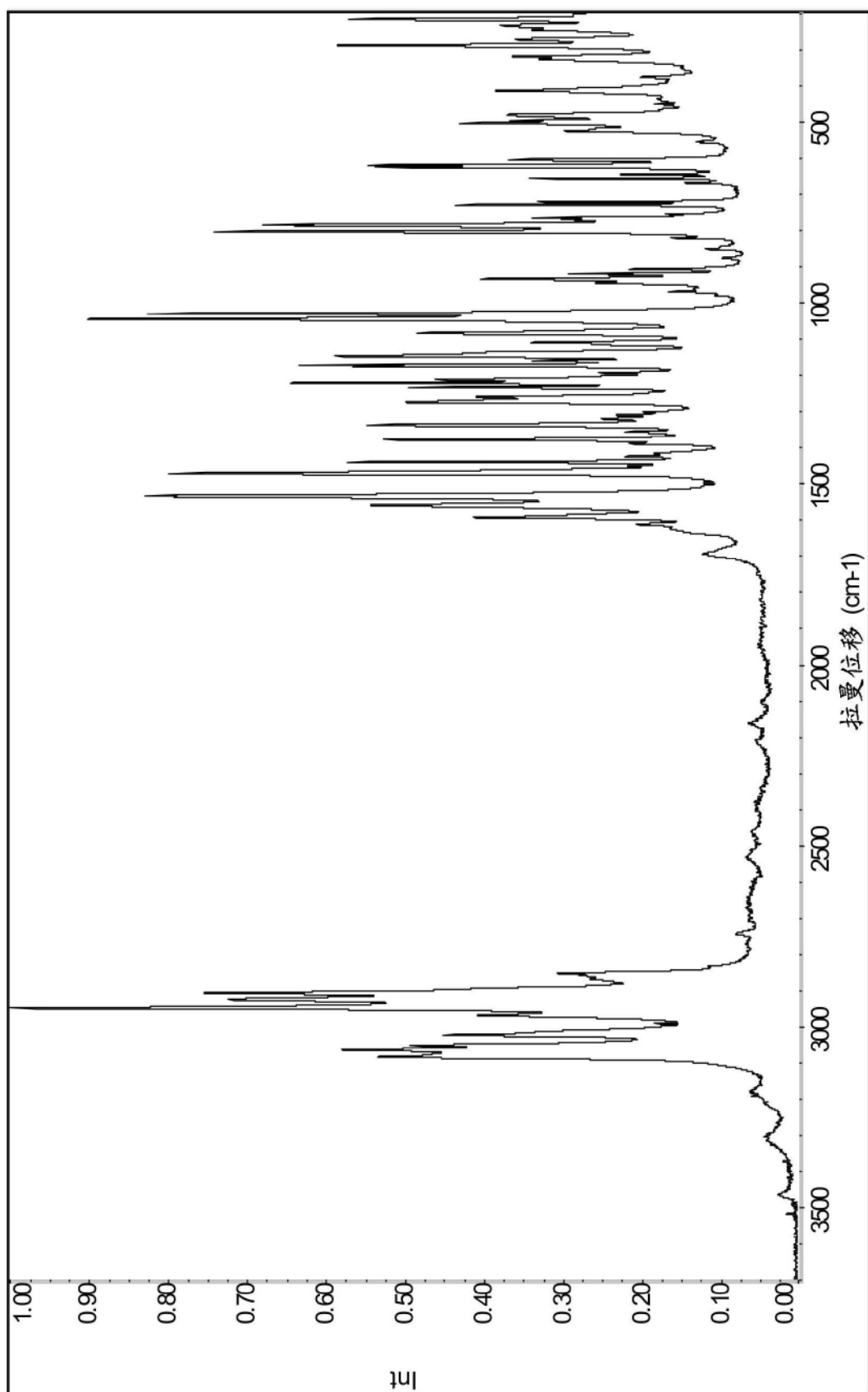


图3

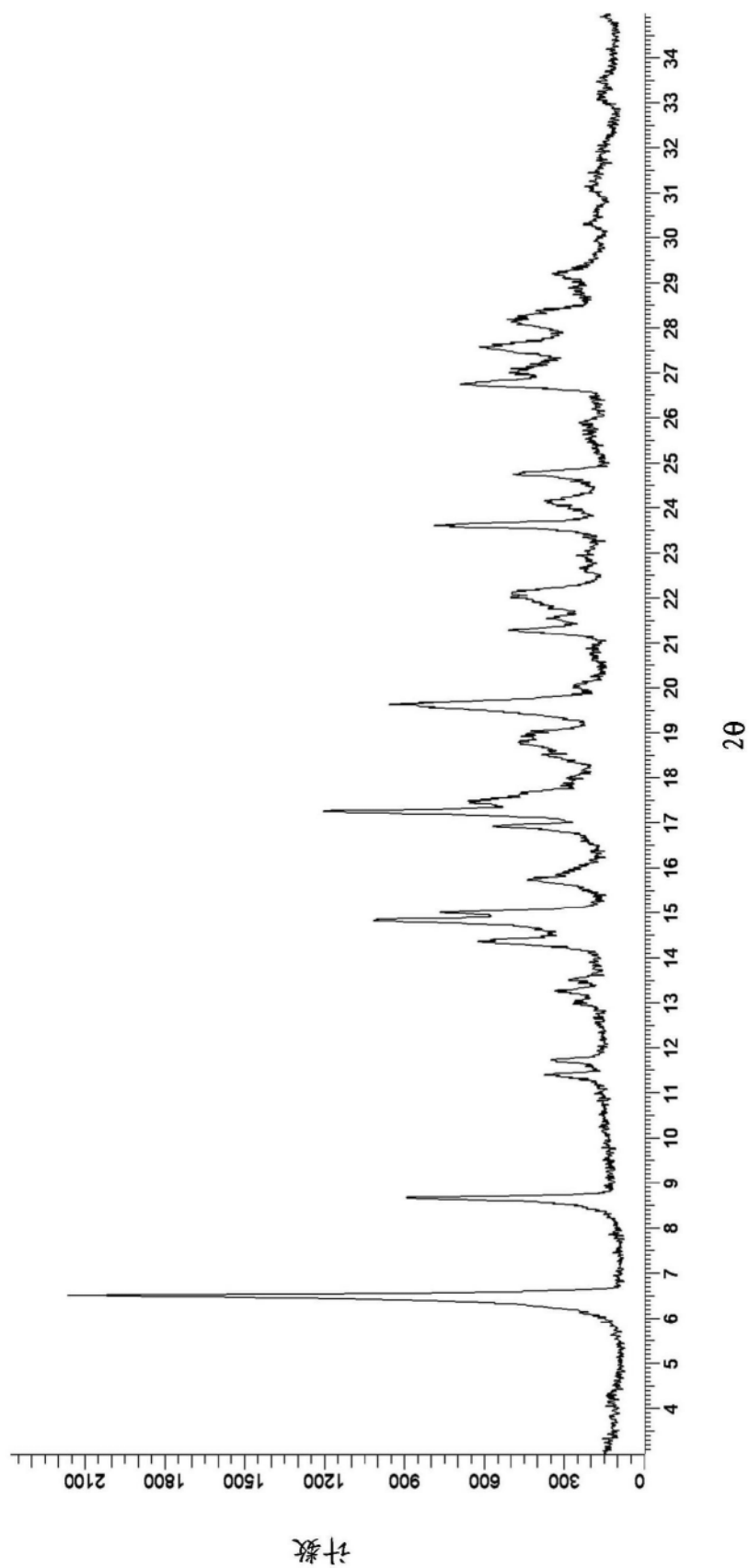


图4

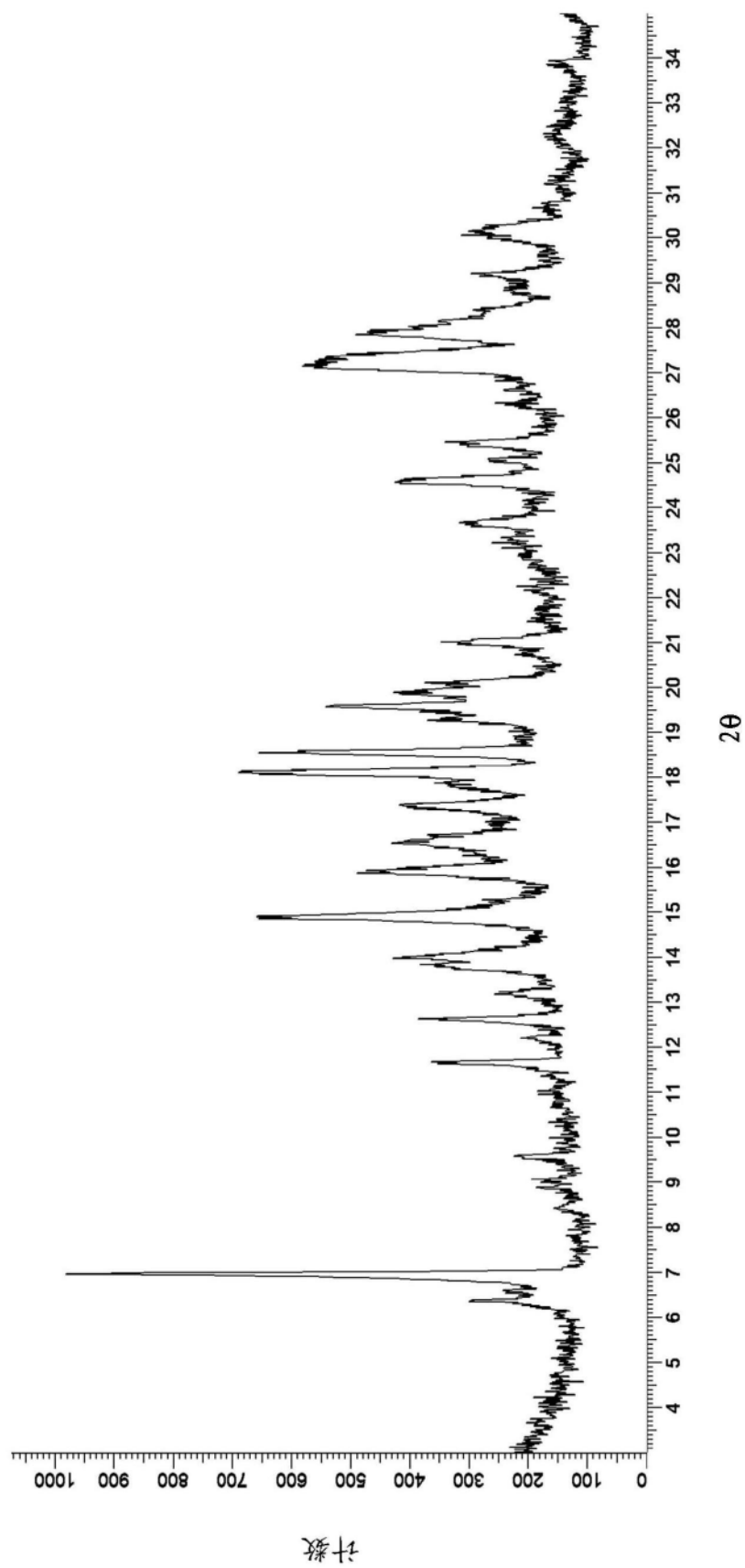


图5

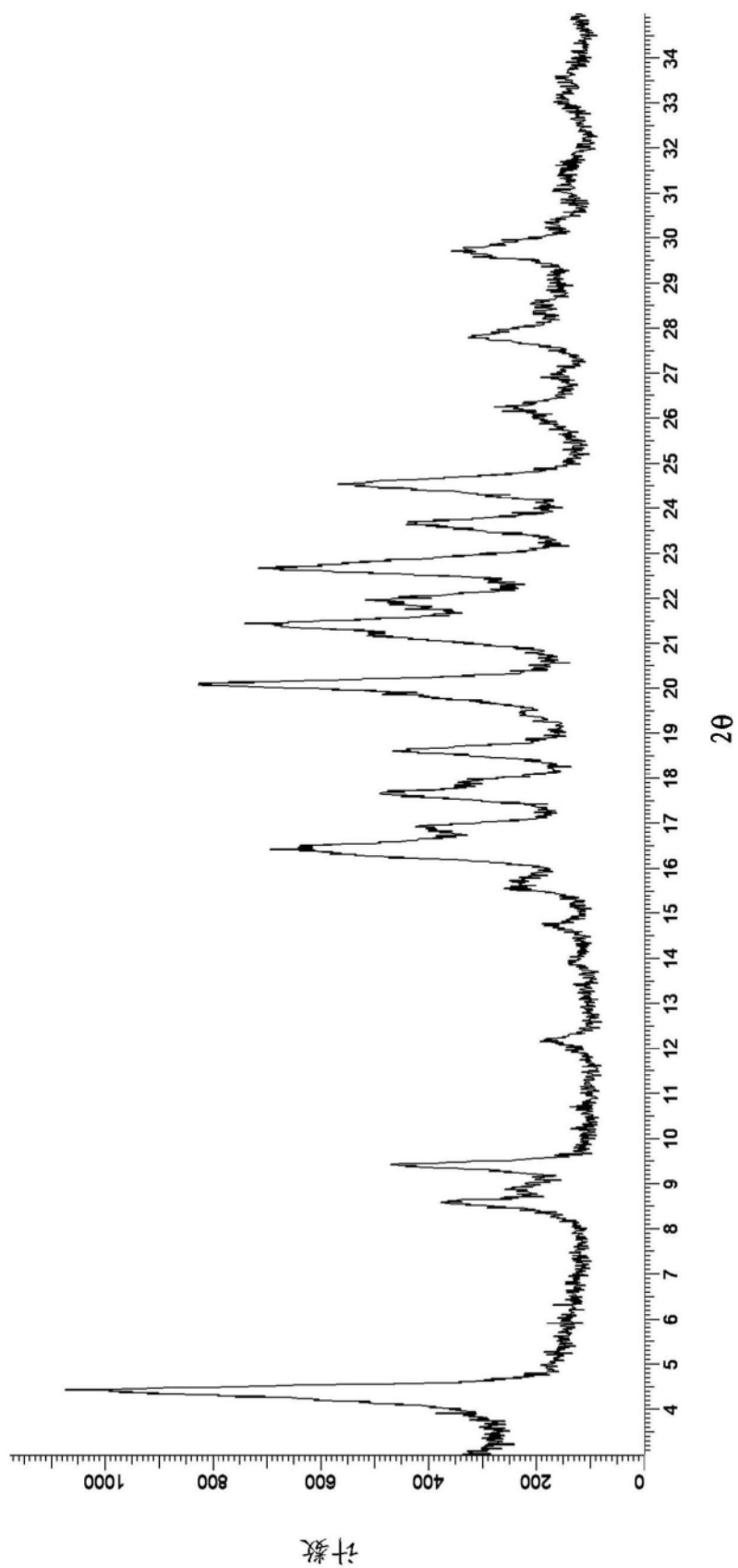


图6

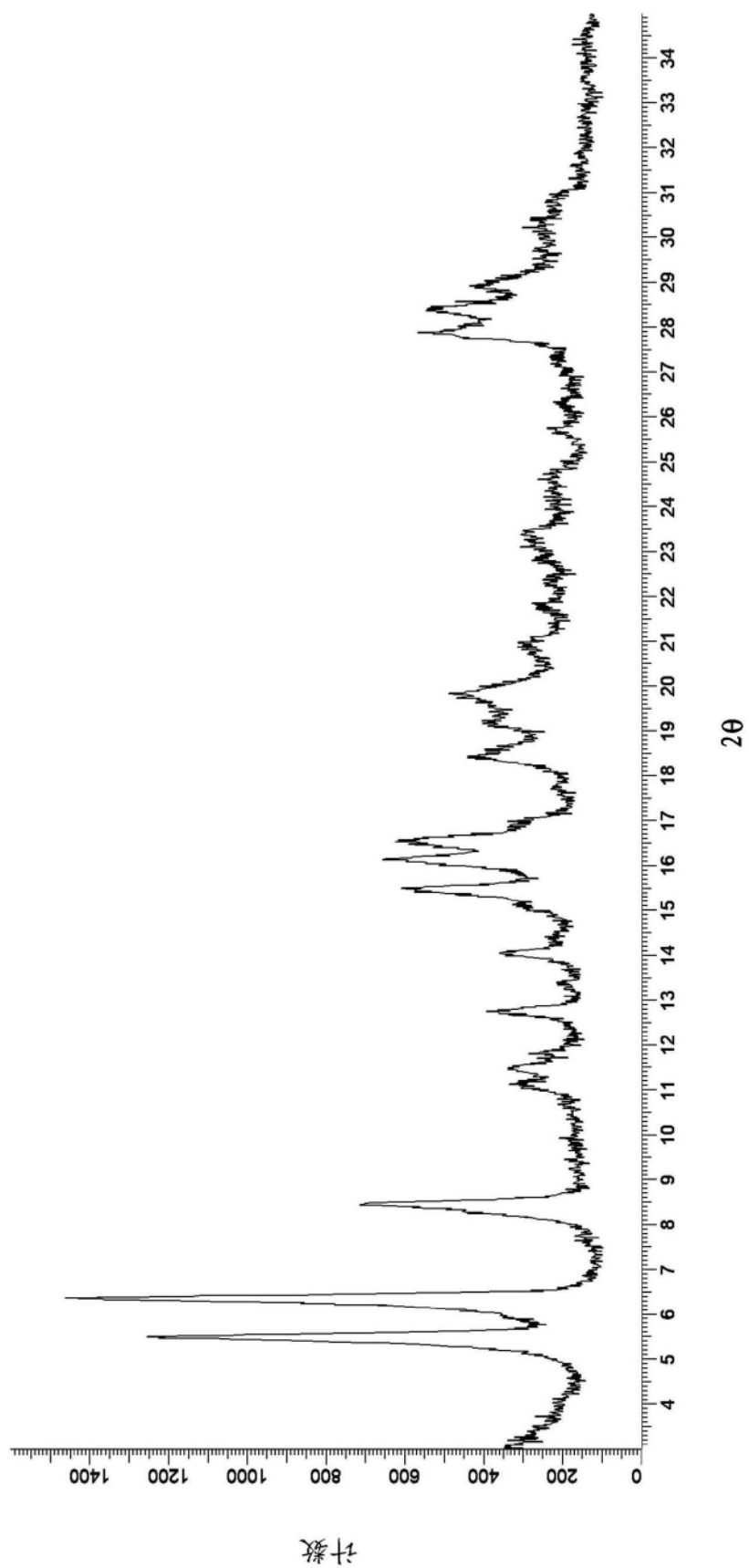


图7

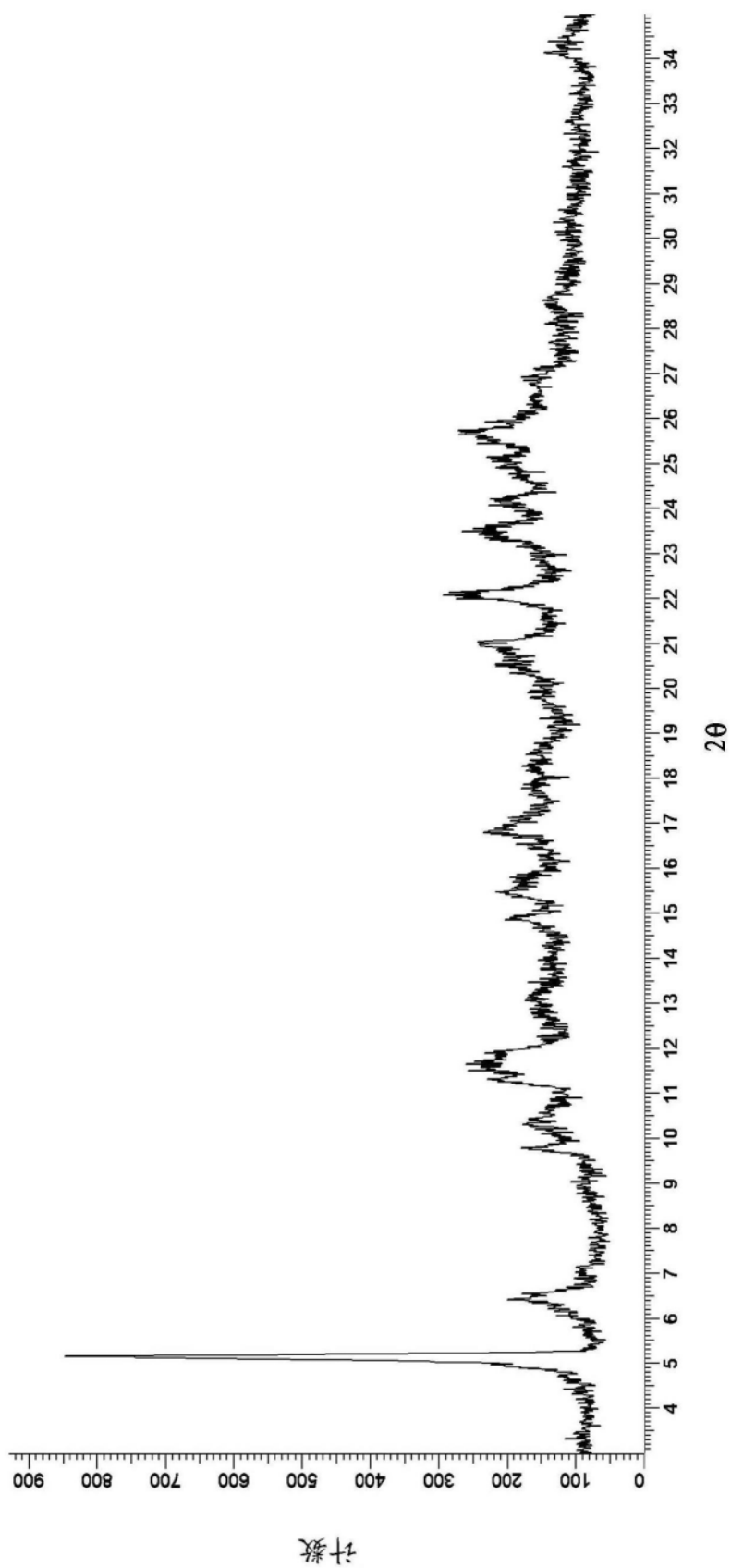


图8