



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 117551030 A

(43) 申请公布日 2024.02.13

(21) 申请号 202311301795.5

(22) 申请日 2018.11.21

(30) 优先权数据

62/589,822 2017.11.22 US

62/691,709 2018.06.29 US

(62) 分案原申请数据

201880075099.8 2018.11.21

(71) 申请人 安吉奥斯医药品有限公司

地址 美国马萨诸塞州

(72) 发明人 J·P·赛兹莫尔 郭丽婷

M·米尔梅拉比 苏叶清

(74) 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

11105

专利代理师 许斐斐

(51) Int.Cl.

C07D 215/36 (2006.01)

A61K 31/496 (2006.01)

A61P 7/00 (2006.01)

A61P 13/00 (2006.01)

A61K 9/20 (2006.01)

A61K 47/38 (2006.01)

A61K 47/26 (2006.01)

A61K 47/12 (2006.01)

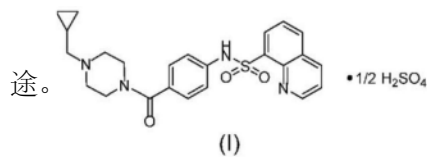
权利要求书2页 说明书63页 附图27页

(54) 发明名称

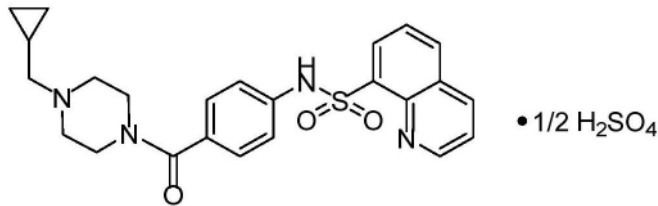
N-(4-(4-(环丙基甲基)哌嗪-1-羰基)苯基)喹啉-8-磺酰胺的结晶形式

(57) 摘要

本文提供了下式的无定形和结晶半硫酸盐形式。还提供了包含无定形和结晶半硫酸盐形式的药物组合物,其制备方法及其在治疗与丙酮酸激酶相关的病症例如丙酮酸激酶缺乏症中的用途。



1. 具有下式的化合物的结晶形式:



其中该结晶形式是:

i. 结晶形式B, 其特征在于在选自 9.9° 、 10.6° 、 12.7° 、 15.7° 、 16.9° 、 22.0° 和 22.5° 的 2θ 角($\pm 0.2^\circ$)处具有至少三个、至少四个、至少五个或至少六个x射线粉末衍射峰;或

ii. 结晶形式C, 其特征在于在 2θ 角($\pm 0.2^\circ$) 6.9° 、 10.4° 和 12.0° 处具有x射线粉末衍射峰;或

iii. 结晶形式D, 其特征在于在选自 5.8° 、 10.0° 、 10.2° 、 19.3° 、 22.9° 、 23.3° 和 25.2° 的 2θ 角($\pm 0.2^\circ$)处具有至少三个、至少四个、至少五个或至少六个x射线粉末衍射峰;或

iv. 结晶形式E, 其特征在于在选自 4.6° 、 9.0° 、 13.5° 和 22.5° 的 2θ 角($\pm 0.2^\circ$)处具有x射线粉末衍射峰;或

v. 结晶形式F, 其特征在于在选自 5.0° 、 9.9° 和 14.7° 的 2θ 角($\pm 0.2^\circ$)处具有x射线粉末衍射峰;或

vi. 结晶形式G, 其特征在于在选自 4.7° 、 9.4° 和 14.1° 的 2θ 角($\pm 0.2^\circ$)处具有x射线粉末衍射峰;或

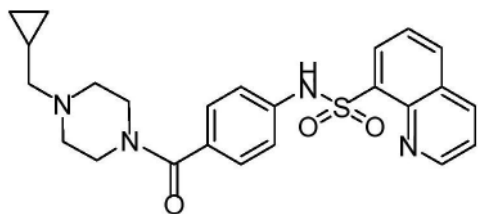
vii. 结晶形式H, 其特征在于在选自 4.6° 、 7.4° 、 9.2° 、 11.1° 、 13.5° 、 14.9° 和 22.3° 的 2θ 角($\pm 0.2^\circ$)处具有至少三个、至少四个、至少五个或至少六个x射线粉末衍射峰;或

viii. 结晶形式I, 其特征在于在 2θ 角($\pm 0.2^\circ$) 6.7° 、 9.5° 和 19.7° 处具有x射线粉末衍射峰;或

ix. 结晶形式I, 其中该结晶形式的特征在于在 2θ 角($\pm 0.2^\circ$) 6.7° 、 9.5° 和 19.7° 处具有x射线粉末衍射峰;并且在选自 9.9° 、 12.6° 、 15.8° 、 21.9° 和 22.3° 的 2θ 角($\pm 0.2^\circ$)处具有至少一个、至少两个或至少三个另外的x射线粉末衍射峰;或

x. 结晶形式J, 其特征在于在选自 12.4° 、 13.2° 、 14.6° 、 20.4° 和 23.7° 的 2θ 角($\pm 0.2^\circ$)处具有x射线粉末衍射峰。

2. 具有下式的化合物的结晶游离碱:

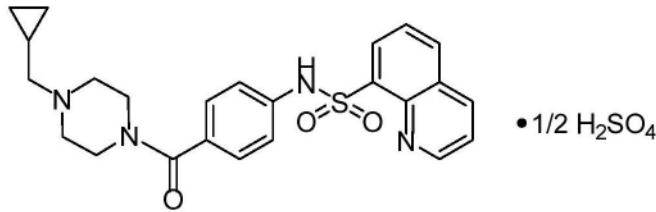


3. 权利要求2的结晶游离碱, 其中该结晶形式的特征在于在选自 6.9° 、 13.5° 、 19.8° 和 20.3° 的 2θ 角($\pm 0.2^\circ$)处具有x射线粉末衍射峰。

4. 权利要求1-3中任一项的结晶形式B、C、D、E、F、G、H、I、J或结晶游离碱, 其中该化合物是至少60重量%单晶形式、至少70重量%单晶形式、至少80重量%单晶形式、至少90重量%单晶形式、至少95重量%单晶形式或至少99重量%单晶形式。

5. 权利要求1-4中任一项的结晶形式B、C、D、E、F、G、H、I、J或结晶游离碱,其中该化合物晶型基本上不含式(I)的无定形形式。

6. 具有下式的化合物的半硫酸盐的无定形形式:



7. 权利要求6的无定形形式,其中该化合物基本上不含式(I)的结晶形式。

8. 药物组合物,其包含权利要求1-5中任一项的结晶形式B、C、D、E、F、G、H、I、J或结晶游离碱,或权利要求6或7的无定形形式;以及药学上可接受的载体。

9. 片剂组合物,其包含权利要求1-5中任一项的结晶形式B、C、D、E、F、G、H、I、J或结晶游离碱,或权利要求6或7的无定形形式;以及药学上可接受的载体。

10. 权利要求8的组合物或权利要求9的片剂组合物,其中该载体选自下列的一种或多种:微晶纤维素、甘露醇、交联羧甲基纤维素钠和硬脂富马酸钠。

11. 权利要求8或权利要求9的片剂组合物,其中该组合物包含约5.7至约5.9mg、约23.4至约23.6mg或约58.7至约58.9mg的结晶形式B、C、D、E、F、G、H、I或J;62%w/w($\pm 2\%$)微晶纤维素;23%w/w($\pm 2\%$)甘露醇、3%w/w($\pm 2\%$)交联羧甲基纤维素钠和2%w/w($\pm 2\%$)硬脂富马酸盐。

12. 权利要求1-5中任一项的结晶形式B、C、D、E、F、G、H、I、J或结晶游离碱,或权利要求6或7的无定形形式,或权利要求8-11中任一项的药物组合物,其用于治疗丙酮酸激酶缺乏症(PKD)。

13. 权利要求1-5中任一项的结晶形式B、C、D、E、F、G、H、I、J或结晶游离碱,或权利要求6或7的无定形形式,或权利要求8-11中任一项的药物组合物,其用于治疗镰状细胞病(SCD)。

14. 权利要求1-5中任一项的结晶形式B、C、D、E、F、G、H、I、J或结晶游离碱,或权利要求6或7的无定形形式,或权利要求8-11中任一项的药物组合物,其用于治疗地中海贫血(例如 α -地中海贫血、 β -地中海贫血、非输血依赖型地中海贫血和输血依赖型地中海贫血)。

15. 权利要求1-5中任一项的结晶形式B、C、D、E、F、G、H、I、J或结晶游离碱,或权利要求6或7的无定形形式,或权利要求8-11中任一项的药物组合物,其用于治疗溶血性贫血。

16. 权利要求1-5中任一项的结晶形式B、C、D、E、F、G、H、I、J或结晶游离碱,或权利要求6或7的无定形形式,或权利要求8-11中任一项的药物组合物,其用于治疗选自遗传性球形红细胞增多症、遗传性椭圆形红细胞增多症、无 β 脂蛋白血症、Bassen-Kornzweig综合征和阵发性睡眠性血红蛋白尿症的疾病。

17. 权利要求1-5中任一项的结晶形式B、C、D、E、F、G、H、I、J或结晶游离碱,或权利要求6或7的无定形形式,或权利要求8-11中任一项的药物组合物,其用于增加受试者中血红蛋白量。

N-(4-(4-(环丙基甲基)哌嗪-1-羰基)苯基)喹啉-8-磺酰胺的 结晶形式

[0001] 本申请是申请日为2018年11月21日,申请号为201880075099.8(PCT申请号为PCT/US2018/062197),发明名称为:“N-(4-(4-(环丙基甲基)哌嗪-1-羰基)苯基)喹啉-8-磺酰胺的结晶形式”的中国发明专利申请的分案申请。

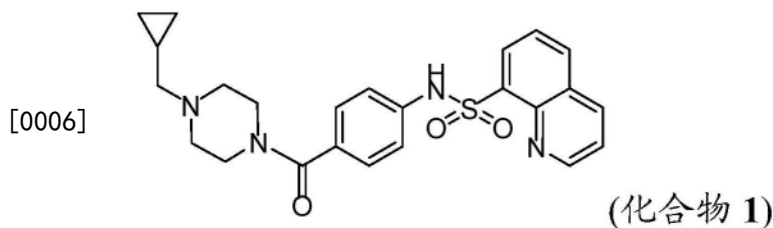
[0002] 相关申请

[0003] 本申请要求2017年11月22日提交的美国临时申请号62/589,822和2018年6月29日提交的美国临时申请号62/691,709的优先权,其每个以其整体并入本文。

背景技术

[0004] 丙酮酸激酶缺乏症(PKD)是由因PKLR基因隐性突变所致的丙酮酸激酶R(PKR)酶缺乏症引起的红细胞疾病(Wijk等人Human Mutation,2008,30(3)446-453)。PKR激活剂可有益于治疗PKD、地中海贫血(例如, β -地中海贫血)、无 β 脂蛋白血症或Bassen-Kornzweig综合征、镰状细胞病、阵发性睡眠性血红蛋白尿症、贫血(例如,先天性贫血(例如,酶病)、溶血性贫血(例如,遗传性和/或先天性溶血性贫血、获得性溶血性贫血、由磷酸甘油酸激酶缺乏症引起的慢性溶血性贫血、慢性病性贫血、非球形红细胞溶血性贫血或遗传性球形红细胞增多症)。PKD的治疗是支持性的,包括输血、脾切除术、以解决铁超负荷的螯合疗法和/或其他疾病相关的发病率的干预措施。但是,目前尚无批准的药物可治疗PKD的潜在病因,因此无法治疗终生溶血性贫血的病因。

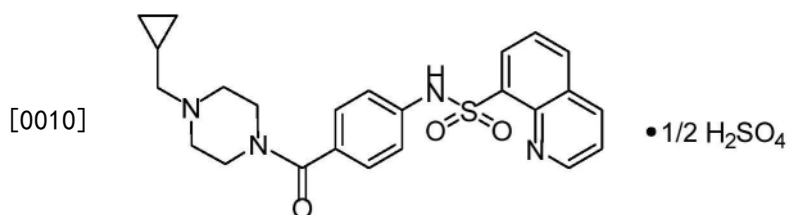
[0005] N-(4-(4-(环丙基甲基)哌嗪-1-羰基)苯基)喹啉-8-磺酰胺,在本文中称为化合物1,是丙酮酸激酶(PKR)的红细胞亚型的变构激活剂。参见例如WO 2011/002817和WO 2016/201227,其内容通过引用并入本文。



[0007] 化合物1被开发用于治疗PKD,目前正在2期临床试验中进行研究。参见例如美国临床试验标识符NCT02476916。考虑到其治疗益处,需要开发化合物1的替代形式,以促进分离、制备和制剂开发以及增强储存稳定性。

[0008] 发明概述

[0009] 本文提供具有下式的化合物的无定形和结晶的半硫酸盐形式。



[0011] 本文还提供了包含无定形和结晶的半硫酸盐形式的药物组合物,它们的制备方法及其在治疗与丙酮酸激酶相关的病症例如PKD中的用途。

附图说明

[0012] 图1描绘了结晶半硫酸盐形式A的X射线粉末衍射图 (XRPD)。

[0013] 图2描绘了结晶半硫酸盐形式A的热重分析 (TGA) 热谱图和差示扫描量热法 (DSC) 热谱图的组合。

[0014] 图3描绘了结晶半硫酸盐形式A的差示扫描量热法 (DSC) 热谱图。

[0015] 图4描绘了结晶半硫酸盐形式A的动态蒸气吸附 (DVS) 等温线。

[0016] 图5 (i) 描绘了结晶半硫酸盐形式A以及暴露于11%、48%和75%的相对湿度和40°C下两周后的X射线粉末衍射图 (XRPD) 覆盖图。在这三个湿度条件下进行了两周的测试后, XRPD保持不变。图5 (ii) 描绘了结晶半硫酸盐形式A、以及在室温和50°C下暴露于五氧化二磷 (P_2O_5) 颗粒中1周、以及在小瓶中保持在环境温度下24小时的XRPD覆盖图。观察到在室温下一周后XRPD图没有变化,但是在50°C下一些峰略有偏移。然而,在暴露于环境温度24小时后,这些峰移回到原始位置,表明这些变化是可逆的。

[0017] 图6描绘了在MeOH:EtOH (3:7) 中获得的结晶半硫酸盐形式B的X射线粉末衍射图 (XRPD)。

[0018] 图7 (i) 描绘了结晶半硫酸盐形式B的热重分析 (TGA) 热谱图和差示扫描量热法 (DSC) 热谱图的组合。图7 (ii) 描绘了在动态蒸气吸附 (DVS) 之前和之后的结晶半硫酸盐形式B的XRPD。在DVS之后,形式B转化为不同的形式K。

[0019] 图8描绘了结晶半硫酸盐形式D的X射线粉末衍射图 (XRPD)。

[0020] 图9描绘了结晶半硫酸盐形式D的热重分析 (TGA) 热谱图和差示扫描量热法 (DSC) 热谱图。

[0021] 图10描绘了在动态蒸气吸附 (DVS) 之前和之后的结晶半硫酸盐形式D的X射线粉末衍射图 (XRPD)。

[0022] 图11描绘了结晶半硫酸盐形式E的X射线粉末衍射图 (XRPD)。

[0023] 图12描绘了结晶半硫酸盐形式F的X射线粉末衍射图 (XRPD)。

[0024] 图13描绘了结晶半硫酸盐形式F的热重分析 (TGA) 热谱图和差示扫描量热法 (DSC) 热谱图。

[0025] 图14描绘了结晶半硫酸盐形式G的X射线粉末衍射图 (XRPD)。

[0026] 图15描绘了结晶半硫酸盐形式G的热重分析 (TGA) 热谱图和差示扫描量热法 (DSC) 热谱图。

[0027] 图16描绘了结晶半硫酸盐形式H的X射线粉末衍射图 (XRPD)。

[0028] 图17描绘了结晶半硫酸盐形式I的X射线粉末衍射图 (XRPD)。

[0029] 图18描绘了结晶半硫酸盐形式I的热重分析 (TGA) 热谱图和差示扫描量热法 (DSC) 热谱图。

[0030] 图19描绘了结晶半硫酸盐形式J的X射线粉末衍射图 (XRPD)。

[0031] 图20描绘了化合物1的无定形半硫酸盐形式的X射线粉末衍射图 (XRPD)。

[0032] 图21描绘了在真空烘箱中于50°C干燥过夜的化合物1的无定形半硫酸盐的热重分

析 (TGA) 热谱图和差示扫描量热法 (DSC) 热谱图。

[0033] 图22描绘了在SD大鼠 (N=6) 中以200mg/kg PO给药不同形式后的结晶形式A的平均血浆浓度-时间曲线。结晶形式A的剂量是根据相当于200mg/kg化合物1的剂量计算的。

[0034] 图23描绘了化合物1的无定形游离碱形式的X射线粉末衍射图 (XRPD)。

[0035] 图24描绘了化合物1的无定形游离碱形式的TGA和DSC热谱图。

[0036] 图25描绘了化合物1的结晶游离碱形式的X射线粉末衍射图 (XRPD)。

[0037] 发明详述

[0038] 定义

[0039] 当单独使用时,术语“形式A”、“形式B”、“形式C”、“形式D”、“形式E”、“形式F”、“形式G”、“形式H”、“形式I”和“形式J”分别指化合物1的结晶半硫酸盐形式A、B、C、D、E、F、G、H、I和J。术语“形式A”、“结晶形式A”和“化合物1的结晶半硫酸盐形式A”可互换使用。类似地,“形式B”、“结晶形式B”和“化合物1的结晶半硫酸盐形式B”可互换使用。类似地,“形式C”、“结晶形式C”和“化合物1的结晶半硫酸盐形式C”可互换使用。类似地,“形式D”、“结晶形式D”和“化合物1的结晶半硫酸盐形式D”可互换使用。类似地,“形式E”、“结晶形式E”和“化合物1的结晶半硫酸盐形式E”可互换使用。类似地,“形式F”、“结晶形式F”和“化合物1的结晶半硫酸盐形式F”可互换使用。类似地,“形式G”、“结晶形式G”和“化合物1的结晶半硫酸盐形式G”可互换使用。类似地,“形式H”、“结晶形式H”和“化合物1的结晶半硫酸盐形式H”可互换使用。类似地,“形式I”、“结晶形式I”和“化合物1的结晶半硫酸盐形式I”可互换使用。类似地,“形式J”和“结晶形式J”、“化合物1的结晶半硫酸盐形式J”可互换使用。

[0040] “模式 (pattern) A”、“模式B”、“模式C”、“模式D”、“模式E”、“模式F”、“模式G”、“模式H”、“模式I”和“模式J”分别指结晶半硫酸盐形式A、B、C、D、E、F、G、H、I和J的X射线粉末衍射图 (XRPD)。

[0041] 术语“结晶游离碱”、“化合物1的游离碱结晶形式”、“化合物1的结晶游离碱形式”和“化合物1的结晶游离碱”可互换使用,并且表示化合物1的游离碱或非盐形式,其以结晶形式存在。

[0042] 如本文所用,“无水”是指所引用的结晶形式在晶格中基本上没有水,例如,如通过卡尔·费歇尔分析法所确定的小于0.1重量%。

[0043] 术语“无定形”是指以非晶态或非晶型存在的固体。无定形固体是分子的无序排列,因此不具有可区分的晶格或晶胞,因此没有可定义的长程有序。可以通过本领域已知的标准技术,例如通过X射线粉末衍射 (XRPD) 或差示扫描量热法 (DSC) 来确定固体的固态排序。也可以例如通过使用偏振光显微镜的双折射将无定形固体与结晶固体区分开。

[0044] 如本文所用,化学纯度是指所公开的形式不含具有不同化学结构的物质的程度。所公开的结晶形式中的化合物的化学纯度是指化合物的重量除以化合物加上具有不同化学结构的物质/杂质的重量的总和乘以100%,即重量百分比。在一个实施方案中,所公开的结晶形式的化合物的化学纯度为至少60重量%、至少70重量%、至少80重量%、至少90重量%、至少95重量%或至少99重量%。

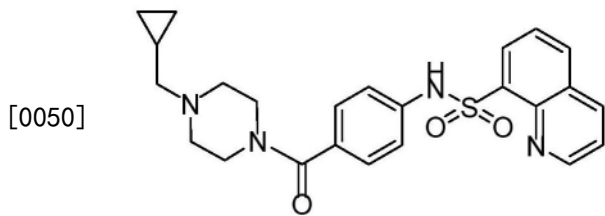
[0045] 如本文所用,“结晶”是指化合物的固体形式,其中在原子的位置上存在远距离的原子序 (long-range atomic order)。固体的结晶性质可以例如通过检查X射线粉末衍射图来确认。如果XRPD在XRPD中显示出尖锐的强度峰,则该化合物为结晶。

[0046] 术语“溶剂化物”是指结晶化合物,其中化学计量或非化学计量的溶剂或溶剂混合物被掺入晶体结构中。

[0047] 术语“水合物”是指其中化学计量或非化学计量的水结合到晶体结构中的结晶化合物。水合物是溶剂化物,其中结合到晶体结构中的溶剂是水。当对于化合物使用时,术语“无水的”是指基本上没有溶剂并入晶体结构中。

[0048] 所公开的结晶半硫酸盐的单晶形式是指N-(4-(4-(环丙基甲基)哌嗪-1-羰基)苯基)喹啉-8-磺酰胺半硫酸盐以单晶或多个晶体存在,其中每个晶体具有相同的晶形(即形式A、B、C、D、E、F、G、H、I或J)。当该晶型定义为化合物的一种特定单晶形式的指定百分比时,其余部分由无定形式和/或所指定的一种或多种特定晶型以外的晶型组成。在一个实施方案中,该结晶形式为至少60重量%单晶形式、至少70重量%单晶形式、至少80重量%单晶形式、至少90重量%单晶形式、至少95重量%单晶形式、或至少99重量%单晶形式。特定晶型的重量百分比由该特定晶型的重量除以该特定晶体的重量加上所存在的其他晶型的重量加上所存在的无定形式的重量的总和乘以100%来确定。

[0049] 如本文所用,“N-(4-(4-(环丙基甲基)哌嗪-1-羰基)苯基)喹啉-8-磺酰胺”与具有以下结构的“化合物1”、“化合物1的游离碱”可互换使用:



[0051] 对于本文所述的结晶形式,X射线粉末衍射图的2 θ 值可能因一种仪器与另一种仪器的不同而略有不同,并且还取决于样品制备的差异和批次之间的差异。因此,除非另有定义,否则本文所述的XRPD图/峰指定不应解释为是绝对的,而是可以在 ± 0.2 度范围内变化。本文提供的2 θ 值是使用Cu K α 1辐射获得的。

[0052] 例如,对于本文中DSC峰,温度值可能因一种仪器与另一种仪器的不同而略有不同,并且还取决于样品制备的差异、批次之间的差异以及环境因素。因此,除非另有定义,否则本文所述的温度值不应解释为是绝对的,而是可以在 ± 5 度或 ± 2 度范围内变化。

[0053] “基本上相同的XRPD图”或“X射线粉末衍射图基本上类似于”已定义的图表示出于比较的目的,至少存在90%的所示峰。还应理解,出于比较的目的,允许峰值强度与所示的那些峰值有一些差异,例如 ± 0.2 度。

[0054] 本文所述化合物的“治疗有效量”是足以在病症的治疗中提供治疗益处或者足以延迟或最小化与病症相关的一种或多种症状的量。术语“治疗有效量”和“有效量”可互换使用。在一个方面,化合物的治疗有效量表示单独或与其他治疗剂组合的治疗剂的量,其在病症的治疗中提供了治疗益处。术语“治疗有效量”可包含改善整体治疗,减少或避免病症的症状、迹象或病因,和/或增强另一种治疗剂的治疗功效的量。在某些实施方案中,治疗有效量是足以引起野生型或突变型PKR的可测量激活的量。在某些实施方案中,治疗有效量是如下的量:其足以调节有此需要的血液中的2,3-二磷酸甘油酸(2,3-diphosphoglycerate)水平或者用于治疗丙酮酸激酶缺乏症(PKD)、溶血性贫血(例如,慢性溶血性贫血、遗传性非球形红细胞性贫血)、镰状细胞病、地中海贫血(例如, α -地中海贫血、 β -地中海贫血或非输血

依赖型地中海贫血)、遗传性球形红细胞增多症、遗传性椭圆形红细胞增多症、无 β 脂蛋白血症(或Bassen-Kornzweig综合征)、阵发性睡眠性血红蛋白尿症、获得性溶血性贫血(例如,先天性贫血(例如,酶病))、慢性病性贫血或用于治疗与2,3-二磷酸甘油酸水平升高相关的疾病或病症(例如,肝病)。在某些实施方案中,治疗有效量是如下的量:其足以引起野生型或突变型PKR的可测量的激活,并且用于调节有此需要的血液中的2,3-二磷酸甘油酸水平或用于治疗丙酮酸激酶缺乏症(PKD)、溶血性贫血(例如,慢性溶血性贫血、遗传性非球形红细胞性贫血)、镰状细胞病、地中海贫血(例如, α -地中海贫血、 β -地中海贫血或非输血依赖型地中海贫血)、遗传性球形红细胞增多症、遗传性椭圆形红细胞增多症、无 β 脂蛋白血症(或Bassen-Kornzweig综合征)、阵发性睡眠性血红蛋白尿症、获得性溶血性贫血(例如,先天性贫血(例如,酶病))、慢性病性贫血或治疗与2,3-二磷酸甘油酸水平升高相关的疾病或病症(例如,肝病)。在一个方面,该治疗有效量是产生如下的受试者血红蛋白反应所需的量:Hb浓度相对于基线增加 $\geq 1.0\text{g/dL}$ (诸如, $\geq 1.5\text{g/dL}$ 或 $\geq 2.0\text{g/dL}$)。在一个方面,受试者的基线Hb浓度是在用本文所述化合物治疗之前所有可得Hb浓度的平均值。在某些方面,该治疗有效量是减轻患者输液负担所需的量。在一个方面,该治疗有效量是 $0.01\text{-}100\text{mg/kg}$ 体重/天的所提供的化合物,诸如,例如, $0.1\text{-}100\text{mg/kg}$ 体重/天。

[0055] 如本文所用,减轻输液负担表示在至少5周治疗中输注的RBC单位数量减少至少20%。在某些实施方案中,减轻输液负担是在至少5周治疗中输注的RBC单位数量减少 $\geq 33\%$ 。在某些实施方案中,减轻输液负担是在至少10周(例如,至少20周或至少24周)治疗中输注的RBC单位数量减少 $\geq 33\%$ 。

[0056] 如本文所用,镰状细胞病(SCD)、血红蛋白SS病和镰状细胞贫血可互换使用。镰状细胞病(SCD)是由镰状血红蛋白(HbS)的存在所引起的遗传性血液病。在某些实施方案中,患SCD的受试者在其红细胞中具有被称为血红蛋白S或镰状血红蛋白的异常血红蛋白。在某些实施方案中,患SCD的人们具有至少一个导致身体产生血红蛋白S的异常基因。在某些实施方案中,患SCD的人们具有两个血红蛋白S基因、血红蛋白SS。

[0057] 地中海贫血是一种遗传血液病症,其中由于1个或多个球蛋白基因中的致病变异导致 α -与 β -球蛋白产生的正常比例被破坏。在某些实施方案中, α -珠蛋白聚集体(如在 β -地中海贫血中发现的)容易沉淀,这破坏了红细胞(RBC)膜并导致氧化应激。在某些实施方案中, β -珠蛋白四聚体(Hb H,在 α -地中海贫血中发现的)通常更可溶,但是仍然不稳定并且可以形成沉淀。球蛋白链合成的不平衡会导致血红蛋白浓度的净降低,并对红细胞前体的存活产生巨大影响,最终导致它们在骨髓和髓外部位的过早破坏(Cappellini等人,2014)。在某些实施方案中,该病症导致大量红细胞被破坏,这引起贫血。在某些实施方案中,该地中海贫血是 α 型地中海贫血。在某些实施方案中,该地中海贫血是 β 型地中海贫血。在其他实施方案中,该地中海贫血是非输血依赖型地中海贫血。在其他实施方案中,该地中海贫血是中间型 β 地中海贫血。在其他实施方案中,该地中海贫血是Hb E β 地中海贫血。在其他实施方案中,该地中海贫血是具有1个或多个 α 基因突变的 β 地中海贫血。

[0058] 如本文所用,术语“激活剂”表示(可测量地)增加野生型丙酮酸激酶R(wt PKR)的活性或导致野生型丙酮酸激酶R(wt PKR)的活性增加到高于wt PKR的基础活性水平的水平的药剂,或者(可测量地)增加突变型丙酮酸激酶R(mPKR)的活性或导致突变型丙酮酸激酶R(mPKR)的活性增加到高于突变型PKR的基础活性水平的水平的药剂,例如,增加到野生型

PKR活性的20%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或100%的水平。

[0059] 如本文所用,术语“压积红细胞”或PRBC是指通过离心和去除大部分血浆而从全血单位制得的红细胞。在某些实施方案中,PRBC单位具有至少约95%的血细胞比容。在某些实施方案中,PRBC单位具有至少约90%的血细胞比容。在某些实施方案中,PRBC单位具有至少约80%的血细胞比容。在某些实施方案中,PRBC单位具有至少约70%的血细胞比容。在某些实施方案中,PRBC单位具有至少约60%的血细胞比容。在某些实施方案中,PRBC单位具有至少约50%的血细胞比容。在某些实施方案中,PRBC单位具有至少约40%的血细胞比容。在某些实施方案中,PRBC单位具有至少约30%的血细胞比容。在某些实施方案中,PRBC单位具有至少约20%的血细胞比容。在某些实施方案中,PRBC单位具有至少约10%的血细胞比容。

[0060] 术语“治疗(treatment, treat, and treating)”是指逆转、减轻、减少本文所述疾病或病症发展的可能性或抑制本文所述疾病或病症的进展或其一种或多种症状。在一些实施方案中,治疗可在已发展出一种或多种症状之后施用(即,治疗性治疗)。在其他实施方案中,治疗可在没有症状的情况下施用。例如,可在症状发作前对易感个体施用治疗(例如,考虑到症状史和/或根据遗传或其他易感因素),即预防性治疗。还可在已解决症状之后继续进行,以例如减少复发的可能性或延缓其复发。

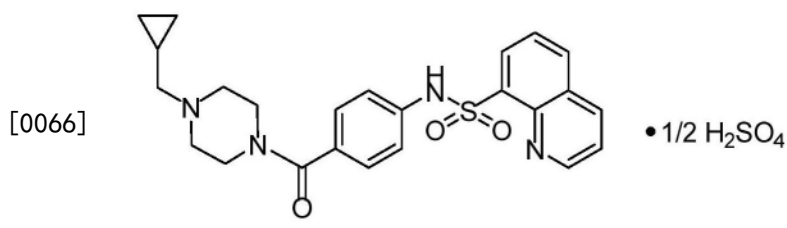
[0061] 如本文所用,术语“受试者”和“患者”可以互换使用,并且是指需要治疗的哺乳动物,例如陪伴动物(例如狗、猫等)、农场动物(例如牛、猪、马、绵羊、山羊等)和实验室动物(例如大鼠、小鼠、豚鼠等)。通常,受试者是需要治疗的人。在某些实施方案中,术语“受试者”是指需要治疗疾病的人类受试者。在某些实施方案中,术语“受试者”是指需要治疗PKD的人类受试者。在某些实施方案中,术语“受试者”是指需要治疗地中海贫血的人类受试者。在某些实施方案中,术语“受试者”是指需要治疗镰状细胞病的人类受试者。在某些实施方案中,术语“受试者”是指需要治疗疾病的18岁以上的成年人。在某些实施方案中,术语“受试者”是指需要治疗疾病的不超过18岁的人类儿童。在某些实施方案中,该受试者是需要定期输血的患者。如本文所用,定期输血是指治疗前52周内至少发生4次输血。在某些实施方案中,定期输血是指治疗前52周内至少发生5次输血。在某些实施方案中,定期输血是指治疗前52周内至少发生6次输血。在某些实施方案中,定期输血是指治疗前52周内至少发生7次输血。在某些实施方案中,患有至少一种选自镰状细胞病、地中海贫血、定期输血的PKD和非输血依赖性PKD的适应症的受试者尚未接受过sotatercept (ACE-011)、luspatercept (ACE-536)、鲁索替尼(ruxolitinib)或基因疗法。在某些实施方案中,该受试者未服用细胞色素P450(CYP)3A4抑制剂、CYP3A4的强诱导剂、P-糖蛋白(P-gp)的强抑制剂或地高辛。在某些实施方案中,该受试者未接受慢性抗凝治疗、合成代谢类固醇、造血刺激剂(例如促红细胞生成素、粒细胞集落刺激因子、血小板生成素(thrombopoietins))或对磺酰胺类过敏。

[0062] 术语“药学上可接受的载体”是指无毒的载体、辅料或媒介物,其不会不利地影响与其配制的化合物的药理活性,并且其对于人类使用也是安全的。

[0063] 如本文所用,术语“约”和“大约”在与用于表征化合物的特定晶型、无定形形式或其混合物的数值或数值范围组合使用时,是指在描述特定晶型、无定形形式或其混合物时,其数值或数值范围可偏离本领域普通技术人员认为合理的程度。

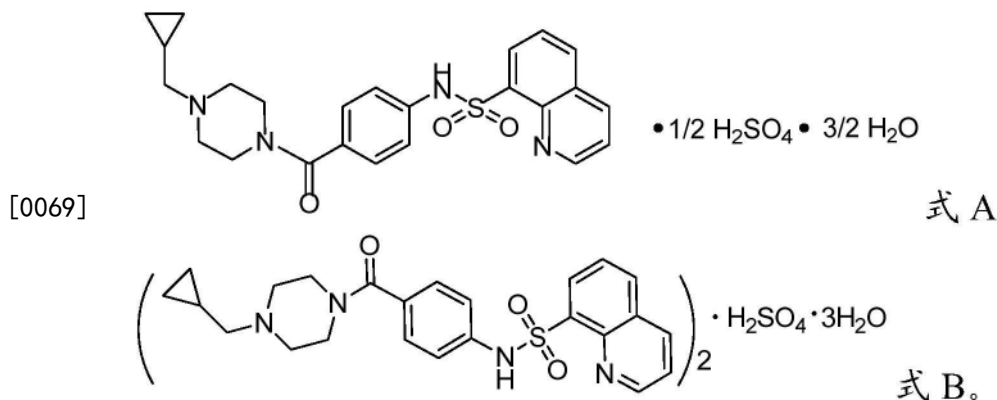
[0064] 化合物

[0065] 本文提供具有式(I)的化合物的半硫酸盐的结晶形式A:



[0067] 其中该化合物的半硫酸盐的结晶形式A为倍半水合物。

[0068] 如本文所用,结晶形式A为化合物1,N-(4-(4-(环丙基甲基)哌嗪-1-羰基)苯基)喹啉-8-磺酰胺的半硫酸盐倍半水合物。应当理解,结晶形式A可以命名为具有如下所示的式A的“1-(环丙基甲基)-4-(4-(喹啉-8-磺酰氨基)-甲酸酯)哌嗪-1-鎓半硫酸盐倍半水合物”,或者具有式B的“1-(环丙基甲基)-4-(4-(喹啉-8-磺酰氨基)-甲酸酯)哌嗪-1-鎓硫酸盐三水合物”:



[0070] 应当理解,结晶形式A可以互换地称为式A或式B。

[0071] 如本文所用,“半硫酸盐”是指在结晶形式中化合物1与H₂SO₄的化学计量比为2:1(即,结晶形式中包含每1分子H₂SO₄ 2分子化合物1)。

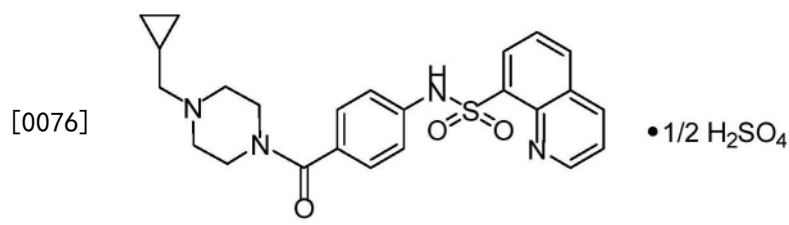
[0072] 如本文所用,“倍半水合物”或“三水合物”是指在结晶形式A中化合物1与H₂O的化学计量比为2:3(即,结晶形式A中包含每3分子水2分子化合物1)。

[0073] 在一个方面中,结晶形式A的特征在于在2θ角(±0.2°)9.9°、15.8°和22.6°处具有x射线粉末衍射峰。在某些实施方案中,结晶形式A的特征在于在2θ角(±0.2°)9.9°、15.8°和22.6°处具有x射线粉末衍射峰,并且在选自15.0°、17.1°、21.3°和21.9°的2θ角(±0.2°)处具有至少一个另外的X射线粉末衍射峰。在某些实施方案中,结晶形式A的特征在于在2θ角(±0.2°)9.9°、15.8°和22.6°处具有x射线粉末衍射峰;并且在选自15.0°、17.1°、21.3°和21.9°的2θ角(±0.2°)处具有至少两个另外的X射线粉末衍射峰。在另一种选择中,结晶形式A的特征在于在2θ角(±0.2°)9.9°、15.8°和22.6°处具有x射线粉末衍射峰;并且在选自15.0°、17.1°、21.3°和21.9°的2θ角(±0.2°)处具有至少三个另外的X射线粉末衍射峰。在某些实施方案中,结晶形式A的特征在于在2θ角(±0.2°)9.9°、15.0°、15.8°、17.1°、21.3°、21.9°和22.6°处具有x射线粉末衍射峰。在某些实施方案中,结晶形式A的特征在于在2θ角(±0.2°)9.9°、11.4°、15.0°、15.3°、15.8°、17.1°、17.7°、21.3°、21.9°、22.6°和23.5°处具有x射线粉末衍射峰。在某些实施方案中,结晶形式A的特征在于在2θ角(±0.2°)4.9°、9.9°、11.0°、11.4°、11.7°、12.3°、12.8°、13.6°、13.9°、14.2°、15.0°、15.3°、15.8°、17.1°、17.4°、17.7°、18.8°、19.1°、19.8°、21.3°、21.9°、22.6°、23.0°、23.2°、23.5°、

23.8°、24.1°、24.5°、25.3°、25.6°、26.1°、27.1°、28.1°和29.8°处具有x射线粉末衍射峰。在某些实施方案中,结晶形式A的特征在于X射线粉末衍射图基本上类似于图1。在另一种选择中,结晶形式A的特征在于差示扫描量热法(DSC)热谱图包含在约159°C±5°C和199°C±5°C处的吸热峰。在另一种选择中,结晶形式A的特征在于差示扫描量热法(DSC)热谱图基本上类似于图2所示的图。在另一种选择中,结晶形式A的特征在于热重分析(TGA)热谱图包含在高达180°C±2°C处具有约4.5±0.5%的重量损失。在另一种选择中,结晶形式A的特征在于热重分析(TGA)热谱图基本上类似于图2所示的图。在另一种选择中,结晶形式A的特征在于DSC基本上类似于图3所示的图。

[0074] 正如实施例中更详细讨论的,发现具有式(I)化合物的半硫酸盐的结晶形式A具有多种有利的理化性质,包括高结晶度、在多种溶剂系统(例如特别是含水)中的稳定性、相对小的粒径(例如在显微镜下小于20μm,从而有可能避免后续的微粉化)和湿度稳定性(例如至少20%的RH或至少0.2的水活度),并显示出有利的血浆浓度-时间曲线和药代动力学参数。

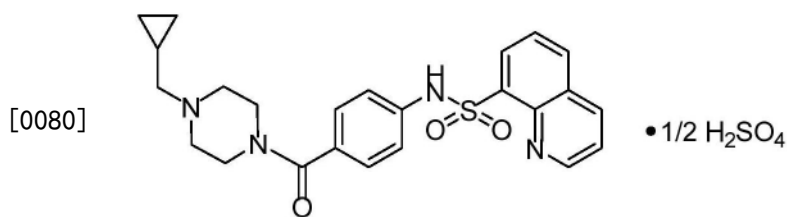
[0075] 本文还提供了具有下式的化合物的半硫酸盐的结晶形式B:



[0077] 其中该化合物的半硫酸盐的结晶形式B为乙醇溶剂化物。

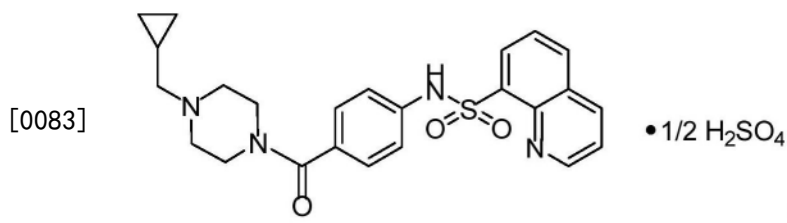
[0078] 在一个方面中,结晶形式B的特征在于在选自9.9°、10.6°、12.7°、15.7°、16.9°、22.0°和22.5°的2θ角(±0.2°)处具有至少三个X射线粉末衍射峰。或者,结晶形式B的特征在于在选自9.9°、10.6°、12.7°、15.7°、16.9°、22.0°和22.5°的2θ角(±0.2°)处具有至少四个X射线粉末衍射峰。在另一种选择中,结晶形式B的特征在于在选自9.9°、10.6°、12.7°、15.7°、16.9°、22.0°和22.5°的2θ角(±0.2°)处具有至少五个X射线粉末衍射峰。在另一种选择中,结晶形式B的特征在于在选自9.9°、10.6°、12.7°、15.7°、16.9°、22.0°和22.5°的2θ角(±0.2°)处具有至少六个X射线粉末衍射峰。在另一种选择中,结晶形式B的特征在于在2θ角(±0.2°)9.9°、10.6°、12.7°、15.7°、16.9°、22.0°和22.5°处具有x射线粉末衍射峰。在另一种选择中,结晶形式B的特征在于在2θ角(±0.2°)9.9°、10.6°、12.7°、13.9°、14.6°、15.7°、16.9°、22.0°、22.5°和27.6°处具有x射线粉末衍射峰。在另一种选择中,结晶形式B的特征在于在2θ角(±0.2°)7.0°、7.8°、9.9°、10.6°、11.7°、12.7°、13.1°、13.5°、13.9°、14.6°、14.9°、15.3°、15.7°、16.1°、16.9°、17.6°、19.3°、19.7°、20.7°、21.2°、22.0°、22.5°、23.3°、24.0°、24.7°、25.1°、25.7°、26.1°、27.2°、27.6°、28.4°、29.3°和29.8°处具有x射线粉末衍射峰。在另一种选择中,结晶形式B的特征在于X射线粉末衍射图基本上类似于图6。在另一种选择中,结晶形式B的特征在于TGA或DSC图基本上类似于图7。在另一种选择中,结晶形式B的特征在于差示扫描量热法(DSC)热谱图包含在约154±5°C处的吸热峰。在另一种选择中,结晶形式B的特征在于TGA包含在高达200°C±2°C处具有约4.3±0.5%的重量损失。

[0079] 本文还提供了具有下式的化合物的半硫酸盐的结晶形式C:



[0081] 在一个方面中, 结晶形式C的特征在于在 2θ 角($\pm 0.2^\circ$) 6.9° 、 10.4° 和 12.0° 处具有x射线粉末衍射峰。

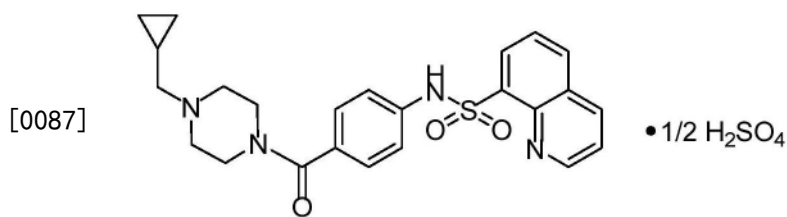
[0082] 本文还提供了具有下式的化合物的半硫酸盐的结晶形式D:



[0084] 其中该化合物的半硫酸盐的结晶形式D为无水的。

[0085] 在一个方面中, 结晶形式D的特征在于在选自 5.8° 、 10.0° 、 10.2° 、 19.3° 、 22.9° 、 23.3° 和 25.2° 的 2θ 角($\pm 0.2^\circ$)处具有至少三个x射线粉末衍射峰。或者, 结晶形式D的特征在于在选自 5.8° 、 10.0° 、 10.2° 、 19.3° 、 22.9° 、 23.3° 和 25.2° 的 2θ 角($\pm 0.2^\circ$)处具有至少四个x射线粉末衍射峰。在另一种选择中, 结晶形式D的特征在于在选自 5.8° 、 10.0° 、 10.2° 、 19.3° 、 22.9° 、 23.3° 和 25.2° 的 2θ 角($\pm 0.2^\circ$)处具有至少五个x射线粉末衍射峰。在另一种选择中, 结晶形式D的特征在于在选自 5.8° 、 10.0° 、 10.2° 、 19.3° 、 22.9° 、 23.3° 和 25.2° 的 2θ 角($\pm 0.2^\circ$)处具有至少六个x射线粉末衍射峰。在另一种选择中, 结晶形式D的特征在于在 2θ 角($\pm 0.2^\circ$) 5.8° 、 10.0° 、 10.2° 、 12.2° 、 17.3° 、 17.6° 、 19.3° 、 22.9° 、 23.3° 、 23.6° 和 25.2° 处具有x射线粉末衍射峰。在另一种选择中, 结晶形式D的特征在于在 2θ 角($\pm 0.2^\circ$) 5.8° 、 10.0° 、 10.2° 、 11.3° 、 11.5° 、 12.2° 、 13.6° 、 14.1° 、 14.7° 、 15.4° 、 16.0° 、 17.3° 、 17.6° 、 19.3° 、 20.0° 、 20.8° 、 22.1° 、 22.9° 、 23.3° 、 23.6° 、 24.4° 、 25.2° 、 26.4° 、 27.4° 、 28.3° 和 29.6° 处具有x射线粉末衍射峰。在另一种选择中, 结晶形式D的特征在于X射线粉末衍射图基本上类似于图8。在另一种选择中, 结晶形式D的特征在于差示扫描量热法(DSC)图在 $239.0^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ 处具有峰。在另一种选择中, 结晶形式D的特征在于DSC基本上类似于图9。在另一种选择中, 结晶形式D的特征在于TGA包含在高达 $220^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ 处具有约 $0.62 \pm 0.5\%$ 的重量损失。在另一种选择中, 结晶形式D的特征在于TGA基本上类似于图9。

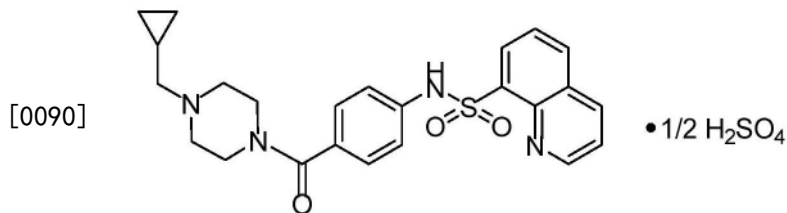
[0086] 本文还提供了具有下式的化合物的半硫酸盐的结晶形式E:



[0088] 在一个方面中, 结晶形式E的特征在于在选自 4.6° 、 9.0° 、 13.5° 和 22.5° 的 2θ 角(\pm

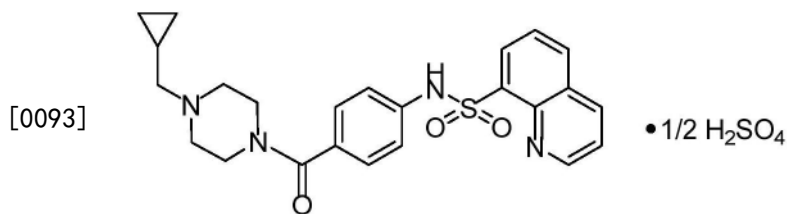
0.2°)处具有x射线粉末衍射峰。在另一个方面中,结晶形式E的特征在于在2θ角(±0.2°)4.6°、9.0°、13.5°、15.1°、18.5°、21.7°和22.5°处具有x射线粉末衍射峰。在另一种选择中,结晶形式E的特征在于在2θ角(±0.2°)4.6°、9.0°、9.9°、11.0°、13.5°、15.1°、15.8°、18.5°、19.8°、20.4°、21.7°、22.5°和28.1°处具有x射线粉末衍射峰。在另一种选择中,结晶形式E的特征在于X射线粉末衍射图基本上类似于图11。

[0089] 本文还提供了具有下式的化合物的半硫酸盐的结晶形式F:



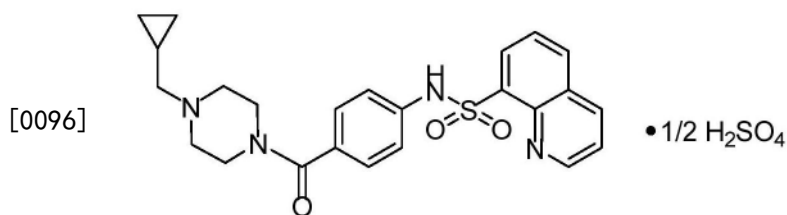
[0091] 在一个方面中,结晶形式F的特征在于在选自5.0°、9.9°和14.7°的2θ角(±0.2°)处具有x射线粉末衍射峰。或者,结晶形式F的特征在于在选自5.0°、9.9°、14.7°、16.5°、19.6°、21.6°和24.4°的2θ角(±0.2°)处具有x射线粉末衍射峰。在另一种选择中,结晶形式F的特征在于在2θ角(±0.2°)5.0°、9.9°、11.1°、14.7°、16.5°、19.6°、21.6°、22.8°和24.4°处具有x射线粉末衍射峰。在另一种选择中,结晶形式F的特征在于X射线粉末衍射图基本上类似于图12。在另一种选择中,结晶形式F的特征在于DSC图在101.0°C±2°C处具有峰。在另一种选择中,结晶形式F的特征在于TGA包含在高达182°C±2°C处具有约8.8±0.5%的重量损失。在另一种选择中,结晶形式F的特征在于TGA或DSC基本上类似于图13。

[0092] 本文还提供了具有下式的化合物的半硫酸盐的结晶形式G:



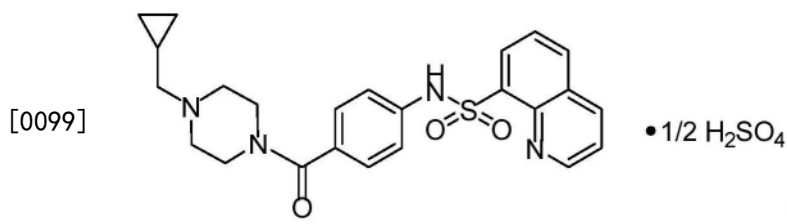
[0094] 在一个方面中,结晶形式G的特征在于在选自4.7°、9.4°和14.1°的2θ角(±0.2°)处具有x射线粉末衍射峰。或者,结晶形式G的特征在于在选自4.7°、9.4°、11.0°、14.1°、18.9°、21.2°和23.8°的2θ角(±0.2°)处具有x射线粉末衍射峰。在另一种选择中,结晶形式G的特征在于在2θ角(±0.2°)4.7°、9.4°、11.0°、13.3°、14.1°、15.9°、16.2°、18.9°、21.2°、22.8°、23.8°、26.7°和28.5°处具有x射线粉末衍射峰。在另一种选择中,结晶形式G的特征在于X射线粉末衍射图基本上类似于图14。在另一种选择中,结晶形式G的特征在于DSC图在156.7°C±2°C处具有峰。在另一种选择中,结晶形式G的特征在于TGA包含在高达176°C±2°C处具有约2.6±0.5%的重量损失。在另一种选择中,结晶形式G的特征在于TGA或DSC基本上类似于图15。

[0095] 本文还提供了具有下式的化合物的半硫酸盐的结晶形式H:



[0097] 在一个方面中, 结晶形式H的特征在于在选自4.6°、7.4°、9.2°、11.1°、13.5°、14.9°和22.3°的2θ角(±0.2°)处具有至少三个x射线粉末衍射峰。或者, 结晶形式H的特征在于在选自4.6°、7.4°、9.2°、11.1°、13.5°、14.9°和22.3°的2θ角(±0.2°)处具有至少四个x射线粉末衍射峰。在另一种选择中, 结晶形式H的特征在于在选自4.6°、7.4°、9.2°、11.1°、13.5°、14.9°和22.3°的2θ角(±0.2°)处具有至少五个x射线粉末衍射峰。在另一种选择中, 结晶形式H的特征在于在选自4.6°、7.4°、9.2°、11.1°、13.5°、14.9°和22.3°的2θ角(±0.2°)处具有至少六个x射线粉末衍射峰。在另一种选择中, 结晶形式H的特征在于在2θ角(±0.2°) 4.6°、7.4°、9.2°、11.1°、13.5°、14.9°和22.3°处具有x射线粉末衍射峰。在另一种选择中, 结晶形式H的特征在于在2θ角(±0.2°) 4.6°、5.4°、7.4°、9.2°、10.3°、11.1°、13.5°、13.8°、14.9°、16.9°、17.6°、18.4°、19.5°、20.7°、22.3°、22.9°、23.4°、24.1°、24.8°、26.5°、27.2°和29.5°处具有x射线粉末衍射峰。在另一种选择中, 结晶形式H的特征在于X射线粉末衍射图基本上类似于图16。

[0098] 本文还提供了具有下式的化合物的半硫酸盐的结晶形式I:

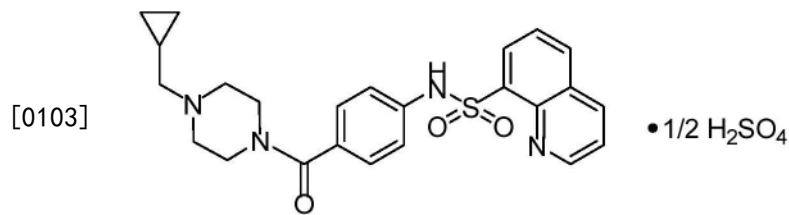


[0100] 其中该化合物的半硫酸盐的结晶形式I为乙醇溶剂化物。

[0101] 在一个方面中, 结晶形式I的特征在于在2θ角(±0.2°) 6.7°、9.5°和19.7°处具有x射线粉末衍射峰。或者, 结晶形式I的特征在于在2θ角(±0.2°) 6.7°、9.5°和19.7°处具有x射线粉末衍射峰; 并且在选自9.9°、12.6°、15.8°、21.9°和22.3°的2θ角(±0.2°)处具有至少一个另外的X射线粉末衍射峰。在另一种选择中, 结晶形式I的特征在于在2θ角(±0.2°) 6.7°、9.5°和19.7°处具有x射线粉末衍射峰; 并且在选自9.9°、12.6°、15.8°、21.9°和22.3°的2θ角(±0.2°)处具有至少两个另外的x射线粉末衍射峰。在另一种选择中, 结晶形式I的特征在于在2θ角(±0.2°) 6.7°、9.5°和19.7°处具有x射线粉末衍射峰; 并且在选自9.9°、12.6°、15.8°、21.9°和22.3°的2θ角(±0.2°)处具有至少三个另外的X射线粉末衍射峰。在另一种选择中, 结晶形式I的特征在于在2θ角(±0.2°) 6.7°、9.5°、9.9°、12.6°、15.8°、19.7°、21.9°和22.3°处具有x射线粉末衍射峰。在另一种选择中, 结晶形式I的特征在于在2θ角(±0.2°) 6.7°、7.7°、9.5°、9.9°、10.5°、11.6°、12.6°、13.4°、13.8°、14.3°、15.2°、15.8°、16.8°、17.2°、19.0°、19.7°、20.5°、20.9°、21.9°、22.3°、23.9°、24.6°、25.5°、26.0°、27.5°、28.3°和29.3°处具有x射线粉末衍射峰。在另一种选择中, 结晶形式I的特征在于X射线粉末衍射图基本上类似于图17。在另一种选择中, 结晶形式I的特征在于DSC图在134.7°C ± 2°C处具有峰。在另一种选择中, 结晶形式I的特征在于TGA包含在高达180°C ± 2

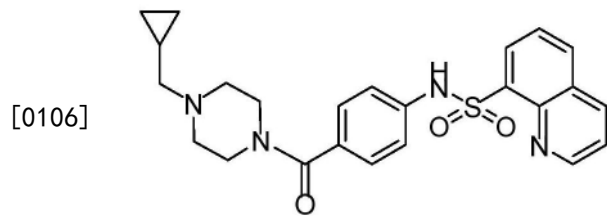
℃处具有约 $6.9 \pm 0.5\%$ 的重量损失。在另一种选择中,结晶形式I的特征在于TGA或DSC基本上类似于图18。

[0102] 本文还提供了具有下式的化合物的半硫酸盐的结晶形式J:



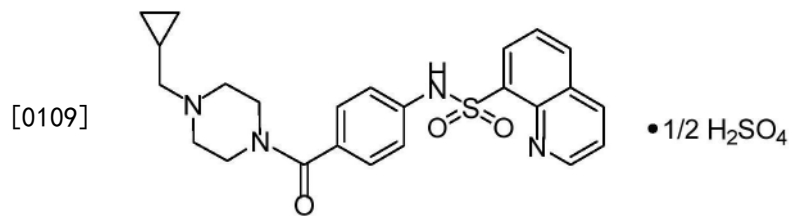
[0104] 在一个方面中,结晶形式J的特征在于在选自 12.4° 、 13.2° 、 14.6° 、 20.4° 和 23.7° 的 2θ 角($\pm 0.2^\circ$)处具有x射线粉末衍射峰。或者,结晶形式J的特征在于在选自 12.4° 、 13.2° 、 14.6° 、 15.7° 、 20.4° 、 23.3° 和 23.7° 的 2θ 角($\pm 0.2^\circ$)处具有x射线粉末衍射峰。在另一种选择中,结晶形式J的特征在于在 2θ 角($\pm 0.2^\circ$) 12.4° 、 13.2° 、 14.6° 、 15.7° 、 20.4° 、 22.0° 、 23.3° 、 23.7° 和 28.0° 处具有x射线粉末衍射峰。在另一种选择中,结晶形式J的特征在于X射线粉末衍射图基本上类似于图19。

[0105] 本文还提供了具有下式的化合物1的游离碱结晶形式:



[0107] 在一个方面中,该化合物1的游离碱结晶形式的特征在于在选自 6.9° 、 13.5° 、 19.8° 和 20.3° 的 2θ 角($\pm 0.2^\circ$)处具有x射线粉末衍射峰。或者,该化合物1的游离碱结晶形式的特征在于在选自 6.9° 、 13.5° 、 19.8° 、 20.3° 和 25.7° 的 2θ 角($\pm 0.2^\circ$)处具有x射线粉末衍射峰。在另一种选择中,该化合物1的游离碱结晶形式的特征在于在 2θ 角($\pm 0.2^\circ$) 6.9° 、 13.5° 、 15.7° 、 15.9° 、 19.8° 、 20.3° 、 23.6° 和 25.7° 处具有x射线粉末衍射峰。在另一种选择中,该化合物1的游离碱结晶形式的特征在于X射线粉末衍射图基本上类似于图25。

[0108] 本文还提供了具有下式的化合物的半硫酸盐的无定形式:



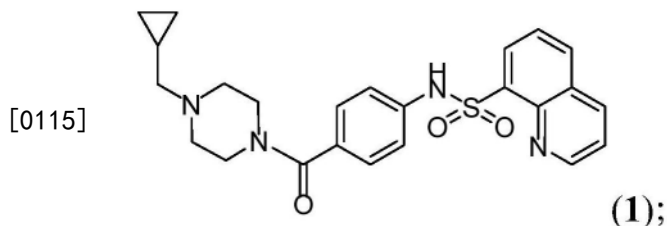
[0110] 在一个方面中,本文所述的化合物为至少60重量%单晶形式,至少70重量%单晶形式,至少80重量%单晶形式,至少90重量%单晶形式,至少95重量%单晶形式或至少99重量%单晶形式。

[0111] 在一个方面中,本文所述的化合物具有至少60重量%,至少70重量%,至少80重量%,至少90重量%,至少95重量%或至少99重量%的化学纯度。

[0112] 在一个方面中,本文所述的化合物基本上不含无定形式,即存在少于10%的无定形式,例如存在少于5%、少于3%、少于2%或少于1%的无定形式。

[0113] 还提供了制备所公开的结晶形式和无定形形式的方法。

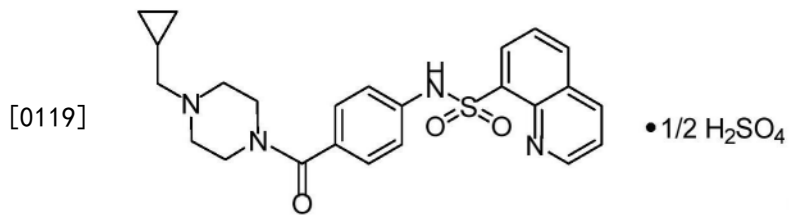
[0114] 在一个方面中,本文提供了形成结晶形式A的方法,该方法包括使化合物1与 H_2SO_4 在醇溶液中反应:



[0116] 在一个方面中,式1化合物与 H_2SO_4 的摩尔比为约2:1。在另一个方面中,该醇溶液还包含水。在一个方面中,该形成上述结晶形式A的方法还包括以下步骤:在与 H_2SO_4 反应之后,添加足够量的水以使结晶形式沉淀。在一个方面中,该醇是甲醇或乙醇。在另一个方面中,该溶液还包含芳族溶剂。在另一个方面中,该芳族溶剂是甲苯。

[0117] 在一个替代方案中,通过使化合物1与 H_2SO_4 在包含丙酮和水的溶液中反应来制备结晶形式A。在一个方面中,该溶剂是丙酮:水(9:1/v:v)。

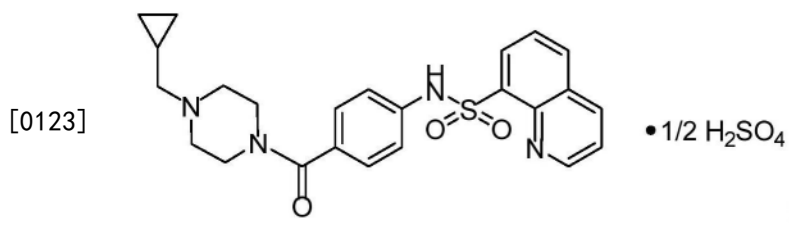
[0118] 还提供了形成具有下式的化合物的半硫酸盐的方法:



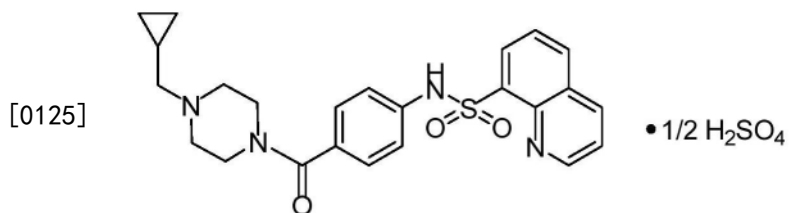
[0120] 该方法包括使化合物1的非结晶游离碱与硫酸的EtOAc溶液反应。在一个方面中,该硫酸的EtOAc溶液的浓度为约15wt%至约30wt%。在某些实施方案中,该硫酸的EtOAc溶液的浓度为约24wt%。

[0121] 在一个替代方案中,通过使化合物1与 H_2SO_4 在包含水和醇(例如MeOH或EtOH)的溶液中反应来制备该半硫酸盐。

[0122] 还提供了形成具有下式的化合物的半硫酸盐的无定形形式的方法:



[0124] 该方法包括通过从MeOH中蒸发来结晶具有下式的化合物的半硫酸盐的形式A:



[0126] 或者,该半硫酸盐的无定形形式可以通过从THF中结晶出半硫酸盐的结晶形式A来制备。在一个方面中,该蒸发结晶在甲醇或THF中在约50°C下进行。

[0127] 组合物和给药

[0128] 本文提供了药物组合物,其包含一种或多种公开的结晶形式(例如,结晶形式A)或公开的无定形形式,以及药学上可接受的载体。提供的组合物中结晶或无定形形式的量使得其可有效地可测量地调节受试者中的PKR。

[0129] 本文所述药物组合物可通过药理学领域任何已知的方法制备。通常,这种制备方法包括以下步骤:将一种或多种公开的结晶形式(例如结晶形式A)与载体和/或一种或多种其他助剂缔合,然后,如果必须和/或需要,将该产物成型和/或包装成所需的单-或多剂量单位。

[0130] 在制备所提供的药物组合物中所用的药学上可接受的载体包括惰性稀释剂、分散剂和/或制粒剂、表面活性剂和/或乳化剂、崩解剂、结合剂、防腐剂、缓冲剂、润滑剂和/或油。载体例如可可脂和栓剂蜡、着色剂、包衣剂、甜味剂、调味剂和芳香剂也可存在于该组合物中。

[0131] 示例性的稀释剂包括碳酸钙、碳酸钠、磷酸钙、磷酸二钙、硫酸钙、磷酸氢钙、磷酸钠、乳糖、蔗糖、纤维素、微晶纤维素、高岭土、甘露糖醇、山梨糖醇、肌醇、氯化钠、干淀粉、玉米淀粉、糖粉及其混合物。

[0132] 示例性的制粒剂和/或分散剂包括马铃薯淀粉、玉米淀粉、木薯淀粉、淀粉羟乙酸钠、粘土、海藻酸、瓜尔胶、柑橘渣、琼脂、膨润土、纤维素和木制品、天然海绵、阳离子交换树脂、碳酸钙、硅酸盐、碳酸钠、交联聚(乙烯基-吡咯烷酮)(交聚维酮)、羧甲基淀粉钠(淀粉羟乙酸钠)、羧甲基纤维素、交联羧甲基纤维素钠(交联羧甲纤维素)、甲基纤维素、预胶化淀粉(淀粉1500)、微晶淀粉、水不溶性淀粉、羧甲基纤维素钙、硅酸镁铝(Veegum)、月桂基硫酸钠、季铵化合物及其混合物。

[0133] 示例性的表面活性剂和/或乳化剂包括天然乳化剂(例如,阿拉伯胶、琼脂、海藻酸、海藻酸钠、黄蓍胶、chondrux、胆固醇、黄原胶、果胶、明胶、蛋黄、酪蛋白、羊毛脂、胆固醇、蜡和卵磷脂)、胶质粘土(例如,膨润土(硅酸铝)和Veegum(硅酸镁铝))、长链氨基酸衍生物、高分子量醇(例如,硬脂醇、鲸蜡醇、油醇、三醋精单硬脂酸酯、乙二醇二硬脂酸、单硬脂酸甘油酯和丙二醇单硬脂酸酯、聚乙烯醇)、卡波姆(例如,羧聚乙烯(carboxy polymethylene)、聚丙烯酸、丙烯酸聚合物和羧基乙烯基聚合物)、角叉菜胶、纤维素衍生物(例如,羧甲基纤维素钠、粉状纤维素、羟甲基纤维素、羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、甲基纤维素)、脱水山梨糖醇脂肪酸酯(例如,聚氧乙烯脱水山梨糖醇单月桂酸酯(Tween 20)、聚氧乙烯脱水山梨糖醇(Tween 60)、聚氧乙烯脱水山梨糖醇单油酸酯(Tween 80)、脱水山梨糖醇单棕榈酸酯(Span 40)、脱水山梨糖醇单硬脂酸酯(Span 60)、脱水山梨糖醇三硬脂酸酯(Span 65)、单油酸甘油酯、脱水山梨糖醇单油酸酯(Span 80))、聚氧乙烯酯(例如,聚氧乙烯单硬脂酸酯(Myrij 45)、聚氧乙烯氢化蓖麻油、聚乙氧基化蓖麻油、聚甲醛硬脂酸酯和Solutol)、蔗糖脂肪酸酯、聚乙二醇脂肪酸酯(例如,Cremophor™)、聚氧乙烯醚(例如,聚氧乙烯月桂基醚(Brij 30))、聚(乙烯基-吡咯烷酮)、二乙二醇单月桂酸、三乙醇胺油酸酯、油酸钠、油酸钾、油酸乙酯、油酸、月桂酸乙酯,月桂基硫酸钠、Pluronic F-68、泊洛沙姆-188、西曲溴铵、西吡氯铵、苯扎氯铵、多库酯钠和/或其混合物。

[0134] 示例性的粘合剂包括淀粉(例如,玉米淀粉和淀粉糊)、明胶、糖(例如,蔗糖、葡萄糖、右旋糖、糊精、糖蜜、乳糖、乳糖醇、甘露糖醇等)、天然和合成树胶(例如,阿拉伯胶、海藻

酸钠、爱尔兰蕨提取物、潘瓦尔胶 (panwar gum)、茄替胶 (ghatti gum)、车前子壳粘胶 (mucilage of isabgol husk)、羧甲基纤维素、甲基纤维素、乙基纤维素、羟乙基纤维素、羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、微晶纤维素、乙酸纤维素、聚(乙烯基-吡咯烷酮)、硅酸镁铝 (Veegum) 和落叶松阿拉伯半乳聚糖 (larch arabogalactan))、海藻酸盐、聚氧化乙烯、聚乙二醇、无机钙盐、硅酸、聚甲基丙烯酸酯、蜡、水、乙醇和/或其混合物。

[0135] 示例性的防腐剂包括抗氧化剂、螯合剂、抗微生物防腐剂、抗真菌防腐剂、乙醇防腐剂、酸性防腐剂和其他防腐剂。在一些实施方案中,所述防腐剂是抗氧化剂。在其他实施方案中,所述防腐剂是螯合剂。

[0136] 示例性的抗氧化剂包括 α 生育酚、抗坏血酸、抗坏血酸棕榈酸酯、丁羟苯甲醚、丁羟甲苯、硫代甘油、焦亚硫酸钾、丙酸、没食子酸丙酯、抗坏血酸钠、亚硫酸氢钠、焦亚硫酸钠和亚硫酸钠。

[0137] 示例性的螯合剂包括乙二胺四乙酸 (EDTA) 及其盐和水合物 (例如,乙二胺四乙酸钠、乙二胺四乙酸二钠、乙二胺四乙酸三钠、乙二胺四乙酸二钠钙、乙二胺四乙酸二钾等)、柠檬酸及其盐和水合物 (例如,柠檬酸单水合物)、富马酸及其盐和水合物、苹果酸及其盐和水合物、磷酸及其盐和水合物和酒石酸及其盐和水合物。示例性的抗微生物防腐剂包括苯扎氯铵、苜蓿素氯铵、苯甲醇、溴硝丙二醇、西曲溴铵、西吡氯铵、氯己定、三氯叔丁醇、氯甲酚、氯二甲酚、甲酚、乙醇、甘油、海克替啶、咪脲、苯酚、苯氧乙醇、苯乙醇、硝酸苯汞、丙二醇和硫柳汞。

[0138] 示例性的抗真菌防腐剂包括对羟苯甲酸丁酯、对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸乙酯、对羟基苯甲酸丙酯、苯甲酸、羟基苯甲酸、苯甲酸钾、山梨酸钾、苯甲酸钠、丙酸钠和山梨酸。

[0139] 示例性的醇防腐剂包括乙醇、聚乙二醇、苯酚、酚化合物、双酚、三氯叔丁醇、羟基苯甲酸酯和苯基乙醇。

[0140] 示例性的酸性防腐剂包括维生素A、维生素C、维生素E、 β 胡萝卜素、柠檬酸、乙酸、脱氢乙酸、抗坏血酸、山梨酸和植酸。

[0141] 其他防腐剂包括生育酚、乙酸生育酚酯、甲磺酸去铁胺、西曲溴铵、丁羟茴香醚 (BHA)、丁羟甲苯 (BHT)、乙二胺、月桂基硫酸钠 (SLS)、月桂基醚硫酸钠 (SLES)、亚硫酸氢钠、焦亚硫酸钠、亚硫酸钾、焦亚硫酸钾、Glydant Plus、Phenonip、对羟苯甲酸甲酯、Germall 115、Germaben II、Neolone、卡松 (Kathon) 和Euxyl。

[0142] 示例性的缓冲剂包括柠檬酸盐缓冲溶液、乙酸盐缓冲溶液、磷酸盐缓冲溶液、氯化铵、碳酸钙、氯化钙、柠檬酸钙、葡乳醛酸钙、葡庚糖酸钙、葡糖酸钙、D-葡糖酸、甘油磷酸钙、乳酸钙、丙酸、戊酮酸钙、戊酸、磷酸氢钙、磷酸、磷酸钙、磷酸氢氧化钙、乙酸钾、氯化钾、葡糖酸钾、钾混合物、磷酸氢二钾、磷酸二氢钾、磷酸钾混合物、乙酸钠、碳酸氢钠、氯化钠、柠檬酸钠、乳酸钠、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、磷酸钠混合物、氨丁三醇、氢氧化镁、氢氧化铝、海藻酸、无热原水、等渗盐水、林格氏溶液、乙醇及其混合物。

[0143] 示例性的润滑剂包括硬脂酸镁、硬脂酸钙、硬脂酸、二氧化硅、滑石、麦芽、甘油山萘酸酯、氢化植物油、聚乙二醇、苯甲酸钠、乙酸钠、氯化钠、亮氨酸、月桂基硫酸镁、月桂基硫酸钠、硬脂富马酸钠及其混合物。

[0144] 示例性的天然油包括扁桃仁 (almond)、苦杏仁 (apricot kernel)、鳄梨、巴西棕榈

树 (babassu)、佛手柑、黑加仑种子、琉璃苣、杜松、甘菊、芸苔、香菜、棕榈蜡、蓖麻、肉桂、可可脂、椰子、鱼肝油、咖啡、玉米、棉籽、鹌鹑、桉树、月见草、鱼、亚麻子、香叶醇、葫芦、葡萄籽、榛子、牛膝草、肉豆蔻酸异丙酯、荷荷巴油、夏威夷核果 (kukui nut)、醒目熏衣草 (lavandin)、薰衣草 (lavender)、柠檬、山鸡椒、夏威夷果仁 (macademia nut)、锦葵、芒果核、白芒花籽 (meadowfoam seed)、貂、肉豆蔻、橄榄、橙、罗非鱼 (orange roughy)、棕榈、棕榈仁、桃仁、花生、罂粟子、南瓜子、油菜籽、米糠、迷迭香、红花、檀香、茶梅 (sasquana)、香薄荷、沙棘、芝麻、牛油树脂、硅酮、大豆、向日葵、茶树、蓟、椿 (tsubaki)、岩兰草、胡桃和麦芽油。示例性的合成油包括但不限于：硬脂酸丁酯、辛酸甘油三酯、癸酸甘油三酯、环甲基硅油、癸二酸二乙酯、二甲硅油360、肉豆蔻酸异丙酯、矿物油、辛基十二烷醇、油醇、硅油及其混合物。

[0145] 本文所述的组合物可通过如下方式给药：口服、肠胃外、通过吸入喷雾、局部、直肠、经鼻、经颊、透粘膜或眼用制剂。本文所用的术语“肠胃外”包括皮下、静脉内、肌内、关节内、滑膜内、胸骨内、鞘内、肝内、损伤区和颅内注射或输注技术。在一个方面中，本文提供的药物组合物以口服可接受的剂型口服给药，包括但不限于胶囊剂、片剂、乳液剂和水悬浮剂、分散剂和溶液剂。在用于口服使用的片剂的情况下，通常使用的载体包括乳糖和玉米淀粉。通常还添加润滑剂，诸如，硬脂酸镁。对于胶囊剂形式的口服给药，有用的稀释剂包括乳糖和干玉米淀粉。当口服给药水悬浮剂和/或乳液时，活性成分可与乳化剂和/或悬浮剂结合悬浮或溶解在油相中。如果需要，可以添加某些甜味剂和/或调味剂和/或着色剂。

[0146] 所提供的结晶或无定形形式 (其可与载体物质组合以产生单一剂型的组合物) 的量将根据待治疗的受试者和特定的给药方式而变化。例如，针对任何特定受试者的特定剂量和治疗方案的量将取决于多种因素，包括年龄、体重、一般健康状况、性别、饮食、给药时间、排泄率、药物组合、主治医师的判断、以及所治疗特定疾病的严重程度。组合物中所提供的结晶形式的量也将取决于组合物中的特定晶型 (例如形式A、B、C、D、E、F、G、H、I或J)。在一个方面中，可以配制所提供的组合物，使得可以向接受这些组合物的受试者给药相当于约0.001至约100mg/kg体重/天的剂量的化合物1 (例如约0.5至约100mg/kg的化合物1)。或者，也可以接受每4到120小时相当于1mg/kg和1000mg/kg化合物1的剂量。如本文所用，剂量是指特定结晶形式的化合物1的量。特定结晶形式的量将根据与化合物1的游离碱形式的当量进行计算。

[0147] 在一个方面中，所公开的结晶 (例如结晶形式A) 或无定形形式被配制成以相当于约2mg至约3000mg化合物1的剂量给药。在某些实施方案中，该剂量是口服剂量。在某些实施方案中，所公开的结晶 (例如结晶形式A) 或无定形形式被配制成相当于约2mg至约3000mg的化合物1。在某些实施方案中，所公开的结晶 (例如结晶形式A) 或无定形形式被配制成相当于约5mg至约350mg的化合物1。在某些实施方案中，所公开的结晶 (例如结晶形式A) 或无定形形式被配制成相当于约5mg至约200mg的化合物1。在某些实施方案中，所公开的结晶 (例如结晶形式A) 或无定形形式被配制成相当于约5mg至约100mg的化合物1。在某些实施方案中，所公开的结晶 (例如结晶形式A) 或无定形形式被配制成相当于约5mg的化合物1。在某些实施方案中，所公开的结晶 (例如结晶形式A) 或无定形形式被配制成相当于约10mg的化合物1。在某些实施方案中，所公开的结晶 (例如结晶形式A) 或无定形形式被配制成相当于约15mg的化合物1。在某些实施方案中，所公开的结晶 (例如结晶形式A) 或无定形形式被配制成

定形式被配制成相当于每天约120mg的化合物1的剂量给药。在某些实施方案中,所公开的结晶(例如结晶形式A)或无定形式被配制成相当于每天约130mg的化合物1的剂量给药。在某些实施方案中,所公开的结晶(例如结晶形式A)或无定形式被配制成相当于每天约140mg的化合物1的剂量给药。在某些实施方案中,所公开的结晶(例如结晶形式A)或无定形式被配制成相当于每天约150mg的化合物1的剂量给药。每天可以给药一次、两次或三次。在一个方面中,例如所公开的结晶(例如结晶形式A)或无定形式被配制成相当于每天两次约5mg的化合物1的剂量给药。在一个方面中,例如所公开的结晶(例如结晶形式A)或无定形式被配制成相当于每天两次约20mg的化合物1的剂量给药。在一个方面中,例如所公开的结晶(例如结晶形式A)或无定形式被配制成相当于每天两次约50mg的化合物1的剂量给药。在一个方面中,例如所公开的结晶(例如结晶形式A)或无定形式被配制成相当于每天两次约100mg的化合物1的剂量给药。在一个方面中,例如所公开的结晶(例如结晶形式A)或无定形式被配制成相当于每隔一天一次约5mg的化合物1的剂量给药。在一个方面中,例如所公开的结晶(例如结晶形式A)或无定形式被配制成相当于每隔一天一次约20mg的化合物1的剂量给药。在一个方面中,例如所公开的结晶(例如结晶形式A)或无定形式被配制成相当于每隔一天一次约50mg的化合物1的剂量给药。在一个方面中,例如所公开的结晶(例如结晶形式A)或无定形式被配制成相当于每隔一天一次约100mg的化合物1的剂量给药。

[0149] 在一个方面中,将所公开的形式(结晶形式A、B、C、D、E、F、G、H、I、J、结晶游离碱或无定形式)与药学上可接受的载体一起配制成片剂组合物。在一个方面中,该载体选自下列的一种或多种:微晶纤维素、甘露醇、交联羧甲基纤维素钠和硬脂富马酸钠。在一个方面中,该载体是微晶纤维素,例如,以50%w/w至70%w/w($\pm 2\%$)、55%w/w至65%w/w($\pm 2\%$)、58%w/w至62%w/w($\pm 2\%$)、59%w/w($\pm 2\%$)、60%w/w($\pm 2\%$)、61%w/w($\pm 2\%$)、62%w/w($\pm 2\%$)、61%w/w或62%w/w的量存在。在另一个方面中,该载体是甘露醇,例如,以15%w/w($\pm 2\%$)至35%w/w($\pm 2\%$)、20%w/w($\pm 2\%$)至30%w/w($\pm 2\%$)、22%w/w($\pm 2\%$)至26%w/w($\pm 2\%$)、22%w/w($\pm 2\%$)、23%w/w($\pm 2\%$)、24%w/w($\pm 2\%$)或23%w/w的量存在。在另一个方面中,该载体是交联羧甲基纤维素钠,例如,以1%w/w至5%w/w($\pm 2\%$)、2%w/w至4%w/w($\pm 2\%$)、2%w/w($\pm 2\%$)、3%w/w($\pm 2\%$)、4%w/w($\pm 2\%$)或3%w/w的量存在。在另一个方面中,该载体是硬脂富马酸盐,例如,以1%w/w至5%w/w($\pm 2\%$)、2%w/w至4%w/w($\pm 2\%$)、1%w/w($\pm 2\%$)、2%w/w($\pm 2\%$)、3%w/w($\pm 2\%$)或2%w/w的量存在。在一些实施方案中,结晶形式A在片剂组合物中的含量相当于约1至约200mg的化合物1。在一些实施方案中,结晶形式A在片剂组合物中的含量相当于约1至约150mg的化合物1。在一些实施方案中,结晶形式A在片剂组合物中的含量相当于约1至约100mg的化合物1。在一些实施方案中,结晶形式A在片剂组合物中的含量相当于约5mg的化合物1。在一些实施方案中,结晶形式A在片剂组合物中的含量相当于约20mg的化合物1。在一些实施方案中,结晶形式A在片剂组合物中的含量相当于约50mg的化合物1。在一些实施方案中,结晶形式A在片剂组合物中的含量相当于约75mg的化合物1。在一些实施方案中,结晶形式A在片剂组合物中的含量相当于约100mg的化合物1。

[0150] 如本文所用,结晶形式A、B、C、D、E、F、G、H、I、J或无定形式的剂量基于化合物1的游离碱形式的当量。例如,“组合物中存在的结晶形式A的量相当于约1.0mg的化合物1”表示

该组合中存在约1.18mg的结晶形式A,相当于约1.0mg的游离碱化合物1。

[0151] 在一个方面中,该片剂组合物包含10%w/w($\pm 1\%$)结晶游离碱;62%w/w($\pm 2\%$)微晶纤维素;23%w/w($\pm 2\%$)甘露醇;3%w/w($\pm 2\%$)交联羧甲基纤维素钠和2%w/w($\pm 2\%$)硬脂富马酸盐。

[0152] 在一个方面中,该片剂组合物包含11.78%w/w($\pm 1\%$)结晶形式A;62%w/w($\pm 2\%$)微晶纤维素;23%w/w($\pm 2\%$)甘露醇;3%w/w($\pm 2\%$)交联羧甲基纤维素钠;和2%w/w($\pm 2\%$)硬脂富马酸盐。

[0153] 在某些实施方案中,提供了一种药物组合物,其包含结晶形式A和药学上可接受的载体。在某些实施方案中,提供了一种药物组合物,其包含基本上不含化合物IM-1和/或化合物IM-2的结晶形式A(参见示例)。在某些实施方案中,包含形式A的药物组合物基本上不含化合物1的半硫酸盐的其他晶型。在某些实施方案中,对一种或多种载体进行加工,以生成大小一致的颗粒。在某些实施方案中,加工该粉末(即结晶形式A)包括将粉末研磨一段合适的时间以使其达到所需的粒径(“研磨后的粉末”)。在一些实施方案中,研磨后的粉末的粒径小于约400 μm 。在一些实施方案中,研磨后的粉末的粒径小于约300 μm 。在一些实施方案中,研磨后的粉末的粒径小于约200 μm 。在一些实施方案中,研磨后的粉末的粒径小于约100 μm 。在一些实施方案中,研磨后的粉末的粒径小于约90 μm 。在一些实施方案中,研磨后的粉末的粒径小于约80 μm 。在一些实施方案中,研磨后的粉末的粒径小于约70 μm 。在一些实施方案中,研磨后的粉末的粒径小于约60 μm 。在一些实施方案中,研磨后的粉末的粒径小于约50 μm 。在一些实施方案中,研磨后的粉末的粒径小于约40 μm 。在一些实施方案中,研磨后的粉末的粒径小于约30 μm 。在一些实施方案中,研磨后的粉末的粒径小于约20 μm 。在一些实施方案中,研磨后的粉末的粒径为约10 μm 至约400 μm 。在一些实施方案中,研磨后的粉末的粒径为约10 μm 至约300 μm 。在一些实施方案中,研磨后的粉末的粒径为约10 μm 至约200 μm 。在一些实施方案中,研磨后的粉末的粒径为约10 μm 至约100 μm 。在一些实施方案中,研磨后的粉末的粒径为约10 μm 至约80 μm 。在一些实施方案中,研磨后的粉末的粒径为约10 μm 至约70 μm 。在一些实施方案中,研磨后的粉末的粒径为约10 μm 至约60 μm 。在一些实施方案中,研磨后的粉末的粒径为约20 μm 至约60 μm 。如本文所用,关于粒径,术语“约”是指 $\pm 5\mu\text{m}$ 。

[0154] 在一些实施方案中,至少90%的代表性研磨后的粉末样品的粒径小于约100、约80、约70、约60、约50、约40、约30、约20或约10 μm 。在一些实施方案中,至少约90%的代表性研磨后的粉末样品的粒径小于约60 μm 。

[0155] 化合物和组合物的治疗方法和用途

[0156] 在一个方面中,本文所述的结晶和无定形形式及其组合物是PKR的变构激活剂,并且通常可用于治疗PKD的潜在病症。

[0157] 因此,本文提供了在有此需要的受试者中治疗丙酮酸激酶缺乏症(PKD)的方法,该方法包括向该受试者给药有效量的式(I)化合物的结晶形式A、B、C、D、E、F、G、H、I或J或无定形形式、或其药物组合物。还提供了式(I)化合物的结晶形式A、B、C、D、E、F、G、H、I或J或无定形形式;或其药物组合物,其用于在有此需要的受试者中治疗丙酮酸激酶缺乏症(PKD)。还提供了式(I)化合物的结晶形式A、B、C、D、E、F、G、H、I或J或无定形形式、或其药物组合物在制备用于治疗丙酮酸激酶缺乏症(PKD)的药物中的用途。与PKD相关的示例性病症包括但不限于贫血、胆囊结石病、胆结石、心动过速、血色素沉着病、巩膜黄染、脾肿大、腿溃疡、黄疸、

疲乏和呼吸短促。如本文所述,PKD是PKR缺乏。在某些实施方案中,该PKR缺乏与PKR突变有关。

[0158] 丙酮酸激酶缺乏症 (PKD) 是一种导致终生溶血性贫血的糖酵解酶病。在某些实施方案中,患有PKD的受试者是PKLR基因中至少具有2个突变体等位基因的患者。在某些实施方案中,患有PKD的受试者是PKLR基因中至少具有2个突变体等位基因,并且至少一个是错义突变的患者。参见Canu.等人,Blood Cells,Molecules and Diseases 2016,57,pp.100-109。在某些实施方案中,患有PKD的受试者具有小于或等于10.0g/dL的血红蛋白浓度。在某些实施方案中,患有PKD的受试者是没有进行定期输血的成年人(例如在治疗前的12个月内,输血次数不超过4次)。在某些实施方案中,患有PKD的受试者是非输血依赖性成年人(例如在治疗前的12个月内输注不超过3个单位的红细胞)。在某些实施方案中,患有PKD的受试者是进行定期输血的成年人(例如在治疗前的12个月内至少发生4次输血(例如,至少发生6次输血))。在某些实施方案中,患有PKD的受试者在受试者一生中总共至少发生5次输血。在某些实施方案中,患有PKD的受试者在受试者一生中总共至少发生10次输血。在某些实施方案中,患有PKD的受试者在受试者一生中总共至少发生15次输血。在某些实施方案中,患有PKD的受试者在受试者一生中总共至少发生20次输血。在某些实施方案中,患有PKD的受试者在受试者一生中总共至少发生25次输血。在某些实施方案中,患有PKD的受试者在受试者一生中总共至少发生30次输血。在某些实施方案中,患有PKD的受试者在受试者一生中总共至少发生40次输血。在某些实施方案中,患有PKD的受试者在受试者一生中总共至少发生50次输血。在某些实施方案中,患有PKD的受试者在受试者一生中总共至少发生60次输血。在某些实施方案中,患有PKD的受试者在受试者一生中总共至少发生70次输血。在某些实施方案中,患有PKD的受试者不是R479H突变的纯合子或者在PKLR基因中没有2个非错义突变。在某些实施方案中,在治疗之前,在定期输血下患有PKD的受试者的血红蛋白(Hb) \leq 12.0g/dL(如果是男性)或 \leq 11.0g/dL(如果是女性)。在某些实施方案中,在定期输血下患有PKD的受试者平均每三周发生少于或等于一次输血。在某些实施方案中,在治疗前,患有PKD的受试者每天至少接受0.8mg(例如至少1.0mg)叶酸(例如至少21天)。在某些实施方案中,在治疗的5周、10周、15周、20周或24周、28周或32周内,在定期输血下患有PKD的受试者降低输血负担(例如输注的RBC单位数量至少减少33%)。在某些实施方案中,在治疗前,在未定期输血下患有PKD的受试者(在治疗前12个月内输血不超过4次和/或在治疗前3个月内无输血)不论性别具有血红蛋白(Hb) \leq 10.0g/dL。在某些实施方案中,患有PKD的受试者已进行脾切除术。

[0159] 在某些实施方案中,与治疗前的基线相比,治疗后患有PKD的受试者实现血红蛋白浓度增加至少1.0g/dL的血红蛋白反应。在某些实施方案中,与治疗前的基线相比,患有PKD的受试者实现血红蛋白浓度增加至少1.5g/dL的血红蛋白反应。在某些实施方案中,与治疗前的基线相比,患有PKD的受试者实现血红蛋白浓度增加至少2.0g/dL的血红蛋白反应。

[0160] 在一个实施方案中,该突变型PKR选自:A31V、A36G、G37Q、R40W、R40Q、L73P、S80P、P82H、R86P、I90N、T93I、G95R、M107T、G111R、A115P、S120F、H121Q、S130P、S130Y、V134D、R135D、A137T、G143S、I153T、A154T、L155P、G159V、R163C、R163L、T164N、G165V、L167M、G169G、E172Q、W201R、I219T、A221Y、D221N、G222A、I224T、G232C、N253D、G263R、G263W、E266K、V269F、L272V、L272P、G275R、G275R、E277K、V280G、D281N、F287V、F287L、V288L、

D293N、D293V、A295I、A295V、I310N、I314T、E315K、N316K、V320L、V320M、S330R、D331N、D331G、D331E、G332S、V335M、A336S、R337W、R337P、R337Q、D339N、D339Q、G341A、G341D、I342F、K348N、A352D、I357T、G358R、G358E、R359C、R359H、C360Y、N361D、G364D、K365M、V368F、T371I、L374P、S376I、T384M、R385W、R385K、E387G、D390N、A392T、N393D、N393S、N393K、A394S、A394D、A394V、V395L、D397V、G398A、M403I、G406R、E407K、E407G、T408P、T408A、T408I、K410E、G411S、G411A、Q421K、A423A、A423A、R426W、R426Q、E427A、E427N、A431T、R449C、I457V、G458D、A459V、V460M、A468V、A468G、A470D、T477A、R479C、R479H、S485F、R486W、R486L、R488Q、R490W、I494T、A495T、A495V、R498C、R498H、A503V、R504L、Q505E、V506I、R510Q、G511R、G511E、R518S、R531C、R532W、R532Q、E538D、G540R、D550V、V552M、G557A、R559G、R559P、N566K、M568V、R569Q、R569L、Q58X、E174X、W201X、E241X、R270X、E440X、R486X、Q501X、L508X、R510X、E538X、R559X。这些突变描述在Canu等人, Blood Cells, Molecules and Diseases 2016, 57, 第100-109页中。在一个实施方案中, 该突变型PKR选自G332S、G364D、T384M、K410E、R479H、R479K、R486W、R532W、R510Q和R490W。在某些实施方案中, 该突变型PKR选自A468V、A495V、I90N、T408I和Q421K和R498H。在某些实施方案中, 该突变型PKR是R532W、K410E或R510Q。在某些实施方案中, 该突变型PKR是R510Q、R486W或R479H。

[0161] 在其他方面中, 本发明提供了在有此需要的受试者中治疗选自溶血性贫血、镰状细胞病、地中海贫血、遗传性球形红细胞增多症、遗传性椭圆形红细胞增多症、无 β 脂蛋白血症、Bassen-Kornzweig综合征和阵发性睡眠性血红蛋白尿症的疾病的方法, 所述方法包括向该受试者给药有效量的式(I)化合物的结晶形式A、B、C、D、E、F、G、H、I或J或无定形形式、或其药物组合物。还提供了用于在受试者中治疗选自溶血性贫血、镰状细胞病、地中海贫血、遗传性球形红细胞增多症、遗传性椭圆形红细胞增多症、无 β 脂蛋白血症、Bassen-Kornzweig综合征和阵发性睡眠性血红蛋白尿症的疾病的式(I)化合物的结晶形式A、B、C、D、E、F、G、H、I或J或无定形形式、或其药物组合物。还提供了式(I)化合物的结晶形式A、B、C、D、E、F、G、H、I或J或无定形形式、或其药物组合物在制备用于治疗有需要的受试者中的选自以下疾病的药物中的用途: 溶血性贫血、镰状细胞病、地中海贫血、遗传性球形红细胞增多症、遗传性椭圆形红细胞增多症、无 β 脂蛋白血症、Bassen-Kornzweig综合征和阵发性睡眠性血红蛋白尿症的疾病。在一个方面中, 该待治疗的疾病为溶血性贫血。

[0162] 在其他方面中, 本文提供了在有此需要的受试者中治疗地中海贫血(例如 β -地中海贫血或非输血依赖型地中海贫血)的方法, 所述方法包括向该受试者给药有效量的式(I)化合物的结晶形式A、B、C、D、E、F、G、H、I或J或无定形形式、或其药物组合物。还提供了用于治疗地中海贫血(例如 β -地中海贫血或非输血依赖型地中海贫血)的式(I)化合物的结晶形式A、B、C、D、E、F、G、H、I或J或无定形形式、或其药物组合物。还提供了式(I)化合物的结晶形式A、B、C、D、E、F、G、H、I或J或无定形形式、或其药物组合物在制备用于治疗地中海贫血(例如 β -地中海贫血或非输血依赖型地中海贫血)的药物中的用途。

[0163] 在其他方面中, 本文提供了在有此需要的受试者中治疗地中海贫血(例如 β -地中海贫血或非输血依赖型地中海贫血)的方法, 所述方法包括向该受试者给药有效量的结晶形式A、或其药物组合物。还提供了用于治疗地中海贫血(例如 β -地中海贫血或非输血依赖型地中海贫血)的结晶形式A、或其药物组合物。还提供了结晶形式A、或其药物组合物在制备用于治疗地中海贫血(例如 β -地中海贫血或非输血依赖型地中海贫血)的药物中的用途。

[0164] 在其他方面中,本文提供了在有此需要的受试者中治疗地中海贫血(例如 β -地中海贫血或非输血依赖型地中海贫血)的方法,所述方法包括向该受试者给药有效量的结晶形式D、或其药物组合物。还提供了用于治疗地中海贫血(例如 β -地中海贫血或非输血依赖型地中海贫血)的结晶形式D、或其药物组合物。还提供了结晶形式D、或其药物组合物在制备用于治疗地中海贫血(例如 β -地中海贫血或非输血依赖型地中海贫血)的药物中的用途。

[0165] 在某些实施方案中,该受试者是患有地中海贫血的成人受试者。在某些实施方案中,该受试者患有地中海贫血例如中间型 β 地中海贫血、Hb E β -地中海贫血、 α -地中海贫血(Hb H病)或具有1个或多个 α 基因突变的 β -地中海贫血。在某些实施方案中,该受试者患有 β -地中海贫血或非输血依赖型地中海贫血。在某些实施方案中,该受试者是患有地中海贫血例如 β -地中海贫血或非输血依赖型地中海贫血的成年男性受试者。在某些实施方案中,该受试者是患有地中海贫血例如 β -地中海贫血或非输血依赖型地中海贫血的女性受试者。在某些实施方案中,该受试者是患有地中海贫血例如 β -地中海贫血或非输血依赖型地中海贫血的成年女性受试者。在某些实施方案中,该受试者的血红蛋白浓度小于或等于6.0g/dL。在某些实施方案中,该受试者的血红蛋白浓度小于或等于7.0g/dL。在某些实施方案中,该受试者的血红蛋白浓度小于或等于8.0g/dL。在某些实施方案中,该受试者的血红蛋白浓度小于或等于9.0g/dL。在某些方面,患有非输血依赖型地中海贫血的受试者没有已知的Hb S或Hb C形式的地中海贫血病史(例如过去已被诊断出)。在某些实施方案中,术语“非输血依赖型”地中海贫血是指在直至给药本文所述的结晶或无定形形式的第一天的24周内,患有地中海贫血的受试者输注不超过4个(例如5个)单位的RBC和/或在给药本文所述的结晶或无定形形式的第一天前8周内未进行RBC输血。

[0166] 在其他方面中,本文提供了用于在有此需要的受试者中增加红细胞(RBC)寿命的方法,所述方法包括向该受试者给药有效量的式(I)化合物的结晶形式A、B、C、D、E、F、G、H、I或J或无定形形式、或其药物组合物。还提供了用于在有此需要的受试者中增加红细胞(RBC)寿命的式(I)化合物的结晶形式A、B、C、D、E、F、G、H、I或J或无定形形式、或其药物组合物。还提供了式(I)化合物的结晶形式A、B、C、D、E、F、G、H、I或J或无定形形式、或其药物组合物在制备用于增加红细胞(RBC)寿命的药物中的用途。在一个方面中,将式(I)化合物的结晶形式A、B、C、D、E、F、G、H、I或J或无定形形式、或其药物组合物直接体外添加到全血或压积红细胞中。

[0167] 在其他方面中,本文提供了在有此需要的受试者中调节血液中2,3-二磷酸甘油酸水平的方法,所述方法包括使血液与有效量的式(I)化合物的结晶形式A、B、C、D、E、F、G、H、I或J或无定形形式、或其药物组合物接触。还提供了用于在有此需要的受试者中调节血液中2,3-二磷酸甘油酸水平的式(I)化合物的结晶形式A、B、C、D、E、F、G、H、I或J或无定形形式、或其药物组合物。还提供了式(I)化合物的结晶形式A、B、C、D、E、F、G、H、I或J或无定形形式、或其药物组合物在制备用于调节血液中2,3-二磷酸甘油酸水平的药物中的用途。

[0168] 在其他方面中,本文提供了在有此需要的受试者中治疗贫血的方法,所述方法包括向该受试者给药有效量的式(I)化合物的结晶形式A、B、C、D、E、F、G、H、I或J或无定形形式、或其药物组合物。还提供了用于在有此需要的受试者中治疗贫血的式(I)化合物的结晶形式A、B、C、D、E、F、G、H、I或J或无定形形式、或其药物组合物。还提供了式(I)化合物的结晶形式A、B、C、D、E、F、G、H、I或J或无定形形式、或其药物组合物在制备用于治疗贫血的药物中

的用途。在一个方面中,该待治疗的贫血是红细胞生成异常性贫血。

[0169] 在某些实施方案中,该贫血是红细胞生成异常性贫血,例如先天性红细胞生成异常性贫血I、II、III或IV型。在某些实施方案中,该贫血是溶血性贫血。在某些实施方案中,该溶血性贫血是先天形式和/或遗传形式的溶血性贫血例如PKD、镰状细胞病、地中海贫血(例如 α 或 β 或非输血依赖型地中海贫血)、遗传性球形红细胞增多症、遗传性椭圆形红细胞增多症)、阵发性睡眠性血红蛋白尿症、无 β 脂蛋白血症(Bassen-Kornzweig综合征)。在某些实施方案中,该溶血性贫血是获得性溶血性贫血例如自身免疫性溶血性贫血、药物诱导的溶血性贫血。在某些实施方案中,该溶血性贫血是作为多系统疾病的一部分的贫血,例如先天性红血球生成紫癜性贫血、范科尼贫血、Diamond-Blackfan贫血。

[0170] 如本文所用,术语“贫血”是指红细胞(RBC)和/或血红蛋白的缺乏。如本文所用,贫血包括所有类型的临床贫血,例如(但不限于):小红细胞性贫血、缺铁性贫血、血红蛋白病、血红素合成缺陷、球蛋白合成缺陷、铁粒幼细胞缺陷(sideroblastic defect)、正常红细胞性贫血、慢性病性贫血、再生障碍性贫血、溶血性贫血、大细胞性贫血、巨幼细胞贫血、恶性贫血、二形性贫血、早产儿贫血、范科尼贫血、遗传性球形红细胞增多症、镰状细胞病、温抗体型自身免疫性溶血性贫血(warm autoimmune hemolytic anemia)、冷凝集素溶血性贫血、骨硬化症、地中海贫血和骨髓增生异常综合征。

[0171] 在某些实施方案中,可以通过全血细胞计数诊断贫血。在某些实施方案中,贫血可以基于测量一种或多种溶血标志物(例如RBC计数、血红蛋白、网织红细胞、裂细胞、乳酸脱氢酶(LDH)、触珠蛋白、胆红素和铁蛋白)和/或含铁血黄素尿平均红细胞容积(MCV)和/或红细胞分布宽度(RDW)进行诊断。在本发明的上下文中,如果个体的血红蛋白(Hb)小于所需水平(例如血红蛋白浓度小于14g/dL、更优选小于13g/dL、更优选小于12g/dL、更优选小于11g/dL、或最优选小于10g/dL),则存在贫血。

[0172] 在某些实施方案中,本文提供了通过给药有效量的本文所述式(I)化合物的结晶形式A、B、C、D、E、F、G、H、I或J或无定形形式、或其药物组合物来增加受试者中血红蛋白量的方法。在某些实施方案中,本文还提供了在患有地中海贫血的受试者中增加血红蛋白量的方法,所述方法包括向该受试者给药有效量的式(I)化合物的结晶形式A、B、C、D、E、F、G、H、I或J或结晶游离碱或无定形形式、或其药物组合物。还提供了在患有非输血依赖型地中海贫血的受试者中增加血红蛋白量的方法,所述方法包括向该受试者给药有效量的本文所述式(I)化合物的结晶形式A、B、C、D、E、F、G、H、I或J或结晶游离碱或无定形形式、或其药物组合物。在某些实施方案中,提供的方法增加受试者的血红蛋白浓度。在某些实施方案中,提供的方法使血红蛋白浓度提高至所需水平,例如高于10g/dL、更优选高于11g/dL、更优选高于12g/dL、更优选高于13g/dL、或最优选高于14g/dL。在某些实施方案中,提供的方法使血红蛋白浓度增加至少约0.5g/dL。在某些实施方案中,提供的方法使血红蛋白浓度增加至少约1.0g/dL。在某些实施方案中,提供的方法使血红蛋白浓度增加至少约1.5g/dL。在某些实施方案中,提供的方法使血红蛋白浓度增加至少约2.0g/dL。在某些实施方案中,提供的方法使血红蛋白浓度增加至少约2.5g/dL。在某些实施方案中,提供的方法使血红蛋白浓度增加至少约3.0g/dL。在某些实施方案中,提供的方法使血红蛋白浓度增加至少约3.5g/dL。在某些实施方案中,提供的方法使血红蛋白浓度增加至少约4.0g/dL。在某些实施方案中,提供的方法使血红蛋白浓度增加至少约4.5g/dL。在某些实施方案中,提供的方法使血红蛋白浓

度增加至少约5.0g/dL。在某些实施方案中,提供的方法使血红蛋白浓度增加至少约5.5g/dL。在某些实施方案中,提供的方法使血红蛋白浓度增加至少约6.0g/dL。在某些实施方案中,通过用有效量的本文所述式(I)化合物的结晶形式A、B、C、D、E、F、G、H、I或J或结晶游离碱或无定形形式、或其药物组合物治疗的第1周至第20周之间(例如第2周至第15周之间、第3周至第15周之间和第4周至第12周之间)的一项或多项评估,由基线确定血红蛋白浓度的增加。在某些实施方案中,提供的方法在患有地中海贫血(例如 β -地中海贫血或非输血依赖型地中海贫血)的女性受试者中增加如上所述的血红蛋白浓度。在某些实施方案中,提供的方法在患有地中海贫血(例如 β -地中海贫血或非输血依赖型地中海贫血)的女性受试者中使血红蛋白浓度从基线增加至约12g/dL。在某些实施方案中,提供的方法在患有地中海贫血(例如 β -地中海贫血或非输血依赖型地中海贫血)的男性受试者中增加如上所述的血红蛋白浓度。在某些实施方案中,提供的方法在患有地中海贫血(例如 β -地中海贫血或非输血依赖型地中海贫血)的男性受试者中使血红蛋白浓度从基线增加至约13g/dL。

[0173] 在一些方面中,本文提供了在有此需要的受试者中治疗溶血性贫血的方法,所述方法包括向该受试者给药有效量的式(I)化合物的结晶形式A、B、C、D、E、F、G、H、I或J或无定形形式、或其药物组合物。还提供了用于在有此需要的受试者中治疗溶血性贫血的式(I)化合物的结晶形式A、B、C、D、E、F、G、H、I或J或无定形形式、或其药物组合物。还提供了式(I)化合物的结晶形式A、B、C、D、E、F、G、H、I或J或无定形形式、或其药物组合物在制备用于治疗溶血性贫血的药物中的用途。在一个方面中,该待治疗的溶血性贫血是遗传性和/或先天性溶血性贫血、获得性溶血性贫血或作为多系统疾病的一部分的贫血。

[0174] 在一些方面中,本文提供了在有此需要的受试者中治疗镰状细胞病的方法,所述方法包括向该受试者给药有效量的式(I)化合物的结晶形式A、B、C、D、E、F、G、H、I或J或无定形形式、或其药物组合物。还提供了用于在有此需要的受试者中治疗镰状细胞病的式(I)化合物的结晶形式A、B、C、D、E、F、G、H、I或J或无定形形式、或其药物组合物。还提供了式(I)化合物的结晶形式A、B、C、D、E、F、G、H、I或J或无定形形式、或其药物组合物在制备用于治疗镰状细胞病的药物中的用途。

[0175] 在一些方面中,本文提供了在有此需要的受试者中治疗地中海贫血、遗传性球形红细胞增多症、遗传性椭圆形红细胞增多症、无 β 脂蛋白血症或Bassen-Kornzweig综合征、镰状细胞病、阵发性睡眠性血红蛋白尿症、获得性溶血性贫血或慢性病性贫血的方法,所述方法包括向该受试者给药有效量的式(I)化合物的结晶形式A、B、C、D、E、F、G、H、I或J或无定形形式、或其药物组合物。还提供了用于在有此需要的受试者中治疗地中海贫血、遗传性球形红细胞增多症、遗传性椭圆形红细胞增多症、无 β 脂蛋白血症或Bassen-Kornzweig综合征、镰状细胞病、阵发性睡眠性血红蛋白尿症、获得性溶血性贫血或贫血的式(I)化合物的结晶形式A、B、C、D、E、F、G、H、I或J或无定形形式、或其药物组合物。还提供了式(I)化合物的结晶形式A、B、C、D、E、F、G、H、I或J或无定形形式、或其药物组合物在制备用于治疗地中海贫血、遗传性球形红细胞增多症、遗传性椭圆形红细胞增多症、无 β 脂蛋白血症或Bassen-Kornzweig综合征、镰状细胞病、阵发性睡眠性血红蛋白尿症、获得性溶血性贫血或贫血的药物中的用途。

[0176] 在一些方面中,本文提供了在有此需要的受试者中激活红细胞中的野生型或突变型PKR的方法,所述方法包括向该受试者给药有效量的式(I)化合物的结晶形式A、B、C、D、E、

F、G、H、I或J或无定形形式、或其药物组合物。还提供了用于在有此需要的受试者中激活红细胞中的野生型或突变型PKR的式(I)化合物的结晶形式A、B、C、D、E、F、G、H、I或J或无定形形式、或其药物组合物。还提供了式(I)化合物的结晶形式A、B、C、D、E、F、G、H、I或J或无定形形式、或其药物组合物在制备用于激活红细胞中的野生型或突变型PKR的药物中的用途。

[0177] 提供的式(I)化合物的结晶形式A、B、C、D、E、F、G、H、I或J或无定形形式以及本文所述的药物组合物是与野生型相比活性较低的PKR突变体的激活剂,因此其可用于本公开的方法。PKR中的此类突变会影响酶的活性(催化效率)、调节特性(通过二磷酸果糖(FBP)/ATP调节)和/或热稳定性。此类突变的实例描述在Valentini等人,JBC 2002中。被本文所述的化合物激活的突变体的一些实例包括G332S、G364D、T384M、R479H、R479K、R486W、R532W、R510Q和R490W。不受理论的束缚,在某些实施方案中,本文所述的化合物通过激活FBP无反应性PKR突变体、恢复稳定性降低的突变体的热稳定性或恢复受损突变体的催化效率来影响PKR突变体的活性。可以按照实施例描述的方法测试本发明化合物对PKR突变体的激活活性。本文所述的化合物也是野生型PKR的激活剂。

[0178] 在某些实施方案中,提供的式(I)化合物的结晶形式A、B、C、D、E、F、G、H、I或J或无定形形式以及本文所述的药物组合物增加PKR与磷酸烯醇丙酮酸(PEP)的亲合力。在某些实施方案中,提供的式(I)化合物的结晶形式A、B、C、D、E、F、G、H、I或J或无定形形式以及本文所述的药物组合物恢复RBC覆盖PEP和ADP以生成丙酮酸和ATP的能力。

[0179] 在某些实施方案中,本文提供了降低患有PKD的受试者的输血频率的方法,所述方法包括向该受试者给药式(I)化合物的结晶形式A、B、C、D、E、F、G、H、I或J或无定形形式以及本文所述的药物组合物。在某些实施方案中,给药结晶形式A。在某些实施方案中,该输血频率在至少15周内输注的RBC单位数减少至少5%。在某些实施方案中,该输血频率在至少15周内输注的RBC单位数减少至少10%。在某些实施方案中,该输血频率在至少15周内输注的RBC单位数减少至少15%。在某些实施方案中,该输血频率在至少15周内输注的RBC单位数减少至少20%。在某些实施方案中,该输血频率在至少15周内输注的RBC单位数减少至少25%。在某些实施方案中,该输血频率在至少15周内输注的RBC单位数减少至少30%。在某些实施方案中,该输血频率在至少15周内输注的RBC单位数减少至少35%。在某些实施方案中,该输血频率在至少20周内输注的RBC单位数减少至少40%。在某些实施方案中,该输血频率在至少20周内输注的RBC单位数减少至少5%。在某些实施方案中,该输血频率在至少20周内输注的RBC单位数减少至少10%。在某些实施方案中,该输血频率在至少20周内输注的RBC单位数减少至少15%。在某些实施方案中,该输血频率在至少20周内输注的RBC单位数减少至少20%。在某些实施方案中,该输血频率在至少20周内输注的RBC单位数减少至少25%。在某些实施方案中,该输血频率在至少20周内输注的RBC单位数减少至少30%。在某些实施方案中,该输血频率在至少20周内输注的RBC单位数减少至少35%。在某些实施方案中,该输血频率在至少20周内输注的RBC单位数减少至少40%。

[0180] 在一些方面中,本文提供了评估受试者的方法,该方法包括:向受试者给药式(I)化合物的结晶形式A、B、C、D、E、F、G、H、I或J或无定形形式、或其药物组合物;并获取受试者体内的结晶或无定形形式的水平、2,3-二磷酸甘油酸(2,3-DPG)的水平、三磷酸腺苷(ATP)的水平或PKR活性的值,由此评价该受试者。在一些方面中,通过分析结晶或无定形形式的血浆浓度获得该水平的值。在一些方面中,通过分析2,3-DPG的血液浓度获得2,3-DPG的水

平。在一些方面中,通过分析ATP的血液浓度获得ATP的水平。在一些方面中,通过分析血液中的¹³C-标记的血液浓度获得PKR活性。在一些方面中,通过对体液的样品分析来进行该分析。在一些方面中,该体液是血液。在一些方面中,通过质谱法进行该分析。在一些方面中,通过LC-MS进行该分析。

[0181] 在一些方面中,本文提供了评估受试者的方法,该方法包括获取受试者体内的式(I)化合物的结晶形式A、B、C、D、E、F、G、H、I或J或无定形形式、或其药物组合物的水平、2,3-DPG的水平、ATP的水平或PKR活性的值,所述受试者已经用式(I)化合物的结晶形式A、B、C、D、E、F、G、H、I或J或无定形形式、或其药物组合物治疗,由此评价该受试者。在一些方面中,获取包括从受试者接收样品。在一些方面中,获取包括将值传送给另一方。在一些方面中,另一方是给药式(I)化合物的结晶形式A、B、C、D、E、F、G、H、I或J或无定形形式、或其药物组合物的一方。

[0182] 在一些方面中,本文提供了治疗受试者的方法,所述方法包括:向受试者给药治疗有效量的式(I)化合物的结晶形式A、B、C、D、E、F、G、H、I或J或无定形形式、或其药物组合物;并获取受试者体内的结晶或无定形形式的水平、2,3-二磷酸甘油酸(2,3-DPG)的水平、三磷酸腺苷(ATP)的水平或PKR活性的值,由此治疗该受试者。

[0183] 在另一个方面中,本文提供了在有此需要的受试者中治疗丙酮酸激酶缺乏症(PKD)的方法,所述方法包括向该受试者给药有效量的化合物1的结晶游离碱形式或其药物组合物。在某些实施方案中,该PKR缺乏症与PKR突变有关。还提供了用于在有此需要的受试者中治疗丙酮酸激酶缺乏症(PKD)的化合物1的结晶游离碱形式、或其药物组合物。还提供了化合物1的结晶游离碱形式、或其药物组合物在制备用于治疗丙酮酸激酶缺乏症(PKD)的药物中的用途。

[0184] 在其他方面中,提供了在有此需要的受试者中治疗选自溶血性贫血、镰状细胞贫血、地中海贫血、遗传性球形红细胞增多症、遗传性椭圆形红细胞增多症、无 β 脂蛋白血症、Bassen-Kornzweig综合征和阵发性睡眠性血红蛋白尿症的疾病的方法,所述方法包括向该受试者给药有效量的化合物1的结晶游离碱形式、或其药物组合物。在一个方面中,该待治疗的疾病是溶血性贫血。

[0185] 在其他方面中,本文提供了治疗溶血性贫血的方法,所述方法包括向该受试者给药有效量的化合物1的结晶游离碱形式、或其药物组合物。还提供了用于在有此需要的受试者中治疗溶血性贫血的化合物1的结晶游离碱形式、或其药物组合物。还提供了化合物1的结晶游离碱形式、或其药物组合物在制备用于治疗溶血性贫血的药物中的用途。

[0186] 在其他方面中,本文提供了治疗镰状细胞病的方法,所述方法包括向该受试者给药有效量的化合物1的结晶游离碱形式、或其药物组合物。还提供了用于在有此需要的受试者中治疗镰状细胞病的化合物1的结晶游离碱形式、或其药物组合物。还提供了化合物1的结晶游离碱形式、或其药物组合物在制备用于治疗镰状细胞病的药物中的用途。

[0187] 在其他方面中,本文提供了治疗地中海贫血(例如 β -地中海贫血)的方法,所述方法包括向该受试者给药有效量的化合物1的结晶游离碱形式、或其药物组合物。还提供了用于在有此需要的受试者中治疗地中海贫血(例如 β -地中海贫血)的化合物1的结晶游离碱形式、或其药物组合物。还提供了化合物1的结晶游离碱形式、或其药物组合物在制备用于治疗地中海贫血(例如 β -地中海贫血)的药物中的用途。

[0188] 在其他方面中,本文提供了在有此需要的受试者中增加红细胞(RBC)寿命的方法,所述方法包括向该受试者给药有效量的化合物1的结晶游离碱形式、或其药物组合物。在一个方面中,将化合物1的结晶游离碱形式、或其药物组合物直接体外添加到全血或压积红细胞中。还提供了用于在有此需要的受试者中增加红细胞(RBC)寿命的化合物1的结晶游离碱形式、或其药物组合物。还提供了化合物1的结晶游离碱形式、或其药物组合物在制备用于增加红细胞(RBC)寿命的药物中的用途。

[0189] 在其他方面中,本文提供了在有此需要的受试者中调节血液中2,3-二磷酸甘油酸水平的方法,所述方法包括将血液与有效量的化合物1的结晶游离碱形式、或其药物组合物接触。还提供了用于在有此需要的受试者中调节血液中2,3-二磷酸甘油酸水平的化合物1的结晶游离碱形式、或其药物组合物。还提供了化合物1的结晶游离碱形式、或其药物组合物在制备用于调节血液中2,3-二磷酸甘油酸水平的药物中的用途。

[0190] 在其他方面中,本文提供了在有此需要的受试者中治疗贫血的方法,所述方法包括向该受试者给药有效量的化合物1的结晶游离碱形式、或其药物组合物。在一个方面中,该待治疗的贫血是红细胞生成异常性贫血。还提供了用于在有此需要的受试者中治疗血液贫血的化合物1的结晶游离碱形式、或其药物组合物。还提供了化合物1的结晶游离碱形式、或其药物组合物在制备用于治疗贫血的药物中的用途。

[0191] 在某些实施方案中,本文提供了通过给药有效量的化合物1的结晶游离碱形式、或其药物组合物来增加受试者中血红蛋白量的方法。还提供了用于在有此需要的受试者中增加血红蛋白量的化合物1的结晶游离碱形式、或其药物组合物。还提供了化合物1的结晶游离碱形式、或其药物组合物在制备用于增加血红蛋白量的药物中的用途。

[0192] 在一些方面中,可以将治疗有效量的所公开的形式(结晶形式A、B、C、D、E、F、G、H、I、J、结晶游离碱或无定形形式)施用于培养中的细胞(例如体外或离体)或受试者(例如体内),以治疗、预防和/或诊断多种疾病,包括下文所述的那些疾病。

[0193] 在一个方面中,包含所公开的形式(结晶形式A、B、C、D、E、F、G、H、I、J、结晶游离碱或无定形形式)的所公开的组合物、治疗方法及其用途还包括给药或使用叶酸。叶酸的给药或使用可以在本文所述的结晶或无定形形式的给药或使用之前、期间和/或之后。然而,在一个方面中,该叶酸在所公开的形式(结晶形式A、B、C、D、E、F、G、H、I、J、结晶游离碱或无定形形式)之前和/或与所公开的形式(结晶形式A、B、C、D、E、F、G、H、I、J、结晶游离碱或无定形形式)同时给药或使用。因此,在一个方面中,本文提供了在有此需要的受试者中治疗本文所述病症(例如PKD、贫血例如溶血性贫血、获得性溶血性贫血和镰状细胞贫血、地中海贫血(例如 β -地中海贫血、 α -地中海贫血、非输血依赖型地中海贫血等)、镰状细胞病、遗传性球形红细胞增多症、遗传性椭圆形红细胞增多症、无 β 脂蛋白血症、Bassen-Kornzweig综合征和阵发性睡眠性血红蛋白尿症);增加RBC寿命;调节血液中2,3-二磷酸甘油酸水平;激活红细胞中的野生型或突变型PKR;增加血红蛋白量;评估2,3-二磷酸甘油酸(2,3-DPG)的水平、三磷酸腺苷(ATP)的水平、或PKR活性;评估2,3-二磷酸甘油酸(2,3-DPG)的水平、三磷酸腺苷(ATP)的水平、或PKR活性的方法,所述方法包括向该受试者给药有效量的所公开的形式(结晶形式A、B、C、D、E、F、G、H、I、J、结晶游离碱或无定形形式)和叶酸。

[0194] 在所公开的形式(结晶形式A、B、C、D、E、F、G、H、I、J、结晶游离碱或无定形形式)之前给药或使用叶酸的方面中,可以在给药或使用公开的晶型之前至少5天、至少10天、至少

15天、至少20天或至少25天使用该叶酸。在一个方面中,可以在给药或使用公开的晶型之前至少20、至少21、至少22、至少23、至少24或至少25天给药或使用该叶酸。在另一个方面中,在给药或使用公开的晶型之前至少21天给药该叶酸。在另一个方面中,在给药或使用公开的晶型之前1至30天给药或使用该叶酸。在另一个方面中,在给药或使用公开的晶型之前5至25天给药或使用该叶酸。在另一个方面中,在给药或使用公开的晶型之前10至30天给药或使用该叶酸。在另一个方面中,在给药或使用公开的晶型之前10至25天给药或使用该叶酸。在另一个方面中,在给药或使用公开的晶型之前15至25天给药或使用该叶酸。在另一个方面中,在给药或使用公开的晶型之前20至25天给药或使用该叶酸。

[0195] 与所公开的形式一起给药或使用的叶酸的具体量将根据要治疗的受试者和特定的给药方式而变化。在某些方面,叶酸的有效量为每天约0.1mg至约10mg。在某些方面,叶酸的有效量为每天至少0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9或1.0mg。在一个方面中,叶酸的有效量为每天至少0.8mg或每天至少1.0mg。

[0196] 叶酸的量旨在与本文描述的任何量的所公开的形式组合。因此,在某些方面,本文提供了在有此需要的受试者中治疗本文所述病症(例如PKD、贫血例如溶血性贫血、获得性溶血性贫血和镰状细胞贫血、地中海贫血(例如 β -地中海贫血、 α -地中海贫血、非输血依赖型地中海贫血等)、镰状细胞病、遗传性球形红细胞增多症、遗传性椭圆形红细胞增多症、无 β 脂蛋白血症、Bassen-Kornzweig综合征和阵发性睡眠性血红蛋白尿症);增加RBC寿命;调节血液中2,3-二磷酸甘油酸水平;激活红细胞中的野生型或突变型PKR;增加血红蛋白量;评估2,3-二磷酸甘油酸(2,3-DPG)的水平、三磷酸腺苷(ATP)的水平、或PKR活性;评估2,3-二磷酸甘油酸(2,3-DPG)的水平、三磷酸腺苷(ATP)的水平、或PKR活性的方法,所述方法包括向该受试者给药有效量的本文所述的所公开的形式(结晶形式A、B、C、D、E、F、G、H、I、J、结晶游离碱或无定形形式)和叶酸,其中该叶酸在所公开的形式之前和/或与所公开的形式同时给药(例如,至少21天之前),所公开的形式(例如形式A)以5、20或50mg BID的量给药,并且其中该叶酸以至少0.8mg/天的量给药。

实施例

[0197] 如以下实施例中所述,根据以下一般步骤制备结晶和无定形形式。

[0198] 下面概述了所用的典型缩写。

溶剂

		名称	缩写
		1-丙醇	1-PA
		2-丙醇	IPA
		乙腈	ACN
		苯甲醇	BA
		二氯甲烷	DCM
		二甲基亚砷	DMSO
		乙醇	EtOH
		乙酸乙酯	EtOAc
		乙酸异丙酯	IPAc
		甲醇	MeOH
[0199]		乙酸甲酯	MeOAc
		甲基丁基酮	MBK
		甲基乙基酮	MEK
		甲基异丁基酮	MIBK
		N,N-二甲基乙酰胺	DMAc
		N,N-二甲基甲酰胺	DMF
		N-甲基吡咯烷酮	NMP
		叔丁基甲基醚	MtBE
		四氢呋喃	THF
		三氟乙酸	TFA
		三氟乙醇	TFE
		单位	
		名称	缩写

[0200]	摄氏	C
	度	°
	当量	eq.
	克	g
	小时	hr
	开尔文	K
	升	L
	毫克	mg
	毫升	mL
	分钟	min
	秒	sec
	体积	vol.
	瓦特	W
重量	wt.	

[0201] 使用Rigaku MiniFlex 600进行粉末X射线衍射。在Si归零晶片上制备样品。典型的扫描范围为4至30度的 2θ ，在40kV和15mA下，在5分钟内步长为0.05度。高分辨率扫描的范围为4至40度的 2θ ，在40kV和15mA下，在30分钟内步长为0.05度。下面列出了XRPD的典型参数。

反射模式的参数	
X 射线波长	Cu K α 1, 1.540598 Å,
X 射线管设置	40 kV, 15 mA
狭缝条件	可变的+固定的狭缝系统
扫描方式	连续的
扫描范围(°2TH)	4 - 30
步长(°2TH)	0.05
扫描速度(°/min)	5

[0203] 使用Mettler Toledo DSC³⁺进行差示扫描量热法。将所需量的样品直接称重到带有针孔的密封铝盘中。典型样品质量为3-5mg。典型的温度范围为30°C至300°C，加热速率为10°C/分钟(总时间为27分钟)。下面列出了DSC的典型参数。

参数	
	方法 Ramp
[0204]	样品量 3-5 mg
	加热速率 10.0 °C/min
	温度范围 30 至 300 °C
	方法气体 60.00 mL/min 的 N ₂

[0205] 使用Mettler Toledo TGA/DSC³⁺进行热重分析和差示扫描量热法。将所需量的样品直接称重到带有针孔的密封铝盘中。用于测量的典型样品质量为5-10mg。典型的温度范围为30°C至300°C,加热速率为10°C/分钟(总时间为27分钟)。保护气体和吹扫气体为氮气(20-30mL/min和50-100mL/min)。

[0206] 下面列出了DSC/TGA的典型参数。

参数	
	方法 Ramp
[0207]	样品量 5-10 mg
	加热速率 10.0 °C/min
	温度范围 30 至 300 °C

[0208] 使用DVS Intrinsic 1进行动态蒸气吸附(DVS)。将样品装载到样品盘中,并从微量天平上悬挂下来。用于DVS测量的典型样品质量为25mg。鼓泡到蒸馏水中的氮气可提供所需的相对湿度。典型的测量包括以下步骤:

[0209] 1. 在50% RH下平衡

[0210] 2. 50%至2% (50%、40%、30%、20%、10%和2%)

[0211] a. 在每个湿度下保持最少5分钟,最多60分钟。通过标准为小于0.002%的变化

[0212] 3. 2%至95% (2%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%)

[0213] b. 在每个湿度下保持最少5分钟,最多60分钟。通过标准为小于0.002%的变化

[0214] 4. 95%至2% (95%、80%、70%、60%、50%、40%、30%、20%、10%、2%)

[0215] c. 在每个湿度下保持最少5分钟,最多60分钟。通过标准为小于0.002%的变化

[0216] 5. 2%至50% (2%、10%、20%、30%、40%、50%)

[0217] d. 在每个湿度下保持最少5分钟,最多60分钟。通过标准为小于0.002%的变化

[0218] 质子NMR是在Bruker Avance 300MHz波谱仪上进行。在4mL的小瓶中将固体溶于0.75mL氘代溶剂中,并转移至NMR管(Wilmad 5mm薄壁8"200MHz, 506-PP-8)中。典型的测量通常是16次扫描。下面列出了NMR的典型参数。

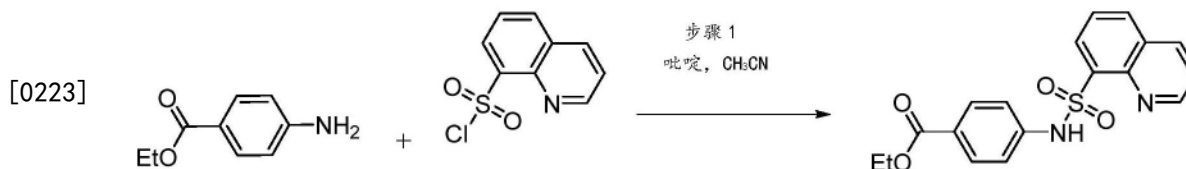
参数

[0219]	仪器	Bruker Avance 300 MHz 波谱仪 Bruker Avance 500 MHz 波谱仪
	温度	300 K
	探针	5 mm PABBO BB-1H/DZ-GRD Z104275/0170
	扫描次数	16
	弛豫延迟	1.000 s
	脉冲宽度	14.2500 μ s
	采集时间	2.9999 s
	波谱仪	300.15 Hz
	频率	500.13 Hz
	核	¹ H

[0220] 使用配备了6.0338.100双铂丝电极的785DMP Titrimo和703Ti Stand进行卡尔·费歇尔滴定法测定水。将样品溶解在HPLC级或无水甲醇中,并用Hydranal-Composite 5滴定。用于测量的典型样品质量为0.03-0.10g。使用Hydranal 1重量%水标进行校准。

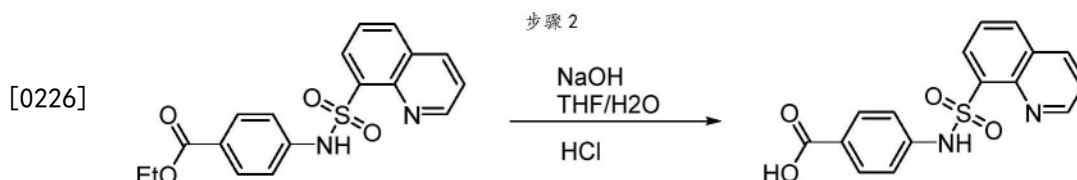
[0221] 化合物1 (即非结晶游离碱) 可以按照以下步骤进行准备。

[0222] 4-(喹啉-8-磺酰氨基) 苯甲酸乙酯的制备



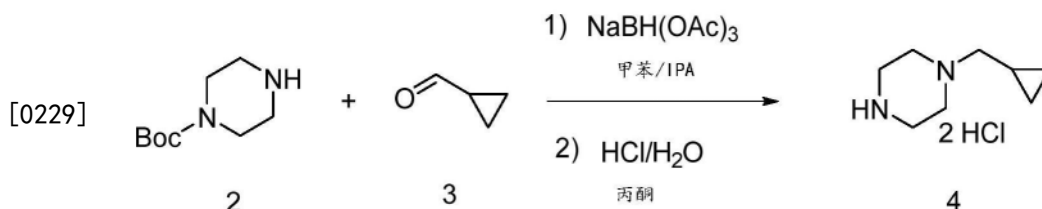
[0224] 用1.2小时的时间,在65℃下将含有4-氨基苯甲酸乙酯(16.0g,97mmol)和吡啶(14.0g,177mmol)的乙腈(55mL)溶液加入到搅拌下的喹啉-8-磺酰氯(20.0g,88mmol)在无水乙腈(100mL)中的悬浮液中。将混合物在65℃下搅拌3.5小时,用1.5小时冷却至20℃,并保持直至用1小时加入水(140mL)。通过过滤回收固体,用乙腈/水(40/60wt./wt.)洗涤2次(每次100mL),并在85℃的真空烘箱中干燥至恒重。分析该白色固体(30.8g,87mmol),实测值:(A)HPLC纯度=99.4%4-(喹啉-8-磺酰氨基)苯甲酸乙酯,(B)LC-MS与结构一致,(M+1)=357(C18柱,洗脱:95-5,CH₃CN/水,用甲酸改性,经2分钟),和(C)¹H NMR与结构一致(400MHz,DMSO-d₆)= δ 10.71(s,1H),9.09(dd,J=4.3,1.6Hz,1H),8.46(ddt,J=15.1,7.3,1.5Hz,2H),8.26(dd,J=8.3,1.4Hz,1H),7.84-7.54(m,4H),7.18(dd,J=8.6,1.3Hz,2H),4.26-4.07(m,2H),1.19(td,J=7.1,1.2Hz,3H)。

[0225] 4-(喹啉-8-磺酰胺)苯甲酸的制备



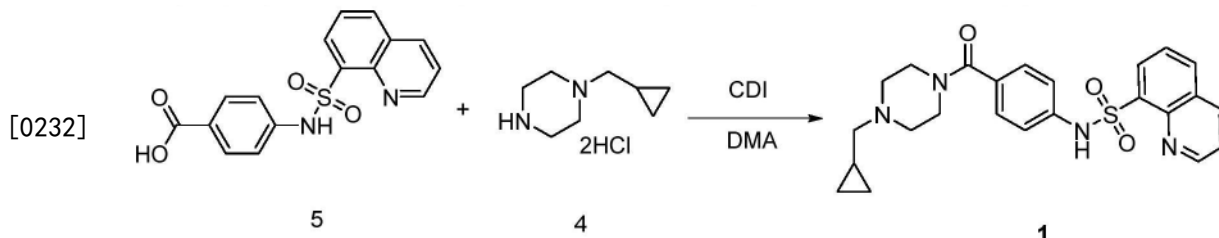
[0227] 用30分钟的时间,在75°C下将NaOH溶液(16.2g,122mmol)加入到搅拌下的4-(喹啉-8-磺酰氨基)苯甲酸乙酯(20.0g,56.2mmol)在水(125mL)中的悬浮液中。将混合物在75°-80°C下搅拌3小时,冷却至20°C,并保持直至加入THF(150mL)。用>1小时的时间加入盐酸(11% HCL,81mL,132mmol)以使得pH为3.0。在5°C下通过过滤回收该固体,用水(2X 100mL)洗涤,并在85°C的真空烘箱中干燥至恒重。分析该白色固体(16.7g,51mmol),实测值:(A)HPLC纯度=>99.9% 4-(喹啉-8-磺酰胺)苯甲酸,LC-MS与结构一致(M+1)=329(C18柱,洗脱:95-5CH₃CN/水,用甲酸改性,经2分钟)和¹H NMR与结构一致(400MHz,DMSO-d₆)=δ 12.60(s,1H),10.67(s,1H),9.09(dd,J=4.2,1.7Hz,1H),8.46(ddt,J=13.1,7.3,1.5Hz,2H),8.26(dd,J=8.2,1.5Hz,1H),7.77-7.62(m,3H),7.64(d,J=1.3Hz,1H),7.16(dd,J=8.7,1.4Hz,2H)。

[0228] 1-(环丙基甲基)哌嗪二盐酸盐(4)的制备



[0230] 在N₂下,向1L反应器中加入哌嗪-1-甲酸叔丁酯(2)(100.0g,536.9mmol)、环丙烷甲醛(3)(41.4g,590.7mmol)、甲苯(500.0mL)和2-丙醇(50.0mL)。在25-35°C下,向获得的溶液中分批加入NaBH(OAc)₃(136.6g,644.5mmol),并将混合物在25°C下搅拌2小时。加入水(300.0mL),随后加入NaOH溶液(30%,225.0mL)以使得pH为12。分离各层,并将有机层用水(100.0mLx2)洗涤。向该有机层中加入盐酸(37%,135.0mL,1.62mol),并将混合物在25°C下搅拌6小时。分离各层,并在25°C下在1小时内将水层加入到丙酮(2.0L)中。将生成的悬浮液冷却至0°C。在0°C下过滤该固体,用丙酮(100.0mLx2)洗涤,并干燥,得到4(105.0g),分离的产率为92%。LC-MS(C18柱,洗脱:90-10CH₃CN/水,经2分钟),实测值(M+1)=141。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆)δ 11.93(br.s,1H),10.08(br.,2H),3.65(br.s,2H),3.46(br.s,6H),3.04(d,J=7.3Hz,2H),1.14-1.04(m,1H),0.65-0.54(m,2H),0.45-0.34(m,2H)ppm。

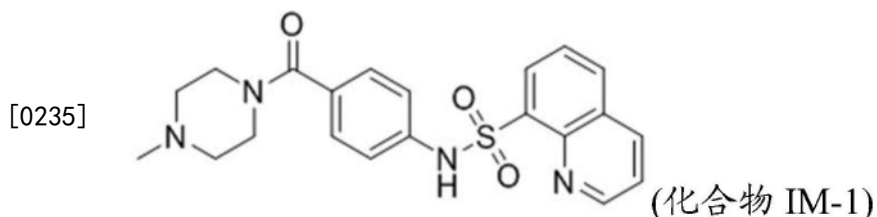
[0231] N-(4-(4-(环丙基甲基)哌嗪-1-羰基)苯基)喹啉-8-磺酰胺(1)的制备



[0233] 在N₂下,向2L反应器中加入4-(喹啉-8-磺酰氨基)苯甲酸(5)(100.0g,304.5mmol)和DMA(500.0mL)。在25°C下,向生成的悬浮液中分批加入CDI(74.0g,456.4mmol),并将混合物在25°C下搅拌2小时。在25°C下,向该生成的悬浮液中以一批加入1-(环丙基甲基)哌嗪二

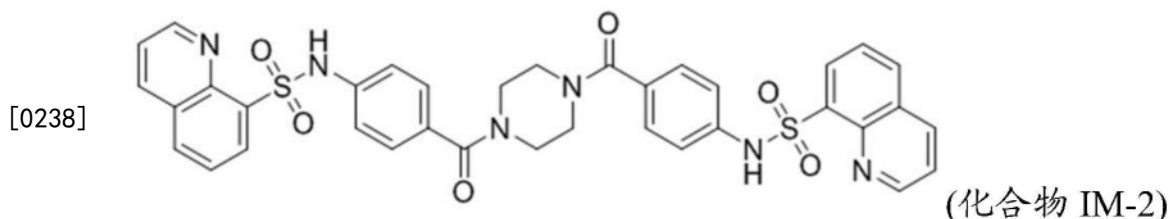
盐酸盐(4) (97.4g, 457.0mmol), 并将混合物在25℃下搅拌4小时。2小时内加入水(1.0L)。将该固体在25℃下过滤, 用水洗涤, 并在65℃下在真空下干燥, 得到1(124.0g), 分离的产率为90%。LC-MS (C18柱, 洗脱: 90-10CH₃CN/水, 经2分钟), 实测值(M+1) = 451。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ10.40 (br. s, 1H), 9.11 (dd, J=4.3, 1.6Hz, 1H), 8.48 (dd, J=8.4, 1.7Hz, 1H), 8.40 (dt, J=7.4, 1.1Hz, 1H), 8.25 (dd, J=8.3, 1.3Hz, 1H), 7.76-7.63 (m, 2H), 7.17-7.05 (m, 4H), 3.57-3.06 (m, 4H), 2.44-2.23 (m, 4H), 2.13 (d, J=6.6Hz, 2H), 0.79-0.72 (m, 1H), 0.45-0.34 (m, 2H), 0.07-0.01 (m, 2H) ppm.

[0234] 从该合成步骤中还鉴定出两种杂质。第一种杂质为化合物IM-1 (基于代表性HPLC的面积百分比为约0.11%), 具有下列结构:



[0236] 化合物IM-1是由于存在于化合物2中的杂质N-甲基哌嗪而生成的, 并随同其与化合物5反应。LC-MS实测值: (M+1) = 411.2; (M-1) = 409.2。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ10.43 (brs, 1H) 9.13-9.12 (m, 1H), 8.52-8.50 (m, 1H), 8.43-8.41 (m, 1H), 8.26 (d, J=4.0Hz, 1H), 7.73-7.70 (m, 2H), 7.15-7.09 7.69 (m, 4H), 3.60-3.25 (brs, 4H), 2.21 (brs, 4H), 2.13 (s, 3H)。

[0237] 第二种杂质是化合物IM-2 (基于代表性HPLC的面积百分比为约0.07%), 具有下列结构:



[0239] 化合物IM-2是由于化合物2的脱保护而产生的杂质哌嗪的存在。随同该哌嗪残余物与两个分子的化合物5反应, 得到化合物IM-2。LC-MS实测值: (M+1) = 707。¹H NMR (400MHz, CF₃COOD) δ9.30-9.23 (m, 4H), 8.51 (s, 4H), 8.20-8.00 (m, 4H), 7.38-7.28 (m, 8H), 4.02-3.54 (m, 8H)。

[0240] 溶解度实验

[0241] 溶解度测量是通过重量分析法在两种温度(23℃和50℃)下在20种不同溶剂中进行的。称重约20-30mg的形式A(其合成如下所述), 并加入0.75mL溶剂以形成浆液。然后将该浆液在指定温度下搅拌两天。将小瓶离心并收集上清液用于通过重量分析法的溶解度测量。将饱和的上清液转移至预先称重的2mL HPLC小瓶中, 再次称重(小瓶+液体)。然后将未封盖的小瓶放在50℃的热板上, 以缓慢蒸发溶剂过夜。然后将小瓶放在50℃的烤箱中, 并在真空下去除残留的溶剂, 以便仅保留溶解的固体。然后将小瓶称重(小瓶+固体)。根据这三个重量: 小瓶、小瓶+液体和小瓶+固体; 计算溶解的固体和溶剂的重量。然后使用溶剂密度, 将溶解度计算为mg固体/mL溶剂。溶解度数据汇总于表1。

[0242] 表1

溶剂(比例是体积比)	溶解度, mg固体/mL溶剂	
	23 °C	50 °C
MeOH	393	>765
EtOH	0	1
IPA	0	2
丙酮	1	6
MtBE	1	3
EtOAc	0	2
乙腈	4	6
环己烷	1	1
MEK: 水(20: 1)	0	2
[0243] 甲苯: EtOH: 水(10: 5: 1)	不混溶的	不混溶的
甲苯: EtOH: 水(10: 5: 0.5)	1	4
甲苯	0	2
THF	2	26
IPAc	0	1
丙酮: 水(8: 2)	5	16
THF: 水(8: 2)	14	77
IPA: DMSO (8: 2)	11	28
IPA: DMSO: 水(80: 18: 2)	1	6
IPA: DMSO: 水(70: 25: 5)	2	9
IPA: DMSO: 水(70: 20: 10)	1	8
DCM	2	N/A

[0244] 由于在甲醇中的溶解度非常高,因此测量范围扩大到了与甲醇混合的更多溶剂系统。结果显示在表2中。将20-30mg的形式A称重到2mL小瓶中,并加入表中描述的500 μ L MeOH溶剂系统。如果溶解,则添加更多的固体以形成浆液。然后将浆液搅拌两天。将小瓶离心并收集上清液,以通过重量法通过在50°C下蒸发来测量溶解度。浆液过滤后,对固体进行XRPD分析。

[0245] 水对形式A的溶解度有显著影响。例如在MeOH:水(1:1)系统中,对于0体积%、1体积%、2.5体积%和5体积%的水,室温溶解度分别为208mg/mL、118mg/mL、39mg/mL和5mg/mL。因此,仅添加5体积%的水使溶解度降低42倍。使用MeOH:水(99:1体积)、(98:2)和(95:5)作为三个溶剂组合物。称取约25mg形式A到2mL小瓶中,加入6体积溶剂,然后缓慢加热使其溶解。对于使用5%水进行的实验,使用8体积溶剂进行另外的实验。参见表3。

[0246] 表2

溶剂(比例是体积比)	溶解度, mg 固体 /mL 溶剂	
	23 °C	50 °C
MeOH: 水(1: 1)	7	27
MeOH: 水(8: 2)	10	59
EtOAc: MeOH (1: 1)	21	240
EtOAc: MeOH (9: 1)	0	9
EtOAc: MeOH (1: 9)	359	531
EtOH: MeOH (1: 1)	2	11
EtOAc: MeOH (1: 1)和 5 体积%水	3	12
MeOAc: MeOH (1: 1)和 5 体积%水	5	26
MeOAc: MeOH (1: 1)	208	340
MeOAc: MeOH (1: 1)和 1 体积%水	118	236
MeOAc: MeOH (1: 1)和 2.5 体积%水	39	143

[0248] 表3

溶剂	溶剂体 积	溶解时的温 度, °C	溶解度, mg 固体 /mL 溶剂	额外的 水	XRPD 图
MeOH: 水(99: 1)	6 体积	23	>167	N/A	B + 额外的
MeOH: 水(98: 2)	6 体积	35	167	N/A	B
MeOH: 水(95: 5)	6 体积	60	167	4 体积	A
MeOH: 水(95: 5)	8 体积	50	125	4 体积	A

[0250] 为了比较,还测定了在两种溶剂系统中化合物1(即非结晶游离碱)的溶解度,以观察水的作用。2.5体积%水对化合物1的溶解度没有任何影响。参见表4。

[0251] 表4

溶剂	溶解度, mg 固体/mL 溶剂	
	23 °C	50 °C
MeOAc: MeOH (1: 1)	15	34
MeOAc: MeOH (1: 1)和 2.5 体积%水	15	36

[0254] 筛选实验

[0255] 1.短期浆化

[0256] 收集来自溶解度测量实验的浆液中的固体进行XRPD分析,如表5所示。在两天浆化的过程中,在大多数溶剂系统中的模式A均保持不变。在某些情况下,它失去了结晶性,表明搅拌更长的时间可能会改变晶型。观察到三个新模式:在室温和50°C下,在EtOH中的模式B;在室温下,在IPA中的模式A+C;在50°C下,在IPA和乙腈中的模式D。在50°C下,在IPA:DMSO(8:2)中的模式D+结晶游离碱。

[0257] 此外,在甲醇溶剂混合物中进行两天浆化,结果列于表6中。当存在至少2.5体积%的水,则模式A保持不变。当仅存在1%的水时,模式A在50°C时失去其结晶性,而在室温下经两天浆化保持不变。在存在大量甲醇的无水混合物中,模式A不稳定。

[0258] 表5

溶剂	2 天浆化后的 XRPD 图	
	23 °C	50 °C
MeOH	A	低结晶度 A
EtOH	B	B
IPA	A + C	D
丙酮	A	A (在~5.8 处的额外的峰)
MtBE	A	A
EtOAc	A	A
乙腈	A	D
环己烷	A	A
MEK: 水(20: 1)	A	A
甲苯: EtOH: 水(10: 5: 0.5)	A	A
甲苯	A	A
THF	A	A
IPAc	A	A
丙酮: 水(8: 2)	A	A
THF: 水(8: 2)	A	A
IPA: DMSO (8: 2)	A	D + 结晶游离碱
IPA: DMSO: 水(80: 18: 12)	A	A
IPA: DMSO: 水(70: 25: 5)	A	A
IPA: DMSO: 水(70: 20: 10)	A	A
DCM	A	N/A

[0261] 表6

溶剂	浆化后的 XPRD 图	
	室温	50 °C
MeOH: 水(1: 1)	A	A
MeOH: 水(8: 2)	A	A
EtOAc: MeOH (1: 1)	B	D
EtOAc: MeOH (9: 1)	A	A
EtOAc: MeOH (1: 9)	A	低结晶度 A
EtOH: MeOH (1: 1)	B	B
EtOAc: MeOH (1: 1)和 5 体积%水	A	A
MeOAc: MeOH (1: 1)和 5 体积%水	A	A
MeOAc: MeOH (1: 1)	A	较低的结晶度 A
MeOAc: MeOH (1: 1)和 1 体积%水	A	较低的结晶度 A
MeOAc: MeOH (1: 1)和 2.5 体积%水	A	A

[0263] 2. 结晶游离碱浆化实验

[0264] 为了比较,化合物1(即结晶游离碱)还在一些溶剂系统中浆化,其中该半硫酸盐显示出不同的XRPD图。两天浆化后,该游离碱保持不变。结果示于表7中。

[0265] 表7

溶剂	浆化后的 XRPD 图	
	23 °C	50 °C
MeOAc: MeOH (1: 1)	FB-A	FB-A
[0266] MeOAc: MeOH (1: 1)和 2.5 体积%水	FB-A	FB-A
EtOH	未进行	FB-A
ACN	未进行	FB-A
IPA: 水(8: 2)	未进行	FB-A

[0267] FB-A是指化合物1的结晶游离碱形式

[0268] 3. 无定形物生成实验

[0269] 在ACN:水(2:1体积)中进行冻干,生成无定形物质。称取约250mg的形式A到20mL小瓶中,加入6mL溶剂混合物,然后将该混合物加热至40°C并保持0.5小时,然后放入冷冻箱(-20°C)。将一部分冷冻混合物(约一半)舀取到过滤器上,随后融化以进行分析。将另一半融化,然后加入1mL ACN:水(2:1体积)和1mL水,然后将其再次放入冰箱。最后,将该混合物置于冷冻干燥器中过夜。对所得固体进行XRPD分析。参见表8。

[0270] 表8

溶剂	XRPD 图	方法
[0271] 6 mL ACN: 水(2:1)	形式 E(湿的, 立即过滤并进行 XRD, 57-1-湿的) 形式 F(干式真空烘箱, 57-1-干的) 当将形式 E 的湿饼放在小瓶中过夜后, 形式 E 转化为形式 A	过滤
1 mL ACN: 水(2:1) + 2mL 水	形式 A	冻干

[0272] 根据蒸发结晶的结果,观察到在THF中的模式为无定形物质。重复该实验,但是观察到模式D。参见表9。

[0273] 表9

溶剂	溶剂体积, μL	XRPD图
THF	13380	形式D

[0275] 在MeOH溶剂中蒸发结晶生成无定形物质。通过添加1.5体积甲醇以溶解形式A,在55°C下重复此实验。然后将溶液放入50°C的真空烘箱中过夜。XRPD显示所得固体为无定形物。TGA/DSC还显示出轻微的吸热事件,并伴随重量逐渐减轻2.7%。参见表10。

[0276] 表10

溶剂	溶剂体积, μL	XRPD图
MeOH	70	无定形物

[0278] 发现了形成化合物1的游离碱无定形形式的方法,并描述如下。

[0279] 将约4mL乙腈与2mL水混合。在20mL闪烁瓶中,将过量的化合物1固体悬浮在溶剂混合物中,以使固体不完全溶解。将闪烁瓶盖上盖子,然后将系统置于室温超声浴中10-15分钟。将该悬浮液通过0.45 μm 注射器式滤器过滤到100mL圆底烧瓶中以获得澄清溶液。使用干冰/丙酮浴将溶液冷冻,并将冷冻的溶液置于冷冻干燥器中至少18小时,以获得化合物1的

无定形形式。所获得的无定形形式的XRPD如图23所示。化合物1的无定形游离碱的TGA和DSC热谱图如图24所示。

[0280] 4. 蒸发结晶

[0281] 将约0.3mL至0.5mL各种溶剂系统中的形式A的饱和溶液蒸发至干,并进行XRPD分析。在50°C和大气压下进行蒸发(表11)。在许多情况下,由于溶解度低,非常少的固体。对于在室温的MeOH中,在室温和50°C的丙酮:水(8:2)中的取样,XRPD图仍为模式A;在室温和50°C下在ACN中观察到低结晶度游离碱;在50°C的MeOH中和在50°C的THF中生成无定形物。

[0282] 表11

溶剂	通过蒸发结晶的 XRPD 图	
	在 23°C 下浆化	在 50°C 下浆化
MeOH	形式 A	无定形物
EtOH	非常少的固体	非常少的固体
IPA	非常少的固体	非常少的固体
丙酮	非常少的固体	非常少的固体
MeBE	非常少的固体	非常少的固体
EtOAc	非常少的固体	非常少的固体
ACN	低结晶度游离碱	低结晶度游离碱
环己烷	非常少的固体	非常少的固体
MEK: 水(20: 1)	非常少的固体	非常少的固体
甲苯: EtOH: 水(10: 5: 1)	非常少的固体	非常少的固体
甲苯	非常少的固体	非常少的固体
THF	非常少的固体	无定形物
IPAc	非常少的固体	非常少的固体
丙酮: 水(8: 2)	形式 A	形式 A
THF: 水(8: 2)	非常少的固体	低结晶度形式 A
IPA: DMSO(8: 2)	非常少的固体	非常少的固体
IPA: DMSO: 水(80: 18: 12)	非常少的固体	非常少的固体
IPA: DMSO: 水(70: 25: 5)	非常少的固体	非常少的固体
IPA: DMSO: 水(70: 20: 10)	非常少的固体	非常少的固体
DCM	非常少的固体	N/A

[0284] 测量溶解度后,在MeOH溶剂系统中进行蒸发结晶。该结果示于表12中。在某些情况下,由于溶解度低,非常少的固体。对于在50°C的MeOH:水(1:1)中,在室温和50°C的MeOH:水(8:2)中和在50°C的EtOAc:MeOH:水(1:1:0.05)中的取样,XRPD图仍为模式A;在50°C的EtOH:MeOH(1:1)中发现模式B;在50°C的MeOAc:MeOH(1:1:0.05)中观察到模式F;在50°C的EtOAc:MeOH(1:1)中和在室温和50°C的MeOAc:MeOH(1:9)中生成无定形物。

[0285] 表12

溶剂	通过蒸发结晶的 XRPD 图	
	在 23°C 下浆化	在 50°C 下浆化
[0286]		

[0287]	MeOH: 水(1: 1)	非常少的固体	形式 A
	MeOH: 水(8: 2)	形式 A	形式 A
	EtOAc: MeOH (1: 1)	非常少的固体	无定形物
	EtOAc: MeOH (9: 1)	非常少的固体	非常少的固体
	EtOAc: MeOH (1: 9)	无定形物	无定形物
	EtOH: MeOH (1: 1)	非常少的固体	形式 B
	EtOAc: MeOH (1: 1)和 5 体积%水	非常少的固体	形式 A
	MeOAc: MeOH (1: 1)和 5 体积%水	非常少的固体	形式 F

[0288] 5. 慢速和快速冷却结晶

[0289] 进行慢速和快速冷却实验以研究形式A的多晶型行为。在慢速冷却实验中,将约20-35mg形式A在55°C下溶于各种溶剂系统中,然后在5小时内冷却至室温(23°C),如果未观察到沉淀,则将样品在1小时内冷却至5°C。在快速冷却实验中,通过将小瓶放在冰水浴中将55°C的形式A溶液迅速冷却至0°C,如果没有沉淀,将样品放入-20°C的冰箱中,不进行混合以进一步冷却。

[0290] 在快速和慢速冷却实验中,在IPA:DMSO(7:3)中和在IPA:DMSO:水(65:30:5)中未观察到沉淀。形式A不溶于77体积的MeOH:EtOH(3:7)。过滤并分析MeOH:EtOH(3:7)中的浆液,显示转化为模式B。在快速冷却实验中,获得了两个新的模式:在丙酮:水(8:2)中为模式G,在MeOH:EtOAc(1:1)中为模式H。在慢速冷却实验中,生成的固体的模式是在丙酮:水(8:2)中的模式A,以及在MeOH:EtOAc(1:1)中的模式B。参见表13。

[0291] 表13

溶剂	溶剂体积	通过冷却结晶的 XRPD 图	
		快速	慢速
丙酮: 水(8: 2)	72	形式 G	形式 A
IPA: DMSO (7: 3)	14	没有沉淀	没有沉淀
[0292] MeOH: EtOAc (1: 1)	17	形式 H	形式 B
IPA: DMSO: 水(65: 30: 5)	196	没有沉淀	没有沉淀
MeOH: EtOH (3: 7)	77	未溶解	未溶解(浆液为模式 B)

[0293] 6. 抗溶剂结晶

[0294] 进行了抗溶剂实验,以进一步研究形式A的多晶型行为。在直接的抗溶剂实验中,将抗溶剂添加到溶于3体积MeOH中的20-25mg形式A的溶液中,每次增加25μL。在反向添加实验中,将溶液立即添加到6体积的抗溶剂中。该实验在室温下进行。结果示于表14中。在实验过程中,仅在MeOH/EtOH系统中生成固体。

[0295] 表14

	溶剂(3 体积)	抗溶剂(6 体积)	抗溶剂结晶		XRPD 图	
			直接的	反向的	直接的	反向的
	MeOH	EtOAc	沉淀并快速溶解(没有固体)	沉淀并快速溶解(没有固体)	N/A	N/A
[0296]	MeOH	IPAc	沉淀并形成稀浆, 过滤后非常少的固体	沉淀并树脂化	N/A	N/A
	MeOH	丙酮	没有沉淀	没有沉淀	N/A	N/A
	MeOH	乙醇	沉淀	树脂化	形式 B	低结晶度形式 B
	MeOH	水	没有沉淀	没有沉淀	N/A	N/A

[0297] 7. 盐模式A的溶剂滴磨实验

[0298] 进行溶剂滴磨实验以评估形式A的多晶型行为。称重约25mg形式A到球磨机胶囊中, 然后加入25 μ L溶剂。将固体研磨3次, 每次30秒。每次从胶囊壁上刮下固体以防止结块。此外, 设计无溶剂的形式A的干磨作为参照。XRPD显示, 除干磨样品外, 在溶剂滴磨工艺后所得的固体保持不变, 这导致形式A的低结晶度, 几乎为无定形物。参见表15。

[0299] 表15

溶剂	溶剂体积, μ L	XRPD图
MeOH: 水 (95:5)	25	形式A
丙酮: 水 (8:2)	25	形式A
MeOH: MeOAc (1:1)	25	形式A
IPAc	25	低结晶度形式A
苯甲醚	25	形式A
干固体	没有溶剂	几乎为无定形物

[0301] 8. 半硫酸盐形成

[0302] 通过在各种溶剂中浆化化合物1 (即非结晶游离碱), 然后添加硫酸的EtOAc溶液来进行成盐。首先, 制备在EtOAc中的硫酸溶液 (浓度为约24重量%)。然后在2mL小瓶中称量25至30mg的化合物1的非结晶游离碱, 然后加入15体积的溶剂。然后加入所需的当量数的硫酸。将浆液加热至45 $^{\circ}$ C并保持1小时, 然后经2小时冷却至室温, 然后保持过夜。过滤浆液, 然后通过XRPD分析。结果示于表16中。

[0303] 表16

溶剂	观察		XRPD 图	
	0.5 当量硫酸	1.0 当量硫酸	0.5 当量硫酸	1.0 当量硫酸
IPA	稀浆和少量树胶状物	稀浆和少量树胶状物	低结晶度 FB-A	低结晶度 FB-A
乙腈	稀浆和少量树胶状物	溶液至浆液	低结晶度形式 A	形式 D
MeOAc: MeOH (1:1)	溶液*	溶液*	无定形物	无定形物
EtOAc: MeOH (1:1)	溶液*	溶液*	无定形物	无定形物
MeOAc: MeOH (1:1); 5%水	溶液*	溶液*	低结晶度形式 A	无定形物
EtOAc: MeOH (1:1); 5%水	溶液至浆液	溶液*	形式 A	无定形物
MeOAc: MeOH (1:1); 10%水	溶液*	溶液*	形式 A	无定形物
丙酮	浆液	稀浆和少量树胶状物	低结晶度 FB-A	形式 D
THF	浆液	浆液	低结晶度 FB-A	低结晶度 FB-A
乙醇	浆液	溶液至浆液	形式 I	形式 D
IPAc	稀浆和少量树胶状物	稀浆和少量树胶状物	FB-A	低结晶度 FB-A
MeOAc: MeOH (1:1); 1%水	溶液*	溶液*	低结晶度 FB-A	无定形物

[0305] *搅拌3-4小时后没有沉淀,然后蒸发溶剂。FB-A是指化合物1的结晶游离碱形式

[0306] 在有水和无水的MeOAc:MeOH (1:1) 混合物中也形成了半硫酸盐。制备了43wt%的硫酸水溶液(密度:1.3072g/mL),用于半盐的形成。参见表17。

[0307] 表17-在含有0.52当量硫酸水溶液(40至50wt%)的MeOAc:MeOH溶剂系统中形成盐

硫酸, 当量	硫酸水溶液, μL	溶剂, μL	实验说明	XRPD 图 - 湿固体
0.52	19.4	578.4	在室温下加入 6 体积的 MeOAc: MeOH (1: 1); 加入 0.52 当量的酸; 使用一些类型的固体获得的溶液加入模式 A (Pattern A) 作为晶	形式 J

			种 加入模式 B (Pattern B) 作为晶种 保持 1 小时变得浓稠。样品用于 XRPD。 加热至 50 °C		
[0309]	0.52	18.6	555	在室温下加入 6 体积的 MeOAc: MeOH (1: 1) 加入 0.52 当量的酸; 使用一些类型的固体获得的溶液 滴加 0.4 体积的水 保持 2 小时变得浓稠。过滤用于 XRPD	形式 A
	0.52	19.8	591	在室温下加入 6 体积的 MeOAc: MeOH (1: 1) 加热至 45°C 加入 0.52 当量的酸; 使用一些类型的固体获得的溶液 滴加 0.4 体积的水 保持 30 分钟, 并用 1 小时的时间冷却至室温 保持 1 小时变得浓稠。过滤用于 XRPD	形式 A
	0.52	18.6	555.6	在室温下加入 6 体积的 MeOAc: MeOH (1: 1) 加入 0.52 当量的酸; 使用一些类型的固体获得的溶液 用 2 小时的时间加入 1 体积的水 保持 1 小时变得浓稠。过滤用于 XRPD	形式 A

[0310] 通过在甲醇中将化合物1浆化,然后添加硫酸水溶液(43wt%水溶液)来进行半硫酸盐的形成。在4mL小瓶中称量约100mg化合物1(非结晶游离碱),然后加入6体积溶剂。然后加入0.52当量的硫酸水溶液(浓度大约43wt.%),其在室温下完全溶解。对于实验1,首先滴加1体积的水,然后加入少量的模式A作为晶种,然后在1小时内添加5体积的水;对于实验2,未添加水,加入模式A和B作为晶种;对于实验3,在2小时内加入6体积的水,没有加入晶种。将所有的小瓶搅拌过夜(0/N)。过滤浆液,然后通过XRPD分析。对于添加水的实验的产率为约80%,并且对于未添加水的实验的产率为约60%,参见表18。

[0311] 表18

溶剂	溶剂体积, μL	硫酸水溶液, μL	添加的水, μL	最终组成	加入的晶种	XRPD图	产率
[0312] MeOH	572	19.2	595	MeOH: 水 (50: 50)	形式 A	形式 A	84%
MeOH	552	18.4	未添加水	MeOH: 水 (98.5: 1.5)	形式 A+B	形式 B	63%
MeOH	577	19.4	600	MeOH: 水 (50: 50)	没有晶种	形式 A	82%

[0313] 还通过使用游离碱和硫酸在甲醇:水 (95:5) 中进行半硫酸盐形成。称重约150mg的化合物1到4mL小瓶中,加入8体积的溶剂。将混合物以500rpm搅拌,并然后加入0.52当量硫酸水溶液(浓度大约43wt.%)。将该混合物加热至45°C,使其完全溶解,然后加入0.5体积的水,然后冷却至室温,并保持0/N。其导致生成可流动的浆液。然后加入3.5体积的水并过滤。XRPD分析显示为模式A。产率为约84%。参见表19。

[0314] 表19

溶剂	溶剂, μL	硫酸水溶液, μL	温度(加热至), °C	最终组成	XRPD图	产率
[0315] MeOH: 水 (95: 5)	1200	30.2	45	MeOH: 水 (63: 37)	形式 A	84%

[0316] 形式A的放大实验按照如下进行。

[0317] 将约1.0253g化合物1加入到100mL烧瓶中。然后加入8体积的MeOH:水 (95:5体积) 溶剂(8.2mL),并使用具有3.5cm直径的4-节距叶片涡轮(4-PBT)叶轮将混合物以300rpm搅拌。手动添加0.52当量硫酸水溶液(~43wt.%) (206 μL),并将混合物在10分钟内从23°C加热到45°C,使其完全溶解。加入0.5体积的水(0.512mL),将溶液保持10分钟,在1小时内冷却至23°C,并在搅拌的同时保持过夜。没有观察到沉淀。然后在1小时内加入4体积的水,并且在室温下整个水添加期间该溶液保持澄清。水添加完成后不久(15-30分钟)开始沉淀。通过XRPD分析样品显示为模式A。然后将混合物在1小时内冷却至15°C,在搅拌的同时保持3小时,然后过滤并用2体积的MeOH:水(1:1)洗涤。湿滤饼的XRPD显示为模式A。将产物在50°C的真空烘箱中干燥过夜。通过XRPD,盐模式A的产量为1.1143g。通过NMR,残余的甲醇为0.18重量%。使用pH计测量滤液的pH,显示其值为2.63。

[0318] 9. 半硫酸盐放大

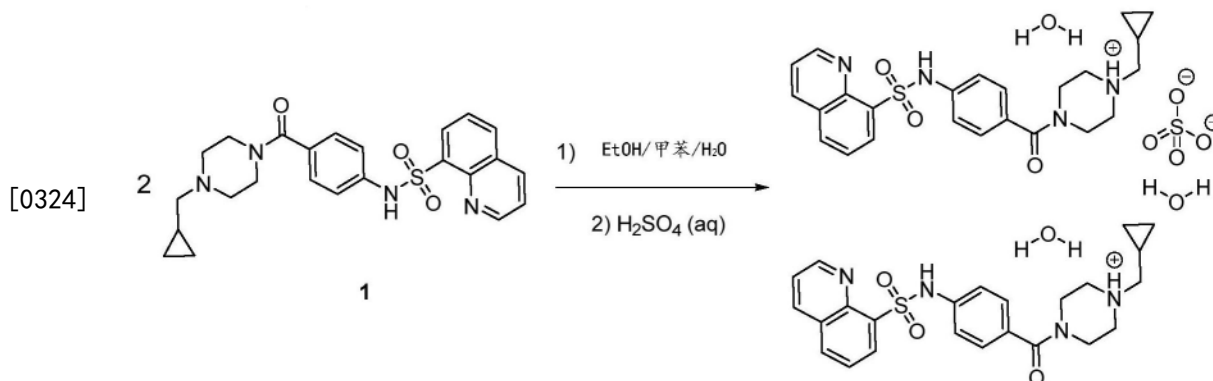
[0319] 如下所述,以2克规模生产半硫酸盐。所得固体为半硫酸盐形式A。产率为约88%。

[0320] 将约1.9581g化合物1加入到100mL烧瓶中。加入8体积的MeOH:水 (95:5体积) 溶剂(15.9mL),并使用具有3.5cm直径的4-PBT叶轮将混合物以300rpm搅拌。手动添加0.52当量硫酸水溶液(~43wt.%) (399 μL)。将混合物在10分钟内从23°C加热到45°C,使其完全溶解。加入0.5体积的水(0.993mL),将溶液保持10分钟,在1小时内冷却至23°C。在1小时内加入4体积的水,并且在搅拌约45分钟后观察到成核。将混合物在1小时内冷却至15°C,在搅拌下保持约30分钟,过滤并用2体积的MeOH:水(1:1)洗涤。湿滤饼的XRPD显示为模式A。将产物在50°C的真空烘箱中干燥过夜。通过XRPD,盐模式A的产量为2.04g (88%)。通过NMR,残余的甲醇为0.16重量%。

[0321] 10. 优化的结晶形式A半硫酸盐放大工艺

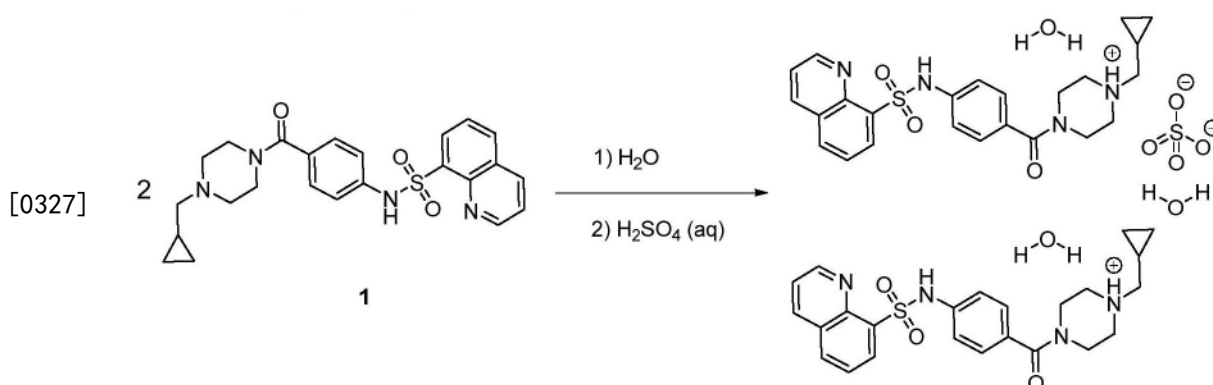
[0322] 下面提供了有晶种和无晶种的半硫酸盐倍半水合物(形式A)的优化制备方法。

[0323] 具有晶种的1-(环丙基甲基)-4-(4-(喹啉-8-磺酰氨基)-甲酸酯)哌嗪-1-鎓硫酸盐三水合物(形式A)的制备



[0325] 在 N_2 下,向2L反应器中装入N-(4-(4-(环丙基甲基)哌嗪-1-羰基)苯基)喹啉-8-磺酰胺(5)(111.0g,246.4mmol)以及乙醇(638.6g)、甲苯(266.1g)和水(159.6g)的预混合的加工溶剂。将悬浮液搅拌并加热至 60°C 以上以溶解固体,然后将所得溶液冷却至 50°C 。向该溶液中加入 H_2SO_4 水溶液(2.4M,14.1mL,33.8mmol),随后加入1-(环丙基甲基)-4-(4-(喹啉-8-磺酰氨基)-甲酸酯)哌嗪-1-鎓硫酸盐三水合物(6)(1.1g,2.1mmol)。搅拌1小时后,用5小时的时间,向该悬浮液中加入 H_2SO_4 水溶液(2.4M,42.3mL,101.5mmol)。将悬浮液冷却至 22°C 并搅拌8小时。将该固体在 22°C 下过滤,用新鲜的加工溶剂($2 \times 175\text{g}$)洗涤,并干燥得到产物(121.6g),94%的分离产率。LC-MS(C18柱,用90-10 CH_3CN /水洗脱,经2分钟)实测值(M+1)=451。 1H NMR(400MHz,DMSO- d_6) δ 10.45(s,1H),9.11(dd,J=4.2,1.7Hz,1H),8.50(dd,J=8.4,1.7Hz,1H),8.41(dd,J=7.3,1.5Hz,1H),8.27(dd,J=8.2,1.5Hz,1H),7.79-7.60(m,2H),7.17(d,J=8.4Hz,2H),7.11(d,J=8.4Hz,2H),3.44(d,J=8.9Hz,5H),3.03-2.50(m,6H),0.88(p,J=6.3Hz,1H),0.50(d,J=7.6Hz,2H),0.17(d,J=4.9Hz,2H)。

[0326] 无晶种的1-(环丙基甲基)-4-(4-(喹啉-8-磺酰氨基)苯甲酰基)哌嗪-1-鎓硫酸盐三水合物(形式A)的制备



[0328] 在 28°C 下,向50L反应器中装入N-(4-(4-(环丙基甲基)哌嗪-1-羰基)苯基)喹啉-8-磺酰胺(5)(1.20kg,2.66mol)和水(23.23L)。在搅拌悬浮液的同时,在2小时内滴加 H_2SO_4 水溶液(1.0M,261g)。将该反应在 $25-30^\circ\text{C}$ 下搅拌24小时。将固体过滤,并在低于 30°C 的真空下干燥96小时以得到产物(1.26kg),90%的分离产率。

[0329] 11.不同模式的的重现和制备

[0330] 重现先前实验中观察到的模式以进行表征。模式B、D、E、F是可重现的。以较低的结晶度重现模式G。尽管重现了模式I,但是其缺少一些峰。参见表20。

[0331] 表20

目标模式	实际模式	溶剂	方法	说明
[0332] 形式 B	形式 B	EtOH	在室温下浆化	保存在甲醇或乙醇中。干燥后,失去结晶度
形式 C+A	形式 A	IPA	在室温下浆化	模式 C 不可重现,因为它可能如此
				不稳定,并转化为模式 A
形式 D	形式 A+D	ACN	在 50°C 下浆化	模式 D 是无水的
形式 B	形式 B	EtOH : MeOH (3: 7)	在 55°C 下浆化	获得模式 B
形式 E	形式 E	ACN: 水(2: 1)	-20°C 冷却结晶	非常低的产率(5%)干燥后不稳定并转化为 F
形式 F	形式 F	N/A	通过在 50°C 和真空下干燥模式 E 获得	在 TGA 中,约有 8 重量%的损失,基于 NMR,其应该是水
[0333] 形式 G	低结晶度形式 G	ACN: 水(8: 2)	快速冷却结晶 & -20°C	在 TGA 中,约有 5 重量%的损失,基于 NMR,其应该是水
形式 H	几乎为无定形固体。大多数峰不见了	MeOH : EtOAc (1: 1)	快速冷却结晶 & -20°C	可能是非常低结晶度的溶剂化物
形式 B	形式 B	MeOH: 水(99: 1)	在室温下溶解,并用模式 A 和 B 种晶	获得模式 B
形式 I	形式 I—一些峰不见了	EtOH	使用游离碱和硫酸的 EtOAc 溶液形成盐	含有 8.5 重量%的 EtOH。可能是溶剂化物
形式 D	形式 D	ACN	使用游离碱和硫酸的 EtOAc 溶液形成盐	模式 D 是无水的

[0334] 形式B

[0335] 可以通过在室温下在约10体积的乙醇中将形式A浆化数天来制备形式B,直到获得形式B。形式B通常是干燥的。在真空下于50°C干燥。上文描述了形成形式B的其他方法,例如在表5、6、12-14、18和20中。

[0336] 形式C

[0337] 在约23°C下将形式A在IPA中浆化2天后,形成形式C与形式A的混合物。参见例如表5。通过减去形式A的峰获得形式C的XRPD峰。

[0338] 形式D

[0339] 通过向化合物1中添加15体积的乙腈,然后添加0.52当量硫酸,并将混合物加热至50°C,形成形式D。然后将混合物在50°C下保持30分钟,冷却至室温。然后将所得的产物(形式D)过滤并干燥。或者,可以在IPA或乙腈中在高于50°C下将形式A浆化至少2天,以转化为形式D。后一种方法不如使用游离碱的第一种方法稳定。上文描述了其他方法,例如在表5、6、9、16和20中。

[0340] 形式E

[0341] 可以通过向形式A中添加24体积的乙腈:水(2:1),并将混合物加热至50°C以溶解该物质来制备形式E。然后将溶剂冷却至-20°C,放置过夜。然后将生成的产物(形式E)过滤。参见例如表8和20中。

[0342] 形式F

[0343] 形式F可以通过在50°C下真空干燥形式E来制备。参见例如表20。上文描述了其他方法,例如在表8和12中。

[0344] 形式G

[0345] 可以通过向形式A中添加72体积的乙腈:水(8:2),然后将混合物加热至50°C以溶解该固体来制备形式G。然后将该溶剂快速冷却至-20°C,放置过夜以生成形式G。参见例如表20。上文描述了其他方法,例如在表13中。

[0346] 形式H

[0347] 形式H可通过如下方法制备:在50°C下将形式A溶于40体积的MeOH:EtOAc(1:1),然后将该溶液置于冰中使溶液骤冷,然后冷却该溶液至-20°C。然后将所得沉淀(形式H)过滤并分析为湿滤饼。参见例如表20。重现模式H生成无定形样固体,其没有形式H的峰。上文描述了其他方法,例如在表13中。

[0348] 形式I

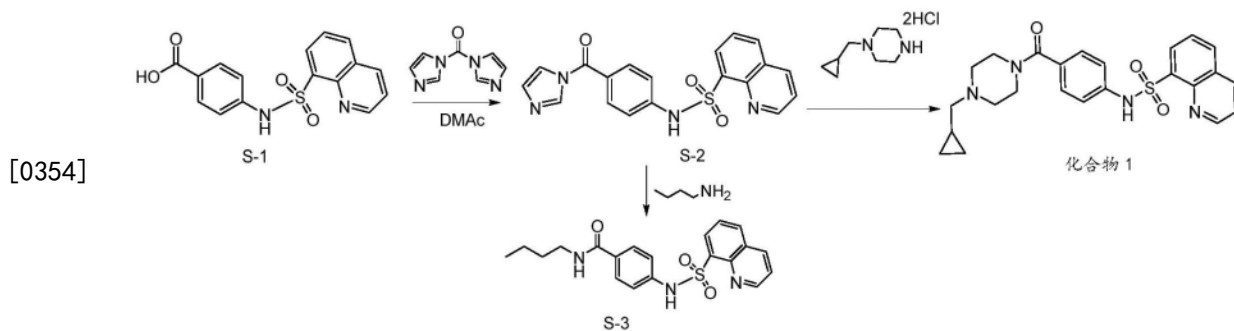
[0349] 形式I可能是溶剂化物,其可以通过向化合物1中添加15体积的乙醇并将混合物加热至45°C以获得浆液来制备。然后加入0.52当量硫酸的EtOAc溶液,并将混合物保持1小时,然后用2小时的时间冷却至室温,保持1小时并过滤。然后将产物(形式I)在50°C和真空下干燥。参见例如表16和20。

[0350] 形式J

[0351] 在室温下,通过添加化合物1和6体积的MeOAc:MeOH(1:1)可以形成形式J。然后加入0.52当量的在水中稀释至43重量%的硫酸。然后将浆液加热至60°C以溶解该混合物,将该溶液冷却至室温并过滤。获得作为湿滤饼的形式J,其在干燥后转化为形式A。参见例如表17。

[0352] 化合物1的结晶游离碱形式

[0353] 化合物1的结晶游离碱形式可以通过以下方法制备。



[0355] 在 N_2 保护下,将14.8kg S-1和120kg DMAc装入圆底烧瓶中,并将该反应在 $30^\circ C$ 下,在 N_2 保护下搅拌40分钟,获得澄清的黄色溶液。加入7.5kg CDI (1.02eq.),将反应在氮气保护下于 $30^\circ C$ 搅拌2.5小时。在 $30^\circ C$ 下加入0.6kg的CDI (0.08eq.),并将混合物在氮气保护下于 $30^\circ C$ 搅拌2小时。再次测试该反应的物料消耗。在 $30^\circ C$ 下,将11.0kg (1.14eq.) 1-(环丙基甲基)哌嗪氯化物装入圆底烧瓶中,将该反应在 N_2 保护下搅拌6小时(澄清溶液)。用2小时的时间滴加7.5X H_2O ,形成一些固体,将反应在 $30^\circ C$ 下搅拌1小时。用2.5小时的时间加入16.8X H_2O ,将反应搅拌2.5小时。加入3.8kg (0.25X) NaOH (30%, w/w, 0.6eq.),并将反应在 $30^\circ C$ 下搅拌3小时。将反应过滤,并将湿滤饼用 $H_2O/DMAc = 44kg/15kg$ 冲洗。获得23.35kg湿滤饼(KF:4%)。加入10.0X DMAc重结晶该样品,并在 $70^\circ C$ 搅拌1小时成澄清溶液;在 $70^\circ C$ 下用2小时的时间加入4.7X H_2O ,并将反应在 $70^\circ C$ 下搅拌2小时;在3小时内滴加12.8X H_2O ,并在 $70^\circ C$ 下搅拌2小时;在5小时内将反应调节至 $30^\circ C$,并在 $30^\circ C$ 下搅拌2小时;过滤反应物,并将湿滤饼用DMAc/ $H_2O = 15kg/29kg$ 和150kg H_2O 冲洗。获得19.2kg湿滤饼。将该物质按照如下再次重结晶。向湿滤饼中加入10.0X DMAc,反应在 $70^\circ C$ 搅拌1小时成澄清溶液。在 $70^\circ C$ 下滴加16.4X H_2O ,并将反应在 $70^\circ C$ 下搅拌2小时。在5.5小时内将反应调节至 $30^\circ C$,并在 $30^\circ C$ 下搅拌2小时。离心该反应,得到21.75kg湿滤饼。将该物质在真空下于 $70^\circ C$ 干燥25小时。获得16.55kg的化合物1的结晶游离碱形式。纯度为99.6%。

[0356] 12. 在水和模拟流体中的溶解度

[0357] 测定模式A、B和D在水中的溶解度。将固体在液体中在 $37^\circ C$ 下浆化两天。将上清液用注射器过滤,并用于HPLC分析。对于模式A和D,重复溶解度测量,在1小时浆化后取样。使用模式A绘制校准曲线。其未经分析校正,因此该溶解度值基于半硫酸盐,倍半水合物盐。

[0358] 两天浆化后,模式B和D均转化为模式A。模式D在禁食状态下的模拟胃液(FaSSGF)或水中浆化1小时内,也转化为模式A。仅在禁食状态下的模拟肠液(FaSSIF)中,两天浆化后模式A和B歧化成结晶游离碱,并显示出较低的溶解度。然而,模式D在FaSSIF中并不成比例,而是转化为模式D。这三种样品在水和模拟流体中的溶解度没有显著差异。这可能是由于模式B和D转化为模式A所致。表21中列出了测量后的溶解度数据和所得的XRPD图。

[0359] 表21-在 $37^\circ C$ 下在模拟流体中的溶解度

	模式	溶解度 mg 固体/mL 溶剂	模式	浆化时间
	A	2.69	A	2 天
	B	3.02	A	2 天
	D	2.71	A	2 天
	FaSSIF	0.24	FB	2 天
	FaSSIF	0.20	FB	2 天
[0360]	FaSSIF	3.49	A	2 天
	FaSSGF	6.80	固体不足以进行 XRPD	2 天
	FaSSGF	6.53	A	2 天
	FaSSGF	5.94	A	2 天
	水	3.05	A	1 hr
	FaSSGF	7.07	A	1 hr
	水	2.62	A	1 hr
	FaSSGF	5.43	A	1 hr

[0361] FB指的是化合物1的结晶游离碱。

[0362] 13. 竞争性浆化

[0363] 四种不同的溶剂用于竞争性浆化实验。在两个不同温度下,选择四种溶剂系统用于竞争性浆化。该溶剂为丙酮、丙酮:水(9:1)、IPA和MeOH:水(95:5),并且温度为23°C和50°C。首先通过在目标温度下将模式A浆化约2小时使所有溶剂饱和,然后移除搅拌棒,并将小瓶保持在目标温度下,使固体沉降。然后将饱和的上清液转移到新的空瓶中,该空瓶已经在热板上加热至目标温度。然后,将5-10mg每个模式A、B和D分别添加到这些饱和溶液中。使用搅拌棒将固体混合物浆化,并在2天浆化后进行第一次取样。模式A在含有水的溶剂中是稳定的。模式D在无水系统中是稳定的,尤其是在较高温度下。当使用无水有机溶剂时,模式D(其为无水固体)似乎是最稳定的固体。参见表22。

[0364] 表22

溶剂	初始模式	XRPD 图-2 天		XRPD 图-1 周	
		室温	50 °C	室温	50 °C
丙酮	A + B + D	A+D	D	A+D	D
[0365] 丙酮: 水(9: 1)	A + B + D	A	A	A	A
IPA	A + B + D	D	D	D	D
MeOH: 水(95: 5)	A + B + D	A	样本不足以进行 XRPD	A	---

[0366] 14. 稳定性研究

[0367] 在以下三个条件下,形式A的稳定性研究中未观察到降解:在40±2°C/75±5% RH下1个月,在25±2°C/60±5% RH下3个月,在30±2°C/65±5%RH下3个月,在40±2°C/75% RH下3个月,在25±2°C/60±5% RH下12个月。

[0368] 15. 示例性的片剂组合物

[0369] 通过直接压制直接共混制剂或通过干法制粒或湿法制粒工艺将形式A配制成片剂。可以添加其他赋形剂,例如粘合剂、和/或表面活性剂和包衣膜,以帮助实现片剂完整性、掩味和美观。示例性的片剂组合物如下:

[0370]	组分	组分的重量%
--------	----	--------

形式A	11.70%
微晶纤维素NF	60.18%
甘露醇	23.12%
交联羧甲纤维素钠	3.00%
硬脂富马酸钠	2.00%
%总计	100.00%

[0371] 15. 表征总结

[0372] i) .形式A

[0373] 形式A的XRPD如图1所示,并且表23显示了峰列表。

[0374] 表23

角, 2- θ	d 间距(\AA)	高度(计数)	相对强度
4.9	17.8305	40	0.28%
9.9	8.9545	9363	66.02%
11.0	8.02613	2418	17.05%

[0375]

	11.4	7.7313	4177	29.45%
	11.7	7.56421	3209	22.63%
	12.3	7.16163	635	4.48%
	12.8	6.93632	2500	17.63%
	13.6	6.51539	2286	16.12%
	13.9	6.38771	1644	11.59%
	14.2	6.23136	3520	24.82%
	15.0	5.88897	5689	40.11%
	15.3	5.78752	4085	28.80%
	15.8	5.60806	12313	86.82%
	17.1	5.17018	7400	52.18%
	17.4	5.07818	2144	15.12%
	17.7	4.99463	4146	29.23%
	18.8	4.71113	2437	17.18%
	19.1	4.63884	1177	8.30%
[0376]	19.8	4.49007	3657	25.79%
	21.3	4.17694	6577	46.38%
	21.9	4.04794	6503	45.85%
	22.6	3.92853	14182	100.00%
	23.0	3.86945	1915	13.50%
	23.2	3.82274	2764	19.49%
	23.5	3.78695	4288	30.24%
	23.8	3.73813	2177	15.35%
	24.1	3.68699	1723	12.15%
	24.5	3.63374	2387	16.83%
	25.3	3.51767	3957	27.90%
	25.6	3.47637	2258	15.92%
	26.1	3.41137	1463	10.32%
	27.1	3.28258	3975	28.03%
	28.1	3.17265	2581	18.20%
	29.8	3.00049	2969	20.93%

[0377] 形式A的TGA显示在180℃下重量损失约4.5%。参见图2。通过卡尔·费歇尔,水含量约为5.3%。在DSC热谱图中观察到两个热事件,第一个峰在159.9℃,第二个峰在199.1℃。参见图3。第一个峰还显示肩峰。在25℃下,盐形式A的动态蒸气吸附表明固体从2%到95%的相对湿度中吸收了约1.3%的水分。参见图4。DVS在湿度小于10%时快速失重,在吸附循环时可逆。在40℃下获取的DVS等温线与25℃时的等温线基本相同。在两个温度下进行DVS后,XRPD均保持不变。对形式A进行湿度测试,在40℃下暴露于11%、48%和75%的相对湿度下2周,然后进行XRPD分析。两周测试后,XRPD保持不变。参见图5。形式A的晶体学数据如下:

[0378] 实验式: $C_{48}H_6N_8O_{13}S_3$

[0379] 分子量:1053.22

- [0380] 温度:173(2)K
- [0381] 波长:1.54178 Å
- [0382] 晶系,空间群:单斜晶系,C 2/c
- [0383] 晶胞尺寸:
- [0384] $a = 3.0748(5) \text{ \AA}$
- [0385] $b = 10.2638(4) \text{ \AA}$
- [0386] $c = 36.1371(12) \text{ \AA}$
- [0387] $\alpha = 90$ 度。
- [0388] $\beta = 97.340(3)$ 度。
- [0389] $\gamma = 90$ 度。
- [0390] 体积:4809.8(3) Å³
- [0391] Z=4
- [0392] 计算的密度:1.454Mg/m³
- [0393] 吸收系数:2.046mm⁻¹
- [0394] F(000) :2224
- [0395] 晶体大小:0.171x 0.156x 0.061mm³
- [0396] 用于数据收集的 θ 范围:2.47至72.03°度。
- [0397] 限制指数:
- [0398] $-15 \leq h \leq 16$
- [0399] $-12 \leq k \leq 12$
- [0400] $-43 \leq l \leq 44$
- [0401] 收集的衍射点/独立衍射点:16676/4532[R(int) = 0.0767]完整度:95.6%
- [0402] 精修方法:对F²的全矩阵最小二乘法
- [0403] 数据/限制/参数:4532/0/336
- [0404] 对F²的拟合优度:1.096
- [0405] ii).晶系B
- [0406] 形式B的XRPD如图6所示,并且表24显示了峰列表。
- [0407] 表24

[0408]

角, 2- θ	d 间距(Å)	高度(计数)	相对强度
7.0	12.57535	1083	8.57%
7.8	11.27583	1748	13.83%
9.9	8.89921	10912	86.36%
10.6	8.33283	3619	28.64%
11.7	7.55341	2313	18.31%
12.7	6.95632	7739	61.25%
13.1	6.7694	1609	12.73%
13.5	6.53423	2490	19.71%
13.9	6.38636	3216	25.45%
14.6	6.06413	3446	27.27%
14.9	5.94981	2751	21.77%
15.3	5.79313	2471	19.56%
15.7	5.62485	4393	34.77%
16.1	5.51086	1536	12.16%
16.9	5.2332	7462	59.06%
17.6	5.02985	2722	21.54%
19.3	4.60381	2787	22.06%
19.7	4.50087	2503	19.81%
20.7	4.29561	2454	19.42%
21.2	4.18049	1540	12.19%
22.0	4.03572	8193	64.84%
22.5	3.95619	12635	100.00%
23.3	3.81776	1530	12.11%
24.0	3.70488	985	7.80%
24.7	3.60111	2053	16.25%
25.1	3.54205	2015	15.95%
25.7	3.46451	521	4.12%
26.1	3.41725	1020	8.07%
27.2	3.27757	1417	11.21%
27.6	3.23088	3271	25.89%
28.4	3.1406	1887	14.93%
29.3	3.04578	1720	13.61%
29.8	2.99111	750	5.94%

[0409] 形式B倾向于保持大量的溶剂。然而, TGA数据与有机溶剂的NMR数据不符, 这可能是由于形式B的吸湿性所致。参见例如图7。形式B的DVS显示, 固体在2%至95%的相对湿度之间吸收了约14%的水分。

[0410] iv). 形式D

[0411] 形式D的XRPD如图9所示, 并且表26显示了峰列表。

[0412] 表26

角, 2- θ	d 间距(\AA)	高度(计数)	相对强度
5.8	15.28058	4971	70.74%
10.0	8.87509	4389	62.46%
10.2	8.65751	6043	86.00%
11.3	7.82263	2566	36.52%
11.5	7.66971	749	10.66%
12.2	7.27684	3233	46.01%
13.6	6.51388	2448	34.84%
14.1	6.28225	1365	19.43%
14.7	6.01924	2881	41.00%
15.4	5.74733	250	3.56%
16.0	5.52579	1652	23.51%
17.3	5.13037	3250	46.25%
[0413] 17.6	5.03792	3136	44.63%
19.3	4.59918	5083	72.34%
20.0	4.42807	1495	21.28%
20.8	4.26377	1928	27.44%
22.1	4.01598	1363	19.40%
22.9	3.88059	4961	70.60%
23.3	3.81849	7027	100.00%
23.6	3.76707	3176	45.20%
24.4	3.6518	1755	24.98%
25.2	3.52644	4136	58.86%
26.4	3.37296	1305	18.57%
27.4	3.25211	610	8.68%
28.3	3.15078	553	7.87%
29.6	3.01482	615	8.75%

[0414] 形式D被确定为无水,熔点为239 $^{\circ}\text{C}$ 。参见例如图9。进行模式D的DVS,并且固体在2%至95%的相对湿度中吸收了约2%的水分。参见图10。在DVS后,XVSD模式保持不变,并且在40 $^{\circ}\text{C}$ 下暴露于75%相对湿度下一周也没有改变其晶型。

[0415] v).形式E

[0416] 形式E的XRPD如图11所示,并且表27显示了峰列表。

[0417] 表27

[0418]

角, 2- θ	d 间距(\AA)	高度(计数)	相对强度
4.6	19.33569	1738.68	42.25%
9.0	9.8034	4115.26	100.00%
9.9	8.90634	170.17	4.14%
11.0	8.05091	182.67	4.44%
13.5	6.56847	2221.93	53.99%
15.1	5.86939	909.83	22.11%
15.8	5.59154	280.55	6.82%
18.5	4.78855	309.99	7.53%
19.8	4.48316	260.12	6.32%
20.4	4.34963	461.71	11.22%
21.7	4.09107	862.85	20.97%
22.5	3.94718	1259.97	30.62%
28.1	3.1714	143.14	3.48%

[0419] vi) .形式F

[0420] 形式F的XRPD如图12所示,并且表28显示了峰列表。TGA和DSC的组合如图13所示。

[0421] 表28

[0422]

角, 2- θ	d 间距(\AA)	高度(计数)	相对强度
5.0	17.63127	3501.15	68.88%
9.9	8.953	5083.17	100.00%
11.1	7.95783	175.54	3.45%
14.7	6.02129	1144.71	22.52%
16.5	5.3774	319.64	6.29%
19.6	4.52559	557.84	10.97%
21.6	4.11341	625.78	12.31%
22.8	3.89996	383.12	7.54%
24.4	3.64257	313.08	6.16%

[0423] vii) .形式G

[0424] 形式G的XRPD如图14所示,并且表29显示了峰列表。TGA和DSC的组合如图15所示。

[0425] 表29

[0426]

角, 2- θ	d 间距(\AA)	高度(计数)	相对强度
4.7	18.70556	1242.62	59.33%
9.4	9.36302	2094.33	100.00%
11.0	8.02324	393.11	18.77%
13.3	6.67148	95.37	4.55%

[0427]	14.1	6.2664	1061.57	50.69%
	15.9	5.58681	287.25	13.72%
	16.2	5.46454	135.26	6.46%
	18.9	4.69155	302.27	14.43%
	21.1	4.20095	210.62	10.06%
	21.2	4.17959	623.95	29.79%
	22.8	3.89083	287.75	13.74%
	23.8	3.74261	339.41	16.21%
	26.7	3.3332	36.96	1.76%
	28.5	3.12882	200.93	9.59%

[0428] viii).形式H

[0429] 形式H的XRPD如图16所示,并且表30显示了峰列表。

[0430] 表30

角, 2- θ	d 间距(\AA)	高度(计数)	相对强度	
4.6	19.00577	2892.58	100.00%	
5.4	16.21955	656.39	22.69%	
7.4	11.92606	1637.2	56.60%	
9.2	9.58199	2031.32	70.23%	
10.3	8.60629	244.93	8.47%	
11.1	7.96834	1041.86	36.02%	
13.5	6.53326	1064.3	36.79%	
13.8	6.3908	495.71	17.14%	
14.9	5.92137	1640.91	56.73%	
16.9	5.24557	238.8	8.26%	
[0431]	17.6	5.03079	330.16	11.41%
	18.4	4.82818	764.47	26.43%
	19.5	4.55426	201.62	6.97%
	20.7	4.28199	421.57	14.57%
	22.3	3.98173	914.58	31.62%
	22.9	3.88793	641.59	22.18%
	23.4	3.80422	445.25	15.39%
	24.1	3.68517	219.37	7.58%
	24.8	3.58024	766.52	26.50%
	26.5	3.36223	292.29	10.10%
	27.2	3.27175	129.95	4.49%
	29.5	3.0237	272.48	9.42%

[0432] ix).形式I

[0433] 形式I的XRPD如图17所示,并且表31显示了峰列表。TGA和DSC的组合如图18所示。NMR分析表明存在约4.6%的EtOH,这表明可能存在溶剂化物。

[0434] 表31

[0435]

角, 2- θ	d 间距(\AA)	高度(计数)	相对强度
6.7	13.16055	3581.49	96.93%
7.7	11.44901	740.16	20.03%
9.5	9.319	1710.55	46.29%
9.9	8.97128	3519.19	95.24%
10.5	8.45555	1052.24	28.48%
11.6	7.61244	855.25	23.15%
12.6	7.01279	1799.14	48.69%
13.4	6.60237	1385.62	37.50%
13.8	6.43395	850.03	23.00%
14.3	6.19667	516.23	13.97%
15.2	5.8277	722.04	19.54%
15.8	5.59406	1926.11	52.13%
16.8	5.26642	1316.92	35.64%
17.2	5.1627	745.55	20.18%
19.0	4.65907	716.28	19.39%
19.7	4.50851	3694.98	100.00%
20.5	4.32796	526.56	14.25%
20.9	4.25526	540.88	14.64%
21.9	4.05301	2830.08	76.59%
22.3	3.97817	2205.69	59.69%
23.9	3.71963	1226.09	33.18%
24.6	3.61051	976.08	26.42%
25.5	3.48946	531.17	14.38%
26.0	3.42073	440.36	11.92%
27.5	3.24167	511.68	13.85%
28.3	3.15203	747.77	20.24%
29.3	3.0427	455.27	12.32%

[0436] x) .形式J

[0437] 形式J的XRPD如图19所示,并且表32显示了峰列表。

[0438] 表32

[0439]

角, 2- θ	d 间距(\AA)	高度(计数)	相对强度
12.4	7.14209	722.37	100.00%
13.2	6.69075	254.54	35.24%

[0440]	14.6	6.06522	348.12	48.19%
	15.7	5.64077	168.89	23.38%
	20.4	4.34313	213.59	29.57%
	22.0	4.0429	79.01	10.94%
	23.3	3.8076	179.4	24.83%
	23.7	3.74601	213.97	29.62%
	28.0	3.18475	87.25	12.08%

[0441] xi). 化合物1的结晶游离碱

[0442] 化合物1的结晶游离碱形式的XRPD如图25所示, 并且表33显示了峰列表。

[0443] 表33

角, 2- θ	d 间距(\AA)	相对强度(%)
6.9	12.8	46.1
10.6	8.4	1.9
12.1	7.3	0.8
13.5	6.5	100
14.3	6.2	2.2
15.7	5.6	10.3
15.9	5.6	10.1
17.3	5.1	5.9
17.9	4.9	2.9
19.8	4.5	32.6
20.3	4.4	44.0
21.0	4.2	3.0
21.7	4.1	2.8
22.2	4.0	1.0
[0444] 23.6	3.8	13.5
24.0	3.7	7.8
24.8	3.6	10.6
25.7	3.5	23.1
26.0	3.4	2.2
26.7	3.3	1.7
27.1	3.3	2.9
27.6	3.2	0.6
28.4	3.1	4.0
29.7	3.0	9.7
30.6	2.9	3.3
31.0	2.9	0.7
31.5	2.8	1.4
32.1	2.8	5.8
33.9	2.6	2.2
35.6	2.5	0.4

[0445]	36.3	2.5	0.7
	37.1	2.4	0.8
	39.0	2.3	0.6
	39.5	2.3	2.9

[0446] 药代动力学评估[0447] 方法:

[0448] 将使用微粉化和未微粉化的结晶形式A的单剂量悬浮液和化合物1的结晶游离碱以200mg/kg给药于雄性Sprague-Dawley大鼠。在K₂EDTA存在下收集血样,并离心以获得血浆。然后通过LC/MS分析血浆中的这些化合物。

[0449] 在大鼠中悬浮液给药的试验品的制备:

[0450] 将参与给药方案的所有动物称重并分配编号。所有悬浮液制剂均在使用前新鲜制备。每种溶液均在0.5%甲基纤维素的水溶液中制备为40mg/mL。将试管涡旋2分钟并超声处理30分钟以得到白色均匀悬浮液。

[0451] 所有动物(n=6/组)以5mL/kg的体积口服给药。给药后,将每只大鼠在每个指定的时间点放血。从尾静脉采集血样。将血液等分试样(150 μ l)收集到涂有K₂EDTA的试管中,轻轻混合,然后置于冰上,并在收集后15分钟内于2,000g,4 $^{\circ}$ C下离心5分钟。收集血浆层并将其冷冻在-70 $^{\circ}$ C直至进一步处理。

[0452] 生物分析方法

[0453] 使用HPLC/三重四极杆质谱仪(HPLC-MS)进行生物分析定量。计算并报告了血浆浓度和T_{1/2}。

[0454] 血浆分析:

[0455] 将DMSO:甲醇(20:80,v/v)中的1mg/mL标准溶液稀释50倍,然后依次在50%甲醇水溶液中稀释。将等分试样(10 μ l)的系列稀释液与190 μ l对照血浆混合,用作标准曲线。将血浆样品(50 μ l)和标准品(非稀释的)用冰冷的含有40ng/ml地塞米松作为内标的乙腈稀释10倍。将乙腈沉淀的样品和标准品在5g下涡旋2分钟(IKA涡旋),然后在5000g下离心10分钟。

[0456] 对于10倍稀释的标准品:将5 μ L的等分试样加入45 μ L对照血浆中,以获得稀释的样品。如果需要50倍稀释的标准品:将10 μ L10倍稀释样品的等分试样加入40 μ L空白血浆中,以获得最终的稀释样品。然后,稀释样品的萃取(exaction)过程与非稀释样品的相同。

[0457] 如下所述,将样品和标准品(10 μ l)注入LC-MS系统。剂量溶液的浓度以mg/mL表示。

[0458] LC-MS分析:

[0459] LC:通过UPLC将7.5 μ l的每种样品和标准品以0.6mL/min的速度注入Waters BEH C18(2.1x50 mm,1.7 μ m,保持在60 $^{\circ}$ C)色谱柱。该柱用10%乙腈平衡。用至95%乙腈的梯度洗脱化合物。所有的流动相含有0.025%(v/v)甲酸和1mM乙酸铵。

[0460] 表34. 色谱洗脱条件

时间(min)	流动相B(%)
最初的	10
0.20	10
0.60	95
1.10	95

1.15	10
1.50	10

[0462] MS:柱洗脱液在三重四极杆质谱仪系统中通过电喷射离子化进行分析。分别分析洗脱液成分的内标和分析物的离子对特异性。

[0463] 药代动力学分析

[0464] 将实验样品与标准曲线样品进行比较,以确定化合物的浓度。报告每个时间点的平均化合物浓度(单位ng/mL±标准偏差)。检测限(LLOQ)被报告为最低标准曲线样品,显示偏差小于标称浓度的20%。PK分析在Phoenix Winnonlin中进行;C_{max}被确定为在给定点观察到的最大平均浓度,报告了t₀至t_{last}小时的曲线下面积(AUC)。

[0465] 如图22和表35所示,与化合物1的结晶游离碱相比,显示结晶形式A(微粉化的)和结晶形式A(未微粉化的)在pH7.4的磷酸盐缓冲液中更易溶。在向禁食雄性Sprague-Dawley大鼠口服给药混悬液后,当将结晶形式A(微粉化的和未微粉化的)的血浆浓度-时间曲线和药代动力学参数与化合物1的结晶游离碱进行比较时,AUC和C_{max}明显不同。微粉化和未微粉化的结晶形式A显示出AUC较化合物1的结晶游离碱分别高3.8和2.7倍。同样地,微粉化和未微粉化的结晶形式A显示出C_{max}较化合物1的结晶游离碱分别高2和1.6倍。相反,在微粉化形式的结晶形式A和未微粉化形式的结晶形式A之间未观察到明显差异。

[0466] 表35:药代动力学研究中所用化合物的表征总结

[0467] 物质	PSD
结晶形式A(微粉化的)	D90:10/D50=4.6/D10=1
结晶形式A(未微粉化的)	D90=71/D50=32.6/D10=11.55
化合物1的结晶游离碱	D90=521/D50=206/D10=32

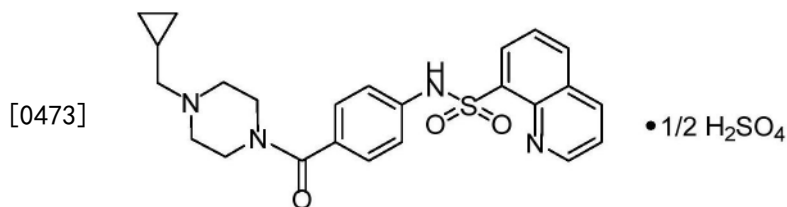
[0468] 表36:P0给药于Sprague-Dawley大鼠后的药代动力学参数

化合物形式	结晶形式 A (微粉化的)	结晶形式 A (未微粉化的)	化合物 1 的结晶游离碱
[0469] 口服剂量(mg/kg)*	200	200	200
C _{max} (ng/mL)	36700 ± 6800	29800 ± 5300	17900 ± 3600
AUC 0-last (ng/h/mL)	478000 ± 87900	355900 ± 82900	124800 ± 85800

[0470] *剂量显示与化合物1的游离碱形式相当。

[0471] 综上,本发明涉及以下方面:

[0472] 1.具有下式的化合物的结晶形式:



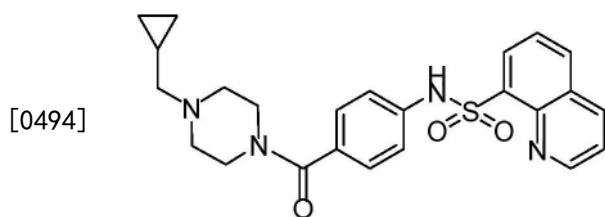
[0474] 2.项1的结晶形式,其中该化合物是溶剂化物。

[0475] 3.项2的结晶形式,其中该化合物是水合物。

[0476] 4.项3的结晶形式,其中该化合物是倍半水合物。

[0477] 5.项1的结晶形式,其中该化合物是无水的。

- [0478] 6. 项2的结晶形式,其中该化合物是乙醇溶剂化物。
- [0479] 7. 项4的结晶形式,其中该结晶形式是结晶形式A,其特征在于在 2θ 角($\pm 0.2^\circ$) 9.9° 、 15.8° 和 22.6° 处具有x射线粉末衍射峰。
- [0480] 8. 项7的结晶形式A,其中该结晶形式的特征在于在 2θ 角($\pm 0.2^\circ$) 9.9° 、 15.8° 和 22.6° 处具有x射线粉末衍射峰;并且在选自 15.0° 、 17.1° 、 21.3° 和 21.9° 的 2θ 角($\pm 0.2^\circ$)处具有至少一个、至少两个或至少三个另外的x射线粉末衍射峰。
- [0481] 9. 项8的结晶形式A,其中该结晶形式的特征在于在 2θ 角($\pm 0.2^\circ$) 9.9° 、 11.4° 、 15.0° 、 15.3° 、 15.8° 、 17.1° 、 17.7° 、 21.3° 、 21.9° 、 22.6° 和 23.5° 处具有x射线粉末衍射峰。
- [0482] 10. 项9的结晶形式A,其中该结晶形式的特征在于在 2θ 角($\pm 0.2^\circ$) 4.9° 、 9.9° 、 11.0° 、 11.4° 、 11.7° 、 12.3° 、 12.8° 、 13.6° 、 13.9° 、 14.2° 、 15.0° 、 15.3° 、 15.8° 、 17.1° 、 17.4° 、 17.7° 、 18.8° 、 19.1° 、 19.8° 、 21.3° 、 21.9° 、 22.6° 、 23.0° 、 23.2° 、 23.5° 、 23.8° 、 24.1° 、 24.5° 、 25.3° 、 25.6° 、 26.1° 、 27.1° 、 28.1° 和 29.8° 处具有x射线粉末衍射峰。
- [0483] 11. 项6的结晶形式,其中该结晶形式是结晶形式B,其特征在于在选自 9.9° 、 10.6° 、 12.7° 、 15.7° 、 16.9° 、 22.0° 和 22.5° 的 2θ 角($\pm 0.2^\circ$)处具有至少三个、至少四个、至少五个或至少六个x射线粉末衍射峰。
- [0484] 12. 项1的结晶形式,其中该结晶形式是结晶形式C,其特征在于在 2θ 角($\pm 0.2^\circ$) 6.9° 、 10.4° 和 12.0° 处具有x射线粉末衍射峰。
- [0485] 13. 项5的结晶形式,其中该结晶形式是结晶形式D,其特征在于在选自 5.8° 、 10.0° 、 10.2° 、 19.3° 、 22.9° 、 23.3° 和 25.2° 的 2θ 角($\pm 0.2^\circ$)处具有至少三个、至少四个、至少五个或至少六个x射线粉末衍射峰。
- [0486] 14. 项1的结晶形式,其中该结晶形式是结晶形式E,其特征在于在选自 4.6° 、 9.0° 、 13.5° 和 22.5° 的 2θ 角($\pm 0.2^\circ$)处具有x射线粉末衍射峰。
- [0487] 15. 项1的结晶形式,其中该结晶形式是结晶形式F,其特征在于在选自 5.0° 、 9.9° 和 14.7° 的 2θ 角($\pm 0.2^\circ$)处具有x射线粉末衍射峰。
- [0488] 16. 项1的结晶形式,其中该结晶形式是结晶形式G,其特征在于在选自 4.7° 、 9.4° 和 14.1° 的 2θ 角($\pm 0.2^\circ$)处具有x射线粉末衍射峰。
- [0489] 17. 项1的结晶形式,其中该结晶形式是结晶形式H,其特征在于在选自 4.6° 、 7.4° 、 9.2° 、 11.1° 、 13.5° 、 14.9° 和 22.3° 的 2θ 角($\pm 0.2^\circ$)处具有至少三个、至少四个、至少五个或至少六个x射线粉末衍射峰。
- [0490] 18. 项6的结晶形式,其中该结晶形式是结晶形式I,其特征在于在 2θ 角($\pm 0.2^\circ$) 6.7° 、 9.5° 和 19.7° 处具有x射线粉末衍射峰。
- [0491] 19. 项17的结晶形式I,其中该结晶形式的特征在于在 2θ 角($\pm 0.2^\circ$) 6.7° 、 9.5° 和 19.7° 处具有x射线粉末衍射峰;并且在选自 9.9° 、 12.6° 、 15.8° 、 21.9° 和 22.3° 的 2θ 角($\pm 0.2^\circ$)处具有至少一个、至少两个或至少三个另外的x射线粉末衍射峰。
- [0492] 20. 项1的结晶形式,其中该结晶形式是结晶形式J,其特征在于在选自 12.4° 、 13.2° 、 14.6° 、 20.4° 和 23.7° 的 2θ 角($\pm 0.2^\circ$)处具有x射线粉末衍射峰。
- [0493] 21. 具有下式的化合物的结晶游离碱:

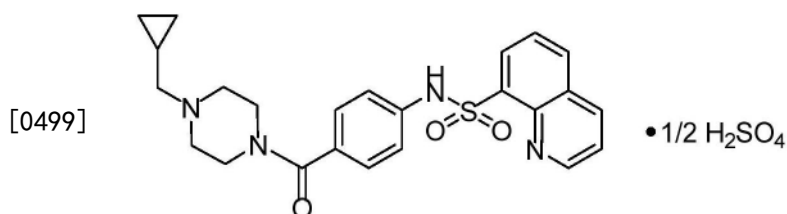


[0495] 22. 项21的结晶游离碱,其中该结晶形式的特征在于在选自 6.9° 、 13.5° 、 19.8° 和 20.3° 的 2θ 角($\pm 0.2^\circ$)处具有x射线粉末衍射峰。

[0496] 23. 项1-22中任一项的结晶形式A、B、C、D、E、F、G、H、I、J或结晶游离碱,其中该化合物是至少60重量%单晶形式、至少70重量%单晶形式、至少80重量%单晶形式、至少90重量%单晶形式、至少95重量%单晶形式或至少99重量%单晶形式。

[0497] 24. 项1-23中任一项的结晶形式A、B、C、D、E、F、G、H、I、J或结晶游离碱,其中该化合物晶型基本上不含式(I)的无定形形式。

[0498] 25. 具有下式的化合物的半硫酸盐的无定形形式:



[0500] 26. 项25的无定形形式,其中该化合物基本上不含式(I)的结晶形式。

[0501] 27. 药物组合物,其包含项1-24中任一项的结晶形式A、B、C、D、E、F、G、H、I、J或结晶游离碱,或项25或26的无定形形式;以及药学上可接受的载体。

[0502] 28. 片剂组合物,其包含项1-24中任一项的结晶形式A、B、C、D、E、F、G、H、I、J或结晶游离碱,或项25或26的无定形形式;以及药学上可接受的载体。

[0503] 29. 项27的组合物或项28的片剂组合物,其中该载体选自下列的一种或多种:微晶纤维素、甘露醇、交联羧甲基纤维素钠和硬脂富马酸钠。

[0504] 30. 项28或项29的片剂组合物,其中该组合物包含约5.7至约5.9mg、约23.4至约23.6mg或约58.7至约58.9mg的结晶形式A;62%w/w($\pm 2\%$)微晶纤维素;23%w/w($\pm 2\%$)甘露醇;3%w/w($\pm 2\%$)交联羧甲基纤维素钠和2%w/w($\pm 2\%$)硬脂富马酸盐。

[0505] 31. 项28-30中任一项的组合物,其中该结晶形式是形式A。

[0506] 32. 在有此需要的受试者中治疗丙酮酸激酶缺乏症(PKD)的方法,所述方法包括向该受试者给药有效量的项1-24中任一项的结晶形式A、B、C、D、E、F、G、H、I、J或结晶游离碱,或项25或26的无定形形式,或项27-31中任一项的药物组合物。

[0507] 33. 在有此需要的受试者中治疗镰状细胞病(SCD)的方法,所述方法包括向该受试者给药有效量的项1-24中任一项的结晶形式A、B、C、D、E、F、G、H、I、J或结晶游离碱,或项25或26的无定形形式,或项27-31中任一项的药物组合物。

[0508] 34. 在有此需要的受试者中治疗地中海贫血(例如 β -地中海贫血、非输血依赖型地中海贫血和输血依赖型地中海贫血)的方法,所述方法包括向该受试者给药有效量的项1-24中任一项的结晶形式A、B、C、D、E、F、G、H、I、J或结晶游离碱,或项25或26的无定形形式,或项27-31中任一项的药物组合物。

[0509] 35. 在有此需要的受试者中治疗溶血性贫血的方法,所述方法包括向该受试者给药有效量的项1-24中任一项的结晶形式A、B、C、D、E、F、G、H、I、J或结晶游离碱,或项25或26的无定形形式,或项27-31中任一项的药物组合物。

[0510] 36. 在有此需要的受试者中治疗选自遗传性球形红细胞增多症、遗传性椭圆形红细胞增多症、无 β 脂蛋白血症、Bassen-Kornzweig综合征和阵发性睡眠性血红蛋白尿症的疾病的方法,所述方法包括向该受试者给药有效量的项1-24中任一项的结晶形式A、B、C、D、E、F、G、H、I、J或结晶游离碱,或项25或26的无定形形式,或项27-31中任一项的药物组合物。

[0511] 37. 在有此需要的受试者中调节血液中2,3-二磷酸甘油酸水平的方法,所述方法包括向该受试者给药有效量的项1-24中任一项的结晶形式A、B、C、D、E、F、G、H、I、J或结晶游离碱,或项25或26的无定形形式,或项27-31中任一项的药物组合物。

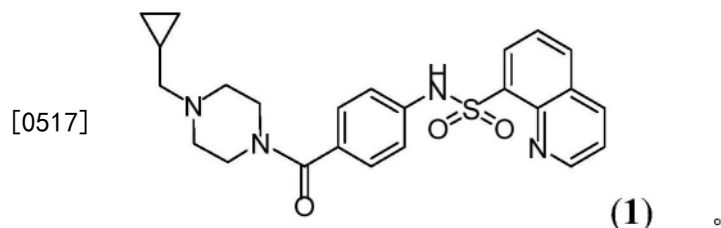
[0512] 38. 在有此需要的受试者中激活红细胞中的野生型或突变型PKR的方法,所述方法包括向该受试者给药有效量的项1-24中任一项的结晶形式A、B、C、D、E、F、G、H、I、J或结晶游离碱,或项25或26的无定形形式,或项27-31中任一项的药物组合物。

[0513] 39. 在有此需要的受试者中增加血红蛋白量的方法,所述方法包括向该受试者给药有效量的项1-24中任一项的结晶形式A、B、C、D、E、F、G、H、I、J或结晶游离碱,或项25或26的无定形形式,或项27-31中任一项的药物组合物。

[0514] 40. 在有此需要的受试者中评估2,3-二磷酸甘油酸(2,3-DPG)的水平、三磷酸腺苷(ATP)的水平、或PKR活性的方法,所述方法包括向该受试者给药有效量的项1-24中任一项的结晶形式A、B、C、D、E、F、G、H、I、J或结晶游离碱,或项25或26的无定形形式,或项27-31中任一项的药物组合物。

[0515] 41. 项32-40中任一项的方法,其中该结晶形式是形式A。

[0516] 42. 形成项7-10、23和24中任一项的结晶形式A的方法,所述方法包括使式1化合物与 H_2SO_4 在醇溶液中反应:



[0518] 虽然已经描述了许多实施方案,但是本公开的范围将由所附权利要求书而不是由已经通过实施例表示的特定实施方案来定义。在本申请全文中引用的所有参考文献(包括参考文献、授权专利、已公开的专利申请和共同待决的专利申请)的内容通过引用全文明确地并入本文。除非另有定义,否则本文中使用的所有技术和科学术语均与本领域普通技术人员通常已知的含义相符。

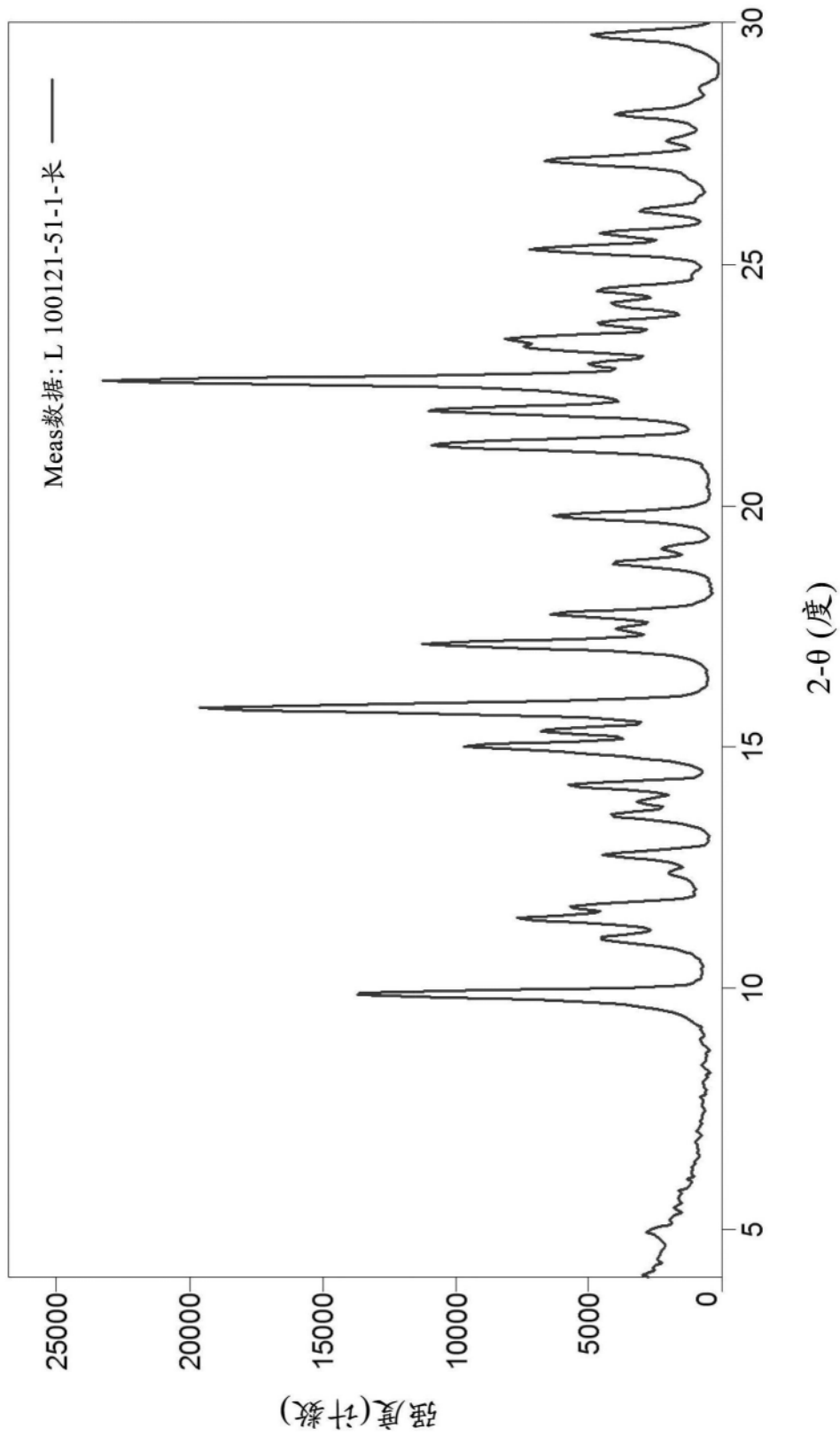


图1

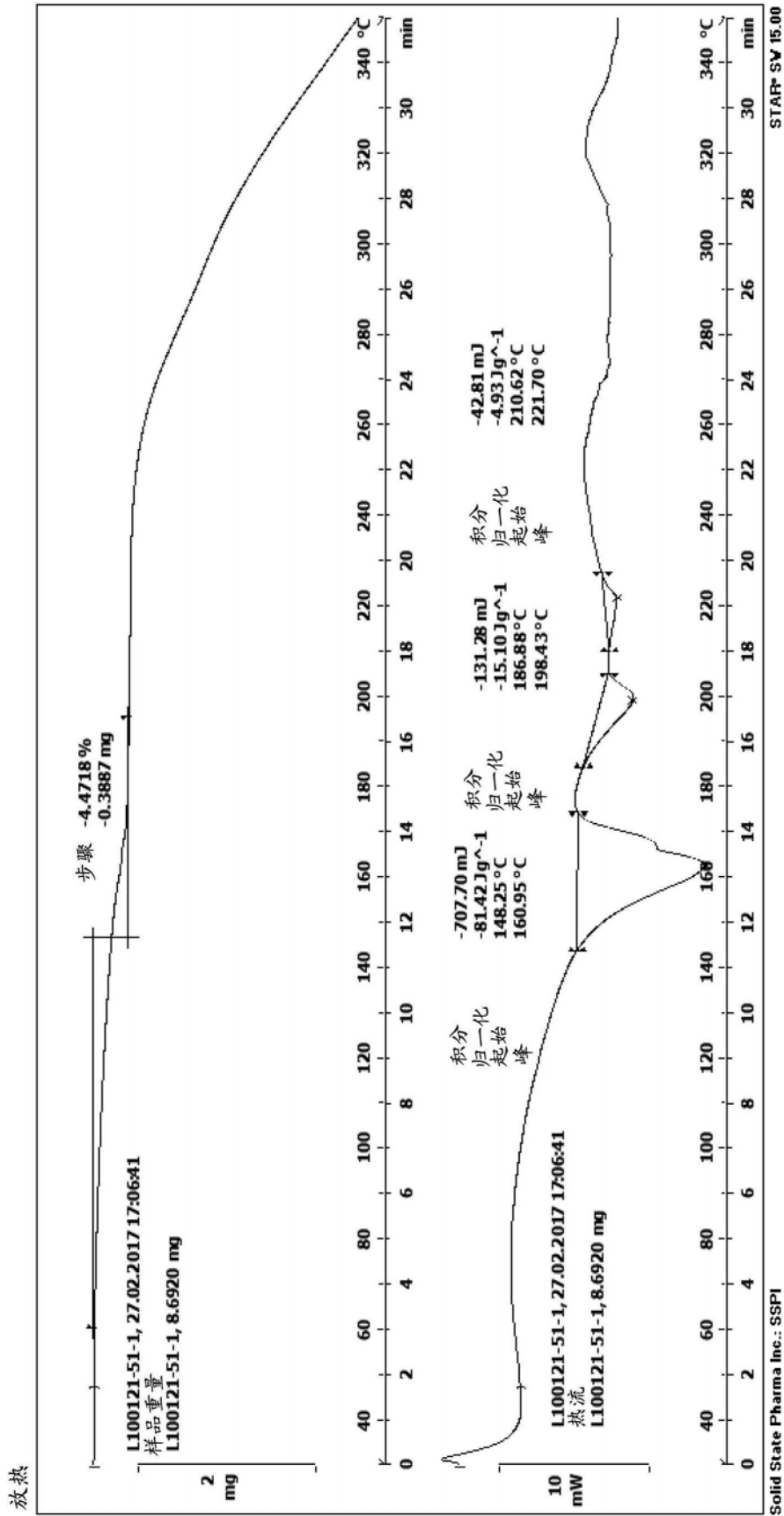


图2

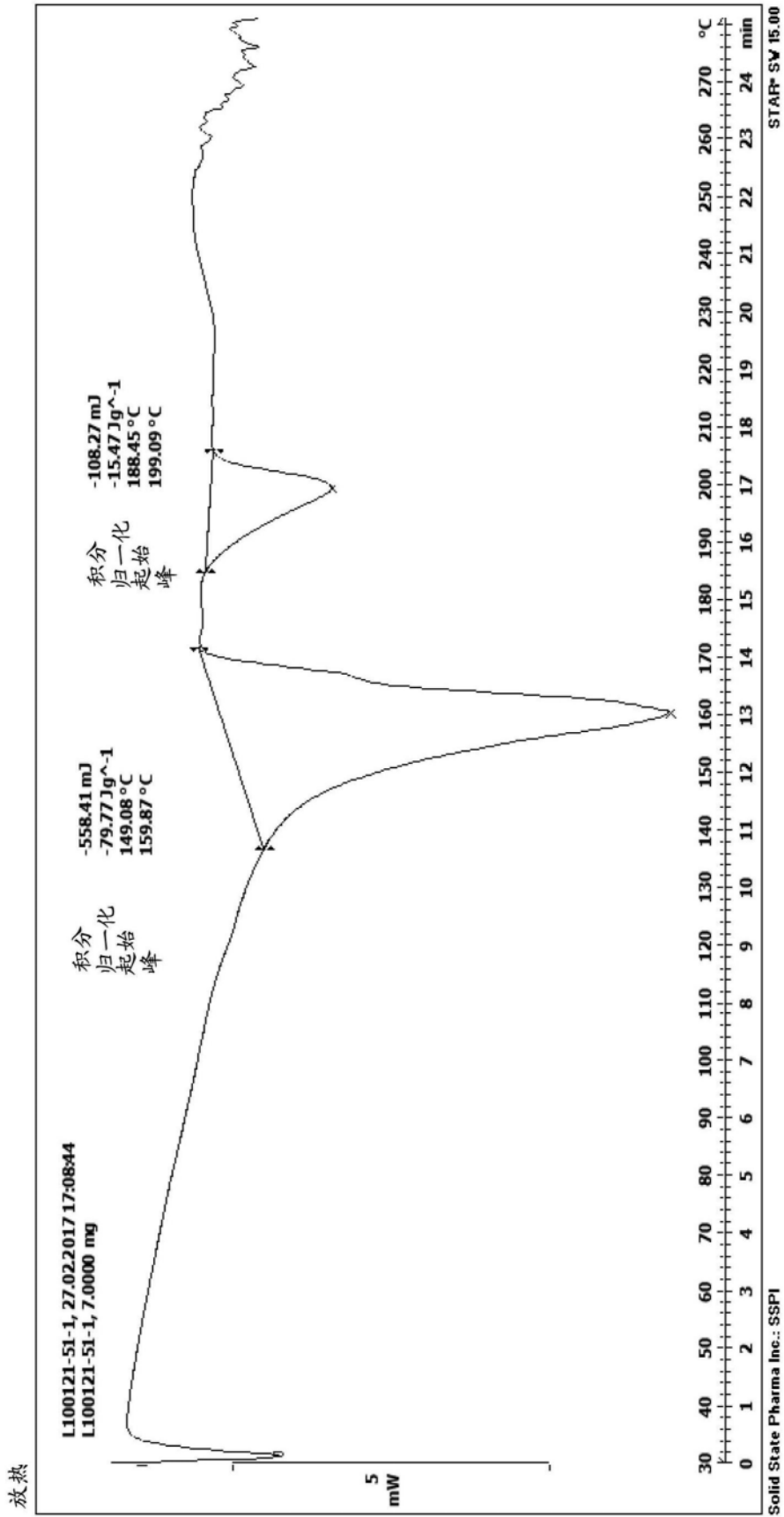


图3

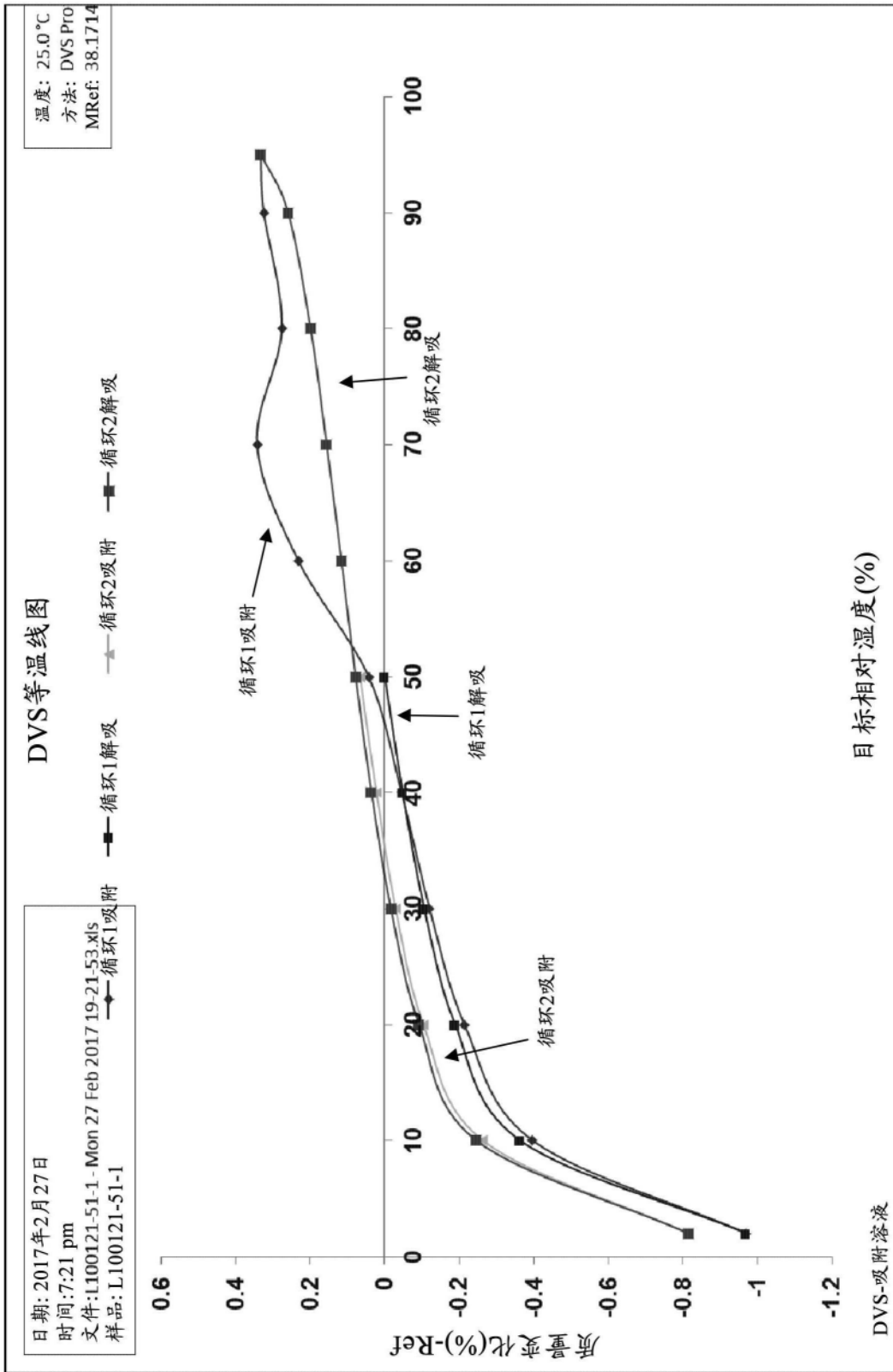


图4

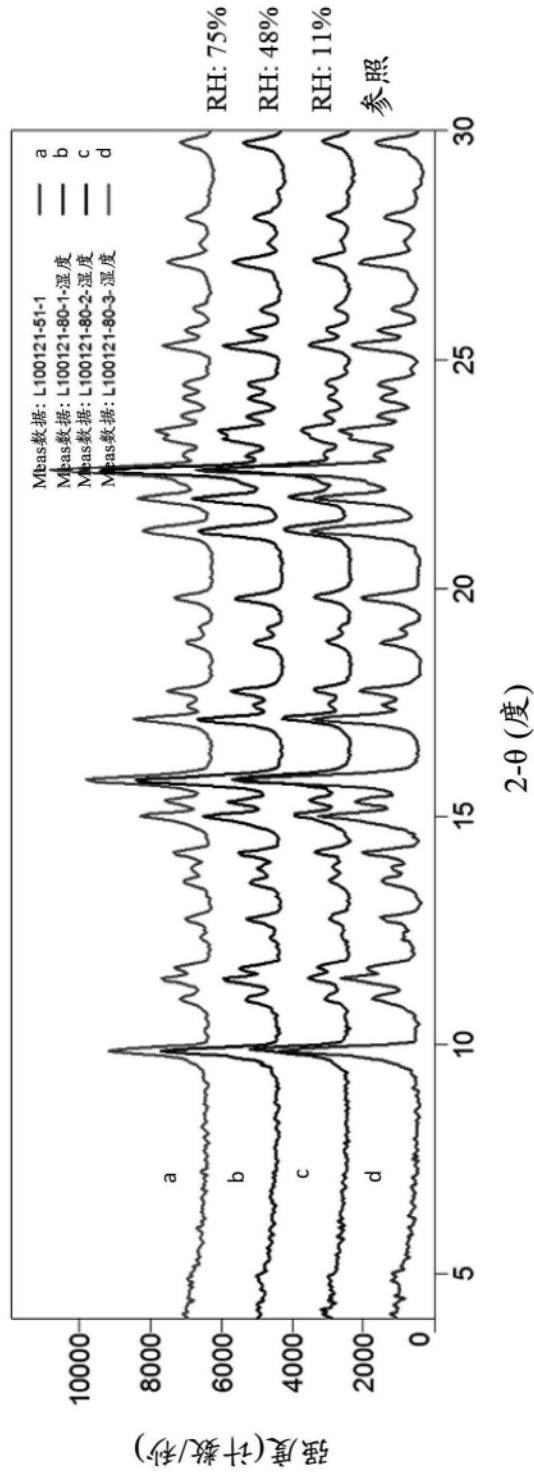


图5(i)

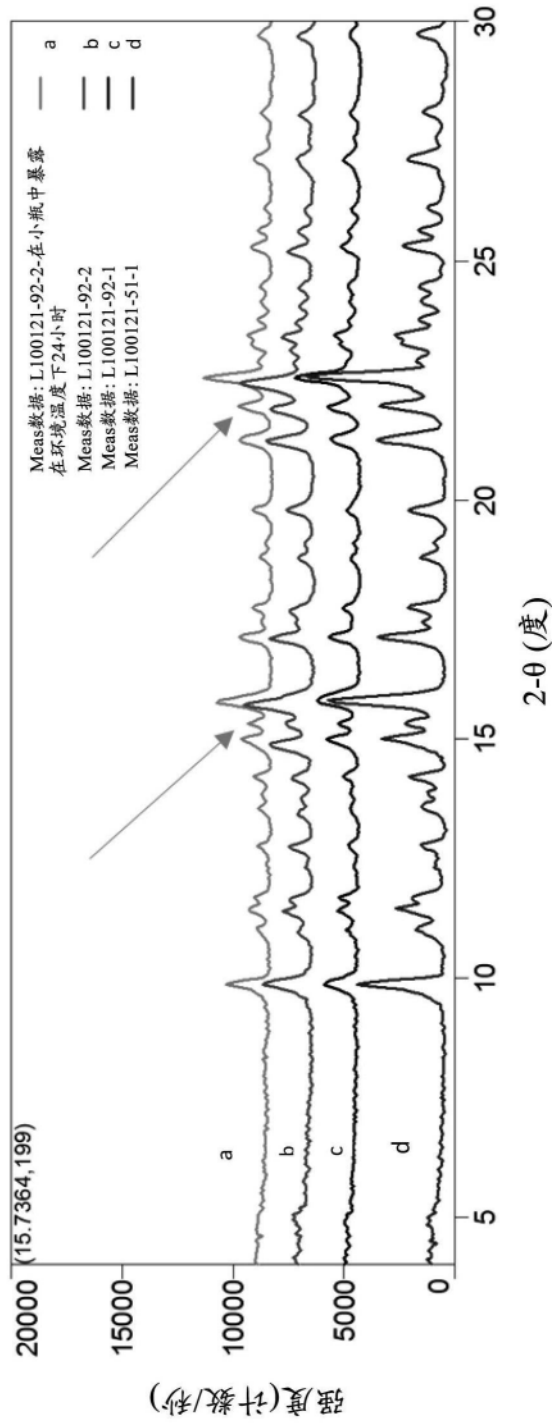


图5(ii)

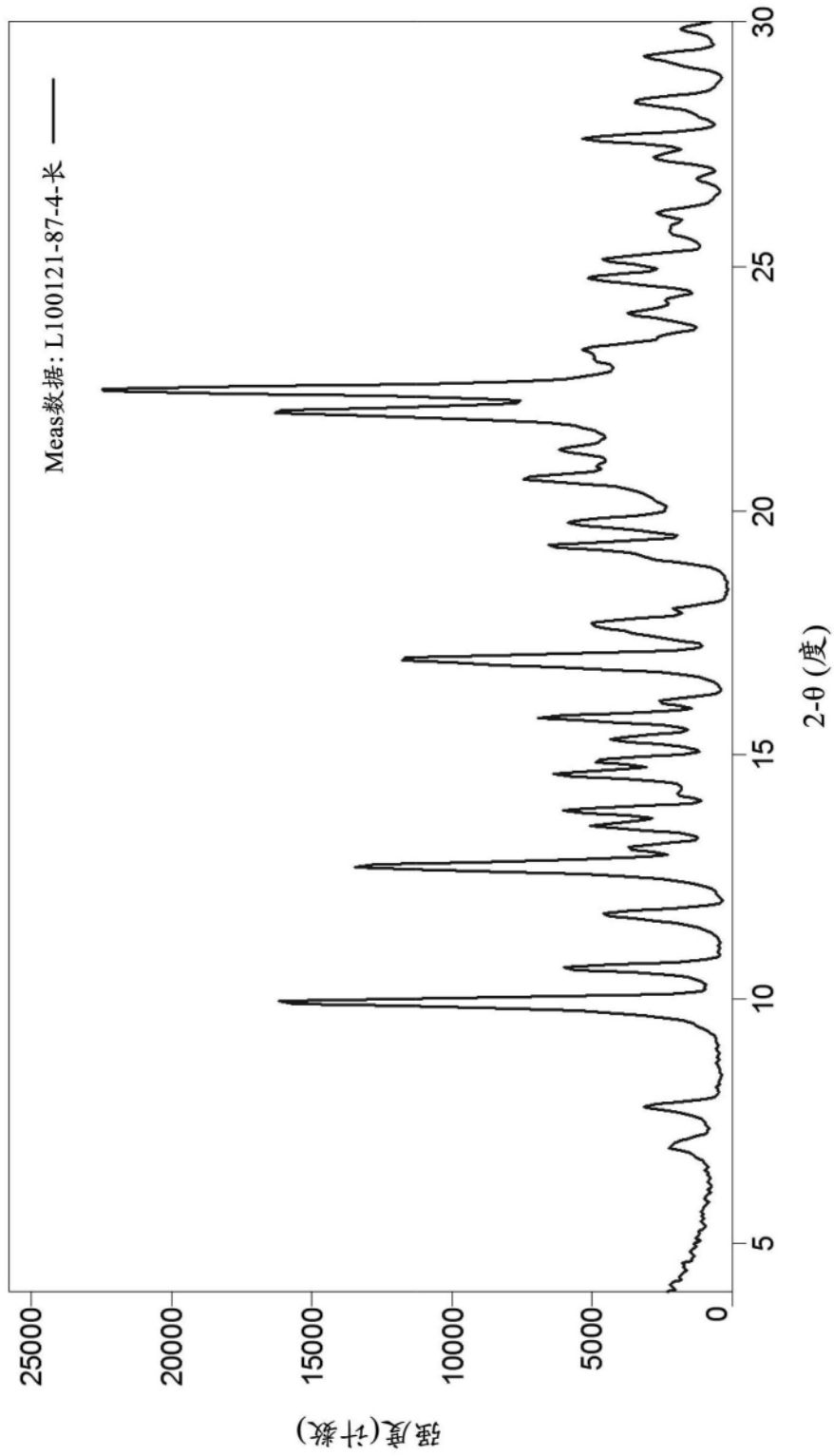


图6

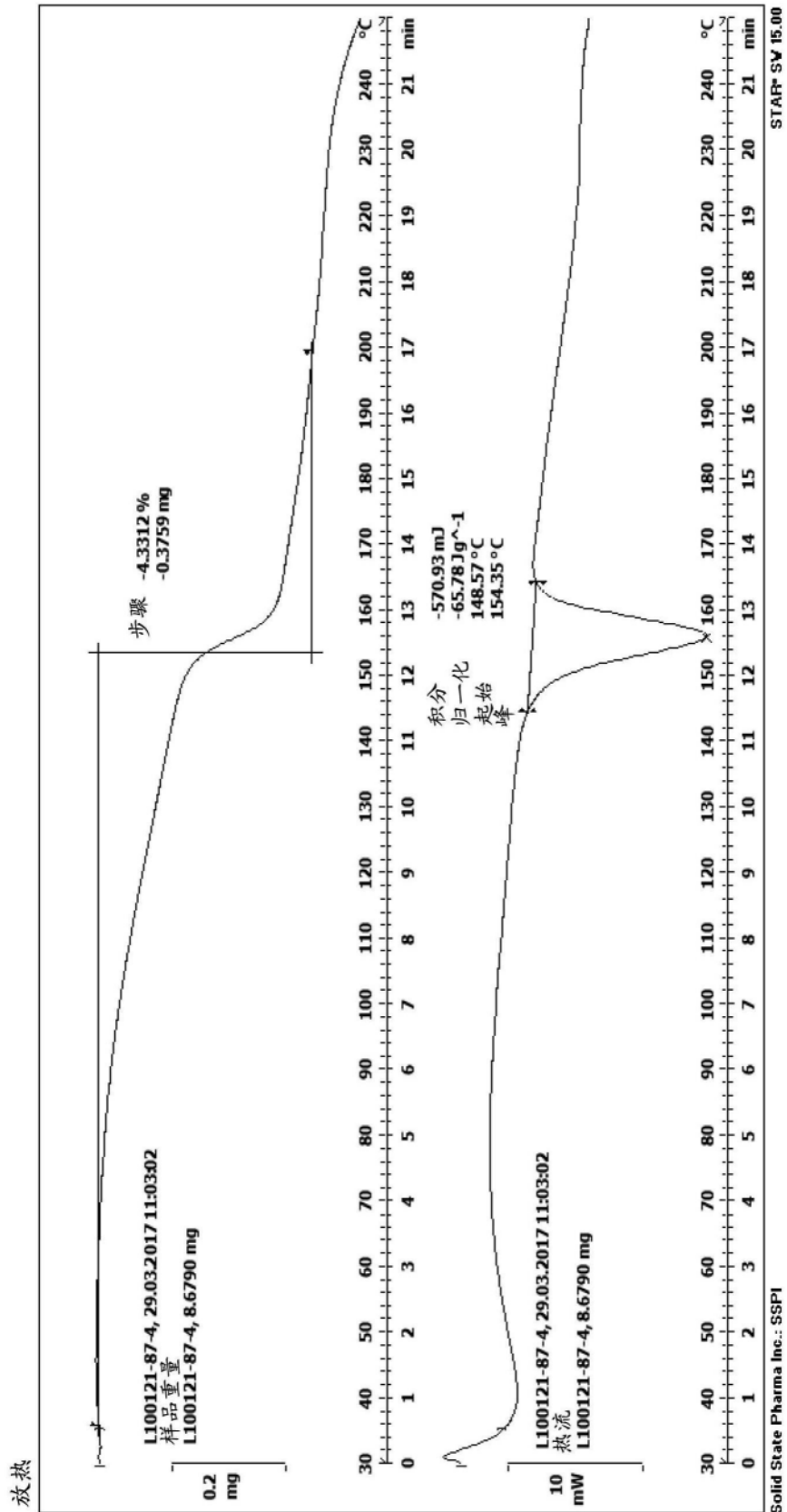


图7i

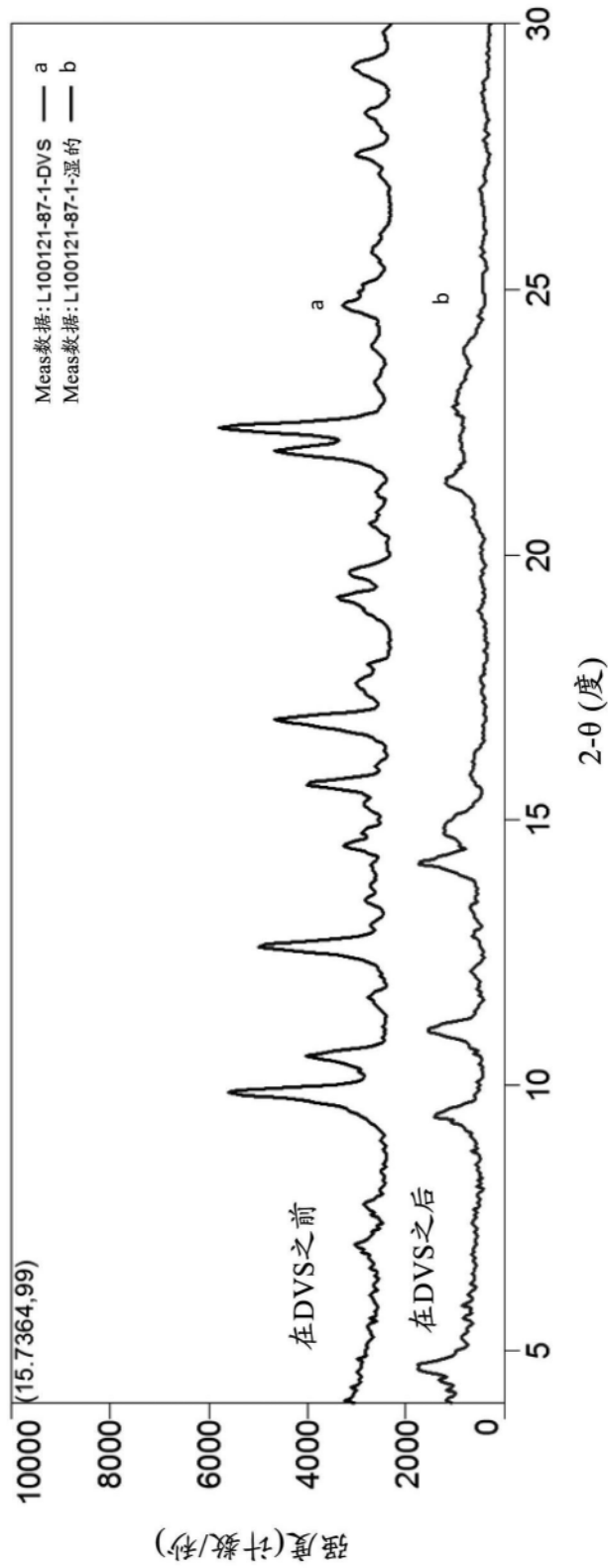


图7ii

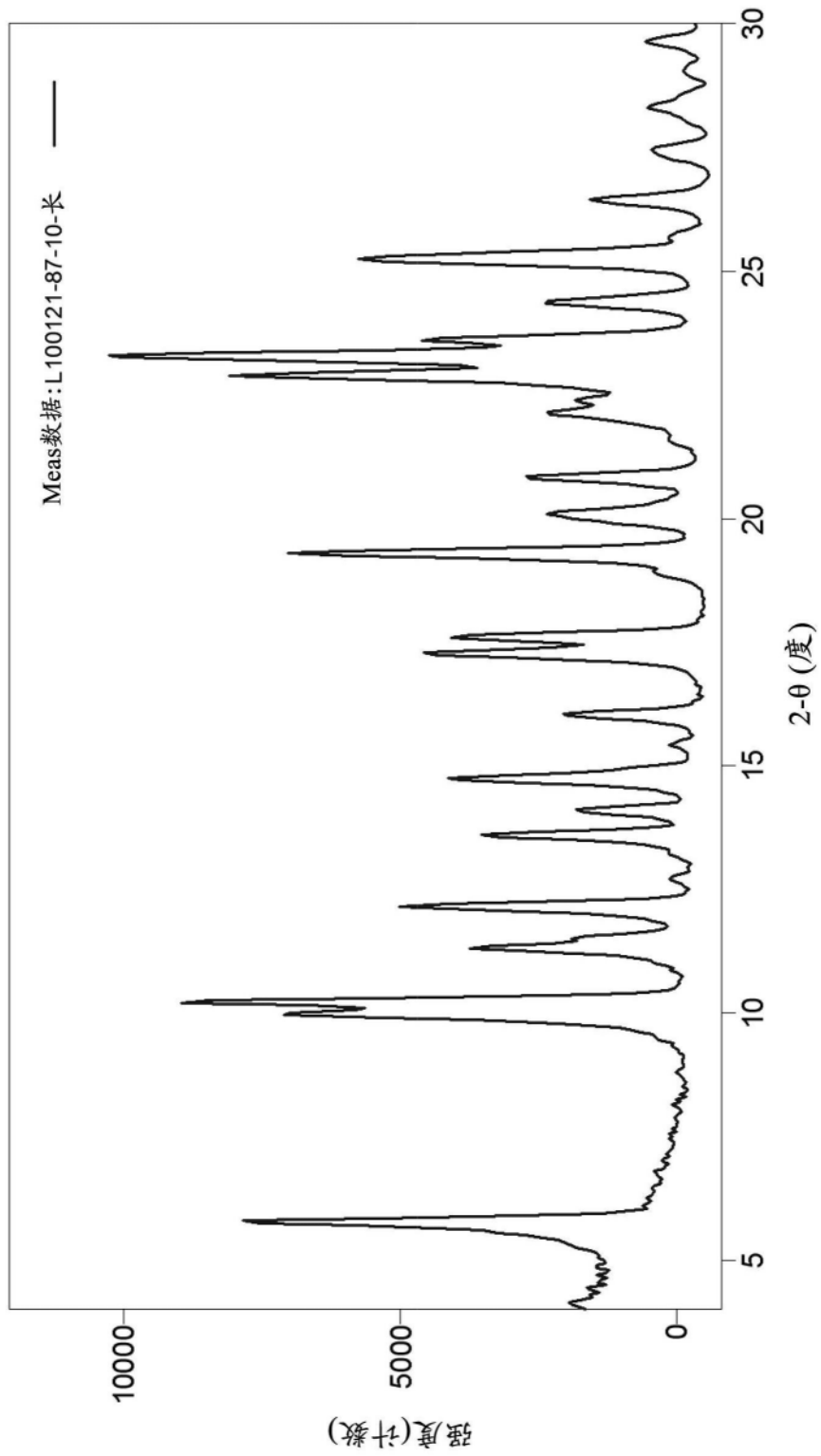


图8

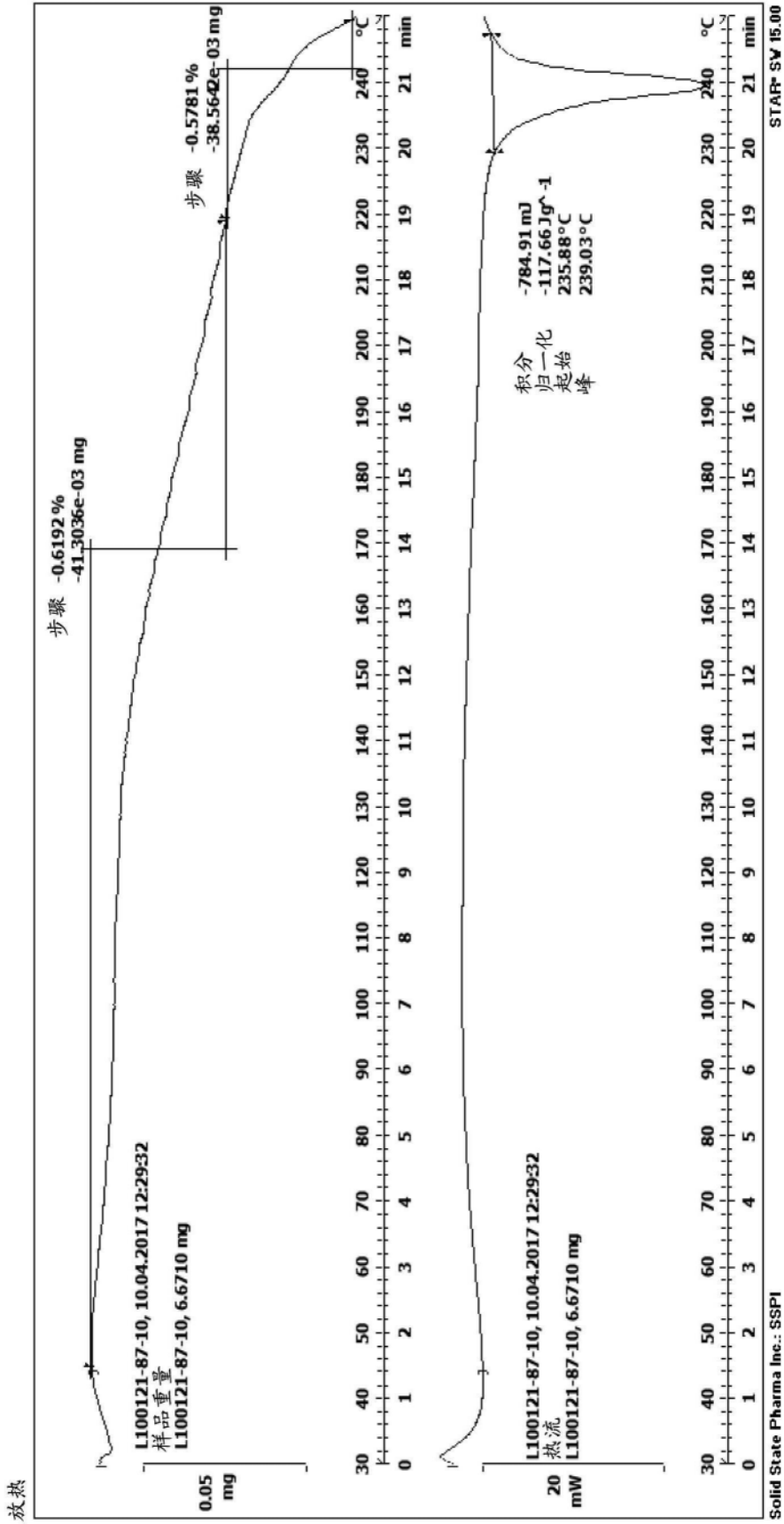


图9

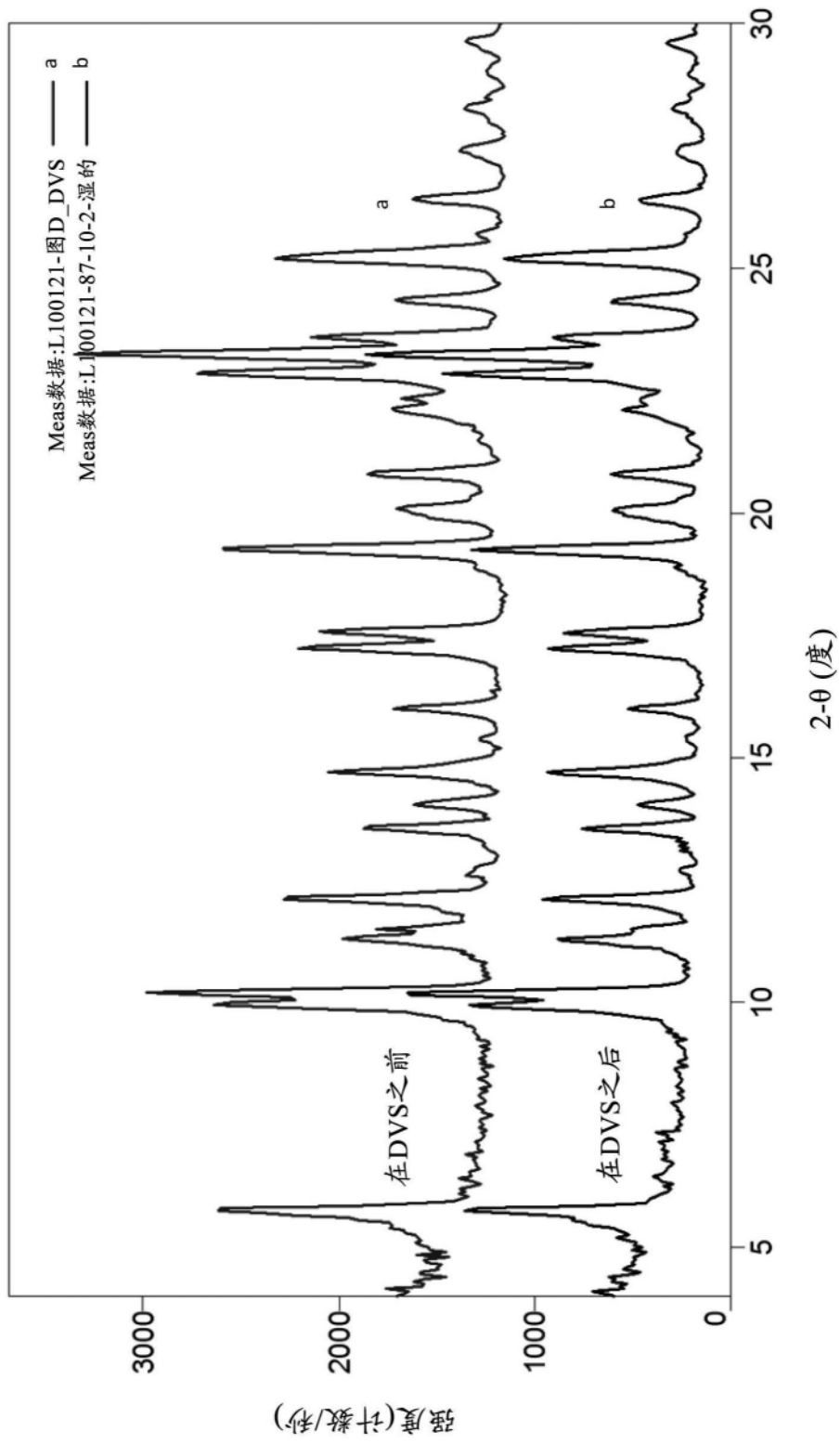


图10

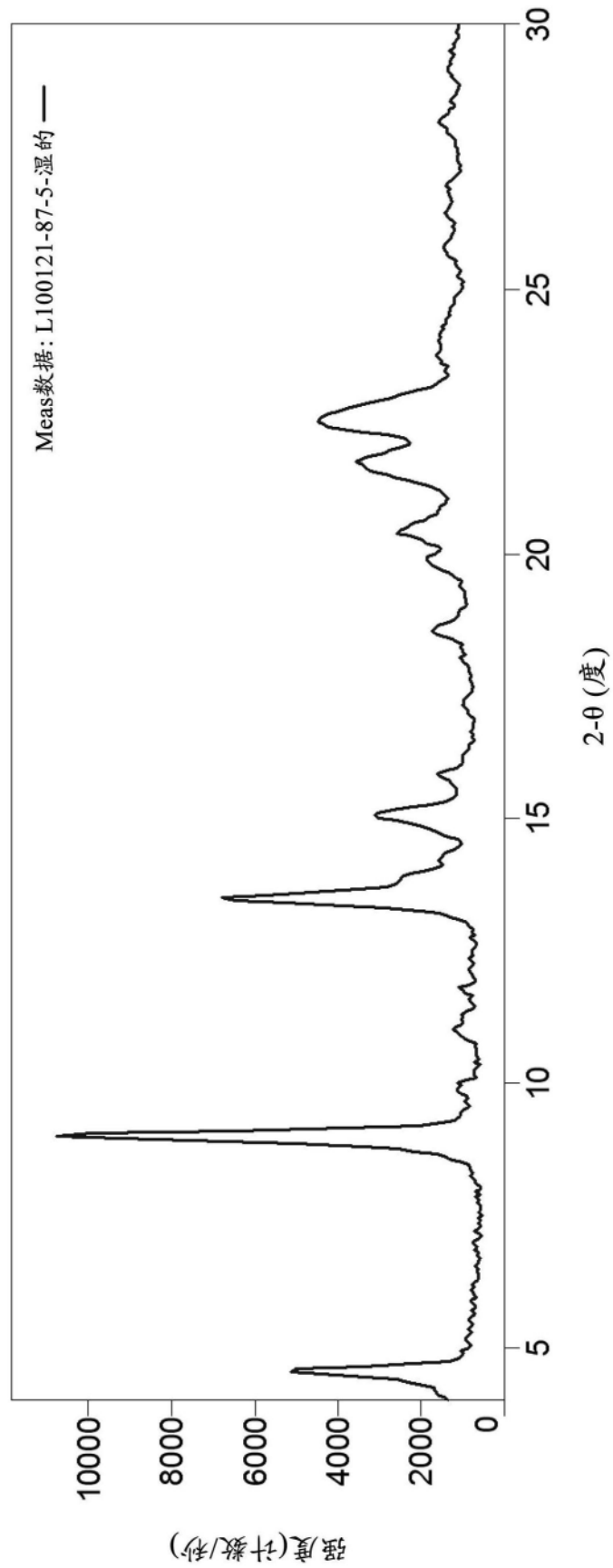


图11

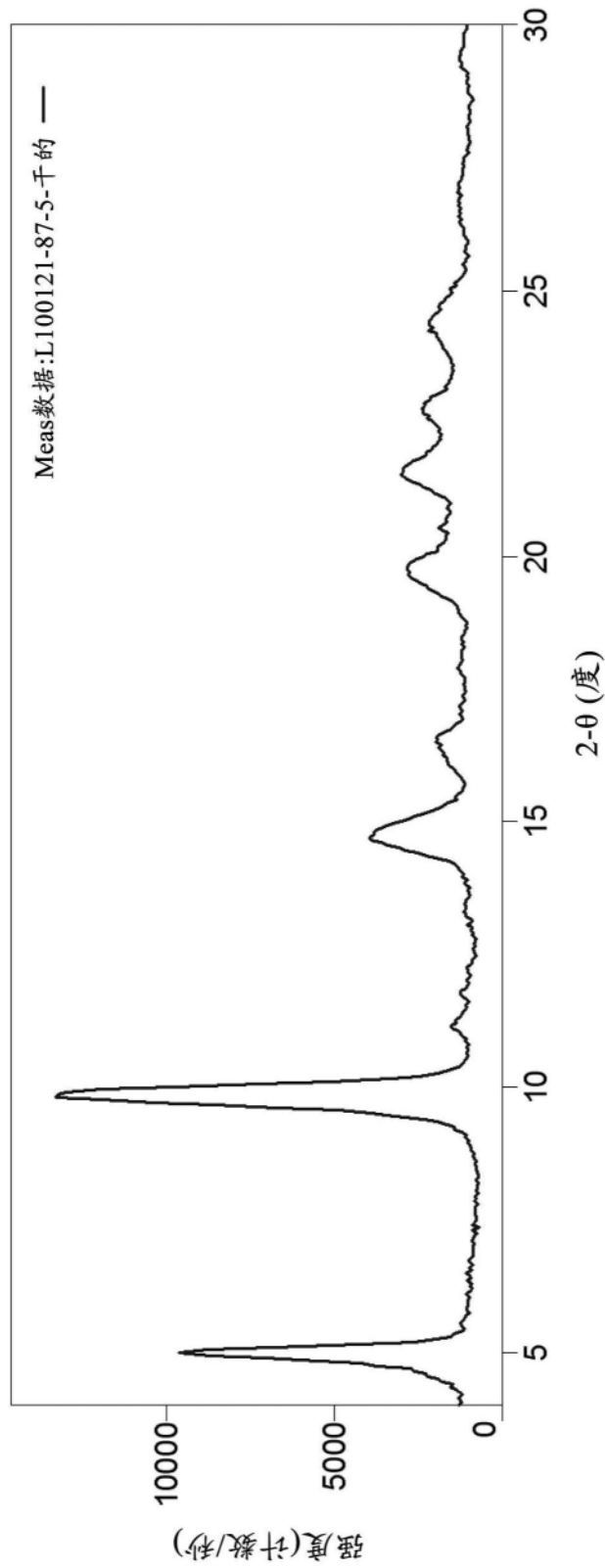


图12

放热

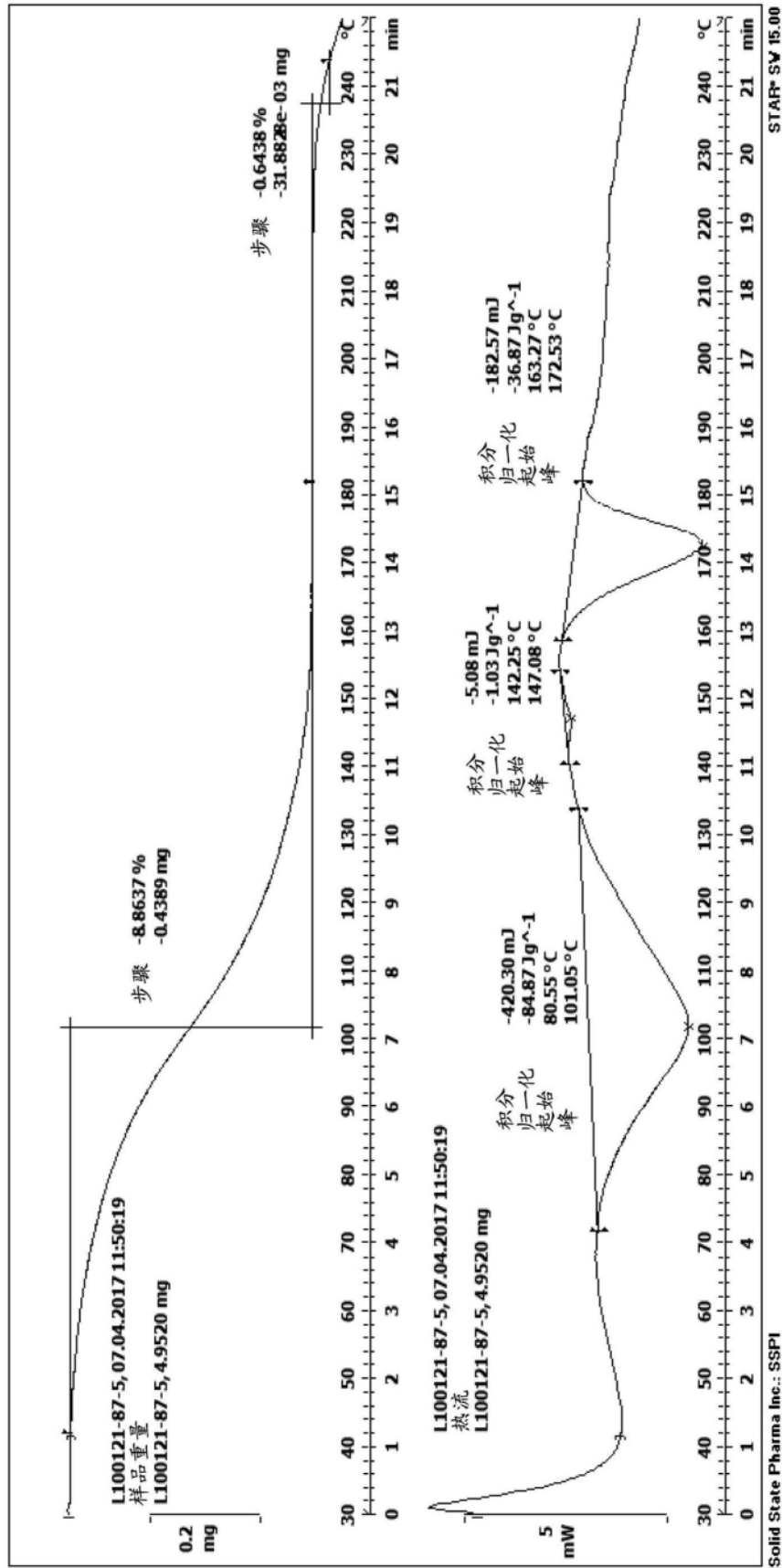


图13

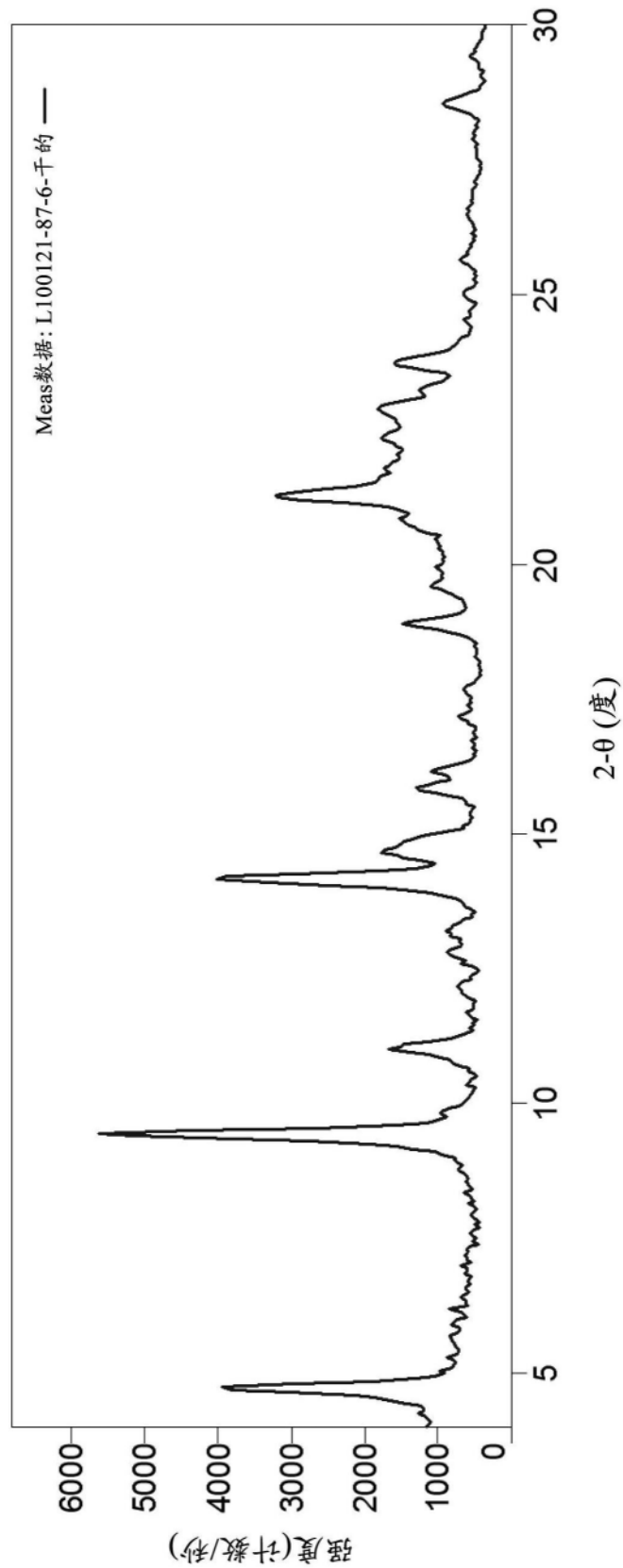


图14

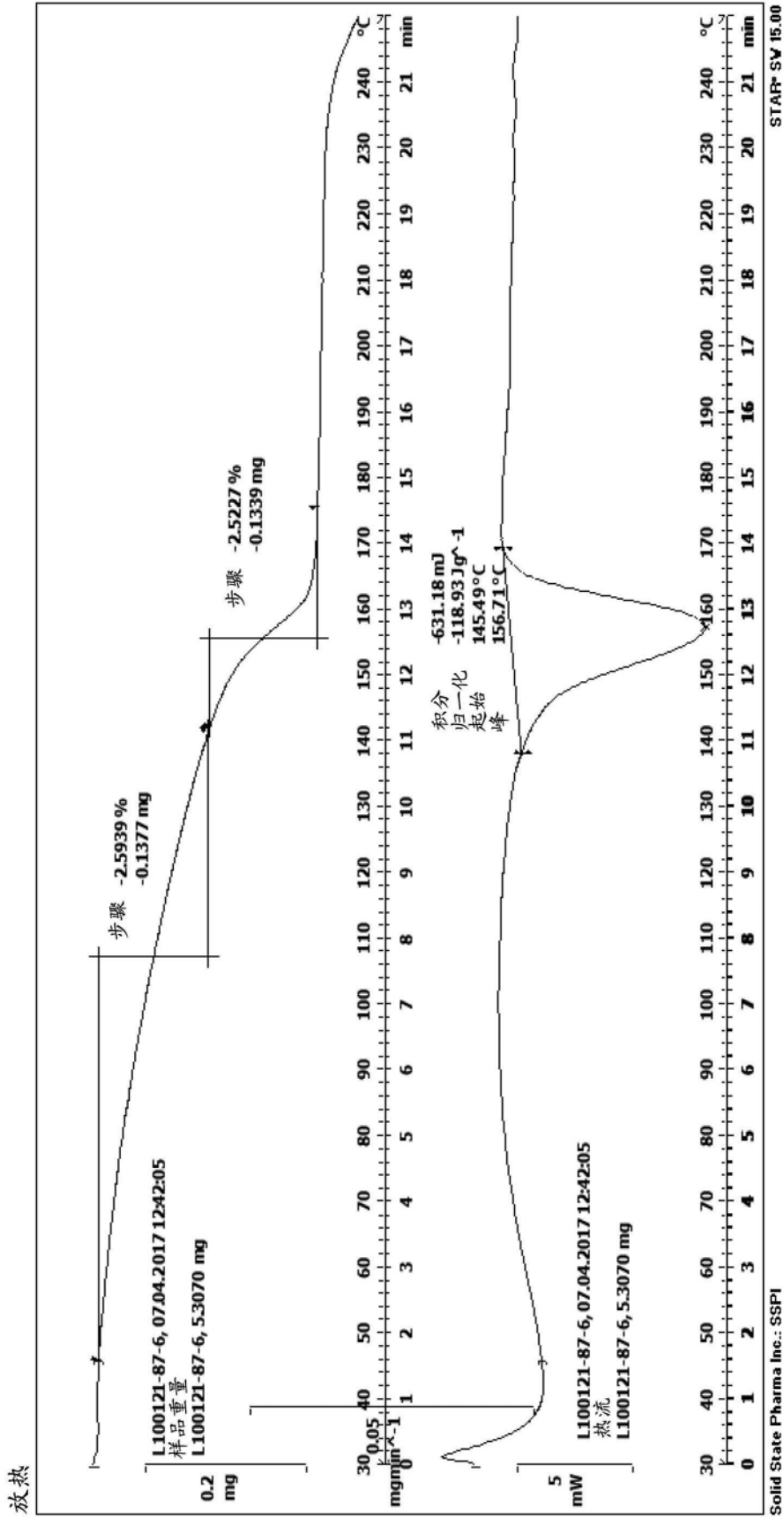


图15

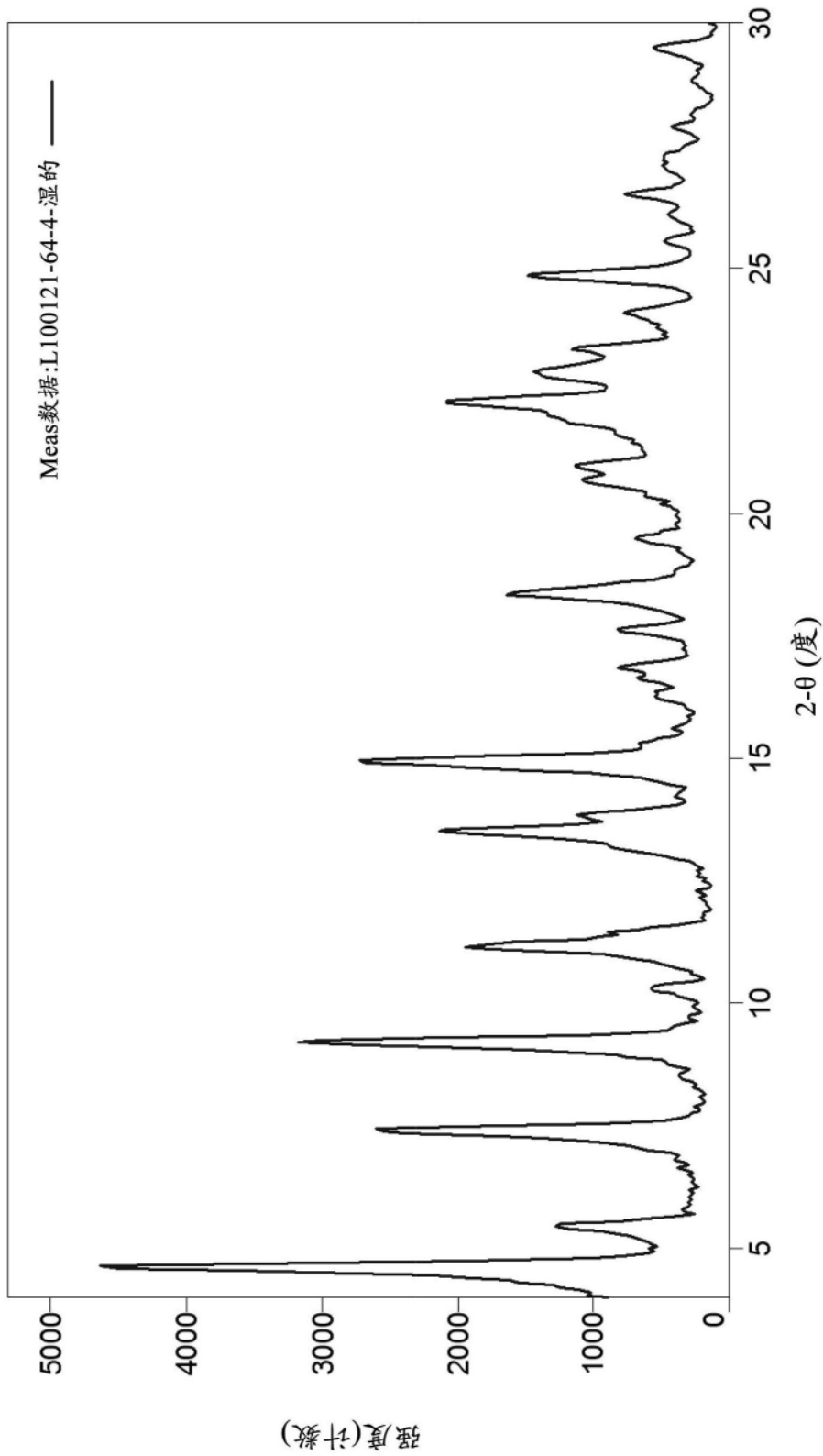


图16

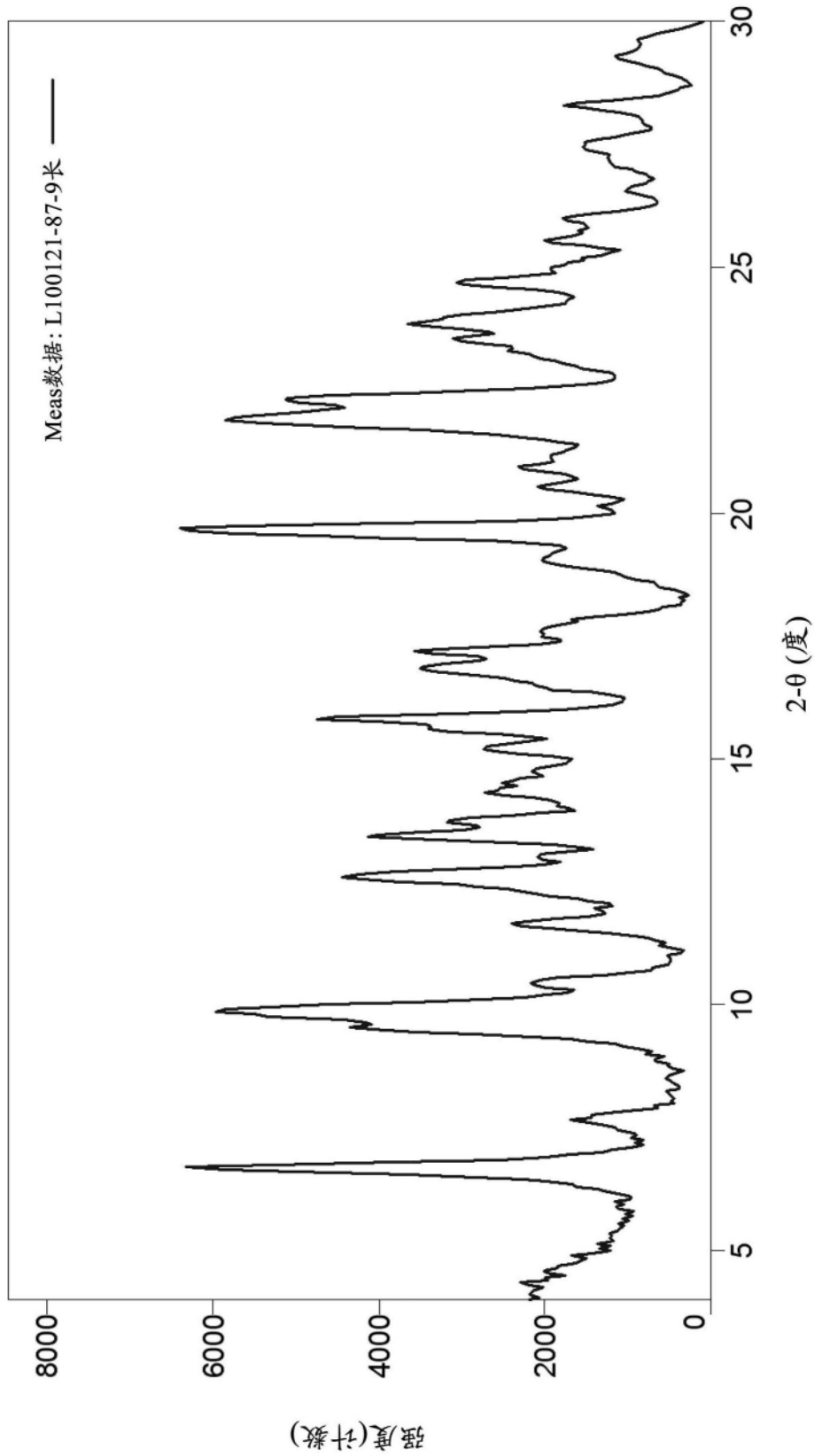


图17

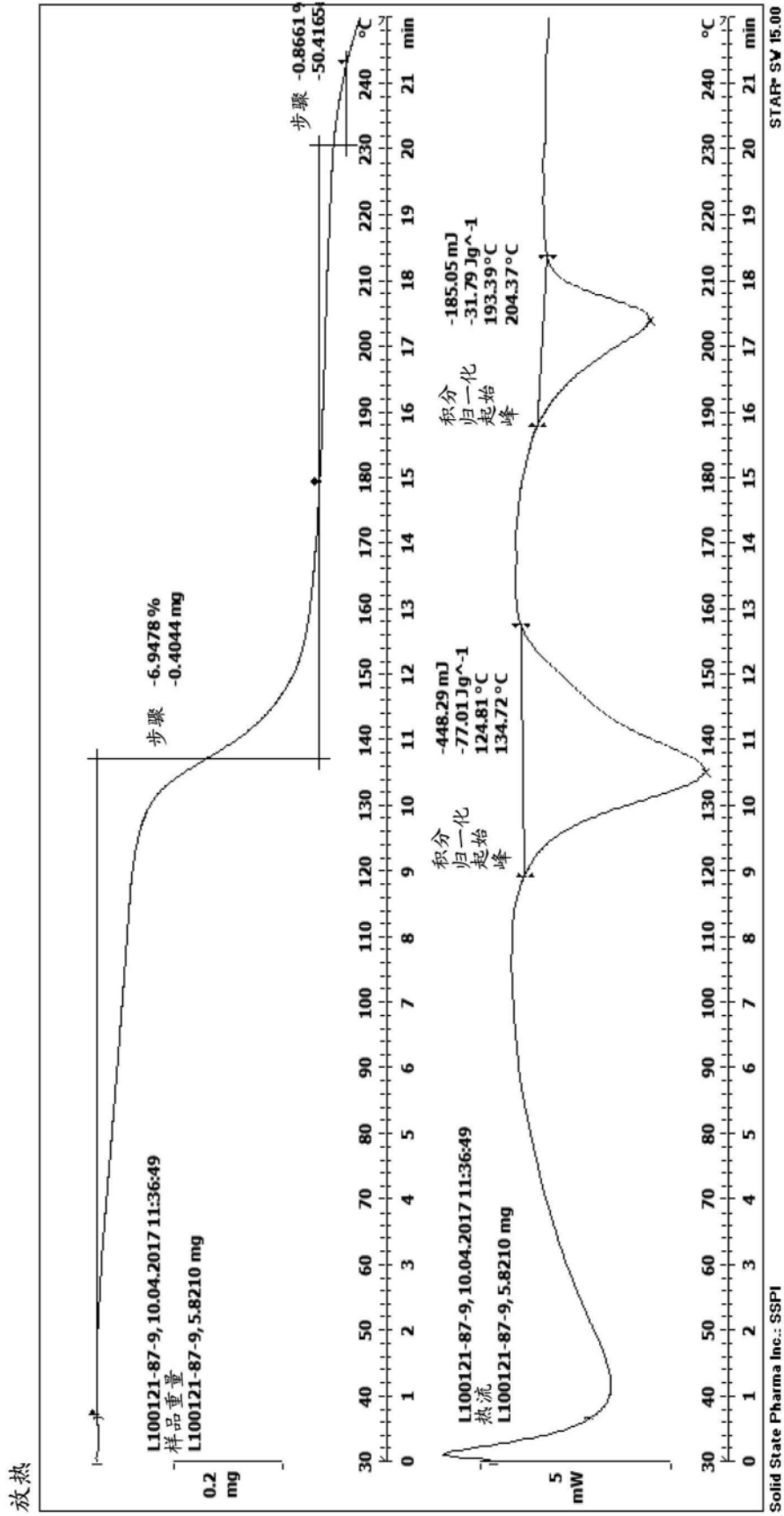


图18

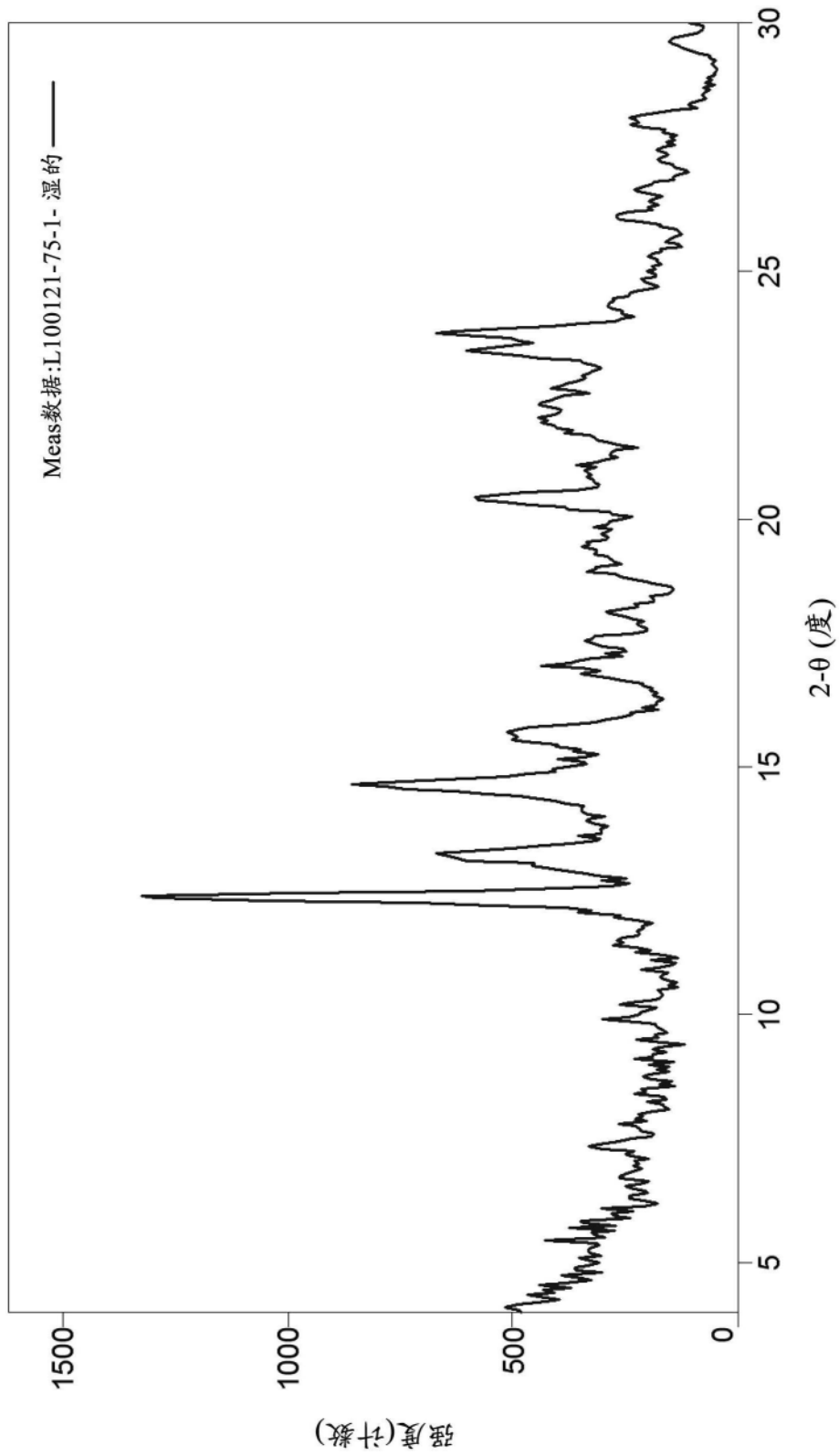


图19

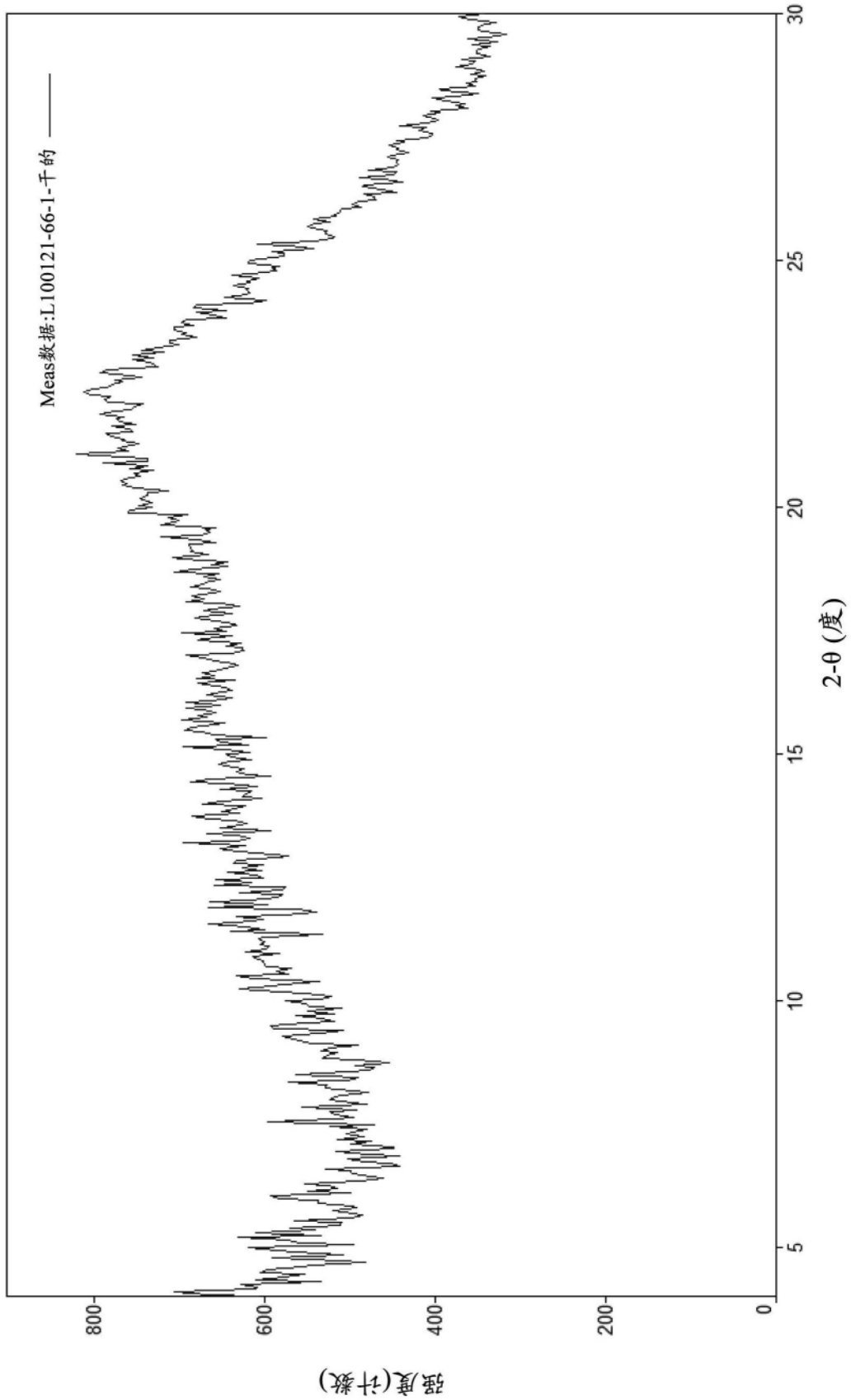


图20

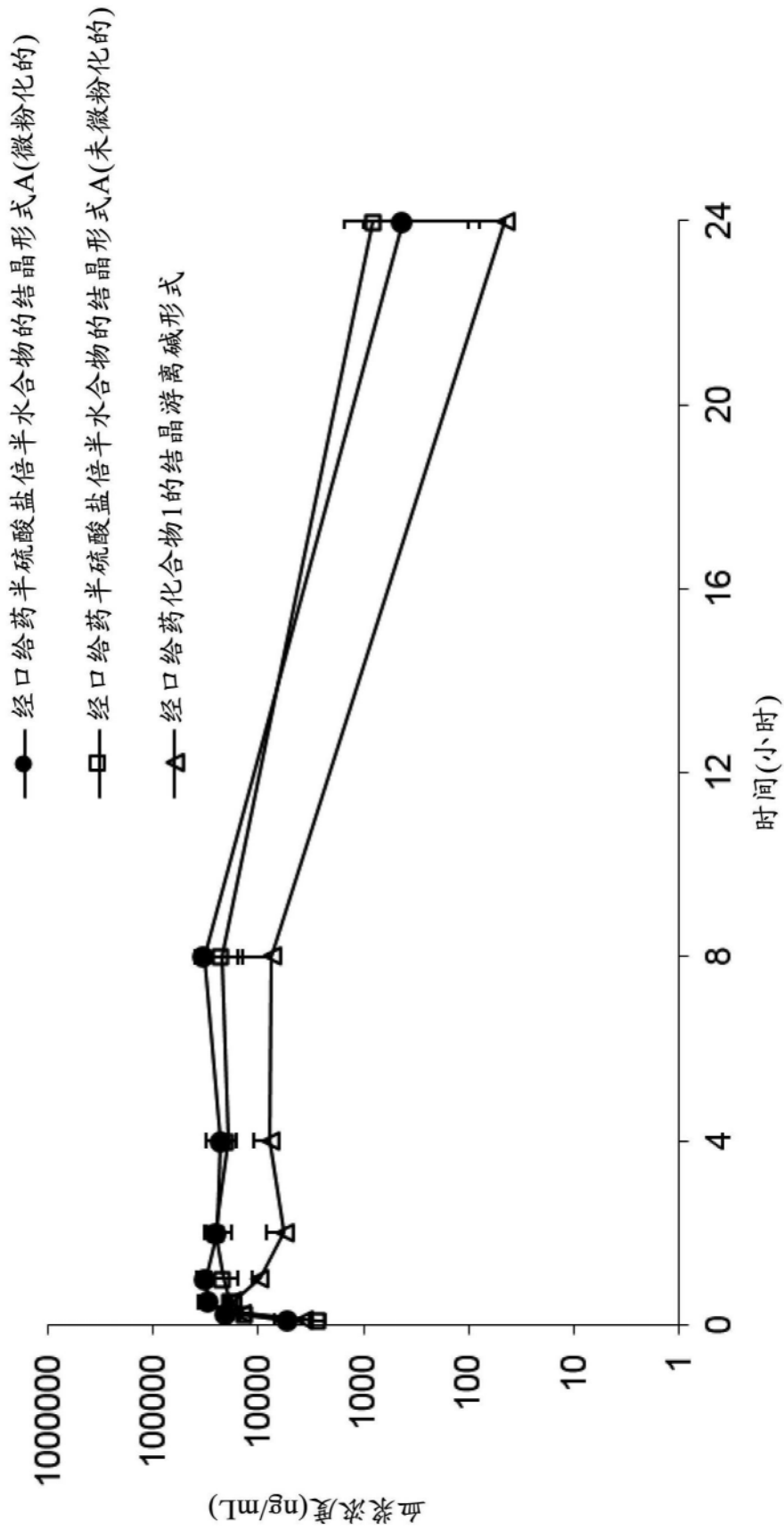


图22

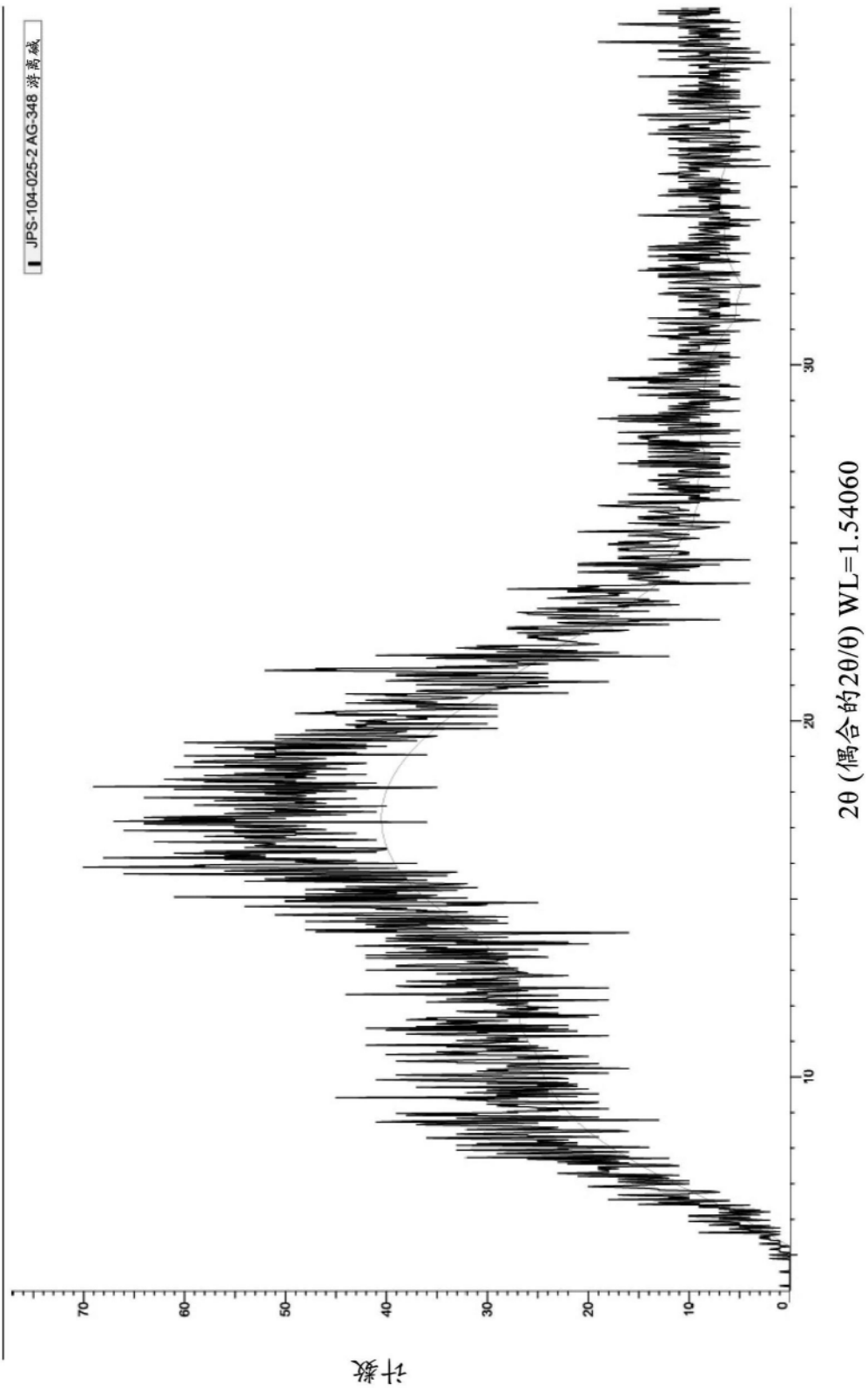


图23

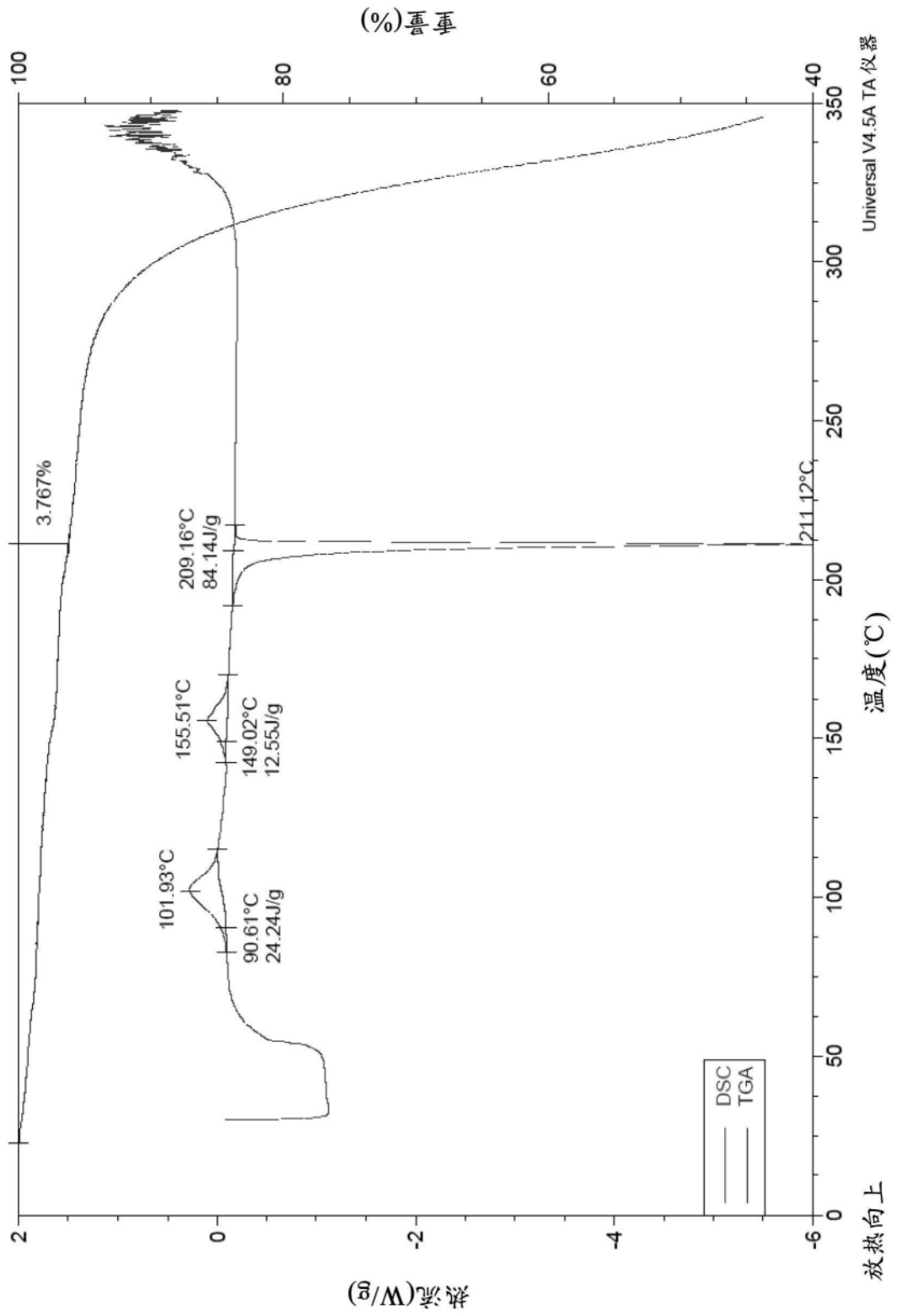


图24

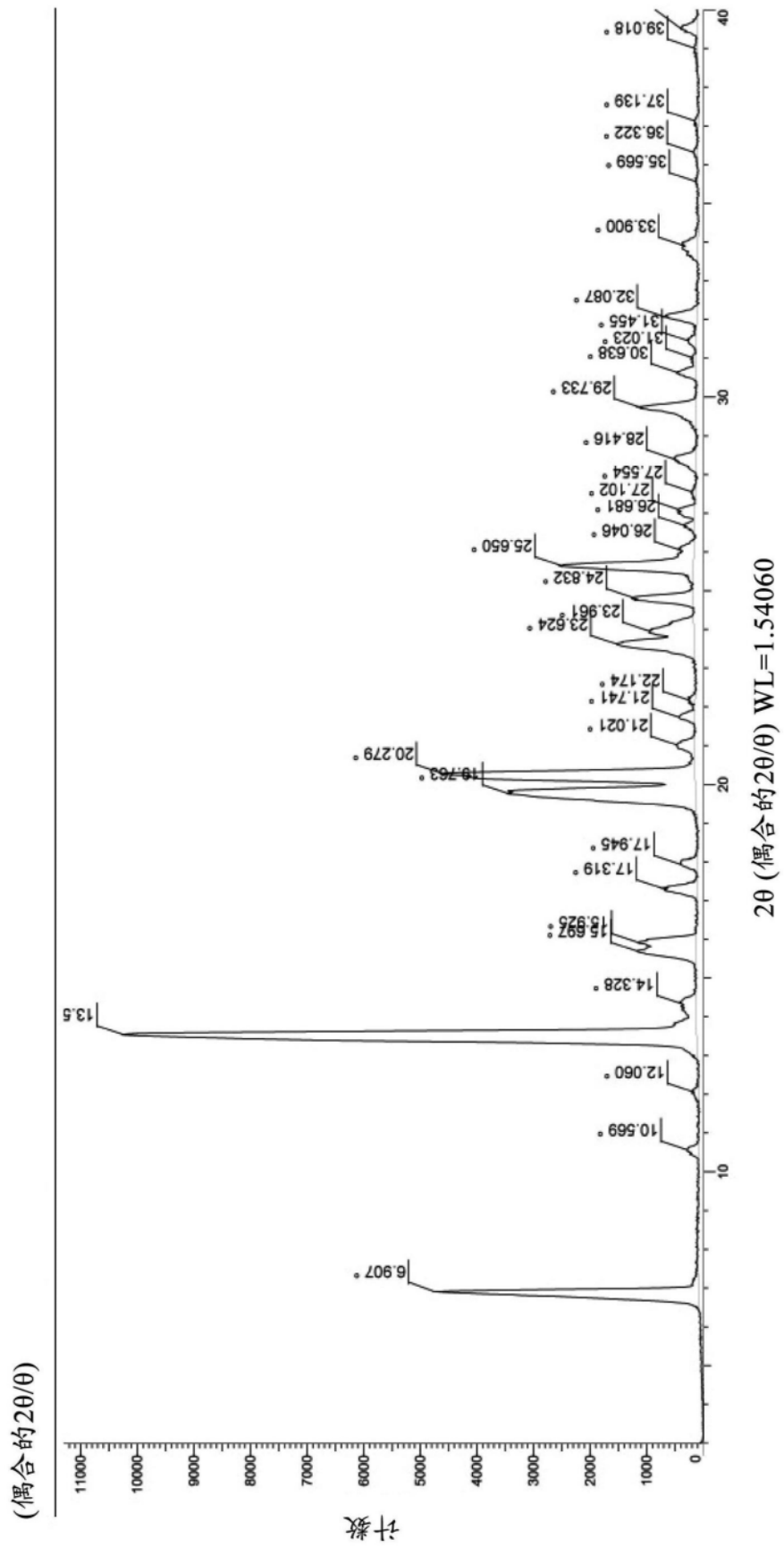


图25