



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 111100078 A

(43)申请公布日 2020.05.05

(21)申请号 201911273119.5

(51)Int.Cl.

(22)申请日 2010.12.06

C07D 239/48(2006.01)

(30)优先权数据

A61P 35/00(2006.01)

61/267,155 2009.12.07 US

A61P 35/02(2006.01)

(62)分案原申请数据

A61P 17/06(2006.01)

201080055078.3 2010.12.06

A61P 13/08(2006.01)

A61K 31/506(2006.01)

(71)申请人 诺华股份有限公司

地址 瑞士巴塞尔

(72)发明人 J·贝格豪森 P·K·卡帕

J·麦肯纳 J·斯莱德 R·吴

Z·杜 F·施托瓦塞尔

(74)专利代理机构 北京安信方达知识产权代理

有限公司 11262

代理人 武晶晶

权利要求书3页 说明书22页 附图11页

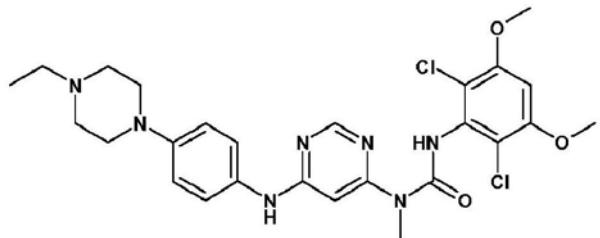
(54)发明名称

3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-{6-[4-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯基氨基]-嘧啶-4-基}-1-甲基-脲及其盐的晶型

(57)摘要

本发明涉及3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-{6-[4-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯基氨基]-嘧啶-4-基}-1-甲基-脲及其盐的晶型。更具体而言，本发明涉及3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-{6-[4-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯基氨基]-嘧啶-4-基}-1-甲基-脲的新的无水和水合晶型，其一磷酸盐和盐酸盐包括其二水合物的无定形和无水多晶型。本发明还提供了不同晶型的制备方法、包含它们的组合物及其使用它们的治疗方法。

1. 式I化合物的一磷酸盐：



2. 如权利要求1所述的一磷酸盐，其为无水结晶一磷酸盐。

3. 如权利要求2所述的无水结晶一磷酸盐，其具有晶型A，其中晶型A具有包含以 2θ 计在 $15 \pm 0.4^\circ$ 处的特征峰的X-射线粉末衍射图案(XRPD)；

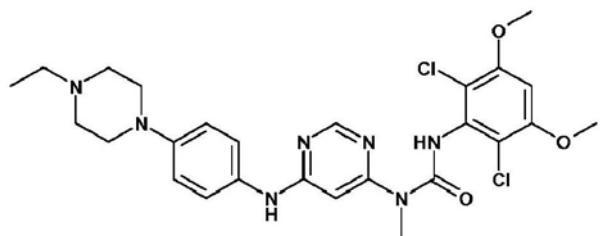
其中所述XRPD可使用Bruker D8 Advance仪器，射线:Cu K α ，于30kV, 40mA，可变狭缝V12 mm，扫描范围2-40°(2θ 值)，扫描速率0.3s/步，或者，

使用Scintag仪器的XDS2000，照射:Cu K α ，于45kV, 40mA，发散片3mm和2mm，测定片0.3mm和0.2mm，切光器0.02grd，扫描时间:6分钟, 3分钟/结构，扫描范围:2°-35°或40°(2θ 值)，以及扫描速率0.5°/min(2θ 值)。

4. 如权利要求3所述的晶型A的无水结晶一磷酸盐，其中该X-射线粉末衍射图案还包含一个或多个特征峰，以 2θ 计，其选自在 $13.7 \pm 0.4^\circ$ 、 $16.8 \pm 0.4^\circ$ 、 $21.3 \pm 0.4^\circ$ 和 $22.4 \pm 0.4^\circ$ 处的峰。

5. 如权利要求4所述的晶型A的无水结晶一磷酸盐，其中该X-射线粉末衍射图案还包含一个或多个特征峰，以 2θ 计，其选自在 $9.2 \pm 0.4^\circ$ 、 $9.6^\circ \pm 0.4^\circ$ 、 $18.7^\circ \pm 0.4^\circ$ 、 $20.0^\circ \pm 0.4^\circ$ 、 $22.9 \pm 0.4^\circ$ 和 $27.2 \pm 0.4^\circ$ 处的峰。

6. 式I化合物的一磷酸盐的以权利要求4所述晶型A命名的无水结晶：



I

其中所述无水结晶晶型A具有包含至少3个特征峰的X-射线粉末衍射(XRPD)图案，以 2θ 计，所述峰选自在 13.7° 、 15° 、 16.8° 、 21.3° 和 22.4° 处的峰；其中，就 2θ 值而言，各峰的值可以改变 $\pm 0.4^\circ$ ，

其中所述XRPD可使用Bruker D8 Advance仪器，射线:Cu K α ，于30kV, 40mA，可变狭缝V12 mm，扫描范围2-40°(2θ 值)，扫描速率0.3s/步，或者，

使用Scintag仪器的XDS2000，照射:Cu K α ，于45kV, 40mA，发散片3mm和2mm，测定片:0.3mm和0.2mm，切光器0.02grd，扫描时间:6分钟, 3分钟/结构，扫描范围:2°-35°或40°(2θ 值)

值),以及扫描速率 $0.5^{\circ}/\text{min}$ (2θ 值)。

7. 如权利要求3-6任一项所述的无水晶型,其具有如图1B中所示的X-射线粉末衍射图案。

8. 如权利要求3-6任一项所述的无水晶型,其具有显示在 $184 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 开始吸热的示差扫描量热法(DSC)的热分析图;

其中针对DSC可使用TA仪器Q1000,温度范围:室温- 210°C ,扫描速率: $10^{\circ}/\text{min}$,以及氮气流: $60\text{mL}/\text{min}$ 。

9. 如权利要求3-6任一项所述的无水晶型,其具有如图2B中所示的示差扫描量热法(DSC)的热分析图;

其中针对DSC可使用TA仪器Q1000,温度范围:室温- 210°C ,扫描速率: $10^{\circ}/\text{min}$,以及氮气流: $60\text{mL}/\text{min}$ 。

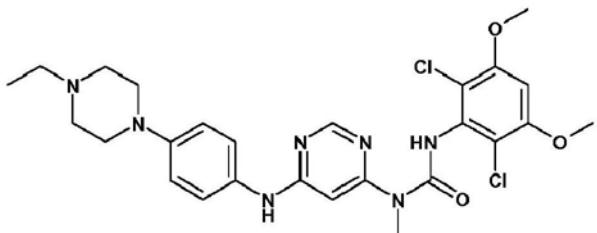
10. 如权利要求2所述的无水结晶一磷酸盐,其具有晶型B,其中晶型B具有包含一个或多个特征峰的X-射线粉末衍射图案,以 2θ 计,所述峰选自在 $9.3 \pm 0.4^{\circ}$ 、 $12.5 \pm 0.4^{\circ}$ 、 $13.4 \pm 0.4^{\circ}$ 、 $15.8 \pm 0.4^{\circ}$ 和 $17 \pm 0.4^{\circ}$ 处的峰;

其中所述XRPD可使用Bruker D8 Advance仪器,射线: $\text{Cu K}\alpha$,于 $30\text{kV}, 40\text{mA}$,可变狭缝 $V12\text{ mm}$,扫描范围 $2-40^{\circ}$ (2θ 值),扫描速率 $0.3\text{s}/\text{步}$,或者,

使用Scintag仪器的XDS2000,照射: $\text{Cu K}\alpha$,于 $45\text{kV}, 40\text{mA}$,发散片 3mm 和 2mm ,测定片: 0.3mm 和 0.2mm ,切光器 0.02grd ,扫描时间:6分钟,3分钟/结构,扫描范围: $2^{\circ}-35^{\circ}$ 或 40° (2θ 值),以及扫描速率 $0.5^{\circ}/\text{min}$ (2θ 值)。

11. 如权利要求10所述的无水晶型,其具有如图1C中所示的X-射线粉末衍射图案。

12. 制备权利要求2-6任一项的无水晶型A的方法,包括使式I化合物的混悬液:



I

接触磷酸以提供无水晶型A。

13. 如权利要求12所述的方法,还包括从混悬液中结晶无水晶型A。

14. 如权利要求13所述的方法,其中式I化合物的混悬液包含异丙醇。

15. 如权利要求12所述的方法,还包括分离结晶的无水晶型A。

16. 组合物,其包含权利要求1-11任一项的晶型和药学可接受的载体、赋形剂或稀释剂。

17. 权利要求1-11任一项的晶型或权利要求16的组合物,其用于治疗方法,该治疗方法包括对患有疾病的个体施用治疗有效量的权利要求1-30任一项的晶型或无定形形式或权利要求35的组合物,所述的疾病的病理学情况和/或症状可以通过抑制激酶活性预防、抑制或改善,其中所述激酶选自FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、KDR、HER1、HER2、Bcr-Ab1、Tie2和Ret,其中所述疾病选自肾癌、肝癌、肾上限癌、膀胱癌、乳腺癌、胃癌、卵巢癌、结肠癌、直肠

癌、前列腺癌、胰腺癌、肺癌、阴道癌或甲状腺癌；肉瘤；胶质母细胞瘤；白血病；颈部或头部的肿瘤；银屑病；前列腺增生；或瘤形成。

3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-[6-[4-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯基氨基]-嘧啶-4-基]-1-甲基-脲及其盐的晶型

[0001] 相关申请

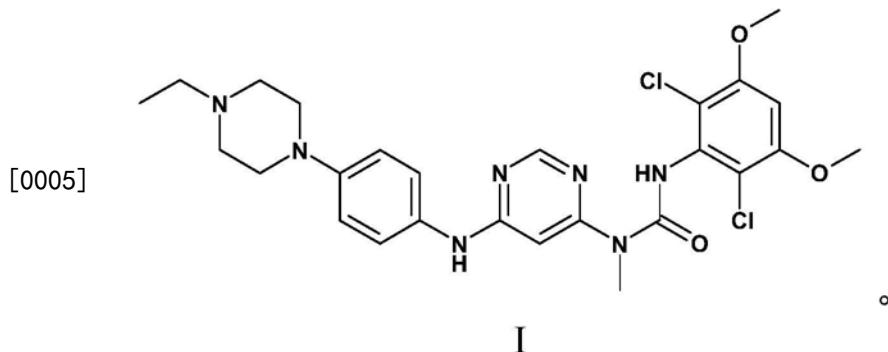
[0002] 本申请为2010年12月6日提交的、发明名称为“3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-[6-[4-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯基氨基]-嘧啶-4-基]-1-甲基-脲及其盐的晶型”、申请号为201510484635.8的中国发明专利申请的分案申请。2010年12月6日提交的、发明名称为“3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-[6-[4-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯基氨基]-嘧啶-4-基]-1-甲基-脲及其盐的晶型”、申请号为201510484635.8的中国发明专利申请为2010年12月6日提交的、发明名称为“3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-[6-[4-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯基氨基]-嘧啶-4-基]-1-甲基-脲及其盐的晶型”、申请号为201080055078.3的中国发明专利申请的分案申请。

技术领域

[0003] 本发明涉及晶型领域。具体而言，本技术涉及3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-[6-[4-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯基氨基]-嘧啶-4-基]-1-甲基-脲、其盐的无水多晶型物、水合多晶型物和无定形形式、其制备方法、包含它们的组合物和使用它们的治疗方法。

背景技术

[0004] 3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-[6-[4-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯基氨基]-嘧啶-4-基]-1-甲基-脲(描述在USSN 11/570983中,2005年6月23日提交,全文引入作为参考)具有式I的结构:



[0006] 式I的化合物是蛋白激酶抑制剂并且用于治疗蛋白激酶介导的增殖性疾病。特别地,式I的化合物抑制FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、KDR、HER1、HER2、Bcr-Abl、Tie2和Ret激酶。因此,其用于治疗癌症,包括AML、黑素细胞瘤形成、乳腺癌、结肠癌、肺癌(尤其是小细胞肺癌)、前列腺癌或卡波西肉瘤。

[0007] 众所周知特定药物的活性药物成分(API)的晶型通常是药物易于制备、吸湿性、稳定性、溶解度、贮存稳定性、易于配制、在胃肠液中的溶出速率和体内生物利用度的重要决定因素。晶型在同一物质组成以不同晶格排列结晶的情况下出现,从而产生对特定晶型而言不同的热力学特性和稳定性。晶型还可以包括相同化合物的不同水合物或溶剂合物。在

决定优选的晶型时,比较大量的晶型特性并且基于许多物理特性的变量选择优选的晶型。完全可能的情况是,一种晶型在一些情况中可能是优选的,其中认为一些方面例如易于制备、稳定性等是关键。在其他情况中,可以因更大的溶出速率和/或优良的生物利用度而优选不同的晶型。尚不能够预测特定化合物或化合物的盐是否可以形成多晶型物、任意这种化合物是否适合于治疗组合物中的商业化应用或多晶型物是否会展示这种期望的特性。

发明内容

[0008] 本文提供了式I化合物的晶型和无定形形式、包括该晶型和无定形形式的组合物和该晶型和无定形形式和组合物的制备方法。本技术还提供了使用式I化合物的晶型或无定形形式及其组合物治疗不同疾病的方法,包括、但不限于可以通过抑制激酶活性预防、抑制或改善的那些疾病,所述的激酶选自FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、KDR、HER1、HER2、Bcr-Abl、Tie2和Ret激酶。

附图说明

[0009] 图1A-E:式I的化合物的游离碱(图1A)及其磷酸盐的XRPD:晶型A(图1B);和晶型B(图1C)、游离碱一水合物(图1D)和盐酸盐二水合物(图1E)。

[0010] 图2A和2B:作为无水游离碱(图2A)和作为磷酸盐(晶型A,图2B)的式I化合物的DSC热分析图。

[0011] 图3A-3C:作为无水游离碱(图3A)、磷酸盐(晶型A,图3B)和盐酸盐(二水合物,图3C)的式I的化合物的TGA热分析图。

[0012] 图4A-4C:在25°C通过DVS采集的作为无水游离碱(图4A)、作为磷酸盐(晶型A,图4B)和作为一水合游离碱(图4C)的式I的化合物的吸附-解吸等温线。

[0013] 图5A和5B:作为结晶游离碱(图5A)和磷酸盐(晶型A,图5B)的式I的化合物的SEM显微照片。

[0014] 图6:式I的化合物的磷酸盐(晶型A)的FT-IR-光谱。

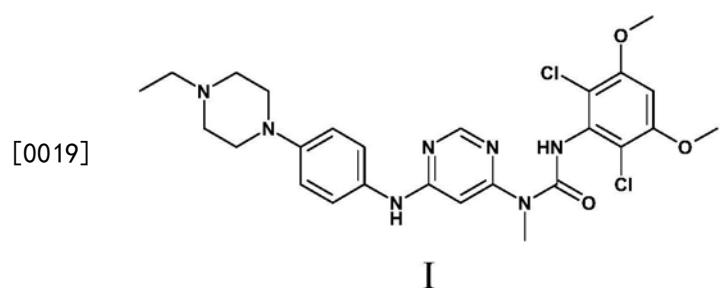
[0015] 图7:游离碱一水合物的DSC和TGA热分析图。

[0016] 图8A和8B:作为无水游离碱(图8A)和游离碱一水合物(图8B)的式I的化合物的拉曼光谱。

[0017] 图9:式I的化合物的游离碱一水合物的单位晶格的单晶X-射线结构。

具体实施方式

[0018] 在一个方面中,本技术提供了式I的化合物(游离碱)的无水和水合晶型:



[0020] 及其磷酸盐。

[0021] 在一个实施方案中,本技术提供了游离碱的无水晶型,其具有包含在以 2θ 计的约12°处的特征峰的X-射线粉末衍射图案。在另一个实施方案中,X-射线粉末衍射图案还包含一个或多个在以 2θ 计的选自在约10.5°、约15.2°、约19.5°和约21.0°处的特征峰。因此,游离碱的无水晶型的X-射线粉末衍射图案可以包含1、2、3、4或5个特征峰,以 2θ 计,其选自在约10.5°、约12.0°、约15.2°、约19.5°和约21.0°的峰。X-射线粉末衍射图案还可以包括1、2或3个另外的特征峰,以 2θ 计,其选自在约11.9°、约21.3°和约22.6°的峰。在另一个实施方案中,游离碱的无水晶型具有基本上如图1A中所示的X-射线粉末衍射图案。本文所用的术语“约”和“基本上”表示就 2θ 值而言,这种各峰的值可以改变 $\pm 0.4^\circ$ 。在一些实施方案中,各峰的 2θ 值可以改变 $\pm 0.2^\circ$ 。

[0022] 可以以热方式表征游离碱的无水晶型。在一个实施方案中,游离碱的无水晶型具有在约217°C显示开始吸热的示差扫描量热法(DSC)的热分析图。在另一个实施方案中,游离碱的无水晶型具有基本上如图2A中所示的示差扫描量热法的热分析图。本文所用的术语“约”和“基本上”就特征而言表示例如吸热、放热、基线位移等,其值可以改变 $\pm 2^\circ\text{C}$ 。就DSC而言,所观察到的温度变化取决于温度改变速率和样品制备技术和所用的特定仪器。因此,本文报道的涉及DSC热分析图的值可以改变 $\pm 4^\circ\text{C}$ 。

[0023] 游离碱的无水晶型还可以通过拉曼光谱表征。在一个实施方案中,游离碱的无水晶型在约2950、约1619、约1539、约1297、约1233、约1191和约998cm⁻¹处显示特征拉曼峰。在一些实施方案中,游离碱的无水晶型在约3067、约2927、约2828、约1690、约1585、约1458、约1385、约1358、约1098、约1062、约819、约778、约695、约668、约637、约498、约468和约420cm⁻¹处显示一个或多个另外的特征拉曼峰。在另一个实施方案中,游离碱的无水晶型具有基本上如图8A中所示的拉曼光谱。本文所用的术语“约”和“基本上”就波数值而言表示这种各个峰的值可以在 $\pm 2\text{cm}^{-1}$ 附近改变。

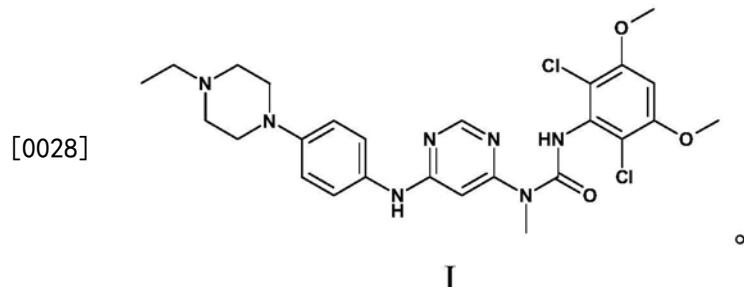
[0024] 在一个方面中,本技术提供了游离碱的结晶一水合物,其具有包含以 2θ 计在约20.3°处的特征峰的X-射线粉末衍射图案。在另一个实施方案中,该X-射线粉末衍射图案还包含以 2θ 计在约21.2°和19°处的一个或多个特征峰。在另一个实施方案中,该X-射线粉末衍射图案还包含以 2θ 计在约4.7°、约9.4°和约11.0°处的一个或多个特征峰。因此,游离碱一水合物形式的X-射线粉末衍射图案可以包含以 2θ 计选自约4.7°、约9.4°、约11.0°、约18.8°、约20.3°和约21.2°处的1、2、3、4、5或6个特征峰。游离碱一水合物形式的X-射线粉末衍射图案还可以包含以 2θ 计选自约11.8°、约15.3°、约16.2°、约19.1°、约22.3°、约22.8°和约25.3°处的1、2、3、4、5、6或7个特征峰。在另一个实施方案中,游离碱的结晶一水合物形式具有基本上如图1D中所示的X-射线粉末衍射图案。

[0025] 可以以热方式表征游离碱的结晶一水合物形式。在一个实施方案中,游离碱的晶体一水合物形式具有在约211°C显示开始吸热的DSC热分析图。在另一个实施方案中,游离碱的结晶一水合物形式具有基本上如图7中所示的DSC的热分析图和/或TGA热分析图。图7的TGA热分析图显示,基于从6.7mg样品质量的约0.2mg减轻或3.1%的重量减轻,水分子(分子量18)从一水合物中失去(分子量578;和18/578×100=3.1%)。

[0026] 游离碱的一水合晶型还可以通过拉曼光谱表征。在一个实施方案中,游离碱的无水晶型在约2957、约2831、约1618、约1511、约1465、约1361、约1229、约1186和约994cm⁻¹处显示特征拉曼峰。在一些实施方案中,游离碱的无水晶型在约1580、约1415、约1312、约

1284、约1184、约1057、约854、约721、约661和约624cm⁻¹处显示另外的特征拉曼峰。在另一个实施方案中，游离碱的一水合晶型具有基本上如图8B中所示的拉曼光谱。

[0027] 在另一个方面中，本技术提供了式I的化合物的无水结晶一磷酸盐(或磷酸盐)：

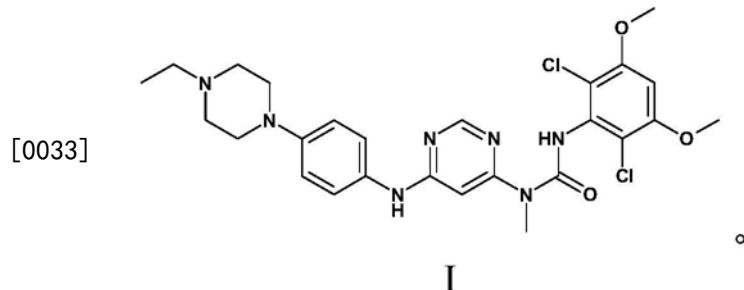


[0029] 在另一个实施方案中，无水结晶一磷酸盐是晶型A，其具有包含以2θ计在约15°处的特征峰的X-射线粉末衍射图案。在另一个实施方案中，该X-射线粉末衍射图案还包含以2θ计选自在约13.7°、约16.8°、约21.3°和约22.4°处的一个或多个特征峰。在另一个实施方案中，该X-射线粉末衍射图案还包含以2θ计选自在约9.2°、约9.6°、约18.7°、约20.0°、约22.9°和约27.2°处的一个或多个特征峰。在另一个实施方案中，式I的化合物的一磷酸盐(或磷酸盐)的无水晶型(晶型A)具有包含以2θ计选自在约13.7°、约15°、约16.8°、约21.3°和约22.4°处的至少3个特征峰的X-射线粉末衍射图案。因此，磷酸盐的晶型A的X-射线粉末衍射图案可以包含以2θ计选自在约9.2°、约9.6°、约13.7°、约15°、约16.8°、约18.7°、约20.0°、约21.3°和约22.4°、约22.9°和约27.2°处的峰的1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或11个特征峰。在另一个实施方案中，磷酸盐的无水晶型(晶型A)具有基本上如图1B中所示的X-射线粉末衍射图案。

[0030] 可以以热方式表征磷酸盐的无水晶型(晶型A)。在一个实施方案中，磷酸盐的无水晶型(晶型A)具有在约184°C显示开始吸热的示差扫描量热法的热分析图。在另一个实施方案中，磷酸盐的无水晶型(晶型A)具有基本上如图2B中所示的示差扫描量热法的热分析图。

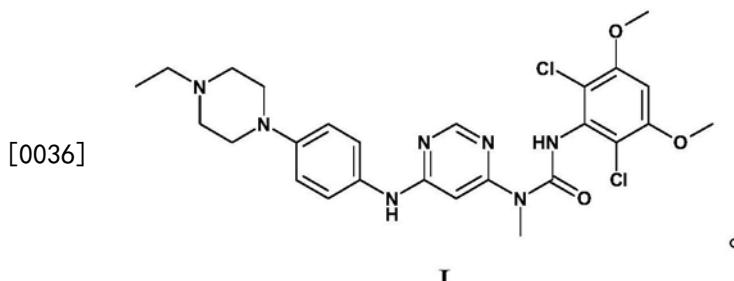
[0031] 在另一个方面中，本技术提供了晶型B的无水结晶一磷酸盐，其具有包含以2θ计选自约9.3°、约12.5°、约13.4°、约15.8°和约17°的一个或多个特征峰的X-射线粉末衍射图案。在一个实施方案中，磷酸盐的晶型B具有基本上如图1C中所示的X-射线粉末衍射图案。

[0032] 在一个方面中，本技术提供了式I化合物的一磷酸盐的无定形形式：



[0034] 式I化合物的一磷酸盐的无定形形式的XRPD不显示特征峰。通过DSC对该无定形形式未观察到明显的玻璃化转变，但在TGA过程中，样品在约115°C开始分解，远低于结晶磷酸盐的晶型A。

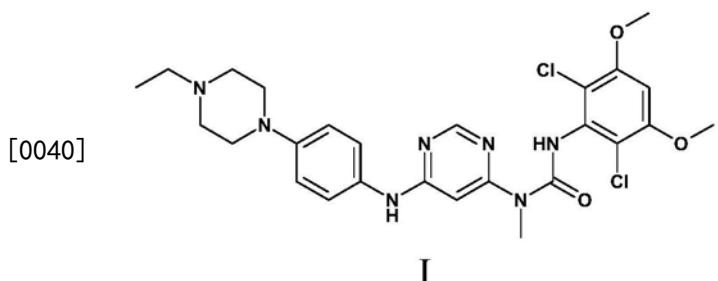
[0035] 在另一个方面中，本技术提供了式I化合物的盐酸盐(盐酸盐)：



[0037] 在一个实施方案中，盐酸盐是结晶二水合物。该二水合物具有X-射线粉末衍射图案，该图案包含以 2θ 计选自在约 10.9° 、约 12.1° 、约 14.8° 、约 20.5° 、约 22° 和约 25.1° 的一个或多个峰的特征峰。在一些实施方案中，盐酸盐具有基本上如图1E中所示的X-射线粉末衍射图案。

[0038] 除上述表征本技术的晶型的技术外，XRPD、单晶X-射线衍射、DSC、动态水蒸汽吸附(DVS)、结晶形态学、固态核磁共振、拉曼散射和红外(IR)光谱法也可以用于表征本技术的其他结晶或无定形形式。

[0039] 在另一个方面中，本技术提供了晶型A的磷酸盐无水晶型的制备方法，包括使式I化合物(游离碱)的混悬液：



[0041] 接触磷酸，得到晶型A的磷酸盐无水晶型。在一个实施方案中，式I化合物的混悬液包含异丙醇。在另一个实施方案中，该方法还包括使晶型A的磷酸盐无水晶型从混悬液中结晶。在另一个实施方案中，该方法还包括分离结晶的无水晶型A。

[0042] 在该方法的一些实施方案中，所接触的磷酸的存在量占所接触的游离碱的摩尔量的约1当量—约10当量、约2当量—约9当量、约3当量—约8当量或约4当量—约7当量。在其他实施方案中，所接触的磷酸的存在量占所接触的游离碱的摩尔量的约2当量—约4当量或约3当量。在一些实施方案中，游离碱的混悬液和磷酸反应或接触约2h—约40h、约4h—约20h或约8h—约10h。在一些实施方案中，游离碱和磷酸在约 25°C —约 100°C 、约 40°C —约 85°C 或约 55°C —约 70°C 的温度反应。在一些实施方案中，游离碱和磷酸在反应中所用溶剂回流的温度下反应。在一些实施方案中，使用反应剂和一种或多种基本上不含水(即几乎完全不含水)的溶剂进行反应。

[0043] 通过本技术方法得到的晶型A的磷酸盐无水晶型可以进一步进行如下步骤，例如干燥、纯化等。所分离的结晶可以在适合的温度下进行干燥。在一个实施方案中，在约 20°C —约 80°C 的温度下干燥结晶。在一些实施方案中，在约 30°C —约 70°C 的温度下干燥结晶。在一些实施方案中，在约 40°C —约 60°C 的温度下干燥结晶。在一个实施方案中，减压干燥结晶，例如在约10mbar—约40mbar。可以将干燥步骤进行适合的时间期限。因此，在一个实施方案中，将结晶干燥约1—约72小时、约2—约36小时或约4—约18小时。在一些实施方案中，将

结晶干燥约48h。

[0044] 式I化合物的磷酸盐可以用于制备游离碱的一水合物。例如，可以将磷酸盐溶于无机碱的水溶液，例如氢氧化铵水溶液。随时间的推移，游离碱作为结晶一水合物沉淀出来。任选可以将另外的步骤例如过滤、洗涤和干燥用于分离结晶游离碱一水合物，恰如如上所述分离磷酸盐。

[0045] 本技术的晶型可以分离为基本上纯的形式。所谓“基本上纯”的含义是50%以上重量的3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-[6-[4-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯基氨基]-嘧啶-4-基]-1-甲基-脲以本文所公开的晶型之一存在。在所分离或基本上纯的本技术晶型的一些实施方案中，3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-[6-[4-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯基氨基]-嘧啶-4-基]-1-甲基-脲至少占所示形式重量的约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%、至少约95%、至少约97%、至少约98%或至少约99%。例如，在一些实施方案中，本技术提供了游离碱的磷酸盐，其中占总游离碱磷酸盐重量的至少约50%、至少约70%、至少约80%、至少约90%、至少约95%、至少约97%、至少约98%或至少约99%作为晶型A、晶型B或无定形形式存在。在其他实施方案中，本技术提供了游离碱，使得占总游离碱重量的至少约50%、至少约70%、至少约80%、至少约90%、至少约95%、至少约97%、至少约98%或至少约99%作为结晶无水游离碱、游离碱结晶一水合物或游离碱的无定形形式存在。在其他实施方案中，本技术提供了游离碱的盐酸盐，其中占总重量的至少约50%、至少约70%、至少约80%、至少约90%、至少约95%、至少约97%、至少约98%或至少约99%是盐酸盐的无定形形式或盐酸盐的结晶二水合物形式。

[0046] 本技术还提供了药物组合物和药物，其可以通过混合本技术（例如其游离碱、磷酸盐或盐酸盐）的一种或多种无水或水合晶型或无定形形式与药学可接受的载体、赋形剂、粘合剂、稀释剂等进行制备，所述的药物组合物和药物用于治疗本文所述的一些疾病。

[0047] 因此，在另一个方面中，本技术提供了组合物，其包含本技术的无水或水合晶型或无定形形式与药学可接受的载体、赋形剂和/或稀释剂等。在一个实施方案中，无水晶型为游离碱的式I化合物。在一个实施方案中，水合晶型是为游离碱的式I的化合物的一水合物。在另一个实施方案中，无水晶型是式I化合物的一磷酸盐。在另一个实施方案中，一磷酸盐的无水晶型是晶型A。在另一个实施方案中，一磷酸盐的无水晶型是晶型B。在一个实施方案中，式I化合物的一磷酸盐是无定形的。在另一个实施方案中，晶型是式I的化合物的盐酸盐。在一个可替代选择的实施方案中，盐酸盐是结晶二水合物或无定形形式。

[0048] 这种组合物可以是例如颗粒、粉末、片剂、胶囊、糖浆剂、栓剂、注射剂、乳剂、酏剂、混悬液或溶液的形式。在一个实施方案中，组合物基本上不含水。本组合物可以配制成用于不同施用途径的形式，例如通过口服和胃肠外施用。胃肠外或全身施用包括、但不限于皮下、静脉内、腹膜内和肌内注射。下列剂型作为实例给出且不应被视为限制本技术。

[0049] 可注射剂型一般包括可以使用适合的分散剂或湿润剂和助悬剂制备的油混悬液或水混悬液。可注射剂型可以是使用溶剂或稀释剂制备的溶液相或混悬液的形式。可接受的溶剂或媒介物包括无菌水、林格液或等渗盐水溶液。在一些实施方案中，在对个体施用前即刻制备这种水性可注射剂型（或再溶解）。或者，无菌油可以用作溶剂或助悬剂。典型地，油或脂肪酸是非挥发性的，包括天然或合成油、脂肪酸、单酸甘油酯类、二脂酰甘油酯类或甘油三酯类。

[0050] 就注射剂而言,药物组合物和/或药物可以是适合于使用如上所述的适合溶液再溶解的粉末。其实例包括、但不限于冷冻干燥、旋转干燥或喷雾干燥的粉末、无定形粉末、颗粒、沉淀或颗粒。就注射剂而言,药物组合物还可以任选包含稳定剂、pH调节剂、表面活性剂、生物利用度调节剂及其组合。

[0051] 就口服、口含和舌下施用而言,粉末、混悬液、颗粒、片剂、丸剂、胶囊、软胶囊和胶囊形片剂是可接受的固体剂型。例如,可以通过混合一种或多种本技术的无水晶型与至少一种添加剂例如淀粉或另外的添加剂制备它们。适合的添加剂是蔗糖、乳糖、纤维素糖、甘露糖醇、麦芽糖醇、葡聚糖、淀粉、琼脂、藻酸盐、壳多糖、脱乙酰壳多糖、果胶、黄蓍胶、阿拉伯树胶、明胶、胶原蛋白、酪蛋白、清蛋白、合成或半合成聚合物或甘油酯类。任选口服剂型可以包含其他成分以有助于施用,例如无活性稀释剂或润滑剂例如硬脂酸镁或防腐剂例如对羟基苯甲酸酯或山梨酸或抗氧化剂例如抗坏血酸、生育酚或半胱氨酸、崩解剂、粘合剂、增稠剂、缓冲剂、甜味剂、矫味剂或芳香剂。还可以用本领域公知的适合包衣材料处理片剂和丸剂。

[0052] 用于口服施用的液体剂型可以是药学可接受的乳剂、糖浆剂、酏剂、混悬液和溶液的形式,其可以包含无活性的稀释剂例如水。可以使用无菌液体例如、但不限于油、水、醇及其组合将药物组合物和药物制备成液体混悬液或溶液。可以加入药学适合的表面活性剂、助悬剂、乳化剂以便于口服施用或胃肠外施用。在一些实施方案中,液体剂型、特别是游离碱一磷酸盐的晶型基本上不含水。

[0053] 如上所述,混悬液可以包括油。这种油包括、但不限于花生油、芝麻油、棉籽油、玉米油和橄榄油。混悬液制剂还可以包含脂肪酸的酯类,例如油酸乙酯、肉豆蔻酸异丙酯、脂肪酸甘油酯类和乙酰化脂肪酸甘油酯类。药物组合物的混悬液可以包括醇类,例如、但不限于乙醇、异丙醇、十六醇、甘油和丙二醇。醚类例如、但不限于聚(乙二醇)、石油烃类例如矿物油和凡士林且水也可以用于混悬液药物组合物。

[0054] 除上述那些有代表性的剂型外,药学可接受的赋形剂和载体一般是本领域技术人员公知的且由此包括在本技术中。这种赋形剂和载体描述在例如“Remington’s Pharmaceutical Sciences”Mack Pub.Co., New Jersey (1991) 中,将其引入本文作为参考。

[0055] 可以如上所述将本技术的药物组合物设计成短效、速释、长效和缓释的。因此,还可以制备控释或缓释的药物组合物。

[0056] 本组合物可以以延长释放形式施用以提供延长贮存和/或递送效果。因此,可以将药物组合物和药物压制成丸粒或圆柱体形式并且经肌内或皮下作为贮库注射剂或植入物例如支架植入。这种植入物可以使用公知的惰性材料例如硅酮和生物可降解聚合物。

[0057] 可以根据疾病情况、个体年龄、体重、一般健康状况、性别和膳食、剂量间隔、施用途径、排泄速率和药物组合的不同调制具体剂量。包含治疗有效量的任意上述剂型充分属于常规实验的范围且由此充分属于本技术的范围。

[0058] 在一些其他实施方案中,本技术提供了包含式I化合物的游离碱的组合物,其中组合物中总游离碱的至少约50%、至少约70%、至少约80%、至少约90%、至少约95%、至少约97%、至少约98%或至少约99%重量作为无水形式或一水合物形式存在。在其他实施方案中,本技术的组合物主要由游离碱组成,其中组合物中至少约95%、至少约97%、至少约98%或至少约99%的游离碱作为无水形式或一水合物形式存在。

[0059] 在一些其他实施方案中,本技术提供了包含游离碱磷酸盐的组合物,其中组合物中总游离碱磷酸盐的至少约50%、至少约70%、至少约80%、至少约90%、至少约95%、至少约97%、至少约98%或至少约99%重量作为晶型A、晶型B或无定形形式存在。在其他实施方案中,本技术的组合物主要由游离碱的磷酸盐组成,其中组合物中至少约95%、至少约97%、至少约98%或至少约99%的游离碱的磷酸盐作为晶型A、晶型B或无定形形式存在。

[0060] 在一些实施方案中,本技术提供了包含游离碱盐酸盐的组合物,其中组合物中总游离碱盐酸盐的至少约50%、至少约70%、至少约80%、至少约90%、至少约95%、至少约97%、至少约98%或至少约99%重量作为二水合物或无定形形式存在。在其他实施方案中,本技术的组合物主要由游离碱的盐酸盐组成,其中组合物中至少约95%、至少约97%、至少约98%或至少约99%的游离碱的磷酸盐作为二水合物或无定形形式存在。

[0061] 在另一个方面中,本技术提供了治疗方法,包括对患有疾病、病理学情况和/或疾病症状的个体施用治疗有效量的本技术的无水或水合晶型或无定形形式或包含无水或水合晶型或无定形形式的组合物,所述的疾病、病理学情况和/或疾病症状通过抑制激酶活性得到预防、抑制或改善,其中所述的激酶选自FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、KDR、HER1、HER2、Bcr-Abl、Tie2和Ret。在另一个实施方案中,本技术提供了本技术的无水或水合晶型、无定形形式或包括无水或水合晶型或无定形形式的组合物在制备治疗个体疾病的药物中的用途,其中FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、KDR、HER1、HER2、Bcr-Abl、Tie2和Ret的激酶活性促成所述疾病的病理学情况和/或症状。在本技术的一些实施方案中,所述的激酶选自FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4。

[0062] 本技术范围内的治疗指完全或部分缓解与所治疗的障碍或疾病相关的症状,或减缓或阻止其症状的进一步发展或恶化,或关注预防处于发生疾病或障碍风险中的个体疾病或障碍或使其减退。这种疾病或障碍包括、但不限于肾癌、肝癌、肾上腺癌、膀胱癌、乳腺癌、胃癌、卵巢癌、结肠癌、直肠癌、前列腺癌、胰腺癌、肺癌、阴道癌或甲状腺癌;肉瘤;胶质母细胞瘤;白血病;颈部或头部的肿瘤;银屑病;前列腺肥大;或瘤形成。

[0063] 例如,在治疗包括如上所述激酶介导的障碍的疾病的上下文范围内,成功的治疗可以包括缓解疾病症状或减缓或阻止其进展,正如根据一种或多种相应激酶的水平或活性下降所确定的。本文所用的“治疗有效量”指式I的化合物(包括游离碱)的无水或水合晶型或无定形形式或式I化合物的磷酸盐的无水晶型或无定形形式,它们是式I的化合物的盐酸盐(包括二水合物或无定形形式)或包括它们的组合物,其完全或部分缓解与所治疗的障碍或疾病相关的症状,或减缓或阻止其症状的进一步发展或恶化,或预防处于发生疾病或障碍风险中的个体疾病或障碍或对其提供预防。个体是可以得益于施用如本文所公开的任意形式的式I的化合物或包括它的组合物的任意动物。在一些实施方案中,个体是哺乳动物,例如人、灵长类、狗、猫、马、牛、猪、啮齿动物例如大鼠或小鼠。典型地,所述的哺乳动物是人。

[0064] 治疗有效量的本技术的无水或水合晶型或无定形形式或包含任意这种形式的组合物可以根据施用途径和剂型的不同而改变。式I化合物的的无水或水合晶型或无定形形式的有效量典型地在约0.01—100mg/kg/天的范围,且更典型地在约0.05—25mg/kg/天的范围。典型地,选择本技术的无水或水合晶型或无定形形式或包含这种形式的组合物,以提供显示高治疗指数的药物组合物。治疗指数是毒性效应与治疗效应的剂量比,表示为LD₅₀与

ED₅₀之比。LD₅₀是使50%群体致死的剂量,ED₅₀是在50%群体中治疗有效的剂量。通过标准药学方法在动物细胞培养物或实验动物中测定LD₅₀和ED₅₀。

[0065] 将本说明书中涉及的全部公开文献、专利申请、授权专利和其他对比文件引入本文作为参考,就如同将它们特别和各自完整引入作为参考一样。文本中包含的引入参考的定义不包括它们与本说明书的定义矛盾的情况。

[0066] 由此一般性描述的本技术将通过参照下列实施例更易于理解,这些实施例作为示例提供,但不预以限制本技术。

[0067] 实施例

[0068] 在本说明书上下文中的化学和生物学术语方面使用如下缩写:

[0069] DCM: 二氯甲烷

[0070] DMSO: 二甲亚砜

[0071] DSC: 示差扫描量热法

[0072] DVS: 动态水蒸气吸附

[0073] ESI-MS: 电喷雾-质谱法

[0074] FT-IR: 傅里叶转换-红外

[0075] HPLC: 高效液相色谱法

[0076] IPA: 异丙醇

[0077] M: 摩尔

[0078] MeOH: 甲醇

[0079] N HCl: 标准HCl

[0080] NMR: 核磁共振波谱法

[0081] RH: 相对湿度

[0082] RT: 室温

[0083] SEM: 扫描电子显微镜检查

[0084] TGA: 热重量分析法

[0085] UV: 紫外线

[0086] XRPD: X-射线粉末衍射

[0087] 使用的一般方法、仪器和标准

[0088] pH值

[0089] 以下为典型测定溶液的pH:将约10mg的游离碱或其盐转入20ml小瓶,向其中加入10ml相应的缓冲液或水。连续搅拌该溶液,同时测定pH。可以通过各种方法,例如用微pH电极进行pH测定。

[0090] 溶解度测定

[0091] 在25±0.5℃将过量游离碱(式I的游离碱)、其磷酸盐(游离碱的一磷酸盐)或另一种酸式盐在溶剂中平衡1天。过滤得到的淤浆,通过HPLC测定用于溶解度测定的滤液。

[0092] 内在溶出度

[0093] 在0.5cm² VanKel模头和冲头组合中以2000磅的圆球压力进行内在溶出速率测定。使用光导纤维溶出系统(C technologies Inc.)和Cary UV/VIS光分光光度计与200rpm搅拌速率测定溶出度。将溶液介质保持在37±0.5℃,在260nm进行浓度测定。

[0094] 吸湿性

[0095] 使用表面测量系统DVS-1在 $25 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 从吸附/解吸等温线测定吸湿性。在不同湿度包括75%、85%和95%下评价样品。

[0096] 多态特性

[0097] 在 $25 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 以高速将样品淤浆搅拌24小时,过滤,通过XRPD分析采集的固体。

[0098] HPLC法

[0099] 仪器:Waters;柱:Symmetry C18,3.5微米粒径,4.6x 75mm;柱温: 35°C ;流速:1mL/min;流动相:A=0.1%TFA的水溶液和B=乙腈;检测:UV 254nm;进样量:约2微克;稀释剂:60:40(v/v)乙腈/0.2%磷酸水溶液;和梯度:10—70%B,10分钟内。

[0100] TG法

[0101] 仪器:TA instrument Q500;温度范围:室温— 300°C ;扫描速率: $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$;氮气流:60ml/min。Mettler TGA 850;温度范围:室温— 300°C ;扫描速率: $20^{\circ}\text{C}/\text{min}$;氮气流:40ml/min。

[0102] SEM法

[0103] 仪器:Jeol JSM 6300。

[0104] DSC法

[0105] 仪器:TA instrument Q1000;温度范围:室温— 210°C ;扫描速率: $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$;氮气流:60mL/min。

[0106] X-射线结晶学法

[0107] 具有来自精细焦点密封管发生器的石墨-单色Cu (K α) -射线的Bruker AXS 3-循环衍射计和使用SMART软件的Smart 6000 CCD检测器。使用Saint进行数据加工和整体晶格精制。基于在不同角度设置下测定的对称关联反射强度应用半经验吸收校正。通过双重空间再循环法和随后的DF合成分离结构并且基于应用F2的全矩阵最小二乘法、使用SHELXTL程序组精制。

[0108] XRPD法

[0109] 仪器:Bruker D8 Advance;射线:Cu K α , (30kV, 40mA);可变狭缝V12 mm;扫描范围 $2\text{--}40^{\circ}$ (2θ 值);扫描速率0.3s/步。或者,使用Scintag, Inc.的XDS2000;照射:Cu K α (45kV, 40mA);发散片:3mm和2mm;测定片:0.3mm和0.2mm;切光器0.02grd;扫描时间:6分钟(3分钟/结构);扫描范围: $2^{\circ}\text{--}35^{\circ}$ 或 40° (2θ 值);扫描速率 $0.5^{\circ}/\text{min}$ (2θ 值)。

[0110] IR法

[0111] 仪器:Thermo Magna 560;模式:传输;扫描范围: $4000\text{cm}^{-1}\text{--}600\text{cm}^{-1}$ 。

[0112] 拉曼法

[0113] 仪器:Bruker Vertex 70FTIR;APT:3.5mm;64扫描;RES 2。

[0114] 盐筛选

[0115] 实施例1:式I的游离碱的酸式盐的筛选

[0116] 使用式I的游离碱(如下实施例2中所述制备)和各种不同的酸进行盐的筛选实验:乙酸、苯甲酸、柠檬酸、富马酸、马尿酸、氢溴酸、盐酸、乳酸(D,L)、马来酸、苹果酸(L)、丙二酸、甲磺酸、磷酸、萘-1,5-二磺酸、磷酸、琥珀酸、硫酸、酒石酸(D)和酒石酸(L)。将游离碱(30mg)溶于12mL THF。将该溶液的0.1ml等分部分配入96孔格(Zinsser Crissy block)结

晶块。将约0.25mg游离碱递送至每个孔；再向每个孔中加入0.044ml 0.01M的相应酸的丙酮溶液。用预先撕开的覆盖物覆盖，然后在室温在约10小时过程中使溶剂混合物蒸发。

[0117] 使用乙酸、苯甲酸、柠檬酸、马尿酸、乳酸、马来酸和苹果酸尝试，得到具有与游离碱或无定形固体相同的XRPD图案的固体。使用富马酸、氢溴酸、萘-1,5-二磺酸、硫酸或酒石酸得到低结晶度固体。就磷酸而言，盐晶型获自190试验乙醇。由于结晶度或最终的合成便利性，所以进一步评价由磷酸、盐酸、丙二酸、甲磺酸和琥珀酸形成的固体的结晶度和吸湿性。

[0118] 发现磷酸盐是高度结晶的。通过DVS吸附/解吸等温线评价的吸湿性显示甚至在95%RH，也仅观察到因吸水导致的2%以下的重量增加。在75%和85%RH，观察到1%以下的重量增加。

[0119] 就盐酸盐而言，观察到几种XRPD图案，显示一种以上多晶型物存在。这些盐的大部分具有低结晶度。将二水合物确定为最具有结晶性。盐酸盐的吸湿性高于磷酸盐。在盐酸盐的一种晶型中，通过DVS观察到约4.1% (75%RH) —约16.9% (95%RH) 的重量增加。

[0120] 就丙二酸盐而言，基于其观察到的XRPD图案鉴定了4种晶型。进一步评价显示为易脆的结晶，仅制备一次，具有湿的模式并且是吸湿的(在所有测试湿度下均具有约10%的重量增加)。

[0121] 就甲磺酸盐而言，观察到几种XRPD图案，其中仅可以持续制成一种，但具有吸湿性(通过DVS显示约2.6%—10%重量增加)。类似地，琥珀酸盐也是吸湿性的(通过DVS显示约4.1%—10%的重量增加)。

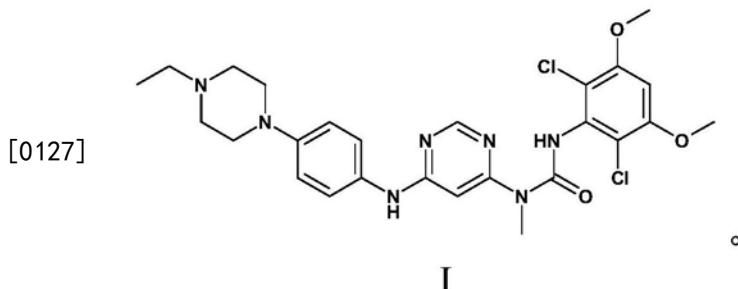
[0122] 在pH 3缓冲液和水中的初始溶解度试验结果如下表1中所示。磷酸盐比甲磺酸盐、丙二酸盐和琥珀酸盐更易溶于pH 3缓冲液和水。磷酸盐也比游离碱更易溶于水。

[0123] 表1

[0124] 盐的类型/游离碱	介质/溶剂	溶解度(mg/ml)
甲磺酸盐	pH3缓冲液	0.003
丙二酸盐	pH3缓冲液	0.003
琥珀酸盐	pH3缓冲液	0.002
磷酸盐	pH3缓冲液	0.039
甲磺酸盐	水	0.87
丙二酸盐	水	0.92
琥珀酸盐	水	0.27
磷酸盐	水	1.7
游离碱	pH3缓冲液	0.20
游离碱	水	0.001

[0125] 化学分析

[0126] 实施例2:式I化合物的游离碱的制备



[0128] A.N-[4-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯基]-N'-甲基-嘧啶-4,6-二胺

[0129] 将4-(4-乙基哌嗪-1-基)-苯胺(1g, 4.88mmol)、(6-氯-嘧啶-4-基)-甲基-胺(1.81g, 12.68mmol, 1.3eq.)和4N HCl在二噁烷(15ml)中的混合物在密闭试管内加热至150℃持续5h。浓缩该反应混合物,用DCM和饱和碳酸氢钠水溶液稀释。分离水层,用DCM萃取。用盐水洗涤有机相,干燥(硫酸钠),过滤,浓缩。通过硅胶柱色谱法纯化残余物(DCM/MeOH, 93:7),然后在乙醚中研磨,得到标题化合物,为白色固体:ESI-MS:313.2[MH]⁺; t_R=1.10min(梯度J); TLC:R_f=0.21(DCM/MeOH, 93:7)。

[0130] B.4-(4-乙基哌嗪-1-基)-苯胺

[0131] 将1-乙基-4-(4-硝基-苯基)-哌嗪(6.2g, 26.35mmol)和阮内镍(2g)在MeOH(120mL)中的混悬液在RT在氢气气氛中搅拌7h。通过硅藻土垫过滤该反应混合物,浓缩至得到5.3g标题化合物,为紫色固体:ESI-MS:206.1[MH]⁺; TLC:R_f=0.15(DCM/MeOH+1%NH₃^水, 9:1)。C.1-乙基-4-(4-硝基-苯基)-哌嗪

[0132] 将1-溴-4-硝基苯(6g, 29.7mmol)和1-乙基哌嗪(7.6ml, 59.4mmol, 2eq.)的混合物加热至80℃持续15h。冷却至RT后,用水和DCM/MeOH, 9:1稀释该反应混合物。分离水层,用DCM/MeOH, 9:1萃取。用盐水洗涤有机相,干燥(硫酸钠),过滤,浓缩。通过硅胶柱色谱法纯化残余物(DCM/MeOH+1%NH₃^水, 9:1),得到6.2g标题化合物,为黄色固体:ESI-MS:236.0[MH]⁺; t_R=2.35min(纯度:100%, 梯度J); TLC:R_f=0.50(DCM/MeOH+1%NH₃^水, 9:1)。

[0133] D.(6-氯-嘧啶-4-基)-甲基-胺

[0134] 通过文献中公布的改进方法制备该物质(J.Appl.Chem.1955, 5, 358):向商购的4,6-二氯嘧啶(20g, 131.6mmol, 1.0eq.)在异丙醇(60ml)中的混悬液中以内部温度不高于50℃这种速率加入33%甲基胺的乙醇溶液(40.1ml, 328.9mmol, 2.5eq.)。添加完成后,将该反应混合物在室温搅1h。然后加入水(50ml),用冰浴将形成的混悬液冷却至5℃。过滤出沉淀的产物,用冷异丙醇/水2:1(45ml)和水洗涤。将采集的物质在45℃真空干燥过夜,得到标题化合物,为无色粉末:t_R=3.57min(纯度:>99%, 梯度A), ESI-MS:144.3/146.2[MH]⁺。

[0135] E.(3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基-苯基)-1-{6-[4-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯基氨基]-嘧啶-4-基}-1-甲基-脲)

[0136] 通过将2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基-异氰酸酯(1.25eq.)加入到N-[4-(4-乙基-哌嗪-1-基)-苯基]-N'-甲基-嘧啶-4,6-二胺(2.39g, 7.7mmol, 1eq.)在甲苯中的溶液中并且将该反应混合物回流搅拌1.5h制备标题化合物。通过硅胶柱色谱法纯化粗产物(DCM/MeOH+1%NH₃^水, 95:5),得到标题化合物,为白色固体:ESI-MS:560.0/561.9[MH]⁺; t_R=3.54min(纯度:100%, 梯度J); TLC:R_f=0.28(DCM/MeOH+1%NH₃^{aq}, 95:5)。分析:C₂₆H₃₁N₇O₃C₁₂, 计算值C 55.72% H 5.57% N 17.49% O 8.56% Cl 12.65%; 测定值C

55.96%H 5.84%N 17.17%O 8.46%C1 12.57%。通过如下所述的XRPD、热和其他方法表征标题化合物。

[0137] 实施例3:式I化合物的一磷酸盐晶型A的制备

[0138] 向圆底烧瓶中加入3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-{6-[4-(4-乙基哌嗪-1-基)苯基氨基]-嘧啶-4-基}-1-甲基-脲(134g,240mmol)和IPA(2000ml)。搅拌该混悬液,加热至50°C,向其中分部分加入磷酸(73.5g,750mmol)的水(2000ml)溶液。将该混合物在60°C搅拌30min,通过聚丙烯垫过滤。用温IPA/水(1:1,200ml)洗涤垫,合并滤液。向澄清溶液中加入IPA(6000ml),将该混合物回流搅拌20min,缓慢冷却至室温(25°C),搅拌24小时。通过过滤采集白色盐产物,用IPA(2×500ml)洗涤,在60°C在烘箱内减压干燥2天,得到磷酸盐(晶型A)110g。收率70%。通过HPLC检测的纯度>98%。分析:C₂₆H₃₄N₇O₇C1₂P,计算值C 47.42%H 5.20%N 14.89%O 17.01%C1 10.77%P 4.70%;测定值C 47.40%H 5.11%N 14.71%O 17.18%C1 10.73%P 4.87%。通过如下所述的XRPD、热和其他方法表征标题化合物。

[0139] 实施例4:式I化合物的游离碱一水合晶型的制备

[0140] 在18°C在氮气气氛中向221 4-颈圆底烧瓶中加入15M氢氧化铵(10L,15mole)。在18°C在1小时内向该溶液中分部分加入作为固体的3-(2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯基)-1-{6-[4-(4-乙基哌嗪-1-基)苯基氨基]-嘧啶-4-基}-1-甲基-脲的磷酸盐(660g,1.002mole;通过实施例3的方法制备)。将得到的白色混悬液在18°C搅拌16小时。取出样品,通过¹H NMR检查,以证实磷酸盐完全转化成游离碱。NMR显示完全转化成游离碱。通过带有粗玻璃原料的混合物(40-60ASTM)的3L垂熔玻璃漏斗过滤该混合物。缓慢过滤,需要~3小时,这是因固体游离碱的细粒度所致。用去离子水(1L)洗涤固体。这种洗涤也极为缓慢(需要1.5小时)。在60°C真空(5托)干燥固体16小时,得到642g游离碱(理论值的114%,理论值=561.1g)。在18°C将干燥的固体在去离子水(10.5L)中再搅拌成淤浆3小时。通过带有粗玻璃原料的混合物(40-60ASTM)的3L垂熔玻璃漏斗过滤固体。用去离子水(2L)洗涤滤饼。在60°C真空(5托)干燥固体16小时,得到游离碱,为一水合物(559g,一水合物理论值的96.7%)。

[0141] 晶型的表征

[0142] 实施例5:游离碱、磷酸盐(晶型A)和盐酸盐的物化特性

[0143] A. 游离碱

[0144] 无水游离碱显示良好的结晶度(就XRPD光谱而言,参见图1A)。它适度吸湿且以10°C/min加热时,在217°C熔化(开始),然后分解(就DSC热分析图而言,参见图2A)。无水碱的TGA如图3A中所示,所观察到的重量减轻与无水形式一致。它在高pH下不溶于水性介质(在pH 6.8缓冲液中约0.00004mg/mL,在pH 6.67的水中约0.00009mg/mL)且难溶至微溶于常用的有机溶剂。在0.1-N HCl中,无水游离碱变成另一种形式(如盐酸盐形式)。游离碱的一水合晶型也显示良好的结晶度(就XRPD光谱而言,参见图1D)。无水游离碱的SEM显微照片如图5A中所示。

[0145] B. 磷酸盐(晶型A)

[0146] 磷酸盐显示良好的结晶度(就XRPD光谱而言,参见图1B(磷酸盐(晶型A)))。它轻微吸湿且以10°C/min加热时,在184.0°C熔化(开始),然后分解(参见图2B(磷酸盐(晶型A)))。磷酸盐的TGA如图3B中所示,所观察到的重量减轻与无水形式一致。它不溶于pH 6.8缓冲液

(约0.00009mg/mL),不同于游离碱,它溶于水(1.3mg/mL)。难溶于常用的有机溶剂。下文提供了另外的溶解度研究。磷酸盐(晶型A)的FT-IR光谱如图6中所示。在磷酸盐中检测到至多0.6%的残留溶剂(异丙醇)。磷酸盐晶型A的SEM显微照片如图5B中所示。

[0147] C. 游离碱的盐酸盐

[0148] 盐酸盐在二水合晶型中显示中度的结晶度(就XRPD光谱而言,参见图1E)。TGA如图3C中所示,所观察到的重量减轻与二水合晶型一致。盐酸盐是吸湿性的且存在形式为二水合物。溶解度研究如实施例8表3D中所示。

[0149] 实施例6:游离碱的磷酸盐的无定形形式

[0150] 将约40mg的磷酸盐(晶型A)与4ml的四氢呋喃/水(1:1)在25°C混合。搅拌过夜后,过滤该溶液。不经搅拌将澄清滤液放入氮气流中至干燥。通过DSC和TGA进一步评价溶剂蒸发后得到的固体。当进行加热-40°C—140°C时,使用DSC温度记录器未观察到明显的玻璃转化。使用TGA温度记录器,观察到样品在~115°C开始分解,远低于结晶磷酸盐的晶型A。另外参见如下的实施例15。

[0151] 实施例7:测定内在溶出速率

[0152] 测定磷酸盐在水、pH=6.8和0.1N HCl中的内在溶出速率和游离碱一水合物在pH=6.8、4.5和0.1N HCl中的溶出速率。使用VanKe1仪器、应用Cary UV/VIS光分光度计进行测定(表2)。磷酸盐显示在水和0.1N HCl中比游离碱快的内在溶出速率。

[0153] 表2

[0154] 内在溶出速率

[0155]

样品	磷酸盐(晶型 A)	游离碱(一水合物)
样品质量	约 100 mg	约 100 mg
检测波长	290 nm	290.2 nm
盘的转速	200 rpm	50 rpm
温度	37°C	37°C
测定时间	20-60 Min	400 Min
溶出介质	内在 DR 值 mg/min/cm ²	
HCl 0.1 N	1.0661 (无水游离碱: 0.28)	0.3132
pH = 6.8	0.0056	0.0026
pH = 4.5	n.d.	0.0001

[0156] 水	0.3279 (无水游离碱: 0.01)	n.d.
----------	----------------------	------

[0157] n.d.-未测定

[0158] 实施例8:水介质中的溶解度

[0159] 测定无水物一水合物和一水合游离碱在不同水性介质(例如pH 6.8缓冲液、pH 4.5缓冲液、pH 1缓冲液)中的溶解度,包括人工流体和实际人流体。人工流体组成如下表3A-3C中所示。

[0160] 表3A

[0161]

SGF pH 2.0	
赋形剂	目标量/体积/1 升
NaCl	2 g
Triton X-100	1 g
HCl 0.1M	100 ml
纯水	适量

[0162]

表3B

[0163]

FaSSIF pH 6.5		
赋形剂	摩尔量[mM]	目标量[g/ 1l]
磷酸(85%)	28.6 (为 100%)	3.30 (为 85%)
牛磺胆酸钠	3	1.65
卵磷脂	0.75	0.59
NaCl	105.8	6.186
NaOH		适量
纯水		适量

[0164]

表3C

[0165]

FeSSIF pH 6.5		
赋形剂	摩尔量[mM]	目标量[g/ 1l]
冰醋酸	144	8.65
牛磺胆酸钠	15	8.25
卵磷脂	3.75	2.954
NaCl	202	11.87
NaOH		适量
纯水		适量

[0166]

人流体采集自12位人受试者。24小时后如上所述评价溶解度。将结果制成下表4A和4B。

[0167]

表4A

[0168]

无水游离碱的溶解度

[0169]

介质	24h后以mg/ml计的溶解度
人工胃液(SGF)	0.0497
禁食态人工肠液(FaSSIF)	0.001
喂食态人工肠液(FeSSIF)	0.148
pH 1HCl	0.052
pH 4.5乙酸盐	0.008
pH 6.8磷酸盐	<LOQ*
人胃液(HGF)	0.001
禁食人肠液(HIF)	0.002
HIF, 饲喂	0.004

[0170]

*<LOQ: 低于定量限

[0171]

表4B

[0172] 一水合游离碱的溶解度

[0173]

介质	24h后以mg/ml计的溶解度
SGF	0.020
FaSSIF	0.003
FeSSIF	0.459
pH 1 HCl	0.103
ph 4.5乙酸盐	0.054
ph 6.8磷酸盐	<LOQ*
HGF	0.002
HIF禁食	0.019
HIF喂食	0.040

[0174] *<LOQ:低于定量限

[0175] 在24小时时在水性介质和人流体中进行磷酸盐的溶解度研究。得到不进行前平衡(表4C)和使用24小时以上在pH 1HCl(表4D)中平衡的结果。后面的条件显示在此时后磷酸盐转化成HCl盐。

[0176] 表4C

[0177] 磷酸盐的溶解度

[0178]

介质	24h后以mg/ml计的溶解度
SGF	0.088
FaSSIF	0.003
FeSSIF	1.067
pH 1 HCl	0.089
ph 4.5乙酸盐	0.731
ph 6.8磷酸盐	<LOQ*
HGF	0.0115
HIF禁食	0.00223
HIF饲喂	0.00141

[0179] *<LOQ:低于定量限。

[0180] 表4D

[0181] 从磷酸盐在pH 1,HCl平衡得到的盐酸盐的溶解度

[0182]

介质	24h后以mg/ml计的溶解度
SGF	0.073
FaSSIF	0.003
FeSSIF	0.248
pH 1 HCl	0.075
ph 4.5乙酸盐	0.822
ph 6.8磷酸盐	<LOQ*
HGF	0.0348

HIF禁食	0.0154
HIF饲喂	0.0109

[0183] *<LOQ: 低于定量限。

[0184] 实施例9:式I的化合物游离碱的FT-拉曼光谱

[0185] 如上所述实施式I的化合物的一水合物和无水结晶游离碱晶型的FT-拉曼光谱法。式I的化合物的无水游离碱晶型的拉曼光谱如图8A中所示。图8A中的峰包括3067、2950、2927、2854、2828、1690、1619、1585、1539、1458、1409、1385、1358、1297、1233、1191、1098、1062、998、819、778、742、695、668、637、498、468、420cm⁻¹。一水合游离碱的拉曼光谱如图8B中所示。图8B中的峰包括2957、2831、1618、1580、1511、1465、1415、1361、1312、1284、1229、1186、1148、1057、994、854、721、661、624cm⁻¹。

[0186] 实施例10:式I化合物的游离碱的一水合晶型的单晶X-射线结晶学分析

[0187] 式I化合物的游离碱的一水合晶型的单晶X-射线结晶学分析如上所述进行。分析结果如下表5和图9中所示。

[0188] 表5

晶体粒度(mm)	0.16 × 0.08 × 0.06
以埃(Å)和度(°)计的晶胞尺寸	a = 7.7615(2) Å b = 9.3168(2) Å c = 37.8111(8) Å α = 90° β = 91.439(2)° γ = 90° V = 2733.35(11) Å ³
空间群	P21/c
分子/单胞	4
密度	1.362

[0190] 晶型稳定性的证实

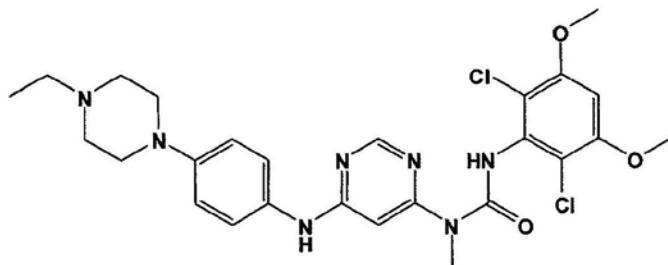
[0191] 实施例11:溶液稳定性

[0192] 在50℃测试pH 1—pH 9的缓冲液中游离碱的溶液稳定性1周。在pH 5以上,游离碱稳定,在考虑到最初少量杂质后,降解少于2%。在pH 3,降解约为约4%,在pH 1,降解约为15%。在水和几种有机溶剂中测试稳定性(1周,在50℃)。游离碱在异丙醇中稳定,显示在乙腈和甲醇中约6—7%降解。

[0193] 磷酸盐晶型A在异丙醇和乙腈中稳定,显示在甲醇中约8%降解。在水中,游离碱稳定,而磷酸盐显示约45%降解。这不影响口服施用磷酸盐;实际上,如下所示,磷酸盐具有高于游离碱约2-倍的生物利用度。不希望受到机理约束,认为游离碱与磷酸之间的稳定性差异可能是因磷酸盐比游离碱的水溶解度高和磷酸盐导致水pH降低的趋势、从而使降解率增加所致。游离碱和磷酸盐在1:1乙腈/水中显示最高的降解率(分别约为8%和70%)。

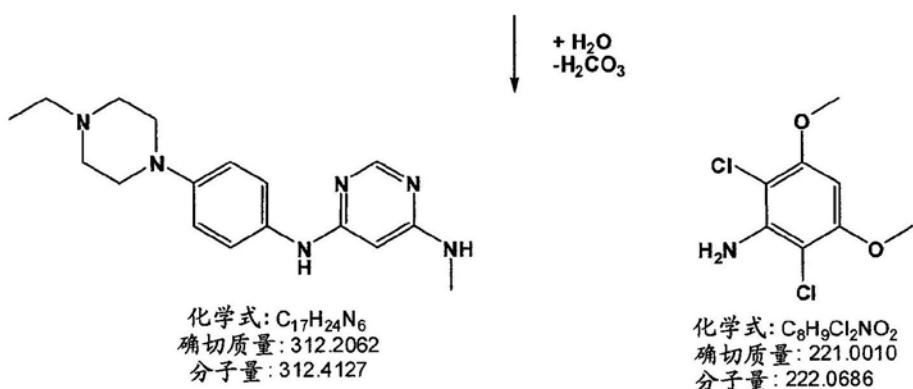
[0194] 基于HPLC-MS分析,显然游离碱的脲官能团如下所示被水解,产生两种主要的水解产物。通过HPLC-MS分析两种主要的降解峰显示预计的分子离子(MH⁺=313,在2.1min的HPLC峰;MH⁺=222,在8.6min的HPLC峰)。正如进一步证实的,还将2,6-二氯-3,5-二甲氧基苯胺的真样品注入HPLC,且保留时间和UV光谱显示令人满意的与随后洗脱的HPLC降解峰一致。

[0195] 方案1:提出的在水中的降解途径



化学式: C₂₆H₃₁Cl₂N₇O₃
确切质量: 559.1865
分子量: 560.4754

[0196]



[0197] 实施例12:固态稳定性

[0198] 在80℃在密闭容器中和75%相对湿度下将固态形式的样品压制1周。显示无水游离碱和磷酸盐(晶型A)的晶型在单独的固态下和在赋形剂的存在下为1%混合物是稳定的。如通过HPLC评价的无水游离碱的降解产物的量为1%以下(基于峰面积),而磷酸盐的降解产物占1.4%以下。各多晶型物的XRPD未显示晶型改变。

[0199] 实施例13:与溶剂的平衡效应

[0200] A. 室温

[0201] 在室温将约20mg的磷酸盐(晶型A)与2ml的不同溶剂一起平衡至少24h。然后过滤该溶液,将残余物在50℃室真空干燥过夜。通过XRPD研究得到的固体。对表6中举出的溶剂未观察到新的XRPD图案。这些结果显示磷酸盐(晶型A)的多晶型稳定性。

[0202] 在水、乙醇、异丙醇、乙酸乙酯和丙酮中平衡游离碱,如上所述,通过XRPD分析。未观察到新的XRPD图案。

[0203] 表6

[0204] 用于在25℃的平衡实验的溶剂

溶剂	
甲醇	
无水乙醇	
乙醇 95%	

[0206]

溶剂
2-丙醇
乙腈
丙酮
四氢呋喃
甲苯
二氯甲烷
二噁烷
DMF
DMSO
水
甲醇/水 9:1
甲醇/水 1:1
甲醇/水 1:9
乙醇/水 50:50
乙醇/水 10:90
2-丙醇/水 90:10
2-丙醇/水 50:50
2-丙醇/水 10:90
丙酮/水 50:50
丙酮/水 10:90
乙腈/水 90:10
乙腈/水 50:50
乙腈/水 10:90
四氢呋喃/水 1:1
四氢呋喃/水 1:9

[0207] B. 50°C

[0208] 在约50°C将约20mg的磷酸盐(晶型A)与2ml的不同溶剂一起平衡至少24h。然后过滤该溶液,将残余物在50°C室真空干燥过夜。通过XRPD研究得到的固体。对表7中举出的溶剂未观察到新的XRPD图案。这些结果显示磷酸盐(晶型A)的多晶型稳定性。

[0209] 表7

[0210] 用于在50°C的平衡实验的溶剂

[0211]

溶剂
甲醇
无水乙醇
乙醇 95%
2-丙醇
乙腈
丙酮
乙酸乙酯
乙酸丙酯

	四氢呋喃
	甲苯
	二噁烷
	甲基叔丁基醚
	DMSO
	水
	甲醇/水 90:10
	甲醇/水 50:50
	甲醇/水 10:90
	乙醇/水 50:50
	乙醇/水 10:90
[0212]	2-丙醇/水 90:10
	2-丙醇/水 50:50
	2-丙醇/水 10:90
	丙酮/水 90:10
	丙酮/水 50:50
	丙酮/水 10:90
	乙腈/水 90:10
	乙腈/水 50:50
	乙腈/水 10:90
	四氢呋喃/水 90:10
	四氢呋喃/水 50:50
	四氢呋喃/水 10:90

[0213] 实施例14:从热饱和溶液中结晶的效应

[0214] 在60°C将约20mg的磷酸盐(晶型A)溶于2ml溶剂。过滤该溶液。用冰浴冷却得到的澄清滤液,搅拌。用滤器采集沉淀,干燥,通过XRPD研究。在从水与甲醇、乙醇、2-丙醇、丙酮和四氢呋喃的1:1溶液中结晶时未观察到多晶型改变。仅使用DMSO通过XRPD注意到晶型改变。这些结果显示磷酸盐(晶型A)的多晶型稳定性。

[0215] 实施例15:通过蒸发的结晶效应

[0216] A. 25°C

[0217] 在25°C将约20mg的磷酸盐(晶型A)与2ml溶剂混合。搅拌过夜后,过滤该溶液。将滤液放入氮气流中以蒸发溶剂。采集残留的固体并研究。在不搅拌下进行上述蒸发。在不经搅拌从THF/水(1:1)中蒸发时,得到一次具有与晶型B类似的XRPD图案(参见图1C)的固体。随后在这些条件下,得到无定形物质,不是晶型B。类似地,从水与乙醇、2-丙醇、丙酮和四氢呋喃的1:1溶液中蒸发结晶中得到无定形物质。当在蒸发过程中搅拌该溶液时,一致性地得到晶型A;显示磷酸盐(晶型A)晶型的多晶型稳定性。

[0218] B. 50°C

[0219] 在50°C进行相同实验(如上述对25°C蒸发所述)。在这些条件下,仅从一些未搅拌溶液中得到无定形物质。正如表8中所示,其他未搅拌的溶液得到晶型A。当搅拌该溶液时,也得到晶型A,显示磷酸盐(晶型A)晶型的多晶型稳定性。

[0220] 表8

[0221] 通过在50℃蒸发的结晶效应

[0222]

溶剂	XRPD结果
甲醇/水1:1	-
乙醇/水1:1	无定形
2-丙醇/水1:1	-
丙酮/水1:1	-
乙腈/水1:1	无定形
四氢呋喃/水1:1	-

[0223] “-”：未检测到改变。

[0224] 实施例16:通过添加溶剂的沉淀效应

[0225] 测试两种不同溶剂的组合。将磷酸盐(晶型A)溶于DMSO，其中其溶解度是高的。将其中晶型A高度不溶的溶剂(抗溶剂)加入到溶液中。用滤器采集沉淀，干燥，通过XRPD进行研究。对任意如下溶剂都未观察到晶型改变：甲醇、乙醇、异丙醇、丙酮、乙腈、THF、乙酸乙酯、乙酸丙酯、甲苯、甲基叔丁基醚、1,4-二噁烷、二氯甲烷。这些结果显示磷酸盐(晶型A)晶型的多晶型稳定性。

[0226] 实施例17:压缩下的稳定性

[0227] 用液压机以4000磅将磷酸盐(晶型A, 300mg)压制5分钟(片径8mm)。通过XRPD未观察到结晶修饰改变。这些结果显示磷酸盐(晶型A)晶型的稳定性。

[0228] 实施例18:制粒下的稳定性

[0229] 将溶剂(水或乙醇)滴加到放入乳钵中的磷酸盐(晶型A)中，直到乳钵中的固体充分湿润，使用研杵研磨，直到得到糊样稠度。在约40℃和减压下干燥糊状物>8小时。通过XRPD评价固体，未观察到XRPD光谱改变。这些结果显示磷酸盐(晶型A)晶型的多晶型稳定性。

[0230] 实施例19:加热和冷却下的稳定性

[0231] 在熔化停止后第二次DSC试验后观察到这一结果。注意到熔化开始是在183.2℃。样品在185.9℃开始分解，恰在熔化后开始。不再进行测试。

[0232] 实施例20:水吸附和解吸实验

[0233] 使用VTI商标仪器使游离碱(无水和一水合物)及其磷酸盐(晶型A)进行吸附和解吸循环。实验后采集固体，分析。图3A(游离碱)和3B(磷酸盐(晶型A))显示使用TGA仪器记录的吸水-解吸等温线。DVS图如图4A(游离碱, 无水)、4B(磷酸盐(晶型A)和4C(游离碱, 一水合物)中所示。磷酸盐(晶型A)的最吸水量在25℃、高至95%相对湿度(rh)下低于2%(即0.7%) (参见表9)。一水合物的最大吸水量在25℃、高至95%RH下低于1.4%。在实验过程中具有约3%含水量的一水合物不可能被完全干燥，但可以除去的水可逆地被重吸收。发现在第二个解吸循环时一水合晶型的存在的平台在10%和95%RH内，且适度滞后。

[0234] 表9

[0235] 磷酸盐的DVS试验

[0236]

相对湿度(%)	解吸重量增加(%)	吸附重量增加(%)
0	0.000	0.000
5	0.091	0.016

25	0.507	0.165
50	0.738	0.309
75	1.022	0.437
85	1.245	0.495
95	1.547	0.653
85	1.421	0.520
75	1.275	0.467
50	0.705	0.334
25	0.447	0.177
5	0.048	0.000

[0237] 磷酸盐的优良治疗特性实施例21:磷酸盐的药代动力学特性

[0238] 与游离碱(和其他如上所述的酸式盐)相比磷酸盐的较高水溶性导致溶液制剂(或组合物)出现,因溶解度局限,使用游离碱可能并非切实可行。就本实验而言,如下制备磷酸盐。在玻璃小瓶中,将10.7mg的游离碱溶于4ml THF。加入磷酸(1.76ml)的丙酮(0.01M)溶液。将该混合物温至50℃约2分钟。在室温将小瓶保持开放以便部分蒸发。过夜,形成混悬液,过滤,得到约5.5mg黃白色粉末。将按照不同方式配制的活性剂(游离碱及其磷酸盐)在大鼠中的生物利用度制成下表(表10)。

[0239] 表10

药代动力学参数	游离碱 i.v. [5mg/kg]	游离碱 p.o., 胶体溶液* [10mg /kg]	游离碱 p.o., 混悬液** [8.57mg /kg]	磷酸盐 p.o., 溶液*** [10mg /kg]	磷酸盐 p.o., 混悬液** [8.57mg /kg]
C _{5min} [μmol/L ± SE]	0.972± 0.404	--	--	--	--
C _{max} [μmol/L ± SE]	--	0.154± 0.026	0.202± 0.021	0.263± 0.083	0.150± 0.031
C _{最终} [μmol/L ± SE]	0.003± 0.003	0.010± 0.005	0.077± 0.038	0.148± 0.018	0.062± 0.006
t _{max[h]}	--	3.0	2.0	4.0	3.0
T _{最终[h]}	24	24	8	8	8
t _{1/2 末端消除[h]}	4.5	5.2	4.3	4.8	4.4
Cl [L/h/kg]	3.6	--	--	--	--
V _{ss} [L/kg]	9.6	--	--	--	--
AUC(0-∞)[h·μmol/L]	2.47	1.44	1.55	2.52	1.23
AUC (0 - ∞)剂量 ^A [(h·μmol/L)/(mg/kg)]	0.49	0.14	0.18	0.25	0.14
BAV f [%]		29	37±11	51	29±3

[0241] *游离碱溶液基于水、乙醇和聚氧乙烯蓖麻油。

[0242] **用包含0.5% HPMC的水制备混悬液。

[0243] ***用PEG300/乙酸盐缓冲液pH 4.7(1:1体积)制备磷酸盐溶液。

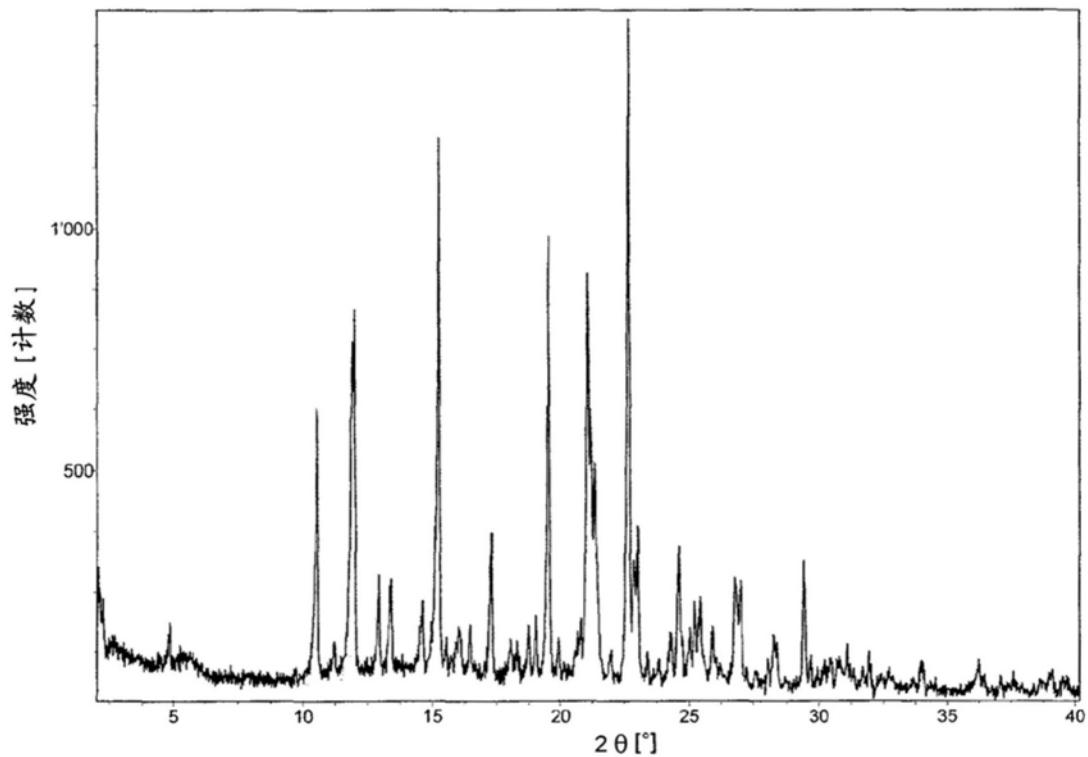


图1A

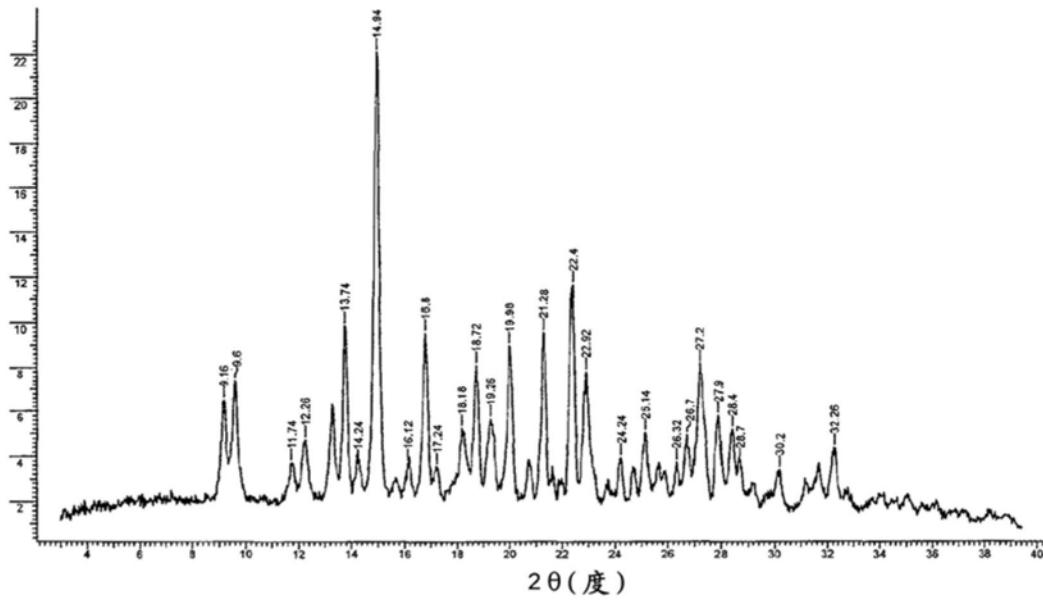


图1B

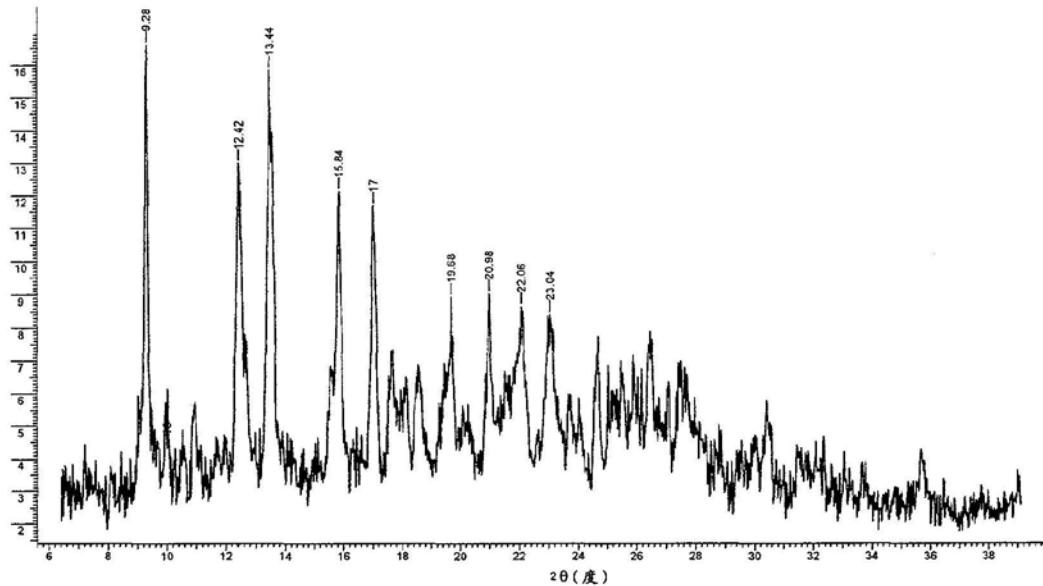


图1C

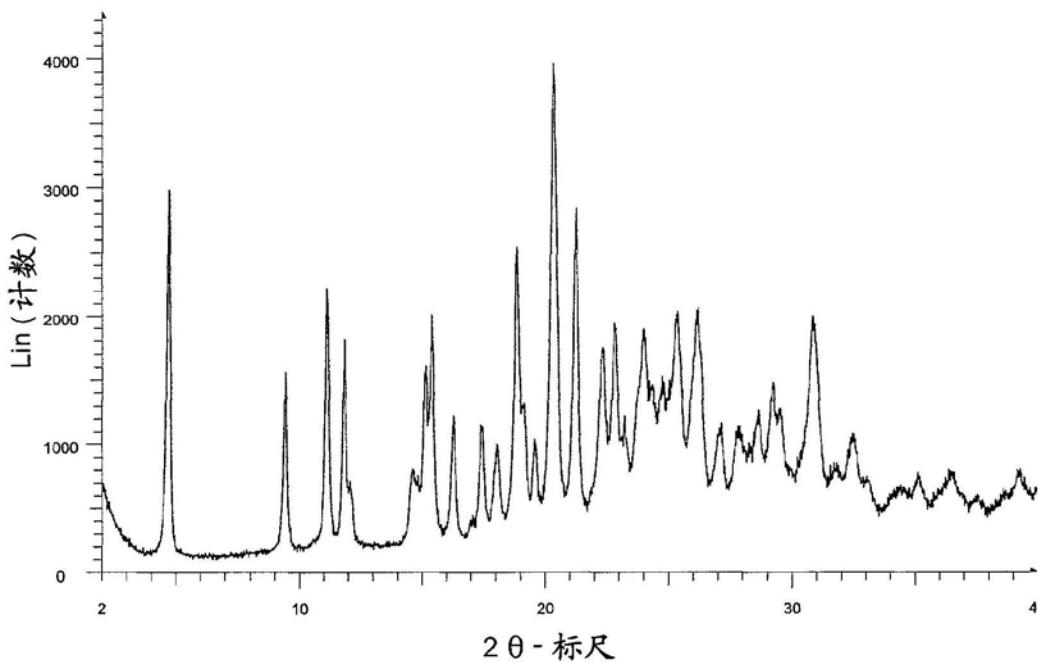


图1D

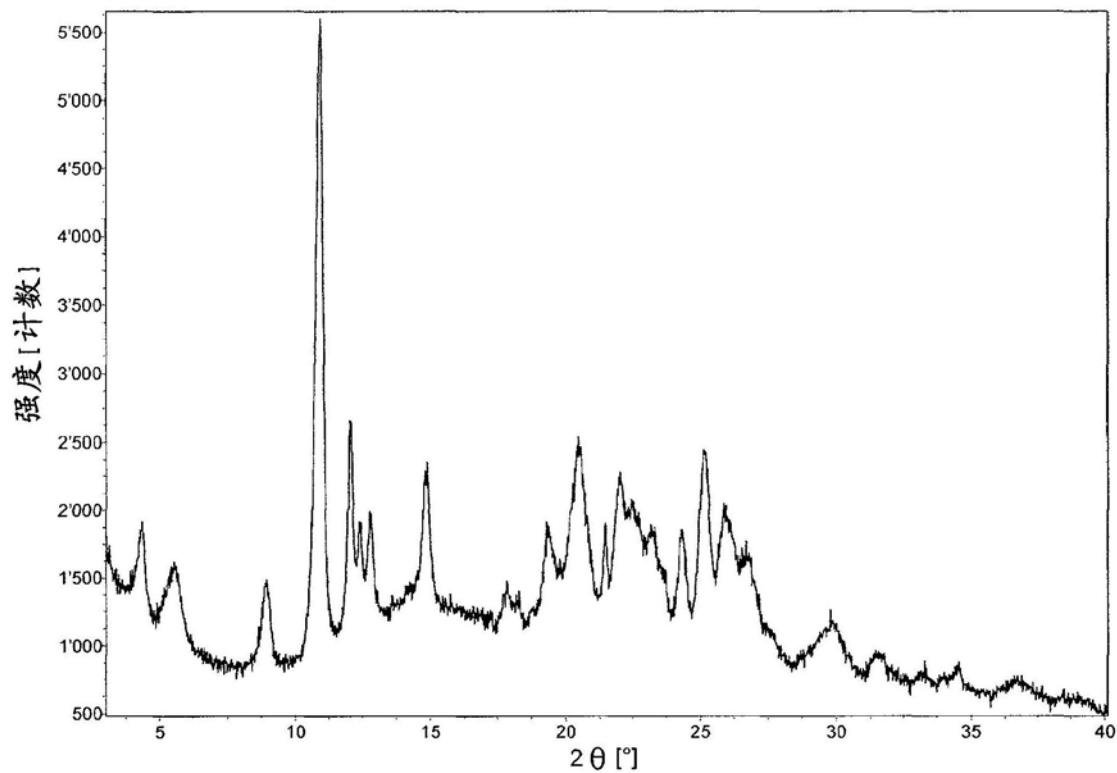


图1E

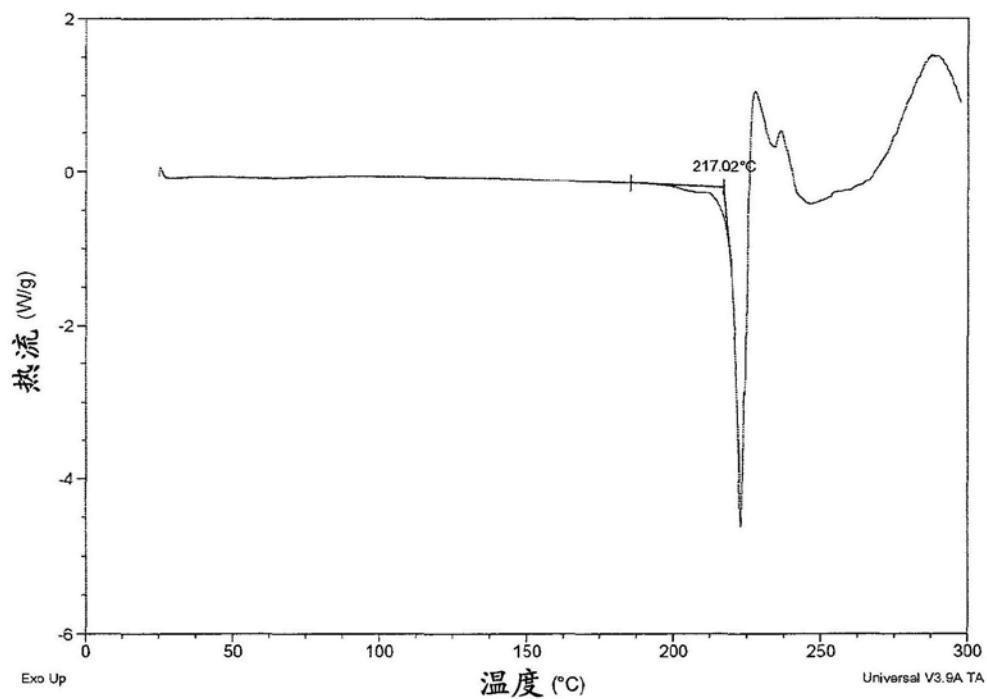


图2A

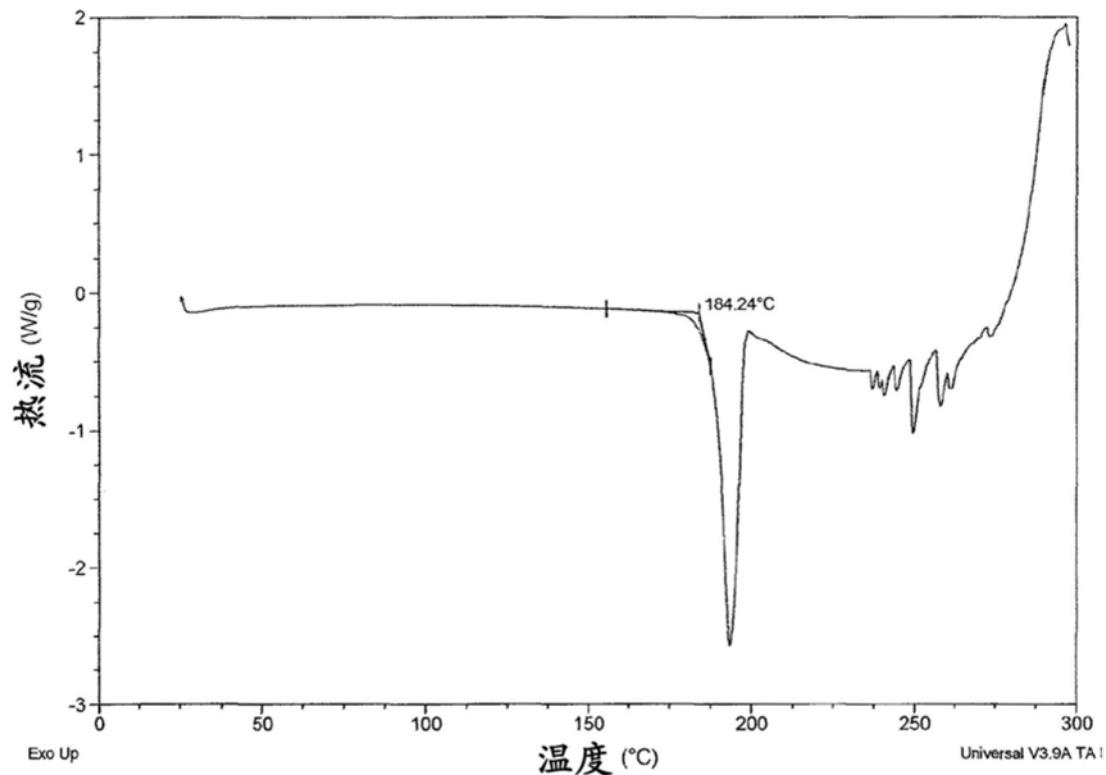


图2B

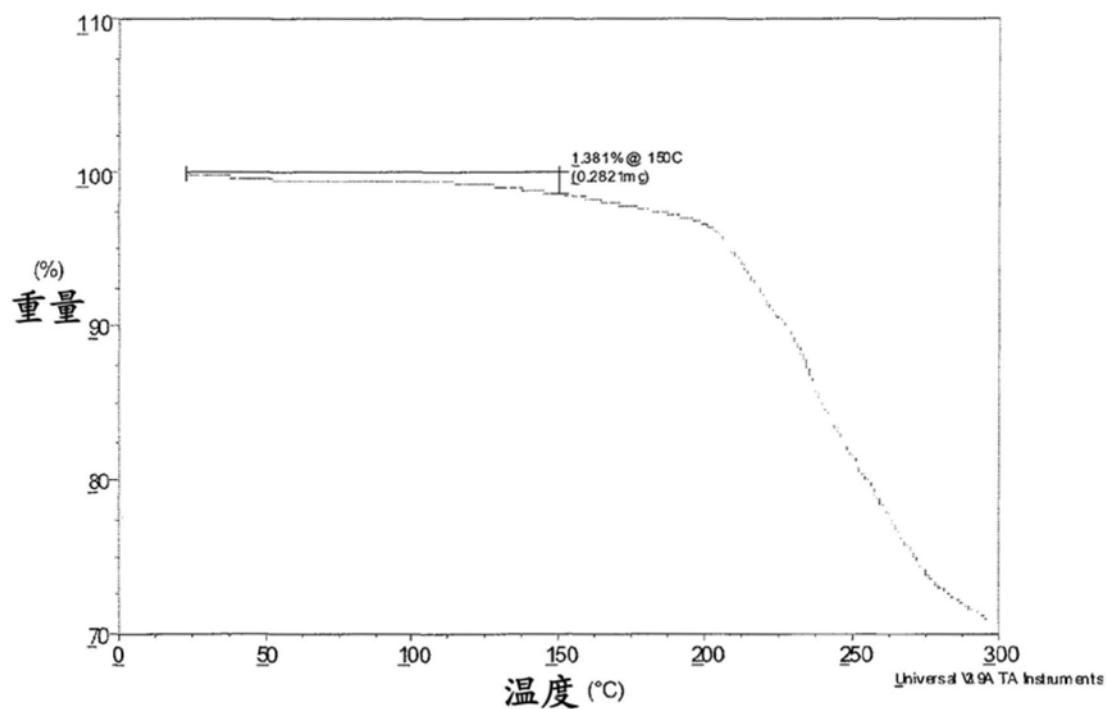


图3A

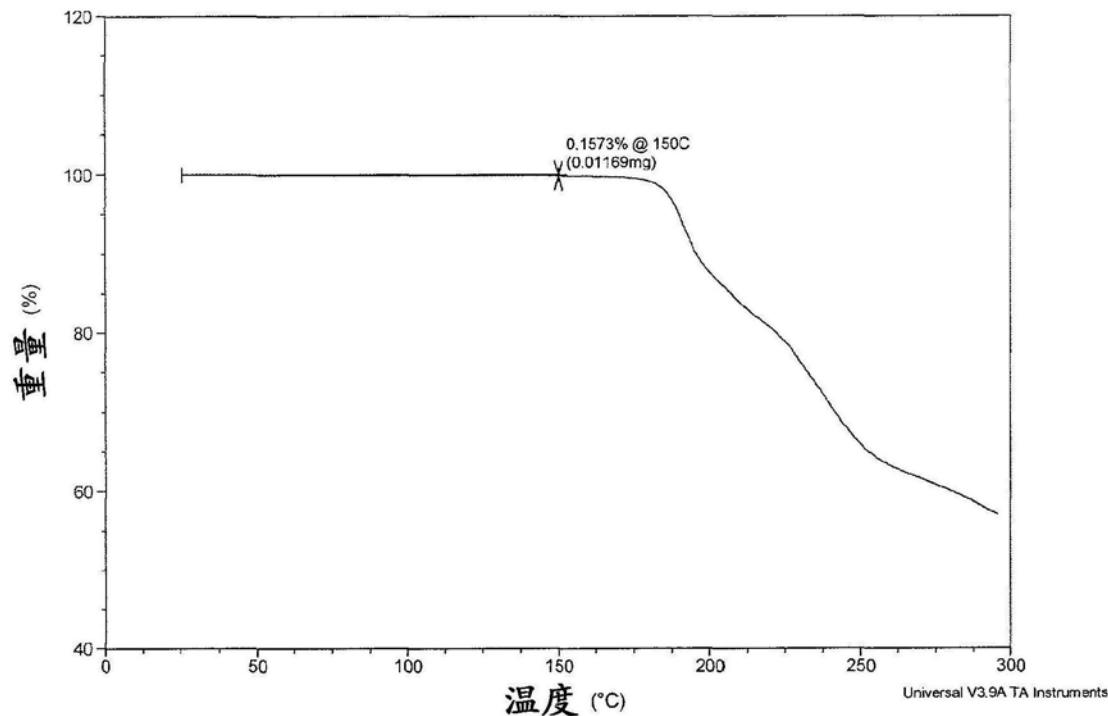


图3B

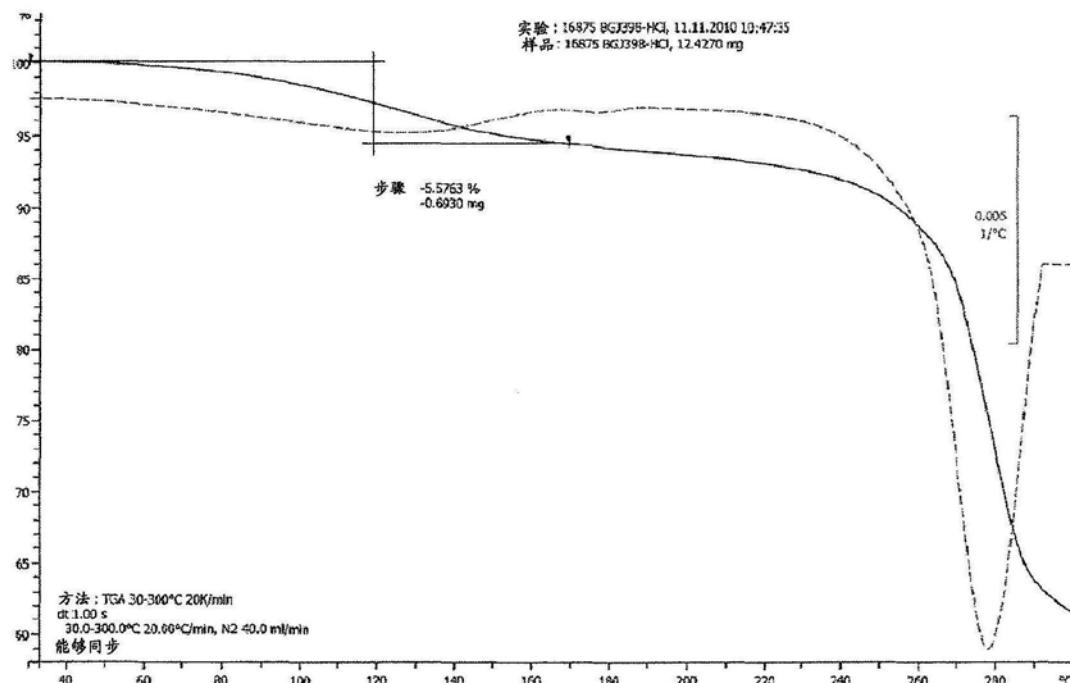


图3C

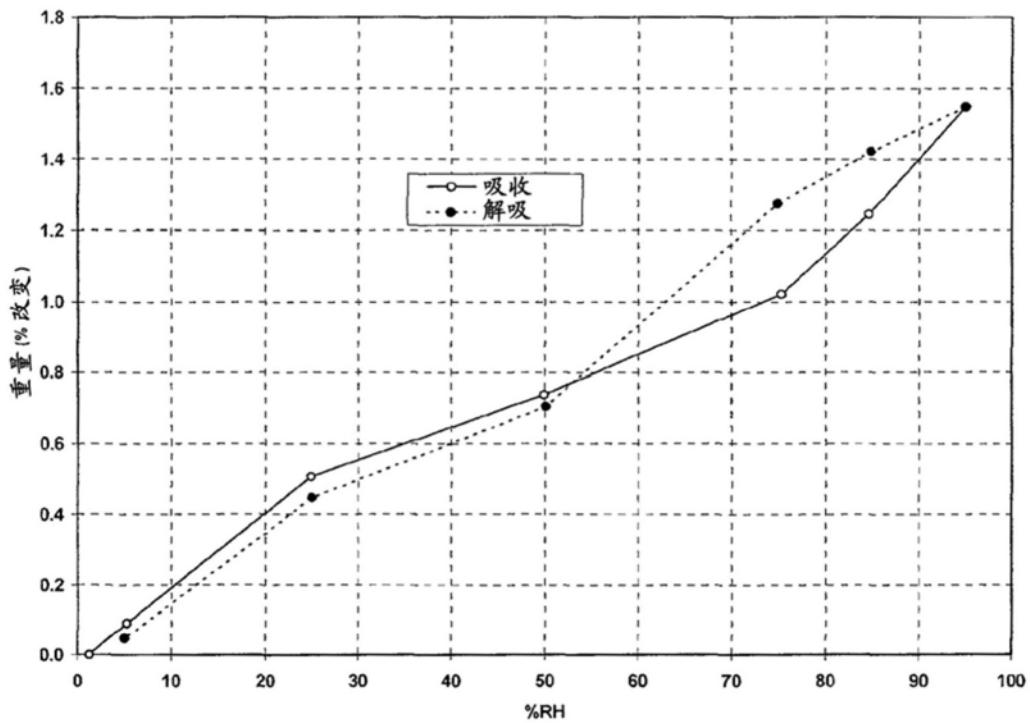


图4A

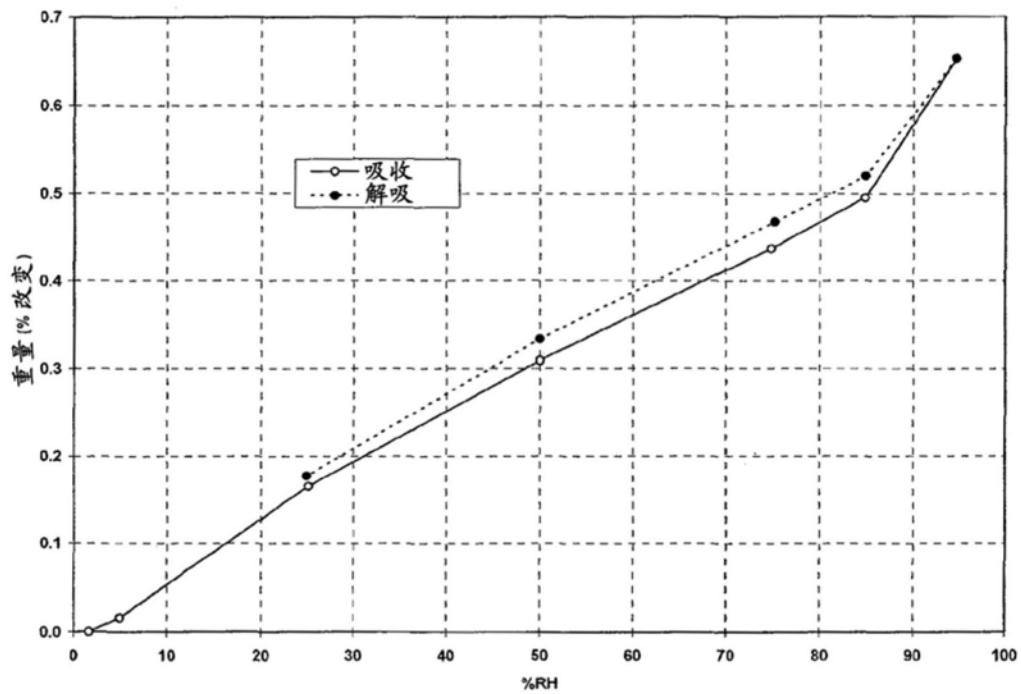


图4B

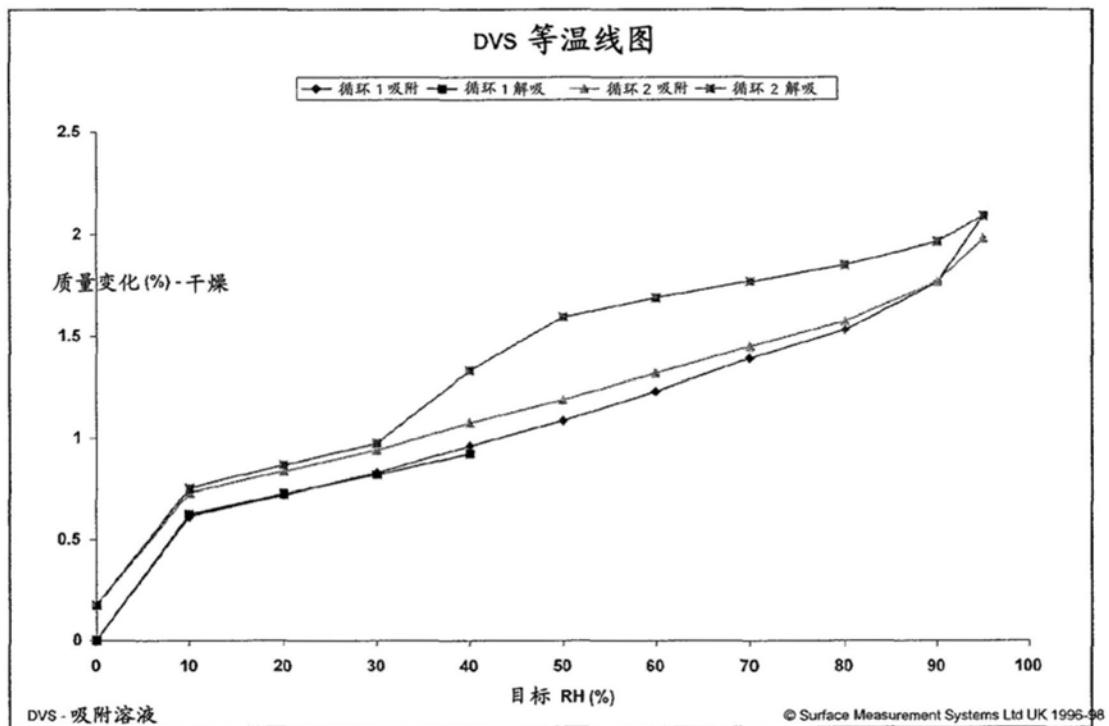


图4C



图5A

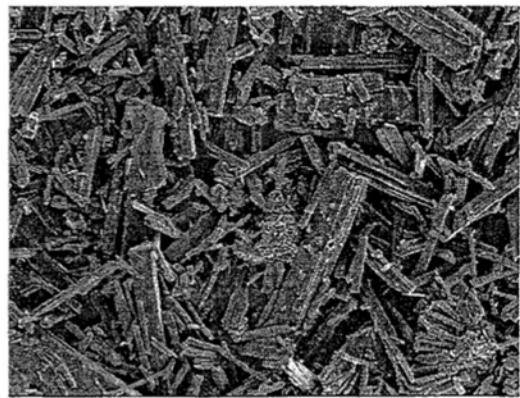


图5B

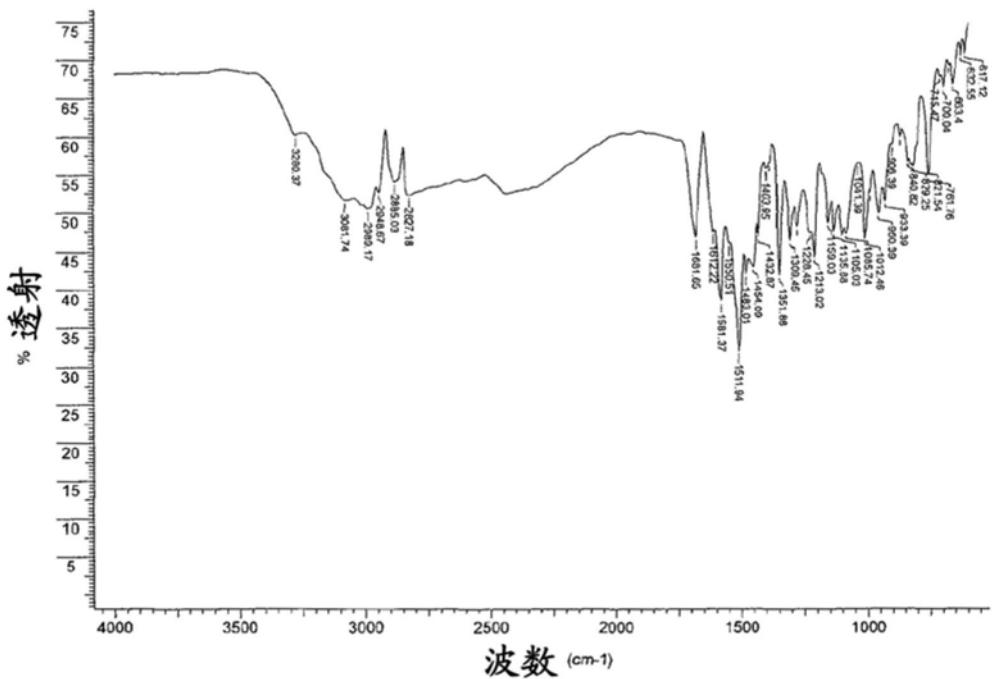


图6

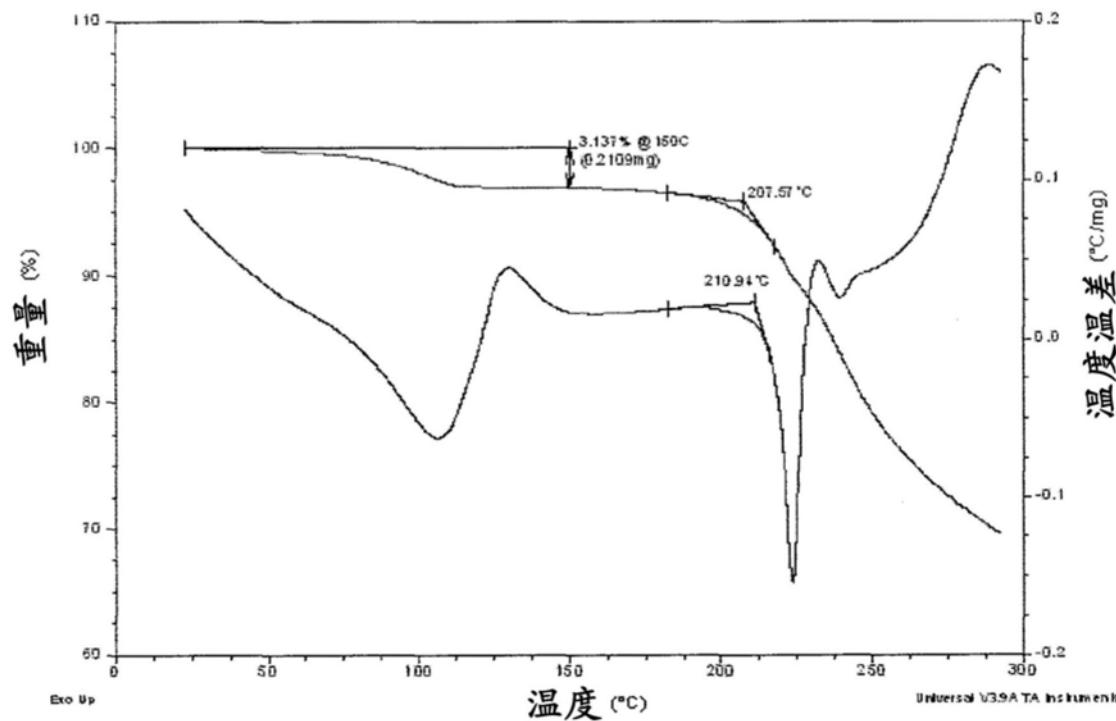


图7

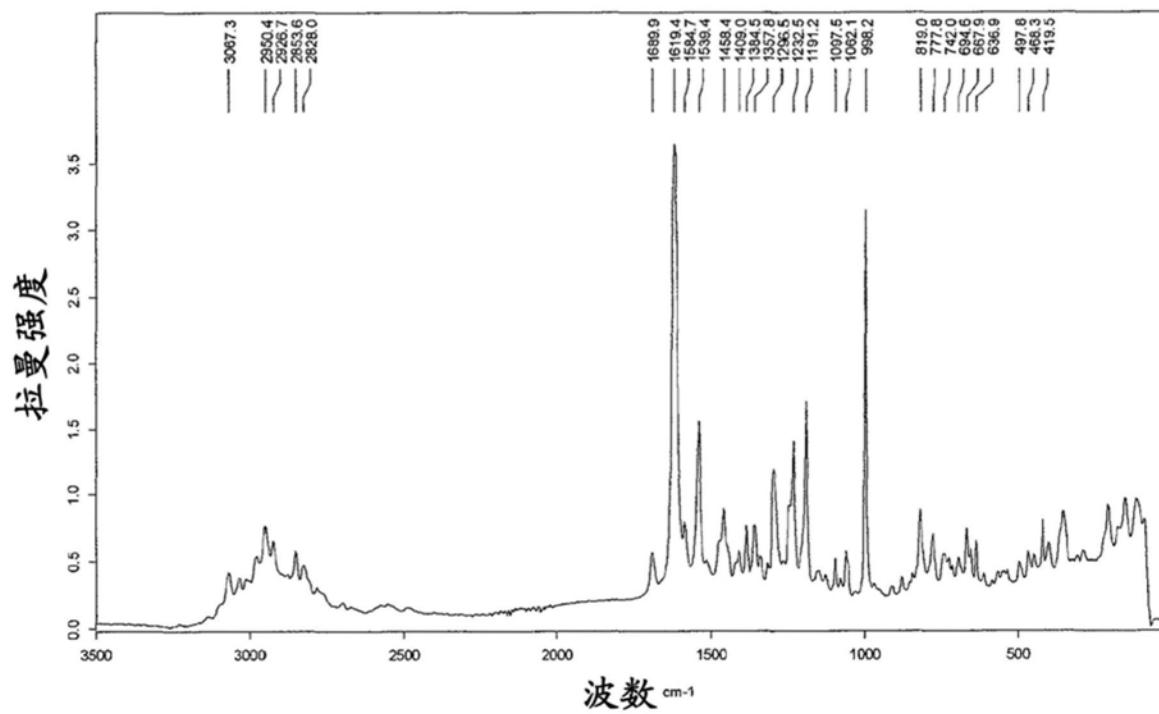


图8A

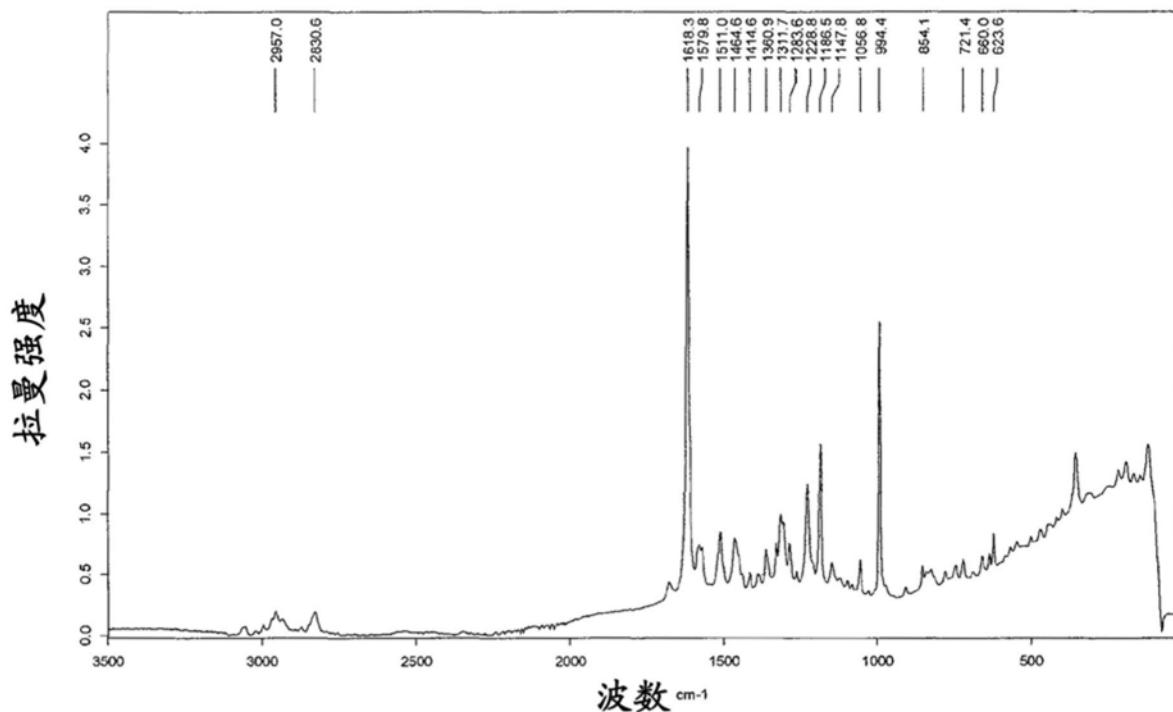


图8B

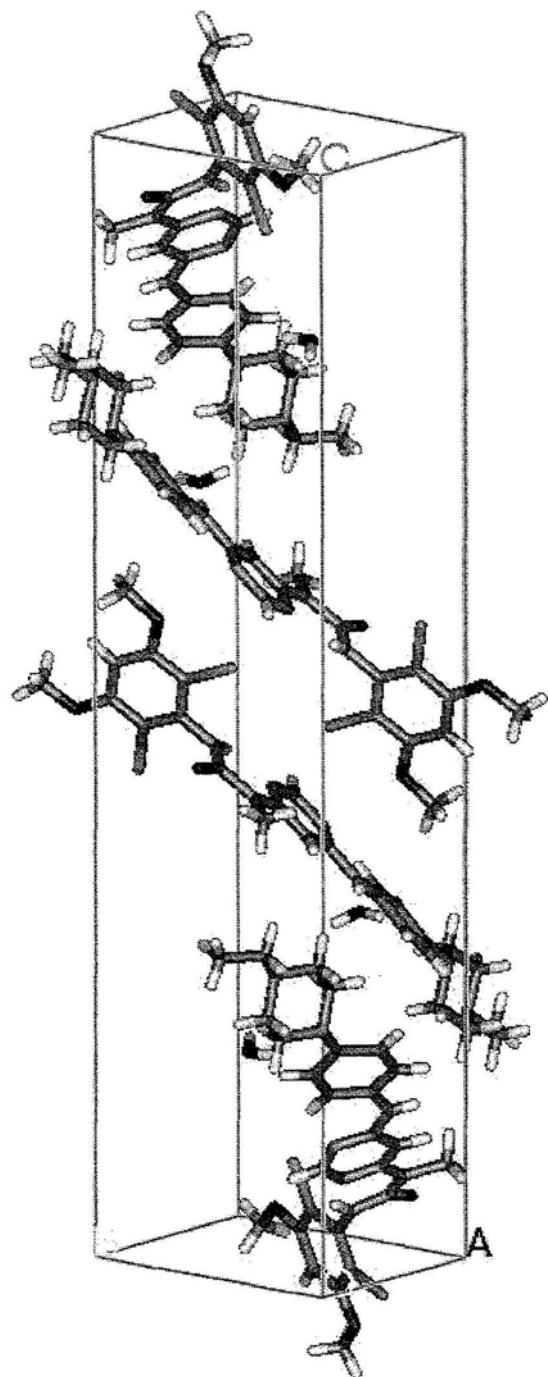


图9