

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

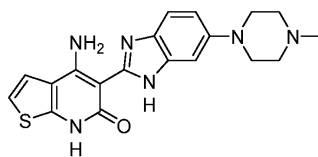
(11) **045568**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

- | | |
|--|--|
| (45) Дата публикации и выдачи патента
2023.12.06 | (51) Int. Cl. <i>C07D 495/04</i> (2006.01)
<i>A61K 31/194</i> (2006.01)
<i>A61K 31/4365</i> (2006.01)
<i>A61P 35/00</i> (2006.01)
<i>C07C 59/255</i> (2006.01) |
| (21) Номер заявки
202293287 | |
| (22) Дата подачи заявки
2021.05.10 | |

(54) СОЛЕВЫЕ И КРИСТАЛЛИЧЕСКИЕ ФОРМЫ 4-АМИНО-5-(6-(4-МЕТИЛПИПЕРАЗИН-1-ИЛ)-1Н-БЕНЗО[d]ИМИДАЗОЛ-2-ИЛ)ТИЕНО[2,3-б]ПИРИДИН-6(7Н)-ОНА

- | | |
|--|---|
| (31) 63/022,867 | (56) WO-A1-2016205942
CN-A-109721620 |
| (32) 2020.05.11 | |
| (33) US | |
| (43) 2023.03.01 | |
| (86) PCT/CA2021/050645 | |
| (87) WO 2021/226707 2021.11.18 | |
| (71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ЮНИВЕРСИТИ ХЕЛС НЕТУОРК
(СА) | |
| (72) Изобретатель:
Брей Марк Р., Ли Же-Ван (СА) | |
| (74) Представитель:
Костюшенкова М.Ю. (RU) | |

- (57) Раскрыта новая форма соли соединения (I), представленного следующей структурной формулой, и соответствующие фармацевтические композиции:



(I),

охарактеризованы конкретные монокристаллические формы тартрата соединения (I) 1:1 при помощи различных параметров и физических измерений. Также раскрыты способы получения конкретных кристаллических форм. В настоящем изобретении также предложены способы лечения рака у субъекта.

B1**045568****045568****B1**

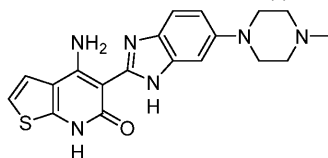
Ссылка на родственные заявки

По настоящей заявке испрашивается приоритет в соответствии с предварительной заявкой США № 63/022,867, поданной 11 мая 2020 г. Все содержание вышеупомянутой заявки включено в настоящее описание посредством ссылки.

Предшествующий уровень техники настоящего изобретения

Гемопоэтическая киназа-предшественник 1 (НРК1) представляет собой серин/треонинкиназу Ste20, ограниченную гемопоэтическими клетками. Сообщалось, что НРК1 может представлять собой новую мишень для иммунотерапии рака (Sawasdikosol et al., Immunol Res. 2012 Dec; 54(1-3):262-5). В частности, направленное разрушение аллелей НРК1 обуславливает повышенную продукцию цитокинов Th1 в Т-клетках в ответ на контакт с TCR. НРК1 (-/-) Т-клетки пролиферируют быстрее, чем соответствующие гаплотипу аналоги дикого типа, и устойчивы к супрессии, опосредованной простагландином E2 (PGE(2)). Самое поразительное то, что мыши, подвергнутые адоптивному переносу НРК1 (-/-)Т -клеток, становились резистентными к росту опухоли легких. Кроме того, потеря НРК1 дендритными клетками (DC) придает им превосходную способность к презентации антигена, позволяя НРК1 (-/-) DC вызывать более мощный противоопухолевый иммунный ответ при использовании их в качестве противораковой вакцины.

В патенте США № 10,501,474, полное описание которого включено сюда в качестве ссылки, раскрыты сильнодействующие ингибиторы НРК1. Структура одного из ингибиторов, раскрытых в патенте США № 10,501,474, который обозначен здесь, как "соединение (I)", приведена ниже:



Соединение (I).

Химическое название соединения (I): 4-амино-5-(6-(4-метилпиперазин-1-ил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)тиено[2,3-b]пиридин-6(7H)-он.

Успешная разработка фармацевтически активных агентов, таких как соединение (I), как правило, требует идентификации твердой формы со свойствами, обеспечивающими быстрое выделение и очистку после синтеза, которая подходит для крупномасштабного производства, может храниться в течение длительного периода времени с минимальной абсорбцией воды, разложением или превращением в другие твердые формы, которая пригодна для получения композиций и может легко абсорбироваться после введения субъекту (например, растворима в воде и желудочном соке).

Краткое раскрытие настоящего изобретения

Настоящее изобретение относится к тартрату соединения (I), в котором молярное соотношение между соединением (I) и винной кислотой составляет 1:1. Из-за наличия двух карбоксильных групп в винной кислоте и нескольких основных атомов азота в соединении (I) возможны различные стехиометрические соотношения. Например, соединение (I) с винной кислотой может образовывать как 1:1 соль, так и 1:0,5 соль. Тартрат соединения (I) 1:1 обозначается здесь как "тартрат соединения (I) 1:1" или "соль винной кислоты соединения (I) 1:1".

Также было обнаружено, что тартрат соединения (I) 1:1 может кристаллизоваться в строго определенных условиях с получением негигроскопичных кристаллических форм (см. пример 6). Тартрат также обладает улучшенной растворимостью в воде и имитациях желудочного сока (см. пример 7 и табл. 7), имеет продолжительный срок хранения (см. пример 8) и подходит для крупномасштабного синтеза (см. пример 5).

Проводили скрининг солей с тринадцатью различными кислотами (см. примеры 1-3) при разных молярных соотношениях соединение (I): кислота. Среди 20 полученных солевых форм (примеры 1 и 2) только моногидрохлорид, мезилат, тартрат и малеат имели степень кристалличности от умеренной до хорошей, определенную посредством рентгеновской порошковой дифракции (XRPD). Дальнейшая оценка этих четырех солей в различных системах растворителей показывает, что кристалличность мезилата и малеата является умеренной (см. пример 3). Кроме того, были выделены различные полиморфные формы моногидрохлорида, мезилата, тартрата и малеата при использовании различных систем растворителей. Примечательно, что дигидрохлорид не обладает кристалличностью или имеет очень низкую степень кристалличности, как показано в примерах 1 и 4.

По сравнению с моногидрохлоридом, тартрат соединения (I) 1:1 имеет дополнительное преимущество, заключающееся в том, что он негигроскопичен. Кроме того, как показано далее в примере 9, по сравнению со свободным основанием и моно-HCl солью, тартрат соединения (I) 1:1 в кристаллической форме приводит к улучшенным концентрациям в плазме у собак после перорального введения. Это является значительным преимуществом, поскольку новую твердую форму можно вводить перорально с обеспечением эффективного уровня лекарственного средства в плазме.

В одном аспекте настоящее изобретение относится к тартрату соединения (I), в котором молярное

соотношение между соединением (I) и винной кислотой составляет 1:1.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей тартрат соединения (I) 1:1 и фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель.

Еще один аспект настоящего изобретения относится к способу лечения субъекта, страдающего раком, включающему введение субъекту эффективного количества тартрата соединения (I) 1:1, раскрытого в настоящем документе, или соответствующей фармацевтической композиции.

В настоящем изобретении предложен способ лечения субъекта, страдающего раком, включающий введение субъекту эффективного количества тартрата соединения (I) 1:1 или соответствующей фармацевтической композиции и эффективного количества второго противоракового средства. В одном из вариантов осуществления второе противораковое средство представляет собой химиотерапевтический агент, нацеленный терапевтический агент, облучение или хирургическое вмешательство.

В настоящем изобретении также предложен способ лечения субъекта, больного раком, включающий введение субъекту эффективного количества тартрата соединения (I) 1:1, раскрытого в настоящем документе, или соответствующей фармацевтической композиции, и эффективного количества иммуномодулирующего агента, такого как ингибитор контрольной точки (например, антитело к PD-1, антитело к CTLA-4 или антитело к PD-L1) или ингибитор окисления триптофана (например, ингибитор IDO1, IDO2 или TDO2). В одном из вариантов иммуномодулирующее средство представляет собой антитело против PD-1.

В одном из вариантов тартрат соединения (I) 1:1 или соответствующую фармацевтическую композицию вводят вместе с эффективным количеством одного или нескольких других противораковых препаратов, предпочтительно в комбинации с ингибитором PD-1. В одном из вариантов осуществления изобретения ингибитор PD-1 представляет собой ниволумаб, пембролизумаб, пидилизумаб, BMS 936559, MPDL3280A, MSB0010718C или MEDI4736. В одном конкретном варианте осуществления изобретения ингибитор PD-1 представляет собой ниволумаб. В еще одном конкретном варианте осуществления изобретения ингибитор PD-1 представляет собой пембролизумаб.

В настоящем изобретении также предложено применение раскрытого в настоящем документе тартрата соединения (I) 1:1 или содержащей ее соответствующей фармацевтической композиции в любом из способов, описанных выше. В одном из вариантов осуществления изобретения предложен тартрат соединения (I) 1:1 или содержащая его фармацевтическая композиция для применения в любом из способов, описанных в настоящем документе. В другом варианте осуществления изобретения предлагается применение тартрата соединения (I) 1:1 или содержащей его фармацевтической композиции для изготовления лекарственного средства для любого из описанных здесь способов.

Краткое описание фигур

На фиг. 1 приведены порошковые рентгенограммы (XRPD) гидрохлорида соединения (I) 1:1, полученные в различных примерах. Нижний спектр относится к гидрохлориду, полученному в примере 1 (партия 1). Средний спектр относится к гидрохлориду, полученному в примере 3 с использованием IPA:вода (партия 2). Верхний спектр относится к гидрохлориду, полученному в примере 3 с использованием ацетона (партия 3).

На фиг. 2 приведены порошковые рентгенограммы (XRPD) мезилата соединения (I) 1:1, полученные в различных примерах. Нижний спектр относится к мезилату, полученному в примере 2 (партия 1). Средний спектр относится к мезилату, полученному в примере 3 с использованием IPA:вода (партия 2). Верхний спектр относится к мезилату, полученному в примере 3 с использованием ацетона (партия 3).

На фиг. 3 приведены порошковые рентгенограммы (XRPD) малеата соединения (I) 1:1, полученные в различных примерах. Нижний спектр относится к малеату, полученному в примере 2 (партия 1). Средний спектр относится к малеату, полученному в примере 3 с использованием IPA:вода (партия 2). Верхний спектр относится к малеату, полученному в примере 3 с использованием ацетона (партия 3).

На фиг. 4 приведена порошковая рентгенограмма (XRPD) дигидрохлорида соединения (I) 1:2.

На фиг. 5 приведены термограммы, полученные в результате термогравиметрического анализа (TGA) и дифференциальной сканирующей калориметрии (DSC) тартрата соединения (I) 1:1, полученного в примере 5.

На фиг. 6 приведена порошковая рентгенограмма (XRPD) тартрата соединения (I) 1:1, полученного в примере 5.

Подробное раскрытие настоящего изобретения

Настоящее изобретение относится к новому тартрату соединения (I) (т.е. к тартрату 1:1), а также к его полиморфным формам.

В одном варианте осуществления изобретения тартрат соединения (I) (т.е. тартрат 1:1) является кристаллическим.

В контексте настоящего изобретения термин "кристаллический" относится к твердому веществу, имеющему кристаллическую структуру, в которой отдельные молекулы характеризуются высокоомогенной регулярной фиксированной химической конфигурацией. Кристаллическая соль соединения (I) может представлять собой кристаллы монокристаллической формы соли соединения (I) или смесь кристаллов различных монокристаллических форм. Монокристаллическая форма означает, что соль соединения (I) находится в виде монокристалла или множества кристаллов, в котором все кристаллы имеют

одну и ту же кристаллическую форму.

Для раскрытых в настоящем документе кристаллических форм соединения (I) по меньшей мере определенный процент (по весу) тартрата соединения (I) 1:1 находится в монокристаллической форме. Конкретные массовые проценты включают 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5%, 99,9% или 70%-75%, 75%-80%, 80%-85%, 85%-90%, 90%-95%, 95%-100%, 70-80%, 80-90%, 90-100% массовых процентов соли соединения (I) находятся в монокристаллической форме. Следует понимать, что подразумевается, что все значения и диапазоны между этими значениями и диапазонами охватываются настоящим изобретением.

Когда кристаллическая соль соединения (I) охарактеризована через определенное процентное содержание одной конкретной кристаллической формы соли соединения (I), остальное состоит из аморфной формы и/или кристаллических форм, отличных от одной или нескольких указанных конкретных форм. Примеры монокристаллических форм включают тартрат соединения (I) 1:1, характеризующийся одним или несколькими свойствами, указанными в настоящем документе.

Кристаллическим солям соединения (I), раскрытым в настоящем документе, соответствуют интенсивные уникальные XRPD рентгенограммы с четкими пиками, соответствующими угловым положениям пиков в 2 θ , и плоской базовой линией, что указывает на высококристаллический материал (например, см. фиг. 6). XRPD рентгенограммы, раскрытые в настоящей заявке, получены на медном источнике излучения (Cu K α 1 λ = 1,54179 Å).

Характеристика кристаллических форм тартрата соединения (I) 1:1

В одном варианте осуществления изобретения тартрат соединения (I) 1:1 характеризуется порошковой рентгенограммой, которая содержит пики при значениях 2 θ : 11,9°, 15,4°, 16,9° и 17,2° \pm 0,2°. В другом варианте осуществления изобретения тартрат соединения (I) 1:1 характеризуется порошковой рентгенограммой, которая содержит по меньшей мере три пика при значениях 2 θ , выбранных из 11,9°, 15,4°, 16,9°, 17,2° и 25,6° \pm 0,2°. В другом варианте осуществления изобретения тартрат соединения (I) 1:1 характеризуется порошковой рентгенограммой, которая содержит пики при значениях 2 θ : 11,9°, 15,4°, 16,9°, 17,2° и 25,6° \pm 0,2°. В еще одном варианте осуществления изобретения тартрат соединения (I) 1:1 характеризуется порошковой рентгенограммой, которая содержит пики при значениях 2 θ : 11,9°, 14,0°, 15,4°, 16,9°, 17,2°, 25,6°, 26,3° и 30,7° \pm 0,2°. В еще одном варианте осуществления изобретения тартрат соединения (I) 1:1 характеризуется порошковой рентгенограммой, которая содержит пики при значениях 2 θ : 11,9°, 14,0°, 15,4°, 16,9°, 17,2°, 22,1°, 25,6°, 26,3°, 30,7° и 34,0° \pm 0,2°. В другом варианте осуществления изобретения тартрат соединения (I) 1:1 характеризуется порошковой рентгенограммой, указанной выше, и дополнительно содержит пики при значениях 2 θ : 8,7° и 12,9° \pm 0,2°. В еще одном варианте осуществления тартрат соединения (I) 1:1 характеризуется порошковой рентгенограммой, по существу аналогичной фиг. 6.

В контексте настоящего документа, порошковая рентгеновская дифрактограмма "по существу аналогична дифрактограмме на [конкретной] фигуре", когда по меньшей мере 90%, например, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% сигналов, выраженных в 2 θ , на двух дифрактограммах являются одинаковыми \pm 0,2°. При определении "сходства" специалисту в данной области техники будет понятно, что могут присутствовать различия в интенсивностях и/или положениях сигналов на XRPD дифрактограммах даже для одной и той же кристаллической формы. Таким образом, специалистам в данной области техники будет ясно, что максимальные значения сигнала на XRPD дифрактограммах (в указанных здесь градусах два-тета (°2 θ)) обычно означают, что указанное значение составляет \pm 0,2 градуса 2 θ от указанного значения, с учетом принятой в настоящей области дисперсии, как описано ниже.

В области кристаллографии хорошо известно, что для любой данной кристаллической формы угловое положение пика может незначительно изменяться из-за таких факторов, как изменение температуры, смещение образца и присутствие или отсутствие внутреннего стандарта. В настоящем раскрытии изменчивость положения углового пика составляет \pm 0,2° в 2 θ . Кроме того, относительная интенсивность пиков для данной кристаллической формы может варьироваться из-за различий в размерах кристаллов и неслучайной ориентации кристаллов при подготовке образцов для XRPD анализа. В данной области техники хорошо известно, что эта изменчивость будет учитывать вышеупомянутые факторы, не препятствуя однозначной идентификации кристаллической формы.

В другом варианте осуществления изобретения тартрат соединения (I) 1:1 характеризуется критическими температурами фазового перехода, определенными с использованием дифференциального сканирующего калориметра (DSC), составляющими 189 \pm 2°C.

В другом варианте осуществления изобретения тартрат соединения (I) 1:1 характеризуется измерением гигроскопичности, где поглощение воды составляет менее 4% (например, 2% или 1%) от массы тартрата при 90% относительной влажности (RH); или менее 2% (например, 1% или 0,5%) от массы тартрата при 60% относительной влажности; или менее 1% (например, 0,5% или 0,1%) от массы тартрата при 30% относительной влажности. В одном из вариантов осуществления поглощение воды составляет менее 0,1% массы тартрата при относительной влажности (RH) 30%. Гигроскопичность при различной

относительной влажности (RH) измеряли при следующих условиях:

i) сушка от 0,5 до 1,5 мг тартрата в атмосфере азота при относительной влажности 0% в течение 2 ч;
ii) повышение или понижение относительной влажности с шагом 10% от 0% до 90% и затем до 0%;
iii) поддержание относительной влажности на каждом шаге до тех пор, пока изменение массы по сравнению с массой исходного тартрата составит менее 0,01% в минуту (%/мин) при условии, что минимальная и максимальная продолжительность времени на каждом шаге составляет 10 мин и 180 мин соответственно; и

iv) определение массы тартрата при требуемой относительной влажности (например, 90%, 60% или 30%), причем стадии i)-iv) проводят при 25°C.

Гигроскопичность измеряют с использованием стандартных методов, например, методов, описанных в G. Zografi and MJ Kontny, "Sortation of water by solids" в *Physical Characterization of Pharmaceutical Solids*, ed. HG Brittain, Marcel Dekker, New York, NY (1995), стр. 385-418, или процедуры, описанной в примере 6 настоящего изобретения.

Характеристика кристаллических форм моногидрохлорида соединения (I) 1:1.

В одном варианте осуществления изобретения моногидрохлорид соединения (I) 1:1 представляет собой монокристаллическую форму, характеризующуюся порошковой рентгеновской дифрактограммой, по существу аналогичной верхнему спектру на фиг. 1. Фармацевтические композиции

Фармацевтические композиции по настоящему изобретению содержат тартрат соединения (I) 1:1 или его кристаллическую форму, описанную в настоящем документе, и один или несколько фармацевтически приемлемых носителей или разбавителей. Термин "фармацевтически приемлемый носитель" относится к фармацевтически приемлемому материалу, композиции или носителю, такому как жидкий или твердый наполнитель, разбавитель, эксципиент, растворитель или инкапсулирующий материал, вовлеченный в перенос или транспорт любой рассматриваемой композиции или ее компонента. Каждый носитель должен быть "приемлемым" в том смысле, что он совместим с рассматриваемой композицией и ее компонентами и не наносит вреда субъекту. Некоторые примеры материалов, которые могут служить в качестве фармацевтически приемлемых носителей, включают: (1) сахара, такие как лактоза, глюкоза и сахароза; (2) крахмалы, такие как кукурузный крахмал и картофельный крахмал; (3) целлюлозу и ее производные, такие как натрийкарбоксиметилцеллюлоза, этилцеллюлоза и ацетат целлюлозы; (4) порошкообразный трагакант; (5) солод; (6) желатин; (7) тальк; (8) эксципиенты, такие как масло какао и воск для суппозиторий; (9) масла, такие как арахисовое масло, хлопковое масло, сафлоровое масло, кунжутное масло, оливковое масло, кукурузное масло и соевое масло; (10) гликоли, такие как пропиленгликоль; (11) полиолы, такие как глицерин, сорбит, маннит и полиэтиленгликоль; (12) сложные эфиры, такие как этилолеат и этиллаурат; (13) агар; (14) буферные агенты, такие как гидроксид магния и гидроксид алюминия; (15) альгиновую кислоту; (16) апирогенную воду; (17) изотонический раствор; (18) раствор Рингера; (19) этиловый спирт; (20) растворы фосфатных буферов; и (21) другие нетоксичные совместимые вещества, используемые в фармацевтических композициях.

Композиции по настоящему изобретению можно вводить перорально, парентерально, с помощью ингаляционного спрея, местно, ректально, назально, трансбуккально, вагинально или через имплантированный резервуар. Термин "парентеральный" в контексте настоящего изобретения включает подкожную, внутривенную, внутримышечную, внутрисуставную, внутрисиновиальную, интратермальную, интратекальную, внутripеченочную, внутриочаговую и внутричерепную инъекцию или инфузию. В одном из вариантов осуществления изобретения композиции по изобретению вводят перорально, внутрибрюшинно или внутривенно. Стерильные инъекционные формы композиций по настоящему изобретению могут представлять собой водную или масляную суспензию. Указанные суспензии могут быть приготовлены в соответствии с методами, известными в данной области техники, с использованием подходящих диспергирующих или смачивающих агентов и суспендирующих агентов. Стерильный препарат для инъекций также может представлять собой стерильный раствор или суспензию для инъекций в нетоксичном парентерально приемлемом разбавителе или растворителе, например, раствор в 1,3-бутандиоле. К числу приемлемых носителей и растворителей, которые можно использовать, относятся вода, раствор Рингера и изотонический раствор хлорида натрия. Кроме того, в качестве растворителя или суспендирующей среды обычно используют стерильные нелетучие масла.

Для этой цели можно использовать любое мягкое нелетучее масло, включая синтетические моно- или диглицериды. Для приготовления инъекционных препаратов подходят как жирные кислоты, такие как олеиновая кислота и ее глицеридные производные, так и натуральные фармацевтически приемлемые масла, такие как оливковое масло или касторовое масло, особенно в их полиоксиэтилированных вариантах. Указанные масляные растворы или суспензии также могут содержать разбавитель или диспергирующий агент на основе длинноцепочечного спирта, такой как карбоксиметилцеллюлоза или подобные диспергирующие агенты, которые обычно используются в составе фармацевтически приемлемых лекарственных форм, включая эмульсии и суспензии. Другие обычно используемые сурфактанты, такие как Tween, Spans и другие эмульгаторы или усилители биодоступности, которые обычно используются в производстве фармацевтически приемлемых твердых, жидких или других лекарственных форм, также могут быть использованы при составлении композиции.

Фармацевтически приемлемые композиции по изобретению можно вводить перорально в любой подходящей для перорального применения лекарственной форме, включая, но не ограничиваясь следующими: капсулы, таблетки, водные суспензии или растворы. В случае таблеток для перорального применения обычно используемые носители включают лактозу и кукурузный крахмал. Также обычно добавляют лубриканты, такие как стеарат магния. Для перорального введения в форме капсул подходящие разбавители включают лактозу и высушенный кукурузный крахмал. Когда для перорального применения требуются водные суспензии, активный ингредиент комбинируют с эмульгирующими и суспендирующими агентами. При желании также могут быть добавлены определенные подсластители, ароматизаторы или красители.

Альтернативно, фармацевтически приемлемые композиции по изобретению можно вводить в виде суппозиториев для ректального введения. Суппозитории могут быть приготовлены путем смешивания агента с подходящим нераздражающим наполнителем, который является твердым при комнатной температуре, но жидким при ректальной температуре и, следовательно, будет плавиться в прямой кишке с высвобождением лекарственного средства. К таким материалам относятся масло какао, пчелиный воск и полиэтиленгликоли.

Фармацевтически приемлемые композиции по изобретению также можно наносить местно, особенно когда целью лечения являются области или органы, легко доступные для местного нанесения, включая заболевания глаз, кожи или нижних отделов кишечного тракта. Подходящие препараты для местного применения легко приготовить для каждой из этих областей или органов. Местное применение в нижних отделах кишечного тракта может осуществляться с использованием ректальных суппозиториев (см. выше) или в форме, подходящей для клизмы. Также можно использовать трансдермальные пластыри для местного применения.

Для местного применения фармацевтически приемлемые композиции могут быть приготовлены в виде подходящей мази, содержащей активный компонент, суспендированный или растворенный в одном или нескольких носителях. Носители для местного введения соединений по данному изобретению включают, но не ограничиваются следующими: минеральное масло, жидкий вазелин, белый вазелин, пропиленгликоль, полиоксиэтилен, полиоксипропиленовое соединение, эмульгирующий воск и вода. Альтернативно, фармацевтически приемлемые композиции могут быть приготовлены в виде подходящего лосьона или крема, содержащего активные компоненты, суспендированные или растворенные в одном или нескольких фармацевтически приемлемых носителях. Подходящие носители включают, но не ограничиваются следующими: минеральное масло, сорбитанмоностеарат, полисорбат 60, цетилэфирный воск, цетеариловый спирт, 2-октилдодеканол, бензиловый спирт и вода.

Фармацевтически приемлемые композиции по изобретению также можно вводить в виде назального аэрозоля или ингаляции. Такие композиции готовят в соответствии с методами, хорошо известными в области создания фармацевтических препаратов, они могут быть приготовлены в виде растворов в физиологическом растворе с использованием бензилового спирта или других подходящих консервантов, промоторов абсорбции для повышения биодоступности, фторуглеродов и/или других обычных солюбилизующих или диспергирующих агентов.

Количество соединений по настоящему изобретению, которое может быть скомбинировано с носителем для получения композиции в виде дозированной лекарственной формы, будет варьироваться в зависимости от субъекта, которого лечат, конкретного способа введения и других факторов, определяемых лицом, вводящим дозированную лекарственную форму. Дозировки

Токсичность и терапевтическую эффективность соли соединения (I) или ее кристаллической формы, описанной в данном документе, можно определить при помощи стандартных фармацевтических методик на клеточных культурах или на экспериментальных животных. LD₅₀ - представляет собой дозу, смертельную для 50% популяции. ED₅₀ - представляет собой дозу, терапевтически эффективную для 50% популяции. Соотношение доз, вызывающих токсический и терапевтический эффекты (LD₅₀/ED₅₀) представляет собой терапевтический индекс. Предпочтительной является соль соединения (I) или ее кристаллическая форма, которая имеет высокий терапевтический индекс. Также может быть использована соль соединения (I) или описанная в настоящем документе ее кристаллическая форма, которая проявляет токсические побочные эффекты, в этом случае следует позаботиться о разработке системы доставки, которая нацеливает такую соль или кристаллическую форму на участок пораженной ткани, чтобы свести к минимуму потенциальное повреждение неинфицированных клеток и, тем самым, уменьшить побочные эффекты.

Данные, полученные в результате анализов клеточных культур и исследований на животных, могут быть использованы при определении диапазона дозировок для применения у людей. Дозировка таких солей или кристаллических форм может лежать в пределах диапазона циркулирующих концентраций, который включает ED₅₀ при небольшой или отсутствующей токсичности. Дозировка может варьироваться в пределах этого диапазона в зависимости от применяемой лекарственной формы и используемого пути введения. Для любой соли соединения (I) или ее кристаллической формы, описанной в настоящем документе, терапевтически эффективная доза может быть первоначально оценена на основе анализа клеточных культур. Доза может быть подобрана на животных моделях для достижения диапазона концен-

траций в циркулирующей плазме, который включает IC_{50} (т.е. концентрацию тестируемого соединения, при которой достигается полумаксимальное ингибирование симптомов), определенную на клеточной культуре. Такая информация может быть использована для более точного определения доз, подходящих для человека. Уровни в плазме могут быть измерены, например, с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Следует также понимать, что конкретная доза и схема лечения для любого конкретного субъекта будут зависеть от множества факторов, включая, но не ограничиваясь следующими: активность конкретного используемого соединения, возраст, массу тела, общее состояние здоровья, пол, диету, время введения, скорость выведения, комбинацию лекарственных средств, мнение лечащего врача и тяжесть конкретного заболевания, которое лечат. Количество в композиции соли соединения (I) или кристаллической формы по настоящему изобретению также будет зависеть от конкретного соединения, включенного в композицию.

Способы лечения.

"Субъект" представляет собой млекопитающее, предпочтительно человека, но также может быть животным, нуждающимся в ветеринарном лечении, например, это могут быть домашние животные (например, собаки, кошки и т.п.), сельскохозяйственные животные (например, коровы, овцы, свиньи, лошади и т.п.) и лабораторные животные (например, крысы, мыши, морские свинки и т.п.).

В контексте настоящего документа термин "лечение субъекта, страдающего раком", включает достижение, частичное или существенное, одного или нескольких из следующего: приостановка роста, уменьшение распространения рака (например, сокращение размера опухоли), ингибирование скорости роста рака, облегчение или улучшение клинического симптома или показателя, связанного с раком (такого, как тканевые или сывороточные компоненты), или увеличение продолжительности жизни субъекта; и снижение вероятности рецидива рака.

Термин "эффективное количество" означает количество, которое при введении субъекту приводит к благоприятным или желаемым результатам, включая клинические результаты, например, ингибирует, подавляет или уменьшает рак (например, согласно клиническим симптомам или количеству раковых клеток) у субъекта по сравнению с контролем.

Как правило, эффективное количество соединения, указанного в настоящем документе, варьируется в зависимости от различных факторов, таких как конкретное лекарственное средство или соединение, фармацевтический состав, способ введения, тип заболевания или расстройства, особенности субъекта или хозяина, которого лечат, и аналогичных, но, тем не менее, может быть определено специалистом в данной области в ходе рутинной деятельности. Эффективное количество соединения по настоящему изобретению может быть легко определено специалистом обычными методами, известными в данной области.

В одном из вариантов осуществления изобретения эффективное количество соединения, указанного в настоящем документе, находится в диапазоне от примерно 0,1 до примерно 1000 мг/кг массы тела, альтернативно, от примерно 1 до примерно 500 мг/кг массы тела. В другом варианте осуществления изобретения эффективное количество соединения, указанного в настоящем документе, находится в диапазоне от примерно 0,5 до примерно 5000 мг/м², альтернативно, от примерно 5 до примерно 2500 мг/м² и в другом варианте от примерно 50 до примерно 1000 мг/м². Специалисту в данной области техники будет понятно, что определенные факторы могут влиять на дозировку, необходимую для эффективного лечения субъекта, страдающего раком, или снижения вероятности рецидива рака. Эти факторы включают, но не ограничиваются следующими: тяжесть заболевания или расстройства, предшествующее лечение, общее состояние здоровья и/или возраст субъекта и другие имеющиеся заболевания.

Режим "лечения" субъекта эффективным количеством соединения по настоящему изобретению может состоять из однократного введения или, альтернативно, включать серию введений. Например, тартрат соединения (I) 1:1 можно вводить по меньшей мере один раз в неделю. Однако в другом варианте осуществления изобретения соединение можно вводить субъекту примерно от одного раза в неделю до одного раза в день для данного лечения. Продолжительность периода лечения зависит от множества факторов, таких как тяжесть заболевания, возраст субъекта, концентрация и активность соединений по настоящему изобретению или их комбинация. Также следует понимать, что эффективная доза соединения, используемого для лечения или профилактики, может увеличиваться или уменьшаться в течение курса конкретного режима лечения или профилактики. Могут происходить изменения дозировок, необходимость которых становится очевидной при использовании стандартных диагностических анализов, известных в данной области. В некоторых случаях может потребоваться постоянное введение.

соединение (I), его соли и кристаллические формы, раскрытые в данном документе, ингибируют НРК1. Таким образом, как правило, соединения, описанные в настоящем документе, применимы для лечения заболеваний или состояний, связанных с такими киназами.

В одном из вариантов осуществления изобретения предложен способ ингибирования активности НРК1 у субъекта, нуждающегося в ингибировании активности НРК1, включающий введение субъекту эффективного количества соединения (I) или его тартрата (например, тартрата соединения (I) 1:1), кристаллической формы или фармацевтической композиции, описанных в настоящем документе.

Благодаря своей активности в отношении НРК1, соединение (I) или его тартрат (например, тартрат соединения (I) 1:1), кристаллическая форма или фармацевтическая композиция, описанные в настоящем документе, могут быть использованы для лечения субъекта с состоянием, связанным с aberrантной активностью НРК1.

В одном из вариантов осуществления изобретения состояние, связанное с aberrантной активностью НРК1, представляет собой рак.

Раковые заболевания, которые можно лечить (включая снижение вероятности рецидива) способами в соответствии с настоящим изобретением, включают рак молочной железы, колоректальный рак, рак легких, рак яичников, рак матки, рак предстательной железы, лейкемию, лимфомы, рак головного мозга (включая мультиформную глиобластому и нейробластому), рак головы и шеи, рак поджелудочной железы, меланому, гепатоцеллюлярную карциному, рак почки и саркомы мягких тканей. В одном из вариантов осуществления изобретения рак представляет собой рак молочной железы, рак толстой кишки и рак яичников. В одном из вариантов осуществления изобретения рак выбран из лейкемии, острого миелоидного лейкоза, хронического миелогенного лейкоза, рака молочной железы, рака головного мозга, рака толстой кишки, колоректального рака, рака головы и шеи, гепатоцеллюлярной карциномы, аденокарциномы легкого, метастатической меланомы, рака поджелудочной железы, рака предстательной железы, рака яичников и рака почки. В одном из вариантов осуществления изобретения рак представляет собой рак легких, рак толстой кишки, рак головного мозга, нейробластому, рак предстательной железы, меланому, мультиформную глиобластому или рак яичников. В другом варианте осуществления изобретения рак представляет собой рак легкого, рак молочной железы, рак толстой кишки, рак головного мозга, нейробластому, рак предстательной железы, меланому, мультиформную глиобластому или рак яичников. В еще одном варианте осуществления изобретения рак представляет собой рак молочной железы, рак толстой кишки и рак легкого. В другом варианте осуществления изобретения рак представляет собой рак молочной железы. В еще одном варианте осуществления изобретения рак представляет собой рак молочной железы базального подтипа или люминальный рак молочной железы подтипа В. В еще одном варианте осуществления изобретения рак представляет собой базальный подтип рака молочной железы. В еще одном варианте осуществления изобретения базальный подтип рака молочной железы представляет собой ER- (рецептор эстрогена), HER2- и PR- (рецептор прогестерона) негативный рак молочной железы. В еще одном варианте осуществления изобретения рак представляет собой рак мягких тканей. "Рак мягких тканей" является принятым в данной области термином, который охватывает опухоли, происходящие из любых мягких тканей организма. Такие мягкие ткани соединяют, поддерживают или окружают различные структуры и органы тела, включая, но не ограничиваясь следующими: гладкие мышцы, скелетные мышцы, сухожилия, фиброзные ткани, жировая ткань, кровеносные и лимфатические сосуды, периваскулярная ткань, нервы, мезенхимальные клетки и синовиальные ткани. Таким образом, рак мягких тканей может представлять собой рак жировой ткани, мышечной ткани, нервной ткани, суставной ткани, кровеносных сосудов, лимфатических сосудов и фиброзных тканей. Рак мягких тканей может быть доброкачественным или злокачественным. Как правило, злокачественные опухоли мягких тканей называются саркомами или саркомами мягких тканей. Существует много видов опухолей мягких тканей, включая липому, липобластому, гиберному, липосаркому, лейомиому, лейомиосаркому, рабдомиому, рабдомиосаркому, нейрофибромому, шванному (нейрилемому), неврому, злокачественную шванному, нейрофибросаркому, нейрогенную саркому, узловую теносиновит, синовиальную саркому, гемангиому, гломусную опухоль, гемангиоперицитому, гемангиоэндотелиому, ангиосаркому, саркому Капоши, лимфангиому, фибромому, эластофибромому, поверхностный фиброматоз, фиброзную гистиоцитому, фибросаркому, фиброматоз, выбухающую дерматофибросаркому (DFSP), злокачественную фиброзную гистиоцитому (MFH), миксому, зернистоклеточную опухоль, злокачественную мезенхимальную опухоль, альвеолярную саркому мягких тканей, эпителиоидную саркому, светлоклеточную саркому и десмопластическую мелкоклеточную опухоль. В конкретном варианте осуществления изобретения рак мягких тканей представляет собой саркому, выбранную из группы, состоящей из фибросаркомы, желудочно-кишечной саркомы, лейомиосаркомы, дедифференцированной липосаркомы, плеоморфной липосаркомы, злокачественной фиброзной гистиоцитомы, круглоклеточной саркомы и синовиальной саркомы.

Настоящее раскрытие также относится к способам лечения субъекта с заболеванием, включающие введение субъекту эффективного количества соединения, представленного структурной формулой (I), в комбинации с эффективной иммуномодулирующей терапией (также называемой иммунотерапией). Иммунотерапия - это лечение заболевания с использованием иммуномодулирующего агента для индукции, усиления или подавления иммунного ответа. Иммунотерапию, предназначенную для индукции или усиления иммунного ответа, классифицируют как активационную иммунотерапию, тогда как иммунотерапию, которая снижает или подавляет ответ, классифицируют как супрессионную иммунотерапию. Описанное здесь заболевание представляет собой рак.

Иммуномодулирующая терапия, используемая отдельно или в комбинированных подходах, включает

i) ингибиторы, блокирующие иммунные контрольные точки, включая, помимо прочего, антитела против CTLA-4 (цитотоксический Т-лимфоцит-ассоциированный белок 4) (например, ипилимумаб); агенты, нарушающие взаимодействие PD-1/PD-L1 и PD-L2, например, ниволумаб (Opdivo - Bristol Myers

Squibb), пембролизумаб (Keytruda, KM-3475, Merck), пидилизумаб (CT-011, Cure Tech), BMS 936559 (BMS) и MPDL3280A (Roche); и другие рецепторы, ингибирующие иммунный ответ, например антитело против CD47;

- ii) клеточную терапию (включая терапию дендритными клетками (например, Sipuleucel T (Provenge)) и адоптивную Т-клеточную терапию), но не ограничиваясь ими),
- iii) стратегии вакцинации;
- iv) адоптивную Т-клеточную терапию;
- v) агенты, которые предотвращают метаболическое ингибирование иммунного ответа, включая ингибиторы индоламин-2,3-диоксигеназы (например, INCB024360 (Incyte), 1-метил-D-триптофан, индоксимод (NewLink Genetics)) или аргиназы; и
- vi) терапию на основе цитокинов, например, интерферонов (в частности, интерферона типа I) и интерлейкинов (например, интерлейкина-2). В одном из вариантов осуществления изобретения иммуномодулирующее средство, используемое для иммуномодулирующей терапии, представляет собой ингибитор PD-1, например, антитело против PD1.

Белок 1 запрограммированной гибели клеток, также известный как PD-1 и CD279 (кластер дифференцировки 279), представляет собой белок, который у человека кодируется геном PDCD1. PD-1 представляет собой рецептор клеточной поверхности, который принадлежит к суперсемейству иммуноглобулинов и экспрессируется на Т-клетках и про-В-клетках. PD-1 связывает два лиганда, PD-L1 и PD-L2, которые оба являются членами семейства B7.

PD-1 и его лиганды играют важную роль в подавлении иммунной системы, предотвращая активацию Т-клеток, что, в свою очередь, снижает аутоиммунитет и способствует аутоотолерантности. Ингибирующий эффект PD-1 достигается за счет двойного механизма стимуляции апоптоза (запрограммированной гибели клеток) в антигенспецифических Т-клетках в лимфатических узлах с одновременным снижением апоптоза в регуляторных Т-клетках (супрессорные Т-клетки).

Ингибиторы PD-1, используемые в настоящем изобретении, включают ниволумаб, пембролизумаб, пидилизумаб, BMS 936559, MPDL3280A, MSB0010718C или MEDI4736, но не ограничены ими. Среди них антитела BMS 936559, MPDL3280A, MSB0010718C и MEDI4736, которые связывают лиганд PD-L1. Ниволумаб и пембролизумаб одобрены Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (FDA) для лечения нерезектабельной или метастатической меланомы, которая больше не отвечает на другие препараты.

Стратегии вакцинации включают антимикробную иммунотерапию, которая включает вакцинацию, участвует в активации иммунной системы для ответа на возбудитель инфекции.

В адоптивной Т-клеточной терапии используют цитотоксические ответы Т-клеток для того, чтобы атаковать раковые клетки. Т-клетки, обладающие естественной или созданной методами генной инженерии реактивностью по отношению к раку пациента, получают *in vitro* и затем пересаживают обратно пациенту, страдающему раком. Одно исследование, в котором использовались аутологичные опухольпроникающие лимфоциты, показало эффективность при лечении пациентов с метастатической меланомой. Это может быть достигнуто извлечением Т-клеток, обнаруженных в опухоли пациента, которые научили атаковать раковые клетки. Такие Т-клетки называют опухоль-инфильтрирующими лимфоцитами (TIL) и впоследствии стимулируют к размножению *in vitro* с использованием высоких концентраций ИЛ-2, анти-CD3 и аллореактивных фидерных клеток. Затем эти Т-клетки пересаживают обратно пациенту одновременно с экзогенным введением ИЛ-2 для дополнительного усиления их противораковой активности.

В настоящем изобретении также предложены способы лечения субъекта с раком, включающие введение субъекту эффективного количества соединения (I) или его тартрата (например, тартрата соединения (I) 1:1), его кристаллической формы или фармацевтической композиции, описанных в настоящем документе, в комбинации с эффективной противораковой терапией. В одном из вариантов осуществления изобретения рак представляет собой метастатический рак. "Метастатический рак" представляет собой рак, который распространился из своего первичного очага в другие части тела.

Описанная здесь противораковая терапия включает совместное введение эффективного количества второго противоракового агента вместе с раскрытым ингибитором НРК-1. "Противораковое средство" представляет собой соединение, которое при введении в эффективном количестве субъекту, страдающему раком, включает достижение, частично или в значительной степени, одного или нескольких из следующих результатов: остановка роста, уменьшение степени рака (например, сокращение размера опухоли), ингибирование скорости роста рака и ослабление или улучшение клинического симптома или показателя, связанного с раком (такого, как тканевые или сывороточные компоненты), или увеличение продолжительности жизни субъекта.

Противораковые средства, подходящие для применения в описанных здесь способах, включают любые противораковые средства, одобренные для лечения рака. В одном из вариантов осуществления изобретения противораковый агент включает нацеленное антитело, ингибитор ангиогенеза, алкилирующий агент, антимаботолит, алкалоид барвинка, таксан, подофиллотоксин, ингибитор топоизомеразы, гормональный противоопухолевый агент и другие противоопухолевые средства, но не ограничен перечисленным. В одном из вариантов осуществления изобретения противораковое средство представляет

собой ингибитор PD-1, например, антитело против PD1.

В одном из вариантов осуществления изобретения противораковые агенты, которые могут быть применены в способах, описанных в настоящем документе, включают паклитаксел, доцетаксел, 5-фторурацил, трастузумаб, лапатиниб, бевацизумаб, летрозол, гозерелин, тамоксифен, цетуксимаб, пани-тумаб, гемцитабин, капецитабин, иринотекан, оксалиплатин, карбоплатин, цисплатин, доксорубицин, эпирубицин, циклофосфамид, метотрексат, винбластин, винкристин, мелфалан, цитарабин, этопозид, даунорубицин, блеомицин, митомицин и адриамицин и их комбинации, но не ограничиваются перечисленным.

В одном из вариантов осуществления изобретения противораковое средство и соединение (I) или его тартрат (например, тартрат соединения (I) 1:1), его кристаллическую форму или фармацевтическую композицию, описанные в настоящем документе, вводят одновременно. При одновременном введении противораковый агент и соединение можно вводить в составе одной или той же композиции или в разных композициях. Альтернативно, соединение и дополнительный противораковый агент вводят по отдельности в разное время.

Следующие примеры предназначены для иллюстрации и никоим образом не предназначены для ограничения объема изобретения.

Экспериментальная часть

Сокращения:

¹ H	протон
aq.	водный
ш.	широкий
DCM	дихлорметан
DVS	Динамическая сорбция паров
Экв.	эквивалент
ч	часов
ВЭЖХ	высокоэффективная жидкостная хроматография
IPA	изопропанол
LC-MS	жидкостная хроматография в сочетании с масс-спектрометрией
MeOH	метанол
мин	минут
ЯМР	ядерный магнитный резонанс
PLM	микроскопия в поляризованном свете
RH	относительная влажность
Troom	комнатная температура
TGA	термогравиметрический анализ
ТГФ	тетрагидрофуран
УЭЖХ	ультразвук-эффективная жидкостная хроматография
XRPD	рентгеновская порошковая дифрактометрия

Условия анализа.

Рентгеновская порошковая дифрактометрия (XRPD).

Анализ XRPD проводили с использованием рентгеновского порошкового дифрактометра Bruker D8 Advance. Параметры для XRPD перечислены ниже.

Параметры режима отражения	
Длина волны рентгеновского излучения	Cu K α , 1,54179 Å,
Параметры рентгеновской трубки	40 кВ, 40 мА
Область сканирования ($^{\circ}2\theta$)	4 - 40
Скорость вращения образца	15 об/мин
Скорость сканирования	10 град/мин

Термогравиметрический анализ (TGA).

2-5 мг материала взвешивали в открытом платиновом тигле и загружали в термогравиметрический анализатор TA Q5000IR. Затем образец нагревали со скоростью 10°C/мин от 25°C до 350°C/400°C.

Дифференциальная сканирующая калориметрия (DSC).

0,5-1 мг материала взвешивали в алюминиевом тигле для DSC и негерметично закрывали алюминиевой крышкой. Тигель с образцом затем загружали в TA Instruments Q2000. Как только была получена

стабильная характеристика теплового потока при 25°C, образец и эталон нагревали до 350°C со скоростью 10°C/мин и отслеживали результирующую характеристику теплового потока. ¹H-ядерная магнитно-резонансная спектроскопия (¹H-ЯМР).

Измерения ядерного магнитного резонанса регистрировали на приборе Bruker Avance DRX 400 при 400 МГц и комнатной температуре с использованием ДМСО-d₆ или CD₃OD в качестве растворителя без внутреннего стандарта.

Методы ВЭЖХ/УЭЖХ.

Репрезентативный метод, используемый для измерения растворимости, обобщен в табл. 1. Репрезентативный метод, используемый для оценки стабильности, обобщен в табл. 2.

Таблица 1

Метод УЭЖХ, который применяли для измерения растворимости

Параметры колонки	ACQUITY UPLC® HSS PFP 1,8 мкм, 2,1*100 мм		
Температура колонки	60 °С		
Подвижная фаза А	0,05% ТГФ в воде		
Подвижная фаза В	ацетонитрил		
Скорость потока	0,8 мл/мин		
Профиль градиента	Время (мин)	% подвижной фазы А	% подвижной фазы В
	0,00	90	10
	4,00	10	90
	5,00	10	90
	6,5	90	10
Длина волны детектора	235 нм		
Объем впрыска	0,5 мкл		
Растворитель для промывки игл	Ацетонитрил/вода		
Разбавление	Ацетонитрил/вода (50/50 по объему)		

Таблица 2

Метод ВЭЖХ, который применяли для оценки стабильности

Параметры колонки	Waters XBridge Phenyl (150 * 4,6 мм, 3,5 мкм)		
Температура колонки	30 °С		
Подвижная фаза А	0,05% ТГФ в воде		
Подвижная фаза В	0,05% ТГФ в ацетонитриле		
Скорость потока	1,5 мл/мин		
Профиль градиента	Время (мин)	% подвижной фазы А	% подвижной фазы В
	0,00	95	5
	20	5	95
	20,01	95	5
	27	95	5
Длина волны детектора	235 нм		
Объем впрыска	5 мкл		
Растворитель для промывки игл	Ацетонитрил/вода		
Разбавление	Ацетонитрил/вода (50/50 по объему)		

Примеры

Пример 1. Первоначальный скрининг солей.

Начальный скрининг солей проводили с использованием HCl, H₂SO₄ и H₃PO₄ в количестве 1 или 2 эквивалентов в смеси дихлорметана (DCM) и метанола (MeOH) (2:1). Приблизительно 100 мг 4-амино-5-(6-(4-метилпиперазин-1-ил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)тиено[2,3-b]пиридин-6(7H)-она (I) растворяли в DCM и MeOH (2:1) при 50°C. Добавляли 1 или 2 эквивалента кислоты и полученный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 3 дней, а полученные образцы солей анализировали с помощью XRPD.

При использовании HCl (1 экв.), H₂SO₄ (2 экв.) и H₃PO₄ (1 экв.) были получены соли с низкой кристалличностью. При использовании HCl (2 экв.) и H₂SO₄ (1 экв.) были получены аморфные соли. Дифрактограмма моно-HCl соли (партия 1) представлена на фиг. 1.

Пример 2. Расширенный скрининг солей.

Расширенный скрининг солей проводили с использованием 0,5, 1 и/или 2 эквивалентов H₃PO₄, метансульфокислоты, п-толуолсульфокислоты, лимонной кислоты, яблочной кислоты, фумаровой кислоты, молочной кислоты, винной кислоты, янтарной кислоты, бензойной кислоты и малеиновой кислоты в смеси ТГФ и MeOH (2:1). Всего было приготовлено 16 солей, и результаты суммированы в табл. 3.

Приблизительно 100 мг 4-амино-5-(6-(4-метилпиперазин-1-ил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)тиено[2,3-b]пиридин-6(7H)-она (I) растворяли в смеси ТГФ и MeOH 2:1 при 50°C. Добавляли 0,5, 1 или 2 эквивалента кислоты и полученный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Образцы, приводящие к получению твердых веществ, центрифугировали, а образцы, которые не выпадали в осадок, сушили при комнатной температуре. Все образцы были охарактеризованы с помощью ¹H ЯМР, PLM и XRPD.

Все 16 выделенных солей демонстрировали различные градусы двойного лучепреломления. Однако только соли мезилат 1:1, малеат 1:1 и тартрат 1:1 показали кристалличность от умеренной до хорошей, измеренную посредством XRPD. Дифрактограммы мезилата 1:1 (партия 1) и малеата 1:1 (партия 1), полученных с использованием указанного способа, показаны на фиг. 2 и фиг. 3 соответственно. Примечательно, что, как показано в табл. 3 ниже, 0,5 эквивалента винной кислоты не приводили к получению желаемого гемитартрата (1:0,5), и поэтому он далее не изучался.

Таблица 3

16 солей, полученных с использованием 11 фармацевтически приемлемых кислот в расширенном скрининге солей

Номер	Кислота	Молярное соотношение кислота: Соединение (I)	
		Использованное в эксперименте	В выделенной соли
1	Фосфорная кислота	1,05:1	1,0:1
2	Метансульфоновая кислота	1,05:1	0,9:1
3	Метансульфоновая кислота	2,1:1	2:1
4	п-Толуолсульфокислота	1,05:1	0,9:1
5	п-Толуолсульфокислота	2,1:1	2,1:1
6	Лимонная кислота	1,05:1	1,0:1
7	Лимонная кислота	0,55:1	0,6:1
8	L-яблочная кислота	1,05:1	1,0:1
9	Фумаровая кислота	1,05:1	1,1:1
10	Фумаровая кислота	0,53:1	0,5:1
11	Молочная кислота	1,05:1	1,0:1
12	L-винная кислота	1,05:1	1,0:1
13	L-винная кислота	0,53:1	0,7:1
14	Янтарная кислота	1,05:1	1,0:1
15	Бензойная кислота	1,05:1	1,1:1
16	Малеиновая кислота	1,05:1	1,1:1

Пример 3. Получение выбранных солей.

Гидрохлорид, мезилат, тартрат и малеат готовили по отдельности, используя 2 различные системы

растворителей: ацетон и изопропиловый спирт/вода (IPA/вода) (95:5).

Приблизительно 100 мг 4-амино-5-(6-(4-метилпиперазин-1-ил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)тиено[2,3-b]пиридин-6(7H)-она (I) суспендировали в ацетоне (2 мл) или IPA/вода (95:5, 2 мл). Суспензию перемешивали при 50°C. Добавляли кислоту (1 экв, 0,5 моль/л) и смесь перемешивали в течение ночи. Затем соль выделяли и сушили при 30°C в вакууме. Полученные соли были охарактеризованы с использованием TGA, DSC и XRPD.

Две системы растворителей приводили к получению разных полиморфных форм солей соляной кислоты (IPA: партия 2; ацетон: партия 3), мезилатов (IPA: партия 2; ацетон: партия 3) и малеатов (IPA: партия 2; ацетон: партия 3). Дифрактограммы выделенных полиморфных форм солей HCl, мезилатов и малеатов показаны на фиг. 1, фиг. 2 и фиг. 3 соответственно. Как показано на XRPD дифрактограммах, кристалличность мезилатов и малеатов умеренная.

Одну полиморфную форму тартрата соединения (I) 1:1 выделяли с использованием двух систем растворителей, описанных в примере 3.

Пример 4. Получение дигидрохлорида 4-амино-5-(6-(4-метилпиперазин-1-ил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)тиено[2,3-b]пиридин-6(7H)-она (I).

Приблизительно 15 г (40,95 ммоль) 4-амино-5-(6-(4-метилпиперазин-1-ил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)тиено[2,3-b]пиридина-6-(7H)-она (I) суспендировали в смеси DCM (300 мл) и MeOH (450 мл). При комнатной температуре медленно добавляли 2M HCl в Et₂O (45 мл, 90,15 ммоль). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 60 мин. Затем растворитель удаляли в вакууме и полученное твердое вещество растирали с Et₂O (120 мл) и фильтровали, с получением соли дигидрохлорида в виде коричневого осадка. Дигидрохлоридную соль охарактеризовывали с использованием XRPD и ЯМР. Дифрактограмма XRPD приведена на фиг. 4, где видно, что кристалличность полученного дигидрохлорида была очень низкой.

Пример 5. Получение тартрата 4-амино-5-(6-(4-метилпиперазин-1-ил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)тиено[2,3-b]пиридин-6(7H)-она (I).

4-Амино-5-(6-(4-метилпиперазин-1-ил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)тиено[2,3-b] пиридин-6(7H)-он (4,5 кг) растворяли в водном растворе уксусной кислоты (44 кг воды, 1,78 кг уксусной кислоты) при температуре от 55 до 60°C. Раствор перемешивали в течение 15-120 мин. В отдельном реакторе готовили водный раствор L-(+)-винной кислоты добавлением кислоты (1,98 кг) к воде (14-18 кг) при температуре от 20 до 30°C, и перемешивали раствор в течение 15-60 мин. Затем раствор уксусной кислоты, содержащий соединение (I), медленно добавляли к водному раствору L-(+)-винной кислоты при температуре от 55 до 60°C. Необязательно добавляли затравочные кристаллы. Полученную смесь оставляли кристаллизоваться при температуре от 55 до 60°C в течение 12-24 ч. Затем смесь охлаждали до 20-25°C и перемешивали в течение 8-16 ч. После этого собирали выпавший в осадок продукт, промывали этанолом и сушили при температуре от 40 до 60°C в течение 3-24 ч в вакууме с получением требуемого продукта. Указанное в заголовке соединение характеризовали посредством ¹H ЯМР, DSC, TGA и XRPD. Результаты DSC и TGA показаны на фиг. 5. XRPD дифрактограмма приведена на фиг. 6, а результаты представлены в табл. 4.

Табл. 4. Перечень основных пиков и их относительная интенсивность на XRPD дифрактограмме тартрата 4-амино-5-(6-(4-метилпиперазин-1-ил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)тиено[2,3-b]пиридин-6(7H)-она (тартрат соединения (I) 1:1).

Таблица 4

Угол (2θ)	Относительная интенсивность (%)
8,7	7,2
11,9	49,9
12,9	3,0
14,0	33,6
15,4	64,2
16,9	100
17,2	49,6
22,1	28,7
25,6	41,2
26,3	26,9
30,7	29,1
34,0	28,7

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₈): 12,65 (широкий с, 1H), 10,65 (широкий с, 1H), 8,00 (широкий с, 1H),

7,68 (д, J=5,6 Гц, 1Н), 7,49 (широкий с, 1Н), 7,20-7,17 (м, 2Н), 6,92 (д, J=2,5 Гц, 1Н), 6,71 (широкий с, 4Н), 4,16 (с, 2Н), 3,22 (широкий с, 4Н), 2,88 (широкий с, 4Н), 2,52 (с, 3Н).

Пример 6. Измерение гигроскопичности 4-амино-5-(6-(4-метилпиперазин-1-ил)-1Н-бензо[d]имидазол-2-ил)тиено[2,3-b]пиридин-6(7Н)-она (I) и его солей.

Проводили исследование гигроскопичности тестируемого соединения с помощью прибора DVS. Параметры эксперимента приведены в табл. 5. Результаты измерения гигроскопичности представлены в табл. 6.

Таблица 5

Общий поток газа (см³)		200	
Температура печи (°C)		25	
Растворитель		Вода	
Режим управления		Открытый цикл	
Действие	Предварительный прогрев	Не проводили	
	Сушка	2 часа в N ₂ (0 % RH)	
	Стадии способа	Режим	DMDT
		Цикл: 0% RH - 90% RH - 0% RH	
		Шаг: 10%	
		Критерии Dm/dt: <0,01%/мин.	
		Частота дискретизации: 1 сек	
		Минимальная продолжительность: 10 мин.	
		Максимальная продолжительность: 180 мин.	

Таблица 6

Соединение	Изменение массы (%)		
	Поглощение воды при относительной влажности 30 %	Поглощение воды при относительной влажности 60 %	Поглощение воды при относительной влажности 90 %
Свободное основание	0,5	0,9	26
Тартрат	0,06	0,3	0,7
Моногидрохлорид (партия 3)	3,7	6,1	38,3

Пример 7. Растворимость 4-амино-5-(6-(4-метилпиперазин-1-ил)-1Н-бензо[d]имидазол-2-ил)тиено[2,3-b]пиридин-6(7Н)-она (I) и его солей.

Тестируемые соединения готовили в 3 различных средах, как описано ниже.

Образцы, приготовленные в воде: приблизительно 30-40 мг тестируемого материала взвешивали в стеклянном флаконе. Добавляли 1 мл воды. Образец перемешивали в течение 1 ч при температуре окружающей среды и анализировали с помощью ВЭЖХ через 24 ч.

Образцы, приготовленные в буфере, имитирующем желудочный сок (SGF): примерно 40 мг тестируемого материала взвешивали в стеклянном флаконе. Добавляли 4 мл буфера SGF для получения конечной концентрации 10 мг/мл. Образец перемешивали в течение 24 ч при 37°C и через 24 ч анализировали с помощью ВЭЖХ.

Образцы, приготовленные в буфере, имитирующем кишечный сок (FaSSiF), взятый натощак: приблизительно 8 мг тестируемого материала взвешивали в стеклянном флаконе. Добавляли 4 мл буфера FaSSiF для получения конечной концентрации 2 мг/мл. Образец перемешивали в течение 24 ч при 37°C и через 24 ч анализировали с помощью ВЭЖХ.

Образцы перемешивали в течение 1 ч при температуре окружающей среды или 24 ч при 37°C. Затем образцы центрифугировали и полученные супернатанты анализировали с помощью ВЭЖХ для определения растворимости. Растворимость соединения (I) и его солей в различных средах приведена в табл. 7.

Таблица 7

Растворимость соединения (I) и его солей в различных средах

Соединение	Растворимость (мг/мл)		
	вода	SGF	FaSSIF
Свободное основание	0,3	0,5	0,09
Тартрат	-	9,0	0,02
Моногидрохлорид (партия 3)	10,2	9,0	0,22
Дигидрохлорид	3,3	-	-

Пример 8. Стабильность тартрата 4-амино-5-(6-(4-метилпиперазин-1-ил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)тиено[2,3-b]пиридин-6(7H)-она (I).

Определяли чистоту и стабильность тартрата 4-амино-5-(6-(4-метилпиперазин-1-ил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)тиено[2,3-b]пиридин-6(7H)-она (I). Образцы для определения стабильности готовили и хранили при 3 различных условиях хранения: 2-8°C/60%RH, 25°C/60% RH и 40°C/75% RH. Образцы для определения стабильности извлекали из условий их хранения в течение каждого периода времени, и оставляли для приведения в равновесие с условиями окружающей среды перед анализом. Внешний вид оценивали визуально, чистоту и общее количество примесей анализировали с помощью ВЭЖХ, а кристаллическую форму характеризовали посредством XRPD. Результаты приведены в табл. 8.

Табл. 8. Данные о долговременной стабильности тартрата 4-амино-5-(6-(4-метилпиперазин-1-ил)-1Н-бензо[d]имидазол-2-ил)тиено[2,3-б] пиридин-6(7Н)-она (тартрат соединения (I) 1:1).

Таблица 8

Условия хранения	Параметр	Исходно	1 месяц	3 месяца	6 месяцев	12 месяцев
5 °С/ 60% RH	Внешний вид	Светло-коричневое твердое вещество	Светло-коричневое твердое вещество	Светло-коричневое твердое вещество	Светло-коричневое твердое вещество	Светло-коричневое твердое вещество
	Общее количество примесей	0,03%	0,03%	0,0%	0,03%	0,03%
	Чистота	100%	100%	100%	100%	100%
	Кристаллическая форма	Да	Не изучали	Не изучали	Не изучали	Как на начальной стадии
25°С/60 % RH	Внешний вид	Светло-коричневое твердое вещество	Светло-коричневое твердое вещество	Светло-коричневое твердое вещество	Светло-коричневое твердое вещество	Светло-коричневое твердое вещество
	Общее количество примесей	0,03%	0,02%	0,03%	0,03%	0,03%
	Чистота	100%	100%	100%	100%	100%
	Кристаллическая форма	Да	Не изучали	Не изучали	Не изучали	Как на начальной стадии
40°С/75 % RH	Внешний вид	Светло-коричневое твердое вещество	Светло-коричневое твердое вещество	Светло-коричневое твердое вещество	Светло-коричневое твердое вещество	Светло-коричневое твердое вещество
	Общее количество примесей	0,03%	0,02%	0,03%	0,03%	0,03%
	Чистота	100%	100%	100%	100%	100%
	Кристаллическая форма	Да	Не изучали	Не изучали	Не изучали	Как на начальной стадии

Пример 9. Фармакокинетические анализы 4-амино-5-(6-(4-метилпиперазин-1-ил)-1Н-бензо[d]имидазол-2-ил)тиено[2,3-б]пиридин-6(7Н)-она (I) и его солей.

Однократную дозу соединения (I), моногидрохлорида соединения (I) 1:1 (партия 3), дигидрохлорида соединения (I) и тартрата соединения (I) 1:1 в виде порошка в капсуле вводили кобелям биглей в дозе 125 мг/кг или 150 мг/кг. Образцы крови собирали в течение 24 ч, и анализировали уровень соединения (I) в плазме посредством LC/MS. Результаты представлены в табл. 9.

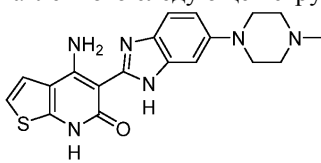
Табл. 9. Фармакокинетические параметры после перорального введения биглям 4-амино-5-(6-(4-метилпиперазин-1-ил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)тиено[2,3-b]-пиридин-6(7H)-она (соединение (I)) и его солей.

Таблица 9

Твердая форма	Свободное основание	Моногидрохлорид (партия 3)	Дигидрохлорид	Тартрат
Пероральная доза (мг/кг)	125	125	125	150
C _{макс.} (нг/мл)	301	547	530	514
AUC _{0-12h} (нг·ч/мл)	2264	4354	6862	6550

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Тартрат соединения (I), представленного следующей структурной формулой:



(I),

где молярное соотношение между соединением (I) и винной кислотой составляет 1:1.

2. Тартрат по п.1, отличающийся тем, что тартрат является кристаллическим.
3. Тартрат по п.1, отличающийся тем, что по меньшей мере 90 мас.% тартрата находится в монокристаллической форме.
4. Тартрат по любому из пп.1-3, отличающийся тем, что тартрат характеризуется порошковой рентгенограммой, которая содержит пики при 11,9°, 15,4°, 16,9° и 17,2°±0,2 градуса 2θ.
5. Тартрат по любому из пп.1-3, отличающийся тем, что тартрат характеризуется порошковой рентгенограммой, которая содержит по меньшей мере три пика, выбранные из пиков при 11,9°, 15,4°, 16,9°, 17,2° и 25,6°±0,2 градуса 2θ.
6. Тартрат по любому из пп.1-3, отличающийся тем, что тартрат характеризуется порошковой рентгенограммой, которая содержит пики при 11,9°, 14,0°, 15,4°, 16,9°, 17,2°, 25,6°, 26,3 и 30,7°±0,2 градуса 2θ.
7. Тартрат по любому из пп.1-3, отличающийся тем, что тартрат характеризуется порошковой рентгенограммой, которая содержит пики при 11,9°, 14,0°, 15,4°, 16,9°, 17,2°, 22,1°, 25,6°, 26,3, 30,7° и 34,0° ± 0,2 градуса 2θ.
8. Тартрат по любому из пп.4-7, отличающийся тем, что тартрат характеризуется порошковой рентгенограммой, которая дополнительно содержит пики при 8,7° и 12,9°±0,2 градусах 2θ.
9. Тартрат по любому из пп.1-8, отличающийся тем, что тартрат характеризуется критической температурой фазового перехода 189±2°C, измеренной при помощи дифференциального сканирующего калориметра (DSC).
10. Тартрат по любому из пп.1-9, отличающийся тем, что поглощение воды составляет менее 4% от массы тартрата при относительной влажности (RH) 90%, измеренной при следующих условиях:
 - i) сушка от 0,5 до 1,5 мг тартрата в атмосфере азота при относительной влажности 0% в течение 2 ч;
 - ii) повышение или понижение относительной влажности с шагом 10% от 0% до 90% и затем до 0%;
 - iii) поддержание относительной влажности на каждом шаге до тех пор, пока изменение массы по сравнению с массой исходного тартрата составит менее 0,01%/мин, при условии, что минимальная и максимальная продолжительность времени на каждом шаге составляет 10 мин и 180 мин соответственно; и
 - iv) определение массы тартрата при относительной влажности 90%, причем стадии i)-iv) проводят при 25°C.
11. Тартрат по п.10, отличающийся тем, что поглощение воды составляет менее 1% массы тартрата при относительной влажности (RH) 90%.
12. Тартрат по любому из пп.1-11, отличающийся тем, что поглощение воды составляет менее 1% массы тартрата при относительной влажности 30% (RH), измеренной при следующих условиях:
 - i) сушка от 0,5 до 1,5 мг тартрата в атмосфере азота при относительной влажности 0% в течение 2 ч;
 - ii) повышение или понижение относительной влажности с шагом 10% от 0% до 90% и затем до 0%;
 - iii) поддержание относительной влажности на каждом шаге до тех пор, пока изменение массы по сравнению с массой исходного тартрата составит менее 0,01%/мин, при условии, что минимальная и максимальная продолжительность времени на каждом шаге составляет 10 мин и 180 мин соответственно; и
 - iv) определение массы тартрата при относительной влажности 30%, причем стадии i)-iv) проводят

при 25°C.

13. Тартрат по п.12, отличающийся тем, что поглощение воды составляет менее 0,1% массы тартрата при относительной влажности (RH) 30%.

14. Фармацевтическая композиция, содержащая тартрат по любому из пп.1-13 и фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель.

15. Способ лечения субъекта, страдающего раком, включающий введение субъекту эффективного количества тартрата по любому из пп.1-13 или фармацевтической композиции по п.14.

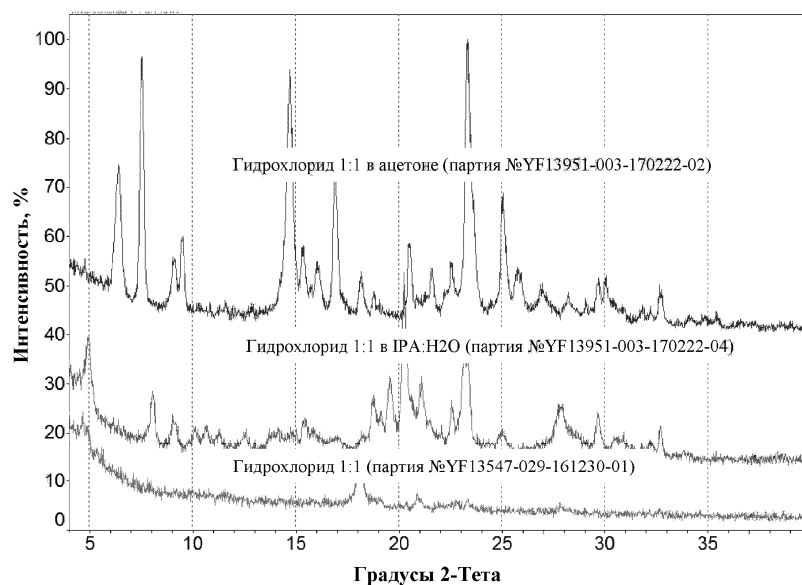
16. Способ лечения субъекта, страдающего раком, включающий введение субъекту эффективного количества тартрата по любому из пп.1-13 или фармацевтической композиции по п.14 и эффективного количества второго противоракового средства.

17. Способ по п.16, отличающийся тем, что второе противораковое средство представляет собой химиотерапевтический агент, нацеленный терапевтический агент, облучение или хирургическое вмешательство.

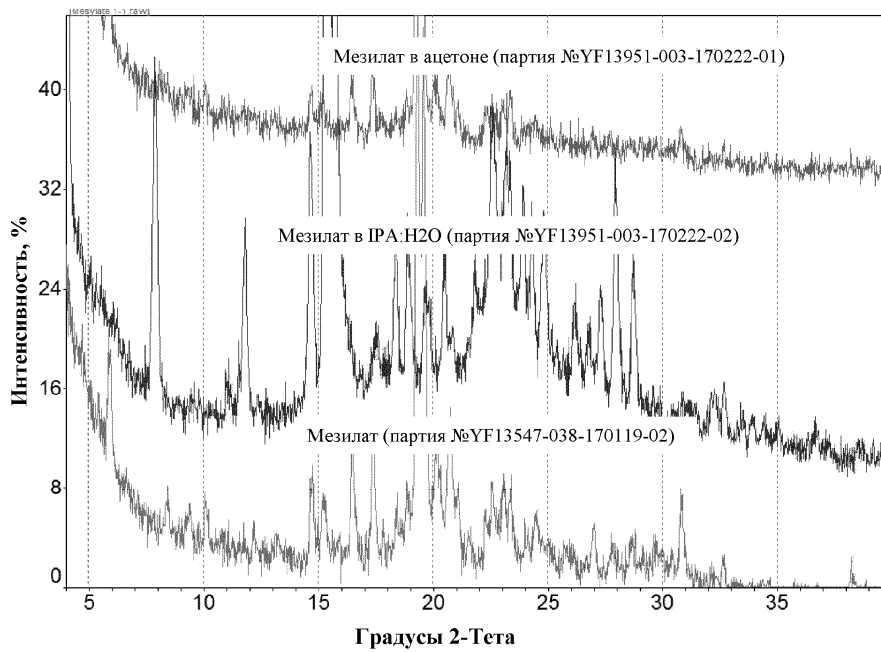
18. Способ лечения субъекта, страдающего раком, включающий введение субъекту эффективного количества тартрата по любому из пп.1-13 или фармацевтической композиции по п.14 и эффективного количества иммуномодулирующего агента, такого как ингибитор контрольной точки или ингибитор окисления триптофана.

19. Способ по п.18, отличающийся тем, что ингибитор контрольной точки представляет собой антитело к PD-1, антитело к CTLA4 или антитело к PD-L1.

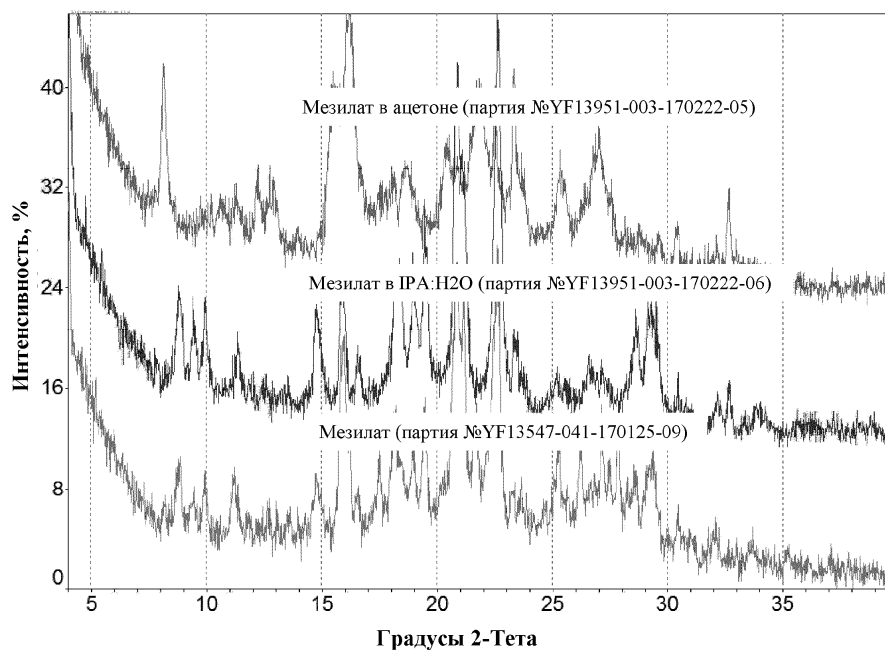
20. Способ по п.18, отличающийся тем, что ингибитор окисления триптофана представляет собой ингибитор IDO1, IDO2 или TDO2.



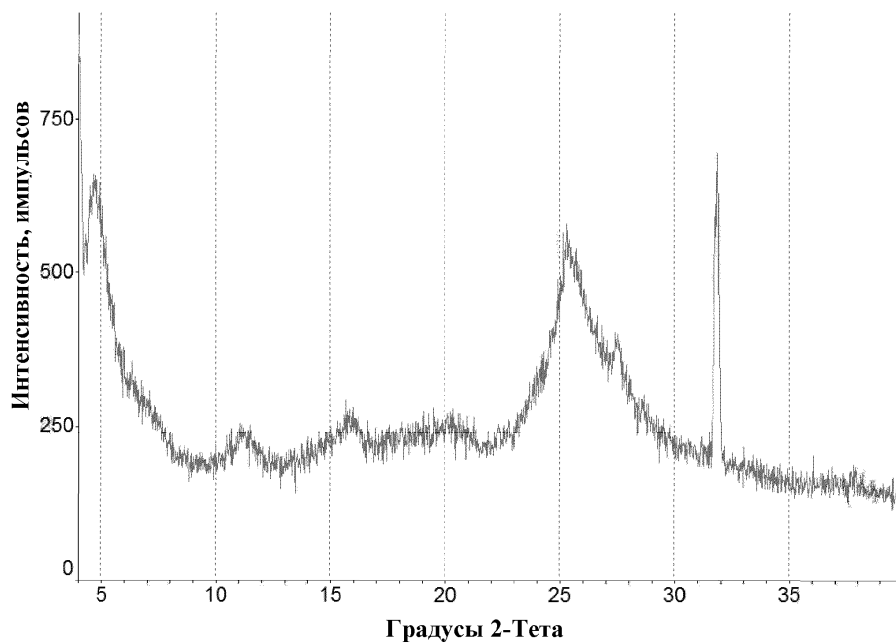
Фиг. 1



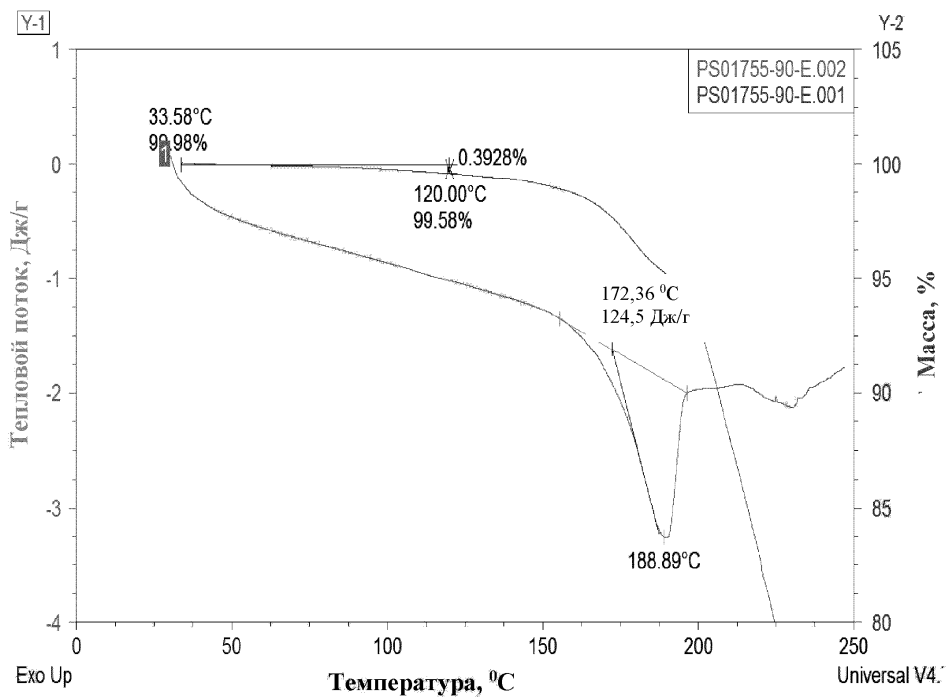
Фиг. 2



Фиг. 3

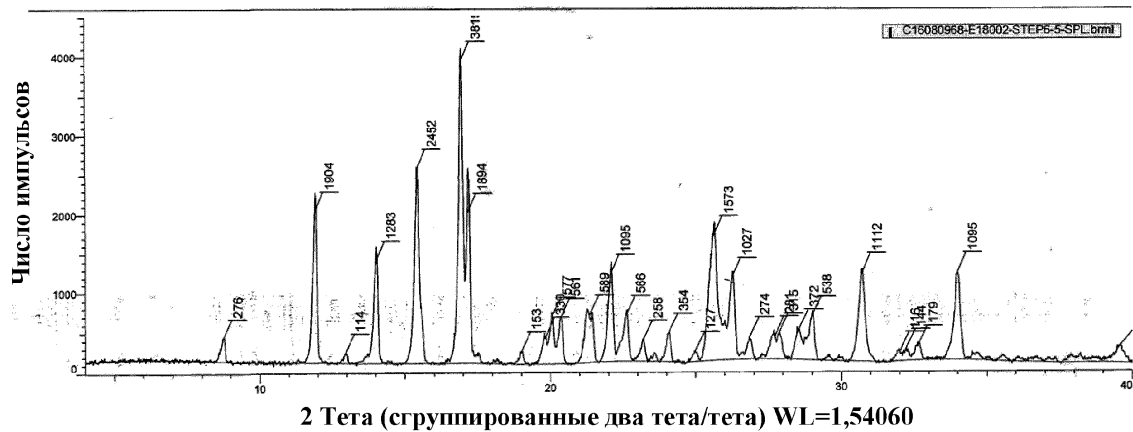


Фиг. 4



Фиг. 5

сгруппированные два тета-тета



Фиг. 6



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

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