



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 121376

(13) C2

(51) МПК

C07D 403/04 (2006.01)

C07D 471/04 (2006.01)

A61K 31/506 (2006.01)

A61P 31/16 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО РОЗВИТКУ  
ЕКОНОМІКИ, ТОРГІВЛІ ТА  
СІЛЬСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА  
УКРАЇНИ

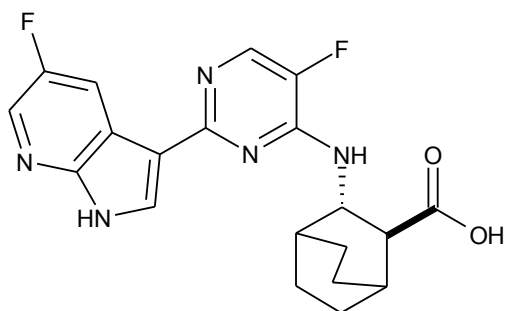
**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД**

<b>(21)</b> Номер заявки: <b>а 2016 06307</b>	<b>(72)</b> Винахідник(и): <b>Нті-Аддає Кваме В. (US), Волдо Майкл (US), О'Ніл Саймон Адам (US), ван Альстен Джон Греґ (US), Масикенас Дайніус (US), Мудунурі Правін (US), Ши І (US), Ледебур Марк Вілем (US), Юркаускас Валдас (US), Медек Алес (US), Джоунз Стивен (US), Берн Рендал (US), Асмаїл Могамед (US), Робертсон Сара Марі (US), Цаї Ваньцзун (US)</b>
<b>(22)</b> Дата подання заявки: <b>12.11.2014</b>	<b>(73)</b> Власник(и): <b>ВЕРТЕКС ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ ІНКОРПОРЕЙТЕД, 50 Northern Avenue, Boston, MA 02210, United States of America (US)</b>
<b>(24)</b> Дата, з якої є чинними права на винахід: <b>25.05.2020</b>	<b>(74)</b> Представник: <b>Бочаров Максим Анатолійович, реєстр. №367</b>
<b>(31)</b> Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: <b>61/903,572</b>	<b>(56)</b> Перелік документів, взятих до уваги експертизою: WO 2010148197 A1, 23.12.2010 CAIRA M R: "CRYSTALLINE POLYMORPHISM OF ORGANIC COMPOUNDS", TOPICS IN CURRENT CHEMISTRY, SPRINGER, BERLIN, DE, vol. 198, 1 January 1998 (1998-01-01), pages 163- 208
<b>(32)</b> Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: <b>13.11.2013</b>	
<b>(33)</b> Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: <b>US</b>	
<b>(41)</b> Публікація відомостей про заявку: <b>10.10.2016, Бюл.№ 19</b>	
<b>(46)</b> Публікація відомостей про видачу патенту: <b>25.05.2020, Бюл.№ 10</b>	
<b>(86)</b> Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ: <b>РСТ/US2014/065114, 12.11.2014</b>	

**(54) ІНГІБІТОРИ РЕПЛІКАЦІЇ ВІРУСІВ ГРИПУ****(57) Реферат:**

Поліморфна форма Сполуки (1) або її фармацевтично прийнятна сіль, де Сполука (1) представлена наступною структурною формулою:

UA 121376 C2



, (1)

Форми А солі НСІ Сполуки (1)×1/2H<sub>2</sub>O, Форми F солі НСІ Сполуки (1)×3H<sub>2</sub>O і Форми D солі НСІ Сполуки (1), Форми А Сполуки (1) і Форми А тозилату Сполуки (1). Такі поліморфні форми використовуються для лікування грипу, інгібування реплікації вірусів грипу або зменшення кількості вірусів грипу в біологічному зразку або у індивіда.

ПЕРЕХРЕСНЕ ПОСИЛАННЯ НА СПОРІДНЕНУ ЗАЯВКУ

[0001] За даною заявкою РСТ вимагається пріоритет попередньої заявки США номер 61/903572, поданої 13 листопада 2013 року. Цей документ включений у даний опис за допомогою посилання в повному обсязі.

5 ГАЛУЗЬ ТЕХНІКИ, ДО ЯКОЇ НАЛЕЖИТЬ ВІНАХІД

[0002] Даний винахід стосується сполук і твердих форм сполук, які можуть використовуватися для інгібування реплікації вірусу грипу, лікування або зниження тяжкості інфекції, викликаної грипом, у пацієнтів і профілактичного запобігання або скорочення випадків інфекції, викликаної грипом, у пацієнтів.

10 РІВЕНЬ ТЕХНІКИ

[0003] Грип поширюється по усьому світу як сезонні епідемії, що приводить до загибелі сотень тисяч щорічно і мільйонів у роки пандемії. Наприклад, у XX сторіччі було три пандемії грипу і загинули десятки мільйонів людей, кожна з цих пандемій була викликана виникненням нового штаму вірусу у людини. Часто ці нові штами виникають у результаті поширення існуючого вірусу грипу від видів тварин до людини.

[0004] Грип в основному передається від людини до людини за допомогою великих крапель, що містять вірус, які утворюються при кашлі або чиханні інфікованої людини; ці великі краплі можуть потім осідати на поверхню слизової оболонки верхніх дихальних шляхів чутливих індивідуумів, які знаходяться поблизу (наприклад, у межах приблизно 6 футів) від інфікованих людей. Передача також може відбутися в результаті прямого або непрямого контакту з виділеннями з дихальних шляхів, наприклад, доторкаючись до поверхонь, заражених вірусом грипу, а потім торкаючись очей, носа або рота. Дорослі індивідууми можуть передавати грип іншим за 1 день до прояву симптомів і приблизно протягом 5 днів після початку симптомів. Маленькі діти й індивіди з ослабленою імунною системою можуть бути заразними протягом 10 або більше днів після появи симптомів.

[0005] Віруси грипу являють собою РНК-віруси сімейства Orthomyxoviridae, який складається з п'яти родів: вірус грипу А, вірус грипу В, вірус грипу С, вірус ISA і вірус Тогото.

[0006] Рід вірусу грипу А має один вид, вірус грипу А. Дикі водоплавні птахи є природними хазяїнами великої різноманітності грипу А. Іноді віруси передаються іншим видам, що потім може викликати катастрофічні спалахи серед домашньої птиці або приводити до пандемії грипу у людини. Віруси типу А є найбільш вірулентними патогенами для людини серед трьох типів грипу і викликають найбільш важке захворювання. Вірус грипу А можна підрозділити на різні серотипи на основі гуморальної (антитільної) відповіді на ці віруси. Серотипами, що були підтверджені у людини, які розташовані по кількості відомих смертей людини при пандемії, є: H1N1 (який викликав Іспанський грип у 1918 році), H2N2 (який викликав Азіатський грип у 1957 році), H3N2 (який викликав Гонконгський грип у 1968 році), вірус H5N1 (загроза пандемії в сезон грипу 2007-08 рр.), H7N7 (який має надзвичайну зоонозну силу), H1N2 (ендемичний грип у людей і свиней), H9N2, H7N2, H7N3 і H10N7.

[0007] Рід вірусу грипу В має один вид, вірус грипу В. Грип В інфікує практично тільки людей і менш поширений, ніж грип А. Як відомо, єдиною твариною, сприйнятливою до інфекції грипом типу В, є тюлень. Швидкість мутування цього грипу в 2-3 рази повільніше, ніж типу А, і, отже, він менш генетично різноманітний і має тільки один серотип грипу В. У результаті такої недостатньої антигенної різноманітності деякий рівень імунітету до грипу В звичайно набувається в ранньому віці. Проте, грип В мутує у достатньому ступені і стійкий імунітет до нього неможливий. Такий знижений рівень антигенної зміни, у сполученні з обмеженим діапазоном хазяїнів (інгібуючий міжвидовий антигенний зсув), гарантує відсутність пандемії грипу В.

[0008] Вірус грипу роду С має один вид, вірус грипу С, що інфікує людей і свиней і може привести до важкого захворювання і локальних епідемій. При цьому, грип С зустрічається рідше, ніж інші типи, і, як правило, очевидно викликає легке захворювання у дітей.

[0009] Віруси грипу А, В і С дуже схожі за своєю структурою. Діаметр частинки вірусу складає 80-120 нм і, як правило, він має майже сферичну форму, хоча можуть виникати нитчасті форми. Геном являє собою не один фрагмент нуклеїнової кислоти, що незвичайно для вірусу; замість цього, він містить сім або вісім частин сегментованої негативної смислової РНК. Геном грипу А кодує 11 білків: гемаглютинін (HA), нейрамінідазу (NA), нуклеопротеїни (NP), M1, M2, NS1, NS2 (NEP), PA, PB1, PB1-F2 і PB2.

[0010] HA і NA є великими глікопротеїнами зовні вірусних частинок. HA являє собою лектин, що опосередковує зв'язування вірусу з клітинами-мішенями і проникнення вірусного геному в клітину-мішень, а NA бере участь у вивільненні потомства вірусу з інфікованих клітин шляхом розщеплення цукрів, що зв'язують зрілі вірусні частинки. Таким чином ці білки були мішенями

антивірусних препаратів. Крім того, вони є антигенами, відносно яких продукуються антитіла. Віруси грипу А класифікують на підтипи, на основі гуморальних (антитільних) відповідей на HA і NA, на цьому основана відмінність H і N (дивіться вище), наприклад H5N1.

[0011] Грип приводить до безпосередніх витрат у результаті втрати працездатності і пов'язаного з ним медичного лікування, а також до непрямих витрат на профілактичні заходи. У Сполучених Штатах на боротьбу з грипом витрачається загалом понад \$10 мільярдів на рік, але по проведених розрахунках пандемія в майбутньому може привести до сотень мільярдів доларів на прямі і непрямі витрати. Профілактичні витрати також великі. Урядами по усьому світу були витрачені мільярди доларів США на підготовку і планування боротьби з можливою пандемією пташиного грипу H5N1, беручи до уваги витрати, пов'язані з придбанням ліків і вакцин, а також на розробку навчань по боротьбі з нещастям і стратегій для поліпшення прикордонного контролю.

[0012] Сучасні варіанти лікування грипу включають вакцинацію і хіміотерапію або хіміопротекцію противірусними препаратами. Вакцинація проти грипу вакциною проти грипу часто рекомендується для груп з високим ризиком, таких як діти і люди похилого віку або люди, що страждають на астму, діабет або серцеві захворювання. Проте, можна зробити щеплення і при цьому занедужати грипом. Склад вакцини змінюється кожен сезон для декількох конкретних штамів вірусу грипу, але не може містити всі штами, що активно інфікують людей у світі протягом цього сезону. Для одержання складу і виробництва мільйонів доз, необхідних для боротьби з сезонними епідеміями, виробникам потрібно шість місяців; іноді протягом цього часу з'являється новий штам або активізується штам, випущений з уваги, і інфікує людей, хоча вони були вакциновані (як при грипі Фуцзяні H3N2 у сезоні 2003-2004 рр.). Крім того, можна заразитися безпосередньо перед вакцинацією і занедужати тим самим штамом, для захисту від якого передбачалася вакцина, оскільки до того, як вакцина стає ефективною, може знадобитися декілька тижнів.

[0013] Крім того, ефективність вакцин проти грипу є змінною величиною. Через високу швидкість мутації вірусу конкретна вакцина проти грипу, як правило, забезпечує захист не більше ніж на декілька років. Склад вакцини на один рік може виявитися неефективним у наступному році, оскільки вірус грипу швидко змінюється з часом і інші штами стають домінуючими.

[0014] Крім того, через відсутність ферментів, що виправляють РНК, РНК-залежна РНК-полімераза ВРНК грипу робить помилку, вставку одного нуклеотиду, приблизно кожні 10 тисяч нуклеотидів, що відповідає зразковій довжині ВРНК грипу. Таким чином, майже кожен знову одержаний вірус грипу має мутант-антигенний дрейф. Розділення геному на вісім окремих сегментів ВРНК дозволяє змішувати або пересортовувати ВРНК, якщо клітина інфікована більше ніж однією вірусною лінією. Швидка зміна у генетиці вірусів, що відбувається в результаті, забезпечує антигенні зсуви і дозволяє вірусу інфікувати нові види хазяїнів і швидко долати захисний імунітет.

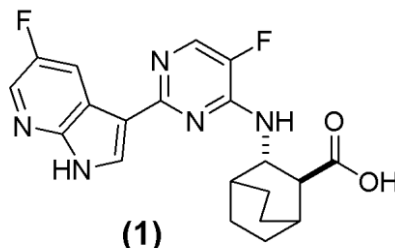
[0015] Противірусні препарати також можуть бути використані для лікування грипу, особливо ефективні інгібітори нейрамінідази, але віруси можуть виробляти стійкість до стандартних противірусних препаратів. Такі агенти можуть бути одержані таким чином, щоб мати різні хімічні форми, включаючи хімічні похідні або солі, або мати різні фізичні форми. Наприклад, вони можуть бути аморфними, можуть мати різні кристалічні поліморфи або можуть існувати в різних станах сольватації або гідратації. Змінюючи форми, можна змінювати їх фізичні властивості. Такі різні форми можуть мати різні властивості, зокрема пероральні склади. Зокрема, може бути бажаним визначити поліпшені форми, що мають поліпшені властивості, наприклад підвищену розчинність у воді і стабільність, кращу технологічність або одержання фармацевтичних складів і збільшену пероральну біодоступність композицій. Такі поліпшені властивості, зазначені вище, можуть бути змінені таким чином, який буде мати перевагу для специфічного терапевтичного ефекту.

[0016] Зміна форми противірусного засобу може бути одним з багатьох способів зміни фізичних властивостей такого противірусного засобу, щоб зробити його більш ефективним для лікування грипу.

#### КОРОТКИЙ ОПИС ВИНАХОДУ

[0017] Даний винахід загалом стосується поліморфних форм Сполуки (1) або фармацевтично прийнятної солі, фармацевтично прийнятних складів, способів одержання таких поліморфних форм Сполуки (1) і застосування таких поліморфних форм для інгібування реплікації вірусів грипу, для зменшення кількості вірусів грипу і для лікування грипу.

[0018] В одному з варіантів здійснення даний винахід стосується поліморфної форми Сполуки (1) або фармацевтично прийнятної солі, де Сполука (1) представлена наступною структурною формулою:



5 і де поліморфна форма вибрана з групи, що складається з: Форми А солі HCl Сполуки (1)×1/2H<sub>2</sub>O, Форми F солі HCl Сполуки (1)×3H<sub>2</sub>O і Форми D солі HCl Сполуки (1), Форми А Сполуки (1) і Форми А тозилату Сполуки (1).

10 [0019] У ще одному з варіантів здійснення даний винахід стосується фармацевтично прийнятної солі, як описано в даному документі, і щонайменше один фармацевтично прийнятний носій або ексципієнт.

15 [0020] У ще одному варіанті здійснення даний винахід стосується способу інгібування реплікації вірусу грипу в біологічному зразку *in vitro* або у пацієнта. Спосіб включає введення в зразок ефективної кількості поліморфної форми Сполуки (1) або фармацевтично прийнятної солі, як розкрито в даному документі.

[0021] У ще одному варіанті здійснення даний винахід стосується способу зменшення кількості вірусу грипу в біологічному зразку *in vitro* або у пацієнта. Спосіб включає введення в зразок ефективної кількості поліморфної форми Сполуки (1) або фармацевтично прийнятної солі, як розкрито в даному документі.

20 [0022] У ще одному варіанті здійснення даний винахід стосується способу лікування вірусу грипу у пацієнта. Спосіб включає введення в зразок ефективної кількості поліморфної форми Сполуки (1) або фармацевтично прийнятної солі, як розкрито в даному документі.

25 [0023] У ще одному варіанті здійснення даний винахід стосується способу одержання Форми А солі HCl Сполуки (1)×1/2H<sub>2</sub>O. Спосіб включає змішування HCl зі Сполукою (1) у системі розчинників, яка включає воду й один або декілька органічних розчинників, де система розчинників має активність води, що дорівнює 0,05-0,85. Сполука (1) може бути сольватованою або несольватованою і/або аморфною або кристалічною.

30 [0024] У ще одному варіанті здійснення даний винахід стосується способу одержання Форми F солі HCl Сполуки (1)×3H<sub>2</sub>O. Спосіб включає змішування HCl і Сполуки (1) у системі розчинників, яка включає воду або яка включає воду й один або декілька органічних розчинників, де система розчинників має активність води, що дорівнює або більше 0,9, наприклад 0,9-1,0; або перемішування Форми А солі HCl Сполуки (1)×1/2H<sub>2</sub>O в системі розчинників, яка включає воду або яка включає воду й один або декілька органічних розчинників, де система розчинників має активність води, що дорівнює або більше 0,9, наприклад 0,9-1,0. Сполука (1) може бути сольватованою або несольватованою і/або аморфною або кристалічною.

[0025] У ще одному варіанті здійснення даний винахід стосується способу одержання Форми D солі HCl Сполуки (1). Спосіб включає дегідрування Форми А солі HCl Сполуки (1)×1/2H<sub>2</sub>O.

40 [0026] У ще одному варіанті здійснення даний винахід стосується способу одержання Форми А Сполуки (1). Метод включає перемішуванні аморфної Сполуки (1) або сольвату Сполуки (1) у системі розчинників, яка включає воду і етанол.

45 [0027] У ще одному варіанті здійснення даний винахід стосується способу одержання Форми А тозилату Сполуки (1). Метод включає перемішуванні суміші аморфної Сполуки (1) або сольвату Сполуки (1), *p*-толуолсульфонової кислоти і системи розчинників, яка включає ацетонітрil.

[0028] 2-Метил-THF сольват Сполуки (1) також входить до складу винаходу.

[0029] У ще одному варіанті здійснення даний винахід стосується способу зниження кількості вірусу грипу в біологічному зразку *in vitro* або у індивідуума, який включає введення в зразок ефективної кількості поліморфної форми Сполуки (1), як описано в даному документі.

50 [0030] Ще один варіант здійснення даного винаходу стосується способу інгібування реплікації вірусів грипу в біологічному зразку *in vitro* або у індивідуума, який включає введення в зразок ефективної кількості поліморфної форми Сполуки (1), як описано в даному документі.

[0031] У ще одному варіанті здійснення винахід стосується способу лікування вірусу грипу у індивідуума, який включає введення індивіду ефективної кількості поліморфної форми Сполуки (1), як описано в даному документі.

[0032] Винахід також стосується застосування поліморфних форм Сполуки (1), як описано тут, для інгібування реплікації вірусу грипу, для зменшення кількості вірусу грипу або для лікування грипу, у індивіда. Винахід також стосується застосування поліморфної форми Сполуки (1), як описано в даному документі, для одержання лікарського засобу для інгібування реплікації вірусу грипу, для зменшення кількості вірусу грипу або для лікування грипу, у індивіда.

[0033] У ще одному аспекті, даний винахід стосується режиму доз Сполуки (1) або її фармацевтично прийнятної солі (наприклад, Форма А солі HCl Сполуки (1)×1/2H<sub>2</sub>O, Форма F солі HCl Сполуки (1)×3H<sub>2</sub>O, Форма D солі HCl Сполуки (1), Форма А Сполуки (1) і Форма А тозилату Сполуки (1)) у діапазоні від 100 мг до 1600 мг.

#### КОРОТКИЙ ОПИС КРЕСЛЕНЬ

[0034] Фіг. 1 і 2 являють собою зображення порошкової рентгенівської дифракції (XRPD) і спектр твердотільної спектроскопії ядерно-магнітного резонансу на C<sup>13</sup> (C<sup>13</sup> SSNMR) Форми А солі HCl Сполуки (1)×1/2H<sub>2</sub>O, відповідно.

[0035] Фіг. 3 і 4 являють собою зображення XRPD і спектр C<sup>13</sup> SSNMR Форми F солі HCl Сполуки (1)×3H<sub>2</sub>O, відповідно.

[0036] Фіг. 5 і 6 являють собою зображення XRPD і спектр C<sup>13</sup> SSNMR Форми D солі HCl Сполуки (1), відповідно.

[0037] Фіг. 7 і 8 являють собою зображення XRPD і спектр C<sup>13</sup> SSNMR Форми А Сполуки (1), відповідно.

[0038] Фіг. 9 являє собою зображення XRPD Форми А тозилату Сполуки (1).

[0039] Фіг. 10 являє собою зображення XRPD 2-метилтетрагідрофурану (2-MeTHF) сольвату Сполуки (1).

[0040] Фіг. 11 являє собою зображення XRPD аморфної форми Сполуки (1).

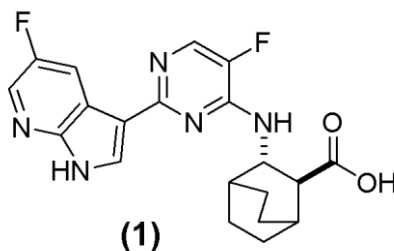
[0041] Фіг. 12 являє собою фазову діаграму температури проти активності води для переходу між різними поліморфами солі HCl Сполуки (1).

[0042] Фіг. 13 являє собою графік, що показує AUC виділення вірусу для групи, яка одержувала дозу 1200/600 мг Форми А солі HCl Сполуки (1)×1/2H<sub>2</sub>O, на моделі з зараженням людини живим атенуйованим вірусом.

#### ДОКЛАДНИЙ ОПИС ВИНАХОДУ

##### [0043] І. ТВЕРДІ ФОРМИ

[0044] Сполука (1), представлена наступною структурною формулою:



і її фармацевтично прийнятні солі можуть інгібувати реплікацію вірусу грипу і також описані в публікації WO 2010/148197.

[0045] Сполука (1) може існувати або утворювати різні поліморфні форми. Як відомо в даній галузі, поліморфізм являє собою здатність сполуки кристалізуватися у вигляді більше одного окремого кристалічного або "поліморфного" виду. Поліморф являє собою тверду кристалічну фазу сполуки щонайменше з двома різними відносними розташуваннями або поліморфними формами молекули цієї сполуки у твердому стані. Поліморфні форми будь-якої конкретної сполуки визначаються тією ж хімічною формулою або композицією і відрізняються за хімічною структурою як кристалічні структури двох різних хімічних сполук. Як правило, різні поліморфні форми можуть бути охарактеризовані за допомогою аналітичних методів, таких як порошкова рентгенівська дифракція (XRPD) з одержанням профілю, термогравіметричний аналіз (TGA) і диференціальна скануюча калориметрія (DSC), або по точці плавлення або іншими способами, відомими в даній галузі. Використовуваний у даному описі термін "поліморфна форма" включає в себе сольвати і чисту поліморфну форму, яка не має ніяких сольватів.

[0046] Використовуваний у даному описі термін "Сполука (1)" означає форму вільної основи Сполуки (1). Відповідно, "сіть HCl Сполуки (1)" означає сіть HCl вільної основи сполуки, і

"тозилат Сполуки (1)" означає тозилат вільної основи сполуки. Слід зазначити, що Сполука (1) і солі Сполуки (1) можуть бути сольватованими або несольватованими, якщо не зазначено іншого. Слід також зазначити, що Сполука (1) і солі Сполуки (1) можуть бути кристалічними або аморфними, якщо не зазначено іншого.

5 [0047] В одному з варіантів здійснення даний винахід стосується поліморфної Форми А солі HCl Сполуки (1)×1/2H<sub>2</sub>O. Ця форма є поліморфною формою солі HCl Сполуки (1), яка містить воду як сольват з половинним еквівалентом на Сполуку (1). В одному з конкретних варіантів здійснення Форма А солі HCl Сполуки (1)×1/2H<sub>2</sub>O характеризується тим, що має один або більше піків, які відповідають значенням 2-тета, виміряним у градусах, що дорівнюють 10,5, 5,2, 10 7,4 і 18,9 (±0,2 градуса) на порошковій рентгенограмі. В іншому конкретному варіанті здійснення Форма А солі HCl Сполуки (1)×1/2H<sub>2</sub>O також характеризується одним або більше піками, які відповідають значенням 2-тета, виміряним у градусах, що дорівнюють 25,2±0,2, 16,5±0,2, 18,1±0,2 і 23,0±0,2 на порошковій рентгенограмі. В іншому конкретному варіанті здійснення Форма А солі HCl Сполуки (1)×1/2H<sub>2</sub>O характеризується тим, що має профіль XRPD з 15 характеристичними піками, вираженими в 2-тета±0,2, у наступних положеннях, зазначених у Таблиці 2. У ще одному конкретному варіанті здійснення Форма А солі HCl Сполуки (1)×1/2H<sub>2</sub>O характеризується тим, що має профіль XRPD, по суті такий же, як показано на Фіг. 1. Профілі XRPD одержують при кімнатній температурі, використовуючи альфа-випромінювання CuK. У ще одному конкретному варіанті здійснення поліморфна Форма А солі HCl Сполуки (1)×1/2H<sub>2</sub>O характеризується тим, що має один або більше характеристичних піків при 29,2, 107,0, 114,0, і 20 150,7 (±0,3 м.ч.) у спектрі SSNMR на C<sup>13</sup>. У ще одному конкретному варіанті здійснення поліморфна Форма А солі HCl Сполуки (1)×1/2H<sub>2</sub>O характеризується тим, що додатково має піки при 22,1, 24,6, 47,7 і 54,8 (±0,3 м.ч.) у спектрі SSNMR на C<sup>13</sup>. У ще одному конкретному варіанті здійснення Форма А солі HCl Сполуки (1)×1/2H<sub>2</sub>O характеризується тим, що має піки SSNMR на C<sup>13</sup>, перераховані в Таблиці 3. У ще одному конкретному варіанті здійснення Форма А солі HCl Сполуки (1)×1/2H<sub>2</sub>O характеризується тим, що має SSNMR на C<sup>13</sup>, по суті такий же, як показано на Фіг. 2.

[0048] В одному з варіантів здійснення даний винахід стосується поліморфної Форми F солі HCl Сполуки (1)×3H<sub>2</sub>O. Ця форма є поліморфною формою солі HCl Сполуки (1), яка містить воду як сольват із трьома еквівалентами на Сполуку (1). В одному з конкретних варіантів здійснення Форма F солі HCl Сполуки (1)×3H<sub>2</sub>O характеризується тим, що має один або більше піків, які відповідають значенням 2-тета, виміряним у градусах, що дорівнюють 7,1, 11,9, 19,2 і 12,4 (±0,2) на порошковій рентгенограмі. В іншому конкретному варіанті здійснення Форма F солі HCl Сполуки (1)×3H<sub>2</sub>O додатково характеризується тим, що має один або більше піків, які 35 відповідають значенням 2-тета, виміряним у градусах, що дорівнюють 16,4, 21,8 і 23,9 (±0,2) на порошковій рентгенограмі. В іншому конкретному варіанті здійснення Форма F солі HCl Сполуки (1)×3H<sub>2</sub>O характеризується тим, що має профіль XRPD з характеристичними піками, вираженими в 2-тета±0,2, у наступних положеннях, зазначених у Таблиці 5. У ще одному конкретному варіанті здійснення Форма F солі HCl Сполуки (1)×3H<sub>2</sub>O характеризується тим, що 40 містить профіль XRPD, по суті такий же, як показано на Фіг. 3. Профілі XRPD одержують при кімнатній температурі, використовуючи альфа-випромінювання CuK. У ще одному конкретному варіанті здійснення поліморфна Форма F солі HCl Сполуки (1)×3H<sub>2</sub>O характеризується піками при 20,7, 27,4, 104,8, 142,5, 178,6 (±0,3 м.ч.) у спектрі SSNMR на C<sup>13</sup>. У ще одному конкретному варіанті здійснення поліморфна Форма F солі HCl Сполуки (1)×3H<sub>2</sub>O характеризується тим, що 45 додатково має піки при 154,3, 20,3, 132,3 і 21,1 (±0,3 м.ч.) у спектрі SSNMR на C<sup>13</sup>. У ще одному конкретному варіанті здійснення Форма F солі HCl Сполуки (1)×3H<sub>2</sub>O характеризується тим, що має піки SSNMR на C<sup>13</sup>, перераховані в Таблиці 6. У ще одному конкретному варіанті здійснення Форма F солі HCl Сполуки (1)×3H<sub>2</sub>O характеризується тим, що має спектр SSNMR на C<sup>13</sup>, по суті такий же, як показано на Фіг. 4.

50 [0049] В одному з варіантів здійснення даний винахід стосується поліморфної Форми D солі HCl Сполуки (1). Ця форма є несольватованою формою солі HCl Сполуки (1). В одному з конкретних варіантів здійснення Форма D солі HCl Сполуки (1) характеризується тим, що має один або більше піків, які відповідають значенням 2-тета, виміряним у градусах, що дорівнюють 5,8, 17,1 і 19,5 (±0,2) на порошковій рентгенограмі. У ще одному конкретному варіанті здійснення Форма D солі HCl Сполуки (1) характеризується тим, що має один або більше піків, 55 які відповідають значенням 2-тета, виміряним у градусах, що дорівнюють 5,3, 10,5 і 15,9 (±0,2) на порошковій рентгенограмі. В іншому конкретному варіанті здійснення Форма D солі HCl Сполуки (1) характеризується тим, що має профіль XRPD з характеристичними піками,

вираженими в  $2\text{-тета} \pm 0,2$ , у положеннях, зазначених у Таблиці 7. У ще одному конкретному варіанті здійснення Форма D солі HCl Сполуки (1) характеризується тим, що має профіль XRPD, по суті такий же, як показано на Фіг. 5. Профілі XRPD одержують при кімнатній температурі, використовуючи альфа-випромінювання CuK. У ще одному конкретному варіанті здійснення Форма D солі HCl Сполуки (1) характеризується тим, що має піки при 29,4, 53,4, 113,3, 135,4, 177,8 ( $\pm 0,3$  м.ч.) у спектрі SSNMR на  $C^{13}$ . У ще одному конкретному варіанті здійснення Форма D солі HCl Сполуки (1) характеризується тим, що додатково має піки при 22,9, 23,9, 26,0 і 31,6 ( $\pm 0,3$  м.ч.) у спектрі SSNMR на  $C^{13}$ . У ще одному конкретному варіанті здійснення Форма D солі HCl Сполуки (1) характеризується тим, що має піки SSNMR на  $C^{13}$ , перераховані в Таблиці 8. У ще одному конкретному варіанті здійснення Форма D солі HCl Сполуки (1) характеризується тим, що має спектр SSNMR на  $C^{13}$ , по суті такий же, як показано на Фіг. 6.

[0050] В одному з варіантів здійснення даний винахід стосується поліморфної Форми А Сполуки (1). Ця форма є несольватованою формою солі HCl Сполуки (1). В одному з конкретних варіантів здійснення Форма А Сполуки (1) характеризується тим, що має один або більше піків, які відповідають значенням 2-тета, виміряним у градусах, що дорівнюють 15,5, 18,9 і 22,0 ( $\pm 0,2$ ) на порошковій рентгенограмі. В іншому конкретному варіанті здійснення Форма А Сполуки (1)  $\times 3H_2O$  додатково характеризується тим, що має один або більше піків, які відповідають значенням 2-тета, виміряним у градусах, що дорівнюють 11,8, 16,9, 25,5 і 9,1 ( $\pm 0,2$ ) на порошковій рентгенограмі. В іншому конкретному варіанті здійснення Форма А Сполуки (1) характеризується тим, що має профіль XRPD з характеристичними піками, вираженими в  $2\text{-тета} \pm 0,2$ , у положеннях, зазначених у Таблиці 10. У ще одному конкретному варіанті здійснення Форма А Сполуки (1) характеризується тим, що має профіль XRPD, по суті такий же, як показано на Фіг. 7. Профілі XRPD одержують при кімнатній температурі, використовуючи альфа-випромінювання CuK. У ще одному конкретному варіанті здійснення Форма А Сполуки (1) характеризується тим, що має піки при 21,0, 28,5, 50,4, 120,8, 138,5 і 176,2 ( $\pm 0,3$  м.ч.) у спектрі SSNMR на  $C^{13}$ . У ще одному конкретному варіанті здійснення Форма А Сполуки (1) характеризується тим, що має піки при 30,1, 25,9, 22,8 і 25,0 ( $\pm 0,3$  м.ч.) у спектрі SSNMR на  $C^{13}$ . У ще одному конкретному варіанті здійснення Форма А Сполуки (1) характеризується тим, що має піки SSNMR на  $C^{13}$ , перераховані в Таблиці 11. У ще одному конкретному варіанті здійснення Форма А Сполуки (1) характеризується тим, що має спектр SSNMR на  $C^{13}$ , по суті такий же, як показано на Фіг. 8.

[0051] В одному з варіантів здійснення даний винахід стосується поліморфної Форми А тозилату Сполуки (1). Ця форма є несольватованою формою тозилату Сполуки (1). В одному з конкретних варіантів здійснення Форма А тозилату Сполуки (1) характеризується тим, що має один або більше піків, які відповідають значенням 2-тета, виміряним у градусах, що дорівнюють 7,2, 9,3, 13,7, 14,3, 14,7, 16,9, 18,7, 26,3 і 26,9 ( $\pm 0,2$ ) на порошковій рентгенограмі. В іншому конкретному варіанті здійснення Форма А тозилату Сполуки (1) додатково характеризується тим, що має один або більше піків, які відповідають значенням 2-тета, виміряним у градусах, що дорівнюють 6,0, 28,0 і 27,5 ( $\pm 0,2$ ) на порошковій рентгенограмі. В іншому конкретному варіанті здійснення Форма А тозилату Сполуки (1) характеризується тим, що має профіль XRPD з характеристичними піками, вираженими в  $2\text{-тета} \pm 0,2$ , у наступних положеннях, зазначених у Таблиці 14. У ще одному конкретному варіанті здійснення Форма А тозилату Сполуки (1) характеризується тим, що має профіль XRPD, по суті такий же, як показано на Фіг. 9. Профілі XRPD одержують при кімнатній температурі, використовуючи альфа-випромінювання CuK.

[0052] У ще одному варіанті здійснення даний винахід стосується одержання Форми А солі HCl Сполуки (1)  $\times 1/2H_2O$ , Форми F солі HCl Сполуки (1)  $\times 3H_2O$  і Форми D солі HCl Сполуки (1), Форми А Сполуки (1) і Форми А тозилату Сполуки (1).

[0053] Форма А солі HCl Сполуки (1)  $\times 1/2H_2O$  може бути одержана з використанням змішування (наприклад, перемішування) хлористого водню (HCl) зі Сполукою (1). Сполука (1) може бути сольватованою, несольватованою, аморфною або кристалічною. Розчин або суспензія Сполуки (1) можуть бути змішані з HCl у системі розчинників, яка включає в себе воду й один або декілька органічних розчинників, де система розчинників має активність води, що дорівнює або більше 0,05 і дорівнює або менше 0,85, тобто 0,05-0,85. Термін "активність води" ( $a_w$ ), як використовується в даному описі, відомий у даній галузі техніки й означає міру енергетичного стану води в системі розчинників. Активність води визначається як тиск пари рідини, ділений на тиск чистої води при тій же температурі. Зокрема, активність води

визначається як  $a_w = \frac{p}{p_o}$ , де  $p$  являє собою тиск пари води в речовині, і  $p_o$  являє собою тиск пари чистої води при тій же температурі, або  $a_w = l_w \times x_w$ , де  $l_w$  являє собою коефіцієнт



активності води і  $x_o$  являє собою молярну частку води у водній фракції. Наприклад, чиста вода має значення активності води 1,0. Значення активності води, як правило, можуть бути одержані або по ємності гігрометра, або по точці роси гігрометра. Різні види інструментів для вимірювання активності води також є в продажу. Альтернативно, значення активності води сумішей двох або більше розчинників можуть бути розраховані на основі кількостей розчинників і відомих значень активності води розчинників.

[0054] Приклад кристалічної Сполуки (1) включає Форму А Сполуки (1). Приклади сольватів Сполуки (1) включають в себе сольвати 2-МеТНФ, N, N-диметилацетамід, N, N-диметилформамід, метанолу, ксилолу, ацетону, 2-бутанолу, метилацетату, 1-пропанолу, 2-пропанолу, тетрагідрофурану, метилтетрагідрофурану, диметилацетаміду, N, N-диметилформаміду, 1,4-діоксану, 1-пентанолу, 2-метил-1-пропанолу, метилетилкетону, 3-метил-1-бутанолу, гептану, етилформіату, 1-бутанолу, оцтової кислоти і етиленгліколю. У конкретному варіанті здійснення використовуються сольвати 2-МеТНФ (наприклад, Сполука (1)×1(2-МеТНФ)).

[0055] Системи розчинників, придатні для одержання Форми А солі НСІ Сполуки (1)×1/2Н<sub>2</sub>О, можуть містити велику різноманітність комбінацій води й органічних розчинників, де активність води системи розчинників дорівнює або більше 0,05 і дорівнює або менше 0,85 (0,05-0,85). У конкретному варіанті здійснення значення активності води дорівнює 0,4-0,6. Придатні органічні розчинники включають органічні розчинники Класу II або Класу III, перераховані в керівництві Міжнародної конференції по гармонізації. Конкретні приклади придатних органічних розчинників Класу II включають хлорбензол, циклогексан, 1,2-дихлоретан, дихлорметан, 1,2-диметоксіетан, N, N-диметилацетамід, диметилформамід, 1,4-діоксан, 2-етоксіетанол, формамід, гексан, 2-метоксіетанол, метилбутилкетон, метилциклогексан, N-метилпіролідон, ніторметан, піридин, сульфолан, тетрагідрофуран (ТНФ), тетралін, толуол, 1,1,2-трихлоретилен і ксиол. Конкретні приклади придатних органічних розчинників Класу III включають: оцтову кислоту, ацетон, анізол, 1-бутанол, 2-бутанол, бутилацетат, трет-бутилметиловий ефір, кумол, гептан, ізобутилацетат, ізопропілацетат, метилацетат, 3-метил-1-бутанол, метилетилкетон, метилізобутилкетон, 2-метил-1-пропанол, етилацетат, етиловий ефір, етилформіат, пентан, 1-пентанол, 1-пропанол, 2-пропанол і пропілацетат. В одному з конкретних варіантів здійснення винаходу органічні розчинники системи розчинників вибрані з групи, що складається з хлорбензолу, циклогексану, 1,2-дихлоретану, дихлорметану, 1,2-диметоксіетану, гексану, 2-метоксіетанолу, метилбутилкетону, метилциклогексану, ніторметану, тетраліну, ксилолу, толуолу, 1,1,2-трихлоретану, ацетону, анізолу, 1-бутанолу, 2-бутанолу, бутилацетату, трет-бутилового ефіру, кумолу, етанолу, етилацетату, етилового ефіру, етилформіату, гептану, ізобутилацетату, ізопропілацетату, метилацетату, 3-метил-1-бутанолу, метилетилкетону, 2-метил-1-пропанолу, пентану, 1-пропанолу, 1-пентанолу, 2-пропанолу, пропілацетату, тетрагідрофурану і метилтетрагідрофурану. В іншому конкретному варіанті здійснення органічні розчинники системи розчинників вибрані з групи, що складається з 2-етоксіетанолу, етиленгліколю, метанолу, 2-метоксіетанолу, 1-бутанолу, 2-бутанолу, 3-метил-1-бутанолу, 2-метил-1-пропанолу, етанолу, 1-пентанолу, 1-пропанолу, 2-пропанолу, метилбутилкетону, ацетону, метилетилкетону, метилізобутилкетону, бутилацетату, ізобутилацетату, ізопропілацетату, метилацетату, етилацетату, пропілацетату, піридину, толуолу і ксилолу. У ще одному варіанті здійснення органічні розчинники вибрані з групи, що складається з ацетону, n-пропанолу, ізопропанолу, ізобутилацетату й оцтової кислоти. У ще одному варіанті здійснення органічні розчинники вибрані з групи, що складається з ацетону і ізопропанолу. У ще одному конкретному варіанті здійснення система розчинників включає воду й ацетон. У ще одному конкретному варіанті здійснення система розчинників включає воду і ізопропанол.

[0056] Одержання Форми А солі НСІ Сполуки (1)×1/2Н<sub>2</sub>О може бути здійснене при будь-якій придатній температурі. Як правило, одержання здійснюють при температурі 5-75 °С. У конкретному варіанті здійснення одержання здійснюють при температурі 15-75 °С. В іншому конкретному варіанті здійснення одержання здійснюють при температурі 15-60 °С. У ще одному конкретному варіанті здійснення одержання здійснюють при температурі 15-35 °С. У ще одному конкретному варіанті здійснення одержання здійснюють при температурі 5-75 °С у системі розчинників, що має значення активності води 0,4-0,6. У ще одному конкретному варіанті здійснення одержання здійснюють при температурі 15-75 °С в системі розчинників, що має значення активності води 0,4-0,6. У ще одному конкретному варіанті здійснення одержання здійснюють при температурі 15-60 °С в системі розчинників, що має значення активності води 0,4-0,6. У ще одному конкретному варіанті здійснення одержання здійснюють при температурі 15-35 °С в системі розчинників, що має значення активності води 0,4-0,6.

[0057] Хлористий водень (HCl) може бути введений у вигляді розчину або газу. Одним із прикладів придатного джерела хлористого водню є розчин хлористого водню, що містить 30-40 мас. % (наприклад, 34-38 мас. %) HCl по масі водного розчину.

[0058] Форма F солі HCl Сполуки (1)×3H<sub>2</sub>O може бути одержана шляхом змішування HCl і Сполуки (1) у системі розчинників, яка включає в себе воду або яка включає в себе воду й один або декілька органічних розчинників, де система розчинників має активність води, що дорівнює або більше 0,9 (≥0,9). Суміш може являти собою розчин або суспензію. Сполука (1) може бути сольватованою, несольватованою, аморфною або кристалічною. Альтернативно, вона може бути одержана шляхом перемішування Форми A солі HCl Сполуки (1)×1/2H<sub>2</sub>O у системі розчинників, яка включає в себе воду або яка включає воду й один або більше органічних розчинників, де система розчинників має активність води, що дорівнює або більше 0,9. Як правило, чиста вода має значення активності води 1,0. Відповідно, система розчинників, яка має водну активність 0,9-1,0, може бути придатна для одержання Форми F солі HCl Сполуки (1)×3H<sub>2</sub>O. У конкретному варіанті здійснення, змішування або перемішування здійснюють при температурі навколишнього середовища (18-25 °C). У ще одному конкретному варіанті здійснення, змішування або перемішування проводять при температурі 15-30 °C. В іншому конкретному варіанті здійснення, змішування або перемішування проводять при температурі 20-28 °C (наприклад, при 25 °C). Придатними органічними розчинниками, включаючи конкретні приклади, для утворення Форми F солі HCl Сполуки (1)×3H<sub>2</sub>O, є розчинники, як описано вище для Форми A солі HCl Сполуки (1)×1/2H<sub>2</sub>O. У ще одному конкретному варіанті здійснення система розчинників включає воду й ацетон. У ще одному конкретному варіанті здійснення система розчинників включає воду і ізопропанол.

[0059] Форма D солі HCl Сполуки (1) може бути одержана шляхом дегідратації Форми A солі HCl Сполуки (1)×1/2H<sub>2</sub>O. Дегідратація може бути здійснена за допомогою будь-яких придатних засобів, наприклад нагріванням або сухим продуванням азотом, або ними разом.

[0060] Форма A Сполуки (1) може бути одержана (а) шляхом перемішування суміші аморфної Сполуки (1) або сольвату Сполуки (1) (наприклад, сольвату 2-МеТНФ Сполуки (1)) у системі розчинників, яка включає в себе воду і етанол. Суміш може бути розчином або суспензією. У конкретному варіанті здійснення стадію перемішування проводять при температурі в діапазоні від 18 до 90 °C. В іншому конкретному варіанті здійснення стадію перемішування (а) здійснюють при температурі кипіння зі зворотним холодильником системи розчинників. У ще одному конкретному варіанті здійснення система розчинників включає від 5 мас. % до 15 мас. % води по масі системи розчинників. Прикладами сольватів Сполуки (1) є сольвати, як описано вище. У конкретному варіанті здійснення використовуються сольвати 2-МеТНФ (наприклад, Сполука (1)×1(2-МеТНФ)).

[0061] У ще одному варіанті здійснення спосіб одержання Форма A Сполуки (1) додатково включає: (b) перемішування аморфної форми Сполуки (1) у нітрометані з утворенням кристалічної затравки Форми A Сполуки (1); і (c) додавання кристалічної затравки Форми A Сполуки (1) до одержаної суміші на стадії змішування (а). У конкретному варіанті здійснення способи додатково включають: (b) перемішування аморфної форми Сполуки (1) у нітрометані з утворенням кристалічної затравки Форми A Сполуки (1); (c) охолодження одержаної суміші на стадії змішування (а) до температури в діапазоні від 18 до 60 °C (наприклад, 50-55 °C або при 55 °C); і (d) додавання кристалічної затравки Форми A Сполуки (1) до одержаної суміші стадії (c). В іншому конкретному варіанті здійснення способи додатково включають додавання води, перед додаванням кристалічної затравки Форми A Сполуки (1), до одержаної суміші, що пройшла через стадію нагрівання зі зворотним холодильником, у такій кількості, щоб одержана система розчинників містила воду в кількості 15-25 мас. % після додавання води. У ще одному конкретному варіанті здійснення способи додатково включають додавання води до суміші, що містить кристалічну затравку Форми A Сполуки (1), у такій кількості, щоб система розчинників містила воду в кількості 35-45 мас. % після додавання води. У ще одному конкретному варіанті здійснення способи додатково включають охолодження суміші, що містить кристалічну затравку Форми A Сполуки (1), після додавання води, до температури 0-10 °C.

[0062] В одному з конкретних варіантів здійснення кристалічна Форма A Сполуки (1) може бути одержана за допомогою сольвату 2-МеТНФ Сполуки (1) у нітрометані. В одному з варіантів здійснення система розчинників для стадії нагрівання зі зворотним холодильником включає 5-15 мас. % (наприклад, 8 мас. %, 10 мас. % або 12 мас. %) води по масі системи розчинників.

[0063] Форма A тозилату Сполуки (1) може бути одержана шляхом перемішування суміші аморфної Сполуки (1) або сольвату Сполуки (1) (наприклад, сольвату 2-МеТНФ Сполуки (1)) п-толуолсульфонової кислоти і системи розчинників, яка включає ацетонітрил. У конкретному варіанті здійснення, стадію змішування або перемішування здійснюють при температурі

навколишнього середовища. У ще одному конкретному варіанті здійснення, стадію змішування або перемішування здійснюють при температурі 15-30 °С. В іншому конкретному варіанті здійснення, стадію змішування або перемішування здійснюють при температурі 20-30 °С (наприклад, при 25 °С). Придатні приклади розчинників Сполуки (1) включають конкретні

5 приклади, як описано вище для Форми А Сполуки (1).

[0064] У ще одному варіанті здійснення винахід стосується 2-МеТНФ сольватів Сполуки (1). В одному з конкретних варіантів здійснення сольвати включають 0,5-1,5 еквівалента 2-МеТНФ на Сполуку (1), наприклад 1 еквівалент 2-МеТНФ на Сполуку (1) у нітрометані. В одному з конкретних варіантів здійснення сольвати включають 1 еквівалент 2-МеТНФ і характеризуються

10 тим, що мають профіль XRPD з характеристичними піками, вираженими в 2-тета±0,2, у наступних положеннях при 8,4, 9,7, 16,7, 16,9, 17,4, 21,0, 22,3 і 25,7. В іншому конкретному варіанті здійснення сольвати включають 1 еквівалент 2-МеТНФ і характеризуються наявністю визначених піків XRPD, перерахованих у Таблиці 12, або наявністю зображень XRPD, як показано на Фіг. 10.

[0065] У ще одному варіанті здійснення винахід включає аморфні форми Сполуки (1) і їх фармацевтично прийнятні солі, такі як аморфні солі HCl Сполуки (1) і аморфні Сполуки (1). У ще одному варіанті здійснення даний винахід також включає Форму В Сполуки (1) гідрат. Форма В Сполуки (1) гідрат є ізоморфною з Формою А Сполуки (1), показуючи піки XRPD, такі ж, як піки

20 води вище 0,6, наприклад 0,6-1,0, при температурі навколишнього середовища.

[0066] Даний винахід включає поліморфні форми Сполуки (1), як описано вище, у виділеній, чистій формі або в суміші у вигляді твердої композиції, якщо знаходиться в суміші з іншими речовинами, наприклад з іншими формами (тобто аморфна форма, Форма А Сполуки (1) тощо), Сполуки (1) або будь-яких інших речовин.

[0067] В одному з аспекті даний винахід стосується одержання ізоморфних форм, таких як Форма А солі HCl Сполуки (1)×1/2H<sub>2</sub>O, Форма F солі HCl Сполуки (1)×3H<sub>2</sub>O, Форма D солі HCl Сполуки (1), Форма А Сполуки (1), Форма В Сполуки (1) і Форма А тозилату Сполуки (1) у виділеній твердій формі. У ще одному аспекті даний винахід стосується аморфної форми Сполуки (1) і її фармацевтично прийнятних солей, таких як аморфні солі HCl Сполуки (1) і

30 аморфні Сполуки (1) у виділеній твердій формі.

[0068] У ще одному з аспекті даний винахід стосується одержання ізоморфних форм, таких як Форма А солі HCl Сполуки (1)×1/2H<sub>2</sub>O, Форма F солі HCl Сполуки (1)×3H<sub>2</sub>O, Форма D солі HCl Сполуки (1), Форма А Сполуки (1), Форма В Сполуки (1) і Форма А тозилату Сполуки (1) у чистій формі. Чиста форма означає, що конкретна поліморфна форма містить понад 95 % (мас./мас.),

35 наприклад більше 98 % (мас./мас.), більше ніж на 99 % (мас./мас.), 99,5 % (мас./мас.) або більше 99,9 % (мас./мас.). У ще одному аспекті надані аморфні форми Сполуки (1) або їх фармацевтично прийнятні солі в чистому вигляді. Чиста форма означає, що аморфна форма має понад 95 % (мас./мас.), наприклад більше 98 % (мас./мас.), більше ніж на 99 % (мас./мас.), 99,5 % (мас./мас.) або більше 99,9 % (мас./мас.).

[0069] Конкретно, даний винахід стосується кожної поліморфної форми у формі композиції або суміші поліморфної форми з одним або декількома іншими кристалічними, сольватними, аморфними або іншими поліморфними формами або їх комбінації. Наприклад, в одному з варіантів здійснення композиція містить Форму А солі HCl Сполуки (1)×1/2H<sub>2</sub>O разом з однією або декількома іншими поліморфними формами Сполуки (1), такими як аморфна форма,

45 сольвати, Форма D солі HCl Сполуки (1), Форма F солі HCl Сполуки (1)×3H<sub>2</sub>O, Форма А Сполуки (1) і/або інші форми або будь-які їх комбінації. Аналогічно, у ще одному варіанті здійснення композиція містить Форму F солі HCl Сполуки (1)×3H<sub>2</sub>O разом з однією або декількома іншими поліморфними формами Сполуки (1), наприклад аморфною формою, сольватами, Формою А солі HCl Сполуки (1)×1/2H<sub>2</sub>O, Формою D солі HCl Сполуки (1), Формою А Сполуки (1) і/або

50 іншими формами або їх комбінаціями. Аналогічно, у ще одному варіанті здійснення композиція містить Форму D солі HCl Сполуки (1) разом з однією або декількома іншими поліморфними формами Сполуки (1), такими як аморфна форма, сольвати, Форма А солі HCl Сполуки (1)×1/2H<sub>2</sub>O, Форма F солі HCl Сполуки (1)×3H<sub>2</sub>O, Форма А Сполуки (1) і/або інші форми або будь-які їх комбінації. У ще одному варіанті здійснення композиція містить Форму А Сполуки (1)

55 разом з однією або більше іншими поліморфними формами Сполуки (1), такими як аморфна форма, сольвати і/або інші форми або їх комбінації. У ще одному варіанті здійснення композиція містить Форму А тозилату Сполуки (1) разом з однією або більше іншими поліморфними формами Сполуки (1), такими як аморфна форма, сольвати і/або інші форми або їх комбінації. Конкретно, композиція може містити від слідових кількостей до 100 % конкретних поліморфних

60 форм або будь-яку кількість у зазначених межах, наприклад у діапазоні 0,1-0,5 %, 0,1-1 %, 0,1-

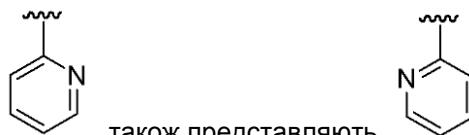
2 %, 0,1-5 %, 0,1-10 %, 0,1-20 %, 0,1-30 %, 0,1-40 % або 0,1-50 % по масі, на основі загальної кількості Сполуки (1) у композиції. Альтернативно, композиція може містити щонайменше 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % або 99,9 % по масі конкретної поліморфної форми на основі загальної кількості Сполуки (1) у композиції.

5 [0070] Для цілей даного винаходу хімічні елементи ідентифіковані відповідно до Періодичної системи Елементів, версія CAS, Handbook of Chemistry and Physics, 75-е видання. Крім того, загальні принципи органічної хімії описані в "Organic Chemistry", Thomas Sorrell, University Science Books, Sausalito: 1999, і в "March's Advanced Organic Chemistry", 5-е видання, Ed.: Smith M.B. and March J., John Wiley & Sons, New York: 2001, повний зміст яких наведений в даному

10 описі за допомогою посилання.

[0071] Якщо не зазначено іншого, то структури, зображені в даному описі, також мають на увазі всі ізомерні (наприклад, енантіомерні, діастереомерні, цис-транс, конформаційні і ротаційні) форми структури. Наприклад, конфігурації R і S для кожного асиметричного центра, (Z) і (E) ізомери подвійного зв'язку, а також (Z) і (E) конформаційні ізомери включені в даний

15 винахід, якщо тільки один з ізомерів конкретно не зображений. Як зрозуміло фахівцю в даній галузі техніки, замісник може вільно обертатися навколо будь-якого зв'язку, здатного до



обертання. Наприклад, замісники, зображені як , також представляють .

[0072] Отже, окремі стереохімічні ізомери, а також енантіомерні, діастереомерні, цис/транс, конформаційні і ротаційні суміші сполук за даним винаходом знаходяться в рамках даного

20 винаходу.

[0073] Якщо не зазначене інше, то всі таутомерні форми сполук за даним винаходом входять у рамки даного винаходу.

[0074] Крім того, якщо не зазначено іншого, то структури, зображені в даному описі, також передбачають сполуки, які відрізняються тільки наявністю одного або декількох ізотопно збагачених атомів. Наприклад, сполуки, які мають представлені структури, за винятком заміни водню дейтерієм або тритієм або заміни вуглецю на <sup>13</sup>C- або <sup>14</sup>C-збагачений вуглець, входять у рамки даного винаходу. Такі сполуки можуть бути використані, наприклад, як аналітичні інструменти або зонди у біологічних аналізах. Такі сполуки, особливо аналоги дейтерію (D), також можуть бути терапевтично ефективними.

30 [0075] Сполуки, описані в даному документі, визначені своїми хімічними структурами і/або хімічними найменуваннями. У випадку, якщо сполука посилається як на хімічну структуру, так і на хімічну назву, і хімічна структура і хімічна назва суперечать одна одній, то хімічна структура переважає при ідентифікації сполуки.

[0076] Як буде зрозуміло фахівцям у даній галузі сполуки за даним винаходом можуть містити хіральний центр. Сполуки формули можуть, таким чином, існувати у вигляді двох різних оптичних ізомерів (тобто (+)- або (-)-енантіомерів). Усі такі енантіомери і їх суміші, включаючи рацемічні суміші, входять у рамки даного винаходу. Одиначний оптичний ізомер або енантіомер може бути одержаний способом, добре відомим у даній галузі, таким як хіральна ВЕРХ, ферментативне розділення і за допомогою хірального допоміжного агента.

40 [0077] В одному з варіантів здійснення сполуки за даним винаходом представлені у формі одиначного енантіомера, який щонайменше на 95 %, щонайменше на 97 % і щонайменше на 99 % вільний від відповідного енантіомера.

[0078] У ще одному додатковому варіанті здійснення сполуки за даним винаходом знаходяться у формі (+)-енантіомера, щонайменше на 95 % вільного від відповідного (-)-енантіомера.

45 [0079] У ще одному додатковому варіанті здійснення сполуки за даним винаходом знаходяться у формі (+)-енантіомера, щонайменше на 97 % вільного від відповідного (-)-енантіомера.

50 [0080] У ще одному додатковому варіанті здійснення сполуки за даним винаходом знаходяться у формі (+)-енантіомера, щонайменше на 99 % вільного від відповідного (-)-енантіомера.

[0081] У ще одному додатковому варіанті здійснення сполуки за даним винаходом знаходяться у формі (-)-енантіомера, щонайменше на 95 % вільного від відповідного (+)-енантіомера.

55 [0082] У ще одному додатковому варіанті здійснення сполуки за даним винаходом знаходяться у формі (-)-енантіомера, щонайменше на 97 % вільного від відповідного (+)-енантіомера.

[0083] У ще одному додатковому варіанті здійснення сполуки за даним винаходом знаходяться у формі (-)-енантіомера, щонайменше на 99 % вільного від відповідного (+)-енантіомера.

[0084] II. ЗАСТОСУВАННЯ СПОЛУКИ (1) І ЇЇ ФАРМАЦЕВТИЧНО ПРИЙНЯТНОЇ СОЛІ

[0085] Один з аспектів даного винаходу, як правило, стосується застосування Сполуки (1) і її фармацевтично прийнятних солей, включаючи різні тверді форми (наприклад, Форма А солі HCl Сполуки (1)×1/2H<sub>2</sub>O, Форма F солі HCl Сполуки (1)×3H<sub>2</sub>O, Форма D солі HCl Сполуки (1), Форма А солі HCl Сполуки (1), Форма В Сполуки (1) гідрат і Форма А тозилату Сполуки (1)), як описано вище, для інгібування реплікації вірусу грипу в біологічному зразку або у пацієнта, для зменшення кількості вірусу грипу (зниження вірусного титру) у біологічному зразку або у пацієнта і для лікування грипу у пацієнта. У даному документі, якщо конкретно не зазначене інше, Сполука (1) і її фармацевтично прийнятні солі, включаючи різні тверді форми (наприклад, Форма А солі HCl Сполуки (1)×1/2H<sub>2</sub>O, Форма F солі HCl Сполуки (1)×3H<sub>2</sub>O, Форма D солі HCl Сполуки (1), Форма А Сполуки (1), Форма В Сполуки (1) і Форма А тозилату Сполуки (1)), як описано вище, належать до загальних сполук.

[0086] В одному варіанті здійснення даний винахід загалом стосується застосування сполук, описаних у даному документі (наприклад, у фармацевтично прийнятних композиціях), для кожного з застосувань, зазначених вище.

[0087] У ще одному варіанті здійснення сполуки, описані в даному документі, можуть бути використані для зниження титру вірусу в біологічному зразку (наприклад, інфікованій клітинній культурі) або в організмі людини (наприклад, вірусний титр у легенях у пацієнта).

[0088] Терміни "стан, опосередкований вірусом грипу", "інфекція, викликана грипом", або "грип", як використовується в даному документі, є взаємозамінними і позначають захворювання, викликане інфекцією вірусом грипу.

[0089] Грип є інфекційним захворюванням, що уражує птахів і ссавців, викликаним вірусами грипу. Віруси грипу являють собою РНК-віруси сімейства Orthomyxoviridae, що складається з п'яти родів: вірус грипу А, вірус грипу В, вірус грипу С, вірус ІSА і вірус Тогото. Вірус грипу роду А має один вид, вірус грипу А, що може бути підрозділений на різні серотипи на основі гуморальної (антитільної) відповіді на ці віруси: H1N1, H2N2, H3N2, H5N1, H7N7, H1N2, H9N2, H7N2, H7N3 і H10N7. Додаткові приклади вірусу грипу А включають H3N8 і H7N9. Рід вірусу грипу В має один вид, вірус грипу В. Грип В майже винятково заражає людей і зустрічається рідше, ніж грип А. Вірус грипу роду С має один вид, вірус грипу С, що інфікує людей і свиней і може привести до важкої хвороби і місцевих епідемій. При цьому, грип С зустрічається рідше, ніж інші типи, і, як правило, очевидно викликає легке захворювання у дітей.

[0090] У деяких варіантах здійснення даного винаходу, грип або віруси грипу пов'язані з вірусом грипу А. У деяких конкретних варіантах здійснення даного винаходу, вірус грипу А являє собою H1N1, H2N2, H3N2 або H5N1. У деяких конкретних варіантах здійснення даного винаходу, вірус грипу А являє собою H1N1, H3N2, H3N8, H5N1 і H7N9. У деяких конкретних варіантах здійснення даного винаходу, вірус грипу А являє собою H1N1, H3N2, H3N8 і H5N1.

[0091] У людей загальними симптомами грипу є озноб, пропасниця, фарингіт, болі в м'язах, сильний головний біль, кашель, слабкість і загальне нездужання. У більш серйозних випадках грип викликає пневмонію, що може привести до летального кінця, особливо у маленьких дітей і людей похилого віку. Незважаючи на те, що грип часто плутають зі звичайною застудою, він є набагато більш важким захворюванням і викликаний іншим типом вірусу. Грип може викликати нудоту і блювання, особливо у дітей, але ці симптоми більш характерні для гастроентериту, що не має відношення до грипу, який іноді називають "шлунковий грип" або "24-годинний грип".

[0092] Симптоми грипу можуть початися зовсім несподівано через день або два після зараження. Звичайно першими симптомами є озноб або відчуття холоду, але і пропасниця також характерна для ранньої стадії, при якій температура тіла знаходиться в межах від 38 до 39 °C (приблизно 100-103 °F). Багато людей настільки хворі, що прикуті до ліжка протягом декількох днів, відчуваючи нездужання і болі у всьому тілі, які сильніше в спині і ногах. Симптоми грипу можуть включати в себе: ломоту в тілі, особливо в суглобах і горлі, неймовірний холод і пропасницю, утому, головний біль, подразнення очей і слюзотечу, почервоніння очей, шкіри (особливо обличчя), рота, горла і носа, болі в животі (у дітей з грипом В). Симптоми грипу є неспецифічними, подібними до багатьох збудників ("грипоподібні захворювання"). Як правило, лабораторні дані необхідні для того, щоб підтвердити діагноз.

[0093] Терміни "захворювання", "розлад" і "стан" можуть бути використані взаємозамінно в даному документі для позначення вірусу грипу, опосередкованого медичним або патологічним станом.

[0094] Використовувані в даному описі терміни "індивід" і "пацієнт" використовуються взаємозамінно. Терміни "індивід" і "пацієнт" стосуються тварини (наприклад, птиця, така як курча, перепел або індичка, або ссавець), конкретно "ссавець" включає неприматів (наприклад, корова, свиня, кінь, вівця, кролик, морська свинка, щур, кішка, собака, миша) і приматів (наприклад, мавпа, шимпанзе і людина), більш конкретно людину. В одному з варіантів здійснення індивідом є тварина, така як сільськогосподарська тварина (наприклад, кінь, корова, свині або вівці) або домашня тварина (наприклад, собака, кішка, морська свинка або кролик). У переважному варіанті здійснення індивідом є "людина".

[0095] Термін "біологічний зразок", як використовується в даному документі, включає в себе, але ними не обмежується, клітинні культури або їх екстракти; матеріал біопсії, одержаний з ссавця або його екстрактів; кров, слину, сечу, фекалії, сперму, слюзи або інші рідини організму або їх екстракти.

[0096] Використовуваний у даному описі термін "множинність інфекції" або "MOI" є відношенням інфекційних агентів (наприклад, фага або вірусу) до мішеней інфекції (наприклад, клітин). Наприклад, при посиланні на групу клітин, інокульованих інфекційними вірусними частинками, множинність інфекції або MOI являє собою відношення, визначене кількістю інфекційних вірусних частинок, внесених у ямку, ділене на число клітин-мішеней, присутніх у цій ямці.

[0097] Використовуваний у даному описі термін "інгібування реплікації вірусів грипу" включає як зменшення кількості вірусних реплікацій (наприклад, скорочення щонайменше на 10 %), так і повне припинення вірусної реплікації (тобто 100 % зниження реплікації вірусу). У деяких варіантах здійснення реплікація вірусів грипу інгібується щонайменше на 50 %, щонайменше на 65 %, щонайменше на 75 %, щонайменше на 85 %, щонайменше на 90 % або щонайменше на 95 %.

[0098] Реплікація вірусу грипу може бути виміряна будь-яким придатним способом, відомим у даній галузі. Наприклад, титр вірусу грипу в біологічному зразку (наприклад, в інфікованій клітинній культурі) або в організмі людини (наприклад, вірусний титр у легенях пацієнта) може бути виміряний. Більш конкретно, для аналізів на основі клітин, у кожному випадку клітини культивують *in vitro*, вірус додають до культури в присутності або за відсутності тестованого агента і після відповідного періоду часу обчислюють вірусозалежну кінцеву точку. Для звичайних аналізів можуть бути використані клітини Мадін-Дарбі нирок собак (MDCK) і штам вірусу грипу, A/Puerto Rico/8/34, адаптований для стандартної тканинної культури. Перший тип клітинного аналізу, який може бути використаний за даним винаходом, оснований на загибелі інфікованих клітин-мішеней, процес, називаний цитопатичний ефект (CPE), коли вірусна інфекція викликає виснаження клітинних ресурсів і, в остаточному підсумку, лізис клітини. При першому типі клітинного аналізу низьку фракцію клітин у ямках планшета для мікротитрування інфікують (як правило, від 1/10 до 1/1000), дозволяючи вірусу робити декілька раундів реплікації протягом 48-72 годин, потім кількість загиблих клітин вимірюють, використовуючи зменшення кількості клітинної АТФ у порівнянні з неінфікованими контролями. Другий тип клітинного аналізу, який може бути використаний за даним винаходом, оснований на збільшенні кількості вірусспецифічних молекул РНК в інфікованих клітинах, при цьому безпосередньо вимірюють рівні РНК, використовуючи метод гібридизації ДНК із розгалуженим ланцюгом (bДНК). В другому типі клітинного аналізу спочатку інфікують невелику кількість клітин у ямках планшета для мікротитрування, вірус залишають реплікуватися в інфікованих клітинах і поширюватися на додаткові раунди клітин, а потім клітини лізуються й у них вимірюють вміст РНК вірусу. Цей аналіз швидко зупиняють, як правило через 18-36 годин, при цьому всі клітини-мішені залишаються життєздатними. Вірусну РНК кількісно оцінюють по гібридизації з конкретними олігонуклеотидними зондами, фіксованими в ямках планшета для аналізу, а потім посилюють сигнал шляхом гібридизації з додатковими зондами, зв'язаними з репортерним ферментом.

[0099] Використовуваний у даному документі термін "титр вірусу (або титр)" є мірою концентрації вірусу. При тестуванні титрів можна використовувати серійні розведення для одержання приблизної якісної інформації з аналітичної процедури, що по своїй суті дає тільки позитивну або негативну оцінку. Титр відповідає найбільш високому фактору розведення, що як і раніше дає позитивний результат; наприклад, позитивні показання в перших 8 послідовних дворазових розведеннях переводять у титр 1:256. Конкретним прикладом є вірусний титр. Для визначення титру було зроблено декілька розведень, наприклад  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-8}$ . Найнижча концентрація вірусу, при якій усе ще відбувається інфікування клітин, є вірусним титром.

[0100] Використовувані в даному описі терміни "лікувати", "лікування" і "лікуючий" стосуються як терапевтичних, так і профілактичних заходів. Наприклад, терапевтичні заходи

включають усунення або зниження прогресування, тяжкості і/або тривалості стану, викликаного вірусами грипу, або усунення одного або більше симптомів (зокрема, одного або більше помітних симптомів) стану, опосередкованого вірусами грипу, у результаті проведення однієї або декількох терапевтичних процедур (наприклад, введення одного або більше терапевтичних засіб, таких як сполуки або композиції за даним винаходом). У конкретних варіантах здійснення, терапевтичний захід включає в себе поліпшення принаймні одного вимірного фізичного параметра стану, опосередкованого вірусом грипу. В інших варіантах здійснення терапевтичний захід включає інгібування прогресування стану, опосередкованого вірусом грипу, або фізично, наприклад стабілізація помітного симптому, або фізіологічно, наприклад стабілізація фізичного параметра, або їх обох. В інших варіантах здійснення терапевтичний захід включає зниження або стабілізацію інфекцій, опосередкованих вірусом грипу. Протівірусні препарати можуть бути використані в амбулаторних умовах для лікування людей, які вже хворі на грип, для зменшення тяжкості симптомів і зменшення кількості днів, протягом яких триває хвороба.

[0101] Термін "хіміотерапія" стосується застосування лікарських засобів, наприклад низькомолекулярних препаратів (але не "вакцин"), для лікування розладу або захворювання.

[0102] Терміни "профілактика" або "профілактичне застосування" і "профілактичний захід", як використовується в даному описі, стосуються будь-якої медичної процедури або процедури громадської охорони здоров'я, метою яких є запобігання, а не лікування або вилікування хвороби. Використовувані в даному описі терміни "профілактика", "запобігати" і "профілактичний" стосуються зменшення ризику набуття або розвитку даного стану або зменшення або інгібування рецидиву або зазначеного стану у індивіда, який не хворий, але який був або міг бути поруч із хворою людиною. Термін "хіміопрофілактика" стосується застосування лікарських засобів, наприклад низькомолекулярних препаратів (але не "вакцин"), для профілактики розладу або захворювання.

[0103] Використовуване в даному описі профілактичне застосування включає застосування в ситуаціях, при яких був виявлений спалах інфекції, для запобігання зараження або поширення її в місцях, де велике число людей, що піддаються високому ризику серйозних ускладнень грипу, живуть у тісному контакті один з одним (наприклад, у лікарняній палаті, дитячому садку, в'язниці, будинку для людей похилого віку тощо). Профілактичне застосування також включає застосування серед груп населення, які мають потребу в захисті від грипу, але які або не одержують захист після вакцинації (наприклад, через слабку імунну систему), або якщо вакцина для них недоступна, або якщо вони не можуть бути вакциновані через побічні ефекти. Таке застосування також включає застосування протягом двох тижнів після вакцинації, оскільки протягом цього часу вакцина усе ще неефективна. Профілактичне застосування також може включати лікування індивіда, який не хворий на грип або який не належить до групи підвищеного ризику ускладнень, для зменшення імовірності зараження грипом і передачі грипу індивіду з високим ризиком при тісному контакті з ним (наприклад, медичні працівники, працівники будинку для людей похилого віку тощо).

[0104] За даними CDC США "спалах" визначається як раптове збільшення гострого фібрилярного респіраторного захворювання (AFRI), що відбувається протягом періоду від 48 до 72 годин, у групі людей, які знаходяться в безпосередній близькості один від одного (наприклад, в одній і тій же області пансіону, у одному і тому ж будинку тощо), у порівнянні з нормальною фоновою швидкістю або якщо будь-який індивід у популяції, відносно якого був проведений тест, виявився позитивним на грип. Один випадок грипу, підтверджений будь-яким способом, вважається спалахом.

[0105] "Кластер" визначається як група з трьох або більше випадків AFRI, що відбуваються протягом періоду від 48 до 72 годин, у групі людей, які знаходяться в безпосередній близькості один від одного (наприклад, у одному і тому ж пансіоні, у одному і тому ж будинку тощо).

[0106] Використовувані у даному описі терміни "джерело захворювання", "первинний випадок" або "пацієнт зеро" означають першого пацієнта в популяційному зразку епідеміологічного дослідження. При використанні загалом відносно таких пацієнтів в епідеміологічних дослідженнях, цей термін не виділяється заголовними буквами. Якщо цей термін використовується для позначення конкретного індивіда замість імені цього індивіда в доповіді про конкретне дослідження, то термін пишеться заголовними буквами як Пацієнт Зеро. Часто вчені шукають носія захворювання для визначення того, як хвороба поширюється й у якому джерелі знаходиться захворювання між спалахами. Варто звернути увагу, що носій захворювання є першим пацієнтом, що вказує на наявність спалаху. Можуть бути виявлені більш ранні випадки і їх позначають як первинні, вторинні, третинні тощо.

[0107] В одному варіанті здійснення способи за даним винаходом є профілактичною або "попереджувальною" мірою для пацієнта, зокрема для людини, зі схильністю до ускладнень у

результаті інфекції, викликаній вірусом грипу. Термін "попереджувальний" або "превентивно", використовуваний у даному описі, наприклад для попереджувального застосування, є профілактичним застосуванням у тих ситуаціях, при яких "джерело захворювання" або "спалах" було підтверджено, для запобігання поширення інфекції в іншій частині суспільства або групи

5

популяції.  
[0108] В іншому варіанті здійснення способи за винаходом застосовуються як "попереджувальна" міра до членів суспільства або групи популяції, зокрема до людей, для того, щоб запобігти поширенню інфекції.

10

[0109] Використовуваний у даному описі термін "ефективна кількість" стосується кількості, достатньої для того, щоб викликати бажану біологічну відповідь. У даному винаході бажаною біологічною відповіддю є інгібування реплікації вірусу грипу, зниження кількості вірусів грипу або зменшення або зниження тяжкості захворювання, тривалості, прогресії або початку інфекції вірусом грипу, запобігання поширенню інфекції вірусом грипу, запобігання повторенню, розвитку, початку або прогресуванню симптомів, пов'язаних з вірусом грипу, або підвищення або поліпшення профілактичного або терапевтичного ефекту(ів) іншого терапевтичного заходу проти грипозних інфекцій. Точна кількість сполуки, що вводиться індивіду, буде залежати від способу введення, типу і тяжкості інфекції і від особливостей індивіда, таких як загальний стан, вік, стать, маса тіла і толерантність до лікарських засобів. Фахівець зможе визначити відповідні дозування залежно від цих і інших факторів. При спільному введенні з іншими противірусними засобами, наприклад при спільному введенні з ліками проти грипу, "ефективна кількість" другого агента буде залежати від типу використовуваного препарату. Придатні дозування відомі для дозволених до застосування засобів і можуть бути скоректовані фахівцем відповідно до стану індивіда, типу стану(ів), відносно якого проводиться лікування, і кількості сполуки, описаної в даному документі. У тих випадках, коли кількість чітко не зазначена, ефективну кількість потрібно передбачати. Наприклад, сполуки, розкриті в даному описі, можуть бути введені індивіду в інтервалі доз приблизно від 0,01 до 100 мг/кг маси тіла/день для терапевтичного або профілактичного лікування.

15

20

25

[0110] Як правило, режими дозування можуть бути вибрані відповідно до різних факторів, включаючи захворювання, відносно якого проводиться лікування, і тяжкість захворювання; активність конкретної використовуваної сполуки; специфічну використовувану композицію; вік, масу тіла, загальний стан здоров'я, стать і режим харчування пацієнта; час введення, шлях введення і швидкість екскреції специфічної використовуваної сполуки; функції нирок і печінки індивіда; і конкретну використовувану сполуку або її сіль, тривалість лікування; препарати, використовувані в комбінації або спільно зі специфічною використовуваною сполукою, і тому подібні фактори, добре відомі в галузі медицини. Досвідчений фахівець може легко визначити і призначити ефективну кількість описаних у даному документі сполук, необхідних для лікування, запобігання, інгібування (повністю або частково) або зупинення прогресування захворювання.

30

35

[0111] Доза сполук, описаних у даному документі, може знаходитися в діапазоні від 0,01 до 100 мг/кг маси тіла/добу, від 0,01 до 50 мг/кг маси тіла/день, від 0,1 до 50 мг/кг маси тіла/день або від 1 до 25 мг/кг маси тіла/день. Зрозуміло, що загальну добову кількість можна вводити у вигляді однократної дози або можна вводити у вигляді багаторазових доз, наприклад два рази на день (наприклад, кожні 12 годин), три рази на день (наприклад, кожні 8 годин) або чотири рази на день (наприклад, кожні 6 годин).

40

[0112] У деяких варіантах здійснення дози сполук, описаних у даному документі (наприклад, Сполука (1) і її фармацевтично прийнятні солі, включаючи різні тверді форми (наприклад, Форма А солі HCl Сполуки (1)×1/2H<sub>2</sub>O, Форма F солі HCl Сполуки (1)×3H<sub>2</sub>O, Форма D солі HCl Сполуки (1), Форма А Сполуки (1), Форма В Сполуки (1) гідрат і Форма А тозилату Сполуки (1))), знаходяться в діапазоні від 100 мг до 1600 мг, наприклад від 400 мг до 1600 мг або від 400 мг до 1200 мг. Кожна доза може прийматися один раз на день (QD), два рази на день (наприклад, кожні 12 годин (BID)) або три рази на день (наприклад, q8h (TID)). Слід зазначити, що можуть використовуватися будь-які комбінації QD, BID і TID, за бажанням, наприклад BID на день 1, потім QD.

45

50

[0113] У деяких варіантах здійснення дози сполук, описаних у даному документі (наприклад, Сполука (1) і її фармацевтично прийнятні солі, включаючи різні тверді форми (наприклад, Форма А солі HCl Сполуки (1)×1/2H<sub>2</sub>O, Форма F солі HCl Сполуки (1)×3H<sub>2</sub>O, Форма D солі HCl Сполуки (1))), знаходяться в діапазоні від 100 мг до 1600 мг, наприклад від 400 мг до 1600 мг або від 400 мг до 1200 мг. Кожна доза може прийматися один раз на день (QD), два рази на день (наприклад, кожні 12 годин (BID)) або три рази на день (наприклад, q8h (TID)). Слід зазначити, що можуть бути використані будь-які комбінації QD, BID і TID, якщо бажано,

55



наприклад BID на 1-й день, а потім QD після цього, або, якщо ударна доза застосовується на 1-й день, BID на 2-й день, а потім QD.

[0114] В одному з конкретних варіантів здійснення дози сполук, описаних у даному документі, складають від 400 мг до 1600 мг, від 400 мг до 1200 мг або від 600 мг до 1200 мг один раз на день. В іншому конкретному варіанті здійснення дози сполук, описаних у даному документі, складають від 400 мг до 1600 мг, від 400 мг до 1200 мг або від 300 мг до 900 мг два рази на день. У ще одному конкретному варіанті здійснення дози сполук, описаних у даному документі, складають від 400 мг до 1000 мг один раз на день. У ще одному конкретному варіанті здійснення, дози сполук, описаних у даному документі, складають від 600 мг до 1000 мг один раз на день. У ще одному конкретному варіанті здійснення дози сполук, описаних у даному документі, складають від 400 мг до 800 мг один раз на день. У ще одному конкретному варіанті здійснення дози сполук, описаних у даному документі, складають від 400 мг до 800 мг два рази на день (наприклад, від 400 мг до 800 мг кожні 12 годин). У ще одному конкретному варіанті здійснення дози сполук, описаних у даному документі, складають від 400 мг до 600 мг два рази на день.

[0115] У деяких варіантах здійснення використовується схема ударних доз. В одному з конкретних варіантів здійснення ударна доза, що складає від 400 мг до 1600 мг, використовується в день 1 лікування. У ще одному конкретному варіанті здійснення ударна доза, що складає від 600 мг до 1600 мг, використовується в день 1 лікування. У ще одному конкретному варіанті здійснення ударна доза, що складає від 800 мг до 1600 мг, використовується в день 1 лікування. У ще одному конкретному варіанті здійснення, ударна доза, що складає від 900 мг до 1600 мг, використовується в день 1 лікування. У ще одному конкретному варіанті здійснення, ударна доза, що складає від 900 мг до 1200 мг, використовується в день 1 лікування. У ще одному конкретному варіанті здійснення, ударна доза, що складає 900 мг, використовується в день 1 лікування. У ще одному конкретному варіанті здійснення, ударна доза, що складає 1000 мг, використовується в день 1 лікування. У ще одному конкретному варіанті здійснення, ударна доза, що складає 1200 мг, використовується в день 1 лікування.

[0116] В одному з конкретних варіантів здійснення в режимі доз сполук, описаних у даному документі, використовується ударна доза, що складає від 600 мг до 1600 мг, на день 1 і звичайна доза, що дорівнює від 300 мг до 1200 мг, протягом періоду лікування, що залишився. Кожну звичайну дозу можна приймати один раз на день, два рази на день або три рази на день, або в будь-якій їх комбінації. У додатковому специфічному варіанті здійснення використовується ударна доза, що складає від 900 мг до 1600 мг, наприклад 900 мг, 1200 мг або 1600 мг. У ще одному додатковому специфічному варіанті здійснення використовується ударна доза, що складає від 900 мг до 1200 мг, наприклад 900 мг або 1200 мг. У ще одному додатковому конкретному варіанті здійснення використовується звичайна доза, що складає від 400 мг до 1200 мг, наприклад 400 мг, 600 мг або 800 мг, протягом періоду лікування, що залишився. У ще одному додатковому конкретному варіанті здійснення використовується звичайна доза, що дорівнює від 400 мг до 1000 мг, протягом періоду лікування, що залишився. У ще одному додатковому конкретному варіанті здійснення використовується звичайна доза, що дорівнює від 400 мг до 800 мг, протягом періоду лікування, що залишився. У ще одному додатковому конкретному варіанті здійснення використовується звичайна доза, що дорівнює від 300 мг до 900 мг, два рази на день. У ще одному додатковому конкретному варіанті здійснення використовується звичайна доза, що дорівнює 600 мг, два рази на день у день 2, а потім 600 мг один раз на день протягом періоду лікування, що залишився.

[0117] Для терапевтичного заходу сполуки, описані в даному документі, можуть вводитися пацієнту протягом, наприклад, 48 годин (або в межах 40 годин, або менше ніж протягом 2 днів, або менше ніж протягом 1,5 дня або протягом 24 годин) після появи симптомів (наприклад, закладеності носа, болю в горлі, кашлю, болю, втоми, головного болю, ознобу і/або випотів). Альтернативно, для терапевтичного заходу сполуки, описані в даному документі, можуть бути введені пацієнту протягом, наприклад, 96 годин після появи симптомів. Терапевтичний захід може тривати протягом будь-якого придатного періоду, наприклад протягом 3 днів, 4 днів, 5 днів, 7 днів, 10 днів, 14 днів тощо. Для профілактичного заходу під час спалаху захворювання сполуки, описані в даному документі, можуть бути введені пацієнту протягом, наприклад, 2 днів до появи симптомів у джерелі захворювання, а також введення може бути продовжене протягом будь-якого придатного періоду, наприклад протягом 7 днів, 10 днів, 14 днів, 20 днів, 28 днів, 35 днів, 42 днів тощо, аж до всього сезону грипу. Сезон грипу є щорічно повторюваним періодом

часу, що характеризується перевагою спалахів грипу. Активність грипу іноді може бути передбачена і навіть визначена географічно. Хоча початок основної активності грипу в кожному сезоні змінюється залежно від місця розташування, у будь-якому конкретному місці ці незначні епідемії звичайно тривають 3-4 тижні до піка, а ще через 3-4 тижні значно зменшуються. Як правило, Центр по контролю і профілактиці захворювань (CDC) збирає, накопичує й аналізує інформацію про цілорічну активність грипу в Сполучених Штатах і готує щотижневий звіт з жовтня до середини травня.

[0118] В одному з варіантів здійснення, терапевтичний захід триває протягом від 1 дня до всього сезону грипу. В одному з конкретних варіантів здійснення терапевтичний захід триває протягом від 3 днів до 14 днів. У ще одному конкретному варіанті здійснення терапевтичний захід триває протягом від 5 днів до 14 днів. У ще одному конкретному варіанті здійснення терапевтичний захід триває протягом від 3 днів до 10 днів. У ще одному конкретному варіанті здійснення терапевтичний захід триває протягом від 4 днів до 10 днів. У ще одному конкретному варіанті здійснення, терапевтичний захід триває протягом від 5 днів до 10 днів. У ще одному конкретному варіанті здійснення, терапевтичний захід триває протягом від 4 днів до 7 днів (наприклад, 4 дні, 5 днів, 6 днів або 7 днів). У ще одному конкретному варіанті здійснення терапевтичний захід триває протягом від 5 днів до 7 днів (наприклад, 5 днів, 6 днів або 7 днів). В одному з конкретних варіантів здійснення профілактичне лікування триває аж до всього сезону грипу.

[0119] В одному з конкретних варіантів здійснення сполуки, описані в даному документі, вводили пацієнту протягом від 3 днів до 14 днів (наприклад, від 5 днів до 14 днів) з ударною дозою, що складає від 900 мг до 1600 мг, на 1 день і зі звичайною дозою, що дорівнює від 300 мг до 1200 мг, протягом періоду лікування, що залишився. У ще одному конкретному варіанті здійснення сполуки, описані в даному документі, вводили пацієнту протягом від 3 днів до 14 днів (наприклад, від 5 днів до 14 днів) з ударною дозою, що складає від 900 мг до 1200 мг, на 1 день і зі звичайною дозою, що дорівнює від 400 мг до 1000 мг, протягом періоду лікування, що залишився. У ще одному конкретному варіанті здійснення, сполуки, описані в даному документі, вводили пацієнту протягом від 3 днів до 14 днів (наприклад, від 5 днів до 14 днів) з ударною дозою, що складає 900 мг до 1200 мг, на 1 день і зі звичайною дозою, що дорівнює від 400 мг до 800 мг, протягом періоду лікування, що залишився. У ще одному конкретному варіанті здійснення, сполуки, описані в даному документі, вводили пацієнту протягом від 3 днів до 14 днів (наприклад, від 5 днів до 14 днів) з ударною дозою, що складає 900 мг до 1200 мг, на 1 день і зі звичайною дозою, що дорівнює від 400 мг до 800 мг, протягом періоду лікування, що залишився. Кожна доза може бути прийнята один раз на день, два рази на день або три рази на день, або у вигляді будь-якої їх композиції.

[0120] В одному з конкретних варіантів здійснення сполуки, описані в даному документі, вводили пацієнту протягом від 3 днів до 14 днів з ударною дозою, що складає від 900 мг до 1600 мг, на 1 день і зі звичайною дозою, що дорівнює від 600 мг до 1000 мг, один раз на день протягом періоду лікування, що залишився. У ще одному конкретному варіанті здійснення сполуки, описані в даному документі, вводили пацієнту протягом від 3 днів до 14 днів з ударною дозою, що складає від 900 мг до 1200 мг, на 1 день і зі звичайною дозою, що дорівнює від 600 мг до 800 мг (наприклад, 600 мг, 650 мг, 700 мг, 750 мг або 800 мг), один раз на день протягом періоду лікування, що залишився. У деяких варіантах здійснення тривалість лікування складає від 4 днів до 10 днів, від 5 днів до 10 днів або від 5 днів до 7 днів.

[0121] В одному з конкретних варіантів здійснення сполуки, описані в даному документі, вводили пацієнту протягом від 3 днів до 14 днів з ударною дозою, що складає від 900 мг до 1600 мг, на 1 день і зі звичайною дозою, що дорівнює від 400 мг до 800 мг, два рази на день протягом періоду лікування, що залишився. У ще одному конкретному варіанті здійснення сполуки, описані в даному документі, вводили пацієнту протягом від 3 днів до 14 днів з ударною дозою, що складає від 900 мг до 1200 мг, на день 1 і зі звичайною дозою, що дорівнює від 400 мг до 600 мг (наприклад, 400 мг, 450 мг, 500 мг, 550 мг або 600 мг), два рази на день протягом періоду лікування, що залишився. У деяких варіантах здійснення тривалість складає від 4 днів до 10 днів, від 5 днів до 10 днів або від 5 днів до 7 днів.

[0122] В одному з конкретних варіантів здійснення сполуки, описані в даному документі, вводили пацієнту протягом 4 днів або 5 днів з ударною дозою, що складає від 900 мг до 1200 мг (наприклад, 900 мг або 1200 мг), на 1 день і зі звичайною дозою, що дорівнює від 400 мг до 600 мг (наприклад, 400 мг або 600 мг), два рази на день протягом періоду лікування, що залишився (наприклад, від 2 до 4 днів або від 2 до 5 днів). У ще одному конкретному варіанті здійснення сполуки, описані в даному документі, вводили пацієнту протягом 4 днів або 5 днів з ударною дозою, що складає від 900 мг до 1200 мг (наприклад, 900 мг або 1200 мг), на 1 день і зі

звичайною дозою, що дорівнює від 600 мг до 800 мг (наприклад, 600 мг або 800 мг), один раз на день протягом періоду лікування, що залишився.

[0123] У даному винаході можуть бути використані різні типи способів введення і вони докладно описані нижче в розділі під назвою "Способи введення".

5 [0124] У даному винаході можуть бути використані різні типи способів введення і вони докладно описані нижче в розділі під назвою "Способи введення".

### [0125] III. КОМБІНОВАНА ТЕРАПІЯ

10 [0126] У способі або у фармацевтичній композиції за винаходом ефективна кількість може бути досягнута при використанні сполуки за даним винаходом (включаючи її фармацевтично прийнятну сіль або сольват (наприклад, гідрат)) окремо або в комбінації з додатковим придатним терапевтичним засобом, наприклад противірусним засобом або вакциною. Якщо використовується "комбінована терапія", то ефективна кількість може бути досягнута за допомогою першої кількості сполуки за винаходом і другої кількості додаткового придатного терапевтичного засобу (наприклад, противірусного агента або вакцини).

15 [0127] У ще одному варіанті здійснення даного винаходу як сполуку за даним винаходом, так і додатковий терапевтичний засіб вводять в ефективній кількості (тобто кожне з них знаходиться в кількості, яка буде терапевтично ефективною при самостійному введенні). У ще одному варіанті здійснення як сполуку за даним винаходом, так і додатковий терапевтичний засіб вводять у кількості, яка сама по собі не забезпечує терапевтичний ефект (субтерапевтична доза). У ще одному варіанті здійснення сполуку за даним винаходом можна вводити в ефективній кількості, а додатковий терапевтичний засіб вводять у субтерапевтичній дозі. У ще одному варіанті здійснення сполуку за даним винаходом можна вводити в субтерапевтичній дозі, а додатковий терапевтичний засіб, наприклад придатний протираковий терапевтичний засіб, вводять в ефективній кількості.

20 [0128] Використовувані у даному описі терміни "у комбінації" або "комбіноване введення" можуть бути використані взаємозамінно для позначення використання більше ніж одного медикаменту (наприклад, одного або більше профілактичних і/або терапевтичних засобів). Використання термінів не обмежує порядок, у якому медикамент (наприклад, профілактичний і/або терапевтичний засіб) вводять індивіду.

30 [0129] Спільне введення включає введення першої і другої кількості сполук для спільного введення, по суті, одночасно, наприклад в одній фармацевтичній композиції, наприклад у капсулі або таблетці, що має фіксоване співвідношення першої і другої кількості, або в декількох роздільних капсулах або таблетках для кожної з них. Крім того, таке спільне введення також включає використання кожної сполуки послідовно в будь-якому порядку.

35 [0130] В одному з варіантів здійснення даний винахід стосується способів комбінованої терапії для інгібування реплікації вірусу грипу в біологічних зразках або в організмі пацієнтів або для лікування або профілактики інфекцій, викликаних вірусом грипу, у пацієнтів, використовуючи сполуки, описані в даному документі. Відповідно, фармацевтичні композиції за даним винаходом також включають композиції, які містять інгібітор реплікації вірусу грипу за даним винаходом в комбінації з противірусною сполукою, що виявляє противірусну активність відносно вірусу грипу.

40 [0131] Способи застосування сполук, описаних у даному документі, і композицій за винаходом також включають комбінацію хімотерапевтичного засобу і сполуки або композиції за винаходом або комбінацію сполуки або композиції за даним винаходом з іншим противірусним засобом і вакцинацією проти вірусу грипу.

45 [0132] Якщо спільне введення включає роздільне введення першої кількості сполуки за винаходом і другої кількості додаткового терапевтичного засобу, то сполуки вводять достатньо близько у часі, щоб мати бажаний терапевтичний ефект. Наприклад, період часу між кожним введенням, що може привести до бажаного терапевтичного ефекту, може змінюватися від декількох хвилин до декількох годин і може бути визначений з урахуванням властивостей кожної сполуки, таких як сила, розчинність, біодоступність, період напіввиведення з плазми і кінетичний профіль. Наприклад, сполука за даним винаходом і другий лікарський засіб можуть бути введені в будь-якому порядку протягом 24 годин одне від одного, протягом 16 годин одне від одного, протягом 8 годин одне від одного, протягом 4 годин одне від одного, протягом 1 години одне від одного або протягом 30 хвилин одне від одного.

50 [0133] Більш конкретно, першу терапію (наприклад, введення профілактичного або терапевтичного засобу, такого як сполука за винаходом) можна проводити до (наприклад, за 5 хвилин, 15 хвилин, 30 хвилин, 45 хвилин, 1 годину, 2 години, 4 години, 6 годин, 12 годин, 24 години, 48 годин, 72 годин, 96 годин, 1 тиждень, 2 тижні, 3 тижні, 4 тижні, 5 тижнів, 6 тижнів, 8 тижнів або 12 тижнів до), одночасно або після (наприклад, через 5 хвилин, 15 хвилин, 30

хвилин, 45 хвилин, 1 годину, 2 години, 4 години, 6 годин, 12 годин, 24 години, 48 годин, 72 годин, 96 годин, 1 тиждень, 2 тижні, 3 тижні, 4 тижні, 5 тижнів, 6 тижнів, 8 тижнів або через 12 тижнів після) проведення другої терапії (наприклад, введення профілактичного або терапевтичного засобу, такого як протираковий засіб) індивіду.

5 [0134] Зрозуміло, що спосіб спільного введення першої кількості сполуки за винаходом і другої кількості додаткового терапевтичного засобу може привести до посиленого або синергічного терапевтичного ефекту, причому об'єднаний ефект більше, ніж адитивний ефект, що міг би бути при роздільному введенні першої кількості сполуки за винаходом і другої кількості додаткового терапевтичного засобу.

10 [0135] Використовуваний у даному описі термін "синергічний" стосується комбінації сполуки за винаходом й іншої терапії (наприклад, профілактичного або терапевтичного засобу), яка є більш ефективною, ніж адитивні ефекти терапії. Синергічний ефект комбінованої терапії (наприклад, комбінація профілактичних або терапевтичних засобів) може дозволити використовувати більш низькі дози одного або декількох медикаментів і/або рідше вводити  
15 зазначені медикаменти індивіду. Можливість використовувати більш низькі дози медикаменту (наприклад, профілактичного або терапевтичного засобу) і/або можливість рідше вводити зазначений медикамент може зменшити токсичність, пов'язану з введенням зазначеного медикаменту індивіду, без зниження ефективності зазначеного медикаменту для профілактики, контролю або лікування захворювання. Крім того, синергічний ефект може привести до  
20 підвищення ефективності агентів для профілактики, контролю або лікування захворювання. Нарешті, завдяки синергічному ефекту комбінованої терапії (наприклад, комбінація профілактичних або терапевтичних засобів) можна уникнути або зменшити несприятливі або небажані побічні ефекти, пов'язані з застосуванням кожного з цих медикаментів самостійно.

[0136] Коли комбінована терапія, що використовує сполуки за даним винаходом, знаходиться в комбінації з вакциною проти грипу, то обидва терапевтичних засоби можуть бути введені так, що проміжок часу між кожним введенням може бути більше (наприклад, декілька  
25 днів, тижнів або місяців).

[0137] Наявність синергічного ефекту можна визначити, використовуючи придатні способи оцінки лікарської взаємодії. Придатні способи включають в себе, наприклад, сигмоїдальне  
30 рівняння для обчислення максимальної ефективності (Holford N.H.G. and Scheiner L.B., Clin. Pharmacokinet. 6:429-453 (1981)), рівняння адитивності Loewe (Loewe S. and Muischnek H., Arch. Exp. Pathol Pharmacol. 114:313-326 (1926)) і рівняння медіанного ефекту (Chou T.C. and Talalay P., Adv. Enzyme Regul. 22:27-55 (1984)). Кожне рівняння, зазначене вище, може використовуватися разом з експериментальними даними для одержання відповідного графіка  
35 для спрощення оцінки ефектів лікарської комбінації. Відповідні графіки, пов'язані з рівняннями, зазначеними вище, являють собою криву концентрація-ефект, криву ізоболограми і криву показника адитивності, відповідно.

[0138] Конкретні приклади засобів, що можуть бути введені разом зі сполукою, описаною у даному документі, включають інгібітори нейрамінідази, такі як озельтамівір (Tamiflu®) і занамівір  
40 (Rlenza®), вірусний іонний канал (білок M2), блокатори, такі як амантадин (Symmetrel®) і ремантадин (Flumadine®), і протівірусні препарати, описані в WO 2003/015798, включаючи T-705 у стадії розробки від Toyama Chemical, Японія (див. також Ruruta et al., Antiviral Research, 82: 95-102 (2009), "T-705 (flavipiravir) and related compounds: Novel broad-spectrum inhibitors of RNA viral infections"). У деяких варіантах здійснення сполуки, описані в даному документі,  
45 можуть бути введені разом зі звичайною вакциною проти грипу.

[0139] У деяких варіантах здійснення сполуки, описані в даному документі (наприклад Сполука (1) і її фармацевтично прийнятні солі, такі як Форма А солі HCl Сполуки (1)×1/2H<sub>2</sub>O, Форма F солі HCl Сполуки (1)×3H<sub>2</sub>O, Форма D солі HCl Сполуки (1), Форма А Сполуки (1), Форма В Сполуки (1) і Форма А тозилату Сполуки (1)), можуть бути введені разом із занамівіром. У  
50 деяких варіантах здійснення сполуки, описані в даному документі, можуть бути введені разом із флавіпіравіром (T-705). У деяких варіантах здійснення сполуки, описані в даному документі, можуть бути введені разом з озельтамівіром. У деяких варіантах здійснення сполуки, описані в даному документі, можуть бути введені разом з амантадином або римантадином. Озельтамівір може бути введений за схемою прийому згідно з його інструкцією. У деяких конкретних  
55 варіантах його вводять по 75 мг два рази на день або 150 мг один раз на день.

[0140] Фармацевтичні композиції

[0141] Сполуки, описані в даному документі, можуть бути включені до складу фармацевтичних композицій, які додатково містять фармацевтично прийнятний носій, розріджувач, ад'ювант або носій. В одному з варіантів здійснення винахід стосується  
60 фармацевтичної композиції, яка містить сполуку за винаходом, як описано вище, і

фармацевтично прийнятний носій, розріджувач, ад'ювант або носій. В одному з варіантів здійснення даний винахід стосується фармацевтичної композиції, яка містить ефективну кількість сполуки за даним винаходом або її фармацевтично прийнятної солі і фармацевтично прийнятний носій, розріджувач, ад'ювант або носій. Фармацевтично прийнятні носії включають, наприклад, фармацевтичні розріджувачі, ексципієнти або носії, вибрані придатним чином відносно передбачуваної форми введення і відповідно до звичайної фармацевтичної практики.

[0142] "Ефективна кількість" включає "терапевтично ефективну кількість" і "профілактично ефективну кількість". Термін "терапевтично ефективна кількість" стосується кількості, ефективною для лікування і/або зменшення інфекції, викликаній вірусом грипу, у пацієнтів, інфікованих грипом. Термін "профілактично ефективна кількість" стосується кількості, ефективною для профілактики і/або суттєвого зменшення імовірності або розміру спалаху інфекції, викликаній вірусом грипу. Конкретні приклади ефективних кількостей описані вище в розділі, озаглавленому "Застосування розкритих сполук".

[0143] Фармацевтично прийнятний носій може містити інертні інгредієнти, які надмірно не перешкоджають біологічній активності сполук. Фармацевтично прийнятні носії повинні бути біологічно сумісними, наприклад бути нетоксичними, не викликати запалення, бути неімунотоксичними або не мати інші небажані реакції або побічні ефекти при введенні індивіду. Можна використовувати стандартні методики одержання фармацевтичних сполук.

[0144] Фармацевтично прийнятний носій, ад'ювант або носій, як використовується в даному документі, включає в себе будь-який і кожен розчинник, розріджувач або інший рідкий носій, що сприяє диспергуванню або суспендуванню, поверхнево-активні речовини, ізотонічні речовини, агенти ущільнення або емульгуючі агенти, консерванти, тверді зв'язувальні агенти, мастильні речовини тощо, як придатно для конкретної бажаної лікарської форми. У Remington's Pharmaceutical Sciences, Sixteenth Edition, E. W. Martin (Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1980), описані різні носії, використовувані для одержання складів фармацевтичних композицій, і відомі методики їх одержання. За винятком тих випадків, коли звичайне середовище носія є несумісним зі сполуками, розкритими в даному описі, наприклад шляхом створення якого-небудь небажаного біологічного ефекту або іншим способом роблячи шкідливий вплив на будь-який інший компонент(и) фармацевтично прийнятної композиції, його застосування розглядається в межах обсягу даного винаходу. Як використовується в даному документі фраза "побічні ефекти" включає в себе небажані і несприятливі ефекти терапії (наприклад, профілактичного або терапевтичного засобу). Побічні ефекти завжди є небажаними, але небажані ефекти не обов'язково роблять негативну дію. Побічний ефект терапії (наприклад, профілактичного або терапевтичного засобу) може бути або шкідливим, або дискомфортним, або викликати ризик. Побічні ефекти включають, але ними не обмежуються, пропасницю, озноб, летаргію, інтоксикацію шлунково-кишкового тракту (включаючи шлункові і кишкові виразки й ерозії), нудоту, блювання, нейротоксичність, гепатотоксичність, ниркову токсичність (включаючи такі стани як хронічний інтерстиціальний нефрит, папілярний некроз), гепатотоксичність (включаючи підвищення печінкових ферментів у сироватці), мієлотоксичність (у тому числі лейкопенію і мієлосупресію, тромбоцитопенію, анемію), сухість у роті, металевий смак, збільшення гестаційного періоду, слабкість, сонливість, біль (у тому числі болі в м'язах, кістах і головні болі), випадання волосся, астенію, запаморочення, екстрапірамідальні симптоми, акатизію, серцево-судинні розлади і сексуальну дисфункцію.

[0145] Деякі приклади речовин, які можуть служити фармацевтично прийнятними носіями, включають, але ними не обмежуються, іонообмінні речовини, оксид алюмінію, стеарат алюмінію, лецитин, білки сироватки (наприклад, сироватковий альбумін людини), буферні речовини (наприклад, Tween 80, фосфати, сорбінова кислота або сорбат калію), суміші часткових гліцеридів насичених жирних кислот рослинного походження, воду, солі або електроліти (наприклад, протаміну сульфат, динатрію гідрофосфат, калію гідрофосфат, хлорид натрію або цинкові солі), колоїдний кремнезем, магнію трисилікат, полівінілпіролідон, поліакрилати, воски, блок-полімери поліетилену-поліоксипропілену, метилцелюлозу, гідроксипропілметилцелюлозу, жир шерсті, цукри, такі як лактоза, глюкоза і сахароза; крохмаль, такий як кукурудзяний крохмаль і картопляний крохмаль; целюлозу і її похідні, такі як натрію карбоксиметилцелюлоза, етилцелюлоза і целюлози ацетат; порошкоподібний трагант; солод; желатин; тальк; наповнювачі, такі як масло какао і воски для супозиторіїв; олії, такі як арахісова олія, бавовняна олія; сафлорова олія; кунжутна олія; оливкова олія; кукурудзяна олія і соєва олія; гліколі, такі як пропіленгліколь або поліетиленгліколь; ефіри, такі як етилолеат і етиллаурат; агар; буферні агенти, такі як гідроксид магнію й алюмінію гідроксид; альгінову кислоту; апірогенну воду; ізотонічний сольовий розчин; розчин Рінгера; етиловий спирт і фосфатні буферні розчини, а також інші нетоксичні сумісні мастильні речовини, такі як натрію

лаурилсульфат і магнію стеарат, а також барвники, агенти вивільнення, агенти покриття, підсолоджувачі, ароматизатори й віддушки, консерванти й антиоксиданти також можуть бути представлені в композиції, відповідно до рішення укладача.

#### [0146] IV. СПОСОБИ ВВЕДЕННЯ

5 [0147] Сполуки і їх фармацевтично прийнятні композиції, описані вище, можуть бути введені людині й іншим тваринам перорально, ректально, парентерально, інтрацистернально, інтравагінально, внутрішньоочеревинно, місцево (у вигляді порошків, мазей або крапель), трансбукально, у вигляді перорального або назального спрею тощо, залежно від тяжкості інфекції, що підлягає лікуванню.

10 [0148] Рідкі лікарські форми для перорального введення включають фармацевтично прийнятні емульсії, мікроемульсії, розчини, суспензії, сиропи й еліксири. Крім активних сполук рідкі лікарські форми можуть містити інертні розріджувачі, звичайно використовувані в рівні техніки, наприклад, такі як вода або інші розчинники, солюбілізуючі агенти і емульгатори, такі як етиловий спирт, ізопропіловий спирт, етилкарбонат, етилацетат, бензиловий спирт, бензилбензоат, пропіленгліколь, 1,3-бутиленгліколь, диметилформамід, олії (зокрема, бавовняна, арахісова, кукурудзяна, олія зародків пшениці, оливкова, касторова і кунжутна олія), гліцерин, тетрагідрофуриловий спирт, поліетиленгліколи і складні ефіри жирних кислот і сорбітану, а також їх суміші. Крім інертних розріджувачів, композиції для перорального застосування можуть додатково включати допоміжні речовини, такі як зволожувачі, емульгатори і суспендуєчі агенти, підсолоджувачі, смакові добавки й ароматизуючі агенти.

20 [0149] Препарати для ін'єкцій, наприклад стерильні ін'єктовані водні або маслянисті суспензії, можуть бути одержані відповідно до інформації рівня техніки, використовуючи придатні диспергуючі або змочувальні агенти і суспендуєчі агенти. Стерильний препарат для ін'єкцій може також бути стерильним ін'єктованим розчином, суспензією або емульсією в нетоксичному розріджувачі або розчиннику, прийнятному для парентерального введення, наприклад у вигляді розчину в 1,3-бутандіолі. Серед прийнятних носіїв і розчинників, які можуть бути використані, можна указати воду, розчин Рінгера, U.S.P і ізотонічний розчин хлориду натрію. Крім того, як розчинник або суспендуєче середовище звичайно використовують стерильні нелеткі масла. Для цієї мети може бути використана будь-яке нелетке масло, включаючи синтетичні моно- або дигліцериди. Крім того, для одержання препаратів для ін'єкцій використовуються жирні кислоти, такі як олеїнова кислота.

30 [0150] Склади для ін'єкцій можуть бути стерилізовані, наприклад, фільтрацією через затримуючий бактерії фільтр або введенням стерилізуючих агентів у формі стерильних твердих композицій, які можуть бути розчинені або дисперговані в стерильній воді або в деяких інших стерильних середовищах для ін'єкцій перед застосуванням.

35 [0151] Для пролонгації ефекту сполуки, описаної в даному документі, часто бажано уповільнити абсорбцію сполуки після підшкірної або внутрішньом'язової ін'єкції. Це може бути досягнуто за рахунок використання рідкої суспензії кристалічної або аморфної речовини з поганою розчинністю у воді. Швидкість абсорбції сполуки тоді залежить від швидкості її розчинення, що, у свою чергу, може залежати від розміру кристалів і кристалічної форми. Альтернативно, уповільнення абсорбції парентерально введеної сполуки досягається за допомогою розчинення або суспендування сполуки в масляному носії. Ін'єкційні депо-форми одержують шляхом формування мікроінкапсулюючих матриць сполуки в біодеградовних полімерах, таких як полілактид-полігліколід. Залежно від співвідношення сполуки і полімеру, а також природи конкретного використовуваного полімеру, швидкість вивільнення сполуки можна контролювати. Приклади інших полімерів, що піддаються біологічному розкладанню, включають полі(ортоєфіри) і полі(ангідриди). Депо-форми складів для ін'єкцій також одержують шляхом включення сполуки в ліпосоми або мікроемульсії, що сумісні з тканинами організму.

45 [0152] Композиції для ректального або вагінального введення являють собою специфічні супозиторії, які можуть бути одержані шляхом змішування описаних у даному документі сполук із придатними подразнюючими ексципієнтами або носіями, такими як масло какао, поліетиленгліколь або віск для супозиторіїв, що є твердими при температурі навколишнього середовища, але рідкими при температурі тіла, і тому розплавляються в прямій кишці або вагінальній порожнині і вивільняють активну сполуку.

50 [0153] Тверді лікарські форми для перорального введення включають капсули, таблетки, пігулки, порошки і гранули. У таких твердих лікарських формах активну сполуку змішують щонайменше з одним інертним, фармацевтично прийнятним ексципієнтом або носієм, таким як цитрат натрію або дикальцію фосфат і/або а) наповнювачі або сухі розріджувачі, такі як крохмалі, лактоза, сахароза, глюкоза, маніт і кремнієва кислота, б) зв'язувальні речовини, такі як, наприклад, карбоксиметилцелюлоза, альгірати, желатин, полівінілпіролідон, сахароза і

гуміарабік, с) зволожувачі, такі як гліцерин, d) дезінтегруючі агенти, такі як агар-агар, карбонат кальцію, картопляний крохмаль або крохмаль з тапіоки, альгінова кислота, деякі силікати і карбонат натрію, е) агенти, що уповільнюють розчинення, такі як парафін, f) прискорювачі абсорбції, такі як четвертинні амонієві сполуки, g) змочувальні агенти, такі як, наприклад, цетиловий спирт і гліцерину моностеарат, h) абсорбенти, такі як каолін і бентонітова глина, і i) мастильні речовини, такі як тальк, стеарат кальцію, стеарат магнію, тверді поліетиленгліколі, лаурилсульфат натрію і їх суміші. У випадку капсул, таблеток і пігулок, дозована форма може додатково містити буферні агенти.

[0154] Крім того, тверді композиції подібного типу можуть використовуватися як наповнювачі у м'яких і твердих желатинових капсулах, використовуючи ексципієнти, такі як лактоза або молочний цукор, а також високомолекулярні поліетиленгліколі тощо. Тверді дозовані форми таблеток, драже, капсул, пігулок і гранул можуть бути одержані з покриттями й оболонками, такими як ентросоліюбильні покриття й інші покриття, добре відомі в галузі фармацевтичних препаратів. Вони можуть необов'язково містити замутнювачі і можуть являти собою композиції, що вивільняють активний(і) інгредієнт(и) тільки або переважно у визначеній частині шлунково-кишкового тракту, необов'язково, в уповільненій формі. Приклади інкапсульованих композицій, які можуть використовуватися, включають полімерні речовини і воски. Крім того, тверді композиції подібного типу можуть використовуватися як наповнювачі у м'яких і твердих желатинових капсулах, використовуючи такі ексципієнти як лактоза або молочний цукор, а також високомолекулярні поліетиленгліколі тощо.

[0155] Крім того, активний інгредієнт може знаходитися в мікроінкапсульованій формі з одним або декількома вищевказаними ексципієнтами. Тверді лікарські форми, такі як таблетки, драже, капсули, пігулки і гранули, можуть бути одержані з покриттям і оболонками, такими як кишковорозчинні покриття й інші види покриття, контролюючі вивільнення, добре відомі в галузі фармацевтичних препаратів. У таких твердих лікарських формах активна сполука може бути змішана принаймні з одним інертним розріджувачем, таким як сахароза, лактоза або крохмаль. Такі лікарські форми можуть також включати, як і в звичайній практиці, додаткові речовини, відмінні від інертних розріджувачів, наприклад мастильні речовини для таблетування й інші допоміжні агенти для таблетування, такі як стеарат магнію і мікрокристалічна целюлоза. У випадку капсул, таблеток і пігулок, лікарські форми можуть додатково містити буферні агенти. Вони можуть необов'язково містити замутнювачі і можуть являти собою композиції, що вивільняють активний(і) інгредієнт(и) тільки або переважно у визначеній частині шлунково-кишкового тракту, необов'язково, в уповільненій формі. Приклади інкапсульованих композицій, що можуть використовуватися, включають полімерні речовини і воски.

[0156] Лікарські форми для місцевого або трансдермального введення сполуки, описаної в даному документі, включають мазі, пасти, креми, лосьйони, гелі, порошки, розчини, спреї, інгалятори або пластири. Активний компонент може бути змішаний у стерильних умовах з фармацевтично прийнятним носієм і будь-якими консервантами або агентами, що будуть необхідні. Офтальмологічні склади, вушні краплі й очні краплі також входять у рамки даного винаходу. Крім того, даний винахід передбачає застосування трансдермальних пластирів, що мають додаткову перевагу, забезпечуючи контрольовану доставку сполуки в організм. Такі лікарські форми можуть бути одержані шляхом розчинення або диспергування сполуки у відповідному середовищі. Додатково можуть застосовуватися прискорювачі абсорбції, щоб збільшити надходження сполуки через шкіру. Швидкість можна контролювати або за допомогою контролюючої швидкості мембрани, або диспергуючи сполуку в полімерній матриці або гелі.

[0157] Композиції, розкриті в даному описі, можуть бути введені перорально, парентерально, шляхом інгаляції, місцево, ректально, назально, трансбукально, вагінально або через імплантований резервуар. Термін "парентеральний", використовуваний у даному документі, включає, але не обмежуючись ними, підшкірну, внутрішньовенну, внутрішньом'язову, внутрішньосуглобову, внутрішньосиновіальну, внутрішньогруднинну, інтратекальну, внутрішньопечінкову, внутрішньоосередкову і внутрішньочерепну ін'єкцію або інфузію. Зокрема, композиції вводять перорально, внутрішньоочередово або внутрішньовенно.

[0158] Стерильними ін'єкційними формами композицій, описаних у даному документі, можуть бути водна або масляна суспензія. Ці суспензії можуть бути приготовлені відповідно до методик, відомих в даній галузі, використовуючи придатні диспергуючі або змочувальні агенти і суспендуючі агенти. Стерильний ін'єкційний склад також може бути стерильним ін'єкційним розчином або суспензією в нетоксичному парентерально прийнятному розріджувачі або розчиннику, наприклад у вигляді розчину в 1,3-бутандіолі. Серед прийнятних носіїв і розчинників, що можуть бути використані, можна указати воду, розчин Рінгера і ізотонічний розчин хлориду натрію. Крім того, як розчинник або суспендує середовище звичайно

використовують стерильні нелеткі масла. З цією метою може бути використане будь-яке нелетке масло, включаючи синтетичні моно- або дигліцериди. Жирні кислоти, такі як олеїнова кислота і її гліцеридні похідні, можуть використовуватися для одержання препаратів для ін'єкцій, такі як природні фармацевтично прийнятні олії, такі як оливкова олія або касторова олія, особливо їх поліоксіетиловані варіанти. Ці масляні розчини або суспензії можуть також містити спиртовий розріджувач з довгим ланцюгом або диспергуючий агент, такий як карбоксиметилцелюлоза або подібні диспергуючі агенти, що звичайно використовуються при одержанні фармацевтично прийнятних лікарських форм, включаючи емульсії і суспензії. Інші звичайно використовувані поверхнево-активні речовини, такі як Tween, Span і інші емульгуючі агенти або підсилювачі біодоступності, звичайно використовувані для одержання фармацевтично прийнятних твердих, рідких або інших лікарських форм, також можуть бути використані для цілей одержання.

[0159] Фармацевтичні композиції, розкриті в даному описі, можуть бути введені перорально в будь-якій перорально прийнятній лікарській формі, включаючи, але ними не обмежуючись, капсули, таблетки, водні суспензії або розчини. У випадку таблеток для перорального застосування звичайно використовувані носії включають, але ними не обмежуються, лактозу і кукурудзяний крохмаль. Також звичайно додають мастильні речовини, такі як стеарат магнію. Для перорального введення у формі капсул придатні розріджувачі включають лактозу і висушений кукурудзяний крохмаль. Якщо для перорального застосування вимагаються водні суспензії, то активний інгредієнт об'єднують з емульгуючими і суспендуючими агентами. При бажанні також можуть бути додані визначені підсолоджувачі, ароматизатори або барвники.

[0160] Альтернативно, фармацевтичні композиції, описані в даному документі, можуть бути введені у формі супозиторіїв для ректального введення. Вони можуть бути одержані шляхом змішування агента з придатним неподразнюючим ексципієнтом, що є твердим при кімнатній температурі, але рідким при ректальній температурі, і, отже, буде плавитися в прямій кишці з вивільненням лікарського засобу. Такі речовини включають, але ними не обмежуються, масло какао, бджолиний віск і поліетиленгліколі.

[0161] Фармацевтичні композиції, описані в даному документі, також можуть застосовуватися місцево, особливо, якщо метою лікування є ділянки або органи, легкодоступні для місцевого нанесення, включаючи хвороби очей, шкіри або нижньої частини кишечника. Придатні складі для місцевого застосування можуть бути легко одержані для кожної з цих ділянок або органів.

[0162] Місцеве застосування для нижнього відділу кишечника може бути здійснене у вигляді ректальних супозиторіїв (дивіться вище) або у вигляді придатного складу для клізми. Також можуть бути використані місцеві трансдермальні пластири.

[0163] Для місцевого застосування фармацевтичні композиції можуть бути одержані у вигляді придатної мазі, яка містить активну речовину, суспендовану або розчинену в одному або декількох носіях. Носії для місцевого застосування сполук за даним винаходом включають, але ними не обмежуються, мінеральне масло, рідкий вазелін, білий вазелін, пропіленгліколь, поліоксіетилен, поліоксипропілен, емульгуючий віск і воду. Альтернативно, фармацевтичні композиції можуть бути одержані у вигляді придатного лосьйону або крему, що містить активні компоненти, суспендовані або розчинені в одному або більше фармацевтично прийнятними носіях. Придатні носії включають, але ними не обмежуються, мінеральне масло, сорбітанмоностеарат, полісорбат 60, цетилові ефіри воску, цетеариловий спирт, 2-октилдодеканол, бензиловий спирт і воду.

[0164] Для офтальмологічного застосування фармацевтичні композиції можуть бути одержані у вигляді мікронізованих суспензій у ізотонічному стерильному фізіологічному розчині з встановленим рН або, зокрема, у вигляді розчинів у ізотонічному стерильному фізіологічному розчині з встановленим рН разом або без консерванту, такого як хлорид бензалконію. Альтернативно, для офтальмологічного застосування фармацевтичні композиції можуть бути одержані у вигляді мазі, такої як вазелін.

[0165] Фармацевтичні композиції можуть бути також введені за допомогою назального аерозолі або інгаляції. Такі композиції одержують відповідно до методик, добре відомих в галузі фармацевтичних складів, і можуть бути одержані у вигляді розчинів у фізіологічному розчині, використовуючи бензиловий спирт або інші придатні консерванти, прискорювачі абсорбції для підвищення біодоступності, фторвуглеці і/або інші звичайні солубілізуючі або диспергуючі агенти.

[0166] Сполуки для застосування в способах за винаходом можуть бути одержані у вигляді стандартної лікарської форми. Термін "одинична дозована форма" стосується фізично дискретних одиниць, придатних як одиничні дози для індивідів, що проходять лікування,



причому кожна одиниця містить попередньо визначену кількість активної речовини, розраховану на одержання бажаного терапевтичного ефекту, необов'язково, у сполученні з придатним фармацевтичним носієм. Стандартна лікарська форма може бути однією добовою дозою або однією з множини добових доз (наприклад, від 1 до 4 або більше разів на день). Якщо

використовуються множина добових доз, то стандартна лікарська форма може бути однаковою або різною для кожної дози.

[0167] V. ПРИКЛАДИ

[0168] Приклад 1. Загальні способи XRPD, вимірювання  $C^{13}$  твердотільної ЯМР, DSC

[0169] Термогравіметричний аналіз (ТГА)

[0170] Термогравіметричний аналіз (ТГА) проводили на ТА приладі для TGA, модель Q500 Asset Tag V014840. Твердий зразок вміщували у ванночку для платинового зразка і нагрівали при  $10\text{ }^{\circ}\text{C/хв.}$  до  $300\text{ }^{\circ}\text{C}$  від кімнатної температури.

[0171] Вимірювання DSC

[0172] Диференціальну скануючу калориметрію (DSC) проводили на приладі Tag V015553 TA DSC Q200 Asset. Приблизно 1-2 мг твердого зразка вміщували в алюмінієву герметично закрити ванночку для DSC з рифленою кришкою з отвором. Клітинний зразок, як правило, нагрівають при продуванні азоту.

[0173] Експериментальна SSNMR

[0174] Спектри твердотільної ядерно-магнітної спектроскопії (SSNMR) одержували на Bruker-BioSpin 400 МГц Advance III із широким спектрометром, оснащеним зондом Bruker-BioSpin 4 мм HFX. Зразки були упаковані в ротори 4 мм  $\text{ZrO}_2$  (приблизно 70 мг або менше, залежно від наявності зразка). Була використана швидкість обертання під магнічним кутом (MAS), що звичайно дорівнює 12,5 кГц. Температура головки зонда була встановлена на 275K, щоб звести до мінімуму вплив фрикційного нагрівання під час обертання. Час протонної релаксації вимірювали за допомогою експерименту по відновленню насичення по релаксації  $^1\text{H}$ -MAS  $T_1$  для того, щоб установити правильну рециркуляційну затримку в експерименті з  $^{13}\text{C}$  крос-поляризацією (CP) MAS. Відновлення насичення в експерименті  $^{13}\text{C}$  CPMAS установлювали принаймні в 1,2 разу довше, ніж виміряний час релаксації  $^1\text{H}$   $T_1$ , для максимального збільшення співвідношення сигнал вуглецю-шум у спектрі. Час контактування CP в експерименті  $^{13}\text{C}$  CPMAS був встановлений на 2 мс. Використовували CP протонний імпульс з лінійною характеристикою (від 50 до 100 %). Умову Хартмана-Хана оптимізували на зовнішньому еталонному зразку (гліцин). Спектри фтору були одержані, використовуючи установку MAS з незв'язаними протонами і повтореною затримкою, установленою приблизно в 5 разів від виміряного часу релаксації  $^{19}\text{F}$   $T_1$ . Час релаксації фтору вимірювали за допомогою експерименту по відновленню насичення по релаксації незв'язаного протона  $^{19}\text{F}$ -MAS  $T_1$ . Обидва спектри вуглецю і фтору були одержані за допомогою SPINAL64. Розділення використовували з напруженістю поля близько 100 кГц. Хімічний зсув був протиставлений зовнішньому стандарту адамантану з резонансом, спрямованим в область сильного поля, що дорівнює 29,5 проміле.

[0175] Докладний опис експерименту Bruker D8 Discover XRPD

[0176] Параметри рентгенівської порошкової дифракції (XRPD) одержували при кімнатній температурі в режимі відбиття, використовуючи дифрактометр Bruker D8 Discover (Asset Tag V012842), оснащений герметизованою пробіркою з джерелом і з виявлювачем Hi-Star (Bruker AXS, Madison, WI). Генератор рентгенівського випромінювання працював при напрузі 40 кВ і струмі 35 мА. Зразок порошку вміщували в алюмінієвий тримач. Два кадри були зареєстровані з часом експозиції 120 с кожний. Дані потім були інтегровані в діапазоні від  $4,5^{\circ}$ - $39^{\circ}$   $2\theta$  з розміром кроку  $0,02^{\circ}$  і об'єднані в один неперервний параметр.

[0177] Приклад 2. Одержання Сполуки (1) і сольвату 2-MeTHF Сполуки (1)

[0178] Сполука (1) може бути одержана, як описано в WO 2010/148197. Наприклад, аморфну вільну основу Сполуки (1) одержували відповідно до WO 2010/148197, а потім за допомогою звичайного хірального розділення й очищення: SCF хіральна хроматографія з модифікатором, що включає  $\text{Et}_2\text{NH}$  (який утворював сіль  $\text{Et}_2\text{NH}$  Сполуки (1)), а потім обробка іонообмінною смолою. Дані XRPD показані в Таблиці 11. Альтернативно, Сполука (1) може бути одержана за допомогою наступних методик як сольват 2-MeTHF.

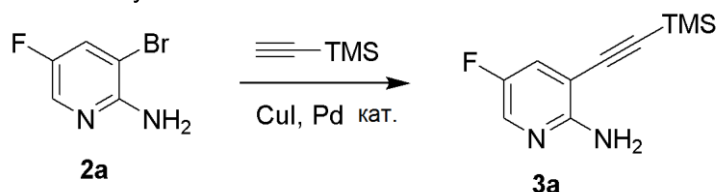
[0179] Одержання Сполуки 2a (2-аміно-3-бром-5-фторпіридин)



[0180] До суспензії 2-аміно-5-фторпіридину (6 кг, 53,6 моль) у воді (24 л) при 14 °C додавали протягом 10 хвилин 48 % бромистоводневу кислоту (18,5 кг, 110 моль). Реакція була екзотермічною і температура піднімалася до 24 °C. Суміш повторно охолоджували до 12 °C, потім додавали дев'ять порцій бромоводню (9 кг, 56,3 моль) протягом 50 хвилин (екзотермічна реакція, підтримують при 20 °C). Суміш перемішували при 22 °C протягом ночі і контролювали за допомогою ЯМР аліквоти з погашеною реакцією (гасять 5 краплями в суміш 1 мл 20 %  $K_2CO_3$ , 0,3 мл 10 %  $Na_2S_2O_3$  і 0,7 мл DCM). Органічний шар упарювали й аналізували. Суміш охолоджували до 10 °C, потім гасили додаванням бісульфіту натрію (560 г, 5,4 моль) у воді (2 л) і потім охолоджували до 0 °C. Цю суміш додавали в холодну суміш (-4 °C) DCM (18 л) і 5,4М гідроксиду натрію (35 л, 189 моль). Порцію на дні ~35 л фільтрували через подушку з Целіту, і потім утворювався фазовий розрив. Водний шар повторно екстрагували DCM (10 л). Органічні шари фільтрували через подушку з 3 кг магнезолу, промивали DCM (8 л). Фільтрат упарювали, розтирали в порошок з гексаном і фільтрували.

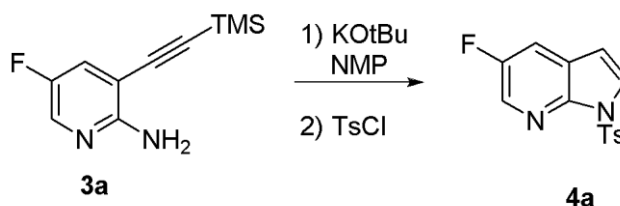
[0181] Незважаючи на те, що аналіз у ході процесу вказав на 97 % завершення, цей початковий продукт усіх чотирьох пробірів, як правило, містив ~10 % SM. Його об'єднували і розтирали в гексані (2 л на кг речовини) при 50 °C, а потім охолоджували до 15 °C і фільтрували з одержанням Сполуки 2a (30,0 кг, ~95 % чистота, 149 моль, 67 %). Маточні розчини початкового розтирання і повторного очищення хроматографували (20 кг силікагелю, елюент 25-50 % EtOAc у гексані) з одержанням додаткової Сполуки 2a (4,7 кг, ~99 % чистота, 24,4 моль, 11 %).

[0182] Одержання Сполуки 3a



[0183] В інертний 400-л реактор вміщували Сполуку 2a (27,5 кг, чистота 96 %, 138 моль),  $Pd(PPh_3)_4$  (1044 г, 0,90 моль) і  $CuI$  (165 г, 0,87 моль), а потім толуол (90 кг). Суміш знекиснювали трьома циклами вакуум-азот, а потім додавали триетиламін (19,0 кг, 188 моль). Суміш знекиснювали ще одним циклом вакуум-азот, потім додавали TMS-ацетилен (16,5 кг, 168 моль). Суміш нагрівали до 48 °C протягом 23 годин (початкова екзотермічна реакція підвищувала температуру максимально до 53 °C), потім охолоджували до 18 °C. Суспензію фільтрували через подушку із Целіту і промивали толуолом (8 кг). Фільтрат промивали 12 %  $Na_2HPO_4$  (75 л), потім фільтрували через подушку із силікагелю (25 кг), промивали 1:1 гексан:MTBE (120 л). Цей фільтрат упарювали до коричневого масла, а потім розчиняли в NMP для наступної стадії. Маса розчину Сполуки 3a була 58 кг, ~50 мас. %, 138 моль, 100 %.  $^1H$ -ЯМР ( $CDCl_3$ , 300 МГц):  $\delta$  7,90 (с, 1H), 7,33-7,27 (м, 1H), 4,92 (с,  $NH_2$ ), 0,28 (с, 9H) м.ч.

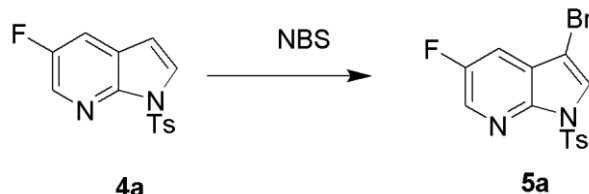
[0184] Одержання Сполуки 4



[0185] В інертний 400-л реактор вміщували трет-бутоксид калію (17,5 кг, 156 моль) і NMP (45 кг). Суміш нагрівали до 54 °C, потім додавали розчин Сполуки 3a (29 кг, 138 моль) у NMP (38 кг) протягом 2,75 години і промивали NMP (6 кг) (екзотермічна реакція, підтримували при 70-77 °C). Реакційну суміш перемішували при 74 °C протягом 2 годин, потім охолоджували до 30 °C і додавали розчин тозилхлориду (28,5 кг, 150 моль) у NMP (30 кг) протягом 1,5 години і промивали з NMP (4 кг). Реакція була екзотермічною і її підтримували на рівні 30-43 °C. Реакційну суміш перемішували протягом 1 години при охолодженні до 20 °C, потім додавали воду (220 л) протягом 35 хвилин (екзотермічна реакція, підтримували при 18-23 °C). Суміш перемішували при 20 °C протягом 30 хв., потім фільтрували і промивали водою (100 л). Тверді продукти відфільтровували за допомогою DCM (250 кг), відділяли від залишкової води, і органічні речовини фільтрували через подушку з магнезолу (15 кг, зверху) і силікагелю (15 кг, знизу), промиваючи додатковою кількістю DCM (280 кг). Фільтрат концентрували до густої суспензії (~ об'єм 50 л), потім додавали MTBE (30 кг), продовжуючи дистиляцію при постійному

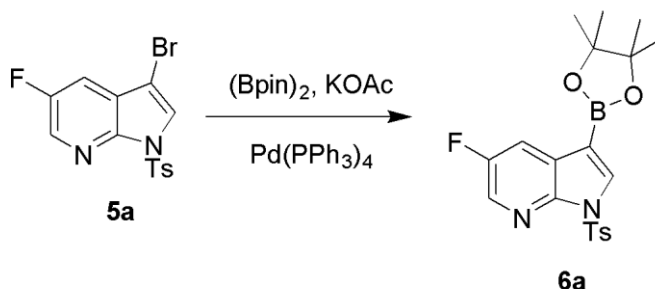
об'ємі (кінцева температура дистиляту дорівнює 51 °С). Додавали додаткову кількість МТВЕ (10 кг) і суспензію охолоджували до 15 °С, фільтрували і промивали МТВЕ (40 л), одержуючи Сполуку 4а (19,13 кг, чистота 95 %, 62,6 моль, 45 %). Часткова концентрація фільтрату давала другу порцію (2,55 кг, чистота 91 %, 8,0 моль, 6 %). <sup>1</sup>Н-ЯМР (CDCl<sub>3</sub>, 300 МГц): δ 8,28-8,27 (м, 1Н), 8,06-8,02 (м, 2Н), 7,77 (д, J=4,0 Гц, 1Н), 7,54-7,50 (м, 1Н), 7,28-7,26 (м, 2Н), 6,56 (д, J=4,0 Гц, 1Н), 2,37 (с, 3Н) м.ч.

[0186] Одержання Сполуки 5а



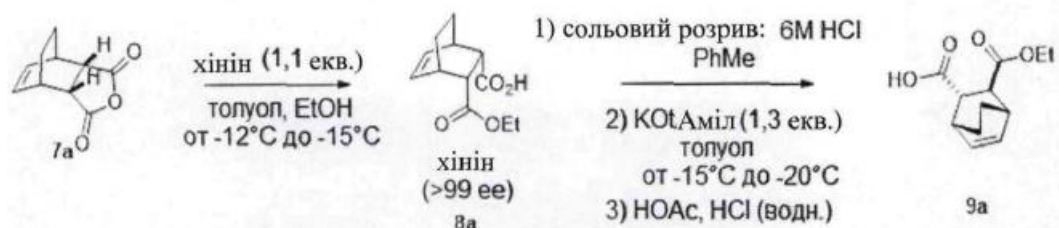
[0187] У суспензію N-бромсукциніміду (14,16 кг, 79,6 моль) у DCM (30 кг) при температурі 15 °С вміщували розчин Сполуки 4а (19,13 кг, чистота 95 %, 2,86 кг, чистота 91 %, 71,6 моль) у DCM (115 кг), промиваючи в DCM (20 кг). Суміш перемішували при 25 °С протягом 18 годин, а потім охолоджували до 9 °С і гасили, додаючи розчин тіосульфату натрію (400 г) і 50 % розчин гідроксиду натрію (9,1 кг) у воді (130 л). Суміш нагрівали до 20 °С і шари розділяли, і органічні шари промивали 12 % сольовим розчином (40 л). Водні шари послідовно повторно екстрагували DCM (4×50 кг). Органічні речовини об'єднували і 40 л дистилювали до азеотропної води, потім розчин фільтрували через подушку із силікагелю (15 кг, низу) і магнезолу (15 кг, зверху), промиваючи DCM (180 кг). Фільтрат концентрували до густої суспензії (~ об'єм 32 л), потім додавали гексан (15 кг). Додавали додаткову кількість гексану (15 кг), продовжуючи дистиляцію при постійному об'ємі (кінцева температура дистиляту 52 °С). Суспензію охолоджували до 16 °С, фільтрували і промивали гексаном (25 кг) з одержанням Сполуки 5а (25,6 кг, 69,3 моль 97 %). <sup>1</sup>Н-ЯМР (CDCl<sub>3</sub>, 300 МГц): δ 8,34-8,33 (м, 1Н), 8,07 (д, J=8,2Гц, 2Н), 7,85 (с, 1Н), 7,52-7,49 (м, 1Н), 7,32-7,28 (м, 2Н), 2,40 (с, 3Н) м.ч.

[0188] Одержання Сполуки 6а: реакція BEFTAI



[0189] В інертний 400-л реактор вміщували Сполуку 5а (25,6 кг, 69,3 моль), біс(пінаcolato)диборон (19 кг, 74,8 моль), ацетат калію (19 кг, 194 моль), ацетат паладію (156 г, 0,69 моль) і трифенілфосфін (564 г, 2,15 моль), а потім діоксан (172 кг), який був окремо знекиснений з використанням циклів вакуум-азот (×3). Суміш перемішували й знекиснювали, використовуючи цикли вакуум-азот (×2), а потім нагрівали до 100 °С протягом 15 годин. Суміш охолоджували до 35 °С, потім фільтрували, промивали 30 °С THF (до 75 кг). Фільтрат упарювали і залишок розчиняли в DCM (~90 л). Розчин перемішували разом з 1 кг вуглецю і 2 кг магнезолу протягом 45 хв., потім фільтрували через подушку із силікагелю (22 кг, низу) і магнезолу (10 кг, зверху), промиваючи DCM (160 кг). Фільтрат концентрували до густої суспензії (~ об'єм 40 л), потім розтирали в порошок при температурі 35 °С і додавали гексан (26 кг). Суспензію охолоджували до 20 °С, фільтрували і промивали сумішшю DCM (5,3 кг) і гексану (15 кг), а потім гексаном (15 кг) і сушили в атмосфері азоту на фільтрі з одержанням Сполуки 6а (23,31 кг, 56,0 моль, 81 %) у вигляді білої твердої речовини. <sup>1</sup>Н-ЯМР відповідає цільовому продукту, ВЕРХ 99,5 %, аналіз з паладієм 2 проміле. <sup>1</sup>Н-ЯМР (CDCl<sub>3</sub>, 300 МГц): δ 8,25 (с, 1Н), 8,18 (с, 1Н), 8,09-8,02 (м, 2Н), 7,91-7,83 (м, 1Н), 7,30-7,23 (м, 2Н), 2,39 (с, 3Н), 1,38 (с, 12Н) м.ч.

[0190] Одержання Сполук 8а і 9а



[0191] Сполука 8а. Ангідрид 7а (24,6 кг, Apex) і хінін (49,2 кг, Buchler) додавали до реактора з наступним додаванням безводного PhMe (795,1 кг). Реактор потім охолоджували до -16 °C і додавали EtOH (безводний, 41,4 кг) при такій швидкості, щоб підтримувати внутрішню температуру реактора при менше -12 °C. Максимальна температура реакції, зареєстрована в цьому експерименті, склала -16 °C. Реакційну суміш потім нагрівали при -16 °C протягом 16 годин. Зразок видаляли і фільтрували. Твердий продукт сушили і оцінювали за допомогою <sup>1</sup>H-ЯМР, який показав, що ангідриду не залишилося. Вміст реактора відфільтровували. Реактор і наступний вологий осад на фільтрі промивали PhMe (безводний, 20 кг). Одержану тверду речовину вміщували у відцентрову сушарку при менше 45 °C, промиваючи N<sub>2</sub> протягом принаймні 48 годин. У цьому експерименті, фактична температура складала 44 °C, і вакуум був -30 у Hg. Речовину відбирали через 2,5 дні після висушування і ЯМР показав 3 % PhMe. Ще через 8 годин кількість зразка PhMe аналізували, і він показав присутність тих же 3 % PhMe і сушіння припиняли. Маса твердої речовини білого кольору була 57,7 кг, вихід 76 %. <sup>1</sup>H-ЯМР показав відповідність зі структурою й аналіз Chiral SFC показав >99 % ee речовини.

[0192] Сполука 9а. У реактор вміщували сіль хініну 8а (57,7 кг) і PhMe (250,5 кг, Aldrich класу ACS, >99,5 %) і починали перемішувати. Вміст охолоджували до менше 15 °C і обробляли 6N HCl (18 кг H<sub>2</sub>O обробляли 21,4 кг конц. HCl) при підтриманні температури менше 25 °C. Суміш перемішували протягом 40 хв. і візуально оцінювали для того, щоб переконатися, що ніяких твердих частинок не присутньо. Перемішування припиняли, фазам давали відстоятися і фази розділяли. Водні фази знову екстрагували за допомогою PhMe (160 кг); кількість, яку використовували, була, як правило, набагато менше обчисл. 43 кг. Проте, для ефективного перемішування у вигляді мінімального об'єму додавали додаткову кількість PhMe. Органічні фази об'єднували. Брали зразки органічної фази і проганяли в аналізі ВЕРХ, щоб підтвердити присутність продукту; тільки для інформації.

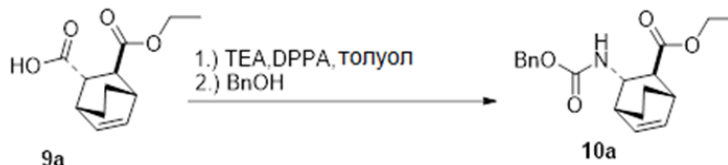
[0193] Органічні фази охолоджували до менше 5 °C (0-5 °C) і додавали сульфат натрію (безводний, 53,1 кг) при перемішуванні протягом 8 годин (у даному випадку 12 годин). Вміст реактора, що містить органічну фазу, пропускали через фільтр, який містить сульфат натрію (31 кг, безводний), і вміщували в очищений і висушений реактор. Реактор промивали PhMe (57,4 кг), пропускали через фільтр у реактор ємністю 20 л. Починали перемішування і додавали додаткову кількість PhMe (44 кг) і реакційну суміш охолоджували до -20 °C. При цій температурі додавали розчин PhMe калію трет-пентоксиду протягом 2 годин, підтримуючи температуру від -15 до -22 °C. Реакційну суміш підтримували при приблизно -20 °C протягом ще 30 хв., після чого брали зразки. Узяття зразка відбувалося шляхом видалення аліквот і негайного їх гасіння у 6N HCl. Цільове співвідношення в даному випадку дорівнює 96:4 (транс:цис).

[0194] Досягши цільового відношення, в реактор вміщували оцтову кислоту (2,8 кг) протягом 6 хвилин. Температура залишалася на рівні -20 °C. Температуру потім доводили до -5 °C і додавали водний 2N HCl (65,7 кг води, обробленої 15,4 кг конц. HCl). Вміст нагрівали до 5 °C/-5 °C, перемішували протягом 45 хв., а потім нагрівали до 20 °C/-5 °C при перемішуванні протягом 15 хвилин. Перемішування припиняли, і фазам давали відстоятися. Водний шар видаляли (тимчасове утримання). Органічну фазу промивали водою (48 кг, питна), перемішували протягом 15 хв. і фазам давали відстоятися (принаймні 15 хв.), і водний шар видаляли і додавали до водного шару. В органічну фазу додавали 1/3 буферного розчину (приблизно 50 л), який був одержаний (7,9 кг NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1,3 кг Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> і 143,6 кг води), і перемішували протягом щонайменше 15 хвилин. Перемішування припиняли і фази залишали розділятися принаймні на 15 хвилин. Нижній шар видаляли. Іншу частину буферного розчину (близько 50 л) використовували для промивання органічного шару, як описано вище. Промивання проводили втретє, як описано вище.

[0195] Вакуумну дистиляцію фази PhMe (150 л) починали при 42 °C/-13,9 фунтів на квадратний дюйм і дистилювали до масла об'ємом приблизно 20 л. Після значного зменшення об'єму суміш переносили в меншу посудину для завершення дистиляції. Додавали гептан (13,7 кг), і суміш нагрівали до 40±5 °C протягом 30 хвилин, а потім вміст охолоджували до температури 0-5 °C протягом 1,5 години. Тверді речовини відфільтровували і реактор

промивали приблизно 14 кг охолодженого (0-5 °C) гептану. Тверді речовини сушили у вакуумі перед тим як вміщували в піч при температурі менше 40 °C під домашнім вакуумом (-28 фунтів на квадратний дюйм) доти, поки LOD не дорівнював <1 %. 15,3 кг, 64 %, чистота згідно з ВЕРХ 96 %. <sup>1</sup>H-ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 11,45 (ушир.с, 1H), 6,41 (т, J=7,2 Гц, 1H), 6,25 (т, J=7,2 Гц, 1H), 4,18 (м, 2H), 3,27 (м, 1H), 3,03 (м, 1H), 2,95 (м, 1H), 2,77 (м, 1H), 1,68 (м, 1H), 1,49 (м, 1H), 1,25 (т, J=7,2 Гц), 1,12 (м, 1H).

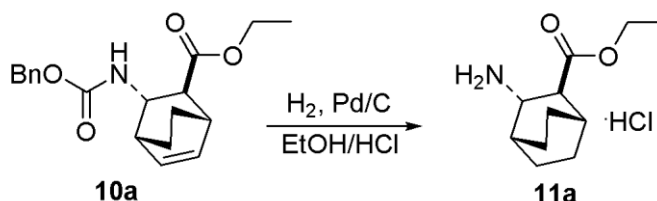
[0196] Одержання Сполуки 10a



[0197] У тригорлу круглодонну колбу, оснащену механічною мішалкою, датчиком температури, зворотним холодильником, краплинною лійкою і входом для азоту, вміщували Сполуку 9a (145,0 г, 1 екв.) і безводний толуол (Aldrich, кат. # 244511) (1408 г, 1655 мл) в атмосфері азоту. Потім порціями додавали триетиламін (Aldrich, кат. # 471283) (140 г, 193 мл, 2,14 екв.) протягом 5 хвилин до перемішаного розчину, при цьому спостерігалось виділення тепла при максимальній температурі 27 °C. Починали збирання даних за допомогою ReactIR. Реакційну суміш потім нагрівали до 95 °C протягом 70 хв. Потім порціями додавали дифенілфосфорилазид (Aldrich, кат. # 178756) (176,2 г, 138,0 мл, 0,99 екв.) за допомогою краплинної лійки протягом загального часу 2,25 години.

[0198] Після завершення додавання дифенілфосфорилазиду (краплинну лійку промивали невеликою кількістю толуолу), одержану суміш нагрівали при 96 °C протягом ще 50 хвилин. Зразок реакційної суміші, розведений у толуолі, аналізували за допомогою GC/MS, що вказувало на витрату дифенілфосфорилазиду. Потім додавали бензиловий спирт (Aldrich, кат. # 108006) (69,9 г, 67,0 мл, 1,0 екв.) за допомогою краплинної лійки протягом 5-10 хвилин. Одержану суміш потім нагрівали при 97 °C протягом ночі (протягом приблизно 19 годин). Зразок реакційної суміші, розведений у толуолі, за допомогою GC/MS показав утворення продукту (m/e=330). Реакційну суміш потім охолоджували до 21 °C, після чого порціями додавали воду (870 г, 870 мл) (спостерігали невелике виділення тепла до максимальної температури 22 °C). Реакційну суміш спочатку гасили, додаючи 500 г води, і перемішували механічним способом протягом 10 хвилин. Потім суміш переносили в ділільну лійку, яка містить 370 г води, що залишилися, а потім вручну перемішували. Після перемішування і розділення фаз, органічний і водний шари розділяли (відділяли водну фазу при pH~10). Органічний шар потім промивали додатковою порцією води (870 г; 1×870 мл). Органічний і водний шари розділяли (відділяли водний шар при pH~10). Зібрану органічну фазу потім концентрували досуха при зниженому тиску (водяна баня при температурі 45-50 °C), одержуючи 215 г неочищеної Сполуки 10a (приблизний об'єм 190 мл). <sup>1</sup>H-ЯМР і GC/MS відповідають Сполуці 10a (із залишковим толуолом і бензиловим спиртом).

[0199] Одержання Сполуки 11a



[0200] Одержання HCl у етанолі. У тригорлу круглодонну колбу, оснащену датчиком температури, входом для азоту і магнітною мішалкою, вміщували етанол (1000 мл, 773 г) в атмосфері азоту. Розчин перемішували і охолоджували на бані сухий лід/ацетон доти, поки внутрішня температура не досягала 12 °C. Потім безводний HCl (~80 г, 2,19 моль) повільно барботували в охолоджений розчин (спостерігали температуру від -24 до -6 °C під час додавання) протягом 2 годин. Після додавання розчин переносили в скляну колбу і залишали нагріватися до температури навколишнього середовища. Зразок розчину, узятий для титрування, давав концентрацію 2,6M. Розчин потім зберігали в холодному приміщенні (приблизно 5 °C) протягом ночі.

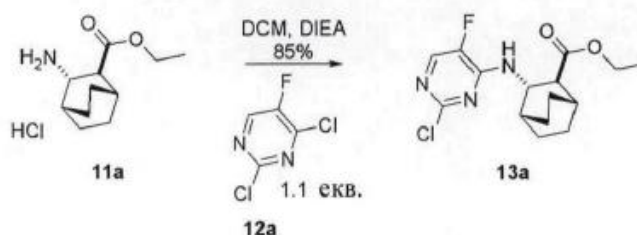
[0201] Гідрування/утворення солі HCl. У скляну вставку в 2-галонному автоклаві Парра вміщували паладій на вугіллі (Pd/C (Aldrich, кат. # 330108), 10 % у розрахунку на суху вагу (вологість 50 %), 13,11 г, 0,01 екв. на основі Сполуки 10a) в атмосфері азоту, а потім



зволожували етанолом (93 г; 120 мл). Потім додавали розчин неочищеної Сполуки 10а (212 г, 1 екв.) у етанолі (1246 г, 1600 мл) у скляну вставку (промивали невеликим об'ємом етанолу для сприяння перенесенню). Скляну вставку вміщували в автоклав, а потім додавали HCl у етанолі (одержаний, як описано вище, 2,6М, 1,04 екв. у розрахунку на Сполуку 10а, 223 г, 259 мл). Автоклав герметизували, а потім продували воднем (3× при 20 фунтах на квадратний дюйм). Потім починали гідрування при прикладеному тиску газоподібного водню (15 фунтів на квадратний дюйм) протягом 3 годин, після чого тиск був постійним. Аналіз аліквот реакційної суміші за допомогою <sup>1</sup>H-ЯМР і GC/MS показав витрату вихідного матеріалу/утворення продукту. Одержану суміш потім фільтрували через подушку з Целіту (192 г), після чого подушку з Целіту промивали додатковою кількістю етанолу (3×, усього під час промивання використовували 1176 г етанолу). Фільтрат (зеленого кольору) потім концентрували при зниженому тиску (на водяній бані при 45 °C) до ~382 г (~435 мл, 2,9 об'єму на основі теоретичного виходу Сполуки 11а). Потім до залишку додавали ізопропілацетат (1539 г, 1813 мл, 12 об'ємів на основі теоретичного виходу Сполуки 11а). Одержаний розчин дистильовали у вакуумі при поступовому підвищенні температури.

[0202] Дистиляцію зупиняли, після чого розчин, що залишився (370 г, ~365 мл загального об'єму, коричнюватий колір), залишали стояти при температурі навколишнього середовища протягом вихідних. Суміш фільтрували (для полегшення фільтрації використовували ізопропілацетат) і зібрані тверді продукти промивали додатковою кількістю ізопропілового ацетату (2×116 мл, кожне промивання приблизно 100 г). Потім тверду речовину сушили у вакуумі при 40 °C (максимальна спостережувана температура 42 °C) протягом ночі з одержанням 118 г (78,1 % протягом двох стадій) Сполуки 11a. <sup>1</sup>H-ЯМР речовини відповідає структурі Сполуки 11a і GC/MS показала чистоту 99 %.

[0203] Одержання Сполуки 13а



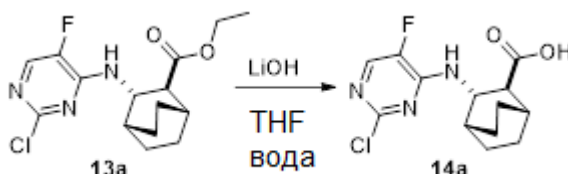
[0204] Методика А. Суміш 5-фтор-2,4-дихлорпіримідину (Сполука 12а, 39,3 г, 235 ммоль, 1,1 екв.) і солі аміну HCl (Сполука 11а, 50 г, 214 ммоль) обробляли  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (169 мл), і суміш нагрівали до 30 °С. Суміш потім повільно обробляли DIEA (60,8 г, 82 мл, 471 ммоль, 2,2 екв.) через шприц з насосом протягом 3 годин. Пік температури був до 32 °С. Реакційну суміш перемішували протягом 20 годин, реакційну суміш перевіряли на завершення реакції за допомогою ВЕРХ і охолоджували до кімнатної температури. Одержану реакційну суміш промивали послідовно водою (211 мл, pH=8-9), 5 % розчином  $\text{NaHSO}_4$  (211 мл, pH=1-2), а потім 5 % водним розчином  $\text{NaCl}$  (211 мл, pH=5-6).

[0205] Органічну фазу потім дистильовали при зниженому тиску до 190 мл. Вмішували PhMe (422 мл) і температуру встановлювали при 70-80 °C і при внутрішній температурі 60-65 °C доти, поки об'єм не повертався до 190 мл. Суміш залишали охолоджуватися до 37 °C при перемішуванні, через приблизно 10 хвилин починалася кристалізація і відзначалося підвищення температури до 41 °C. Після зрівноважування до 37 °C, у суспензію додавали н-гептан (421 мл) протягом 3,5 години, а потім охолоджували до 22 °C протягом 1 години. Суміш перемішували протягом ночі при цій температурі перед фільтрацією. Одержану тверду речовину на фільтрі промивали 10 % PhMe у розчині н-гептану (2×210 мл). Потім тверду речовину сушили в печі під вакуумом при продуванні N<sub>2</sub> при 50 °C протягом ночі. Одержаний твердий продукт важив 62 г (вихід 88 %).

[0206] Методика В. У тригорлу круглодонну колбу, оснащену механічною мішалкою, датчиком температури, зворотним холодильником, входом для азоту і додатковою краплинною лішкою, вмішували Сполуку 11а (51,2 г) і Сполуку 12а (40,2 г) в атмосфері азоту. Додавали дихлорметан (173 мл, 230 г), і одержану суміш перемішували при нагріванні до внутрішньої температури, що дорівнює 30 °С. Потім повільно додавали N, N-діізопропілетиламін (85 мл, 63,09 г) за допомогою краплинної лійки протягом 2,5-3 годин, протягом цього часу відзначалося виділення тепла до максимальної температури, що дорівнює 33,5 °С. Після завершення додавання, одержаний розчин перемішували при 30-31 °С протягом ночі в атмосфері азоту (протягом приблизно 19 годин).

[0207] Зразок, 100 мкл реакційної суміші розбавляли дихлорметаном до повного об'єму 10 мл і розчин добре перемішували. Зразок розведеної аліквоти аналізували за допомогою GC/МС, що вказувало на повне завершення реакції по GC/МС; при цьому спостерігалось утворення продукту ( $m/e=328$ ). Реакційну суміш охолоджували до 26 °С і переносили в ділильну лійку (за допомогою дихлорметану). Потім суміш послідовно промивали водою (211 мл, 211 г, водний шар відділявся при  $pH \sim 8$ , невеликий шар із суспензією переносився разом з відділенням водного шару), 5 % водним розчином  $NaHSO_4$  ((одержували, використовуючи 50 г моногідрату бісульфату натрію (Aldrich кат. # 233714) і 950 г води) 211 мл, 216 г;  $pH$  при відділенні водного шару був  $\sim 2$ ), а потім 5 % водним розчином  $NaCl$  ((одержували, використовуючи 50 г хлориду натрію (Aldrich кат. # S9888) і 950 г води) 211 мл, 215 г;  $pH$  водного шару був  $\sim 4-5$ ). Зібрану органічну фазу потім концентрували при зниженому тиску (на водяній бані при 35 °С) до  $\sim 190$  мл (2,7 об'єму на основі теоретичного виходу Сполуки 13а), після чого додавали толуол (Aldrich, кат. # 179418, 422 мл, 361 г). Одержану суміш концентрували при зниженому тиску (на водяній бані при температурі 55-65 °С) до  $\sim 190$  мл (2,7 об'єму на основі теоретичного виходу Сполуки 13а). Аналіз зразка розчину на цій стадії за допомогою  $^1H$ -ЯМР показав відсутність дихлорметану. Суміш, що залишилася, залишали охолоджуватися до 37 °С (використовуючи водяну баню при температурі 37 °С на роторному випарнику при перемішуванні). Протягом цього часу спостерігалась виражена кристалізація. Потім суміш механічно перемішували і нагрівали до температури приблизно 37 °С (зовнішнє джерело тепла, установлене на 38 °С), після чого повільно додавали н-гептан (430 мл, 288 г, Aldrich кат. # H2198) за допомогою краплинної лійки протягом 3 годин. Після додавання нагрівання зупиняли й одержану суспензію перемішували механічним способом при охолодженні до температури навколишнього середовища протягом ночі. Одержану суміш потім фільтрували і зібрані тверді речовини промивали 10 % толуолом у н-гептані (2×210 мл, кожне промивання одержували шляхом змішування 21 мл (16 г) толуолу і 189 мл (132 г) н-гептану). Вакуум використовували доти, поки спостерігали дуже мало фільтрату. Тверді речовини потім додатково сушили у вакуумі при 50 °С при продуванні азотом до постійної маси (3,5 години) з одержанням 64,7 г (90 %) Сполуки 13а. Аналіз зразка твердого продукту за допомогою  $^1H$ -ЯМР показав, що речовина відповідає структурі, і аналіз LC показав 99,8 % чистоти, використовуючи наданий спосіб LC.

[0208] Одержання Сполуки 14а

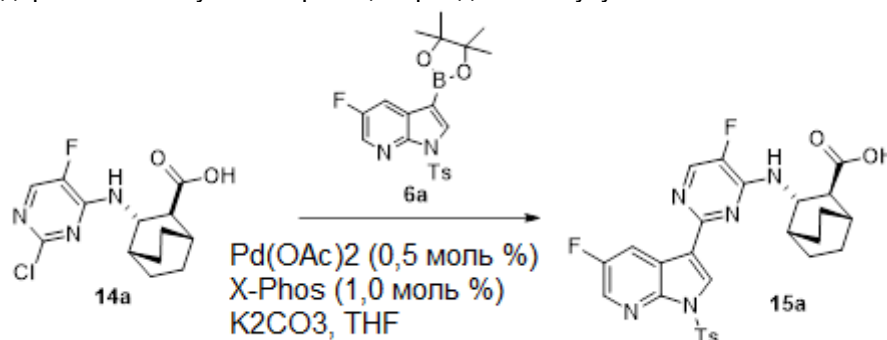


[0209] Етиловий ефір 13а (85 г, 259 ммоль) розчиняли в THF (340 мл) і обробляли розчином LiOH (2М, 389 мл, 778 ммоль) протягом 10 хв. (температура від 21 до 24 °С). Суміш нагрівали до 45 °С при перемішуванні протягом 17 годин, після чого перевіряли завершення реакції за допомогою ВЕРХ (SM не спостерігали). Реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури і додавали  $CH_2Cl_2$  (425 мл). Потім повільно додавали розчин лимонної кислоти (2М, 400 мл) протягом 45 хв. (при температурі до 26 °С). Було відзначено, що під час додавання утворилися деякі білі тверді речовини, але вони швидко розчинялися при перемішуванні. Реакційну суміш перемішували протягом ще 15 хв., після чого фази розділяли. Після того, як були розділені фази, вимірювали  $pH$  водної фази,  $pH=4,0$ . Органічну фазу промивали (перемішування 15 хв.) водою (255 мл), фази залишали розділятися. Нижній шар (органічний), що містить необхідний продукт, потім зберігали в холодильнику протягом ночі.

[0210] Органічну фазу концентрували при зниженому тиску (котел установлювали на 65 °С) до приблизно 150 мл (обчисл. 1,76 об'єму wrt SM). IPA (510 мл) завантажували і дистильовали при зниженому тиску (85 °С температурна установка холодильної машини) до 255 мл (3 об'єми). Рівень розчинника доводили приблизно до 553 мл (6,5 об'єму) шляхом додавання IPA (298 мл). Потім додавали воду (16 мл) і реакційну суміш нагрівали зі зворотним холодильником (77 °С) при енергійному перемішуванні, при якому розчинялися тверді речовини, осаджені на стінках посудини. Реакційну суміш потім повільно охолоджували до 65 °С (протягом 60 хв.) і зберігали всю речовину в розчині (брали зразок для аналізу залишку в розчині). Реакційну суміш додатково охолоджували до 60 °С, і реакційна суміш здавалася злегка опалесцюючою. Після перемішування протягом 15 хвилин додатково охолоджували до 55 °С. Продукт продовжував випадати в осад, а суміш як і раніше була негустою і легко перемішувалася. Дуже повільно (2,5-3 години) додавали воду (808 мл) підтримуючи температуру близько 55 °С. Суміш потім охолоджували до 22 °С протягом 2 годин і залишали перемішуватися протягом ночі. Речовину

потім фільтрували і промивали сумішшю води:IPA (75:25, 2×255 мл). Кислоту сушили у вакуумній сушильній шафі при 55 °С протягом ночі. Одержували 69 г кислоти 14а, вихід 88 % твердого білого продукту. Аналіз речовини за допомогою ВЕРХ - >99 % чистоти.

[0211] Одержання Сполуки 15а: реакція приєднання Сузукі

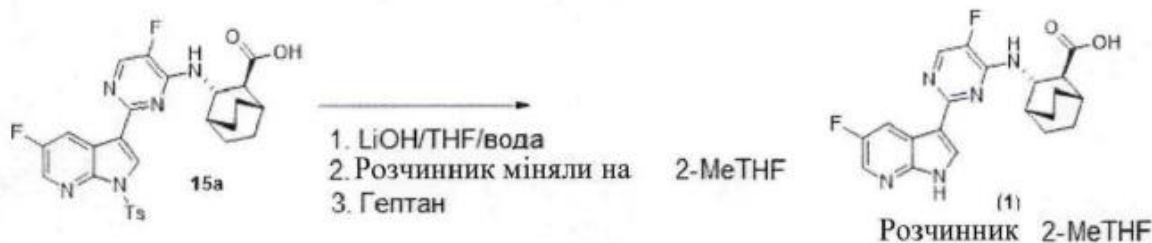


5

[0212] До Сполуки 14а (91,4 г, 305 ммоль), Сполуки 6а (158,6 г, 381 ммоль, 1,25 екв.),  $\text{Pd(OAc)}_2$  (0,34 г, 1,5 ммоль, 0,5 моль %),  $\text{X-Phos}$  (1,45 г, 3,0 ммоль, 1,0 моль %), і  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (168,6 г, 1220 ммоль, 4 екв.) додавали THF (731 мл, 8 об'ємів) і воду (29 мл, 0,32 об'єму). Реакційну суміш продували  $\text{N}_2$  протягом 30 хв., потім нагрівали до 65-70 °С і перемішували протягом 5 годин. ВЕРХ-аналіз реакційної суміші показав 99,3 % перетворення. Реакційну суміш охолоджували до 22-25 °С і додавали воду. Суміш перемішували, фазам давали розділитися і водну фазу видаляли. Розчин 18 мас. %  $\text{NaCl}$  у воді (напівнасичений водний розчин  $\text{NaCl}$ ) додавали до органічної фази, і рН суміші доводили до 6,0-6,5 за допомогою 2н  $\text{HCl}$ . Фазам давали розділитися і водну фазу видаляли. Органічну фазу концентрували до мінімального об'єму і додавали ацетонітрil. Процес повторювали ще один раз, і додавали ацетонітрil до одержання кінцевого об'єму 910 мл (10 об'ємів). Суспензію нагрівали до 80-85 °С протягом 6 годин, потім охолоджували до 20-25 °С. Суспензію перемішували протягом 2 годин, потім фільтрували. Тверді речовини промивали ацетонітрilом з одержанням Сполуки 15а (161 г, вихід 89 %).

10

[0213] Одержання Сполуки (1): стадія детозилування



[0214] До Сполуки 15а (25 г, 45,2 ммоль) додавали THF (125 мл, 5 об'ємів), потім полімер МР-ТМТ (6,25 г, 25 мас. %). Суміш перемішували при 20-25 °С протягом 16 годин і фільтрували, промиваючи 1 об'ємом THF. Процес обробки полімеру і фільтрацію повторювали. Розчин THF концентрували до 5 об'ємів. До суміші при 22-25 °С додавали водний розчин 2М  $\text{LiOH}$  (90,3 мл, 4 екв.). Реакційну суміш нагрівали до 40-45 °С і перемішували протягом 5 годин. ВЕРХ-аналіз показав 99,7 % перетворення. Реакційну суміш охолоджували до температури 22-25 °С і додавали МТВЕ (50 мл, 2 об'єми). Відбувалося розділення фаз. Нижню водну фазу збирали. Водну фазу екстрагували МТВЕ. Нижню водну фазу збирали. До водної фази додавали 2-МеТНФ і одержану суміш перемішували. Значення рН суміші доводили до 6,0-6,5, а нижню водну фазу видаляли. Органічну фазу промивали буфером з рН 6,5. Органічну фазу концентрували до 85 мл, розбавляли 2-МеТНФ (150 мл) і концентрували до кінцевого об'єму 180 мл. Одержану суспензію нагрівали до 70-75 °С і перемішували до повного розчинення, потім охолоджували до 45-50 °С з одержанням суспензії. Суспензію перемішували протягом 1 години, а потім додавали гептан (180 мл). Суспензію охолоджували до температури 20-25 °С протягом 1 години і перемішували протягом 16 годин. Партию фільтрували, промивали гептаном тверді продукти. Тверді продукти сушили з одержанням сирого сольовату Сполуки (1)-2-МеТНФ, вихід 79 %.

25

30

35

[0215] Приклад 3. Утворення поліморфів солі  $\text{HCl}$  Сполуки (1)

[0216] 3А: одержання Форми А солі  $\text{HCl}$  Сполуки (1)×1/2 $\text{H}_2\text{O}$

40



[0217] Форму А солі HCl Сполуки (1)×1/2H<sub>2</sub>O одержували шляхом змішування сольвату 2-метилтетрагідрофурану (2-MeTHF) (1 еквівалент) Сполуки (1) (Сполука (1)×1(2-MeTHF)) із хлористим воднем у суміші води й органічного розчинника(ів), причому суміш з води й органічного розчинника(ів) мала активність води 0,05-0,85. Конкретні використовувані умови реакції наведені в Таблиці 1 нижче.

[0218]

Таблиця 1

Умови реакції, використані для одержання Форми А солі HCl Сполуки (1)×1/2H<sub>2</sub>O

Спол., (1) (мг) 1(2- MeTHF)	Розчинник	Розчинник (мл)	Вода (мл)	6н водний HCl (мл)	T (°C)	Екв. (HCl: Сполука (1))	Вода (мас. %)
40	Ацетон	640	40	15,70	35	1,1332	8,84 %
25	Ацетон	400	25	9,80	46	1,1318	8,84 %
10,09	Ацетон	160	64	3,98	35	1,1389	32,71 %
5	n-Пропанол	186	10	1,29	20	0,7449	6,87 %
6,01	Ізопропанол	88	2	2,31	35	1,1097	5,10 %
6,6	iPrOH/ оцтова кислота=> ацетон*	100/1,0	4	3,10	45	1,3561	7,25 %
18	Ацетон	180	6	3,60	30	0,5774	5,33 %
18	Ацетон	180	8	6,40	35	1,0266	7,73 %
6	Ацетон	66	11	2,82	30	1,3561	18,57 %
0,101	iBuOAc	5	0,1	0,10	~20	2,8586	4,36 %
6	Оцтова кислота	50	8,7	2,18	35	1,0499	15,37 %

\*Дві стадії: iPrOH/AcOH і потім знову одержували суспензію в ацетоні/воді.

[0219] Альтернативно, Форму А сіль HCl Сполуки (1)×1/2H<sub>2</sub>O також одержували за допомогою наступних методик. Методика А. Сполуку (1)×2-MeTHF (953 г, 2,39 моль) вміщували в реактор з оболонкою, 30 л, і обробляли IPA (15 л) і водою (0,57 л). Починали перемішування і реакційну суміш нагрівали до 73 °C для одержання розчину всіх компонентів, потім охолоджували до 50 °C-55 °C. При 50 °C-55 °C реакційну суміш обробляли свіжоприготованим HCl у IPA (0,83M, 4,34 л) за допомогою повільного додавання протягом 4 годин. Слід зазначити, що приблизно в ½ від початку суміш ставала густіше. Відбирали зразки реакційної суміші для перевірки правильної форми за допомогою XRPD. Після додавання холодильну машину програмували на зниження до 0 °C протягом 480 хв. при перемішуванні. Після підтвердження форми аналізом XRPD, суспензію фільтрували на двох фільтрах. Реактор промивали 3 л IPA і кожен осад на фільтрі промивали ~1,5 л IPA промивки IPA з реактора. Коржики залишали сохнути на повітрі протягом ночі за допомогою усмоктування. Коржики потім вміщували у відцентрову сушарку без нагрівання у вакуумі з продуванням N<sub>2</sub> (22 у HG) протягом 24 годин. Залишковий розчинник і аналіз води показав 505 чнм IPA, 8 чнм 2-Me-THF і приблизно 2,15 % H<sub>2</sub>O. Речовину виймали з печі і перемелювали до розподілу з одержанням 805 г солі HCl Сполуки (1)×1/2H<sub>2</sub>O. Методика В. Альтернативно, замість IPA використовували ацетон, але таким же чином, як описано вище в методиці А, з одержанням солі HCl Сполуки (1)×1/2H<sub>2</sub>O.

[0220] Дані XRPD і C<sup>13</sup> SSNMR Форми А солі HCl Сполуки (1)×1/2H<sub>2</sub>O показані на Фіг. 1 і 2, відповідно. Деякі спостережувані піки XRPD і піки C<sup>13</sup> SSNMR підсумовані в Таблицях 2 і 3, відповідно.

[0221]

Таблиця 2

Одержання Форми А солі HCl Сполуки (1)×1/2H<sub>2</sub>O

Піки XRPD	Кут (2-тета±0,2)	Інтенсивність %
1	10,5	100,0
2	5,2	71,6
3	7,4	46,8
4	18,9	42,0
5	25,2	41,7
6	16,5	39,5
7	18,1	28,1
8	23,0	27,5
9	24,1	25,3
10	20,2	21,6
11	26,4	21,3
12	15,8	19,8
13	21,8	18,3
14	13,8	17,6
15	27,4	17,3
16	29,0	16,7
17	14,8	15,0
18	32,0	15,0
19	25,7	13,8
20	28,6	13,4
21	33,8	13,0
22	12,8	12,0
23	30,8	11,7
24	32,4	11,6
25	24,5	11,5
26	23,4	11,1
27	21,0	10,4

[0222]

Таблиця 3

Піки C<sup>13</sup> SSNMR Форми А солі HCl Сполуки (1)×1/2H<sub>2</sub>O

Пік #	Хім. зсув [±3 проміле]	Інтенсивність [віднош.]
1	180,1	50,4
2	157,9	9,1
3	154,6	26,4
4	150,7	25,3
5	144,9	31,0
6	140,1	6,7
7	132,4	36,3
8	131,2	30,0
9	129,0	21,0
10	117,5	33,6
11	114,0	38,0
12	107,0	34,4
13	54,8	42,0
14	47,7	52,7
15	29,2	100,0
16	24,6	74,0
17	22,1	83,6

[0223] Було виявлено, що одержана Форма А солі HCl Сполуки (1)×1/2H<sub>2</sub>O була стабільна в наступних системах розчинників (але ними не обмежуючись): хлорбензол, циклогексан, 1,2-дихлоретан, дихлорметан, 1,2-диметоксіетан, гексан, 2-метоксіетанол, метилбутилкетон, метилциклогексан, нітрометан, тетралін, ксилол, толуол, 1,1,2-трихлоретан, ацетон, анізол, 1-бутанол, 2-бутанол, бутилацетат, трет-бутиловий ефір, кумол, етанол, етилацетат, етиловий ефір, етилформіат, гептан, ізобутилацетат, ізопропілацетат, метилацетат, 3-метил-1-бутанол, метилетилкетон, 2-метил-1-пропанол, пентан, 1-пропанол, 1-пентанол, 2-пропанол, пропілацетат, тетрагідрофуран, метилтетрагідрофуран.

[0224] Зокрема, для тестів розчинності і стабільності Форми А солі HCl Сполуки (1)×1/2H<sub>2</sub>O, зразки сполуки вміщували в 2-мл посудини для ВЕРХ з 500μл розчинника. Суміш перемішували при температурі навколишнього середовища протягом 2 тижнів, а потім фільтрували за допомогою центрифуги. Одержані тверді продукти аналізували за допомогою XRPD, розчини аналізували на розчинність за допомогою кількісного ЯМР проти стандарту гідрокінону. Результати наведені в Таблиці 4.

[0225]

Таблиця 4

Стисле представлення даних форми і розчинності для Форми А солі HCl Сполуки (1)

Розчинник	Сіль, (мг/мл)	Одержані форми
Ацетонітрил	0,5	Сольват
Хлорбензол	<0,1	А
Хлороформ	<0,1	Сольват
Циклогексан	<0,1	А
1,2-Дихлоретан	1,7	А
Дихлорметан	0,1	А
1,2-Диметоксіетан	0,5	А
1,4-Діоксан	0,4	А
Етиленгліколь	108,1	Сольват
Гексан	<0,1	А
Метанол	46,4	Сольват
2-Метоксіетанол	34,1	А
Метилбутилкетон	0,4	А
Метилциклогексан	<0,1	А
Нітрометан	<0,1	А
Тетралін	<0,1	А
Толуол	<0,1	А
1,1,2-Трихлоретан	<0,1	А
Ксилол	<0,1	А
Ацетон	1,5	А
Анізол	<0,1	А
1-Бутанол	2,9	А
2-Бутанол	2,9	А
Бутилацетат	0,2	А
Трет-бутилметиловий ефір	0,4	А
Кумол	<0,1	А
Диметилсульфоксид	346,5	Сольват
Етанол	19,9	А
Етилацетат	0,2	А
Етиловий ефір	0,1	А
Етилформіат	0,4	А
Мурашина кислота	214,0	Сольват
Гептан	<0,1	А
Ізобутилацетат	0,2	А
Ізопропілацетат	0,4	А
Метилацетат	0,6	А
3-Метил-1-бутанол	3,2	А
Метилетилкетон	0,5	А

2-Метил-1-пропанол	3,5	A
Пентан	<0,1	A
1-Пентанол	3,3	A
1-Пропанол	10,7	A
2-Пропанол	3,3	A
Пропілацетат	0,8	A
Тетрагідрофуран	0,7	A
Метилтетрагідрофуран	0,7	A
Вода	0,6	F

[0226] Дані термограми (дані не показані) були одержані шляхом поміщення зразка в платинову ємність для зразків і при нагріванні при 10 °C/хв. у діапазоні від 300 °C до кімнатної температури. Дані термограми показали втрату маси, що дорівнює 2,1 %, при від 30 до 170 °C, що узгоджується з теоретичним напівгідратом (2,0 %).

[0227] Дані DSC-термограми були одержані (дані не показані) шляхом нагрівання зразка при 10 °C/хв. у діапазоні від 300 °C до кімнатної температури. DSC-термограма показала температуру дегідратації, що дорівнює 50-100 °C, а потім температуру плавлення/розкладання, що дорівнює 200-260 °C.

[0228] 3В: одержання Форми F солі HCl Сполуки (1)×3H<sub>2</sub>O

[0229] Форма F солі HCl Сполуки (1)×3H<sub>2</sub>O може бути одержана шляхом одержання суспензії Форми A солі HCl Сполуки (1)×1/2H<sub>2</sub>O у ізопропанолі і воді або ацетоні і воді, або у воді (зі значенням активності води, що дорівнює або більше 0,9).

[0230] Наприклад, суспензію 100 мг Форми A солі HCl Сполуки (1)×1/2H<sub>2</sub>O, у 5 мл ізопропанолу/води або ацетону/води при активності води, що дорівнює 0,9, перемішували при температурі навколишнього середовища протягом ночі. Супернатант видаляли і сушили під несильним струменем повітря одержану тверду речовину з одержанням Форми F солі HCl Сполуки (1)×3H<sub>2</sub>O.

[0231] Дані XRPD і C<sup>13</sup> SSNMR Форми F солі HCl Сполуки (1)×3H<sub>2</sub>O показані на Фіг. 3 і 4, відповідно. Деякі спостережувані піки XRPD і піки C<sup>13</sup> SSNMR представлені в Таблицях 5 і 6, відповідно.

[0232]

Таблиця 5

Піки XRPD Форми F солі HCl Сполуки (1)×3H<sub>2</sub>O

Піки XRPD	Кут (2-тета±0,2)	Інтенсивність %
1	7,1	100,0
2	9,6	83,0
3	11,9	88,8
4	12,4	84,6
5	16,4	83,5
6	17,1	83,0
7	17,5	82,8
8	19,2	86,9
9	21,1	82,2
10	21,8	83,7
11	23,9	83,8
12	28,7	83,4

[0233]

Таблиця 6

Піки  $C^{13}$  SSNMR Форми F солі HCl Сполуки (1)×3H<sub>2</sub>O

Пік #	Хім. зсув [±3 проміле]	Інтенсивність [віднош.]
1	178,6	67,6
2	156,8	21,5
3	154,3	49,3
4	152,1	12,6
5	151,2	21,3
6	142,5	37,0
7	132,3	85,7
8	127,9	15,4
9	118,0	38,6
10	117,5	43,7
11	115,2	36,3
12	114,5	35,2
13	106,1	15,4
14	104,8	31,6
15	52,7	43,1
16	52,3	37,2
17	48,8	44,8
18	48,4	46,4
19	30,3	100,0
20	27,4	35,4
21	25,5	37,4
22	24,5	44,5
23	23,8	40,9
24	22,0	46,4
25	21,1	47,0
26	20,7	50,5
27	20,3	47,7

[0234] MDSC-термограму одержували (дані не показані) шляхом нагрівання зразка при 2 °C/хв. до 350 °C від -20 °C і зміни на ±1 °C кожні 60 сек. MDSC-термограма показала дегідратацію при нижче 150 °C, плавлення і перекристалізацію при від 150 до 200 °C і деградацію при температурі вище 250 °C.

[0235] Також був проведений термогравіметричний аналіз (ТГА) форми. Термограма показала втрату маси, що дорівнює 12 %, при до 125 °C, що близько до теоретичного тригідрату (11 %). Друга стадія втрати маси нижче 200 °C була показана за допомогою TGA-МС, що являє собою втрату HCl. Температура плавлення/розкладання складає близько 270-290 °C.

[0236] 3C: одержання Форми D солі HCl Сполуки (1)

[0237] Безводна Форма D солі HCl Сполуки (1) може бути одержана загалом шляхом дегідратації Форми A солі HCl Сполуки (1)×1/2H<sub>2</sub>O. Дегідратація може бути здійснена шляхом нагрівання або сухого продування азотом або їх комбінації. Наприклад, 2 мг Форми A солі HCl Сполуки (1)×1/2H<sub>2</sub>O нагрівали на гарячій плитці, одержуючи бажану безводну Форму D при близько 85 °C.

[0238] Дані XRPD і  $C^{13}$  SSNMR безводної Форми D солі HCl Сполуки (1) показані на Фіг. 5 і 6, відповідно. Деякі спостережувані піки XRPD і піки  $C^{13}$  SSNMR підсумовані в Таблицях 7 і 8, відповідно.

[0238]

Таблиця 7

Піки XRPD для Форми D безводної солі HCl Сполуки (1)

Піки XRPD	Кут (2-тета $\pm$ 0,2)	Інтенсивність %
1	5,3	100,0
2	10,5	56,0
3	15,9	49,2
4	25,9	30,5
5	21,0	24,6
6	26,5	24,1
7	5,8	22,6
8	7,4	21,7
9	19,0	17,4
10	16,6	17,2
11	25,3	16,1
12	24,7	16,0
13	29,4	15,5
14	13,8	14,6
15	20,3	14,5
16	32,0	14,4
17	19,5	12,4
18	28,6	12,4
19	17,1	11,5
20	30,3	11,4
21	27,5	11,0
22	27,0	10,7
23	23,7	10,4
24	28,0	10,2
25	21,6	10,1

[0240]

Таблиця 8

Піки C<sup>13</sup> SSNMR Форми D безводної солі HCl Сполуки (1)

Пік #	Хім. зсув [ $\pm$ 3 проміле]	Інтенсивність [відносна.]
1	179,7	43
2	177,8	44,85
3	157,5	16,88
4	154,9	43,14
5	151,1	25,79
6	149,8	21,51
7	145,0	26,82
8	143,9	35,41
9	141,6	14,85
10	139,7	12,9
11	135,4	29,94
12	132,5	43,37
13	130,1	23,65
14	128,9	27,35
15	127,3	25,35
16	118,1	27,24
17	116,6	28,25
18	113,3	52,71
19	107,5	29,33

Продовження таблиці 8

20	106,1	30,73
21	54,4	39,43
22	53,4	42,25
23	48,2	54,53
24	47,2	47,8
25	31,6	52,54
26	29,4	100
27	26,0	50,37
28	24,8	47,38
29	23,9	63,88
30	22,9	98,06
31	20,2	45,7

[0241] 3D: тести на активність води

- 5 [0242] Конкурентне дослідження суспензії Форми А солі HCl Сполуки (1)×1/2H<sub>2</sub>O із затравкою Форми F солі HCl Сполуки (1)×3H<sub>2</sub>O, у воді з активністю від 0,0 до 0,8 з ізопропіловим спиртом/водою, показали, що Форма А є найбільш стабільною формою серед Форми D безводної солі HCl Сполуки (1), Форми F солі HCl Сполуки (1)×3H<sub>2</sub>O і Форми А солі HCl Сполуки (1)×1/2H<sub>2</sub>O, через приблизно 2 тижні перемішування при умовах навколишнього середовища. При IPA/воді з активністю 0,9, Форма А солі HCl Сполуки (1)×1/2H<sub>2</sub>O перетворювалася у Форму F солі HCl Сполуки (1)×3H<sub>2</sub>O. Результати цих досліджень наведені в Таблиці 9 нижче.

[0243]

Таблиця 9

Тести на активність води солі HCl Сполуки (1)×1/2H<sub>2</sub>O в сумішах IPA/вода

Вихідні форми	Вода Активність (a <sub>w</sub> )	Вода мас. %	Кінцева форма	Опис
A+F	0 + >80°C		D	Безводна
A+F	0		A	Напівгідрат
A+F	0,1	0,1	A	Напівгідрат
A+F	0,2	0,25	A	Напівгідрат
A+F	0,3	0,35	A	Напівгідрат
A+F	0,4	0,55	A	Напівгідрат
A+F	0,5	0,75	A	Напівгідрат
A+F	0,6	1,00	A	Напівгідрат
A+F	0,7	1,35	A	Напівгідрат
A+F	0,8	1,85	A	Напівгідрат
A+F	0,9	2,80	F	Тригідрат
A+F	1	100	F	Тригідрат

- 15 [0244] Фазова діаграма температури проти активності води для переходу між Формою D безводної солі HCl (1) ("Форма D"), Формою F солі HCl Сполуки (1)×3H<sub>2</sub>O ("Форма F") і Формою А солі HCl Сполуки (1)×1/2H<sub>2</sub>O ("Форма А") показана на Фіг. 12.

[0245] 3F: аморфні солі HCl Сполуки (1)

- 20 [0246] Аморфна сіль HCl Сполуки (1) може бути одержана шляхом обробки солі Me<sub>2</sub>NEt Сполуки (1) (1,985 г) у воді і 2-MeTHF з 1,05 екв. NaOH, з наступною обробкою HCl для видалення аміну і виходу з водного шару (рН 2-3). Одержану суспензію концентрували для видалення яких-небудь органічних сполук, а потім фільтрували. Одержану тверду речовину промивали невеликими порціями води і сушили. Сіль Me<sub>2</sub>NEt Сполуки (1) одержували відповідно до WO 2010/148197, а потім використовували звичайне хіральне розділення і очищення: хіральна хроматографія SCF з модифікуючим агентом, що включав Me<sub>2</sub>NEt (який утворює сіль Me<sub>2</sub>NEt Сполуки (1)).

- 25 [0247] Приклад 4. Утворення поліморфів вільної основи Сполуки (1)

[0248] 4A: одержання Форми А вільної основи Сполуки (1)

[0249] Форму А вільної основи Сполуки (1) одержували за наступною методикою. Сиру аморфну вільну основу Сполуки (1) (приблизно 135 г) переносили в реактор об'ємом 4 л з оболонкою, і в реактор вміщували етанол (2,67 л) і воду (0,325 л) (10 % водний розчин). Суміш нагрівали зі зворотним холодильником. Додавали воду (300 мл) до одержаної суміші на стадії 2) для одержання 20 % водного розчину. Одержану суміш потім охолоджували до 55 °C (швидкість=-1 °C/хв.), а потім витримували протягом 30 хвилин. Кристалічну затравку вільної основи Форми А Сполуки (1) (1,5 г, 3,756 ммоль) потім додавали в охолоджену суміш, і одержану суміш витримували протягом 30 хвилин поки продукт осаджувався. Затравка кристалічної вільної основи Форми А Сполуки (1) була одержана суспендуванням аморфної вільної основи Сполуки (1) (20 мг) у нітروметані (0,5 мл). Додаткові затравки кристалічної вільної основи Форми А Сполуки (1) одержували шляхом одержання суспензії аморфної вільної основи Сполуки (1) (900 мг) в ацетонітрилі (10 мл) разом із затравками, одержаними з використанням нітрометану. У суміш, що містить затравку кристалічної вільної основи Форми А Сполуки (1), повільно додавали воду (795,0 мл) для одержання 40 % водного розчину. Одержану суміш повільно охолоджували до 0 °C (~10 °C/годину), а потім витримували протягом 2 годин. Тверді речовини потім фільтрували і сушили на повітрі, а потім додатково сушили в сушильній шафі при 60 °C протягом 18 годин.

[0250] Альтернативно, використовували сольват 2-метил-THF вільної основи Сполуки (1) замість аморфної вільної основи Сполуки (1) і аналогічними чином, як описано вище, також одержували Форму А вільної основи Сполуки (1).

[0251] Було виявлено, що одержана Форма А Сполуки (1) є стабільною в наступних системах розчинників (але ними не обмежуючись): ацетонітрил, хлорбензол, хлороформ, циклогексан, 1,2-дихлоретан, дихлорметан, 1,2-диметоксietан, етиленгліколь, формаїд, гексан, метилбутилкетон, метилциклогексан, N-метилпіролідинон, нітрометан, тетралін, толуол, 1,1,2-трихлоретан, оцтова кислота, анізол, 1-бутанол, бутилацетат, кумол, етилацетат, етиловий ефір, етилформіат, гептан, ізобутилацетат, ізопропілацетат, 3-метил-1-бутанол, 2-метил-1-пропанол, пентан, пропілацетат, вода, вода-ізопропанол (1:3 об./об.) і вода-ацетонітрил (1:1 об./об.; 1:3 об./об.).

[0252] Дані XRPD і  $C^{13}$  SSNMR Форми А Сполуки (1) представлені в Таблицях 10 і 11, відповідно. Деякі спостережувані піки XRPD і піки  $C^{13}$  SSNMR підсумовані в Таблицях 10 і 11, відповідно.

[0253]

Таблиця 10

XRPD-піки Форми А Сполуки (1)

Піки XRPD	Кут (2-тета±0,2)	Інтенсивність %
1	11,8	100,0
2	18,9	100,0
3	16,9	99,8
4	15,5	99,7
5	22,0	99,7
6	25,5	99,7
7	9,1	99,4
8	23,6	98,6
9	27,6	98,5
10	17,5	98,3
11	23,0	98,3
12	24,0	98,3
13	13,7	98,2
14	20,2	98,2
15	12,5	97,8
16	10,6	97,7
17	15,8	97,5
18	20,6	97,5
19	12,9	97,4
20	24,7	97,4
21	26,2	97,4
22	6,2	97,3
23	21,1	97,3

[0254]



Піки C<sup>13</sup> SSNMR Форми А Сполуки (1)

Пік #	Хім. зсув [ $\pm 3$ проміле]	Інтенсивність [віднош.]
1	180,0	60,1
2	176,2	68,7
3	175,9	62,4
4	160,2	28,8
5	158,6	18,4
6	157,9	28,1
7	157,3	47,2
8	156,0	34,3
9	155,4	49,7
10	152,3	32,5
11	151,4	49,5
12	146,5	18,6
13	144,4	61,1
14	143,8	56,4
15	142,9	19,2
16	140,2	21,2
17	138,5	55,6
18	133,6	29,4
19	132,3	61,4
20	131,0	52,1
21	126,2	23,0
22	121,5	35,8
23	120,8	39,3
24	119,7	90,9
25	116,2	59,3
26	115,3	44,3
27	112,7	35,0
28	52,5	39,0
29	51,6	75,9
30	50,4	94,8
31	49,8	74,6
32	31,8	80,4
33	31,2	53,0
34	30,5	86,0
35	30,1	95,1
36	28,5	100,0
37	26,3	81,0
38	25,9	96,1
39	25,0	82,2
40	22,8	66,97
41	22,2	55,41
42	21,6	64,44
43	21,0	82,87
44	20,4	57,45
45	19,8	52,2

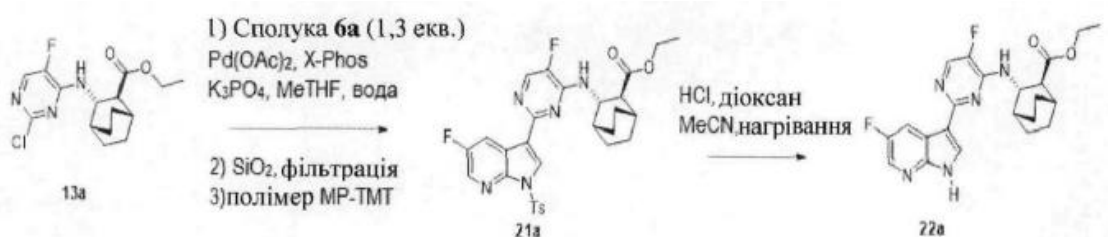
5 [0255] Термогравіметричний аналіз продукту, Форма А Сполуки (1), був проведений (дані не показані) на TA Instruments TGA модель Q500 шляхом поміщення зразка в платинову ємність для зразків і наступного нагрівання ємності при 10 °С/хв. у діапазоні від 300 °С до кімнатної температури. Термограма показала, що розкладання починається приблизно при 293 °С.

[0256] ДСК-термограма для Форми А Сполуки (1) також була одержана за допомогою TA Instruments DSC Q200. Зразок форми нагрівали при 10 °С/хв. до 350 °С. ДСК-термограма показала температуру плавлення, що дорівнює приблизно 278 °С.

[0257] 4В: одержання Форми В вільної основи Сполуки (1)

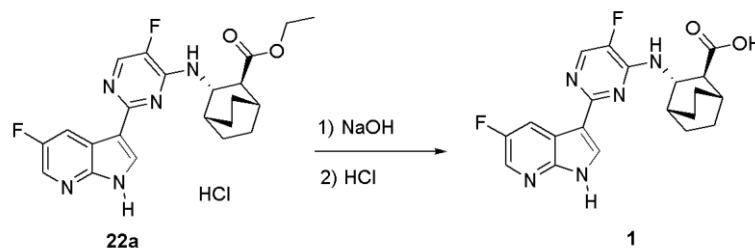
[0258] Гідратована форма вільної основи Сполуки (1) була ізоморфна як Форми А вільної основи Сполуки (1). Форма А вільної основи Сполуки (1) може вільно перетворюватися в гідратну форму, якщо вона піддається впливу високої вологості, і повертатися назад, якщо вологість зменшується. Відповідно до зміни фази, визначеної за допомогою експериментів DSC (дані не показані), температура переходу була близька до температури навколишнього середовища і змінювалася залежно від активності води. Наприклад, при температурі навколишнього середовища відзначалася гідратна форма, де активність води була більше 0,6, наприклад 0,6-1,0.

[0259] 4С: одержання аморфної вільної основи Сполуки (1)



[0260] Реакцію приєднання Сузукі проводили поміщенням хлоропіримідину, Сполука 13a, боронового ефіру Сполуки 6a, каталізатора Pd(OAc)<sub>2</sub> і ліганду (X-Phos) у 10 об'ємів 2-МеTHF. Суміш нагрівали до 65 °С і додавали 2 об'єми 50 % водного розчину K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> зі швидкістю, при якій температура реакційної суміші підтримувалася при 65 °С. Обидві реакційні суміші повністю перетворювалися після охолодження до 20 °С і фільтрації через целіт. Водні шари видаляли, органічні шари промивали 5 % водним розчином NaCl, а потім концентрували досуха з одержанням приблизно 3,5 кг кожного у вигляді темно-зеленої пасти. Сире масло розділяли на 4 рівні частини, суспендували з 400 г SiO<sub>2</sub> і 500 г флорисилу і елюювали через 2,3 кг SiO<sub>2</sub> на колонці з гептаном/EtOAc (фракції від 5:1 до 3:1,2 л), об'єднуючи усі фракції, що містять продукт. Ці фракції концентрували досуха з одержанням приблизно 2,9 кг Сполуки 21a.

[0261] Сполуку 21a розчиняли в 10 об'ємах (25 л) CH<sub>3</sub>CN і обробляли 4 екв. HCl (4,31 л 4н HCl у 1,4-діоксані) при температурі 70 °С протягом 15 годин. Оцінка ВЕРХ показала 100 % завершення реакції і дрібну суспензію охолоджували до 20 °С протягом 1 години. Додавали ТВМЕ (28 л, 11 об.) при 0,5 л/хв., суспензія при цьому ставала густою (желеподібною) наприкінці додавання. Через 4-5 годин перемішування суспензія ставала значно менш густою. Одержані тверді речовини збирали фільтрацією відсмоктуванням і промивали 3×5 л ТВМЕ, з одержанням коржика з низькою щільністю, і сушили в потоці N<sub>2</sub> протягом 3 днів з одержанням 1,71 кг (вихід 86 %, AUC чистота 98,9 %) Сполуки 22a HCl.



[0262] Розчин NaOH (55,60 мл 2М, 111,2 ммоль) додавали до суспензії Сполуки 22a-HCl (10 г, 22,23 ммоль) у 2-МеTHF (100,00 мл) при температурі 20 °С. Реакційну суміш перемішували при 60 °С протягом 5 годин, а потім додатково при 67 °С. Після перемішування протягом приблизно 22 годин до одержаної суміші додавали 100 мл (10 об.) 2-МеTHF. Партію потім охолоджували до 0 °С. До одержаної суміші додавали HCl для того, щоб довести рН до 6,6, з одержанням сирової вільної основи Сполуки (1). Сирю речовину в 60 мл (6 об'ємів) 2-МеTHF нагрівали до 50 °С. В одержану суміш додавали 50 мл (5 об.) n-гептану протягом 1 години. Партію потім охолоджували до 20 °С. Твердий продукт фільтрували, і твердий продукт потім очищали колонковою хроматографією (EtOAc/гептан, від 2:1 до 4:1). Дані XRPD показали аморфну вільну основу Сполуки (1).

[0263] Альтернативно, спостерігали аморфну вільну основу Сполуки (1) із суміші Форми А вільної основи Сполуки (1) і розчинника, вибраного з 2-етоксіетанолу, 2-метоксіетанолу, трет-бутилметилового ефіру, мурашиної кислоти або метилетилкетону (наприклад, див. Таблицю 13 нижче), які перемішували при температурі навколишнього середовища.

5 [0264] 4D: одержання сольвату 2-МеТНФ вільної основи Сполуки (1)

[0265] Сполуку (1)×1(2-МеТНФ) одержували, як описано в Прикладі 2 вище. Дані XRPD показані на Фіг. 12. Деякі спостережувані піки XRPD підсумовані в Таблиці 12.

[0266]

Таблиця 12

Піки XRPD Сполуки (1)×1(2-МеТНФ)

Піки XRPD	Кут (2-тета±0,2)	Інтенсивність %
1	6,4	9,78
2	8,4	38,07
3	9,7	43,96
4	12,9	15,57
5	16,7	100
6	16,9	46,55
7	17,4	18,67
8	19,4	16,54
9	20,0	14,62
10	21,0	20,4
11	21,3	13,58
12	22,3	37,59
13	24,3	15,36
14	25,7	16,34
15	25,9	10,06

10 [0267] 4F: розчинність і дані стабільності Форми А вільної основи Сполуки (1) і аморфної Сполуки (1) у різних системах розчинників

[0268] Розчинність і стабільність Форми А вільної основи Сполуки (1) ("Форма А") і аморфної Сполуки (1) ("Аморфна") у різних системах розчинників протестували при температурі навколишнього середовища таким чином, як описано вище для Форми А солі НСІ Сполуки (1).

15 Одержані дані наведені в Таблиці 13.

[0269]

Таблиця 13

Дані розчинності і стабільності Форми А вільної основи Сполуки (1) ("Форма А") і аморфної Сполуки (1) ("Аморфна")

Розчинник	Вихідна Форма А		Вихідна аморфна форма
	Сіль, (мг/мл)	Одержана форма	Одержана форма
Ацетонітрил	1,0	А	Аморфний
Хлорбензол	0,4	А	Аморфний
Хлороформ	3,8	А	Аморфний
Циклогексан	<0,1	А	Аморфний
1,2-Дихлоретан	0,4	А	Аморфний
Дихлорметан	0,9	А	Аморфний
1,2-Диметоксіетан	114,0	А	Аморфний
N, N-диметилацетамід	>150	Сольват	Сольват
N, N-диметилформамід	39,2	Сольват	Сигнал відсутній
1,4-Діоксан	21,3	Сольват (1:1)	Сольват (1:1)
2-Етоксіетанол	>113	Аморфний	Сигнал відсутній
Етиленгліколь	10,4	А	Сольват
Формамід	7,0	А	Аморфний
Гексан	<0,1	А	Аморфний
Метанол	25,5	Сольват	Сольват

Продовження таблиці 13

2-Метоксіетанол	>114	Аморфний	Сигнал відсутній
Метилбутилкетон	20,0	A	Аморфний
Метилциклогексан	<0,1	A	Аморфний
N-метилпіролідінон	>149	A	Сигнал відсутній
Нітрометан	0,3	A	Аморфний
Тетралін	<0,1	A	Аморфний
Толуол	0,3	A	Аморфний
1,1,2-Трихлоретан	1,0	A	Аморфний
Ксилол	0,3	Сольват	Аморфний
Оцтова кислота	42,8	A	Сольват
Ацетон	16,3	Сольват	Сольват
Анізол	0,7	A	Аморфний
1-Бутанол	21,0	A	Сольват (1:1)
2-Бутанол	14,0	Сольват (1:1)	Сольват (1:1)
Бутилацетат	8,1	A	Аморфний
Трет-бутилметиловий ефір	10,4	Аморфний	Аморфний
Кумол	0,3	A	Аморфний
Диметилсульфоксид	>113	Сигнал відсутній	Сигнал відсутній
Етанол	35,5	Сигнал відсутній	A
Етилацетат	11,6	A	Аморфний
Етиловий ефір	3,5	A	Аморфний
Етилформіат	8,1	A	Сольват (1:1)
Мурашина кислота	>89,4	Аморфний	Сигнал відсутній
Гептан	<1,5	A	Сольват
Ізобутилацетат	4,4	A	Аморфний
Ізопропілацетат	6,2	A	Аморфний
Метилацетат	9,4	Сольват	Сольват
3-Метил-1-бутанол	9,7	A	Сольват
Метилетилкетон	27,3	Аморфний	Сольват (1:1)
2-Метил-1-пропанол	12,2	A	Сольват (1:1)
Пентан	<0,3	A	Аморфний
1-Пентанол	14,5	Сигнал відсутній	Сольват (1:1)
1-Пропанол	15,9	Сольват	Сигнал відсутній
2-Пропанол	12,9	Сольват (1:1)	Сольват (1:1)
Пропілацетат	7,5	A	Аморфний
Тетрагідрофуран	61,2	Сольват (1:1)	Сольват (1:1)
Метилтетрагідрофуран	34,8	Сольват (1:1)	Сольват (1:1)
Вода	<0,1	A	Аморфний
Вода-IPA 1:1	-	Сольват	-
Вода-IPA 1:3	-	A	-
Вода-ACN 1:1	-	A	-
Вода-ACN 1:3	-	A	-
Вода-MeOH 1:1	-	Сольват	-
Вода-MeOH 1:3	-	Сольват	-

[0270] Приклад 5. Одержання Форми А тозилату Сполуки (1)

5 [0271] Форму А тозилату Сполуки (1) одержували шляхом одержання суспензії аморфної вільної основи Сполуки (1) (500 мг) і п-толуолсульфонові кислоти в ацетонітрилі (20 мл). Зразки перемішували протягом ночі. Дані XRPD показані на Фіг. 9. Деякі спостережувані піки XRPD підсумовані в Таблиці 14.

10 [0272] Альтернативно, використовували сольват 2-метил-THF вільної основи Сполуки (1) замість аморфної вільної основи Сполуки (1) і аналогічним чином, як описано вище, також одержували Форму А вільної основи Сполуки (1).

[0273]

## XRPD-піки Форми А тозилату Сполуки (1)

Піки XRPD	Кут (2-тета $\pm$ 0,2)	Інтенсивність %
1	6,0	30,21
2	7,2	100
3	9,3	37,8
4	12,9	13,96
5	13,7	39,23
6	14,3	50,25
7	14,7	42,94
8	16,4	9,99
9	16,9	89,79
10	18,7	59,65
11	19,3	19,62
12	19,6	33,34
13	20,3	11,38
14	20,8	11,98
15	21,9	41,6
16	23,0	33,45
17	24,2	14,97
18	25,4	23,83
19	26,3	44,54
20	26,9	51,79
21	27,5	34,02
22	28,0	36,07
23	29,1	13,36
24	29,7	8,92
25	32,2	9,25
26	33,1	4,75

[0274] Приклад 6. Склади Сполуки (1)

[0275] А. Таблетки Сполуки (1)

[0276] Композиції

5 [0277] Для одержання таблеток використовували Форму А солі HCl Сполуки (1)  $\times 1/2\text{H}_2\text{O}$  (надалі просто Сполука (1) у Прикладі 6). Усі ексципієнти відповідали існуючим в монографіях Європейської Фармакопеї і USP/NF і були придбані у затверджених постачальників.

10 [0278] Склад складу і розмір партії для попередньої грануляції і зв'язувальний розчин для грануляції наведені в Таблиці 15А. Розмір партії зв'язувального розчину включав 100 % надлишок для калібрування насоса і заповнень ліній розчину. Теоретичний склад суміші стиснення також наведений у Таблиці 15А. Були розраховані фактичні величини для партії на основі виходу висушених гранул. Склад і приблизний розмір партії суспензії для плівкового покриття наведений у Таблиці 15В і включає 100 % надлишок для калібрування насоса і заповнень ліній суспензії. Цільова кількість плівкового покриття склала 3,0 мас. %/мас. % від маси таблетки.

[0279]

Таблиця 15А

## Композиції таблеток Сполуки (1)

		% в передгрануляційній суміші	% в сухих гранулах	% в ядрі таблетки	мг в таблетці (300 мг)
Внутрішньо-гранулярний	Сполука (1) кристалічний гемігідрат, сіль HCl (Форма А)	76,13	74,99	50,00	333,00
	Avicel PH-102, NF, PhEur, JP	10,03	9,88	6,59	43,89
	Лактози моногідрат, # 316, NF, PhEur, JP	10,03	9,88	6,59	43,89
	Ac-Di-Sol, NF, PhEur, JP	3,81	3,75	2,50	16,65
	загальна передгрануляційна суміш:	100,00	98,50	65,68	437,43
В зв'язувальному розчині	Povidone K30, USP		1,50	1,0	6,66
	Вода, USP		нд	нд	нд
	всього гранул:		100,00	66,68	444,09
Екстрагранулярний	Prosolv 50, NF			28,82	191,94
	Ac-Di-Sol, NF, PhEur, JP			2,50	16,65
	SSF, NF			2,00	13,32
	Загальне ядро таблетки			100	666,00
Суспензія для нанесення покриття	Opadry II, 85F18422			(3,2 wrt ядро)	21,31
	Вода, USP				нд
	Всього в кінцевій таблетці з покриттям				687,31

[0280]

Таблиця 15В

## Композиція для покривної плівки і приблизний розмір партії

Компонент	мас./мас. %	Розмір партії (г)
Opadry II White, 33G	15,00	210,00
Вода, USP	85,00	1190,00
Всього	100,00	1400,00

5

[0281] Одержання зв'язувальний розчину

[0282] Зв'язувальний розчин складався з повідону і води. Розчин одержували на основі 40 % водного вмісту в кінцевій суміші для грануляції. Таким чином, загальна кількість твердих речовин у розчині (повідон) склала 3,6 % (мас./мас.). Надлишкову кількість 100 % одержували для заповнення ліній тощо. На основі візуального огляду запуску прогону грануляції одержували додаткові вихідні розчини  $\pm 2\%$  (38-42 %) води в кінцевій суміші для грануляції. Як правило, зважували 87,00 г повідону К30 і 2320,00 г очищеної води (DI) і при постійному перемішуванні додавали повідон К30 у контейнер, що містить DI води. Після додавання контейнер герметизували для мінімізації випаровування, і розчин перемішували доти, поки всі присутні тверді речовини повністю не розчинялися.

[0283] Схема процесу вологого гранулювання

[0284] Вологе гранулювання здійснювали за допомогою методик, описаних нижче. Зважували надлишкову (10 %) кількість Сполуки (1), Avicel PH-101, лактози Fastflo і кроскармелози натрію (див. Таблицю 15А). Їх сортували за допомогою ручного сита 20 меш або конічного млина, оснащеного решітчастим ситом з розміром комірок 813 мкм, при 1000 обертах на хвилину (для U5 Quadro Co-mill). Відсортовані речовини вміщували в окремі пакети або контейнери. Речовини потім переносили в блендер і перемішували протягом 15 хвилин як

- правило при 15 обертах на хвилину. Змішані речовини розмелювали, використовуючи конусний млин U5 Quadro, оснащений ситом із квадратними отворами 4 мм, при 1000 обертах на хвилину. Подрібнені речовини знову змішували, повторюючи стадію змішування. Повторно змішані речовини потім подавали в двошнековий гранулятор. Об'ємну вологу суміш для гранулювання подавали в гранулятор, використовуючи ваговий живильник безперервної дії (K-Trop або аналогічний). Одержані речовини потім гранулювали. Зв'язувальну рідину (див. Таблицю 15A) вводили в двошнековий гранулятор, використовуючи перистальтичний насос. Відношення швидкості подачі розчину до швидкості подачі порошку складало 0,4095. Наприклад, якщо швидкість подачі порошку була 15,00 г/хв., то швидкість подачі розчину була  $0,4095 \times 15,00 = 6,14$  г/хв., при вмісті води 40 % (у перерахуванні на суху масу). Субпартії гранул збирали в сушильні лотки з попередньо визначеною вагою. Зібрані речовини рівномірно розприскували на лоток і сушили речовину в печі з утворенням висушених гранул. Висушені гранули вміщували в K-Trop для безупинного виснаження подачі речовини в конусному млині, а потім перемелювали.
- [0285] Екстрагранулярне змішування і процес стиснення
- [0286] Екстрагранулярне змішування і процес стиснення проводили відповідно до методик, описаних нижче. Зважували кількість екстрагранулярних наповнювачів на основі складу суміші для стиснення. Зважені наповнювачі сортували, використовуючи U5 Comil із ситом 32C і круглий стрижень лопатевої мішалки при 1000 обертах на хвилину. Подрібнені гранули Сполуки (1) спочатку додавали в блендер, що містить відсортовані Avicel PH-102 і Ac-Di-Sol. Їх змішували протягом 8 хвилин при 16 обертах на хвилину. Стеарил натрію (SSF) сортували через ручне сито з отворами 50 меш у придатний контейнер. Частину екстрагранульованої суміші, по масі приблизно в 10 разів більше кількості SSF, вміщували в контейнер з SSF і змішували протягом 30 секунд перед додаванням суміші в бункерний змішувач. Усі речовини потім змішували протягом 2 хвилин при 16 обертах на хвилину. Кінцеву суміш потім пресували відповідно до заданих параметрів процесу стиснення таблеток.
- [0287] Процес нанесення покриття
- [0288] Плівкове покриття наносили на серцевини таблеток у ємності для нанесення покриття Vector VPC 1355 у вигляді 15 % мас./мас. Opadry II White # 33G водної суспензії. Цільове покриття складало 3,0 % мас./мас. від маси серцевини таблетки в прийнятному діапазоні від 2,5 % до 3,5 %. Для досягнення цієї мети, кількість суспензії для покриття, еквівалентну збільшенню маси на 3,2 %, розпиляли, що давало 3,0 % покриття, якщо передбачити, що ефективність покриття складає 95 %.
- [0289] В. Внутрішньовенні склади (вв) Сполуки (1)
- [0290] Форму А солі HCl Сполуки (1)  $\times 1/2\text{H}_2\text{O}$  (у Прикладі 6 надалі просто Сполука (1)) одержували у вигляді 2 мг/мл розчину для внутрішньовенного (вв) введення. Склад розчину разом з еталонною якістю і функцією кожного компонента представлені в Таблицях 16A і 16B.
- [0291]

Таблиця 16A

Склад розчину носія<sup>a</sup>

Компонент	Стандарт якості	Функція компонента	Кількість (мг/50 г вв розчину)	Вміст (% мас./мас.)
Фосфат натрію одноосновний, безводний	USP	Буферний агент	26	0,052
Натрій фосфат двоосновний, гептагідрат	USP	Буферний агент	1281	2,562
Декстроза, безводна	USP	Модифікатор тонічності	500	1000
Вода для ін'єкцій	USP	Розчинник	48,193	96,386
Всього	--	--	50000	100 %
Скорочення: USP - Фармакопея США.				

<sup>a</sup>pH розчину доводили за допомогою NaOH або HCl.

[0292]

Таблиця 16В

Порівняння внутрішньовенного розчину<sup>a</sup> Сполуки (1)

Компонент	Функція компонента	Кількість (мг/50 г вв розчину)	Вміст (% мас./мас.)
Сполука (1) <sup>b</sup>	Речовина лікарського препарату	111	0,222
Розчин носія (з Таблиці 1)	Розчинник	49,889	99,778
Всього	--	50000	100 %

<sup>a</sup>рН розчину доводили за допомогою NaOH або HCl.Густина розчину дорівнює 1000 г/см<sup>3</sup>.

Лікарська речовина являла собою напівгідрат солі HCl. Кількість лікарської речовини розраховували на основі еквівалента активної безводної вільної основи, де коефіцієнт перетворення з вільної основи в напівгідрат солі HCl складає 1,11.

[0293] Приклад 7. In vivo аналіз комбінації Сполуки (1) разом або без озельтамівіру

[0294] Інфікованих мишей обробляли носієм або підвищуваними рівнями доз Форми А солі HCl Сполуки (1)×1/2H<sub>2</sub>O у комбінації з клінічно значимою дозою озельтамівіру, починаючи через 48 годин після зараження грипом А або за 2 години до зараження грипом В.

[0295] Способи. У цих дослідженнях Форма А солі HCl Сполуки (1), напівгідрат (у Прикладі 7 надалі просто Сполука (1)), була включена до складу разом з носієм, що містить 0,5 % (мас./мас.) МС (Sigma-Aldrich, St Louis, MO), з одержанням гомогенної суспензії, і доза сполуки була основана на солі HCl Сполуки (1), напівгідрат. Озельтамівір був включений до складу з дистильованою деіонізованою водою з одержанням гомогенної суспензії. Комбінація Сполуки (1) з озельтамівіром була включена до складу з носієм, що містить 0,5 % (мас./мас.) МС. Ці комбіновані склади одержували на початку кожного дослідження і зберігали при 4 °С протягом до 10 днів при перемішуванні в темряві. Усі склади і носії вводили мишам за допомогою перорального зонда в об'ємі дози 10 мл/кг.

[0296] Самців мишей BALB/c (5-7 тижнів, 17-19 г) анестезували і заражали летальною дозою вірусу грипу A/PR/8/34 або B/Mass/3/66, адаптованого для мишей, шляхом інтраназальної інстиляції. Вісім мишей були включені в досліджувану групу. Лікування починали через 48 годин після зараження вірусом грипу А або за 2 години до зараження вірусом грипу В. Носій (10 мл/кг) і Сполуку (1) у дозах 0,1-10 мг/кг вводили самостійно або в комбінації з 10 мг/кг озельтамівіру, перорально (PO), два рази на день (BID) протягом 10 днів у дослідженні грипу А. Носій (10 мл/кг) і Сполуку (1) при дозах 1-10 мг/кг вводили самостійно або в комбінації з 10 мг/кг озельтамівіру, перорально (PO), два рази на день (BID) протягом 10 днів у дослідженні грипу В. Мишей зважували і щодня оглядали на наявність ознак захворювання протягом 21 дня після зараження. Крім того, функції легень контролювали за допомогою природного WBP (Buxco, Troy, NY).

[0297] Грип A/PR/8/34 (VR-1469) і грип B/Mass/3/66 (VR-523) одержували з ATCC (Manassas, VA). Вихідні розчини одержували стандартними способами, відомими в даній галузі. Коротко, вірус пасивували при низькій множинності інфекції в клітини Мадін-Дарбі нирок собак (клітини MDCK, CCL-34, ATCC), супернатант збирали через приблизно 48 годин і центрифугували при 650×g протягом 10 хвилин. Вихідні розчини вірусу заморожували при -80 °С перед використанням. Титр вірусу (TCID<sub>50</sub>/мл) розраховували по методу Спірмена-Каргер після серійних розведень зразка вірусу, інфікуючи культури MDCK у повторі, і вимірювали цитопатичний ефект (CPE) на основі вмісту АТФ в 96 годин (CellTiter-Glo, Promega, Madison WI).

[0298] Мишей зважували щодня протягом 21 дня після зараження. Дані про масу тіла аналізували за допомогою двофакторного ANOVA і пост-тесту Бонферроні для порівняння груп. Р-значення, що дорівнюють менше 0,05, вважалися значимими.

[0299] Мишей щодня спостерігали протягом 21 дня після зараження грипом. Будь-яку мишу, яка оцінювалася позитивно протягом чотирьох з наступних шести спостережень (>35 % втрата BW, скуйовджене хутро, згорблена поза, респіраторний дистрес-синдром, зниження рухливості



або гіпотермія), вважали умираючою, після чого її піддавали евтаназії і вважали це як смерть відповідно до правил, установлених Vertex Institutional Animal Care and Use Committee. Дані виживаності аналізовані з використанням методу Каплана-Мейєра.

[0300] Мишей піддавали природному WBP (Buxco, Troy, NY). Функцію легень виражали як тривалість паузи (індекс Penh), безрозмірне розраховане значення, що відображує легеневий опір. Це значення одержували на основі змін у підтримуючому тиск контейнері, що коливається в результаті змін дихання тварини. Бронхостеноз дихальних шляхів тварини впливає на потік повітря і, отже, на тиск у підтримуючому тиск контейнері. Зміни тиску відслідковували під час видиху (PEP) і вдиху (PIP). Значення Penh обчислювали за формулою  $Penh = \text{пауза} \times PEP / PIP$ , де "пауза" відображує час видиху. Миші акліматизувалися в камері плетизмографії протягом 15 хвилин, а потім збирали дані з інтервалом в одну хвилину, у середньому протягом 10 хв., і виражали у вигляді абсолютних значень Penh. Дані аналізували за допомогою двофакторного ANOVA і пост-тесту Бонферроні для порівняння груп. Р-значення, що дорівнюють менше 0,05, вважалися значимими.

[0301] Результати. Сполуку (1) оцінювали в комбінації з озельтамівіром на здатність запобігати смертності і захворюваності, зменшувати втрати BW і запобігати зміні або відновлювати функцію легень на моделі легеневої інфекції грипу у мишей у порівнянні з ефектами Сполуки (1) або озельтамівіру, що вводяться самостійно. Комбінація не показала негативного впливу на ефективність кожного з препаратів у порівнянні з кожним препаратом, що вводиться самостійно. Крім того, комбінація лікування показала синергію лікування грипу А при недостатній дозі введення кожної сполуки (0,3 і 10 мг/кг Сполуки (1) і озельтамівіру, відповідно) самостійно, тоді як комбінація збільшувала виживаність з 0 до 100 %. Сполука (1) має незначну активність проти грипу В in vivo (як очікувалося від наявних in vitro даних) і не впливає на ефективність озельтамівіру.

[0302] Модель грипу А у миші. Усі контролі з носієм занедужували при дослідженні на 9 або 10 день. Лікування тільки 1, 3 і 10 мг/кг Сполуки (1) BID забезпечувало повний захист від смерті, зменшувало втрату BW і відновлювало функцію легень, якщо дозу починали вводити через 48 годин після інфікування в порівнянні з контрольною групою з носієм (Таблиця 17). Обробка 0,1 і 0,3 мг/кг Сполуки (1) і 10 мг/кг озельтамівіру, що вводяться самостійно, не захищала від смерті, не зменшувала втрату BW або не відновлювала функцію легень, якщо лікування починали через 48 годин після інфікування вірусом грипу А. Цікаво, що 0,3 мг/кг Сполуки (1) і озельтамівіру, що вводяться разом через 48 годин після інфікування вірусом грипу А, давали повний захист від смерті, знижували втрату BW і відновлювали функцію легень.

[0303]

Таблиця 17

Дані ефективності in vivo Сполуки (1) з або без введення озельтамівіру через 48 годин після зараження грипом А

Комбінація Сполуки (1)/озельтамівіру при грипі А						
Озельтамівір мг/кг	0			10		
Сполука (1) мг/кг	Виживання (21 день) (%)	Втрата ваги (8-й день) (%)	Penh (День 3)	Виживання (21 день) (%)	Втрата ваги (8-й день) (%)	Penh (День 3)
0	0	33,9	2,28	0	32,0	2,36
0,1	0	34,2	2,15	0	31,6	2,09
0,3	0	32,4	1,90	100	29,3	1,80
1	100	28,2	2,11	100	23,4	1,23
3	100	22,2	1,68	100	17,6	1,11
10	100	14,6	0,95	100	8,4	0,79

35

[0304] Модель грипу В у миші. Усі контролі з носієм занедужували при дослідженні на 7 або 8 день. Введення 1, 3 або 10 мг/кг Сполуки (1) самостійно за 2 години до інфікування грипом В і потім BID протягом 10 днів не давало суттєвого захисту від захворюваності, втрати BW або порушення функції легень у порівнянні з контрольними групами. Озельтамівір вводили в дозі 10 мг/кг окремо або в сполученні з 1, 3 або 10 мг/кг Сполуки (1) за 2 години до інфікування грипом В, що забезпечувало повний захист від смерті, знижувало втрати BW і відновлювало функцію легень (Таблиця 18).

40

[0305]

Таблиця 18

Дані ефективності in vivo Сполуки (1) з або без введення озельтамівіру через 48 годин після зараження грипом В

Комбінація Сполуки (1)/озельтамівіру при грипі В						
Озельтамівір мг/кг	0			10		
Сполука (1) мг/кг	Вживання (21 день) (%)	Втрата ваги (8-й день) (%)	Penh (день 6/7)	Вживання (21 день) (%)	Втрата ваги (8-й день) (%)	Penh (день 6/7)
0	0	немає даних	2,20	100	12,8	1,08
1	0	33,6	1,90	100	7,7	1,26
3	0	33,9	2,06	100	11,5	1,41
10	0	33	2,04	100	9,7	1,17

[0306] Приклад 8. Аналіз in vivo комбінації Сполуки (1) разом з озельтамівіром

[0307] Заражених мишей обробляли носієм або підвищеною дозою Форми А солі HCl Сполуки (1)  $\times 1/2H_2O$  (у Прикладі 8 надалі просто Сполука (1)) у комбінації з занамівіром, починаючи за 24 години до зараження вірусом грипу  $5 \times 10^3$  TCID<sub>50</sub> A/PR/8/34. Суспензії для зараження грипом А і Сполуки (1) одержували способом, аналогічним описаному вище в Прикладі 7. Заражених мишей обробляли один раз IN (інтраназально) занамівіром дозою 0,3 мг/кг, 1 мг/кг або 3 мг/кг за 24 години до IN зараження  $5 \times 10^3$  TCID<sub>50</sub> A/PR/8/34, і Сполукою (1) у дозі 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг або 1 мг/кг протягом 10 днів, починаючи за 2 години до зараження  $5 \times 10^3$  TCID<sub>50</sub> A/PR/8/34.

[0308] Результати підсумовані в Таблицях 19А і 19В нижче. Як показано в Таблиці 19А нижче, комбінована терапія Сполукою (1) і занамівіром давала особливі переваги у виживанні. Коефіцієнт ефективності, складений показник виживання, втрати маси тіла і функції легень (% виживаності/(% втрати маси тіла на 8 день)  $\times$  (Penh на 6 день)) підсумовані в Таблиці 19В.

[0309]

Таблиця 19А

Вживаність: комбінована терапія Сполукою (1) і занамівіром

		Сполука (1) (мг/кг, BID) 1-а доза за 2 години до інфікування			
			0,1	0,3	1
Занамівір (мг/кг, IN $\times$ 1), 1-а доза за 24 години до інфікування	0	0	12,5	44,4	100
	0,3	37,5	0	100	100
	1	50	75	100	100
	3	62,5	100	100	100

[0310]

Таблиця 19В

Коефіцієнт ефективності: комбінована терапія Сполукою (1) і занамівіром

		Сполука (1) (мг/кг, BID) 1-а доза за 2 години до інфікування			
			0,1	0,3	1
Занамівір (мг/кг, IN $\times$ 1) 1-а доза за 24 години до інфікування	0	--	--	0,59	2,32
	0,3	0,44	--	1,35	2,97
	1	0,73	1,00	1,61	2,31
	3	0,73	1,30	1,48	4,28

[0311] Приклад 9. Профілактична ефективність й ефективність після інфікування Сполуки (1) на моделі інфекції грипу А у миші

[0312] Матеріали і методи

[0313] Тварини. Самки вагою 18-20 г мишей BALB/c були одержані з Jackson Laboratories (Bar Harbor, ME) для противірусного експерименту. Тварин утримували на стандартному кормі для гризунів і водопровідній воді <ad libitum>. Їх вміщували в карантин за 48 годин перед використанням.

[0314] Вірус. Вірус грипу A/Каліфорнія/04/2009 (pndH1N1), адаптований для мишей, одержували від доктора Олени Говоркової (St. Jude Children's Research Hospital, Memphis, TN). Кількість вихідного вірусу збільшували в клітинах MDCK, а потім титрували на летальність у мишах BALB/c. Вірус грипу A/Victoria/3/75 (H3N2) одержували з Американської колекції типових культур (ATCC) (Manassas, VA). Вірус пасивували сім разів з мишей адаптованим мишам, а потім один раз перещеплювали в клітини MDCK. Вірус додатково титрували на летальність у мишах BALB/c з одержанням придатної смертельної дози для зараження. Вірус грипу A/Vietnam/1203/2004 (H5N1) одержували від доктора Jackie Katz з Centers for Disease Control (Atlanta, GA). Мишам вводили смертельну дозу вірусу (5 MLD<sub>50</sub>, 5 PFU/мишу), що раніше приводила до смерті в проміжку між 6 і 13 днем, 90-100 % смертності на день 10 при такій дозі.

[0315] Сполуки. Озельтамівір (Таміфлю®) одержували з місцевої аптеки. Кожна капсула Таміфлю містить 75 мг активного компонента, озельтамівіру карбоксилату, після метаболізму в організмі. Доза озельтамівіру була основана на цьому вимірюванні. Форму А солі HCl Сполуки (1), напівгідрат (у Прикладі 9 надалі просто Сполука (1)), використовували для дослідження і доза сполуки була основана на солі HCl Сполуки (1), напівгідрат. Обидві Сполуки (1) і озельтамівір готували в 0,5 % розчині метилцелюлози (Sigma, St. Louis, MO) для перорального прийому через зонд (п.о.) для введення мишам.

[0316] Хід експерименту. Мишей анестезували внутрішньоочеревинною ін'єкцією кетаміну/ксилазіну (50/5 мг/кг), і тварин інтраназально інфікували 90 мкл суспензії вірусу грипу. Зараження вірусом проводили приблизно чотирма 50 % летальними інфекційними дозами для мишей. Обробку проводили два рази на день (з інтервалом 12 годин) протягом 10 днів, починаючи за 2 години до зараження вірусом або через 48 годин після зараження, як зазначено. Параметрами для оцінки інфекції були: виживаність, день смерті в середньому, зміни маси тіла і параметрів легеневої інфекції (крововилив у балах, маса і титр вірусу). Тварин зважували окремо щодня протягом 21 дня інфекції. Мишей, що померли протягом перших шести днів періоду лікування, визнавали померлими з іншої причини, а не від інфекції вірусом грипу, і їх виключали з загального підрахунку.

[0317] Для оцінки параметрів легеневої інфекції одержували легені від умертвлених тварин (спочатку 5 тварин на групу були відділені для цієї мети). Бали крововиливу в легені оцінювали шляхом візуального огляду на зміну кольору від рожевого до синюшного. Вони виникали в областях легень, а не як поступова зміна кольору усієї легені до більш темного. Бали крововиливу знаходилися в діапазоні від 0 (нормальний) до 4 (уся легеня мала синюшний колір) і, таким чином, є непараметричним вимірюванням. Легені зважували і потім заморожували при -80 °C. Потім розморожені легені гомогенізували в 1 мл клітинного культурального середовища, рідини супернатанту центрифугували для видалення твердих частинок, і рідкі зразки знову заморожували при -80 °C. Після одержання 96-ямкових планшетів клітин MDCK, зразки розморожували, серійно розводили з 10-кратним збільшенням розведення і титрували методом кінцевих точок у планшетах (1), використовуючи 4 мікроямки на розведення. Титри вірусу розраховували як log<sub>10</sub> 50 % дози інфікованої культури клітин на грам легеневої тканини (log<sub>10</sub> CCID<sub>50</sub>/g).

[0318] Статистичний аналіз. Криву Каплана-Мейера для множинних груп порівнянь аналізували за допомогою логрангового критерію Мантеля-Кокса для визначення статистичної значимості. Потім парні порівняння проводили за допомогою тесту Гехана-Бреслоу-Віллоксона. Відносне експериментальне значення доводили до граничної величини порога значимості з поправкою Бонферроні на основі числа зроблених порівнянь обробок. Порівняння середнього значення дня смерті і середнього бала крововиливу в легені аналізували за допомогою тесту Крускала-Уолліса, а потім тестом Данна множинних порівнянь. Середню масу тіла, вагу легень і log<sub>10</sub> титри вірусу легень оцінювали за допомогою ANOVA, передбачаючи рівну величину відхилення і нормальний розподіл. Після ANOVA індивідуальні значення обробки порівнювали тестом множинних порівнянь Тьюкі-Крамера. Аналізи проводили за допомогою програмного забезпечення Prism® (GraphPad Software, San Diego, CA).

[0319] Результати й обговорення

[0320] Профілактичну дозу-відповідь Сполуки (1) досліджували на моделі грипу А у миші. Введення дози або носія Сполуки (1) починали за 2 години до інфікування і продовжували два рази на день протягом 10 днів. Результати представлені в Таблицях 20 і 21. Усі миші, що одержували тільки носій, занеджували на день 9 дослідження і втрачали, у середньому, ~32 %

маси тіла (BW). Сполука (1), що вводиться в дозах 1, 3 або 10 мг/кг BID, забезпечувала повну виживаність і дозозалежне зниження втрати BW. Сполука (1), що вводиться в дозі 0,3 мг/кг BID, забезпечувала деяке поліпшення виживаності (2/8 мишей), хоча у мишей була значна втрата BW. У тому ж самому експерименті мишам вводили озельтамівір у дозі 10 мг/кг BID, що клінічно еквівалентно дозі для людини (на основі AUC). Усі миші, що одержували озельтамівір, виживали і мали подібний профіль втрати ваги як і миші, яким вводили 1 мг/кг BID Сполуки (1).

[0321] Сполука (1) також мала ефективність на цій моделі зараження вірусом грипу A/Vietnam/1203/2004 (H5N1), якщо її вводили через 48 годин після інфікування і продовжували вводити дозу BID протягом 10 днів (Таблиця 22). Введення Сполуки (1) у дозі 10 мг/кг давало повний захист, як показано в Таблиці 20.

[0322]

Таблиця 20

Профілактичні ефекти Сполуки (1) і озельтамівіру на інфекцію, викликану грипом A/California/04/2009 (pndH1N1) у мишей BALB/c (профілактика)

			Середні параметри легень (6-й день)		
Сполука (мг/кг) <sup>a</sup>	Які вижили/Всього	MDD <sup>b</sup> ±SD	Бали	Маса (мг)	Титр вірусу <sup>c</sup>
Сполука (1) (10 мг/кг)	10/10***	-	0,2±0,4**	132±20***	< 2,6 <sup>d</sup> ***
Сполука (1) (3 мг/кг)	9/9***	-	0,0±0,0***	123±21***	3,1±0,9***
Сполука (1) (1 мг/кг)	10/10***	-	0,6±0,9 <sup>e</sup>	246±21*	5,5±1,2***
Озельтамівір (10 мг/кг)	10/10***	-	1,0±0,0 <sup>e</sup>	178±28***	7,9±0,2
Плацебо	2/20	9,9±1,3	3,4±0,5	282±26	7,9±0,4

<sup>a</sup>Доза на курс лікування, два рази на день протягом 10 днів, починаючи за 2 години до зараження грипом.

<sup>b</sup>Усереднений день смерті мишей, які померли на 21 день або до цього дня.

<sup>c</sup>Log<sub>10</sub> CCID<sub>50</sub>/г.

<sup>d</sup>Нижня межа детекції (2,6 log<sub>10</sub>).

<sup>e</sup>Не значиме по дуже строгому тесту множинного порівняння Данна, але значиме від плацебо (P<0,01) по попарному двосторонньому U-критерію Манна-Уїтні, \*P<0,05, \*\*P<0,01, \*\*\*P<0,001, у порівнянні з плацебо.

[0323]

Таблиця 21

Ефекти Сполуки (1) і озельтамівіру на інфекцію, викликану грипом A/Victoria/3/75 (H3N2) у мишей BALB/c (профілактика)

			Середні параметри легень (6-й день)		
Сполука (мг/кг) <sup>a</sup>	Які вижили/Всього	MDD <sup>b</sup> ±SD	Бали	Маса (мг)	Титр вірусу <sup>c</sup>
Сполука (1) (10 мг/кг)	10/10***	-	0,1±0,2 <sup>d</sup>	164±11**	6,1±0,5***
Сполука (1) (3 мг/кг)	10/10***	-	3,3±0,6 <sup>e</sup>	260±25	7,2±0,2
Сполука (1) (1 мг/кг)	4/10	9,8±1,9	3,2±0,3 <sup>e</sup>	274±49	7,3±0,3
Озельтамівір (10 мг/кг)	9/10***	7,0	1,7±1,1	218±24	7,0±0,3**
Плацебо	3/20	9,8±2,1	2,2±0,6	264±54	7,8±0,4

<sup>a</sup>Доза на курс лікування, два рази на день протягом 10 днів, починаючи за 2 години до зараження грипом.

<sup>b</sup>Усереднений день смерті мишей, які померли на 21 день або до цього дня.

<sup>c</sup>Log10 CCID50/г.

<sup>d</sup>Не значиме по дуже строгому тесту множинного порівняння Данна, але значиме від плацебо (P<0,01) по попарному двосторонньому U-критерію Манна-Уїтні.

<sup>e</sup>Те саме, що зноска "d", але значиме від плацебо при рівні P<0,05, \*\*P<0,01, \*\*\*P<0,001, у порівнянні з плацебо.

[0324]

Таблиця 22

Ефекти лікування (через 48 годин) Сполуки (1) і озельтамівіру на інфекцію, викликану грипом Influenza A/Vietnam/1203/2004 (H5N1) у мишей BALB/c (профілактика)

			Середні параметри легень (6-й день)	
Сполука (мг/кг) <sup>a</sup>	Які вижили/Всього	MDD <sup>b</sup> ±SD	Маса (мг)	Титр вірусу <sup>c</sup>
Сполука (1) (10 мг/кг)	10/10	>21	0,15±0,02	3,75±0,94
Озельтамівір (10 мг/кг)	0/10	9,5±1,2	0,17±0,02	5,22±0,38
Плацебо	0/20	9,9±0,8	0,16±0,02	4,65±1,23

<sup>a</sup>Доза на курс лікування, два рази на день протягом 10 днів, починаючи за 2 години до зараження грипом.

<sup>b</sup>Усереднений день смерті мишей, які померли на 21 день або до цього дня.

<sup>c</sup>Log10 CCID50/г.

5

[0325] Приклад 10. Ефективність in vitro Сполуки (1) відносно штаму іспанського грипу

[0326] Клітини і віруси. Клітини Madine Darby нирок собак (MDCK) спочатку одержували з американської колекції культур Type (ATCC, Manassas, VA) і пасивували, використовуючи стандартні лабораторні методики, перед використанням в аналізах з інфекцією. Клітини підтримували при 37 °C у середовищі Ігла, модифікованому за методикою Дульбекко (DMEM; Invitrogen, Carlsbad, CA), з додаванням 10 % фетальної бичачої сироватки (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO), 2 мМ L-глутаміну, 10 HEPES, 100 Од/мл пеніциліну і 100 мкг/мл стрептоміцину (Invitrogen). Вірус грипу одержували з ATCC, the Virus Surveillance and Diagnosis Branch of the Influenza Division of the Centers for Disease Control and Prevention (CDC; Atlanta, GA) або the Influenza Reagent Resource, Influenza Division, WHO Collaborating Center for Surveillance, Epidemiology and Control of Influenza, CDC. Для одержання основних розчинів вірусу клітини MDCK інфікували при низькій множинності зараження інфекції (MOI) у середовищі DMEM з додаванням 2 мМ L-глутаміну, 10 мМ HEPES, 100 Од/мл пеніциліну, 100 мкг/мл стрептоміцину і 1 мкг на мл трипсину, обробленого толісульфонілфенілаланілхлорметилкетон (TPCK) (USB Corp.; Santa Clara, CA). Клітини інкубували при 37 °C з 5 % CO<sub>2</sub> протягом 48 годин, після чого супернатант збирали центрифугуванням при 900×g протягом 10 хв. на центрифугі Beckman GS-6R. Брили аліквоти з основного розчину вірусу і заморожували при -80 °C.

[0327] Сполуки. Вільну основу або сіль HCl Сполуки (1) (наприклад, аморфна сіль HCl Сполуки (1), Форма А солі HCl Сполуки (1), гемідрат, аморфна вільна основа Сполуки (1)) (у Прикладі 10 надалі Сполука (1)) розчиняли в 100 % диметилсульфоксиді (DMSO) з одержанням розчину з концентрацією 10 мМ.

[0328] Протівірусна активність. Протівірусну активність Сполуки (1) оцінювали в клітинах MDCK по вимірюванню рівня АТФ, за допомогою CellTiter-Glo (Promega; Madison, WI). Клітини MDCK вміщували в чорні планшети з прозорим дном і 384 ямками з густиною 2×10<sup>4</sup> клітин на ямку в 50 мкл VGM. Клітини інкубували при 37 °C, 5 % CO<sub>2</sub>, при насиченій вологості для забезпечення адгезії клітин і формування моношару. Через 5 годин 40 мкл середовища видаляли і додавали 15 мкл вірусу при MOI 0,005. Сполуку додавали як 25 мкл 10-точкового триразового розведення в DMEM з добавками (кінцева концентрація DMSO дорівнює 0,5 %). Внутрішні контролю склалися з ямок, що містять тільки клітини і необроблені клітини, інфіковані вірусом. Через 72 год. інкубації в кожен ямку додавали 20 мкл CellTiter-Glo і інкубували при кімнатній температурі протягом 10 хв. Люмінесценцію вимірювали за допомогою зчитувача EnVision Multilabel (PerkinElmer; Waltham, MA). Значення EC<sub>50</sub> (концентрація сполуки, що забезпечує життєздатність 50 % клітин у неінфікованому контролі) розраховували за допомогою кривої доза сполуки проти даних відповіді, використовуючи метод побудови кривої на 4-х параметрах, використовуючи алгоритм Levenburg Marquardt (програмне забезпечення Condoseo; Genedata, Basel, Швейцарія). Тестування in vitro hpaH5N1 здійснювали в Southern Research Institute при попередженні BSL-3.

[0329] Як показано в Таблиці 23 нижче, Сполука (1) показала потужну активність проти всіх досліджених штамів грипу А, включаючи H1N1 і H3N2 посилавні штами 1934-2009 років, а також штами пандемії H1N1 A/California/07/2009, A/Texas/48/2009 2009 року і високопатогенного штаму H5N1 A/VN/1203/2004 птахів. Сполука (1) була також ефективна проти всіх штамів, включаючи штами, що стійкі до амантадину й інгібіторів нейрамінідази. Сполука показала обмежену активність відносно вірусу грипу В.

[0330]

Таблиця 23

Ефективність Сполуки (1) проти груп штамів грипу

Штам грипу	Inf, штам вірусу	Підтип	Клітинний аналіз захисту <sup>a</sup>
			EC <sub>50</sub> ±SD Спол. (1) (нМ)
A/WS/33 <sup>a</sup>	A	H1N1	3,2±4,3
A/NWS/33 <sup>a</sup>	A	H1N1	0,73±0,10
A/Puerto Rico/8/34 <sup>a</sup>	A	H1N1	3,2±1,8
A/Weiss/43 <sup>a</sup>	A	H1N1	0,31±0,23
A/FM/1/47	A	H1N1	0,57±0,036
A/Mal/302/54	A	H1N1	0,57±0,055
A/Denver/1/57	A	H1N1	0,42±0,19
A/Chelyabinsk/1/2006	A	H1N1	0,70±0,49
A/Florida/3/2006	A	H1N1	0,92±1,5

A/Fukushima/141/2006	A	H1N1	0,18±0,20
A/Georgia/17/2006	A	H1N1	0,13±0,048
A/Georgia/20/2006 <sup>b</sup>	A	H1N1	2,6±3,8
A/Missouri/3/2006	A	H1N1	0,21±0,060
A/St, Petersburg/8/2006 <sup>a</sup>	A	H1N1	0,88±0,69
A/Virginia/01/2006 <sup>a</sup>	A	H1N1	0,42±0,24
A/Cambodia/0371/2007 <sup>a*</sup>	A	H1N1	0,61±0,33
A/South Dakota/6/2007	A	H1N1	0,31±0,25
A/California/07/2009 NYMC X-179A <sup>a</sup>	A	H1N1	2,7±1,8
A/Aichi/2/68	A	H3N2	1,4±1,1
A/Hong Kong/8/68	A	H3N2	0,60±0,11
A/Port Chalmers/1/73 <sup>a</sup>	A	H3N2	0,54±0,11
A/Victoria/3/75	A	H3N2	1,3±0,63
A/Wisconsin/67/2005 <sup>a</sup>	A	H3N2	1,8±0,24
A/Hawaii/2/2006	A	H3N2	1,4±0,91
A/Nebraska/1/2006 <sup>a*</sup>	A	H3N2	2,1±1,3
A/Texas/12/2007 <sup>a*c</sup>	A	H3N2	0,65±0,22
A/Uruguay/716/2007 <sup>a</sup>	A	H3N2	3,5±5,1
A/New Jersey/8/76	B	H1N1	0,20±0,096
A/California/07/2009 <sup>a</sup>	C	H1N1	1,8±1,6
A/Mexico/4108/2009 <sup>a</sup>	C	H1N1	2,7±1,8
A/New York/18/2009 <sup>a*</sup>	C	H1N1	0,59±0,40
A/Texas/48/2009 <sup>b</sup>	C	H1N1	2,8±3,2
A/Virginia/ATCC2/2009	C	H1N1	1,9±3,0
A/Virginia/ATCC3/2009	C	H1N1	1,9±3,2
A/Swine/Iowa/15/30	C	H1N1	0,65±0,082
A/Swine/1976/31	C	H1N1	0,47±0,11
A/Equine/2/Miami/63	C	H3N8	0,50±0,065
A/Viet Nam/1203/2004 <sup>a</sup>	K	H5N1	<1,5±НД
B/Lee/40			>10±НД
B/Russia/69			>10±НД

<sup>a</sup>Сійкість до амантадину: мутація M2 31N.

<sup>b</sup>Сійкість до озельтамівіру карбоксилату: мутація NA 275Y.

<sup>c</sup>Сійкість до озельтамівіру карбоксилату: мутація NA 119V.

\*Зовнішньо підтверджена фенотипічна стійкість, послідовність даних недоступна.

[0331] Приклад 11. In vitro комбіновані експерименти зі Сполукою (1) і озельтамівіром, занамівіром або фавіпіравіром

- 5 [0332] Розчин Сполуки (1) (вільна основа або сіль HCl Сполуки (1) як і в Прикладі 10) у 100 % диметилсульфоксиді (DMSO) тестували у триденному аналізі з клітинами MDCK на основі CPE, що були інфіковані A/Puerto Rico/8/34 при MOI, що дорівнює 0,01, у комбінованих експериментах або з інгібіторами нейрамінідази озельтамівіром і занамівіром, або з інгібітором полімерази Т-705. Озельтамівіру карбоксилат і Т-705 розводили в 100 % диметилсульфоксиді
- 10 (DMSO); занамівір розводили в середовищі Ігла, модифікованому по методу Дульбекко (DMEM), з концентрацією 10 мМ і зберігали при -20 °С. У цьому дослідженні використовували або Бліс-незалежний спосіб (Macsynergy) (наприклад, Prichard M.N. and Shipman C., Jr., Antiviral Res, 1990. 14(4-5): р. 181-205), або метод адитивності Loewe/медіанного ефекту (наприклад, Chou T.C. and Talalay P., Adv Enzyme Regul, 1984. 22: р. 27-55). Бліс-незалежний спосіб включає
- 15 тестування комбінації різних концентрацій інгібіторів у шаховому порядку, у той час як спосіб адитивності Loewe включає тестування фіксованого відношення комбінацій інгібіторів у різних розведеннях фіксованого співвідношення. Експерименти також проводили, використовуючи комбінації Сполуки (1) із самою собою як контролем, підтверджуючи адитивність. Життєздатність клітин визначали за допомогою CellTiter-Glo.

[0333] Результатом Бліс-незалежного способу були синергічні значення, що дорівнюють 312 і 268, для озельтамівіру карбоксилату і занамівіру, відповідно; і синергічне значення, що дорівнює 317, було одержане для фавіпіравіру. Синергічні значення більше 100 звичайно вважаються сильною синергією, а значення між 50 і 100 вважаються помірною синергією. Спосіб адитивності Loewe показав значення CI (показник адитивності), що дорівнюють 0,58, 0,64 і 0,89, при 50 %-ому ефективному рівні для озельтамівіру, занамівіру і Т-705, відповідно. Значення CI менше ніж 0,8 вважаються сильною синергією, а значення між 0,8 і 1,0 вважаються такими, що знаходяться в діапазоні від адитивних до помірно синергічних. Разом ці дані, як показано в Таблиці 24, передбачають, що Сполука (1) є синергічною з тестованими інгібіторами нейрамінідази й інгібітором полімерази.

[0334]

Таблиця 24

## Висновок експериментів in vitro синергії і антагонізму

Адитивність Lowe	Показник адитивності			Результат
	ED <sub>50</sub>	ED <sub>75</sub>	ED <sub>90</sub>	
Сполука (1)+озельтамівір	0,60, 0,56	0,57, 0,56	0,59, 0,58	Сильна синергія
Сполука (1)+занамівір	0,68, 0,61	0,67, 0,66	0,71, 0,77	Сильна синергія
Сполука (1)+фавіпіравір	0,83, 0,96	0,76, 1,0	0,71, 1,1	Від адитивності до слабого синергізму
Бліс-незалежний спосіб	Значення синергії, 95 % довірчий інтервал			Результат
Сполука (1)+озельтамівір	312			Сильна синергія
Сполука (1)+занамівір	268			Сильна синергія
Сполука (1)+фавіпіравір	317			Сильна синергія

ED<sub>50</sub>, ED<sub>75</sub>, ED<sub>90</sub>: концентрація сполуки, при якій 50 %, 75 % або 90 %, відповідно, клітин захищені; показники адитивності розраховували при рівнях ефекту ED<sub>50</sub>, ED<sub>75</sub> і ED<sub>90</sub>.

[0335] Приклад 12. Ефективність на моделі інфекції грипу А у мишей

[0336] Профілактичну дозу-відповідь Сполуки (1) (в аморфній формі солі HCl Сполуки (1) гемігідрат або, у цьому прикладі, просто Сполука (1)) досліджували на моделі грипу А у миші. Введення дози носія або Сполуки (1) починали за 2 години до інфікування і продовжували два рази на день протягом 10 днів. Усі миші, що одержували тільки носій, занедужували на день 9 дослідження і втрачали, у середньому, ~32 % маси тіла (BW). Сполука (1), що вводиться в дозах 1, 3 або 10 мг/кг BID, забезпечувала повну виживаність і дозозалежне зниження втрати BW. Сполука (1), що вводиться в дозі 0,3 мг/кг BID, забезпечувала деяке поліпшення виживаності (2/8 мишей), хоча у мишей була значна втрата BW. У тому ж самому експерименті мишам вводили озельтамівір у дозі 10 мг/кг BID, що клінічно еквівалентно дозі для людини (на основі AUC). Усі миші, що одержували озельтамівір, виживали і мали подібний профіль втрати ваги як і миші, яким вводили 1 мг/кг BID Сполуки (1).

[0337] Термін, на який можна відстрочити введення Сполуки (1) і при цьому забезпечувати ефективність у цій моделі, досліджували за допомогою зараження мишей вірусом грипу А і шляхом введення доз носія, озельтамівіру або Сполуки (1), починаючи через 24, 48, 72, 96 або 120 годин після інфікування, продовжуючи вводити дозу BID протягом 10 днів (Таблиця 25). Усі контролі з носієм занедужували при дослідженні на 8 або 9 день. Сполука (1), що вводиться в дозі 1, 3 або 10 мг/кг BID, забезпечувала повний захист від смерті і зменшувала зниження BW, якщо введення доз починали через 72 години після інфікування в порівнянні з контролем з носієм. Тільки введення озельтамівіру в дозі 10 мг/кг забезпечувало повний захист, якщо введення дози починали через 24 години або раніше після інфікування. Якщо початок введення сполуки при цьому затримували, то Сполука (1) у дозі 3 або 10 мг/кг BID забезпечувала повне виживання через 96 годин після інфікування і давала частковий захист, якщо початок введення дози відкладали на 120 годин після інфікування.

[0338] Досліджували ефективність Сполуки (1) відносно зменшення титрів вірусу в легенях. Мишей інфікували вірусом грипу А і через 24 години після цього вводили носій, озельтамівір (10 мг/кг BID) або Сполуку (1) (3, 10, 30 мг/кг BID) до витягання легень і визначення вірусного навантаження на 6 день (Таблиця 26). Усі групи, яким вводили Сполуку (1), показали надійне статистично значиме зниження титрів вірусу в легенях у порівнянні з тваринами, яким вводили озельтамівір і носій.



- [0339] Для одержання моделі PK/PD моделі мишей інфікували вірусом грипу протягом 24 годин, а потім вводили Сполуку (1) ще 24 години. Дози розділяли на фракції у вигляді одиночної дози, у вигляді двох або чотирьох доз, що вводяться кожні 12 годин або 6 годин, відповідно. Легені витягали, а плазму збирали для визначення вірусного навантаження легень і концентрації Сполуки (1). Окремі дані титрів легень при цих схемах дозування (q6h, q12h і q24h) переносили на криву проти окремих значень  $C_{max}$ ,  $C_{min}$  і AUC (дані не показані). Хоча існує чіткий взаємозв'язок між зниженням титрів у легенях і  $C_{min}$ , кореляція з  $C_{max}$  була слабкою, а кореляції з AUC ще слабкіше. Сильна кореляція з  $C_{min}$  була тоді, коли виміряні концентрації Сполуки (1) у плазмі переносили на криву проти виміряних титрів у легенях. Половина від максимального зниження титрів у легенях (2-3 log) була поблизу зсувів у сироватці ЕС<sub>99</sub> (100 нг/мл). Аналогічна кореляція була виявлена між титром у легенях і виміряними концентраціями Сполуки (1) у легенях (дані не показані).
- [0340]

Таблиця 25

Підсумовування процента виживання і процента втрати маси тіла на моделі грипу А миші

Час початку лікування відносно інфікування (год.)	Сполука (1) (мг/кг, BID)	Доза озельтамівіру (мг/кг; BID)	Процент виживання	Процент втрати маси тіла на 8-ий день дослідження
-2 <sup>a</sup>	10		100	-2,8
	3		100	-8,7
	1		100	-16,8
	0,3		25	-30,4
	0,1		0	-31,9
		10	100	-19,1
	0		0	-32,2
+24 <sup>a</sup>	10		100	-6,2
	3		100	-14,2
	1		100	-23,4
		10	100	-28,9
	0		0	-33,8
+48 <sup>a</sup>	10		100	-7,1
	3		100	-10,9
	1		100	-22,5
		10	80	-31,1
	0		0	-34,4
+72 <sup>a</sup>	10		100	-17,4
	3		100	-23,2
	1		100	-29,4
		10	0	-31,3
	0		0	-36,1
+96 <sup>b</sup>	10		100	-25,5
	3		100	-27,3
		10	НД <sup>c</sup>	НД <sup>c</sup>
	0		0	-34,6
+120 <sup>b</sup>	10		37,5	-34,4
	3		12,5	-32,6
		10	НД <sup>c</sup>	НД <sup>c</sup>
	0		0	-34,6

<sup>a</sup>Дані незалежних експериментів.

<sup>b</sup>Дані того ж експерименту.

<sup>c</sup>НД - немає даних.

Підсумовування титру вірусу в легенях і Log<sub>10</sub> зменшення на моделі грипу А мишей

Обробка <sup>a</sup>	Дослідження 1		Дослідження 2	
	Титр вірусу в легенях (Log <sub>10</sub> TCID <sub>50</sub> ) <sup>b</sup>	Зниження Log <sub>10</sub> відносно носія	Титр вірусу в легенях (Log <sub>10</sub> TCID <sub>50</sub> ) <sup>b</sup>	Зниження Log <sub>10</sub> відносно носія
10 мг/кг BID носія	6,20		6,28	
10 мг/кг BID озельтамівіру	6,05	-0,15		
30 мг/кг BID Сполуки (1)	3,95	-2,25***	4,53***	-1,75
10 мг/кг BID Сполуки (1)			5,20***	-1,08
3 мг/кг BID Сполуки (1)			5,24***	-1,04

<sup>a</sup>Введення тварині починали через 24 години після інфікування і продовжували протягом 5 днів.<sup>b</sup>Титри вірусу в легенях визначали на 6 день дослідження.<sup>c</sup>НД - немає даних.

Двофакторний ANOVA і пост-тест Бонферроні, \*\*\*P&lt;0,001.

[0342] Приклад 13. Експеримент по перевірці зараження грипом

[0343] Раніше використовували модель інфікування живим атенуйованим грипом для прогнозування ефективності препаратів проти грипу при природній інфекції в організмі людини (Calfee D.P., Peng A.W., Hussey E.K., Lobo M. & Hayden F.G. Safety and efficacy of once daily intranasal zanamivir in preventing experimental human influenza A infection. Antivir Ther. 4, 143-149 (1999); Hayden F.G. et al. Use of the oral neuraminidase inhibitor oseltamivir in experimental human influenza. JAMA, 282, 1240-1246 (1999). Проводили рандомізоване -подвійне-сліпе дослідження під контролем плацебо в єдиному центрі Форми А солі HCl Сполуки (1) гемігідрат (далі в цьому прикладі просто Сполука (1)) у здорових добровольців, яких інокулювали для зараження живим вірусом штаму грипу A/Wisconsin/67/2005 (H3N2). Індивіди одержували п'ять щоденних доз або плацебо (N=33), або Сполуки (1) один раз на день (QD) (у вигляді капсули, що складається з чистої Сполуки (1)): 100 мг (N=16), 400 мг (N=19) або 900 мг на 1 день, а потім 600 мг 2-5 день (N=20) або 1200 мг на 1 день, а потім 600 мг на 2-5 день (N=18). Індивіди одержували три рази на день тампони в ніс і три рази на день проводили запис у картках клінічних симптомів у 1-7 дні і їх виписували з клініки на 8 день, після чого їх безпеку оцінювали приблизно на 28 день. Тампони в ніс досліджували на наявність вірусу грипу в культурі клітин (первинний аналіз) і за допомогою qRT-ПЛР (вторинний аналіз).

[0344] Аналізи ефективності здійснювали на наборі повного аналізу (FA), визначений як усі рандомізовані індивіди, що одержали принаймні одну дозу досліджуваного препарату (Сполука (1) або плацебо) і концентрації вірусу у яких були вище або дорівнювали нижній межі кількісного визначення аналізу TCID<sub>50</sub> клітинної культури в будь-який момент часу протягом 48 годин після щеплення, або титр інгібування гемаглютинації яких підвищувався в 4 рази або більше у порівнянні з базовим (день 1) у період після щеплення (N=74). Набір безпеки включав всіх індивідів, які були щеплені вірусом грипу на день 0 і які одержували принаймні одну дозу або плацебо, або Сполуки (1) (N=104).

[0345] Оцінка ефективності

[0346] Головним показником у цьому дослідженні була демонстрація тенденції доза-відповідь у AUC виділення вірусу між днем 1 дослідження (перший день введення дози лікарського засобу) і днем 7 по вимірюванню TCID<sub>50</sub> в аналізі клітинної культури в наборі FA. Статистично значима тенденція доза-відповідь спостерігалася в медіані AUC виділення вірусу в тампонах у ніс (P=0,036, тест на тенденцію Джонкхієра-Терпстра). Крім того, були проведені парні порівняння пулів плацебо і групи кожної дози Сполуки (1) для медіани AUC виділення вірусу, середнього продовження виділення і середньої величини піка виділення вірусу (Таблиця 27). Для групи з дозою 1200/600 мг було відзначено статистично значиме зниження AUC виділення вірусу (P=0,010, тест на рангові суми Уїлкоксона), і значні скорочення піка виділення спостерігали для групи з дозою 1200/600 мг (Fig. 13), групи з дозою 400 мг і об'єднаних груп з дозою Сполуки (1). Були здійснені додаткові аналізи груп FA (дані не показані).

[0347] Виділення грипу через ніс також кількісно оцінювалися qRT-ПЛР і результати були аналогічні результатам аналізу клітинної культури. Немає ніякої різниці у швидкості сероконверсії між групами з дозою Сполуки (1) і плацебо, як визначено по 4-кратному або більшому збільшенню титру проти грипу відносно базової лінії до щеплення, що передбачає, що доза Сполуки (1), уведена через 24 години після щеплення грипу, не впливає на швидкість передачі інфекції грипу і не припиняє наступну гуморальну імунну відповідь на інфекцію (Таблиця 28).

[0348] Індивіди записували клінічні симптоми три рази на день у щоденниках. Розраховували AUC клінічних і грипозподібних симптомів, оцінених по балах з дня 1 по день 7. У порівнянні з плацебо, група з дозою 1200/600 мг Сполуки (1) показала статистично значиме зниження середньої тривалості композитних клінічних симптомів ( $P=0,001$ ), медіани AUC грипозподібних симптомів ( $P=0,040$ ) і середньої тривалості грипозподібних симптомів ( $P<0,001$ ) (Таблиця 28).

[0349]

Таблиця 27

Середня AUC виділення вірусу, середня тривалість виділення і середня величина піка виділення вірусу

Кінцева точка [одиниці]		Узагальнені плацебо (N=22)	Сполука (1)				
			100 мг (N=12)	400 мг (N=12)	900/600 мг (N=14)	1200/600 мг (N=14)	Об'єднані (N=52)
Виділення вірусу в культурі тканини <sup>a</sup>	AUC, медіана (діапазон)	5,85	1,25	0,70	3,20	0,35	0,65
	[log <sub>10</sub> TCID <sub>50</sub> мл*день]	(0,0, 17,1)	(0,0, 16,1)	(0,0, 18,0)	(0,0, 16,1)	(0,0, 8,4)	(0,0, 18,0)
	P-значення <sup>b</sup>	НД	0,269	0,206	0,723	0,010	0,057
	Тривалість, середня	2,38	0,96	1,60	2,71	0,00	0,71
	(95 %CI) [День]	(0,03, 4,63)	(0,00, 3,39)	(0,00, НД)	(0,00, 4,68)	(0,00, 1,33)	(0,00, 2,43)
	P-значення <sup>d</sup>	НД	0,331	0,831	0,893	0,169	0,487
	Пік, середнє (SD)	3,13	2,09	1,73	2,68	1,00	1,87
	[log <sub>10</sub> TCID <sub>50</sub> /мл]	(1,878)	(2,209)	(1,976)	(2,201)	(1,365)	(2,002)
	P-значення <sup>c</sup>	НД	0,139	0,049	0,505	0,002	0,015
Виділення вірусу по qRT-PCR <sup>e</sup>	AUC, медіана (діапазон)	18,40	6,05	4,90	10,65	0,45	3,45
	[log <sub>10</sub> копій/мл*день]	(0,0, 42,1)	(0,0, 41,9)	(0,0, 36,9)	(0,0, 37,1)	(0,0, 24,7)	(0,0, 41,9)
	P-значення <sup>b</sup>	НД	0,218	0,306	0,821	0,014	0,075
	Тривалість, середня	2,91	0,96	1,36	2,39	0,00	0,71
	(95 %CI) [День]	(0,03, 5,35)	(0,00, 3,39)	(0,00, НД)	(0,00,5,01)	(0,00,0,66)	(0,00, 2,394)
	P-значення <sup>d</sup>	НД	0,318	0,753	0,602	0,084	0,238
	Пік, середнє (SD)	5,36	4,36	3,90	5,08	2,37	3,91
	[log <sub>10</sub> TCID <sub>50</sub> /мл]	(3,108)	(3,379)	(3,514)	(3,097)	(2,861)	(3,276)
	P-значення <sup>c</sup>	НД	0,380	0,202	0,794	0,007	0,081
Серологія <sup>f</sup>	Сероконверсія	21/32	11/16	9/19	13/19	12/18	45/72
	n/N (%)	(66 %)	(69 %)	(47 %)	(68 %)	(67 %)	(63 %)
	P-значення	НД	>0,999	0,247	>0,999	>0,999	0,828

AUC: площа під кривою значення відносно часу; CI: довірчий інтервал; NA: не доступно; qRT-ПЛР: кількісна полімеразна ланцюгова реакція зі зворотною транскриптазою; SD: стандартне відхилення; TCID50: 50 % інфекційна доза культури тканини.

Примітка: статистично значущі значення P ( $P < 0,05$ ) виділені жирним шрифтом.

<sup>a</sup>P=0,036 для тенденції доза відповідь AUC з тесту тенденції Джонккієра-Терпстра.

<sup>b</sup>P-значення розраховували з тесту на рангові суми Уїлкоксона.

<sup>c</sup>значення P обчислювали з ANOVA.

<sup>d</sup>значення P обчислювали з log-ранг-тесту.

<sup>e</sup>P=0,036 для тенденції доза відповідь AUC з тесту тенденції Джонккієра-Терпстра.

<sup>f</sup>сероконверсію визначали як  $\geq 4$ -кратне збільшення титру антитіл проти грипу при візиті для перевірки безпеки у порівнянні з базовим рівнем. Значення P обчислювали за допомогою точного тесту Фішера.

[0350]

Таблиця 28

Медіана AUC, середня тривалість і середня величина піка, композитних клінічних симптомів і грипоподібних симптомів

Кінцева точка [одиниці]		Узагальнені плацебо (N=22)	Сполука (1)				
			100 мг (N=12)	400 мг (N=12)	900/600 мг (N=14)	1200/600 мг (N=14)	Об'єднані (N=52)
Композитний клінічний симптом	AUC, медіана (діапазон)	4,85	1,85	4,70	1,75	1,95	2,15
	[Ранг*день]	(0,0, 23,5)	(0,0, 25,3)	(0,0, 16,0)	(0,0, 32,3)	(0,0, 5,5)	(0,0, 32,3)
	P-значення <sup>b</sup>	НД	0,422	0,694	0,595	0,83	0,211
	Тривалість, середня	3,69	3,21	3,34	2,69	1,88	2,34
	(95 %CI) [День]	(2,04, 4,73)	(0,03, 5,43)	(1,28, 4,63)	(0,00, 4,61)	(0,00, 2,24)	(1,87, 3,06)
	P-значення <sup>d</sup>	НД	0,946	0,994	0,686	0,001	0,355
	Пік, середнє (SD)	3,91	3,17	2,83	3,71	1,50	2,79
	[Ранг]	(3,637)	(3,881)	(2,167)	(4,232)	(1,286)	(3,158)
	P-значення <sup>c</sup>	НД	0,532	0,366	0,863	0,036	0,187
Грипоподібний симптом	AUC, медіана (діапазон)	4,05	1,85	3,80	1,75	1,75	2,05
	[Ранг*день]	(0,0, 17,7)	(0,0, 21,3)	(0,0, 14,0)	(0,0, 28,6)	(0,0, 4,4)	(0,0, 28,6)
	P-значення <sup>b</sup>	НД	0,363	0,617	0,595	0,040	0,149
	Тривалість, середня	3,69	3,21	3,34	2,69	1,88	2,34
	(95 %CI) [День]	(2,04, 4,73)	(0,00, 5,40)	(1,28, 4,63)	(0,00, 4,61)	(0,00, 2,24)	(1,87, 3,00)
	P-значення <sup>d</sup>	НД	0,957	0,994	0,653	<0,001	0,342
	Пік, середнє (SD)	3,41	2,75	2,42	3,21	1,36	2,42
	[Ранг]	(3,003)	(3,361)	(1,832)	(3,534)	(1,216)	(2,689)
	P-значення <sup>c</sup>	НД	0,511	0,323	0,838	0,034	0,168

AUC: площа під кривою значення відносно часу; CI: довірчий інтервал; NA: немає даних.

Примітка: статистично значущі значення P ( $P < 0,05$ ) виділені жирним шрифтом.

<sup>b</sup>P-значення розраховували з тесту на рангові суми Уїлкоксона.

<sup>c</sup>значення P обчислювали з ANOVA.

<sup>d</sup>значення P обчислювали з log-ранг-тесту.

5 [0351] Оцінка безпеки

[0352] Сполука (1) добре переноситься, і там були не непланового внаслідок сполуки (1)-негативних подій, пов'язаних з (AE) не було яких-небудь серйозних побічних ефектів. Список несприятливих подій, що відбуваються у  $\geq 10$  % випробуваних у будь-якій групі лікування, представлений в Таблиці 29. Грипоподібне захворювання найбільш часто приводило до несприятливих подій і, як повідомлялося, пропорція була приблизно однакова в плацебо й у групах, що одержували Сполуку (1). Несприятливі події, які відбулися з  $\geq 10$  % різницею в групах,

10

- що одержували Сполуку (1) і плацебо, були: зниження рівня фосфору в крові (18,1 %, для Сполуки (1); 0 % для плацебо), ринорея (Сполука (1), 4,2 %; плацебо, 18,8 %) і закладеність носа (1,4 %, Сполука (1); 15,6 %, плацебо). Крім того, спостерігалось підвищення аланінамінотрансферази (ALT) як у плацебо, так і у реципієнтів Сполуки (1). Ні порушень функції печінки, ні зменшення фосфату в сироватці не спостерігалися в дослідженні зі збільшенням дози вперше у людини Сполуки (1) з однією дозою до 1600 мг і з декількома дозами до 800 мг щодня протягом 10 днів; раніше повідомлялося як про підвищення ALT, так і про зменшення фосфату сироватки при вірусній інфекції верхніх дихальних шляхів.
- [0353]

Таблиця 29

Список несприятливих подій, що відбуваються у  $\geq 10$  % випробуваних в будь-якій групі лікування

Переважний термін	Узагальнені плацебо	Сполука (1)				
		100 мг	400 мг	900/600 мг <sup>a</sup>	1200/600 мг <sup>b</sup>	Об'єднаний
	N=32	N=16	N=19	N=19	N=18	N=72
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Грипоподібне захворювання <sup>c</sup>	12 (37,5)	8 (50,0)	10 (52,6)	9 (47,4)	7 (38,9)	34 (47,2)
Збільшена аланінамінотрансфераза	5 (15,6)	3 (18,8)	1 (5,3)	0	6 (33,3)	10 (13,9)
Знижений фосфор в крові	0	3 (18,8)	0	6 (31,6)	4 (22,2)	13 (18,1)
Ненормальна спірометрія	2 (6,3)	2 (12,5)	4 (21,1)	0	4 (22,2)	10 (13,9)
Ринорея	6 (18,8)	0	2 (10,5)	0	1 (5,6)	3 (4,2)
Головний біль	2 (6,3)	1 (6,3)	4 (21,1)	0	2 (11,1)	7 (9,7)
Контактний дерматит	3 (9,4)	3 (18,8)	0	0	0	3 (4,2)
Закладеність носа	5 (15,6)	0	0	0	1 (5,6)	1 (1,4)
Збільшена аспартатамінотрансфераза	1 (3,1)	1 (6,3)	1 (5,3)	0	2 (11,1)	4 (5,6)
Ротоглотковий біль	1 (3,1)	2 (12,5)	0	1 (5,3)	0	3 (4,2)
Головний біль напруження	1 (3,1)	0	2 (10,5)	1 (5,3)	0	3 (4,2)
Нездужання	1 (3,1)	2 (12,5)	0	0	0	2 (2,8)
Нудота	0	0	2 (10,5)	1 (5,3)	0	3 (4,2)

Примітки. Індивіда з декількома подіями рахували один раз АЕ. Індивіди можуть бути в декількох категоріях.

<sup>a</sup>Одна доза в 900 мг в день 1 і 600 мг qd в проміжку між 2 днем і 5 днем.

<sup>b</sup>Одна доза в 1200 мг в день 1 і 600 мг qd в проміжку між 2 днем і 5 днем.

<sup>c</sup>Грипоподібне захворювання, як визначено в аналізі ефективності, оцінювали на основі параметрів, перерахованих в тексті.

АЕ грипоподібного захворювання визначав лікар.

10

[0354] Обговорення

- [0355] У дослідженні з зараженням грипом здорових добровольців Сполуки (1) була показана залежність доза-відповідь AUC вірусного титру в тампонах у ніс як у клітинних культурах TCID<sub>50</sub>, так і в qRT-ПЛР, і найвища оцінена доза Сполуки (1) викликала значне зниження вірусного титру AUC, а також AUC і тривалості симптомів грипу. Хоча аналогічна величина поліпшення вище плацебо не спостерігалася в групі з другою високою дозою 900/600 мг (Таблиця 27), ця доза не показала результати, подібні з дозою 600 мг відносно медіанної AUC для композитних клінічних симптомів і грипоподібних симптомів у кінцевих точках (Таблиця 28); причини цієї відмінності повністю не зрозумілі. Хоча точна безпека не була оцінена в ході РОС, зменшення фосфату і збільшення ALT передбачає, що відповідний моніторинг обох параметрів потрібно буде використовувати в майбутніх дослідженнях.

- [0356] У цілому, обмеження моделі зараження грипом полягають у тому, що вірус грипу, використовуваний у цьому дослідженні, являє собою штам, що був спеціально вибраний так, щоб не дати найбільш серйозні клінічні симптоми інфекції вірусом грипу. Крім того, кількість вірусу, що вводиться для зараження, ймовірно більше, ніж кількість грипу при природному зараженні. Час введення дози Сполуки (1) через 24 год. після впливу може бути неможливим терміном початку терапії в суспільстві, де пацієнти рідко проходять діагностику або лікування, доти, поки в них не з'являються суттєві симптоми, ймовірно більше ніж через 24 години після

25

впливу. Однак з огляду на той факт, що при природному зараженні індивіда спочатку заражаються набагато меншим вірусним титром, часові шкали не є прямо порівнянними.

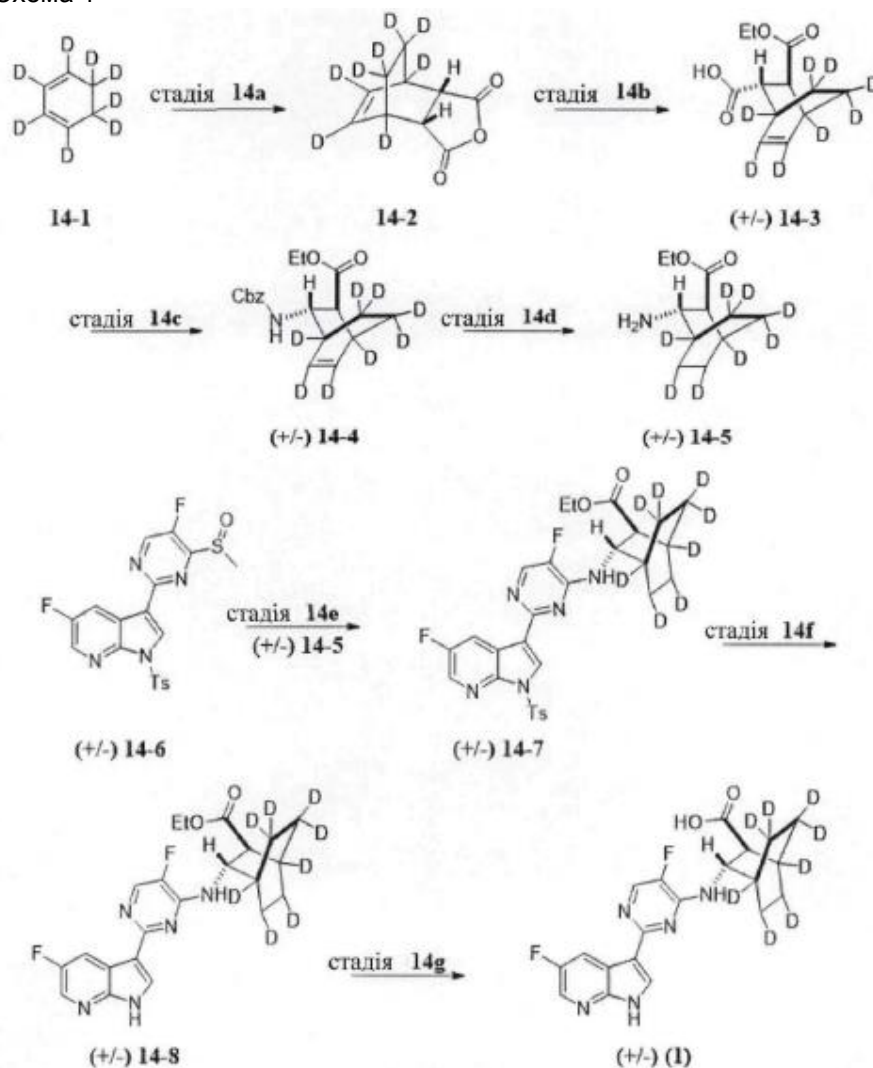
[0357] У підсумку, Сполука (1) є потужним інгібітором грипу А РВ2, що представляє особливий і новий клас протівірусного засобу. Властивості цього інгібітору, як описано в доклінічних і клінічних даних, указують, що Сполука (1) є прекрасним кандидатом для подальшої оцінки і має декілька потенційних переваг перед існуючими протівірусними препаратами, використовуваними для лікування інфекції, викликуваної грипом.

[0358] Усі посилання, наведені в даному документі, включені як посилання в повному обсязі. Як використовується в даному документі всі аббревіатури, символи і конвенції узгоджуються з використовуваними в сучасній науковій літературі. Див., e.g., Janet S. Dodd, ed., The ACS Style Guide: A Manual for Authors and Editors, 2nd Ed., Washington, D.C.: American Chemical Society, 1997.

[0359] Приклад 14. Сполука, збагачена дейтерієм (1)

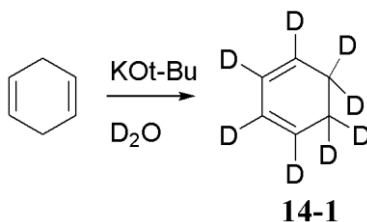
[0360] Сполука (1), збагачена дейтерієм, може бути синтезована згідно зі Схемою 1, нижче:

[0361] Схема 1



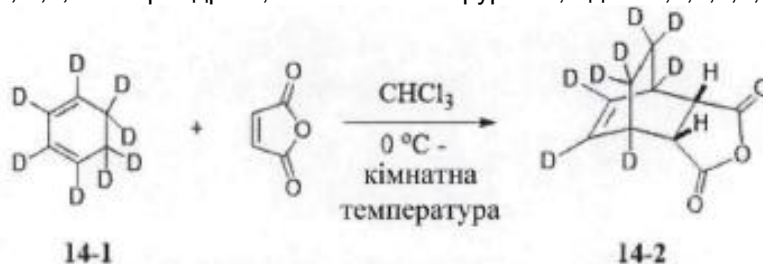
[0362] Реагенти й умови: малеїновий ангідрид (стадія 14a),  $\text{CHCl}_3$ ; (стадія 14b) бета-хінін, етанол, толуол; (стадія 14c) DPPA,  $\text{Et}_3\text{N}$ ,  $90^\circ\text{C}$ ,  $\text{BuOH}$ ; (стадія 14d)  $\text{H}_2$ ,  $\text{Pd/C}$ , метанол; амін (стадія 14e) 14-5,  $^i\text{Pr}_2\text{NEt}$ , THF,  $70^\circ\text{C}$ ; (стадія 14f)  $\text{HCl}$ , діоксан,  $\text{MeCN}$ ,  $80^\circ\text{C}$ ; (стадія 14g)  $\text{NaOH}$ , THF,  $\text{MeOH}$ .

[0363] 14A: Сполука (14-1)



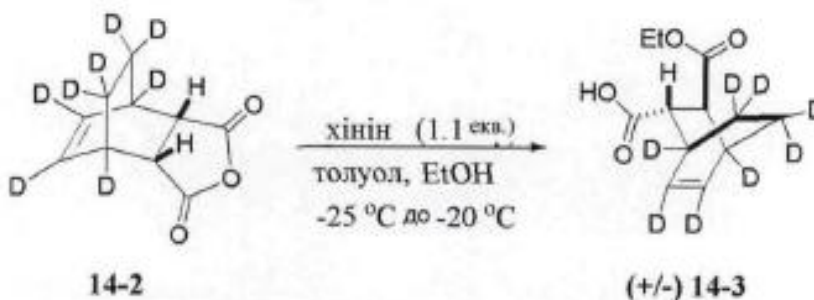
[0364] Трет-бутоксид калію (9,663 г, 86,11 ммоль) розчиняли в DMSO-d<sub>6</sub> (30,00 мл) і вміщували в азот. Додавали розчин циклогекса-1,4-дієну (6 г, 74,88 ммоль) у пентані (60,00 мл), і суміш перемішували в азоті протягом 2,5 години. Шар DMSO-d<sub>6</sub> видаляли і додавали свіжі 30 мл DMSO-d<sub>6</sub> разом із трет-бутоксидом калію (9,663 г, 86,11 ммоль). Перемішування продовжували протягом ночі. Шари розділяли і пентановий шар промивали D<sub>2</sub>O (50 мл) і сушили на Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> з одержанням 1,2,3,4,5,5,6,6-октадейтеріоциклогекса-1,3-дієну (14-1), який переносили в наступну стадію у вигляді розчину. Ця реакція дає суміш ізомерів 1,3- і 1,4-дієну. Тільки 1,3-дієн бере участь у реакції в наступній стадії.

[0365] 14b: 3a, 4,7,7a-тетрагідро-4,7-етанізобензофуран-1,3-діон-4,5,6,7,8,9,9-d<sub>8</sub> (14-2)



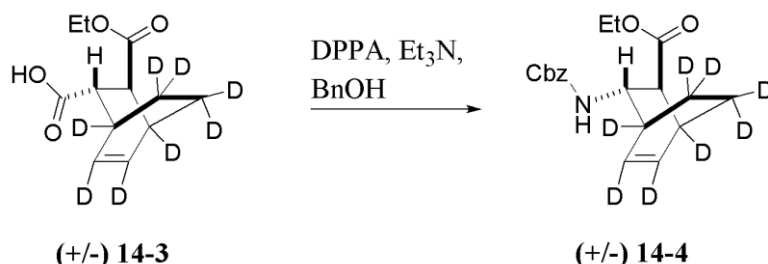
[0366] Пентановий розчин 1,2,3,4,5,5,6,6-октадейтеріоциклогекса-1,3-дієну (14-1) (6,5 г, 74,0 ммоль) розбавляли хлороформом (50 мл) і обробляли малеїновим ангідридом (8,0 г, 81,4 ммоль). Реакційну суміш залишали перемішуватися при кімнатній температурі протягом ночі. Розчинник упарювали при зниженому тиску й одержаний напівтвердий осад обробляли MeOH. Після перемішування протягом 10 хвилин суспензію MeOH охолоджували приблизно до 20 °С. Одержаний осад збирали шляхом фільтрації і промивали трьома невеликими порціями (5 мл) холодного метанолу з одержанням продукту (14-2) у вигляді білого твердого продукту. <sup>1</sup>H-ЯМР-аналіз (CDCl<sub>3</sub>) 3,15 (с, 2H) показав чистий продукт і 95 % включення дейтерію.

[0367] 14c: (+/-)-транс-3-(етоксикарбоніл)біцикло[2.2.2]окт-5-ен-2-карбонова-1,4,5,6,7,7,8,8-d<sub>8</sub> кислота (14-3)



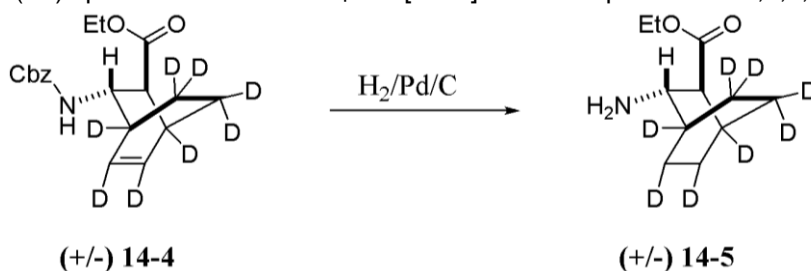
[0368] До 3-горлої круглодонної колби в азоті приєднували краплинну лійку і внутрішній температурний зонд. Колбу наповнювали 3a, 4,7,7a-тетрагідро-4,7-етанізобензофуран-1,3-діон-4,5,6,7,8,8,9,9-d<sub>8</sub> (14-2) (2,68 г, 14,39 ммоль), бета-хініном (5,24 г, 15,83 ммоль) і безводним толуолом (40 мл). Реакційне середовище перемішували магнітною мішалкою і охолоджували до -25 °С (охолодження "холодним пальцем"). Додавали розчин безводного абсолютного етанолу (8,40 мл, 143,90 ммоль) у безводному толуолі (13,4 мл) протягом 25 хвилин, підтримуючи внутрішню температуру нижче -25 °С. Реакційну суміш потім перемішували при приблизно -20 °С протягом ночі. Осаджений гелеподібний продукт збирали фільтрацією, промивали толуолом (3×30 мл) і потім вміщували в 1н HCl/EtOAc (300 мл суміші 1:1). Двофазну суміш перемішували до повного розчинення усього осаду. Шари розділяли, і органічний шар промивали водою (2×100 мл), насиченим сольовим розчином (100 мл), сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фільтрували, концентрували на роторному випарнику при низькій температурі з одержанням 800 мг бажаного продукту (14-3), який використовували без додаткового очищення.

[0369] 14d: (+/-)-транс-етил-3-(((бензилокси)карбоніл)аміно)біцикло[2.2.2]-окт-5-ен-2-карбоксилат-1,4,5,6,7,7,8,8-d<sub>8</sub> (14-4)



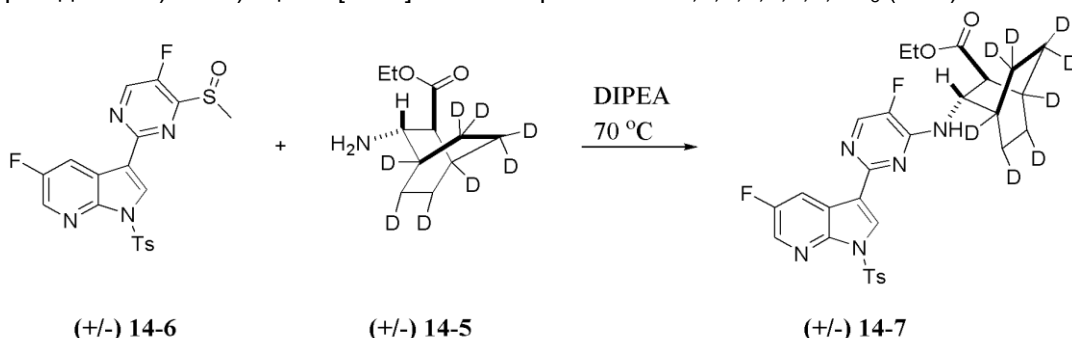
[0370] До розчину (+/-)-транс-3-(етоксикарбоніл)біцикло[2.2.2]окт-5-ен-2-карбонової-1,4,5,6,7,7,8,8-d<sub>8</sub> кислоти (14-3) (0,60 г, 2,58 ммоль) у толуолі (4,5 мл) додавали дифенілфосфорилазид (0,81 г, 0,63 мл, 2,84 ммоль), а потім триетиламін (0,40 мл, 2,84 ммоль). Реакційну суміш потім нагрівали до 90 °C протягом 2 годин. До суміші додавали бензиловий спирт (0,35 мл, 3,34 ммоль), який нагрівали при 90 °C протягом ночі. Реакційну суміш залишали охолоджуватися до кімнатної температури і розділяли в EtOH і водному насиченому розчині NaHCO<sub>3</sub>. Шари розділяли й органічну фазу промивали водним насиченим розчином NH<sub>4</sub>Cl, насиченим сольовим розчином, сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фільтрували й упарювали досуха. Сирий осад очищали хроматографією на силікагелі (0-35-100 % EtOAc/гексан - пляма з САМА). <sup>1</sup>H-ЯМР показав бажаний продукт (14-4) разом із присутністю домішки бензинового спирту. Речовину використовували далі без додаткового очищення.

[0371] 14e: (+/-)-транс-етил-3-амінобіцикло[2.2.2]октан-2-карбоксилат-1,4,5,5,6,6,7,8-d<sub>8</sub> (14-5)



[0372] Паладій (0,052 г, 0,049 ммоль) вміщували в посудину для гідрування (в атмосфері азоту) і зволожували приблизно 5 мл метанолу. До суспензії додавали розчин (+/-)-транс-етил(2S, 3S)-3-(((бензилокси)карбоніл)аміно)біцикло[2.2.2]окт-5-ен-2-карбоксилат-1,4,5,6,7,7,8,8-d<sub>8</sub> (14-4) (0,521 г, 1,547 ммоль) у метанолі (20 мл). Реакційну суміш гідрували (44 псі) протягом ночі. Тиску давали вихід і каталізатор відфільтровували. Усі леткі речовини видаляли у вакуумі. Сирий продукт (14-5) використовували без додаткового очищення.

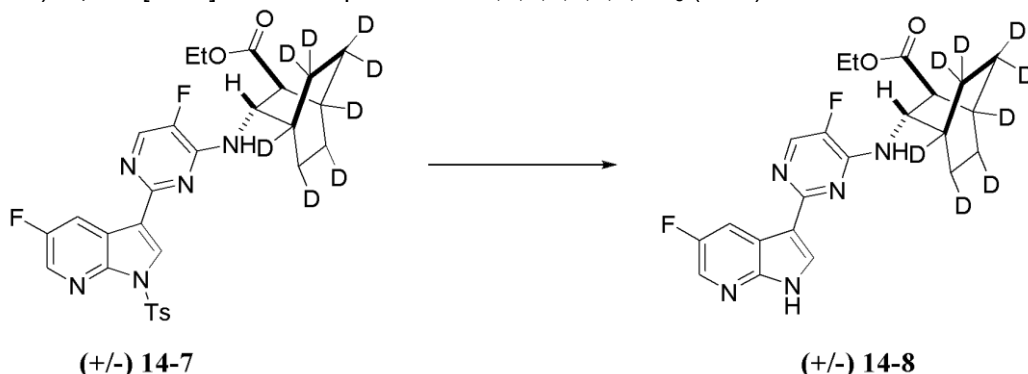
[0373] 14f: (+/-)-транс-етил-3-((5-фтор-2-(5-фтор-1-тозил-1H-піроло[2,3-b]піридин-3-іл)піримідин-4-іл)аміно)біцикло[2.2.2]октан-2-карбоксилат-1,4,5,5,6,6,7,8-d<sub>8</sub> (14-7)



[0374] До суспензії (+/-)-транс-етил(2S, 3S)-3-амінобіцикло[2.2.2]октан-2-карбоксилат-1,4,5,5,6,6,7,8-d<sub>8</sub> (14-5) (0,317 г, 1,547 ммоль) і 5-фтор-3-(5-фтор-4-метилсульфінілпіримідин-2-іл)-1-(п-толілсульфоніл)піроло[2,3-б]піридину (14-6) (0,694 г, 1,547 ммоль) у ТГФ (10 мл) додавали N, N-діізопропілетиламін (0,808 мл, 4,641 ммоль), і реакційну суміш нагрівали до 70 °C протягом ночі. Реакційну суміш розбавляли EtOAc і водою. Шари розділяли й органічну фазу промивали насиченим сольовим розчином, сушили (MgSO<sub>4</sub>), фільтрували і концентрували у вакуумі. Сирий продукт (14-7) очищали хроматографією на силікагелі (0-100 % EtOAc/гексан) з одержанням бажаного продукту.



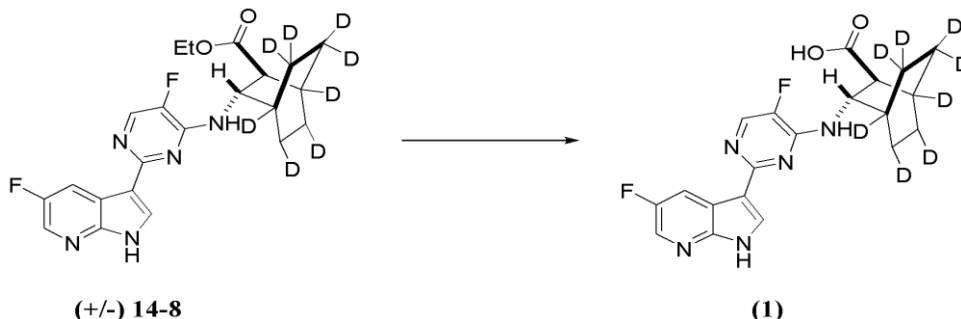
[0375] 14g: (+/-)-транс-етил-3-((5-фтор-2-(5-фтор-1Н-піроло[2,3-*b*]піридин-3-іл)піримідин-4-іл)аміно)біцикло[2.2.2]октан-2-карбоксилат-1,4,5,5,6,6,7,8-*d*<sub>8</sub> (14-8)



[0376] До розчину (+/-)-транс-етил(2*S*, 3*S*)-3-((5-фтор-2-(5-фтор-1Н-піроло[2,3-*b*]піридин-3-іл)піримідин-4-іл)аміно)біцикло[2.2.2]октан-2-карбоксилат-1,4,5,5,6,6,7,8-*d*<sub>8</sub> (14-7) (373 мг, 0,6325 ммоль) в ацетонітрилі (6 мл) додавали HCl (800 мкл 4М розчину в діоксані, 3,200 ммоль). Реакційну суміш залишали перемішуватися при кімнатній температурі протягом 2 годин. Реакційну суміш потім нагрівали до 80 °С протягом 6 годин і потім залишали охолоджуватися до кімнатної температури і перемішували протягом ночі. Аналіз LC/MS показав повне завершення реакції. У суміш додавали ще 6 мл CH<sub>3</sub>CN і 800 мкл 4н розчину HCl/діоксан. Реакційну суміш потім нагрівали до 80 °С протягом 4 годин. Усі леткі речовини видаляли при зниженому тиску і залишок розбавляли EtOAc і насиченим водним розчином NaHCO<sub>3</sub>. Шари розділяли й органічну фазу промивали насиченим сольовим розчином, сушили над MgSO<sub>4</sub>, фільтрували і концентрували у вакуумі. Сирий осад очищали хроматографією на силікагелі (0-100 % EtOAc/гексан) з одержанням бажаного продукту (14-8). <sup>1</sup>H-ЯМР (300 МГц, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 12,28 (с, 1H), 8,50 (дд, *J*=9,8, 2,8 Гц, 1H), 8,23 (ддд, *J*=12,6, 6,2, 2,7 Гц, 2H), 7,60 (д, *J*=6,9 Гц, 1H), 4,73 (т, *J*=6,5 Гц, 1H), 4,30-3,85 (м, 2H), 2,89 (д, *J*=6,8 Гц, 1H), 1,59-0,96 (м, 4H).

[0377]

[0378] 14h: (+/-)-транс-етил-3-((5-фтор-2-(5-фтор-1Н-піроло[2,3-*b*]піридин-3-іл)піримідин-4-іл)аміно)біцикло[2.2.2]октан-2-карбонова-1,4,5,5,6,6,7,8-*d*<sub>8</sub> кислота (1)

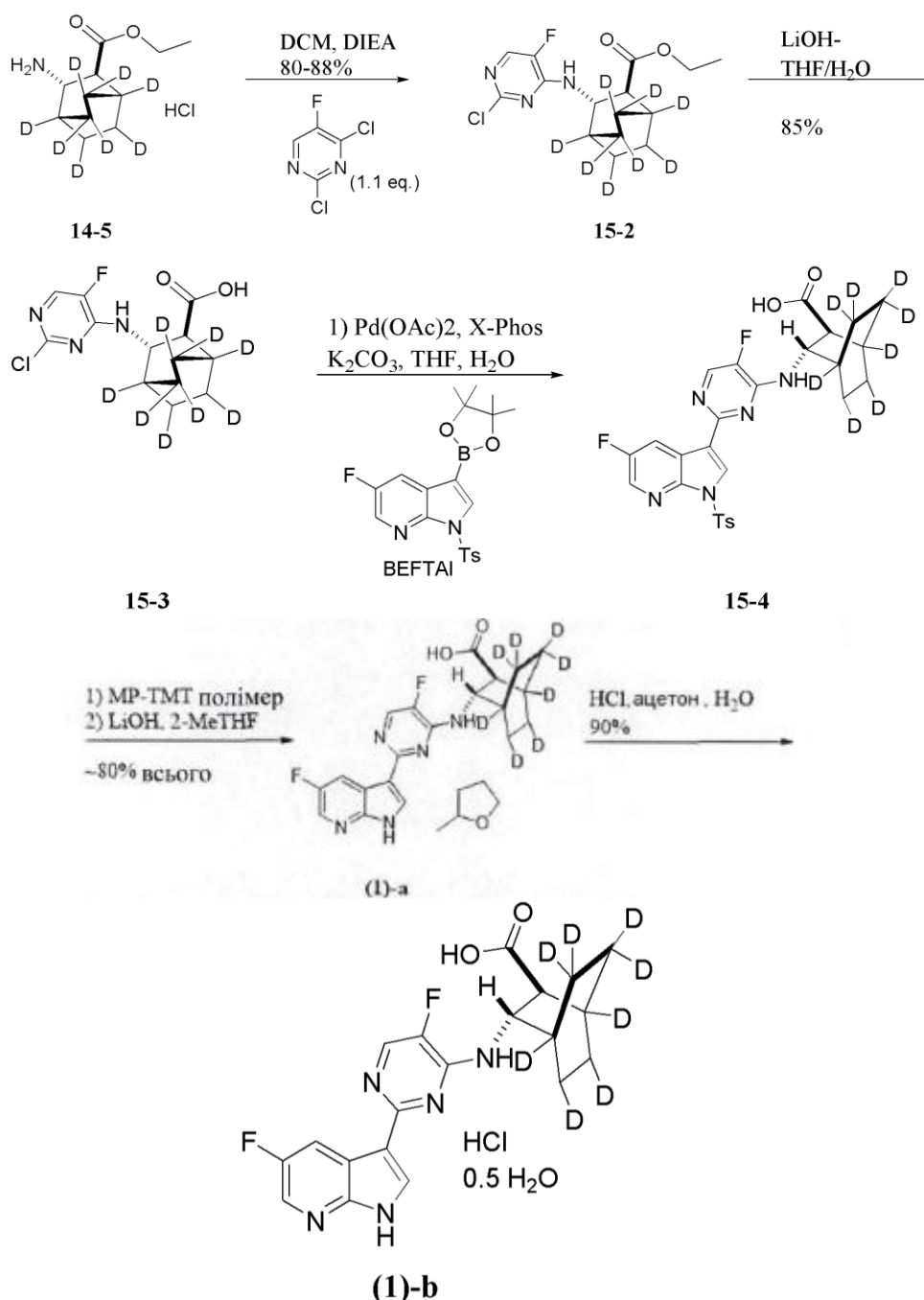


[0379] До розчину (+/-)-транс-етил-3-((5-фтор-2-(5-фтор-1Н-піроло[2,3-*b*]піридин-3-іл)піримідин-4-іл)аміно)біцикло[2.2.2]октан-2-карбоксилат-1,4,5,5,6,6,7,8-*d*<sub>8</sub> (14-8) (0,165 г, 0,379 ммоль), розчиненому в ТГФ (3,0 мл) і метанолі (1 мл), додавали NaOH (1 мл розчину 2М, 2,000 ммоль), і реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 3 годин. Аналіз LC/MS показав повне завершення реакції. Реакційну суміш нагрівали до 45 °С і потім до 55 °С протягом 30 хвилин. Реакційну суміш розводили в насиченому розчині NH<sub>4</sub>Cl. Додавали декілька крапель 1н HCl для доведення рН приблизно до 6,5. Продукт екстрагували EtOAc. Органічні фази сушили над MgSO<sub>4</sub>, фільтрували і концентрували у вакуумі, з одержанням бажаного продукту (1) (чистота 97,5 %, ЯМР, LC/МС і ВЕРХ). <sup>1</sup>H-ЯМР (300 МГц, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 12,30 (д, *J*=14,2 Гц, 2 H), 8,79-7,94 (м, 4H), 7,58 (с, 1H), 4,68 (с, 1H), 2,84 (с, 1H), 1,85 (д, *J*=85,0 Гц, 1H), 1,58-1,05 (м, 2H).

[0380] Приклад 15. Сполука, збагачена дейтерієм (1)

[0381] Альтернативно, Сполука (1), збагачена дейтерієм, може бути синтезована згідно зі Схемою 2, нижче.

[0382] Схема 2



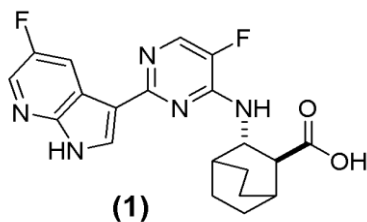
#### ІНШІ ВАРІАНТИ ЗДІЙСНЕННЯ

- 5 [0383] Варто розуміти, що хоча винахід описаний у сполученні з докладним описом, вищенаведений опис призначений для ілюстрації, а не для обмеження сфери застосування винаходу, що визначається формулою винаходу. Інші аспекти, переваги і зміни знаходяться в рамках наступної формули винаходу.

10

#### ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Кристалічна сіль HCl Сполуки (1)×1/2 H<sub>2</sub>O, де Сполука (1) представлена наступною структурною формулою:



і де кристалічна сіль HCl Сполуки (1)×1/2 H<sub>2</sub>O охарактеризована піками, які відповідають значенням 2-тета, виміряним в градусах, що дорівнюють 10,5±0,2, 5,2±0,2, 7,4±0,2 і 18,9±0,2 на порошковій рентгенограмі.

2. Кристалічна сіль HCl Сполуки (1)×1/2 H<sub>2</sub>O за п. 1, що додатково характеризується одним або більше піками, які відповідають 29,2±0,3 м. ч., 107,0±0,3 м. ч., 114,0±0,3 м. ч. і 150,7±0,3 м. ч. у спектрі SSNMR на <sup>13</sup>C.

3. Кристалічна сіль HCl Сполуки (1)×1/2 H<sub>2</sub>O за п. 2, що додатково характеризується одним або більше піками, які відповідають 22,1±0,3 м. ч., 24,6±0,3 м. ч., 47,4±0,3 м. ч. і 54,8±0,3 м. ч. у спектрі SSNMR на <sup>13</sup>C.

4. Фармацевтична композиція, яка містить кристалічну сіль HCl Сполуки (1)×1/2 H<sub>2</sub>O за п. 1 і принаймні один фармацевтично прийнятний носій або ексципієнт.

5. Спосіб зниження кількості вірусу грипу в біологічному зразку *in vitro* або у індивідуума, який включає стадію, на якій вводять в зразок ефективну кількість кристалічної солі HCl Сполуки (1)×1/2 H<sub>2</sub>O за будь-яким з пп. 1-3.

6. Спосіб інгібування реплікації вірусу грипу в біологічному зразку *in vitro* або у індивідуума, який включає стадію, на якій вводять в зразок ефективну кількість кристалічної солі HCl Сполуки (1)×1/2 H<sub>2</sub>O за будь-яким з пп. 1-3.

7. Спосіб за п. 5 або 6, який додатково включає спільне введення одного або більше додаткових терапевтичних засобів індивідууму.

8. Спосіб за п. 7, де додаткові терапевтичні агенти включають антивірусний препарат.

9. Спосіб за п. 8, де противірусний засіб є інгібітором нейрамінідази.

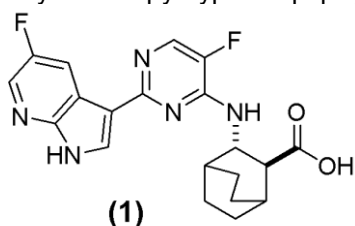
10. Спосіб за п. 9, де інгібітор нейрамінідази є озельтамівіром або занамівіром.

11. Спосіб за п. 8, де противірусний засіб є інгібітором полімерази.

12. Спосіб за п. 11, де інгібітор полімерази є флавіпіравіром.

13. Спосіб за будь-яким з пп. 6-12, де вірусами грипу є віруси грипу А.

14. Спосіб одержання кристалічної солі HCl Сполуки (1)×1/2 H<sub>2</sub>O, де Сполука (1) представлена наступною структурною формулою:



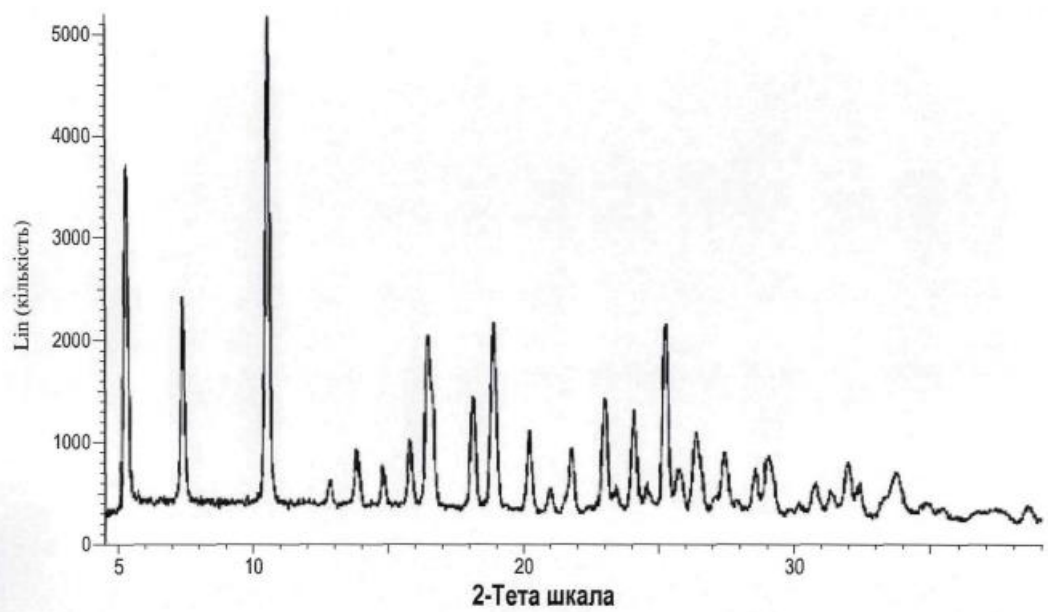
який включає стадію, на якій:

змішують HCl зі Сполукою (1) у системі розчинників, яка включає воду й один або декілька органічних розчинників, де система розчинників має активність води, що дорівнює 0,05-0,85.

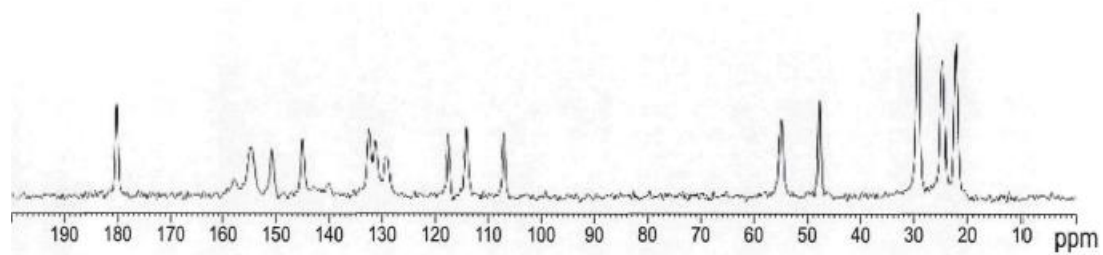
15. Спосіб за п. 14, де система розчинника містить один або більше органічних розчинників, вибраних із хлорбензолу, циклогексану, 1,2-дихлоретану, дихлорметану, 1,2-диметоксіетану, N,N-диметилацетаміду, N,N-диметилформаміду, 1,4-діоксану, 2-етоксіетанолу, формаміду, гексану, 2-метоксіетанолу, метилбутилкетону, метилциклогексану, N-метилпіролідону, нітрометану, піридину, сульфолану, тетрагідрофурану (THF), метилтетрагідрофурану, тетраліну, толуолу, 1,1,2-трихлоретану, ксилолу, оцтової кислоти, ацетону, анізолу, 1-бутанолу, 2-бутанолу, бутилацетату, трет-бутилметилового ефіру, кумолу, гептану, ізобутилацетату, ізопропілацетату, метанолу, метилацетату, 3-метил-1-бутанолу, метилетилкетону, метилізобутилкетону, 2-метил-1-пропанолу, етилацетату, етанолу, н-пропанолу, ізопропанолу, ізобутилацетату, етилового ефіру, етилформіату, етиленгліколю, пентану, 1-пентанолу, 1-пропанолу, 2-пропанолу, пропілацетату або будь-якої їх комбінації.

16. Спосіб за п. 15, де система розчинників містить один або декілька органічних розчинників, вибраних із хлорбензолу, циклогексану, 1,2-дихлоретану, дихлорметану, 1,2-диметоксіетану, формаміду, гексану, 2-метоксіетанолу, метилбутилкетону, метилциклогексану, нітрометану,

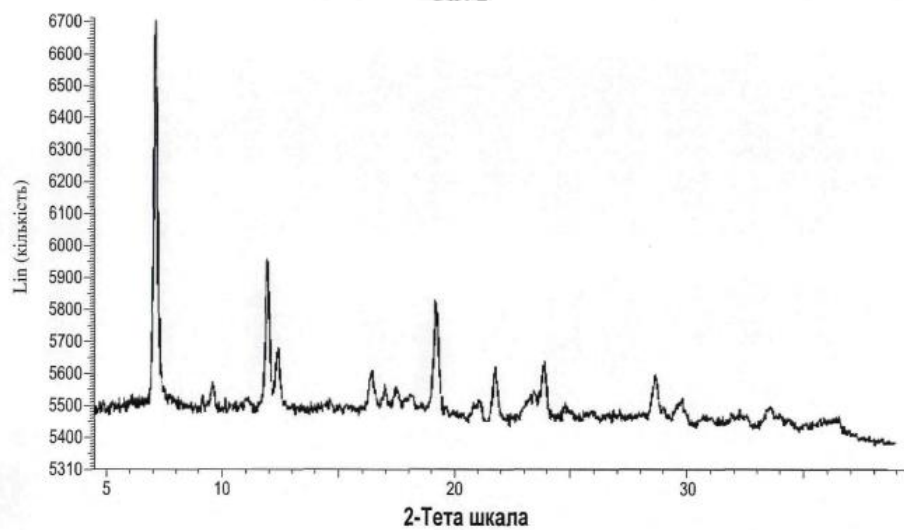
- тетраліну, ксилолу, толуолу, 1,1,2-трихлоретану, ацетону, анізолу, 1-бутанолу, 2-бутанолу, бутилацетату, трет-бутилового ефіру, кумолу, етанолу, етилацетату, етилового ефіру, етилформіату, гептану, ізобутилацетату, ізопропілацетату, метилацетату, 3-метил-1-бутанолу, метилетилкетону, 2-метил-1-пропанолу, пентану, 1-пропанолу, 1-пентанолу, 2-пропанолу, пропілацетату, тетрагідрофурану, метилтетрагідрофурану і будь-якої їх комбінації.
17. Спосіб за п. 15, де система розчинників містить один або декілька органічних розчинників, вибраних з 2-етоксіетанолу, етиленгліколю, метанолу, 2-метоксіетанолу, 1-бутанолу, 2-бутанолу, 3-метил-1-бутанолу, 2-метил-1-пропанолу, етанолу, 1-пентанолу, 1-пропанолу, 2-пропанолу, метилбутилкетону, ацетону, метилетилкетону, метилізобутилкетону, бутилацетату, ізобутилацетату, ізопропілацетату, метилацетату, етилацетату, пропілацетату, піридину, толуолу, ксилолу і будь-якої їх комбінації.
18. Спосіб за п. 15, де система розчинників складається з одного або більше органічних розчинників, вибраних з ацетону, н-пропанолу, ізопропанолу, ізобутилацетату, оцтової кислоти або будь-якої їх комбінації.
19. Спосіб за п. 15, де система розчинників містить один або декілька органічних розчинників, вибраних з ацетону або ізопропанолу.
20. Спосіб за будь-яким з пп. 14-19, де система розчинників має значення активності води від 0,4 до 0,6.
21. Спосіб за будь-яким з пп. 14-20, де змішування здійснюють при температурі від 5 до 75 °С.
22. Спосіб за будь-яким з пп. 14-21, де HCl вводять як водний розчин, що має від 30 до 40 мас. % HCl по масі водного розчину.
23. Режим дозування, який включає введення індивіду кристалічної солі HCl Сполуки (1)×1/2 H<sub>2</sub>O за будь-яким з пп. 1-3 у кількості дози від 100 мг до 1600 мг, де кількість дози вводять один раз на день, два рази на день і три рази на день.
24. Режим дозування за п. 23, де кількість дози складає від 300 мг або 1600 мг.
25. Режим дозування за п. 24, де кількість дози складає від 600 мг або 1200 мг.
26. Режим дозування за п. 25, де дозу вводять один раз на день.
27. Режим дозування за п. 26, де кількість дози складає від 600 мг або 800 мг.
28. Режим дозування за п. 24, де кількість дози складає від 300 мг або 900 мг.
29. Режим дозування за п. 28, де дозу вводять два рази на день.
30. Режим дозування за п. 24, де кількість дози складає від 400 мг або 600 мг.
31. Режим дозування за будь-яким з пп. 23-30, де кристалічну сіль HCl Сполуки (1)×1/2 H<sub>2</sub>O вводять протягом лікування від 1 дня до всього сезону грипу.
32. Режим дозування за п. 31, де тривалість лікування складає від 3 днів до 14 днів.
33. Режим дозування за п. 32, де тривалість лікування складає 3 дні, 4 дні або 5 днів.
34. Режим дозування за п. 23, де дозу в кількості 600 мг або 1600 мг вводять індивіду на день 1 і дозу в кількості від 400 мг до 1200 мг вводять індивіду протягом часу лікування, що залишився.
35. Режим дозування за п. 34, де дозу в кількості 900 мг або 600 мг вводять індивіду на день 1 і дозу в кількості від 400 мг до 1200 мг вводять індивіду протягом часу лікування, що залишився.
36. Режим дозування за п. 35, де дозу в кількості 900 мг або 1200 мг вводять індивіду на день 1 і дозу в кількості від 600 мг до 800 мг вводять індивіду протягом часу лікування, що залишився.
37. Режим дозування за п. 36, де дозу в кількості 900 мг вводять індивіду на день 1 і дозу в кількості 600 мг вводять один раз на день індивіду протягом часу лікування, що залишився.
38. Режим дозування за п. 36, де дозу в кількості 1200 мг вводять індивіду на день 1 і дозу в кількості 600 мг вводять один раз на день індивіду протягом часу лікування, що залишився.



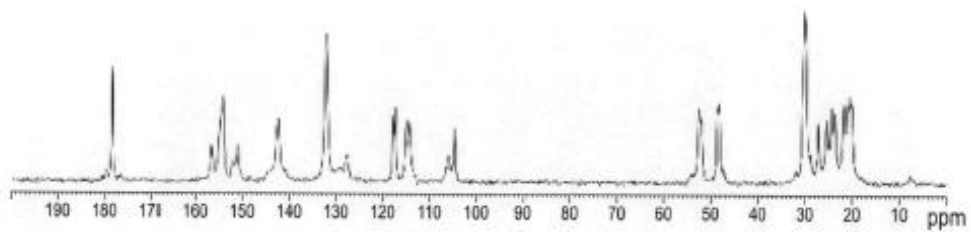
Фиг. 1



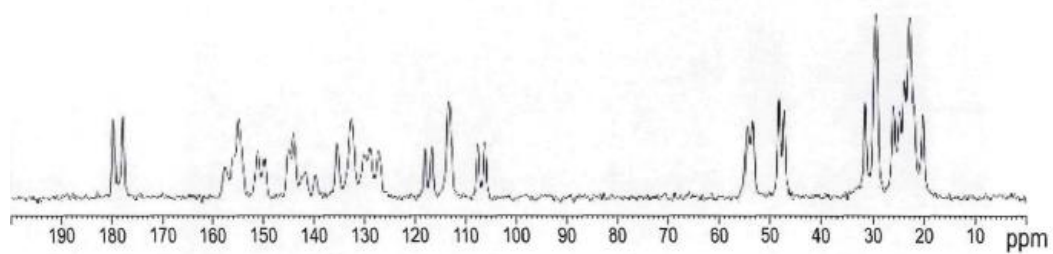
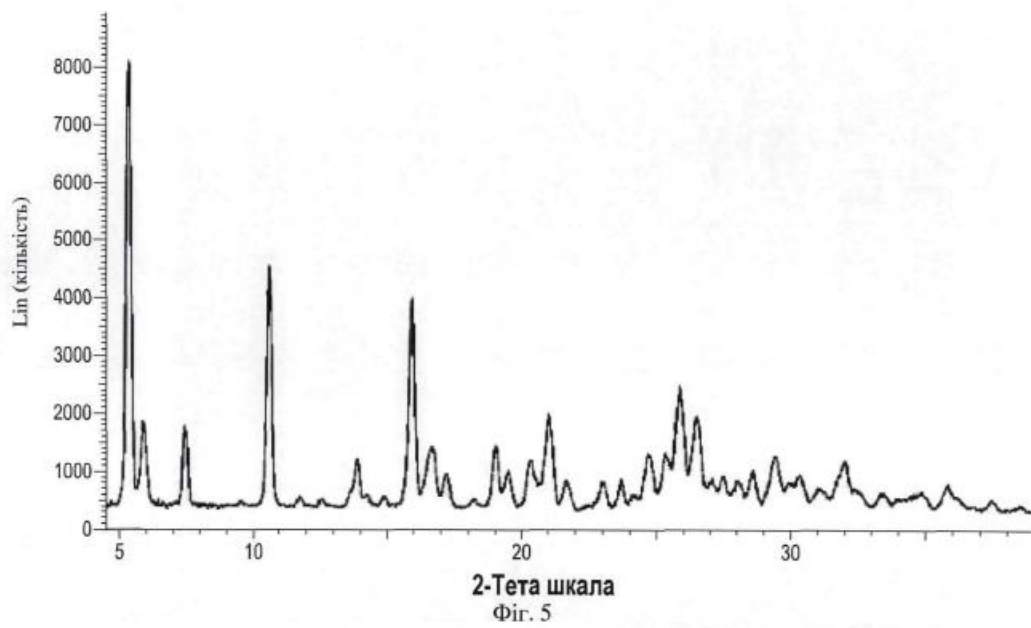
Фиг. 2



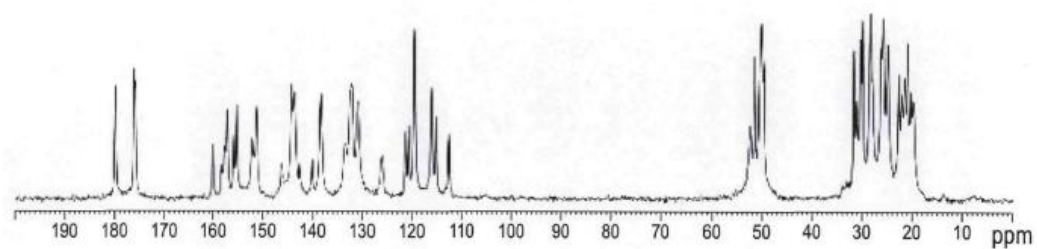
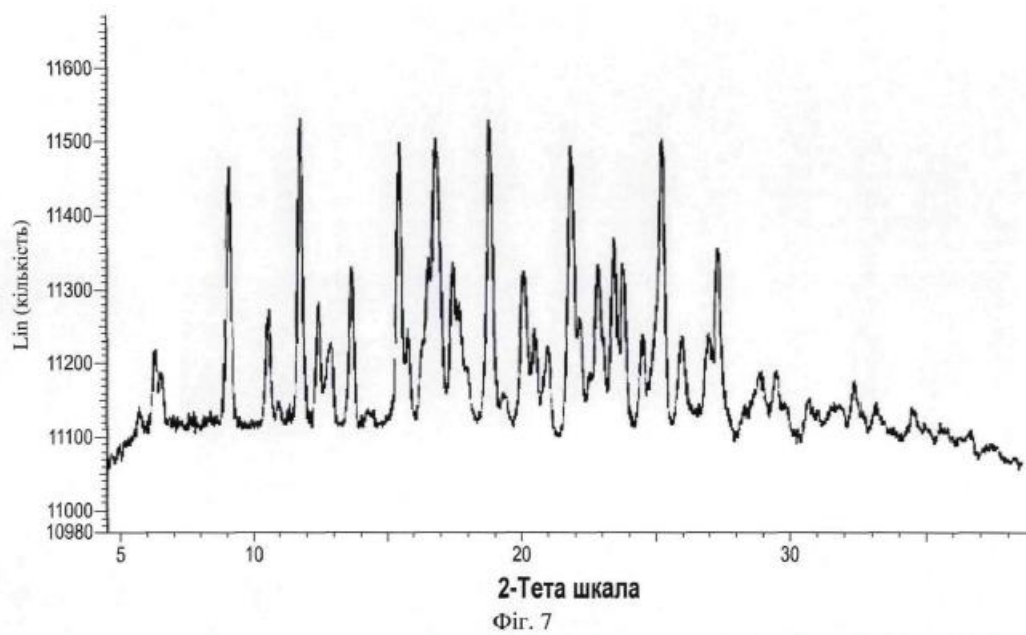
Фиг. 3



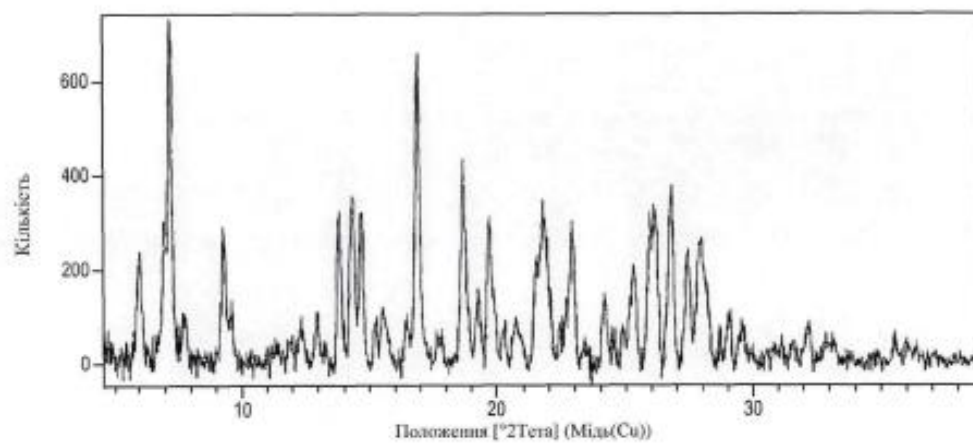
Фіг. 4



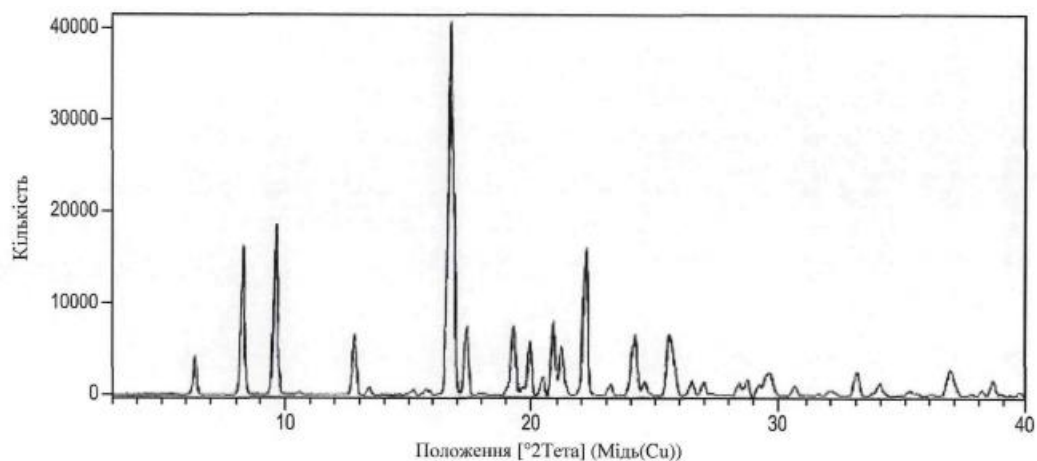
Фіг. 6



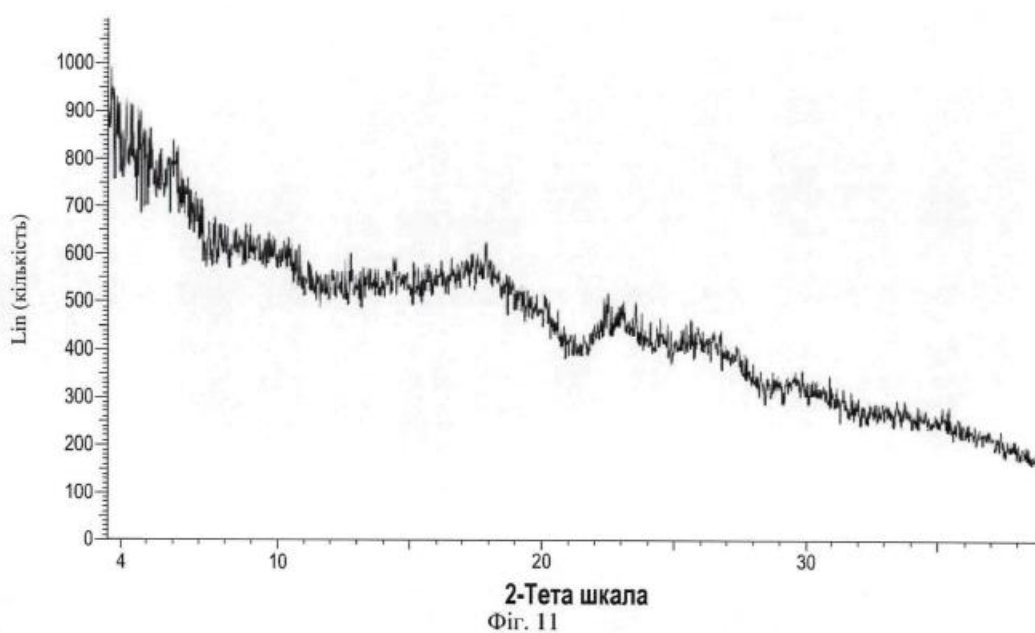
Фіг. 8



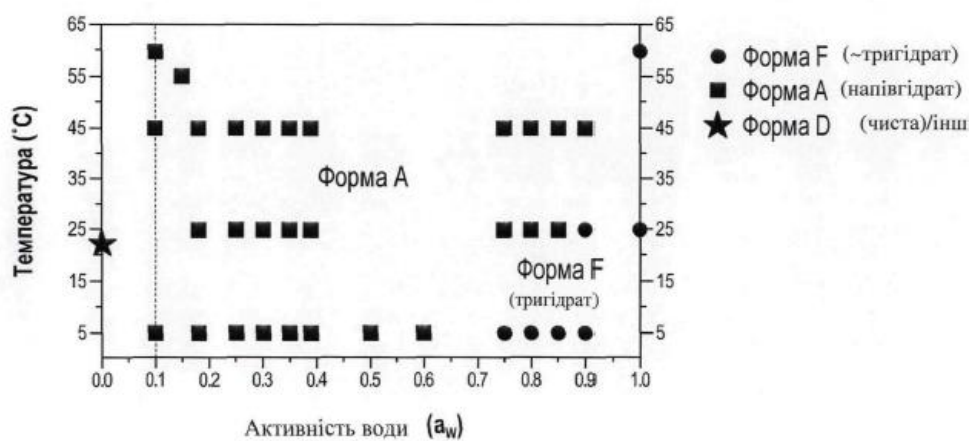
Фіг. 9



Фіг. 10

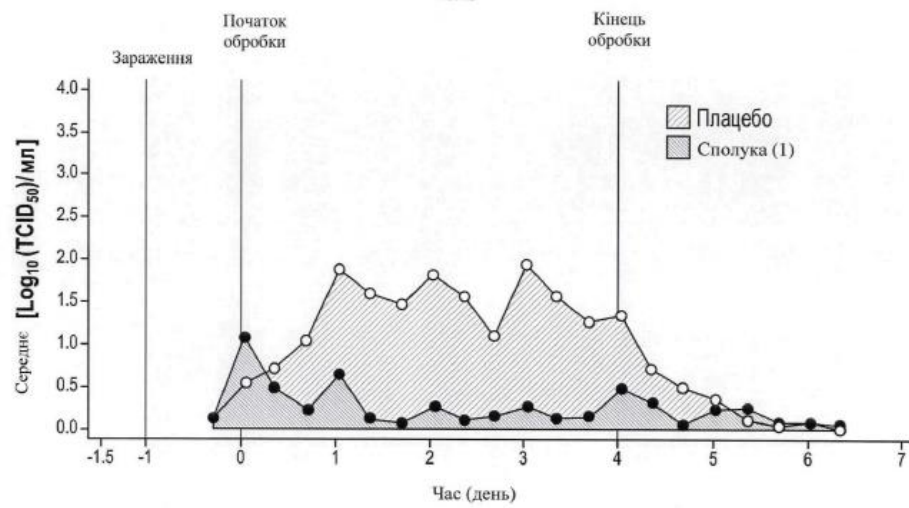


Фіг. 11



Фіг. 12





Фіг. 13

Комп'ютерна верстка В. Мацело

Міністерство розвитку економіки, торгівлі та сільського господарства України,  
вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601