



(21)申請案號：108139360

(22)申請日：中華民國 108 (2019) 年 10 月 30 日

(51)Int. Cl. : C07D413/14 (2006.01)

C07D401/14 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2018/10/31

歐洲專利局

18306430.2

(71)申請人：法商施維雅藥廠(法國) LES LABORATOIRES SERVIER (FR)

法國

英商佛納利斯(R&D)股份有限公司(英國) VERNALIS (R&D) LTD (GB)

英國

(72)發明人：林曲 麥可 LYNCH, MICHAEL (GB)；維拉德 弗雷德里克 VILLARD, FREDERIC (FR)；穆尚 帕特里克 MOUCHET, PATRICK (FR)；陶勒 帕斯卡 TAULELLE, PASCAL (FR)；馬松 盧多維克 MASSON, LUDOVIC (FR)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：

CN 101962387B

CN 103664753A

WO 2015/011400A1

審查人員：官速貞

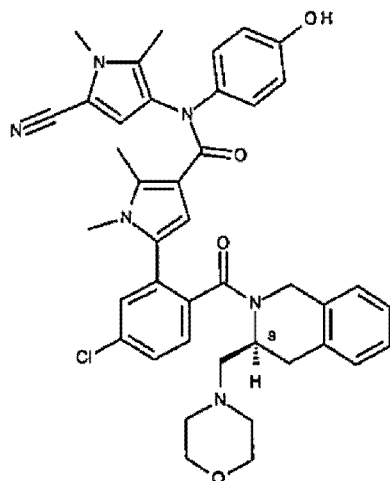
申請專利範圍項數：19 項 圖式數：6 共 29 頁

(54)名稱

BCL-2 抑制劑的新穎鹽、相關的結晶形式、其製備方法及包含其之醫藥組合物

(57)摘要

本發明係關於化合物 A 之新穎鹽及相關的結晶形式：

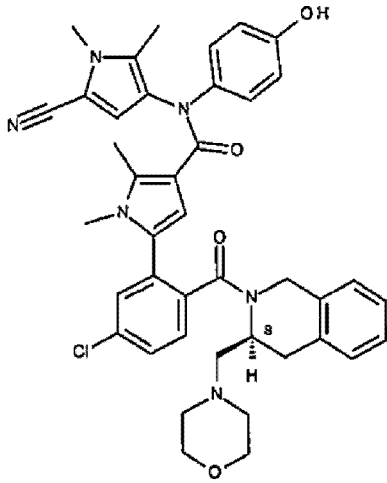


其中該鹽為硫酸氫鹽，

其特徵在於其 X 射線粉末繞射圖，

其製備方法，及包含其之醫藥組合物。

Novel salt and related crystalline forms of Compound A:

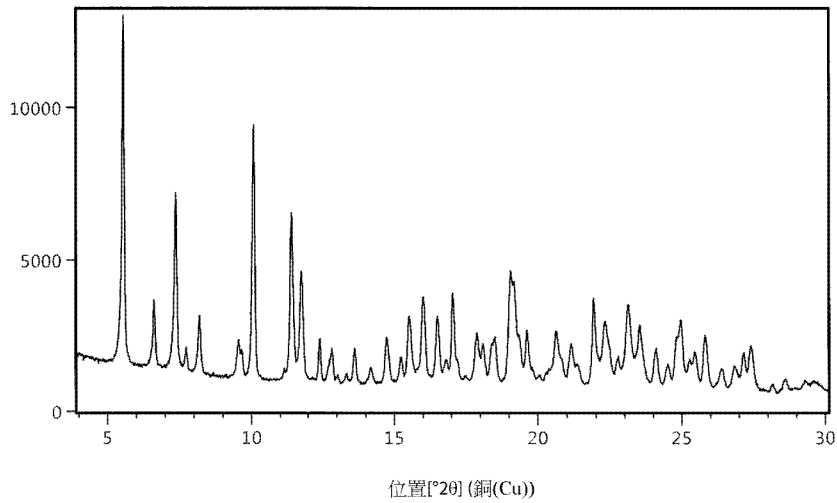


wherein the salt is the hydrogen sulfate salt,
characterised by its X-ray powder diffraction diagram,
method for preparing the same and pharmaceutical compositions containing it.

指定代表圖：

化合物A，硫酸氫鹽之結晶形式I之X射線粉末繞射圖(XPRD)

計數

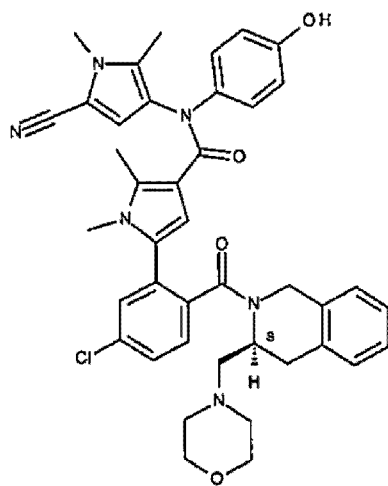


【圖1】

特徵化學式：

I791916

TW I791916 B





I791916

【發明摘要】

【中文發明名稱】

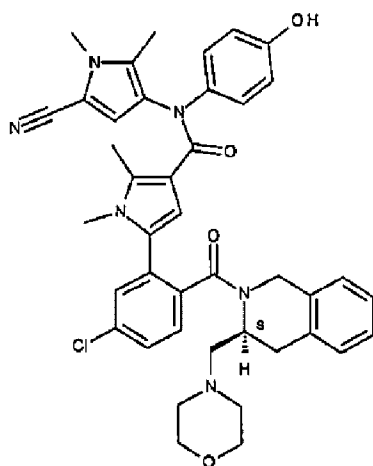
BCL-2抑制劑的新穎鹽、相關的結晶形式、其製備方法及包含其之醫藥組合物

【英文發明名稱】

NOVEL SALT OF A BCL-2 INHIBITOR, RELATED CRYSTALLINE FORM, METHOD FOR PREPARING THE SAME AND PHARMACEUTICAL COMPOSITIONS CONTAINING THE SAME

【中文】

本發明係關於化合物A之新穎鹽及相關的結晶形式：



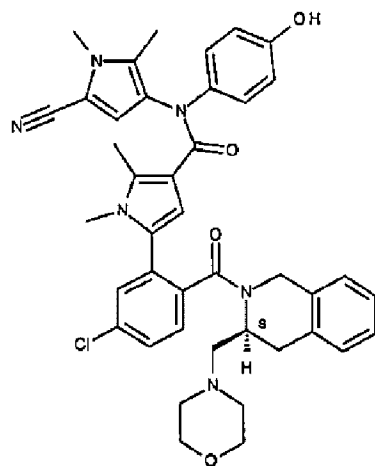
其中該鹽為硫酸氫鹽，

其特徵在於其X射線粉末繞射圖，

其製備方法，及包含其之醫藥組合物。

【英文】

Novel salt and related crystalline forms of Compound A:



wherein the salt is the hydrogen sulfate salt,
 characterised by its X-ray powder diffraction diagram,
 method for preparing the same and pharmaceutical compositions
 containing it.

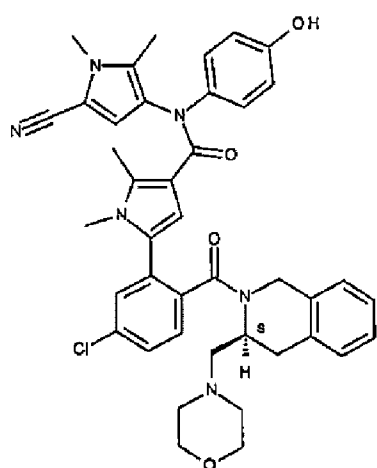
【指定代表圖】

圖1

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】



【發明說明書】

【中文發明名稱】

BCL-2抑制劑的新穎鹽、相關的結晶形式、其製備方法及包含其之醫藥組合物

【英文發明名稱】

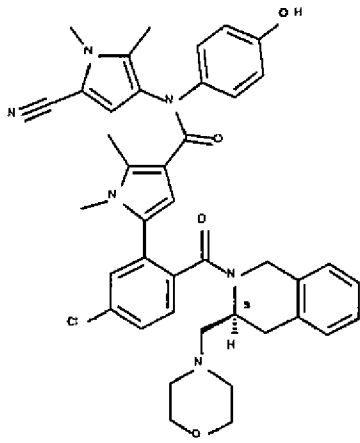
NOVEL SALT OF A BCL-2 INHIBITOR, RELATED CRYSTALLINE FORM, METHOD FOR PREPARING THE SAME AND PHARMACEUTICAL COMPOSITIONS CONTAINING THE SAME

【技術領域】

【0001】本發明係關於一種5-(5-氯-2-{{(3S)-3-(嗎啉-4-基甲基)-3,4-二氫異喹啉-2(1H)-基]羰基}苯基)-N-(5-氰基-1,2-二甲基-1H-吡咯-3-基)-N-(4-羥苯基)-1,2-二甲基-1H-吡咯-3-甲醯胺之新穎鹽，在本文中稱為『化合物A』，或其多晶形物或溶合物，其製備方法及其醫藥組合物。詳言之，本發明係關於化合物A之硫酸氫鹽，在本文中稱為『化合物A，H₂SO₄』及其結晶形式I。本發明進一步揭示一種製備該結晶形式之方法及包含該結晶形式之醫藥組合物。本發明亦係關於該類組合物用於治療癌症、免疫系統疾病及自體免疫疾病之用途。最後，揭示化合物A，H₂SO₄之無水結晶形式。

【先前技術】

【0002】化合物A之化學結構為：



。其製備、作為Bcl-2抑制劑用於治療癌症之用途及其醫藥調配物描述於WO 2015/011400(實例386)中，其內容以引用之方式併入。呈鹽酸鹽(『化合物A.HCl』)形式之化合物A的製備特定揭示於此文件中。其以凍乾物(lyophilisate)形式獲得。

【0003】 儘管化合物A為極具前景之藥物，但其為難以調配之化合物。詳言之，其可略微溶於水(對於游離鹼來說 <0.01 mg/mL)中。由於化學物質可展現呈其一種或另一種鹽形式或結晶形式之不同物理特性，此藥物分子之多形現象可影響存放期、溶解性、調配特性、加工特性及藥物作用。另外，不同多晶型物在體內可具有不同吸收速率，導致生物活性低於或高於所需之生物活性。在極端情況下，非所需多晶型物可甚至展示毒性。因此，瞭解及控制多形現象提供使新藥物出售之明顯優勢，其可更具活性、更穩定或更便宜地製造。然而，即使多形現象已為用於密集研究之課題，然對此現象之理解及控制仍代表實質性科學挑戰。難以預測給定分子是否將以一種或若干種晶體形式結晶，且難以找到導致該類結晶之條件。

【0004】 自工業觀點來看，必要的是能夠合成具有極佳純度之化合物，且尤其以高度可再現形式，具有寶貴的溶解、過濾、乾燥、易於調配及穩定性特徵，使其能在無特定溫度、光、濕度或氧含量之需求的情況下延長儲存。

【0005】 本發明亦描述一種用於獲得呈定義明確、完全可再現結晶形式(形式I)之化合物A， H_2SO_4 的方法，該結晶形式具有與製備、尤其過濾及儲存醫藥組合物之工業限制相容的極好穩定性。

【發明內容】

【圖式簡單說明】

【0006】 圖1展示化合物A， H_2SO_4 之結晶形式I之X射線粉末繞射圖(XPRD)。

【0007】 圖2展示化合物A，硫酸氫鹽之無水結晶形式之X射線粉末繞射圖(XPRD)。

【0008】 圖3展示化合物A，鹽酸鹽之結晶形式I之X射線粉末繞射圖(XPRD)。

【0009】 圖4展示化合物A，硫酸氫鹽之結晶形式I之DSC及TGA特徵曲線。

【0010】 圖5展示化合物A，鹽酸鹽之結晶形式I之DSC及TGA特徵曲線。

【0011】 圖6展示化合物A、 H_2SO_4 之結晶形式I的固態 ^{13}C NMR光譜。

【實施方式】

【0012】 如本文所使用，除非上下文另外提出，例如當組分一起總計為100%時，否則術語『包含』意謂『包括』，且不意欲排除任何額外組分之存在。

【0013】 術語「醇」意謂 C_1 - C_6 醇，諸如甲醇、乙醇、正丙醇、異丙醇、正丁醇、異丁醇、戊醇、2-戊醇、3-戊醇、異戊醇、己醇。

【0014】『癌症』意謂一類疾病，在該類疾病中，一組細胞顯示不可控生長。癌症類型包括血液癌(淋巴瘤及白血病)及包括癌瘤、肉瘤或母細胞瘤之固態腫瘤。『癌症』包括膀胱癌，腦癌，乳癌及子宮癌，慢性淋巴性白血病，結腸直腸癌，食道癌及肝癌，淋巴母細胞白血病，急性骨髓性白血病，淋巴瘤，例如非霍奇金氏B細胞淋巴瘤(non-Hodgkin's B B-cell lymphoma)及瀰漫性大B細胞淋巴瘤，黑色素瘤，惡性血液病，例如骨髓發育不良症候群，骨髓瘤，例如多發性骨髓瘤，卵巢癌，非小細胞肺癌，前列腺癌，胰臟癌及小細胞肺癌。

【0015】『游離分子』及『游離鹼』在本文中可互換使用且係指不呈鹽形式時之化合物A。

本發明之多個實施例

【0016】下文描述本發明之多個實施例。

E1. 5-(5-氯-2-{[(3*S*)-3-(嗎啉-4-基甲基)-3,4-二氫異喹啉-2(1*H*)-基]羰基}苯基)-*N*-(5-氰基-1,2-二甲基-1*H*-吡咯-3-基)-*N*-(4-羥苯基)-1,2-二甲基-1*H*-吡咯-3-甲醯胺之硫酸氫鹽(化合物A，H₂SO₄)。

E2. 根據E1之5-(5-氯-2-{[(3*S*)-3-(嗎啉-4-基甲基)-3,4-二氫異喹啉-2(1*H*)-基]羰基}苯基)-*N*-(5-氰基-1,2-二甲基-1*H*-吡咯-3-基)-*N*-(4-羥苯基)-1,2-二甲基-1*H*-吡咯-3-甲醯胺之硫酸氫鹽(化合物A，H₂SO₄)之結晶形式I，其中該結晶形式具有X射線粉末繞射圖，該圖展示如下繞射線(布拉格角2θ，以度數±0.2°表示)：5.55；6.62及7.39。

E3. 根據E1之5-(5-氯-2-{[(3*S*)-3-(嗎啉-4-基甲基)-3,4-二氫異喹啉-2(1*H*)-基]羰基}苯基)-*N*-(5-氰基-1,2-二甲基-1*H*-吡咯-3-基)-*N*-(4-羥苯基)-1,2-二甲基-1*H*-吡咯-3-甲醯胺之硫酸氫鹽(化合物A，H₂SO₄)之結晶形

式I，其中該結晶形式具有的X射線粉末繞射圖展示至少4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14條或全部如下繞射線(布拉格角 2θ ，以度數 $\pm 0.2^\circ$ 表示)：5.55；5.62；6.62；7.39；10.17；11.49；11.83；16.01；16.54；17.04；18.98；19.18；21.90；22.28；24.89。

E4. 根據E3之化合物A之硫酸氫鹽之結晶形式I，其中其具有的X射線粉末繞射圖具有如下繞射線(布拉格角 2θ ，以度數 $\pm 0.2^\circ$ 表示)：5.55；5.62；6.62；7.39；10.17；11.49；11.83；16.01；16.54；17.04；18.98；19.18；21.90；22.28；24.89。

E5. 根據E4之化合物A之硫酸氫鹽之結晶形式I，其中其具有如下X射線粉末繞射圖，使用PANalytical X'Pert Pro MPD繞射儀經X'Celerator偵測器量測且依據線位置(布拉格角 2θ ，以度數 $\pm 0.2^\circ$ 表示)及晶面間距d(以Å表示)表示：

線編號	角度 2θ (°)	晶面間距(Å)
1	5.55	15.93
2	5.62	15.73
3	6.62	13.36
4	7.39	11.95
5	10.17	8.70
6	11.49	7.70
7	11.83	7.48
8	16.01	5.53
9	16.54	5.36
10	17.04	5.20
11	18.98	4.67
12	19.18	4.63
13	21.90	4.06
14	22.28	3.99
15	24.89	3.58

E6. 根據E1至E5中任一項之化合物A之硫酸氫鹽之結晶形式I，其中其具有的固態 ^{13}C CP/MAS NMR光譜具有如下峰(以ppm ± 0.2 ppm表示)：173.31 ppm、155.32 ppm、140.46 ppm、139.19 ppm、137.42

ppm、134.68 ppm、131.65 ppm、131.14 ppm、129.37 ppm、126.32 ppm、118.77 ppm、117.36 ppm、116.54 ppm、113.61 ppm、112.69 ppm、110.74 ppm、102.33 ppm、101.45 ppm、63.06 ppm、57.19 ppm、54.87 ppm、52.06 ppm、44.71 ppm、43.94 ppm、34.42 ppm、32.89 ppm、31.28 ppm、30.66 ppm、14.40 ppm、13.34 ppm、12.49 ppm及10.50 ppm。

E7. 醫藥組合物，其包含作為活性成分之根據E1之化合物A的硫酸氫鹽，以及一或多種醫藥學上可接受之賦形劑。

E8. 醫藥組合物，其包含作為活性成分之根據E2至E6中任一項之化合物A的硫酸氫鹽的結晶形式I，以及一或多種醫藥學上可接受之賦形劑。

E9. 根據E7或E8之醫藥組合物，其用於治療癌症、自體免疫疾病及免疫系統疾病。

E10. 根據E9之醫藥組合物，其中該癌症係選自膀胱癌、腦癌、乳癌及子宮癌、慢性淋巴性白血病，結腸直腸癌，食道癌及肝癌，淋巴母細胞白血病，急性骨髓性白血病，淋巴瘤，例如非霍奇金氏B細胞淋巴瘤及瀰漫性大B細胞淋巴瘤，黑色素瘤，惡性血液病，例如骨髓發育不良症候群，骨髓瘤，例如多發性骨髓瘤，卵巢癌，非小細胞肺癌，前列腺癌，胰臟癌和小細胞肺癌。

E11. 根據E1之化合物A之硫酸氫鹽，其用作藥劑。

E12. 根據E1之化合物A之硫酸氫鹽，其用於治療癌症、自體免疫疾病及免疫系統疾病。

E13. 根據E12之化合物A之硫酸氫鹽，其中該癌症係選自膀胱癌，

腦癌，乳癌及子宮癌，慢性淋巴性白血病，結腸直腸癌，食道癌及肝癌，淋巴母細胞白血病，急性骨髓性白血病，淋巴瘤(例如非霍奇金氏B細胞淋巴瘤及瀰漫性大B細胞淋巴瘤)，黑色素瘤，惡性血液病(例如骨髓發育不良症候群)，骨髓瘤(例如多發性骨髓瘤)，卵巢癌，非小細胞肺癌，前列腺癌，胰臟癌和小細胞肺癌。

E14. 根據E2至E6中任一項之化合物A之硫酸氫鹽的結晶形式I，其用作藥劑。

E15. 根據E2至E6中任一項之化合物A之硫酸氫鹽的結晶形式I，其用於治療癌症、自體免疫疾病及免疫系統疾病。

E16. 根據E15之化合物A之硫酸氫鹽的結晶形式I，其中該癌症係選自膀胱癌，腦癌，乳癌及子宮癌，慢性淋巴性白血病，結腸直腸癌，食道癌及肝癌，淋巴母細胞白血病，急性骨髓性白血病，淋巴瘤(例如非霍奇金氏B細胞淋巴瘤及瀰漫性大B細胞淋巴瘤)，黑色素瘤，惡性血液病(例如骨髓發育不良症候群)，骨髓瘤(例如多發性骨髓瘤)，卵巢癌，非小細胞肺癌，前列腺癌，胰臟癌和小細胞肺癌。

E17. 用於製備根據E2至E6中任一項之化合物A之硫酸氫鹽的結晶形式I的方法，其中化合物A之硫酸氫鹽係在極性介質中結晶。

E18. 用於製備根據E17之化合物A之硫酸氫鹽的結晶形式I的方法，其中該極性介質由一或多種選自水及醇之溶劑構成。

E19. 用於製備根據E18之化合物A之硫酸氫鹽之結晶形式I的方法，其中該醇為乙醇。

E20. 用於製備根據E18之化合物A之硫酸氫鹽之結晶形式I的方法，其中極性介質為乙醇/水混合物。

E21. 用於製備如E17至E20中任一項之化合物A之硫酸氫鹽之結晶形式I的方法，在該方法中，結晶係使用極少量之化合物A之硫酸氫鹽的結晶形式I來接種。

E22. 根據E1之5-(5-氯-2-[[*(3S)*-3-(嗎啉-4-基甲基)-3,4-二氫異喹啉-2(*1H*)-基]羰基}苯基)-*N*-(5-氰基-1,2-二甲基-1*H*-吡咯-3-基)-*N*-(4-羥苯基)-1,2-二甲基-1*H*-吡咯-3-甲醯胺之硫酸氫鹽(化合物A，H₂SO₄)的無水結晶形式I，其中該結晶形式具有的X射線粉末繞射圖展示至少4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15條或全部如下繞射線(布拉格角 2θ ，以度數 $\pm 0.2^\circ$ 表示)：5.19；5.64；6.74；7.14；8.04；8.33；9.17；9.40；10.68；11.03；11.35；12.18；12.59；13.64；14.78；15.09。

E23. 根據E22之無水結晶形式，其中其具有如下X射線粉末繞射圖，使用PANalytical X'Pert Pro MPD繞射儀經X'Celerator偵測器量測，且依據線位置(布拉格角 2θ ，以度數 $\pm 0.2^\circ$ 表示)及晶面間距 d (以Å表示)表示：

線編號	角度 2θ (°)	晶面間距(Å)
1	5.19	17.03
2	5.64	15.66
3	6.74	13.12
4	7.14	12.39
5	8.04	10.99
6	8.33	10.61
7	9.17	9.64
8	9.40	9.41
9	10.68	8.29
10	11.03	8.02
11	11.35	7.79
12	12.18	7.26
13	12.59	7.03
14	13.64	6.49
15	14.78	5.99
16	15.09	5.87

獲得化合物A之硫酸氫鹽之結晶形式I具有的優勢在於具有良好穩定

性特徵。更特定言之，在用於篩選之溶劑及溫度範圍內僅觀察到一種結晶形式，顯示在所測試條件下，硫酸氫鹽之有限多形現象。此外，由此獲得之化合物A之硫酸氫鹽的結晶形式I足夠穩定以使其儲存延長之時段，而對溫度、光、濕度或氧含量無特定條件。

【0017】 本文中之實例說明本發明但不以任何方式限制本發明。

實例1：用於獲得化合物A之硫酸氫鹽之結晶形式I的方法

【0018】 在環境溫度將25 g化合物A(游離鹼)置放於239.5 g乙醇中。隨後在65°C加熱混合物。隨後逐漸添加硫酸於水中之溶液(4.27 g H₂SO₄ + 59.87 g水)。攪拌混合物1小時，隨後冷卻至10°C。當結晶完成時，過濾懸浮液，用乙醇/水混合物在10°C洗，過濾且在減壓下乾燥。在乾燥之後，以約70%之產率及大於99.8%之純度獲得化合物A之硫酸氫鹽的結晶形式I。固體係藉由如實例3中所述之X射線粉末來表徵。

【0019】 在根據本發明之結晶方法中，藉由可使用之任何方法獲得化合物A(游離鹼)。

實例2：用於獲得化合物A之硫酸氫鹽的結晶形式I的方法(接種)

【0020】 在環境溫度將25 g化合物A(游離鹼)置放於239.5 g乙醇中。隨後在65°C加熱混合物。隨後逐漸添加硫酸於水中之溶液(4.27 g H₂SO₄ + 59.87 g水)。攪拌混合物30分鐘。隨後使混合物稍微冷卻，然後用化合物A之硫酸氫鹽之結晶形式I(起始物質之2重量%)接種。攪拌混合物30分鐘，隨後冷卻至10°C。當結晶完成時，過濾懸浮液，用乙醇/水混合物在10°C洗，過濾且在減壓下乾燥。在乾燥之後，以約70%之產率及大於99.8%之純度獲得化合物A之硫酸氫鹽的結晶形式I。固體係藉由如實例3中所述之X射線粉末來表徵。

【0021】 在根據本發明之結晶方法中，藉由可使用之任何方法獲得化合物A(游離鹼)。

實例3：化合物A之硫酸氫鹽之結晶形式I(X射線粉末繞射圖)

【0022】 在以下條件下使用PANalytical X'Pert Pro MPD繞射儀經X'Celerator偵測器在傳輸模式下記錄資料：

電壓45 kV，電流40 mA，

安裝： θ/θ ，

陽極：銅，

K α -1波長：1.54060 Å，

K α -2波長：1.54443 Å，

K α -2/K α -1比率：0.5，

量測模式：以 0.017° 之增量連續自 3° 至 55° (布拉格角 2θ)，

每步驟之量測時間：35.5301 s。

【0023】 根據實例1或2之方法獲得之化合物A的硫酸氫鹽的形式I的X射線粉末繞射圖係依據線位置(布拉格角 2θ ，以度數 $\pm 0.2^\circ$ 表示)及晶面間距(以Å表示)表示(圖1)。已在下表中對有效線進行排序：

線編號	角度 2θ ($^\circ$)	晶面間距(Å)
1	5.55	15.93
2	5.62	15.73
3	6.62	13.36
4	7.39	11.95
5	10.17	8.70
6	11.49	7.70
7	11.83	7.48
8	16.01	5.53
9	16.54	5.36
10	17.04	5.20
11	18.98	4.67
12	19.18	4.63
13	21.90	4.06
14	22.28	3.99
15	24.89	3.58

實例4：穩定性研究

【0024】對於所有儲存條件及儲存時段，將20 mg化合物A之鹽之結晶形式引入30 mL小瓶中以用於儲存後HPLC分析。

【0025】藥物物質含量藉由LC(% m/m)測定。

溫度	封裝	硫酸氫鹽，結晶形式I
T ₀		>99.9
25°C/60%RH	置放於塑膠桶中之雙聚乙烯袋	儲存3個月之後100.7
30°C/65%RH	置放於塑膠桶中之雙聚乙烯袋	儲存3個月之後100.6
40°C/75%RH	置放於塑膠桶中之雙聚乙烯袋	儲存3個月之後100.0
50°C/75%RH	開放式玻璃瓶	儲存6週之後101.0

【0026】粉末之外觀(白色)及化學穩定性在所有測試條件下保持不變：在25°C/60% RH，30°C/65% RH，40°C/75% RH下超過3個月，及在50°C/75% RH下持續6週。

【0027】此外，X射線繞射結果顯示，在T₀時分析之後及在25°C/90%RH下儲存於敞口玻璃瓶中6週後，形式無變化。

【0028】總之，藥物物質可在測試時段內視為物理及化學穩定的。

實例5：用於獲得化合物A之硫酸氫鹽的無水結晶形式的方法(接種)

【0029】在環境溫度下將5.83 kg化合物A(游離鹼)置放於55.85 kg乙醇中。隨後在65°C下加熱混合物。隨後逐漸添加硫酸於水中之溶液(1 kg H₂SO₄ + 13.96 kg水)。攪拌混合物30分鐘。隨後使混合物稍微冷卻，然後用化合物A之硫酸氫鹽之結晶形式I(起始物質之2重量%)接種。攪拌混合物30分鐘，隨後冷卻至10°C。當結晶完成時，過濾懸浮液，用乙醇/水混合物在10°C下洗滌，過濾且在減壓下乾燥。隨後，乾燥產物儲存在惰性氛圍(氮氣)下。以約78±5%之產率及大於99.9%之純度及約0.43%之水含量獲得化合物A之硫酸氫鹽的無水結晶形式。固體藉由如實例6中所陳

第 11 頁(發明說明書)

述之X射線粉末來表徵。

【0030】 在根據本發明之結晶方法中，藉由可使用之任何方法獲得化合物A(游離鹼)。

實例6：化合物A之硫酸氫鹽之無水結晶形式(X射線粉末繞射圖)

【0031】 資料之記錄在如下條件下進行：

【0032】 將大致30至50 mg待分析樣品置放於在樣品固持盤中固定之兩個聚合膜(Kapton[®])之間。在15分鐘內使用X射線繞射儀，自3° 2θ至至少40° 2θ記錄測試樣品的X射線繞射圖，該X射線繞射儀在40 Kv及30 Ma下，在經CuK α 輻射($\lambda = 1.5418 \text{ \AA}$)之傳輸模式中操作，且步長在自0.01°至0.02° 2θ的範圍內。此等設定可根據所使用之繞射儀變化。

【0033】 根據實例5之方法獲得之化合物A的硫酸氫鹽的無水形式的X射線粉末繞射圖係依據線位置(布拉格角2θ，以度數±0.2°表示)及晶面間距(以Å表示)表示(圖2)。已在下表中對有效線進行排序：

線編號	角度2θ (°)	晶面間距(Å)
1	5.19	17.03
2	5.64	15.66
3	6.74	13.12
4	7.14	12.39
5	8.04	10.99
6	8.33	10.61
7	9.17	9.64
8	9.40	9.41
9	10.68	8.29
10	11.03	8.02
11	11.35	7.79
12	12.18	7.26
13	12.59	7.03
14	13.64	6.49
15	14.78	5.99
16	15.09	5.87

實例7：用於獲得化合物A之硫酸氫鹽之結晶形式I的方法(接種，公斤級別之批量大小)

【0034】 在環境溫度下將5.83 kg化合物A(游離鹼)置放於55.85 kg乙醇中。隨後在65°C下加熱混合物。隨後逐漸添加硫酸於水中之溶液(1 kg H₂SO₄ + 13.96 kg水)。攪拌混合物30分鐘。隨後使混合物稍微冷卻，然後用化合物A之硫酸氫鹽之結晶形式I(起始物質之2重量%)接種。攪拌混合物30分鐘，隨後冷卻至10°C。當結晶完成時，過濾懸浮液，在10°C下用乙醇/水混合物洗滌，過濾且在減壓下乾燥。其後在40°C下在具有50%相對濕度(RH)之氛圍下再水合產物。將所得產物儲存在惰性氛圍(氮氣)下。以約78±5%之產率及大於99.9%之純度及約6.5±1%之水含量獲得化合物A之硫酸氫鹽的結晶形式I。固體藉由如實例3中所陳述之X射線粉末來表徵。

【0035】 在根據本發明之結晶方法中，藉由可使用之任何方法獲得化合物A(游離鹼)。

實例8：用於獲得化合物A之鹽酸鹽之結晶形式I之方法及表徵其之X射線粉末繞射圖

【0036】 藉由在15 mL乙醇中漿化48小時，將1510 mg化合物A之非晶形鹽酸鹽(WO 2015/011400之實例386)轉化成其結晶乙醇溶劑合物。過濾殘餘固體，用1 mL乙醇洗滌兩次且接著懸浮於10 mL水中5 min。在困難過濾之後，在30°C/10毫巴下乾燥殘餘固體隔夜及藉由X射線繞射(3-30° 2θ/10 min)分析。

【0037】 HCl鹽之製備模式由於以下事實而變得複雜：其最初產生乙醇溶劑合物，該乙醇溶劑合物在水中再懸浮之後經H₂O置換，得到水合形式。所得水合HCl鹽形成極難過濾之細針。

【0038】 根據先前所描述之方法獲得之化合物A的鹽酸鹽的形式I的

X射線粉末繞射圖係依據線位置(布拉格角 2θ ，以度數 $\pm 0.2^\circ$ 表示)及相對強度(以%表示)表示(圖3)。已在下表中對有效線進行排序：

線編號	角度 2θ ($^\circ$)	相對強度(%)
1	5.53	100.00
2	7.37	65.92
3	9.96	92.98
4	11.26	31.90
5	11.62	30.11
6	12.29	67.53
7	12.76	25.47
8	15.34	29.27
9	17.04	32.91
10	18.82	25.98
11	19.07	27.10
12	19.48	27.89
13	20.41	25.05
14	21.99	28.88
15	23.14	29.52
16	24.69	23.99
17	25.66	29.09
18	27.28	25.49

實例9：化合物A之鹽酸鹽及硫酸氫鹽之結晶形式I的DSC及TGA特徵曲線
 H_2SO_4 鹽

【0039】在TA Instruments Q1000 (或Q2000)示差掃描熱析儀(Differential Scanning Calorimeter)上，在針孔刺穿鋁罐中，在氮氣正流下，在 0°C 與 250°C 之間以 $10^\circ\text{C}/\text{min}$ 記錄重量大約4 mg之硫酸氫鹽，形式I之樣品之示差掃描熱析法(Differential Scanning Calorimetry；DSC)特徵曲線(圖4)。

【0040】在TA Instruments Q5000熱重分析儀(Thermogravimetric Analyser)上，在開放鋁罐中，在氮氣正流下，在 25°C 與 250°C 之間以 $10^\circ\text{C}/\text{min}$ 記錄重量大約10 mg之硫酸氫鹽，形式I之樣品之熱重分析(Thermal Gravimetric Analysis；TGA)特徵曲線(圖4)。

HCl 鹽

【0041】在TA Instruments Q1000 (或Q2000) 示差掃描熱析儀上，在針孔刺穿鋁罐中，在氮氣正流下，在0°C 與250°C 之間以10°C /min記錄重量大約4 mg之鹽酸鹽，形式I之樣品之DSC特徵曲線(圖5)。

【0042】在TA Instruments Q5000熱重分析儀上，在開放鋁罐中，在氮氣正流下，在25°C 與250°C 之間以10°C /min記錄重量大約6 mg之鹽酸鹽，形式I之樣品之TGA特徵曲線(圖5)。

【0043】相比於HCl鹽之DSC特徵曲線，H₂SO₄鹽之DSC特徵曲線不太複雜。在25°C 與100°C 之間的H₂SO₄鹽之TGA特徵曲線中可見水損失。熔融/降解吸熱在朝向224°C 之DSC特徵曲線中可見。HCl鹽之熔融溫度及焓低於H₂SO₄鹽之熔融溫度及焓。此可表明與H₂SO₄鹽相比，HCl在脫水之後具有更低結晶度。

實例10：化合物A，H₂SO₄之結晶形式I(固態NMR譜)

【0044】化合物A，H₂SO₄之結晶形式I亦藉由固態核磁共振光譜學(Nuclear Magnetic Resonance spectroscopy)表徵(圖6)。在以下條件下，使用具有4 mm CP/MAS SB VTN型探針之Bruker SB Avance III HD 500光譜儀在環境溫度下記錄化合物A，H₂SO₄之固態¹³C NMR光譜：

頻率：125.76 MHz，

譜寬度：37 kHz，

變角度旋轉速率：10 kHz，

脈衝程式：具有SPINAL64去耦之交叉偏振

再循環延遲：10 s，

採集時間：46 ms，

接觸時間：4 ms，

掃描次數：4096。

【0045】 在傅立葉變換(Fourier Transformation)之前施用5 Hz線性變寬。

【0046】 由此獲得之譜相對於金剛烷之樣品進行參照(金剛烷之高頻峰值設定為38.5 ppm)。

【0047】 化合物A，H₂SO₄之結晶形式I可由一組峰值之存在定義，該組峰值之化學位移在下表中給出(以ppm±0.2 ppm表示)：

編號	(ppm)
1	173.31
2	155.32
3	140.46
4	139.19
5	137.42
6	134.68
7	131.65
8	131.14
9	129.37
10	126.32
11	118.77
12	117.36
13	116.54
14	113.61
15	112.69
16	110.74
17	102.33
18	101.45
19	63.06
20	57.19
21	54.87
22	52.06
23	44.71
24	43.94
25	34.42
26	32.89
27	31.28
28	30.66
29	14.40
30	13.34
31	12.49
32	10.50

【發明申請專利範圍】

【第1項】

一種5-(5-氯-2-{[(3*S*)-3-(嗎啉-4-基甲基)-3,4-二氫異喹啉-2(1*H*)-基]羰基}苯基)-*N*-(5-氰基-1,2-二甲基-1*H*-吡咯-3-基)-*N*-(4-羥苯基)-1,2-二甲基-1*H*-吡咯-3-甲醯胺之硫酸氫鹽(化合物A，H₂SO₄)。

【第2項】

一種如請求項1之5-(5-氯-2-{[(3*S*)-3-(嗎啉-4-基甲基)-3,4-二氫異喹啉-2(1*H*)-基]羰基}苯基)-*N*-(5-氰基-1,2-二甲基-1*H*-吡咯-3-基)-*N*-(4-羥苯基)-1,2-二甲基-1*H*-吡咯-3-甲醯胺之硫酸氫鹽(化合物A，H₂SO₄)之結晶形式I，其中該結晶形式具有X射線粉末繞射圖顯示如下繞射線(布拉格角(Bragg's angle)2θ，以度數±0.2°表示)：5.55；6.62及7.39。

【第3項】

一種如請求項1之5-(5-氯-2-{[(3*S*)-3-(嗎啉-4-基甲基)-3,4-二氫異喹啉-2(1*H*)-基]羰基}苯基)-*N*-(5-氰基-1,2-二甲基-1*H*-吡咯-3-基)-*N*-(4-羥苯基)-1,2-二甲基-1*H*-吡咯-3-甲醯胺之硫酸氫鹽(化合物A，H₂SO₄)之結晶形式I，其中該結晶形式具有X射線粉末繞射圖顯示至少4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14條或全部如下繞射線(布拉格角2θ，以度數±0.2°表示)：5.55；5.62；6.62；7.39；10.17；11.49；11.83；16.01；16.54；17.04；18.98；19.18；21.90；22.28；24.89。

【第4項】

如請求項3之化合物A之硫酸氫鹽之結晶形式I，其具有X射線粉末繞射圖具有如下繞射線(布拉格角2θ，以度數±0.2°表示)：5.55；5.62；6.62；7.39；10.17；11.49；11.83；16.01；16.54；17.04；18.98；

19.18 ; 21.90 ; 22.28 ; 24.89 。

【第5項】

如請求項4之化合物A之硫酸氫鹽之結晶形式I，其具有如下X射線粉末繞射圖，使用PANalytical X'Pert Pro MPD繞射儀以X'Celerator偵測器量測且依據線位置(布拉格角 2θ ，以度數 $\pm 0.2^\circ$ 表示)及晶面間距 d (以Å表示)表示：

線編號	角度 2θ (°)	晶面間距(Å)
1	5.55	15.93
2	5.62	15.73
3	6.62	13.36
4	7.39	11.95
5	10.17	8.70
6	11.49	7.70
7	11.83	7.48
8	16.01	5.53
9	16.54	5.36
10	17.04	5.20
11	18.98	4.67
12	19.18	4.63
13	21.90	4.06
14	22.28	3.99
15	24.89	3.58

【第6項】

如請求項1至5中任一項之化合物A之硫酸氫鹽之結晶形式I，其具有固態 ^{13}C CP/MAS NMR光譜具有如下峰(以 $\text{ppm} \pm 0.2 \text{ ppm}$ 表示)： 173.31 ppm、155.32 ppm、140.46 ppm、139.19 ppm、137.42 ppm、134.68 ppm、131.65 ppm、131.14 ppm、129.37 ppm、126.32 ppm、118.77 ppm、117.36 ppm、116.54 ppm、113.61 ppm、112.69 ppm、110.74 ppm、102.33 ppm、101.45 ppm、63.06 ppm、57.19 ppm、54.87 ppm、52.06 ppm、44.71 ppm、43.94 ppm、34.42 ppm、32.89 ppm、31.28 ppm、30.66 ppm、14.40 ppm、13.34 ppm、12.49 ppm及10.50 ppm。

【第7項】

一種醫藥組合物，其包含作為活性成分之如請求項1之化合物A的硫酸氫鹽以及一或多種醫藥學上可接受之賦形劑。

【第8項】

一種醫藥組合物，其包含作為活性成分之如請求項2至6中任一項之化合物A的硫酸氫鹽的結晶形式I，以及一或多種醫藥學上可接受之賦形劑。

【第9項】

一種如請求項7或8之醫藥組合物之用途，其用於製造供治療癌症或自體免疫疾病之藥劑。

【第10項】

如請求項9之用途，其中該癌症係選自膀胱癌、腦癌、乳癌及子宮癌、慢性淋巴性白血病、結腸直腸癌、食道癌及肝癌、淋巴母細胞白血病、急性骨髓性白血病、淋巴瘤、黑色素瘤、惡性血液病、骨髓瘤、卵巢癌、非小細胞肺癌、前列腺癌、胰臟癌和小細胞肺癌。

【第11項】

一種如請求項1之化合物A之硫酸氫鹽之用途，其用於製造藥劑。

【第12項】

一種如請求項2至5中任一項之化合物A之硫酸氫鹽之結晶形式I之用途，其用於製造藥劑。

【第13項】

一種用於製備如請求項2至6中任一項之化合物A之硫酸氫鹽的結晶形式I的方法，其中該化合物A之硫酸氫鹽係在極性介質中結晶。

【第14項】

如請求項13之用於製備化合物A之硫酸氫鹽的結晶形式I的方法，其中該極性介質係由一或多種選自水及醇之溶劑構成。

【第15項】

如請求項14之用於製備化合物A之硫酸氫鹽的結晶形式I的方法，其中該醇為乙醇。

【第16項】

如請求項14之用於製備化合物A之硫酸氫鹽的結晶形式I的方法，其中該極性介質為乙醇/水混合物。

【第17項】

如請求項13至16中任一項之用於製備化合物A之硫酸氫鹽的結晶形式I的方法，在該方法中使用極小量之化合物A之硫酸氫鹽的結晶形式I接種結晶。

【第18項】

一種如請求項1之5-(5-氯-2-{(3*S*)-3-(嗎啉-4-基甲基)-3,4-二氫異喹啉-2(1*H*)-基]羰基}苯基)-*N*-(5-氰基-1,2-二甲基-1*H*-吡咯-3-基)-*N*-(4-羥苯基)-1,2-二甲基-1*H*-吡咯-3-甲醯胺之硫酸氫鹽(化合物A，H₂SO₄)的無水結晶形式，其中該結晶形式具有X射線粉末繞射圖顯示至少4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15條或全部如下繞射線(布拉格角2θ，以度數±0.2°表示)：5.19；5.64；6.74；7.14；8.04；8.33；9.17；9.40；10.68；11.03；11.35；12.18；12.59；13.64；14.78；15.09。

【第19項】

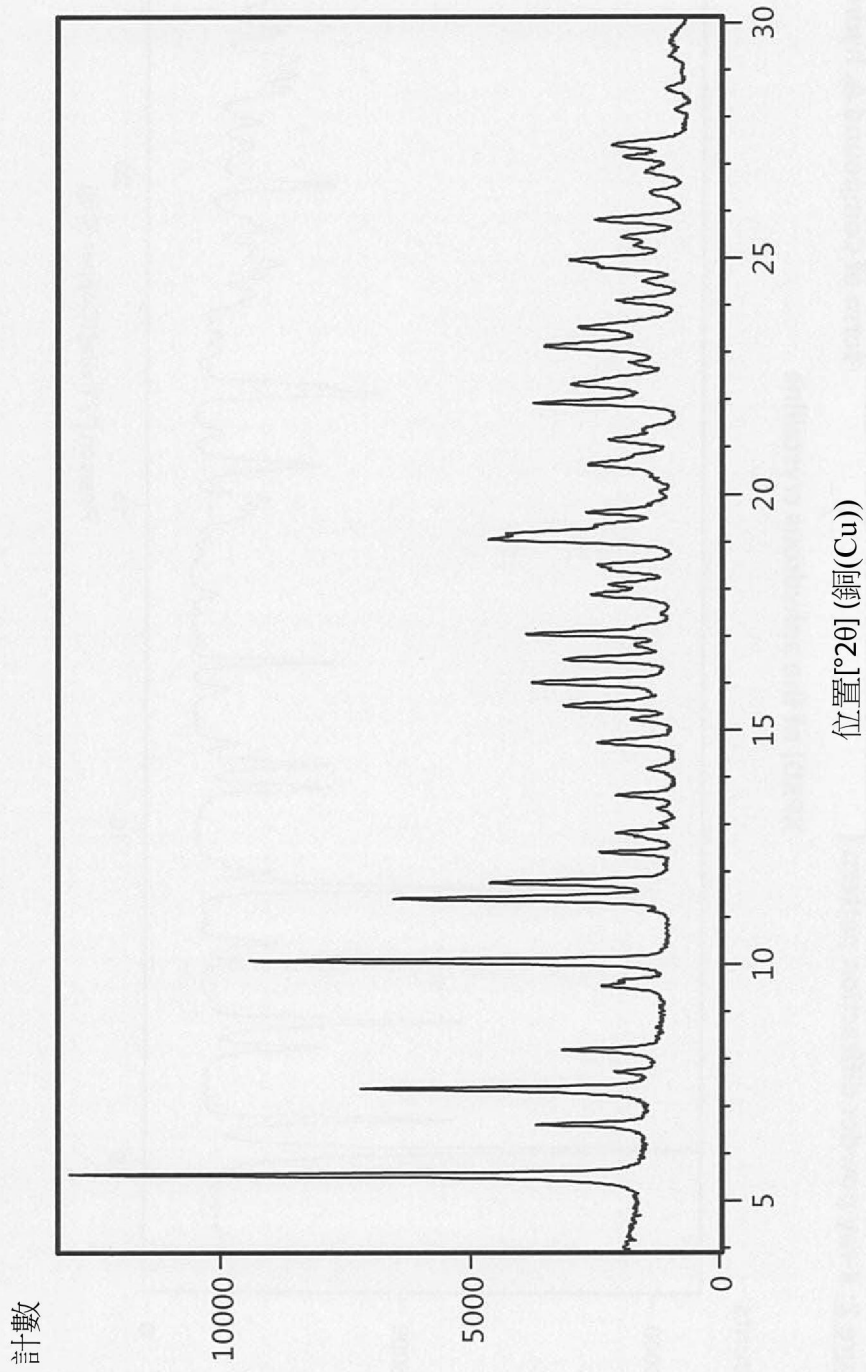
如請求項18之化合物A之硫酸氫鹽的無水結晶形式，其具有如下X射

線粉末繞射圖，使用PANalytical X'Pert Pro MPD繞射儀以X'Celerator偵測器量測，且依據線位置(布拉格角 2θ ，以度數 $\pm 0.2^\circ$ 表示)及晶面間距 d (以Å表示)表示：

線編號	角度 2θ (°)	晶面間距(Å)
1	5.19	17.03
2	5.64	15.66
3	6.74	13.12
4	7.14	12.39
5	8.04	10.99
6	8.33	10.61
7	9.17	9.64
8	9.40	9.41
9	10.68	8.29
10	11.03	8.02
11	11.35	7.79
12	12.18	7.26
13	12.59	7.03
14	13.64	6.49
15	14.78	5.99
16	15.09	5.87

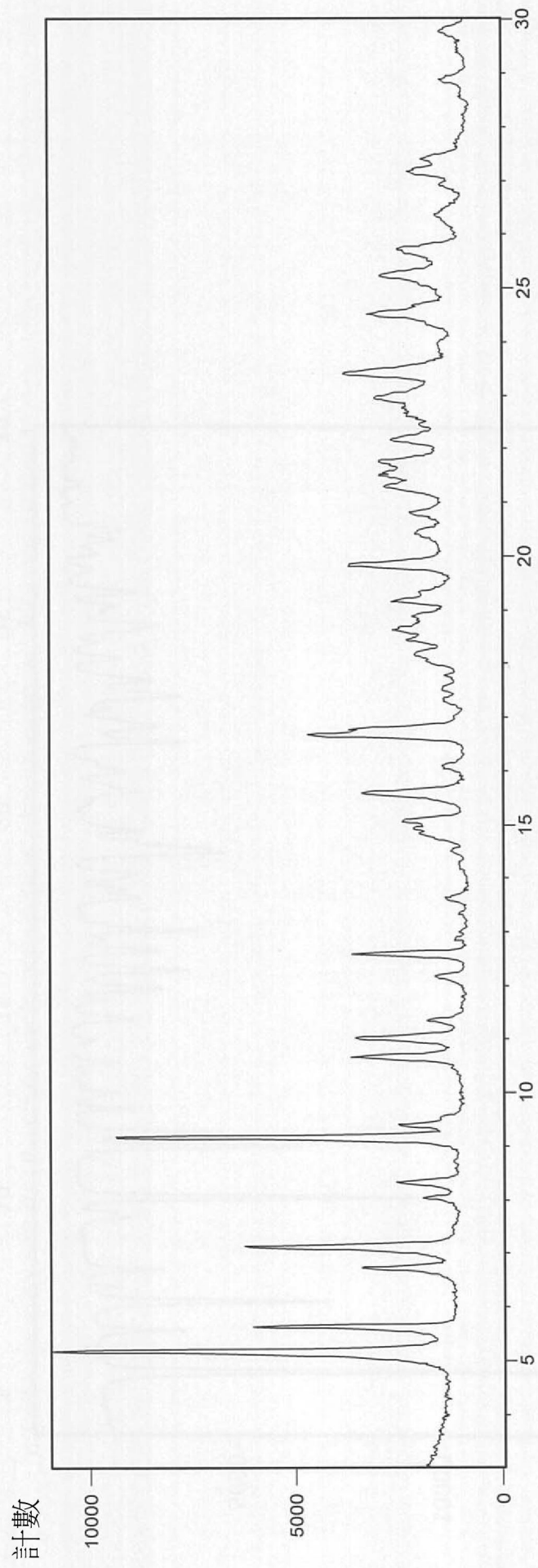
【發明圖式】

化合物A，硫酸氫鹽之結晶形式I之X射線粉末繞射圖(XPRD)



【圖1】

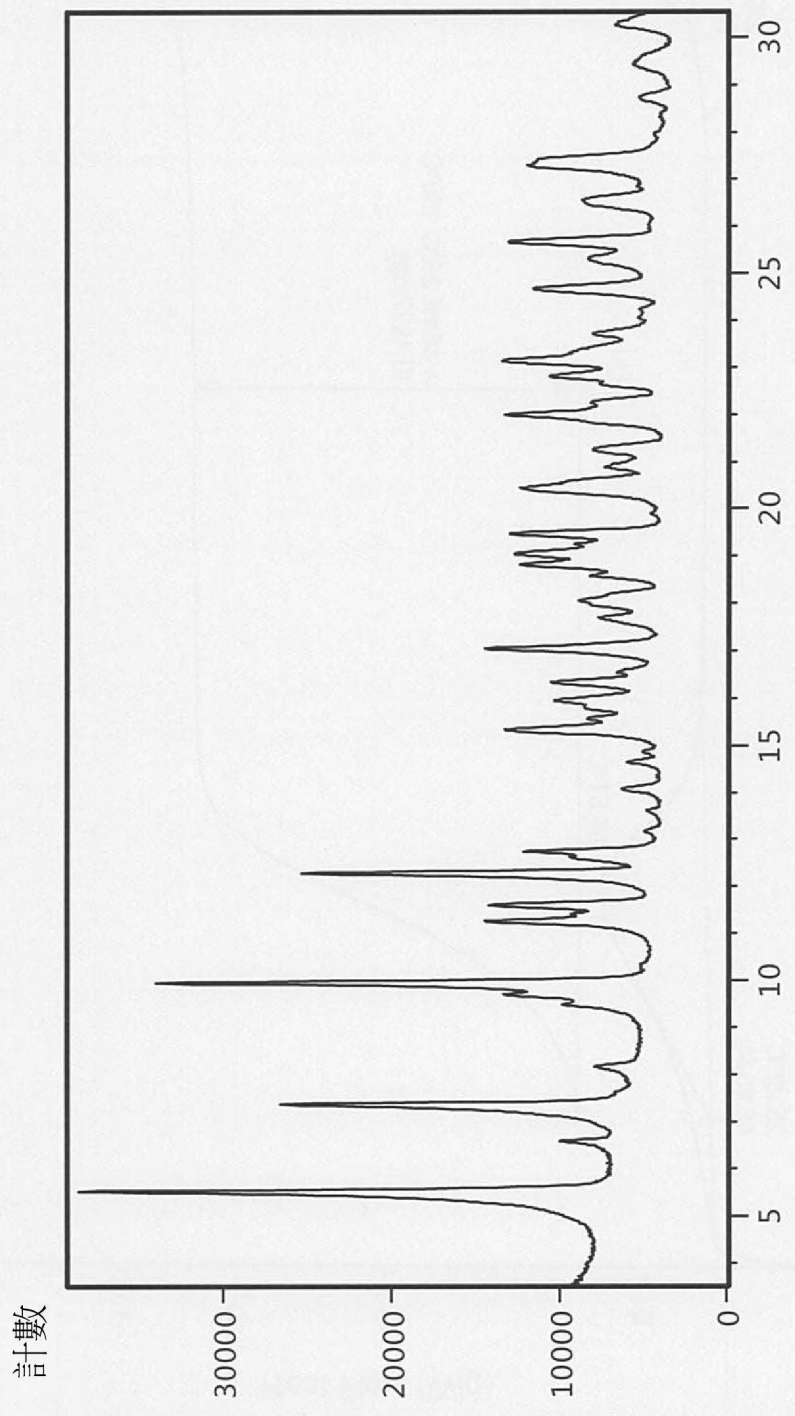
化合物A，硫酸氫鹽之無水結晶形式之X射線粉末繞射圖(XPRD)



位置[°2θ] (銅(Cu))

【圖2】

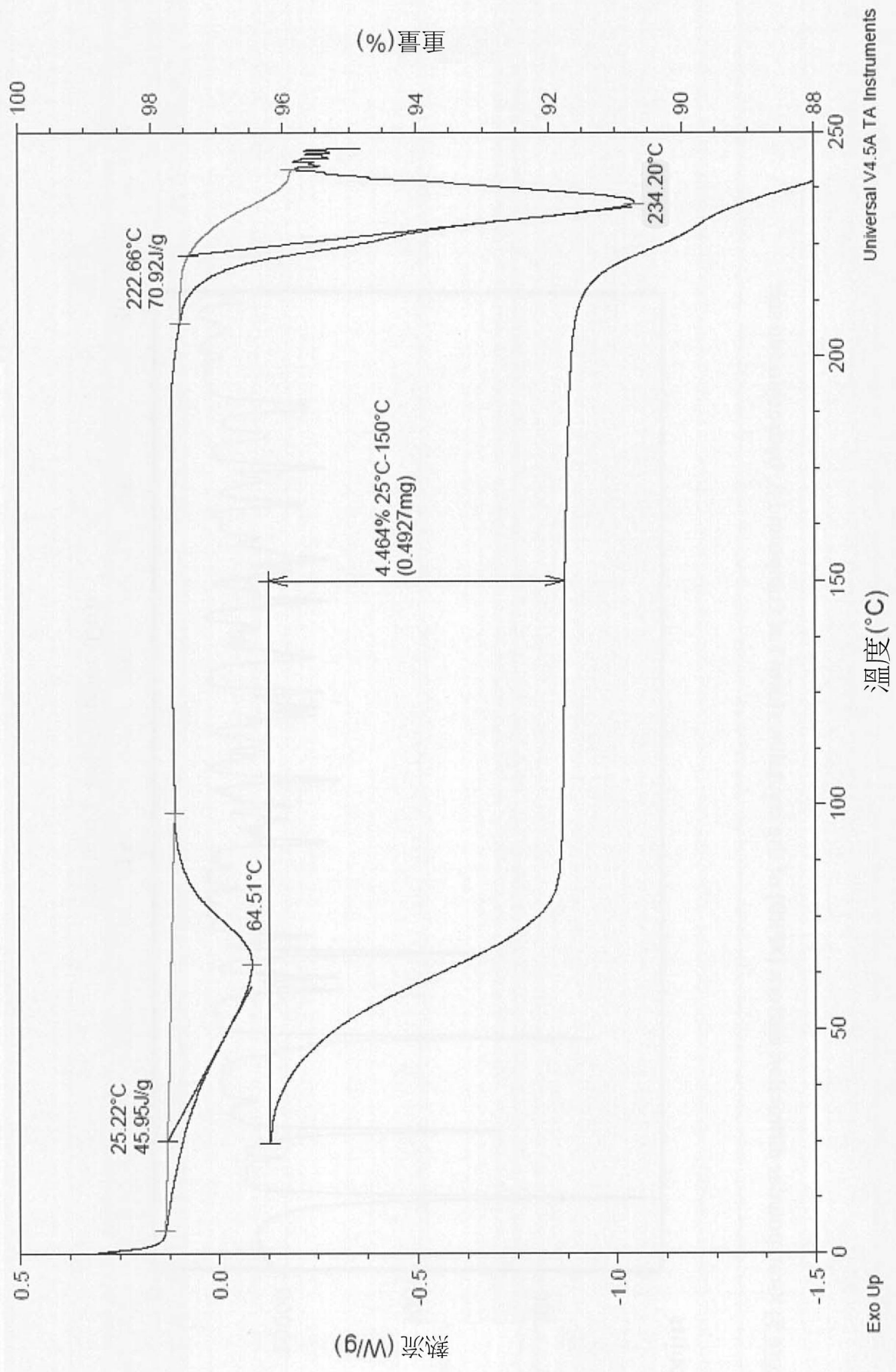
化合物A，鹽酸鹽之結晶形式I之X射線粉末繞射圖(XPRD)



位置[°2θ] (銅(Cu))

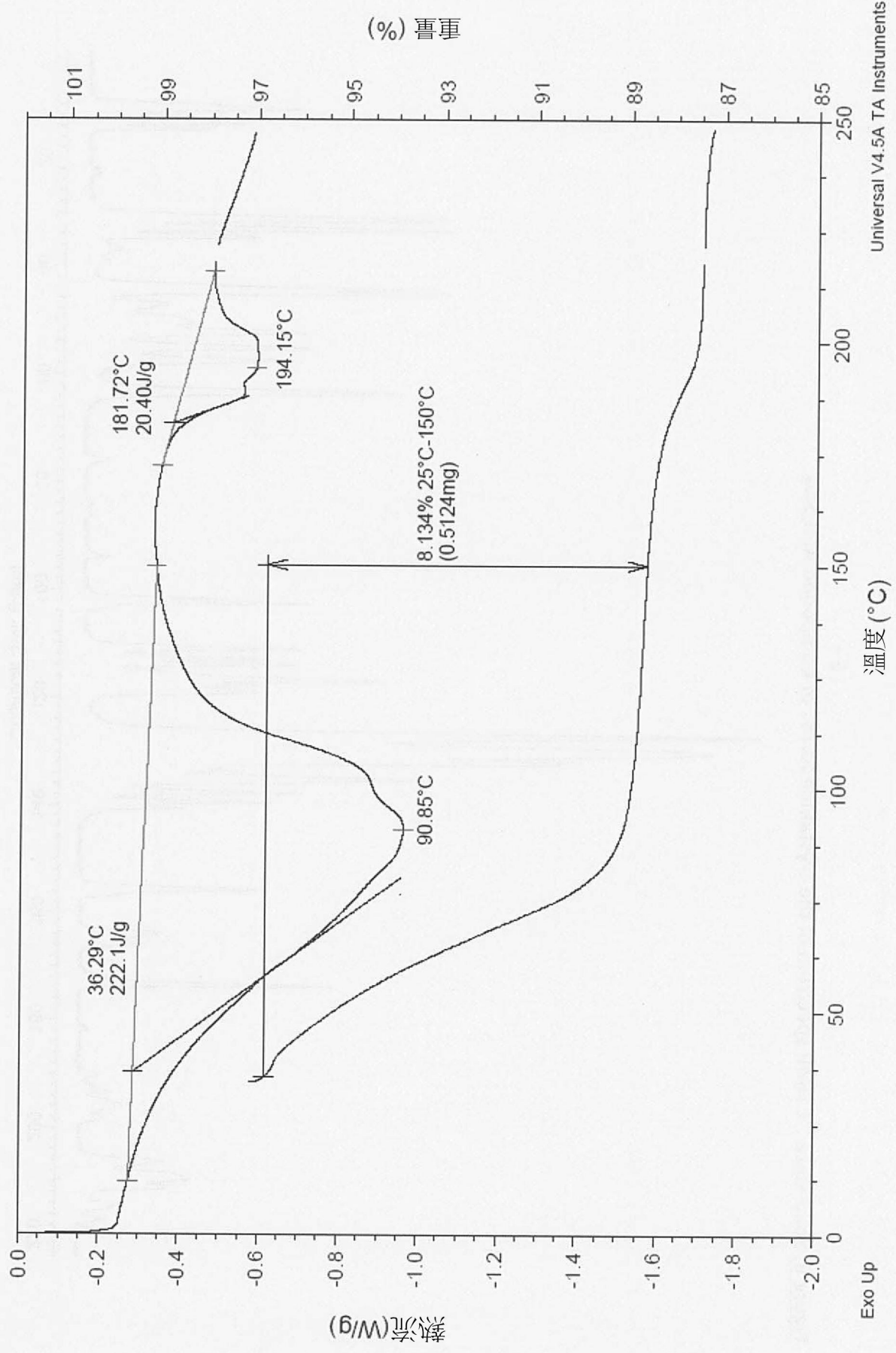
【圖3】

化合物A，硫酸氫鹽之結晶形式I之DSC及TGA特徵曲線



【圖4】

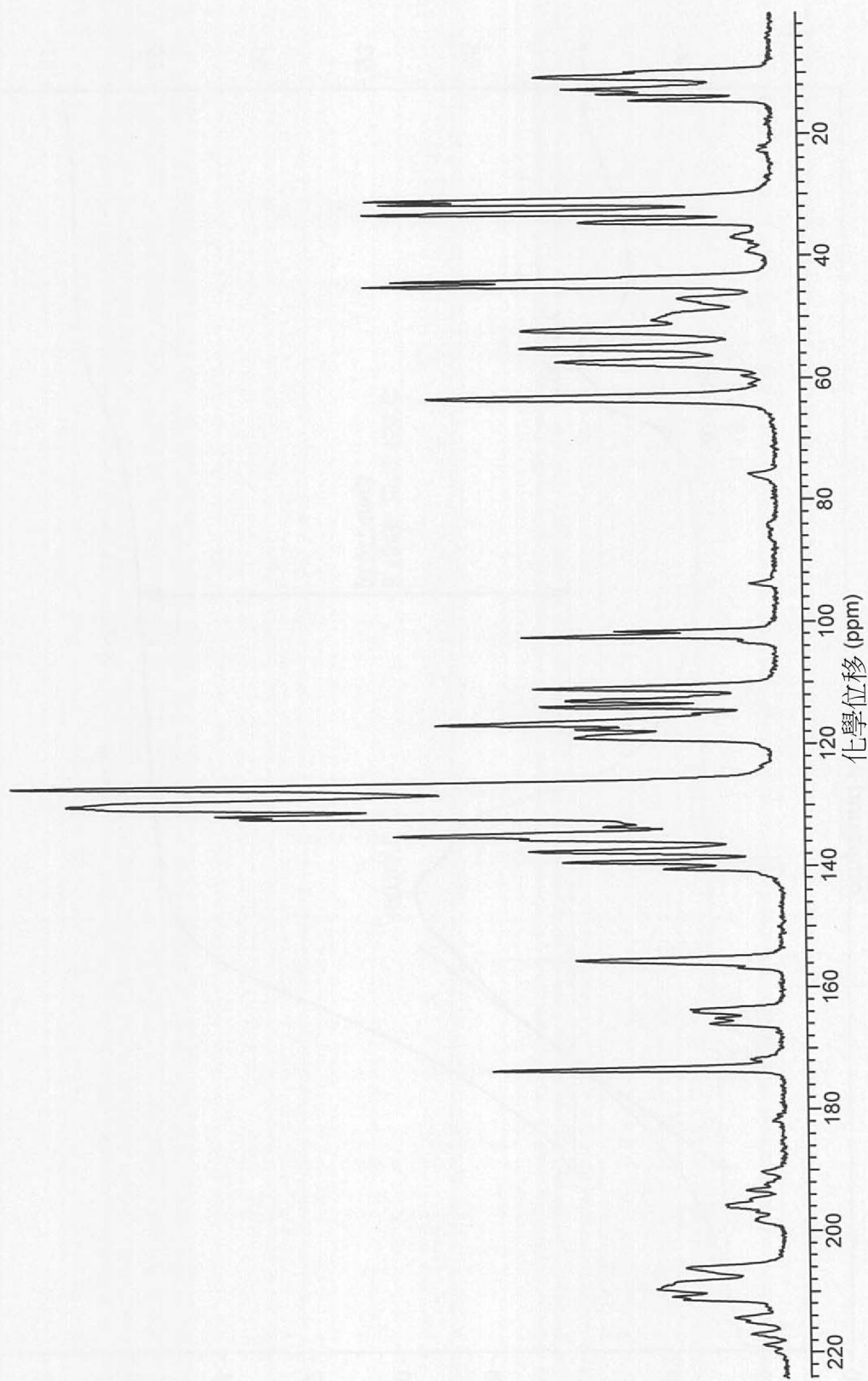
化合物A，鹽酸鹽之結晶形式I之DSC及TGA特徵曲線



Universal V4.5A TA Instruments

【圖5】

化合物A，H₂SO₄之結晶形式I之固態¹³C NMR光譜



【圖6】