



(12) **Oversettelse av
europeisk patentskrift**

(11) **NO/EP 2603509 B1**

NORGE

(19) NO
(51) Int Cl.
C07D 471/04 (2006.01)
A61K 31/519 (2006.01)
A61P 11/00 (2006.01)

Patentstyret

(21)	Oversettelse publisert	2014.10.20
(80)	Dato for Den Europeiske Patentmyndighets publisering av det meddelte patentet	2014.06.18
(86)	Europeisk søknadsnr	11748611.8
(86)	Europeisk innleveringsdag	2011.08.09
(87)	Den europeiske søknadens Publiseringsdato	2013.06.19
(30)	Prioritet	2010.08.09, US, 371892 P
(84)	Utpekte stater	AL AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR HR HU IE IS IT LI LT LU LV MC MK MT NL NO PL PT RO RS SE SI SK SM TR
(73)	Innehaver	Verona Pharma PLC, Suite 21, Alpha House 100 Borough High Street, London SE1 1LB, GB-Storbritannia
(72)	Oppfinner	WALKER, Michael, J., A., 5989 Walter Gage Road Apt. 1502,, Vancouver, British Columbia V6T 0A8, CA-Canada PLOUVIER, Bertrand, M., C., 4238 West 14th Avenue,, Vancouver, British Columbia V6R 2X8, CA-Canada NORTHEN, Julian, S., Unit 97-98 Business & Innovation Centre, Sunderland Enterprise Park, Sunderland, Tyne and Wear SR52TQ, GB-Storbritannia FERNANDES, Philippe, Unit 97-98 Business & Innovation Centre, Sunderland Enterprise Park,, Sunderland, Tyne and Wear SR52TQ, GB-Storbritannia
(74)	Fullmektig	Bryn Aarflot AS, Postboks 449 Sentrum, 0104 OSLO, Norge

(54)	Benevnelse	KRYSTALLINSK FORM AV PYRIMIDIO[6,1-A]-ISOKINOLIN-4-ON-FORBINDELSE
(56)	Anførte publikasjoner	WO-A1-00/58308 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, XP001156954, ISSN: 0340-1022, DOI: 10.1007/3-540-69178-2_5 ISBN: 978-3-540-36760-4

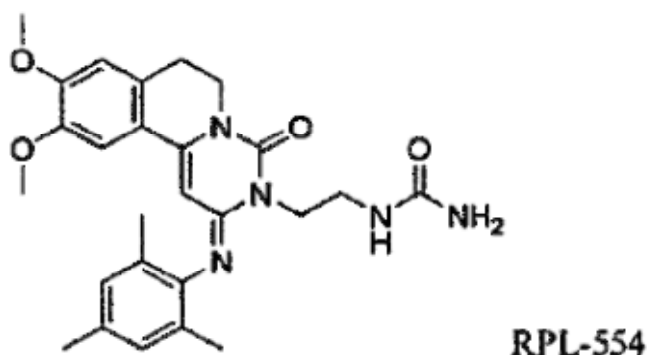
OPPFINNELSENS BAKGRUNN

Den polymorfe oppførselen til medikamenter kan være av avgjørende betydning i farmasi og farmakologi. Polymorfer er, per definisjon, krystaller av det samme molekylet som har forskjellige fysiske egenskaper som et resultat av rekkefølgen til molekylerne i krystallgitteret. Forskjellene i fysiske egenskaper utvist av polymorfer påvirker farmasøytiske parametere, slik som lagringsstabilitet, kompressibilitet og tetthet (viktig i formulering og produktfremstilling), og oppløsningshastigheter (en viktig faktor for å bestemme biotilgjengeligheten). Forskjeller i stabilitet kan skyldes forandringer i kjemisk reaktivitet (f.eks. differensial oksidering, slik at en doseringsform misfarges hurtigere når den omfatter én polymorf enn når den omfatter en annen polymorf) eller mekaniske forandringer (f.eks. tabletter som smuldrer ved lagring ettersom en kinetisk favorisert polymorf omdannes til termodynamisk mer stabil polymorf) eller begge (f.eks. er tabletter av en polymorf mer utsatt for å brytes ned ved høy luftfuktighet). Som et resultat av løselighets-/oppløselighetsforskjeller, i det ekstreme tilfellet, kan enkelte polymorfinoverganger resultere i mangel på styrke eller, i den andre ytterligheten, toksisitet. I tillegg kan de fysiske egenskapene til krystallet være viktige i behandlingen: f.eks. kan en polymorf være mer sannsynlig å danne solvater, eller kan være vanskelig å filtrere og vaske fri for urenheter (dvs. partikkelform og størrelsesfordeling kan være forskjellig mellom en polymorf i forhold til den andre).

Hver farmasøytiske forbindelse har en optimal terapeutisk blodkonsentrasjon og en dødelig konsentrasjon. Biotilgjengeligheten til forbindelsen bestemmer doseringsstyrken i medikamentformuleringen som er nødvendig for å oppnå det ideelle blodnivået. Hvis medikamentet kan krystallisere som to eller flere polymorfer som har ulik biotilgjengelighet, vil den optimale dosen avhenge av polymorfen som er til stede i formuleringen. Noen medikamenter viser en smal margin mellom terapeutiske og dødelige konsentrasjoner. Kloramfenikol-3-palmitat (CAPP), f.eks. er et bredspektret antibiotikum som er kjent for å krystallisere i minst tre polymorfe former og én amorf form. Den mest stabile formen, A, markedsføres. Forskjellen i bioaktivitet mellom denne polymorfen og en annen form B, er en faktor på åtte -- som skaper muligheten for fatale overdoseringer av forbindelsen hvis den uforvarende administreres som form B som følge av endringer i løpet av behandlingen og/eller lagringen. Derfor har tilsynsorganer, som for eksempel US Food and Drug Administration, begynt å utøve nøye kontroller av det polymorfe innholdet av den aktive komponenten i faste doseringsformer. Generelt, for medikamenter som eksisterer i polymorfe former, om noe annet enn den rene, termodynamisk foretrukne polymorfen skal markedsføres, vil tilsynsorganet kreve "batch-by-batch"-overvåking. Dermed blir det av både

medisinske og kommersielle grunner viktig å fremstille og markedsføre det rene medikamentet i sin mest termodynamisk stabile polymorf, i det vesentlige fri for andre kinetisk favoriserte polymorfer.

U.S. patent nr. 6 794 391, 7 378 424 og 7 105 663, offentliggjør forbindelsen
 5 RPL-554 (N-{2-[(2E)-2-(mesitylimino)-9,10-dimetoksy-4-okso-6,7-dihydro-2H-pyrimido[6,1-a]isokinolin-3(4H)-yl]etyl}urea).



Det ville være fordelaktig å tilveiebringe en sammensetning av en stabil polymorf av
 10 RPL-554, som har fordeler i forhold til mindre stabile polymorfer eller amorfe former, inkludert stabilitet, kompressibilitet, tetthet, oppløsningshastigheter, økt styrke eller mangel på toksisitet.

OPPSUMMERING AV OPPFINNELSEN

15 I ett aspekt tilveiebringer oppfinnelsen en polymorf form (I) av N-{2-[(2E)-2-(mesitylimino)-9,10-dimetoksy-4-okso-6,7-dihydro-2H-pyrimido[6,1-a]isokinolin-3(4H)-yl]etyl}urea (RPL-554). Som et resultat av dens unike stabilitetsegenskaper tilveiebringer denne polymorfen et meget rent N-{2-[(2E)-2-(mesitylimino)-9,10-dimetoksy-4-okso-6,7-dihydro-2H-pyrimido[6,1-a]isokinolin-3(4H)-yl]etyl}urea i sin
 20 mest termodynamisk stabile polymorfe form.

I et annet aspekt tilveiebringer oppfinnelsen en forbindelse N-{2-[(2E)-2-(mesitylimino)-9,10-dimetoksy-4-okso-6,7-dihydro-2H-pyrimido[6,1-a]isokinolin-3(4H)-yl]etyl}urea, i form av et krystallinsk faststoff som består av mer enn 99 vekt-% N-{2-[(2E)-2-(mesitylimino)-9,10-dimetoksy-4-okso-6,7-dihydro-2H-pyrimido[6,1-a]isokinolin-3(4H)-yl]etyl}urea, minst 95 % i den polymorfe formen av en
 25 termodynamisk stabil polymorf (I) av N-{2-[(2E)-2-(mesitylimino)-9,10-dimetoksy-4-okso-6,7-dihydro-2H-pyrimido[6,1-a]isokinolin-3(4H)-yl]etylurea, polymorfen (I) har de følgende strukturelle parameterne oppnådd ved enkeltkrystallanalyse:

Bølgelengde	0,71073Å	
Krystallsystem	Triklinisk	
Avstandsgruppe	P-1	
Enhetscelledimensjoner	$a = 8,1246(4) \text{ Å}$	$\alpha = 91,583(4)^\circ$.
5 $b = 11,4573(5) \text{ Å}$		$\beta = 90,299(4)^\circ$.
$c = 13,2398(6) \text{ Å}$		$\gamma = 99,628(4)^\circ$.
Volum		$1214,56(10) \text{ Å}^3$
Z		2.

10 I et annet aspekt tilveiebringer oppfinnelsen en krystallinsk polymorf (I) av N-{2-[(2E)-2-(mesitylimino)-9,10-dimetoksy-4-okso-6,7-dihydro-2H-pyrimido[6,1-a]-isokinolin-3(4H)-yl]etyl}urea som har et pulverrøntgendiffraksjonsmønster som omfatter karakteristiske topper, i form av 2θ , ved $10,1^\circ$ og $12,9^\circ$.

I visse utførelsesformer omfatter pulverrøntgendiffraksjonsmønsteret videre
15 karakteristiske topper, i form av 2θ , ved $15,3^\circ$ og $17,6^\circ$.

I en annen utførelsesform omfatter pulverrøntgendiffraksjonsmønsteret minst 5 karakteristiske topper, i form av 2θ , valgt fra $6,4^\circ$, $10,1^\circ$, $12,6^\circ$, $12,9^\circ$, $13,6^\circ$, $14,2^\circ$, $14,7^\circ$, $15,3^\circ$, $15,4^\circ$, $15,8^\circ$, $17,0^\circ$, $17,6^\circ$, $18,9^\circ$, $20,9^\circ$, $22,4^\circ$, $22,8^\circ$ og $28,7^\circ$.

I visse utførelsesformer, har polymorfen et pulverrøntgendiffraksjonsmønster i
20 det vesentlige som vist i figur 1.

I andre utførelsesformer, har polymorfen et differensialskanningskalorimetrispor som viser et maksimum ved omtrent 248°C .

I forskjellige utførelsesformer, har polymorfen et differensialskanningskalorimetrispor i det vesentlige som vist i figur 4.

25 I et annet aspekt tilveiebringer oppfinnelsen en fast sammensetning som omfatter polymorfen som beskrevet i dette dokumentet.

I en utførelsesform tilveiebringer oppfinnelsen en sammensetning der minst omtrent 50 vekt-% total N-{2-[(2E)-2-(mesitylimino)-9,10-dimetoksy-4-okso-6,7-dihydro-2H-pyrimido[6,1-a]-isokinolin-3(4H)-yl]etyl}urea i sammensetningen som er
30 til stede i polymorfen.

I andre utførelsesformer tilveiebringer oppfinnelsen en sammensetning der minst omtrent 70 vekt-% av det totale N-{2-[(2E)-2-(mesitylimino)-9,10-dimetoksy-4-okso-6,7-dihydro-2H-pyrimido[6,1-a]-isokinolin-3(4H)-yl]etyl}urea i sammensetningen er til stede som polymorfen.

35 I andre utførelsesformer tilveiebringer oppfinnelsen en sammensetning der minst omtrent 90 vekt-% total N-{2-[(2E)-2-(mesitylimino)-9,10-dimetoksy-4-okso-

6,7-dihydro-2H-pyrimido[6,1-a]isokinolin-3(4H)-yl]etyl}urea i sammensetningen er til stede som polymorfen.

I andre utførelsesformer tilveiebringer oppfinnelsen en sammensetning der minst omtrent 97 vekt-% total N-{2-[(2E)-2-(mesitylimino)-9,10-dimetoksy-4-okso-
5 6,7-dihydro-2H-pyrimido[6,1-a]-isokinolin-3(4H)-yl]etyl}urea i sammensetningen er til stede som polymorfen.

I en annen utførelsesform tilveiebringer oppfinnelsen en fast sammensetning som omfatter polymorfen som beskrevet ovenfor og en farmasøytisk akseptabel bærer.

10 I visse utførelsesformer omfatter den faste sammensetningen polymorfen og én eller flere andre forbindelser.

I en annen utførelsesform er den andre forbindelsen et kjent terapeutikum.

I visse utførelsesformer anvendes terapeutikumet til å behandle astma, allergisk astma, høysnue, allergisk rhinitt, bronkitt, kronisk obstruktiv lungesykdom
15 (KOLS), lungesviktsyndrom (ARDS), cystisk fibrose, hudsykdommer, atopisk dermatitt, psoriasis, okulær inflammasjon, cerebral iskemi; eller autoimmune sykdommer.

I andre utførelsesformer tilveiebringer oppfinnelsen en fast sammensetning, der terapeutikumet anvendes til å behandle astma eller KOLS.

20 I visse aspekter tilveiebringer oppfinnelsen en prosess til å fremstille polymorfen ifølge oppfinnelsen som omfatter:

(a) å kombinere N-{2-[(2E)-2-(mesitylimino)-9,10-dimetoksy-4-okso-6,7-dihydro-2H-pyrimido[6,1-a]isokinolin-3(4H)-yl]etyl}urea med et løsningsmiddel for å
25 danne en blanding, og

(b) oppvarming ved eller over en temperatur på omtrent 50 °C i en tidsperiode og under forhold som egner seg til å danne polymorfen.

I visse aspekter tilveiebringer oppfinnelsen en prosess for å fremstille polymorfen ifølge oppfinnelsen som omfatter:

30 (a) å kombinere N-{2-[(2E)-2-(mesitylimino)-9,10-dimetoksy-4-okso-6,7-dihydro-2H-pyrimido[6,1-a]-isokinolin-3(4H)-yl]etyl}urea med et løsningsmiddel for å danne en blanding,

(b) filtrere blandingen,

(c) varme opp ved eller over en temperatur på omtrent 55 °C i en tidsperiode
35 og under forhold som er egnet for å danne polymorfen; og

(d) filtrering og tørking.

I visse utførelsesformer er løsningsmidlet DMSO, etanol, metanol, isopropanol, heksaner, pentan, etylacetat, diklormetan eller kloroform. I en annen utførelsesform er løsningsmidlet DMSO eller etanol.

I en annen utførelsesform opprettholdes blandingen ved eller over en
 5 temperatur på omtrent 50 °C i omtrent 24 til 96 timer. I en annen utførelsesform opprettholdes blandingen ved eller over en temperatur på omtrent 50 °C i omtrent 72 timer. I andre utførelsesformer opprettholdes blandingen ved eller over en temperatur på omtrent 55 °C i omtrent 24 til 96 timer. I ulike utførelsesformer opprettholdes blandingen ved eller over en temperatur på omtrent 55 °C i rundt 72 timer.

10 I andre utførelsesformer tørkes blandingen under vakuum ved mellom 25 og 50 °C. I en annen utførelsesform tørkes blandingen under vakuum ved 40 °C.

I en annen utførelsesform tilveiebringer den foreliggende oppfinnelsen en polymorf som beskrevet ovenfor, fremstilt ved fremgangsmåten som omfatter

(a) å kombinere N-{2-[(2E)-2-(mesitylimino)-9,10-dimetoksy-4-okso-6,7-
 15 dihydro-2H-pyrimido[6,1-a]-isokinolin-3(4H)-yl]etyl}urea med et løsningsmiddel for å danne en blanding, og

(b) å varme opp ved eller over en temperatur på omtrent 50 °C i et tidsrom og under forhold som er egnet til å danne polymorfen.

I en annen utførelsesform tilveiebringer oppfinnelsen en polymorf som
 20 beskrevet ovenfor, fremstilt ved fremgangsmåten som omfatter

(a) å kombinere N-{2-[(2E)-2-(mesitylimino)-9,10-dimetoksy-4-okso-6,7-
 dihydro-2H-pyrimido[6,1-a]-isokinolin-3(4H)-yl]etyl}urea med et løsningsmiddel for å
 danne en blanding,

(b) å filtrere blandingen,

25 (c) å varme opp ved eller over en temperatur på omtrent 55 °C i et tidsrom og under forhold som er egnet til å danne polymorfen; og

(d) filtrering og tørking.

I et annet aspekt tilveiebringer oppfinnelsen en krystallinsk polymorf for
 anvendelse i behandling av astma, allergisk astma, høysnue, allergisk rhinitt, bronkitt,
 30 kronisk obstruktiv lungesykdom (KOLS), lungesviktsyndrom (ARDS), cystisk fibrose, hudsykdommer, atopisk dermatitt, psoriasis, okulær inflammasjon, cerebral iskemi eller autoimmune sykdommer, i et pattedyr som har behov for dette som er krystallinsk polymorf (I) av N-{2-[(2E)-2-(mesitylimino)-9,10-dimetoksy-4-okso-6,7-
 dihydro-2H-pyrimido[6,1-a]-isokinolin-3(4H)-yl]etyl}urea.

35 I en utførelsesform er pattedyret et menneske.

Den amorfe formen av RPL554 er mindre stabil ettersom den kan transformere seg i varierende grad til ulike polymorfe former under visse forhold, og kan

transformere seg under lagring. Det vil også være mer krevende å fremstille i stor skala den amorfe formen konsistent innenfor de nødvendige cGMP-spesifikasjonene i form av renhet så vel som urenhetsprofilen. Den amorfe formen presenterer derfor utfordringene ved utviklingen av et ensartet reproduserbart mikronisert tørt faststoffpulver av RPL554 for visse formuleringsanvendelser. Mens krystallinsk polymorf form I kan fremstilles lettere i en stor cGMP-skala for å gi faststoff RPL554 som en aktiv farmasøytisk bestanddel (API) i en mer konsistent og reproduserbar prosess. Rense- og isolasjonsprosessene for krystallinsk polymorf form I-produktet er mer anvendelig for storskalaproduksjon av cGMP. De ovennevnte fordelene resulterer i å gi produktpartier som er konsistent innen de nødvendige cGMP-spesifikasjonene. Som vist i ett aspekt av denne oppfinnelsen, er krystallinsk, polymorf form I den mest termodynamisk stabile polymorfe formen av RPL554 og forventes også å ha den lengste holdbarheten ved lagring. Denne fordelene bør strekke seg ytterligere til den potensielle holdbarheten til et hvilket som helst kommersielt RPL554-medikamentprodukt som inneholder den stabile krystallinske polymorfe formen I som en API. Videre er krystallinsk polymorf form I mer mottagelig for utviklingen av et ensartet reproduserbart mikronisert tørt fast pulver av RPL554 for visse farmasøytiske formuleringsanvendelser.

Undersøkelsen av N-{2[(2E)-2-(mesitylimino)-9,10-dimetoksy-4-okso-6,7-dihydro-2H pyrimido[6,1-a]-isokinolin-3(4H)-yl]etyl}urea (RPL554), presentert i en krystallinsk form (betegnet form I), viste at materialet var meget motstandsdyktig mot endring og at form I var innenfor grensene til undersøkelsen som ble utført, den mest stabile polymorfe formen av materialet som er kjent (se forsøk).

En rekke forsøk ble anvendt for å oppdage eksistensen av nye, rene polymorfer av forbindelsen, disse er: anti-løsningsmiddeltisetning; mettet løsningsarbeid; oppslemmingsmodning; formell rekrystallisering; blandede løsningsmiddelstudier; og vandig systemkrystallisering.

Generering av den amorfe fasen ble oppnådd, og dette er også anvendt i noen av studiene med samme konkluderende resultater, ved at form I dominerte med unntak av bare noen få forsøk, der endringen ble indusert. I de tilfellene der endring ble indusert på en liten skala, ble det gjort forsøk på å skalere opp krystalliseringene for å fullt ut karakterisere formene (rene og blandede), for å bestemme hvorvidt denne endringen skyldtes solvatisering eller en ikke-solvatisert enhet. I de fleste tilfeller, på grunn av den skjøre naturen av prosessvariablene som kreves for å gjenta slike krystalliseringer og de samlede stabilitetene av systemene, ble form I returnert. Hovedunntaket var DMSO, der en potensielt høyere smeltefase ble observert som en blanding med form I, etter hovedsmelting innenfor

oppløsningssyklusen for materialet. Det var også bemerkelsesverdig at DMSO returnerte to andre endrede faser før denne oppskaleringen, hver forskjellig, men til slutt representativ for det som mest sannsynlig var en mindre stabil form og/eller solvat.

5 Tidligere rapporter antydte at amorft materiale kunne genereres ved å bråkjøle en smelte. Hurtig fordampning fra DCM ga en robust fremgangsmåte, mens bråkjøling av en smelte bare resulterte i nedbrytning (amorf ved XRPD, men < 20 % produkt ved anvendelse av HPLC-analyse).

Ettersom det historisk ikke var kjent om det prosessavledede materialet
10 produsert internt var amorft eller krystallinsk, ble løselighetsforsøk gjentatt for begge disse materialene for å fungere som en guide, der den amorfe fasen viser seg å være mer løselig.

Til slutt ble form I vist som den termodynamisk favoriserte fasen og dessuten at manipulering av enten krystallinsk eller amorft materiale med hell kunne oppnås
15 med henvisning til endret fysisk presentasjon av de isolerte materialene, f.eks. pulver vs. større krystallinsk aspekt.

Av betydning ved utviklingen av dette materialet var at påført trykk resulterte i genereringen av det som ble antatt å være amorft materiale, som indikert ved XRPD og DSC. Den termiske profilen for dette materialet viste en kjent eksoterm
20 krystallisering og etterfølgende smeltende endoterm som var svært nær form I. Dette kunne bekreftes ved å gjenta med mer materiale og isolere produktet etter eksoterm hendelse og å sjekke ved XRPD og HPLC.

KORT BESKRIVELSE AV TEGNINGENE

25 Figur 1: Sammenligning av RPL554-målte data (topp) vs. simulerte enkeltkrystalldata (bunn).

Figur 2: Utvidelsessammenligning av de to theta-områdene (5 - 13° 2θ).

Figur 3: XRPD-overføringsprofil for RPL554.

Figur 4: DSC/TGA-spor for RPL554.

30 Figur 5: XRPD-sammenligninger av DMSO/heptan-anti-løsningsmiddeltilsetningene (CG1099)

Figur 6: XRPD-sammenligning av RPL554- og DMSO-avledede mettede løsningskrystaller (JN376A4).

Figur 7: DSC-overlegg av RPL554-innmating og ny form fra mettet DMSO-
35 løsning (JN376A4).

Figur 8. Oppslemmingsmodningsvalgte resultater som viser form I for alle serier.

Figur 9. XRPD-profiler for vandige blandede krystalliseringer (forsøk PF86).

Figur 10. Bråkjølt smelte av RPL554-form I fra 245 °C (utført som PF84).

Figur 11. DSC-profil for bråkjølt RPL554 (fra 245 °C, PF84).

Figur 12. DSC-profil for malt RPL554-form I.

5 Figur 13. XRPD-sammenligning av komprimert prøve vs. originalt materiale RPL554 (CG1099 F).

Figur 14. DSC-sammenligning av amorft materiale via trykk vs. RPL554 DSC.

Figur 15. DSC-sammenligning av RPL554 og et parti av amorft RPL554 fra DCM (JN376).

10 Figur 16. XRPD-analyse av RPL554 (CG1099 SM) og amorft materiale (JN376F).

Figur 17. XRPD-sammenligning for PF89A4 (DMSO) med RPL554-form I.

Figur 18. Kombinert DSC/TGA for DMSO-oppskaleringsskrystallisering PF90.

Figur 19. XRPD-sammenligning av RPL554-form I med den blandede faseformen DMSO (PF90).

15 Figur 20. Resulterende konformasjon for RPL554 analysert ved røntgendiffraksjon.

Figur 21. Hydrogenbinding involvert i RPL554-rammeverket.

Figur 22. Pakkemotiv for RPL554.

20 DETALJERT BESKRIVELSE AV OPPFINNELSEN

Undersøkelsen av N-{2-[(2E)-2-(mesitylimino)-9,10-dimetoksy-4-okso-6,7-dihydro-2H-pyrimido[6,1-a]-isokinolin-3(4H)-yl]etyl}urea (RPL554), presentert i en krystallinsk form (betegnet form I), viste at materialet var meget motstandsdyktig for endring og at form I var, innenfor grensene til undersøkelsen som ble utført, den mest stabile polymorfe formen til det ukjente materialet. En rekke forsøk ble anvendt for å teste dette, og inkludert innenfor slike studier var anvendelsen av amorft materiale. Ved produksjon viste begge fasene at form I dominerte med unntak av bare noen få forsøk der endringen ble indusert. I de tilfellene der endringen ble indusert på en liten skala, ble det gjort forsøk på å oppskalere krystalliseringene for å fullt ut karakterisere formene (rene og blandede), for å bestemme hvorvidt endringen skyldtes solvatisering eller en ikke-solvatisert enhet. I de fleste tilfellene, på grunn av den skjøre naturen av prosessvariablene som kreves for å gjenta slike krystalliseringer og de samlede stabilitetene til systemene, returnerte form I. Hovedunntaket var DMSO, der en potensielt høyere smeltefase ble observert som en blanding med form I, etter hovedsmelting innenfor oppløsningssyklusen til materialet.

Til syvende og sist, ble form I vist som den termodynamisk favoriserte fasen og at manipulering av enten det krystallinske eller amorfe materialet med hell kunne

oppnås med henvisning til endret fysisk presentasjon av de isolerte materialene, f.eks. pulver vs. større krystallinsk aspekt. På dette grunnlaget ble det startet 3 forsøkskrystalliseringer med sikte på å vokse materiale som egner seg for enkeltkrystallanalyse og til å utfylle indekseringen og forfiningen av enhetscellen som utføres med høykvalitetspulverdataene som oppnås.

Røntgenpulverdiffraksjon er det ideelle verktøyet for å oppnå et fingeravtrykk av farmasøytisk produkt av interesse. Ideelt sett vil pulverdataene relatere til en unik krystallinsk form med et unikt XRPD. På grunn av kollapsen av krystallografisk informasjon fra 3D til 2D, vil en typisk XRPD se overlappingen av diffrakterende topper ved høye to theta-verdier. Som følge av dette faktum, forblir indeksering av et pulvermønster (som relaterer dataene til enhetscelleparametere) et utfordrende trinn, selv om det er oppnådd store fremskritt de siste årene.

Dataene som presenteres i dette dokumentet vedrører potensielt riktige enhetscelleparametere av RPL554. Algoritmen i programvaren muliggjør utmating av enhetscelleinstillinger med effektivitet. Jo høyere disse verdiene er, jo større er sjansene til å oppnå den riktige enhetscellen.

Røntgenpulverdiffraksjon (XRPD) PANalytical X'Pert PRO:

Røntgenpulverdiffraksjonsmønstre ble samlet på et PANalytical-diffraktometer ved anvendelse av Cu K α -stråling (45 kV, 40 mA), θ - θ -goniometer, med fokusspeil, divergensspalte (1/2"), sóllerspalter på både innfallende og divergerende stråle (4 mm) og en PIXcel-detektor. Programvaren som ble anvendt for datasamlingen var X'Pert Data Collector, versjon 2.2f og dataene ble presentert ved anvendelse av X'Pert Data Viewer, versjon 1.2d.

Prøvene ble kjørt under omgivelsesforhold og ble analysert ved anvendelse av XRPD med røntgentransparent folie, ved anvendelse av pulveret som mottatt. Omtrent 2-5 mg av prøven ble montert på en 96-posisjons prøveplate støttet på en polyimid (Kapton, 12,7 μ m-tykkelse) film. Data ble samlet i området 3-40° 2 θ med en kontinuerlig skanning (hastighet på 0,146° 2 θ /s).

Differensialskanningskalorimetri (DSC): DSC-data ble samlet inn på en PerkinElmer Pyris 4000 DSC. Instrumentet ble bekreftet for energi- og temperaturkalibrering ved anvendelse av sertifisert indium. En forhåndsbestemt mengde i mg av prøven ble plassert på en nålhullet aluminiumpanne og vanligvis varmet opp med 20 °C min⁻¹ fra 30 °C til 350 °C, eller variert for hvert enkelt forsøk. Instrumentkontroll- og dataanalysen var Pyris-programvare v9.0.1.0174.

Termo-gravimetrisk analyse (TGA): TGA-data ble samlet på et Pyris 1 TGA utstyrt med en 20 posisjons autoprøvetaker. Instrumentet ble kalibrert ved anvendelse av sertifisert indium. En forhåndsbestemt mengde i milligram av prøven

ble påført en forhåndsvektet aluminiumsmeltedigel og ble oppvarmet ved $40\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ fra omgivelsestemperatur til $400\text{ }^{\circ}\text{C}$. En nitrogenspyling ved 20 ml min^{-1} ble opprettholdt over prøven. Instrumentkontroll- og dataanalysen var Pyris-programvare v9.0.1.0174.

5 Gravimetrisk dampsorpsjon: sorpsjonsisotermene oppnås ved anvendelse av en Hiden Isochema-fuktsorpsjonsanalysator (modell IGAsorp), kontrollert av IGAsorp Systems-programvare V6.50.48. Prøven ble opprettholdt ved en konstant temperatur ($25\text{ }^{\circ}\text{C}$) av instrumentkontrollene. Fuktigheten ble kontrollert ved å blande strømmer av tørr og våt nitrogen, med en samlet strømnings på 250 ml min^{-1} . Instrumentet ble
10 bekreftet for relativt fuktighetsinnhold ved å måle tre kalibrerte Rotronic-saltløsninger ($10 - 50 - 88\%$). Vektendringen av prøven ble overvåket som en funksjon av fuktighet av en mikrobalanse (nøyaktighet $\pm 0,005\text{ mg}$). En definert mengde av prøven ble plassert i en kurv av tjærebelagt rustfritt stålgytter under omgivelsesforhold. En full forsøkssyklus besto av to skanninger (sorpsjon og
15 desorpsjon) ved en konstant temperatur ($25\text{ }^{\circ}\text{C}$) og 10% RH-intervaller over et $10 - 90\%$ -område (90 minutter for hvert fuktighetsnivå). Denne forsøktypen bør vise evnen til de studerte prøvene for å absorbere fuktighet (eller ikke) for et sett med godt bestemte fuktighetsområder.

Kjernemagnetisk resonans (NMR)- ^1H : NMR-spektrene ble samlet på et 270 MHz
20 Brukerinstrument utstyrt med en autoprøvetaker og kontrollert med en DRX400-konsoll. Automatiserte forsøk ble innsamlet ved anvendelse av Delta NMR Processing & Control-programvareversjon 4.3. Prøvene ble fremstilt i d_6 -DMSO, med mindre annet er angitt. Analysen ble utført under anvendelse av (ACD/Specmanager 7.11).

Termodynamisk vannløselighet ved HPLC: Vandig løselighet ble bestemt ved å
25 suspendere tilstrekkelig forbindelse i HPLC-kvalitetsbestemt vann for å gi en maksimal endelig konsentrasjon på $> 20\text{ mg ml}^{-1}$ av moderforbindelsen. Suspensjonen ble brakt til likevekt ved $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ i 24 timer. Suspensjonen ble deretter filtrert gjennom et filter inn i et HPLC-hetteglass. Filtratet ble deretter fortynnet med en passende faktor. Kvantifisering ble utført ved anvendelse av HPLC under henvisning til en
30 standardløsning på omtrent $0,5\text{ mg ml}^{-1}$ i acetonitril:vann: (1:1). Forskjellige volumer av standarden, fortynnede og ufortynnede prøveløsninger ble injisert. Løseligheten ble beregnet ved anvendelse av topparealene bestemt ved å integrere toppen som ble funnet ved samme retensjonstid som den viktigste toppen i standardinjeksjonen.

Analysen ble utført på en Agilent 1100-serievæskekromatografi, utstyrt
35 med en UV-detektor (DAD eller VWD) ved 254 nm og ved anvendelse av Chemstation Rev.B.01.03-programvaren for databehandling. Kjemisk renhetsbestemmelse ved HPLC.

Farmasøytiske sammensetninger

De farmasøytiske sammensetningene ifølge den foreliggende oppfinnelsen omfatter en terapeutisk effektiv mengde av en polymorf ifølge den foreliggende
5 oppfinnelsen formulert sammen med én eller flere farmasøytisk akseptable bærere. Slik det anvendes i dette dokumentet betyr begrepet "farmasøytisk akseptabel bærer" et ikke-toksisk, inert fast, halvfast eller flytende fyllstoff, fortynningsmiddel, innkapslende materiale eller formuleringshjelp av enhver type. De farmasøytiske sammensetningene ifølge denne oppfinnelsen kan administreres til mennesker og
10 andre dyr oralt, rektalt, parenteralt, intracisternalt, intravaginalt, intraperitonealt, topisk (som ved pulvere, salver eller dråper), bukkalt eller som en oral eller nasal spray. Andre medikamentadministreringsveier inkluderer inhalering av medikament fra en løsning eller suspensjon av de farmasøytiske sammensetningene ifølge den foreliggende oppfinnelsen i en oppmålt doseinhalator (MDI) eller en forstøver, eller å
15 inhalere pulverisert medikament som omfatter en terapeutisk effektiv mengde av en polymorf ifølge den foreliggende oppfinnelsen generelt blandet med en eksipient eller de farmasøytiske sammensetningene ifølge den foreliggende oppfinnelsen, fra en tørrpulverinhalator (DPI).

Flytende doseringsformer for oral administrering inkluderer farmasøytisk
20 akseptable emulsjoner, mikroemulsjoner, løsninger, suspensjoner, siruper og eliksirer. I tillegg til de aktive forbindelsene kan de flytende doseringsformene inneholde inerte fortynningsmidler som vanligvis anvendes innen teknikken, slik som f.eks. vann, alkohol eller andre løsningsmidler, oppløseliggjørende midler og emulgeringsmidler, slik som etylalkohol, isopropylalkohol, etylkarbonat, etylacetat, benzylalkohol,
25 benzylbenzoat, propylenglykol, 1,3-butylen glykol, polysorbat, dimetylformamid, oljer (særlig bomullsfrø-, jordnøtt-, mais-, kim-, oliven-, ricinus- og sesamoljer), mono- eller diglyserider, glyserol, tetrahydrofurfurylalkohol, polyetylen glykoler og fettsyrestere av sorbitan og blandinger av disse. Foruten inerte fortynningsmidler kan de orale sammensetningene også inkludere adjuvanter, slik som fuktemidler,
30 emulgerings- og suspenderingsmidler, antioksidanter, søtningsstoffer, smaksstoffer og parfymemidler. Den flytende doseringsformen kan også innkapsles i en gelatinkapsel, der en forbindelse ifølge den foreliggende oppfinnelsen kan oppløses i en farmasøytisk akseptabel bærer som inneholder f.eks. ett eller flere oppløseliggjørende midler (f.eks. polysorbat 80 og mono- og diglyserider), og andre egnede eksipienter
35 (f.eks. antioksidanter som askorbylpalmitat, eller et søtningsstoff eller smakstilsetningsmiddel).

Injiserbare preparater, f.eks. sterile injiserbare vandige eller oljeholdige

suspensjoner kan formuleres i henhold til den kjente teknikken ved å anvende egnede dispergerings- eller fuktmidler og suspenderingsmidler. Det sterile injiserbare preparatet kan også være en steril injiserbar løsning, suspensjon eller emulsjon i et ikke-toksisk parenteralt akseptabelt fortynningsmiddel eller løsningsmiddel, f.eks. som en løsning i 1,3-butandiol. Blant de akseptable vehiklene og løsningsmidlene som kan benyttes er vann, Ringers løsning, USP og isotonisk natriumkloridløsning. I tillegg benyttes sterile, fikserte oljer konvensjonelt som et løsningsmiddel eller suspenderende medium. For dette formålet kan det benyttes en hvilken som helst blanding av fiksert olje, inkludert syntetiske mono- eller diglyserider. I tillegg anvendes fettsyrer, slik som oljesyre i fremstillingen av injiserbare midler.

For å forlenge virkningen av et medikament, er det ofte ønskelig å forsinke absorpsjonen av medikamentet fra subkutan eller intramuskulær injeksjon. Dette kan utføres ved anvendelse av en flytende suspensjon av krystallinsk eller amorft materiale med dårlig vannløselighet. Absorpsjonshastigheten til medikamentet avhenger da av dets oppløsningshastighet, som, i sin tur, kan avhenge av krystallstørrelse og krystallinsk form. Alternativt oppnås forsinket absorpsjon av en parenteralt administrert medikamentform ved å løse opp eller suspendere medikamentet i en oljevehikkel. Umiddelbare frigjøringsformer er også omfattet av den foreliggende oppfinnelsen.

Sammensetninger for rektal eller vaginal administrering er fortrinnsvis stikkpiller som kan fremstilles ved å blande forbindelsene ifølge denne oppfinnelsen med egnede ikke-irriterende eksipienter eller bærere, slik som kakaosmør, polyetylenglykol eller en stikkpillevoks som er fast ved omgivelsestemperatur, men flytende ved kroppstemperatur og smelter derfor i rektum eller vaginalhulen og frigjør den aktive forbindelsespolymorfen.

Faste sammensetninger av en lignende type kan også benyttes som fyllstoffer i myke og harde fylte gelatinkapsler ved å anvende slike eksipienter som laktose eller melkesukker så vel som høymolekylære polyetylenglykoler og lignende.

De aktive polymorfene kan også være i mikroinnkapslet form med én eller flere eksipienter som angitt ovenfor.

De faste doseringsformene av tabletter, drageer, kapsler, piller og granuler kan fremstilles med belegg og skall, slik som enteriske belegg, frigivelseskontrollerende belegg og andre belegg som er godt kjent i den farmasøytiske formuleringsteknikken. I slike faste doseringsformer kan den aktive forbindelsen blandes med minst ett inert fortynningsmiddel, slik som sukrose, laktose eller stivelse. Slike doseringsformer kan også omfatte, som er normal praksis, andre stoffer som ikke er inerte fortynningsmidler, f.eks. tableteringssmøreljer og andre tableteringshjelpestoffer,

slik som magnesiumstearat og mikrokrySTALLinsk cellulose. I tilfellet med kapsler, tabletter og piller, kan doseringsformene også omfatte bufringsmidler.

Fortrinnsvis formuleres en polymorf ifølge oppfinnelsen i en fast dispersjon, der polymorfen kan dispergeres molekylært i en matriks som omfatter en farmasøytisk akseptabel, hydrofil polymer. Matriksen kan også inneholde en farmasøytisk akseptabel surfaktant. Egnede faste dispersjonsteknologi for å formulere en polymorf ifølge oppfinnelsen inkluderer, men er ikke begrenset til, smelteekstrudering, sprøytetørking eller løsningsmiddelfordampning.

Doseringsformer for topisk eller transdermal administrering av en polymorf ifølge denne oppfinnelsen inkluderer salver, pastaer, kremer, lotioner, geler, pulvere, løsninger, sprayer, inhaleringsmidler eller plastere. Den aktive komponenten blandes under sterile forhold med en farmasøytisk akseptabel bærer og eventuelle nødvendige konserveringsmidler eller buffere som kan være nødvendig. Oftalmisk formulering, øredråper, øyesalver, pulvere og løsninger er også påtenkt å være innenfor omfanget til denne oppfinnelsen.

Salvene, pastaene, kremene og gelene kan inneholde, i tillegg til en polymorf ifølge denne oppfinnelsen, eksipienter, slik som animalsk og vegetabilsk fett, oljer, vokser, parafiner, stivelse, tragant, cellulosederivater, polyetylenglykoler, silikoner, bentonitter, kiselsyre, talkum og sinkoksid eller blandinger av disse.

Pulvere og sprayer kan inneholde, i tillegg til polymorfene ifølge denne oppfinnelsen, eksipienter, slik som laktose, talkum, kiselsyre, aluminiumhydroksid, kalsiumsilikater og polyamidpulver, eller blandinger av disse stoffene. Sprayer kan i tillegg inneholde vanlige drivgasser, slik som klorfluorhydrokarboner.

Transdermale plastere har den ekstra fordelen av å gi kontrollert levering av en polymorf til kroppen. Slike doseringsformer kan lages ved å løse opp eller dispensere polymorfen i riktig medium. Det kan også anvendes absorpsjonsforsterkere for å øke fluksen av polymorfen over huden. Hastigheten kan kontrolleres ved enten å gi en hastighetsregulerende membran eller ved å dispergere forbindelsen i en polymermatriks eller gel.

Biologisk aktivitet

I et annet aspekt tilveiebringer den foreliggende oppfinnelsen en polymorf sammensetning som omfatter en polymorf ifølge oppfinnelsen og en veterinærmedisinsk eller farmasøytisk akseptabel bærer eller et fortynningsmiddel. Fortrinnsvis er sammensetningen en farmasøytisk sammensetning for human medisin. I et annet aspekt er sammensetningen ifølge den foreliggende oppfinnelsen en sammensetning for veterinærmedisin.

De polymorfe forbindelsene ifølge den foreliggende oppfinnelsen er PDE-inhibitorer og besitter således verdifulle farmakologiske egenskaper, f.eks. bronkodilaterende aktivitet som demonstrert ved inhibering av felt-stimulert sammentrekning av isolert marsvintrakea og anti-inflammatorisk aktivitet som

5 illustrert i studier av humane mononukleære celler stimulert av PHA (fytohemagglutinin). In vitro- og in vivo-data indikerer at forbindelsene har en lang virkningsvarighet, som demonstrert av deres vedvarende beskyttende effekter mot histaminindusert bronkospasme i marsvin når de inhaleres direkte inn i lungene som et tørt pulver. Oppfinnelsen vedrører derfor også akutt, kronisk eller profylaktisk

10 behandling av pasienter som lider av luftveisforstyrrelser, inkludert, særlig astma, allergisk astma, høysnue, allergisk rhinitt, bronkitt, kronisk obstruktiv lungesykdom (KOLS), lungesviktsyndrom (ARDS) og cystisk fibrose. De kan også anvendes topisk i hudforstyrrelser, slik som atopisk dermatitt og psoriasis, eller i okulær inflammasjon eller en hvilken som helst annen sykdom, inkludert cerebral iskemi eller autoimmune

15 sykdommer der økende intracellulære konsentrasjoner av cAMP anses fordelaktig.

Én eller flere forbindelsespolymorfer kan være til stede i forbindelse med én eller flere ikke-toksisk, farmasøytisk og/eller veterinærmedisinsk akseptable bærere og/eller fortynningsmidler og/eller adjuvanter og/eller drivmidler, og, hvis ønskelig, andre aktive bestanddeler. Egnede bærere eller fortynningsmidler er kjent innen

20 teknikken (f.eks. Handbook of Pharmaceutical Excipients (1994) 2. utgave, utg. A. Wade/PJ Weller, The Pharmaceutical Press, American Pharmaceutical Association).

Ifølge et annet aspekt tilveiebringer den foreliggende oppfinnelsen en forbindelsespolymorf for anvendelse i medisin. Polymorfe forbindelser ifølge den foreliggende oppfinnelsen er anvendbare som inhibitorer av

25 fosfodiesteraseisoenzymer. Polymorfene til forbindelsene eller sammensetningene ifølge den foreliggende oppfinnelsen kan anvendes til å forhindre eller behandle en hvilken som helst sykdom der forbindelsene eller sammensetningene er anvendelige, men særlig en sykdom der det er ønskelig å øke den intracellulære konsentrasjonen av cAMP. Eksempler på sykdommer forbindelsene er nyttige på inkluderer

30 respiratoriske forstyrrelser, inkludert, særlig, astma, bronkitt, kronisk obstruktiv lungesykdom (KOLS), lungesviktsyndrom (ARDS), allergisk astma, høysnue, allergisk rhinitt, og cystisk fibrose. De kan også anvendes topisk i hudsykdommer, slik som atopisk dermatitt eller psoriasis, okulær inflammasjon, eller en hvilken som helst annen sykdom inkludert cerebral iskemi, eller autoimmune sykdommer der økende

35 intracellulære konsentrasjoner av cAMP anses fordelaktig.

Dette aspektet ifølge oppfinnelsen er spesielt relevant for behandling av mennesker, men kan også anvendes innen generell veterinærindustri, særlig husdyr, slik som hunder og katter og husdyr, slik som hester, griser, kveg, sauer, osv.

Doseringsnivåer av størrelsesorden på omtrent 0,02 mg til omtrent 200 mg, som tas opptil tre ganger daglig, er anvendelige ved behandling av de ovennevnte forholdene. Nærmere bestemt er et doseringsområde på omtrent 0,2 mg til omtrent 20 mg, som ble tatt opptil tre ganger daglig, effektivt. Det bestemte doseringsregimet vil imidlertid til slutt bestemmes av den behandlende legen, og vil ta hensyn til faktorer som medikamentet som anvendes, alder, vekt, alvorligheten av symptomer og/eller alvorligheten av behandlingen som anvendes eller som skal anvendes, administreringsmetoden av medisinen, bivirkninger og/eller andre kontraindikasjoner.

Medikamentet ifølge dette aspektet av oppfinnelsen kan gis til en pasient sammen med andre aktive midler, som f.eks. kan være av en annen forbindelse eller polymorf av den foreliggende oppfinnelsen, eller andre forbindelser. Eksempler inkluderer β 2-adrenoseptoragonister, topiske glukokortikoidsteroider, xantinderivater, antihistaminforbindelser, leukotrienantagonister, inhibitorer for leukotriensyntese og/eller kombinasjoner av disse.

Ifølge et annet aspekt tilveiebringer den foreliggende oppfinnelsen anvendelsen av en polymorf ifølge oppfinnelsen i fremstillingen av en inhibitor av et type III/IV-fosfodiesteraseisoenzym (PDE3/4). Oppfinnelsen omfatter anvendelsen av en polymorf ifølge oppfinnelsen ved fremstilling av en bronkodilator og/eller et anti-astmatisk medikament og/eller et medikament for forhindringen eller behandlingen av kronisk obstruktiv lungesykdom (KOLS).

Oppfinnelsen vedrører også en krystallinsk polymorf for anvendelse i behandling eller forhindring av en sykdom hos et pattedyr, der en fosfodiesteraseisoenzyminhibitor og/eller en bronkodilator ville være forventet å være til nytte, der fremgangsmåten omfatter å administrere til pattedyret en mengde av en effektiv, ikke-toksisk mengde av en polymorf ifølge oppfinnelsen. Oppfinnelsen omfatter en krystallinsk polymorf for anvendelse ved behandling eller forebyggelse av astma og/eller kronisk obstruktiv lungesykdom (KOLS) hos et pattedyr.

Eksempler

Forbindelsene og prosessene ifølge den foreliggende oppfinnelsen vil forstås bedre i forbindelse med de følgende eksemplene, som bare er ment som en illustrasjon, og ikke for å begrense omfanget av oppfinnelsen. Forskjellige endringer

og modifikasjoner av de offentliggjorte utførelsesformene vil være åpenbare for fagfolk innen teknikken, og slike endringer og modifikasjoner, inkludert, men ikke begrenset til, de som er relatert til de kjemiske strukturene, substituentene, derivatene, formuleringene og/eller fremgangsmåtene ifølge oppfinnelsen kan lages
 5 uten å avvike fra omfanget til de vedlagte kravene.

Eksempel 1

Omtrent 50 mg N-{2-[(2E)-2-(mesitylimino)-9,10-dimetoksy-4-okso-6,7-
 10 dihydro-2H-pyrimido[6,1-a]-isokinolin-3(4H)-yl]etyl}urea (RPL554) ble oppløst i 0,5 ml DMF ved 70 °C. Den klare gule løsningen fikk avkjøle seg meget langsomt med nitrogenlufting til omtrent 30 °C i løpet av 4 dager. Et første parti av materialet ble observert innen væskene (omtrent 0,4 ml) som var av en krystallinsk natur. Denne prosessen ble gjentatt to ganger, og leverte materiale som var egnet for
 15 enkeltkrystallanalyse innenfor et væskevolum på omtrent 0,2 ml. Prøven ble sendt til analyse uendret i modervæsken.

Enkle krystalldata ble målt ved lav temperatur (123 K) og ved en annen bølgelengde (0,71073 Å). For å tilveiebringe et bilde som vil gi en direkte sammenligning var det nødvendig å justere bølgelengden manuelt. Etter forskjellige
 20 justeringer ble figur 1 oppnådd og viser det delte overlegget mellom de målte dataene for RPL554 070638 via XRPD (øverst) og den simulerte XRPD avledet fra enkeltkrystalldata (kopi av onyx2010a, nederst).

En nærmere inspeksjon (figur 2) i to-thetaområdet (5 - 13° 2θ) viser klart likhetene mellom de observerte dataene og det simulerte pulvermønsteret.

25 Algoritmen i programvaren sammenligner tallmessig de observerte dataene (RPL554 070638) målt ved XRPD-overføring og de numeriske verdiene som stammer fra den enkle krystallanalysen. De viktigste dataene avledet fra enkeltkrystallanalysen er oppført nedenfor:

Temperatur	123(2)K	
30 Bølgelengde	0,71073 Å	
Krystallsystem	Triklinisk	
Avstandsgruppe	P-1	
Enhetscelledimensjoner	a = 8,1246(4) Å	a = 91,583(4)°
	b = 11,4573(5) Å	β = 90,299(4)°
35	c = 13,2398(6) Å	γ = 99,628(4)°
Volum	1214,56(10) Å ³	
Z	2	

Programvaren som anvendes for sammenligningen leser den målte filen (RPL554 070638) og ba om oppføring av enhetscelleparametere som ble ekstrahert fra enkeltkrystalldataene. Pawley-forfiningen (algoritmen) returnerte deretter tallverdier, men programvaren illustrerer også denne tallverdien av en grafisk visning av resultatet. Tallverdien for tilpasningsgraden mellom målte og teoretiske verdier for RPL554 var 2,9. Denne verdien uttrykker datakvaliteten. Jo lavere verdi, jo bedre vil dataene være og vanligvis anses en verdi som er mindre enn 10 som en positiv hit.

Tallverdiene for RPL554 var i god overensstemmelse med de som avledes fra enkeltkrystallen målt ved 123K. Således tilveiebringer enkeltkrystalldataene et utmerket samsvar med pulverdataene som samles inn for RPL554 internt og er derfor representativ for den krystallografiske profilen for den kjente termodynamisk favoriserte polymorfen (form I).

Eksempel 2. Utgangsmateriale

En prøve på 9,0 g ex-GMP-forråd av RPL554 (070638-9) ble tatt og analysert ved XRPD (figur 3 og tabell 1) og DSC (figur 4) for anvendelse som et strømreferansedatasett.

Tabell 1

Pos.	Høyde
[°2Th.]	[telling]
6,3827	2406,64
10,1448	3293,52
12,6314	2495,28
12,8735	3362,54
13,6461	1682,38
14,2043	1714,62
14,7078	1191,12
15,2706	2566,43
15,4230	1230,41
15,8229	1877,13
16,9786	1303,49
17,6393	3211,22
18,8932	938,79
20,9592	1298,36
22,4382	1587,30

22,8201	1112,59
28,6947	876,91

Andre studier som proton-NMR og HPLC på dette tidspunktet var ikke kritisk for prosjektiverksettelsen ettersom resultater hadde blitt oppsamlet tidligere. Å utføre løselighetsstudier på materialet ved anvendelse av en rekke vanlige organiske materialer var tilsvarende unødvendig ettersom tidligere studier hadde gitt en sterk indikasjon på materialoppførselen. Iverksettelse av undersøkelsen av nærværet av andre former for RPL554 var prioriteten.

Materialet er, som kjent, krystallinsk, med en smeltestart på 246 °C for enkeltendotermen, uten at det ble registrert noen påfølgende krystallisering eller overgang, annet enn termisk nedbrytning. Et innledende vekttap på omtrent 4,2 % bemerkes av TGA, tilsvarende, i den smeltede endotermen, som ikke er relatert til løsningsmiddel (sannsynligvis ammoniakktap før total fragmentering). Etter å ha oppnådd referansedataene ble eksperimenteringen med materialet satt i gang med det formål at amorft materiale senere ville bli produsert. Fra dette tidspunktet vil de ovennevnte dataene bli referert til som form I.

Det antas at prosessen for å fremstille RPL554 leverer materialet i den aktuelle formen og at oppslemmingene fra alkohol som anvendes til å forbedre dets renhet forsterker dets krystallinitet, eller enda viktigere, omdanner amorft materiale til en krystallinsk form.

Eksempel 3. Anti-løsningsmiddeltilsetning

Anti-løsningsmiddeltilsetningen er en godt kjent metode for å oppnå amorft materiale, nye polymorfer og også blandede faser. Med dette i tankene ble det fremstilt en forrådsløsning av RPL554 i DMSO. DMSO ble valgt som et materiale som har rimelig løselighet i dette løsningsmidlet, som også er allment blandbart.

Forsøksforhold (CG1099):

300 mg RPL554 ble oppløst i varm DMSO (2 ml forrådsløsning) og 0,15 ml av denne løsningen ble tilsatt under kraftig omrøring, i porsjoner, til 12 kalde rør som inneholdt forskjellige løsningsmidler (1,0 ml) ved romtemperatur. I nesten alle tilfellene ble det observert en umiddelbar utfelling. Isoleringen ble utført ved filtrering og tørking under vakuum ved 40 °C. Resultatene er beskrevet i tabell 2 nedenfor:

Tabell 2. Løsningsmiddelliste og detaljer for DMSO-baserte anti-løsningsmiddeltilsetninger

Løsningsmiddel	Innledende resultat	Isolerte faststoffer
Kumen	løs. ⁿ → ppt	F1
nBuOAc	ppt	F1
Dioksan	løs. ⁿ	F1 ved tørking
Vann	ppt	F1
Heptan	Bisjikt/olje → ppt	F1
IPA	ppt	F1
CH ₃ CN	ppt	F1
MEK	ppt	F1
EtOH	ppt	F1
EtOAc	ppt	F1
TBME	ppt	F1
DCM	løs. ⁿ	F1 ved tørking

5 Alle prøvene som returnerte et faststoff, én gang tørket under vakuum ved 45 °C og analysert ved XRPD viste at form I hadde blitt returnert. Merkbare unntak var dioksan, DCM og heptan. Dioksan og DCM ga løsninger som ble hensatt til å stå og fordampe, som til slutt ga form I.

10 Heptan ble mer interessant ved at to lag dannet seg, begge fargede løsninger som gradvis oljet ved utvidet risting og hvileperioder (DMSO-lag). Etter omtrent 24 timer hadde faststoffene dannet seg i den opake oljen og så ble blandingen dekantert og tørket under vakuum ved 45 °C. Dessverre, når man håpet at det hadde blitt dannet amorft materiale, ble form I observert. Imidlertid ble det ansett at de fant rimelig grunn til å gjenta forsøket, men med mindre tid avsatt etter

15 dannelsen av den utfellende oljen. Dette dannet igjen to klare lag og resulterte gradvis i et utfellende DMSO-lag som ble dekantert og analysert både våt og tørket (henholdsvis CG1110Awet og CG1110A2). DMSO-væsken ble også tillatt å reduseres til et faststoff som ble tørket under vakuum (CG1110B2). Resultatene vist i figur 5 viste at alle prøvene praktisk talt var identiske med

20 utgangsmaterialet (CG1099SM).

Eksempel 4. Mettede løsninger

Mettede løsninger er uten tvil den beste metoden til å oppnå rene faser av nye polymorfer. Derfor ble kjente mengder av RPL554 form I oppløst eller oppslemmet over tid for å oppnå en mettet løsning ved temperatur, etterfulgt av en

5 poleringsfiltrering for å fjerne ethvert formminne (frø). En kontrollert avkjøling ble deretter anvendt til å fremme krystallisering. Forsøk (JN376):

24 løsningsmidler ble omrørt ved 45 °C i nærvær av 30 mg RPL554 form I for å gi en innledende suspensjon. Suspensjonene ble oppvarmet ved 45 °C over en periode på 4,5 timer før varm filtrering i forvarmede rør som deretter ble overlatt til å fordampe
10 langsomt før tørking under vakuum ved 45 °C og analyse. Merk at oppføringene A og B (i tabell 3) ble varmet ved 35 °C under nitrogen for å behjelpe fordampningen i 24 timer.

Tabell 3. Løsningsmiddelliste og resultater for mettede løsningsforsøk (JN376)

15

Løsningsmiddel	Gitterinngang	Observasjon	XRPD
Tetralin	A1	Løs. ⁿ --> gummi/olje	n/a
NMP	A2	Fin XT vokser	Form I
Etylenglykol	A3	uløs.	n/a
DMSO	A4	Klumpete XT-vekst	Ny form DSC innsamlet
Anisol	A5	uløs./sporolje	n/a
DMF	A6	XT pluss olje, ovnstørket	Form I
Kumen	B1	uløs.	n/a
3-Me-1-BuOH	B2	Pulver/gummi, ovnstørket	Utilstrekkelig
n-BuOAc	B3	uløs./sporolje	n/a
Toluen	B4	uløs./sporolje	n/a
Dioksan	B5	sporglass, ovnstørket	Form I
Vann	B6	uløs.	n/a
Heptan	C 1	uløs.	n/a
n-PrOH	C2	sporpulver	Utilstrekkelig
IPA	C3	sporpulver	Form I
CH ₃ CN	C4	Fin XT	Form I

Løsningsmiddel	Gitterinngang	Observasjon	XRPD
MEK	C5	sporpulver	utilstrekkelig
EtOH	C6	sporpulver	Form I
EtOAc	D1	uløs.	n/a
THE	D2	uløs.	n/a
MeOH	D3	uløs.	n/a
Aceton	D4	uløs.	n/a
TBME	D5	uløs.	n/a
DCM	D6	pulver	Form I

Nøkkel: XT = krystallinsk, uløs. = uløselig/veldig lite materiale, sporpulver-
utilstrekkelig = ikke nok materiale til å analysere

5 Fra tabellen kan det sees at mange av forsøkene ikke løste opp en tilstrekkelig
mengde av materiale for å tillate analyse og returnerte enten en flekk av olje eller
pulver på bunnen av røret etter tørking. Men til tross for dette returnerte en rekke
forsøk materiale i pulverform som tillot oppsamling av XRPD-analysen. De mest
vellykkede forsøkene, etter å ha vist at formelle krystaller vokste fra moderlutene, ble
10 høstet og kun én oppføring viste en relevant formendring (DMSO).

Resultatene for DMSO-oppføringen er vist nedenfor (figurene 6 og 7), og mens
materialet viser en viss likhet med form I, er det antatt at en ny polymorf er til stede
basert på XRPD og muliggjør foretrukket orientering. DSC-analysen til materialet gir
en klarere indikasjon på formendringen med en mye lavere start av
15 hovedendotermen. Det var ikke nok materiale for TGA- og NMR-analyse. Vår
oppfatning er at dette er en mindre stabil form for RPL554.

Eksempel 5. Oppslemmingsmodninger

24 x oppslemmingsmodninger ble utført i et forsøk på å påvirke det nåværende
20 krystallinske faststoffet til å gjennomgå formtransformasjon. Den mest effektive
metoden for slikt arbeid er å anvende forlengede varme-/kjølesykluser, som ble
underkastet RPL554 form I.

Forsøk (CG1100):

Ca. 20 mg av materialet ble omrørt i glassrør i omtrent 30 volumer av løsningsmidlet
25 og syklisert mellom isotermales perioder (8 timer) på 20 °C og 50 °C. Etter 4 dager
med syklisering, ble faststoffene filtrert fra og tørket under vakuum ved 45 °C før
analyse ved XRPD. Alle resultatene ble sammenlignet med utgangsmaterialet, RPL554
(form I); se tabell 4.

Tabell 4: Oppslemmingsmodningsforsøk for RPL554 (CG1100)

Løsningsmiddel	Gitterinnngang	Observasjon	XRPD
Tetralin	A1	Løs. ⁿ →langsom fordamp.	Gummi/olje
NMP	A2	Løs. ⁿ →langsom fordamp.	Gummi/olje
Etylenglykol	A3	gummiaktig faststoff	n/a
DMSO	A4	pulver	Form I
Anisol	A5	pulver	Form I
DMF	A6	pulver	Form I
Kumen	B1	Løs. ⁿ →langsom fordamp.	Gummi/olje
3-Me-1-BuOH	B2	pulver	Form I
n-BuOAc	B3	pulver	Form I
Toluen	B4	pulver	Form I
Dioksan	B5	pulver	Form I
Vann	B6	pulver	Form I
Heptan	C1	pulver	Form I
n-PrOH	C2	pulver	Form I
IPA	C3	pulver	Form I
CH ₃ CN	C4	pulver	Form I
MEK	C5	pulver	Form I
EtOH	C6	pulver	Form I
EtOAc	D1	pulver	Form I
THE	D2	pulver	Form I
MeOH	D3	pulver	Form I
Aceton	D4	pulver	Form I
TBME	D5	pulver	Form I
DCM	D6	pulver	Form I

Alle prøvene viste den samme XRPD-profilen i forhold til utgangsmaterialet, noe som viser at RPL554 form I var meget motstandsdyktig mot endring og hadde stor sannsynlighet for å være den termodynamisk mest stabile formen av forbindelsen (figur 8).

Eksempel 6. Blandede løsningsmiddelrekrystalliseringer

Ettersom løselighetsprofilene kan endres vesentlig av nærværet av blandede løsningsmiddelsystemer og at disse tendensene kan være svært vanskelige å forutse, ble det planlagt en omkrystalliseringsserie ved anvendelse av en rekke systemer.

- 5 Dette ble betraktet som en annen egnet måte å indusere formforandringen som fører til oppdagelsen av nye polymorfer.

Det hadde blitt bemerket under studiene at dioksan og kumen (annet enn det vanlige DMF, DMSO og Tetralin), hadde vist en grad av effektivitet i oppløsningen av RPL554. Disse løsningsmidlene dannet utgangspunktet til noen innledende forsøk som
 10 tok polerte filtrerte løsninger av hvert løsningsmiddel og RPL554 og blandet dem deretter varme med et utvalg kjente anti-løsningsmidler av forskjellige slag, og opprettholdt en løsning og tillot deretter en langsom avkjøling.

Forsøk (PF87):

- Forrådsløsninger med 100 mg RPL 554 ble fremstilt ved å omrøre faststoffet i 5 ml av
 15 hovedløsningsmidlet og å la den varme seg ved 50 °C for å forbedre oppløsningen. Ytterligere 1 ml (mer hvis nødvendig) av ko-løsningsmidlet ble tilsatt for å forbedre oppløsningen og danne den endelige forrådsblandingen. Prøvene ble hensatt under omrøring ved 50 °C i 30 minutter. Til et forvarmet varmt rør (50 °C), ble forrådsløsningen tilsatt etterfulgt av 2 ml av anti-løsningsmidlet vist i tabellen;
 20 prøvene ble hensatt til omrøring og fordampning. Prøvene ble filtrert og tørket over natten i en vakuumovn ved 50 °C før analyse ved XRPD (se tabell 5).

Tabell 5. Blandet løsningsmiddelrekrystallisering av angitte forråds-ko-løsningsmidler med anti-løsningsmiddeltilsetningen (PF87)

25

PF87	Anti-løsningsmidler	2-butanon	EtOAc	Heptan	IPA	MTBE
Forrådsløsnings-systemer						
Dioksan/DMSO (5/1)	Form I	Form I	Form I	Form I	Form I	Form I
Dioksan/DCM (5/2)	Form I	Form I	Form I	Form I	Form I	Form I
2MeTHF/DMSO (5/1)	Form I	Form I	Form I	Form I	Form I	Form I
DCM/Dioksan (5/1)	Form I	Form I	Form I	Form I	Form I	Form I

Alle forsøkene oppført i forsøk PF87 som returnerte form I, fungerte som et ytterligere bevis som den termodynamiske stabiliteten til RPL554.

Eksempel 7. Krystalliseringsforsøk i blandede vandige systemer.

5 En serie blandede løsningsmiddelkrystalliseringer som hadde en vandig base ble undersøkt i forsøk PF86.

Forsøk (PF86):

En varm forrådsløsning av RPL554 (form I) i DMSO (1ml, 15 mg.ml⁻¹) ble tilsatt til en varm løsning av løsningsmiddel, blandet med vann (1:1, v/v, 1 ml) som angitt i tabell 6 (50 °C). Løsningene ble hensatt under omrøring ved temperatur i 48 timer, bråkjølt, 10 filtrert og deretter tørket i ovnen over natten (40 °C). Analyse ved XRPD ble utført og sammenlignet med utgangsmaterialet.

Tabell 6. Oppsummering av resultatene for vandige blandede krystalliseringer (forsøk 15 PF86)

Løsningsmiddelsystem (+ vann)	Forsøk	XRPD
Acetonitril	PF86A	Identisk med form I
Dioksan	PF86B	Identisk med form I
Etanol	PF86C	Identisk med form I
IPA	PF86D	Identisk med form I
MeOH	PF86E	Identisk med form I
THE	PF86F	Identisk med form I

Resultatene for denne forsøksserien (figur 9) viste igjen at form I var dominerende.

Eksempel 8. Generering av amorft materiale

20 Ettersom det var et historisk forsøksbevis for å generere amorft materiale ved å varme opp RPL554 form I opptil 245 °C og hurtig avkjøle smelten, ble det utført en gjentakelse av denne metoden (TGA-basis) og produserte det samme, klare, gule, glassaktige materialet. Denne prøven ble deretter analysert ved XRPD og ble vist å være amorf (se figur 10).

25 Dette materialet ble deretter kjørt på DSC-instrumentet i et forsøk på å observere glassovergangen og om mulig, eventuelle rekrySTALLISERINGER. Resultatene er vist i figur 11.

En foreslått glassovergang kan observeres ved omtrent 120 °C, uten at det ble observert noen formell omkrystallisering. Mens dette forsøket var i gang, ble prøven

sendt til LC-analyse, ettersom stabiliteten ved temperaturen var kjent for å være et potensielt problem (observasjon av TGA). Kromatogrammet viste nærværet av flere topper der bare 26 % av materialet var utgangsmaterialet, RPL554. Dette resultatet indikerte at enten måtte bråkjølingen utføres med mer følsomme forsøksmarginer, eller at fremgangsmåten var ugyldig. Forsøket ble gjentatt ved en lavere temperatur (240 °C), i et forsøk på å unngå nedbrytning og således returnere en bedre profil i form av renhet. LC-analyse returnerte en tilsvarende profil av svært lav renhet og ulike sekundære produkter. Det var derfor klart at amorft materiale ikke ville genereres på denne måten.

En rekke andre forsøk på å generere den amorfe fasen ble deretter gjort, med utgangspunkt i fysisk manipulering (oppmaling, påført trykk), og deretter rask fordampning av en fortynnet løsning fra løsningsmidler, slik som DCM og kumen. I dette forsøket viste jordprøven (morter og pestle), seg å være meget elektrostatisk og mislyktes i å bli overført til Kapton-platen for XRPD-analyse. Denne prøven ble imidlertid med hell overført til en DSC-panne; det observerte smeltepunktet var lavere enn referansematerialet, noe som indikerer muligheten for formendring. En gjentakelse av dette forsøket ville være nødvendig for å utvikle denne undersøkelsen videre; den amorfe fasen viste seg imidlertid ikke fra denne tilnærmingen (figur 12).

Påført trykk (100KN): 10 mg av RPL554 ble etterlatt i et trykkplatesystem natten over, og dannet en fin og ensartet plate med en tykkelse på mindre enn 0,1 mm. Platen ble forsiktig malt og analysert ved XRPD (figur 13).

XRPD-sammenligning av det trykksatte materialet med utgangsformen (CG1099F-referansen anvendt), viser at komprimering av det krystallinske materialet genererer en amorf fase. Etter disse observasjonene ble det utført en termal analyse (DSC) og bevist at materialet var amorft (figur 14).

Overgangen fra amorft materiale er vist ved Tg ved 75 °C, som deretter rekrystalliserer ved ca. 131 °C, før smelting ved 242,6 °C og 262,7 °C etter hverandre. Den første endotermen synes å være noe lavere enn referansematerialet og kan potensielt relateres til en annen form (renhetssammenligning ville være en fornuftig studie å utføre i forkant av tildeling av ny form). Den andre smelten kunne også anses som en annen krystallinsk enhet, selv om det må understrekes at dette er i nedbrytningsområdet for dette materialet.

Rask løsningsmiddelfordampning: En flaske som inneholdt RPL554-070638 ble fullstendig løst opp i et stort volum av DCM ved romtemperatur (290 ml, 2,0 g).

Løsningsmidlet ble deretter fjernet hurtig ved temperatur, og holdt RPL554-070638 fullstendig oppløst, og unngikk en langsom utfelling av det rå materialet og nærværet

av form 1. HPLC-analyse viste en høy kjemisk renhet og proton-NMR indikerte et spor av resterende DCM.

XRPD av det innledningsvise partiet viste en amorf fase (JN376E), som ble bekreftet ved anvendelse av DSC (figur 15). Oppvarmingsprosessen induserer en stor eksoterm, som illustrerer en krystallisering ved 152 °C, etterfulgt av en endoterm for den forventede smelten av form I, dog lett undertrykt. Legg merke til de små forskjellene mellom dette partiet og det amorge materialet avledet fra påført trykk (største forskjellen i temperaturen i den innledende eksotermen, og profilen etter hovedsmelten).

Etter å med hell ha isolert en liten mengde amorf materiale, ble metoden oppskalert til gram materiale for anvendelse i mettet løsning, og oppslemmingsarbeid. XRPD-referanseprofilen for dette partiet (JN376F) er vist i figur 16.

Eksempel 9. Mettede løsninger med amorf materiale

Som indikert er de mettede løsningene den beste metoden for å oppnå rene faser av nye polymorfer. For dette formålet ble det amorge materialet tatt og en undersøkelse utført ved å anvende mettede løsninger, som i JN376, med sikte på å oppnå en høyere total utgangskonsentrasjon.

Forsøk (PF89):

24 løsningsmidler ble omrørt ved 45 °C i nærvær av 30 mg RPL554 (JN376F) for å etterlate en innledende (mer konsentrert) suspensjon enn den krystallinske fasen. Suspensjonene ble oppvarmet over en periode på 4,5 timer for å øke løseligheten. Hvert rør ble sjekket for full oppløsning av materialet. Hvis faststoff var gjenværende, ble det tilsatt ytterligere 1 ml av det kjente løsningsmidlet inntil det løste seg opp fullstendig. Hvert rør ble vurdert før varm filtrering til forvarmede rør som deretter ble overlatt til å fordampe seg langsomt. Merk at rørene ble plassert under nitrogen for å behjelpe fordampningen i 24 timer. Resultatene av dette forsøket er vist i tabellen nedenfor (tabell 7):

Tabell 7. Mettede løsningsforsøk (amorf faseinngang, forsøk PF89)

Løsningsmiddel	Gitterinngang	Observasjon	XRPD
Tetralin	A1	Olje	N/A
NMP	A2	Ikke tørr	Våt, men form I
Etylenglykol	A3	Ingen utfelling observert	N/A
DMSO	A4	Væske +	Blandet form

Løsningsmiddel	Gitterinnang	Observasjon	XRPD
		Krystaller	(målt i våt tilstand)
Anisol	A5	Gummi/olje	N/A
DMF	A6	Væske + Krystaller	Form I
Kumen	B1	Væske	Utilstrekkelig mat.
3-Me-1-BuOH	B2	Krystaller	Form I
n-BuOAc	B3	Krystaller	Form I
Toluen	B4	Krystaller	Form I
Dioksan	B5	Krystaller	Form I
Vann	B6	uløs.	N/A
Heptan	C1	faststoff	Form I
n-PrOH	C2	faststoff	Form I
IPA	C3	faststoff	Form I
CH ₃ CN	C4	Ekstra topper	Form I
MEK	C5	Ekstra topper	Form I
EtOH	C6	faststoff	Form I
EtOAc	D1	faststoff	Form I
THE	D2	Ekstra topper	Form 1
MeOH	D3	Delt 1. topp	Form I
Aceton	D4	-	Utilstrekkelig mat.
TBME	D5	Amorf	N/A
DCM	D6	Amorf	N / A

Fra tabellen kan det sees at noen av forsøkene løste opp en utilstrekkelig mengde materiale for å gi rom for analyse, eller returnerte enten en flekk av olje eller amorft pulver på bunnen av røret etter tørking. Men til tross for dette, returnerte en rekke forsøk materiale i pulverform som tillot samling av XRPD-analyse. Det har blitt høstet fra de mest vellykkede forsøkene, noen av dem med vekst av formelle krystaller fra morluten, og bare ett av dem viste noen relevant formendring (PF89A4, DMSO).

Resultatene for DMSO-oppføringen er vist nedenfor, og mens materialet viser en viss likhet med form I, er det antatt at en ny polymorf er til stede basert på XRPD-en og tillater en foretrukket orientering. DSC-analysen til materialet gir en klarere indikasjon på formendringen med en mye lavere start av hovedendotermen.

Det var ikke nok materiale for TGA- og NMR-analyse. Dette resultatet ble oppskalert for videre undersøkelser, selv om det er kjent at dette materialet ikke ga det samme, men forandret profil i forhold til RPL554 som JN376A4 (mettet løsning fra DMSO, figur 6 og 7). Det ble ansett at dette ville være på grunn av relativ solvatiseringsgrad.

5 For å behjelpe forståelsen av den oppsamlede analysen, og på grunn av det faktum at høy-kvalitetsmodelleringsinformasjonen hadde blitt oppnådd fra de predikerte enhetscelleparameterne (indekseringsforsøk) for RPL554, ble den nye fasen sammenlignet med disse teoretiske dataene.

10 Den numeriske analysen viser at det meste av materialet er form I med noen topper som ikke tilpasses. Dette indikerte sterke bevis for at prøven var enten en blanding av to former, én potensielt et solvatisert produkt. Resultatene har ikke blitt rapportert i sin helhet og var rett frem ved at form I ble observert i alle tilfellene der tilstrekkelig materiale ble igjen for innsamling, med unntak av DMSO, der en mindre endring ble bemerket i XRPD-profilen.

15

Eksempel 10. Automatisert forsøk (utvidet antiløsningsmiddelundersøkelse)

20 Et forsøk ble initiert for å utvide løsningsmiddelområdet fra det som anvendes i antiløsningsmiddeltilsetningsarbeidet, og for å utføre en slik løsningsmiddelblanding ved temperatur, i stedet for bråkjøling ved anvendelse av antiløsningsmidlet (CG1099).

Forsøk (PF85):

25 En definert mengde av RPL554 (1,5 g) og 20 ml DMSO ble tilsatt til et rør og oppvarmet til 50 °C for å forbedre oppløsningen. 200 µl av forrådsløsningen ble plassert i en oppvarmet brønn (50 °C). 200 µl av det oppførte løsningsmidlet (tabell nedenfor) ble tilsatt til brønnen og hensatt til omrøring i 72 timer i forkant av isoleringen. Prøvene ble deretter overført til en Kapton-plate for XRPD-analyse. Resultatene ble behandlet og sammenlignet med utgangsmaterialet RPL554 (tabell 8). Der XRPD var utilstrekkelig til å skille seg fra utgangsmaterialet, ble termisk analyse gjennomført for å definere smeltepunktene (materialtillatelse).

30

Tabell 8. Automatiserte varme blandede løsningsmiddelkrystalliseringer (PF85),
skildrer de innledende resultatene av
XRPD og DSC der det er mulig

Løsningsmiddel	Gitter- inngang	DSC (Start/ topp) Form I ref. = (246/248)	XRPD - konklusjon	Samlet konklusjon (DSC/XRPD)
Formamid	A12	Våt prøve	Form I	Form I
N-metyl-2- pyrrolidinon (NMP)	A11	241 °C/247 °C	Dårlig diffraksjon (sannsynligvis form I)	Form I
Etylenglykol	A10	Gummi	Form I	Form I
Dimetylsulfoksid (DMSO)	A9	243 °C/248 °C	Form I + ekstra topper	Form I
N,N- dimetylacetamid	A8		Form I + ekstra topper	Form I
Anisol	A7		Form I + ekstra topper	Form I
N,N- dimetylformamid	A6		Form I + ekstra topper	Form I
Kumen	A5	Gummi 240 °C/ 246,2 °C	Forskjellig fra utgangs- materiale	Form II
1-pentanol	A4		Dårlig diffraksjon (sannsynligvis form I)	Form I
Klorbenzen	A3	241 °C/246,7 °C	Noe forskjellig	Form H
3-metyl-1-butanol	A2		Form I	Form I
Metylbutylketon=2- heksanon	A1		Form I	Form I
Butylacetat	B12	Gummi	Form I	Form I
2-metoksyetanol	B11		Form I	Form I
Eddiksyre	B10	241,6 °C/ 247,4 °C	Sterkt foretrukket orientering	Form II
1-butanol	B9	Gummi	Våt prøve, men form I	Form I
Metylisobutylketon = 4-metyl-2-pentanon	B8		Form 1	Form I
Isobutylacetat	B7		Form I	Form I
Pyridin	B6		Form I	Form I
Toluen	B5	239,5 °C/246 °C	Foretrukket orientering (mest sannsynlig Form I)	Form II
2-metyl-1-propanol	B4	233 °C/243 °C	foretrukket orientering	Form III

Løsningsmiddel	Gitter-inngang	DSC (Start/ topp) Form I ref. = (246/248)	XRPD - konklusjon	Samlet konklusjon (DSC/XRPD)
Propylacetat	B3		Form I + ekstra topper	Form I
Nitrometan	B2		Form I + ekstra topper	Form I
Dioksan	B1	243 °C/248 °C	Uvisst som følge av foretrukket orientering	Form I
Metylsykloheksan	C12		Form I	Form I
Maursyre	C11		Form I	Form I
Vann	C10	243 °C/247 °C		Form I
2-butanol	C9		Form I	Form I
Heptaner	C8		Form I	Form I
1-propanol	C7	242 °C/247 °C	Form I	Form I
Isopropylacetat	C6			Form I
1,2-dimetoksy-etan (glym, DME)	C5	242,3 °C/248 °C		Form I
2-propanol	C4		Form I	Form I
Acetonitril	C3		Form I	Form I
Sykloheksan	C2		Form I	Form I
Etanol	C1		Form I	Form I
Etylacetat	D12	Gum. til endotermer, 226 °C/268 °C	PO eller forskjellig	2 endotermer, potensiell form IV og V
1,1,2-trikloreten	D11		Form I + ekstra topper	Form I
Heksan	D10	223,6 °C	Foretrukket orientering	Ren form IV
Tetrahydrofuran (THF)	D9	Gummi	Foretrukket orientering for Form I	Form I
Metanol	D8	242 °C/247 °C	Forskjellig eller form I (PO?)	Form I
Kloroform	D7		Form I + ekstra topper	Form I
Metylacetat	D6		Form I	Form I
Aceton	D5		Form I	Form I
tert-butylmetyleter (MTBE)	D4		Form I+ekstra topper	Form I
Etylformat	D3		Form I	Form I
Diklormetan	D2		Form I	Form I
1,2-dikloreten	D1		Form + ekstra I- topper	Form I

Det kan sees fra de tabulerte resultatene, særlig de som er angitt med DSC-sporene som samles, at noen potensielt nye eller blandede faser ble isolert fra det bredere antiløsningsmiddelbiblioteket. Mens XRPD-mønstre kan se ulike ut

5 innledningsvis, på grunn av toppintensitetene, kan foretrukne orienteringseffekter

være til stede, og slik kan en mer inngående analyse være nødvendig (foretrukket orientering ble ansett som mulig på grunn av visuell observasjon av de overførte krystallene fra det automatiserte forsøket) (resultater ikke vist). Slike analyser har også blitt presentert av numerisk sammenligning av de nye XRPD-mønstrene med det forutsagte form I-mønsteret fra indeksering. Idéen var å oppnå så mye kvalitetsdata som mulig om nærværet av en sann ny fase eller om resultatet i virkeligheten var en blanding av de innledende prøvene.

For et parallelt forsøk PF85, ga resultatene noe relativt interessant informasjon om RPL554s evne til å vise forskjellige krystallinske former. De kombinerte analytiske verktøyene (XRPD/DSC) avslørte at minst fem krystallinske former potensielt eksisterte sammen med RPL554 Form I, selv om følelsen var at disse stort sett var blandinger. Forsøkene som returnerte det mest sannsynlige beviset for nye faser og ble valgt for oppskalering var (merk at andre systemer kan ha gjentatt disse resultatene):

15	PF85A3	Klorbenzen/DMSO
	PF85A5	Kumen/DMSO
	PF85B4	1-metyl-2-propanol/DMSO
	PF85D10	Heksan/DMSO
	PF8512	Etylacetat/DMSO

20 Numerisk sammenligning av de 5 ovenfor angitte formene med det beregnede RPL554-form-I-mønsteret

Dataene som er relatert til de potensielle nye polymorfene av RPL554 og den beregnede profilen til Form I (data ikke vist). For denne studien, er henvisningen gjort til enhetscelleparametere funnet under forsøk på å indeksere RPL554 Form I.

25 Algoritmen i programvaren tillater innmatingen av enhetscelleparametere, i dette tilfellet de som er relatert til form I. Programvaren beregner deretter en profil og gir således anvenderen muligheten til visuell sammenligning med de målte dataene. Denne tilnærmingen behjelper bekreftelse på eksistensen av en ny form, og/eller en ny form som koeksisterer med form I (blanding). I nesten alle tilfellene ovenfor er det bemerkede resultatet at form I var til stede, og hovedsakelig har det vist seg blandinger, i stedet for en ny, ren fase, men det er mulig at D10 er et unntak. Alle de ovennevnte kandidatene ble målrettet for oppskalering.

Eksempel 11. Oppskalering av de potensielt nye formene

35 En serie med oppskaleringsforsøk ble iverksatt for å generere mer materiale av de nye og/eller blandede formene. På denne måten kunne en mer detaljert undersøkelse utføres og cross-over-oppslemminger forsøkt. Det bør bemerkes at en slik

oppskalering kan være ikke-triviell, særlig der mindre stabile former er blitt indusert i en liten skala (prosessfinesser betyr at oppskalering kan testes).

Forsøk (PF90 og JN386):

En forrådsløsning av RPL554 ble fremstilt i varm DMSO. Løsningen ble polerfiltrert og 1,75 ml (omtrent 200 mg innhold) tilsatt til et volum (4 ml) med varmt løsningsmiddel (55 °C). Prøvene ble hensatt for røring og fordampet langsomt over tid for å etterligne forholdene som genererte de potensielt nye polymorfene. Etter utfellingen ble prøvene filtrert og tørket under vakuum ved 40 °C før analyse ved XRPD. Tabellen nedenfor (tabell 9) oppsummerer oppskaleringsforsøkene for RPL554.

Tabell 9. Resultatene for oppskaleringen av potensielle polymorfer som viser overvekten av form I

Løsningsmidler (DMSO og...)	Observasjoner	XRPD
Etylacetat (JN384A)	Utfelt som et pulver, innen 24 timer	Form I
2-Me-1-propanol PF90	Fine krystaller	Form I
Eddiksyre PF90	Gummi	N/A
Klorbenzen PF90	En liten porsjon av den våte prøven ble plassert på XRD	Form I
Kumen PF90	Meget fint pulver	Form I
DMSO PF90	Faststoffer dannet seg med krystaller av anstendig størrelse	Noe forskjellig XRPD (se nedenfor)
Heksan PF90	Prøven ble hensatt for fordampning uten omrøring	Form I

Med materialene i hånden ville analyse, f.eks. TGA, være anvendelig til å bestemme om solvatisering er årsaken til forskjellene i XRPD-profiler (f.eks. blandet fase av Form 1 og et solvat), eller om det skyldes en ikke-solvatisert blanding av former. I tilfellet med f.eks. etylacetat kan det sees at oppskaleringsprosessen har returnert form 1, og derfor er det mest sannsynlig at de mer markerte forskjellene i den opprinnelige XRPD-profilen var på grunn av en blanding av form 1 og en mindre

stabil form som ble omdannet til den mest stabile polymorfen (det nedre smeltepunktet i endotermen til stede i DSC-en, og ikke innenfor nedbrytningsfasen, støtter dette). Den samme kommentaren gjelder for alle de andre løsningsmidlene unntatt eddiksyre, som returnerte en gummi og DMSO, som returnerte en blanding. I dette tilfellet var nok materiale tilgjengelig for å bekrefte nærværet av form I og en mindre stabil form, noe som med tiden ville omdanne til den mest stabile formen. Det bør bemerkes at dette ikke er identisk med de mindre stabile formene identifisert fra DMSO i PF98A4 og JN376A4, som viser at dette løsningsmidlet har gitt en rekke endringer i den viktigste formen, men at ved oppskalering var form I fortsatt den store komponenten.

Analysen (figurene 18 og 19) er relatert til oppskaleringsforsøket som involverer DMSO.

XRPD-data viser igjen tydelig nærværet av topper som ikke hører til form I. Som vist i den termiske analysen er form I til stede i majoriteten (start ved 246,1 °C), mens nærværet av en høyere smelteforbindelse (start ved 261 °C) koeksisterer. Gravimetrisk analyse viser nærværet av fritt DMSO i prøven som fordamper under nitrogenstrømmen i TGA ved oppvarming av prøven fra RT til 100 °C. Dette kan ikke relateres til inkluderingen av løsningsmidlet i den høyere smelteforbindelsen. Selv om alt det frie DMSO-et ser ut til å forsvinne under oppvarmingen, viser TGA-kurven et langsomt, men jevnt vekttap mellom 100 °C og 200 °C som kan relateres til 'inkludert' DMSO, men uten isolering av en ren fase er det vanskelig å foreta disse forutsetningene. Proton-NMR, som forventet, viser nærværet av DMSO i prøven.

Som en konklusjon, viser oppskaleringsforsøk for RPL554 at form I forblir den privilegerte og også kinetisk mer favoriserte. Det er sannsynlig at de fleste av de observerte blandede fasene til slutt omdanner til form I.

Eksempel 12. Vandig løselighet

Når amorft materiale og form I var i hånden, ble begge prøvene eksponert for en rett frem vandig løselighetsstudie i rensset vann ved 25 °C. Dette forsøket ble utført ettersom det var ukjent om krystallinsk eller amorft materiale først ble isolert internt under en tidligere syntesekampanje.

Forsøk:

En suspensjon på 20 mg av kandidaten ble blandet i rensset vann (1 ml, pH 7).

Suspensjonen ble brakt til likevekt ved 25 °C i 24 timer. Suspensjonen ble deretter filtrert inn i et HPLC-hetteglass, og filtratet ble deretter fortynnet med en passende

faktor der kvantifiseringen ble utført ved anvendelse av HPLC under henvisning til en standardløsning.

Resultat:

5 JN376F amorf 0,03 mg/ml
RPL554 Form I 0,001 mg/ml

Som ventet, viste den amorf fase seg å være, selv om relativt uløselig, mer løselig enn form I under denne grunnleggende testen. Uheldigvis var begge prøvene for tynne til å filtreres effektivt og isoleres for re-analyse ved XRPD, selv om det er kjent
10 at form I er et resultat av slike oppslemminger.

Eksempel 13. Røntgendata: Relevante parametere relatert til RPL554-enkeltkrystall

Røntgendata for RPL554 kan finnes i tabellene 10 til 15, og figurene 20-22.

15

Tabell 10. Krystalldata og strukturaffinement for RPL554 (onyx2010a).

Identifikasjonskode	onyx2010a
Empirisk formel	C ₂₆ H ₃₁ N ₅ O ₄
Formelvekt	477,56
20 Temperatur	123(2) K
Bølgelengde	0,71073 Å
Krystalsystem	Triklinisk
Avstandsgruppe	P-1
Enhetscelledimensjoner	a = 8,1246(4) Å a = 91,583(4)°.
25 b = 11,4573(5) Å	β = 90,299(4)°.
c = 13,2398(6) Å	γ = 99,628(4)°.
Volum	1214,56(10) Å ³
Z	2.
Tetthet (beregnet)	1,306 mg/m ³
30 Absorpsjonskoeffisient	0,090 mm ⁻¹
F(000)	508
Krystallstørrelse	0,32 x 0,22 x 0,08 mm ³
Thetautvalg for datainnsamling	2,86 til 30,72°.
Indeksområder	-11 ≤ h ≤ 11, -16 ≤ k ≤ 16, -17 ≤ l ≤ 17
35 Oppsamlede refleksjoner	13256
Uavhengige refleksjoner	6619 [R(int) = 0,0281]
Theta-fullstendighet = 27,50°	99,9 %

Absorpsjonskorreksjon	Semi-empirisk fra ekvivalenter
Maks og min overføring	1,00000 og 0,94889
Forfiningsmetode	Full-matriks minste kvadrater på F^2
Data/begrensninger/parametere	6619 / 0 / 333
5 Tilpasningsgrad F^2	0,854
Endelige R-indekser [$I > 2\sigma(I)$]	$R1 = 0,0420$, $wR2 = 0,0852$
R-indekser (alle data)	$R1 = 0,0802$, $wR2 = 0,0913$
<u>Største diff. topp og hull</u>	<u>0,309 og - 0,240 e.Å.⁻³</u>

10 Tabell 11. Atomiske koordinater ($\times 10^4$) og ekvivalente isotrope forskyvningsparametere ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) for onyx2010a. U(ekv.) er definert som én tredjedel av sporet av den ortogonaliserte U^{ij} -tensoren.

	x	y	z	U(eq)
O(1)	2377(1)	8343(1)	861(1)	21(1)
O(2)	-7077(1)	8128(1)	3364(1)	22(1)
O(3)	-7605(1)	5925(1)	2796(1)	22(1)
O(4)	3558(1)	13706(1)	485(1)	24(1)
N(1)	-69(1)	8094(1)	1717(1)	16(1)
N(2)	1803(1)	9907(1)	1810(1)	16(1)
N(3)	1201(1)	11536(1)	2713(1)	18(1)
N(4)	4497(2)	11982(1)	120(1)	21(1)
N(5)	6214(2)	13771(1)	-66(1)	21(1)
C(1)	1430(2)	8757(1)	1440(1)	16(1)

C(2)	742(2)	10441(1)	2447(1)	16(1)
C(3)	-772(2)	9687(1)	2707(1)	17(1)
C(4)	-1198(2)	8572(1)	2327(1)	15(1)
C(5)	-2840(2)	7838(1)	2490(1)	15(1)
C(6)	-3091(2)	6628(1)	2273(1)	16(1)
C(7)	-1613(2)	6080(1)	1962(1)	20(1)
C(8)	-487(2)	6879(1)	1271(1)	20(1)
C(9)	-4174(2)	8364(1)	2861(1)	17(1)
C(10)	-5720(2)	7695(1)	2993(1)	17(1)
C(11)	-6002(2)	6483(1)	2709(1)	17(1)
C(12)	-4684(2)	5960(1)	2371(1)	18(1)
C(13)	-6739(2)	9152(1)	4018(1)	26(1)
C(14)	-7922(2)	4669(1)	2626(1)	27(1)
C(15)	16(2)	12112(1)	3230(1)	17(1)
C(16)	318(2)	12495(1)	4241(1)	20(1)
C(17)	-752(2)	13173(1)	4697(1)	23(1)
C(18)	-2120(2)	13474(1)	4191(1)	23(1)
C(19)	-2386(2)	13077(1)	3191(1)	22(1)
C(20)	-1340(2)	12405(1)	2698(1)	19(1)
C(21)	1802(2)	12195(1)	4804(1)	31(1)
C(22)	-3260(2)	14224(1)	4688(1)	34(1)
C(23)	-1614(2)	12080(1)	1592(1)	29(1)
C(24)	3339(2)	10637(1)	1453(1)	18(1)
C(25)	3023(2)	11218(1)	464(1)	20(1)
C(26)	4689(2)	13185(1)	189(1)	17(1)

Tabell 12. Båndlengder [Å] og vinkler [°] for onyx2010a.

O(1)-C(1)	1.2296(13)
O(2)-C(10)	1.3707(14)
O(2)-C(13)	1.4268(15)
O(3)-C(11)	1.3583(15)
O(3)-C(14)	1.4299(16)
O(4)-C(26)	1.2363(14)
N(1)-C(1)	1.3803(16)
N(1)-C(4)	1.3948(14)

N(1)-C(8)	1.4812(16)
N(2)-C(1)	1.3779(16)
N(2)-C(2)	1.4084(15)
N(2)-C(24)	1.4686(16)
N(3)-C(2)	1.2858(16)
N(3)-C(15)	1.4240(15)
N(4)-C(26)	1.3610(17)
N(4)-C(25)	1.4436(17)
N(4)-H(1N)	0.847(14)
N(5)-C(26)	1.3558(17)
N(5)-H(3N)	0.897(16)
N(5)-H(2N)	0.876(15)
C(2)-C(3)	1.4300(18)
C(3)-C(4)	1.3488(17)
C(3)-H(3)	0.9500
C(4)-C(5)	1.4735(17)
C(5)-C(6)	1.3896(17)
C(5)-C(9)	1.4093(16)
C(6)-C(12)	1.3971(18)
C(6)-C(7)	1.4998(17)
C(7)-C(8)	1.5121(18)
C(7)-H(7A)	0.9900
C(7)-H(7B)	0.9900
C(8)-H(8A)	0.9900
C(8)-H(8B)	0.9900
C(9)-C(10)	1.3725(18)
C(9)-H(9)	0.9500
C(10)-C(11)	1.4099(18)
C(11)-C(12)	1.3826(17)
C(12)-H(12)	0.9500
C(13)-H(13A)	0.9800
C(13)-H(13B)	0.9800
C(13)-H(13C)	0.9800
C(14)-H(14A)	0.9800
C(14)-H(14B)	0.9800
C(14)-H(14C)	0.9800
C(15)-C(20)	1.3972(18)
C(15)-C(16)	1.4038(17)

C(16)-C(17)	1.3884(17)
C(16)-C(21)	1.5074(19)
C(17)-C(18)	1.3923(19)
C(17)-H(17)	0.9500
C(18)-C(19)	1.3918(18)
C(18)-C(22)	1.5072(17)
C(19)-C(20)	1.3914(17)
C(19)-H(19)	0.9500
C(20)-C(23)	1.5068(18)
C(21)-H(21A)	0.9800
C(21)-H(21B)	0.9800
C(21)-H(21C)	0.9800
C(22)-H(22A)	0.9800
C(22)-H(22B)	0.9800
C(22)-H(22C)	0.9800
C(23)-H(23A)	0.9800
C(23)-H(23B)	0.9800
C(23)-H(23C)	0.9800
C(24)-C(25)	1.5258(18)
C(24)-H(24A)	0.9900
C(24)-H(24B)	0.9900
C(25)-H(25A)	0.9900
C(25)-H(25B)	0.9900

C(10)-O(2)-C(13)	116.55(10)
C(11)-O(3)-C(14)	117.16(10)
C(1)-N(1)-C(4)	121.65(11)
C(1)-N(1)-C(8)	116.95(10)
C(4)-N(1)-C(8)	121.24(11)
C(1)-N(2)-C(2)	123.78(11)
C(1)-N(2)-C(24)	117.51(10)
C(2)-N(2)-C(24)	118.54(11)
C(2)-N(3)-C(15)	117.37(11)
C(26)-N(4)-C(25)	122.90(11)
C(26)-N(4)-H(1N)	118.4(11)
C(25)-N(4)-H(1N)	118.7(10)
C(26)-N(5)-H(3N)	116.1(10)
C(26)-N(5)-H(2N)	118.0(10)

H(3N)-N(5)-H(2N)	117.6(14)
O(1)-C(1)-N(2)	121.24(12)
O(1)-C(1)-N(1)	121.00(12)
N(2)-C(1)-N(1)	117.73(10)
N(3)-C(2)-N(2)	118.03(12)
N(3)-C(2)-C(3)	127.18(11)
N(2)-C(2)-C(3)	114.78(11)
C(4)-C(3)-C(2)	122.70(11)
C(4)-C(3)-H(3)	118.7
C(2)-C(3)-H(3)	118.7
C(3)-C(4)-N(1)	119.19(12)
C(3)-C(4)-C(5)	123.14(11)
N(1)-C(4)-C(5)	117.61(11)
C(6)-C(5)-C(9)	119.51(12)
C(6)-C(5)-C(4)	120.45(11)
C(9)-C(5)-C(4)	120.04(11)
C(5)-C(6)-C(12)	119.59(11)
C(5)-C(6)-C(7)	118.11(12)
C(12)-C(6)-C(7)	122.29(12)
C(6)-C(7)-C(8)	111.05(11)
C(6)-C(7)-H(7A)	109.4
C(8)-C(7)-H(7A)	109.4
C(6)-C(7)-H(7B)	109.4
C(8)-C(7)-H(7B)	109.4
H(7A)-C(7)-H(7B)	108.0
N(1)-C(8)-C(7)	110.91(10)
N(1)-C(8)-H(8A)	109.5
C(7)-C(8)-H(8A)	109.5
N(1)-C(8)-H(8B)	109.5
C(7)-C(8)-H(8B)	109.5
H(8A)-C(8)-H(8B)	108.0
C(10)-C(9)-C(5)	120.58(12)
C(10)-C(9)-H(9)	119.7
C(5)-C(9)-H(9)	119.7
O(2)-C(10)-C(9)	124.53(12)
O(2)-C(10)-C(11)	115.61(12)
C(9)-C(10)-C(11)	119.83(11)
O(3)-C(11)-C(12)	125.46(12)

O(3)-C(11)-C(10)	115.06(11)
C(12)-C(11)-C(10)	119.48(12)
C(11)-C(12)-C(6)	120.80(12)
C(11)-C(12)-H(12)	119.6
C(6)-C(12)-H(12)	119.6
O(2)-C(13)-H(13A)	109.5
O(2)-C(13)-H(13B)	109.5
H(13A)-C(13)-H(13B)	109.5
O(2)-C(13)-H(13C)	109.5
H(13A)-C(13)-H(13C)	109.5
H(13B)-C(13)-H(13C)	109.5
O(3)-C(14)-H(14A)	109.5
O(3)-C(14)-H(14B)	109.5
H(14A)-C(14)-H(14B)	109.5
O(3)-C(14)-H(14C)	109.5
H(14A)-C(14)-H(14C)	109.5
H(14B)-C(14)-H(14C)	109.5
C(20)-C(15)-C(16)	120.45(11)
C(20)-C(15)-N(3)	119.62(11)
C(16)-C(15)-N(3)	119.56(12)
C(17)-C(16)-C(15)	118.75(12)
C(17)-C(16)-C(21)	121.09(12)
C(15)-C(16)-C(21)	120.15(11)
C(16)-C(17)-C(18)	122.27(12)
C(16)-C(17)-H(17)	118.9
C(18)-C(17)-H(17)	118.9
C(19)-C(18)-C(17)	117.49(12)
C(19)-C(18)-C(22)	120.62(13)
C(17)-C(18)-C(22)	121.87(12)
C(20)-C(19)-C(18)	122.35(13)
C(20)-C(19)-H(19)	118.8
C(18)-C(19)-H(19)	118.8
C(19)-C(20)-C(15)	118.69(12)
C(19)-C(20)-C(23)	119.92(12)
C(15)-C(20)-C(23)	121.26(11)
C(16)-C(21)-H(21A)	109.5
C(16)-C(21)-H(21B)	109.5
H(21A)-C(21)-H(21B)	109.5

C(16)-C(21)-H(21C)	109.5
H(21A)-C(21)-H(21C)	109.5
H(21B)-C(21)-H(21C)	109.5
C(18)-C(22)-H(22A)	109.5
C(18)-C(22)-H(22B)	109.5
H(22A)-C(22)-H(22B)	109.5
C(18)-C(22)-H(22C)	109.5
H(22A)-C(22)-H(22C)	109.5
H(22B)-C(22)-H(22C)	109.5
C(20)-C(23)-H(23A)	109.5
C(20)-C(23)-H(23B)	109.5
H(23A)-C(23)-H(23B)	109.5
C(20)-C(23)-H(23C)	109.5
H(23A)-C(23)-H(23C)	109.5
H(23B)-C(23)-H(23C)	109.5
N(2)-C(24)-C(25)	110.92(11)
N(2)-C(24)-H(24A)	109.5
C(25)-C(24)-H(24A)	109.5
N(2)-C(24)-H(24B)	109.5
C(25)-C(24)-H(24B)	109.5
H(24A)-C(24)-H(24B)	108.0
N(4)-C(25)-C(24)	111.97(11)
N(4)-C(25)-H(25A)	109.2
C(24)-C(25)-H(25A)	109.2
N(4)-C(25)-H(25B)	109.2
C(24)-C(25)-H(25B)	109.2
H(25A)-C(25)-H(25B)	107.9
O(4)-C(26)-N(5)	122.27(13)
O(4)-C(26)-N(4)	122.15(13)
N(5)-C(26)-N(4)	115.55(12)

Tabell 13. Anisotrope forskyvningsparametere ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) for onyx2010a. Den anisotrope forskyvningsfaktoreksponenten har formen: $-2\pi^2 [h^2 a^{*2} U^{11} + \dots + 2 h k a^* b^* U^{12}]$

	U11	U22	U33	U23	U13	U12
O(1)	19(1)	20(1)	24(1)	-1(1)	6(1)	4(1)
O(2)	16(1)	20(1)	28(1)	-4(1)	4(1)	3(1)
O(3)	16(1)	16(1)	32(1)	-1(1)	2(1)	-2(1)
O(4)	23(1)	20(1)	30(1)	1(1)	8(1)	7(1)
N(1)	15(1)	14(1)	19(1)	-1(1)	2(1)	2(1)
N(2)	14(1)	14(1)	19(1)	1(1)	4(1)	0(1)
N(3)	17(1)	16(1)	19(1)	-1(1)	1(1)	1(1)
N(4)	20(1)	16(1)	28(1)	3(1)	10(1)	3(1)
N(5)	20(1)	15(1)	28(1)	3(1)	6(1)	2(1)
C(1)	16(1)	16(1)	17(1)	2(1)	0(1)	3(1)
C(2)	16(1)	16(1)	16(1)	2(1)	0(1)	3(1)
C(3)	15(1)	16(1)	19(1)	0(1)	3(1)	2(1)
C(4)	14(1)	16(1)	16(1)	3(1)	1(1)	3(1)
C(5)	15(1)	15(1)	14(1)	1(1)	-1(1)	1(1)
C(6)	16(1)	15(1)	17(1)	1(1)	0(1)	2(1)
C(7)	19(1)	14(1)	27(1)	-1(1)	1(1)	2(1)
C(8)	19(1)	14(1)	25(1)	-4(1)	3(1)	1(1)
C(9)	18(1)	14(1)	19(1)	0(1)	1(1)	1(1)
C(10)	17(1)	19(1)	16(1)	2(1)	1(1)	5(1)
C(11)	14(1)	18(1)	19(1)	3(1)	-1(1)	-1(1)
C(12)	20(1)	13(1)	20(1)	0(1)	0(1)	0(1)
C(13)	24(1)	24(1)	32(1)	-6(1)	4(1)	6(1)
C(14)	22(1)	17(1)	39(1)	-1(1)	7(1)	-5(1)
C(15)	16(1)	12(1)	21(1)	0(1)	3(1)	-2(1)
C(16)	23(1)	16(1)	21(1)	2(1)	1(1)	1(1)
C(17)	31(1)	21(1)	17(1)	0(1)	3(1)	3(1)
C(18)	26(1)	19(1)	24(1)	2(1)	8(1)	4(1)
C(19)	20(1)	20(1)	26(1)	3(1)	0(1)	3(1)
C(20)	20(1)	14(1)	21(1)	0(1)	0(1)	-1(1)
C(21)	37(1)	34(1)	22(1)	-3(1)	-7(1)	11(1)
C(22)	38(1)	38(1)	30(1)	-2(1)	7(1)	16(1)
C(23)	33(1)	34(1)	23(1)	-4(1)	-7(1)	13(1)
C(24)	13(1)	16(1)	23(1)	1(1)	3(1)	0(1)
C(25)	17(1)	18(1)	24(1)	3(1)	3(1)	0(1)
C(26)	20(1)	17(1)	15(1)	1(1)	1(1)	2(1)

Tabell 14. Hydrogenkoordinater ($\times 10^4$) og isotrope forskyvningsparametere ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) for onyx2010a.

	x	y	z	U(eq)
H(3)	-1508	9983	3166	20
H(7A)	-2003	5309	1609	24
H(7B)	-974	5932	2570	24
H(8A)	552	6554	1154	24
H(8B)	-1053	6906	610	24
H(9)	-4000	9189	3022	20
H(12)	-4863	5137	2202	21
H(13A)	-5908	9037	4528	40
H(13B)	-7771	9279	4352	40
H(13C)	-6305	9845	3621	40
H(14A)	-7656	4481	1925	40
H(14B)	-9101	4366	2750	40
H(14C)	-7224	4300	3085	40
H(17)	-542	13440	5379	28
H(19)	-3315	13270	2832	26
H(21A)	1975	12671	5434	46
H(21B)	2798	12366	4385	46
H(21C)	1596	11352	4961	46
H(22A)	-4074	13725	5103	51
H(22B)	-3849	14592	4168	51
H(22C)	-2599	14843	5117	51
H(23A)	-2496	12476	1324	44
H(23B)	-1945	11221	1508	44
H(23C)	-577	12334	1225	44
H(24A)	4208	10135	1350	21
H(24B)	3754	11257	1972	21
H(25A)	2653	10595	-60	24
H(25B)	2114	11687	560	24
H(1N)	5292(18)	11670(13)	-118(11)	31(4)
H(3N)	6273(19)	14542(14)	-193(11)	31(4)
H(2N)	6881(19)	13378(14)	-400(12)	36(5)

Tabell 15. Vridningsvinkler [°] for onyx2010a.

C(2)-N(2)-C(1)-O(1)	177.74(12)
C(24)-N(2)-C(1)-O(1)	2.58(17)
C(2)-N(2)-C(1)-N(1)	-0.33(17)
C(24)-N(2)-C(1)-N(1)	-175.49(11)
C(4)-N(1)-C(1)-O(1)	-176.36(11)
C(8)-N(1)-C(1)-O(1)	-1.08(18)
C(4)-N(1)-C(1)-N(2)	1.72(17)
C(8)-N(1)-C(1)-N(2)	177.00(11)
C(15)-N(3)-C(2)-N(2)	170.96(11)
C(15)-N(3)-C(2)-C(3)	-7.54(19)
C(1)-N(2)-C(2)-N(3)	-177.51(12)
C(24)-N(2)-C(2)-N(3)	-2.40(17)
C(1)-N(2)-C(2)-C(3)	1.18(17)
C(24)-N(2)-C(2)-C(3)	176.30(11)
N(3)-C(2)-C(3)-C(4)	174.92(13)
N(2)-C(2)-C(3)-C(4)	-3.63(18)
C(2)-C(3)-C(4)-N(1)	5.10(19)
C(2)-C(3)-C(4)-C(5)	-172.25(12)
C(1)-N(1)-C(4)-C(3)	-4.08(18)
C(8)-N(1)-C(4)-C(3)	-179.16(12)
C(1)-N(1)-C(4)-C(5)	173.41(11)
C(8)-N(1)-C(4)-C(5)	-1.67(17)
C(3)-C(4)-C(5)-C(6)	-166.10(12)
N(1)-C(4)-C(5)-C(6)	16.51(17)
C(3)-C(4)-C(5)-C(9)	14.28(19)
N(1)-C(4)-C(5)-C(9)	-163.11(11)
C(9)-C(5)-C(6)-C(12)	3.69(18)
C(4)-C(5)-C(6)-C(12)	-175.93(11)
C(9)-C(5)-C(6)-C(7)	-174.98(11)
C(4)-C(5)-C(6)-C(7)	5.40(18)
C(5)-C(6)-C(7)-C(8)	-39.51(16)

C(12)-C(6)-C(7)-C(8)	141.86(13)
C(1)-N(1)-C(8)-C(7)	152.41(11)
C(4)-N(1)-C(8)-C(7)	-32.29(16)
C(6)-C(7)-C(8)-N(1)	51.19(15)
C(6)-C(5)-C(9)-C(10)	-1.21(19)
C(4)-C(5)-C(9)-C(10)	178.41(12)
C(13)-O(2)-C(10)-C(9)	-26.55(18)
C(13)-O(2)-C(10)-C(11)	155.32(12)
C(5)-C(9)-C(10)-O(2)	178.92(11)
C(5)-C(9)-C(10)-C(11)	-3.02(19)
C(14)-O(3)-C(11)-C(12)	7.02(18)
C(14)-O(3)-C(11)-C(10)	-173.21(11)
O(2)-C(10)-C(11)-O(3)	3.21(16)
C(9)-C(10)-C(11)-O(3)	-175.02(11)
O(2)-C(10)-C(11)-C(12)	-177.01(11)
C(9)-C(10)-C(11)-C(12)	4.76(19)
O(3)-C(11)-C(12)-C(6)	177.47(12)
C(10)-C(11)-C(12)-C(6)	-2.28(19)
C(5)-C(6)-C(12)-C(11)	-1.94(19)
C(7)-C(6)-C(12)-C(11)	176.67(12)
C(2)-N(3)-C(15)-C(20)	-72.70(16)
C(2)-N(3)-C(15)-C(16)	114.22(14)
C(20)-C(15)-C(16)-C(17)	-0.3(2)
N(3)-C(15)-C(16)-C(17)	172.76(12)
C(20)-C(15)-C(16)-C(21)	-178.86(13)
N(3)-C(15)-C(16)-C(21)	-5.84(19)
C(15)-C(16)-C(17)-C(18)	0.7(2)
C(21)-C(16)-C(17)-C(18)	179.27(14)
C(16)-C(17)-C(18)-C(19)	-0.5(2)
C(16)-C(17)-C(18)-C(22)	-179.15(14)
C(17)-C(18)-C(19)-C(20)	-0.2(2)
C(22)-C(18)-C(19)-C(20)	178.52(14)
C(18)-C(19)-C(20)-C(15)	0.6(2)
C(18)-C(19)-C(20)-C(23)	-175.26(14)
C(16)-C(15)-C(20)-C(19)	-0.4(2)
N(3)-C(15)-C(20)-C(19)	-173.37(12)
C(16)-C(15)-C(20)-C(23)	175.44(13)
N(3)-C(15)-C(20)-C(23)	2.4(2)

C(1)-N(2)-C(24)-C(25)	85.94(13)
C(2)-N(2)-C(24)-C(25)	-89.49(13)
C(26)-N(4)-C(25)-C(24)	-105.34(14)
N(2)-C(24)-C(25)-N(4)	177.45(10)
C(25)-N(4)-C(26)-O(4)	-5.4(2)
C(25)-N(4)-C(26)-N(5)	173.13(12)

- Med mindre annet er definert har alle tekniske og vitenskapelige begrep anvendt i
5 dette dokumentet den vanlige betydningen kjent for en med ferdigheter innen
teknikken.

P a t e n t k r a v

1. Krystallinsk polymorf (I) av N-{2-[(2E)-2-(mesitylimino)-9,10-dimetoksy-4-okso-6,7-dihydro-2H-pyrimido[6,1-a]-isokinolin-3(4H)-yl]etyl}urea som har et
 5 pulverrøntgendiffraksjonsmønster som omfatter karakteristiske topper, i form av 2θ , ved $10,1^\circ$ og $12,9^\circ$.

2. Polymorfen ifølge krav 1, der pulverrøntgendiffraksjonsmønsteret videre omfatter karakteristiske topper, i form av 2θ , ved $15,3^\circ$ og $17,6^\circ$.

10

3. Polymorfen ifølge krav 1, der pulverrøntgendiffraksjonsmønsteret omfatter minst fem karakteristiske topper, i form av 2θ , valgt fra $6,4^\circ$, $10,1^\circ$, $12,6^\circ$, $12,9^\circ$, $13,6^\circ$, $14,2^\circ$, $14,7^\circ$, $15,3^\circ$, $15,4^\circ$, $15,8^\circ$, $17,0^\circ$, $17,6^\circ$, $18,9^\circ$, $20,9^\circ$, $22,4^\circ$, $22,8^\circ$ og $28,7^\circ$.

15

4. Den krystallinske polymorfen (I) ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 3 som har de følgende strukturelle parameterne oppnådd ved enkeltkrystallanalyse:

Bølgelengde	0,71073 Å
20 Krystallsystem	Triklinisk
Avstandsgruppe	P-I
Enhetscelledimensjoner	
a = 8,1246(4) Å	$\alpha = 91,583(4)^\circ$.
b = 11,4573(5) Å	$\beta = 90,299(4)^\circ$.
25 c = 13,2398(6) Å	$\gamma = 99,628(4)^\circ$.
Volum	1214,56(10) Å ³ .
Z	2

5. Polymorfen ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 4 som har et
 30 differensialskanningskalorimetrispor som viser et maksimum ved 248°C .

6. En fast sammensetning som omfatter polymorfen ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 4, der minst 50 vekt-% total N-{2-[(2E)-2-(mesitylimino)-9,10-dimetoksy-4-okso-6,7-dihydro-2H-pyrimido[6,1-a]-isokinolin-3(4H)-yl]etyl}urea i
 35 sammensetningen er til stede som polymorfen.

7. Sammensetningen ifølge krav 6, der minst 70 vekt-% total N-{2-

[(2E)-2-(mesitylimino)-9,10-dimetoksy-4-okso-6,7-dihydro-2H-pyrimido[6,1-a]isokinolin-3(4H)-yl]etyl}urea i sammensetningen er til stede som polymorfen.

8. Sammensetningen ifølge krav 6, der minst 90 vekt-% total N-{2-
5 [(2E)-2-(mesitylimino)-9,10-dimetoksy-4-okso-6,7-dihydro-2H-pyrimido[6,1-a]isokinolin-3(4H)-yl]etyl}urea i sammensetningen er til stede som polymorfen.

9. Sammensetningen ifølge krav 6, der minst 97 vekt-% total N-{2-
10 [(2E)-2-(mesitylimino)-9,10-dimetoksy-4-okso-6,7-dihydro-2H-pyrimido[6,1-a]isokinolin-3(4H)-yl]etyl}urea i sammensetningen er til stede som polymorfen.

10. Fast sammensetning som omfatter polymorfen ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 4 og en farmasøytisk akseptabel bærer.

15 11. Fast sammensetning som omfatter polymorfen ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 4, og et kjent terapeutikum som anvendes til å behandle astma, allergisk astma, høysnue, allergisk rhinitt, bronkitt, kronisk obstruktiv lungesykdom (KOLS), lungesviktsyndrom (ARDS), cystisk fibrose, hudsykdommer, atopisk dermatitt, psoriasis, okulær inflammasjon, cerebral iskemi, eller auto-immune sykdommer.

20 12. Den faste sammensetningen ifølge krav 11, der terapeutikumet anvendes til å behandle astma eller KOLS.

25 13. En krystallinsk polymorf som definert i et hvilket som helst av kravene 1 til 5 for anvendelse i behandling av astma, allergisk astma, høysnue, allergisk rhinitt, bronkitt, kronisk obstruktiv lungesykdom (KOLS), lungesviktsyndrom (ARDS), cystisk fibrose, hudsykdommer, atopisk dermatitt, psoriasis, okulær inflammasjon, cerebral iskemi eller auto-immune sykdommer, i et pattedyr med behov for dette.

30 14. Den krystallinske polymorfen for anvendelse ifølge krav 13, der pattedyret er et menneske.

35 15. Forbindelse N-{2-[(2E)-2-(mesitylimino)-9,10-dimetoksy-4-okso-6,7-dihydro-2H-pyrimido[6,1-a]isokinolin-3(4H)-yl]etyl}urea, i form av et krystallinsk faststoff som består av mer enn 99 vekt-% N-{2-[(2E)-2-(mesitylimino)-9,10-dimetoksy-4-okso-6,7-dihydro-2H-pyrimido[6,1-a]isokinolin-3(4H)-yl]etyl}urea, med

minst 95 % i den polymorfe formen av den krystallinske polymorfen ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 4.

1/12

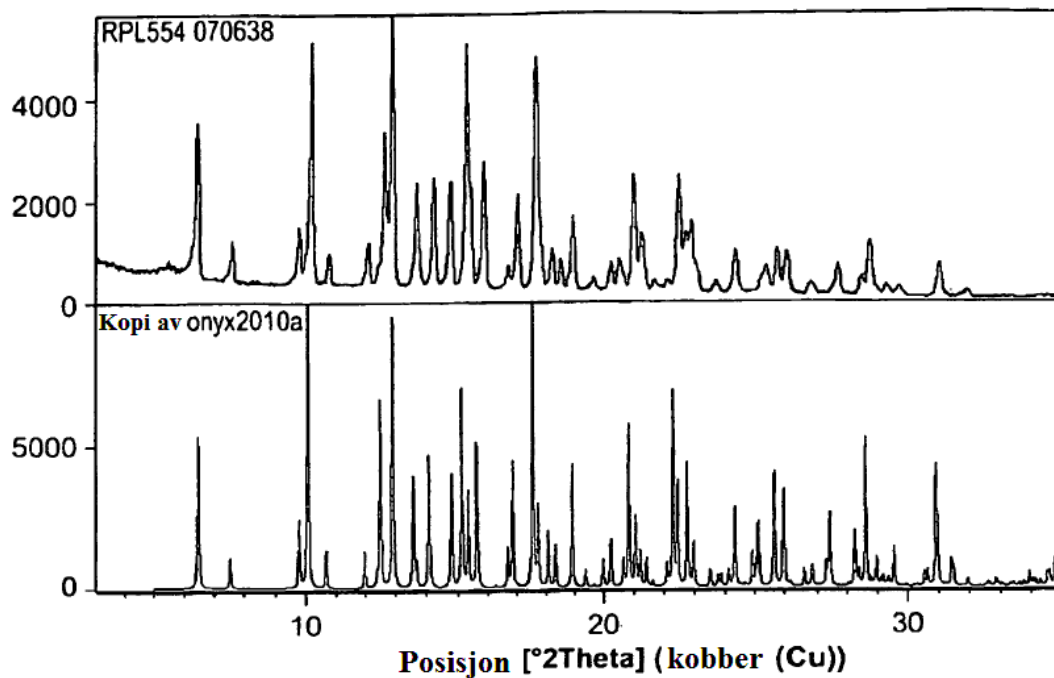


FIG. 1

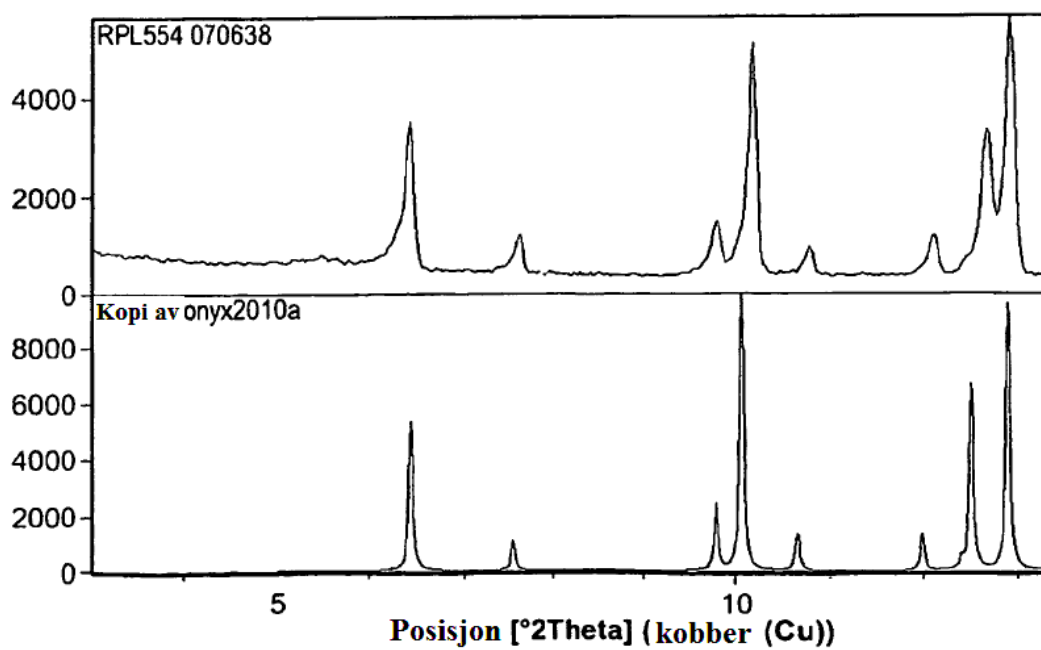


FIG. 2

2/12

Tellinger

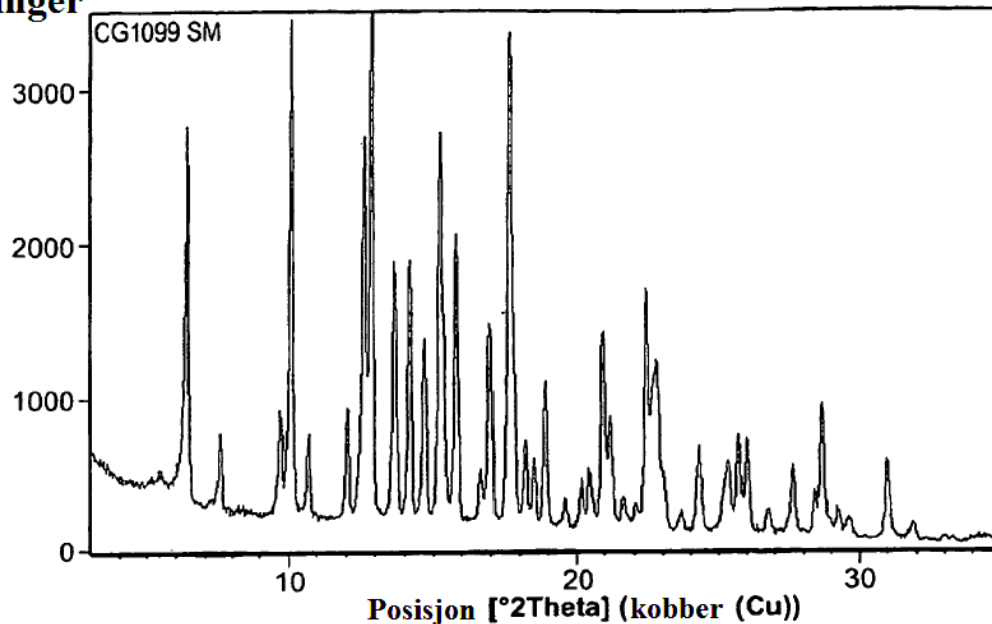


FIG. 3

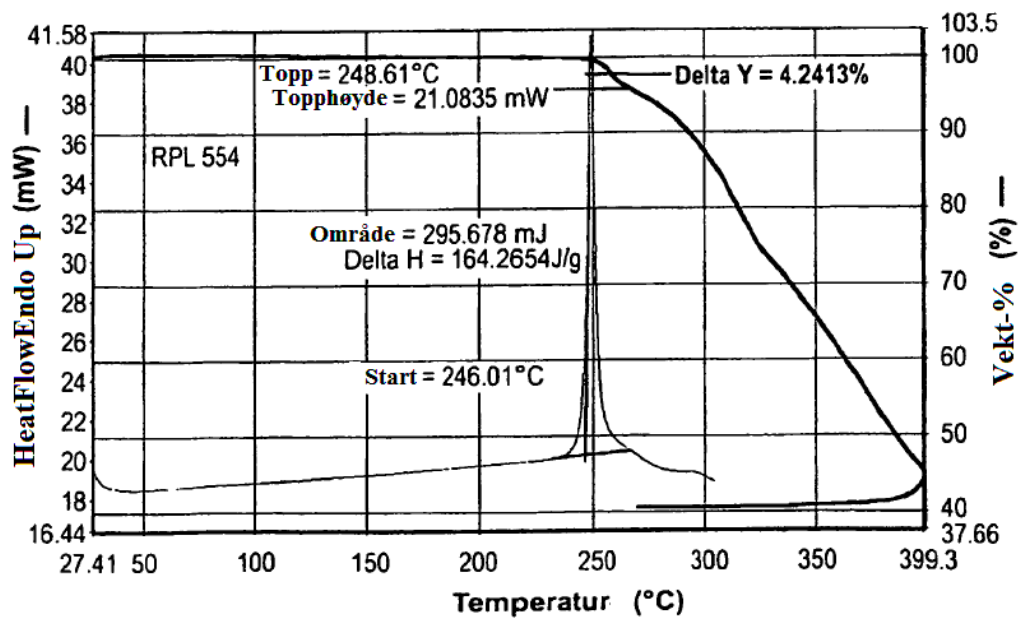


FIG. 4

3/12

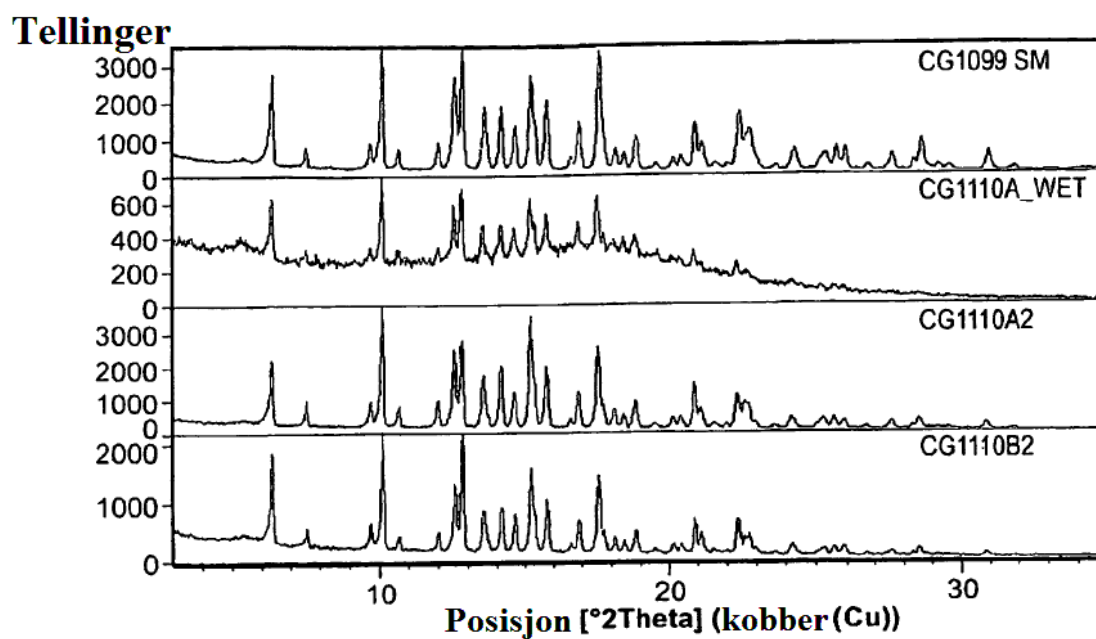


FIG. 5

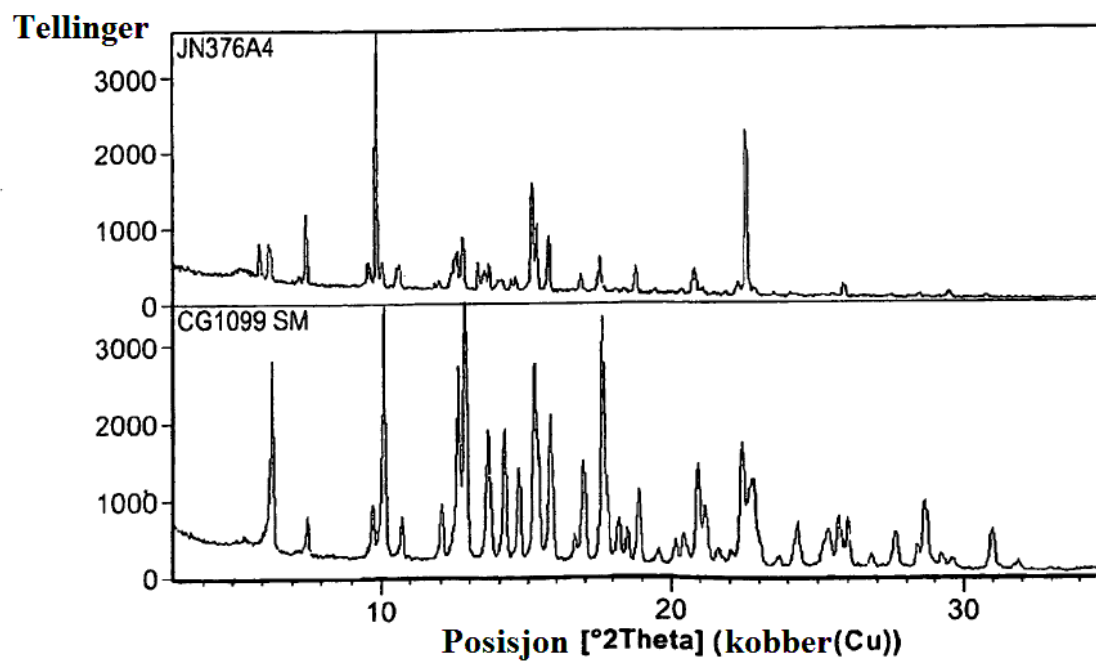


FIG. 6

4/12

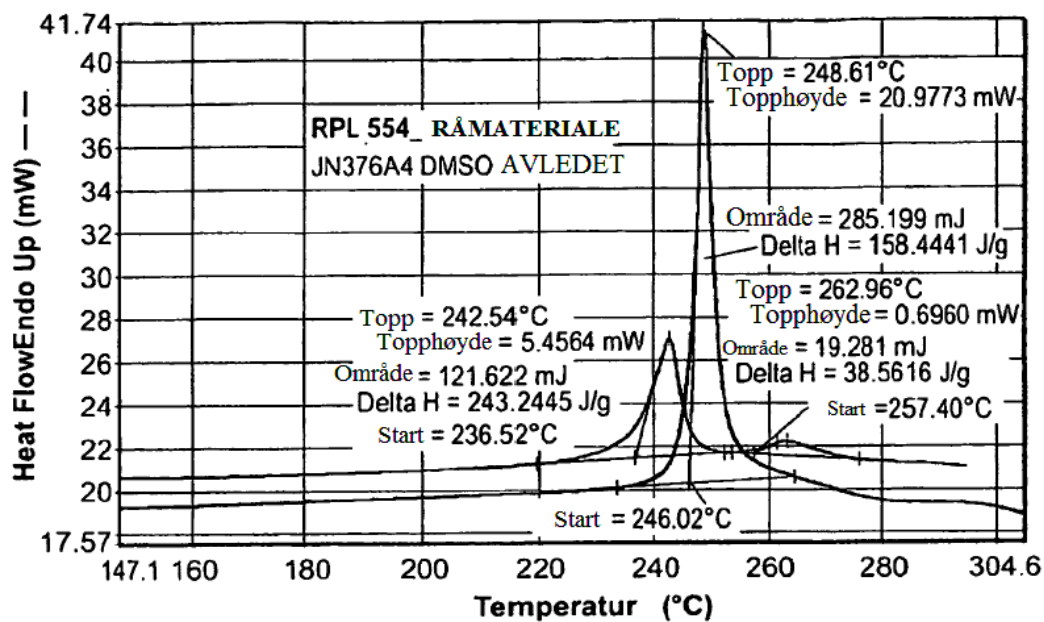


FIG. 7

Tellingner

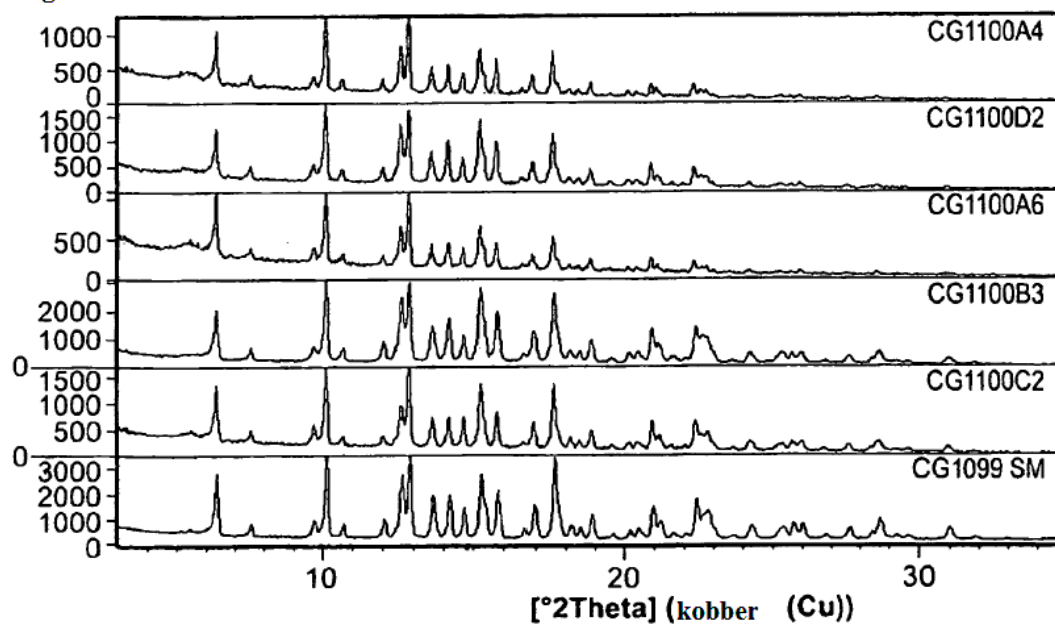
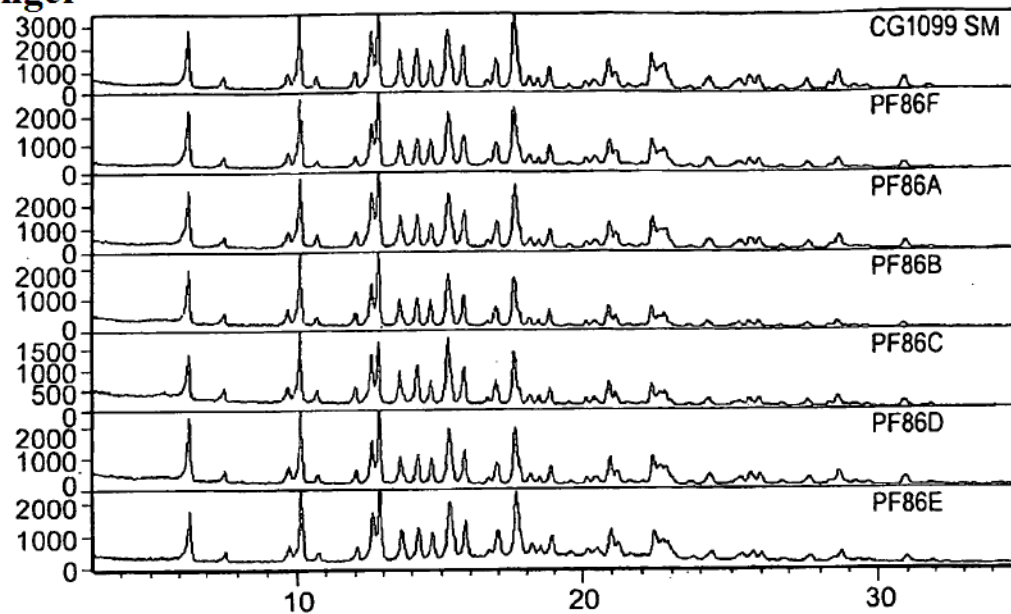
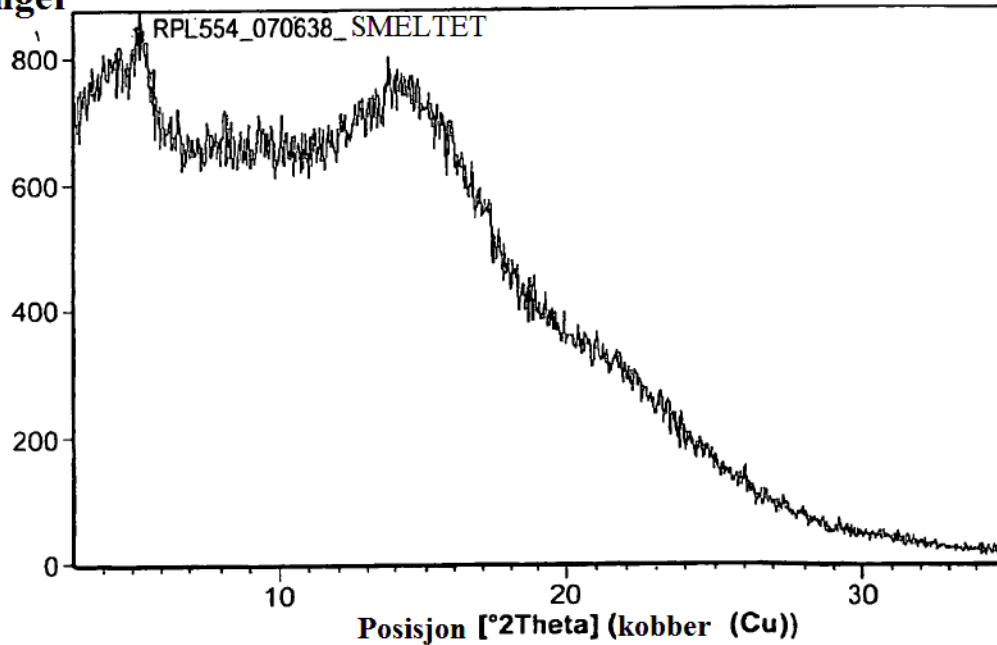


FIG. 8

5/12

Telling**FIG. 9****Telling****FIG. 10**

6/12

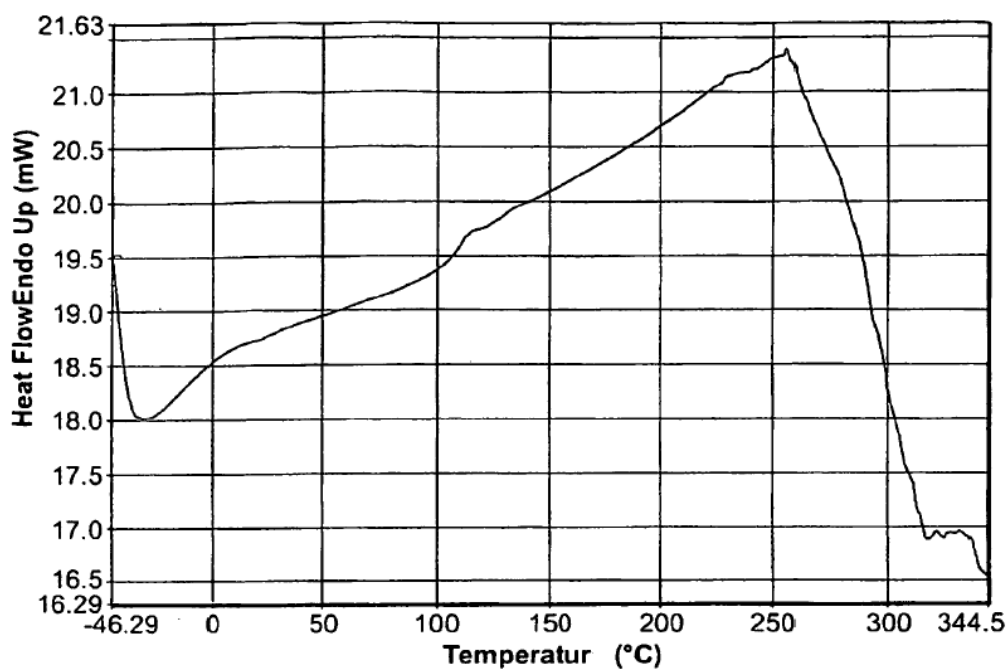


FIG. 11

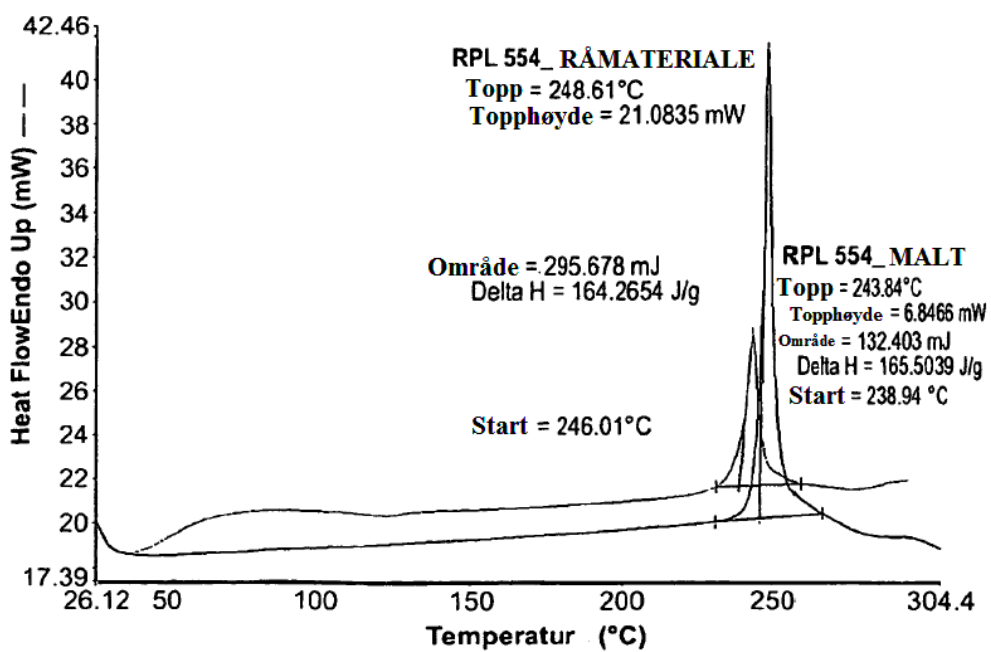


FIG. 12

Tellinger

7/12

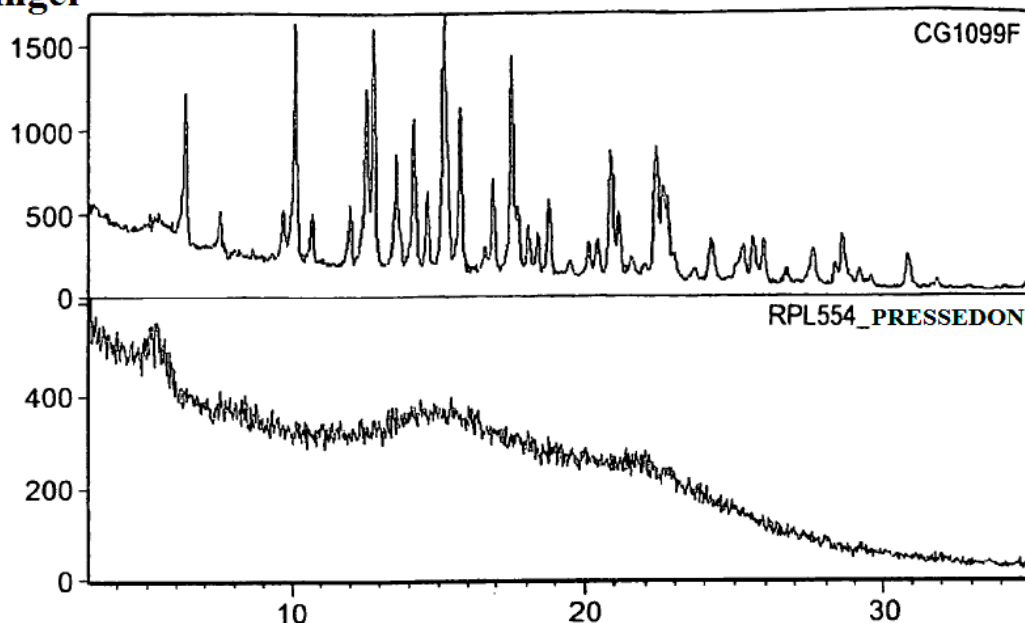


FIG. 13

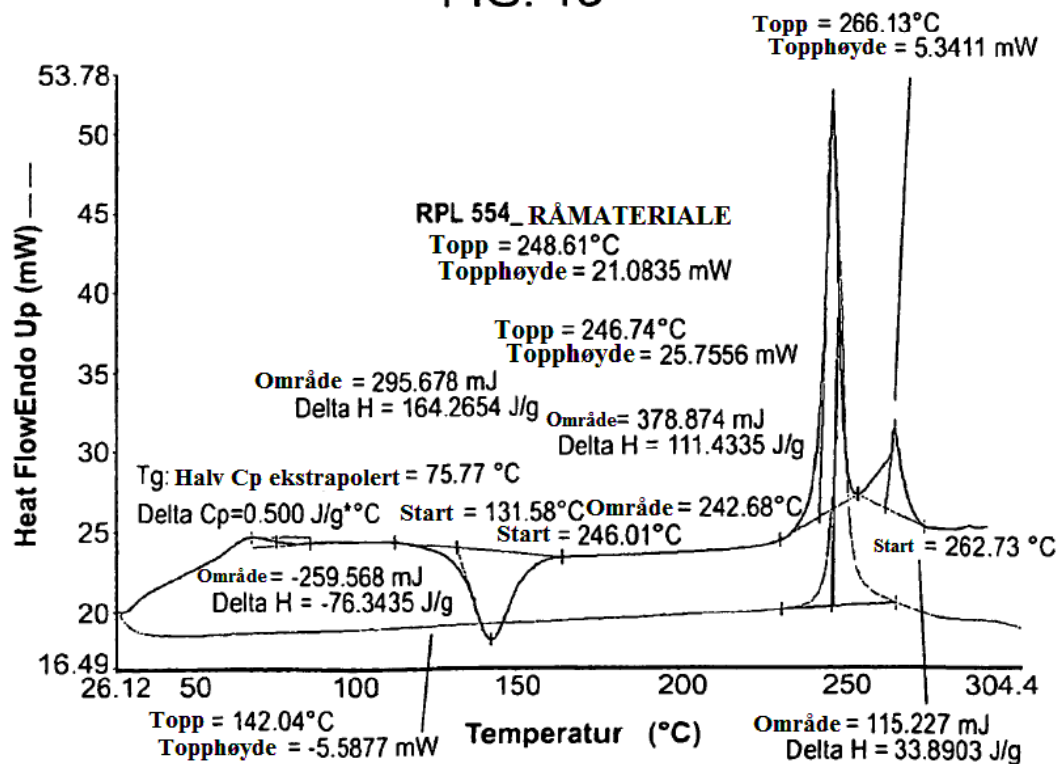


FIG. 14

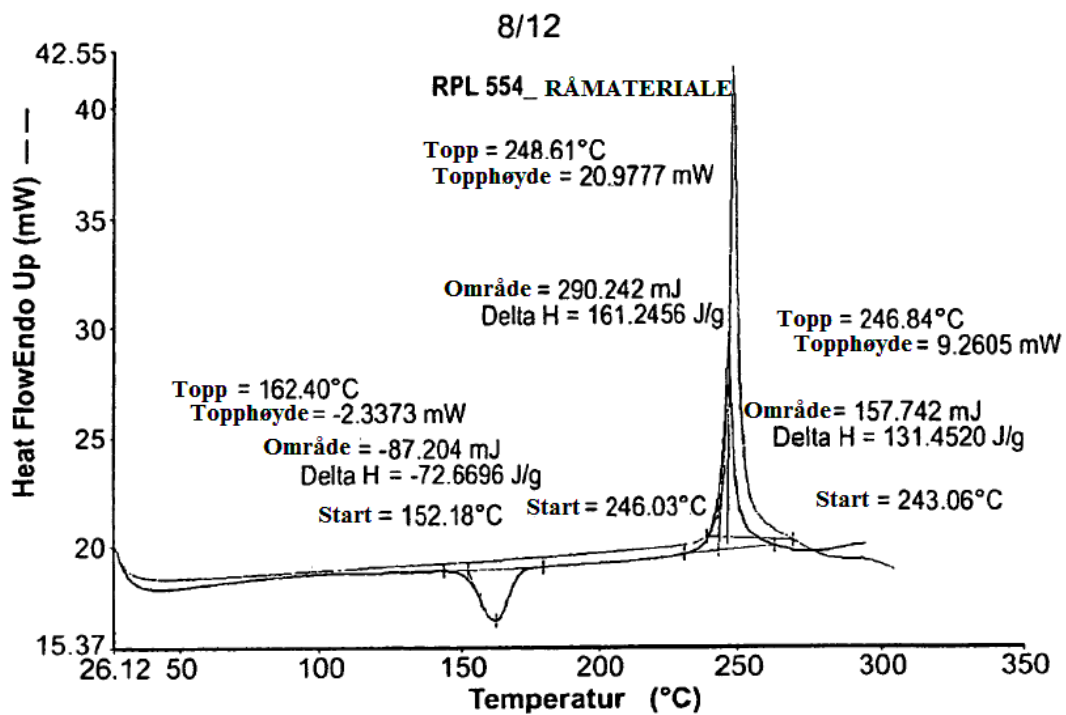


FIG. 15

Tellinger

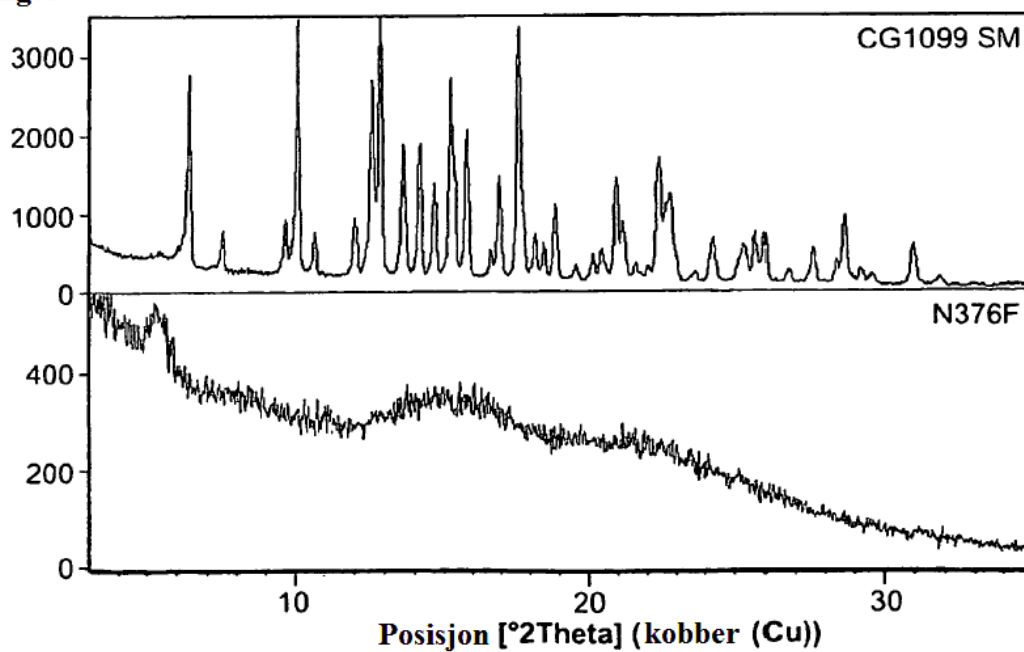


FIG. 16

9/12

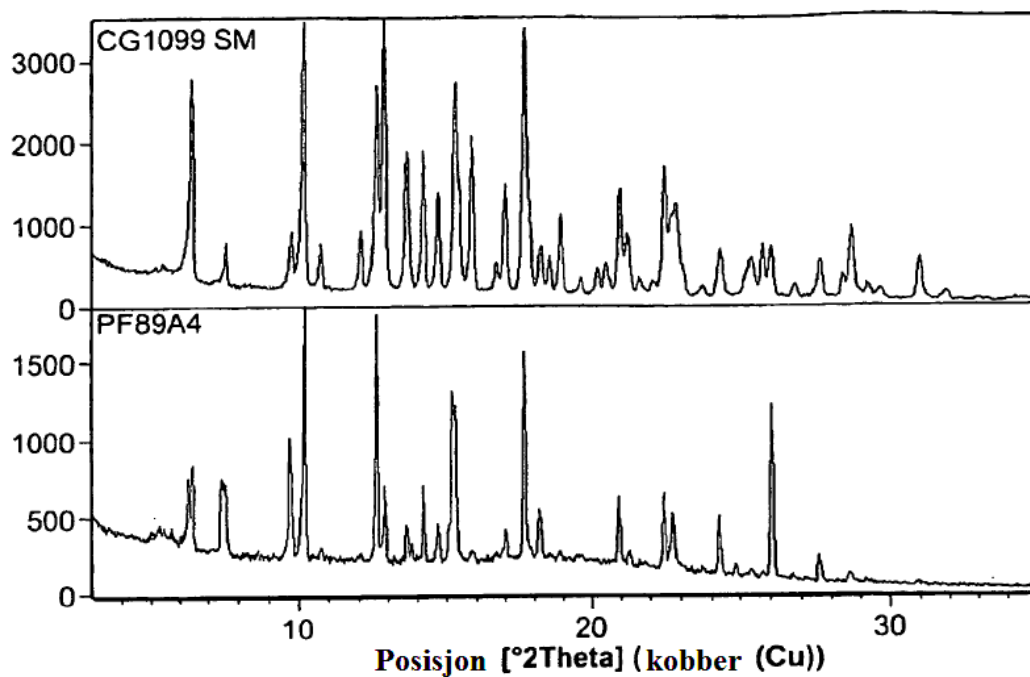


FIG. 17

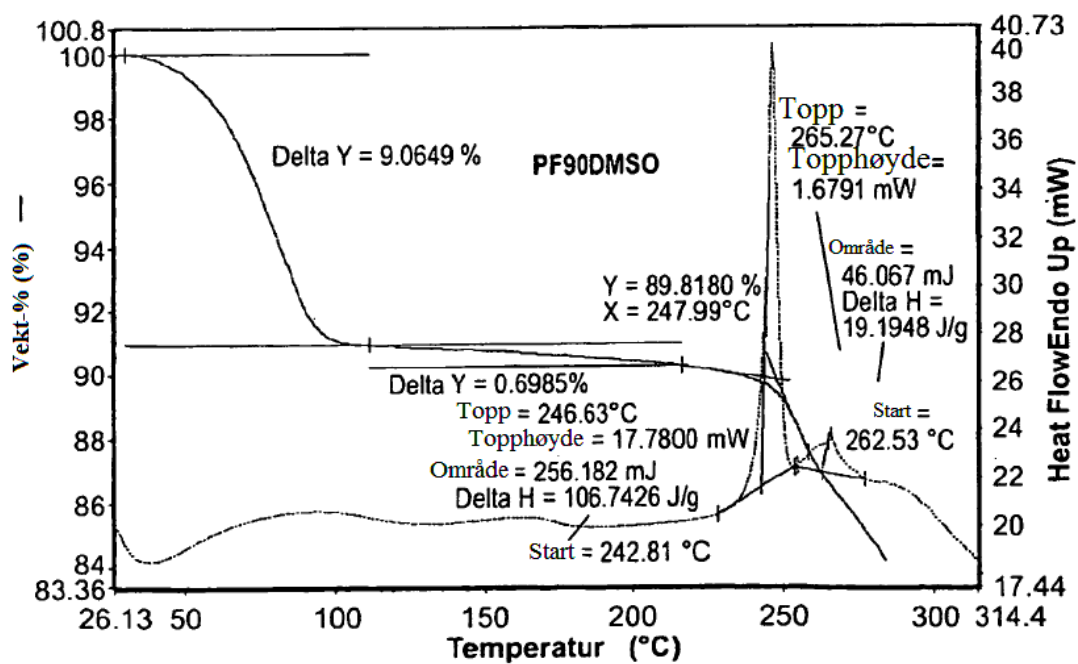


FIG. 18

10/12

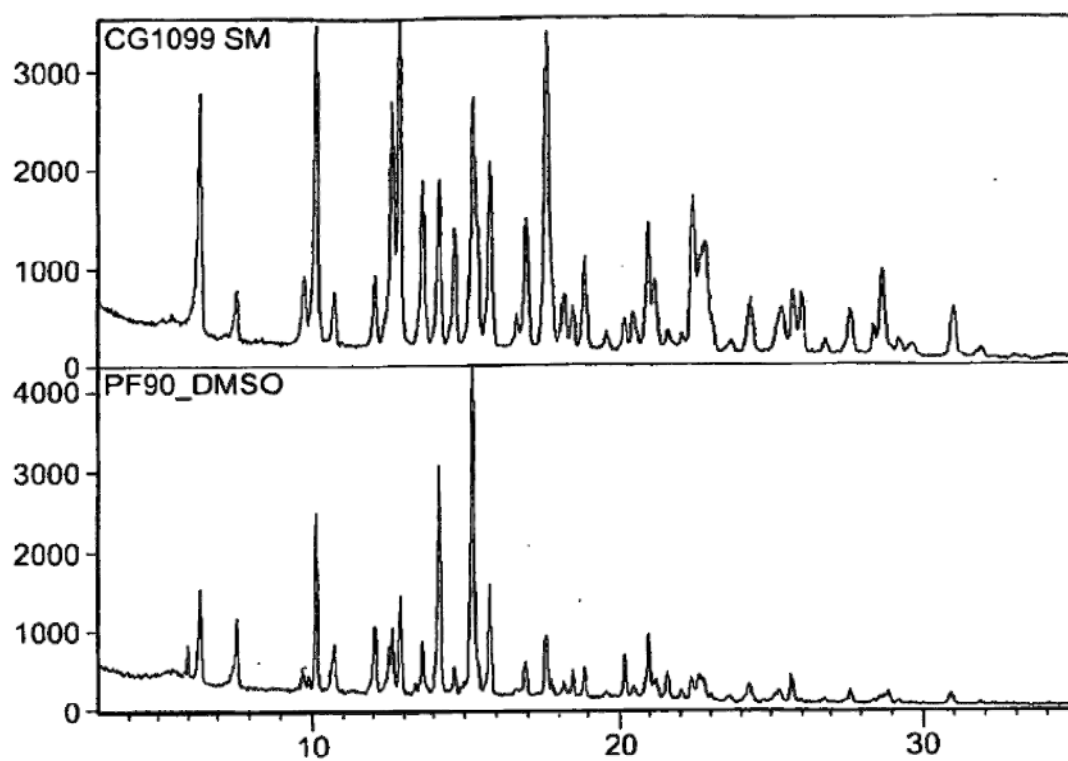


FIG. 19

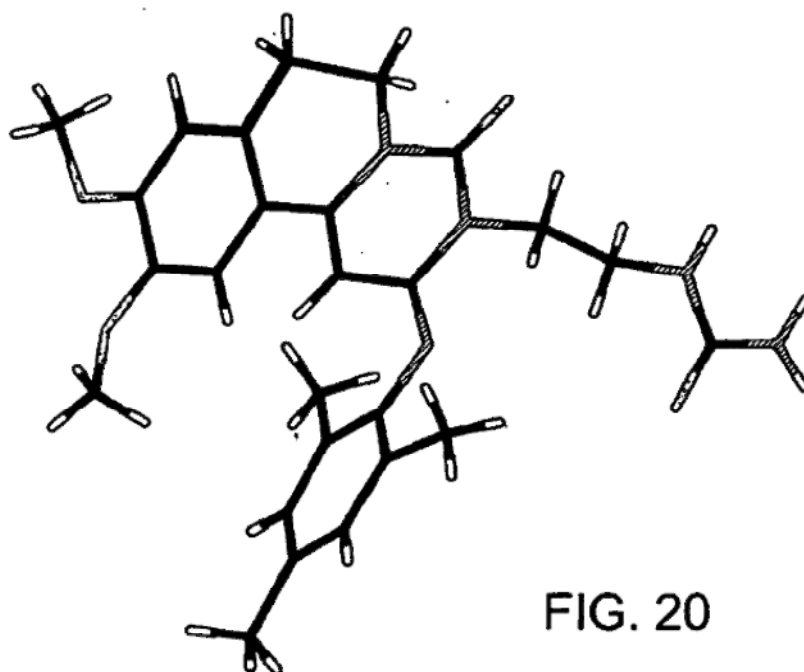


FIG. 20

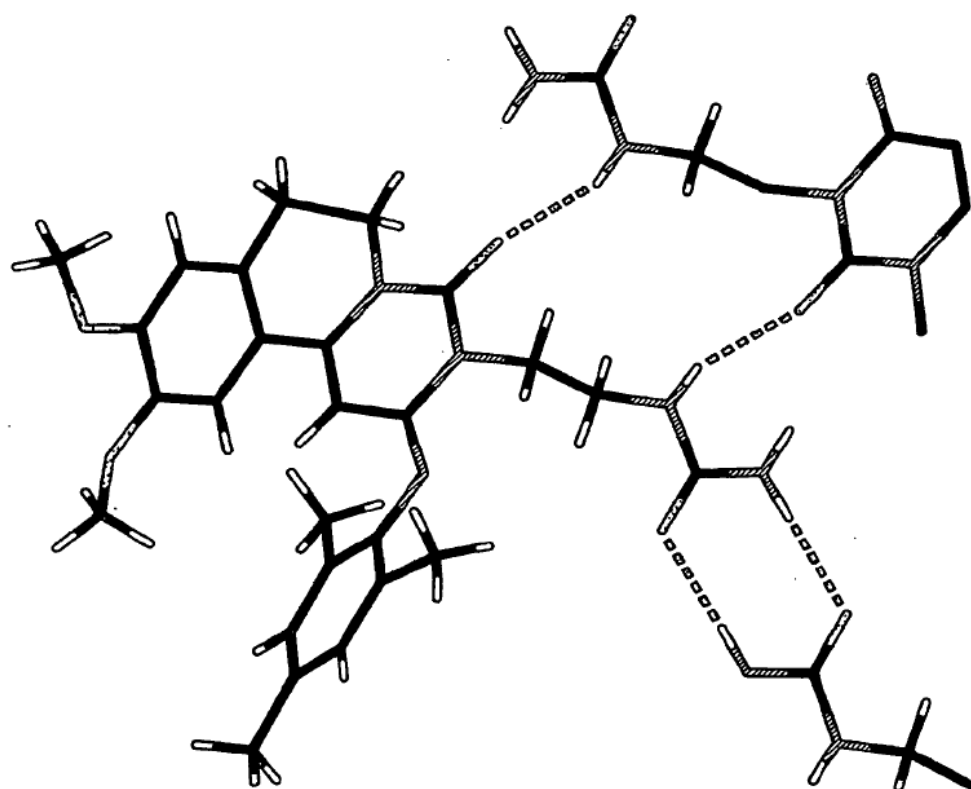


FIG. 21

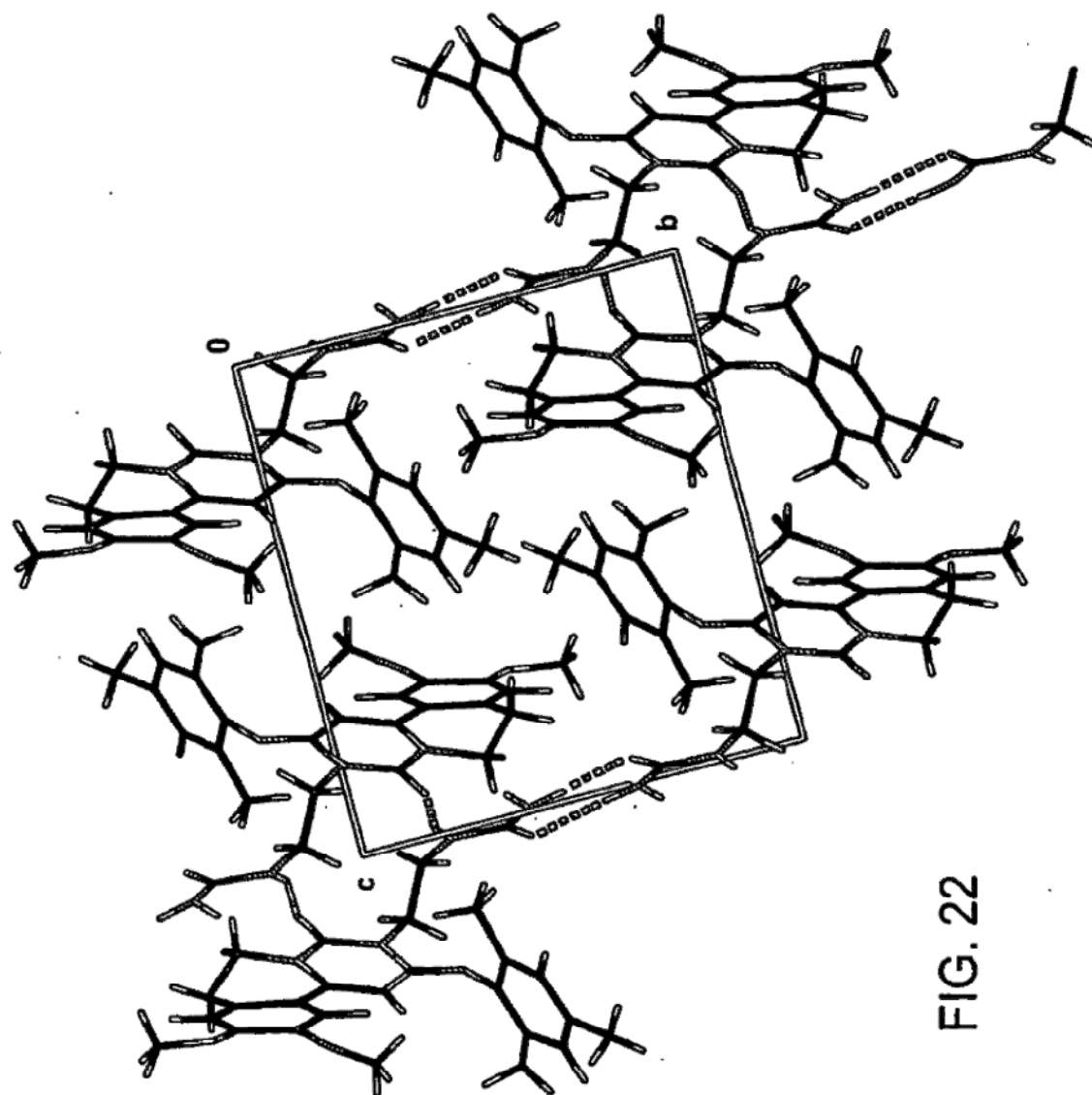


FIG. 22