

ROYAUME DU MAROC  
-----  
OFFICE MAROCAIN DE LA PROPRIÉTÉ (19)  
INDUSTRIELLE ET COMMERCIALE  
-----



المملكة المغربية  
-----  
المكتب المغربي  
للملكية الصناعية والتجارية  
-----

## (12) FASCICULE DE BREVET

(11) N° de publication : **MA 32717 B1**  
(51) Cl. internationale : **C07D 413/04; A61K 31/5377;  
A61K 35/00**  
(43) Date de publication : **02.10.2011**

---

(21) N° Dépôt : **33778**  
(22) Date de Dépôt : **15.04.2011**  
(30) Données de Priorité : **17.09.2008 US 61/097,580**  
(86) Données relatives à l'entrée en phase nationale selon le PCT : **PCT/US2009/056918 15.09.2009**  
(71) Demandeur(s) : **NOVARTIS AG, Lichtstrasse 35 CH-4056 Basel (CH)**  
(72) Inventeur(s) : **BAJWA, Joginder Singh ; DE LA CRUZ, Marilyn ; DODD, Stephanie Kay ; WAYKOLE, Liladhar Murlidhar ; WU, Raeann**  
(74) Mandataire : **SABA & CO**

---

(54) Titre : **SELS DE N-[6-CIS- (2,6-DIMETHYLMORPHOLIN-4-YL)PYRIDIN-3-YL]-2-METHYL-4'- (TRIFLUOROMETHOXY)- [1,1'-BIPHENYL]-3-CARBOXAMIDE**  
(57) Abrégé : LA PRÉSENTE INVENTION CONCERNE LA PRÉPARATION ET LA CARACTÉRISATION DE SELS DE N-[6-CIS- (2,6-DIMÉTHYLMORPHOLIN-4-YL) PYRIDIN-3-YL]-2-MÉTHYL-4'- (TRIFLUOROMÉTHOXY)- [1,1'BIPHÉNYL]-3-CARBOXAMIDE

ABRÉGÉ DESCRIPTIF

On prépare et caractérise des sels de N-[6-(cis-2,6-diméthylmorpholin-4-yl)pyridin-3-yl]-2-méthyl-4'-(trifluorométhoxy)[1,1'-biphényl]-3-carboxamide.

(VINGT ET UNE PAGES)

**NOVARTIS AG.**  
**P. P. SABA & CO., Casablanca**



32717

03 OCT 2011<sup>1</sup>

Sels de N-[6-(cis-2,6-diméthylmorpholin-4-yl)pyridin-3-yl]-2-méthyl-4'-(trifluorométhoxy)[1,1'-biphényl]-3-carboxamide

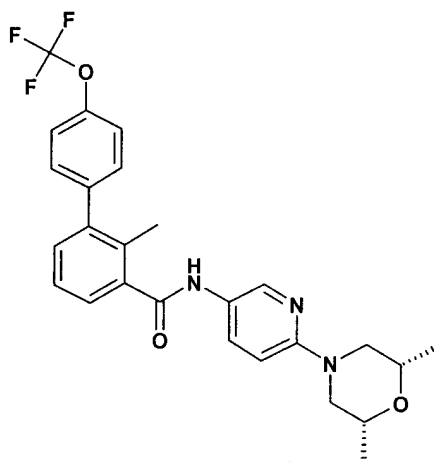
### CONTEXTE DE L'INVENTION

#### Domaine de l'invention

5 **[0001]** La présente invention concerne des sels de N-[6-(cis-2,6-diméthylmorpholin-4-yl)pyridin-3-yl]-2-méthyl-4'-(trifluorométhoxy)[1,1'-biphényl]-3-carboxamide, ainsi que des compositions pharmaceutiques comprenant ces sels, et des procédés de traitement en utilisant ces sels.

#### Technique antérieure associée

10 **[0002]** Le composé N-[6-(cis-2,6-diméthylmorpholin-4-yl)pyridin-3-yl]-2-méthyl-4'-(trifluorométhoxy)[1,1'-biphényl]-3-carboxamide répond à la formule (I) :



(I)

tel que décrit dans le document WO 2007/131201. Des propriétés pharmacologiques intéressantes sont attribuées à ce composé. Ainsi, il peut être utilisé par exemple comme

15 modulateur de l'activité de la voie de signalisation hedgehog utile en thérapie pour des maladies qui réagissent à la modulation de l'activité de la voie de signalisation hedgehog. Le document WO 2007/131201 ne divulgue pas de sels spécifiques hydratés ou solvatés de N-[6-(cis-2,6-diméthylmorpholin-4-yl)pyridin-3-yl]-2-méthyl-4'-(trifluorométhoxy)[1,1'-biphényl]-3-carboxamide.

20 **[0003]** On a découvert que les formes de sel de la présente invention, en plus de bonnes propriétés physico-chimiques, peuvent avoir une perméabilité élevée et une grande biodisponibilité.

## RÉSUMÉ DE L'INVENTION

**[0004]** La présente invention concerne des sels de N-[6-(cis-2,6-diméthylmorpholin-4-yl)pyridin-3-yl]-2-méthyl-4'-(trifluorométhoxy)[1,1'-biphényl]-3-carboxamide. Des modes de réalisation préférés de la présente invention concernent les sels chlorhydrate, diphosphate et sulfate de N-[6-(cis-2,6-diméthylmorpholin-4-yl)pyridin-3-yl]-2-méthyl-4'-(trifluorométhoxy)[1,1'-biphényl]-3-carboxamide.

**[0005]** L'invention concerne en outre des compositions pharmaceutiques comprenant :

(a) une quantité efficace sur le plan thérapeutique d'un sel de l'invention de N-[6-(cis-2,6-diméthylmorpholin-4-yl)pyridin-3-yl]-2-méthyl-4'-(trifluorométhoxy)[1,1'-biphényl]-3-carboxamide ; et

(b) au moins un support, diluant, véhicule ou excipient acceptable sur le plan pharmaceutique.

**[0006]** La présente invention concerne également un procédé de traitement d'une maladie qui réagit à la modulation de l'activité de la voie de signalisation hedgehog, comprenant l'étape consistant à administrer à un sujet ayant besoin d'un tel traitement une quantité efficace sur le plan thérapeutique d'un sel en accord avec l'invention de N-[6-(cis-2,6-diméthylmorpholin-4-yl)pyridin-3-yl]-2-méthyl-4'-(trifluorométhoxy)[1,1'-biphényl]-3-carboxamide.

## BRÈVE DESCRIPTION DES DESSINS

**[0007]** La figure 1 montre le diagramme de diffraction aux rayons x sur poudre pour le sel diphosphate de N-[6-(cis-2,6-diméthylmorpholin-4-yl)pyridin-3-yl]-2-méthyl-4'-(trifluorométhoxy)[1,1'-biphényl]-3-carboxamide.

**[0008]** La figure 2 montre le diagramme de diffraction aux rayons x sur poudre pour le sel monosulfate de N-[6-(cis-2,6-diméthylmorpholin-4-yl)pyridin-3-yl]-2-méthyl-4'-(trifluorométhoxy)[1,1'-biphényl]-3-carboxamide.

**[0009]** La figure 3 montre le diagramme de diffraction aux rayons x sur poudre pour le sel monochlorhydrate de N-[6-(cis-2,6-diméthylmorpholin-4-yl)pyridin-3-yl]-2-méthyl-4'-(trifluorométhoxy)[1,1'-biphényl]-3-carboxamide.

## DESCRIPTION DÉTAILLÉE DE L'INVENTION

**[0010]** Tel qu'utilisé ici, le terme « sel » fait référence à un composé préparé par la réaction d'un médicament acide ou base organique avec un acide ou une base minéral(e) ou organique acceptable sur le plan pharmaceutique. Tel qu'utilisé ici, le terme « sel » inclut les hydrates et solvates de sels réalisés en accord avec la présente invention. Des exemples d'acides ou de bases minéraux ou organiques acceptables sur le plan pharmaceutique sont énumérés dans les

tableaux 1-8 du document *Handbook of Pharmaceutical Salts*, P.H. Stahl et C.G. Wermuth (eds.), VHCA, Zurich 2002, pp. 334-345. En particulier, les sels incluent, mais sans limitation, les formes de sel chlorhydrate, phosphate, sulfate, mésylate, ésylate et bésylate. Tel qu'utilisé ici, le terme « polymorphe » fait référence à une « modification cristalline » ou

5 « forme polymorphe » ou « forme cristalline » distincte, qui diffère d'une autre eu égard au diagramme de diffraction aux rayons x, aux propriétés physico-chimiques et/ou pharmacocinétiques, et à la stabilité thermodynamique.

**[0011]** Un mode de réalisation de la présente invention concerne des sels de N-[6-(cis-2,6-diméthylmorpholin-4-yl)pyridin-3-yl]-2-méthyl-4'-(trifluorométhoxy)[1,1'-biphényl]-3-

10 carboxamide. Dans des modes de réalisation préférés, le sel est sélectionné parmi les sels monochlorohydrate, diphosphate et monosulfate de N-[6-(cis-2,6-diméthylmorpholin-4-yl)pyridin-3-yl]-2-méthyl-4'-(trifluorométhoxy)[1,1'-biphényl]-3-carboxamide. Un mode de réalisation particulièrement préféré de la présente invention concerne les sels diphosphate et monosulfate de N-[6-(cis-2,6-diméthylmorpholin-4-yl)pyridin-3-yl]-2-méthyl-4'-

15 (trifluorométhoxy)[1,1'-biphényl]-3-carboxamide.

**[0012]** La présente invention peut être utilisée pour traiter des carcinomes, notamment celui de la vessie (notamment un cancer accéléré et métastatique de la vessie), du sein, du côlon (notamment le cancer colorectal), du rein, du foie, du poumon (notamment le cancer du poumon à petites cellules et non à petites cellules et l'adénocarcinome du poumon), des

20 ovaires, de la prostate, des testicules, du tractus génito-urinaire, du système lymphatique, du rectum, du larynx, du pancréas (notamment le carcinome pancréatique exocrine et endocrine), de l'œsophage, de l'estomac, de la vésicule biliaire, du col de l'utérus, de la thyroïde et de la peau (notamment le carcinome des cellules squameuses) ; des tumeurs du système nerveux central et périphérique, notamment l'astrocytome, le neuroblastome, le gliome, le

25 médulloblastome et le schwannome ; des tumeurs d'origine mésenchymateuse, notamment le fibrosarcome, le rhabdomyosarcome et l'ostéosarcome ; et d'autres tumeurs notamment le mélanome, le carcinome des cellules de Merkel, le xeroderma pigmentosum, le kératoacanthome, le séminome, le cancer folliculaire de la thyroïde et le tératocarcinome. La présente invention peut aussi être utilisée pour traiter une mastocytose, des tumeurs de

30 cellules germinales, des sarcomes pédiatriques et d'autres cancers.

**[0013]** La présente invention est aussi utile pour inhiber la croissance et la prolifération de tumeurs hématopoïétiques de lignée lymphoïde telles que la leucémie, notamment la leucémie aiguë lymphocytaire, la leucémie aiguë lymphoblastique, le lymphome à cellules B,

le lymphome à cellules T, le lymphome de Hodgkins, le lymphome non-Hodgkinien, le lymphome à tricholeucocytes, le lymphome histiocytique et le lymphome de Burkitts ; et des tumeurs hématopoïétiques de lignée myéloïde, notamment les leucémies myélogènes aiguës et chroniques, le syndrome myélodysplasique, la leucémie myéloïde et la leucémie promyélocytique.

#### Exemple 1

Préparation du sel diphosphate

**[0014]** Dans un ballon à réaction à trois cols de 250 ml, on ajoute 7,0 g (0,0144 mole) d'acide 2-méthyl-4'-trifluorométhoxy-biphényl-3-carboxylique, une base libre de [6-(cis-2,6-diméthyl-morpholin-4-yl)-pyridin-3-yl]-amide et de l'acétonitrile (178,5 ml, qualité HPLC), sous atmosphère d'azote. On chauffe la suspension à 58°C sous azote pendant 20 minutes pour obtenir une solution claire. À la solution réactionnelle, on ajoute sur 18 minutes 3,403 g d'acide phosphorique à 85 % dans l'eau (2 équiv). Dans les 5 minutes suivant l'addition de l'acide phosphorique, du diphosphate de N-[6-(cis-2,6-diméthylmorpholin-4-yl)pyridin-3-yl]-2-méthyl-4'-(trifluorométhoxy)[1,1'-biphényl]-3-carboxamide précipite. On agite la suspension blanche et on la refroidit à la température ambiante sur 100 minutes. On refroidit ensuite la suspension à  $0 \pm 5$  °C sur 5 minutes et on agite pendant 1 heure. On filtre le mélange sous aspiration et on lave le solide à l'acétonitrile (3 x 9,4 ml). On sèche la substance médicamenteuse sous vide à 50 °C pendant 16 heures pour obtenir 9,63 g du sel phosphate (rendement : 98 %).

#### Exemple 2

Préparation du sel monosulfate

**[0015]** Dans un ballon à réaction à trois cols de 100 ml, on charge 3,0 g (6,18 mmoles) de base libre de N-[6-(cis-2,6-diméthylmorpholin-4-yl)pyridin-3-yl]-2-méthyl-4'-(trifluorométhoxy)[1,1'-biphényl]-3-carboxamide et de l'acétonitrile (35 ml, qualité HPLC) sous atmosphère d'azote. On chauffe la suspension à 50 °C sous atmosphère d'azote pendant 30 minutes pour obtenir une solution claire. On ajoute au mélange 1,5 ml d'acide sulfurique 6 M (1,5 équiv), sur 10 minutes. On agite le mélange à 50 °C pendant 3 heures et on laisse refroidir à 25 °C sur 25 minutes. Dans les 5 minutes, le solide précipite. On agite la suspension à 25 °C pendant 16 heures. On filtre le mélange sous aspiration et on lave le solide à l'acétonitrile (10 ml). On sèche la substance médicamenteuse sous vide à 55 °C pendant 16 heures pour obtenir 3,0 g du sel sulfate (rendement : 83 %).

## Exemple 3

Préparation du sel monochlorhydrate

**[0016]** Dans un ballon à réaction à trois cols de 100 ml, on charge 3,0 g (6,18 mmoles) de base libre de N-[6-(cis-2,6-diméthylmorpholin-4-yl)pyridin-3-yl]-2-méthyl-4'-(trifluorométhoxy)[1,1'-biphényl]-3-carboxamide et de l'acétone (25 ml, qualité HPLC), sous atmosphère d'azote. On agite la suspension à 25 °C sous atmosphère d'azote pendant 30 minutes pour obtenir une solution claire. On ajoute au mélange 1,5 ml d'acide chlorhydrique 6 M (1,5 equiv) sur 10 minutes. Dans les 5 minutes, le solide précipite. On agite la suspension à 25 °C pendant 16 heures. On filtre le mélange sous aspiration et on lave le solide à l'acétone (10 ml). On sèche la substance médicamenteuse sous vide à 55 °C pendant 16 heures pour obtenir 3,0 g du sel chlorure d'hydrogène (rendement : 93 %).

## Exemple 4

Le tableau 1 ci-après montre la stabilité mesurée par les produits de dégradation (ou dosage) et la couleur apparente. Les produits de dégradation sont analysés par HPLC (méthode voir tableau 3). Ils sont calculés en tant que produits en % de surface. La composition des mélanges, en % en poids, est la suivante. Mélange 1 : lactose 200 mesh / amidon de maïs modifié 1500 LM / Aérosil 200 / Stéarate de magnésium 78.5:20:0.5:1 (m/m/m/m). Mélange 2 : Mannitol / Avicel PH 102 / Cutina HR (57:38:5) (m/m/m).

Tableau 1

Conditions du test	Forme de sel					
	Phosphate, di		Sulfate, mono		Chlorhydrate, mono	
	PD	CL	PD	CL	PD	CL
	[%]		[%]		[%]	
Substance médicamenteuse libre						
Vrac	1,02	-	0,42	-	0,30	-
Solutions ou suspensions à 0,2 %, 2 semaines, 50 °C						
pH 1	0,99	A↓	-	-	-	-
pH 3	1,07	A↓	-	-	-	-
pH 5	1,04	A↓	-	-	-	-
pH 7	1,06	A↓	-	-	-	-
pH 9	1,05	A↓	-	-	-	-
pH 11	1,03	A↓	-	-	-	-
Eau	1,07	A↓	0,41	A↓	0,31	A↓
Méthanol	1,02	A*	0,68	A*	2,06	A*
Acétonitrile	1,93	A*	0,44	A*	0,38	A*
Acétonitrile/eau (50:50)	1,10	A*	0,80	A*	1,72	A*
Solutions ou suspensions à 2 % (ou 5 %), 1 jour, température ambiante						
CMC 0,5 %	-	A↓	0,45	A↓	0,33	A↓
HPMC, Cellulose 4000 0,5 %	1,04	A↓	0,47	A↓	0,32	A↓
Tween 80, 0,8 %	1,07	A↓	0,43	A↓	0,31	A↓
État solide, 2 semaines 50 °C, conteneur étanche						
Vrac (HPLC)	1,03	A	0,40	A	0,31	A
Vrac (XRPD)	Aucune modificat ion	-	Aucune modific ation	-	Aucune modific ation	-
État solide, 2 semaines, 80 °C, conteneur étanche						
Vrac (HPLC)	1,06	A	0,43	A	0,35	A



Conditions du test	Forme de sel					
	Phosphate, di		Sulfate, mono		Chlorhydrate, mono	
	PD	CL	PD	CL	PD	CL
	[%]		[%]		[%]	
Vrac (DSC)	Aucune modification	-	Aucune modification	-	Aucune modification	-
2 semaines, 50 °C, conteneur étanche						
1 % dans le mélange 1	0,96	A	0,41	A	0,27	A
1 % dans le mélange 2	1,11	A	0,44	A	0,39	A
État solide, 2 semaines, 50 °C/ 75 % HR						
Vrac (HPLC)	0,96	A	0,42	A	0,29	A
Vrac (XRPD)	Légère modification *	-	Aucune modification	-	Aucune modification	-
État solide, 2 semaines, 80 °C/ 75 % HR						
Vrac (HPLC)	1,02	A	1,34	A	0,35	A
Vrac (XRPD)	Modification **	-	Aucune modification	-	Aucune modification	-
2 semaines, 50 °C/ 75 % HR						
1 % dans mélange 1	1,59	A	0,70	A	2,85	A
1 % dans mélange 2	1,01	A	0,41	A	0,31	A
Lumière xénon (environ 1200 kLuxh)						
Vrac (HPLC)	1,35	A	1,1	A	1,46	B
Vrac (XRPD)	Aucune modification	-	Aucune modification	-	Aucune modification	-
Corrosivité en vrac						

Conditions du test	Forme de sel					
	Phosphate, di		Sulfate, mono		Chlorhydrate, mono	
	PD	CL	PD	CL	PD	CL
	[%]		[%]		[%]	
2 jours, 80 % HR avec éprouvette en acier inoxydable	Aucune modification visible sur la surface de l'éprouvette en acier inoxydable		Aucune modification visible sur la surface de l'éprouvette en acier inoxydable		Aucune modification visible sur la surface de l'éprouvette en acier inoxydable	

\* Nouveau pic dans le diagramme XRPD en comparaison avec le diphosphate libre.

\*\* Le diagramme XRPD est similaire à celui du phosphate, mais avec un pic supplémentaire.

- |                           |  |
|---------------------------|--|
| ↓ Suspension              | * Solution claire après test de stress |
| - Test non réalisé        | A Aucune modification de couleur       |
| B Légère décoloration     | C Décoloration moyenne                 |
| D Décoloration importante |  |

Exemple 5

Le tableau 2 ci-après montre les caractéristiques chimiques et physico-chimiques.

5

Tableau 2

Paramètre	Forme de sel					
	Phosphate, di		Sulfate, mono		Chlorhydrate, mono	
	calculé	trouvé	calculé	trouvé	calculé	trouvé
Analyse élémentaire						
% C	45,82	46,06	53,51	53,28	59,83	60,11
% H	4,73	5	4,84	4,91	5,21	5,06
% F	8,36	8,35	9,77	9,44	10,92	10,69
% N	6,17	6,08	7,2	7,08	8,05	7,88
% O	25,82	25,29	19,19	20,29	9,2	9,93
% P	9,09	9,22				
% S			5,49	5,68	.	.

Paramètre	Forme de sel		
	Phosphate, di	Sulfate, mono	Chlorhydrate, mono
% Cl			6,79 6,33
Pureté, DSC			
Vitesse de chauffage 10 °C/min	N/A	N/A	N/A
Pureté, HPLC (à savoir % d')			
	1,02	0,42	0,30
Point de fusion (DSC)			
Taux de chauffage [°C /min]	10	10	10
Enthalpie de fusion (J/g)	N/A	N/A	N/A
pH de la solution ou suspension à 1 %			
Dans de l'eau	2,02	1,45	1,69
Solubilité (à environ 25 °C, mg/ml)			
HCl 0,1N	0,004 (pH final 1,04)	0,003 (pH final 1,09)	0,002 (pH final 1,02)
Tampon phosphate, pH 6,8	0,001 (pH final 2,86)	0,002 (pH final 1,82)	0,000 (pH final 5,93)
Eau	0,009 (pH final 1,94)	0,007 (pH final 1,26)	0,005 (pH final 1,67)
Méthanol	> 40	24,4	> 40
Éthanol	19,7	19,7	56,4
2- propanol	14,3	4	10,3
Acétone	2,8	1,7	3,2
Acétate d'éthyle	0,3	0,09	2,5
Acétonitrile	0,4	1,4	4,1
Thermogravimétrie (perte de poids en %)			
Vitesse de chauffage 10 °C/min (%)	0,19 % à 150 °C	1,89 % à 150 °C	0,48 % à 150 °C

Paramètre	Forme de sel		
	Phosphate, di	Sulfate, mono	Chlorhydrate, mono
Solvants résiduels (%)			
	Heptane : 0,0001463, Acétonitrile,	Acétonitrile : 0,419087, Eau :1,36	Acétone : 0,0002356, Eau : 0,4.
Vitesse de dissolution intrinsèque ( mg min <sup>-1</sup> cm <sup>-2</sup> )			
HCl 0,1N	-	-	-
Eau	-	-	-
Eau + tensioactif (SDS)	-	-	-
RMN	Décalage chimique modifié	Décalage chimique modifié	Décalage chimique modifié

\* Les tentatives de mesure de la vitesse de dissolution intrinsèque n'ont pas réussi en raison de la faible solubilité.

Exemple 6

5 Le tableau 3 ci-après montre les propriétés morphiques.

Tableau 3

Paramètre	Forme de sel		
	Phosphate, di	Sulfate, mono	Chlorhydrate, mono
Propriétés thermiques			
En l'état			
- DSC	213 °C	N/A	N/A
- XRPD (cristallinité)	cristallin	cristallin	cristallin
Après chauffage et refroidissement -			
- DSC	N/A	N/A	N/A
- XRPD	N/A	N/A	N/A
Hygroscopicité			

Paramètre	Forme de sel					
	Phosphate, di		Sulfate, mono		Chlorhydrate, mono	
En l'état - Perte au séchage par TGA (%)	0,19 à 150 °C		1,89 à 150 °C		0,48 à 150 °C	
DVS						
HR (%)	Sorp. % en poids chg.	Desorp. % en poids chg.	Sorp. % en poids chg.	Desorp. % en poids chg.	Sorp. % en poids chg.	Desorp. % en poids chg.
0,0	0,000	-0,038	0,000	1,007	-0,0001	-0,0114
25,0	0,059	0,136	1,232	1,256	0,3334	0,3799
50,0	0,149	0,341	1,455	1,495	0,4660	0,4932
75,0	0,270	1,268	1,634	1,716	0,5753	0,6069
85,0	0,400	1,828	1,835		0,6525	0,6817
95,0	3,420	3,420	2,330	2,330	0,8784	0,8784
- XRPD après test DVS	Aucune modification		Aucune modification		Aucune modification	
Modification cristalline après 72 heures de vibration						
	DSC/XRPD/TG		DSC/XRPD/TG		DSC/XRPD/TG	
Eau	Diagramme XRPD modifié, différent de la base libre. pH final 1,94		Dissocié de la base libre. pH final 1,26		Dissocié de la base libre. pH final 1,94	
Tampon, pH 6,8	Diagramme XRPD modifié, différent de la base libre. pH final 2,86		Dissocié de la base libre. pH final 1,82		Aucune modification de forme. pH final 5,93	

Paramètre	Forme de sel		
	Phosphate, di	Sulfate, mono	Chlorhydrate, mono
Tampon, pH 3	Diagramme XRPD modifié, différent de la base libre. Final pH 2,15	Dissocié de la base libre. pH final 2,00	Dissocié de la base libre. pH final 2,89
Solution de HCl 0,1N	Diagramme XRPD modifié, différent de la base libre.	Diagramme XRPD modifié, différent de la base libre.	Diagramme XRPD modifié, différent de la base libre.
Méthanol	-	O, cristallin vers cristallin	-
Éthanol	Diagramme XRPD modifié, moins cristallin que l'original.	N, aucune modification de forme	N, aucune modification de forme
Isopropanol	N, aucune modification de forme	N, aucune modification de forme	N, aucune modification de forme
Acétate d'éthyle	N, aucune modification de forme	N, aucune modification de forme	N, aucune modification de forme
Acétone	N, aucune modification de forme	O, cristallin vers cristallin	N, aucune modification de forme
Acétonitrile	N, aucune modification de forme	N, aucune modification de forme	N, aucune modification de forme
Effet du broyage			

Paramètre	Forme de sel		
	Phosphate, di	Sulfate, mono	Chlorhydrate, mono
	Aucune modification de XRPD	Aucune modification de XRPD	Aucune modification de XRPD
Effet de la compression			
	Aucune modification de XRPD	Aucune modification de XRPD	Aucune modification de XRPD

N – non, O – oui

Exemple 7

5 **[0017]** Les données du rat TK de diphosphate de N-[6-(cis-2,6-diméthylmorpholin-4-yl)pyridin-3-yl]-2-méthyl-4'-(trifluorométhoxy)[1,1'-biphényl]-3-carboxamide dosé en tant que suspension, avec une augmentation multipliée par 10 de la posologie, montrent une augmentation par 3,1 fois de l'exposition de 10 à 100 mg/kg. L'exposition intersujets est légèrement variable, en particulier à forte dose (100 mg/kg). Voir tableau 4.

Tableau 4

Dose (mg/kg)	Rat	AUC <sub>0-24</sub> (ng*h/ml)	AUC <sub>0-24</sub> /dose (ng*h/ml)/(mg/kg/jour)	C <sub>max</sub> (ng/ml)	C <sub>max</sub> /dose (ng/ml)/(mg/kg/jour)	t <sub>max</sub> (h)
10	001	43 300	4 330	2820	282	8,00
	002	52 800	5 280	3 160	316	8,00
	003	49 400	4 940	3 100	310	4,00
100	004	232 000	2 320	14 800	148	8,00
	005	96 800	968	4 520	45,2	8,00
	006	131 000	1 310	7 490	74,9	8,00

Exemple 8

10 **[0018]** On dose une formulation en suspension de la forme libre et du sel diphosphate de N-[6-(cis-2,6-diméthylmorpholin-4-yl)pyridin-3-yl]-2-méthyl-4'-(trifluorométhoxy)[1,1'-biphényl]-3-carboxamide chez un rat à raison de 3 mg par kg et 2,1 mg par kg respectivement.

On a découvert que le sel disphosphate fournit une grande augmentation d'exposition (augmentation 16 fois) en comparaison avec la forme libre, comme cela est indiqué dans le tableau 5.

Tableau 5

Paramètre PK	2,1 mg/kg, voie orale, dose en suspension		3,0 mg/kg, voie orale, dose en suspension		IV, 3 mg/kg**	
	Sel diphosphate		Base libre *		Base libre	
	Moyenne	ET	Moyenne	ET	Moyenne	Et
AUC <sub>last</sub> (nM*h)	5 747	1 395	510	153	17 500	n=2
AUC <sub>last</sub> /dose (nM*h)/mg/kg	2 737	664	170	51	5 830	n=2
AUC <sub>inf</sub> (nM*h)	5 917	1 451	512	140	17 500	n=2
AUC <sub>inf</sub> /dose(nM*h)/mg/kg	2 818	691	171	46,7	5 840	n=2
C <sub>0</sub> /C <sub>max</sub> (nM)	947	167	237	76,3	6 108	n=2
C <sub>max</sub> /dose (nM/mg/kg)	451	79,3	78,9	25,4		
T <sub>max</sub> (h)	2,00	0,00	0,500	0,00		
% F	48 %		3 %			

5

Exemple 9

Détails portant sur la méthodologie, les instruments et les normes utilisés dans les exemples 4 à 5.

1. valeur de pH

Le pH est déterminé en transférant environ 10 mg de sel de N-[6-(cis-2,6-diméthylmorpholin-4-yl)pyridin-3-yl]-2-méthyl-4'-(trifluorométhoxy)[1,1'-biphényl]-3-carboxamide dans un flacon de 20 ml, puis en ajoutant 10 ml du tampon correspondant ou d'eau. Les solutions sont agitées en continu alors qu'on mesure le pH.

2. Détermination de la solubilité approximative

Les sels en excès sont équilibrés dans des solvants pendant 1 jour à 25 ± 0,5 °C. On filtre les suspensions et on garde le filtrat pour déterminer la solubilité par HPLC.

3. Hygroscopicité

Isothermes de sorption/désorption : Instrument, système de mesure de surface, DVS-1, température à 25 ± 0,5 °C.



## 4 Comportement de polymorphisme

On agite des suspensions de sels de N-[6-(cis-2,6-diméthylmorpholin-4-yl)pyridin-3-yl]-2-méthyl-4'-(trifluorométhoxy)[1,1'-biphényl]-3-carboxamide à vitesse élevée pendant 24 heures à  $25 \pm 0,5$  °C. On filtre les suspensions et on recueille les solides pour les analyses

## 5 XRPD.

## 5 Méthode HPLC

Colonne : Symétrie C18, diamètre de particules 3,5 microns, 4,6 x 75 mm (Waters)

Température de colonne : 35 degrés

Débit : 1 ml/min

## 10 Phase mobile : A = 0,1 % TFA dans de l'eau, et B = acétonitrile

Le tableau des gradients est présenté ci-après dans le tableau 6.

Tableau 6

	Durée (min)	Débit (ml/min)	% A	% B
1		1,00	85	15
2	10	1,00	15	85
3	10,5	1,00	15	85
4	10,6	1,00	85	15

Préparation de l'échantillon de stabilité pour analyse HPLC :

Pour le phosphate, dans une solution tampon à pH 1, on ajoute de l'acétonitrile pour diluer la suspension à 0,2 % en une solution claire à 0,1 %. Pour le phosphate dans le reste des solutions tampons, on ajoute du tétrahydrofurane pour diluer la suspension à 0,2 % en une solution claire à 0,1 %. Pour les sels dans de l'eau, on ajoute de l'acétonitrile pour diluer la suspension à 0,2 % en une solution claire à 0,1 %. Pour les sels dans le méthanol, on ajoute de l'acétonitrile ou de l'acétonitrile/eau (50:50, v/v), le solvant ou le mélange de solvants correspondant pour diluer la suspension à 0,2 % en une solution claire à 0,1 %. Pour les sels dans la CMC à 0,5 %, on ajoute de la HPMC cellulose 4000 à 0,5 %, ou Tween 80, 0,8 %, du tétrahydrofurane et de l'eau pour diluer la suspension à 0,2 % en une solution claire à 0,1 % et atteindre 50:50 (v/v) de tétrahydrofurane/eau. Pour les échantillons de stabilité en vrac (notamment les échantillons dans les mélanges d'excipients), on ajoute de l'acétonitrile/eau (80:20, v/v) pour faire une solution claire à 0,1 %.

## Exemple 10

On dose le sel sulfate et le sel diphosphate de N-[6-(cis-2,6-diméthylmorpholin-4-yl)pyridin-3-yl]-2-méthyl-4'-(trifluorométhoxy)[1,1'-biphényl]-3-carboxamide (Composé A

du tableau 7 ci-après) en tant que suspension à 1 mg/ml dans la méthylcellulose à 0,5 %/Tween 80 à 0,5 % selon un volume de dosage de 10 ml/kg sur des rats Wistar. On trouve que le sel diphosphate donne 1,6 x plus d'exposition en termes de AUC (0-24 heures) ng\*hr/ml par rapport au sel sulfate. Les résultats sont présentés par la suite au tableau 7.

5

Tableau 7

Composé	Dose (mg/kg)	Rat	AUC <sub>0-24</sub> (ng*h/mL)	AUC <sub>0-24</sub> /dose (ng*h/ml) / (mg/kg/jour)	C <sub>max</sub> (ng/mL)	C <sub>max</sub> /Dose (ng/ml)/(mg/kg/jour)	t <sub>max</sub> (h)
Composé A, sulfate	10	1b	25 900	2 590	1 900	190	4
		2b	28 700	2 870	1 860	190	2
		3b	36 200	3 620	3 560	360	1
Composé A, diphosphate	10	001	43 300	4 330	2 820	282	8
		002	52 800	5 280	3 160	316	8
		003	49 400	4 940	3 100	310	4

Comme on le voit dans le tableau 7, le tmax moyen pour le sel sulfate est plus court (2,3 heures) que pour le sel diphosphate (6,7 heures). La cmax/dose moyenne pour le phosphate est de 303 et est de 244 pour le sulfate. La AUC/dose moyenne pour le phosphate est de 4 850, de 3 030 pour le sulfate. Dans l'ensemble, le sel sulfate montre une exposition

10

moins in-vivo (environ 40 % de moins) que le sel diphosphate.

**[0019]** Si l'invention est décrite précédemment en faisant référence à des modes de réalisation spécifiques de celle-ci, il est manifeste que de nombreux changements, modifications et variations peuvent être réalisés sans déroger au concept de l'invention divulgué ici. En conséquence, elle vise à comprendre de tels changements, modifications et variations entrant dans l'esprit et l'étendue des revendications annexées. Tous les brevets, demandes de brevet et autres publications cités ici sont incorporés par référence dans leur intégralité.

15

Revendications

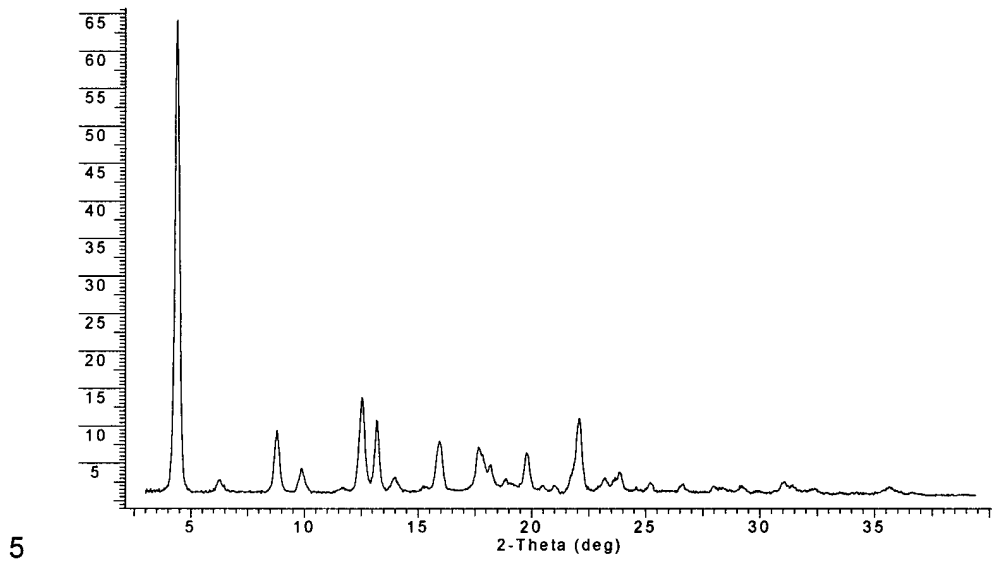
1. Sel diphosphate de N-[6-(cis-2,6-diméthylmorpholin-4-yl)pyridin-3-yl]-2-méthyl-4'-(trifluorométhoxy)[1,1'-biphényl]-3-carboxamide.

5. Composition pharmaceutique comprenant :

- (a) une quantité efficace sur le plan thérapeutique d'un sel selon la revendication 1 ; et
- (b) au moins un support, diluant, véhicule ou excipient acceptable sur le plan pharmaceutique.

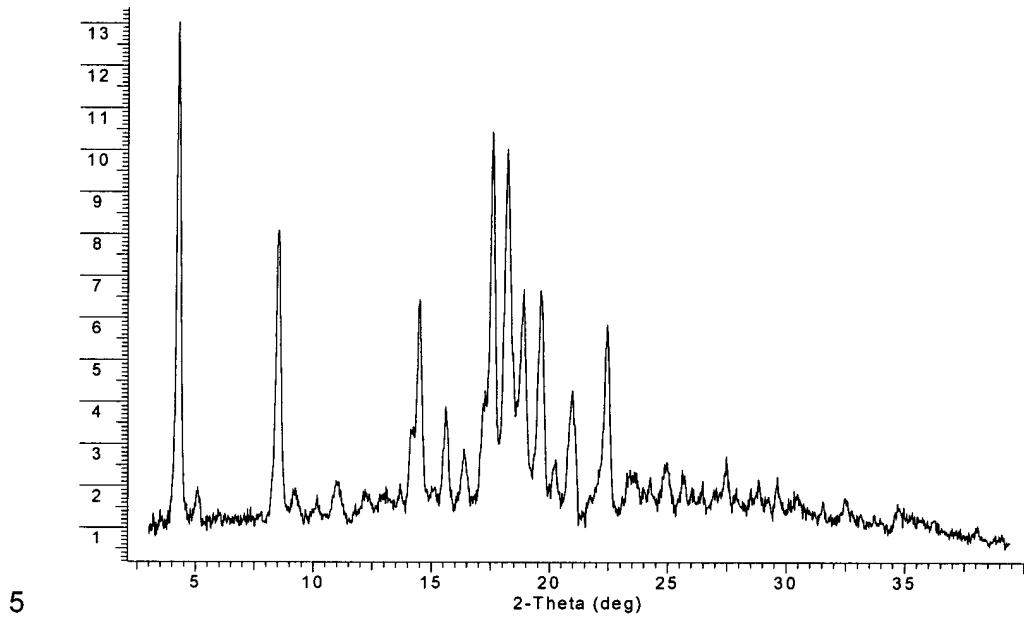
3. Un médicament comprenant une quantité thérapeutiquement efficace d'un sel selon la revendication 1 pour le traitement d'une maladie qui répond à une modulation de l'activité de la voie de signalisation hedgehog.

**Diagramme XRPD pour le sel diphosphate**



**Figure 1**

**Diagramme XPRD pour le sel monosulfate**

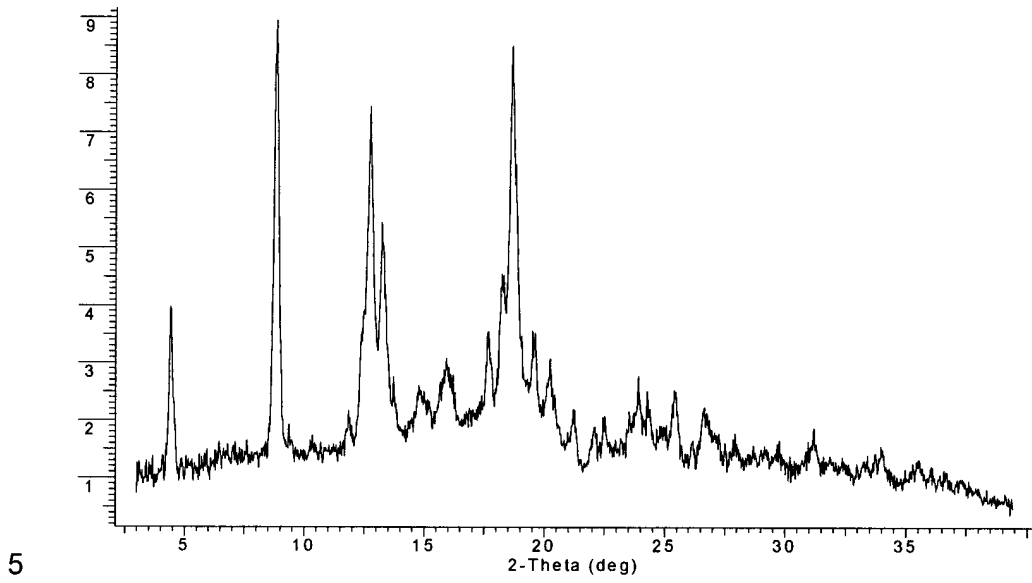


5

**Figure 2**

//

**Diagramme XRPD pour le sel monochlorhydrate**



**Figure 3**

1