



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN) (11) CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ



1-0031124

(51)⁷ A61K 9/00; A61K 47/26; A61K 31/00; (13) B
A61K 47/10

(21) 1-2017-02745

(22) 17/12/2015

(86) PCT/US2015/066396 17/12/2015

(87) WO2016/100677 A2 23/06/2016

(30) 62/093,801 18/12/2014 US

(45) 25/02/2022 407

(43) 25/12/2017 357A

(73) GENZYME CORPORATION (US)

500 Kendall Street, Cambridge, Massachusetts 02142, United States of America

(72) LIBERMAN Harvey (GB); YANG Donglai (US); PHILBROOK C. Michael (US); SANTOS Michael (US); HO Chris (US).

(74) Công ty TNHH Trần Hữu Nam và Đồng sự (TRAN H.N & ASS.)

(54) HỢP CHẤT ỨC CHẾ KINAZA LIÊN QUAN ĐẾN TROPOMYOSIN (TRK),
DƯỢC PHẨM VÀ DƯỢC PHẨM GIẢI PHÓNG KÉO DÀI CHỨA NÓ

(57) Sáng chế đề cập đến chế phẩm dược chứa chất ức chế kinaza liên quan đến tropomyosin (“chất ức chế Trk”). Chế phẩm dược này chứa 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin trong các chế phẩm huyền phù vi tinh thể ở dạng monohydrat của nó, mà thể hiện các đặc được tính cải thiện so với dạng anhydrat, và trong chế phẩm giải phóng kéo dài. Chế phẩm dược giải phóng kéo dài chứa các vi cầu nạp 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến chế phẩm dược chứa 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin, kinaza có liên quan đến thụ thể tropomyosin (“chất ức chế Trk”), và dạng monohydrat của 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin – 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin monohydrat. Dạng monohydrat có các đặc tính mong muốn mà tạo điều kiện để điều chế 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin thành chế phẩm dược.

Chế phẩm dược dạng dung dịch chứa vi tinh thể chất ức chế Trk bao gồm 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin ở dạng monohydrat của nó, mà thể hiện các đặc tính cải thiện so với dạng anhydrat.

Sáng chế còn đề cập đến chế phẩm dược giải phóng kéo dài chứa các vi cầu nạp chất ức chế Trk 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin, bao gồm 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin.

Chất ức chế Trk 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin và phương pháp tạo ra chất ức chế Trk được bộc lộ trong Công bố đơn sáng chế quốc tế số

PCT/US14/69469 và Đơn sáng chế Mỹ số 14/564,773, có tên là *Các chất ức chế Kinaza có liên quan đến tropomyosin (TRK)*, mà được kết hợp vào đây bằng cách viện dẫn.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

US 2010/204246, liên quan đến hợp chất mới, các dược phẩm chứa chúng, phương pháp điều trị và sử dụng hợp chất này trong việc sản xuất các dược phẩm để sử dụng trong việc điều trị và ngăn ngừa và các bệnh rối loạn tủy xương.

WO 2013/176970, bộc lộ chất ức chế kinaza liên quan đến tropomyosin (trk) các chất ức chế nhóm protein kinaza có thể hữu ích trong việc điều trị vết đau, viêm, bệnh rối loạn, chấn thương hoặc sự cố liên quan đến nhồi máu cơ tim hoặc sự mất myelin hoặc các bệnh hoặc rối loạn liên quan đến hoạt động bất thường của yếu tố sinh trưởng thần kinh (NGF) chất ức chế TrkA.

WO 2015/089139, tiết lộ các chất ức chế kinaza liên quan đến tropomyosin (“chất ức chế Trk”), các dược phẩm chứa các chất ức chế Trk, cách sử dụng chất ức chế Trk và các dược phẩm chứa chất ức chế Trk để điều trị bệnh. Nó tiết lộ cách dùng các chất ức chế Trk để điều trị các bệnh viêm, bệnh tự miễn dịch, các khuyết tật liên quan đến chuyển hóa xương và ung thư. Các chất ức chế này có thể sử dụng để điều trị chứng đau đầu gối (OA), để điều trị vết thương, để điều trị sau phẫu thuật, để điều trị vết thương liên quan đến điều trị viêm xương khớp, và ức chế kinaza A liên quan tropomyosin (TrkA), kinaza B liên quan tropomyosin (TrkB), và/hoặc kinaza C liên quan tropomyosin (TrkC), và để ức chế c-FMS (thụ thể tế bào cho yếu tố kích thích tạo cụm-1 (CSF-1)).

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Khía cạnh thứ nhất của sáng chế đề cập đến dạng tinh thể của chất ức chế Trk 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-amin, trong đó giản đồ nhiễu xạ bột tia X bao gồm các đỉnh 2θ sau được đo bằng cách sử dụng CuK_α bức xạ: 7,14, 8,89, 10,22, 12,42, 12,73 và 14,31.

Khía cạnh thứ hai của sáng chế đề cập đến chế phẩm dược bao gồm dạng tinh thể của chất ức chế Trk 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-amin, trong đó giản đồ nhiễu xạ bột tia X bao gồm các đỉnh 2θ sau được đo bằng cách sử dụng CuK_α bức xạ: 7,14, 8,89, 10,22, 12,42, 12,73 và 14,31, và tá dược được dùng.

Khía cạnh thứ ba của sáng chế đề cập đến dạng monohydrat của chất ức chế Trk 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-amin.

Khía cạnh thứ tư của sáng chế đề cập đến chế phẩm dược bao gồm dạng monohydrat của chất ức chế Trk 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-amin và tá dược được dùng.

Khía cạnh thứ năm của sáng chế đề cập đến chế phẩm dược giải phóng kéo dài bao gồm các vi cầu nập 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-amin.

Theo khía cạnh thứ sáu, sáng chế đề cập đến phương pháp sản xuất dạng tinh thể của 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-amin bao gồm:

a. Trộn 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-amin với dung môi để tạo thành huyền phù;

- b. Khuấy huyền phù;
- c. Gom chất rắn trong huyền phù bằng cách lọc; và
- d. Làm khô chất rắn.

Theo khía cạnh thứ bảy, sáng chế đề cập đến phương pháp sản xuất dạng monohydrat của 3-(3-metoxý-4-((4-metoxýbenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-amin bao gồm:

- a. Trộn 3-(3-metoxý-4-((4-metoxýbenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-amin với dung môi để tạo thành huyền phù;

- b. Khuấy huyền phù;
- c. Gom chất rắn trong huyền phù bằng cách lọc; và
- d. Làm khô chất rắn.

Theo khía cạnh thứ tám, sáng chế đề cập đến phương pháp sản xuất vi nang được nạp 3-(3-metoxý-4-((4-metoxýbenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-amin bằng cách chiết dung môi, bao gồm:

- a. Hòa tan 3-(3-metoxý-4-((4-metoxýbenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-amin trong dung môi hữu cơ để tạo thành dung dịch thuốc;

- b. Thêm polyme vào dung dịch thuốc để tạo thành dung dịch polyme/3-(3-metoxý-4-((4-metoxýbenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-amin;

- c. Trộn dung dịch polyme/3-(3-metoxý-4-((4-metoxýbenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-amin vào dung dịch nước để tạo thành nhũ tương;

- d. Thêm nước khử ion vào nhũ tương;
- e. Tạo vi cầu từ nhũ tương bằng cách chiết dung môi; và

f. Sàng các vi cầu thu được bằng cách sử dụng dung dịch hoạt động bề mặt.

Và theo khía cạnh thứ chín, sáng chế đề cập đến phương pháp sản xuất vi nang được nạp 3-(3-metoxý-4-((4-metoxýbenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-amin bằng cách chiết dung môi, bao gồm:

a. Phân tán 3-(3-metoxý-4-((4-metoxýbenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-amin trong dung môi hữu cơ để tạo thành huyền phù thuốc;

b. Thêm polyme vào huyền phù thuốc để tạo thành chất làm phân tán polyme/3-(3-metoxý-4-((4-metoxýbenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-amin;

c. Trộn chất làm phân tán polyme/3-(3-metoxý-4-((4-metoxýbenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-amin với dung dịch nước để tạo thành nhũ tương;

d. Thêm nước khử ion vào nhũ tương;

e. Tạo vi cầu từ nhũ tương bằng cách chiết dung môi; và

f. Sàng các vi cầu thu được bằng cách sử dụng dung dịch hoạt động bề mặt.

Theo khía cạnh thứ mười một, sáng chế đề cập đến phương pháp sản xuất vi nang được nạp 3-(3-metoxý-4-((4-metoxýbenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-amin bằng cách sấy phun, bao gồm:

a. Hòa tan 3-(3-metoxý-4-((4-metoxýbenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-amin trong dung môi hữu cơ để tạo thành dung dịch thuốc;

b. Thêm polyme vào dung dịch thuốc để tạo thành dung dịch polyme/3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-amin; và

c. Bơm dung dịch polyme/3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-amin qua thiết bị phun vào thiết bị sấy để tạo thành hạt hình cầu.

Theo khía cạnh thứ mười hai, sáng chế đề cập đến phương pháp sản xuất vi nang được nạp 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-amin bằng cách sấy phun, bao gồm:

a. Phân tán 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-amin trong dung môi hữu cơ để tạo thành huyền phù thuốc;

b. Thêm polyme vào huyền phù thuốc để tạo thành chất làm phân tán polyme/3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-amin; và

c. Bơm chất làm phân tán polyme/3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-amin qua thiết bị phun vào thiết bị sấy để tạo thành hạt hình cầu.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Hình 1: Nhiễu xạ bột tia X (XRPD) của dạng monohydrat của 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-amin, 4–40 °2θ. XRPD của dạng monohydrat của 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-amin thể hiện các đỉnh đơn nhất ở các đỉnh 2θ 7,14, 8,89, 10,22, 12,42, 12,73 và 14,31 được đo bằng cách sử dụng CuK_α.

Hình 2: Nhiệt độ phân tích nhiệt lượng quét vi sai (DSC) và phân tích nhiệt trọng lượng (TGA) của dạng monohydrat của 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin, được gia nhiệt ở 10°C/phút. Nhiệt độ DSC thể hiện ba sự kiện nhiệt ở 76,72, 160,13, và 195,78°C, nhiệt độ TGA thể hiện 3,7% giảm trọng lượng từ 25 – 100°C.

Hình 3: Cấu trúc tinh thể của dạng monohydrat của 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin. Cấu trúc tinh thể của dạng monohydrat của chất ức chế Trk được thể hiện.

Hình 4: Hình ảnh chồng mẫu XRPD thử nghiệm với mẫu XRPD được tính từ cấu trúc đơn tinh thể. Hình này thể hiện hình ảnh chồng mẫu bột thử nghiệm với mẫu được tính từ cấu trúc đơn tinh thể. Độ trùng khớp mạnh thể hiện rằng cấu trúc đơn tinh thể là chỉ báo của vật liệu khối.

Hình 5: Hiệu quả nạp API lên biên độ IVR – các vi cầu 12% API/9:1 R202H:752H, 16% API/9:1 R202H:752H và 20% API/9:1 R202H:752H. Hình này so sánh Hiệu quả nạp 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin lên biên độ giải phóng *trong ống nghiệm* của các vi cầu của chế phẩm biến đổi.

Hình 6: Nhiệt độ DSC của vi cầu 16% API/9:1 R202H:752H và 20% API/9:1 R202H:752H. Nhiệt độ DSC chứng minh rằng 20% vi cầu thể hiện thu nhiệt nóng chảy nằm trong khoảng 130-150°C xác nhận sự có mặt của tinh thể thuốc bề mặt.

Hình 7: Hình ảnh vi điện tử quét của

vi cầu 16% API/9:1 R202H:752H (1500X). Vi cầu 16% nạp thuốc thể hiện không có tinh thể thuốc, cho thấy rằng thuốc là vô định hình.

Hình 8: Hình ảnh vi điện tử quét của

Các vi cầu 20% API/9:1 R202H:752H (1500X). Vi cầu 20% nạp thuốc thể hiện tinh thể thuốc bề mặt.

Hình 9: Hiệu quả nạp API lên biên độ IVR – vi cầu 15% API/R202H, 17% API/R202H và 19% API/R202H. Hình này so sánh hiệu quả nạp 3-(3-metoxo-4-((4-metoxobenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin lên biên độ giải phóng *trong ống nghiệm* của các vi cầu của chế phẩm biến đổi.

Hình 10: Hiệu quả nạp API lên biên độ IVR – các vi cầu 16% API/9,5:0,5 R202H:752H, 18% API/9,5:0,5 R202H:752H và 20% API/9,5:0,5 R202H:752H. Hình này so sánh Hiệu quả nạp 3-(3-metoxo-4-((4-metoxobenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin lên biên độ giải phóng *trong ống nghiệm* của các vi cầu của chế phẩm biến đổi.

Hình 11: Hiệu quả hỗn hợp Polyme lên Biên độ IVR – Vi cầu 16% API/R202H, 16% API/9,0:0,5 R202H:RG752H và 16% API/9:1 R202H:RG752H. Hình này so sánh hiệu quả hỗn hợp polyme lên biên độ giải phóng *trong ống nghiệm* của các vi cầu của chế phẩm biến đổi.

Hình 12: Hiệu quả Hỗn hợp polyme lên Biên độ IVR – Vi cầu 16% API/R202H, 16% API/9,5:0,5 R202H:RG502H và 16% API/9:1 R202H:RG502H. Hình này so sánh hiệu quả hỗn hợp polyme biên độ giải phóng *trong ống nghiệm* của các vi cầu của chế phẩm biến đổi.

Hình 13: Chế phẩm thể hiện Biên độ IVR cấp không trong 180 Ngày – Vi cầu 15% API/9:1 R203H:RG752H và 16% API/9,5:0,5 R202H:RG502H. Các vi cầu được điều chế sử dụng 15% 3-(3-metoxo-4-((4-metoxobenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin trong polyme R203H:752H ở tỷ lệ bằng 9:1 và 16% 3-(3-metoxo-4-((4-metoxobenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-

imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin trong polyme R202H:RG502H ở tỷ lệ bằng 9,5:0,5 thể hiện biên độ giải phóng cấp không giả qua 6 tháng.

Hình 14: Hiệu quả của Hệ đồng dung môi trong điều chế lên Biên độ IVR – vi cầu 16% API/9:1 R203H:RG752H– 9:1 DCM:MeOH, 9:0,5:0,5 DCM:MeOH:BA, 9.5:..05 DCM:BA, 9:1 DCM:BA. Hình này so sánh hiệu quả của hệ đồng dung môi được dùng trong điều chế vi cầu lên biên độ giải phóng *trong ống nghiệm* của các vi cầu có 16% nạp thuốc và hỗn hợp polyme bằng 9:1 R203H:RG752H.

Hình 15: Hiệu quả của Hệ đồng dung môi DCM:BA là tăng nạp API lên Biên độ IVR – Vi cầu 16% API/9:1 R202H:RG752H, 25% API/9:1 R202H:RG752H, 30% API/R202H, 40% API/R202H, 25% API/R203H, 30% API/R203H, 40% API/R203H, 50% API/R203H. Hình này so sánh hiệu quả của hệ đồng dung môi được dùng trong điều chế vi cầu làm tăng nạp thuốc lên biên độ giải phóng *trong ống nghiệm* của các vi cầu biến đổi hỗn hợp polyme.

Hình 16: Hình ảnh vi điện tử quét của vi cầu được điều chế bằng quy trình kết vi nang huyền phù được micron hóa (1500X). Các vi cầu được tạo ra bằng cách kết nang huyền phù của 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin là hình cầu với kết cấu bề mặt gồ ghề do sự có mặt của các tinh thể thuốc dính trên bề mặt.

Hình 17: Hiệu quả của Quy trình kết vi nang huyền phù được micron hóa lên Biên độ IVR – Vi cầu 25% API/9:1 R202H:RG752H 39 mL 5% PVA + 2,6 mL EA, 25% API/9:1 R202H:RG752H 39 mL 5% PVA + 3,25 mL EA, 25% API/R203H 39 mL 5% PVA + 2,0 mL EA, 30% vi lưu API/9:1 R202H:RG752H 39 mL 5% PVA + 2,0 mL EA, 40% vi lưu API/9:1 R202H:RG752H 39 mL 5% PVA + 2,0 mL EA, 30% vi lưu API/9:1 R202H:RG752H 39 mL 5% PVA + 2,0 mL EA, 30% vi lưu API/9:1 R202H:RG752H 39 mL 5% PVA + 2,3 mL EA, 30% vi lưu API/R202S 39 mL

5% PVA + 2,0 mL EA, 30% vi lưu API/R203S 39 mL 5% PVA + 2,0 mL. Hình này so sánh quy trình kết vi nang huyền phù được micron hóa được dùng trong điều chế vi cầu lên biên độ giải phóng *trong ống nghiệm* của các vi cầu có sự nạp thuốc biến đổi.

Hình 18: Hình ảnh vi điện tử quét của

Vi cầu 16% API/9:1 R202H:RG752H, Chiết dung môi (1000X). Các vi cầu chiết dung môi là hình cầu có kết cấu bề mặt nhẵn.

Hình 19: Hình ảnh vi điện tử quét của

Vi cầu 16% API/9:1 R202H:RG752H, sấy phun (1000X). Các vi cầu sấy phun là hình cầu với kết cấu bề mặt nào đó.

Hình 20: Hiệu quả của quy trình kết vi nang lên Biên độ IVR – vi cầu 16% API/9:1 R202H:RG752H bằng cách chiết dung môi (OW), vi cầu 16% API/9:1 R202H:RG752H bằng cách sấy phun (20% và 22,5% Polyme) và vi cầu 16% API/9:1 R203H:RG752H bằng cách sấy phun (22,5% Polyme). Hình này so sánh biên độ giải phóng *trong ống nghiệm* của vi cầu 16% nạp thuốc, 9:1 R202H:RG752H được điều chế bằng cách chiết dung môi và sấy phun.

Hình 20: Hiệu quả của quy trình kết vi nang lên Biên độ IVR – vi cầu 16% API/9:1 R202H:RG752H bằng cách chiết dung môi (OW), vi cầu 16% API/9:1 R202H:RG752H bằng cách sấy phun (20% và 22,5% Polyme) và vi cầu 16% API/9:1 R203H:RG752H bằng cách sấy phun (22,5% Polyme). Hình này thể hiện hiệu quả của quy trình kết vi nang lên biên độ giải phóng *trong ống nghiệm* của các vi cầu của chế phẩm biến đổi.

Hình 21: Hình ảnh vi điện tử quét của Vi cầu 16% API/1:1 R202H:R203H/Không chất phụ gia, Sấy phun (1000X). Các vi cầu sấy phun của 16% API/1:1 R202H:R203H/Không chất phụ gia được thể hiện.

Hình 22: Hình ảnh vi điện tử quét của Vi cầu 16% API/1:1 R202H:R203H/31,25 mg PEG, Sấy phun (1000X). Các vi cầu sấy phun của 16% API/1:1 R202H:R203H/31,25 mg PEG được thể hiện.

Hình 23: Hình ảnh vi điện tử quét của Vi cầu 16% API/1:1 R202H:R203H/31,25 mg Poloxamer 407, Sấy phun (1000X). Các vi cầu sấy phun của 16% API/1:1 R202H:R203H/31,25 mg Poloxamer 407 được thể hiện.

Hình 24: Hiệu quả của % 10kDa PEG hoặc 1% Poloxamer 407 lên Biên độ IVR – 16% API/1:1 R202H:R203H/Không chất phụ gia, 16% API/1:1 R202H:R203H/31,25 mg PEG, 16% API/1:1 R202H:R203H/31,25 mg Poloxamer 407. Hình này so sánh biên độ giải phóng *trong ống nghiệm* của 16% API/1:1 R202H:R203H/Không chất phụ gia vi cầu, 16% API/1:1 R202H:R203H/31,25 mg PEG vi cầu, và 16% API/1:1 R202H:R203H/31,25 mg Poloxamer 407 được điều chế bằng cách sấy phun.

Hình 25: Biên độ IVR *Trong cơ thể* (Chuột)– Vi cầu 16% API/9:1 202H:RG502H và 15% API/9:1 R203H:RG752H. Hình này thể hiện giải phóng gần cấp không *trong cơ thể* qua khoảng 3-4 tháng và 5-6 tháng đối với vi cầu 16% API/9:1 202H:RG502H và 15% API/9:1 R203H:RG752H.

Hình 26: [¹⁴C] 3-(3-metoxo-4-((4-metoxibenzyloxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin còn lại theo thời gian (Khớp đầu gối của chuột) – Vi cầu 16% API/9:1 202H:RG502H và 15% API/9:1 203H:RG752H. Sau khi cho dùng trong khớp vào khớp đầu gối của chuột, đối với vi cầu 16% API/9:1 202H:RG502H và 15% API/9:1 R203H:RG752H thể hiện giải phóng thuốc qua 5 đến 6 tháng; 16% API/9:1 202H:RG502H thể hiện 12% còn lại trong khớp sau 5 tháng và 15% API/9:1 R203H:RG752H thể hiện 30% thuốc còn lại sau 6 tháng.

Hình 27: Mối liên hệ nồng độ - thời gian của 3-(3-metoxo-4-((4-metoxibenzyloxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-

b]pyridin-2-amin (Máu chuột) – Vi cầu 16% API/9:1 202:H:RG502H và 15% API/9:1 R203H:RG752H. Hình này thể hiện mối liên hệ nồng độ thuốc-thời gian trong máu sau khi dùng trong khớp các vi cầu nạp 3-(3-metoxyl-4-((4-metoxylbenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin.

Hình 28: Biên độ IVR – Vi cầu 16% API/9:1 202:H:RG752H, 15% API/9:1 R203H:RG752H và 40% API/203H

Hình 29: Mối liên hệ nồng độ - thời gian của 3-(3-metoxyl-4-((4-metoxylbenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin – vi cầu 16% API/9:1 202:H:RG752H, 15% API/9:1 R203H:RG752H và 40% API/203H

Hình 30: XRPD được đo hoặc được mô phỏng của các Dạng từ 1 đến 4 (Khan và hydrat). XRPD của dạng khan và hydrat của 3-(3-metoxyl-4-((4-metoxylbenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin được thể hiện.

Hình 31: XRPD của Dạng 5 (Etanol). XRPD của Dạng 5 (Etanol) của 3-(3-metoxyl-4-((4-metoxylbenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin được thể hiện.

Hình 32: XRPD của Dạng 9 (Axeton). XRPD của Dạng 9 (Axeton) của 3-(3-metoxyl-4-((4-metoxylbenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin được thể hiện.

Hình 33: So sánh XRPD của Dạng 10 (Axeton) và Dạng 9 (Axeton). Hình này đề xuất so sánh của hai dạng của 3-(3-metoxyl-4-((4-metoxylbenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin thu được tron axeton.

Hình 34: XRPD của Dạng 11 (Axetonitril). XRPD của Dạng 11 (Axetonitril) của 3-(3-metoxo-4-((4-metoxobenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin được thể hiện.

Hình 35: Pha tinh thể rắn của 3-(3-metoxo-4-((4-metoxobenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin. Hình này đề xuất so sánh mười dạng tinh thể của 3-(3-metoxo-4-((4-metoxobenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin thu được trong các thử nghiệm.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế đề cập đến chế phẩm dược chứa 3-(3-metoxo-4-((4-metoxobenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin, thụ thể kinaza có liên quan đến tropomyosin (“chất ức chế Trk”), và dạng monohydrat của 3-(3-metoxo-4-((4-metoxobenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin.

Chế phẩm dược dung dịch vi tinh thể chất ức chế Trk bao gồm 3-(3-metoxo-4-((4-metoxobenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin ở dạng monohydrat của nó, mà thể hiện các đặc tính cải thiện so với dạng anhydrat.

Sáng chế còn đề cập đến chế phẩm dược giải phóng kéo dài của chất ức chế Trk 3-(3-metoxo-4-((4-metoxobenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin, bao gồm các vi cầu nạp 3-(3-metoxo-4-((4-metoxobenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin.

Chế phẩm dược của chất ức chế Trk theo sáng chế ức chế kinaza có liên quan đến tropomyosin A (TrkA), kinaza có liên quan đến tropomyosin B (TrkB), kinaza có liên quan đến tropomyosin C (TrkC), và c-FMS (thụ thể tế bào cho yếu tố kích thích tạo cụm-1 (CSF-1)). Kinaza có liên quan đến

tropomyosin (Trk) là thụ thể ái lực cao được hoạt hóa bởi yếu tố sinh trưởng có thể hòa tan được gọi là neutrophin (NT). TrkA, còn được gọi là thụ thể tyrosin kinaza dinh dưỡng thần kinh tuýp 1, được hoạt hóa bởi yếu tố sinh trưởng thần kinh (NGF). TrkB được hoạt hóa bởi yếu tố sinh trưởng có nguồn gốc từ não và NT-4/5. TrkC được hoạt hóa bởi NT3. Sự hoạt hóa của Trk dẫn đến sự hoạt hóa của kinaza xuôi dòng mà được ảm bào gồm trong sự truyền tín hiệu tế bào, bao gồm sự tăng sinh, sự sống sót, sự hình thành mạch và sự di căn của tế bào. Trk ảm bào gồm trong nhiều bệnh, bao gồm OA.

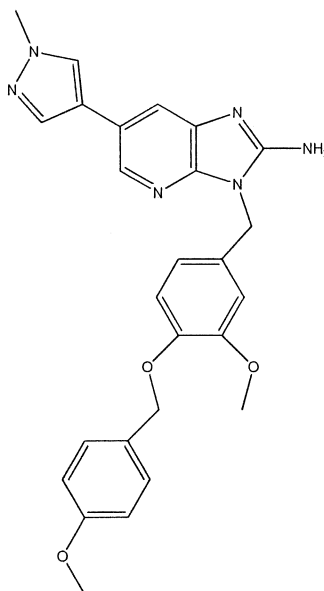
Chế phẩm được chứa chất ức chế Trk theo sáng chế còn có thể ức chế c-FMS (thụ thể tế bào cho yếu tố kích thích tạo cụm-1 (CSF-1). C-FMS đóng vai trò trong sự điều hòa của chức năng đại thực bào, và được tin là có vai trò trong bệnh viêm, bệnh tự miễn, khiếm khuyết trao đổi chất ở xương và bệnh ung thư (Burns và Wilks, 2011, *Informa Healthcare*).

OA là bệnh khớp suy nhược và phổ biến đặc trưng bởi chứng đau mạn tính và sự phá hủy của sụn khớp. Các nghiên cứu lâm sàng gần đây đã xác nhận vai trò làm phong bế NGF ở chứng đau đầu gối OA, chứng tỏ sự giảm đau đáng kể và tỷ lệ đáp ứng cao ở bệnh nhân được điều trị bằng cách truyền trong tĩnh mạch bằng kháng thể phong bế kháng NGF (Lane, 2010, *N Engl J Med*). Tuy nhiên, phương thức này có thể dẫn đến sự tăng nguy cơ về các vấn đề bất lợi do sự ức chế toàn thân của sự truyền tín hiệu NGF (Cuộc họp Ủy ban Tư vấn Chứng viêm khớp FDA để Thảo luận Vấn đề An toàn Liên quan đến Tác nhân Yếu tố Sinh trưởng Kháng Thần kinh; <http://www.fda.gov/AdvisoryCommittees/Calendar/ucm286556.htm>) Theo đó, phương pháp mới theo hướng nhắm đích vào chứng đau OA qua trung gian NGF đã được phê chuẩn thông qua sự phát triển của chất ức chế Trk, cụ thể là chất ức chế TrkA, thụ thể ái lực cao đối với NGF (Nicol, 2007, *Molecular Interv*). Chất ức chế Trk theo sáng chế được phân phối cục bộ và bằng cách đó

tránh được sự phân bố toàn thân quan sát được khi dùng kháng NGF trong tĩnh mạch. Chiến lược điều trị này làm tăng sự thuận tiện khi dùng liều lượng, cũng như có độ an toàn lớn hơn bằng cách cho phép duy trì sự truyền tín hiệu NGF cần thiết về mặt sinh lý (tức là sự duy trì thần kinh cảm giác/giao cảm, sự hình thành mạch) ở các vị trí không cục bộ.

Sáng chế đề cập đến chế phẩm dược chứa chất ức chế Trk và phương pháp điều trị bệnh bằng chế phẩm dược chứa chất ức chế Trk. Cụ thể hơn là, sáng chế đề cập đến phương pháp điều trị chứng đau, OA, chứng đau liên quan đến OA, chứng đau sau phẫu thuật, bệnh viêm, bệnh tự miễn, khiếm khuyết trao đổi chất ở xương và ung thư bằng chế phẩm dược chứa chất ức chế Trk. Dược phẩm chứa chất ức chế Trk có thể được cho dùng dưới dạng đa liều, bao gồm tiêm để phân phối cục bộ cả là huyền phù vi tinh thể và trong chế phẩm giải phóng kéo dài. Chất ức chế Trk là thành phần dược hoạt tính trong dược phẩm bao gồm chất ức chế Trk. Chất ức chế Trk còn có thể được cho dùng cùng nhau và/hoặc được phối chế với các thành phần hoạt tính khác để điều trị bệnh, bao gồm điều trị chứng đau, OA và chứng đau liên quan đến OA.

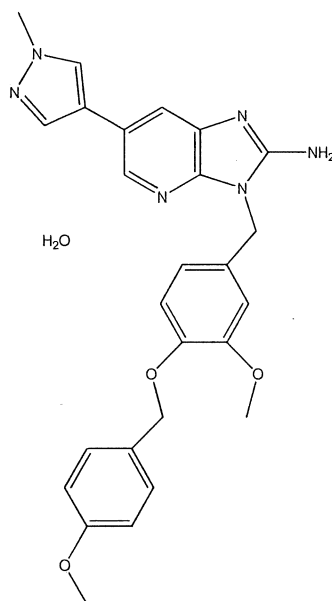
Chế phẩm dược chứa chất ức chế Trk theo sáng chế bao gồm 3-(3-methoxy-4-((4-methoxybenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-methyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin, được thể hiện bởi Công thức (I) dưới đây, là thành phần hoạt tính dược. 3-(3-methoxy-4-((4-methoxybenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-methyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin còn gọi là GZ389988.



Công thức (I): 3-(3-methoxy-4-((4-methoxybenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-methyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin (GZ389988)

Vấn đề được giải quyết bằng sáng chế là khó khăn trong việc phối chế chế phẩm bao gồm 3-(3-methoxy-4-((4-methoxybenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-methyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin. Giải pháp cho vấn đề này là phát hiện ra rằng dạng monohydrat của 3-(3-methoxy-4-((4-methoxybenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-methyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin có các đặc tính vật lý và hóa học cải thiện, bao gồm tính ổn định vật lý tốt hơn và tan trong nước chậm hơn, so với dạng anhydrat. Dạng anhydrat của 3-(3-methoxy-4-((4-methoxybenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-methyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin thể hiện tương đối không ổn định trong dung dịch, gây ra vấn đề với việc điều chế nó thành dược phẩm. Dạng anhydrat thể hiện các thay đổi dạng rắn khác nhau dưới các điều kiện nhất định, bao gồm việc chuyển đổi thành hydrat. Dạng monohydrat của 3-(3-methoxy-4-((4-methoxybenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-methyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin cho tính ổn định bổ sung và cần thiết để tránh việc chuyển đổi đa hình trong khi lưu trữ thời gian dài và khi xử lý, và dẫn đến tính ổn định vật lý được tăng cường. Ngoài ra, quan sát được sự hòa tan chậm

hơn trong dung dịch nước với dạng monohydrat. Dạng monohydrat của 3-(3-metoxo-4-((4-metoxibenzyloxy)benzyloxy)benzyloxy)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin, còn gọi là GZ389988A, được thể hiện bởi Công thức (II) dưới đây.



Công thức (II): Dạng monohydrat của 3-(3-metoxo-4-((4-metoxibenzyloxy)benzyloxy)benzyloxy)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin (GZ389988A)

Trọng lượng phân tử của 3-(3-metoxo-4-((4-metoxibenzyloxy)benzyloxy)benzyloxy)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin là 470,54 g/mol, và công thức cơ bản là $C_{26}H_{26}N_6O_3$. Dạng monohydrat của 3-(3-metoxo-4-((4-metoxibenzyloxy)benzyloxy)benzyloxy)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin là bột màu trắng đục và dưới kính hiển vi ánh sáng phân cực nó xuất hiện là các kim nhỏ hoặc các hạt kiểu sợi.

Dạng monohydrat của 3-(3-metoxo-4-((4-metoxibenzyloxy)benzyloxy)benzyloxy)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin được tổng hợp theo Ví dụ 1.

Phương án cụ thể của sáng chế là dạng tinh thể của 3-(3-metoxo-4-((4-metoxibenzyloxy)benzyloxy)benzyloxy)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-

b]pyridin-2-amin, trong đó giảm đồ nhiễu xạ bột tia X (XRPD) bao gồm các đỉnh 2 θ sau được đo bằng cách sử dụng CuK α bức xạ: 7,14, 8,89, 10,22, 12,42, 12,73 và 14,31. Chi tiết về phương pháp thu được tính XRPD được đề xuất trong Ví dụ 1. Phương án khác của sáng chế là được phẩm bao gồm dạng tinh thể của chất ức chế Trk 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-amin và tá dược được dùng.

Phương án khác của sáng chế đề cập đến các dạng tinh thể khác của chất ức chế Trk 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-amin trong các dung môi khác, bao gồm etanol, axeton, axetonitril, và các dung môi trộn lẫn. Chi tiết về các dạng khác của 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-amin và phương pháp thu được tính XRPD được đề xuất trong Ví dụ 4.

Sáng chế còn đề cập đến chế phẩm bao gồm dạng monohydrat của 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-amin, được thể hiện bởi Công thức (I), và được phẩm bao gồm dạng monohydrat của chất ức chế Trk 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-amin và tá dược được dùng.

Chế phẩm dược chứa chất ức chế Trk có thể bao gồm một hoặc nhiều tá dược được dùng. Các cách dùng chế phẩm dược chứa chất ức chế Trk bao gồm đường miệng, dưới lưỡi, trong tĩnh mạch, dưới da, trong cơ, trong khớp, áp da, trực tràng, xông, nội tủy mạc/nội tâm thất, và tiếp xúc. Theo đó, chế phẩm dược chứa chất ức chế Trk có thể được phối chế, ví dụ, thành viên nang, viên nén, bột, dung dịch, huyền phù, nhũ tương, bột khô lạnh, hoặc chế phẩm giải phóng kéo dài bao gồm vi nang tiêu được. Tá dược được dùng trong chế phẩm dược chứa

chất ức chế Trk sẽ phụ thuộc vào đường dùng mà dược phẩm chứa chất ức chế Trk dự kiến cho dùng.

Tá dược thích hợp bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các vật liệu hữu cơ hoặc vô cơ như chất pha loãng, dung môi, gelatin, albumin, lactoza, tinh bột, chất ổn định, tác nhân nóng chảy, chất nhũ hóa, chất tạo huyền phù, muối và chất đệm. Tá dược được dụng thích hợp cho chế phẩm trong khớp chẳng hạn như dung dịch hoặc huyền phù bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, gel hoặc dịch lỏng trợ có trên thị trường.

Do tính tan thấp của chất ức chế Trk 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin và dạng monohydrat của 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin, chất tạo huyền phù cần để tạo chế phẩm huyền phù vi tinh thể để tiêm trong khớp bao gồm chất ức chế Trk là thành phần hoạt tính được thường dùng chất tạo huyền phù được dụng bao gồm: keo, aga, alginic axit, bentonit, canxi stearat, carbomer, carboxymetylxenluloza (canxi và natri), carrageenan, xenluloza (vi tinh thể, vi tinh thể và carboxymetylxenluloza natri, được nghiền bột), silicon dioxit keo, destrin, gelatin, gôm guar, hectorit, silic oxit keo kỵ nước, hydroxyetyl xenluloza, hydroxymetyl xenluloza, hydroxypropyl xenluloza, hypromeloza, cao lanh, magie nhôm silicat, dung dịch maltitol, triglyxerit mạch trung, metylxenluloza, phenylmercuric borat, phospholipit, poycarbophil, polyetylen glycol, este axit béo polyoxyetylen sorbitan, povidon (polyvinylpyrrolidon), propylen glycol alginat, saponit, dầu vùng, natri alginat, sorbitan este, sucroza, nhựa tragacan, vitamin E polyetylen glycol succinat, và gôm xanthan (Handbook of Pharmaceutical Excipients, tái bản lần thứ 6).

Chất tạo đệm còn được dùng trong chế phẩm của dung dịch để dùng trong khớp khi thành phần hoạt tính là dạng monohydrat của 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin, chất ức chế Trk. Chất tạo đệm được dùng bao gồm: adipic axit, dung dịch amoniac, boric axit, canxi carbonat, canxi hydroxit, canxi lactat, canxi phosphat, ba bazơ, xitric axit monohydrat, natri phosphat hai bazơ, dietanolamin, glyxin, maleic axit, malic axit, methionin, natri phosphat đơn bazơ, monoetanolamin, mononatri glutamat, phosphoric axit, kali xitrat, natri axetat, natri bicarbonat, natri borat, natri carbonat, natri xitrat dihydrat, natri hydroxit, natri lactat, và trietanolamin (Handbook of Pharmaceutical Excipients, tái bản lần thứ 6).

Khi chế phẩm được chứa chất ức chế Trk theo sáng chế là các chế phẩm để dùng trong khớp, chúng còn có thể gồm chất pha loãng. Chất pha loãng thích hợp để áp dụng như trong sáng chế bao gồm: malitol, dầu hướng dương, amoni alginat, canxi carbonat, canxi lactat, canxi phosphat hai bazơ khan, dihydrat hai bazơ, ba bazơ, canxi silicat, canxi sulfat, xenluloza (vi tinh thể silic hóa, nghiền bột), xenluloza axetat, đường nén, đường làm bánh kẹo, tinh bột ngô và tinh bột đông keo sơ bộ, dextrat, dextrin, dextroza, erythritol, etylxenluloza, fructoza, fumaric axit, glyxeryl palmitostearat, lactoza xông, isomalt, cao lạnh, lactitol, lactoza (khan, monohydrat và tinh bột ngô, monohydrat và xenluloza vi tinh thể, sấy phun), magie carbonat, magie oxit, maltodextrin, maltoza, manitol, triglycerit mạch trung, xenluloza vi tinh thể, polydextroza, polymethacrylat, simethicon, natri alginat, natri clorua, sorbitol, tinh bột (ngô khử trùng, đông keo sơ bộ), sucroza, khối cầu đường, sulfobutylete β -cyclodextrin, bột tan, nhựa tragacan, trehaloza, xylitol (Handbook of Pharmaceutical Excipients, tái bản lần thứ 6).

Chế phẩm được huyền phù vi tinh thể chứa chất ức chế Trk với dạng monohydrat của 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin làm thành phần hoạt tính được mô tả trong Ví dụ 2.

Sáng chế còn đề cập đến phương pháp sản xuất dạng tinh thể của 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin và sản xuất dạng monohydrat của 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin bao gồm:

- a. Trộn 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin với dung môi để tạo thành huyền phù;
- b. Khuấy huyền phù;
- c. Gom chất rắn trong huyền phù bằng cách lọc; và
- d. Làm khô chất rắn.

Theo phương pháp này, dung môi được dùng để tạo thành huyền phù có thể là hỗn hợp của axeton và nước. Ngoài ra, huyền phù có thể được khuấy qua đêm, và chất rắn mà được gom có thể được sấy khô bằng khí.

Chế phẩm được giải phóng kéo dài của chất ức chế Trk có thể bao gồm hoặc là 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin hoặc dạng monohydrat của 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin là, trong trường hợp chế phẩm được tạo từ dung dịch thuốc, chất ức chế Trk được hòa tan trong dung môi trước khi tạo vi nang và phối chế, và trong trường hợp chế phẩm được tạo từ huyền phù thuốc, chất ức chế Trk được tạo huyền phù trong dung môi trước khi tạo vi nang và phối chế. Sau đó dung dịch hoặc huyền phù chứa thành phần hoạt tính được kết hợp với các

polyme khác nhau, như đề cập trong Ví dụ 3, để tạo vi nang 3-(3-metoxý-4-((4-metoxýbenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin. Việc tạo vi nang 3-(3-metoxý-4-((4-metoxýbenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin giúp tạo ra chế phẩm với hiệu quả kéo dài, trong khoảng thời gian lên đến và hơn 3 tháng, và tạo ra hiệu quả chữa bệnh duy trì ở bệnh nhân.

Theo phương án cụ thể của sáng chế, dược phẩm bao gồm dạng monohydrat của 3-(3-metoxý-4-((4-metoxýbenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin bao gồm chất pha loãng được dùng, a chất tạo huyền phù được dùng và chất tạo đệm được dùng. Theo một số phương án của chế phẩm được theo sáng chế, chất pha loãng là sorbitol, chất tạo huyền phù là povidon, và chất tạo đệm là axit phosphoric.

Sáng chế còn đề cập đến chế phẩm được giải phóng kéo dài bao gồm các vi cầu nạp 3-(3-metoxý-4-((4-metoxýbenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin. Trong các chế phẩm giải phóng kéo dài này, chất ức chế Trk có thể là hoặc là 3-(3-metoxý-4-((4-metoxýbenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin hoặc dạng monohydrat của hợp chất. Vi cầu nạp thuốc có thể còn bao gồm polyme.

Theo phương án cụ thể của vi cầu nạp chất ức chế Trk bao gồm polyme, polyme được chọn từ poly(D,L-lactit), poly(D,L-lactit-co-glycolit) và kết hợp của cả poly(D,L-lactit) và poly(D,L-lactit-co-glycolit). Theo một số phương án của sáng chế, poly(D,L-lactit) được dùng trong chế phẩm giải phóng kéo dài có độ nhớt tự thân bằng 0,16-0,35 dL/g. Theo phương án khác, poly(D,L-lactit) có độ nhớt tự thân bằng 0,16-0,24 dL/g. Theo phương án khác nữa, poly(D,L-lactit) có độ nhớt tự thân bằng 0,25-0,35 dL/g. Theo một số phương án của sáng chế, poly(D,L-lactit-co-glycolit) có độ nhớt tự thân bằng 0,14-0,24 dL/g. Theo một

phương án, poly(D,L-lactit-co-glycolit) có độ nhớt tự thân bằng 0,14-0,22 dL/g. Theo phương án khác poly(D,L-lactit-co-glycolit) có độ nhớt tự thân bằng 0,16-0,24 dL/g.

Trong chế phẩm giải phóng kéo dài bao gồm cả poly(D,L-lactit) và poly(D,L-lactit-co-glycolit), poly(D,L-lactit) có độ nhớt tự thân bằng 0,16-0,35 dL/g và poly(D,L-lactit-co-glycolit) có độ nhớt tự thân bằng 0,14-0,24 dL/g. Theo một phương án, poly(D,L-lactit) có độ nhớt tự thân bằng 0,16-0,24 dL/g và poly(D,L-lactit-co-glycolit) có độ nhớt tự thân bằng 0,14-0,22 dL/g. Theo phương án khác, poly(D,L-lactit) có độ nhớt tự thân bằng 0,16-0,24 dL/g và poly(D,L-lactit-co-glycolit) có độ nhớt tự thân bằng 0,16-0,24 dL/g. Theo phương án khác nữa, poly(D,L-lactit) có độ nhớt tự thân bằng 0,25-0,35dL/g và poly(D,L-lactit-co-glycolit) có độ nhớt tự thân bằng 0,14-0,22 dL/g. Và theo phương án khác nữa, poly(D,L-lactit) có độ nhớt tự thân bằng 0,25-0,35dL/g và poly(D,L-lactit-co-glycolit) có độ nhớt tự thân bằng 0,16-0,24 dL/g.

Theo phương án khác, chế phẩm được giải phóng kéo dài bao gồm vi cầu nạp chất ức chế Trk bao gồm poly(D,L-lactit) và poly(D,L-lactit-co-glycolit) với tỷ lệ 9:1. Trong các chế phẩm giải phóng kéo dài này, poly(D,L-lactit) có độ nhớt tự thân bằng 0,16-0,35 dL/g và poly(D,L-lactit-co-glycolit) có độ nhớt tự thân bằng 0,14-0,24 dL/g.

Theo phương án khác, chế phẩm được giải phóng kéo dài bao gồm vi cầu nạp chất ức chế Trk bao gồm poly(D,L-lactit) và poly(D,L-lactit-co-glycolit) với tỷ lệ 9,5:0,5. Trong các chế phẩm này, poly(D,L-lactit) có độ nhớt tự thân bằng 0,16-0,35 dL/g và poly(D,L-lactit-co-glycolit) có độ nhớt tự thân bằng 0,14-0,24 dL/g.

Trong dược phẩm giải phóng kéo dài bao gồm vi cầu nạp chất ức chế Trk, vi cầu được nạp 1% trọng lượng/trọng lượng đến 99% trọng lượng/trọng lượng 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-3*H*-

imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-amin. Theo phương án cụ thể hơn, vi cầu được nạp 12% trọng lượng/trọng lượng đến 50% trọng lượng/trọng lượng 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-amin. Theo phương án khác nữa, vi cầu được nạp 12% trọng lượng/trọng lượng đến 50% trọng lượng/trọng lượng 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-amin. Theo các phương án cụ thể hơn nữa, vi cầu được nạp 12% trọng lượng/trọng lượng, 15% trọng lượng/trọng lượng, 16% trọng lượng/trọng lượng, 17% trọng lượng/trọng lượng, 18% trọng lượng/trọng lượng, 19% trọng lượng/trọng lượng, 20% trọng lượng/trọng lượng, 25% trọng lượng/trọng lượng, 30% trọng lượng/trọng lượng, 40% trọng lượng/trọng lượng hoặc even 50% trọng lượng/trọng lượng 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-amin.

Sáng chế còn đề cập đến phương pháp sản xuất vi nang được nạp 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-amin bằng cách chiết dung môi và bằng cách sấy phun.

Một phương pháp chiết dung môi theo sáng chế đề cập đến việc tạo thành vi cầu nạp chất ức chế Trk từ dung dịch của 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-amin. Phương pháp này bao gồm:

- a. Hòa tan 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-amin trong dung môi hữu cơ để tạo thành dung dịch thuốc;
- b. Thêm polyme vào dung dịch thuốc để tạo thành dung dịch polyme/3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-amin;

- c. Trộn dung dịch polyme/3-(3-metoxo-4-((4-metoxobenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-amin vào dung dịch nước để tạo thành nhũ tương;
- d. Thêm nước khử ion vào nhũ tương;
- e. Tạo vi cầu từ nhũ tương bằng cách chiết dung môi; và
- f. Sàng các vi cầu thu được bằng cách sử dụng dung dịch hoạt động bề mặt.

Theo phương pháp này, dung môi hữu cơ có thể bao gồm (i) diclometan và metanol, (ii) diclometan, (iii) rượu benzyl và metanol, (iv) diclometan và rượu benzyl, (v) cloform, (v) cloform và metanol, hoặc (vii) cloform và rượu benzyl. . Polyme theo phương pháp này có thể là poly(D,L-lactit), poly(D,L-lactit-co-glycolit), hoặc kết hợp của poly(D,L-lactit) và poly(D,L-lactit-co-glycolit). Dung dịch nước theo phương pháp này có thể là rượu polyvinyl trong nước. Dung dịch hoạt động bề mặt theo phương pháp này có thể là poloxamer 407 trong nước, polysorbat 80 trong nước, hoặc polysorbat 20 trong nước.

Phương pháp chiết dung môi khác theo sáng chế đề cập đến việc tạo thành vi cầu nạp chất ức chế Trk từ huyền phù của 3-(3-metoxo-4-((4-metoxobenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-amin. Phương pháp này bao gồm:

- a. Phân tán 3-(3-metoxo-4-((4-metoxobenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-amin trong dung môi hữu cơ để tạo thành huyền phù thuốc;
- b. Thêm polyme vào huyền phù thuốc để tạo thành chất làm phân tán polyme/3-(3-metoxo-4-((4-metoxobenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-amin;

- c. Trộn chất làm phân tán polyme/3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-amin với dung dịch nước để tạo thành nhũ tương;
- d. Thêm nước khử ion vào nhũ tương;
- e. Tạo vi cầu từ nhũ tương bằng cách chiết dung môi; và
- f. Sàng các vi cầu thu được bằng cách sử dụng dung dịch hoạt động bề mặt.

Theo phương pháp này, dung môi hữu cơ có thể bao gồm (i) etyl axetat, (ii) diclometan, (iii) cloform, (iv) etyl axetat và diclometan, (v) etyl axetat và cloform, (vi) diclometan và cloform hoặc (vii) etyl axetat, diclometan và cloform. Polyme theo phương pháp này có thể là poly(D,L-lactit), poly(D,L-lactit-co-glycolit), hoặc kết hợp của poly(D,L-lactit) và poly(D,L-lactit-co-glycolit). Dung dịch nước theo phương pháp này có thể là rượu polyvinyl trong nước. Dung dịch hoạt động bề mặt theo phương pháp này có thể là poloxamer 407 trong nước, polysorbat 80 trong nước, hoặc polysorbat 20 trong nước.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến phương pháp tạo thành vi cầu nạp chất ức chế Trk từ dung dịch của vi nang được nạp 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-amin bằng cách sấy phun. Phương pháp này bao gồm:

- a. Hòa tan 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-amin trong dung môi hữu cơ để tạo thành dung dịch thuốc;
- b. Thêm polyme vào dung dịch thuốc để tạo thành dung dịch polyme/3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-amin; và

c. Bơm dung dịch polyme/3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-amin qua thiết bị phun vào thiết bị sấy để tạo thành hạt hình cầu.

Theo phương pháp này, dung môi hữu cơ có thể bao gồm (i) diclometan và metanol, (ii) diclometan, (iii) rượu benzyl và metanol, (iv) diclometan và rượu benzyl, (v) cloform, (v) cloform và metanol, hoặc (vii) cloform và rượu benzyl. Polyme theo phương pháp này có thể là poly(D,L-lactit), poly(D,L-lactit-co-glycolit), hoặc kết hợp của poly(D,L-lactit) và poly(D,L-lactit-co-glycolit). Các thông số bổ sung của phương pháp này liên quan đến tốc độ phun và dòng nitơ phun của thiết bị phun. Tốc độ phun có thể là 0,7 mL/phút; dòng nitơ phun có thể là 4 L/phút. Nhiệt độ ở các điểm khác nhau trong thiết bị sấy cũng là các yếu tố mà có thể được kiểm soát để tác động đến kích thước vi cầu tạo thành. Theo phương pháp này, thiết bị sấy có thể có nhiệt độ cấp bằng 50°C, nhiệt độ phòng bằng 40-45°C, và nhiệt độ xả bằng 20-30°C. Theo phương án cụ thể hơn, nhiệt độ buồng bằng 40-43°C; đặc biệt hơn là nhiệt độ buồng bằng 41-43°C. Theo phương án khác, nhiệt độ xả bằng 22-28°C.

Theo khía cạnh khác nữa, sáng chế đề cập đến phương pháp tạo thành vi cầu nạp chất ức chế Trk từ huyền phù của vi nang được nạp 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-amin bằng cách sấy phun. Phương pháp này bao gồm:

a. Phân tán 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-amin trong dung môi hữu cơ để tạo thành huyền phù thuốc;

b. Thêm polyme vào huyền phù thuốc để tạo thành chất làm phân tán polyme/3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-amin; và

c. Bơm chất làm phân tán polyme/3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-amin qua thiết bị phun vào thiết bị sấy để tạo thành hạt hình cầu.

Theo phương pháp này, dung môi hữu cơ có thể bao gồm (i) etyl axetat, (ii) diclometan, (iii) cloform, (iv) etyl axetat và diclometan, (v) etyl axetat và cloform, (vi) diclometan và cloform hoặc (vii) etyl axetat, diclometan và cloform. Polyme theo phương pháp này có thể là poly(D,L-lactit), poly(D,L-lactit-co-glycolit), hoặc kết hợp của poly(D,L-lactit) và poly(D,L-lactit-co-glycolit). Các thông số bổ sung của phương pháp này liên quan đến tốc độ phun và dòng nitơ phun của thiết bị phun. Tốc độ phun có thể là 0,7 mL/phút; dòng nitơ phun có thể là 4 L/phút. Nhiệt độ ở các điểm khác nhau trong thiết bị sấy cũng là các yếu tố mà có thể được kiểm soát để tác động đến kích thước vi cầu tạo thành. Theo phương pháp này, thiết bị sấy có thể có nhiệt độ cấp bằng 50°C, nhiệt độ phòng bằng 40-45°C, và nhiệt độ xả bằng 20-30°C. Theo phương án cụ thể hơn, nhiệt độ buồng bằng 40-43°C; đặc biệt hơn là nhiệt độ buồng bằng 41-43°C. Theo phương án khác, nhiệt độ xả bằng 22-28°C.

Các ví dụ không giới hạn sau đây minh họa các phương án khác nhau của sáng chế, bao gồm các phương pháp để điều chế dạng monohydrat của 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-amin, chế phẩm được với dạng monohydrat của 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-amin, chế phẩm được giải phóng kéo dài của 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-amin và phương pháp để tạo ra các chế phẩm giải phóng kéo dài này.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1: Dạng monohydrat của 3-(3-Metoxy-4-((4-metoxybenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin

Ví dụ 1- 1: Tổng hợp dạng monohydrat của 3-(3-Metoxy-4-((4-metoxybenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin

Bổ sung *N,N*-diisopropyletylamin (1,13 g, 8,71 mmol) vào dung dịch có khuấy của 3-metoxy-4-(4-metoxybenzyloxy)phenyl)metanamin (2,00 g, 7,32 mmol) và 5-bromo-2-clo-3-nitropyridin (1,66 g, 6,97 mmol) trong axetonitril (50 ml). Gia nhiệt hỗn hợp thu được đến hồi lưu và để có khuấy. Sau 64 giờ, để hỗn hợp phản ứng nguội xuống nhiệt độ trong phòng và pha loãng bằng nước. Chiết hỗn hợp này hai lần bằng diclometan. Làm khô các pha hữu cơ kết hợp trên magie sulfat, lọc, và cô để tạo ra 3,34 g (> 100%) 5-bromo-*N*-(3-metoxy-4-(4-metoxybenzyloxy)benzyl)-3-nitropyridin-2-amin dưới dạng chất rắn màu vàng-nâu.

Bổ sung natri hydrosulfit (6,09 g, 34,99 mmol) vào dung dịch có khuấy của 5-bromo-*N*-(3-metoxy-4-(4-metoxybenzyloxy)benzyl)-3-nitropyridin-2-amin trong tetrahydrofuran (40 ml), etanol (40 ml), và nước (40 ml). Gia nhiệt hỗn hợp thu được đến hồi lưu và để có khuấy. Sau 4 giờ, để hỗn hợp phản ứng nguội xuống nhiệt độ trong phòng và pha loãng bằng nước. Chiết hỗn hợp màu vàng này ba lần bằng diclometan. Rửa các pha hữu cơ kết hợp bằng nước muối, làm khô (magie sulfat), lọc, và cô để tạo ra 3,10 g chất rắn màu vàng-nâu. Tinh chế bằng sắc ký (Combi-Flash 40 g cột vàng SiO₂, metanol/diclometan 1-2,5%) tạo ra 1,28 g (51%) 5-bromo-*N*²-(3-metoxy-4-(4-metoxybenzyloxy)benzyl)pyridin-2,3-diamin dưới dạng chất rắn màu vàng.

Bổ sung xyanogen bromua (5,0 M trong axetonitril, 573 μ l, 2,87 mmol) vào dung dịch có khuấy của 5-bromo-N²-(3-metoxo-4-(4-metoxobenzyloxy)benzyl)pyridin-2,3-diamin (0,850 g, 1,91 mmol) trong diclometan (30 ml) và metanol (30 ml). Để dung dịch thu được có khuấy ở nhiệt độ trong phòng. Sau 24 giờ, bổ sung phần phân ước thứ hai của dung dịch xyanogen bromua (600 μ l) và tiếp tục khuấy. Sau 48 giờ, bổ sung phần phân ước thứ ba của dung dịch xyanogen bromua (600 μ l) và tiếp tục khuấy. Sau tổng cộng 72 giờ, cô hỗn hợp phản ứng, và hòa tan phần cặn trong diclometan. Rửa dung dịch này bằng dung dịch natri hydroxit 1N, làm khô trên magie sulfat, lọc, và cô để tạo ra 1,17 g chất rắn màu nâu. Tinh chế bằng sắc ký (Combi-Flash, 40 g cột vàng SiO₂, amoni 2M trong metanol/diclometan 1-10%) tạo ra 0,28 g (32%) 6-bromo-3-(3-metoxo-4-(4-metoxobenzyloxy)benzyl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-amin dưới dạng chất rắn màu nâu.

Bổ sung 1-metyl-4-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1*H*-pyrazol (0,14 g, 0,66 mmol), kali phosphat tribazơ (0,39 g, 1,84 mmol), trixyclohexylphosphin (0,015 g, 0,052 mmol), paladi(II) axetat (0,005 g, 0,026 mmol) vào dung dịch có khuấy của 6-bromo-3-(3-metoxo-4-(4-metoxobenzyloxy)benzyl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-amin (0,25 g, 0,53 mmol) trong 1,4-dioxan (10 ml) và nước (4 ml). Gia nhiệt hỗn hợp phản ứng lên nhiệt độ 125°C trong lò phản ứng vi sóng. Sau 15 phút, để hỗn hợp phản ứng nguội xuống nhiệt độ trong phòng và pha loãng bằng nước. Chiết hỗn hợp này hai lần bằng etyl axetat. Rửa các pha hữu cơ kết hợp bằng nước muối, làm khô trên magie sulfat, lọc, và cô để tạo ra 0,36 g chất rắn màu nâu hơi lục. Tinh chế bằng sắc ký (Combi-Flash, 12 g cột vàng SiO₂, 1-10% 2M amoniac trong metanol/diclometan) thu được 0,10 g (41%) sản phẩm là chất rắn màu xanh sáng.

Bổ sung 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin vào hỗn hợp của axeton (2 mL) và nước (0,1 mL). Khuấy huyền phù bằng thanh khuấy từ ở nhiệt độ phòng qua đêm. Gom chất rắn bằng cách lọc và làm khô trong không khí. Xác định cấu trúc bằng proton NMR. Nhiệt độ phân tích nhiệt lượng quét vi sai (DSC) thể hiện ba sự kiện nhiệt ở 76,72, 160,13, và 195,78°C, nhiệt độ phân tích nhiệt trọng lượng (TGA) thể hiện 3,7% giảm trọng lượng từ 25 – 100°C, và phân tích nhiễu xạ bột tia X (XRPD) thể hiện các đỉnh đơn nhất tại các đỉnh 2 θ 3,6, 7,1, 8,9, 10,4, 10,7, 12,4, 12,7 và 14,3 được đo bằng cách sử dụng CuK α (độ chính xác $\pm 0,2^\circ$).

Ví dụ 1- 2: Xác định cấu trúc tinh thể của dạng monohydrat của 3-(3-Metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin

Cấu trúc tinh thể của dạng monohydrat của 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin cũng được giải quyết. Tinh thể của dạng monohydrat của 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin được tái tinh thể từ axeton/nước. Tinh thể có kích thước 0,20 * 0,08 * 0,03 mm được thu cho khung nhiễu xạ thích hợp khi nó được đặt lên đỉnh của MiTeGen MicroMount. Dữ liệu nhiễu xạ tia X được gom trên Nhiễu xạ kế ba chu kỳ Bruker/AXS, được trang bị bộ dò vùng SMART APEX, thiết bị nhiệt thấp (model LT 2) và máy phát điện đồng-Kmicrofocus, hoạt động ở 45 kV/650 μ A và quang học đa lớp Montel chùm tia hội tụ với đường kính điểm ảnh hội tụ của ~ 250 μ m (Wiesmann và cộng sự, 2007). Dữ liệu được gom bằng cách sử dụng gói chương trình SMART V 5.628 (Bruker AXS, 2001), và xử lý bằng chương trình SAINT + Release 6.45 (Bruker AXS, 2003). Phân tích này thu được 2459 phản xạ ($\vartheta_{\min} = 1.78$, $\vartheta_{\max} = 50.21$; $0 < h < 24$, $-4 < k < 0$, $-19 < l < 19$) trong đó tất cả 2459 phản xạ là đơn nhất ($R_{\text{int}} = \text{không có}$, R_{σ}

= 0,1583). Lọc thông số tế bào được thực hiện bằng cách sử dụng 1405 phản xạ. Việc hiệu chỉnh hấp thụ thực nghiệm được áp dụng và vấn đề pha được giải quyết bằng mô hình “cấu trúc-dung dịch” của bộ APEX2.

Cấu trúc được lọc bằng phương pháp bình phương nhỏ nhất (tối thiểu của $(F_o^2 - F_c^2)^2$) sử dụng mô hình XL của bộ APEX2 (Bruker AXS, 2011). Các vị trí của tất cả các nguyên tử hydro được tính, $S_{\text{tính phù hợp}} = 1,085$, $R_{\text{tất cả dữ liệu}} = 0,1329$ ($R_{\text{dữ liệu quan sát}} = 0,0920$ cho 1614 phản xạ với $|F_{\text{quan sát}}| > 4\sigma$, $wR2_{\text{tất cả dữ liệu}} = 0,2710$, $wR2_{\text{dữ liệu quan sát}} = 0,2377$). Các đỉnh không được chỉ định lớn nhất trong bản đồ khác biệt tương ứng với -0,348 với +0,386 electron mỗi Å³. Độ lệch chuẩn dự kiến (e.s.d.) trung bình của liên kết C-C là 0,009 Å, của liên kết O-C là 0,009 Å và của liên kết N-C là 0,009 Å. E.s.d. trung bình của góc liên kết C-C-C là 0,7 và của góc xoắn C-C-C-C là 1,004°.

Cấu trúc tinh thể của dạng monohydrat của 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin được thể hiện trên Hình 3. Hình 4 thể hiện hình ảnh chồng mẫu bột thử nghiệm với mẫu được tính từ cấu trúc đơn tinh thể. Độ trùng khớp mạnh thể hiện rằng cấu trúc đơn tinh thể là chỉ báo của vật liệu khối.

Ví dụ 2: Chế phẩm Huyền phù vi tinh thể của monohydrat 3-(3-Metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin

Chế phẩm được huyền phù vi tinh thể chứa chất ức chế Trk, khi dạng monohydrat của 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin là thành phần hoạt tính, được phát triển. Các chế phẩm này được phát triển là huyền phù của các hạt 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin không tan được để duy trì phân phối chất ức chế Trk đến cơ thể qua thời gian. Sáng chế đề cập đến tính tan yếu của thành phần

hoạt tính và liều dùng để kiểm soát thời gian giải phóng; sáng chế còn thể hiện sự phân phối duy trì bằng khoảng 1 tháng của 3-(3-metoxo-4-((4-metoxobenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin *trong cơ thể*.

Ví dụ 2- 1: 20 mg/mL Huyền phù vi tinh thể của monohydrat của 3-(3-Metoxo-4-((4-metoxobenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin để tiêm

Dược phẩm bao gồm 20 mg dạng monohydrat của 3-(3-metoxo-4-((4-metoxobenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin mỗi mL dung dịch được điều chế. Chế phẩm của 20 mg/mL huyền phù vi tinh thể được đề xuất trong Bảng 1 dưới đây.

Bảng 1: 20 mg/mL Chế phẩm huyền phù vi tinh thể

Thành phần	Chế phẩm mỗi đơn vị	Chức năng
Dạng monohydrat của 3-(3-metoxo-4-((4-metoxobenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin	72 mg	Thành phần hoạt tính
Sorbitol	162 mg	Chất pha loãng
Povidon K17 không pyrogen	72 mg	Chất tạo huyền phù
Chất đệm phosphat (10 mM, pH 7,4)	3,6 mL†	Chất tạo đệm

† Làm đầy tràn 10% được áp dụng

Ví dụ 2- 2: Phương pháp sản xuất 20 mg/mL Chế phẩm Huyền phù vi tinh thể của monohydrat của 3-(3-Metoxo-4-((4-

metoxybenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin

20 mg/mL dung dịch của dạng monohydrat của 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin được điều chế theo các bước sau:

1. Chất đệm phosphat 10 mM pH 7,4 được điều chế bằng cách kết hợp các lượng thích hợp của Nước để tiêm (WFI) và natri dihydrogenophosphat, khuấy đến khi tan hoàn toàn, và sau đó điều chỉnh pH đến 7,4 ($\pm 0,2$) bằng dung dịch natri hydroxit 1N.
2. Chất dẫn thuốc được điều chế bằng cách kết hợp các lượng thích hợp của sorbitol và Povidon K17 pyrogen, bổ sung chất đệm phosphat 10mM pH 7,4 và khuấy đến khi tan hoàn toàn.
3. Sau đó chất dẫn thuốc tạo thành được lọc qua đệm lọc hút nước PVDF [polyvinyliden florua] 0,22 μm .
4. Huyền phù đậm đặc thu được bằng cách trộn dạng monohydrat của 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin với khoảng chất dẫn thuốc để thu được 30 mg/mL huyền phù đậm đặc.
5. Huyền phù đậm đặc, được giữ dưới điều kiện rung lắc, được lọc trên sàng thép không gỉ kích thước 75 μm .
6. Huyền phù lọc trước được duy trì dưới điều kiện rung lắc và được lọc trên sàng thép không gỉ kích thước 40 μm để thu được huyền phù đậm đặc.
7. Huyền phù đậm đặc được điều chỉnh bằng chất dẫn thuốc đã lọc để thu được 20 mg/mL huyền phù.
8. Huyền phù cuối cùng được nạp, vào lọ thủy tinh không màu loại I vô trùng và khử pyrogen đến thể tích nạp bằng 3,6 mL. Các lọ được đóng kính

bằng nút bromo-butyl được phủ ETFE vô trùng và khử pyrogen. Các nút được gấp bằng mũ nhôm vô trùng và nắp nhựa trắng vô trùng lên các lọ.

9. Các lọ nạp đầy được vô trùng trong thiết bị hấp khử trùng.

Ví dụ 2- 3: Liều dùng lâm sàng của 20 mg/mL Chế phẩm Huyền phù vi tinh thể của monohydrat của 3-(3-Metoxo-4-((4-metoxibenzyloxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin

20 mg/mL huyền phù vi tinh thể của dạng monohydrat của 3-(3-metoxo-4-((4-metoxibenzyloxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin còn được thay đổi để thu được liều dùng và thể tích để dùng cho người bệnh trong các cấu hình thành phẩm thuốc. Các liều dùng đích được hoàn nguyên khi cần từ 20 mg/mL huyền phù vi tinh thể. Tóm tắt của các định dạng liều dùng và thể tích khác nhau được đề xuất trong Bảng 2.

Bảng 2: Biểu hiện lâm sàng của 20 mg/mL Huyền phù vi tinh thể của monohydrat của 3-(3-Metoxo-4-((4-metoxibenzyloxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin

Liều dùng đích (mg)	Tổng thể tích của lọ hoàn nguyên (mL)	Nồng độ cuối trong lọ (mg/mL)	Thể tích dùng cho bệnh nhân (mL)
3	3,47	0,98	3,2
10	3,95	3,29	3,2
30	6,60	10	3,2
60	không có [†]	20	3,2
100	không có [†]	20	5,4 [‡]

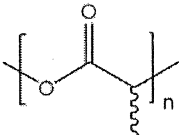
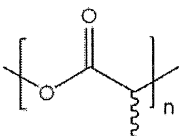
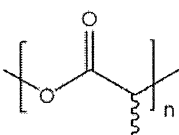
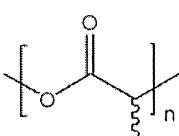
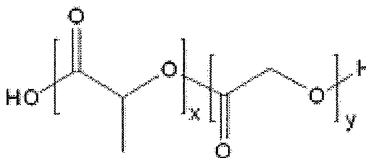
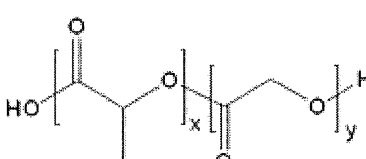
[†] Không cần hoàn nguyên để đạt được nồng độ cuối mong muốn.

[‡] 2 x lọ 2,7 mL

Ví dụ 3: Chế phẩm giải phóng kéo dài 3-(3-Metoxy-4-((4-metoxybenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin

Trong một số trường hợp, thời gian giải phóng thuốc mong muốn là được kéo dài, ví dụ đến hơn 3 tháng từ thời điểm phơi lộ. Theo đó, chế phẩm giải phóng kéo dài của chất ức chế Trk 3-(3-metoxy-4-((4-metoxybenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin là thành phần hoạt tính được tạo ra và được phối chế sử dụng hoặc là dạng anhydrat hoặc monohydrat của hợp chất. Sáng chế về chế phẩm giải phóng kéo dài sử dụng poly(D,L-lactit) (PLA), poly(D,L-lactit-co-glycolit) (PLGA) polymes hoặc kết hợp của các polyme PLA-PLGA để kết nang 3-(3-metoxy-4-((4-metoxybenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin (thành phần hoạt tính được [API] hoặc chất thuốc [DS]) để tạo ra dung dịch sản phẩm thuốc [DP] của vi nang tiêm được. Các chế phẩm này có thể tạo ra sự phơi lộ thuốc, duy trì, hoặc hơn 3 tháng, ra cơ thể. Tóm tắt của các polyme khác nhau được dùng trong điều chế chế phẩm giải phóng kéo dài của ví dụ này được đề xuất trong Bảng 3.

Bảng 3: Các polyme dùng trong Chế phẩm giải phóng kéo dài của Monohydrat của 3-(3-Metoxy-4-((4-metoxybenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin

Mã chỉ dẫn polyme Evonik	Tên polyme	Cấu trúc chung	Độ nhớt tự thân* (g/mol)	Nhóm cuối
R202H	Poly(D,L-lactit) [PLA]		0,16-0,24	Axit
R202S	Poly(D,L-lactit) [PLA]		0,16-0,24	Este
R203H	Poly(D,L-lactit) [PLA]		0,25-0,35	Axit
R203S	Poly(D,L-lactit) [PLA]		0,25-0,35	Este
RG502H	Poly(D,L-lactit-co-glycolit) 50:50 [PLGA]		0,16-0,24	Axit
RG752H	Poly(D,L-lactit-co-glycolit) 75:25 [PLGA]		0,14-0,22	Axit

* Độ nhớt tự thân được đo ở 0,1% trọng lượng/thể tích trong CHCl_3 ở 25°C , với nhớt kế mao quản thủy tinh kích thước 0c Ubbelohde.

Nguồn: <http://www.resomer.com/product/biodegradable-polymes/en/pharma-polymes/products/pages/bioresorbable-polymer.aspx>

Chế phẩm được giải phóng kéo dài của chất ức chế Trk với 3-(3-methoxy-4-((4-methoxybenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-methyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin là thành phần hoạt tính sử dụng polyme phân hủy sinh học, poly(D,L-lactit) và/hoặc poly(D,L-lactit-co-glycolit), để thay đổi sự kiểm soát giải phóng của thành phần hoạt tính từ việc hòa tan hạt thuốc đến thủy phân polyme. Sử dụng kết hợp thích hợp của các polyme và nạp thành phần hoạt tính, tốc độ giải phóng thuốc có thể được kiểm soát để tạo ra 3 tháng hoặc hơn phơi lộ. Các kết hợp cụ thể của các polyme PLGA/PLA và 3-(3-methoxy-4-((4-methoxybenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-methyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin được kết hợp theo cách mà kéo dài thời gian giải phóng thuốc đến hơn 3 tháng; các chế phẩm này được bàn thêm trong ví dụ này.

Ví dụ 3- 1: Hiệu quả nạp 3-(3-methoxy-4-((4-methoxybenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-methyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin nạp lên biên độ giải phóng trong ống nghiệm

Dược phẩm bao gồm các vi cầu của 3-(3-methoxy-4-((4-methoxybenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-methyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin được điều chế bằng cách chiết dung môi. Các lượng 3-(3-methoxy-4-((4-methoxybenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-methyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin và các khối lượng polyme PLA/PGLA được dùng để điều chế mỗi mẻ được thể hiện trong Bảng 4. Động lực giải phóng *trong ống nghiệm* (IVR) của các chế phẩm khác nhau này được đánh giá.

Bảng 4: Chế phẩm của các vi cầu ‡ – 12% API/9:1 R202H:752H, 16% API/9:1 R202H:752H và 20% API/9:1 R202H:752H

Mê#	GZ3899 88† Nạp	GZ389988 trọng lượng (mg)	Tỷ lệ Polyme	Lượng Polyme (mg)*
1	12%	36	9:1 R202H:752H	234:26
2	16%	50	9:1 R202H:752H	234:26
3	20%	65	9:1 R202H:752H	234:26

‡ được điều chế bằng cách chiết dung môi

† GZ389988 = 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin

* Tổng lượng polyme = 260mg

3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin được hòa tan trong 2 mL 9:1 diclometan (DCM):metanol (MeOH) với gia nhiệt nhẹ (~30 phút). Polymes được bổ sung và được hòa tan qua 30 phút. Một cách độc lập, 39 mL của dung dịch polyvinylamin (PVA) lạnh, lọc vô trùng (5% trọng lượng/thể tích trong nước) được đặt trong cốc bêse 250 mL được trang bị thanh khuấy từ Teflon 7,9 x 38,1mm. Cốc bêse được đặt trong bể nước đá trên bộ tấm khuấy bazơ IKA RCT ở 500 rpm. Polyme/dung dịch thuốc được lọc thành dung dịch PVA sử dụng đệm lọc ống tiêm PTFE 0,2 µm Pall Acrodisc gắn vào ống tiêm thủy tinh Hamilton 5 cc. Sau khi bổ sung, polyme/dung dịch thuốc tạo thành nhũ tương. Sau 1 phút, 160 mL nước khử ion lạnh được bổ sung. Sau 5 phút, tốc độ khuấy được giảm đến 300 rpm. Vi cầu được tạo thành bằng cách chiết dung môi qua 3

giờ. Các vi cầu được sàng through 75 μm và 38 μm sàng xếp chồng sử dụng Kolliphor P 407 lạnh 0,1% trong nước khử ion; đoạn 38-75 μm được gom và dung dịch rửa quá được loại. Vi cầu được cấp đông ở -80°C và được làm khô lạnh.

Động lực IVR của giải phóng của 3-(3-metoxo-4-((4-metoxobenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin từ các chế phẩm vi cầu được xác định bằng cách điều chế 2% (trọng lượng/thể tích) huyền phù nước của các vi cầu trong 0,2% hyaluronic axit + 0,2% Kolliphor P 407, để bắt chước môi trường trong khớp của đầu gối. Trong bản sao ba, thể tích của huyền phù chứa nạp lý thuyết 500 μg 3-(3-metoxo-4-((4-metoxobenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin được hút pipet vào ống ly tâm thủy tinh 50 mL riêng chứa 0,5% natri dodecyl sulfat trong PBS, môi trường giải phóng pH 7,4. Các ống được đặt lên bên cạnh chúng trong thiết bị ủ rung lắc qua lại ở 37°C . Ở mỗi thời điểm, vi cầu được để xử lý và 1 mL của môi trường giải phóng được lấy mẫu và thay thế. Để xác định tổng khối lượng thực tế của 3-(3-metoxo-4-((4-metoxobenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin trong mẫu IVR, cùng thể tích mẫu của huyền phù được dùng để nghiên cứu giải phóng được lấy mẫu (trong bộ sao ba) và 10 mL dimetyl sulfoxit được bổ sung. Các mẫu được siêu âm, gia nhiệt nhẹ và đặt trên cần lắc ở nhiệt độ phòng để hòa tan. Các mẫu được phân tích đối với tổng hàm lượng 3-(3-metoxo-4-((4-metoxobenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin bằng cách sử dụng HPLC-UV. Biên độ IVR tích lũy được biểu thị là phần trăm của thời gian với nạp thực tế 3-(3-metoxo-4-((4-metoxobenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin.

Tính hiệu quả của kết nang 3-(3-metoxo-4-((4-metoxobenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin được xác định bằng cách chia nạp thuốc thực tế cho nạp lý thuyết. Để xác định nạp thực tế, khối lượng được cân chính xác của các vi cầu nạp 3-(3-metoxo-4-((4-metoxobenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin được hòa tan trong dimetyl sulfoxit và nồng độ 3-(3-metoxo-4-((4-metoxobenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin được đo bằng HPLC-UV.

Biên độ IVR thể hiện rằng các mức nạp thuốc trên 16% (trọng lượng/trọng lượng) thể hiện giải phóng bùng nổ (Hình 5). Nguyên nhân của bùng nổ này được xác định bằng cách phân tích nhiệt lượng quét vi sai (DSC) và hiển vi học điện tử quét (SEM). Phân tích DSC chỉ ra rằng các mức nạp thuốc trên 16% (trọng lượng/trọng lượng) thể hiện tinh thể hóa thuốc trong vi cầu như được minh chứng bởi thu nhiệt nóng chảy ở 130 - 150°C (Hình 6). Tinh thể hóa thuốc còn được bộc lộ bởi SEM, khi các mức nạp thuốc trên 16% thể hiện các tinh thể thuốc trên bề mặt vi cầu (Hình 7).

Hình 6 chứng minh rằng 20% các vi cầu thể hiện thu nhiệt nóng chảy nằm trong khoảng 130-150°C xác nhận sự có mặt của tinh thể thuốc bề mặt. Hình 7 và Hình 8 thể hiện SEM của các vi cầu nạp 3-(3-metoxo-4-((4-metoxobenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin ở 1500X. Hình 7, 16% vi cầu nạp thuốc, thể hiện không có tinh thể thuốc (thuốc là vô định hình); Hình 8, 20% vi cầu nạp thuốc, thể hiện tinh thể thuốc bề mặt.

Hiệu quả của tinh thể hóa thuốc trên IVR cũng được chứng minh bằng cách sử dụng các chế phẩm vi cầu liên quan. Hình 9 thể hiện IVR của 3-(3-metoxo-4-((4-metoxobenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin từ các vi cầu được điều chế bằng R202H polyme.

Hình 10 thể hiện IVR của 3-(3-metoxo-4-((4-metoxobenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin từ các vi cầu được điều chế với tỷ lệ 9,5:0,5 của R202H và RG752H polyme. Trong các ví dụ này, các mức nạp thuốc trên 16% (trọng lượng/trọng lượng) thể hiện giải phóng bùng nổ; phạm vi bùng nổ thuốc liên quan trực tiếp đến mức nạp thuốc.

Ví dụ 3- 2: Hiệu quả hỗn hợp Poly-lactit và Poly-lactit-co-glycolit Polyme trên mức giải phóng trong ống nghiệm của 3-(3-metoxo-4-((4-metoxobenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin

Ví dụ 3- 2- 1: Các vi cầu 16% API/R202H, 16% API/9,0:0,5 R202H:RG752H và 16% API/9:1 R202H:752H

Dược phẩm bao gồm 16% 3-(3-metoxo-4-((4-metoxobenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin trong R202H, 9,0:0,5 R202H:RG752H và 9:1 R202H:752H và 16% 3-(3-metoxo-4-((4-metoxobenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin trong R202H, 9,0:0,5 R202H:RG502H và 9:1 R202H:RG502H được điều chế để đánh giá hiệu quả hỗn hợp polyme khác nhau trên động lực giải phóng trong ống nghiệm của 3-(3-metoxo-4-((4-metoxobenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin. Bảng 5 thể hiện khối lượng thuốc và polyme được dùng để điều chế mỗi mẻ. Phương pháp được dùng để điều chế các chế phẩm này được mô tả trong Ví dụ 3- 1.

Bảng 5: Các chế phẩm vi cầu 3-(3-metoxo-4-((4-metoxobenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin với hỗn hợp Poly-lactit và Poly-lactit-co-glycolit Polyme

(16% API/R202H, 16% API/9,0:0,5 R202H:RG752H và 16% API/9:1 R202H:RG752H)

Mê#	Nạp GZ3899 88†	Trọng lượng GZ389988 (mg)	Tỷ lệ polyme	Lượng polyme (mg)*
4	16%	50mg	R202H	260
5	16%	50mg	9,5:0,5 R202H:RG752H	247:13
6	16%	50mg	9:1 R202H:RG752H	234:26

‡ Được điều chế bằng cách chiết dung môi

† GZ389988 = 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin

* Tổng lượng polyme = 260mg

Tính hiệu quả của kết nang và phân tích IVR được thực hiện được mô tả trong Ví dụ 3- 1. Tính hiệu quả của kết nang đối với các chế phẩm 4, 5, và 6 là $96,1 \pm 2,6\%$, $87,8 \pm 6,3\%$, và $77,7 \pm 8,6\%$ tương ứng.

Các vi cầu được điều chế sử dụng 16% 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin trong R202H polyme thể hiện tốc độ giải phóng hai pha, với tốc độ giải phóng ban đầu chậm từ 0 – 70 ngày sau đó tốc độ giải phóng thứ hai nhanh hơn từ 70 – 110 ngày (Hình 11). Hỗn hợp của polyme ưa nước hơn, RG752H (75:25 PLGA), vào các chế phẩm vi cầu PLA làm tăng tốc độ giải phóng ban đầu. Polyme PLGA cho phép hấp thụ nước nhanh hơn vào vi cầu dẫn đến làm tăng tốc độ. Ở tỷ lệ bằng 9:1 R202H:RG752H, tỷ lệ giải phóng thứ hai trùng với giải phóng ban đầu, tạo ra biên độ giải phóng cấp không giả qua 3 tháng (Hình 11).

Ví dụ 3- 2- 2: Các vi cầu 16% API/R202H, 16% API/9,5:0,5 R202H:RG502H và 16% API/9:1 R202H:RG502H

Dược phẩm bao gồm 16% 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin trong R202H, 9,0:0,5 R202H:RG502H và 9:1 R202H:RG502H được điều chế để đánh giá hiệu quả hỗn hợp polyme khác nhau trên động lực giải phóng *trong ống nghiệm* của 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin. Bảng 6 thể hiện khối lượng thuốc và polyme được dùng để điều chế mỗi mẻ. Phương pháp được dùng để điều chế các chế phẩm này được mô tả trong Ví dụ 3- 1.

Bảng 6: Chế phẩm của các vi cầu ‡ – 16% API/R202H, 16% API/9,5:0,5 R202H:RG502H và 16% API/9:1 R202H:RG502H

Mê#	GZ3899 88† Nạp	Trọng lượng GZ389988 (mg)	Tỷ lệ polyme	Lượng polyme (mg)*
7	16%	50mg	R202H	260
8	16%	50mg	9,5:0,5R202H:R G502H	247:13
9	16%	50mg	9:1 R202H:RG502H	234:26

‡ Được điều chế bằng cách chiết dung môi

† GZ389988 = 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin

* Tổng lượng polyme = 260mg

Tính hiệu quả của kết nang và phân tích IVR được thực hiện được mô tả trong Ví dụ 3- 1. Tính hiệu quả của kết nang đối với các chế phẩm 7, 8, và 9 là $96,1 \pm 2,6\%$, $91,7 \pm 3,3\%$, và $94,2 \pm 2,5\%$ tương ứng.

Các vi cầu được điều chế sử dụng 16% 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin trong polyme R202H thể hiện tốc độ giải phóng hai pha, với tốc độ giải phóng ban đầu chậm từ 0 – 70 ngày sau đó tốc độ giải phóng thứ hai nhanh hơn từ 70 – 110 ngày (Hình 12). Hỗn hợp của 50:50 PLGA polyme ưa nước hơn (RG752H) vào các chế phẩm vi cầu PLA làm tăng tốc độ giải phóng ban đầu. RG752H cho phép hấp thụ nước nhanh hơn vào vi cầu, dẫn đến tốc độ giải phóng này. ở tỷ lệ bằng 9,5:0,5 R202H:RG502H, tỷ lệ giải phóng thứ hai trùng với giải phóng ban đầu, tạo ra biên độ giải phóng cấp không giả qua 6 tháng (Hình 12).

Ví dụ 3- 3: Điều chế và đặc trưng hóa các chế phẩm vi cầu thể hiện động lực giải phóng cấp không *trong ống nghiệm* qua 180 ngày

Dược phẩm bao gồm 15% 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin trong 9:1 R203H:RG752H và 16% 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin trong 9,0:0,5 R202H:RG502H được điều chế và được phân tích đối với động lực giải phóng *trong ống nghiệm*. Bảng 7 thể hiện khối lượng thuốc và polyme được dùng để điều chế mỗi mẻ.

Bảng 7: Chế phẩm của các vi cầu [‡] – 15%API/9:1 R203H:RG502H và 16% API/9,5:0,5 R202H:RG502H)

Mê#	Nạp GZ3899 88†	Trọng lượng GZ389988 (mg)	Tỷ lệ polyme	Lượng polyme (mg)*
10	15%	46mg	9:1 R203H:RG752H	234:26
11	16%	50mg	9,5:0,5 R202H:RG502H	247:13

‡ Được điều chế bằng cách chiết dung môi

† GZ389988 = 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin

* Tổng lượng polyme = 260mg

Tính hiệu quả của kết nang và phân tích IVR được thực hiện như được mô tả trong

Ví dụ 3- 1. Tính hiệu quả của kết nang đối với các chế phẩm 10 và 11 là $89,7 \pm 2,1\%$ và $91,7 \pm 3,3\%$ tương ứng.

Các vi cầu được điều chế sử dụng 15% 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin trong các polyme R203H:752H ở tỷ lệ bằng 9:1 và 16% 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin trong các polyme R202H:RG502H ở tỷ lệ bằng 9,5:0,5 thể hiện biên độ giải phóng cấp không giả qua 6 tháng (Hình 13).

Ví dụ 3- 4: Hiệu quả của Hệ đồng dung môi trong điều chế trên mức giải phóng trong ống nghiệm của 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin

Ví dụ 3- 4- 1: 16% API/9:1 R202H:RG752H như được điều chế trong 9:1 DCM:MeOH, 9:0,5:0,5 DCM:MeOH:BA, 9:5 DCM:BA và 9:1 DCM:BA

Dược phẩm bao gồm 16% 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin loaded các vi cầu trong 9:1 R202H:RG752H được điều chế bằng cách sử dụng các dung dịch đồng dung môi khác nhau với các tỷ lệ khác nhau của dung môi diclometan (DCM), metanol (MeOH) và rượu benzyl (BA). Các tỷ lệ được dùng là 9:1 DCM:MeOH, 9:0,5:0,5 DCM:MeOH:BA, 9,5:0,5 DCM:BA, và 9:1 DCM:BA. Viện dẫn đến Bảng 8 đối với thuốc, polyme và đồng dung môi được dùng để điều chế mỗi mẻ. Phương pháp được dùng để điều chế các chế phẩm này được mô tả trong Ví dụ 3- 1.

Bảng 8: Chế phẩm của các vi cầu † Được điều chế bằng Hệ đồng dung môi khác nhau – 16% API/9:1 R203H:RG752H

Mẻ#	GZ3899 88† Nạp	Trọng lượng GZ389988 (mg)	Tỷ lệ polyme	Lượng polyme. (mg)*	Hệ đồng dung môi
12	16%	50mg	9:1 R202H:RG752H	234:26	9:1 DCM:MeOH
13	16%	50mg	9:1 R202H:RG752H	234:26	9:0,5:0,5 DCM:MeOH :BA
14	16%	50mg	9:1 R202H:RG752H	234:26	9,5:0,5 DCM:BA
15	16%	50mg	9:1 R202H:RG752H	234:26	9:1 DCM:BA

‡ Được điều chế bằng cách chiết dung môi (các hệ đồng dung môi khác nhau)

† GZ389988 = 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin

* Tổng lượng polyme = 260mg

Tính hiệu quả của kết nang và phân tích IVR được thực hiện được mô tả trong Ví dụ 3- 1. Tính hiệu quả của kết nang cho các mẻ 12, 13, 14, và 15 là $77,7 \pm 8,6\%$, $94,9 \pm 2,0\%$, $90,5 \pm 2,6\%$, và $94,4 \pm 1,5\%$ tương ứng. Rượu benzyl được chọn để kết hợp vào hệ đồng dung môi do khả năng hòa tan tăng cường 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin. Hình 14 và Hình 15 thể hiện rằng rượu benzyl có thể được dùng là một phần của hệ đồng dung môi với diclometan hoặc diclometan và metanol để tạo ra các vi cầu mà không ảnh hưởng đến tốc độ giải phóng. Điều này có thể hữu dụng trong việc giảm tái tinh thể hóa tiềm năng của 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin trong khi sản xuất vi cầu.

Ví dụ 3- 4- 2: Sử dụng DCM:BA để tăng nạp 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin

Dược phẩm bao gồm 16% và 25% 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin trong 9:1 R202H:RG752H, 30% và 40% 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin trong R202H, và 25%, 30%, 40% và 50% 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin trong R203H được điều chế bằng cách sử dụng các thể tích

thay đổi của diclometan (DCM) và rượu benzyl (BA). Viện dẫn đến Bảng 9 cho khối lượng thuốc và polyme và thể tích dung môi được dùng để điều chế mỗi mẻ. Phương pháp được dùng để điều chế các chế phẩm này được mô tả trong Ví dụ 3- 1.

Bảng 9: Chế phẩm của các vi cầu † Được điều chế bằng Hệ đồng dung môi DCM:BA – 16% API/9:1 R202H:RG752H, 25% API/9:1 R202H:RG752H, 30% API/R202H, 40% API/R202H, 25% API/R203H, 30% API/R203H, 40% API/R203H, 50% API/R203H

Mê#	Nạp GZ3899 88†	Trọng lượng GZ389988 (mg)	Tỷ lệ polyme	Lượng polyme (mg)*	Hệ đồng dung môi [thể tích của dung môi + thể tích của dung môi (mL)]
16	16%	50 mg	9:1 R202H:RG 752H	234:26	0,2 mL BA + 1,8 mL DCM
17	25%	84 mg	9:1 R202H:RG 752H	234:26	0.2 mL BA + 1,8 mL DCM
18	30%	112 mg	R202H	260	0,26 mL BA + 1,2 mL DCM
19	40%	174 mg	R202H	260	0,4 mL BA + 1,2 mL DCM
20	40%	174 mg	R202H	260	0,5 mL BA + 1,2 mL DCM
21	25%	84 mg	R203H	260	0,2 mL BA +

					1,8 mL DCM
22	30%	112 mg	R203H	260	0,2 mL BA + 1,8 mL DCM
23	40%	174 mg	R203H	260	0,4 mL BA + 1,2 mL DCM
24	40%	174 mg	R203H	260	0,5 mL BA + 1,2 mL DCM
25	50%	260 mg	R203H	260	0,5 mL BA + 1,2 mL DCM
26	50%	26 mg	R203H	260	0,61 mL BA + 1,2 mL DCM

‡ Được điều chế bằng cách chiết dung môi

† GZ389988 = 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin

* Tổng lượng polyme = 260mg

Tính hiệu quả của kết nang và phân tích IVR được thực hiện được mô tả trong Ví dụ 3- 1. Tính hiệu quả của kết nang đối với các chế phẩm tạo ra bằng các thể tích khác nhau của diclometan (DCM) và rượu benzyl (BA) là:

Mê	Hiệu quả kết nang
16	$94,4 \pm 1,5\%$
17	$96,0 \pm 1,8\%$
18	$99,2 \pm 3,6\%$
19	$94,0 \pm 1,0\%$
20	$100,5 \pm 1,0\%$
21	$91,2 \pm 0,5\%$
22	$90,2 \pm 2,8\%$
23	$95,5 \pm 6,8\%$

24	$95,4 \pm 3,1\%$
25	$95,0 \pm 0,8\%$
26	$94,7 \pm 1,7\%$

Rượu benzyl được kết hợp vào hệ đồng dung môi do khả năng cải thiện của nó hòa tan 3-(3-metoxo-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin. Hình 10 thể hiện rằng rượu benzyl có thể được dùng là một phần của hệ đồng dung môi với diclometan để tạo ra các vi cầu với nập cao bằng 50% (trọng lượng/trọng lượng). Một số trong các biên độ giải phóng thể hiện có giải phóng bùng nổ và động lực tối thiểu mà có thể đạt được khoảng thời gian 3-6 tháng. Thể tích của rượu benzyl được dùng trong quy trình tác động đến giải phóng bùng nổ của 3-(3-metoxo-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin. Việc giảm lượng rượu benzyl trong hệ dung môi, trong khi vẫn giữ tính tan của API, 3-(3-metoxo-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin, trong dung dịch polyme, làm giảm hiệu quả bùng nổ. Tăng nập API tạo ra lợi ích bằng cách làm giảm lượng polyme được dùng cho bệnh nhân. Điều này kỳ vọng để cải thiện tính tương hợp sinh học của việc cấy và làm giảm khả năng tích tụ polyme sau khi cho dùng lặp lại. Ngoài ra, tăng nập API có thể hiểu là chi phí sản xuất mỗi đơn vị thấp hơn.

Ví dụ 3- 5: Hiệu quả của Quy trình kết vi nang huyền phù được micron hóa trên mức giải phóng trong ống nghiệm của 3-(3-metoxo-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin

Dược phẩm bao gồm 25% 3-(3-metoxo-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin (monohydrat

form) trong 9:1 R202H:RG752H, 30% và 40% 3-(3-metoxyl-4-((4-metoxylbenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin trong 9:1 R203H:RG752H, 25% 3-(3-metoxyl-4-((4-metoxylbenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin trong R202H, 30% 3-(3-metoxyl-4-((4-metoxylbenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin trong R202S, và 30% 3-(3-metoxyl-4-((4-metoxylbenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin trong R203S được điều chế với dạng monohydrat của 3-(3-metoxyl-4-((4-metoxylbenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin. Viện dẫn đến Bảng 10 cho khối lượng thuốc và polyme được dùng để điều chế mỗi mẻ. Các Mẻ 27, 28 và 29 được điều chế bằng cách sử dụng 3-(3-metoxyl-4-((4-metoxylbenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin từ các bể sản xuất, trong khi các Mẻ 30, 31, 32, 33, 34 và 35 được điều chế bằng cách sử dụng 3-(3-metoxyl-4-((4-metoxylbenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin mà được micron hóa bằng cách sử dụng quy trình vi hóa lỏng để đảm bảo kích thước hạt có đường kính nhỏ hơn 10 μm . Ví dụ này so sánh sự khác nhau về các vi cầu thu được khi polyme is được phân tán trong dung dịch rượu polyvinyl (PVA) có hoặc không có etyl axetat (EA), cũng như nạp API, chế phẩm polyme và biến đổi nồng độ dung dịch polyme (bằng cách thay đổi thể tích EA).

Bảng 10: Chế phẩm của các vi cầu [†] được điều chế bằng Quy trình kết vi nang huyền phù được micron hóa – 16% API/9:1 R202H:RG752H, 25% API/9:1 R202H:RG752H, 30% API/R202H, 40% API/R202H, 25% API/R203H, 30% API/R203H, 40% API/R203H, 50% API/R203H

Mê#	Nạp GZ389988 [†]	Trọng lượng GZ389988 (mg)	Tỷ lệ polyme	Lượng polyme (mg)*	Thể tích và Chế phẩm của Dung dịch làm phân tán (mL)	Thể tích Etyl Axetat (mL)
27	25%	84 mg	9:1 R202H:RG752H	234:26	39 mL của 5% PVA	2,6
28	25%	84 mg	9:1R202H:RG752H	234:26	39 mL của 5% PVA	3,25
29	25%	84 mg	R203H	260	39 mL của 5% PVA	2,0
30	30%	112 mg	9:1 R203H:RG752H	234:26	39 mL của 5% PVA +	2,0

Mê#	Nạp GZ389988†	Trọng lượng GZ389988 (mg)	Tỷ lệ polyme	Lượng polyme (mg)*	Thể tích và Chế phẩm của Dung dịch làm phân tán (mL)	Thể tích Etyl Axetat (mL)
					2,5% Etyl Axetat	
31	40%	174 mg	9:1 R203H:RG752H	234:26	39 mL của 5% PVA + 2,5% Etyl Axetat	2,0
32	30%	112 mg	9:1 R203H:RG752H	234:26	39 mL của 5% PVA + 2,5% Etyl Axetat	2,0
33	30%	112 mg	9:1	234:26	39 mL	2

Mẻ#	Nạp GZ389988†	Trọng lượng GZ389988 (mg)	Tỷ lệ polyme	Lượng polyme (mg)*	Thể tích và Chế phẩm của Dung dịch làm phân tán (mL)	Thể tích Etyl Axetat (mL)
			R203H:RG752H		của 5% PVA + 2,5% Etyl Axetat	,3
34	30%	112 mg	R202S	260	39 mL của 5% PVA + 2,5% Etyl Axetat	2,0
35	30%	112 mg	R203S	260	39 mL của 5% PVA + 2,5% Etyl	2,0

					Thể tích và Chế phẩm của Dung dịch làm phân tán (mL)	Thể tích Etyl Axetat (mL)
Mẻ#	Nạp GZ389988†	Trọng lượng GZ389988 (mg)	Tỷ lệ polyme	Lượng polyme (mg)*		
					Axetat	

‡ Được điều chế bằng cách chiết dung môi

† GZ389988 = 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin

* Tổng lượng polyme = 260mg

Các phân tích SEM thể hiện rằng vi cầu được tạo ra bằng cách kết nang huyền phù của 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin là hình cầu kết cấu bề mặt gồ ghề do sự có mặt của các tinh thể thuốc dính trên bề mặt (Hình 16). Tính hiệu quả của kết nang và các phân tích IVR được thực hiện được mô tả trong Ví dụ 3-1. Tính hiệu quả của kết nang cho các mẻ số 30, 31, 32, 33, 34, và 35 là $103,3 \pm 3,8\%$, $101,6 \pm 5,3\%$, $94,7 \pm 4,0\%$, $97,1 \pm 0,2\%$, $35,6 \pm 0,8\%$ và $62,5 \pm 3,0\%$, tương ứng. Tính hiệu quả của kết nang không được thực hiện trên các mẻ 27, 28 hoặc 29.

Các biên độ IVR thể hiện giải phóng bùng nổ nằm trong khoảng từ 25% đến 47%, sau đó không giải phóng sau 4 ngày (Hình 17). Các mẻ được đánh giá cho đến 21 ngày.

Ví dụ 3- 6: Hiệu quả của Quy trình kết vi nang lên mức giải phóng trong ống nghiệm của 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin

Dược phẩm bao gồm 16% và 25% 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin trong 9:1 R202H:RG752H và 25% và 30% 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin trong R203H được điều chế bằng cách sử dụng tỷ lệ 9:1 của diclometan (DCM):rượu benzyl (BA). Việc dẫn đến Bảng 11 cho khối lượng thuốc và polyme được dùng để điều chế mỗi mẻ. Phương pháp được dùng để điều chế Mẻ 23 được mô tả trong Ví dụ 3- 1, Mẻ 2. Mẻ 24 được điều chế bằng cách hòa tan 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin trong 5,016 g 9:1 DCM/MeOH với siêu âm nhẹ. Sau đó hai polyme được bổ sung và hòa tan.

Bảng 11: Chế phẩm của vi cầu được điều chế bằng cách chiết dung môi và sấy phun – 16% API/9:1 R202H:RG752H và No API/9:1 R202H:RG752H

Mẻ#	Nạp GZ3899 88†	Trọng lượng GZ389988 (mg)	Tỷ lệ polyme	Lượng polyme (mg)*	Quy trình kết vi nang
36	16%	50 mg	9:1 R202H:RG752H	234:26	Chiết dung môi
37	16%	238,8 mg	9:1 R202H:RG752H	1140:114	Sấy phun
38	16%	238,8 mg	9:1	1140:114	Sấy phun

			R202H:RG752H		
39	16%	238,8 mg	9:1 R203H:RG752H	1140:114	Sấy phun

† GZ389988 = 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin

* Tổng lượng polyme = 260mg cho mẻ 23 và 1254mg cho mẻ 24

Việc sấy phun được thực hiện bằng cách sử dụng bộ ProCepT, 4M8 được trang bị vòi hai chất lỏng có miệng bằng 0,4 mm. Các điều kiện và thông số sấy phun được liệt kê dưới đây:

Mẻ#	37	38	39
Nạp GZ389988 (% , trọng lượng/trọng lượng)	16	16	16
Dung môi (Metylen Clorua:Metanol (v/v))	90:10	90:10	90:10
Nồng độ dung dịch PLGA (% , trọng lượng/thể tích):	20	22,5	22,5
Tốc độ phun (mL/phút):	0,7	0,7	0,7
Dòng nitơ phun (L/phút):	4	4	4
Lượng phun (g):	6,4	5,8	5,8
Nhiệt độ nạp (°C):	50	50	50
Nhiệt độ buồng (°C):	41-43	40,7	40,0
Nhiệt độ xả (°C):	27,4	22,0	22,1
Dòng nitơ (m ³ /phút):	0,35	0,35	0,35
Áp suất ống truyền (mBar):	31-32	31 - 32	32
Sản lượng (% , trọng lượng/trọng lượng)	72,8	76,7	51,6

Các phân tích SEM thể hiện rằng các vi cầu chiết dung môi là hình cầu có kết cấu bề mặt nhẵn và các vi cầu sấy phun là hình cầu có kết cấu bề mặt nạo đó (Hình 18 và Hình 19). Tính hiệu quả của kết nang và phân tích IVR được thực hiện được mô tả trong Ví dụ 3- 1. Tính hiệu quả của kết nang đối với mẻ chiết dung môi 36 và mẻ sấy phun 37 và 38 là $107,4 \pm 11,6\%$, $91,4 \pm 4,3\%$, và $92,6 \pm 3,6\%$, tương ứng.

Hai quy trình kết vi nang tạo ra các vi cầu có biên độ giải phóng gần cấp không. Hình 18 và Hình 19 thể hiện SEM của các vi cầu nạp 3-(3-metoxymethyl)oxy)benzyl)-6-(1-methyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin ở 1000X. Các biên độ IVR thể hiện các tốc độ giải phóng khác nhau (Hình 20); chế phẩm sấy phun thu được thời hạn phân phối mong muốn bằng 3-6 tháng.

Ví dụ 3- 7: Hiệu quả 1% 10kDa PEG hoặc 1% Poloxamer 407 trên mức giải phóng trong ống nghiệm của các vi cầu sấy phun bằng 16% (trọng lượng/trọng lượng) 3-(3-metoxymethyl)oxy)benzyl)-6-(1-methyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin

Thử nghiệm này được thực hiện để xác định xem việc bổ sung chất phụ gia ưa nước có thể được dùng để thúc đẩy tốc độ giải phóng trong ống nghiệm của GZ389988 từ các vi cầu PLA/PGA hay không. Trong thử nghiệm này, các vi cầu (không chất phụ gia) được so sánh với các vi cầu được điều chế có hoặc là 1% 10kDa PEG hoặc 1% Poloxamer 407. Bảng 12 mô tả chi tiết khối lượng thuốc và polyme được dùng để điều chế mỗi mẻ.

Bảng 12: Chế phẩm của các vi cầu ‡ được điều chế với 1% 10kDa PEG hoặc 1% Poloxamer 407 – 16% API/1:1 R202H:R203H/Không chất phụ gia, 16% API/1:1 R202H:R203H/31,25 mg PEG, 16% API/1:1 R202H:R203H/31,25 mg Poloxamer 407

Mê#	Nạp GZ3899 88†	Trọng lượng GZ389988 (mg)	Tỷ lệ polyme	Lượng polyme (mg:mg)	Lượng chất phụ gia (mg)
40	16%	500 mg	1:1 R202H:R203H	1310:1310	Không áp dụng
41	16%	500 mg	1:1 R202H:R203H	1297:1297	31,25 10 kDa PEG
42	16%	500 mg	1:1 R202H:R203H	1297:1297	31,25 Poloxamer 407

‡ Được điều chế bằng cách sấy phun

† GZ389988 = 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin

Việc sấy phun được thực hiện bằng cách sử dụng bộ ProCepT, 4M8 được trang bị vòi hai chất slongr có miệng bằng 0,4 mm. Các điều kiện và thông số sấy phun được liệt kê dưới đây:

Mê#	40	41	42
Nạp GZ389988 (% trọng lượng/trọng lượng)	16	16	16
Nồng độ dung dịch PLGA (% trọng lượng/thể tích):	22,5	22,5	22,5

Mẻ#	40	41	42
Tốc độ phun (mL/phút):	0,7	0,7	0,7
Dòng khí (L/phút):	0,35	0,35	0,35
Dòng nitơ phun (L/phút):	4	4	4
Nhiệt độ bộ làm lạnh (°C):	-4	-4	-4
Nhiệt độ nạp (°C):	50	50	50
Nhiệt độ buồng (°C):	40	40	40
Nhiệt độ xả (°C):	29	29	29
Áp suất trước xoáy (mBar):	27-30	27-30	27-30

Các phân tích SEM thể hiện rằng các vi cầu sấy phun được điều chế có hoặc không có chất phụ gia ưa nước thể hiện phân bố kích thước và kết cấu bề mặt tương tự; tất cả các vi cầu sấy phun là hình cầu có kết cấu bề mặt nào đó (Hình 21, Hình 22, và Hình 23). Tính hiệu quả của kết nang và phân tích IVR được thực hiện được mô tả trong Ví dụ 3- 1. Tính hiệu quả của kết nang đối với các mẻ sấy phun số 40, 41 và 42 là $102,0 \pm 16,3\%$, $101,7 \pm 16,3\%$ và $100,5 \pm 16,1\%$, tương ứng.

Các vi cầu được điều chế không có chất phụ gia thể hiện, giải phóng gần cấp không của GZ389988 có khoảng 20% hợp chất hoạt tính được giải phóng qua 35 ngày (Hình 24). Bổ sung hoặc là 1% 10kDa PEG hoặc 1% Poloxamer 407 làm tăng tốc độ giải phóng; approximately 42% hợp chất hoạt tính được giải phóng qua 35 ngày. Ví dụ này chứng minh rằng việc kết hợp tá dược ưa nước thúc đẩy tốc độ giải phóng *trong ống nghiệm* của GZ389988 từ các vi cầu PLA/PGA.

Ví dụ 4: Nghiên cứu *trong cơ thể*

Ví dụ 4- 1: Hiệu suất *Trong cơ thể* của các vi cầu nạp [^{14}C]- 3-(3-methoxy-4-((4-methoxybenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-methyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-

imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin sau khi tiêm trong khớp vào khớp đầu gối của chuột

Hai chế phẩm được chọn để so sánh động lực giải phóng *trong ống nghiệm* với sự duy trì thuốc *trong cơ thể* trong khớp đầu gối của chuột. Các chế phẩm được thể hiện trong Bảng 13.

Thử nghiệm giải phóng *Trong ống nghiệm* được thực hiện bằng cách sử dụng phương pháp được mô tả trong Ví dụ 3- 1. *Trong cơ thể* thử nghiệm duy trì thuốc được thực hiện bằng cách sử dụng [¹⁴C]-3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin và 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin không dán nhãn; hai dạng thuốc được cùng hòa tan trong suốt quy trình kết vi nang để đảm bảo phân bố thuốc đồng nhất trong các vi cầu. Tổng lượng của phóng xạ được dùng cho mỗi khớp của chuột là ~ 1,2 MBq.

Đánh giá thuốc còn lại trong khớp đầu gối của chuột được thực hiện bằng cách gây chết 2-3 chuột vào mỗi thời điểm, nghiền cryo khớp đầu gối và chiết 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin từ mô đã nghiền. Thực hiện định lượng bằng cách đếm độ nháy chất lỏng. Lượng phóng xạ thu được trong khớp được tính bằng cách chia tổng số phóng xạ vào mỗi thời điểm cho tổng số phóng xạ ở các chuột được gây chết ở 0,1 giờ sau xử lý. Nồng độ thuốc phóng xạ trong máu của chuột (được thể hiện là nEq/g) được vẽ đồ thị theo thời gian và so sánh với giá trị IC₅₀ đã biết cho hợp chất.

Bảng 13: Chế phẩm của các vi cầu được thử *trong cơ thể* – 16% API/9:1 202:H:RG502H và 15% API/9:1 R203H:RG752H

Mẻ#	GZ3899 88† + [14C] Nạp GZ3899 88	Trọng lượng GZ389988 (mg)	Tỷ lệ polyme	Lượng polyme (mg)*
43	16%	50 mg	9:1 R202H:RG 502H	234:26
44	15%	47 mg	9:1 R203H:RG 752H	234:26

† GZ389988 = 3-(3-metoxxy-4-((4-metoxxybenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin

* Tổng lượng polyme = 260mg

Các biên độ IVR cho các mẻ 40 và 41 thể hiện giải phóng gần cấp không qua khoảng 3-4 tháng và 5-6 tháng, tương ứng (Hình 25). Sau khi cho dùng trong khớp vào khớp đầu gối của chuột, Mẻ 43 và 44 thể hiện giải phóng thuốc qua 5 đến 6 tháng; Mẻ 43 thể hiện 12% còn lại trong khớp sau 5 tháng và Mẻ 44 thể hiện 30% thuốc còn lại sau 6 tháng (Hình 26). Tốc độ giải phóng thuốc *trong cơ thể* hơi thấp hơn so với tốc độ IVR có thể do sự định vị của vi cầu trong màng hoạt dịch.

Hình 27 thể hiện mối liên hệ nồng độ thuốc-thời gian trong máu. Sau khi dùng các vi cầu nạp 3-(3-metoxxy-4-((4-metoxxybenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin trong khớp, nồng độ của 3-(3-metoxxy-4-((4-metoxxybenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin trong ngăn cơ thể hơi cao hơn giá trị EC₅₀ (tế bào

dựa trên) trong suốt tuần thứ nhất, nhưng sau đó hạ xuống dưới giá trị EC_{50} trong thời gian thử nghiệm (5-6 tháng). Thử nghiệm này chứng minh rằng các vi cầu nạp 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin tạo ra sự phân phối thuốc duy trì, cục bộ cho khớp đầu gối với sự phơi lộ thuốc toàn thân thấp (tức là dưới điều trị).

Ví dụ 4- 2: Đánh giá tác dụng vật lý hóa học thuốc đối với cơ thể của GZ389988 sau khi tiêm liều đơn, trong khớp của ba chế phẩm vi cầu nạp giải phóng kéo dài 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin

Ba chế phẩm được chọn để so sánh tác dụng vật lý hóa học thuốc đối với cơ thể *trong ống nghiệm* và *trong cơ thể* trong ngăn cơ thể sau khi tiêm trong khớp vào khớp đầu gối của chuột. Các chế phẩm được thể hiện trong Bảng 14.

Thử nghiệm giải phóng *trong ống nghiệm* được thực hiện bằng cách sử dụng phương pháp được mô tả trong Ví dụ 3- 1. Hiệu suất *trong cơ thể* được đo bằng cách tiêm 3 chuột đực Wistar với chế phẩm vi cầu được cho phân phối hoặc là 0,1 hoặc 1 mg GZ389988 cho khớp đầu gối. Vào mỗi thời điểm, các mẫu máu (~0,25 mL) được gom qua ống thông dò tĩnh mạch cảnh và đặt vào các ống làm lạnh chứa K_2EDTA làm chất chống đông, trộn, và giữ trên đá lạnh đến khi ly tâm. Các mẫu được ly tâm trong 1 giờ gom ở nhiệt độ bằng $4^{\circ}C$, ở 3,000 x g trong 5 đến 10 phút. Huyết tương được gom sau ly tâm mẫu máu vào ống polypropylen. Các mẫu huyết tương được làm đông trên đá lạnh khô và được trữ đông ở -60 đến $-80^{\circ}C$ trước khi phân tích LC-MS/MS. Nồng độ của GZ389988 trong huyết tương chuột (được thể hiện là ng/mL) được vẽ đồ thị theo thời gian (tổng số 28 ngày).

Bảng 14: Chế phẩm và liều dùng của các vi cầu thử trong Đánh giá Tác dụng vật lý hóa học của thuốc của GZ389988

Chế phẩm	Mê#	Nạp GZ3899 88†	Tỷ lệ polyme	Liều đã dùng (mg)
A	45	16%	9:1 R202H:RG752H	0,1
	46	16%	9:1 R202H:RG752H	1
B	47	15%	9:1 R203H:RG752H	0,1
	48	15%	9:1 R203H:RG752H	1
C	49	40%	R203H	0,1
	50	40%	R203H	1

† GZ389988 = 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin

Các biên độ IVR cho Chế phẩm và Chế phẩm B thể hiện giải phóng chậm với khoảng 10% của hợp chất hoạt tính được giải phóng qua 28 ngày. Chế phẩm C thể hiện giải phóng ban đầu hơi cao hơn qua 5 ngày đầu, sau đó tốc độ giải phóng giảm qua 23 ngày còn lại; khoảng 22% hợp chất hoạt tính được giải phóng qua 28 ngày.

Sau khi cho dùng trong khớp vào khớp đầu gối của chuột, Chế phẩm A và B thể hiện mối liên hệ huyết tương- phơi lộ thuốc tương tự qua 28 ngày; cả hai chế phẩm thể hiện giá trị T_{max} bằng 1-1,5 giờ với các mức các mức huyết tương trạng thái ổn định qua khoảng thời gian thử nghiệm (0,08 và 0,8 ng/mL cho các liều dùng 0,1 và 1,0 mg, tương ứng). So với Chế phẩm A và B, Chế phẩm C thể hiện giá trị C_{max} cao hơn và mức huyết tương trạng thái ổn định cao hơn qua thời gian thử nghiệm (1,2 đến 12 ng/mL đối với các liều dùng 0,1 và

1,0 mg, tương ứng) (Hình 29). Các kết quả thích hợp với các kết quả của thử nghiệm IVR.

Ví dụ 4- 3: Nghiên cứu lâm sàng để đánh giá độ tính toàn, khả năng chịu, và tác dụng vật lý hóa học của thuốc của 3-(3-Metoxy-4-((4-metoxybenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-amin ở bệnh nhân mắc Bệnh viêm đau khớp xương mạn tính ở đầu gối

Tính an toàn và hiệu quả của dạng monohydrat của 3-(3-metoxy-4-((4-metoxybenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-amin ở người được thử trong nghiên cứu lâm sàng được kiểm soát giả trị mù đôi hai phần để đánh giá tính an toàn, khả năng chịu, và tác dụng vật lý hóa học của thuốc của các liều dùng đơn tăng dần trong khớp sau đó đánh giá tính hiệu quả, tính an toàn, khả năng chịu và tác dụng vật lý hóa học của thuốc của liều dùng đơn trong khớp ở bệnh nhân mắc Bệnh viêm đau khớp xương mạn tính ở đầu gối.

Theo một phần của nghiên cứu, việc tiêm trong khớp đơn vào đầu gối bằng các liều khác nhau của huyền phù vi tinh thể của monohydrat của 3-(3-metoxy-4-((4-metoxybenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-amin, tạo ra theo Ví dụ 2 trên đây, được thử nghiệm đôi với các liều dùng giả trị bằng 3 mL và 5 mL.

Liều lượng

3 mg/3 mL

10 mg/3 mL

30 mg/3 mL

60 mg/3 mL

100 mg/5 mL

Nam giới và phụ nữ trưởng thành với chẩn đoán bệnh viêm khớp đầu gối mạn tính cấp một là thích hợp để tham gia vào nghiên cứu. Bệnh nhân có triệu chứng trong hơn 6 tháng và cung cấp chấp thuận thông báo bằng văn bản trước quy trình bất kỳ liên quan đến nghiên cứu.

Tính hiệu quả được đánh giá trên cơ sở tính an toàn và khả năng chịu (sự kiện bất lợi, kiểm tra cơ thể, trọng lượng cơ thể, nhiệt độ cơ thể, các thử nghiệm bệnh viện thực hành, huyết áp, nhịp tim, điện tâm đồ 12 chuyển đạo, sức chịu cục bộ) ở 12 tuần sau khi tiêm. Tác dụng vật lý hóa học của thuốc (huyết tương và, nếu có thể, trong chất dịch hoạt dịch) và tác dụng của thuốc cũng được đánh giá.

Bệnh nhân được theo dõi trong 84 ± 7 ngày sau khi nghiên cứu thuốc hoặc cho dùng giả dược, với lựa chọn tiếp tục thử nghiệm tính an toàn quan sát thời gian dài không dùng thuốc nghiên cứu bổ sung để đánh giá tính an toàn và tính hiệu quả lâu dài.

Ví dụ 5: Nghiên cứu đa hình của 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin

Nghiên cứu đa hình của GZ389988 được tiến hành nhằm xác định dạng tinh thể của 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin trong dung môi tinh khiết và các hỗn hợp được kiểm soát của dung môi và nước. Các kỹ thuật được dùng làm dụng cụ mô tả đặc tính của chất đa hình bao gồm Nhiễu xạ bột tia X (XRPD), Nhiễu xạ bột tia X độ phân giải cao (HR-XRPD) và Nhiễu xạ bột tia X đơn tinh thể (XRSCD), nhiệt phân tích nhiệt trọng lượng (TGA) kết hợp với Phổ học hồng ngoại (FT-IR) hoặc Đo khối phổ (MS), hấp thụ hơi động (DVS) của nước và dung môi, và Hiển vi quang học (OM). Các kỹ thuật này được mô tả cụ thể hơn dưới đây.

NHIỄU XẠ BỘ TIA X ĐỘ PHÂN GIẢI CAO (HR-XRPD)

Biểu đồ độ phân giải cao được ghi ở các điều kiện trên Nhiếu xạ kế bột Panalytical X'Pert Pro MPD sử dụng hình học điều tiêu para Bragg-Brentano (cấu hình θ - 2θ thẳng đứng) kết hợp với bộ dò X'Celerator. Sử dụng ống tia X anot đồng bít kín, chạy ở các mức 45 kV và 40 mA. Máy đơn sắc chùm tia tới (loại Johansson: tinh thể germani cong cắt đối xứng (111)) tạo ra bức xạ Cu K α 1 tinh khiết ($\lambda = 1,54060$ Å).

Đối với mỗi bộ của thử nghiệm, lớp mỏng của sản phẩm được lắng phủ lên bề mặt của vật giữ mẫu, được bao bằng tấm silic đơn tinh thể. Tấm được cắt bỏ theo hướng tinh thể Si (510) mà, bằng cách loại trừ hệ thống, cản trở bất kỳ phản xạ Bragg từ silic. Khoảng góc dùng được kéo dài từ 2 đến 50° trong 2θ , với kích thước bước $0,017^\circ$ trong 2θ . Thời gian tính toán dùng được từ 100 đến 2500 giây mỗi bước được sử dụng.

NHIỄU XẠ BỘ TIA X (XRPD)

Các phân tích XRPD khác trên Nhiếu xạ kế bột Siemens-Brucker D8 Advance, cũng sử dụng hình học điều tiêu para Bragg-Brentano (cấu hình θ - θ thẳng đứng), và buồng nhiệt Anton-Paar TTK450. Lớp mỏng của sản phẩm được lắng phủ lên tấm silic đơn tinh thể, được cắt bỏ theo hướng tinh thể Si(510) mà, bằng cách loại trừ hệ thống, cản trở bất kỳ phản xạ Bragg từ tấm. Sử dụng ống tia X anot đồng bít kín chạy ở các mức 40 kV và 35 mA. Hai dòng được thường được phát ra: CuK α 1 ($\lambda = 1,5405$ Å) và CuK α 2 ($\lambda = 1,5443$ Å). Đệm lọc niken β , đặt giữa bộ dò và mẫu, không loại trừ toàn bộ bức xạ CuK β ($\lambda = 1,3922$ Å), mà vẫn góp khoảng 1% chùm tia nhiễu xạ ở bộ dò (dữ liệu của nhà sản xuất). Chùm tia được gửi qua các khe Soller để cải thiện sự song song của nó. Các khe phân kỳ khác nhau được giữ chiếu sáng của vùng mẫu không đổi. Ống chuẩn trực giới hạn sự khuếch tán giữa ống và mẫu. Bộ dò tuyến tính LynxEye hoàn thành cài đặt. Có cửa sổ dò rộng $3,5^\circ$ trong góc 2θ . Các biểu đồ

được ghi trong các điều kiện sau: ở nhiệt độ môi trường, quét từ 2 đến 40° trong góc 2 θ . Thời gian tích hợp phụ thuộc và các điều kiện thử nghiệm. Nghiên cứu tiến triển và hầu hết các quét được thực hiện bằng cách sử dụng thời gian tính toán 0,1s giây mỗi bước trong 2 θ . Thời gian tích hợp dài hơn (lên đến 5s) có thể có được dùng để mô tả đặc điểm các dạng ổn định.

NHIỀU XẠ ĐƠN TINH THỂ TIA X (XRSCD, CÒN GỌI LÀ SCXRD)

Dữ liệu XRSCD được ghi trên nhiễu xạ kế đơn tinh thể Bruker Smart Apex. Sử dụng nguồn tia X vi tụ I μ S molybden, chạy ở 50 kV và 0,6 mA, bức xạ Mo-K α phát quang ($\lambda = 0,710731$ Å). Thiết bị kết hợp điện tích (chip CCD: 4K, 62 mm) bộ dò vùng được định vị ở 6,0 cm. Máy điều lạnh nitơ Oxford Cryosystems (Cryostream Plus) cho phép thử nghiệm XRSCD được thực hiện ở 100 K.

Các tinh thể đều được gắn từ giọt dầu Paratone NTM lên cấu trúc vòng MiTeGen mylar nền thấp. Cầu Ewald đầy của phản xạ được gom (quét 3 omega của 680 khung với độ rộng khung bằng 0,3°). Thời gian tích lũy phụ thuộc vào tinh thể.

Ma trận hướng và tế bào đơn vị được thiết lập sử dụng bộ chương trình Apex2 (v2014.11-0). Biên độ phản xạ 3D và tích hợp toàn bộ phản xạ được thực hiện bằng chương trình SAINT (v8.34A). Chương trình SADABS (v2014/5) được dùng để hiệu chỉnh cho Lorentz và các hiệu ứng phân cực và cho mẫu hấp thụ. Nhóm không gian tạm được xác định bằng chương trình XPREP (v2014/2). Bộ SHELXTL (v2014/7) được dùng để giải quyết cấu trúc bằng phương pháp định pha bên trong và để tinh chế dung dịch bằng các tính toán bình phương nhỏ nhất ma trận đầy đủ trên F^2 .

XÁC ĐỊNH VÀ BIỂU HIỆN ĐẶC TÍNH CỦA CHẤT ĐA HÌNH

Sử dụng các kỹ thuật được mô tả ở trên, các dạng tinh thể của 3-(3-methoxy-4-((4-methoxybenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-methyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-

imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin được xác định. Các dạng này, các đỉnh XRPD 2 θ được đo bằng cách sử dụng bức xạ CuK α và các điều kiện hình thành được nêu ở Bảng 15 dưới đây.

Bảng 15: Các dạng của 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyloxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin

Khan, hydrat hoặc Solvat	Chất đa hình số	Dạng số	Các đỉnh XRPD 2 θ được đo bằng cách sử dụng bức xạ CuK α	Các điều kiện hình thành
Khan	1	Dạng 2	3,8, 7,6, 11,0, 11,5, 13,3, 13,9 và 15,3	Dạng thu được bằng cách khử nước monohydrat 1
Khan	1	Dạng 3	6,0, 6,9, 10,9, 12,4, 12,7, 13,7 và 15,3	Thu được ở nhiệt độ cao (160°C đối với monohydrat 1, ~120°C đối với solvat)
Khan	3	Dạng 6/7	5,6, 8,1, 12,1, 14,0, 16,2 và 20,7	Dạng thu được bằng cách cân solvat hóa monohydrat 2 và etanol, axetonitril và axeton 2 solvat
Monohydrat	1	Dạng 1	3,6, 7,1, 8,9, 10,4, 10,7, 12,4, 12,7 và 14,3	Xem Ví dụ 1
Monohydrat	2	Dạng 8	5,5, 6,4, 8,2, 12,5, 12,8 và 16,5	Dạng có nguồn gốc từ etanol, axetonitril

Khan, hydrat hoặc Solvat	Chất đa hình số	Dạng số	Các đỉnh XRPD 2 θ được đo bằng cách sử dụng bức xạ CuK α	Các điều kiện hình thành
				và axeton 2 solvat (từ các chu kỳ “hoi N ₂ /H ₂ O”)
Sesquihydra t		Dạng 4	3,5, 7,1, 9,3, 10,3, 10,6, 12,4, 13,0 và 14,1	Dạng thu được bằng cách tinh thể hóa từ axeton/nước
Etanol Solvat		Dạng 5	5,3, 6,3, 7,5, 11,4, 12,6, 12,8 và 15,1	Dạng thu được bằng cách tái tinh thể hóa monohydrat 1 trong etanol hoặc từ solvate hóa etanol của dạng khan 3
Axeton Solvat	1	Dạng 9	6,1, 8,9, 12,1, 15,3, 16,4, 18,2 và 21,2	Dạng thu được bằng cách tái tinh thể hóa monohydrat 1 trong axeton tinh khiết và axeton/nước 99:1
Axeton Solvat	2	Dạng 10	5,4, 6,2, 7,4, 11,4, 12,6 và 14,8	Dạng thu được bằng cách tái tinh thể hóa monohydrat 1 trong axeton tinh khiết hoặc từ solvate hóa axeton của dạng

Khan, hydrat hoặc Solvat	Chất đa hình số	Dạng số	Các đỉnh XRPD 2 θ được đo bằng cách sử dụng bức xạ CuK α	Các điều kiện hình thành
				khan 3
Axetonitril Solvat		Dạng 11	5,3, 6,4, 7,7, 11,6, 12,8, 13,2 và 15,5	Dạng thu được bằng cách tái tinh thể hóa monohydrat 1 trong axetonitril hoặc từ solvate hóa axetonitril của dạng khan 3

Biểu đồ HR-XRPD đo được của monohydrat Dạng 1, dạng khan 2 và 3, cũng như biểu đồ XRPD mô phỏng của Dạng sesquihydrat 4, được biểu thị cùng nhau trên Hình 30.

Huyền phù của 20 mg/mL của GZ389988A dạng monohydrat trong hỗn hợp dung môi etanol/nước (99/1) được gia nhiệt đến 80°C trong 1h. Sau đó lọc huyền phù. Tiếp theo, giữ dung dịch qua đêm ở nhiệt độ phòng. Sau một đêm, các tinh thể được quan sát, sau đó được xác định là tương ứng với dạng etanol solvat (được dán nhãn là Dạng 5). Chất lượng vật lý của tinh thể thu được bằng cách làm bay hơi chậm hỗn hợp của etanol và nước (99/1) là thích hợp để được phân tích bằng nhiễu xạ bộ tia X đơn tinh thể. Việc đo được thực hiện ở 100K trên tinh thể 5 x 50 x 200 μm^3 , với thời gian tích tụ bằng 300s mỗi khung. Biểu đồ nhiễu xạ xác nhận độ kết tinh của các hạt được phân tích. Hình 31 thể hiện biểu đồ HR-XRPD của bột etanol solvat (đáy) được đo ở nhiệt độ phòng, so với biểu đồ XRPD mô phỏng từ dữ liệu XRSCD được đo ở 100K (đỉnh).

Huyền phù của 20 mg/mL của GZ389988A dạng monohydrat 1 (Dạng 1) được điều chế trong hỗn hợp của dung môi axeton/nước (99/1) hoặc trong axeton tinh khiết, và gia nhiệt đến 80°C trong 1h để đạt được hòa tan toàn bộ. Tiếp theo, lọc huyền phù. Sau đó giữ dung dịch ở nhiệt độ phòng hoặc ở 5°C. Sau một đêm, các tinh thể nhìn thấy được bằng mắt thường, sau đó được xác định là tương đương với dạng axeton solvat (được dán nhãn Dạng 9). Chất lượng vật lý của tinh thể thu được bằng cách làm bay hơi chậm hỗn hợp của axeton và nước (99/1) là thích hợp để phân tích bằng nhiễu xạ XR đơn tinh thể. Việc đo được thực hiện ở 100K trên tinh thể 100 x 200 x 2000 μm^3 , với thời gian tích lũy bằng 30s mỗi khung. Hình 32 thể hiện đồ thị XRPD đối với bột axeton solvat, được đo ở nhiệt độ phòng (đáy) và được mô phỏng từ XRSCD ở 100K (đỉnh).

Theo thử nghiệm khác, huyền phù của 20 mg/mL của dạng monohydrat 1 GZ389988A (Dạng 1) được điều chế trong axeton tinh khiết, và được gia nhiệt đến 80°C trong 1h. Sau đó, lọc huyền phù, và sau đó làm nguội trực tiếp đến 5°C và lưu trữ ở nhiệt độ này. Sau một đêm, các tinh thể nhìn thấy được bằng mắt thường và tương tự với tinh thể thu được đối với axeton solvat 1, Dạng 9. Sau nghiền chúng trong huyền phù trong cối, chúng được xác định là tương ứng với axeton solvat khác, Dạng 10. Hình 33 so sánh XRPD đối với hai dạng axeton solvat, Dạng 9 (đáy) và Dạng 10 (đỉnh).

Huyền phù của 20 mg/mL của dạng monohydrat GZ389988A trong axetonitril (ACN) được gia nhiệt đến 80°C trong 4h. Sau đó lọc huyền phù. Tiếp theo, giữ dung dịch qua đêm ở 40°C, sau đó để 2 giờ cho nguội xuống nhiệt độ phòng. Sau một đêm, cụm tinh thể được tạo thành ở đáy lọ. Biểu đồ HR-XRPD của dạng axetonitril (ACN) solvat (Dạng 11) được báo cáo trên Hình 34.

XÁC ĐỊNH PHA TINH THỂ RẮN TẠO THÀNH TRONG CÁC DUNG MÔI TRỘN LÃNN AXETON/NƯỚC VÀ AXETONITRIL/NƯỚC

50mg GZ389988A Monohydrat 1 được bổ sung với 2mL của hỗn hợp của dung môi (axeton hoặc axetonitril) và nước khử khoáng, ở ba tỷ lệ trọng lượng khác nhau: 50/50, 80/20 và 95/5. Với axeton, các hỗn hợp bổ sung ở tỷ lệ 99/1 và 98/2 được chứng minh. Sau 2 giờ ở 80°C, lọc các mẫu trên đệm lọc ống tiêm PTFE với kích thước hạt danh định bằng 0,45 μm , và lưu trữ lại ở 80°C trong 15 phút sau khi lọc.

Sau đó để các mẫu nguội qua đêm ở 40°C, và sau đó ở nhiệt độ phòng thêm 24 giờ.

Sau đó phân tích các mẫu bằng XRPD trong buồng bão hòa bằng dung môi tương ứng. Nếu cần, các tinh thể lớn được nghiền vỡ trong lọ bằng bang xẻng thành bột mịn. Mẫu bột “ướt” sau đó được lắng phủ phẳng nhất có thể lên vật giữ mẫu. Các kết quả của phân tích này được thể hiện ở Bảng 16 dưới đây.

Bảng 16: Pha tinh thể rắn của GZ389988A trong hỗn hợp Axeton/Nước và Axetonitril/Nước

Dung môi	Tỷ lệ trọng lượng Dung môi/Nước	(các) pha tinh thể
Axeton	99/1	Dạng solvat Axeton 9
	98/2	Monohydrat 1
	97/3	Monohydrat 1
	95/5	Monohydrat 1
	80/20	Monohydrat 1
	50/50	Monohydrat 1
Axetonitril	95/5	Monohydrat 1
	80/20	Monohydrat 1
	50/50	Monohydrat 1

Chế phẩm của solvat và hydrat từ tinh thể của Monohydrat 1 trong etanol, axeton, axetonitril và hỗn hợp axeton/nước và axetonitril/nước được nghiên cứu và thể hiện trong ví dụ này. Mười pha tinh thể được xác định:

- Pha khan 1 (Dạng 2)
- Pha khan 2 (Dạng 3)
- Pha khan 3 (Dạng 6/7)
- Monohydrat 1 (Dạng 1)
- Monohydrat 2 (Dạng 8)
- Sesquihydrat (Dạng 4)
- Etanol solvat (Dạng 5)
- Axeton solvat 1 (Dạng 9)
- Axeton solvat 2 (Dạng 10)
- Axetonitril solvat (Dạng 11)

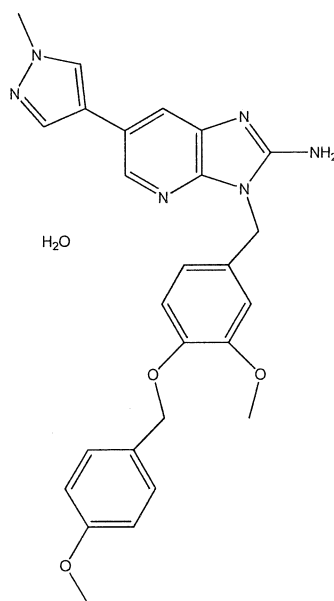
Các biểu đồ nhiễu xạ tương ứng được biểu thị trên Hình 35.

Từ nghiên cứu hiện tượng đa hình được thực hiện trên etanol, axeton và axetonitril, cũng như trên các hỗn hợp dung môi (axeton/nước và axetonitril/nước), một vài kết luận có thể được đưa ra. Tất cả ba dung môi tinh khiết dẫn đến việc hình thành các pha solvate tinh thể rắn. Sự tái tinh thể của GZ389988A trong etanol và axetonitril đều dẫn đến một dạng solvat. Hai dạng solvat đã thu được từ sự tái tinh thể trong axeton. Các tinh thể tạo thành trong hệ dung môi trộn lẫn axeton/nước với tỷ lệ trọng lượng bằng 98:2, 97:3 95:5, 80:20 và 50:50 đều trong pha tinh thể monohydrat 1. Các tinh thể tạo thành trong hệ dung môi trộn lẫn axetonitril/nước với tỷ lệ trọng lượng bằng 95:5, 80:20 và 50:50 cũng đều là các tinh thể monohydrat 1. Axeton solvat 1 được thấy là chuyển dạng thành chất rắn hầu hết vô định hình khi cần solvate hóa. Nếu chuyển động của phân tử tăng do sự có mặt hơi của axeton và nước trộn lẫn, các tinh thể axeton solvat 1 ban đầu và chất rắn vô định hình tổ chức lại thành

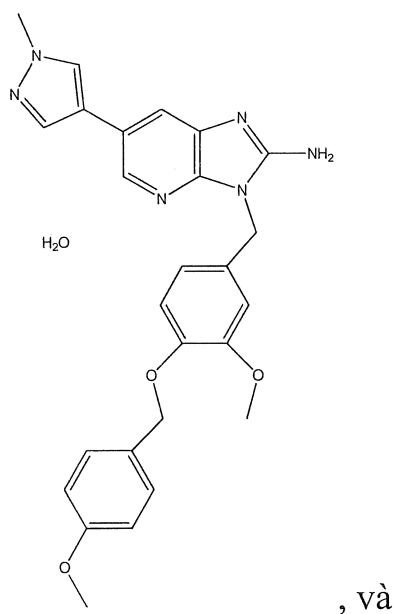
monohydrat 1. Etanol, axetonitril và axeton solvat 1 được lộ ra nhiệt độ bằng 120°C dưới khí nitơ cân solvat hóa thành cùng pha tinh thể khan 2. Sự đồng hình được thấy cho các dạng solvat 2 etanol, axetonitril và axeton (được xác nhận bằng nhiễu xạ tia X đơn tinh thể). Chúng đều cân solvat hóa thuận nghịch thành cùng pha khan 3. Pha khan 3 hydrat hóa thành dạng monohydrat, “monohydrat 2”, khác với monohydrat 1.

Yêu cầu bảo hộ

1. Hợp chất 3-(3-metoxo-4-((4-metoxobenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-amin ở dạng tinh thể, trong đó giảm độ nhiễu xạ bột tia X bao gồm các đỉnh 2θ sau đây được đo bằng cách sử dụng bức xạ CuK_α: 3,6 , 7,1, 8,9, 10,4, 10,7, 12,4, 12,7 và 14,3.
2. Dược phẩm bao gồm hợp chất ở dạng tinh thể của 3-(3-metoxo-4-((4-metoxobenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-amin theo điểm 1 và tá dược được dùng.
3. Chế phẩm chứa:



4. Dược phẩm chứa:
 - a. hợp chất có công thức cấu trúc sau đây:



b. tá dược được dụng.

5. Dược phẩm theo điểm 4, trong đó tá dược được dụng bao gồm chất pha loãng.

6. Dược phẩm theo điểm 5, trong đó chất pha loãng được chọn từ: malitol, dầu hướng dương, amoni alginat, canxi carbonat, canxi lactat, canxi phosphat hai bazơ khan, dihydrat hai bazơ, ba bazơ, canxi silicat, canxi sulfat, xenluloza (vi tinh thể silic hóa, nghiền bột), xenluloza axetat, đường nén, đường làm bánh kẹo, tinh bột ngô và tinh bột đông keo sơ bộ, dextrat, dextrin, dextroza, erythritol, etylxenluloza, fructoza, fumaric axit, glyxeryl palmitostearat, lactoza xông, isomalt, cao lạnh, lactitol, lactoza (khan, monohydrat và tinh bột ngô, monohydrat và xenluloza vi tinh thể, được sấy phun), magie carbonat, magie oxit, maltodextrin, maltoza, manitol, triglyxerit mạch trung bình, xenluloza vi tinh thể, polydextroza, polymethacrylat, simethicon, natri alginat, natri clorua, sorbitol, tinh bột (ngô khử trùng, đông keo sơ bộ), sucroza, đường dạng khối cầu, sulfobutylete b-xyclodextrin, bột tan, nhựa tragacan, trehaloza, xylitol.

7. Dược phẩm theo điểm 4, trong đó tá dược được dụng bao gồm chất tạo huyền phù.

8. Dược phẩm theo điểm 7, trong đó chất tạo huyền phù được chọn từ: keo, aga, alginic axit, bentonit, canxi stearat, carbomer, carboxymetylxenluloza (canxi và natri), carrageenan, xenluloza (vi tinh thể, vi tinh thể và carboxymetylxenluloza natri, được nghiền bột), silicon dioxit keo, destrin, gelatin, gôm guar, hectorit, silic oxit keo kỵ nước, hydroxyetyl xenluloza, hydroxymetyl xenluloza, hydroxypropyl xenluloza, hypromeloza, cao lanh, magie nhôm silicat, dung dịch maltitol, triglyxerit mạch trung bình, metylxenluloza, phenylmercuric borat, phospholipit, poycarbophil, polyetylen glycol, este axit béo polyoxyetylen sorbitan, povidon (polyvinylpyrrolidon), propylen glycol alginat, saponit, dầu vùng, natri alginat, sorbitan este, sucroza, nhựa tragacan, vitamin E polyetylen glycol succinat, và gôm xanthan.

9. Dược phẩm theo điểm 4, trong đó tá dược được dụng bao gồm chất tạo đệm.

10. Dược phẩm theo điểm 9, trong đó chất tạo đệm được chọn từ: adipic axit, dung dịch amoniac, axit boric, canxi carbonat, canxi hydroxit, canxi lactat, canxi phosphat, ba bazơ, xitric axit monohydrat, natri phosphat hai bazơ, dietanolamin, glyxin, axit maleic, axit malic, methionin, natri phosphat đơn bazơ, monoetanolamin, mononatri glutamat, axit phosphoric, kali xitrat, natri axetat, natri bicarbonat, natri borat, natri carbonat, natri xitrat dihydrat, natri hydroxit, natri lactat, và trietanolamin.

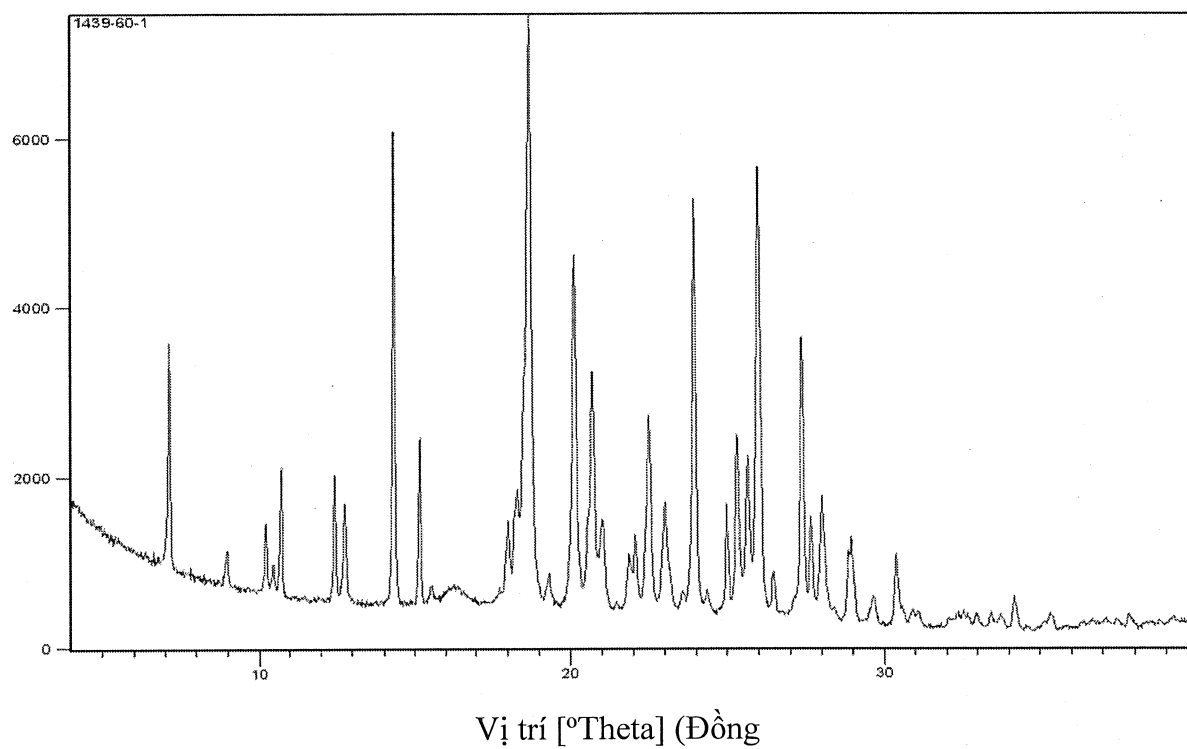
11. Dược phẩm giải phóng kéo dài chứa vi cầu nập 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-amin.

12. Dược phẩm giải phóng kéo dài theo điểm 11, trong đó vi cầu bao gồm polyme.

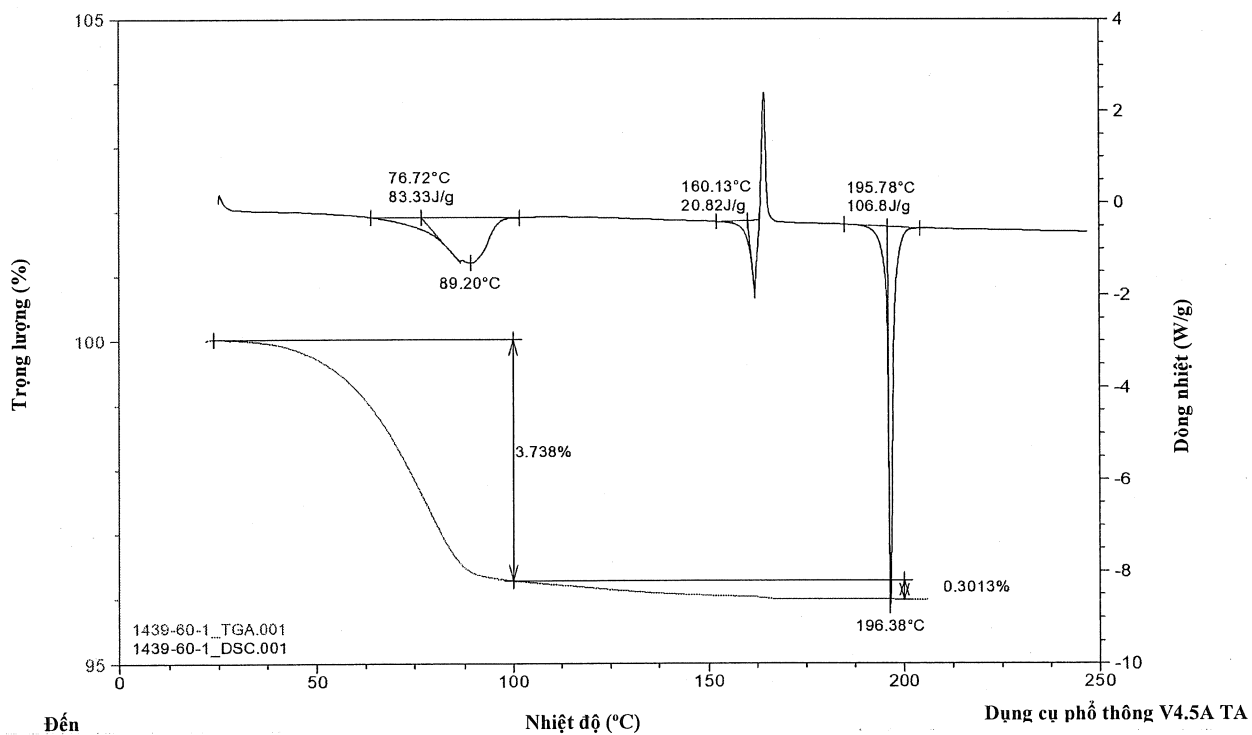
13. Dược phẩm giải phóng kéo dài theo điểm 12, trong đó polyme bao gồm poly(D,L-lactit).

14. Dược phẩm giải phóng kéo dài theo điểm 12, trong đó polyme bao gồm poly(D,L-lactit-co-glycolit).
15. Dược phẩm giải phóng kéo dài theo điểm 12, trong đó polyme bao gồm poly(D,L-lactit) và poly(D,L-lactit-co-glycolit).
16. Dược phẩm giải phóng kéo dài theo điểm 13, trong đó poly(D,L-lactit) có độ nhớt tự thân bằng 0,16-0,35 dL/g.
17. Dược phẩm giải phóng kéo dài theo điểm 14, trong đó poly(D,L-lactit-co-glycolit) có độ nhớt tự thân bằng 0,14-0,24 dL/g.
18. Dược phẩm giải phóng kéo dài theo điểm 15, trong đó poly(D,L-lactit) có độ nhớt tự thân bằng 0,16-0,35 dL/g và poly(D,L-lactit-co-glycolit) có độ nhớt tự thân bằng 0,14-0,24 dL/g.
19. Dược phẩm giải phóng kéo dài theo điểm 15, trong đó vi cầu có tỷ lệ 9:1 của poly(D,L-lactit) và poly(D,L-lactit-co-glycolit).
20. Dược phẩm giải phóng kéo dài theo điểm 15, trong đó vi cầu có tỷ lệ 9,5:0,5 của poly(D,L-lactit) và poly(D,L-lactit-co-glycolit).
21. Dược phẩm giải phóng kéo dài theo điểm 11, trong đó vi cầu được nạp 1% trọng lượng/trọng lượng đến 99% trọng lượng/trọng lượng hợp chất 3-(3-metoxi-4-((4-metoxibenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1*H*-pyrazol-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-amin.

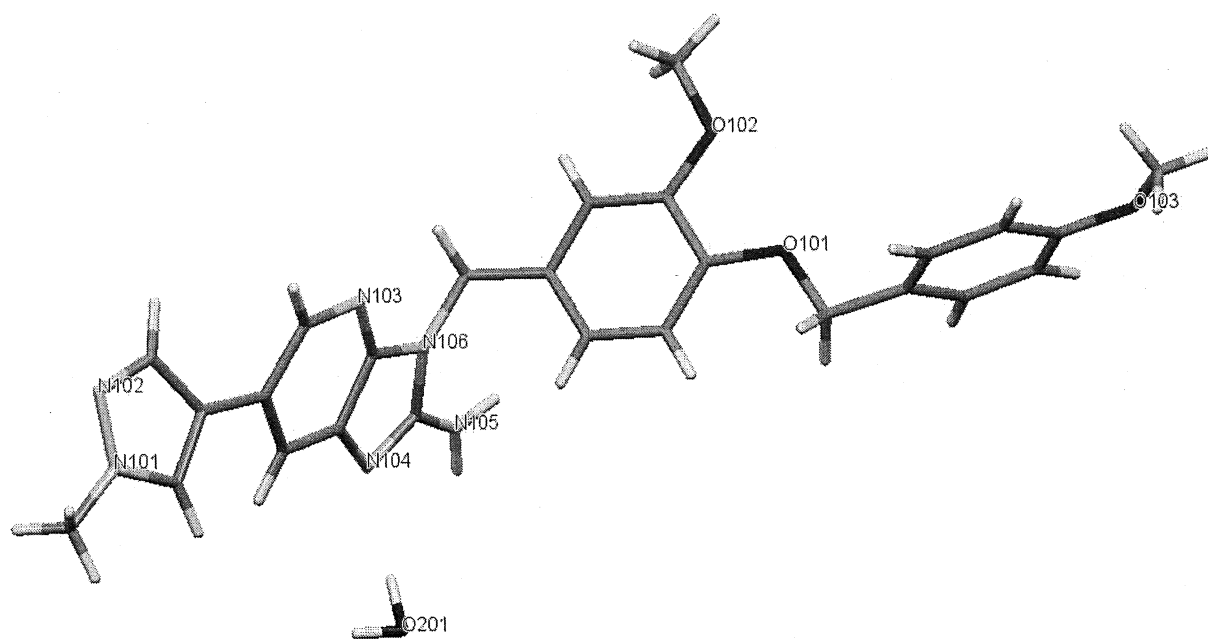
Hình 1: Nhiễu xạ bột tia X (XRPD) của dạng Monohydrat của 3-(3-metoxo-4-((4-metoxobenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin, 4–40 °2θ



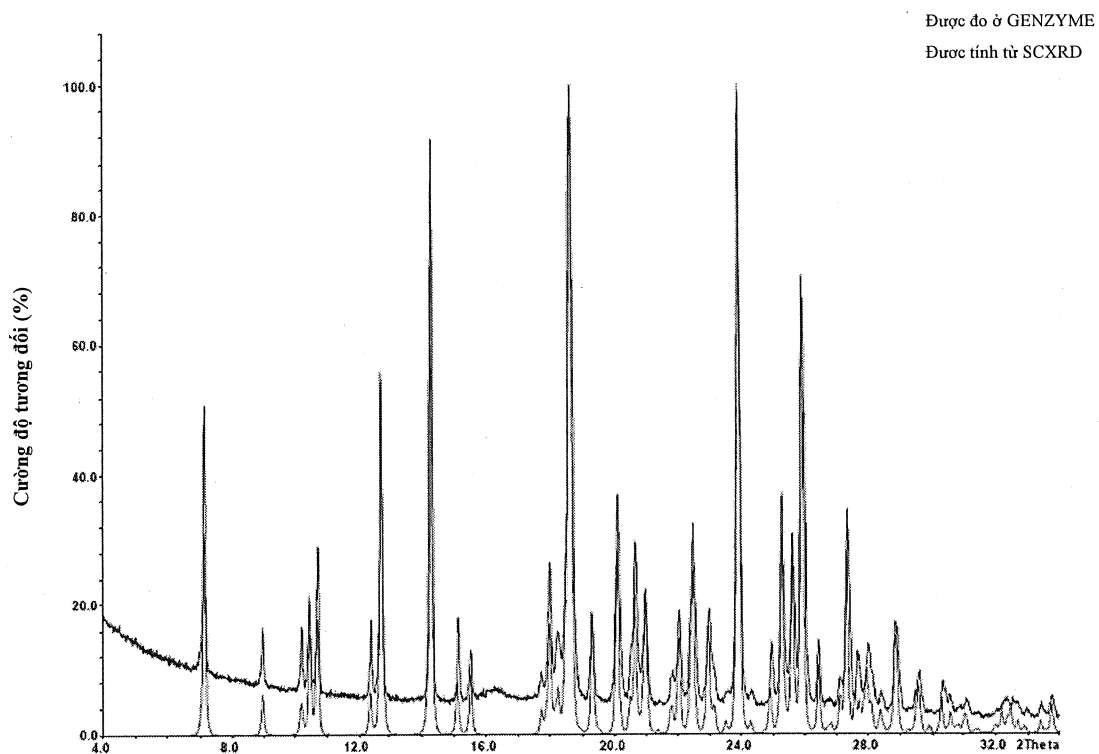
Hình 2: Nhiệt đồ Phân tích nhiệt lượng quét vi sai (DSC) và phân tích nhiệt trọng lượng (TGA) của dạng Monohydrat của 3-(3-metoxý-4-((4-metoxýbenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin, được gia nhiệt ở 10°C/phút



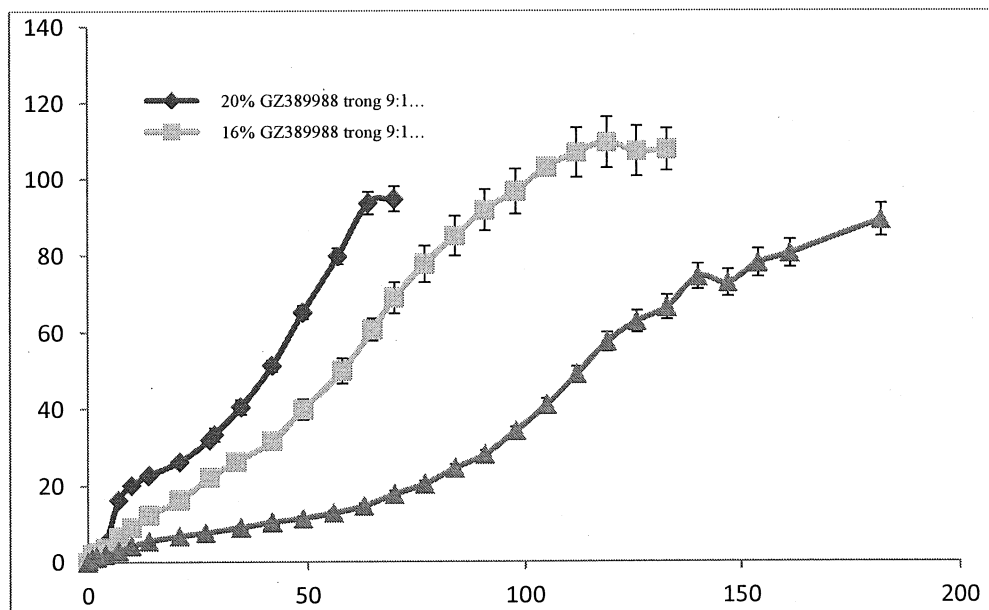
Hình 3: Cấu trúc tinh thể của dạng Monohydrat của 3-(3-metoxo-4-((4-metoxobenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin



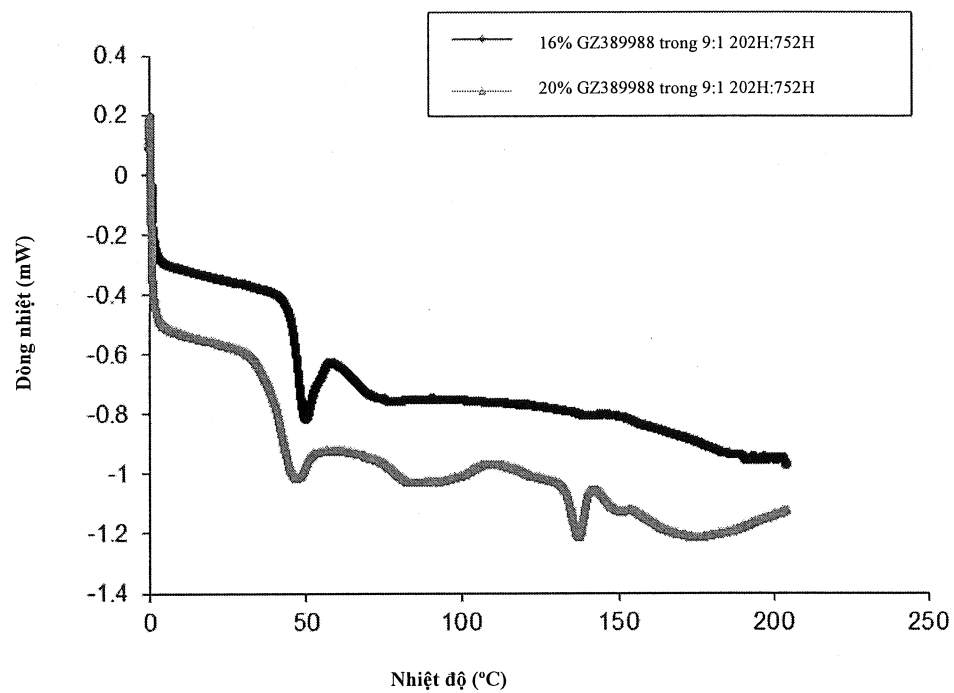
Hình 4: Hình ảnh chồng mẫu thử nghiệm XRPD với mẫu XRPD Được tính từ cấu trúc đơn tinh thể



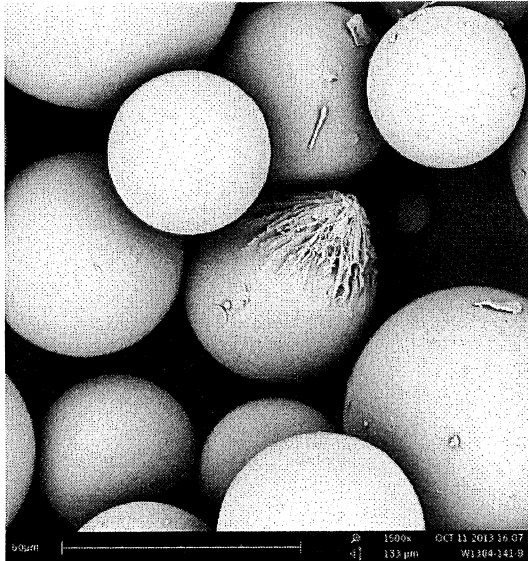
Hình 5: Hiệu quả nạp API lên biên độ IVR - các vi cầu 12% API/9:1 R202H:752H, 16% API/9:1 R202H:752H và 20% API/9:1 R202H:752H



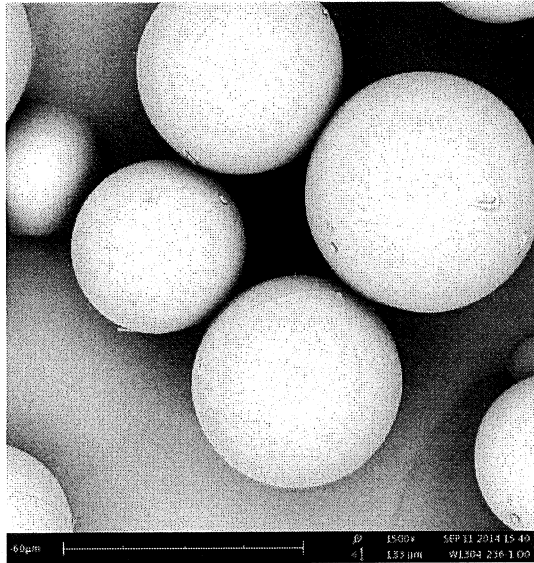
Hình 6: Nhiệt đồ DSC của các vi cầu 16% API/9:1 R202H:752H và 20% API/9:1 R202H:752H



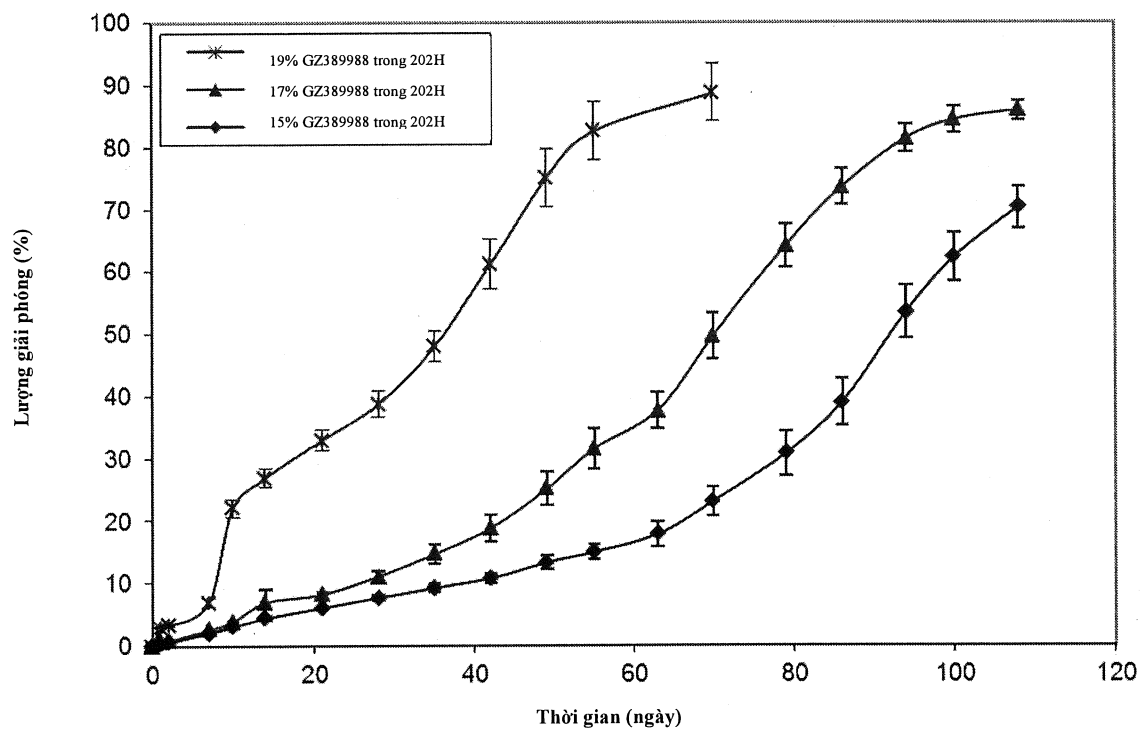
Hình 7: Hình ảnh vi điện tử quét (SEM) của các vi cầu 16% API/9:1 R202H:752H (1500X)



**Hình 8: Hình ảnh vi điện tử quét (SEM) của
Vi cầu 20% API/9:1 R202H:752H (1500X)**

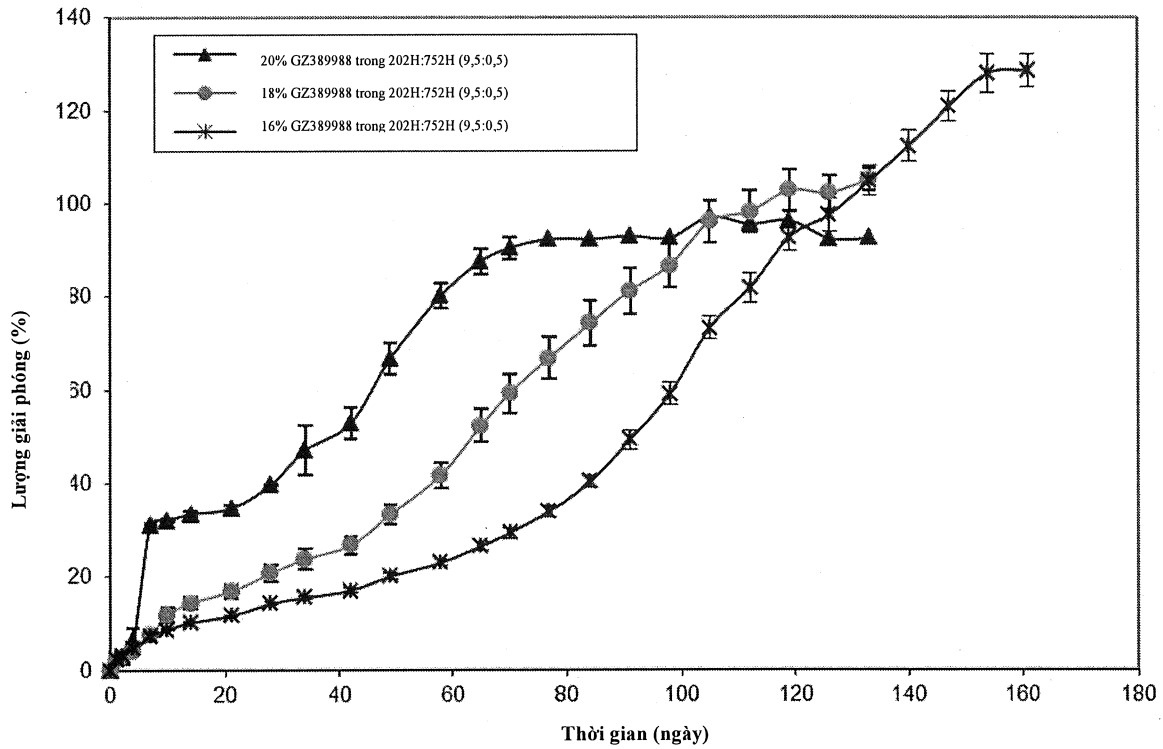


Hình 9: Hiệu quả nạp API lên biên độ IVR - Vi cầu 15% API/R202H, 17% API/R202H và 19% API/R202H

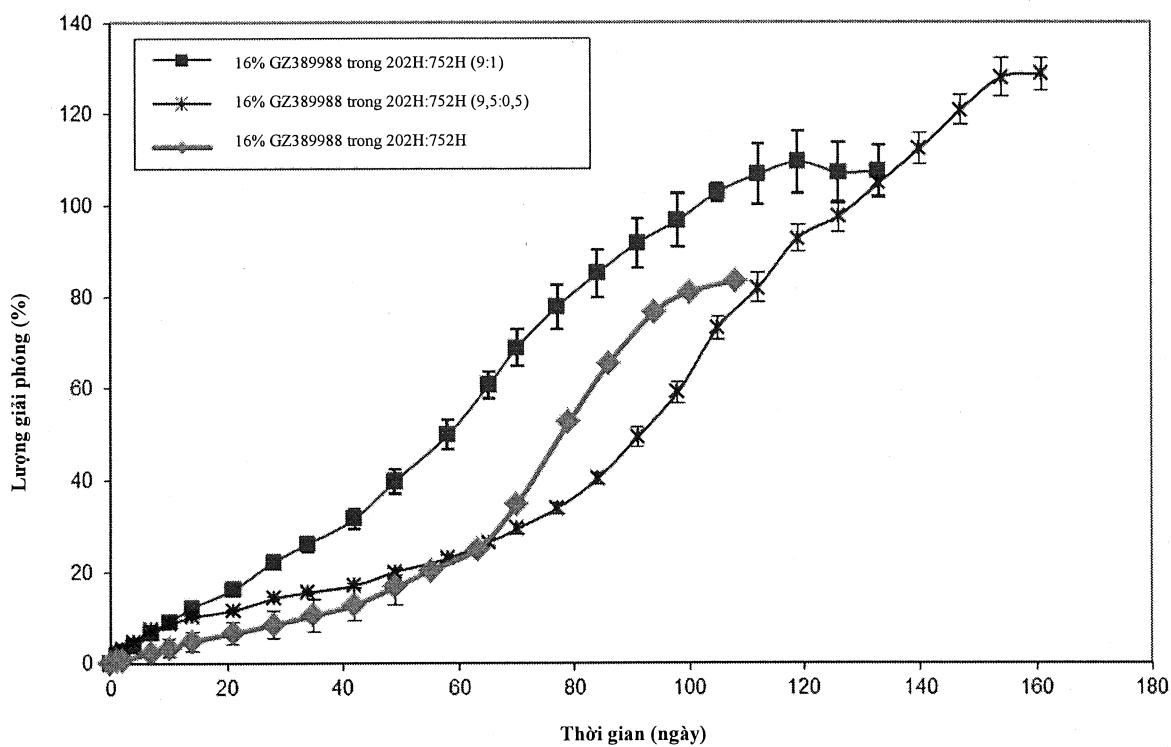


Hình 10: Hiệu quả nạp API lên biên độ IVR - Vi cầu 16% API/9,5:0,5

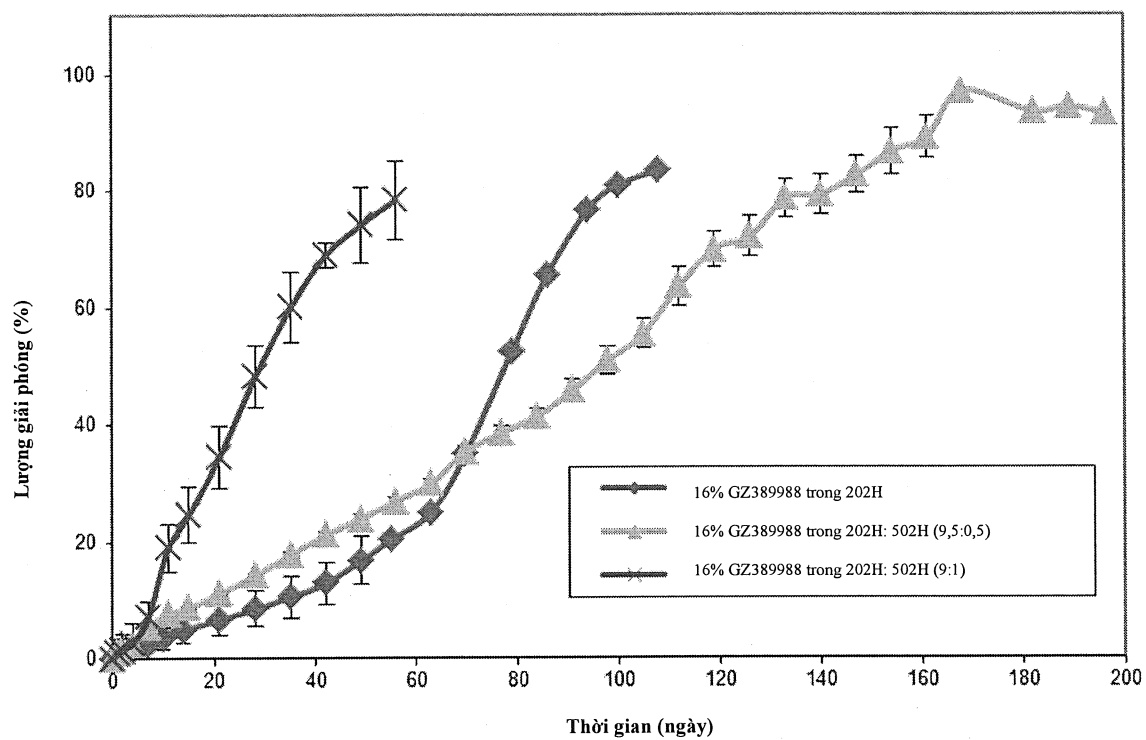
R202H:752H, 18% API/9,5:0,5 R202H:752H và 20% API/9,5:0,5 R202H:752H



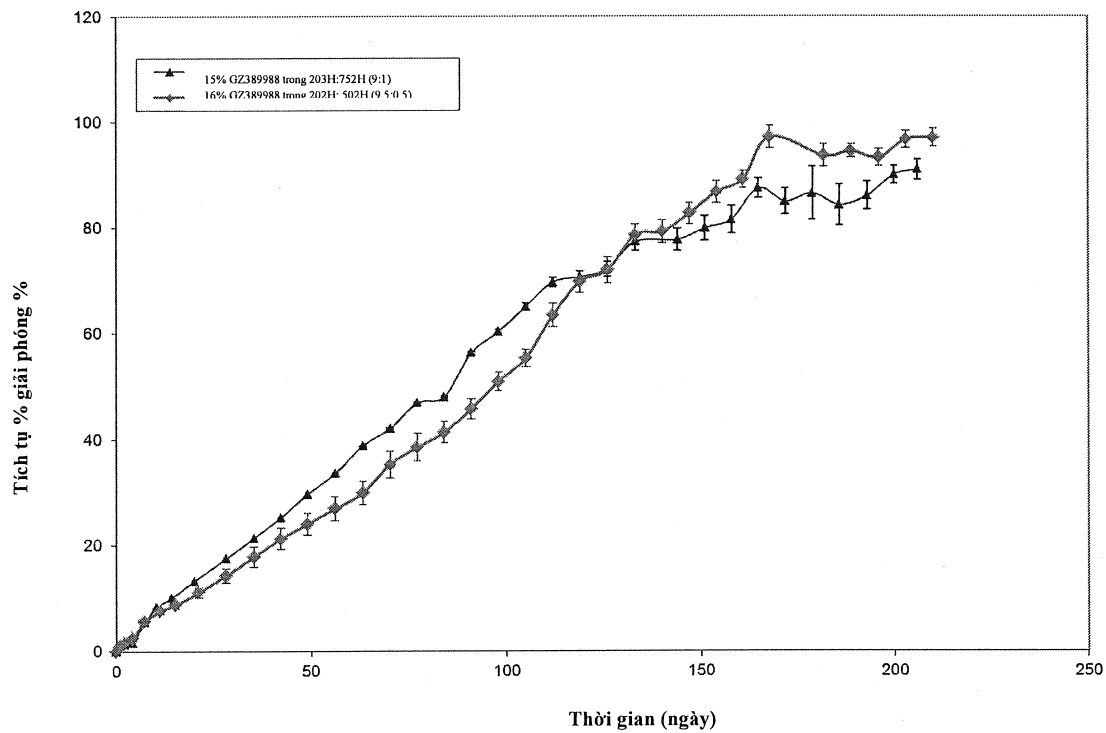
Hình 11: Hiệu quả hỗn hợp polyme lên biên độ IVR - Vi cầu 16% API/R202H, 16% API/9,0:0,5 R202H:RG752H và 16% API/9:1 R202H:RG752H



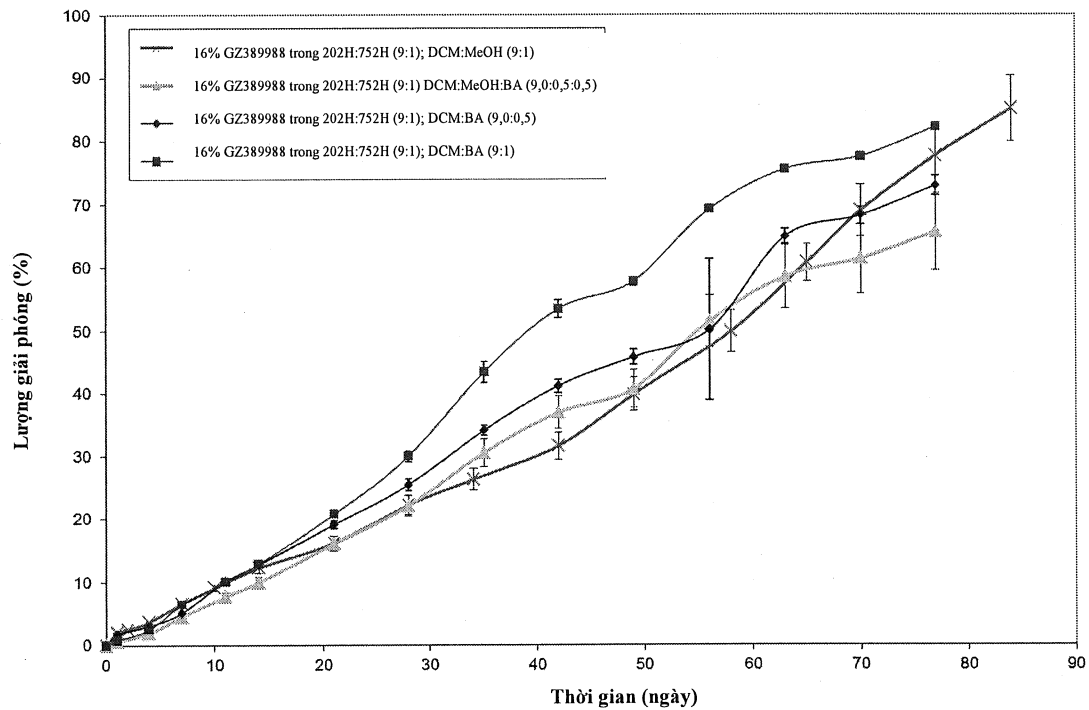
Hình 12: Hiệu quả hỗn hợp polyme lên biên độ IVR - Vi cầu 16% API/R202H, 16% API/9,5:0,5 R202H:RG502H và 16% API/9:1 R202H:RG502H



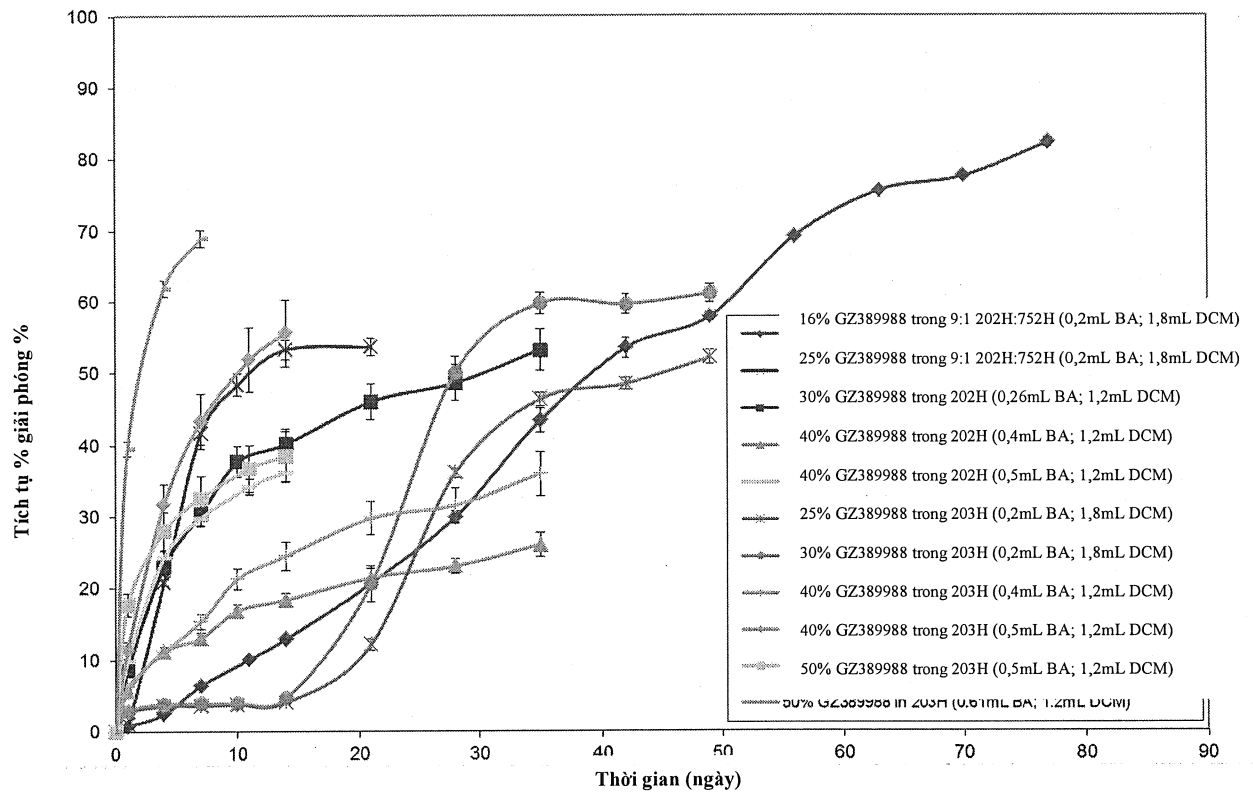
Hình 13: Chế phẩm thể hiện biên độ IVR cấp không trong 180 ngày - Vi cầu 15% API/9:1 R203H:RG752H và 16% API/9,5:0,5 R202H:RG502H



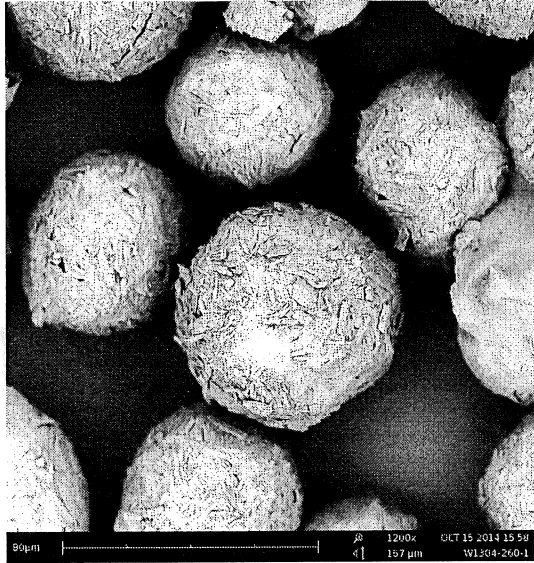
Hình 14: Hiệu quả của hệ đồng dung môi trong điều chế lên biên độ IVR - Vi cầu 16% API/9:1 R203H:RG752H - 9:1 DCM:MeOH, 9:0,5:0,5 DCM:MeOH:BA, 9,5:;0,5 DCM:BA, 9:1 DCM:BA



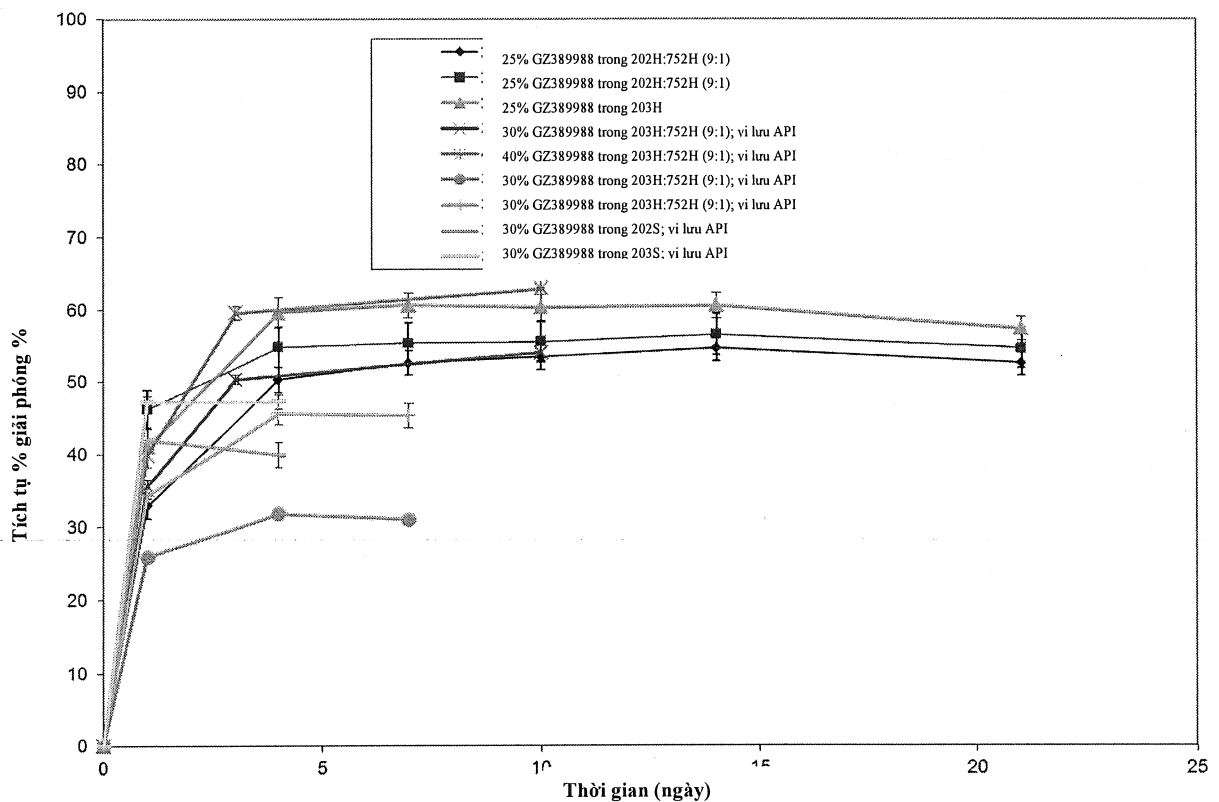
Hình 15: Hiệu quả của hệ thống đồng dung môi DCM:BA làm tăng nạp API lên biên độ IVR - Vi cầu 16% API/9:1 R202H:RG752H, 25% API/9:1 R202H:RG752H, 30% API/R202H, 40% API/R202H, 25% API/R203H, 30% API/R203H, 40% API/R203H, 50% API/R203H



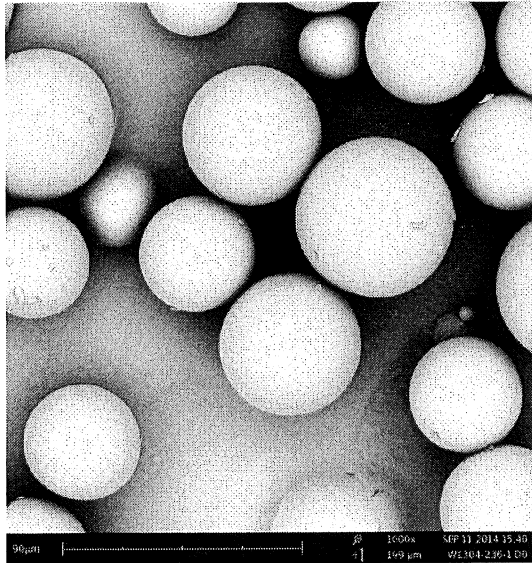
Hình 16: Hình ảnh vi điện tử quét (SEM) của Vi cầu được điều chế bằng quy trình kết vi nang huyền phù được micron hóa (1500X)



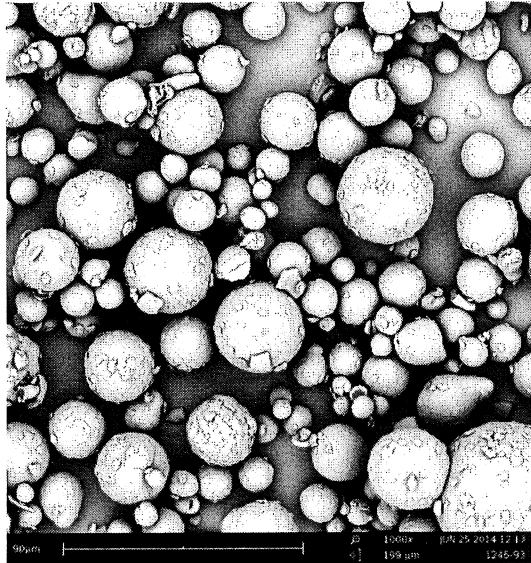
Hình 17: Hiệu quả của quy trình kết vi nang huyền phù được micron hóa lên biên độ IVR - Vi cầu 25% API/9:1 R202H:RG752H 39mL 5% PVA + 2,6mL EA, 25% API/9:1 R202H:RG752H 39mL 5% PVA + 3,25mL EA, 25% API/R203H 39mL 5% PVA + 2,0mL EA, 30% Vi lưu API/9:1 R202H:RG752H 39mL 5% PVA + 2,0mL EA, 40% Vi lưu API/9:1 R202H:RG752H 39mL 5% PVA + 2,0mL EA, 30% Vi lưu API/9:1 R202H:RG752H 39mL 5% PVA + 2,0mL EA, 30% Vi lưu API/9:1 R202H:RG752H 39mL 5% PVA + 2,3mL EA, 30% Vi lưu API/R202S 39mL 5% PVA + 2,0mL EA, 30% Vi lưu API/R203S 39mL 5% PVA + 2,0mL



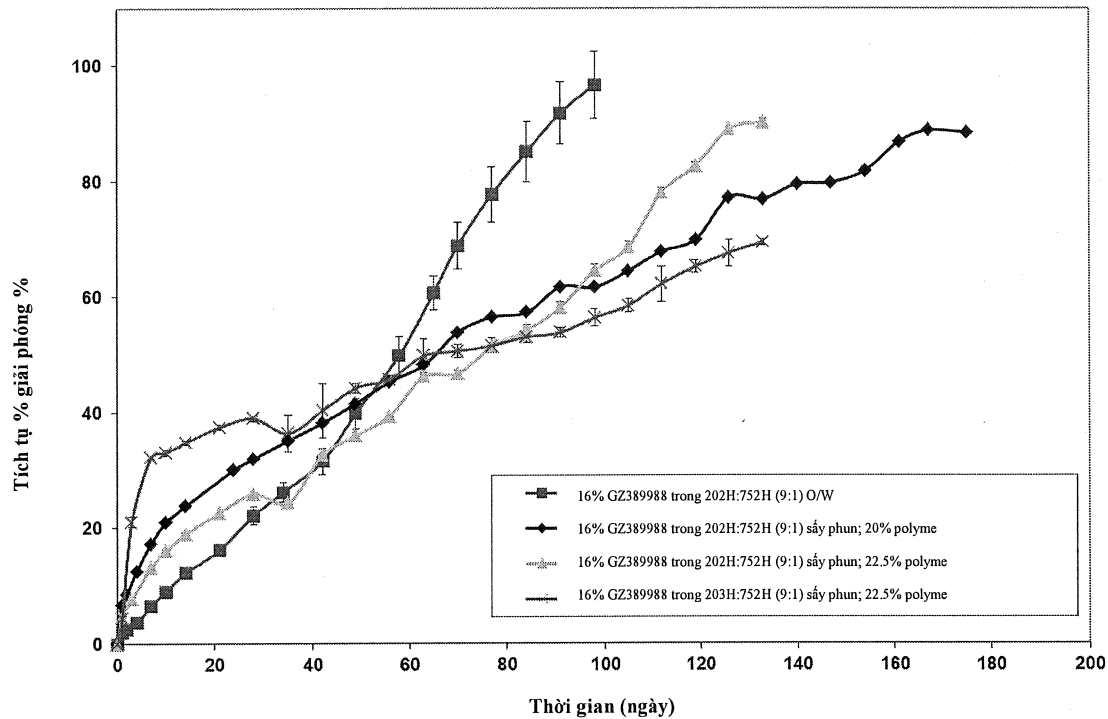
**Hình 18: Hình ảnh vi điện tử quét (SEM) của
Vi cầu 16% API/9:1 R202H:RG752H, Chiết dung môi (1000X)**



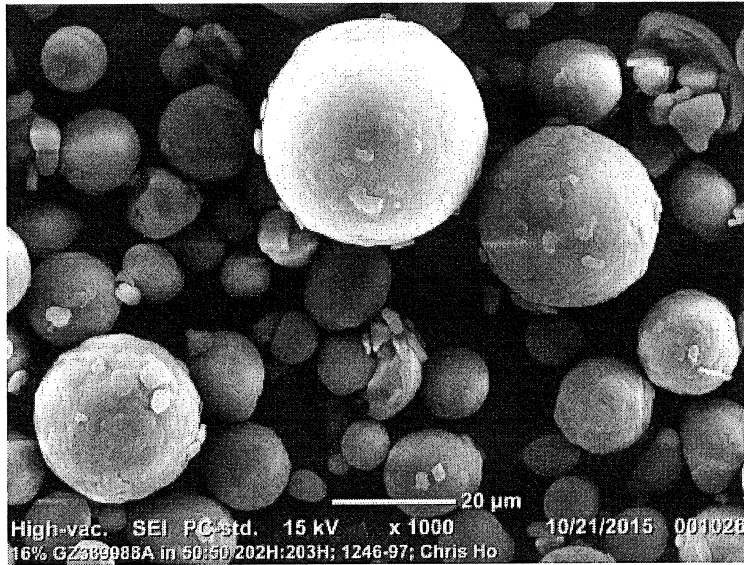
**Hình 19: Hình ảnh vi điện tử quét (SEM) của
Vi cầu 16% API/9:1 R202H:RG752H, sấy phun (1000X)**



Hình 20: Hiệu quả của Quy trình kết vi nang lên biên độ IVR - Vi cầu 16% API/9:1 R202H:RG752H bằng cách Chiết dung môi (OW), Vi cầu 16% API/9:1 R202H:RG752H bằng cách sấy phun (20% và 22,5% Polyme) và Vi cầu 16% API/9:1 R203H:RG752H bằng cách sấy phun (22,5% Polyme)



**Hình 21: Hình ảnh vi điện tử quét (SEM) của
Vi cầu 16% API/1:1 R202H:R203H/Không chất phụ gia, sấy phun (1000X)**



Hình 22: Hình ảnh vi điện tử quét (SEM) của

Vi cầu 16% API/1:1 R202H:R203H/31,25mg PEG, sấy phun (1000X)



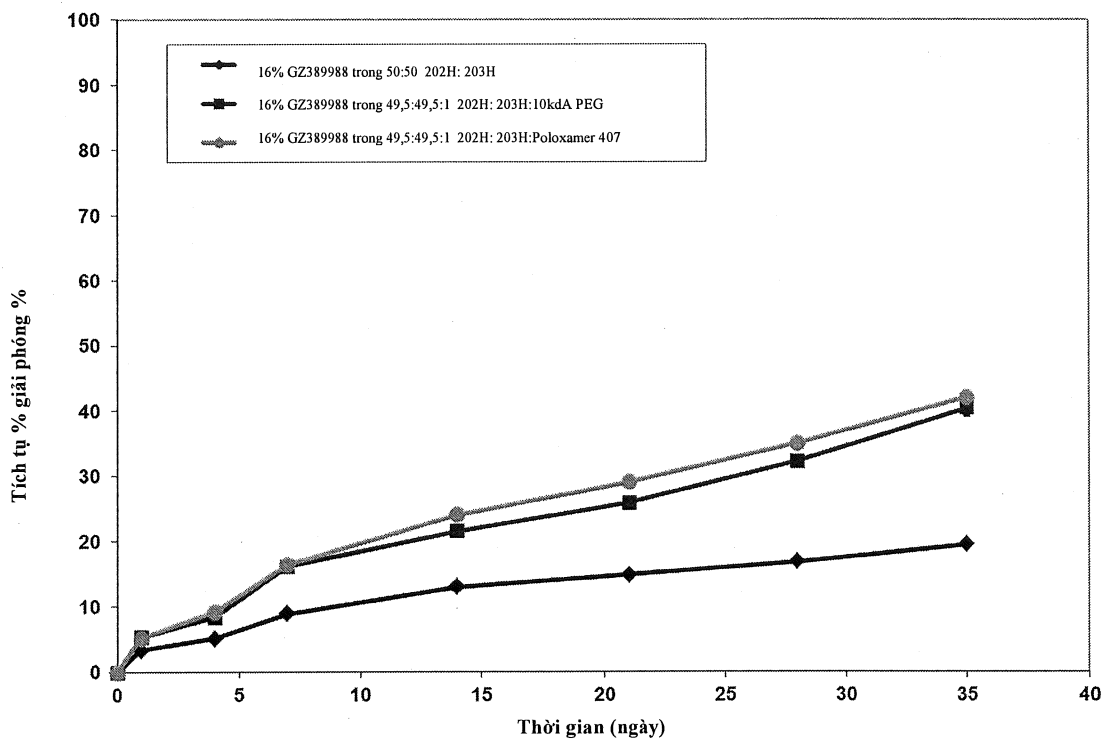
Hình 23: Hình ảnh vi điện tử quét (SEM) của

Vi cầu 16% API/1:1 R202H:R203H/31,25mg Poloxamer 407, sấy phun (1000X)

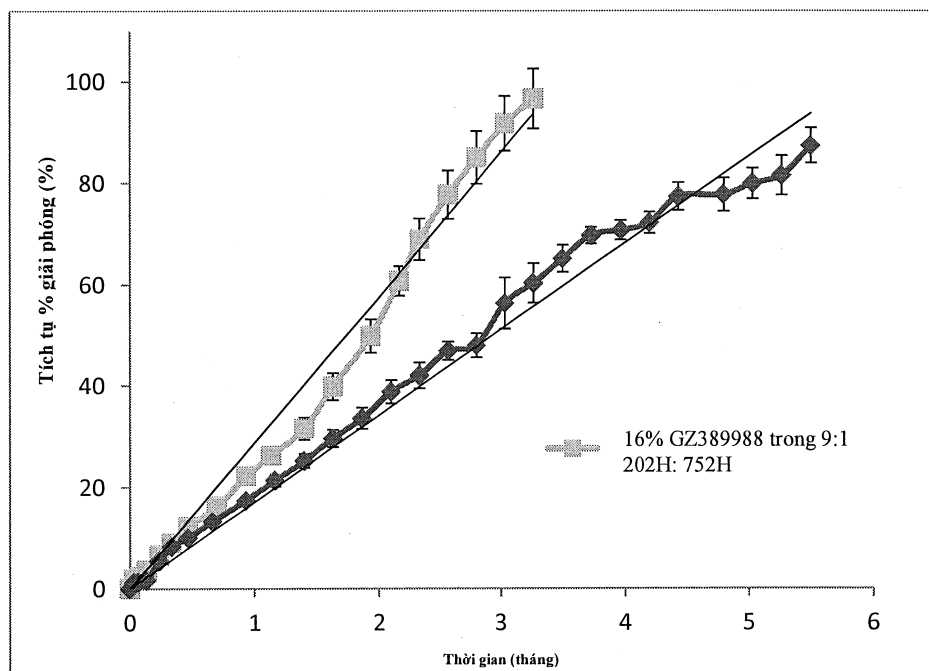


Hình 24: Hiệu quả của % 10kDa PEG hoặc 1% Poloxamer 407 lên biên độ IVR - 16% API/1:1 R202H:R203H/Không chất phụ gia, 16% API/1:1

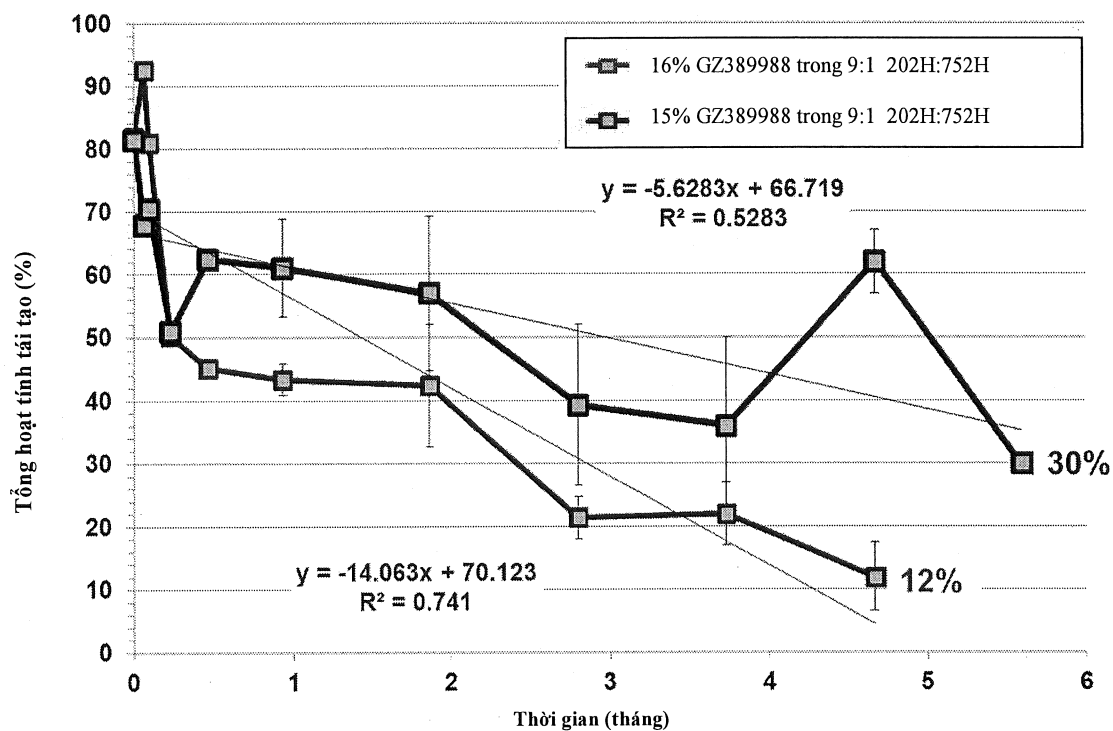
R202H:R203H/31,25mg PEG, 16% API/1:1 R202H:R203H/31,25mg Poloxamer 407



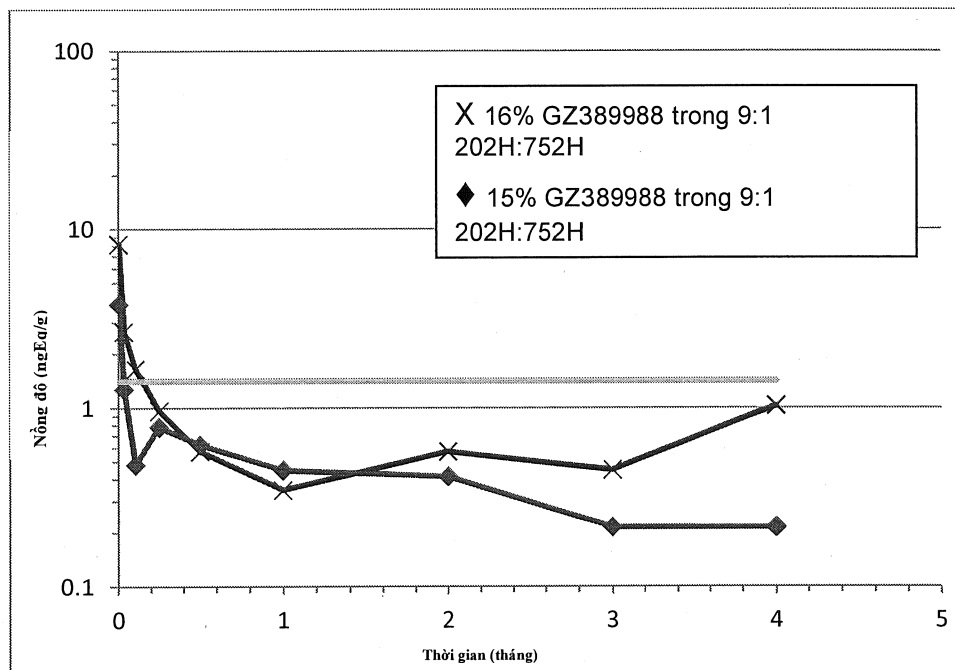
Hình 25: Biên độ IVR trong cơ thể (chuột) - Vi cầu 16% API/9:1 202H:RG502H và 15% API/9:1 R203H:RG752H



Hình 26: [^{14}C] 3-(3-metoxý-4-((4-metoxýbenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin duy trì theo thời gian (Khớp đầu gói của chuột) - Vi cầu 16% API/9:1 202H:RG502H và 15% API/9:1

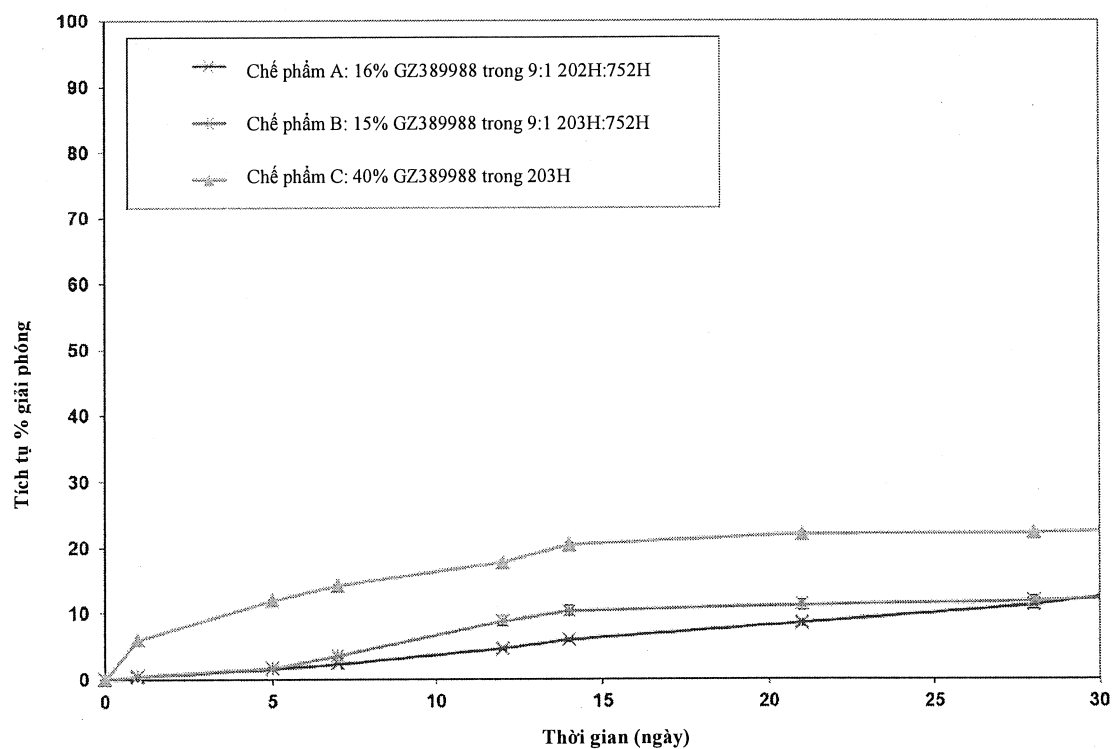


Hình 27: Mối liên hệ Nồng độ - Thời gian của 3-(3-metoxo-4-((4-metoxobenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin (Máu chuột) - Vi cầu 16% API/9:1 202:H:RG502H và 15% API/9:1 R203H:RG752H

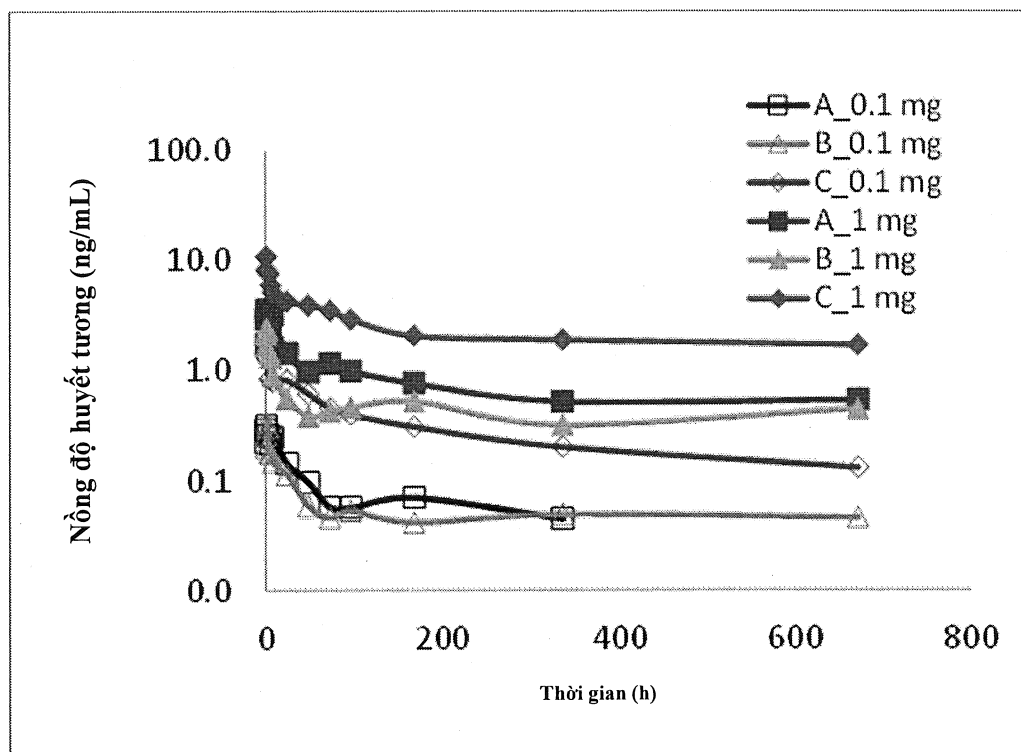


- thể hiện giá trị EC_{50} (dựa trên tế bào) của 3-(3-metoxo-4-((4-metoxobenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin bằng 1,4ng/mL

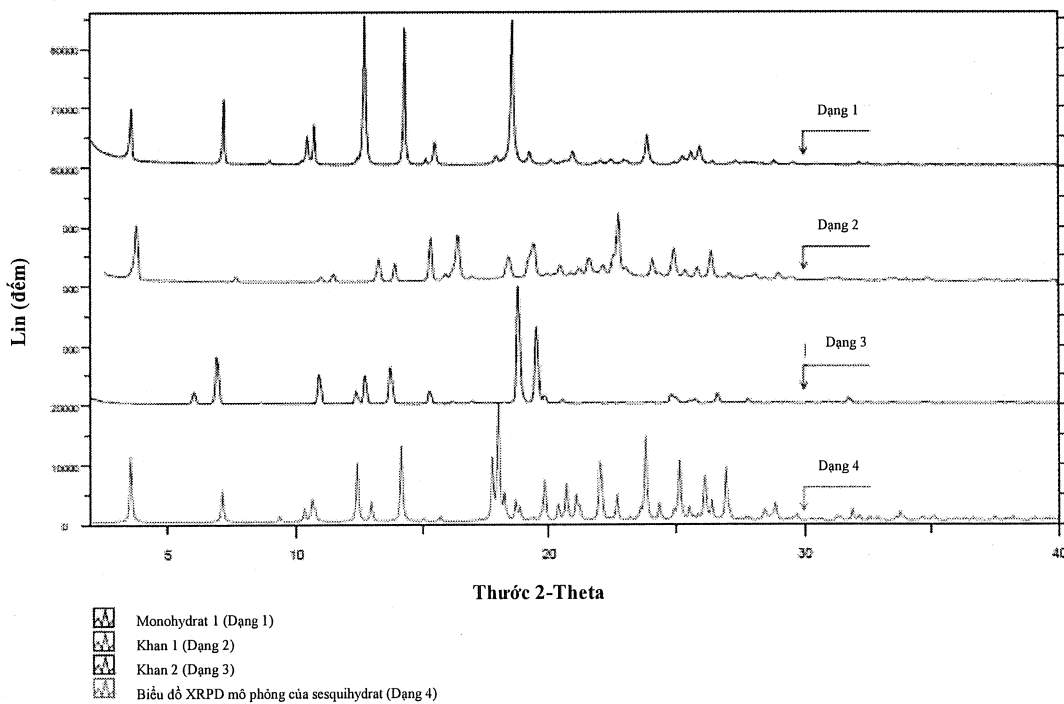
Hình 28: Biên độ IVR - Vi cầu 16% API/9:1 202:H:RG752H, 15% API/9:1 R203H:RG752H và 40% API/203H

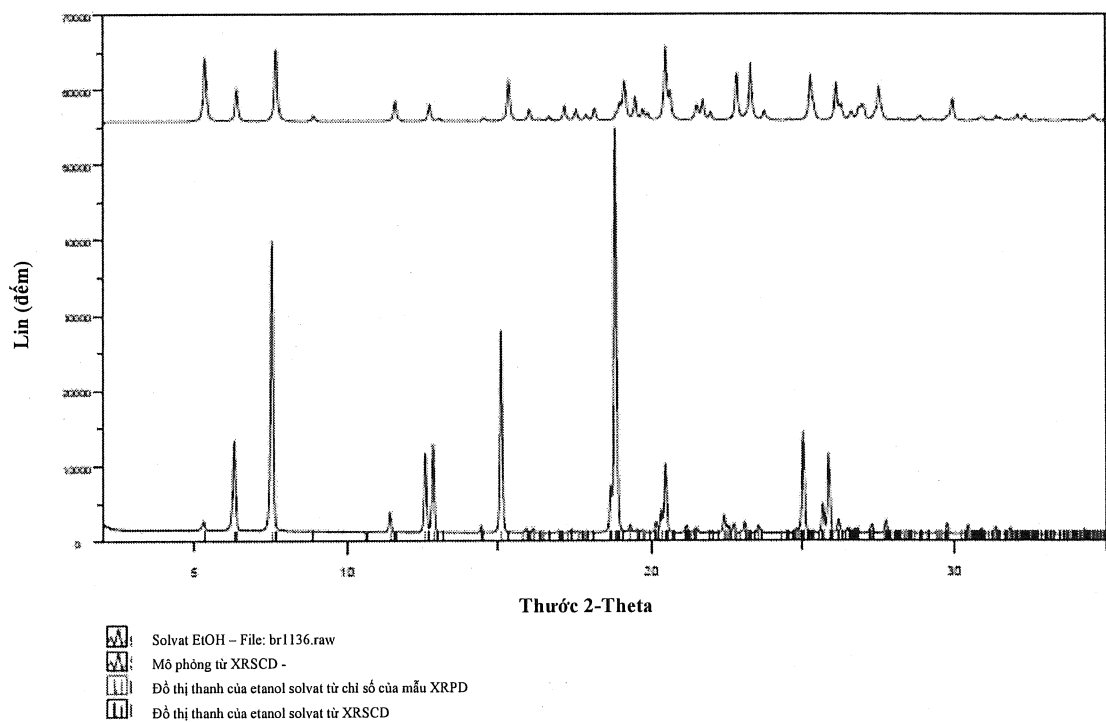


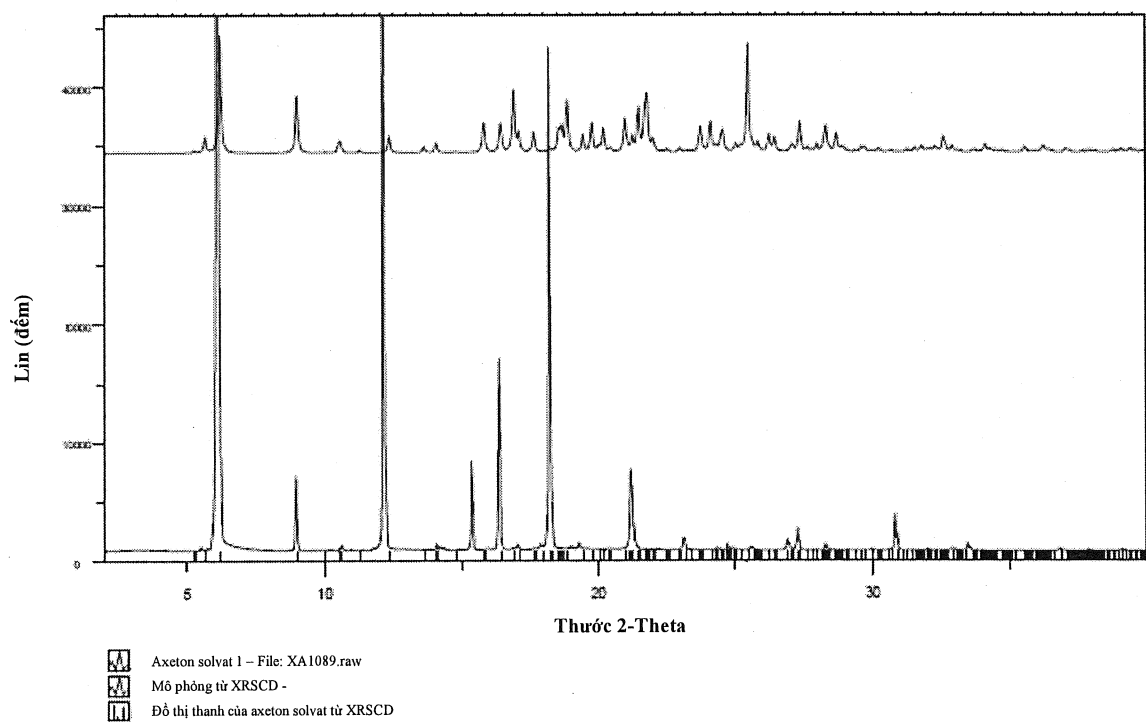
Hình 29: Mối liên hệ Nồng độ - Thời gian của 3-(3-metoxo-4-((4-metoxobenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin - Vi cầu 16% API/9:1 202:H:RG752H, 15% API/9:1 R203H:RG752H và 40% API/203H

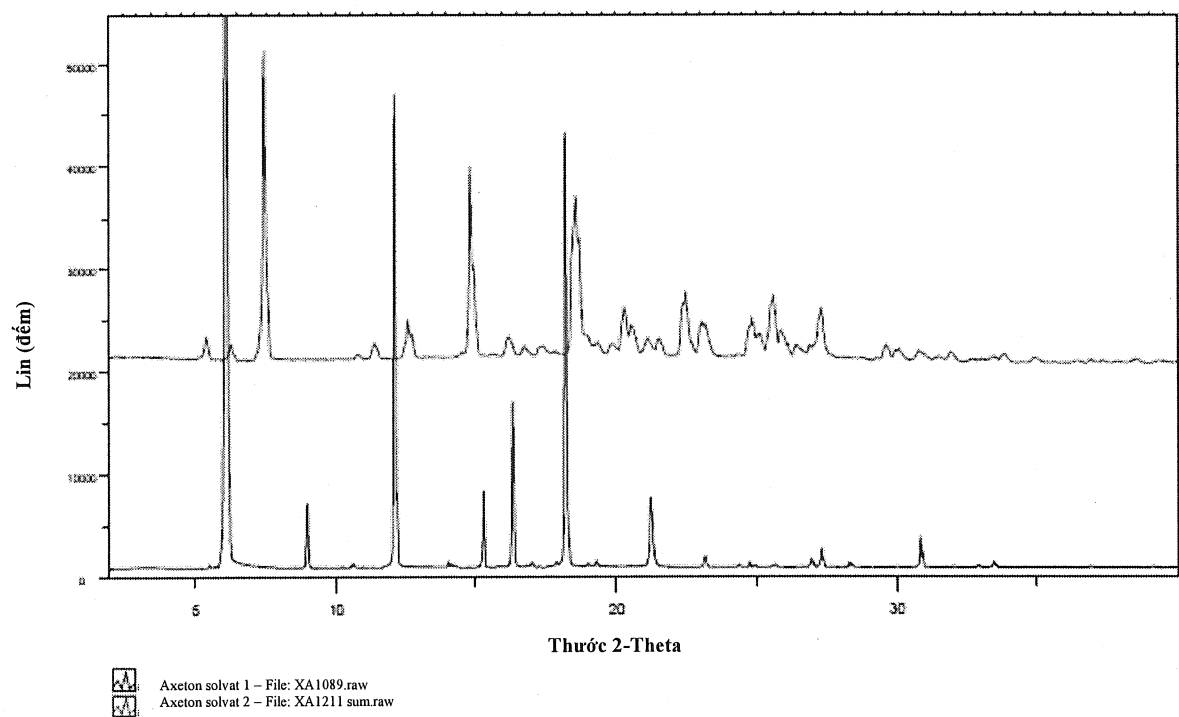


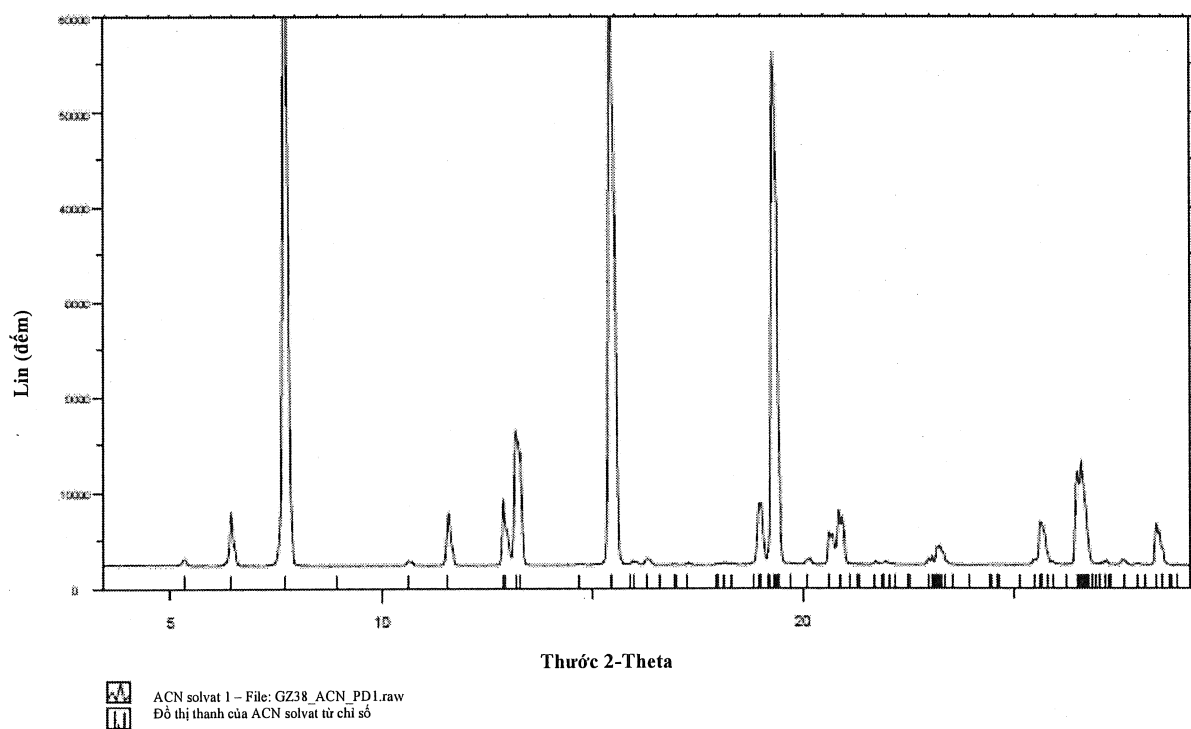
Hình 30: XRPD được đo hoặc được mô phỏng của các Dạng từ 1 đến 4 (khan và hydrat)



Hình 31: XRPD của Dạng 5 (Etanol)

Hình 32: XRPD của Dạng 9 (Axeton)

Hình 33: So sánh XRPD của Dạng 10 (Axeton) và Dạng 9 (Axeton)

Hình 34: XRPD của Dạng 11 (Axetonitril)

Hình 35: Pha tinh thể rắn của 3-(3-metoxo-4-((4-metoxobenzyl)oxy)benzyl)-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-2-amin

