



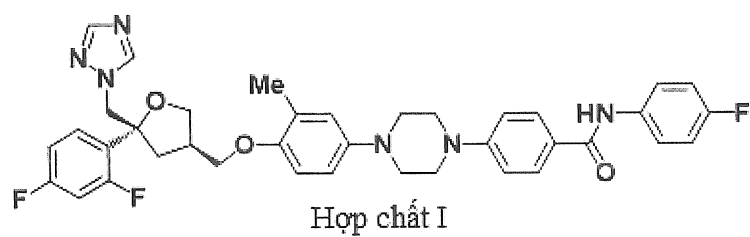
(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ
(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN) (11) 
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ
1-0052869
(51)^{2021.01} C07D 405/06; A61K 31/4196; A61P (13) B
31/10

(21) 1-2022-03216 (22) 04/12/2020
(86) PCT/GB2020/053107 04/12/2020 (87) WO 2021/111142 10/06/2021
(30) 1917867.2 06/12/2019 GB
(45) 27/10/2025 451 (43) 26/09/2022 414A
(73) PULMOCIDE LIMITED (GB)
Office Suite 3.01, 44 Southampton Buildings, London, WC2A 1AP, England
(72) WALLIS, Christopher, John (GB); STEELE, Gerald (GB); BUTTAR, Suzanne (GB);
SULEIMAN, Osama (GB); NORTHEN, Julian (GB); MYKYTIUK, John (GB);
MARSHALL, Jamie (GB).
(74) Công ty Luật TNHH T&G (TGVN)

(54) HỢP CHẤT CHỐNG NẤM TRIAZOL PC945 Ở DẠNG TINH THỂ VÀ DƯỢC
PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NÀY

(21) 1-2022-03216

(57) Sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I):



ở dạng biểu hiện đa hình tinh thể và dược phẩm chứa hợp chất này.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến các dạng biểu hiện đa hình tinh thể của hợp chất hữu ích trong việc điều trị bệnh nấm và đề cập đến các chế phẩm và sử dụng của nó.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Tỷ lệ nhiễm nấm gần như đã tăng lên trong hai thập kỷ qua và các dạng xâm lấn là các nguyên nhân hàng đầu gây ra bệnh tật và tử vong, đặc biệt là ở các bệnh nhân bị suy giảm miễn dịch hoặc bị ức chế miễn dịch. Bệnh nấm *Candida* lan tỏa, bệnh nấm *aspergillus* ở phổi, và nấm cơ hội mới nổi là những tác nhân phổ biến nhất gây ra những bệnh nấm nghiêm trọng này. Đặc điểm riêng của nấm là chúng có thể tạo ra chất nền ngoại bào (ECM - extracellular matrix) gắn kết chúng với nhau và cho phép chúng bám vào các cơ chất *in vitro* hoặc *in vivo* của chúng. Các màng sinh học này bảo vệ chúng chống lại các môi trường không thân thiện của hệ miễn dịch của vật chủ và chống lại hoạt động của các chất chống nấm (**Kaur và Singh**, 2013).

Bệnh nấm *aspergillus* ở phổi có thể được phân chia thành tình trạng không xâm lấn hoặc xâm lấn. Một phân chia nhỏ hơn nữa được sử dụng để mô tả đặc điểm tình trạng ở các bệnh nhân biểu lộ các triệu chứng có thành phần dị ứng với bệnh nấm *aspergillus* (được gọi là ABPA; bệnh nấm *aspergillus* phế quản phổi dị ứng) so với những người không biểu lộ. Các yếu tố thúc đẩy bệnh nấm *aspergillus* ở phổi có thể là cấp tính, như tiếp xúc với các liều cao của các thuốc ức chế miễn dịch hoặc đặt nội khí quản trong phòng chăm sóc đặc biệt. Theo cách khác, chúng có thể là mạn tính, do lây nhiễm trước đó, như với TB (**Denning và cộng sự**, 2011a). Các lây nhiễm nấm mạn tính với *aspergillus* có thể khiến các bệnh nhân bị tổn thương phổi vĩnh viễn và lan rộng, cần điều trị suốt đời bằng thuốc uống azol (**Limper và cộng sự**, 2011).

Ngày càng nhiều nghiên cứu cho thấy rằng lây nhiễm nấm *aspergillus* có thể đóng một vai trò quan trọng trong bệnh suyễn lâm sàng (**Chishimba và cộng sự**, 2012; **Pasqualotto và cộng sự**, 2009). Hơn nữa, công trình được công bố gần đây đã xác định mối tương quan giữa lây nhiễm nấm *aspergillus* với kết quả lâm sàng kém hơn ở các

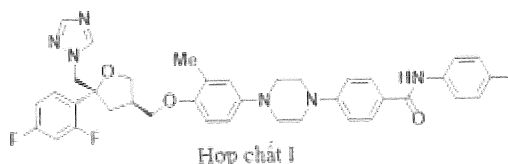
bệnh nhân COPD (**Bafadhel và cộng sự**, 2013). Tương tự, các nghiên cứu cắt ngang đã chỉ ra các mối liên quan giữa sự có mặt của *Aspergillus spp.* và *Candida spp.* trong đờm của các bệnh nhân và chức năng phổi xấu đi của họ (**Chotirmall và cộng sự**, 2010; **Agbetile và cộng sự**, 2012).

Bệnh nấm aspergillus xâm lấn (IA) dẫn đến tỷ lệ tử vong cao ở các bệnh nhân bị suy giảm miễn dịch, ví dụ, những người trải qua cấy ghép tế bào gốc dị sinh hoặc cấy ghép cơ quan rắn (như cấy ghép phổi). Trường hợp đầu tiên của IA được báo cáo ở một bệnh nhân bị suy giảm miễn dịch xảy ra vào năm 1953. Sự kiện này đồng thời với việc đưa corticosteroid và hóa trị liệu gây độc tế bào vào các phác đồ điều trị (**Rankin**, 1953). Bệnh nấm aspergillus xâm lấn là một mối quan tâm chính trong điều trị bệnh ung thư bạch cầu và các bệnh máu ác tính khác do tỷ lệ mắc bệnh và tỷ lệ tử vong liên quan cao. Tỷ lệ tử vong thường vượt quá 50% (**Lin và cộng sự**, 2001) và tỷ lệ lâu dài có thể đạt tới 90% ở những người nhận cấy ghép tế bào gốc tạo máu dị sinh, mặc dù các thuốc uống triazol có sẵn (**Salmeron và cộng sự**, 2012). Ở các bệnh nhân trải qua cấy ghép cơ quan rắn, cụ thể là phổi, thì việc sử dụng các liều cao của steroid khiến bệnh nhân dễ bị lây nhiễm (**Thompson và Patterson**, 2008). Bệnh này cũng đã xuất hiện ở những quần thể bệnh nhân bị suy giảm miễn dịch ít nghiêm trọng hơn. Các bệnh nhân này bao gồm những người bị bệnh COPD hoặc bệnh xơ gan tiềm ẩn, bệnh nhân dùng steroid liều cao và các cá nhân được trang bị ống thông tĩnh mạch trung tâm hoặc được hỗ trợ bởi thở máy cơ học (**Dimopoulos và cộng sự**, 2012).

Các thuốc chống nấm hiện có chủ yếu được định liều theo đường uống hoặc toàn thân. Các đường phân phối thường được sử dụng này kém trong việc điều trị các lây nhiễm đường thở phổi, vì nồng độ được chất đạt được tại vị trí lây nhiễm, có xu hướng thấp hơn nồng độ được chất ở các cơ quan không bị ảnh hưởng. Điều này đặc biệt đúng đối với gan, đây là vị trí gây độc chính ở 15% bệnh nhân được điều trị bằng voriconazol và những người bị tăng các mức transaminaza (**Levin và cộng sự**, 2007; **Lat và Thompson**, 2011). Sự tiếp xúc của gan cũng dẫn đến các tương tác dược chất đáng kể do sự ức chế các enzym P450 ở gan (**Jeong và cộng sự**, 2009; **Wexler và cộng sự**, 2004).

Hơn nữa, việc sử dụng rộng rãi triazol, cả trong phòng khám chữa bệnh và trong nông nghiệp, đã dẫn đến sự xuất hiện ngày càng nhiều và có vấn đề của các bệnh nấm kháng thuốc ở một số vị trí (**Denning và cộng sự**, 2011b; **Bowyer và Denning**, 2014).

Các hợp chất có công dụng trong điều trị các bệnh nấm được mô tả trong WO2016/087878 A1 (**Sunose và cộng sự**, 2016) và WO2016/087880 A1 (**Colley và cộng sự**, 2016). Hợp chất I được bộc lộ trong các công bố đơn yêu cầu cấp bằng độc quyền sáng chế nêu trên và là 4-(4-(4-(((3*R*,5*R*)-5-((1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-5-(2,4-diflophenyl)tetrahydrofuran-3-yl)methoxy)-3-metylphenyl)piperazin-1-yl)-*N*-(4-flophenyl)benzamid:



Hợp chất I là một chất ức chế mạnh của *Aspergillus fumigatus* sterol 14 α -demethylaza (CYP51A và CYP51B) và đã được mô tả đặc điểm là chất chống nấm mạnh tác dụng kéo dài *in vitro* và *in vivo* (**Colley và cộng sự**, 2017). Hơn nữa, đã được bộc lộ rằng việc điều trị tại chỗ bằng Hợp chất I, kết hợp với chất triazol toàn thân đã biết, đã chứng minh tác dụng chống nấm hiệp đồng chống lại *Aspergillus fumigatus* trong mô hình hai lớp phế nang ở người *in vitro* và trong phổi của chuột nhắt bị suy giảm miễn dịch giảm bạch cầu trung tính (**Colley và cộng sự**, 2019). Hợp chất I cũng được phát hiện là chất ức chế mạnh hơn posaconazol, voriconazol và fluconazol của các thể phân tách *Candida auris* được thu thập trên toàn cầu (**Shivaprakash và cộng sự**, 2019). Phân tích các dấu sinh học, sau khi dùng liều Hợp chất I theo đường mũi ở chuột bị suy giảm miễn dịch, đã thể hiện các tác dụng chống nấm được tích lũy khi dùng liều lặp lại và tồn tại dai dẳng (**Kimura và cộng sự**, 2017).

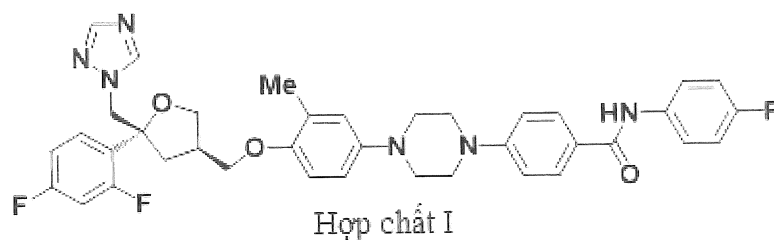
Tính đa hình là một cân nhắc quan trọng trong việc phát triển một sản phẩm thuốc vì ảnh hưởng của nó đến các tính chất hóa lý và sinh dược của hợp chất. Đặc tính này phát sinh bất cứ khi nào một thực thể, như phân tử nhỏ, có thể nhận các mạng tinh thể khác nhau. Sự thay đổi kết quả theo đóng gói ở trạng thái rắn có thể dẫn đến các khác biệt về độ ổn định bảo quản, cấu hình hòa tan và mật độ, do đó ảnh hưởng đến dạng bào chế và sản xuất sản phẩm, cũng như các đặc tính hòa tan: yếu tố quan trọng trong việc xác định tính sinh khả dụng *in vivo*.

Vẫn còn nhu cầu cung cấp các dạng đa hình của Hợp chất I để sử dụng trong điều trị các bệnh nấm. Cụ thể, có yêu cầu cung cấp Hợp chất I ở dạng tinh thể có độ ổn định vật lý và hóa học thích hợp và các đặc tính liên quan đến dược chất khác thích hợp với

việc dùng tại chỗ của nó đối với phổi. Các đặc tính này bao gồm tính nhạy cảm của nó với micron hóa, dạng bào chế của nó dưới dạng huyền phù chứa nước dễ phân tán, ngoài tính sinh khả dụng đầy đủ và các đặc tính dược động học chấp nhận được.

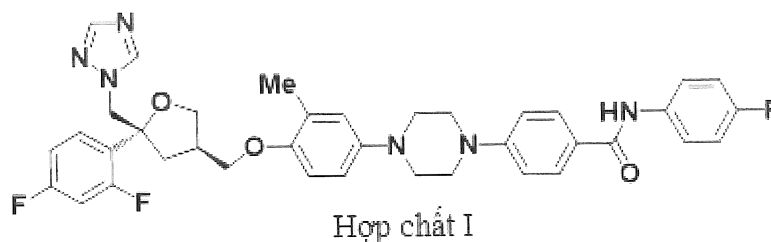
Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề xuất một hợp chất có công thức (I):



đó là 4-(4-(4-(((3R,5R)-5-((1H-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-5-(2,4-diflophenyl)tetrahydrofuran-3-yl)metoxy)-3-metylphenyl)piperazin-1-yl)-N-(4-flophenyl)benzamid ở dạng tinh thể trong đó dạng tinh thể là Dạng đa hình dạng 1.

Ngoài ra, sáng chế đề xuất một hợp chất có công thức (I):



đó là 4-(4-(4-(((3R,5R)-5-((1H-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-5-(2,4-diflophenyl)tetrahydrofuran-3-yl)metoxy)-3-metylphenyl)piperazin-1-yl)-N-(4-flophenyl)benzamid ở dạng tinh thể trong đó dạng tinh thể là Dạng đa hình dạng 2.

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ đánh giá cao rằng mặc dù chất hỗn biến đặc hiệu được thể hiện ở trên, hợp chất có thể tồn tại ở nhiều dạng hỗn biến. Sáng chế bao hàm tất cả các dạng hỗn biến này.

Hợp chất có công thức (I) trong bản mô tả này được gọi là Hợp chất I.

Như được mô tả trong các Ví dụ, Dạng đa hình tinh thể 1 và Dạng đa hình tinh thể 2 có cấu trúc tinh thể khác nhau rõ ràng. Cụ thể, Dạng đa hình dạng 1 và 2 theo sáng chế có các đặc điểm và tính chất sau đây làm cho chúng đặc biệt thích hợp để sử dụng làm các chất trị liệu. Các dạng đa hình thể hiện các điểm nóng chảy cao [$\sim 202^{\circ}\text{C}$ (Dạng

1) và $\sim 183^{\circ}\text{C}$ (Dạng 2)]; có thể mạnh về mặt vật lý (như được xác định bằng phân tích XRPD, TGA và DSC); có độ ổn định hóa học tốt (như được xác định bằng quang phổ ^1H NMR và phân tích HPLC); được micron hóa dễ dàng thành kích thước hạt có thể hô hấp được; và khả dụng sinh học khi được dùng ở dạng huyền phù chứa nước bằng cách hít. Do đó, dạng đa hình Dạng 1 và dạng đa hình Dạng 2 được kỳ vọng sẽ hữu ích trong các ứng dụng trị liệu khác nhau như được mô tả trong bản mô tả này.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig. 1: Mẫu XRPD độ phân giải cao của mẫu đại diện Dạng đa hình dạng 1.

Fig. 2: Mẫu XRPD độ phân giải cao của mẫu đại diện Dạng đa hình dạng 2.

Fig. 3: Sắp thẳng hàng theo chiều dọc của các mẫu XRPD độ phân giải cao của các Dạng đa hình dạng 1 và 2.

Fig. 4: Chồng phủ các mẫu XRPD độ phân giải cao của các Dạng đa hình dạng 1 và 2.

Fig. 5: Mẫu XRPD được tính toán cho Dạng đa hình dạng 1.

Fig. 6: Mẫu XRPD được tính toán cho Dạng đa hình dạng 2.

Fig. 7: Mẫu XRPD của mẫu tình trạng kỹ thuật trước đó của Dạng 3 so với các mẫu XRPD của các mẫu đại diện của các Dạng 1, 2 và 3.

Fig. 8: Phân tích nhiệt (DSC và TGA) của nguyên liệu thô đầu vào (Dạng đa hình 3).

Fig. 9: Vết DSC của Dạng đa hình dạng 1 thu được từ axeton chứa nước (5% H_2O).

Fig. 10: Mẫu XRPD của Dạng đa hình dạng 1 thu được từ axeton chứa nước (5% H_2O) sau khi micron hóa.

Fig. 11: Vết XRPD của Dạng đa hình dạng 2 thu được từ THF/TBME.

Fig. 12: Vết DSC của Dạng đa hình dạng 2 thu được từ THF/TBME.

Fig. 13: Mẫu XRPD độ phân giải cao của Dạng đa hình dạng 2 thu được từ THF/TBME, sau khi micron hóa.

Fig. 14: Cấu trúc tinh thể của Dạng đa hình dạng 1 nhìn dọc theo trục a.

Fig. 15: Cấu trúc tinh thể của Dạng đa hình dạng 2 nhìn dọc theo trục b.

Fig. 16: Vết DSC quét nhanh của Dạng đa hình dạng 1 ($40^{\circ}\text{C}/\text{phút}$).

Fig. 17: Vết DSC quét nhanh của Dạng đa hình dạng 2 ($40^{\circ}\text{C}/\text{phút}$).

Fig. 18: Phân tích nhiệt (DSC và TGA) của Dạng đa hình dạng 2 thu được từ MIBK.

Fig. 19: Các nồng độ được chất trong huyết tương trung bình sau khi dùng theo đường hít Dạng đa hình dạng 1 ở các con chuột cống đực với một liều danh tức là 2,2 mg/kg.

Fig. 20: Các nồng độ được chất trong huyết tương trung bình sau khi dùng theo đường hít Dạng đa hình dạng 2 ở các con chuột cống đực với mức liều danh tức là 2,2 mg/kg.

Mô tả chi tiết sáng chế

Mẫu nhiễu xạ bột tia X (XRPD - X-ray powder diffraction) bao gồm đồ thị của cường độ chùm nhiễu xạ so với 2θ , góc nhiễu xạ. Các vị trí đỉnh 2θ của mẫu nhiễu xạ bột tia X liên quan trực tiếp đến ô đơn vị của pha tinh thể, dẫn đến một mẫu duy nhất cho mỗi dạng đa hình. Do đó, mẫu XRPD là đặc trưng cho mỗi dạng đa hình và có thể được sử dụng để phân biệt dạng đa hình này với dạng đa hình khác. Các mẫu nhiễu xạ bột tia X thu được trực tiếp từ các mẫu của các Dạng đa hình dạng 1 và 2, được điều chế như mô tả trong bản mô tả này (**Fig. 1** và **Fig. 2**). Từ sự so sánh trực quan của hai mẫu (**Fig. 3** và **Fig. 4**), rõ ràng là Dạng 1 và 2 của Hợp chất I đại diện cho hai trạng thái tinh thể riêng biệt.

Các phản xạ ở 2θ được coi là duy nhất (và do đó là đặc trưng của dạng tinh thể) với điều kiện là không quan sát thấy phản xạ trong khoảng $\pm 0,2^\circ 2\theta$ khi so sánh hai (hoặc nhiều) mẫu nhiễu xạ. Dạng đa hình dạng 1 và 2 biểu lộ một số phản xạ duy nhất (**Bảng 1**).

Bảng 1: Các phản xạ XRPD duy nhất của các Dạng đa hình dạng 1 và 2.

Các phản xạ trong 2θ	
Dạng 1	Dạng 2
7,0	10,8
7,4	17,0
7,9	20,3
18,2	22,7
19,7	23,9
20,8	24,3
24,7	

Việc làm sáng tỏ cấu trúc của các Dạng đa hình dạng 1 và 2, bằng cách sử dụng tinh thể học tia X nguồn ánh sáng synchrotron, cho phép các mẫu XRPD của Dạng đa hình dạng 1 và 2 được tính toán từ các trị số nhiễu xạ thực nghiệm thu được từ tập hợp dữ liệu đơn tinh thể. Đối với cả hai dạng đa hình, mối tương quan rất chặt chẽ được quan sát thấy giữa dữ liệu thực nghiệm (**Fig. 1** và **Fig. 2**) và các mẫu được tính toán (**Fig. 5** và **Fig. 6**).

Do đó, được đề xuất là dạng tinh thể của Hợp chất I ở Dạng đa hình dạng 1 có mẫu nhiễu xạ bột tia X về cơ bản như được thể hiện trong **Fig. 1**.

Một cách thích hợp, được đề xuất là dạng tinh thể của Hợp chất I ở Dạng đa hình dạng 1, trong đó dạng tinh thể nêu trên có mẫu nhiễu xạ bột tia X chứa ba, bốn, năm, sáu hoặc bảy đỉnh được chọn từ ($\pm 0,2$) 7,0, 7,4, 7,9, 18,2, 19,7, 20,8 và 24,7 độ 2-theta.

Các đỉnh mẫu XRPD bổ sung cho Dạng đa hình dạng 1 được thể hiện trong **Bảng 3**. Do đó, một cách thích hợp, được đề xuất là dạng tinh thể của Hợp chất I ở Dạng đa hình dạng 1, trong đó dạng tinh thể nêu trên có mẫu nhiễu xạ bột tia X chứa bảy đỉnh sau đây: ($\pm 0,2$) 7,0, 7,4, 7,9, 18,2, 19,7, 20,8 và 24,7 độ 2-theta, và một, hai, ba, bốn hoặc năm đỉnh được chọn từ ($\pm 0,2$) 10,2, 16,7, 17,9, 23,3 và 24,2 độ 2-theta.

Một cách thích hợp, được đề xuất là dạng tinh thể của Hợp chất I ở Dạng đa hình dạng 1, trong đó dạng tinh thể nêu trên có các kích thước ô đơn vị là 16,80Å, 23,58Å và 25,58Å, và các góc α , β và γ là 90°.

Do đó, được đề xuất là dạng tinh thể của Hợp chất I ở Dạng đa hình dạng 2 có mẫu nhiễu xạ bột tia X về cơ bản như được thể hiện trong **Fig. 2**.

Cũng được đề xuất là dạng tinh thể của Hợp chất I ở Dạng đa hình dạng 2, trong đó dạng tinh thể nêu trên có mẫu nhiễu xạ bột tia X chứa ba, bốn, năm hoặc sáu đỉnh được chọn từ ($\pm 0,2$) 10,8, 17,0, 20,3, 22,7, 23,9 và 24,3 độ 2-theta.

Các đỉnh mẫu XRPD bổ sung cho Dạng đa hình dạng 2 được thể hiện trong **Bảng 3**. Do đó, một cách thích hợp, được đề xuất là dạng tinh thể của Hợp chất I ở Dạng đa hình dạng 2, trong đó dạng tinh thể nêu trên có mẫu nhiễu xạ bột tia X chứa sáu đỉnh sau đây: ($\pm 0,2$) 10,8, 17,0, 20,3, 22,7, 23,9 và 24,3 độ 2-theta, và một, hai, ba, bốn, năm hoặc sáu đỉnh được chọn từ ($\pm 0,2$) 16,6, 19,5, 20,3, 22,0, 26,6 và 26,9 độ 2-theta..

Một cách thích hợp, được đề xuất là dạng tinh thể của Hợp chất I ở Dạng đa hình dạng 2, trong đó dạng tinh thể nêu trên có các kích thước ô đơn vị là 16,81Å, 5,65Å và 35,56Å, và góc α là 90° , góc β là $101,54^\circ$ và góc γ là 90° .

Dạng đa hình Dạng 3 (tình trạng kỹ thuật trước đó)

Hợp chất I được bộc lộ trong tình trạng kỹ thuật trước đó trong các công bố đơn yêu cầu cấp bằng độc quyền sáng chế WO2016/087878 A1 và WO2016/087880 A1. Trong các đơn này, Hợp chất I, được điều chế như được bộc lộ trong đó, được phân tách bằng một trong các phương pháp bao gồm: (a) bổ sung nước vào hỗn hợp phản ứng chứa Hợp chất I trong pyridin để thu được Hợp chất I rắn thô, sau đó là tinh chế bằng sắc ký cột nhanh, rửa giải với MeOH 0-3% trong DCM; (b) bổ sung nước vào hỗn hợp phản ứng đã làm nguội chứa Hợp chất I trong DMF, sau đó là làm nguội thêm hỗn hợp phản ứng và thu gom bằng cách lọc để thu được Hợp chất I rắn, sau đó là tạo huyền phù đặc bánh lọc trong nước và thu gom các chất rắn bằng cách lọc hoặc; (c) bổ sung nước vào hỗn hợp phản ứng chứa Hợp chất I trong DMSO, sau đó là chiết Hợp chất I bằng EtOAc, làm bay hơi các chất bay hơi *trong chân không* và tinh chế phần còn lại bằng sắc ký cột nhanh, rửa giải bằng MeOH 0-2% trong DCM và tinh chế lại bằng sắc ký cột nhanh rửa giải với EtOAc 0-50% trong DCM.

Đối với mục đích của sáng chế, Hợp chất I như được bộc lộ trước đó, thu được từ các con đường tổng hợp được mô tả trong đó, là dạng biểu hiện kết tinh kém của Hợp chất I trong bản mô tả này được gọi là Dạng 3. Đặc điểm chung của các con đường này là Dạng đa hình 3 là kết quả từ việc tạo ra Hợp chất I nhanh, bằng cách bổ sung nước vào dung dịch Hợp chất I trong dung môi hữu cơ có thể trộn lẫn (như DMF hoặc DMSO) hoặc bằng cách làm bay hơi hỗn hợp dung môi sau khi tinh chế bằng sắc ký. Như được bộc lộ trong bản mô tả này dưới đây, nước là chất kháng dung môi mạnh đối với Hợp chất I, dẫn đến sự lắng đọng nhanh chóng của nó, trong các trường hợp này, ở trạng thái gần như vô định hình. Nguyên lý tương tự cũng áp dụng cho các mẫu được trả lại từ sắc ký, theo đó sự bay hơi nhanh chóng của chất rửa giải chứa Hợp chất I sẽ tạo ra Dạng đa hình 3, thay vì dạng tinh thể có trật tự hơn như Dạng 1 hoặc Dạng 2.

Không bị giới hạn bởi lý thuyết, dữ liệu thực nghiệm hướng dẫn rằng sự kết tủa của Hợp chất I bằng cách làm bay hơi nhanh dung dịch trong dung môi dễ bay hơi (như DCM) dẫn đến trạng thái rắn bị mất trật tự. Điều tương tự cũng áp dụng cho sự kết tủa

(gần như tức thời) của Hợp chất I bằng cách bổ sung chất kháng dung môi; ví dụ bằng cách đập tắt dung dịch Hợp chất I trong dung môi hữu cơ có thể trộn lẫn bằng nước. Cả hai quy trình này, được mô tả trước đó, không cho phép đủ thời gian để hợp chất có công thức I đạt được các trạng thái tinh thể có trật tự cao hơn, ổn định về mặt nhiệt động học hơn, được lấy ví dụ bởi Dạng đa hình dạng 1 và 2, được mô tả trong bản mô tả này.

Mẫu đại diện của Dạng 3 được điều chế theo quy trình sau đây. Huyền phù của axit 4-(4-(4-(((3*R*,5*R*)-5-((1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)methyl)-5-(2,4-diflophenyl)tetrahydrofuran-3-yl) metoxy)-3-methylphenyl)piperazin-1-yl)benzoic (2,50g, 4,24 mmol), EDCI (1,63g, 8,48 mmol) và DMAP (0,03g, 0,21 mmol) trong pyridin (30mL) được bổ sung 4-floroanilin (0,41 mL, 4,32 mmol). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 60°C trong khoảng thời gian 2 giờ sau đó làm nguội đến nhiệt độ trong phòng, pha loãng với nước (60mL) và khuấy trong khoảng thời gian 5 phút. Chất rắn thu được được gom bằng cách lọc, rửa bằng nước (3 x 10mL) và bằng diethyl ete (2 x 15mL) để tạo ra bột có màu nâu vàng. Sản phẩm thô thu được được tinh chế bằng sắc ký cột nhanh (SiO₂, 40g, MeOH 0-3% trong DCM, rửa giải gradien). Chất rắn màu vàng thu được (2,37g) được tạo huyền phù trong DMSO (6,50mL) và hỗn hợp được làm nóng ở nhiệt độ 60°C cho đến khi hòa tan hoàn toàn. Làm nguội dung dịch đến nhiệt độ trong phòng và bổ sung nước (20mL) vào dung dịch đã khuấy, thu được kết tủa là chất rắn màu trắng. Chất rắn được gom bằng cách lọc, rửa bằng nước (3 x 10 mL) và bằng diethyl ete (3 x 5mL), sau đó được làm khô trong chân không ở nhiệt độ 50°C trong khoảng thời gian 3 ngày để tạo ra Hợp chất I ở dạng chất rắn màu trắng nhạt (2,25g, 77%).

Fig. 7 thể hiện mẫu XRPD của Hợp chất I là Dạng đa hình 3 được điều chế như mô tả ở trên (“Mẫu tình trạng kỹ thuật trước đó”), so với mẫu của Dạng 3 thông thường của các lô được sử dụng trong các nghiên cứu theo sáng chế (“Mẫu tham chiếu Dạng 3”) và được cộng hưởng từ hạt nhân proton kết tinh kém và do đó nó không được coi là thực thể có thể phát triển dễ dàng. Do đó, không có dữ liệu tính sinh khả dụng so sánh được thu thập cho dạng đa hình này (xem các Ví dụ).

Tính chất của Dạng đa hình dạng 1 và 2

Độ ổn định nhiệt động học của các Dạng đa hình dạng 1 và 2 ở các nhiệt độ thay đổi

Đã được xác định được rằng các trạng thái tinh thể, trong bản mô tả này được gọi là Dạng 1 và Dạng 2, cấu thành cặp đa hình hổ biến. Tính chất này phát sinh từ sự phụ thuộc nhiệt độ của độ ổn định nhiệt động học tương đối của chúng, theo đó một trong các dạng đa hình là dạng biểu hiện ổn định nhiệt động học nhất của vật liệu đạt đến nhiệt độ đặc trưng (được xác định theo kinh nghiệm); mà trật tự ổn định của chúng bị đảo ngược cao hơn nhiệt độ đó. Theo ví dụ sáng chế, các huyền phù chứa các lượng bằng nhau của hai dạng đa hình được làm chín, ở một trong sáu dung môi khác nhau, ở nhiệt độ 50°C, 70°C và 135°C (**Bảng 6**). Trong tất cả thử nghiệm được thực hiện ở cả nhiệt độ 50°C và 70°C, các hỗn hợp 1:1 được chuyển đổi thành các huyền phù chỉ chứa dạng đa hình Dạng 2. Ngược lại, tất cả các hỗn hợp được duy trì ở nhiệt độ 135°C đều được biến đổi thành Dạng 1. Dữ liệu này hỗ trợ định đề rằng mối quan hệ nhiệt động học giữa Dạng 1 và 2 là hổ biến và nhiệt độ tại đó đảo ngược ổn định (điểm chuyển tiếp hổ biến) nằm trong khoảng nhiệt độ từ 70 đến 135°C.

Khuynh hướng của Dạng 1 hoặc Dạng 2 được tạo ra, từ các môi trường điều hòa khác nhau, ở các nhiệt độ nhỏ hơn điểm chuyển tiếp hổ biến được khảo sát bằng cách sử dụng các thử nghiệm gieo hạt chéo (xem **Bảng 8 đến 13** trong bản mô tả này). Trong các hệ dung môi hữu cơ duy nhất, được mô tả trong **Bảng 8**, các hỗn hợp chứa các lượng bằng nhau của Dạng 1 và Dạng 2 được chuyển sang để tạo ra các huyền phù chứa duy nhất dạng đa hình Dạng 2. Ngoại lệ là hỗn hợp hai thành phần của IPA được pha tạp với 5% nước mà vẫn là hỗn hợp đa hình. (**Bảng 8**, mục 10-12). Có thể giải thích kết quả này dưới dạng phát sinh theo hai cách khác nhau. Trước hết là kết luận rằng trong IPA chứa nước, độ hòa tan của Hợp chất I, ở một trong hai dạng, là quá thấp để sự chuyển đổi lẫn nhau đa hình diễn ra và do đó các yếu tố động học đã xác định kết quả. Định đề thứ hai là sự có mặt của nước gây ảnh hưởng đến hỗn hợp đa hình, có lợi cho Dạng 1, mặc dù thực tế là nó vẫn là dạng đa hình giả ổn định trong khoảng nhiệt độ của thử nghiệm.

Giả thuyết này được nghiên cứu trong một loạt thử nghiệm tạo huyền phù đặc và gieo hạt chéo (từ **Bảng 9 đến Bảng 13**), trong đó đã xác định rằng sự có mặt của nước, ở các mức thấp, đóng vai trò làm đồng dung môi tạo thuận lợi cho ưu thế của dạng đa hình Dạng 1. Đặc điểm này được quan sát thấy khi dạng đa hình Dạng 2 được tạo huyền phù đặc trong axeton và nước đơn lẻ và trong các hỗn hợp của chúng (**Bảng 9**); trong THF và THF chứa nước (**Bảng 10**); trong các hỗn hợp dioxan/nước (**Bảng 11**) và trong MEK có các tỷ lệ nước tăng dần (**Bảng 12**).

Từ dữ liệu cho thấy rõ ràng là sự có mặt của nước, được bổ sung vào các dung môi này, gây ra sự chuyển tiếp đa hình. Tuy nhiên, ngoại trừ ở các mức thấp, nước cũng là chất kháng dung môi mạnh và làm giảm rõ rệt khả năng hòa tan của cả hai dạng đa hình. Hệ quả của biên dạng độ hòa tan này là trong nước đơn lẻ hoặc trong các hỗn hợp dung môi chứa nhiều nước, quá trình quay vòng từ Dạng 2 sang Dạng 1 hoặc không xảy ra hoặc bị ức chế bởi độ hòa tan ít ỏi (**Bảng 11, Mục 3, 6 và 8**).

Sự chuyển đổi lẫn nhau đa hình được quan sát thấy diễn ra dễ dàng hơn khi làm nóng (**Bảng 9, 10 và 12**) như mong đợi từ sự phụ thuộc của tốc độ quay vòng với nhiệt độ (theo phương trình Arrhenius) và có lẽ được tăng cường bởi sự tăng lên về độ hòa tan của chất rắn được tạo huyền phù. Điều tất yếu của các dạng đa hình khi được cân bằng trong MEK hoặc THF được làm nguội không chỉ tùy thuộc vào sự có mặt hay không có nước trong hệ mà còn bị ảnh hưởng bởi thành phần đa hình ban đầu của chúng (**Bảng 13**). Các hỗn hợp của hai dạng đa hình được chuyển đổi thành các huyền phù của Dạng 2 trong môi trường khô trên danh nghĩa, như mong đợi, trong khi các dạng đa hình đơn lẻ không thay đổi. Ngược lại, sự có mặt của nước lại tạo thuận lợi cho trạng thái Dạng 1 và còn rõ ràng rằng sự có mặt ban đầu của dạng đa hình này trong hỗn hợp ban đầu (đóng vai trò làm hạt giống) đã thúc đẩy sự chuyển đổi lẫn nhau.

Dữ liệu từ các thử nghiệm tạo huyền phù đặc và gieo hạt chéo được bộc lộ trong bản mô tả này cho thấy rằng tỷ lệ hiện hành của các Dạng đa hình dạng 1 và 2 khi tiếp xúc với các hệ dung môi bị ảnh hưởng bởi sự lựa chọn dung môi hữu cơ, hàm lượng nước của nó, nhiệt độ huyền phù đặc, thời gian tiếp xúc và độ tinh khiết (tức là, thành phần đa hình của nó). Tuy nhiên, các nghiên cứu được mô tả trong bản mô tả này cung cấp sự hiểu biết về các thông số này cho phép thao tác với chúng để tạo ra và giữ lại tính toàn vẹn vật lý của Dạng 1 hoặc 2, khi muốn. Hơn nữa, đã được xác định rằng trong khi trạng thái tinh thể Dạng 1 được ưu tiên trong môi trường hữu cơ chứa nước, các môi trường trong đó nước là thành phần chính gần như trở đối với sự chuyển đổi lẫn nhau đa hình.

Hành vi của các hệ này và sự hướng dẫn mà nó cung cấp có tầm quan trọng trong việc thiết kế các dạng bào chế thích hợp mà Hợp chất I có thể được phân phối cho bệnh nhân.

Dạng đa hình dạng 1 và 2 có thể được micron hóa dễ dàng. Điều này có tức là chúng thích hợp để sử dụng trong các dạng bào chế để phân phối đến đường hô hấp (ví dụ, phổi).

Các nghiên cứu được mô tả trong bản mô tả này chỉ ra một cách đáng ngạc nhiên rằng dạng đa hình Dạng 2, cụ thể là dạng biểu hiện tinh thể thích hợp của Hợp chất I để bào chế dưới dạng huyền phù chứa nước mặc dù có bằng chứng rằng dạng này giả ổn định trong các môi trường này ở nhiệt độ môi trường xung quanh. Dữ liệu thu được từ các nghiên cứu được bộc lộ trong bản mô tả này cho thấy rằng, trong môi trường có tỷ lệ nước cao, độ hòa tan rất thấp của Hợp chất I trong nước tạo ra hàng rào động học hiệu quả đối với việc mất tính toàn vẹn đa hình. Các tính chất hóa lý của Hợp chất I (trọng lượng phân tử cao và tính ưa béo) đảm bảo rằng hai dạng tinh thể chính không dễ dàng chuyển đổi lẫn nhau trong các điều kiện này và do đó giữ nguyên thành phần đa hình ban đầu của chúng. Như được trình bày ở phần khác trong bản mô tả này, dạng đa hình Dạng 2 bất ngờ và biểu hiện có lợi tính sinh khả dụng vượt trội so với dạng đa hình Dạng 1 khi được bào chế dưới dạng huyền phù chứa nước và được dùng bằng cách hít. Theo đó, dạng đa hình Dạng 2 là dạng biểu hiện được ưu tiên của Hợp chất I để sử dụng làm chất trị liệu dạng hít trong các huyền phù chứa nước được phun sương.

Các tính chất của độ ổn định đa hình cùng với tính sinh khả dụng toàn thân thấp hơn của Dạng 1, khi được dùng bằng cách hít, các chỉ định và cách biểu diễn thay thế ưu tiên cho dạng đa hình này, được thảo luận bên dưới.

Phương pháp tổng hợp thông thường

Solvat

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất Hợp chất I ở dạng solvat hóa. Các solvat thích hợp thu được khi Hợp chất I được làm chín trong một số dung môi thơm, như anisol, axetophenon, rượu benzyl, clorobenzen và cumen. Theo cách khác, solvat thích hợp thu được khi Hợp chất I được làm chín trong THF. Một cách thích hợp, solvat của Hợp chất I do đó thu được chứa khoảng 13-14% trọng lượng dung môi khi được phân tích bằng TGA. Một cách thích hợp, tỷ lệ Hợp chất I với dung môi xấp xỉ hệ số tỷ lệ (1:1).

Các solvat của Hợp chất I đã xác định được phát hiện để khử solvat bằng nhiệt tạo ra dạng đa hình tinh thể Dạng 1. Ví dụ, anisol solvat đã biểu lộ hai phần thu nhiệt rõ

nét trong phân tích DSC. Thứ nhất, xảy ra ở nhiệt độ 112-114°C, đồng thời với sự giảm 13,4% trọng lượng khi được xác định từ biên dạng TGA, tương ứng với chỉ dưới một đương lượng dung môi và thích hợp với dữ liệu ^1H NMR. Phần thu nhiệt thứ hai, có đỉnh ở nhiệt độ 202°C, tương ứng với điểm nóng chảy của Dạng 1.

Do đó, theo một khía cạnh, được đề xuất là quy trình điều chế Hợp chất I ở Dạng đa hình tinh thể 1 bao gồm bước làm nóng Hợp chất I ở dạng solvat hóa, ví dụ, solvat được tạo thành với anisol, axetophenon, rượu benzyl, clorobenzen hoặc cumen, để loại bỏ dung môi và do đó tạo ra Hợp chất I ở Dạng đa hình tinh thể 1. Một cách thích hợp, Hợp chất I ở dạng solvat hóa là chất trung gian trong quá trình tổng hợp Dạng đa hình dạng 1.

Dạng đa hình Dạng 1

Theo một phương án, được đề xuất là quy trình điều chế Hợp chất I ở Dạng đa hình dạng 1 bao gồm bước kết tinh Hợp chất I ở Dạng đa hình dạng 1 từ dung dịch Hợp chất I trong dung môi, trong đó dung môi được chọn từ nhóm gồm có toluen, 2-metoxietanol, IPA chứa nước (ví dụ, chứa H_2O 3-6% thể tích/thể tích, như H_2O 5% thể tích/thể tích) và axeton chứa nước (ví dụ, chứa H_2O 5-10% thể tích/thể tích).

Một cách thích hợp, dung môi là axeton chứa nước (chứa H_2O 5% thể tích/thể tích).

Dạng đa hình Dạng 2

Theo một phương án, được đề xuất là quy trình điều chế Hợp chất I ở Dạng đa hình dạng 2 bao gồm bước kết tinh Hợp chất I ở Dạng đa hình dạng 2 từ dung dịch Hợp chất I trong dung môi hữu cơ khô theo danh nghĩa, trong đó dung môi được chọn từ nhóm gồm có MIBK, THF, PrOAc, EtOH, DME, MeOH, MeCN, MeNO₂, n-heptan, Et₂O, IPA, MEK, axeton, TBME, i-BuOH, hoặc hỗn hợp gồm THF và TBME. Một cách thích hợp, quy trình bao gồm bước kết tinh Hợp chất I ở Dạng đa hình dạng 2 từ dung dịch Hợp chất I trong hỗn hợp dung môi hữu cơ khô theo danh nghĩa, trong đó hỗn hợp dung môi bao gồm hai hoặc nhiều dung môi được chọn từ nhóm gồm có MIBK, THF, PrOAc, EtOH, DME, MeOH, MeCN, MeNO₂, n-heptan, Et₂O, IPA, MEK, axeton, TBME và i-BuOH.

Đối với mục đích của sáng chế, "khô theo danh nghĩa" có tức là không có nước được bổ sung vào dung môi. Tùy thuộc vào tính ưa nước của dung môi được chọn, có thể có nước vết mặc dù các điều kiện thử nghiệm được thiết kế để loại trừ nó.

Một cách thích hợp, dung môi là MIBK. Theo cách khác, hệ dung môi là hỗn hợp gồm THF và toluen, trong đó một cách thích hợp, hỗn hợp bao gồm THF:toluen nằm trong khoảng từ 2:1 đến 1:2 (như THF:toluen là 10:5 thể tích/thể tích; 9:5 thể tích/thể tích; 8:4 thể tích/thể tích; 8:16 thể tích/thể tích tương ứng). Theo cách khác, hệ dung môi là hỗn hợp gồm THF và TBME, trong đó một cách thích hợp, hỗn hợp bao gồm THF:TBME nằm trong khoảng từ 4:1 đến 1:2 (như THF:TBME là 8:2 thể tích/thể tích; 8:2,5 thể tích/thể tích; 8:4 thể tích/thể tích; 8:6 thể tích/thể tích; 8:8 thể tích/thể tích; 8:10 thể tích/thể tích hoặc 8:12 thể tích/thể tích tương ứng).

Dạng bào chế dược phẩm

Theo một phương án, được đề xuất là dược phẩm chứa hợp chất theo sáng chế tùy ý kết hợp với một hoặc nhiều chất pha loãng hoặc chất mang dược dụng.

Một cách thích hợp, hợp chất theo sáng chế được dùng tại chỗ cho phổi hoặc mũi, cụ thể, tại chỗ cho phổi. Do đó, theo một phương án, được đề xuất là dược phẩm chứa hợp chất theo sáng chế tùy ý kết hợp với một hoặc nhiều chất pha loãng hoặc chất mang dùng được tại chỗ. Một cách thích hợp, hợp chất theo sáng chế được dùng bằng cách hít.

Một cách thích hợp, chất pha loãng hoặc chất mang dược dụng là nước.

Các chế phẩm có thể được dùng một cách thuận tiện ở dạng liều đơn vị và có thể được điều chế bằng phương pháp bất kỳ trong số các phương pháp đã biết trong lĩnh vực dược phẩm, ví dụ như được mô tả trong Khoa học dược phẩm Remington, xuất bản lần thứ 17, Công ty xuất bản Mack, Easton, PA, (1985). Các chế phẩm cũng có thể được dùng một cách thuận tiện ở dạng nhiều liều đơn vị.

Các chế phẩm thích hợp để dùng theo đường phổi hoặc trong mũi bao gồm bột, dung dịch lỏng, huyền phù lỏng, huyền phù chứa nước, thuốc nhỏ mũi chứa các dung dịch hoặc các huyền phù hoặc son khí có áp suất hoặc không có áp suất.

Có thể đạt được việc dùng tại chỗ cho mũi hoặc phổi bằng cách sử dụng dạng bào chế không có áp suất như huyền phù chứa nước. Các dạng bào chế này có thể được

dùng bằng cách phun sương, tức là bằng máy phun sương, ví dụ một máy có thể cầm tay và xách tay được hoặc không xách tay được và dành để sử dụng tại nhà hoặc bệnh viện. Ví dụ về một thiết bị này là ống hít RESPIMAT.

Huyền phù lỏng và các chế phẩm son khí (cho dù có áp suất hay không có áp suất) thường sẽ chứa hợp chất theo sáng chế ở dạng hạt, ví dụ với D_{50} nằm trong khoảng từ 0,5 đến 10 μm , thích hợp là khoảng từ 1 đến 5 μm , như từ 1 đến 2 μm . Một cách thích hợp, hợp chất theo sáng chế ở dạng hạt có D_{10} nằm trong khoảng từ 0,2 đến 1 μm , như từ 0,2 đến 0,5 μm . Một cách thích hợp, hợp chất theo sáng chế ở dạng hạt có D_{90} nằm trong khoảng từ 2 đến 6 μm , như từ 3 đến 4 μm . Ví dụ, dạng hạt của hợp chất có thể là dạng micron hóa. Quá trình micron hóa có thể được thực hiện bằng cách sử dụng máy nghiền phản lực như các máy do Hosokawa Alpine sản xuất. Phân bố kích thước hạt thu được có thể được đo bằng cách sử dụng nhiễu xạ laser (ví dụ, với thiết bị Malvern Mastersizer 2000S). Các phân bố kích thước hạt có thể được biểu diễn bằng cách sử dụng các trị số D_{10} , D_{50} và D_{90} . Trị số trung bình D_{50} của các phân bố kích thước hạt được định tức là kích thước hạt tính bằng micromet chia phân bố làm đôi. Phép đo có nguồn gốc từ nhiễu xạ laser được mô tả chính xác hơn dưới dạng phân bố thể tích và do đó trị số D_{50} thu được bằng cách sử dụng quy trình này được gọi là trị số Dv_{50} một cách có ý nghĩa hơn (số trung bình cho phân bố thể tích). Như được sử dụng trong bản mô tả này, các trị số Dv để chỉ các phân bố kích thước hạt được đo bằng cách sử dụng nhiễu xạ laser. Tương tự, các trị số D_{10} và D_{90} , được sử dụng trong bối cảnh nhiễu xạ laser, được coi là các trị số Dv_{10} và Dv_{90} trung bình và để chỉ kích thước hạt theo đó 10% phân bố nằm dưới trị số D_{10} , và 90% phân phối nằm dưới trị số D_{90} tương ứng.

Theo một khía cạnh cụ thể của sáng chế, được đề xuất là được phẩm chứa hợp chất theo sáng chế ở dạng huyền phù chứa nước, tức là ở dạng hạt được tạo huyền phù trong môi trường chứa nước.

Môi trường chứa nước thường bao gồm nước và một hoặc nhiều tá dược được chọn từ dung dịch đệm, chất điều chỉnh trương lực (như natri clorua), chất điều chỉnh pH, chất điều chỉnh độ nhớt, đồng dung môi (như propylen glycol) và chất hoạt động bề mặt (như Lipoid S100).

Một cách thích hợp, môi trường chứa nước bao gồm ít nhất khoảng 40% nước, như ít nhất khoảng 60% nước, ít nhất khoảng 80% nước, ít nhất khoảng 95% nước, hoặc ít nhất khoảng 99% nước, như ít nhất khoảng 99% nước.

Một cách thích hợp, khi Hợp chất I được dùng ở dạng huyền phù chứa nước, Hợp chất I được sử dụng dưới Dạng đa hình tinh thể 2. Một cách thích hợp, nồng độ của Hợp chất I trong dạng bào chế huyền phù chứa nước nằm trong khoảng từ 1 đến 10 mg/mL như từ 4 đến 6 mg/mL.

Do đó, theo một phương án, được đề xuất là dược phẩm chứa Hợp chất I, được sử dụng ở Dạng đa hình tinh thể 2, ở dạng hạt được tạo huyền phù trong môi trường chứa nước.

Việc dùng tại chỗ cho mũi hoặc phổi cũng có thể đạt được bằng cách sử dụng dạng bào chế son khí có áp suất. Các dạng bào chế son khí thường chứa thành phần có hoạt tính được tạo huyền phù hoặc hòa tan trong chất đẩy son khí thích hợp, như cloroflorocarbon (CFC) hoặc hydroflorocarbon (HFC). Các chất đẩy CFC thích hợp bao gồm trichloromonoflorometan (chất đẩy 11), diclorotetraflorometan (chất đẩy 114), và diclorodiflometan (chất đẩy 12). Các chất đẩy HFC thích hợp bao gồm tetrafloroetan (HFC-134a) và heptafloropropan (HFC-227). Chất đẩy thường bao gồm từ 40% đến 99,5%, ví dụ từ 40% đến 90%, theo trọng lượng của tổng chế phẩm hít. Dạng bào chế có thể chứa các tá dược bao gồm đồng dung môi (ví dụ, etanol) và chất hoạt động bề mặt (ví dụ, lexithin, sorbitan trioleat và các dạng tương tự). Các tá dược có thể có khác bao gồm polyetylen glycol, polyvinylpyrrolidon, glyxerin và các dạng tương tự. Các dạng bào chế son khí được đóng gói trong hộp và liều thích hợp được phân phối bằng van định lượng (ví dụ như do Bepak, Valois hoặc 3M hoặc theo cách khác do Aptar, Coster hoặc Vari cung cấp).

Việc dùng tại chỗ cho phổi cũng có thể đạt được bằng cách sử dụng dạng bào chế bột khô. Dạng bào chế bột khô sẽ chứa hợp chất theo sáng chế ở dạng hạt, thường có MMAD nằm trong khoảng từ 1 đến 10 μ m hoặc D₅₀ nằm trong khoảng từ 0,5 đến 10 μ m, ví dụ khoảng từ 1 đến 5 μ m. Bột của hợp chất theo sáng chế ở dạng hạt có thể được điều chế bằng quy trình micron hóa hoặc quy trình giảm kích thước tương tự. Quá trình micron hóa có thể được thực hiện và đo như được mô tả ở trên. Dạng bào chế thường sẽ chứa chất pha loãng chấp nhận được tại chỗ như lactoza, glucoza hoặc manitol (tốt hơn

là, lactoza), thường có kích thước hạt tương đối lớn, ví dụ MMAD là 50 μ m hoặc lớn hơn, ví dụ 100 μ m hoặc lớn hơn hoặc D_{50} nằm trong khoảng từ 40 đến 150 μ m. Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “lactoza” để chỉ thành phần chứa lactoza, bao gồm α -lactoza monohydrat, β -lactoza monohydrat, α -lactoza khan, β -lactoza khan và lactoza vô định hình. Các thành phần lactoza có thể được xử lý bằng cách micron hóa, sàng, nghiền, nén, kết tụ hoặc sấy phun. Các dạng lactoza có sẵn trên thị trường ở nhiều dạng khác nhau cũng được bao gồm, ví dụ các sản phẩm Lactohale[®] (lactoza dạng hít; DFE Pharma), InhaLac[®]70 (lactoza đã sàng cho ống hít bột khô; Meggle), Pharmatose[®] (DFE Pharma) và Respitose[®] (lactoza dạng hít đã sàng; DFE Pharma). Theo một phương án, thành phần lactoza được chọn từ nhóm gồm có α -lactoza monohydrat, α -lactoza khan và lactoza vô định hình. Tốt hơn là, lactoza là α -lactoza monohydrat.

Các dạng bào chế bột khô có thể còn chứa các tá dược khác như natri stearat, canxi stearat hoặc magie stearat.

Dạng bào chế bột khô thường được phân phối bằng cách sử dụng thiết bị hít bột khô (DPI - dry powder inhaler). Các hệ thống phân phối bột khô ví dụ bao gồm SPINHALER, DISKHALER, TURBOHALER, DISKUS, SKYEHALER, ACCUHALER and CLICKHALER. Các ví dụ khác về hệ thống phân phối bột khô bao gồm ECLIPSE, NEXT, ROTAHALER, HANDIHALER, AEROLISER, CYCLOHALER, BREEZHALER/NEOHALER, MONODOSE, FLOWCAPS, TWINCAPS, X-CAPS, TURBOSPIN, ELPENHALER, MIATHALER, TWISTHALER, NOVOLIZER, PRESSAIR, ELLIPTA, ống hít bột khô ORIEL, MICRODOSE, PULVINAL, EASYHALER, ULTRAHALER, TAIFUN, PULMOJET, OMNIHALER, GYROHALER, TAPER, CONIX, XCELOVAIR và PROHALER.

Trong các dạng bào chế không phải là huyền phù chứa nước, như kem và thuốc đạn phụ khoa, Hợp chất I thích hợp được sử dụng ở Dạng đa hình tinh thể 1.

Sử dụng trong y tế

Hợp chất I hữu ích trong điều trị các bệnh nấm và để phòng ngừa hoặc điều trị bệnh liên quan đến các bệnh nấm.

Theo một khía cạnh của sáng chế, được đề xuất là sử dụng Hợp chất I trong sản xuất thuốc chữa bệnh để điều trị các bệnh nấm và để phòng ngừa hoặc điều trị bệnh liên quan đến các bệnh nấm.

Theo khía cạnh khác của sáng chế, được đề xuất là phương pháp điều trị đối tượng bị bệnh nấm bao gồm bước cho đối tượng này dùng một lượng hữu hiệu của Hợp chất I.

Theo khía cạnh khác của sáng chế, được đề xuất là phương pháp phòng ngừa hoặc điều trị bệnh liên quan đến các bệnh nấm ở đối tượng bao gồm bước cho đối tượng này dùng một lượng hữu hiệu của Hợp chất I.

Theo khía cạnh khác của sáng chế, được đề xuất là phương pháp điều trị đối tượng bị bệnh nấm phổi hoặc mũi (cụ thể là phổi) bao gồm bước cho đối tượng này dùng một lượng hữu hiệu của Hợp chất I, bằng cách hít.

Theo khía cạnh khác của sáng chế, được đề xuất là phương pháp phòng ngừa hoặc điều trị bệnh liên quan đến bệnh nấm phổi hoặc mũi (cụ thể là phổi) ở đối tượng bao gồm bước cho đối tượng này dùng một lượng hữu hiệu của Hợp chất I, bằng cách hít.

Các bệnh nấm, cụ thể, có thể do *Aspergillus spp.* như *Aspergillus fumigatus* hoặc *Aspergillus pullulans* đặc biệt là *Aspergillus fumigatus* gây ra. Các bệnh nấm cũng có thể do *Candida spp.*, ví dụ *Candida albicans* hoặc *Candida glabrata*; bởi *Rhizopus spp.*, ví dụ, *Rhizopus oryzae*; bởi *Cryptococcus spp.*, ví dụ, *Cryptococcus neoformans*; bởi *Chaetomium spp.*, ví dụ, *Chaetomium globosum*; bởi *Penicillium spp.*, ví dụ, *Penicillium chrysogenum* và bởi *Trichophyton spp.*, ví dụ, *Trichophyton rubrum* gây ra.

Bệnh liên quan đến bệnh nấm, ví dụ, bệnh nấm aspergillus ở phổi.

Một cách thích hợp, được đề xuất là Hợp chất I ở dạng của dạng đa hình Dạng 2 để sử dụng trong điều trị các bệnh nấm và các bệnh liên quan đến bệnh nấm.

Theo cách khác, được đề xuất là Hợp chất I ở dạng của dạng đa hình Dạng 1 để sử dụng trong điều trị các bệnh nấm và các bệnh liên quan đến bệnh nấm.

Hợp chất I có thể được sử dụng trong thiết lập dự phòng bằng cách dùng Hợp chất I trước khi khởi phát bệnh nấm. Ví dụ, Hợp chất I có thể được dùng dự phòng cho các đối tượng có nguy cơ phát triển bệnh nấm như trẻ sinh non, trẻ bị khuyết tật bẩm sinh về phổi hoặc tim, đối tượng bị suy giảm miễn dịch (ví dụ, những người bị nhiễm HIV), bệnh nhân hen, đối tượng bị xơ nang, đối tượng cao tuổi và đối tượng bị tình trạng

sức khỏe mạn tính ảnh hưởng đến tim hoặc phổi (ví dụ, suy tim xung huyết hoặc bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính).

Một cách thích hợp, được đề xuất là Hợp chất I ở dạng của dạng đa hình Dạng 1 để sử dụng trong việc phòng ngừa các bệnh nấm và các bệnh liên quan đến bệnh nấm.

Một cách thích hợp, được đề xuất là Hợp chất I ở dạng của dạng đa hình Dạng 2 để sử dụng trong việc phòng ngừa các bệnh nấm và các bệnh liên quan đến bệnh nấm.

Các đối tượng bao gồm các đối tượng con người và động vật, đặc biệt là các đối tượng con người.

Hợp chất theo sáng chế đặc biệt hữu ích để điều trị các bệnh nấm như lây nhiễm *Aspergillus fumigatus* và để phòng ngừa hoặc điều trị bệnh liên quan đến bệnh nấm như lây nhiễm *Aspergillus fumigatus* ở những đối tượng có nguy cơ. Các đối tượng có nguy cơ được xác định ở trên.

Hợp chất theo sáng chế cũng hữu ích để điều trị các bệnh nấm kháng azol như lây nhiễm *Aspergillus fumigatus* kháng azol, cụ thể là khi kết hợp với posaconazol.

Hợp chất theo sáng chế có thể được dùng kết hợp với thành phần có hoạt tính thứ hai hoặc thành phần có hoạt tính khác. Ví dụ, các thành phần có hoạt tính thứ hai hoặc thành phần có hoạt tính khác có thể được chọn từ các chất chống nấm khác (như voriconazol hoặc posaconazol), amphotericin B, echinocandin (như caspofungin) và chất ức chế của 3-hydroxy-3-metyl-glutaryl-CoA reductaza (như lovastatin, pravastatin hoặc fluvastatin).

Các thành phần có hoạt tính thứ hai hoặc thành phần có hoạt tính khác bao gồm các thành phần có hoạt tính thích hợp để điều trị hoặc phòng ngừa bệnh nấm như lây nhiễm *Aspergillus fumigatus*, hoặc bệnh liên quan đến bệnh nấm như lây nhiễm *Aspergillus fumigatus*, hoặc các tình trạng bệnh đồng mắc với bệnh nấm như lây nhiễm *Aspergillus fumigatus*.

Hợp chất theo sáng chế có thể được đồng bào chế với thành phần có hoạt tính thứ hai hoặc thành phần có hoạt tính khác, hoặc thành phần có hoạt tính thứ hai hoặc thành phần có hoạt tính khác có thể được bào chế để dùng riêng biệt, theo cùng một đường hoặc theo đường khác.

Ví dụ, hợp chất theo sáng chế có thể được dùng cho các bệnh nhân đã được điều trị toàn thân bằng thuốc chống nấm, như voriconazol hoặc posaconazol.

Ví dụ, hợp chất theo sáng chế có thể được dùng đồng thời, ví dụ đồng bào chế, với một hoặc nhiều chất được chọn từ amphotericin B, echinocandin, như caspofungin, và chất ức chế của 3-hydroxy-3-metyl-glutaryl-CoA reductaza, như lovastatin, pravastatin hoặc fluvastatin.

Theo cách khác (hoặc ngoài ra), hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng đồng thời, ví dụ đồng bào chế, với một hoặc nhiều chất được chọn từ candididin, filipin, hamyxin, natamycin, nystatin, rimocidin, bifonazol, butoconazol, clotrimazol, econazol, fenticonazol, isoconazol, ketoconazol, luliconazol, miconazol, omoconazol, oxiconazol, sertaconazol, sulconazol, tioconazol, albaconazol, efinaconazol, epoxiconazol, fluconazol, isavuconazol, itraconazol, propiconazol, ravuconazole, terconazol, abafungin, amorolfina, butenafin, naftifin, terbinafin, anidulafungin, micafungin, axit benzoic, ciclopirox, flucytosin (5-florocytosin), griseofulvin, tolnaftate và axit undecylenic.

Các đối tác kết hợp ưu tiên bao gồm intraconazol, voriconazol, caspofungin và posaconazol.

Theo một khía cạnh của sáng chế, được đề xuất là kit gồm các bộ phận bao gồm: (a) dược phẩm chứa hợp chất theo sáng chế tùy ý kết hợp với một hoặc nhiều chất pha loãng hoặc chất mang; (b) dược phẩm chứa thành phần có hoạt tính thứ hai tùy ý kết hợp với một hoặc nhiều chất pha loãng hoặc chất mang; (c) tùy ý một hoặc nhiều dược phẩm khác, mỗi dược phẩm này chứa thành phần có hoạt tính thứ ba hoặc khác tùy ý kết hợp với một hoặc nhiều chất pha loãng hoặc chất mang và (d) hướng dẫn dùng dược phẩm cho đối tượng cần nó. Đối tượng cần nó có thể bị hoặc dễ bị bệnh nấm như lây nhiễm *Aspergillus fumigatus*.

Hợp chất theo sáng chế có thể được dùng trong một khoảng thời gian thích hợp, ví dụ, một lần mỗi tuần, cách ngày một lần, một lần mỗi ngày, hai lần mỗi ngày, ba lần mỗi ngày hoặc bốn lần mỗi ngày.

Lượng liều thích hợp cho một người có thể trọng trung bình (50-70 kg) được dự kiến là khoảng 50µg đến 10 mg/ngày, ví dụ, 500µg đến 5 mg/ngày mặc dù liều chính

xác cần được dùng có thể được xác định bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này.

Hợp chất I ở dạng tinh thể của Dạng đa hình dạng 1 được dự kiến có một hoặc nhiều thuộc tính phù hợp sau đây:

- biểu lộ một loạt độ ổn định nhiệt, như được chứng minh bằng nhiệt độ nóng chảy cao ($> 200^{\circ}\text{C}$);
- dễ bị micron hóa trong khi vẫn duy trì tính toàn vẹn đa hình của nó; và
- chống lại sự chuyển đổi thành Dạng 2, trong các dạng bào chế dành cho việc dùng nó như trong các dạng bào chế không phải là huyền phù chứa nước.

Hợp chất I ở dạng tinh thể của Dạng đa hình dạng 2 được dự kiến có một hoặc nhiều thuộc tính phù hợp sau đây:

- biểu lộ một loạt độ ổn định nhiệt, như được chứng minh bằng nhiệt độ nóng chảy cao ($> 180^{\circ}\text{C}$);
- có tính sinh khả dụng hiệu quả đối với thuốc dùng tại chỗ, cụ thể là thuốc nhằm để điều trị các bệnh về phổi và biểu lộ tính sinh khả dụng cao hơn tính sinh khả dụng của Dạng 1 khi được dùng bằng cách hít dưới dạng huyền phù chứa nước;
- dễ bị micron hóa trong khi vẫn duy trì tính toàn vẹn đa hình của nó; và
- chống lại sự chuyển đổi thành Dạng 1 trong huyền phù chứa nước nhằm để sử dụng cho bệnh nhân.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Thử nghiệm

Các từ viết tắt

Các chữ viết tắt bất kỳ không được xác định nhằm mục đích truyền đạt ý nghĩa được chấp nhận thông thường của chúng.

aq	chứa nước
AUC	khu vực dưới đường cong
BW	thể trọng trung bình nhóm
conc.	nồng độ

<i>c</i> -hexan	xyclohexan
D	thời gian tiếp xúc
DME	1,2-dimetoxyetan
DMSO	dimetyl sulfoxit
DSC	phân tích nhiệt lượng quét vi sai
Et ₂ O	dietyl ete
EtOH	etanol
Exp	thử nghiệm
Evap	bay hơi
¹ H-NMR	cộng hưởng từ hạt nhân proton (quang phổ)
HPLC	sắc ký lỏng áp suất cao
<i>i</i> -BuOH	<i>iso</i> -butanol (2-metyl-1-propanol)
IPA	rượu <i>iso</i> -propyl (2-propanol)
K ₂ EDTA	axit dikali etylendiamintetraaxetic
KF	Karl Fischer (chuẩn độ)
LC-MS/MS	sắc ký lỏng-khối phổ hai lần
LGC	sắc ký khí lỏng
2-ME	2-metoxyetanol
MeCN	axetonitril
MEK	metyl etyl keton
MeNO ₂	nitrometan
MIBK	metyl isobutyl keton
min	(các) phút
MMAD	đường kính khí động học trung bình khối
MTBE	metyl <i>tert</i> -butyl ete

N/A	không áp dụng
NMP	<i>N</i> -metylpiprolidon
Số thứ tự	số lượng
PLM	kính hiển vi ánh sáng phân cực
PrOAc	propyl axetat
RH	độ ẩm tương đối
RSD	độ lệch chuẩn tương đối
RT	nhiệt độ trong phòng
RV	pha ngược
TBME	butyl metyl ete bậc ba
temp	nhiệt độ
TGA	phân tích nhiệt trọng trường
THF	tetrahydrofuran
vol	(các) thể tích
SC	đơn tinh thể
TBME	<i>tert</i> -butyl metyl ete
sec	(các) giây
UPLC	sắc ký lỏng hiệu năng cực cao
VT	nhiệt độ thay đổi
XRPD	nhiều xạ bột tia x (tinh thể học)

Thiết bị và phương pháp luận

Các mô tả sau đây về thiết bị, phương pháp luận và quy trình, liên quan đến các thử nghiệm được thực hiện trong một số phòng thử nghiệm và địa điểm khác nhau, do đó yêu cầu sử dụng nhiều loại giống nhau, tương đương về hiệu quả của chúng. Những người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ đánh giá cao rằng nhiều thông số này có thể bị thay đổi, mà không cản trở kết quả mong muốn. Do đó, mặc dù các thiết

bị, phương pháp luận và quy trình được mô tả dưới đây được sử dụng trong một số trường hợp, chúng cũng tạo thành các điều kiện thử nghiệm ví dụ có thể được sử dụng để thực hành sáng chế. Do đó, các công cụ, phương pháp luận và quy trình theo sau không được hiểu là giới hạn sáng chế theo cách bất kỳ.

Nhiều xạ bột tia X

Các mẫu nhiều xạ bột tia X được thu thập trên máy đo nhiều xạ PANalytical sử dụng bức xạ Cu K α (45kV, 40mA), máy đo góc θ - θ , gương hội tụ, khe phân kỳ (1/2''), các khe lỗ ở cả chùm tia tới và chùm tia phân kỳ (4mm) và máy dò PIXcel. Phần mềm được sử dụng để thu thập dữ liệu là X'Pert Data Collector, phiên bản 2.2f và dữ liệu được trình bày bằng cách sử dụng X'Pert Data Viewer, phiên bản 1.2d. Các mẫu XRPD được thu nhận trong các điều kiện môi trường xung quanh thông qua giai đoạn mẫu lá truyền (polyimide - Kapton, màng dày 12,7 μ m) trong điều kiện môi trường xung quanh bằng cách sử dụng PANalytical X'Pert PRO. Khoảng thu thập dữ liệu là 2,994-35°2 θ với tốc độ quét liên tục là 0,202 giây⁻¹.

Theo cách khác, các mẫu nhiều xạ bột tia X được thu thập trên máy đo nhiều xạ Bruker AXS C2 GADDS sử dụng bức xạ Cu K α (40kV, 40mA), sử dụng giai đoạn XYZ tự động, kính hiển vi video laze để định vị mẫu tự động và máy dò khu vực 2 chiều HiStar. Quang học tia X bao gồm gương nhiều lớp Göbel duy nhất được ghép với ống chuẩn trực lỗ kim 0,3mm. Việc kiểm tra hiệu suất hàng tuần được thực hiện bằng cách sử dụng Corundum NIST 1976 tiêu chuẩn được chứng nhận (tám phẳng). Sự phân kỳ chùm sáng xấp xỉ 4mm. Chế độ quét liên tục θ - θ được sử dụng với khoảng cách từ mẫu đến máy dò là 20cm, do đó cung cấp khoảng 2 θ hiệu quả nằm trong khoảng từ 3,2°-29,7°. Thông thường, các mẫu được tiếp xúc với chùm tia X trong khoảng thời gian 120 giây. Phần mềm được sử dụng để thu thập dữ liệu là GADDS cho XP/2000 4.1.43 và dữ liệu được phân tích và trình bày bằng cách sử dụng *Diffraction Plus* EVA v15.0.0.0.

Các mẫu chạy trong điều kiện môi trường xung quanh được điều chế dưới dạng các mẫu tám phẳng sử dụng bột, như được nhận, không nghiền. Ấn nhẹ khoảng 1-2mg mẫu trên lam kính để đạt được bề mặt phẳng. Các mẫu chạy trong điều kiện không có môi trường xung quanh được gắn trên lát silic với hợp chất dẫn nhiệt. Sau đó, mẫu được làm nóng đến nhiệt độ thích hợp ở 20°C/phút và sau đó được giữ đẳng nhiệt trong khoảng thời gian 1 phút trước khi bắt đầu thu thập dữ liệu.

Các mẫu nhiễu xạ bột tia X được thu thập trên máy đo nhiễu xạ Bruker D8 sử dụng bức xạ Cu K α (40kV, 40mA), máy đo góc θ - 2θ , và sự phân kỳ của V4 và các khe nhận, máy đơn sắc Ge và máy dò Lynxeye. Thiết bị được kiểm tra hiệu suất của nó bằng cách sử dụng tiêu chuẩn Corundum được chứng nhận (NIST 1976). Phần mềm được sử dụng để thu thập dữ liệu là *Diffraction Plus XRD Commander v2.6.1* và dữ liệu được phân tích và trình bày bằng *Diffraction Plus EVA v15.0.0.0*.

Các mẫu được chạy trong điều kiện môi trường xung quanh dưới dạng các mẫu tấm phẳng sử dụng bột như được nhận. Mẫu được đóng gói nhẹ nhàng vào khoang được cắt thành lát silic không nền được đánh bóng (510). Mẫu được xoay trong mặt phẳng của chính nó trong quá trình phân tích. Dữ liệu được thu thập như sau:

Khoảng góc: từ 2° đến $42^\circ 2\theta$

Kích thước bước: $0,05^\circ 2\theta$

Thời gian thu thập: 0,5 giây/bước

Tinh thể học tia X nguồn sáng kim cương

Dữ liệu được thu thập trên máy đo nhiễu xạ 3 vòng tròn của Fluid Film Devices sử dụng máy dò Dectris Pilatus 2M. Tinh thể được gắn trong vòng lặp MiTeGen bằng cách sử dụng dầu perfluoropolyete. Bước sóng được sử dụng là 0,6889Å. Tất cả dữ liệu được thu thập ở 295K. Cấu trúc đã được giải quyết bằng các phương pháp trực tiếp tự động thông thường và được tinh chỉnh bằng phép tinh chỉnh bình phương nhỏ nhất trên tất cả các trị số F^2 đo được duy nhất.

Quang phổ ^1H NMR

Phổ NMR được thu thập trên thiết bị Bruker 400MHz được trang bị bộ lấy mẫu tự động và được điều khiển bởi bảng điều khiển DRX400. Các thử nghiệm tự động được thực hiện bằng cách sử dụng ICON-NMR v4.0.7 chạy với Topspin v1.3 sử dụng các thử nghiệm có tải Bruker tiêu chuẩn. Đối với phương pháp quang phổ không thường xuyên, dữ liệu được thu thập thông qua việc sử dụng Topspin đơn lẻ. Các mẫu được điều chế trong DMSO- d_6 , trừ khi có quy định khác. Phân tích ngoại tuyến được thực hiện bằng cách sử dụng Bộ xử lý ACD Spectrus 2012.

Phân tích nhiệt lượng quét vi sai

Dữ liệu DSC được thu thập trên thiết bị TA Q2000 được trang bị bộ lấy mẫu tự động 50 vị trí. Hiệu chuẩn nhiệt dung được thực hiện bằng cách sử dụng saphia và hiệu chuẩn năng lượng và nhiệt độ được thực hiện bằng cách sử dụng indi được chứng nhận. Thông thường, 0,5-3mg mẫu, chứa trong một chảo nhôm có lỗ kim, được làm nóng ở 10°C/phút từ 25°C đến 300°C (đối với tốc độ quét chậm) hoặc ở 40°C/phút từ 25°C đến 300°C (đối với tốc độ quét nhanh). Quá trình thanh lọc nitơ khô ở 50 mL/phút được duy trì trên mẫu. Phần mềm điều khiển thiết bị là Advantage cho Q Series v2.8.0.394 và Thermal Advantage v5.5.3 và dữ liệu được phân tích bằng cách sử dụng Universal Analysis v4.5A.

Phân tích nhiệt trọng trường

Dữ liệu TGA được thu thập trên TA Instrument Q500 TGA, được trang bị bộ lấy mẫu tự động 16 vị trí. Thiết bị được hiệu chuẩn nhiệt độ bằng cách sử dụng Alumel và Niken được chứng nhận. Thông thường, 5-10mg mẫu được nạp vào chảo DSC bằng nhôm được cân bì trước và được làm nóng ở 10°C/phút từ nhiệt độ môi trường xung quanh đến nhiệt độ 350°C. Quá trình thanh lọc nitơ ở 60 mL/phút được duy trì trên mẫu. Phần mềm điều khiển thiết bị là Advantage cho Q Series v2.5.0.256 và Thermal Advantage v5.5.3 và dữ liệu được phân tích bằng cách sử dụng Universal Analysis v4.5A.

Xác định độ tinh khiết hóa học bằng HPLC

Phân tích độ tinh khiết được thực hiện trên hệ thống loạt Agilent HP1100 được trang bị máy dò mảng diot sử dụng phần mềm ChemStation vB.04.03. Các mẫu được điều chế bằng cách hòa tan trong MeCN chứa nước (hỗn hợp 1:1) bằng cách làm nóng đến nhiệt độ 50°C để tạo ra dung dịch 0,5 mg/mL. Các mẫu được chạy bằng cách sử dụng các thông số cho dưới đây (**Bảng 2**).

Bảng 2: Các thông số HPLC/Phương pháp xác định độ tinh khiết hóa học.

Cột	Supelco Ascentis Express C18
Kích thước cột	100 x 4,6mm x 2,7µm
Nhiệt độ cột	25°C
Thể tích phun	5µL
Bước sóng dò	255nm
Tốc độ dòng	2 mL/phút

Pha A	0,1% TFA trong nước	
Pha B	0,085% TFA trong MeCN	
Thời gian biểu rửa giải gradien		
Thời gian (phút)	% Pha A	% Pha B
0	95	5
6	5	95
6,2	95	5
8	95	5

Điều chế dạng đa hình Dạng 1 và Dạng 2

Tham chiếu đến "nguyên liệu thô đầu vào" trong bản mô tả này được thực hiện nghĩa là Dạng 3 được tổng hợp và phân tách theo phương pháp bất kỳ trong số các phương pháp được thảo luận ở trên. Vết XRPD tham chiếu đại diện của vật liệu này được thể hiện trong Fig. 7 và nhất quán với vật liệu có độ kết tinh thấp.

Điều chế Dạng 1 micron hóa *thông qua sự kết tinh lại từ Axeton chứa nước (H₂O 5% thể tích/thể tích)*

Một mẫu nguyên liệu thô đầu vào (100g, Dạng 3) được tạo huyền phù trong hỗn hợp 5% nước trong axeton (1,00L), hạt Dạng 1 (100mg) được bổ sung và khuấy hỗn hợp ở RT qua đêm. Huyền phù được lọc và rửa bánh lọc bằng hỗn hợp 5% nước trong axeton (20mL) và các chất rắn được làm khô ở nhiệt độ 40°C để tạo ra Dạng đa hình dạng 1 dưới dạng bột trắng (85,5g, độ thu hồi 85,5%, độ tinh khiết 98,7% bằng HPLC) khi được xác định từ vết DSC của nó (Fig. 9). Quá trình micron hóa sản phẩm thu được như vậy đã tạo ra bột mà phân bố kích thước hạt, được biểu thị bằng các trị số D, như sau: $D_{10} = 0,75\mu\text{M}$; $D_{50} = 1,59\mu\text{M}$ và $D_{90} = 3,23\mu\text{M}$. Vết XRPD của chất rắn micron hóa (Fig. 10) xác nhận rằng tính toàn vẹn đa hình của nó được giữ trong quá trình này.

Điều chế dạng đa hình Dạng 2 bằng cách làm chín trong MIBK

Nguyên liệu thô đầu vào (10g) được tạo huyền phù trong MIBK (30 thể tích, 300mL) ở RT. Huyền phù được làm chín ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 25°C đến 50°C (chu kỳ làm nguội bằng nhiệt, 8 giờ mỗi chu kỳ) trong khoảng thời gian 24 giờ. Phần phân ước được thu gom sau 3 giờ ở nhiệt độ 50°C, được lọc, làm khô trong không khí và phân tích bằng XRPD. Sau 24 giờ, chất rắn còn lại được lọc ở RT và làm khô trong

không khí trong khoảng thời gian 2 giờ. Chất rắn thu được được gọi là dạng đa hình Dạng 2. Mẫu XRPD của mẫu đại diện được thể hiện trong **Fig. 2**.

Điều chế Dạng 2 micron hóa *thông qua* việc kết tinh lại từ THF/TBME

Nguyên liệu thô đầu vào (476,4g) được đưa vào THF (3,82L) ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 45 đến 55°C trong điều kiện khí nitơ. Dung dịch ẩm được làm trong qua bộ lọc lắp sẵn trong khi duy trì nhiệt độ bên trong nằm trong khoảng từ 45 đến 55°C. TBME (0,72L) được bổ sung từng giọt trong khoảng thời gian 1,5 giờ trong khi duy trì nhiệt độ bên trong nằm trong khoảng từ 45 đến 55°C. Các hạt của dạng đa hình Dạng 2 (500 mg) được bổ sung sau đó là bổ sung từng giọt TBME đã làm trong (5,01L) trong khoảng thời gian 10,5 giờ ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 45 đến 55°C. Sau khi hoàn thành bổ sung, hỗn hợp được làm lạnh xuống nhiệt độ 0°C trong khoảng thời gian 3,5 giờ. Tiếp tục khuấy ở nhiệt độ này trong khoảng thời gian 7,5 giờ nữa và huyền phù thu được được lọc *trong chân không* và các chất rắn được rửa bằng hỗn hợp THF đã làm trong (380mL) và TBME (570mL). Bánh lọc được hút khô và các chất rắn đã phân tách được làm khô *trong chân không* ở nhiệt độ 45°C trong điều kiện khí nitơ trong khoảng thời gian 21 giờ để tạo ra chất rắn màu trắng nhạt (401,4g, 84,2%) được xác nhận là dạng đa hình Dạng 2 bởi các phân tích XRPD và DSC (**Fig. 11** và **12** tương ứng).

Quá trình micron hóa sản phẩm thu được như vậy đã tạo ra bột mà phân bố kích thước hạt, được biểu thị bằng các trị số D, như sau: $D_{10} = 0,42\mu\text{M}$; $D_{50} = 1,24\mu\text{M}$ và $D_{90} = 3,57\mu\text{M}$. Những người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ đánh giá cao rằng các đặc điểm này thích hợp với sản phẩm nhằm để dùng bằng cách hít. Việc duy trì tính toàn vẹn đa hình trong quá trình micron hóa được xác nhận từ vết XRPD thu được sau khi nghiền (**Fig. 13**) cho thấy không có sự thay đổi đáng kể nào so với vết thu được trước khi thực hiện giảm kích thước hạt (**Fig. 11**). Do đó, dạng đa hình Dạng 2 dễ bị ảnh hưởng và ổn định đối với quá trình micron hóa cần để tạo ra vật liệu có các tính chất cần thiết cho mục đích dự định của nó.

Đặc điểm của dạng đa hình Dạng 1 và Dạng 2

Tinh thể học bột tia X

Các vết XRPD độ phân giải cao của Dạng đa hình dạng 1 (**Fig. 1**) và của Dạng 2 (**Fig. 2**) được điều chế bằng các phương pháp được bộc lộ trong bản mô tả này cho thấy các mẫu khác nhau rõ ràng là đặc trưng của hai trạng thái rắn thay thế. Các mẫu được

xác định bằng thực nghiệm được tìm thấy thích hợp với các mẫu được tính toán từ dữ liệu thu thập được trên nguồn synchrotron (**Fig. 5** và **Fig. 6** tương ứng), mà các cấu trúc tinh thể được suy ra từ nguồn này. So sánh hai mẫu (**Fig. 3** và **Fig. 4**) chứng tỏ độ tin cậy của phân tích XRPD để xác định bản dạng đa hình của một mẫu nhất định. Các trị số 2θ (tính bằng độ), khoảng cách d và cường độ tương đối của các đỉnh, có nguồn gốc từ các vết XRPD tương ứng của chúng, đặc trưng cho dạng đa hình Dạng 1 và Dạng 2, được lập bảng bên dưới (**Bảng 3**).

Bảng 3: Các đỉnh nhiễu xạ tia X dạng bột cho các Dạng đa hình dạng 1 và 2 của Hợp chất I.

Dạng 1			Dạng 2		
2θ	khoảng cách	Cường độ	2θ	khoảng cách	Cường độ
Trị số	d	tương đối	Trị số	d	tương đối
	(Å)	(%)		(Å)	(%)
5,06	17,46	12,95	5,37	16,44	4,84
5,65	15,65	6,09	10,75	8,23	16,17
6,99	12,64	12,06	11,54	7,67	8,23
7,35	12,02	5,80	11,85	7,47	3,04
7,91	11,18	6,55	12,77	6,93	3,63
8,15	10,85	3,43	14,41	6,15	2,05
10,17	8,70	21,46	15,88	5,58	8,28
11,13	7,95	2,80	16,19	5,48	3,95
11,60	7,63	7,57	16,61	5,33	94,97
12,84	6,89	2,75	17,02	5,21	22,15
13,11	6,75	3,15	17,45	5,08	10,17
14,51	6,10	3,51	17,91	4,95	3,92
15,28	5,80	2,80	18,72	4,74	22,45
15,88	5,58	2,71	19,08	4,65	31,18
16,28	5,45	10,51	19,52	4,55	24,12
16,66	5,32	25,57	20,05	4,43	7,78
17,49	5,07	13,92	20,29	4,38	13,83
17,85	4,97	37,53	21,28	4,18	82,09
18,17	4,88	14,59	21,66	4,10	73,31
18,82	4,71	10,26	22,00	4,04	21,08

19,38	4,58	13,53	22,38	3,97	38,28
19,70	4,51	100,00	22,65	3,93	100,00
20,43	4,35	8,01	23,16	3,84	7,67
20,83	4,26	8,72	23,43	3,80	9,21
21,26	4,18	6,69	23,89	3,73	8,79
21,53	4,13	6,81	24,43	3,64	11,18
21,00	4,04	13,99	24,94	3,57	12,45
22,52	3,95	14,36	25,20	3,53	8,40
22,87	3,89	5,00	25,89	3,44	8,37
23,32	3,81	21,62	26,56	3,36	36,79
24,20	3,68	15,27	26,88	3,32	25,43
24,67	3,61	12,85	27,35	3,26	7,51
25,00	3,56	2,49	27,83	3,21	6,36
25,46	3,50	1,14	28,23	3,16	3,86
25,90	3,44	1,80	30,37	2,94	1,53
26,26	3,39	2,58	31,04	2,88	1,93
26,69	3,34	12,65	31,78	2,82	2,51
27,44	3,25	8,81	32,92	2,72	3,62
28,10	3,18	4,18	33,30	2,69	3,08
28,37	3,15	3,22	34,23	2,62	1,65
29,50	3,03	1,69			
30,52	2,93	0,62			
31,07	2,88	0,51			
31,70	2,82	0,80			
32,77	2,73	0,29			
33,10	2,71	0,32			
33,83	2,65	0,95			
34,15	2,63	1,52			

Xác định cấu trúc của Dạng 1 và 2 bằng tinh thể học tia X nguồn sáng synchrotron

Việc xác định cấu trúc cho Dạng đa hình dạng 1 và 2 được thực hiện ở Nguồn sáng kim cương, Oxfordshire, Vương quốc Anh. Dữ liệu từ Dạng 1 được thu thập từ

một đơn tinh thể có kích thước 7 x 12 x 140 μ m trên dòng chùm I19. Dữ liệu tinh thể và các thông số tinh chỉnh cấu trúc cho dạng đa hình tinh thể Dạng 1 được đưa ra bên dưới (**Bảng 4**) và hình ảnh của cấu trúc đã giải được xem dọc theo trục a của nó được bao gồm trong bản mô tả này (**Fig. 14**).

Bảng 4: Dữ liệu tinh thể và các thông số tinh chỉnh cấu trúc cho Dạng đa hình dạng 1.

Công thức thực nghiệm	C ₃₈ H ₃₇ F ₃ N ₆ O ₃
Trọng lượng theo công thức	682,73
Nhiệt độ	295 (2) K
Bước sóng	0,6889 Å
Hệ tinh thể	Hệ thoi
Nhóm không gian	P 21 21 21
Kích thước ô đơn vị	a = 16,7962(3) Å α = 90° b = 23,5841(6) Å β = 90° c = 25,5756(6) Å γ = 90°
Thể tích	10.131,1(4) Å ³
Z	12
Mật độ (tính toán)	1,343 mg/m ³
Hệ số hấp thụ	0,059 mm ⁻¹
F (000)	4296
Kích thước tinh thể	7 x 12 x 140 μ m
Khoảng theta để thu thập dữ liệu	từ 1,406 đến 24,226°

Dữ liệu cho Dạng 2 được thu thập từ một đơn tinh thể kích thước 5 x 5 x 50 μ m trên dòng chùm I19. Dữ liệu tinh thể và các thông số tinh chỉnh cấu trúc cho dạng đa hình tinh thể Dạng 2 được đưa ra bên dưới (**Bảng 5**) và hình ảnh của cấu trúc đã giải được xem dọc theo trục b của nó, được bao gồm trong bản mô tả này (**Fig. 15**).

Bảng 5: Dữ liệu tinh thể và các thông số tinh chỉnh cấu trúc cho Dạng đa hình dạng 2.

Công thức thực nghiệm	C ₃₈ H ₃₇ F ₃ N ₆ O ₃
Trọng lượng theo công thức	682,73
Nhiệt độ	295(2) K
Bước sóng	0,6889 Å

Hệ tinh thể	đơn tà
Nhóm không gian	P 21
Kích thước ô đơn vị	$a = 16,8148(7) \text{ \AA}$ $\alpha = 90^\circ$ $b = 5,6467(2) \text{ \AA}$ $\beta = 101,540(3)^\circ$ $c = 35,5556(11) \text{ \AA}$ $\gamma = 90^\circ$
Thể tích	$3.307,7(2) \text{ \AA}^3$
Z	4
Mật độ (tính toán)	$1,371 \text{ mg/m}^3$
Hệ số hấp thụ	$0,060 \text{ mm}^{-1}$
F (000)	1432
Kích thước tinh thể	$5 \times 5 \times 50 \mu\text{m}$
Khoảng theta để thu thập dữ liệu	từ $1,133$ đến $24,246^\circ$

Mối quan hệ độ ổn định nhiệt động học

Độ ổn định nhiệt động học của các Dạng đa hình dạng 1 và 2 ở các nhiệt độ thay đổi

Một hỗn hợp gồm các lượng bằng nhau Dạng 1 và 2 (100mg) được nạp vào các ống kết tinh, sau đó là dung môi đã chọn. Huyền phù được làm nóng đến nhiệt độ được chỉ ra (**Bảng 6**) trong khoảng thời gian 72 giờ, mà các mẫu thời gian được lấy ở các khoảng thời gian 24 giờ. Các chất rắn được phân tách ở nhiệt độ làm chín bằng cách lọc và sau đó được làm khô *trong chân không* ở nhiệt độ 45°C trong khoảng thời gian 20 giờ. Trong hai trường hợp (**Bảng 6, Mục 1 và 2**), huyền phù được giữ ở nhiệt độ 135°C bao gồm Dạng I từ thời điểm 24 giờ cho đến khi kết thúc thử nghiệm. Trong các trường hợp còn lại (**Bảng 6, Mục 4-6**), các dung dịch đã tạo ra ở 72 giờ và các chất rắn được thu hồi bằng cách làm nguội nhẹ, tất cả đều được xác định là Dạng 1. Các dung dịch được làm chín ở nhiệt độ thấp hơn đều tạo ra Dạng 2 trong vòng 24 giờ.

Bảng 6: Phân tích XRPD của huyền phù Dạng 1 và 2 được làm chín ở các nhiệt độ thay đổi.

Mục	Dung môi	Dạng đa hình thu được ở nhiệt độ được chỉ ra ^a (°C)		
		50	70	135
1	xylên	2	2	1
2	mesitylên	2	2	1
3	diphenyl ete	2	2	1 ^b
4	decalin	2	2	1 ^b
5	heptanol	2	2	1 ^b
6	<i>p</i> -xymen	2	2	1 ^b

Chú thích: a. Khi được xác định bằng phân tích XRPD sau 72 giờ; b. Sự hòa tan đã xảy ra ở nhiệt độ này; chất rắn thu được khi làm nguội nhẹ.

Lập biên dạng bằng phép đo nhiệt lượng quét vi sai

Các nghiên cứu DSC được thực hiện theo các phương pháp được mô tả ở trên.

Mẫu nguyên liệu thô đầu vào có độ tinh khiết 98,4% được đưa vào đo nhiệt lượng quét vi sai cho thấy một số sự kiện nhiệt khi làm nóng mẫu. Phần thu nhiệt nhỏ ở nhiệt độ 166°C đứng trước phần thu nhiệt thứ hai lớn hơn ở nhiệt độ 180°C được theo sau gần như ngay lập tức bởi phần tỏa nhiệt ở nhiệt độ ~183°C và phần thu nhiệt cuối cùng ở nhiệt độ ~201°C (xem **Fig. 8**). Các phân tích này cho thấy một loạt các biến đổi được gây ra bởi nhiệt xảy ra mà vật liệu ban đầu kém kết tinh (Dạng 3) chuyển đổi thành Dạng đa hình dạng 2 (m.p. 180-185°C), sau đó nóng chảy và được biến đổi thành Dạng 1 (m.p. 201-202°C).

Để thu được trị số chính xác cho nhiệt nóng chảy (ΔH_f) của Dạng đa hình dạng 1 và Dạng đa hình dạng 2, quét nhanh DSC (sử dụng tốc độ làm nóng ở 40°C/phút) được sử dụng để loại bỏ sự kiện kết tinh lại của Dạng 1 khỏi sự nóng chảy của Dạng 2 xảy ra ở tốc độ quét chậm hơn (10 C/phút). Phân tích lặp lại ($n = 10$) trong số các mẫu dạng đa hình giống nhau cho thấy Dạng 1 và 2 có nhiệt nóng chảy trung bình là 72,28 J/g và 77,15 J/g tương ứng (**Bảng 7**).

Bảng 7: Dữ liệu nóng chảy từ các vết DSC quét nhanh cho Dạng 1 và 2.

Dạng đa hình	Nhiệt độ bắt đầu °C (% RSD)	Nhiệt độ đỉnh °C (% RSD)	Entanpy tính J/g (% RSD)	tuyến
Dạng 1	202,6 (0,08)	203,5 (0,10)	72,28 (0,89)	
Dạng 2	182,6 (0,05)	183,7 (0,12)	77,15 (0,61)	

Fig. 16 bao gồm vết DSC quét nhanh của mẫu Dạng đa hình dạng 1 này và cho thấy rằng nó có điểm nóng chảy là 202,6°C. Tương tự, **Fig. 17** hiển thị vết DSC quét nhanh của mẫu Dạng đa hình dạng 2 này và cho thấy rằng dạng này có điểm nóng chảy là 182,6°C.

Các quy tắc của Burger và Ramburger (1979) nêu rằng “nếu dạng nóng chảy cao hơn có nhiệt nóng chảy thấp hơn thì hai dạng này thường là hổ biến, nếu không thì chúng là đơn biến”. Phân tích DSC của nhiều lô đã xác nhận rằng nhiệt nóng chảy của Dạng 1 luôn nhỏ hơn nhiệt nóng chảy của Dạng 2 mà từ đó có thể kết luận rằng Dạng đa hình dạng 1 và 2 có liên quan đến nhau về mặt hổ biến. Theo đó, Dạng 2 là trạng thái ổn định hơn về mặt nhiệt động học (có năng lượng tự do Gibbs thấp nhất) từ độ không tuyệt đối đến điểm chuyển tiếp, là nhiệt độ mà ở đó Dạng 1 và 2 có độ ổn định nhiệt động học bằng nhau. Ở trên nhiệt độ chuyển tiếp này, dạng đa hình Dạng 1 được ưu tiên hơn về mặt nhiệt động học cho đến khi đạt đến điểm nóng chảy của nó.

Phân tích nhiệt trọng trường (TGA)

Biên dạng TGA được thực hiện theo các phương pháp được mô tả ở trên và được sử dụng để xác định lượng dung môi còn lại liên kết với các dạng đa hình của Hợp chất I. Ngoài ra, nó được sử dụng để đo lượng dung môi được giải phóng khi làm nóng từ các dạng solvat hóa của Hợp chất I. Các mức dung môi còn lại thông thường được tìm thấy trong các mẫu dạng đa hình của Hợp chất I như sau.

Dạng đa hình Dạng 1 được điều chế từ toluen cho thấy mức giảm trọng lượng là 0,3% trọng lượng/trọng lượng khi làm nóng từ 25 đến 120°C, nhất quán với mức tổn hao 0,1 mol nước. Sự phân hủy rõ ràng từ nhiệt độ 320°C (dữ liệu không được thể hiện).

Mẫu của Dạng 2 có nguồn gốc từ EtOH đã biểu lộ sự giảm trọng lượng 0,2% trọng lượng/trọng lượng từ 25 đến 150°C, do tổn hao 0,03 mol EtOH, sự phân hủy của

Hợp chất I bắt đầu ở nhiệt độ 320°C. Vật liệu đa hình Dạng 2 được phân tách từ MIBK cho thấy không có tổn hao trọng lượng cho đến khi mẫu bắt đầu phân huỷ ở nhiệt độ 320°C (**Fig. 18**). Solvat anisol đã trải qua sự tổn hao 13,4% trọng lượng/trọng lượng khi mẫu được làm nóng từ 25 đến 160°C (dữ liệu không được thể hiện).

Các thử nghiệm tạo huyền phù đặc và gieo hạt chéo

Hỗn hợp của Dạng 1 và Dạng 2 (50% trọng lượng/trọng lượng) được điều chế và một mẫu hỗn hợp (20mg) sau đó được tạo huyền phù trong hệ dung môi (50 thể tích, 1,0mL) và lắc ở các nhiệt độ khác nhau trong khoảng thời gian 96 giờ. Các chất rắn được lọc, làm khô trong không khí và phân tích bằng XRPD. Các kết quả thu được (**Bảng 8**) cho thấy rằng, trong tất cả trừ một trong các hệ được nghiên cứu (**Mục 10-12**), hỗn hợp của các dạng đa hình đã chuyển thành Dạng 2 khi được duy trì ở cả nhiệt độ RT và 50°C. Sự biến đổi trong propyl axetat được xem là đặc biệt dễ biến dạng khi Dạng 2 cũng được phân tách từ huyền phù đã được duy trì ở nhiệt độ 5°C (**Mục 1**). Đáng chú ý, sự chuyển đổi được thấy xảy ra không chỉ trong dung môi này và trong TBME (**Mục 4-6**), mà còn trong dung môi thơm toluen (**Mục 7-9**) trước đó đã phân phối Dạng 1 từ nguyên liệu đầu vào thô (Dạng 3). Vật liệu được thu hồi từ rượu isopropylic chứa nước được tìm thấy là hỗn hợp của cả hai dạng (**Mục 10-12**).

Bảng 8: Các thử nghiệm gieo hạt chéo Dạng 1 và 2 ở nhiệt độ 5°C, 25°C và 50°C.

Mục	Dung môi Hệ	Nhiệt độ °C	Dạng đa hình bởi XRPD
1		5	
2	PrOAc	25	2
3		50	
4		5	1 và 2
5	TBME	25	2
6		50	
7		5	1 và 2
8	Toluen	25	2
9		50	
10	IPA:	5	1 và 2
11	Nước	25	

12	(5%)	50
----	------	----

Chú thích: Tất cả các mẫu vẫn ở dạng huyền phù trong quá trình làm chín

Quan sát này gợi ý rằng độ hòa tan của Hợp chất I quá thấp trong hệ dung môi này để xảy ra quá trình biến đổi hoàn toàn hoặc các điều kiện này thực chất là ít thuận lợi cho sự biến đổi Dạng I thành Dạng 2. Để xác định ảnh hưởng của nước trong việc xác định đầu ra từ các thử nghiệm điều hòa này, hành vi của dạng đa hình Dạng 2 được kiểm tra trong môi trường hữu cơ khô trên danh nghĩa và cả trong các hỗn hợp đơn pha chứa nước với các dung môi có thể trộn lẫn nước.

Khi chất rắn Dạng 2 được tạo huyền phù trong heptan, TBME, toluen hoặc trong xyclohexan, làm dung môi duy nhất, ở cả nhiệt độ 25 hoặc 50°C trong khoảng thời gian 24 giờ, thì không có thay đổi dễ nhận thấy về cấu trúc tinh thể xảy ra. Kết quả tương tự cũng thu được khi môi trường điều hòa là axeton nguyên chất (**Bảng 9, Mục 1 và 6**) hoặc nước đơn lẻ (**Bảng 9, Mục 5 và 10**). Tuy nhiên, trong các hỗn hợp axeton-nước ở nhiệt độ 50°C trong khoảng thời gian 24 giờ, có bằng chứng rõ ràng rằng trong hai trường hợp, Dạng 2 đã được biến đổi thành Dạng 1 (**Bảng 9, Mục 7 và 9**). Kết quả này thật bất ngờ khi cho rằng dạng đa hình này của Hợp chất I giả ổn định trong khoảng nhiệt độ này so với Dạng 2.

Bảng 9: Điều tất yếu của Dạng 2 được tạo huyền phù đặc trong Axeton, Nước và các hỗn hợp Axeton/Nước.

Mục	Hàm lượng nước (% thể tích)	Nhiệt độ (°C)	Dạng đa hình bởi XRPD	
			1 và 4 giờ	24 giờ
1	0	25	2	2
2	10		2	2
3	20		2	2
4	40		2	2
5	100	50	2	2
6	0		2	2
7	10		2	1

8	20	2	2
9	40	2	1
10	100	2	2

Để nghiên cứu tính tổng quát của sự biến đổi không biết trước này, thử nghiệm tương tự được thực hiện trong THF và trong hỗn hợp THF/nước. Nhất quán với dữ liệu được bộc lộ ở trên, đã phát hiện ra rằng việc ủ Hợp chất I ở Dạng đa hình dạng 2 trong THF đơn lẻ, ở cả nhiệt độ 25 và 50°C trong khoảng thời gian ít nhất là 4 giờ, không ảnh hưởng đến thành phần đa hình của hỗn hợp. Tuy nhiên, việc bổ sung nước cho thấy có tác động rõ rệt đến việc chuyển đổi dạng đa hình Dạng 2 thành Dạng 1, được quan sát thấy diễn ra ở cả nhiệt độ thấp hơn và cao hơn (**Bảng 10**). Ở nhiệt độ 25°C, các hỗn hợp này chứa 10% và 20% nước bị trở lại Dạng 1 sau 4 và 24 giờ tương ứng (**Bảng 10, Mục 2 và 3**). Đáng chú ý, ở nhiệt độ 50°C tất cả các hỗn hợp THF chứa nước dẫn đến việc tạo ra trạng thái tinh thể Dạng 1 (**Bảng 10, Mục 6-8**).

Bảng 10: Điều tất yếu của Dạng 2 được tạo huyền phù đặc trong các hỗn hợp THF và THF/Nước.

Mục	Hàm lượng nước (% thể tích)	Nhiệt độ (°C)	Dạng đa hình bởi XRPD		
			1 giờ	4 giờ	24 giờ
1	0	25	2	2	nd
2	10		2	1	1
3	20		2	2	1
4	40		2	2	2
5	0	50	2	2	nd
6	10		1	1	1
7	20		1	1	1
8	40		1	1	1

Chú thích: nd chỉ ra chưa được xác định (dữ liệu không được thu thập)

Rõ ràng là sự có mặt của nước gây ra sự chuyển tiếp đa hình được báo cáo ở trên. Tuy nhiên, khác với ở các mức thấp, nước là chất kháng dung môi mạnh trong các hệ này và làm giảm rõ rệt khả năng hòa tan của dược chất trong hỗn hợp dung môi chứa nước khi tỷ lệ của nó tăng lên. Hệ quả của biên dạng độ hòa tan này là trong nước đơn lẻ hoặc trong các hỗn hợp dung môi chứa nhiều nước, quá trình quay vòng từ Dạng 2 sang Dạng 1 hoặc hoàn toàn không xảy ra hoặc bị ức chế bởi độ hòa tan ít ỏi, cụ thể ở nhiệt độ môi trường xung quanh. Trong trường hợp axeton và đặc biệt là trong THF, việc tăng nhiệt độ sẽ làm tăng độ hòa tan của đầu vào Dạng 2 và tăng sự biến đổi của nó sang trạng thái Dạng 1.

Một Mẫu chuyển đổi lẫn nhau tương tự bậc lộ có nguồn gốc từ thử nghiệm trong đó Dạng 2 được tạo huyền phù đặc trong các hỗn hợp khác nhau của dioxan và nước ở nhiệt độ môi trường xung quanh và nhiệt độ cao (**Bảng 11**). Khi có 10% nước, thì dạng đa hình Dạng 1 hiện rõ trong hỗn hợp huyền phù đặc trong vòng một giờ ở nhiệt độ 25°C. Tuy nhiên, khi hàm lượng nước tăng đến 40%, thì sự chuyển tiếp bị chậm lại đến mức chỉ mẫu được lấy ở 24 giờ được bậc lộ là có ở Dạng 1. Hệ bậc ba này có hành vi tương tự ở nhiệt độ 50°C. Tuy nhiên, ở nhiệt độ cao hơn là 65°C, tốc độ quay vòng tăng lên sao cho Dạng 1 được tạo ra sau 3 giờ. Nhất quán với dữ liệu thu được từ các thử nghiệm được mô tả ở trên, việc tăng tỷ lệ nước lên 80% trong hệ này là đủ để tạm dừng sự chuyển đổi lẫn nhau đa hình ở nhiệt độ 25°C, 50°C và thậm chí ở 65°C.

Bảng 11: Điều tất yếu của Dạng 2 được tạo huyền phù trong hỗn hợp 1,4-Dioxan/nước.

Mục	1,4 Dioxan % nước	Nhiệt độ °C	Dạng đa hình bởi XRPD			
			1 giờ	3 giờ	6 giờ	24 giờ
1	10	25	1 [†]	1 [†]	1 [†]	1 [†]
2	40		2	2	2	1
3	80		2	2	2	2
4	10	50	-	-	-	1
5	40		2	2	2	1
6	80		2	2	2	2
7	40	65	2	1	1	1
8	80		2	2	2	2

† Vết của Dạng 2 còn lại

Sự tác động lẫn nhau về bản chất của dung môi hữu cơ, sự có mặt của nước bất định và nhiệt độ huyền phù đặc (và theo thời gian liên hệ suy luận) được bộc lộ bởi sự chín của chất rắn Dạng 2 trong MEK, trong đó hàm lượng nước được tăng dần từ 1 đến 8% theo thể tích ở cả nhiệt độ 25 và 50°C (**Bảng 12**). Được quan sát thấy rằng tính toàn vẹn của Dạng 2 được duy trì trong khoảng thời gian ít nhất 24 giờ ở nhiệt độ thấp hơn cho đến khi hàm lượng nước vượt quá 6%, mặc dù sự tăng lên về độ hòa tan của Hợp chất I từ 19 đến 30mg/ml (dữ liệu không được thể hiện). Khi tỷ lệ nước đạt đến 8% hỗn hợp huyền phù đặc được trả lại dạng đa hình Dạng 1 mặc dù độ hòa tan của dược chất đã giảm xuống còn 23 mg/mL.

Việc tăng nhiệt độ lên 50°C đã thúc đẩy quá trình biến đổi sao cho sự chuyển đổi lẫn nhau đa hình được thấy ở thời điểm 24 giờ đối với các hỗn hợp trong đó hàm lượng nước vượt quá 2%. Từ các dữ liệu này, rõ ràng là các điều kiện môi trường mà Hợp chất I tiếp xúc không chỉ xác định dạng đa hình nào trong số hai dạng đa hình, 1 hoặc 2, được tạo ra mà còn xác định cả tốc độ diễn ra sự chuyển đổi lẫn nhau.

Bảng 12: Điều tất yếu của Dạng 2 được tạo huyền phù đặc trong hỗn hợp MEK/nước.

Hàm lượng nước (% thể tích)	Nhiệt độ °C	Dạng đa hình bởi XRPD
1	25	2
2		2
4		2
6		2
8		1
1	50	2
2		2
4		1
6		1
8		1

Ảnh hưởng của thành phần đa hình ban đầu đến điều tất yếu của các mẫu được nghiên cứu bằng cách cân bằng của các dạng đa hình đơn lẻ hoặc hỗn hợp bằng nhau của cả hai dạng MEK khan và THF cũng như trong các dung môi giống nhau được pha tạp 5% nước.

Bảng 13: Sự cân bằng Dạng 1 và 2, đơn lẻ và dưới dạng hỗn hợp, trong MEK và THF đơn lẻ và với sự có mặt của nước.

Mục	Dung môi	Dạng bởi XRPD	
		Đầu vào	Gửi dữ liệu Cân bằng ^a
1	MEK	1	1
2		2	2
3		1 + 2	2
4	THF	1	1 ^b
5		2	2
6		1 + 2	2
7	MEK/ 5% Nước	1	1
8		2	2
9		1 + 2	1
10	THF/ 5% Nước	1	1
11		2	1
12		1 + 2	1

a. Kết quả ở cả hai nhiệt độ cân bằng giống nhau trừ khi có chỉ định khác. b. Một số bằng chứng của Dạng 2 có mặt ở nhiệt độ 10°C.

Các kết quả thu được (**Bảng 13**) cho thấy rằng trong môi trường khan, hai dạng đa hình vẫn giữ được tính toàn vẹn về cấu trúc của chúng, nếu có mặt đơn lẻ (**Bảng 13, Mục 1, 2, 4 và 5**). Một số bằng chứng nhỏ về sự quay vòng được thấy trong THF ở nhiệt độ 10°C (**Bảng 13, Mục 4**) có thể là do sự có mặt của các vết ẩm trong dung môi hút ẩm cao. Tuy nhiên, các hỗn hợp của hai dạng đa hình được biến đổi thành Dạng 2 trong MEK hoặc THF ở cả hai nhiệt độ (**Bảng 13, Mục 3 và 6**), cho thấy dạng này được ưu tiên hơn trong các điều kiện khan hoặc gần khan.

Kết quả được quan sát thấy khi 5% nước được trộn với hai dung môi cho thấy rằng ưu thế của hai dạng này bị đảo ngược trong các điều kiện này, có tính đến các yếu tố động học. Trong MEK chứa nước (5% nước), các dạng đa hình đơn lẻ một lần nữa không thay đổi trong suốt thời gian thử nghiệm (**Bảng 13, Mục 7 và 8**). Ngược lại, hỗn hợp đa hình hai thành phần được chuyển đổi thành Dạng 1 trong môi trường này (**Bảng 13, Mục 9**). Trong THF chứa nước (5% nước), sự ưu thế của Dạng 1 ở dạng đa hình được ưu tiên nhất là đặc biệt rõ ràng. Trong môi trường này, huyền phù của Dạng 1 được giữ không thay đổi (**Bảng 13, Mục 10**), nhất quán với kết quả được quan sát thấy đối với MEK chứa nước trong các điều kiện giống nhau.

Tuy nhiên, trong THF được pha tạp với 5% nước, cả huyền phù chứa hỗn hợp hai thành phần, cũng như huyền phù chỉ gồm dạng đa hình Dạng 2, đều được chuyển đổi thành các huyền phù chỉ chứa Dạng 1 (**Bảng 13, Mục 11 và 12**). Các dữ liệu này đặc biệt đáng ngạc nhiên vì sự có mặt của nước, như thành phần nhỏ trong các hỗn hợp này, giành quyền phân cấp độ ổn định, được thấy là tạo thuận lợi cho Dạng 2, khi nó vắng mặt. Kết quả này thật bất ngờ rằng các tác giả sáng chế bộc lộ, ở các phần khác trong bản mô tả này, rõ ràng là dạng đa hình Dạng 2 là dạng hỗn biến ổn định về mặt nhiệt động học hơn của Hợp chất I trong khoảng nhiệt độ (5-10°C) của thử nghiệm này và dưới nhiệt độ ít nhất là 70°C.

So sánh hồ sơ dược động học của Dạng 1 và 2 bằng cách cho chuột cống dùng theo đường hít.

Một nghiên cứu được thực hiện để so sánh tiến trình thời gian của các nồng độ được chất không thay đổi trong huyết tương sau một liều hít duy nhất của Dạng 1 hoặc Dạng 2 ở chuột cống.

Chuột cống RccHanTM:WIST được coi là loài và chủng thích hợp vì nó đã được các cơ quan điều hành chấp nhận. Đường dùng hít được chọn để mô phỏng các điều kiện dùng lâm sàng. Tổng số 14 con vật (sáu con vật mỗi nhóm với hai con vật dự phòng), từ 10 đến 12 tuần tuổi và nặng từ 306 đến 341g khi bắt đầu điều trị bằng dược chất, được sử dụng trong nghiên cứu. Việc điều trị bao gồm tiếp xúc hít trong khoảng thời gian 2 giờ duy nhất với dạng bào chế được phun sương của Dạng 1 micron hóa (độ tinh khiết 98,94%) đối với các con vật Nhóm 1 hoặc Dạng 2 micron hóa (độ tinh khiết 98,10%) đối với các con vật Nhóm 2. Các thông số dược động học của hai dạng đa hình được xác

định để hỗ trợ các nghiên cứu dược lý học và độc chất học ở động vật và các nghiên cứu lâm sàng ở người.

Huyền phù được sản xuất bằng cách điều chế trước hết dung dịch đậm đặc của các chất hoạt động bề mặt (dung dịch làm ướt) và dung dịch muối. Các chất này sau đó được sử dụng để tạo ra vật truyền. Dung dịch muối được điều chế như sau. Natri clorua (50g) được cân vào bình định mức 5.000mL, bổ sung nước đến vạch mức, khuấy bằng máy khuấy từ trong khoảng thời gian 10 phút và sau đó được đưa qua thiết bị lọc màng 0,22 μ m. Dung dịch làm ướt được điều chế như sau. Lipoid S100 (10g) được cân vào chai Duran 2.000mL, 1.000g propylen glycol được bổ sung và hỗn hợp được khuấy trên máy trộn Silverson được trang bị màn chắn cắt cao 1” trong khoảng thời gian 1 phút ở tốc độ 8.000 vòng/phút và sau đó được đưa qua thiết bị lọc màng 0,22 μ m. Vật truyền được điều chế như sau. Dung dịch làm ướt (500mL) được chuyển vào bình định mức 5.000mL, bổ sung dung dịch muối đến vạch mức, khuấy bằng máy khuấy từ trong khoảng thời gian 10 phút và sau đó được đưa qua thiết bị lọc màng 0,22 μ m.

Một lô 1.000mL gồm 4 mg/mL huyền phù của Hợp chất I được điều chế như sau. Hợp chất I (4,00g) được cân vào cốc nhỏ, 100mL dung dịch làm ướt được bổ sung và hỗn hợp này được khuấy bằng máy trộn Silverson được trang bị màn chắn cắt cao 1” trong khoảng thời gian 5 phút ở tốc độ 8.000 vòng/phút. Sau đó, hỗn hợp được chuyển vào chai Duran 5.000mL bằng dung dịch muối và được khuấy bằng cách sử dụng máy trộn Silverson được trang bị màn chắn cắt cao 1” trong khoảng thời gian 5 phút ở tốc độ 8.000 vòng/phút, sau đó nó được bảo quản ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 2 đến 8°C. Huyền phù có nồng độ cao hơn hoặc thấp hơn (khoảng từ 0,2 đến 20 mg/mL) được điều chế bằng cách điều chỉnh trọng lượng đầu vào của API sao cho thích hợp cho các huyền phù mg/mL cao hơn hoặc bằng cách pha loãng thêm với vật truyền cho các huyền phù mg/mL thấp hơn. Tất cả các dạng bào chế được khuấy từ tính trong khoảng thời gian ít nhất 30 phút, và được đánh giá bằng mắt thường trước khi dùng.

Các con chuột cống đã thích nghi với quy trình dùng liều dạng hít trong ba ngày liên tiếp trước khi dùng liều. Các con vật được điều trị bằng chất thử nghiệm bằng dùng theo đường hít son khí trong 120 phút chỉ tiếp xúc với mồm, ở nồng độ son khí đích là 25,2 μ g/L. Ước tính liều hít từ thời gian phơi nhiễm là 2 giờ và thể trọng giả định là 300 g được tính bằng cách sử dụng công thức:

$$\text{Liều (mg/kg/ngày)} = \frac{C \times \text{RMV} \times D}{\text{BW} \times 10}$$

trong đó: C là nồng độ sol khí ($\mu\text{g/L}$); RMV là thể tích phút hô hấp (L/phút); D là thời gian phơi nhiễm (120 phút) và BW là thể trọng trung bình nhóm (kg). Dữ liệu tóm tắt về các nồng độ son khí đạt được trung bình, liều lượng hít ước tính và phân bố kích thước hạt (PSD - particle size distribution) được trình bày dưới đây. (**Bảng 14**).

Bảng 14: Các nồng độ son khí trong buồng và liều lượng hít ước tính của Hợp chất I đạt được trong quá trình dùng theo đường hít son khí.

Nhóm	Son khí trung bình	Được hít ước tính	MMAD	σ_g
Số thứ tự	Nồng độ ($\mu\text{g/L}$)	Liều lượng (mg/kg)	(μm)	
1	28,8	2,48	2,3	1,60
2	32,6	2,82	2,2	1,70

Chú thích: MMAD. Đường kính khí động học trung bình khối; σ_g . Độ lệch chuẩn hình học

Như được thể hiện trong **Bảng 14**, các nồng độ son khí đích là $25,2 \mu\text{g/L}$ được chọn để phân phối các liều danh nghĩa là $2,2 \text{ mg/kg}$. Nồng độ son khí thực tế là $28,8 \mu\text{g/L}$ của Dạng 1 đạt được khi cung cấp với liều lượng hít ước tính là khoảng $2,48 \text{ mg/kg}$ cho các con vật Nhóm 1. Nồng độ sol khí đạt được đối với Dạng 2 là $32,6 \mu\text{g/L}$, do đó phân phối liều lượng hít ước tính khoảng $2,82 \text{ mg/kg}$ cho các con vật Nhóm 2.

Các nồng độ son khí đạt được gần với trị số đích và liều hít ước tính lần lượt là 113% và 128% của trị số đích cho Nhóm 1 và 2. Phân bố kích thước hạt xác nhận rằng các son khí được tạo ra có thể hô hấp được đối với chuột cống.

Mẫu máu tĩnh mạch ($0,3\text{mL}$) được lấy từ tĩnh mạch đuôi của các con vật và các mẫu được thu gom sau khi dùng liều (2 giờ kể từ khi bắt đầu dùng liều) và sau đó ở các thời điểm 3, 4, 6, 8, 12, 24, 28, 32, 36 và 48 giờ sau khi điều trị. Các mẫu được xử lý bằng chất chống đông K_2EDTA , quay ở 2.000 g trong khoảng thời gian 10 phút ở 4°C và sau đó được bảo quản đông lạnh ($-20^\circ\text{C} \pm 10$) trong khi chờ phân tích. Các mẫu huyết tương sau đó được phân tích cho Hợp chất I bằng LGC sử dụng phương pháp LC-MS/MS được phê chuẩn.

Quy trình chiết xuất và phân tích

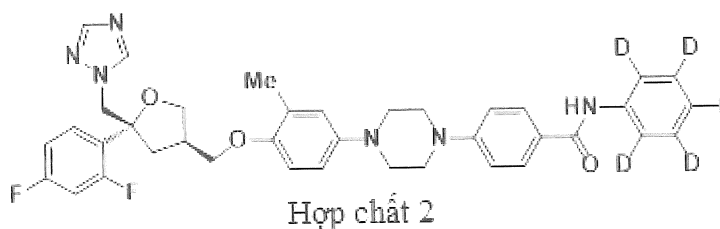
Các mẫu huyết tương chuột cống được trộn xoáy và loại bỏ phần phân ước 25 μ L và xử lý với 12,5 μ L dung dịch làm việc chuẩn nội (bao gồm 20 ng/mL Hợp chất 2) và 25 μ L dung dịch amoni fomat chứa nước 10mM. Hỗn hợp được quay xoáy trong khoảng thời gian 5 phút ở tốc độ 1.400 vòng/phút, sau đó 300 μ L MTBE được bổ sung và mẫu sau đó được trộn đảo trong khoảng thời gian 10 phút. Sau khi ly tâm ở 3.500g trong khoảng thời gian 5 phút, một phần phân ước 150 μ L lớp hữu cơ được loại bỏ và làm bay hơi đến khô trong điều kiện khí nitơ ở nhiệt độ 50°C trong khoảng 15 phút. Phần còn lại được hoàn nguyên trong 100 μ L hỗn hợp gồm axetonitril và nước (50:50) chứa axit formic 0,1% và trộn xoáy trong khoảng thời gian 5 phút ở tốc độ 1.400 vòng/phút. Các mẫu được điều chế theo cách này sau đó được phân tích bằng cách sử dụng LC-MS/MS được phê chuẩn để xác định nồng độ trong huyết tương ban đầu của Hợp chất I.

Hệ LC bao gồm Bộ quản lý dung môi hai thành phần Acquity được trang bị cột phân tích Acquity UPLC C8 (50 x 2,1mm), cột này được duy trì ở nhiệt độ danh nghĩa là 40°C. Các mẫu được phân tích trong thời gian chạy 2,3 phút bằng phương pháp rửa giải gradien (**Bảng 15**) sử dụng axit fomic 0,1% trong axetonitril (pha động A) và axit fomic 0,1% trong nước (pha động B) với tốc độ dòng 0,8 mL/phút.

Bảng 15: Biên dạng gradien rửa giải HPLC.

Thời gian (phút)	%A	%B
0	30	70
0,2	30	70
1,4	95	5
1,9	95	5
2,0	30	70
2,3	30	70

Hợp chất I được sử dụng làm chất chuẩn tham chiếu và dẫn xuất tetra deuterio Hợp chất 2 được sử dụng làm chất chuẩn nội. Hợp chất 2 là: 4-(4-(4-(((3*R*,5*R*)-5-((1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-5-(2,4-diflophenyl)tetrahydrofuran-3-yl)metoxy)-3-metylphenyl)piperazin-1-yl)-*N*-(4-flophenyl-2,3,5,6-*d*₄)benzamid.



Tất cả điều khiển thiết bị, thu thập dữ liệu, tích hợp và lưu trữ diện tích đỉnh được thực hiện bằng cách sử dụng MassLynx (phiên bản 4.1). Đáp ứng khối phổ kế (tỷ lệ diện tích đỉnh của chất phân tích so với chất chuẩn nội) của mỗi chất chuẩn hiệu chuẩn được tính toán bằng Watson LIMS (phiên bản 7.2) và vẽ đồ thị dựa trên nồng độ danh nghĩa (đã điều chế). Phân tích hồi quy tuyến tính bình phương nhỏ nhất theo trọng số ($1/x^2$) được sử dụng để tính toán phương trình của đường cong hiệu chuẩn. Các nồng độ của Hợp chất I trong các mẫu được tính toán ngược lại từ các đường cong hiệu chuẩn thành 3 con số có nghĩa. Microsoft Excel 2010 được sử dụng cho các phép tính khác. Tất cả tỷ lệ phần trăm được biểu diễn đến một vị trí thập phân.

Phân tích dược động học được thực hiện trên Phoenix WinNonlin. Các nồng độ trong huyết tương trung bình lớn nhất ($C_{lớn nhất}$) và thời gian xuất hiện của chúng ($T_{lớn nhất}$) được xác định. Các khu vực dưới các đường cong thời gian-nồng độ trong huyết tương trung bình tính đến thời điểm của mẫu định lượng cuối cùng (AUC_t) được ước tính bằng quy tắc hình thang tuyến tính. Không có tác dụng bất lợi của dược chất sau khi dùng nó và các mẫu máu hàng loạt được lấy trong vòng 48 giờ sau khi bắt đầu phơi nhiễm hít.

Các thông số dược động học trung bình của hai dạng đa hình sau khi dùng đường theo đường hít của chúng cho các con chuột cống được tóm tắt trong **Bảng 16** và được mô tả chi tiết hơn bên dưới.

Bảng 16: Các thông số dược động học trung bình cho Dạng 1 và 2 của Hợp chất I sau khi dùng theo đường hít của chúng cho các con chuột cống.

Các thông số dược động học	Trung bình	
	Dạng 1	Dạng 2
Liều danh nghĩa (mg/kg)	2,2	2,2
Liều hít ước tính (mg/kg)	2,48	2,82
C lớn nhất (ng/mL)	4,95	8,59

T_{lớn nhất} (giờ)	6	6
AUC_t (ng.h/mL)^a	122	230
AUC_t được chuẩn hóa liều (ng.h/mL)^b	122	202
Tính sinh khả dụng tương đối	Tham (100%)	chiều 166%

Chú thích: a. Cả hai trị số AUC_t là 0-48 giờ; b. AUC_t của Dạng 2 được chuẩn hóa thành liều đạt được cho Dạng 1 (2,48 mg/kg)

Nồng độ trong huyết tương

Nồng độ dược chất trong huyết tương sau khi dùng theo đường hít của Dạng 1 và 2 vẫn có thể định lượng được cho đến 48 giờ sau khi bắt đầu phơi nhiễm đối với cả hai nhóm và được trình bày dưới đây (**Bảng 17** và **18** tương ứng). Các biên dạng thời gian-nồng độ trong huyết tương trung bình thu được từ đó được biểu diễn bằng đồ thị (**Fig. 19** và **20** cho Dạng 1 và 2 tương ứng).

Bảng 17: Các nồng độ trong huyết tương của dược chất sau khi dùng theo đường hít của Dạng 1 đối với các con chuột cống đực ở mức liều danh nghĩa là 2,2 mg/kg.

Thời gian giờ^a	Nồng độ dược chất (ng/mL) ở con vật theo số						Trung bình	sd
	1	2	3	4	5	6		
IAD	1,16	0,826	1,35	-	-	-	1,11	0,27
3	-	-	-	5,31	4,35	2,41	4,02	1,48
4	4,73	6,32	3,78	-	-	-	4,94	1,28
6	-	-	-	5,38	3,97	5,49	4,95	0,85
8	3,28	NS	2,88	-	-	-	3,08	-
12	-	-	-	4,05	NS	3,64	3,85	-
24	2,47	3,00	3,85	2,75	2,02	3,03	2,85	0,62
28	1,85	2,22	3,92	1,87	NS	2,04	2,38	0,87
32	1,36	1,85	2,79	1,66	2,20	1,32	1,86	0,56
36	1,21	1,36	1,74	1,70	1,01	1,80	1,47	0,32
48	1,10	1,45	1,28	1,26	NS	1,19	1,26	0,13

Chú thích: a. từ khi bắt đầu tiếp xúc hít; **IAD:** ngay sau khi dùng liều; **NS:** không có mẫu.

Bảng 18: Các nồng độ trong huyết tương của dược chất sau khi dùng theo đường hít của Dạng 2 đối với các con chuột cống đực ở mức liều danh nghĩa là 2,2 mg/kg.

Thời gian giờ ^a	Nồng độ dược chất (ng/mL) ở con vật theo số						Trung bình	sd
	1	2	3	4	5	6		
IAD	2,24	2,59	3,15	-	-	-	2,66	0,46
3	-	-	-	8,95	5,40	6,01	6,79	1,90
4	7,53	9,31	8,88	-	-	-	8,57	0,93
6	-	-	-	11,8	5,38	NS	8,59	-
8	6,85	5,90	6,79	-	-	-	6,51	0,53
12	-	-	-	10,7	4,57	5,84	7,04	3,24
24	11,5	3,24	4,22	5,26	3,58	3,24	5,17	3,19
28	8,15	3,17	3,32	4,15	2,94	2,93	4,11	2,03
32	7,72	3,50	3,33	4,05	2,75	2,51	3,98	1,91
36	6,28	2,43	2,54	3,59	2,49	2,43	3,29	1,53
48	3,78	1,79	1,89	2,52	1,83	1,91	2,29	0,78

Chú thích: a. từ khi bắt đầu tiếp xúc hít; **IAD:** ngay sau khi dùng liều; **NS:** không có mẫu.

Các nồng độ trong huyết tương trung bình của Dạng 1 (Nhóm 1) đã tăng lên lớn nhất ở thời điểm 6 giờ sau khi bắt đầu phơi nhiễm và sau đó giảm dần cho đến thời điểm lấy mẫu cuối cùng là 48 giờ sau khi bắt đầu phơi nhiễm. $C_{\text{lớn nhất}}$ trung bình là 4,95 ng/mL và trị số AUC_t trung bình là 122 ng.h/mL đối với Dạng 1. Các nồng độ trong huyết tương trung bình của Dạng 2 đã tăng lên lớn nhất ở 6 giờ sau khi bắt đầu phơi nhiễm và sau đó giảm dần cho đến 48 giờ sau khi bắt đầu phơi nhiễm. $C_{\text{lớn nhất}}$ trung bình là 8,59 ng/mL và trị số AUC_t trung bình là 230 ng.h/mL đối với Dạng 2. Cả hai dạng đa hình đều có các trị số $T_{\text{lớn nhất}}$ tương tự nhưng các nồng độ trong huyết tương trung bình riêng lẻ có độ lớn lớn hơn ở tất cả 11 lần lấy mẫu ở nhóm chuột cống đực dùng liều với Dạng 2, so với dữ liệu của Dạng 1. Do đó, các trị số $C_{\text{lớn nhất}}$ và AUC_t được chuẩn hóa liều cao hơn lần lượt 1,5 và 1,7 lần đối với Dạng 2.

Tính sinh khả dụng tương đối

Tính sinh khả dụng tương đối (RF - relative bioavailability) của hai dạng đa hình sau khi dùng theo đường hít được tính toán bằng cách sử dụng công thức:

$$RF = AUC_t(\text{Dạng 2})/AUC_t(\text{Dạng 1}) \times \text{liều đạt được (Dạng 1)}/\text{liều đạt được (Dạng 2)}$$

Các trị số AUC_t được chuẩn hóa liều cho Dạng đa hình dạng 2 (**Bảng 16**) cho thấy tính sinh khả dụng tương đối là 166% so với Dạng 1 sau khi dùng theo đường hít cho các chuột cống.

Nghiên cứu này cho thấy rằng cả hai dạng tinh thể đều có sẵn một cách hệ thống qua đường hít và sự phơi nhiễm vẫn tồn tại trong khoảng thời gian lên đến 48 giờ sau khi bắt đầu dùng. Tuy nhiên, điều đáng chú ý là Dạng 2 (**Fig. 20**) cho nồng độ được chất toàn thân cao hơn thích hợp trong hồ sơ PK 48 giờ so với Dạng 1 (**Fig. 19**). Các trị số $C_{\text{lớn nhất}}$ và AUC_t được chuẩn hóa liều cho dạng đa hình Dạng 2 cao hơn lần lượt khoảng 1,5 và 1,7 lần so với Dạng 1.

Do tính khả dụng sinh học vượt trội của nó, dạng đa hình Dạng 2 có thể được mong đợi có công dụng trong việc điều trị các bệnh nấm, trong đó cần phải hòa tan nhanh và khuếch đại nồng độ được chất tại vị trí tác dụng trị liệu. Trong huyền phù chứa nước, dường như Dạng 2 bị ngăn chuyển tiếp sang Dạng 1, mặc dù Dạng 2 được cho là có thể giả ổn định trong môi trường này, như đã thảo luận ở trên. Do đó, dạng đa hình Dạng 2 đặc biệt thích hợp để dùng bằng cách hít dưới dạng huyền phù chứa nước.

Dạng 1 cũng có thể được mong đợi là có công dụng trong việc điều trị các bệnh nấm như được lấy ví dụ bởi tính khả dụng sinh học toàn thân của dạng đa hình này. Ngoài ra, dạng đa hình Dạng 1 có thể được mong đợi để có công dụng trong các dạng bào chế khác với huyền phù chứa nước như kem và thuốc đạn phụ khoa. Việc dùng này có thể có công dụng trong việc phòng ngừa các bệnh nấm ở các cá nhân có nguy cơ bị lây nhiễm các bệnh nấm, như các bệnh nấm ảnh hưởng đến da và các vị trí khác có thể được dùng liều tại chỗ.

Tóm tắt dữ liệu

Đơn này bộc lộ hai dạng đa hình mới của Hợp chất I: Dạng 1 và Dạng 2. Cả hai dạng đều có độ ổn định nhiệt tốt như được chứng minh bằng các điểm nóng chảy cao của chúng (xem **Bảng 7**). Ngoài ra, cả hai dạng đa hình đều có tính sinh khả dụng chấp

nhận được khi được dùng dưới dạng huyền phù chứa nước bằng cách hít, mặc dù Dạng 2 cao hơn đáng kể so với Dạng 1 (xem dữ liệu tính sinh khả dụng tương đối được trình bày trong bản mô tả này ở trên). Cả hai dạng tinh thể đều dễ micron hóa để tạo ra các phân bố kích thước hạt tương hợp với việc dùng theo đường hít (xem **Fig. 10 và 13**). Dạng đa hình Dạng 1 được mong đợi sẽ đặc biệt thích hợp để sử dụng trong các dạng bào chế không phải là huyền phù chứa nước. Dạng đa hình Dạng 2 đặc biệt thích hợp để sử dụng trong các dạng bào chế huyền phù chứa nước như các dạng bào chế dành cho việc dùng bằng cách hít.

Xuyên suốt bản mô tả này và các điểm yêu cầu bảo hộ đi kèm, trừ khi có quy định theo cách khác, thuật ngữ “chứa”, và các thuật ngữ biến thể của nó như “gồm” và “chứa”, sẽ được hiểu là chỉ việc bao gồm số nguyên, bước, nhóm số nguyên hoặc nhóm bước nhưng không loại trừ số nguyên, bước, nhóm số nguyên hoặc nhóm bước khác.

Tất cả bằng độc quyền sáng chế, công bố đơn yêu cầu cấp bằng độc quyền sáng chế và các tài liệu viện dẫn được nêu trong phần mô tả của sáng chế được đưa vào trong bản mô tả này bằng cách viện dẫn toàn bộ nội dung của nó.

Sáng chế đề cập đến tất cả các dạng kết hợp của các nhóm được ưu tiên và được ưu tiên hơn và các nhóm thích hợp và thích hợp hơn và các phương án của các nhóm được nêu ở trên.

Các tài liệu viện dẫn

Burger A. và Ramburger R. On the polymorphism of pharmaceuticals and other molecular crystals. I Theory of Thermodynamic Rules. *Mikrochim. Acta*, 1979, **72**, 259-271.

Sunose M., Colley T.C., Ito K., Rapeport G. and Strong P. WO 2016/087878, 9 tháng Sáu 2016; PCT/GB2015/053731 A1, 4 tháng Mười Hai 2015.

Colley T.C., Ito K., Rapeport G., Strong P., Murray P.J., Onions S.T. and Sunose M., WO 2016/087880 A1, 9 tháng Sáu 2016; PCT/GB2015/053733, 4 tháng Mười Hai 2015.

Colley T., Sehra G., Daly L., Kimura G., Nakaoki T., Nishimoto Y., Kizawa Y., Strong P., Rapeport G. và Ito K. Antifungal synergy of a topical triazol, PC945, with a systemic triazol against respiratory *Aspergillus fumigatus* infection. *Nature Scientific Reports*, 2019, **9**:9482.

Colley T., Alanio A., Kelly, S.L., Sehra G., Kizawa Y., Warrilow A.G.S., Parker J.E., Kelly D.E.,

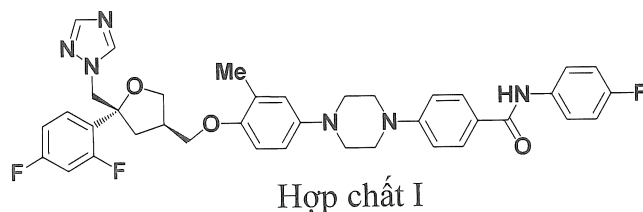
Kimura G., Anderson-Dring L., Nakaoki T., Sunose M., Onions S., Crepin D., Lagasse F., Critall M., Shannon J., Cooke M., Bretagne S., King-Underwood J., Murray J., Ito K., Strong P., Rapeport G. *In Vitro* and *In Vivo* Antifungal Profile of a Novel and Long-Acting Inhaled Azol on *Aspergillus fumigatus* Infection. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2017, **61**:e02280-16.

Shivaprakash M., Rudramurthy S.M., Colley T., Abdolrasouli A., Ashman J., Dhaliwal M., Kaur H., Armstrong-James D., Strong P., Rapeport G., Schelenz S., Ito K. và Chakrabarti A. *In vitro* antifungal activity of a novel topical triazol PC945 against emerging yeast *Candida auris*. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2019, **74**(10); 2943-2949.

Kimura G., Nakaoki T., Colley T., Rapeport G., Strong P., Ito K., Kizawa Y. *In vivo* Biomarker Analysis of the Effects of Intranasally Dosed PC945, a Novel Antifungal Triazol, on *Aspergillus fumigatus* Infection in immunocompromised mice. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2017, **61**:e00124-17.

YÊU CẦU BẢO HỘ

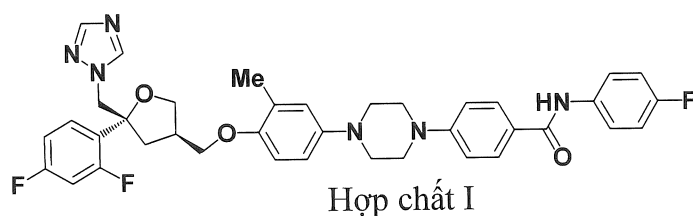
1. Hợp chất có Công thức (I):



là 4-(4-(4-(((3R,5R)-5-((1H-1,2,4-triazol-1-yl)methyl)-5-(2,4-diflophenyl)tetrahydrofuran-3-yl)methoxy)-3-methylphenyl)piperazin-1-yl)-N-(4-flophenyl)benzamid ở dạng tinh thể trong đó dạng tinh thể này là dạng đa hình Dạng 1, và trong đó dạng tinh thể này có:

- (a) mẫu nhiễu xạ bột tia X chứa bảy đỉnh tại ($\pm 0,2$) 7,0, 7,4, 7,9, 18,2, 19,7, 20,8 và 24,7 độ 2-theta khi được đo bằng cách sử dụng bức xạ Cu K α ; và/hoặc
- (b) các kích thước ô đơn vị là 16,80Å, 23,58Å và 25,58Å, và các góc α , β và γ là 90°.

2. Hợp chất có Công thức (I):



là 4-(4-(4-(((3R,5R)-5-((1H-1,2,4-triazol-1-yl)methyl)-5-(2,4-diflophenyl)tetrahydrofuran-3-yl)methoxy)-3-methylphenyl)piperazin-1-yl)-N-(4-flophenyl)benzamid ở dạng tinh thể trong đó dạng tinh thể này là dạng đa hình Dạng 2, và trong đó dạng tinh thể này có

- (a) mẫu nhiễu xạ bột tia X chứa sáu đỉnh tại ($\pm 0,2$) 10,8, 17,0, 20,3, 22,7, 23,9 và 24,3 độ 2-theta khi được đo bằng cách sử dụng bức xạ Cu K α ; và/hoặc
- (b) các kích thước ô đơn vị là 16,81Å, 5,65Å và 35,56Å, và góc α là 90°, góc β là 101,54° và góc γ là 90°.

3. Dược phẩm chứa dạng tinh thể của hợp chất theo điểm 1 hoặc 2, tùy ý kết hợp với một hoặc nhiều chất pha loãng hoặc chất mang dược dụng.

4. Dược phẩm theo điểm 3, trong đó dạng tinh thể của hợp chất theo điểm 1 hoặc 2 ở dạng hạt được huyền phù trong môi trường chứa nước.
5. Dược phẩm theo điểm 4, trong đó môi trường chứa nước bao gồm ít nhất là 95% nước.
6. Dược phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 3 đến 5, trong đó môi trường chứa nước chứa chất điều chỉnh trương lực tích điện mà tốt hơn là natri clorua.
7. Dược phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 3 đến 6, trong đó môi trường chứa nước bao gồm:
 - (i) đồng dung môi, tốt hơn là propylen glycol; và/hoặc
 - (ii) chất hoạt động bề mặt, tốt hơn là Lipoid S100.
8. Dược phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 3 đến 7, trong đó dược phẩm này bao gồm thành phần có hoạt tính thứ hai hoặc thành phần có hoạt tính khác.
9. Quy trình điều chế hợp chất có công thức I ở dạng tinh thể, trong đó dạng tinh thể này là dạng đa hình Dạng 2 theo điểm 2, bao gồm các bước kết tinh hợp chất có công thức I ở dạng đa hình Dạng 2 từ dung dịch chứa hợp chất có công thức I trong dung môi hữu cơ khô theo danh nghĩa trong đó dung môi này:
 - (i) được chọn từ nhóm bao gồm MIBK, THF, PrOAc, EtOH, DME, MeOH, MeCN, MeNO₂, n-heptan, Et₂O, IPA, MEK, axeton, TBME và i-BuOH;
 - (ii) hỗn hợp chứa hai hoặc nhiều dung môi được chọn từ nhóm bao gồm MIBK, THF, PrOAc, EtOH, DME, MeOH, MeCN, MeNO₂, n-heptan, Et₂O, IPA, MEK, axeton, TBME và i-BuOH;
 - (iii) hỗn hợp của THF và toluen; hoặc
 - (iv) hỗn hợp của THF và TBME.
10. Quy trình theo điểm 9, trong đó dung môi là hỗn hợp của THF và TBME.

1/10

Fig. 1

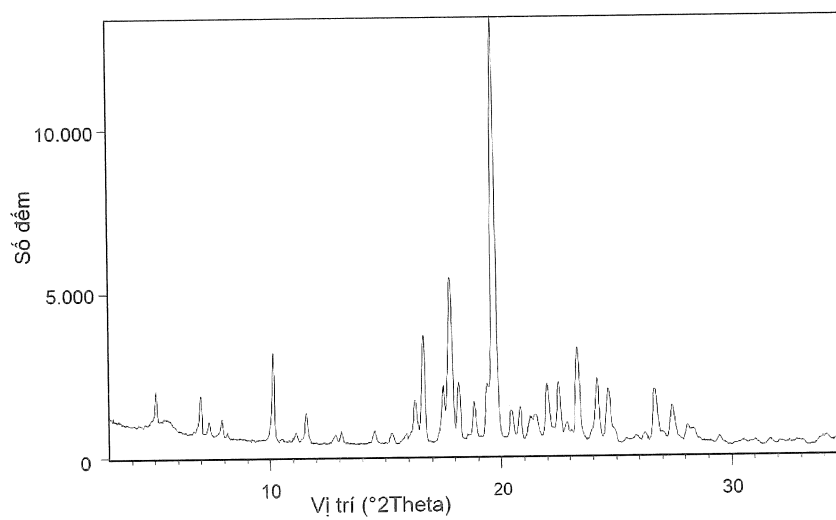
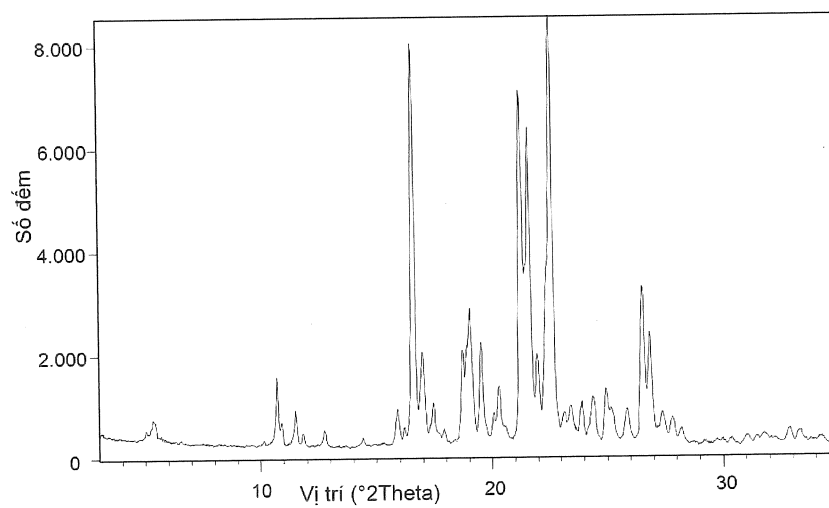


Fig. 2



2/10

Fig. 3

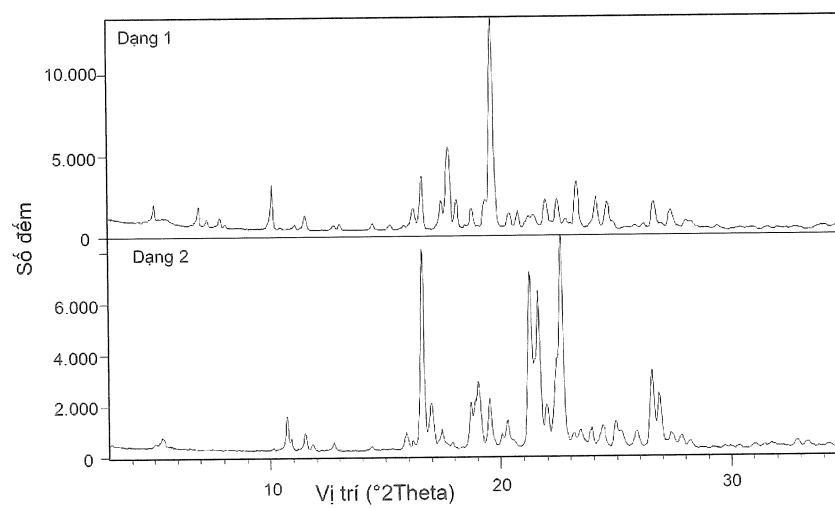
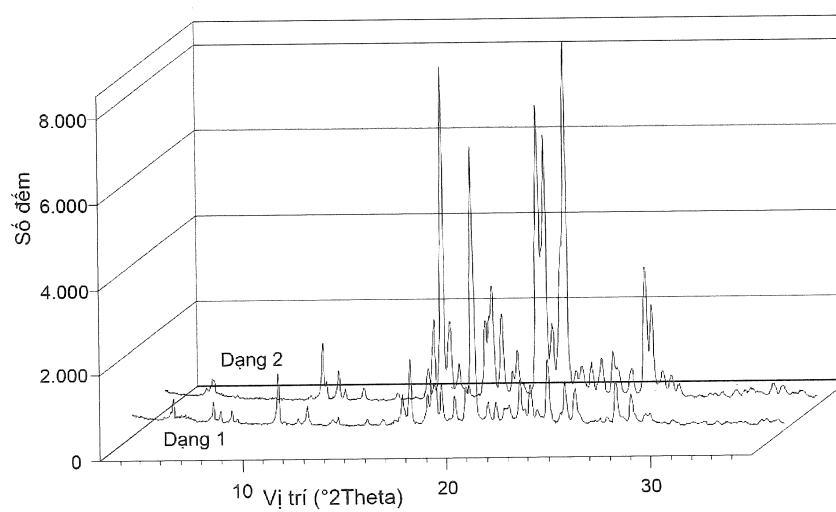


Fig. 4



3/10

Fig. 5

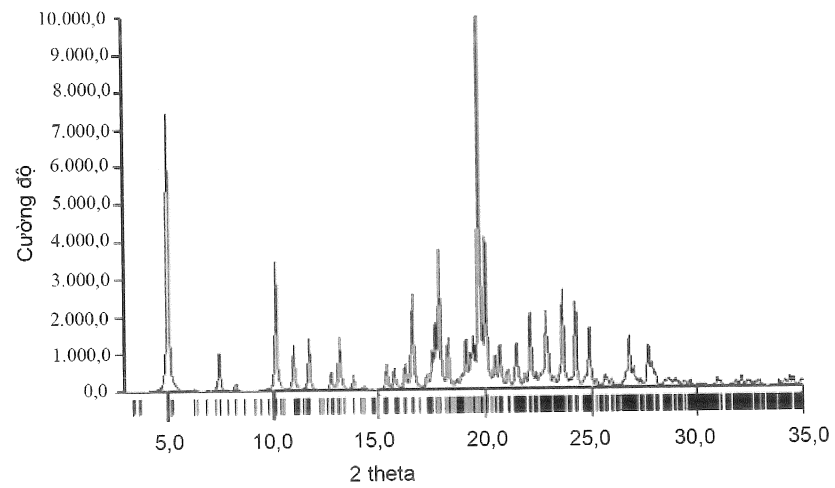
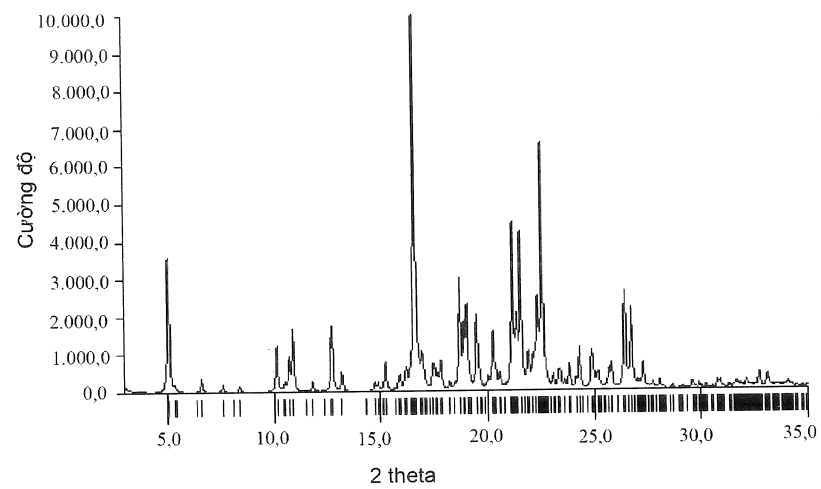


Fig. 6



4/10

Fig. 7

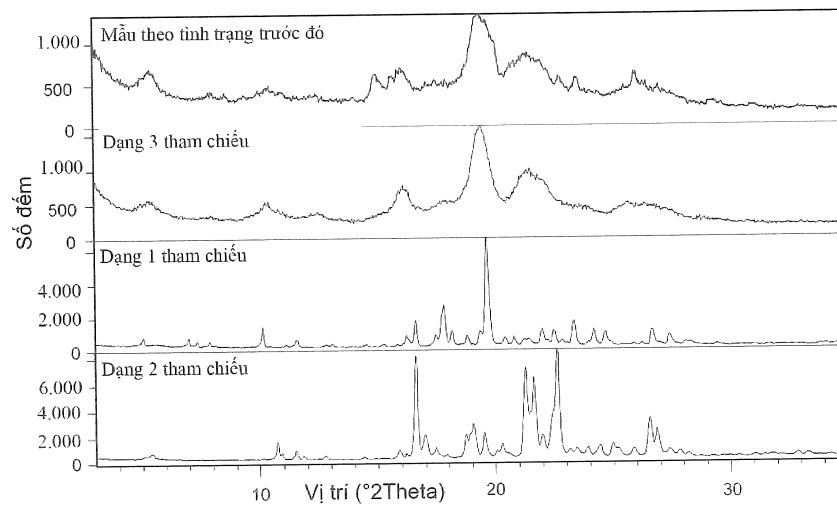
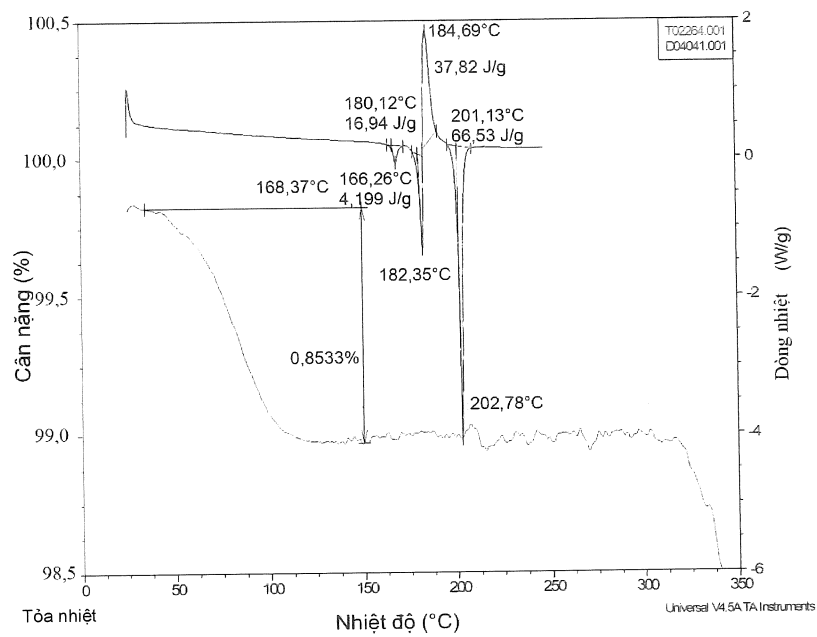


Fig. 8



5/10

Fig. 9

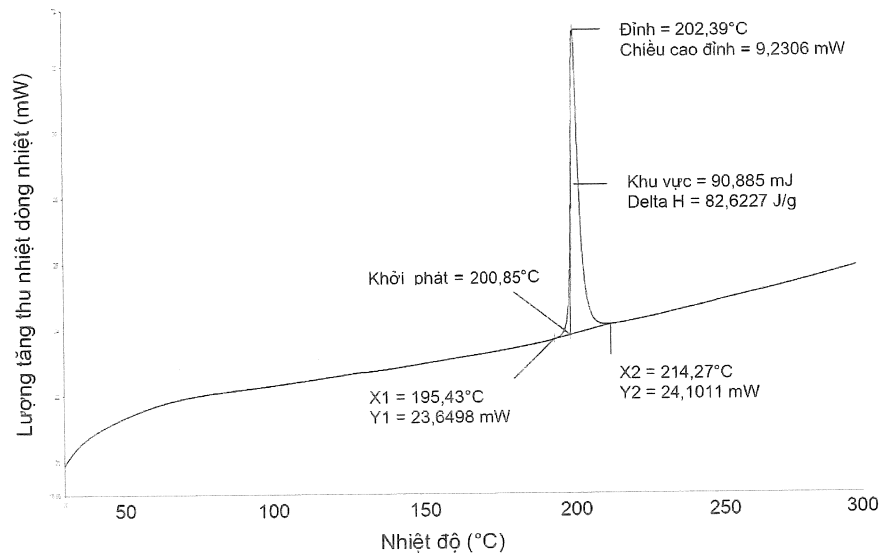
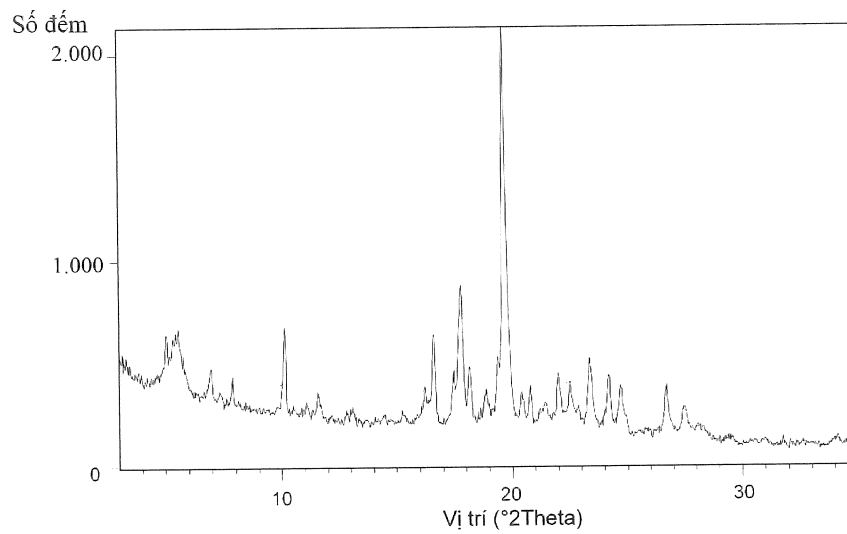


Fig. 10



6/10

Fig. 11

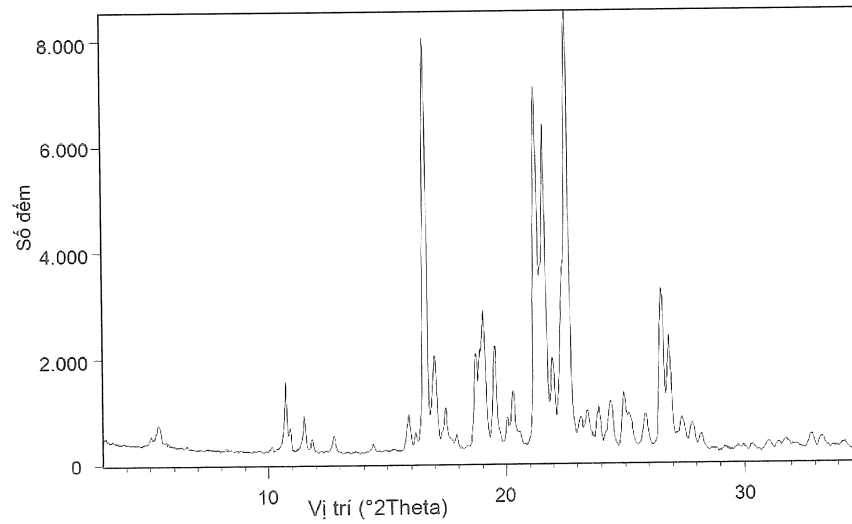
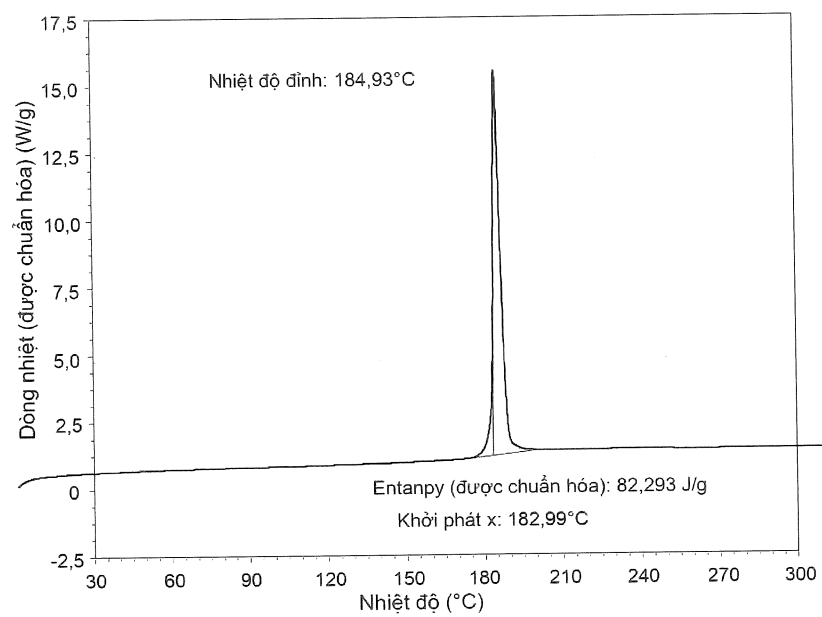


Fig. 12



7/10

Fig. 13

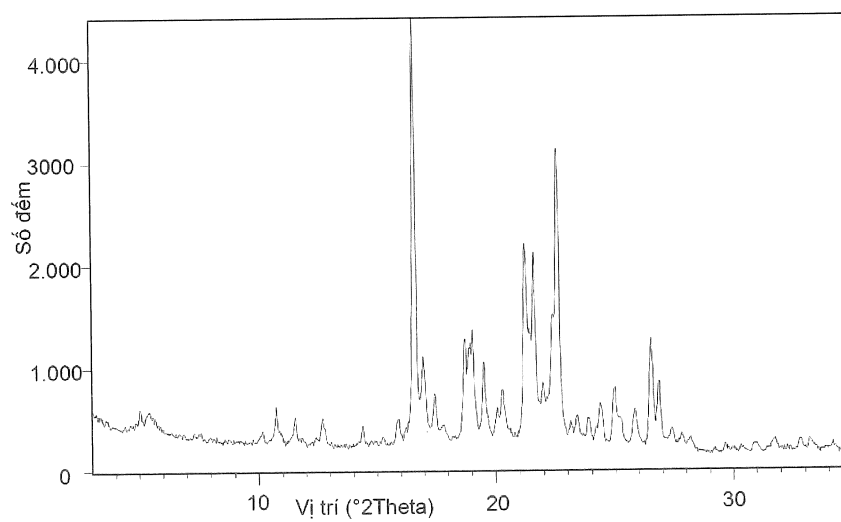
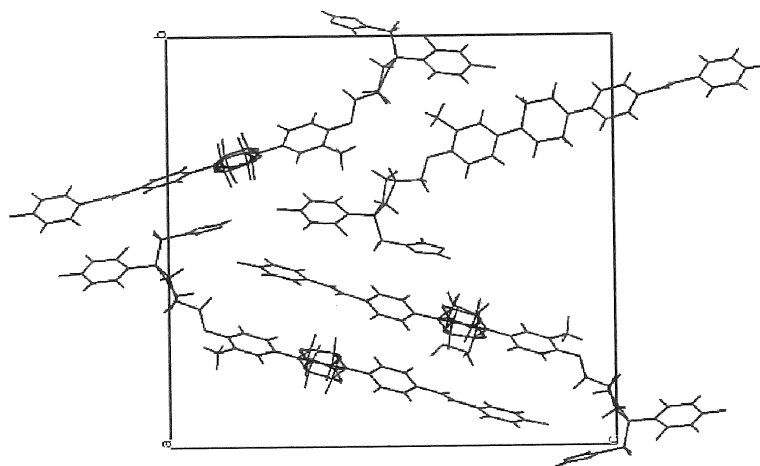


Fig. 14



8/10

Fig. 15

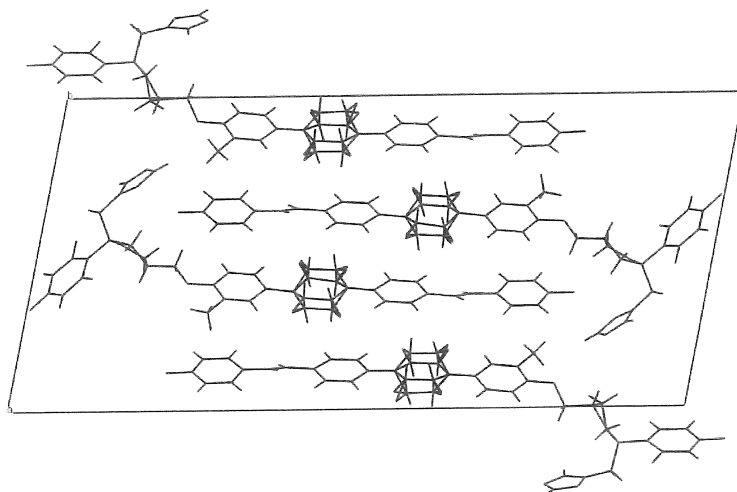
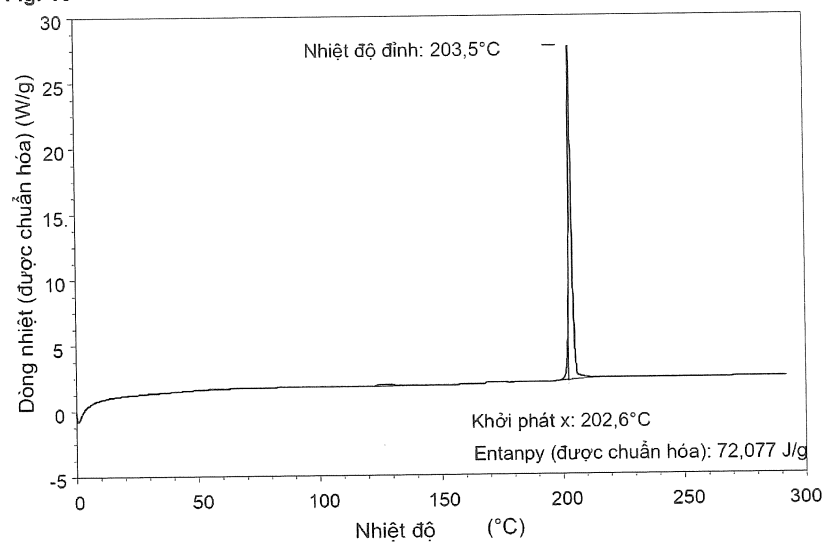


Fig. 16



9/10

Fig. 17

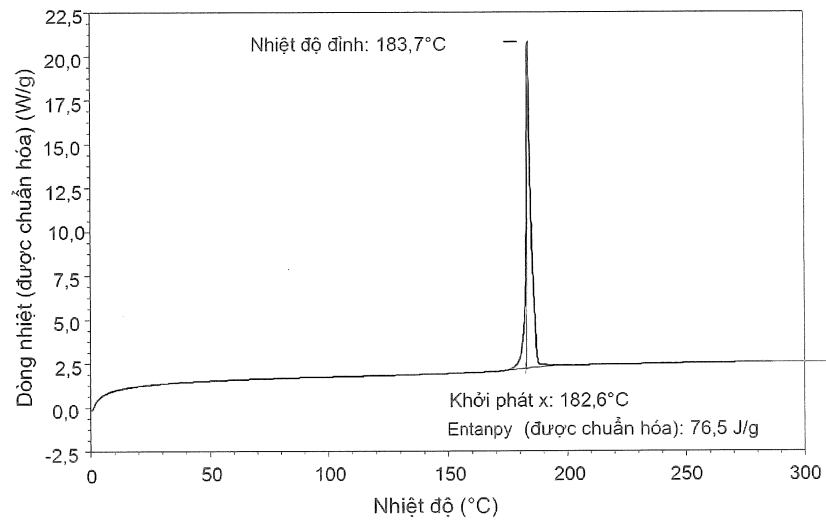
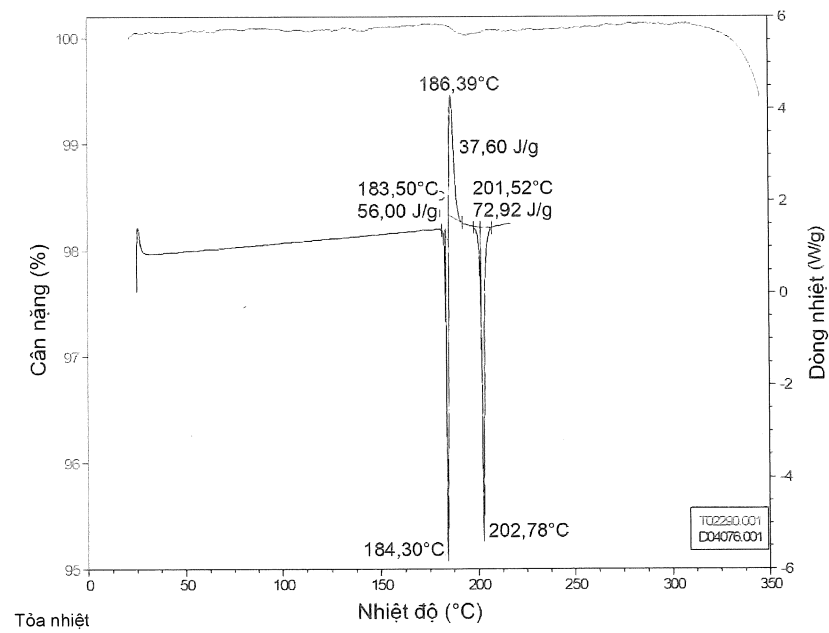


Fig. 18



10/10

Fig. 19

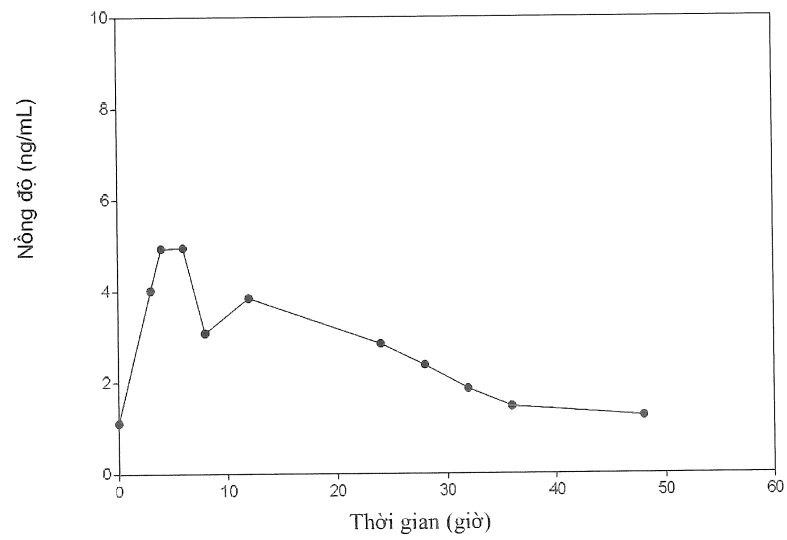


Fig. 20

