



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 118647618 A

(43) 申请公布日 2024. 09. 13

(21) 申请号 202280081094.2

M · I · 贝特霍尔德

(22) 申请日 2022.12.08

(74) 专利代理机构 隆天知识产权代理有限公司

(30) 优先权数据

72003

21213418.3 2021.12.09 EP

专利代理师 吴小瑛

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

(51) Int.Cl.

2024.06.06

C07D 487/04 (2006.01)

(86) PCT国际申请的申请数据

A61K 31/4985 (2006.01)

PCT/EP2022/085060 2022.12.08

A61P 25/00 (2006.01)

(87) PCT国际申请的公布数据

A61P 37/00 (2006.01)

W02023/104998 EN 2023.06.15

(71) 申请人 赛克松公司

地址 瑞典马尔默

(72) 发明人 W · 多尔比布朗

L · A · H · 范平克斯特伦

R · E · 斯廷达姆 J · 尼博

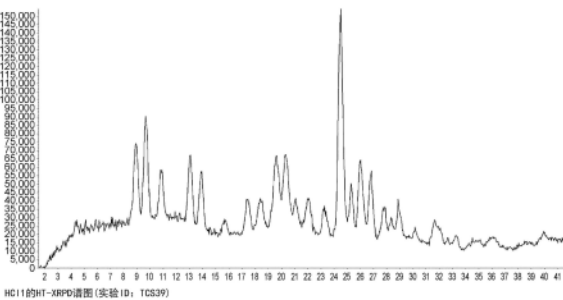
权利要求书4页 说明书19页 附图18页

(54) 发明名称

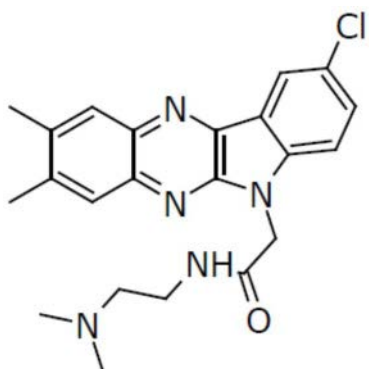
Rabeximod化合物

(57) 摘要

本发明涉及选自Rabeximod的HCl盐、甲烷磺酸盐和丙二酸盐的Rabeximod化合物。



1. 一种化合物,所述化合物选自式(I)化合物的HCl盐、甲烷磺酸盐(甲磺酸盐)和丙二酸盐



(I)。

2. 根据权利要求1所述的化合物,其中所述化合物为固体形式。
3. 根据权利要求1或2所述的化合物,其中所述化合物为结晶形式。
4. 根据权利要求1-3中任一项所述的化合物,其中所述化合物选自可通过Rabeximod与选自HCl、丙二酸和甲烷磺酸的酸反应而获得的盐。
5. 根据权利要求1-4中任一项所述的化合物,其中所述化合物是结晶形式的HCl盐,优选为特征在于以下XRPD峰的结晶形式的HCl盐:

峰数	2 θ °	d (Å)	强度[%]
1	4.38	20.18	4
2	8.92	9.90	35
3	9.68	9.13	52
4	10.84	8.16	27
5	13.04	6.78	63
6	13.90	6.37	49
7	15.66	5.65	14
8	17.42	5.09	30

9	18.28	4.85	13
10	18.53	4.79	14
11	19.42	4.57	13
12	19.65	4.51	33
13	20.27	4.38	29
14	20.49	4.33	13
15	21.07	4.21	12
16	22.07	4.02	16
17	23.24	3.82	17
18	23.50	3.78	10
19	24.44	3.64	100
20	24.80	3.59	11
21	25.28	3.52	33
22	25.96	3.43	49
23	26.22	3.40	18
24	26.78	3.33	42

6. 根据权利要求1-4中任一项所述的化合物,其中所述化合物是结晶形式的甲烷磺酸盐,优选为特征在于以下XRPD峰的结晶形式的甲烷磺酸盐:

峰数	2 θ°	d (Å)	强度[%]
1	3.30	26.79	43
2	8.04	10.98	38
3	8.65	10.22	64
4	10.45	8.46	21
5	12.48	7.09	12
6	12.91	6.85	28
7	15.00	5.90	5

8	16.15	5.48	18
9	17.40	5.09	14
10	19.10	4.64	14
11	20.49	4.33	21
12	20.72	4.28	25
13	24.79	3.59	100
14	27.39	3.25	24

7. 根据权利要求1-4中任一项所述的化合物,其中所述化合物是结晶形式的丙二酸盐,优选为特征在于以下XRPD峰的结晶形式的丙二酸盐:

峰数	2 θ °	d (Å)	强度[%]
1	6.37	13.87	64
2	7.12	12.41	54
3	8.62	10.25	56
4	9.96	8.87	9
5	10.39	8.51	20
6	10.88	8.13	11
7	12.64	7.00	2
8	13.08	6.76	4
9	13.54	6.54	4
10	14.25	6.21	53
11	14.50	6.10	22
12	15.46	5.73	6
13	15.69	5.64	5
14	16.25	5.45	6
15	16.67	5.31	6
16	17.26	5.13	5
17	18.49	4.80	18

18	18.86	4.70	29
19	19.13	4.64	48
20	19.54	4.54	31
21	21.66	4.10	16
22	25.36	3.51	100
23	21.55	4.12	24

8. 根据权利要求1-7中任一项所述的化合物,其中所述化合物是可通过包括以下步骤的方法获得的盐:

a) 将HCl、甲烷磺酸或丙二酸作为悬浮液或溶液添加到rabeximod的游离碱中,例如固体形式、悬浮液形式或溶剂形式,以提供相应盐的溶液或悬浮液;

b) 通过沉淀或结晶,例如通过冷却、蒸发溶剂、添加反溶剂或添加到反溶剂中,或通过添加共结晶剂,随后过滤或离心并任选地纯化盐,获得固体形式的盐。

9. 根据权利要求1-8中任一项所述的化合物,其中所述化合物是可通过本文实验部分所述的方法获得的盐。

10. 根据权利要求1-9中任一项所述的化合物,其中所述化合物在室温下在水中的溶解度为至少5mg/ml,例如5-15mg/ml。

11. 一种药物组合物,其包含权利要求1-10中任一项所述的化合物和任选的药学上可接受的添加剂。

12. 一种权利要求1-10中任一项所述的化合物,其用于治疗患有或诊断为类风湿性关节炎的哺乳动物例如人类受试者的方法中,所述类风湿性关节炎优选为中度类风湿性关节炎、重度类风湿性关节炎或中度至重度类风湿性关节炎。

13. 一种治疗患有或诊断为类风湿性关节炎的哺乳动物例如人类受试者的方法,其包括向哺乳动物受试者施用一定量的有效治疗所述类风湿性关节炎的权利要求1-10中任一项所述的化合物,所述类风湿性关节炎优选为中度类风湿性关节炎、重度类风湿性关节炎或中度至重度类风湿性关节炎。

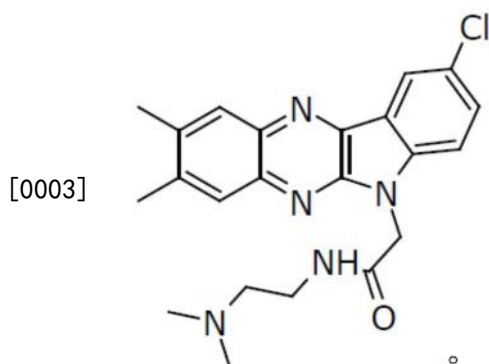
Rabeximod化合物

技术领域

[0001] 本发明涉及新型Rabeximod化合物。此外,本发明涉及包含本发明的Rabeximod化合物的药物组合物。选自Rabeximod的盐酸(HCl)盐、甲烷磺酸盐和丙二酸盐的Rabeximod化合物特别适用于治疗患有或诊断为例如类风湿性关节炎的哺乳动物,例如人类受试者。

背景技术

[0002] 在INN被称为“Rabeximod”的化合物具有IUPAC名称9-氯-2,3-二甲基-6-(N,N-二甲基氨基乙基氨基)-6H-吡咯-[2,3-b]喹啉,并且具有以下分子结构。



[0004] 化合物Rabeximod已经在欧洲专利申请公开EP1756111A1及其美国对应申请US2005/288296中进行了描述。Rabeximod的制剂在这些专利公开中被具体描述为化合物E。所描述的方法是一种小规模方法,产生游离碱形式的Rabeximod。作为游离碱的Rabeximod是一种非常稳定的化合物,在室温下几乎不溶于水。EP1756111和US2005/288296描述了Rabeximod(化合物E)在类风湿性关节炎和多发性硬化症的动物模型中的初步测试。未公开的国际申请号PCT/EP2021/065697公开了通过口服施用Rabeximod(游离碱)治疗人类RA患者。未公开的国际申请号PCT/EP2021/065693描述了Rabeximod(游离碱)在治疗急性呼吸综合征,特别是与病原性感染相关的急性呼吸综合征,例如流感病毒、呼吸道合胞病毒、丝状病毒、沙粒病毒和冠状病毒的感染中的用途。

[0005] 为了在临床实践中充分利用Rabeximod在这些(和其他)治疗应用中的潜力,希望开发出具有良好制造、制剂和稳定属性的Rabeximod化合物,这些化合物结合了更有利的药代动力学(“PK”)特性,例如高(相对)生物利用度、低峰/谷变化和/或低患者间可变性。良好的可制造性通常意味着可以以经济可行的方式容易地大规模获得高纯度的化合物。从制剂的角度来看,要求化合物可以容易地被加工成所需的制剂,例如固体口服剂型,但也可以加工成其他类型的制剂,例如考虑到难以(或不能)吞咽固体口服制剂的患者亚群,例如老年患者或输氧患者。当然,药物化合物在储存时应具有足够的化学和/或物理化学稳定性,无论是作为(原料)药物化合物还是作为药物制品,并与赋形剂相容。

[0006] 在实践中,这些目标往往被证明很难调和,而且没有直接的方法来开发将良好的PK特性与最佳制剂、制造和稳定属性相结合的药物化合物。

[0007] 本发明的目的是提供新的Rabeximod化合物,其具有优于Rabeximod游离碱的PK、

制剂、制造和/或稳定性属性,并且总体上是临床实践中实际使用的更有利的候选物。

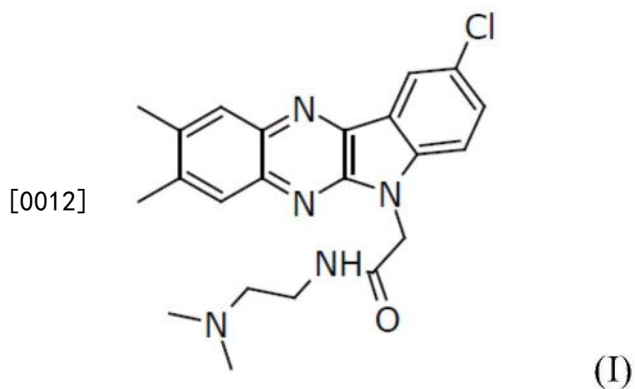
发明内容

[0008] 本发明提供了满足所述目标的新型Rabeximod化合物。更具体地,本发明提供了盐形式的Rabeximod,所述盐选自盐酸盐、甲烷磺酸盐和丙二酸盐。

[0009] 如实施例中所示,已经发现本发明的Rabeximod化合物在小鼠中具有显著改善的(口服)生物利用度,如在相同剂量下AUC的增加所反映的。此外,已经发现本发明的Rabeximod化合物在(单次)口服施用时产生更有利的血浆分布,其特征在于血浆浓度的逐渐降低。

[0010] 此外,本发明的Rabeximod化合物比游离碱的水溶性(<0.005mg/ml)高得多。同时,本发明的Rabeximod化合物具有低吸湿性,并且在暴露于可变湿度条件下保持稳定。

[0011] 因此,在一个方面中,本发明涉及一种选自式(I)化合物的HCl盐、甲烷磺酸盐(甲烷磺酸盐)和丙二酸盐的化合物



[0013] 在一个实施方式中,化合物是HCl盐。

[0014] 在进一步的实施方式中,化合物是甲烷磺酸盐。

[0015] 在又进一步的实施方式中,化合物是丙二酸盐。

[0016] 在进一步的实施方式中,本发明的化合物为固体形式,优选为结晶形式,特别地盐为多晶型。

[0017] 在进一步的实施方式中,化合物选自可通过游离碱形式的Rabeximod与选自HCl、丙二酸和甲烷磺酸的酸反应而获得的盐。

[0018] 在一个实施方式中,化合物为固体和/或非离解的形式,即无定形式或结晶形式。在另一个实施方式中,化合物为溶解和/或离解的形式。在进一步的实施方式中,化合物为结晶形式。在又进一步的实施方式中,化合物为水合形式。

[0019] 在进一步的实施方式中,化合物选自可通过游离碱形式的Rabeximod与选自HCl、丙二酸和甲烷磺酸的酸反应而获得的盐。

[0020] 在一个特定的实施方式中,化合物为结晶形式的HCl盐,更优选为特征在于以下XRPD峰的结晶形式的HCl盐:

[0021]

峰数	$2\theta^\circ$	$d (\text{\AA})$	强度[%]
1	4.38	20.18	4
2	8.92	9.90	35
3	9.68	9.13	52
4	10.84	8.16	27
5	13.04	6.78	63
6	13.90	6.37	49
7	15.66	5.65	14

[0022]

8	17.42	5.09	30
9	18.28	4.85	13
10	18.53	4.79	14
11	19.42	4.57	13
12	19.65	4.51	33
13	20.27	4.38	29
14	20.49	4.33	13
15	21.07	4.21	12
16	22.07	4.02	16
17	23.24	3.82	17
18	23.50	3.78	10
19	24.44	3.64	100
20	24.80	3.59	11
21	25.28	3.52	33
22	25.96	3.43	49
23	26.22	3.40	18
24	26.78	3.33	42

[0023] 在另一个特定的实施方式中,化合物为结晶形式的甲烷磺酸盐,更优选为特征在于以下XRPD峰的结晶形式的甲烷磺酸盐:

[0024]	峰数	$2\theta^\circ$	$d(\text{\AA})$	强度[%]
	1	3.30	26.79	43
	2	8.04	10.98	38
	3	8.65	10.22	64
	4	10.45	8.46	21
	5	12.48	7.09	12
	6	12.91	6.85	28
	7	15.00	5.90	5
	8	16.15	5.48	18
[0025]	9	17.40	5.09	14
	10	19.10	4.64	14
	11	20.49	4.33	21
	12	20.72	4.28	25
	13	24.79	3.59	100
	14	27.39	3.25	24

[0026] 在进一步特定的实施方式中,化合物为结晶形式的丙二酸盐,更优选为特征在于以下XRPD峰的结晶形式的丙二酸盐:

峰数	2 θ°	d(Å)	强度[%]
1	6.37	13.87	64
2	7.12	12.41	54
3	8.62	10.25	56
4	9.96	8.87	9
5	10.39	8.51	20
6	10.88	8.13	11
7	12.64	7.00	2
8	13.08	6.76	4
9	13.54	6.54	4
10	14.25	6.21	53
11	14.50	6.10	22
12	15.46	5.73	6
13	15.69	5.64	5
14	16.25	5.45	6
15	16.67	5.31	6
16	17.26	5.13	5
17	18.49	4.80	18
18	18.86	4.70	29
19	19.13	4.64	48
20	19.54	4.54	31
21	21.66	4.10	16
[0027]			
22	25.36	3.51	100
23	21.55	4.12	24
[0028]			

[0029] 在又进一步的实施方式中,化合物可通过包括以下步骤的方法获得:

[0030] a) 在液体或溶剂中,将HCl、甲烷磺酸或丙二酸与Rabeximod游离碱结合,以产生相应盐的溶液或悬浮液;

[0031] b) 通过沉淀或结晶,例如通过冷却、蒸发溶剂、添加反溶剂或添加到反溶剂中,或通过添加共结晶剂,随后过滤或离心并任选地纯化盐,获得固体形式的盐。通常,盐可通过本文实验部分所述的方法获得。

[0032] 本发明的每种化合物在室温下在水中的溶解度高于0.3mg/ml。一些化合物在室温下在水中的溶解度为至少5mg/ml,例如5-15mg/ml。

[0033] 在进一步的方面中,本发明涉及一种组合物。其包含本发明的化合物,例如根据上述实施方式中任一项所述的化合物。在进一步的实施方式中,所述组合物包括固体和/或非离解形式的化合物,例如在组合物是散装粉末、颗粒或固体成品剂型的情况下。在进一步的实施方式中,所述组合物包括溶解和/或离解形式的盐,例如在组合物是液体成品剂型或在固体剂型等的生产中形成和/或使用的水溶液的情况下。

[0034] 在进一步的方面中,本发明涉及一种药物组合物,其包含本发明的化合物,例如根据上述实施方式中任一项所述的化合物,以及任选的药学上可接受的添加剂。

[0035] 在又进一步的方面中,本发明涉及一种本发明的化合物,例如根据上述实施方式中任一项所述的化合物,其用于治疗有需要的哺乳动物,优选人类受试者,例如患有或诊断为类风湿性关节炎(优选为中度类风湿性关节炎、重度类风湿性关节炎或中度至重度类风湿性关节炎)的人类受试者,或患有可能与病原性感染相关的急性呼吸综合征的人类受试者的方法中。在又进一步的方面中,本发明涉及一种本发明的化合物,例如根据上述实施方式中任一项所述的化合物,其用于在有需要的哺乳动物,例如人类受试者中治疗类风湿性关节炎(优选为中度类风湿性关节炎、重度类风湿性关节炎或中度至重度类风湿性关节炎),或治疗可能与病原性感染相关的急性呼吸综合征的方法中。

[0036] 在进一步的方面中,本发明涉及一种治疗有需要的哺乳动物,优选为人类受试者(例如患有或诊断为类风湿性关节炎,优选为中度类风湿性关节炎、重度类风湿性关节炎或中度至重度类风湿性关节炎的人类受试者,或患有可能与病原性感染相关的急性呼吸综合征的人类受试者)的方法,其包括向哺乳动物施用本发明的化合物,例如根据上述实施方式中任一项所述的盐。在进一步的方面中,本发明涉及一种在人类受试者中治疗类风湿性关节炎,优选中度类风湿性关节炎、重度类风湿性关节炎或中度至重度类风湿性关节炎的方法,或治疗可能与病原性感染相关的急性呼吸综合征的方法,其包括向哺乳动物施用本发明的化合物,例如根据上述实施方式中任一项所述的盐。

具体实施方式

[0037] 在整个本申请中,术语“Rabeximod”、“rabeximod”和“9-氯-2,3-二甲基-6-(N,N-二甲基氨基乙基氨基-2-氧代乙基)-6H-吡啶-[2,3-b]喹啉”可以互换使用,并且是指任何固体形式或液体形式的化合物,除非在给定情况下另有指示或暗示。

[0038] Rabeximod可以从EP1756111A1和US2005/288296中描述的方法获得,然后纯化和分离。此外,如欧洲专利申请号20179279.3(未公布)中所述,可以获得结晶形式的Rabeximod游离碱。

[0039] Rabeximod的几种HCl、Mao和Mes盐已经被结晶,产生了与Rabeximod游离碱相比具有改善的物理化学性质的新盐形式。这些rabeximod化合物在溶解度、结晶度、物理稳定性、热行为、可加工性和水合性质方面具有非常有利的性质组合,如实验部分所述的实验所示。

[0040] 如本文所用,术语“抗衡离子”是指与质子化的Rabeximod游离碱形成盐的酸抗衡离子。当Rabeximod盐在本文中被描述时,它可以使用识别抗衡离子的三字母代码来指代。下表列出并定义了本文件中使用的每个特定的3字母代码。使用3字母代码识别Rabeximod

的盐,例如Rabeximod的盐酸盐由代码HCl表示。Rabeximod盐例如HCl的描述包括任何形式的盐,例如固体、无定形、溶解型或多晶型。

[0041] 如上所述,除了本文公开的化合物之外,本文公开的组合物特别是药物组合物还可以包括至少一种药学上可接受的佐剂、稀释剂、赋形剂和/或载体。这种药学上可接受的佐剂、稀释剂、赋形剂和/或载体可以不受限制地选自油酸、吐温80、羧甲基纤维素钠。

[0042] 在一些实施方式中,药物组合物包含1至99wt%的所述至少一种药学上可接受的佐剂、稀释剂、赋形剂和/或载体,以及1至99wt%的本文公开的式I的化合物。活性成分和药学上可接受的佐剂、稀释剂、赋形剂和/或载体的总量可以不构成组合物,特别是药物组合物的大于100wt% (100%w/w)。

[0043] 根据本发明的各个方面,组合物优选以单位剂型的形式提供。术语“单位剂型”是指适合作为用于人类受试者的单一剂量的物理离散单位,每个单位包含经计算以产生期望的治疗效果的预定量的活性物质与任何合适的药物载体和/或赋形剂的结合。示例性的非限制性单位剂型包括片剂(例如,可咀嚼片剂)、囊片、胶囊(例如,硬胶囊或软胶囊)等。根据本发明的优选实施方式,单位剂型是适合口服施用的单位剂型。最优选地,它是固体单位剂型,例如片剂或胶囊,最优选为胶囊,例如标准明胶胶囊,其填充有如本文其他地方定义的粉末。

[0044] 在本发明的其他实施方式中,本发明的rabeximod化合物可以以液体口服制剂的形式提供。液体口服制剂是吞咽困难患者的首选或必需的口服剂型。液体口服制剂需要稳定、溶解或悬浮的药物形式,满足释放、生物利用度、稳定性和口感要求。

[0045] 在本发明的其他实施方式中,本发明的rabeximod化合物可以以适合于肠胃外施用,例如通过iv注射或输注施用的无菌液体的形式提供。对于患有严重呼吸病况的患者,例如插管并保持诱导性昏迷的患者,这种肠胃外制剂可能是首选或必需的剂型。无菌肠胃外制剂需要稳定、溶解或悬浮的药物形式,满足释放、生物利用度和稳定性要求。

[0046] 基于本教导并依赖于例如雷明顿制药学(Remington's Pharmaceutical Sciences(Meade Publishing Co., Easton, Pa., 第20版, 2000, 其全部公开内容通过引用并入本文)的教科书中所反映的公知常识来构思和开发合适的制剂在本领域普通技术人员的范围内。

[0047] 在一个广泛的方面中,本发明还涉及治疗有需要的受试者的方法,所述治疗包括向所述受试者施用本发明的Rabeximod化合物,优选如本文定义的包含所述rabeximod化合物的组合物、制剂或单位剂型。在本发明的优选实施方式中,待治疗的受试者是人类受试者,优选为人类。

[0048] 在第一个实施方式中,本发明还涉及治疗患有和/或诊断为类风湿性关节炎或相关病况的受试者的方法,其中所述方法包括施用本发明的rabeximod化合物。

[0049] 在进一步的实施方式中,本发明还涉及治疗患有急性呼吸综合症的受试者的方法,该急性呼吸综合症任选地与病原性感染(例如冠状病毒感染)相关,其中所述方法包括施用本发明的rabeximod化合物。

[0050] 如本文所用,术语“治疗(treatment)”和“治疗(treating)”是指为了对抗病况例如疾病或病症的目的而对患者进行的管理和护理。该术语旨在包括针对患者所患的给定病况的全方位治疗,例如施用活性化合物以减轻症状或并发症,延缓疾病、病症或病况的进

展,减轻或缓解症状和并发症,和/或治愈或消除疾病、病症或病况以及预防病况,其中预防应被理解为为了对抗疾病、病况或病症的目的而对患者进行管理和护理,并且包括施用活性化合物来防止症状或并发症的发生。该治疗可以以急性或慢性方式进行。待治疗的患者优选为哺乳动物;特别是人类,但也可能包括动物,例如狗、猫、牛、羊和猪。

[0051] 用于生产本发明的化合物的方法的具体实施方式在本文的实验部分中进行了描述,并且每个单独的方法以及每个起始材料构成可以形成实施方式的一部分的实施方式。

[0052] 如本文所用,术语“和/或”旨在是指两种替代方案以及单独的替代方案中的每一个。例如,“xxx和/或yyy”的表述是指“xxx和yyy”;“xxx”;或者“yyy”,所有三个替代方案都服从于单独的实施方式。

[0053] 如本文所用,“药学上可接受的添加剂”旨在不受限地包括载体、赋形剂、稀释剂、佐剂、着色剂、香料、防腐剂等,技术人员在配制Rabeximod以制备药物组合物时会考虑使用这些添加剂。

[0054] 可用于本发明的组合物中的佐剂、稀释剂、赋形剂和/或载体必须是药学上可接受的,即与Rabeximod和药物组合物的其他成分相容,并且不对其接受者有害。优选的是,组合物不应含有任何可能引起不良反应例如变态反应的材料。可用于本发明的药物组合物的佐剂、稀释剂、赋形剂和载体是本领域技术人员公知的。

[0055] 除非另有说明,否则本文提供的所有精确值都代表相应的近似值(例如,针对特定因素或测量所提供的所有确切示例值可以被认为也提供了相应的近似测量,在适当的情况下用“约”修饰)。

[0056] 除非本文另外指出或与上下文明显矛盾,否则本文描述的所有方法可以以任何合适的顺序执行。

[0057] 除非另外指示,否则本文提供的任何和所有实例或示例性语言(如,“例如”)的使用仅旨在更好地阐明本发明,并且不对本发明的范围构成限制。说明书中的任何语言都不应被解释为指示任何元素对本发明的实践是必不可少的,除非如此明确说明。

[0058] 本文引用和合并的专利文件仅为方便起见,并不反映对此类专利文件的有效性、可专利性和/或可执行性的任何看法。

[0059] 本文中针对一个或多个元素使用诸如“包含(comprising)”、“具有(having)”、“包括(including)”或“含有(containing)”的术语来描述本发明的任何方面或实施方式旨在为“由...组成”、“基本上由...组成”或“基本上包括”该特定的一个或多个元素的本发明的类似方面或实施方式提供支持,除非另有说明或与上下文明确矛盾(例如,本文中描述为包含特定元素的组合物应被理解为也描述由该元素组成的组合物,除非另有说明或与上下文明确矛盾)。

[0060] 本发明在适用法律允许的最大范围内包括本文所提出的各方面或权利要求中所述主题的所有修改和等价物。

[0061] 本发明通过以下实施例进一步说明,然而,这些实施例不应被解释为限制保护范围。在前述描述和以下实施例中公开的特征,无论是单独的还是以其任何组合,都可以是用于以其多样的形式实现本发明的材料。

[0062] 上述实施方式应被视为指本文所述的任何一个方面(例如“治疗方法”、“药物组合物”、“用作药物的化合物”或“用于方法的化合物”)以及本文所述任何一个实施方式,除非

指定实施方式涉及本发明的某个方面或某些方面。

[0063] 本文引用的所有参考文献,包括出版物、专利申请和专利,均以引用的方式并入本文,其程度如同每个参考文献被单独地且具体地指示为通过引用并入本文并在此完整阐述。

[0064] 所有标题和副标题仅为了方便,不应被解释为以任何方式限制本发明。

[0065] 除非本文另外指出或与上下文明显矛盾,否则本发明涵盖上述元素在其所有可能的变体中的任何组合。

[0066] 除非在本文另外指出,否则本文中数值范围的列举仅旨在用作分别指代落入该范围内的每个单独值的简写方法,并且每个单独值都被并入说明书中,就如同其在本文中被单独叙述一样。除非另有说明,否则本文提供的所有精确值都代表相应的近似值(例如,针对特定因素或测量所提供的所有确切示例值可以被认为也提供了相应的近似测量,在适当的情况下用“约”修饰)。

[0067] 除非本文另外指出或与上下文明显矛盾,否则本文描述的所有方法可以任何合适的顺序执行。

[0068] 除非另外指示,否则本文提供的任何和所有实例或示例性语言(如,“例如”)的使用仅旨在更好地阐明本发明,并且不对本发明的范围构成限制。说明书中的任何语言都不应被解释为指示任何元素对本发明的实践是必不可少的,除非如此明确说明。

附图说明

[0069] 图1示出了制备的结晶HCl盐形式的XRPD衍射图。

[0070] 图2示出了制备的结晶Mao盐形式的XRPD衍射图。

[0071] 图3示出了制备的结晶Mes盐形式的XRPD衍射图。

[0072] 图4示出了在甲烷磺酸盐结晶实验中应用的温度曲线。温度在5-50℃之间以0.17℃/分钟的速率变化。初始和最终温度为25℃。

[0073] 图5示出了在盐酸和丙二酸盐结晶实验中应用的温度曲线。温度在5-50℃之间以0.17℃/分钟的速率变化。初始和最终温度为25℃。

[0074] 图6示出了Mes盐(实验ID:TCS35)在25-300℃之间(加热速率为10℃/min)的TGMS分析。在25-220℃之间测得4.9%的质量损失。

[0075] 图7示出了Mes盐(实验ID:TCS35)在25-300℃之间(加热速率为10℃/min)的DSC迹线。RT-110℃之间的吸热事件可能归因于水的损失。API的熔化可能与257℃下的急剧吸热事件有关。

[0076] 图8示出了Mes盐(实验ID:TCS35)的LCMS色谱图。API的保留时间为1.66分钟。MS谱图证实化合物的分子质量为409.9g/mol, [M+H]⁺离子为m/z 410.3。

[0077] 图9示出了在DMSO-d₆中测量的Mes盐(实验ID:TCS35,顶部)和游离碱(SM,顶部)的¹H-NMR谱图。除了Rabeximod,还检测到水(3.4ppm)、DMSO(2.5ppm)和甲烷磺酸(CH₃在2.53ppm处,且OH在9.3ppm处)信号。

[0078] 图10示出了在DMSO-d₆中测量的Mes盐(实验ID:TCS35)的¹³C-NMR-APT谱图。CH和CH₃基团是正信号,而CH₂和季碳是负信号。除了API,还存在甲烷磺酸和DMSO的信号。

[0079] 图11A和图11B示出了Mes盐(实验ID:TCS35)的吸湿动力学(A)和等温线(B)图,具

有从40%RH到95%RH的第一吸附循环,随后是步长为10%RH的从95%RH到0%RH的解吸和从0%RH到40%RH的吸附,最小阶段时间为10分钟,最大阶段时间为6小时。

[0080] 图12示出了HCl盐(实验ID:TCS160)在25-300℃之间(加热速率为10℃/min)的TGMS分析。在约25-80℃之间,记录到约0.3%的质量损失。285℃处的吸热事件很可能表示熔化。

[0081] 图13示出了HCl盐(实验ID:TCS160)在25-300℃之间(加热速率为10℃/min)的DSC迹线。API的熔化可能与294℃下的急剧吸热事件有关。

[0082] 图14示出了HCl盐(实验ID:TCS160)的¹H-NMR谱图。除了API,还检测到DMSO-d₆、2-丙醇和TMS的信号。

[0083] 图15A和图15B示出了HCl盐(实验ID:TCS160)的吸湿动力学(A)和等温线(B)图,具有从40%RH到95%RH的第一吸附循环,随后是步长为10%RH的从95%RH到0%RH的解吸和从0%RH到40%RH的吸附,最小阶段时间为10分钟,最大阶段时间为6小时。

[0084] 图16示出了以3.00mg/kg的标称剂量对雄性CD1小鼠(每个时间点n=3)进行i.v.施用后,Rabeximod和Rabeximod盐的平均(±SD)血浆浓度与时间曲线。

[0085] 图17示出了以30.00mg/kg的标称剂量对雄性CD1小鼠(每个时间点n=3)进行p.o.施用后,Rabeximod和Rabeximod盐的平均(±SD)血浆浓度与时间曲线。

[0086] 实施例

[0087] 一般实验信息

[0088] 通用缩写

[0089] ¹H-NMR 质子核磁共振

[0090] ¹³C-NMR 碳-13核磁共振

[0091] AAC 加速老化条件(40℃和75%RH)

[0092] Am 无定形

[0093] APT 连接质子测试

[0094] API 活性药物成分

[0095] DSC 差示扫描量热法

[0096] GEN 无定形可行性测试的实验ID

[0097] HR-XRPD 高分辨率X射线粉末衍射

[0098] HT-XRPD 高通量X射线粉末衍射

[0099] LCMS 高效液相色谱-质谱联用

[0100] MS 质谱

[0101] Pc 结晶度差

[0102] PAMPA 平行人工膜渗透性测定

[0103] PLM 偏振光显微镜

[0104] RF 响应因子

[0105] RH 相对湿度

[0106] RT 室温

[0107] Ssm 用于等温条件下的盐结晶实验的实验ID

[0108] TCS 涉及热循环的盐结晶实验的实验ID

[0109] TGMS 热重分析与质谱联用

[0110] 化学物质

[0111] Ace 丙酮

[0112] AcN 乙腈

[0113] EtOH 乙醇

[0114] IPA 异丙醇、2-丙醇

[0115] MeOH 甲醇

[0116] MEK 甲基乙基酮

[0117] THF 四氢呋喃

[0118] 分析方法

[0119] X射线粉末衍射

[0120] 使用高通量XRPD装置获得XRPD谱图。将板安装在Bruker通用区域检测器衍射系统(GADDS)上,该系统配备有针对强度和几何变化进行校正的VÅNTEC-500气体区域检测器。使用NIST SRM1976标准(刚玉)对测量精度(峰值位置)进行校准。

[0121] 数据采集是在室温下使用单色Cu K α 辐射在 1.5° 至 41.5° 的 2θ 区域进行的,这是XRPD谱图最独特的部分。在两个 2θ 范围(第一帧为 $1.5^\circ \leq 2\theta \leq 21.5^\circ$,第二帧为 $19.5^\circ \leq 2\theta \leq 41.5^\circ$)内采集每个孔的衍射图,每个帧的曝光时间为90秒。没有对XRPD谱图应用背景减除或曲线平滑。

[0122] 高分辨率X射线粉末衍射测量

[0123] 在室温下在使用Cu K α_1 辐射($1.54056 \text{ \AA}$)的具有锗单色仪的D8Advance衍射仪上采集HR-XRPD数据。采集衍射数据的 2θ 范围为 $2-41.5^\circ 2\theta$ 。在固态LynxEye检测器上进行检测器扫描,每步 0.015° ,扫描速度为10秒/步。在外径为0.5mm的8mm长的玻璃毛细管中测量样品。

[0124] TGA/SDTA和TGMS分析

[0125] 通过TGA/DSC测定由于溶剂或水从晶体中损失引起的质量损失。在TGA/DSC 3+ STARe系统(Mettler-Toledo GmbH,Switzerland)中加热期间监测样品重量,得到重量与温度的关系曲线和热流信号。用铟和铝样品对TGA/DSC 3+进行温度校准。将样品(约1mg)在100 μ L的铝坩埚中称重并密封。将盖打钉孔,将坩埚在TGA中以 $10^\circ\text{C}/\text{min}$ 的加热速率从 25°C 加热到 300°C 。使用干 N_2 气体进行吹扫。

[0126] 通过质谱仪Omnistar GSD 301T2(Pfeiffer Vacuum GmbH,Germany)分析来自TGA样品的气体。后者是四极杆质谱仪,用于分析0-200amu温度范围内的质量。

[0127] DSC分析

[0128] 热事件由DSC热谱图获得,该热谱图用热通量DSC3+STARe系统(Mettler-Toledo GmbH,Switzerland)记录。用一小块铟(m.p.= 156.6°C ; $\delta H_f = 28.45\text{J/g}$)和锌(m.p.= 419.6°C ; $\delta H_f = 107.5\text{J/g}$)校准DSC3+的温度和焓。将样品(约1mg)密封在标准的40 μ L铝盘中,打钉孔并在DSC中以 $10^\circ\text{C}/\text{min}$ 的加热速率从 25°C 加热到 300°C (若没有不同规定)。在测量期间,使用流速为50mL/min的干 N_2 气体来吹扫DSC设备。

[0129] cDSC分析

[0130] 在标准40 μ L铝盘中测量循环DSC,将铝盘打针孔并在DSC中从25℃加热到可变温度,然后冷却回25℃。加热和冷却速率为10℃/min。在测量期间,使用流速为50mL/min的干N₂气体来吹扫DSC设备。实验后,从盘中取出固体并通过HT-XRPD进行分析。

[0131] 偏振光显微镜观察

[0132] 用Leica DM 2500M光学显微镜采集偏振光显微照片。将样品安装在载玻片上,并作为干固体进行测量。

[0133] LCMS分析方法

[0134] LC参数:

[0135]	仪器	带二极管阵列 UV 检测器和 MSD XT 单四质量检测器的 Agilent 1290 系列		
	流动相 A	10 mM 的乙酸铵在水中		
	流动相 B	乙腈		
	柱	Agilent Eclipse Plus C18 HD (50 × 2.1 mm; 1.8 μ m)		
[0136]	检测:	274 nm 下的 UV, 带宽 4 nm, UV 光谱 200-400 nm。 MS 在正扫描模式下为 100-1000 m/z, 扫描时间为 250 ms		
	流速:	0.6 mL/min		
	运行时间	3.5 分钟		
	进样量	1.0 μ L		
	柱温	40°C		
	自动进样器温度	常温		
	梯度:	时间[分钟]	梯度:	时间[分钟]
		0	95	0
		0.1	95	0.1
		2.5	10	2.5
		2.55	10	2.55
		2.56	95	2.56
		3.5	95	3.5
	样品	浓度: 约 0.2 mg/mL		
		溶剂: 甲醇		

[0137] 化合物完整性表示为峰面积百分比,由色谱图中除“进样峰”外的每个峰的面积和总峰面积计算得出,如下所示:

$$[0138] \quad \text{峰面积}(\%) = \frac{\text{峰面积}}{\text{所有峰的总面积}} \cdot 100\%$$

[0139] 使用感兴趣的化合物的峰面积百分比作为样品中组分纯度的指示。

[0140] 对于HPLC测定,测量Rabeximod溶液(SM)作为参考,并在考虑通过TGMS确定的溶剂的量后,将峰面积归属为100%回收率。以相同的方式测量盐的样品,并通过考虑溶剂的量再次计算回收率%。对于所有测量的盐,<100%的回收率可以归属为API,剩余的回收率%可归属为抗衡离子,由此可以确定API与抗衡离子的比例。

[0141] ^1H NMR

[0142] 在DMSO- d_6 中的 ^1H -NMR光谱用于化合物完整性表征和确定盐的化学计量。使用标准脉冲序列在500MHz仪器(Bruker BioSpin GmbH)上在室温下记录谱图(32次扫描)。使用ACD Labs软件Spectrus处理器2016.2.2(Advanced Chemistry Development Inc.Canada)处理数据。

[0143] ^{13}C -NMR

[0144] 在DMSO- d_6 中的 ^{13}C -NMR-APT光谱用于化合物完整性表征。使用标准脉冲序列在500MHz仪器(Bruker BioSpin GmbH)上在室温下记录谱图(2048次扫描)。使用ACD Labs软件Spectrus处理器2016.2.2(Advanced Chemistry Development Inc.Canada)处理数据。

[0145] 动态蒸汽吸附

[0146] 各种形式的固体材料的吸湿性(水分吸收)的差异提供了它们在相对湿度增加时的相对稳定性的衡量标准。使用来自Surface Measurement Systems(London,UK)的DVS-1系统获得小样品的水分吸附等温线;该仪器适用于几毫克样品,精度为 $0.1\mu\text{g}$ 。在 25°C 的恒定温度下,相对湿度在吸附-解吸-吸附(40-95-0-40% RH)过程中发生变化。每一步的重量平衡被设定为 $\text{dm}/\text{dt}<0.0002\text{mg}/\text{min}$,持续最短1小时或最长6小时。然后通过HT-XRPD对样品进行测量。

[0147] 根据欧洲药典吸湿性分类对吸湿性进行分类。 $25^\circ\text{C}/80\%\text{RH}$ 下(24小时)的吸水率为:

[0148] • 质量变化<0.2%-不吸湿

[0149] • 质量变化>0.2%且<2%-轻微吸湿

[0150] • 质量变化>2%且<15%-中等吸湿

[0151] • 质量变化>15%-强吸湿

[0152] Rabeximod游离碱的特定结晶形式被命名为“形式1”。形式1是在 260°C 下熔化的无水材料。如通过 ^1H -NMR和LCMS测定的,起始材料的化学纯度高。形式1轻微吸湿,并且在暴露于0-95%之间的相对湿度值时保持物理稳定。

[0153] 实施例1:本发明化合物的制备

[0154] 材料和方法

[0155] 所有化学物质均得自Fisher Scientific或Sigma Aldrich。所用化学物质至少为研究级。用于UPLC分析的溶剂为HPLC级。

[0156] 盐形成和结晶

[0157] 准备一套1.8ml的小瓶,每个小瓶含有20mg的Rabeximod游离碱。向每个小瓶中加入磁力搅拌棒和1.1当量的选定的酸。酸以1M或2M水溶液的形式加入。此外,准备一套仅含有API的1.8ml小瓶。之后,添加 $750\mu\text{l}$ 的选定的溶剂。将小瓶转移到Crystal16TM平行结晶器中,并以750rpm搅拌悬浮液。对涉及甲烷磺酸的实验进行图4所描绘的温度分布。对盐酸和

丙二酸应用略微不同的温度分布(图5)。

[0158] 将所有混合物从25℃加热至50℃,之后将混合物在50℃下搅拌1小时。之后,将温度降至5℃,并将混合物在5℃下搅拌1小时。应用另一个加热-冷却循环,其中将混合物再次在50℃下搅拌1小时。应用的加热和冷却速率为-0.17℃/min。根据所用的酸的类型,温度程序的最后步骤包括以下:

[0159] 在涉及盐酸的实验中,将温度设置为从50℃直接到25℃。在达到25℃后,将混合物在25℃下无搅拌孵育3天。

[0160] 在温度程序完成后,对悬浮液进行离心,分离固体,在真空(50℃,5mbar,18小时)下干燥,并通过HT-XRPD进行分析。没有获得悬浮液的实验中的溶剂被完全蒸发。来自形成固体的大多数实验的母液也被蒸发至干。通过HT-XRPD分析溶剂蒸发得到的固体。

[0161] 将所有固体暴露于AAC(40℃/75% RH,持续3天),并通过HT-XRPD重新测量。之后,添加750μl的选定的溶剂。将小瓶转移到Crystall16™平行结晶器中,将悬浮液在50℃下以750rpm搅拌18小时,然后对悬浮液进行离心,分离固体,在真空(50℃,5mbar,18小时)下干燥,并通过HT-XRPD进行分析。实验条件和结果显示在下面的表1中。

[0162] 表1.

实验 ID	API 质量(mg)	溶剂	API 浓度 (mg/ml)	CI	API:CI (1:x)	固相	固相 (AAC)	液相	液相 (AAC)
TCS4	19.7	AcN	26.3	Mes	1.1	Mes	Mes	-	-
TCS9	20.3	MeOH	27.1	Mes	1.1	-	-	Mes	Mes
TCS14	20.4	EtOH	27.2	Mes	1.1	-	-	Mes	Mes
TCS19	20.4	IPA	27.2	Mes	1.1	Mes	Mes	-	-
TCS24	19.6	THF	26.1	Mes	1.1	-	Mes	-	-
TCS29	20.6	Ace	27.5	Mes	1.1	Mes	Mes	-	-

[0164] 甲烷磺酸的实验条件和结果。在所有实验中,均使用750μl的溶剂。抗衡离子(CI)缩写表示纯抗衡离子,而带数字的抗衡离子表示新的盐形式。在对API:CI的悬浮液进行热循环(TCS实验)或等温条件(Ssm实验)后,将固体分离,干燥(5mbar,50℃,18小时),并通过XRPD进行分析。在一些实验中,将液相干燥,并通过XRPD分析所得固体。对大多数固体进行AAC(40℃,75%RH,3天),并通过XRPD重新测量。

[0165] 第一和第二组实验分别表2。针对制备的结晶盐所得到的XRPD图谱如图1(HC1)、2(Mao)和3(Mes)所示。

[0166] 表1.

[0167]

实验 ID	API 质量(mg)	溶剂	API 浓度 (mg/ml)	CI	API:CI (1:x)	固相	固相 (AAC)	液相	液相 (AAC)
TCS4	19.7	AcN	26.3	Mes	1.1	Mes	Mes	-	-
TCS9	20.3	MeOH	27.1	Mes	1.1	-	-	Mes	Mes
TCS14	20.4	EtOH	27.2	Mes	1.1	-	-	Mes	Mes
TCS19	20.4	IPA	27.2	Mes	1.1	Mes	Mes	-	-
TCS24	19.6	THF	26.1	Mes	1.1	-	Mes	-	-
TCS29	20.6	Ace	27.5	Mes	1.1	Mes	Mes	-	-

[0168] 甲烷磺酸的实验条件和结果。在所有实验中,均使用750 μ l的溶剂。抗衡离子(CI)缩写表示纯抗衡离子,而带数字的抗衡离子表示新的盐形式。在对API:CI的悬浮液进行热循环(TCS实验)或等温条件(Ssm实验)后,将固体分离,干燥(5mbar, 50 $^{\circ}$ C, 18小时),并通过XRPD进行分析。在一些实验中,将液相干燥,并通过XRPD分析所得固体。对大多数固体进行AAC(40 $^{\circ}$ C, 75%RH, 3天),并通过XRPD重新测量。

[0169] 表2.

[0170]

实验 ID	API 质量(mg)	溶剂	API 浓度 (mg/ml)	CI	API:CI (1:x)	固相	固相 (AAC)	液相	液相 (AAC)
TCS39	17.0	IPA	22.7	HCl	1.1	HCl	HCl	HCl (ly)	HCl (ly)
TCS105	18.2	THF	24.3	Mao	1.1	Mao + 形式 1	形式 1 pc	形式 1 (ly)	形式 1 (ly)
TCS144	15.5	Ace	20.7	Mao	1.1	Mao	Mao	-	-

[0171] 盐酸和丙二酸盐结晶实验的实验条件和结果。在所有实验中,均使用750 μ l的溶剂。抗衡离子(CI)缩写表示纯抗衡离子,而带数字的抗衡离子表示新的盐形式。在对API:CI的悬浮液进行热循环后,将固体分离,干燥(5mbar, 50 $^{\circ}$ C, 18小时),并通过XRPD进行分析。将液相干燥,并通过XRPD分析所得固体。对大多数固体进行AAC(40 $^{\circ}$ C, 75%RH, 3天),并通过XRPD重新测量。

[0172] 表3

[0173]

抗衡离子	盐形式	AAC 之后的盐形式	水中的溶解度(mg/ml)	TGMS (水%)	水:API (x:1)	吸水	DVS 之后的形式
甲烷磺酸	Mes	Mes	13.3	4.9	1.6	12.2	Mes1
盐酸	HCl	HCl	2.0-5.7	0.0	0.0		
丙二酸	Mao	Mao	5.5-10.2	0.1*	0.0		

[0174] * = 热分解 < 150 $^{\circ}$ C[0175] AAC是指加速老化条件(在40 $^{\circ}$ C和75%相对湿度下3天)。

[0176] 表3示出了本研究中获得的盐形式的概述。通过向盐中添加水直到盐溶解来估计在室温下盐在水中的溶解度。正如盐与水相互作用的方式所表明的那样,所有盐都显示出比游离碱(<0.005mg/ml)更高的溶解度。游离碱没有显示出溶解的迹象,而所有的盐在水中都变成了良好的溶液。根据TGMS数据,可以估计这些盐是否为化学计量水合物。

[0177] 实施例2:放大实验

[0178] 所选盐的制备是在更大的规模上进行的,以获得用于进一步分析表征的额外材料。实验使用100mg (第一组) 或使用1200mg (第二组) Rabeximod的游离碱(形式1,起始材料)开始。对于100mg实验,将起始材料称重到8ml的装有磁力搅拌棒的小瓶中。1200mg实验在100ml Mettler Toledo MultiMax™结晶装置中进行,该装置配备有顶置搅拌器。所选的酸以1M或2M水溶液的形式添加。之后,添加所选的溶剂,并以750rpm的搅拌速率施加搅拌。对搅拌的悬浮液进行如图5所示分布的温度分布,但最后在25℃下孵育9小时。

[0179] 在温度循环之后,使用真空过滤结合布氏漏斗对悬浮液进行过滤。将固体在环境条件下干燥18小时,并通过XRPD测量样品。将从实验TCS32-34和TCS36获得的固体在50℃和5mbar下进一步干燥18小时。将从实验TCS35获得的固体在室温和200mbar下进一步干燥4天,而将从实验TCS37获得的固体在50℃和5mbar下进一步干燥4天。

[0180] 所选的Rabeximod盐的放大实验的实验条件和XRPD结果如表4所示。抗衡离子(CI)缩写表示纯抗衡离子,而带数字的抗衡离子表示API的新的盐形式。“AAC”是指在XRPD分析之前,将样品暴露在40℃/75% RH下3天。将材料在真空条件下干燥,那些细节描述如下。

[0181] 表4.

[0182]

实验 ID	API 质量 (mg)	抗衡离子	API:CI (1:x)	溶剂	溶剂(ml)	API 浓度 (mg/ml)	分离产率(g)	分离产率(%)	结晶度 (XRPD)		
									环境	真空	真空 AAC
TCS31	100.8	Mes	1:1	丙酮	3.8	26.7	-	-	高		高
TCS35	1202.3	Mes	1:1	丙酮	42.0	28.6	1.4	70.2	高	高 ^a	
TCS160	1198.9	HCl	1:1	IPA	45.0	26.6	1.2	84.2	高	高 ^b	
TCS161	1201.8	Mao	1:1	IPA	45.0	26.7	1.4	74.1	高	高 ^b	

[0183] ^a在室温和200mbar下4天;^b在室温和5mbar下1天。

[0184] MES盐和HCl盐的TGMS、DSC、LCMS、¹H-NMR、¹³C-NMR-APT和吸湿分析结果分别如图6-11和图7-15所示。这些结果证实了相应的产物是高纯度的并且具有良好的稳定性属性。

[0185] 实施例3:溶解度

[0186] 定性溶解度测定

[0187] 估计从盐筛中选择的盐在室温下在水中的溶解度。向大约2mg的盐中,按50μl的步长添加溶剂等份,直到肉眼可见材料溶解。

[0188] 定量溶解度测定

[0189] 通过摇瓶法在25℃下在pH为1.2至7.4的3种不同USP缓冲液(50mM)中和在水中测

定Rabeximod游离碱(形式1)的热力学溶解度(实验ID:QSA21-24)(表)。将大约30mg添加到大约1ml的所选的缓冲液中,并在连续搅拌下将所得悬浮液在室温下平衡4小时。在搅拌15分钟后和4小时后,记录溶液的pH。在平衡时间完成后,将悬浮液离心。将溶液进行过滤和稀释,然后进行LCMS分析,以确定溶液中的API浓度。将残余物在真空下干燥,并通过XRPD分析所获得的干燥固体。制备标准LC校准曲线,并测量稀释的母液以测定API浓度。

[0190] 在室温下测定通过放大规模制备的游离碱(形式1)和盐在水中的溶解度。将悬浮液搅拌18小时,之后分离液相并通过LCMS相对于校准线进行测量。将固体干燥并通过XRPD测量以确定固体形式。结果总结在下表中。测定了游离碱(形式1)的最低溶解度。该信号低于校准线,因此溶解度被确定为<0.005mg/ml。两种无水盐Mao1和HC11在水中的溶解度分别为5.3mg/ml和5.5mg/ml。测试了Mes1的最高溶解度,显示溶解度为13.3mg/ml。实验细节如表5所述。

[0191] 表5.Rabeximod游离碱(形式1)以及盐Mes1在水中和在pH范围为1.2-7.4的3种缓冲液中的溶解度测定的实验细节和结果。报告了15分钟和4小时后溶液的pH。在平衡4小时后,通过用LCMS相对于校准线测量液相来测定溶解度。

实验 ID	形式(来自实验 ID)	介质	pH 缓冲液	15 分钟后的 pH	4 小时后的 pH	溶解度 (mg/ml)
QSA9	形式 1 (SM)	HCl	1.2	1.2	1.4	0.013
QSA10	Mes (TCS35)			1.5	1.3	0.014
QSA13	形式 1 (SM)	磷酸盐缓冲液	6.5	6.0	6.2	0.005*
QSA14	Mes (TCS35)			4.2	4.4	0.042
QSA17	形式 1 (SM)	磷酸盐缓冲液	7.4	7.3	7.4	<LOD
QSA18	Mes (TCS35)			6.0	6.1	0.003*
QSA21	形式 1 (SM)	水	-	-	-	<0.005
QSA22	Mes (TCS35)					13.26
QSA23	HCl (TCS160)					5.45
QSA24	Mao (TCS161)					5.26

[0193] 实施例4:药代动力学表征

[0194] 制剂制备

[0195] 在给药当天制备IV制剂。通过将化合物称重到棕色玻璃小瓶中来制备制剂;在给药当天,将Clin01eic 20%静脉注射用脂肪乳液(200μg/mL,Tamro)添加试管中(1,5mg/mL在20% Clin01eic中)。在给药前将制剂均化5分钟。在制备后5小时内施用IV制剂。

[0196] 在施用前一天制备PO制剂。通过在PO溶媒(6mg/ml在0.45% (v/v)吐温80-0.11% (w/v)羧甲基纤维素钠(CMC)的自来水中)中配制测试项目来制备制剂。将悬浮液涡流混合并冷藏(+4℃)储存过夜。在给药当天,在给药前将制剂均化15分钟。

[0197] 动物实验

[0198] 研究中使用首次参加实验的动物(参见表6)。它们被圈养在单独通风(IVC)的笼子

里,每组六只小鼠。笼子配有白杨垫层(4HP和PM90L, Tapvei, Estonia)和纸股(Sizzlenest, Datesand, UK)作为筑巢材料,以及纸浆舱和红色聚碳酸酯圆柱体(Datesand, UK)作为笼子增添装饰。IVC笼子的温度($22 \pm 2^\circ\text{C}$)、湿度($55 \pm 10\%$)和换气率(75次/小时)以及动物饲养室的12/12小时光/暗循环(早上6点开启500勒克斯照明,下午6点开启1.5勒克斯照明)都被自动控制和维持。在研究之前,允许动物适应该地点至少五天。动物在任何时候都可以随意获得食物(SDS饮食, RM1(E)801002, Special Diets Services, UK)和自来水,每天观察确保它们生活安定。

[0199] 表6. 动物组和治疗组。

动物		
[0200]	品系、物种	CD-1 小鼠
	性别	雄性
	年龄	5 周; 2020 年 12 月 14 日出生
	体重*	25-32 g
	来源	Charles River Laboratories, Germany
	取样	
	时间点(i.v.)	0.083、0.167、0.25、0.5、1、2、4、8 和 24 小时
	时间点(p.o.)	0.083、0.167、0.25、0.5、1、2、4、8 和 24 小时
[0201]	取样方法	隐静脉穿刺/心脏穿刺
	取样管	K2EDTA 管
	治疗组	
	化合物	剂量, 途径, 体积
	Rabeximod 形式 1	3 mg/kg, IV, 2 ml/kg
	Rabeximod 形式 1	30 mg/kg, PO, 5 ml/kg
	Mao1	3 mg/kg, IV, 2 ml/kg
	Mao1	30 mg/kg, PO, 5 ml/kg
	HCl	3 mg/kg, IV, 2 ml/kg
	HCl	30 mg/kg, PO, 5 ml/kg
	Mes1	3 mg/kg, IV, 2 ml/kg
	Mes1	30 mg/kg, PO, 5 ml/kg
	空白, 无化合物	不给药

[0202] *所有动物在给药前一天称重。

[0203] 通过指定的途径施用研究化合物,并记录给药和血液取样的时间。在取样后30分钟内,将血液离心进行血浆分离(室温;10分钟;2700G)。将血浆样品转移到塑料管中,冷冻

并在-20℃下储存,直到进行分析。必要时记录动物的临床迹象和一般行为。

[0204] 药代动力学分析

[0205] 使用Phoenix 64 (Build 6.4.0.768) WinNonlin (版本6.4) 软件,使用非房室法(NCA) 计算药代动力学参数。对所有动物均使用标称剂量。通过对数浓度-时间曲线的末端线性部分的最小二乘回归分析计算末期半衰期($T_{1/2}$)。血浆浓度-时间曲线下面积(AUC)是用递增值的线性梯形法则和递减值的对数梯形法则直到最后一个可测量浓度($AUC_{0-最后}$)确定的,并在可能的情况下使用末端消除期到无穷大的外推;使用了以下标准:

[0206] • 用于计算 λ 的最少3个点(不包括 C_{max}) (调整后的 $R^2 > 0.85$)

[0207] • $T_{1/2}$ 比用于计算 λ 的时间跨度短

[0208] • $AUC_{无穷大外推} \% < 20\%$

[0209] 最大血浆浓度(C_{max})和达到 C_{max} 的时间(t_{max})直接从血浆浓度数据中得出。

[0210] 在i.v.和p.o.施用后,Rabeximod和Rabeximod盐的平均($\pm$ SD)血浆浓度与时间曲线的关系如图16和图17所示。这些附图说明了以下发现。

[0211] 在以3.00mg/kg i.v.施用游离碱形式的Rabeximod后,血浆浓度在给药后第一个0.0833小时的取样时间达到峰值,平均 C_{max} 为150ng/ml,平均 C_0 为351ng/ml。 $AUC_{0-无穷大}$ 和 $T_{1/2}$ 的值分别为681h*ng/ml和8.99小时。CL和 V_{ss} 值分别为73.4ml*min/kg (占小鼠肝血流量(120ml/min/kg; Ring等人, 2011)的61.2%) 和49.41/kg。在以30.0mg/kg p.o.施用Rabeximod后,血浆浓度在给药后4.00小时达到峰值,平均 C_{max} 为728ng/ml。 $AUC_{0-最后}$ 值为8330h*ng/ml。

[0212] 在以3.00mg/kg i.v.施用Rabeximod HCl后,血浆浓度在给药后第一个0.0833小时的取样时间达到峰值,平均 C_{max} 为454ng/ml,平均 C_0 为600ng/ml。 $AUC_{0-无穷大}$ 和 $T_{1/2}$ 的值分别为2220h*ng/ml和8.43小时。CL和 V_{ss} 值分别为22.6ml*min/kg (占小鼠肝血流量(120ml/min/kg)的18.8%) 和14.21/kg。在以30.0mg/kg p.o.施用Rabeximod HCl后,血浆浓度在给药后4.00小时达到峰值,平均 C_{max} 为893ng/ml。 $AUC_{0-最后}$ 值为13700h*ng/ml。

[0213] 在以3.00mg/kg i.v.施用Rabeximod Mao后,血浆浓度在给药后第一个0.0833小时的取样时间达到峰值,平均 C_{max} 为355ng/ml,平均 C_0 为390ng/ml。 $AUC_{0-无穷大}$ 和 $T_{1/2}$ 的值分别为1870h*ng/ml和8.43小时。CL和 V_{ss} 值分别为26.8ml*min/kg (占小鼠肝血流量(120ml/min/kg)的22.3%) 和16.91/kg。在以30.0mg/kg p.o.施用Rabeximod Mao后,血浆浓度在给药后0.17小时达到峰值,平均 C_{max} 为1140ng/ml。 $AUC_{0-最后}$ 值为11400h*ng/ml。

[0214] 在以3.00mg/kg i.v.施用Rabeximod Mes后,血浆浓度在给药后第一个0.0833小时的取样时间达到峰值,平均 C_{max} 为383ng/ml,平均 C_0 为507ng/ml。 $AUC_{0-无穷大}$ 和 $T_{1/2}$ 的值分别为2320h*ng/ml和9.80小时。CL和 V_{ss} 值分别为21.5ml*min/kg (占小鼠肝血流量(120ml/min/kg)的17.9%) 和15.91/kg。在以30.0mg/kg p.o.施用Rabeximod Mes后,血浆浓度在给药后2.00小时达到峰值,平均 C_{max} 为707ng/ml。 $AUC_{0-最后}$ 和 $T_{1/2}$ 的值分别为11600h*ng/ml和8.93小时。

[0215] 结论是,当比较 $AUC_{0-最后}$ 值的数值时,口服施用后暴露的等级顺序如下: Rabeximod HCl > Rabeximod Mes > Rabeximod Mao > Rabeximod。

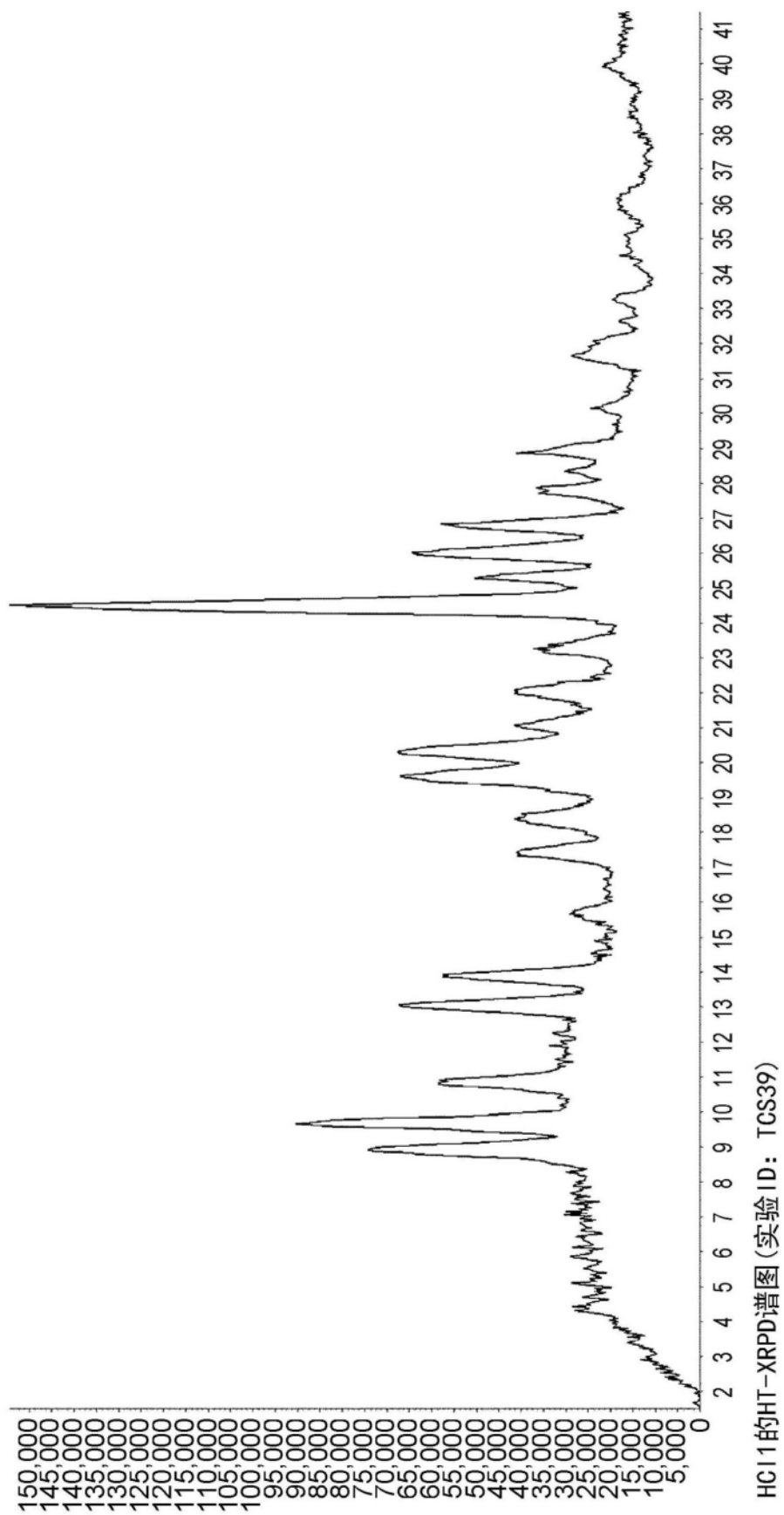


图1

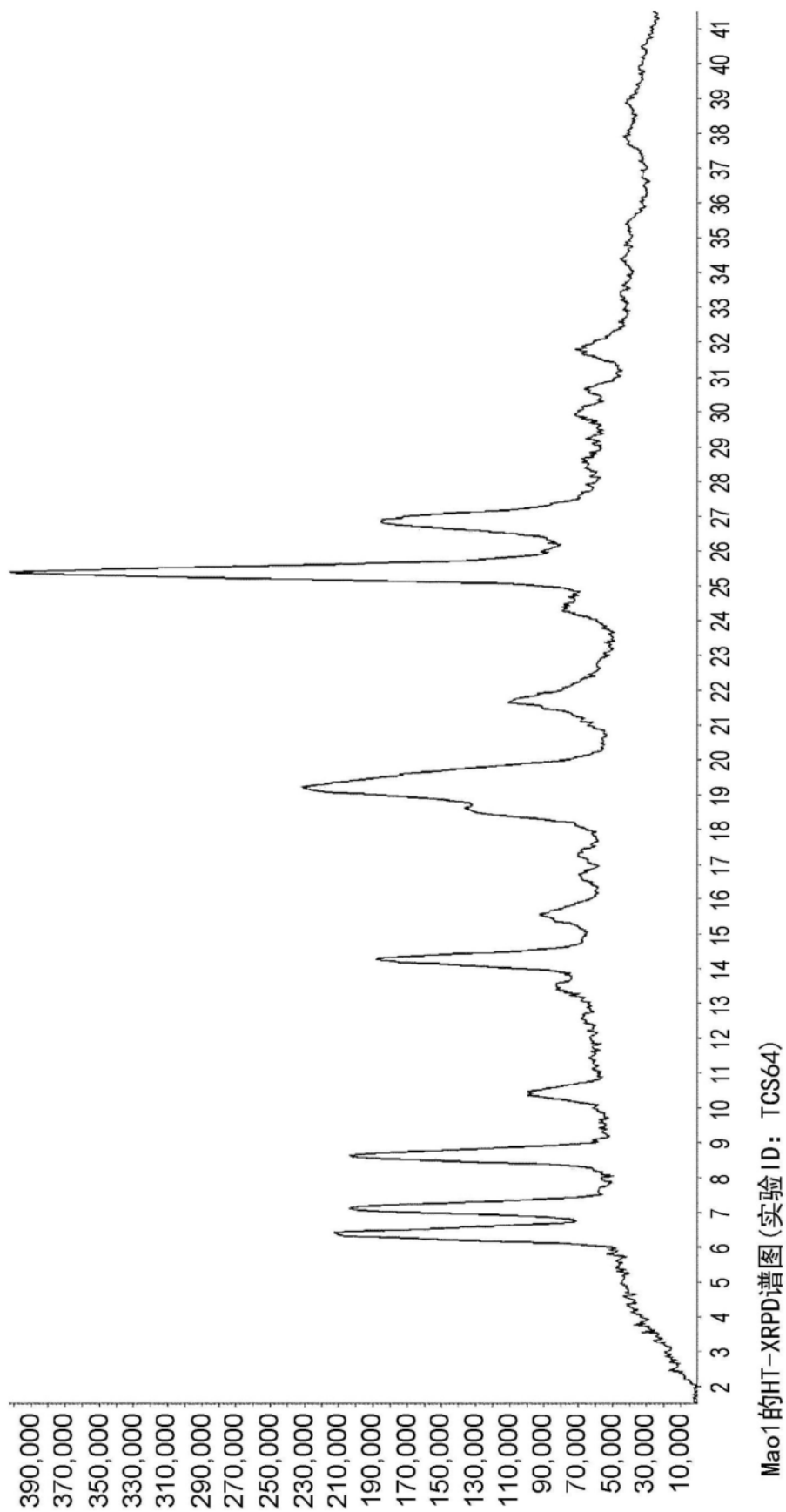


图2

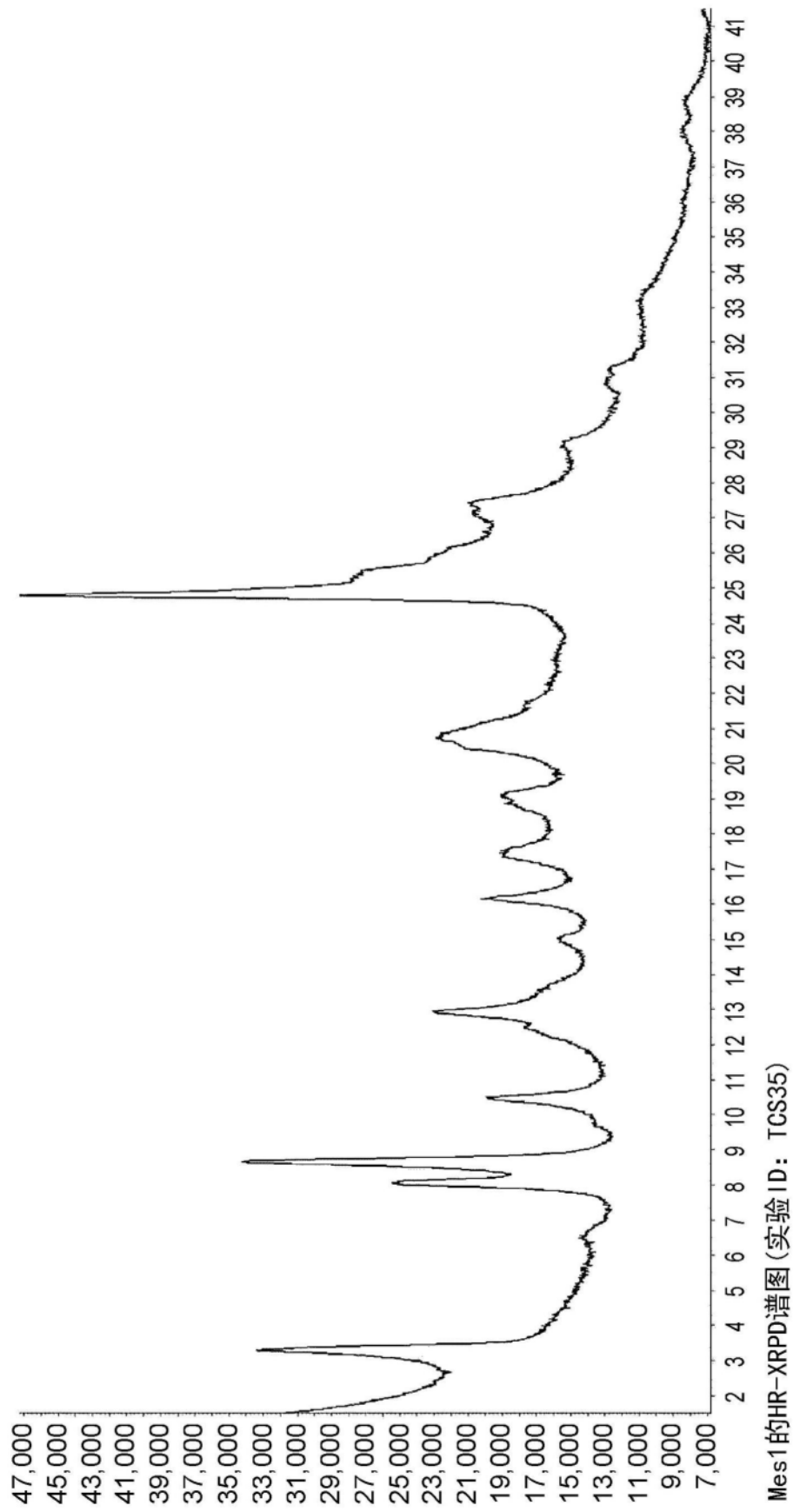


图3

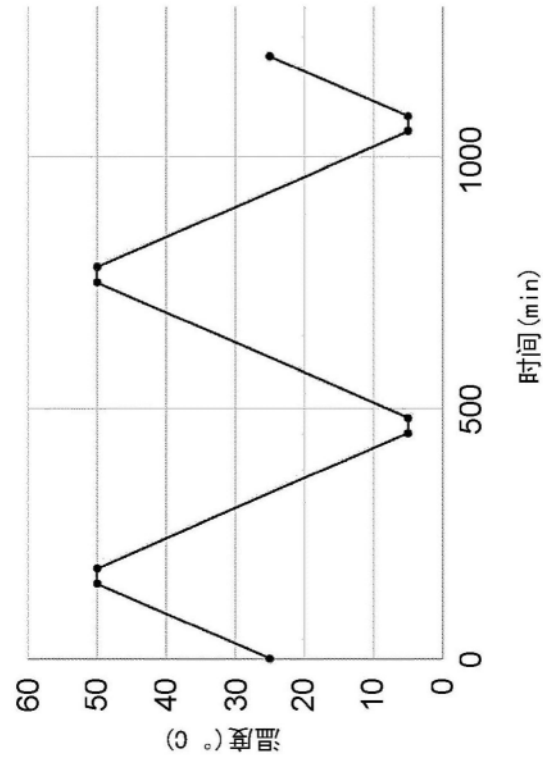


图4

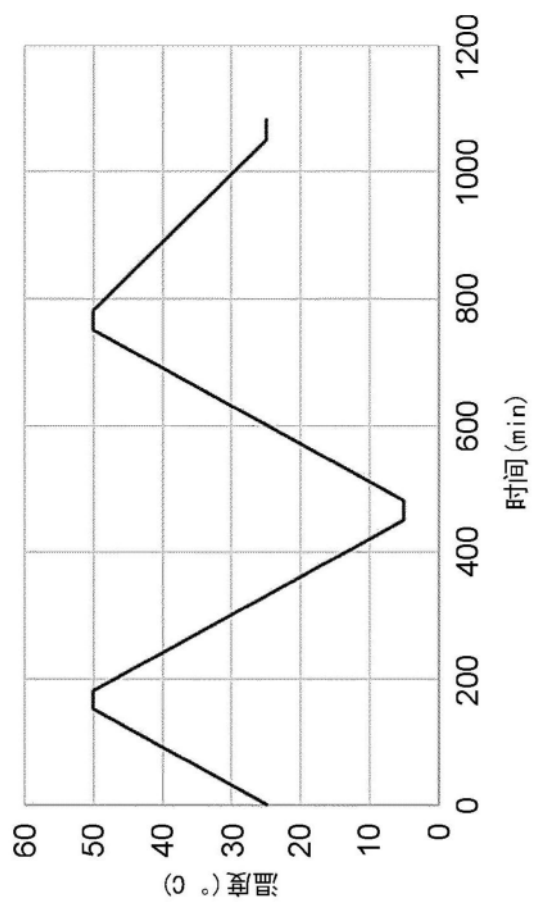


图5

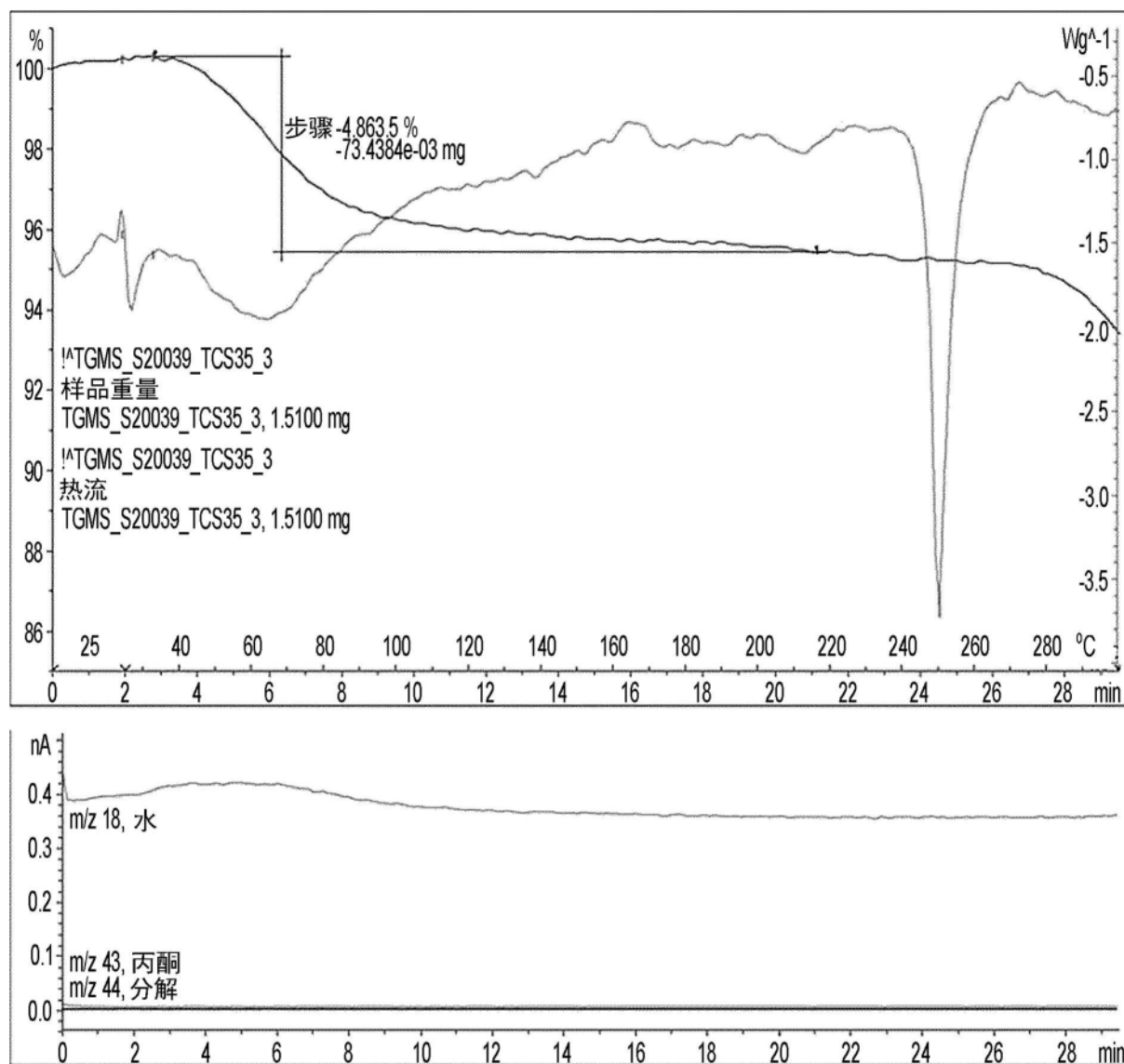


图6

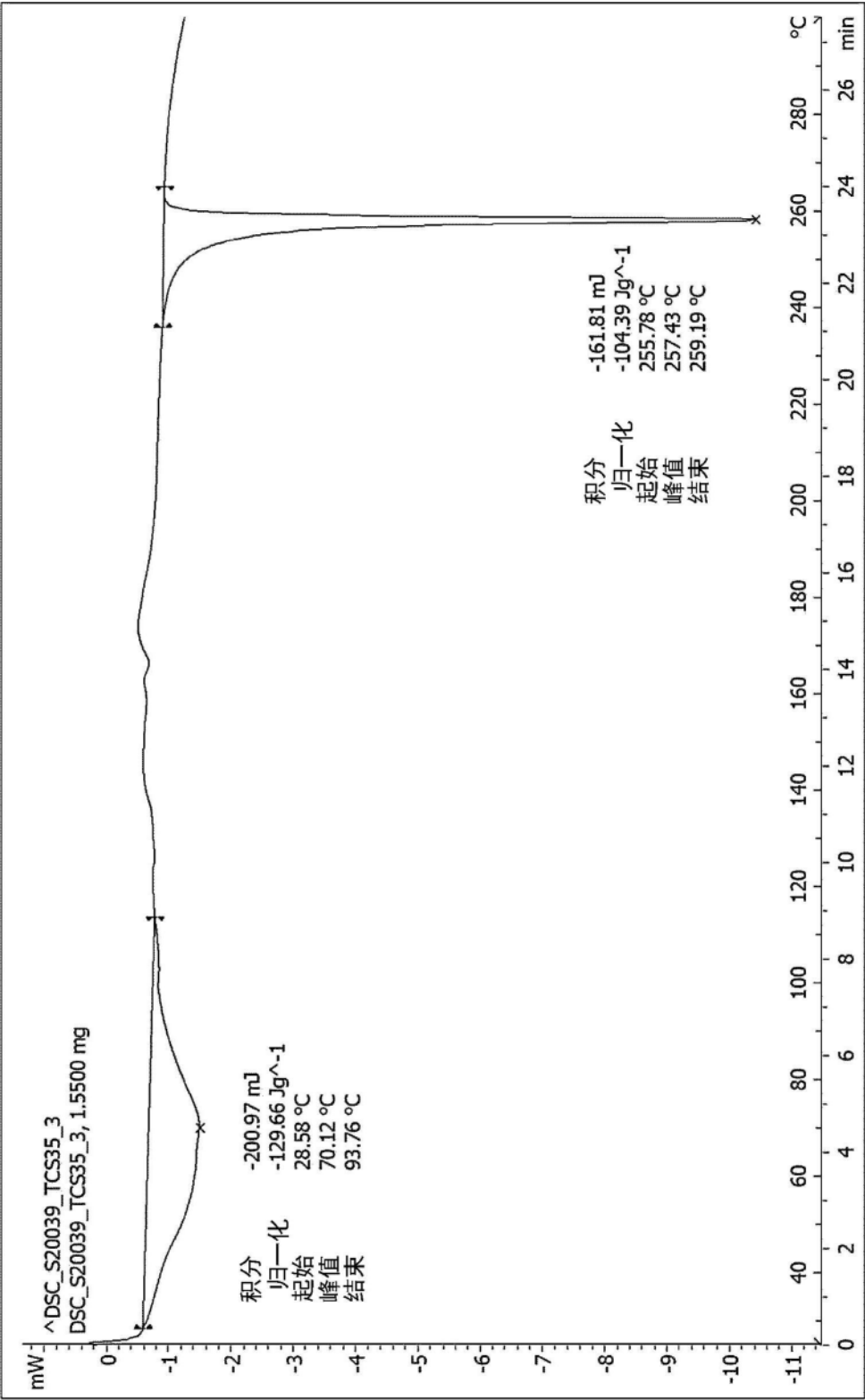


图7

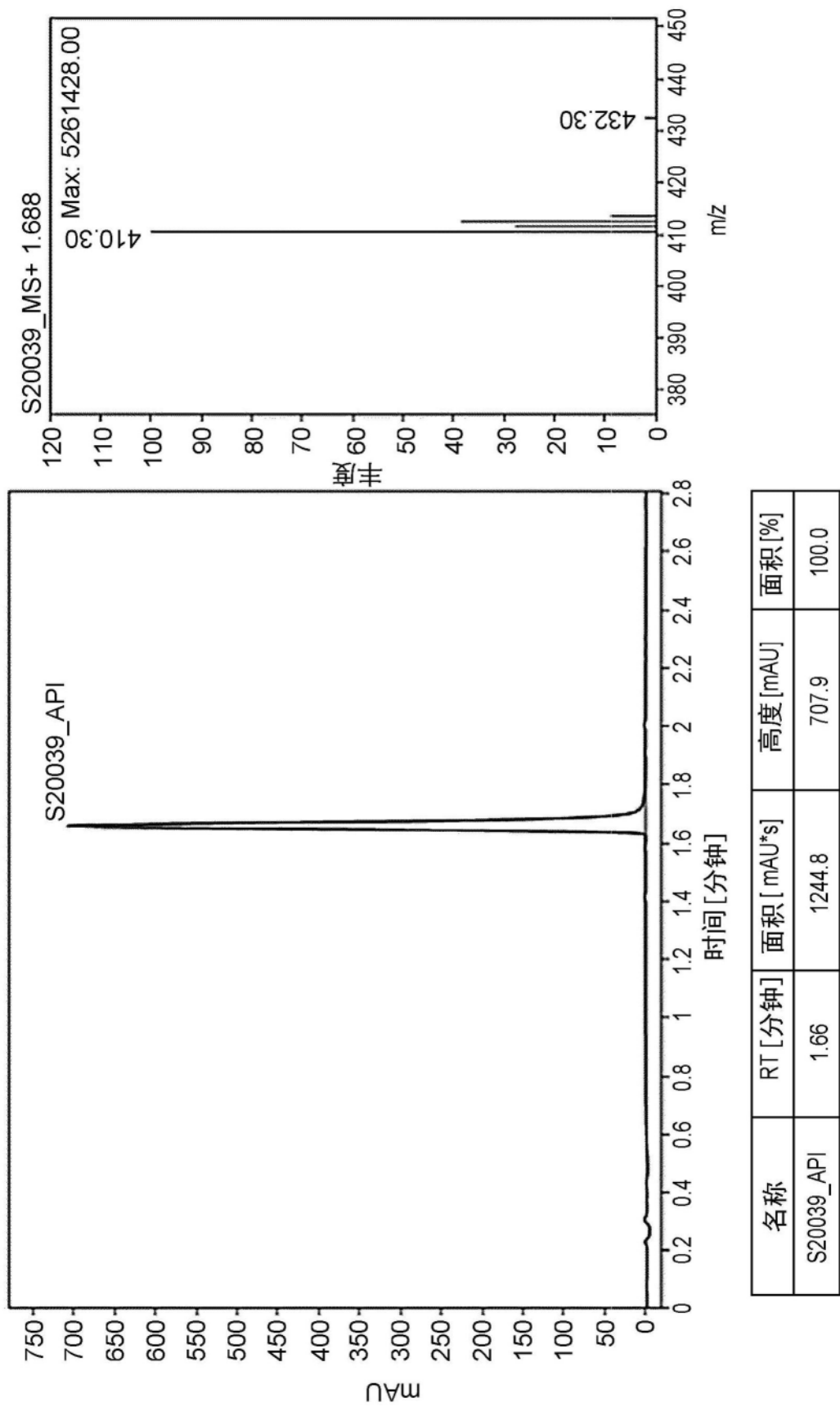


图8

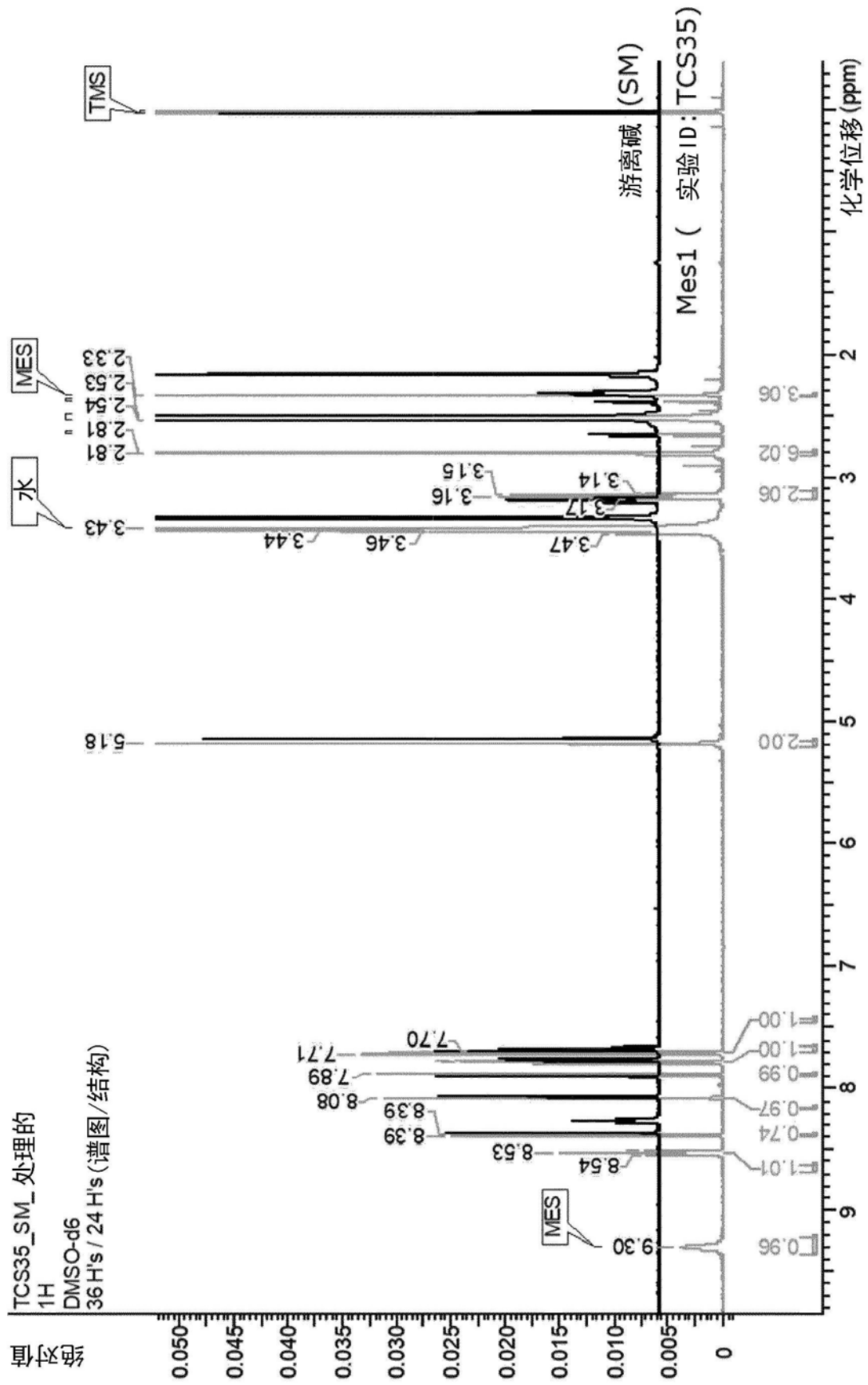


图9

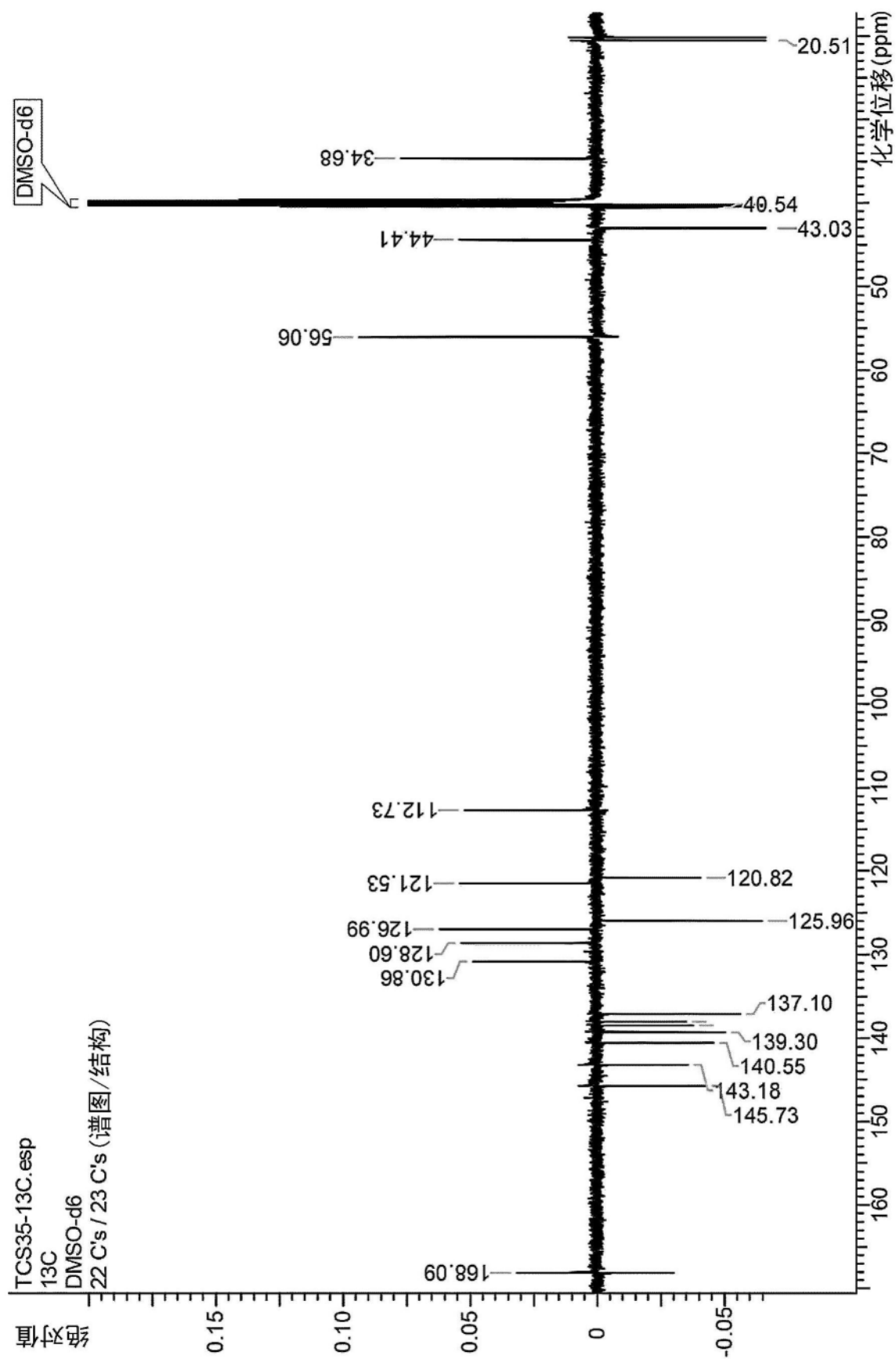


图10

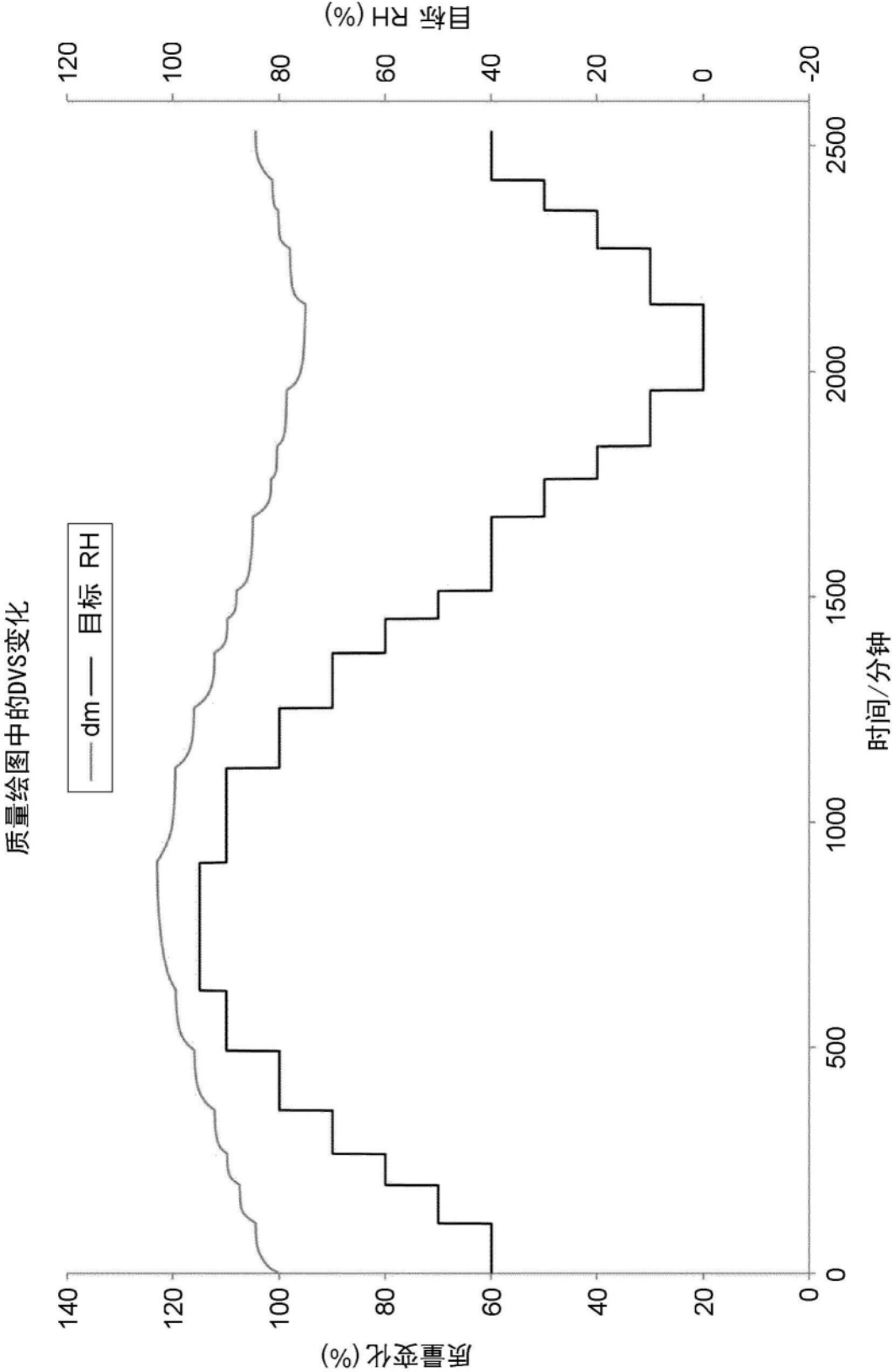


图11A

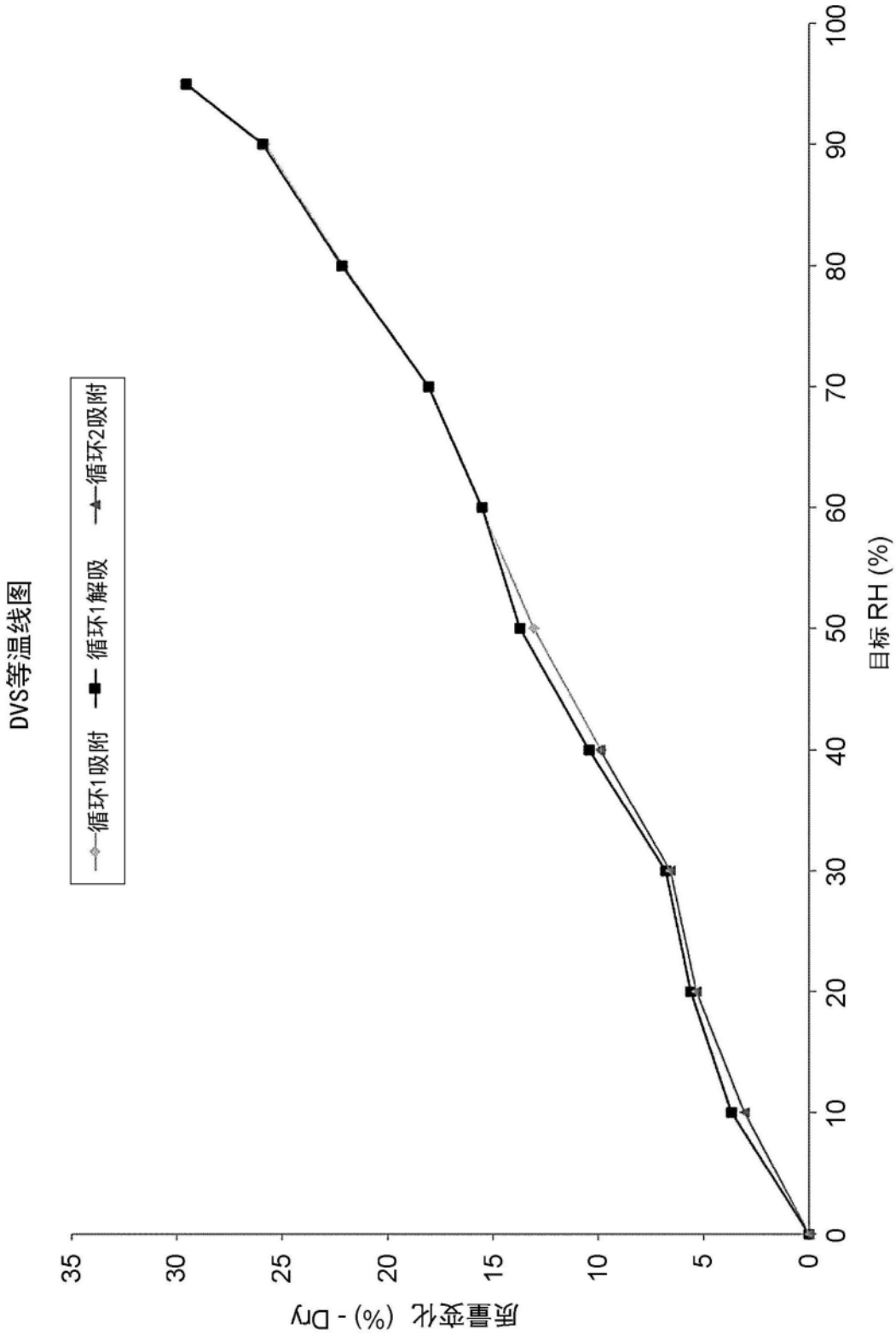


图11B

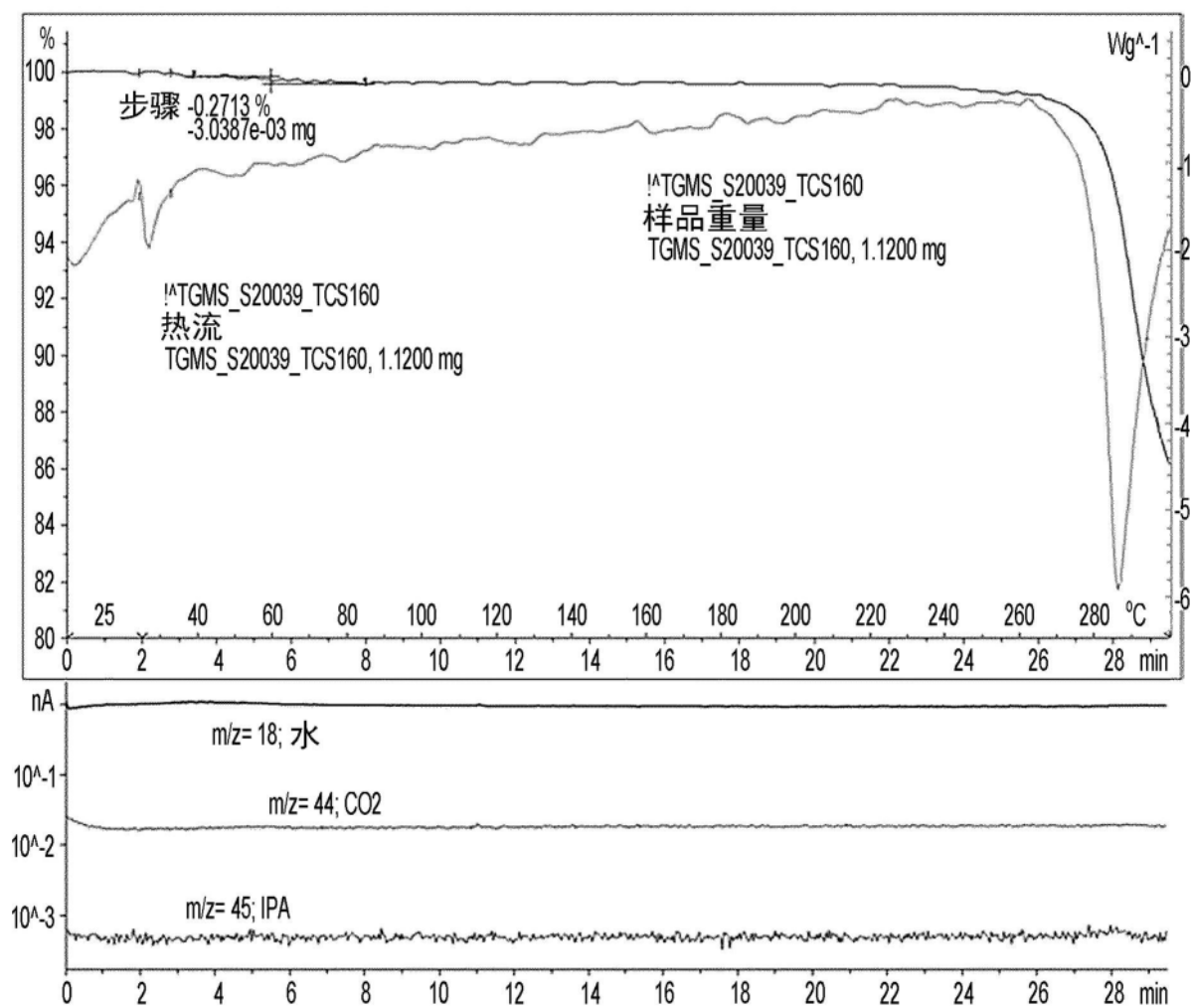


图12

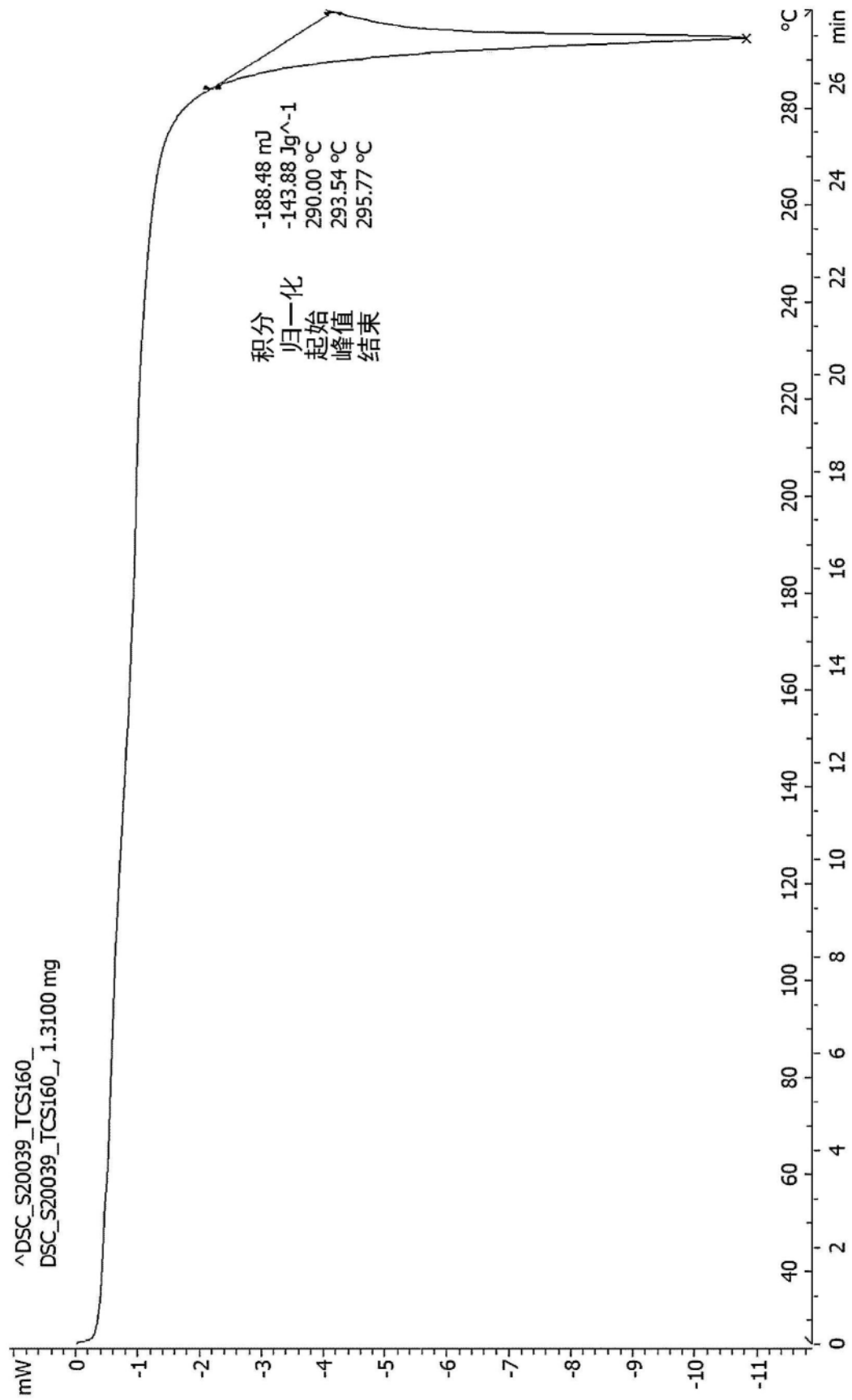


图13

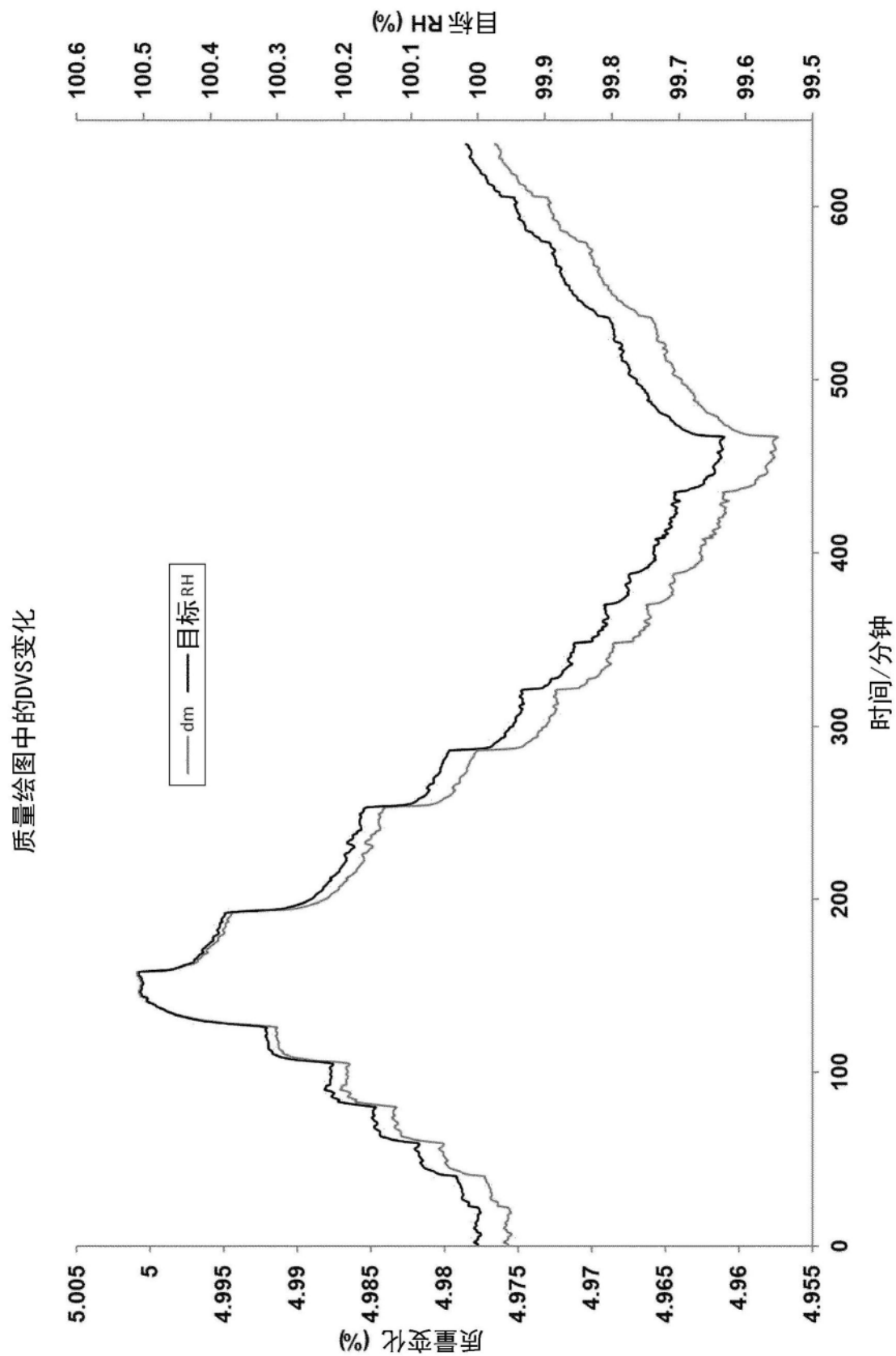


图15A

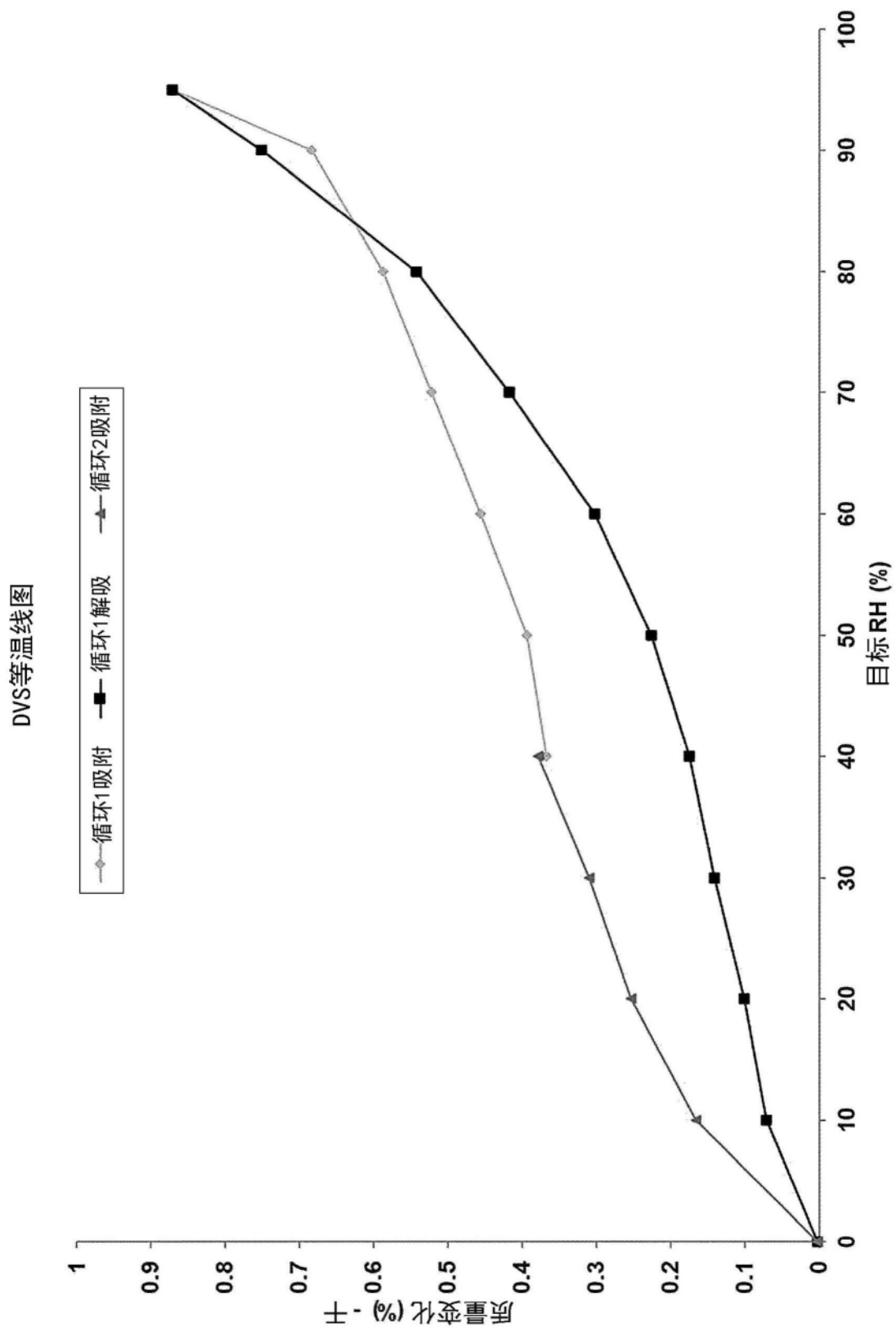


图15B

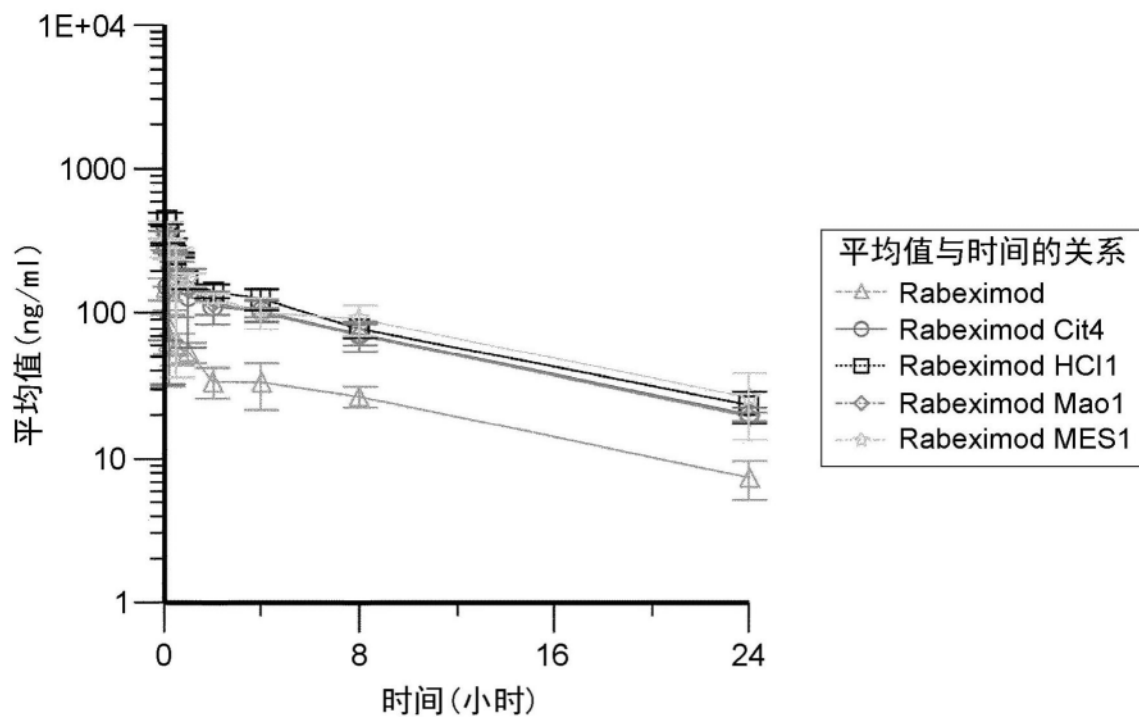


图16

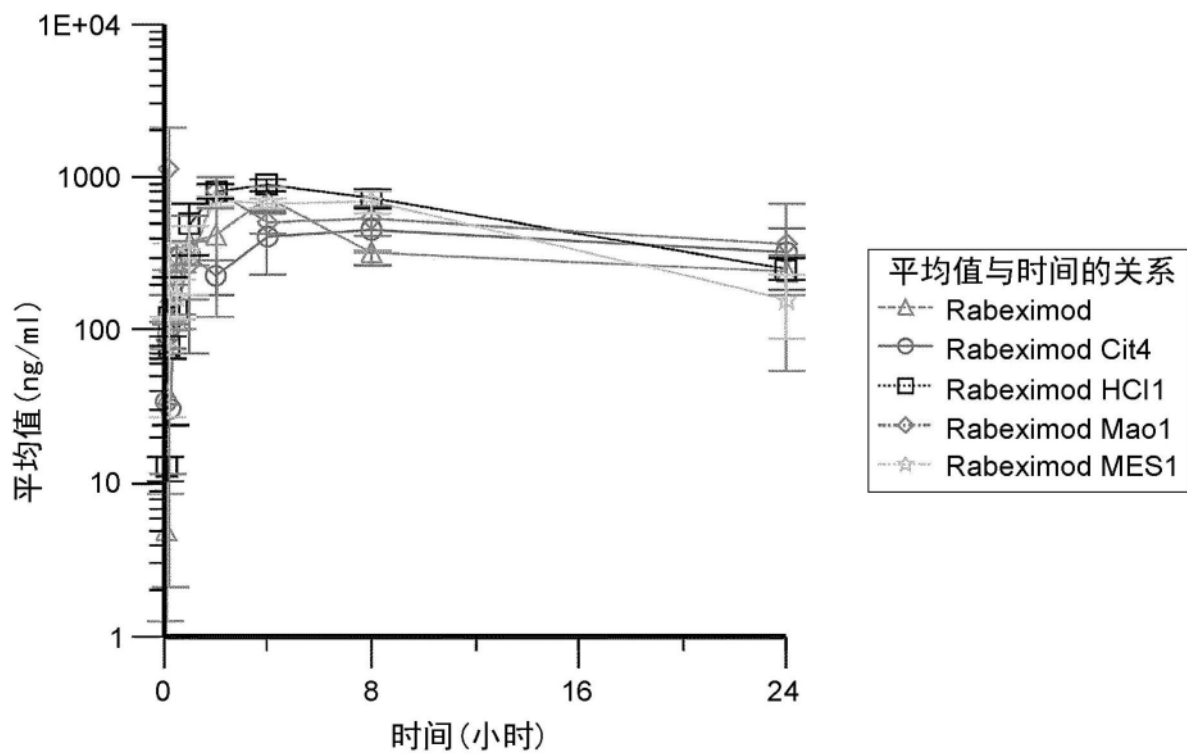


图17