



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 01816631.8

[43] 公开日 2004 年 1 月 14 日

[11] 公开号 CN1468231A

[22] 申请日 2001.9.26 [21] 申请号 01816631.8

[30] 优先权

[32] 2000.10.3 [33] US [31] 60/237,563

[86] 国际申请 PCT/EP01/11119 2001.9.26

[87] 国际公布 WO02/28855 英 2002.4.11

[85] 进入国家阶段日期 2003.3.31

[71] 申请人 霍夫曼-拉罗奇有限公司

地址 瑞士巴塞尔

[72] 发明人 安东尼奥·A·阿尔巴诺

万塔尼·潘巴蒂

哈普瑞特·K·桑赫

讷尼特·哈戈文达斯·沙阿

[74] 专利代理机构 中科专利商标代理有限责任公
司

代理人 王 旭

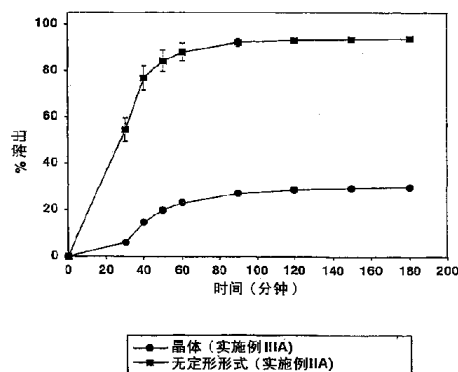
权利要求书 2 页 说明书 12 页 附图 6 页

[54] 发明名称 细胞周期抑制剂的无定形形式

[57] 摘要

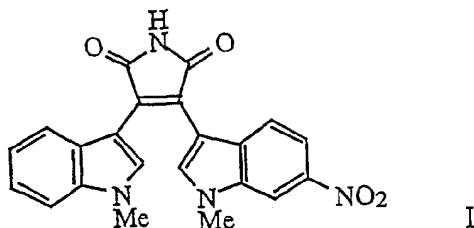
本发明提供一种式(I)化合物的无定形药学活性形式，其基本上不含有晶体化合物。

式 I 的无定形化合物 (按照实施例 11A 制备) 和晶体化合物 (按照实施例 3 制备) 的溶出曲线



1. 无定形形式的下式化合物:

5



10

2. 权利要求 1 的化合物, 基本上不含有晶体化合物。

3. 权利要求 1 或 2 的化合物, 其中该化合物不超过 20% 结晶形。

4. 权利要求 1 或 2 的化合物, 其中该化合物不超过 10% 结晶形。

5. 一种制备权利要求 1 的化合物的方法包括:

15

(a) 将晶体的式 I 的化合物溶解在有机溶剂中; 和

(b) 由步骤(a)的溶液沉淀出所需的式 I 化合物的无定形。

20

6. 权利要求 5 的方法, 其中步骤(a)使用的有机溶剂选自乙醇, 甲醇, 丙酮, 二甲基亚砷, N,N 二甲基乙酰胺, N,N-二甲基甲酰胺, N-甲基吡咯烷酮, 二甘醇 乙醚, glycofural, 碳酸丙烯酯, 四氢呋喃, 聚乙二醇类, 和丙二醇类。

7. 权利要求 6 的方法, 其中步骤(a)使用的有机溶剂是二甲基乙酰胺。

8. 权利要求 5 的方法, 其中步骤(b)中的沉淀作用是通过将步骤(a)的溶液加入到冷水溶液中来完成。

9. 权利要求 8 的方法, 其中水溶液的温度是约 2°C—约 10°C。

25

10. 权利要求 9 的方法, 其中水溶液的 pH 是一种所述的无定形形式的式 I 化合物在其中不溶的 pH。

11. 权利要求 10 的方法, 其中该水溶液的 pH 是约 2—约 7。

12. 一种制备权利要求 1 的化合物的方法包括:

(a) 将晶形的式 I 化合物溶解在有机溶剂中; 和

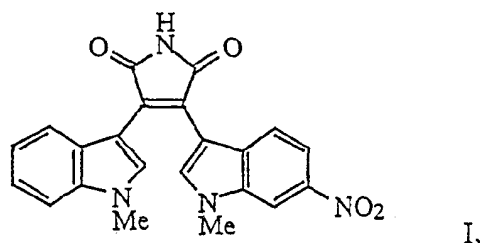
- (b)除去有机溶剂。
- 13.权利要求 12 的方法, 其中该有机溶剂选自乙醇, 甲醇, 丙酮, 二甲基亚砜, N,N 二甲基乙酰胺, N,N-二甲基甲酰胺, N-甲基吡咯烷酮, 二甘醇乙醚, glycofural, 碳酸丙烯酯, 四氢呋喃, 聚乙二醇类, 和丙二醇类。
- 5 14.权利要求 12 的方法, 其中该有机溶剂是通过喷雾干燥除去的。
- 15.权利要求 12 的方法, 其中该有机溶剂是通过冷冻干燥除去的。
- 16.一种制备权利要求 1 的化合物的方法包括:
- (a)将晶体式 I 的化合物溶解在超临界流体中; 和
- (b)除去超临界流体。
- 10 17.权利要求 16 的方法, 其中超临界流体是液氮或液态二氧化碳。
- 18.一种制备权利要求 1 的化合物的方法包括:
- (a)将晶体式 I 的化合物溶解在有机溶剂中; 和
- (b)从步骤(a)所得的溶液中用超临界流体如液氮或液态二氧化碳萃取出所述的有机溶剂。
- 15 19.一种制备权利要求 1 的化合物的方法, 包括:
- (a)使晶体式 I 的化合物连续暴露在温控挤出机(热熔挤出机)下, 该挤出机设定不同的温度梯度; 和
- (b)快速冷却步骤(a)的挤出物。
- 20.一种药物组合物, 其含有权利要求 1 所述的化合物和药用载体。
- 20 21.权利要求 20 所述的药物组合物, 其不含有形状稳定剂。
- 22.权利要求 20 的药物组合物, 其不含有离子型聚合物。
- 23.按照权利要求 2—16 任一项所述的方法制备的权利要求 1 的化合物。
- 24.一种治疗肿瘤的方法, 该方法包括将权利要求 1 或 2 所述的化合物
- 25 施用给人或动物。
- 25.权利要求 1 或 2 所述的化合物在制备用于治疗肿瘤的药物中的用途。
- 26.在此所述的新化合物, 制备, 药物组合物, 方法和用途。

细胞周期抑制剂的无定形形式

5

本发明提供一种式 I 的化合物的无定形、药学活性形式：

10



15

其基本上不含有晶体化合物。化合物也称作 3-(1-甲基-3-吲哚基)-4-(1-甲基-6-硝基-3-吲哚基)-1H-吡咯-2,5,-二酮。本发明还提供一种制备该式 I 的化合物的无定形形式的方法以及含有此类化合物的药物组合物。

20

式 I 的化合物的晶形是已知的。参见例如 US 专利号.Re. 36,736。这种晶形具有约 285°C 的熔点(同上, 22 栏, 5-6 行)。这种化合物属于一类新的细胞周期抑制剂和具有有效抗癌治疗活性的细胞凋亡诱导物, 特别是实体瘤例如非小细胞肺、乳腺和结肠直肠癌。参见例如 US 专利号 6,048,887 和 EP 0 988,863。在其早已公知的晶形中, 式 I 的化合物在生理 pH(介于 1.5-8.0 内)下具有较低的水溶解度(<10 μ g/mL), 并且由此小于其最佳生物利用度(小于 5%在 Fi 102. 08.2001 狗中)。由于这是一种治疗活性的化合物, 所以希望得到具有改进的溶解度/溶解速率和生物利用度的式 I 的化合物的一种形式。

25

治疗活性化合物的生物利用度一般由(i)该化合物的溶解度 /溶解速率, 和(ii)该化合物透过对象胃肠道膜的分配系数/渗透性决定的。治疗活性化合物的不良生物利用度的主要原因通常是该化合物的溶解度/溶解速率低。不良的生物利用度也常常伴随患者血药水平非常易变且不可预知的剂量/治疗效果, 这归因于患者对该药物的吸收作用不稳定。

可以利用若干技术来提高那些水溶解度较低的治疗活性化合物的生物利用度。这些技术在 EP 0988,863 的背景部分作了探讨。正如 EP 0988,863 所述,其公开了一种新的方法,按照该方法通过掺混或分散在离子型聚合物中使具有较低水溶解度的结晶治疗活性化合物更容易被生物利用。

5 虽然利用某些方法将具有较低水溶解度的治疗活性化合物分散或掺混离子型聚合物中可以提高这些化合物的生物利用度,这些方法可是繁琐和耗时的。这些方法也需要将治疗活性化合物与聚合物一起施用给患者,这可能不总是有益或所希望的。所以希望开发一种制备具有其无定形形式的式 I 的化合物的方法,其不需要将这样的化合物分散在聚合物中。

10 本发明涉及式 I 的化合物的无定形形式,其基本上不含有该化合物的晶形。式 I 化合物的这种无定形(也称作"高能")形式表现出比该化合物的已知晶形更快的溶解速率和更优异的生物利用度。本发明的化合物的无定形形式的生物利用度明显高于该化合物的晶形,因此能够使该化合物的无定形形式可以应用在癌性瘤的处理或治疗中。

15 本发明的另一方面涉及稳定的、无定形的式 I 化合物,其在一段时间内能够保持稳定的无定形形式以使该化合物能够具有与稳定剂(例如离子型聚合物)无关的合理保存期(例如,室温下两(2)年)。

本发明的另一方面是一种制备式 I 化合物的高能无定形的方法。

20 本发明的另一方面是一种药物组合物,其含有治疗有效量的无定形形式的式 I 的化合物。

图 1 是按照已知方法制备的具有该化合物显著结晶性的粉末 X 射线衍射图谱。

图 2 是本发明制备的具有该化合物的无定形特征的式 I 的化合物的粉末 X 射线衍射图谱。

25 图 3 按照上述已知方法制备的式 I 化合物的差示扫描量热分析图,显示具有该化合物的显著吸热线,由此证实该化合物呈晶形的。

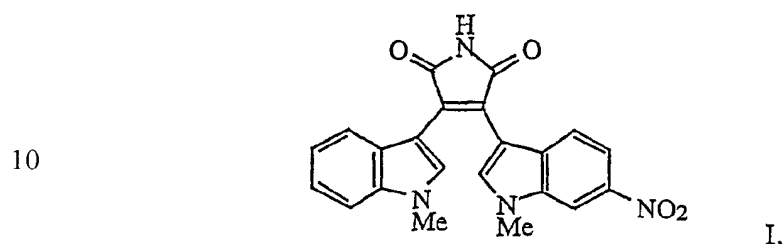
图 4 是按照本发明制备的式 I 化合物的差示扫描量差热分析图,显示具有约 112°C 的玻璃化转变温度由此证明该化合物呈无定形形式的。

图 5 是按照本发明制备的式 I 的化合物的粉末 X 射线衍射图谱,证明

该化合物当暴露在加速保存条件下(40 C/75% RH, 密封玻璃瓶内 6 个月)时保持其无定形形式而与形状稳定剂无关。

图 6 是含有按照已知方法(实施例 IIIA)和按照本发明(实施例 IIA)所述制备的式 I 的化合物的制剂的溶出图。该图表明本发明的化合物(无定形形式)比先前使用的该化合物的晶形更加易溶。

本发明提供式 I 化合物的高能、无定形的药学活性形式



如按照本发明所制备, 式 I 的化合物的无定形形式与其晶形相比具有非常高的生物利用度(约高 15 倍), 确保该化合物可以用于药物产品中。该化合物的无定形形式不但具有比晶形优异的溶解速率和生物利用度, 而且因其约 112°C 的高玻璃化转变温度, 其保持其无定形性质而与形状稳定剂无关。

本本发明的化合物无定形形式极其容易向患者传递呈晶形时具有较低水溶解度和不良生物利用度的药学活性化合物。

20 在此所用的下列术语具有下面的含义。

"无定形化合物"是指在差示扫描量热差示热分析图中没有典型吸热线, 且在粉末 X 射线衍射图谱中不具备特征峰的化合物。该化合物的这种形式也被称作该化合物的"高能"形式。

"溶出速率"是指特定化合物溶解在特定溶出介质中的速率。。

25 "形状稳定剂(form stabilizers)"是指例如离子型聚合物的物质, 其可以用来使化合物固定为特定的物理形式(例如无定形形式), 由此保护该化合物免受环境因素(例如加热、湿气等)。

"患者"是指人体对象。

"较低的水溶解度"是指特定的化合物或其形式具有小于约 10 μ g/mL 的

水溶解度。

"基本上不含有晶体化合物"是指该化合物不超过约 20%是晶形, 优选不超过约 10%是晶形。

5 制备无定形式 I 的化合物的方法

式 I 的化合物的高能或无定形形式可以通过下列方法制备:

a)喷雾干燥或冷冻干燥: 将呈晶形的式 I 化合物溶解在有机溶剂中。适合该方法的有机溶剂包括乙醇、甲醇、丙酮、二甲基亚砷、N,N-二甲基乙酰胺、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甘醇、乙醚、
10 glycofural、碳酸丙烯酯、四氢呋喃、聚乙二醇类, 和丙二醇类。随后通过喷雾干燥或冷冻干燥除去溶剂, 生成无定形的式 I 化合物。

b)溶剂控制沉淀: 在本发明的一个优选实施方式中, 将晶形式 I 的化合物溶解在有机溶剂中。适合该方法的有机溶剂包括上面 a)所列的那些。随后令该化合物沉淀, 优选在水溶液中, 并且优选在该化合物不溶解的
15 pH 下。所得沉淀是无定形的式 I 化合物并且可以通过该领域技术人员的已知方法回收, 例如通过过滤、离心和洗涤等。随后将回收的沉淀干燥(在空气、烘箱和真空中)并且所得的固体可以进一步加工, 例如通过该领域的已知方法研磨、磨碎和微粉化为细粉。

c)超临界流体: 将晶形式 I 化合物溶解在超临界流体例如液氮或液态
20 二氧化碳(在超临界温度和压力)。随后通过蒸发除去该超临界流体, 留下呈无定形形式的沉淀化合物。或者, 将式 I 的化合物溶解在上述 a)所述的有机溶剂中。超临界流体用作萃取该有机溶剂的反溶剂, 使该化合物以无定形形式从有机溶剂中沉淀出来。

d)热熔挤出: 将晶体的式 I 化合物连续投入到温控挤出机内, 挤出机
25 设定在不同的温度梯度。具体地, 将晶体化合物挤出且熔化在热熔挤出机内, 随后急速冷却至室温, 由此使该化合物固化或沉淀为无定形形式。所得的挤出物此后可以研磨为细粉。。

按照本发明制备的式 I 化合物的无定形形式此后可以与适当的药学可接受赋形剂合用生成施用给患者的药物制剂。这些赋形剂包括, 但不限于

无机或有机载体、填充剂、粘合剂、崩解剂、润滑剂、防腐剂、增溶剂、稳定剂、湿润剂、乳化剂、甜味剂、着色剂矫味剂、改变渗透压的盐、缓冲剂、包衣剂、抗氧剂和控释剂，它们在该领域中均是已知的。

由上述方法 a)-d)获得的产物可以进一步通过该领域的已知方法加工以便掺混在药物制剂中。

本发明还涉及药物制剂，其含有治疗有效量的无定形形式的式 I 化合物。“治疗有效量”是指，在所述剂量和所述时间段内，获得预期治疗结果所需要的量。此外，该治疗有效量必须是总的治疗有益效果超过任何毒性或不良副作用的量。化合物的治疗有效量常常随着疾病状况、被治疗对象的年龄和体重而变化。所以，剂量方案一般在各个具体情况中并由该领域技术人员调整以符合个体要求。

呈无定形形式的化合物 I 的用于经口服给予体重约 70kg 成人的适当日剂量是约 100mg—约 1,500 mg, 优选约 400 mg—约 800 mg, 尽管当指征时可以超出该上限。该日口服剂量可以作为单剂量给药或者分次给药，或者用于非肠道给药，可以作为连续输注给药。

本发明还涉及一种制备无需将该化合物分散在离子型聚合物中的无定形的式 I 化合物的方法。

本发明涉及一种制备式 I 的化合物的方法，其中(a)将晶体式 I 的化合物溶解在有机溶剂中和(b)使所需的无定形的式 I 化合物由步骤(a)的溶液沉淀出来。

优选地，在上述方法中使用的有机溶剂选自乙醇、甲醇、丙酮、二甲基亚砷、N,N-二甲基乙酰胺、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甘醇乙醚、glycofural、碳酸丙烯酯、四氢呋喃、聚乙二醇类，和丙二醇类。更优选地，该溶剂是二甲基乙酰胺。

优选地，通过将步骤(a)的溶液加入到冷的水溶液来完成沉淀。

优选地在本发明的上述方法中，所述水溶液的温度是约 2°C—约 10°C，且其使无定形形式的式 I 化合物不溶解在该水溶液中的 pH。优选地该水溶液的 pH 是约 2—约 7。

本发明还涉及另一种制备式 I 化合物的方法，其中将呈晶形的式 I 化

合物溶解在有机溶剂中；并且除去该有机溶剂。该有机溶剂可以通过喷雾干燥或通过冷冻干燥除去。

5 优选该有机溶剂选自乙醇、甲醇、丙酮、二甲基亚砷、N,N-二甲基乙酰胺、N,N-二甲基甲酰胺、N-甲基吡咯烷酮、二甘醇、乙醚、glycofural、碳酸丙烯酯、四氢呋喃、聚乙二醇类，和丙二醇类。更优选，除去该有机溶剂。

本发明涉及一种制备式 I 的化合物的方法，其中将晶体式 I 的化合物溶解在超临界流体；并且除去超临界流体。

优选地，该超临界流体是液氮或液态二氧化碳。

10 本发明还涉及一种制备式 I 的化合物的方法，其中将晶体式 I 的化合物溶解在有机溶剂中；并且用超临界流体如液氮或液态二氧化碳萃取出该溶液中的有机溶剂。

15 本发明还涉及一种制备式 I 的化合物的方法，其中使晶体式 I 的化合物连续暴露在温控挤出机(热熔挤出机)下，该挤出机设定不同的温度梯度下并且使挤出物快速冷却。

本发明还提供一种用于治疗肿瘤的含有式(I)的化合物和药学载体的药物组合物。优选该药物组合物不含有形状稳定剂。

优选该药物组合物不含有离子型聚合物。

20 本发明还提供一种治疗肿瘤的方法，其中将式(I)的化合物施用给人体或动物。

最后，本发明提供式 I 的化合物在制备用于治疗肿瘤的药物中的用途。

下列实施例举例说明制备本发明的无定形化合物的方法以及含有该无定形化合物的药物组合物。这些实施例举例说明本发明而不构成限定。

25

实施例

实施例 I：无定形化合物的通用方法

将晶体式 I 的化合物溶解在二甲基乙酰胺中。随后将得到的溶液缓慢加入到冷的(2-10°C)pH 为 2-7 的水溶液中。由此使该化合物沉淀成为无定

形化合物。沉淀用冷的(2-10℃)水洗涤数次直至残余的二甲基乙酰胺少于0.3%。将沉淀干燥且研磨成所需大小的颗粒。

实施例 II：含有无定形式 I 化合物的药物制剂的制备

- 5 按照上述实施例 I 制备的无定形化合物的粉末随后与多种药学赋形剂混和形成下列药物制剂：

实施例 IIA

<u>制剂%</u>	<u>w/w</u>
无定形的式 I 化合物	50
无水乳糖	50

- 10 制剂的制备方法：

1. 将按照实施例 I 制备的无定形的式 I 化合物(通过激光散射仪测定平均粒度为 8 微米)，与无水乳糖在混合器中混和 10 分钟。

2. 将由步骤 1 得到的粉末混合物包封在胶囊内。

- 15 实施例 IIB

<u>制剂%</u>	<u>w/w</u>
无定形的式 I 化合物	50
Methocel K100LV	40
微晶纤维素	7
滑石	2
硬脂酸镁	1

制剂的制备方法：

1. 将按照实施例 I 制备的无定形的式 I 化合物(通过激光散射仪测定平均粒度为 8 微米)，与 Methocel K100LV(羟丙基甲基纤维素；Dow Chemicals, MI)在混合器中混和 10 分钟。
- 20

- 2.步骤 1 的粉末混合物用纯水制粒直至获得均匀颗粒。
- 3.将步骤 2 所得的颗粒在 50℃的烘箱内干燥，直至水分含量小于 2% 为止，其测定是通过在干燥器中于 90℃下处理后损失而测定。
- 4.将步骤 3 的干燥颗粒研磨为细粉。
- 5.步骤 4 的研磨颗粒于微晶纤维素、滑石和硬脂酸镁混和 5 分钟。
- 6.步骤 5 的粉末混合物用压片机压缩为片剂。

实施例 IIC

制剂%	w/w
无定形的式 I 化合物	50
玉米淀粉	10
乳糖	39
滑石	1

制剂的制备方法:

- 1.将按照实施例 I 制备的无定形的式 I 化合物(通过激光散射仪测定平均粒度为 8 微米), 与玉米淀粉、乳糖和滑石混和 10 分钟。
- 2.将步骤 1 的粉末混合物包封在胶囊内。

实施例 IID

制剂%	w/w
无定形的式 I 化合物	50
Klucel LF	45
滑石	3
硬脂酸镁	2

制剂的制备方法:

- 1.将按照实施例 I 制备的无定形的式 I 化合物(通过激光散射仪测定平均粒度为 8 微米), 与 Klucel LF(羟丙基纤维素; Hercules Inc., NJ)在混合器中混和 10 分钟。

- 2.步骤 1 的粉末混合物用纯水制粒直至获得均匀颗粒。
3. 将步骤 2 所得的颗粒在 50℃的烘箱内干燥，直至水分含量小于 2% 为止，其测定是通过在干燥器中于 90℃下处理后损失而测定。
- 4.将步骤 3 的干燥颗粒研磨为细粉。
- 5 5.步骤 4 的研磨颗粒于滑石和硬脂酸镁混和 5 分钟。
- 6.步骤 5 的粉末混合物用压片机压缩为片剂。

实施例 III: 含有晶体式 I 化合物的药物制剂的制备

实施例 IIIA

<u>制剂%</u>	<u>w/w</u>
晶体式 I 的化合物	50
无水乳糖	50

10

制剂的制备方法: 将按照 US 专利 RE 36,736 的教导制备的晶体式 I 化合物(通过激光散射仪测定平均粒度为 9 微米)与无水乳糖在混合器中混和 10 分钟。

15 实施例 IIIB

<u>制剂%</u>	<u>w/w</u>
晶体式 I 化合物(微粉化)	4
Methocel K3	4
纯水	92

制剂的制备方法:

- 1.把 Methocel K3(羟丙基甲基纤维素; Dow Chemicals, MI)分散在一部分的纯水中使之浓度为 20% w/w 且充分混和直至得到均匀分散体。
- 2.把晶体式 I 化合物(平均粒度为 5 微米,并且按照 US 专利 RE 36,736 教导的方法制备)加入到步骤 1 的分散体中且充分混和直至得到均匀混悬液。
- 20 3.把余量的纯水加入到步骤 2 的混悬液中且充分混和。

实施例 IIIC

<u>制剂%</u>	<u>w/w</u>
晶体式 I 化合物(纳米化)	4
Methocel K3	4
纯水	92

制剂的制备方法:

- 5 1.把 Methocel K3(羟丙基甲基纤维素; Dow Chemicals, MI)分散在一部分的纯水中, 使之浓度为 20% w/w 且充分混和直至得到均匀分散体。
- 2.把晶体式 I 化合物(平均粒度为 5 微米,并且按照 US 专利 RE 36,736 教导的方法制备)加入到步骤 1 的分散体中且充分混和直至得到均匀混悬液。
- 10 3.令步骤 2 的混悬液通过作为研磨介质的含 DYNAMIL 的玻璃珠(平均直径 0.2-0.5 mm)以获得式 I 化合物的平均粒度为 300-400 nm。

实施例 IV: 无定形和晶体式 I 的化合物的物理性质的比较

- 进行多种试验比较按照 US 专利 RE 36,736 教导的方法制备的晶体式 I
- 15 化合物与按照本发明制备的无定形式 I 化合物。比较参数包括结晶性、玻璃化转变温度、溶出速率和生物利用度。比较的结果如下所述且附图所示。

 如图 1 中粉末 X 射线衍射图谱所示, 按照 US 专利 RE 36,736 教导的方法制备的式 I 化合物具有显著的结晶性。

- 20 如图 2 中粉末 X 射线衍射图谱, 本发明所述的方法制备的式 I 化合物显然是无定形。

 如图 3 中差示扫描量热差示热分析图所示, 按照 US 专利 RE 36,736 教导的方法制备的式 I 化合物在 287°C 下具有显著的吸热线, 因此是晶体。

- 25 如图 4 中差示扫描量热差示热分析图所示, 按照本发明教导的方法制

备的式 I 化合物具有约 112°C 的玻璃化转变温度，因此是无定形的。

如图 5 中粉末 X 射线衍射图谱所示，按照本发明教导的方法制备的无定形式 I 化合物即使是在加速保存条件下也保持其无定形性质。这意味着按照本发明制备的化合物稳定且适合混和在药物制剂中。

5 通过一种两级(两种溶出介质)溶出方法来评估含有晶形式 I 化合物(实施例 III A)实施例 IIIA 的制剂和含有无定形的式 I 化合物的(实施例 II A)制剂的溶出作用。在 I 级中，采用 300mL 的去离子水在 37°C±0.5°C 使用浆叶。在 II 级中，在 I 级溶出开始后 25 分钟时将 600mL 的存在于 0.015M 磷酸盐缓冲液中的 6%w/v 十二烷基硫酸钠(pH 6.8 在 37±0.5°C 平衡)小心地
10 加入到溶出容器中。在不同时间间隔采集等份试样且通过 UV 分光光度法分析。

如图 6 所示，上述溶出评估的结果清楚地表明，含有无定形的式 I 化合物(实施例 II A)的制剂的溶出性比含有晶形式 I 的化合物(实施例 III A)的制剂快且更加完全。

15 此外，在体重约 10kg 的 beagle 犬中评估对含晶形式 I 的化合物(实施例 III B 和 III C)和无定形的式 I 化合物(实施例 II A)的制剂的生物利用度。给各狗施用含 90mg 的式 I 化合物的制剂。在给药(0 小时)之前和在给药后 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24, 36 和 48 小时收集血样。用 EDTA 作为抗凝剂。冷离心后分离各血浆样本且在分析之前冷冻在最低 -60°C 的安瓿瓶中。萃
20 取出血浆中的式 I 化合物且用阳离子 Turbulonspray LC-MS/MS 分析法 [HPLC 使用 HP1100 LC 体系, Hewlett-Packard, Inc.(Agilent Technologies, Wilmington, DE) 和质谱光谱仪使用 PE-Sciex API-3+(Perkin-Elmer Instruments, Wilton, CT), 电离方式: Turbulonspray, 500C, 阳离子]测定式 I 化合物的血浆浓度。校准范围是 1-1,000 ng/mL 使用 100-μL 血浆样本。

25 被评估的非分隔药动学参数是式 I 化合物的最大血浆浓度(C_{max})、达到 C_{max} 的时间(T_{max})、血浆浓度-时间(零至无穷)曲线下的面积($AUC_{0-\infty}$)、剂量(mg/kg)标准化(normalized) C_{max} (C_{max} /剂量)和剂量标准化 AUC(AUC /剂量)。观察的 C_{max} 和 T_{max} 直接由各动物的浓度-时间曲线获得。利用 WinNonline 的线性梯形规律计算 $AUC_{0-\infty}$ (Professional Edition version 1.5,

Pharsight Corporation, Mountain View, CA)。

这种生物利用度评估的结果如下表 I 所示。表 I 中的数据显示，在狗中无定形形式的式 I 化合物(实施例 IIA)的生物利用度明显高于当将该化合物的晶形(实施例 IIIB 和 IIIC)以常规剂型给予动物(例如微粉和纳米级混悬液)时。

表 I: 式 I 的化合物在狗¹中在单剂量口服给药(10mg/kg)后的药动学

制剂	AUC _{0-∞} /剂 量(ng.h/ml)/	T _{max} (hr)	C _{max} (ng/ml)	% 生物利 用度 ²
微粉化晶体化合物 I 混 悬液(实施例 IIIB)	29.5±8.3	1.0±0.0	55±17	4
纳米级晶体化合物 I 混 悬液(实施例 IIIC)	86.1±13.7	1.5±0.6	142±53	11
无定形化合物+无水乳 糖(实施例 IIA))	468±87	3.4±1.9	874±452	61
IV 制剂	766±82	N/A ₃	N/A ₃	100

1. N=4, 2 只雄性和 2 只雌性并且平行设计。

2. 当于 IV 制剂比较时

10 3. 没有获得。

虽然本发明的组合物和方法已经在优选实施方式中说明，但对于该领域的技术人员来说很显然在不脱离本发明的概念、实质和范围下可以作出多种改变。

15

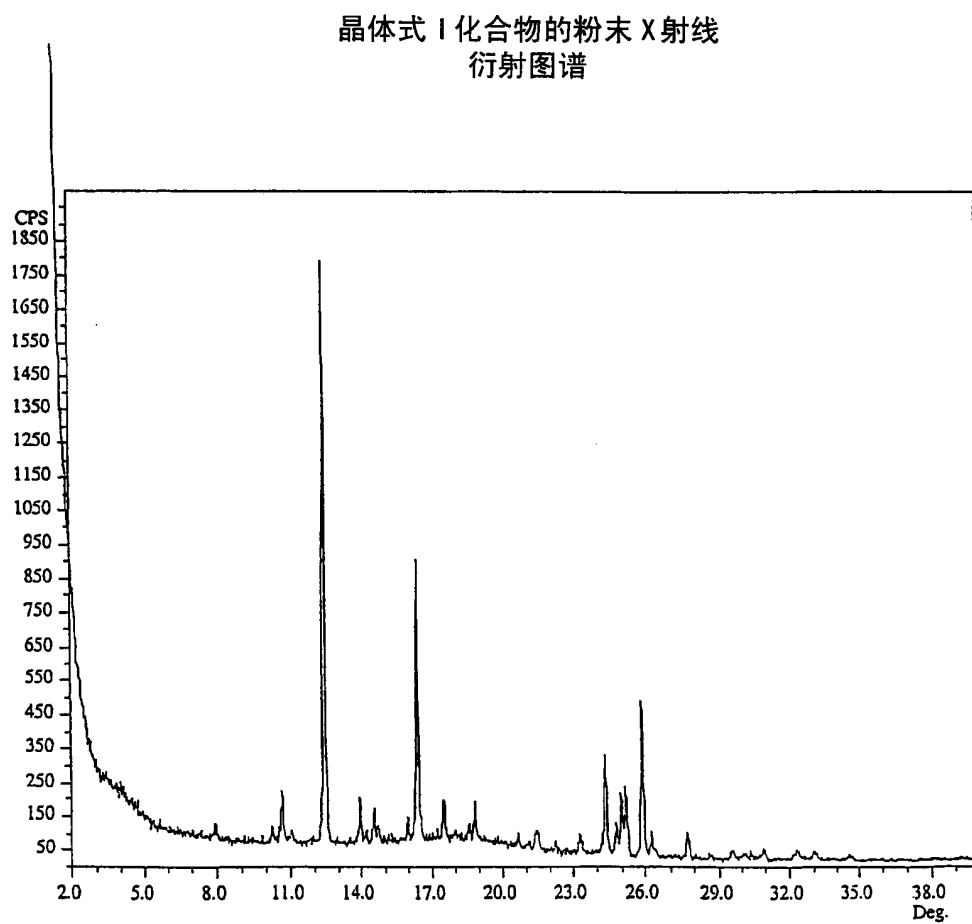


图 1

按照本发明制备的式 I 的化合物的粉末
X 射线衍射图谱

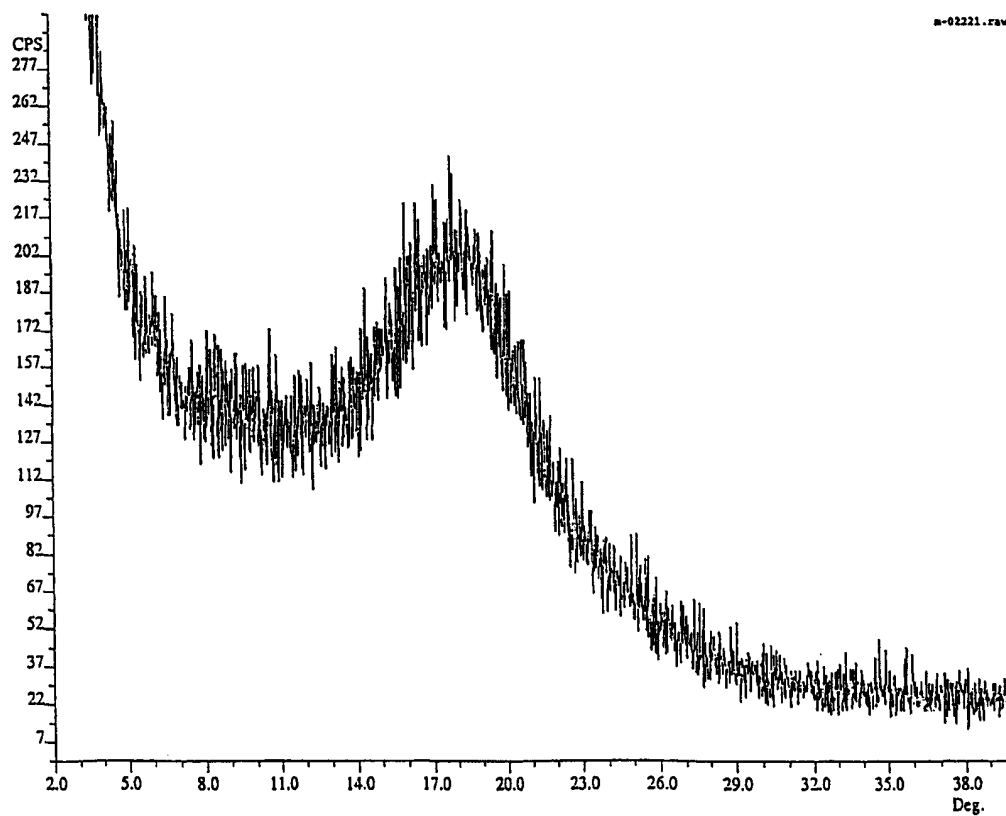


图 2

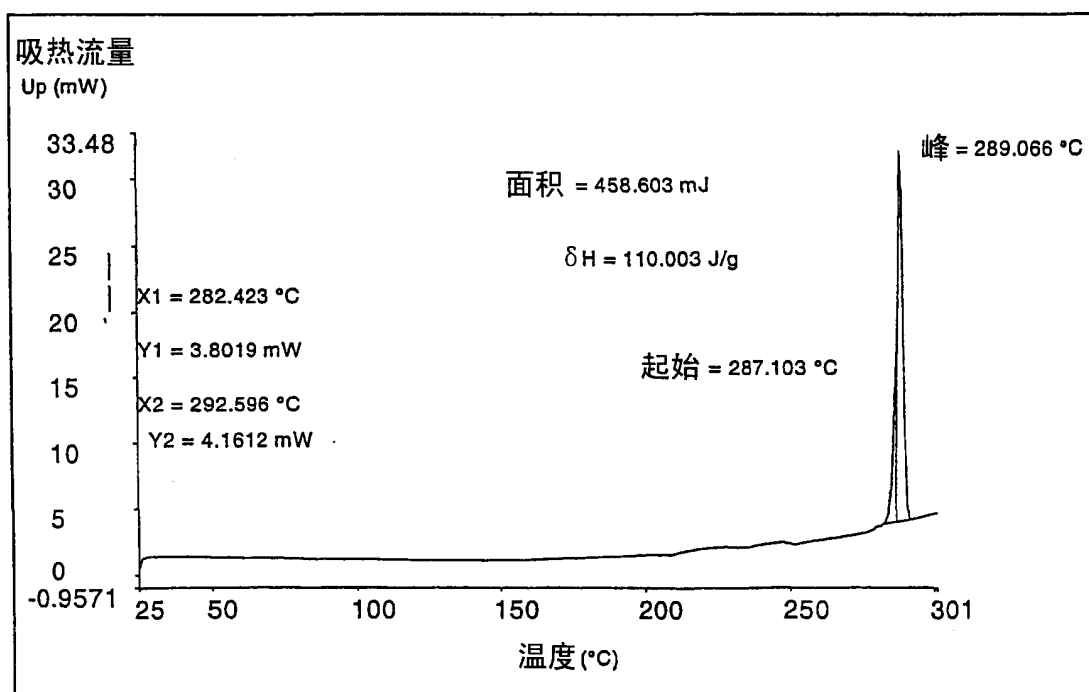
按照已知方法制备的式 I 化合物的差示扫描
量热分析图

图 3

无定形式 I 化合物的动力学差示扫描量热
热分析图证明玻璃化转变温度约 112 °C

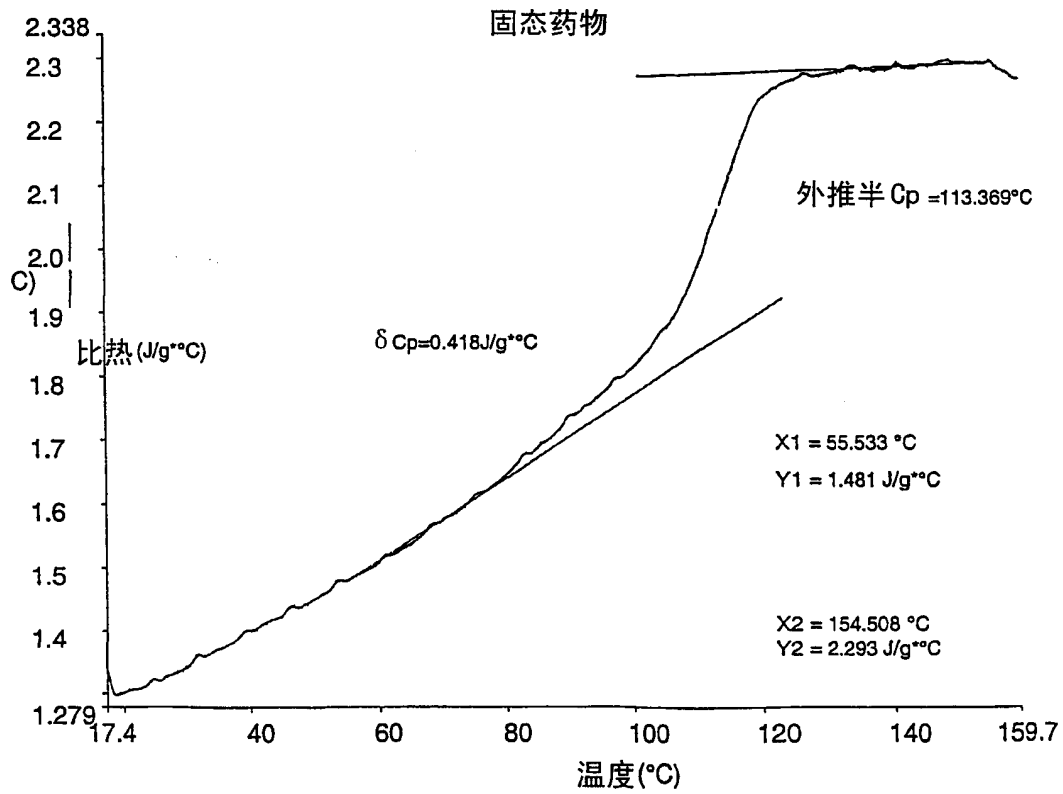


图 4

式 I 化合物的高能形式在加速条件下 (40°C/75%RH 在密封玻璃瓶中 6 个月) 下保存后的粉末 X 射线衍射图谱

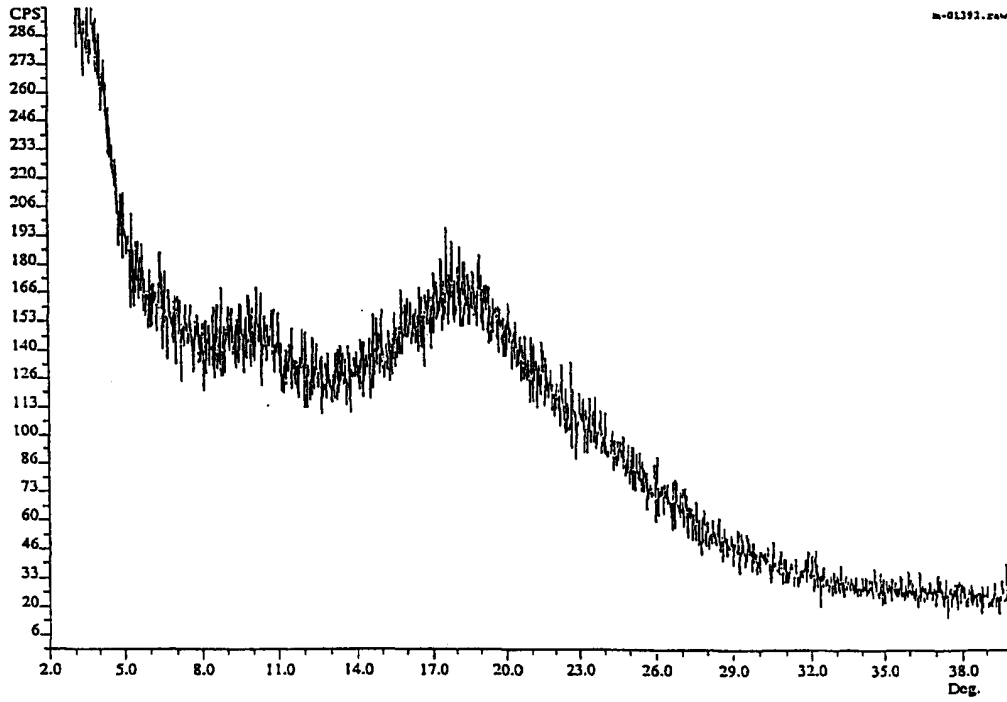


图 5

式 I 的无定形化合物（按照实施例 IIA 制备）
和晶体化合物（按照实施例 3 制备）的溶出曲线

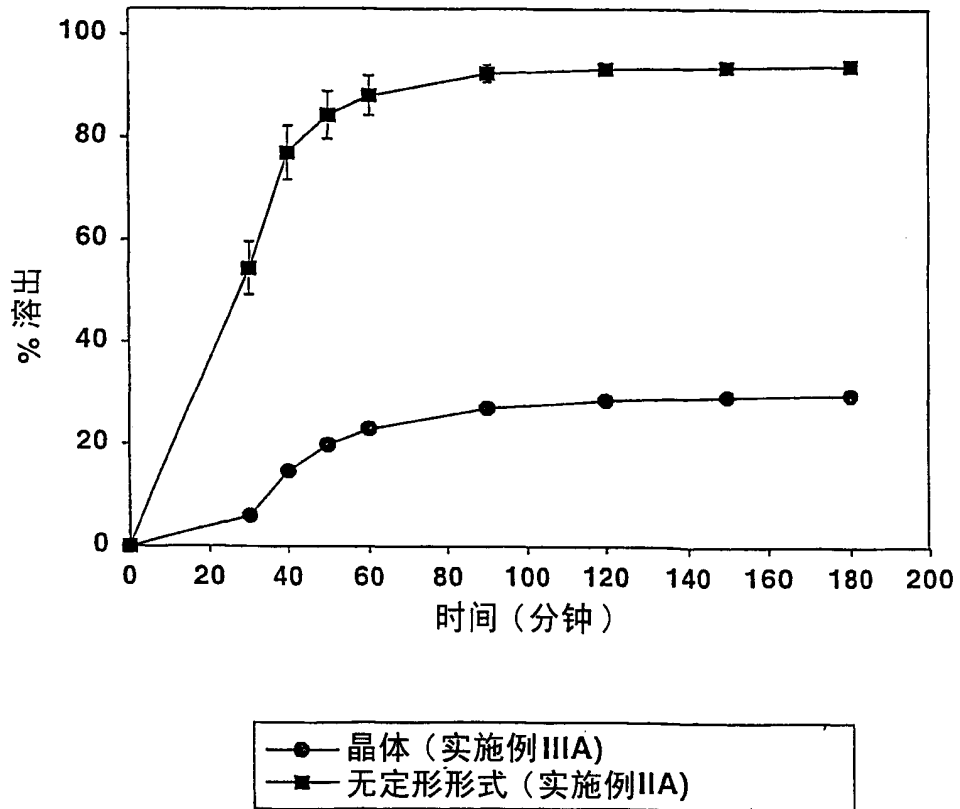


图 6