(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 115252604 A
(43)申请公布日 2022.11.01

(21)申请号 202210538648.9

(22)申请日 2017.08.18

(30)优先权数据
62/377,427 2016.08.19 US

(62)分案原申请数据
201780063632.4 2017.08.18

(71)申请人 逸达生物科技股份有限公司
地址 中国台湾台北市

(72)发明人 李雨华 黄家鼎 毛伟忠

(74)专利代理机构 永新专利商标代理有限公司 72002
专利代理师 曹雯 黄歆

(51)Int.Cl.
A61K 31/4178(2006.01)
A61K 47/18(2006.01)
A61K 47/40(2006.01)
A61K 47/69(2017.01)
A61P 11/00(2006.01)
A61P 11/06(2006.01)
A61P 13/12(2006.01)
A61P 19/02(2006.01)
A61P 35/00(2006.01)
A61P 43/00(2006.01)
A61P 9/00(2006.01)

权利要求书2页 说明书19页 附图3页

(54)发明名称

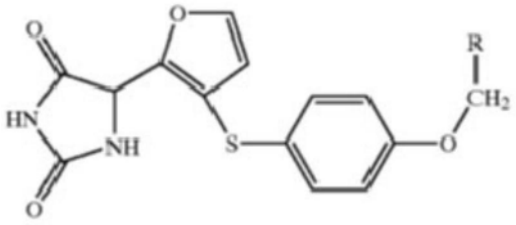
药物组合物和使用方法

(57)摘要

本发明提供药物组合物和使用方法。本发明提供组合物或制剂,其包含化合物5-[3-(4-苄氧基苯基硫代)-呋喃-2-基]-咪唑烷-2,4-二酮或其盐或者该化合物或其盐的水合物以及环糊精的组合;或者进一步与包含L-精氨酸的赋形剂或其他添加剂的组合,其中所述组合物或制剂增加5-[3-(4-苄氧基苯基硫代)-呋喃-2-基]-咪唑烷-2,4-二酮及其相关化合物的水溶性和口服生物利用度。本发明还公开制备或使用所述组合物或制剂的方法。这样的组合物或制剂可以用于通过抑制基质金属蛋白酶-12来治疗包括哮喘在内的某些疾病。

CN 115252604 A

1.一种药物组合物,其包含式(I)化合物或其盐;以及环糊精,其中R选自苯基、4-苄氧基苯基、4-联苯基、4-甲氧基苯基、3-甲氧基苯基、2-甲氧基苯基、3,5-二甲氧基苯基、4-氯苯基、3-氯苯基、2-氯苯基、4-甲基苯基、3-甲基苯基、2-甲基苯基和3-三氟甲基苯基



式(I)

2.权利要求1的药物组合物,其中所述式(I)化合物是5-{3-[4-(3-甲基-苄氧基)苯基硫代]呋喃-2-基}咪唑烷-2,4-二酮(IVO)。

3.权利要求1的药物组合物,其中所述环糊精是水溶性的未取代或取代的α-环糊精、β-环糊精或γ-环糊精。

4.权利要求1的药物组合物,其中所述环糊精是β-环糊精,其中,所述β-环糊精选自甲基β-环糊精、羟丙基β-环糊精和磺丁基醚β-环糊精;优选地,所述β-环糊精是羟丙基β-环糊精。

5.权利要求1-4中任一项的药物组合物,其中式(I)化合物与环糊精的摩尔比为1:1-1:50,优选1:1-1:10。

6.权利要求4的药物组合物,其中式(I)化合物是5-{3-[4-(3-甲基-苄氧基)苯基硫代]呋喃-2-基}咪唑烷-2,4-二酮(IVO);并且式(I)化合物比β-环糊精的重量比为1:1-1:20,优选1:2-1:4。

7.权利要求1-4中任一项的药物组合物,其中与相同条件但不存在环糊精的情况下的式(I)化合物的溶解度相比,所述药物组合物使室温下式(I)化合物在去离子水中的溶解度增加到至少1.5倍;

和/或

与不存在环糊精的情况下的式(I)化合物的口服生物利用度相比,所述药物组合物使式(I)化合物在哺乳动物中的口服生物利用度增加至少50%。

和/或

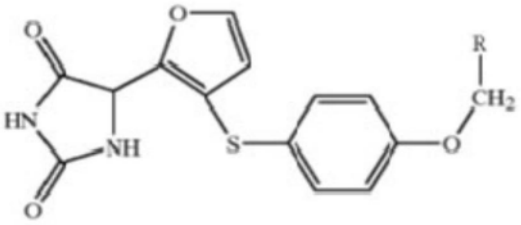
与在相同量和相同条件下单独给药化合物时可达到的相比,所述药物组合物使得实现至少2倍的式(I)化合物的Cmax。

8.权利要求1-4中任一项的药物组合物,其中式(I)化合物自身的至少一部分已至少部分地插入环糊精的空腔;

或

所述组合物包含式(I)化合物和环糊精的物理混合物。

9.一种药物组合物,其包含式(I)化合物或其盐;环糊精;以及赋形剂,其中R选自苯基、4-苄氧基苯基、4-联苯基、4-甲氧基苯基、3-甲氧基苯基、2-甲氧基苯基、3,5-二甲氧基苯基、4-氯苯基、3-氯苯基、2-氯苯基、4-甲基苯基、3-甲基苯基、2-甲基苯基和3-三氟甲基苯基



式(I)

10.权利要求9的药物组合物,其中所述式(I)化合物是5-{3-[4-(3-甲基-苄氧基)苯基硫代]呋喃-2-基}咪唑烷-2,4-二酮(IVO)。

11.权利要求9的药物组合物,其中所述环糊精是水溶性的未取代或取代的α-环糊精、β-环糊精或γ-环糊精。

12.权利要求9的药物组合物,其中所述环糊精是β-环糊精,其中,所述β-环糊精选自甲基β-环糊精、羟丙基β-环糊精和磺丁基醚β-环糊精;优选地,所述β-环糊精是羟丙基β-环糊精。

13.权利要求9的药物组合物,其中所述赋形剂是L-精氨酸。

14.权利要求9-12中任一项的药物组合物,其中式(I)化合物与环糊精的摩尔比为1:1-1:50,优选1:1-1:10。

15.权利要求12的药物组合物,其中式(I)化合物是5-{3-[4-(3-甲基-苄氧基)苯基硫代]呋喃-2-基}咪唑烷-2,4-二酮(IVO);并且式(I)化合物比β-环糊精的重量比为1:1-1:20,优选1:2-1:4。

16.权利要求9-12中任一项的药物组合物,其中与相同条件但不存在环糊精的情况下的式(I)化合物的溶解度相比,所述药物组合物使室温下式(I)化合物在去离子水中的溶解度增加到至少1.5倍;

和/或

与不存在环糊精的情况下的式(I)化合物的口服生物利用度相比,所述药物组合物使式(I)化合物在哺乳动物中的口服生物利用度增加至少50%;

和/或

其中与在相同量和相同条件下单独给药化合物时可达到的相比,所述药物组合物使得实现至少2倍的式(I)化合物的Cmax。

17.权利要求9-12中任一项的药物组合物,其中所述赋形剂选自L-精氨酸、柠檬酸、PEG-4000、PVP K40、PVP K10、NaCMC和D-甘露醇。

18.权利要求9-12中任一项的药物组合物,其中式(I)化合物自身的至少一部分已至少部分地插入环糊精的空腔;

或

所述组合物包含式(I)化合物、环糊精和赋形剂的物理混合物。

药物组合物和使用方法

[0001] 本申请要求2016年8月19日提交的美国临时专利申请号62/377427 的优先权。所述临时申请的内容援引加入本申请。

[0002] 本申请是2017年08月18日提交的发明名称为“药物组合物和使用方 法”的第201780063632.4号中国专利申请的分案申请。

技术领域

[0003] 本发明涉及5-[3-(4-苄氧基苯基硫代)-呋喃-2-基]-咪唑烷-2,4-二酮或其 类似物与环糊精的组合的组合物,以及其使用方法。5-[3-(4-苄氧基苯基硫 代)-呋喃-2-基]-咪唑烷-2,4-二酮或其类似物与环糊精的组合物增加5-[3-(4- 苄氧基苯基硫代)-呋喃-2-基]-咪唑烷-2,4-二酮或其类似物的水溶性,从而增 加口服生物利用度。此外,本发明涉及包含5-[3-(4-苄氧基苯基硫代)-呋喃 -2-基]-咪唑烷-2,4-二酮或其类似物与环糊精的药物组合物在治疗对基质金 属蛋白酶-12的抑制响应或推断对其抑制响应的疾病或疾病状况中的用途。

背景技术

[0004] 美国专利申请20060041000公开了5-[3-(4-苄氧基苯基硫代)-呋喃-2-基]- 咪唑烷-2,4-二酮或其类似物的一系列化合物。这些化合物被设计用作巨噬 细胞弹性蛋白酶抑制剂。所有这些化合物均为乙内酰脲衍生物。在体外测 试了它们用作基质金属蛋白酶(MMP)抑制剂的用途。

[0005] 如美国专利申请20060041000所示,所有测试的化合物均表现出理想的 活性和良好的选择性谱。对MMP-12的IC50在1-300nM的范围中,因此 认为它们全部是有活性的。上述化合物大部分在10uM下对MMP-1和 MMP-7未表现出抑制。它们对MMP-12的选择性为对MMP-2、MMP-3、 MMP-9和MMP-13的50-1000倍。这些化合物看来具有一些潜力用于治疗 由MMP-12介导的疾病或疾病状况,例如哮喘、肺慢性阻塞性疾病(COPD)、 关节炎、癌症、心脏病和肾炎。但是,除了有限的MMP的IC50数据,没 有进一步提供详细的生物数据。此外,除了NMR和MS数据,未提供其他 物理和化学性质数据。

[0006] 因此,期望理解这些化合物的特征并开发合适的制剂以使用5-[3-(4-苄 氧基苯基硫代)-呋喃-2-基]-咪唑烷-2,4-二酮或其类似物通过抑制MMP用于 各种疾病的潜在治疗。

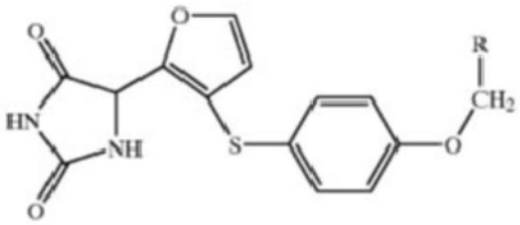
[0007] 根据美国专利申请20060041000的教导,在含水缓冲液(50mM Hepes, 10mM $CaCl_2$,0.05%Brij 35,pH 7.5)中进行MMP抑制测定,表明这些化合 物应当是相当可溶于水的。但是,出乎意料地发现这些化合物具有非常低 的水溶性。5-[3-(4-苄氧基苯基硫代)-呋喃-2-基]-咪唑烷-2,4-二酮及其类似物 不仅在水中表现出低溶解度,而且在酸性环境中也表现出低溶解度。因此, 当以常规固体剂型口服给药时,可以预期生物利用度较低。

[0008] 因此,需要开发这些化合物的制剂,例如使这些化合物适用于非侵入 性给药例如

口服、鼻内和/或舌下给药的制剂。

发明内容

[0009] 本发明提供包含式(I)化合物或其盐或者式(I)化合物或其盐的水合物与 环糊精的组合的组合物或制剂。

[0010] 

式(I)

[0011] 本发明还提供制备包含式(I)化合物或其盐的组合物的方法,以及治疗 对式(I)化合物或其盐响应的疾病或适应症的方法,包括向动物或人个体给 药包含式(I)化合物或其盐的药物组合物。

[0012] 本发明的一个目的是增加式(I)化合物的水溶性。因此本发明涉及提高式 (I)化合物的溶解度的方法,所述方法包括一种药物组合物,其包含式(I)化 合物与环糊精的组合。

附图说明

[0013] 图1示出原料和ASD-01的PLM。

[0014] 图2示出原料和IVO/HPBCD ASD-01的XRPD。

[0015] 图3示出MBCD对IVO在2.5%L-ARG溶液中的溶解度的影响。

[0016] 图4示出HPBCD对IVO在2.5%L-ARG溶液中的溶解度的影响。

[0017] 图5示出SBEBCD对IVO在2.5%L-ARG溶液中的溶解度的影响。

具体实施方式

[0018] 本发明提供一种组合物,其包含式(I)化合物和环糊精。所述组合物显著 增加式(I)化合物在水中的溶解度。

[0019] 根据本发明,式(I)化合物,其中R选自苯基、4-苄氧基苯基、4-联苯基、 4-甲氧基苯基、3-甲氧基苯基、2-甲氧基苯基、3,5-二甲氧基苯基、4-氯苯 基、3-氯苯基、2-氯苯基、4-甲基苯基、3-甲基苯基、2-甲基苯基和3-三氟 甲基苯基。

[0020] 应当理解本文的描述还意指盐,例如药学可接受的盐,以及其溶剂合物。因此,本文提供的式(I)化合物的发明和描述涵盖式(I)化合物的所有盐和非 盐形式,以及式(I)化合物的所有盐和非盐形式的溶剂合物。

[0021] 根据本发明,用于本文的组合物的环糊精是水溶性的未取代或取代的α- 环糊精(ACD)、β-环糊精(BCD)或γ-环糊精(GCD)。在一些实施方案中,β- 环糊精选自甲基β-环糊精(MBCD)、羟丙基β-环糊精(HPBCD)和磺丁基醚β- 环糊精(SBEBCD)。在一些实施方案中,β-环糊精是甲基β-环糊精或羟丙基 β-环糊精。在一些实施方案中,γ-环糊精是羟丙基γ-环

糊精(HPGCD)。在一 优选实施方案中,环糊精是羟丙基β-环糊精(HPBCD)或甲基β-环糊精(MBCD)。

[0022] 根据本发明,提供用于提高式(I)化合物在水中的溶解度的方法,包括组 合式(I)化合物与环糊精。在一实施方案中,提供一种增加式(I)化合物的水 溶性的方法,其中该方法包括形成式(I)化合物与环糊精的包合物(inclusion complex)。在一些实施方案中,当在室温下作为与环糊精的包合物存在于 去离子水中时,与相同条件下非复合形式的式(I)化合物的溶解度相比,式 (I)化合物的溶解度增加到至少2倍。如本文定义的术语"室温"是约20-25 摄氏度,平均23℃。在其他实施方案中,相对于单独的式(I)化合物,组合 物中的式(I)化合物的溶解度例如水溶性增加到至少5倍至2000倍。溶解度 比较可以通过本领域技术人员已知的方法评价,例如本文详述的任何具体 方法和条件。

[0023] 根据本发明,当与环糊精一起存在时,式(I)化合物的口服生物利用度比 不存在环糊精的式(I)化合物的口服生物利用度高至少50%。口服生物利用 度及其比较可以通过本领域已知的方法评价,包括本文描述的任何具体方 法。

[0024] 根据本发明,提供一种式(I)化合物和环糊精的组合物,其中与在相同量 和相同条件下单独给药化合物时可达到的相比,所述组合物使得实现更大 的化合物全身性最大浓度(Cmax)。在一实施方案中,与在相同量和相同条 件下单独给药化合物时可达到的相比,式(I)化合物的组合物使得实现至少 1.5倍或更多倍的化合物全身性Cmax。在一些实施方案中,当与环糊精一 起给药至动物或人时,式(I)化合物Cmax是相同条件下单独给药的式(I)化 合物的Cmax的至少2倍。

[0025] 根据本发明,提供一种式(I)化合物和环糊精的组合物,其中与在相同量 和相同条件但不存在环糊精的情况下给药化合物时可达到的相比,所述组 合物使得实现更大的化合物的血浆浓度-时间曲线下面积(AUC)。在一实施 方案中,与在相同量和相同条件但不存在环糊精的情况下给药化合物时可 达到的相比,式(I)化合物与环糊精的组合物使得实现至少2倍或更多倍的 化合物的AUC。在一些实施方案中,当与环糊精一起给药至动物时,式(I) 化合物的AUC是在相同量和在相同条件但不存在环糊精的情况下给药的 式(I)化合物的AUC的至少2倍。

[0026] 根据本发明,提供一种式(I)化合物和环糊精的组合物,其中与在相同量 和相同条件但不存在环糊精的情况下给药化合物时可达到的相比,所述组 合物使达到化合物的最大血浆水平的时间(Tmax)发生变化。在另一实施方 案中,与在相同量和相同条件但不存在环糊精的情况下给药化合物时可达 到的相比,式(I)化合物与环糊精的组合物使化合物的最大血浆水平(Tmax) 降低1或2倍。在一些实施方案中,当与环糊精一起给药至个体时,式(I) 化合物的Tmax比以相同量和相同条件但不存在环糊精的情况下给药式(I) 化合物的Tmax缩短至少1/2。在一些实施方案中,式(I)化合物与环糊精使 Tmax减少至少1、2或3小时或更多。

[0027] 根据本发明,提供一种包含式(I)化合物和环糊精的组合物,其中式(I) 化合物与环糊精的摩尔比是1:1-1:300,优选1:1-1:50,并且更优选1:1-1:10。在一实施方案中,组合物包含式(I)化合物和环糊精的复合物,其中式(I)化 合物自身的至少一部分已至少部分地插入环糊精的空腔以形成包合物。在 另一实施方案中,组合物包含环糊精和式(I)化合物的物理混合物,其中物 理混合物不含或基本上不存在式(I)化合物自身的至少一部分

已至少部分地 插入环糊精的空腔。在另一实施方案中，本发明提供一种包含以下的组合物：a)式(I)化合物或其盐，或者式(I)化合物或其盐的溶剂合物；b)环糊精； 以及c)添加剂。在一实施方案中，添加剂是药学可接受的赋形剂。在另一 实施方案中，添加剂进一步增加式(I)化合物在水溶液中的溶解度。添加剂 可以为液体、固体或半固体形式。在一些实施方案中，添加剂选自但不限 于柠檬酸、PEG-4000、PVP K40、PVP K10、NaCMC、L-精氨酸、赖氨酸 和D-甘露醇。在一优选实施方案中，添加剂是L-精氨酸，而在另一优选实 施方案中，添加剂是赖氨酸。

[0028] 包含式(I)化合物和环糊精的组合物可以进一步包含额外的制剂组分，在 本文中也称作额外的物质。在本文描述的制剂的一些实施方案中，制剂进 一步包含载体。在本文描述的制剂的一些其他实施方案中，制剂进一步包 含抗氧化剂。

[0029] 根据本发明，包含以下的组合物为固体制剂：a)式(I)化合物或其盐， 或者式(I)化合物或其盐的溶剂合物；b)环糊精；以及c)载体。在一些实 施方案中，制剂是半固体。在一些实施方案中，制剂是液体。

[0030] 实施例

[0031] 以下实施例说明本发明的组合物和方法。实施例不限制本发明，提供实 施例以教导怎样制备可用的控释药物递送组合物。

[0032] 实施例1：式(I)化合物的合成

[0033] 根据美国专利申请20060041000中公开的方法合成式(I)化合物，即5-[3-(4-苄氧基苯基硫代)-呋喃-2-基]-咪唑烷-2,4-二酮及其类似物。合成并表 征以下化合物。

[0034] IVE:5-{3-[4-(3-甲氧基苄氧基)苯基硫代]呋喃-2-基}咪唑烷-2,4-二酮

[0035] IVH:5-{3-[4-(4-氯苄氧基)苯基硫代]呋喃-2-基}咪唑烷-2,4-二酮

[0036] IVO:5-{3-[4-(3-甲基-苄氧基)苯基硫代]呋喃-2-基}咪唑烷-2,4-二酮

[0037] IVP:5-{3-[4-(2-甲基-苄氧基)苯基硫代]呋喃-2-基}咪唑烷-2,4-二酮

[0038] IVQ:5-{3-[4-(3-三氟甲基-苄氧基)苯基硫代]呋喃-2-基}咪唑烷-2,4-二 酮

[0039] 实施例2：不同环糊精对5-{3-[4-(3-甲氧基苄氧基)苯基硫代]呋喃-2-基}咪唑烷-2,4-二酮(IVE)的水溶性的影响

[0040] 表1列出了各种可商购的环糊精(CD)。为测试各种CD对化合物IVE 的水溶性的影响，制备1mL的每种如表2所述的以下水溶液。将过量的IVE 添加至这些溶液中的每一种，并且将样品在室温下于轨道振荡器上以200 rpm振荡24小时。任何时间在所有样品中均存在过量的IVE以获得溶解度。24小时之后，将样品离心并通过HPLC测定，必要时稀释等份的上清液。表2显示ACD和HPGCD均未显著提高化合物IVE的水溶性，而MBCD、SBEBCD和HPBCD可以显著增加化合物IVE的水溶性。这些结果表明仅 β环糊精可以提高化合物IVE的溶解度。化合物的大小可以允许其形成包 合物，导致较高的水溶性。对化合物IVO的水溶性的增强效果的顺序是 MBCD>SBEBCD>HPBCD>HPGCD>ACD。MBCD是本实验中最有效的 溶解度改善剂。

[0041] 表1.可商购的环糊精

[0042]

环糊精类型	商品名	吡喃葡糖单元的数目	缩写	分子量	水溶解度(25°C.)(mg/mL)
甲基 β-环糊精	CAVASOL ® W7 M Pharma	7	MBCD	1310	>750
羟丙基 β-环糊精	KLEPTOSE ® HPB Pharma	7	HPBCD	1400	>750
磺丁基醚 β-环糊精	Captisol®	7	SBEBCD	2163	>500
羟丙基 γ-环糊精	CAVASOL ® W8 HP Pharma	8	HPGCD	1574	>750
α-环糊精	CAVAMAX ®	6	ACD	973	145

[0043] 表2.化合物IVE在不同CD溶液中的溶解度

[0044]

CD 浓度	IVE 的浓度(mg/mL)					
	HPBCD	MBCD	HPGCD	SBEBCD	ACD 浓度	ACD
0 mg/ml	0.023	0.023	0.023	0.023	0 mg/ml	0.023
100 mg/ml	0.744	3.251	0.059	0.815	40 mg/ml	0.053

[0045] 实施例3:不同环糊精对5-{3-[4-(2-甲基-苄氧基)苯基硫代]呋喃-2-基}咪唑烷-2,4-二酮(IVP)的水溶性的影响

[0046] 为测试各种CD对化合物IVP的水溶性的影响,制备1mL的每种如表 3所述的以下水溶液。将过量的IVP添加至这些溶液中的每一种,并且将 样品在室温下于轨道振荡器上以200rpm振荡24小时。任何时间在所有样 品中均存在过量的IVP。24小时之后,将样品离心并通过HPLC测定,必 要时稀释等份的上清液。表3显示ACD和HPGCD均未显著提高化合物IVP的水溶性,而MBCD、SBEBCD和HPBCD可以显著增加化合物IVP的水 溶性。这些结果表明仅β环糊精可以提高化合物IVP的溶解度。化合物的 大小可以允许其形成包合物,导致较高的水溶性。对化合物IVP的水溶性 的增强效果的顺序是MBCD>SBEBCD>HPBCD>HPGCD>ACD。MBCD是本实验中最有效的溶解度改善剂。

[0047] 表3.化合物IVP在不同CD溶液中的溶解度

[0048]

CD 浓度	IVP 的浓度(mg/mL)					
	HPBCD	MBCD	HPGCD	SBEBCD	ACD 浓度	ACD
0 mg/ml	0.064	0.064	0.064	0.064	0 mg/ml	0.064
100 mg/ml	0.727	6.269	0.001	0.805	40 mg/ml	0.015

[0049] 实施例4:不同环糊精对5-{3-[4-(3-甲基-苄氧基)苯基硫代]-呋喃-2-基}-咪唑

烷-2,4-二酮(IVO)的水溶性的影响

[0050] 为例测试各种CD对化合物IVO的水溶性的影响,制备1mL的每种如 表4所述的以下水溶液。将过量的IVO添加至这些溶液中的每一种,并且 将样品在室温下于轨道振荡器上以200rpm振荡24小时。任何时间在所有 样品中均存在过量的IVO。24小时之后,将样品离心并通过HPLC测定, 必要时稀释等份的上清液。表4显示ACD和HPGCD均未提高化合物IVO 的水溶性,而MBCD、SBEBCD和HPBCD可以显著增加化合物IVO的水 溶性。这些结果表明仅β环糊精可以提高化合物IVO的溶解度。化合物的 大小可以允许其形成包涵体复合物(inclusion body complex),导致较高的水 溶性。对化合物IVO的水溶性的增强效果的顺序是MBCD>SBEBCD>HPBCD>HPGCD>ACD。MBCD是本实验中最有效的溶解度改 善剂。

[0051] 表4.化合物IVO在不同CD溶液中的溶解度

[0052]

CD 浓度	化合物 IVO 的浓度(mg/mL)					
	HPBCD	MBCD	HPGCD	SBEBCD	ACD 浓度	ACD
0 mg/ml	0.026	0.026	0.026	0.026	0 mg/ml	0.026
25 mg/ml	0.037	0.244	0.009	0.094	5 mg/ml	0.037
50 mg/ml	0.083	0.477	0.016	0.116	10 mg/ml	0.030
75 mg/ml	0.108	0.673	0.006	0.156	15 mg/ml	0.026
100 mg/ml	0.184	1.066	0.002	0.174	20 mg/ml	0.013
150 mg/ml	0.312	1.695	0.004	0.315	30 mg/ml	0.010
200 mg/ml	0.467	1.784	0.003	0.761	40 mg/ml	0.017

[0053] 实施例5:不同环糊精对5-{3-[4-(3-三氟甲基-苄氧基)苯基硫代]呋喃-2基} 咪唑烷-2,4-二酮(IVQ)的水溶性的影响

[0054] 为测试各种CD对化合物IVQ的水溶性的影响,制备1mL的每种如表 5所述的以下水溶液。将过量的IVQ添加至这些溶液中的每一种,并且将 样品在室温下于轨道振荡器上以200rpm振荡24小时。任何时间在所有样 品中均存在过量的IVQ。24小时之后,将样品离心并通过HPLC测定,必 要时稀释等份的上清液。表5显示ACD和HPGCD均未显著提高化合物IVQ的水溶性,而MBCD、SBEBCD和HPBCD可以显著增加化合物IVP的水 溶性。这些结果表明仅β环糊精可以提高化合物IVQ的溶解度。化合物的 大小可以允许其形成包涵体复合物,导致较高的水溶性。对化合物IVQ的 水溶性的增强效果的顺序是MBCD>SBEBCD>HPBCD>HPGCD>ACD。MBCD是本实验中最有效的溶解度改善剂。

[0055] 表5.化合物IVQ在不同CD溶液中的溶解度

[0056]

CD 浓度	IVQ 的浓度(mg/mL)					
	HPBCD	MBCD	HPGCD	SBEBCD	ACD 浓度	ACD
0 mg/ml	0.138	0.138	0.138	0.138	0 mg/ml	0.138
100 mg/ml	1.215	5.776	N.D.	0.641	40 mg/ml	0.111

[0057] 实施例6:通过溶剂蒸发方法制备化合物IVO与HPBCD的复合物

[0058] 将约10.0g化合物IVO称量至容量瓶中,并通过超声(15.2mg/mL)完全 溶解于660mL甲醇(MeOH)中以获得澄清溶液。用0.45um滤膜过滤以去 除可能残留的晶体固体之后,以IVO:HPBCD的25:75(w/w)的比例将约 30.05g的HPBCD(Ashland)添加至溶液中。将样品搅拌60min以形成澄清 溶液,然后将其喷雾干燥以获得固体分散体。将通过喷雾干燥获得的样品 在真空条件下于30℃下进一步干燥24小时。基于偏振光显微术(PLM)(图 1)和X-射线粉末衍射(XRPD)(图2)结果,通过喷雾干燥制备的化合物 IVO:HPBCD(1:3,w/w)的复合物是无定形的,并且命名为化合物 IVO/HPBCD ASD-01。图1(左)显示单独的IVO是双折射的,表明IVO是 晶体形式的。图1(右)显示IVO/HPBCD复合物未表现出任何双折射。图2 显示IVO/HPBCD复合物未表现出任何晶体衍射信号。IVO/HPBCD最可能 是包合物形式,即,式(I)化合物自身的至少一部分已至少部分地插入环糊 精的空腔。包合物的形成将IVO从晶体形式改变为无定形状态。

[0059] 表6.IVO/HPBCD ASD-01

[0060]

名称	ASD
式	IVO:HPBCD=25:75(w/w)
重量	35g白色固体粉末
收率(%)	87.5

[0061] 表7.喷雾干燥参数设置和结果

[0062]

参数设置	实际数据
比例(IVO:聚合物,w/w)	IVO:HPBCD:=25:75
喷嘴孔径(mm)	0.6
设定风速(m^3/min)	0.40
实际风速(m^3/min)	0.40
设定入口温度(℃)	80
实际空气温度(℃)	79.4
出舱温度(℃)	57.4
气旋温度(℃)	45.9
上室(mBar)	3.7
气旋压力(mBar)	20.5
设定喷嘴气流(L/min)	6.8
实际喷嘴气流(L/min)	7.6
气旋大小	中等
冷却气流(m^3/min)	0.1

[0063] 实施例7:IVO ASD-01的可比溶解度测试

[0064] 在1.5ml DI水中制备过量的IVO、450mg HPBCD、150mg IVO+450mg HPBCD的物理混合物和600mg ASD-1,然后将那些样品在室温下于轨道振 荡器上以200rpm振荡24小时。将样品离心3和24小时,并通过HPLC 测定,必要时稀释等份的上清液。在相同的测试条件下,IVO ASD-01表现 出比物理混合物高得多的在水中的溶解度(表8)。

[0065] 表8.可比较的溶解度测试的结果

[0066]

组合物	3 小时溶解度 (mg/ml)	24 小时溶解度 (mg/ml)	24 小时平衡后的 pH
450mg HPBCD	-	-	7.06
过量的化合物 IVO	0.002	0.011	8.09
150mg 化合物 IVO + 450mg HPBCD 物理混合物	2.400	2.207	6.88
600mg 化合物 IVO ASD-01	20.734	21.621	5.72

[0067] 实施例8:额外的赋形剂对IVO的溶解度的影响

[0068] 本研究是探索添加额外的赋形剂是否有任何协同效应。如表9所述,制 备以下水溶液中的每一种,在1mL 30mg/ml MBCD水溶液中包含0、0.125%、0.25%、0.5%、0.75%、1.5%和2%额外的赋形剂。将过量的化合 物IVO添加至这些溶液中的每种,并且将样品在轨道振荡器上以200rpm 和在室温下振荡24小时。任何时间在所有样品中均存在过量的化合物IVO。24小时之后,将样品离心并通过HPLC测定,必要时稀释等份的上清液。 如表9所示,仅L-精氨酸(L-ARG)在30mg/ml MBCD溶液中表现出显著的 IVO溶解度提高。IVO的溶解度随着柠檬酸和PEG-400浓度的增加而减少, 同时未观察到PVP K40、PVP K10、NaCMC和D-甘露醇的影响。

[0069] 表9.在30mg/ml MBCD溶液中对化合物IVO溶解度的赋形剂影响

[0070]

赋形剂浓度 (w/v)	化合物 IVO 的溶解度(mg/mL)						
	柠檬酸	PEG-4000	PVP K40	PVP K10	NaCMC	L-ARG	D-甘露醇
0%	0.18	0.18	0.18	0.18	0.16	**0.18**	0.18
0.125%	-	-	0.20	0.18	0.17	**0.70**	0.20
0.25%	0.15	0.16	0.19	0.18	0.17	**0.93**	0.18
0.50%	0.13	0.15	0.18	0.18	0.16	**1.24**	0.18
0.75%	0.09	0.17	0.18	0.18	0.16	**1.60**	0.19
1%	0.09	0.15	0.19	0.18	0.16	**1.83**	0.19
1.50%	0.07	0.15	0.19	0.18	0.18	**2.06**	0.18
2%	0.01	0.01	0.19	0.17	0.19	**2.33**	0.19

[0071] 实施例9:L-精氨酸对化合物IVO的水溶性的影响

[0072] 制备1mL的每种以下水溶液,在DI水中包含0.15重量%-2.5重量% L-ARG。将过量的化合物IVO添加至这些溶液中的每一种,并且将样品在 室温下于轨道振荡器上以200rpm振荡24小时。任何时间在所有样品中均 存在过量的化合物IVO。24小时之后,将样品离心并通过HPLC测定,必 要时稀释等份的上清液。表10显示L-ARG仅可以略微提高化合物IVO水溶性,比实施例8中观察到的少很多。这表明组合MBCD和L-精氨酸有协 同效应。一种可能性是L-精氨酸可以有助于促进IVO和MBCD之间包合 物的形成。

[0073] 表10.化合物IVO在包含L-精氨酸的溶液中的溶解度

[0074]

L-精氨酸(%w/w)	化合物 IVO (ug/ml)
0	1.146
0.15	11.07
0.31	15.10
0.5	25.33
0.63	34.20
1.25	46.79
2.5	85.84

[0075] 实施例10:CD对化合物IVO在2.5％L-ARG溶液中的溶解度的影响

[0076] 制备1mL的以下水溶液中的每一种,在2.5％L-ARG溶液中包含0、25、50、75、100、150和200mg/mL CD。将过量的化合物IVO添加至这 些溶液中的每一种,并且将样品在室温下于轨道振荡器上以200rpm振荡 24小时。任何时间在所有样品中均存在过量的化合物IVO。24小时之后，将样品离心并通过HPLC测定,必要时稀释等份的上清液。图3、4和5显 示L-ARG表现出与全部3种β-CD衍生物对溶解度提高有协同效应。添加 L-精氨酸使IVO在MBCD、HPBCD和SBEBCD水溶液中的溶解度分别增 加到5、18和20倍。

[0077] 实施例11:IVO制剂在比格犬中的药物动力学研究

[0078] 介绍

[0079] 本实施例描述向雄性比格犬单次口服给药或静脉内注射包含IVO的不 同制剂之后IVO的药物动力学(PK)。

[0080] 材料

[0081] 实验动物:物种:犬;品系:Beagle;性别:雄性;总数:选择总计3 只雄性用于研究;体重:8-13kg;供应商:Marshalls BioResources(New York, NY,USA)所有生活(in-life)记录均保存在科斯特药学服务(Quest Pharmaceutical Services)公司中国台湾分公司。

[0082] 研究材料

[0083] 非微粉化的IVO悬浮液

[0084] 通过口服给药向动物给药悬浮液状的非微粉化的IVO (PT-C12071028-F13001)。在10％(w/v)羟丙基-β-环糊精(HPBCD)中制备悬 浮液。第一次给药组的剂量为20mg/kg。

[0085] 微粉化IVO悬浮液

[0086] 通过口服给药向动物给药微粉化IVO(D-1405FP1321-01)悬浮液。在 10％(w/v)HPBCD中制备悬浮液。第二次给药组的剂量为20mg/kg。

[0087] 胶囊中的非微粉化IVO

[0088] 通过口服给药向动物给药非微粉化的IVO(PT-C12071028-F13001)胶 囊。在每个给药日在测试机构用明胶胶囊填充胶囊。第三次给药组的剂量 为20mg/kg。

[0089] 胶囊中的微粉化IVO

[0090] 通过口服给药向动物给药微粉化的IVO(D-1405FP1321-01)胶囊。在每 个给药日在测试机构用明胶胶囊填充胶囊。第四次给药组的剂量为20 mg/kg。

[0091] 非微粉化的IVO的IV

[0092] 将非微粉化的IVO(PT-C12071028-F13001)溶于DMSO中并通过IV注 射给药至动物。第五次给药组的剂量为4mg/kg。

[0093] 方法

[0094] 研究设计

[0095] 给药和血液采集

[0096] 以交叉方式设计本研究。在本药物动力学研究中,3只雄性犬连续接受 单剂量的非微粉化的IVO悬浮液(20mg/kg IVO,第一次给药),一个剂量 的微粉化的IVO悬浮液(20mg/kg IVO,第二次给药),一个剂量的胶囊中 的非微粉化的IVO(20mg/kg IVO,第三次给药),一个剂量的胶囊中的微 粉化的IVO(20mg/kg IVO,第四次给药)和一个剂量的IV的非微粉化的 IVO(4mg/kg IVO,第五次给药),每次治疗之间有清除期(≥3天)。从雄性 犬采集血液,在给药前以及在给药后0.25、0.5、1、2、4、6、8、12和24h 从第一次给药组、第二次给药组、第三次给药组和第四次给药组中的动物, 以及给药前和给药后5min以及给药后0.25、0.5、1、2、4、6、8、12和 24h从第五次给药组中的动物采集血液至含有抗凝剂K_2EDTA的管中。将 血液样品立即置于冰上,并且在血液采集的60分钟内离心(在4℃下1500 ×g离心10分钟)。将血浆样品在-60℃或更低温度下储存于科斯特药学服 务公司中国台湾分公司,直至转移至科斯特药学服务公司中国台湾。表11 总结了给药和血液采集时间。

[0097] 表11.给药和血液采集

[0098]

给药日	治疗类型	雄性动物的数量 [a,b]	途径	剂量 (mg/kg)	血液采集时间 [c]
1	非微粉化的 IVO 悬浮液	3	PO	20	给药前，给药后 0.25、0.5、1、2、4、6、8、12 和 24 h
5	微粉化的 IVO 悬浮液	3	PO	20	
11	胶囊中的非微粉化的 IVO	3	PO	20	
15	胶囊中的微粉化的 IVO	3	PO	20	
20	IV 的非微粉化的 IVO	3	IV	4	给药前，给药后 5 min 以及给药后 0.25、0.5、1、2、4、6、8、12 和 24 h

[0099] a以交叉方式向相同的犬给药不同的治疗,每次给药之间为3天以上的清除期。

[0100] b动物ID为13M00001、13M00007和13M00012。

[0101] c抗凝剂为K_2EDTA。

[0102] 血浆生物分析方法

[0103] 在科斯特药学服务公司中国台湾利用经验证的LC-MS/MS方法分析血 浆样品,IVO的LLOQ为5.000ng/mL。低于最低标准的血浆浓度记录为低

[0104] 数据分析

[0105] PK参数

[0106] 在科斯特药学服务公司中国台湾利用Phoenix® WinNonlin® 6.3 (Pharsight

Corporation,Mountain View,CA,USA)利用对个体记录(individual profile)的非分区分析确定PK参数。从数据直接确定观察到的最大血浆浓 度(C_{max})和C_{max}的时间(T_{max})。通过线性梯形法则确定从时间0至给药后24 小时的血浆浓度-时间曲线下面积(AUC_{0-24h})和从时间0外推至无穷的血浆 浓度-时间曲线下面积($AUC_{0-\infty}$)：

[0107] $AUC_{0-24h}=(t_2-t_1)\times(C_1+C_2)/2$

[0108] 用以下公式外推至无穷：

[0109] $AUC_{0-\infty}=AUC_{last}+C_{last/\lambda}$

[0110] 当可能时,根据下式计算表观末端消除半衰期($t_{1/2}$),其中λ是末端消 除速率常数：

[0111] $t_{1/2}=\ln(2)/\lambda$

[0112] 按照选择标准,选择数据点以包括在λ的计算中,要求对代表末端阶段 的至少3个数据点进行回归,并且舍入后的$r^2\geq0.85$。如果不满足这些标准， 则半衰期定义为不确定(ND)。根据下式确定总清除(CL)、外推至无穷的平 均滞留时间($MRT_{0-\infty}$)、分布体积(V_z)和口服生物利用度(F)：

[0113] CL＝剂量/$AUC_{0-\infty,IV}$

[0114] $MRT_{0-\infty}=AUMC_{0-\infty}/AUC_{0-\infty}$

[0115] V_z＝剂量/(λ•$AUC_{0-\infty}$)

[0116] $F=(AUC_{0-\infty,po}/剂量_{po})/(AUC_{0-\infty},IV/剂量_{IV})$

[0117] 标称样品采集时间用于AUC、CL和$t_{1/2}$计算。在所有待测品治疗组中， 将标称剂量用于剂量归一化的$AUC_{0-\infty}$。

[0118] 数据报告方式

[0119] 血浆PK数据分析

[0120] 个体或平均血浆浓度保留小数点后三位。利用SAS®计算平均血浆浓度 并保留小数点后三位。对于PK参数的计算,单个浓度的BQL设置为0。

[0121] 将个体血浆浓度输入至WinNonlin™,取值至小数点后三位。值小于等 于999的PK参数保留三位有效数字,值≥1000的保留整数,有以下例外：

[0122] 如果值为1小时或更大,则T_{max}值保留小数点后一位,如果值少于1 小时,则保留小数点后两位。λ值保留小数点后三位。

[0123] CV%值保留小数点后一位。

[0124] 舍入 表中示出的计算机产生的数据已适当舍入以包括在本实施例中。结果， 在某些情况下,本实施例中由数据计算值时产生微小变化。

[0125] 结果和讨论

[0126] 表11中总结了本研究的给药组和血液采集方案。所有IVO治疗组的PK 参数在表12中列出。

[0127] 表12.不同IVO制剂的单次口服给药或IV注射之后雄性犬中IVO的PK参数 IVO血浆药物动力学参数(N＝3)

[0128]

	非微粉化的IVO悬浮液(20 mg/kg)		微粉化的IVO悬浮液(20 mg/kg)		胶囊中的非微粉化的IVO(20 mg/kg)		胶囊中的微粉化的IVO(20 mg/kg)		IV的非微粉化的IVO(4 mg/kg)	
	平均	SD	平均	SD	平均	SD	平均	SD	平均	SD
T_{max}[a] (h)	4.0 (2.0-4.0)		4.0 (2.0-4.0)		4.0 (4.0-4.0)		1.0 (0.50-2.0)		0.08 (0.08-0.08)	
C_{max} (ng/mL)	1037	198	2524	223	200	147	272	35.9	6818	1362
AUC_{0-24h} (h•ng/mL)	13105	3227	29085	4014	1807	1648	1922	130	26959	5191
$AUC_{0-\infty}$ (h•ng/mL)	15876	6692	35021	9135	1808	1696	1993	200	27856	5988
λz (1/h)	0.118	0.064	0.095	0.040	0.215	0.026	0.149	0.033	0.152	0.029
$t_{1/2}$ (h)	7.6	5.1	8.2	3.3	3.3	0.4	4.8	1.2	4.7	1.0
$MRT_{0-\infty}$ (h)	--	--	--	--	--	--	--	--	6.6	1.2
V_z (L/kg)	--	--	--	--	--	--	--	--	0.972	0.059
CL (L/h/kg)	--	--	--	--	--	--	--	--	0.148	0.028
F (%)[b]	11.1	2.79	25.1	4.00	1.43	1.45	1.46	0.23	--	--

[0129] --:不适用。

[0130] [a]中值(范围)。

[0131] [b]F(%)计算为($AUC_{0-\infty}$,po/剂量po)/($AUC_{0-\infty}$,IV剂量)

[0132] 根据方案将总计3只雄性比格犬以交叉设计用5种IVO制剂给药,每 次给药之间有至少3天清除期。未观察到对研究结果有潜在显著影响的事 件。

[0133] 在所有给药前样品中未发现可定量水平的IVO。口服给药非微粉化的 IVO悬浮液(第一次给药组)、微粉化的IVO悬浮液(第二次给药组)、胶囊中 的非微粉化的IVO(第三次给药组)和胶囊中的微粉化的IVO(第四次给药 组),分别在2.0-4.0h、2.0-4.0h、全部4h和0.5-2.0h之内观察到IVO的 C_{max}。在第一次、第二次、第三次和第四次给药组中平均C_{max}值分别为1037、 2524、200和272ng/mL。

[0134] 在第一次、第二次、第三次和第四次给药组中口服给药之后IVO的平 均AUC_{0-24h}值分别为13105、29085、1807和1922h·ng/mL,并且IVO的 平均$AUC_{0-\infty}$值分别为15876、35021、1808和1993。在第一次、第二次、 第三次和第四次给药组中血浆水平下降的$t_{1/2}$分别为7.6、8.2、3.3和4.8h(表 12)。

[0135] 在4mg/kg的剂量水平的非微粉化的IVO的IV团注给药之后,在第一 次采样时间给药后0.08h观察到IVO的C_{max},并且平均为6818ng/mL。IVO 的平均AUC_{0-24h}和$AUC_{0-\infty}$值分别为26959和27856h·ng/mL。血浆水平下 降的$t_{1/2}$为4.7h。平均全身清除率为0.148L/h/kg,并且平均V_z为0.972L/kg。 平均$MRT_{0-\infty}$为6.6h(表12)。口服给药非微粉化的IVO悬浮液、微粉化

的 IVO悬浮液、胶囊中的非微粉化的IVO和胶囊中的微粉化的IVO之后，IVO 的口服生物利用度(F)分别为11.1%、25.1%、1.43%和1.46%。

[0136] 结论

[0137] 通过单次给药向动物给药IVO静脉内或口服制剂。研究结果显示悬浮 液治疗组中的IVO吸收率和药物暴露量大于胶囊治疗组。口服给药非微粉 化的IVO悬浮液、微粉化的IVO悬浮液、胶囊中的非微粉化的IVO和胶 囊中的微粉化的IVO之后，口服生物利用度(F)分别为11.1%、25.1%、1.43% 和1.46%。

[0138] 实施例12:向非幼稚雄性比格犬单次口服(PO)给药之后IVO口服制剂的 平行相对口服生物利用度研究

[0139] 研究目的

[0140] 本研究的目的是测定向非幼稚雄性比格犬单次口服给药之后，与20 mg/kg的非微粉化IVO悬浮液的参比制剂相比，2种IVO制剂(填充在胶囊 中并以150mg/犬剂量给药)的相对口服生物利用度。在给药后24小时内从 所有动物采集血浆样品，并且通过LC-MS/MS方法确定IVO的浓度。

[0141] 动物福利

[0142] 本研究的所有适用部分均遵守以下关于动物护理和福利的规则和指南：

[0143] 如2011年修订的“实验室动物护理和使用指南”(“Guide for the Care and Use of Laboratory Animals”)中报道的AAALAC国际和NIH指南。中华人民 共和国，科技部，《实验动物管理条例》(“Regulations for the Administration of Affairs Concerning Experimental Animals”)，1988。

[0144] 材料和方法

[0145] 待测品和参比标准信息

[0146] 待测试剂和参比标准粉末由赞助商提供。分析的细节和证书(CoA)列出 如下：

[0147]

化合物 ID	批号	游离形式的分子量	盐形式的分子量	纯度(%)	储存条件
IVO-d9 (内标)	QP111102	403.50	403.50	>99	RT
IVO (生物分析标准品)	PT-C12071028-F13001	394.44	394.44	98.9	RT

[0148]

化合物 ID	批次	游离形式的分子量	盐形式的分子量	盐因子*	纯度 (%)
IVO (第 1 组，非微粉化的 API)	PT-C12071028-F13001	394.44	394.44	1.00	98.9

[0149] *盐因子＝盐形式的分子量/游离形式的分子量。

[0150]

制剂 ID	批次	效力(%) (%载药量)	纯度(%)	校正因子
IVO ASD-01 (第 2 组)	YF00892-003-141219-01	24.19	99.20	4.167
IVO 颗粒 (第 3 组)	YF00892-006-141224-01	23.81	99.01	4.242

[0151] 校正因子＝(盐形式的分子量/游离形式的分子量)/纯度/效力

[0152] 测试系统、研究设计和动物护理

[0153] 测试系统

[0154] 9只非幼稚雄性比格犬(7.40-9.78kg)用于本研究。动物来自获得批准的 供应商(Marshall Bioresources,Beijing,China),并且每只动物在耳朵上有独 特的皮肤纹身号码作为身份证明。

[0155] 研究设计

[0156]

组	雄性 #	动物 ID	待测物	制剂	给药 途径	靶剂量 水平	靶剂量 体积 (mL/kg)	靶剂量 浓度 (mg/mL)
1	3	D101 D102 D103	IVO 悬浮液	悬浮液(参比) 媒介物：注射用水中 10% (w/v)羟丙基-β-环糊精 (HPBCD)	PO	20 mg/kg	4.0	5.0
2	3	D201 D202 D203	IVO ASD-01	胶囊(测试)	PO	150 mg/犬	NA	NA
3	3	D301 D302 D303	IVO 颗粒	胶囊(测试)	PO	150 mg/犬	NA	NA

[0157] 动物护理

[0158] 控制并监测动物房的湿度(目标平均范围40%-70%)和温度(目标平均范 围18℃-26℃),并进行10-20次空气交换/小时。除了为研究活动而需要中 断时,房间为12-小时光照/黑暗循环。

[0159] 按照“实验室动物护理和使用指南”(“Guide for the Care and Use of Laboratory Animals”),在生活期间将动物单独关在不锈钢网笼中。

[0160] 每天给动物喂食两次。储备犬每天喂食约220克认证的狗粮(Beijing Vital Keao Feed Co.,Ltd.Beijing,P.R.China)。基于组的食物消耗或组或个 体的单个体重变化和/或认证饮食的变化在必要时调整这些量。

[0161] 对于禁食组(PO剂量组),在口服给药前一天下午(在3:30-4:00pm)给动 物喂食,并且在约7:00pm拿走剩余食物。除非在本方案中具体说明,禁 食直至给药后4小时。在给药日给禁食动物喂食一次,量大约为220克。

[0162] 通过自动供水系统向动物随意提供反渗透净化和含氯的水。

[0163] 通过供应商或独立实验室分别常规分析饮食中的营养组分和环境污染 物。分析报告和批号于测试机构存档。

[0164] 每个季度由独立实验室分析动物饮用水的污染物。水分析报告于测试机 构的兽医操作部门存档。

[0165] 制剂制备

[0166] 悬浮液制剂制备:

[0167] 在给药日制备含10%(w/v)羟丙基-β-环糊精的注射用水中的浓度5 mg/mL的用于第1组的IVO悬浮液。使用的媒介物的详细信息和给药制剂 制备过程记录在研究文件夹中。

[0168] 对于胶囊制剂制备:

[0169] 本研究的第2&3组使用明胶胶囊(大小:0#)。

[0170] a.在给药日将动物称重,并且选择体重范围10±1kg,除了动物D303 选择7.91kg。

[0171] b.胶囊填充150mg API。

[0172] c.每只犬给药总计3个胶囊。

[0173] 表13中示出详细的胶囊重量。

[0174] 表13.胶囊重量

[0175]

待测物	药物途径	组	动物编号	胶囊重量(mg)	总计(mg)
胶囊中的 IVO ASD-01	PO	2	D201	212.19	625.11
				202.77	
				210.15	
			D202	211.31	625.05
				204.84	
				208.90	
			D203	209.47	625.13
				208.33	
				207.33	
胶囊中的 IVO 颗粒		3	D301	212.09	636.39
				214.13	
				210.17	
			D302	216.87	636.30
				213.64	
				205.79	
			D303	206.79	637.51
				207.84	
				222.88	

[0176] 给药

[0177] 按照SOP口服给药IVO制剂。

[0178] 悬浮制剂的口服：

[0179] 用6mL媒介物冲喂(flush)管饲剂量(管饲管的大约3倍体积)。所有管为 相同大小并切为相同长度,从而冲喂体积是可比较的。

[0180] 胶囊制剂的口服：

[0181] a.使犬下颚下垂并将胶囊放在喉咙深处。然后用拇指或食指将胶囊推 过咽部。

[0182] b.为了促进胶囊吞咽,每次胶囊给药之后给动物6mL的水。

[0183] c.给药胶囊之后,轻轻抚摸犬的喉咙诱导吞咽。

[0184] d.给药之后,检查犬的嘴以确保胶囊已吞咽。

[0185] 在每次给药之前将动物称重,并且个体动物的体重在表14中示出。

[0186] 表14.动物体重

[0187]

待测物	药物途径	组	动物编号	体重(kg)
IVO (非微粉化的 API)	PO	1	D101	8.63
			D102	8.77
			D103	7.40
胶囊中的 IVO ASD-01		2	D201	9.35
			D202	9.08
			D203	9.78
胶囊中的 IVO 颗粒		3	D301	9.29
			D302	9.33
			D303	7.91

[0188] 样品采集和制备

[0189] 在给药前(0),给药后0.25(15min)、0.5(30min)、1、2、4、6、8、12 和24小时从未镇静的动物通过静脉穿刺从头静脉采集系列血液样品(约0.8 mL,在10μL 0.5M K2-EDTA中)。实际样品采集时间记录在研究文件夹中。对于给药的第一小时内采集的样品,计划时间±1分钟是可接受的。对于其 他时间点,在计划时间的5%内采集的样品是可接受的,并且不认为是偏离 方案。

[0190] 采集之后,将血液样品轻轻倒转几次并立即置于湿冰上,然后在血液采 集后1小时内在2-8℃和3000×g下离心10分钟。然后将血浆样品转移至 标记的聚丙烯微型离心管,快速冷冻并在干冰上转移至生物分析部门,并 且在设置为保持-60℃或更低的冰箱中冷冻储存直至生物分析。

[0191] 临床观察

[0192] 每天两次(大约9:30a.m.和3:30p.m.),观察动物的死亡率以及疼痛和痛 苦的表现。每天进行一次对一般健康和外貌的笼侧观察。在给药日,在每 个血液采集时间点之前和之后观察动物。在整个研究期间注意到的任何异 常现象均记录在研究文件夹中。

[0193] 样品分析

[0194] 用LC/MS-MS方法分析血浆样品。血浆中IVO的定量下限(LLOQ)为2.00ng/mL,并且定量上限(ULOQ)为3000ng/mL。

[0195] 药物动力学数据分析

[0196] 用WinNonlin软件程序(版本6.2.1)对IVO的血浆浓度-时间曲线进行非 隔室药物动力学分析。

[0197] 利用线性-对数梯形法则计算平均滞留时间(MRT)、从时间零至最后可 定量时间点的血浆浓度时间曲线下面积(AUC)(AUC0-last)以及从时间零至 无穷的AUC(AUC0-inf)(参见:Gabrielsson J.and Weiner D. Non-compartmental analysis in "Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Data Analysis:Concepts&Applications",3rd edition,Chapter 3.7.2.,page 141-146. Swedish Pharmaceutical Press;2002)。

[0198] 除了时间值,所有值均保留三位有效数字。时间值保留小数点后两位。

[0199] 使用标称采样时间计算所有药物动力学参数,因为实际和标称采样时间 之间没

有偏差。

[0200] 结果

[0201] 临床观察

[0202] 对第2组的动物D203在给药后1小时观察到含空胶囊壳的约10mL浅 黄色呕吐粘液。在本研究期间未观察到其他研究动物的异常反应。

[0203] 剂量浓度验证

[0204] 第1组的剂量浓度验证显示101％的准确度。

[0205] 药物动力学

[0206] IVO的药物动力学参数在表15中示出。

[0207] 表15.IVO制剂的药物动力学参数

[0208]

制剂	IVO 悬浮液 (20 mg/kg)	IVO ASD-01 (胶囊，150 mg/犬)	IVO 颗粒 (胶囊，150 mg/犬)
剂量(mg/kg)	20.2	16.0	17.1
C_{max} (ng/mL)	1453	3947	1071
T_{max} (h)	4.00	1.67	3.33
$AUC_{0\text{-}last}$ (ng·h/mL)	12630	20100	7077
$AUC_{0\text{-}inf}$ (ng·h/mL)	12963	20233	6215
$AUC_{0\text{-}last}$ /剂量 (ng·h/mL/(mg/kg))	625	1249	410
$MRT_{0\text{-}last}$ (h)	6.66	4.52	7.17
$MRT_{0\text{-}inf}$ (h)	7.20	4.65	5.82
相对 F% (基于 $AUC_{0\text{-}last}$)	NC	200	65.5

[0209] 结论

[0210] 向禁食状态的非幼稚雄性比格犬以20mg/kg单次口服给药非微粉化的 IVO悬浮液之后，最大血浆浓度(Cmax)为1453±90.7ng/mL，发生在给药后 4.00±3.46小时(Tmax)。血浆暴露量AUC0-inf和AUC0-last分别为 12963±4191和12630±3948ng·h/mL。

[0211] 向禁食状态的非幼稚雄性比格犬以150mg/犬单次口服给药胶囊中的 IVO ASD-01之后，最大血浆浓度(Cmax)为3947±1740ng/mL，发生在给药 后1.67±0.58小时(Tmax)。血浆暴露量AUC0-inf和AUC0-last分别为 20233±8545和20100±8391ng·h/mL。

[0212] 向禁食状态的非幼稚雄性比格犬以150mg/犬单次口服给药胶囊中的 IVO颗粒之后，最大血浆浓度(Cmax)为1071±597ng/mL，发生在给药后 3.33±2.31小时(Tmax)。血浆暴露量AUC0-inf和AUC0-last分别为6215±NC 和7077±3749ng·h/mL。

[0213] 与参比制剂相比，胶囊中的IVO ASD-01吸收更快(Tmax＝1.67)，而胶 囊中的IVO颗粒表现出与参比制剂相比相似的3.33小时的Tmax。对于胶 囊中的IVO ASD-01，IVO的全身暴露量(AUC)和最大血浆浓度(Cmax)比参 比制剂高很多。与参比制剂相比，胶囊中的IVO颗粒表现出较低的口服吸 收。

[0214] 与参比制剂相比，IVO ASD-01和IVO颗粒的相对生物利用度分别为 200％和65.5％。

[0215] 实施例13:胶囊中的IVO/HPBCD ASD和胶囊中的IVO API在比格犬中 的比较

[0216] 非微粉化的IVO口服悬浮液制剂(20mg/kg)用作参比。在10％(w/v)羟 丙基-β-环糊精(HPBCD)中制备悬浮液。如实施例11和12所示使用20mg/kg 的剂量(IVO悬浮液)。

[0217] 在实施例11中测试了胶囊中的IVO API与参比。根据实施例6中描述 的方法制备比例为25:75(w/w)的IVO:HPBCD复合物。在实施例12中测试 了胶囊中的IVO/HPBCD ASD和参比。

[0218] 表16示出比格犬中口服给药3种不同制剂的PK参数。IVO API是高 度结晶的，并且具有非常低的水溶性。制剂胶囊中的IVO API(填充在口服 胶囊中的纯API)表现出比参比制剂低的AUC和Cmax。相比之下，改进的 口服制剂胶囊中的IVO/HPBCD ASD表现出显著增加的水溶性。结果，如 表16所示，当与胶囊中的IVO API相比时，使用胶囊中的IVO/HPBCD复合ASD，使IVO在犬中的口服吸收(AUC)和Cmax分别显著增加到约17 倍和18倍。

[0219] 表16:胶囊中的IVO/HPBCD ASD和胶囊中的IVO API在比格犬中的PK比较

[0220]

研究	实施例 11		实施例 12	
制剂	测试	参比	测试	参比
描述	胶囊中的 API	IVO 悬浮液	胶囊中的 ASD	IVO 悬浮液
剂量(mg/kg)	20.0	20.0	16.0	20.2
C_{max} (ng/mL)	200	1037	3947	1453
T_{max} (h)	4.0	4.0	1.7	4.0
$AUC_{0\text{-}inf}$ (h*ng/mL)	1808	15876	20233	12963
$AUC_{0\text{-}inf}$ /剂量	90.4	793.8	1264.6	641.7
C_{max}/剂量	10.0	51.9	246.7	71.9
$AUC_{0\text{-}inf}$ 比 (ASD/API) [a]	17			
C_{max} 比 (ASD/API) [a]	18			

[0221] [a]用参比制剂的参数归一化之后计算比例。

[0222] 与参比制剂相比，胶囊中的IVO/HPBCD ASD-01吸收更快(Tmax＝1.7)， 而胶囊中的IVO API与参比制剂相比表现出相同的4小时的Tmax。总的来 说，HPBCD可以显著提高IVO在水中的溶解度并增强全身吸收。

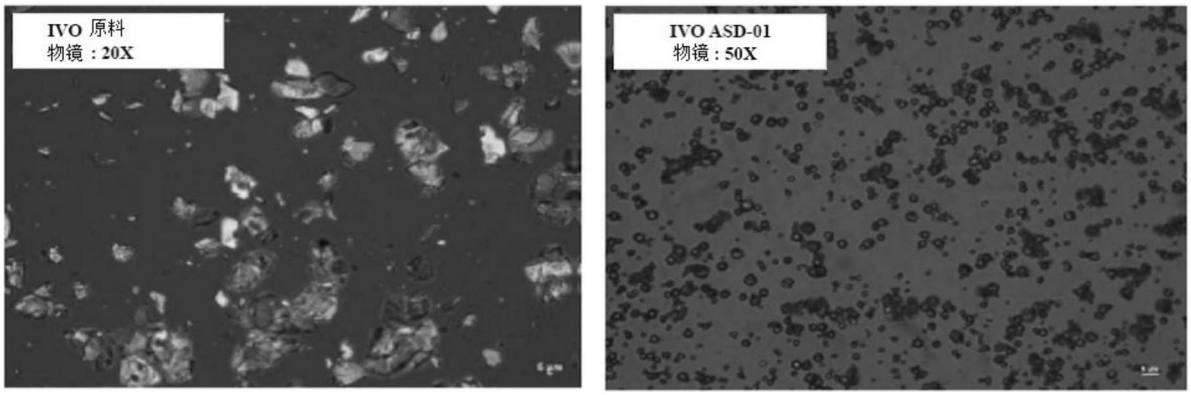


图1

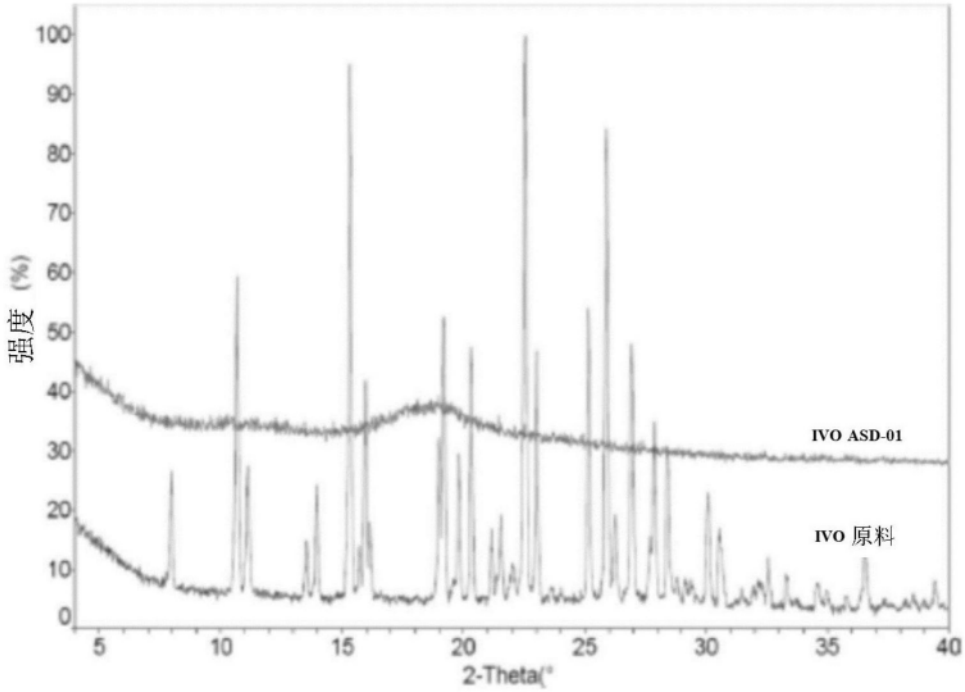


图2

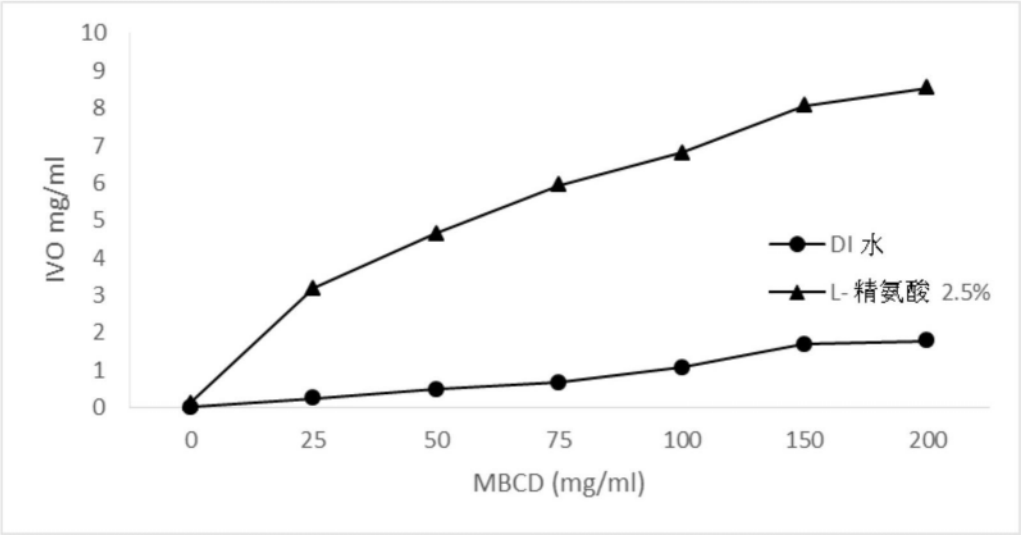

IVO mg/ml
10
9
8
7
6
5
4
3
2
1
0
0
25
50
75
100
150
200
MBCD (mg/ml)
DI 水
L-精氨酸 2.5%

图3

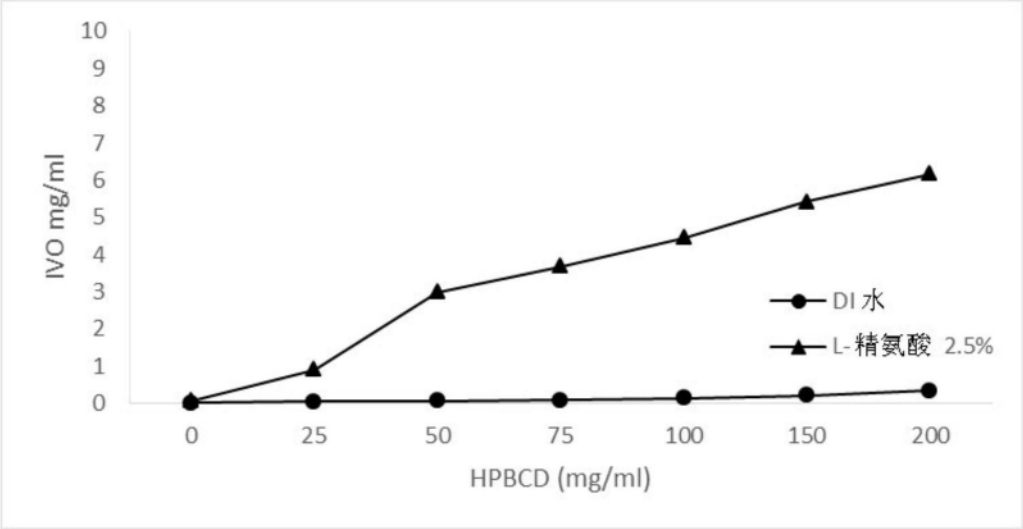

IVO mg/ml
10
9
8
7
6
5
4
3
2
1
0
0
25
50
75
100
150
200
HPBCD (mg/ml)
DI 水
L-精氨酸 2.5%

图4

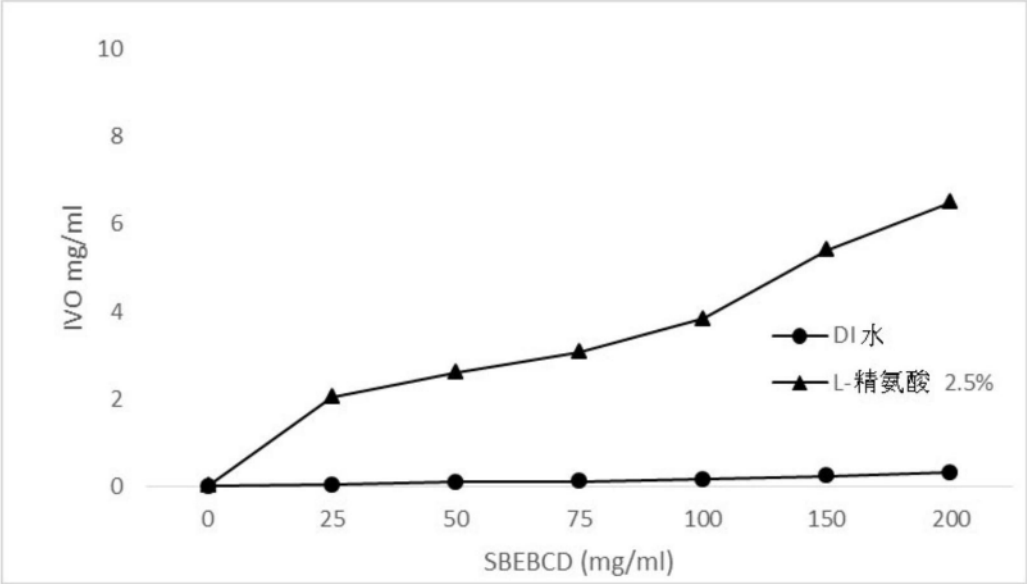


图5