



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

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

(11)



1-0028027

(51)⁷ A01N 43/04; A61K 31/70

(13) B

(21) 1-2016-04391

(22) 14/08/2008

(62) 1-2010-02026

(86) PCT/US2008/009703 14/08/2008

(87) WO/2009/023232 19/02/2009

(30) 60/955,939 15/08/2007 US

(45) 25/04/2021 397

(43) 25/04/2011 277A

(73) REATA PHARMACEUTICALS, INC. (US)

2801 Gateway Drive, Suite 150, Irving, TX 75063-2648, United States of America

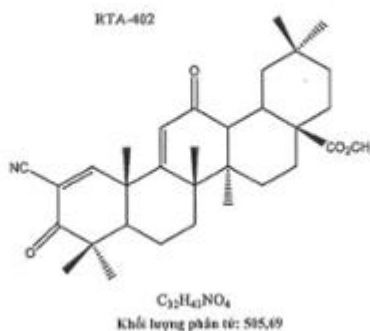
(72) WALLING, John (US); PARENT, Stephan, D. (US); JONAITIS, David, T. (US);
KRAL, Robert, M. (US).

(74) Công ty TNHH Tầm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)

(54) HỢP CHẤT METYL 2-XYANO-3,12-ĐIOXOLEANA-1,9(11)-ĐIEN-28-OAT
(CDDO METYL ESTE) VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến hợp chất triterpenoit, metyl 2-xyano-3,12-đioxoleana-1,9(11)-đien-28-oat (CDDO metyl este), có dạng thủy tinh rắn, không kết tinh và dạng tinh thể không ngậm nước, các dạng này có thể được điều chế, ví dụ, từ dung dịch metanol bão hòa. Dạng thủy tinh thể hiện độ sinh khả dụng được tăng cường so với dạng tinh thể không ngậm nước. Mỗi dạng của CDDO metyl este là ứng viên tốt để sử dụng, thông thường ở dạng liều rắn, để điều trị nhiều tình trạng bệnh khác nhau, các tình trạng bệnh này thường có liên quan đến chứng viêm.

- Cấu trúc hóa học của CDDO metyl este



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến lĩnh vực tổng hợp hợp chất hóa học, cụ thể là hợp chất triterpenoit, metyl 2-xyano-3,12-đioxoleana-1,9(11)-dien-28-oat (CDDO metyl este) mới, có dạng thủy tinh rắn, không kết tinh và dạng tinh thể không ngâm nước. Sáng chế cũng đề cập đến dược phẩm chứa các dạng của CDDO metyl este này nhằm để điều trị nhiều tình trạng bệnh khác nhau liên quan đến chứng viêm.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Triterpenoit được sinh tổng hợp ở thực vật bằng cách tạo vòng squalen. Mặc dù là ứng viên để sử dụng trong chữa bệnh, các phân tử có trong tự nhiên này lại có hoạt tính sinh học tương đối yếu. Do đó, các nhà hóa học đã tìm kiếm các chất tổng hợp tương tự có hiệu quả tăng cường (Honda et al., 1997 & 1998).

Một số chất tổng hợp tương tự đã được thông báo là ức chế sự tạo thành de novo của iNOS and COX-2 trong đại thực bào được kích thích bởi IFN- γ hoặc LPS (Suh et al., 1998; Honda et al., 2002). Hợp chất triterpenoit tổng hợp khác, 2-xyano-3,12-đioxoleana-1,9(11)-dien-28-oat (CDDO), thể hiện hoạt tính chống viêm và chống tăng sinh (Honda et al., 1998 & 2000).

Nghiên cứu metyl este của CDDO, mà là metyl 2-xyano-3,12-đioxoleana-1,9(11)-dien-28-oat (CDDO metyl este), Bore et al. (2002) đã xác định được cấu trúc tinh thể. Ở dạng được hydrat hóa này, nước phối hợp các tương tác tạo ra cấu trúc và gói tinh thể đặc biệt.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Theo một phương án của sáng chế, sáng chế đề xuất dạng tinh thể không ngậm nước của CDDO metyl este. Tốt hơn nếu dạng tinh thể không ngậm nước này có nhóm không gian là $P4_3 2_1 2$ với kích thước ô đơn vị là $a=14,2 \text{ \AA}$, $b=14,2 \text{ \AA}$, và $c=81,6 \text{ \AA}$. Sáng chế còn đề xuất được phẩm ở dạng liều rắn, bao gồm (i) lượng hữu hiệu có tác dụng trị liệu của dạng tinh thể không ngậm nước của CDDO metyl este với (ii) chất mang ăn được.

Ngoài ra, sáng chế còn đề xuất dạng thủy tinh rắn của CDDO metyl este, có mẫu nhiễu xạ bột tia X với đỉnh halo ở khoảng $13,5^\circ 2\theta$, như được thể hiện trên Fig.2C, và nhiệt độ chuyển tiếp thủy tinh (T_g). Theo phương án cụ thể, T_g có thể dao động trong khoảng từ 120°C đến khoảng 135°C . Theo phương án khác, T_g dao động trong khoảng từ 125°C đến khoảng 130°C . Dạng thủy tinh rắn của CDDO-metyl este có thể có phổ PDF với các đỉnh tương tự với Fig.28 nằm trong khoảng từ $5 \text{ \AA}$ đến khoảng $20 \text{ \AA}$.

Ngoài ra, sáng chế còn đề xuất được phẩm ở dạng liều rắn, bao gồm (i) lượng hữu hiệu có tác dụng trị liệu của dạng thủy tinh rắn của CDDO metyl este với (ii) chất mang ăn được. Theo khía cạnh này, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị cho bệnh nhân mắc bệnh ung thư, bao gồm việc cho bệnh nhân mắc bệnh ung thư dùng được phẩm này. Sáng chế còn bao gồm việc sử dụng dạng thủy tinh của CDDO-metyl este kết hợp với thuốc chống ung thư khác. Ví dụ, thuốc chống ung thư có thể là gemxitabin và bệnh ung thư có thể là ung thư tuyến tụy. Sáng chế còn bao gồm phương pháp điều trị các bệnh hoặc rối loạn liên quan đến stress và chứng viêm cấp hoặc mạn tính do quá trình oxy hóa, đặc biệt là các bệnh hoặc rối loạn đặc trưng một phần bởi sự biểu hiện quá mức của nitric oxit syntaza chịu cảm ứng (iNOS) hoặc xyclooxygenaza (COX-2) chịu cảm ứng.

Ngoài ra, sáng chế còn đề xuất dạng dimetanol solvat của CDDO-metyl este, có mẫu nhiễu xạ bột tia X với đỉnh đặc trưng như được thể hiện trong Bảng 18 và mẫu DSC như được thể hiện trên Fig.24. Theo sáng chế, dạng

đimetanol solvat có thể được sử dụng làm chất trung gian để sản xuất dạng thủy tinh rắn của CDDO methyl este. Phương pháp sản xuất dạng thủy tinh rắn của CDDO-methyl este, thông qua dạng đimetanol solvat, bao gồm bước điều chế dạng đimetanol solvat của CDDO-methyl este và làm khô dạng đimetanol solvat này.

Theo phương án khác, sáng chế đề xuất phương pháp phát triển tinh thể của CDDO methyl este đimetanolat, bao gồm bước điều chế dung dịch của CDDO methyl este tinh khiết trong metanol khan ẩm, bổ sung dung dịch ẩm này vào thùng chứa metanol lạnh, và lọc các tinh thể tạo thành.

Theo phương án khác, sáng chế đề xuất được phẩm bao gồm (i) lượng hữu hiệu để trị liệu của CDDO-methyl este và (ii) tá dược, tá dược này là chất tạo thủy tinh, để cho được phẩm này có T_g .

Tá dược có thể được chọn, ví dụ, từ nhóm bao gồm (A) hydrat cacbon, dẫn xuất hydrat cacbon, hoặc polyme hydrat cacbon, (B) polyme hữu cơ tổng hợp, (C) muối của axit hữu cơ, (D) protein, polypeptit, hoặc peptit, và (E) polysaccarit phân tử lượng cao. Ví dụ minh họa về lớp tá dược polyme hữu cơ tổng hợp là hydroxypropyl methyl xenluloza, như hydroxypropyl methyl xenluloza phtalat este, poly[1-(2-oxo-1-pyrolidinyl)etylen hoặc copolyme của chúng, như PVP/VA, và copolyme của axit metacrylic, như copolyme của axit metacrylic – etyl acrylat (theo tỷ lệ 1:1).

Tá dược làm ví dụ khác theo khía cạnh này là copovidon, copovidon này là copolyme của 1-vinyl-2-pyrolidon - vinyl axetat (theo tỷ lệ 3:2).

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1 mô tả cấu trúc hóa học của CDDO methyl este.

Fig.2 thể hiện mẫu XRPD của Dạng A (trên) và Dạng B (dưới). Từ trên xuống dưới: Dạng A không được micron hóa; Dạng A được micron hóa; và Dạng B.

Fig.3 thể hiện đường cong DSC và TG của CDDO metyl este (Dạng A).

Fig.4 thể hiện sự phân tích đĩa nóng của Dạng A – không được micron hóa.

Fig.5 thể hiện đường đẳng nhiệt hấp thụ hơi động lực của Dạng A – không được micron hóa.

Fig.6 thể hiện hình ảnh SEM của Dạng A – không được micron hóa.

Fig.7 thể hiện Dạng A trước ứng suất (trên) và sau ứng suất (dưới) ở nhiệt độ 195°C.

Fig.8 thể hiện phổ NMR của Dạng A - không được micron hóa.

Fig.9 thể hiện đường cong MDSC của CDDO metyl este ở Dạng B.

Fig.10 thể hiện CDDO metyl este ở Dạng B trước ứng suất nhiệt (trên) và sau ứng suất nhiệt (dưới) ở nhiệt độ 200°C/độ ẩm tương đối của môi trường xung quanh trong 60 phút.

Fig.11 thể hiện phổ NMR của CDDO metyl este ở Dạng B.

Fig.12 thể hiện hình vẽ ORTEP của phân tử Dạng A đơn có chất đánh dấu. Các nguyên tử được biểu thị bằng elipsoit nhiệt không đẳng hướng xác suất 50%.

Fig.13 thể hiện hình vẽ ORTEP của lượng đơn vị không đối xứng của các tinh thể Dạng A. Các nguyên tử được biểu thị bằng elipsoit nhiệt không đẳng hướng xác suất 50%.

Fig.14 thể hiện biểu đồ dạng gói của các tinh thể Dạng A được quan sát ở dưới trục tinh thể *a*.

Fig.15 thể hiện biểu đồ dạng gói của các tinh thể Dạng A được quan sát ở dưới trục tinh thể *b*.

Fig.16 thể hiện biểu đồ dạng gói của các tinh thể Dạng A được quan sát ở dưới trục tinh thể c .

Fig.17 thể hiện mẫu bột tia X của Dạng A theo tính toán.

Fig.18 thể hiện XRPD của Dạng A theo thử nghiệm.

Fig.19 thể hiện kết quả so sánh các mẫu XRPD theo tính toán và theo thử nghiệm đối với CDDO methyl este ở Dạng A.

Fig.20 thể hiện đồ thị biểu diễn diện tích bên dưới đường cong đối với Dạng A và Dạng B, sau khi cho khỉ *Cynomolgus* dùng 4,1 mg/kg qua đường miệng. Mỗi điểm mốc thể hiện nồng độ trong huyết tương trung bình của CDDO methyl este ở 8 con vật. Thanh sai số thể hiện độ lệch chuẩn trong quần thể được lấy mẫu.

Fig.21 thể hiện kết quả so sánh nồng độ trong huyết tương của CDDO methyl este ở Dạng B so với Dạng A ở con vật #505M (bảng phía trên) và con vật #507F (bảng phía dưới).

Fig.22 thể hiện so sánh nồng độ trong huyết tương của CDDO methyl este ở Dạng B so với Dạng A giữa con vật #508F (bảng phía trên) và con vật #502M (bảng phía dưới).

Fig.23 mô tả biểu đồ nhiệt của dạng hemibenzen solvat của CDDO methyl este.

Fig.24 thể hiện biểu đồ nhiệt của dạng dimetanol solvat của CDDO-methyl este.

Fig.25 mô tả số liệu TGIR liên quan đến dạng dimetanol solvat của CDDO methyl este.

Fig.26 thể hiện mẫu XRPD của dạng dimetanol solvat của CDDO methyl este, trước phân tích TGIR (trên) và sau phân tích TGIR (dưới) (tối đa 140°C).

Fig.27 là hình ảnh phủ của số liệu PDF đối với Dạng A so với Dạng B. Thứ tự cục bộ là tương tự nhau nằm trong khoảng từ 5 Å đến khoảng 20 Å.

Fig.28 là hình ảnh phủ của mẫu vô định hình tia X đối với các chế phẩm khác nhau của Dạng B, thể hiện sự đồng đều đáng kể giữa các chế phẩm này.

Fig.29 là hình vẽ dưới dạng biểu đồ của nhóm không gian $P4_32_12$ (#96).

Fig.30 thể hiện nồng độ trung bình trong máu của CDDO-metyl este sau các lần dùng riêng rẽ qua đường miệng viên nang CDDO-metyl este cho khỉ *Cynomolgus* đực (Pha 2 và 3).

Mô tả chi tiết sáng chế

Như đã lưu ý, nghiên cứu về triterpenoit dưới dạng chất ức chế hoạt tính iNOS, và cụ thể là trong việc ức chế sản xuất NO, đã chứng tỏ hiệu quả cao của CDDO và CDDO metyl este ($IC_{50} < \text{mức } 1\text{nM}$). Xem Honda *et al.* (2000). Các nghiên cứu này tập trung vào CDDO metyl este hòa tan, do đó cung cấp ít đặc điểm về CDDO metyl este rắn. Công trình của Bore và các đồng tác giả (2002) làm sáng tỏ cấu trúc, được công bố lần đầu tiên đối với triterpenoit ở dạng tinh thể đơn, được solvat hóa của CDDO metyl este.

Để thấy rõ khả năng trị liệu của CDDO metyl este, như được mô tả trên Fig.1 (cấu trúc hóa học) và trên Fig.12 (Hình vẽ ORTEP), các tác giả sáng chế đã nghiên cứu các dạng khác nhau của hợp chất này có các tính chất, như độ hòa tan trong nước và độ ổn định hóa học lớn hơn, điều này có lợi đối với việc phát triển sản phẩm chữa bệnh có được động học thích hợp. Kết quả là, các tác giả sáng chế đã phát hiện ra hai dạng của CDDO metyl este, khác biệt với dạng tinh thể đã được làm sáng tỏ bởi Bore *et al.* (2002), hai dạng này có các tính chất như vậy và, do đó, tự chúng là ứng viên để phát triển thuốc.

“Dạng A” của CDDO metyl este theo sáng chế chưa được solvat hóa (không ngâm nước) và được đặc trưng bởi cấu trúc tinh thể đặc biệt, với nhóm không gian là $P4_32_12$ (số 96), được thể hiện trên Fig.29, kích thước ô đơn vị là

= 14,2 Å, b = 14,2 Å và c = 81,6 Å, và bởi cấu trúc bao gói, được mô tả trên các hình vẽ từ Fig.14 đến Fig.16, nhờ đó ba phân tử được bao gói theo kiểu xoắn ốc dưới trục tinh thể *b*. Bảng 10 ở phần dưới đây liệt kê số liệu tinh thể bổ sung đối với Dạng A, cùng với các thông số thu thập số liệu tinh thể học.

“Dạng B” khác theo sáng chế ở pha đơn nhưng không có cấu trúc tinh thể được xác định như vậy. Đúng hơn là, Dạng B được đặc trưng bởi phổ nhiễu xạ bột tia X (XRPD) khác với phổ của Dạng A (xem Fig.2, trong số các hình vẽ khác). Hơn nữa, Dạng B thể hiện độ sinh khả dụng tốt hơn một cách bất ngờ so với Dạng A (xem Ví dụ 7).

Phương pháp tổng hợp CDDO methyl este đã được công bố. Xem Patent Mỹ số 6,326,507, Honda et al. (1998), và Honda et al. (2000). Các tác giả sáng chế đã phát hiện thấy rằng cả Dạng A và Dạng B của CDDO methyl este đều được điều chế dễ dàng từ nhiều dung dịch hợp chất khác nhau, được minh họa bởi các dung dịch được nêu chi tiết trong Bảng 3-5, dưới đây. Cụ thể, Dạng B có thể được điều chế bằng cách làm bay hơi nhanh hoặc làm bay hơi chậm trong MTBE, THF, toluen, hoặc etyl axetat. Bằng cách thực hiện giống như vậy, Dạng A có thể được điều chế bằng cách làm bay hơi nhanh, làm bay hơi chậm, hoặc làm nguội chậm dung dịch CDDO methyl este trong etanol hoặc metanol. Các phương pháp điều chế CDDO methyl este trong axeton có thể tạo ra Dạng A, sử dụng phương pháp làm bay hơi nhanh, hoặc Dạng B, sử dụng phương pháp làm bay hơi chậm. Các phương pháp điều chế khác được mô tả ở phần dưới đây, kể cả các bảng được cung cấp trong đó.

Do không có cấu trúc tinh thể xác định, Dạng B cũng không có các đỉnh XRPD khác biệt, như các đỉnh đặc trưng cho Dạng A, và thay vì được đặc trưng bởi mẫu “halo” XRPD thông thường. Cụ thể, dạng B không kết tinh thuộc loại chất rắn “vô định hình tia X” vì mẫu XRPD của nó thể hiện ba halo nhiều xạ cơ bản hoặc ít hơn (xem Fig.10, chẳng hạn). Thuộc loại này, Dạng B là nguyên liệu “dạng thủy tinh”: Như được thể hiện bởi PDF, các tương tác nguyên tử-nguyên tử lân cận gần nhất phù hợp với tương tác quan sát được đối

với dạng tinh thể A, nhưng khái niệm ô đơn vị trung bình không được áp dụng vì không có trật tự khoảng xa nào được biểu thị.

Do đó, không giống như Dạng A, các mẫu của Dạng B không thể hiện mối tương quan phân tử khoảng xa, tức là, trên khoảng 20 Å (xem Fig.27). Hơn nữa, sự phân tích nhiệt của mẫu Dạng B phát hiện thấy nhiệt độ chuyển tiếp thủy tinh (T_g). Ngược lại, nguyên liệu tinh thể cỡ nano hỗn độn, không thể hiện T_g mà thay vào đó chỉ thể hiện nhiệt độ nóng chảy (T_m), ở nhiệt độ lớn hơn nhiệt độ này, cấu trúc tinh thể sẽ trở thành chất lỏng.

Phần mô tả sáng chế này còn mô tả dạng dimetanol solvat của CDDO-metyl este, dạng này có thể được sử dụng để điều chế dạng B (xem Ví dụ 9). Cũng được mô tả trong bản mô tả này là dạng hemibenzenat của CDDO-metyl este (xem Ví dụ 8).

Mặc dù việc micron hóa các nguyên liệu tinh thể khác đã được phát hiện thấy là ảnh hưởng đến phổ XRPD, nhưng phân tích XRPD của Dạng A được micron hóa thu được phổ tương tự với Dạng A không được micron hóa. Xem Fig.2 về kết quả so sánh liên kề của Dạng A không được micron hóa, Dạng A được micron hóa, và CDDO metyl este Dạng B.

Có thể sử dụng các phương pháp xác định đặc điểm khác nhau cùng với nhau để phân biệt CDDO metyl este Dạng A và Dạng B với nhau và với các dạng CDDO metyl este khác. Ví dụ về phương pháp thích hợp cho mục đích này là cộng hưởng từ hạt nhân trạng thái rắn (NMR), nhiễu xạ bột tia X, phép khảo sát tinh thể bằng tia X, phép đo nhiệt lượng quét vi sai (DSC), hấp thụ/khử hấp thụ hơi động lực (DVS), phân tích Karl Fischer (KF), phương pháp chụp hiển vi đĩa nóng, phép đo nhiệt lượng quét vi sai điều biến, FT-IR, và Quang phổ Raman.

Cụ thể, phân tích số liệu XRPD và DSC có thể phân biệt được Dạng A, Dạng B, và dạng hemibenzenat của CDDO-metyl este.

Các tính chất của các dạng CDDO methyl este theo sáng chế đều có tính phân biệt, như được nêu ở trên, và có lợi cho việc sử dụng chúng làm chất chữa bệnh. Ví dụ, độ sinh khả dụng của CDDO methyl este Dạng B và Dạng A khác nhau ở khi khi các con khi này nhận được liều lượng tương đương của hai dạng này qua đường miệng, trong viên nang gelatin. Xem Ví dụ 7. Ngoài ra, độ ổn định của các dạng CDDO-methyl este mới được nhận biết sẽ hữu ích trong việc sản xuất dược phẩm.

Theo cách tương tự để phân biệt CDDO methyl este Dạng A và Dạng B với nhau và với các dạng CDDO methyl este khác, các hệ phân tán CDDO methyl este mà giữ được đặc điểm “vô định hình tia x”, như được nêu chi tiết ở phần dưới đây, có thể được phân biệt với hệ phân tán chứa CDDO methyl este dạng A tinh thể bằng nhiều phương pháp khác nhau, kể cả phân tích XRPD và DSC. Vì vậy, hệ phân tán chứa CDDO methyl este tinh thể Dạng A thường thể hiện các đỉnh riêng biệt đặc trưng của CDDO methyl este Dạng A tinh khiết, đặc biệt là các đỉnh xuất hiện ở khoảng 13,35 và 8,78 ($^{\circ}2\theta$) (ví dụ, Xem Bảng 17, dưới đây).

Các tính chất của hệ phân tán tá dược polyme của CDDO methyl este theo sáng chế là vừa có tính phân biệt vừa có lợi cho việc sử dụng chúng làm chất chữa bệnh. Ví dụ, độ sinh khả dụng của hệ phân tán CDDO methyl este đã chọn, được phối trộn với các chất phụ gia không có hoạt tính khác, khác nhau ở khi khi các con khi này nhận được liều lượng tương đương của hệ phân tán này trong viên nang gelatin. Xem Ví dụ 7, dưới đây, nghiên cứu pha 2 và 3. Trong một số trường hợp, chế phẩm chứa hệ phân tán tá dược polyme của CDDO methyl tạo ra sự tăng cường thêm nữa độ sinh khả dụng đáng ngạc nhiên, ngay cả so với chế phẩm được tạo ra từ CDDO methyl este Dạng B tinh khiết.

Sự có mặt của nhiều dạng, kể cả dạng đa hình, trong dược phẩm dạng rắn đã được mô tả trước đây, bởi Cui (2007) chẳng hạn. Dạng tinh thể và dạng vô định hình của hợp chất có thể thể hiện các tính chất vật lý và hóa học khác nhau. Ví dụ, dạng vô định hình có thể có độ hòa tan lớn hơn so với dạng tinh

thể. Tuy nhiên, mỗi hợp chất là duy nhất theo khía cạnh này, và mức độ mà nguyên liệu vô định hình sẽ khác với trạng thái tinh thể phải được nghiên cứu trên cơ sở từng trường hợp và không thể dự đoán được theo cách suy diễn. Ngoài ra, một số nguyên liệu vô định hình có thể tái kết tinh.

Liên quan đến vấn đề này, mức độ biến thiên trong số liệu thu thập có thể tăng do nhiều yếu tố. Do đó, phần mô tả này sử dụng thuật ngữ “khoảng” hoặc “vào khoảng” để biểu thị các biến thiên trong số liệu sử dụng để mô tả dạng CDDO-metyl este. Ví dụ, nhiệt độ nóng chảy có thể thay đổi theo khí cụ đo kiểm hoặc điều kiện đo kiểm. Về độ chính xác của phép đo, USP <891> nói rõ rằng "Trong trường hợp nóng chảy, cả nhiệt độ "bắt đầu" và nhiệt độ "đỉnh" có thể được xác định một cách khách quan và lặp lại được, thường trong một vài phần mười độ." Thử nghiệm thực tế cho thấy điều này không đúng khi đo T_g của nguyên liệu. T_g sẽ phụ thuộc vào nhiều yếu tố: cách điều chế mẫu, biểu đồ nhiệt của mẫu (sự hồi phục), dung môi còn dư có thể hoặc không thể bay hơi trước khi đạt đến T_g , dụng cụ, quy trình điều chế mẫu (khối lượng của mẫu, cỡ hạt, đóng gói, chất pha loãng), các thông số được dùng để đo T_g (đặc biệt là tốc độ quét), các thông số được dùng để xác định vị trí của T_g (nhiệt độ bắt đầu, nhiệt độ điểm giữa, nhiệt độ điểm uốn, hoặc nhiệt độ dịch chuyển), sự thu nhiệt hồi phục có mặt ở T_g hay không, và các yếu tố khác. Một số yếu tố sẽ làm giảm T_g (sự dẻo hóa do nước/dung môi còn dư), trong khi đó các yếu tố khác sẽ làm tăng T_g (tốc độ quét nhanh hơn, sự hồi phục) và có thể làm tăng nhiều như 10-15°C. Sự thay đổi nhiệt dung riêng ở T_g (ΔC_p) có thể đóng vai trò quan trọng, như được báo cáo bởi Zhou et al., J. Pharmaceutical Sciences 91: 1863–72 (2002).

Phần mô tả này mô tả các mẫu khác nhau về các đỉnh “đặc trưng” của chúng. Tập hợp hoặc nhóm các đỉnh này là duy nhất đối với dạng đa hình đã cho, với độ bất định có thể được quy là do các dụng cụ riêng lẻ và điều kiện thử nghiệm.

Đối với mỗi dạng tinh thể, nhóm gồm năm đỉnh đặc trưng được liệt kê trong Bảng 17-19, dưới đây. Độ biến thiên tiêu biểu có thể là $\pm 0,1^\circ 2\theta$, nhưng vị trí đỉnh có thể thay đổi đến $\pm 0,2^\circ 2\theta$ hoặc nhiều hơn trong một số thử nghiệm.

Bảng 17 - Dạng A

Vị trí đỉnh ($^\circ 2\theta$)
13,35
8,78
17,4
12,94
14,18

Bảng 18 - Dimetanolat

Vị trí đỉnh ($^\circ 2\theta$)
8,87
11,26
16,63
16,9
13,72

Bảng 19 - Hemibenzenat

Vị trí đỉnh ($^\circ 2\theta$)
14,17
9,25
16,32
14,62
17,11

Mẫu XRPD của nguyên liệu thủy tinh (Dạng B) thể hiện đỉnh halo rộng ở khoảng $13,5^\circ 2\theta$, đỉnh này dường như là đặc trưng của Dạng B. Các halo khác không được xác định rõ, và hình dạng/vị trí của mẫu này có thể thay đổi dưới dạng hàm số của dụng cụ và điều kiện thử nghiệm. Biến thiên trong vị trí của đỉnh rộng này sẽ lớn hơn biến thiên trong vị trí của các đỉnh đặc trưng của các dạng tinh thể tương ứng. Cụ thể, mức độ biến thiên lên đến $\pm 1^\circ 2\theta$ đối với đỉnh rộng của Dạng B có thể được mong đợi trong các dụng cụ nhất định.

Mẫu XRPD của nguyên liệu thủy tinh được tạo ra dưới dạng hệ phân tán tá dược CDDO methyl este cũng thể hiện đỉnh halo rộng, thường có tâm ở khoảng $13,5^{\circ}2\theta$. Các nguyên liệu này cũng thể hiện T_g qua phép đo nhiệt lượng quét vi sai điều biến (mDSC). Giống như mẫu CDDO methyl este Dạng B tinh khiết, hình dạng và vị trí của mẫu XRPD đối với hệ phân tán tá dược có thể thay đổi dưới dạng hàm số của dụng cụ được sử dụng, điều kiện thử nghiệm, và tá dược cụ thể được sử dụng để tạo ra hệ phân tán này.

Sáng chế còn đề cập đến việc sử dụng Dạng A, Dạng B, và hệ phân tán tá dược, XRPD-vô định hình, dạng thủy tinh của CDDO methyl este, tương ứng, để điều trị các bệnh có liên quan đến chứng viêm, bao gồm tình trạng ung thư và các bệnh lý khác nhau tác động đến hệ thần kinh trung ương. Theo sáng chế, việc điều trị các bệnh này bao gồm bước cho đối tượng cần chứng dùng lượng hữu hiệu của dạng CDDO methyl este mới được liệt kê trong bản mô tả này. Các hợp chất này có tính hữu dụng để cải thiện hoặc ngăn ngừa chứng viêm liên quan đến nguyên nhân bệnh của bệnh ung thư, bệnh Alzheimer (AD), bệnh Parkinson (PD), bệnh xơ cứng rải rác (MS), xơ cứng cột bên teo cơ (ALS), viêm đa khớp dạng thấp (RA) và các bệnh tự miễn khác, bệnh viêm ruột, và các tình trạng bệnh lý có liên quan đến sự sản xuất dư thừa oxit nitric hoặc prostaglandin.

Như đã lưu ý ở trên, sự biểu hiện khác thường hoặc dư thừa của cyclooxygenaza-2 (COX-2) hoặc nitric oxit syntaza chịu cảm ứng (iNOS) có liên quan đến sự phát sinh bệnh của nhiều quá trình bệnh, kể cả quá trình phát sinh ung thư biểu mô trong ruột kết. Một số chất tổng hợp tương tự của triterpenoit, bao gồm CDDO methyl este, đã được báo cáo là ức chế sự biểu hiện iNOS. Các nghiên cứu có liên quan đã cho thấy triterpenoit kìm hãm sự biểu hiện của cả iNOS và COX-2 trong đại thực bào mà đã bị kích thích bởi IFN- γ hoặc LPS (Suh et al., 1998; Honda et al., 2002). Do đó, việc điều trị sử dụng dạng CDDO methyl este được mong đợi là tác động đến sự ức chế iNOS và COX-2.

Sự biểu hiện quá mức của gen đối với COX-2 là hiện tượng sớm và chủ yếu trong quá trình phát sinh ung thư biểu mô ruột kết (Prescott and White, 1996; Dubois et al., 1996). Chuột nhắt khuyết gen APC (adenomatous polyposis coli) phát triển số lượng lớn polyp ở ruột ở độ tuổi còn non, và đã phát hiện thấy mức enzym COX-2 tăng cao rõ rệt trong các polyp này. Các phát hiện ở động vật này có liên quan đến phát hiện về mức độ tăng cao của mRNA của COX-2 và protein trong nhiều bệnh ung thư ruột kết nguyên phát ở người và dòng tế bào ung thư ruột kết (Prescott and White, 1996), và tin rằng sự tăng cao COX-2 này sẽ làm ức chế hiện tượng chết theo chương trình, hiện tượng này thường sẽ dẫn đến sự chết các tế bào tiền ung thư (Tsujii and DuBois, 1996). Sự liên quan về mặt chức năng COX-2 với sự tạo khối u trong ruột đã được chứng minh bởi sự bất hoạt gen COX-2 (Oshima et al., 1996). Chuột nhắt mang gen bị làm bất hoạt này được giao phối với chuột nhắt đang tạo thành khối u mang thương tổn trong gen APC; việc làm bất hoạt COX-2 làm giảm mạnh số lượng polyp ở thể hệ con cháu. Hơn nữa, việc điều trị các động vật thử nghiệm bằng các chất ức chế COX-2 chọn lọc hoặc các chất ức chế COX-1/COX-2 không chọn lọc đã được báo cáo là phương pháp hiệu nghiệm ngăn ngừa ung thư ruột bằng hóa chất (Marnett, 1992; Oshima et al., 1996; Boolbol et al., 1996; Reddy et al., 1996; Sheng et al., 1997). Về vai trò của iNOS trong sự phát sinh ung thư, rõ ràng là NO là chất gây đột biến hiệu nghiệm (Tamir and Tannebaum, 1996), và oxit nitric cũng có thể hoạt hóa COX-2 (Salvemini et al., 1993, 1994). Cũng có sự tăng iNOS rõ rệt trong khối u ruột kết ở chuột do chất sinh ung thư, azoxymetan, gây ra (Takahashi et al., 1997). Tương tự, sự biểu hiện quá mức của iNOS trong khối u ở người đã được báo cáo là yếu tố tiên lượng âm tính (ví dụ, Ekemekcioglu et al., 2006).

Con đường tín hiệu viêm và các con đường tín hiệu có liên quan đến bệnh khác, như được kích thích bởi angiotensin II, thường kích thích sự sản xuất dư loại oxy hoặc nitơ có khả năng phản ứng (RONS), bao gồm superoxit, hydro peroxit, oxit nitric và peroxynitrit. CDDO metyl este đã được thấy là chất cảm ứng hoạt tính chống oxy hóa hiệu nghiệm và là chất ức chế hiệu nghiệm

các quá trình viêm trong nhiều loại tế bào khác nhau (Dinkova-Kostova et al., 2005; Liby et al., 2006; Ahmad et al., 2006; Shishodia et al., 2006). Chứng viêm cấp, trầm trọng do nhiều nguyên nhân bao gồm nhiễm trùng, chấn thương, bỏng, và tiếp xúc hóa học có thể đe dọa cuộc sống và có thể gây ra suy gan, suy thận, suy hô hấp, hoặc suy tim. Chứng viêm mạn tính và stress liên quan đến oxy hóa góp phần tạo nên bệnh lý của nhiều bệnh quan trọng bao gồm các bệnh tự miễn (ví dụ, viêm đa khớp dạng thấp, luput, bệnh vẩy nến, và bệnh xơ cứng rải rác), các bệnh tim mạch (ví dụ, xơ vữa động mạch và suy tim), bệnh đái tháo đường (typ I và typ II), các bệnh hô hấp (ví dụ, bệnh tắc nghẽn phổi mạn tính và bệnh hen), bệnh thận mạn tính, suy thận, suy gan, và hội chứng đau (ví dụ, đau thần kinh, bệnh đau cơ, và bệnh nhức nửa đầu). Ngoài ra, triterpenoit đã được thấy là ức chế sự sao chép của HIV-1 trong đại thực bào (Vazquez et al., 2005) và vì vậy có thể hữu ích để điều trị các bệnh do virus, đặc biệt là các bệnh trong đó sự hoành hành đáng kể của bệnh là do chứng viêm cơ quan hoặc mô (ví dụ, viêm gan do virus, bệnh cúm, ecpet) gây ra.

MS được biết là tình trạng viêm của hệ thần kinh trung ương (Williams, Ulvestad and Hickey, 1994; Merrill and Beneviste, 1996; Genain and Nauser, 1997). Cơ chế viêm, oxy hóa, hoặc miễn dịch có thể có liên quan đến sự phát sinh bệnh của MS, AD, PD, và ALS (Bagasra et al., 1995; Griffin et al., 1995; McGeer and McGeer, 1995; Good et al., 1996; Simonian and Coyle, 1996; Kaltschmidt et al., 1997). Cả các tế bào dạng sao có khả năng phản ứng lẫn vi tế bào thần kinh được hoạt hóa đều có liên quan đến nguyên nhân của NDD/NID; đặc biệt nhấn mạnh vào vi tế bào thần kinh, là các tế bào tổng hợp cả NO và prostaglandin dưới dạng sản phẩm của các enzym tương ứng, iNOS và COX-2. Sự tạo thành de novo của các enzym này có thể được điều khiển bởi các xytokin viêm như interferon-gamma hoặc interleukin-1. Quay trở lại, việc sản xuất dư NO có thể dẫn đến thác viêm và/hoặc sự hủy hoại oxy hóa trong các tế bào và các mô của nhiều cơ quan, bao gồm noron và tế bào thần kinh đệm ít gai của hệ thần kinh, với sự biểu hiện tất yếu trong AD và MS, và có thể

trong PD và ALS (Coyle and Puttfarcken, 1993; Goodwin et al., 1995; Beal, 1996; Good et al., 1996; Merrill and Benvenist, 1996; Simonian and Coyle, 1996; Vodovotz et al., 1996). Số liệu dịch tễ học cho thấy rằng việc sử dụng NSAID mạn tính, mà phong bế sự tổng hợp của prostaglandin từ arachidonat, sẽ làm giảm đáng kể nguy cơ phát triển AD (McGeer et al., 1996; Stewart et al., 1997). Do đó, Dạng A và Dạng B của CDDO metyl este, là tác nhân phong bế sự tạo thành NO và prostaglandin, sẽ hữu ích trong phương pháp trị liệu để phòng hoặc điều trị NDD.

Như nêu trên, trong nhiều nghiên cứu tiền lâm sàng CDDO-Me đã chứng tỏ khả năng ức chế sự biểu hiện của COX-2 và iNOS, các enzym có liên quan đến cả chứng viêm và sự phát sinh ung thư. CDDO-Me cũng được thấy là ức chế sự hoạt hóa yếu tố nhân-kappa B (NF- κ B) và chất chuyển đổi tín hiệu và chất hoạt hóa phiên mã 3 (STAT3), ức chế các yếu tố phiên mã có liên quan đến chứng viêm, ức chế sự phát triển khối u, và khả năng kháng lại phép trị liệu của khối u. Các nghiên cứu ban đầu chứng tỏ rằng CDDO-Me ức chế sự phát triển của nhiều dòng tế bào ung thư; giá trị IC₅₀ trung bình đối với CDDO-Me trong panen dòng tế bào khối u NCI-60 bằng khoảng 35 nM. Các nghiên cứu *in vivo* xác nhận rằng CDDO-Me ức chế hữu hiệu sự phát triển của các khối u được tạo thành bởi dòng tế bào khối u ở người được cấy ghép vào loài gặm nhấm hoặc dòng tế bào ung thư cùng gen được cấy vào loài gặm nhấm (Bảng 16). Liều lượng được sử dụng trong các nghiên cứu này thường nằm trong khoảng từ 10 đến 100 mg/kg/ngày, tùy thuộc vào loài, chủng, và phương pháp sử dụng.

Các nghiên cứu được nêu chi tiết ở phần dưới đây cung cấp số liệu ở người, số liệu này phản ánh tác động có lợi của CDDO-metyl este đến bệnh nhân mắc tình trạng ung thư. Xem Ví dụ 10.

Từ những điều đã nêu ở trên, sáng chế đề xuất dạng liều lượng ổn định, giải phóng có kiểm soát chứa dạng CDDO metyl este. Dạng liều lượng theo sáng chế có thể dùng để sử dụng một lần một ngày, để giải phóng chậm, hoặc

để giải phóng theo xung, nhờ đó tối ưu hóa phép trị liệu bằng cách kết hợp phù hợp đặc tính dược động học với các yêu cầu dược động học.

Bất kỳ trong số dạng B, Dạng A, và các chế phẩm chứa hệ phân tán tá dược của CDDO metyl este đều có thể được dùng qua đường miệng. Hợp chất hoạt tính có thể được bao trong nguyên liệu để bảo vệ hợp chất này khỏi tác động của axit và các điều kiện tự nhiên khác có thể gây bất hoạt hợp chất này. Các cách dùng khác, như tại chỗ, dưới da, tiêm tĩnh mạch, và tiêm trong màng bụng cũng là một phần của sáng chế này.

Để sử dụng hợp chất trị liệu, có thể cần phải bao hợp chất này bằng nguyên liệu ngăn ngừa sự bất hoạt nó hoặc sử dụng hợp chất này đồng thời với nguyên liệu ngăn ngừa sự bất hoạt nó. Vì vậy, có thể cung cấp CDDO metyl este ở Dạng B hoặc Dạng A cho đối tượng trong chất mang thích hợp, như liposom, hoặc trong chất pha loãng. Chất pha loãng được dùng bao gồm nước muối và dung dịch đệm trong nước. Liposom bao gồm nhũ tương CGF nước-trong-dầu-trong-nước cũng như liposom thông thường. Xem, ví dụ, Strejan et al., J. Neuroimmunol. 7: 27(1984).

Hợp chất trị liệu có thể được dùng qua đường miệng, với chất pha loãng trợ, chất phụ gia, hoặc chất mang ăn được, để tạo thành dược phẩm. Nhằm mục đích này, hợp chất trị liệu theo sáng chế, với các thành phần khác, có thể được bao trong viên nang gelatin vỏ cứng hoặc mềm, được nén thành viên nén, hoặc được đưa trực tiếp vào thức ăn của đối tượng. Để sử dụng trị liệu qua đường miệng, Dạng A hoặc Dạng B có thể được kết hợp với tá dược và được sử dụng ở dạng viên nén có thể ăn vào bụng, viên nén ngậm, viên thuốc hình thoi, viên nang, viên ngọt, hỗn dịch, xirô, bánh xốp, và các dạng tương tự. Tương tự, hệ phân tán tá dược theo sáng chế có thể có mặt trong nhiều loại dạng liều lượng, bao gồm các loại dược mô tả trong bản mô tả này cho Dạng A hoặc Dạng B. Phần trăm của hợp chất trị liệu trong hợp phần và chế phẩm có thể thay đổi, theo thực tiễn thông thường, để tạo ra liều lượng thích hợp của hoạt chất.

Ngoài ra, sáng chế này còn đề cập đến dược phẩm chứa lượng hữu hiệu của CDDO methyl este ở Dạng B hoặc Dạng A, cùng với một hoặc nhiều chất mang và/hoặc chất pha loãng được dụng, không độc và, nếu cần, các thành phần hoạt tính khác. Như đã lưu ý ở trên, hoạt chất có thể được tạo ra dưới dạng hệ phân tán tá dược đồng nhất, bắt đầu từ Dạng B hoặc Dạng A. Hệ phân tán tá dược CDDO methyl este này là dung dịch rắn và có thể được xem là hệ phân tán đồng nhất ở mức độ phân tử. Tốt hơn nếu các hệ phân tán này có thể được phối chế cùng với các chất phụ gia được dụng khác, để làm ổn định hoạt chất và, trong một số trường hợp, để tạo ra các cải thiện hơn nữa độ sinh khả dụng.

Để phối trộn CDDO methyl este dưới dạng hệ phân tán tá dược, việc lựa chọn tá dược cho hệ phân tán này được hướng dẫn theo tiêu chuẩn rằng tá dược này vừa phải là “chất tạo thủy tinh” tốt vừa được dụng. Cụ thể hơn, tá dược phải tạo thành nền dạng thủy tinh, đồng nhất, ổn định, nền này làm ổn định hệ phân tán bằng cách tạo cho T_g cao hơn điều kiện bảo quản nhiệt độ môi trường xung quanh thông thường. Tiêu chuẩn khác theo khía cạnh này là tá dược được sử dụng cho hệ phân tán phải tương thích về mặt hóa học với các chất phụ gia khác, như các chất liên kết, chất độn, chất bôi trơn, chất gây trượt, và các chất tương tự, mà có thể được sử dụng trong chế phẩm cuối cùng để đem lại các đặc tính chức năng mong muốn.

Để thỏa mãn các tiêu chuẩn này, tá dược có thể được chọn, theo sáng chế, từ nhiều hợp chất đặc trưng bởi giá trị T_g cao một cách thích hợp, như (A) hydrat cacbon, dẫn xuất hydrat cacbon, và polyme hydrat cacbon, (B) polyme hữu cơ tổng hợp, (C) muối của axit hữu cơ, (D) protein, polypeptit, và peptit, và (E) polysacarit phân tử lượng lớn như heparin, là polysacarit đã sulfat hóa, và axit hyaluronic, mucopolysacarit.

Ví dụ minh họa về nhóm (A) là: các dẫn xuất xenluloza, như hydroxypropyl xenluloza (HPC), hydroxypropyl methyl xenluloza (HPMC), và ethyl xenluloza; các polysacarit, như raffinosa, maltotriosa, stachyosa, dextrin

(bao gồm maltodextrin và xyclodextrin, trong số các chất khác), các đextran, và tinh bột hòa tan; các alđitol, như manitol, xylitol, và sorbitol; và các đisacarit, như lactoza, trehaloza, maltoza, và sucroza. Tá dược được ưu tiên từ nhóm này là hydroxypropyl metyl xenluloza phtalic este (HPMC-P).

Nhóm (B) được nêu làm ví dụ bởi poly[1-(2-oxo-1-pyrrolidinyl)etylen, *a/k/a* povidon hoặc polyvinylpyrrolidon (PVP) và các co-polyme có liên quan, như PVP/VA, có phân tử lượng khác nhau. Cũng được bao gồm trong nhóm này là họ axit metacrylic của các copolyme, như copolyme của axit metacrylic Loại C (USP/NF).

Nhóm (C) được minh họa bởi các muối, như muối natri, kali, canxi và magie, lần lượt của axit lactic, axit ascorbic, axit maleic, axit oxalic, axit malonic, axit malic, axit succinic, axit xitric, axit gluconic, và axit glutamic. Vì vậy, các muối tiêu biểu theo khía cạnh này là natri xitrat, natri lactat, natri maleat, magie gluconat, và natri ascorbat.

Tá dược nhóm (D) được nêu ví dụ là: albumin huyết thanh của người; axit polyamino, ví dụ, polyalanin, polyarginin, polyglyxin, và axit polyglutamic; casein; collagen; gelatin và các protein gelatin tinh khiết; và các hợp chất có hoạt tính dược lý nhất định, như insulin.

Tá dược có thể làm thay đổi một số tính chất vật lý của chế phẩm dược, như đã lưu ý. Ví dụ, hệ phân tán trong các tá dược polyme khác nhau có thể dẫn đến việc làm giảm T_g quan sát được của chế phẩm. Thông thường, T_g là tính chất bổ sung dựa trên tỷ lệ của các nguyên liệu có liên quan. Do đó, khi sử dụng polyme có giá trị T_g nhỏ hơn giá trị T_g của Dạng B vô định hình, mong muốn thấy được sự giảm T_g đối với hệ phân tán (hỗn hợp). Ngoài ra, độ ẩm hoặc lượng rất nhỏ của dung môi hữu cơ còn dư thường có mặt, cũng có xu hướng làm giảm T_g .

Nhằm mục đích tạo ra hệ phân tán CDDO-Me rắn, việc lựa chọn tá dược tối ưu thường phải được xác định theo kinh nghiệm. Ví dụ, cố gắng để tạo ra hệ

phân tán XRPD-vô định hình, dạng thủy tinh bằng cách sử dụng tá dược polyetylen glycol (PEG), như PEG 6000, đã tạo ra các hỗn hợp có chứa các đỉnh đặc trưng có liên quan đến sự có mặt của CDDO metyl este Dạng A. Các kết quả tương tự thu được bằng cách sử dụng Vitamin E – TPGS, tá dược được tạo ra bằng cách este hóa succinat của axit d-alpha-tocopheryl với polyetylen glycol 1000, cũng như bằng cách sử dụng copolyme etylen oxit – propylen oxit như Pluronic®. Như các ví dụ minh họa dưới đây, các tá dược dạng polyme nhất định được sử dụng để tạo thành hệ phân tán với CDDO-Me, theo sáng chế, thể hiện sự cải thiện đáng ngạc nhiên về độ sinh khả dụng khi dùng qua đường miệng so với dược chất Dạng B tinh khiết.

Các phương pháp điều chế hệ phân tán đồng nhất, dạng thủy tinh, vô định hình tia X của CDDO-Me với tá dược được dụng có thể thay đổi, và các ví dụ nêu trong bản mô tả này sử dụng phương pháp làm khô dạng phun để tạo ra các hệ phân tán như vậy. Có thể sử dụng các phương pháp sản xuất khác để tạo ra hệ phân tán theo sáng chế có các tính chất và độ hữu dụng tương đương. Xem Repka et al., 2002, và các tài liệu tham khảo được trích dẫn trong đó. Các phương pháp khác này bao gồm, nhưng không giới hạn ở phương pháp làm bay hơi dung môi và ép đùn, như ép đùn nóng chảy.

Ngoài tá dược, các chất phụ gia khác có thể được bao gồm để trợ giúp độ ổn định của thành phần hoạt tính, để điều chỉnh độ pH (*tức là*, chất đệm), cải thiện khả năng phân tán, trợ giúp tạo ra sự phân phối đồng đều, và để đạt được các đặc tính mong muốn khác cho dược phẩm.

Lượng hợp chất hoặc hợp phần theo sáng chế được sử dụng sẽ thay đổi, tùy thuộc vào bệnh nhân và cách sử dụng, và có thể là lượng hữu hiệu bất kỳ.

Chế độ điều trị đã cho để sử dụng hợp phần theo sáng chế có thể được phát triển bằng cách tiến hành thử nghiệm lâm sàng và tiền lâm sàng thông thường và phổ biến, chi tiết của việc thử nghiệm này là hàm số của chỉ định trị liệu, trong số các yếu tố khác. Lượng hoạt chất được sử dụng có thể thay đổi trong phạm vi rộng, bằng cách đó tạo ra, trong liều lượng đơn vị, lượng hữu

hiệu về mặt dược lý mỗi ngày tính theo thể trọng của bệnh nhân, để đạt được tác dụng mong muốn. Liều lượng mong muốn cũng có thể thay đổi theo tình trạng bệnh được điều trị. Ví dụ, việc điều trị bệnh ung thư cấp có thể đòi hỏi liều lượng cao hơn một cách đáng kể so với việc điều trị tình trạng viêm như viêm khớp chẳng hạn.

Cụ thể, hợp phần theo sáng chế có mặt dưới dạng liều lượng đơn vị và tốt hơn nếu được dùng từ 1 đến 3 lần hàng ngày, tốt nhất nếu dùng một lần một ngày để đạt được tác dụng mong muốn.

Ngoài ra, hợp phần theo sáng chế có thể được dùng hai ngày một lần, ba ngày một lần, bốn ngày một lần, năm ngày một lần, sáu ngày một lần, hoặc một tuần một lần.

Hợp phần theo sáng chế cũng có thể được dùng một mình hoặc kết hợp với các thuốc khác dựa trên các nhu cầu cụ thể của bệnh nhân. Cụ thể, hợp phần theo sáng chế có thể được sử dụng với các chất chống ung thư như là một phần của chế độ điều trị. Ví dụ, CDDO-methyl este có thể được dùng với gemxitabin, hoặc các chất khác, trong quá trình điều trị ung thư, như ung thư tuyến tụy chẳng hạn.

Nhìn chung, dược phẩm theo sáng chế được bào chế bằng cách sử dụng các nguyên liệu và phương pháp thông thường, như nhào trộn, pha trộn và các phương pháp tương tự. Hơn nữa, thuốc chứa Dạng A hoặc Dạng B cũng có thể chứa các thành phần khác, bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các tá dược, chất mang, tá dược, và chất làm ổn định thích hợp v.v.. Tốt hơn nếu chế phẩm trị liệu theo sáng chế là chất rắn nhưng, về nguyên tắc, có thể là chất lỏng, như hỗn dịch hoặc nhũ tương.

Theo sáng chế, liều duy trì qua đường miệng thường nằm trong khoảng từ 0,1mg đến khoảng 1000mg, tốt hơn nếu được cấp một lần một ngày. Liều lượng này có thể thay đổi hoặc cố định theo trọng lượng của đối tượng. Liều

lượng điển hình có thể nằm trong khoảng từ 0,01mg/kg đến 100mg/kg, với dạng liều lượng đơn vị được ưu tiên bao gồm viên nén và viên nang.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các ví dụ sau chỉ nhằm mục đích minh họa và không dự định làm giới hạn phạm vi của sáng chế. Các nguyên liệu và phương pháp được sử dụng trong các ví dụ được chỉ ra dưới đây:

a. Nguyên liệu

Dung môi và các chất phản ứng khác được mua từ nhà cung cấp trên thị trường và có chất lượng HPLC hoặc ACS.

b. Các phương pháp thử nghiệm

i. Độ hòa tan gần đúng – Phương pháp bổ sung dung môi

Xử lý mẫu đã cân bằng lượng nhỏ của dung môi thử nghiệm ở nhiệt độ trong phòng. Sự hòa tan hoàn toàn của nguyên liệu thử nghiệm được xác định bằng cách kiểm tra bằng mắt thường. Độ hòa tan được đánh giá dựa trên tổng dung môi được sử dụng để tạo ra quá trình hòa tan hoàn toàn. Độ hòa tan thực tế có thể lớn hơn giá trị tính toán được do sử dụng lượng dung môi quá lớn hoặc do tốc độ hòa tan chậm. Độ hòa tan được biểu thị là “ít hơn” nếu sự hòa tan không xảy ra trong quá trình thử nghiệm. Nếu sự hòa tan hoàn toàn đạt được do chỉ bổ sung lượng nhỏ một lần, độ hòa tan được biểu thị là “lớn hơn.”

ii. Sàng lọc chất đa hình

Cả phương pháp kết tinh nhiệt động học và động học đều được sử dụng. Các phương pháp này được mô tả chi tiết hơn dưới đây. Ngay khi các mẫu chất rắn được thu gom từ quá trình thử kết tinh xong, chúng được kiểm tra qua kính hiển vi điện tử về hình thái hoặc được quan sát bằng mắt thường. Hình dạng tinh thể bất kỳ được lưu ý, nhưng đôi khi chất rắn thể hiện hình thái chưa biết, do cỡ hạt nhỏ. Sau đó, các mẫu chất rắn được phân tích bằng XRPD, và các

mẫu này được so sánh với nhau để nhận biết các dạng tinh thể mới hoặc các dạng không phải tinh thể.

(i) Kết tủa lạnh (CP)

Các dung dịch được điều chế trong nhiều dung môi khác nhau ở nhiệt độ cao. Sau đó, các dung dịch này được lọc qua giấy lọc PTFE hoặc ni-lông độ dày 0,2 μ m vào chất chống dung môi ở nhiệt độ dưới nhiệt độ trong phòng. Sự có mặt hoặc không có mặt chất rắn được lưu ý. Nếu không có mặt chất rắn, hoặc nếu lượng chất rắn được đánh giá là quá nhỏ cho phân tích XRPD, thì lọ nhỏ được đặt trong máy làm đông. Chất rắn tạo thành được tách riêng bằng cách lọc và được làm khô trước khi phân tích.

(ii) Làm bay hơi nhanh (FE)

Các dung dịch được điều chế trong các dung môi khác nhau và được nghiền bằng sóng siêu âm giữa các lần bổ sung lượng nhỏ để trợ giúp quá trình hòa tan. Ngay khi hỗn hợp đạt đến quá trình hòa tan hoàn toàn, như được đánh giá bằng cách quan sát bằng mắt thường, dung dịch được lọc qua giấy lọc ni-lông 0,2 μ m. Dung dịch đã lọc được làm bay hơi ở nhiệt độ trong phòng trong lọ không đậy nắp. Chất rắn tạo thành được tách riêng và phân tích.

(iii) Sấy khô nhiệt độ thấp (FD)

Dung dịch 1,4-đioxan được điều chế, lọc qua giấy lọc ni-lông 0,2 μ m, và làm đông lạnh bằng cách sử dụng đá khô. Mẫu đông lạnh được làm đông khô nhanh bằng cách sử dụng FTSSystems Flexi-Dry. Nhiệt độ đông khô nhanh không bị khống chế.

(iv) Micron hóa

Có thể tiến hành micron hóa nguyên liệu trong máy nghiền năng lượng lỏng và có thể làm giảm cỡ hạt xuống từ 1 đến 20 micron. Phần mô tả khác về các quy trình này có thể được tìm thấy trong PERRY'S CHEMICAL ENGINEERS' HANDBOOK, 7th ed. (McGraw Hill, 1998).

(v) Nghiền

Mẫu chất rắn được đặt vào máy nghiền rôto bằng thép không gỉ có bi kim loại nhỏ. Một vài mẫu được bổ sung lượng nước nhỏ (nghiền ướt). Sau đó, mẫu được nghiền ở 30Hz trên máy nghiền trộn MM220 loại Retesh trong khoảng 20 phút. Chất rắn tạo thành được tách riêng và phân tích.

(vi) Nghiền lạnh

Mẫu chất rắn được đặt vào lọ nghiền bằng thép không gỉ có thanh nghiền. Sau đó, mẫu được nghiền ở 15Hz trên máy nghiền lạnh SPEX Certiprep mẫu 6750 trong khoảng thời gian đã đặt. Lọ nghiền được nhúng trong bể nitơ lỏng trong quá trình thử nghiệm. Chất rắn được tách riêng và phân tích.

(vii) Nóng chảy/làm lạnh

Mẫu chất rắn được đặt trên phiến kính hiển vi bằng thủy tinh và được làm phẳng. Sau đó, phiến này được đặt trên đĩa nóng ở nhiệt độ đã đặt cho đến khi chất rắn này nóng chảy. Sau khi nóng chảy, phiến này được lấy ra khỏi đĩa nóng và được đặt trên đỉnh máy đếm lạnh để làm nguội nhanh. Chất rắn tạo thành được làm khô trong nitơ và phân tích.

(viii) Làm bay hơi dạng quay

Dung dịch được điều chế trong các dung môi khác nhau và được lọc qua giấy lọc ni-lông 0,2 μ m. Mẫu được đặt trên thiết bị làm bay hơi dạng quay và được lấy ra khi khô. Chất rắn tạo thành được tách riêng và phân tích.

(ix) Làm bay hơi chậm (SE)

Dung dịch được điều chế trong các dung môi khác nhau và được nghiền bằng sóng siêu âm giữa các lần bổ sung lượng nhỏ để trợ giúp quá trình hòa tan. Ngay khi hỗn hợp đạt đến sự hòa tan hoàn toàn, như được đánh giá bằng cách quan sát bằng mắt thường, dung dịch được lọc qua giấy lọc ni-lông

0,2 μ m. Dung dịch đã lọc được làm bay hơi ở nhiệt độ trong phòng hoặc trong nitơ trong lọ nhỏ đã được phủ lá nhôm có đục các lỗ nhỏ. Sau đó, chất rắn tạo thành được tách riêng và phân tích.

(x) Làm nguội chậm (SC)

Dung dịch bão hòa được điều chế trong các dung môi khác nhau ở nhiệt độ khoảng 60°C và được lọc qua giấy lọc ni-lông 0,2 μ m vào lọ mở trong khi vẫn ấm. Lọ này được đậy nắp và được để nguội từ từ xuống nhiệt độ trong phòng. Sự có mặt hoặc không có mặt của chất rắn được lưu ý. Nếu chất rắn không có mặt, hoặc nếu lượng chất rắn được đánh giá là quá nhỏ cho phân tích XRPD, thì lọ được đặt trong tủ lạnh. Sự có mặt hoặc không có mặt của chất rắn lại được lưu ý và, nếu không có, thì lọ được đặt trong tủ lạnh. Chất rắn tạo thành được tách riêng bằng cách lọc và được để cho khô trước khi phân tích.

(xi) Thử nghiệm huyền phù đặc

Dung dịch được điều chế bằng cách bổ sung đủ chất rắn vào dung môi đã cho sao cho chất rắn còn dư. Sau đó, hỗn hợp này được khuấy trong lọ kín ở nhiệt độ trong phòng. Sau 7 hoặc 10 ngày, chất rắn được tách riêng bằng cách lọc chân không và phân tích.

(xii) Thử nghiệm ứng suất

Chất rắn được tạo ứng suất trong các môi trường nhiệt độ và/hoặc độ ẩm tương đối (RH) khác nhau trong khoảng thời gian xác định. Các giá trị RH đặc trưng đạt được bằng cách đặt mẫu bên trong buồng kín chứa dung dịch muối bão hòa hoặc bên trong buồng nhiệt độ và độ ẩm ESPEC. Dung dịch muối được chọn và điều chế theo quy trình chuẩn ASTM. Mẫu được phân tích bằng XRPD ngay sau khi được lấy ra khỏi môi trường ứng suất.

iii. Xác định cấu trúc tinh thể đơn

(i) Điều chế mẫu

Dung dịch bão hòa của CDDO methyl este được điều chế trong metanol ở nhiệt độ $\sim 60^{\circ}\text{C}$ và được lọc qua giấy lọc $0,2\mu\text{m}$ vào lọ mở trong khi vẫn ấm. Lọ được đậy nắp và được để nguội từ từ xuống nhiệt độ trong phòng. Quan sát sự có mặt của viên hình chóp sau 1 ngày.

(ii) Thu thập số liệu

Đĩa không màu chứa CDDO-Me ($\text{C}_{32}\text{H}_{43}\text{NO}_4$) có kích thước hai mặt gần đúng là $0,01 \times 0,01\text{mm}$, được đặt trên sợi thủy tinh theo hướng ngẫu nhiên. Tiến hành kiểm tra sơ bộ và thu thập số liệu bằng chiếu xạ $\text{Mo } K_{\alpha}$ ($\lambda = 0,71073 \text{ \AA}$) trên nhiễu xạ kế Nonius KappaCCD được trang bị máy đơn sắc chùm tới, tinh thể graphit. Tiến hành tinh chế trên LINUX PC bằng cách sử dụng SHELX97 (Sheldrick, 1997) [1].

Hằng số ô và ma trận định hướng để thu thập số liệu thu được từ phương pháp tinh chế bình phương tối thiểu bằng cách sử dụng góc thiết lập của 46742 phản xạ nằm trong khoảng từ $2^{\circ} < \theta < 22^{\circ}$. Độ khảm sau khi tinh chế từ DENZO/SCALEPACK [2] là $0,32^{\circ}$ cho thấy chất lượng tinh thể tốt. Nhóm không gian được xác định bằng chương trình XPREP [3]. Từ sự có mặt hệ thống của các điều kiện sau: $h00 \ h=2n$, $00l \ l=4n$, và từ phương pháp tinh chế bình phương tối thiểu tiếp theo, nhóm không gian được xác định là $P4_32_12$ (số 96).

Số liệu được thu thập đến giá trị 2θ tối đa là $44,43^{\circ}$, ở nhiệt độ $150 \pm 1 \text{ K}$.

(iii) Rút gọn số liệu

Khung dữ liệu được tích hợp bằng DENZO-SMN [2]. Tổng số 46742 phản xạ được thu gom, trong đó 9168 phản xạ có tính duy nhất. Các hiệu chỉnh Lorentz và hiệu chỉnh phân cực được áp dụng cho số liệu. Hệ số hấp phụ tuyến tính là $0,074 \text{ mm}^{-1}$ đối với chiếu xạ $\text{Mo } K_{\alpha}$. Sự hiệu chỉnh hấp phụ thực nghiệm sử dụng SCALEPACK [2] được áp dụng. Hệ số truyền nằm trong khoảng từ

0,9995 đến 0,9999. Cường độ của các phản xạ tương đương được tính trung bình. Hệ số hòa hợp với giá trị trung bình là 9,3% theo cường độ.

(iv) Giải cấu trúc và tinh chế

Cấu trúc được giải bằng các phương pháp trực tiếp bằng cách sử dụng SHELXS97 [1]. Các nguyên tử còn lại được định vị trong các quy trình tổng hợp Fourier vi sai kế tiếp. Các nguyên tử hydro được bao gồm trong phương pháp tinh chế nhưng bị cản trở khi goni lên nguyên tử mà chúng liên kết với. Cấu trúc được tinh chế trong phương pháp bình phương tối thiểu ma trận đầy đủ bằng cách tối giản hàm số:

$$\sum w(F_o^2 - F_c^2)^2$$

Trọng lượng w được xác định dưới dạng $1/[\sigma^2(F_o^2) + (0,0176P)^2 + (0,0000P)]$, trong đó $P = (F_o^2 + 2F_c^2)/3$.

Hệ số tán xạ được lấy từ “International Tables for Crystallography” [5]. Trong số 9168 phản xạ được sử dụng trong quá trình tinh chế, chỉ có các phản xạ có $F_o^2 > 2\sigma(F_o^2)$ được sử dụng để tính toán R . Tổng số 5421 phản xạ được sử dụng để tính toán. Chu kỳ tinh chế cuối cùng bao gồm 1024 thông số biến thiên và hội tụ (độ chênh lệch thông số lớn nhất là $< 0,01$ lần độ lệch chuẩn ước tính của nó) với hệ số hòa hợp có trọng số và không có trọng số là:

$$R = \sum |F_o - F_c| / \sum F_o = 0,051$$

$$R_w = \sqrt{\left(\sum w(F_o^2 - F_c^2)^2 / \sum w(F_o^2)^2 \right)} = 0,085$$

Độ lệch chuẩn của trọng lượng đơn vị quan sát được là 1,05. Đỉnh cao nhất trong Fourier vi sai cuối cùng có độ cao là 0,22 e/Å³. Đỉnh âm tối thiểu có độ cao là -0,25 e/Å³.

(v) Mẫu nhiễu xạ bột tia X (XRPD) theo tính toán

Mẫu XRPD theo tính toán được tạo ra đối với chiếu xạ Cu sử dụng PowderCell 2.3 [6] và tọa độ nguyên tử, nhóm không gian, và các thông số ô đơn vị từ số liệu đơn tinh thể.

(vi) ORTEP và biểu đồ dạng gói

Biểu đồ ORTEP được tạo ra bằng cách sử dụng ORTEP III [7][9]. Các nguyên tử được biểu thị bằng elipsoit nhiệt không đẳng hướng xác suất 50%. Biểu đồ dạng gói được tạo ra bằng cách sử dụng phần mềm mô hình hóa CAMERON [8]. Các hình bổ sung và các dự đoán hình thái BFDH được tạo ra bằng cách sử dụng Thủy ngân 1.4.1 [4].

c. Các kỹ thuật đo

i. Phép đo nhiệt lượng quét vi sai (DSC)

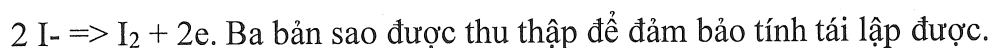
Các phân tích được thực hiện trên nhiệt lượng kế quét vi sai Dụng cụ TA 2920 hoặc Q1000. Dụng cụ này được hiệu chuẩn bằng cách sử dụng indi làm chất quy chiếu. Mẫu được đặt vào đĩa DSC bằng nhôm chuẩn có cấu hình nắp lượn sóng, và trọng lượng được ghi một cách chính xác. Ô mẫu được làm cân bằng ở nhiệt độ 25°C và được gia nhiệt trong điều kiện thổi khí nitơ ở tốc độ 10°C/phút, đến khi nhiệt độ cuối cùng là 250°C.

ii. Hấp thụ/khử hấp thụ hơi động lực (DVS)

Số liệu hấp thụ/khử hấp thụ hơi ẩm được thu thập trên Thiết bị phân tích hấp thụ hơi nước VTI SGA-100. Số liệu hấp thụ và khử hấp thụ được thu thập trong khoảng độ ẩm tương đối (RH) nằm trong khoảng từ 5% đến 95% ở khoảng cách 10% RH trong điều kiện thổi khí nitơ. Mẫu không được làm khô trước khi phân tích. Các tiêu chuẩn cân bằng được sử dụng cho phân tích là nhỏ hơn 0,010% thay đổi trọng lượng trong 5 phút, với thời gian làm cân bằng tối đa là 3 giờ nếu tiêu chuẩn trọng lượng không được đáp ứng. Số liệu không được hiệu chỉnh đối với hàm lượng ẩm ban đầu của mẫu. Natri clorua và polyvinyl-pyrrolidin được sử dụng làm chuẩn hiệu chỉnh.

iii. Phân tích Karl Fischer (KF)

Phân tích Coulometric Karl Fischer (KF) để xác định nước được thực hiện bằng cách sử dụng máy chuẩn độ Mettler Toledo DL39 Karl Fischer. Khoảng 24-32mg mẫu được đặt trong bình chuẩn độ KF chứa Hydranal – Coulomat AD. Sau đó, mẫu được chuẩn độ bằng điện cực chỉ thị, điện cực này tạo ra iot bằng sự oxy hóa điện hóa:



iv. Phép hiển vi đĩa nóng

Phép hiển vi đĩa nóng được thực hiện bằng cách sử dụng đĩa nóng Linkam (mẫu FTIR 600) được đặt trên kính hiển vi Leica DM LP. Mẫu được quan sát bằng cách sử dụng ống kính 20× (obj.) có các kính phân cực chéo (CP) và cơ cấu bù lamda (λ). Mẫu được đặt trên lá kính dày. Sau đó, lá kính dày thứ hai được đặt trên mẫu. Mỗi mẫu được quan sát bằng mắt thường khi đĩa được gia nhiệt. Các hình ảnh được chụp bằng cách sử dụng máy ảnh màu kỹ thuật số SPOT Insight™ với phần mềm SPOT v. 4.5.9. Đĩa nóng được hiệu chuẩn bằng cách sử dụng tiêu chuẩn điểm nóng chảy USP.

v. Phép đo nhiệt lượng quét vi sai điều biến (MDSC)

Số liệu phép đo nhiệt lượng quét vi sai được thu thập trên nhiệt lượng kế quét vi sai Dụng cụ TA được trang bị hệ thống làm lạnh đã được làm lạnh (RCS). Mẫu được đặt vào đĩa DSC bằng nhôm, và trọng lượng được ghi một cách chính xác. Đĩa này được đẩy bằng nắp và được tạo sóng. Số liệu MDSC thu được bằng cách sử dụng biên độ điều biến là $\pm 0,8^\circ\text{C}$ và khoảng thời gian 60 giây với tốc độ gia nhiệt cơ bản là $2^\circ\text{C}/\text{phút}$ từ -25 đến 250°C . Nhiệt độ và nhiệt dung riêng được hiệu chuẩn bằng cách sử dụng kim loại indi và saphia làm tiêu chuẩn hiệu chuẩn, tương ứng. Nhiệt độ chuyển tiếp thủy tinh được báo cáo thu được từ điểm uốn của sự thay đổi theo bước trong dòng nhiệt đảo chiều so với đường cong nhiệt độ.

vi. Cộng hưởng từ hạt nhân (NMR)

Phổ ^1H NMR pha dung dịch được thu thập bởi Spectra Data Services, Inc. Các thông số thu nhận được in trên mỗi phổ. Phổ được quy chiếu với tetrametylsilan nội chuẩn ở 0,0ppm.

vii. Phép hiển vi quang học

Các quan sát thực hiện bởi phép hiển vi quang học được thu gom trên kính hiển vi quang học phân cực Wolfe ở độ phóng đại là 4x. Kính phân cực chéo (CP) được sử dụng để quan sát tính lưỡng chiết trong mẫu.

viii. Kỹ thuật hiển vi quét điện tử (SEM)

Kỹ thuật hiển vi quét điện tử (SEM) được thực hiện bằng cách sử dụng kính hiển vi quét điện tử FEI Quanta 200. Trong điều kiện chân không cao, bộ phát hiện tán xạ ngược (Etd) trạng thái rắn được sử dụng. Điện áp chùm sáng là 5,0kV. Mẫu được phủ phun bằng cách sử dụng thiết bị phủ phun Cressington 108auto Sputter Coater ở ~20mA và ~0,13mbar (Ar) với Au/Pd trong 75 giây. Mẫu được chuẩn bị để phân tích bằng cách đặt lượng nhỏ trên băng dính hai mặt cacbon được gắn cố định vào giá mẫu bằng nhôm. Dụng cụ này được hiệu chuẩn độ phóng đại bằng cách sử dụng tiêu chuẩn NIST. Số liệu được thu thập bằng cách sử dụng xTm (v. 2.01), số lắp ráp 1564 và được phân tích bằng cách sử dụng XT Docu (v. 3.2). Độ phóng đại nêu trên ảnh SEM được tính toán dựa trên sự thu nhận số liệu ban đầu. Khung tỉ lệ được nêu ở phần bên dưới của mỗi hình ảnh là chính xác khi định lại kích cỡ các hình ảnh này và phải được sử dụng khi tiến hành xác định kích cỡ.

ix. Phân tích nhiệt lượng (TG)

Các phân tích được thực hiện trên thiết bị phân tích nhiệt lượng Dụng cụ TA 2950. Tiêu chuẩn hiệu chuẩn là niken và Alumel™. Mỗi mẫu được đặt trong đĩa mẫu bằng nhôm và được đưa vào lò TG. Trước tiên, mẫu được làm cân

bằng ở nhiệt độ 25°C, sau đó được gia nhiệt trong dòng khí nitơ với tốc độ gia nhiệt là 10°C/phút, đến khi nhiệt độ cuối cùng là 350°C trừ khi có chỉ dẫn khác.

x. Nhiễu xạ bột tia X (XRPD)

(i) Inel XRG-3000

Phân tích nhiễu xạ bột tia X cũng được thực hiện trên nhiễu xạ kế Inel XRG-3000, được trang bị bộ dò nhạy vị trí cong với giới hạn 2θ là 120°. Số liệu thời gian thực được thu thập bằng cách sử dụng chiếu xạ Cu K α ở độ phân giải là $0,03^\circ 2\theta$. Điện áp và cường độ dòng điện của ống lần lượt được đặt là 40 kV và 30 mA. Các mẫu được hiển thị từ 2,5 đến $40^\circ 2\theta$ để làm cho việc so sánh mẫu trực tiếp được dễ dàng. Mẫu được điều chế để phân tích bằng cách gói chúng vào ống mao dẫn thủy tinh thành mỏng. Mỗi ống mao dẫn được đặt lên trên đầu máy đo góc, máy này được gắn động cơ để cho phép quay ống mao dẫn trong khi thu nhận số liệu. Sự hiệu chuẩn dụng cụ được thực hiện hàng ngày bằng cách sử dụng mẫu chuẩn silicon.

d. Các phương pháp tính toán khác

i. PDF

Một kỹ thuật được sử dụng trong phân tích tính toán số liệu vô định hình tia X là Hàm phân phối cặp (Pair Distribution Function (PDF)). Như tên gọi, PDF được tạo nên từ phép cộng tuyến tính tất cả các tương tác nguyên tử-nguyên tử cố kết trong nguyên liệu. Nguyên liệu lỏng (hỗn độn) sẽ thể hiện các tương tác nguyên tử-nguyên tử giống như pha tinh thể, nhưng trên tỷ lệ chiều dài giảm. Do đó, có thể so sánh nguyên liệu này với nguyên liệu tinh thể gốc bằng cách kiểm tra các đỉnh trong PDF trên một vài nanô mét đầu tiên. Sự so sánh giữa các phổ nằm trong khoảng từ 0 Å đến khoảng 5 Å là khó do các thành phần lạ trong vùng này.

Trong quá trình tạo thành nguyên liệu dạng thủy tinh, các đỉnh PDF sẽ thể hiện một số chuyển động từ vị trí đỉnh tinh thể khi phân tử rời lỏng vị trí

của chúng. Điều này tương tự với hiện tượng giãn nở/co lại do nhiệt trong đó, mặc dù các đỉnh PDF chuyển động ở mức không đáng kể, cường độ đỉnh tương đối vẫn sẽ có thể được nhận ra là có liên quan đến nguyên liệu tinh thể ban đầu. Vì nguyên liệu đi vào trạng thái vô định hình nhiệt động, một số mối tương quan đối xứng nhóm điểm sẽ bị mất tạo ra PDF có mức độ phức tạp giảm. Cũng sẽ có một số chuyển động đỉnh. Nguyên liệu dạng thủy tinh/vô định hình sẽ thể hiện PDF, các PDF này sẽ giảm nhanh xuống 0 qua từ 2 đến 3 khoảng cách lân cận gần nhất (NN).

Các điều kiện đo được sử dụng để làm giảm thiểu tín hiệu gây nhiễu trong mẫu tia X và các thuật toán được sử dụng để tính toán PDF từ số liệu tia X đã đo được. PDF được tính toán bằng cách sử dụng PatternMatch v2,2,1, bằng cách sử dụng toàn bộ khoảng số liệu đo được cho tất cả các mẫu.

Ví dụ 1 – Đánh giá độ hòa tan

Độ hòa tan gần đúng được xác định trong các dung môi khác nhau ở nhiệt độ trong phòng, với kết quả được nêu trong Bảng 2. CDDO metyl este thể hiện độ hòa tan cao trong phần lớn các dung môi hữu cơ được sử dụng. Độ hòa tan trong nước có vẻ ít hơn 0,1 mg/ml.

Ví dụ 2 – Kết quả sàng lọc chất đa hình

Khoảng 50 thử nghiệm sàng lọc chất đa hình được thực hiện. Dạng A được quan sát từ khoảng 50% mẫu. Sự tạo thành Dạng A không bị giới hạn ở điều kiện kết tinh cụ thể và được điều chế từ nhiều thử nghiệm và dung môi khác nhau. Nguyên liệu Dạng B được điều chế từ thử nghiệm làm đông khô nhanh, nóng chảy/làm lạnh, và một số thử nghiệm bay hơi.

Các mẫu sàng lọc chất đa hình được liệt kê theo thứ tự abc trong các bảng 3-5 theo dung môi được sử dụng. Mẫu XRPD đặc trưng của nguyên liệu Dạng A và Dạng B được so sánh trên Fig.2. Số liệu xác định đặc điểm của các dạng này được tóm tắt trong các ví dụ dưới đây.

Ví dụ 3 – Đặc điểm của CDDO-metyl este – Dạng A (không được micron hóa)

Dạng A chưa được solvat hóa (Bảng 6). Cấu trúc đơn tinh thể của Dạng A được xác định dựa vào các phương pháp đã được mô tả ở trên. Các tinh thể của CDDO-metyl este được nuôi lớn dần và được đem phân tích cấu trúc đơn tinh thể. Cấu trúc tinh thể được xác định bằng nhiễu xạ tia X đơn tinh thể. Fig.1 thể hiện cấu trúc của CDDO-metyl este được đề xuất.

Các thông số ô bốn cạnh và thể tích tính toán được là: $a = 14,21620(10)$ Å, $b = 14,21620(10)$ Å, $c = 81,5875(12)$ Å, $\alpha = 90,00^\circ$, $\beta = 90,00^\circ$, $\gamma = 90,00^\circ$, $V = 16488,9(3)$ Å³. Phân tử lượng của CDDO metyl este là 505,70 g/mol với $Z = 24$ thu được với mật độ theo tính toán là 1,222 g cm⁻³. Nhóm không gian được xác định là $P4_32_12$ (số 96). Tóm tắt số liệu tinh thể và các thông số thu thập số liệu tinh thể học được đưa ra trong Bảng 10.

Cấu trúc thu được có chất lượng cao, như được thể hiện bởi giá trị R là 0,051 (5,1%). Thường đưa ra các giá trị R nằm trong khoảng từ 0,02 đến 0,06 đối với các cấu trúc được xác định một cách đáng tin cậy nhất.

Hình vẽ ORTEP của phân tử CDDO metyl este đơn được thể hiện trên Fig.12. Đơn vị không đối xứng được thể hiện trên Fig.13 chứa ba phân tử CDDO metyl este. Các phân tử này giống với cấu trúc được đề xuất từ Fig.1.

Biểu đồ dạng gói được quan sát dọc theo các trục tinh thể a , b , và c được thể hiện trên các hình vẽ từ Fig.14 đến Fig.16, tương ứng. Không có liên kết hydro, cấu trúc tinh thể bao gồm nhiều tương tác van der Waals. Quan sát phía dưới trục tinh thể b (Fig.15) nhấn mạnh tính chất xoắn ốc của sự sắp xếp đóng gói của trục vít bốn cạnh và hình thái BFDH theo tiên đoán. Hình thái theo tiên đoán phù hợp với dạng quan sát được của đơn tinh thể được sử dụng để thu thập số liệu.

Mẫu XRPD của CDDO metyl este theo tính toán, tạo ra từ số liệu đơn tinh thể, được đưa ra trên Fig.17. Mẫu XRPD của CDDO metyl este theo thử

nghiệm được thể hiện trên Fig.18. Đỉnh đặc trưng cho mẫu XRPD ở Dạng A được đưa ra trong Bảng 17. So sánh các mẫu XRPD theo tính toán và theo thử nghiệm (Fig.19) cho thấy tất cả các đỉnh trong mẫu thử nghiệm đều được biểu thị trong mẫu XRPD theo tính toán, cho thấy rằng nguyên liệu rời có khả năng là pha đơn. Sự thay đổi nhỏ phù hợp được quan sát trong vị trí đỉnh có khả năng là do mẫu bột thử nghiệm được thu gom ở nhiệt độ trong phòng, và số liệu đơn tinh thể được thu thập ở nhiệt độ 150°K. Nhiệt độ thấp được sử dụng trong phân tích đơn tinh thể để cải thiện chất lượng cấu trúc.

Tóm lại, cấu trúc đơn tinh thể của CDDO methyl este ở Dạng A được xác định để xác nhận cấu trúc phân tử được đề xuất. Nhóm không gian được xác định là $P4_32_12$ (số 96). Cấu trúc của CDDO methyl este gồm ba phân tử được đóng gói trong cấu trúc xoắn dưới trục tinh thể b . Tất cả các đỉnh trong mẫu thử nghiệm đều được biểu thị trong mẫu XRPD theo tính toán, cho thấy rằng nguyên liệu rời có khả năng là pha đơn.

Số liệu nhiệt đối với Dạng A được thể hiện trên Fig.3. Đường cong DSC thể hiện sự thay đổi cơ sở ở nhiệt độ khoảng 157°C và sự thu nhiệt với nhiệt độ bắt đầu vào khoảng 222°C (tín hiệu tối đa ở nhiệt độ ~224°C). Hiện tượng ở nhiệt độ ~224°C được xác nhận là hiện tượng nóng chảy bởi phép hiển vi đĩa nóng (Fig.4). Đường cong phân tích nhiệt lượng (TG) thể hiện sự tổn thất trọng lượng không đáng kể là 0,34% ở nhiệt độ tối đa 150°C, sau đó là sự tổn thất trọng lượng là 1,2% ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 150 đến 210°C. Số liệu Karl Fischer cho thấy nguyên liệu này chứa khoảng 0,38% nước dư, phù hợp sự tổn thất trọng lượng ban đầu quan sát được bởi TG.

Số liệu DVS cho thấy rằng Dạng A không hút ẩm (Fig.5). Nguyên liệu này thể hiện sự thay đổi trọng lượng không đáng kể qua quá trình thử nghiệm. Nguyên liệu tạo ra được phân tích bởi XRPD và nguyên liệu này là ở Dạng A.

Hình ảnh SEM được thể hiện trên Fig.6. Một số dạng được quan sát, bao gồm dạng hình chóp, viên nén, và dạng giống hình đĩa.

Độ ổn định vật lý của Dạng A ở các điều kiện khác nhau được nghiên cứu (Bảng 7). Mẫu đã được tạo ứng suất ở 25°C/60% RH hoặc 40°C/ 75% RH trong 7 ngày đều thể hiện sự thay đổi trọng lượng không đáng kể (tổn thất 0,6% và thu được 0,2%, tương ứng) cho thấy rằng Dạng A không hút ẩm. Hai mẫu được nghiền trên máy nghiền bi trong khoảng 20 phút, một mẫu khô và một mẫu có lượng nước nhỏ. Tất cả các mẫu đều được phân tích lại bằng XRPD và vẫn là Dạng A. Mẫu được tạo ứng suất ở nhiệt độ 195°C trong 15 phút và thể hiện sự tổn thất trọng lượng 2%. XRPD của nguyên liệu tạo thành tương tự với XRPD của Dạng A; tuy nhiên, sự tăng nhiễu ở đường cơ sở là rõ rệt (Fig.7).

Phổ NMR dung dịch được thể hiện trên Fig.8. Phổ này phù hợp với cấu trúc của CDDO methyl este. Các đỉnh ở khoảng 1,6 và 7,3ppm lần lượt được quy cho nước và clorofom (do quá trình trao đổi).

Dạng A chưa được solvat hóa và không hút ẩm, do đó, nó tan chảy ở nhiệt độ khoảng 228°C, dựa vào sự quan sát của nhà phân tích trong phép hiển vi đĩa nóng.

Ví dụ 4 – Xác định đặc điểm của CDDO-methyl este – Dạng A (được micron hóa)

CDDO methyl este ở Dạng A được micron hóa được xác định là Dạng A bởi XRPD (Fig.2, Bảng 1). Nguyên liệu được micron hóa có thể được tạo ra bằng phương pháp thông thường, đã biết trong lĩnh vực, như phương pháp nghiền phun khí. Các phát hiện này dường như cho thấy rằng việc micron hóa không ảnh hưởng đến Dạng A để làm thay đổi mẫu XRPD của nó.

Ví dụ 5 – Xác định đặc điểm của CDDO-methyl este – Dạng B

Nguyên liệu Dạng B có thể được điều chế từ phương pháp làm đông khô nhanh, nóng chảy/làm lạnh, và một số thử nghiệm làm bay hơi khác, như được nêu trong Bảng 3.

Số liệu DSC điều biến (MDSC) được thể hiện trên Fig.9. Đường cong thuận nghịch thể hiện nhiệt độ chuyển tiếp thủy tinh (T_g) ở khoảng 125°C. Đường cong không thuận nghịch thể hiện sự tỏa nhiệt với tín hiệu cực đại ở nhiệt độ 195°C và sự thu nhiệt với tín hiệu cực đại ở nhiệt độ 223°C. Hiện tượng không thuận nghịch có khả năng lớn là do sự kết tinh của nguyên liệu ở Dạng B (quá trình tỏa nhiệt) sau đó là sự nóng chảy của nguyên liệu đã được kết tinh (quá trình thu nhiệt).

Độ ổn định vật lý của nguyên liệu ở Dạng B ở các điều kiện khác nhau được nghiên cứu (Bảng 9). Mẫu được tạo ứng suất ở nhiệt độ 22°C/97% RH, 40°C/ 75% RH, 80°C/0% RH, và 195°C/độ ẩm tương đối của môi trường xung quanh vẫn là ở Dạng B. Việc tạo ứng suất nguyên liệu ở 200°C/độ ẩm tương đối của môi trường xung quanh trong 60 phút tạo ra Dạng A cộng với lượng nhỏ nguyên liệu Dạng B (Fig.10).

Phổ NMR dung dịch được thể hiện trên Fig.11. Phổ này phù hợp với cấu trúc của CDDO methyl este. Các đỉnh ở khoảng 1,6, 5,3, và 7,3ppm lần lượt được quy cho nước, diclometan, và cloroform.

Dạng B không hút ẩm, kết tinh thành dạng A ở nhiệt độ khoảng 200°C, và có nhiệt độ chuyển tiếp thủy tinh (T_g) ở khoảng 125°C – 130°C.

Tóm lại, Dạng B không hút ẩm. Số liệu MDSC cho thấy rằng nhiệt độ chuyển tiếp thủy tinh (T_g) của Dạng B vào khoảng 125°C – 130°C. Nguyên liệu Dạng B kết tinh thành dạng A khi được tạo ứng suất ở nhiệt độ khoảng 200°C.

Ví dụ 6 – Nghiên cứu độ ổn định đối với CDDO-methyl este ở Dạng B và hệ phân tán tá được polyme CDDO-methyl este

(i) Nghiên cứu Dạng B tinh khiết

CDDO-methyl este ở Dạng B được cho qua nhiều điều kiện ứng suất khác nhau. Bảng 15 đưa ra một số kết quả từ các nghiên cứu này. CDDO-methyl este ở Dạng B, tạo ra theo phương án hữu ích nhưng ít được ưu tiên hơn theo

sáng chế, liên quan đến việc sử dụng etyl axetat làm dung môi, thể hiện độ ổn định đáng kể. Tuy nhiên, việc thử nghiệm mẫu Dạng B được tạo ra trong điều kiện có mặt etyl axetat cho thấy sự tạo thành Dạng A sau 28 ngày bảo quản ở nhiệt độ 60°C và lớn hơn. Ngược lại, tất cả các mẫu được tạo ra theo phương án được ưu tiên theo sáng chế vẫn giữ lại được các đặc tính vô định hình sau thử nghiệm ứng suất trong các điều kiện đặc biệt nghiêm ngặt (xem Bảng 15), Ví dụ 11 ở phần dưới đây là minh họa phương án này. Các nghiên cứu này thể hiện độ ổn định bất ngờ của nguyên liệu ở Dạng B, đặc biệt là khi nguyên liệu này được điều chế theo phương án được ưu tiên nêu trên.

Ngoài ra, tiến hành phân tích mẫu ở Dạng B được điều chế trong các điều kiện khác nhau để xác định xem chúng có các tính chất hóa học tương tự hay không. Như nêu trên, tức là, mẫu Dạng B được điều chế bằng phương pháp nghiền lạnh, nóng chảy làm lạnh, và làm khô dạng phun. Ngoài ra, tiến hành micron hóa Dạng B chưa được micron hóa để tạo ra Dạng B được micron hóa. Tiến hành phân tích PDF trên các mẫu này (Fig.28), các mẫu này được xác định là có bản chất dạng thủy tinh.

(ii) Nghiên cứu các chế phẩm hệ phân tán CDDO-Me

Thực hiện các nghiên cứu để so sánh đặc tính của các hệ phân tán Dạng B: chất rắn polyme khác nhau được tạo ra bằng phương pháp làm khô dạng phun. Các thuộc tính của sản phẩm được nghiên cứu bao gồm độ ổn định và profin hòa tan thuốc.

Các polyme khác nhau được sử dụng ở ba tỷ lệ thành phần có hoạt tính được lý (API) so với polyme là (20:80; 40:60 và 60:40 % theo trọng lượng).

Ba polyme sau được chọn:

Copolymer của axit metacrylic - etyl acrylat (theo tỷ lệ 1:1)

Copovidon [copolymer của 1-vinyl-2-pyrrolidon - vinyl axetat (theo tỷ lệ 3:2)]

Hypromellose Phtalat.

Các dung dịch chứa CDDO-Me, nguyên liệu tinh thể Dạng A hoặc nguyên liệu Dạng B, và polyme được chọn để nghiên cứu được hòa tan trong dung môi thích hợp ở tỷ lệ trọng lượng thích hợp, để tạo ra chất rắn trong dung dịch với lượng từ 10 đến 20% theo trọng lượng. Dung môi thường được sử dụng là axeton. Dung dịch tạo ra được sấy khô dạng phun bằng thiết bị sấy phun quy mô phòng thí nghiệm (BÜCHI, model B-290), được trang bị hai miệng phun dịch lỏng, bằng cách sử dụng nitơ để làm khí làm khô và khí mang. Thường sử dụng nhiệt độ cửa khí mang đi vào là 65-85°C và nhiệt độ cửa ra là 50-60°C. Chất rắn được thu gom và bột sấy phun được sấy thêm trong điều kiện chân không, để làm giảm hơn nữa mức dung môi hữu cơ.

Bột sấy phun được phân tích về mức dung môi hữu cơ còn dư, nhiệt độ chuyển tiếp thủy tinh (T_g) và mật độ khối. Sau khi sấy thêm, bột cũng được phân tích về độ tinh khiết, hàm lượng nước, cỡ hạt trung bình, sự không có mặt của nguyên liệu tinh thể bởi nhiễu xạ bột tia X (XRPD) và profin hòa tan.

Đánh giá các đặc tính hóa lý của hệ phân tán sau khi tạo ứng suất ngắn hạn (sau 5 ngày, 40°C/75% RH) bởi XRPD và phép đo nhiệt lượng quét vi sai điều biến (mDSC).

Các nghiên cứu này cho thấy rằng nhiệt độ chuyển tiếp thủy tinh, T_g , giảm trong quá trình tạo ứng suất ngắn hạn, có thể là do sự hấp thụ ẩm trong quá trình tạo ứng suất. Mức độ giảm này được thấy rõ hơn ở các chế phẩm có tỷ lệ CCDO metyl este : polyme thấp. Đối với các mẫu trước khi tạo ứng suất ngắn hạn, quan sát thấy một hoặc hai lần chuyển tiếp thu nhiệt ở nhiệt độ lớn hơn, mặc dù các nhiệt độ này thấp hơn một chút nhiệt độ được quan sát ban đầu. Enthalpy có liên quan đến các chuyển tiếp này giảm khi hàm lượng polyme giảm. Điều này cho thấy sự chuyển tiếp này hầu như chắc chắn có liên quan đến polyme và không liên quan đến sự nóng chảy của dạng tinh thể. Thực tế, đối với hệ phân tán được tạo ra với PVP/VA, nhiệt độ của sự chuyển tiếp thu nhiệt này tương tự với nhiệt độ được quan sát đối với tá dược tinh khiết,

như nhận được từ nhà sản xuất. Trong mỗi trường hợp, profin XRPD sau khi tạo ứng suất vẫn là mẫu halo đặc trưng đặt ở tâm xung quanh $13,5^\circ 2\theta$, và không phát hiện thấy có đỉnh nào có liên quan đến dạng tinh thể.

Tiến hành các nghiên cứu về làm khô dạng phun khác đối với hai chế phẩm, bằng cách sử dụng thiết bị sấy phun quy mô lớn hơn. Trong các trường hợp này, thiết bị làm khô quy mô nhỏ Niro mẫu PSD-1 (mobile minor 2000) được sử dụng. Đầu phun và các điều kiện sấy phun giống như đầu phun và các điều kiện sấy phun đã nêu ở trên cũng được sử dụng. Bảng 20 và 21 tóm tắt các dung dịch được điều chế để sấy phun và các đặc tính của nó sau khi sấy phun. Các chế phẩm thể hiện T_g thấp hơn, so với Dạng B tinh khiết, do các chế phẩm này gồm có polyme có T_g thấp hơn so với Dạng B.

Ví dụ 7 - Sử dụng CDDO metyl este:

Dạng B so với Dạng A ở khỉ Cynomolgus

Trong pha 1 của nghiên cứu này, điều chế lượng viên nang gelatin cứng, chứa CDDO-Me Dạng A tinh khiết được micron hóa hoặc CDDO-Me Dạng B tinh khiết được micron hóa, bằng cách (i) bổ sung lượng đã cân thích hợp của dạng tinh khiết của hợp chất thuốc vào viên nang gelatin cứng cỡ 1 và sau đó (ii) bao viên nang này. Không có tá dược bổ sung nào được sử dụng. CDDO metyl este Dạng B hoặc Dạng A được dùng qua đường miệng trong viên nang gelatin cho khỉ Cynomolgus (Liều lượng = 4,1 mg/kg trong tất cả các trường hợp).

Việc sử dụng CDDO metyl este ở Dạng B tạo ra sự tiếp xúc trung bình lớn hơn khoảng 520% so với liều lượng tương đương của CDDO metyl este ở Dạng A ở khỉ. Bảng 11 so sánh sự tiếp xúc thuốc của các con vật riêng rẽ. Tiến hành thiết kế lai chéo trong nghiên cứu này để làm tăng giá trị 'n' và tăng độ tin cậy của số liệu. Giai đoạn tắm rửa trong 1 tuần được thực hiện trong quá trình lai chéo. Fig.20 chứng tỏ nồng độ trong huyết tương đạt được của cả hai dạng CDDO metyl este theo thời gian trong quần thể được lấy mẫu. Fig.21 thể hiện

sự so sánh nồng độ trong huyết tương của CDDO methyl este của các con vật #505M và #507F. Fig.22 thể hiện sự so sánh nồng độ trong huyết tương của CDDO methyl este của các con vật #508F và #502M.

Để đánh giá thêm độ sinh khả dụng tương đối của các dạng liều lượng dùng qua đường miệng của CDDO-methyl este, kể cả các dạng chứa hệ phân tán tá dược CDDO-methyl este, tiến hành hai pha nghiên cứu bổ sung 2 và 3, như được nêu chi tiết dưới đây. Các nghiên cứu này gồm một số hệ phân tán CDDO- Me ở Dạng B – polyme đã được mô tả trong Ví dụ 6. Tất cả các chế phẩm đều gồm có các chất phụ gia thường được sử dụng cho chế phẩm.

Pha 2

Sản xuất huyền phù trong nước của CDDO-Me tinh thể cỡ nano, bắt đầu từ mẫu nguyên liệu ở Dạng A được micron hóa. Máy nghiền bi Retsch® Planatory Ball Mill môđen PM 400, chứa các viên bi ziricon oxit có kích cỡ trung bình là 2mm, được nạp 25g CDDO-Me được micron hóa (sự phân bố cỡ hạt trung bình là 6,1 μM), 5g natri docusat, 1g Tween 80, và 68,3g nước. Bắt đầu nghiền ở khoảng 400 RPM và duy trì trong 2 giờ. Xác định sự phân bố cỡ hạt (PSD) bằng cách sử dụng máy phân tích cỡ hạt bằng ánh sáng laze thu được PSD trung bình là 0,37 μM . Bổ sung 1g xenluloza vi tinh thể và 0,2g gôm xanthan vào huyền phù đặc này, có trộn trong thời gian ngắn, và huyền phù được bảo quản lạnh.

Huyền phù nano đã được nghiền bi được phủ phun lên trên hỗn hợp pha trộn tá dược khô trong tầng sôi Aeromatic Strea 1 quy mô phòng thí nghiệm, với cụm phun ở đỉnh có kích thước cỡ vòi phun là 0,4mm. Nhiệt độ đầu vào được đặt ở 55°C. Dải nhiệt độ hệ thống xả trong quá trình phun nằm trong khoảng từ 32 đến 35°C. Hạt tạo ra được sấy khô trong khoảng 5 phút, cho đến khi nhiệt độ hệ thống xả đạt đến 38°C (Attachment 3-5). Các thành phần của nguyên liệu đã được phủ được nêu dưới đây.

Thành phần theo lý thuyết của 30mg chế phẩm CDDO-Me tinh thể cỡ nano

Mục#	Thành phần	%	mg/đơn vị
1	CDDO-Me	5,7	19
2	Tween 80	0,12	0,4
3	DOS	1,14	3,8
4	Xenluloza vi tinh thể trong huyền phù	0,21	0,7
5	Gôm xanthan	0,03	0,1
6	Xenluloza vi tinh thể trong hạt	24,4	81,55
7	Pregel tinh bột	58,5	195,3
8	Povidon K29/32	0,5	1,75
9	Crospovidon	8,4	28
10	Silic đioxit dạng keo	0,5	1,75
11	Magie Stearat	0,5	1,75
Tổng:		100,0	334,1

Hạt khô tạo ra được đem phân tích HPLC để xác định sự thử nghiệm của thành phần hoạt tính. Thử nghiệm này được xác định là 14,4% (trọng lượng/trọng lượng), về cơ bản cao hơn giá trị theo lý thuyết (5,7%). Dựa trên phân tích HPLC, viên nang được làm đầy để thu được hàm lượng CDDO-Me tịnh là 30mg.

Chế phẩm ở Dạng A tinh thể được micron hóa và Dạng B, vô định hình, được micron hóa được tạo ra bằng quy trình pha trộn bột khô thông thường, có sử dụng xenluloza vi tinh thể, tinh bột được gelatin hóa sơ bộ, crospovidon (đóng vai trò làm chất làm phân rã), silic đioxit dạng keo, và magie stearat loại thực vật làm chất phụ gia. CDDO-Me ở Dạng A được micron hóa có PSD trung bình là $6,1\mu\text{M}$ được sử dụng cho chế phẩm ở dạng A, trong khi đó CDDO-Me ở Dạng B được micron hóa có PSD trung bình là $10,8\mu\text{M}$ được sử dụng cho chế phẩm CDDO-Me ở Dạng B tương ứng. Bảng dưới đây thể hiện thành phần định lượng của cả hai chế phẩm này.

Thành phần định lượng của viên nang 30 mg Dạng A và Dạng B

Phần tử đơn vị	% theo trọng lượng	mg cho mỗi viên nang
CDDO-Me (được micron hóa)	18,18	30,0
Xenluloza vi tinh thể	18,55	30,6
Tinh bột được gelatin hóa sơ bộ	53,45	88,2
Crospovidon	8,72	14,4
Silic đioxit dạng keo	0,55	0,9

Magie Stearat (Loại thực vật)	0,55	0,9
Hàm lượng viên nang tổng cộng	100,00	165 mg

Mỗi trong số 15 con khỉ *Cynomolgus* đực, *Macaca fascicularis*, nhận được một lần dùng CDDO-metyl este qua đường miệng (3 chế phẩm khác nhau, 5 con khỉ cho mỗi chế phẩm) ở mức liều lượng mục tiêu là 10mg/kg. Các con khỉ này có độ tuổi nằm trong khoảng từ 1 đến 3 năm tuổi và có cân nặng 2,5-3,5 kg. Các mẫu máu được thu gom tối đa 72 giờ sau khi dùng liều lượng.

Pha 3

Hệ phân tán tá dược CDDO-Me đã được mô tả trong Ví dụ 6 được phối chế tiếp bằng quy trình pha trộn bột khô thông thường, có sử dụng xenluloza vi tinh thể, lactoza monohydrat, crospovidon (đóng vai trò làm chất làm phân rã), và natri lauryl sulfat làm chất phụ gia. Thành phần định lượng của mỗi chế phẩm được nêu dưới đây.

Thành phần của hệ phân tán tá dược CDDO-Me được phối trộn với các chất phụ gia trong chế phẩm viên nang

Thành phần	CDDO-Me 40%/ copolyme của axit metacrylic Loại C 60%	CDDO-Me 60%/ PVP/VA 40%	CDDO-Me 60%/ HPMC-P 40%
Hệ phân tán CDDO-Me	60,0%	50,0%	50,0%
Xenluloza vi tinh thể	12,8%	16,0%	16,0%
Lactoza monohydrat	20,0%	25,0%	25,0%
Crospovidon	6,4%	8,0%	8,0%
Natri lauryl sulfat	0,8%	1,0%	1,0%
Hàm lượng viên nang tổng cộng	100%	100%	100%
Khối lượng điền đầy	125mg	100mg	100mg

Sau giai đoạn tắm rửa thích hợp (từ 7 đến 10 ngày), 15 con khỉ *Cynomolgus* đực giống nhau được sử dụng trong Pha 2, mỗi con nhận được một lần dùng CDDO-metyl este qua đường miệng (3 chế phẩm khác nhau, 5 con khỉ cho mỗi chế phẩm) ở mức liều lượng mục tiêu là 10mg/kg. Các mẫu máu được thu gom tối đa 72 giờ sau khi dùng liều lượng.

Bảng dưới đây tóm tắt mỗi pha nghiên cứu.

Số pha	Đường dùng	Chế phẩm CDDO-Me	Mức liều lượng mục tiêu	Số lượng khi (đực)
2	Qua đường miệng (viên nang)	Dạng A tinh thể cỡ nano	30 mg/cho mỗi con khi (10 mg/kg)	5
		Dạng B vô định hình được micron hóa		5
		Dạng A tinh thể được micron hóa		5
3	Qua đường miệng (viên nang)	PVP/VA Dạng B	30 mg/cho mỗi con khi (10 mg/kg)	5
		HPMC-P Dạng B		5
		Copolymer của axit metacrylic Loại C- Dạng B		5

Liều lượng tiêm tĩnh mạch và qua đường miệng trung bình nhận được bởi khỉ *Cynomolgus* đực và nồng độ trung bình của CDDO-metyl este được tóm tắt ở phần dưới đây:

Số pha	Chế phẩm	Thể trọng trung bình (kg)	Liều lượng trung bình (mg/kg)
2	PO (dạng A tinh thể nano)	$2,89 \pm 0,267$	$10,5 \pm 0,971$
	PO (Dạng B vô định hình được micron hóa)	$2,87 \pm 0,177$	$10,5 \pm 0,635$
	PO (Dạng A tinh thể được micron hóa)	$2,91 \pm 0,202$	$10,3 \pm 0,702$
3	PO Dạng B (PVP/VA)	$2,98 \pm 0,311$	$10,2 \pm 1,06$
	PO Dạng B (HPMC-P)	$2,93 \pm 0,183$	$10,3 \pm 0,627$
	PO Dạng B (Copolymer của axit metacrylic Loại C)	$2,93 \pm 0,142$	$10,2 \pm 0,486$

PO Dùng viên nang qua đường miệng.

Viên nang gelatin cỡ 2 được sử dụng để phân phối chế phẩm trong pha 2 và viên nang gelatin cỡ 1 được sử dụng để phân phối trong pha 3. Hàm lượng tinh của thuốc trong mỗi viên nang là 30mg, tương ứng với 10mg/kg liều lượng của thuốc, dựa trên giả định rằng mỗi con khỉ nặng 3 kg. Viên nang được gắn vào ống thông, con khỉ được đưa thức ăn bằng ống thông vào dạ dày, và viên nang được giải phóng từ đầu ống thông bởi áp suất không khí từ ống tiêm rồng. Lượng nước nhỏ (khoảng 10ml) được đưa qua đường miệng sau khi dùng viên nang cuối cùng.

Các mẫu máu theo thứ tự (khoảng 1ml) được lấy ra từ tĩnh mạch hoặc động mạch đùi của mỗi con khỉ và được chuyển vào ống chứa K₂-EDTA ở mỗi thời điểm sau (thời gian thực tế được ghi lại):

Pha 2 Trước khi dùng liều lượng, 1, 2, 4, 8, 16, 24, 48 và 72 giờ sau khi dùng liều lượng

Pha 3 Trước khi dùng liều lượng, 1, 2, 4, 8, 16, 24, 48 và 72 giờ sau khi dùng liều lượng

Tất cả các mẫu được trộn kỹ sau khi thu gom và được đặt trên đá ướt, trước khi được làm lạnh ở nhiệt độ khoảng 4°C. Nồng độ CDDO-metyl este trong máu được phân tích bởi HPLC MS/MS.

Các kết quả được đưa ra trong Bảng 22 và trên Fig.30. Đối với pha 2, Dạng B thể hiện độ sinh khả dụng tốt hơn một cách đáng kể so với hai chế phẩm dạng A được thử nghiệm. Các kết quả pha 3 cho thấy rằng mỗi trong số các chế phẩm dựa trên hệ phân tán CDD)-Me : polyme có độ sinh khả dụng lớn hơn nhiều so với chế phẩm Dạng A được micron hóa hoặc dạng A tinh thể nano. Chế phẩm copolyme của axit metacrylic Loại C và HPMC-P thể hiện độ sinh khả dụng lớn nhất trong các con khỉ được thử nghiệm.

Ví dụ 8- Xác định đặc điểm của dạng Hemibenzenat của CDDO-Metyl Este

Tiến hành các thử nghiệm khác nhau, lặp lại bước thu hồi cuối cùng từ quá trình tổng hợp CDDO metyl este. Honda et al., 2000. Mục đích là tách riêng nguyên liệu tinh thể khỏi hỗn hợp dung dịch chứa (10:1) benzen/axeton.

Khoảng 100mg CDDO-metyl este được hoà tan trong 300µL benzen/axeton (theo tỷ lệ 10:1) và được lọc qua giấy lọc ni-lông 0,2µm. Sau đó, dung dịch được nghiền bằng sóng siêu âm bằng cách sử dụng máy xử lý siêu âm trong 10 phút và được để bay hơi ở nhiệt độ trong phòng trong lọ không đậy nắp qua đêm. Gel trong suốt tạo thành và 100µL benzen/axeton

(10:1) được bổ sung. Dung dịch được đưa đi nghiền siêu âm trên máy xử lý siêu âm trong khoảng 30 phút. Chất kết tủa màu trắng tạo thành. Chất rắn này được để khô bằng không khí.

Trong các thử nghiệm khác, khoảng 200 mg CDDO-metyl este được hoà tan trong 0,8 ml benzen/axeton (10:1) và được lọc qua giấy lọc ni-lông 0,2 μ m. Sau đó, dung dịch được chia đều vào hai lọ 1-dram. Sau đó, mẫu A và B được để bay hơi nhanh ở nhiệt độ trong phòng trong vài giờ. Mẫu A được đậy nắp và được đặt trong tủ đá. Sau khi mẫu đóng băng, mẫu này được làm tan ở nhiệt độ trong phòng. Vết khía nhỏ được tạo ra bằng cách sử dụng bay và mẫu được làm bay hơi ở nhiệt độ trong phòng. Chất rắn màu trắng tạo thành và được để khô nhờ không khí. Mẫu B được đậy nắp, được để ở nhiệt độ trong phòng và là dung dịch trong suốt sau khi để ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Vết khía nhỏ được tạo ra bằng cách sử dụng bay và mẫu được làm bay hơi ở nhiệt độ trong phòng. Chất rắn màu trắng tạo thành và được để khô bằng không khí.

Nguyên liệu tinh thể, được xác định là hemibenzenat, thu được từ một vài thử nghiệm trong số các thử nghiệm này. Như nêu trên, sự xáo trộn nhỏ, như nghiền siêu âm hoặc chỉ bằng cách tạo vết khía nhỏ trong lọ thu hồi, sẽ làm cho benzen solvat kết tinh dễ dàng (Bảng 12).

Số liệu xác định đặc điểm của hemibenzenat được tóm tắt trong Bảng 13. Các đỉnh đặc trưng cho mẫu XRPD hemibenzenat được đưa ra trong Bảng 19. Đường cong DSC thể hiện sự thu nhiệt lớn gần 133°C, có liên quan đến ~7,0% tổn thất trọng lượng trong nhiệt ký TG trên Fig.23. Sự tổn thất trọng lượng có khả năng là do sự bay hơi của benzen (xem phần bàn luận NMR dưới đây), và tương ứng với 0,5mol benzen đối với mỗi mol CDDO-metyl este. Sự thu nhiệt DSC được quan sát ở nhiệt độ gần 223°C nhiều khả năng là do sự nóng chảy của nguyên liệu đã được khử solvat.

Các số liệu này phân biệt các dạng đã được phân lập trước đó của CDDO-metyl este với sáng chế này.

Ví dụ 9 - Xác định đặc điểm của dạng đimetanolat mới của CDDO-Metyl Este

Đimetanol solvat của CDDO-metyl este được điều chế theo quy trình dưới đây. Khoảng 500mg CDDO-metyl este được hoà tan trong 20ml metanol ở nhiệt độ 60°C. Sau đó, dung dịch này được bổ sung từ từ vào 20ml metanol lạnh ở nhiệt độ -10°C có khuấy. Chất rắn màu trắng được thu gom bằng cách lọc trong chân không và sau đó được bảo quản trong tủ đá.

Số liệu xác định đặc điểm được tóm tắt trong Bảng 14. Đỉnh đặc trưng cho mẫu XRPD đimetanolat được đưa ra trong Bảng 18.

Đường cong DSC thể hiện sự thu nhiệt lớn ở nhiệt độ gần 102°C, có liên quan đến ~11% tổn thất trọng lượng trong nhiệt ký TG (Fig.24). Số liệu TGIR xác nhận sự tổn thất trọng lượng là do sự bay hơi của ~2,0mol metanol (Fig.25). Nguyên liệu tạo thành từ thử nghiệm TGIR được thu hồi và là dạng vô định hình bởi phân tích XRPD (Fig.26). Sự thay đổi đường ranh giới ở nhiệt độ khoảng 130°C, sự tỏa nhiệt lớn ở nhiệt độ gần 203°C sau đó sự thu nhiệt rõ (bắt đầu: 223°C) cũng được quan sát trong đường cong DSC. Các hiện tượng này có khả năng biểu thị T_g của nguyên liệu vô định hình (Dạng B) thu được qua sự khử solvat của đimetanol solvat sau đó là sự kết tinh của nguyên liệu vô định hình để thành dạng A và làm nóng chảy nguyên liệu tinh thể này.

Phổ NMR proton dung dịch thu được. Phép quy gán hóa học không được thực hiện; tuy nhiên nó dường như phù hợp với cấu trúc hóa học của CDDO-metyl este. Các đỉnh ở ~3,51ppm được quy cho metanol và tương ứng với ~1,7mol. Kết quả này phù hợp với số liệu nhiệt nêu trên.

Ví dụ 10 – Nghiên cứu lâm sàng với CDDO-metyl este

CDDO-Me, được phối chế bằng cách sử dụng Dạng A được micron hóa, được chọn cho quá trình phát triển lâm sàng và đầu tiên được thử nghiệm trong nghiên cứu định hướng an toàn Pha I ở bệnh nhân mắc bệnh ung thư tiến triển, bệnh nhân này đã không đáp ứng đầy đủ với các trị liệu trước đó. Trong thử

nghiệm leo thang liều lượng Pha I này, CDDO-Me được sử dụng cho 21 bệnh nhân trưởng thành mắc các dạng ung thư tiến triển (di căn) khác nhau. Bệnh nhân được dùng hàng ngày các liều lượng của viên nang CDDO-Me ở liều lượng nằm trong khoảng từ 5 đến 900mg/ngày (cụ thể 5, 10, 20, 40, 80, 150, 300, 600, hoặc 900 mg/ngày). CDDO-Me được sử dụng trong “các chu kỳ” mà được lặp lại cho đến khi bệnh nhân cảm thấy độc tính ở mức không chấp nhận được hoặc thể hiện dấu hiệu tiến triển bệnh. Trong nghiên cứu này, một chu kỳ của CDDO-Me gồm 21 ngày dùng liều lượng liên tục sau đó là giai đoạn ngừng 7 ngày, sau giai đoạn này bệnh nhân thích hợp để bắt đầu chu kỳ tiếp theo.

Cả độ an toàn và hoạt tính kháng khối u của CDDO-Me đều được xem xét. Ngoài ra, các tác động sinh học của CDDO-Me cũng được xác định đặc điểm. CDDO-Me được dung nạp rất tốt ở các bệnh nhân này, không có hiện tượng bất lợi có liên quan đến thuốc đáng kể nào được báo cáo. Một vài bệnh nhân (khoảng 75% bệnh nhân có thể đánh giá được) được xem là có bệnh ổn định (dựa trên các tiêu chuẩn lâm sàng và phóng xạ học chuẩn) ở thời điểm đánh giá đầu tiên sau khi hoàn thành chu kỳ điều trị thứ hai. Các bệnh nhân cho thấy có dấu hiệu bệnh tiến triển trước khi hoàn thành chu kỳ thứ hai thì không được đánh giá một cách chính thức, và không được bao gồm trong nhóm bệnh nhân có thể đánh giá được này. Năm bệnh nhân, gồm bệnh nhân mắc u melanin và bệnh ung thư tế bào thận, tiếp tục thể hiện bệnh ổn định, một vài bệnh nhân có dấu hiệu thoái triển thương tổn khối u riêng lẻ, sau bốn chu kỳ điều trị. Bốn bệnh nhân được xem là có bệnh ổn định sau ít nhất sáu chu kỳ điều trị. Không có sự di căn mới phát triển ở bệnh nhân bất kỳ nhận liều lượng ít nhất là 40mg CDDO-Me mỗi ngày theo đơn kê.

Dựa trên tính chất chống viêm đã biết của CDDO-Me, đánh giá xytokin viêm toàn hoàn ở bệnh nhân trong thử nghiệm Pha I. Ở các liều lượng thấp như 5mg/ngày, có hiện tượng giảm một vài xytokin tiền viêm toàn hoàn và chemokin bao gồm MMP-9, TNF α , IL-8, và VEGF. Đặc biệt, TNF α , đã biết là đóng vai trò quan trọng trong quá trình viêm của các bệnh như viêm đa khớp dạng thấp, được làm giảm đáng kể hoặc giảm xuống dưới giới hạn phát hiện

được ở 3 bệnh nhân có mức TNF cơ sở cao (mỗi một bệnh nhân ở mức liều lượng điều trị là 10, 20, và 40mg mỗi ngày). Không giống như kháng thể đơn dòng kháng TNF, mà liên kết với vật đích và làm cho vật đích không hoạt động, CDDO-Me làm giảm sự sản xuất TNF α và mức tuần hoàn tổng hợp của TNF α .

Ngoài ra, sản phẩm gen pha 2, gồm có các enzym chống oxy hóa và khử độc, được theo dõi trong các tế bào đơn nhân máu ngoại biên của bệnh nhân trong nghiên cứu Pha I. Sự kích thích đáng kể của NQO1 (NAD(P)H:quinon oxidoreductaza), chất đánh dấu hoạt tính phiên mã pha 2, được quan sát thấy ở các liều lượng 10mg/ngày và lớn hơn.

Số liệu sinh thiết khối u từ một vài bệnh nhân, thu được sau hai chu kỳ điều trị bằng CDDO-Me, cho thấy sự giảm rõ rệt trong mức mô khối u của xyclooxygenaza-2 (COX-2), nitric oxit syntaza chịu cảm ứng (iNOS), và STAT3 phosphoryl hóa (pSTAT3). Mức biểu hiện cao của mỗi protein này được biết là có liên quan đến sự tiến triển khối u và kết quả lâm sàng kém. Số liệu sinh thiết khối u ở một vài bệnh nhân cũng cho thấy mức độ chết tế bào khối u rõ rệt sau hai chu kỳ điều trị bằng CDDO-Me.

Mức creatinin huyết thanh giảm một cách đáng kể vào ngày 21, so với mức cơ sở trước điều trị, ở hơn 80% bệnh nhân trong nghiên cứu này. Nhiều bệnh nhân tiếp tục điều trị trong nhiều chu kỳ thể hiện sự giảm tiếp tục creatinin huyết thanh. Vì creatinin huyết thanh là chất chỉ thị chức năng thận được sử dụng rộng rãi, các quan sát này cho thấy rằng việc điều trị bằng CDDO-Me cải thiện được chức năng thận.

Các nghiên cứu này đưa ra số liệu ở người bệnh bị ung thư, cho thấy tác động có lợi của CDDO-metyl este đến các bệnh nhân mắc bệnh ung thư. Số liệu này còn cho thấy rằng CDDO-Me có khả năng có các tác động hữu ích về mặt lâm sàng ở bệnh nhân mắc các bệnh có liên quan đến viêm khác, kể cả rối loạn chức năng thận.

Ví dụ 11 - Sản xuất Dạng B trên quy mô lớn bằng cách sử dụng sản phẩm trung gian dimetanol solvat

Một kilôgam CDDO-Me ở Dạng A được hoà tan trong metanol nhiệt độ $60 \pm 5^{\circ}\text{C}$ để thu được dung dịch hoàn toàn. Dung dịch nóng chứa CDDO-Me thu được được cho vào lọ chứa metanol lạnh có nhiệt độ nằm trong khoảng từ -5°C đến -15°C , trong khi vẫn duy trì khuấy và nhiệt độ nằm trong khoảng từ -5°C đến -15°C trong suốt quá trình bổ sung. Lọc hỗn dịch thu được của dimetanol solvat tinh thể của CDDO-Me. Chất rắn tạo thành, có mẫu XRPD thống nhất với mẫu nêu trên Fig.26 (trước phân tích TGIR), được sấy khô trong lò ở nhiệt độ $70 \pm 5^{\circ}\text{C}$. Tiếp tục làm khô cho đến khi profin XRPD không thể hiện các phản xạ đặc trưng của hợp chất tinh thể. Chất rắn CDDO-Me vô định hình XRPD tạo ra được cho đi qua sàng và được đóng gói. Hiệu suất thu hồi sản phẩm nằm trong khoảng từ 65 đến 95%.

Ví dụ 12 - Dạng A và Dạng B đã được nghiền lạnh

Dạng A được nghiền lạnh và được phân tích. Số liệu tia X đã được xác định của mẫu thu được thông qua nghiền lạnh (2 giờ) cho thấy một số mở rộng ở đỉnh vào khoảng $13,5^{\circ}2\theta$. Phân tích PDF của Dạng A đã được nghiền lạnh cho thấy các kết quả tương tự với phân tích Dạng B. Các kết quả này cho thấy rằng Dạng A đã được nghiền lạnh là nguyên liệu dạng thủy tinh và phương pháp nghiền lạnh có thể tạo ra phương pháp thay thế để sản xuất Dạng B.

Dạng B được nghiền lạnh và được phân tích. Số liệu tia X đã đo được của mẫu thu được thông qua nghiền lạnh (1 giờ) là tương tự với nguyên liệu Dạng B ban đầu. Các kết quả này cho thấy rằng Dạng B là ổn định và không thay đổi dạng do nghiền lạnh.

Bảng 1 – Thông tin về mẫu

Thông tin về mẫu	Mô tả	Kết quả XRPD
Không được micron hóa	Bột trắng	A
Được micron hóa	-	A

Bảng 2 – Độ hòa tan gần đúng của CDDO metyl este

Dung môi	Độ hòa tan (mg/ml) ^a
Axeton	70
ACN (axetonitril)	66
DCM (điclorometan)	> 194
1,4-đioxan	21
EtOH (etanol)	4
EtOAc (etyl axetat)	36
Hexan	< 1
Isopropanol/nước (10:1)	4
MeOH (metanol)	8
MTBE (tert-butyl metyl ete)	4
THF (tetrahydrofuran)	97
Toluen	38
Nước	< 0,1

^a Độ hòa tan được tính toán dựa trên tổng dung môi được sử dụng để tạo ra dung dịch; độ hòa tan thực sự có thể lớn hơn do thể tích của các phần dung môi được sử dụng hoặc tốc độ hòa tan chậm. Độ hòa tan được làm tròn đến mg/mL gần nhất.

Bảng 3 – Thử nghiệm kết tinh trên CDDO metyl este

Dung môi	Điều kiện ^a	Dạng/mô tả	Kết quả XRPD
Axeton	FE	Khoanh màu trắng	A
	SE	Thủy tinh vỡ màu trắng	Dạng B
Axeton/Hexan (3:10)	SC	Không phải chất rắn	–
ACN	FE	Thủy tinh vỡ màu trắng	A + Dạng B
	SE	Khoanh màu trắng	A
ACN/nước (7:5)	SC	Phiến nhỏ màu trắng	A
DCM	Rotovap	Thủy tinh vỡ màu trắng	Dạng B
	FE	Thủy tinh vỡ	Dạng B
	SE	Thủy tinh vỡ màu trắng	Dạng B
DCM/Hexan (1:5)	SC	Không phải chất rắn	–
1,4-đioxan	FD	Chất rắn màu trắng mịn như lông tơ	Dạng B
EtOH	FE	Khoanh màu trắng	A
	SE	Vết gợn màu trắng	A
	SC	Viên nén nhỏ màu trắng	A
EtOAc	FE	Thủy tinh vỡ màu trắng	Dạng B
	SE	Thủy tinh vỡ màu trắng	Dạng B
	SC	Không phải chất rắn	–
IPA/nước (10:1)	SC	Viên nén nhỏ màu trắng	A
MeOH	FE	Khoanh màu trắng	A
	SE	Viên nén màu trắng, không đều	A
	SC	Viên nén hình thoi	A ^b
MTBE	FE	Thủy tinh vỡ màu trắng	Dạng B
	SE	Thủy tinh vỡ màu trắng	Dạng B
	SC	Không phải chất rắn	–
THF	FE	Thủy tinh vỡ màu trắng	Dạng B
	SE	Thủy tinh vỡ màu trắng	Dạng B
THF/Hexan (1:2)	SC	Không phải chất rắn	–
Toluen	FE	Khoanh màu trắng	Dạng B
	SE	Thủy tinh vỡ màu trắng	Dạng B
	SC	Không phải chất rắn	–
–	Nóng chảy/làm lạnh	Thủy tinh vỡ trong suốt	Dạng B

^a FE = bay hơi nhanh, SE = bay hơi chậm, SC = làm nguội chậm, nhiệt độ gần đúng, FD = sấy lạnh đông, rotovap = bay hơi dạng quay

^b xác định cấu trúc đơn tinh thể

Bảng 4 – Thử nghiệm huyền phù đặc của CDDO metyl este

Dung môi	Thời gian (ngày)	Dạng/mô tả	Kết quả XRPD
IPA/nước (10:1)	7	Mảnh màu trắng	A
MTBE	10	Khoanh màu trắng	A
MeOH	10	Khoanh màu trắng	A

Bảng 5 – Thử nghiệm kết tủa lạnh của CDDO metyl este

Dung môi	Kháng dung môi	Dạng/mô tả	Kết quả XRPD
Axeton	Hexan	Không phải chất rắn	–
	Nước	Chất rắn màu trắng	A
DCM	Hexan	Không phải chất rắn	–
THF	Nước	Chất rắn màu trắng	A

Bảng 6 – Số liệu xác định đặc điểm của Dạng A

Kỹ thuật phân tích	Kết quả ^a
XRPD	A
DSC	Sự thay đổi cơ sở 157°C, sự thu nhiệt 224°C
TGA	tổn thất 0,3% trọng lượng ở nhiệt độ tối đa là 150°C tổn thất 1,2% trọng lượng ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 150 đến 210°C
KF	0,38%
Đĩa nóng	28,9: bắt đầu gia nhiệt 150,1: - 176,4: - 200,2: không thay đổi 225,9: nóng chảy 227,9: điểm nóng chảy
MB	Sự thay đổi trọng lượng không đáng kể trong quá trình thử nghiệm
XRPD sau MB	A
SEM ^b	Dạng hình chóp, viên nén, và hình đĩa
NMR (CDCl ₃)	Phù hợp với cấu trúc

^a tất cả nhiệt độ đều đo bằng °C, endo = thu nhiệt^b kết quả dựa trên hình ảnh thu được

Bảng 7 – Nghiên cứu ứng suất của Dạng A

Điều kiện ^a	Dạng/mô tả	Kết quả XRPD
25°C/60% RH 3 ngày: tổn thất 1,5% 7 ngày: tổn thất 0,6%	Bột màu trắng	A
40°C/75% RH 3 ngày: tổn thất 1,4% 7 ngày: thu được 0,2%	Bột màu trắng	A
195°C ^b 15 phút: tổn thất 2%	Bột màu trắng	A
20 phút nghiền, khô	Bột màu trắng	A
20 phút nghiền ướt, nước	Bột màu trắng	A

Bảng 8 – Số liệu xác định đặc điểm của CDDO metyl este ở Dạng B

Kỹ thuật phân tích	Kết quả ^a
XRPD	Dạng B
MDSC	Tg ~125°C
NMR (CDCl ₃)	Phù hợp với cấu trúc

Bảng 9 – Nghiên cứu ứng suất của CDDO metyl este ở Dạng B

Điều kiện ^a	Dạng/mô tả	Kết quả XRPD ^c
22°C/97% RH 7 ngày	Thủy tinh vỡ	Dạng B
40°C/75% RH 8 ngày	Thủy tinh vỡ	Dạng B
80°C/0% RH ~24 giờ	Thủy tinh vỡ màu trắng, khoan tròn trong suốt	Dạng B
195°C ^b 5 phút	Bụi màu trắng	Dạng B
200°C ^b 60 phút	Mảnh lưỡng chiết màu trắng	A + Dạng B (min)

^a RH = độ ẩm tương đối, Tg = nhiệt độ chuyển tiếp thủy tinh^b Độ ẩm môi trường xung quanh phòng thí nghiệm được xác định là 74% RH^c min = phụ

Bảng 10 – Số liệu tinh thể và thông số thu thập số liệu đối với Dạng A

Công thức	C ₃₂ H ₄₃ NO ₄
Trọng lượng của công thức	505,70
Nhóm không gian	<i>P</i> 43 21 2 (Số 96)
<i>a</i> , Å	14,21620(10)
<i>c</i> , Å	81,5875(12)
<i>V</i> , Å ³	16488,9(3)
<i>Z</i>	24
<i>d</i> _{calc} , g cm ⁻³	1,222
Kích thước tinh thể, mm	0,01 x 0,01 x 0,00 ^a
Nhiệt độ, K	150.
Chiếu xạ (bước sóng, Å)	Mo Kα (0,71073)
Máy đơn sắc	graphit
Hệ số hấp phụ tuyến tính, mm ⁻¹	0,074
Sự hiệu chỉnh hấp phụ được áp dụng	theo kinh nghiệm ^b
Hệ số truyền: cực tiểu, cực đại	0,9995, 0,9999
Nhiều xạ kế	Nonius KappaCCD
Khoảng <i>h</i> , <i>k</i> , <i>l</i>	từ -15 đến 15 từ -10 đến 10 từ -86 đến 72
Khoảng 2θ, độ	4,08-44,43
Độ khảm, độ	0,32
Chương trình được sử dụng	SHELXTL
<i>F</i> ₀₀₀	6576,0
Trọng lượng	
$1/[\sigma^2(F_o^2) + (0,0176P)^2 + 0,0000P]$ trong đó $P = (F_o^2 + 2F_c^2)/3$	
Số liệu thu thập được	46742
Số liệu duy nhất	9168
<i>R</i> _{int}	0,093
Số liệu được sử dụng trong tinh chế	9168
Điểm cắt được sử dụng trong tính toán yếu tố <i>R</i>	$F_o^2 > 2,0\sigma(F_o^2)$
Số liệu với $I > 2,0\sigma(I)$	5421
Số lượng biến số	1024
Sự thay đổi lớn nhất/độ lệch chuẩn ước tính (esd) trong chu kỳ cuối cùng	0,00
<i>R</i> (<i>F</i> _o)	0,051
<i>R</i> _w (<i>F</i> _o ²)	0,085
Độ phù hợp	1,045

^a Otwinowski Z. & Minor, W. *Methods Enzymol.*, 1997, 276, 307.^b Kích thước tinh thể gần đúng

Bảng 11 – Tóm tắt diện tích bên dưới nồng độ trong huyết tương (AUC) so với thời gian trong tất cả động vật nghiên cứu (n=8)

Nghiên cứu chế phẩm CDDO metyl este - Hợp chất gốc

Khí #	Dạng A AUC (ng/ml*giờ)	Dạng B AUC (ng/ml*giờ)	% Dạng B so với Dạng A
501M	37,5	203,4	542
502M	28,3	204,7	723
503F	21,3	107,3	504
504F	N/A	175	N/A
505M	60,4	158,3	262
506M	N/A	N/A	N/A
507F	57,3	164	286
508F	37,3	228	611
Giá trị trung bình	40,4	177,2	439
Số trung bình	37,4	175,0	523
Khoảng (cực tiểu- cực đại)	21 - 60,4	158 - 228	262 - 723%

N/A – không được xác định.

Bảng 12 – Thử nghiệm kết tinh của CDDO-metyl este.

Dung môi	Điều kiện ^a	Mô tả	Kết quả XRPD
Benzen/axeton 10:1	RE, nhiệt độ trong phòng	Chất rắn màu trắng	Vô định hình tia X
10:1 Benzen/axeton	FE sau đó làm khô ở nhiệt độ 60°C	Gel trong suốt	—
Benzen/axeton 10:1	FE w/ ống mao dẫn	Màng trong suốt	—
Benzen/axeton 10:1	FE, được đẩy nắp và được đặt trong tủ đá qua đêm, lọ được khóa bằng cách sử dụng bay kim loại và được để bay hơi ở nhiệt độ trong phòng	Chất rắn màu trắng	Benzen solvat
Benzen/axeton 10:1	FE, được đẩy nắp và được để ở nhiệt độ trong phòng qua đêm, lọ được khóa bằng cách sử dụng bay kim loại và được để bay hơi ở nhiệt độ trong phòng	Chất rắn màu trắng	Benzen solvat
Benzen/axeton 10:1	FE w/ nghiền bằng sóng siêu âm	Chất rắn màu trắng	Benzen solvat

^a RE = bay hơi dạng quay, FE = bay hơi nhanh

Bảng 13 – Xác định đặc điểm của hemibenzen solvat của CDDO-metyl este

Kỹ thuật phân tích	Kết quả
XRPD	Hemibenzen solvat
DSC, 10°C/phút	Sự thu nhiệt 133°C Sự thu nhiệt 223°C (bắt đầu 221°C)
TG, 10°C/phút	Tổn thất 7,0% trọng lượng trên 160°C Tương ứng với 0,5 mol benzen
¹ H NMR (CDCl ₃)	Phù hợp với cấu trúc ~0,5 mol benzen rõ ràng

Bảng 14 – Xác định đặc điểm của đimetanol Solvat của CDDO-metyl este

Kỹ thuật phân tích	Kết quả
XRPD	Đimetanol solvat
DSC, 10°C/phút	Sự thu nhiệt 102°C Sự thay đổi đường ranh giới ở 130°C Sự tỏa nhiệt lớn ở 203°C Sự thu nhiệt 225°C (bắt đầu: 223°C)
TG, 10°C/phút	Tổn thất 11% trọng lượng trên 110°C Tương ứng với ~2,0 mol metanol
TGIR, 20°C/phút	Tổn thất 9,8% trọng lượng ở nhiệt độ tối đa 110°C Tương ứng với ~1,7 mol metanol Thành phần dễ bay hơi được xác định là metanol
XRPD sau TGIR	Vô định hình tia X
IR	Phù hợp với cấu trúc
¹ H NMR (CDCl ₃)	Phù hợp với cấu trúc ~1,7 mol metanol rõ ràng

Bảng 15 – Nghiên cứu ứng suất của CDDO-metyl este ở Dạng B được micron hóa

	Dạng B được sản xuất theo quy trình của Ví dụ 11		Dạng B được sản xuất bằng cách tách từ hỗn hợp của etyl axetat và etanol	
Điều kiện ứng suất ^a	Kết quả XRPD	Kết quả KF	Kết quả XRPD	Kết quả KF
80°C/P ₂ O ₅ , 14d	Dạng B	NP	NP	NP
80°C/P ₂ O ₅ , 28 d	Dạng B	1,10	Dạng A 100%	0,37
60°C/23% RH, 28d	Dạng B	0,04	Dạng A + Dạng B ~ 50%	0,02
40°C/48% RH, 28d	Dạng B	0,00 ^b	Dạng B	0,39
25°C/75% RH, 14d	Dạng B	NP	NP	NP
25°C/75% RH, 28d	Dạng B	0,77	Dạng B	0,58

^a RH = độ ẩm tương đối^b Giá trị thực tế là giá trị âm

Bảng 16 – Hoạt tính chống ung thư của chất CDDO-Me đơn

Mẫu	Chất/Đường dùng	Hoạt tính của thuốc	Nhận xét
Mô ghép khác loài ung thư phổi NCI-H460 (chuột trụi lông)	CDDO-Me, p.o.	TGI ¹ 78%	Hiệu quả phụ thuộc liều lượng. CDDO-Me hiệu quả như chiếu xạ
Mô ghép khác loài ung thư vú MCF-7/Her-2 (chuột trụi lông)	CDDO-Me, i.v.	Thoái triển 15%	Kết quả tốt hơn đạt được ở khối u biểu hiện quá mức Her-2 ^a
Mô hình di căn ung thư vú cùng gen 4T1 (chuột) – Điều trị ngay từ đầu	CDDO-Me, i.v.	Ức chế 100%	Tất cả các con chuột vẫn còn không có khối u khi bị giết vào ngày 85 ^b
Mô hình di căn ung thư vú cùng gen 4T1 (chuột) – Điều trị chậm trễ	CDDO-Me, i.v.	Ức chế 67%	33% con chuột không có khối u khi bị giết vào ngày 95 ²
Mô ghép khác loài ung thư tuyến tụy L3,6PL (chuột trụi lông)	CDDO-Me, i.v.	TGI 51%	CDDO-Me thể hiện hoạt tính tốt hơn Gemxitabin
Mô ghép khác loài Ung thư tuyến tiền liệt DU-145 (chuột trụi lông)	CDDO-Me, p.o.	TGI 77%	Nhiều sơ đồ được thử nghiệm – TGI 60-77%

¹TGI= Ức chế sự phát triển khối u
Số liệu được thể hiện là từ liều lượng ở MTD hoặc dưới MTD (được xác định là tỷ lệ tử vong ≤10% và tổn thất ≤20% trọng lượng).

Bảng 20 – Dung dịch được chuẩn bị cho phương pháp sấy phun

Tỷ lệ chất rắn	Dạng B 40%, Polyme 60%	Dạng B 60%, Polyme 40%
Polyme	Copolyme của axit metacrylic Loại C	HPMCP HP-55
Dung môi	Axeton	Axeton
Nồng độ % trọng lượng/trọng lượng	10	10
Nhiệt độ °C	-20	-20
Quan sát	Dung dịch thể hiện một số độ mờ sau khi nạp polyme. Mẫu chứa dung dịch được gia nhiệt đến nhiệt độ tối đa là 35/40°C, nhưng độ mờ không biến mất và quan sát thấy một số kết cụm.	Dung dịch hoàn toàn trong suốt sau khi nạp polyme. Hai chu trình được thực hiện sử dụng dung dịch vào cùng ngày mà dung dịch được điều chế.

^a Konopleva, *et al.*, "Synthetic triterpenoid 2-cyano-3,12-dioxooleana-1,9-dien-28-oic acid induces growth arrest in HER2-overexpressing breast cancer cells," *Mol Cancer Ther.* 2006, 5: 317-28.

^b Ling, *et al.*, "The novel triterpenoid C-28 methyl ester of 2-cyano-3, 12-dioxoolen-1, 9-dien-28-oic acid inhibits metastatic murine breast tumor growth through inactivation of STAT3 signaling," *Cancer Res.* 2007, 67: 4210-8.

Bảng 21 – Các đặc tính của chế phẩm được thử nghiệm

Polyme	Copolymer của axit metacrylic, Loại C	HPMCP HP-55
Thử nghiệm		
Mô tả	Chất rắn màu trắng	Chất rắn màu trắng
Nhiều xạ bột tia X	Không phát hiện thấy đỉnh tinh thể nào	Không phát hiện thấy đỉnh tinh thể nào
Nước	1,50% trọng lượng	–
DSC - Tg (điểm uốn)	106°C	118°C
Thử nghiệm (bởi HPLC)	409% trọng lượng (được tính trên cơ sở khan và không có dung môi)	59,4% trọng lượng (được tính trên cơ sở khan và không có dung môi)
Tổng lượng tạp chất (HPLC)ti	1,14% diện tích	0,42% diện tích
Cỡ hạt (D50)	21µm	5,6µm
Mật độ khối	0,18g/cm ³ (được tính toán với 4g sản phẩm)	0,19g/cm ³ (được tính toán với 4g sản phẩm)

Bảng 22 – Nồng độ trung bình của CDDO-Me trong huyết tương của khỉ Cynomolgus trong Mẫu Pha 2 và 3

Thời gian	Nồng độ trung bình của CDDO-metyl este (ng/ ml)									
	PO Dạng A (tinh thể cỡ nano)	PO Dạng B (được micron hóa)	PO Dạng A (tinh thể được micron hóa)	PO Dạng B (PVP/VA)	PO Dạng B (HPMCP)	PO Dạng B (Eudragit L100-55)				
Trước khi dùng liều	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ				
lượng										
5 phút	NST	NST	NST	NST	NST	NST				
10 phút	NST	NST	NST	NST	NST	NST				
15 phút	NST	NST	NST	NST	NST	NST				
30 phút	NST	NST	NST	NST	NST	NST				
1 giờ	1,53 ±	1,49 ±	5,67 ±	0,619 ± 0,207	9,45 ±	3,64 ±	9,94 ±	4,83 ±	9,06 ±	4,38 ±
2 giờ	3,00 ±	2,02 ±	9,63 ±	0,505 ± 0,260	14,8 ±	3,04 ±	24,1 ±	13,2 ±	22,2 ±	11,7 ±
4 giờ	3,52 ±	1,30 ±	11,6 ±	1,15 ± 0,73	27,3 ±	3,79 ±	50,7 ±	10,0 ±	50,6 ±	19,3 ±
8 giờ	8,56 ±	2,32 ±	8,44 ±	4,31 ± 1,35	30,4 ±	10,8 ±	40,0 ±	15,6 ±	51,1 ±	8,72 ±
16 giờ	7,90 ±	2,26 ±	5,68 ±	5,39 ± 1,12	13,3 ±	3,92 ±	15,4 ±	7,41 ±	25,6 ±	13,9 ±
24 giờ	4,40 ±	2,33 ±	1,86 ±	3,05 ± 1,42	6,39 ±	2,02 ±	5,79 ±	2,95 ±	7,47 ±	4,10 ±
36 giờ	NST	NST	NST	NST	NST	NST	NST	NST	NST	NST
48 giờ	0,649 ±	0,342 ±	0,175 ±	0,419 ± 0,291	1,78 ±	1,61 ±	0,983 ±	0,343 ±	1,37 ±	0,626 ±
72 giờ	0,312 ±	0,390 ±	0,368 ±	0,0169 ± 0,0252	0,395 ±	0,319 ±	0,448 ±	0,283 ±	0,344 ±	0,461 ±
NST Không có mẫu nào được lấy.							IV Dùng trong tĩnh mạch.			
BLQ Dưới giới hạn định lượng (1,00 ng/ml).							PO Dùng qua đường miệng bằng viên nang.			
Các giá trị bằng chữ in nghiêng đậm được tính toán bằng cách sử dụng tất cả các giá trị có mặt trong Phụ lục 3, do đó giá trị trung bình có thể khác với các giá trị trung bình theo tính toán, trong đó các giá trị là BLQ được giả định là bằng 0.										

Tài liệu trích dẫn

1. Sheldrick, G. M. SHELX97, A PROGRAM FOR CRYSTAL STRUCTURE REFINEMENT, University of Gottingen, Germany (1997).
2. Otwinowski, Z.; Minor, W. *Methods Enzymol.* 1997, 276, 307.
3. Bruker, XPREP in SHELXTL v. 6.12., Bruker AXS Inc., Madison, WI (2002).
4. Bruno, et al., *Acta Crystallogr.* 2002, B58, 389
5. INTERNATIONAL TABLES FOR CRYSTALLOGRAPHY, Vol. C, Tables 4.2.6.8 and 6.1.1.4, Kluwer Academic Publishers: Dordrecht, The Netherlands (1992).
6. Kraus, W., and G. Nolze, POWDERCELL FOR WINDOWS VERSION 2.3, Federal Institute for Materials Research and Testing, Berlin (1999).
7. Johnson, C. K. ORTEPIII, Report ORNL-6895, Oak Ridge National Laboratory, TN, U.S.A. 1996.
8. Watkin, D. J.; Prout, C .K.; Pearce, L. J. Cameron, CHEMICAL CRYSTALLOGRAPHY LABORATORY, University of Oxford, Oxford, 1996.
9. OPTeP-3 for Windows V1.05 ,. Farrugia, L.J., *J. Appl. Cryst.* 1997, 30, 565.
10. Bore, et al., *Acta Cryst.* 2002, C58, o199-o200.
11. Honda, et al. , *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 1997, 7, 1623.
12. Honda, et al , loc. cit. 1998, 8, 2711-14.
13. Honda, et al., *J. Med. Chem.* 2000, 43, 1866.
14. Honda, et al., loc. cit., 4233.
15. Honda, et al., *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 2002, 12, 1027.
16. Zhou, et al., *J. Pharmaceutical Sciences* 2002, 91, 1863.
17. Cui et al., *Int'l J. Pharmaceutics*, 2007 339, 3-18.
18. Repka et al., Hot-melt extrusion technology In: *ENCLOPEDIA OF PHARMACEUTICAL TECHNOLOGY*, 2nd ed (Marcel Dekker, 2002), pages 203-06.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Metyl 2-xyano-3,12-đioxoleana-1,9(11)-dien-28-oat (CDDO-metyl este) khan, kết tinh, khác biệt ở chỗ, mẫu nhiễu xạ bột tia X của nó bao gồm các đỉnh ở $8,78^\circ 2\theta$, $12,94^\circ 2\theta$, $13,35^\circ 2\theta$, $14,18^\circ 2\theta$, và $17,4^\circ 2\theta \pm 0,2^\circ 2\theta$ dựa trên số liệu được thu gom trên nhiễu xạ kế với chiếu xạ Cu K α .
2. CDDO-metyl este theo điểm 1, trong đó mẫu nhiễu xạ bột tia X về cơ bản là như được thể hiện trên Fig. 18.
3. CDDO-metyl este theo điểm 1, khác biệt ở chỗ, đường cong nhiệt lượng quét vi sai của nó bao gồm sự dịch chuyển đường cơ sở ở khoảng 157°C và sự thu nhiệt tối đa ở khoảng 224°C .
4. CDDO-metyl este theo điểm 3, trong đó đường cong nhiệt lượng quét vi sai về cơ bản là như được thể hiện trên Fig. 3.
5. Dược phẩm chứa lượng hữu hiệu có tác dụng trị liệu của CDDO-metyl este theo điểm 1 và một hoặc nhiều chất mang rắn dược dụng.
6. Dược phẩm theo điểm 5, trong đó CDDO-metyl este được micron hóa và chất mang rắn dược dụng là chất mang ăn được.
7. CDDO-metyl este hemibenzenat kết tinh, khác biệt ở chỗ, mẫu nhiễu xạ bột tia X của nó bao gồm các đỉnh ở $9,25^\circ 2\theta$, $14,17^\circ 2\theta$, $14,62^\circ 2\theta$, $16,32^\circ 2\theta$, và $17,11^\circ 2\theta \pm 0,2^\circ 2\theta$ dựa trên số liệu được thu gom trên nhiễu xạ kế với chiếu xạ Cu K α .
8. CDDO-metyl este hemibenzenat kết tinh theo điểm 8, khác biệt ở chỗ, nó có đường cong nhiệt lượng quét vi sai về cơ bản là như được thể hiện trên Fig. 23.

9. CDDO-metyl este dạng rắn được điều chế bởi quy trình bao gồm bước nghiền lạnh CDDO-metyl este theo điểm 2.

Fig.1 - Cấu trúc hóa học của CDDO methyl este

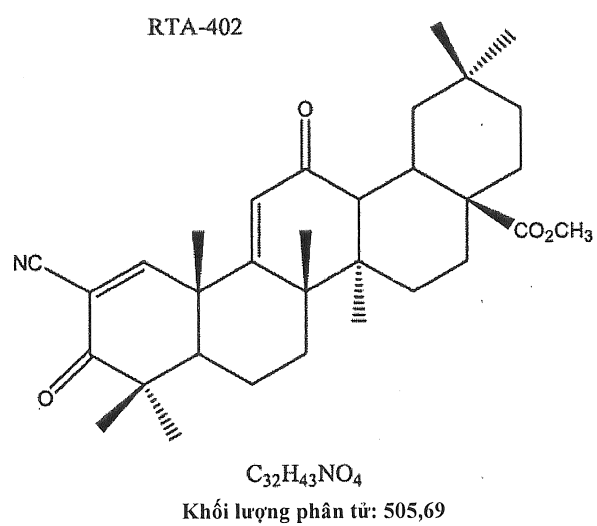


Fig.2 - Mẫu XRPD của Dạng A (trên) và Dạng B (dưới)
Từ trên xuống dưới: Dạng A không được micron hóa (2A),
Dạng A được micron hóa (2B) và Dạng B (2C)

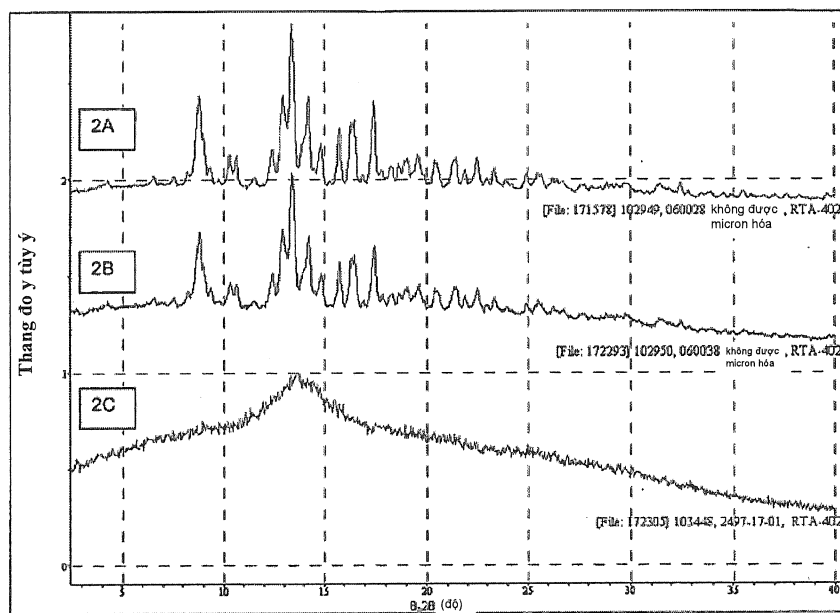


Fig.3 - Đường cong DSC và TG của CDDO metyl este

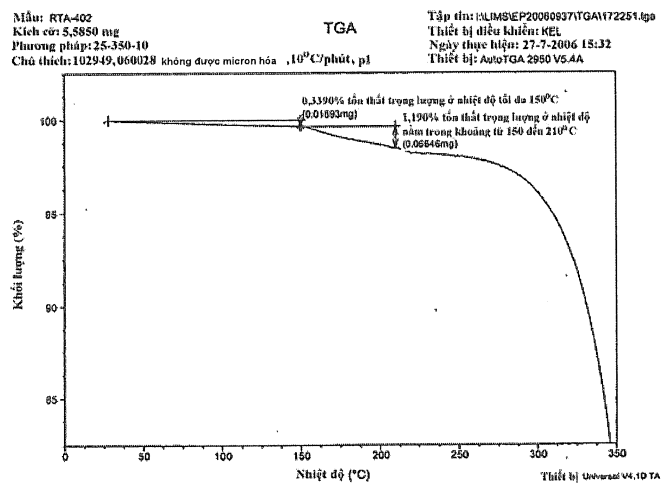
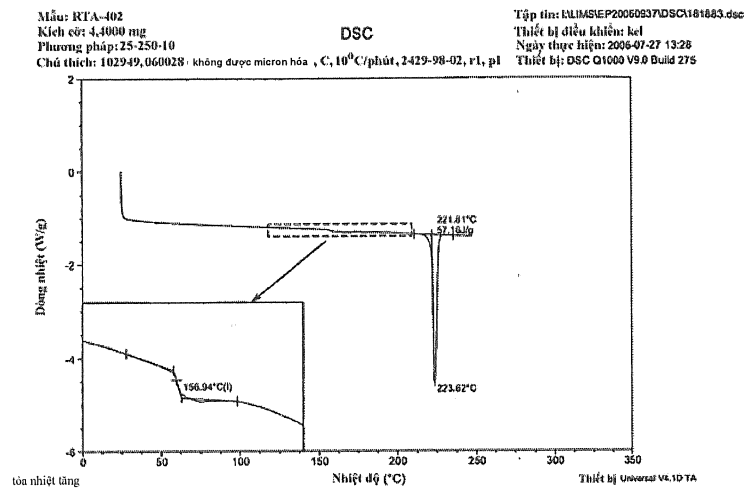


Fig.4 - Phân tích đĩa nóng của Dạng A - không được micron hóa

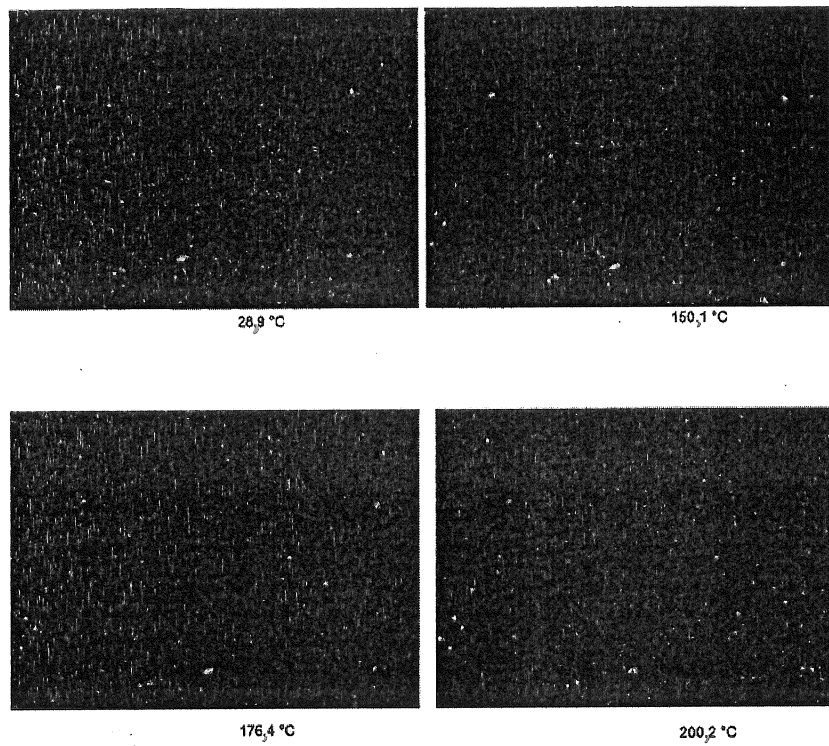


Fig.4 (tiếp) - Phân tích đĩa nóng của Dạng A - không được micron hóa

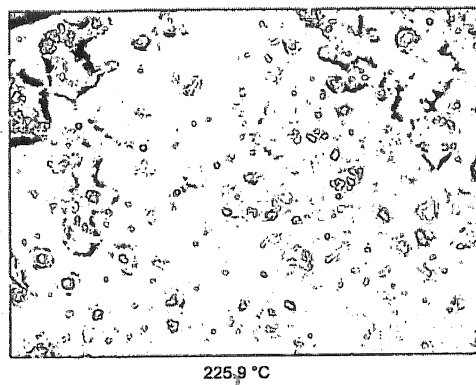


Fig.5 - Đường đẳng nhiệt hấp thụ hơi động lực của Dạng A - không được micron hóa

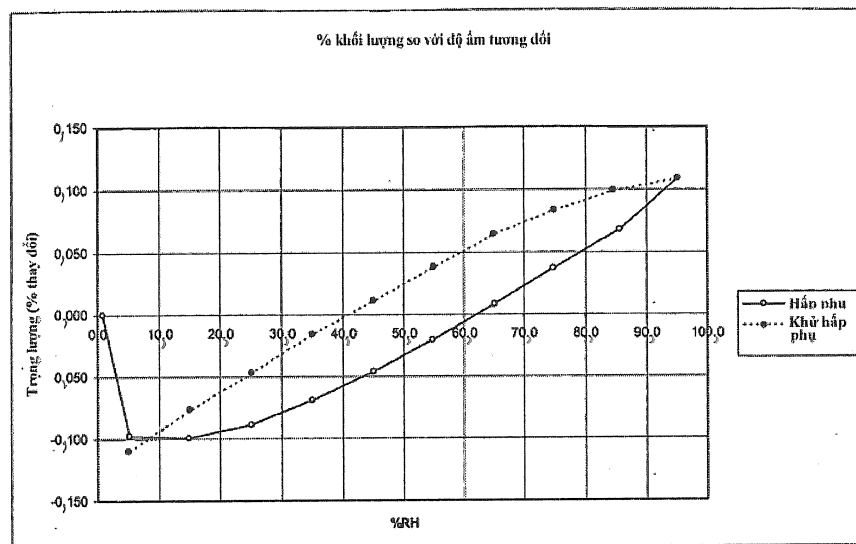


Fig.6 - Hình ảnh SEM của Dạng A - không được micron hóa

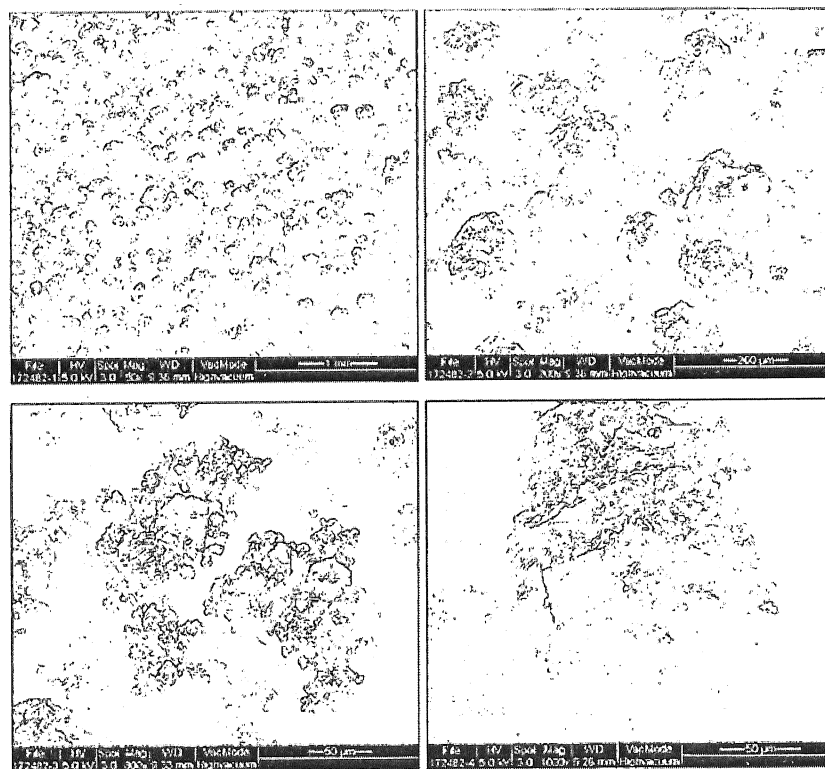


Fig.6 (tiếp) - Hình ảnh SEM của Dạng A - không được micron hóa

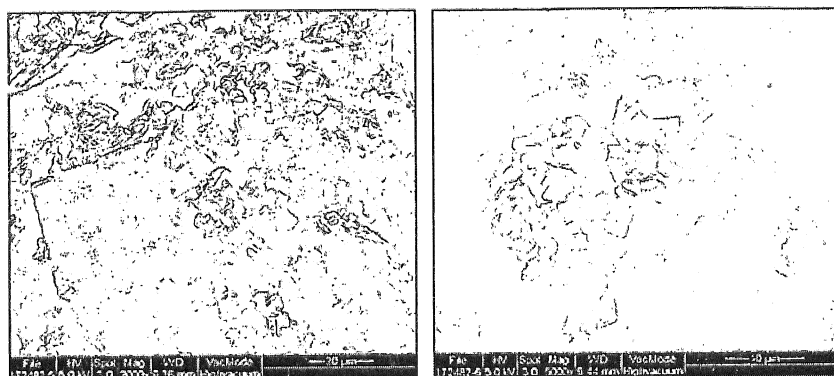


Fig.7 - Dạng A trước (trên) và sau (dưới) ứng suất ở nhiệt độ 195°C

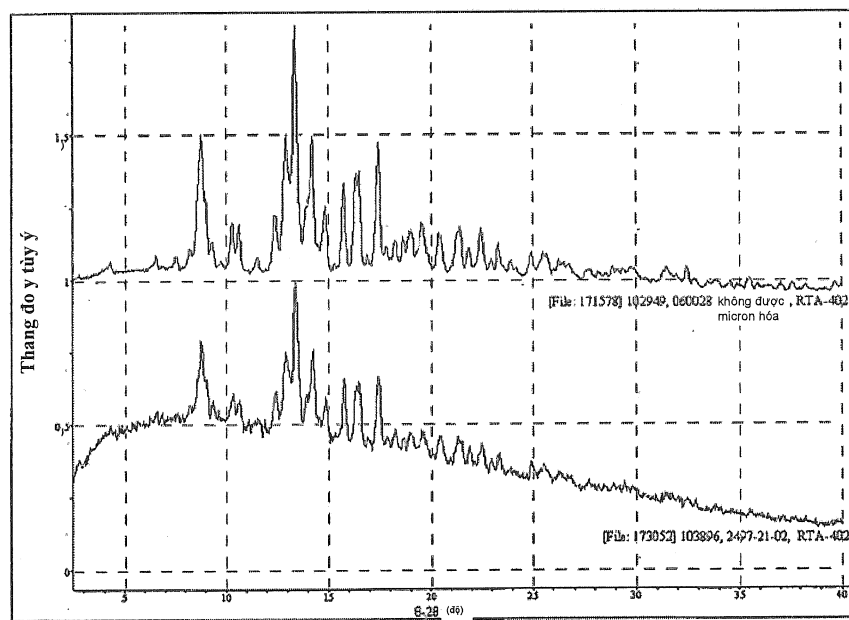


Fig.8 - Phổ NMR của Dạng A - không được micron hóa

102949, RTA-402, Lô 060028 không được micro hóa, trong CDCl₃ w/TMS, ¹H NMR, tham khảo TMS ở 0,0 ppm
 File: 172444
 INOVA-400 "nmr.ssci-inc.local"
 VNMR.1C; rev 2004-03-08; patch a11205
 OS: Solaris 9
 Người xử lý: P. Wheeler

Ngày thu được: 28/7/2006
 Dung môi: CDCl₃
 Nhiệt độ môi trường xung quanh
 Tốc độ quay: 20 Hz
 Trình tự xung: s2pul
 Thời gian trễ nghỉ: 5000 giây
 Độ rộng xung: 8,3 uscc (90,0 độ)
 Thời gian thu được: 2,5 giây
 Độ rộng phổ: 64000 Hz (16.000 ppm)
 40 lần quét
 Số điểm thu được: 32002
 Nhân quan sát: H1 (399,7938246 MHz)
 XỬ LÝ DỮ LIỆU
 Lạm rộng đồng: 0,2 Hz
 Kích thước FT: 131072

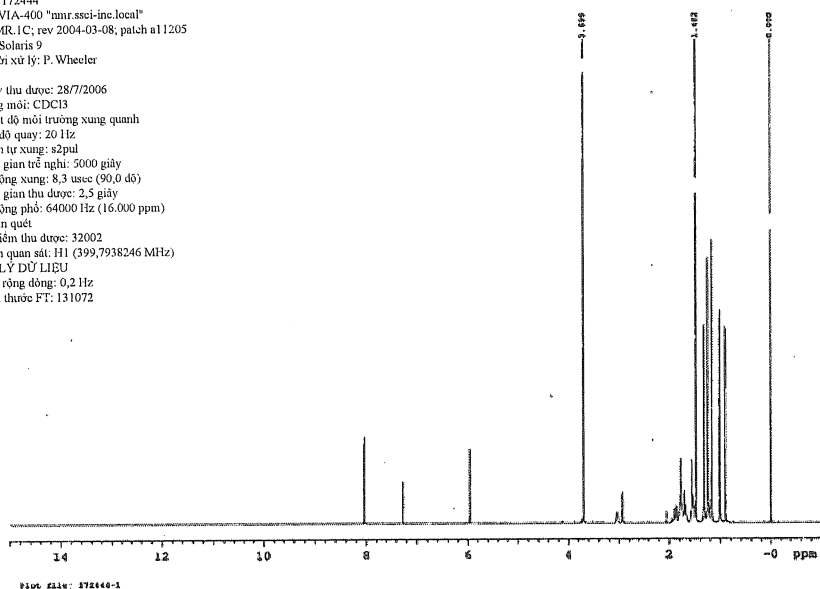


Fig.9 - Đường cong MDSC của CDDO metyl este Dạng B

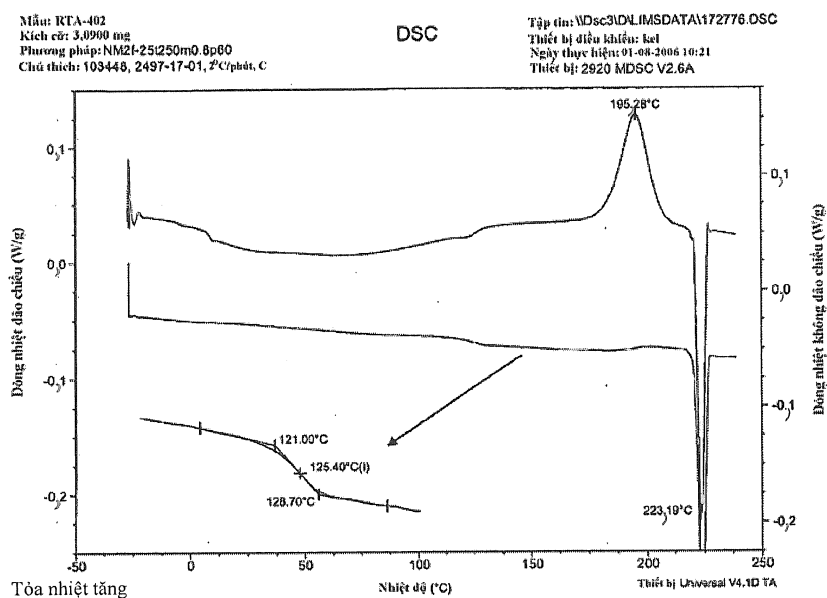


Fig.10 - CDDO metyl este Dạng B trước (trên) và sau (dưới) ứng suất

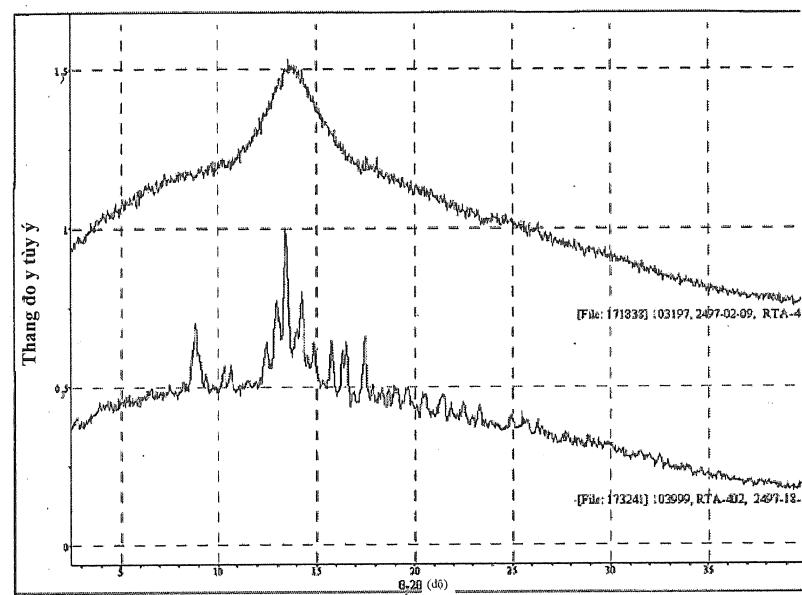


Fig.11 - Phổ NMR của CDDO metyl este Dạng B

103448, 2497-17-01, RTA-602, trong CDCl₃ w/TMS, ¹H NMR, tham khảo TMS ở 0,0 ppm
 File: 172792
 INOVA-400 "nmr2.sci-inc.local"
 VNMR6.1C; rev 2004-03-08; patch a11205
 OS: Solaris 9
 Người xử lý: P. Wheeler

Ngày thu được: 01/8/2006
 Dung môi: CDCl₃
 Nhiệt độ môi trường xung quanh
 Tốc độ quay: 20 Hz
 Trình tự xung: s2pul
 Thời gian trễ nghỉ: 5000 giây
 Độ rộng xung: 8,3 usec (90,0 độ)
 Thời gian thu được: 2,5 giây
 Độ rộng phổ: 64000 Hz (16.000 ppm)
 40 lần quét
 Số điểm thu được: 32002
 Nhân quan sát: H1 (399,7938246 MHz)
 XỬ LÝ DỮ LIỆU
 Lạm rộng đồng: 0,2 Hz
 Kích thước FT: 131072

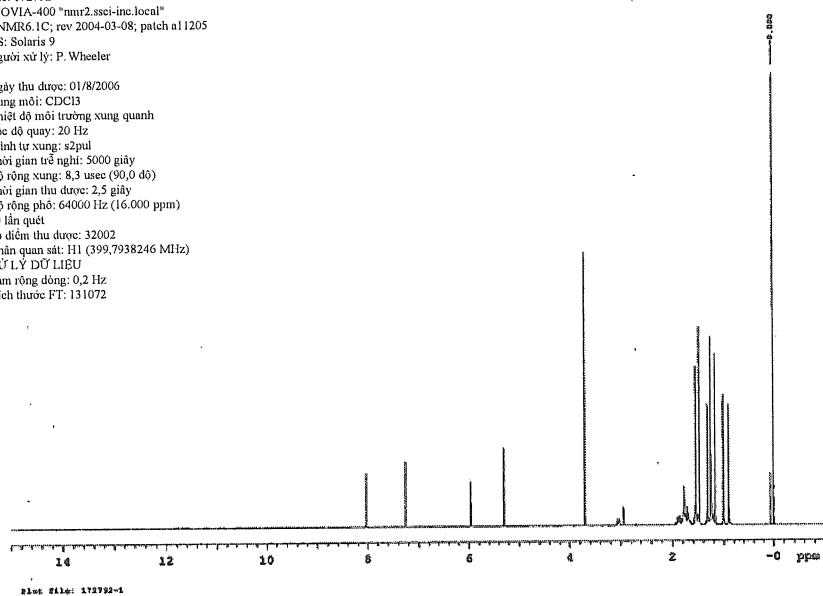


Fig.12 - Hình vẽ ORTEP của phân tử CDDO metyl este đơn có chất đánh dấu
Các nguyên tử được biểu thị bằng eliposit nhiệt không đẳng hướng xác suất 50%

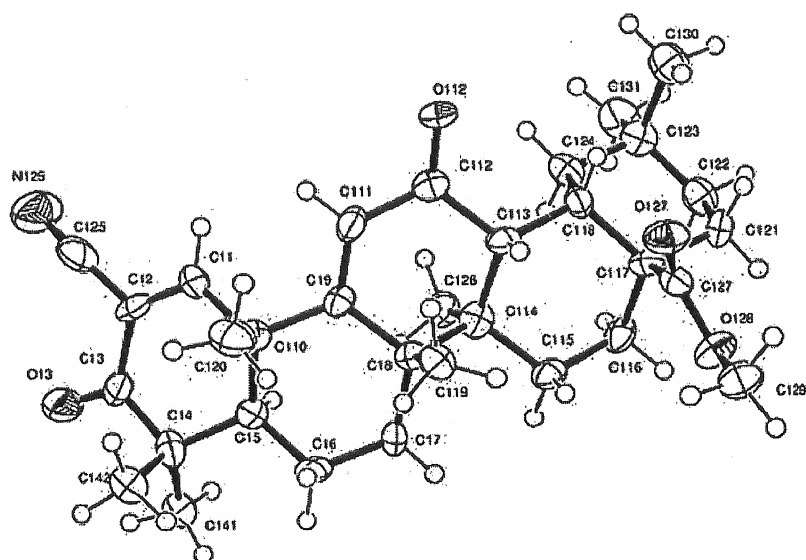


Fig.13 - Hình vẽ ORTEP của lượng đơn vị không đối xứng của các tinh thể Dạng A
Các nguyên tử được biểu thị bằng eliposit nhiệt không đẳng hướng xác suất 50%

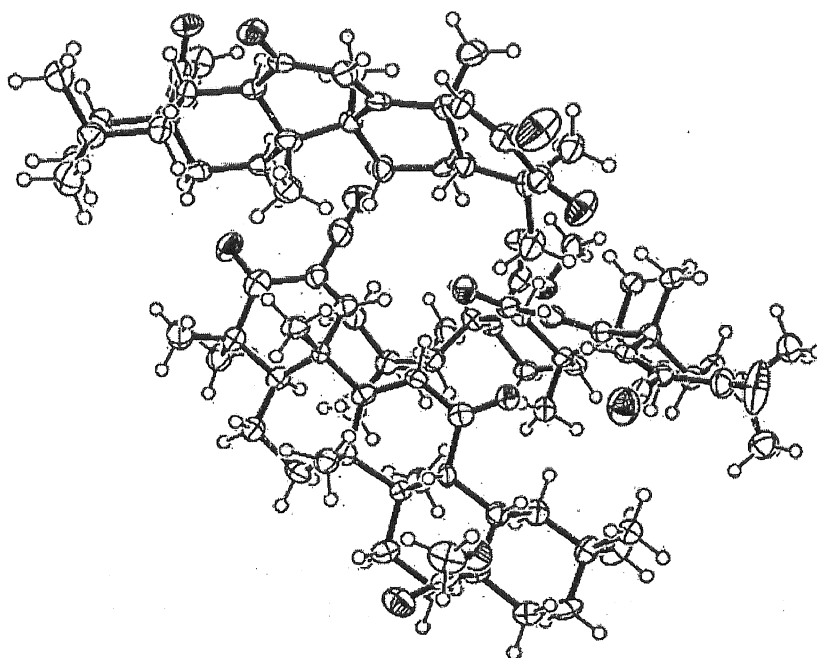


Fig.14 - Đồ thị dạng gói của các tinh thể Dạng A được quan sát ở dưới trục tinh thể a

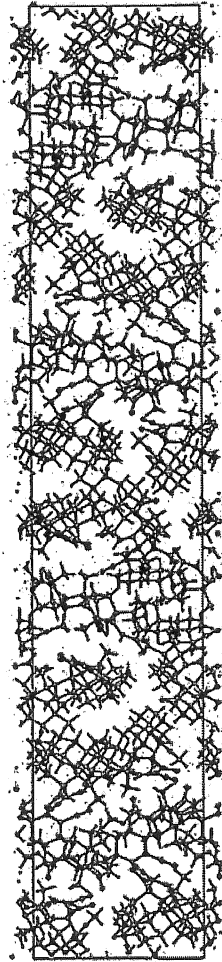


Fig.15 - Đồ thị dạng gói của các tinh thể Dạng A được quan sát ở dưới trục tinh thể b

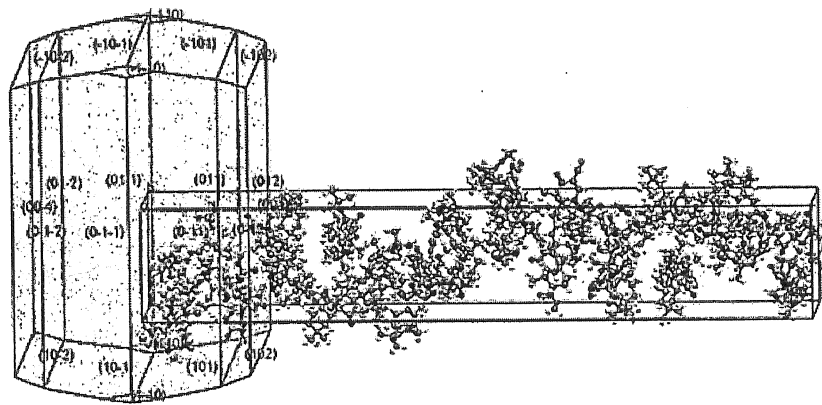


Fig.16 - Đồ thị dạng gói của các tinh thể Dạng A được quan sát ở dưới trục tinh thể c

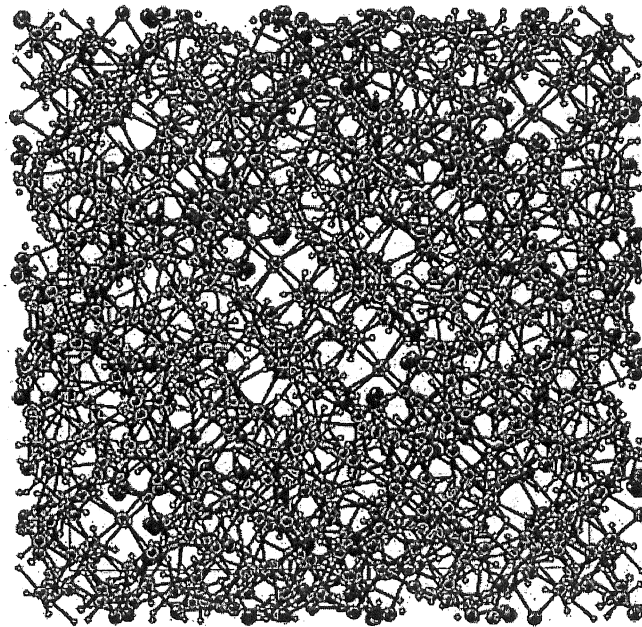


Fig.17 - Mẫu bột tia X của Dạng A theo tính toán

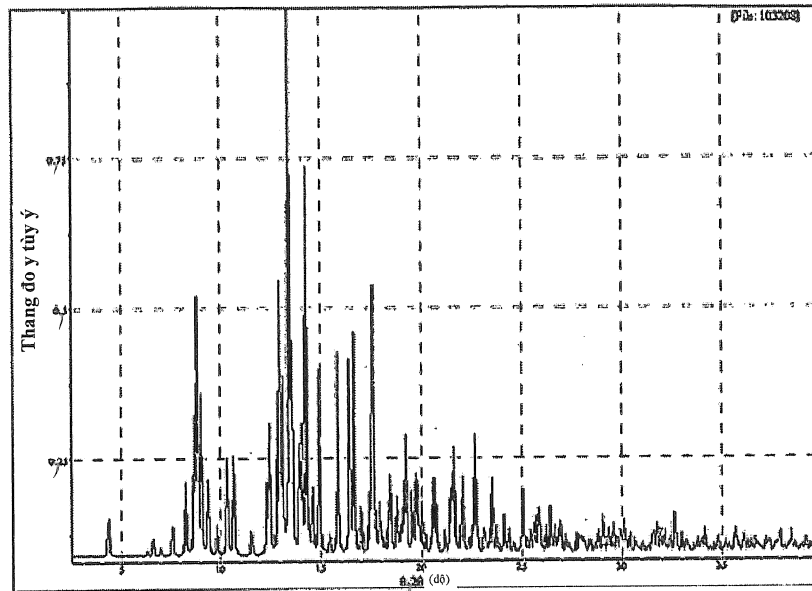


Fig.18 - XPRD của Dạng A theo thử nghiệm

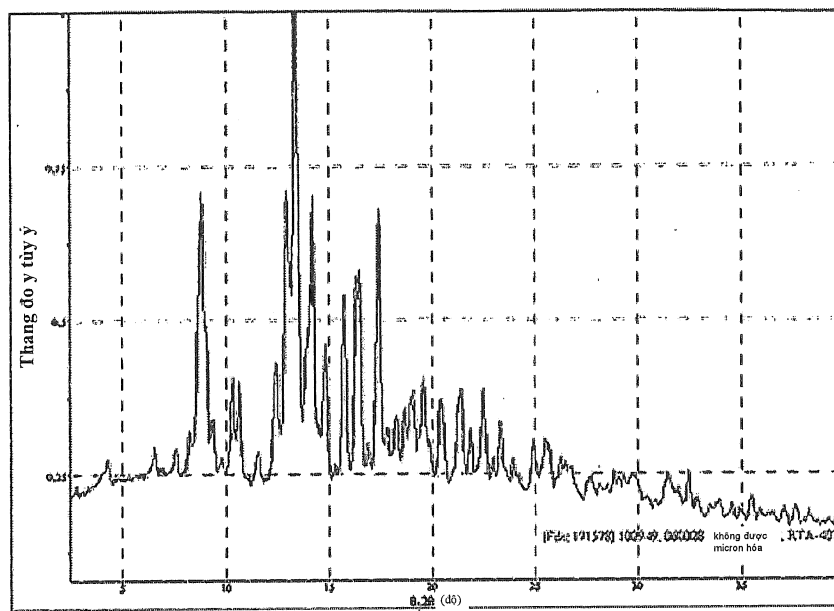


Fig.19 - So sánh các mẫu XPRD của CDDO metyl este theo tính toán và theo thử nghiệm với mẫu XPRD của CDDO metyl este

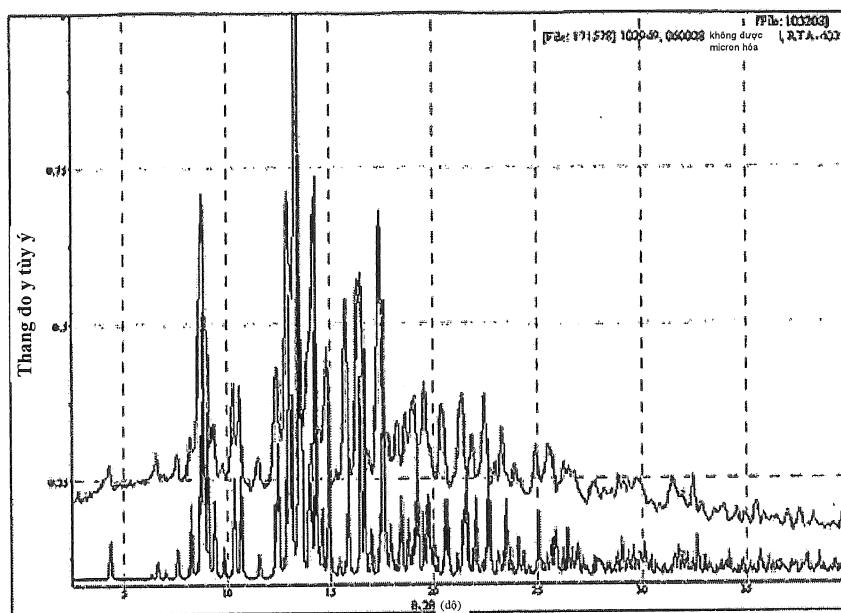


Fig.20 - Đồ thị biểu diễn diện tích bên dưới đường cong đối với Dạng A và Dạng B (vô định hình), sau khi dùng 4,1 mg/kg qua đường miệng. Mỗi điểm mốc thể hiện nồng độ huyết tương trung bình của CDDO metyl este ở 8 con vật. Thanh sai số thể hiện độ lệch chuẩn trong quần thể được lấy mẫu

Dạng A so với Dạng vô định hình ở khỉ Cynomolgus sau khi dùng liều 4,1 mg/kg qua đường miệng

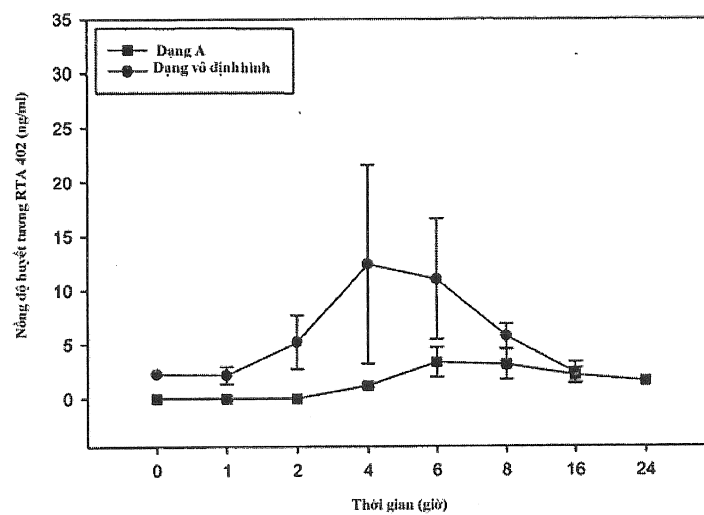
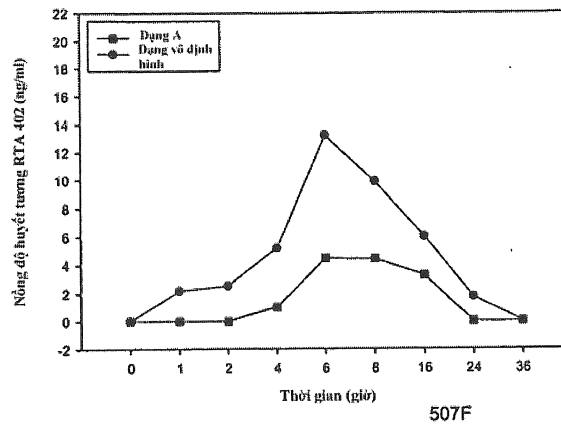


Fig.21 - Con vật #505M (bảng trên) và con vật #507F (bảng dưới)

Dạng A so với Dạng vô định hình - khi 505M sau khi dùng liều
4,1 mg/kg qua đường miệng



Dạng A so với Dạng vô định hình - khi 507F sau khi dùng liều
4,1 mg/kg qua đường miệng

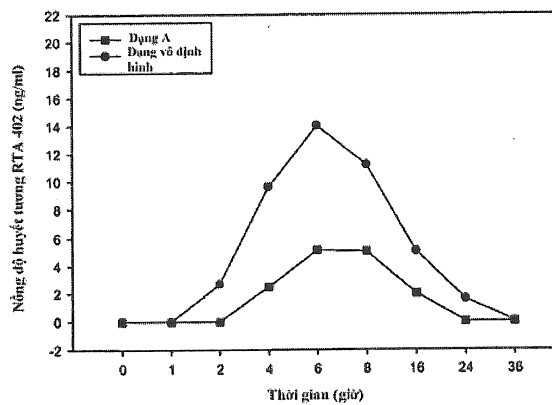
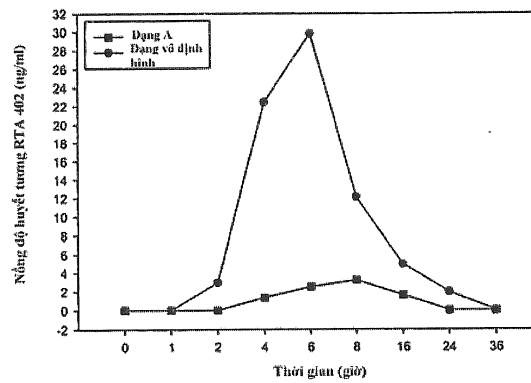


Fig.22 - Con vật #508F (bảng trên) và con vật #502M (bảng dưới)

Dạng A so với Dạng vô định hình - khi 508F sau khi dùng liều
4,1 mg/kg qua đường miệng



Dạng A so với Dạng vô định hình - khi 502M sau khi dùng liều
4,1 mg/kg qua đường miệng

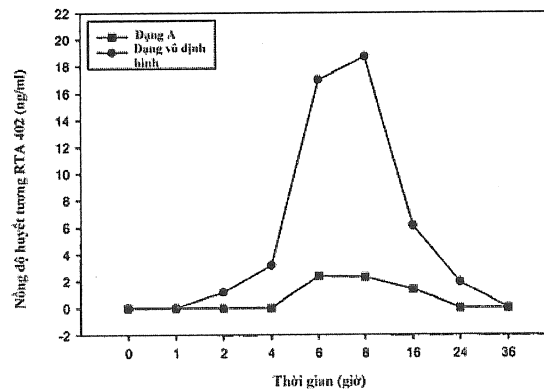


Fig.23 - Biểu đồ nhiệt của CDDO metyl este hemibenzen solvat

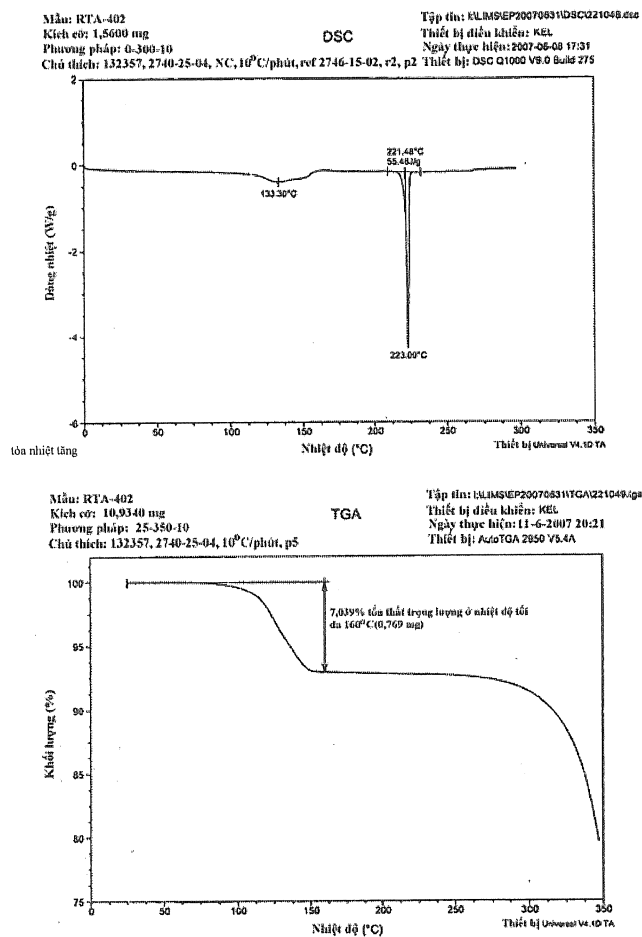


Fig.24 - Biểu đồ nhiệt của CDDO metyl este dimetanol solvat

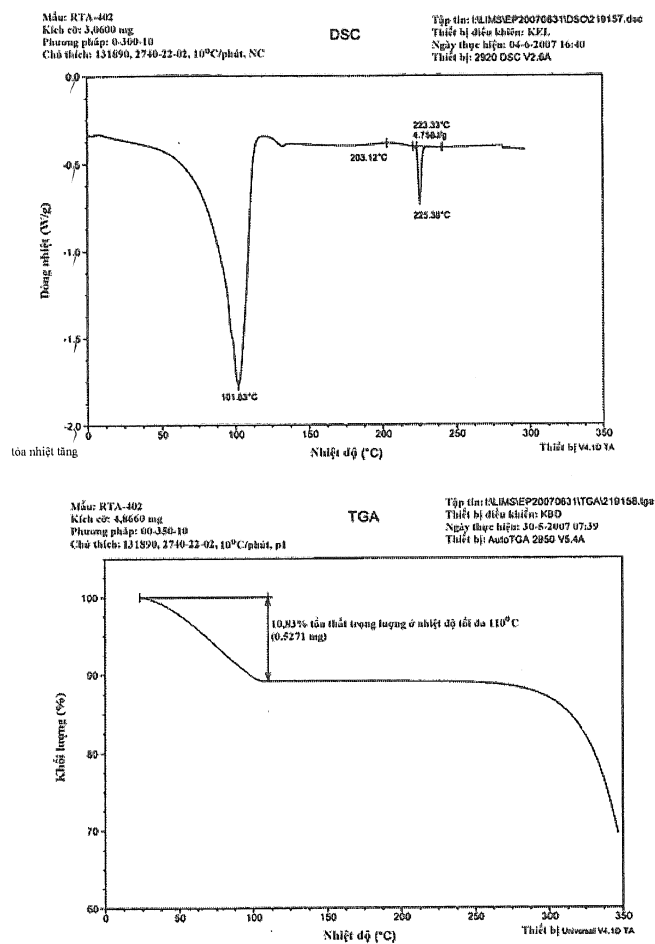


Fig.25 - Số liệu TGIP của CDDO metyl este dimetanol solvat

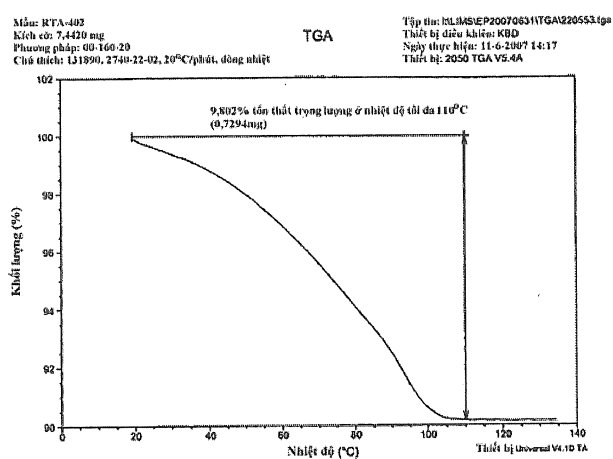


Fig.26 - Mẫu XRPD của CDDO metyl este dimetanol solvat trước (trên) và sau (dưới) phân tích TGIR (tối đa 140°C)

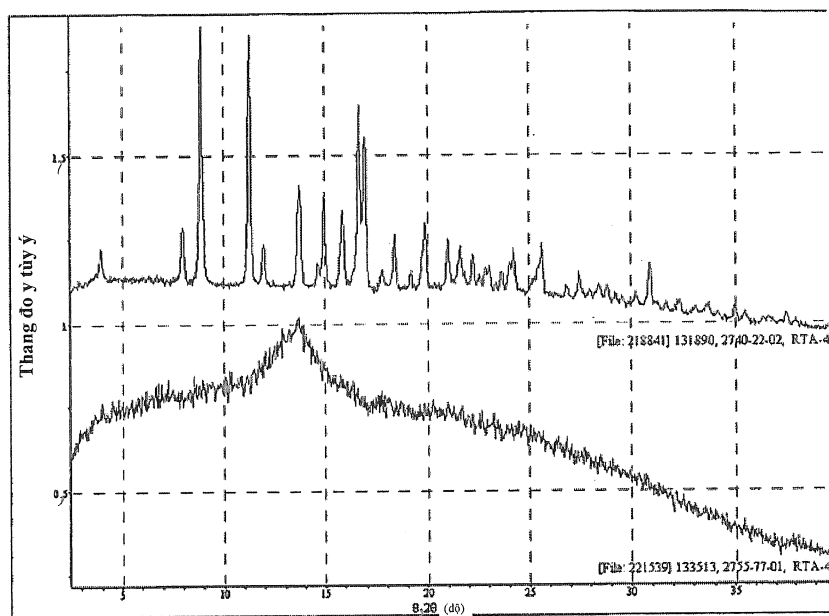


Fig.27 - PDF phủ lớp, Dạng A so với Dạng B. Thứ tự cục bộ là tương tự nhau nằm trong khoảng từ 5Å đến 20Å

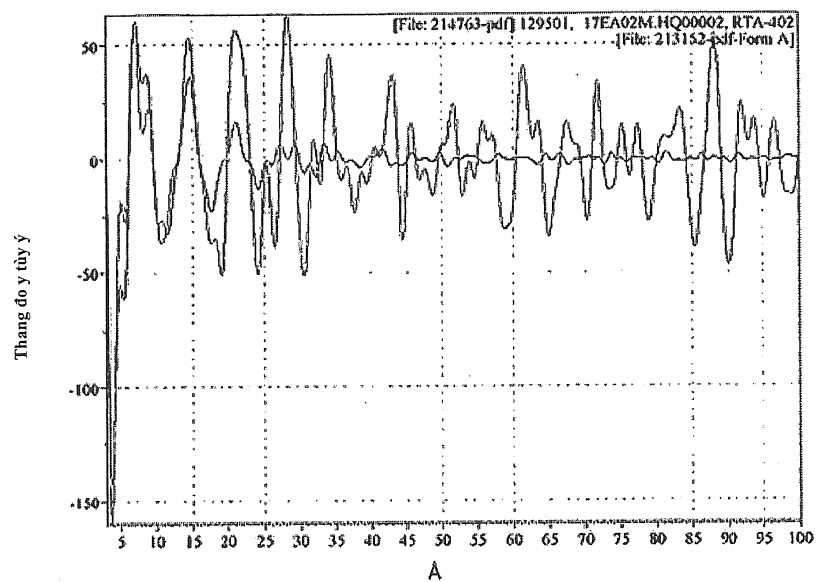


Fig.28 - Hình ảnh phủ PDF của mẫu vô định hình tia X đối với các chế phẩm của Dạng B

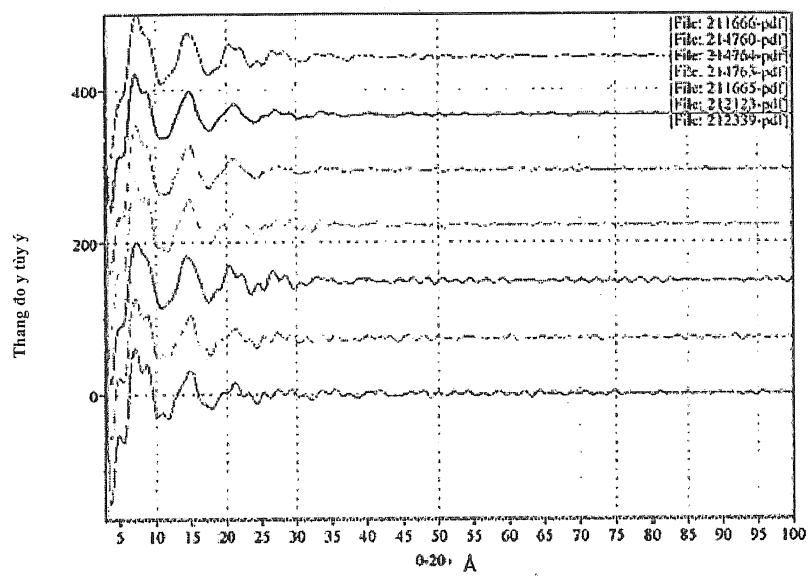


Fig.29 - Hình vẽ dưới dạng biểu đồ của nhóm không gian $P4_32_12$ (#96)

$P4_32_12$ (#96)

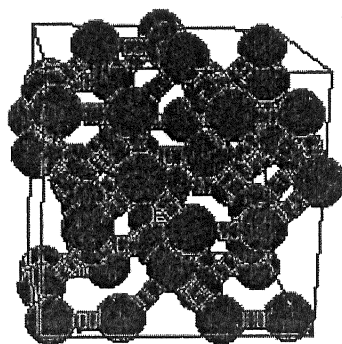
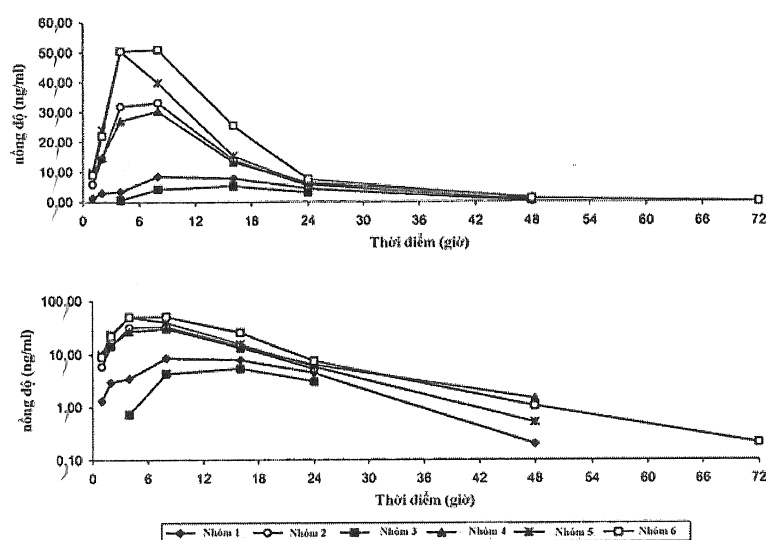


Fig.30 - Nồng độ trung bình trong máu của CDDO-metyl este sau các lần dùng riêng rẽ qua đường miệng viên nang CDDO-metyl este cho khỉ Cynomolgus đực (Pha 2 và 3)



Nhóm 1: (Pha 2), Các con vật nhận được một viên nang chứa 30 mg Dạng A tinh thể nano
 Nhóm 2: (Pha 2), Các con vật nhận được một viên nang chứa 30 mg Dạng B được micron hóa
 Nhóm 3: (Pha 2), các con vật nhận được một viên nang chứa 30 mg Dạng A tinh thể được micron hóa
 Nhóm 4: (Pha 3), các con vật nhận được một viên nang chứa 30 mg Dạng B - nền polyme PVP/VA
 Nhóm 5: (Pha 3), các con vật nhận được một viên nang chứa 30 mg Dạng B - nền polyme HPMCP (Hypromelaza Phthalat)
 Nhóm 6: (Pha 3), các con vật nhận được một viên nang chứa 30 mg Dạng B - nền polyme Eudragit L100-S5 (copolymer axit metacrylic Loại C)