



(21)申請案號：108139655

(22)申請日：中華民國 108 (2019) 年 11 月 01 日

(51)Int. Cl.：

*A61K31/415 (2006.01)**A61K31/395 (2006.01)**A61K31/41 (2006.01)**A61P5/48 (2006.01)**A61P7/10 (2006.01)**C07D231/02 (2006.01)*

(30)優先權：2018/11/02 美國

62/754,983

(71)申請人：美商百歐克斯製藥公司 (美國) BIOCRYST PHARMACEUTICALS, INC. (US)
美國(72)發明人：伊爾 卡坦 雅海亞 EL-KATTAN, YAHYA (US)；巴布 亞拉格達 S BABU,
YARLAGADDA S. (US)

(74)代理人：陳長文

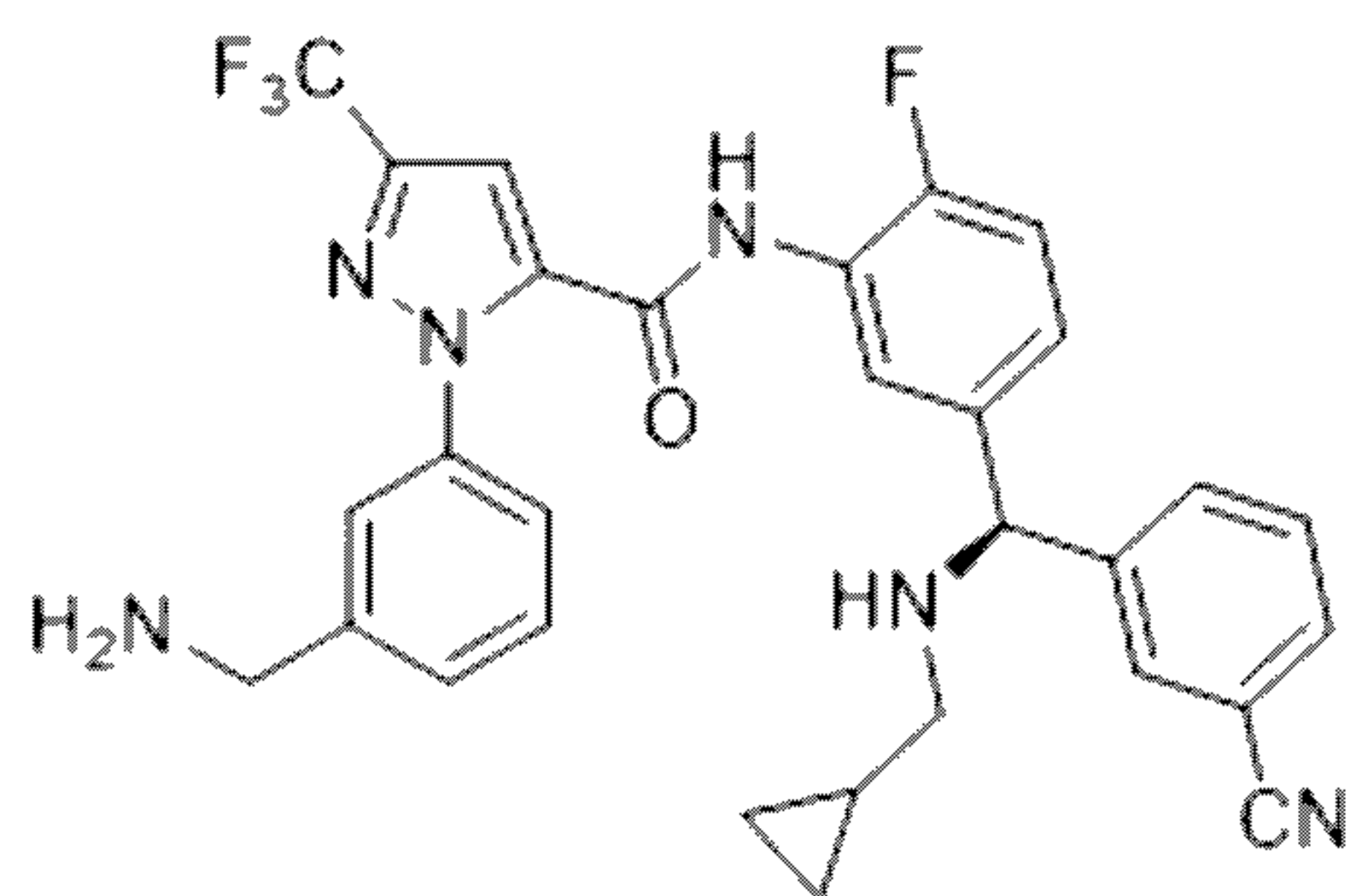
申請實體審查：無 申請專利範圍項數：70 項 圖式數：3 共 57 頁

(54)名稱

血漿激肽釋放酶抑制劑之結晶鹽

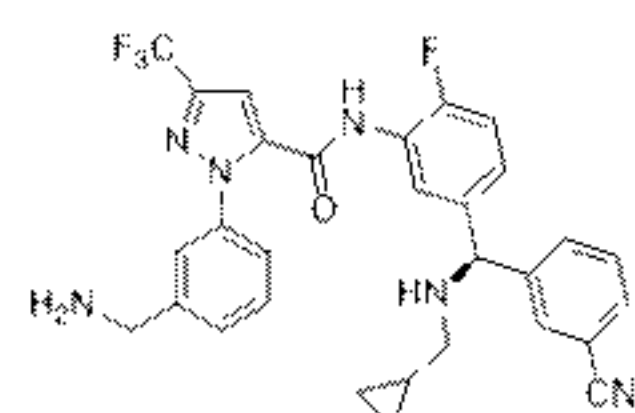
(57)摘要

揭示化合物 I 之結晶鹽、其製備方法、及其相關醫藥製劑。亦揭示使用本發明之結晶鹽進行治療之方法。



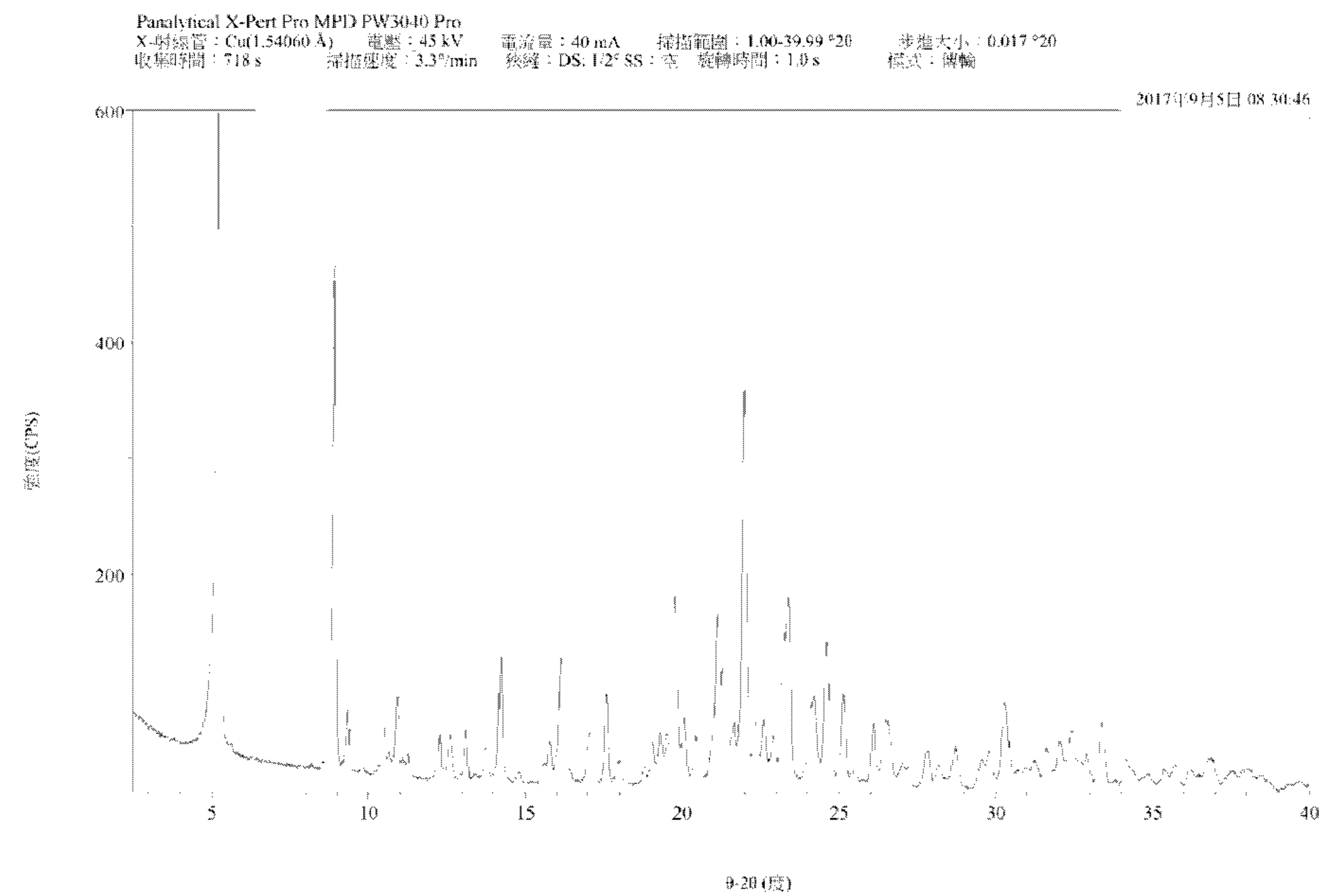
I。

Disclosed are crystalline salts of Compound I, methods of preparing them, and related pharmaceutical preparations thereof. Also disclosed are methods of treatment using the crystalline salts of the invention.



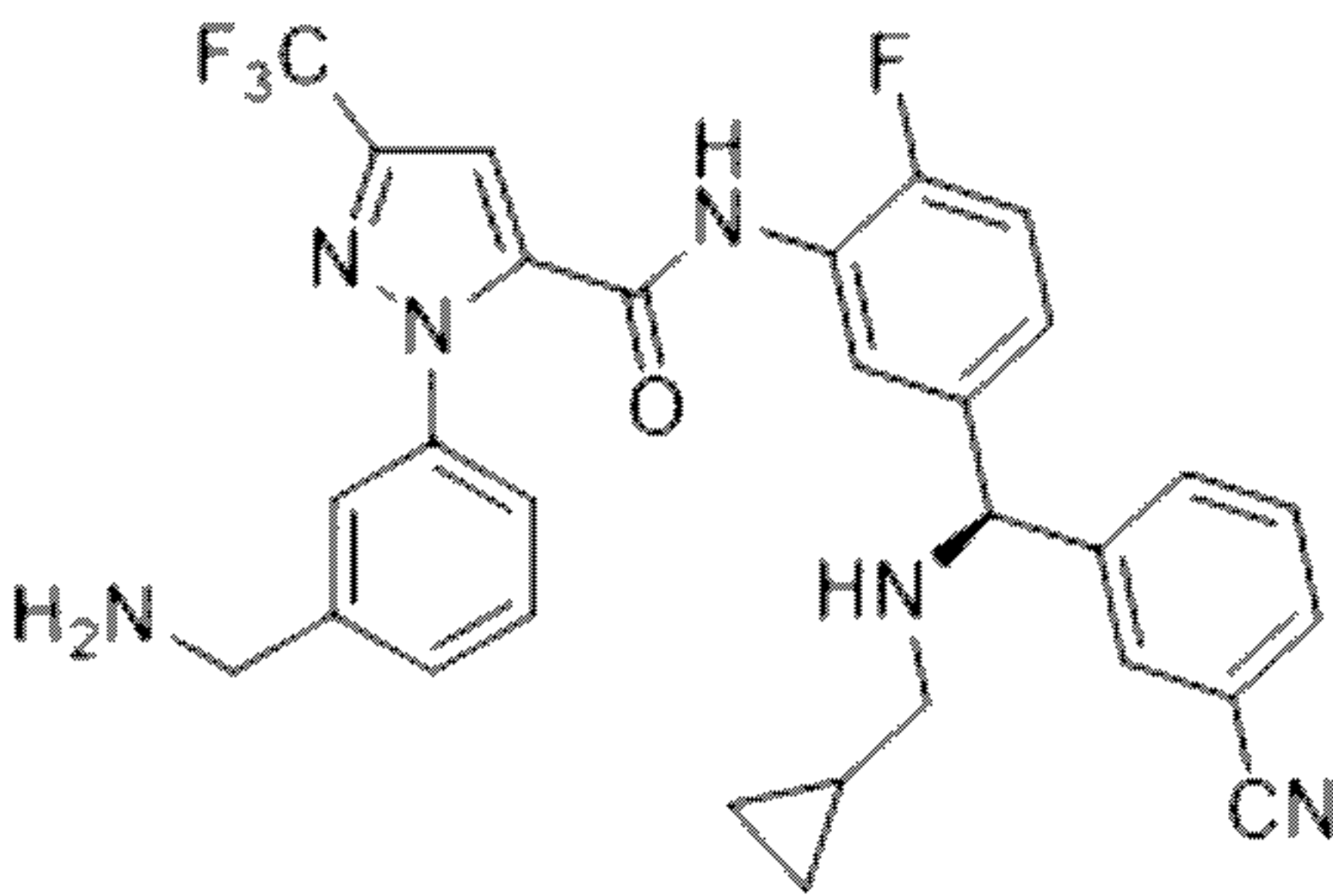
I.

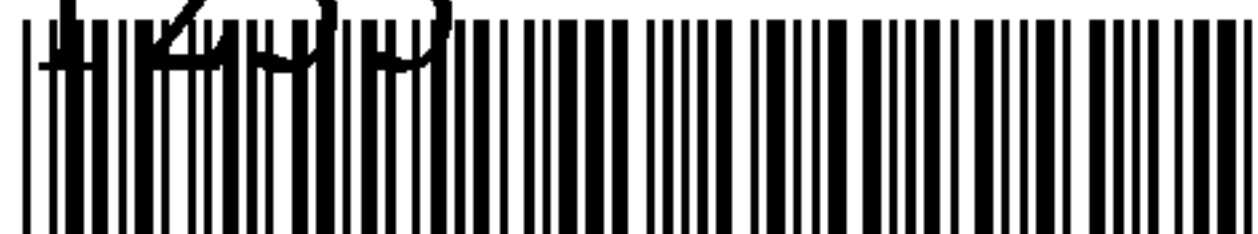
指定代表圖：



【圖 1】

特徵化學式：





202031255

【發明摘要】

【中文發明名稱】

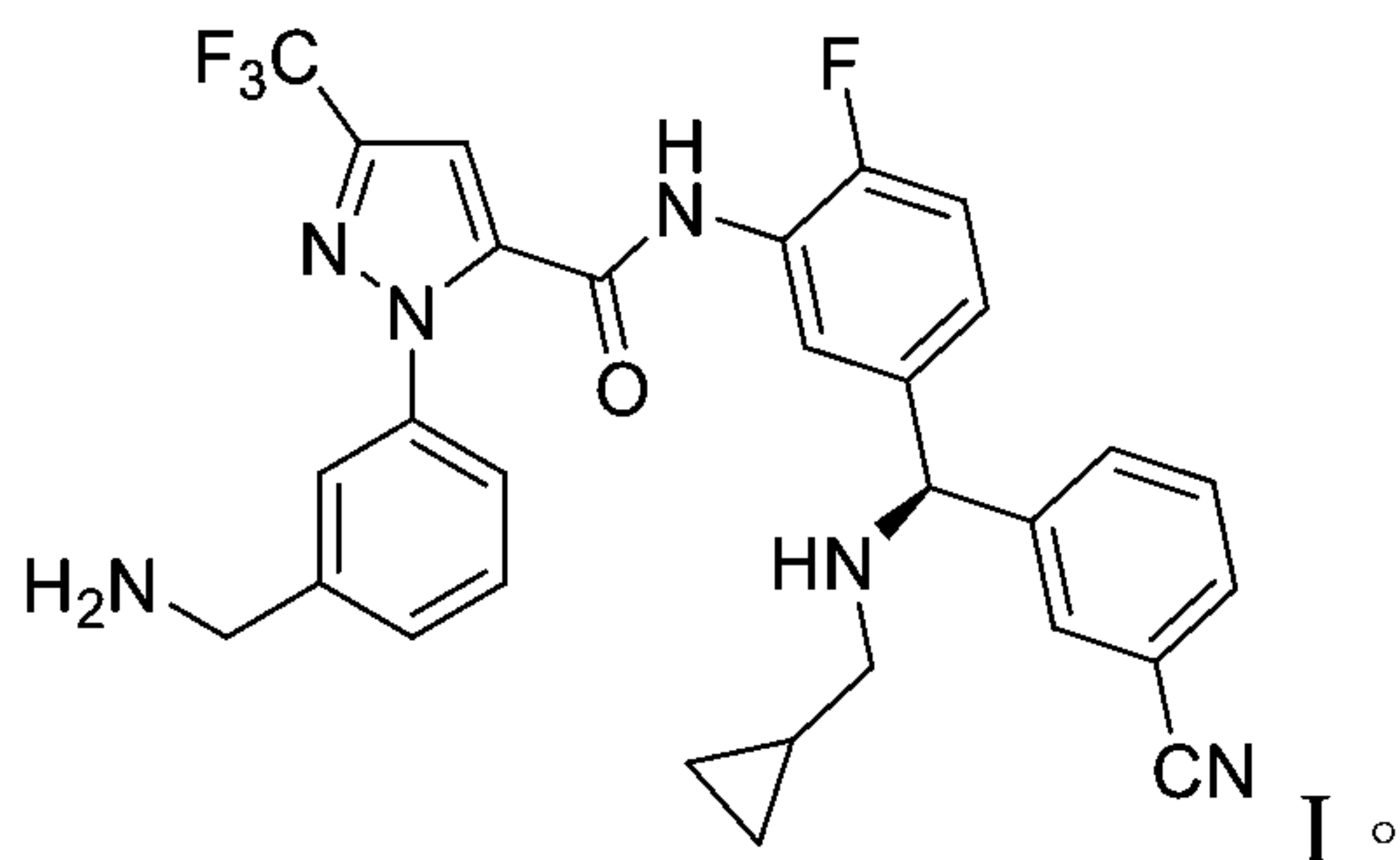
血漿激肽釋放酶抑制劑之結晶鹽

【英文發明名稱】

CRYSTALLINE SALTS OF A PLASMA KALLIKREIN INHIBITOR

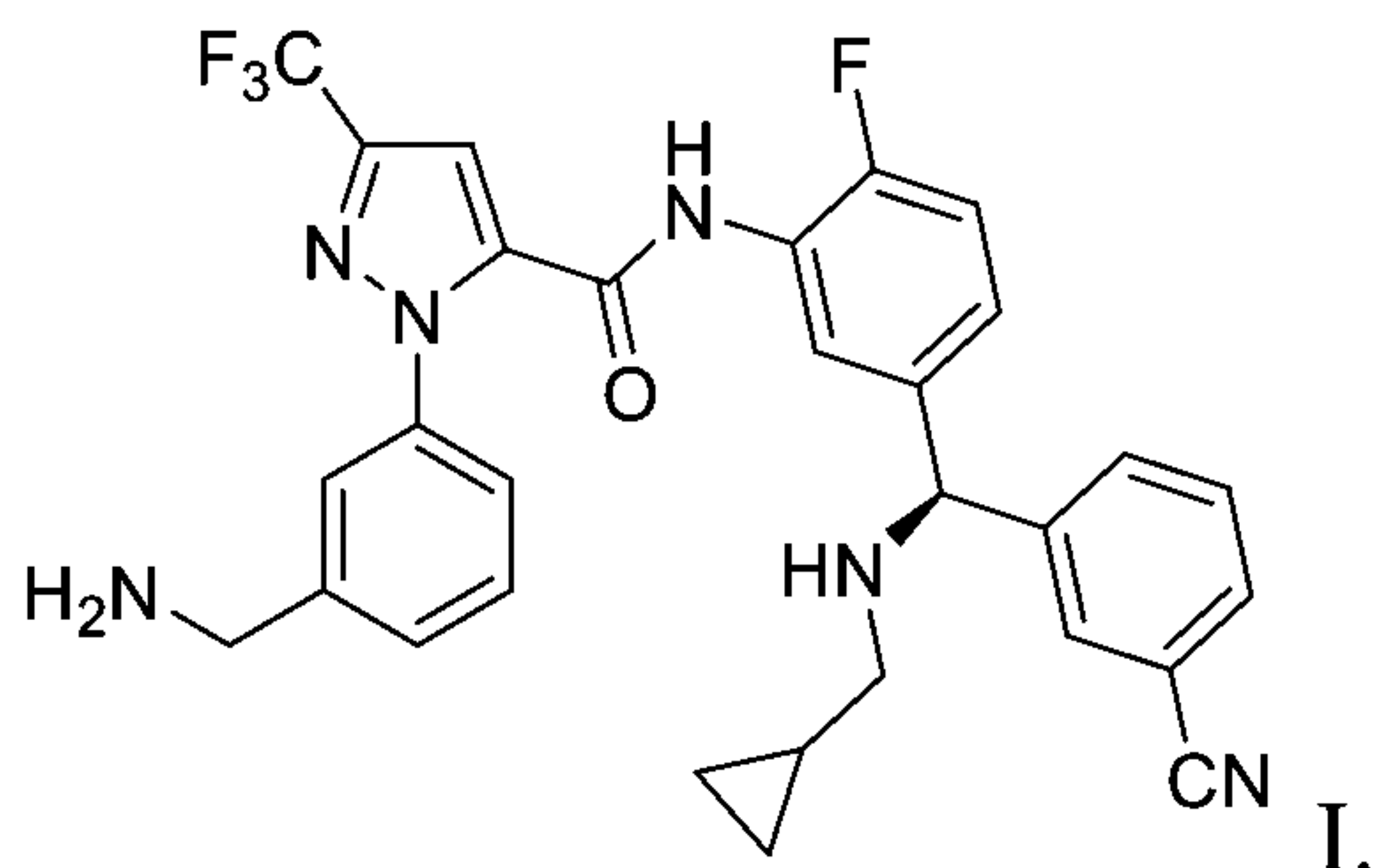
【中文】

揭示化合物I之結晶鹽、其製備方法、及其相關醫藥製劑。亦揭示使用本發明之結晶鹽進行治療之方法。



【英文】

Disclosed are crystalline salts of Compound I, methods of preparing them, and related pharmaceutical preparations thereof. Also disclosed are methods of treatment using the crystalline salts of the invention.



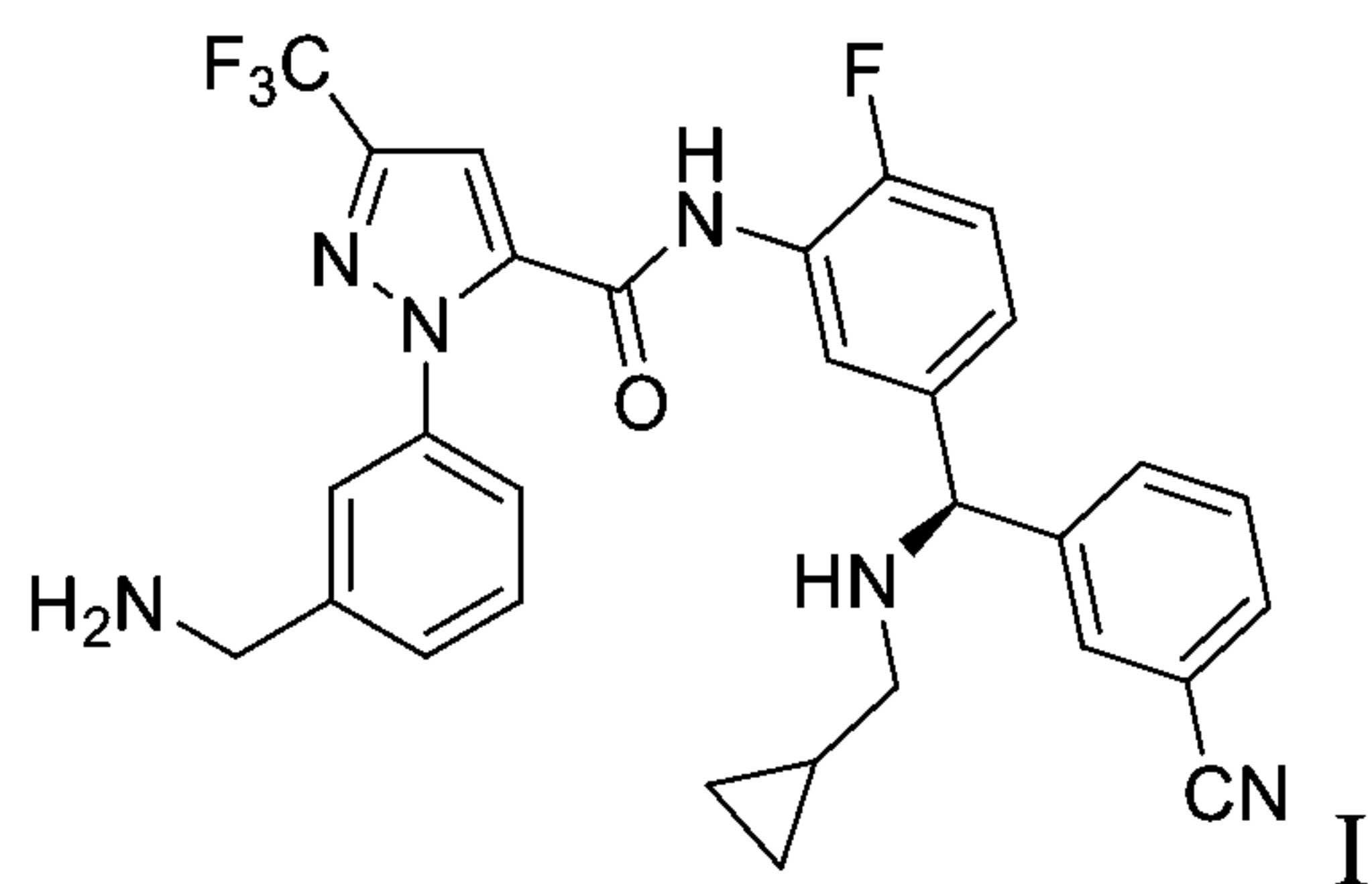
【指定代表圖】

圖 1

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】



【發明說明書】

【中文發明名稱】

血漿激肽釋放酶抑制劑之結晶鹽

【英文發明名稱】

CRYSTALLINE SALTS OF A PLASMA KALLIKREIN INHIBITOR

【技術領域】

【先前技術】

【0001】 絲胺酸蛋白酶構成最大且最廣泛研究之蛋白水解酶群組。其在生理過程中之重要作用遍及諸如凝血、纖維蛋白溶解、補體活化、生殖、消化、及生理活性肽之釋放的不同領域。許多該等重要過程以前驅蛋白或肽中之單一肽鍵或若干肽鍵之裂解開始。連續限制性蛋白水解反應或級聯係涉及凝血、纖維蛋白溶解、及補體活化。亦可控制且擴增開始該等級聯之生物信號。類似地，受控蛋白水解可通過單鍵裂解來分解或滅活蛋白或肽。

【0002】 激肽釋放酶為絲胺酸蛋白酶亞群。在人類中，血漿激肽釋放酶(KLKB1)不具有已知同源性，而組織激肽釋放酶相關肽酶(KLK)編碼十五種緊密相關絲胺酸蛋白酶家族。血漿激肽釋放酶參與許多關於凝血、炎症、及補體系統之內在路徑的許多路徑。

【0003】 凝血為血液形成凝塊例如以停止出血之過程。凝血之生理學略微複雜之程度為，其包括兩個單獨初始路徑，該等路徑彙聚成導致凝塊形成之最終共同路徑。在最終共同路徑中，凝血酶原轉化成凝血酶，該凝血酶進而將纖維蛋白原轉化成纖維蛋白，該纖維蛋白為形成止血栓之經交聯纖維蛋白聚合物的主要結構單元。最終共同路徑上游之兩個初始路徑

中，一種路徑稱為接觸活化或內在路徑，且另一種路徑稱為組織因子或外在路徑。

【0004】 內在路徑以高分子量激肽原(HMWK)、前激肽釋放酶(prekallikrein)、及FXII (因子XII；哈格曼因子)在膠原上形成主要複合物開始。前激肽釋放酶轉化為激肽釋放酶，且FXII經活化以變成FXIIa。然後FXIIa將因子XI (FXI)轉化為FXIa，且FXIa進而活化因子IX (FIX)，其與輔因子FVIIIa一起形成因子X酶(tenase)複合物，該複合物將因子X (FX)活化為FXa。在最終共同路徑內FXa負責將凝血酶原轉化為凝血酶。

【0005】 血漿激肽釋放酶之無效前驅物前激肽釋放酶在肝臟內合成且在血漿中結合至HMWK或以游離酶原形式循環。前激肽釋放酶藉由經活化因子XII(FXIIa)裂解以釋放經活化血漿激肽釋放酶(PK)。經活化血漿激肽釋放酶展現出針對精胺酸(較佳)及離胺酸之後的肽鍵的內肽酶活性。PK然後在反饋環路中生成額外FXIIa，其進而將因子XI (FXI)活化為FXIa以連接至共同路徑。儘管內在路徑之初始活化係通過活化少量PK之少量FXIIa，但PK對FXII之後續反饋活化控制了內在路徑之活化程度且因此控制下游凝血。Hathaway, W. E.等人.(1965) Blood 26:521-32。

【0006】 經活化血漿激肽釋放酶亦裂解HMWK以釋放有效血管舒張肽緩激肽。其亦能夠裂解許多無效前驅蛋白以生成活性產物，諸如血纖維蛋白溶酶(來自血纖維蛋白溶酶原)及尿激酶(來自前尿激酶)。凝血調節劑血纖維蛋白溶酶將纖維蛋白以蛋白水解方式裂解為抑制過量纖維蛋白形成之纖維蛋白降解產物。

【0007】 罹患急性心肌梗塞(MI)之患者顯示呈高血液凝固性(促凝血)狀態之臨床證據。此高血液凝固性(hypercoagulability)另外反常地在

接受纖維蛋白溶解療法之彼等者中加重。如藉由凝血酶-抗凝血酶III (TAT)水準所測量，與僅接受肝素之患者中觀測到之高水準相比，在經歷此等治療之彼等者中觀測到凝血酶生成增加。Hoffmeister, H. M.等人.(1998) *Circulation* 98:2527-33。已提出凝血酶之增加由血纖維蛋白溶酶直接活化FXII來經血纖維蛋白溶酶介導性活化內在路徑而引起。

【0008】 不僅經纖維蛋白溶解誘導之高血液凝固性導致再阻塞比率增加，而且亦可能至少部分為未能達成凝塊(血栓)完全纖維蛋白溶解之原因，這是纖維蛋白溶解療法之主要缺點(Keeley, E. C.等人. (2003) *Lancet* 361: 13-20)。纖維蛋白溶解療法之另一問題為伴隨性顱內出血風險升高。Menon, V. 等人.(2004) (*Chest* 126:549S-575S; Fibrinolytic Therapy Trialists' Collaborative Group (1994) *Lancet* 343:311-22)。因此，不會增加出血風險但抑制新血栓形成之附加抗凝血劑療法將極為有利。

【0009】 血漿激肽釋放酶抑制劑亦具有用於治療遺傳性血管性水腫(HAE)之治療可能。HAE為嚴重且潛在威脅生命的罕見遺傳性疾病，其由位於染色體11q上之C1-酯酶抑制劑(C1INH)基因之突變引起。HAE作為體染色體顯性病狀遺傳，儘管四分之一經診斷病例由新突變引起。在歐洲HAE已分類為罕見疾病，據估計其患病率為50,000分之一。患有HAE之個體經歷面部、喉部、胃腸道、肢體或生殖器之疼痛皮下或黏膜下水腫的復發性急性發作，若不治療，則其可持續達5年。發作之頻率、嚴重性及位置可發生改變且可能威脅生命。具有窒息可能性之喉部發作形成最大風險。腹部發作尤其疼痛，且常常導致探索性程序或不必要手術。面部及周邊發作為容貌受損且虛弱的。

【0010】 HAE具有許多亞型。I型HAE由產生低水準C1-抑制劑之

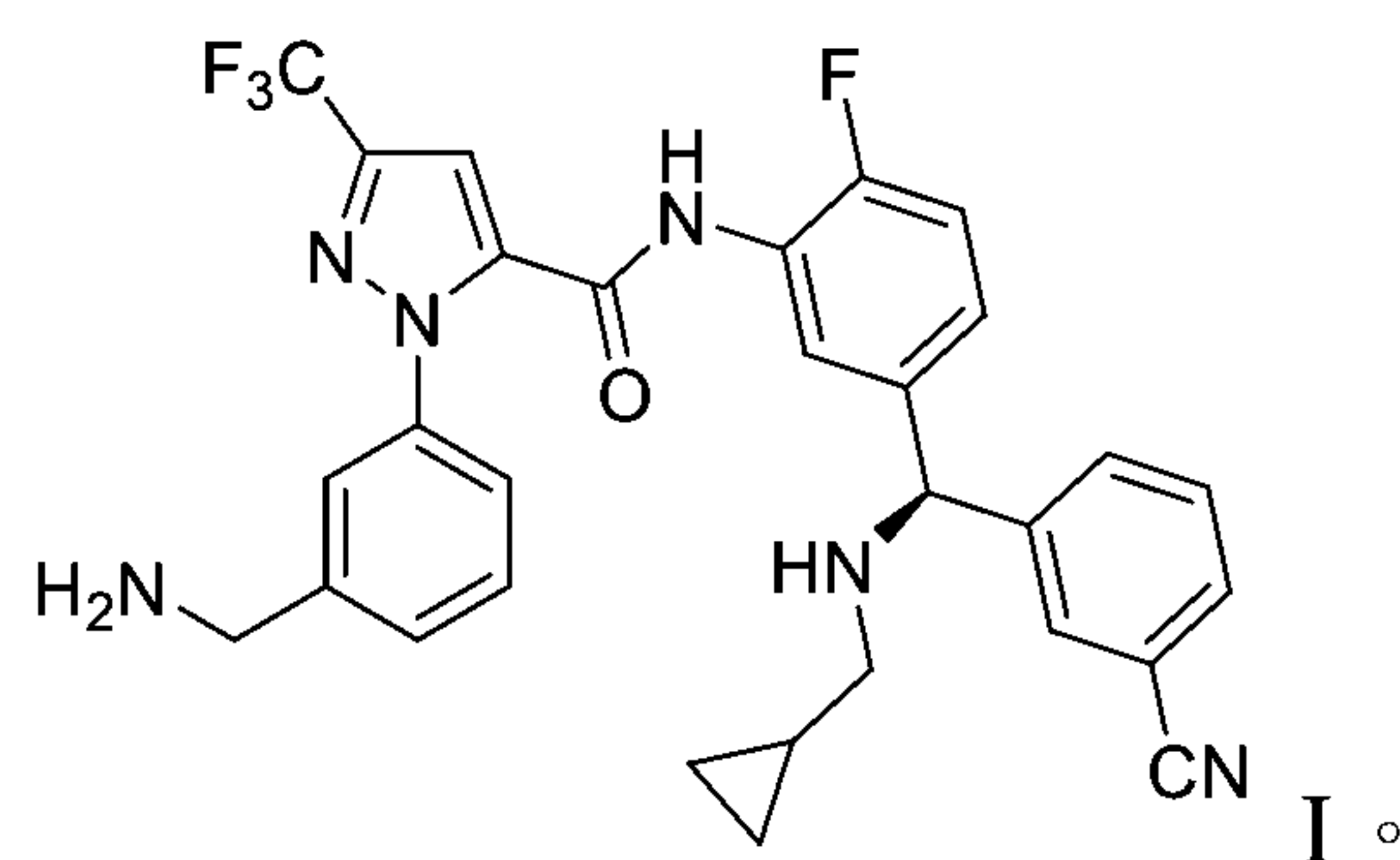
C1INH基因突變定義，而II型HAE由產生正常水準無效C1蛋白之突變定義。III型HAE具有單獨病因，其由編碼稱為因子XII之絲胺酸蛋白酶之F12基因的突變引起。區分HAE亞型且區分HAE與其他血管性水腫之診斷標準可發現於*Ann Allergy Asthma Immunol* 2008; 100(增補版2): S30-S40及*J Allergy Clin Immunol* 2004; 114: 629-37，其以引用之方式併入本文。

【0011】 當前HAE治療屬於兩種主要類型。包括雄性素及抗纖維蛋白溶解劑之更久非特異性治療與顯著副作用(特別是在女性中)相關。最新治療係基於對疾病之分子病理學的理解，亦即C1INH為激肽釋放酶在人類血漿中之最重要的抑制劑且C1INH缺乏症導致激肽釋放酶-緩激肽級聯之非對抗性活化，其中緩激肽為局部增加血管通透性(這是發作標誌)之最重要媒介。所有當前可用靶向療法均藉由靜脈內或皮下注射投與。HAE目前不存在特異性靶向經口長期療法。

【0012】 因此，需要開發可在阻塞性血栓趨向分解時平衡纖維蛋白溶解/血栓形成，從而促進再灌注且亦減輕高血液凝固性狀態，從而預防血栓再形成且再阻塞血管之PK抑制劑。具體而言，形成具有特異性且能夠經調配用於在活體內使用之血漿舒血管素抑制劑可產生一種新類別的治療劑。因此，需要用於製備且調配血漿舒血管素抑制劑之經改善組成物及方法。

【發明內容】

【0013】 本發明之一個態樣係關於一種化合物I之結晶鹽，



【0014】 本發明之另一態樣係關於用於製備化合物I之結晶鹽的方法。在此等態樣中，該等方法包含a)提供化合物I於第一有機溶劑中之游離鹼混合物；b)將該游離鹼混合物與包含酸及第二有機溶劑之試劑溶液在足以形成包含化合物I之鹽之混合物的條件下組合；及c)使化合物I之鹽自包含化合物I之鹽之混合物中結晶。

【0015】 在某些實施例中，本發明提供一種醫藥組成物，其包含化合物I之結晶鹽及一或多種醫藥學上可接受之賦形劑。在某些實施例中，醫藥組成物可供用於治療或預防特徵在於異常血漿激肽釋放酶活性之病狀或疾病。

【圖式簡單說明】

【0016】 圖1為化合物I·2(HCl)之X射線粉末繞射(XRPD)圖。

【0017】 圖2為展示化合物I·2(HCl)之TG-IR分析的光譜。

【0018】 圖3展示在每日一次(QD)經口投與125、250、及500 mg QD 化合物I·2(HCl)後第7日；及在QD經口投與350 mg QD 化合物I·2(HCl)後第14日化合物I·2(HCl)之血漿濃度相對於時間的概況。

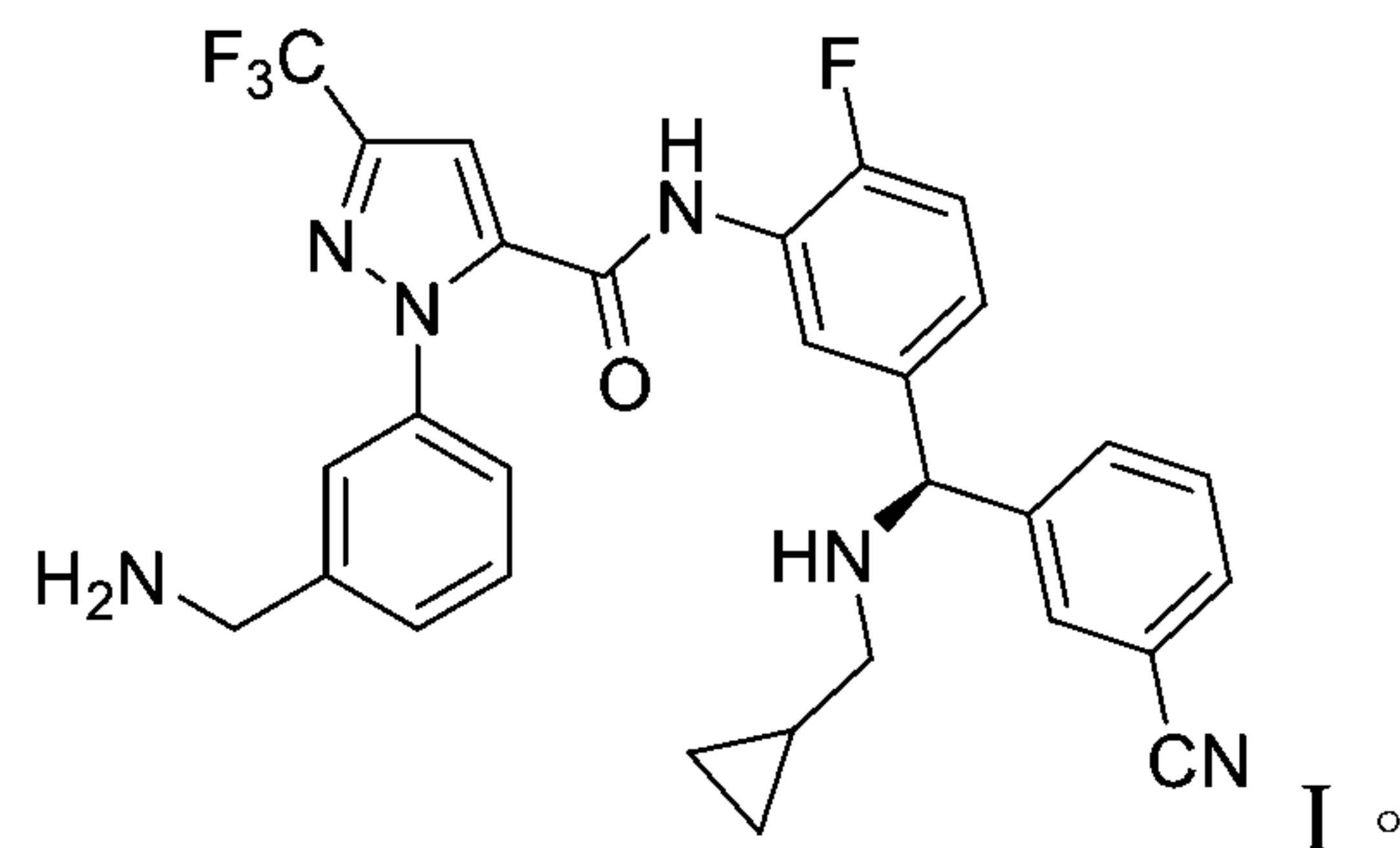
【實施方式】

相關申請案

【0019】 本申請案主張於2018年11月2日申請之美國臨時專利申請案序列號62/754,983之優先權益；該臨時申請案之內容以引用方式併入本

文中。

【0020】 在某些實施例中，本發明提供一種化合物I之結晶鹽，



【0021】 化合物I為 WO 2015/134998 及美國專利申請公佈案第 2017/0073314 A1號所述之血漿激肽釋放酶之強效抑制劑，該等專利之內容以引用方式併入本文中。

【0022】 化合物I之結晶形式可用於調節/改善該化合物之生理化學特性，包括但不限於固態特性(例如結晶性、吸濕性、熔點、或水合作用)、醫藥特性(例如溶解度/溶解率、穩定性、或相容性)、以及結晶特徵(例如，純度、產率、或形態學)。例如，化合物I之結晶使得能夠接近具有一致且可預測純度水準之化合物。另外，由結晶產生之均勻粒度導致固體結晶化合物相對於固體無定形形式之加工性能得以改善。化合物I之結晶形式亦表現出有利的藥物動力學特性；晶形之均勻度產生一致且可預測藥物動力學概況。

【0023】 在某些實施例中，結晶鹽為鹽酸鹽，例如雙(鹽酸)鹽。

【0024】 在某些實施例中，結晶鹽之多形體藉由X-射線粉末繞射(XRPD)表徵。 θ 表示以度測量之繞射角。在某些實施例中，XRPD中所用之繞射計測量繞射角為兩倍繞射角 θ 。因此，在某些實施例中，本文所述之繞射圖係指針對角度 2θ 測量之X-射線強度。

【0025】 繞射角 θ 或兩倍繞射角 θ (2θ)下之峰值可因測量所採用之

XRPD儀器或條件而表現出微小測量誤差。因此，在某些實施例中，XRPD圖之特徵峰具有值 $^{\circ}2\theta \pm 0.2^{\circ}$ 。在某些實施例中，XRPD圖之特徵峰具有值 $^{\circ}2\theta \pm 0.1^{\circ}$ 。在某些實施例中，XRPD圖之特徵峰具有值 $^{\circ}2\theta \pm 0.06^{\circ}$ 。

【0026】 在某些實施例中，化合物I之結晶鹽在X-射線粉末繞射(XRPD)圖中具有在 $2\theta(^{\circ}2\theta \pm 0.2^{\circ})$ 值5.3、9.0、及22.0下之特徵峰。在某些實施例中，化合物I之結晶鹽在X-射線粉末繞射(XRPD)圖中具有在 $2\theta(^{\circ}2\theta)$ 值5.3、9.0、及22.0下之特徵峰。

【0027】 在其他實施例中，結晶鹽在X-射線粉末繞射(XRPD)圖中具有在 $2\theta(^{\circ}2\theta \pm 0.2^{\circ})$ 值5.3、9.0、19.8、21.2、22.0、及23.3下之特徵峰。在某些實施例中，結晶鹽在X-射線粉末繞射(XRPD)圖中具有在 $2\theta(^{\circ}2\theta)$ 值5.3、9.0、19.8、21.2、22.0、及23.3下之特徵峰。

【0028】 在其他實施例中，結晶鹽在X-射線粉末繞射(XRPD)圖中具有在 $2\theta(^{\circ}2\theta \pm 0.2^{\circ})$ 值5.3、9.0、14.3、16.2、19.8、21.2、22.0、23.3、24.6、及30.3下之特徵峰。在某些實施例中，結晶鹽在X-射線粉末繞射(XRPD)圖中具有在 $2\theta(^{\circ}2\theta)$ 值5.3、9.0、14.3、16.2、19.8、21.2、22.0、23.3、24.6、及30.3下之特徵峰。

【0029】 在某些實施例中，化合物I之結晶鹽在X-射線粉末繞射(XRPD)圖中具有在 $2\theta(^{\circ}2\theta \pm 0.2^{\circ})$ 值5.28、8.96、及22.01下之特徵峰。在某些實施例中，化合物I之結晶鹽在X-射線粉末繞射(XRPD)圖中在 $2\theta(^{\circ}2\theta)$ 值5.28、8.96、及22.01下具有特徵峰。

【0030】 在其他實施例中，結晶鹽在X-射線粉末繞射(XRPD)圖中具有在 $2\theta(^{\circ}2\theta \pm 0.2^{\circ})$ 值5.28、8.96、19.79、21.16、22.01、及23.31下之

特徵峰。在某些實施例中，化合物I之結晶鹽在X-射線粉末繞射(XRPD)圖中具有在 $2\theta(^{\circ}2\theta)$ 值5.28、8.96、19.79、21.16、22.01、及23.31下之特徵峰。

【0031】 在其他實施例中，結晶鹽在X-射線粉末繞射(XRPD)圖中具有在 $2\theta(^{\circ}2\theta \pm 0.2^{\circ})$ 值5.28、8.96、14.27、16.18、19.79、21.16、22.01、23.31、24.64、及30.31下之特徵峰。在某些實施例中，化合物I之結晶鹽在X-射線粉末繞射(XRPD)圖中具有在 $2\theta(^{\circ}2\theta)$ 值5.28、8.96、14.27、16.18、19.79、21.16、22.01、23.31、24.64、及30.31下之特徵峰。

【0032】 在某些實施例中，化合物I之結晶鹽具有實質上類似於圖1所示XRPD圖之XRPD圖。

【0033】 儘管結晶形式相同，但上文所述以及如圖1中所示XRPD圖中各峰之相對強度以及 2θ 值可在某些條件下改變或偏移。藉由比較XRPD資料集，一般熟習此項技術者應能夠容易判定給定結晶形式為如上文所述及圖1所示的相同結晶形式。

【0034】 在某些實施例中，化合物I之結晶鹽與水以1:1結晶鹽與水之莫耳比複合。在某些此等實施例中，晶格不包含水分子。

【0035】 在某些實施例中，化合物I之結晶鹽與水以1:2結晶鹽與水之莫耳比複合。在某些此等實施例中，晶格不包含水分子。

【0036】 在某些實施例中，化合物I之結晶鹽與水以1:2.5結晶鹽與水之莫耳比複合。在某些此等實施例中，晶格不包含水分子。

【0037】 在某些實施例中，化合物I之結晶鹽具有實質上類似於圖2所示熱重-紅外線光譜之熱重-紅外線光譜。

【0038】如本文所用，術語「實質上純的」係指結晶多形體大於90%純，這意味著其含有少於10%的任何其他化合物，包括對應無定形化合物或結晶鹽之替代性多形體。較佳，結晶多形體大於95%純或甚至大於98%純。

【0039】在某些實施例中，化合物I之結晶鹽在XRPD圖中具有在如上文所述 $2\theta(^{\circ}2\theta)$ 值下之特徵峰且為實質上純的。例如，結晶鹽形式可為至少90%純的，較佳至少95%純的，或更佳至少98%純的。

【0040】在某些實施例中，化合物I之結晶鹽具有實質上與圖1所示XRPD圖相同之XRPD圖且為實質上純的。例如，結晶鹽形式可為至少90%純的，較佳至少95%純的，或更佳至少98%純的。

製成結晶鹽之方法

【0041】在某些實施例中，本發明係關於一種用於製備化合物I之結晶鹽的方法，該方法包含a)提供化合物I於第一有機溶劑中之游離鹼混合物；b)將該游離鹼混合物與包含酸及第二有機溶劑之試劑溶液在足以形成包含化合物I之鹽之混合物的條件下組合；及c)使化合物I之鹽自包含化合物I之鹽之混合物中結晶。

【0042】在某些實施例中，結晶鹽為鹽酸鹽，例如雙(鹽酸)鹽。

【0043】在某些實施例中，第一有機溶劑包含極性非質子性溶劑，諸如乙腈、N,N-二甲基乙醯胺(DMA)、二甲基甲醯胺(DMF)、二甲亞砜(DMSO)、乙醚、乙酸乙酯、乙酸異丙酯、甲基乙基酮、甲基第三丁基醚(MTBE)、N-甲基-2-吡咯啉酮(NMP)、四氫呋喃。較佳，極性非質子性溶劑為甲基第三丁基醚。

【0044】在某些實施例中，第一有機溶劑進一步包含非極性溶劑。

非極性溶劑包括例如苯、庚烷、己烷、及甲苯。在某些實施例中，非極性溶劑為甲苯。

【0045】 在某些實施例中，酸為鹽酸。

【0046】 在某些實施例中，第二有機溶劑為極性質子性溶劑，諸如乙醇、甲醇、2-丙醇、1-丁醇、水、或其任何組合。較佳，極性質子性溶劑為甲醇。

【0047】 在某些實施例中，包含步驟b)中形成之化合物I之鹽的混合物為溶液。

【0048】 在某些實施例中，包含化合物I之鹽之混合物為溶液，且使該鹽自該混合物結晶之步驟包含使該溶液過飽和以使化合物I自溶液中沉澱。

【0049】 在某些實施例中，使包含化合物I之鹽之混合物過飽和包含緩慢添加反溶劑(諸如庚烷、己烷、乙醇、或與有機溶劑混溶之另一種極性或非極性液體)、使該溶液冷卻(在接種或未接種該溶液之情況下)、減小溶液之體積、或其任何組合。在某些實施例中，使包含化合物I之鹽之混合物過飽和包含添加反溶劑、使該溶液冷卻至周圍溫度或更低溫度、及例如藉由自溶液蒸發溶劑來減小溶液體積。在某些實施例中，使溶液冷卻可為被動的(例如將溶液置於周圍溫度下)或主動的(例如在冰浴或冷凍器中冷卻溶液)。

【0050】 在某些實施例中，製備方法進一步包含誘導結晶。該方法亦可包含例如在減壓下乾燥晶體之步驟。在某些實施例中，誘導沉澱或結晶包含二級成核，其中成核在種晶或與環境(結晶器壁、攪拌葉輪、音波處理等)之相互作用存在下發生。在某些實施例中，誘導結晶包含用化合

物I之鹽之晶種接種溶液。

【0051】 在某些實施例中，製備方法進一步包含例如藉由過濾晶體、藉由自晶體傾析流體、或藉由任何其他適合分離技術來分離鹽晶體。在其他實施例中，製備方法進一步包含洗滌晶體。

【0052】 在某些實施例中，洗滌晶體包含用選自以下項之液體洗滌：反溶劑、乙腈、乙醇、庚烷、己烷、甲醇、四氫呋喃、甲苯、水、或其組合。如本文所用，「反溶劑」意指鹽晶體不可溶、微溶、或部分可溶之溶劑。實際上，將反溶劑添加至溶解鹽晶體之溶液中減小了鹽晶體在溶液中之溶解度，從而刺激鹽沉澱。在某些實施例中，用反溶劑及有機溶劑之組合洗滌晶體。在某些實施例中，反溶劑為水，而在其他實施例中，其為烷烴溶劑，諸如己烷或戊烷，或芳烴溶劑，諸如苯、甲苯、或二甲苯。

【0053】 在某些實施例中，洗滌晶體包含用上文所述溶劑或一或多種溶劑之混合物洗滌化合物I之結晶鹽。在某些實施例中，在洗滌前冷卻溶劑或溶劑混合物。

【0054】 在某些實施例中，該方法進一步包括乾燥結晶鹽。

【0055】 本文所述結晶鹽可根據上文所述方法製成。

醫藥組成物

【0056】 本發明提供醫藥組成物，其各自包含本發明之一或多種結晶鹽及醫藥學上可接受之載劑。在某些實施例中，該醫藥組成物包含本發明之結晶鹽及醫藥學上可接受之載劑。在某些實施例中，該醫藥組成物包含本發明之複數種結晶鹽及醫藥學上可接受之載劑。

【0057】 如本文所用，術語「載劑」及「醫藥學上可接受之載劑」係指與化合物一起經投與或經調配用於投與之稀釋劑、佐劑、賦形劑、或

媒劑。此等醫藥學上可接受之載劑之非限制性實例包括液體，諸如水、鹽水及油；及固體，諸如阿拉伯膠、明膠、澱粉糊、滑石、角蛋白、矽酸膠、脲、及其類似物。另外，可使用佐劑、穩定劑、增稠劑、潤滑劑、調味劑、及著色劑。適合醫藥載劑之其他實例亦描述於E. W. Martin所著之*Remington's Pharmaceutical Sciences*中，該文獻以全文引用方式併入本文中。

【0058】 在某些實施例中，本發明之醫藥組成物除本發明之化合物之外進一步包含至少一種額外醫藥活性劑。該至少一種額外醫藥活性劑可為適用於治療特徵在於異常血漿激肽釋放酶活性之疾病或病狀的藥劑。例如，該至少一種額外醫藥活性劑可為抗凝劑、抗血小板劑、或血栓溶解劑。

【0059】 抗凝劑預防血液組分凝聚且因此預防凝塊形成，例如在心房震顫中之凝塊形成。抗凝劑包括但不限於肝素、華法林、香豆素(coumadin)、雙羥香豆素、苯丙香豆素、醋硝香豆醇、雙香豆素乙酯、螞蟥素、比伐努定(bivalarutin)、直接凝血酶抑制劑、及二氫茚二酮衍生物。

【0060】 抗血小板劑抑制血小板凝集且常用於預防經歷短暫缺血性發作、中風、或心房震顫之患者中之血栓栓塞性中風。抗血小板劑包括但不限於阿司匹林、噻吩并吡啶類衍生物(諸如噻氯匹定(ticlopodine)及氯吡格雷)、雙嘧達莫、及苯磺唑酮、以及RGD模擬物。

【0061】 血栓溶解劑溶解引起血栓栓塞現象(諸如中風、心肌梗塞、及肺動脈血栓栓塞)之凝塊。血栓溶解劑包括但不限於血纖維蛋白溶酶原、 α 2-抗血纖維蛋白溶酶、鏈激酶、複合纖溶酶鏈激酶(antistreplase)、

TNK、組織血纖維蛋白溶酶原活化劑(tPA)、及尿激酶。組織血纖維蛋白溶酶原活化劑包括天然tPA及重組tPA、以及保留天然tPA之酶促或纖維蛋白溶解活性之經修飾形式tPA。

【0062】 本發明之醫藥組成物可藉由將本發明之一或多種結晶鹽與醫藥學上可接受之載劑及視情況一或多種額外醫藥活性劑組合來製備。

【0063】 在某些實施例中，本發明提供經調配用於預防性或治療性治療特徵在於異常血漿激肽釋放酶活性之疾病或病狀的醫藥組成物。

使用方法

【0064】 本發明提供經由內在路徑抑制凝血酶形成且因此減小新病理學血栓形成(血管阻塞或再阻塞)風險且在作為使用纖維蛋白溶解方案之輔助療法給予時亦改善經纖維蛋白溶解誘導之再灌注的化合物。可使用本發明之化合物治療之疾病及病狀包括但不限於中風、炎症、再灌注損傷、急性心肌梗塞、深靜脈血栓形成、纖維蛋白溶解治療後之病狀、心絞痛、水腫、血管性水腫、遺傳性血管性水腫、敗血症、關節炎、出血、在體外心肺循環期間之失血、炎症性腸病、糖尿病、視網膜病變、糖尿病性視網膜病變、糖尿病性黃斑水腫、糖尿病性黃斑變性、年齡相關黃斑水腫、年齡相關黃斑變性、增殖性視網膜病變、神經病變、高血壓、腦水腫、白蛋白分泌增加、大量白蛋白尿、及腎臟病。

【0065】 例如，在患有血管性水腫病狀之患者中，小多肽PK抑制劑DX-88 (艾卡拉肽(ecallantide))減輕患有遺傳性血管性水腫(HAE)之患者中之水腫。Williams, A.等人. (2003) *Transfus. Apher. Sci.* 29:255-8；Schneider, L.等人. (2007) *J Allergy Clin Immunol.* 120:416-22；及Levy, J. H.等人. (2006) *Expert Opin. Invest. Drugs* 15:1077-90。緩激肽B2受

體拮抗劑艾替班特(Icatibant)亦有效於治療HAE。Bork, K.等人. (2007) *J. Allergy Clin. Immunol.* 119:1497-1503。因為血漿激肽釋放酶生成緩激肽，所以預期抑制血漿激肽釋放酶能抑制緩激肽產生。

【0066】 例如，在由纖維蛋白溶解治療(例如使用組織血纖維蛋白溶酶原活化劑或鏈激酶之治療)引起之凝血中，在經歷纖維蛋白溶解之患者中發現更高水準之血漿激肽釋放酶。Hoffmeister, H. M.等人. (1998) *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 31:764-72。內在路徑之經血纖維蛋白溶酶介導性活化已顯示發生於血漿及血液中且在來自缺乏任何內在路徑組分之個體的血漿中顯著減弱。Ewald, G. A.等人.(1995) *Circulation* 91:28-36。

【0067】 發現已患有急性MI之個體具有高水準經活化血漿激肽釋放酶及凝血酶。Hoffmeister, H. M.等人.(1998) *Circulation* 98:2527-33。

【0068】 DX-88在缺血性中風之動物模型中減小腦腫瘤、梗塞體積、及神經性缺乏。Storini, C.等人. (2006) *J. Pharm. Exp. Ther.* 318:849-854。C1-抑制劑在中大腦動脈阻塞(MCAO)之小鼠模型中減小梗塞大小。De Simoni, M. G.等人. (2004) *Am. J. Pathol.* 164:1857-1863；及Akita, N.等人.(2003) *Neurosurgery* 52:395-400)。發現B2受體拮抗劑減小梗塞體積、腦部腫脹、及嗜中性球積聚且在MCAO動物模型中為神經保護的。Zausinger, S.等人. (2003) *Acta Neurochir. Suppl.* 86:205-7；Lumenta, D. B.等人. (2006) *Brain Res.* 1069:227-34；Ding-Zhou, L.等人. (2003) *Br. J Pharmacol.* 139:1539-47。

【0069】 關於在體外心肺循環(CPB)期間之失血，已發現激肽釋放酶-激肽(亦即接觸)系統在CABG期間經活化。Wachtfogel, Y. T. (1989) *Blood* 73:468。在CPB期間接觸系統之活化引起血漿緩激肽增加多達20

倍。Cugno, M.等人.(2006) *Chest* 120:1776-82；及Campbell, D. J.等人.(2001) *Am. J. Physiol. Reg. Integr. Comp. Physiol.* 281:1059-70。

【0070】亦發現血漿舒血管素抑制劑P8720及PKSI-527在關節炎之大鼠模型中減小關節腫脹。De La Cadena, R. A.等人.(1995) *FASEB J.* 9:446-52；Fujimori, Y. (1993) *Agents Action* 39:42-8。亦已發現在關節炎之動物模型中之炎症伴隨接觸系統之活化。Blais, C. Jr.等人. (1997) *Arthritis Rheum.* 40:1327-33。

【0071】另外，已發現血漿舒血管素抑制劑P8720在炎症性腸病(IBD)之急性及慢性大鼠模型中減少炎症。Stadnicki, A.等人.(1998) *FASEB J.* 12:325-33；Stadnicki, A.等人. (1996) *Dig. Dis. Sci.* 41:912-20；及De La Cadena, R. A.,等人.(1995) *FASEB J.* 9:446-52。接觸系統在急性及慢性腸炎症期間經活化。Sartor, R. B. 等人.(1996) *Gastroenterology* 110:1467-81。已發現高分子量激肽原之抗體B2受體拮抗劑或激肽原水準之減小在IBD動物模型中減少了臨症病理學。*同前註*；Arai, Y.等人.(1999) *Dig. Dis. Sci.* 44:845-51；及Keith, J. C.等人. (2005) *Arthritis Res. Therapy* 7:R769-76。

【0072】已發現PK及FXII抑制劑及生理學抑制劑(C1-抑制劑) H-D-Pro-Phe-Arg-氯甲基酮(CMK)在動物中減小多種器官中之血管通透性且減小經脂多糖(LPS)-或細菌誘導之敗血症之病變。Liu, D.等人.(2005) *Blood* 105:2350-5；Persson, K.等人. (2000) *J. Exp. Med.* 192:1415-24。在用C1-抑制劑治療之敗血症患者中觀測到臨床改善。Zeerleder, S.等人.(2003) *Clin. Diagnost. Lab. Immunol.* 10:529-35；Caliezi, C., 等人. (2002) *Crit. Care Med.* 30:1722-8；及Marx, G.等人. (1999) *Intensive*

Care Med. 25:1017-20。已發現敗血症之致死性病例具有更高接觸活化度。Martinez-Brotons, F.等人. (1987) *Thromb. Haemost.* 58:709-713；及Kalter, E. S.等人. (1985) *J. Infect. Dis.* 151:1019-27。

【0073】 已發現prePK水準在糖尿病中，尤其在患有增殖性視網膜病變之彼等者中更高且與果糖胺水準相關。Gao, B.-B.等人. (2007) *Nature Med.* 13:181-8；及Kedzierska, K.等人. (2005) *Archives Med. Res.* 36:539-43。亦發現PrePK在患有感覺運動神經病變之彼等者中最高。Christie, M.等人.(1984) *Thromb. Haemostas.* (Stuttgart) 52:221-3。PrePK水準在糖尿病中升高且與血壓增加相關。PrePK水準獨立地與白蛋白分泌率相關，且在糖尿病伴大量白蛋白尿中升高，這表明prePK可為進展性腎臟病之標記物。Jaffa, A. A.等人.(2003) *Diabetes* 52:1215-21。已發現B1受體拮抗劑在用鏈脲佐菌素治療之大鼠中減小血漿滲漏。Lawson, S. R.等人. (2005) *Eur. J. Pharmacol.* 514:69-78。B1受體拮抗劑亦預防經鏈脲佐菌素治療之小鼠發展血糖過多症及腎功能障礙。Zuccollo, A.等人. (1996) *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 74:586-9。

【0074】 在某些態樣中，本發明提供一種化合物I之結晶鹽，以供用作藥物。

【0075】 在某些態樣中，本發明提供治療或預防特徵在於異常血漿激肽釋放酶活性之疾病或病狀的方法。該方法包括向有需要之受試者投與治療有效量之化合物I之結晶鹽的步驟，從而治療或預防特徵在於異常血漿激肽釋放酶活性之疾病或病狀。藉由減小受試者之血漿激肽釋放酶活性，治療特徵在於異常血漿激肽釋放酶活性之疾病或病狀。

【0076】 如本文所用，術語「治療(treat/treating/treatment)」意指

預防受試者之疾病或病狀、停止或減慢該疾病或病狀之進展、或消除該疾病或病狀。在一些實施例中，術語「治療」意指停止或減慢受試者之疾病或病狀之進展、或消除該疾病或病狀。在一些實施例中，術語「治療」意指減少受試者之疾病或病狀之至少一種目標臨床表現。

【0077】 如本文所用，術語「有效量」係指足以引起所要生物效應之量。

【0078】 如本文所用，術語「治療有效量」係指足以引起所要治療效應之量。

【0079】 如本文所用，術語「抑制」意指減少主觀可測量之量或程度。在不同實施例中，「抑制」意指與相關對照相比減少至少百分之5、10、20、30、40、50、60、70、80、90、或95。在一個實施例中，「抑制」意指減少百分之100，亦即停止或消除。

【0080】 如本文所用，術語「受試者」係指哺乳動物。在不同實施例中，受試者為小鼠、大鼠、兔、貓、狗、豬、羊、馬、牛、或非人靈長類動物。在一個實施例中，受試者為人類。

【0081】 或者，在某些態樣中，本發明提供一種用於治療特徵在於異常血漿激肽釋放酶活性之疾病或病狀的化合物I之結晶鹽。

【0082】 或者，在某些態樣中，本發明提供化合物I之結晶鹽用於製備供用以治療特徵在於異常血漿激肽釋放酶活性之疾病或病狀之藥物的用途。

【0083】 如本文所用，「特徵在於異常血漿激肽釋放酶活性之疾病或病狀」係指希望減小血漿激肽釋放酶活性之任何疾病或病狀。例如，可能希望在激肽釋放酶不適當活化或超活化情況下減小血漿激肽釋放酶活

性。作為另一個實例，可能希望在高血液凝固性狀態之情況下減小血漿激肽釋放酶活性。作為另一個實例，可能希望在與血栓之存在或形成相關之組織缺血之情況下減小血漿激肽釋放酶活性。

【0084】 在某些實施例中，特徵在於異常血漿激肽釋放酶活性之疾病或病狀係選自由以下項所組成之群：中風、炎症、再灌注損傷、急性心肌梗塞、深靜脈血栓形成、纖維蛋白溶解治療後之病狀、心絞痛、水腫、血管性水腫、遺傳性血管性水腫、敗血症、關節炎、出血、在體外心肺循環期間之失血、炎症性腸病、糖尿病、視網膜病變、糖尿病性視網膜病變、糖尿病性黃斑水腫、糖尿病性黃斑變性、年齡相關黃斑水腫、年齡相關黃斑變性、增殖性視網膜病變、神經病變、高血壓、腦水腫、白蛋白分泌增加、大量白蛋白尿、及腎臟病。

【0085】 在某些實施例中，特徵在於異常血漿激肽釋放酶活性之疾病或病狀為血管性水腫。

【0086】 在某些實施例中，特徵在於異常血漿激肽釋放酶活性之疾病或病狀為獲得性血管性水腫或遺傳性血管性水腫(HAE)。

【0087】 獲得性血管性水腫(AAE) (Caldwell JR 等人, Clin Immunol Immunopathol. 1972;1:39- 52)以若干種方式表徵，包括特徵在於C1抑制劑(C1-INH)之獲得性缺乏症、人類補體經典路徑之超活化、及藉由不適當活化接觸-激肽系統而釋放之緩激肽介導之血管性水腫症狀。AAE以兩種形式I型AAE (其通常與另一種疾病相關)及II型AAE (其通常與自體免疫疾病相關)存在。AAE可由許多因素或C1 INH中之獲得性突變造成，該等因素包括但不限於自體免疫疾病(例如，抗-C1INH抗體之產生)。另外，化合物I之結晶鹽可用於治療血管緊張素轉化酶(ACE)抑制劑

治療之副作用。ACE抑制劑阻斷分解緩激肽之主要路徑。通過使用本發明之結晶鹽抑制激肽釋放酶形成來減少緩激肽形成。

【0088】 在某些實施例中，特徵在於異常血漿激肽釋放酶活性之疾病或病狀為遺傳性血管性水腫(HAE)。在某些實施例中，遺傳性血管性水腫為I型遺傳性血管性水腫。或者，遺傳性血管性水腫可為II型遺傳性血管性水腫。或者，遺傳性血管性水腫可為III型遺傳性血管性水腫。

【0089】 在某些實施例中，化合物I之結晶鹽用於預防性治療HAE。在其他實施例中，化合物I之結晶鹽用於短期治療HAE。

【0090】 在某些實施例中，化合物I之結晶鹽用於預防或治療患有HAE之受試者之血管性水腫發作。在某些實施例中，化合物I之結晶鹽用作減小患有HAE之受試者之血管性水腫發作頻率的預防性治療。在其他實施例中，化合物I之結晶鹽用於治療患有HAE之受試者的急性血管性水腫發作。

【0091】 在某些實施例中，特徵在於異常血漿激肽釋放酶活性之疾病或病狀為中風。

【0092】 在某些實施例中，特徵在於異常血漿激肽釋放酶活性之疾病或病狀為再灌注損傷。

【0093】 在某些實施例中，特徵在於異常血漿激肽釋放酶活性之疾病或病狀為急性心肌梗塞。

【0094】 在某些實施例中，特徵在於異常血漿激肽釋放酶活性之疾病或病狀為出血。

【0095】 在某些實施例中，特徵在於異常血漿激肽釋放酶活性之疾病或病狀為在體外心肺循環期間之失血。

【0096】 在某些實施例中，特徵在於異常血漿激肽釋放酶活性之疾病或病狀係選自由以下項所組成之群：視網膜病變、糖尿病性視網膜病變、糖尿病性黃斑水腫、糖尿病性黃斑變性、年齡相關黃斑水腫、年齡相關黃斑變性、及增殖性視網膜病變。

調配物、投與途徑、及給藥

【0097】 本文所述之化合物I之結晶鹽可經調配成醫藥組成物且以多種適合於所選投藥途徑(例如，經口或非經腸，藉由靜脈內、腹膜內、肌肉內、局部或皮下途徑)之形式投與哺乳動物宿主，諸如人類患者。本發明亦涵蓋另一投與途徑。

【0098】 因此，化合物I(在本文中亦稱為「活性化合物」)之結晶鹽可與醫藥學上可接受之媒劑(諸如惰性稀釋劑或可吸收食用載劑)組合地全身性(例如經口)投與。其可封在硬殼或軟殼明膠膠囊中，可壓製成錠劑，或可直接與患者之膳食之食物合併。關於經口治療性投與，該活性化合物可與一或多種賦形劑組合且以可攝取錠劑、頰錠劑、口含錠、膠囊、酏劑、懸浮液、糖漿、糯米紙及其類似形式之形式使用。該等組成物及製劑應含有至少0.1%之活性化合物。組成物及製劑之百分比當然可變化且可便利地在既定單位劑型之重量的約2%至約60%之間。該等治療上適用之組成物中的活性化合物之量使得將獲得有效劑量水準。

【0099】 錠劑、口含錠、丸劑、膠囊、及其類似物亦可含有以下稀釋劑及載劑：可添加黏合劑，諸如黃蓍膠、阿拉伯膠、玉米澱粉或明膠；賦形劑，諸如磷酸二鈣；崩解劑，諸如玉米澱粉、馬鈴薯澱粉、褐藻酸及其類似物；潤滑劑，諸如硬脂酸鎂；及甜味劑，諸如蔗糖、果糖、乳糖或阿斯巴甜糖；或調味劑，諸如薄荷、冬青油或櫻桃調味劑。當單位劑型為

膠囊時，除以上類型之材料以外，其亦可含有液體載劑，諸如植物油或聚乙二醇。多種其他材料可作為包衣存在或可存在以另外修飾固體單位劑型之實物形式。舉例而言，錠劑、丸劑或膠囊可經明膠、蠟、蟲膠或糖及其類似物包覆。糖漿或酏劑可含有活性化合物、作為甜味劑之蔗糖或果糖、作為防腐劑之對羥基苯甲酸甲酯及對羥基苯甲酸丙酯、染料及調味劑(諸如櫻桃或橙調味劑)。當然，用於製備任何單位劑型之任何材料均應為醫藥學上可接受的且在所用之量下實質上無毒。此外，活性化合物可併入持續釋放製劑及器件中。

【0100】 活性化合物亦可藉由輸注或注射以靜脈內或腹膜內方式投與。活化化合物溶液可以水或生理學上可接受之水溶液製備，視情況與無毒表面活性劑混合。亦可於甘油、液體聚乙二醇、三乙酸甘油酯及其混合物中及於油中製備分散液。在一般儲存及使用條件下，此等製劑含有防腐劑以防止微生物生長。

【0101】 適用於注射或輸注之醫藥劑型可包括包含該活性化合物之無菌水溶液或分散液或無菌粉末，其經調適用於無菌可注射或可輸注溶液或分散液之臨時製備，視情況經封裝於脂質體中。在所有情況下，最終劑型均應在製造及儲存條件下為無菌、流體且穩定的。液體載劑或媒劑可為包含例如水、乙醇、多元醇(例如，甘油、丙二醇、液體聚乙二醇及其類似物)、植物油或無毒甘油酯及其合適混合物之溶劑或液體分散介質。適當流動性可例如藉由形成脂質體、在分散液之情況下藉由維持所需粒徑或藉由使用界面活性劑加以維持。微生物作用之預防可藉由多種抗細菌劑及抗真菌劑，例如對羥基苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚、山梨酸、硫柳汞及其類似物來引起。在許多情況下，將較佳的是包括等張劑，例如糖、緩衝劑或

氯化鈉。可注射組成物之延長吸收可藉由在該等組成物中使用延遲吸收之劑(例如單硬脂酸鋁及明膠)來引起。

【0102】 無菌可注射溶液藉由將所需量之活性化合物與所需的多種在上文列舉之其他成分一起併入適當溶劑中，隨後過濾滅菌來製備。在用於製備無菌可注射溶液之無菌粉末的情況下，製備方法可包括真空乾燥及冷凍乾燥技術，該等技術生成活性化合物加上存在於先前經無菌過濾之溶液中的任何額外所要成分之粉末。

【0103】 關於表面投與，化合物I之結晶鹽可以純形式應用，亦即當其以液體製備時。然而，一般將合乎需要的是其以與皮膚學上可接受之可為固體或液體之載劑組合的組成物或調配物形式投與至皮膚。

【0104】 適用之固體載劑包括精細分散之固體，諸如滑石、黏土、微晶纖維素、矽石、氧化鋁及其類似物。適用之液體載劑包括水、醇或二醇或水-醇/二醇混合物，其中本發明之結晶鹽可以有效水準溶解或分散，視情況藉助於無毒界面活性劑。可添加諸如芳香劑及額外抗微生物劑之佐劑以最佳化針對既定用途之特性。所得液體組成物可自吸收墊應用，用於浸漬繃帶及其他敷料，或使用泵型或氣霧劑噴霧器噴霧於受影響區域上。

【0105】 諸如合成聚合物、脂肪酸、脂肪酸鹽及酯、脂肪醇、改質纖維素或改質礦物材料之增稠劑亦可與液體載劑一起用於形成直接應用於使用者之皮膚的可塗敷糊劑、凝膠、軟膏、皂劑及其類似物。

【0106】 可用於將本發明之結晶鹽遞送至皮膚之適用皮膚病學組成物之實例為此項技術中已知的；例如，參見Jacquet等人.(美國專利第4,608,392號；其以引用方式併入本文)，Geria (美國專利第4,992,478號；其以引用方式併入本文)，Smith等人(美國專利(美國專利第4,559,157

號；其以引用方式併入本文)，及Wortzman (美國專利第4,820,508號；其以引用方式併入本文)。

【0107】 化合物I之結晶鹽之適用劑量可至少部分藉由比較其活體外活性與動物模型中之活體內活性來判定。用於將小鼠及其他動物中之有效劑量外推至人類之方法為此項技術中已知的；例如，參見美國專利第4,938,949號(其以引用方式併入本文)。

【0108】 用於治療所需之化合物I之結晶鹽的量不僅將隨所選擇之特定結晶鹽變化，而且將隨投與途徑、所治療之病狀的性質及患者之年齡及狀況變化，且最終將由巡診醫師或臨床醫師判斷。

【0109】 然而，一般而言，適合劑量之範圍將為0.5至約100 mg/kg接受者體重/日，例如約3至約90 mg/kg體重/日、約6至約75 mg/kg體重/日、約10至約60 mg/kg體重/日、或約15至約50 mg/kg體重/日。

【0110】 化合物I之結晶鹽可便利地經調配為單位劑型；例如每單位劑型含有5至1000 mg、10至750 mg、50至500 mg、75 mg至350 mg、75 mg至300 mg、75 mg至250 mg、75 mg至200 mg、75 mg至175 mg、75 mg至150 mg、75 mg至125 mg、100 mg至750 mg、100 mg至500 mg、100 mg至350 mg、100 mg至300 mg、100 mg至250 mg、100 mg至200 mg、100 mg至175 mg、100 mg至150 mg、100 mg至125 mg、125 mg至350 mg、125 mg至300 mg、125 mg至250 mg、125 mg至200 mg、125 mg至175 mg、125 mg至150 mg，包括例如5 mg、10 mg、25 mg、50 mg、75 mg、100 mg、125 mg、150 mg、175 mg、200 mg、250 mg、300 mg、350 mg、400 mg、450 mg、500 mg、550 mg、600 mg、650 mg、700 mg、750 mg、800 mg、850 mg、900 mg、950 mg、1000

mg、及屬於以上單位劑量範圍內之其他此等單位劑量的活性化合物。在一個實施例中，本發明提供一種組成物，其包含以此單位劑型經調配之化合物I之結晶鹽。所要劑量可便利地以單一劑量呈遞或以欲在適當時間間隔下投與之分次劑量形式，例如以每天兩次、三次、四次或四次以上子劑量形式呈遞。子劑量自身可進一步分成例如多次個別寬鬆間隔之投與。

【0111】 化合物I之結晶鹽亦可與其他治療劑，例如適用於治療或預防缺血、失血、或再灌注損傷之其他藥劑組合投與。

【0112】 其他遞送系統可包括時間釋放、延遲釋放、或持續釋放遞送系統，諸如此項技術中熟知者。此等系統可避免重複投與活性化合物，從而為受試者及醫師增加便利。許多類型的釋放遞送系統為可用的且為一般熟習此項技術者所熟知。使用長期持續釋放植入物可為所要的。如本文所用，長期釋放意指遞送系統或植入物經構築且排列以遞送治療水準之活性化合物達至少30日，且較佳達60日。

【0113】 在某些實施例中，化合物I之結晶鹽經調配用於眼內投與，例如直接注射或插入在眼內醫療裝置內或與該裝置結合。

【0114】 化合物I之結晶鹽可經調配用於沉積到醫療裝置中，該醫療裝置可包括多種習知移植物、支架(包括支架移植物)、導管、氣囊、籃、或可部署或永久性植入在體腔內之其他裝置中之任一者。作為一特定實例，將希望使裝置及方法可將本發明之結晶鹽遞送至已藉由介入技術治療之身體區域。

【0115】 在示範性實施例中，化合物I之結晶鹽可沉積於醫療裝置諸如支架內，且經遞送至治療部位以用於治療身體一部分。

【0116】 支架已用作治療劑(亦即藥物)之遞送媒劑。血管內支架一

般永久性植入在冠狀或周邊血管內。支架設計包括美國專利第4,733,655號 (Palmaz)、美國專利第4,800,882號 (Gianturco)、或美國專利第4,886,062號(Wiktor)之彼等者。此等設計包括金屬及聚合物支架，以及自膨脹及氣囊可膨脹支架。支架亦可用於將藥物遞送在與血管接觸部位處，例如，如美國專利第5,102,417號 (Palmaz)、美國專利第5,419,760號 (Narciso博士)、美國專利第5,429,634號(Narciso博士)、及國際專利申請案第WO 91/12779號(Medtronic, Inc.)及第WO 90/13332號(Cedars-Sinai Medical Center)中所揭示者。

【0117】術語「沉積」意指活性化合物經塗覆、吸附、放置、或藉由此項技術已知之方法以其他方式併入該裝置中。例如，化合物可嵌入醫療裝置且自其釋放(「基質類型」)，或由塗覆或跨越醫療裝置之聚合材料圍繞且通過聚合物材料釋放(「儲庫類型」)。在後一實例中，化合物可使用此項技術已知之用於生成此等材料之一或多種技術截留在聚合物材料內或與聚合物材料偶合。在其他調配物中，化合物無需塗覆即可連接至醫療裝置表面，例如藉由可拆卸結合，且隨時間釋放，或可藉由主動機械或化學方法移除。在其他調配物中，化合物可呈在植入部位呈現化合物之永久性固定形式。

【0118】在某些實施例中，活性化合物可在醫療裝置(諸如支架)之生物相容性塗層形成期間併入聚合物組成物中。由該等組分產生之塗層通常為均勻的且適用於塗覆經設計用於植入之許多裝置。

【0119】根據所要釋放速率或所要聚合物穩定性程度，聚合物可為生物穩定性聚合物或生物可吸附聚合物，但往往對於此實施例而言生物可吸附聚合物為較佳的，因為與生物穩定性聚合物不同，它在植入後將不會

長期存在以免於引起任何不良的長期局部反應。可使用之生物可吸附聚合物包括但不限於聚(L-乳酸)、聚己內酯、聚乙交酯(PGA)、聚(丙交酯-共-乙交酯) (PLLA/PGA)、聚(羥基丁酸鹽)、聚(羥基丁酸鹽-共-戊酸鹽)、聚二噁烷酮、聚原酸酯、聚酸酐、聚(乙醇酸)、聚(D-乳酸)、聚(L-乳酸)、聚(D,L-乳酸)、聚(D,L-丙交酯) (PLA)、聚(L-丙交酯) (PLLA)、聚(乙醇酸-共-三伸甲基碳酸酯) (PGA/PTMC)、聚氧乙烯(PEO)、聚二噁烷酮(PDS)、聚磷酸酯、聚磷酸酯脲、聚(胺基酸)、氰基丙烯酸酯、聚(三伸甲基碳酸酯)、聚(亞胺基碳酸酯)、共聚(醚-酯) (例如PEO/PLA)、聚草酸伸烷基酯、聚磷嗪及生物分子(諸如纖維蛋白、纖維蛋白原、纖維素、澱粉、膠原及玻尿酸)、聚 ϵ 己內酯、聚羥基丁酸、聚原酸酯、聚縮醛、聚二氫吡喃、聚氰基丙烯酸酯、水凝膠之交聯或兩親性嵌段共聚物、及此項技術已知之其他適合生物可吸附聚合物。而且，可使用具有相對低長期組織反應之生物穩定性聚合物，諸如聚胺甲酸酯、聚矽氧、及聚酯，且若其他聚合物在醫療裝置上溶解且固化或聚合化，則亦可使用其他聚合物，諸如聚烯烴、聚異丁烯、及乙烯- α -烯烴共聚物；丙烯酸聚合物及共聚物、乙烯基鹵化物聚合物及共聚物，諸如聚乙烯氯；聚乙烯吡咯啶酮；聚乙烯醚，諸如聚乙烯甲基醚；聚偏二鹵乙烯，諸如聚偏二氟乙烯及聚偏二氯乙烯；聚丙烯腈、聚乙烯酮；聚乙烯芳族烴，諸如聚苯乙烯、聚乙烯酯，諸如聚乙酸乙烯酯；乙烯基單體各自之間及與烯烴之共聚物，諸如乙烯-甲基丙烯酸甲酯共聚物、乙腈-苯乙烯共聚物、ABS樹脂、及乙烯-乙酸乙烯酯共聚物；哌喃共聚物；聚羥基-丙基-甲基丙烯醯胺-苯酚；聚羥基乙基-天冬醯胺-苯酚；以棕櫚醯基殘基取代之聚氧乙烯-聚離胺酸；聚醯胺，諸如尼龍66及聚己內醯胺；烷基化樹脂、聚碳酸酯；聚氧化甲烯；聚亞醯

胺；聚醚；環氧樹脂；聚胺甲酸酯；螺螯；螺螯-三乙酸酯；纖維素、乙酸纖維素、丁酸纖維素；乙酸丁酸纖維素；賽璐玢；硝酸纖維素；丙酸纖維素；纖維素醚；及羧甲基纖維素。

【0120】 聚合物及半透性聚合物基質可形成為成形製品，諸如閥、支架、管、假體及其類似物。

【0121】 在本發明之某些實施例中，化合物I之結晶鹽偶合至形成為支架或支架-移植物裝置之聚合物或半透性聚合物基質。

【0122】 通常，聚合物藉由旋塗、浸塗或噴霧施加至可植入裝置表面。此項技術已知之額外方法亦可用於此目的。噴霧方法包括傳統方法以及使用噴墨型分配器進行之微沉積技術。另外，聚合物可使用光刻圖形技術沉積在可植入裝置上以將聚合物僅置於該裝置之特定部分上。該裝置之此塗層在該裝置周圍提供允許不同分析物經改善擴散穿過裝置塗層之均勻層。

【0123】 在本發明之某些實施例中，活性化合物經調配用於自聚合物塗層釋放到放置醫學裝置之環境中。較佳，化合物在延長時段(例如數月)內使用涉及控制溶析之聚合物載劑或層的若干種熟知技術中之至少一種以受控方式釋放。一些該等技術描述於美國專利申請案2004/0243225A1中，該專利之完整揭露內容全文併入本文。

【0124】 此外，如例如美國專利第6,770,729號所述(該專利全文併入本文中)，聚合物組成物之試劑及反應條件可經操縱，以使得可控制活性化合物自聚合物塗層釋放。例如，可調節一或多個聚合物塗層之擴散係數以控制化合物自聚合物塗層釋放。在此方案之變形中，可控制一或多個聚合物塗層之擴散係數，以調節存在於放置醫療裝置之環境中的分析物

(例如促進聚合物一部分分解或水解之分析物)接近聚合物組成物內之一或多種組分之能力(且例如從而調節化合物自聚合物塗層釋放)。本發明之另一個實施例包括具有複數個聚合物塗層之裝置，各塗層具有複數個擴散係數。在本發明之此等實施例中，可藉由複數個聚合物塗層調節活性化合物自聚合物塗層之釋放。

【0125】 在本發明之另一個實施例中，藉由調節聚合物組成物之一或多種特性，諸如一或多種內源性或外源性化合物之存在或可替代地聚合物組成物之pH來控制活性化合物自聚合物塗層之釋放。例如，某些聚合物組成物可經設計以響應於聚合物組成物之pH減小而釋放化合物。

套組

【0126】 本發明亦提供一種套組，其包含化合物I之結晶鹽、至少一種其他治療劑、包裝材料、及用於向哺乳動物投與化合物I之結晶鹽及另外一或多種治療劑以治療或預防特徵在於異常血漿激肽釋放酶活性之疾病或病狀的說明書。在一個實施例中，哺乳動物為人。

實例

材料及方法

X射線粉末繞射

【0127】 使用PANalytical X'Pert PRO MPD繞射計使用以Optix長細焦源產生之Cu輻射的入射束收集XRPD圖。使用橢圓漸變多層鏡來聚焦Cu K α X-射線穿過試樣且到達偵測器上。在分析前，分析矽標本(NIST SRM 640e)以證實Si 111峰之經觀測位置與經NIST驗證位置一致。將樣品之樣本夾在3- μ m-厚的膜之間且以透射幾何學分析。使用波束終止器、短防散射器展延部、及防散射器刀式塗佈機來使空氣生成之背景最小化。使

用入射束及繞射束之索勒(Soller)狹縫來使來自軸向發散之增寬最小化。繞射模式使用定位於距離標本 240 mm 處之掃描位置靈敏偵測器(X'Celerator)及資料收集器軟體v. 2.2b來收集。

熱重分析

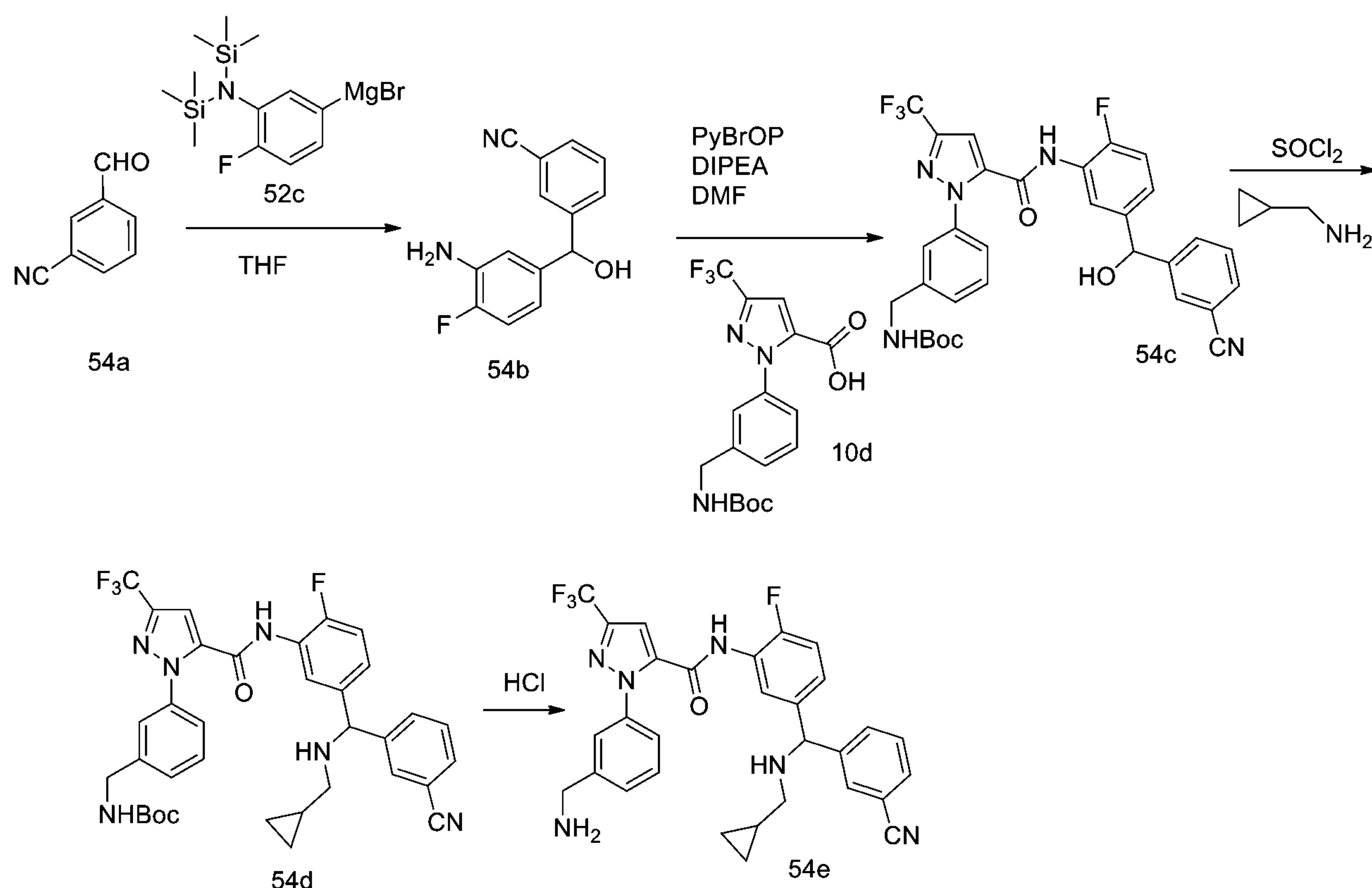
【0128】 使用具有IR爐之TA Instruments Discovery熱重分析儀進行TG分析。使用鎳及Alumel™進行溫度校準。在鋁盤上放置各樣品。氣密密封該樣品，將蓋鑽孔，然後插入到TG爐中。將爐在氮下加熱。在熱分析圖頁眉中記錄採集掃描率，而加熱範圍可自個別圖判定。

紅外線(IR)光譜學

【0129】 在界面接合至配備Ever-Glo中/遠IR源、溴化鉀(KBr)分束器、及碲鎘汞(MCT-A)偵測器之Magna-IR 560®傅立葉轉換紅外線(FT-IR)光譜儀(Thermo Nicolet)的TA Instruments Q5000 IR熱重(TG)分析儀上進行熱重紅外線(TG-IR)分析。使用聚苯乙烯進行FT-IR波長驗證，且TG校準標準物為鎳及Alumel™。將樣品置於鉑樣品盤中，且將該盤插入TG爐中。首先啟動TG儀器，隨後立即啟動FT-IR儀器。在90及10 cc/min氮氣流下操作TG儀器以各別用於吹掃及平衡。在20°C/min速率之氮氣下加熱爐至350°C最終溫度。大約每16秒收集IR光譜，達大約13分鐘。各IR光譜表示在4 cm⁻¹光譜解析度下收集之16個共添加之掃描。自High Resolution Nicolet Vapor Phase光譜庫之搜索鑑別揮發性。

實例1：外消旋化合物54e之合成方案

由WO 2015/134998及美國專利申請公佈案第2017/0073314 A1號重現(二者均以引用方式併入)



1-(3-((胺基甲基)苯基)-N-(5-((3-氰基苯基)(環丙基-甲基胺基)甲基)-2-氟苯基)-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-5-甲醯胺(**54e**)之製備

步驟-1：3-((3-胺基-4-氟苯基)(羥基)甲基)苯甲腈(**54b**)之製備

【0130】 向冷卻至0℃之3-甲醯基苯甲腈(**54a**) (29 g, 217 mmol)於四氫呋喃(200 mL)中之溶液中添加經新鮮製備之格里納試劑(Grignard reagent) (**52c**) (245 mL, 221 mmol, THF中之約0.9 M), 在0℃下攪拌1 h, 且在室溫下攪拌18 h。將反應混合物用1 N HCl (水溶液440 mL)淬滅, 攪拌3 h, 用NaOH (2 N, 水溶液)中和至pH =約8。用乙酸乙酯(600、300 mL)萃取反應混合物。將合併之萃取物用鹽水(120 mL)洗滌, 經MgSO₄乾燥, 過濾且在真空中濃縮。藉由快速管柱層析[矽膠, 用己烷/乙酸乙酯(1:0至1:1)溶析]純化粗產物, 以得到呈棕色膠狀物之3-((3-胺基-4-氟苯基)(羥基)甲基)苯甲腈(**54b**) (36.28 g), 其按原樣用於下一個步驟; MS (ES+) 265.3 (M+23)。

步驟-2：3-(5-(5-((3-氰基苯基)(羥基)甲基)-2-氟苯基胺甲醯基)-3-(三氟甲基)-1H-吡啶-1-基)苄基胺基甲酸第三丁酯(**54c**)之製備

【0131】 向3-((3-胺基-4-氟苯基)(羥基)甲基)苯甲腈(**54b**) (24.682 g, 102 mmol)於DMF (480 mL)中之溶液中添加1-(3-((第三丁氧基羰基胺基)甲基)苯基)-3-(三氟甲基)-1H-吡啶-5-羧酸(**10d**) (35.0 g, 91 mmol)、N-乙基-N-異丙基丙烷-2-胺(132 mL, 758 mmol)、溴三吡咯啉-1-基磷六氟磷酸酯(V) (PyBrOP, 42.8 g, 91 mmol), 且在室溫下攪拌19 h。將反應混合物用乙酸乙酯(1000 mL)稀釋, 用水(500、400 mL)、鹽水(400 mL)洗滌, 經MgSO₄乾燥, 過濾且在真空中濃縮。藉由快速管柱層析[矽膠, 用己烷/乙酸乙酯(1:0至1:1)溶析]純化粗產物, 以得到呈黃色固體之3-(5-(5-((3-氰基苯基)(羥基)甲基)-2-氟苯基胺甲醯基)-3-(三氟甲基)-1H-吡啶-1-基)苄基胺基甲酸第三丁酯(**54c**) (4.583 g, 對於兩個步驟為5%); ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10.57 (s, 1H), 7.81 (t, *J* = 1.7 Hz, 1H), 7.73 – 7.66 (m, 2H), 7.64 – 7.19 (m, 10H), 6.25 (d, *J* = 4.0 Hz, 1H), 5.78 (d, *J* = 4.0 Hz, 1H), 4.19 (d, *J* = 6.1 Hz, 2H), 1.37 (s, 9H); ¹⁹F NMR (282 MHz, DMSO-*d*₆) δ -60.81, -123.09; MS (ES+) 632.3 (M+23)。

步驟-3：3-(5-(5-((3-氰基苯基)(環丙基甲基胺基)甲基)-2-氟苯基胺甲醯基)-3-(三氟甲基)-1H-吡啶-1-基)苄基胺基甲酸第三丁酯(**54d**)之製備

【0132】 在0°C下向3-(5-(5-((3-氰基苯基)(羥基)甲基)-2-氟苯基胺甲醯基)-3-(三氟甲基)-1H-吡啶-1-基)苄基胺基甲酸第三丁酯(**54c**) (1.333 g, 2.187 mmol)於二氯甲烷(40 mL)中之溶液中添加亞硫醯氯(0.340 mL, 4.59 mmol)且在2 h內升溫至室溫。將反應混合物用三乙胺(2.0 mL, 14.35 mmol)淬滅, 在室溫下攪拌1 h。然後將其用環丙基甲胺(4.30

mL, 48.0 mmol)處理，濃縮以去除大部分二氯甲烷，隨後添加乙腈(30 mL)，在70°C下攪拌14 h，且在真空中濃縮至乾燥。將殘餘物用氯仿(200 mL)處理，用水(100 mL)洗滌，經MgSO₄乾燥，隨後過濾且濃縮。藉由快速管柱層析[矽膠，使用己烷/乙酸乙酯(1:0至2:1)溶析]純化粗產物，以得到呈無色膠狀物之3-(5-(5-((3-氰基苯基)(環丙基甲基胺基)甲基)-2-氟苯基胺甲醯基)-3-(三氟甲基)-1H-吡啶-1-基)苄基胺基甲酸第三丁酯(**54d**) (184 mg, 13%)；¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10.56 (s, 1H), 7.89 (t, *J* = 1.7 Hz, 1H), 7.77 – 7.71 (m, 1H), 7.70 – 7.30 (m, 10H), 7.22 (dd, *J* = 10.3, 8.5 Hz, 1H), 4.93 (s, 1H), 4.19 (d, *J* = 6.2 Hz, 2H), 2.26 (d, *J* = 6.6 Hz, 2H), 1.37 (s, 9H), 1.00 – 0.80 (m, 1H), 0.45 – 0.28 (m, 2H), 0.12 – 0.01 (m, 2H); ¹⁹F NMR (282 MHz, DMSO-*d*₆) δ -60.80, -123.20; MS (ES+) 663.4 (M+1)。

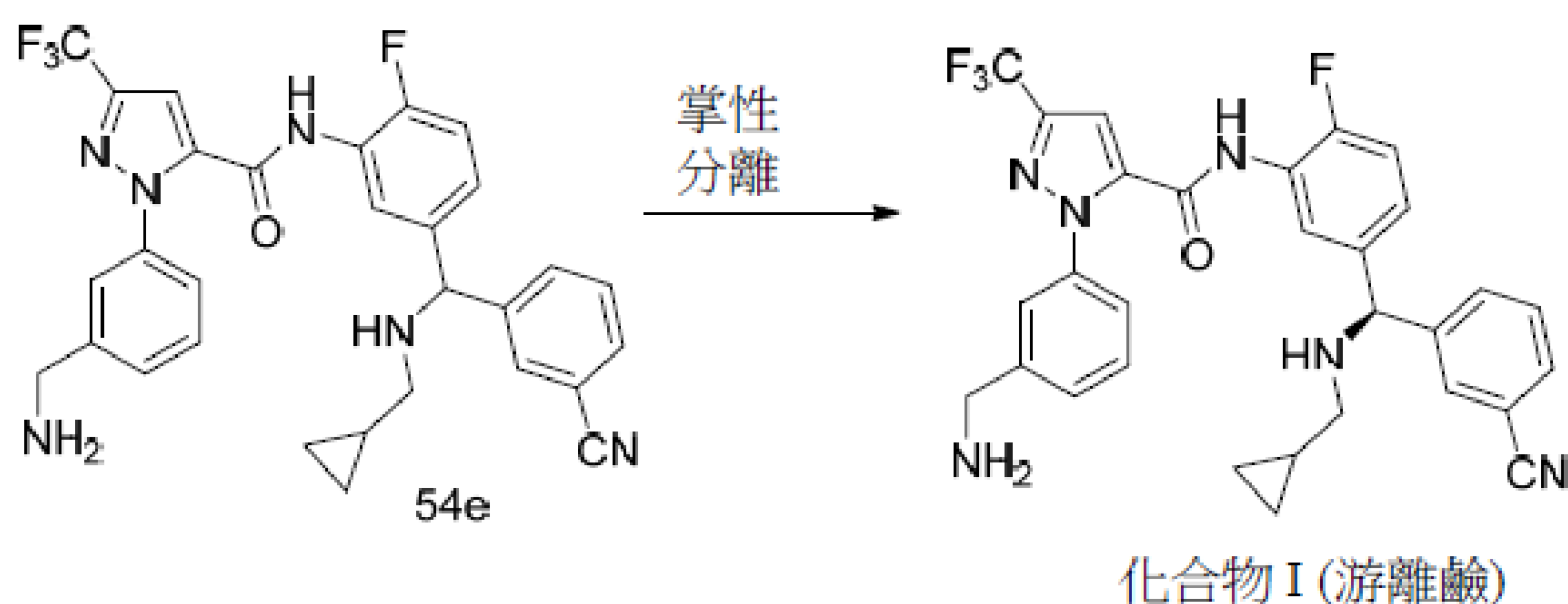
步驟-4：1-(3-(胺基甲基)苯基)-N-(5-((3-氰基苯基)(環丙基-甲基胺基)甲基)-2-氟苯基)-3-(三氟甲基)-1H-吡啶-5-甲醯胺(**54e**)之製備

【0133】向3-(5-(5-((3-氰基苯基)(環丙基甲基胺基)甲基)-2-氟苯基胺甲醯基)-3-(三氟甲基)-1H-吡啶-1-基)苄基胺基甲酸第三丁酯(**54d**) (161 mg, 0.243 mmol)於1,4-二噁烷(18 mL)中之溶液中添加氯化氫(2.60 mL, 10.40 mmol, 1,4-二噁烷中之4 M)且在室溫下攪拌16 h。將反應混合物用己烷處理，傾析，用己烷洗滌，且再次傾析。藉由快速管柱層析[矽膠，用氯仿/CMA80 (1:0至2:1)溶析]純化不溶性粗產物，以得到1-(3-(胺基甲基)苯基)-N-(5-((3-氰基苯基)(環丙基-甲基胺基)甲基)-2-氟苯基)-3-(三氟甲基)-1H-吡啶-5-甲醯胺(**54e**)。將純產物溶解於甲醇(10 mL)中且添加4 N HCl (水溶液0.14 mL)，隨後在真空中濃縮至乾燥，以得到呈白

色固體之1-(3-(胺基甲基)苯基)-N-(5-((3-氰基苯基)(環丙基-甲基胺基)甲基)-2-氟苯基)-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-5-甲醯胺(**54e**) (74 mg, 48%)的HCl鹽；¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆, D₂O ex NMR) δ 8.13 (t, J = 1.7 Hz, 1H), 7.98 – 7.84 (m, 3H), 7.73 – 7.64 (m, 3H), 7.63 – 7.48 (m, 4H), 7.44 (dd, J = 10.2, 8.6 Hz, 1H), 5.75 (s, 1H), 4.12 (s, 2H), 2.76 (d, J = 7.2 Hz, 2H), 1.17 – 0.94 (m, 1H), 0.68 – 0.47 (m, 2H), 0.34-0.24 (m, 2H)；¹⁹F NMR (282 MHz, DMSO-*d*₆) δ -60.82, -120.02；MS (ES⁺): 563.3 (M+1)；對C₃₀H₂₆F₄N₆O·2.0 HCl·3.0 H₂O計算之分析值：C, 52.26; H, 4.97; N, 12.19；實測值：C, 52.26; H, 5.00; N, 11.72。

實例2：外消旋化合物**54e**之鏡像異構物的分離

由WO 2015/134998及美國專利申請公佈案第2017/0073314 A1號重現(二者均以引用方式併入)



(+)-1-(3-(胺基甲基)苯基)-N-(5-((3-氰基苯基)(環丙基-甲基胺基)甲基)-2-氟苯基)-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-5-甲醯胺(**化合物I**)及(-)-1-(3-(胺基甲基)苯基)-N-(5-((3-氰基苯基)(環丙基-甲基胺基)甲基)-2-氟苯基)-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-5-甲醯胺((-)-**鏡像異構物**)之分離

【0134】 藉由使用製備型SFC方法使用所提供之以下條件分離外消旋1-(3-(胺基甲基)苯基)-N-(5-((3-氰基苯基)(環丙基-甲基胺基)甲基)-2-氟

苯基)-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-5-甲醯胺(**54e**) (0.4 g)之異構物：

所使用之製備型SFC方法：

管柱	20mm x 25.0 cm ChromegaChiral CCS，來自 Regis Technologies (Morton Grove, IL)
CO ₂ 共溶劑(溶劑B)	甲醇: 異丙醇(1:1)及1% 異丙胺
等度方法	在80 mL/min下之20%共溶劑
系統壓力	200巴
管柱溫度	25°C
樣品稀釋劑	甲醇: 異丙醇

【0135】 藉由以下分析性SFC方法判定峰之掌性純度：

管柱	4.6 x 100 mm ChiralPak AS，來自Chiral Technologies (West Chester, PA)
CO ₂ 共溶劑(溶劑B)	甲醇: 異丙醇(1:1)及0.1% 異丙胺
等度方法	在4 mL/min下之5%-65%共溶劑梯度
系統壓力	100巴
管柱溫度	25°C
樣品稀釋劑	甲醇

峰-1 (化合物I) 2.1 min 144 mg >95% ee (UV 254) 98.6% 純度
(UV 254)

峰-2 ((-)-鏡像異構物) 2.4 min 172 mg 95.5 % ee (UV 254)
96.5%純度(UV 254)

1. 峰-1經指定為呈白色固體之(+)-1-(3-(胺基甲基)苯基)-N-(5-((3-氰基苯基)(環丙基-甲基胺基)甲基)-2-氟苯基)-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-5-甲醯胺
(化合物I) (144 mg，>95%ee)；旋光度：[α]_D = (+) 6.83 [CH₃OH, 1.2]；
¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10.53 (s, 1H, D₂O可交換), 7.88 (t, *J* =
1.7 Hz, 1H), 7.77 – 7.71 (m, 1H), 7.67 (dt, *J* = 7.7, 1.4 Hz, 1H), 7.63
(dd, *J* = 7.5, 2.1 Hz, 1H), 7.56 (s, 1H), 7.54 – 7.47 (m, 2H), 7.47 – 7.38

(m, 2H), 7.34 (ddt, $J = 8.6, 5.9, 2.8$ Hz, 2H), 7.22 (dd, $J = 10.3, 8.5$ Hz, 1H), 4.93 (s, 1H), 3.77 (s, 2H), 2.31 – 2.21 (m, 2H), 0.97 – 0.80 (m, 1H), 0.42 – 0.33 (m, 2H), 0.10 – -0.02 (m, 2H); ^{19}F NMR (282 MHz, DMSO- d_6) δ -60.73, -123.20; MS (ES+) 563.3 (M+1), 561.3 (M-1)。向 (+)-1-(3-(胺基甲基)苯基)-N-(5-((3-氰基苯基)(環丙基-甲基胺基)甲基)-2-氟苯基)-3-(三氟甲基)-1H-吡啶-5-甲醯胺(化合物I) (120 mg)之游離鹼混合物於甲醇(15 mL)中之溶液中添加氯化氫(0.969 mL, 1.938 mmol), 在室溫下攪拌10 min, 蒸發至乾燥, 以得到呈白色固體之(+)-1-(3-(胺基甲基)苯基)-N-(5-((3-氰基苯基)(環丙基-甲基胺基)甲基)-2-氟苯基)-3-(三氟甲基)-1H-吡啶-5-甲醯胺(化合物I) (100 mg)鹽酸鹽; ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 10.84 (s, 1H, D₂O可交換), 10.44 (s, 2H, D₂O可交換), 8.44 (s, 3H, D₂O可交換), 8.30 (s, 1H, D₂O可交換), 8.09 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.99 (d, $J = 6.8$ Hz, 1H), 7.91 – 7.83 (m, 1H), 7.80 – 7.50 (m, 7H), 7.42 (dd, $J = 10.3, 8.6$ Hz, 1H), 5.78 (d, $J = 6.9$ Hz, 1H), 4.13 (d, $J = 5.7$ Hz, 2H), 2.88 – 2.62 (m, 2H), 1.42 – 0.99 (m, 1H), 0.73 – 0.46 (m, 2H), 0.32 (d, $J = 4.4$ Hz, 2H); ^{19}F NMR (282 MHz, DMSO- d_6) δ -60.81, -119.99; MS (ES⁺): MS (ES+) 563.3 (M+1), MS (ES-) 561.3 (M-1), 597.3 (M+Cl); 對C₃₀H₂₆F₄N₆O·2HCl·1.75H₂O計算之分析值: C, 54.02; H, 4.76; Cl, 10.63; N, 12.60; 實測值: C, 54.12; H, 4.83; Cl, 10.10; N, 11.97。

2. 峰-2經指定為呈游離鹼之(-)-1-(3-(胺基甲基)苯基)-N-(5-((3-氰基苯基)(環丙基-甲基胺基)甲基)-2-氟苯基)-3-(三氟甲基)-1H-吡啶-5-甲醯胺((-)-鏡像異構物) (172 mg, 95.5% ee), 其藉由快速管柱層析(矽膠12 g,

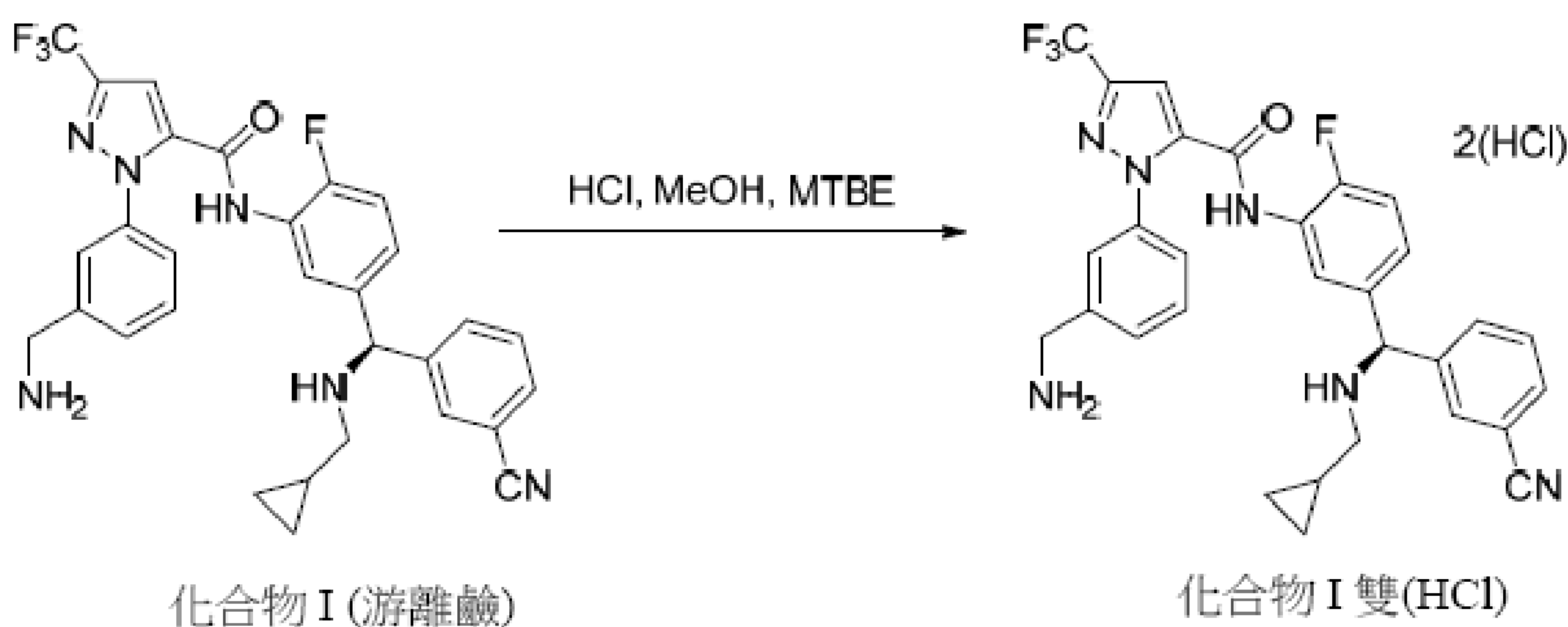
以氯仿中之0-30% MeOH溶析15 min)再純化以得到呈灰白色固體之(-)-1-(3-(胺基甲基)苯基)-N-(5-((3-氰基苯基)(環丙基-甲基胺基)甲基)-2-氟苯基)-3-(三氟甲基)-1H-吡啶-5-甲醯胺((-)-**鏡像異構物**)游離鹼；旋光度： $[\alpha]_D = (-) 5.44$ [CH₃OH, 1.25]；¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.88 (t, $J = 1.6$ Hz, 1H), 7.74 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.70 – 7.61 (m, 2H), 7.57 (s, 1H), 7.54 – 7.47 (m, 2H), 7.45 – 7.41 (m, 2H), 7.34 (ddq, $J = 8.7, 6.1, 3.5, 2.8$ Hz, 2H), 7.22 (dd, $J = 10.3, 8.5$ Hz, 1H), 4.93 (s, 1H), 3.78 (s, 2H), 2.25 (d, $J = 6.9$ Hz, 2H), 0.90 (ddd, $J = 9.8, 8.0, 5.2$ Hz, 1H), 0.47 – 0.29 (m, 2H), 0.04 (dd, $J = 5.0, 1.5$ Hz, 2H)；¹⁹F NMR (282 MHz, DMSO-*d*₆) δ -60.73 , -123.19；MS (ES+) 563.3 (M+1), MS (ES-), 561.3 (M-1)。向(-)-1-(3-(胺基甲基)苯基)-N-(5-((3-氰基苯基)(環丙基-甲基胺基)甲基)-2-氟苯基)-3-(三氟甲基)-1H-吡啶-5-甲醯胺 ((-)-**鏡像異構物**) (0.124 g , 0.220 mmol)之游離鹼於甲醇(15 mL)中之溶液中添加氯化氫(1.102 mL , 2.204 mmol)，在室溫下攪拌10 min，蒸發至乾燥，以得到呈灰白色固體之(-)-1-(3-(胺基甲基)苯基)-N-(5-((3-氰基苯基)(環丙基-甲基胺基)甲基)-2-氟苯基)-3-(三氟甲基)-1H-吡啶-5-甲醯胺 ((-)-**鏡像異構物**) (0.121 g)鹽酸鹽；¹H NMR: ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10.82 (s, 1H, D₂O可交換), 10.36 (s, 2H, D₂O可交換), 8.38 (s, 3H, D₂O可交換), 8.27 (s, 1H), 8.06 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.98 (d, $J = 6.7$ Hz, 1H), 7.87 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 7.78 – 7.49 (m, 7H), 7.48 – 7.37 (m, 1H), 5.78 (s, 1H), 4.13 (d, $J = 5.7$ Hz, 2H), 2.72 (s, 2H), 1.14 (s, 1H), 0.56 (d, $J = 7.7$ Hz, 2H), 0.31 (d, $J = 5.0$ Hz, 2H)；¹⁹F NMR (282 MHz, DMSO-*d*₆) δ -60.82 , -120.03；MS (ES⁺): MS (ES+) 563.3 (M+1), MS (ES-), 561.3 (M-1),

597.2 (M+Cl)；對 $C_{30}H_{26}F_4N_6O \cdot 2HCl \cdot 1.75H_2O$ 計算之分析值：C, 54.02; H, 4.76; Cl, 10.63; N, 12.60；實測值：C, 54.12; H, 4.83; Cl, 10.10; N, 11.97。

實例3：化合物I•2(HCl)之種晶的製備

【0136】將化合物I (參見實例2)於甲基第三丁基醚(MTBE) (1當量)中之溶液添加至HCl (水溶液) (2當量)於甲醇(冷)中之溶液，隨後加熱至約30°C，且將其保持在約30°C下達不長於5小時，同時在約115 rpm下攪拌。藉由過濾收集化合物I雙(HCl)且乾燥。所獲得之結晶物質可用作實例4中所述之結晶方案的晶種。

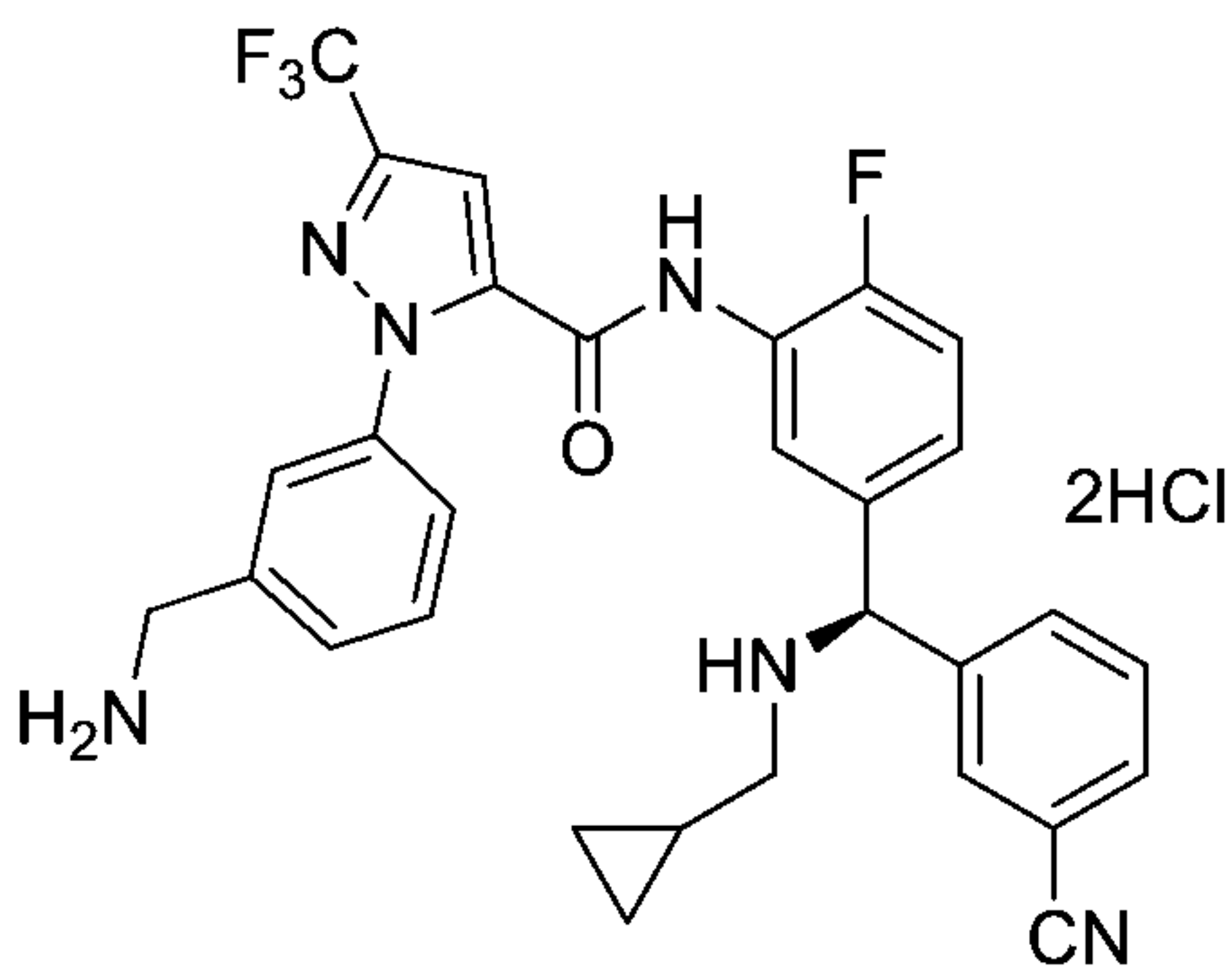
實例4：化合物I•2(HCl)之大規模合成及結晶方案



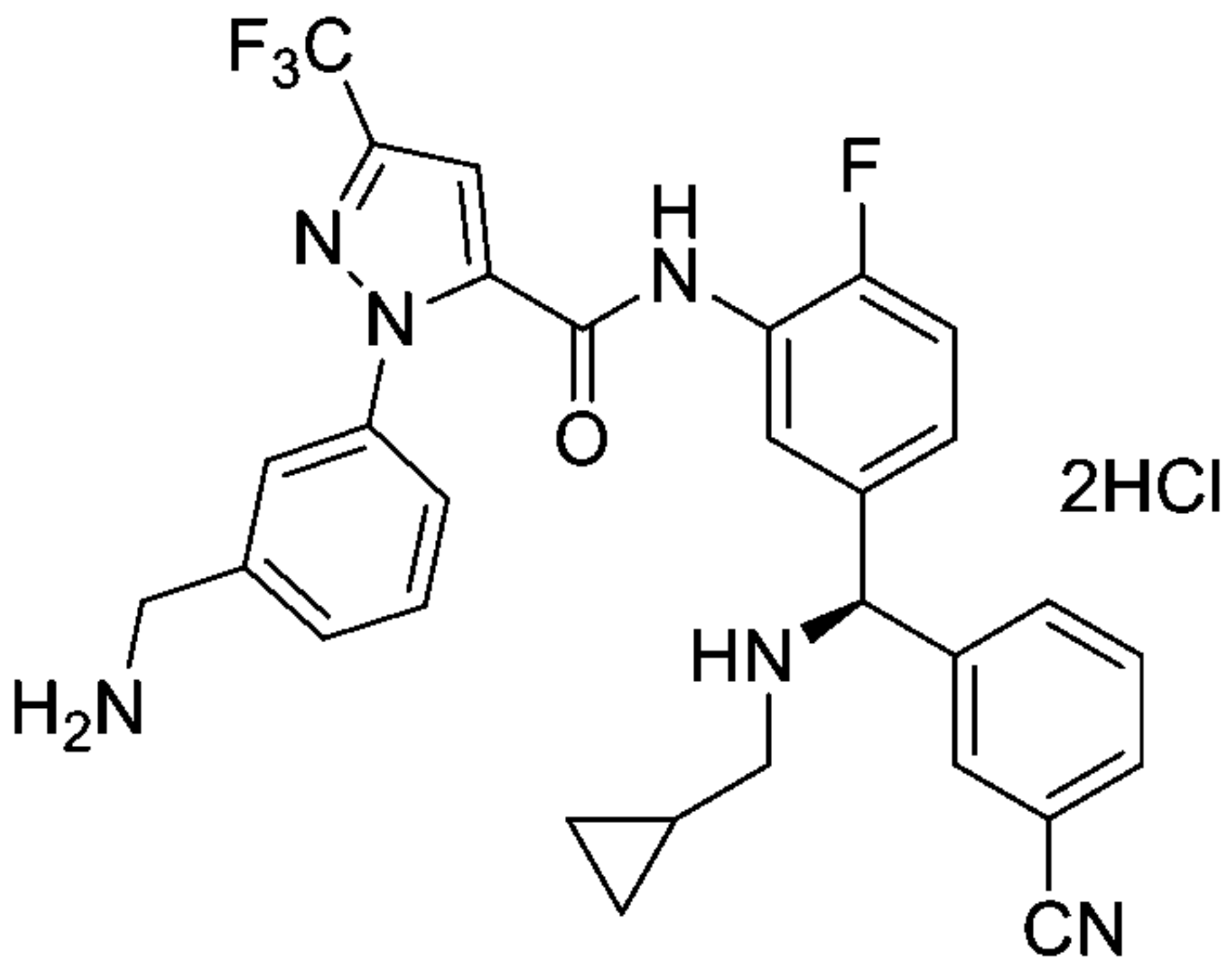
【0137】將37%鹽酸水溶液(38.1 kg，32.3 L，2.14當量)裝入乾淨空結晶容器，添加甲醇(228.9 kg，39.5當量)，且將內容物冷卻至 $-7 \pm 3^\circ C$ 。在溫度 $-5 \pm 5^\circ C$ 下使化合物I游離鹼(大約101.8 kg；180.9莫耳)於MTBE (大約1,300 L)中之溶液穿過精緻過濾器過濾到結晶容器中。在用MTBE沖洗後，將預先稱量之化合物I•2(HCl)晶種(1.39 kg，0.012當量；實例3)經由修理孔裝入結晶容器中。將容器內容物加熱至30-33°C且將攪拌速率設定為25-50 rpm。在確認結晶後，再攪拌漿料三至四小時。轉移

產物漿料至離心機且藉由離心機分離。將產物用MTBE (585 L)洗滌。在乾紡濕潤產物化合物I•2(HCl)後，將其自離心機排出，且將產物在≤40°C、真空下在圓錐乾燥器中乾燥。產物化合物I•2(HCl)產率： 100 kg；157.4 mol；大約85%。

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)，資料展示於下表中：

結構	化學位移(ppm)	分類	氫之數量
	0.02 - 0.10	m	2
	0.33 - 0.42	m	2
	0.80 – 0.97	m	1
	2.21 -2.31	m	2
	3.77	s	2
	4.93	s	1
	7.22	dd	1
	7.34	ddt	2
	7.38 – 7.47	m	2
	7.47 – 7.54	m	2
	7.56	s	1
	7.63	dd	1
	7.67	dt	1
	7.71 – 7.77	m	1
	7.88	t	1
	10.53	s	1

¹⁹F NMR (282 MHz, DMSO-*d*₆)，資料展示於下表中：

結構	氟化學位移(ppm)
	-60.81, -119.99

【0138】 化合物I具有兩個鹼性位點。計算一級胺之共軛酸以具有pKa值8.89，且計算二級胺之共軛酸以具有pKa值7.86。

【0139】 化合物I•2(HCl)之XRPD展示於圖1中。化合物I•2(HCl)在

XRPD圖中具有在 2θ ($^{\circ}2\theta$)值5.28、8.96、14.27、16.18、19.79、21.16、22.01、23.31、24.64、及30.31下之特徵峰。

【0140】 TG-IR分析指示兩個不同重量減輕區域：第一區域藉由125°C完成，而第二區域在大約208°C下開始。來自此實驗之廢氣之IR分析在初始重量減輕時僅偵測到痕量水，同時在208°C事件下偵測HCl氣體。在樣品中未偵測到其他溶劑。因此，判定化合物I•2(HCl)最初在加熱時失去水，且在加熱超過200°C時，鹽開始分解且逸出HCl氣體。所有這些事件之IR信號極弱，這表明它們在一個範圍內發生而非在指定溫度下發生。示範性TG-IR光譜展示在圖2中。

實例5：化合物測定

【0141】 化合物I在測量人類血漿激肽釋放酶活性之抑制的活體外生物化學測定中測定。實驗方案及測定結果發現於WO 2015/134998及美國專利申請公佈案第2017/0073314 A1號(二者均以引用方式併入)。此生物化學測定之結果表明化合物I為人類血漿激肽釋放酶活性之強效抑制劑。

實例6：化合物I•2(HCl)於健康受試者中之藥物動力學

【0142】 作為第1階段、雙盲、安慰劑對照、劑量範圍研究之一部分，在健康受試者中評價多個遞增經口劑量之化合物I•2(HCl)之藥物動力學。招募四個遞增劑量組，以依序方式給藥。在開始時，將十二位受試者隨機分到各組中以根據以下劑量方案投與7-日或14-日療程之研究藥物(n=10/接受化合物I•2(HCl)之組且n=2/接受配對安慰劑之組)：在組1中每日一次(QD) 125 mg化合物I•2(HCl)或安慰劑，達7日；在組2中250 mg化合物I•2(HCl)或化合物QD，達7日；在組3中500 mg化合物I•2(HCl)或安慰劑QD，達7日；或在組4中350 mg化合物I•2(HCl)或安慰劑QD，達14

日。總之，接受多個劑量之化合物I•2(HCl)的40位受試者中有37位完成其對應劑量方案且可用於評定在第7日或第14日之PK參數。

【0143】 抽取系列血液樣品，以用於在第7日或第14日且在後續24小時內進行劑量投與前進行藥物動力學分析。藉由使用經驗證LC-MS/MS (液相層析術及串聯式質譜法)生物分析測定來分析用於判定化合物I•2(HCl)濃度之血漿樣品。

【0144】 圖3展示在QD經口投與125、250、及500 mg QD化合物I•2(HCl)後第7日；及在QD經口投與350 mg QD化合物I•2(HCl)後第14日血漿化合物I•2(HCl)濃度相對於時間的概況。

【0145】 表1提供在7日或14日多個經口劑量化合物I•2(HCl)之後血漿藥物動力學參數之匯總[最大(峰)血漿藥物濃度(C_{max})、在藥物投與後達到最大(峰)血漿藥物濃度之時間(觀測時間點)(T_{max})、在給藥間隔結束時觀測到之穀血漿濃度(C_{tau})、及在給藥間隔內血漿濃度-時間曲線下面積(AUC_{tau})]。

表1. 健康受試者中7日或14日多個經口劑量的化合物I•2(HCl)之後的血漿藥物動力學參數之匯總(第7日或第14日)。

	化合物I•2(HCl)			
	125 mg QD 第7日 (N = 10)	250 mg QD 第7日 (N = 9)	500 mg QD 第7日 (N = 9)	350 mg QD 第14日 (N = 9)
藥物動力學參數				
C_{max} (ng/mL) ^a	97.8 (35)	217 (25)	517 (37)	363 (37)
T_{max} (h) ^b	5.0 (2.0, 8.1)	6.0 (3.0, 12.0)	2.0 (1.0, 8.1)	4.0 (1.0, 8.0)
C_{tau} (ng/mL) ^a	46.1 (46)	101 (25)	235 (32)	158 (40)
AUC_{tau} (ng•h/mL) ^a	1600 (41)	3710 (23)	8230 (34)	5720 (34)

^a資料經報道為幾何平均值(幾何平均值之CV%)。

^b T_{max} 經報道為中值(min、max)。

【0146】 在給藥後大約2至6小時達成最大血漿化合物I•2(HCl)濃度。劑量自125 mg至250 mg QD及自250 mg至500 mg QD之增加賦予合理的劑量比例。跨越完整4倍劑量範圍，暴露以略微大於劑量比例方式增加，其中AUC_{tau}及C_{max}之幾何平均值各別增加5.1倍及5.3倍。

以引用的方式併入

【0147】 本文中提及之所有美國專利及美國及PCT公開專利申請案皆據此以全文引用的方式併入本文中，該引用的程度就如同已明確且個別地指示將各個別專利或公開申請案以引用的方式併入本文中一般。假若衝突，則以本申請案為準（包括本文中之任何定義）。

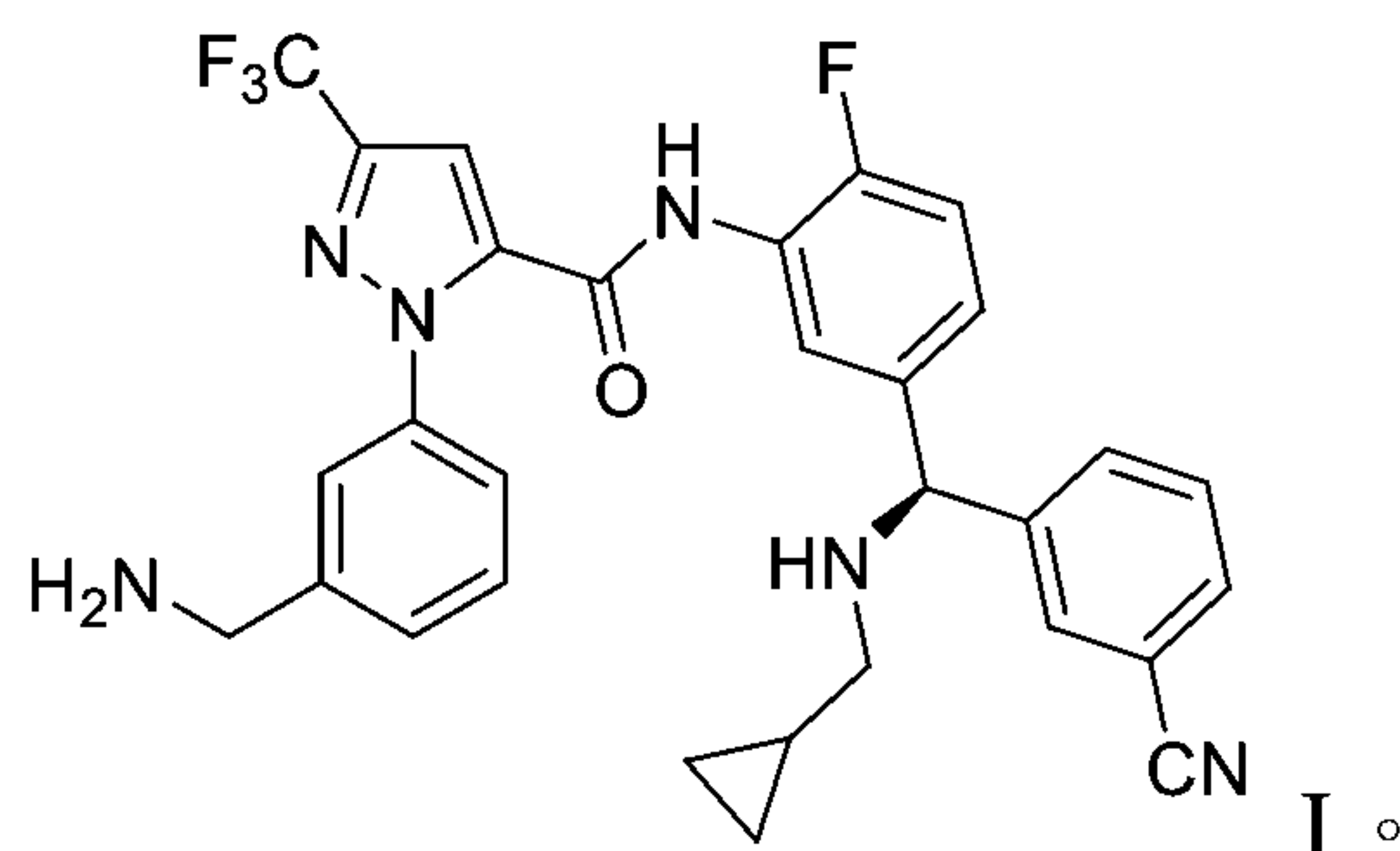
等效物

【0148】 雖然已討論本發明之特定實施例，但以上說明書為說明性的而非限制性的。熟習此項技術者在查閱本說明書及申請專利範圍後將對本發明之許多變型顯而易知。本發明之完整範圍應藉由參考申請專利範圍連同其等效物之完整範圍及說明書連同此等變型來判定。

【發明申請專利範圍】

【第1項】

一種化合物I之結晶鹽，



【第2項】

如請求項1之結晶鹽，其中該鹽為鹽酸鹽。

【第3項】

如請求項2之結晶鹽，其中該鹽為雙(鹽酸)鹽。

【第4項】

如請求項1至3中任一項之結晶鹽，其在X-射線粉末繞射(XRPD)圖中具有在 $2\theta(^{\circ}2\theta \pm 0.2^{\circ})$ 值5.3、9.0、及22.0下之特徵峰。

【第5項】

如請求項1至3中任一項之結晶鹽，其在X-射線粉末繞射(XRPD)圖中具有在 $2\theta(^{\circ}2\theta)$ 值5.3、9.0、及22.0下之特徵峰。

【第6項】

如請求項4或5之結晶鹽，其在X-射線粉末繞射(XRPD)圖中具有在 $2\theta(^{\circ}2\theta \pm 0.2^{\circ})$ 值5.3、9.0、19.8、21.2、22.0、及23.3下之特徵峰。

【第7項】

如請求項5之結晶鹽，其在X-射線粉末繞射(XRPD)圖中具有在 $2\theta(^{\circ}2\theta)$ 值5.3、9.0、19.8、21.2、22.0、及23.3下之特徵峰。

【第8項】

如請求項6或7之結晶鹽，其在X-射線粉末繞射(XRPD)圖中具有在 $2\theta(^{\circ}2\theta \pm 0.2^{\circ})$ 值5.3、9.0、14.3、16.2、19.8、21.2、22.0、23.3、24.6、及30.3下之特徵峰。

【第9項】

如請求項7之結晶鹽，其在X-射線粉末繞射(XRPD)圖中具有在 $2\theta(^{\circ}2\theta)$ 值5.3、9.0、14.3、16.2、19.8、21.2、22.0、23.3、24.6、及30.3下之特徵峰。

【第10項】

如請求項1至3中任一項之結晶鹽，其在X-射線粉末繞射(XRPD)圖中具有在 $2\theta(^{\circ}2\theta \pm 0.2^{\circ})$ 值5.28、8.96、及22.01下之特徵峰。

【第11項】

如請求項1至3中任一項之結晶鹽，其在X-射線粉末繞射(XRPD)圖中具有在 $2\theta(^{\circ}2\theta)$ 值5.28、8.96、及22.01下之特徵峰。

【第12項】

如請求項10或11之結晶鹽，其在X-射線粉末繞射(XRPD)圖中具有在 $2\theta(^{\circ}2\theta \pm 0.2^{\circ})$ 值5.28、8.96、19.79、21.16、22.01、及23.31下之特徵峰。

【第13項】

如請求項11之結晶鹽，其在X-射線粉末繞射(XRPD)圖中具有在 $2\theta(^{\circ}2\theta)$ 值5.28、8.96、19.79、21.16、22.01、及23.31下之特徵峰。

【第14項】

如請求項12或13之結晶鹽，其在X-射線粉末繞射(XRPD)圖中具有在

$2\theta(^{\circ}2\theta \pm 0.2^{\circ})$ 值 5.28、8.96、14.27、16.18、19.79、21.16、22.01、23.31、24.64、及 30.31 下之特徵峰。

【第15項】

如請求項 13 之結晶鹽，其在 X-射線粉末繞射(XRPD)圖中具有在 $2\theta(^{\circ}2\theta)$ 值 5.28、8.96、14.27、16.18、19.79、21.16、22.01、23.31、24.64、及 30.31 下之特徵峰。

【第16項】

如請求項 1 至 15 中任一項之結晶鹽，其具有實質上類似於圖 1 所示 XRPD 圖的 XRPD 圖。

【第17項】

如請求項 1 至 16 中任一項之結晶鹽，其中該結晶鹽與水以 1:1 結晶鹽與水之莫耳比複合。

【第18項】

如請求項 1 至 16 中任一項之結晶鹽，其中該結晶鹽與水以 1:2 結晶鹽與水之莫耳比複合。

【第19項】

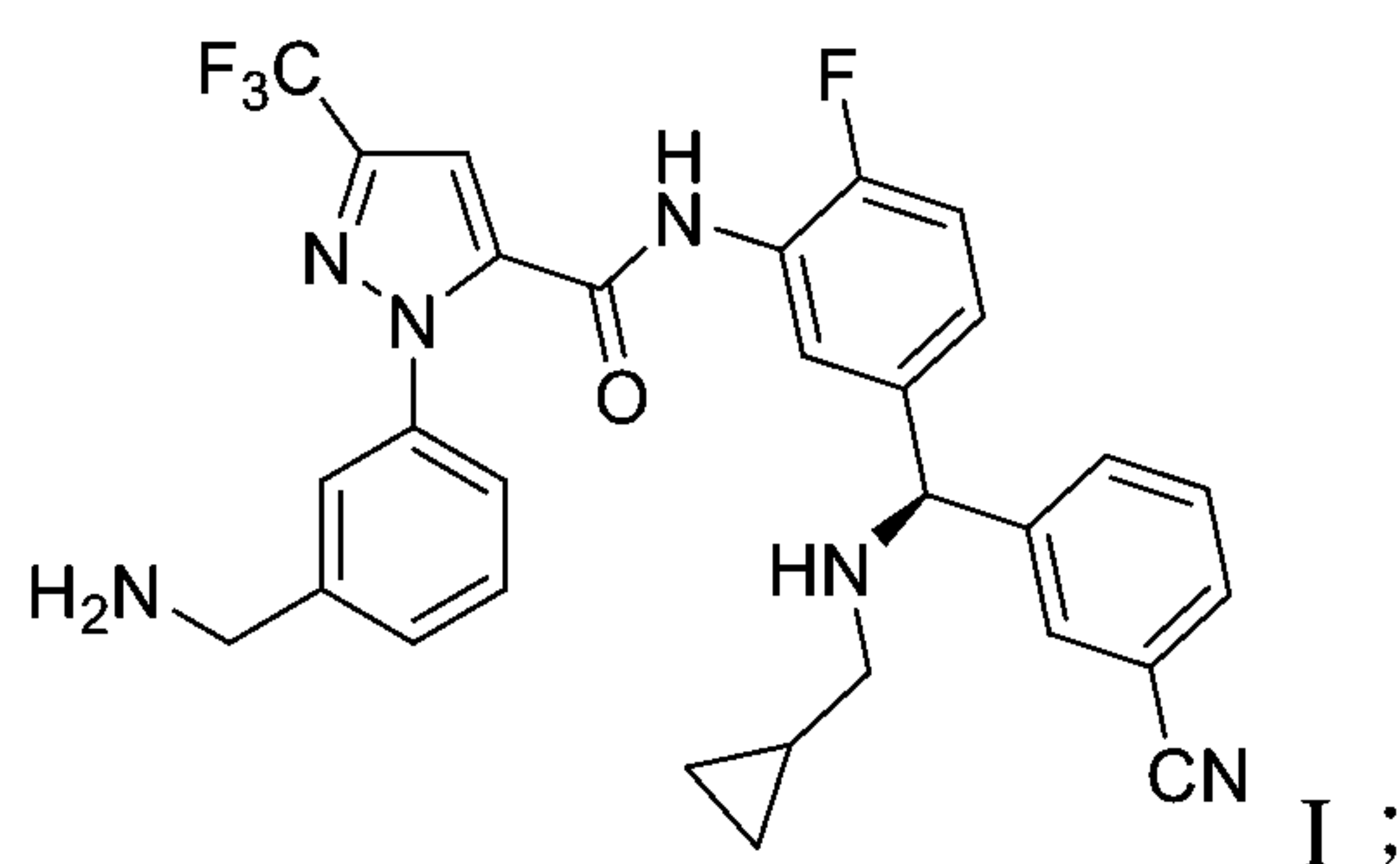
如請求項 1 至 16 中任一項之結晶鹽，其中該結晶鹽與水以 1:2.5 結晶鹽與水之莫耳比複合。

【第20項】

如請求項 1 至 16 中任一項之結晶鹽，其中該結晶鹽具有實質上如圖 2 中所示之熱重紅外線光譜。

【第21項】

一種化合物 I 之結晶鹽，



其中該鹽為雙(鹽酸)鹽。

【第22項】

如請求項21之結晶鹽，其在X-射線粉末繞射(XRPD)圖中具有在 $2\theta(^{\circ}2\theta \pm 0.2^{\circ})$ 值5.3、9.0、及22.0下之特徵峰。

【第23項】

如請求項21之結晶鹽，其在X-射線粉末繞射(XRPD)圖中具有在 $2\theta(^{\circ}2\theta)$ 值5.3、9.0、及22.0下之特徵峰。

【第24項】

如請求項22或23之結晶鹽，其在X-射線粉末繞射(XRPD)圖中具有在 $2\theta(^{\circ}2\theta \pm 0.2^{\circ})$ 值5.3、9.0、19.8、21.2、22.0、及23.3下之特徵峰。

【第25項】

如請求項23之結晶鹽，其在X-射線粉末繞射(XRPD)圖中具有在 $2\theta(^{\circ}2\theta)$ 值5.3、9.0、19.8、21.2、22.0、及23.3下之特徵峰。

【第26項】

如請求項24或25之結晶鹽，其在X-射線粉末繞射(XRPD)圖中具有在 $2\theta(^{\circ}2\theta \pm 0.2^{\circ})$ 值5.3、9.0、14.3、16.2、19.8、21.2、22.0、23.3、24.6、及30.3下之特徵峰。

【第27項】

如請求項25之結晶鹽，其在X-射線粉末繞射(XRPD)圖中具有在

2 θ ($^{\circ}2\theta$)值5.3、9.0、14.3、16.2、19.8、21.2、22.0、23.3、24.6、及30.3下之特徵峰。

【第28項】

如請求項21之結晶鹽，其在X-射線粉末繞射(XRPD)圖中具有在2 θ ($^{\circ}2\theta \pm 0.2^{\circ}$)值5.28、8.96、及22.01下之特徵峰。

【第29項】

如請求項21之結晶鹽，其在X-射線粉末繞射(XRPD)圖中具有在2 θ ($^{\circ}2\theta$)值5.28、8.96、及22.01下之特徵峰。

【第30項】

如請求項28或29之結晶鹽，其在X-射線粉末繞射(XRPD)圖中具有在2 θ ($^{\circ}2\theta \pm 0.2^{\circ}$)值5.28、8.96、19.79、21.16、22.01、及23.31下之特徵峰。

【第31項】

如請求項29之結晶鹽，其在X-射線粉末繞射(XRPD)圖中具有在2 θ ($^{\circ}2\theta$)值5.28、8.96、19.79、21.16、22.01、及23.31下之特徵峰。

【第32項】

如請求項30或31之結晶鹽，其在X-射線粉末繞射(XRPD)圖中具有在2 θ ($^{\circ}2\theta \pm 0.2^{\circ}$)值5.28、8.96、14.27、16.18、19.79、21.16、22.01、23.31、24.64、及30.31下之特徵峰。

【第33項】

如請求項31之結晶鹽，其在X-射線粉末繞射(XRPD)圖中具有在2 θ ($^{\circ}2\theta$)值5.28、8.96、14.27、16.18、19.79、21.16、22.01、23.31、24.64、及30.31下之特徵峰。

【第34項】

如請求項21至33中任一項之結晶鹽，其具有實質上類似於圖1所示XRPD圖的XRPD圖。

【第35項】

如請求項21至34中任一項之結晶鹽，其中該結晶鹽與水以1:1結晶鹽與水之莫耳比複合。

【第36項】

如請求項21至34中任一項之結晶鹽，其中該結晶鹽與水以1:2結晶鹽與水之莫耳比複合。

【第37項】

如請求項21至34中任一項之結晶鹽，其中該結晶鹽與水以1:2.5結晶鹽與水之莫耳比複合。

【第38項】

如請求項21至34中任一項之結晶鹽，其中該結晶鹽具有實質上如圖2中所示之熱重紅外線光譜。

【第39項】

一種醫藥組成物，其包含如請求項1至38中任一項之結晶鹽；及一或多種醫藥學上可接受之載劑。

【第40項】

如請求項39之醫藥組成物，其中該醫藥組成物經調配用於非經腸投與。

【第41項】

如請求項39之醫藥組成物，其中該醫藥組成物經調配用於經口投

與。

【第42項】

如請求項39之醫藥組成物，其中該醫藥組成物經調配用於預防性或治療性治療特徵在於異常血漿激肽釋放酶活性之疾病或病狀。

【第43項】

一種治療或預防特徵在於異常血漿激肽釋放酶活性之疾病或病狀的方法，其包含向有需要之受試者投與治療有效量之如請求項1至38中任一項之結晶鹽。

【第44項】

如請求項43之方法，其中該特徵在於異常血漿激肽釋放酶活性之疾病或病狀係選自由以下項所組成之群：中風、炎症、再灌注損傷、急性心肌梗塞、深靜脈血栓形成、纖維蛋白溶解治療後之病狀、心絞痛、水腫、血管性水腫、遺傳性血管性水腫、敗血症、關節炎、出血、在體外心肺循環期間之失血、炎症性腸病、糖尿病、視網膜病變、糖尿病性視網膜病變、糖尿病性黃斑水腫、糖尿病性黃斑變性、年齡相關黃斑水腫、年齡相關黃斑變性、增殖性視網膜病變、神經病變、高血壓、腦水腫、白蛋白分泌增加、大量白蛋白尿、及腎臟病。

【第45項】

如請求項44之方法，其中該特徵在於異常血漿激肽釋放酶活性之疾病或病狀為血管性水腫。

【第46項】

如請求項44之方法，其中該特徵在於異常血漿激肽釋放酶活性之疾病或病狀為遺傳性血管性水腫。

【第47項】

如請求項44之方法，其中該特徵在於異常血漿激肽釋放酶活性之疾病或病狀為中風。

【第48項】

如請求項44之方法，其中該特徵在於異常血漿激肽釋放酶活性之疾病或病狀為再灌注損傷。

【第49項】

如請求項44之方法，其中該特徵在於異常血漿激肽釋放酶活性之疾病或病狀為急性心肌梗塞。

【第50項】

如請求項44之方法，其中該特徵在於異常血漿激肽釋放酶活性之疾病或病狀為出血。

【第51項】

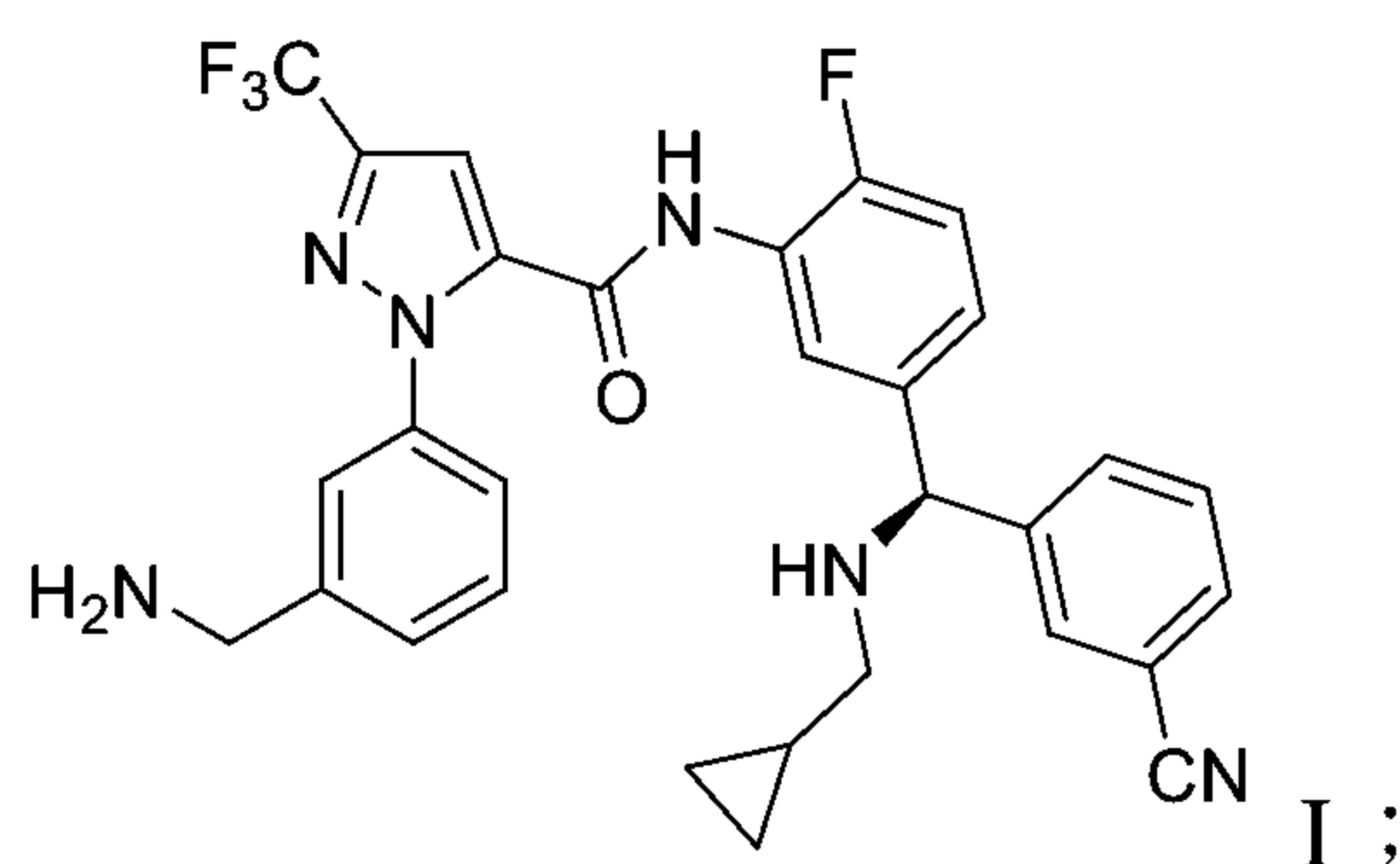
如請求項44之方法，其中該特徵在於異常血漿激肽釋放酶活性之疾病或病狀為在體外心肺循環期間之失血。

【第52項】

如請求項44之方法，其中該特徵在於異常血漿激肽釋放酶活性之疾病或病狀係選自由以下項所組成之群：視網膜病變、糖尿病性視網膜病變、糖尿病性黃斑水腫、糖尿病性黃斑變性、年齡相關黃斑水腫、年齡相關黃斑變性、及增殖性視網膜病變。

【第53項】

一種用於製備化合物I之結晶鹽之方法：



其包含：

- a) 提供化合物I於第一有機溶劑中之游離鹼混合物；
- b) 將該游離鹼混合物與試劑溶液在足以形成包含化合物I之鹽之混合物的條件下組合，其中該試劑溶液包含酸及第二有機溶劑；及
- c) 使該化合物I之鹽自該包含化合物I之鹽之混合物中結晶。

【第54項】

如請求項53之方法，其中該結晶鹽為鹽酸鹽。

【第55項】

如請求項54之方法，其中該結晶鹽為雙(鹽酸)鹽。

【第56項】

如請求項53至55中任一項之方法，其中該第一有機溶劑包含極性非質子性溶劑。

【第57項】

如請求項56之方法，其中該極性非質子性溶劑為甲基第三丁基醚。

【第58項】

如請求項56或57之方法，其中該第一有機溶劑進一步包含非極性溶劑。

【第59項】

如請求項58之方法，其中該非極性溶劑為甲苯。

【第60項】

如請求項53至59中任一項之方法，其中該酸為鹽酸。

【第61項】

如請求項53至60中任一項之方法，其中該第二有機溶劑為極性質子性溶劑。

【第62項】

如請求項61之方法，其中該極性質子性溶劑為甲醇。

【第63項】

如請求項53至62中任一項之方法，其中該包含化合物I之鹽之混合物為溶液，且該使該化合物I之鹽自該混合物中結晶之步驟包含使該溶液過飽和以使該化合物I之鹽自溶液中沉澱。

【第64項】

如請求項63之方法，其中該使該溶液過飽和之步驟包含緩慢添加反溶劑、使該溶液冷卻、減小該溶液之體積、或其任何組合。

【第65項】

如請求項53至62中任一項之方法，其中該包含化合物I之鹽之混合物為溶液，且該使該化合物I之鹽自該混合物結晶之步驟包含誘導結晶。

【第66項】

如請求項65之方法，其中誘導結晶包含用該化合物I之鹽之晶種接種該溶液。

【第67項】

如請求項53至66中任一項之方法，其進一步包含分離該結晶鹽。

【第68項】

如請求項67之方法，其中分離該結晶鹽包含自該混合物過濾該結晶鹽。

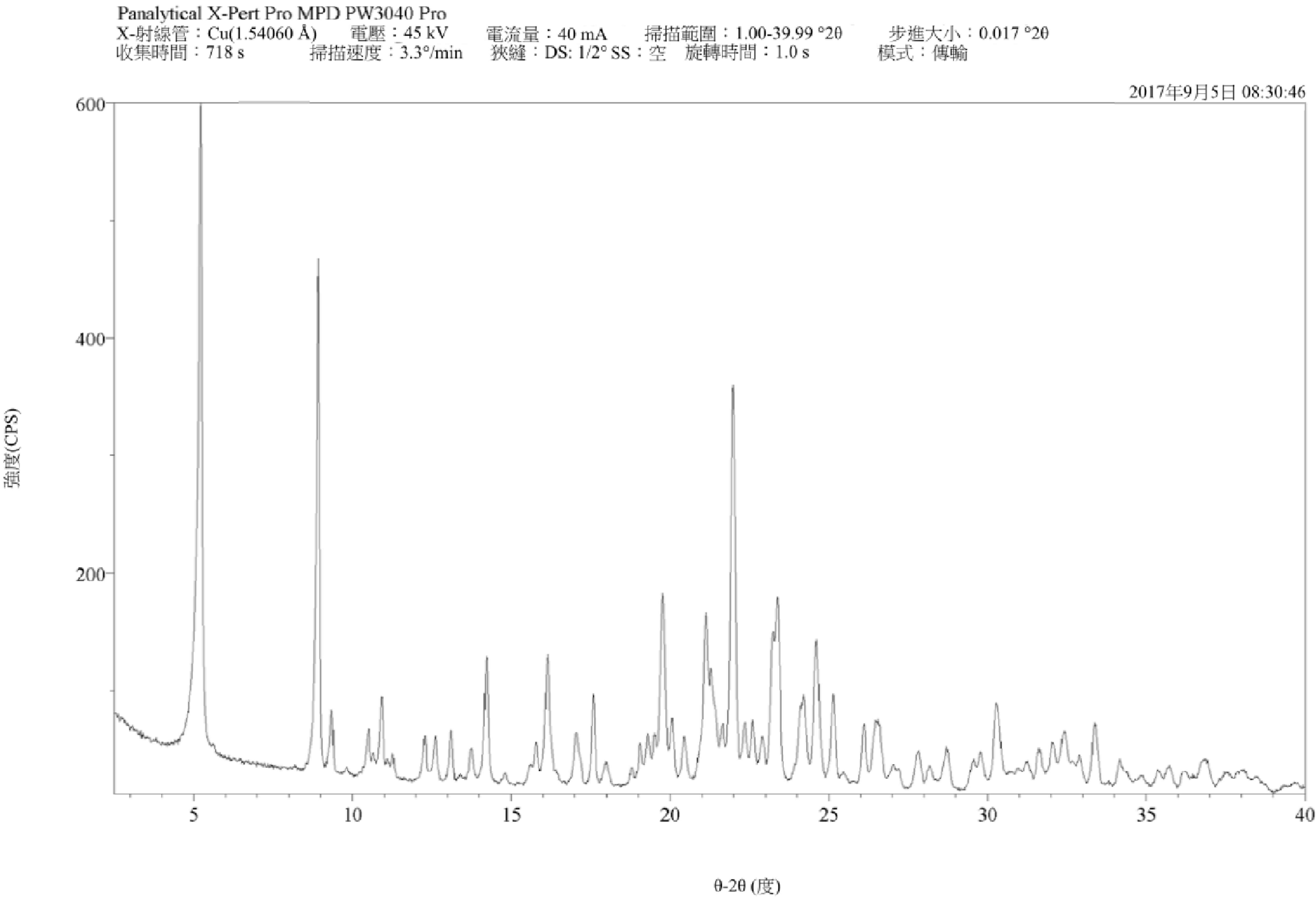
【第69項】

如請求項67或68之方法，其進一步包含在減壓下乾燥該結晶鹽。

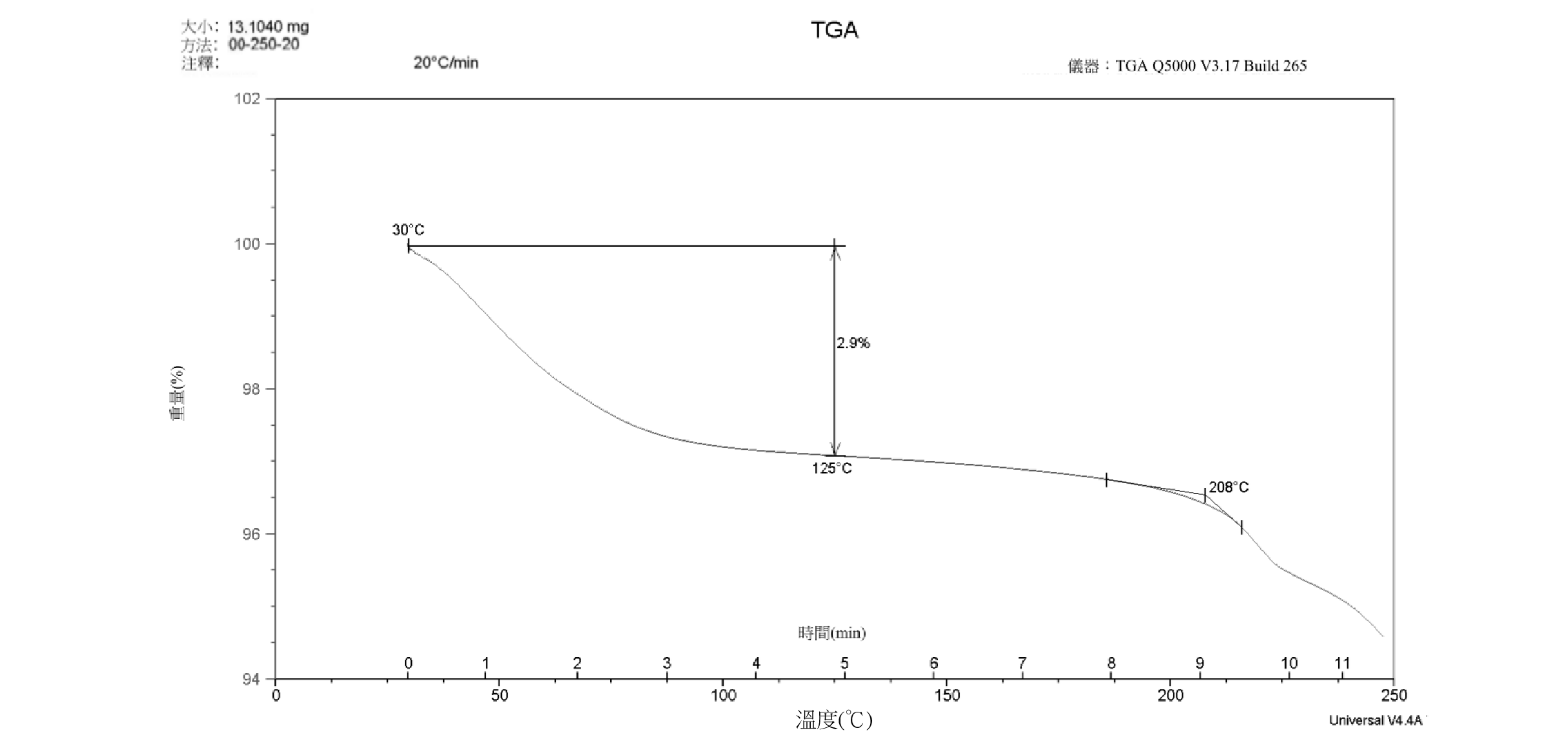
【第70項】

如請求項53至69中任一項之方法，其中該結晶鹽為如請求項1至38中任一項之結晶鹽。

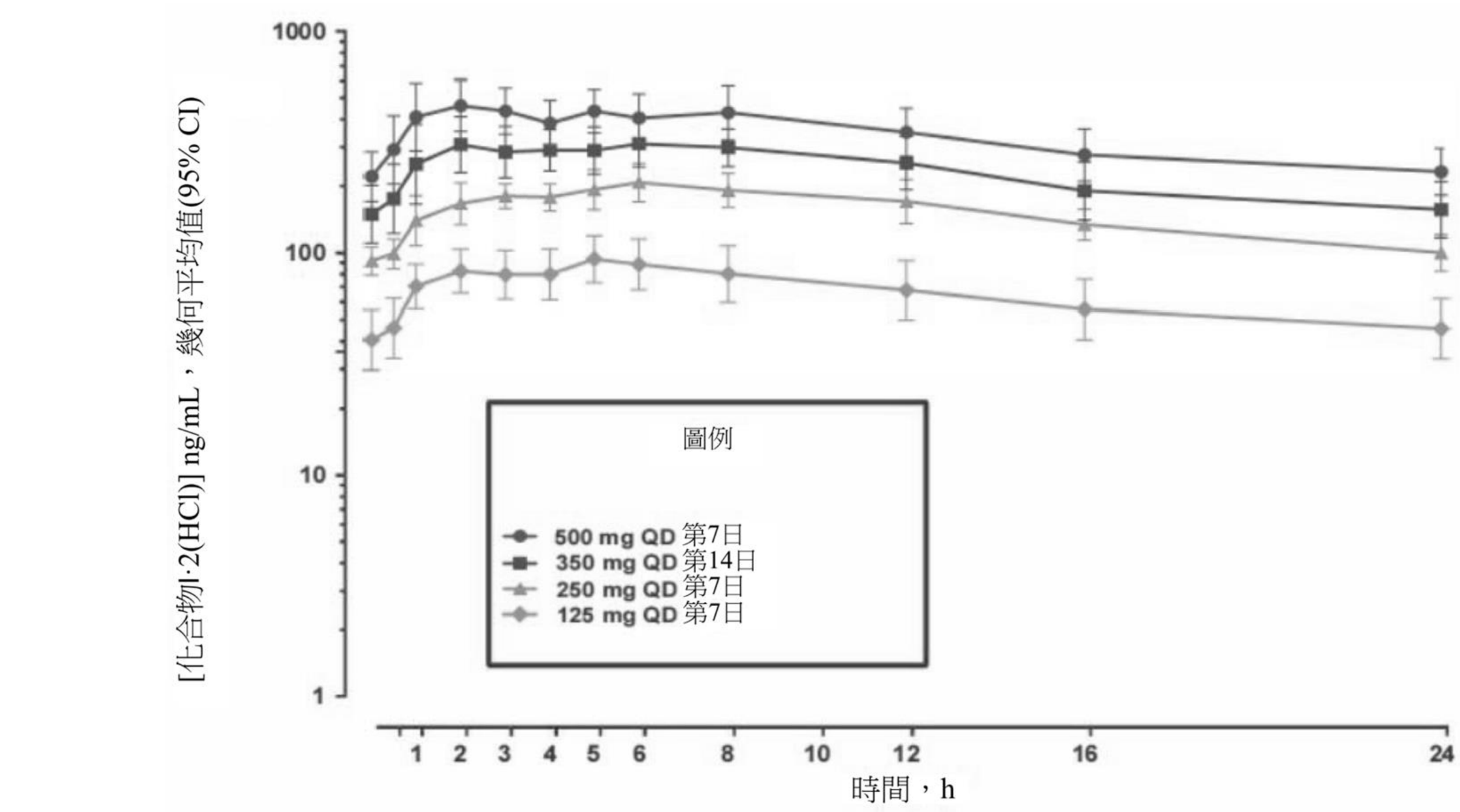
【發明圖式】



【圖 1】



【圖 2】



【圖 3】