



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104869982 A

(43) 申请公布日 2015. 08. 26

(21) 申请号 201380066317. 9

(22) 申请日 2013. 11. 01

(30) 优先权数据

61/721, 622 2012. 11. 02 US

61/728, 328 2012. 11. 20 US

61/770, 668 2013. 02. 28 US

61/824, 005 2013. 05. 16 US

61/840, 668 2013. 06. 28 US

(74) 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专
利商标事务所 11038

代理人 李华英

(51) Int. Cl.

A61K 9/20(2006. 01)

A61K 45/06(2006. 01)

A61K 31/443(2006. 01)

A61K 31/47(2006. 01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2015. 06. 18

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2013/067952 2013. 11. 01

(87) PCT国际申请的公布数据

W02014/071122 EN 2014. 05. 08

(71) 申请人 沃泰克斯药物股份有限公司

地址 美国马萨诸塞

(72) 发明人 M·J·沃维耶斯 R·卡尔卡里

M·D·摩尔

权利要求书13页 说明书84页 附图8页

(54) 发明名称

用于治疗 CFTR 介导的疾病的药物组合物

(57) 摘要

公开了包含 3-(6-(1-(2,2- 二氟苯并 [d]
[1,3] 间二氧杂环戊烯 -5- 基) 环丙烷甲酰氨
基)-3- 甲基吡啶 -2- 基) 苯甲酸 (化合物 1) 形
式 I 和包含基本上无定形的 N-(5- 羟基 -2,4- 二
叔丁基 - 苯基)-4- 氧代 -1H- 喹啉 -3- 甲酰胺 (化
合物 2) 的固体分散体的药物组合物 ; 治疗 CFTR
介导的疾病例如囊性纤维化、减轻其严重性或
对症治疗它们的方法 ; 其施用方法和药盒。

1. 药物组合物, 包含固定剂量的 3-(6-(1-(2,2- 二氟苯并 [d][1,3] 间二氧杂环戊烯-5- 基) 环丙烷甲酰氨基)-3- 甲基吡啶-2- 基) 苯甲酸 (化合物 1) 的形式 I 和包含基本上无定形的 N-(5- 羟基-2,4- 二叔丁基- 苯基)-4- 氧代-1H- 喹啉-3- 甲酰胺 (化合物 2) 的固体分散体。

2. 权利要求 1 的药物组合物, 还包含:

- a. 填充剂;
- b. 崩解剂;
- c. 表面活性剂; 和
- d. 粘合剂;

称作 PC-I。

3. 权利要求 1 的药物组合物, 包含 30 — 55 重量百分比的化合物 1 形式 I 和 10 — 45 重量百分比的包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体。

4. 权利要求 2 的药物组合物, 具有如下配方:

	%重量
化合物 1 形式 I	35-50
包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体	25-40
微晶纤维素	10-20
交联羧甲基纤维素钠	1-3
月桂基硫酸钠	0.5-2
聚乙烯吡咯烷酮	0-5

称作 PC-II。

5. 药物组合物, 包含:

- a. 化合物 1 形式 I;
- b. 包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体;
- c. 填充剂;
- d. 崩解剂;
- e. 表面活性剂;
- f. 粘合剂; 和
- g. 润滑剂;

称作 PC-III。

6. 权利要求 5 的药物组合物, 包含约 100 — 250mg 的化合物 1 形式 I 和约 80 — 150mg 的基本上无定形的化合物 2。

7. 权利要求 5 的药物组合物, 包含约 200mg 的化合物 1 形式 I 和约 125mg 的基本上无定形的化合物 2。

8. 权利要求 5 的药物组合物, 包含约 200mg 的化合物 1 形式 I 和约 83mg 的基本上无定形的化合物 2。

9. 权利要求 5 的药物组合物, 包含约 150mg 的化合物 1 形式 I 和约 125mg 的基本上无定形的化合物 2。

10. 权利要求 5 的药物组合物, 包含 25 — 50 重量百分比的化合物 1 形式 I 和 15 — 35 重量百分比的包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体。

11. 权利要求 5 的药物组合物, 具有如下配方:

	%重量
化合物 1 形式 I	25-50
包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体	15-35
微晶纤维素	20-30
交联羧甲基纤维素钠	3-10
月桂基硫酸钠	0.5-2
聚乙烯吡咯烷酮	0-5
硬脂酸镁	0.5-2

称作 PC-IV。

12. 权利要求 5 的药物组合物, 还包含着色剂和蜡。

13. 权利要求 2 的药物组合物, 其中该药物组合物是固体口服药物组合物。

14. 权利要求 13 的药物组合物, 其中所述固体口服药物组合物是颗粒。

15. 权利要求 14 的颗粒, 具有如下配方:

	%重量
化合物 1 形式 I	43
包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体	34
微晶纤维素	17
交联羧甲基纤维素钠	2
月桂基硫酸钠	1
聚乙烯吡咯烷酮	3

称作 PC-V。

16. 权利要求 14 的颗粒, 具有如下配方:

	%重量
化合物 1 形式 I	38
包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体	40
微晶纤维素	16
交联羧甲基纤维素钠	2
月桂基硫酸钠	1
聚乙烯吡咯烷酮	3

称作 PC-VI。

17. 权利要求 14 的颗粒, 具有如下配方:

	%重量
化合物 1 形式 I	51
包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体	27
微晶纤维素	16
交联羧甲基纤维素钠	2
月桂基硫酸钠	1
聚乙烯吡咯烷酮	3

称作 PC-VII。

18. 权利要求 5 的药物组合物, 其中该药物组合物是固体口服药物组合物。

19. 权利要求 18 的药物组合物, 其中所述固体口服药物组合物是片剂。

20. 权利要求 19 的片剂, 具有如下配方:

	%重量
化合物 1 形式 I	35
包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体	28
微晶纤维素	26
交联羧甲基纤维素钠	6
月桂基硫酸钠	1
聚乙烯吡咯烷酮	3
硬脂酸镁	1

称作 PC-VIII。

21. 权利要求 19 的片剂, 具有如下配方:

	%重量
化合物 1 形式 I	31
包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体	32
微晶纤维素	26
交联羧甲基纤维素钠	6
月桂基硫酸钠	1
聚乙烯吡咯烷酮	3
硬脂酸镁	1

称作 PC-IX。

22. 权利要求 19 的片剂, 具有如下配方:

	%重量
化合物 1 形式 I	41
包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体	22
微晶纤维素	26
交联羧甲基纤维素钠	6
月桂基硫酸钠	1
聚乙烯吡咯烷酮	3
硬脂酸镁	1

称作 PC-X。

23. 权利要求 19 的片剂, 具有如下配方:

	mg
化合物 1 形式 I	200
包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体	156
微晶纤维素	150
交联羧甲基纤维素钠	34
月桂基硫酸钠	4
聚乙烯吡咯烷酮	15
硬脂酸镁	6

称作 PC-XI。

24. 权利要求 19 的片剂, 具有如下配方:

	mg
化合物 1 形式 I	150
包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体	156
微晶纤维素	129
交联羧甲基纤维素钠	30
月桂基硫酸钠	4
聚乙烯吡咯烷酮	13
硬脂酸镁	5

称作 PC-XII。

25. 权利要求 19 的片剂, 具有如下配方:

	mg
化合物 1 形式 I	200
包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体	104
微晶纤维素	128
交联羧甲基纤维素钠	29
月桂基硫酸钠	4
聚乙烯吡咯烷酮	13
硬脂酸镁	5

称作 PC-XIII。

26. 权利要求 19 的片剂, 具有如下配方:

	%重量
化合物 1 形式 I	34
包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体	27
微晶纤维素	25
交联羧甲基纤维素钠	6
月桂基硫酸钠	1
聚乙烯吡咯烷酮	3
硬脂酸镁	1
着色剂	3

称作 PC-XIV。

27. 权利要求 19 的片剂, 具有如下配方:

	%重量
化合物 1 形式 I	30
包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体	31
微晶纤维素	25
交联羧甲基纤维素钠	6
月桂基硫酸钠	1
聚乙烯吡咯烷酮	3
硬脂酸镁	1
着色剂	3

称作 PC-XV。

28. 权利要求 19 的片剂, 具有如下配方:

	%重量
--	-----

化合物 1 形式 I	40
包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体	21
微晶纤维素	25
交联羧甲基纤维素钠	6
月桂基硫酸钠	1
聚乙烯吡咯烷酮	3
硬脂酸镁	1
着色剂	3

称作 PC-XVI。

29. 权利要求 19 的片剂, 具有如下配方:

	mg
化合物 1 形式 I	200
包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体	156
微晶纤维素	150
交联羧甲基纤维素钠	34
月桂基硫酸钠	4
聚乙烯吡咯烷酮	15
硬脂酸镁	6
着色剂	17

称作 PC-XVII。

30. 权利要求 19 的片剂, 具有如下配方:

	mg
化合物 1 形式 I	200
基本上无定形的化合物 2	125

微晶纤维素	150
交联羧甲基纤维素钠	34
月桂基硫酸钠	4
聚乙烯吡咯烷酮	15
硬脂酸镁	6
着色剂	17

称作 PC-XVIII。

31. 权利要求 19 的片剂, 具有如下配方:

	mg
化合物 1 形式 I	150
包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体	156
微晶纤维素	129
交联羧甲基纤维素钠	29
月桂基硫酸钠	4
聚乙烯吡咯烷酮	13
硬脂酸镁	5
着色剂	15

称作 PC-XIX。

32. 权利要求 19 的片剂, 具有如下配方:

	mg
化合物 1 形式 I	200
包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体	104
微晶纤维素	128
交联羧甲基纤维素钠	29
月桂基硫酸钠	4

聚乙烯吡咯烷酮	13
硬脂酸镁	5
着色剂	14

称作 PC-XX。

33. 权利要求 19 的片剂, 具有如下配方:

	mg
化合物 1 形式 I	200
包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体	83
微晶纤维素	128
交联羧甲基纤维素钠	29
月桂基硫酸钠	4
聚乙烯吡咯烷酮	13
硬脂酸镁	5
着色剂	14

称作 PC-XXI。

34. 权利要求 19 的片剂, 具有如下配方:

成分	%重量
化合物 1 形式 I	20-40
包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体	30-40
微晶纤维素	20-30
交联羧甲基纤维素钠	1-10
聚乙烯吡咯烷酮	1-5
月桂基硫酸钠	0.1-1
硬脂酸镁	0.5-1.5

称作 PC-XXII。

35. 权利要求 19 的片剂, 具有如下配方:

成分	mg/片
化合物 1 形式 I	100
包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体	156
微晶纤维素	55
交联羧甲基纤维素钠	7
聚乙烯吡咯烷酮	11
月桂基硫酸钠	3
总颗粒	332
交联羧甲基纤维素钠	18
微晶纤维素	53
硬脂酸镁	4
总片剂	407

称作 PC-XXIII。

36. 权利要求 19 的片剂,具有如下配方:

成分	mg/片
化合物 1 形式 I	150
包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体	156
微晶纤维素	65
交联羧甲基纤维素钠	8
聚乙烯吡咯烷酮	13
月桂基硫酸钠	4
总颗粒	396
交联羧甲基纤维素钠	22

微晶纤维素	64
硬脂酸镁	5
总片剂	487

称作 PC-XXIV。

37. 权利要求 19 的片剂, 具有如下配方:

成分	mg/片
化合物 1 形式 I	75
包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体	156
微晶纤维素	49
交联羧甲基纤维素钠	6
聚乙烯吡咯烷酮	10
月桂基硫酸钠	3
总颗粒	299
交联羧甲基纤维素钠	17
微晶纤维素	48
硬脂酸镁	4
片芯片剂	368
粉红色欧巴代	11
总片剂	379

称作 PC-XXV。

38. 治疗患者囊性纤维化、减轻其严重性或对症治疗患者囊性纤维化的方法, 包括向所述患者施用有效量的权利要求 1 所述的药物组合物。

39. 权利要求 38 的方法, 其中所述药物组合物具有 PC-I 至 PC-XXV 的任意一种的配方。

40. 权利要求 38 的方法, 其中所述患者具有 $\Delta F508$ CFTR 突变。

41. 权利要求 40 的方法, 其中所述患者为 $\Delta F508$ 纯合的。

42. 权利要求 40 的方法, 其中所述患者为 $\Delta F508$ 杂合的。

43. 制备颗粒的方法, 包括对如下成分进行湿法制粒:

- a. 化合物 1 形式 I;
- b. 包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体;
- c. 填充剂;

- d. 崩解剂；
- e. 表面活性剂；和
- f. 粘合剂。

44. 制备片剂的方法，包括压制如下成分：

- i) 包含如下成分的多颗粒药物组合物：
 - a. 化合物 1 形式 I；
 - b. 包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体；
 - c. 填充剂；
 - d. 崩解剂；
 - e. 表面活性剂；和
 - f. 粘合剂；
- ii) 崩解剂；
- iii) 填充剂；和
- iv) 润滑剂。

45. 制备包含化合物 1 形式 I 和包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体的片剂的连续工艺，包括以下步骤：

- a) 在共混机中混合化合物 1 形式 I、包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体、填充剂和崩解剂以形成共混物；
- b) 用水、粘合剂和表面活性剂制备制粒液；
- c) 在添加得自步骤 b) 的所述制粒液的同时将得自步骤 a) 的所述共混物进料入连续双螺杆制粒机以产生颗粒；
- d) 对得自步骤 c) 的所述颗粒进行干燥并研磨它们；
- e) 将得自步骤 d) 的研磨后的颗粒与填充剂、崩解剂和润滑剂共混以形成共混物；和
- f) 将得自步骤 e) 的所述共混物压成片剂。

46. 药盒，包含权利要求 1 所述的药物组合物和单独的治疗剂。

47. 权利要求 46 的药盒，其中所述药物组合物和所述治疗剂在分开的容器中。

48. 权利要求 47 的药盒，其中所述容器是瓶子、小瓶或泡罩包装或其组合。

用于治疗 CFTR 介导的疾病的药物组合物

[0001] 相关申请的交叉参考

[0002] 本申请要求如下美国临时专利申请顺序号的优先权：2012 年 11 月 2 日提交的 61/721,622；2012 年 11 月 20 日提交的 61/728,328；2013 年 2 月 28 日提交的 61/770,668；2013 年 5 月 16 日提交的 61/824,005；和 2013 年 6 月 28 日提交的 61/840,668，将所有这些申请的内容完整地引入本文参考。

技术领域

[0003] 本发明涉及包含 3-(6-(1-(2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)环丙烷甲酰氨基)-3-甲基吡啶-2-基)苯甲酸(化合物 1)的形式 I 和包含基本上无定形的 N-(5-羟基-2,4-二叔丁基-苯基)-4-氧代-1H-喹啉-3-甲酰胺(化合物 2)的固体分散体的药物组合物、治疗方法、制备方法、施用方法及其药盒。

背景技术

[0004] 囊性纤维化(CF)是一种隐性遗传疾病,其在美国影响大约 30,000 儿童和成年人,并在欧洲影响大约 30,000 儿童和成年人。尽管 CF 的治疗取得了进展,仍然不可治愈。

[0005] 在患有 CF 的患者中,在呼吸上皮细胞中内源性表达的 CFTR 突变引起顶端阴离子分泌减少,引起离子和流体转运失衡。所引起的阴离子转运减少促进肺中的粘液蓄积增加,以及伴随的微生物感染,其最终导致 CF 患者死亡。除了呼吸疾病以外,CF 患者典型地还遭受胃肠问题和胰腺功能不全的痛苦,其如果不经治疗,会导致死亡。另外,大多数患有囊性纤维化的男性不能生育,而患有囊性纤维化的女性生育力下降。与两个拷贝 CF 相关基因的严重效应相反,带有单拷贝 CF 相关基因的个体表现出对霍乱和因腹泻所致脱水的抗性的增加—也许这解释了人群中相对高频率的 CF 基因的原因。

[0006] CF 染色体的 CFTR 基因的序列分析已经揭示多种致病性突变(Cutting, G. R. 等人(1990)Nature346:366-369;Dean, M. 等人(1990)Cell61:863-870;和 Kerem, B-S. 等人(1989)Science245:1073-1080;Kerem, B-S 等人(1990)Proc. Natl. Acad. Sci. USA87:8447-8451)。迄今为止,已鉴定了 CF 基因中超过 1000 个致病性突变(<http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/app>)。最普遍的突变是 CFTR 氨基酸序列的 508 位苯丙氨酸的缺失,通常将其称为 $\Delta F508$ -CFTR。这种突变发生在大约 70% 的囊性纤维化病例中,并与严重的疾病相关联。

[0007] $\Delta F508$ -CFTR 中 508 位残基的缺失阻止了新生蛋白的正确折叠。这导致该突变蛋白不能退出 ER 和转运至质膜。其结果是,膜中存在的通道数量远少于在表达野生型 CFTR 的细胞中所观察到的数量。除了转运受损外,这种突变导致缺陷性通道门控。合起来,膜中通道数量的减少和缺陷性门控导致通过上皮的阴离子转运减少,导致缺陷性离子和流体转运。(Quinton, P. M. (1990), FASEB J. 4:2709-2727)。然而,研究表明,膜中 $\Delta F508$ -CFTR 数量的减少是功能性的,尽管其比野生型 CFTR 少。(Dalemans 等人(1991), Nature Lond. 354:526-528;Denning 等人,同上;Pasyk 和 Foskett(1995), J. Cell. Biochem. 270:12347-50)。

除 $\Delta F508$ -CFTR 之外, CFTR 中导致缺陷性转运、合成和 / 或通道门控的其它引起疾病的突变可被上调或下调以改变阴离子分泌, 并且改变疾病进程和 / 或严重性。

[0008] 盐的形式的化合物 1 在国际 PCT 公开号 W02007056341 和美国专利号 US7, 741, 321 中被公开为 CFTR 活性的诱导剂, 且由此作为用于 CFTR- 介导的疾病例如囊性纤维化的有用的治疗手段。化合物 1 形式 I 基本上是结晶和不含盐的形式, 其公开在国际 PCT 公开号 W02009073757 和美国专利号 US8, 507, 534 中。化合物 2 在国际 PCT 公开号 W02006002421 和美国专利号 US7, 495, 103 中被公开作为 CFTR 活性的诱导剂, 且作为用于 CFTR- 介导的疾病例如囊性纤维化的有用的治疗手段。包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体公开在国际 PCT 公开号 W02010019239 和美国公布的专利申请号 US20100074949 中。将所有上述申请和专利作为参考的形式完整地并入本文。

[0009] 已经证实为 CFTR 增效剂 (例如化合物 2) 的化合物和为 CFTR 纠正剂 (例如化合物 1) 的化合物独立地具有在治疗 CFTR 相关疾病 (例如囊性纤维化) 中的用途。

[0010] 因此, 对于涉及 CFTR 纠正剂和增效剂化合物的 CFTR 介导的疾病的新治疗方法存在需求。

[0011] 具体地, 对于包括 CFTR 增效剂和纠正剂化合物的治疗 CFTR 介导的疾病 (例如囊性纤维化) 的联合疗法存在需求。

[0012] 更具体地, 对于治疗 CFTR 介导的疾病 (例如囊性纤维化) 的联合疗法存在需求, 所述联合疗法包括 CFTR 增效剂化合物 (例如基本上无定形的化合物 2) 与 CFTR 纠正剂化合物 (例如化合物 1 形式 I) 的组合。

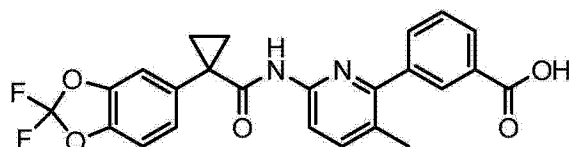
[0013] 作为与化合物 2 的组合的一部分的化合物 1 已被美国食品和药物监督管理局 (FDA) 授予用于治疗囊性纤维化的突破性疗法认定, 它是在提交本申请时仅有的两个此类授予中的一个 (另一个为化合物 2)。这表明对于通过对症治疗而对囊性纤维化的原因进行有效治疗存在显著的尚未满足的需求。另外, 经 FDA 批准的药物的共同挑战是对于有需要的患者而言有时无药可用。因此, 对于目前公开的化合物 1 和化合物 2 制剂以及以连续和受控的方式制备它们的工艺存在明显尚未满足的需求。

[0014] 另外, 对治疗方案和剂量具有依从性的患者主要依赖于药物易于施用。包含固定剂量的 CFTR 纠正剂和 CFTR 增效剂的药物组合物对于治疗 CFTR 介导的疾病、例如囊性纤维化而言是显著的突破, 其中所述纠正剂和增效剂的固体形式是稳定的。

发明内容

[0015] 本发明的特征在于: 药物组合物, 其包含: 3-(6-(1-(2, 2-二氟苯并[d][1, 3]间二氧杂环戊烯-5-基)环丙烷甲酰氨基)-3-甲基吡啶-2-基)苯甲酸, 即化合物 1 形式 I, 其具有如下结构:

[0016]

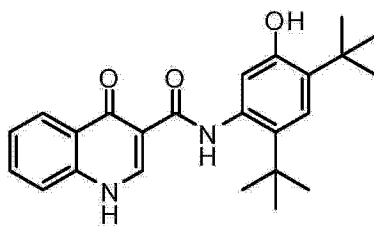


[0017] 化合物 1 ;和

[0018] 固体分散体的基本上无定形的 N-(5-羟基-2,4-二叔丁基-苯基)-4-氧

代-1H- 喹啉-3- 甲酰胺,即化合物 2,其具有如下结构:

[0019]



[0020] 化合物 2;

[0021] 所述药物组合物的治疗方法;制备方法;施用方法;及其药盒。

[0022] 在一个方面,本发明的特征在于药物组合物,其包含:

[0023] a. 化合物 1 形式 I;

[0024] b. 包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体;

[0025] c. 填充剂;

[0026] d. 崩解剂;

[0027] e. 表面活性剂;和

[0028] f. 粘合剂;

[0029] 称作 PC-I。

[0030] 在一个实施方案中,本发明的药物组合物包含 30 — 55 重量百分比的化合物 1 形式 I 和 10 — 45 重量百分比的包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体。

[0031] 在一个实施方案中,所述填充剂选自纤维素、改性纤维素、羧甲基纤维素钠、乙基纤维素、羟甲基纤维素钠、羟丙基纤维素、醋酸纤维素、微晶纤维素、磷酸氢钙、蔗糖、乳糖、玉米淀粉、马铃薯淀粉或其任意的组合。在另一个实施方案中,所述填充剂是微晶纤维素且存在量为 10 — 20 重量百分比。

[0032] 在一个实施方案中,所述崩解剂选自琼脂、藻类、碳酸钙、羧甲基纤维素、纤维素、羟丙基纤维素、低取代的羟丙基纤维素、粘土、交联羧甲基纤维素钠、交聚维酮、树胶、硅酸镁铝、甲基纤维素、聚克立林钾、藻酸钠、淀粉羟乙酸钠、玉米淀粉、马铃薯淀粉、木薯淀粉或其任意的组合。在另一个实施方案中,所述崩解剂是交联羧甲基纤维素钠且存在量为 1 — 3 重量百分比。

[0033] 在一个实施方案中,所述表面活性剂选自月桂基硫酸钠、硬脂酰醇富马酸钠、聚氧乙烯山梨糖醇酐单油酸酯或其任意的组合。在另一个实施方案中,所述表面活性剂是月桂基硫酸钠且存在量为 0.5 — 2 重量百分比。

[0034] 在一个实施方案中,所述粘合剂选自聚乙烯吡咯烷酮、磷酸氢钙、蔗糖、玉米淀粉、改性纤维素或其任意的组合。在另一个实施方案中,所述粘合剂是聚乙烯吡咯烷酮且存在量为 0 — 5 重量百分比。

[0035] 在一个实施方案中,本发明的特征在于如下配方的药物组合物:

	%重量
化合物 1 形式 I	35-50
包含基本上无定形的 化合物 2 的固体分散体	25-40
微晶纤维素	10-20
交联羧甲基纤维素钠	1-3
月桂基硫酸钠	0.5-2
聚乙烯吡咯烷酮	0-5

[0036] 称作 PC-II。

[0037] 在另一个方面,本发明的特征在于药物组合物,其包含:

[0038] a. 化合物 1 形式 I;

[0039] b. 包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体;

[0040] c. 填充剂;

[0041] d. 崩解剂;

[0042] e. 表面活性剂;

[0043] f. 粘合剂;和

[0044] g. 润滑剂;

[0045] 称作 PC-III。

[0046] 在一个实施方案中,本发明的药物组合物包含约 100 — 250mg 的化合物 1 形式 I 和约 100 — 150mg 的基本上无定形的化合物 2。在另一个实施方案中,本发明的药物组合物包含约 200mg 的化合物 1 形式 I 和约 125mg 的基本上无定形的化合物 2。在另一个实施方案中,本发明的药物组合物包含约 150mg 的化合物 1 形式 I 和约 125mg 的基本上无定形的化合物 2。

[0047] 在一个实施方案中,本发明的药物组合物包含 25 — 50 重量百分比的化合物 1 形式 I 和 15 — 35 重量百分比的包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体。

[0048] 在一个实施方案中,所述填充剂选自纤维素、改性纤维素、羧甲基纤维素钠、乙基纤维素羟甲基纤维素钠、羟丙基纤维素、醋酸纤维素、微晶纤维素、磷酸氢钙、蔗糖、乳糖、玉米淀粉、马铃薯淀粉或其任意的组合。在另一个实施方案中,所述填充剂是微晶纤维素且存在量为 20 — 30 重量百分比。

[0049] 在一个实施方案中,所述崩解剂选自琼脂、藻类、碳酸钙、羧甲基纤维素、纤维素、羟丙基纤维素、低取代的羟丙基纤维素、粘土、交联羧甲基纤维素钠、交聚维酮、树胶、硅酸镁铝、甲基纤维素、聚克立林钾、藻酸钠、淀粉羟乙酸钠、玉米淀粉、马铃薯淀粉、木薯淀粉或其任意的组合。在另一个实施方案中,所述崩解剂是交联羧甲基纤维素钠且存在量为 3 — 10 重量百分比。

[0050] 在一个实施方案中,所述表面活性剂选自月桂基硫酸钠、硬脂酰醇富马酸钠、聚氧乙烯山梨糖醇酐单油酸酯或其任意的组合。在另一个实施方案中,所述表面活性剂是月桂

基硫酸钠且存在量为 0.5 — 2 重量百分比。

[0051] 在一个实施方案中,所述粘合剂选自聚乙烯吡咯烷酮、磷酸氢钙、蔗糖、玉米淀粉,改性纤维素或其任意的组合。在另一个实施方案中,所述粘合剂是聚乙烯吡咯烷酮且存在量为 0 — 5 重量百分比。

[0052] 在一个实施方案中,所述润滑剂选自硬脂酸镁、硬脂酸钙、硬脂酸锌、硬脂酸钠、硬脂酸铝、亮氨酸、山嵛酸甘油酯、氢化植物油或其任意的组合。在另一个实施方案中,所述润滑剂是硬脂酸镁且存在量为 0.5 — 2 重量百分比。

[0053] 在一个实施方案中,本发明的特征在于如下配方的药物组合物:

	%重量
化合物 1 形式 I	25-50
包含基本上无定形的 化合物 2 固体分散体	15-35
微晶纤维素	20-30
交联羧甲基纤维素钠	3-10
月桂基硫酸钠	0.5-2
聚乙烯吡咯烷酮	0-5
硬脂酸镁	0.5-2

[0054] 称作 PC-IV。

[0055] 在一个实施方案中,本发明的药物组合物还包含着色剂和任选的蜡。在另一个实施方案中,本发明的着色剂的存在量为 2 — 4 重量百分比。在另一个实施方案中,所述蜡是巴西棕榈蜡,其存在量为 0 — 0.020 重量百分比。

[0056] 在一个实施方案中,本发明的药物组合物是固体口服药物组合物。在另一个实施方案中,所述固体口服药物组合物是颗粒药物组合物或片剂。

[0057] 在一个实施方案中,本发明的颗粒组合物具有如下配方:

[0058]

	%重量
化合物 1 形式 I	43
包含基本上无定形的 化合物 2 的固体分散体	34
微晶纤维素	17
交联羧甲基纤维素钠	2
月桂基硫酸钠	1
聚乙烯吡咯烷酮	3

[0059] 称作 PC-V。

[0060] 在一个实施方案中,本发明的颗粒组合物具有如下配方:

[0061]

	%重量
化合物 1 形式 I	38
包含基本上无定形的 化合物 2 的固体分散体	40
微晶纤维素	16
交联羧甲基纤维素钠	2
月桂基硫酸钠	1
聚乙烯吡咯烷酮	3

[0062] 称作 PC-VI。

[0063] 在一个实施方案中,本发明的颗粒组合物具有如下配方:

[0064]

	%重量
化合物 1 形式 I	51
包含基本上无定形的 化合物 2 的固体分散体	27
微晶纤维素	16
交联羧甲基纤维素钠	2
月桂基硫酸钠	1
聚乙烯吡咯烷酮	3

[0065] 称作 PC-VII。

[0066] 在一个实施方案中,本发明的片剂具有如下配方:

[0067]

	%重量
化合物 1 形式 I	35
包含基本上无定形的 化合物 2 的固体分散体	28
微晶纤维素	26

[0068]

交联羧甲基纤维素钠	6
月桂基硫酸钠	1
聚乙烯吡咯烷酮	3
硬脂酸镁	1

[0069] 称作 PC-VIII。

[0070] 在一个实施方案中,本发明的片剂具有如下配方:

[0071]

	%重量
化合物 1 形式 I	31
包含基本上无定形的 化合物 2 的固体分散体	32
微晶纤维素	26
交联羧甲基纤维素钠	6
月桂基硫酸钠	1
聚乙烯吡咯烷酮	3
硬脂酸镁	1

[0072] 称作 PC-IX。

[0073] 在一个实施方案中,本发明的片剂具有如下配方:

[0074]

	%重量
化合物 1 形式 I	41
包含基本上无定形的 化合物 2 的固体分散体	22
微晶纤维素	26
交联羧甲基纤维素钠	6
月桂基硫酸钠	1
聚乙烯吡咯烷酮	3
硬脂酸镁	1

[0075] 称作 PC-X。

[0076] 在一个实施方案中,本发明的片剂具有如下配方:

[0077]

	mg
化合物 1 形式 I	200
包含基本上无定形的 化合物 2 的固体分散体	156
微晶纤维素	150
交联羧甲基纤维素钠	34
月桂基硫酸钠	4
聚乙烯吡咯烷酮	15
硬脂酸镁	6

[0078] 称作 PC-XI。

[0079] 在一个实施方案中,本发明的片剂具有如下配方:

[0080]

	mg
化合物 1 形式 I	150
包含基本上无定形的 化合物 2 的固体分散体	156
微晶纤维素	129
交联羧甲基纤维素钠	30
月桂基硫酸钠	4
聚乙烯吡咯烷酮	13
硬脂酸镁	5

[0081] 称作 PC-XII。

[0082] 在一个实施方案中,本发明的片剂具有如下配方:

[0083]

	mg
化合物 1 形式 I	200
包含基本上无定形的	104

[0084]

化合物 2 的固体分散体	
--------------	--

微晶纤维素	128
交联羧甲基纤维素钠	29
月桂基硫酸钠	4
聚乙烯吡咯烷酮	13
硬脂酸镁	5

[0085] 称作 PC-XIII。

[0086] 在一个实施方案中,本发明的片剂具有如下配方:

[0087]

	%重量
化合物 1 形式 I	34
包含基本上无定形的 化合物 2 的固体分散体	27
微晶纤维素	25
交联羧甲基纤维素钠	6
月桂基硫酸钠	1
聚乙烯吡咯烷酮	3
硬脂酸镁	1
着色剂	3

[0088] 称作 PC-XIV。

[0089] 在一个实施方案中,本发明的片剂具有如下配方:

[0090]

	%重量
化合物 1 形式 I	30
包含基本上无定形的 化合物 2 的固体分散体	31
微晶纤维素	25
交联羧甲基纤维素钠	6
月桂基硫酸钠	1

[0091]

聚乙烯吡咯烷酮	3
硬脂酸镁	1
着色剂	3

[0092] 称作 PC-XV。

[0093] 在一个实施方案中,本发明的片剂具有如下配方:

[0094]

	%重量
化合物 1 形式 I	40
包含基本上无定形的 化合物 2 的固体分散体	21
微晶纤维素	25
交联羧甲基纤维素钠	6
月桂基硫酸钠	1
聚乙烯吡咯烷酮	3
硬脂酸镁	1
着色剂	3

[0095] 称作 PC-XVI。

[0096] 在一个实施方案中,本发明的片剂具有如下配方:

[0097]

	mg
化合物 1 形式 I	200
包含基本上无定形的 化合物 2 的固体分散体	156
微晶纤维素	150
交联羧甲基纤维素钠	34
月桂基硫酸钠	4
聚乙烯吡咯烷酮	15
硬脂酸镁	6
着色剂	17

[0098] 称作 PC-XVII。

[0099] 在一个实施方案中,本发明的片剂具有如下配方:

[0100]

	mg
化合物 1 形式 I	200
基本上无定形的 化合物 2	125
微晶纤维素	150
交联羧甲基纤维素钠	34
月桂基硫酸钠	4
聚乙烯吡咯烷酮	15
硬脂酸镁	6
着色剂	17

[0101] 称作 PC-XVIII。

[0102] 在一个实施方案中,本发明的片剂具有如下配方:

[0103]

	mg
化合物 1 形式 I	150
包含基本上无定形的 化合物 2 的固体分散体	156
微晶纤维素	129
交联羧甲基纤维素钠	29
月桂基硫酸钠	4
聚乙烯吡咯烷酮	13
硬脂酸镁	5
着色剂	15

[0104] 称作 PC-XIX。

[0105] 在一个实施方案中,本发明的片剂具有如下配方:

[0106]

	mg
化合物 1 形式 I	200
包含基本上无定形的 化合物 2 的固体分散体	104
微晶纤维素	128
交联羧甲基纤维素钠	29
月桂基硫酸钠	4
聚乙烯吡咯烷酮	13
硬脂酸镁	5
着色剂	14

[0107] 称作 PC-XX。

[0108] 在一个实施方案中,本发明的片剂具有如下配方:

[0109]

	mg
化合物 1 形式 I	200
包含基本上无定形的 化合物 2 的固体分散体	83
微晶纤维素	128
交联羧甲基纤维素钠	29
月桂基硫酸钠	4
聚乙烯吡咯烷酮	13
硬脂酸镁	5
着色剂	14

[0110] 称作 PC-XXI。

[0111] 在一个实施方案中,本发明的片剂具有如下配方:

[0112]

成分	%重量
化合物 1 形式 I	20-40
包含基本上无定形的	30-40

[0113]

化合物 2 的固体分散体	
微晶纤维素	20-30
交联羧甲基纤维素钠	1-10
聚乙烯吡咯烷酮	1-5
月桂基硫酸钠	0.1-1
硬脂酸镁	0.5-1.5

[0114] 称作 PC-XXII。

[0115] 在一个实施方案中,本发明的片剂具有如下配方:

[0116]

化合物 1/化合物 2 100 mg/125 mg			
成分	在颗粒中的%	在片剂中的%	mg/片
化合物 1 形式 I	30	25	100
包含基本上无定形的 化合物 2 的固体分散体	47	38	156
微晶纤维素	17	13	55
交联羧甲基纤维素钠	2	2	7
聚乙烯吡咯烷酮	3	3	11
月桂基硫酸钠	1	1	3
总颗粒	100	82	332
交联羧甲基纤维素钠		4	18
微晶纤维素		13	53
硬脂酸镁		1	4
总片剂		100	407

[0117] 称作 PC-XXIII。

[0118] 在一个实施方案中,本发明的片剂具有如下配方:

[0119]

化合物 1/化合物 2 150 mg/125 mg			
成分	在颗粒中的%	在片剂中的%	mg/片
化合物 1 形式 I	38	31	150
包含基本上无定形的 化合物 2 的固体分散体	40	32	156
微晶纤维素	16	13	65
交联羧甲基纤维素钠	2	2	8
聚乙烯吡咯烷酮	3	3	13

[0120]

月桂基硫酸钠	1	1	4
总颗粒	100	82	396
交联羧甲基纤维素钠		4	22
微晶纤维素		13	64
硬脂酸镁		1	5
总片剂		100	487

[0121] 称作 PC-XXIV。

[0122] 在一个实施方案中,本发明的片剂具有如下配方:

[0123]

化合物 1/化合物 2 75 mg/125 mg			
成分	在颗粒中的%	在片剂中的%	mg/片
化合物 1 形式 I	25	20	75
包含基本上无定形的 化合物 2 的固体分散体	52	43	156
微晶纤维素	17	13	49
交联羧甲基纤维素钠	2	2	6
聚乙烯吡咯烷酮	3	3	10
月桂基硫酸钠	1	1	3
总颗粒	100	82	299
交联羧甲基纤维素钠		4	17
微晶纤维素		13	48
硬脂酸镁		1	4
片芯片剂		100	368
粉红色欧巴代		3	11
薄膜包衣片			379

[0124] 称作 PC-XXV。

[0125] 在一个方面,本发明的特征在于治疗或对症治疗患者的囊性纤维化、减轻其严重

性的方法,包括对该患者施用有效量的本发明的药物组合物、颗粒药物组合物或片剂。

[0126] 在实施方案中,本发明的特征在于治疗或对症治疗患者的囊性纤维化、减轻其严重性的方法,包括对该患者施用有效量的制剂 PC-I — PC-XXV 的任意一种的药物组合物、颗粒药物组合物或片剂。

[0127] 在一个实施方案中,所述患者具有 $\Delta F508CFTR$ 突变。在另一个实施方案中,所述患者为纯合型的 $\Delta F508$ 。在另一个实施方案中,所述患者为杂合型的 $\Delta F508$ 。在另一个实施方案中,每天将两种片剂施用于患者。

[0128] 在一个方面,本发明的特征在于制备颗粒药物组合物的方法,所述颗粒药物组合物包含湿法制粒的如下成分:

[0129] a. 化合物 1 形式 I;

[0130] b. 包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体;

[0131] c. 填充剂;

[0132] d. 崩解剂;

[0133] e. 表面活性剂;和

[0134] f. 粘合剂。

[0135] 在一个方面,本发明的特征在于制备片剂的方法,包括压制:

[0136] i) 包含如下成分的多颗粒药物组合物:

[0137] a. 化合物 1 形式 I;

[0138] b. 包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体;

[0139] c. 填充剂;

[0140] d. 崩解剂;

[0141] e. 表面活性剂;和

[0142] f. 粘合剂;

[0143] ii) 崩解剂;

[0144] iii) 填充剂;和

[0145] iv) 润滑剂。

[0146] 在一个方面,本发明的特征在于药盒,其包含本发明的药物组合物、颗粒药物组合物或片剂和单独治疗剂或其药物组合物。

[0147] 在一个实施方案中,本发明的药物组合物、颗粒药物组合物或片剂和单独治疗剂或其药物组合物在公开的容器中。在另一个实施方案中,所述公开的容器是瓶子。在另一个实施方案中,所述公开的容器是小瓶。在另一个实施方案中,所述公开的容器是泡罩包装。

[0148] 在另一个方面,本发明提供通过双螺杆湿法制粒工艺制备本文所述的药物组合物的连续或半连续工艺,包括以下步骤:筛选并称取化合物 1、化合物 2 和赋形剂;将化合物 1、化合物 2 和赋形剂在共混机中混合,并且在添加含有表面活性剂和粘合剂的制粒流体的同时以适合的速率使共混物进料至连续制粒机中持续适当量的时间,并将混合物切碎成颗粒;干燥颗粒;将颗粒与颗粒外的赋形剂共混适当量的时间;将共混物压成片剂;对片剂进行包衣;以及任选地在一个或两个片剂表面上印刷字母图案。

附图说明

[0149] 图 1 是由化合物 1 形式 I 的单个晶体结构计算的 X 射线衍射图。

[0150] 图 2 是化合物 1 形式 I 的实际 X 射线粉末衍射图。

[0151] 图 3 是示意图,其描述对于通过高剪切制粒 (HSG) 工艺和双螺杆湿法制粒 (TSWG) 工艺制备的片剂的化合物 1pH 梯度溶出曲线 (LOD 表示干燥失重,即定义粉末 / 颗粒中水量的测量值)。

[0152] 图 4 是示意图,其描述通过随时间仅显示少量结晶度在 60% 相对湿度下预平衡后在 50℃ 的片剂 PC-XVII 中基本上无定形形式的化合物 2 的稳定性。

[0153] 图 5 是示意图,其描述通过随时间仅显示少量结晶度在 60% 相对湿度下预平衡后在 60℃ 的片剂 PC-XVII 中基本上无定形形式的化合物 2 的稳定性。

[0154] 图 6 是示意图,其描述通过随时间仅显示少量结晶度在 60% 相对湿度下预平衡后在 60℃ 的片剂 PC-XX 中基本上无定形形式的化合物 2 的稳定性。

[0155] 图 7 是示意图,其描述通过随时间仅显示少量结晶度在 60% 相对湿度下预平衡后在 50℃ 的片剂 PC-XX 中基本上无定形形式的化合物 2 的稳定性。

[0156] 图 8 是化合物 1 的 ^1H NMR 光谱。

[0157] 图 9 是化合物 1HCl 盐的 ^1H NMR 光谱。

[0158] 图 10 是痕量的化合物 1 形式 I 的差示扫描量热图 (DSC)。

[0159] 图 11 是基于单晶 X 射线分析的化合物 1 形式 I 的构象图。

[0160] 详细描述

[0161] 定义

[0162] 本文所用的“CFTR”表示囊性纤维化跨膜传导调节因子。

[0163] 本文所用的“ Δ F508 突变”或“F508-de1 突变”是 CFTR 蛋白质内的具体突变。该突变是包含氨基酸苯丙氨酸的密码子的三个核苷酸在位置 508 处的缺失,从而产生不含该特定苯丙氨酸残基的 CFTR 蛋白质。

[0164] 本文所用的对于特定突变 (例如 Δ F508) 是“纯合的”患者在每个等位基因上具有相同的突变。

[0165] 本文所用的对于特定突变 (例如 Δ F508) 是“杂合的”患者在一个等位基因上具有该突变,而在另一个等位基因上具有不同的突变。

[0166] 本文所用的术语“CFTR 纠正剂”是指增加细胞表面功能性 CFTR 蛋白质的量从而导致离子转运增强的化合物。

[0167] 本文所用的术语“CFTR 增效剂”是指增加位于细胞表面的 CFTR 蛋白质的通道活性从而导致离子转运增强的化合物。

[0168] 本文所用的术语“活性药物成分”或“API”是指生物活性化合物。

[0169] 术语“固体形式”和相关术语在本文中用于指代化合物 1 或化合物 2 时是指特定的固体形式,例如晶体、无定形态等。

[0170] 本文所用的术语“基本上无定形的”是指在其分子位置中具有很少或不具有长距秩序排列的固体材料。例如,基本上无定形的材料具有低于约 15% 的结晶度 (例如低于约 10% 的结晶度或低于约 5% 的结晶度)。还应注意,术语“基本上无定形的”包括描述语“无定形的”,其是指不具有 (0%) 结晶度的材料。

[0171] 本文所用的术语“基本上结晶的”(如在短语基本上结晶的化合物 1 形式 I 中)是

指在其分子位置中主要具有长距秩序排列的固体材料。例如,基本上结晶的材料具有大于约 85%的结晶度(例如大于约 90%的结晶度或大于约 95%的结晶度)。还应注意,术语‘基本上结晶的’包括描述语‘结晶的’,其是指具有 100%结晶度的材料。

[0172] 本文所用的术语“结晶的”和相关术语当用于描述物质、成分、产物或形式时是指该物质、成分或产物通过 X 射线衍射测定为基本上结晶的。(参见例如 Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st Ed., Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, Md. (2003) (《雷明顿: 药剂学科学与实践》, 第 21 版, 利平科特·威廉斯·威尔金斯出版公司, 马里兰州巴尔的摩, 2003 年); The United States Pharmacopeia, 23rd ed., 1843-1844 (1995) (《美国药典》, 第 23 版, 第 1843-1844 页, 1995 年))。

[0173] 本文所用的“赋形剂”包括药物组合物中的功能性和非功能性成分。

[0174] 本文所用的“崩解剂”是水合药物组合物并有助于片剂分散的赋形剂。如本文所用, “稀释剂”或“填充剂”是为药物组合物增添膨松度的赋形剂。

[0175] 本文所用的“表面活性剂”是赋予药物组合物增强的溶解性和 / 或润湿性的赋形剂。

[0176] 本文所用的“粘合剂”是赋予药物组合物增强的内聚力或拉伸强度(例如硬度)的赋形剂。

[0177] 本文所用的“助流剂”是赋予药物组合物增强的流动性的赋形剂。

[0178] 本文所用的“着色剂”是赋予药物组合物例如片剂所需的颜色的赋形剂。着色剂的实例包括可商购获得的色素, 例如 FD&C Blue#1 铝色淀、FD&C Blue#2、其它 FD&C Blue 颜色、二氧化钛、氧化铁和 / 或其组合。在一个实施方案中, 本发明提供的药物组合物为粉红色的。

[0179] 本文所用的“润滑剂”是加入到压成片剂的药物组合物中的赋形剂。润滑剂有助于将颗粒压成片剂并使药物组合物的片剂从模压机中射出。

[0180] 本文所用的“立方厘米”和“cc”可互换地用于表示体积的单位。注意, 1cc = 1mL。

[0181] 本文所用的“千磅”和“kP”可互换使用并表示力的度量, 其中 1kP = 约 9.8 牛顿。

[0182] 本文所用的“脆度”是指片剂不管外部压力而保持完整并维持其形式的性质。脆度可使用公式 1 所示的数学表达式来定量:

[0183]

$$\% \text{脆度} = 100 \times \frac{(W_o - W_f)}{W_o}$$

[0184] 其中 W_o 是片剂的初始重量, 而 W_f 是片剂在放入通过脆度仪后的最终重量。脆度采用使用实验片剂翻滚 100 或 400 转的标准 USP 测试设备进行测量。本发明的一些片剂的脆度小于 5.0%。在另一个实施方案中, 脆度小于 2.0%。在另一个实施方案中, 400 转之后的目标脆度小于 1.0%。

[0185] 本文所用的“平均粒径”是使用例如激光散射、图像分析或筛分分析的技术测得的平均粒径。在一个实施方案中, 用于制备本发明提供的药物组合物的颗粒具有小于 1.0mm 的平均粒径。

[0186] 本文所用的“堆积密度”是材料的粒子的质量除以粒子占据的总体积。总体积包括粒子体积、粒间空隙体积和内部孔体积。堆积密度不是材料的固有性质; 它可以根据材料

的加工方式而有所变化。在一个实施方案中,用于制备本发明提供的药物组合物的颗粒的堆积密度为约 0.5 至 0.7g/cc。

[0187] 本发明的药物化合物的“有效”量或“治疗有效量”可根据例如如下因素而变化:疾病状态、受试者的年龄和体重以及本发明的化合物在受试者中引起所需响应的能力。可调整剂量方案以提供最佳的治疗响应。有效量还是治疗有益效果超过本发明的化合物的任何毒性或有害作用(例如副作用)的量。

[0188] 如本文所用,并且除非另外指明,否则术语化合物的“治疗有效量”和“有效量”是指在疾病或病症的治疗或管理中足以提供治疗有益效果或足以延缓或使与疾病或病症相关的一种或多种症状最小化的量。化合物的“治疗有效量”和“有效量”是指单独的或与一种或多种其它药剂结合的治疗剂的量,其在疾病或病症的治疗或管理中提供治疗有益效果。术语“治疗有效量”和“有效量”可涵盖改善总体治疗、减少或避免疾病或病症的症状或成因或增强另一种治疗剂的治疗效能的量。

[0189] 如在短语“基本上纯的化合物 1 形式 I”中所用的“基本上纯的”是指大于约 90% 的纯度。在另一个实施方案中,基本上纯的是指大于约 95% 的纯度。在另一个实施方案中,基本上纯的是指大于约 98% 的纯度。在另一个实施方案中,基本上纯的是指大于约 99% 的纯度。

[0190] 对于化合物 1 形式 I 或包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体,术语“约”和“大约”在结合组合物或剂型的成分的剂量、量或重量百分比使用时是指由本领域中的普通技术人员认为提供相当于指定的剂量、量或重量百分比获得的药理作用的剂量、量或重量百分比。具体地讲,术语“约”或“大约”是指由本领域中的普通技术人员确定的可接受的特定值的误差,其部分取决于该值的测量或测定方式。在一些实施方案中,术语“约”或“大约”是指在 1、2、3 或 4 个标准偏差内。在一些实施方案中,术语“约”或“大约”是指在给定值或范围的 30%、25%、20%、15%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%、0.1% 或 0.05% 内。

[0191] 药物组合物

[0192] 本发明提供包含化合物 1 形式 I 和包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体的药物组合物。在该方面的一些实施方案中,存在于药物组合物中的化合物 1 形式 I 的量为 100mg、125mg、150mg、200mg、250mg、300mg 或 400mg。在该方面的一些实施方案中,存在于药物组合物中的化合物 1 形式 I 的重量百分比为 10% 至 75%。在这些和其它实施方案中,化合物 1 形式 I 作为基本上纯的化合物 1 形式 I 存在。在该方面的一些实施方案中,存在于药物组合物中的基本上无定形的化合物 2 的量为 100mg、125mg、150mg、200mg 或 250mg。在该方面的一些实施方案中,存在于药物组合物中的基本上无定形的化合物 2 的重量百分比为 10% 至 75%。在这些和其它实施方案中,基本上无定形的化合物 2 作为基本上纯的和无定形的化合物 2 存在。“基本上纯的”是指大于 90% 的纯度;优选地大于 95% 的纯度;更优选地大于 99.5% 的纯度。

[0193] 因此,在一个方面,本发明提供药物组合物,其包含:

[0194] a. 化合物 1 形式 I;

[0195] b. 基本上无定形的化合物 2 的固体分散体;

[0196] c. 填充剂;

[0197] d. 崩解剂；

[0198] e. 表面活性剂；和

[0199] f. 粘合剂。

[0200] 在该方面的一个实施方案中，所述药物组合物包含 25mg 的化合物 1 形式 I。在该方面的另一个实施方案中，所述药物组合物包含 50mg 的化合物 1 形式 I。在该方面的另一个实施方案中，所述药物组合物包含 100mg 的化合物 1 形式 I。在该方面的另一个实施方案中，所述药物组合物包含 125mg 的化合物 1 形式 I。在该方面的另一个实施方案中，所述药物组合物包含 150mg 的化合物 1 形式 I。在该方面的另一个实施方案中，所述药物组合物包含 200mg 的化合物 1 形式 I。在该方面的另一个实施方案中，所述药物组合物包含 250mg 的化合物 1 形式 I。在该方面的另一个实施方案中，所述药物组合物包含 400mg 的化合物 1 形式 I。

[0201] 在该方面的一个实施方案中，所述药物组合物包含 25mg 的基本上无定形的化合物 2。在该方面的另一个实施方案中，所述药物组合物包含 50mg 的基本上无定形的化合物 2。在该方面的另一个实施方案中，所述药物组合物包含 100mg 的基本上无定形的化合物 2。在该方面的另一个实施方案中，所述药物组合物包含 125mg 的基本上无定形的化合物 2。在该方面的另一个实施方案中，所述药物组合物包含 150mg 的基本上无定形的化合物 2。在该方面的另一个实施方案中，所述药物组合物包含 200mg 的基本上无定形的化合物 2。在该方面的另一个实施方案中，所述药物组合物包含 250mg 的基本上无定形的化合物 2。

[0202] 在一些实施方案中，所述药物组合物包含化合物 1 形式 I，其中化合物 1 形式 I 的存在量按组合物重量计至少为 15wt%（例如，至少 20wt%、至少 30wt%、至少 40wt%、至少 50wt% 或至少 60wt%）。

[0203] 在一些实施方案中，所述药物组合物包含基本上无定形的化合物 2，其中基本上无定形的化合物 2 的存在量按组合物重量计至少为 15wt%（例如，至少 20wt%、至少 30wt%、至少 40wt%、至少 50wt% 或至少 60wt%）。

[0204] 在一些实施方案中，所述药物组合物包含化合物 1 形式 I、包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体、填充剂、崩解剂、表面活性剂和粘合剂。在该实施方案中，所述组合物包含按组合物重量计约 25wt%—约 55wt%（例如，约 30–50wt%）的化合物 1 形式 I，且更典型地按组合物重量计 40wt%—约 45wt% 的化合物 1 形式 I。在该实施方案中，所述组合物包含按组合物重量计约 15wt%—约 40wt%（例如，约 20–35wt%）的基本上无定形的化合物 2，且更典型地按组合物重量计 25wt%—约 30wt% 的基本上无定形的化合物 2。

[0205] 化合物 1 形式 I 和基本上无定形的化合物 2 在组合物中的浓度取决于若干因素，例如提供所需量的化合物 1 形式 I 和基本上无定形的化合物 2 所需要的药物组合物的量以及所需的药物组合物的溶出曲线。

[0206] 在另一个实施方案中，所述药物组合物包含化合物 1 形式 I，其中为其固体形式的化合物 1 形式 I 具有通过光散射法（例如，使用可得自英国马尔文仪器有限公司（Malvern Instruments, England）的 Malvern Mastersizer）测得的 0.1 微米至 10 微米的平均粒径。在另一个实施方案中，化合物 1 形式 I 的粒度为 1 微米至 5 微米。在另一个实施方案中，化合物 1 形式 I 具有 2.0 微米的粒度 D50。

[0207] 如所指出的那样，除了化合物 1 形式 I 和基本上无定形的化合物 2 的固体分散体

以外,在本发明的一些实施方案中,作为口服制剂的药物组合物还包含一种或多种赋形剂,例如填充剂、崩解剂、表面活性剂、稀释剂、粘合剂、助流剂、润滑剂、着色剂或芳香剂以及它们的任何组合。

[0208] 适用于本发明的填充剂与药物组合物的成分相匹配,即,它们基本上不会降低药物组合物的溶解性、硬度、化学稳定性、物理稳定性或生物活性。示例性的填充剂包括:纤维素、改性纤维素(例如羧甲基纤维素钠、乙基纤维素、羟甲基纤维素、羟丙基纤维素)、醋酸纤维素、微晶纤维素、磷酸钙、磷酸氢钙、淀粉(例如玉米淀粉、马铃薯淀粉)、糖(例如山梨醇、乳糖、蔗糖等)或它们的任何组合。

[0209] 因此,在一个实施方案中,所述药物组合物包含至少一种填充剂,其用量按组合物重量计为至少 5wt%(例如,至少约 20wt%、至少约 30wt%或至少约 40wt%)。例如,所述药物组合物包含按组合物重量计约 10wt%—约 60wt%(例如,约 20wt%—约 55wt%、约 25wt%—约 50wt%或约 27wt%—约 45wt%)的填充剂。在另一个实例中,所述药物组合物包含至少按组合物重量计约 20wt%(例如,至少 30wt%或至少 40wt%)的微晶纤维素,例如 MCC Avicel PH102。在另一个实例中,所述药物组合物包含按组合物重量计约 10wt%—约 60wt%(例如,约 20wt%—约 55wt%或约 25wt%—约 45wt%)的微晶纤维素。

[0210] 适用于本发明的崩解剂提高了药物组合物的分散性并与药物组合物的成分相匹配,即,它们基本上不会降低药物组合物的化学稳定性、物理稳定性、硬度或生物活性。示例性的崩解剂包括交联羧甲基纤维素钠、羟基乙酸淀粉钠或其组合。

[0211] 因此,在一个实施方案中,所述药物组合物包含崩解剂,其用量按组合物重量计约为 10wt%或以下(例如,约 7wt%或以下、约 6wt%或以下或约 5wt%或以下)。例如,所述药物组合物包含按组合物重量计约 1wt%—约 10wt%(例如,约 1.5wt%—约 7.5wt%或约 2.5wt%—约 6wt%)的崩解剂。在另一个实例中,所述药物组合物包含按组合物重量计约 10wt%或以下(例如,7wt%或以下、6wt%或以下或 5wt%或以下)的交联羧甲基纤维素钠。在另一个实例中,所述药物组合物包含按组合物重量计约 1wt%—约 10wt%(例如,约 1.5wt%—约 7.5wt%或约 2.5wt%—约 6wt%)的交联羧甲基纤维素钠。在一些实例中,所述药物组合物包含按组合物重量计约 0.1%—约 10wt%(例如,约 0.5wt%—约 7.5wt%或约 1.5wt%—约 6wt%)的崩解剂。在其它实例中,所述药物组合物包含按组合物重量计约 0.5%—约 10wt%(例如,约 1.5wt%—约 7.5wt%或约 2.5wt%—约 6wt%)的崩解剂。

[0212] 适用于本发明的表面活性剂提高了药物组合物的润湿性并与药物组合物的成分相匹配,即,它们基本上不会降低药物组合物的化学稳定性、物理稳定性、硬度或生物活性。示例性的表面活性剂包括月桂基硫酸钠(SLS)、硬脂富马酸钠(SSF)、聚氧乙烯 20 脱水山梨糖醇单油酸酯(例如 TweenTM)、它们的任何组合等。

[0213] 因此,在一个实施方案中,所述药物组合物包含表面活性剂按组合物重量计,其用量约为 10wt%或以下(例如,约 5wt%或以下,约 2wt%或以下,约 1wt%或以下,约 0.8wt%或以下或约 0.6wt%或以下)。例如,所述药物组合物包含按组合物重量计约 10wt%—约 0.1wt%(例如,约 5wt%—约 0.2wt%或约 2wt%—约 0.3wt%)的表面活性剂。在另一个实例中,所述药物组合物包含按组合物重量计 10wt%或以下(例如,约 5wt%或以下、约 2wt%或以下、约 1wt%或以下、约 0.8wt%或以下或约 0.6wt%或以下)的月桂基硫酸钠。在另一个实例中,所述药物组合物包含按组合物重量计约 10wt%—约 0.1wt%(例如,约

5wt%—约 0.2wt%或约 2wt%—约 0.3wt%) 的月桂基硫酸钠。

[0214] 适用于本发明的粘合剂提高了药物组合物的片剂强度并与药物组合物的成分相匹配,即,它们基本上不会降低药物组合物的化学稳定性、物理稳定性或生物活性。示例性的粘合剂包括聚乙烯吡咯烷酮、磷酸氢钙、蔗糖、玉米(玉蜀黍)淀粉、改性纤维素(例如羟甲基纤维素)或它们的任何组合。

[0215] 因此,在一个实施方案中,所述药物组合物包含粘合剂,其用量按组合物重量计至少约为 0.1wt%(例如,至少约 1wt%、至少约 3wt%、至少约 4wt%或至少约 5wt%)。例如,所述药物组合物包含按组合物重量计约 0.1wt%—约 10wt%(例如,约 1wt%—约 10wt%或约 2wt%—约 7wt%)的粘合剂。在另一个实例中,所述药物组合物包含至少按组合物重量计约 0.1wt%(例如,至少约 1wt%、至少约 2wt%、至少约 3wt%或至少约 4wt%)的聚乙烯吡咯烷酮。在另一个实例中,所述药物组合物包含助流剂聚乙烯吡咯烷酮,其用量按组合物重量计约为 0.1wt%—约 10wt%(例如,约 1wt%—约 8wt%或约 2wt%—约 5wt%)。

[0216] 适用于本发明的稀释剂可为制剂增添必要的体积以制备所需大小的片剂并通常与药物组合物的成分相匹配,即,它们基本上不会降低药物组合物的溶解性、硬度、化学稳定性、物理稳定性或生物活性。示例性的稀释剂包括:糖,例如糖粉(confectioner's sugar)、可压缩糖(compressible sugar)、葡聚糖、糊精、右旋糖、乳糖、甘露糖醇、山梨醇、纤维素和改性纤维素,例如粉末状纤维素,滑石粉、磷酸钙、淀粉或它们的任何组合。

[0217] 因此,在一个实施方案中,所述药物组合物包含稀释剂,其用量按组合物重量计为 40wt%或以下(例如,35wt%或以下、30wt%或以下或 25wt%或以下或 20wt%或以下或 15wt%或以下或 10wt%或以下)。例如,所述药物组合物包含按组合物重量计约 40wt%—约 1wt%(例如,约 35wt%—约 5wt%或约 30wt%—约 7wt%、约 25wt%—约 10wt%、约 20wt%—约 15wt%)的稀释剂。在另一个实例中,所述药物组合物包含按组合物重量计 40wt%或以下(例如,35wt%或以下、25wt%或以下或 15wt%或以下)的甘露糖醇。在另一个实例中,所述药物组合物包含按组合物重量计约 35wt%—约 1wt%(例如,约 30wt%—约 5wt%或约 25wt%—约 10wt%)的甘露糖醇。

[0218] 适用于本发明的助流剂提高了药物组合物的流动性并与药物组合物的成分相匹配,即,它们基本上不会降低药物组合物的溶解性、硬度、化学稳定性、物理稳定性或生物活性。示例性的助流剂包括胶态二氧化硅、滑石粉或它们的组合。

[0219] 因此,在一个实施方案中,所述药物组合物包含助流剂,其用量按组合物重量计为 2wt%或以下(例如,1.75wt%、1.25wt%或以下或 1.00wt%或以下)。例如,所述药物组合物包含按组合物重量计约 2wt%—约 0.05wt%(例如,约 1.5wt%—约 0.07wt%或约 1.0wt%—约 0.09wt%)的助流剂。在另一个实例中,所述药物组合物包含按组合物重量计 2wt%或以下(例如,1.75wt%、1.25wt%或以下或 1.00wt%或以下)的胶态二氧化硅。在另一个实例中,所述药物组合物包含按组合物重量计约 2wt%—约 0.05wt%(例如,约 1.5wt%—约 0.07wt%或约 1.0wt%—约 0.09wt%)的胶态二氧化硅。

[0220] 在一些实施方案中,药物组合物可包括口服固体药物剂型,其可以包含可防止制粒微珠掺合剂粘附到表面(例如,混料罐、压模和/或冲床的表面)的润滑剂。润滑剂还可降低颗粒内的粒间摩擦,并改善药物组合物的压缩以及使压缩后的药物组合物从模压机中脱模。润滑剂也与药物组合物的成分相匹配,即,它们基本上不会降低药物组合物的溶解

性、硬度或生物活性。示例性的润滑剂包括硬脂酸镁、硬脂酸钙、硬脂酸锌、硬脂酸钠、硬脂酸、硬脂酸铝、亮氨酸、山嵛酸甘油酯、氢化植物油或它们的任何组合。在一个实施方案中，按组合物的重量计，药物组合物含量为5重量%或以下（例如4.75重量%、4.0重量%或以下、或3.00重量%或以下、或2.0重量%或以下）的润滑剂。例如，按组合物的重量计，药物组合物包含约5重量%至约0.10重量%（例如约4.5重量%至约0.5重量%或约3重量%至约1重量%）的润滑剂。在另一个实例中，按组合物的重量计，药物组合物包含5重量%或以下（例如4.0重量%或以下、3.0重量%或以下或2.0重量%或以下或1.0重量%或以下）的硬脂酸镁。在另一个实例中，按组合物的重量计，药物组合物包含约5重量%至约0.10重量%（例如约4.5重量%至约0.15重量%或约3.0重量%至约0.50重量%）的硬脂酸镁。

[0221] 本发明的药物组合物可任选地包含一种或多种着色剂、矫味剂和 / 或芳香剂以增强组合物的视觉吸引力、口感和 / 或香味。适合的着色剂、矫味剂或芳香剂与药物组合物的成分相匹配，即，它们基本上不降低药物组合物的溶解性、化学稳定性、物理稳定性、硬度或生物活性。在一个实施方案中，药物组合物包含着色剂、矫味剂和 / 或芳香。在一个实施方案中，本发明提供的药物组合物为紫色。

[0222] 在一些实施方案中，药物组合物包括片剂或可制成片剂，而片剂可用着色剂包衣并任选地使用适合的油墨标上徽标、其它图像和 / 或文字。在另外其它实施方案中，药物组合物包括片剂或可制成片剂，而片剂可用着色剂包衣、打蜡并任选地使用适合的油墨标上徽标、其它图像和 / 或文字。适合的着色剂和油墨与药物组合物的成分相匹配，即，它们基本上不降低药物组合物的溶解性、化学稳定性、物理稳定性、硬度或生物活性。适合的着色剂和油墨可以为任何颜色并为基于水的或基于溶剂的。在一个实施方案中，将由药物组合物制备的片剂用着色剂包衣然后使用适合的油墨标上徽标、其它图像和 / 或文字。例如，包含如本文所述的药物组合物的片剂可用约3重量%（例如低于约6重量%或低于约4重量%）的包含着色剂的薄膜衣包衣。着色后的片剂可用适合的油墨标上徽标和文字，从而指明活性成分在片剂中的强度。在另一个实例中，包含如本文所述的药物组合物的片剂可用约3重量%（例如低于约6重量%或低于约4重量%）的包含着色剂的薄膜衣包衣。

[0223] 在另一个实施方案中，将由药物组合物制备的片剂用着色剂包衣、打蜡然后使用适合的油墨标上徽标、其它图像和 / 或文字。例如，包含如本文所述的药物组合物的片剂可用约3重量%（例如低于约6重量%或低于约4重量%）的包含着色剂的薄膜衣包衣。着色的片剂可用按起始片芯重量的约0.01% w/w 的量称出的巴西棕榈蜡粉末打蜡。打蜡的片剂可用适合的油墨标上徽标和文字，从而指明活性成分在片剂中的强度。在另一个实例中，可将包含如本文所述的药物组合物的片剂用约3重量%（例如低于约6重量%或低于约4重量%）的包含着色剂的薄膜衣包衣。着色的片剂可用按起始片芯重量的约0.01% w/w 的量称出的巴西棕榈蜡粉末打蜡。打蜡的片剂可用例如黑色油墨的药学级油墨（例如**Opacode®** S-1-17823，一种基于溶剂的油墨，可从宾夕法尼亚州西点卡乐康公司（Colorcon, Inc., West Point, PA.）商购获得）标上徽标和文字，从而指明活性成分在片剂中的强度。

[0224] 一种示例性药物组合物按组合物的重量计包含约15wt%—约70wt%（例如，约15wt%—约60wt%、约15wt%—约50wt%或约20wt%—约70wt%或约30wt%—约

70wt%) 的化合物 1 形式 I ;和按组合物重量计约 15wt%—约 40wt% (例如,约 20-35wt%) 的基本上无定形的化合物 2 和更典型地按组合物重量计 25wt%—约 30wt% 的基本上无定形的化合物 2。上述举出的组合物还可以包括一种或多种药学上可接受的赋形剂,例如约 20wt%—约 50wt% 的填充剂 ;约 1wt%—约 5wt% 的崩解剂 ;约 2wt%—约 0.3wt% 的表面活性剂 ;和约 0.1wt%—约 5wt% 的粘合剂。

[0225] 另一种示例性药物组合物包含按组合物重量计约 15wt%—约 70wt% (例如,约 15wt%—约 60wt%、约 15wt%—约 50wt%或约 15wt%—约 40wt%或约 20wt%—约 70wt%或约 30wt%—约 70wt%或约 40wt%—约 70wt%或约 50wt%—约 70wt%) 的化合物 1 形式 I ;按组合物重量计约 15wt%—约 40wt% (例如,约 20-35wt%) 的基本上无定形的化合物 2 和更能典型地按组合物重量计 25wt%—约 30wt% 的基本上无定形的化合物 2 和一种或多种赋形剂,例如约 20wt%—约 50wt% 的填充剂 ;约 1wt%—约 5wt% 的崩解剂 ;约 2wt%—约 0.3wt% 的表面活性剂 ;约 0.1wt%—约 5wt% 的粘合剂 ;和约 2wt%—约 0.1wt% 的润滑剂。

[0226] 另一种示例性药物组合物包含按组合物重量计约 15wt%—约 70wt% (例如,约 15wt%—约 60wt%、约 15wt%—约 50wt%或约 15wt%—约 40wt%或约 20wt%—约 70wt%或约 30wt%—约 70wt%或约 40wt%—约 70wt%或约 50wt%—约 70wt%) 的化合物 1 形式 I ;按组合物重量计约 15wt%—约 40wt% (例如,约 20-35wt%) 的基本上无定形的化合物 2 和更典型地按组合物重量计 25wt%—约 30wt% 的基本上无定形的化合物 2 和一种或多种赋形剂,例如约 20wt%—约 50wt% 的填充剂 ;约 1wt%—约 5wt% 的崩解剂 ;约 2wt%—约 0.3wt% 的表面活性剂 ;约 0.1wt%—约 5wt% 的粘合剂 ;约 2wt%—约 0.1wt% 的润滑剂 ;约 2wt%—约 4wt% 着色剂 ;和约 0.005wt%—约 0.015wt% 的蜡。

[0227] 在一个实施方案中,本发明是颗粒药物组合物,其包含 :

[0228] a. 按组合物重量计约 43wt% 的化合物 1 形式 I ;

[0229] b. 按组合物重量计约 34wt% 的包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体 ;

[0230] c. 按组合物重量计约 17wt% 的微晶纤维素 ;

[0231] d. 按组合物重量计约 2wt% 的交联羧甲基纤维素钠 ;

[0232] e. 按组合物重量计约 1wt% 的月桂基硫酸钠 ;和

[0233] f. 按组合物重量计约 3wt% 的聚乙烯吡咯烷酮。

[0234] 在一个实施方案中,本发明是片剂,其包含 :

[0235] a. 按组合物重量计约 35wt% 的化合物 1 形式 I ;

[0236] b. 按组合物重量计约 28wt% 的包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体 ;

[0237] c. 按组合物重量计约 26wt% 的微晶纤维素 ;

[0238] d. 按组合物重量计约 6wt% 的交联羧甲基纤维素钠 ;

[0239] e. 按组合物重量计约 3wt% 的聚乙烯吡咯烷酮 ;

[0240] f. 按组合物重量计约 1wt% 的月桂基硫酸钠 ;和

[0241] g. 按组合物重量计约 1wt% 的硬脂酸镁。

[0242] 在一个实施方案中,本发明是片剂,其包含 :

[0243] a. 按组合物重量计约 34wt% 的化合物 1 形式 I ;

[0244] b. 按组合物重量计约 27wt% 的包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体 ;

- [0245] c. 按组合物重量计约 26wt% 的微晶纤维素；
- [0246] d. 按组合物重量计约 6wt% 的交联羧甲基纤维素钠；
- [0247] e. 按组合物重量计约 2wt% 的聚乙烯吡咯烷酮；
- [0248] f. 按组合物重量计约 1wt% 的月桂基硫酸钠；
- [0249] g. 按组合物重量计约 1wt% 的硬脂酸镁；
- [0250] h. 按组合物重量计约 3wt% 的着色剂；和
- [0251] i. 按组合物重量计约 0.010wt% 的蜡。
- [0252] 本发明的另一种片剂包含：
- [0253] a. 约 150 — 250mg 的化合物 1 形式 I；
- [0254] b. 约 100 — 150mg 的基本上无定形的化合物 2；
- [0255] c. 约 125 — 175mg 的微晶纤维素；
- [0256] d. 约 20 — 40mg 的交联羧甲基纤维素钠；
- [0257] e. 约 10 — 20mg 的聚乙烯吡咯烷酮；
- [0258] f. 约 2 — 6mg 的月桂基硫酸钠；和
- [0259] g. 约 3 — 7mg 的硬脂酸镁。
- [0260] 本发明的另一种片剂包含：
- [0261] a. 约 200mg 的化合物 1 形式 I；
- [0262] b. 约 125mg 的基本上无定形的化合物 2；
- [0263] c. 约 150mg 的微晶纤维素；
- [0264] d. 约 34mg 的交联羧甲基纤维素钠；
- [0265] e. 约 15mg 的聚乙烯吡咯烷酮；
- [0266] f. 约 4mg 的月桂基硫酸钠；和
- [0267] g. 约 6mg 的硬脂酸镁。
- [0268] 本发明的另一种片剂包含：
- [0269] a. 约 200mg 的化合物 1 形式 I；
- [0270] b. 约 125mg 的基本上无定形的化合物 2；
- [0271] c. 约 150mg 的微晶纤维素；
- [0272] d. 约 34mg 的交联羧甲基纤维素钠；
- [0273] e. 约 15mg 的聚乙烯吡咯烷酮；
- [0274] f. 约 4mg 的月桂基硫酸钠；
- [0275] g. 约 6mg 的硬脂酸镁；
- [0276] h. 约 17mg 的着色剂；和
- [0277] i. 约 0.06mg 的蜡。
- [0278] 在一个实施方案中，本发明是颗粒药物组合物，其包含：
- [0279] a. 按组合物重量计约 38wt% 的化合物 1 形式 I；
- [0280] b. 按组合物重量计约 40wt% 的包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体；
- [0281] c. 按组合物重量计约 16wt% 的微晶纤维素；
- [0282] d. 按组合物重量计约 2wt% 的交联羧甲基纤维素钠；
- [0283] e. 按组合物重量计约 1wt% 的月桂基硫酸钠；和

- [0284] f. 按组合物重量计约 3wt% 的聚乙烯吡咯烷酮。
- [0285] 在一个实施方案中,本发明是片剂,其包含:
- [0286] a. 按组合物重量计约 31wt% 的化合物 1 形式 I;
- [0287] b. 按组合物重量计约 32wt% 的包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体;
- [0288] c. 按组合物重量计约 26wt% 的微晶纤维素;
- [0289] d. 按组合物重量计约 6wt% 的交联羧甲基纤维素钠;
- [0290] e. 按组合物重量计约 3wt% 的聚乙烯吡咯烷酮;
- [0291] f. 按组合物重量计约 1wt% 的月桂基硫酸钠;
- [0292] g. 按组合物重量计约 1wt% 的硬脂酸镁;和
- [0293] h. 按组合物重量计约 3wt% 的着色剂。
- [0294] 本发明的另一种片剂包含:
- [0295] a. 约 100 — 200mg 的化合物 1 形式 I;
- [0296] b. 约 100 — 150mg 的基本上无定形的化合物 2;
- [0297] c. 约 100 — 150mg 的微晶纤维素;
- [0298] d. 约 20 — 40mg 的交联羧甲基纤维素钠;
- [0299] e. 约 10 — 20mg 的聚乙烯吡咯烷酮;
- [0300] f. 约 2 — 6mg 的月桂基硫酸钠;和
- [0301] g. 约 3 — 7mg 的硬脂酸镁。
- [0302] 本发明的另一种片剂包含:
- [0303] a. 约 150mg 的化合物 1 形式 I;
- [0304] b. 约 125mg 的基本上无定形的化合物 2;
- [0305] c. 约 129mg 的微晶纤维素;
- [0306] d. 约 29mg 的交联羧甲基纤维素钠;
- [0307] e. 约 13mg 的聚乙烯吡咯烷酮;
- [0308] f. 约 4mg 的月桂基硫酸钠;
- [0309] g. 约 5mg 的硬脂酸镁;和
- [0310] h. 约 15mg 的着色剂。
- [0311] 本发明的药物组合物可加工成片剂形式、胶囊形式、小袋形式、锭剂形式或适于口服的其它固体形式。因此,在一些实施方案中,药物组合物为片剂形式。
- [0312] 本发明的另一个方面提供由片剂组成的药物制剂,所述片剂包括化合物 1 形式 I、包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体和赋形剂(例如,填充剂、崩解剂、表面活性剂、粘合剂、着色剂、润滑剂或其任意的组合),它们各自如上述和如下实施例中所述,其中所述片剂具有在约 30 分钟内至少约 50% (例如,至少约 60%、至少约 70%、至少约 80%、至少约 90% 或至少约 99%) 的溶出度。
- [0313] 在一个实例中,所述药物组合物由片剂组成,该片剂包括:化合物 1 形式 I,其用量为 25mg — 400mg,例如 25mg 或 50mg 或 75mg 或 100mg 或 150mg、200mg、250mg、300mg 或 400mg;基本上无定形的化合物 2,其用量为 25mg — 250mg,例如 25mg 或 50mg 或 75mg 或 100mg 或 150mg、200mg、250mg;和一种或多种赋形剂(例如,填充剂、崩解剂、表面活性剂、粘合剂、着色剂、润滑剂或其任意的组合),它们各自如上述和如下实施例中所述,其中所述片

剂具有在约 30 分钟内约 50%—约 100% (例如, 约 55%—约 95% 或约 60%—约 90%) 的溶出度。

[0314] 可通过采用以下条件的标准美国药典 II 型仪器来测量溶出度: 溶解在 900mL 去离子水 (用 50mM 磷酸二氢钾缓冲到 pH 6.8) 中的 0.1% CTAB 作为溶出介质, 在约 37℃ 的温度下以约 50–75rpm 搅拌。在仪器的每个测试容器中测试单个实验片剂。还可以通过采用以下条件的标准美国药典 II 型仪器来测量溶出度: 溶解在 900mL 50mM 磷酸钠缓冲液 (pH 6.8) 中的 0.7% 月桂基硫酸钠作为溶出介质, 在约 37℃ 的温度下以约 65rpm 搅拌。在仪器的每个测试容器中测试单个实验片剂。还可以通过采用以下条件的标准美国药典 II 型仪器来测量溶出度: 溶解在 900mL 50mM 磷酸钠缓冲液 (pH 6.8) 中的 0.5% 月桂基硫酸钠作为溶出介质, 在约 37℃ 的温度下以约 65rpm 搅拌。在仪器的每个测试容器中测试单个实验片剂。

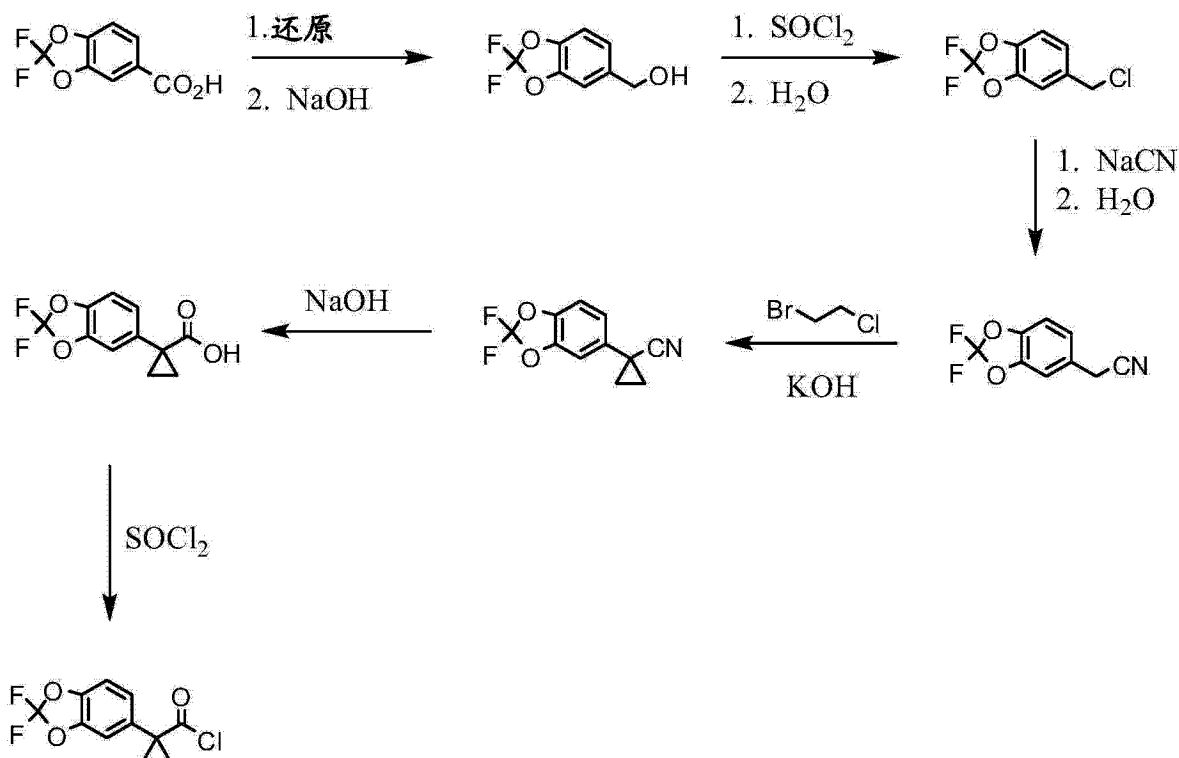
[0315] 制备化合物 1 形式 I 和包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体的方法

[0316] 化合物 1

[0317] 化合物 1 用作化合物 1 形式 I 的起点且可以通过使酰氯部分与胺部分根据方案 1–4 偶联制备。

[0318] 方案 1. 酰氯部分的合成。

[0319]



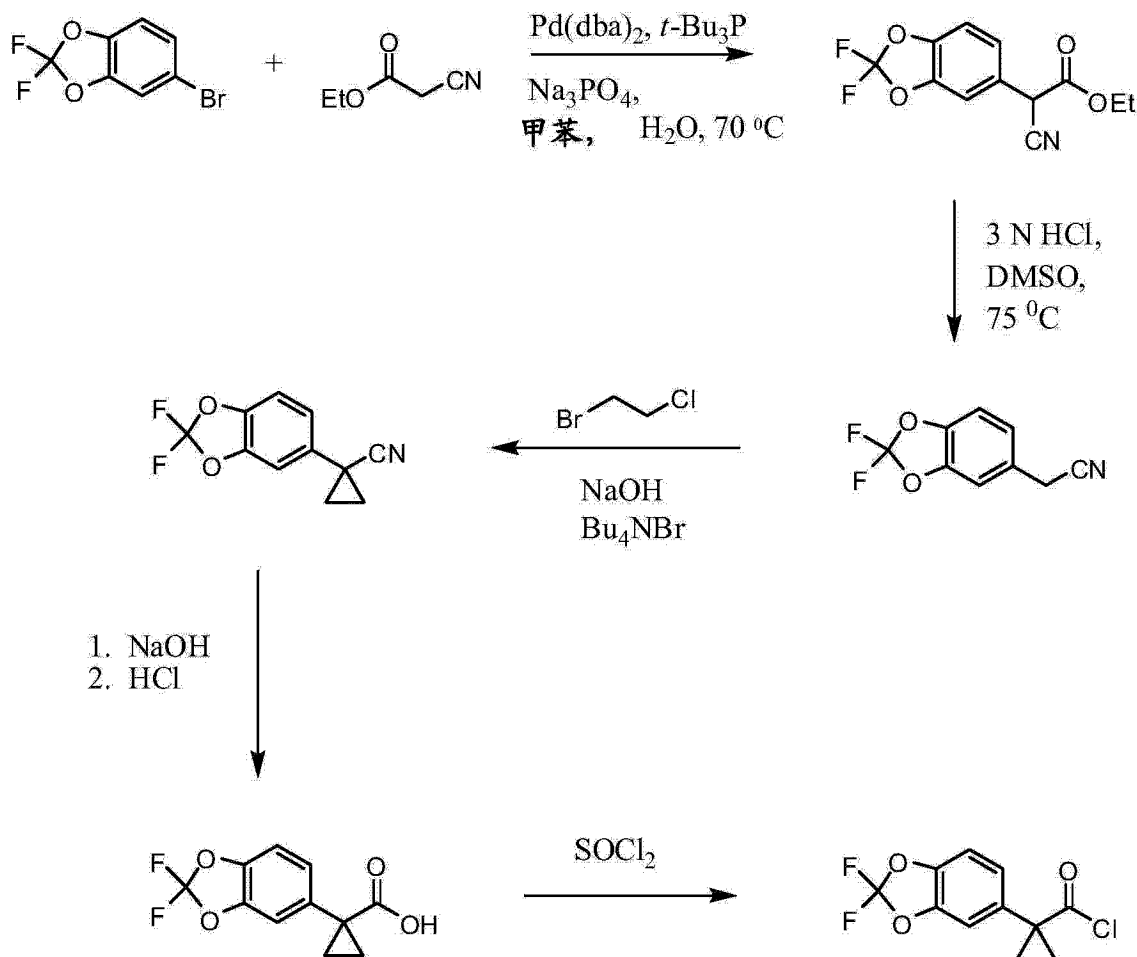
[0320] 方案 1 示出了 1-(2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)环丙烷羰基氯的制备, 其用于方案 3 中以形成化合物 1 的酰胺键。

[0321] 原料 2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-甲酸从赛拓 (Saltigo) (朗盛 (Lanxess Corporation) 子公司) 商购获得。将 2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-甲酸中的羧酸部分还原成伯醇然后使用亚硫酰氯 (SOCl_2) 转化成相应的氯化物, 提供 5-(氯甲基)-2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯, 随后使用氰化钠将其转化成

2-(2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)乙腈。将2-(2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)乙腈用碱和1-溴-2-氯乙烷处理提供1-(2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)环丙烷甲腈。将1-(2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)环丙烷甲腈中的腈部分用碱转化成羧酸得到1-(2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)环丙烷甲酸,将其用亚硫酰氯转化成所需的酰氯。

[0322] 方案2. 酰氯部分的另一种合成.

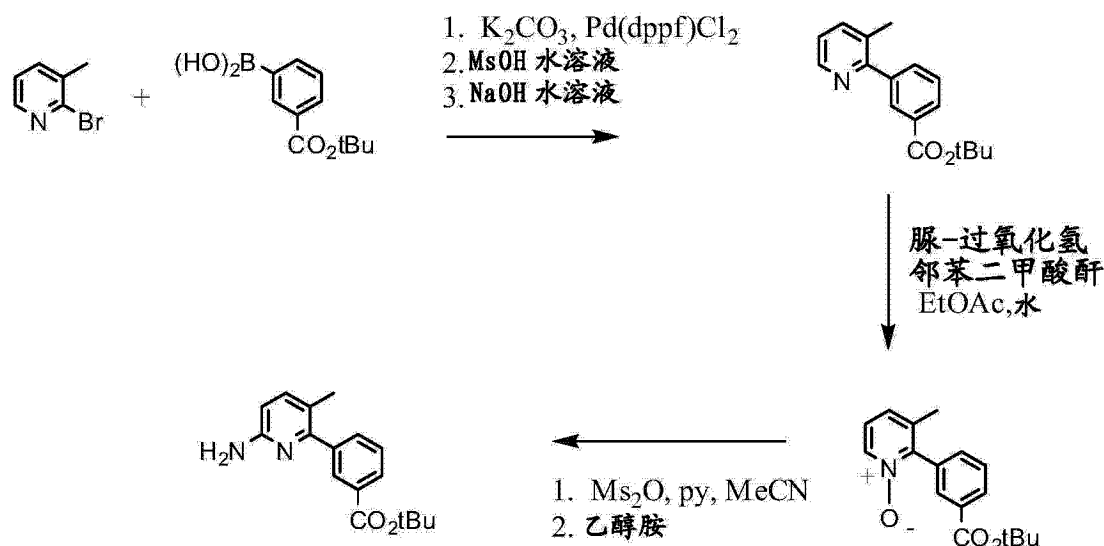
[0323]



[0324] 方案2示出了必需的酰氯的替代合成。将5-溴甲基-2,2-二氟-1,3-苯并间二氧杂环戊烯在存在钯催化剂的情况下与氰基乙酸乙酯偶联以形成相应的 α 氰基乙酯。将酯部分皂化成羧酸得到氰基乙基化合物。将氰基乙基化合物用1-溴-2-氯乙烷在存在碱的情况下烷基化得到氰基环丙基化合物。将氰基环丙基化合物用碱处理得到羧酸盐,将其通过用酸处理而转化成羧酸。然后使用例如亚硫酰氯等氯化剂实现羧酸向酰氯的转化。

[0325] 方案3. 胺部分的合成.

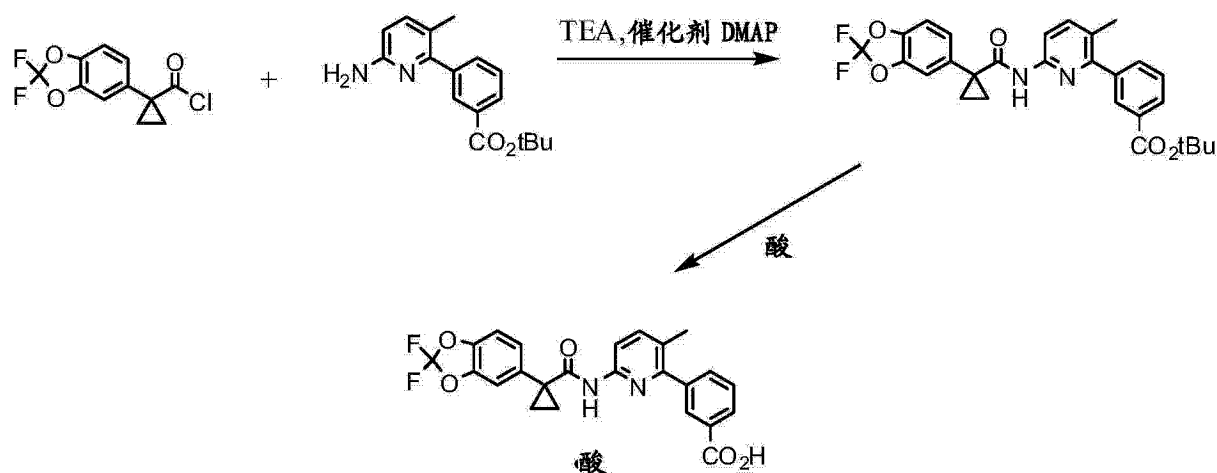
[0326]



[0327] 方案 3 示出了必需的 3-(6-氨基-3-甲基吡啶-2-基)苯甲酸叔丁酯的制备,其在方案 3 中与 1-(2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)环丙烷羰基氯偶联得到化合物 1。2-溴-3-甲基吡啶与 3-(叔丁氧羰基)苯基硼酸的钯催化偶联得到 3-(3-甲基吡啶-2-基)苯甲酸叔丁酯,其随后转化成所需的化合物。

[0328] 方案 4. 3-(6-(1-(2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)环丙烷甲酰氨基)-3-甲基吡啶-2-基)苯甲酸的酸式盐的形成。

[0329]



[0330] 方案 4 示出了使用三乙胺和 4-二甲基氨基吡啶进行 1-(2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)环丙烷甲酰氯与 3-(6-氨基-3-甲基吡啶-2-基)苯甲酸叔丁酯的偶联最初提供化合物 1 的叔丁酯。

[0331] 化合物 1 形式 I

[0332] 化合物 1 形式 I 通过将化合物 1 的盐形式 (例如 HCl 盐) 在适合的溶剂中分散或溶解有效的时长而制备。将叔丁酯用例如 HCl 的酸处理得到化合物 1 的 HCl 盐,其典型地为结晶固体。化合物 1 形式 I 还可以通过用适合的酸 (例如甲酸) 处理而直接由叔丁酯前体制备。

[0333] 3-(6-(1-(2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)环丙烷甲酰氨基)-3-甲基吡啶-2-基)苯甲酸的 HCl 盐可用于通过将 3-(6-(1-(2,2-二氟苯并[d][1,

3] 间二氧杂环戊烯 -5- 基) 环丙烷甲酰氨基)-3- 甲基吡啶 -2- 基) 苯甲酸的 HCl 盐在适合的溶剂中分散或溶解有效的时长而制备形式 I。可以使用 3-(6-(1-(2,2- 二氟苯并 [d][1,3] 间二氧杂环戊烯 -5- 基) 环丙烷甲酰氨基)-3- 甲基吡啶 -2- 基) 苯甲酸的其它盐, 例如衍生自其它矿物酸或有机酸的盐。其它盐由叔丁酯部分的酸介导的水解而得到。衍生自其它酸的盐可包括例如硝酸、硫酸、磷酸、硼酸、乙酸、苯甲酸和丙二酸。3-(6-(1-(2,2- 二氟苯并 [d][1,3] 间二氧杂环戊烯 -5- 基) 环丙烷甲酰氨基)-3- 甲基吡啶 -2- 基) 苯甲酸的这些盐形式可根据所用的溶剂为可溶的或不溶的, 但溶解性不足不会阻碍化合物 1 形式 I 的形成。例如, 在一个实施方案中, 适合的溶剂可以为水或醇 / 水混合物, 例如 50% 甲醇 / 水混合物, 即使 3-(6-(1-(2,2- 二氟苯并 [d][1,3] 间二氧杂环戊烯 -5- 基) 环丙烷甲酰氨基)-3- 甲基吡啶 -2- 基) 苯甲酸的 HCl 盐形式仅微溶于水。在一个实施方案中, 适合的溶剂为水。

[0334] 由 3-(6-(1-(2,2- 二氟苯并 [d][1,3] 间二氧杂环戊烯 -5- 基) 环丙烷甲酰氨基)-3- 甲基吡啶 -2- 基) 苯甲酸的盐形成化合物 1 形式 I 的有效时长可以为 2 至 24 小时的任何时间或更长。已经认识到, 所需的时长与温度成反比。也就是说, 温度越高, 实现酸解离形成化合物 1 形式 I 所需的时间越短。当溶剂为水时, 在室温下将分散体搅拌约 24 小时以大约 98% 的收率提供化合物 1 形式 I。如果出于工艺目的需要 3-(6-(1-(2,2- 二氟苯并 [d][1,3] 间二氧杂环戊烯 -5- 基) 环丙烷甲酰氨基)-3- 甲基吡啶 -2- 基) 苯甲酸的盐的溶液, 则可以使用升高的温度。在升高的温度下将溶液搅拌有效的时长后, 在冷却时的重结晶提供基本上纯的化合物 1 形式 I。在一个实施方案中, 基本上纯的是指大于约 90% 的纯度。在另一个实施方案中, 基本上纯的是指大于约 95% 的纯度。在另一个实施方案中, 基本上纯的是指大于约 98% 的纯度。在另一个实施方案中, 基本上纯的是指大于约 99% 的纯度。所选的温度部分地取决于所用的溶剂, 并完全在本领域普通技术人员的确定能力范围内。在一个实施方案中, 该温度在室温与约 80°C 之间。在另一个实施方案中, 该温度在室温与约 40°C 之间。在另一个实施方案中, 该温度在约 40°C 与约 60°C 之间。在另一个实施方案中, 该温度在约 60°C 与约 80°C 之间。

[0335] 化合物 1 形式 I 也可直接由作为化合物 1 的盐的前体的 3-(6-(1-(2,2- 二氟苯并 [d][1,3] 间二氧杂环戊烯 -5- 基) 环丙烷甲酰氨基)-3- 甲基吡啶 -2- 基) 苯甲酸叔丁酯 (参阅方案 3) 形成。因此, 使 3-(6-(1-(2,2- 二氟苯并 [d][1,3] 间二氧杂环戊烯 -5- 基) 环丙烷甲酰氨基)-3- 甲基吡啶 -2- 基) 苯甲酸叔丁酯在适合的反应条件下与适合的酸 (例如甲酸) 发生反应以得到化合物 1 形式 I。

[0336] 化合物 1 形式 I 可通过从有机溶剂中重结晶而进一步纯化。有机溶剂的实例包括但不限于甲苯、异丙基苯、茴香醚、1- 丁醇、醋酸异丙酯、醋酸丁酯、醋酸异丁酯、甲基叔丁基醚、甲基异丁基酮和 1- 丙醇 - 水混合物。温度可以为如上所述的温度。例如, 将化合物 1 形式 I 在 75°C 下溶于 1- 丁醇直至其完全溶解。将溶液以 0.2°C /min 的速率冷却到 10°C 得到化合物 1 形式 I 的晶体, 其可以通过过滤而分离。

[0337] 在一个实施方案中, 化合物 1 形式 I 的特征在于在使用 Cu K α 辐射得到的 X 射线粉末衍射图中在 15.2 — 15.6 度、16.1 — 16.5 度和 14.3 — 14.7 度的一个或多个峰。在另一个实施方案中, 化合物 1 形式 I 的特征在于在 15.4、16.3 和 14.5 度的一个或多个峰。在另一个实施方案中, 化合物 1 形式 I 的特征还在于在 14.6 — 15.0 度的峰。在另一个实施方

案中,化合物 1 形式 I 的特征还在于在 14.8 度的峰。在另一个实施方案中,化合物 1 形式 I 的特征还在于在 17.6 – 18.0 度的峰。在另一个实施方案中,化合物 1 形式 I 的特征还在于在 17.8 度的峰。在另一个实施方案中,化合物 1 形式 I 的特征还在于在 16.4 – 16.8 度的峰。在另一个实施方案中,化合物 1 形式 I 的特征还在于在 16.4 – 16.8 度的峰。在另一个实施方案中,化合物 1 形式 I 的特征还在于在 16.6 度的峰。在另一个实施方案中,化合物 1 形式 I 的特征还在于在 7.6 – 8.0 度的峰。在另一个实施方案中,化合物 1 形式 I 的特征还在于在 7.8 度的峰。在另一个实施方案中,化合物 1 形式 I 的特征还在于在 25.8 – 26.2 度的峰。在另一个实施方案中,化合物 1 形式 I 的特征还在于在 26.0 度的峰。在另一个实施方案中,化合物 1 形式 I 的特征还在于在 21.4 – 21.8 度的峰。在另一个实施方案中,化合物 1 形式 I 的特征还在于在 21.6 度的峰。在另一个实施方案中,化合物 1 形式 I 的特征还在于在 23.1 – 23.5 度的峰。在另一个实施方案中,化合物 1 形式 I 的特征还在于在 23.3 度的峰。在一些实施方案中,化合物 1 形式 I 的特征在于与图 1 基本上类似的衍射图。在一些实施方案中,化合物 1 形式 I 的特征在于与图 2 基本上类似的衍射图。

[0338] 在一些实施方案中,对于化合物 1 形式 I, D90 粒度分布为约 82 μm 或以下。在一些实施方案中,对于化合物 1 形式 I, D50 粒度分布为约 30 μm 或以下。

[0339] 化合物 2

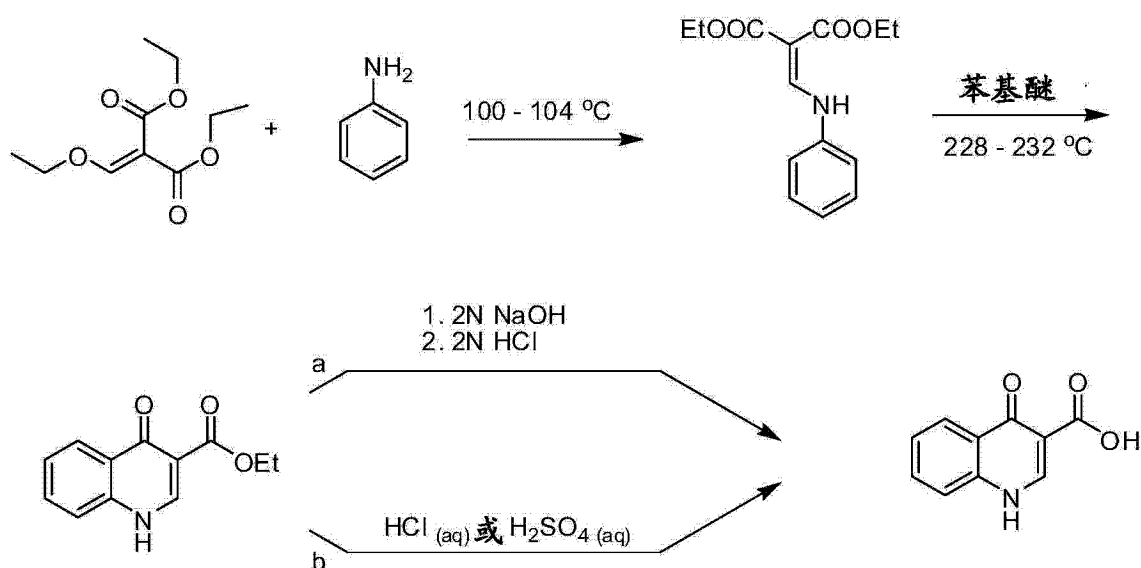
[0340] 化合物 2 是包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体的起点,且可以通过使 4-氧代-二氢喹啉甲酸部分与胺部分根据方案 5-7 偶联制备。

[0341] 方案 5: 4-氧代-二氢喹啉甲酸部分的合成。

[0342] 苯基醚

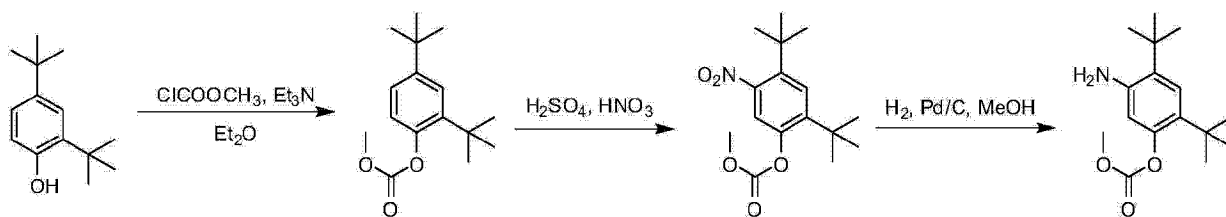
[0343] HCl (水溶液) 或 H_2SO_4 (水溶液)

[0344]



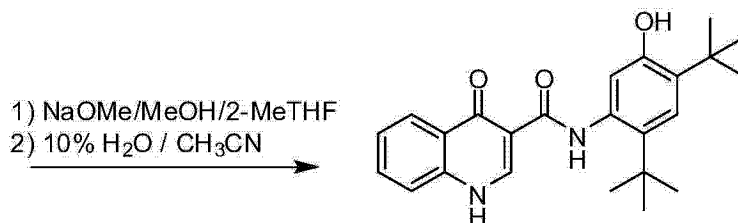
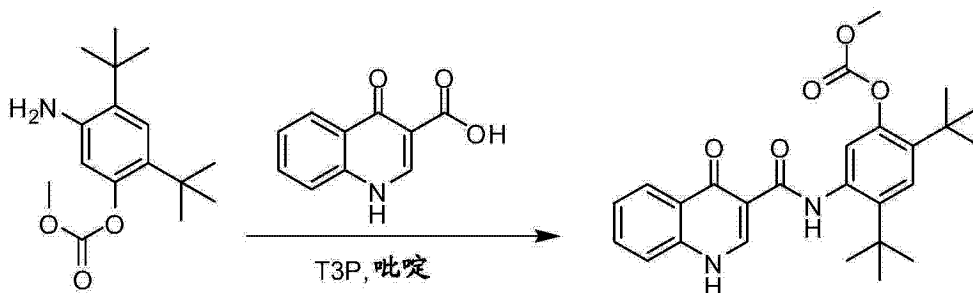
[0345] 方案 6: 胺部分的合成。

[0346]



[0347] 方案 7 :4- 氧代 - 二氢喹啉甲酸与胺部分的偶联 .

[0348]



化合物 2

[0349] 包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体

[0350] 可以通过喷雾干燥法以化合物 2 为原料制备化合物 2 的无定形式。喷雾干燥是将液体进料转化成干燥颗粒形式的工艺。任选地,干燥工艺例如流化床干燥或真空干燥可以用于将残留溶剂减少至药学上可接受的水平。典型地,喷雾干燥包括使高度分散的液体混悬液或溶液和足够体积的热空气接触,以便对液滴产生蒸发和干燥作用。喷雾干燥的制备物可以是任意的溶液、粗混悬液、浆液、胶态分散体或糊剂,可以使用选择的喷雾干燥设备使它们雾化。在一种标准的方法中,将制备物喷入温热过滤的空气流,它可以蒸发溶剂并且将干燥产物传送至收集器(例如旋风分离器)。然后用溶剂耗尽消耗的空气,或者将消耗的空气传送至冷凝器以俘获溶剂并且能够使其再循环。商购类型的设备可以用于进行喷雾干燥。例如。商购喷雾干燥器由 Buchi Ltd. 和 Niro 制造(例如,由 Niro 制造的喷雾干燥 PSD 管线)(参见 US 2004/0105820 ;US 2003/0144257)。

[0351] 喷雾干燥典型地使用约 3%—约 30% 重量的固体材料(即药物和赋形剂)载量,例如约 4%—约 20% 重量,优选至少约 10%。一般而言,固体载量的上限由得到的溶液的粘度(例如,泵送能力)和成分在溶液中的溶解度决定。一般而言,溶液的浓度可以决定得到的粉末产物中颗粒的大小。

[0352] 用于喷雾干燥的技术和方法可以在 Perry's Chemical Engineering Handbook, 第 6 版, R. H. Perry, D. W. Green & J. O. Maloney, eds.), McGraw-Hill book co. (1984); 和 Marshall "Atomization and Spray-Drying" 50, Chem. Eng. Prog. Monogr. Series 2 (1954)

中找到。一般而言,喷雾干燥使用约 60℃—约 200℃例如约 95℃—约 185℃、约 110℃—约 182℃、约 96℃—约 180℃例如约 145℃的入口温度进行。喷雾干燥一般使用约 30℃—约 90℃例如约 40℃—约 80℃、约 45℃—约 80℃例如约 75℃的出口温度进行。雾化流速一般约为 4kg/h—约 12kg/h,例如约 4.3kg/h—约 10.5kg/h,例如约 6kg/h 或约 10.5kg/h。进料速率一般约为 3kg/h—约 10kg/h,例如约 3.5kg/h—约 9.0kg/h,例如约 8kg/h 或约 7.1kg/h。雾化速率一般约为 0.3—1.7,例如约 0.5—1.5,例如约 0.8 或约 1.5。

[0353] 除去溶剂可能需要随后的干燥步骤,例如塔板干燥、流化床干燥(例如,约室温—约 100℃)、真空干燥、微波干燥、转鼓干燥或双圆锥体真空干燥(biconical vacuum drying)(例如,约室温—约 200℃)。

[0354] 在一个实施方案中,喷雾干燥的分散体是流化床干燥的。

[0355] 在一种工艺中,溶剂包括挥发性溶剂,例如具有低于约 100℃的沸点的溶剂。在一些实施方案中,溶剂包括溶剂混合物,例如挥发性溶剂的混合物或挥发性和非挥发性溶剂的混合物。如果使用溶剂混合物,则该混合物可以包括一种或多种挥发性溶剂,例如其中非挥发性溶剂以低于约 15%例如低于约 12%、低于约 10%、低于约 8%、低于约 5%、低于约 3%或低于约 2%存在于混合物中。

[0356] 优选的溶剂是这样的溶剂,其中化合物 2 具有至少约 10mg/ml(例如,至少约 15mg/ml、20mg/ml、25mg/ml、30mg/ml、35mg/ml、40mg/ml、45mg/ml、50mg/ml 或以上)的溶解度。更优选的溶剂包括这样的溶剂,其中化合物 2 具有至少约 20mg/ml 的溶解度。

[0357] 可以测试的示例性溶剂包括丙酮、环己烷、二氯甲烷、N,N-二甲基乙酰胺(DMA)、N,N-二甲基甲酰胺(DMF)、1,3-二甲基-2-咪唑烷酮(DMI)、二甲亚砜(DMSO)、二噁烷、乙酸乙酯、乙醚、冰醋酸(HAc)、甲基乙基酮(MEK)、N-甲基-2-吡咯烷酮(NMP)、甲基叔丁基醚(MTBE)、四氢呋喃(THF)、戊烷、乙腈、甲醇、乙醇、异丙醇、乙酸异丙酯和甲苯。示例性共溶剂包括丙酮/DMSO、丙酮/DMF、丙酮/水、MEK/水、THF/水、二噁烷/水。在两种溶剂系统中,溶剂可以以约 0.1%—约 99.9%存在。在一些优选的实施方案中,水是丙酮的共溶剂,其中水以约 0.1%—约 15%、例如约 9%—约 11%、例如约 10%存在。在一些优选的实施方案中,水是 MEK 的共溶剂,其中水以约 0.1%—约 15%、例如约 9%—约 11%、例如约 10%存在。在一些实施方案中,溶剂溶液包括三种溶剂。例如丙酮和水可以与第三种溶剂例如 DMA、DMF、DMI、DMSO 或 HAc 混合。在基本上无定形的化合物 2 是固体分散体的成分的情况下,优选的溶剂溶解化合物 2 和所述聚合物。适合的溶剂包括上述那些溶剂,例如 MEK、丙酮、水、甲醇及其混合物。

[0358] 粒度和温度干燥范围可以改变以制备最佳的喷雾干燥分散体。正如本领域技术人员可以理解的,小粒度会导致溶剂除去的改善。然而,申请人已经发现,小颗粒可以产生松散的颗粒,在一些情况中,无法提供用于下游加工例如压片的最佳喷雾干燥分散体。在较高温度下,基本上无定形的化合物 2 可能发生结晶或化学降解。在较低温度下,无法除去足量的溶剂。本文的方法提供了最佳的粒度和最佳的干燥温度。

[0359] 一般而言,粒度使得 D10(μm) 是低于约 5,例如低于约 4.5、低于约 4.0 或低于约 3.5, D50(μm) 一般低于约 17,例如低于约 16、低于约 15、低于约 14、低于约 13;且 D90(μm) 一般低于约 175,例如低于约 170、低于约 170、低于约 150、低于约 125、低于约 100、低于约 90、低于约 80、低于约 70、低于约 60 或低于约 50。一般而言,喷雾干燥颗粒的堆

积密度约为 0.08g/cc — 约 0.20g/cc, 例如约 0.10 — 约 0.15g/cc, 例如约 0.11g/cc 或约 0.14g/cc。对于 10 次轻振, 喷雾干燥颗粒的振实密度一般约为 0.08g/cc — 约 0.20g/cc, 例如约 0.10 — 约 0.15g/cc, 例如约 0.11g/cc 或约 0.14g/cc; 对于 500 次轻振, 一般约为 0.10g/cc — 约 0.25g/cc, 例如约 0.11 — 约 0.21g/cc, 例如约 0.15g/cc、约 0.19g/cc 或约 0.21g/cc; 对于 1250 次轻振, 一般约为 0.15g/cc — 约 0.27g/cc, 例如约 0.18 — 约 0.24g/cc, 例如约 0.18g/cc、约 0.19g/cc、约 0.20g/cc 或约 0.24g/cc; 且对于 2500 次轻振, 一般约为 0.15g/cc — 约 0.27g/cc, 例如约 0.18 — 约 0.24g/cc, 例如约 0.18g/cc, 约 0.21g/cc, 约 0.23g/cc 或约 0.24g/cc。

[0360] 聚合物

[0361] 本文还包括喷雾干燥分散体, 其包括无定形化合物 2 和聚合物 (或固态载体)。例如, 化合物 2 作为固体无定形分散体的成分的无定形化合物存在。固体无定形分散体一般包括基本上无定形的化合物 2 和聚合物。示例性聚合物包括纤维质聚合物, 例如 HPMC 或 HPMCAS; 和包含吡咯烷酮的聚合物, 例如 PVP/VA。在一些实施方案中, 固体无定形分散体包括一种或多种另外的赋形剂, 例如表面活性剂。

[0362] 在一个实施方案中, 聚合物能够溶于水性介质中。所述聚合物的溶解度可以是不依赖于 pH 的或 pH- 依赖性的。后者包括一种或多种肠溶聚合物。术语 “肠溶” 是指相对于胃的酸性较强环境优先在酸性较弱的肠环境中溶解的聚合物, 例如, 不溶于酸性水介质、而在 pH 高于 5–6 时可溶的聚合物。适合的聚合物应是化学和生物学惰性的。为了改善喷雾干燥分散体的物理稳定性, 所述聚合物的玻璃转化温度 (T_g) 应尽可能高。例如, 优选的聚合物具有至少等于或大于药物 (即化合物 2) 的玻璃转化温度的玻璃转化温度。其它优选的聚合物具有在药物 (即化合物 2) 的约 10 — 约 15°C 范围内的玻璃转化温度。所述聚合物的适合的玻璃转化温度的实例包括至少约 90°C、至少约 95°C、至少约 100°C、至少约 105°C、至少约 110°C、至少约 115°C、至少约 120°C、至少约 125°C、至少约 130°C、至少约 135°C、至少约 140°C、至少约 145°C、至少约 150°C、至少约 155°C、至少约 160°C、至少约 165°C、至少约 170°C 或至少约 175°C (正如在干燥条件下测定的)。不希望受到理论约束, 认为潜在的机理是具有较高 T_g 的聚合物在室温下一般具有较低的分子流动性, 这可能是使无定形喷雾干燥分散体的物理稳定性稳定的决定性因素。

[0363] 另外, 所述聚合物的吸湿性低至例如低于约 10%。为了本申请中比较的目的, 聚合物或组合物的吸湿性的特征在于约 60% 的相对湿度。在一些优选的实施方案中, 所述聚合物具有低于约 10% 吸水率, 例如低于约 9%、低于约 8%、低于约 7%、低于约 6%、低于约 5%、低于约 4%、低于约 3% 或低于约 2% 吸水率。吸湿性还可以影响喷雾干燥分散体的物理稳定性。一般而言, 吸附在所述聚合物中的湿气可以显著地降低所述聚合物和得到的喷雾干燥分散体的 T_g , 这可能进一步降低如上所述的喷雾干燥分散体的物理稳定性。

[0364] 在一个实施方案中, 所述聚合物是一种或多种水溶性聚合物或部分水溶性聚合物。水溶性或部分水溶性聚合物包括、但不限于纤维素衍生物 (例如, 羟丙基甲基纤维素 (HPMC)、羟丙基纤维素 (HPC)) 或乙基纤维素; 聚乙烯吡咯烷酮 (PVP); 聚乙二醇 (PEG); 聚乙烯醇 (PVA); 丙烯酸酯, 例如聚甲基丙烯酸酯 (例如, **Eudragit® E**); 环糊精 (例如, β -环糊精) 及其共聚物和衍生物, 包括例如 PVP-VA (聚乙烯吡咯烷酮-醋酸乙烯酯)。

[0365] 在一些实施方案中, 所述聚合物是羟丙基甲基纤维素 (HPMC), 例如 HPMCAS、HPMC

E50、HPMCE15 或 HPMC60SH50)。

[0366] 正如本文所讨论的,所述聚合物可以是 pH- 依赖性肠溶聚合物。这样的 pH- 依赖性肠溶聚合物包括、但不限于纤维素衍生物(例如,醋酸邻苯二甲酸纤维素(CAP))、邻苯二甲酸羟丙基甲基纤维素(HPMCP)、醋酸琥珀酸羟丙基甲基纤维素(HPMCAS)、羧甲基纤维素(CMC)或其盐(例如,钠盐,例如(CMC-Na));醋酸偏苯三酸纤维素(CAT)、醋酸邻苯二甲酸羟丙基纤维素(HPCAP)、醋酸邻苯二甲酸羟丙基甲基-纤维素(HPMCAP)和醋酸邻苯二甲酸甲基纤维素(MCAP)或聚甲基丙烯酸酯(例如,**Eudragit® S**)。在一些实施方案中,所述聚合物是醋酸琥珀酸羟丙基甲基纤维(HPMCAS)。在一些实施方案中,所述聚合物是 HG 级醋酸琥珀酸羟丙基甲基纤维素(HPMCAS-HG)。

[0367] 在另一个实施方案中,所述聚合物是聚乙烯吡咯烷酮共聚物,例如乙烯基吡咯烷酮/醋酸乙烯酯共聚物(PVP/VA)。

[0368] 在实施方案中,其中化合物 2 与聚合物例如与 HPMC、HPMCAS 或 PVP/VA 聚合物形成喷雾干燥分散体,聚合物相对于喷雾干燥分散体总重的量约为 0.1%—99%重量。除非另有指定,否则如分散体中所述的药物、聚合物和其它赋形剂的百分比均按重量百分比给出。聚合物的量典型地至少约 20%且优选至少约 30%,例如至少约 35%、至少约 40%、至少约 45%或约 50%(例如,49.5%)。该量典型地约为 99%或以下且优选约 80%或以下,例如约 75%或以下,约 70%或以下,约 65%或以下,约 60%或以下或约 55%或以下。在一个实施方案中,所述聚合物的量占分散体总重的至多约 50%(且甚至更具体地为约 40%—50%,例如约 49%、约 49.5%或约 50%)。HPMC 和 HPMCAS 以不同等级购自 ShinEtsu,例如 HPMCAS 以不同种类得到,包括 AS-LF、AS-MF、AS-HF、AS-LG、AS-MG、AS-HG。这些等级各自在醋酸酯和琥珀酸酯的取代百分比方面可变。

[0369] 在一些实施方案中,基本上无定形的化合物 2 和聚合物以基本上等量存在,例如所述聚合物和药物各自约占分散体总百分比的一半。例如,所述聚合物以约 49.5%存在且所述药物以约 50%存在。

[0370] 在一些实施方案中,合并的基本上无定形的化合物 2 和所述聚合物占喷雾干燥前非喷雾干燥分散体的总固体含量的 1%—20% w/w。在一些实施方案中,合并的基本上无定形的化合物 2 和所述聚合物占喷雾干燥前非喷雾干燥分散体的总固体含量的 5%—15% w/w。在一些实施方案中,合并的基本上无定形的化合物 2 和所述聚合物占喷雾干燥前非喷雾干燥分散体的总固体含量的约 11% w/w。

[0371] 在一些实施方案中,所述分散体还包括另外的少量成分,例如表面活性剂(例如,SLS)。在一些实施方案中,所述表面活性剂在分散体中的存在量低于约 10%,例如低于约 9%、低于约 8%、低于约 7%、低于约 6%、低于约 5%、低于约 4%、低于约 3%、低于约 2%、约 1%或约 0.5%。

[0372] 在包括聚合物的实施方案中,所述聚合物应以有效稳定喷雾干燥分散体的量存在。稳定包括抑制或防止基本上无定形的化合物 2 结晶。这样的稳定可以抑制化合物 2 从无定形转化成晶型。例如,所述聚合物可以防止至少部分(例如,约 5%、约 10%、约 15%、约 20%、约 25%、约 30%、约 35%、约 40%、约 45%、约 50%、约 55%、约 60%、约 65%、约 70%、约 75%或以上)的化合物 2 从无定形转化成晶型。例如,可以通过测定喷雾干燥分散体的玻璃转化温度、测定无定形材料的松散比例或通过测定化合物 2 的溶解度或生物利用

度确定稳定。

[0373] 用于与化合物 2 组合例如形成喷雾干燥分散体（例如无定形喷雾干燥分散体）的适合的聚合物应具有如下特性的一种或多种：

[0374] 所述聚合物的玻璃转化温度具有不低于基本上无定形的化合物 2 的玻璃转化温度约 10-15℃ 的温度。优选地，所述聚合物的玻璃转化温度高于基本上无定形的化合物 2 的玻璃转化温度，且一般高于药物产品的期望的储存温度至少 50℃。例如，至少约 100℃、至少约 105℃、至少约 105℃、至少约 110℃、至少约 120℃、至少约 130℃、至少约 140℃、至少约 150℃、至少约 160℃、至少约 160℃ 或以上。

[0375] 所述聚合物应是相对不吸湿的。例如，当储存在标准条件下时，所述聚合物应吸收低于约 10% 水，例如低于约 9%、低于约 8%、低于约 7%、低于约 6% 或低于约 5%、低于约 4% 或低于约 3% 的水。优选地，所述聚合物在储存在标准条件下时应基本上不吸水。

[0376] 所述聚合物在适合于喷雾干燥工艺的溶剂中应具有与化合物 2 类似或更好的溶解度。在优选的实施方案中，所述聚合物可以溶于与化合物 2 相同的溶剂的一种或多种溶剂系统。优选所述聚合物溶于至少一种不含羟基的溶剂中，例如二氯甲烷、丙酮或其组合。

[0377] 在与基本上无定形的化合物 2 合并例如合并于喷雾干燥分散体或液体混悬液中时，相对于无所述聚合物存在下化合物 2 的溶解度，或相对于与参比聚合物合并时化合物 2 的溶解度，所述聚合物应增加化合物 2 在水和生理相关介质中的溶解度。例如，所述聚合物可以通过减少从固体无定形分散体或液体混悬液转化成结晶化合物 2 的无定形化合物 2 的量而增加无定形化合物 2 的溶解度。

[0378] 所述聚合物应减少无定形物质的松散比例。

[0379] 所述聚合物应增加基本上无定形的化合物 2 的物理和 / 化学稳定性。

[0380] 所述聚合物应改善基本上无定形的化合物 2 的可制造性。

[0381] 所述聚合物应改善基本上无定形的化合物 2 的处理、施用或储存特性的一种或多种。

[0382] 所述聚合物不应与其它药物成分例如赋形剂发生不利的相互作用。

[0383] 可以使用本文所述的喷雾干燥法（或其它方法）测试候选聚合物（或其它成分）在形成无定形组合物中的适合性。可以比较候选组合物的稳定性、对形成晶体的抗性或其它特性，并且与参比制品比较，例如纯净无定形化合物 2 或结晶化合物 2 的制备。例如，可以测试候选组合物以确定它是否抑制溶剂为介体的结晶启动的时间，或者是在受控条件下在指定时间的转化百分比为至少 50%、75%、100% 或 110%，且可以测试参比制品或候选组合物以确定相对于结晶化合物 2 其生物利用度或溶解度是否改善。

[0384] 表面活性剂

[0385] 喷雾干燥分散体可以包括表面活性剂。表面活性剂或表面活性剂混合物一般可以减小喷雾干燥分散体与水性介质之间的界面张力。适合的表面活性剂或表面活性剂混合物也可以增强来自喷雾干燥分散体的化合物 2 的水溶解度和生物利用度。用于本发明所涉及的用途的表面活性剂包括、但不限于脂肪酸酯类（例如，**Spans®**）、聚氧乙烯山梨糖醇酐脂肪酸酯类（例如，**Tweens®**）、月桂基硫酸钠（SLS）、十二烷基苯磺酸钠（SDBS）、丁二酸二辛基磺酸钠（多库酯钠）、二氧胆酸钠盐（dioxycholic acid sodium salt）（DOSS）、硬脂山梨坦、三硬脂山梨坦、溴化十六烷基三甲基铵（HTAB）、N-月桂酰肌氨酸钠、

油酸钠、肉豆蔻酸钠、硬脂酸钠、棕榈酸钠、Gelucire 44/14、乙二胺四乙酸 (EDTA)、维生素 E d- α 生育酚聚乙二醇 1000 琥珀酸酯 (TPGS)、卵磷脂、MW 677-692、谷氨酸一钠一水合物 (Glutamic acid monosodium monohydrate)、辛酸癸酸聚乙二醇甘油酯 (Labrasol)、PEG 8 辛酸 / 癸酸甘油酯类、二乙二醇单乙基醚 (Transcutol)、二甘醇单乙醚、Solutol HS-15、聚乙二醇 / 羟基硬脂酸酯、牛磺胆酸、普卢兰尼克 F68、普卢兰尼克 F108 和普卢兰尼克 F127 (或任意其它聚氧乙烯 - 聚氧丙烯共聚物(**Pluronic®**))或饱和聚乙二醇化甘油酯类 (polyglycolized glycerides) (**Gelucirs®**)。可以用于本发明的这样的表面活性剂的具体实例包括、但不限于司盘 65、司盘 25、吐温 20、Capryol 90、普卢兰尼克 F108、月桂基硫酸钠 (SLS)、维生素 E TPGS、普流罗尼类和共聚物。一般优选 SLS。

[0386] 所述表面活性剂 (例如, SLS) 相对于喷雾干燥分散体总重的量可以在 0.1-15%。优选地, 其约为 0.5%—约 10%、更优选约 0.5—约 5%, 例如约 0.5—4%、约 0.5—3%、约 0.5—2%、约 0.5—1%或约 0.5%。

[0387] 在一些实施方案中, 所述表面活性剂相对于喷雾干燥分散体总重的量至少约为 0.1%、优选约 0.5%。在这些实施方案中, 所述表面活性剂可以以不超过约 15% 且优选不超过约 12%、约 11%、约 10%、约 9%、约 8%、约 7%、约 6%、约 5%、约 4%、约 3%、约 2% 或约 1% 的量存在。优选一种实施方案, 其中所述表面活性剂的量约为 0.5% 重量。

[0388] 可以按照与用于测试聚合物所述类似的方式测试候选表面活性剂 (或其它成分) 在用于本发明中的适合性。

[0389] 制备药物组合物的方法

[0390] 本发明的剂量单位形式可以通过在压力下压缩或压制配混物或组合物 (例如粉末或颗粒) 以形成稳定的三维形状 (例如片剂) 来制备。如本文所用, “片剂” 包括所有形状和大小的压制的药物剂量单位形式, 不论是包衣的还是未包衣的。

[0391] 本文所用的术语 “片剂” 是指适合于所治疗患者的活性剂的物理分散单元。一般而言, 压缩的混合物的密度大于压缩之前的该混合物的密度。本发明的剂量片剂可以具有几乎任何形状, 包括凹状和 / 或凸状表面、圆形或楔形角和圆形至直线形状。在一些实施方案中, 本发明的压制片剂包括具有平表面的圆形片剂。本发明的片剂可以通过本领域普通技术人员已知的形成压制固体药物剂型的任何压缩和压制方法来制备。在特定的实施方案中, 本文提供的制剂可以使用药物制剂领域技术人员已知的常规方法来制备, 如例如在相关教科书中所述。参见例如 Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st Ed., Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, Md. (2003) (《雷明顿: 药剂学科学与实践》, 第 21 版, 利平科特·威廉斯·威尔金斯出版公司, 马里兰州巴尔的摩, 2003 年); Ansel 等人, Pharmaceutical Dosage Forms And Drug Delivery Systems, 7th Edition, Lippincott Williams & Wilkins, (1999) (Ansel 等人, 《药物剂型和药物递送系统》, 第 7 版, 利平科特·威廉斯·威尔金斯出版公司, 1999 年); The Handbook of Pharmaceutical Excipients, 4th edition, Rowe 等人, Eds., American Pharmaceuticals Association (2003) (《药物赋形剂手册》, 第 4 版, Rowe 等人编辑, 美国医药协会, 2003 年); Gibson, Pharmaceutical Preformulation And Formulation, CRC Press (2001) (Gibson, 《药物预制剂和制剂》, CRC 出版社, 2001 年), 将这些参考文献作为参考完整地并入本文。

[0392] 制粒和压制

[0393] 在一些实施方案中,按照本文所示的配方称取各成分。接下来,将所有颗粒内成分过筛,并充分混合。可以用适合的润滑剂(例如硬脂酸镁)润滑这些成分。下一步可以包括压缩/击压粉末配混物和过筛后的成分。接下来,将压缩或击压后的共混物碾磨成颗粒,并过筛,以得到所需的大小。接下来,进一步用例如硬脂酸镁润滑颗粒。接下来,可以在适合的冲头上压制本发明的颗粒组合物以形成根据本发明的各种药物制剂。任选地,可以用薄膜衣、着色剂或其它包衣对片剂包衣。

[0394] 发明的另一个方面提供了制备药物组合物的方法,该方法包括:提供组合物的配混物,其中该组合物包含化合物 1 形式 I、包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体和一种或多种选自以下的赋形剂:填充剂、稀释剂、粘合剂、表面活性剂、润滑剂、崩解剂;以及将该组合物压制成片剂,这种片剂在约 30 分钟内的溶出度为至少约 50%。

[0395] 在另一个实施方案中,进行湿法制粒工艺,以由粉末成分和液体成分的配混物得到本发明的药物制剂。例如,按照本文所示的配方称取包含组合物(该组合物包含化合物 1 形式 I、包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体和一种或多种选自以下的赋形剂:填充剂、粘合剂、表面活性剂或崩解剂)的配混物的药物组合物。接下来,将所有颗粒内成分过筛,并在高剪切或低剪切制粒机中使用水或含表面活性剂的水或含粘合剂的水或含表面活性剂和粘合剂的水混合,以使粉末共混物形成颗粒。也可以使用非水流体,其含或不含表面活性剂和/或粘合剂,以使粉末共混物形成颗粒。接下来,可以任选地使用适合的碾磨机来碾磨湿润的颗粒。接下来,可以任选地通过以任何适合的方式干燥成分从而从配混物中除去水。接下来,可以任选地将干燥的颗粒碾磨至所需的大小。接下来,可以通过共混的方式加入颗粒外赋形剂(例如填充剂、稀释剂和崩解剂)。接下来,可以用硬脂酸镁和崩解剂(例如交联羧甲基纤维素钠)进一步润滑大小已确定的颗粒。接下来,可以将本发明的颗粒组合物过筛足够的时间以得到正确的大小,然后可以在适合的冲头上压制以形成根据本发明的各种药物制剂。任选地,可以用薄膜衣、着色剂或其它包衣对片剂包衣。令人惊奇地,可以在基本上不损耗化合物 1 形式 I 或基本上无定形的化合物 2 的固态形式的情况下进行湿法制粒。

[0396] 在一个尤其有利的实施方案中,本发明的药物组合物通过连续双螺杆湿法制粒(TSWG)工艺制备。连续制造通过在线监测和控制提供高质量和高度一致的产品。连续制造还通过具有“数据丰富的”设计空间的设计开发而有利于质量,并易于理解上游变量对下游工艺和最终产品质量的影响。此外,本发明的药物组合物可及早在商业规模的设备上定型,这避免了工艺放大风险和开发晚期的配方变化。最后,连续制造具有商业制造优点,例如改进的工艺控制、减少的产品处理以及实时放行效率。总体结果是更稳健、可控和可放大的工艺,这种工艺具有更少的过程检查,从而实现产品质量的升高并因此实现更大的患者安全性。这些优点解决了 Janet Woodcock 的(药物评价和研究中心(Center for Drug Evaluation and Research)(CDER)的领导者)的关切,即化学、制造和控制(CMC)不能保持高效疗法的快速临床研发(“What we are seeing is that of ten the rate limiting step is going to be manufacturing,”2013 年 7 月 24 日, Friends of Cancer hosted congressional briefing “Answering a Compelling Need:Expediting Life-Saving Treatments to Patients”to discuss the Food and Drug Administration’s

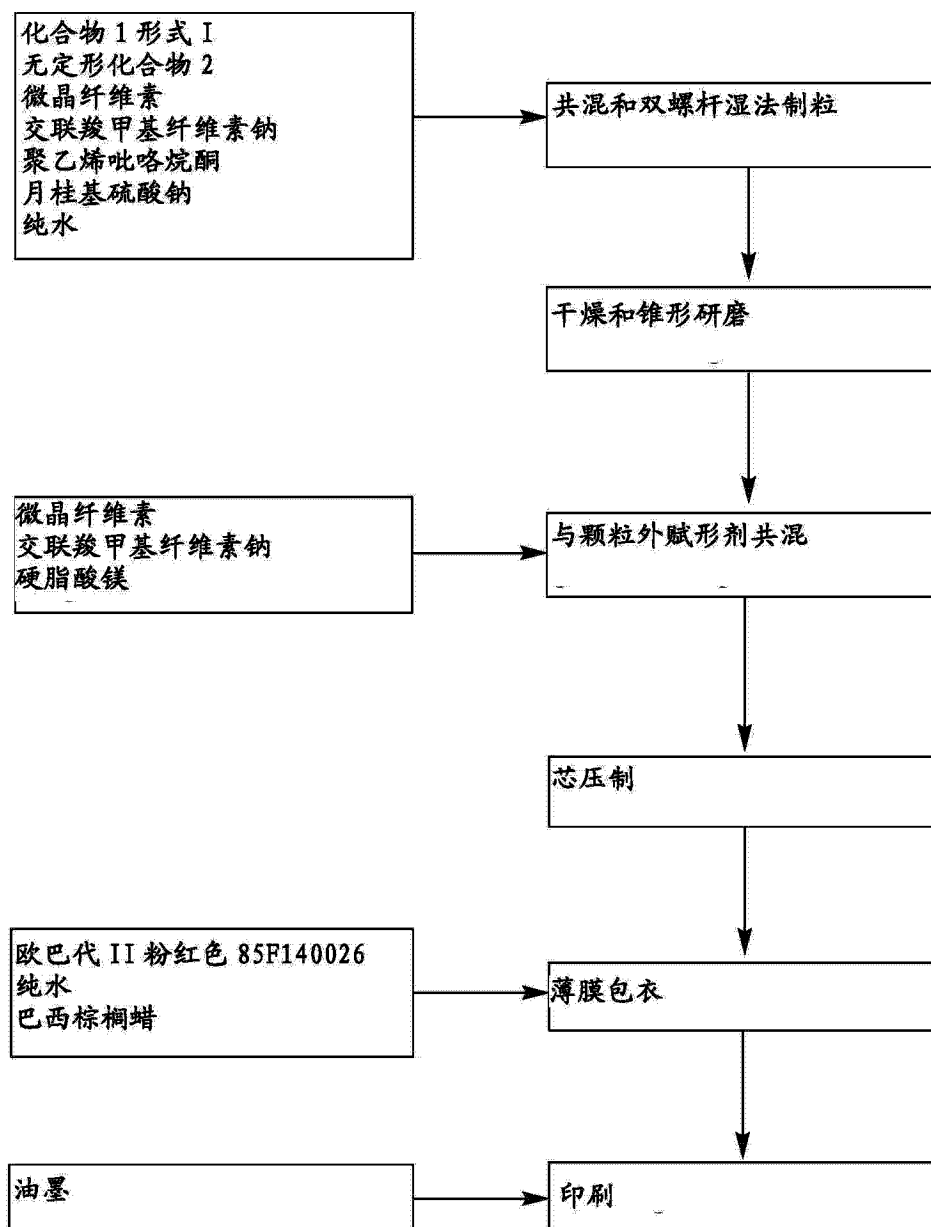
Breakthrough Therapy Designation)。

[0397] 例如,高剪切制粒(HSG)(一种常见的制粒技术)熟知的是存在过度制粒和工艺控制不良的风险。该工艺的放大极具挑战性,并涉及重大风险。从HSG工艺变成连续TSWG工艺允许使用相同的设备进行放大以通过运行更长的时间产生不同的批量。这消除了湿法使用其它制粒工艺通常遇到的放大风险。另外,据发现,TSWG工艺更稳健、不易制粒过度。如在化合物1片剂的图3中可以看出,HSG工艺显示出随着水含量的增加溶出的明显减缓,而TSWG工艺对于类似的水添加范围未显示出变化。令人惊讶的是,对于使用双螺杆湿法制粒工艺的包含45-55重量%的化合物1的片剂制剂和包含60-70重量%的化合物1的片剂制剂未发现性能的变化。而HSG工艺则并非如此。另外,这种连续的且高产品质量的工艺解决了FDA关于对其有需要的患者无药可用的普遍抱怨。

[0398] 在一个实施方案中,该连续工艺以单独的赋形剂和化合物1和化合物2通过失重式进料进入连续在线共混机而开始。从该共混机,材料按以下过程连续传输并加工:双螺杆湿法制粒、干燥、研磨、颗粒外添加赋形剂、共混、压片和包薄膜衣。

[0399] 例如,在一个实施方案中,可根据以下流程图连续制备包含包含化合物1和化合物2的片剂。

[0400]



[0401] 这种示例性配混物的每种成分如上文和下文的实例所述。此外，该配混物可以包含任选的添加剂，例如上文和下文的实施例描述的一种或多种着色剂、一种或多种矫味剂和 / 或一种或多种芳香剂。在一些实施方案中，上文和下文的实施例还提供了该配混物中的这些成分（和任何任选的添加剂）的每一者的相对浓度（例如 wt %）。可以按顺序或以任何添加组合来提供构成该配混物的成分；并且可以按任何顺序提供这些成分或成分的组合。在一个实施方案中，润滑剂是最后加入配混物的最终成分。

[0402] 在另一个实施方案中，配混物包含化合物 1 形式 I、固体分散体的基本上无定形的化合物 2 和任何一种或多种以下赋形剂的组合物：粘合剂、表面活性剂、稀释剂、润滑剂、崩解剂和填充剂，其中这些成分的每一者以粉末形式提供（例如，作为具有通过光散射法测得的 250 μm 或更低（例如 150 μm 或更低、100 μm 或更低、50 μm 或更低、45 μm 或更低、40 μm 或更低或 35 μm 或更低）的平均直径的粒子而提供）。

[0403] 在另一个实施方案中，将配混物压制成片剂通过如下方式实现：用配混物填充模板（例如模具），并对配混物施加压力。这可以使用模压机或其它类似的设备来实现。在

一些实施方案中,可以首先将化合物 1 形式 I、包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体和赋形剂的配混物加工成颗粒形式。然后,可以根据制药领域已知的方法筛分颗粒并压制成片剂或进行配制以用于包封。还应注意,对模板中的配混物施加压力可以在每次压制期间使用相同的压力进行重复,或在压制期间使用不同的压力进行。在另一个实例中,可以使用施加足够压力的模压机来压制粉状成分或颗粒的配混物,以形成在约 30 分钟时溶出约 50%或更多(例如,在约 30 分钟时溶出约 55%或更多,或在约 30 分钟时溶出约 60%或更多)的片剂。例如,使用模压机来压制配混物,以产生至少约 5kP(至少约 5.5kP、至少约 6kP、至少约 7kP、至少约 10kP 或至少 15kP)的片剂硬度。在一些情况下,压缩配混物以产生约 5 与 20kP 之间的片剂硬度。

[0404] 在一些实施方案中,包含如本文所述的药物组合物的片剂可以用按片剂的重量计约 3.0 重量%的薄膜衣进行包衣,其中薄膜衣包含着色剂。在某些情况下,用于对片剂包衣的着色剂悬浮液或溶液包含按着色剂悬浮液或溶液重量计约 20% w/w 的固体。在其它情况下,可以将包衣片标上徽标、其它图像或文字。

[0405] 在另一个实施方案中,用于生产药物组合物的方法包括:提供固体形式的配混物,例如,粉末和/或液体成分的配混物,该配混物包含包含化合物 1 形式 I、包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体和一种或多种选自以下的赋形剂:粘合剂、稀释剂、表面活性剂、润滑剂、崩解剂和填充剂;将配混物混合,直到配混物基本上均匀为止,并将配混物压制或压缩成颗粒形式。然后,如上文或下文的实例中所述,可以将包含化合物 1 形式 I 和包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体的颗粒组合物压制成片剂,或配制成胶囊剂。作为另外一种选择,用于生产药物组合物的方法包括:提供化合物 1 形式 I、包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体和一种或多种下列赋形剂的配混物:例如粘合剂、稀释剂、表面活性剂、润滑剂、崩解剂和填充剂;将配混物混合,直到配混物基本上均匀为止,并使用辊压机使用如下文实例所示的干法制粒组合物将配混物压制/压缩成颗粒形式。药物制剂(例如,如本文所述的片剂)可以用颗粒来制备,所述颗粒除了结合选定的本文所述的赋形剂之外还结合了化合物 1 形式 I 和包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体而制备。

[0406] 在一些实施方案中,使用手工混合、混合机、共混机、其任何组合等通过搅拌、共混、摇动等方式对配混物进行混合。当按顺序添加成分或成分的组合时,混合可以在顺序添加之间进行、在添加成分的整个过程中连续进行、在添加所有成分或成分的组合之后进行,或以其任何组合形式进行。对配混物进行混合,直到其具有基本上均匀的组成为止。

[0407] 在另一个实施方案中,本发明包括以适于产生具有高比率的 0.1 微米与 50 微米之间粒度的粒子的空气压力在适合的、常规碾磨设备中喷射研磨包含化合物 1 形式 I 和包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体的药物组合物。在另一个实施方案中,该粒度在 0.1 微米与 20 微米之间。在另一个实施方案中,该粒度在 0.1 微米与 10 微米之间。在另一个实施方案中,该粒度在 1.0 微米与 5 微米之间。在又一个实施方案中,所述药物组合物具有为 2.0 微米的粒度 D50。

[0408] 本发明的制剂提供两种 APIs 的固定剂量以便有效地治疗囊性纤维化,即已接受仅两种来自 FDA 的突破性疗法认定之一和确实具有正如通过化合物 2 的无定形固体形式少量损失所确定的令人惊奇的稳定性的组合。图 4 示出在 60%相对湿度下预平衡后在 50℃在 PC-XVII 中随时间变化的化合物 2 的结晶度。甚至在这些条件下接近 1000 小时后,5%

以下重量的化合物 2 已经结晶。图 5 显示对于 PC-XVII, 甚至在 60% 相对适度下预平衡后在 60°C 的较高温度下, 在这些条件下接近 1000 小时时, 10% 以下重量的化合物 2 已经结晶。图 6 和 7 显示 PC-XIX 的结果。因此, 本制剂提供在两人惊奇的稳定的药物组合物中两种突破性 API 的固定剂量的便利性。这样的制剂增加直接涉及搅拌有效治疗的患者的依从性。

[0409] 如上所述制备的剂型可接受根据 Test 711 “Dissolution” in United States Pharmacopoeia 29, United States Pharmacopoeial Convention, Inc., Rockville, Md., 2005 (“USP”) (《美国药典》第 29 版 711 溶出度试验, 马里兰州罗克维尔美国药典委员会, 2005 年) 的体外溶出度评价, 以测定活性物质从该剂型中释放的速率。通过例如高效液相色谱 (HPLC) 的技术方便地测定活性物质的含量和杂质水平。

[0410] 在一些实施方案中, 本发明包括使用包装材料, 例如高密度聚乙烯 (HDPE)、低密度聚乙烯 (LDPE) 和或聚丙烯和 / 或玻璃的容器和密封盒, 玻璃纸薄片, 铝箔袋和由铝或高密度聚氯乙烯 (PVC) (任选地包括干燥剂)、聚乙烯 (PE)、聚偏二氯乙烯 (PVDC)、PVC/PE/PVDC 等组成的泡罩或条板。在使用制药领域常用的化学或物理灭菌技术将包装及其内含物进行适当的灭菌之后, 这些包装材料可用于以无菌方式储存各种药物组合物和制剂。

[0411] 施用药物组合物的方法

[0412] 在一个方面, 可每天或大约每 24 小时向患者施用本发明的药物组合物一次。作为另外一种选择, 可每天两次向患者施用本发明的药物组合物。作为另外一种选择, 大约每 12 小时一次向患者施用本发明的药物组合物。以口服制剂施用这些药物组合物, 所述口服制剂包含约 25mg、50mg、100mg、125mg、150mg、200mg、250mg、300mg 或 400mg 化合物 1 形式 I; 和约 25mg、50mg、100mg、125mg、150mg、200mg 或 250mg 的基本上无定形的化合物 2。在该方面, 除了化合物 1 形式 I 和基本无定形的化合物 2 之外, 药物组合物还包含填充剂; 崩解剂; 表面活性剂; 粘合剂; 和润滑剂 (取决于药物组合物是颗粒还是片剂)。例如, 400mg 的化合物 1 形式 I 的剂量可包括两片本发明的片剂, 每片包含 200mg 化合物 1 形式 I。250mg 的基本上无定形的化合物 2 的剂量可以包括 2 片本发明的片剂, 其各自包含 125mg 的基本上无定形的化合物 2。

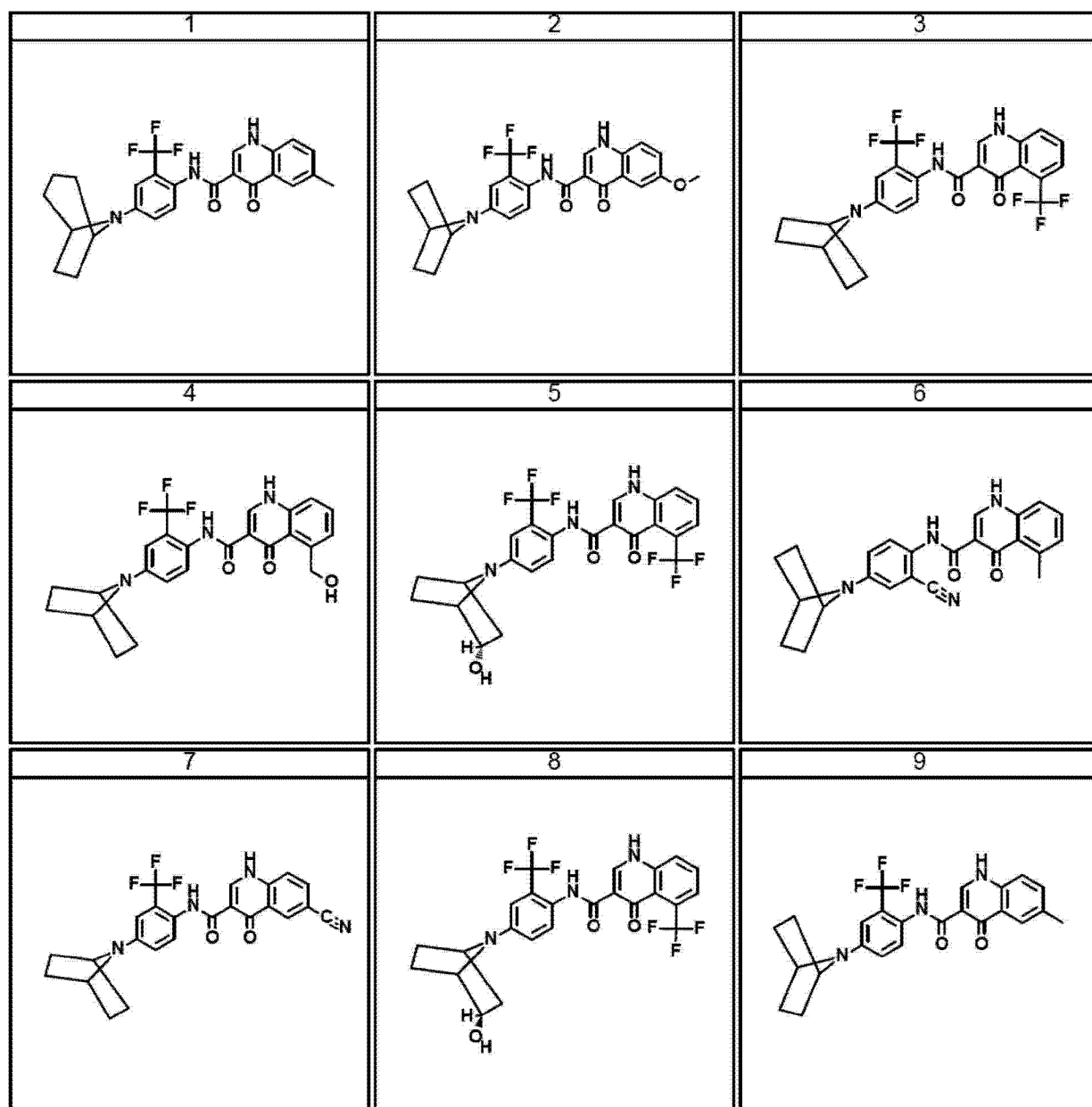
[0413] 将认识到, 本发明的化合物以及药学上可接受的组合物和制剂可以在联合疗法中使用; 也就是说, 化合物 1 形式 I 和固体分散体的基本上无定形的化合物 2 及其药学上可接受的组合物可与一种或多种其它所需的治疗剂或医疗程序同时、在其之前或在其之后施用。

[0414] 在一个实施方案中, 该另外的治疗剂选自溶粘蛋白剂、支气管扩张剂、抗生素、抗感染剂、抗炎剂、化合物 1 形式 I 和基本无定形的化合物 2 或营养剂之外的诱导 CFTR 活性的化合物。

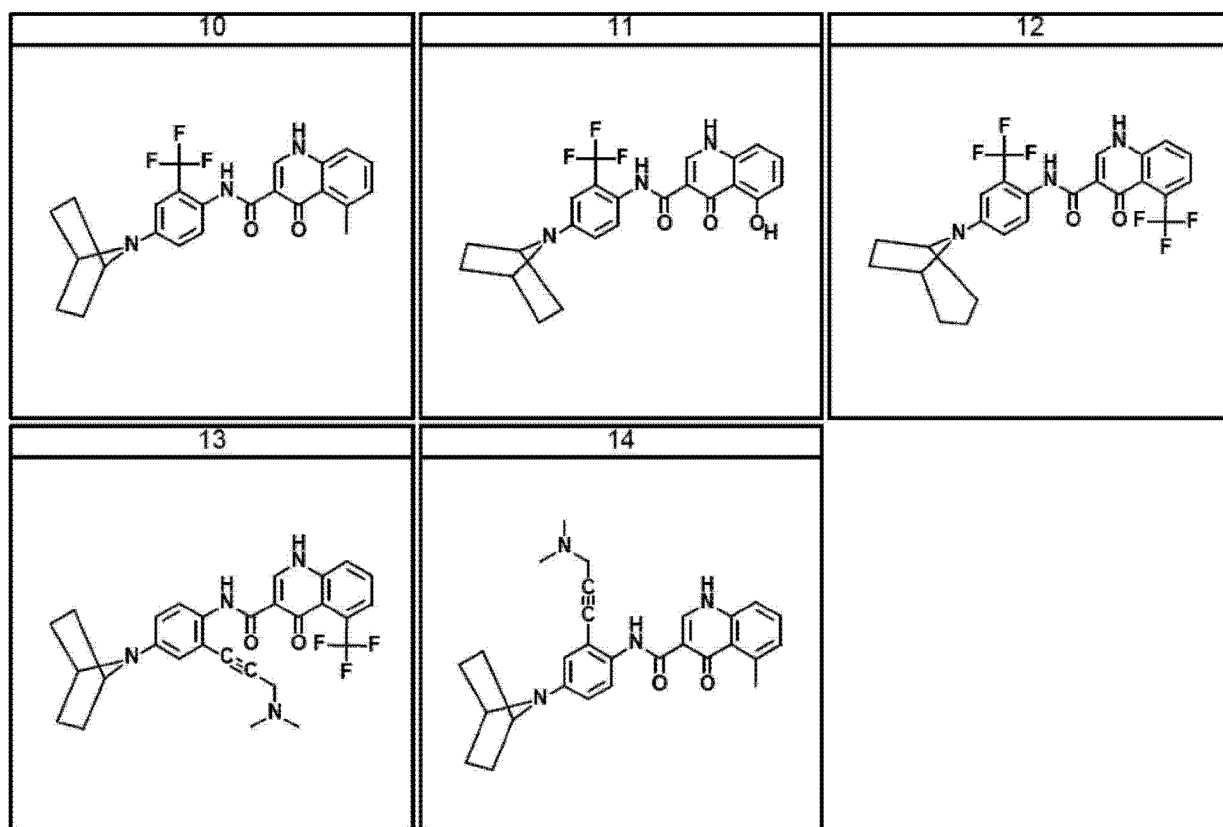
[0415] 在一个实施方案中, 该另外的药剂为 (R)-1-(2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)-N-(1-(2,3-二羟基丙基)-6-氟-2-(1-羟基-2-甲基丙-2-基)-1H-吡啶-5-基)环丙烷甲酰胺。在另一个实施方案中, 该另外的药剂为 4-(3-(1-(2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)环丙烷甲酰氨基)异喹啉-1-基)苯甲酸。在另一个实施方案中, 该另外的药剂选自表 1:

[0416] 表 1.

[0417]



[0418]



[0419] 在另一个实施方案中,该另外的药剂为上述药剂的任意组合。例如,所述组合可以包含本发明的药物组合物或片剂,其包含化合物 1 形式 I 和固体分散体的基本上无定形的化合物 2,且另外的治疗剂是 (R)-1-(2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)-N-(1-(2,3-二羟基丙基)-6-氟-2-(1-羟基-2-甲基丙-2-基)-1H-吡啶-5-基)环丙烷甲酰胺。在另一个实例中,所述组合可以包含本发明的药物组合物或片剂,其包含化合物 1 形式 I 和固体分散体的基本上无定形的化合物 2,且另外的治疗剂是 4-(3-(1-(2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)环丙烷甲酰氨基)异噻啉-1-基)苯甲酸。在另一个实例中,所述组合可以包含本发明的药物组合物或片剂,其包含化合物 1 形式 I 和固体分散体的基本上无定形的化合物 2,且另外的治疗剂是来自表 1 的化合物即化合物 1 至表 1 的 14 的任意一种或其任意的组合。

[0420] 在另一个实施方案中,另外的药剂选自表 1:

[0421]

表 1
公开在美国专利号 US7, 407, 976 中的化合物 (第 13 栏, 第 35 行-第 66 栏, 第 67 行; 表 1 中化合物 1-100, 第 67 栏, 第 1 行-第 127 栏, 第 42 行)
公开在美国专利号 US7, 645, 789 中的化合物 (第 16 栏, 第 52 行-第 50 栏, 第 22 行; 表 1 中化合物 1-322, 第 50 栏, 第 24 行-第 167 栏, 第 42 行)
公开在美国专利号 US7, 659, 268 中的化合物 (第 16 栏, 第 20 行-第 70 栏, 第 52 行; 表 1 中化合物 1-528, 第 70 栏, 第 53 行-第 331 栏, 第 34 行)
公开在美国专利号 US7, 671, 221 中的化合物 (第 16 栏, 第 12 行-第 54 栏, 第 48 行; 表 1 中化合物 1-1216, 第 54 栏, 第 49 行-第 699 栏, 第 27 行)
公开在美国专利号 US7, 691, 902 中的化合物 (第 16 栏, 第 11 行-第 54 栏, 第 29 行; 表 1 中化合物 1-959, 第 54 栏, 第 29 行-第 683 栏, 第 44 行)
公开在美国专利号 US 中的化合物 7, 741, 321 (第 16 栏, 第 25 行-第 72 栏, 第 7 行 17; 表 1 中化合物 1-422, 第 72 栏, 第 20 行-第 279 栏, 第 15 行)
公开在美国专利号 US7, 754, 739 中的化合物 (第 16 栏, 第 1 行-第 22 栏, 第 47 行; 表 1 中化合物 1-2, 第 18 栏, 第 26-65 行)
公开在美国专利号 US7, 776, 905 中的化合物 (第 16 栏, 第 23 行-第 38 栏, 第 40 行; 表 1 中化合物 1-306, 第 38 栏, 第 45 行-第 96 栏, 第 40 行)
公开在美国专利号 US7, 973, 169 中的化合物 (第 9 栏, 第 16 行-第 40 栏, 第 40 行; 表 1 中化合物 1-289, 第 40 栏, 第 41 行-第 289 栏, 第 39 行)
公开在美国专利号 US7, 977, 322 中的化合物 (第 6 栏, 第 26 行-第 37 栏, 第 47 行; 表 1 中化合物 1-498, 第 37 栏, 第 50 行-第 141 栏, 第 40 行)
公开在美国专利号 US7, 999, 113 中的化合物 (第 6 栏, 第 13 行-第 10 栏, 第 67 行; 表 1 中化合物 1-13, 第 11 栏, 第 5 行-第 13 栏, 第 65 行)
公开在美国专利号 US8, 227, 615 中的化合物 (第 6 栏, 第 10 行-第 29 栏, 第 66 行; 表 1 中化合物 1-78, 第 30 栏, 第 1 行-第 46 栏, 第 48 行)
公开在美国专利号 US8, 299, 099 中的化合物 (第 6 栏, 第 10 行-第 34 栏, 第 18 行; 表 1 中化合物 1-47, 第 34 栏, 第 20 行-第 42 栏, 第 35 行)
公开在美国公布的申请号 US2006-0052358 中的化合物 ([0034]-[0056]; [0077]-[0240] 段; [0241] 段的表 1 中的化合物 1-320)
公开在美国公布的申请号 US 2009-0143381 中的化合物 ([0102]-[0263] 段; 表 1 中 [0264] 段的化合物 1-28)
公开在美国公布的申请号 US2009-0170905 中的化合物 ([0012]-[0013]; [0030]-[0051] 段)
公开在美国公布的申请号 US2009-0253736 中的化合物 ([0031]-[0162] 段; [0163] 段表 1 中的化合物 1-15)

[0422]

公开在美国公布的申请号 US 2011-0263654 中的化合物 ([0012]-[0013]; [0066]-[0141] 段)
公开在美国公布的申请号 US2011-0251253 中的化合物 ([0012]-[0013]; [0054]-[0079] 段)
公开在 PCT 申请 W02008141119 中的表 1 中化合物 ([0100]-[0339] 段; [0340] 的段化合物 1-117)
公开在美国申请号 US11/047, 361 中的化合物
公开在美国公布的申请号 US2013-0116238 中的化合物 ([0028]-[0044]; [0117]-[0128] 段) 或其组合

[0423] 在另一个实施方案中, 另外的药剂选自表 2:

[0424]

表 2
公开在美国公布的申请号 US2005-0113423 中的化合物 ([00146] 段; [0391]-[0392] 段的表 1 和 2 中的化合物 IA-1-IA-136 和化合物 I-1-I-21)
公开在美国公布的申请号 US2005-0059687 中的化合物 ([00100]-[00101] 段; [0169] 段的表 1 中的化合物 1-405)
美国专利号 US7, 598, 412 中公开的化合物 1-108 (第 22 栏, 第 14 行-第 79 栏, 第 20 行; 表 1)
美国专利号 US7, 495, 103 中公开的化合物 1-485 (第 51 栏, 第 1 行-第 63 栏, 第 43 行; 表 1)
美国专利号 US8, 354, 427 中公开的化合物 1-718 (第 51 栏, 第 3 行-第 71 栏, 第 46 行; 表 1)
美国公布的申请号 US2007-0105833 中公开的化合物 1-233 ([00145] 段; 表 1)
美国专利号 US8, 242, 149 中公开的化合物 1-26 (第 46 栏, 第 47 行-第 57 栏, 第 37 行; 表 1)
美国专利号 US8, 314, 256 中公开的化合物 1-18 (第 21 栏, 第 1 行-第 26 栏, 第 19 行)
美国专利号 US8, 399, 479 中公开的化合物 1-14 (第 36 栏, 第 20 行-第 38 栏, 第 40 行; 表 1)
美国专利号 US8, 188, 283 中公开的化合物 1-18 (第 38 栏, 第 43 行-第 43 栏, 第 36 行; 表 1)
美国公布的申请号 US2010-0249180 中公开的化合物 1-16 ([0173] 段; 表 1)
美国公布的申请号 US2011-0008259 中公开的化合物 1-19 ([0172] 段; 表 1)
美国专利号 US8, 367, 660 中公开的化合物 1-129 (第 57 栏, 第 31 行-第 81 栏, 第 24 行; 表 1)

[0425] 在一个实施方案中,该另外的治疗剂为抗生素。可用于本文的示例性抗生素包括妥布霉素(包括妥布霉素吸入粉末(TIP))、阿奇霉素、氨曲南(包括雾化形式的氨曲南)、阿米卡星(包括其脂质体制剂)、环丙沙星(包括其适于吸入给药的制剂)、左氧氟沙星(包括其雾化制剂)以及两种抗生素的组合(例如磷霉素和妥布霉素)。

[0426] 在另一个实施方案中,该另外的药剂为粘液溶解剂(mucolyte)。可用于本文的示例性粘液溶解剂包括**Pulmozyme®**。

[0427] 在另一个实施方案中,该另外的药剂为支气管扩张剂。示例性支气管扩张剂包括沙丁胺醇、硫酸奥西那林(metaprotenerol sulfate)、醋酸吡布特罗、沙美特罗或硫酸特布他林(tetrabuline sulfate)。

[0428] 在另一个实施方案中,该另外的药剂对于恢复肺气管表面液体有效。此类药剂改善盐进出细胞,从而使得在肺气管中的粘液更加水化,并因此更容易地清除。示例性的此类药剂包括高渗盐水、地纽福索钠([[(3S,5R)-5-(4-氨基-2-氧代嘧啶-1-基)-3-羟基氧杂戊环-2-基]甲氧基-羟基磷酰基][[(2R,3S,4R,5R)-5-(2,4-二氧代嘧啶-1-基)-3,4-二羟基氧杂戊环-2-基]甲氧基-羟基磷酰基]氧杂-羟基磷酰基]磷酸氢盐)或 bronchitol(甘露糖醇的吸入制剂)。

[0429] 在另一个实施方案中,该另外的药剂为抗炎剂,即,可减少肺部炎症的药剂。可用于本文的示例性的此类药剂包括:布洛芬、二十二碳六烯酸(DHA)、西地那非、吸入的谷胱甘肽、吡格列酮、羟基氯喹或辛伐他汀。

[0430] 在另一个实施方案中,该另外的药剂为化合物1形式I或包含基本上无定形的化合物2的固体分散体之外的增加或诱导CFTR活性的药剂,即,具有增强或诱导CFTR活性的作用的药剂。示例性的此类药剂包括ataluren(**“PTC124®”**;3-[5-(2-氟苯基)-1,2,4-噁二唑-3-基]苯甲酸)、西那普肽、兰考韦泰、地来司他(人重组嗜中性粒细胞弹性蛋白酶抑制剂)和考前列酮(7-{(2R,4aR,5R,7aR)-2-[(3S)-1,1-二氟-3-甲基戊基]-2-羟基-6-氧代八氢环戊[b]吡喃-5-基}庚酸)。

[0431] 在另一个实施方案中,该另外的药剂为营养剂。示例性营养剂包括胰脂肪酶(胰腺酶替代物),包括**Pancrease®**、**Pancreacarb®**、**Ultrase®**或**Creon®**、**Liprotomase®**(formerly **Trizyte®**)、**Aquadeks®**或谷胱甘肽吸入剂。在一个实施方案中,该另外的营养剂为胰脂肪酶。

[0432] 在另一个实施方案中,该另外的药剂为选自以下的化合物:庆大霉素、姜黄素、环磷酸胺、4-苯基丁酸酯、麦格司他、非洛地平、尼莫地平、Philoxin B、染料木黄酮、芹菜素、cAMP/cGMP 增强剂或诱导剂例如咯利普兰、西地那非、米力农、他达拉非、氨力农、异丙肾上腺素、沙丁胺醇和沙美特罗、脱氧精胍菌素、HSP 90 抑制剂、HSP 70 抑制剂、蛋白体抑制剂例如环氧酶素(epoxomicin)、乳胞素等。

[0433] 在另一个实施方案中,该另外的药剂是选自如下的化合物:3-氨基-6-(4-氟-苯基)-5-三氟甲基-吡啶-2-甲酸(3,3,3-三氟-2-羟基-2-甲基-丙基)-酰胺;5-氨基-6'-甲基-3-三氟甲基-[2,3]联吡啶-6-甲酸(3,3,3-三氟-2-羟基-2-甲基-丙基)-酰胺;3-氨基-6-环丙基-N-(3,3,3-三氟-2-羟基-2-甲基丙基)-5-(三氟甲基)吡啶酰胺;3-氨基-6-甲氧基-N-(3,3,3-三氟-2-羟基-2-(三氟甲基)丙基)-5-(三氟

甲基)吡啶酰胺;3-氨基-6-(4-氟-苯基)-5-三氟甲基-吡啶-2-甲酸((S)-3,3,3-三氟-2-羟基-2-甲基-丙基)-酰胺;3-氨基-6-甲氧基-5-三氟甲基-吡啶-2-甲酸((S)-3,3,3-三氟-2-羟基-2-甲基-丙基)-酰胺;3-氨基-6-甲氧基-5-三氟甲基-吡啶-2-甲酸((R)-3,3,3-三氟-2-羟基-2-甲基-丙基)-酰胺;3-氨基-6-(2,4-二氯-苯基)-5-三氟甲基-吡啶-2-甲酸((S)-3,3,3-三氟-2-羟基-2-甲基-丙基)-酰胺;3-氨基-6-(2,4-二氯-苯基)-5-三氟甲基-吡啶-2-甲酸((R)-3,3,3-三氟-2-羟基-2-甲基-丙基)-酰胺;3-氨基-6-(4-氟-苯基)-5-三氟甲基-吡啶-2-甲酸(2-羟基-2-甲基-丙基)-酰胺;3-氨基-5,6-双-三氟甲基-吡啶-2-甲酸((S)-3,3,3-三氟-2-羟基-2-甲基-丙基)-酰胺;3-氨基-5,6-双-三氟甲基-吡啶-2-甲酸((R)-3,3,3-三氟-2-羟基-2-甲基-丙基)-酰胺;(S)-3-氨基-6-乙氧基-N-(3,3,3-三氟-2-羟基-2-甲基丙基)-5-(三氟甲基)吡啶酰胺;3-氨基-6-甲氧基-5-三氟甲基-吡啶-2-甲酸((S)-3,3,3-三氟-2-羟基-2-甲基-丙基)-酰胺;3-氨基-6-甲氧基-5-三氟甲基-吡啶-2-甲酸((R)-3,3,3-三氟-2-羟基-2-甲基-丙基)-酰胺;3-氨基-6-(4-氟-苯基)-5-三氟甲基-吡啶-2-甲酸(3,3,3-三氟-2-羟基-2-甲基-丙基)-酰胺;3-氨基-5,6-双-三氟甲基-吡啶-2-甲酸((S)-3,3,3-三氟-2-羟基-2-甲基-丙基)-酰胺;3-氨基-5,6-双-三氟甲基-吡啶-2-甲酸((R)-3,3,3-三氟-2-羟基-2-甲基-丙基)-酰胺或其药学上可接受的盐。在另一个实施方案中,该另外的药剂是公开在美国专利号US8,247,436和国际PCT公开号WO 2011113894中的化合物,各专利均整体以引用方式并入本文。

[0434] 在另一个实施方案中,该另外的药剂可以是上皮钠通道(ENaC)调节剂,其公开在PCT公开号WO2012035158、WO2009074575、WO2011028740、WO2009150137、WO2011079087或WO2008135557中,各专利均整体以引用方式并入本文。

[0435] 在其它实施方案中,该另外的药剂是在WO 2004028480、WO2004110352、WO 2005094374、WO 2005120497或WO 2006101740中公开的化合物,各专利均整体以引用方式并入本文。在另一个实施方案中,该另外的药剂是表现出CFTR诱导或增强活性的苯并[c]喹啉鎓衍生物或表现出CFTR诱导或增强剂活性的苯并吡喃衍生物。在另一个实施方案中,该另外的药剂是在美国专利号US7,202,262、美国专利号US6,992,096、US20060148864、US20060148863、US20060035943、US20050164973、WO2006110483、WO2006044456、WO2006044682、WO2006044505、WO2006044503、WO2006044502或WO2004091502中公开的化合物,各专利均整体以引用方式并入本文。在另一个实施方案中,该另外的药剂是在WO2004080972、WO2004111014、WO2005035514、WO2005049018、WO2006099256、WO2006127588或WO2007044560中公开的化合物,各专利均整体以引用方式并入本文。

[0436] 在一个实施方案中,可以对有此需要的受试者施用400mg的化合物1形式I和250mg的基本上无定形的化合物2。在这些实施方案中,可以通过施用本发明的一片或多片片剂实现所述剂量。例如,可以通过施用2片各自包含200mg的化合物1形式I和125mg的基本上无定形的化合物2的片剂实现施用400mg的化合物1形式I和250mg的基本上无定形的化合物2。施用期限可以持续至疾病实现改善或直到受试者临床医师建议为止,例如,施用期限可以为1周以下、1周、2周、3周、4周(28天)或1个月或以上。在一个实施方案中,可以将2片各自包含200mg的化合物1形式I和125mg的基本上无定形的化合物2的片剂每天施用于患者。在另一个实施方案中,可以将2片同时施用或在当天的不同时间施

用。在另一个实施方案中,可以每隔 12 小时施用 1 片。

[0437] 在一个实施方案中,可以对有此需要的受试者施用 400mg 的化合物 1 形式 I 和 500mg 的基本上无定形的化合物 2。在这些实施方案中,可以通过施用 2 片各自包含 200mg 的化合物 1 形式 I 和 250mg 的基本上无定形的化合物 2 的片剂实现所述剂量。在一个实施方案中,可以每隔 12 小时施用 1 片。在另一个实施方案中,还可以通过每隔 12 小时施用 2 片实现所述剂量,所述 2 片各自包含 100mg 的化合物 1 形式 I 和 125mg 的基本上无定形的化合物 2。在另一个实施方案中,还可以通过以分开的片剂施用化合物 1 形式 I 和基本上无定形的化合物 2 实现所述剂量。例如,可以通过施用包含 200mg 的化合物 1 形式 I 的片剂 2 片和包含 125mg 的基本上无定形的化合物 2 的片剂 4 片或包含 150mg 的基本上无定形的化合物 2 的片剂 2 片和包含 100mg 的基本上无定形的化合物 2 的片剂 2 片实现所述剂量。施用期限可以持续至疾病实现改善或直到受试者临床医师建议为止,例如,施用期限可以为 1 周以下、1 周、2 周、3 周、4 周 (28 天) 或 1 个月或以上。在一个实施方案中,可以每天给患者施用包含 200mg 的化合物 1 形式 I 的片剂 2 片和包含 125mg 的基本上无定形的化合物 2 的片剂 4 片。在一个实施方案中,可以每天给患者施用包含 200mg 的化合物 1 形式 I 的片剂 2 片,和每天 2 次给患者施用包含 150mg 和 100mg 的基本上无定形的化合物 2 的片剂 2 片。在另一个实施方案中,可以同时或在当天的不同时间施用片剂 2 片。在另一个实施方案中,可以每隔 12 小时施用包含 200mg 的化合物 1 的片剂 1 片,且每隔 12 小时施用包含 150mg 和 100mg 的基本上无定形的化合物 2 的片剂 2 片。

[0438] 在一个实施方案中,可以对有此需要的受试者施用 300mg 的化合物 1 形式 I 和 250mg 的基本上无定形的化合物 2。在这些实施方案中,可以通过施用本发明的 1 片或多片实现所述剂量。例如,施用 300mg 的化合物 1 形式 I 和 250mg 的基本上无定形的化合物 2 可以通过施用各自包含 150mg 的化合物 1 形式 I 和 125mg 的基本上无定形的化合物 2 的片剂 2 片实现。施用期限可以持续至疾病实现改善或直到受试者临床医师建议为止,例如,施用期限可以为 1 周以下、1 周、2 周、3 周、4 周 (28 天) 或 1 个月或以上。在一个实施方案中,可以每天给患者施用各自包含 150mg 的化合物 1 形式 I 和 125mg 的基本上无定形的化合物 2 的片剂 2 片。在另一个实施方案中,可以同时或在当天的不同时间施用 2 片。在另一个实施方案中,可以每隔 12 小时施用 1 片。

[0439] 在一个实施方案中,可以对有此需要的受试者施用 600mg 的化合物 1 形式 I 和 500mg 的基本上无定形的化合物 2。在这些实施方案中,可以通过施用 2 片实现所述剂量。例如,施用 600mg 的化合物 1 形式 I 和 500mg 的基本上无定形的化合物 2 可以通过每隔 12 小时施用各自包含 150mg 的化合物 1 形式 I 和 125mg 的基本上无定形的化合物 2 的片剂 2 片实现。施用期限可以持续至疾病实现改善或直到受试者临床医师建议为止,例如,施用期限可以为 1 周以下、1 周、2 周、3 周、4 周 (28 天) 或 1 个月或以上。在一个实施方案中,可以每天给患者施用各自包含 150mg 的化合物 1 形式 I 和 125mg 的基本上无定形的化合物 2 的片剂 4 片。在另一个实施方案中,可以同时或在当天的不同时间施用 4 片。在另一个实施方案中,可以每隔 12 小时施用 2 片。

[0440] 在一个实施方案中,可以对有此需要的受试者施用 800mg 的化合物 1 形式 I 和 500mg 的基本上无定形的化合物 2。在这些实施方案中,可以通过施用本发明的 1 片或多片片剂实现所述剂量。例如,施用 800mg 的化合物 1 形式 I 和 500mg 的基本上无定形的化合物

2 可以通过施用各自包含 200mg 的化合物 1 形式 I 和 125mg 的基本上无定形的化合物 2 的 4 片实现。施用期限可以持续至疾病实现改善或直到受试者临床医师建议为止,例如,施用期限可以为 1 周以下、1 周、2 周、3 周、4 周 (28 天) 或 1 个月或以上。在一个实施方案中,可以每天给患者施用各自包含 200mg 的化合物 1 形式 I 和 125mg 的基本上无定形的化合物 2 的片剂 4 片。在另一个实施方案中,可以同时或在当天的不同时间施用 4 片。在另一个实施方案中,每次给药机会可以施用 2 片且每天有 2 次给药机会。在另一个实施方案中,可以通过每天 2 次 (BID) 施用各自包含 200mg 的化合物 1 和 125mg 的化合物 2 的片剂 2 片给患者施用 800mg 的化合物 1 和 500mg 的化合物 2。在另一个实施方案中,可以通过每隔 12 小时 (q12h) 施用各自包含 200mg 的化合物 1 和 125mg 的化合物 2 的片剂 2 片给患者施用 800mg 的化合物 1 和 500mg 的化合物 2。

[0441] 在一个实施方案中,可以对有此需要的受试者施用 600mg 的化合物 1 形式 I 和 250mg 的基本上无定形的化合物 2。在这些实施方案中,可以通过施用本发明的 1 片或多片片剂实现所述剂量。例如,施用 600mg 的化合物 1 形式 I 和 250mg 的基本上无定形的化合物 2 可以通过施用各自包含 200mg 的化合物 1 形式 I 和 83.3mg 的基本上无定形的化合物 2 的片剂 3 片实现。施用期限可以持续至疾病实现改善或直到受试者临床医师建议为止,例如,施用期限可以为 1 周以下、1 周、2 周、3 周、4 周 (28 天) 或 1 个月或以上。在一个实施方案中,可以每天给患者施用各自包含 200mg 的化合物 1 形式 I 和 83.3mg 的基本上无定形的化合物 2 的片剂 3 片。在另一个实施方案中,可以同时或在当天的不同时间施用片剂 3 片。在另一个实施方案中,可以同时施用 3 片。

[0442] 在一个实施方案中,可以对有此需要的受试者施用 600mg 的化合物 1 形式 I 和 500mg 的基本上无定形的化合物 2。在这些实施方案中,可以通过施用本发明的 1 片或多片片剂实现所述剂量。例如,施用 600mg 的化合物 1 形式 I 和 500mg 的基本上无定形的化合物 2 可以通过施用各自包含 200mg 的化合物 1 形式 I 和 83.3mg 的基本上无定形的化合物 2 的片剂 3 片、再施用各自包含 125mg 的化合物 2 的另外 2 片片剂实现。施用期限可以持续至疾病实现改善或直到受试者临床医师建议为止,例如,施用期限可以为 1 周以下、1 周、2 周、3 周、4 周 (28 天) 或 1 个月或以上。在一个实施方案中,可以每天施用 600mg 的化合物 1 (qd) 和每天 2 次施用 250mg 的化合物 2 (bid),通过每天施用各自包含 200mg 的化合物 1 形式 I 和 83.3mg 的基本上无定形的化合物 2 的片剂 3 片 (qd) 和每隔 12 小时施用各自包含 125mg 的化合物的片剂 2 片 (q12h) 来进行。在一个实施方案中,可以每天施用 600mg 的化合物 1 (qd) 和每隔 12 小时施用 250mg 的化合物 2 (q12h),通过每天施用各自含 200mg 的化合物 1 形式 I 和 83.3mg 的基本上无定形的化合物 2 的片剂 3 片 (qd) 和每隔 12 小时施用各自包含 125mg 的化合物 2 的片剂 2 片 (q12h) 来进行。

[0443] 这些组合用于治疗本文所述的疾病,包括囊性纤维化。这些组合还用于本文所述的药盒。在另一个方面,本发明的特征在于药盒,其包含本发明的药物组合物或片剂 (包含化合物 1 形式 I 和包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体) 和单独的另外的治疗剂或其药物组合物。在另一个实施方案中,本发明的药物组合物或片剂、单独的另外的治疗剂或其药物组合物在公开的容器中。在另一个实施方案中,所述公开的容器是瓶子。在另一个实施方案中,所述公开的容器是小瓶。在另一个实施方案中,所述公开的容器是泡罩包装。

[0444] 存在于本发明组合物中的另外的治疗剂的量将不超过在包含该治疗剂作为唯一

活性剂的组合物中通常施用的量。优选地,在本发明所公开的组合物中的另外的治疗剂的量将在包含该药剂作为唯一治疗活性剂的组合物中通常存在的量的约 50%至 100%的范围内。

[0445] 组合物的治疗用途

[0446] 在一个方面,本发明还提供治疗患者的疾病、减轻所述疾病的严重性或对症治疗所述疾病的方法,该方法包括给患者、优选哺乳动物施用有效量的本发明的药物组合物或片剂,其中该疾病选自:囊性纤维化、哮喘、吸烟诱发的 COPD、慢性支气管炎、鼻窦炎、便秘、胰腺炎、胰腺功能不全、先天性双侧输精管缺失(CBAVD)导致的男性不育症、轻度肺病、特发性胰腺炎、变应性支气管肺曲菌病(ABPA)、肝病、遗传性肺气肿、遗传性血色病、凝血-纤溶缺陷(例如蛋白 C 缺乏症)、I 型遗传性血管性水肿、脂质加工缺陷(例如家族性高胆固醇血症)、I 型乳糜微粒血症、无 β 脂蛋白血症、溶酶体贮积症(例如 I-细胞病/假性赫尔勒综合征)、粘多糖症、桑德霍夫/泰-萨克斯病、克-纳综合征 II 型、多内分泌腺病/高胰岛素血症、糖尿病、拉伦侏儒症、髓过氧化物酶缺乏症、原发性甲状旁腺功能减退、黑素瘤、聚糖病 CDG 1 型、先天性甲状腺功能亢进症、成骨不全、遗传性低纤维蛋白原血症、ACT 缺乏症、尿崩症(DI)、神经生长性 DI、肾性 DI、夏-马-图综合征、佩-梅病、神经变性疾病(例如阿尔茨海默病)、帕金森病、肌萎缩性侧索硬化、进行性核上性麻痹、皮克病、若干聚谷氨酰胺神经性障碍(例如亨廷顿病)、I 型脊髓小脑性共济失调、脊髓与延髓肌肉萎缩症、齿状核红核苍白球丘脑下部核萎缩和肌强直性营养不良,以及海绵状脑病,例如遗传性克雅病(由朊病毒蛋白加工缺陷导致)、法布里病、格-斯-施综合征、COPD、干眼病或斯耶格伦氏综合征、骨质疏松症、骨质减少、骨愈合与骨生长(包括骨修复、骨再生、骨吸收减少和骨吸收增加)、戈勒姆综合征、氯离子通道病变例如先天性肌强直(汤姆森和贝克尔型)、巴特综合征 III 型、登特病、过度惊跳症、癫痫症、溶酶体贮存病、安格曼综合征和原发性纤毛运动障碍(PCD)(用于纤毛结构和/或功能遗传障碍的术语),包括具有左右转位的 PCD(也称作卡特金纳综合征)、没有左右转位和纤毛发育不良的 PCD。

[0447] 在一个方面,本发明还提供治疗患者的疾病、减轻所述疾病的严重性或对症治疗所述疾病的方法,该方法包含给患者、优选哺乳动物施用有效量的本发明的药物组合物或片剂,其中该疾病选自:全面性癫痫伴热性惊厥附加症(GEFS+)、全面性癫痫伴热性和非热性惊厥、肌强直、先天性副肌强直、钾加重肌强直、高钾型周期性麻痹、LQTS、LQTS/布鲁加综合征、常染色体显性 LQTS 伴耳聋、常染色体隐性 LQTS、LQTS 伴生理缺陷、先天性和获得性 LQTS、提摩西综合征、持续性幼儿型胰岛素过度分泌低血糖症、扩张型心肌病、常染色体显性 LQTS、Dent 病、骨硬化病、巴特综合征 III 型、中央轴空病、恶性高热和儿茶酚胺敏感性多形性心动过速。

[0448] 在一个方面,本发明涉及治疗或对症治疗患者的囊性纤维化、减轻其严重性的方法,包括给患者、优选哺乳动物施用有效量的本发明的药物组合物或片剂,其中所述患者具有 CFTR 遗传突变,其 N1303K、 Δ I507 或 R560T。

[0449] 在一个方面,本发明涉及治疗或对症治疗患者的囊性纤维化、减轻其严重性的方法,包括给患者、优选哺乳动物施用有效量的本发明的药物组合物或片剂,其中所述患者具有 CFTR 遗传突变,其 G551D。在另一个实施方案中,所述患者为纯合型的 G551D。在另一个实施方案中,所述患者为杂合型的 G551D,其中另一种 CFTR 遗传突变为 Δ F508、G542X、

N1303K、W1282X、R117H、R553X、1717-1G→A、621+1G→T、2789+5G→A、3849+10kbC→T、R1162X、G85E、3120+1G→A、Δ I507、1898+1G→A、3659delC、R347P、R560T、R334W、A455E、2184delA 或 711+1G→T 的任意一种。

[0450] 在一个方面,本发明涉及治疗或对症治疗患者的囊性纤维化、减轻其严重性的方法,包括给患者、优选哺乳动物施用有效量的本发明的药物组合物或片剂,其中所述患者具有 CFTR 遗传突变,其 Δ F508。在另一个实施方案中,所述患者为纯合型的 Δ F508。在另一个实施方案中,所述患者为杂合型的 Δ F508,其中另一种 CFTR 遗传突变为 G551D、G542X、N1303K、W1282X、R117H、R553X、1717-1G→A、621+1G→T、2789+5G→A、3849+10kbC→T、R1162X、G85E、3120+1G→A、Δ I507、1898+1G→A、3659delC、R347P、R560T、R334W、A455E、2184delA 或 711+1G→T 的任意一种。

[0451] 在一个方面,本发明涉及治疗或对症治疗患者的囊性纤维化、减轻其严重性的方法,包括给患者、优选哺乳动物施用有效量的本发明的药物组合物或片剂,其中所述患者具有 CFTR 遗传突变,其选自 G178R、G551S、G970R、G1244E、S1255P、G1349D、S549N、S549R、S1251N、E193K、F1052V、G1069R、R117C、D110H、R347H、R352Q、E56K、P67L、L206W、A455E、D579G、S1235R、S945L、R1070W、F1074L、D110E、D1270N、D1152H、1717-1G→A、621+1G→T、3120+1G→A、1898+1G→A、711+1G→T、2622+1G→A、405+1G→A、406-1G→A、4005+1G→A、1812-1G→A、1525-1G→A、712-1G→T、1248+1G→A、1341+1G→A、3121-1G→A、4374+1G→T、3850-1G→A、2789+5G→A、3849+10kbC→T、3272-26A→G、711+5G→A、3120G→A、1811+1.6kbA→G、711+3A→G、1898+3A→G、1717-8G→A、1342-2A→C、405+3A→C、1716G/A、1811+1G→C、1898+5G→T、3850-3T→G、IVS14b+5G→A、1898+1G→T、4005+2T→C 和 621+3A→G。

[0452] 在一个方面,本发明涉及治疗或对症治疗患者的囊性纤维化、减轻其严重性的方法,包括给患者、优选哺乳动物施用有效量的本发明的药物组合物或片剂,其中所述患者具有 CFTR 遗传突变,其选自 G178R、G551S、G970R、G1244E、S1255P、G1349D、S549N、S549R、S1251N、E193K、F1052V 和 G1069R。在该方面的一个实施方案中,本发明提供治疗 CFTR 的方法,包括给具有人 CFTR 突变的患者施用化合物 1,所述突变选自 G178R、G551S、G970R、G1244E、S1255P、G1349D、S549N、S549R 和 S1251N。在一个方面,本发明涉及治疗或对症治疗患者的囊性纤维化、减轻其严重性的方法,包括给患者、优选哺乳动物施用有效量的本发明的药物组合物或片剂,其中所述患者具有 CFTR 遗传突变,其选自 E193K、F1052V 和 G1069R。在该方面的一些实施方案中,所述方法产生大于基线氯离子转运 10- 倍的氯离子转运增加。

[0453] 在一个方面,本发明涉及治疗或对症治疗患者的囊性纤维化、减轻其严重性的方法,包括给患者、优选哺乳动物施用有效量的本发明的药物组合物或片剂,其中所述患者具有 CFTR 遗传突变,其选自 R117C、D110H、R347H、R352Q、E56K、P67L、L206W、A455E、D579G、S1235R、S945L、R1070W、F1074L、D110E、D1270N 和 D1152H。在该方面的一个实施方案中,所述方法产生大于或等于基线氯离子转运 10% 的氯离子转运增加。

[0454] 在一个方面,本发明涉及治疗或对症治疗患者的囊性纤维化、减轻其严重性的方法,包括给患者、优选哺乳动物施用有效量的本发明的药物组合物或片剂,其中所述患者具有 CFTR 遗传突变,其选自 1717-1G→A、621+1G→T、3120+1G→A、1898+1G→A、

711+1G→T、2622+1G→A、405+1G→A、406-1G→A、4005+1G→A、1812-1G→A、1525-1G→A、712-1G→T、1248+1G→A、1341+1G→A、3121-1G→A、4374+1G→T、3850-1G→A、2789+5G→A、3849+10kbC→T、3272-26A→G、711+5G→A、3120G→A、1811+1.6kbA→G、711+3A→G、1898+3A→G、1717-8G→A、1342-2A→C、405+3A→C、1716G/A、1811+1G→C、1898+5G→T、3850-3T→G、IVS14b+5G→A、1898+1G→T、4005+2T→C 和 621+3A→G。在一个方面,本发明涉及治疗或对症治疗患者的囊性纤维化、减轻其严重性的方法,包括给患者、优选哺乳动物施用有效量的本发明的药物组合物或片剂,其中所述患者具有 CFTR 遗传突变,其选自 1717-1G→A、1811+1.6kbA→G、2789+5G→A、3272-26A→G 和 3849+10kbC→T。在一个方面,本发明涉及治疗或对症治疗患者的囊性纤维化、减轻其严重性的方法,包括给患者、优选哺乳动物施用有效量的本发明的药物组合物或片剂,其中所述患者具有 CFTR 遗传突变,其选自 2789+5G→A 和 3272-26A→G。

[0455] 在一个方面,本发明涉及治疗或对症治疗患者的囊性纤维化、减轻其严重性的方法,包括给患者、优选哺乳动物施用有效量的本发明的药物组合物或片剂,其中所述患者具有 CFTR 遗传突变,其选自 G178R、G551S、G970R、G1244E、S1255P、G1349D、S549N、S549R、S1251N、E193K、F1052V、G1069R、R117C、D110H、R347H、R352Q、E56K、P67L、L206W、A455E、D579G、S1235R、S945L、R1070W、F1074L、D110E、D1270N、D1152H、1717-1G→A、621+1G→T、3120+1G→A、1898+1G→A、711+1G→T、2622+1G→A、405+1G→A、406-1G→A、4005+1G→A、1812-1G→A、1525-1G→A、712-1G→T、1248+1G→A、1341+1G→A、3121-1G→A、4374+1G→T、3850-1G→A、2789+5G→A、3849+10kbC→T、3272-26A→G、711+5G→A、3120G→A、1811+1.6kbA→G、711+3A→G、1898+3A→G、1717-8G→A、1342-2A→C、405+3A→C、1716G/A、1811+1G→C、1898+5G→T、3850-3T→G、IVS14b+5G→A、1898+1G→T、4005+2T→C 和 621+3A→G,且所述患者具有人 CFTR 突变,其选自 ΔF508、R117H 和 G551D。

[0456] 在一个方面,本发明涉及治疗或对症治疗患者的囊性纤维化、减轻其严重性的方法,包括给患者、优选哺乳动物施用有效量的本发明的药物组合物或片剂,其中所述患者具有 CFTR 遗传突变,其选自 G178R、G551S、G970R、G1244E、S1255P、G1349D、S549N、S549R、S1251N、E193K、F1052V 和 G1069R,且所述患者具有人 CFTR 突变,其选自 ΔF508、R117H 和 G551D。在一个方面,本发明涉及治疗或对症治疗患者的囊性纤维化、减轻其严重性的方法,包括给患者、优选哺乳动物施用有效量的本发明的药物组合物或片剂,其中所述患者具有 CFTR 遗传突变,其选自 G178R、G551S、G970R、G1244E、S1255P、G1349D、S549N、S549R 和 S1251N,且所述患者具有人 CFTR 突变,其选自 ΔF508、R117H 和 G551D。在一个方面,本发明涉及治疗或对症治疗患者的囊性纤维化、减轻其严重性的方法,包括给患者、优选哺乳动物施用有效量的本发明的药物组合物或片剂,其中所述患者具有 CFTR 遗传突变,其选自 E193K、F1052V 和 G1069R,且所述患者具有人 CFTR 突变,其选自 ΔF508、R117H 和 G551D。在该方面的一些实施方案中,所述方法产生大于基线氯离子转运 10- 倍的氯离子转运增加。

[0457] 在一个方面,本发明涉及治疗或对症治疗患者的囊性纤维化、减轻其严重性的方法,包括给患者、优选哺乳动物施用有效量的本发明的药物组合物或片剂,其中所述患者具有 CFTR 遗传突变,其选自 R117C、D110H、R347H、R352Q、E56K、P67L、L206W、A455E、D579G、S1235R、S945L、R1070W、F1074L、D110E、D1270N 和 D1152H,且所述患者具有人 CFTR 突变,其选自 ΔF508、R117H 和 G551D。在该方面的一个实施方案中,所述方法产生大于或等于基线

氯离子转运 10% 以上的氯离子转运增加。

[0458] 在一个方面,本发明涉及治疗或对症治疗患者的囊性纤维化、减轻其严重性的方法,包括给患者、优选哺乳动物施用有效量的本发明的药物组合物或片剂,其中所述患者具有 CFTR 遗传突变,其选自 1717-1G→A、621+1G→T、3120+1G→A、1898+1G→A、711+1G→T、2622+1G→A、405+1G→A、406-1G→A、4005+1G→A、1812-1G→A、1525-1G→A、712-1G→T、1248+1G→A、1341+1G→A、3121-1G→A、4374+1G→T、3850-1G→A、2789+5G→A、3849+10kbC→T、3272-26A→G、711+5G→A、3120G→A、1811+1.6kbA→G、711+3A→G、1898+3A→G、1717-8G→A、1342-2A→C、405+3A→C、1716G/A、1811+1G→C、1898+5G→T、3850-3T→G、IVS14b+5G→A、1898+1G→T、4005+2T→C 和 621+3A→G,且所述患者具有人 CFTR 突变,其选自 ΔF508, R117H 和 G551D。在一个方面,本发明涉及治疗或对症治疗患者的囊性纤维化、减轻其严重性的方法,包括给患者、优选哺乳动物施用有效量的本发明的药物组合物或片剂,其中所述患者具有 CFTR 遗传突变,其选自 1717-1G→A、1811+1.6kbA→G、2789+5G→A、3272-26A→G 和 3849+10kbC→T,且所述患者具有人 CFTR 突变,其选自 ΔF508, R117H 和 G551D。在一个方面,本发明涉及治疗或对症治疗患者的囊性纤维化、减轻其严重性的方法,包括给患者、优选哺乳动物施用有效量的本发明的药物组合物或片剂,其中所述患者具有 CFTR 遗传突变,其选自 2789+5G→A 和 3272-26A→G,且所述患者具有人 CFTR 突变,其选自 ΔF508, R117H。

[0459] 在一个方面,本发明涉及治疗或对症治疗患者的囊性纤维化、减轻其严重性的方法,包括给患者、优选哺乳动物施用有效量的本发明的药物组合物或片剂,其中所述患者具有 CFTR 遗传突变,其选自 G178R、G551S、G970R、G1244E、S1255P、G1349D、S549N、S549R、S1251N、E193K、F1052V、G1069R、R117C、D110H、R347H、R352Q、E56K、P67L、L206W、A455E、D579G、S1235R、S945L、R1070W、F1074L、D110E、D1270N、D1152H、1717-1G→A、621+1G→T、3120+1G→A、1898+1G→A、711+1G→T、2622+1G→A、405+1G→A、406-1G→A、4005+1G→A、1812-1G→A、1525-1G→A、712-1G→T、1248+1G→A、1341+1G→A、3121-1G→A、4374+1G→T、3850-1G→A、2789+5G→A、3849+10kbC→T、3272-26A→G、711+5G→A、3120G→A、1811+1.6kbA→G、711+3A→G、1898+3A→G、1717-8G→A、1342-2A→C、405+3A→C、1716G/A、1811+1G→C、1898+5G→T、3850-3T→G、IVS14b+5G→A、1898+1G→T、4005+2T→C 和 621+3A→G,且所述患者具有人 CFTR 突变,其选自 ΔF508, R117H 和 G551D。

[0460] 在一个方面,本发明涉及治疗或对症治疗患者的囊性纤维化、减轻其严重性的方法,包括给患者、优选哺乳动物施用有效量的本发明的药物组合物或片剂,其中所述患者具有 CFTR 遗传突变,其选自 G178R、G551S、G970R、G1244E、S1255P、G1349D、S549N、S549R、S1251N、E193K、F1052V 和 G1069R。在一个方面,本发明涉及治疗或对症治疗患者的囊性纤维化、减轻其严重性的方法,包括给患者、优选哺乳动物施用有效量的本发明的药物组合物或片剂,其中所述患者具有 CFTR 遗传突变,其选自 G178R、G551S、G970R、G1244E、S1255P、G1349D、S549N、S549R 和 S1251N。在一个方面,本发明涉及治疗或对症治疗患者的囊性纤维化、减轻其严重性的方法,包括给患者、优选哺乳动物施用有效量的本发明的药物组合物或片剂,其中所述患者具有 CFTR 遗传突变,其选自 E193K、F1052V 和 G1069R。在该方面的一些实施方案中,所述方法产生大于基线氯离子转运 10- 倍的氯离子转运增加。

[0461] 在一个方面,本发明涉及治疗或对症治疗患者的囊性纤维化、减轻其严重性的方

法,包括给患者、优选哺乳动物施用有效量的本发明的药物组合物或片剂,其中所述患者具有 CFTR 遗传突变,其选自 R117C、D110H、R347H、R352Q、E56K、P67L、L206W、A455E、D579G、S1235R、S945L、R1070W、F1074L、D110E、D1270N 和 D1152H。在该方面的一个实施方案中,所述方法产生大于或等于基线氯离子转运 10% 以上的氯离子转运增加。

[0462] 在一个方面,本发明涉及治疗或对症治疗患者的囊性纤维化、减轻其严重性的方法,包括给患者、优选哺乳动物施用有效量的本发明的药物组合物或片剂,其中所述患者具有 CFTR 遗传突变,其选自 1717-1G→A、621+1G→T、3120+1G→A、1898+1G→A、711+1G→T、2622+1G→A、405+1G→A、406-1G→A、4005+1G→A、1812-1G→A、1525-1G→A、712-1G→T、1248+1G→A、1341+1G→A、3121-1G→A、4374+1G→T、3850-1G→A、2789+5G→A、3849+10kbC→T、3272-26A→G、711+5G→A、3120G→A、1811+1.6kbA→G、711+3A→G、1898+3A→G、1717-8G→A、1342-2A→C、405+3A→C、1716G/A、1811+1G→C、1898+5G→T、3850-3T→G、IVS14b+5G→A、1898+1G→T、4005+2T→C 和 621+3A→G。在一个方面,本发明涉及治疗或对症治疗患者的囊性纤维化、减轻其严重性的方法,包括给患者、优选哺乳动物施用有效量的本发明的药物组合物或片剂,其中所述患者具有 CFTR 遗传突变,其选自 1717-1G→A、1811+1.6kbA→G、2789+5G→A、3272-26A→G 和 3849+10kbC→T。在一个方面,本发明涉及治疗或对症治疗患者的囊性纤维化、减轻其严重性的方法,包括给患者、优选哺乳动物施用有效量的本发明的药物组合物或片剂,其中所述患者具有 CFTR 遗传突变,其选自 2789+5G→A 和 3272-26A→G。

[0463] 在一个方面,本发明涉及治疗或对症治疗患者的囊性纤维化、减轻其严重性的方法,包括给患者、优选哺乳动物施用有效量的本发明的药物组合物或片剂,其中所述患者具有 CFTR 遗传突变,其选自 G178R、G551S、G970R、G1244E、S1255P、G1349D、S549N、S549R、S1251N、E193K、F1052V、G1069R、R117C、D110H、R347H、R352Q、E56K、P67L、L206W、A455E、D579G、S1235R、S945L、R1070W、F1074L、D110E、D1270N、D1152H、1717-1G→A、621+1G→T、3120+1G→A、1898+1G→A、711+1G→T、2622+1G→A、405+1G→A、406-1G→A、4005+1G→A、1812-1G→A、1525-1G→A、712-1G→T、1248+1G→A、1341+1G→A、3121-1G→A、4374+1G→T、3850-1G→A、2789+5G→A、3849+10kbC→T、3272-26A→G、711+5G→A、3120G→A、1811+1.6kbA→G、711+3A→G、1898+3A→G、1717-8G→A、1342-2A→C、405+3A→C、1716G/A、1811+1G→C、1898+5G→T、3850-3T→G、IVS14b+5G→A、1898+1G→T、4005+2T→C 和 621+3A→G,且所述患者具有人 CFTR 突变,其选自 Δ F508、R117H 和 G551D,且所述患者具有一种或多种人 CFTR 突变,其选自 Δ F508、R117H 和 G551D。

[0464] 在一个方面,本发明涉及治疗或对症治疗患者的囊性纤维化、减轻其严重性的方法,包括给患者、优选哺乳动物施用有效量的本发明的药物组合物或片剂,其中所述患者具有 CFTR 遗传突变,其选自 G178R、G551S、G970R、G1244E、S1255P、G1349D、S549N、S549R、S1251N、E193K、F1052V 和 G1069R,且所述患者具有一种或多种人 CFTR 突变,其选自 Δ F508、R117H 和 G551D。在一个方面,本发明涉及治疗或对症治疗患者的囊性纤维化、减轻其严重性的方法,包括给患者、优选哺乳动物施用有效量的本发明的药物组合物或片剂,其中所述患者具有 CFTR 遗传突变,其选自 G178R、G551S、G970R、G1244E、S1255P、G1349D、S549N、S549R 和 S1251N,且所述患者具有一种或多种人 CFTR 突变,其选自 Δ F508、R117H 和 G551D。在一个方面,本发明涉及治疗或对症治疗患者的囊性纤维化、减轻其严重性的方法,包括给

患者、优选哺乳动物施用有效量的本发明的药物组合物或片剂,其中所述患者具有 CFTR 遗传突变,其选自 E193K、F1052V 和 G1069R,且所述患者具有一种或多种人 CFTR 突变,其选自 Δ F508、R117H 和 G551D。在该方面的一些实施方案中,所述方法产生大于基线氯离子转运 10- 倍的氯离子转运增加。

[0465] 在一个方面,本发明涉及治疗或对症治疗患者的囊性纤维化、减轻其严重性的方法,包括给患者、优选哺乳动物施用有效量的本发明的药物组合物或片剂,其中所述患者具有 CFTR 遗传突变,其选自 R117C、D110H、R347H、R352Q、E56K、P67L、L206W、A455E、D579G、S1235R、S945L、R1070W、F1074L、D110E、D1270N 和 D1152H,且所述患者具有一种或多种人 CFTR 突变,其选自 Δ F508、R117H 和 G551D。所述方法产生大于或等于基线氯离子转运 10% 以上的氯离子转运增加。

[0466] 在一个方面,本发明涉及治疗或对症治疗患者的囊性纤维化、减轻其严重性的方法,包括给患者、优选哺乳动物施用有效量的本发明的药物组合物或片剂,其中所述患者具有 CFTR 遗传突变,其选自 1717-1G→A、621+1G→T、3120+1G→A、1898+1G→A、711+1G→T、2622+1G→A、405+1G→A、406-1G→A、4005+1G→A、1812-1G→A、1525-1G→A、712-1G→T、1248+1G→A、1341+1G→A、3121-1G→A、4374+1G→T、3850-1G→A、2789+5G→A、3849+10kbC→T、3272-26A→G、711+5G→A、3120G→A、1811+1.6kbA→G、711+3A→G、1898+3A→G、1717-8G→A、1342-2A→C、405+3A→C、1716G/A、1811+1G→C、1898+5G→T、3850-3T→G、IVS14b+5G→A、1898+1G→T、4005+2T→C 和 621+3A→G,且所述患者具有一种或多种人 CFTR 突变,其选自 Δ F508, R117H 和 G551D。在一个方面,本发明涉及治疗或对症治疗患者的囊性纤维化、减轻其严重性的方法,包括给患者、优选哺乳动物施用有效量的本发明的药物组合物或片剂,其中所述患者具有 CFTR 遗传突变,其选自 1717-1G→A、1811+1.6kbA→G、2789+5G→A、3272-26A→G 和 3849+10kbC→T,且所述患者具有一种或多种人 CFTR 突变,其选自 Δ F508、R117H 和 G551D。在一个方面,本发明涉及治疗或对症治疗患者的囊性纤维化、减轻其严重性的方法,包括给患者、优选哺乳动物施用有效量的本发明的药物组合物或片剂,其中所述患者具有 CFTR 遗传突变,其选自 2789+5G→A 和 3272-26A→G,且所述患者具有一种或多种人 CFTR 突变,其选自 Δ F508、R117H 和 G551D。

[0467] 在一些实施方案中,包含化合物 1 形式 I 和固体分散体的基本上无定形的化合物 2 的本发明的药学上可接受的组合物或片剂可用于治疗患者中的囊性纤维化、减轻囊性纤维化的严重性或对治疗囊性纤维化,所述患者在呼吸和非呼吸性上皮细胞的顶端膜中表现出残余的 CFTR 活性。在上皮细胞表面存在残余的 CFTR 活性可以容易地使用本领域已知的方法检测,例如标准电生理学、生物化学或组织化学技术。此类方法使用体内或离体电生理学技术,汗液或唾液中 Cl⁻ 浓度的测量,或者离体生物化学或组织化学技术来监测细胞表面密度从而确定 CFTR 活性。使用此类方法,可以容易地在为多种不同突变杂合或纯合的患者中检测残余的 CFTR 活性,包括为最常见的突变 Δ F508 以及例如 G551D 突变或 R117H 突变的其它突变纯合或杂合的患者。在一些实施方案中,包含化合物 1 形式 I 和包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体的药物组合物或片剂可用于治疗患者中的囊性纤维化、减轻囊性纤维化的严重性或对治疗囊性纤维化,所述患者表现出很低的或不表现出残余 CFTR 活性。在一些实施方案中,包含化合物 1 形式 I 和包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体的药物组合物或片剂可用于治疗患者中的囊性纤维化、减轻囊性纤维化的严重性或对

症治疗囊性纤维化,所述患者在呼吸性上皮细胞的顶端膜中表现出很低的或不表现出残余 CFTR 活性。

[0468] 在另一个实施方案中,本发明的化合物和组合物可用于治疗具有诱导的或增强的残余 CFTR 活性的患者中的囊性纤维化或减轻所述囊性纤维化的严重性,这种残余 CFTR 诱导剂或增强剂可使用药理学方法实现。在另一个实施方案中,本发明的化合物和组合物可用于治疗具有使用基因疗法诱导的或增强的残余 CFTR 活性的患者中的囊性纤维化或减轻所述囊性纤维化的严重性。此类方法增加存在于细胞表面的 CFTR 的量,从而在患者中诱导迄今不存在的 CFTR 活性或在患者中增强残余 CFTR 活性的现有水平。

[0469] 在一个实施方案中,如本文所述的包含化合物 1 形式 I 和包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体的本发明药物组合物和片剂可用于治疗患者中的囊性纤维化或减轻其严重性,该患者具有某些表现出残余 CFTR 活性的表型,例如 I 类突变(不合成)、II 类突变(错折叠)、III 类突变(调节或门控受损)、IV 类突变(传导改变)或 V 类突变(合成减少)。

[0470] 在一个实施方案中,如本文所述的包含化合物 1 形式 I 和包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体的本发明药物组合物和片剂可用于在具有某些临床表型(例如典型地与上皮细胞顶端膜中残余 CFTR 活性的量有关的中度到轻度临床表型)的患者中治疗囊性纤维化、减轻囊性纤维化的严重性或对症治疗囊性纤维化。此类表型包括表现出胰腺功能不全(pancreatic sufficiency)的患者。

[0471] 在一个实施方案中,如本文所述的包含化合物 1 形式 I 和包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体的本发明药物组合物和片剂可用于治疗经诊断患有以下疾病的患者、减轻所述疾病的严重性或对症治疗所述疾病:胰腺功能不全、特发性胰腺炎和先天性双侧输精管缺失或轻度肺病,其中该患者表现出残余 CFTR 活性。

[0472] 在一个实施方案中,如本文所述的包含化合物 1 形式 I 和包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体的本发明药物组合物和片剂可用于治疗经诊断患有以下疾病的患者、减轻所述疾病的严重性或对症治疗所述疾病:胰腺功能不全、特发性胰腺炎和先天性双侧输精管缺失或轻度肺病,其中该患者具有野生型 CFTR。

[0473] 除了囊性纤维化以外,CFTR 活性的调节还可有益于其它不直接由 CFTR 突变所导致的疾病,例如分泌性疾病和其它由 CFTR 介导的蛋白折叠疾病。这些疾病包括但不限于慢性阻塞性肺病(COPD)、干眼病和斯耶格伦氏综合征。COPD 的特征在于进行性的并且不完全可逆的气流受限。气流受限是由于粘液分泌过多、肺气肿和细支气管炎。突变或野生型 CFTR 的活化剂提供 COPD 中常见的粘液分泌过多和粘膜纤毛清除力受损的潜在治疗。具体地讲,增加跨 CFTR 的阴离子分泌可有利于体液转运进气道表面液体,以水化粘液并优化纤毛周围的体液粘度。这将引起粘膜纤毛清除力增强和与 COPD 有关的症状的减轻。干眼病的特征在于泪水的产生减少和异常泪膜脂质、蛋白和粘蛋白行为。干眼有很多原因,其中一些包括年龄、Lasik 眼手术、关节炎、药物治疗、化学/热灼伤、变态反应和疾病,例如囊性纤维化和斯耶格伦氏综合征。增加经由 CFTR 的阴离子分泌将增强体液从角膜内皮细胞和眼周围分泌腺体的转运,从而增加角膜的水化作用。这将有助于缓解与干眼病有关的症状。斯耶格伦氏综合征是一种自身免疫疾病,其中免疫系统攻击体内各处产生水分的腺体,包括眼、口、皮肤、呼吸组织、肝、阴道和肠。症状包括眼、口和阴道干燥以及肺部疾病。该疾病也与

类风湿性关节炎、系统性狼疮、系统性硬化和多肌炎 / 皮肤炎有关。有缺陷的蛋白运输据信会导致该疾病,其治疗选择是有限的。CFTR 活性的增强剂或诱导剂可以水化各种受疾病影响的器官,并帮助改善有关症状。

[0474] 在一个实施方案中,本发明涉及在体外或体内增强或诱导阴离子通道活性的方法,包括使该通道与药物组合物 PC-I — PC-XXV 的任意一种接触。在另一个实施方案中,阴离子通道为氯离子通道或碳酸氢根通道。在另一个实施方案中,阴离子通道为氯离子通道。

[0475] 所需的确切量将在受试者之间有所不同,这取决于受试者的物种、年龄和一般状况、感染的严重性、具体的药剂、其施用模式等。优选将本发明化合物配制成单位剂型以易于施用和保持剂量均匀。本文所用的表达“单位剂型”是指适合于待治疗的患者的药剂的物理离散单元。然而,应当理解,本发明的化合物和组合物的总每日用量将由主治医师在合理的医学判断范围内决定。用于任何特定患者或生物体的具体有效剂量水平将取决于包括如下各项在内的多种因素:所治疗的病症和该病症的严重性;所使用的具体化合物的活性;所使用的具体组合物;患者的年龄、体重、总体健康情况、性别和饮食;所使用的具体化合物的施用时间、施用途径以及排泄速率;治疗持续时间;与所使用的具体化合物联合或同时使用的药物,以及医学领域熟知的类似因素。本文所用的术语“患者”意指动物,优选哺乳动物,并且最优选人。

[0476] 在本申请中如果化合物的名称未能正确描述化合物的结构,则结构代替名称,以结构为准。

具体实施方案

[0477] XRPD (X- 射线粉末衍射)

[0478] 化合物 1 形式 I 的 X 射线衍射 (XRD) 数据在具有 HI-STAR 2 维检测器和扁平石墨单色器的 Bruker D8 DISCOVER 粉末衍射仪上采集。在 40kV、35mA 下使用具有 K α 辐射的 Cu 密封管。在 25°C 下将样品置于零背景的硅晶片上。对每一样品而言,各自以 2 个不同的 θ_2 角在 120 秒采集两个数据帧:8° 和 26°。用 GADDS 软件对数据积分并用 DIFFRACT^{plus}EVA 软件合并。所报告的峰位置的不确定值为 ± 0.2 度。

[0479] 示差扫描量热法 (DSC)

[0480] 化合物 1 形式 I 的差示扫描量热法 (DSC) 数据用 DSC Q100 V9.6Build290 (特拉华州纽卡斯尔 TA 仪器公司 (TA Instruments, New Castle, DE) 采集。温度用铟校准,而热容用蓝宝石校准。称取 3–6mg 样品到铝盘中,将铝盘轧上带有 1 个针孔的褶皱盖。在 25°C 至 350°C 范围内以 1.0°C /min 的加热速率并以 50ml/min 的氮气吹扫进行样品扫描。数据通过 Thermal Advantage Q SeriesTM 软件 2.2.0.248 版采集并通过 Universal Analysis 软件 4.1D 版 (特拉华州纽卡斯尔 TA 仪器公司) 分析。报告的数值代表单次分析。

[0481] 化合物 1 形式 I 单晶结构测定

[0482] 衍射数据在配备有密封管 Cu K α 源和 Apex II CCD 检测器的 Bruker Apex II 衍射仪上获得。使用 SHELX 程序 (Sheldrick, G. M., Acta Cryst., (2008) A64, 112–122 (Sheldrick, G. M., 《晶体学报》, 2008 年, 第 A64 期, 112–122 页)) 对结构进行解析和精修。基于系统消光和强度统计,解析和精修 P2₁/n 空间群中的结构。

[0483] **Vitride®** (二氢双 (2- 甲氧乙氧基) 铝酸钠 [或 NaAlH₂ (OCH₂CH₂OCH₃)₂], 65wt %

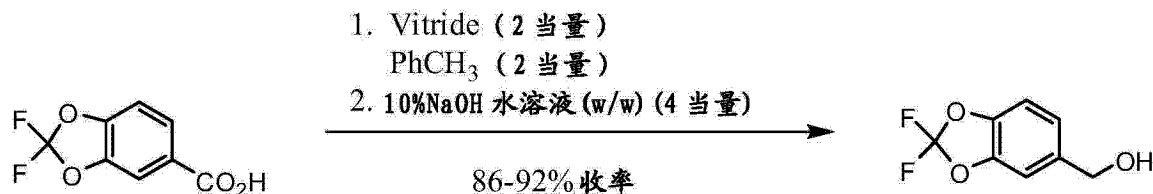
的甲苯溶液) 购自德里奇化学公司 (Aldrich Chemicals)。

[0484] 2,2-二氟-1,3-苯并间二氧杂环戊烯-5-甲酸购自 Saltigo (Lanxess 公司)。

[0485] 化合物 1 的制备

[0486] (2,2-二氟-1,3-苯并间二氧杂环戊烯-5-基)-甲醇的制备。

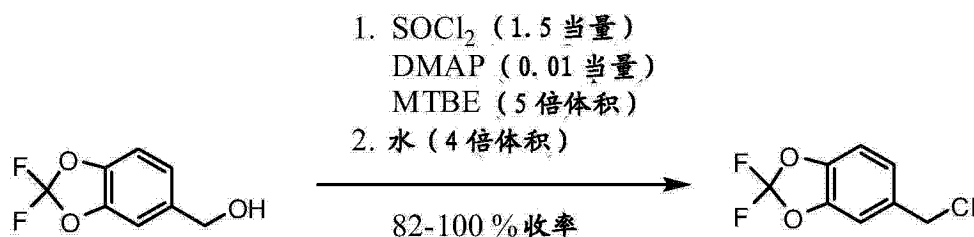
[0487]



[0488] 使市售 2,2-二氟-1,3-苯并间二氧杂环戊烯-5-甲酸 (1.0 当量) 在甲苯 (10 倍体积) 中浆化。将 **Vitride®** (2 当量) 经由加料漏斗以将温度维持在 15-25℃ 的速率加入。在添加结束时, 将温度增至 40℃ 维持 2 小时 (h), 然后将 10% (w/w) 的 NaOH 水溶液 (aq, 4.0 当量) 经由加料漏斗小心加入, 将温度维持在 40-50℃。再搅拌 30 分钟 (min) 后, 让层在 40℃ 下分离。将有机相冷却到 20℃, 然后用水 (2×1.5 倍体积) 洗涤、干燥 (Na₂SO₄)、过滤并浓缩得到直接用于下一步的粗 (2,2-二氟-1,3-苯并间二氧杂环戊烯-5-基)-甲醇。

[0489] 5-氯甲基-2,2-二氟-1,3-苯并间二氧杂环戊烯的制备。

[0490]



[0491] 将 (2,2-二氟-1,3-苯并间二氧杂环戊烯-5-基)-甲醇 (1.0 当量) 溶于 MTBE (5 倍体积)。将催化量的 4-(N,N-二甲基)氨基吡啶 (DMAP) (1mol%) 加入并经由加料漏斗将 SOCl₂ (1.2 当量) 加入。将 SOCl₂ 以将反应器中的温度维持在 15-25℃ 的速率加入。将温度增至 30℃ 保持 1h, 然后冷却到 20℃。将水 (4 倍体积) 经加料漏斗加入, 同时将温度维持在 30℃ 以下。再搅拌 30min 后, 进行层分离。对有机层进行搅拌, 并将 10% (w/v) 的 NaOH 水溶液 (4.4 倍体积) 加入。搅拌 15 至 20min 后, 进行层分离。然后对有机相进行干燥 (Na₂SO₄)、过滤并浓缩, 得到直接用于下一步的粗 5-氯甲基-2,2-二氟-1,3-苯并间二氧杂环戊烯。

[0492] (2,2-二氟-1,3-苯并间二氧杂环戊烯-5-基)-乙腈的制备。

[0493]

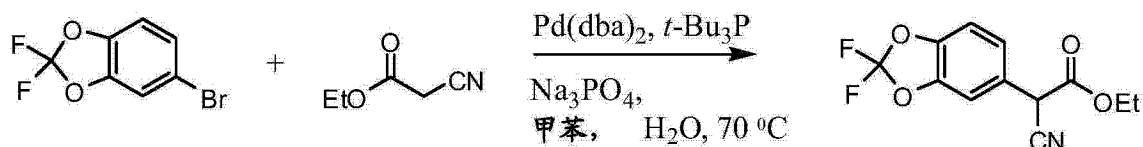


[0494] 将 5-氯甲基-2,2-二氟-1,3-苯并间二氧杂环戊烯 (1 当量) 在 DMSO (1.25 倍

体积) 中的溶液加入 NaCN (1.4 当量) 在 DMSO (3 倍体积) 中的浆液, 同时将温度维持在 30-40℃ 之间。将混合物搅拌 1h, 然后将水 (6 倍体积) 加入, 再将甲基叔丁基醚 (MTBE) (4 倍体积) 加入。搅拌 30min 后, 将层分离。将含水层用 MTBE (1.8 倍体积) 萃取。将合并的有机层用水 (1.8 倍体积) 洗涤、干燥 (Na_2SO_4)、过滤并浓缩得到直接用于下一步的粗 (2, 2-二氟-1,3-苯并间二氧杂环戊烯-5-基)-乙腈 (95%)。

[0495] (2,2-二氟-1,3-苯并间二氧杂环戊烯-5-基)-1-乙酸乙酯-乙腈的合成

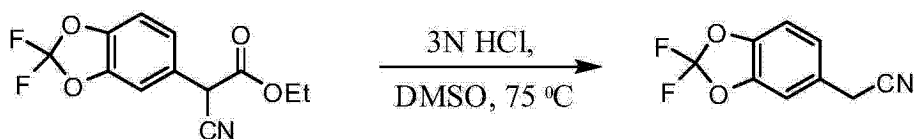
[0496]



[0497] 将反应器用氮气吹扫, 然后加入 900mL 甲苯。将溶剂经由不短于 16h 的氮鼓泡进行脱气。然后向反应器中加入 Na_3PO_4 (155.7g, 949.5mmol), 再加入双(二亚苄基丙酮) 钯 (0) (7.28g, 12.66mmol)。将 10% w/w 的叔丁基膦的己烷溶液 (51.23g, 25.32mmol) 在 23℃ 下经 10min 通过用氮气吹扫过的加料漏斗加入。将混合物搅拌 50min, 此时将 5-溴-2,2-二氟-1,3-苯并间二氧杂环戊烯 (75g, 316.5mmol) 经 1min 加入。再搅拌 50min 后, 向混合物中经 5min 加入氰基乙酸乙酯 (71.6g, 633.0mmol), 然后将水 (4.5mL) 一次性加入。将混合物经 40min 加热到 70℃, 每 1-2h 通过 HPLC 分析反应物向产物的转化百分比。在观察到转化完成后 (典型地在 5-8h 后转化率达到 100%), 将混合物冷却到 20-25℃, 然后通过硅藻土垫过滤。将硅藻土垫用甲苯 (2×450mL) 冲洗, 将合并的有机物在真空和 60-65℃ 下浓缩到 300mL。向浓缩物中加入 225mL DMSO, 在真空和 70-80℃ 下浓缩, 直到活跃的溶剂蒸馏停止。将溶液冷却到 20-25℃, 用 DMSO 稀释到 900mL, 以为步骤 2 做准备。 ^1H NMR (500MHz, CDCl_3) δ 7.16 - 7.10 (m, 2H), 7.03 (d, $J = 8.2\text{Hz}$, 1H), 4.63 (s, 1H), 4.19 (m, 2H), 1.23 (t, $J = 7.1\text{Hz}$, 3H)。

[0498] (2,2-二氟-1,3-苯并间二氧杂环戊烯-5-基)-乙腈的合成。

[0499]

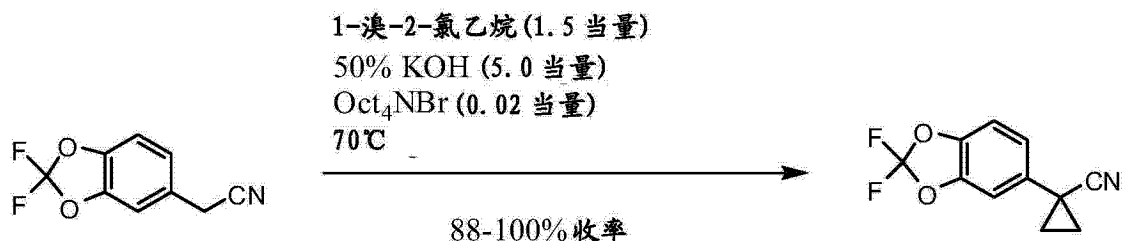


[0500] 经 20min 向上面得到的 (2,2-二氟-1,3-苯并间二氧杂环戊烯-5-基)-1-乙酸乙酯-乙腈的 DMSO 溶液加入 3N HCl (617.3mL, 1.85mol), 同时将内部温度维持在 <40℃。然后经 1h 将混合物加热到 75℃, 并每 1-2h 通过 HPLC 分析转化百分比。当观察到转化率 >99% 时 (典型地在 5-6h 后), 将反应物冷却到 20-25℃, 用 MTBE (2×525mL) 萃取足够的时间, 以允许在萃取过程中实现完全的相分离。将合并的有机萃取物用 5% NaCl (2×375mL) 洗涤。然后将溶液转移到配备经冷却的接收烧瓶的适于 1.5-2.5 托真空蒸馏的设备。将溶液在真空和 <60℃ 下浓缩以除去溶剂。然后在 125-130℃ (炉温) 和 1.5-2.0 托下将 (2,2-二氟-1,3-苯并间二氧杂环戊烯-5-基)-乙腈从所得的油中蒸馏出来。(2,2-二氟-1,3-苯并间二氧杂环戊烯-5-基)-乙腈作为澄清的油以 66% 的收率从 5-溴-2,2-二氟-1,3-苯并二氧杂环戊烯 (2 步) 中分离, HPLC 纯度为 91.5% AUC (对应于 95% 的重量比测定)。 ^1H NMR (500MHz, DMSO) δ 7.44 (br s, 1H), 7.43 (d, $J = 8.4\text{Hz}$, 1H), 7.22 (dd, $J = 8.2, 1.8\text{Hz}$,

1H), 4.07 (s, 2H).

[0501] (2,2-二氟-1,3-苯并间二氧杂环戊烯-5-基)-环丙烷甲腈的制备.

[0502]



[0503] 将 (2,2-二氟-1,3-苯并间二氧杂环戊烯-5-基)-乙腈 (1.0 当量)、50wt% 的 KOH 水溶液 (5.0 当量)、1-溴-2-氯乙烷 (1.5 当量) 和 Oct₄NBr (0.02 当量) 的混合物在 70℃ 下加热 1h。将反应混合物冷却, 然后用 MTBE 和水后处理。将有机相用水和盐水洗涤。除去溶剂得到 (2,2-二氟-1,3-苯并间二氧杂环戊烯-5-基)-环丙烷甲腈。

[0504] 1-(2,2-二氟-1,3-苯并间二氧杂环戊烯-5-基)-环丙烷甲酸的制备.

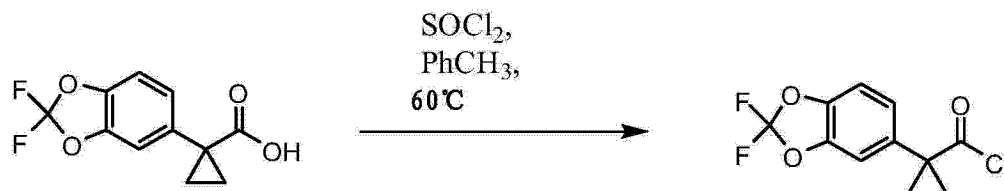
[0505]



[0506] 将 (2,2-二氟-1,3-苯并间二氧杂环戊烯-5-基)-环丙烷甲腈用 6M 的 NaOH (8 当量) 的乙醇 (5 倍体积) 溶液在 80℃ 下水解过夜。将混合物冷却到室温, 将乙醇在真空下蒸发。使残余物吸收到水和 MTBE 中, 将 1M HCl 加入, 然后对层进行分离。然后将 MTBE 层用二环己基胺 (DCHA) (0.97 当量) 进行处理。将浆液冷却到 0℃、过滤并用庚烷洗涤, 得到相应的 DCHA 盐。使盐吸收到 MTBE 和 10% 柠檬酸中并搅拌直至所有固体溶解。对层进行分离, 将 MTBE 层用水和盐水洗涤。溶剂交换成庚烷后过滤, 在真空炉中在 50℃ 干燥过夜后得到 1-(2,2-二氟-1,3-苯并间二氧杂环戊烯-5-基)-环丙烷甲酸。

[0507] 1-(2,2-二氟-1,3-苯并间二氧杂环戊烯-5-基)-羰基氯的制备.

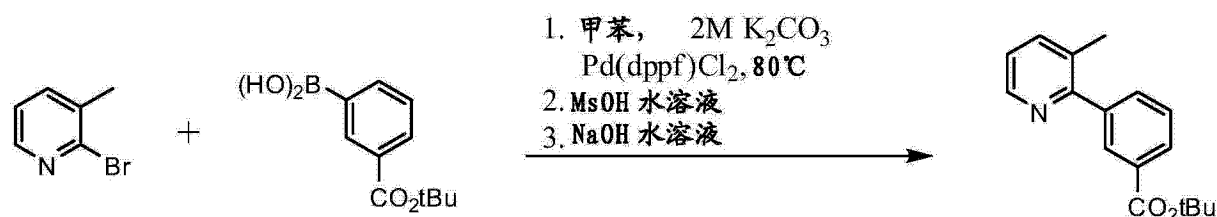
[0508]



[0509] 将 1-(2,2-二氟-1,3-苯并间二氧杂环戊烯-5-基)-环丙烷甲酸 (1.2 当量) 在甲苯 (2.5 倍体积) 中浆化, 将混合物加热到 60℃。将 SOCl₂ (1.4 当量) 经由加料漏斗加入。30 分钟后将甲苯和 SOCl₂ 从反应混合物中蒸馏出来。将另外的甲苯 (2.5 倍体积) 加入, 对所得的混合物再次蒸馏, 留下作为油状物的酰氯, 其无需进一步纯化而使用。

[0510] 3-(3-甲基吡啶-2-基)苯甲酸叔丁酯的制备。

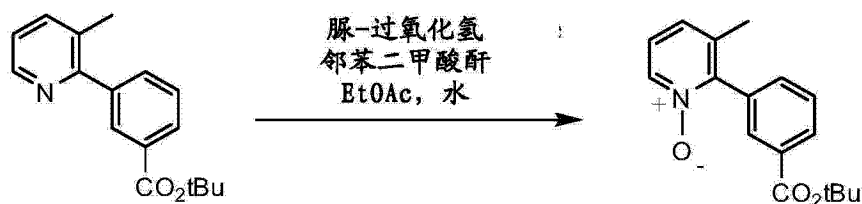
[0511]



[0512] 将 2-溴-3-甲基吡啶 (1.0 当量) 溶于甲苯 (12 倍体积)。将 K_2CO_3 (4.8 当量) 加入, 然后将水 (3.5 倍体积) 加入。将所得的混合物在 N_2 流下加热到 $65^\circ C$ 维持 1 小时。然后将 3-(叔丁氧羰基)苯基硼酸 (1.05 当量) 和 $Pd(dppf)Cl_2 \cdot CH_2Cl_2$ (0.015 当量) 加入并将混合物加热到 $80^\circ C$ 。2 小时后, 停止加热, 将水加入 (3.5 倍体积), 并进行层分离。然后将有机相用水 (3.5 倍体积) 洗涤, 并用 10% 的甲磺酸水溶液 (2 当量 $MsOH$, 7.7 倍体积) 萃取。通过 50% 的 $NaOH$ 水溶液 (2 当量) 使水相呈碱性, 并用 $EtOAc$ (8 倍体积) 萃取。对有机层进行浓缩得到直接用于下一步的粗 3-(3-甲基吡啶-2-基)苯甲酸叔丁酯 (82%)。

[0513] 2-(3-(叔丁氧羰基)苯基)-3-甲基吡啶-1-氧化物的制备

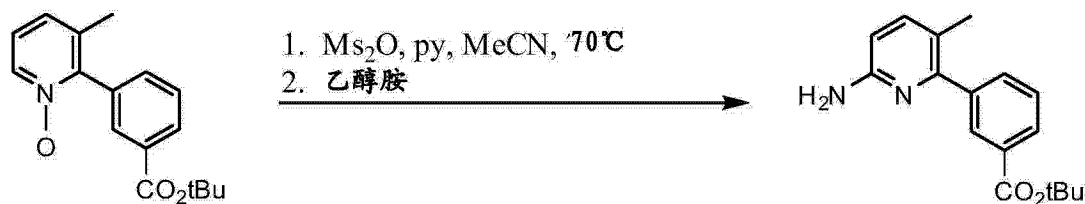
[0514]



[0515] 将 3-(3-甲基吡啶-2-基)苯甲酸叔丁酯 (1.0 当量) 溶于 $EtOAc$ (6 倍体积)。将水 (0.3 倍体积) 加入, 然后将脲-过氧化氢 (3 当量) 加入。然后将邻苯二甲酸酐 (3 当量) 作为固体以将反应器中的温度维持在 $45^\circ C$ 以下的速率分批加入混合物。在完成邻苯二甲酸酐的添加后, 将混合物加热到 $45^\circ C$ 。再搅拌 4 小时后, 停止加热。将 10% w/w 的 Na_2SO_3 水溶液 (1.5 当量) 经由加料漏斗加入。在完成 Na_2SO_3 的添加后, 将混合物再搅拌 30min, 然后对层进行分离。对有机层进行搅拌, 并将 10% w/w 的 Na_2CO_3 水溶液 (2 当量) 加入。在搅拌 30 分钟后, 进行层分离。将有机相用 13% w/v 的 $NaCl$ 水溶液洗涤。然后对有机相进行过滤并浓缩, 得到直接用于下一步的粗 2-(3-(叔丁氧羰基)苯基)-3-甲基吡啶-1-氧化物 (95%)。

[0516] 3-(6-氨基-3-甲基吡啶-2-基)苯甲酸叔丁酯的制备。

[0517]

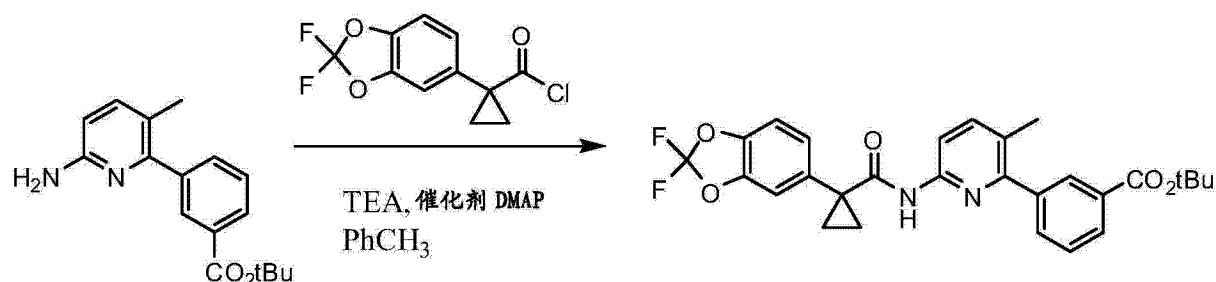


[0518] 将 2-(3-(叔丁氧羰基)苯基)-3-甲基吡啶-1-氧化物 (1 当量) 和吡啶 (4 当量) 的乙腈 (8 倍体积) 溶液加热到 $70^\circ C$ 。将甲磺酸酐 (1.5 当量) 的 $MeCN$ (2 倍体积) 溶液经 50min 经由加料漏斗加入, 同时将温度维持在 $75^\circ C$ 以下。完成添加后, 将混合物再搅拌

0.5 小时。然后使混合物冷却到环境温度。将乙醇胺 (10 当量) 经由加料漏斗加入。搅拌 2 小时后, 将水 (6 倍体积) 加入并将混合物冷却到 10℃。搅拌 3 小时后, 通过过滤收集固体, 用水 (3 倍体积)、2:1 乙腈 / 水 (3 倍体积) 和乙腈 (2×1.5 倍体积) 洗涤。将固体在真空炉中在 50℃ 下通过轻微的 N₂ 流干燥到恒重 (<1% 的差值), 得到作为红 - 黄色固体的 3-(6-氨基-3-甲基吡啶-2-基) 苯甲酸叔丁酯 (53% 的收率)。

[0519] 3-(6-(1-(2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)-环丙烷甲酰氨基)-3-甲基吡啶-2-基)-苯甲酸叔丁酯的制备。

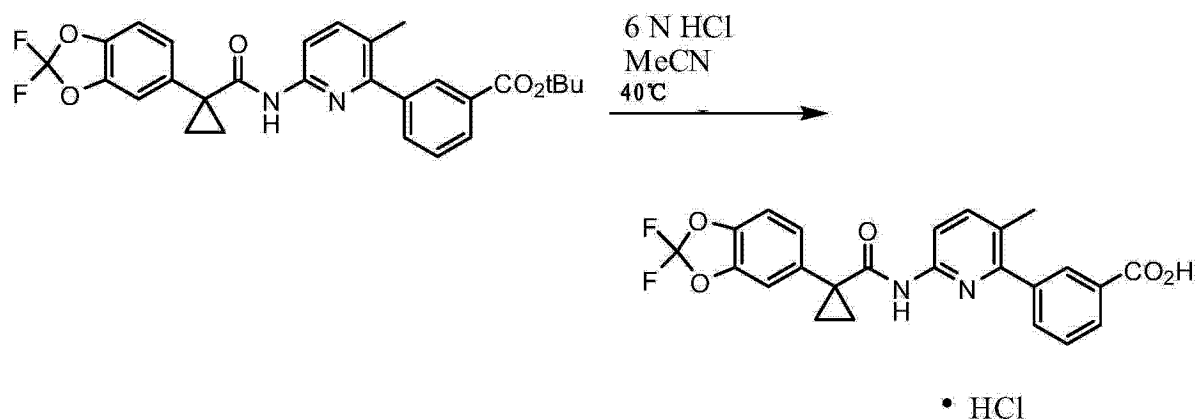
[0520]



[0521] 将上文所述的粗酰氯溶于甲苯 (按酰氯计为 2.5 倍体积), 并经由加料漏斗加入 3-(6-氨基-3-甲基吡啶-2-基) 苯甲酸叔丁酯 (1 当量)、DMAP (0.02 当量) 和三乙胺 (3.0 当量) 在甲苯 (按 3-(6-氨基-3-甲基吡啶-2-基) 苯甲酸叔丁酯计为 4 倍体积) 的混合物中。2 小时后, 将水 (按 3-(6-氨基-3-甲基吡啶-2-基) 苯甲酸叔丁酯计为 4 倍体积) 加入反应混合物。搅拌 30 分钟后, 对层进行分离。然后对有机相进行过滤, 并浓缩得到 3-(6-(1-(2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)-环丙烷甲酰氨基)-3-甲基吡啶-2-基)-苯甲酸叔丁酯 (定量粗产率) 的浓稠油。将乙腈 (按粗产物计为 3 倍体积) 加入, 并蒸馏直至发生结晶。将水 (按粗产物计为 2 倍体积) 加入, 并将混合物搅拌 2h。通过过滤收集固体, 用 1:1 (体积比) 的乙腈 / 水 (按粗产物计为 2×1 倍体积) 洗涤, 然后在过滤器上在真空下部分干燥。将固体在真空炉中在 60℃ 下通过轻微的 N₂ 流干燥到恒重 (<1% 的差值), 得到作为棕色固体的 3-(6-(1-(2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)-环丙烷甲酰氨基)-3-甲基吡啶-2-基)-苯甲酸叔丁酯。

[0522] 3-(6-(1-(2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)-环丙烷甲酰氨基)-3-甲基吡啶-2-基)-苯甲酸·HCL 盐的制备。

[0523]



[0524] 向 3-(6-(1-(2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)环丙烷甲酰氨基)-3-甲基吡啶-2-基)-苯甲酸叔丁酯(1.0 当量)在 MeCN(3.0 倍体积)中的浆液加入水(0.83 倍体积),然后加入浓盐酸水溶液(0.83 倍体积)。将混合物加热到 $45 \pm 5^\circ\text{C}$ 。搅拌 24 至 48h 后,反应完成,并让混合物冷却到环境温度。将水(1.33 倍体积)加入,对混合物进行搅拌。通过过滤收集固体,用水(2×0.3 倍体积)洗涤,然后在过滤器上在真空下部分干燥。将固体在真空炉中在 60°C 下通过轻微的 N_2 流干燥到恒重($<1\%$ 的差值),得到作为灰白色固体的 3-(6-(1-(2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)环丙烷甲酰氨基)-3-甲基吡啶-2-基)苯甲酸·HCl。

[0525] 化合物 1 的 ^1H NMR 光谱在图 8 和图 9 中示出,其显示了作为 HCl 盐的化合物 1 的 ^1H NMR 光谱。

[0526] 下表 2 描述了化合物 1 的 ^1H NMR 数据。

[0527] 表 2。

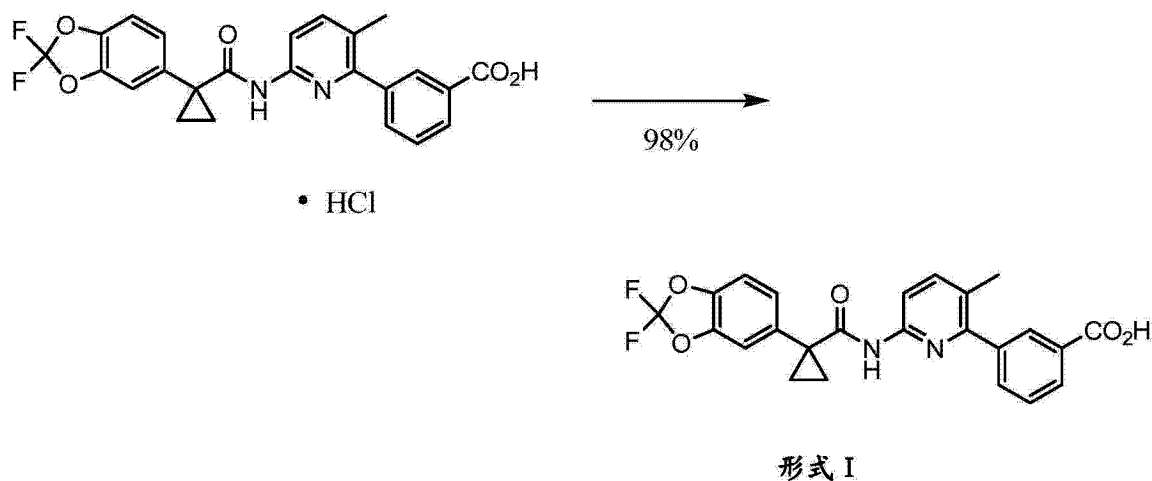
[0528]

化合物编号	LC/MS M + 1	LC/RT 分钟	NMR
1	453.3	1.93	^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) 9.14 (s, 1H), 7.99–7.93 (m, 3H), 7.80–7.78 (m, 1H), 7.74–7.72 (m, 1H), 7.60–7.55 (m, 2H), 7.41–7.33 (m, 2H), 2.24 (s, 3H), 1.53–1.51 (m, 2H), 1.19–1.17 (m, 2H).

[0529] 化合物 1 形式 I 的制备

[0530] 化合物 1 形式 I 的制备,方法 A.

[0531]

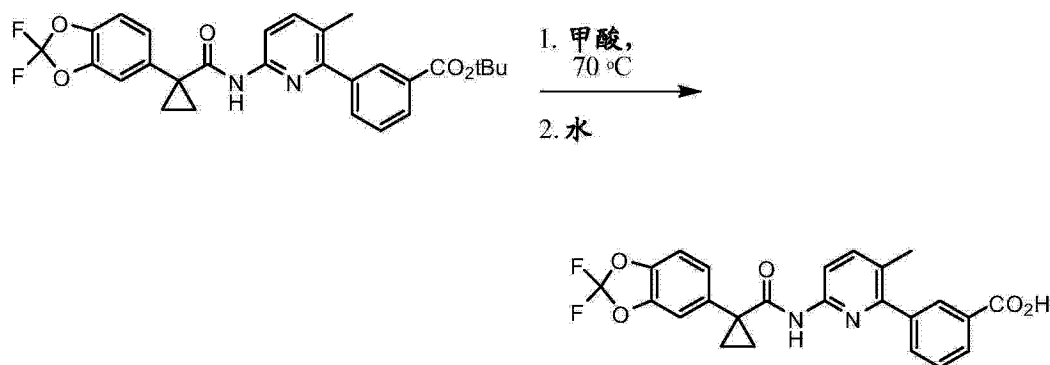


[0532] 将 3-(6-(1-(2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)环丙烷甲酰氨基)-3-甲基吡啶-2-基)苯甲酸·HCl(1 当量)在水(10 倍体积)中的浆液在环境温度下搅拌。在搅拌 24h 后采集样品。对样品过滤,将固体用水洗涤(2 次)。使固体样品接受 DSC 分析。当 DSC 分析表明完全转化成形式 I 后,通过过滤收集固体,用水(2×1.0 倍体积)洗涤,并在过滤器上在真空下部分干燥。然后将固体在真空炉中在 60°C 下通过轻微

的 N_2 流干燥到恒重 (<1% 的差值), 得到作为灰白色固体的化合物 1 形式 I (98% 产率)。
 1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) 9.14 (s, 1H), 7.99–7.93 (m, 3H), 7.80–7.78 (m, 1H), 7.74–7.72 (m, 1H), 7.60–7.55 (m, 2H), 7.41–7.33 (m, 2H), 2.24 (s, 3H), 1.53–1.51 (m, 2H), 1.19–1.17 (m, 2H).

[0533] 化合物 1 形式 I 的制备, 方法 B.

[0534]



形式 I

[0535] 将 3-(6-(1-(2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)环丙烷甲酰氨基)-3-甲基吡啶-2-基)-苯甲酸叔丁酯 (1.0 当量) 的甲酸 (3.0 倍体积) 溶液在搅拌下加热到 $70 \pm 10^\circ C$ 维持 8h。当色谱法表明不超过 1.0% AUC 的 3-(6-(1-(2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)环丙烷甲酰氨基)-3-甲基吡啶-2-基)-苯甲酸叔丁酯) 剩余时, 将反应视为完成。使混合物冷却到环境温度。将溶液加入水 (6 倍体积) 中, 在 $50^\circ C$ 下加热, 并对混合物进行搅拌。然后将混合物加热到 $70 \pm 10^\circ C$, 直到 3-(6-(1-(2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)环丙烷甲酰氨基)-3-甲基吡啶-2-基)-苯甲酸叔丁酯的含量不超过 0.8% (AUC)。通过过滤收集固体, 用水 (2×3 倍体积) 洗涤, 然后在过滤器上在真空下部分干燥。将固体在真空炉中在 $60^\circ C$ 下通过轻微的 N_2 流干燥到恒重 (<1% 的差值), 得到作为灰白色固体的化合物 1 形式 I。

[0536] 化合物 1 形式 I 的 DSC 曲线在图 10 中示出。化合物 1 形式 I 的熔化发生在约 $204^\circ C$ 。

[0537] X 射线衍射图从化合物 1 形式 I 的单晶结构计算而得, 并在图 1 中示出。表 3 列出了图 1 的计算峰。

[0538] 表 3.

[0539]

峰排序	2 θ 角 [度]	相对强度 [%]
11	14.41	48.2
8	14.64	58.8
1	15.23	100.0
2	16.11	94.7

3	17.67	81.9
7	19.32	61.3
4	21.67	76.5
5	23.40	68.7
9	23.99	50.8
6	26.10	67.4
10	28.54	50.1

[0540] 化合物 1 形式 I 的实际 X 射线粉末衍射图在图 2 中示出。表 4 列出了图 2 的实际峰。

[0541] 表 4.

[0542]

峰排序	2 θ 角 [度]	相对强度 [%]
7	7.83	37.7
3	14.51	74.9
4	14.78	73.5
1	15.39	100.0
2	16.26	75.6
6	16.62	42.6
5	17.81	70.9
9	21.59	36.6
10	23.32	34.8
11	24.93	26.4
8	25.99	36.9

[0543] 通过将浓缩的 1-丁醇溶液以 0.2℃/min 的速率从 75℃冷却到 10℃得到了化合物 1 形式 I 的无色晶体。选择尺寸为 0.50x 0.08x 0.03mm 的晶体,用矿物油清洁,安装在 MicroMount 上并在 Bruker APEX II 系统上居中。得到了在倒易空间中分离的三批 40 帧,以提供取向矩阵和初始晶胞参数。获得了最终晶胞参数,并基于完整数据集进行了精化。

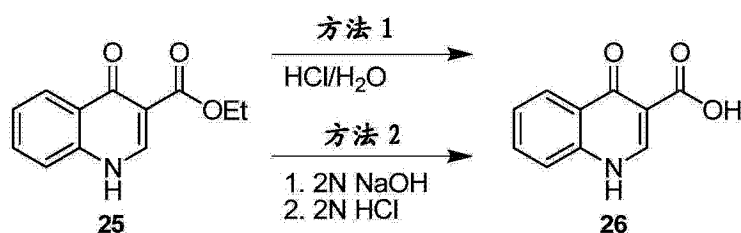
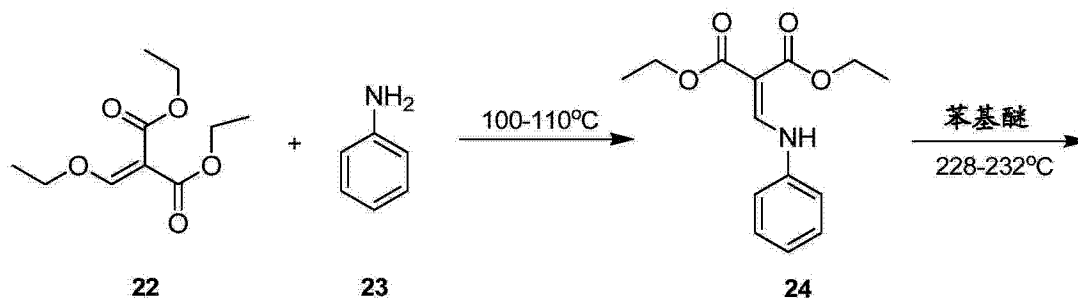
[0544] 以每帧 30s 暴露使用 0.5° 步进获得了倒易空间的衍射数据集, 达到 $0.82 \text{ \AA}$ 的分辨率。在 100(2)K 采集数据。强度的积分和晶胞参数的精化使用 APEXII 软件完成。在采集数据后观测晶体表明无分解迹象。

[0545] 基于单晶 X 射线分析的化合物 1 形式 I 的构象图在图 11 中示出。化合物 1 形式 I 为单斜、 P_21/n , 具有以下单位晶胞尺寸: $a=4.9626(7) \text{ \AA}$, $b=12.299(2) \text{ \AA}$, $c=33.075(4) \text{ \AA}$, $\beta = 93.938(9)^\circ$, $V=2014.0 \text{ \AA}^3$, $Z=4$ 。从结构数据计算的化合物 1 形式 I 的密度在 100K 时为 $1.492\text{g}/\text{cm}^3$ 。

[0546] 化合物 2 的制备

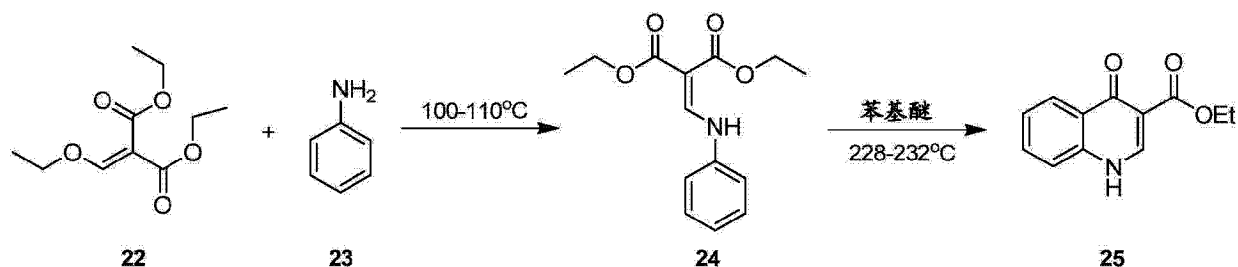
[0547] 4-氧代-1,4-二氢喹啉-3-甲酸(26)的合成

[0548]



[0549] 制备 4-氧代-1,4-二氢喹啉-3-甲酸乙酯(25)的方法

[0550]

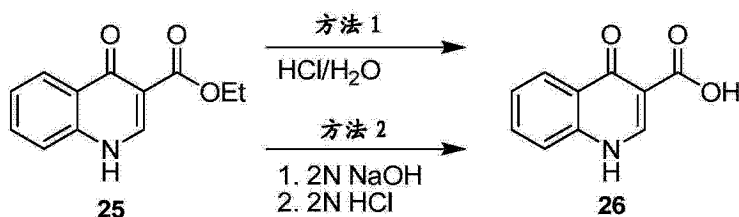


[0551] 将化合物 23(4.77g, 47.7mmol) 滴加到化合物 22(10g, 46.3mmol) 中, 下面通 N_2 气流以驱除乙醇, 低于 30°C 0.5 小时。然后将该溶液加热至 $100-110^\circ\text{C}$, 搅拌 2.5 小时。将该混合物冷却至低于 60°C 后, 加入二苯醚。将得到的溶液滴加到已经加热至 $228-232^\circ\text{C}$ 1.5 小时的二苯醚中, 下面通 N_2 气流以驱除乙醇。将该混合物在 $228-232^\circ\text{C}$ 再搅拌 2 小时, 冷却至低于 100°C , 然后加入庚烷以沉淀产物。将得到的浆液在 30°C 搅拌 0.5 小时。然后过滤固体, 用庚烷洗涤饼状物, 真空干燥, 得到化合物 25, 为棕色固体。 ^1H NMR($\text{DMSO}-d_6$; 400MHz) δ 12.25(s), δ 8.49(d), δ 8.10(m), δ 7.64(m), δ 7.55(m), δ 7.34(m), δ 4.16(q),

δ 1.23(t).

[0552] 制备 4-氧代-1,4-二氢喹啉-3-甲酸(26)的方法

[0553]



[0554] 方法 1

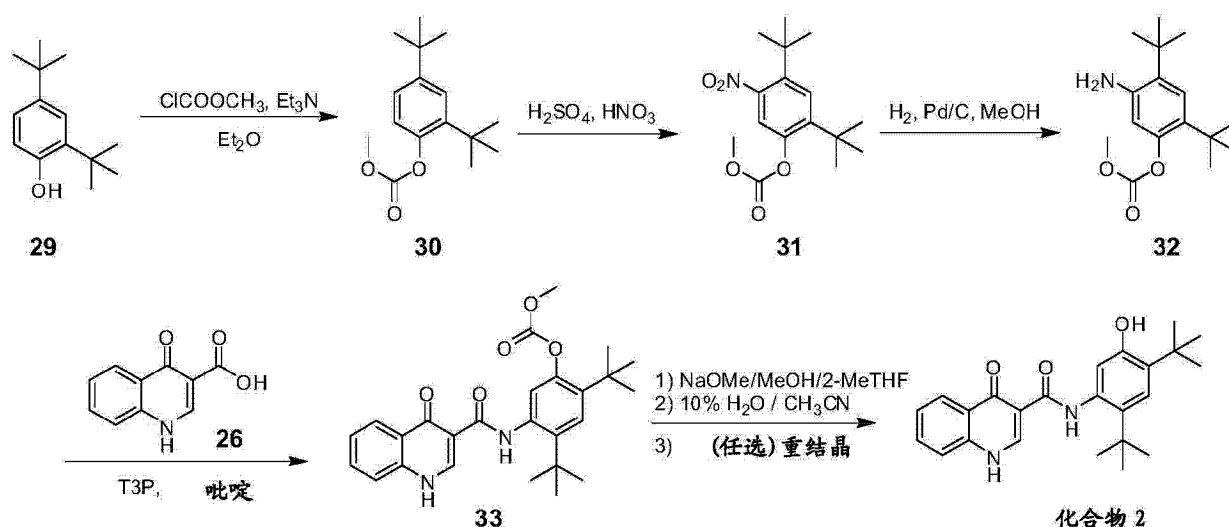
[0555] 将化合物 25(1.0 当量)混悬于 HCl(10.0 当量)和 H₂O(11.6 倍体积)的溶液。将该浆液加热至 85 - 90℃,不过,可选温度也适合于该水解步骤。例如,水解可以选择在约 75 - 约 100℃的温度下进行。在一些情况中,水解在约 80 - 约 95℃的温度下进行。在其它情况中,水解步骤在约 82 - 约 93℃(例如,约 82.5 - 约 92.5℃或约 86 - 约 89℃)的温度下进行。在 85 - 90℃搅拌约 6.5 小时后,因反应完成,对反应体系采样。可以在适合于水解的任意温度下进行搅拌。然后将该溶液冷却至 20 - 25℃,过滤。用 H₂O(2 倍体积 x 2)冲洗反应器/饼状物。然后用 2 倍体积 H₂O 洗涤饼状物至 pH ≥ 3.0。然后在 60℃真空干燥该饼状物,得到化合物 26。

[0556] 方法 2

[0557] 将化合物 25(11.3g, 52mmol)加入到 10% NaOH(aq)(10mL)和乙醇(100mL)的混合物中。将该溶液加热至回流 16 小时,冷却至 20-25℃,然后用 8% HCl 将 pH 调整至 2-3。然后将该混合物搅拌 0.5 小时,过滤。用水(50mL)洗涤饼状物,然后真空干燥,得到化合物 26,为棕色固体。¹H NMR(DMSO-d₆;400MHz) δ 15.33(s), δ 13.39(s), δ 8.87(s), δ 8.26(m), δ 7.87(m), δ 7.80(m), δ 7.56(m)。

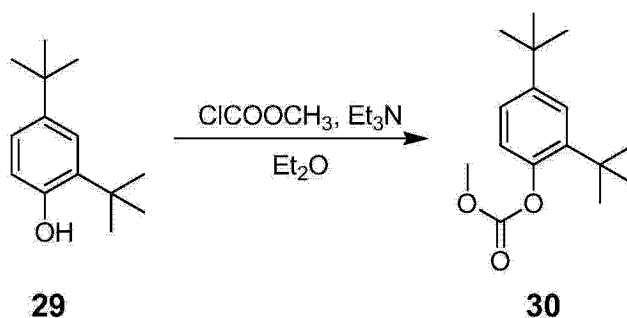
[0558] N-(2,4-二叔丁基-5-羟基苯基)-4-氧代-1,4-二氢喹啉-3-甲酰胺(化合物 2)的总体合成

[0559]



[0560] 制备 2,4-二叔丁基苯基甲基碳酸酯(30)的方法

[0561]



[0562] 方法 1

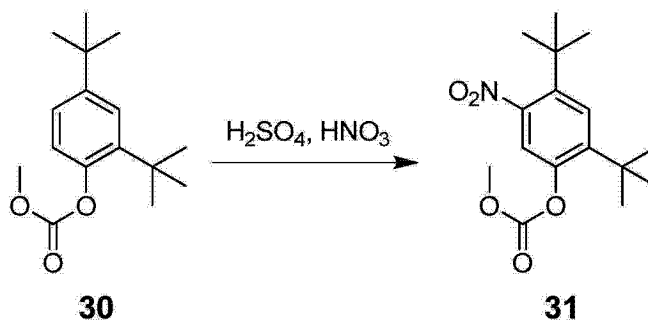
[0563] 在 0℃ 向 2,4-二叔丁基苯酚 29 (10g, 48.5mmol) 在乙醚 (100mL) 和三乙胺 (10.1mL, 72.8mmol) 中的溶液中滴加氯甲酸甲酯 (7.46mL, 97mmol)。然后将该混合物温至室温, 再搅拌 2 小时。然后再加入 5mL 三乙胺和 3.7mL 氯甲酸甲酯, 将该反应体系搅拌过夜。然后过滤该反应体系, 将滤液冷却至 0℃, 然后再加入 5mL 三乙胺和 3.7mL 氯甲酸甲酯, 将该反应体系温至室温, 然后再搅拌 1 小时。此时, 反应几乎完成, 通过过滤后处理, 然后用水 (2x)、再用盐水洗涤。然后浓缩该溶液, 得到黄色油状物, 使用柱色谱法纯化, 得到化合物 30。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 7.35 (d, J = 2.4Hz, 1H), 7.29 (dd, J = 8.4, 2.4Hz, 1H), 7.06 (d, J = 8.4Hz, 1H), 3.85 (s, 3H), 1.30 (s, 9H), 1.29 (s, 9H)。

[0564] 方法 2

[0565] 向反应器容器中加入 4-二甲基氨基吡啶 (DMAP, 3.16g, 25.7mmol) 和 2,4-二叔丁基苯酚 (化合物 29, 103.5g, 501.6mmol), 加入二氯甲烷 (415g, 313mL), 将该溶液搅拌至全部固体溶解。然后加入三乙胺 (76g, 751mmol), 将该溶液冷却至 0 - 5℃。然后在 2.5 - 4 小时内滴加氯甲酸甲酯 (52g, 550.3mmol), 同时保持该溶液温度在 0 - 5℃。然后将该反应混合物缓慢地加热至 23 - 28℃, 搅拌 20 小时。然后将该反应体系冷却至 10 - 15℃, 加入 150mL 水。将该混合物在 15 - 20℃ 搅拌 35 - 45 分钟, 然后分离水层, 用 150mL 二氯甲烷萃取。合并有机层, 用 2.5% HCl (水溶液) 在 5 - 20℃ 温度中和, 得到最终 pH 为 5 - 6。然后用水洗涤有机层, 在低于 20℃ 温度下真空浓缩至 150mL, 得到在二氯甲烷中的化合物 30。

[0566] 制备 5-硝基-2,4-二叔丁基苯基甲基碳酸酯 (31) 的方法

[0567]



[0568] 方法 1

[0569] 在 0℃ 向搅拌的化合物 30 (6.77g, 25.6mmol) 中滴加 6mL 1:1 的硫酸和硝酸混合物。将该混合物温至室温, 搅拌 1 小时。使用液相色谱法纯化产物 (ISCO, 120g, 0-7% EtOAc/己烷, 38min), 产生约 8:1 - 10:1 的化合物 31 的区域异构体混合物, 为白色固体。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 7.63 (s, 1H), 7.56 (s, 1H), 3.87 (s, 3H), 1.36 (s, 9H), 1.32 (s, 9H)。

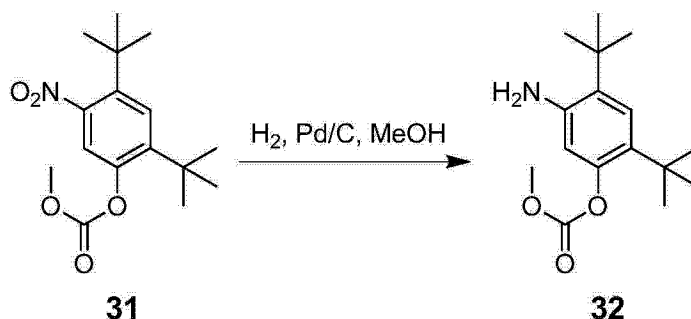
HPLC ret. time 3.92min 10-99% CH₃CN, 5min run ;ESI-MS 310m/z (MH)⁺.

[0570] 方法 2

[0571] 向化合物 30 (100g, 378mmol) 中加入 DCM (540g, 408mL)。将该混合物搅拌至全部固体溶解, 然后冷却至 -5 - 0℃。然后滴加浓硫酸 (163g), 同时维持反应的内部温度, 将该混合物搅拌 4.5 小时。然后在 2-4 小时内滴加硝酸 (62g), 同时维持反应的内部温度, 然后在该温度下再搅拌 4.5 小时。然后将该反应混合物缓慢地加入到冷水中, 维持温度低于 5℃。然后将猝灭的反应体系加热至 25℃, 取出水层, 用二氯甲烷萃取。用水洗涤合并的有机层, 用 Na₂SO₄ 干燥, 浓缩至 124 - 155mL。加入己烷 (48g), 将得到的混合物再浓缩至 124 - 155mL。随后向该混合物中再加入己烷 (160g)。然后将该混合物在 23 - 27℃ 搅拌 15.5 小时, 然后过滤。向滤饼中加入己烷 (115g), 将得到的混合物加热至回流, 搅拌 2 - 2.5 小时。然后将该混合物冷却至 3 - 7℃, 再搅拌 1 - 1.5 小时, 过滤, 得到化合物 31, 为淡黄色固体。

[0572] 制备 5-氨基-2,4-二叔丁基苯基甲基碳酸酯 (32) 的方法

[0573]

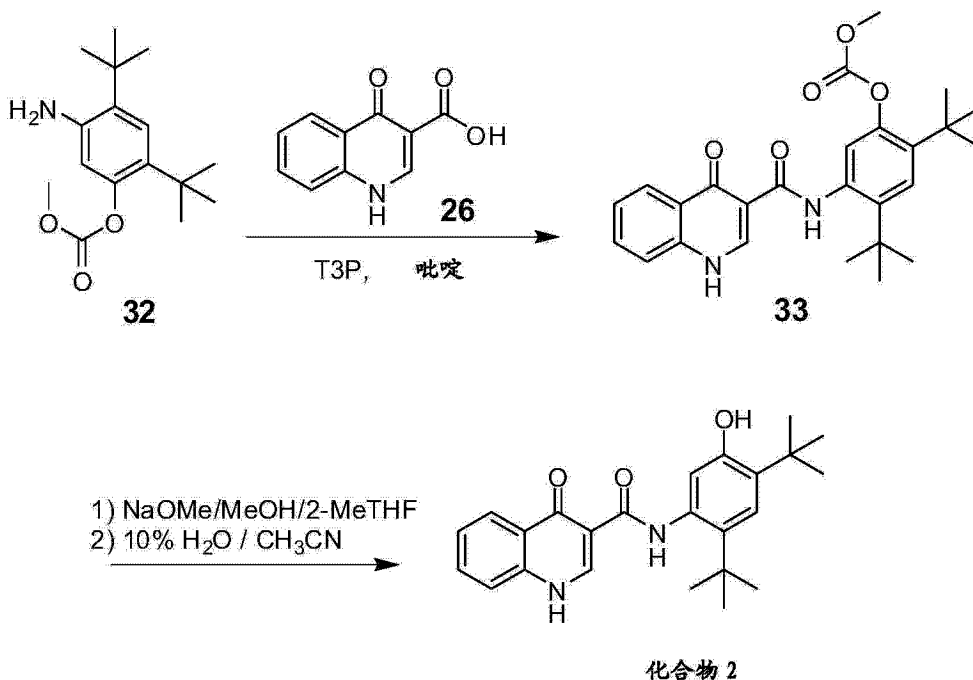


[0574] 将 2,4-二叔丁基-5-硝基苯基甲基碳酸酯 (1.00 当量) 加入到适合的氢化反应器中, 再加入 5% Pd/C (基于干重 2.50wt%, Johnson-Matthey Type 37)。向反应器中加入 MeOH (15.0 倍体积), 密封该系统。向该系统中充 N₂ (g), 然后用 H₂ (g) 加压至 2.0 巴。在 25℃ +/- 5℃ 反应温度下进行反应。当完成时, 过滤该反应体系, 用 MeOH (4.00 倍体积) 洗涤反应器 / 饼状物。在不超过 50℃ 真空蒸馏得到的滤液至 8.00 倍体积。在 45℃ +/- 5℃ 加入水 (2.00 倍体积)。将得到的浆液冷却至 0℃ +/- 5。将浆液保持在 0℃ +/- 5℃ 不少于 1 小时, 过滤。用将 0℃ +/- 5℃ MeOH/H₂O (8:2) (2.00 倍体积) 饼状物洗涤 1 次。在 35℃ - 40℃ 真空干燥 (-0.90 巴和 -0.86 巴) 饼状物, 得到化合物 32。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 7.05 (s, 1H), 6.39 (s, 1H), 4.80 (s, 2H), 3.82 (s, 3H), 1.33 (s, 9H), 1.23 (s, 9H)。

[0575] 一旦反应完成, 则用约 5 - 10 倍体积的 MeOH (例如, 约 6 - 约 9 倍体积的 MeOH、约 7 - 约 8.5 倍体积的 MeOH、约 7.5 - 约 8 倍体积的 MeOH 或约 7.7 倍体积的 MeOH) 稀释得到的混合物, 加热至约 35 ± 5℃ 的温度, 如上所述过滤, 洗涤, 干燥。

[0576] N-(2,4-二叔丁基-5-羟基苯基)-4-氧代-1,4-二氢喹啉-3-甲酰胺 (化合物 2) 的制备。

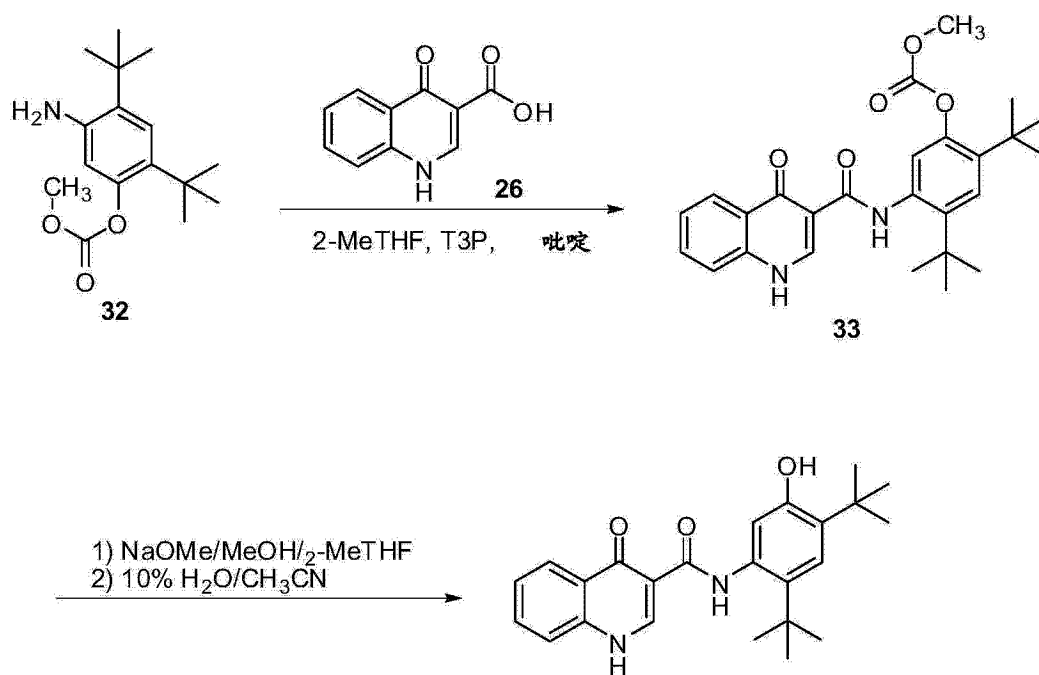
[0577]



[0578] 将 4-氧代-1,4-二氢喹啉-3-甲酸 26 (1.0 当量) 和 5-氨基-2,4-二叔丁基苯基甲基碳酸至 32 (1.1 当量) 加入到反应器中。加入 2-MeTHF (4.0 倍体积, 相对于酸), 再加入 **T3P**[®] 50% 在 2-MeTHF 中的溶液 (1.7 当量)。将添加 T3P 的容器用 2-MeTHF (0.6 倍体积) 洗涤。然后加入吡啶 (2.0 当量), 将得到的混悬液加热至 47.5 $\pm$ 5.0 $^{\circ}$ C, 保持在该温度下 8 小时。取样, 通过 HPLC 检查完成。一旦完成, 则将得到的混合物冷却至 25.0 $^{\circ}$ C $\pm$ 2.5 $^{\circ}$ C。加入 2-MeTHF (12.5 倍体积) 以稀释该混合物。用水 (10.0 倍体积) 将该反应混合物洗涤 2 次, 加入 2-MeTHF 使反应的总体积达到 40.0 倍体积 ($\sim$ 16.5 倍加入的体积)。向该溶液中加入 NaOMe/MeOH (1.7 当量) 以进行甲醇解。将该反应体系搅拌不少于 1.0 小时, 通过 HPLC 检查完成。一旦完成, 则用 1N HCl (10.0 倍体积) 使反应停止, 用 0.1N HCl (10.0 倍体积) 洗涤。精滤有机溶液以除去任何颗粒物, 放入第二个容器中。将过滤的溶液在不超过 35 $^{\circ}$ C 下 (夹套温度) 和不低于 8.0 $^{\circ}$ C (内部反应温度), 在减压下浓缩至 20 倍体积。加入 CH₃CN 至 40 倍体积, 在不超过 35 $^{\circ}$ C 下 (夹套温度) 和不低于 8.0 $^{\circ}$ C (内部反应温度), 在减压下浓缩该溶液至 20 倍体积。将添加 CH₃CN 和浓缩循环重复 2 次以上, 总计添加 3 次 CH₃CN 和 4 次浓缩至 20 倍体积。最终浓缩至 20 倍体积后, 加入 16.0 倍体积的 CH₃CN, 再加入 4.0 倍体积的 H₂O, 制成最终浓度为相对于起始酸 40 倍体积的 10% H₂O/CH₃CN。将该浆液加热至 78.0 $^{\circ}$ C $\pm$ 5.0 $^{\circ}$ C (回流)。然后将该浆液搅拌不少于 5 小时。将该浆液在 5 小时内冷却至 0.0 $^{\circ}$ C $\pm$ 5.0 $^{\circ}$ C, 过滤。用 0.0 $^{\circ}$ C $\pm$ 5.0 $^{\circ}$ C CH₃CN (5 倍体积) 将饼状物洗涤 4 次。在 50.0 $^{\circ}$ C $\pm$ 5.0 $^{\circ}$ C 在真空炉中干燥得到的固体 (化合物 2)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 12.8 (s, 1H), 11.8 (s, 1H), 9.2 (s, 1H), 8.9 (s, 1H), 8.3 (s, 1H), 7.2 (s, 1H), 7.9 (t, 1H), 7.8 (d, 1H), 7.5 (t, 1H), 7.1 (s, 1H), 1.4 (s, 9H), 1.4 (s, 9H)。

[0579] N-(2,4-二叔丁基-5-羟基苯基)-4-氧代-1,4-二氢喹啉-3-甲酰胺 (化合物 2) 的另一种制备。

[0580]

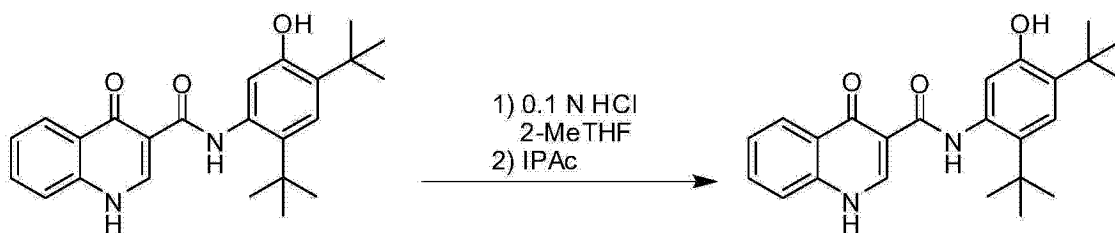


[0581] 将 4-氧代-1,4-二氢喹啉-3-甲酸, 26, (1.0 当量) 和 5-氨基-2,4-二叔丁基苯基甲基碳酸酯 32 (1.1 当量) 加入到反应器中。加入 2-MeTHF (4.0 倍体积, 相对于酸), 再加入 **T3P**[®] 50% 在 2-MeTHF 中的溶液 (1.7 当量)。将添加 T3P 的容器用 2-MeTHF (0.6 倍体积) 洗涤。然后加入吡啶 (2.0 当量), 将得到的混悬液加热至 47.5 $\pm$ 5.0 $^{\circ}$ C, 保持在该温度下 8 小时。取样, 通过 HPLC 检查完成。一旦完成, 则将得到的混合物冷却至 20 $^{\circ}$ C $\pm$ 5 $^{\circ}$ C。加入 2-MeTHF (12.5 倍体积) 以稀释该混合物。用水 (10.0 倍体积) 将该反应混合物洗涤 2 次, 将 2-MeTHF (16.5 倍体积) 加入到反应器中。向该溶液中加入 30% w/w NaOMe/MeOH (1.7 当量) 以进行甲醇解。将该反应体系在 25.0 $^{\circ}$ C $\pm$ 5.0 $^{\circ}$ C 搅拌不少于 1.0 小时, 通过 HPLC 检查完成。一旦完成, 则用 1.2N HCl/H₂O (10.0 倍体积) 使反应停止, 用 0.1N HCl/H₂O (10.0 倍体积) 洗涤。精滤有机溶液以除去任何颗粒物, 放入第二个容器中。

[0582] 将过滤的溶液在不超过 35 $^{\circ}$ C 下 (夹套温度) 和不低于 8.0 $^{\circ}$ C (内部反应温度), 在减压下浓缩至 20 倍体积。加入 CH₃CN 至 40 倍体积, 在不超过 35 $^{\circ}$ C 下 (夹套温度) 和不低于 8.0 $^{\circ}$ C (内部反应温度), 在减压下浓缩至 20 倍体积。将添加 CH₃CN 和浓缩循环重复 2 次以上, 总计添加 3 次 CH₃CN 和 4 次浓缩至 20 倍体积。最终浓缩至 20 倍体积后, 加入 16.0 倍体积的 CH₃CN, 再加入 4.0 倍体积的 H₂O, 制成最终浓度为相对于起始酸 40 倍体积的 10% H₂O/CH₃CN。将该浆液加热至 78.0 $^{\circ}$ C $\pm$ 5.0 $^{\circ}$ C (回流)。然后将该浆液搅拌不少于 5 小时。将该浆液在 5 小时内冷却至 20—25 $^{\circ}$ C, 过滤。用加热至 20—25 $^{\circ}$ C 4 次的 CH₃CN (5 倍体积) 洗涤饼状物。在 50.0 $^{\circ}$ C $\pm$ 5.0 $^{\circ}$ C 在真空炉中干燥得到的固体 (化合物 2)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 12.8 (s, 1H), 11.8 (s, 1H), 9.2 (s, 1H), 8.9 (s, 1H), 8.3 (s, 1H), 7.2 (s, 1H), 7.9 (t, 1H), 7.8 (d, 1H), 7.5 (t, 1H), 7.1 (s, 1H), 1.4 (s, 9H), 1.4 (s, 9H)。

[0583] N-(2,4-二叔丁基-5-羟基苯基)-4-氧代-1,4-二氢喹啉-3-甲酰胺 (化合物 2) 的重结晶方法

[0584]



[0585] 将化合物 2 (1.0 当量) 加入到反应器中。加入 2-MeTHF (20.0 倍体积), 再加入 0.1N HCl (5.0 倍体积)。搅拌双相溶液, 分离, 再用 0.1N HCl (5.0 倍体积) 将上部的有机相洗涤 2 次。精滤有机溶液, 以除去任何颗粒物, 放入第二个反应器。在不超过 35°C 下 (夹套温度) 和不超过 8.0°C (内部反应温度), 在减压下浓缩过滤溶液至 10 倍体积。加入乙酸异丙酯 (IPAc) (10 倍体积), 在不超过 35°C 下 (夹套温度) 和不超过 8.0°C (内部反应温度), 在减压下浓缩该溶液至 10 倍体积。将添加 IPAc 和浓缩重复 2 次以上, 总计添加 3 次 IPAc 和 4 次浓缩至 10 倍体积。最终浓缩后, 加入 10 倍体积 IPAc, 将浆液加热至回流, 维持在该温度下 5 小时。将浆液在 5 小时内冷却至 0.0°C +/- 5°C, 过滤, 用 IPAc (5 倍体积) 将饼状物洗涤 1 次。在 50.0°C +/- 5.0°C 在真空炉中干燥得到的固体。

[0586] 包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体的制备

[0587] 在反应器中将根据 90wt% MEK/10wt% DI 水比例配制的 MEK 和 DI 水的溶剂系统加热至 20-30°C 的温度, 所述反应器配有磁搅拌器和热力循环。根据 19.5wt% 醋酸琥珀酸羟丙甲纤维素 / 0.5wt% SLS/80wt% 化合物 2 的比例将醋酸琥珀酸羟丙甲纤维素聚合物 (HPMCAS) (HG 级)、SLS 和化合物 2 加入到该溶剂系统中。得到的化合物包含 10.5wt% 固体。用于生成该混合物的成分和溶剂的实际用量如下表 5 中所示:

[0588] 表 5: 用于中间体 F 的固体喷雾分散体的成分

[0589]

单位	批量
化合物 2 Kg	70.0
HPMCAS Kg	17.1
SLS Kg	0.438
总固体 Kg	87.5
MEK Kg	671
水 Kg	74.6
总溶剂 Kg	746
总喷雾溶液重量 Kg	833

[0590] 将该混合物温度调整至 20-45°C 的范围并且混合至它基本上均匀且所有成分基本上溶解为止。

[0591] 在正常喷雾干燥模式下,按照下表 6 中所示的干燥喷雾工艺参数使用喷雾干燥器 Niro PSD4Commercial Spray Dryer,其配有安装了 anti-bearding cap 的压力喷嘴(具有孔口/芯大小 54/21 的 Spray Systems Maximum Passage 系列 SK-MFP)。

[0592] 表 6:用于生成中间体 F 的干燥喷雾工艺参数

[0593]

参数	值
进料压力	20 巴
进料流速	92 - 100 Kg/hr
入口温度	93 - 99 °C
出口温度	53 - 57 °C
真空干燥器温度	80 °C, 2 小时, 然后 110 °C (+/-5 °C)
真空干燥时间	20 - 24 小时

[0594] 高效率旋风分离器将湿产物与喷雾气体和溶剂蒸汽分离开。湿产物包含 8.5 - 9.7% MEK 和 0.56 - 0.83% 水并且具有 17 - 19 μ m 的平均粒度和 0.27 - 0.33g/cc 的堆积密度。将湿产物转入 4000L 不锈钢双锥形真空干燥器以便干燥减少残留溶剂至低于约 5000ppm 的水平,并且生成无定形化合物 2 的喷雾干燥分散体,其包含 <0.03% MEK 和 0.3% 水。

[0595] 由完全连续的湿法制粒工艺形成片剂

[0596] 设备/工艺

[0597] 设备

[0598] 全连续展开和发射成套装置 (Fully Continuous Development and Launch Rig) (DLR) 或类似型号的设备。

[0599] 过筛

[0600] 在单独的中间料箱容器 (intermediate bin containers) (IBCs) 中调配化合物 1 形式 I、包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体和赋形剂。可以使用“料箱-料箱”过筛操作对这些材料过筛。适当的筛号为 20 目、40 目或 60 目。

[0601] 共混

[0602] 使包含化合物 1 形式 I、包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体和赋形剂的 IBCs 紧邻进料器系统,其可以例如使用体积或重量损失进料器以受控方式将材料进料入连续共混机。各成分的进料速率根据制剂组成和总管线速率决定。管线速率可以为 8kg/hr - 30kg/hr。连续共混机可以具有不同的刀片构造以允许适合的共混,且这些刀片的旋转速度可以在 80RPM 至 300RPM 之间。

[0603] 湿法制粒

[0604] 可以通过使用 700RPM 搅拌速度的高架搅拌器将 48g 月桂基硫酸钠和 159g 聚乙烯吡咯烷酮溶于 1,626g 水制备制粒液。可以将制粒液放入容器,可以使用具有质量流动计量

表和控制器的蠕动泵,应用适合于该工艺的流速从其中将其泵送入双螺杆制粒机。可以使用双螺杆制粒机例如作为 DLR 组成部分的制粒机将共混物制粒。可以使用重量损失进料器例如 DLR 上的 K-Tron 进料器以 8kg/hr — 24kg/hr 的进料速率将共混物加入到双螺杆制粒机中。所述双螺杆制粒机以 25℃ 的筒温和 200 — 950RPM 的螺杆速度运转。对于小批量规模,该制粒工艺可以进行 3 分钟;或对于大批量规模,可以进行几小时。

[0605] 干燥

[0606] 可以将湿颗粒直接进料入流化床干燥器,例如 DLR 上的分段流化床干燥器。可以将干燥终点选择在 40 — 55℃ 的卸料过程中的产品温度,此时颗粒的含水量可以为 2.1% w/w (“干燥失重, LOD”) 或以下。干燥时间可以为 12 分钟或可短可长,以达到期望的干燥终点。

[0607] 研磨

[0608] 可以研磨干燥颗粒以减小颗粒大小。锥形磨例如集成的 Quadro U10CoMi1 可以用于该目的。

[0609] 共混

[0610] 可使用重量损失进料器和连续共混机将颗粒与颗粒外赋形剂例如填充剂和润滑剂共混。共混速度可以为 80 — 300RPM。

[0611] 压制

[0612] 可以使用单台或旋转式压片机例如 Courtoy Modul P 压片机(为 DLR 系统的组成部分),应用适当大小的刀具将压缩的共混物压制成片剂。对于 200mg 的化合物 1 形式 I 和 125mg 的基本上无定形的化合物 2 的剂量的片重可以约为 500 或 600mg。

[0613] 薄膜包衣

[0614] 可以使用为 DLR 系统的组成部分的创新的 ω 薄膜包衣机给片剂包薄膜衣。该包衣机能够给 1 — 4kg 的小批量快速包薄膜衣,以便连续制造。

[0615] 印刷

[0616] 使用例如 Ackley 变速印刷机将薄膜衣片在片剂的一个或两个表面上印上字母图案。

[0617] 由双螺杆湿法制粒工艺形成片剂

[0618] 设备 / 工艺

[0619] 设备

[0620] 双螺杆湿法制粒机: ConsiGma-1, ConsiGma-25 或 Leistritz nano。

[0621] 过筛 / 称重

[0622] 在称出前可以将化合物 1 形式 I、包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体和赋形剂过筛。适当的筛号为 20 目、40 目或 60 目。可以将化合物 1 形式 I 和 / 或包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体与所述赋形剂的一种或多种预先共混,以简化过筛。

[0623] 共混

[0624] 可以将化合物 1 形式 I、包含基本上无定形的化合物 2 的固体分散体和赋形剂以不同次序加入到共混机中。共混可以在 Turbula 共混机、v- 型外壳共混机或料箱共混机中进行。可以将成分共混 10 分钟。

[0625] 湿法制粒

[0626] 可以通过使用 700RPM 搅拌速度的高架搅拌器将 48g 月桂基硫酸钠和 159g 聚乙烯吡咯烷酮溶于 1,626g 水制备制粒液。可以使用双螺杆制粒机例如 ConsiGma-1 将共混物制粒。可以使用蠕动泵 ConsiGma-1 上的泵以 67g/min 的进料速率将制粒液加入到双螺杆制粒机中。可以使用重量损失进料器例如 ConsiGma-1 上的 Brabender 进料器以 10kg/hr 的进料速率将共混物加入到双螺杆制粒机中。该双螺杆制粒机可以以 25℃ 的筒温和 400RPM 的螺杆速度运行。该制粒工艺可以进行 4 分钟。该制粒工艺可以进行较短或较长时间期限，以生产较小或较大量的湿颗粒。

[0627] 干燥

[0628] 可以将湿颗粒直接进料入流化床干燥器，例如 ConsiGma-1 上的干燥室或 CTL-25 上的分段流化床干燥器。可以将干燥终点选择在 43℃ 的产品温度，此时颗粒的含水量可以为 1.6% w/w (“干燥失重，LOD”)。干燥时间可以为 12 分钟或可短可长，以达到期望的干燥终点。干燥可以以 59m³/min 空气流速和 60℃ 的入口温度进行。或者，可以将来源于双螺杆制粒机的湿颗粒采集入料箱或容器确定的时间期限，此后，将湿颗粒转入单独的独立式流化床干燥器，例如 Vector Multi 15。

[0629] 研磨

[0630] 可以研磨干燥颗粒以减小颗粒大小。锥形磨例如 Quadro 194CoMil 可以用于该目的。

[0631] 共混

[0632] 可使用 V- 型外壳共混机或料箱共混机将颗粒与颗粒外赋形剂例如填充剂和润滑剂共混。共混时间可以为 5、3 或 1 分钟。

[0633] 压制

[0634] 可以使用单台或旋转式压片机例如 Courtoy Modul P 压片机，应用 0.55' x 0.33' 卵形刀具将压缩的共混物压制成片剂。对于 200mg 的化合物 1 形式 I 和 125mg 的基本上无定形的化合物 2 的剂量的片重可以约为 500 或 600mg。

[0635] 薄膜包衣

[0636] 可以使用盘式包衣锅例如 Thomas Engineering Compu-Lab 包衣锅给片剂包薄膜衣。可以加入痕量的巴西棕榈蜡以改善片剂外观和加工能力。

[0637] 印刷

[0638] 通过例如 Hartnett Delta 印刷机将薄膜衣片在片剂的一个或两个表面上印上字母图案。

[0639] 由连续双螺杆湿法制粒工艺形成片剂

[0640] 设备 / 工艺

[0641] 设备

[0642] 制粒机 :ConsiGma 或 Leistritz 或 Thermo Fisher 双螺杆制粒机。

[0643] 过筛 / 称重

[0644] 可在称取之前或之后对化合物 1 和赋形剂过筛。可能的筛号为 20 目、40 目或 60 目。化合物 1 可与赋形剂中的一种或多种预混以简化过筛。

[0645] 共混

[0646] 化合物 1 和赋形剂可按不同的顺序加入共混机中。共混可在 Turbula 共混机、V 形

壳共混机、料箱共混机 (bin blender) 或连续共混机中进行。对于分批共混机而言,可将成分共混 10 分钟,或对于连续共混机而言,可连续共混。

[0647] 制粒操作

[0648] 制粒液 - 将 SLS 和粘合剂加入纯化水,并混合直至溶解。适合的比率为 2.5% w/w 的 SLS 水溶液和 10.0% w/w 的 PVP K30 水溶液。

[0649] 制粒 - 可将含有化合物 1 和赋形剂的共混物使用失重式进料机以 10kg/h 的速率定量加入双螺杆制粒机。可使用蠕动泵以 3.5kg/h 的速率添加制粒液。制粒机可以 400RPM 的速度运行。本发明的双螺杆湿法制粒工艺的一个值得注意的优点是使用包含表面活性剂和粘合剂两者的制粒液,以通过增强的可润湿性更好地制粒。在一个实施方案中,表面活性剂为 SLS。另一个值得注意的优点在于,由于该工艺是连续的并且在任何时间只加工有限量的材料,因此该工艺可得到很好的控制并产生高质量的产品。

[0650] 研磨

[0651] 在干燥前或干燥后或它们两者的情况下用筛网磨机或锥形磨使颗粒尺寸减小。

[0652] 干燥

[0653] 可将颗粒用真空炉、托盘烘干机、双锥形烘干机或流化床烘干机干燥。

[0654] 共混

[0655] 可将颗粒与颗粒外赋形剂共混。将颗粒用 300 升料箱共混机共混了 60 转。

[0656] 压制

[0657] 将压缩共混物用 Courtoy Modul P 旋转压片机压成片。

[0658] 薄膜包衣

[0659] 将片剂用包衣锅 (例如 O' Hara Labcoat) 包薄膜衣。

[0660] 印刷

[0661] 通过例如 Hartnett Delta 印刷机将薄膜衣片在片剂的一个或两个表面上印上字母图案。

[0662] 测定法

[0663] 方案 1

[0664] 用于检测和测量化合物的 $\Delta F508$ -CFTR 增效特性的测定法

[0665] 用于测定化合物的 $\Delta F508$ -CFTR 调节性质的膜电位光学测定法

[0666] 本测定法采用荧光电压传感染料以便使用荧光培养板读出器 (例如, FLIPR III, Molecular Devices, Inc.) 测定膜电位的改变,作为 NIH 3T3 细胞中功能性 $\Delta F508$ -CFTR 增加的读出值。对于该响应的驱动力在于在预先用化合物处理且随后加载电压传感染料后通过单一液体添加步骤导致的氯离子梯度生成并且结合通道活化。

[0667] 增效剂化合物的鉴定

[0668] 为了鉴定 $\Delta F508$ -CFTR 的增效剂,开发了双重添加 HTS 测定方式。这种 HTS 测定法采用荧光电压传感染料以便测定 FLIPR III 上的膜电位,作为温度纠正的 $\Delta F508$ CFTR NIH 3T3 细胞中门控 (电导) $\Delta F508$ CFTR 增加的测量值。对于该响应的驱动力在于在预先用增效剂化合物 (或 DMSO 媒介物对照) 处理且随后加载再分布染料后采用荧光培养板读出器例如 FLIPR III 的单一液体添加步骤中的 Cl^- 离子并且结合使用福司柯林的通道活化。

[0669] 溶液

[0670] 温浴液 #1 : (单位 mM) NaCl 160、KCl 4.5、CaCl₂2、MgCl₂1、HEPES10, 用 NaOH 调至 pH 7.4。

[0671] 不含氯化物的温浴液: 温浴液 #1 (上述) 中的氯化物盐被葡萄糖酸盐代替。

[0672] 细胞培养

[0673] 将稳定表达 Δ F508-CFTR 的 NIH3T3 小鼠成纤维细胞用于膜电位的光学测量。将细胞维持在 37°C、5% CO₂ 和 90% 湿度下的 175cm² 培养烧瓶中的达尔伯克氏 (Dulbecco) 改良伊格尔 (Eagle) 培养基中, 该培养基补充了 2mM 谷氨酰胺、10% 胎牛血清、1X NEAA、 β -ME、1X 青霉素 / 链霉素和 25mM HEPES。对于所有光学测定, 将细胞以 $\sim 20,000$ / 孔接种在 384-孔基质胶-包被的培养板上并且在 37°C 培养 2hrs, 然后在 27°C 培养 24hrs, 用于增效剂测定。对于纠正测定, 将细胞在 27°C 或 37°C 与和与化合物一起温育 16 - 24 小时。

[0674] 用于测定化合物的 Δ F508-CFTR 调节性质的电生理学测定法。

[0675] Ussing 室测定

[0676] 对表达 Δ F508-CFTR 的极化上皮细胞进行 Ussing 室实验, 以进一步表征在光学测定法中鉴定的 Δ F508-CFTR 增效剂或诱导剂。从如上所述培养的支气管组织中分离非-CF 和 CF 气道上皮 (Galiotta, L. J. V., Lantero, S., Gazzolo, A., Sacco, O., Romano, L., Rossi, G. A., & Zegarria-Moran, O. (1998) In Vitro Cell. Dev. Biol. 34, 478-481) 并且置于用 NIH3T3-条件培养基预包被的 **Costar**® Snapwell™ 过滤器上。4 天后, 除去顶端培养基, 使细胞生长在空气液体界面上 >14 天, 然后使用。这产生完全分化的柱状细胞单层, 其具纤毛, 以气道上皮的特征为特征。从不具有任何已知肺病的非吸烟者中分离非-CF HBE。从对于 Δ F508 纯合的患者中分离 CF-HBE。

[0677] 将生长在 **Costar**® Snapwell™ 细胞培养插管上的 HBE 固定在 Ussing 室内 (加利福尼亚州圣迭戈生理仪器公司 (Physiologic Instruments, Inc., San Diego, CA)), 并利用电压钳系统 (爱荷华州爱荷华大学生物工程系 (Department of Bioengineering, University of Iowa, IA)) 测定基底外侧至顶端 Cl⁻ 梯度 (I_{sc}) 存在下的经上皮电阻和短路电流。简而言之, 在 37°C 在电压钳系统记录条件下 (V_{保持} = 0mV) 检查 HBE。基底外侧溶液包含 (mM 单位) 145NaCl、0.83K₂HPO₄、3.3KH₂PO₄、1.2MgCl₂、1.2CaCl₂、10 葡萄糖、10 HEPES (用 NaOH 将 pH 调整至 7.35), 且顶端溶液包含 (mM 单位) 145 葡萄糖酸钠、1.2MgCl₂、1.2CaCl₂、10 葡萄糖、10 HEPES (用 NaOH 将 pH 调整至 7.35)。

[0678] 增效剂化合物的鉴定

[0679] 典型的方案采用基底外侧至顶端膜的 Cl⁻ 浓度梯度。为了建立这种梯度, 在基底外侧膜上使用正常的套环, 而顶端 NaCl 被等摩尔葡萄糖酸钠代替 (用 NaOH 滴定至 pH7.4), 以得到跨上皮的大 Cl⁻ 浓度梯度。添加福司柯林 (10 μ M) 和所有供试化合物至细胞培养插管的顶端侧。将推定 Δ F508-CFTR 增效剂的性能与已知增效剂染料木黄酮的效能进行比较。

[0680] 膜片钳记录

[0681] 采用如上所述的穿孔膜记录构象监测 Δ F508-NIH3T3 细胞中的总 Cl⁻ 电流 (Rae, J., Cooper, K., Gates, P., & Watsky, M. (1991) J. Neurosci. Methods 37, 15-26)。在 22°C 采用 Axopatch 200B 膜片钳放大器 (加利福尼亚州福斯特城 Axon 仪器公司 (Axon Instruments Inc., Foster City, CA)) (Axon Instruments Inc., Foster City, CA) 进行电压箝记录。移液管溶液包含 (单位 mM) 150N-甲基-D-葡萄糖胺 (NMDG)-Cl、2MgCl₂、2CaCl₂、10 EGTA、

10 HEPES 和 240 $\mu\text{g/mL}$ 两性霉素-B(用 HCl 将 pH 调整至 7.35)。胞外培养基包含(单位 mM) 150NMDG-Cl、2MgCl₂、2CaCl₂、10 HEPES(用 HCl 将 pH 调整至 7.35)。采用配有 Digidata 1320A/D 界面结合 Clampex 8(Axon Instruments Inc.) 的 PC 进行脉冲发生、数据采集和分析。为了活化 $\Delta\text{F508-CFTR}$, 向浴中加入 10 μM 福司柯林和 20 μM 染料木黄酮, 并且每隔 30 秒监测一次电流-电压关系。

[0682] 增效剂化合物的鉴定

[0683] 还采用穿孔的-斑片-记录技术研究了 $\Delta\text{F508-CFTR}$ 增效剂在增加稳定表达 $\Delta\text{F508-CFTR}$ 的 NIH3T3 细胞中宏观 $\Delta\text{F508-CFTR}$ Cl⁻ 电流 ($I_{\Delta\text{F508}}$) 的能力。从光学测定法中鉴定的增效剂引起 $I_{\Delta\text{F508}}$ 的剂量依赖性增加, 其功效和效能与在光学测定法中观察到的功效和效能类似。在检验的所有细胞中, 施加增效剂之前和过程中的逆转电位约为 -30mV, 其为计算的 E_{Cl} (-28mV)。

[0684] 细胞培养

[0685] 将稳定表达 $\Delta\text{F508-CFTR}$ 的 NIH3T3 小鼠成纤维细胞用于全细胞记录。将细胞维持在 37℃、5% CO₂ 和 90% 湿度下的 175cm² 培养烧瓶中的达尔伯克氏改良伊格尔培养基中, 该培养基补充了 2mM 谷氨酰胺、10% 胎牛血清、1X NEAA、 β -ME、1X 青霉素/链霉素和 25mM HEPES。对于全细胞记录, 将 2,500-5,000 个细胞接种在聚-L-赖氨酸-包被的玻璃盖玻片上并且在 27℃ 培养 24-48hrs, 然后用于测试增效剂的活性; 并且与或不与纠正化合物一起在 37℃ 温育, 以测定纠正剂活性。

[0686] 单通道记录

[0687] 如上所述 (Dalemans, W., Barbry, P., Champigny, G., Jallat, S., Dott, K., Dreyer, D., Crystal, R. G., Pavirani, A., Lecocq, J-P., Lazdunski, M. (1991) Nature 354, 526 - 528) 使用切下的膜内侧翻外膜片、应用 Axopatch 200B 膜片钳放大器 (Axon 仪器公司) 观察在 NIH3T3 细胞中表达的 wt-CFTR 和温度校正的 $\Delta\text{F508-CFTR}$ 的门控活性。移液管包含(单位 mM): 150NMDG、150 天冬氨酸、5CaCl₂、2MgCl₂ 和 10 HEPES(用 Tris 碱将 pH 调整至 7.35)。温浴液包含(单位 mM): 150NMDG-Cl、2MgCl₂、5EGTA、10TES 和 14Tris 碱(用 HCl 将 pH 调整至 7.35)。切下后, 通过添加 1mM Mg-ATP、75nM cAMP- 依赖的蛋白激酶的催化亚单位 (PKA; Promega Corp. Madison, WI) 和 10mM NaF 活化 wt- 和 $\Delta\text{F508-CFTR}$, 以抑制蛋白磷酸酶, 这防止电流衰减。将微电极维持在 80mV。从包括 ≤ 2 个活性通道的膜片分析通道活性。同时开放的最大值决定了实验过程中活性通道的数量。为了测定单通道电流振幅, 在 100Hz 下“离线”过滤从 120s 的 $\Delta\text{F508-CFTR}$ 活性记录的数据, 然后用于构建所有点的振幅直方图, 该直方图用 Bio-Patch 分析软件 (法国比奥罗杰公司 (Bio-Logic Comp. France)) 通过多高斯函数拟合。通过 120s 的通道活性确定总微观电流和开放概率 (P_o)。使用 Bio-Patch 软件或由关系式 $P_o = I/i(N)$ 测定 P_o , 其中 I = 平均电流, i = 单通道电流振幅, 并且 N = 膜片中活性通道的数量。

[0688] 细胞培养

[0689] 将稳定表达 $\Delta\text{F508-CFTR}$ 的 NIH3T3 小鼠成纤维细胞用于切下的膜片钳记录。将细胞维持在 37℃、5% CO₂ 和 90% 湿度下的 175cm² 培养烧瓶中的达尔伯克氏改良伊格尔培养基中, 该培养基补充了 2mM 谷氨酰胺、10% 胎牛血清、1X NEAA、 β -ME、1X 青霉素/链霉素和 25mM HEPES。对于单通道记录, 将 2,500-5,000 个细胞接种在聚-L-赖氨酸-包被的玻

璃盖玻片上并且在 27℃培养 24–48hrs,然后使用。

[0690] 方案 2

[0691] 用于检测和测量化合物的 $\Delta F508$ -CFTR 纠正特性的测定法

[0692] 用于测定化合物的 $\Delta F508$ -CFTR 调节特性的膜电位光学法。

[0693] 光学膜电位测定法采用 Gonzalez 和 Tsien 所述的电压敏感性 FRET 传感器 (参见 Gonzalez, J. E. and R. Y. Tsien(1995) “Voltage sensing by fluorescence resonance energy transfer in single cells” *Biophys. J.* 69(4):1272–80 (Gonzalez, J. E. 和 R. Y. Tsien, 1995 年, “在单细胞中通过荧光共振能量转移感测电压”, 《生物物理杂志》, 第 69 期第 4 卷, 第 1272–1280 页), 以及 Gonzalez, J. E. and R. Y. Tsien(1997) “Improved indicators of cell membrane potential that use fluorescence resonance energy transfer” *Chem Biol* 4(4):269–77 (Gonzalez, J. E. 和 R. Y. Tsien, 1997 年, “使用荧光共振能量转移的细胞膜电位的改进指标”, 《化学与生物学》, 第 4 期第 4 卷, 第 269–277 页)) 连同测量荧光变化的仪器, 例如电压 / 离子探针读数器 (VIPR) (参见 Gonzalez, J. E., K. Oades, 等人 (1999) “Cell-based assays and instrumentation for screen ion-channel targets” *Drug Discov Today* 4(9):431–439 (Gonzalez, J. E., K. Oades 等人, 1999 年, “基于细胞的测定法和筛选离子通道靶标的仪器”, 《Drug Discov. Today》, 第 4 期第 9 卷, 第 431–439 页))。

[0694] 这些电压敏感性测定法基于膜溶性、电压敏感性染料 DiSBAC₂(3) 与荧光磷脂 CC2-DMPE 之间的荧光共振能量转移 (FRET) 的变化, 所述荧光磷脂连接到质膜的外部小叶并充当 FRET 供体。膜电位 (V_m) 的变化导致带负电的 DiSBAC₂(3) 跨越质膜重新分布, 并且从 CC2-DMPE 转移的能量的量相应地改变。荧光发射的变化用 VIPR™II 加以监测, 它是一种集成的液体处理器和荧光检测器, 被设计用来在 96 或 384 孔微量滴定板中进行基于细胞的筛选。

[0695] 纠正化合物的鉴定

[0696] 为了鉴定纠正与 $\Delta F508$ -CFTR 相关的运输缺陷的小分子, 开发了单一添加 HTS 测定方式。在 37℃下将细胞在存在或不存在 (阴性对照) 供试化合物的情况下在不含血清的培养基中温育 16 小时。作为阳性对照, 将在 384 孔板中铺板的细胞在 27℃下温育 16 小时至“温度 - 校正” $\Delta F508$ -CFTR。然后用 Krebs Ringers 溶液将细胞冲洗 3 次并加载电压敏感性染料。为了活化 $\Delta F508$ -CFTR, 将 10 μM 福司柯林和 CFTR 增效剂染料木黄酮 (20 μM) 与不含 Cl⁻ 的培养基加到各孔中。添加不含 Cl⁻ 的培养基促进了响应于 $\Delta F508$ -CFTR 活化的 Cl⁻ 外流, 并使用基于 FRET 的电压传感器染料以光学方式监测所产生的膜去极化。

[0697] 增效剂化合物的鉴定

[0698] 为了鉴定 $\Delta F508$ -CFTR 的增效剂, 开发了双重添加 HTS 测定方式。在第一次添加过程中, 在存在或不存在供试化合物的情况下向各孔中添加不含 Cl⁻ 的培养基。22 秒后, 第二次添加不含 Cl⁻ 的含 2–10 μM 福司柯林的培养基以活化 $\Delta F508$ -CFTR。两次添加后的胞外 Cl⁻ 浓度为 28mM, 这促进了响应于 $\Delta F508$ -CFTR 活化的 Cl⁻ 外流, 并使用基于 FRET 的电压传感器染料以光学方式监测所产生的膜去极化。

[0699] 溶液

[0700] 温溶液 #1 : (单位 mM) NaCl 160、KCl 4.5、CaCl₂2、MgCl₂1、HEPES10, 用 NaOH 调至

pH 7.4。

[0701] 不含氯化物的温溶液:温溶液 #1(上述)中的氯化物盐被葡糖酸盐代替。

[0702] CC2-DMPE:制备成 10mM 的 DMSO 储备溶液并储存在 -20°C 下。

[0703] DiSBAC₂(3):制备成 10mM 的 DMSO 储备溶液并储存在 -20°C 下。

[0704] 细胞培养

[0705] 将稳定表达 $\Delta\text{F508-CFTR}$ 的 NIH3T3 小鼠成纤维细胞用于膜电位的光学测量。将细胞维持在 37°C 、5% CO_2 和 90% 湿度下的 175cm^2 培养烧瓶中的达尔伯克氏改良伊格尔培养基中,该培养基补充了 2mM 谷氨酰胺、10% 胎牛血清、1X NEAA、 β -ME、1X 青霉素 / 链霉素和 25mM HEPES。对于所有光学测定,均以 30,000 个 / 孔将细胞接种在 384 孔基质胶包被的板上并在 37°C 下培养 2hrs,然后在 27°C 下培养 24hrs,以用于增效剂测定。对于纠正测定,将细胞在 27°C 或 37°C 下与和与不化合物一起培养 16-24 小时。

[0706] 用于测定化合物的 $\Delta\text{F508-CFTR}$ 调节性质的电生理测定法

[0707] Ussing 室测定

[0708] 对表达 $\Delta\text{F508-CFTR}$ 的极化上皮细胞进行 Using 室实验,以进一步表征在光学测定法中鉴定的 $\Delta\text{F508-CFTR}$ 增效剂或诱导剂。将生长在 Costar Snapwell 细胞培养插管上的 FRT ^{$\Delta\text{F508-CFTR}$} 上皮细胞固定在 Ussing 室内(加利福尼亚州圣迭戈生理仪器公司(Physiologic Instruments, Inc., San Diego, CA)),并利用电压钳系统(爱荷华州爱荷华大学生物工程系(Department of Bioengineering, University of Iowa, IA)和加利福尼亚州圣迭戈生理仪器公司)连续使单层短路。通过施加 2mV 脉冲测量跨上皮电阻。在这些条件下, FRT 上皮表现出 $4\text{K}\Omega/\text{cm}^2$ 或更高的电阻。将溶液维持在 27°C 下,并鼓入空气。利用无细胞插管校正电极偏移电位和流体电阻。在这些条件下,电流反映 Cl^- 通过在顶端膜中所表达的 $\Delta\text{F508-CFTR}$ 的流动。利用 MP100A-CE 界面和 AcqKnowledge 软件(v3.2.6;加利福尼亚州圣巴巴拉 BIOPAC 系统公司(BIOPAC Systems, Santa Barbara, CA))以数字方式获取 I_{sc} 。

[0709] 纠正化合物的鉴定

[0710] 典型的方案采用基底外侧至顶端膜的 Cl^- 浓度梯度。为了建立这种梯度,在基底外侧膜上使用正常的套环,而顶端 NaCl 被等摩尔葡糖酸钠代替(用 NaOH 滴定至 pH7.4),以得到跨上皮的大 Cl^- 浓度梯度。所有实验均用完整单层进行。为了完全活化 $\Delta\text{F508-CFTR}$,施加福司柯林($10\mu\text{M}$)和 PDE 抑制剂 IBMX($100\mu\text{M}$),然后添加 CFTR 增效剂染料木黄酮($50\mu\text{M}$)。

[0711] 正如在其它细胞类型中所观察到的,在低温下温育稳定表达 $\Delta\text{F508-CFTR}$ 的 FRT 细胞会增加 CFTR 在质膜中的功能密度。为了测定纠正化合物的活性,将细胞与 $10\mu\text{M}$ 供试化合物在 37°C 下温育 24 小时,随后洗涤 3 次,然后记录。将 cAMP- 和染料木黄酮-介导的化合物处理细胞中的 I_{sc} 归一化到 27°C 和 37°C 对照,并以百分比活性表示。与 37°C 对照相比,细胞用纠正化合物预温育显著增加了 cAMP- 和染料木黄酮-介导的 I_{sc} 。

[0712] 增效剂化合物的鉴定

[0713] 典型的方案采用基底外侧至顶端膜的 Cl^- 浓度梯度。为了建立这种梯度,在基底外侧膜上使用正常的套环并用制霉菌素($360\mu\text{g/mL}$)透化,而顶端 NaCl 被等摩尔葡糖酸钠代替(用 NaOH 滴定至 pH7.4),以得到跨越上皮的大 Cl^- 浓度梯度。所有实验均在制霉菌素

透化后 30min 进行。向细胞培养插管两侧施加福司柯林 ($10 \mu\text{M}$) 和所有供试化合物。将推定的 $\Delta\text{F508-CFTR}$ 增效剂的效能与已知增效剂染料木黄酮的效能进行比较。

[0714] 溶液

[0715] 基底外侧溶液 (单位 mM): NaCl (135)、 CaCl_2 (1.2)、 MgCl_2 (1.2)、 K_2HPO_4 (2.4)、 KH_2PO_4 (0.6)、N-2-羟基乙基哌嗪-N'-2-乙磺酸 (HEPES) (10) 和右旋糖 (10)。用 NaOH 将该溶液滴定至 pH 7.4。

[0716] 顶端溶液 (单位 mM): 与基底外侧溶液相同, 但 NaCl 被葡萄糖酸钠 (135) 替代。

[0717] 细胞培养

[0718] 将表达 $\Delta\text{F508-CFTR}$ ($\text{FRT}^{\Delta\text{F508-CFTR}}$) 的 Fisher 大鼠上皮 (FRT) 细胞用于从我们的光学测定法鉴定的推定 $\Delta\text{F508-CFTR}$ 调节剂的 Ussing 室实验。在 Costar Snapwell 细胞培养插管上培养细胞并在 37°C 和 5% CO_2 下在 Coon's 改良 Ham's F-12 培养基中培养五天, 该培养基补充了 5% 胎牛血清、100U/mL 青霉素和 $100 \mu\text{g/mL}$ 链霉素。在用于表征化合物的增效剂活性前, 将细胞在 27°C 温育 16-48h 以纠正 $\Delta\text{F508-CFTR}$ 。为了测定纠正化合物的活性, 将细胞在 27°C 或 37°C 与和与化合物一起温育 24 小时。

[0719] 全细胞记录

[0720] 使用穿孔的膜片全细胞记录监测温度和供试化合物纠正的稳定表达 $\Delta\text{F508-CFTR}$ 的 NIH3T3 细胞中的宏观 $\Delta\text{F508-CFTR}$ 电流 ($I_{\Delta\text{F508}}$)。简而言之, 在室温下用 Axopatch 200B 膜片钳放大器 (加利福尼亚州福斯特城 Axon 仪器公司 (Axon Instruments Inc., Foster City, CA)) 进行 $I_{\Delta\text{F508}}$ 的电压钳记录。全部记录均在 10kHz 采样频率下获取并在 1kHz 下低通过滤。微电极在充满胞内溶液时具有 5-6M Ω 的电阻。在这些记录条件下, 在室温下计算的 Cl^- 逆转电位 (E_{Cl}) 为 -28mV。全部记录均具有 >20G Ω 的密封电阻和 <15M Ω 的串联电阻。使用配备了 Digidata 1320A/D 界面与 Clampex 8 (Axon 仪器公司) 的 PC 进行脉冲发生、数据采集和分析。温浴液包含 <250 μL 的盐水并使用重力驱动的灌注系统以 2mL/min 的速率连续灌注。

[0721] 纠正化合物的鉴定

[0722] 为了测定纠正化合物增加质膜中功能性 $\Delta\text{F508-CFTR}$ 密度的活性, 我们利用上述开孔膜片记录技术测量用纠正化合物处理 24 小时后的电流密度。为了完全活化 $\Delta\text{F508-CFTR}$, 向细胞加入 $10 \mu\text{M}$ 福司柯林和 $20 \mu\text{M}$ 染料木黄酮。在我们的记录条件下, 在 27°C 下温育 24 小时后的电流密度高于在 37°C 下温育 24 小时后的观测值。这些结果与低温温育对质膜中 $\Delta\text{F508-CFTR}$ 密度的已知影响是一致的。为了测定纠正化合物对 CFTR 电流密度的影响, 将细胞与 $10 \mu\text{M}$ 供试化合物在 37°C 下温育 24 小时, 与 27°C 和 37°C 对照比较电流密度 (活性%)。在记录之前, 将细胞用细胞外记录介质洗涤 3 次, 以除去任何剩余的供试化合物。与 37°C 对照相比, 用 $10 \mu\text{M}$ 纠正化合物预温育显著增加了 cAMP- 和染料木黄酮- 依赖性电流。

[0723] 增效剂化合物的鉴定

[0724] 还用穿孔膜片记录技术研究了 $\Delta\text{F508-CFTR}$ 增效剂增加稳定表达 $\Delta\text{F508-CFTR}$ 的 NIH3T3 细胞中宏观 $\Delta\text{F508-CFTR}$ Cl^- 电流 ($I_{\Delta\text{F508}}$) 的能力。从光学测定法中鉴定的增效剂引起了与在光学测定法中观察到的类似效力和效能的 $I_{\Delta\text{F508}}$ 剂量依赖性增加。在所有研究的细胞中, 施加增效剂之前和过程中的逆转电位为约 -30mV, 它是计算的 E_{Cl} (-28mV)。

[0725] 溶液

[0726] 胞内溶液 (单位 mM): 天冬氨酸铯 (90)、CsCl (50)、MgCl₂ (1)、HEPES (10) 和 240 μg/mL 两性霉素-B (用 CsOH 将 pH 调至 7.35)。

[0727] 胞外溶液 (单位 mM): N-甲基-D-葡萄糖胺 (NMDG)-Cl (150)、MgCl₂ (2)、CaCl₂ (2)、HEPES (10) (用 HCl 将 pH 调至 7.35)。

[0728] 细胞培养

[0729] 将稳定表达 ΔF508-CFTR 的 NIH3T3 小鼠成纤维细胞用于全细胞记录。将细胞维持在 37℃、5% CO₂ 和 90% 湿度下的 175cm² 培养烧瓶中的达尔伯克氏改良伊格尔培养基中, 该培养基补充了 2mM 谷氨酰胺、10% 胎牛血清、1X NEAA、β-ME、1X 青霉素 / 链霉素和 25mM HEPES。对于全细胞记录, 将 2,500–5,000 个细胞接种在聚-L-赖氨酸包被的盖玻片上并在 27℃ 下培养 24–48h, 然后用于测试增效剂的活性; 并且与或不与纠正化合物一起在 37℃ 温育, 以便测量纠正剂的活性。

[0730] 单通道记录

[0731] 使用切下的膜内侧翻外膜片观察在 NIH3T3 细胞中稳定表达的温度校正的 ΔF508-CFTR 的单通道活性以及增效剂化合物的活性。简而言之, 在室温下用 Axopatch 200B 膜片钳放大器 (Axon 仪器公司) 进行单通道活性的电压钳记录。全部记录均在 10kHz 采样频率下获取并在 400Hz 下低通过滤。膜片微电极由 Corning Kovar Sealing#7052 玻璃 (佛罗里达州萨拉索塔世界精密仪器公司 (World Precision Instruments, Inc., Sarasota, FL)) 制成并在充满胞外溶液时具有 5–8MΩ 的电阻。在切下后通过添加 1mM Mg-ATP 和 75nM cAMP 依赖性蛋白激酶催化亚单位 (PKA; 威斯康星州麦迪逊普洛麦格公司 (Promega Corp. Madison, WI)) 活化了 ΔF508-CFTR。在通道活性稳定后, 使用重力驱动微量灌注系统灌注膜片。使内流接近膜片, 从而导致在 1–2s 内完全交换溶液。为了维持快速灌注过程中的 ΔF508-CFTR 活性, 将非特异性磷酸酶抑制剂 F⁻ (10mM NaF) 加入温浴液中。在这些记录条件下, 通道活性在整个膜片记录期间保持恒定 (至多 60min)。从胞内溶液运动至胞外溶液 (阴离子以相反方向运动) 的正电荷所产生的电流显示为正电流。将微电极电位 (V_p) 维持在 80mV。

[0732] 从包括 ≤ 2 个活性通道的膜片分析通道活性。同时开放的最大值决定了实验过程中活性通道的数量。为了测定单通道电流振幅, 在 100Hz 下“离线”过滤从 120s 的 ΔF508-CFTR 活性记录的数据, 然后用于构建所有点的振幅直方图, 该直方图用 Bio-Patch 分析软件 (法国比奥罗杰公司 (Bio-Logic Comp. France)) 通过多高斯函数拟合。通过 120s 的通道活性确定总微观电流和开放概率 (P_o)。使用 Bio-Patch 软件或由关系式 $P_o = I/i(N)$ 测定 P_o, 其中 I = 平均电流, i = 单通道电流振幅, 并且 N = 膜片中活性通道的数量。

[0733] 溶液

[0734] 胞外溶液 (单位 mM): NMDG (150)、天冬氨酸 (150)、CaCl₂ (5)、MgCl₂ (2) 和 HEPES (10) (用 Tris 碱将 pH 调至 7.35)。

[0735] 胞内溶液 (单位 mM): NMDG-Cl (150)、MgCl₂ (2)、EGTA (5)、TES (10) 和 Tris 碱 (14) (用 HCl 将 pH 调至 7.35)。

[0736] 细胞培养

[0737] 将稳定表达 ΔF508-CFTR 的 NIH3T3 小鼠成纤维细胞用于切下膜的膜片钳记录。将

细胞维持在 37℃、5% CO₂和 90%湿度下的 175cm²培养烧瓶中的达尔伯克氏改良伊格尔培养基中,该培养基补充了 2mM 谷氨酰胺、10%胎牛血清、1X NEAA、β-ME、1X 青霉素 / 链霉素和 25mM HEPES。对于单通道记录,将 2,500-5,000 个细胞接种在聚-L-赖氨酸包被的盖玻片上并在 27℃下培养 24-48h 后使用。

[0738] 本发明的化合物 1 和化合物 2 用作 CFTR 活性增效剂或诱导剂。下表 5 示例化合物 1 和化合物 2 的 EC50 和相对效能。在下表 5 中,如下含义适用。EC50:“+++”是指 <10uM;“++”是指 10uM - 25uM;“+”是指 25uM - 60uM。%效能:“+”是指 <25%;“++”是指 25% - 100%;“+++”是指 >100%。

[0739] 表 5.

[0740]

化合物 编号	EC50 (μM)	%活性
1	+++	+++
2	+++	++

[0741] 其它实施方案

[0742] 本公开中提及的所有出版物和专利均以引用方式并入本文,达到如同各个出版物或专利申请具体且单独地表明以引用方式并入的相同程度。以引用方式并入的任何专利或出版物中的术语的含义与本公开中所用的术语的含义冲突时,旨在以本公开中的术语的含义为准。此外,前述讨论公开和描述的仅仅是本发明的示例性实施方案。本领域的技术人员将容易从这些讨论中以及从附图和权利要求中认识到:在不背离如下权利要求书中所定义的本发明的精神和范围的情况下可以做出各种变化、修改和变更。

Lin (计数)

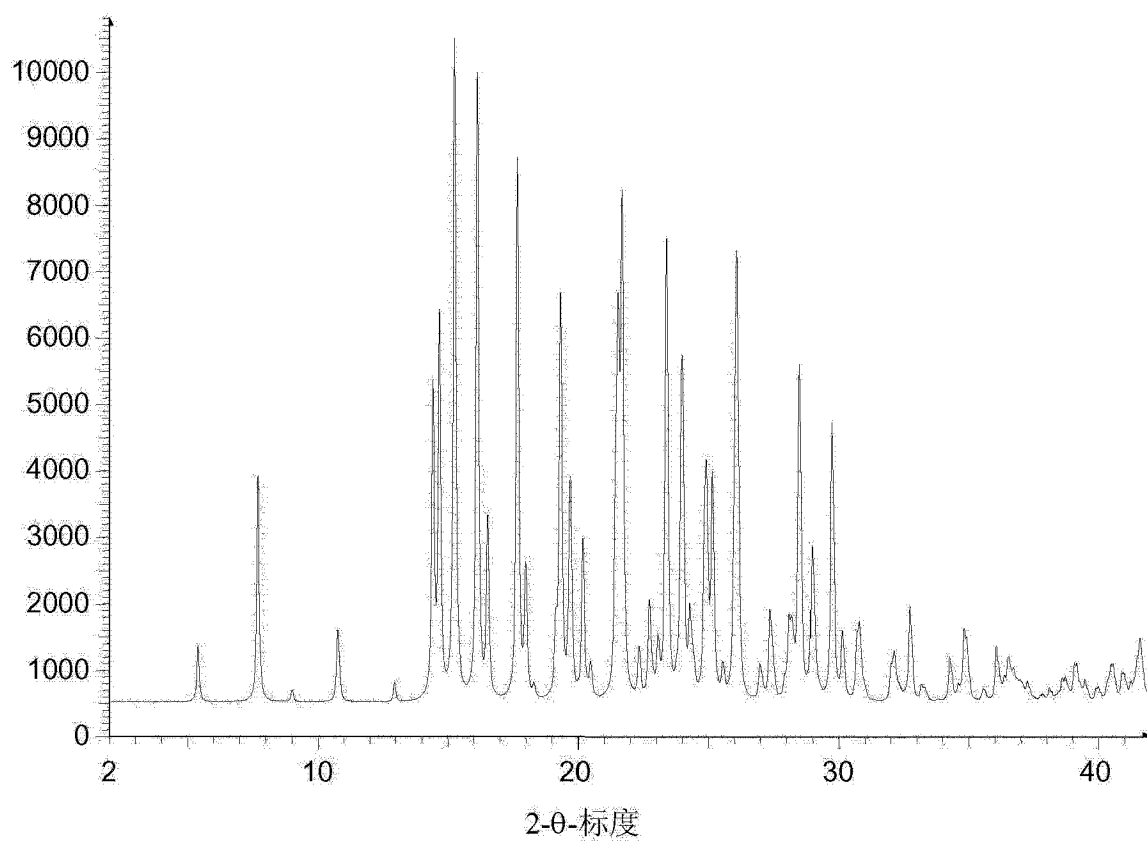


图 1

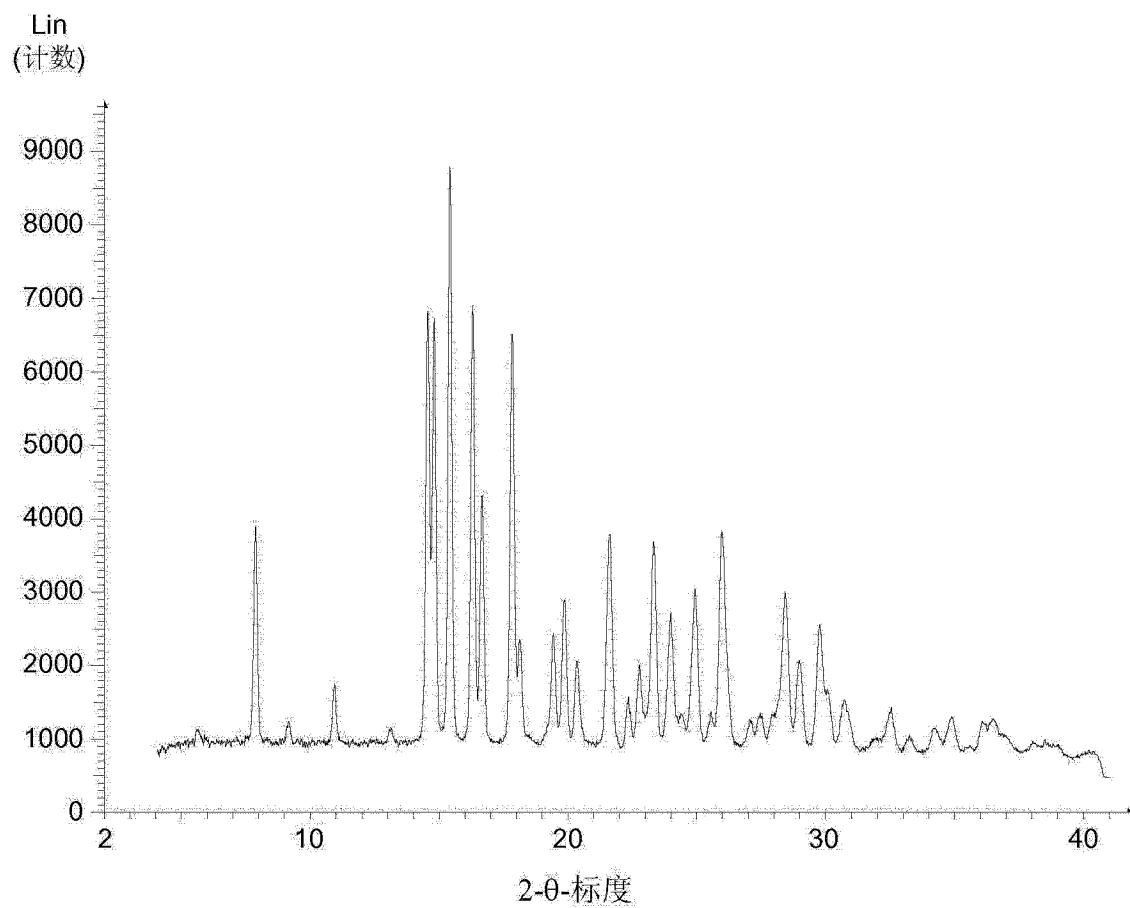


图 2

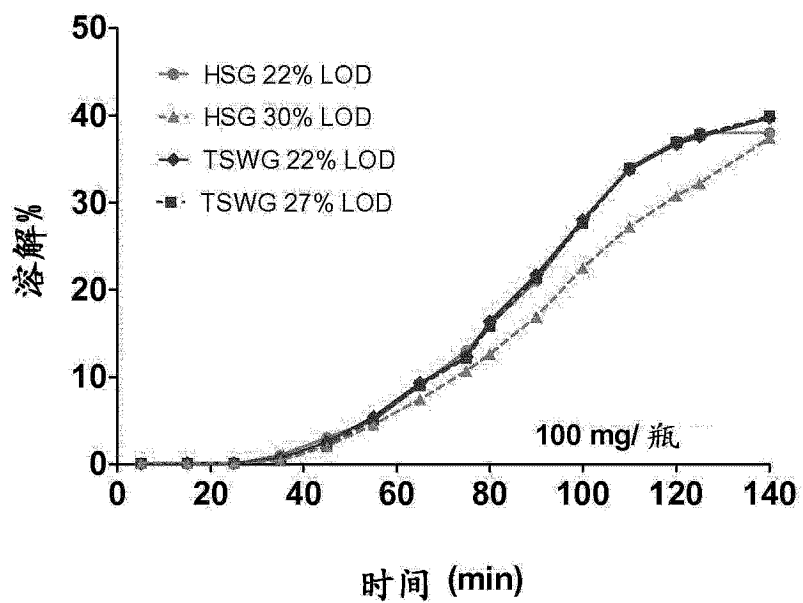


图 3

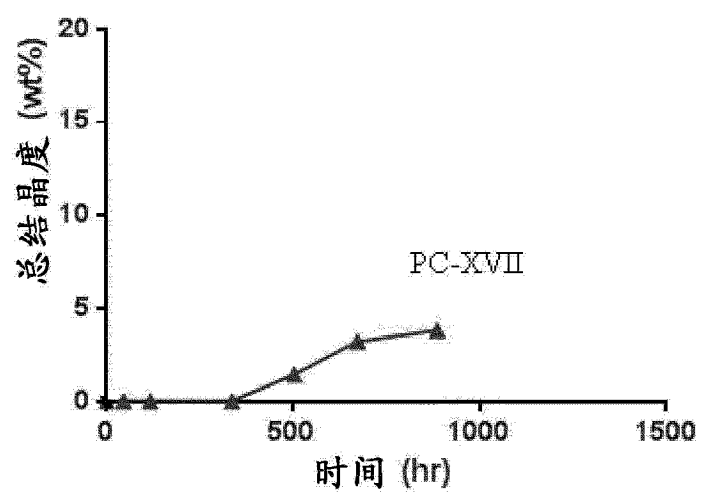


图 4

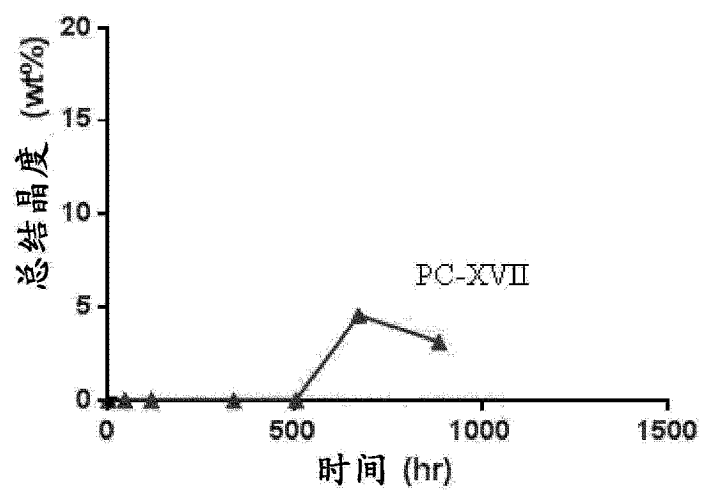


图 5

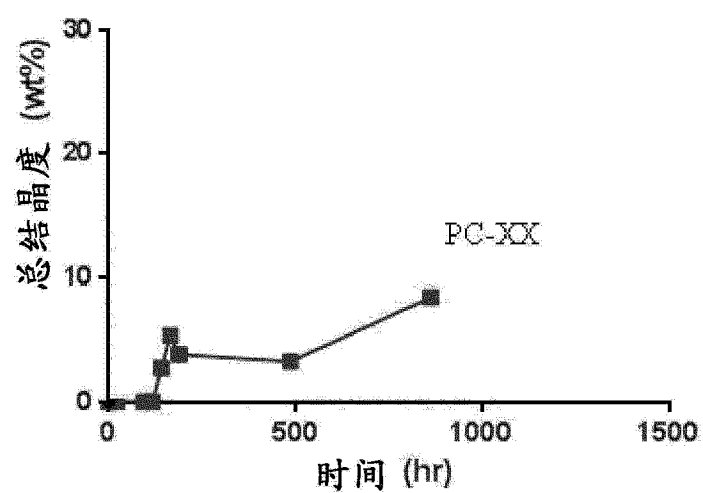


图 6

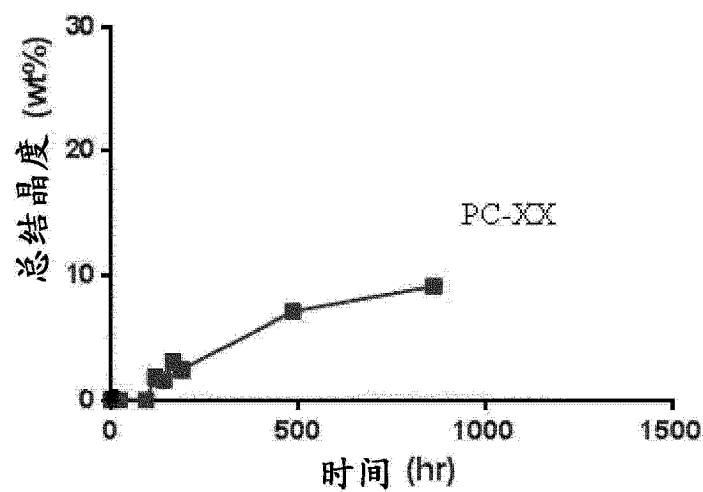


图 7

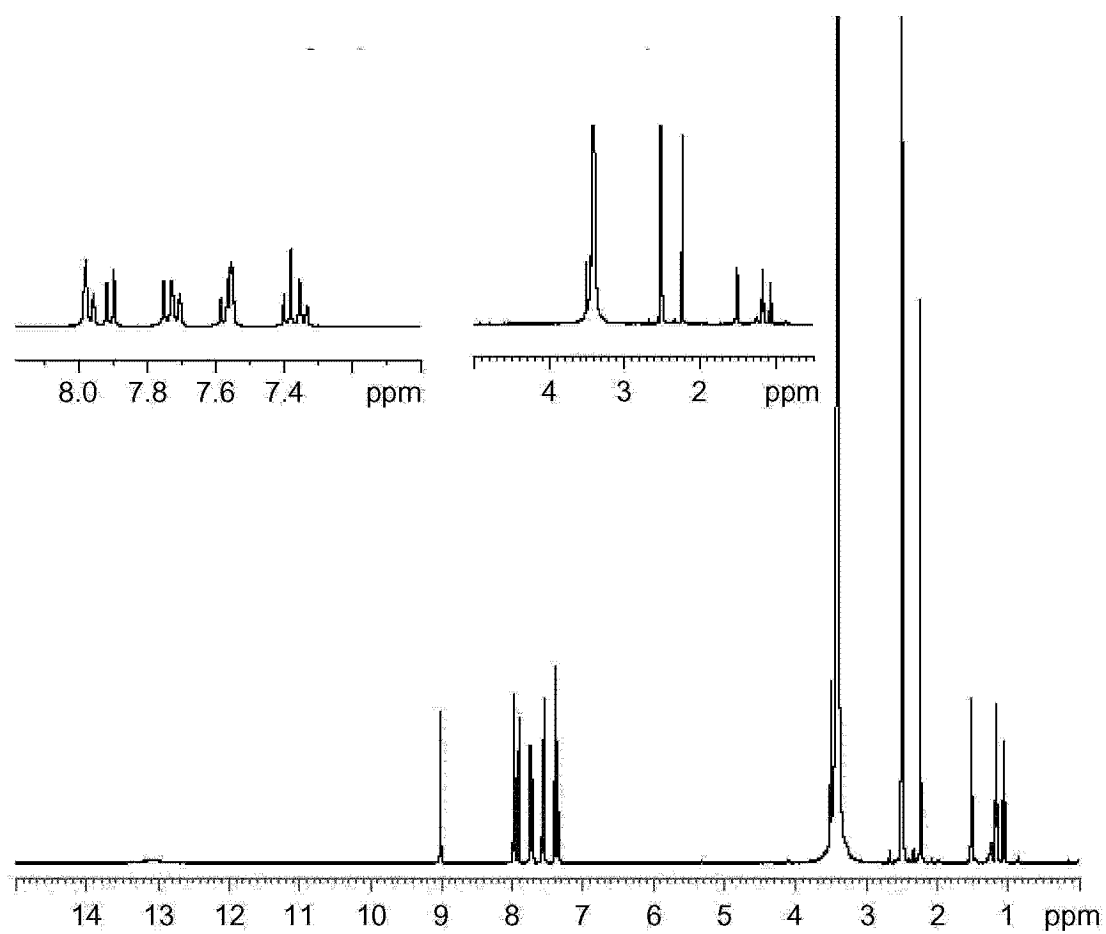


图 8

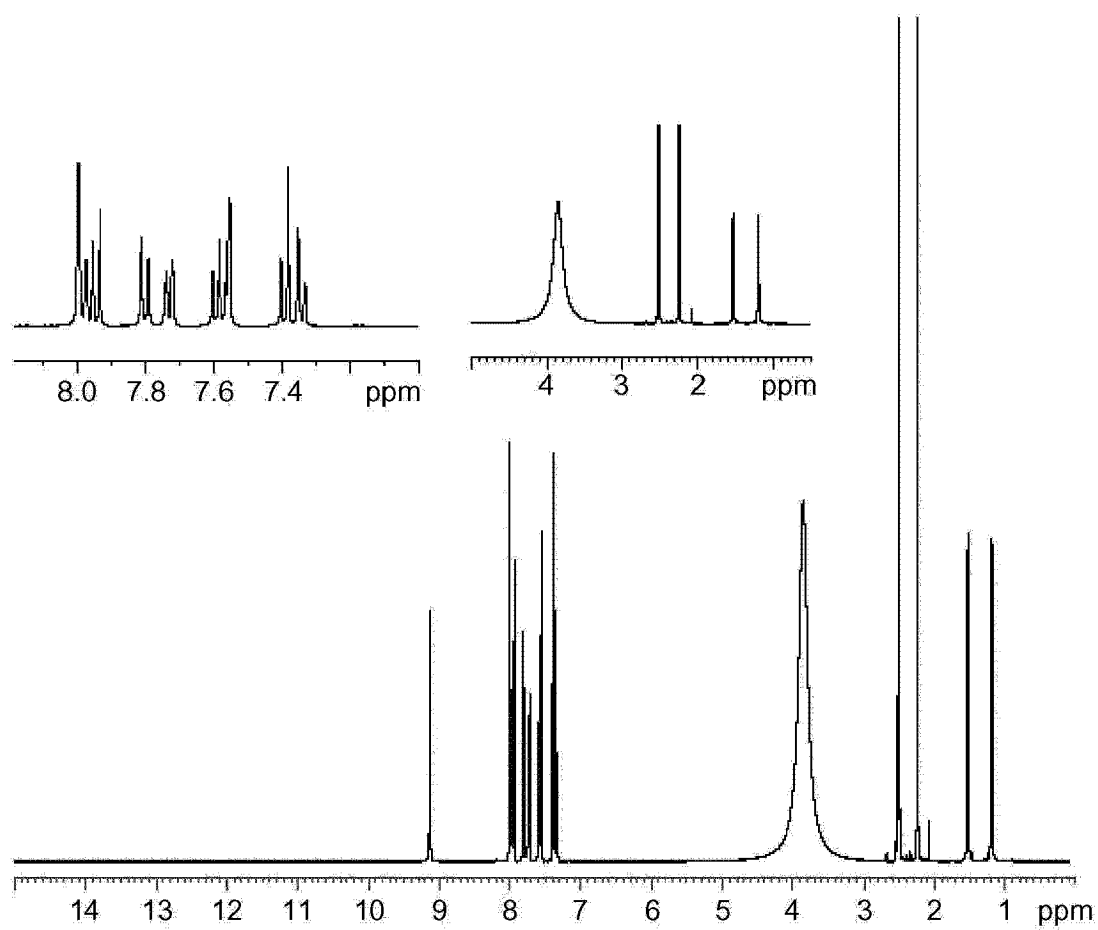


图 9

热流 (W/g)

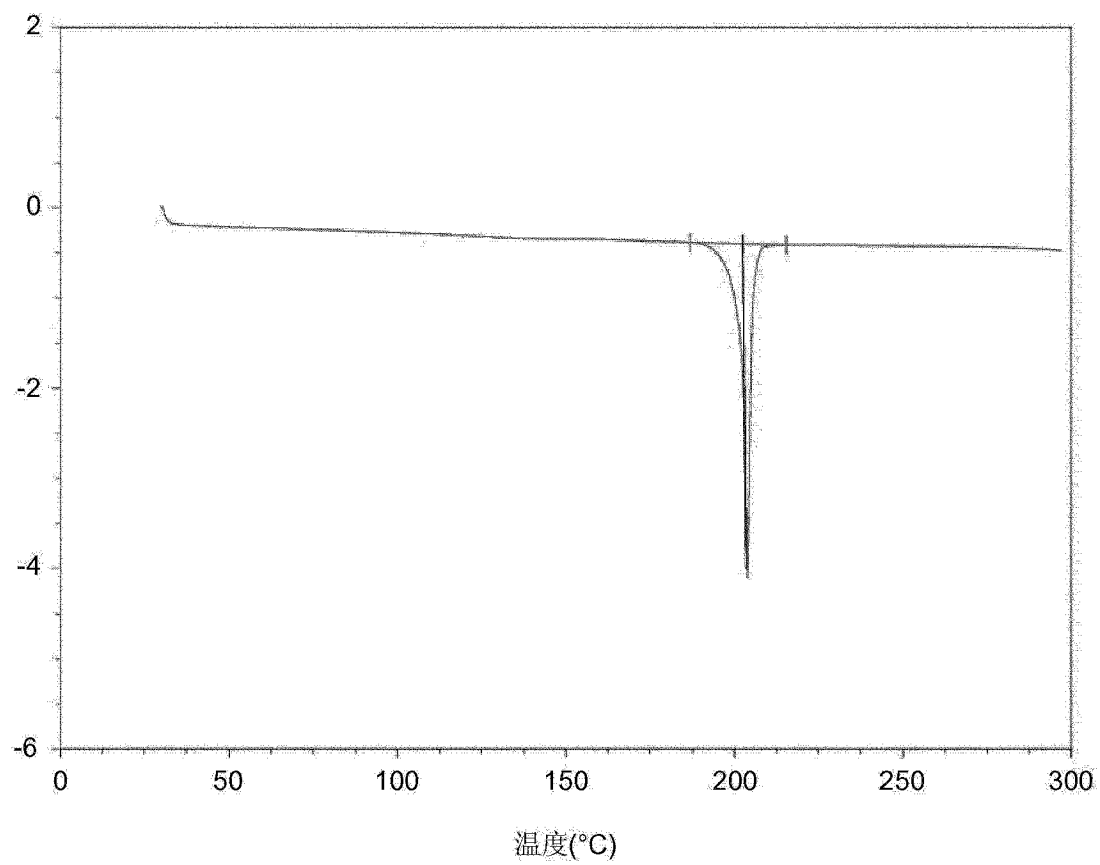


图 10

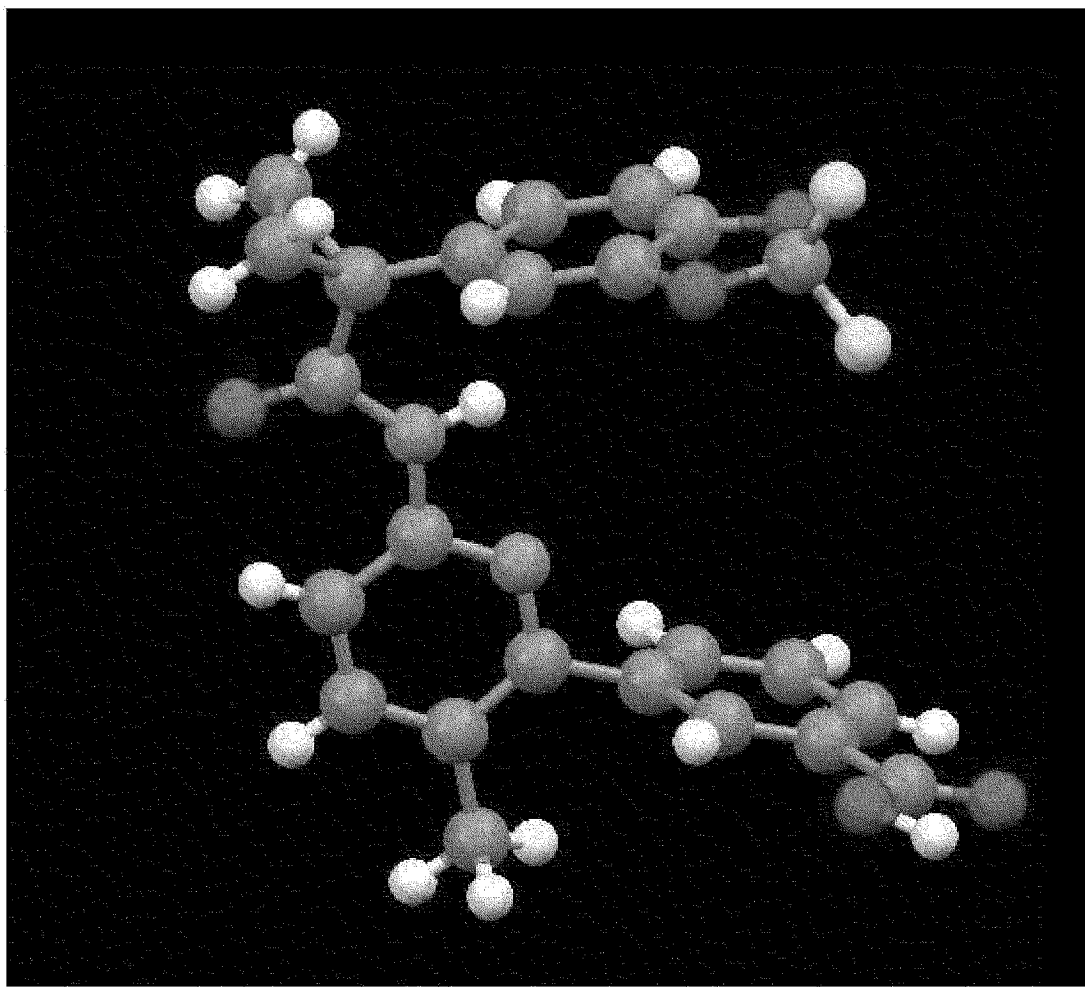


图 11