(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 118804741 A
(43)申请公布日 2024.10.18

(21)申请号 202280092730.1

(22)申请日 2022.12.28

(30)优先权数据
21218160.6 2021.12.29 EP

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2024.08.28

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/EP2022/087955 2022.12.28

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2023/126438 EN 2023.07.06

(71)申请人 拜耳股份公司
地址 德国莱沃库森
申请人 拜耳制药股份公司

(72)发明人 T•芒德里 I•特雷维西
A•里希特 B•奥勒尼克
B•凯尔 B•罗斯勒 P•费
H•施尔默 G•贝克 C•博特
H•费伯 J•艾格
E•M•贝克尔-佩尔斯特
H•蒂内尔 M•哈恩 D•郎
G•魏曼 J•纳格尔施密茨
L•迪茨 S•萨利赫 D•容
M•帕里 D•沃德 C•维特雷

(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001
专利代理师 彭昶

(51)Int.Cl.
A61K 9/00(2006.01)
A61K 9/14(2006.01)
A61K 31/4709(2006.01)

权利要求书3页 说明书180页 附图44页

(54)发明名称

药物干粉吸入制剂

(57)摘要

本发明涉及药物干粉制剂,其包含与乳糖载体组合的式(I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,优选呈其盐或溶剂化物或水合物之一的形式,优选为式(I-M-I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸单水合物(I)或式(I-M-II)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸单水合物(II),所述乳糖载体包含呈粗乳糖和细乳糖的混合物形式的乳糖单水合物;以及制造此类药物干粉制剂的方法和其用于治疗心肺病症中的应用,所述心肺病症为例如肺动脉高压(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高压(CTEPH)以及与慢性肺病相关的肺高压(PH)(第3类PH),例如慢性阻塞性肺病中的肺高压(PH-COPD)和伴有特发性间质性肺炎的肺高压(PH-IIP)。

CN 118804741 A

1.一种吸入用制剂,其特征在于所述制剂含有由以下组成的干粉掺合物

a)呈式(I-M-I)的单水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸作为活性成分,浓度按重量计为0.75%(w/w)至20%(w/w),其中所述式(I-M-I)的单水合物I的x射线衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)显示至少以下反射:6.9、7.2、7.3、12.8和29.2,以2θ值±0.2引用

与以下组合

b)乳糖载体,浓度按重量计为99.25%(w/w)至80%(w/w),

进一步特征在于

c)呈式(I-M-I)的单水合物I形式的所述活性成分(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸具有X50介于1和3μm的粒度

d)所述乳糖载体为吸入用乳糖单水合物

其进一步特征在于

e)所述乳糖具有X50≥50μm的粒度。

2.根据权利要求1所述的吸入用制剂,其特征在于所述制剂含有由以下组成的干粉掺合物

a)呈式(I-M-I)的单水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸作为活性成分,浓度按重量计为0.75%(w/w)至20%(w/w),其中所述式(I-M-I)的单水合物I的x射线衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)显示至少以下反射:6.9、7.2、7.3、12.8和29.2,以2θ值±0.2°引用,

与以下组合

b)乳糖载体,浓度按重量计为99.25%(w/w)至80%(w/w),

其进一步特征在于

c)呈式(I-M-I)的单水合物I形式的所述活性成分(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸具有X50介于1和3μm的粒度

d)所述乳糖载体为吸入用乳糖单水合物,由粗乳糖与细乳糖组成

其进一步特征在于

e)所述粗乳糖具有X50≥50μm的粒度

f)所述细乳糖具有X50<10μm的粒度

g)其中所述干粉掺合物的所述粗乳糖含量介于98.25%和70%。

3.根据权利要求2所述的吸入用制剂,其特征在于所述干粉掺合物中的细乳糖含量介于1%和10%。

4.根据权利要求1、2或3所述的吸入用制剂,其特征在于活性成分与粗乳糖的比率介于1:126和1:3.8。

5.根据权利要求2至4中任一项或多项所述的吸入用制剂,其特征在于活性成分与细乳糖的比率介于1:13至1:0.1。

6.根据权利要求2至5中任一项或多项所述的吸入用制剂,其特征在于粗乳糖与细乳糖的比率介于445:5和75:5。

7.根据权利要求2至6中任一项或多项所述的吸入用制剂,其中所述细乳糖为Lactohale® 300或Lactohale® 230。

8.根据权利要求1至7中任一项或多项所述的吸入用制剂,其中所述粗乳糖具有X50＝125-145μm的粒度。

9.根据权利要求2至8中任一项或多项所述的吸入用制剂,其中所述细乳糖具有X50≤50μm的粒度。

10.根据权利要求1至9中任一项或多项所述的吸入用制剂,其特征在于它含有标称剂量为480-4000μg的呈式(I-M-I)的单水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸。

11.根据权利要求1至10中任一项或多项所述的吸入用制剂,其特征在于通过级联冲击和剂量单位取样装置(DUSA)测量,它具有≥20％的细粒分率(＝FPF)(活性成分标称剂量的％,<4.5μm)和≥30％活性成分的FPF(活性成分的DD的％,<4.5μm)。

12.一种包含根据权利要求1至11中任一项或多项所述的吸入用制剂的空腔,所述空腔可以经由干粉吸入器被施用于有需要的患者。

13.一种包含根据权利要求1至12中任一项或多项所述的吸入用制剂的空腔,其特征在于它含有填充质量为10-20mg的所述吸入用制剂。

14.一种用于制造根据权利要求1至13中任一项或多项所述的吸入用制剂的制造方法,其特征在于

在第一步骤1)中

在开始混合两种乳糖组分之前,将细乳糖称重并分层放置在两层粗乳糖之间,

b.在第二步骤2)中

2种组分的掺合是在滚筒混合器中以72rpm、67rpm或34rpm或32rpm或30rpm进行2次(2个循环),持续20分钟,并且预掺合物在循环之间通过500μm筛网进行过筛,

c.在第三步骤3)中,式(I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,优选式(I-M-I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸单水合物I通过500μm筛网进行预过筛,并被加入如步骤1)和2)中所制造的乳糖预掺合物中,并且在开始混合前10层乳糖预掺合物和9层活性成分,6层乳糖预掺合物和其间5层活性成分(实施例4),或4层乳糖预掺合物和其间3层活性成分(实施例4),或2层乳糖预掺合物和其间1层活性成分(实施例4),优选6/5层交替分层放置,

d.在第四步骤4)中

在容器(玻璃或不锈钢)中以3-5个循环、优选3个循环混合步骤3)中获得的预分层掺合物,以72rpm、67rpm、34rpm或32rpm,优选32rpm持续20-30分钟,优选30分钟(90分钟总混合时间),混合循环之间有10分钟的休息时间,其特征在于,

在步骤4)中获得的产物是在不锈钢容器中进行混合,

其中所述掺合物在每个混合循环之间进行过筛或优选在混合循环之间未将所述掺合

物过筛，

e.在第五步骤5)中，在不锈钢容器中，将步骤4)中获得的产物在室温(15-25℃)和35-65％相对湿度下静置某段时间，优选24-72小时，更优选48小时，然后进行掺合物均匀性取样与最终胶囊填充，

f.在第六步骤6)中，步骤E中获得的干粉掺合物最后被填充到胶囊中。

15.根据权利要求1至13中任一项或多项所述的吸入用制剂的用途，其用于制造供用于治疗心肺病症的药剂，所述心肺病症为例如肺动脉高压(PAH)以及与慢性肺病相关的肺高压(PH)(第3类PH)，例如慢性阻塞性肺病中的肺高压(PH-COPD)和伴有特发性间质性肺炎的肺高压(PH-IIP)。

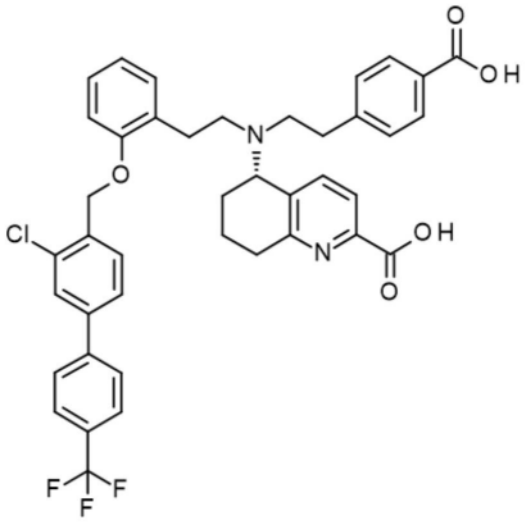
药物干粉吸入制剂

[0001] 本发明涉及药物干粉制剂,其包含与乳糖载体组合的式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,优选呈其盐或溶剂化物或水合物之一的形式,优选为式(I-M-I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸单水合物I或式(I-M-II)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸单水合物II,所述乳糖载体包含呈粗乳糖和细乳糖的混合物形式的乳糖单水合物;以及制造此类药物干粉制剂的方法和其用于治疗心肺病症中的应用,所述心肺病症为例如肺动脉高压(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高压(CTEPH)以及与慢性肺病相关的肺高压(PH)(第3类PH),例如慢性阻塞性肺病中的肺高压(PH-COPD)和伴有特发性间质性肺炎的肺高压(PH-IIP)。

[0002] 本发明进一步涉及用于制造药物干粉制剂的特定制造方法,所述药物干粉制剂包含式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,优选为式(I-M-I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸单水合物I,或式(I-M-II)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸单水合物II,其在化学上呈稳定形式,即防潮并在吸入期间以与每单位剂量的标称药物含量相关的高分率从制剂中释放活性成分可吸入颗粒,以及活性成分在乳糖载体基质中展现出稳定和适当分布。

[0003] 本发明进一步涉及包含与乳糖载体组合的式(I)、(I-M-I)和(I-M-II)的化合物的药物干粉制剂的用途,其用于治疗肺动脉高压(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高压(CTEPH)以及与慢性肺病相关的肺高压(PH)(第3类PH),例如慢性阻塞性肺病中的肺高压(PH-COPD)和伴有特发性间质性肺炎的肺高压(PH-IIP),更具体地,它涉及一种治疗心肺病症的方法,所述心肺病症为例如肺动脉高压(PAH)以及与慢性肺病相关的肺高压(PH)(第3类PH),例如PH-COPD和PH-IIP。

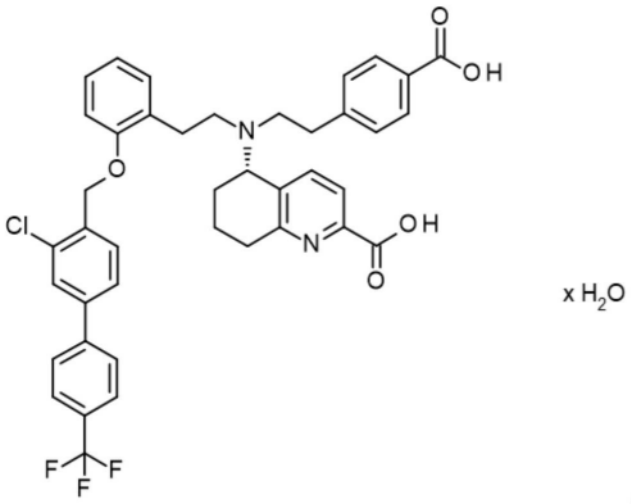
[0004] (5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸对应于式(I)

[0005] 

(I)

[0006] 在本发明的上下文中,(I-A)是指呈非晶形形式的式(I)化合物;结晶变型I,单水合物I称为(I-M-I),而结晶变型II,单水合物II称为(I-M-II)。在未进一步区分的情况下,所述式(I)化合物以一种或多种变型或作为溶剂化物(尤其是作为水合物)存在。

[0007] (5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸的新颖结晶形式,其为假多晶型形式单水合物I(I-M-I)或假多晶型形式单水合物II(I-M-II)对应于式(I-M-I)、(I-M-II),

[0008] 

(I-M-I)、(I-M-II)。

[0009] 式(I)、(I-M-I)和(I-M-II)化合物作为可溶性鸟苷酸环化酶的活化剂,并且可用作用于防治和/或治疗肺、心肺和心血管疾病的药剂,例如用于治疗肺动脉高压(PAH)以及与慢性肺病相关的肺高压(PH)(第3类PH),例如慢性阻塞性肺病中的肺高压(PH-COPD)和伴有特发性间质性肺炎的肺高压(PH-IIP),更具体地,它涉及治疗心肺病症的方法,所述心肺病症为例如肺动脉高压(PAH)以及与慢性肺病相关的肺高压(PH)(第3类PH),例如PH-COPD和PH-IIP。

[0010] 发明背景

[0011] 肺高压(PH)是一种进行性肺部病症,未经治疗会在诊断后几年内造成死亡。肺高压被定义为平均肺动脉压(mPAP)升高(静止时正常值<20mmHg)。肺高压的病理生理学特征在于肺血管的血管收缩和重塑。在慢性PH中,主要是未肌肉化的肺血管出现新肌肉化

(neomuscularization),而已经肌肉化的血管的血管肌周长增加。这种肺循环闭塞增加会对右心造成渐进的压力,造成右心输出量减少,最终导致右心衰竭[M.Humbert等人,J.Am.Coll.Cardiol.2004,43,13S-24S]。特发性(或原发性)肺动脉高压(IPAH)是一种非常罕见的病症,而继发性肺高压(非PAH PH)则相当常见,后者被认为是目前第三大最常见的心血管病症,仅次于冠心病和全身性高血压。自2008年以来,根据各自的病因学,肺高压依照Dana Point分类法分为多个亚类[M.Humbert和V.V.McLaughlin,J.Am.Coll.Cardiol.2009,54(1),S1-S2;D.Montana和G.Simonneau,在以下中:A.J.Peacock等人(编),Pulmonary Circulation.Diseases and their treatment,第3版,Hodder Arnold Publ.,2011,第197-206页;updated Nizza classification Gérald Simonneau,David Montani,David S.Celermajer,Christopher P.Denton,Michael A.Gatzoulis,Michael Krowka,Paul G.Williams,Rogerio Souza:Haemodynamic definitions and updated clinical classification of pulmonary hypertension,in:European Respiratory Journal,2018;DOI:10.1183/13993003.01913-2018]。

[0012] 尽管PH的疗法有了全面进展,但目前还没有治愈这种严重病症的前景。市面上可取得的标准疗法(例如前列腺环素类似物(prostacyclin analogs)、内皮素受体拮抗剂、磷酸二酯酶抑抑制剂)能够改善患者的生活质量、运动耐量和预后。这些治疗原理主要是全身性施用(除吸入性曲前列环素(Treprostinil)和吸入性Iloprost或NO以外),并且主要通过调节血管紧张度而在血液动力学上发挥作用。这些药剂的适用性会由于副作用(其中一些副作用很严重)和/或施用形式复杂而受到限制。可通过特定的单药疗法而使患者临床状况得到改善或稳定所经历的时间是有限的(例如由于耐药性的发生)。最后疗法升级,因此应用组合疗法,其中必须同时给予多种药剂。目前,这些标准治疗剂仅被批准用于治疗肺动脉高压(PAH)和慢性血栓栓塞性肺高压(CTEPH)。在与肺病有关的继发性PH形式(第3类PH)(例如PH-COPD或PH-IIP)的情况下,这些治疗原理(例如西地那非(sildenafil)、波生坦(bosentan))之后在临床研究中失败了,由于非选择性血管扩张,它们导致患者动脉氧含量降低(去饱和)。可能的原因是因为非选择性血管扩张剂的全身性施用,在异质性肺病症中对肺通气-灌注适应产生不利影响[I.Blanco等人,Am.J.Respir.Crit.Care Med.2010,181,270-278;D.Stolz等人,Eur.Respir.J.2008,32,619-628]。

[0013] 新颖的组合疗法是治疗肺高压最受期待的未来治疗选择之一。在这方面,发现治疗PH的新药理学机制特别令人感兴趣[Ghofrani等人,Herz 2005,30,296-302;E.B.Rosenzweig,Expert Opin.Emerging Drugs2006,11,609-619;T.Ito等人,Curr.Med.Chem.2007,14,719-733]。特别是可以与市场上已有的治疗概念相结合的新型治疗方法可以形成更有效治疗的基础,因此对患者有很大益处。此外,这种新颖作用原理的选择性肺部适用性不仅可以提供将其用于PAH的选择,而且可以特别为患有继发性PH形式(第3类PH)的患者提供首选治疗选择,因为它们经由吸入施用,通过靶向施用至肺部的通气区域,从而避免了非选择性全身性血管舒张。

[0014] 与许多心肺疾病相关的氧化应激会导致一氧化氮/可溶性鸟苷酸环化酶信号通路受损,从而将天然可溶性鸟苷酸环化酶转变为无血红素的apo可溶性鸟苷酸环化酶。特异性靶向这种NO不敏感形式的sGC提供了概述其供治疗各种心肺疾病的前所未见的治疗机会潜力。sGC活化剂经由其独特的作用模式,通过在氧化应激条件下恢复关键的cGMP信号传导,

结合一种新颖的局部和肺选择性施用,可以成为一种强大的新颖治疗选项,对肺高压患者来说疗效增强并且副作用更少。

[0015] 在肺高压的动物模型中,已证实吸入性施用呈微粒形式的sGC活化剂BAY 58-2667(西尼西呱(cinaciguat))会导致肺动脉压以剂量依赖性的方式选择性降低。在这个模型中,静脉内施用1H-1,2,4-噁二唑并[4,3-a]喹喔啉-1-酮(ODQ)(其氧化sGC的血红素辅基)会降低吸入性NO(iNO)的血管舒张作用,而这是因BAY 58-2267而增加。这些结果导致以下假设:吸入性施用sGC活化剂可能代表着一种有效治疗肺高压患者的新颖方法,特别是如果这些患者对iNO和/或对PDE5抑制剂的反应因为缺乏NO或sGC氧化而降低[O.V.Evgenov等人,Am.J.Respir.Crit.Care Med.2007,176,1138-1145]。然而,在这个模型中,西尼西呱本身并没有足够的作用持续时间,而此外,剂量更高会导致不合需要的全身性副作用。

[0016] Merck Sharp Dohme正在开发一种以干粉形式吸入施用用于PAH的sGC刺激剂(MK5475;NCT04609943)。然而,与PH和其他肺病一样,对吸入型一氧化氮(iNO)和sGC刺激剂的反应性可能会因为sGC氧化作用而减损。针对肺部的吸入型sGC活化剂可克服这个限制。

[0017] 在心肺病症(例如肺动脉高压(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高压(CTEPH)以及与慢性肺病相关的肺高压(PH)(第3类PH),例如慢性阻塞性肺病中的肺高压(PH-COPD)和伴有特发性间质性肺炎的肺高压(PH-IIP))的领域中,带有因为潜在肺病所致的PH(第3类PH)的患者,在第一线是通过施用针对相关肺病(例如COPD)所开发的药物来进行治疗。特异性PH药物(例如IP激动剂、PDE5抑制剂、内皮素拮抗剂和sGC刺激剂)仅被批准用于PAH和CTEPH,并且因为观察到这些全身性施用血管扩张剂的去饱和作用,仅在实验上使用于第3类PH形式中。

[0018] 口服施用通常是活性药物的优选施用途径。就心肺适应症来说,优选将药物局部施用到目标器官肺部,以便通过增加局部药物浓度来提高功效并避免药物因全身性利用度而引起全身性副作用。大体上需要较低频率的给药方案,例如以提高患者对治疗的依从性(患者的顺应性),但必须确定24h覆盖率,以确保在给药区间期间血液动力学活性药物的持续功效。由于许多靶向肺部的吸入型药物的例如半衰期和/或肺部保留时间短,需要频繁施用方案(例如Iloprost/Ventavis),其需要每天施用多次以达到24小时覆盖率。特别地,由于对患者方便有利和顺应性的原因,优选每天施用一次。然而,这个目标有时难以达到,取决于原料药的特定行为和性质,尤其是其肺选择性和肺保留时间。

[0019] 另一种全身性施用方式(注射)甚至与许多缺点更为相关(例如,需要临床访视的不便、不适、患者厌恶基于针头的递送方法、施用侧的药物反应),因此更需要替代的施用途径。

[0020] 通过吸入的肺递送就是一种这样的替代施用途径,它可以提供数个更胜于口服和注射施用的优点。这些优点尤其是通过增加局部浓度和降低全身性药物副作用的可能性而具有更高的功效,而且还包括患者自行施用的便利性、易于吸入递送、排除针头等。

[0021] 就吸入用药物制品来说,在不需要佐剂的情况下,特别是在悬浮吸入用固体制品的情况下,制品可仅由活性成分组成。然而,出于实际原因(例如为了促进极低剂量活性成分的药物递送),除了活性成分外,制品通常是含有一种或多种药理学上非活性和生理学上可接受的赋形剂或载体的药剂。可以在例如Paolo Colombo,Daniela Traini and Francesca Buttini"Inhalation Drug Delivery-Techniques and Products"的书(由

Wiley-Blackwell 2013发行)和其中引用的文献中找到各种合适的制品和对应的吸入药物递送技术的综述。2019年,Moon等人发表了关于经口吸入型产品递送技术的最新评论(Moon等人,AAPS PharmSciTech(2019)20:117第1-17页)。

现有技术

[0022] 专利申请WO 14/012934-A1中公开了各种5-氨基-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸以及其在心血管和心肺疾病(如例如PAH)中的药物用途。

[0023] 内科药理学研究出乎意料地揭示,与也公开在WO 2014/012934中的相似5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸相比,WO 2014/012934的实施例23,即式(I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸具有改进的药理学性质,如例如作用持续时间更长。因此式(I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸适用于治疗心肺疾病。

[0024] 并未公开包含(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)]联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸与乳糖载体的干粉制剂的基于特定载体的吸入性药剂用于治疗心肺疾病(例如肺动脉高压(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高压(CTEPH)以及与慢性肺病相关的肺高压(PH)(第3类PH),例如慢性阻塞性肺病中的肺高压(PH-COPD)和伴有特发性间质性肺炎的肺高压(PH-IIP))。

[0025] 为了提供用于治疗心肺疾病的新颖、合适的吸入性剂型,需要包含(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)]联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸作为活性成分的吸入性剂型。由于干粉吸入性剂型的适用性、便利性以及患者顺应性和依从性,因此选择了优选的制剂选项干粉吸入剂型。干粉吸入剂型要求活性成分式(I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)]联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸需要以单一的、明确的结晶形式提供。

[0026] 然而,如WO 14/012934-A1的实施例23中所公开,式(I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)]联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸只能以非晶形形式获得,其不适合用于通过干粉吸入器施用的吸入性剂型。

[0027] 因此,需要提供一种新颖、合适的基于干粉的吸入性剂型,供用于治疗心肺疾病,特别是用于治疗肺动脉高压(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高压(CTEPH)以及与慢性肺病相关的肺高压(PH)(第3类PH),例如慢性阻塞性肺病中的肺高压(PH-COPD)和伴有特发性间质性肺炎的肺高压(PH-IIP)。

[0028] 供肺递送的制剂

[0029] 就吸入型疗法来说,通常有三种药品制剂选项可用,并且可根据所需剂量、患者群体和相关性质、活性成分稳定性来进行选择。如果活性成分的溶解度和稳定性允许的话,一种形式的制剂是雾化溶液。雾化药物的缺点通常是递送效率不佳(生成吸入型液滴<5μm的比例低)、每次治疗的施用时间长、缺乏用于按需治疗的便携式装置选项(并且需要电源)。

[0030] 第二个选项是加压计量剂量吸入器(pMDI),它提供更高的携带性、不需要电源并且有递送低剂量的可能性(而更高剂量通常不可行)。缺点包括使用有机溶剂(推进剂)、需

要特殊的制造技术,而且非常重要的是,需要协调呼吸动作与设备启动。这通常会导致药物递送(和治疗)不足并且患者顺应性低。

[0031] 干粉吸入器(DPI)具有重要的优势,例如小型便携设计、可在广泛的剂量范围内递送药物、不受药物溶解度影响以及不用协调呼吸动作与设备启动(被动设备)。因此,就许多施用和治疗选项来说,DPI是首选技术。

[0032] 干粉吸入器(DPI)经常用于治疗肺病如哮喘和肺感染,它由装置中的粉末制剂组成,所述粉末制剂可以被吸入到下呼吸道。使吸入成为一种有吸引力的药物递送模式的关键特征是:通过将药物直接靶向到作用部位来优化药物递送、减少全身性副作用、开始快速作用、提高患者接受度、由于这个药物施用途径的非侵入性所产生的依从性和顺应性。吸入用干粉产品的递送效率取决于药物制剂、吸入器装置和吸入技术。

[0033] 当使用肺递送用的药物制剂时,一般目标是递送的药物量相对于一个单位剂量的标称含量要尽可能地高。相比之下,肺中非活性成分的沉积应尽可能降至最低量并被证明是合理的。可吸入制剂有不同的通用配制策略,所有这些策略都遵循优化和增加药物颗粒<5μm的活性成分细粒沉积的策略,同时使非活性成分的暴露降至最低。

[0034] 就DPI来说,要实现这个目标,最简单的方法是在没有任何载体的情况下单独递送呈微粉化形式的活性成分,但由于药物的性质以及更重要的是目标人类剂量通常为极低量,这个策略受到限制。然而,就DPI制剂来说,这种方法的实际重要性很低。

[0035] 另一个策略是将微粉化药物颗粒或溶解的药物配制成工程化颗粒,其中药物与非活性成分一起配制并产生成型颗粒(shaped particle),这些颗粒可能是包衣药物微粒或多孔颗粒,或具有或多或少均质或窄粒度分布在5μm或以下以增加被递送到肺部深处和气道的药物量的基质颗粒。这些制剂的一个缺点是载体和药物结合在一起,并且将一起被递送到作用部位。Healy等人发表了基于非载体的干粉吸入制剂(设计颗粒)的综合概述(Advanced Drug Delivery reviews 75(2014)第32-52页。

[0036] 有许多已发表的研究调查了变量对粘合性药物载体混合物的影响,但基本了解仍然有限。由于有许多同时发生的潜在影响,并且可能具有竞争或协同或拮抗的可能,因此整体上仍然难以预测给定混合物的气溶胶性能,不只是由于活性成分化合物颗粒本身的比表面积和物理性质。

[0037] 已耗费多年研究和开发来调查涉及配制并分散基于载体的吸入用混合物。[de Boer等人,在以下中:A critical view on lactose-based drug formulation and device studies for dry powder inhalation:Which are relevant and what interactions to expect?Advanced Drug Delivery Reviews 64(2012)257-274,Grasmejier等人:Recent Advances in the Fundamental Understanding of Adhesive Mixtures for Inhalation;Current Pharmaceutical Design 21(2015),5900-5914]。

[0038] 然而,由于不同的因素和成分彼此影响,另外还高度依赖于原料药性质,目前还没有明确的指导方针或指南,也没有关于新颖原料药如何设计新颖的基于载体的吸入用混合物的推论。因此,药品开发领域的技术人员在面临开发新颖的基于载体的吸入用混合物的任务时,必须针对每种新活性成分遵循从头设计和开发方法。

[0039] 大体上最常见的策略是将活性成分与非活性载体化合物配制成干粉掺合物,其中微粉化药物颗粒粘附在非活性载体上,所述非活性载体在大多数情况下是乳糖或其他糖类

相关化合物,例如糖醇如甘露糖醇。在此,药物递送的基本机制是微粉化药物颗粒暂时粘附在非活性较大载体材料颗粒上,随后受干粉吸入器内产生的气流能量所影响,活性微粉化药物颗粒从载体上解聚或释放以便施用制剂。大多数载体材料不希望被吸入,并且由于其尺寸,会沉积在上呼吸道,主要是口部和咽喉。在吸入期间,必须克服粘附力以便从载体释放药物颗粒,因此以允许大部分剂量变得可供药物递送到肺部深处内而达到最佳释放的方式来控制药物对载体的粘附力是关键因素。

[0040] 大多数DPI产品都是基于载体的制剂,其由经精细研磨的药物颗粒和通常为乳糖单水合物的粗载体颗粒混合而成。然而,也会使用替代载体如葡萄糖、海藻糖、山梨糖醇和(冷冻干燥的)甘露糖醇,因为乳糖在用作为DPI的赋形剂时有一些缺点。例如,乳糖与具有伯胺基的药物不相容,因此不太适合用于包含敏感性药物的下一代可吸入产品。

[0041] 乳糖可以两种基本异构形式(即α-乳糖和β-乳糖)中的任一者获得,或以非晶形形式获得。α-乳糖以单水合物和无水形式存在,前者在热力学上是最为稳定的形式。α-乳糖单水合物是通过在低于93.5℃的过饱和溶液中结晶而制备的。它的结晶形状可以是棱柱体、金字塔体或战斧形,并且取决于沉淀和结晶方法。无水乳糖(通常含有70-80%无水β-乳糖和20-30%无水α-乳糖)最常在93.5℃以上通过滚筒干燥乳糖溶液而生产。接下来,将两种所得产物研磨以缩小粒度并过筛以选择适当的粒度分布。喷雾干燥的乳糖是通过将α-乳糖单水合物晶体在乳糖溶液的水中的悬浮液喷雾干燥而获得的。温度高于93.5℃时,会形成无水β-乳糖,而低于这个温度时,会得到α-乳糖单水合物。G.Pilcer,N.Wauthoz,K.Amighi,Lactose characteristics and the generation of the aerosol,Adv Drug Del Reviews 64(2012)233-256]

[0042] 有多种具有不同物理-化学性质的乳糖可用于DPI配制。乳糖可以通过研磨、过筛、喷雾干燥或造粒进行加工,从而产生不同的性质。乳糖赋形剂是可商购的,因此有各种等级,它们具有与粗糙度、形状、粒度、粒度分布、水含量、可压缩性或表面积相关的不同物理-化学特征。粉末的气溶胶性能很大程度上取决于乳糖特征,例如粒度分布和形状与表面性质。G.Pilcer,N.Wauthoz,K.Amighi,Lactose characteristics and the generation of the aerosol,Adv Drug Del Reviews 64(2012)233-256]

[0043] 也报道了乳糖颗粒工程化的其他工艺(例如种晶、结晶、涂布、成型、冷凝和沉淀),并且还产生了具有不同物理-化学性质的材料,这些性质与例如粒度、尺寸分布、细粒含量、形状、表面粗糙度、流动性质、静电荷、固态变化有关。X.Kou,L.Wah Chan,H.Steckel,P.W.S.Heng,Physico-chemical aspects of lactose for inhalation,Adv.Drug Del.Reviews 64(2012)220-232]

[0044] 在基于载体的吸入用混合物中,掺合物在储存和处理期间的稳定性与吸入期间的分散性之间必须建立适当平衡。已经证明,与这些过程相关的变量可能以不同的方式彼此影响,并且通过改变一个变量,其他一些变量的影响可能会被逆转。这可能解释了为什么在文献中关于单一变量的影响会得到相反的结论。[De Boer,2012]

[0045] 一致认为,一系列后续工艺(其包含起始材料的选择或生产、混合工艺、吸入器装置中的分散和解聚,以及最终气溶胶表征)对于确定合适的制剂是必要的,从而有益于体外沉积结果。

[0046] 所需的载体性质取决于待加工药物的类型、混合物中的药物浓度(%w/w)以及经

确定的药物剂量和剂量系统所计量(或计量成)的粉末量,以及打算使用的混合工艺的类型。[De Boer,2012]

[0047] 已经与颗粒制备技术一起来讨论药物和载体之间的界面力,所述颗粒制备技术为例如研磨、冷凝、喷雾干燥、沉积和结晶,这些技术会产生可能直接影响药物与载体相互作用的不同颗粒表面性质。[De Boer,2012]

[0048] 主要挑战是要找到以下三种类型力之间的最佳平衡:控制干粉吸入器(DPI)系统的颗粒沉积:混合物中的微粒间力;吸入器装置在吸入期间所产生的分散力和气溶胶颗粒在呼吸气道中的沉积力。[De Boer,2012]

[0049] DPI的设计控制设备中的粉末解聚。所有市售的被动式DPI都具有三个共同的设计特点:吸嘴、进气口和粉末储存/分配系统。也可能存在其他特征(例如网格和旋转胶囊)以促进粉末解聚。[De Boer,2012]

[0050] 其他因素可能是旋转胶囊的作用和气流速率在设备中的影响。De Boer等人描述了对基于载体的吸入用制剂的制备和分散工艺有影响并额外彼此相互作用的变量:药物性质、载体表面性质、载体本体性质、载体表面有效负载、混合工艺、混合物性质、吸入过程、储存和调节,仅举几例。[de Boer等人,在以下中:Dry powder inhalation:past,present and future.Expert opinion on drug delivery,2017第14卷,第4期,499-512]

[0051] 因此,在实际上,a)吸入用混合物的药物配制与(b)合适载体的选择,以及(c)吸入装置的选择或设计仍然是一种需要经验的过程,其需要开发和采用和工程化某些参数以获得有足够稳定性和优异气溶胶性能性质的对应原料药的定制制剂。

[0052] 这些构成了无法从现有技术参考文献中预测到的重要特性。

[0053] 因此,需要提供一种新颖的、合适的基于干粉的吸入性剂型,用于治疗心肺疾病,特别是用于治疗肺动脉高压(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高压(CTEPH)以及与慢性肺病相关的肺高压(PH)(第3类PH),例如慢性阻塞性肺病中的肺高压(PH-COPD)和伴有特发性间质性肺炎的肺高压(PH-IIP)。

[0054] 制造DPI基于载体的粉末通常包括多个步骤,例如在合适的尺寸范围内生产药物和载体颗粒(通过过筛、研磨、喷雾干燥等)、在适当的掺合条件以及经优化的参数下将各种组分混合,如果有必要,还可以改变颗粒的表面性质以增强气溶胶性能。

[0055] 需要最佳混合以获得药物均匀性,特别是针对含有微粉化药物颗粒的低药物剂量制剂。在粘性粉末的情况下(例如在吸入用干粉制剂中所遇到的那些),存在与粗乳糖颗粒组合的小型药物颗粒会促进稳定有序混合的形成,其中药物颗粒粘附到充当载体的较大颗粒上。然而,在添加特定比例的细粒赋形剂的三元混合物的情况下,会遇到一些混合问题,例如团聚(由于这些小颗粒的内聚性质而形成细粒和/或药物簇)和分离(或分层(demixing),特征在于由于粒度、形状和密度差异或颗粒的团聚所引起的粗颗粒与细粒分离)。事实上,细粒赋形剂通过促进药物颗粒粘附到能量低于载体活性部位的部位来改善气溶胶性能。这会降低活性成分粘附,因此影响药物均匀性和再分散。对于最佳的干粉制剂来说,必须在足以保证药物均匀性的粘附力与在处理上稳定但弱到足以在吸入期间从载体快速释放药物颗粒的掺合物之间取得平衡。因此,混合期间发生的分离可能是开发吸入用干粉制剂的另一个障碍。

[0056] 最佳混合取决于容器填充的优化(以确保粉末床充分膨胀)、混合器和粉末特性,

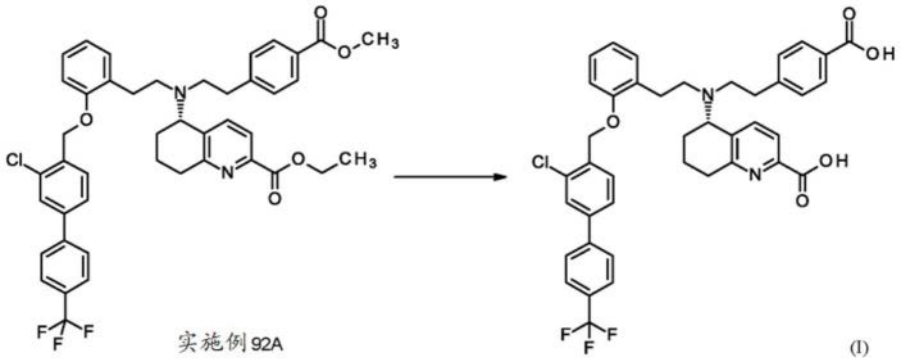
以及混合条件。混合器是基于以下一种或多种机制:1)对流,其为成群相邻颗粒在掺合物中从一处移动到另一处;2)剪切,其为成分在粉末床内通过形成滑移面或剪切应变的构型变化;以及3)扩散,其为单独颗粒因为其彼此相对随机运动而重新分布。混合器可分为分离式混合器和非分离式混合器。混合器的选择取决于粉末掺合物分离和形成团聚物的趋势。就含有促进颗粒分离的粉末掺合物的混合物来说,必须使用非分离式混合器,而任何类型的混合器都可用于不发生分层的混合物。在由于较小组分的内聚性而团聚的情况下,在混合期间需要额外的应力(剪切)来破坏团聚物。因此,高剪切混合器经常用于制备粘性原料药的预混物。需要最佳混合时间以获得均质的掺合物。增加混合时间可改善非分离式混合器的均质性,但不一定会改善分层混合物的均质性。使用预掺合步骤(即药物与少量赋形剂掺合)可以减少总混合时间。相反,多组分混合物的实现可以增加混合时间以达到均质性。G.Pilcer,N.Wauthoz,K.Amighi,Lactose characteristics and the generation of the aerosol,Adv Drug Del Reviews 64(2012)233-256]。

具体实施方式

[0057] 式(I)的酸的固体形式

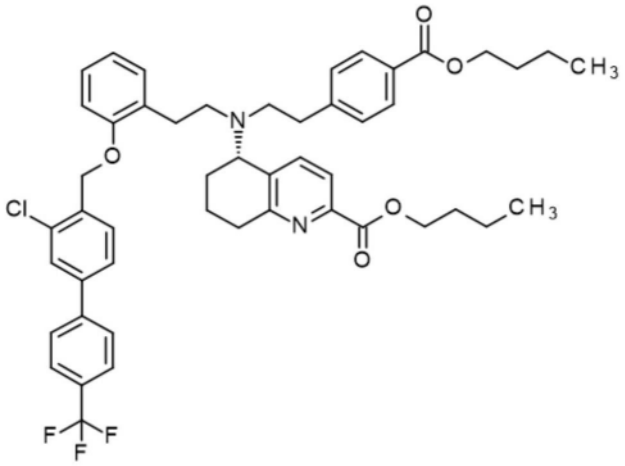
[0058] 式(I)化合物的制备公开于WO 2014/012934(参见实施例23),始于前体5-([2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]{2-[4-(甲氧基羰基)-苯基]乙基-}氨基)-5,6,7,8-四氢-喹啉-2-甲酸乙酯(WO 2014/012934中的实施例92A)并概述于以下方案1中。

[0059] 方案1:合成式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,如WO 2014/012934中公开

[0060] 

[0061] 然而,通过这个方法仅获得呈非晶形形式的式I化合物(参见比较例11)。

[0062] 式(I)化合物的另一种前体(即5-([2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]{2-[4-(甲氧基羰基)苯基]乙基}氨基)-5,6,7,8-四氢喹啉甲酸乙酯(化合物XII))的改进合成

[0063] 

(XII)

[0064] 已公开于WO2021/233783中。然而,在这份参考文献中并未公开式(I)化合物本身的合成方法。

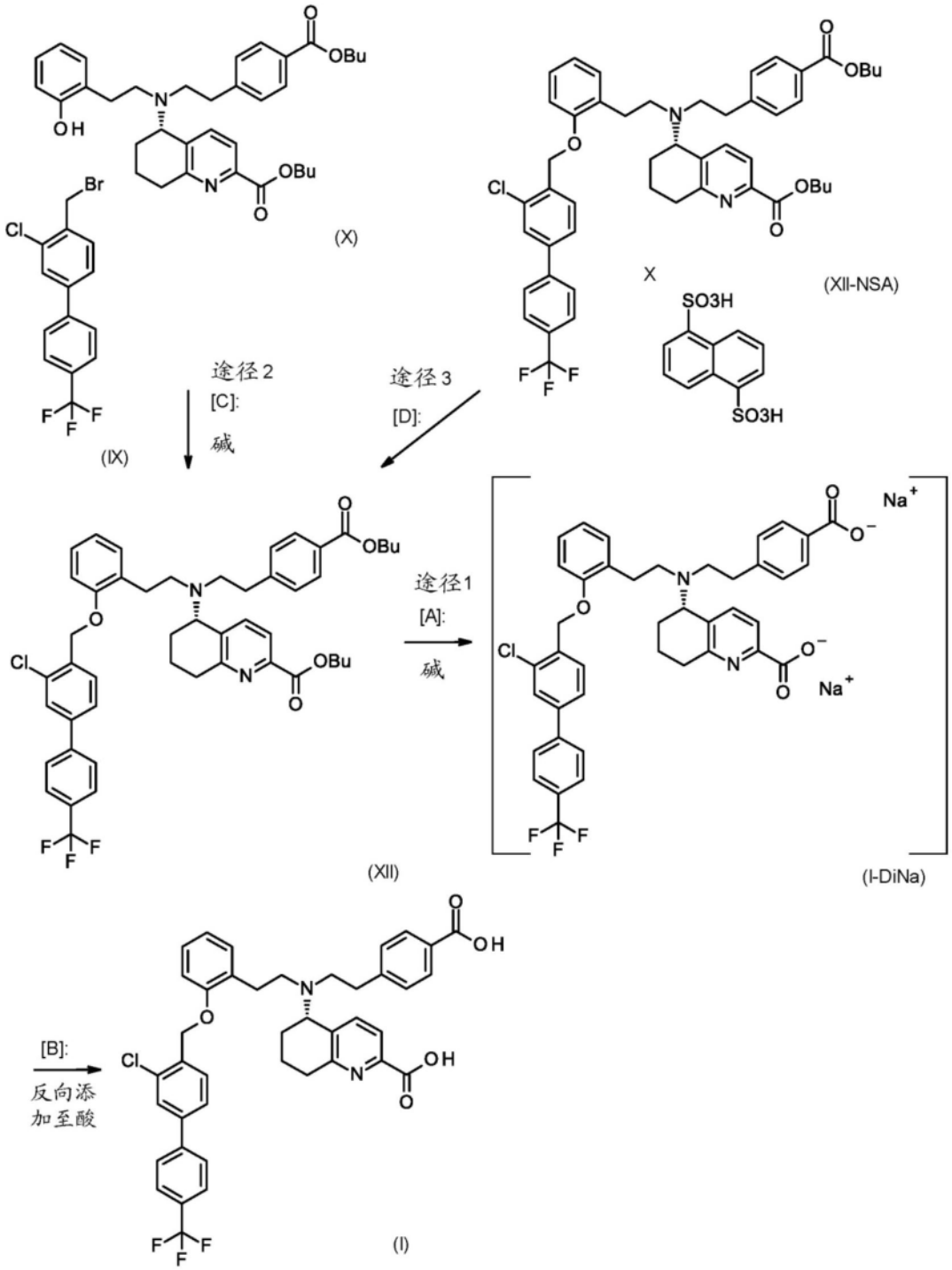
[0065] 如方案2中所示的一种新颖、未公开过的方法的特征在于,中间体的纯化步骤是经由成盐/萃取/澄清过滤来进行,从而避免了色谱纯化步骤。此外,根据本发明的方法提供了高度灵活性,因为式(I)的目标化合物可以通过三种途径来制得:

[0066] A)途径1始于式(XII)的酯(方法步骤[A]和[B]=途径1),

[0067] B)途径2始于缩短方法(telescope process)的式(X)中间体(WO2021/233783)(方法步骤[C]、[A]和[B]=途径2),

[0068] C)途径3始于式(XII-NSA)的固体NSA盐(方法步骤[D]、[A]和[B]=途径3)。

[0069] 方案2:制得式(I)化合物的新颖的、未公开过的方法,包括方法途径1、2和3

[0070] 

[0071] 包含步骤[A]和[B]的核心方法(途径1)用于所有三个替代途径中。根据本发明的这个方法与WO 2014/012934中公开的现有技术方法相比具有若干优点。如果根据现有技术程序制得,则无法避免地包括在式I产物中的几种副产物可以避免或至少更容易分离。本发明人将在步骤[B]中由式(I-diNa)的二钠盐形成式(I)的目标酸认定为主要问题。以反向的方式运行此步骤来控制反应混合物的pH(小心监测以将pH值保持在3.8-4.2之间的范围内)至关重要。因此,方法步骤[B]需要将式(I-DiNa)的二钠盐中间体反向添加至等摩尔量的酸等效物。通过这样的反向添加,与现有技术方法相比,式(I)化合物的微溶性单钠盐形成明显减少(参见比较例11)。然而,主要形成的少量单钠盐以及其他微溶性杂质可以通过将二

钠盐溶液澄清过滤进行分离。另外,通过反向添加避免了其他副产物(如盐酸盐)。

[0072] 或者,式(I)化合物可以在不分离中间体的情况下从化合物(X)和(XI)开始通过偶联、随后的二酯裂解与酸性释放来制备(例如在方法步骤[C]、[A]和[B]中所示,参见方案2(途径2))。

[0073] 在替代途径3)中,式(I)化合物可以经由其NSA盐制备,特征在于在第一个步骤[D]中,必须从式(XII-NSA)的NSA盐释放出二丁酯,其然后经由两个步骤(二丁酯的碱性皂化(步骤[A])并且此后反向添加至酸以释放出式(I)的游离酸(步骤[B]))进一步转化为游离酸。

[0074] 为了开发一种包含式(I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸(呈固体形式)的药物形式,特别是呈干粉吸入形式,对于以某种明确结晶形式可再现地制造和分离式(I)化合物有很高的需求。

[0075] 需要许多努力才能将式I化合物最终结晶成明确的固体形式。

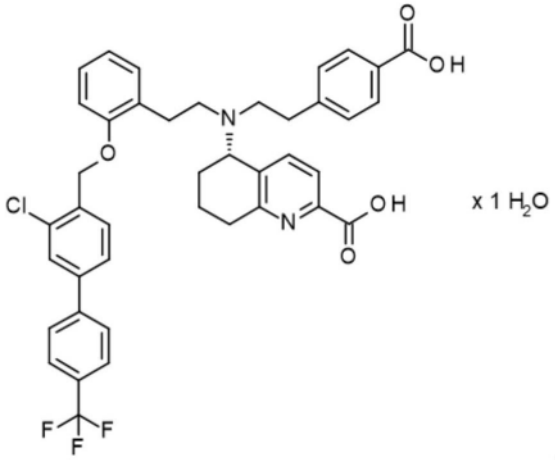
[0076] 令人惊讶的是,式I化合物以数种假多晶型形式获得,没有发现无水结晶形式。

[0077] 然而,在数种已鉴定出的假多晶型形式中,必须在数个阶段期间鉴定出最合适且最稳定的形式。

[0078] 已发现,二水合物在干燥过程期间发生非晶化(amorphization)(参见图10a)。半水合物的晶格表现出无序(参见图5),这可以帮助机械加工(如例如配制工艺)时的相变和/或非晶化。由于搅拌程序非常长,倍半水合物的结晶对于放大规模来说并不可行。

[0079] 发现这两种单水合物都克服了不同假多晶型形式的这些非所需性质。

[0080] 通过某些研究,发现式(I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸以特定的多晶型形式存在,尤其是呈单水合物形式I(I-M-I)和单水合物形式II(I-M-II):

[0081] 

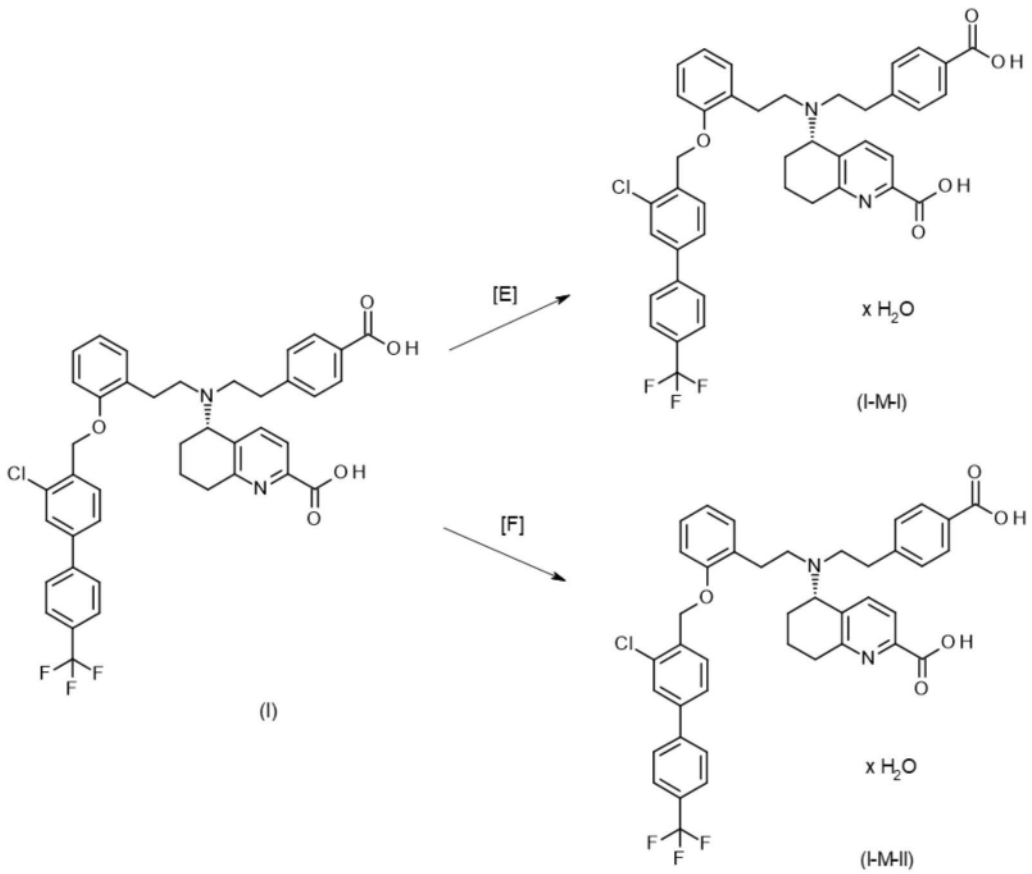
(I-M-I)、(I-M-II)。

[0082] 然而最终证明这些单水合物形式中只有一种在微粉化期间是稳定的,并且因此是最适合例如用于生产吸入性药剂(特别是作为基于干粉的吸入性药剂)的形式。令人惊讶的是,在微粉化期间,发现单水合物II随着微粉化条件而显示出部分非晶化(参见实施例8b,图42),或除此之外还转变为单水合物I(参见实施例8a,图43)。此外,观察到单水合物II也在储存期间显示转变为单水合物I(参见实施例7b,图40和图41)。因此,就使用于医药领域

中来说,假多晶型形式单水合物I适合并优于式I化合物的其他固体形式,尤其适用于药物组合物,特别是干粉吸入性剂型。

[0083] 假多晶型形式(特别是水合物,优选呈形式I和II的单水合物)可以通过将式(I)的酸结晶来制得(参见方案3):

[0084] 方案3:选择性结晶式(I)的酸以产生其单水合物形式

[0085] 

[0086] 根据使用的溶剂,形成单水合物(I-M-I)或单水合物(I-M-II)。令人惊讶的是,由甲醇、丙酮和水,或甲醇和水的混合物进行结晶会选择性地产生化合物(I-M-I),而由丙酮水进行结晶会选择性地产生形式II的单水合物(I-M-II)。

[0087] 此外,令人惊讶地发现,单水合物(I-M-I)确保不希望转化为另一种形式的式(I)化合物并防止如上所述的相关性质变化。因此,单水合物I形式是式(I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸最优选的结晶形式。

[0088] (5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸的单水合物I可以通过X射线粉末衍射法根据各自的衍射图进行表征,这些衍射图是在25℃下并利用Cu-Kα1辐射(1.5406 Å)所记录的。根据本发明的单水合物I展现出至少3个,通常至少5个,特别是至少7个,更特别是至少10个,并且尤其是所有如下值引用的所有反射:

[0089] 式(I)化合物的假多晶型形式,式(I-M-I)的单水合物I可以通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,其展现至少以下反射:12.8和29.2,或至少6.9、7.2和7.3,或至少6.9、7.2、7.3、12.8和29.2,或至少6.9、7.2、7.3、12.8、29.2、23.0和

15.2,或至少以下反射:6.9、7.2、7.3、12.8、29.2、23.0、15.2、25.8和25.1,或至少以下反射:6.9、7.2、7.3、12.8、29.2、23.0、15.2、25.8、25.1、17.7和23.7,或至少以下反射:6.9、7.2、7.3、12.8、29.2、23.0、15.2、25.8、25.1、17.7、23.7、9.9、5.7和11.5,各自以2θ值±0.2°引用。

[0090] 在另一个实施方案中,式(I)化合物的假多晶型形式,式(I-M-I)的单水合物I可以通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,其展现至少以下反射:12.8、16.0和25.8,或至少6.9、7.2和7.3、或至少6.9、7.2、7.3、12.8、16.0和25.8,或至少6.9、7.2、7.3、12.8、16.0、25.8、15.2和25.1,或至少6.9、7.2、7.3、12.8、16.0、25.8、15.2、25.1和23.7,或至少6.9、7.2、7.3、12.8、16.0、25.8、15.2、25.1、23.7、9.9、5.7和11.5,各自以2θ值±0.2°引用。

[0091] 在另一个实施方案中,式(I)化合物的假多晶型形式,式(I-M-I)的单水合物I可以通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,其展现至少以下反射:12.8、20.5和25.8,或至少6.9、7.2和7.3,或至少6.9、7.2、7.3、12.8、20.5、25.8、15.2和25.1,或至少6.9、7.2、7.3、12.8、20.5、25.8、15.2、25.1和23.7,或至少6.9、7.2、7.3、12.8、20.5、25.8、15.2、25.1、23.7、9.9、5.7和11.5,各自以2θ值±0.2°引用。

[0092] 式(I)化合物的假多晶型形式,式(I-M-I)的单水合物I可另外通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,其展现至少以下反射:5.7、6.9、7.2、7.3、9.9、10.4、10.6、11.1、11.5、12.0、12.3、12.4、12.8、13.7、14.1、14.3、15.2、15.6、16.0、16.9、17.2、17.5、17.7、18.0、18.4、18.8、19.2、19.9、20.2、20.5、20.7、21.3、21.9、22.2、22.5、23.0、23.4、23.7、24.1、25.1、25.8、26.0、26.4、28.9、29.2、29.4、30.6、31.1、32.2、35.3,各自以2θ值±0.2°引用。

[0093] 式(I)化合物的假多晶型形式,式(I-M-I)的单水合物I可另外通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,其未展现至少以下反射:3.1和9.3,各自以2θ值±0.2°引用。

[0094] 式(I)化合物的假多晶型形式,式(I-M-I)的单水合物I可另外通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,其未展现至少以下反射:6.1和8.5,各自以2θ值±0.2°引用。

[0095] 式(I)化合物的假多晶型形式,式(I-M-I)的单水合物I可另外通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,其未展现至少以下反射:8.5和/或30,各自以2θ值±0.2°引用。

[0096] 式(I)化合物的假多晶型形式,式(I-M-I)的单水合物I可另外通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,其未展现至少以下反射:7.9和/或31.6,各自以2θ值±0.2°引用。

[0097] 式(I)化合物的假多晶型形式,式(I-M-I)的单水合物I可另外通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,其未展现至少以下反射:7.6,各自以2θ值±0.2°引用。

[0098] 式(I)化合物的假多晶型形式,式(I-M-I)的单水合物I可另外通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,其未展现至少以下反射:14.8,各自以2θ值±0.2°引用。

[0099] 式(I)化合物的假多晶型形式,式(I-M-I)的单水合物I可另外通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,其展现至少以下反射:12.8和29.2,或至少6.9、7.2和7.3,或至少6.9、7.2、7.3、12.8和29.2,或至少6.9、7.2、7.3、12.8、29.2、23.0和15.2,或至少以下反射:6.9、7.2、7.3、12.8、29.2、23.0、15.2、25.8和25.1,或至少以下反射:6.9、7.2、7.3、12.8、29.2、23.0、15.2、25.8、25.1、17.7和23.7,或至少以下反射:6.9、7.2、7.3、12.8、29.2、23.0、15.2、25.8、25.1、17.7、23.7、9.9、5.7和11.5,并且同时未展现至少以下反射:6.1和8.5,各自以2θ值±0.2°引用。

[0100] 式(I)化合物的假多晶型形式,式(I-M-I)的单水合物I可另外通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,其展现至少以下反射:12.8、16.0和25.8,或至少6.9、7.2和7.3,或至少6.9、7.2、7.3、12.8、16.0和25.8,或至少6.9、7.2、7.3、12.8、16.0、25.8、15.2和25.1,或至少6.9、7.2、7.3、12.8、16.0、25.8、15.2、25.1和23.7,或至少6.9、7.2、7.3、12.8、16.0、25.8、15.2、25.1、23.7、9.9、5.7和11.5,并且同时未展现至少以下反射:6.1和8.5,各自以2θ值±0.2°引用。

[0101] 式(I)化合物的假多晶型形式,式(I-M-I)的单水合物I可另外通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,其展现至少以下反射:12.8、20.5和25.8,或至少6.9、7.2和7.3,或至少6.9、7.2、7.3、12.8、20.5、25.8、15.2和25.1,或至少6.9、7.2、7.3、12.8、20.5、25.8、15.2、25.1和23.7,或至少6.9、7.2、7.3、12.8、20.5、25.8、15.2、25.1、23.7、9.9、5.7和11.5,并且同时未展现至少以下反射:6.1和8.5,各自以2θ值±0.2°引用。

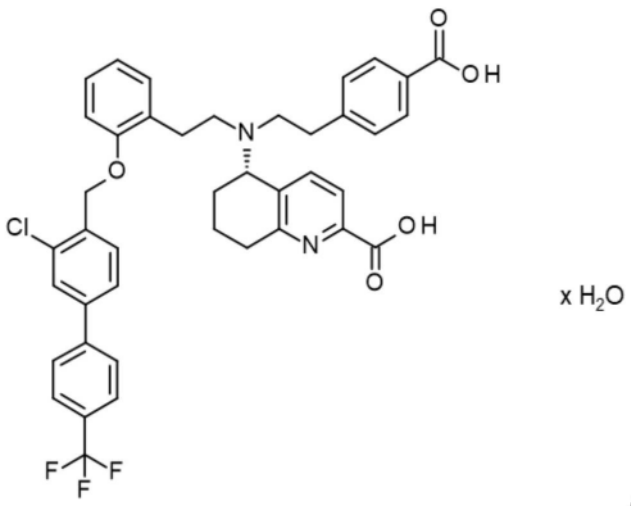
[0102] 呈多晶型形式单水合物I的式(I)化合物也可以明确通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,如图6中所示。

[0103] 式(I)化合物的假多晶型形式,式(I-M-I)的单水合物I可通过拉曼光谱学进行表征,其至少在以下带处展现最大值:3073、2950、2937、1685、1616、1527、1293、1278、1259cm-1。

[0104] 式(I)化合物的假多晶型形式单水合物I可通过IR光谱学进行表征,其至少在以下带处展现最大值:2933、1595、1375、1327、1272、1242、1167、1110cm-1。

[0105] 实施方案7(式(I-M-I)的单水合物I))

[0106] 本发明提供了式(I)化合物,其呈式(I-M-I)的结晶形式单水合物I

[0107] 

x H_2O

(I-M-I),

[0108] 特征在于所述化合物的x射线衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)展现至少以下反射:12.8和29.2,以2θ值±0.2°引用。

[0109] 本发明还提供了根据实施方案7呈式(I-M-I)单水合物I的结晶形式的式(I)化合物,其特征在于所述化合物的x射线衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)展现至少以下反射:6.9、7.2和7.3,以2θ值±0.2°引用。

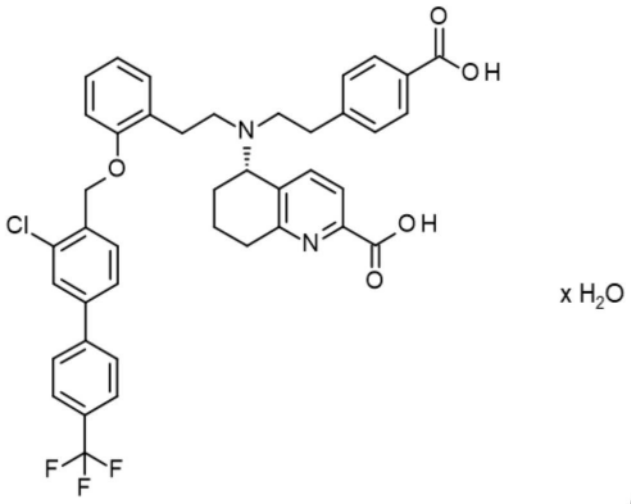
[0110] 本发明还提供了根据实施方案7呈式(I-M-I)单水合物I的结晶形式的式(I)化合物,其特征在于所述化合物的x射线衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)展现至少以下反射:6.9、7.2、7.3、12.8、29.2、23.0和15.2,以2θ值±0.2°引用。

[0111] 本发明还提供了根据实施方案7以及以上一种或多种更多实施方案呈式(I-M-I)单水合物I的结晶形式的式(I)化合物,

[0112] 其特征在于所述化合物的x射线衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)展现至少以下反射:6.9、7.2、7.3、12.8、29.2、23.0、15.2、25.8、25.1、17.7和23.7,以2θ值±0.2°引用。

[0113] 本发明还提供了根据实施方案7以及以上一种或多种更多实施方案呈式(I-M-I)单水合物I的结晶形式的式(I)化合物,其特征在于所述化合物的x射线衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)展现至少以下反射:6.9、7.2和7.3、12.8、29.2、23.0、15.2、25.8、25.1、17.7、23.7、9.9、5.7和11.5,以2θ值±0.2°引用。

[0114] 或者,本发明提供了式(I)化合物,其呈式(I-M-I)的结晶形式单水合物I

[0115] 

x H_2O

(I-M-I),

[0116] 特征在于所述化合物的x射线衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)展现至少以下反射:12.8、16.0和25.8,以2θ值±0.2°引用。

[0117] 本发明还提供了根据实施方案7呈式(I-M-I)单水合物I的结晶形式的式(I)化合物,其特征在于所述化合物的x射线衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)展现至少以下反射:12.8、16.0、25.8、6.9、7.2和7.3,以2θ值±0.2°引用。

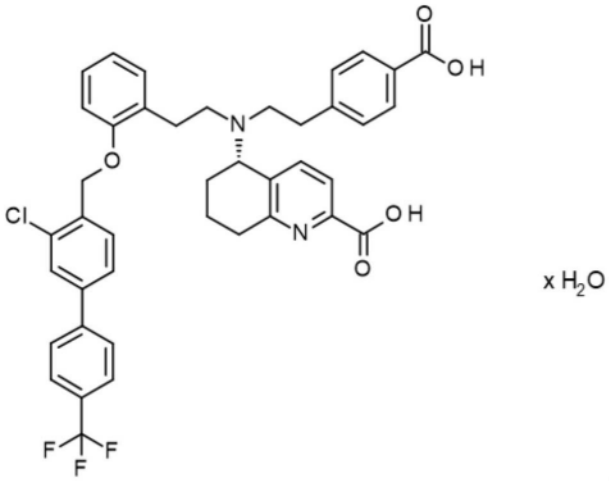
[0118] 本发明还提供了根据实施方案7呈式(I-M-I)单水合物I的结晶形式的式(I)化合物,其特征在于所述化合物的x射线衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)展现至少以下反射:6.9、7.2和7.3、12.8、29.2、23.0和15.2,以2θ值±0.2°引用。

[0119] 本发明还提供了根据实施方案7以及以上一种或多种更多实施方案呈式(I-M-I)单水合物I的结晶形式的式(I)化合物,其特征在于所述化合物的x射线衍射图(在25℃下并

利用Cu-Kα1作为辐射源)展现至少以下反射:6.9、7.2、7.3、12.8、29.2、23.0、15.2、25.8和25.1,以2θ值±0.2°引用。

[0120] 本发明还提供了根据实施方案7以及以上一种或多种更多实施方案呈式(I-M-I)单水合物I的结晶形式的式(I)化合物,其特征在于所述化合物的x射线衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)展现至少以下反射:6.9、7.2和7.3、12.8、29.2、23.0、15.2、25.8、25.1、17.7、23.7、9.9、5.7和11.5,以2θ值±0.2°引用。

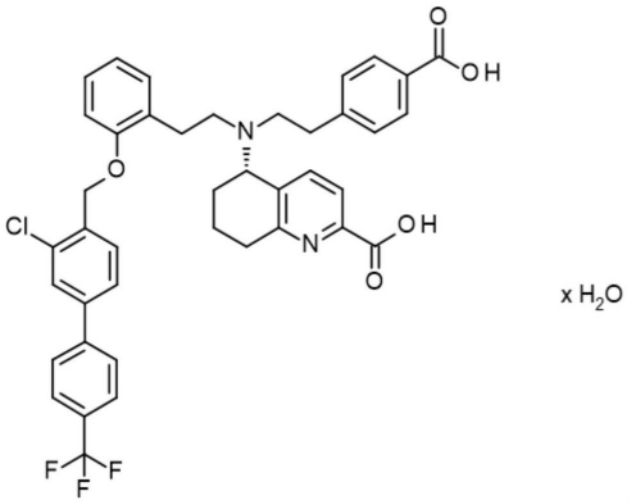
[0121] 本发明还提供了式(I)化合物,其呈式(I-M-I)的结晶形式单水合物I

[0122] 

(I-M-I),

[0123] 特征在于所述化合物的IR光谱在以下带处展现最大值:2933、1595、1375、1327、1272、1242、1167、1110cm-1cm-1。

[0124] 本发明还提供了式(I)化合物,其呈式(I-M-I)的结晶形式单水合物I

[0125] 

(I-M-I),

[0126] 特征在于所述化合物的拉曼光谱在以下带处展现最大值:3073、2950、2937、1685、1616、1527、1293、1278、1259cm-1。

[0127] 式(I)化合物的其他不同形式可以通过X射线粉末衍射、差示扫描量热法(DSC)、IR光谱学和拉曼光谱学来区分。

[0128] 除了单水合物I之外,还鉴定了更多假多晶型形式单水合物II、半水合物、1,25-水合物、倍半水合物以及二水合物(参见实施例6,图2-29),其进一步表征如下。

[0129] (5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸的假多晶型形式单水合物II、半水合物、1,25-水合物、倍半水合物以及二水合物可以通过X射线粉末衍射法根据各自的衍射图进行表征,这些衍射图是在25℃下并利用Cu-Kα1辐射(1.5406 Å)所记录的。假多晶型形式单水合物II、半水合物、1,25-水合物、倍半水合物以及二水合物展现出至少3个,通常至少5个,特别是至少7个,更特别是至少10个,并且尤其是所有如下值引用的所有反射:

[0130] 式(I)化合物的假多晶型形式单水合物II可明确通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,其展现至少以下反射:6.1和8.5,还有至少6.1、8.5、12.7、23.9和13.9,优选至少以下反射:6.1、8.5、12.7、23.9、13.9、23.0和12.2,更优选至少以下反射:6.1、8.5、12.7、23.9、13.9、23.0、12.2、10.8和15.3,最优选至少以下反射:6.1、8.5、12.7、23.9、13.9、23.0、12.2、10.8、15.3、17.3、21.7和22,还有最优选至少以下反射:6.1、8.5、12.7、23.9、13.9、23.0、12.2、10.8、15.3、17.3、21.7和22,各自以2θ值±0.2°引用。

[0131] 式(I)化合物的假多晶型形式,式(I-M-II)的单水合物II可另外通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,其展现至少以下反射:5.7、6.1、7.1、8.5、9.9、10.2、10.8、11.4、11.6、11.8、12.0、12.2、12.7、13.0、13.9、14.2、15.2、15.3、15.7、16.4、17.3、17.7、17.9、18.3、18.5、18.8、19.2、19.8、20.2、20.8、21.1、21.7、22.0、22.4、22.8、23.1、23.4、23.9、24.2、24.4、25.1、25.5、25.7、26.2、26.4、26.8、27.2、27.5、28.9、30.0、30.1、30.6、32.2、32.4,各自以2θ值±0.2°引用。

[0132] 式(I)化合物的假多晶型形式,式(I-M-II)的单水合物II可另外通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,其未展现至少以下反射:3.1和9.3,各自以2θ值±0.2°引用。

[0133] 式(I)化合物的假多晶型形式,式(I-M-II)的单水合物II可另外通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,其未展现至少以下反射:6.9、7.2和7.3,各自以2θ值±0.2°引用。

[0134] 式(I)化合物的假多晶型形式,式(I-M-II)的单水合物II可另外通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,其未展现至少以下反射:29.2,各自以2θ值±0.2°引用。

[0135] 式(I)化合物的假多晶型形式,式(I-M-II)的单水合物II可另外通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,其未展现至少以下反射:7.9和/或31.6,各自以2θ值±0.2°引用。

[0136] 式(I)化合物的假多晶型形式,式(I-M-II)的单水合物II可另外通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,其未展现至少以下反射:7.6,各自以2θ值±0.2°引用。

[0137] 式(I)化合物的假多晶型形式,式(I-M-II)的单水合物II可另外通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,其未展现至少以下反射:14.8,各自以2θ值±0.2°引用。

[0138] 式(I)化合物的假多晶型形式,式(I-M-II)的单水合物II可另外通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,其展现至少以下反射:6.1和8.5,还有

至少6.1、8.5、12.8、23.0和15.2,优选至少以下反射:6.1、8.5、12.8、23.0、15.2、25.8和25.1,更优选至少以下反射:6.1、8.5、12.8、23.0、15.2、25.8、25.1、17.7和23.7,最优选至少以下反射:6.1、8.5、12.8、23.0、15.2、25.8、25.1、17.7、23.7、9.9、5.7和11.5,还有最优选至少以下反射:12.8、23.0、15.2、25.8、25.1、17.7、23.7、9.9、5.7、6.1、8.5和11.5,并且同时未展现至少以下反射:6.9、7.2和7.3,各自以2θ值±0.2°引用。

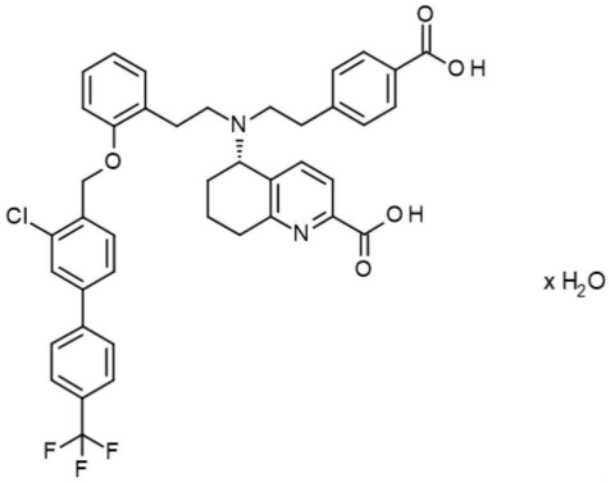
[0139] 式(I)化合物(呈假多晶型形式单水合物II)还可以明确通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,如图7中所示。

[0140] 式(I-M-II)化合物的假多晶型形式单水合物II可通过拉曼光谱学进行表征,其至少在以下带处展现最大值:3073、2950、2936、1685、1615、1526、1294、1279、1259cm-1。

[0141] 式(I)化合物的假多晶型形式单水合物I可通过IR光谱学进行表征,其至少在以下带处展现最大值:2934、1595、1375、1327、1272、1242、1167、1110cm-1。

[0142] 实施方案8(式(I-M-II)的单水合物II)

[0143] 本发明进一步提供了式(I)化合物,其呈式(I-M-II)的结晶形式单水合物II

[0144] 

x H_2O

(I-M-II),

[0145] 特征在于所述化合物的x射线衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)展现至少以下反射:6.1和8.1,优选6.1、8.1、12.7、23.9和13.9,优选至少以下反射:6.1、8.1、12.7、23.9、13.9、23.1和12.2,更优选至少以下反射:6.1、8.1、12.7、23.9、13.9、23.1、12.2、10.8和15.3,最优选至少以下反射:6.1、8.1、12.7、23.9、13.9、23.1、12.2、10.8、15.3、17.3、21.7和22.0,以2θ值±0.2°引用。

[0146] 呈假多晶型形式单水合物II的式(I)化合物也可以明确通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,如图7中所示。

[0147] 式(I)化合物的假多晶型形式,式(I-M-II)的单水合物II可另外通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,其未展现至少以下反射:3.1和9.3,各自以2θ值±0.2°引用。

[0148] 式(I)化合物的假多晶型形式,式(I-M-II)的单水合物II可另外通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,其未展现至少以下反射:6.9、7.2和7.3,各自以2θ值±0.2°引用。

[0149] 式(I)化合物的假多晶型形式,式(I-M-II)的单水合物II可另外通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,其未展现至少以下反射:29.2,各自以

2θ值±0.2°引用。

[0150] 式(I)化合物的假多晶型形式,式(I-M-II)的单水合物II可另外通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,其未展现至少以下反射:7.9和/或31.6,各自以2θ值±0.2°引用。

[0151] 式(I)化合物的假多晶型形式,式(I-M-II)的单水合物II可另外通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,其未展现至少以下反射:7.6,各自以2θ值±0.2°引用。

[0152] 式(I)化合物的假多晶型形式,式(I-M-II)的单水合物II可另外通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,其未展现至少以下反射:14.8,各自以2θ值±0.2°引用。

[0153] 实施方案9(式(I)化合物的半水合物)

[0154] 式(I)化合物的假多晶型形式,半水合物可明确通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,其展现以下反射:3.1、5.3、6.7、7.1、9.3、10.6、12.4、14.3、16.1、19.7、20.8、24.0、31.1,各自以2θ值±0.2°引用。

[0155] 式(I)化合物的假多晶型形式,半水合物可明确通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,其展现至少以下反射:3.1、5.3、6.7、7.1、9.3和31.1,各自以2θ值±0.2°引用。

[0156] 呈假多晶型形式半水合物的式(I)化合物还可明确通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,如图5中所示。

[0157] 式(I)化合物的假多晶型形式,半水合物可另外通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,其未展现至少以下反射:6.9、7.2和7.3,各自以2θ值±0.2°引用。

[0158] 式(I)化合物的假多晶型形式,半水合物可另外通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,其未展现至少以下反射:29.2,各自以2θ值±0.2°引用。

[0159] 式(I)化合物的假多晶型形式,半水合物可另外通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,其未展现至少以下反射:8.5和/或30.0,各自以2θ值±0.2°引用。

[0160] 式(I)化合物的假多晶型形式,半水合物可另外通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,其未展现至少以下反射:7.9和/或31.6,各自以2θ值±0.2°引用。

[0161] 式(I)化合物的假多晶型形式,半水合物可另外通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,其未展现至少以下反射:7.6,各自以2θ值±0.2°引用。

[0162] 式(I)化合物的假多晶型形式,半水合物可另外通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,其未展现至少以下反射:14.8,各自以2θ值±0.2°引用。

[0163] 实施方案10(式(I)化合物的1.25水合物)

[0164] 式(I)化合物的假多晶型形式,1.25水合物可明确通过X射线粉末衍射图(在25℃

下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,其展现以下反射:5.9、6.1、7.9、10.5、11.9、12.2、12.5、13.2、13.6、13.7、14.4、15.2、15.3、15.4、15.7、15.9、16.5、16.9、17.2、17.4、17.6、17.8、18.3、18.6、18.7、19.0、19.5、19.6、19.8、20.5、20.7、21.0、21.4、22.0、23.2、23.8、24.0、24.4、24.6、25.0、25.2、25.6、26.1、26.8、27.4、27.6、28.4、28.8、30.2、30.7、31.1、31.6、32.3,各自以2θ值±0.2°引用。

[0165] 式(I)化合物的假多晶型形式,1.25水合物可明确通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,其展现至少以下反射:7.9、10.5、12.2、12.5、13.6、15.2、16.9、19.0、24.0、24.4、24.6、31.6,各自以2θ值±0.2°引用。

[0166] 式(I)化合物(呈假多晶型形式1.25水合物)还可明确通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,如图8中所示。

[0167] 式(I)化合物的假多晶型形式,1.25水合物可另外通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,其未展现至少以下反射:3.1和9.3,各自以2θ值±0.2°引用。

[0168] 式(I)化合物的假多晶型形式,1.25水合物可另外通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,其未展现至少以下反射:6.9、7.2和7.3,各自以2θ值±0.2°引用。

[0169] 式(I)化合物的假多晶型形式,1.25水合物可另外通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,其未展现至少以下反射:29.2,各自以2θ值±0.2°引用。

[0170] 式(I)化合物的假多晶型形式,1.25水合物可另外通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,其未展现至少以下反射:8.5和/或30.0,各自以2θ值±0.2°引用。

[0171] 式(I)化合物的假多晶型形式,1.25水合物可另外通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,其未展现至少以下反射:7.9和/或31.6,各自以2θ值±0.2°引用。

[0172] 式(I)化合物的假多晶型形式,1.25水合物可另外通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,其未展现至少以下反射:7.6,各自以2θ值±0.2°引用。

[0173] 式(I)化合物的假多晶型形式,1.25水合物可另外通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,其未展现至少以下反射:14.8,各自以2θ值±0.2°引用。

[0174] 实施方案11(式(I)化合物的倍半水合物)

[0175] 式(I)化合物的假多晶型形式倍半水合物可明确通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,其展现至少以下反射:12.2、25.1和14.5,优选至少12.2、25.1、14.5、18.7和26.4,优选至少以下反射:12.2、25.1、14.5、18.7、26.4、18.3和23.4,更优选至少以下反射:最优选至少以下反射:12.2、25.1、14.5、18.7、26.4、18.3、23.4、21.5、8.6和5.1、和7.6,各自以2θ值±0.2°引用。

[0176] 式(I)化合物的假多晶型形式,倍半水合物可明确通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,其展现至少以下反射:5.1、7.6、8.6、12.2、14.5、

18.3、18.7、21.5、23.4、24.7、25.1、26.4,各自以2θ值±0.2°引用。

[0177] 式(I)化合物的假多晶型形式,倍半水合物可明确通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)明确进行表征,其展现以下反射:5.1、6.3、7.6、8.6、11.4、12.2、12.5、12.9、13.3、14.3、14.5、15.2、15.5、15.8、16.2、16.4、16.7、17.3、17.5、17.7、18.3、18.7、19.4、20.5、20.7、20.8、21.4、21.5、21.8、22.4、22.9、23.4、24.0、24.7、25.1、26.1、26.4、27.0、27.4、28.5、32.2、36.5,各自以2θ值±0.2°引用。

[0178] 式(I)化合物(呈假多晶型形式倍半水合物)还可明确通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,如图9中所示。

[0179] 式(I)化合物的假多晶型形式,倍半水合物可另外通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,其未展现至少以下反射:3.1和9.3,各自以2θ值±0.2°引用。

[0180] 式(I)化合物的假多晶型形式,倍半水合物可另外通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,其未展现至少以下反射:6.9、7.2和7.3,各自以2θ值±0.2°引用。

[0181] 式(I)化合物的假多晶型形式,倍半水合物可另外通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,其未展现至少以下反射:29.2,各自以2θ值±0.2°引用。

[0182] 式(I)化合物的假多晶型形式,倍半水合物可另外通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,其未展现至少以下反射:8.5和/或30.0,各自以2θ值±0.2°引用。

[0183] 式(I)化合物的假多晶型形式,倍半水合物可另外通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,其未展现至少以下反射:7.9和/或31.6,各自以2θ值±0.2°引用。

[0184] 式(I)化合物的假多晶型形式,倍半水合物可另外通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,其未展现至少以下反射:14.8,各自以2θ值±0.2°引用。

[0185] 实施方案12(式(I)化合物的二水合物)

[0186] 式(I)化合物的假多晶型形式,二水合物可明确通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)明确进行表征,其展现至少以下反射:10.1、10.5、11.2、12.5、13.6、14.8、15.5、20.2、20.5、21.1、22.2、23.2、25.1、29.6,各自以2θ值±0.2°引用。

[0187] 式(I)化合物的假多晶型形式,二水合物可明确通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,其展现以下反射:6.1、6.8、10.1、10.5、11.2、11.3、12.3、12.5、13.1、13.6、14.6、14.8、15.5、16.2、16.4、16.8、17.1、17.3、17.9、18.5、18.8、19.5、20.2、20.5、21.1、21.4、22.2、23.2、24.3、25.1、25.4、25.6、26.3、26.9、27.4、28.5、28.7、29.6,各自以2θ值±0.2°引用。

[0188] 式(I)化合物(呈假多晶型形式二水合物)还可明确通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,如图10中所示。

[0189] 式(I)化合物的假多晶型形式,二水合物可另外通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,其未展现至少以下反射:3.1和9.3,各自以2θ值±

0.2°引用。

[0190] 式(I)化合物的假多晶型形式,二水合物可另外通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,其未展现至少以下反射:6.9、7.2和7.3,各自以2θ值±0.2°引用。

[0191] 式(I)化合物的假多晶型形式,二水合物可另外通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,其未展现至少以下反射:29.2,各自以2θ值±0.2°引用。

[0192] 式(I)化合物的假多晶型形式,二水合物可另外通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,其未展现至少以下反射:8.5和/或30.0,各自以2θ值±0.2°引用。

[0193] 式(I)化合物的假多晶型形式,二水合物可另外通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,其未展现至少以下反射:7.9和/或31.6,各自以2θ值±0.2°引用。

[0194] 式(I)化合物的假多晶型形式,二水合物可另外通过X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)进行表征,其未展现至少以下反射:7.6,各自以2θ值±0.2°引用。

[0195] 治疗方法

[0196] 根据本发明式(I)化合物的结晶形式,优选单水合物I(I-M-I)或单水合物II(I-M-II),更优选单水合物I(I-M-I)具有有用的药理学性质并且可以在人类和动物中用于预防和治疗病症。根据本发明式(I)化合物的形式可以开辟出更多治疗替代选项并且因此可在药学上更加丰富。

[0197] 在本发明的上下文中,术语“治疗(treatment或treat)”包括抑制、延迟、阻止、改善、减弱、限制、减少、抑制、逆转或治愈疾病、疾患、病症、损害或健康损害、此类状态的发展、过程或进展和/或此类状态的症状。在此,术语“疗法”被理解为与术语“治疗”同义。

[0198] 在本发明的上下文中,术语“预防”、“防治”或“防止”作为同义词使用,并指避免或降低得到、感染、罹患或患有疾病、疾患、病症、损害或健康损害、此类状态的发展或进展和/或此类状态的症状的风险。

[0199] 疾病、疾患、病症、损害或健康损害的治疗或预防可能会部分或完全发生。

[0200] 在本发明的上下文中,术语“治疗功效”被定义为通过施用药物干粉制剂,患者的平均肺动脉压降低,同时在临床上没有相关的全身性血压变化,药物干粉制剂包含治疗有效量的式(I)化合物(尤其是比较例11的化合物)或式(I)化合物的盐、溶剂化物或多晶型形式或溶剂化物或盐的结晶变体或式(I)化合物的代谢物,特别是其假多晶型形式,如例如(I-M-I)和(I-M-II)。

[0201] 在本发明的上下文中,术语“肺血管阻力(PVR)”被定义为以下参数:1)将肺高压的严重程度表征为主要肺血管中的壁张力,通过测量血压的侵入性方法在肺动脉中进行分析;以及2)通过显著降低与肺动脉血压直接相关的参数来评价新药的效果(参见D.Singh,R.Tal-Singer,I.Faiferman,S.Lasenby,A.Henderson,D.Wessels,A.Goosen,N.Dallow,R.Vessey和M.Goldman,Plethysmography and impulse oscillometry assessment of tiotropium and ipratropium bromide;a randomized,double-blind,placebo-

controlled,cross-over study.in healthy subjects,Br.Journal Clin Pharmacol,2006,61,398-404)。

[0202] 在本发明的上下文中,6分钟步行测试结果得到改善被定义为患者能够在6分钟时间范围内步行的距离得到改善,其对应于患有严重疾病的受治疗患者的身体能力增加。

[0203] 在本发明的上下文中,“NYHA等级”的转变被定义为NYHA分类编号从较高等级提升到较低等级,对应于心脏功能改善加上更好的心脏能力。

[0204] 在标准化条件下,在肺功能测试(如肺活量测量法(spirometry)或身体体积描记法(bodyplethysmography))方面对肺的生理功能进行评价,以获得标准化和有效的参数测量值(如例如1秒用力呼气容积(FEV1)),从而可以直接评估药物效用(如支气管扩张作用),其为不同药物在治疗上使用时改善带有支气管收缩的肺病(如COPD或哮喘)的肺功能的效用。

[0205] 在本发明的上下文中,术语“血液动力学效用得到改善”被定义为药物降低肺动脉压、改善肺部通气区域内血液循环以及改善肺功能的血管舒张作用而没有全身性副作用,从而导致个别患者身体能力和一般情况的临床相关改善。

[0206] 在本发明的上下文中,术语“肺内选择性(intrapulmonary selectivity)”是指吸入型活性成分仅在肺部的通气区域而不是在非通气区域内展现其血管舒张药效学性质的性质。这是为了防止通气和灌注之间不匹配恶化(由于非通气区域的灌注增加),如果活性成分也到达非通气区域,则可能发生这种情况。肺内选择性特别是通过吸入型施用途径而确保,而施用是由患者的主动吸入来进行。

[0207] 在本发明的上下文中,术语“支气管扩张效用”被定义为参数的改善,参数为例如经卡巴胆碱(carbachol)预先收缩的天竺鼠气管舒张、肺阻力(RL)和动态顺应性(Cdyn)、人体内的比气道阻力(E-2.1)、人体内的FEV1或其他表示通气获得改善的参数。

[0208] 在本发明的上下文中,术语“长期治疗/使用”被定义为患者每天一次或两次吸入性治疗,持续至少连续两天,优选至少连续2至7天,优选持续一段至少连续14天的时间,特别是从治疗开始后持续整个疾病过程,任选地还与标准护理(SoC,例如内皮素拮抗剂(例如波生坦)、PDE5抑制剂(例如西地那非)、IP激动剂(例如伊洛美定或曲前列尼)、钙通道阻滞剂(索特西普(sotatercept))和sGC刺激剂(例如利奥西呱(riociguat))组合。

[0209] 术语“每天一次”是本领域技术人员众所周知的,并且表示一天施用药物一次,包括施用一种剂型以及在一段短时间内同时或连续施用两种或更多种剂型。

[0210] 术语“每天一次或两次”是本领域技术人员众所周知的,并且表示一天一次或一天两次施用药物,而在所述天的每个对应时间点施用包括施用一种剂型以及在一段短时间内同时或连续施用两种或更多种剂型。

[0211] 术语“连续日”是指一段一天接着一天而没有插入日的时间,并不意味着依序日或循环日。

[0212] 术语“吸入性剂型”意指原料药(即活性成分)的组合,优选呈一种结晶形式,例如呈单水合物I或单水合物II或倍半水合物的形式,优选呈单水合物I或单水合物II,更优选呈式(I-M-I)的单水合物I形式,其与吸入用药学上合适的载体组合。原料药和药学上合适的吸入用载体的组合是呈干粉形式。优选地将干粉填充在空腔中,更优选填充在胶囊中。优选地,药学上合适的载体是吸入用乳糖。

[0213] 术语“反射”或“峰”是同义词并且与X射线值和衍射图组合时具有相同含义。结晶形式最常通过X射线粉末衍射(XRPD)进行表征。XRPD反射图(峰,通常以度2θ表示)经常被认为是特定晶形的指纹。

[0214] 出于本发明的目的,术语“呼吸器官”(或呼吸系统)是指气道(包括鼻子、口腔和咽、喉、气管、支气管和肺),其作为功能性器官系统。

[0215] 与心肺病症组合的“局部施用”或“局部控制”表示出于本发明的目的(与口服施用要经由胃肠道吸收的剂型相反,也与静脉内施用相反,这两者都导致药物经由血流而全身性分布),呈可吸入剂型的形式通过吸入来施用活性成分,主要涵盖作为目标器官的肺部,这需要较低的剂量并导致较低的整体药物暴露。根据本发明使用的呈粉末形式的制品或含粉末的悬浮液是要被吸入的制品。

[0216] 术语“吸入”或“通过吸入施用”在这方面是指引入呼吸器官,尤其是引入和/或经由气道,优选引入和/或经由鼻腔或口腔,特别是经由口腔以使得活性成分沉积到作为作用部位的支气管和肺部。

[0217] 出于本发明的目的,术语“气管内”或“气管内施用”是指将化合物引入气管而不是通过吸入,特别是用于实验动物(例如大鼠或小型猪和狗,作为施用模型)的肺病控制(例如,经由PennCentury设备进行气管内施用,适用于干粉以及药物溶液和悬浮液)。

[0218] 根据本发明的化合物,如式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢-喹啉-2-甲酸以及其假多晶型形式,如例如(I-M-I)和(I-M-II)是可溶性鸟苷酸环化酶的有效活化剂。它们导致血管舒张、抑制血小板聚集并降低血压,以及增加冠状动脉血流和微循环。此外,它们具有支气管扩张作用。这些活性是经由血红素非依赖性直接活化可溶性鸟苷酸环化酶和细胞内cGMP水平增加所介导的。

[0219] 此外,根据本发明的化合物,尤其式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢-喹啉-2-甲酸以及其假多晶型形式,如例如(I-M-I)和(I-M-II)进一步具有有利的药理学性质,特别是关于其肺选择性作用(与全身性作用相反)、其肺保留时间和/或其在肺内施用后的作用持续时间(E-1)。

[0220] 根据本发明的化合物,尤其式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢-喹啉-2-甲酸以及其假多晶型形式,如例如(I-M-I)和(I-M-II)的良好治疗功效以及目标接合(target engagement)可在临床上得到证明:吸入施用后,总比气道阻力降低(E-2.1)、血浆cGMP浓度增加(cGMP浓度作为肺内药物浓度替代物)(目标接合的指标)(E-2.1、E-2.2),和肺动脉压力和肺血管阻力(E-2.4)的选择性降低可以在临床上得到证明。

[0221] 此外,吸入施用原料药的合适药物动力学性质可得到证明。原料药在口服、静脉内和吸入施用后的血浆浓度分析显示,在吸入施用后活性成分的半衰期最长(E-2.3)。

[0222] 最后,人体吸入1000μg后,排放剂量经测定为720μg。这个调查的结果证实沉积的肺剂量,以及对吸入型干粉施用来说每天一次治疗,半衰期足够使原料药能在肺部内有充分24h药物覆盖率(如实施例4所示)。

[0223] 总之,所有结果表明,式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三

氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸以及其假多晶型形式,如例如(I-M-I)和(I-M-II),尤其是式(I-M-I)的单水合物I特别适用于治疗肺动脉高压(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高压(CTEPH)以及与慢性肺病相关的肺高压(PH)(第3类PH),例如慢性阻塞性肺病中的肺高压(PH-COPD)和伴有特发性间质性肺炎的肺高压(PH-IIP),并且对吸入型干粉施用来说每天一次治疗足够使原料药能在肺部内有充分24h药物覆盖率(如实施例4所示)。

[0224] 根据本发明的化合物,(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢-喹啉-2-甲酸以及其假多晶型形式,如例如(I-M-I)和(I-M-II)特别适用于治疗和/或预防心血管、心肺和肺部病症,优选用于心肺病症。

[0225] 因此,根据本发明的化合物,尤其(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢-喹啉-2-甲酸以及其假多晶型形式,如例如(I-M-I)和(I-M-II)可用于供治疗和/或预防以下的药剂中:心血管和心肺病症,例如肺动脉高压(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高压(CTEPH)和与慢性肺病相关的肺高压(PH)(第3类PH),例如慢性阻塞性肺病中的肺高压(PH-COPD)和伴有特发性间质性肺炎的肺高压(PH-IIP),以及肺部病症如哮喘、慢性阻塞性肺病(COPD)或肺纤维化。

[0226] 在本发明的上下文中,术语"sGC调节剂"涵盖能够调节sGC的两类不同的化合物,sGC刺激剂和sGC活化剂(Sandner P,Becker-Pelster EM,Stasch JP.Discovery and development of sGC stimulators for the treatment of pulmonary hypertension and rare diseases.Nitric Oxide 2018;77:88-95.;Hoenicka M,Becker EM,Apeler H,Sirichoke T,Schröder H,Gerzer R,Stasch JP.Purified soluble guanylyl cyclase expressed in a baculovirus/Sf9 system:stimulation by YC-1,nitric oxide,and carbon monoxide.J Mol Med(Berl)1999;77:14-23;Evgenov OV,Kohane DS,Bloch KD,Stasch JP,Volpato GP,Bellas E,Evgenov NV,Buys ES,Gnoth MJ,Graveline AR,Liu R,Hess DR,Langer R,Zapol WM.Inhaled agonists of soluble guanylate cyclase induce selective pulmonary vasodilation.Am J Respir Crit Care Med2007;176:1138-1145)。这两类化合物作为另位调节剂直接结合至sGC。sGC刺激剂具有双重作用模式,不仰赖NO直接刺激天然sGC,并通过稳定NO-sGC结合使sGC对低水平NO敏感。相比之下,sGC活化剂结合至未被占用的血红素结合域,从而模拟与NO结合的血红素,并活化病理学上改变、对NO无反应的apo-sGC。近来的证据已证明,与许多心肺疾病相关的氧化应激会将细胞内水平的天然sGC转变为apo-sGC形式(Evgenov OV,Pacher P,Schmidt PM,Hasko G,Schmidt HH,Stasch JP.NO-independent stimulators and activators of soluble guanylate cyclase:discovery and therapeutic potential.Nat Rev Drug Discov 2006;5:755-768;Münzel T,Genth-Zotz S,Hink U.Targeting heme-oxidized soluble guanylate cyclase:solution for all cardiorenal problems in heart failure?Hypertension 2007;49:974-976),在不同心血管病理生理条件(例如PH)下为sGC活化剂提供基本原理(Wood KC,Durgin BG,Schmidt HM,Hahn SA,Baust JJ,Bachman T,Vitturi DA,Ghosh S,Ofori-Acquah SF,Mora AL,Gladwin MT,StraubAC.Smooth muscle cytochrome b5 reductase 3 deficiency accelerates pulmonary hypertension

development in sickle cell mice.Blood Adv2019;3:4104-4116.;Rahaman MM,Nguyen AT,Miller MP,Hahn SA,Sparacino-Watkins C,Jobbagy S,Carew NT,Cantu-Medellin N,Wood KC,Baty CJ,Schopfer FJ,Kelley EE,Gladwin MT,Martin E,Straub AC.Cytochrome b5 Reductase 3Modulates Soluble Guanylate Cyclase Redox State and cGMP Signaling.Circ Res 2017;121:137-148.;Durgin BG,Hahn SA,Schmidt HM,Miller MP,Hafeez N,Mathar I,Freitag D,Sandner P,Straub AC.Loss of smooth muscle CYB5R3 amplifies angiotensin II-induced hypertension by increasing sGC heme oxidation.JCI Insight 2019;4:e129183.;Sandner P,Zimmer DP,Milne GT,Follmann M,Hobbs A,Stasch JP.Soluble guanylate cyclase stimulators and activators.Handb Exp Pharmacol 2019;doi:10.1007/164_2018_197)。

[0227] 在本发明的上下文中,术语“肺高压”涵盖其原发性和继发性亚型,根据其各自的病因学,如下文依照Dana Point/Nizza分类所定义的[参见D.Montana和G.Simonneau,在以下中:A.J.Peacock等人(编),Pulmonary Circulation.Diseases and their treatment,第3版,Hodder Arnold Publ.,2011,第197-206页;M.M.Hoeper等人,J.Am.Coll.Cardiol.2009,54(1),S85-S96]updated Nizza classification Gérald Simonneau,David Montani,David S.Celermajer,Christopher P.Denton,Michael A.Gatzoulis,Michael Krowka,Paul G.Williams,Rogerio Souza:Haemodynamic definitions and updated clinical classification of pulmonary hypertension,在以下中:European Respiratory Journal,2018;DOI:10.1183/13993003.01913-2018]。这些尤其包括第1类肺动脉高压(PAH),其尤其涵盖特发性和家族性形式(分别为IPAH和FPAH)。此外,PAH还涵盖新生儿持续性肺动脉高压和与胶原病(collagenoses)相关的肺动脉高压(APAH)、先天性全身肺分流病变、门脉高压、HIV感染、摄入某些药物和药剂(例如食欲抑制剂)、患有具有显著静脉/毛细血管成分的病症(例如肺静脉闭塞性病症和肺毛细血管瘤病),或患有其他病症(例如甲状腺病症、糖原贮积病、高歇病、遗传性毛细血管扩张症、血红蛋白病、骨髓增生性病症和脾切除术)。第2类包含患有病原性左心病症的PH患者,例如心室、心房或瓣膜病症。第3类包含与肺部病症相关的肺高压形式,例如伴有慢性阻塞性肺病(COPD)、间质性肺病(ILD)、肺纤维化(IPF)和/或低氧血症(例如睡眠呼吸中止综合征、肺泡换气不足、慢性高山病、遗传性畸形)。第4类包括患有慢性血栓性和/或栓塞性病症的PH患者,例如在近端和/或远端肺动脉血栓栓塞性阻塞(CTEPH)或非血栓性栓塞(例如由于肿瘤病症、寄生虫、异物)的情况下。第5类中归纳了不常见形式的肺高压,例如在患有类肉瘤病、X型组织细胞增生症或淋巴管瘤病的患者中。

[0228] 根据本发明的化合物,尤其式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢-喹啉-2-甲酸以及其假多晶型形式,如例如(I-M-I)和(I-M-II)也适用于治疗和/或预防肺部病症,例如哮喘、慢性阻塞性肺病(COPD)和肺纤维化。

[0229] 在本发明的上下文中,术语“哮喘”涵盖异质性慢性肺气道炎性疾病。其特征在于症状多变且反复,从可逆性气流阻塞(通常由支气管的高反应性引起)到支气管痉挛。症状包括喘息、咳嗽、胸闷和呼吸急促事件。这些可能一天发生几次或每周发生几次。因人而异,哮喘症状可能会在夜间或运动时恶化。哮喘被认为是由遗传和环境因素的组合引起的。环

境因素包括暴露于空气污染和过敏原。其他潜在的诱因包括例如阿司匹林和β阻断剂的用药。诊断通常是基于症状模式、随时间对治疗的反应以及肺活量测量法肺功能测试。根据症状频率、一秒用力呼气容积(FEV1)和峰呼气流速对哮喘进行分类。它也可以分为特发性或非特发性,其中特发性是指发生第1型过敏反应的倾向。哮喘目前尚无已知的治愈方法,但可以很好地进行全身性治疗。可以通过避免诱因(例如过敏原和呼吸道刺激物)来预防症状,并使用吸入性皮质类固醇来抑制症状。如果哮喘症状仍未得到控制,除了吸入性皮质类固醇外,还可以使用长效β激动剂(LABA)和其他物质,例如抗白三烯药剂。急性恶化症状的治疗通常使用吸入性短效β2激动剂(例如沙丁胺醇(salbutamol)和皮质类固醇)来进行。在严重的情况下,可能需要全身性皮质类固醇、硫酸镁和住院治疗。一部分哮喘患者会恶化成严重形式的疾病,其病因学涉及气道炎症以及病因尚不明确的内在驱动因素。为解决这个问题,我们研究了人类气道平滑肌细胞(HASMC),其松弛可驱使气道支气管扩张,并且其功能失调则会在严重哮喘时导致气道阻塞和过敏反应。因为HASMC松弛可受到NO可溶性鸟苷酸环化酶(sGC)-cGMP信号通路所驱动,因此来自严重哮喘捐赠者的HASMC可能在其sGC或支持sGC功能的氧化还原酶中带有固有缺陷。大多数严重哮喘捐赠者HASMC(12/17)和肺样品主要表达功能失调的sGC,它对NO无反应,并且异二聚体含量低,而Hsp90缔合高。这种sGC表型与支持性氧化还原酶细胞色素b5还原酶、过氧化氢酶以及硫氧还蛋白-1的表达水平较低以及血红素加氧酶1和2的表达较高相关,暗示着一个假设:由于固有的sGC功能失调,严重哮喘患者在其气道平滑肌中有缺陷型NO-sGC-cGMP信号传导的倾向,进而又与影响sGC成熟和功能的细胞氧化还原酶的固有变化相关。因此,在这些病理生理条件下,sGC活化剂对这些患者来说可能是优化支气管扩张的一个新型目标选项(参见例如以下参考文献:Arnab Ghosh,Cynthia J.Koziol-White,William F.Jester Jr.,Serpil C.Erzurum,Kewal Asosingh,Reynold A.Panettieri Jr.see,Dennis J.Stuehr:An inherent dysfunction in soluble guanylyl cyclase is present in the airway of severe asthmatics and is associated with aberrant redox enzyme expression and compromised NO-cGMP signaling in Redox Biology 39(2021)101832;Maggie Lam,Jane E.Bourke,Ph.D.,A New Pathway to Airway Relaxation:Targeting the“Other”Cyclase in Asthma American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology第62卷第1期|2020年1月;Cynthia J.Koziol-White,Arnab Ghosh,Peter Sandner,Serpil E.Erzurum,Dennis J.Stuehr和Reynold A.Panettieri,Jr.:Soluble Guanylate Cyclase Agonists Induce Bronchodilation in Human Small Airways,Am J Respir Cell Mol Biol第62卷,第1期,第43-48页,2020年1月)。

[0230] 凭借着其活性概况,根据本发明的化合物,尤其式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢-喹啉-2-甲酸以及其假多晶型形式,如例如(I-M-I)和(I-M-II)特别适用于治疗和/或预防心血管和心肺病症,例如原发性和继发性形式的肺高压。

[0231] 本发明还提供了根据本发明的化合物,尤其式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢-喹啉-2-甲酸以及其假多晶型形式,如例如(I-M-I)和(I-M-II)的用途,其用于治疗和/或预防病症,特别是心肺病症,例如肺动脉高压(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高压(CTEPH)以及与慢性肺

病相关的肺高压(PH)(第3类PH),例如慢性阻塞性肺病中的肺高压(PH-COPD)和伴有特发性间质性肺炎的肺高压(PH-IIP)。

[0232] 本发明还提供了根据本发明的化合物,尤其式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢-喹啉-2-甲酸以及其假多晶型形式,如例如(I-M-I)和(I-M-II)的用途,其用于制备用以治疗和/或预防病症,特别是心肺病症,例如肺动脉高压(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高压(CTEPH)以及与慢性肺病相关的肺高压(PH)(第3类PH),例如慢性阻塞性肺病中的肺高压(PH-COPD)和伴有特发性间质性肺炎的肺高压(PH-IIP)的药剂。

[0233] 本发明还提供了包含根据本发明的化合物,尤其式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢-喹啉-2-甲酸以及其假多晶型形式,如例如(I-M-I)和(I-M-II)中至少一者的药剂,其用于治疗和/或预防病症,特别是心肺病症,例如肺动脉高压(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高压(CTEPH)以及与慢性肺病相关的肺高压(PH)(第3类PH),例如慢性阻塞性肺病中的肺高压(PH-COPD)和伴有特发性间质性肺炎的肺高压(PH-IIP)。

[0234] 本发明还提供了根据本发明的化合物,尤其式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢-喹啉-2-甲酸以及其假多晶型形式,如例如(I-M-I)和(I-M-II)的用途,其用于治疗和/或预防病症,特别是心肺病症,例如肺动脉高压(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高压(CTEPH)以及与慢性肺病相关的肺高压(PH)(第3类PH),例如慢性阻塞性肺病中的肺高压(PH-COPD)和伴有特发性间质性肺炎的肺高压(PH-IIP)的方法中。

[0235] 本发明还提供一种用于治疗和/或预防病症,特别是心肺病症,例如肺动脉高压(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高压(CTEPH)以及与慢性肺病相关的肺高压(PH)(第3类PH),例如慢性阻塞性肺病中的肺高压(PH-COPD)和伴有特发性间质性肺炎的肺高压(PH-IIP)的方法,所述方法包括以吸入性剂型(例如呈干粉制剂形式的干粉吸入器)每天一次或两次向有需要的患者施用式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢-喹啉-2-甲酸(尤其是比较例11)以及其假多晶型形式,如例如(I-M-I)和(I-M-II),持续一段相当于或多于两天,优选至少连续2至7天的时间,优选一段至少连续14天的时间,特别是从治疗开始后持续整个疾病过程,其中所述sGC活化剂在吸入施用于有需要的患者时具有超过一段24小时时间的持续功效。

[0236] 本发明进一步涉及式I的sGC活化剂的吸入性剂型,特别是比较例11,式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢-喹啉-2-甲酸以及其假多晶型形式,如例如(I-M-I)和(I-M-II)的用途,其用于制造用治疗心肺病症,例如肺动脉高压(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高压(CTEPH)以及与慢性肺病相关的肺高压(PH)(第3类PH),例如慢性阻塞性肺病中的肺高压(PH-COPD)和伴有特发性间质性肺炎的肺高压(PH-IIP)的药剂,每天一次或两次施用持续一段相当于或多于两天,优选至少连续2至7天的时间,优选一段至少连续14天的时间,特别是从治疗开始后持续整个疾病过程,其中所述sGC活化剂在吸入施用于有需要的患者时具有超过一段24小时时间的持续功效。

[0237] 本发明进一步涉及包含容器的包装药物组合物,所述容器含有干粉吸入器(=

DPI)以及包含式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸以及其假多晶型形式,如例如(I-M-I)和(I-M-II)的药物制剂,所述容器进一步含有使用所述干粉的说明书,例如在一次深吸气后受试者必须屏住呼吸约2秒,以使得干粉药物从气流凝结至更深的肺区域表面,它沉积的地方靠近其预期药理作用的部位,以便治疗心肺病症,优选肺动脉高压(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高压(CTEPH)以及与慢性肺病相关的肺高压(PH)(第3类PH),例如慢性阻塞性肺病中的肺高压(PH-COPD)和伴有特发性间质性肺炎的肺高压(PH-IIP)。

[0238] 在一个优选实施方案中,本发明进一步涉及一种包含容器的包装药物组合物,所述容器含有干粉吸入器(=DPI)以及包含式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸以及其假多晶型形式,如例如(I-M-I)和(I-M-II)的药物制剂,所述包装药物组合物包含容器,所述容器含有干粉,所述干粉包含式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸以及其假多晶型形式,如例如(I-M-I)和(I-M-II),所述容器进一步含有以每天一次或两次的频率施用所述干粉,以便治疗心肺病症,优选肺动脉高压(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高压(CTEPH)以及与慢性肺病相关的肺高压(PH)(第3类PH),例如慢性阻塞性肺病中的肺高压(PH-COPD)和伴有特发性间质性肺炎的肺高压(PH-IIP),进一步肺部病症的说明书。

[0239] 本发明进一步涉及含有至少一种根据本发明的化合物,通常连同一种或多种惰性、无毒、药学上合适的赋形剂的药剂,以及其用于上述目的的用途。

[0240] 根据本发明的化合物,尤其式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢-喹啉-2-甲酸以及其假多晶型形式,如例如(I-M-I)和(I-M-II)可以单独使用,或在必要时与其他活性化合物组合使用。本发明进一步涉及含有至少一种根据本发明的化合物,尤其式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢-喹啉-2-甲酸以及其假多晶型形式,如例如(I-M-I)和(I-M-II),以及一种或多种其他活性化合物的药剂,其特别是用于治疗和/或预防上述疾病。作为合适的组合活性化合物,我们可能提及例如并且优选:

[0241] • 有机硝酸盐和NO供体,例如硝普钠(sodium nitroprusside)、硝酸甘油、单硝酸异山梨酯(isosorbide mononitrate)、二硝酸异山梨酯(isosorbide dinitrate)、吗多明(molsidomine)或SIN-1,以及吸入性NO

[0242] • Ca通道阻断剂,用于保有血管反应性的PAH患者

[0243] • 抑制环单磷酸鸟苷(cGMP)和/或环单磷酸腺苷(cAMP)降解的化合物,例如磷酸二酯酶(PDE)1、2、3、4和/或5的抑制剂,特别是PDE 3抑制剂(如恩塞芬汀(ensifentrine))、PDE 4抑制剂(例如罗氟司特(roflumilast)、他尼司特(tanimilast)或瑞威斯特(revamilast))和PDE 5抑制剂(例如西地那非、伐地那非(vardenafil)、他达拉非(tadalafil)、乌地那非(udenafil)、达桑他非(dasantafil)、阿伐那非(avanafil)、米罗地那非(mirodenafil)或洛地那非(lodenafil));

[0244] • 鸟苷酸环化酶的NO非依赖性但血红素依赖性刺激剂,特别是利西呱和描述于WO 00/06568、WO 00/06569、WO 02/42301、WO 03/095451、WO 2011/147809、WO 2012/004258、

WO 2012/028647、WO 2012/059549和WO2014/068099中的化合物;

[0245] • 前列环素类似物和IP受体激动剂,例如并且优选伊洛前列素(iloprost)、贝拉前列素(beraprost)、曲前列环素(treprostinil)、依前列醇(epoprostenol)或NS-304;

[0246] • 内皮素受体拮抗剂,例如并且优选波生坦、达鲁生坦(darusentan)、安立生坦(ambrisentan)或西他生坦(sitaxsentan);

[0247] • 人类嗜中性粒细胞弹性蛋白酶(HNE)抑制剂,例如并且优选西维来司他(sivelestat)或DX-890(Reltran);

[0248] • 抑制信号转导级联的化合物,特别是来自酪氨酸激酶抑制剂的组,例如并且优选达沙替尼(dasatinib)、尼罗替尼(nilotinib)、伯舒替尼(bosutinib)、瑞戈非尼(regorafenib)、索拉非尼(sorafenib)、舒尼替尼(sunitinib)、西地尼布(cediranib)、阿西替尼(axitinib)、特拉替尼(telatinib)、伊马替尼(imatinib)、布立尼布(brivanib)、帕唑帕尼(pazopanib)、瓦他尼布(vatalanib)、吉非替尼(gefitinib)、厄洛替尼(erlotinib)、拉帕替尼(lapatinib)、卡奈替尼(canertinib)、来他替尼(lestaurtinib)、培利替尼(pelitinib)、塞马尼布(semaxanib)、马赛替尼(masitinib)或坦度替尼(tandutinib);

[0249] • 作为配体阱的化合物,对TGF-β超家族中的多种蛋白质具有高度选择性,包括活化素、GDF和其他被认为能阻断TGF-β超家族信号通路者,从而可促进第II型骨形态发生蛋白受体(BMPR-II)信号传导的再平衡,并有可能像索特西普一样恢复血管稳态

[0250] • Rho激酶抑制剂,例如并且优选法舒地尔(fasudil)、Y-27632、SLx-2119、BF-66851、BF-66852、BF-66853、KI-23095或BA-1049;

[0251] • 抗阻塞剂,例如用于治疗慢性阻塞性肺病(COPD)或支气管哮喘,例如并且优选吸入或全身施用的β-受体模拟物(例如沙丁胺醇、沙美特罗(salmeterol))或吸入施用的抗毒蕈碱能物质(例如异丙托铵(ipratropium)、噻托溴铵(tiotropium));

[0252] • 消炎剂和/或免疫抑制剂,例如用于治疗慢性阻塞性肺病(COPD)、支气管哮喘或肺纤维化,例如并且优选全身或吸入施用的皮质类固醇、富马酸福莫特罗(flutiform)、吡非尼酮(pirfenidone)、乙酰半胱氨酸、硫唑嘌呤或BIBF-1120,尼达尼布(nintedanib)或曲前列环素(treprostinil);

[0253] • 用于全身性和/或吸入性治疗肺部病症的活性化合物,例如囊性纤维化(α-1-抗胰蛋白酶、氨曲南(aztreonam)、依伐卡托(ivacaftor)、鲁玛卡托(lumacaftor)、阿他卢仑(ataluren)、阿米卡星(amikacin)、左氧氟沙星(levofloxacin))、慢性阻塞性肺病(COPD)(噻托溴铵(Tiotropium)、LABA/LAMA、LAS40464、PT003、SUN-101)、急性呼吸窘迫综合征(ARDS)和急性肺损伤(ALI)(干扰素-β-1a、创伤因子(traumakine)、PEG-肾上腺髓质素、吸入型sGC调节剂,例如BAY1211163)、阻塞性睡眠呼吸暂停(VI-0521、TASK通道阻滞剂和ADRA2C拮抗剂)、支气管扩张(甘露糖醇、环丙沙星(ciprofloxacin))、闭塞性细支气管炎(环孢菌素((cyclosporine)、氨曲南);

[0254] • 抗血栓剂,例如并且优选选自血小板聚集抑制剂、抗凝血剂或促纤维蛋白溶解物质的组。

[0255] 抗血栓剂优选理解为来自血小板聚集抑制剂、抗凝血剂或促纤维蛋白溶解物质的组的化合物。

[0256] 在本发明的一个优选实施方案中,根据本发明的化合物与血小板聚集抑制剂(例如并且优选阿司匹林(aspirin)、氯吡格雷(clopidogrel)、噻氯匹定(ticlopidine)或双嘧达莫(dipyridamole))组合施用。

[0257] 在本发明的一个优选实施方案中,根据本发明的化合物与凝血酶抑制剂(例如并且优选希美加群(ximelagatran)、美拉加群(melagatran)、达比加群(dabigatran)、比伐卢定(bivalirudin)或Clexane)组合施用。

[0258] 在本发明的一个优选实施方案中,根据本发明的化合物与GPIIb/IIIa拮抗剂(例如并且优选替罗非班(tirofiban)或阿昔单抗(abciximab))组合施用。

[0259] 在本发明的一个优选实施方案中,根据本发明的化合物与因子Xa抑制剂(例如并且优选利伐沙班(rivaroxaban)、阿哌沙班(apixaban)、非地沙班(fidexaban)、雷沙班(razaxaban)、磺达肝素(fondaparinux)、依德拉肝素(idraparinux)、DU-176b、PMD-3112、YM-150、KFA-1982、EMD-503982、MCM-17、MLN-1021、DX 9065a、DPC 906、JTV 803、SSR-126512或SSR-128428)组合施用。

[0260] 在本发明的一个优选实施方案中,根据本发明的化合物与肝素或低分子量(LMW)肝素衍生物组合施用。

[0261] 在本发明的一个优选实施方案中,根据本发明的化合物与维生素K拮抗剂(例如并且优选香豆素(coumarin))组合施用。

[0262] 用于降低肺血压的药剂优选地理解为来自钙拮抗剂、PDE5抑制剂、sGC刺激剂和活化剂、前列环素类似物和IP受体激动剂以及内皮素受体拮抗剂的组的化合物。

[0263] 在本发明的一个优选实施方案中,根据本发明的化合物与钙拮抗剂(例如并且优选硝苯地平(nifedipine)、氨氯地平(amlodipine)、维拉帕米(verapamil)或地尔硫卓(diltiazem))组合施用。

[0264] 在本发明的一个优选实施方案中,根据本发明的化合物与内皮素受体拮抗剂(例如并且优选波生坦、达卢生坦(darusentan)、安立生坦(ambrisentan)或西他生坦(sitaxsentan))组合施用。

[0265] 技术目标

[0266] 考虑到背景和当前技术水平,本发明目标是提供一种基于适当载体的干粉制剂,其包含与乳糖载体组合的式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,优选式(I-M-I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸单水合物I或(I-M-II)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸单水合物II,以获得适当的吸入性药剂,供用于治疗心肺病症,例如肺动脉高压(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高压(CTEPH)以及与慢性肺病相关的肺高压(PH)(第3类PH),例如慢性阻塞性肺病中的肺高压(PH-COPD)和伴有特发性间质性肺炎的肺高压(PH-IIP)。

[0267] 为了开发出用于治疗心肺病症,例如肺动脉高压(PAH)以及与慢性肺病相关的肺高压(PH)(第3类PH),例如慢性阻塞性肺病中的肺高压(PH-COPD)和伴有特发性间质性肺炎的肺高压(PH-IIP)的合适吸入性药剂,必需满足有关原料药以及药品的某些技术与医学需求和要求。

[0268] 首先,活性成分(原料药)需要具有合适的物理化学、药物动力学和药效学性质,例如原料药需要适合吸入性治疗,并且需要有足够的功效来治疗心肺病症。此外,活性成分在设想的pH形式中应具有清楚的功效,也在护理标准(SoC,例如内皮素拮抗剂(例如波生坦)、PDE5抑制剂(例如西地那非)、IP激动剂(例如伊洛美定)、钙通道阻滞剂(例如)和sGC刺激剂(例如利奥西呱))之上。此外,活性成分应具有其他有利性质,特别是关于其肺选择性作用(相对于全身性作用),例如高肺选择性、低至无VQ-不匹配、其在肺内施用后的肺保留时间和/或其作用持续时间。原料药应适合长期治疗方案/使用。此外,原料药应证明通气获得改善,例如支气管扩张作用和/或对气道高反应性和炎症的抑制作用,因此特别适用于治疗肺动脉高压(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高压(CTEPH)以及与慢性肺病相关的肺高压(PH)(第3类PH),例如慢性阻塞性肺病中的肺高压(PH-COPD)和伴有特发性间质性肺炎的肺高压(PH-IIP)。

[0269] 原料药式(I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸以及其式(I-M-I)和(I-M-II)的假多晶型形式应具有持续的血管舒张和支气管扩张功效超过一段12小时、至多24小时的时间,其特征在于例如肺血液动力学的改善,导致较低的肺血管阻力(PVR)、6分钟步行测试中的步行距离改善、NYHA(纽约健康协会)患者分类的转变或肺功能改善,例如FEV1(一个人在用力呼吸的第一秒内可以呼出的用力呼气容积)更高和比气道阻力(sRaw)更低,这是一种表明吸入施用时在健康肺部中有支气管扩张活动的参数。

[0270] 此外,活性成分(原料药)需要以明确的稳定结晶形式提供,以适用于干粉药物制剂,并以特定的、优化的吸入剂量方案施用,以供治疗心肺病症。

[0271] 此外,最终药品(制剂)必须具有合适的性质,例如充分的化学稳定性和足够的气溶胶性能,以便在对患者的副作用很小或没有副作用的情况下将原料药以足够的量递送至目标器官(例如肺部)。需要足够的物理化学稳定性来保持活性成分的化学结构并且避免无法接受的降解或立体化学转换。甚至更重要的是,需要维持物理形态,以免改变影响到活性成分药物动力学行为的生物制药性质。稳定且适当的气溶胶性能意味着在平均递送剂量和递送剂量的均匀性上可再现的药物递送,以及最终剂型中可用标称药物剂量有理想高部分可再现药物递送至作用部位。实际上,通过例如级联冲击的空气动力学粒度分布的适当分析方法进行测试,大部分微粉化细活性成分颗粒应以细粒剂量(或者细粒质量)和相对于递送剂量和/或标称剂量的细粒分率(以%计)来回收。

[0272] 本发明人出乎意料地发现,式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸可以通过改进的化学方法按照可靠的方式以更大规模制造。

[0273] 此外,本发明人发现,式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸以稳定的结晶形式存在,如例如式(I-M-I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸单水合物I或式(I-M-II)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸单水合物II,优选式(I-M-I)的单水合物I。

[0274] 此外,本发明人出乎意料地发现,式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-

氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸的结晶形式可以通过一种新颖的、选择性结晶方法得到,优选地单水合物形式I(I-M-I)可以选择性地由甲醇和水,或甲醇、丙酮和水结晶得到。

[0275] 因此原料药式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸首次以适用于吸入性剂型、药剂和吸入性剂量方案的形式(优选DPI)提供。

[0276] 令人惊讶的是,sGC活化剂式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸以及其假多晶型形式,如例如(I-M-I)和(I-M-II)(参见E-1)的临床前实验揭示,在PAH动物模型中的肺选择性有所改进并且作用持续时间延长(在吸入型施用后没有全身性血压(=BP)降低作用的情况下延长选择性肺动脉压(=PAP)降低)(参见实验部分E-1)。此外,已经研究了作用持续时间的预测和人类剂量的预测。考虑到100μg/kg在小型猪模型中作为有效剂量,300-1370μg肺部沉积剂量被假定为有效剂量,这取决于对不同物种间蛋白质结合的考虑。

[0277] 最后研究了活性成分的不同假多晶型形式的药理学作用。在这个急性PAH模型中,所有包含比较例11的结晶形式(例如倍半水合物实施例6e)的干粉制剂在吸入施用后选择性地且剂量依赖性地降低PAP,具有至少4h的长作用持续时间。就增加施用剂量来说,观察到清楚的剂量反应曲线(参见E-1)。

[0278] 这些发现结果支持式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸以及其假多晶型形式单水合物I(实施例4)或单水合物II(实施例2)用于每天一次或两次吸入性治疗方案的适宜性,所述治疗方案包含240至4000μg、优选480至2000μg的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸用于治疗心肺疾病,例如肺动脉高压(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高压(CTEPH)以及与慢性肺病相关的肺高压(PH)(第3类PH),例如慢性阻塞性肺病中的肺高压(PH-COPD)和伴有特发性间质性肺炎的肺高压(PH-IIP)。

[0279] 测试根据本发明的式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸(比较例11)以及比较例3、4与5,以在小型猪模型中评价肺选择性以及作用持续时间(E-1)。尽管所有3种化合物都显示出合适的肺选择性,但只有比较例11和比较例4显示出足够的作用持续时间。比较例11显示选择性PAP作用,在240min的整个观察区间内具有最大作用,而比较例3显示其在吸入施用后30min对PAP的作用最大,在120min后又完全消失。在有意识缺氧挑战的狗模型中,针对比较例11和比较例4的作用持续时间进行评价。在这个模型中,与比较例4不同,比较例11显示了持续高达17hr的一致长效用持续时间(PAP降低)。因此,与比较例3、4和5(在WO 14/012934-A1中公开为实施例2、37和39)相比,对应于本发明的比较例11,其最适合每天一次至两次的治疗方案。

[0280] 此外,在首次临床研究中(参见实验部分E-2.1),我们发现sGC活化剂(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,尤其是呈其单水合物I形式(实施例4)在肺部中提高了cGMP水平(作为sGC活化的第二信使分子,当作药物浓度替代物)(目标接合的指标),以及健康志愿

者在干粉施用后一段超过12hr、至多24hr的时间内有利的支气管扩张性质(例如总比气道阻力(sRaw)降低,是一个指示肺部支气管扩张活动的参数),这在临床上支持肺保留时间较长以及(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸(尤其是呈其单水合物I形式(实施例4))成功用于治疗心肺疾病。在健康志愿者中,观察到至多4000μg的剂量对全身性血压并无临床上有意义的影响。

[0281] 此外,在肺高压患者中,我们发现在剂量高达4000μg(包括4000μg在内)下肺动脉压和肺血管阻力有选择性降低,而对全身性血压没有临床上相关影响。直到3h的测量期结束(>3h的测量期在技术上是不可行的)时,作用一直持续并且反应没有降低直到结束。在这个研究中,从实施例4所测得的长血浆半衰期可以推论有超出3h测量值的肺保留时间(推测在干粉施用后一段超过12hr、至多24hr的时间)(参见实验部分E-2.4)。

[0282] 此外,原料药(实施例4)在口服、静脉内和吸入性施用后的血浆浓度分析表明,吸入性施用后的活性成分半衰期最长(E-2.3)。在吸入1000μg后,人体内的排放(肺)剂量经测定为720μg。这个研究的结果确认了肺剂量并且半衰期对于吸入型干粉施用来说是足够的,每天治疗一次使得实施例4在肺部里有充分24h药物覆盖率。

[0283] 总之,所有结果表明,式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸以及其假多晶型形式(如例如(I-M-I)和(I-M-II),尤其是式(I-M-II)的单水合物I)特别适合治疗肺动脉高压(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高压(CTEPH)以及与慢性肺病相关的肺高压(PH)(第3类PH),例如慢性阻塞性肺病中的肺高压(PH-COPD)和伴有特发性间质性肺炎的肺高压(PH-IIP),并且对于吸入型干粉施用来说是足够的,每天治疗一次使得实施例4在肺部里有充分24h药物覆盖率。

[0284] 这些发现还支持(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,尤其是呈其单水合物I形式(实施例4)用于每天一次或两次吸入性治疗方案的适用性,所述治疗方案包含240至4000μg、优选480至2000μg的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,持续一段相当于或多于两天,优选至少连续2至7天的时间,优选持续一段至少连续14天的时间,特别是从治疗开始后持续整个疾病过程,供用于治疗心肺疾病,例如肺动脉高压(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高压(CTEPH)以及与慢性肺病相关的肺高压(PH)(第3类PH),例如慢性阻塞性肺病中的肺高压(PH-COPD)和伴有特发性间质性肺炎的肺高压(PH-IIP)。

[0285] 此外,我们发现,(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,尤其呈其单水合物I形式(实施例4)具有有益的物理化学性质,例如蛋白质结合和CACO通量(参见实验部分E-3.1(Caco渗透性)和E-3.2(蛋白质结合)),其使得(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,尤其呈其单水合物I形式(实施例4)因为干粉吸入至肺部而成为一种供局部治疗心肺疾病的合适化合物。此外,我们的数据指出,(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,特别是呈其单水

合物I形式(实施例4)(I-M-I),不仅显示经由肺部内的选择性血管舒张作用而有效降低PAP,并且与西尼西呱相比,它还显示出更为持久的支气管扩张性质,可能有益于每天一次或两次吸入性治疗患有慢性肺病的PH患者(第3类PH),甚至有可能治疗肺功能有限的患者(例如哮喘患者)。

[0286] 因此,原料药,例如根据本发明式(I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸以及其假多晶型形式(I-M-I)和(I-M-II)具有优异的主要药理学性质:

[0287] • (5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸是一种有效且具选择性的sGC活化剂,并在吸入后在PH治疗方面提供了一种新方法。

[0288] • 在不同疾病相关动物模型(经血栓素(thromoboxane)和缺氧挑战的大鼠、猪和狗)中,(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸在吸入施用后选择性地降低升高的PAP并且作用持续时间长,建议每天施用两次。

[0289] • 与全身性施用的血管扩张剂相比,在作为VQ-不匹配替代物的单侧通气小型猪模型中,(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸在吸入施用后,降低PAP但对氧合作用没有负面影响。

[0290] • 在PAH护理标准(SoC)(例如波生坦、西地那非、伊洛美定和利奥西呱)之上,(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸在PAH小型猪模型中吸入施用后选择性地降低升高的PAP。

[0291] • (5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸的功效在氧化应激实验条件(1H-[1,2,4]-噁二唑并[4,3-a]喹喔啉-1-酮,一种高度选择性、不可逆、可溶性鸟苷酸环化酶[ODQ]的血红素位点抑制剂,L-Nω-硝基精氨酸甲酯[L-NAME]处理)下得到增强。

[0292] • 关于通气,(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸证实有支气管扩张作用(乙酰胆碱[ACh]大鼠模型)和对气道高反应性与炎症(慢性卵白蛋白哮喘小鼠模型)的抑制性作用。

[0293] • 在三种不同类型的施用(口服、静脉内、吸入)后,测量(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,尤其是呈其单水合物I形式(实施例4)的血浆浓度,并揭示了吸入施用后的最长消除半衰期。

[0294] • 吸入1000μg后,在人体内的排放(肺)剂量经测定为720μg。

[0295] • 在人体内使用呈其式(I-M-I)的结晶形式单水合物I形式(实施例4)的sGC活化剂(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸的首次研究表明,在最高测试剂量为4000μg(包括4000μg在内)下,有sGC活化作用以及肺保留时间长,加上支气管扩张性质并且选择性地降

低肺动脉压和肺血管阻力,并且有良好的局部和全身性耐受性。

[0296] 因此,原料药,例如根据本发明式(I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸以及其假多晶型形式(I-M-I)和(I-M-II)在患者中具有优异的主要药理学和药效学性质,包括肺动脉压(mPAP)和肺血管阻力(PVR)降低、通过例如FEV1测得的支气管扩张、具有低至无全身性不良反应的肺选择性(特别是对全身血液动力学,例如临床上相关的血压或心率变化)以及VQ-不匹配的增加很少或没有增加以避免相关的去饱和作用,此外肺内施用后有充分的肺保留时间和/或足够的作用持续时间。

[0297] 令人惊讶的是,已发现,局部施用(尤其是吸入性施用)(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,尤其单水合物I有可能成功控制心肺病症,例如肺动脉高压(PAH)以及与慢性肺病相关的肺高压(PH)(第3类PH),例如慢性阻塞性肺病中的肺高压(PH-COPD)和伴有特发性间质性肺炎的肺高压(PH-IIP)。从医学观点来看,肺内的活性成分浓度可以长期维持在就最佳治疗而言所需的水平。除了疾病部位较高和长效的活性成分水平外,还可以同时实现相对较低的活性成分全身性浓度,从而可以避免用药的副作用,例如没有临床上相关的全身性血压降低。

[0298] 出乎意料的是,原料药可以呈单一的、结晶和化学上稳定的形式提供,即式(I-M-I)的单水合物I。这种形式在微粉化条件下也是稳定的。

[0299] 令人惊讶的是,根据本发明的药物干粉制剂的特征在于优异的气溶胶性能(例如高细粒剂量、细粒分率和相对于标称剂量的递送剂量)以及充分的化学稳定性。此外,根据本发明的药物干粉制剂可以通过新颖方法(例如掺合物均匀性)以技术上可靠的方式来制得。

[0300] 出乎意料的是,包含式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸(呈其盐或溶剂化物或水合物之一的形式),优选式(I-M-I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸单水合物I与乳糖载体(包含呈粗乳糖和细乳糖的混合物的乳糖单水合物)的药物干粉制剂适用于吸入性治疗心肺病症,例如肺动脉高压(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高压(CTEPH)以及与慢性肺病相关的肺高压(PH)(第3类PH),例如慢性阻塞性肺病中的肺高压(PH-COPD)和伴有特发性间质性肺炎的肺高压(PH-IIP)。

[0301] 鉴于现有技术,这些发现是无法预知的,因为式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸的优异主要药理学和药效学性质,尤其是与如例如比较例3、4和5的类似5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸相比,其作用持续时间更长不是公众所知的,也无法预见。

[0302] 此外,这些发现是不可预见的,因为假多晶型形式,尤其是稳定的结晶水合物并非公众所知的。

[0303] 令人惊讶的是,在微粉化和稳定性研究后,单水合物形式I(I-M-I)(实施例4)被鉴定为式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸的稳定的假多晶型形式。

[0304] 此外,令人惊讶的是,变体I(I-M-I)可通过从甲醇、丙酮水进行选择性结晶而获得。

[0305] 此外,尚不知包含式(I)的酸或其任何结晶形式(如例如单水合物形式I(I-M-I)或单水合物形式II(I-M-II))的吸入性固体载体制剂。

[0306] 因此,本发明的技术目标是提供新颖的、稳定的药物干粉制剂,其包含呈其盐或溶剂化物或水合物之一的形式的式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,优选式(I-M-I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸单水合物I具有优异的气溶胶性能(例如细粒剂量、细粒分率和相对于标称剂量的递送剂量的重要结果)以及充分的化学稳定性,这些属性是通过将微粉化的呈其盐或溶剂化物或水合物之一的形式的式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,优选式(I-M-I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸单水合物I与乳糖载体(由粗粒部分和细粒部分组成)进行掺合而达到。

[0307] 本发明人意外地发现,包含呈其盐或溶剂化物或水合物之一的形式的式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,优选式(I-M-I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸单水合物I可以通过将活性成分与载体组合来制造,其中所述载体是乳糖载体,其包含呈粗乳糖和细乳糖的混合物的乳糖单水合物。

[0308] 为了获得根据本发明的药物干粉制剂,重要的是调整a)原料药和乳糖载体与b)使用经工程化和定制的乳糖载体(包含呈粗乳糖和细乳糖的混合物的乳糖单水合物)之间的特定比率,以及c)使用具有特定粒度的原料药和粗乳糖与细乳糖,特别是具有以下规格:

[0309] A)具有粒度为X90≤6μm和/或X50介于1.0-3.0μm的活性成分式(I-M-I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸单水合物I

[0310] B)具有粒度为X90至少或≥115μm,或至少或≥120μm,或至少或≥200μm的粗乳糖;和/或具有粒度为X50至少或≥50μm,或至少或≥75μm或至少或≥125μm的粗乳糖

[0311] C)具有粒度为X90<30μm或≤10μm的细乳糖;和/或具有粒度为X50≤5μm或<10μm的细乳糖

[0312] 并且其中制剂/干粉掺合物的粗乳糖含量介于94.25%和75%,也介于98.25%和75%。

[0313] 原料药与特定比率的乳糖载体组分(即粗乳糖和细乳糖)的特定组合,所有组分都具有特定粒度,此外制剂/干粉掺合物的明确粗乳糖含量产生技术效果,即潜在的药物干粉制剂显示出优异的气溶胶性能(例如高细粒剂量、细粒分率和相对于标称剂量的递送剂量),并且在某段时间内具有充分的化学稳定性。

[0314] 药物颗粒暂时结合至载体颗粒,但随后在吸入期间需要在吸入气溶胶流中从载体颗粒中被释放出来,从而可以到达肺部深处区域,产生优异的气溶胶性能。微粉化药物颗粒

强力结合在乳糖载体颗粒上可以明确发生在如I-M-I的化合物上,据观察,它对多种类型的表面(例如分析型玻璃器皿和药物生产设备的表面,硬胶囊的表面和干粉吸入装置的表面)具有强粘附性质。乳糖细粒可以占据乳糖载体颗粒上的活性位点,从而降低粘合混合物中强力结合药物的颗粒比率,并增加在吸入条件下被释放的部分(细粒剂量/细粒分率)。根据本发明的基于载体的干粉制剂的优异气溶胶性能是由于微粉化活性成分颗粒针对肺部深处递送所设计的最佳临时结合,肺部深处递送可以通过干粉吸入装置中的气流能量克服而将药物颗粒与载体分离并使药物颗粒解聚。

[0315] 通过优化和定制以下技术参数,实现了微粉化活性成分颗粒的最佳暂时性结合:

[0316] 乳糖载体组分(即粗乳糖和细乳糖)的特定比率

[0317] 针对所有组分选择特定的粒度

[0318] 以及制剂/干粉掺合物的明确的粗乳糖含量。

[0319] 这些参数至关重要,以便获得具有优异气溶胶性能的根据本发明的基于载体的干粉制剂。

[0320] 为了根据本发明提供用于治疗心肺病症的改进型吸入性剂量方案,重要的是以明确吸入性形式提供特定剂量的特定原料药,其中标称剂量足以治疗预期的心肺疾病。

[0321] 为了确定足够的人类剂量,有必要选择对PAH最具预测性的动物模型,并确定最小有效剂量,以及限定首次临床研究中待评价的剂量范围(最小有效剂量、有效剂量和最大耐受剂量)。

[0322] 因此,活性成分应该每天一次或两次被施用于有需要的患者,持续一段至少相当于或超过两天,优选至少连续五至七天的时间,所述活性成分呈吸入性剂型,包含240至4000μg,优选480至2000μg。

[0323] 因此,根据本发明的药物干粉制剂是用于治疗心肺病症,例如肺动脉高压(PAH)以及与慢性肺病相关的肺高压(PH)(第3类PH),例如慢性阻塞性肺病中的肺高压(PH-COPD)和伴有特发性间质性肺炎的肺高压(PH-IIP)的合适药剂。

[0324] 人类剂量估算

[0325] 根据本发明的制剂的特征在于递送剂量(DD),其是通过过滤器收集管方法来测定,而细粒剂量(FPD)是通过级联冲击(cascade impaction)来测定。测定递送剂量和细粒剂量的分析方法通常描述于药典中,因为这些方法与可吸入剂型(例如干粉吸入制剂)所使用者一致,并构成质量控制的惯例,例如临床使用的DPI产品的放行。

[0326] 已经发现,具有不同标称剂量的不同制剂会导致不同的递送剂量,更重要的是,导致表征有效剂量的某些细粒剂量,因为它被递送到肺部深处到达作用部位。理论上,递送剂量和细粒剂量和分率与填充粉末剂量呈线性关系,但由于几个不能可靠预测的相互作用因素,实际上可能有所不同并且需要相关研究。期望递送剂量尽可能接近标称剂量。在实际上,递送剂量永远不会100%符合标称剂量,因为在吸入胶囊的表面和使用过的干粉吸入器的气溶胶路径上总是会留下某个程度的残余物。当然,这种性质在很大程度上取决于活性成分的物理化学性质及其从粉末掺合物的释放行为。类似地,相对于填充的标称活性成分含量,希望细粒剂量和细粒分率尽可能高,以尽可能好好地利用可用药物量并减少活性成分的损失或减少递送至肺部深处以外的其他隔室的部分(例如通过经由较大药物颗粒的经口冲击吞咽)。

[0327] 由于可吸入制剂的性质,并且与例如口服固体制剂相反,并不是所有的标称含量都会被递送到肺部里。可以定义几个分率,这些分率由特定分析方法进行体外表征,并且协助估算于吸入期间被递送给患者的剂量分率(递送剂量或排放剂量)以及低于例如5μm或4.5μm(取决于FPD的定义,尺寸截止值以μm计)的细粒分率,因为预期细粒会到达气道深部和肺泡(细粒剂量)。有关概述,参见下表1。

[0328] 表1:关于吸入性药品剂量的术语定义

[0329]

术语	缩写	定义	同义词或等效术语
标称剂量	ND	胶囊(临床研究)或雾化器(药理学动物实验)中填充的 API 总剂量。	胶囊剂量、胶囊强度、胶囊上标示的原料药量。
排放剂量	ED	在规定的实验室测试条件下,在吸嘴处实际离开设备的剂量。	对应于递送剂量
递送剂量	DD	估计或计算出被动物吸入的剂量(从鼻尖/嘴尖到肺泡)的剂量或人类可利用的原料药量,前装置,基于每剂量。	对应于排放剂量
肺部沉积剂量	LDD/LD	被认为到达相应动物或人类肺部(气管支气管和肺部沉积)的剂量。	认为 FPD (体外测得)对应于人体内的肺部沉积剂量。
细粒剂量	FPD	通过体外级联冲击分析测得的空气动力学粒度分布(ASPD)函数计算的参数。吸入器每次启动或剂量递送的活性药物成分(API)的质量包含在空气动力学直径小于 4.5 - 5 μm 的颗粒中(例如根据欧洲药典)。	就 DPI 来说,假设 FPD 基本上相当于人类肺部沉积剂量
细粒分率	FPF	根据与 ED/DD 或标称剂量相关的 FPD,细粒质量的分率(以%计)	

[0330]

[0331] 药物动力学/药效学(PK/PD)关系的评价

[0332] 就预测人类最小有效剂量和有效剂量(MED、ED)来说,经麻醉的受到血栓素A2攻击的PAH-小型猪模型(参见实验部分E-1)被认为是最为密切且最为灵敏的模型。为了测定有效LD,重复实验,不同之处在于吸收过滤器连接在管路末端以便测定沉积的肺剂量。比较例11的雾化导致平均雾化效率为标称施用剂量的5%,使得LD为约0.15μg/kg(3μg/kg ND)、0.5μg/kg(10μg/kg ND)、1.5μg/kg(30μg/kg ND)和5μg/kg(100μg/kg ND)。假设最小有效ND为3μg/kg(PAP降低5%),则最小有效沉积LD被认为是0.15μg/kg(参见图1)。

[0333] 小型猪模型的3、10、30和100μg/kg标称剂量乘以5%的过滤器沉积系数,得到小型猪的肺部沉积剂量为0.15、0.5、1.5和5μg/kg。将这些值乘以60kg即可得到人体内的肺剂量。因此,反映60kg人类的PAP降低的FPD经计算为9、30、90和300μg。

[0334] 因此,经由从小型猪的直接按规模放大,基于60kg体重,人类的预测MED(5% PAP降低)计算为9μg LDD,不考虑呼吸道内的蛋白质结合。作为未结合浓度的替代物(其可能是肺中的活性浓度),我们考虑了小型猪和人类血浆中未结合分率的对应差异。假设PAP降低5%,这种考虑导致60kg参与者的最小有效肺剂量(LD)为41μgLDD。因此,基于60公斤体重,

预测最低人类有效剂量在9μg LDD至41μg LDD范围内(参见图2)。

[0335] 表2:在考虑和不考虑蛋白质结合的物种间差异下的有效肺剂量

小型猪的相对肺部沉积剂量 [μg/kg]	60 kg 人类的总肺部沉积剂量 [μg]	
	不考虑蛋白质结合的物种间差异 a	考虑蛋白质结合的物种间差异 b
0.15 μg/kg (3 μg/kg 标称剂量)	9	41
0.50 μg/kg (10 μg/kg 标称剂量)	30	137
1.5 μg/kg (30 μg/kg 标称剂量)	90	410
5.0 μg/kg (100 μg/kg 标称剂量)	300	1370

[0336]

[0337] a计算(小型猪的相对肺部沉积剂量x 60kg)

[0338] b计算(小型猪的相对肺部沉积剂量x 60kg x 4.55(未结合小型猪(血浆fu 0.348%)/人(血浆fu 0.0764%)的分率比率))

[0339] 根据如表2中所列的小型猪的相对肺部沉积剂量,还针对有效剂量(有效PAP降低>5%至35%,至多4小时的完整观察期的较长时段)进行了这个转换。

[0340] 因此,根据小型猪数据,预期人类的有效肺部沉积剂量在9μg至1370μg范围内。

[0341] 考虑到100μg/kg在小型猪模型中作为最高有效剂量并且无全身性副作用(BP降低),对应最大有效人类LDD为1370μg,9-1370μg肺部沉积剂量被假定为有效剂量,取决于不同的物种间蛋白质结合(参见表2)。就DPI产品来说,假设细粒剂量(FPD)基本上相当于人类肺部沉积剂量。

[0342] 为了解决对大范围肺部沉积剂量的需求并将其转换为要制造的干粉吸入胶囊的细粒剂量(FPD目标)的技术规格,进行了一些计算和近似。大体上,如果细粒分率达到标称剂量的20%以上,则认为基于粉末掺合物载体制剂的可吸入产品具有优异的性能。此外,就高性能吸入产品来说,需要与递送剂量相近的高FPF(%),目标为≥30%。考虑到技术和实际因素(粉末掺合物中的活性浓度和掺合物的胶囊填充质量),FPD目标随后用于确立成品干粉吸入胶囊的明确标称剂量。FPD和DD目标以及对应标称剂量概述于以下两个表3和表4中。

[0343] 表3:标称剂量目标和细粒剂量和分率%(ds)的目标

[0344]

胶囊标称剂量[μg]	平均 FPF (标称的 FPD%)	平均 FPF (DD 的 FPD%)	<4.5μm 的平均 FPD (目标 a) [μg]	<4.5μm 的最低 FPD (目标的 65% b) [μg]
60	≥20%	≥30%	12	8
75	≥20%	≥30%	15	10
120	≥20%	≥30%	24	16
480	≥20%	≥30%	96	62
500	≥20%	≥30%	100	65
1000	≥20%	≥30%	200	130
2000	≥20%	≥30%	400	260
3000	≥20%	≥30%	600	390
6000	≥20%	≥30%	1200	780
9000	≥20%	≥30%	1800	1170

[0345] a)由标称目标的FPF%计算的目标值

[0346] b)最低目标是由于制造和分析测定的预期可变性而建立的。

[0347] 就递送剂量和标称剂量之间的关系来说,没有一般性结合(例如药典)要求,由于不同活性成分的性质非常不同,具有不同的性质和其制造的药物制剂,因此无法定义这一点。相反,递送剂量的均匀性是由药典定义,以确保剂量间的一致性。目标递送剂量是一个经验参数,在标准化条件下使用明确的干粉吸入装置由多次测定限定剂型而产生。预期平均递送剂量应在目标DD的85-115%范围内。最低递送剂量要求占平均递送剂量范围下限85%。目标递送剂量百分比(从标称的≥50%到≥65%)被定义为非线性的所有标称剂量,需要考虑相对较高含量的活性成分粘附在例如胶囊和装置表面,特别是较低的标称填充剂量下。

[0348] 表4:标称剂量、DD目标和相关的最小递送剂量

[0349]

胶囊标称剂量[μg]	平均 DD (标称的%)	平均 DD (目标 A) [μg]	最低 DD (目标的 85%) [μg]
60	≥ 50%	30	26
75	≥ 50%	38	32
120	≥ 60%	72	61
480	≥ 60%	288	245
500	≥ 60%	300	255
1000	≥ 65%	650	553
2000	≥ 65%	1300	1105
3000	≥ 65%	1950	1658
6000	≥ 65%	3900	3315
9000	≥ 65%	5850	4973

[0350] 因此,根据本发明的药物干粉制剂是用于治疗心肺病症(例如肺动脉高压(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高压(CTEPH)以及与慢性肺病相关的肺高压(PH)(第3类PH),例如慢性阻塞性肺病中的肺高压(PH-COPD)和伴有特发性间质性肺炎的肺高压(PH-IIP))的合适药剂。

[0351] 发明的详细说明

[0352] 吸入用制剂

[0353] 活性成分

[0354] 根据本发明的供干粉吸入的固体制品在针对活性化合物的适合吸入级载体的基质中含有一定量的活性成分(即式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,优选呈式(I-M-I)的单水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸或呈式(I-M-II)的单水合物II形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,特别优选呈式(I-M-I)的单水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸),其不超过约20%。通常活性成分的量介于0.5%和20%,优选介于0.75%和10%。基于即用制品,其中的活性成分量通常为以重量计至少0.75%、或至少3%、或至少5%或至少10%。非常优选具有3%、10%或20%活性成分含量的粉末掺合物。

[0355] 根据本发明的供干粉吸入的固体制品含有活性成分(即式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,优选呈式(I-M-I)的单水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸或呈式(I-M-II)的单水合物II形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,特别优选呈

式(I-M-I)的单水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸),其具有一定粒度,适合吸入性施用。

[0356] 根据本发明,活性成分(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,优选呈式(I-M-I)的单水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸或呈式(I-M-II)的单水合物II形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,特别优选呈式(I-M-I)的单水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸的粒度分布如下表中所定义。

[0357] 表5:活性成分(例如式(I-M-I)或(I-M-II)化合物)的粒度分布

[0358]

粒度上限X90	最大值6μm
粒度平均X50	1-3μm
粒度下限X10	最大值1μm

[0359] 有关吸入性药品,重要的是要保证原料药的均质性,其限定粒度<5μm,以确保递送到肺部深处隔室。这样的技术要求可以通过原料药颗粒的微粉化来实现(参见实验部分B,实施例8)。

[0360] 如表5中明确指出为了要达到这个要求而设定的活性成分粒度分布的适当规格。

[0361] 因此,为了确保活性物质适当递送到目标部位,尤其是气道深处和肺泡,本发明人发现提供活性成分式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,优选呈式(I-M-I)的单水合物I形式或呈式(I-M-II)的单水合物II形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,优选呈式(I-M-I)的单水合物I形式是必不可少的,其粒度为X90=最大值6μm和/或X50 1-3μm和/或X10最大值1μm。

[0362] 乳糖载体

[0363] 根据本发明的供干粉吸入的固体制品通常含有不超过约99.25%的量的用于活性化合物的合适载体。通常吸入级载体的量介于99.25%和80%,优选介于99.25%和90%。其中载体的量通常为基于干粉掺合物重量的至少99.25%,或至少97%,或至少95%或至少90%。

[0364] 吸入级载体的不同材料大体可用。

[0365] 本发明人发现,通过选择乳糖作为载体材料实现了根据本发明的吸入用制剂的优异气溶胶性能。

[0366] 吸入用乳糖有不同的粒度范围和不同的特征可用。

[0367] 与活性成分相比,粗乳糖载体单独(具有集中在较高粒度的粒度分布)可能会导致气溶胶性能不良,这是由于药物细粒与载体粗粒的活性位点的结合相对较强(Paolo Colombo,Daniela Traini and Francesca Buttini"Inhalation Drug Delivery-Techniques and Products"(published by Wiley-Blackwell 2013)。先进气溶胶性能的

特征在于细粒剂量和分率增加,以及与标称剂量有关的递送剂量。这是药物与载体粘附之间的平衡,并且一旦粉末被气溶胶化,随后分离,通常也被描述为粉末或药物分散体所预期到。还可能预期到利用添加载体细粒或通过使用含有乳糖细粒的固有部分的乳糖材料来改善气溶胶性能行为,尽管程度无法被预测(de Boer等人2012,Grasmejier等人2015)。作为改进药物分散和从载体释放的表述,通过级联冲击器的测量是针对选择细粒剂量(或者细粒质量)以及细粒分率(药物质量的百分比分率,具有明确的粒度上限,例如5μm或4.5μm,与单剂量单位的递送剂量或标称剂量有关)所建立的方法。在现行药典(例如欧洲药典(Pharm Eur.)或美国药典(USP))中,这些方法也被确立为吸入产品的强制质量控制方法。

[0368] 然而,无法预测添加细乳糖的潜在影响和其幅度,因为在干粉粘合混合物中可能有叠加乳糖细粒影响的其他重大影响。非常重要的是,微粉化药物本身的性质会对特定药物分子颗粒的二元或三元混合物的粘附性和内聚性(例如内聚性:粘附平衡(CAB)或表面能)产生冲击,这甚至让预测更为困难。

[0369] 本发明人发现,根据本发明的吸入用制剂的优异气溶胶性能是通过选择细乳糖和粗乳糖作为具有特定粒度的载体材料而实现的。

[0370] 根据本发明的粗乳糖材料是经过过筛或研磨的,具有低细粒含量的结晶、a-乳糖单水合物(例如以Lactohale®100或Lactohale®206商购)。

[0371] 也可能从其他品牌选择出具有相似粒度分布的根据本发明的粗乳糖,例如Meggle Inhalac®120或DFE Respitose®SV010。

[0372] 为了选择主要的粗载体,选定乳糖质量,其粒度X90与活性成分的X90相比将会大至少10倍,并且固有细粒含量低,使得载体主要部分的质量一致。

[0373] 选择细乳糖以改进气溶胶性能。本发明人假设,与活性成分相似的粒度可能适合于控制活性成分颗粒与载体粗粒的暂时性结合,尽管其他乳糖细粒粒度规格也可能是合适的。因此,选择粒度为X90<10μm或X90<30μm或X50≤5μm或1.0-3.0μm的细乳糖产品被认为足以构成乳糖载体。

[0374] 根据本发明的细乳糖材料是具有X90≤10μm的低粒度("乳糖细粒")的经研磨或微粉化的结晶α-乳糖单水合物(例如以Lactohale®300商购)或X90<30μm或X50≤5μm或1.0-3.0μm(例如以Lactohale®230商购)。也可以选择具有相似性质和粒度的经精细研磨或微粉化乳糖,例如Meggle Inhalac®500。材料和粉末混合物的粒度分布通常是通过激光衍射光谱学、显微技术或常规筛分分析和分类病因学[B.Y.Shekunov,P.Chattopadhyay,H.H.Y.Tong和A.H.L.Chow,Particle size analysis in pharmaceutics,Pharm.Res.2007,24(2),S203-S227](另见D.4)来进行测量。

[0375] 下表6中总结了针对吸入质量的根据本发明的可商购乳糖(例如Lactohale®100、Lactohale®300)的粒度分布。

[0376] 表6:根据本发明的吸入用乳糖的粒度分布(规格)

[0377]

	粗乳糖	细乳糖
商品名	Lactohale® 100	Lactohale® 300
粒度上限 X90	200 - 250 μm	≤ 10 μm
粒度平均 X50	125 - 145 μm	≤ 5 μm
粒度下限 X10	45 - 65 μm	未限定
商品名	Lactohale® 200	
粒度上限 X90	120 - 160 μm	
粒度平均 X50	50 - 100 μm	
粒度下限 X10	5 - 15 μm	
商品名	Lactohale® 206	Lactohale® 230
粒度上限 X90	115 - 170 μm	< 30 μm
粒度平均 X50	75 - 95 μm	< 10 μm
粒度下限 X10	20 - 50 μm	1.0 – 3.0 μm

[0378] 根据本发明的干粉吸入用固体制品含有粗乳糖(例如Lactohale®100)和细乳糖(例如Lactohale®300)的混合物。

[0379] 本发明人发现,粗乳糖粒度可以在一定范围内有所不同,但不会危及根据本发明的基于载体的制剂的气溶胶性能或掺合物均匀性。

[0380] 根据本发明,粗乳糖的粒度为X90＝200-250μm或120-160μm或115-170μm,或115-250μm。此外,根据本发明,粗乳糖的粒度为X90≤250μm或≤170μm或≤160μm。此外,根据本发明,粗乳糖的粒度为X90为至少或≥115μm或为至少或≥120μm或为至少或≥200μm。

[0381] 根据本发明,粗乳糖的粒度为X50＝125-145μm或50-100μm或75-95μm或50-145μm。此外,根据本发明,粗乳糖的粒度为X50≤145μm或≤100μm或≤95μm。此外,根据本发明,粗乳糖的粒度为X50为至少或≥50μm或为至少或≥75μm或为至少或≥125μm和/或X10＝45-65μm或5-15μm或20-50μm。

[0382] 根据本发明,细乳糖的粒度为X90＝≤10μm或<30μm,X50≤5μm或1.0-3.0μm。通过采用具有固有细粒含量的Lactohale200®,无需向乳糖载体添加任何其他乳糖细粒。因此,本发明的基于载体的制剂可用Lactohale200®或具有固有乳糖细粒含量的类似乳糖产品来进行配制。

[0383] 根据本发明,Lactohale100®和Lactohale300®是优选的。

[0384] 此外,本发明人发现,根据本发明的吸入用制剂的优异气溶胶性能是通过在干粉掺合物中调整细乳糖的特定含量和粗乳糖的特定含量来实现的。

[0385] 本发明人确定乳糖载体的细乳糖含量是一个重要的关键参数。为了获得根据本发明的以优异气溶胶性能为特征的吸入用制剂,细乳糖的含量应该在某个范围内进行选择。例如,发现粉末掺合物/乳糖载体中细乳糖含量越高(例如20%或更多的含量)对掺合物均匀性有负面影响(参见例如比较例20)。已经证明,根据本发明的粉末掺合物和制剂可以具有在1%和10%之间、也可以在5%和10%之间的范围内变化的细乳糖含量,而细乳糖含量也可以是吸入用乳糖的固有部分,即计算为X10为5-15μm,如在Lactohale2000®的情况下(参见实施方案34),但并未危及气溶胶性能。

[0386] 根据本发明,粉末掺合物中的细乳糖含量介于1%至10%,优选介于5%至10%,优

选介于2.5%至7.5%,优选介于5%至7.5%,更优选5%。

[0387] 然而,本发明人发现,可以将细粒含量调节到至多15%而不会危及气溶胶性能。因此,这个范围也希望涵盖在本发明中。

[0388] 本发明人也确定粉末掺合物的粗乳糖含量是一个重要参数。为了获得根据本发明的以优异气溶胶性能为特征的吸入用制剂,粗乳糖的含量应在某个范围内进行选择。

[0389] 根据本发明,粉末掺合物中的粗乳糖含量介于98.25%至75%,优选介于94.25%至75%,优选介于92.00%至75%,更优选介于90.00%至75%并且特别优选介于90%至85%。

[0390] 由于根据本发明的干粉掺合物是三元混合物,所有三种组分都需要以明确的最大粒度和某个特定比率的形式提供。

[0391] 本发明人发现,通过选择细乳糖和粗乳糖与活性成分的特定比率,可以实现根据本发明的吸入用制剂的优异气溶胶性能。

[0392] 根据本发明,在粉末掺合物中粗乳糖与细乳糖的比率介于445:5至65:5,优选介于94.25:5至65:5,优选介于94.25:5至75:5、91.75:7.5至89.25:10,优选介于92:5至75:5,特别优选为92:5、85:5以及75:5的比率。

[0393] 根据本发明,在粉末掺合物中,式(I)或(I-M-I)的活性成分与粗乳糖的比率介于1:126至1:3.8,优选介于1:31至1:3.8。

[0394] 根据本发明,在粉末掺合物中,式(I)或(I-M-I)的活性成分与细乳糖的比率介于1:13至1:0.1,优选介于1:13至1:0.25,优选介于1:1.67至1:0.25。

[0395] 其他赋形剂

[0396] 根据本发明的制品通常可含有其他药理学上可接受的赋形剂,尤其包括载体(例如吸入级乳糖、乳糖单水合物、甘露糖醇)、分散剂、润湿剂、润滑剂(例如硬脂酸镁)、表面活性化合物(例如月桂基硫酸钠、二硬脂酰磷脂酰胆碱)、离子化合物(例如氯化钙、氯化钠、氯化钾)、合成和天然聚合物(例如角叉菜胶、羟丙基甲基纤维素、明胶)或pH调节剂(例如氢氧化钠、氯化钠、柠檬酸盐、柠檬酸三钠)、着色剂(例如无机颜料,例如氧化铁或氧化钛)。

[0397] 空腔

[0398] 根据本发明,包含呈其单水合物形式I-M-I或I-M-II形式的活性成分和乳糖的干粉掺合物可以经由干粉吸入器施用,干粉吸入器为例如单次单位剂量吸入器(其中每个剂量在使用之前被装载至装置中)、多次单位剂量吸入器(其中数个单次剂量被单独密封(预先计量)并且可以在每次启动之前被排到给药室中),或贮器多次单位剂量吸入器(其中大量补给的药物被预先装载到装置中并且在每次启动之前(由装置计量)被排到给药室中)。优选地,根据本发明的干粉掺合物是经由配备/装载空腔的单次单位剂量吸入器进行施用,空腔为例如包含干粉掺合物的胶囊或泡壳。优选地,空腔是单独的胶囊,优选为明胶或羟丙基甲基纤维素的硬胶囊,最优选为羟丙基甲基纤维素胶囊。

[0399] 将包含根据实施例2或4的微粉化活性成分(例如式(I-M-I)的单水合物I或式(I-M-II)的单水合物II)的干粉掺合物填充到硬胶囊(羟丙基甲基纤维素=羟丙甲纤维素=HPMC,例如3号)或由硬明胶或其他合适材料制成的替代胶囊。医药硬胶囊尺寸是标准化的,并依据明确的度量来表征,例如,3号胶囊的长度为157mm并且直径为57mm,而2号胶囊的长度为176mm并且直径为62mm,1号胶囊的长度为194mm并且直径为68mm。

[0400] 根据填充重量和活性成分浓度,可以获得不同的标称剂量。具有不同标称剂量的活性成分(例如根据实施例2或4,式(I-M-I)的单水合物I或式(I-M-II)的单水合物II)的示例性胶囊组合物提供于示例性实施方案1-3中并如下表7中所示。

[0401] 表7:根据本发明的具有明确标称剂量的制剂实施例(硬胶囊中的填充粉末)。

[0402]

	示例性实施方案 1	示例性实施方案 2	示例性实施方案 3
标称剂量	120μg	480μg	1000μg
粉末掺合物中的活性成分(实施例 4)浓度	0.75%	3%	10%
填充重量	16 mg	16mg	10 mg

[0403] 在肺内施用时,活性成分(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,优选(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸单水合物I(参见实施例4)的量(标称剂量)为每次吸入约10μg至50000μg,优选每次吸入约100μg至10000μg,更优选每次吸入约100至6000μg,又更优选每次吸入约120至4000μg,又更优选每次吸入约200至4000μg,非常特别优选约240μg至4000μg,非常特别优选约240μg至2000μg,非常特别优选约240μg至1000μg,非常特别优选约240μg至480μg,非常特别优选约480μg至4000μg,非常特别优选约480μg至2000μg,非常特别优选约480μg至1000μg,非常特别优选约1000μg至4000μg,非常特别优选约1000μg至2000μg,非常特别优选约1000μg,非常特别优选约2000μg,非常特别优选约4000μg。

[0404] 根据本发明,3号空腔(优选硬胶囊,非常优选基于HMPC的硬胶囊)含有填充质量为8-40mg的吸入用制剂,优选填充质量为10-30mg的吸入用制剂,更优选填充质量为10-20mg的吸入用制剂,更优选填充质量为16-20mg的吸入用制剂。

[0405] 根据本发明,最优选的是以下组成:

[0406] 表8:根据本发明的包含干粉掺合物的最终胶囊制剂,基于百分比

[0407]

标称剂量	胶囊,例如 HMPC	粉末填充质量	粉末掺合物中的 API 含量(%)	粗乳糖含量(%)	细乳糖含量(%)	比率 API:粗乳糖	比率 API:细乳糖
480μg	3 号	16 mg	3 %	92 %	5 %	1:31	1:1.67
1000μg	3 号	10 mg	10%	89 %	1 %	1:8.9	1:0.1
1000μg	3 号	10 mg	10%	87.5%	2.5%	1:8.75	1:0.25
1000μg	3 号	10 mg	10 %	85 %	5 %	1:8.5	1:0.5
2000μg	3 号	20 mg	10 %	85 %	5 %	1:8.5	1:0.5
3000μg	3 号	30 mg	10 %	85 %	5 %	1:8.5	1:0.5
4000μg	3 号	40 mg	10 %	85 %	5 %	1:8.5	1:0.5
2000μg	3 号	10 mg	20 %	75 %	5 %	1:3.8	1:0.25

[0408]

3000μg	3 号	15 mg	20 %	75 %	5 %	1:3.8	1:0.25
4000μg	3 号	20 mg	20 %	75 %	5 %	1:3.8	1:0.25

[0409] 根据本发明,在粉末掺合物中,式(I)或(I-M-I)活性成分含量为3%的粉末掺合物包含480μg式(I)或(I-M-I)活性成分、92%粗乳糖和5%细乳糖,并且可按16mg粉末掺合物的质量被填充在硬胶囊(优选3号HMPC胶囊)中,并且其然后可以经由“单次单位剂量”吸入器施用,吸入器例如优选为Plastiape(Berry)RS01低阻力装置。

[0410] 根据本发明,在粉末掺合物中,式(I)或(I-M-I)活性成分含量为10%的粉末掺合物包含1000μg、2000μg、3000μg或4000μg式(I)或(I-M-I)活性成分,85%粗乳糖和5%细乳糖,并且可(按10mg、20mg、30mg或40mg粉末掺合物的对应质量)被填充在硬胶囊(优选3号HMPC胶囊)中,并且其然后可以经由“单次单位剂量”吸入器施用,吸入器例如优选为Plastiape(Berry)RS01低阻力装置。

[0411] 根据本发明,在粉末掺合物中,式(I)或(I-M-I)活性成分含量为20%的粉末掺合物包含2000μg、3000μg或4000μg式(I)或(I-M-I)活性成分,75%粗乳糖和5%细乳糖,并且可(按10mg、15mg或20mg粉末掺合物的对应质量)被填充在硬胶囊(优选3号HMPC胶囊)中,并且其然后可以经由“单次单位剂量”吸入器施用,吸入器例如优选为Plastiape(Berry)RS01低阻力装置。

[0412] 表9:根据本发明的包含干粉掺合物的最终胶囊制剂,基于质量的表征:

[0413]

标称剂量	胶囊	粉末填充质量	粉末掺合物中的 API 含量(mg/g)	粗乳糖含量(mg)	细乳糖含量(mg)	比率 API:粗乳糖	比率 API:细乳糖
480μg	3 号	16 mg	30 mg/g	14.72 mg	0.8 mg	1:31	1:1.67
1000μg	3 号	10 mg	100 mg/g	8.9 mg	0.1 mg	1:8.9	1:0.1
1000μg	3 号	10 mg	100 mg/g	8.75 mg	0.25 mg	1:8.75	1:0.25
1000μg	3 号	10 mg	100 mg/g	8.5 mg	0.5 mg	1:8.5	1:0.5
2000μg	3 号	20 mg	100 mg/g	17.0 mg	1.0 mg	1:8.5	1:0.5
3000μg	3 号	30 mg	100 mg/g	25.5 mg	1.5 mg	1:8.5	1:0.5

[0414]

4000μg	3 号	40 mg	100 mg/g	34.0 mg	2.0 mg	1:8.5	1:0.5
2000μg	3 号	10 mg	200 mg/g	7.5 mg	0.5 mg	1:3.8	1:0.25
3000μg	3 号	15 mg	200 mg/g	11.25 mg	0.75 mg	1:3.8	1:0.25
4000μg	3 号	20 mg	200 mg/g	15.0 mg	1.0 mg	1:3.8	1:0.25

[0415] 根据本发明,在粉末掺合物中,式(I)或(I-M-I)活性成分含量为30mg/g的粉末掺合物包含480μg式(I)或(I-M-I)活性成分、14.72mg粗乳糖和0.8mg细乳糖,并且可按16mg粉末掺合物的质量被填充在硬胶囊(优选3号HMPC胶囊)中,并且其然后可以经由“单次单位剂量”吸入器施用,吸入器例如优选为Plastiape(Berry)RS01低阻力装置。

[0416] 根据本发明,在粉末掺合物中,式(I)或(I-M-I)活性成分含量为100mg/g的粉末掺合物包含1000μg、2000μg、3000μg或4000μg式(I)或(I-M-I)活性成分、8.9mg、8.75mg、8.5mg、17.0mg、25.5mg或34.0mg粗乳糖和0.1mg、0.25mg、0.5mg、1.0mg、1.5mg或2.0mg细乳糖,并且可(按10mg、20mg、30mg或40mg粉末掺合物的对应质量)被填充在硬胶囊(优选3号HMPC胶囊)中,并且其然后可以经由“单次单位剂量”吸入器施用,吸入器例如优选为Plastiape(Berry)RS01低阻力装置。

[0417] 根据本发明,在粉末掺合物中,式(I)或(I-M-I)活性成分含量为200mg/g的粉末掺

合物包含2000μg、3000μg或4000μg式(I)或(I-M-I)活性成分、7.5mg、11.25mg或15.0mg粗乳糖和0.5mg、0.75mg或1.0mg细乳糖,并且可(按10mg、15mg或20mg粉末掺合物的对应质量)被填充在硬胶囊(优选3号HMPC胶囊)中,并且其然后可以经由“单次单位剂量”吸入器施用,吸入器例如优选为Plastiape(Berry)RS01低阻力装置。

[0418] 制造方法

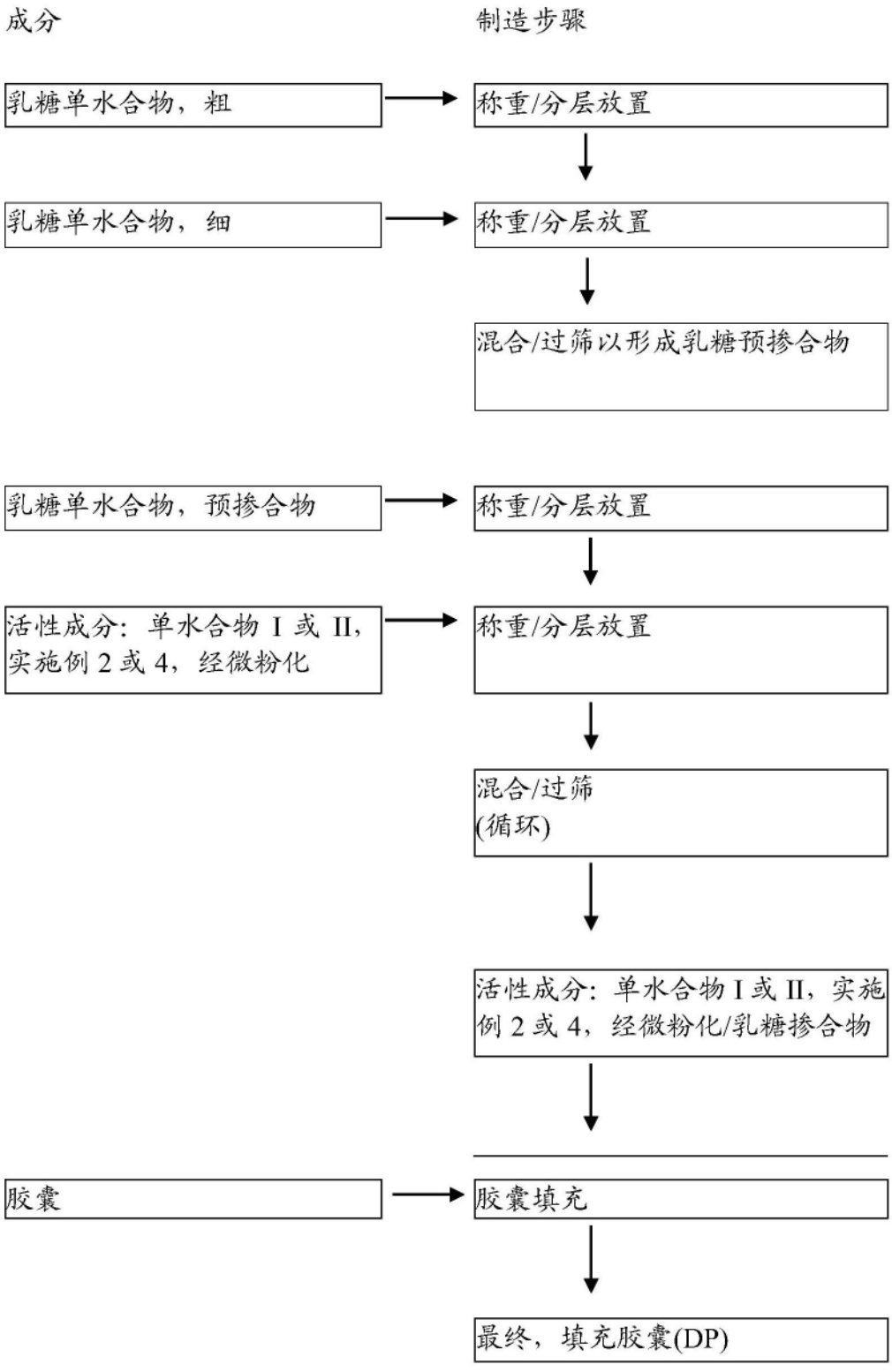
[0419] 根据本发明的制品通常可以通过将活性成分微粉化并任选地将经微粉化的活性成分与非活性载体化合物掺合来制备,正如制造呈粉末形式的可吸入自由流动药剂中常见的那样。

[0420] 根据本发明的化合物可以转化为所述的施用形式。这可以按本身已知的方式通过与惰性、无毒、药学上合适的赋形剂混合来进行。

[0421] 干粉制剂和成品(填充干粉掺合物的硬胶囊)是根据以下流程图和说明进行制造。

[0422] 表10:

[0423]



[0424]

[0425] 步骤1：

[0426] 在开始混合之前，将细乳糖部分称重并分层放置(layered)在两层粗乳糖之间。

[0427] 步骤2：

[0428] 乳糖预掺合物的混合是在滚筒混合器中以72rpm、67rpm或34rpm或32rpm或30rpm、优选32rpm进行2次(2个循环)，持续20分钟。乳糖预掺合物在循环之间通过500μg筛网进行过筛。

[0429] 步骤3:

[0430] 活性成分:单水合物I或II(实施例2或4,经微粉化)通过500μm筛网进行过筛,并被加入预掺合乳糖中。在开始混合循环之前,将乳糖预掺合物和活性成分以6层乳糖预掺合物和5层活性成分(单水合物I或II,实施例2或4)交替分层放置。

[0431] 步骤4:

[0432] 各组分在滚筒混合器(例如玻璃或不锈钢,优选不锈钢)中以数个循环进行混合,例如3-5个循环,优选3个循环。每个循环以72rpm、67rpm、34rpm或32rpm,优选32rpm进行20-30分钟,优选30分钟(90分钟总混合时间),优选32rpm持续30分钟,混合循环之间有10分钟的休息时间。如果有需要(例如可见团聚物),可分别在掺合循环之间将掺合物过筛。

[0433] 步骤5:

[0434] 在不锈钢容器中,将掺合物在室温(15-25℃)和35-65%相对湿度下静置某一段时间,优选24-72小时,更优选48小时。

[0435] 步骤6:

[0436] 使用胶囊填充机(例如MG2 Flexalab),将掺合物按所需的填充重量填充到胶囊中。

[0437] 吸入器装置

[0438] 在本发明的上下文中,例如实施例2或4的sGC活化剂是通过干粉吸入器装置以干粉或干粉制剂来施用。

[0439] 在本发明的上下文中,优选的干粉吸入器装置被定义为基于胶囊的单次单位剂量吸入器,其是预先计量的吸入装置(参见图3a和图3b)。在本发明的上下文中,剂量是使用Plastiape(Berry)RS01低阻力装置施用的。这个装置(以更高的阻力类型)公开并描述于在出版物(ELKINS等人,Inspiratory Flows and Volumes in Subjects with Cystic Fibrosis Using a New Dry Powder Inhaler Device,The Open Respiratory Medicine Journal,2014,8,1-7以及ELKINS等人,Inspiratory Flows and Volumes in Subjects with Non-CF Bronchiectasis Using a New Dry Powder Inhaler Device,The Open Respiratory Medicine Journal,2014,8,8-13)中,其涉及治疗其他患者群体,例如囊性纤维化(CF)或非CF支气管扩张症。

[0440] 通过将填充有干粉制剂的单个胶囊插入装置中来操作吸入器。按下两个钮(按钮)以刺破胶囊,并且使用者将嘴放在吸嘴周围并深深且用力地吸气。吸入产生的能量将药物制品从胶囊中拉出,使粉末分散成气溶胶,活性成分颗粒从乳糖载体颗粒被释放出来并将其带入呼吸道。取出并丢弃用过的胶囊。根据患者的治疗要求和临床装置的对应标记,可以重复使用所述装置。所施用的胶囊数量决定了用药的剂量。

[0441] 其他预先计量的干粉吸入装置(例如基于泡壳条状包装(blister strip)的多次单位剂量装置)也可用于优选的施用方法,并且如果气溶胶路径具有类似的设计或性质(例如装置阻力并且以明确的流速压降),则可能产生类似的结果。

[0442] 在本发明的上下文中,还公开了装置,其包含含有实施例4的制品,或者可具有将这些制品并入胶囊或泡壳中并且适于以固体形式吸入施用的容器(即气雾器,其能够通过吸入施用呈固体形式的含有活性成分的制品:活性成分为例如单水合物I或II,实施例2或4(粉末吸入器))。

[0443] 在肺内施用时,每天施用一次或两次活性化合物(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢-喹啉-2-甲酸,优选每天两次,特别优选每天一次。

[0444] 然而,在适当的情况下可能有必要偏离所述量,特别是与体重、施用途径、对活性化合物的个别反应、制品类型和施用发生的时间或间隔有关。因此,在一些情况下,使用少于上述最小量可能就足够了,而在其他情况下,必须超过上述上限。在施用相对大量的情况下,建议在一天中以多个单次剂量分配这些。

[0445] 本发明(制剂)的特定实施方案

[0446] 1.一种吸入用制剂,其特征在于所述制剂含有由以下组成的干粉掺合物

[0447] a)(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,呈其盐或溶剂化物或水合物中之一的形式

[0448] b)乳糖载体,浓度按重量计为99.25%(w/w)至80%(w/w),

[0449] 其进一步特征在于

[0450] c)呈其盐或溶剂化物或水合物中之一的形式的活性成分(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸具有X90≤6μm和/或X50介于1和3μm的粒度

[0451] d)所述乳糖载体为吸入用乳糖单水合物

[0452] 其进一步特征在于

[0453] e)所述乳糖具有X90≥120μm;和/或X50≥50μm和/或X10 5-15μm的粒度。

[0454] 2.根据权利要求1所述的吸入用制剂,其特征在于所述制剂含有式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,呈其选自由式(I-M-I)的单水合物I或式(I-M-II)的单水合物II或倍半水合物组成的列表的结晶变体之一的形式,其中所述式(I-M-I)化合物的X射线粉末衍射图(在25℃下测量并利用Cu-Kα1作为辐射源)包含至少在以下的峰:12.8和29.2,优选6.9、7.2、7.3、12.8和29.2,以2θ值±0.2°引用,或者其中所述式(I-M-II)化合物的X射线粉末衍射图(在25℃下测量并利用Cu-Kα1作为辐射源)包含至少在以下的峰:12.7、5.7、6.1和7.1,或12.7、5.7和8.5,或者其中呈其倍半水合物形式的化合物的X射线粉末衍射图(在25℃下测量并利用Cu-Kα1作为辐射源)包含至少在以下的峰:12.2和7.6,或12.2、8.6和14.5,以2θ值±0.2°引用。

[0455] 3.根据权利要求1至2中任一项所述的吸入用制剂,其特征在于所述制剂含有由以下组成的干粉掺合物

[0456] a)呈式(I-M-I)的单水合物I或式(I-M-II)的单水合物II形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,优选式(I-M-I)的单水合物I作为活性成分,其中所述式(I-M-I)的单水合物形式I的X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)展现至少以下反射:12.8和29.2,优选6.9、7.2、7.3、12.8和29.2,以2θ值±0.2°引用,浓度按重量计为0.75%(w/w)至20%(w/w),其与以下组合

[0457] b)乳糖载体,浓度按重量计为99.25%(w/w)至80%(w/w),

[0458] 其进一步特征在于

[0459] c)呈式(I-M-I)的单水合物I或式(I-M-II)的单水合物II形式的活性成分(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸具有X90≤6μm和/或X50介于1和3μm的粒度

[0460] d)所述乳糖载体为吸入用乳糖单水合物,由粗乳糖与细乳糖组成

[0461] 其进一步特征在于

[0462] e)所述粗乳糖具有X50≥50μm或≥75μm或≥125μm的粒度

[0463] f)所述细乳糖具有X50<10μm或≤5μm的粒度

[0464] g)其中所述干粉掺合物的粗乳糖含量介于98.25%和75%,优选介于94.25%和75%。

[0465] 4.根据权利要求1至3中任一项所述的吸入用制剂,其特征在于

[0466] e)所述粗乳糖具有X50≤145μm或≤100μm或≤95μm的粒度

[0467] f)所述细乳糖具有X50<10μm或≤5μm的粒度。

[0468] 5.根据权利要求1至4中任一项所述的吸入用制剂,其特征在于

[0469] e)所述粗乳糖具有X90≥115μm或为至少或≥120μm或为至少或≥200μm的粒度

[0470] f)所述细乳糖具有X90<30μm或≤10μm的粒度。

[0471] 6.根据权利要求1至5中任一项所述的吸入用制剂,其特征在于

[0472] e)所述粗乳糖具有≤250μm或≤170μm或≤160μm的粒度,以及

[0473] f)所述细乳糖具有X90<30μm或≤10μm的粒度。

[0474] 7.根据权利要求1至6中任一项所述的吸入用制剂,其特征在于

[0475] 制造所述制剂的方法

[0476] j)确实涉及在混合循环之间进行过筛或不进行过筛,优选不进行过筛并且在混合循环之间至少有10min的休息时间。

[0477] 8.根据权利要求1至6中任一项所述的吸入用制剂,其特征在于

[0478] 在制造所述制剂的方法期间

[0479] k)不使用玻璃容器而使用不锈钢容器。

[0480] 9.根据权利要求1至8中任一项所述的吸入用制剂,

[0481] 其特征在于在干粉掺合物中,细乳糖的含量介于1%至多达15%、1%至10%,或5%至10%。

[0482] 10.根据权利要求1至9中任一项所述的吸入用制剂,

[0483] 其特征在于活性成分与粗乳糖的比率介于1:126和1:3.8。

[0484] 11.根据权利要求1至10中任一项所述的吸入用制剂,

[0485] 其特征在于活性成分与粗乳糖的比率介于1:31和1:3.8。

[0486] 12.根据权利要求1至11中任一项所述的吸入用制剂,

[0487] 其特征在于活性成分与粗乳糖的比率为1:31。

[0488] 13.根据权利要求1至12中任一项所述的吸入用制剂,

[0489] 其特征在于活性成分与粗乳糖的比率为1:8.5。

[0490] 14.根据权利要求1至13中任一项所述的吸入用制剂,

[0491] 其特征在于活性成分与粗乳糖的比率为1:3.8。

[0492] 15.根据权利要求1至14中任一项所述的吸入用制剂,其特征在于活性成分与细乳糖的比率介于1:13和1:0.1。

[0493] 16.根据权利要求1至15中任一项所述的吸入用制剂,其特征在于活性成分与细乳糖的比率介于1:1.67和1:0.25。

[0494] 17.根据权利要求1至16中任一项所述的吸入用制剂,其特征在于活性成分与细乳糖的比率为1:1.67。

[0495] 18.根据权利要求1至17中任一项所述的吸入用制剂,其特征在于活性成分与细乳糖的比率为1:0.5。

[0496] 19.根据权利要求1至18中任一项所述的吸入用制剂,其特征在于活性成分与细乳糖的比率为1:0.25或为1:0.1。

[0497] 20.根据权利要求1至19中任一项所述的吸入用制剂,其特征在于粗乳糖与细乳糖的比率介于445:5至65:5,或介于94.25:5至65:5。

[0498] 21.根据权利要求1至20中任一项所述的吸入用制剂,其特征在于粗乳糖与细乳糖的比率为92:5。

[0499] 22.根据权利要求1至21中任一项所述的吸入用制剂,其特征在于粗乳糖与细乳糖的比率为85:5。

[0500] 23.根据权利要求1至22中任一项所述的吸入用制剂,其特征在于粗乳糖与细乳糖的比率为75:5。

[0501] 24.根据权利要求1至23中任一项所述的吸入用制剂,其特征在于所述活性成分为呈式(I-M-I)的单水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸。

[0502] 25.根据权利要求1至24中任一项所述的吸入用制剂,其特征在于所述活性成分式(I-M-I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸单水合物I具有X50＝1-3μm的粒度。

[0503] 26.根据权利要求1至25中任一项所述的吸入用制剂,其特征在于所述活性成分为呈式(I-M-II)的单水合物II形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸。

[0504] 27.根据权利要求1至26中任一项所述的吸入用制剂,其特征在于所述活性成分呈式(I-M-II)的单水合物II形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸具有X50＝1-3μm的粒度。

[0505] 28.根据权利要求1至27中任一项所述的吸入用制剂,其特征在于所述活性成分式(I-M-I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸单水合物I具有X10＝最大值1μm的粒度。

[0506] 29.根据权利要求1至28中任一项所述的吸入用制剂,其特征在于细乳糖具有X50≤10μm或X50＝≤5μm的粒度。

[0507] 30.根据权利要求1至29中任一项所述的吸入用制剂,其特征在于所述细乳糖是Lactohale®300或Lactohale®230。

[0508] 31.根据权利要求1至30中任一项所述的吸入用制剂,其特征在于所述粗乳糖呈经

过筛或经研磨的结晶乳糖形式。

[0509] 32.根据权利要求1至31中任一项所述的吸入用制剂,其特征在于所述粗乳糖具有X90＝200-250μm或120-160μm或115-170μm的粒度。

[0510] 33.根据权利要求1至32中任一项所述的吸入用制剂,其特征在于所述粗乳糖具有X50＝125-145μm或50-100μm或75-95μm的粒度。

[0511] 34.根据权利要求1至33中任一项所述的吸入用制剂,其特征在于所述粗乳糖具有X10＝45-65μm或5-15μm或20-50μm的粒度。

[0512] 35.根据权利要求1至34中任一项所述的吸入用制剂,其特征在于所述细乳糖具有X90≤10μm或<30μm的粒度。

[0513] 36.根据权利要求1至35中任一项所述的吸入用制剂,其特征在于所述细乳糖具有X50≤5μm或≤10μm的粒度。

[0514] 37.根据权利要求1至36中任一项所述的吸入用制剂,其特征在于所述粗乳糖具有X10＝1-3μm的粒度。

[0515] 38.根据权利要求1至37中任一项所述的吸入用制剂,其特征在于所述粗乳糖是Lactohale®100、Lactohale®200或Lactohale®206。

[0516] 39.根据权利要求1至38中任一项所述的吸入用制剂,其特征在于它含有标称剂量为60μg-6000μg的呈式(I-M-I)的单水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸。

[0517] 40.根据权利要求1至39中任一项所述的吸入用制剂,其特征在于它含有标称剂量为240-4000μg的呈式(I-M-I)的单水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸。

[0518] 41.根据权利要求1至40中任一项所述的吸入用制剂,其特征在于它含有标称剂量为480-4000μg的呈式(I-M-I)的单水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸。

[0519] 42.根据权利要求1至41中任一项所述的吸入用制剂,其特征在于它含有标称剂量为480-2000μg的呈式(I-M-I)的单水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸。

[0520] 43.根据权利要求1至42中任一项所述的吸入用制剂,其特征在于它含有标称剂量为480-1000μg的呈式(I-M-I)的单水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸。

[0521] 44.根据权利要求1至43中任一项所述的吸入用制剂,其特征在于它含有标称剂量为240μg、480μg、1000μg、2000μg或4000μg的呈式(I-M-I)的单水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸。

[0522] 45.根据权利要求1至44中任一项所述的吸入用制剂,其特征在于在所述干粉掺合物中,所述粗乳糖含量为98.25%至75%,或优选介于94.25%至75%,或更优选90.00%至75%或更优选90%至85%,并且在所述干粉掺合物中,所述细乳糖含量为1.0.%至15%,或优选1%至10%,优选介于5%至10%,或更优选2.5%-7.5%,优选介于5%至7.5%,或更优选3-7%或更优选4%-6%。

[0523] 46.根据权利要求1至45中任一项所述的吸入用制剂,其特征在于它具有90-110%、优选95-105%(m/m)的掺合物测定,以及RSD(=相对标准偏差)(n=10)为NMT(=不超过)10%、优选7.5%、更优选5%的掺合物均匀性。

[0524] 47.根据权利要求1至46中任一项所述的吸入用制剂,其特征在于通过级联冲击和剂量单位取样装置(DUSA)测量,它具有≥20%活性成分的FPF(活性成分标称剂量的%,<4.5μm)和≥30%活性成分的FPF(活性成分的DD%,<4.5μm)。

[0525] 48.根据权利要求1至47中任一项所述的填充至硬胶囊的吸入用制剂,其特征在于根据活性成分浓度和胶囊填充质量,它具有8-780μg的最小细粒剂量。

[0526] 49.根据权利要求1至48中任一项所述的填充至硬胶囊的吸入用制剂,其特征在于根据活性成分浓度和胶囊填充质量,它具有26-3315μg的最小递送剂量。

[0527] 50.一种包含根据权利要求1至49中任一项所述的吸入用制剂的空腔,其可以经由干粉吸入器被施用于有需要的患者。

[0528] 51.根据权利要求50所述的空腔,其为胶囊或泡壳条状包装。

[0529] 52.根据权利要求50所述的空腔,其为胶囊。

[0530] 53.根据权利要求50至52中任一项所述的空腔,其特征在于它含有填充质量为8-40mg的干粉掺合物。

[0531] 54.根据权利要求50至52中任一项所述的空腔,其特征在于它含有填充质量为10-30mg的吸入用制剂。

[0532] 55.根据权利要求50至52中任一项所述的空腔,其特征在于它含有填充质量为10-20mg的吸入用制剂。

[0533] 56.根据权利要求50至52中任一项所述的空腔,其特征在于它含有填充质量为16-20mg的吸入用制剂。

[0534] 57.一种用于制造根据权利要求1至49中任一项所述的吸入用制剂的制造方法,

[0535] 其特征在于

[0536] a.在第一步骤1)中

[0537] 在开始混合两种乳糖组分之前,将细乳糖称重并分层放置在两层粗乳糖之间,

[0538] b.在第二步骤2)中

[0539] 2种组分的掺合是在滚筒混合器中以72rpm、67rpm或34rpm或32rpm或30rpm进行2次(2个循环),持续20分钟,并且预掺合物在循环之间通过500μm筛网进行过筛,

[0540] c.在第三步骤3)中,式(I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,优选式(I-M-I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸单水合物I通过500μm筛网进行预过筛,并被加入如步骤A与B中所制造的乳糖预掺合物中,并且在开始混合前10层乳糖预掺合物和9层活性成分,6层乳糖预掺合物和其间5层活性成分(实施例4),或4层乳糖预掺合物和其间3层活性成分(实施例4),或2层乳糖预掺合物和其间1层活性成分(实施例4),优选6/5层交替分层放置,

[0541] d.在第四步骤4)中

[0542] 在容器(玻璃或不锈钢)中以3-5个循环(优选3个循环)混合步骤3)中获得的预分

层掺合物,以72rpm、67rpm、34rpm或32rpm,优选32rpm进行20-30分钟,优选30分钟(90分钟总混合时间),混合循环之间有10分钟的休息时间,其特征在于

[0543] 在步骤4)中得到的产物是在不锈钢容器中进行混合,

[0544] 其中所述掺合物在每个混合循环之间进行过筛或优选在混合循环之间未将所述掺合物过筛,

[0545] e.在第五步骤E中,在不锈钢容器中,将步骤4)中得到的产物在室温(15-25℃)和35-65%相对湿度下静置某段时间,优选24-72小时,更优选48小时,然后进行掺合物均匀性取样与最终胶囊填充,

[0546] f.在第六步骤6)中,步骤E中获得的干粉掺合物最后被填充到胶囊中。

[0547] 58.根据权利要求1至49中任一项所述的吸入用制剂的用途,其用于制造用以治疗心肺病症的药剂,其特征在于向有需要的患者每天一次或两次施用包含吸入性剂型的药剂持续一段至少连续两天的时间,所述吸入性剂型包含240至4000μg呈式(I-M-I)的单水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,其中所述式(I-M-I)的单水合物形式I的x射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)展现至少以下反射:6.9、7.2、7.3、12.8和29.2,以2θ值±0.2°引用。

[0548] 59.根据权利要求1至49中任一项所述的吸入用制剂的用途,其用于治疗心肺病症,其特征在于向有需要的患者每天一次或两次施用吸入性剂型持续一段至少连续两天的时间,所述吸入性剂型包含240至4000μg呈式(I-M-I)的其结晶变体单水合物I形式的式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,其中所述化合物的X射线粉末衍射图(在25℃下测量并利用Cu-Kα1作为辐射源)包含至少在以下的峰:12.8和29.2,优选6.9、7.2、7.3、12.8和29.2,以2θ值±0.2°引用。

[0549] 60.根据权利要求1至49中任一项所述的吸入用制剂在心肺病症治疗方法中的用途,其特征在于向有需要的患者每天一次或两次施用吸入性剂型持续一段至少连续两天的时间,所述吸入性剂型包含240至4000μg呈式(I-M-I)的其结晶变体单水合物I形式的式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,其中所述化合物的X射线粉末衍射图(在25℃下测量并利用Cu-Kα1作为辐射源)包含至少在以下的峰:12.8和29.2,优选6.9、7.2、7.3、12.8和29.2,以2θ值±0.2°引用。

[0550] 61.一种用于吸入性治疗心肺病症的药剂,其特征在于它包含吸入性剂型,所述吸入性剂型包含240至4000μg呈选自由式(I-M-I)的单水合物I或式(I-M-II)的单水合物II或倍半水合物组成的列表的其结晶变体之一形式的式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,其中所述式(I-M-I)化合物的X射线粉末衍射图(在25℃下测量并利用Cu-Kα1作为辐射源)包含至少在以下的峰:12.8和29.2,优选6.9、7.2、7.3、12.8和29.2,以2θ值±0.2°引用,或者其中所述式(I-M-II)化合物的X射线粉末衍射图(在25℃下测量并利用Cu-Kα1作为辐射源)包含至少在以下的峰:12.7、5.7、6.1和7.1,或12.7、5.7和8.5,或者其中呈其倍半水合物形式的化合物的X射线粉末衍射图(在25℃下测量并利用Cu-Kα1作为辐射源)包含至少

在以下的峰:12.2和7.6,或12.2、8.6和14.5,以2θ值±0.2°引用,并且其中所述吸入性剂型包含呈干粉形式的活性成分。

[0551] 62.一种用于吸入性治疗心肺病症的包装药物组合物,其特征在于它含有干粉吸入器和干粉制剂,所述干粉制剂包含240至4000μg呈选自由式(I-M-I)的单水合物I或式(I-M-II)的单水合物II或倍半水合物组成的列表的其结晶变体之一形式的式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,其中所述式(I-M-I)化合物的X射线粉末衍射图(在25℃下测量并利用Cu-Kα1作为辐射源)包含至少在以下的峰:12.8和29.2,优选6.9、7.2、7.3、12.8和29.2,以2θ值±0.2°引用,或者其中所述式(I-M-II)化合物的X射线粉末衍射图(在25℃下测量并利用Cu-Kα1作为辐射源)包含至少在以下的峰:12.7、5.7、6.1和7.1,或12.7、5.7和8.5,或者其中呈其倍半水合物形式的化合物的X射线粉末衍射图(在25℃下测量并利用Cu-Kα1作为辐射源)包含至少在以下的峰:12.2和7.6,或12.2、8.6和14.5,以2θ值±0.2°引用,其中所述包装含有以每天一次或两次的频率施用所述干粉制剂持续一段至少连续两天时间的说明书。

[0552] 本发明的更多特定实施方案(剂量方案)

[0553] 1.一种用于吸入性治疗心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,其特征在于包含240至4000μg呈其盐或溶剂化物或水合物中之一形式的式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸的吸入性剂型每天一次或两次被施用于有需要的患者持续一段至少连续两天的时间。

[0554] 2.一种用于吸入性治疗心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,其特征在于包含240至4000μg呈选自由式(I-M-I)的单水合物I或式(I-M-II)的单水合物II或倍半水合物组成的列表的其结晶变体之一形式的式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸的吸入性剂型每天一次或两次被施用于有需要的患者持续一段至少连续两天的时间,其中所述式(I-M-I)化合物的X射线粉末衍射图(在25℃下测量并利用Cu-Kα1作为辐射源)包含至少在以下的峰:12.8和29.2,优选6.9、7.2、7.3、12.8和29.2,以2θ值±0.2°引用,或者其中所述式(I-M-II)化合物的X射线粉末衍射图(在25℃下测量并利用Cu-Kα1作为辐射源)包含至少在以下的峰:12.7、5.7、6.1和7.1,或12.7、5.7和8.5,或者其中呈其倍半水合物形式的化合物的X射线粉末衍射图(在25℃下测量并利用Cu-Kα1作为辐射源)包含至少在以下的峰:12.2和7.6,或12.2、8.6和14.5,以2θ值±0.2°引用。

[0555] 3.根据权利要求1至2中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,其特征在于包含240至4000μg呈式(I-M-I)的其结晶变体单水合物I形式的式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸的吸入性剂型每天一次或两次被施用于有需要的患者持续一段至少连续两天的时间,其中所述化合物的X射线粉末衍射图(在25℃

下测量并利用Cu-Kα1作为辐射源)包含至少在以下的峰:12.8和29.2,优选6.9、7.2、7.3、12.8和29.2,以2θ值±0.2°引用。

[0556] 4.根据权利要求1至3中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,其特征在于包含240至4000μg呈式(I-M-I)的其结晶变体单水合物I的式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸的吸入性剂型每天一次或两次被施用于有需要的患者持续一段至少连续两天的时间,其中所述化合物的X射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)包含至少在以下的峰:12.8、16.0和25.8,优选6.9、7.2、7.3、12.8、16.0和25.8,以2θ值±0.2°引用。

[0557] 5.根据权利要求1至4中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,其特征在于包含240至4000μg呈式(I-M-I)的其结晶变体单水合物I形式的式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸的吸入性剂型每天一次或两次被施用于有需要的患者持续一段至少连续两天的时间,其在x射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)显示至少以下反射:12.8、20.5和25.8,优选6.9、7.2、7.3、12.8、20.5和25.8,以2θ值±0.2°引用。

[0558] 6.根据权利要求1至5中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,其特征在于包含240至4000μg呈式(I-M-I)的其结晶变体单水合物I形式的式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸的吸入性剂型每天一次或两次被施用于有需要的患者持续一段至少连续两天的时间,其在x射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)显示至少以下反射:12.8、5.7、6.9、7.2、7.3和9.9,以2θ值±0.2°引用。

[0559] 7.根据权利要求1至6中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,其特征在于包含240至4000μg呈式(I-M-I)的其结晶变体单水合物I形式的式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸的吸入性剂型每天一次或两次被施用于有需要的患者持续一段至少连续两天的时间,其在x射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)显示至少以下反射:12.8、5.7和16.0,优选12.8、5.7、6.9、7.2、7.3和16.0,以2θ值±0.2°引用。

[0560] 8.根据权利要求1至7中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,其特征在于包含240至4000μg呈式(I-M-I)的其结晶变体单水合物I形式的式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸的吸入性剂型每天一次或两次被施用于有需要的患者持续一段至少连续两天的时间,其在x射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-K

α1作为辐射源)显示至少以下反射:12.8、5.7和20.5,优选12.8、5.7、6.9、7.2、7.3和20.5,以2θ值±0.2°引用。

[0561] 9.根据权利要求1至8中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,其特征在于包含240至4000μg呈式(I-M-I)的其结晶变体单水合物I形式的式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸的吸入性剂型每天一次或两次被施用于有需要的患者持续一段至少连续两天的时间,其在x射线粉末衍射图(在25℃下并利用Cu-Kα1作为辐射源)包含至少以下反射:12.8、5.7和29.2,优选12.8、5.7、6.9、7.2、7.3和29.2,以2θ值±0.2°引用。

[0562] 10.根据权利要求1至9中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,其特征在于所述x射线粉末衍射图还包含在23.0、15.2、25.8和25.1的峰。

[0563] 11.根据权利要求1至10中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,其特征在于呈单水合物I形式的所述化合物具有如图6中所示的X射线粉末衍射图(在25℃下测量并利用Cu-Kα1作为辐射源)。

[0564] 12.根据权利要求1至11中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,其特征在于呈单水合物II形式的所述化合物具有如图7中所示的X射线粉末衍射图(在25℃下测量并利用Cu-Kα1作为辐射源)。

[0565] 13.根据权利要求1至12中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,其特征在于呈倍半水合物形式的所述化合物具有如图9中所示的X射线粉末衍射图(在25℃下测量并利用Cu-Kα1作为辐射源)。

[0566] 14.根据权利要求1至13中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,其特征在于呈式(I-M-I)的其结晶变体单水合物I形式的所述化合物在微粉化期间是稳定的。

[0567] 15.根据权利要求1至14中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,其特征在于所述化合物的X射线粉末衍射图(在25℃下测量并利用Cu-Kα1作为辐射源)包含至少在12.8的峰并且缺乏在27.2和27.5的峰,在2θ值±0.2°的衍射角度下。

[0568] 16.根据权利要求1至15中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,其特征在于所述化合物的X射线粉末衍射图(在25℃下测量并利用Cu-Kα1作为辐射源)包含至少在12.8和5.7的峰并且缺乏在8.5和6.1的峰,在2θ值±

0.2°的衍射角度下。

[0569] 17.根据权利要求1至16中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,其特征在于施用所述活性成分持续一段至少连续两天至七天的时间。

[0570] 18.根据权利要求1至17中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,其特征在于施用所述活性成分持续一段至少连续14天的时间,特别是从治疗开始后持续整个疾病过程。

[0571] 19.根据权利要求1至18中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,其特征在于所述吸入性剂型包含呈干粉形式的活性成分。

[0572] 20.根据权利要求1至19中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,其特征在于所述吸入性剂型包含呈胶囊内干粉形式的活性成分。

[0573] 21.根据权利要求1至20中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,其特征在于所述吸入性剂型是经由干粉吸入器施用。

[0574] 22.根据权利要求1至21中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,其特征在于所述吸入性剂型包含与药学上合适的载体组合的所述活性成分。

[0575] 23.根据权利要求1至22中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,其特征在于所述吸入性剂型包含乳糖单水合物作为载体,其中优选地所述载体包含粗乳糖与细乳糖的混合物。

[0576] 24.根据权利要求1至23中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,其特征在于所述粗乳糖具有X50≥50μm或≥75μm或≥125μm的粒度,而所述细乳糖具有X50<10μm或≤5μm的粒度。

[0577] 25.根据权利要求1至24中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,其特征在于所述粗乳糖具有X50≤145μm或≤100μm或≤95μm的粒度,而所述细乳糖具有X50<10μm或≤5μm的粒度。

[0578] 26.根据权利要求1至25中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,其特征在于所述粗乳糖具有X90≥115μm,或为至少或≥120μm,或为至少或≥200μm的粒度,并且所述细乳糖具有X90<30μm或≤10μm的粒度。

[0579] 27.根据权利要求1至26中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,其特征在于所述粗乳糖具有X90≤250μm或≤170μm或≤160μm的粒度,并且所述细乳糖具有X90<30μm或≤10μm的粒度。

[0580] 28.根据权利要求1至27中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,其特征在于式(I-M-I)的单水合物I具有X90≤6μm的粒度。

[0581] 29.根据权利要求1至28中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,其特征在于式(I-M-I)的单水合物I具有X50介于1-3μm的粒度。

[0582] 30.根据权利要求1至29中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,其特征在于所述吸入性剂型包含480至4000μg呈其结晶形式单水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸。

[0583] 31.根据权利要求1至30中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,其特征在于所述吸入性剂型包含480至2000μg呈其结晶形式单水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸。

[0584] 32.根据权利要求1至31中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,其特征在于所述吸入性剂型包含480至1000μg呈其结晶形式单水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸。

[0585] 33.根据权利要求1至32中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,其特征在于所述吸入性剂型包含240μg、480μg、1000μg、2000μg或4000μg呈其结晶形式单水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸。

[0586] 34.根据权利要求1至33中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,其特征在于所述心肺病症选自由以下组成的组:肺动脉高压(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高压(CTEPH)以及与慢性肺病相关的肺高压(PH)(第3类PH),例如慢性阻塞性肺病中的肺高压(PH-COPD)和伴有特发性间质性肺炎的肺高压(PH-IIP)。

[0587] 35.一种治疗心肺病症的方法,所述方法包括每天一次或两次施用吸入性剂型持续一段至少连续两天的时间,所述吸入性剂型包含240至4000μg呈选自由式(I-M-I)的单水合物I或式(I-M-II)的单水合物II或倍半水合物组成的列表的其结晶变体中的一者形式的式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯

基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,其中所述式(I-M-I)化合物的X射线粉末衍射图(在25℃下测量并利用Cu-Kα1作为辐射源)包含至少在以下的峰:12.8和29.2,优选6.9、7.2、7.3、12.8和29.2,以2θ值±0.2°引用,或者其中所述式(I-M-II)化合物的X射线粉末衍射图(在25℃下测量并利用Cu-Kα1作为辐射源)包含至少在以下的峰:12.7、5.7、6.1和7.1,或12.7、5.7和8.5,或者其中呈其倍半水合物形式的化合物的X射线粉末衍射图(在25℃下测量并利用Cu-Kα1作为辐射源)包含至少在以下的峰:12.2和7.6,或12.2、8.6和14.5,以2θ值±0.2°引用。

[0588] 36.根据权利要求35所述的治疗心肺病症的方法,其特征在于呈单水合物I形式的所述化合物具有如图6中所示的X射线粉末衍射图(在25℃下测量并利用Cu-Kα1作为辐射源)。

[0589] 37.根据权利要求35至36中任一项所述的治疗心肺病症的方法,其特征在于所述化合物的X射线粉末衍射图(在25℃下测量并利用Cu-Kα1作为辐射源)包含至少在12.8的峰并且缺乏在27.2和27.5的峰,在2θ值±0.2°的衍射角度下。

[0590] 38.根据权利要求35至37中任一项所述的治疗心肺病症的方法,其特征在于所述化合物的X射线粉末衍射图(在25℃下测量并利用Cu-Kα1作为辐射源)包含至少在12.8和5.7的峰并且缺乏在8.5和6.1的峰,在2θ值±0.2°的衍射角度下。

[0591] 39.根据权利要求35至38中任一项所述的治疗心肺病症的方法,其特征在于呈单水合物II形式的化合物具有如图7中所示的X射线粉末衍射图(在25℃下测量并利用Cu-Kα1作为辐射源)。

[0592] 40.根据权利要求35至39中任一项所述的治疗心肺病症的方法,其特征在于呈倍半水合物形式的化合物具有如图9中所示的X射线粉末衍射图(在25℃下测量并利用Cu-Kα1作为辐射源)。

[0593] 41.根据权利要求35至40中任一项所述的治疗心肺病症的方法,其特征在于施用所述活性成分持续一段至少连续两天至七天的时间。

[0594] 42.根据权利要求35至41中任一项所述的治疗心肺病症的方法,其特征在于施用所述活性成分持续一段至少连续14天的时间,特别是从治疗开始后持续整个疾病过程。

[0595] 43.根据权利要求35至42中任一项所述的治疗心肺病症的方法,其特征在于所述吸入性剂型包含呈干粉形式的活性成分。

[0596] 44.根据权利要求35至43中任一项所述的治疗心肺病症的方法,其特征在于所述吸入性剂型包含呈胶囊内干粉形式的活性成分。

[0597] 45.根据权利要求35至44中任一项所述的治疗心肺病症的方法,其特征在于所述吸入性剂型包含与药学上合适的载体组合的活性成分。

[0598] 46.根据权利要求35至45中任一项所述的治疗心肺病症的方法,其特征在于所述吸入性剂型包含乳糖单水合物作为载体,其中优选地所述载体包含粗乳糖与细乳糖的混合物。

[0599] 47.根据权利要求46所述的治疗心肺病症的方法,其特征在于所述粗乳糖具有X50≥50μm或≥75μm或≥125μm的粒度,并且所述细乳糖具有X50<10μm或≤5μm的粒度。

[0600] 48.根据权利要求46或47所述的治疗心肺病症的方法,其特征在于所述粗乳糖具有X50≤145μm或≤100μm或≤95μm的粒度,并且所述细乳糖具有X50<10μm或≤5μm的粒度。

[0601] 49.根据权利要求46至48中任一项所述的治疗心肺病症的方法,其特征在于所述粗乳糖具有X90≥115μm,或为至少或≥120μm,或为至少或≥200μm的粒度,并且所述细乳糖具有X90<30μm或≤10μm的粒度。

[0602] 50.根据权利要求46至49中任一项所述的治疗心肺病症的方法,其特征在于所述粗乳糖具有X90≤250μm或≤170μm或≤160μm的粒度,并且所述细乳糖具有X90<30μm或≤10μm的粒度。

[0603] 51.根据权利要求35至50中任一项所述的治疗心肺病症的方法,其特征在于所述式(I-M-I)的单水合物I具有X90≤6μm的粒度。

[0604] 52.根据权利要求35至51中任一项所述的治疗心肺病症的方法,其特征在于所述式(I-M-I)的单水合物I具有X50介于1-3μm的粒度。

[0605] 53.根据权利要求35至52中任一项所述的治疗心肺病症的方法,其特征在于所述吸入性剂型包含480至4000μg呈其结晶形式单水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸。

[0606] 54.根据权利要求35至53中任一项所述的治疗心肺病症的方法,其特征在于所述吸入性剂型包含480至2000μg呈其结晶形式单水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸。

[0607] 55.根据权利要求35至54中任一项所述的治疗心肺病症的方法,其特征在于所述吸入性剂型包含480至1000μg呈其结晶形式单水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸。

[0608] 56.根据权利要求35至55中任一项所述的治疗心肺病症的方法,其特征在于所述吸入性剂型包含240μg、480μg、1000μg、2000μg或4000μg呈其结晶形式单水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸。

[0609] 57.根据权利要求35至56中任一项所述的治疗心肺病症的方法,其特征在于所述心肺病症选自由以下组成的组:肺动脉高压(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高压(CTEPH)以及与慢性肺病相关的肺高压(PH)(第3类PH),例如慢性阻塞性肺病中的肺高压(PH-COPD)和伴有特发性间质性肺炎的肺高压(PH-IIP)。

[0610] 58.一种用于吸入性治疗心肺病症的药剂,其特征在于它包含吸入性剂型,所述吸入性剂型包含240至4000μg呈选自由式(I-M-I)的单水合物I或式(I-M-II)的单水合物II或倍半水合物组成的列表的其结晶变体中的一者形式的式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,其中所述式(I-M-I)化合物的X射线粉末衍射图(在25℃下测量并利用Cu-Kα1作为辐射源)包含至少在以下的峰:12.8和29.2,优选6.9、7.2、7.3、12.8和29.2,以2θ值±0.2°引用,或者其中所述式(I-M-II)化合物的X射线粉末衍射图(在25℃下测量并利用Cu-Kα1作为辐射源)包含至少在以下的峰:12.7、5.7、6.1和7.1,或12.7、5.7和8.5,或者其中呈其倍半水合物形式的化合物的X射线粉末衍射图(在25℃下测量并利用Cu-Kα1作为辐射源)包含

至少在以下的峰:12.2和7.6,或12.2、8.6和14.5,以2θ值±0.2°引用,其中每天一次或两次施用所述药剂持续一段至少连续两天的时间。

[0611] 59.根据权利要求58所述的用于吸入性治疗心肺病症的药剂,其特征在于呈单水合物I形式的化合物具有如图6中所示的X射线粉末衍射图(在25℃下测量并利用Cu-Kα1作为辐射源)。

[0612] 60.根据权利要求58至59中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的药剂,其特征在于所述化合物的X射线粉末衍射图(在25℃下测量并利用Cu-Kα1作为辐射源)包含至少在12.8的峰并且缺乏在27.2和27.5的峰,在2θ值±0.2°的衍射角度下。

[0613] 61.根据权利要求58至60中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的药剂,其特征在于所述化合物的X射线粉末衍射图(在25℃下测量并利用Cu-Kα1作为辐射源)包含至少在12.8和5.7的峰并且缺乏在8.5和6.1的峰,在2θ值±0.2°的衍射角度下。

[0614] 62.根据权利要求58至61中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的药剂,其特征在于呈单水合物II形式的化合物具有如图7中所示的X射线粉末衍射图(在25℃下测量并利用Cu-Kα1作为辐射源)。

[0615] 63.根据权利要求58至62中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的药剂,其特征在于呈倍半水合物形式的化合物具有如图9中所示的X射线粉末衍射图(在25℃下测量并利用Cu-Kα1作为辐射源)。

[0616] 64.根据权利要求58至63中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的药剂,其特征在于施用所述活性成分持续一段至少连续两天至七天的时间。

[0617] 65.根据权利要求58至64中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的药剂,其特征在于施用所述活性成分持续一段至少连续14天的时间,特别是从治疗开始后持续整个疾病过程。

[0618] 66.根据权利要求58至65中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的药剂,其特征在于所述吸入性剂型包含呈干粉形式的活性成分。

[0619] 67.根据权利要求58至66中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的药剂,其特征在于所述吸入性剂型包含呈胶囊内干粉形式的活性成分。

[0620] 68.根据权利要求58至67中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的药剂,其特征在于所述吸入性剂型包含与药学上合适的载体组合的活性成分。

[0621] 69.根据权利要求58至68中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的药剂,其特征在于所述吸入性剂型包含乳糖单水合物作为载体,其中优选地所述载体包含粗乳糖与细乳糖的混合物。

[0622] 70.根据权利要求58至69中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的药剂,其特征在于所述粗乳糖具有X50≥50μm或≥75μm或≥125μm的粒度,并且所述细乳糖具有X50<10μm或≤5μm的粒度。

[0623] 71.根据权利要求58至70中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的药剂,其特征在于所述粗乳糖具有X50≤145μm或≤100μm或≤95μm的粒度,并且所述细乳糖具有X50<10μm或≤5μm的粒度。

[0624] 72.根据权利要求58至71中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的药剂,其特征在于所述粗乳糖具有X90≥115μm,或为至少或≥120μm,或为至少或≥200μm的粒度,并且

所述细乳糖具有X90<30μm或≤10μm的粒度。

[0625] 73.根据权利要求58至72中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的药剂,其特征在于所述粗乳糖具有X90≤250μm或≤170μm或≤160μm的粒度,并且所述细乳糖具有X90<30μm或≤10μm的粒度。

[0626] 74.根据权利要求58至73中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的药剂,其特征在于所述式(I-M-I)的单水合物I具有X90≤6μm的粒度。

[0627] 75.根据权利要求58至74中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的药剂,其特征在于所述式(I-M-I)的单水合物I具有X50介于1-3μm的粒度。

[0628] 76.根据权利要求58至75中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的药剂,其特征在于所述吸入性剂型包含480至4000μg呈其结晶形式单水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸。

[0629] 77.根据权利要求58至76中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的药剂,其特征在于所述吸入性剂型包含480至2000μg呈其结晶形式单水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸。

[0630] 78.根据权利要求58至77中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的药剂,其特征在于所述吸入性剂型包含480至1000μg呈其结晶形式单水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸。

[0631] 79.根据权利要求58至78中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的药剂,其特征在于所述吸入性剂型包含240μg、480μg、1000μg、2000μg或4000μg呈其结晶形式单水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸。

[0632] 80.根据权利要求58至79中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的药剂,其特征在于所述心肺病症选自由以下组成的组:肺动脉高压(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高压(CTEPH)以及与慢性肺病相关的肺高压(PH)(第3类PH),例如慢性阻塞性肺病中的肺高压(PH-COPD)和伴有特发性间质性肺炎的肺高压(PH-IIP)。

[0633] 81.一种用于吸入性治疗心肺病症的包装药物组合物,其特征在于它含有干粉吸入器以及干粉制剂,所述干粉制剂包含240至4000μg呈选自由式(I-M-I)的单水合物I或式(I-M-II)的单水合物II或倍半水合物组成的列表的其结晶变体中的一者形式的式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,其中所述式(I-M-I)化合物的X射线粉末衍射图(在25℃下测量并利用Cu-Kα1作为辐射源)包含至少在以下的峰:12.8和29.2,优选6.9、7.2、7.3、12.8和29.2,以2θ值±0.2°引用,或者其中所述(I-M-II)化合物的X射线粉末衍射图(在25℃下测量并利用Cu-Kα1作为辐射源)包含至少在以下的峰:12.7、5.7、6.1和7.1,或12.7、5.7和8.5,或者其中呈其倍半水合物形式的化合物的X射线粉末衍射图(在25℃下测量并利用Cu-Kα1作为辐射源)包含至少在以下的峰:12.2和7.6,或12.2、8.6和14.5,以2θ值±0.2°引用,其中所述包装含有以每天一次或两次频率施用所述干粉制剂持续一段至少连

续两天的时间的说明书。

[0634] 82.根据权利要求81所述的用于吸入性治疗心肺病症的包装药物组合物,其特征在于所述心肺病症选自由以下组成的列表:肺动脉高压(PAH)以及与慢性肺病相关的肺高压(PH)(第3类PH),例如慢性阻塞性肺病中的肺高压(PH-COPD)和伴有特发性间质性肺炎的肺高压(PH-IIP)。

[0635] 83.根据权利要求81至82中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的包装药物组合物,其特征在于所述包装进一步含有使用所述干粉制剂通过吸入来治疗心肺病症的说明书,其中吸入程序描述如下:将胶囊放入干粉吸入器中,深吸一口气后患者应屏气约2秒,使干粉药物从气流中凝结到更深的肺部区域表面,那里更为接近预期药理作用部位。

[0636] 84.根据权利要求81至83中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的包装药物组合物,其特征在于所述干粉吸入器是基于胶囊的单次单位剂量吸入器(参见图3a)。

[0637] 85.根据权利要求81至84中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的包装药物组合物,其特征在于它含有干粉制剂,所述干粉制剂包含240至4000μg呈选自由式(I-M-I)的单水合物I或式(I-M-II)的单水合物II或倍半水合物组成的列表的其结晶变体中的一者形式的式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,其中所述式(I-M-I)化合物的X射线粉末衍射图(在25℃下测量并利用Cu-Kα1作为辐射源)包含至少在以下的峰:12.8和29.2,优选6.9、7.2、7.3、12.8和29.2,以2θ值±0.2°引用,或者其中所述式(I-M-II)化合物的X射线粉末衍射图(在25℃下测量并利用Cu-Kα1作为辐射源)包含至少在以下的峰:12.7、5.7、6.1和7.1,或12.7、5.7和8.5,或者其中呈其倍半水合物形式的化合物的X射线粉末衍射图(在25℃下测量并利用Cu-Kα1作为辐射源)包含至少在以下的峰:12.2和7.6,或12.2、8.6和14.5,以2θ值±0.2°引用,而非所述干粉吸入器。

[0638] 86.根据权利要求81至85中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的包装药物组合物,其特征在于所述干粉制剂包含与作为载体的乳糖单水合物组合的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,优选呈式(I-M-I)的单水合物I形式或呈式(I-M-II)的单水合物II形式,其中所述载体包含粗乳糖与细乳糖的混合物。

[0639] 87.根据权利要求81至86中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的包装药物组合物,其特征在于呈单水合物I形式的化合物具有如图6中所示的X射线粉末衍射图(在25℃下测量并利用Cu-Kα1作为辐射源)。

[0640] 88.根据权利要求81至87中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的包装药物组合物,其特征在于所述化合物的X射线粉末衍射图(在25℃下测量并利用Cu-Kα1作为辐射源)包含至少在12.8的峰并且缺乏在27.2和27.5的峰,在2θ值±0.2°的衍射角度下。

[0641] 89.根据权利要求81至88中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的包装药物组合物,其特征在于所述化合物的X射线粉末衍射图(在25℃下测量并利用Cu-Kα1作为辐射源)包含至少在12.8和5.7的峰并且缺乏在8.5和6.1的峰,在2θ值±0.2°的衍射角度下。

[0642] 90.根据权利要求81至89中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的包装药物组合物,其特征在于呈单水合物II形式的化合物具有如图7中所示的X射线粉末衍射图(在25℃下测量并利用Cu-Kα1作为辐射源)。

[0643] 91.根据权利要求81至90中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的包装药物组合物,其特征在于呈倍半水合物形式的化合物具有如图9中所示的X射线粉末衍射图(在25℃下测量并利用Cu-Kα1作为辐射源)。

[0644] 92.根据权利要求81至91中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的包装药物组合物,其特征在于施用所述活性成分持续一段至少连续两天至七天的时间。

[0645] 93.根据权利要求81至92中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的包装药物组合物,其特征在于施用所述活性成分持续一段至少连续14天的时间,特别是从治疗开始后持续整个疾病过程。

[0646] 94.根据权利要求81至93中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的包装药物组合物,其特征在于所述吸入性剂型包含呈干粉形式的活性成分。

[0647] 95.根据权利要求81至94中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的包装药物组合物,其特征在于所述吸入性剂型包含呈胶囊内干粉形式的活性成分。

[0648] 96.根据权利要求81至95中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的包装药物组合物,其特征在于所述粗乳糖具有X50≥50μm或≥75μm或≥125μm的粒度,并且所述细乳糖具有X50<10μm或≤5μm的粒度。

[0649] 97.根据权利要求81至96中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的包装药物组合物,其特征在于所述粗乳糖具有X50≤145μm或≤100μm或≤95μm的粒度,并且所述细乳糖具有X50<10μm或≤5μm的粒度。

[0650] 98.根据权利要求81至97中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的包装药物组合物,其特征在于所述粗乳糖具有X90≥115μm,或为至少或≥120μm,或为至少或≥200μm的粒度,并且所述细乳糖具有X90<30μm或≤10μm的粒度。

[0651] 99.根据权利要求81至98中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的包装药物组合物,其特征在于所述粗乳糖具有X90≤250μm或≤170μm或≤160μm的粒度,并且所述细乳糖具有X90<30μm或≤10μm的粒度。

[0652] 100.根据权利要求81至99中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的包装药物组合物,其特征在于所述式(I-M-I)的单水合物I具有X90≤6μm的粒度。

[0653] 101.根据权利要求81至100中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的包装药物组合物,其特征在于所述式(I-M-I)的单水合物I具有X50介于1-3μm的粒度。

[0654] 102.根据权利要求81至101中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的包装药物组合物,其特征在于所述吸入性剂型包含480至4000μg呈其结晶形式单水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸。

[0655] 103.根据权利要求81至102中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的包装药物组合物,其特征在于所述吸入性剂型包含480至2000μg呈其结晶形式单水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸。

[0656] 104.根据权利要求81至103中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的包装药物组合物,其特征在于所述吸入性剂型包含480至1000μg呈其结晶形式单水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙

基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸。

[0657] 105.根据权利要求81至103中任一项所述的用于吸入性治疗心肺病症的包装药物组合物,其特征在于所述吸入性剂型包含240μg、480μg、1000μg、2000μg或4000μg呈其结晶形式单水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸。

[0658] 以下示例性实施方案说明了本发明。但本发明不限于实施例。

[0659] 除非另有指明,否则以下测试和实施例中的百分比数据都是重量百分比;份是重量份。液体/液体溶液的溶剂比、稀释比和浓度数据在每种情况下都基于体积。

[0660] 实验部分

[0661] 缩写和首字母缩写

[0662]	CI	化学电离(MS)
[0663]	D	天
[0664]	DC	薄层色谱法
[0665]	DMSO	二甲亚砜
[0666]	o.th.	理论(产率)的
[0667]	ee	过量对映异构体
[0668]	EI	电子冲击电离(MS)
[0669]	Ent	对映异构体/对映异构纯
[0670]	wt.-%	重量百分比
[0671]	H	小时
[0672]	HPLC	高压液相色谱法
[0673]	iPrOAc	乙酸异丙酯
[0674]	iPrOH	异丙醇
[0675]	conc.	浓缩
[0676]	l	升
[0677]	LC-MS	液相色谱耦合质谱法
[0678]	min	分钟
[0679]	MS	质谱法
[0680]	pTsOH	对甲苯磺酸
[0681]	Rf	保留指数(DC)
[0682]	RP-HPLC	反相高效液相色谱法
[0683]	RRT	相对保留时间
[0684]	Rt	保留时间
[0685]	RT	室温
[0686]	THF	四氢呋喃
[0687]	v/v	体积比(在溶液中)
[0688]	T内部	内部温度
[0689]	T护套	护套温度
[0690]	abs.	绝对

[0691]	acac	乙酰基丙酮酸根(acetylacetonato)
[0692]	BINAP	(2,2'-双(二苯基膦)-1,1'-联萘)
[0693]	cat.	催化
[0694]	CI	化学电离(MS)
[0695]	coe	环辛烯
[0696]	d	天
[0697]	TLC	薄层色谱法
[0698]	DCM	二氯甲烷
[0699]	DMA	二甲基乙酰胺
[0700]	DMF	二甲基甲酰胺
[0701]	DMSO	二甲亚砜
[0702]		升
[0703]	ee	对映异构过量
[0704]	EI	电子冲击电离(MS)
[0705]	ent	对映异构体/对映异构纯
[0706]	eq	当量
[0707]	ESI	电喷雾电离(MS)
[0708]	EtOAc	乙酸乙酯
[0709]	GC-MS	气相色谱耦合质谱法
[0710]	重量%	重量百分比
[0711]	h	小时
[0712]	HPLC	高压高效液相色谱法
[0713]	ID	内径
[0714]	iPrOAc	乙酸异丙酯
[0715]	iPrOH	异丙醇
[0716]	conc.	浓缩
[0717]	LC-MS	液相色谱耦合质谱法
[0718]	LDA	二异丙基氨基锂
[0719]	LiHMDS	双(三甲基甲硅烷基)氨基锂
[0720]	min	分钟
[0721]	MS	质谱法
[0722]	MTBE	2-甲氧基-2-甲基丙烷
[0723]	NMR	核磁共振质谱法
[0724]	NMP	N-甲基-2-吡咯烷酮
[0725]	Ph	苯基
[0726]	pTsOH	对甲苯磺酸
[0727]	R_f	保留指数(TLC)
[0728]	RP-HPLC	反相高效液相色谱法
[0729]	RRT	相对保留时间

[0730] R_t 保留时间

[0731] RT 室温

[0732] TESCl 氯三乙基硅烷

[0733] THF 四氢呋喃

[0734] v/v (溶液的)体积比

[0735] $T_{内部}$ 内部温度

[0736] $T_{护套}$ 护套温度

[0737] 分析方法

[0738] DSC/TG

[0739] 使用Perkin-Elmer的差示扫描量热计(型号DSC7、Pyris-1或Diamond)记录DSC热谱图。使用非气密铝盘以20Kmin-1的加热速率进行测量。流动气体为氮气。没有样品制备。

[0740] 使用Perkin-Elmer的热天平(型号TGA7和Pyris 1)记录TGA热谱图。使用开放式铂盘以10Kmin-1的加热速率进行测量。流动气体为氮气。没有样品制备。

[0741] XRPD

[0742] 在室温下使用XRD衍射仪X`Pert PRO(PANalytical)和STOE STADI-P(辐射Cu Kα1,波长1.5406 Å)记录X射线衍射图。没有样品制备。所有X射线反射都以°2θ(西塔)值(最大峰值)表示,分辨率为±0.2°。

[0743] 拉曼

[0744] 在室温下使用Bruker的FT-Raman分光光度计(型号RFS 100和MultiRam)记录拉曼光谱。分辨率为2cm-1。在玻璃小瓶或铝盘中进行测量。没有样品制备。

[0745] IR

[0746] 在室温下使用带有Bruker的通用金刚石ATR装置的FT-IR-分光光度计Tensor 37记录IR-ATR-光谱。分辨率为4cm-1。没有样品制备。

[0747] LC-MS方法

[0748] 方法A

[0749] 仪器:Waters ACQUITY SQD UPLC系统;柱:Waters Acquity UPLC HSS T3 1.8μm 50x 1mm;洗脱液A:1l Wasser+0.25ml99%ige甲酸,洗脱液B:1l乙腈+0.25ml 99%ige甲酸;梯度:0.0min90% A→1.2min 5% A→2.0min 5% A烘箱:50℃;流速:0.40ml/min;UV检测:210nm。

[0750] HPLC方法

[0751] 方法B

[0752] 带有恒温柱烘箱、UV检测器和数据评价系统的高效液相色谱,测量波长206nm,带宽:6nm,烘箱温度30℃,柱:chiralpak AD-H,长度:250mm,内径:4.6mm,粒度:5μm,流动相:A:N-庚烷,B:乙醇+0.1%二乙胺,梯度程序:开始1ml/min 70%洗脱液a,30%洗脱液B;12min 1ml/min 40%洗脱液A,60%洗脱液B。样品溶剂:乙醇+0.1%二乙胺,测试溶液:约1.0mg/ml物质,用样品溶剂溶解,注射体积:5μl RT:对映异构体1:5.8min(RRT 1.00),对映异构体2:7.2min RRT1.25。

[0753] 方法C

[0754] 带有恒温柱烘箱、UV检测器和数据评价系统的高效液相色谱,测量波长204nm,带

宽:6nm,烘箱温度45℃,柱:chiralpak AD-H,长度:250mm,内径:4.6mm,粒度:5μm,流动相:A:N-庚烷,B:乙醇+0.2%三氟乙酸+0.1%二乙胺,梯度程序:1.5ml/min 60%洗脱液a,40%洗脱液b;样品溶剂:乙醇,测试溶液:约1.0mg/ml物质,用样品溶剂溶解,注射体积:10μl RT:对映异构体1 2.9min RRT 1,00对映异构体2 3.7min RRT 1.28。

[0755] 方法L

[0756] 装置类型MS:Waters Synapt G2S;装置类型UPLC:Waters Acquity I-CLASS;柱:Waters,HSST3,2.1x 50mm,C18 1.8μm;洗脱液A:1l水+0.01%甲酸;洗脱液B:1l乙腈+0.01%甲酸;梯度:0.0min 2%B→2.0min 2%B→13.0min 90%B→15.0min 90%B;烘箱:50℃;流速:1.20ml/min;UV检测:210nm。

[0757] 方法M

[0758] 带有恒温柱烘箱、UV检测器和数据评价系统的高效液相色谱,测量波长226nm,带宽:40nm。柱:Zorbax Bonus-RP,长度:150mm,内径:3.0mm,粒度:3.5μm,流动相:A:水+0.1% TFA,B:ACN+0.1% TFA/甲醇＝2+1,梯度程序:0.0min 50% B→12.0min 70% B→17.0min 90% B→25.0min 90% B;流速:0.60ml/min;样品溶剂:异丙醇+0.1%二乙胺,测试溶液:约35mg物质溶于25ml ACN中,并用水+0.1% TFA补足至50ml。(0.7mg/ml);注射体积:3μL。

[0759] 新方法M

[0760] 带有恒温柱烘箱、UV检测器和数据评价系统的高效液相色谱,测量波长226nm,带宽:40nm。柱:XBridge Phenyl长度:50mm,内径:4.6mm,粒度:2.5μm;柱烘箱温度:22℃

[0761] 流动相:A:缓冲液pH7(0.66g/L(NH4)2HPO4和0.58g/LNH4H2PO4);B:ACN

[0762] 梯度程序:0.00min＝95%A,5%B;t 8.3-11＝20%A,80%B

[0763] 流速:1.2mL/min.;UV灯:210nm

[0764] 方法N

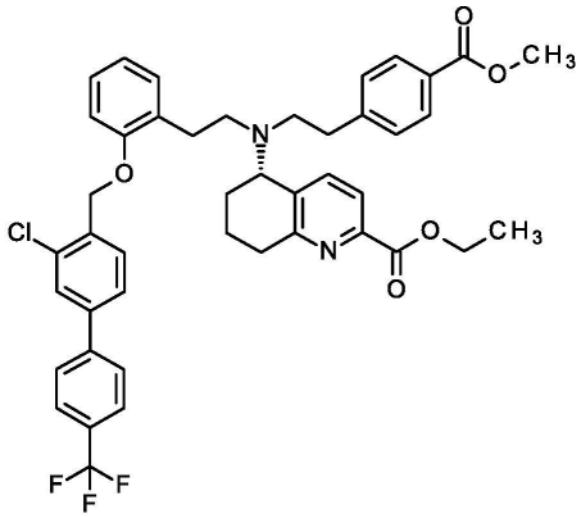
[0765] 带有恒温柱烘箱、UV检测器和数据评价系统的高效液相色谱,测量波长210nm。柱:XBridge BEH Phenyl长度:50mm,内径:4.6mm,粒度:2.5μm,流动相:A:0.66g(NH4)2HPO4和0.58g(NH4)H2PO4在1l milipore水中;B:ACN,梯度程序:0.00min 95%B→8.3min 80%B→11.0min 80%;流速:1.2ml/min;样品溶剂:ACN+水,注射体积:3μL。

[0766] A-化学实施例

[0767] 起始材料和中间体

[0768] 实施例1A

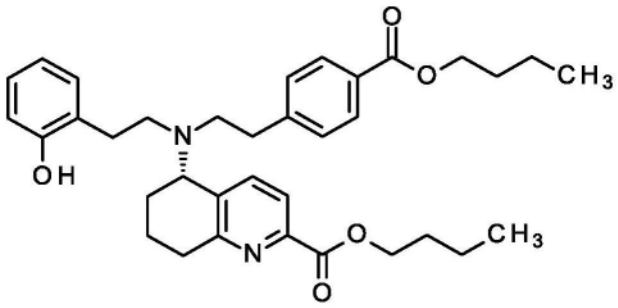
[0769] (5S)-5-([2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)[联苯]-4-基]甲氧基}苯基)乙基]{2-[4-(甲氧基羰基)苯基]乙基}氨基)-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸酯(对映异构体2)

[0770] 

[0771] 所述化合物是根据如WO 2014/012934,实施例92A中所公开的程序进行合成。

[0772] 实施例2A

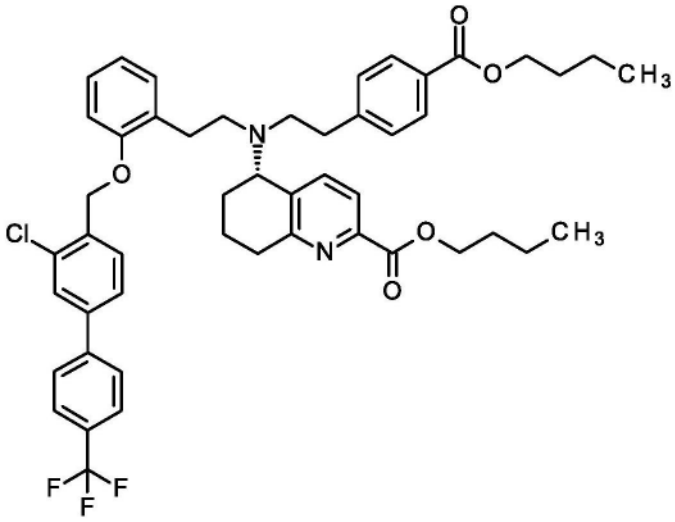
[0773] (5S)-5-({2-[4-(丁氧基羰基)苯基]乙基}[2-(2-羟基苯基)乙基]氨基)-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸丁酯

[0774] 

[0775] 所述化合物是根据如WO2021/233783,实施例10中所公开的程序进行合成。

[0776] 实施例3A

[0777] (5S)-5-({2-[4-(丁氧基羰基)苯基]乙基}[2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)[联苯]-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基)-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸丁酯

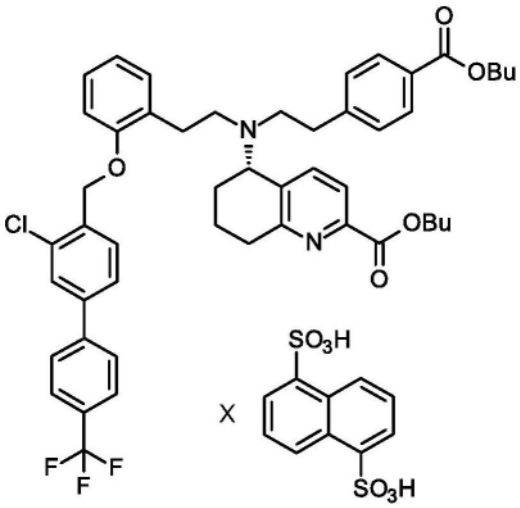
[0778] 

[0779] 所述化合物是根据如WO2021/233783,实施例11中所公开的程序进行合成。

[0780] 另一种起始材料4-(溴甲基)-3-氯-4'-(三氟甲基)[联苯](式XI化合物)可商购。

[0781] 实施例4A

[0782] 萘-1,5-二磺酸-(5S)-5-({2-[4-(丁氧基羰基)苯基]乙基}[2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)[联苯]-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基)-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸丁酯(1:1)加合物

[0783] 

[0784] 在3L烧瓶中,889.1g(1.06mol)(5S)-5-({2-[4-(丁氧基羰基)苯基]乙基}[2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)[联苯]-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基)-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸丁酯(油)溶于1850ml四氢呋喃中。在室温下加入304.6g(1.06mol)的萘-1,5-二磺酸,搅拌混合物直至其完全溶解。随后在旋转蒸发仪上将溶液在40℃下浓缩。在真空干燥箱中,将残余物(固体)在40℃下在氮气流中干燥至1126.3g。

[0785] 产率(粗产物):1126.3g;理论产率的94.4%

[0786] 对映异构纯度(HPLC方法B):95.3%ee

[0787] 纯度(面积):81.8%(方法N),Rt 16.11(BP-二酯))

[0788] 实施例4B-4E

[0789] (5S)-5-({2-[4-(丁氧基羰基)苯基]乙基}[2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)[联苯]-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基)-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸丁酯与不同酸形成稳定盐的试验

[0790] 4B:添加(+)-二-对-甲苯甲酰基-D-酒石酸

[0791] 4g(0.005mol)(5S)-5-({2-[4-(丁氧基羰基)苯基]乙基}[2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)[联苯]-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基)-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸丁酯(油)在50℃的温度下逐渐溶解在总量为75ml的甲醇中。加入1.8g(0.005mol)(+)-二-对-甲苯甲酰基-D-酒石酸于2.5ml甲醇中的温热溶液。最后将混合物搅拌过周末。

[0792] 向较小部分的反应混合物中加入不同溶剂以引发结晶。尝试了以下溶剂但没有任何效果:MTBE、MIBK、二氯甲烷、甲苯。在加入环己烷、正己烷和甲基环己烷的混合物后形成两层。

[0793] 将几滴反应混合物在表面皿上干燥,并且将所得干燥物质刮下并最终在环己烷、正己烷和甲基环己烷的混合物中搅拌。所得固体熔化。

[0794] 用甲基环己烷分离出固体。固体的HPLC分析揭示为酒石酸。

[0795] 向另一部分反应混合物中加入水后,分离出固体。固体难以分离。

[0796] 将反应混合物汽提出溶剂。获得3.1g淡黄色泡沫状晶体。

[0797] 向泡沫晶体中加入31ml甲基环己烷并搅拌4小时。获得2.8g浅黄色固体。

[0798] 未检测到明确的盐。

[0799] 4C:添加三氟乙酸(＝TFA)

[0800] 0.21g(0.2mmol)(5S)-5-({2-[4-(丁氧基羰基)苯基]乙基}[2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)[联苯]-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基)-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸丁酯(油)溶解在2ml乙腈中。添加0.1ml TFA。形成橙色溶液。真空蒸发溶剂得到橙色油状物。

[0801] 没有观察到盐形成。

[0802] 4D:添加甲磺酸

[0803] 0.26g(0.3mmol)(5S)-5-({2-[4-(丁氧基羰基)苯基]乙基}[2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)[联苯]-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基)-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸丁酯(油)溶于1.5ml二氯甲烷中。加入20.1μl甲烷磺酸。形成橙色溶液。在室温下搅拌1小时后无结晶。

[0804] 在40℃下真空蒸发溶剂,得到黄色泡沫状晶体。

[0805] 筛选几种溶剂以启动结晶或纯化。

[0806] 二氯甲烷、MIBK、MTBE、乙酸乙酯、丙酮、乙腈、二噁烷、正丁醇、甲醇、乙醇、四氢呋喃、甲苯在室温下形成溶液。

[0807] 二异丙醚、水、二乙醚、环己烷产生粘性物质。

[0808] 在室温下在正己烷中进一步搅拌再次产生粘性物质。

[0809] 没有盐可分离。

[0810] 4E:添加樟脑磺酸

[0811] 0.29g(0.34mmol)(5S)-5-({2-[4-(丁氧基羰基)苯基]乙基}[2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)[联苯]-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基)-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸丁酯(油)溶于1.5ml二氯甲烷中。加入80.05μg樟脑磺酸。形成橙色溶液。

[0812] 在40℃下真空蒸发溶剂,得到黄色泡沫状晶体。

[0813] 筛选几种溶剂以启动结晶或纯化。

[0814] 二氯甲烷、MIBK、乙酸乙酯、丙酮、乙腈、二噁烷、正丁醇、甲醇、乙醇、四氢呋喃、甲苯在室温下形成溶液。

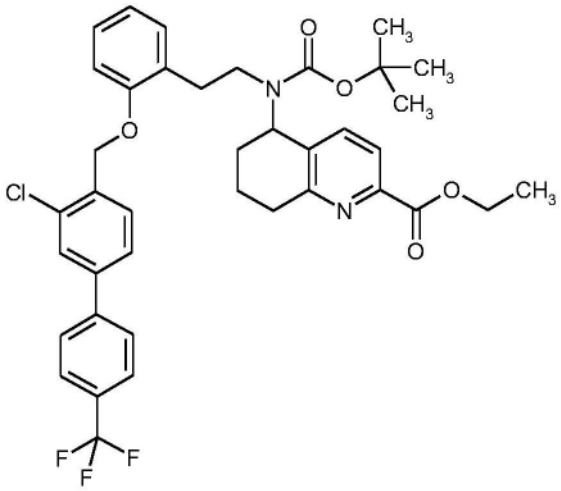
[0815] 添加MTBE导致油滴形成。

[0816] 水、二异丙醚、二乙醚、环己烷和正庚烷都只提供粘性物质。

[0817] 没有盐可分离。

[0818] 实施例5A和实施例6A

[0819] 5-{(叔丁氧基羰基)[2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸乙酯(对映异构体1和2)

[0820] 

[0821] 15g(21.42mmol)外消旋5-{(叔丁氧基羰基)[2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸乙酯(实施例22A)是通过超临界流体色谱法(SFC)在手性相上分离成对映异构体[柱:Chiralpak OD-H,20μm,400mm x 50mm;流动相:二氧化碳/异丙醇70:30(v/v);流速:400ml/min;压力:80巴;UV检测:220nm;温度:37℃]:

[0822] 实施例5A(对映异构体1):

[0823] 产率:5830mg

[0824] Rt=2.83min;化学纯度>99.9%;>99%ee

[0825] [柱:Chiralpak OD-H,5μm,250mm x 4.6mm;流动相:二氧化碳/异丙醇70:30(v/v);流速:3ml/min;UV检测:210nm]。

[0826] 实施例6A(对映异构体2):

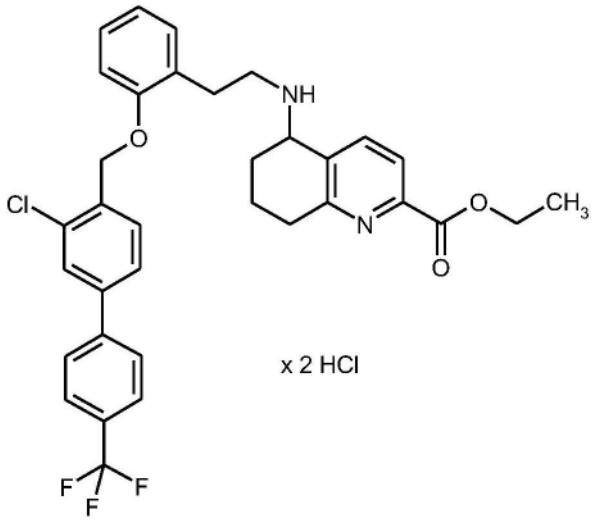
[0827] 产率:6330mg

[0828] Rt=5.30min;化学纯度>99%;>98%ee

[0829] [柱:Chiralpak OD-H,5μm,250mm x 4.6mm;流动相:二氧化碳/异丙醇70:30(v/v);流速:3ml/min;UV检测:210nm]。

[0830] 实施例7A

[0831] 5-{[2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸乙酯二盐酸盐(对映异构体1)

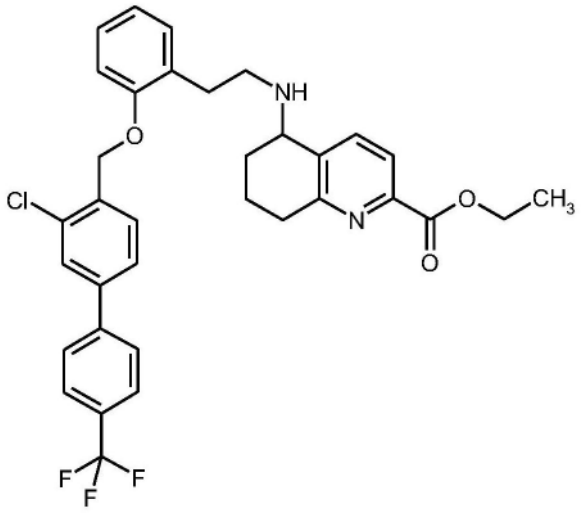
[0832] 

[0833] 将用额外2240ml二噁烷稀释的3208ml于二噁烷中的4N氯化氢溶液加入到455g(641.56mmol)5-{(叔丁氧基羰基)[2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸乙酯(对映异构体1,实施例1A),并在室温下将混合物搅拌过夜。然后将反应溶液浓缩至干,并将残余物在高度真空下干燥过夜。这得到448.7g(641.59mmol,理论值的约100%)目标产物。

[0834] LC-MS(方法A):Rt=1.06min;m/z=609/611(M+H)+。

[0835] 实施例8A

[0836] 5-{[2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸乙酯(对映异构体1)

[0837] 

[0838] 448.7g(641.59mmol)5-{[2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸乙酯二盐酸盐(对映异构体1,实施例3A)溶于6869ml THF中,加入268ml三乙胺,并将混合物在室温下搅拌1h。然后滤出沉淀的三乙基氯化铵晶体并用THF洗涤。将所得滤液蒸发至干。将残余物溶解在乙酸乙酯中,用10%强度氯化钠水溶液洗涤两次,经硫酸镁干燥,过滤并再次蒸发至干。这得到391g(620.59mmol,理论值的97%)目标化合物。

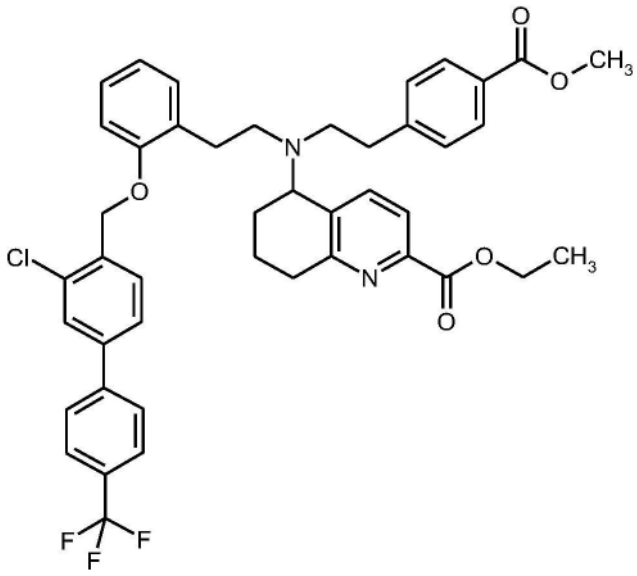
[0839] LC-MS(方法A):Rt=1.08min;m/z=609/611(M+H)+。

[0840] 1H-NMR(400MHz,DMSO-d6,δ/ppm):1.27(t,3H),1.57-1.72(m,2H),1.76-1.87(m,

1H),1.87-1.95(m,1H),1.95-2.07(m,1H),2.65-2.88(m,6H),3.75(br.s,1H),4.28(q,2H),5.19(s,2H),6.92(t,1H),7.08(d,1H),7.16-7.26(m,2H),7.65-7.77(m,3H),7.84(d,3H),7.89(s,1H),7.95(d,2H)。

[0841] 实施例9A

[0842] 5-([2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]{2-[4-(甲氧基羰基)苯基]乙基}氨基)-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸乙酯(对映异构体1)

[0843] 

[0844] 378g(620.59mmol)5-{[2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸乙酯(对映异构体1,实施例4A)、360g(1241.19mmol)4-(2-碘乙基)苯甲酸甲酯和98.66g(930.89mmol)无水碳酸钠于8191ml干燥乙腈中的悬浮液在110℃的浴温下搅拌过夜。然后进一步加入360g(1241.19mmol)g 4-(2-碘乙基)苯甲酸甲酯和128.65g(930.89mmol)粉末状碳酸钾,并将混合物在回流下再加热72h。反应混合物冷却后,滤出无机盐并将所得滤液蒸发至干。将所得残余物溶于乙酸乙酯中,用10%强度氯化钠水溶液洗涤两次,经硫酸镁干燥,过滤,然后再次蒸发至干。将所得残余物分2份在硅胶(9kg)上以色谱方式进行纯化(流动相:石油醚/乙酸乙酯8:2→7:3)。这得到397g(551.32mmol,理论值的89%)目标化合物。

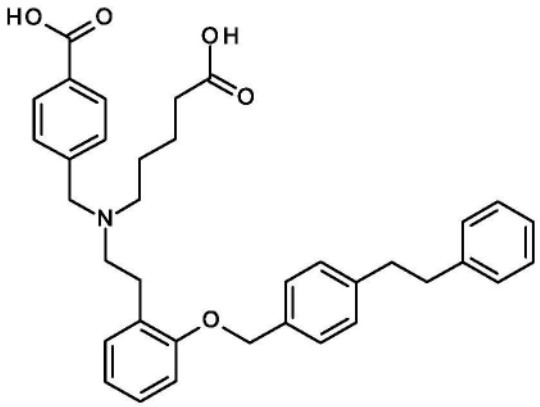
[0845] LC-MS(方法A):Rt=1.67min;m/z=771/773(M+H)+。

[0846] 1H-NMR(400MHz,DMSO-d6,δ/ppm):1.27(t,3H),1.37-1.52(m,1H),1.52-1.67(m,1H),1.85-1.96(m,1H),1.96-2.05(m,1H),2.56-2.80(m,10H),3.81(s,3H),3.97-4.09(m,1H),4.26(q,2H),5.07(m,2H),6.87(t,1H),7.01-7.16(m,4H),7.23(t,1H),7.35-7.48(m,2H),7.53(d,1H),7.61(d,1H),7.74(d,2H),7.77-7.89(m,5H)。

[0847] 比较例

[0848] 比较例1(西尼西呱)

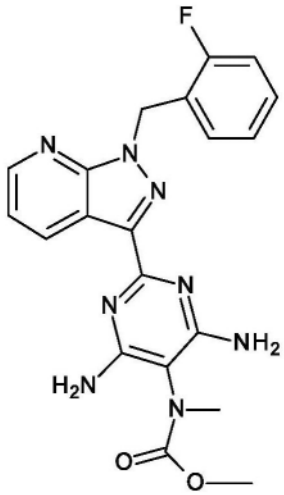
[0849] 4-[((4羧基丁基)-{2-[(4-苯基苯甲基)氧基]苯基}氨基)甲基]苯甲酸

[0850] 

[0851] 所述化合物以类似于WO 01/019780-A1,实施例8A的方式进行合成。

[0852] 比较例2利奥西呱

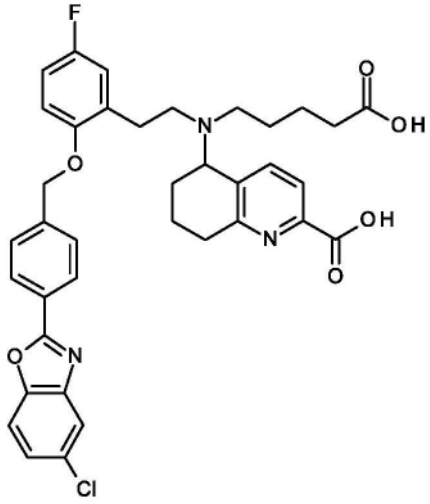
[0853] 4,6-二氨基-2-[1-(2-氟苯甲基)-1H-吡唑并[3,4-b]吡啶-3-基]-5-嘧啶(甲基)氨基甲酸甲酯

[0854] 

[0855] 化合物以类似于WO 03/095451-A1,实施例8的方式进行合成。

[0856] 比较例3

[0857] (5)-{(4-羧基丁基)[2-(2-{[4-(5-氯-1,3-苯并噁唑-2-基)苯甲基]氧基}-5-氟苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸(对映异构体2)

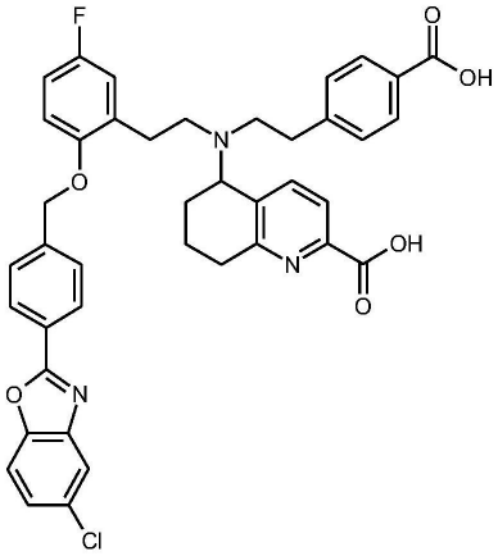
[0858] 

[0859] 所述化合物以类似于WO 2014/012934-A1,实施例37的方式进行合成。

[0860] LC-MS(方法A):R_t=1.10min;m/z=672/674$(M+H)^+$。

[0861] 比较例4

[0862] 5-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[4-(5-氯-1,3-苯并噁唑-2-基)苯甲基]氧基}-5-氟苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸(对映异构体2)

[0863] 

[0864] 所述化合物以类似于WO 2014/012934-A1,实施例39的方式进行合成。

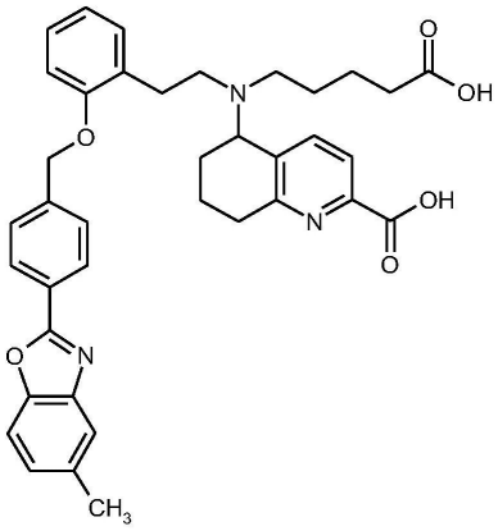
[0865] LC-MS(方法A):R_t=1.28min;m/z=720/722$(M+H)^+$。

[0866] ^{1}H-NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ[ppm]=1.40-1.72(m,2H),1.88-2.11(m,2H),2.59-2.84(m,10H),4.02-4.13(m,1H),5.00-5.14(m,2H),6.96(d,1H),7.02(d,2H),7.13(d,2H),7.41-7.57(m,5H),7.75(d,2H),7.83(d,1H),7.93(d,1H),8.11(d,2H),12.05-13.41(br.s,约2H)。

[0867] $[\alpha]_D^{20}$=+58.77°,c=0.405,DMSO。

[0868] 比较例5

[0869] (+)-5-{(4-羧基丁基)[2-(2-{[4-(5-甲基-1,3-苯并噁唑-2-基)苯甲基]氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸(对映异构体2)

[0870] 

[0871] 所述化合物以类似于WO 2014/012934-A1,实施例2的方式进行合成。

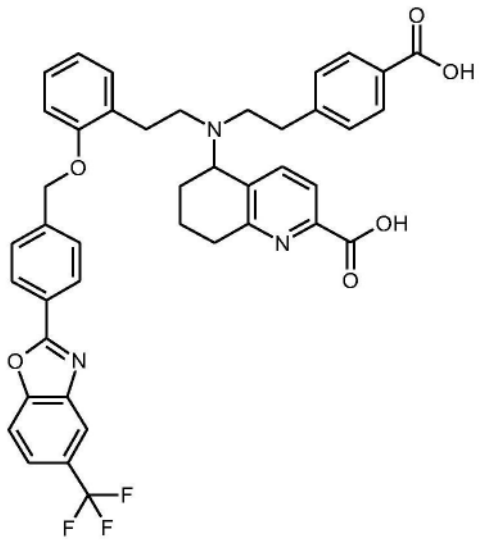
[0872] LC-MS(方法A):R_t=1.03min;m/z=634$(M+H)^+$。

[0873] ^{1}H-NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ[ppm]=1.32-1.70(m,7H),1.89-2.03(m,2H),2.07-2.16(m,2H),2.39-2.64(m,3H,部分受到DMSO信号遮蔽),2.46(s,3H),2.65-2.87(m,4H),3.95-4.03(m,1H),5.08(q,2H),6.87(t,1H),6.99(d,1H),7.13(d,1H),7.18(t,1H),7.25(d,1H),7.52(d,2H),7.61(s,1H),7.67(d,2H),7.85(d,1H),8.16(d,2H),11.30-12.97(br.s,2H)。

[0874] $[\alpha]_D^{20}$=+62.89°,c=0.380,甲醇。

[0875] 比较例6

[0876] 5-([2-(4-羧基苯基)乙基]{2-[2-({4-[5-(三氟甲基)-1,3-苯并噁唑-2-基]苯甲基}氧基)苯基]乙基}氨基)-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸(对映异构体2)

[0877] 

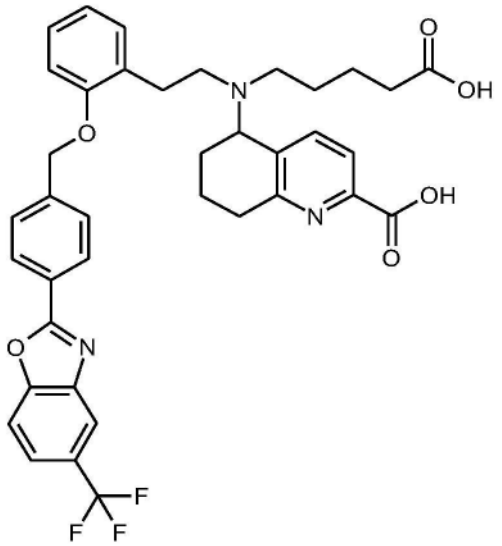
[0878] 所述化合物是以类似于WO 2014/012934-A1,实施例24的方式进行合成。

[0879] LC-MS(方法A):R_t=1.32min;m/z=736$(M+H)^+$。

[0880] ^{1}H-NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ[ppm]=1.41-1.55(m,1H),1.55-1.71(m,1H),1.88-2.10(m,2H),2.58-2.89(m,10H),4.01-4.14(m,1H),5.03-5.16(m,2H),6.86(t,1H),6.99-7.10(m,2H),7.14(d,2H),7.21(t,1H),7.46(d,1H),7.49-7.60(m,3H),7.72-7.86(m,3H),8.03(d,1H),8.14(d,2H),8.24(s,1H),12.01-13.42(br.s,约2H)。

[0881] 比较例7

[0882] 5-[(4-羧基丁基){2-[2-({4-[5-(三氟甲基)-1,3-苯并噁唑-2-基]苯甲基}氧基)苯基]乙基}氨基]-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸(对映异构体2)

[0883] 

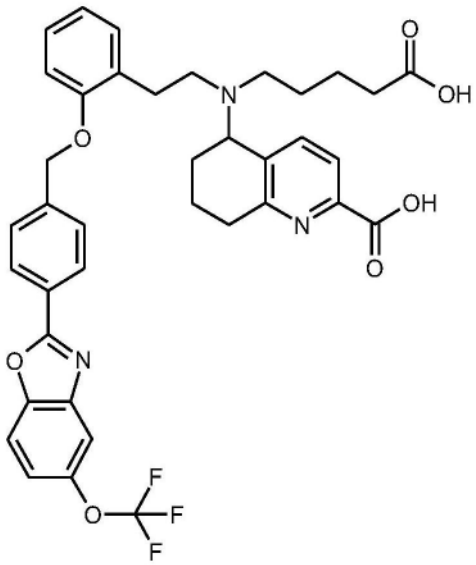
[0884] 所述化合物以类似于WO 2014/012934-A1,实施例25的方式进行合成。

[0885] LC-MS(方法A):R_t=1.07min;m/z=688$(M+H)^+$。

[0886] ^{1}H-NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ[ppm]=1.30-1.71(m,6H),1.90-2.04(m,2H),2.07-2.18(m,2H),2.39-2.65(m,4H,部分受到DMSO信号遮蔽),2.65-2.91(m,4H),3.87-4.07(m,1H),5.10(q,2H),6.87(t,1H),7.00(d,1H),7.10-7.23(m,2H),7.56(d,2H),7.66(d,1H),7.85(d,2H),8.04(d,1H),8.16-8.30(m,3H),11.10-13.31(br.s,约2H)。

[0887] 比较例8

[0888] 5-[(4-羧基丁基){2-[2-({4-[5-(三氟甲氧基)-1,3-苯并噁唑-2-基]苯甲基}氧基)苯基]乙基}氨基]-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸(对映异构体2)

[0889] 

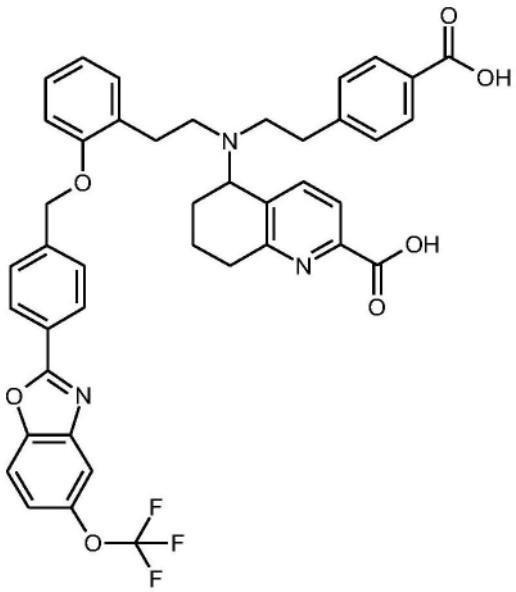
[0890] 所述化合物以类似于WO 2014/012934-A1,实施例28的方式进行合成。

[0891] LC-MS(方法A):R_t=1.09min;m/z=704$(M+H)^+$。

[0892] ^{1}H-NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ[ppm]=1.32-1.71(m,6H),1.88-2.05(m,2H),2.07-2.17(m,2H),2.39-2.64(m,4H,部分受到DMSO信号遮蔽),2.64-2.88(m,4H),3.93-4.05(m,1H),5.10(q,2H),6.87(t,1H),6.99(d,1H),7.09-7.23(m,2H),7.46(dd,1H),7.54(d,2H),7.66(d,1H),7.85(d,1H),7.89-7.98(m,2H),8.18(d,2H),11.10-13.04(br.s,约2H)。

[0893] 比较例9

[0894] 5-([2-(4-羧基苯基)乙基]{2-[2-({4-[5-(三氟甲氧基)-1,3-苯并噁唑-2-基]苯甲基}氧基)苯基]乙基}氨基)-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸(对映异构体2)

[0895] 

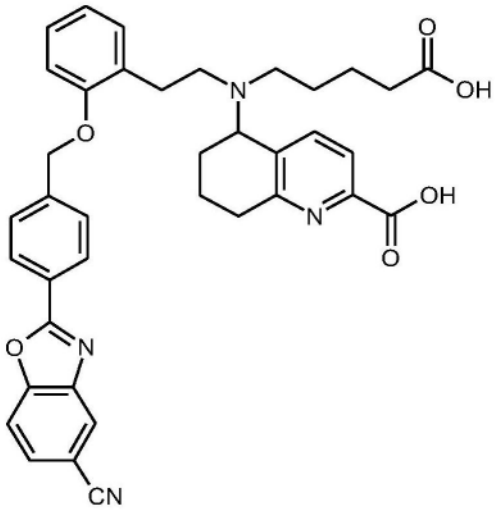
[0896] 所述化合物以类似于WO 2014/012934-A1,实施例29的方法进行合成。

[0897] LC-MS(方法A):R_t=1.34min;m/z=752$(M+H)^+$。

[0898] ^{1}H-NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ[ppm]=1.42-1.55(m,1H),1.55-1.71(m,1H),1.88-2.11(m,2H),2.59-2.87(m,10H),3.99-4.13(m,1H),5.09(q,2H),6.88(t,1H),6.98-7.09(m,2H),7.15(d,2H),7.20(t,1H),7.41-7.58(m,5H),7.77(d,2H),7.87-7.96(m,2H),8.12(d,2H),11.89-13.63(br.s,约2H)。

[0899] 比较例10

[0900] 5-{(4-羧基丁基)[2-(2-{[4-(5-氰基-1,3-苯并噁唑-2-基)苯甲基]氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸(对映异构体2)

[0901] 

[0902] 所述化合物以类似于WO 2014/012934-A1,实施例31的方式进行合成。

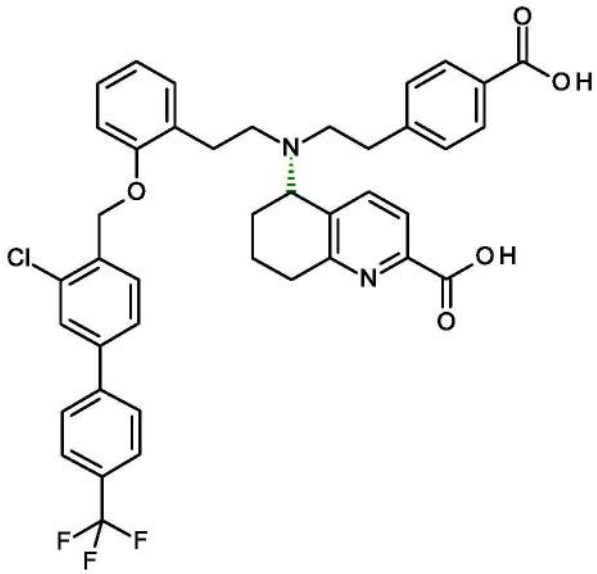
[0903] LC-MS(方法A):R_t=0.93min;m/z=645$(M+H)^+$。

[0904] ^{1}H-NMR(400MHz,DMSO-d_6):δ[ppm]=1.31-1.77(m,6H),1.90-2.05(m,2H),2.05-

2.18(m,2H),2.39-2.64(m,4H,部分受到DMSO信号遮蔽),2.65-2.88(m,4H),3.92-4.05(m,1H),5.10(q,2H),6.87(t,1H),6.99(d,1H),7.10-7.22(m,2H),7.55(d,2H),7.67(d,1H),7.85(d,1H),7.93(d,1H),8.04(d,1H),8.19(d,2H),8.44(s,1H),11.38-12.79(br.s,约2H)。

[0905] 比较例11

[0906] (5S)-5-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)[联苯]-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸

[0907] 

[0908] 将2450mg(3.18mmol)(5S)-5-([2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)[联苯]-4-基]甲氧基}苯基)乙基]{2-[4-(甲氧基羰基)苯基]乙基}氨基)-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸乙酯(实施例1A,对映异构体2)溶解在25ml二噁烷中,添加9.5ml 1N氢氧化钠水溶液,然后在室温下将混合物搅拌过夜。反应完成后,在旋转蒸发仪上去除二噁烷并将剩余的混合物用约50ml水稀释。然后使用乙酸将混合物酸化至pH 4-5。抽滤出沉淀的固体并用水反复洗涤(总共约50ml水)。然后将固体溶于50ml水中并在室温下搅拌过夜。利用又一次抽吸过滤后,再次用水洗涤固体,然后在40℃下高度真空干燥过夜。以这种方式,得到2300mg标题化合物(2.9mmol,纯度93%,含有未知量的单钠盐,保留时间相同)。

[0909] LC-MS(方法A):Rt=1.37min;m/z=729/731(M+H)+。

[0910] 1H-NMR(400MHz,DMSO-d6):δ[ppm]=1.38-1.71(m,2H),1.84-2.08(m,2H),2.59-2.84(m,10H),3.97-4.11(m,1H),4.99-5.16(m,2H),6.87(t,1H),7.05(br.d,2H),7.12(br.d,2H),7.23(br.t,1H),7.38-7.48(m,2H),7.54(d,1H),7.62(d,1H),7.71-7.91(m,7H),11.90-13.60(br.s,约2H)。

[0911] XRPD:非晶形相,参见图33。

[0912] 经由VCD光谱学来测定比较例11的绝对构型:

[0913] 振动圆二色性(VCD)是一种确定手性分子绝对构型的既定方法(参见United States Pharmacopeial Convention(USP)and The National Formulary(USP-NF),第二增刊.USP-NF 34,第782章和第1782章,2016年6月1日和Abs.config.by VCD,white paper BioTools,2017)。

[0914] 测定涉及的步骤如下:

[0915] 1.实验VCD光谱是使用DMSO测量的。在5.5mg/0.15ml的浓度下测量样品实施例1。

[0916] 2.其中一种对映异构体的VCD是使用Gaussian09TM(市售软件包)从头计算。然后通过反转所有带的符号或计算镜像结构的VCD来获得另一个对映异构体的VCD光谱。

[0917] 3.最后一步是将实验光谱与两个计算光谱进行比较,以确定在符号和信号强度之间提供最佳相关性的对映异构体。可以使用CompareVOA™软件计算两个此类光谱之间重叠的置信水平。

[0918] VCD光谱仪:ChirallR-2X w/DualPEM

[0919] 浓度:5.5mg/0.15ml实施例1于DMSO中

[0920] 分辨率:4cm-1

[0921] PEM设置:1400cm-1

[0922] 扫描次数/测量时间:20小时

[0923] 样品槽:BaF2

[0924] 路径长度:100μm

[0925] 计算详情:

[0926] 高斯版本:Gaussian 09

[0927] 用于玻兹曼总和(Boltzman sum)的低能量构象异构体总数:92

[0928] DFT计算的方法学和基础集:B3LYP/6-31G(d)

[0929] 所计算的绝对构型:S

[0930] 基于VCD光谱的一致性,比较例11的绝对构型被确定为(S)-对映异构体。赋值的置信水平为94%。

[0931] 测定比较例11的热稳定性:

[0932] 将0.3mg比较例11溶解在0.1ml二甲亚砜和0.4ml乙腈中。然后加入1.0ml水。为了完全溶解,摇动HPLC小瓶并进行超声波处理。立即通过HPLC分析这个溶液(在t0时的参考品)。将0.3mg测试化合物称入另一个HPLC小瓶中。将小瓶上盖并在90℃的加热块中储存7天。

[0933] 此后,打开小瓶的盖子,将0.1ml二甲亚砜和0.4ml乙腈添加到受压化合物。然后加入1.0ml水。为了完全溶解,摇动HPLC小瓶并进行超声波处理。通过HPLC分析样品(1周后的样品)。以百分比表示的峰面积用于定量。

[0934] 表11

[0935]

HPLC-方法								
洗脱液:	A= 5ml HClO4/L 水 B= ACN				梯度	时间 (min.)	%B	流速 (mL/min.)
柱:	Nucleodur 100 C18ec 3μm 50*2mm					0.00	2.0	0.750
温度:	30	°C				1.00	2.0	0.750
UV WL.:	210	nm				9.00	98.0	0.750
HPLC 流速:	0.750	mL/min.				13.00	98.0	0.750

[0936]

						13.50	2.0	0.750
						15.00	2.0	0.750

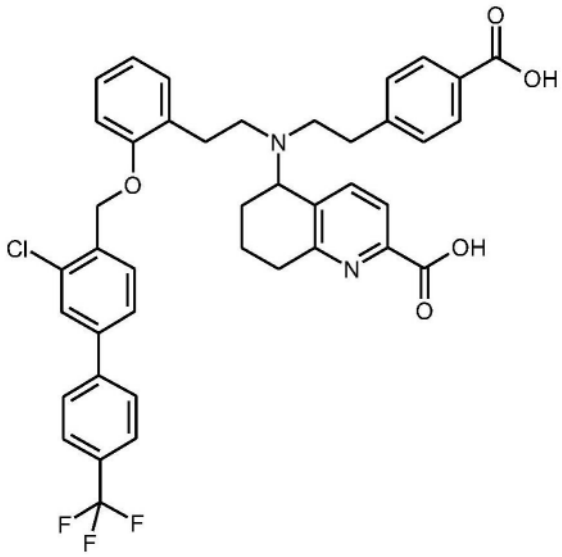
[0937] 发现比较例11在测试期期间是稳定的。

[0938] 此外,WO 14/012934-A1中所公开的几个实施例确实仅显示出有限的热稳定性(在90℃下,7天):例如实施例2(比较例5,实验部分)、24(比较例6,实验部分)、25(比较例7,实验部分)、28(比较例8,实验部分)、29(比较例9,实验部分)和实施例31(比较例10,实验部分)。

[0939] 比较例12

[0940] (5R)-5-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)[联苯]-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸(对映异构体1)

[0941]



[0942] 291g(377.29mmol)5-([2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]{2-[4-(甲氧基羰基)[苯基]乙基}氨基)-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸乙酯(对映异构体1,实施例5A)溶解在3000ml二噁烷中,加入1132ml 1N氢氧化钠水溶液,然后在室温下搅拌混合物过夜。反应完成后,在旋转蒸发仪上去除二噁烷并将剩余的混合物用约6000ml水稀释。然后使用乙酸将混合物酸化至pH 4-5。抽滤出沉淀的固体并用水反复洗涤(总共约3000ml水)。然后在室温下使用干燥剂五氧化二磷在高度真空下干燥固体3天。然后去除干燥剂并将固体在40℃下再干燥48h。以这种方式,获得249g(342.15mmol,理论值的91%)标题化合物。

[0943] LC-MS(方法A):Rt=1.33min;m/z=729/731(M+H)+。

[0944] 1H-NMR(400MHz,DMSO-d6):δ[ppm]=1.37-1.66(m,2H),1.84-2.05(m,2H),2.56-2.81(m,10H),3.98-4.08(m,1H),5.01-5.14(m,2H),6.87(t,1H),7.05(d,2H),7.12(d,2H),7.23(t,1H),7.39-7.47(m,2H),7.54(d,1H),7.62(d,1H),7.71-7.90(m,7H),11.60-13.85(br.s,约2H)。

[0945] 就比较例11来说,绝对构型被确定为(5S),比较例12的对应绝对构型应该是相反的,即(5R)。

[0946] 比较例13

[0947] (5R)-5-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)[联苯]-4-基]甲

氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸单钠盐(对映异构体1)

[0948] 在容器中装入60g非晶形(5R)-5-([2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)[联苯]-4-基]甲氧基}苯基)乙基]{2-[4-(甲氧基羰基)苯基]乙基}氨基)-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸酯(比较例12)和800g丙酮。将容器加热至回流温度。在回流温度下形成的固体在冷却至室温后进行过滤。

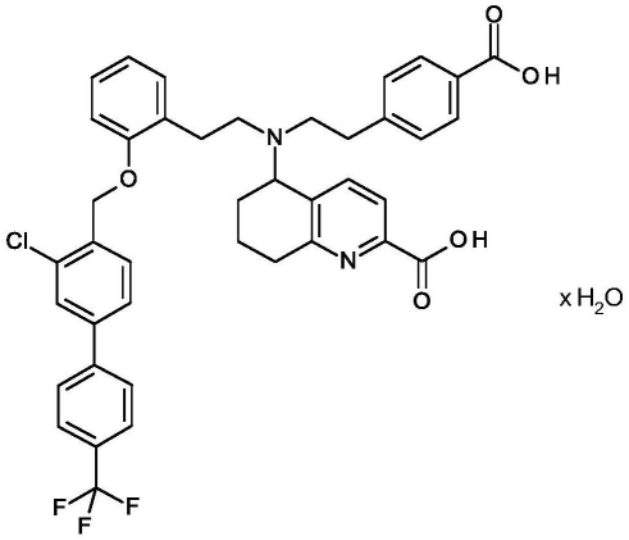
[0949] 产率:8g干产物,理论值的13%

[0950] 对映异构纯度(HPLC方法C):100%ee

[0951] (ICP):钠含量:3.1%钠

[0952] 比较例14

[0953] (5R)-5-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)[联苯]-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸单水合物II(对映异构体1)

[0954] 

[0955] 将174.2g比较例12与2003.3g丙酮在回流下搅拌。将混合物冷却至20℃并滤出不溶性固体(干燥后19.5g)。将273g丙酮加入到滤液中,将其加热至57℃并加入1101.4g水和0.4g单水合物II,R对映异构体的晶种(从类似于本程序的小规模预实验制备)。再加入1101.4g水并在室温下搅拌过夜。滤出产物并在55℃下真空(30毫巴)干燥至143.8g。

[0956] 已从根据相同程序制备的21.0g比较例12中获得另外20.3g。

[0957] 合并固体至164.1g,将161.0g这些固体与1993.0g丙酮在回流下搅拌。在这个温度下,加入930.0g水和0.8g单水合物II,R对映异构体的晶种(从类似于本程序的小规模预实验制备)并将其冷却至50℃。又再加入200.0g水和400.0g丙酮以改进可搅拌性。在50℃下搅拌1h,加入1263.0g水,搅拌30min,2h内冷却至20℃,并在室温下搅拌过夜。滤出产物并在55℃下真空(30毫巴)干燥至154.4g。

[0958] 将一部分固体(95.0g)在40℃下溶解于916.7g丙酮中,冷却至室温并将溶液过滤澄清。加入170.1g水,30分钟后加入单水合物II,R对映异构体的晶种(从类似于本程序的小规模预实验制备)并将其搅拌过夜。将稀悬浮液加热至50℃,将所得溶液冷却至室温,接种单水合物II、R对映异构体的晶种(从类似于本程序的小规模预实验制备)并将其搅拌过夜。滤出固体,用76.0g丙酮和19.0g水(8:2)的混合物洗涤并吸干至68.4g。

[0959] 滤液在40℃/250至15毫巴下浓缩并且滤出沉淀的固体。在55℃下将28.2g固体溶

解在157.2g丙酮水混合物(9:1w/w)中,冷却至15℃。加入10g水后,用单水合物II、R对映异构体的晶种(从类似于本程序的小规模预实验制备)接种,并在15℃下搅拌过夜。将悬浮液加热至50℃,搅拌30分钟并在4h内冷却至20℃。在1h内再次加热至50℃,在4.5h内冷却至15℃,并在15℃下搅拌过夜。滤出固体,用28g丙酮水(8:2w/w)洗涤混合物并吸干至20.6g。

[0960] 将固体合并为87.0g目标化合物。

[0961] 对映异构纯度(HPLC方法C):99.8%ee

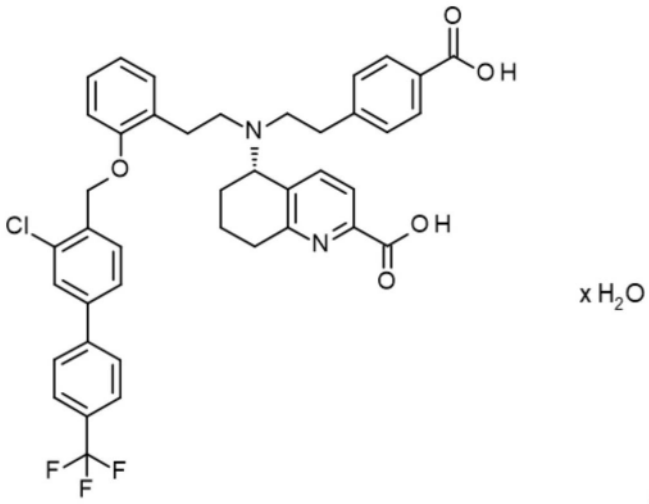
[0962] 纯度(方法M,面积):99.7%,Rf 9.33min

[0963] XRPD:单水合物II

[0964] 实施例

[0965] 实施例1

[0966] (5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸单水合物II(晶种)

[0967] 

x H_2O

(I-M-II)

[0968] 将2.0g式(I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸(以类似于比较例11的方式制造)溶解在16.2g丙酮和1.8g水(8:1混合物)中,再加入1.8g水。将澄清溶液搅拌过夜并在1.5h后开始结晶。抽滤出固体,用2g丙酮/水(8:2)洗涤并在60℃下用氮气真空干燥过夜:

[0969] 产率:1.5g白色固体,理论值的75%

[0970] XRPD:单水合物II,X射线粉末衍射图如图34中所示

[0971]

反射(最大峰值) [° 2θ]
5.7
6.1
7.1
8.5
9.4
9.9
10.2
10.8
11.4
11.6
11.7
12.2
12.7
13.0
13.9

[0972]

14.2
14.5
15.1
15.3
15.7
15.9
16.1
16.4
17.1
17.3
17.7
17.9
18.3
18.5
18.7
19.1
19.7
19.8
20.2
20.4
20.8
21.1
21.2
21.6
22.0
22.3
22.8
23.0
23.4
23.8
24.2
24.4
24.4
25.1
25.5
26.2
26.4
27.1
27.4
27.7

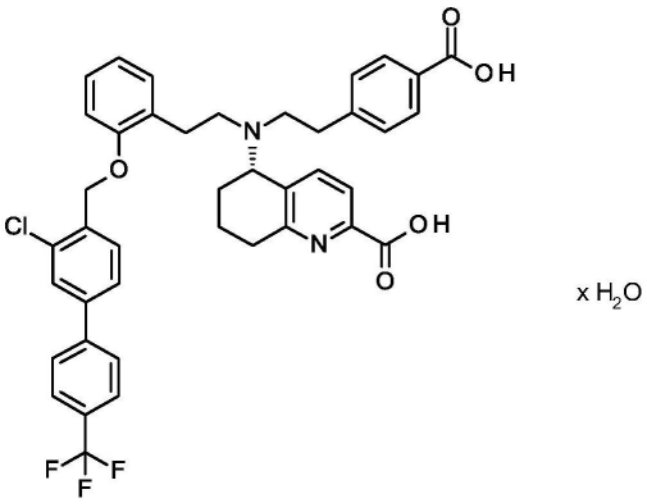
[0973]

28.0
28.5
28.9
29.2
29.5
29.7
30.0
30.4
30.6
31.2
31.6
32.2
32.4
32.8

[0974] 实施例2

[0975] (5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸如单水合物II

[0976] (途径3,由丙酮、甲醇和水中结晶)

[0977] 

[0978] 将1067g四氢呋喃置于6L玻璃搅拌装置中,在搅拌同时逐份加入333g(0.396mol)萘-1,5-二磺酸-(5S)-5-({2-[4-(丁氧基羰基)苯基]乙基}[2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)[联苯]-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基)-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸丁酯(1:1)加合物(实施例4A)。在20℃至25℃下加入1335ml水,然后加入氨水(27%),直至达到pH为7.8至8.2(约46g)。加入1440g二异丙醚,分离出水相,有机相再次用1335ml水/1ml 27%氨水洗涤,然后用1335ml水洗涤。有机相通过覆盖有200g硫酸钠(无水)的Seitz滤板进行过滤,用200g二异丙醚冲洗,滤液在40℃下真空浓缩,得到267g蒸发残余物。

[0979] 将蒸发后的残余物溶解在848g二噁烷中,加入1583g 1N氢氧化钠溶液并将混合物在60℃下搅拌5.5h。然后在20℃下加入1480g乙酸乙酯,分离出水相产物(二钠盐溶液),用1480g乙酸乙酯洗涤并在最高40℃下真空蒸馏出残余的乙酸乙酯。残余物用2500g水稀释,

将一部分二钠盐溶液(1178g)滴加到1095g四氢呋喃和137g 10％盐酸的混合物中,直至达到pH为4.0。

[0980] 二钠盐溶液的消耗量与提交的盐酸量有关,并且计算用于转化其他部分量的盐酸量。将第二等份的二钠盐溶液(1789g)滴加到计算量的四氢呋喃(1789g)和10％强度盐酸(208g)中,直至达到pH为4.0。

[0981] 将第三等份的二钠盐溶液(1510g)滴加到计算量的四氢呋喃(1505g)和10％强度盐酸(175g)中,直至达到pH为4.0。

[0982] 将合并的有机相在最高40℃下真空浓缩,直到无溶剂的水在回流冷凝器上冷凝。抽滤出沉淀的固体并用750g水洗涤。

[0983] 使用相同的程序,将第二部分和第三部分各333g萘-1,5-二磺酸(5S)-5-({2-[4-(丁氧基羰基)苯基]乙基}[2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)[联苯]-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基)-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸丁酯(1:1)加合物(实施例4A)根据上述程序进行转化。

[0984] 将合并的潮湿产物在60℃下在氮气流中真空干燥,得到587g(理论值的约91％)目标式I化合物。

[0985] 结晶:

[0986] 将固体(587g)与3674g丙酮和470g水的混合物一起加热至50℃。将获得的溶液通过Seitz滤板过滤并加热至40℃。将滤液与1.5g的(5S)-5-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)[联苯]-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸单水合物II(实施例1)晶种混合,在2h内冷却至20℃,搅拌0.5h,2h内再次加热至50℃。将混合物搅拌0.5h,在3h内冷却至20℃,搅拌0.5h并在2h过程内再次加热至50℃。在3h内将其冷却至20℃,搅拌0.5h并抽滤出固体。用800g丙酮和90g水的混合物洗涤潮湿产物,并在25℃下在真空氮气流中干燥至恒重361g。

[0987] 接收到的产物的过程内质量控制和修改不符合要求。因此,使其再次重结晶。

[0988] 将固体(361g)与1949g丙酮和217g水的混合物一起加热至50℃。将获得的溶液通过Seitz滤板过滤并加热至50℃。将其与1.5g(5S)-5-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)[联苯]-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸单水合物II(实施例1)的晶种混合,3h内冷却至20℃,搅拌0.5h,并在3h内再次加热至50℃。将混合物搅拌0.5h,在3h内冷却至20℃,搅拌0.5h并在3h内再次加热至50℃并且搅拌0.5h。在3h内将其冷却至20℃,搅拌0.5h并抽滤出固体。潮湿产物在25℃下在氮气流中真空干燥至271g的恒重。

[0989] 过程内控制证实了质量足够,但未对获得的产品进行所需的修改。因此,使其再次重结晶。

[0990] 将固体(271g)与1668g丙酮和75g水的混合物一起加热至50℃。将获得的溶液通过Seitz滤板过滤并加热至50℃。将其冷却至45℃,添加1.5g(5S)-5-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)[联苯]-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸单水合物II(实施例1)的晶种,3h内冷却至20℃,搅拌0.5h并在1h内加热至40℃。将悬浮液搅拌0.5h,在3h内冷却至20℃并搅拌,并且抽滤出固体。潮湿产物在25℃下在氮气流中真空干燥至恒重。

[0991] 过程内控制确认产物的质量和修改与需求一致。

[0992] 产率:117g单水合物II;理论产率的18%。

[0993] 对映异构纯度(HPLC方法C):99.6%ee

[0994] 纯度(峰面积):99.8%(方法M,Rt 9.33min)

[0995] XRPD:单水合物II,X射线粉末衍射图显示于图35中

[0996] 微粉化后:

[0997] 对映异构纯度(HPLC方法C):100.0%ee

[0998] 纯度(面积):99.7%(方法M,Rt 9.35min)

[0999] XRPD:部分非晶化的单水合物II,X射线粉末衍射图显示于图36中

[1000] 微粉化前的单水合物II:参见图35

[1001]

反射(最大峰值) [° 2θ]
5.7
6.1
6.3
7.1
8.5
9.9
10.1
10.2
10.8
11.4
11.6
11.8
12.2

[1002]

12.7
13.0
13.9
14.3
14.5
15.1
15.3
15.7
15.9
16.2
16.4
17.1
17.3
17.7
17.9
18.3
18.5
18.8
19.2
19.8
20.3
20.5
20.8
21.1
21.3
21.6
22.0
22.4
22.8
23.1
23.3
23.5
23.8
24.2
24.5
25.1
25.4
25.6
26.2
26.4

[1003]

26.7
27.1
27.4
27.7
28.1
28.3
28.5
28.9
29.2
29.5
29.8
30.0
30.6
30.7
31.2
31.7
32.2
32.4
32.8
34.8
35.3
36.3

[1004] 微粉化后的单水合物II(部分非晶化),图36

[1005]

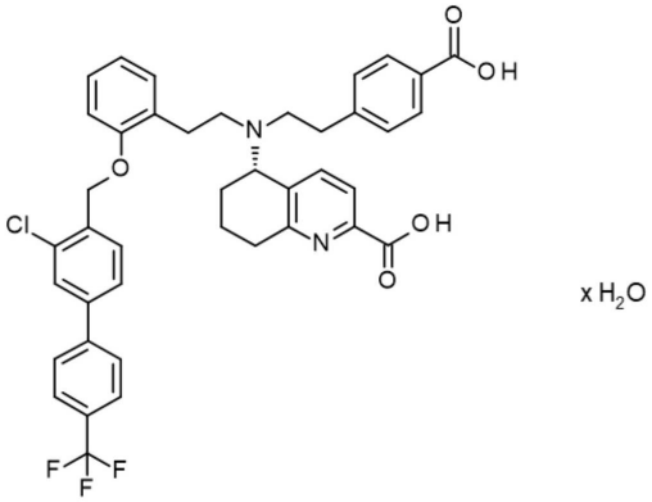
反射(最大峰值) [° 2θ]
5.7
6.1
7.1
8.5
9.9
10.1
10.8
11.5
11.6
12.2
12.7
13.0
13.9
14.2

[1006]

15.2
15.3
15.7
16.4
17.2
17.3
17.7
18.0
18.3
18.5
18.8
19.1
19.8
20.2
20.8
21.1
21.3
21.6
22.1
22.4
23.1
23.4
23.5
23.9
24.3
24.5
25.2
25.4
25.6
26.3
27.1
27.5
28.9
29.5
30.6
32.4

[1007] 实施例3

[1008] (5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸单水合物I(晶种)

[1009] 

[1010] 将2.0g式(I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸(以类似于比较例11的方式制造)溶于8.1g甲醇和1.8g水,并添加8.1g丙酮和额外1.8g水。将其搅拌过夜。抽滤出固体,用2g丙酮/水(8:2)洗涤并在60℃下用氮气空气真空干燥过夜。

[1011] 产率:1.8g白色固体,理论值的90%。

[1012] 对映异构纯度(HPLC方法C):92.0%ee

[1013] 纯度(面积):97.3%(方法M,Rt 8.94min)

[1014] XRPD:单水合物I,参见图37

[1015]

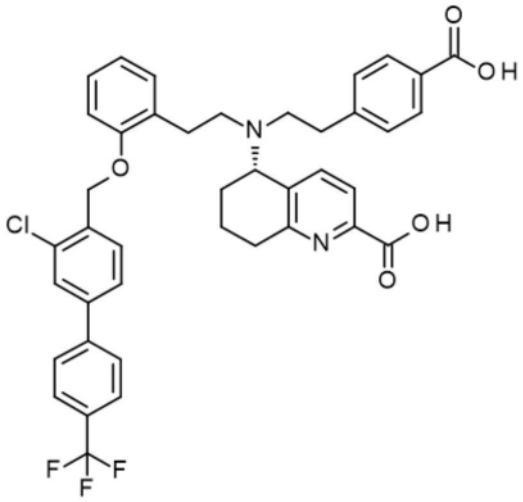
反射(最大峰值) [° 2θ]
5.7
7.1
9.9
10.2
10.7
11.4
12.2
12.8
14.0

[1016]

15.1
15.6
15.9
17.2
17.7
19.2
19.5
19.8
20.2
20.3
20.7
21.0
22.2
22.9
23.4
23.8
24.2
24.5
25.0
25.7
26.0
26.4
28.8
29.1
30.5
32.1

[1017] 实施例4

[1018] (5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸单水合物I

[1019] 

[1020] 从NSA盐释放二丁酯：

[1021] 将800g四氢呋喃置于6L玻璃搅拌装置，并在搅拌同时逐份添加250g(0.30mol)萘-1,5-二磺酸-(5S)-5-({2-[4-(丁氧基羰基)苯基]乙基}[2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)[联苯]-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基)-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸丁酯(1:1)(实施例4A)。在20℃至25℃下加入1L水，然后加入27％氨水，直至达到pH为7.8至8.2(约27g)。加入1080g二异丙醚，分离出水相，再次用1L水/0.8ml 27％氨水萃取有机相，然后用1L水洗涤。通过覆盖有150g硫酸钠(无水)的Seitz滤板来过滤有机相，用150g二异丙醚冲洗，并将滤液在40℃下真空浓缩至192g蒸发残余物。

[1022] 二丁酯的皂化：

[1023] 将蒸发残余物溶解在610g四氢呋喃中，加入1139g 1N氢氧化钠溶液并将混合物在60℃下搅拌24h。然后在20℃下加入875g乙酸乙酯，分离出产物水相(二钠盐溶液)并在最高40℃下真空蒸馏出残余乙酸乙酯。

[1024] 式I的游离酸的形成：

[1025] 残余物用1875g水稀释，通过Seitz滤板过滤，将一部分二钠盐溶液(835g)滴加到821g四氢呋喃和103g 10％盐酸的混合物中，直至达到pH值为4.0。添加174g氯化钠和420g四氢呋喃并分离出产物有机相。

[1026] 二钠盐溶液的消耗量与提交的盐酸量有关，并且计算用于转化其他部分量的盐酸量。将第二等份二钠盐溶液(2000g)滴加到计算量的四氢呋喃(2116g)和10％强度盐酸(246g)中，直至达到pH为4.0。添加174g氯化钠和420g四氢呋喃并分离出产物有机相。向合并的水相中加入261g氯化钠和1043g四氢呋喃并分离出产物有机相。合并的有机相在最高40℃下真空浓缩至残余体积为800ml。

[1027] 结晶：

[1028] 添加184g四氢呋喃并在20℃下搅拌的同时滴加646g甲醇和291g水的混合物。将其与0.8g的(5S)-5-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)[联苯]-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸单水合物I(实施例3)混合并搅拌12h。分离固体并用112g甲醇和112g水的混合物洗涤。然后将固体在20℃下真空干燥至127g。使用相同的程序制备第二份128g。

[1029] 用1020g丙酮和1020g甲醇的混合物将合并的固体加热至50℃，并冷却至20℃。将

获得的溶液通过Seitz滤板过滤,加热至50℃并在一段30分钟的时间内滴加460g水。向其接种1.5g单水合物I(实施例3)的晶种,搅拌30min,在至少30分钟内冷却至20℃并抽滤出固体。将潮湿产物与2550g水一起搅拌12小时,然后抽滤并用510g水洗涤两次。将潮湿产物在20℃下在氮气流中真空干燥至恒重。

[1030] 产率:230g单水合物I,(I-M-I);理论值的71%。

[1031] 纯度(面积):96.0%(方法M,Rt 8.94min)

[1032] 对映异构纯度(HPLC方法C):99.3%ee

[1033] XRPD:单水合物形式I;参见图38

[1034]

反射(最大峰值) [° 2θ]
5.7
6.9
7.2
7.4
9.9
10.7
11.1
11.5
12.0
12.2
12.4
12.8
13.7
14.1
14.3
15.2
15.6
16.0
16.9
17.2
17.5
17.7
18.0
18.4
18.8
19.1
19.9
20.3
20.5
20.7
20.9
21.3
21.9
22.2
22.5
23.0
23.2
23.4
23.7

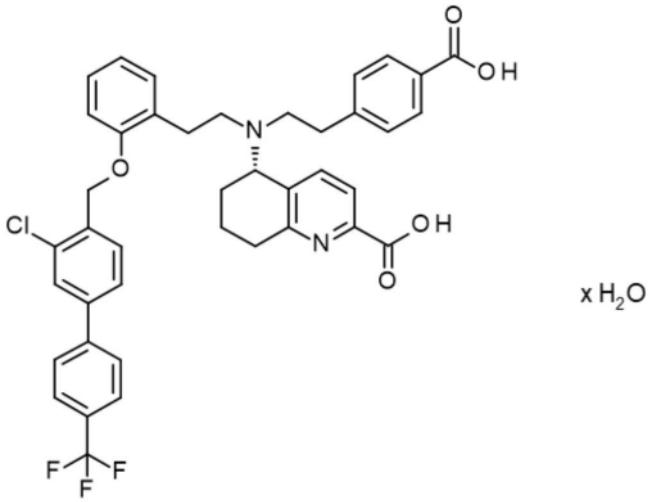
[1035]

24.1
24.4
25.1
25.8
26.1
26.5
26.8
28.8
29.4
30.0
30.6
31.0
32.2
35.4

[1036] 实施例5

[1037] (5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸单水合物I

[1038]



$x H_2O$

[1039] 在惰性化的2L反应器中,将(5S)-5-({2-[4-(丁氧基羰基)苯基]乙基}[2-(2-羟基苯基)乙基]氨基)-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸丁酯(实施例2A,WO2021/233783)(50.8g,1.0eq.)在T护套=22℃下溶解在乙腈(380mL)中。在T护套=50℃和120毫巴下蒸馏溶液。然后再次加入乙腈(380ml)并且在相同条件下再次蒸馏混合物。向溶液中加入乙腈(660mL)并搅拌5分钟。然后加入4-(溴甲基)-3-氯-4'-(三氟甲基)[联苯](联芳基苯甲基溴)(53.5g,1.2eq.)并且再次搅拌混合物5min直至其溶解。然后加入碳酸铯(83.1g,2.0eq.)并将混合物搅拌4小时。又再将碳酸铯(20.8g,0.5eq.)加入到悬浮液中并将混合物搅拌1h。产物悬浮液通过过滤进行澄清,并且滤饼在锅上用乙腈(110mL)洗涤一次。处理掉滤饼。

[1040] 在90毫巴和T护套=45℃下,将有机反应溶液在惰性2L反应器中浓缩,直至馏出物干涸。当T护套=23℃时,加入THF(425mL)。将溶液在150毫巴和T护套=45℃下浓缩,直到馏出物干涸。向溶液中加入THF(425mL)和4% NaOH(680mL)。将乳液加热至T内部=60℃并再

搅拌20小时。

[1041] 将溶液冷却至T内部＝23℃,并且加入去离子水(800ml)和乙酸乙酯(435ml),并将混合物搅拌15min。分离各相。丢弃有机相并用乙酸乙酯(435mL)萃取水相。丢弃有机相并在140-160毫巴和T护套＝45-40℃至T内部＝36℃下蒸馏水相。产物溶液通过过滤进行澄清,滤饼用去离子水(80mL)洗涤一次。处理掉残余物。

[1042] 滴定产物溶液。为此,将25％ HCl、去离子水和THF放入惰性化4升反应器中。在T内部＝20℃±5℃下添加有机产物溶液直至pH3.8-4.2。然后加入THF(360mL)和氯化钠(471g)并将混合物搅拌30min。分离各相并用THF(450mL)萃取水相。除去水相并使有机相结晶。为此,在200毫巴和ΔT＝30℃下将其浓缩至储槽质量(sump mass)。然后加入THF并在相同条件下将混合物再次蒸馏至理论产率的4倍。在T内部＝22℃下,计量加入去离子水(49mL)和甲醇(144ml)的混合物,接种并搅拌15min。进一步计量加入去离子水(113ml)和甲醇(335mL)的混合物并将混合物搅拌过夜。将悬浮液过滤并将产物在锅上用去离子水和甲醇(1:1)的混合物洗涤一次。然后在40-50℃和40-30毫巴下干燥。

[1043] 产率:23.4g,理论值的67％

[1044] 纯度(面积):99.3％(新方法M,Rt 6.28)

[1045] XRPD:单水合物I,参见图39

[1046] 实施例6

[1047] 探讨式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸的结晶/多晶型形式的研究

[1048] 实施例6a

[1049] (5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸半水合物

[1050] 将2.9g(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸单水合物I(以类似于实施例3/4的方式制备的材料)悬浮在20ml丙酮中。悬浮液在环境条件下搅拌三天。将残余物过滤并将所得固体在环境条件下干燥。

[1051] 水含量:1.5％水

[1052] 拉曼:参见表13,参见图12

[1053] IR:参见表14,参见图19

[1054] XRPD:参见表12,参见图5

[1055] 实施例6b

[1056] (5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸单水合物I

[1057] 以类似于实施例3(单水合物I)的方式制备目标化合物。

[1058] 水含量:干燥前3.9％水,而干燥后2.4％水

[1059] 拉曼:参见表13,参见图13

[1060] IR:参见表14,参见图20

[1061] XRPD:参见表12,参见图6

[1062] 实施例6c

[1063] (5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸单水合物II

[1064] 以类似于实施例1(单水合物II)的方式制备目标化合物。

[1065] 水含量:干燥前3.9%水,而干燥后2.4%水

[1066] 拉曼:参见表13,参见图14

[1067] IR:参见表14,参见图21

[1068] XRPD:参见表12,参见图7

[1069] 实施例6d

[1070] (5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸1.25水合物

[1071] 将3g(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸单水合物I(以类似于实施例3/4的方式制备的材料)悬浮在20mL异丙醇/水混合物(1:1)中。悬浮液在60℃下搅拌八天。将残余物过滤并将所得固体在环境条件下干燥。

[1072] 水含量:2.9%水

[1073] 拉曼:参见表13,参见图15

[1074] IR:参见表14,参见图22

[1075] XRPD:参见表12,参见图8

[1076] 实施例6e

[1077] (5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸倍半水合物

[1078] 将3g(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸单水合物I(以类似于实施例3/4的方式制备的材料)悬浮在15mL异丙醇/水混合物(1:1)中。悬浮液在80℃下搅拌四周。加入额外10mL溶剂混合物以改进悬浮液的搅拌性质。将残余物过滤并将所得固体在环境条件下干燥。

[1079] 水含量:3.7%水

[1080] 拉曼:参见表13,参见图16

[1081] IR:参见表14,参见图23

[1082] XRPD:参见表12,参见图9

[1083] 实施例6f

[1084] (5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸二水合物

[1085] 将3g(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸单水合物I(以类似于实施例3/4的方式制备的材料)悬浮在20mL甲醇中。将悬浮液在环境条件下搅拌八天。将残余物过滤并将所得固体在环境条件下干燥。

[1086] 水含量:4.8%水

[1087] 拉曼:参见表13,参见图17

[1088] IR:参见表14,参见图24

[1089] XRPD:参见表12,参见图10

[1090] 干燥后,二水合物形式变为非晶形。

[1091] XRPD:非晶形形式,参见图10a

[1092] 图6g

[1093] (5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸

[1094] 以类似于比较例11的方式制备非晶形形式。

[1095] 拉曼:参见表13,参见图18

[1096] IR:参见表14,参见图25

[1097] XRPD:参见表12,参见图11

[1098] 式(I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸多晶型形式的物理表征

[1099] 表12:式(I)化合物假多晶型形式的XRPD(X射线粉末衍射)数据

[1100] 根据标题方法所述的一般程序记录XRPD。

[1101]

反射(最大峰值) [2θ]					
半水合物	单水合物 I	单水合物 II	1.25 水合物	倍半水合物	二水合物
3.1	5.7	5.7	5.9	5.1	6.1
5.3	6.9	6.1	6.1	6.3	6.8
6.7	7.2	7.1	7.9	7.6	10.1
7.1	7.3	8.5	10.5	8.6	10.5
9.3	9.9	9.9	11.9	11.4	11.2
10.6	10.4	10.2	12.2	12.2	11.3
12.4	10.6	10.8	12.5	12.5	12.3
14.3	11.1	11.4	13.2	12.9	12.5
16.1	11.5	11.6	13.6	13.3	13.1
19.7	12.0	11.8	13.7	14.3	13.6
20.8	12.3	12.0	14.4	14.5	14.6
24.0	12.4	12.2	15.2	15.2	14.8
31.1	12.8	12.7	15.3	15.5	15.5
	13.7	13.0	15.4	15.8	16.2
	14.1	13.9	15.7	16.2	16.4
	14.3	14.2	15.9	16.4	16.8
	15.2	15.2	16.5	16.7	17.1
	15.6	15.3	16.9	17.3	17.3
	16.0	15.7	17.2	17.5	17.9
	16.9	16.4	17.4	17.7	18.5
	17.2	17.3	17.6	18.3	18.8
	17.5	17.7	17.8	18.7	19.5
	17.7	17.9	18.3	19.4	20.2
	18.0	18.3	18.6	20.5	20.5
	18.4	18.5	18.7	20.7	21.1
	18.8	18.8	19.0	20.8	21.4
	19.2	19.2	19.5	21.4	22.2
	19.9	19.8	19.6	21.51	23.2
	20.2	20.2	19.8	21.8	24.3
	20.5	20.8	20.5	22.4	25.1
	20.7	21.1	20.7	22.9	25.4
	21.3	21.7	21.0	23.4	25.6
	21.9	22.0	21.4	24.0	26.3
	22.2	22.4	22.0	24.7	26.9
	22.5	22.8	23.2	25.1	27.4
	23.0	23.1	23.8	26.1	28.5
	23.4	23.4	24.0	26.4	28.7
	23.7	23.9	24.4	27.0	29.6
	24.1	24.2	24.6	27.4	
	25.1	24.4	25.0	28.5	
	25.8	25.1	25.2	32.2	
	26.0	25.5	25.6	36.5	
	26.4	25.7	26.1		
	28.9	26.2	26.8		
	29.2	26.4	27.4		
	29.4	26.8	27.6		

[1102]

反射(最大峰值) [2θ]					
半水合物	单水合物 I	单水合物 II	1.25 水合物	倍半水合物	二水合物
	30.6	27.2	28.4		
	31.1	27.5	28.8		
	32.2	28.9	30.2		
	35.3	30.0	30.7		
		30.1	31.1		
		30.6	31.6		
		32.2	32.3		
		32.4			

[1103] 表13:式(I)化合物假多晶型形式的拉曼数据

[1104] 根据标题方法所述的一般程序记录拉曼光谱。

[1105]

带[最大峰值，以 cm-1 计]						
半水合物	单水合物 I	单水合物 II	1.25 水合物	倍半水合物	二水合物	非晶形
3069	3073	3073	3064	3081	3073	3069
2941	2950	3042	2954	3064	2971	3008
2917	2937	3003	2933	3019	2940	2938
2862	2906	2950	2907	2993	2897	2869
2825	2892	2936	2858	2979	2877	2732
1700	2852	2892	2828	2965	2864	1769
1689	1685	2854	1765	2924	1689	1708
1617	1616	1685	1694	2897	1617	1617
1528	1527	1615	1610	2873	1611	1610
1496	1451	1526	1528	2858	1573	1587
1487	1440	1458	1492	2805	1527	1527
1452	1420	1451	1459	2736	1497	1489
1423	1384	1441	1449	1690	1460	1450
1372	1374	1420	1439	1616	1454	1372
1349	1328	1384	1430	1530	1443	1326
1329	1293	1372	1381	1463	1433	1279
1294	1278	1328	1369	1453	1422	1263
1283	1259	1294	1327	1440	1384	1231
1269	1228	1279	1283	1421	1372	1205
1260	1191	1259	1258	1370	1332	1194
1229	1162	1228	1233	1330	1296	1162
1207	1153	1196	1197	1291	1282	1126

[1106]

带[最大峰值，以 cm-1 计]						
半水合物	单水合物 I	单水合物 II	1.25 水合物	倍半水合物	二水合物	非晶形
1196	1128	1162	1166	1274	1259	1072
1163	1116	1153	1128	1263	1228	1054
1131	1056	1128	1116	1231	1196	1037
1074	1042	1057	1053	1199	1169	1015
1054	1033	1043	1041	1183	1149	960
1042	1015	1016	1015	1169	1128	926
1014	997	998	999	1148	1115	883
1002	937	894	938	1131	1059	859
936	922	861	922	1115	1042	843
885	893	843	887	1096	1015	804
860	861	837	858	1071	1003	777
844	844	808	840	1060	937	766
819	808	777	817	1040	924	755
804	793	757	806	964	891	738
776	776	750	775	944	873	692
745	756	701	755	928	861	638
702	750	693	746	911	835	457
693	703	655	739	863	806	440
657	692	638	701	850	777	408
638	655	569	658	835	757	183
572	638	473	637	826	750	107
476	568	463	605	814	741	
464	473	439	587	805	703	
439	464	419	571	767	692	
423	439	410	477	757	658	
407	419	394	462	743	652	
395	410	357	441	701	637	
349	393	323	421	693	601	
300	359	302	403	678	571	
242	323	281	333	656	465	
176	301	233	316	634	438	
145	281	208	297	491	422	
110	230	195	282	464	410	
	197	148	226	440	399	
	149	117	177	422	360	

[1107]

带[最大峰值，以 cm-1 计]						
半水合物	单水合物 I	单水合物 II	1.25 水合物	倍半水合物	二水合物	非晶形
	117		142	409	314	
			102	394	287	
				372	226	
				349	190	
				341	152	
				326	103	
				301		
				271		
				251		
				243		
				224		
				187		
				156		
				113		

[1108] 表14:式(I)化合物假多晶型形式的IR数据

[1109] 根据标题方法所述的一般程序记录IR光谱。

[1110]

带[最大峰值，以 cm-1 计]						
半水合物	单水合物 I	单水合物 II	1.25 水合物	倍半水合物	二水合物	非晶形
3032	3660	3659	3426	3516	3395	3405
2937	3416	3416	3044	3404	3197	3036
2864	3038	3039	2921	3073	3037	2941
2648	2933	2934	2854	2939	2938	2864
1761	2863	2892	2832	2922	2865	2644
1695	2809	2862	2650	2895	2646	1701
1640	2644	2809	1767	2876	1684	1685
1590	1761	2733	1692	2854	1597	1599
1558	1678	2647	1602	2815	1558	1559
1528	1595	1762	1511	2733	1539	1494
1495	1539	1679	1497	2650	1497	1453
1452	1498	1595	1448	1683	1453	1419
1418	1454	1539	1429	1668	1431	1371
1373	1419	1498	1376	1607	1419	1325

[1111]

带[最大峰值，以 cm-1 计]						
半水合物	单水合物 I	单水合物 II	1.25 水合物	倍半水合物	二水合物	非晶形
1325	1375	1454	1325	1594	1376	1272
1293	1327	1431	1275	1559	1327	1238
1241	1292	1419	1237	1533	1270	1166
1166	1272	1375	1178	1503	1241	1112
1112	1242	1327	1158	1450	1167	1072
1072	1167	1292	1128	1377	1106	1057
1059	1110	1272	1109	1330	1072	1036
1038	1072	1242	1066	1302	1037	1014
1014	1062	1167	1040	1242	1013	925
924	1039	1110	1014	1171	954	882
883	1014	1072	939	1152	924	845
844	956	1062	924	1136	886	821
818	938	1039	887	1105	844	805
750	923	1014	858	1073	819	751
703	887	938	840	1060	804	704
692	858	923	815	1036	750	692
656	845	888	805	1013	703	669
635	818	858	783	992	691	654
591	806	845	748	954	656	637
582	742	818	701	928	634	609
569	703	806	692	910	608	589
	692	756	657	881	575	577
	654	742	646	862	564	558
	637	703	641	849	558	
	608	692	635	819		
	575	654	604	802		
	559	637	577	778		
		609	560	755		
		576		740		
		558		700		
				692		
				655		
				640		
				632		
				606		
				566		

[1112]

带[最大峰值，以 cm-1 计]						
半水合物	单水合物 I	单水合物 II	1.25 水合物	倍半水合物	二水合物	非晶形
				559		

[1113] B-假多晶型形式的性质

[1114] 实施例7

[1115] 式(I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸的假多晶型形式,例如式(I-M-II)的单水合物II的性质

[1116] 储存稳定性

[1117] 化合物的稳定性和均匀性是医药品的关键要求,也是获得卫生当局批准的先决条件。它提高了包含式(I)化合物的制品和制剂的安全性与质量,因此降低了对患者的风险。

[1118] 呈单水合物II形式的式(I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸用于在不同条件下历时一个月、三个月和六个月的储存稳定性研究:

[1119] 表15:储存稳定性研究结果,单水合物II作为起始材料

[1120]

实施例	容器	温度	相对湿度	结果
7a	棕色玻璃暗扣封闭件	25℃	60%	单水合物II
7b	聚乙烯	25℃	60%	单水合物I
7c	聚乙烯	40℃	75%	单水合物I
7d	棕色玻璃,经滤纸盘封闭	40℃	75%	单水合物I

[1121] 在大多数这些储存条件下,单水合物II(起始材料,参见图40)经历转化为单水合物I(参见例如图41:实施例7b,XRPD)。

[1122] 相比之下,式(I-M-I)的单水合物I在这些条件下是稳定的。

[1123] 尤其是,式(I)化合物的单水合物I确保防止非所需转化成式(I)化合物的另一种形式和如上所述的相关性质变化。

[1124] 实施例8

[1125] 式(I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸的假多晶型形式,例如式(I-M-II)的单水合物II的性质

[1126] 微粉化

[1127] 关于吸入性药品,重要的是要确保原料药均质,其明确的粒度<5μm,以确保地递送到肺部深处隔室。这个技术要求可以通过原料药颗粒的微粉化得到满足。

[1128] 表16a中规定了为达到这个要求而设定的活性成分粒度分布的适当规格。

[1129] 表16a:活性成分(例如式(I-M-I)或(I-M-II)的化合物)的粒度分布

[1130]

粒度上限X90	最大值6μm
粒度平均X50	1-3μm
粒度下限X10	最大值1μm

[1131] 为了研究式(I-M-II)的单水合物II用于药品制造的可行性,测试了几种微粉化条件。在必要的微粉化步骤期间,通常不应发生非晶化(甚至是部分非晶化)或形式转化。即使微粉化期间的部分非晶化也可能导致活性成分和/或最终药品中活性成分在储存期间重结晶的风险。

[1132] 利用以下参数,使用50mm螺旋喷射研磨机和加压氮气将对应批次(实施例8a-8d)进行微粉化(参见表16b)。

[1133] 表16b:不同的微粉化条件,单水合物II作为起始材料

[1134]

实施例	研磨机类型	温度	注射器压力	研磨压力	通量	PSD	观察结果
8a	VA 喷射研磨机	25°C	4.5 巴	4.0 巴	4.5 g/min	X10: 0.2 μm, X50: 1.7 μm, X90: 4.2 μm (干式测量 4 巴)	转化成单水合物 I
8b	包覆 PTFE 的喷射研磨机	25°C	4.5 巴	4.0 巴	4.5 g/min	X10: 0.4 μm, X50: 1.9 μm, X90: 5.0 μm (干式测量 4 巴)	单水合物 II 部分非晶化
8c	VA 喷射研磨机	65°C	4.5 巴	4.0 巴	5.5 g/min	X10: 0.4 μm, X50: 1.8 μm, X90: 4.8 μm (干式测量 4 巴)	单水合物 II 部分非晶化
8d	VA 喷射研磨机(低压条件)	65°C	4.5 巴	3.0 巴	10.6 g/min	X10: 0.7 μm, X50: 2.3 μm, X90: 9.6 μm (干式测量 4 巴)	单水合物 II 部分非晶化

[1135] 首先,在标准条件下(在温度为25℃下,VA喷射研磨机(50mm))的定向实验期间发现,单水合物II可以主要被微粉化以获得所需的粒度分布(参见表16a和表16b,实施例8a)。

[1136] 在式(I-M-II)的单水合物II微粉化期间,在几种条件下发生部分非晶化,甚至是在“低压”下(参见上表16b和图42,XRPD)。

[1137] XRPD:部分非晶化的单水合物II,实施例8b

[1138] 此外已发现,除了部分非晶化之外,在使用VA喷射研磨机(直径50mm)、25℃进行微粉化的情况下,还发生了从单水合物II转化成单水合物I(参见表16b、实施例8a和图43,XRPD)。

[1139] 由于所有研究条件都显示形式转化成形式I或形式II的部分非晶化,因此进一步研究单水合物I以检查单水合物I用于可靠药物制造的可行性。

[1140] 利用以下参数,使用100mm螺旋喷射研磨机和加压氮气将对应批次进行微粉化(参见表16c)。

[1141] 表16c:大型批量微粉化条件,单水合物I作为起始材料

[1142]

实施例	研磨机类型	温度	注射器压力	研磨压力[巴]	通量	PSD	观察结果
8e	包覆PTFE的喷射研磨机	25°C	5 巴	4.5 巴	22.8 g/min	X10: 0.7 μm, X50: 2.1 μm, X90: 6.1 μm (干式测量 4 巴)	单水合物 I
8f	包覆PTFE的喷射研磨机	65°C	5 巴	4.0 巴	23 至 28 g/min	X10: 0.6 μm, X50: 2.4 μm, X90: 6.3 μm (干式测量 3 巴, N=3)	单水合物 I
8g	VA (不锈钢)喷射研磨机	25°C	6 巴	4.5 巴	8,5 g/min	X10: 0,5 μm, X50: 1.8 μm, X90: 3.9 μm (干式测量 3 巴)	单水合物 I

[1143] 上表中引用的所有测量值都是通过使用压缩空气的干式分散激光衍射而获得的。在带有表面活性剂的水性悬浮液中进行测量可能会导致粒度更小(x90至多1μm更小)。

[1144] 相比之下,式(I-M-I)的单水合物I在微粉化条件下是稳定的。(参见表16c,实施例8e)

[1145] XRPD:单水合物形式I;参见图44

[1146] C-药物组合物

[1147] C-1吸入用干粉制品

[1148] 根据以下制造说明,将根据本发明的化合物(例如式(I-M-I)的单水合物I(实施例4)或式(I-M-II)的单水合物II(实施例2))配制并制造成药物干粉制品。这个工艺适用于最终产品,针对每个示例性实施方案或比较例(4-44),如果适用的话,描述各个制造步骤的偏离步骤(deviating step):

[1149] 制造方法

[1150] 步骤1:在开始混合之前,称取细乳糖部分并分层放置在两层或粗乳糖之间。

[1151] 步骤2:以32rpm进行乳糖预掺合物的混合持续2x 20分钟。乳糖预掺合物在循环之间通过500μg筛网进行过筛。

[1152] 步骤3:将经微粉化的活性成分(例如式(I-M-I)的单水合物I,实施例4,或式(I-M-II)的单水合物II,实施例2)通过500μm筛网进行过筛并加入到预掺合的乳糖中。在开始混合循环之前,将乳糖预掺合物和活性成分以10层乳糖预掺合物和9层活性成分、6层乳糖预掺合物和其间5层活性成分(例如式(I-M-I)的单水合物I,实施例4,或式(I-M-II)的单水合物II,实施例2),或2层乳糖预掺合物和其间1层活性成分(实施例4),优选在开始混合前6/5层交替分层放置。

[1153] 步骤4:将组分在滚筒混合器中混合数个循环。每个循环在32rpm下进行30分钟,混合循环之间有10分钟的休息时间。如果需要的话(例如可见团聚物),可以分别在混合循环之间将掺合物过筛。

[1154] 步骤5:将掺合物在室温(15-25℃)和35-65%相对湿度下,在不锈钢容器中静置至

少48小时

[1155] 步骤6:使用胶囊填充机(例如MG2 Flexalab)将掺合物以所需的填充重量填充到胶囊中。

[1156] 吸入用干粉掺合物:

[1157] 表17:示例性实施方案1-3(包含实施例4)的组成(乳糖含量/比率)

[1158]

	示例性实施方案 1		示例性实施方案 2		示例性实施方案 3	
API 浓度和批量	0.75%活性成分，300g		3%活性成分，300g		10%活性成分，300g	
	量(g)	量(%)	量(g)	量(%)	量(g)	量(%)
活性成分:单水合物 I，实施例 4*	2.25	0.75%	9.00	3%	30.00	10%
粗乳糖	282.75	94.25%	276.00	92%	255.00	85%
(Lactohale 100)						
细乳糖 (Lactohale 300)	15.00	5%	15.00	5%	15.00	5%
总计	300.00		300.00		300.00	
掺合物均匀性测定(RSD%)		99% (2.1%)		102% (2.2%)		102% (4.4%)
乳糖混合物中的 LH 300 细粒含量**		5.0%		5.2%		5.6%
比率 活性成分:LH 100		1:126		1:31		1:8.5
比率 活性成分:LH 300*		1:6.7		1:1.67		1:0.5

[1159]

[1160] *用作单水合物I。

[1161] **细乳糖(LH 300)与粗乳糖(LH 100)的比率略有不同,出于实际原因,粉末掺合物中的细乳糖实际量保持不变,并且通过LH 100粗乳糖含量降低来调整API(化合物1)的不同量。细乳糖(LH 300)的含量百分比在所有制剂中都是固定的,活性成分与细乳糖部分和粗乳糖部分的比率在指定范围内变化。

[1162] 对于吸入性药品来说,重要的是要保证原料药的均质性,其明确的粒度<5μm,以确保输送到肺部深处隔室。这个技术要求可以通过原料药颗粒的微粉化来实现。

[1163] 表18中规定了为达到这个要求而设定的活性成分粒度分布的适当规格。

[1164] 根据本发明的活性成分式(I-M-I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸单水合物I(实施例4)的粒度分布如下表18中所定义。

[1165] 表18:实施例4的粒度分布

[1166]

粒度上限X90	最大值6μm
粒度平均X50	1-3μm

粒度下限X10	最大值1μm

[1167] 根据本发明,吸入用乳糖以不同的粒度范围和不同特征来使用。

[1168] 根据本发明,粗乳糖材料是经过筛的、结晶、细粒含量低的a-乳糖单水合物(例如以Lactohale®100商购)。

[1169] 一种不同的中等粗乳糖是经研磨的Lactohale®200,它已经含有大量的乳糖细粒,基本上可以为客户定制所需的粒度和细粒含量。

[1170] 另一种不同的粗乳糖是Lactohale®206,它是一种经研磨的α-乳糖,具有严格控制的粒度,不含任何细粒。

[1171] 根据本发明,细乳糖材料是具有X90≤10μm的低粒度("乳糖细粒")的微粉化、结晶、a-乳糖单水合物(例如以Lactohale®300商购)。根据本发明,也可以选择具有相似性质和粒度的精细微粉化乳糖(例如MeggleInhalac®500)。

[1172] 一种不同的细乳糖材料是Lactohale230®,一种具有低粒度的α-乳糖单水合物,X90<30μm,经过研磨,具有不规则形状的颗粒;

[1173] 根据本发明,吸入用乳糖(例如Lactohale®100、Lactohale®300与其他)的粒度分布如下表19中所定义。

[1174] 表19:乳糖载体组分的粒度分布

[1175]

	粗乳糖	细乳糖
	Lactohale® 100	Lactohale® 300
粒度上限 X90	200 - 250 μm	≤ 10 μm
粒度平均 X50	125 - 145 μm	≤ 5 μm
粒度下限 X10	45 - 65 μm	未定义
	Lactohale® 200*	
粒度上限 X90	120 - 160 μm	

[1176]

粒度平均 X50	50 - 100 μm	
粒度下限 X10	5 - 15 μm	
	Lactohale® 206**	Lactohale® 230***
粒度上限 X90	115 - 170 μm	< 30 μm
粒度平均 X50	75 - 95 μm	< 10 μm
粒度平均 X10	20 - 50 μm	1.0 – 3.0 μm

[1177] *如用于比较例20和示例性实施方案34-35

[1178] **如用于示例性实施方案39-44

[1179] ***如用于示例性实施方案36-38和42-44

[1180] 如D.3所述,通过测量掺合物测定和均匀性来评估掺合物的质量。

[1181] 作为质量要求,根据本发明的掺合物应满足以下标准:

[1182] 掺合物测定为90-110%,优选95-105%(活性成分含量,以%计)

[1183] 以及RSD(=相对标准偏差,n=10个样品)为NMT(=不超过)10%,优选7.5%,更优选5%的掺合物均匀性。

[1184] 胶囊中的干粉掺合物(吸入用成品制剂):

[1185] 将包含微粉化活性成分(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,优选(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸单水合物I(实施例4)以及乳糖载体组分(细乳糖和粗乳糖)的干粉掺合物填充到硬胶囊(羟丙基甲基纤维素=羟丙甲纤维素=HPMC,例如3号)或由硬明胶或其他合适材料制成的替代胶囊中。

[1186] 根据填充重量和活性成分浓度,可以获得不同的标称剂量。具有不同标称剂量的实施例4(单水合物I)的胶囊的示例性组成展示在下表中。评估最终产品(硬明胶胶囊中的干粉组合物)的对应气溶胶性能(参见表20)。

[1187] 表20:示例性实施方案1-3的气溶胶性能

[1188]

	示例性实施方案1	示例性实施方案2	示例性实施方案3
标称剂量	120μg	480μg	1000μg
在粉末掺合物中,活性成分实施例4的浓度	0.75%	3%	10%
填充重量	16 mg	16mg	10 mg
递送剂量(DD)	71μg	316μg	705μg
DD(标称的%)	59%	66%	71%
细粒剂量<4.5μm (FPD)	32μg	128μg	258μg
FPF(标称的%)	27%	27%	26%
FPF(DD的%)	45%	41%	37%

[1189] 气溶胶性能包括如递送剂量(DD)、细粒剂量(=FPD)和细粒分率(=FPF)的参数。根据方法D.1测量DD,根据方法D.2(空气动力学粒度分布)测量细粒剂量(=FPD)和细粒分率(=FPF)。

[1190] 作为质量要求,根据本发明胶囊中的干粉掺合物应满足以下标准:

[1191] FPF(活性成分的标称剂量%,<4.5μm)≥20%,以及

[1192] FPF(活性成分的DD%<4.5μm)≥活性成分的30%

[1193] 如上表中所示,示例性实施方案1-3展示了优异的气溶胶性能和掺合物的适当均匀性,以及良好的化学稳定性(参见稳定性数据)。

[1194] 比较例与本发明的更多示例性实施方案

[1195] 也利用呈物理单水合物II形式(实施例2)的式(I-M-II)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸单水合物II并使用部分不同的制造方法来制造干粉掺合物(见下文)。

[1196] 根据本发明,活性成分式(I-M-II)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸单水合物II(实施例2)的粒度分布如下表21中所定义。

[1197] 表21:实施例2的粒度分布

[1198]

粒度上限X90	最大值6μm
粒度平均X50	1-3μm
粒度下限X10	最大值1μm

[1199] 示例性实施方案4-6总结在下表中。

[1200] 表22:包含实施例2的示例性实施方案4-6的组成(乳糖含量)

[1201]

	示例性实施方案 4		示例性实施方案 5		示例性实施方案 6	
API 浓度和批量	(0.75%活性成分, 300g)		(3%活性成分, 300g)		(10%活性成分, 300g)	
	量(g)	量(%)	量(g)	量(%)	量(g)	量(%)
活性成分: (实施例 2)*	3.75	0.75%	9.00	3%	20.00	10%
粗乳糖 (Lactohale 100)	471.25	94.25%	276.00	92%	170.00	85%
细乳糖 (Lactohale 300)	25.00	5%	15.00	5%	10.00	5%
总计	500.00		300.00		200.00	
掺合物均匀性测定 (RSD%)		96% (1.5%)		98% (0.8%)		103% (4.4%)
LH 300 细粒含量乳糖混合物**		5.0%		5.2%		5.6%
比率 活性成分:LH 100**		1:126		1:31		1:8.5
比率 活性成分:LH 300**		1:6.7		1:1.67		1:0.5

[1202] *用作单水合物II

[1203] **细乳糖(LH 300)与粗乳糖(LH 100)的比率在根据本发明的示例性实施方案1-3的部分中进行了解释。

[1204] 示例性实施方案4-6的制造方法在步骤2、3和4中有所不同

[1205] 步骤2:以67rpm(针对示例性实施方案4的低强度掺合物为72rpm)进行乳糖预掺合物的混合历时2x 20分钟。乳糖预掺合物在循环之间通过500μg筛网过筛。

[1206] 步骤3:活性成分:单水合物II,经微粉化实施例2被加入预掺合乳糖中,无需过筛。在开始混合循环之前,将乳糖预掺合物和活性成分交替分层放置,4层乳糖预掺合物和其间3层活性成分(实施例2,单水合物II化合物1)。

[1207] 步骤4:在第一个混合循环开始之前,将分层混合物通过500μm筛网进行过筛。组分在滚筒混合器中以3个循环进行混合。每个循环以67rpm(针对示例性实施方案4的低强度掺合物为72rpm)进行30分钟,并在混合循环之间通过500μm筛网进行过筛。

[1208] 获得以下示例性实施方案4-6的填充胶囊结果。

[1209] 表23:示例性实施方案4-6的气溶胶性能

[1210]

	示例性实施方案 4.1 + 4.2 (低/高粉末填充)		示例性实施方案 5	示例性实施方案 6
标称剂量	60μg	120μg	480μg	1000μg
在粉末掺合物中，活性成分，实施例 2 的浓度	0.75%	0.75%	3%	10%
填充重量	8mg	16mg	16mg	10mg
递送剂量(DD)	30μg	82μg	316μg	671 μg
DD (标称的%)	50%	68%	66%	67%
细粒剂量<4.5μm (FPD)	12μg	31μg	126μg	242μg
FPF (标称的%)	20%	26%	26%	24%
FPF (DD 的%)	40%	38%	40%	36%

[1211] 示例性实施方案4-6的结果表明,使用式(I-M-II)形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)]联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸单水合物II,实施例2来配制根据本发明的干粉掺合物可以达到类似的有利气溶胶性能。

[1212] 进一步使用式(I-M-I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)]联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸单水合物I,实施例4作为活性成分并使用部分不同的制造方法制造干粉掺合物。

[1213] 所得的比较例7-9总结在下表24中。

[1214] 表24:包含实施例4的比较例7-9的组成(乳糖含量)

[1215]

	比较例 7		比较例 8		比较例 9	
API 浓度和批量	(0.75%活性成分，20g)		(3%活性成分，20g)		(10%活性成分，300g)	
	量(g)	量(%)	量(g)	量(%)	量(g)	量(%)
活性成分：实施例 4*	0.15	0.75%	0.6	3%	30.00	10%
粗乳糖 (Lactohale 100)	18.85	94.25%	18.4	92%	255.00	85%
细乳糖 (Lactohale 300)	1.0	5%	1.0	5%	15.00	5%
总计	20.0		20.0		300.00	
掺合物均匀性测定(RSD%)		97% (2.4%)		102% (5.7%)		96% (1.5%)
LH 300 细粒含量乳糖混合物**		5.0%		5.2%		5.6%
比率 活性成分:LH 100**		1:126		1:30		1:8.5
比率 活性成分:LH 300**		1:6.7		1:1.67		1:0.5

[1216] *用作单水合物I

[1217] **细乳糖(LH 300)与粗乳糖(LH 100)的比率在根据本发明的示例性实施方案的部分中进行了解释。

[1218] 比较例7-9的制造方法在步骤4中有所不同。

[1219] 步骤4:将组分在鼓筒混合器中混合3个循环。每个循环在32rpm下进行30分钟。掺合物在循环之间通过500μm筛网过筛。混合循环之间没有实施休息时间。

[1220] 比较例7-9的填充胶囊的气溶胶性能结果总结在表25中。

[1221] 表25:示例性实施方案7-9的气溶胶性能

[1222]

	比较例 7	比较例 8	比较例 9
标称剂量	120μg	480μg	1000μg
在粉末掺合物中，活性成分，实施例 4 的浓度	0.75%	3%	10%
填充重量	16 mg	16 mg	10 mg
递送剂量(DD)	64 μg*	264 μg*	585 μg
DD (标称的%)	53%	55%	58 %
细粒剂量<4.5μm (FPD)	16 μg	62 μg	163 μg
FPF (标称的%)	13%	13%	16 %
FPF (DD 的%)	25%	23%	28%

[1223] *由NGI中回收的总和确定

[1224] 使用式(I-M-I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)]联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸单水合物I(实施例4)的气溶胶性能结果不符合质量要求。

[1225] 这些探索性批次的小批量(20g)以及掺合物中的低原料药浓度(0.75%和3%)可能会导致制造设备表面上出现活性成分细粒。此外,随着粉末掺合物中活性成分浓度的降低,由于活性成分的相对损失较高,粉末填充胶囊中的表面粘附对细粒剂量和分率具有不利影响。如用较大批量(300g)以及较高药物浓度(10%)制造的比较例9所观察到的,气溶胶性能得到改善但仍低于目标。对于用相同API批次制备的比较例23(1-4)观察到类似这样。一个可能的解释是所用批次的具体特性,例如导致团聚或吸附损失的粘附或内聚性质。这可能是由于所述批次具有相对较高的残留丙酮含量(约10倍),而其他API批次未观察到这一点。

[1226] 此外,用于制造比较实施方案7-9的方法涉及与用于所有其他实施方案(比较例23.1-4除外)的程序的偏差:混合循环之间的过筛和混合循环之间没有休息时间。

[1227] 用这个API批次制造的产物的气溶胶性能随后可以通过方法改变而被改善,以便排除混合循环之间的过筛步骤(示例性实施方案11)。

[1228] 利用式(I-M-I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)]联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸单水合物I(实施例4),但使用部分不同的制造方法来制造其他干粉掺合物。示例性实施方案10和11的组成总结在下表26中。

[1229] 表26:包含实施例4的示例性实施方案10-11的组成(乳糖含量)

[1230]

	示例性实施方案 10		示例性实施方案 11	
API 浓度和批量	高强度掺合物 (10%活性成分, 20g)		高强度掺合物 (10%活性成分, 20g)	
	量(g)	量(%)	量(g)	量(%)
活性成分: 实施例 4*	2.0	10%	2.0	10%
粗乳糖 (Lactohale 100)	17.0	85%	17.0	85%
细乳糖 (Lactohale 300)	1.0	5%	1.0	5%
总计	20.0		20.0	
掺合物均匀性测定 (RSD%)		102% (2.8%)		100% (4.0%)
乳糖混合物中的 LH 300 细粒含量**		5.5%		5.5%
比率 活性成分:LH 100**		1:8.5		1:8.5
比率 活性成分:LH 300**		1:0.5		1:0.5

[1231] *用作单水合物I

[1232] **细乳糖(LH 300)与粗乳糖(LH 100)的比率在本发明的示例性实施方案部分中

进行了解释。

[1233] 示例性实施方案10-11的制造方法与示例性实施方案1-3的不同之处在于步骤3和4。

[1234] 步骤3:经微粉化的式(I-M-I)的单水合物I,实施例4通过500μm筛网过筛,并被加入预掺合乳糖中。在开始混合循环之前,将乳糖预掺合物和活性成分交替分层放置,6层乳糖预掺合物和其间5层活性成分(实施例4)。使用5%过量的经微粉化的式(I-M-I)的单水合物I,实施例4(示例性实施方案10)

[1235] 步骤4:将组分在滚筒混合器中循环混合。每个循环在32rpm下进行30分钟。掺合物在循环之间通过500μm筛网过筛(示例性实施方案10)。针对示例性实施方案11,在混合循环之间没有进行过筛。混合循环之间没有提供休息时间(示例性实施方案10和11)。

[1236] 示例性实施方案10-11的填充胶囊的气溶胶性能结果总结在表27中。

[1237] 表27:示例性实施方案10-11的填充胶囊的气溶胶性能

[1238]

	示例性实施方案10	示例性实施方案11
标称剂量	1000μg	1000μg
粉末掺合物浓度	10%	10%
填充重量	10mg	10mg
递送剂量(DD)	636μg*	567*μg
DD(标称的%)	64%	57%
细粒剂量<4.5μm(FPD)	190μg	290μg
FPF(标称的%)	19%	29%
FPF(DD的%)	30%	51%

[1239] *由NGI中回收的总和确定

[1240] 与之前在混合循环之间有过筛步骤的标准方法相比,省略过筛步骤的气溶胶性能结果明显更好(如比较例7-8中所示)。与在混合循环之间涉及掺合物过筛的方法相比,以标称的%表示的FPD和DD的%大大增加。同样,省略过筛步骤也不会影响掺合物均质性。这是出乎意料的,因为过筛本来预期会导致更好的掺合物均质性。不仅在混合30分钟后过筛掺合物(示例性实施方案10)的BU(RSD=分别为过筛前8.7%和过筛后8.5%)处于较高水平,而且BU(%RSD)在最终掺合阶段(90分钟加48小时休息),过筛和未过筛掺合物之间为相同水平。

[1241] 利用(5R)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)]联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸单水合物II(比较例14)微粉化活性成分,使用部分不同的制造方法来制造更多干粉掺合物。

[1242] 进行这项研究是为了调查乳糖细粒含量对掺合物均质性和气溶胶性能的影响。

[1243] 下表28中总结了比较例12(无细乳糖含量)和示例性实施方案13-15的对应组成。

[1244] 表28:比较例12和示例性实施方案13-15的组成,包括比较例14

[1245]

	比较例 12		示例性实施方案 13		示例性实施方案 14		示例性实施方案 15	
API 浓度和批量	(0.75%活性成分，50g)		(0.75%活性成分，50g)		(0.75%活性成分，50g)		(0.75%活性成分，50g)	
	量(g)	量(%)	量(g)	量(%)	量(g)	量(%)	量(g)	量(%)
活性成分：比较例 14*	0.375	0.75%	0.375	0.75%	0.375	0.75%	0.375	0.75%
粗乳糖 (Lactohale 100)	49.625	99.25%	47.125	94.25%	45.875	91.75%	44.625	89.25%
细乳糖		0%	2.5	5%	3.75	7.5%	5.0	10.0%

[1246]

(Lactohale 300)								
总计		50.0		50.0		50.0		50.0	
掺合物均匀性测定 (RSD%)	30 min		96% (1.0%)		93% (5.8%)		89% (1.6%)		92% (8.2%)
	60 min		92% (0.6%)		91% (4.6%)		93% (5.0%)		92% (4.1%)
	90 min		92% (1.4%)		89% (5.6%)		96% (9.2%)		92% (1.7%)
	120 min		95% (11.6%)		92% (1.6%)		93% (10.3%)		96% (10.0%)
乳糖混合物中的 LH 300 细粒含量			0.0%		5.0%		7.6%		10.1%
比率 活性成分:LH 100			1:132		1:126		1:122		1:119
比率 活性成分:LH 300					1:6.6		1:10		1:13

[1247] *用作单水合物II

[1248] 比较例12和示例性实施方案13-15的制造方法在所有步骤1-6都不同于示例性实施方案1-3。

[1249] 步骤1:将细乳糖部分和粗乳糖部分称量到容器中,过筛并转移到混合器的混合容器中。

[1250] 步骤2:不对乳糖预掺合物进行混合

[1251] 步骤3:将微粉化单水合物II的R对映异构体(比较例14)加入到预先称重和过筛的乳糖中。在开始混合之前,将乳糖预掺合物和活性成分交替分层放置,4层乳糖预掺合物和其间3层活性成分(单水合物II的R对映异构体;比较例14)。

[1252] 步骤4:将组分在滚筒混合器中循环混合。每个循环(总共4个循环)在72rpm下进行

30分钟。掺合物在循环之间通过500μm筛网过筛。混合循环之间没有提供休息时间。

[1253] 步骤5:没有定义最终掺合物的休息期

[1254] 步骤6:将掺合物以所需的填充重量手动填充到胶囊中。

[1255] 比较例12和示例性实施方案13-15的填充胶囊的气溶胶性能显示于下表29中。

[1256] 表29:比较例12和示例性实施方案13-15的填充胶囊的气溶胶性能

[1257]

	比较例 12	示例性实施方案 13	示例性实施方案 14	示例性实施方案 15
标称剂量	75μg	75μg	75μg	75μg
粉末掺合物浓度	0.75%	0.75%	0.75%	0.75%
填充重量	10 mg	10 mg	10 mg	10 mg
递送剂量(DD)	41μg*	38μg*	38μg*	39μg*
DD (标称的%)	55%	51 %	51 %	52%
细粒剂量<4.5μm (FPD)	8μg	19μg	19μg	20μg
FPF (标称的%)	11%	25%	25%	27%
FPF (DD 的%)	20%	50%	50%	51%

[1258] *由由NGI中回收的总和确定

[1259] 上述结果显示,在组合物不含细乳糖的情况下(参见比较例12),相对于标称和递送剂量的细粒分率降低并且不如示例性实施方案13-15。对于独立于乳糖细粒含量(5%、7.5%或10%)制造的所有变体,FPD和FPF明显更高。令人惊讶的是,不同量的乳糖细粒的结果几乎相同。因此,表明根据本发明的粉末掺合物和制剂可以具有不同含量的细乳糖而不危害气溶胶性能。掺合物均质性结果主要表明BU没有随着混合时间增加而明显增加。相反,在90分钟以上观察到均质性又再降低,含有5%乳糖细粒的制剂除外。

[1260] 利用(5R)-{[2-(4-羧基苯基)乙基](2-(2{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸单水合物II(比较例14)作为活性成分,使用部分不同的制造方法来制造更多干粉掺合物。

[1261] 进行研究以调查混合时间在较大规模下对掺合物的最终胶囊的均质性和气溶胶性能的影响。

[1262] 下表30中总结了比较例16和示例性实施方案17-19的组成。

[1263] 表30:比较例16和示例性实施方案17-19的组成以及不同混合时间下的对应掺合物均匀性

[1264]

		比较例 16		示例性实施方案 17		示例性实施方案 18		示例性实施方案 19	
API 浓度和批量		(0.75%活性成分，200g)		(10%活性成分，50g)		(0.75%活性成分，200g)		(10%活性成分，200g)	
		量(g)	量(%)	量(g)	量(%)	量(g)	量(%)	量(g)	量(%)
活性成分:(比较例 14)*		1.5	0.75%	5.0	10%	1.5	0.75%	20.0	10%
粗乳糖(Lactohale 100)		188.5	94.25%	42.5	85%	188.5	94.25%	170.0	85%
细乳糖(Lactohale 300)		10.0	5%	2.5	5%	10.0	5%	10.0	5%
总计		200.0		50.0		200.0		200.0	
掺合物均匀性测定(RSD%)	30 min		84% (2.8%)		103% (6.7%)		93% (3.2%)		105% (7.2%)
	60 min		81% (3.2%)		100% (9.8%)		95% (3.2%)		102% (9.4%)
	90 min		91% (3.7%)		96% (5.4%)		93% (1.8%)		98% (0.6%)
	120 min		--- (---)		94% (4.4%)		96% (9.3%)		97% (1.5%)
乳糖混合物中的 LH 300 细粒含量			5.3%		5.9%		5.3%		5.9%
比率 活性成分:LH 100			1:126		1:8.5		1:126		1:8.5
比率 活性成分:LH 300			1:6.7		1:0.5		1:6.7		1:0.5

[1265] *用作单水合物II

[1266] 比较例16和示例性实施方案17-19的制造方法在所有步骤1-6中都不同于示例性实施方案1-3。

[1267] 步骤1:将细乳糖部分和粗乳糖部分称量到容器中,过筛并转移到混合器的混合容器中。

[1268] 步骤2:不对乳糖预掺合物进行混合

[1269] 步骤3:将经微粉化的比较例14加入到预先称重并过筛的乳糖中。在开始混合之前,将乳糖预掺合物和活性成分交替分层放置,4层乳糖预掺合物和其间3层活性成分(活性成分比较例14)。

[1270] 步骤4:将组分在滚筒混合器中循环混合。每个循环(总共4个循环)在72rpm下进行30分钟。玻璃容器用于比较例16和示例性实施方案17。不锈钢容器用于示例性实施方案18和19。掺合物在循环之间通过500μm筛网过筛。混合循环之间没有提供休息时间。

[1271] 步骤5:没有定义最终掺合物的休息期

[1272] 步骤6:将掺合物以所需的填充重量手动填充到胶囊中。

[1273] 比较例16和示例性实施方案17-19的填充胶囊的气溶胶性能显示于下表31中。

[1274] 表31:比较例16和示例性实施方案17-19的填充胶囊的气溶胶性能

[1275]

	比较例16	示例性实施方案17	示例性实施方案18	示例性实施方案19
标称剂量(胶囊)	75μg	1000μg	75μg	1000μg
粉末掺合物浓度	0.75%	10%	0.75%	10%
填充重量	10 mg	10 mg	10 mg	10 mg
30 min 掺合时间后的结果				
递送剂量(DD)	23μg*	546μg*	34μg*	674μg*
DD (标称的%)	31%	55%	45%	67%
细粒剂量<4.5μm (FPD)	9μg	301μg	17μg	411μg
FPF (标称的%)	12%	30%	23%	41%
FPF (DD 的%)	39%	55%	50%	61%
60 min 掺合时间后的结果				
递送剂量(DD)	25μg*	526μg*	33μg*	581μg*
DD (标称的%)	33%	53%	44%	58%
细粒剂量<4.5μm (FPD)	9μg	189μg	17μg	311μg
FPF (标称的%)	12%	19%	22%	31%
FPF (DD 的%)	38%	36%	51%	53%
90 min 掺合时间后的结果				
递送剂量(DD)	29μg*	467μg*	32μg*	---
DD (标称的%)	39%	47%	42%	---
细粒剂量<4.5μm (FPD)	12μg	210μg	16μg	---
FPF (标称的%)	16%	21%	21%	---
FPF (DD 的%)	42%	45%	50%	---
120 min 掺合时间后的结果				
递送剂量(DD)	---	551μg*	34μg*	534μg*
DD (标称的%)	---	55%	45%	53%
细粒剂量<4.5μm (FPD)	---	261μg	16μg	284μg
FPF (标称的%)	---	26%	22%	28%
FPF (DD 的%)	---	47%	48%	53%

[1276]

[1277] *由由NGI中回收的总和确定

[1278] ---在这个时间点未测试。

[1279] 从上表中的结果清楚地表明,掺合物的混合时间对掺合物质量(即掺合物均质性)有影响。大体上,掺合物均匀性随着混合时间而提高,通常在90min后观察到最佳结果。比较例16在整个混合过程中显示出较差的测定值,并且大部分也未能符合FPD/FPF%目标。在这种情况下,似乎主要是混合容器(=玻璃)的性质导致均质性不佳并导致所得气溶胶性能低(最终精细的API内容物留在混合容器中)。

[1280] 然而,当混合时间延长时,有时会观察到BU降低(RSD%增加),这是一个出乎意料

的发现。同样,气溶胶性能(FPD、FPF)大多不受混合时间所影响。在玻璃容器中掺合的干粉与在不锈钢容器中掺合的干粉的结果存在显著差异。不锈钢容器掺合粉末(示例性实施方案18-19)的结果优于玻璃容器掺合粉末(比较例16和示例性实施方案17)获得的结果,这是出乎意料的,因为两种材料都被认为是物理和化学惰性的。

[1281] 也利用(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基](2-(2{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸单水合物I与II(实施例2和4)作为活性成分,使用部分不同的制造方法来制造更多干粉掺合物。研究范围是以更大规模制造粉末掺合物和利用不同乳糖细粒含量。下表32中总结了所得比较例20和示例性实施方案21与22。

[1282] 表32:比较例20和示例性实施方案21与22的组成

[1283]

	比较例 20		示例性实施方案 21		示例性实施方案 22	
	中等强度掺合物(5%活性成分,850g)		中等强度掺合物(5%活性成分,1050g)		中等强度掺合物(5%活性成分,8200g)	
	量(g)	量(%)	量(g)	量(%)	量(g)	量(%)
活性成分(实施例 2 用于比较例 20/实施例 4 用于实施方案 21 + 22)*	44.5	5%	52.5	5%	410.0	5%
粗乳糖(Lactohale 100)	---	---	945.0	90%	7380.0	90%
经研磨粗乳糖(Lactohale 200)	635.5	75%	---	---	---	---
细乳糖(Lactohale 300)	170.0	20%	52.5	5%	410.0	5%
总计	850.0		1050.0		8200.0	
掺合物均匀性测定(RSD%)		69.3%(21.8%)		95.9%(3.2%)		106.6%(6.0%)
掺合物均匀性再处理**		48.9%(10.1%)		---		---
乳糖混合物中的 LH 300 细粒含量		21.1%		5.3%		5.3%%
比率活性成分:LH 100/LH200		1:14		1:18		1:18

[1284]

比率活性成分:LH 300		1:3.8		1:1		1:1

[1285] *用作比较例20的单水合物II以及用作示例性实施方案21和22的单水合物I;**在

制造步骤7A-7D之后,参见下文;

[1286] 比较例20的制造方法在步骤1-5中不同于示例性实施方案1-3的制造。

[1287] 步骤1:将细乳糖部分和粗乳糖部分(LH200或LH100)部分称入混合容器中。

[1288] 步骤2:不进行乳糖预混合物的掺合。乳糖预掺合物在循环之间通过630μm筛网过筛。

[1289] 步骤3:将经微粉化的活性成分(实施例2用于比较例20/实施例4用于实施方案21+22)通过630μm筛网过筛,并在不分层放置的情况下加入预混合乳糖中。

[1290] 步骤4:将组分在滚筒混合器中混合3个循环。每个循环在32rpm下进行20分钟。掺合物在循环之间通过630μm筛网过筛。混合循环之间没有实施休息时间。

[1291] 步骤5:在取样和填充之前,掺合物没有静置明确时间。

[1292] (额外)步骤7:由于均匀性结果不佳,对比较例20的掺合物进行进一步处理。

[1293] • 7A:掺合物通过630μm筛网过筛

[1294] • 7B:将掺合物分成两部分并且其中每部分以67rpm混合60min

[1295] • 7C:两个掺合部分都通过630μm筛网过筛

[1296] • 7D:两部分重新合并并以67rpm再混合30min

[1297] 示例性实施方案21是使用应用于示例性实施方案4-6的方法所制造。

[1298] 示例性实施方案22是使用应用于示例性实施方案1-3的方法所制造。

[1299] 表33中总结了填充胶囊比较例20和示例性实施方案21-22的气溶胶性能结果。

[1300] 表33:填充胶囊比较例20和示例性实施方案21-22的气溶胶性能

[1301]

	比较例 20	示例性实施方案 21	示例性实施方案 22
标称剂量(胶囊)	500μg	500μg	500μg
粉末掺合物浓度	5%	5%	5%
填充重量	10 mg	10 mg	10 mg
递送剂量(DD)	385 μg	298 μg	308 μg
DD (标称的%)	77%	60%	62%
细粒剂量<4.5μm (FPD)	171 μg	101 μg	122 μg
FPF (标称的%)	34%	20%	24%
FPF (DD 的%)	44%	34%	40%

[1302] *由DUSA测试,FPF(DD的%)以此值计算

[1303] 示例性实施方案21和22的结果表明,在5倍和50倍的更高规模下,干粉掺合物也可以用已建立的方法来制造。掺合物均匀性以及气溶胶性能都在所需的目标/范围内。比较例20未能产生均质的掺合物,这可能是由于高乳糖细粒含量和所得相当粘的混合物。低测定表示活性成分并粘附在制造设备上。即使经过大量额外的掺合操作以达到活性成分在乳糖掺合物中可接受的分布,均匀性仍然很差,尽管填充胶囊的掺合物的气溶胶性能显示出可接受的结果。

[1304] 因此,表明根据本发明的粉末掺合物和制剂可以具有介于5%和10%的范围内变化的细乳糖含量而不危害气溶胶性能(参见示例性实施方案13、14和15)。然而,20%细乳糖的上限很关键。

[1305] 使用式(I-M-I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基](2-(2{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸单水合物I(实施例4)作为活性成分,并使用部分不同的制造方法来制造更多干粉掺合物。

[1306] 研究范围是制造胶囊中有更高活性浓度和更高掺合物填充的本发明实施方案,以实现更高的标称剂量以及在更大规模下验证更高的剂量。

[1307] 下表34中总结了所得的比较例23(1-4)和示例性实施方案24-26。

[1308] 表34:比较例23和示例性实施方案24-26的组成

[1309]

		比较例 23		示例性实施方案 24		示例性实施方案 25		示例性实施方案 26	
API 浓度和批量		(10%活性成分，20g)		(20%活性成分，20g)		(30%活性成分，20g)		(20%活性成分，290g)	
		量(g)	量(%)	量(g)	量(%)	量(g)	量(%)	量(g)	量(%)
活性成分:(实施例 4)*		2.0	10%	4.0	20%	6.0	30%	58.0	20%
粗乳糖(Lactohale 100)		17.0	85%	15.0	75%	13.0	65%	217.5	75%
细乳糖(Lactohale 300)		1.0	5%	1.0	5%	1.0	5%	14.5	5%
总计		20.0		20.0		20.0		290.0	
掺合物均匀性测定(RSD%)	30 min		99%(6.8%)		92%(8.5%)		86%(24.5%)		--- ---
	60 min		94%(4.3%)		92%(3.2%)		101%(10.8%)		--- ---
	90 min		97%(3.6%)		95%(2.7%)		101%(12.9%)		94%(3.0%)
	120 min		97%(4.9%)		93%(3.8%)		93%(6.8%)		--- ---
乳糖混合物中的 LH 300			5.6%		6.3%		7.1%		6.3%

[1310]

细粒含量								
比率 活性成分:LH 100	1:8.5		1:3.8		1:2.2		1:3.8	
比率 活性成分:LH 300	1:0.5		1:0.25		1:0.17		1:0.25	

[1311] *用作单水合物I

[1312] 利用与比较例7-9相似的方法和相同的API批次来制造比较例23和示例性实施方案24-26,但是使用略低的循环速率34rpm而不是32rpm持续四个循环。在每个循环后测试掺合物均匀性。在第4次掺合循环之后,将掺合物静置72h,接着进行另一个掺合循环、通过500

μm筛网的过筛步骤和最终BU测试。胶囊是手工填充的,用于气溶胶性能测试。

[1313] 使用与比较例7-9相同的方法来制造示例性实施方案26,但是循环为34rpm而非32rpm并手工填充胶囊。

[1314] 具有不同填充重量以达到不同标称剂量的比较例23和示例性实施方案24-26的填充胶囊的气溶胶性能结果总结在表35中。

[1315] 表35:比较例23和示例性实施方案24-26的填充胶囊的气溶胶性能

[1316]

	比较例 23-1	比较例 23-2	比较例 23-3	比较例 23-4
标称剂量(胶囊)	1000μg	2000μg	3000μg	4000μg
粉末掺合物浓度	10%	10%	10%	10%
填充重量	10 mg	20 mg	30 mg	40 mg
递送剂量(DD)	671μg	1398μg	2238μg	2984μg
DD (标称的%)	67%	70%	75%	75%
细粒剂量<4.5μm (FPD)	168μg	293μg	475μg	604μg
FPF (标称的%)	17%	15%	16%	15%

[1317]

FPF (DD 的%)	25%	21%	21%	20%
	示例性实施方案 24-1	示例性实施方案 24-2	示例性实施方案 25-1	示例性实施方案 25-2
标称剂量(胶囊)	2000μg	6000μg	3000μg	9000μg
粉末掺合物浓度	20%	20%	30%	30%
填充重量	10 mg	30 mg	10 mg	30 mg
递送剂量(DD)	1336μg	4756μg	2229μg	7172μg
DD (标称的%)	67%	79%	74%	80%
细粒剂量<4.5μm (FPD)	411μg	1302μg	929μg	2805μg
FPF (标称的%)	21%	22%	31%	31%
FPF (DD 的%)	31%	27%	42%	39%
	示例性实施方案 26			
	6000μg			
粉末掺合物浓度	20%			
填充重量	30 mg			
递送剂量(DD)	4924μg			
DD (标称的%)	82%			
细粒剂量<4.5μm (FPD)	1779μg			
FPF (标称的%)	30%			
FPF (DD 的%)	36%			

[1318] 如通过示例性实施方案24-26所证实,根据本发明的制剂可利用高出10%的更高药物含量进行制造。就含有30%活性成分的掺合物来说,由于细粒含量高(来自高微粉化的API部分),不可能在适当的掺合时间内掺合均质的混合物。尽管BU RSD%随着时间推移到120min而获得改善,但所述值仍处于相对较高的水平。令人惊讶的是,气溶胶性能并没有受到损害,反而产生了更高的FPD/FPF,与较低强度的掺合物一样。就10%和20%掺合物来说,在混合时间增加到至多90min时,证明有良好的掺合物均匀性。出乎意料的是,在10%强度的各种填充量下,气溶胶性能未观察到显著变化,这是由于活性成分在胶囊壁上的相对表面粘附力较低,预期会增加递送剂量和FPF%。因此,在10% API浓度和更高的胶囊填充重量下,很可能不会导致气溶胶性能发生显著变化。比较例23的所有填充物均未达到FPF%目标,对于使用相同API批次和方法的比较例7-9观察到类似情况。一个因素可能是仅20g的小型探索性批量,其中制造期间和设备表面上的损失对批次中API细粒含量的影响更大。通过

比较具有较高API浓度20％并且仍未显著超过性能目标的示例性实施方案24-1和24-2,也可以观察到批量的影响。此外,具有与示例性实施方案24-2的小规模批次相同组成和胶囊填充重量的示例性实施方案26-1的放大规模批次表现出更好的气溶胶性能,显示了制造批量的影响。在示例性实施方案7-9结果的上下文中,气溶胶性能不佳进一步归因于API批次的性质(与示例性实施方案7-9所用的相同),导致掺合物中不利的粘附或内聚效应并导致细粒在APSD分析期间损失。这可能是由于所述批次具有相对较高的残留丙酮含量(约10倍)所致,而其他API批次未观察到。

[1319] 示例性实施方案26的放大规模制造进一步表明,利用20％活性掺合物可以达到填充胶囊的充分掺合物均质性和气溶胶性能。

[1320] 利用不同含量的细乳糖(例如2.5％和更少以及15％和更多)制造本发明的更多实施方案。

[1321] 利用(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸单水合物I作为活性成分,使用部分不同的制造方法制造更多干粉掺合物。

[1322] 进行这项研究是为了调查在更大规模下,开始掺合方法之前初始层数的影响以及掺合循环之间过筛步骤的影响。

[1323] 示例性实施方案27-30的组成总结在下表36中。

[1324] 表36:示例性实施方案27-30的组成和不同掺合时间的相应掺合物均匀性

[1325]

	示例性实施方案 27		示例性实施方案 28		示例性实施方案 29		示例性实施方案 30	
API 浓度和批量	(10%活性成分，200g)		(10%活性成分，200g)		(10%活性成分，200g)		(10%活性成分，200g)	
	量(g)	量(%)	量(g)	量(%)	量(g)	量(%)	量(g)	量(%)
活性成分*	20.0	10%	20.0	10%	20.0	10%	20.0	10%
粗乳糖 (Lactohale 100)	170.0	85%	170.0	85%	170.0	85%	170.0	85%
细乳糖 (Lactohale 300)	10.0	5%	10.0	5%	10.0	5%	10.0	5%
总计	200.0		200.0		200.0		200.0	
掺合物均匀性测定(RSD%) 90 min		98% (1.5%)		100% (2.0%)		102% (2.4%)		97% (0.9%)
乳糖混合物中的 LH 300 细粒含量		5.9%		5.9%		5.9%		5.9%
比率 活性成分:LH 100		1:8.5		1:8.5		1:8.5		1:8.5
比率 活性成分:LH 300		1:0.5		1:0.5		1:0.5		1:0.5

[1326] *用作单水合物I,实施例4

[1327] 示例性实施方案27-30的制造方法在步骤3、4和6中不同于示例性实施方案1-3。

[1328] 步骤3:在开始混合之前,将2层乳糖预掺合物和其间1个活性成分层(示例性实施方案27)以及10层乳糖预掺合物和其间9个活性成分层(示例性实施方案28)称入掺合容器中。

[1329] 步骤4:掺合物在循环之间通过500μm筛网过筛(示例性实施方案30)

[1330] 步骤6:将掺合物按所需的填充重量手动填充到胶囊中。

[1331] 示例性实施方案27-30的填充胶囊的气溶胶性能显示在下表37中。

[1332] 表37:示例性实施方案27-30的填充胶囊的气溶胶性能

[1333]

	示例性实施方案 27	示例性实施方案 28	示例性实施方案 29	示例性实施方案 30
标称剂量(胶囊)	75μg	1000μg	75μg	1000μg
粉末掺合物浓度	10%	10%	10%	10%
填充重量	10 mg	10 mg	10 mg	10 mg
递送剂量(DD)	556μg*	638μg*	598μg*	630μg*
DD (标称的%)	56%	64%	60%	63%
细粒剂量<4.5μm (FPD)	317μg	348μg	333μg	341μg
FPF (标称的%)	32%	35%	33%	34%
FPF (DD 的%)	57%	55%	56%	54%

[1334] *由NGI中回收的总和确定

[1335] ---在这个时间点未测试。

[1336] 在临床规模上进行的这项研究结果表明,无论初始预掺合物和API层数为何,以及混合循环之间的过筛步骤为何,都可以获得优异的掺合物均匀性和气溶胶性能。

[1337] 利用式(I-M-I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸单水合物I(实施例4)作为活性成分,并使用略为不同的制造方法制造更多干粉掺合物。

[1338] 进行这项研究是为了调查高和低乳糖细粒含量对已建立的掺合方法和所得气溶胶性能的影响。

[1339] 所得示例性实施方案31-32和比较例33总结在下表38中。

[1340] 表38:示例性实施方案31-32和比较例33的组成(乳糖含量)

[1341]

	示例性实施方案31		示例性实施方案32		示例性实施方案 33	
API 浓度和批量	(10%活性成分，50g)		(10%活性成分，50g)		(10%活性成分，50g)	
	量(g)	量(%)	量(g)	量(%)	量(g)	量(%)
活性成分：实施例 4*	5.0	10%	5.0	10%	5.0	10%
粗乳糖 (Lactohale 100)	44.5	89%	43.75	87.5%	37.5	75%
细乳糖 (Lactohale 300)	0.5	1%	1.25	2.5%	7.5	15%
总计	50.0		50.0		50.00	
掺合物均匀性测定(RSD%)		107% (11.0%)		115% (9.7%)		88% (15.5%)
乳糖混合物中的 LH 300 细粒含量**		1.1%		2.9%		20.0%
比率 活性成分:LH 100**		1:8.9		1:8.75		1:7.5
比率 活性成分:LH 300**		1:0.1		1:0.25		1:1.5

[1342] *用作单水合物I

[1343] **细乳糖(LH 300)与粗乳糖(LH 100)的比率在根据本发明的示例性实施方案部分中进行了解释。

[1344] 示例性实施方案31-32与比较例33的制造方法在步骤6中有所不同。

[1345] 步骤6:将掺合物以所需的填充重量手动填充到胶囊中。

[1346] 示例性实施方案31-32和比较例33的填充胶囊的气溶胶性能结果总结在表39中。

[1347] 表39:示例性实施方案31-32和比较例33的气溶胶性能

[1348]

	示例性实施方案 31	示例性实施方案 32	比较例 33
标称剂量	**1000μg**	**1000μg**	**1000μg**
在粉末掺合物中，活性成分实施例 4 的浓度	10%	10%	10%
填充重量	10 mg	10 mg	10 mg
递送剂量(DD)*	503 μg	484 μg	514 μg
DD (标称的%)	50%	48%	51 %
细粒剂量<4.5μm (FPD)	310 μg	279 μg	314 μg
FPD (RSD %)	9.4%	8.4%	16.0%
FPF (标称的%)	31%	28%	31 %
FPF (DD 的%)	62%	60%	65%

[1349] *由NGI中回收的总和确定

[1350] 示例性实施方案31-32和比较例33的填充胶囊的气溶胶性能结果均达到目标。然而,以高乳糖细粒含量(15%)制造的比较例的掺合物均匀性较差,高出目标值15.5%。这个实施例中细粒剂量的变化(RSD%)也很高。因此,乳糖细粒含量>15%的组成被推断为不适当的,而低至1%的低乳糖细粒含量预期提供具有合适掺合物均匀性和气溶胶性能特性的产物。

[1351] 利用式(I-M-I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸单水合物I(实施例4)作为活性成分,并使用略为不同的制造方法制造更多干粉掺合物。

[1352] 进行研究是为了调查具有固有细粒的经研磨粗乳糖类型(Lactohale 200)在有与没有额外乳糖细粒(LH300)含量的情况下对已建立的掺合方法和所得气溶胶性能的影响。还进行了研究以产生数据来与比较例20进行比较(参见表32)。

[1353] 所得示例性实施方案34-35总结在下表40中。

[1354] 表40:示例性实施方案34-35的组成(乳糖含量)

[1355]

	示例性实施方案 34		示例性实施方案 35	
API 浓度和批量	(10%活性成分, 50g)		(10%活性成分, 50g)	
	量(g)	量(%)	量(g)	量(%)
活性成分: 实施例 4*	5.0	10%	5.0	10%
粗乳糖 (Lactohale 200)	45.0	90%	42.5	85%
细乳糖 (Lactohale 300)	0.0	0%	2.5	5%
总计	50.0		50.0	
掺合物均匀性测定 (RSD%)		115% (6.7%)		112% (10.5%)
LH 300 细粒含量乳糖混合物		0%		5.0%
比率 活性成分:LH 200**		1:9		1:8.5
比率 活性成分:LH 300**		1:0		1:0.5

[1356] *用作单水合物I

[1357] 示例性实施方案34-35的制造方法在步骤6中有所不同。

[1358] 步骤6:将掺合物以所需的填充重量手动填充到胶囊中。

[1359] 示例性实施方案34-35的填充胶囊的气溶胶性能结果总结于表41中。

[1360] 表41:示例性实施方案34-35的气溶胶性能

[1361]

	示例性实施方案34	示例性实施方案35
标称剂量	**1000μg**	**1000μg**
在粉末掺合物中，活性成分实施例4的浓度	10%	10%
填充重量	10 mg	10 mg
递送剂量(DD)*	599 μg	645 μg
DD (标称的%)	60%	65%
细粒剂量<4.5μm (FPD)	197 μg	207 μg
FPD (RSD %)	8.0%	7.4%

[1362]

FPF (标称的%)	20%	21%
FPF (DD 的%)	32%	34%

[1363] *由NGI中回收的总和确定

[1364] 示例性实施方案34-35的填充胶囊的气溶胶性能结果满足所有目标。两种掺合物的掺合物均匀性都是可接受的。气溶胶性能仅略高于标称剂量的FPF％和递送剂量％的目标限值。此外,与具有LH100/LH300组成的实施方案相比,以与示例性实施方案31-32和比较例33相同的顺序制造的这些实施方案的结果也明显更低,显示LH200与LH100粗乳糖的比较性能较差。添加5％ LH300细粒并不会造成更好的FPD/FPF结果。如比较例20所证明,通过将乳糖细粒增加至20％可能会提高性能,但因此会导致掺合方法和掺合均匀性不足。使用式(I-M-I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸单水合物I(实施例4)的乳糖掺合物在利用LH200粗乳糖的已建立方法中,在有和没有LH300(至多5％)的情况下仍显示会产生可接受的产物。

[1365] 使用式(I-M-I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸单水合物I(实施例4)作为活性成分,并使用部分不同的制造方法制造更多干粉掺合物。

[1366] 研究范围是为了制造本发明的更多实施方案,其中细乳糖含量在2.5％-7.5％范围内变化,但采用不同质量的细乳糖(Lactohale®230)(粒度略高/见表6),而粗乳糖质量保持不变并观察过程和气溶胶性能。

[1367] 所得示例性实施方案36-38总结在下表42中。

[1368] 表42:示例性实施方案36-38的组成

[1369]

	示例性实施方案36	示例性实施方案37	示例性实施方案38
API 浓度和批量	(10%活性成分,	(10%活性成分,	(10%活性成分,

[1370]

		200g)		200g)		200g)	
		量(g)	量(%)	量(g)	量(%)	量(g)	量(%)
活性成分(实施例 4)*		20.0	10%	20.0	10%	20.0	10%
粗乳糖 (Lactohale 100)		175.0	87.5%	170.0	85%	165.0	82.5%
细乳糖 (Lactohale 230)		5.0	2.5%	10.0	5%	15.0	7.5%
总计		200.0		200.0		200.0	
掺合物均匀性测定 (RSD%)	30 min		110% (9.6%)		100% (8.3%)		104% (5.6%)
	60 min		111% (5.3%)		100% (3.7%)		109% (5.6%)
	90 min		106% (6.7%)		103% (4.5%)		112% (9.3%)
	120 min		103% (10.2%)		--** --		116% (11.7%)
乳糖混合物中的 LH 230 细粒含量			2.8%		5.6%		8.3%
比率 活性成分:LH 100			1:8.75		1:8.5		1:8.25
比率 活性成分:LH 230			1:0.25		1:0.5		1:0.75

[1371] *用作单水合物I

[1372] **数据不可用

[1373] 示例性实施方案34-35的制造方法在步骤6中有所不同。

[1374] 步骤6:将掺合物以所需的填充重量手动填充到胶囊中。

[1375] 示例性实施方案34-35的填充胶囊的气溶胶性能结果总结于表43中。气溶胶性能是在掺合90分钟(代表根据本发明已建立的方法的掺合时间)后测量的。

[1376] 表43:示例性实施方案36-38的气溶胶性能

[1377]

	示例性实施方案 36	示例性实施方案 37	示例性实施方案 38
标称剂量	**1000µg**	**1000µg**	**1000µg**
在粉末掺合物中,活性成	10%	10%	10%

[1378]

分实施例 4 的浓度			
填充重量	10 mg	10 mg	10 mg
递送剂量(DD)*	490 µg	496 µg	642 µg
DD (标称的%)	49%	50%	64%
细粒剂量<4.5µm (FPD)	269 µg	259 µg	287 µg
FPF (标称的%)	27%	26%	29%
FPF (DD 的%)	55%	52%	45%

[1379] *由NGI中回收的总和确定

[1380] 示例性实施方案36-38的填充胶囊的气溶胶性能结果满足所有目标。所有掺合物的掺合物均匀性都是可接受的,但是高细粒有超出目标的趋势(7.5%,示例性实施方案38和更长的混合时间)。增加乳糖细粒(LH230)的含量显示整体递送剂量增加,而FPD仅少量增加,从而降低FPF(DD的%)。使用式(I-M-I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸单水合物I(实施例4)的乳糖掺合物在利用LH230细乳糖(与LH300微粉化乳糖细粒相比具有不同的粒度分布)的已建立方法中证明会产生可接受的产物和可制造性。

[1381] 使用式(I-M-I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸单水合物I(实施例4)作为活性成分,并使用部分不同的制造方法制造更多干粉掺合物。

[1382] 研究范围是要根据本发明在细粒(LH300®)含量2.5%-7.5%范围内利用替代粗乳糖产品(Lactohale®206,其粒度略小于Lactohale®100,参见表6)来制造本发明的更多实施方案,并观察过程和气溶胶性能。

[1383] 所得示例性实施方案39-41总结于下表44中。

[1384] 表44:示例性实施方案39-41的组成

[1385]

	示例性实施方案 39	示例性实施方案 40	示例性实施方案 41

[1386]

API 浓度和批量		(10%活性成分，200g)		(10%活性成分，200g)		(10%活性成分，200g)	
		量(g)	量(%)	量(g)	量(%)	量(g)	量(%)
活性成分(实施例4)*		20.0	10%	20.0	10%	20.0	10%
粗乳糖 (Lactohale 206)		175.0	87.5%	170.0	85%	165.0	82.5%
细乳糖 (Lactohale 300)		5.0	2.5%	10.0	5%	15.0	7.5%
总计		200.0		200.0		200.0	
掺合物均匀性测定 (RSD%)	30 min		109% (9.2%)		117% (18.2%)		107% (14.7%)
	60 min		107% (11.9%)		104% (17.2%)		98% (7.8%)
	90 min		108% (15.5%)		104% (6.7%)		115% (19.4%)
	120 min		101% (5.5%)		112% (11.7%)		118% (7.7%)
乳糖混合物中的 LH 300 细粒含量			2.8%		5.6%		8.3%
比率 活性成分:LH 206			1:8.75		1:8.5		1:8.25
比率 活性成分:LH 300			1:0.25		1:0.5		1:0.75

[1387] *用作单水合物I

[1388] **数据不可用

[1389] 示例性实施方案39-41的制造方法在步骤6中有所不同。

[1390] 步骤6:将掺合物以所需的填充重量手动填充到胶囊中。

[1391] 示例性实施方案39-41的填充胶囊的气溶胶性能结果总结在表45中。气溶胶性能是在掺合90分钟(代表根据本发明已建立的方法的掺合时间)后测量的。

[1392] 表45:示例性实施方案39-41的气溶胶性能

[1393]

	示例性实施	示例性实施	示例性实施

[1394]

	方案 39	方案 40	方案 41
标称剂量	**1000μg**	**1000μg**	**1000μg**
在粉末掺合物中，活性成分实施例 4 的浓度	10%	10%	10%
填充重量	10 mg	10 mg	10 mg
递送剂量(DD)*	606 μg	678 μg	596 μg
DD (标称的%)	61%	68%	60%
细粒剂量<4.5μm (FPD)	285 μg	304 μg	239 μg
FPF (标称的%)	29%	30%	24%
FPF (DD 的%)	45%	45%	40%

[1395] *由NGI中回收的总和确定

[1396] 示例性实施方案39-41的填充胶囊的气溶胶性能结果满足所有目标。掺合物的掺合物均匀性都是可接受的,但并非所有掺合物在所有时间点都是可接受的。混合90min后发现最佳值为5％细粒,这对应于根据本发明已建立的方法。增加乳糖细粒(LH300)的含量并未显示出任何气溶胶性能参数的对应趋势,而是根据本发明在5％细粒下观察到最佳性能。使用式(I-M-I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸单水合物I(实施例4)的乳糖掺合物在利用LH300细乳糖和LH206粗乳糖(与LH100乳糖相比具有不同的粒度分布)的已建立方法中证明会产生可接受的产物和可制造性。

[1397] 使用式(I-M-I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸单水合物I(实施例4)作为活性成分,并使用部分不同的制造方法制造更多干粉掺合物。

[1398] 研究范围是要根据本发明在细粒含量2.5％-7.5％范围内利用替代粗乳糖产品(LH206®)以及替代细乳糖产品(LH230®)来制造本发明的更多实施方案,并观察过程和气溶胶性能。

[1399] 所得示例性实施方案42-44总结在下表46中。

[1400] 表46:示例性实施方案42-44的组成

[1401]

		示例性实施方案42		示例性实施方案43		示例性实施方案44	
API 浓度和批量		(10%活性成分，200g)		(10%活性成分，200g)		(10%活性成分，200g)	
		量(g)	量(%)	量(g)	量(%)	量(g)	量(%)
活性成分(实施例 4)*		20.0	10%	20.0	10%	20.0	10%
粗乳糖 (Lactohale 206)		175.0	87.5%	170.0	85%	165.0	82.5%
细乳糖 (Lactohale 230)		5.0	2.5%	10.0	5%	15.0	7.5%
总计		200.0		200.0		200.0	
掺合物均匀性测定 (RSD%)	30 min		104% (8.4%)		97% (5.6%)		110% (11.3%)
	60 min		115% (12.9%)		111% (10.5%)		107% (9.4%)
	90 min		109% (5.9%)		101% (9.1%)		112% (11.1%)
	120 min		119% (10.5%)		113% (12.5%)		106% (6.5%)
乳糖混合物中的 LH 230 细粒含量			2.8%		5.6%		8.3%
比率 活性成分:LH 206			1:8.75		1:8.5		1:8.25
比率 活性成分:LH 230			1:0.25		1:0.5		1:0.75

[1402] *用作单水合物I

[1403] **数据不可用

[1404] 示例性实施方案42-44的制造方法在步骤6中有所不同。

[1405] 步骤6:将掺合物以所需的填充重量手动填充到胶囊中。

[1406] 示例性实施方案42-44的填充胶囊的气溶胶性能结果总结于表47中。气溶胶性能是在掺合90分钟(代表根据本发明已建立的方法的掺合时间)后测量的(示例性实施方案44除外,其中测量仅在掺合120min后进行)。

[1407] 表47:示例性实施方案42-44的气溶胶性能

[1408]

	示例性实施方案 42	示例性实施方案 43	示例性实施方案 44
标称剂量	**1000μg**	**1000μg**	**1000μg**
在粉末掺合物中，活性成分实施例 4 的浓度	10%	10%	10%
填充重量	10 mg	10 mg	10 mg
递送剂量(DD)*	569 μg	588 μg	599 μg
DD (标称的%)	57%	59%	60%
细粒剂量<4.5μm (FPD)	206 μg	206 μg	214 μg
FPF (标称的%)	21%	21%	21%
FPF (DD 的%)	36%	35%	36%

[1409] *由NGI中回收的总和确定

[1410] 示例性实施方案42-44的填充胶囊的气溶胶性能结果满足所有目标,但是全都接近目标限值。掺合物的掺合物均匀性是可接受的,但并非所有掺合物在所有时间点都是可接受的。有时在混合90min后观察到最佳值,有时在120min后观察到最佳值。根据本发明具有5%乳糖细粒的示例性实施方案43在90min后就RSD%和掺合物测定而言是可接受的,而有时掺合物测定结果高于目标的110%。增加乳糖细粒(LH300)的含量并未显示对任何气溶胶性能参数有任何影响,所有实施方案22-44的这些参数非常相似。使用式(I-M-I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)苯基-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸单水合物I(实施例4)在利用LH230细乳糖(与LH300相比具有不同的粒度分布)和LH206粗乳糖(与LH100乳糖相比具有不同的粒度分布)的已建立方法中证明会产生可接受的产物和可制造性。

[1411] 最后可以从上述实施例得到结论:

[1412] 如果采用例如具有固有细乳糖含量的粗乳糖(如例如lactohale200®),则乳糖载体的细乳糖含量可以调整到恰好约1%或甚至更低。细乳糖的上限应调整到至多10%或大约至多15%,以免损害掺合物均匀性。通常,为了获得展现出优异气溶胶性能的基于载体的制剂,某个最小含量的细乳糖是必需的。

[1413] 稳定性测试

[1414] 稳定性研究是利用各为低强度(120μg,根据本发明,示例性实施方案1)和高强度(1000μg,根据本发明,示例性实施方案3)的临床批次进行。对外观、递送剂量、空气动力学粒度分布、测定和降解产物以及物理形式(仅限高强度批次)进行了稳定性测试。研究是根据表48中概述的方案进行。

[1415] 表48:稳定性方案-包含实施例2的长期吸入用胶囊

[1416]

储存条件	储存[月]								
	0	1	3	6	9	12	18	24	36
25°C/60% RH	x	x	x	x	(x)	x	x	x	(x)

[1417] RH相对湿度

[1418] x测试站

[1419] (x)任选的测试站

[1420] 在整个测试期中,观察到任何测试参数都没有明显变化的迹象。因此,根据本发明的粉末掺合物制剂对于预期用途和储存期来说是足够稳定的。稳定性数据呈现于下表49中。

[1421] 表49:稳定性数据-包含实施例4的长期吸入用胶囊

[1422]

测试 接受标准	储存时间 [月]	实施方案1 (120μg)	实施方案2 (1000μg)
制剂	初始	符合	符合
(硬胶囊，透明&无色	1	符合	符合
无标记)	3	符合	符合
	6	符合	符合

测试 接受标准	储存时间 [月]	实施方案 1 (120μg)	实施方案 2 (1000μg)
	12	符合	符合
	18	符合	符合
	24	符合	符合
胶囊内容物的外观	初始	白色粉末	灰白色粉末
(白色至灰白色粉末)	1	白色粉末	白色粉末
	3	白色粉末	白色粉末
	6	白色粉末	白色粉末
	12	白色粉末	白色粉末
	18	白色粉末	白色粉末
	24	白色粉末	白色粉末
递送剂量均匀性	初始	71	625
平均递送剂量	1	67	659
120μg: 64 - 92 μg	3	75	691
1000μg: 550 - 750 μg	6	70	625
	12	66	644
	18	63	646
	24	68	660
第 1 层(n=10)	初始	符合	符合
(10 个中有 9 个必须介于 75%和	1	符合	符合
125%	3	符合	符合
并且 10 个中有 10 个介于	6	符合	符合
平均值的 65%和 135%)	12	符合	符合
	18	符合	符合
	24	符合	符合
第 2 层(n=30)	初始	n.a.	n.a.
(所有 30 个值中不超过 3 个位于	1	n.a.	n.a.
75%至 125%的限值以外并且	3	n.a.	n.a.
没有值	6	n.a.	n.a.
位于平均值的 65%至 135%的限值以外)	12	n.a.	n.a.
	18	n.a.	n.a.
	24	n.a.	n.a.
空气动力学粒度	初始	3.2	3.1

[1423]

[1424]

测试 接受标准	储存时间 [月]	实施方案 1 (120μg)	实施方案 2 (1000μg)
分布	1	3.3	3.1
MMAD	3	3.4	3.2
(1.8 - 5.0μm)	6	3.3	3.1
	12	3.5	3.1
	18	3.5	3.3
	24	3.5	3.1
FPD	初始	34	230
120μg: 15 - 37 μg	1	24	235
1000μg 123 - 312μg	3	20	255
	6	24	276
	12	23	260
	18	26	252
	24	22	265
实施例 4 的降解产物	初始	< 0.05	< 0.05
BP 氨基酸	1	n.d.	n.d.
(最大值 1.5 %)	3	n.d.	n.d.
	6	< 0.05	< 0.05
	12	< 0.05	< 0.05
	18	< 0.05	< 0.05
	24	< 0.05	< 0.05
BP-THQ-羧酸	初始	0.1	< 0.05
(最大值 1.5 %)	1	0.1	n.d.
	3	0.1	n.d.
	6	0.1	0.05
	12	0.1	0.05
	18	0.1	0.05
	24	0.1	0.06
任何未指明的降解产物	初始	0.3	0.3
(最大值 1.5 %)	1	0.3	0.3
	3	0.3	0.3
	6	0.3	0.3
	12	0.3	0.3
	18	0.3	0.3
	24	0.3	0.3
所有降解产物的总和	初始	1.0	0.9
(最大值 5.0 %)	1	0.8	0.8

[1425]

测试 接受标准	储存时间 [月]	实施方案 1 (120μg)	实施方案 2 (1000μg)
	3	0.8	0.7
	6	0.8	0.8
	12	1.0	0.9
	18	1.2	1.0
	24	1.1	1.1
实施例 4 的测定	初始	115	962
120μg: 108 - 132 μg/胶囊	1	116	995
1000μg: 900 - 1100 μg/胶囊	3	113	961
	6	113	965
	12	113	955
	18	114	967
	24	112	977
物理形式 (单水合物)	初始	--	单水合物
	1	--	--
	3	--	--
	6	--	--
	12	--	单水合物
	18	--	--
	24	--	单水合物

[1426] n.d.＝未检测到,--未测试

[1427] C-2临床研究用服务溶液(service solution),例如口服和静脉内施用

[1428] 包含实施例4的服务溶液:

[1429] 制造临床研究用服务溶液(参见实施例E-2.3),浓度为0.005％活性成分实施例4(式(I-M-I)的单水合物I),总体积为20ml,最后装入棕色玻璃小瓶中。

[1430] 表49a:包含实施例4的服务溶液的定量组成

[1431]

组成	**量 [mg]**	**填充量 [a] [mg]**

[1432]

原料药		
活性成分，实施例4(式(I-M-I)的单水合物I)	1.0000	1.0450
赋形剂		
羟丙基β环糊精	200.00	209.00
氨丁三醇	24.200	25.289
氯化钠	152.00	158.84
氢氧化钠 1 N	q.s.	q.s.
盐酸 10%	q.s.	q.s.
注射用水	19773	20664

[1433] a量包括0.9ml满溢,确保可提取体积为20.0ml

[1434] b根据Ph.Eur.当前版本,由NaOH和纯净水组成

[1435] q.s.适量

[1436] 制造

[1437] 步骤1:容器中装入大约85%所需量的注射用水。

[1438] 步骤2:将称取量的羟丙基β环糊精(Hydroxypropylbetadex)转移到容器中,搅拌溶液直至完全溶解。

[1439] 步骤3:将称取量的氨丁三醇转移至容器中,搅拌溶液直至完全溶解。

[1440] 步骤4:用适量的1N氢氧化钠将pH调整到12.0(11.8-12.2)。

[1441] 步骤5:将称取量的活性成分,实施例4(式(I-M-I)的单水合物I)转移到容器中,搅拌溶液直至完全溶解。

[1442] 步骤6:将称取量的氯化钠转移到容器中,搅拌溶液直至完全溶解。

[1443] 步骤7:用适量的10%盐酸将pH调整到7.8(7.7-7.9)。

[1444] 步骤8:计算最终重量的水量,并且边搅拌边加入所需量的注射用水。

[1445] 步骤9:在通过膜过滤器(孔径0.2μm)无菌填充到玻璃小瓶之前,将溶液预过滤(过滤器1,生物负载减少过滤器)和无菌过滤(过滤器2)。

[1446] 步骤10:将溶液装入无菌、去热原的20mL棕色玻璃注射小瓶中。

[1447] 步骤11:将小瓶加盖并卷边以完全封闭。

[1448] D-分析方法(输送剂量、细粒剂量、掺合物测定和均匀性)

[1449] 下面详细描述了测定递送剂量和细粒剂量的分析方法。

	D.1：递送剂量(DD)	使用指定的样品收集管(剂量单位取样适配器=DUSA)、数字流量计和真空泵，根据 Ph. Eur. Monograph Preparations for Inhalation - Powders for inhalation，利用干粉吸入器(参见说明第 72 页，图 3a 和图 3b)和吸入胶囊(关于胶囊的制备参见 C.)进行方法。取样以 90L/min 的流速进行 2.4 sec，对应于 3.6L 的吸入容积。DD 样品制备在 20°C和 40-55% RH 下进行。 使用带有 UV-检测的高效液相色谱法测量样品(总结如下)
[1450]	**D.2 空气动力学粒度分布(APSD) (用于测定 FPD)**	使用设备 E (下一代冲击器，NGI)、数字流量计和真空泵，根据 Ph. Eur. 2.9.18 aerodynamic assessment of fine particles，利用干粉吸入器(参见说明第 72 页，图 3a 和图 3b)和吸入胶囊(关于胶囊的制备参见 C.)进行方法。NGI 取样杯各自涂布有 2 mL 1%硅油的己烷溶液。取样以 90L/min 的流速进行 2.4 sec，对应于 3.6L 的吸入容积。DD 样品制备在 20°C和 40-55% RH 下进行。就 120µg 胶囊来说，将 5 个单独的胶囊如上所述连续发射到 NGI 中，对于更高剂量强度(例如 480µg、1000µg)，每次 NGI 分析一个胶囊就足够了。 使用带有 UV-检测的反相高效液相色谱法测量样品(总结如下)
	RP-HPLC-UV 方法(用于 APSD 与 DD 测试以及胶囊测定的样品)	测定方法用于测定递送剂量均匀性(DUSA 取样管)和空气动力学粒度测定(下一代冲击器)期间所制备的样品中，实施例 2 或 4 或比较例 14 的含量。
	仪器	带有恒温柱烘箱、UV-检测器或二极管阵列检测器和

色谱数据系统的高效液相色谱

柱	HPLC 柱 Poroshell 120 EC-C8, 2.7 μm, 150 × 4.6 mm。
样品稀释剂[Sol]	乙腈/水/磷酸 50/50/0.35 (用于 APSD 和 DD)
酸化水	磷酸/水(7:1000 (v:v))
样品制备	将所需的胶囊数量倒入含有酸化水的容量瓶中。用乙醇冲洗胶囊并且将包括胶囊壳的溶液转移至容量瓶。所得溶液的浓度为 6μg/mL。 APSD 用样品是通过用乙腈萃取 NGI 杯来制备。 DD 用样品是通过用样品稀释剂洗涤样品管来制备。
HPLC 条件	
洗脱液	A) 52:48 H2O: MeCN 加上 0.3%磷酸。 B) 5:95 H2O: MeCN 加上 0.3%磷酸。
洗脱	梯度

时间(min)	%A	%B
0.0	100	0
6.0	100	0
6.5	0	100
8.0	0	100
8.5	100	0
11.0	100	0

色谱图运行时间	11 分钟
[1451] 流速	1.5 mL/分钟
柱烘箱温度	35°C (± 2°C)
检测	分光光度计在 260 nm 下
注射体积	100 μL

D.3 掺合物测定/均匀性(HPLC) 高效液相色谱(HPLC)，带有 UV-检测

仪器	1. 带有恒温柱烘箱、UV-检测器或二极管阵列检测器和色谱数据系统的高效液相色谱。 2. HPLC 柱 Poroshell 120 EC-C8, 2.7 μm, 150 × 4.6 mm。 3. 超声波浴。
试剂	1. 磷酸(例如 Merck)。 2. 乙腈(MeCN) (HPLC 级)。 3. 去矿物质水(例如 Millipore)。
样品稀释剂[Sol]	乙腈/水/磷酸 50/50/0.35
酸化水	磷酸/水(7:1000 (v:v))
测试溶液[TS]	准备测试溶液 10 次。所有测试溶液在环境/光照条件下可稳定 7 天。
7.5 μg/mg 掺合物强度 (1.2 μg/mL 样品溶液) 目标胶囊强度: 60 μg	准确称取约 8.0 mg 的 7.5 μg/mg 散装掺合物放入 50 mL 容量瓶中。用稀释剂溶解并补足体积以产生 1.2 μg/mL 实施例 2 或 4 或比较例 14 溶液。

7.5 μg/mg 掺合物强度 (1.2 μg/mL 样品溶液) 目标胶囊强度：120 μg	准确称取约 16.0 mg 的 7.5 μg/mg 散装掺合物放入 100 mL 容量瓶中。用稀释剂溶解并补足体积以产生 1.2 μg/mL 实施例 2 或 4 或比较例 14 溶液。
30 μg/mg 掺合物强度 (4.8 μg/mg 储备溶液，(1.44 μg/mL 样品溶液) 目标胶囊强度：480 μg	准确称取约 16.0 mg 的 30 μg/mg 散装掺合物放入 100 mL 容量瓶中。用稀释剂溶解并补足体积，并且用稀释剂将 3.0 mL 稀释至 10mL 以产生 1.4 μg/mL 实施例 2 或 4 或比较例 14 溶液。
100 μg/mg 掺合物强度 (5 μg/mg 储备溶液，1.5 μg/mL 样品溶液) 目标胶囊强度：1000 μg	准确称取约 10.0 mg 的散装掺合物放入 200 mL 容量瓶中。用稀释剂溶解并补足体积，并且用稀释剂将 6.0 mL 稀释至 20 mL 以产生 1.5 μg/mL 实施例 2 或 4 或比较例 14 溶液。
标准储备溶液[SSS] (15 μg/mL)	一式两份地称取制得大约 15 μg/mL 溶液所需的实施例 2 或 4 或比较例 14 参考标准品的量，并转移到 100 mL 容量瓶中。超声波处理并用稀释剂稀释至体积。将储备溶液标记为 SSS 1 和 SSS 2。
[1452]	如果最终浓度相同，可以使用不同重量的标准物质和不同的稀释步骤。
标准溶液[SS] (1.5 μg/mL)	使用稀释剂将每个储备溶液标准品的 5.0 mL 稀释至 50 mL，并充分混合以产生工作标准溶液。
HPLC 条件	如递送剂量和细粒剂量所述。
D.4 粒度分布 (激光衍射)	适用于例如 API 或乳糖
原理	以适当浓度分散在合适的液体或气体中的代表性样品通过单色光束(通常是激光)。颗粒在不同角度下散射的光由多元素检测器进行测量。然后使用适当的光学模型和数学程序来转换散射模式值，以产生总体积与离散数量的尺寸等级的比例，形成体积粒度分布
仪器	Sympatec HELOS，具有 RODOS 干式分散单元
参数	压力：4 巴 进料率：18% 聚焦长度(RODOS)：100 mm
精确度	变异系数：最大值 5%

[1453] 激光衍射测量的替代配置

仪器	Malvern Mastersizer 3000，具有干式分散单元
参数	压力：3.5 巴 进料率：20 % 聚焦长度：300 mm

[1454]

[1455]

精确度	取样时间：3s 变异系数：最大值5%

[1456] 粒度分析数据通常是按体积计的累积尺寸过小分布来记述。符号x用于表示粒度，其被定义为体积等效球体的直径。最常见的特征值是通过内插法从粒度分布计算得到。经常使用的是尺寸过小值为体积分布10％、50％和90％的粒度，表示为x10、x50和x90。x50也称为中值粒度。符号d广泛用于表示粒度，因此符号x可用符号d代替。

[1457] D.5额外稳定性测试方法

外观	视觉测试
RP-HPLC-UV 方法(用于降解产物)	具有在 260 nm 下的 UV-检测和外部校准的反相高效液相色谱(HPLC)。
仪器	带有恒温柱烘箱、UV-检测器或二极管阵列检测器和色谱数据系统的高效液相色谱
柱	HPLC 柱 Poroshell 120 EC-C8, 2.7 μm, 150 × 4.6 mm。
样品稀释剂[Sol]	乙腈/水/磷酸 50/50/0.35
酸化水	磷酸/水(7:1000 (v:v))
样品制备	将所需的胶囊数量倒入含有酸化水的容量瓶中。用乙腈冲洗胶囊并将不包括胶囊壳的溶液转移至容量瓶。用乙腈将容量瓶补足体积以产生 60 μg/mL 的实施例 2 或 4 或比较例 14 溶液。
HPLC 条件	
洗脱剂	A) 55:45 H2O:MeCN 加上 0.3%磷酸。 B) 5:95 H2O:MeCN 加上 0.3%磷酸。

[1458] 洗脱梯度

时间(min)	%A	%B
0.0	100	0
12.0	100	0
32.0	0	100
35.0	0	100
35.1	100	0
42.0	100	0

色谱图运行时间	42 分钟
流速	1.5 mL/分钟
柱烘箱温度	35°C (± 2°C)
检测	分光光度计在 260 nm 下
注射体积	100 μL
多晶型-X 射线粉末衍射	
方法原理	固态形式的鉴定是根据“Characterisation of crystalline

		and partially crystalline solids by X-ray powder diffraction"(Ph. Eur. 2.9.33)的测试程序进行的。
	样品制备:	将片剂或压碎的片剂作为薄层包裹在两层箔纸(例如聚乙酸酯箔纸)之间。
	仪器:	X射线粉末衍射仪
	发电机:	40 kV / 40 mA
[1459]	检测器:	Mythen (PSD)
	辐射:	锗单色化 CuKα1-辐射
	技术:	透射
	扫描范围:	$5° \leq 2\Theta \leq 30°$
	步宽:	0.1°
	测量时间:	Mythen 60 秒/步(PSD 240 秒/步)

[1460] D.6在成品干粉掺合物中,表征API和乳糖颗粒的颗粒分布和尺寸的额外方法

	方法原理	自动光学和拉曼显微镜整合系统，用于分析复合粉末样品的形态学/粒度和数量，同时鉴定粉末掺合物组分的化学性质。
	仪器:	Malvern Morphologi 4-ID
	干式分散(示例性设置):	体积: 5 mm^3
		压力: 3 巴
		分散时间: 3 ms
[1461]		沉降时间: 60 s
	形态学(示例性设置):	光源: Diascopic
		物镜(倍率) x50
		扫描面积: 784 mm^2
	拉曼(示例性设置):	撷取时间: 15 s
		光谱掩蔽: 在 0.520 cm^{-1} 与 790 – 1740 cm^{-1} 的区域内

[1462] E-生物实施例

[1463] E-1经麻醉的受血栓素挑战的小型猪的血液动力学

[1464] 肺选择性和作用持续时间

[1465] 使用健康的Göttingen Minipigs®Ellegaard(Ellegaard,Denmark),其两种性别都有并且体重为2-6kg。通过i.m.施用约25mg/kg氯胺酮和约10mg/kg阿扎哌隆(azaperone)使动物镇静。通过i.v.施用约2mg/kg氯胺酮和约0.3mg/kg咪达唑仑开始麻醉。通过i.v.施用约7.5-30mg/kg/h氯胺酮和约1-4mg/kg/h咪达唑仑(输注速率1-4ml/kg/h)和约150μg/kg/h泮库溴铵(例如Pancuronium-Actavis)维持麻醉。插管后,动物通过呼吸器(ventilator)以恒定呼吸容积(10-12ml/kg,35次呼吸/min;Avea®,Viasys Healthcare,USA,或Engström Carestation,GE Healthcare,Freiburg,Germany)进行通气,以便达到约5%的吐气末端CO2浓度。使用富含约40%氧气(含氧量正常)的室内空气进行通气。为了测量例如肺动脉压(PAP)、血压(BP)和心率(HR)的血液动力学参数,将导管插入颈动脉以测

量血压,并引入Swan-Ganz®导管以流动导向的方式经由颈静脉进入肺动脉。通过压力传感器(Combitransducer,B.Braun,Melsungen,Germany)/放大器和作为数据撷取软件的Ponemah®来记录并评价血液动力学信号。

[1466] 将仪器放入动物体内后,开始连续输注血栓素A2类似物以增加肺动脉压。将约0.3-0.75μg/kg/min的9,11-二脱氧基-9α,11α-环氧基甲桥前列腺素F2α(U-44069;Sigma,目录号D0400,或Cayman Chemical Company,目录号16440)溶解在生理盐水中,被输注以实现平均肺动脉压增加到超过25mmHg的值。输注开始后30分钟,达到平台期(plateau)并开始实验。

[1467] 测试物质以i.v.输注或通过吸入被施用。关于吸入用溶液的制备,采用以下程序:针对体重为4kg的动物,为了制备储备溶液(300μg/kg),称取1.2mg测试化合物并以总体积为3ml溶解(1%DMSO、99%强度为0.2%的柠檬酸溶液、1n氢氧化钠水溶液以将pH调整到8)。然后使用已用氢氧化钠水溶液调整到pH 8的0.2%浓度柠檬酸将溶液稀释至所采用的浓度。在每个测试中,使用Aeroneb®Pro雾化器系统将3ml测试化合物溶液/每只4kg动物在呼吸管路的吸入臂中雾化。从雾化开始,平均雾化时间为约7min。

[1468] 预测在人类体内的影响持续时间

[1469] 关于预测人类研究的作用持续时间,在吸入施用Ventavis®(=Iloprost,10μg/kg标称剂量)后,在PAH小型猪模型中对比较例11进行比对,我们将Ventavis®用作临床参考品。Ventavis®的最长作用持续时间为约40min。在整个240min观察区间期间,比较例11的所有剂量都显示出剂量依赖性功效(参见图45)。因此,在这个临床前动物模型中,作用持续时间与Ventavis相比长超过6倍。在临床研究中,Ventavis显示对血液动力学(PVR)的作用持续时间为约60min(参考文献:Favorable Effects of Inhaled Treprostinil in Severe Pulmonary Hypertension Results From Randomized Controlled Pilot Studies Robert Voswinckel,MD,*Beate Enke,MD,*Frank Reichenberger,MD,*Markus Kohstall,MD,*Andree Kreckel,MD,*Stefanie Krick,MD,*Henning Gall,MD,*Tobias Gessler,MD,PHD,*Thomas Schmehl,PHD,*Hossein A.Ghofrani,MD,*Ralph Theo Schermuly,PHD,*Friedrich Grimminger,MD,PHD,*Lewis J.Rubin,MD,†Werner Seeger,MD,*Horst Olschewski,MD*‡Journal of the American College of Cardiology第48卷,第8期,2006),这与我们观察到作用持续时间为约40min有很好的相关性。

[1470] 假设在PAH小型猪模型和人类之间,比较例11的作用持续时间不相上下,如Ventavis类似显示和描述,则比较例11在人体内的作用持续时间应该至少为6小时甚至更长。

[1471] 表50:媒介物溶液、比较例11(10、30和100μg/kg标称剂量)和Ventavis(10μg/kg标称剂量)在PAH小型猪模型中吸入施用后的作用。PAP相对于基线(雾化开始前的10分钟区间)的%变化。数据为平均值±SD。

[1472]

相对于前值的 PAP %变化										
时间	媒介物 n=4		Ventavis® n=3		比较例 11 10μg/kg n=3		比较例 11 30μg/kg n=3		比较例 11 100μg/kg n=3	
	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	-0.2	2.7	-30.3	9.0	0.6	0.5	0.3	0.6	-2.1	2.7
20	-0.4	6.3	-20.7	21.6	0.2	0.3	-2.0	1.0	-7.2	3.8
30	0.5	6.5	-6.9	13.5	-0.7	0.4	-4.6	0.8	-14.6	6.0
40	2.4	4.1	1.7	2.9	-1.5	2.2	-7.8	0.9	-18.1	6.9
50	4.3	4.0	4.9	0.9	-2.3	2.7	-9.8	0.6	-22.2	8.6
60	5.6	4.6			-3.5	3.3	-11.8	1.0	-25.1	7.9
70	6.2	5.2			-4.2	3.2	-14.1	0.7	-27.0	7.4
80	6.2	5.2			-3.7	4.2	-14.2	0.7	-27.9	7.3
90	7.0	5.3			-4.3	4.6	-14.4	0.2	-28.9	9.1
100	7.0	5.3			-5.3	4.9	-14.8	0.3	-31.1	8.8
110	7.0	5.7			-6.2	4.9	-15.3	0.3	-30.8	8.4
120	7.6	5.5			-6.7	5.4	-15.3	1.0	-31.3	8.4
130	7.9	5.9			-6.2	4.9	-15.5	1.9	-31.2	9.1
140	7.7	5.5			-7	5.0	-15.3	2.2	-31.6	8.7
150	7.9	5.1			-7.6	5.3	-16.3	1.7	-31.1	8.2
160	8.9	4.8			-7.6	6.1	-16.3	2.3	-30.1	8.5
170	9	5.8			-8.2	5.9	-14.9	2.1	-31.1	8.9
180	8.6	6.0			-8.0	4.4	-14.7	2.1	-31.1	9.2
190	9.2	6.0			-7.8	4.7	-15.1	2.1	-30.5	8.5
200	8.9	5.7			-7.3	3.6	-15.3	2.6	-30.9	8.6
210	9.4	6.0			-7.5	4.5	-13.8	2.3	-30.6	8.9
220	9.9	5.3			-7.2	3.7	-13.6	2.2	-31.6	9.2
230	9.1	4.7			-7.2	3.4	-12.8	2.4	-31.2	7.4
240	8.4	4.1			-7.6	2.7	-13.4	1.9	-31.0	8.0

[1473]

[1474] 预测人类剂量

[1475] 为了生成人类剂量估算值,重复比较例11在PAH小型猪模型中的实验,不同之处在于在管的末端处附接吸收过滤器以确定沉积的肺部剂量。比较例11的雾化导致雾化效率为标称施用剂量的3-6%。基于过滤器实验的所有结果,沉积在过滤器上的气溶胶分率的算术

平均值为5%,导致相对肺部沉积剂量为约0.15μg/kg(3μg/kg标称剂量)、0.5μg/kg(10μg/kg标称剂量)、1.5μg/kg(30μg/kg标称剂量)和5μg/kg(100μg/kg标称剂量)。假设用于降低5% PAP的最小有效标称剂量为3μg/kg并且平均雾化效率为5%,则基于PAH小型猪模型,最小有效肺部沉积剂量被认为是0.15μg/kg。因此,对于60kg体重的人类患者来说,最小有效肺部沉积剂量为9-41μg,这取决于假定不同蛋白质结合是否有影响(参见表37)。考虑到100μg/kg在小型猪模型中作为有效剂量,300-1370μg肺部沉积剂量被假定为有效剂量,同样取决于对不同物种间蛋白质结合的考虑。

[1476] 表51:在考虑和不考虑物种间蛋白质结合差异的情况下的有效肺剂量

[1477]

在小型猪中的相对肺部沉积剂量 [μg/kg]	在60 kg人类中的总肺部沉积剂量 [μg]	
	不考虑物种间蛋白质结合差异	考虑物种间蛋白质结合差异
0.15 μg/kg (3 μg/kg 标称剂量)	9	41
0.50 μg/kg (10 μg/kg 标称剂量)	30	137
1.5 μg/kg (30 μg/kg 标称剂量)	90	410
5.0 μg/kg (100 μg/kg 标称剂量)	300	1370

[1478] a计算(小型猪的相对肺部沉积剂量×60kg)

[1479] b计算(小型猪的相对肺部沉积剂量×60kg×4.55(未结合小型猪(血浆fu 0.348%)/人类(血浆fu 0.0764%)的分率比率)

[1480] 干粉制剂的作用

[1481] 在雾化化合物溶液后对比较例11的作用进行表征后,在经麻醉的PAH小型猪体内以另一个步骤研究比较例11的结晶形式(例如倍半水合物,例如实施例6e)在吸入施用不同的干粉乳糖制剂后对PAP和BP的作用(表52)。

[1482] 表52:在小型猪实验中所施用的比较例11的结晶形式(例如倍半水合物,例如实施例6e)的干粉制剂

[1483]

制剂	药物负载 % (w/w)	每只动物所施用的干粉/药物剂量	施用的比较例 11 的结晶形式
在乳糖中，比较例 11 的结晶形式的乳糖制剂 I	2	1.5 mg/ 30 μg	7.5 μg/kg
在乳糖中，比较例 11 的结晶形式的乳糖制剂 II	6	1.5 mg/ 90 μg	22.5 μg/kg
倍半水合物实施例 6e，微粉化	100	1.5 mg/ 1500 μg	375 μg/kg

[1484] w/w:重量/重量

[1485] 1.5mg/4kg动物体重乳糖媒介物(LH300/LH200 20/78或LH300/LH200 20/80)、乳糖制剂I(LH300/LH200 20/78,包含2w-%比较例11的结晶形式)、乳糖制剂II(LH300/LH200 20/80,包含6w-%比较例11的结晶形式或微粉化倍半水合物实施例6e)经由连接到气泵的PennCentury®干粉吹入器进行气管内(i.t.)施用。在所有动物中,乳糖施用导致PAP增加而对BP没有任何影响(图46-49)。在i.t.施用乳糖制剂I(2%w/w)、乳糖制剂II(6%w/w)或作为微粉化比较例11的结晶形式(例如倍半水合物实施例6e)观察到PAP降低而对BP没有任何影响(图46-48)。如图49中所示,影响开始是缓慢的,乳糖制剂I(2%w/w)在i.t.施用后大约190min后达到最大作用,而乳糖制剂II(6%w/w)为大约170min后,并且微粉化倍半水合物实施例6e为大约80min后。所有剂量对PAP的选择性作用持续完整4h的观察区间。在这个模型中使用乳糖制剂II以及微粉化倍半水合物实施例6e在这些实验条件下可在这个动物模型中达到最大效果。由于乳糖制剂I已经有效,比较例11的MED以及其假多晶型形式(例如倍半水合物和单水合物I或单水合物II(式I化合物的不同假多晶型形式的类似功效已在以下测试中得到证明))为<7.5μg/kg,这与使用液体溶液(MED 3μg/kg)推导人类剂量预测的实验完全一致。由于技术限制,较低剂量不适用。

[1486] 表53:气管内施用不同乳糖媒介物、乳糖制剂I(7.5μg/kg)、乳糖制剂II(22.5μg/kg)和微粉化倍半水合物(例如实施例6e(375μg/kg))后的作用。数据显示为PAP和BP[mmHg]的绝对值(n＝3)

[1487]

	乳糖 1.5mg/4kg (在 0min) +乳糖制剂 I 2% 1.5mg/4kg (在 90min)						乳糖 1.5mg/4kg (在 0min) +乳糖制剂 II 6% 1.5mg/4kg (在 90min)					
时间	PAP			BP			PAP			BP		
0	38.8	37.1	37.2	101	106	119	38.6	36.8	40.0	110	115	93
10	37.3	37.7	37.6	95	110	118	39.4	37.1	39.2	111	112	92
20	35.3	36.8	38.4	96	106	119	39.9	37.9	39.1	113	117	88
30	40.4	37.2	38.7	101	105	119	40.3	37.4	39.8	114	115	89
40	41.8	37.8	39.4	103	105	119	40.9	38.5	40.9	113	116	92
50	41.9	39.4	39.2	105	102	118	41.7	38.1	41.0	113	115	93
60	41.9	40.9	39.7	107	100	118	42.4	38.0	39.8	112	114	91
70	40.9	41.2	39.6	108	101	116	42.8	39.2	41.6	112	113	95
80	37.6	42.4	37.4	108	94	111	43.3	39.5	40.6	111	113	93
90	35.5	42.3	38.4	111	97	111	43.0	39.2	40.2	111	110	93
100	38.1	43.8	37.5	113	100	110	43.2	40.0	42.5	110	112	94
110	38.8	43.8	36.5	114	93	107	44.2	38.5	40.4	110	111	94
120	40.9	43.8	35.3	115	96	107	42.7	36.5	40.1	110	111	96
130	40.9	43.6	34.2	115	89	106	40.8	36.4	38.6	110	109	96
140	41.3	42.3	33.5	116	86	105	40.6	35.6	35.6	109	110	96
150	41.3	39.5	33.2	117	89	104	39.9	35.0	35.9	110	108	98
160	40.4	39.0	32.9	116	87	103	38.8	34.1	34.1	110	107	98
170	40.9	38.1	32.9	116	86	102	37.1	34.8	32.5	110	106	97
180	40.9	38.1	32.6	114	88	101	35.5	31.6	32.6	109	105	98
190	41.5	39.7	33.6	116	90	102	34.4	31.7	30.8	108	106	96
200	39.3	39.7	32.5	112	89	103	34.5	31.7	30.5	108	106	95
210	40.2	39.7	32.3	112	90	102	34.5	31.5	30.3	107	106	96
220	38.6	38.7	31.5	110	89	104	34.2	29.9	28.6	106	104	95
230	39.3	38.7	31.5	111	88	105	32.7	29.5	28.6	106	104	96
240	38.2	38.5	30.5	109	89	104	32.2	28.6	28.0	106	104	96
250	40.3	38.1	31.2	110	90	103	31.6	29.1	27.4	105	102	96
260	39.6	36.4	30.0	107	90	100	29.6	28.7	27.7	105	102	97
270	38.7	36.9	29.3	108	94	98	28.8	27.9	26.6	104	103	94
280	39.6	36.2	28.9	106	91	98	32.5	27.2	26.2	105	102	93
290	40.1	37.0	28.3	107	91	95	31.5	26.6	26.6	105	100	91
300	38.2	37.9	28.0	104	90	92	30.6	26.6	25.7	104	101	94
310	40.0	37.1	27.4	105	91	92	30.6	26.3	26.0	105	97	93
							30.3	26.2	26.1	104	95	93
							30.2	26.0	25.7	103	95	93
							29.7	25.3	26.5	102	90	94

[1488]

	乳糖 1.5mg/4kg (在 30min) +微粉化倍半水合物的结晶形式实施例 6e 1.5mg/4kg (在 90min)					
时间	PAP			BP		
0						
10						

[1489]

20	42.0	36.4	37.5	99	107	119
30	41.9	37.1	37.5	99	104	117
40	42.0	37.3	38.6	99	108	119
50	41.4	37.4	39.8	99	109	118
60	41.4	36.8	41.2	100	107	118
70	41.0	37.4	41.3	100	109	118
80	40.9	38.1	40.8	101	114	119
90	40.4	39.5	40.7	102	116	118
100	40.7	38.7	39.6	99	111	117
110	36.5	37.6	35.4	101	112	116
120	34.3	36.4	30.8	101	114	115
130	32.3	35.7	28.6	101	114	115
140	30.8	35.0	27.5	99	120	114
150	30.3	29.0	26.6	99	121	114
160	29.0	30.3	26.9	100	122	114
170	28.0	28.3	25.1	101	121	115
180	25.8	30.8	25.3	99	119	115
190	25.1	30.8	23.9	99	123	114
200	25.5	30.6	24.6	98	116	113
210	25.0	30.8	24.2	99	117	116
220	24.3	32.9	23.6	97	123	114
230	24.0	31.5	23.6	97	119	114
240	24.3	31.0	23.5	97	119	112
250	24.2	31.3	22.9	97	118	111
260	24.0	31.5	23.5	96	116	112
270	24.5	29.8	22.6	99	115	109
280	23.9	29.8	22.8	97	111	110
290	23.5	30.3	22.0	97	110	107
300	24.6	30.0	22.2	98	109	108
310	23.9	29.6	21.9	97	109	105
	25.3	29.1	22.5	94	108	105
	25.1	28.5	21.6	97	108	105

[1490] 表54:气管内施用不同乳糖媒介物、乳糖制剂I(7.5μg/kg)、乳糖制剂II(22.5μg/kg)和微粉化倍半水合物(例如实施例6e(375μg/kg))后的作用。数据显示为相对于基线对PAP的%变化,作为每只动物的绝对值。

[1491]

时间	乳糖制剂 I 2%			乳糖 LH300/LH200 20:78 m/m			乳糖制剂 II 6%			乳糖 LH300/LH200 20:80 m/m		
80	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
90	97.6	100.8	99.8	96.0	101.5	101.0	100.7	101.9	105.7	102.0	100.7	97.9
100	89.7	103.8	94.3	90.9	99.3	103.2	102.8	98.0	100.6	103.3	102.9	97.6
110	84.7	103.6	96.8	103.9	100.2	104.0	99.3	93.0	99.7	104.3	101.5	99.4
120	90.9	107.1	94.6	107.7	101.9	105.7	95.1	92.7	96.0	105.8	104.6	102.0

[1492]

130	92.6	107.1	92.0	107.9	106.3	105.4	94.6	90.6	88.5	108.0	103.6	102.3
140	97.5	107.1	88.8	108.0	110.1	106.7	92.8	89.1	89.4	109.8	103.3	99.5
150	97.5	106.7	86.0				90.2	86.9	84.7	110.8	106.4	103.8
160	98.6	103.5	84.3				86.3	88.6	80.7	112.1	107.4	101.3
170	98.4	96.6	83.7				82.6	80.5	81.1	111.2	106.6	100.4
180	96.4	95.5	82.9				80.1	80.8	76.7	111.9	108.6	106.1
190	97.6	93.3	82.9				80.4	80.9	76.0			
200	97.6	93.3	82.1				80.2	80.1	75.4			
210	98.8	97.1	84.6				79.6	76.1	71.0			
220	93.7	97.3	81.9				76.1	75.2	71.2			
230	95.8	97.3	81.3				74.9	72.9	69.6			
240	92.1	94.6	79.4				73.5	74.1	68.2			
250	93.7	94.6	79.3				68.9	73.1	68.9			
260	91.0	94.1	76.8				66.9	71.1	66.1			
270	96.1	93.1	78.5				75.6	69.4	65.1			
280	94.5	89.2	75.5				73.4	67.8	66.1			
290	92.3	90.2	73.7				71.2	67.9	64.0			
300	94.3	88.6	72.8				71.2	67.1	64.7			
310	95.7	90.5	71.3				70.6	66.7	65.0			
320	91.0	92.8	71.3				70.2	66.3	63.9			
330	95.4	90.8	69.1				69.2	64.5	66.0			

[1493]

时间	微粉化倍半水合物实施例6e			乳糖 LH300/LH200 20:80 m/m		
80	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
90	98.9	103.6	99.8	99.7	101.8	100.1
100	99.5	101.4	97.3	100.0	102.3	103.2
110	89.3	98.7	86.8	98.6	102.5	106.3
120	84.0	95.6	75.7	98.6	101.0	110.1
130	78.9	93.7	70.2	97.7	102.6	110.1
140	75.2	91.8	67.5	97.4	104.6	108.8
150	74.0	76.0	65.4			
160	71.0	79.5	65.9			
170	68.5	74.3	61.5			
180	63.2	80.8	62.0			
190	61.5	80.8	58.6			
200	62.3	80.3	60.2			
210	61.0	80.7	59.4			
220	59.5	86.3	57.8			
230	58.6	82.6	57.8			
240	59.3	81.5	57.6			
250	59.3	82.2	56.1			
260	58.8	82.7	57.6			
270	59.9	78.3	55.4			
280	58.4	78.3	55.9			
290	57.4	79.6	53.9			
300	60.1	78.7	54.5			

[1494]

310	58.4	77.6	53.7			
320	61.8	76.3	55.1			
330	61.3	74.8	53.0			

[1495] 总而言之,所有包含比较例11的结晶形式(例如倍半水合物实施例6e)的干粉制剂在这个急性PAH模型中被吸入施用后,选择性地且以剂量依赖性方式降低PAP,作用持续时间长到至少4h。就增加施用剂量来说观察到清楚的剂量-反应曲线。与雾化液体制剂(开始吸入后最大作用为约90min)相比,使用干粉制剂的最大作用延迟到较晚的时间点(乳糖制剂I(2%w/w)~190min,乳糖制剂II(6%w/w)~170min)(参见图49)。

[1496] 评价不同干粉水合物的功效

[1497] 此外,为了评价比较例11的不同水合物的功效,将比较例11以1.5mg/4kg(=375μg/kg)的剂量经由PennCentury®干粉吹入器以微粉化单水合物II(实施例2)、微粉化半水合物(类似于实施例6a),以及微粉化倍半水合物(类似于实施例6e)在PAH小型猪中进行气管内施用。在每个实验开始时施用纯乳糖媒介物作为参考品。所有3种水合物在降低PAP以及降低全身性BP方面都显示出类似的功效(参见图50和图51)。在观察区间的最后一小时内,所有3种水合物对全身性血压都有轻微影响。这种轻微的全身性BP下降可能是由于药物

的全身性溢出(systemic overspill)所引起的,其以相对较高的剂量(标称375μg/kg)i.t.施用。它也可能反映了经麻醉动物在麻醉持续期间会有一些BP下降。

[1498] 表55:比较例11在气管内施用不同水合物后对BP和PAP的作用:微粉化单水合物II(实施例2)、微粉化半水合物(实施例6a)和微粉化倍半水合物(实施例6e)。数据显示为绝对值[mmHg],呈平均值±SEM(n=3)

[1499]

	单水合物 II (实施例 2)						半水合物(实施例 6a)					
时间	BP (平均值)			PAP(平均值)			BP (平均值)			PAP(平均值)		
-10	116	126	139	37.9	37.8	39.4	99	85	86	38.7	40.6	38.7

[1500]

0	109	127	136	35.8	38.7	39.7	101	85	85	39.6	40.8	38.5
10	110	126	135	35.8	38.7	37.1	103	83	79	40.2	41.1	41.1
20	117	128	139	38.9	38.2	40.2	101	83	84	40.4	41.3	41.3
30	121	128	139	39.8	38.6	40.0	100	81	88	40.2	41.3	41.3
40	123	127	137	40.4	39.0	40.7	98	81	90	40.4	41.8	41.0
50	120	127	135	39.7	39.2	40.2	99	78	89	40.7	41.7	40.9
60	121	127	136	39.9	39.2	40.8	100	79	86	41.2	42.0	40.9
70	124	126	137	39.1	36.0	37.2	102	78	87	38.8	40.6	40.1
80	123	124	135	39.1	36.1	35.9	102	79	90	34.1	39.9	37.7
90	122	125	134	37.9	35.2	34.5	101	81	92	30.1	37.7	36.6
100	122	124	132	36.8	33.2	32.7	100	80	95	28.3	35.9	35.0
110	122	125	133	35.5	31.9	31.2	99	79	99	27.2	34.8	34.0
120	121	125	132	34.8	30.2	29.8	99	79	96	26.4	34.1	32.9
130	120	124	131	34.2	29.7	29.3	98	81	97	25.7	33.7	31.7
140	119	125	131	34.3	29.3	28.6	99	82	98	25.3	33.2	31.3
150	117	124	130	33.7	28.4	28.4	97	82	97	25.0	32.9	30.7
160	117	121	130	33.7	27.8	27.8	96	81	97	24.5	32.5	30.2
170	116	120	129	33.5	27.5	28.0	95	79	95	24.0	32.4	29.9
180	114	117	132	33.5	27.1	28.1	94	79	94	23.7	31.9	29.7
190	112	116	133	33.6	26.7	28.3	94	85	93	24.4	32.4	29.2
200	109	115	131	33.5	26.8	28.0	92	85	92	24.8	32.4	29.4
210	110	117	130	33.4	26.3	27.6	90	81	91	24.8	31.9	29.2
220	110	116	128	33.7	26.3	27.1	89	79	89	24.7	31.7	29.1
230	111	115	129	33.8	26.0	27.6	87	78	89	24.0	31.3	28.6
240	111	113	121	33.3	26.6	26.8	87	77	87	24.1	31.3	28.1
250	109	110	123	33.2	26.0	26.3	85	76	85	24.2	30.7	28.1
260	109	108	119	33.4	26.3	26.7	85	76	84	24.1	30.6	28.1
270	108	106	119	33.6	25.9	26.3	85	76	87	24.4	30.6	27.8
280	108	104	116	33.4	26.3	26.2	85	75	84	24.3	30.7	28.0
290	106	102	114	33.2	25.9	25.8	84	75	83	24.1	30.7	27.6
300	105	101	114	33.1	25.9	25.7	83	77	82	23.7	30.5	27.7

[1501]

	倍半水合物(实施例 6e)					
时间	BP (平均值)			PAP(平均值)		
-10	99	107	119	42.0	36.4	37.5
0	99	104	117	41.9	37.1	37.5
10	99	108	119	42.0	37.3	38.6
20	99	109	118	41.4	37.4	39.8
30	100	107	118	41.4	36.8	41.2
40	100	109	118	41.0	37.4	41.3
50	101	114	119	40.9	38.1	40.8
60	102	116	118	40.4	39.5	40.7
70	99	111	117	40.7	38.7	39.6
80	101	112	116	36.5	37.6	35.4
90	101	114	115	34.3	36.4	30.8
100	101	114	115	32.3	35.7	28.6

[1502]

110	99	120	114	30.8	35.0	27.5
120	99	121	114	30.3	29.0	26.6
130	100	122	114	29.0	30.3	26.9
140	101	121	115	28.0	28.3	25.1
150	99	119	115	25.8	30.8	25.3
160	99	123	114	25.1	30.8	23.9
170	98	116	113	25.5	30.6	24.6
180	99	117	116	25.0	30.8	24.2
190	97	123	114	24.3	32.9	23.6
200	97	119	114	24.0	31.5	23.6
210	97	119	112	24.3	31.0	23.5
220	97	118	111	24.2	31.3	22.9
230	96	116	112	24.0	31.5	23.5
240	99	115	109	24.5	29.8	22.6
250	97	111	110	23.9	29.8	22.8
260	97	110	107	23.5	30.3	22.0
270	98	109	108	24.6	30.0	22.2
280	97	109	105	23.9	29.6	21.9
290	94	108	105	25.3	29.1	22.5
300	97	108	105	25.1	28.5	21.6

[1503] 表56:比较例11在气管内施用不同水合物后对BP和PAP的作用:微粉化单水合物II(实施例2)、微粉化半水合物(实施例6a)和微粉化倍半水合物(实施例6e)。数据显示为相对于前值的%变化,作为每只动物的绝对值

[1504]

	单水合物 II (实施例 2)						半水合物(实施例 6a)					
时间	PAP			BP			PAP			BP		
50	99.1	99.2	98.5	99.1	100.1	100.0	99.3	98.7	98.9	99.6	98.4	100.6
60	99.7	99.3	99.8	99.9	100.1	100.7	100.7	99.4	99.2	100.6	99.7	97.2
70	97.7	91.1	91.0	102.4	99.3	101.4	94.7	96.1	97.0	102.6	98.4	98.4
80	97.7	91.3	88.0	101.6	97.7	100.0	83.4	94.5	91.2	102.6	99.7	101.8
90	94.7	89.1	84.5	100.7	98.5	99.2	73.4	89.2	88.7	101.6	102.2	104.0
100	91.8	84.0	80.0	100.7	97.7	97.7	69.0	85.0	84.7	100.6	101.0	107.4
110	88.8	80.9	76.3	100.7	98.5	98.5	66.5	82.4	82.1	99.6	99.7	111.9
120	87.0	76.6	73.0	99.9	98.5	97.7	64.4	80.8	79.7	99.6	99.7	108.6
130	85.5	75.2	71.7	99.1	97.7	97.0	62.8	79.9	76.7	98.6	102.2	109.7
140	85.6	74.3	70.0	98.3	98.5	97.0	61.8	78.7	75.7	99.6	103.5	110.8
150	84.1	71.9	69.4	96.6	97.7	96.3	60.9	78.0	74.3	97.6	103.5	109.7
160	84.1	70.4	68.1	96.6	95.3	96.3	59.9	77.1	73.1	96.6	102.2	109.7
170	83.8	69.8	68.5	95.8	94.5	95.5	58.6	76.7	72.3	95.6	99.7	107.4
180	83.8	68.7	68.9	94.1	92.2	97.7	58.0	75.4	71.8	94.6	99.7	106.3
190	83.9	67.7	69.3	92.5	91.4	98.5	59.5	78.4	70.7	94.6	108.5	105.2
200	83.7	67.9	68.5	90.0	90.6	97.0	60.5	76.8	71.1	92.6	107.3	104.0

[1505]

210	83.4	66.5	67.7	90.8	92.2	96.3	60.6	75.5	70.8	90.6	102.2	102.9
220	84.0	66.7	66.2	90.8	91.4	94.8	60.3	75.1	70.3	89.6	99.7	100.6
230	84.5	65.8	67.6	91.6	90.6	95.5	58.7	74.1	69.1	87.6	98.4	100.6
240	83.2	67.3	65.6	91.6	89.0	89.6	58.9	74.2	68.0	87.6	97.2	98.4
250	83.0	65.7	64.3	90.0	86.7	91.1	59.0	72.7	67.9	85.5	95.9	96.1
260	83.3	66.7	65.4	90.0	85.1	88.1	58.8	72.5	68.0	85.5	95.9	95.0
270	83.8	65.6	64.3	89.2	83.5	88.1	59.6	72.4	67.3	85.5	95.9	98.4
280	83.3	66.5	64.1	89.2	81.9	85.9	59.3	72.6	67.8	85.5	94.6	95.0
290	82.8	65.5	63.1	87.5	80.4	84.4	58.8	72.6	66.7	84.5	94.6	93.9
300	82.7	65.7	62.9	86.7	79.6	84.4	57.9	72.2	67.1	83.5	97.2	92.7

[1506]

	倍半水合物(实施例 6e)					
时间	PAP			BP		
50	98.3	96.2	101.2	101.4	98.5	100.3
60	97.2	99.6	101.1	102.5	100.3	99.4
70	97.8	97.5	98.5	99.4	96.0	98.6
80	87.8	94.9	87.9	101.4	96.8	97.7
90	82.5	92.0	76.6	101.4	98.5	96.9
100	77.6	90.1	71.1	101.4	98.5	96.9
110	74.0	88.3	68.4	99.4	103.7	96.1
120	72.8	73.1	66.2	99.4	104.6	96.1
130	69.8	76.4	66.8	100.4	105.5	96.1
140	67.3	71.4	62.2	101.4	104.6	96.9
150	62.1	77.7	62.8	99.4	102.9	96.9
160	60.4	77.7	59.3	99.4	106.3	96.1
170	61.3	77.3	61.0	98.4	100.3	95.2
180	60.0	77.6	60.1	99.4	101.1	97.7
190	58.5	83.0	58.5	97.4	106.3	96.1
200	57.6	79.4	58.5	97.4	102.9	96.1
210	58.3	78.3	58.3	97.4	102.9	94.4
220	58.3	79.0	56.8	97.4	102.0	93.5
230	57.8	79.6	58.3	96.4	100.3	94.4
240	58.9	75.3	56.1	99.4	99.4	91.8
250	57.4	75.3	56.6	97.4	96.0	92.7
260	56.4	76.5	54.6	97.4	95.1	90.2
270	59.1	75.7	55.2	98.4	94.2	91.0
280	57.4	74.6	54.4	97.4	94.2	88.5
290	60.8	73.3	55.8	94.4	93.4	85.9
300	60.3	72.0	53.7	101.4	90.8	84.3

[1507] E-2.1在健康男性受试者中吸入性施用sGC活化剂持续7天-cGMP和支气管扩张

[1508] 年龄在18至45岁并且身体质量指数(BMI)高于/等于18.5和低于/等于29.9kg/m2的健康白人男性受试者在临床药理学第I期研究中接受为期7天的治疗,每天一次吸入剂量为480或1000或2000μg(2个1000μg胶囊)(标称剂量)的实施例2的干粉制剂或安慰剂。受试者通过一次深吸气从插入到手持式吸入装置的胶囊(参见C,例如表22和表23)吸入药物粉末。药物的干粉制剂被分散到气流中,而细粒被输送到肺部深处,目的是使PH患者的血管舒张,从而在PAH患者或其他PH亚型中显著降低中央肺血管的血压升高。这种作用无法在肺部健康的受试者身上显示出来。此外,吸入型药物会导致支气管气道扩张,从而改善具有病理性支气管收缩的PH患者的肺病疾病状态。这种作用是在健康受试者中经由身体体积描记法测量为比气道阻力减少。深吸气后,受试者屏住呼吸2秒,以便干粉药物从气流中凝结到肺部深处区域的表面,其沉积在那里接近其预期药理作用部位之处。药物在一天内溶解并经由内衬液平衡肺。在肺部内作为药物浓度的替代物,随时间分析血浆浓度,并表明在吸入后2.0至2.5h达到最大血液浓度,之后经由血流协助肺部的药物平衡。首次吸入后产生可测量到的血浆浓度并持续48h,如所有施用剂量可见,在每日一次吸入14天后,在24h内产生稳态

药物浓度,从而维持药物在od吸入后的24/7活性。

[1509] 在健康人中,在7天治疗的第一次和最后一次药物吸入之前之后通过分析血液样品的cGMP来控制健康男性的药物活性,cGMP是sGC药理学活化的直接产物,与所有剂量在治疗前当天的测量值进行比较。

[1510] 对这个参数相对于基线变化的分析显示cGMP以剂量依赖性方式增加,在第一次吸入后大约2h开始,在实施例2施用后6h时(480和1000μg剂量)和8h时(2000μg剂量)达到峰值(参见图52-56)。与全身性药物浓度相比,这种延长的活性是由作为吸入型干粉的施用模式引起的,这种施用模式将药物沉积在肺部的更深处部分,导致每天一次吸入后在24h内都有活性药物浓度。施用480、1000和2000μg实施例2后,在第一个分析日观察到的峰值平均值±SD cGMP值分别为8.84±1.35、11.69±1.86和16.52±4.24nmol/L。

[1511] 重复给药7天后,在施用对应剂量后,观察到cGMP的平均峰值进一步增加为11.96±2.80、16.70±2.96和32.67±9.48nmol/L。在第一次治疗后10天,平均cGMP浓度已恢复到接近给药前当日所观察到的浓度。cGMP数据显示每天一次吸入药物实施例2会在sGC目标处产生预期的剂量依赖作用(参见图56)。

[1512] 表57:环单磷酸鸟苷相对于基线的变化(nmol/L)(SAF)

[1513]

	安慰剂	480 μg，实施例2	1000 μg，实施例2	2000 μg，实施例2
-0D 22H 00M	0.47 ± 0.90	1.17 ± 1.00	0.08 ± 1.41	0.66 ± 0.79
-0D 20H 00M	-0.11 ± 1.13	0.52 ± 0.95	-0.24 ± 1.75	0.48 ± 0.71
-0D 18H 00M	0.71 ± 1.41	0.21 ± 1.74	-0.87 ± 1.44	0.17 ± 0.78
-0D 16H 00M	-0.26 ± 1.89	0.41 ± 0.96	-0.43 ± 1.49	0.29 ± 1.17
-0D 12H 00M	-0.11 ± 1.34	0.22 ± 1.17	-0.77 ± 1.72	0.28 ± 0.97
-0D 09H 00M	-0.67 ± 1.25	0.20 ± 1.59	-0.84 ± 2.04	-0.18 ± 0.90
0D 00H 00M	-0.77 ± 1.27	0.11 ± 1.10	-0.11 ± 1.62	0.68 ± 1.14
0D 02H 00M	0.42 ± 0.52	1.73 ± 0.82	3.26 ± 2.04	4.78 ± 1.35
0D 04H 00M	-0.68 ± 2.23	3.04 ± 1.39	5.64 ± 2.54	9.18 ± 2.50
0D 06H 00M	-0.40 ± 2.23	3.33 ± 1.39	6.78 ± 2.79	11.04 ± 3.21
0D 08H 00M	0.33 ± 2.56	2.94 ± 1.38	5.94 ± 2.65	11.69 ± 2.78
0D 12H 00M	-0.24 ± 2.07	2.10 ± 1.18	4.86 ± 2.91	8.56 ± 2.19
0D 15H 00M	-0.58 ± 2.14	1.53 ± 1.50	3.70 ± 2.59	7.54 ± 2.32
1D 00H 00M	-0.18 ± 2.06	0.84 ± 0.89	1.26 ± 1.98	3.48 ± 0.90
2D 00H 00M	-0.30 ± 2.26	0.74 ± 1.59	0.33 ± 1.99	1.57 ± 0.86
3D 00H 00M	-0.14 ± 2.10	1.00 ± 1.92	2.31 ± 2.68	5.17 ± 1.51
4D 00H 00M	0.31 ± 1.99	1.46 ± 1.24	2.86 ± 2.63	9.33 ± 2.55
5D 00H 00M	0.27 ± 2.34	1.50 ± 0.98	3.59 ± 2.51	11.10 ± 3.49
6D 00H 00M	0.71 ± 2.21	1.92 ± 1.21	4.32 ± 2.82	11.71 ± 2.66
7D 00H 00M	0.21 ± 0.83	1.68 ± 0.85	4.74 ± 2.98	11.36 ± 3.37
7D 02H 00M	0.07 ± 0.81	4.22 ± 2.29	6.93 ± 2.99	17.33 ± 4.18
7D 04H 00M	0.20 ± 0.71	5.39 ± 2.34	10.84 ± 2.91	22.23 ± 4.75
7D 06H 00M	0.72 ± 1.06	6.44 ± 2.26	11.79 ± 3.70	27.39 ± 6.93
7D 08H 00M	1.26 ± 1.68	5.19 ± 1.64	11.00 ± 4.58	27.83 ± 7.77
7D 12H 00M	0.59 ± 1.00	3.71 ± 1.79	9.19 ± 5.26	23.33 ± 5.53
7D 15H 00M	0.02 ± 0.73	3.04 ± 2.09	8.00 ± 4.41	19.08 ± 4.95
8D 00H 00M	0.81 ± 0.54	1.69 ± 2.65	4.47 ± 3.81	11.17 ± 3.69
8D 12H 00M	0.66 ± 1.11	0.69 ± 1.53	2.30 ± 3.05	8.02 ± 2.45
9D 00H 00M	0.08 ± 0.73	0.13 ± 1.97	1.38 ± 2.59	5.64 ± 1.36
9D 12H 00M	0.70 ± 1.64	1.10 ± 1.01	1.02 ± 2.24	4.57 ± 2.15
10D 00H 00M	0.89 ± 1.47	-0.00 ± 0.64	1.42 ± 2.87	3.26 ± 1.07

[1514] 表58:cGMP随时间推移的平均值(安慰剂、480、1000和2000μg实施例2,各自N＝9):药物吸入前(基线)(-1d02h-0d00h)、在第一次吸入日之后(0d00h-2d00h)、在第3d00h-7d00h天吸入后的谷测量值和7天吸入的最后一天后(7d00h-10d00h)。

[1515]

	安慰剂	480 μg，实施例2	1000 μg，实施例2	2000 μg，实施例2
-1D 02H 00M	5.83 ± 2.01	5.40 ± 1.41	5.02 ± 1.59	4.16 ± 1.70
-0D 22H 00M	6.30 ± 2.42	6.57 ± 1.22	5.10 ± 1.46	4.81 ± 2.22
-0D 20H 00M	5.72 ± 2.00	5.92 ± 0.83	4.78 ± 1.37	4.63 ± 1.86
-0D 18H 00M	6.54 ± 2.68	5.61 ± 0.71	4.16 ± 0.92	4.32 ± 1.33
-0D 16H 00M	5.58 ± 2.13	5.81 ± 1.09	4.59 ± 1.06	4.44 ± 2.15
-0D 12H 00M	5.72 ± 2.17	5.62 ± 1.26	4.26 ± 0.99	4.43 ± 2.24
-0D 09H 00M	5.17 ± 1.90	5.60 ± 1.08	4.18 ± 0.82	3.98 ± 1.91
0D 00H 00M	5.07 ± 1.90	5.51 ± 1.00	4.91 ± 1.27	4.83 ± 2.52
0D 02H 00M	5.49 ± 2.03	7.24 ± 1.25	8.17 ± 1.07	9.61 ± 3.65
0D 04H 00M	4.39 ± 1.20	8.56 ± 1.45	10.56 ± 1.47	14.01 ± 4.51
0D 06H 00M	4.67 ± 1.25	8.84 ± 1.35	11.69 ± 1.86	15.88 ± 5.09
0D 08H 00M	5.40 ± 1.70	8.46 ± 1.59	10.86 ± 1.66	16.52 ± 4.24
0D 12H 00M	4.82 ± 1.35	7.61 ± 1.01	9.77 ± 2.11	13.39 ± 4.01
0D 15H 00M	4.49 ± 0.90	7.04 ± 1.50	8.61 ± 1.63	12.38 ± 4.17
1D 00H 00M	4.89 ± 1.16	6.36 ± 1.10	6.17 ± 1.05	8.31 ± 2.88
2D 00H 00M	4.77 ± 0.74	6.26 ± 2.17	5.24 ± 1.28	6.40 ± 2.09
3D 00H 00M	4.92 ± 0.87	6.51 ± 2.62	7.22 ± 2.04	10.00 ± 3.51
4D 00H 00M	5.38 ± 1.06	6.97 ± 1.96	7.77 ± 1.87	14.17 ± 4.36
5D 00H 00M	5.33 ± 1.07	7.01 ± 1.72	8.50 ± 2.13	15.93 ± 5.52
6D 00H 00M	5.78 ± 1.42	7.43 ± 1.69	9.23 ± 2.12	16.54 ± 4.60
7D 00H 00M	5.28 ± 1.86	7.19 ± 1.47	9.66 ± 2.30	16.19 ± 5.02
7D 02H 00M	5.13 ± 1.97	9.73 ± 3.00	11.84 ± 2.18	22.17 ± 6.07
7D 04H 00M	5.27 ± 2.05	10.90 ± 3.12	15.76 ± 2.29	27.07 ± 7.01
7D 06H 00M	5.79 ± 2.16	11.96 ± 2.80	16.70 ± 2.96	32.22 ± 8.83
7D 08H 00M	6.32 ± 3.30	10.70 ± 2.27	15.91 ± 3.86	32.67 ± 9.48
7D 12H 00M	5.66 ± 2.17	9.22 ± 2.37	14.10 ± 4.55	28.17 ± 7.50
7D 15H 00M	5.09 ± 1.97	8.56 ± 2.80	12.91 ± 3.72	23.91 ± 6.59
8D 00H 00M	5.88 ± 2.07	7.20 ± 3.23	9.38 ± 3.11	16.00 ± 5.77
8D 12H 00M	5.72 ± 2.10	6.20 ± 2.00	7.21 ± 2.24	12.86 ± 3.96
9D 00H 00M	5.14 ± 1.60	5.64 ± 2.53	6.29 ± 1.86	10.48 ± 3.49
9D 12H 00M	5.77 ± 3.38	6.61 ± 1.80	5.93 ± 1.39	9.40 ± 3.10
10D 00H 00M	5.96 ± 2.26	5.51 ± 1.39	6.33 ± 2.30	8.09 ± 2.81

[1516] 经由身体体积描记法测量的肺功能参数显示,与基线相比,第一次给药实施例2后6h测量到健康肺内的总比气道阻力sRaw(支气管扩张活动的一种参数)降低为-0.142至-0.296kPa/sec,并且在所有剂量组别中都有观察到(参见图57和表59)。

[1517] 表59:总比气道阻力(kPa/sec)随时间推移的平均值(安慰剂、480、1000和2000μg,实施例2,各自N＝9):筛选1/2,治疗前当日(-1d00h-0d00h)第一次吸入日(0d00h-0d06h),吸入后(2d02h-6d04h)和7天吸入的最后一天后(7d00h-7d06h)的测量值。

[1518]

	安慰剂	480 μg，实施例2	1000 μg，实施例2	2000 μg，实施例2
筛选	0.829 ± 0.494	0.844 ± 0.327	0.867 ± 0.376	0.899 ± 0.150
筛选 2	0.934 ± 0.522	0.832 ± 0.280	1.009 ± 0.340	0.957 ± 0.140
-1D 00H 00M	0.896 ± 0.301	0.939 ± 0.344	0.996 ± 0.194	0.962 ± 0.266
-0D 22H 00M	0.916 ± 0.332	0.928 ± 0.392	0.903 ± 0.255	0.933 ± 0.165
-0D 18H 00M	0.942 ± 0.302	0.921 ± 0.305	0.901 ± 0.187	0.943 ± 0.245
0D 00H 00M	0.991 ± 0.341	1.078 ± 0.375	0.967 ± 0.233	0.947 ± 0.143
0D 02H 00M	0.948 ± 0.307	0.839 ± 0.182	0.859 ± 0.143	0.677 ± 0.139
0D 06H 00M	0.876 ± 0.268	0.800 ± 0.187	0.824 ± 0.180	0.651 ± 0.149
2D 02H 00M	0.913 ± 0.211	0.883 ± 0.310	0.797 ± 0.141	0.748 ± 0.155
4D 02H 00M	0.902 ± 0.197	0.807 ± 0.200	0.853 ± 0.172	0.709 ± 0.178
6D 04H 00M	0.872 ± 0.192	0.798 ± 0.193	0.787 ± 0.168	0.722 ± 0.168
7D 00H 00M	0.978 ± 0.261	0.823 ± 0.274	0.917 ± 0.227	0.844 ± 0.097
7D 02H 00M	0.872 ± 0.223	0.777 ± 0.282	0.764 ± 0.140	0.716 ± 0.089
7D 06H 00M	0.918 ± 0.212	0.803 ± 0.280	0.787 ± 0.188	0.730 ± 0.151

[1519] E-2.2在健康男性受试者中吸入性施用sGC活化剂持续14天以评价稳态药物动力学

[1520] 年龄在18至45岁并且身体质量指数(BMI)高于/等于18.5和低于/等于29.9kg/m2的健康白人男性受试者在临床药理学第I期研究中接受为期14天的治疗,每天一次吸入剂量为1000μg(标称剂量)或实施例4的干粉的安慰剂。受试者通过一次深吸气从插入到手持式吸入装置的胶囊(参见C,例如表17和表20)吸入药物粉末至肺部深处部分。在没有肺功能病理生理损伤的受试者中无法评价中央肺血管中血压升高有预期显著降低。在肺部内作为药物浓度的替代物,随着时间分析血浆浓度。这个分析在施用剂量持续14天后,在24h内产生稳态药物浓度,每日一次吸入显示在吸入7至11天后达到稳态。通过分析血液样品的cGMP来控制健康人的药物活性/目标接合。结果在表60中以平均值显示,在图58和表61中显示为相对于基线的变化,最大值在1周治疗后,并且显示cGMP浓度最迟在治疗11天后达到稳态,其为恒定目标接合的生物标记。

[1521] 表60:在治疗前当日(-1d00h--0d09h)、第一次吸入日(-0d02h-1d00h)、在第2d00h-2d12h、6d00h-6d12h、10d00h-10d12h天吸入之前和之后(概况)、在第3d-5d、7d-9d、11d-12d天吸入之前以及14天吸入的最后一天之前和之后(12d22h-20d00h)的谷值,对于安慰剂(N＝4)和1000μg(N＝17)实施例4,随时间推移的cGMP浓度(nmol/L)的平均值+/-标准偏差。

[1522]

平均值	安慰剂(n=4)	1000μg，(n=17)实施例 4
-1D 02H 00M	4775.0 +/- 1530.5	5264.7 +/- 2006.8
-0D 22H 00M	4800.0 +/- 469.0	5164.7 +/- 1680.0
-0D 20H 00M	4175.0 +/- 1345.1	4311.8 +/- 1956.4
-0D 18H 00M	4925.0 +/- 797.4	5011.8 +/- 1875.5
-0D 16H 00M	5250.0 +/- 914.7	5941.2 +/- 2641.7
-0D 12H 00M	7900.0 +/- 3763.9	5570.6 +/- 2087.4
-0D 09H 00M	6400.0 +/- 1180.4	5488.2 +/- 1654.9
-0D 02H 00M	3900.0 +/- 668.3	4329.4 +/- 1509.5
0D 02H 00M	6200.0 +/- 1930.5	9170.6 +/- 2348.3
0D 04H 00M	4625.0 +/- 1173.0	11623.5 +/- 2636.9
0D 06H 00M	4000.0 +/- 559.8	14276.5 +/- 3557.1
0D 08H 00M	4500.0 +/- 469.0	14888.2 +/- 3618.2
0D 12H 00M	4500.0 +/- 1409.5	11812.5 +/- 2708.5
0D 15H 00M	4750.0 +/- 1443.4	11064.7 +/- 2963.1
1D 00H 00M	4425.0 +/- 590.9	7305.9 +/- 1593.5
2D 00H 00M	4200.0 +/- 697.6	8876.5 +/- 2507.6
2D 03H 00M	5366.7 +/- 1150.4	17282.4 +/- 4749.9
2D 08H 00M	4700.0 +/- 1493.3	20770.6 +/- 6604.0
2D 12H 00M	4233.3 +/- 1436.4	16941.2 +/- 5408.8
3D 00H 00M	4033.3 +/- 1050.4	9488.2 +/- 2238.5
4D 00H 00M	3466.7 +/- 1429.5	10694.1 +/- 2193.0
5D 00H 00M	3166.7 +/- 1059.9	10252.9 +/- 2390.4
6D 00H 00M	4566.7 +/- 2285.5	9423.5 +/- 2613.1
6D 03H 00M	3800.0 +/- 608.3	17735.3 +/- 4290.1
6D 08H 00M	4266.7 +/- 1222.0	24452.9 +/- 7374.6
6D 12H 00M	4266.7 +/- 750.6	18194.1 +/- 4785.2
7D 00H 00M	3700.0 +/- 1058.3	10511.8 +/- 2026.4
8D 00H 00M	3733.3 +/- 1331.7	10529.4 +/- 1910.7
9D 00H 00M	3800.0 +/- 173.2	10911.8 +/- 2620.6
10D 00H 00M	3766.7 +/- 1011.6	10776.5 +/- 2286.0

[1523]

10D 03H 00M	4200.0 +/- 1212.4	17058.8 +/- 4319.2
10D 08H 00M	4666.7 +/- 1703.9	21858.8 +/- 6188.5
10D 12H 00M	3800.0 +/- 655.7	17329.4 +/- 4529.3
11D 00H 00M	3966.7 +/- 1357.7	11270.6 +/- 2814.9
12D 00H 00M	4400.0 +/- 1389.2	12388.2 +/- 3016.4
12D 22H 00M	4466.7 +/- 1021.4	11276.5 +/- 3261.8
13D 02H 00M	3800.0 +/- 700.0	13447.1 +/- 2802.9
13D 04H 00M	3200.0 +/- 624.5	17276.5 +/- 4328.9
13D 06H 00M	3633.3 +/- 461.9	21370.6 +/- 5581.2
13D 08H 00M	3933.3 +/- 901.8	22047.1+/- 5535.0
13D 12H 00M	3700.0 +/- 964.4	17217.6 +/- 4806.0
13D 15H 00M	3433.3 +/- 896.3	16382.4 +/- 4045.9
14D 00H 00M	3300.0 +/- 1053.6	9735.3+/- 2740.0
15D 00H 00M	3433.3 +/- 960.9	6852.9 +/- 1222.3
15D 12H 00M	4533.3 +/- 1680.3	7370.6 +/- 1654.8
16D 00H 00M	3666.7 +/- 665.8	6329.4 +/- 1357.3
16D 12H 00M	4800.0 +/- 1500.0	6735.3 +/- 1394.6
17D 00H 00M	2866.7 +/- 577.4	4729.4 +/- 995.5
20D 00H 00M	4033.3 +/- 1893.0	5518.8 +/- 1505.2
追踪	4566.7 +/- 1078.6	5847.1 +/- 2013.4

[1524] 表61:在治疗前当日(-1d00h--0d09h)、第一次吸入日(-0d02h-1d00h)、第2d00h-2d12h、6d00h-6d12h、10d00h-10d12h天(分析天数)吸入后、在第3d-5d、7d-9d、11d-12d吸入前以及14天吸入的最后一天后(12d22h-20d00h)的谷值,cGMP相对于基线的变化(nmol/L)

[1525]

Δ基线	安慰剂(n=4)	1000μg，(n=17)实施例 4
-1D 02H 00M	基线	基线
-0D 22H 00M	25.0 +/- 1408.0	-100.0 +/-1403.1
-0D 20H 00M	-600.0 +/- 2219.6	-952.9 +/-1984.7
-0D 18H 00M	150.0 +/-2120.5	-252.9 +/-1345.9
-0D 16H 00M	475.0 +/-2091.8	676.5 +/-1844.1
-0D 12H 00M	3125.0 +/-2742.7	305.9 +/-1880.3
-0D 09H 00M	1625.0 +/-2118.8	223.5 +/-1396.2
-0D 02H 00M	基线	基线
0D 02H 00M	2300.0 +/-1529.7	4841.2 +/-2006.9
0D 04H 00M	725.0 +/-981.1	7294.1 +/-2972.3
0D 06H 00M	100.0 +/-516.4	9947.1 +/-3796.2
0D 08H 00M	600.0 +/-778.9	10558.8 +/-3607.1
0D 12H 00M	600.0 +/-1067.7	7531.3 +/-3057.2
0D 15H 00M	850.0 +/-1097.0	6735.3 +/-2917.4
1D 00H 00M	525.0 +/-1158.7	2976.5 +/-1785.2
2D 00H 00M	300.0 +/-1067.7	4547.1 +/-2374.4
2D 03H 00M	1600.0 +/-1058.3	12952.9 +/-4814.8

2D 08H 00M	933.3 +/-1059.9	16441.2 +/-6525.1
2D 12H 00M	466.7 +/-1527.5	12611.8 +/-5555.1
3D 00H 00M	266.7 +/-1594.8	5158.8 +/-2554.4
4D 00H 00M	-300.0 +/-1833.0	6364.7 +/-2482.9
5D 00H 00M	-600.0 +/-1646.2	5923.5 +/-2801.2
6D 00H 00M	800.0 +/-2330.2	5094.1 +/-2382.9
6D 03H 00M	33.3 +/-945.2	13405.9 +/-4568.6
6D 08H 00M	500.0 +/-1819.3	20123.5 +/-7302.6
6D 12H 00M	500.0 +/-1081.7	13864.7 +/-4528.5
7D 00H 00M	-66.7 +/-1429.5	6182.4 +/-2095.9
8D 00H 00M	-33.3 +/-1934.8	6200.0 +/-2018.7
9D 00H 00M	33.3 +/-776.7	6582.4 +/-2425.7
10D 00H 00M	0.0 +/-1311.5	6447.1 +/-2255.0
10D 03H 00M	433.3 +/-1450.3	12729.4 +/-4182.7
10D 08H 00M	900.0 +/-1907.9	17529.4 +/-6277.2
10D 12H 00M	33.3 +/-1184.6	13000.0 +/-4616.5
11D 00H 00M	200.0 +/-1915.7	6941.2 +/-2865.1
12D 00H 00M	633.3 +/-2064.8	8058.8 +/-2949.8
12D 22H 00M	700.0 +/-1200.0	6947.1 +/-3016.4
13D 02H 00M	33.3 +/-503.3	9117.6 +/-2994.0
13D 04H 00M	-566.7 +/-251.7	12947.1 +/-4570.3
13D 06H 00M	-133.3 +/-896.3	17041.2 +/-5998.9
13D 08H 00M	166.7 +/-1422.4	17717.6 +/-5772.9
13D 12H 00M	-66.7 +/-1331.7	12888.2 +/-4847.5
13D 15H 00M	-333.3 +/-1159.0	12052.9 +/-3938.8
14D 00H 00M	-466.7 +/-1550.3	5405.9 +/-3158.2
15D 00H 00M	-333.3 +/-1436.4	2523.5 +/-1666.0
15D 12H 00M	766.7 +/-1628.9	3041.2 +/-1792.7
16D 00H 00M	-100.0 +/-1058.3	2000.0 +/-1581.1
16D 12H 00M	1033.3 +/-2003.3	2405.9 +/-1555.4
17D 00H 00M	-900.0 +/-964.4	400.0 +/-1434.8
20D 00H 00M	266.7 +/-2542.3	1218.8 +/-1715.1
追踪	800.0 +/-1743.6	1517.6 +/-2343.9

[1526]

[1527] E-2.3在健康男性受试者中吸入性、口服和静脉内施用单次剂量的sGC活化剂--肺部沉积

[1528] 年龄在18至45岁之间、身体质量指数(BMI)高于/等于18.5并且低于/等于29.9kg/m^2的健康白人男性受试者在临床第I期研究中接受了单次吸入剂量为1000μg(标称剂量)、单次吸入剂量为1000μg(标称剂量)+木炭块、单次口服剂量为1000μg和在2小时内单次输注100μg实施例4的治疗。由于静脉内施用的生物利用度依据定义通常为100％,因此高于口服或静脉内施用的情况,小心地选择静脉内剂量为低于口服和吸入剂量,以避免高IV剂量导致更高的血浆浓度和潜在副作用(例如血压降低或晕厥)。因此,在本次调查中选定100μg作为IV剂量。治疗之间应用了七天清除期。受试者吞服口服施用溶液(20ml,包含1000μg,参见C-2,表49a)。受试者在2小时内接受溶液作为单次输注(2ml,包含100μg,参见C-2表49a)。受试者通过一次深吸气从插入到手持式吸入装置的胶囊(参见C-1,表17和表20)吸入药物粉

末。吸入此药的干粉制剂后,标称剂量的一部分残留在胶囊和装置中,在吸嘴处到达身体的剂量称为排放剂量。排放剂量可按以下方式计算/确定:标称剂量-(胶囊中的残余量+装置中的残余量)。吸入干粉后,一部分排放剂量进入胃肠道(GIT),并且被称为排放剂量的口服部分,通过呼吸气道到达肺部的排放剂量的另一部分被称为肺剂量并且表示肺部沉积剂量。由于肺是作用的目标器官,因此必须量化肺部沉积剂量。通过测定到达GIT的标称剂量部分以及胶囊和装置中的残余量,可以间接估计肺部沉积。为研究和测定肺部沉积,进行了以下研究(另参见图59):

[1529] 1-吸入施用单次剂量为1000μg干粉。

[1530] 2-吸入施用单次剂量1000μg的干粉组合口服施用木炭块。木炭块限制了GIT部分剂量的口服吸收,因为实施例4完全吸附到木炭块上。这意味着所测得的实施例4浓度经由肺部到达全身性循环。

[1531] 3-施用单次口服剂量为1000μg的实施例4以测定口服吸收。

[1532] 4-施用实施例4的2h输注以研究消除。

[1533] 在所有不同施用类型后测量实施例4的血浆浓度,此外在吸入施用后测量装置和胶囊中的残余量。血浆浓度的分析显示,实施例4在静脉内施用后快速消除,消除半衰期为0.26h。口服施用后的消除半衰期为4.43h。在有/没有木炭的情况下,吸入施用后的消除半衰期分别为16.1h和15.1h,参见图60。吸入后终末半衰期较长可以通过在肺中形成实施例4的肺贮库来解释,物质不断地从肺贮库转移到循环系统。

[1534] 与木炭一起施用的干粉制剂的绝对生物利用度为16.3%,而在没有木炭的情况下所施用的实施例4的绝对生物利用度为18.8%。这意味着实施例4的干粉标称剂量的16.3%到达肺部(被认为是肺剂量),而到达身体的干粉的整个部分是标称剂量的18.8%。实施例4在与木炭块一起吸入施用后相对于没有与木炭块一起吸入施用的相对生物利用度为86.9%。这表明口服部分的剂量约为标称剂量的13%。参见表62和表63。排放剂量算出为720μg,因为胶囊中的残余量为160μg并且装置中的残余量为120μg,参见图61。

[1535] 这个研究的结果证实,肺剂量和半衰期对于吸入型干粉施用来说是足够的,每天一次治疗使得实施例4能够在肺中有足够的24h药物覆盖。

[1536] 表62:在施用1000μg(吸入)、1000μg(吸入)+木炭和1000μg(口服)后,实施例4的血浆浓度(以μg/L计)随时间推移的几何平均值和(以%计的几何标准偏差SD)

[1537]

	1000 μg 实施例 4，吸入+木炭块		1000 μg 实施例 4，吸入		1000 μg 实施例 4，口服	
	N=16		N=16		N=16	
给药后的时间(h)	几何平均值	几何 SD	几何平均值	几何 SD	几何平均值	几何 SD
0	>0.0500	n.a.	>0.0500	n.a.	>0.0500	n.a.
0.25	0.0583	(1.78)	0.0628	(1.79)	0.777	(1.44)
0.5	0.261	(1.56)	0.316	(1.32)	3.64	(1.30)
0.75	0.491	(1.46)	0.622	(1.32)	5.28	(1.32)
1	0.662	(1.43)	0.869	(1.29)	5.68	(1.35)
1.5	0.900	(1.39)	1.16	(1.30)	4.69	(1.31)
2	0.969	(1.38)	1.20	(1.31)	3.32	(1.33)
2.5	1.02	(1.31)	1.18	(1.32)	2.26	(1.31)
3	0.933	(1.33)	1.07	(1.32)	1.60	(1.36)
4	0.812	(1.29)	0.927	(1.31)	1.01	(1.46)
6	0.508	(1.31)	0.583	(1.30)	0.424	(1.33)
8	0.373	(1.37)	0.415	(1.36)	0.233	(1.31)
12	0.220	(1.43)	0.250	(1.37)	0.126	(1.38)

[1538]

15	0.157	(1.46)	0.181	(1.43)	0.0714	(1.60)
24	0.0931	(1.81)	0.106	(1.69)	n.a.	n.a.
28	0.0761	(1.69)	0.0793	(1.77)	n.a.	n.a.
32	0.0696	(1.63)	0.0698	(1.79)	n.a.	n.a.
36	0.054	(1.79)	0.058	(1.86)	n.a.	n.a.

[1539] 表63:在静脉内施用100μg后,实施例4的血浆浓度(以μg/L计)随时间推移的几何平均值和(以%计的几何标准偏差SD)

[1540]

	100 μg 实施例 4，IV mg	
	N=15	
给药后的时间(h)	几何平均值	几何 SD
0	>0.0500	n.a.
0.25	1.76	(1.20)
0.5	2.52	(1.11)
0.75	2.68	(1.14)
1	2.99	(1.12)
1.5	3.15	(1.17)
2	3.07	(1.19)
2.083	2.57	(1.16)
2.25	1.42	(1.20)
2.5	0.559	(1.19)
2.75	0.264	(1.23)
3	0.132	(1.24)

[1541] E-2.4对PAH或CTEPH患者进行单次剂量吸入性施用以研究肺血管阻力(PVR)的降

低

[1542] PAH或CTEPH患者在临床第1b期研究中接受了单次经口吸入递增剂量*为240μg(2个120μg的胶囊)、480μg、1000μg、2000(2个1000μg的胶囊)或4000μg(4个1000μg的胶囊)的实施例4干粉(参见C-1,例如表17和表20),其被插入手持式吸入装置,通过深吸气被吸入肺部深处部分。(*单次剂量表示在一段短时间内同时或连续施用一种剂型/胶囊以及施用两种或更多种剂型/胶囊)。纳入的患者没有使用针对PAH或CTEPH的标准护理(SoC)用药(例如内皮素拮抗剂、前列腺素类、第5型磷酸二酯酶抑制剂或可溶性鸟苷酸环化酶刺激剂)的背景治疗。本研究中的患者接受了侵入性右心导管插入术,其在医学上表示常规诊断。研究的主要目的是调查PVR相对于基线的峰值降低百分比。患者的基线肺动脉压(mPAP)为≥25mmHg,而PVR为≥400dyn·sec·cm^{-5}(5个Wood单位),并且未显示对初始iNO吸入测试有血管反应性才能被纳入在每个方案分析中。在施用后的几个时间点测量施用药物的血浆浓度(药物动力学),并且评估安全性和耐受性。

[1543] 研究分为A部分和B部分两部分。在A部分中,对没有接受PAH或CTEPH标准护理(SoC)用药(例如内皮素拮抗剂、前列腺素类、第5型磷酸二酯酶抑制剂或可溶性鸟苷酸环化酶刺激剂)背景治疗的患者施用前述递增单次剂量。在B部分中,在A部分结束后,将在没有背景SoC治疗(第1组)以及接受SoC单药疗法(第2组)和接受SoC双重组合疗法(第3组)的更多患者中测试A部分的选定剂量。

[1544] PVR是在右心导管插入术程序期间直接测得的参数所导出的参数。计算时所包括的直接参数是:平均肺动脉压[mmHg](mPAP)、肺毛细血管楔压[mmHg](PCWP)和心输出量[l/min](CO)。根据以下公式计算PVR:PVR[dyn*sec*cm^{-5}]=80*(mPAP-PCWP)/CO。

[1545] 研究设计如图62中所示并且结束的A部分的总结如图63中所示。

[1546] 总共38名患者接受了实施例4的干粉剂量。每个剂量组中总共4名患者按计划被纳入各方案组(总共20名患者)。在2000μg和4000μg组别中,可以清楚地观察到PVR相对于基线的剂量依赖性平均值变化达到峰值,持续平均变化为大约-30%(PVR的细节参见图64和表64)。PVR降低主要由肺动脉压降低所驱动(平均PAP的细节参见图65和表51)。-20%的平均峰值变化水平(作为预定义的相关阈值水平)明显超过2000μg和4000μg组别的峰值(平均峰值变化为:240、480、1000、2000和4000μg分别-21.0%、-16.1%、-25.9%、-38.1%、-36.3%)。在历史比较中,单次施用后PVR相对于基线的-30%平均变化幅度与吸入型竞争药物曲前列尼(Tyvaso®)的水平相同[Voswinckel等人,Journal of American College of Cardiology第48卷,第8期,2006年10月17日,2006:1672-81]。然而,实施例4施用后的作用有利地持续并且反应并没有降低直到3h的测量期结束(对于研究中的右心导管患者来说,>3h的测量期在技术上是不可行的)。在本研究中测得实施例4的长血浆半衰期可以推论超过3h测量值的肺保留时间(推测在干粉施用后超过12小时、至多24小时的时间)。全身性cGMP(环单磷酸鸟苷)的增加证实了sGC活化的有效目标接合。可见总体耐受性良好,包括4000μg的最高剂量。观察到的全身性血压、心率和氧饱和度的变化在任何剂量下都不代表安全问题。总之,观察到的肺血液动力学参数(PVR和mPAP)的变化而没有与全身性血液动力学相关的变化,与选择性肺血管扩张的预期作用非常一致。

[1547] 表64在PAH或CTEPH患者中(240、480、1000、2000和4000μg组各N=4,依照方案组),在基线(0D00H00M)和吸入实施例4后(0D00H30M至0D03H00M),肺血管阻力(PVR)随时间推移

的平均值和SD。相对于基线的相对变化如图64中所示。

[1548]

	240 μg, N=4	480 μg, N=4	1000 μg, N=4	2000 μg, N=4	4000 μg, N=4
0D00H00M	788.338±416.914	1055.863±317.077	608.898±135.153	468.608±20.537	713.998±117.204
0D00H30M	749.012±398.928	1003.264±300.639	645.387±211.946	464.586±58.200	616.894±97.774
0D01H00M	734.427±396.799	1007.504±290.883	558.324±169.860	421.730±81.602	542.417±97.103
0D01H30M	726.362±364.099	1031.647±252.210	542.130±187.227	340.782±82.566	573.812±123.865
0D02H00M	710.844±410.668	908.704±252.569	487.951±144.546	339.924±105.884	501.071±97.979
0D02H30M	716.209±419.311	1038.344±263.837	537.812±204.640	338.404±87.381	526.648±144.679
0D03H00M	657.829±291.191	909.265±259.510	535.636±235.786	327.284±25.882	493.103±130.480

[1549] 表65在PAH或CTEPH患者中(240、480、1000、2000和4000μg组各N=4,依照方案组),在基线(0D00H00M)和吸入实施例4后(0D00H30M至0D03H00M),平均肺动脉压(mPAP)随时间推移的平均值和SD。相对于基线的相对变化如图65中所示。

[1550]

	240μg,N=4	480μg,N=4	1000μg,N=4	2000μg,N=4	4000μg,N=4
0D 00H 00M	42.8±11.1	55.0±8.6	34.3±4.9	33.5±3.4	46.0±8.1
0D 00H 30M	42.5±11.0	52.3±8.4	33.8±7.5	33.3±6.3	43.0±4.6
0D 01H 00M	44.3±10.4	53.8±9.1	31.8±7.4	30.8±5.6	41.3±4.6
0D 01H 30M	43.0±8.0	55.0±8.0	32.0±8.9	28.5±7.3	40.3±5.1
0D 02H 00M	39.5±7.9	52.5±7.9	32.3±9.0	27.0±6.1	40.0±5.3
0D 02H 30M	42.0±6.5	54.0±9.7	33.5±10.7	27.3±6.0	39.8±3.0
0D 03H 00M	39.0±4.2	56.0±11.1	34.0±11.6	27.5±5.2	39.8±4.1

[1551] E-3.进一步的表征

[1552] E-3.1Caco-2渗透性测试

[1553] 测试化合物穿过Caco-2细胞单层的体外渗透是一个已充分建立的分析系统,用于预测胃肠道的渗透性(1)。如下所述测定本发明化合物在此类Caco-2细胞中的渗透性:

[1554] 将人类caco-2细胞接种在24孔插入板上,并使其生长14-16天。有关渗透性研究,将测试化合物溶解在DMSO中,并用运输缓冲液[Hank氏缓冲盐溶液,Gibco/Invitrogen,进一步补充葡萄糖和HEPES]稀释至最终测试浓度为2μM。为了测定顶端到基底外侧的渗透性(PappA-B),将测试化合物溶液添加到细胞单层的顶端侧,并将运输缓冲液添加到单层的基底外侧;为了测定基底外侧到顶端的渗透性(PappB-A),将测试化合物溶液添加到细胞单层的基底外侧,并将运输缓冲液添加到单层的顶端侧。在实验开始时从供体隔室取出样品以确认质量平衡。在37℃下温育2h后,从两个隔室中取出样品。通过LC-MS/MS分析样品,并计算表观渗透系数。测定每个细胞单层的Lucifer Yellow渗透性以确保细胞单层完整性,并且确定每个批次的阿替洛尔(Atenolol)(低渗透性标志物)和柳氮磺胺吡啶(活性排泄标志

物)的渗透性作为质量控制。

[1555] 表66:渗透性测试

[1556]

Caco-2 (2 μM)	Papp A-B (nm/s) (平均值+/- SD)	Papp B-A (nm/s) (平均值+/- SD)	流出比
比较例 11 (2.0 μM)	15.1 ±1.7	9.7 ± 0.6	0.64 ± 0.1
比较例 2 (利奥西呱) (2.4 μM)	35 ± 8.4	367 ± 75	11 ± 3.3
比较例 1 (西尼西呱) (2.0 μM)	31 ± 3.9	631 ± 71	20 ± 3.5

[1557]

[1558] 所有三个实施例在Caco-2细胞中都显示出适度的渗透性。

[1559] 与比较例2(利奥西呱)和比较例1(西尼西呱)相比,比较例11显示渗透率最低,为15.1+/-1.7nm/s。另外,比较例11未显示流出比。流出比表明在例如肠道和或肝脏中的转运蛋白参与。转运蛋白(如例如渗透性糖蛋白(=PgP)或乳腺癌抗性蛋白(=BCRP))可能会影响药物的全身性暴露。

[1560] 比较例11在这里证明了一个明显的好处,因为它显示出最低的渗透性并且似乎不存在转运蛋白参与,因此证明它适用于局部吸入性治疗,同时全身性暴露的可能非常低。

[1561] E-3.2蛋白质结合

[1562] 比较例11和比较例1的蛋白质结合是经由如下所述的Transil测定进行分析。

[1563] 测试物质在Transil®(固定在二氧化硅珠粒上的磷脂酰胆碱脂质双层)与血浆之间的分布是任何药物化合物的特有特征,并且取决于其与血浆蛋白质的结合程度。通过将Transil®和缓冲液之间的分布与Transil®和任何感兴趣物种的血浆之间的分布进行比较,可以在体外计算各个动物物种血浆中的未结合分率。经由放射性分析确定了对应血浆和缓冲液浓度。Schuhmacher等人发表了对方法的详细说明和其验证。

[1564] 比较例2的蛋白质结合是经由如下所述的超滤测定进行分析。

[1565] 关于这个测定,使用30kDa孔径的滤膜来分离血浆和不含蛋白质的超滤液。通过离心施加过滤驱动力。在蛋白质结合研究之前,通过过滤以四种浓度溶解在缓冲液中的测试化合物来检查测试化合物对超滤装置的吸附(回收)和测试化合物通过滤膜的能力。测试化合物的充分稳定性和几乎完全回收(实验用化合物实际量的≥90%)是使用超滤方法的先决条件。添加到血浆中的有机溶剂量不得超过总温育体积的2%。将血液样品合并(除人类和猴子以外的所有物种)或单独(人类和猴子)收集在肝素化管中,并在24小时内用于血液中的温育实验。通过离心肝素化血液样品来制备血浆。血浆储存在-15℃下直至使用。控制血浆稳定性、化合物回收率、与膜和测试装置的非特异性结合以及血细胞和血浆之间的分层。与物质相关的放射性是通过液体闪烁计数来确定。使用这种分析方法,无法区分未变化的物质和放射性代谢物。关于放射分析方法和样品处理的细节,参见Goeller等人(3)。Zhang等人在2012(4)中发表了一般超滤方法的说明。

[1566] 表67:化合物的蛋白质结合

[1567]

未结合的分率(%)	Wistar大鼠	比格犬	人类(男性)	食蟹猴	小型猪(雌性)
比较例 11	0.224	0.108	0.0764	0.0485	0.348
比较例 2 (利奥西呱)	15.7	17.1	4.97	n.d.	n.d.
比较例 1 (西尼西呱)	0.351	1.12	0.392	0.0799	n.d.

[1568] n.d.未测定

[1569] 比较例11和比较例1(西尼西呱)显示出非常高的蛋白质结合,在所有研究的物种中游离分率低于1%。但是,实施例1在所有测试物种中显示了游离分率最低,其中提供了比较结果。在大鼠血浆中比较例11的未结合分率比比较例1低1.6倍,在人类和猴子血浆中游离分率低2倍,而在狗血浆中未结合分率低10倍。比较例2(利奥西呱)显示在15.7%和4.97%之间的更高游离分率。

[1570] 高蛋白质结合被视为高肺选择性的一个指标,如Begg等人(5)所述。因此比较例11显示出更甚于比较例1和2的有益性质。

[1571] 参考文献:

[1572] 1.Artursson P and Karlsson J.Correlation between oral drug absorption in humans and apparent drug permeability coefficients in human intestinal epithelial(Caco-2)cells,High-throughput determination of the free fraction of drugs strongly bound to plasma proteins.Biochem.Biophys,1991.175(3),880-885.

[1573] 2.Schuhmacher J,Kohlsdorfer C,Buhner K,Brandenburger T,Kruk R.High-throughput determination of the free fraction of drugs strongly bound to plasma proteins.J Pharm Sci.2004;93(4):816-30.

[1574] 3.Goeller G,Daehler HP,Winkelmann H:Determination of Radioactivity in Liquid and Solid Biological Samples from Pharmacokinetic Experiments.1996,Bayer Pharma Report No.25507.

[1575] 4.Zhang F,Xue J,Shao J,Jia.Compilation of 222drugs'plasma protein binding data and guidance for study designs.Drug Discovery Today 2012;9-10(17):475-485.

[1576] 5.Begg M,Edwards CD,Hamblin N,Pefani E,Wilson R,Gilbert J,Vitulli G,Mallett D,Morrell J,Hingle MI,Uddin S,Ehtesham F,Marotti M,Harrell A,Newman CF,Fernando D,Clark J,Cahn A,Hessel EM.Translation of Inhaled Drug Optimization Strategies intoClinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics Using GSK2292767A,a Novel Inhaled Phosphoinositide 3-Kinase d Inhibitor.J.Pharmacol.Exp.Ther.2019;369:443-453.

[1577] 附图:

[1578] 图1:在向小型猪(以液体气溶胶吸入7min)施用0.15、0.5、1.5和5μg/kg比较例11(剂量以肺部沉积剂量表示)后,观测(符号)和拟合(实线)的肺动脉压(=PAP)变化。5%的相关PAP降低以虚线指示

[1579] 图2:基于不考虑物种间蛋白质结合差异的经麻醉血栓素小型猪模型的结果,60kg人类在对应肺部沉积剂量(FPD)下的最大预期PAP降低

[1580] 图3a:基于胶囊的单次单位剂量吸入器

[1581] 图3b:基于胶囊的单次单位剂量吸入器

[1582] 图4:基于利用L-精氨酸的盐筛选实验的非晶形残余物的X射线粉末衍射图

[1583] 图5:半水合物(实施例6a)的X射线粉末衍射图

[1584] 图6:单水合物I(实施例6b)的X射线粉末衍射图

[1585] 图7:单水合物II(实施例6c)的X射线粉末衍射图

[1586] 图8:1.25水合物(实施例6d)的X射线粉末衍射图

[1587] 图9:倍半水合物(实施例6e)的X射线粉末衍射图

[1588] 图10:二水合物(实施例6f)的X射线粉末衍射图

[1589] 图10a:干燥后二水合物(实施例6f)的X射线粉末衍射图

[1590] 图11:非晶形形式(实施例6g)的X射线粉末衍射图

[1591] 图12:半水合物(实施例6a)的拉曼光谱

[1592] 图13:单水合物I(实施例6b)的拉曼光谱

[1593] 图14:单水合物II(实施例6c)的拉曼光谱

[1594] 图15:1.25水合物(实施例6d)的拉曼光谱

[1595] 图16:倍半水合物(实施例6e)的拉曼光谱

[1596] 图17:二水合物(实施例6f)的拉曼光谱

[1597] 图18:非晶形形式(实施例6g)的拉曼光谱

[1598] 图19:半水合物(实施例6a)的IR光谱

[1599] 图20:单水合物I(实施例6b)的IR光谱

[1600] 图21:单水合物II(实施例6c)的IR光谱

[1601] 图22:1.25水合物(实施例6d)的IR光谱

[1602] 图23:倍半水合物(实施例6e)的IR光谱

[1603] 图24:二水合物(实施例6f)的IR光谱

[1604] 图25:非晶形形式(实施例6g)的IR光谱

[1605] 图26:半水合物(实施例6a)的DSC和TGA热谱图

[1606] 图27:单水合物I(实施例6b)的DSC和TGA热谱图

[1607] 图28:单水合物II(实施例6c)的DSC和TGA热谱图

[1608] 图29:1.25水合物(实施例6d)的DSC和TGA热谱图

[1609] 图30:倍半水合物(实施例6e)的DSC和TGA热谱图

[1610] 图31:二水合物(实施例6f)的DSC和TGA热谱图

[1611] 图32:非晶形形式(实施例6g)非晶形形式的DSC和TGA热谱图

[1612] 图33:比较例11(非晶形形式)的X射线粉末衍射图

[1613] 图34:实施例1(单水合物II)的X射线粉末衍射图

[1614] 图35:微粉化前实施例2(单水合物II)的X射线粉末衍射图

[1615] 图36:微粉化后实施例2(单水合物II,部分非晶化)的X射线粉末衍射图

[1616] 图37:实施例3(单水合物I)的X射线粉末衍射图

[1617] 图38:实施例4(单水合物I)的X射线粉末衍射图

[1618] 图39:实施例5(单水合物I)的X射线粉末衍射图

[1619] 图40:实施例7的X射线粉末衍射图(储存稳定性):用于储存稳定性的起始材料,单水合物II

[1620] 图41:实施例7的X射线粉末衍射图(储存稳定性):在25℃和60%相对湿度下在聚乙烯中进行一个月储存稳定性测试后的材料,单水合物I

[1621] 图42:实施例8b(微粉化)的X射线粉末衍射图的叠加图:起始材料(单水合物II)(底线)和微粉化后的材料(具有非晶形量的单水合物II,经PTFE涂布的喷射研磨机,25℃)(顶线)

[1622] 图43:实施例8a(微粉化)的X射线粉末衍射图:微粉化后的材料(具有非晶形量的单水合物I,VA喷射研磨机,25℃)

[1623] 图44:X射线粉末衍射图(实施例8e)(微粉化):微粉化后的材料(单水合物I)

[1624] 图45:媒介物溶液、比较例11(10、30和100μg/kg标称剂量)和Ventavis(10μg/kg标称剂量)在PAH小型猪模型中吸入施用后的作用。数据表示为PAP和BP相对于基线的%变化(雾化开始前的10分钟区间)。数据为平均值±SEM。所有化合物的雾化区间需要5-7分钟(灰色条)。

[1625] 图46:乳糖以及乳糖制剂I(7.5μg/kg)在气管内施用后的作用。数据为平均值±SEM(n=3);用PennCentury干粉吹入器和气泵进行气管内施用;BP:动脉血压;PAP:肺动脉压;SEM:平均值的标准偏差

[1626] 图47:乳糖以及乳糖制剂II(22.5μg/kg)在气管内施用后的作用。数据为平均值±SEM(n=3);用PennCentury干粉吹入器和气泵进行气管内施用;BP:动脉血压;PAP:肺动脉压;SEM:平均值的标准偏差

[1627] 图48:气管内施用后乳糖和微粉化倍半水合物(例如实施例6e(375μg/kg))的作用。数据为平均值±SEM(n=3)用PennCentury干粉吹入器和气泵进行气管内施用;BP:动脉血压;PAP:肺动脉压;SEM:平均值的标准偏差

[1628] 图49:气管内施用不同乳糖媒介物、乳糖制剂I(7.5μg/kg)、乳糖制剂II(22.5μg/kg)和微粉化倍半水合物实施例6e(375μg/kg)的作用。数据显示为相对于前值的%变化,呈平均值±SEM(n=3)

[1629] 图50:比较例11在气管内施用不同水合物微粉化单水合物II(实施例2)、微粉化半水合物(实施例6a)和微粉化倍半水合物(实施例6e)后对BP和PAP的作用。数据显示为绝对值[mmHg],呈平均值±SEM(n=3)

[1630] 图51:比较例11在气管内施用不同水合物微粉化单水合物II(实施例2)、微粉化半水合物(实施例6a)和微粉化倍半水合物(实施例6e)后对BP和PAP的作用。数据显示为绝对值[mmHg],呈平均值±SEM(n=3)

[1631] 图52:cGMP(nmol/L)的平均值±SD-480μg(实施例2)剂量组的治疗前(第-1天)、第一天(第1天)和最后一天(第8天)治疗的比较(SAF,N=9)

[1632] 图53:cGMP(nmol/L)的平均值±SD-1000μg(实施例2)剂量组的治疗前(第-1天)、第一天(第1天)和最后一天(第8天)治疗的比较(SAF,N=9)

[1633] 图54:cGMP(nmol/L)的平均值±SD-2000μg(实施例2)剂量组的治疗前(第-1天)、第一天(第1天)和最后一天(第8天)治疗的比较(SAF,N=9)

[1634] 图55:cGMP(nmol/L)的平均值±SD-安慰剂组的治疗天数比较(SAF,N=9)

[1635] 图56:在基线日(-1d02h-0d00h)、第一次吸入日(0d00h-2d00h)、2d00h-7d00h和7天吸入之后(7d00h-10d00h)的谷测量值,体液中cGMP(nmol/L)随时间推移的平均值(N=9)±SD。

[1636] 图57:总比气道阻力(kPa/sec)随时间推移的平均值(N=36,480、1000和2000μg各为12,实施例2)与SD:筛选1/2、基线日(-1d00h-0d00h)、第一次吸入日(0d00h-0d06h)、吸入后2d02h-6d04h)和7天吸入后(7d00h-7d06h)的测量值。

[1637] 图58:在治疗前当日(-1d00h--0d09h)、第一次吸入日(-0d02h-1d00h)、在吸入之前和之后2d00h-2d12h、6d00h-6d12h、10d00h-10d12h(分析日)的测量值、在第3d-5d、7d-9d、11d-12d天吸入之前以及14天吸入的最后一天(12d22h-20d00h)的谷值,对于安慰剂(N=4)和1000μg(N=17)实施例4,cGMP(nmol/L)随时间推移相对于基线的差异的平均值。

[1638] 图59:为研究肺部沉积而进行治疗的方案

[1639] 图60:血浆中实施例4的浓度(μg/L)的几何平均值和标准偏差,半对数标度。

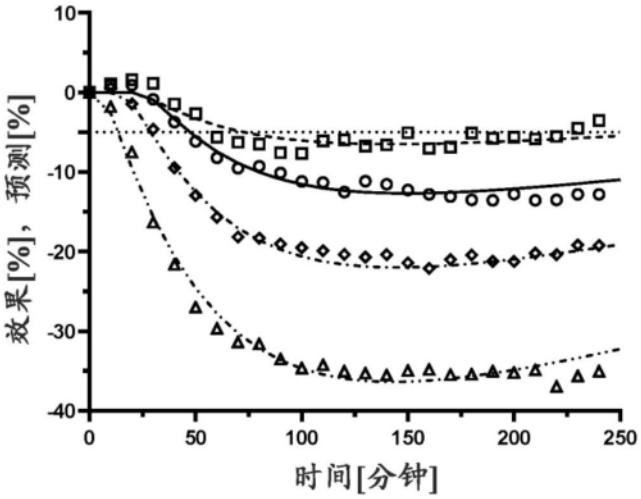
[1640] 图61:部分剂量到达吸嘴(排放剂量),而部分剂量留在胶囊中、在装置中,沉积的肺部剂量和部分剂量到达GIT道

[1641] 图62:PAH或CTEPH患者的临床研究的研究设计

[1642] 图63:在PAH或CTEPH患者中进行的临床研究A部分总结

[1643] 图64:在PAH或CTEPH患者中,吸入实施例4之后(0D00H30M至0D03H00M),肺血管阻力(PVR)随时间推移相对于基线(0D00H00M)的相对变化(%)的平均值和SD(240、480、1000、2000和4000μg组各N=4,依照方案组)

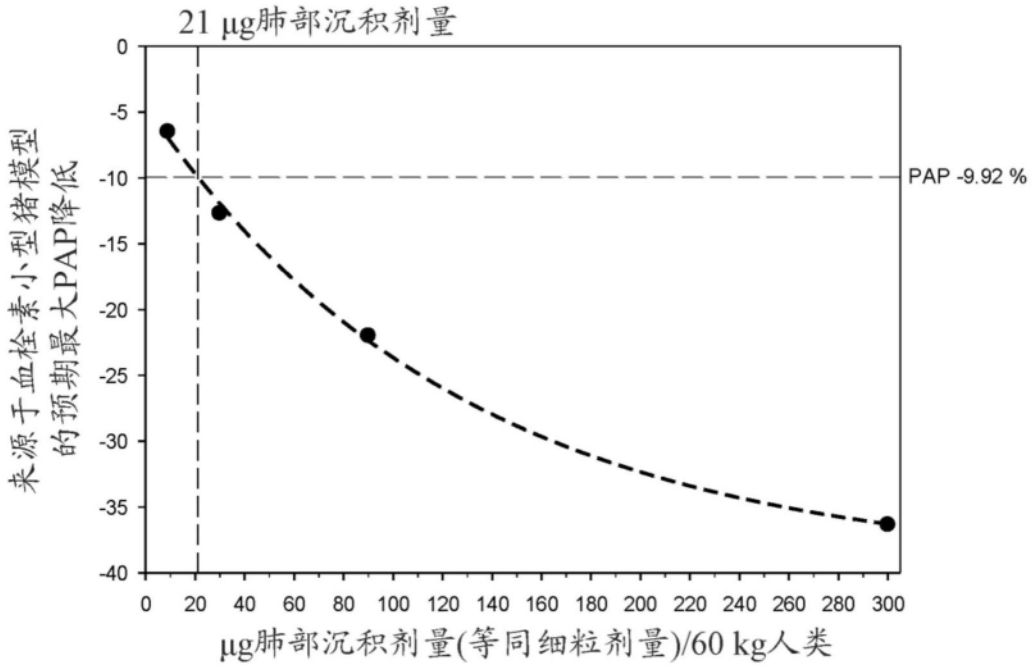
[1644] 图65:在PAH或CTEPH患者中,吸入实施例4之后(0D00H30M至0D03H00M),平均肺动脉压(mPAP)随时间推移相对于基线(0D00H00M)的相对变化(%)的平均值和SD(240、480、1000、2000和4000μg组各N=4,依照方案组)。



观测值		预测值
□ 0.15μg/kg	---	0.15 μg/kg
○ 0.5μg/kg	—	0.5 μg/kg
◇ 1.5μg/kg	-.-	1.5 μg/kg
△ 5μg/kg	...	5 μg/kg

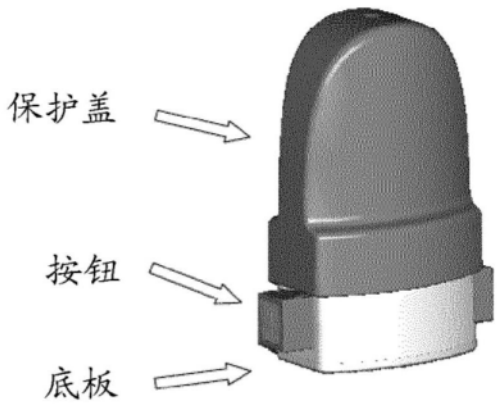
在向小型猪(以液体气溶胶吸入7 min)施用0.15、0.5、1.5和5μg/kg比较例11 (剂量以肺沉积剂量表示)后，观测(符号)和拟合(实线)的肺动脉压(=PAP)变化。5%的相关PAP降低以虚线指示

图1



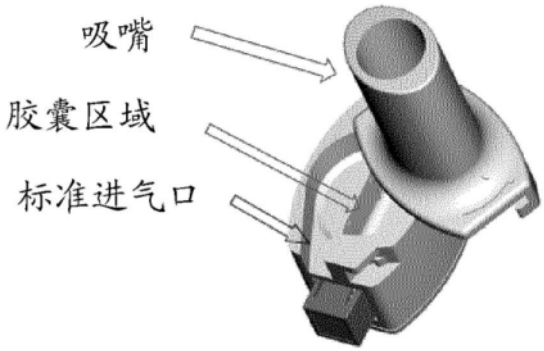
基于不考虑物种间蛋白质结合差异的经麻醉血栓素小型猪模型的结果，60 kg人类在对应肺部沉积剂量(FPD)下的最大预期PAP降低。

图2



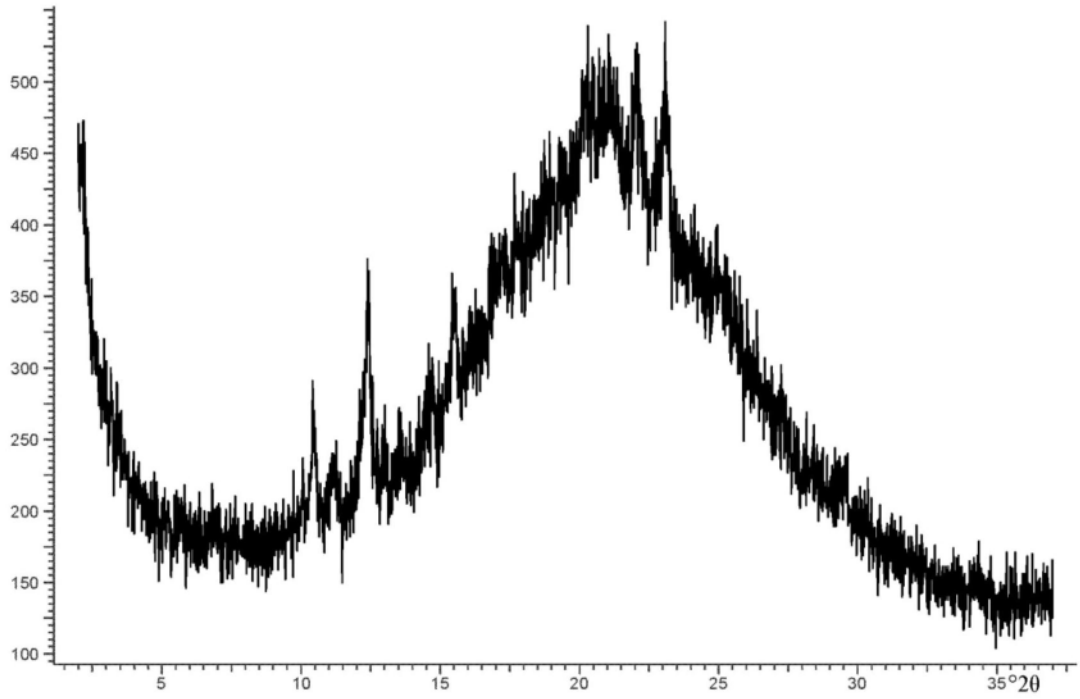
基于胶囊的单次单位剂量吸入器

图3a



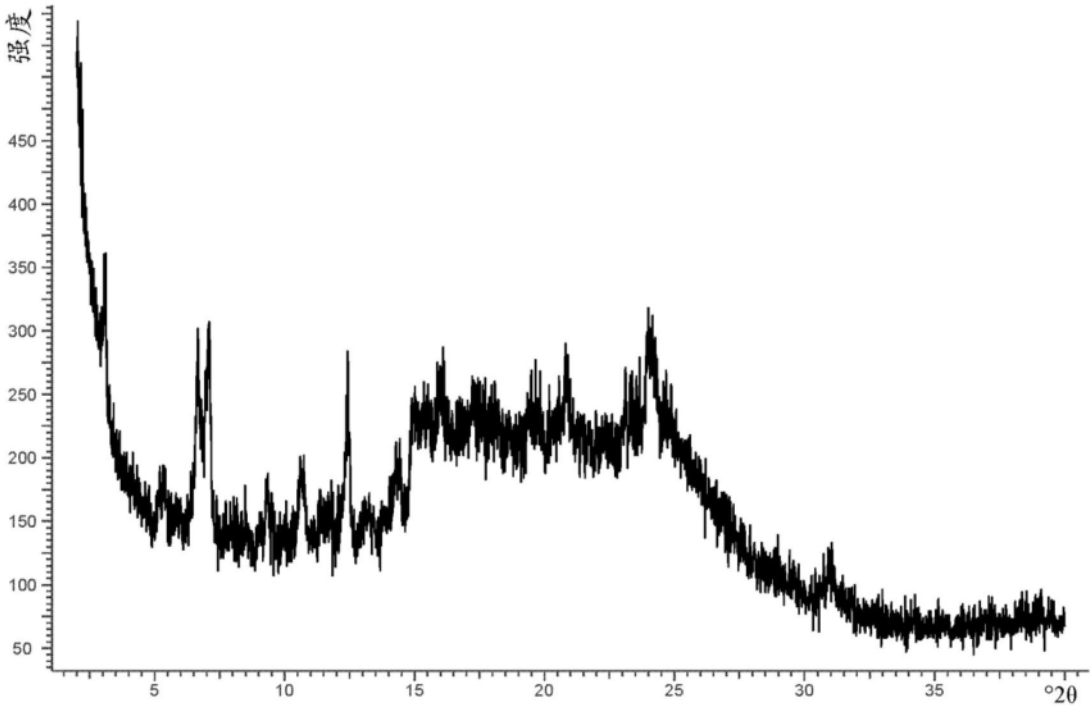
基于胶囊的单次单位剂量吸入器

图3b



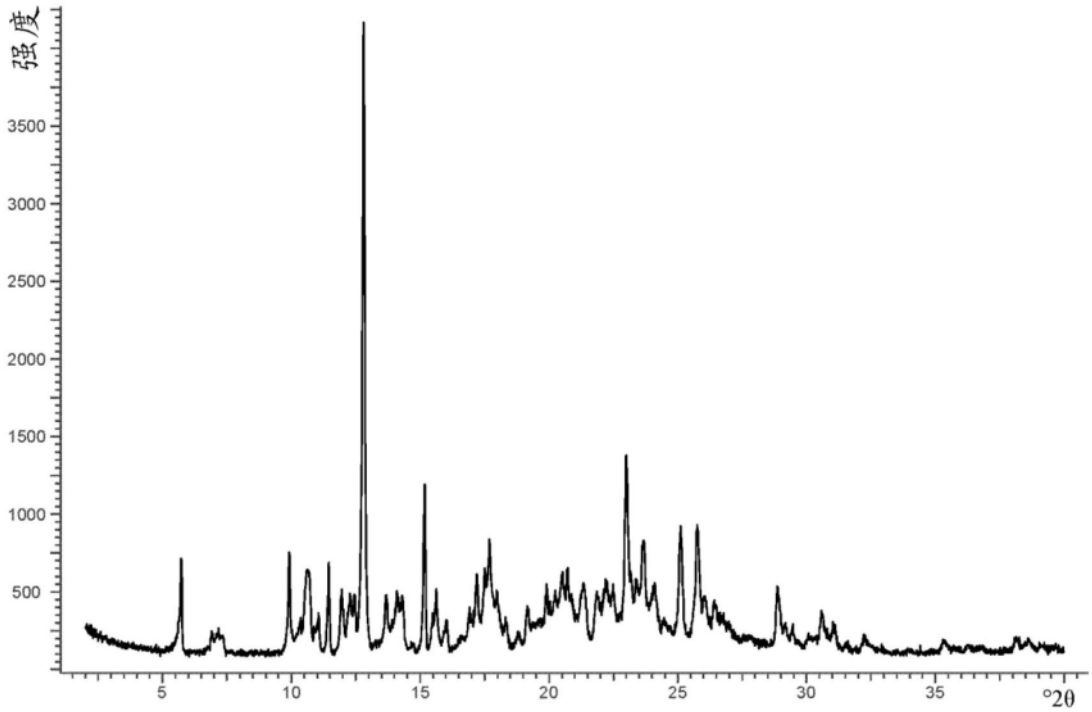
基于利用L-精氨酸的盐筛选实验的非晶形残余物的X射线粉末衍射图

图4



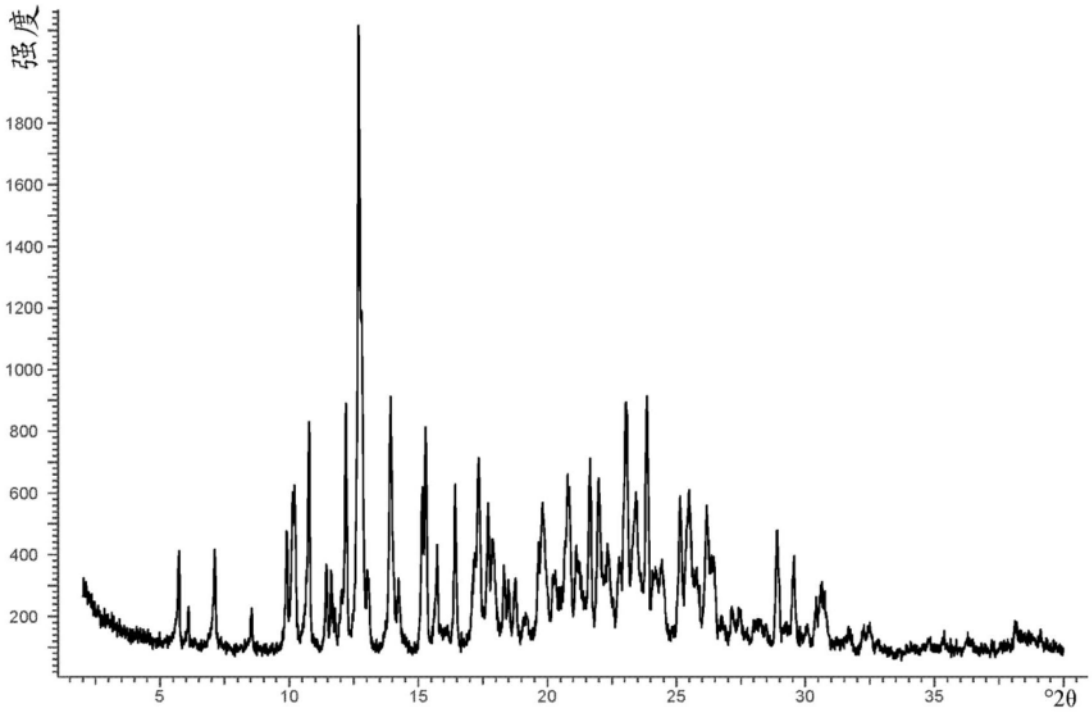
半水合物(实施例6a)的X射线粉末衍射图

图5



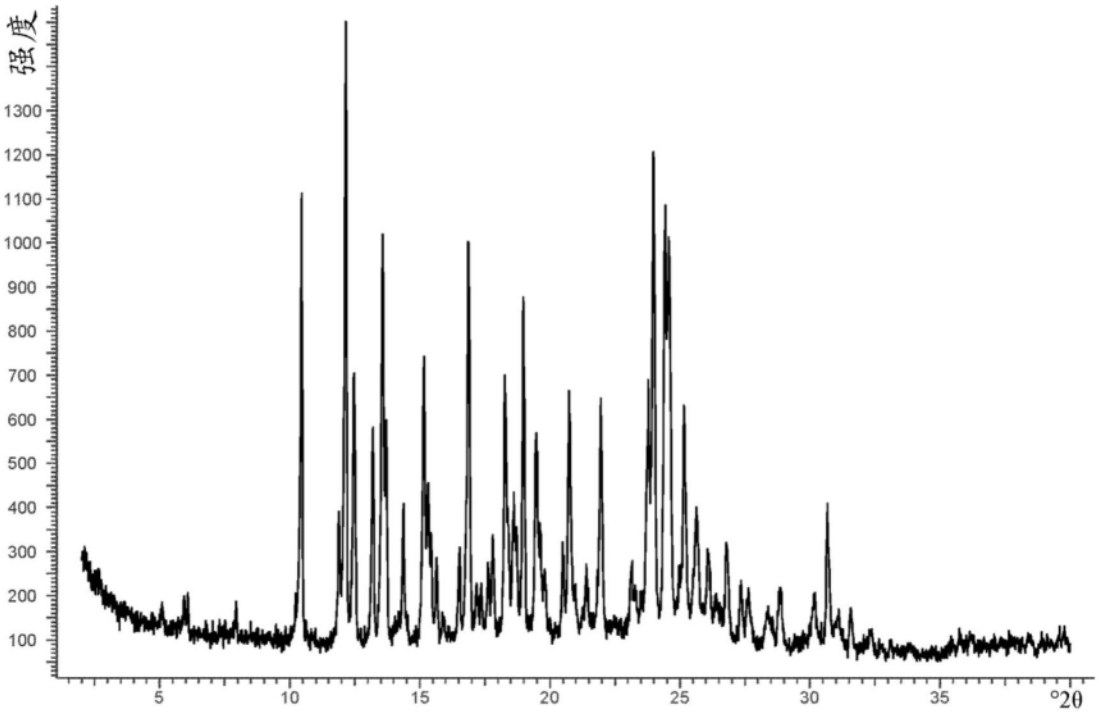
单水合物I (实施例6b)的X射线粉末衍射图

图6



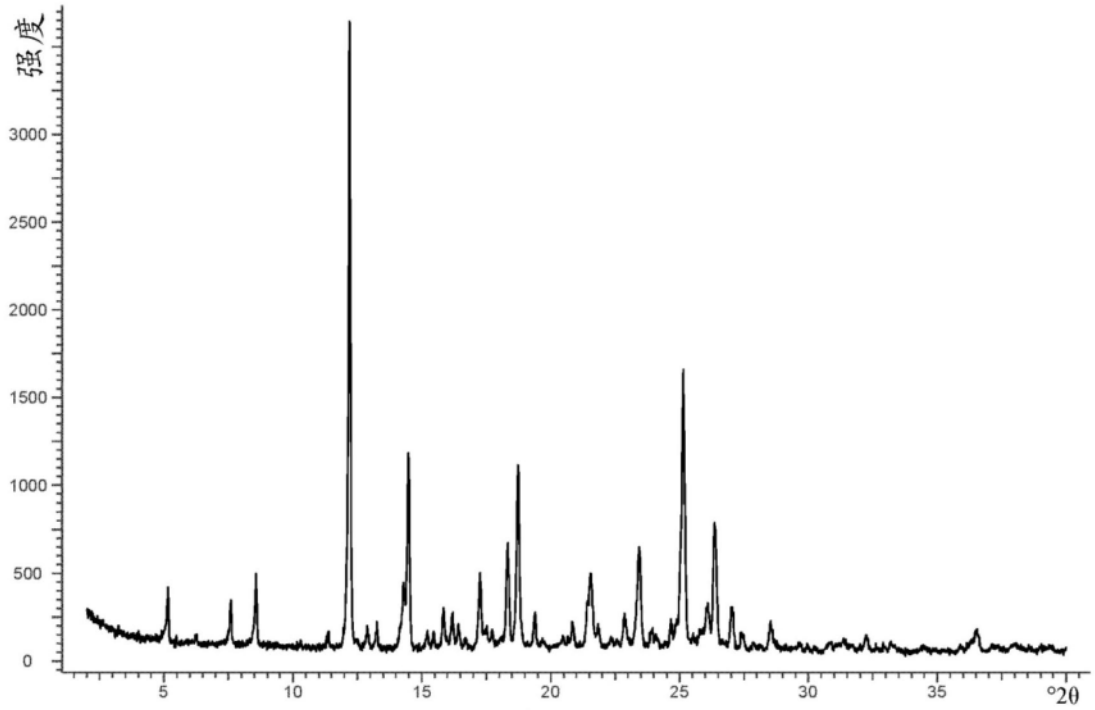
单水合物II (实施例6c)的X射线粉末衍射图

图7



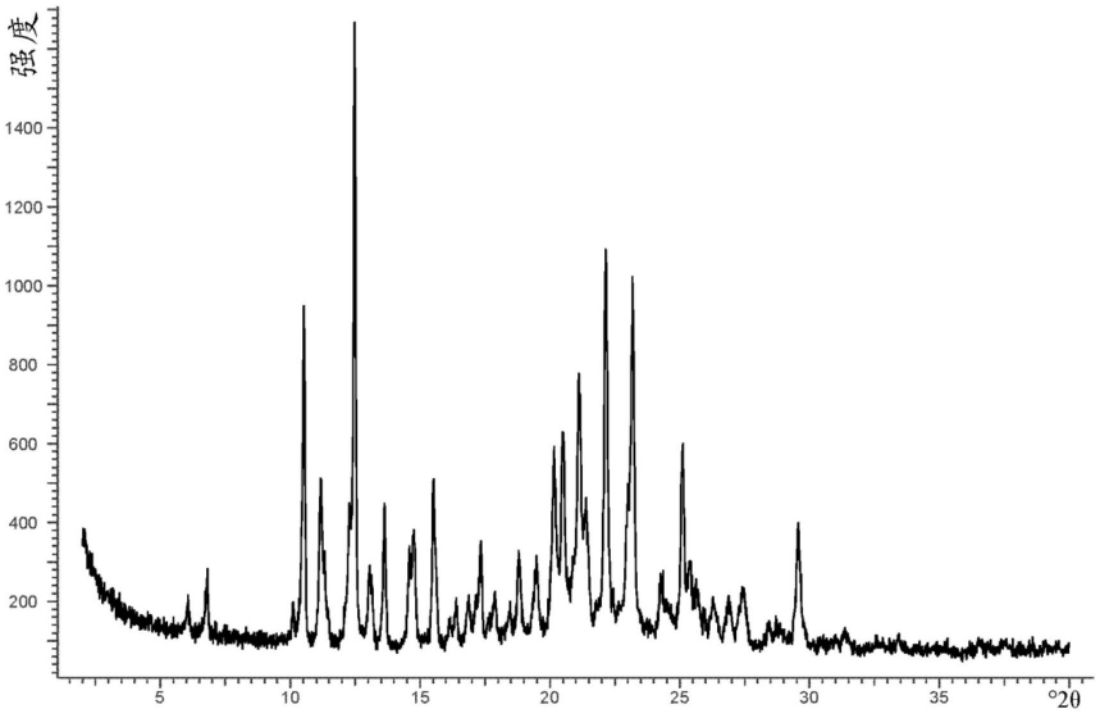
1.25水合物(实施例6d)的X射线粉末衍射图

图8



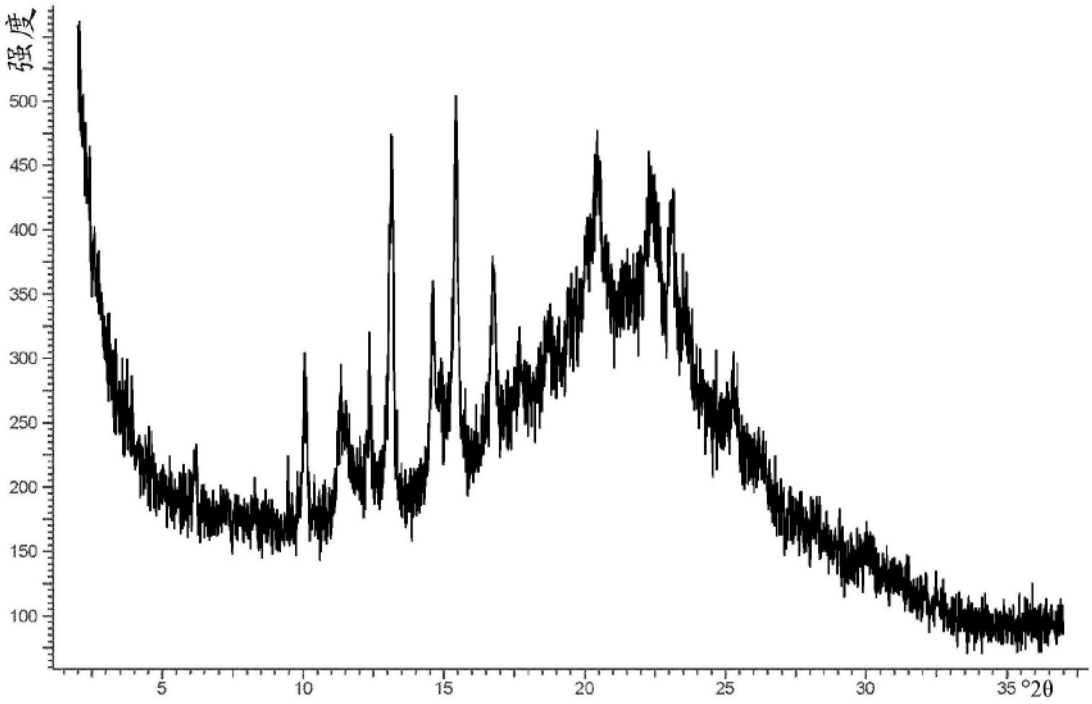
倍半水合物(实施例6e)的X射线粉末衍射图

图9



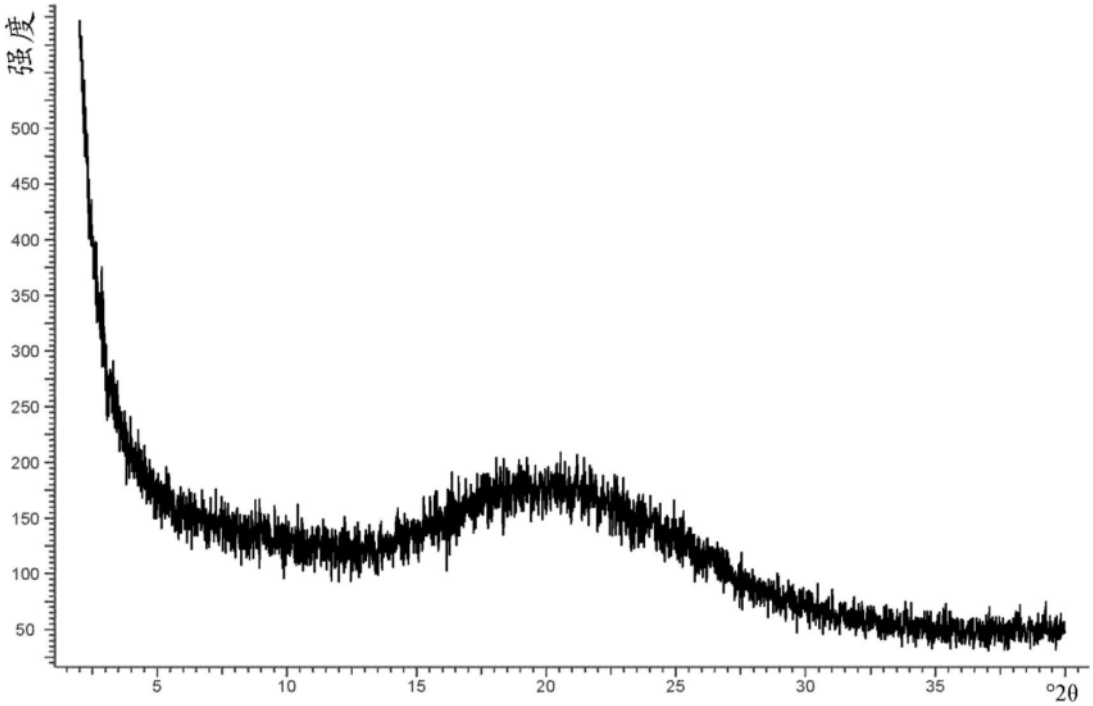
二水合物(实施例6f)的X射线粉末衍射图

图10



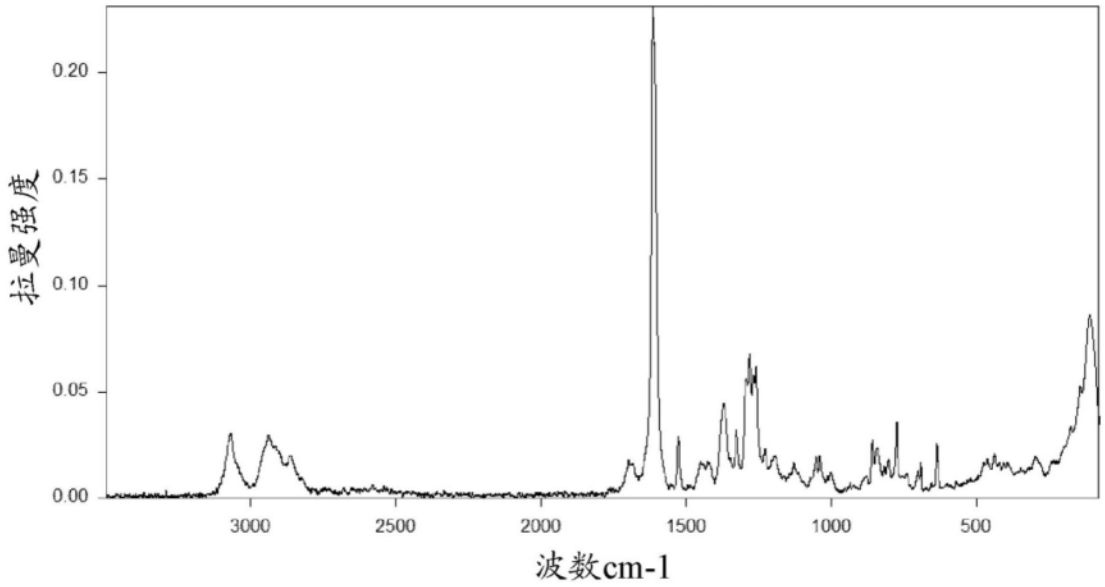
干燥后实施例6f的X射线粉末衍射图

图10a



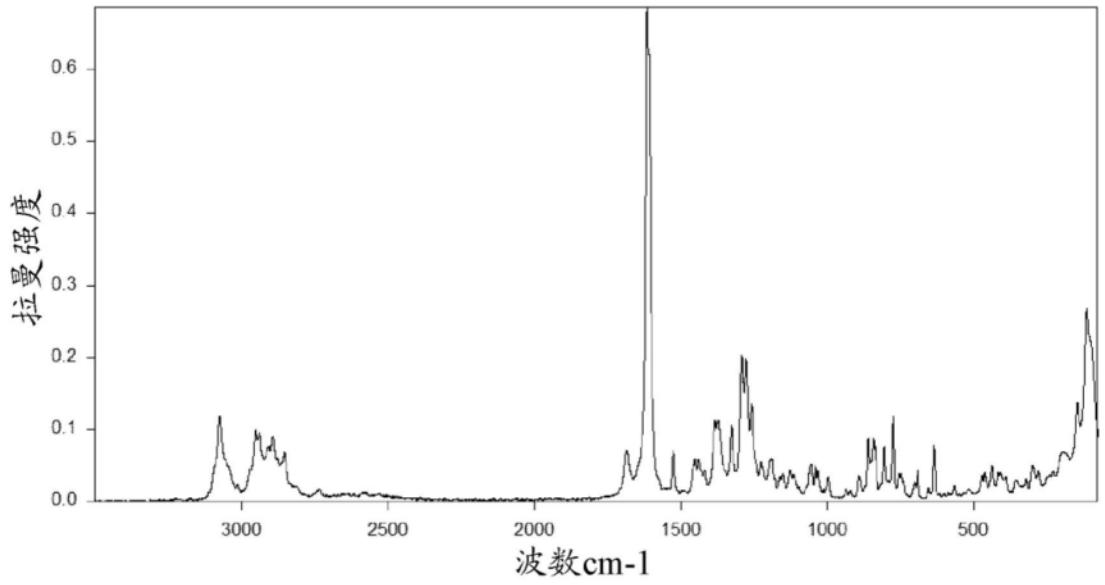
非晶形形式(实施例6g)的X射线粉末衍射图

图11



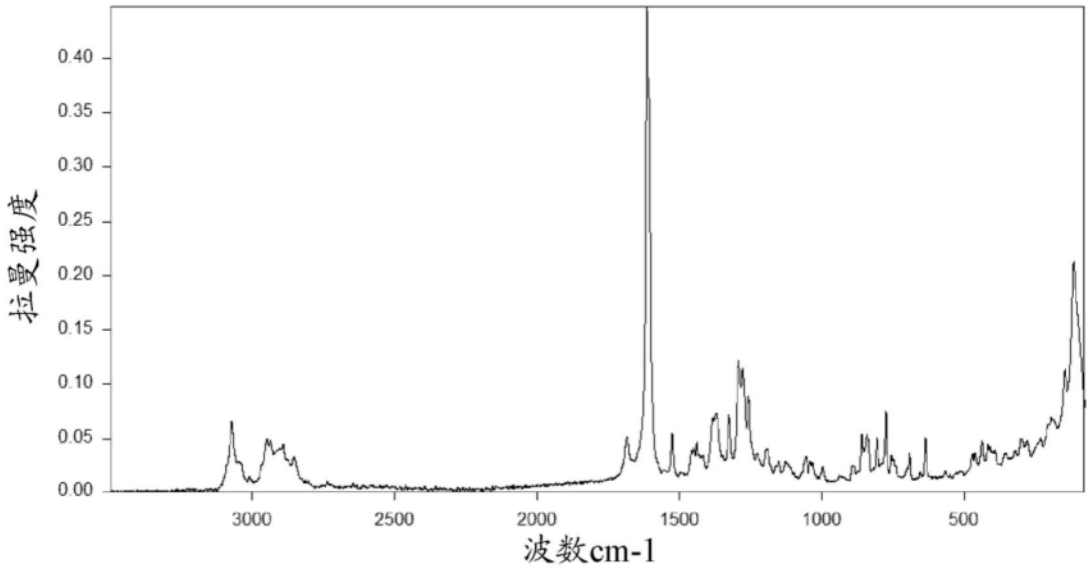
半水合物(实施例6a)的拉曼光谱

图12



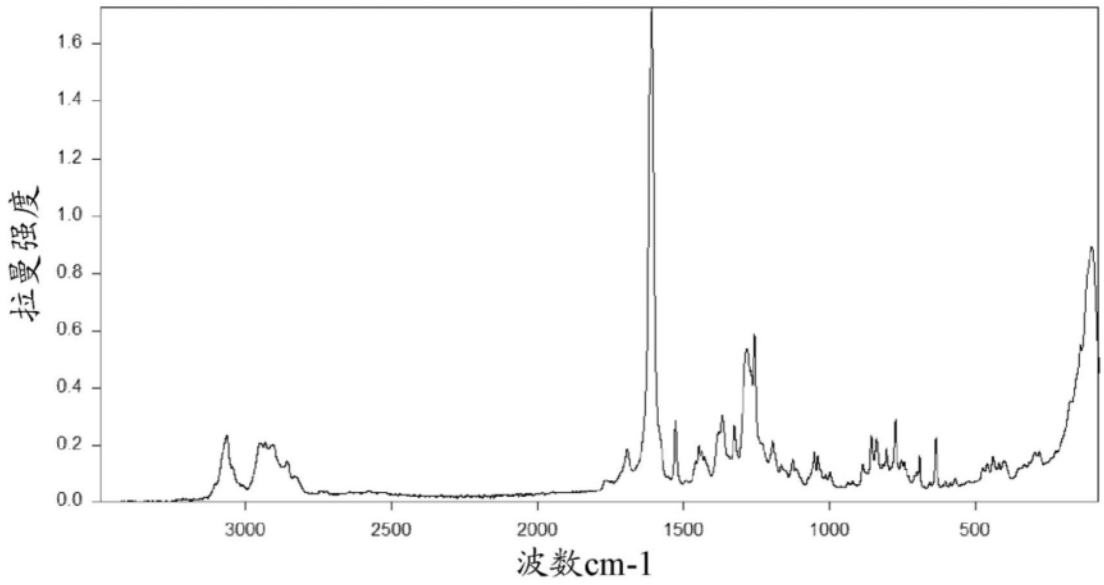
单水合物I (实施例6b)的拉曼光谱

图13



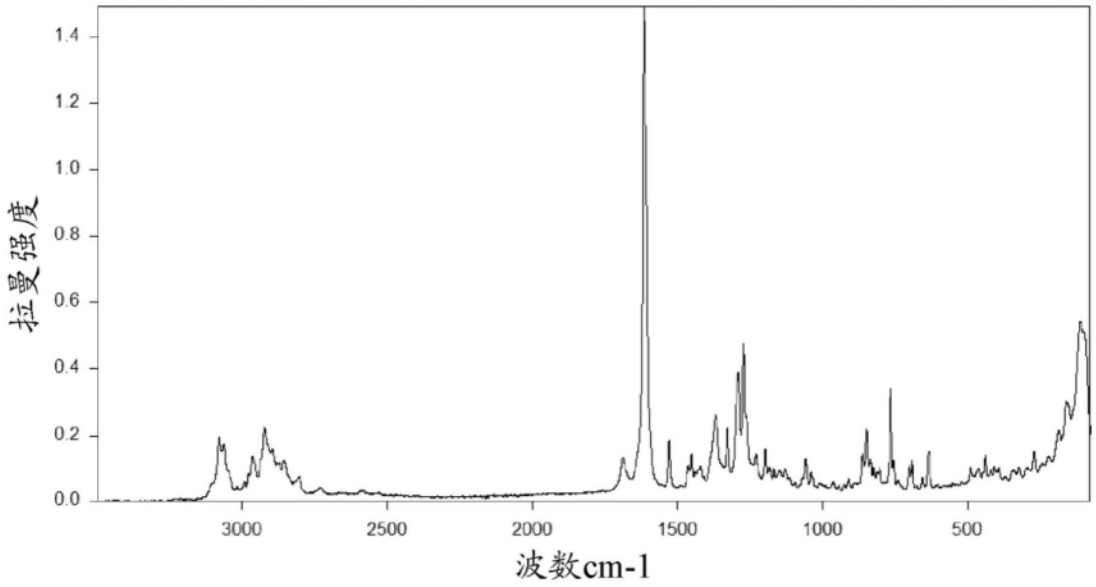
单水合物II (实施例6c)的拉曼光谱

图14



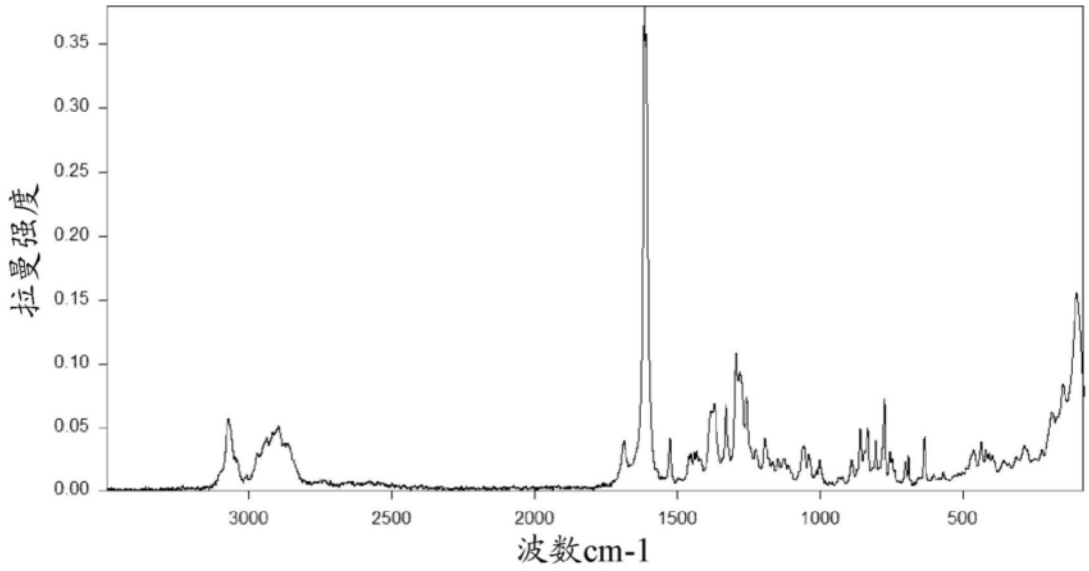
1.25水合物(实施例6d)的拉曼光谱

图15



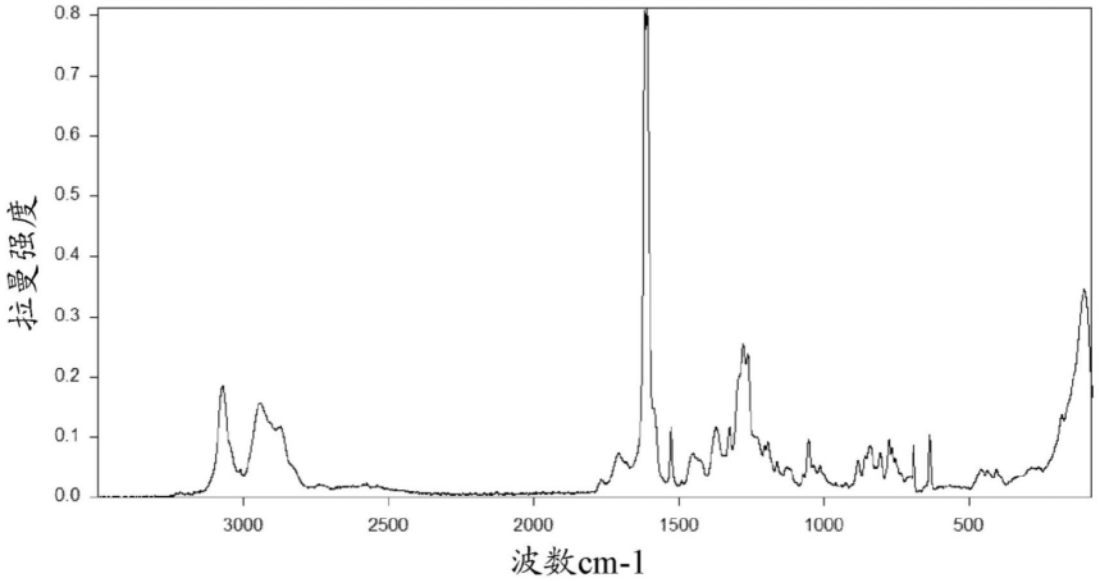
倍半水合物(实施例6e)的拉曼光谱

图16



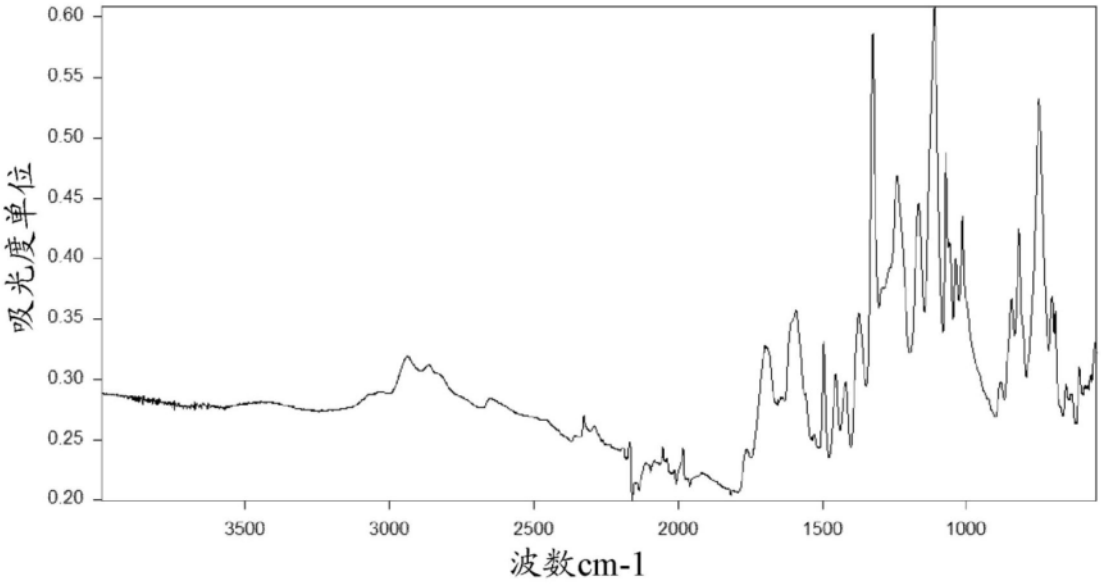
二水合物(实施例6f)的拉曼光谱

图17



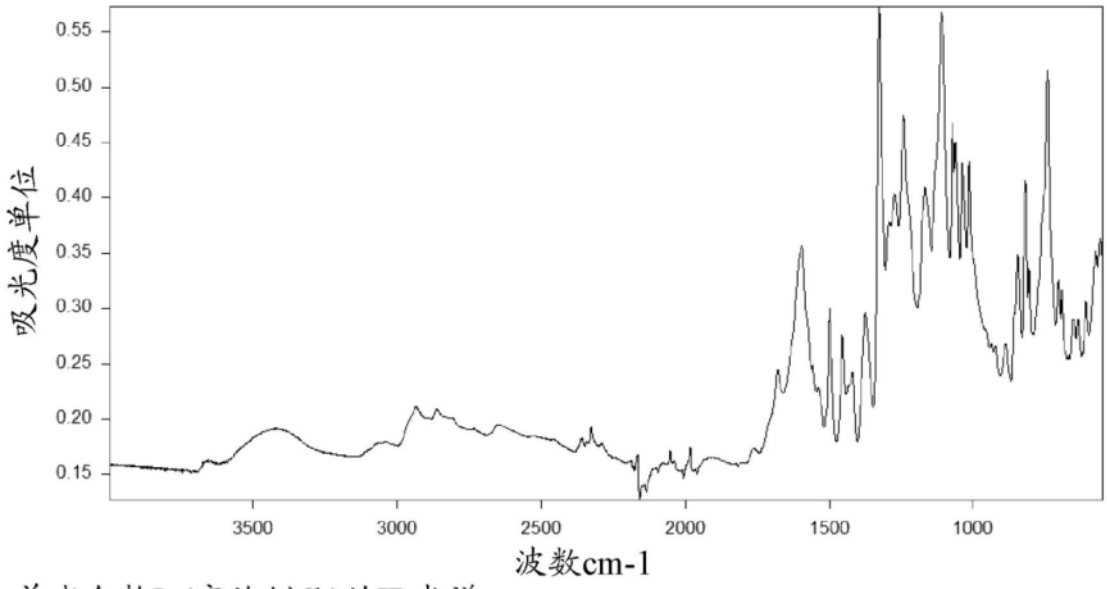
非晶形形式(实施例6g)的拉曼光谱

图18



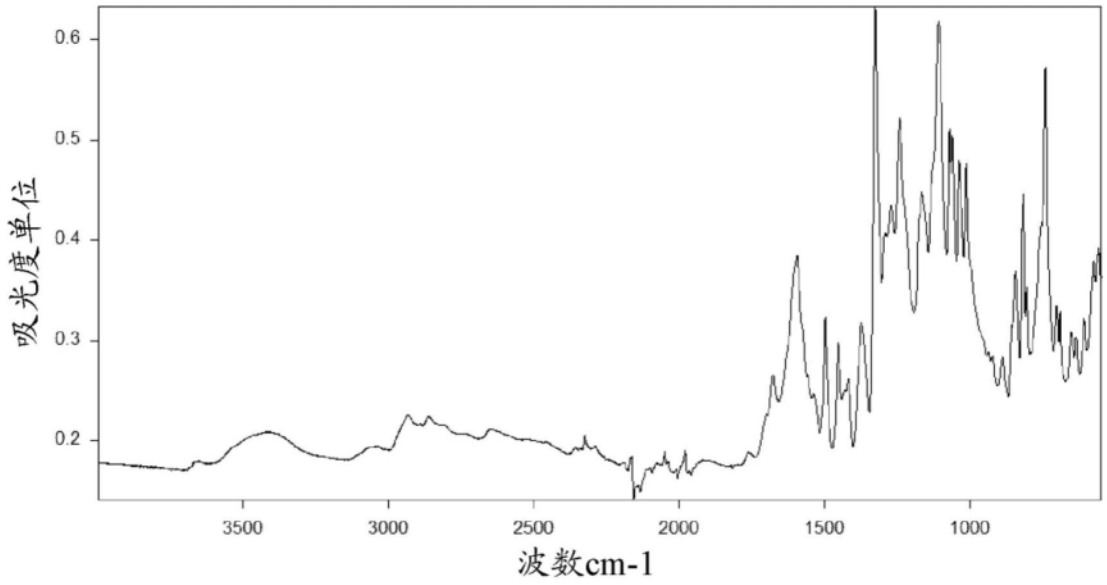
半水合物(实施例6a)的IR光谱

图19



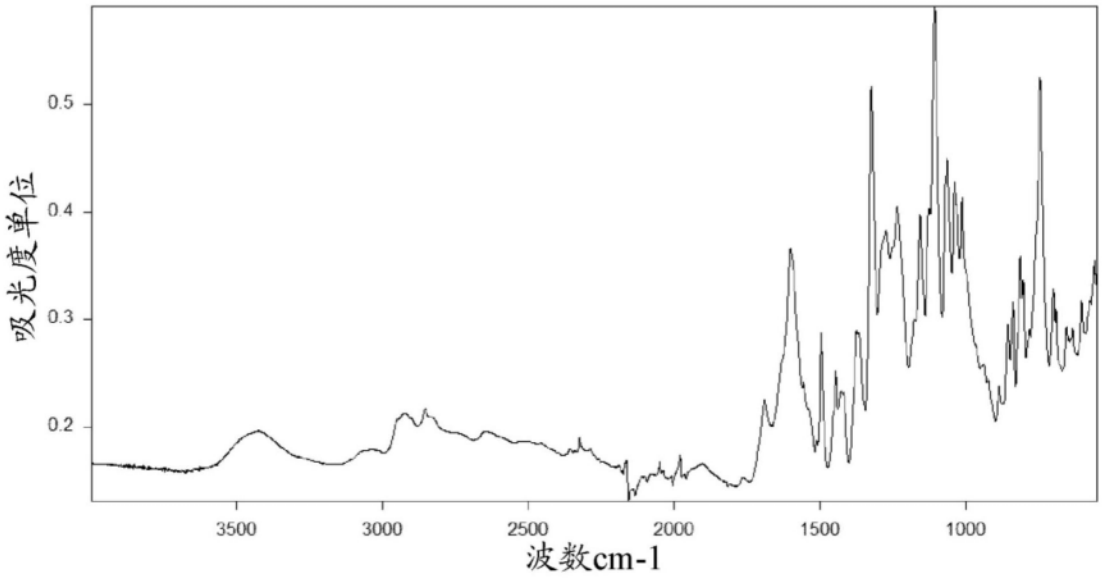
单水合物I (实施例6b)的IR光谱

图20



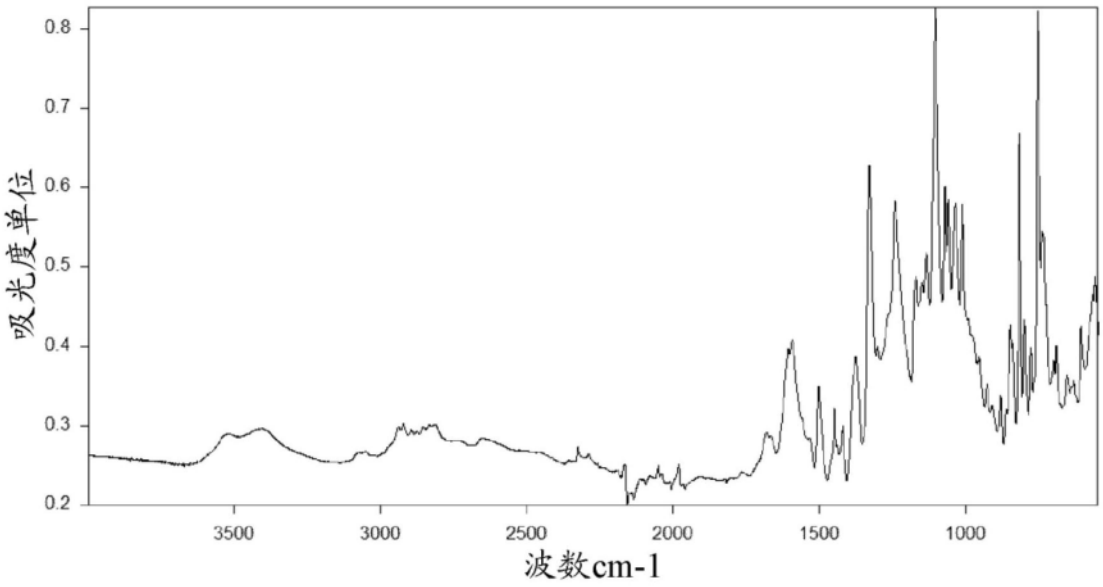
单水合物II (实施例6c)的IR光谱

图21



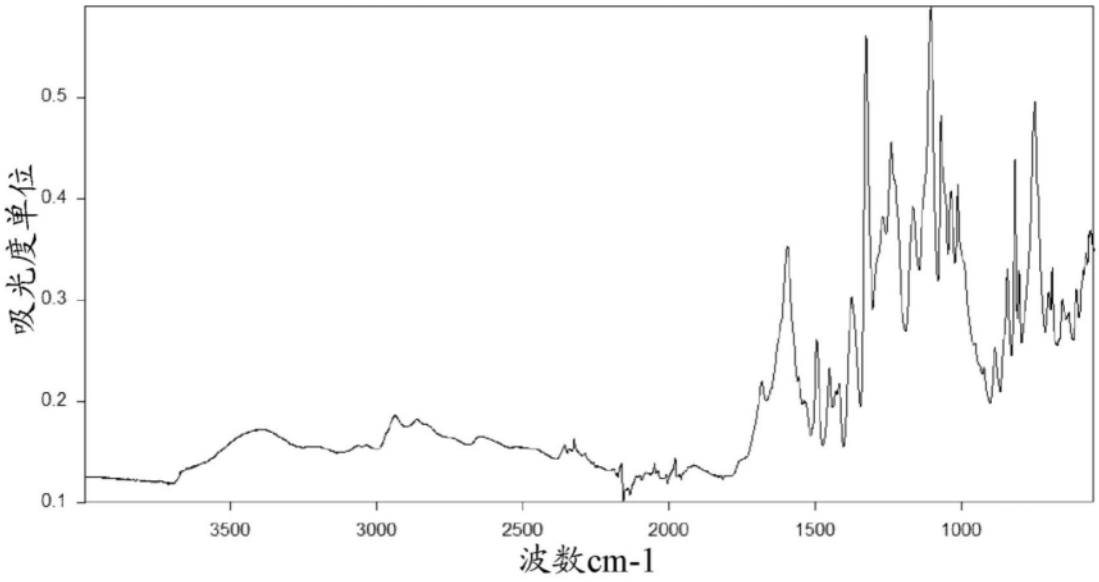
1.25水合物(实施例6d)的IR光谱

图22



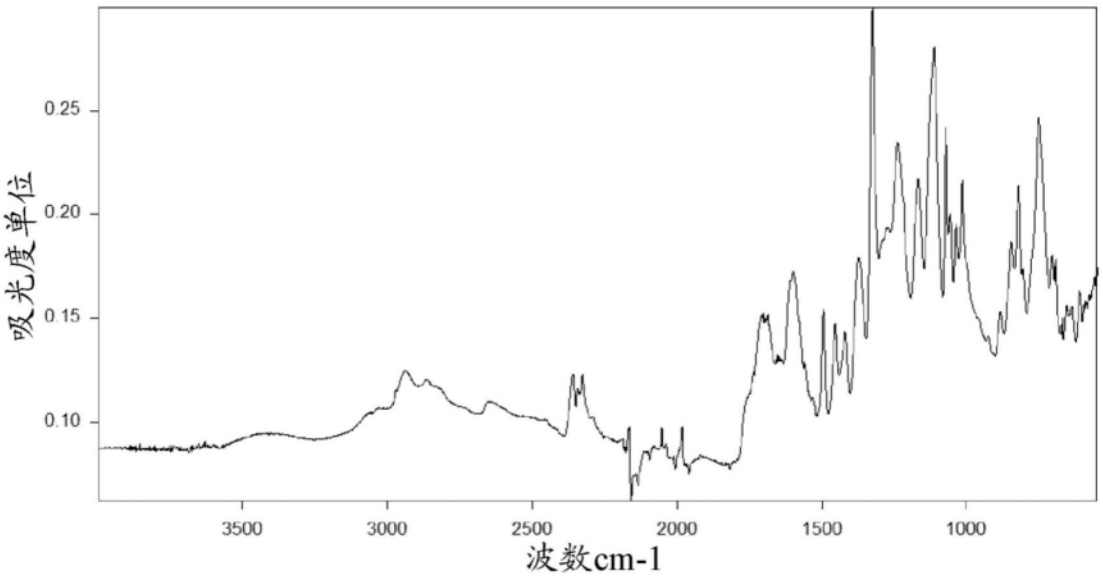
倍半水合物(实施例6e)的IR光谱

图23



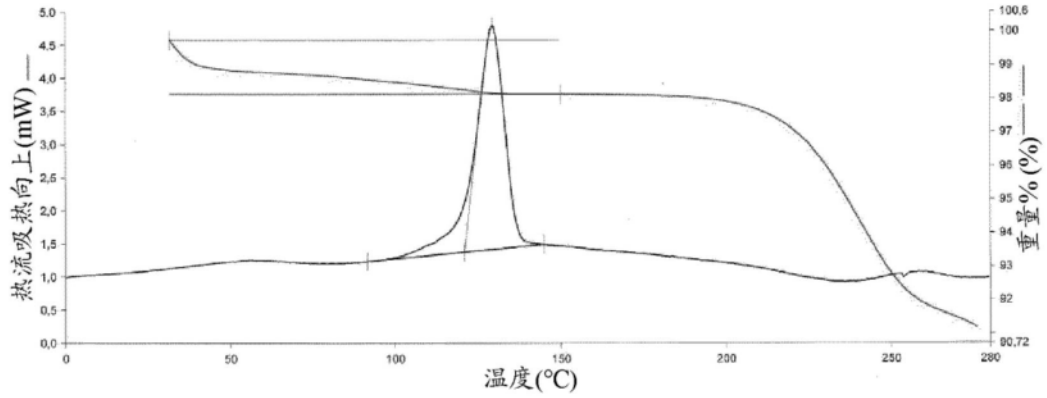
二水合物(实施例6f)的IR光谱

图24



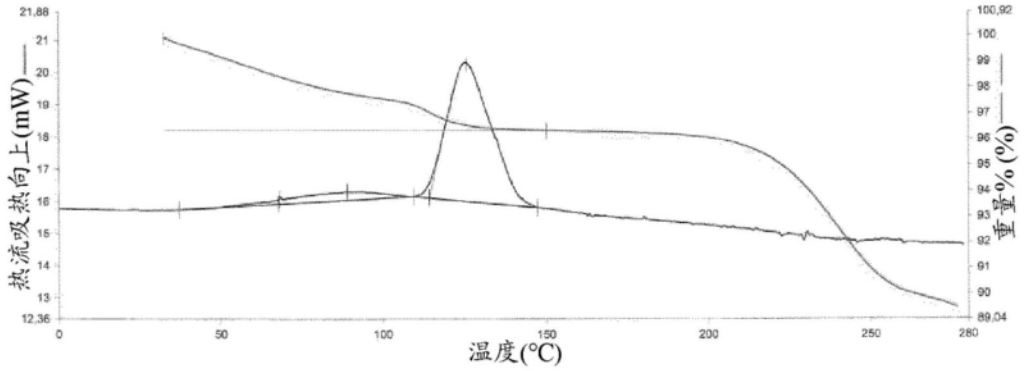
非晶形形式(实施例6g)的IR光谱

图25



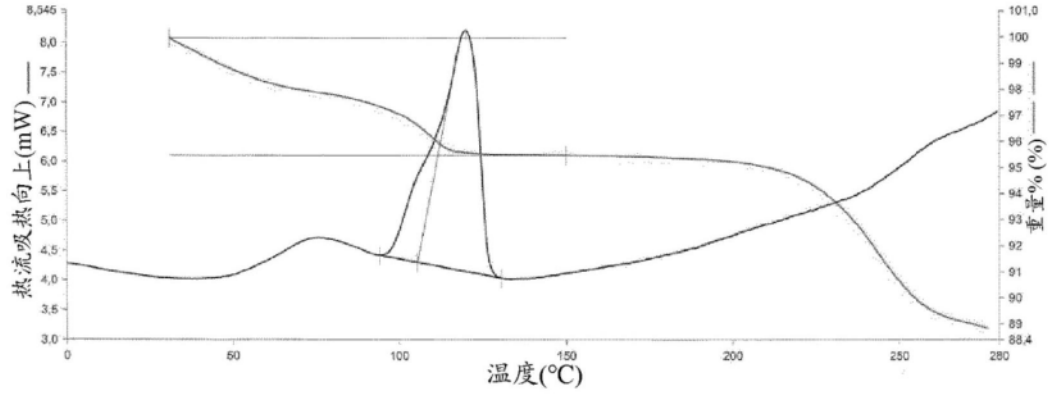
半水合物(实施例6a)的DSC和TGA热谱图

图26



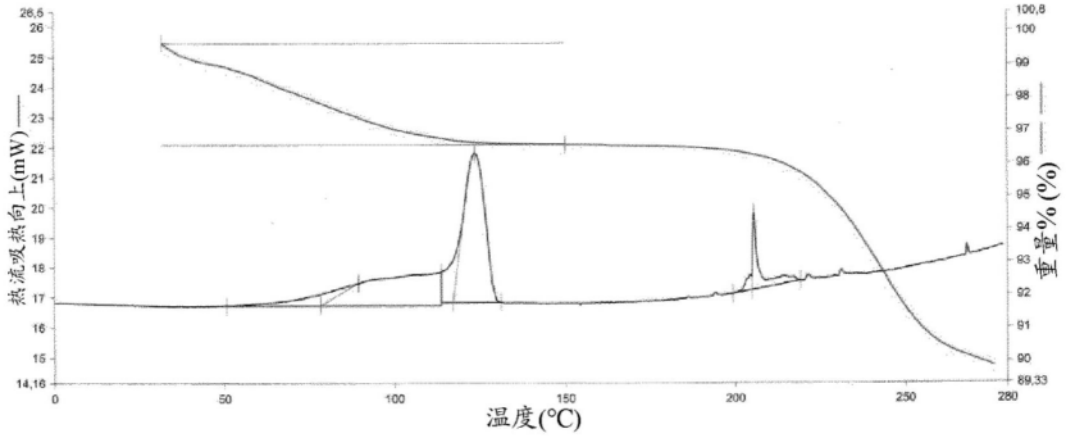
单水合物I (实施例6b)的DSC和TGA热谱图

图27



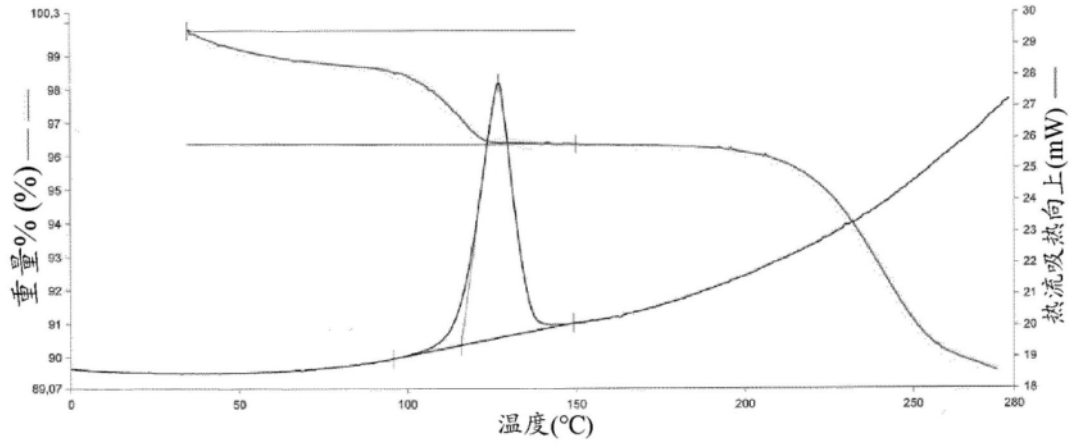
单水合物II (实施例6c)的DSC和TGA热谱图

图28



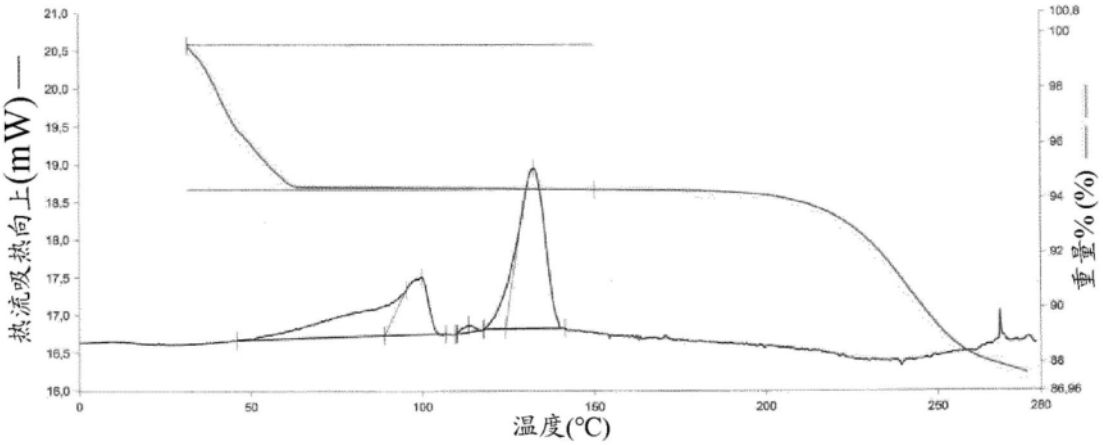
1.25水合物(实施例6d)的DSC和TGA热谱图

图29



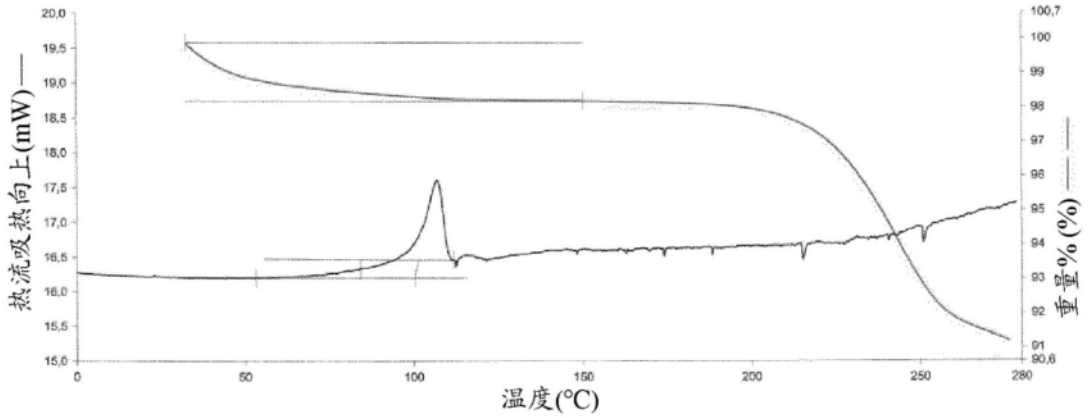
倍半水合物(实施例6e)的DSC和TGA热谱图

图30



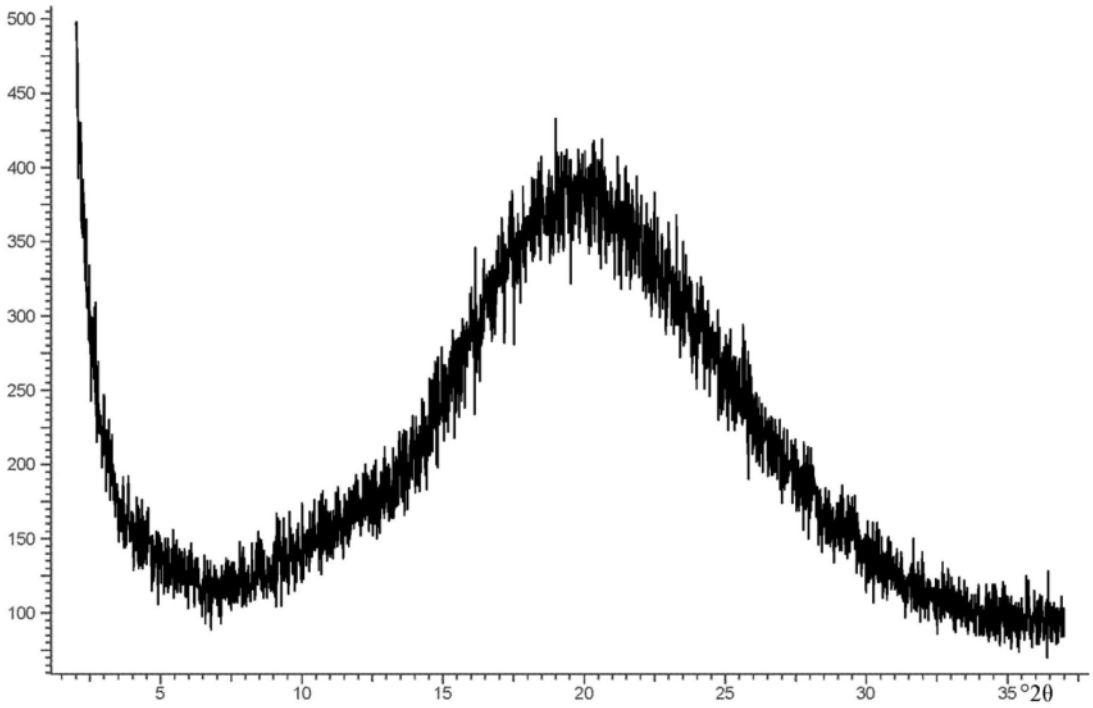
二水合物(实施例6f)的DSC和TGA热谱图

图31



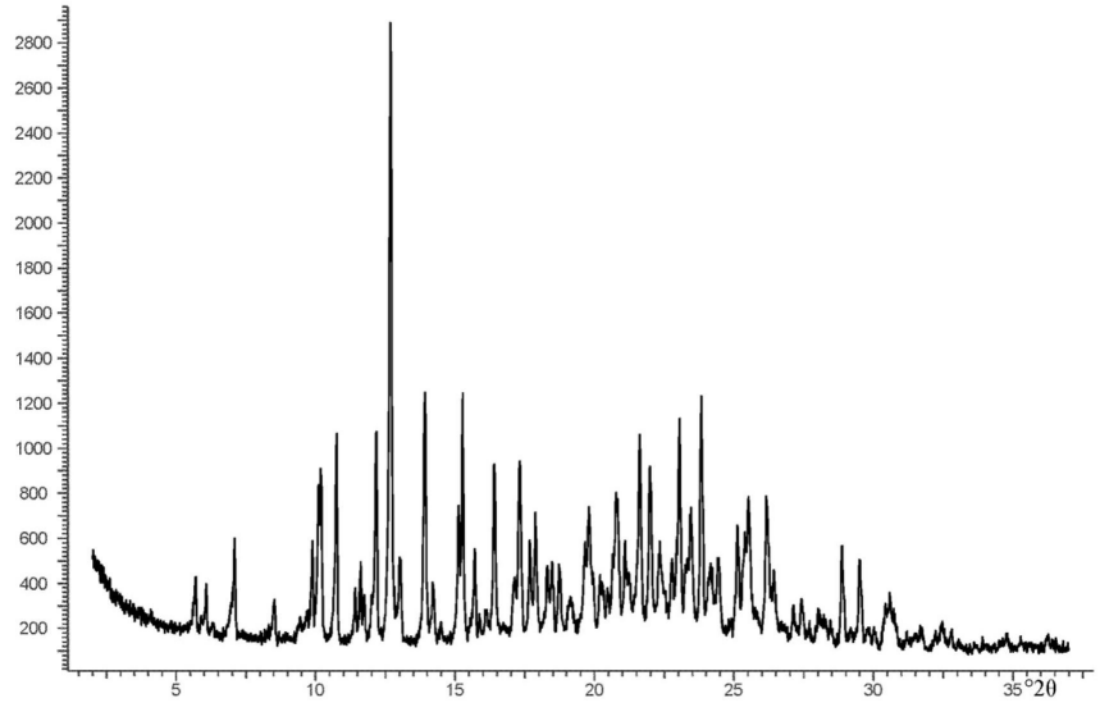
非晶形形式(实施例6g)非晶形形式的DSC和TGA热谱图

图32



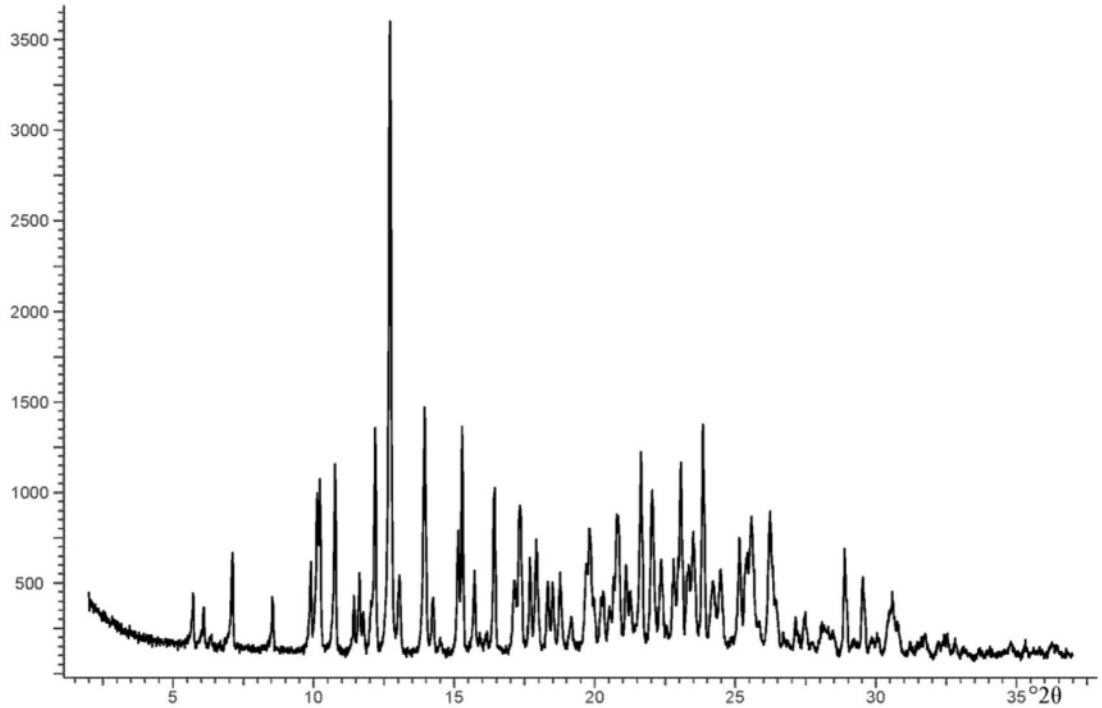
比较例11 (非晶形形式)的X射线粉末衍射图

图33



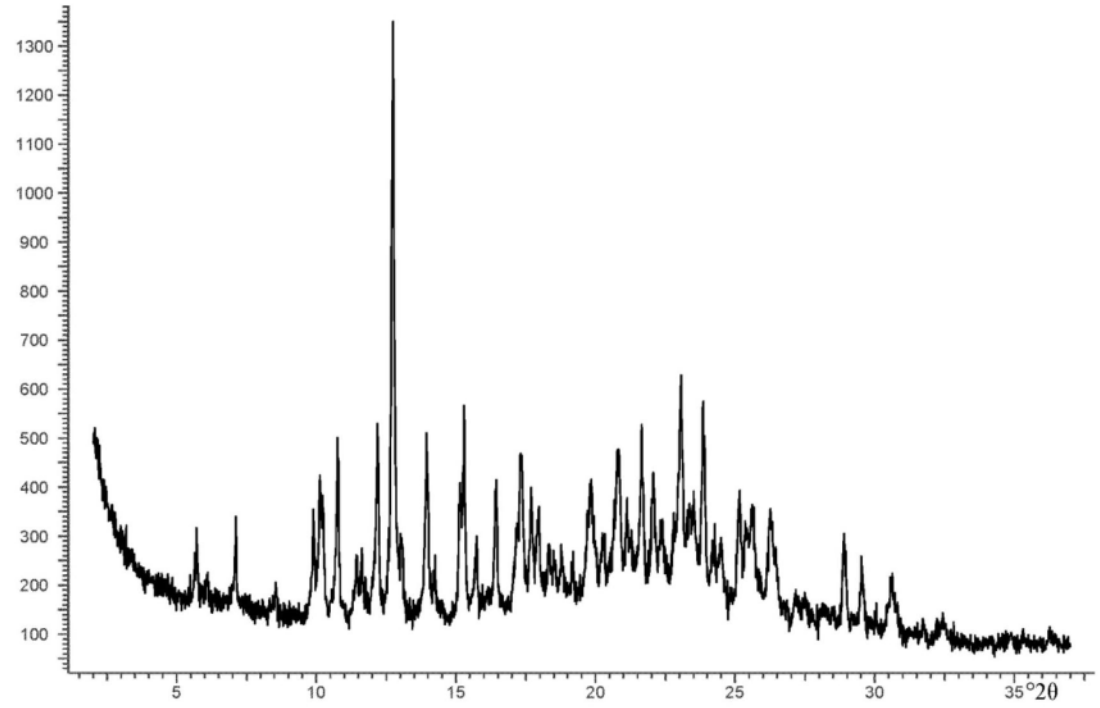
实施例1 (单水合物II)的X射线粉末衍射图

图34



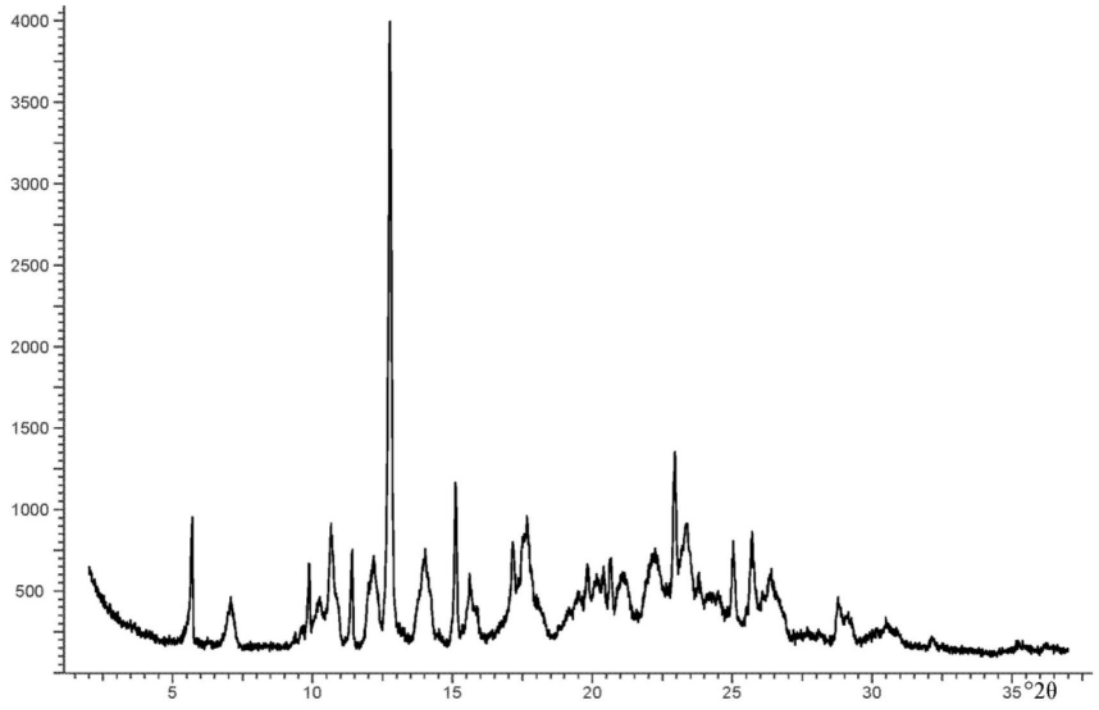
微粉化前实施例2 (单水合物II)的X射线粉末衍射图

图35



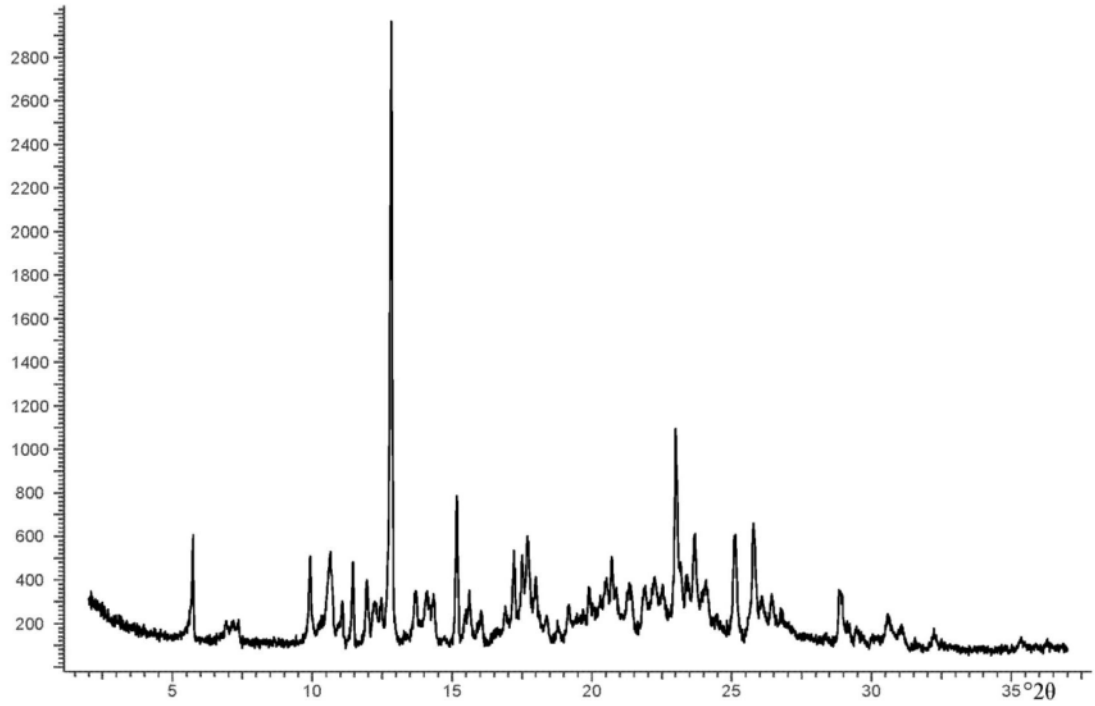
微粉化后实施例2 (单水合物II，部分非晶化)的X射线粉末衍射图

图36



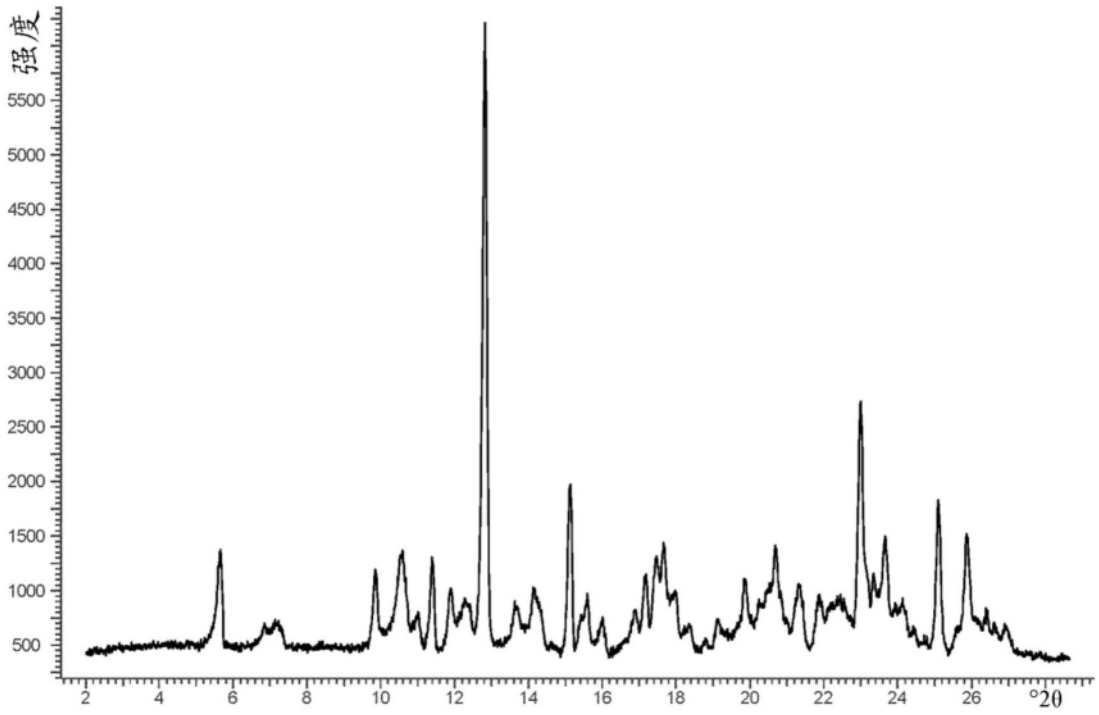
实施例3 (单水合物I)的X射线粉末衍射图

图37



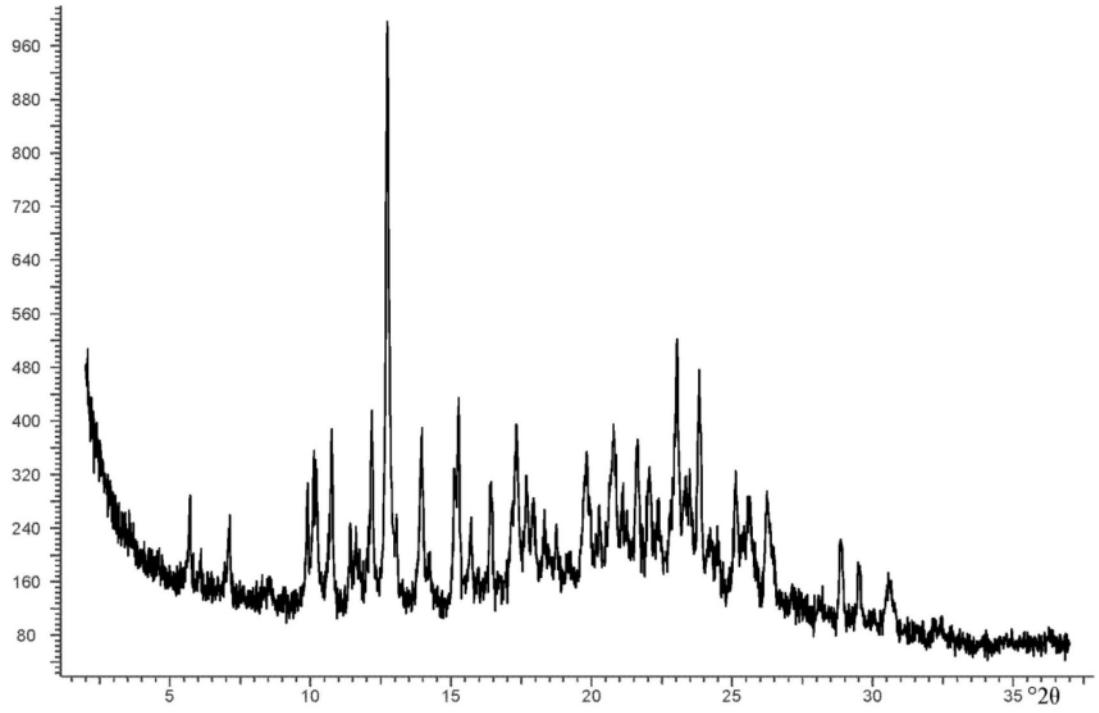
实施例4 (单水合物I)的X射线粉末衍射图

图38



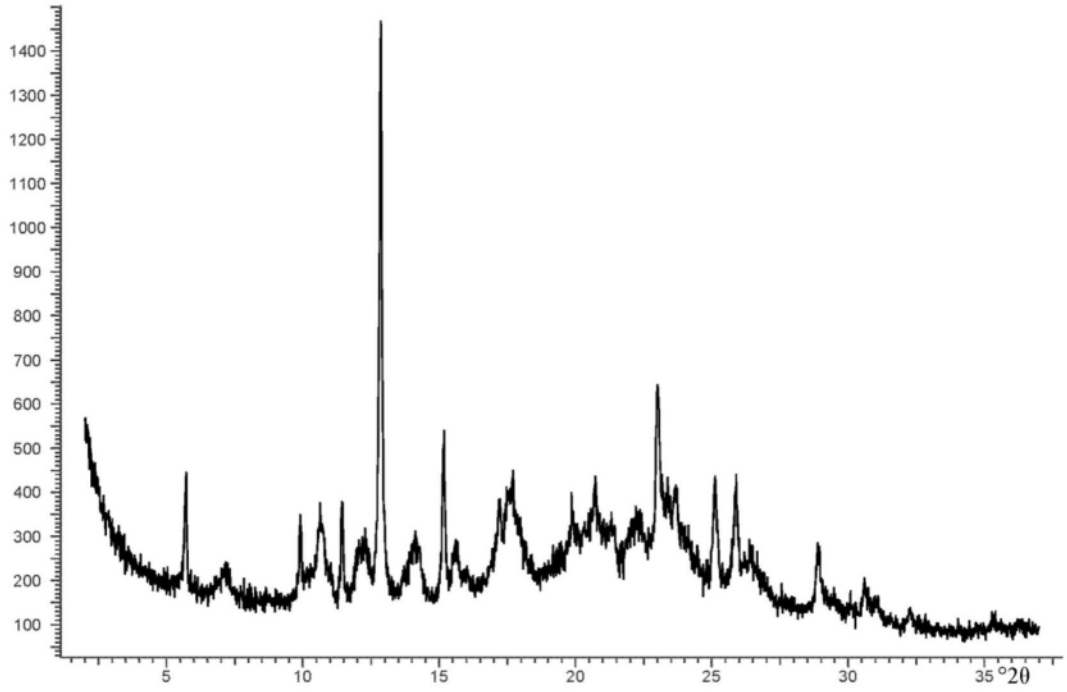
实施例5 (单水合物I)的X射线粉末衍射图

图39



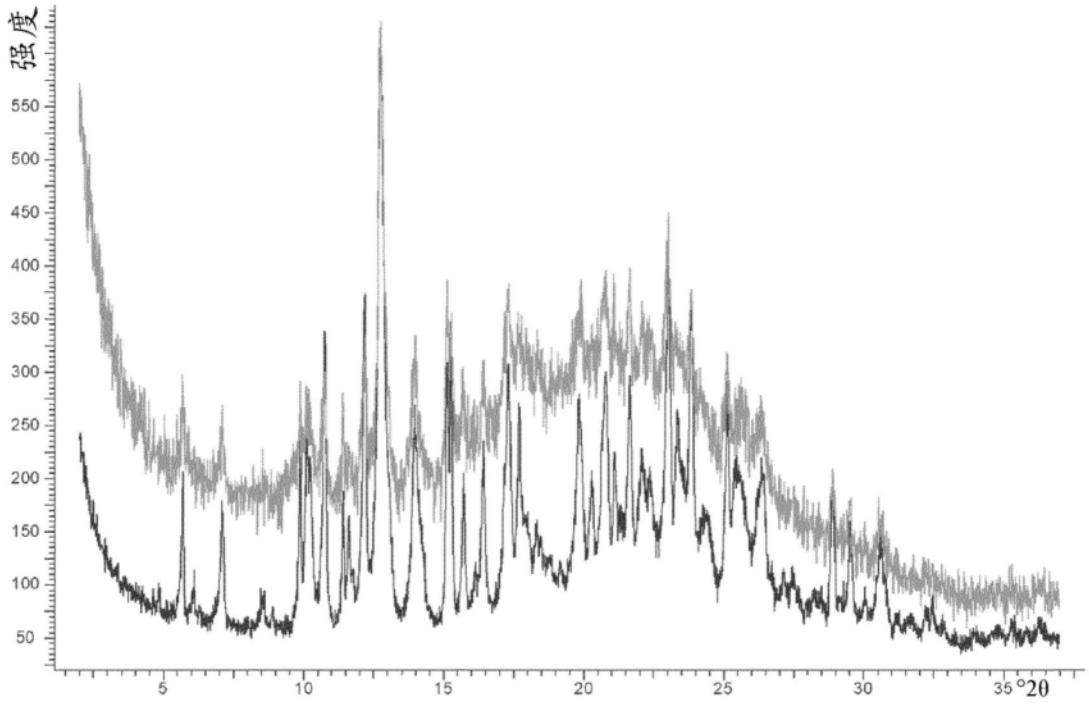
实施例7的X射线粉末衍射图(储存稳定性): 用于储存稳定性的起始材料，单水合物II

图40



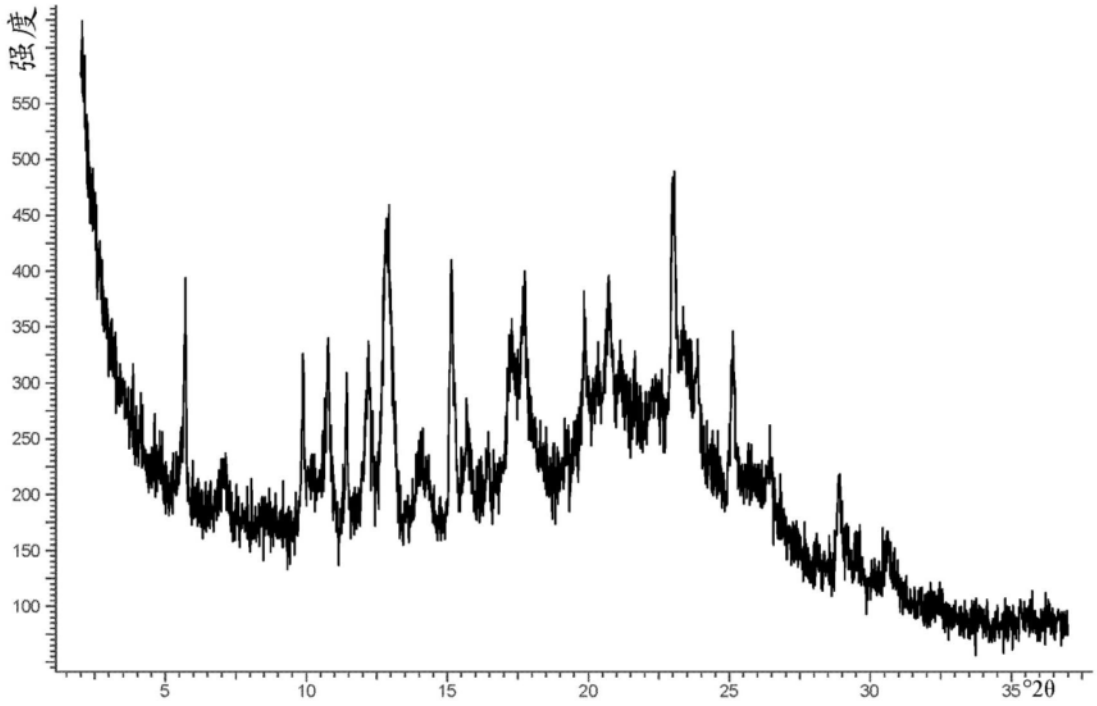
实施例7b的X射线粉末衍射图(储存稳定性):在25℃和60%相对湿度下在聚乙烯中进行一个月储存稳定性测试后的材料,单水合物I

图41



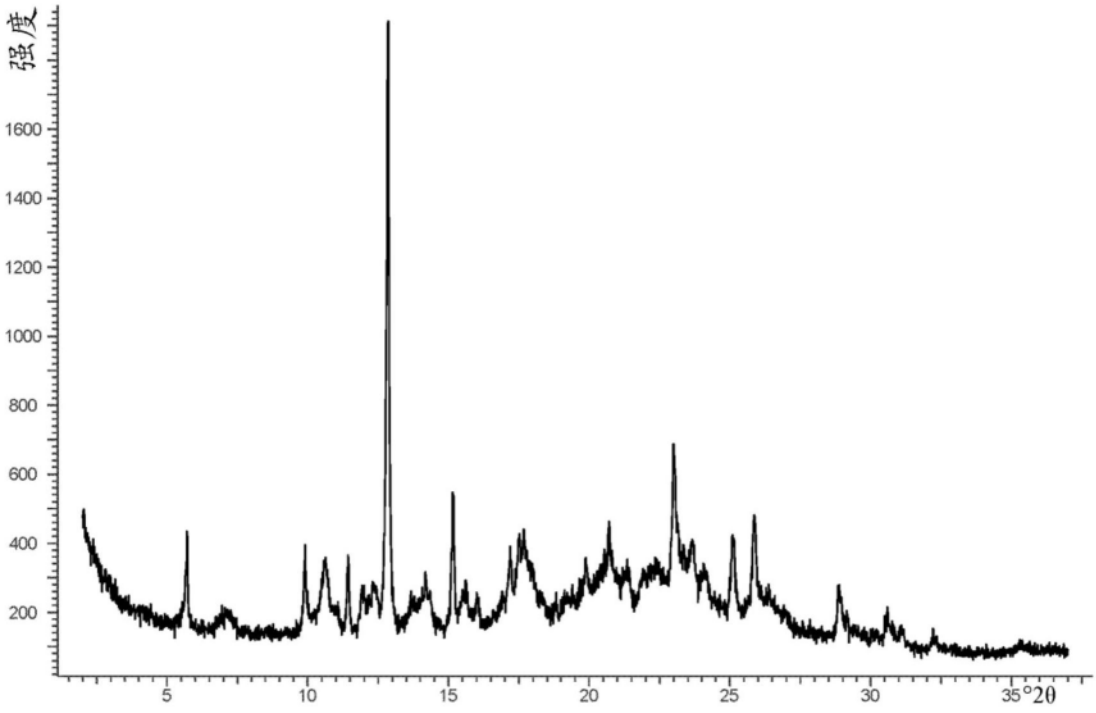
实施例8b (微粉化)的X射线粉末衍射图的叠加图：起始材料(单水合物II) (底线)和微粉化后的材料(具有非晶形量的单水合物II，经PTFE涂布的喷射研磨机，25℃) (顶线)

图42



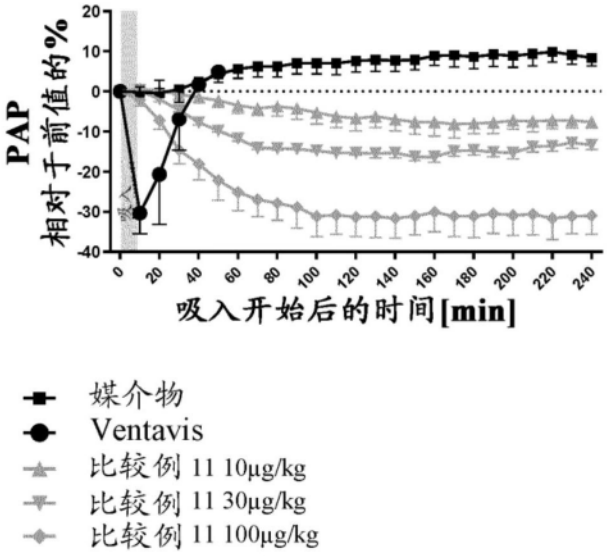
实施例8a (微粉化)的X射线粉末衍射图：微粉化后的材料(具有非晶形量的单水合物I，VA喷射研磨机，25℃)

图43



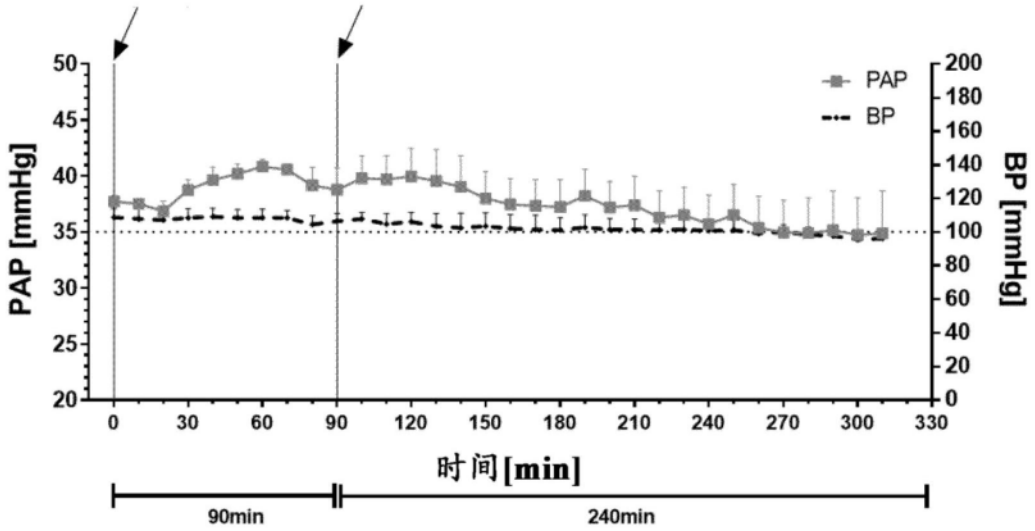
X射线粉末衍射图(实施例8e): 微粉化后(单水合物I)

图44



媒介物溶液、比较例11 (10、30和100 μg/kg标称剂量)和Ventavis (10 μg/kg标称剂量)在PAH小型猪模型中吸入施用后的作用。数据表示为PAP和BP相对于基线的%变化(雾化开始前的10分钟区间)。数据为平均值± SEM。所有化合物的雾化区间需要5-7分钟(灰色条)。

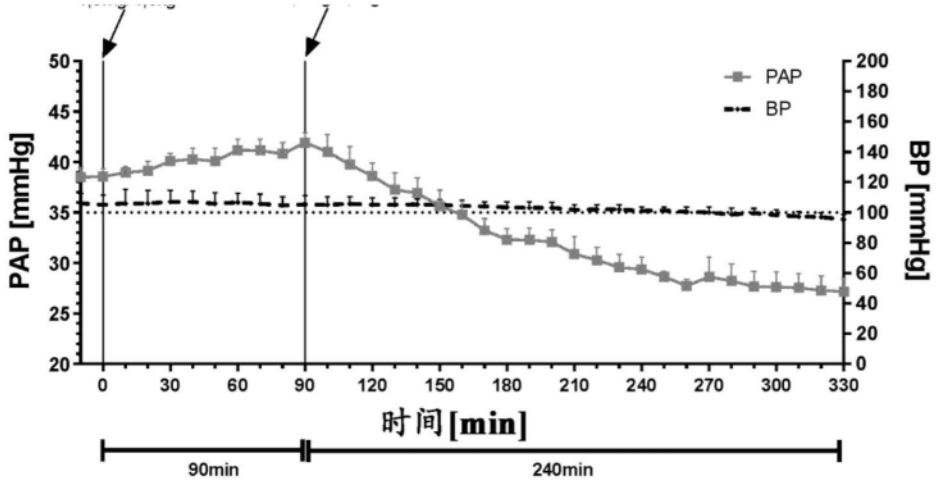
图45



↓在0 min: 乳糖1.5mg/4kg; 在90 min: 乳糖制剂I (2%) 1.5mg/4kg

乳糖以及乳糖制剂I (7.5 μg/kg)在气管内施用后的作用。数据为平均值± SEM (n=3); 用PennCentury干粉吹入器和气泵进行气管内施用; BP: 动脉血压; PAP: 肺动脉压; SEM: 平均值的标准偏差

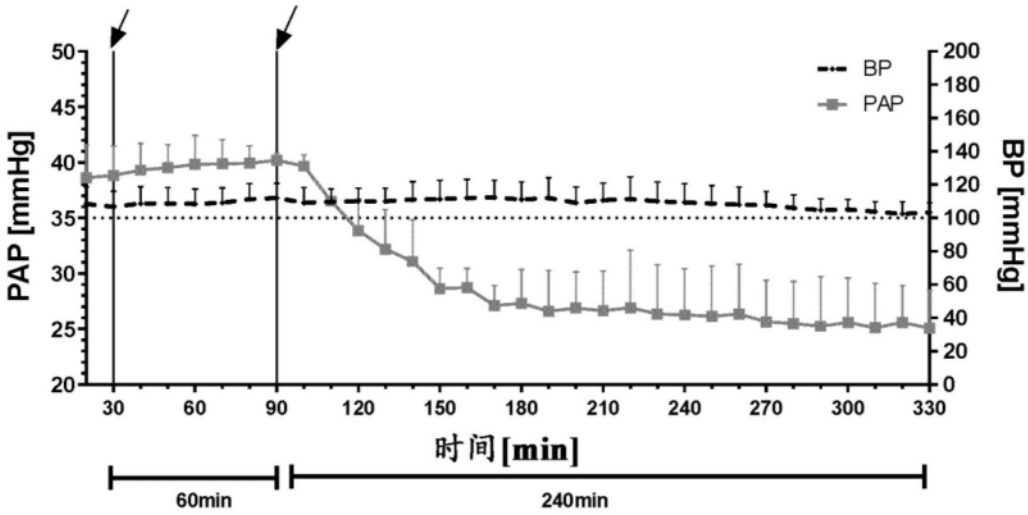
图46



在0 min: 乳糖1.5mg/4kg; 在90 min: 乳糖制剂II (6%) 1.5mg/4kg

乳糖以及乳糖制剂II (22.5 μg/kg)在气管内施用后的作用。数据为平均值±SEM (n=3); 用PennCentury干粉吹入器和气泵进行气管内施用; BP: 动脉血压; PAP: 肺动脉压; SEM:

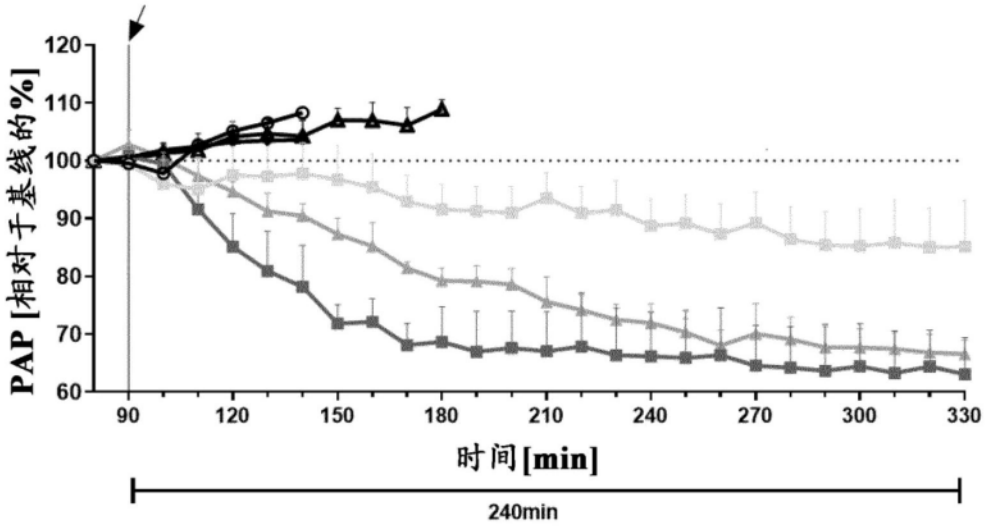
图47



在30 min: 乳糖1.5mg/4kg; 在90 min: 微粉化实施例6e 1.5mg/4kg

气管内施用后乳糖和微粉化倍半水合物(例如实施例6e (375 μg/kg))的作用。数据为平均值± SEM (n=3) 用PennCentury干粉吹入器和气泵进行气管内施用; BP: 动脉血压; PAP: 肺动脉压; SEM: 平均值的标准偏差

图48

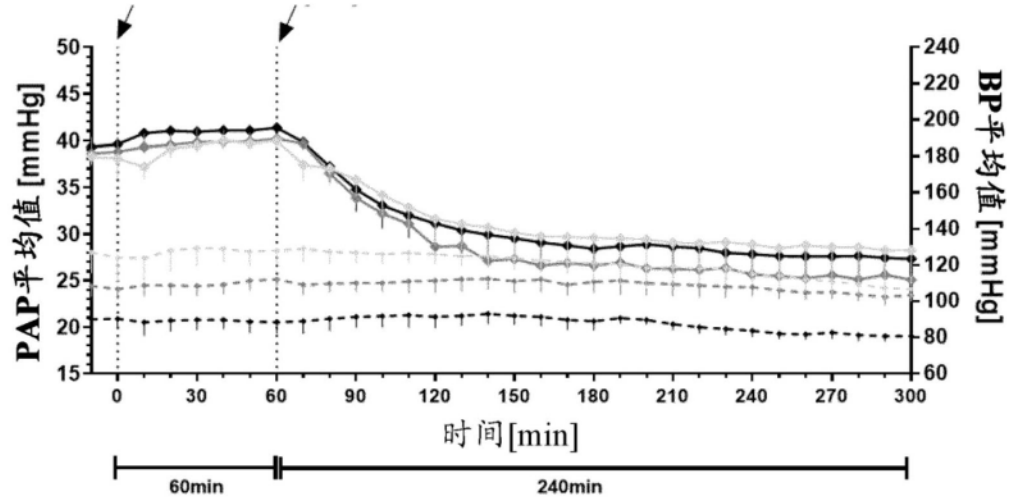


在90 min: 实施例6e (微粉化)或乳糖制剂I或II (2%或6%)或乳糖1.5mg/4kg

PAP 乳糖 LH300/LH200 20:78m/m
PAP 乳糖 LH300/LH200 20:80m/m
PAP 乳糖 LH300/LH200 20:80m/m
PAP 乳糖制剂 I (2%)
PAP 乳糖制剂 II (6%)
PAP 微粉化实施例6e

气管内施用不同乳糖媒介物、乳糖制剂I (7.5 μg/kg)、乳糖制剂II (22.5 μg/kg)和微粉化倍半水合物实施例6e (375 μg/kg)的作用。数据显示为相对于前值的%变化，呈平均值± SEM (n=3)

图49



在0 min：乳糖LH300/LH200 1.5mg/4kg，在60min：微粉化的比较例11的水合物1.5mg/4kg

PAP平均值，单水合物II，实施例2 (n=3)

BP平均值，单水合物II，实施例2 (n=3)

PAP平均值，类似于实施例6a的半水合物(n=3)

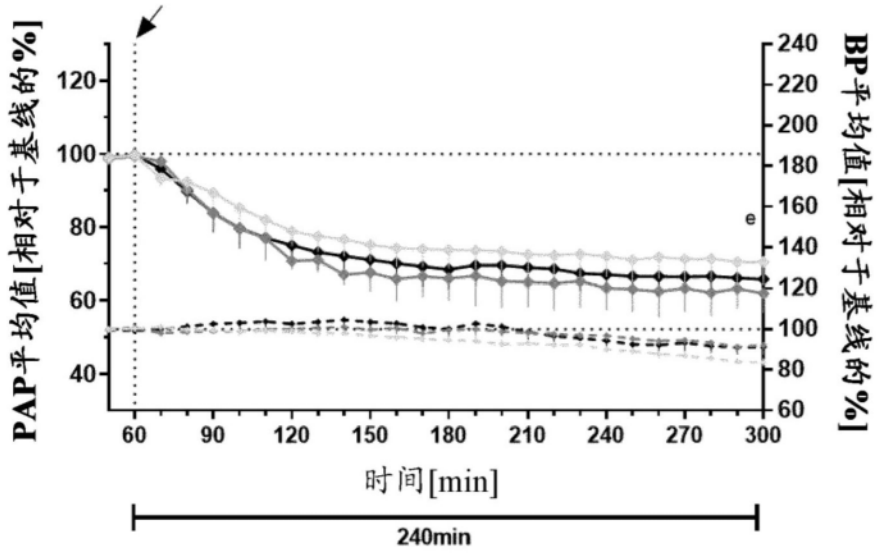
BP平均值，类似于实施例6a的半水合物(n=3)

PAP平均值，类似于实施例6e的倍半水合物(n=3)

BP平均值，类似于实施例6e的倍半水合物(n=3)

比较例11在气管内施用不同水合物微粉化单水合物II (实施例2)、微粉化半水合物(实施例6a)和微粉化倍半水合物(实施例6e)后对BP和PAP的作用。数据显示为绝对值[mmHg]，呈平均值± SEM (n=3)

图50



在60 min：微粉化的比较例11的水合物1.5mg/4kg

PAP平均值，单水合物II，实施例2 (n=3)

BP平均值，单水合物II，实施例2 (n=3)

PAP平均值，类似于实施例6a的半水合物(n=3)

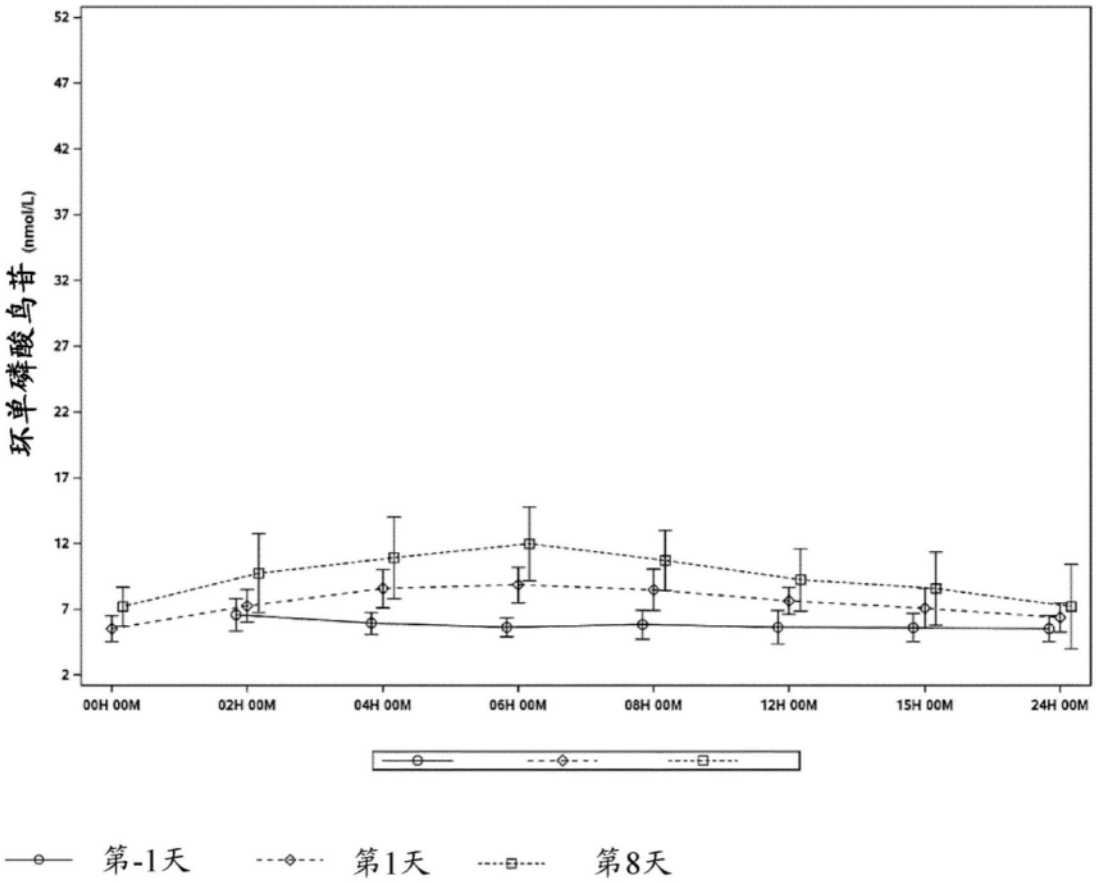
BP平均值，类似于实施例6a的半水合物(n=3)

PAP平均值，类似于实施例6e的倍半水合物(n=3)

BP平均值，类似于实施例6e的倍半水合物(n=3)

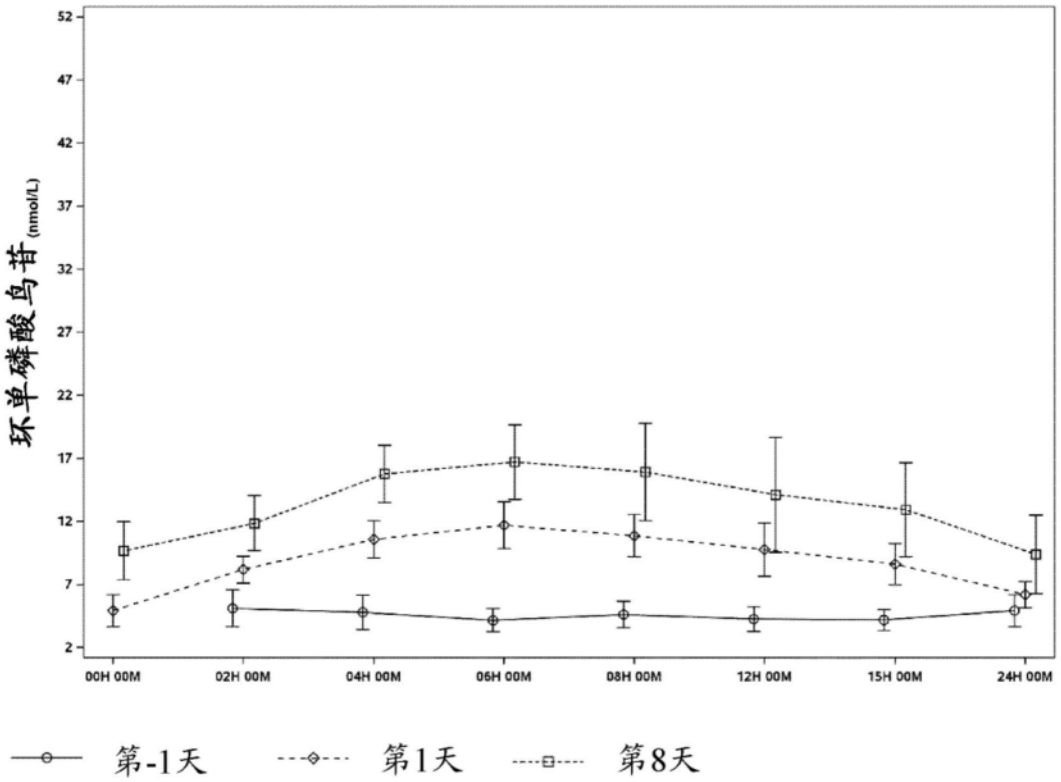
比较例11在气管内施用不同水合物微粉化单水合物II（实施例2)、微粉化半水合物(实施例6a)和微粉化倍半水合物(实施例6e)后对BP和PAP的作用。数据显示为绝对值[mmHg]，呈平均值± SEM (n=3)

图51



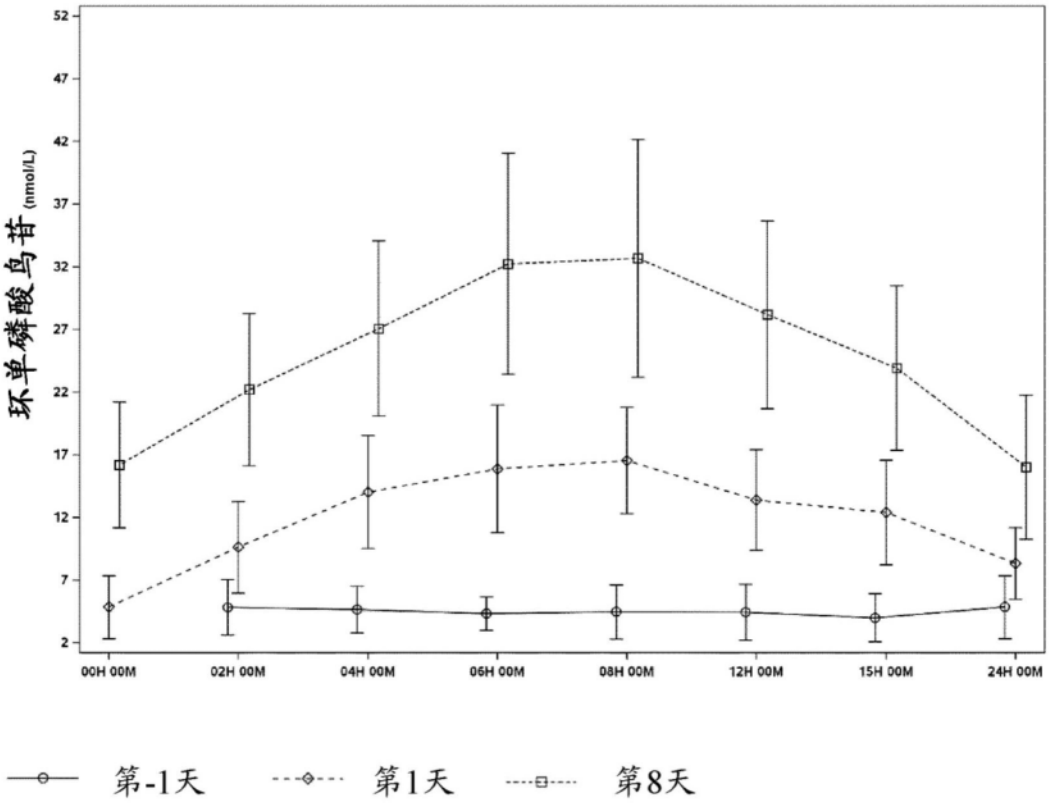
cGMP (nmol/L)的平均值± SD - 480 µg (实施例2)剂量组的治疗前(第-1天)、第一天(第1天)和最后一天(第8天)治疗的比较(SAF，N = 9)

图52



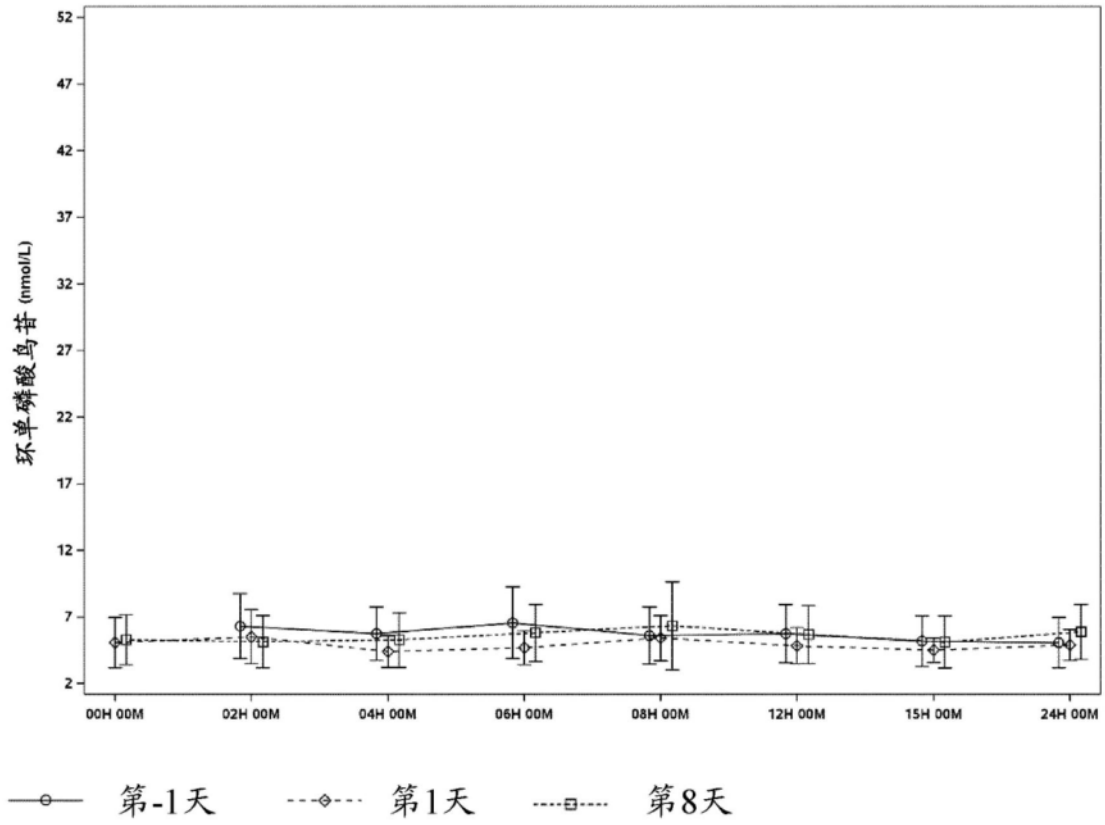
cGMP (nmol/L)的平均值± SD - 1000 µg (实施例2)剂量组的治疗前(第-1天)、第一天(第1天)和最后一天(第8天)治疗的比较(SAF，N = 9)

图53



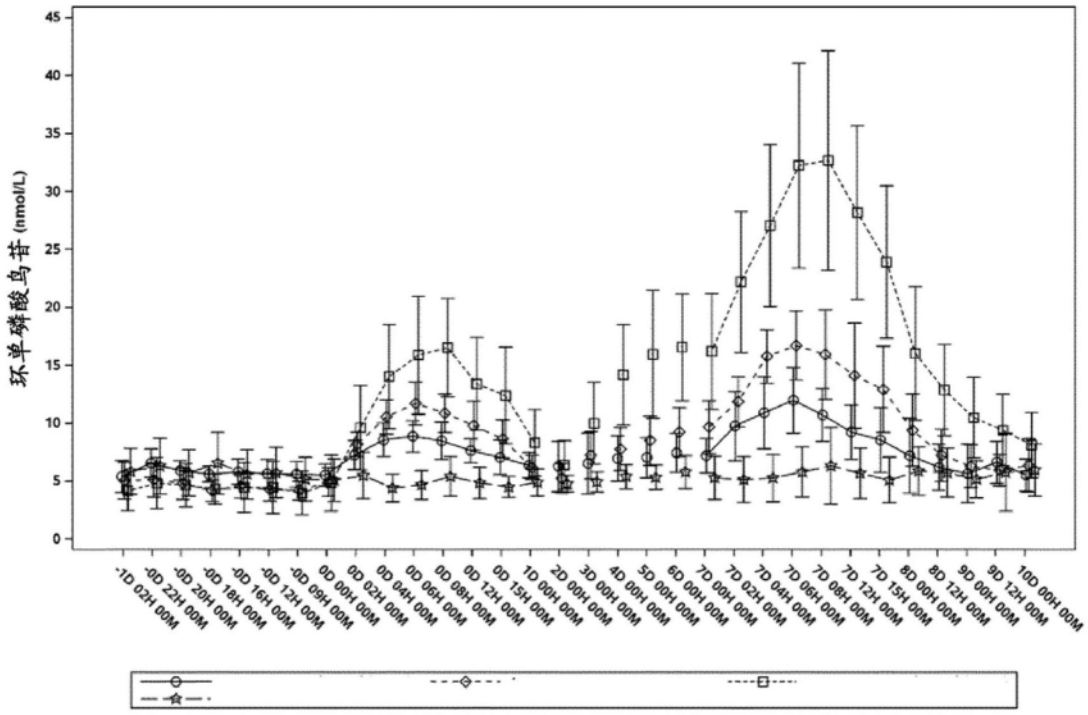
cGMP (nmol/L)的平均值± SD - 2000 µg (实施例2)剂量组的治疗前(第-1天)、第一天(第1天)和最后一天(第8天)治疗的比较(SAF，N＝9)

图54



cGMP (nmol/L)的平均值± SD – 安慰剂组的治疗天数比较(SAF，N = 9)

图55

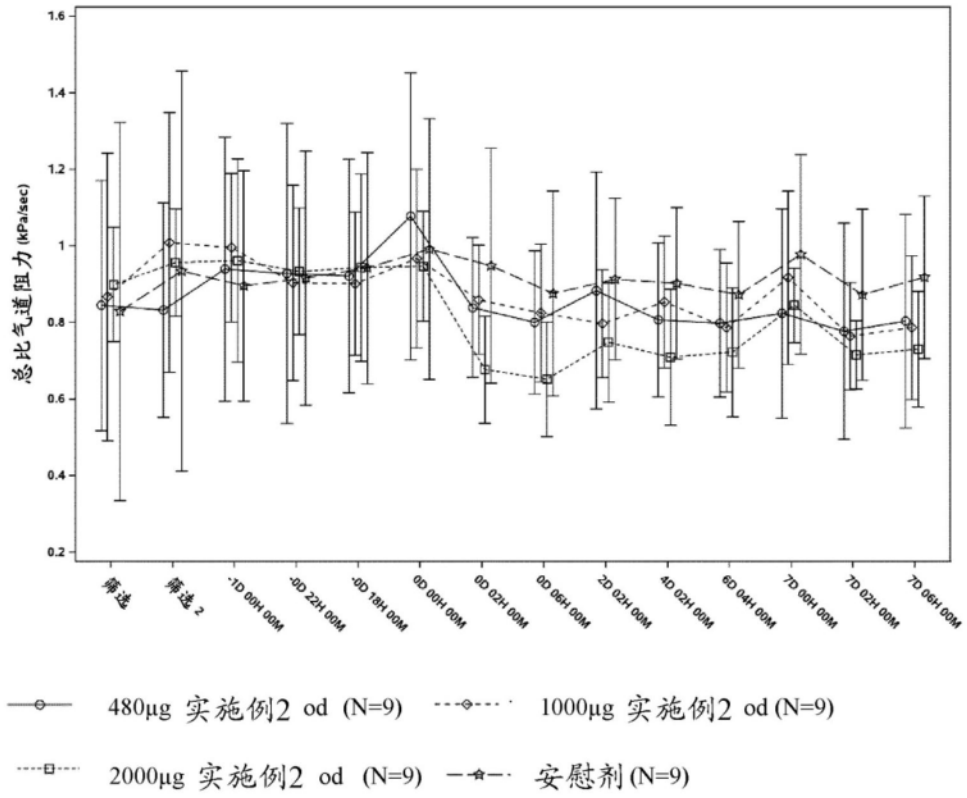


480μg 实施例2 od (N=9) 1000μg 实施例2 od (N=9)

2000μg 实施例2 od (N=9) 安慰剂 (N=9)

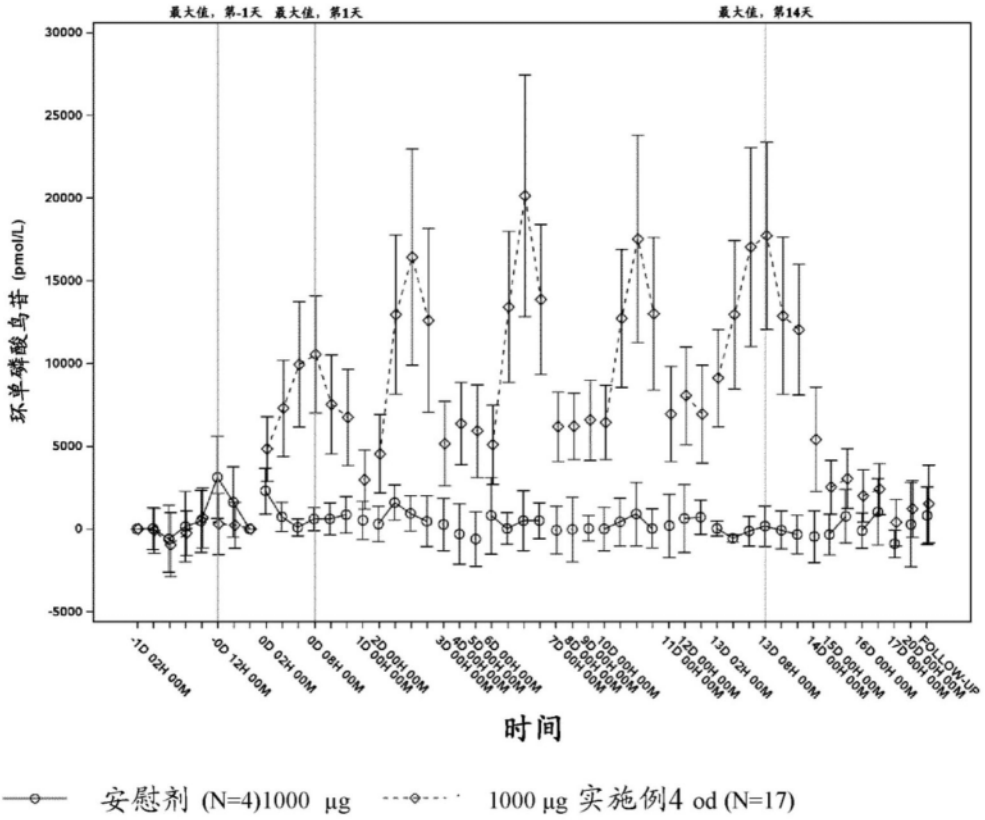
在基线日(-1d02h - 0d00h)、第一次吸入日(0d00h -2d00h)、2d00h-7d00h和7天吸入之后(7d00h - 10d00h)的谷测量值，体液中cGMP (nmol/L)随时间推移的平均值(N = 9) ± SD。

图56



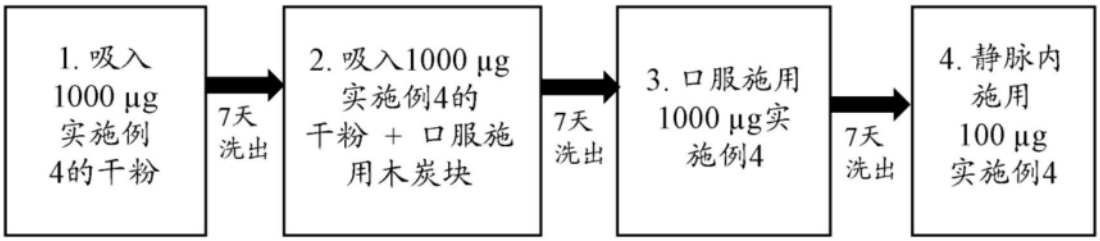
总比气道阻力(kPa/sec)随时间推移的平均值(N = 36，480、1000和2000 μg各为12，实施例2)与SD: 筛选1/2、基线日(-1d00h - 0d00h)、第一次吸入日(0d00h - 0d06h)、吸入后2d02h - 6d04h)和7天吸入后(7d00h - 7d06h)的测量值。

图57



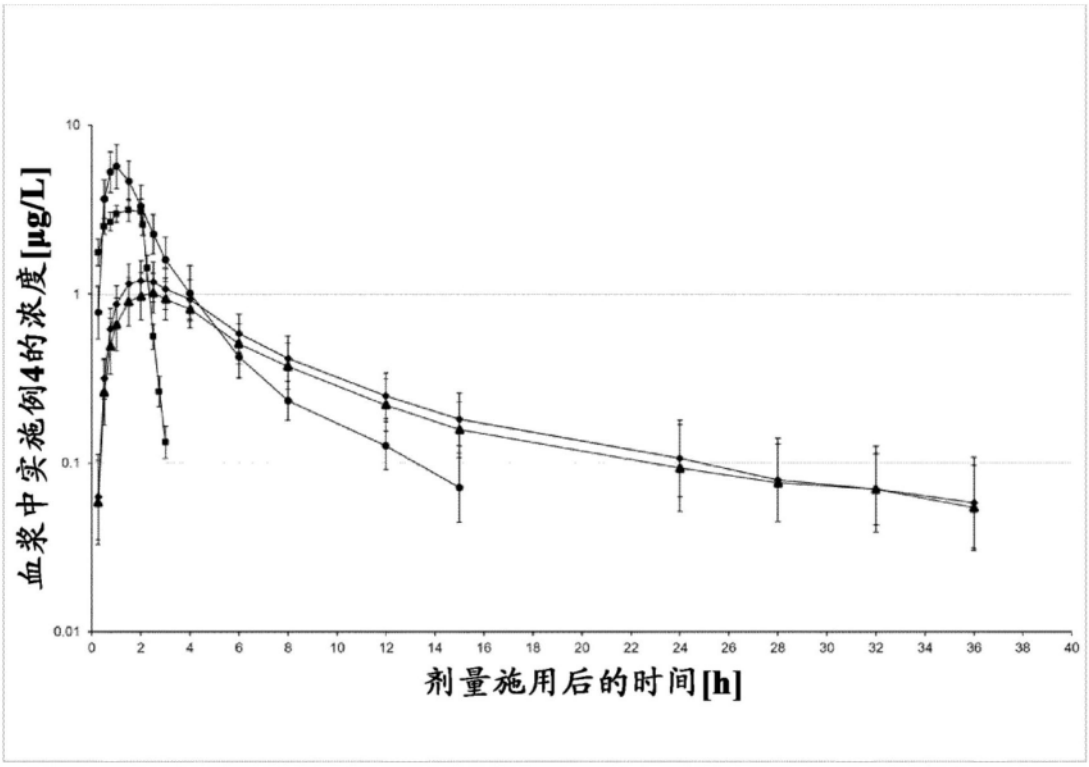
在治疗前当日(-1d00h - -0d09h)、第一次吸入日(-0d02h - 1d00h)、在吸入之前和之后2d00h-2d12h、6d00h-6d12h、10d00h-10d12h (分析日)的测量值、在第3d-5d、7d-9d、11d-12d天吸入之前以及14天吸入的最后一天(12d22h- 20d00h)的谷值，对于安慰剂(N = 4)和1000 µg (N = 17)实施例4，cGMP (nmol/L)随时间推移相对于基线的差异的平均值。

图58



为研究肺部沉积而进行治疗的方案

图59

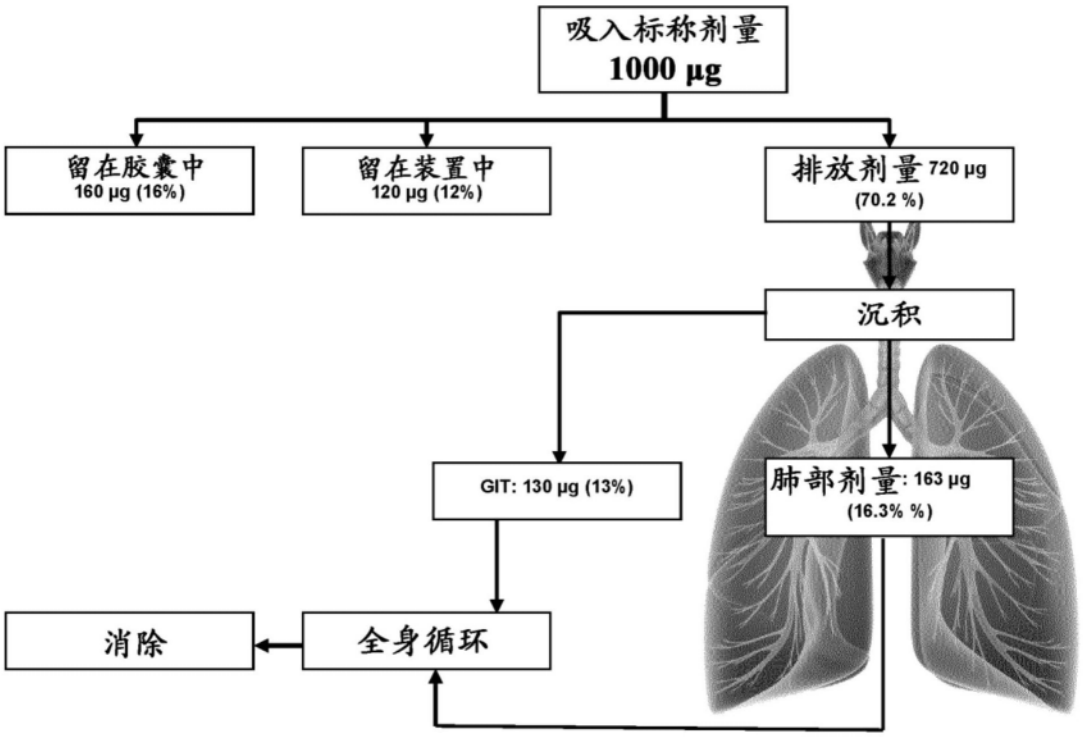


100 µg 实施例4静脉内, n= 15, 1000 µg 实施例4的吸入, n= 16

1000 µg 实施例4的吸入+木炭, n=16, 1000 µg 实施例4的口服剂量, n= 16

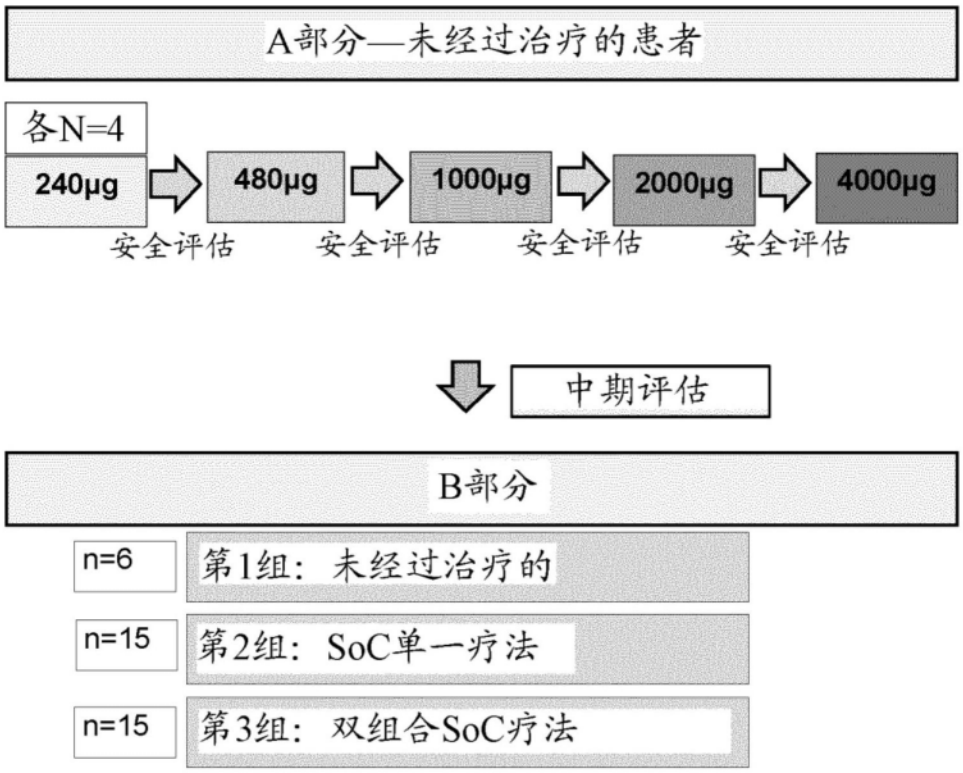
血浆中实施例4的浓度(µg/L)的几何平均值和标准偏差，半对数标度。

图60



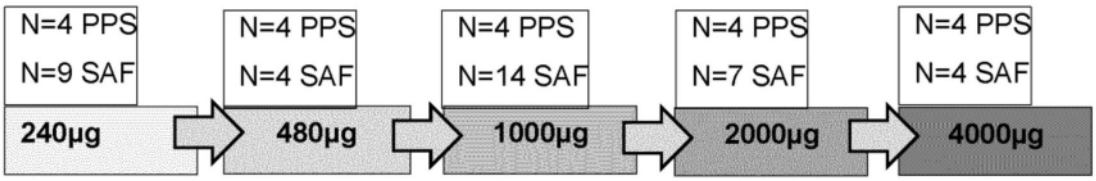
部分剂量到达吸嘴(排放剂量)，而部分剂量留在胶囊中、在装置中，沉积的肺部剂量和部分剂量到达GIT道

图61



PAH或CTEPH患者的临床研究的研究设计

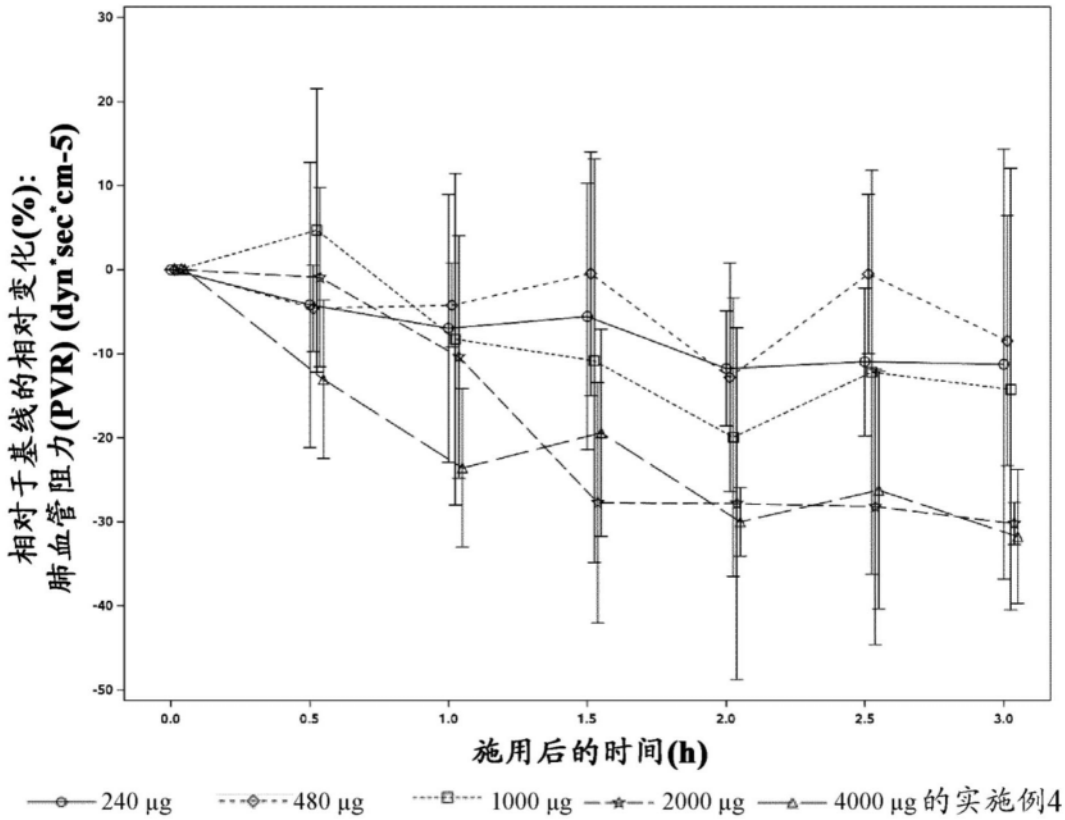
图62



*SAF：安全分析组：匹配纳入和排除标准(IC/EC)的所有患者
*PPS：依照方案组：IC/EC满足+ PVR > 400 dyn +在吸入期间PAP降低一氧化氮(NO)挑战< 10 mmHG (排除血管反应性)

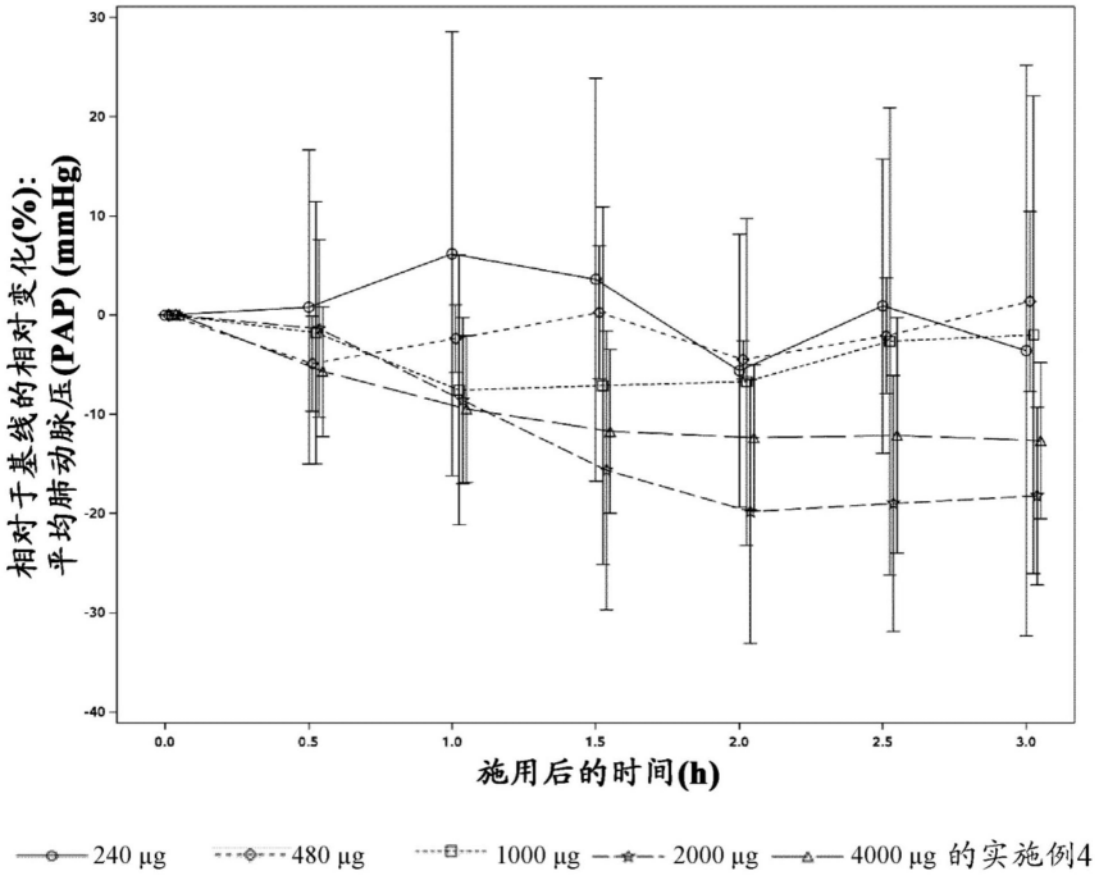
在PAH或CTEPH患者中进行的临床研究A部分总结

图63



在PAH或CTEPH患者中，吸入实施例4之后(0D00H30M至0D03H00M)，肺血管阻力(PVR)随时间推移相对于基线(0D00H00M)的相对变化(%)的平均值和SD (240、480、1000、2000和4000 µg组各N = 4，依照方案组)

图64



的实施例4

在PAH或CTEPH患者中，吸入实施例4之后(0D00H30M至0D03H00M)，平均肺动脉压(mPAP)随时间推移相对于基线(0D00H00M)的相对变化(%)的平均值和SD (240、480、1000、2000和4000 µg组各N = 4，依照方案组)。

图65