

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号

特許第7089366号

(P7089366)

(45)発行日 令和4年6月22日(2022.6.22)

(24)登録日 令和4年6月14日(2022.6.14)

(51)国際特許分類

F I

C 0 7 D 471/04 (2006.01)

C 0 7 D 471/04 1 1 7 Z

A 6 1 K 9/14 (2006.01)

C 0 7 D 471/04 C S P

A 6 1 K 31/519(2006.01)

A 6 1 K 9/14

A 6 1 K 47/04 (2006.01)

A 6 1 K 31/519

A 6 1 K 47/12 (2006.01)

A 6 1 K 47/04

請求項の数 14 (全39頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2017-541901(P2017-541901)

(86)(22)出願日 平成28年2月10日(2016.2.10)

(65)公表番号 特表2018-505192(P2018-505192
A)

(43)公表日 平成30年2月22日(2018.2.22)

(86)国際出願番号 PCT/GB2016/050313

(87)国際公開番号 WO2016/128742

(87)国際公開日 平成28年8月18日(2016.8.18)

審査請求日 平成31年1月17日(2019.1.17)

審判番号 不服2020-15438(P2020-15438/J
1)

審判請求日 令和2年11月9日(2020.11.9)

(31)優先権主張番号 1502260.1

(32)優先日 平成27年2月11日(2015.2.11)

(33)優先権主張国・地域又は機関

最終頁に続く

(73)特許権者 515259535

ヴェローナ ファーマ ピーエルシー

イギリス国、カーディフ シーエフ 1 0

1 エフエス、ワン セントラル スクエア

(74)代理人 100080791

弁理士 高島 一

(74)代理人 100136629

弁理士 鎌田 光宣

(74)代理人 100125070

弁理士 土井 京子

(74)代理人 100121212

弁理士 田村 弥栄子

(74)代理人 100174296

弁理士 富麻 博文

(74)代理人 100137729

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 ピリミド[6, 1-a]イソキノリン-4-オン化合物の塩

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

(i) 9, 10 - ジメトキシ - 2 - (2, 4, 6 - トリメチルフェニルイミノ) - 3 - (N - カルバモイル - 2 - アミノエチル) - 3, 4, 6, 7 - テトラヒドロ - 2 H - ピリミド[6, 1-a]イソキノリン-4-オン(RPL554); 及び

(ii) エタン - 1, 2 - ジスルホン酸

の医薬上許容される酸付加塩、またはその溶媒和物。

【請求項2】

RPL554 エタン - 1, 2 - ジスルホン酸塩又はその溶媒和物である請求項1に記載の医薬上許容される酸付加塩またはその溶媒和物。

【請求項3】

RPL554 エタン - 1, 2 - ジスルホン酸塩である請求項1に記載の医薬上許容される酸付加塩またはその溶媒和物。

【請求項4】

請求項1～3の何れか1項に定義の医薬上許容される酸付加塩またはその溶媒和物、及び医薬上許容される賦形剤、担体又は希釈剤を含む医薬組成物。

【請求項5】

吸入投与のために製剤化された請求項4に記載の医薬組成物。

【請求項6】

乾燥粉末である請求項4又は請求項5に記載の医薬組成物。

【請求項 7】

水溶液中に請求項 1 ～ 3 の何れか 1 項に定義の医薬上許容される酸付加塩またはその溶媒和物を溶解することにより得られる医薬組成物。

【請求項 8】

水溶液が緩衝水溶液である請求項 7 に記載の医薬組成物。

【請求項 9】

緩衝水溶液が、リン酸緩衝剤、クエン酸緩衝剤又はシトロリン酸緩衝剤を含む請求項 8 に記載の医薬組成物。

【請求項 10】

医薬組成物の pH が、2.5 以上である請求項 7 ～ 9 の何れか 1 項に記載の医薬組成物。

10

【請求項 11】

医薬上許容される酸付加塩またはその溶媒和物が、1.0 mg/ml 以上の濃度で存在する請求項 7 ～ 10 の何れか 1 項に記載の医薬組成物。

【請求項 12】

活性成分として、請求項 1 ～ 3 の何れか 1 項に定義の医薬上許容される酸付加塩またはその溶媒和物を含む医薬組成物。

【請求項 13】

喘息、アレルギー性喘息、花粉症、アレルギー性鼻炎、気管支炎、肺気腫、気管支拡張症、慢性閉塞性肺疾患（COPD）、成人呼吸窮迫症候群（ARDS）、ステロイド耐性喘息、重症喘息、小児喘息、嚢胞性線維症、肺線維症（lung fibrosis）、肺線維症（pulmonary fibrosis）、間質性肺疾患、皮膚障害、アトピー性皮膚炎、乾癬、眼炎症、脳虚血、炎症性疾患及び自己免疫疾患から選ばれる疾患又は状態の治療又は予防のための活性成分として、請求項 1 ～ 3 の何れか 1 項に定義の医薬上許容される酸付加塩またはその溶媒和物を含む医薬組成物。

20

【請求項 14】

疾患又は状態が、慢性閉塞性肺疾患（COPD）である、請求項 13 に記載の医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、ピリミド[6, 1-a]イソキノリン-4-オン化合物の塩及びこれらの塩を含む医薬組成物に関する。このような塩の医学的用途についても説明する。

30

【背景技術】

【0002】

ヒト対象への投与のための製剤の医薬品有効成分（API）の適切な形態を開発する場合には、多くの要素を考慮しなければならない。これらには、効能、毒性、安定性、溶解度/溶解性及び酸/塩基度が含まれる。通常、多くの異なる形態の API を含む異なる製剤が評価される。そのような評価の結果は予測できるものではない。

【0003】

溶解度/溶解性、安定性及び酸/塩基度は、API を制御するための非常に重要な要素であり得る。溶解度/溶解性は、患者の所望の治療効果を有する十分な用量の活性成分の送達を可能にする適切なレベルでなければならない。治療剤の異なる塩の形態の溶解度は、予測できない。

40

【0004】

API の安定性は、製品に長期保存安定性があることを保証するのに十分でなければならない。過度に酸性の製剤は投与対象を不快にし得るため経口投与薬剤及び吸入薬剤は酸/塩基度が重要である。

【0005】

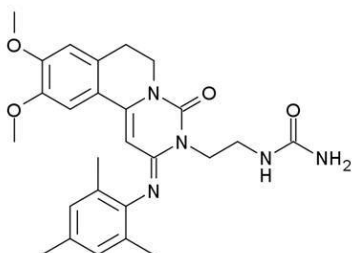
RPL554（9, 10-ジメトキシ-2-（2, 4, 6-トリメチルフェニルイミノ）-3-（N-カルバモイル-2-アミノエチル）-3, 4, 6, 7-テトラヒドロ-2H-ピリミド[6, 1-a]イソキノリン-4-オン）は、PDE3/PDE4 二重阻害剤

50

であり、W O O O / 5 8 3 0 8 に記載されている。P D E 3 / P D E 4 複合阻害剤として、R P L 5 5 4 は、抗炎症活性及び気管支拡張活性の両方を有し、喘息及び慢性閉塞性肺疾患（C O P D）のような呼吸器障害の治療に有用である。R P L 5 5 4 の構造を以下に示す。

【 0 0 0 6 】

【 化 1 】



10

【 0 0 0 7 】

呼吸器障害の治療のその適用性のために、多くの場合、吸入によりR P L 5 5 4 を投与することが好ましい。Franciosiらは、p H 3 . 2 のR P L 5 5 4 のクエン酸 - リン酸緩衝溶液を開示している（The Lancet: Respiratory Medicine 11 / 2013 ; 1 (9) : 714 - 27 . DOI : 10 . 1016 / S2213 - 2600 (13) 70187 - 5）。R P L 5 5 4 の塩の調製法は説明されていない。

20

【 発明の概要 】

【 0 0 0 8 】

R P L 5 5 4 の特定の塩は非常に望ましい性質を有するということが本発明の知見である。特に、R P L 5 5 4 の特定の医薬上許容される塩は、向上した水溶性及び適切なp H緩衝液中での向上した溶解度を有することが見出されている。緩衝液中での溶解度の増加は、より穏やかなp Hの溶液におけるより高い薬剤負荷を可能にし、吸入又は経口投与に対する患者のより優れた耐性をもたらす得る。また、R P L 5 5 4 の特定の具体的な塩は、結晶質であることが見出されている。結晶塩は、通常、非晶形に比べてより安定しており、R P L 5 5 4 を、乾燥粉末、又は活性成分が固体の状態で存在するその他の製剤として首尾よく供給する場合に特に望ましい。

30

【 0 0 0 9 】

さらに、R P L 5 5 4 の特定の塩は、生物学的利用能の向上をもたらすことができる望ましい固有溶解速度を有することが見出されている。また、R P L 5 5 4 の特定の塩は、加圧式定量投与製剤及び乾燥粉末製剤によく適していることが見出されている。

【 0 0 1 0 】

また、R P L 5 5 4 の特定の塩の熱安定性は、他の塩の熱安定性に比べてより優れていることが見出されている。このような塩は、形態が変化することなく温度変化に対して耐性があるので望ましい。また、湿度変化に対する安定性も望ましい。

【 0 0 1 1 】

したがって、本発明は、

(i) 9 , 10 - ジメトキシ - 2 - (2 , 4 , 6 - トリメチルフェニルイミノ) - 3 - (N - カルバモイル - 2 - アミノエチル) - 3 , 4 , 6 , 7 - テトラヒドロ - 2 H - ピリミド [6 , 1 - a] イソキノリン - 4 - オン (R P L 5 5 4) ; 及び

(i i) エタン - 1 , 2 - ジスルホン酸、エタンスルホン酸、メタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、p - トルエンスルホン酸、塩酸、臭化水素酸、リン酸又は硫酸の医薬上許容される酸付加塩を提供する。

【 0 0 1 2 】

本発明は、さらに、本発明の医薬上許容される酸付加塩及び医薬上許容される賦形剤、担体又は希釈剤を含む医薬組成物を提供する。

40

50

【 0 0 1 3 】

本発明は、さらに、ヒト又は動物体の治療に使用するための本発明の医薬上許容される酸付加塩を提供する。

【 0 0 1 4 】

本発明は、さらに、喘息、アレルギー性喘息、花粉症、アレルギー性鼻炎、気管支炎、肺気腫、気管支拡張症、慢性閉塞性肺疾患（COPD）、成人性呼吸窮迫症候群（ARDS）、ステロイド耐性喘息、重症喘息、小児喘息、嚢胞性線維症、肺線維症（lung fibrosis）、肺線維症（pulmonary fibrosis）、間質性肺疾患、皮膚障害、アトピー性皮膚炎、乾癬、眼炎症、脳虚血、炎症性疾患及び自己免疫疾患から選ばれる疾患又は状態の治療又は予防に使用するための本発明の医薬上許容される酸付加塩を提供する。

10

【 0 0 1 5 】

本発明は、さらに、対象における、喘息、アレルギー性喘息、花粉症、アレルギー性鼻炎、気管支炎、肺気腫、気管支拡張症、慢性閉塞性肺疾患（COPD）、成人性呼吸窮迫症候群（ARDS）、ステロイド耐性喘息、重症喘息、小児喘息、嚢胞性線維症、肺線維症（lung fibrosis）、肺線維症（pulmonary fibrosis）、間質性肺疾患、皮膚障害、アトピー性皮膚炎、乾癬、眼炎症、脳虚血、炎症性疾患及び自己免疫疾患から選ばれる疾患又は状態の治療又は予防方法であって、有効量の本発明の医薬上許容される酸付加塩を上記対象に投与することを含む方法を提供する。

【 図面の簡単な説明 】

20

【 0 0 1 6 】

【 図 1 】 図 1 は、R P L 5 5 4 の塩形成から単離された固体の X R P D パターンを示す。ここで用いられた酸は、硫酸（A）、リン酸（B）、塩酸水（C）、エタンスルホン酸（D）、臭化水素酸（E）、メタンスルホン酸（F）及びナフタレン - 1 , 5 - ジスルホン酸（G）である。また、R P L 5 5 4 の遊離塩基の X R P D パターンも示す（H）。

【 図 2 】 図 2 は、R P L 5 5 4 の塩形成から単離された固体の X R P D パターンを示す。ここで用いられた酸は、エタン - 1 , 2 - ジスルホン酸（A）、p - トルエンスルホン酸（B）、ベンゼンスルホン酸（C）、無水塩酸（D）、2 - ナフタレンスルホン酸 - 1 当量（E）及び 2 - ナフタレンスルホン酸 - 4 当量（F）である。また、R P L 5 5 4 の遊離塩基の X R P D パターンも示す（G）。

30

【 図 3 】 図 3 は、R P L 5 5 4 の塩形成から単離された固体の X R P D パターンを示す。ここで用いられた酸は、1 - ヒドロキシ - 2 - ナフトエ酸 - 1 当量（A）、1 - ヒドロキシ - 2 - ナフトエ酸 - 4 当量（B）、ピロメリト酸 - 1 当量（C）及びピロメリト酸 - 4 当量（D）である。また、R P L 5 5 4 の遊離塩基の X R P D パターンを示す（H）。

【 図 4 】 図 4 は、R P L 5 5 4 塩酸塩の蒸気収着重量測定（GVS）プロファイルを示す。

【 図 5 】 図 5 は、湿度 0 %（A）、湿度 9 0 %（B）及び初期インプット（C）としての R P L 5 5 4 塩酸塩の X R P D パターンを示す。

【 図 6 】 図 6 は、ビス R P L 5 5 4 エタン - 1 , 2 - ジスルホン酸塩の G V S プロファイルを示す。

【 図 7 】 図 7 は、湿度 0 %（A）、湿度 9 0 %（B）及び初期インプット（C）としてのビス R P L 5 5 4 エタン - 1 , 2 - ジスルホン酸塩の X R P D パターンを示す。

40

【 図 8 】 図 8 は、R P L 5 5 4 の硫酸塩（A）、メタンスルホン酸塩（B）及びエタンスルホン酸塩（C）の固有溶解度を示す。

【 図 9 】 図 9 は、R P L 5 5 4 の遊離塩基（F）、エタン - 1 , 2 - ジスルホン酸塩（E）、臭化水素酸塩（D）、塩酸塩（C）、ベンゼンスルホン酸塩（B）及び p - トルエンスルホン酸塩（A）の固有溶解度を示す。

【 図 1 0 】 図 1 0 は、2 4 時間にわたる R P L 5 5 4 の硫酸塩の固有溶解度を示す。

【 図 1 1 】 図 1 1 は、選択された R P L 5 5 4 の塩基及び塩の p M D I 製剤の空気力学的評価を示す（平均値、n = 3、± S D）。ここで、バーの左から右に、遊離塩基 1 3 4 / 2 2 7 1 0 % E t O H ; エタンスルホン酸塩 2 2 7 ; メタンスルホン酸塩 1 3 4 a ; ベ

50

ンゼンスルホン酸塩 1 3 4 a ; 硫酸塩 1 3 4 a ; 及びエタンジスルホン酸塩 2 2 7 1 0 % E t O H である。

【図 1 2】図 1 2 は、R P L 5 5 4 の遊離塩基及び塩の変形 D P I 製剤の空気力学的評価を示す。ここで、バーの左から右に、遊離塩基；エタンスルホン酸塩；p - トルエンスルホン酸塩；メタンスルホン酸塩；ベンゼンスルホン酸塩；硫酸塩；塩酸塩；エタン - 1 , 2 - ジスルホン酸塩；及び臭化水素酸塩である。

【発明の詳細な説明】

【0 0 1 7】

本発明の R P L 5 5 4 の塩は、R P L 5 5 4、及びエタン - 1 , 2 - ジスルホン酸、エタンスルホン酸、メタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、p - トルエンスルホン酸、塩酸、臭化水素酸、リン酸又は硫酸の医薬上許容される酸付加塩、又はその溶媒和物である。

10

【0 0 1 8】

通常、酸は、エタン - 1 , 2 - ジスルホン酸、エタンスルホン酸、メタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、塩酸、又は硫酸である。

【0 0 1 9】

R P L 5 5 4 の酸付加塩は、R P L 5 5 4 と酸の反応により形成する塩である。R P L 5 5 4 は、弱い塩基性化合物であり、プロトン化され、使用される酸の共役塩基と塩を形成するカチオン種を形成することができる。

【0 0 2 0】

R P L 5 5 4 の酸付加塩は、R P L 5 5 4 エタン - 1 , 2 - ジスルホン酸塩、R P L 5 5 4 エタンスルホン酸塩、R P L 5 5 4 メタンスルホン酸塩、R P L 5 5 4 ベンゼンスルホン酸塩、R P L 5 5 4 p - トルエンスルホン酸塩、R P L 5 5 4 塩酸塩、R P L 5 5 4 臭化水素酸塩、R P L 5 5 4 リン酸塩、R P L 5 5 4 硫酸塩及びそれらの溶媒和物から選ばれ得る。通常、塩は、R P L 5 5 4 エタン - 1 , 2 - ジスルホン酸塩、R P L 5 5 4 リン酸塩、R P L 5 5 4 メタンスルホン酸塩、R P L 5 5 4 塩酸塩、R P L 5 5 4 硫酸塩、及びそれらの溶媒和物から選ばれる。

20

【0 0 2 1】

塩の溶媒和物は、溶媒分子を含む固体塩である。溶媒は、任意の溶媒であってもよく、多くの場合、水又はアルコール（例えば、エタノール）である。したがって、溶媒和物は、水和物又はアルコール和物（例えば、エタノール和物）であってもよい。R P L 5 5 4 の塩は、無水物、一水和物、二水和物若しくはそれ以上の水和物、又は非化学量論的水和物であってもよい。

30

【0 0 2 2】

塩の化学量は、1 対 1 であってもよく、或いは 2 対 1 又は 1 対 2 であってもよく、或いは実際の酸対塩基の任意のその他の比であってもよい。

【0 0 2 3】

本発明の塩は、例えば、R P L 5 5 4 エタン - 1 , 2 - ジスルホン酸塩又はその溶媒和物であってもよい。R P L 5 5 4 エタン - 1 , 2 - ジスルホン酸塩の化学量は、通常 A P I : カウンターイオンが約 2 : 1 である。本発明の塩は、例えば、R P L 5 5 4 リン酸塩又はその溶媒和物であってもよい。R P L 5 5 4 リン酸塩の化学量は、通常 A P I : カウンターイオンが約 1 : 1 である。本発明の塩は、例えば、R P L 5 5 4 メタンスルホン酸塩又はその溶媒和物であってもよい。R P L 5 5 4 メタンスルホン酸塩の化学量は、通常 A P I : カウンターイオンが約 1 : 1 である。本発明の塩は、例えば、R P L 5 5 4 塩酸塩又はその溶媒和物であってもよい。R P L 5 5 4 塩酸塩の化学量は、通常 A P I : カウンターイオンが約 1 : 1 である。本発明の塩は、例えば、R P L 5 5 4 硫酸塩又はその溶媒和物であってもよい。R P L 5 5 4 硫酸塩の化学量は、通常 A P I : カウンターイオンが約 1 : 1 である。塩の化学量は、 ^1H N M R のような当業者に公知の技術によって測定することができる。

40

【0 0 2 4】

本発明の塩は、活性医薬分子の塩の任意の適切な製造方法により製造することができる。

50

通常、塩は、R P L 5 5 4 を、溶媒、例えば、ジクロロメタン又はジメチルホルムアミドに溶解し、続いて、所望の酸の溶液、例えば、酸のエタノール又はT H Fの溶液を加えることにより製造される。続いて、塩は、得られた組成物からろ過するか、或いは例えば真空下での乾燥により溶媒を除去することにより単離することができる。続いて、塩の濃縮物は、逆溶剤、例えば、メチル t e r t - ブチルエーテルで粉末化し、ろ取するか、或いは他の手段で精製単離することができる。

【 0 0 2 5 】

本発明のR P L 5 5 4の塩は、通常、約90%以上、約95%以上又は約97%以上の純度を有する。パーセンテージは、H P L C分離に基づく面積%として計算することができる。したがって、本発明は、約90%以上、約95%以上、又は約97%以上の本明細書に定義されるようなR P L 5 5 4の塩を含む固体組成物を提供する。

10

【 0 0 2 6 】

本発明の医薬組成物は、本明細書に定義されるような医薬上許容される酸付加塩、及び医薬上許容される賦形剤、担体又は希釈剤を含む。医薬上許容される賦形剤、担体又は希釈剤は、任意の適切な医薬上許容される賦形剤、担体又は希釈剤であり得る。これらは当業者によく知られている。

【 0 0 2 7 】

希釈剤は、任意の医薬上許容される希釈剤であり得る。希釈剤は通常吸入投与に適している。適切な希釈剤の例としては、水、エタノール及びグリセロールが挙げられる。希釈剤は、好ましくは水である。希釈剤は、好ましくは滅菌されている。或いは、希釈剤は、ラクトース、デキストロース、サッカロース、セルロース、トウモロコシデンプン及びバレイショデンプンのような固体希釈剤から選ばれ得る。希釈剤は、p Hを制御する緩衝剤成分を含んでいてもよい。緩衝剤は、リン酸塩、クエン酸塩又は酢酸塩に由来し得る。また、希釈剤は、塩化ナトリウムを含んでいてもよい。

20

【 0 0 2 8 】

医薬組成物は、例えば、滑沢剤（例えば、シリカ、タルク、ステアリン酸、ステアリン酸マグネシウム又はステアリン酸カルシウム、及び/又はポリエチレングリコール）；結合剤（例えば、デンプン、アラビアゴム、ゼラチン、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロース又はポリビニルピロリドン）；脱凝集剤（例えば、デンプン、アルギン酸、アルギン酸塩又はデンプングリコール酸ナトリウム）；飽和剤；色素剤；甘味料；湿潤剤（例えば、レシチン、ポリソルベート、ラウリル硫酸塩）；及び、一般的に、医薬製剤で用いられる非毒性で薬理学的に不活性な物質を含んでいてもよい。このような医薬製剤は、例えば、混合、造粒、錠剤化、糖衣、又はフィルムコーティングのプロセスを用いる既知の方法により製造することができる。

30

【 0 0 2 9 】

経口投与のための液体分散体の組成物は、シロップ剤、乳剤及び懸濁剤であり得る。シロップ剤は、担体として、例えば、サッカロース或いはグリセリン及び/又はマンニトール及び/又はソルビトールを伴うサッカロースを含んでいてもよい。

【 0 0 3 0 】

懸濁剤又は乳剤の組成物は、担体として、例えば、天然ガム、寒天、アルギン酸ナトリウム、ペクチン、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロース、又はポリビニルアルコールを含んでいてもよい。筋肉注射のための懸濁剤又は液剤は、活性化化合物と共に、医薬上許容される担体、例えば、滅菌水、オリーブ油、オレイン酸エチル、グリコール（例えば、プロピレングリコール）、及び必要に応じて、適切な量の塩酸リドカインを含んでいてもよい。

40

【 0 0 3 1 】

注射又は注入のため、或いは吸入のための液剤は、担体として、例えば、滅菌水を含んでいてもよく、或いは好ましくは滅菌等張食塩水溶液の形態であり得る。

【 0 0 3 2 】

好ましくは、本発明の組成物は、吸入投与のために製剤化される。

50

【0033】

医薬組成物は、乾燥粉末であってもよい。通常、乾燥粉末の医薬組成物は、乾燥粉末インヘラーを用いて送達される。

【0034】

通常、乾燥粉末インヘラーは、Clickhaler、Novolizer、Certi-
haler、Diskus、Multihaler、Gyrohaler (Vectur-
a Group plc)、Aerolizer、Handihaler 若しくは Tubo-
spin (PH&T S.p.A.)、Acu-Breathe ユニット (Respir-
ics, Inc.)、Conix (Cambridge Consultants Lim-
ited)、Miat Monohaler (Cyclohaler)、Eclipse
(Sanofi-Aventis)、e-フレックス (Microdrug AG)、F-
lowcaps (Hovione)、Prohaler (Valois Pharm)、
DirectHaler (Trimel BioPharma)、Single Dose
SDD (Manta technologies)、Monodose (Miat SpA)
)、TwinCaps (Hovione)、GenX (CCL)、SkyeHaler (S-
kyePharma)、EasyHaler (Orion Pharma)、又は Tai-
ifun (Akela Pharma Inc.) であり、好ましい乾燥粉末インヘラーは
、Clickhaler、Novolizer、Diskus 及び Aerolizer で
ある。

10

【0035】

通常、乾燥粉末の医薬組成物は、塩の製粉、噴霧乾燥、流動噴霧乾燥、噴霧凝結、微粒子
化、制御結晶化、共結晶化、超音波補助結晶化、凍結乾燥又は粒子降下により調製される
。通常、得られた粉末は、約 $1\text{ }\mu\text{m}$ ~ 約 $10\text{ }\mu\text{m}$ 、好ましくは、約 $3.5\text{ }\mu\text{m}$ ~ 約 $10\text{ }\mu\text{m}$
、より好ましくは、約 $4\text{ }\mu\text{m}$ ~ 約 $5.5\text{ }\mu\text{m}$ 、又は約 $5\text{ }\mu\text{m}$ ~ 約 $10\text{ }\mu\text{m}$ 、又は約 $5.5\text{ }\mu\text{m}$ ~ 約 $10\text{ }\mu\text{m}$ 、又は約 $6\text{ }\mu\text{m}$ ~ 約 $10\text{ }\mu\text{m}$ の質量中央値空気力学的直径の粒径を有
する。得られた粉末は、代わりに、約 $2\text{ }\mu\text{m}$ ~ 約 $5\text{ }\mu\text{m}$ 、例えば、 $2.5\text{ }\mu\text{m}$ ~ 約 $4.5\text{ }\mu\text{m}$ の質量中央値空気力学的直径の粒径を有してもよい。

20

【0036】

乾燥粉末医薬組成物は、(a) $50.0 \sim 99.8$ 重量%のラクトース粉末及び (b) $0.2 \sim 50.0$ 重量%の本発明の RPL554 の塩を含んでもよい。好ましい乾燥粉
末医薬組成物は、(a) $80.0 \sim 99.8$ 重量%のラクトース粉末及び (b) $0.2 \sim 20.0$ 重量%の本発明の RPL554 の塩を含む。例えば、粉末医薬組成物は、(a)
 $95.0 \sim 99.8$ 重量%のラクトース粉末及び (b) $0.2 \sim 5.0$ 重量%の本発明の
RPL554 の塩を含んでもよい。いくつかの場合では、塩の含有量は、およそ 1.0
重量%であり得る。例えば、粉末医薬組成物は、(a) $99.2 \sim 99.8$ 重量%のラ
クトース粉末及び (b) $0.2 \sim 0.8$ 重量%の本発明の RPL554 の塩を含んでも
よい。

30

【0037】

いくつかの場合では、吸入のための適切な医薬組成物は、加圧型定量噴霧式吸入剤 (pMDI) のための組成物の形態である。pMDI による投与のための医薬組成物は、(a)
本明細書に定義されているような RPL554 の塩及び (b) 1 以上の噴霧剤を含んでもよい。1 以上の噴霧剤は、通常、HFA134a 及び HFA227a のようなヒドロ
フルオロアルカンから選ばれる。製剤は、さらに、(c) エタノールを含んでもよい
。製剤は、さらに、(d) 界面活性剤、例えば、Tween80 を含んでもよい。例
えば、医薬組成物は、(a) $0.1 \sim 1.0$ 重量%の本明細書に定義されているような R
PL554 の塩、(b) $80.0 \sim 99.9$ 重量%のヒドロフルオロアルカン、(c) $0.0 \sim 19.0$ 重量%のエタノール及び (d) $0.0 \sim 0.5$ 重量%の Tween80 を
含んでもよい。ある実施形態では、医薬組成物は、(a) $0.1 \sim 0.9$ 重量%の本
明細書に定義されているような RPL554 の塩及び (b) HFA134a 及び / 又は H
FA227a の合計を含む。或いは、医薬組成物は、(a) $0.1 \sim 0.9$ 重量%の本明

40

50

細書に定義されているようなR P L 5 5 4の塩、(b) 合計 8 8 . 0 ~ 9 0 . 0 重量%のH F A 1 3 4 a 及び/又はH F A 2 2 7 a、(d) 0 . 0 5 ~ 0 . 1 5 重量%のT w e e n 8 0 及び(c) 残量にエタノールを含んでいてもよい。

【 0 0 3 8 】

いくつかの場合では、医薬組成物は水溶液である。したがって、医薬組成物は、通常、水溶液中に本発明の医薬上許容される塩を溶解することにより得られる。塩の溶解には、固体形態の塩を水溶液に加え、得られた混合物を攪拌し、少なくとも一部の塩を溶解することが含まれてもよい。得られた混合物は、溶解度向上のために加熱してもよい。また、p Hを適切に調整してもよい。

【 0 0 3 9 】

水溶液の組成物中の本発明の塩の濃度は、通常、約 0 . 1 m g / m l 以上、約 1 m g / m l 以上又は約 2 . 5 m g / m l 以上である。例えば、水溶液中の本発明の塩の濃度は、通常、約 1 m g / m l ~ 約 5 0 m g / m l、例えば、約 2 m g / m l ~ 2 5 m g / m l 又は約 2 . 5 m g / m l ~ 1 0 m g / m l である。

【 0 0 4 0 】

通常、水溶液の医薬組成物は、さらに、1以上の緩衝剤を含む。緩衝剤は医薬上許容される緩衝剤である。したがって、水溶液は緩衝水溶液であり得る。医薬組成物は、例えば、緩衝水溶液中に塩を溶解することにより得ることができる。緩衝剤は、医薬組成物、例えば、吸入に適した医薬発明中での使用に適した任意の緩衝剤であり得る。1以上の緩衝剤は、通常、酢酸緩衝剤、クエン酸緩衝剤又はリン酸緩衝剤から選ばれる。緩衝水溶液は、通常、リン酸緩衝剤及び/又はクエン酸緩衝剤（例えば、シトロリン酸緩衝剤）を含む。クエン酸緩衝剤としては、クエン酸、クエン酸ナトリウム及びそれらの混合物が挙げられる。リン酸緩衝剤としては、リン酸、リン酸一ナトリウム、二塩基性リン酸ナトリウム及びそれらの混合物が挙げられる。酢酸緩衝剤としては、酢酸及び酢酸の塩が挙げられる。

【 0 0 4 1 】

R P L 5 5 4の塩の非存在下での緩衝水溶液のp Hは、通常、約 3 . 0 ~ 約 7 . 0、例えば、約 4 . 0 ~ 約 5 . 0 である。緩衝水溶液に塩を溶解することによる医薬組成物の形成により、緩衝液のp Hが変化し得る。例えば、p Hは塩の溶解により減少し得る。しかしながら、この変化は通常小さい。

【 0 0 4 2 】

水溶液（例えば、緩衝水溶液）中に塩を溶解することにより得られる医薬組成物のp Hは、通常、約 2 . 0 以上である。例えば、医薬組成物のp Hは、約 3 . 0 以上又は約 4 . 0 以上であり得る。組成物のp Hは、約 3 . 0 ~ 約 6 . 0、又は約 3 . 5 ~ 約 5 . 5 であり得る。

【 0 0 4 3 】

水溶液は、食塩水溶液又は緩衝食塩水溶液であり得る。水溶液は、約 0 . 1 ~ 約 2 . 0 w / w %の食塩（即ち、N a C l）を含んでいてもよい。

【 0 0 4 4 】

医薬製剤は、本明細書に記載されているようなR P L 5 5 4の塩の粒子の希釈液及び懸濁液を含む吸入投与に適した液体医薬組成物であり得る。R P L 5 5 4の塩の懸濁粒子は、通常、約 0 . 2 μ m ~ 約 5 μ mのD v 5 0（体積メディアン粒径）値の粒径分布を有する。D v 5 0は、レーザー回析を用いて測定されたものであり得る。希釈液は、水又はヒドロフルオロアルカンであってもよい。液体医薬組成物は、さらに、緩衝剤、エタノールのような溶媒又はT w e e n（例えば、T w e e n 2 0 又は8 0）のような界面活性剤を含んでいてもよい。

【 0 0 4 5 】

また、本発明は、水溶液である本発明の医薬組成物を含むネブライザーを提供する。ネブライザーは、通常、医薬組成物で充填される。ネブライザーは、通常、約 1 m L ~ 約 2 0 0 m L、より典型的には、1 m L ~ 2 0 m Lの液体医薬組成物を含む。

【 0 0 4 6 】

10

20

30

40

50

ネブライザーは、液体医薬組成物を対象の気道に吸入されるエアロゾルにエアロゾル化するために、圧縮空気を使用する。ネブライザーの例としては、ソフトミストネブライザー、振動メッシュネブライザー、ジェットネブライザー及び超音波ネブライザーが挙げられる。適切なネブライザーデバイスとしては、Philips I-neb™ (Philips)、Pari LC Sprint (Pari GmbH)、AERx RTMPulmonary Delivery System (Aradigm Corp.) 及び Pari LC Plus Reusable Nebulizer (Pari GmbH) が挙げられる。

【0047】

ネブライザーは、通常、RPL554の塩の溶液を、約1～約10 μ m、好ましくは約3 μ m～約10 μ m、より好ましくは約4 μ m～約5.5 μ m、又は約5 μ m～約10 μ m、又は約5.5 μ m～約10 μ m又は約6 μ m～約10 μ mのMMADを伴う粒子を含むエアロゾルにエアロゾル化することができる。MMADは、約2 μ m～約5 μ m、例えば、2.5 μ m～約4.5 μ mであり得る。

10

【0048】

また、本発明は、ヒト又は動物体の治療に使用するための本明細書に定義されているような医薬上許容される酸付加塩を提供する。また、本発明は、ヒト又は動物体の治療に使用するための本明細書に定義されているような医薬配合物を提供する。

【0049】

ヒト又は動物体の治療は、通常、喘息、アレルギー性喘息、花粉症、アレルギー性鼻炎、気管支炎、肺気腫、気管支拡張症、慢性閉塞性肺疾患 (COPD)、成人性呼吸窮迫症候群 (ARDS)、ステロイド耐性喘息、重症喘息、小児喘息、嚢胞性線維症、肺線維症 (lung fibrosis)、肺線維症 (pulmonary fibrosis)、間質性肺疾患、皮膚障害、アトピー性皮膚炎、乾癬、眼炎症、脳虚血、炎症性疾患及び自己免疫疾患から選ばれる疾患又は状態の治療又は予防を含む。

20

【0050】

多くの場合、疾患又は状態は、喘息又は慢性閉塞性肺疾患 (COPD) である。

【0051】

また、本発明は、対象における本明細書に定義されているような疾患又は状態の治療又は予防方法であって、有効量の本発明の医薬上許容される酸付加塩を上記対象に投与することを含む方法を提供する。

30

【0052】

RPL554の有効量は、通常、各投与で約0.001mg/kg～50mg/kgである。RPL554の有効量は、多くの場合、各投与で約0.001mg/kg～1mg/kgである。例えば、有効量は、約0.01mg～約500mg、又は約0.01mg～100mg、好ましくは、約0.1mg～約6mgの投与量であり得る。RPL554の各投与量は、0.05mg～5mg又は0.5mg～3mg、例えば、約1.5mgであり得る。投与量を毎日投与してもよい。例えば、RPL554の投与量は、0.001mg/kg/日～50mg/kg/日、通常、0.001mg/kg/日～10mg/kg/日又は0.01mg/kg/日～1mg/kg/日であり得る。これらの投与量は、通常、インヘラーに充填される名目上の投与量である。液体医薬組成物は、1日に1回、2回又は3回投与してもよいし、又は週に2回、3回、4回又は5回投与してもよい。組成物は、患者が必要とする頻度で投与され得る。

40

【0053】

また、本発明は、本明細書に定義されているような疾患又は状態の治療のための医薬の製造における本明細書に定義されているような医薬上許容される酸付加塩の使用を提供する。

【0054】

以下の実施例により本発明を説明する。

【実施例】

【0055】

50

初期研究

機器及び方法

自動カウンターイオンスクリーニング - Z i n s s e r コントロールソフトウェアバージョン 7 . 0 . 9 を用いる Z i n s s e r A n a l y t i c が提供する C r i s s y プラットホームを用いて A P I のカウンターイオンスクリーニングを行った。C r i s s y プラットホームを用いて、A P I、カウンターイオン及び溶媒のストック溶液を配合し、ボルテックス振盪による混合物の攪拌を行った。室温で行われるスクリーンのために、サンプル管の 48 ポジションのブロックフォーマットを利用した。サンプル管に含まれる目的の固体をろ取し、真空下室温で乾燥した。

【 0 0 5 6 】

10

H P L C 条件 - H P L C による R P L 5 5 4 の化学純度

希釈液調製 - 脱イオン水：アセトニトリル (1 : 1)。使用前に、両方を十分に混合し、室温にした。

【 0 0 5 7 】

ブランク溶液 - ブランク溶液は希釈液からなる。

【 0 0 5 8 】

サンプル溶液調製 - およそ 7 m g のサンプルを 1 4 m l のガラス製バイアルに正確に秤量し、およそ 1 4 m l の希釈液に溶解し、十分に混合し、これらの溶液を注射に使用した。

【 0 0 5 9 】

カラム : X - B r i d g e P h e n y l 1 5 0 x 4 . 6 m m、粒径 3 . 5 μ m (E x - W a t e r s、品番 1 8 6 0 0 3 3 5 5) ; 移動相 : A - 精製水 : トリフルオロ酢酸 (1 0 0 : 0 . 1) ; B - アセトニトリル : トリフルオロ酢酸 (1 0 0 : 0 . 1) ; 流速 : 1 . 0 m l . 分⁻¹ ; 注射量 : 1 0 μ l ; 検出 : U V @ 2 5 4 n m ; カラム温度 : 3 0 ; ポストラン : 5 分。

20

【 0 0 6 0 】

【表 A】

グラジエント:	時間(分)	%A	%B
	0	95	5
	2	95	5
	15	5	95
	20	5	95
	22	95	5

30

【 0 0 6 1 】

R P L 5 5 4 の予想保持時間 : 1 1 . 3 分

【 0 0 6 2 】

溶液プロトン N M R - 自動サンブラを備えた J E O L E X 2 7 0 M H z 分光計を用いて ¹ H N M R スペクトルを収集した。サンプルを分析のために適切な重水素化溶媒に溶解した。D e l t a N M R プロセッシング及び C o n t r o l ソフトウェアバージョン 4 . 3 を使用してデータを得た。

40

【 0 0 6 3 】

粉末 X 線回折 (X R P D) - C u K 線 (4 5 k V、4 0 m A)、 - ゴニオメータ、集束ミラー、発散スリット (1 / 2 ' ')、入射ビーム及び発散ビームの両方のソーラスリット (4 m m) 及び P I X c e l 検出器を用いて、P A N a l y t i c a l 回折計で、粉末 X 線回折パターンを収集した。データ収集のために使用したソフトウェアは、X ' P e r t D a t a C o l l e c t o r (バージョン 2 . 2 f) であった。データは、X ' P e r t D a t a V i e w e r (バージョン 1 . 2 d) を用いて表示した。P A N a l y t i c a l X ' P e r t P R O を用いて、周囲条件下、透過ホイルサンプルステージ (ポリイミド - カプトン、厚さ 1 2 . 7 μ m のフィルム) を介して周囲条件下で X R P D パタ

50

ーンを得た。データ収集範囲は $2.994 - 35.2$ で、連続スキャン速度の $0.202004^{\circ}\text{s}^{-1}$ であった。

【0064】

示差走査熱量測定 (DSC) - 45 ポジションのサンプルホルダーを備えた Perkin Elmer Pyris 4000 DSC で DSC データを収集した。認証されたインジウムを用いてエネルギー及び温度のキャリブレーションについて機器を確認した。 $0.5 \sim 3.0\text{mg}$ の所定量のサンプルを、ピンホール付きアルミニウムパンに入れ、 20°分^{-1} 、 $30 \sim 350$ で加熱し或いは実験の指示に従って変化させた。サンプル全体で $60\text{ml}^{\circ}\text{分}^{-1}$ で乾燥窒素のパージを維持した。Pyris ソフトウェア v9.0.1.0203 を用いて、機器の制御、データ取得及び分析を行った。

10

【0065】

熱重量分析 (TGA) - 20 ポジションの自動サンプルラを備えた Perkin Elmer Pyris 1 TGA で TGA データを収集した。認証された重し並びに温度に関して認証された Alumel 及び Perkallloy を用いて機器を校正した。 $1 \sim 5\text{mg}$ の所定量のサンプルを、予め計量したアルミニウムつぼに充填し、 20°分^{-1} 、室温 ~ 400 で加熱した。サンプル全体で $20\text{ml}^{\circ}\text{分}^{-1}$ で窒素のパージを維持した。Pyris ソフトウェア v9.0.1.0203 を用いて、機器の制御、データ取得及び分析を行った。

【0066】

カールフィッシャー滴定による含水量 - およそ 0.2g のサンプルを、差により正確に秤量し、カールフィッシャー容器に移した。続いて、サンプルを、600 秒間混合し、完全に溶解したことを確認し、次いで、Hydranal Composite 5 に対して滴定した。2 回分析を行った。

20

【0067】

蒸気収着重量測定 - IGAsorp Systems ソフトウェア V6.50.48 で制御された Hidden Isochema 水分収着分析装置 (モデル IGAsorp) を用いて等温収着曲線を得た。機器の制御によりサンプルを一定の温度 (25°) に維持した。総流量 $250\text{ml}^{\circ}\text{分}^{-1}$ で乾いた窒素及び湿った窒素の流れを混合することにより湿度を制御した。3つの校正された Rotronic 塩の溶液 ($10 \sim 50 \sim 88\%$) を測定することによって相対湿度容量について機器を確認した。微量天秤により湿度の関数としてサンプルの重量変化をモニターした (精度 $\pm 0.005\text{mg}$)。風袋を測定したメッシュステンレススチールバスケットに周囲条件下で所定量のサンプルを入れた。完全な実験サイクルは、通常、一定の温度 (25°) 及び $0 \sim 90\%$ の範囲にわたる $10\% \text{RH}$ 間隔 (各湿度レベルについて 60 分) での 3 回のスキャン (収着、脱着及び収着) からなった。このタイプの実験は、明確に決められた一連の湿度範囲にわたる湿気を吸収する (又はしない) 試験サンプルの能力を実証するだろう。

30

【0068】

実施例 1 - RPL 554 の塩の調製及び評価

表 1 に示される 1 又は 4 当量のカウンターイオンを含む溶液を、 $17.1\text{mg}/\text{ml}$ の濃度の 23.4ml の RPL 554 のジクロロメタン (DCM) 攪拌溶液に、 40° の温度で加え、室温に冷却した。カウンターの溶液の組成を表 2 に示す。

40

【0069】

【表 1】

酸カウンターイオン	当量
塩酸水	4
硫酸	1
リン酸	1
臭化水素酸	4
ナフタレン-1,5-ジスルホン酸	4
エタン-1,2-ジスルホン酸	1
エタンスルホン酸	1
p-トルエンスルホン酸	4
メタンスルホン酸	4
ベンゼンスルホン酸	4
2-ナフタレンスルホン酸	1 及び 4
無水塩酸	4
1-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸	1 及び 4
ピロメリト酸	1 及び 4

10

20

【0070】

【表 2】

酸	溶媒	濃度 M	使用量 1 当量の μL	使用量 4 当量の μL
塩酸	エタノール	2	12.5	50
硫酸	エタノール	2	12.5	50
リン酸	エタノール	2	12.5	50
臭化水素酸	エタノール	2	12.5	50
ナフタレン-1,5-ジスルホン酸	THF	1	25	100
エタン-1,2-ジスルホン酸	エタノール	2	12.5	50
エタンスルホン酸	THF	2	12.5	50
p-トルエンスルホン酸	エタノール	2	12.5	50
メタンスルホン酸	THF	2	12.5	50
ベンゼンスルホン酸	エタノール	2	12.5	50
2-ナフタレンスルホン酸	THF	1	25	100

30

【0071】

リン酸、ナフタレン - 1 , 5 - ジスルホン酸及びエタン - 1 , 2 - ジスルホン酸による固体の形成が観察された。反応溶媒の量を窒素流により約 2 ~ 5 m l に減少させた。次いで、8 m l の tert - ブチルメチルエーテル (T B M E) を混合物に加え、析出物及び粘性固体を得、終夜攪拌した。いくつかの場合では、これにより、懸濁液を得、粘性固体及び混合物に戻して、さらに粉末化して D C M 及び T B M E で処理して懸濁液を得た。混合物をさらに 4 時間攪拌し、その後、ろ過により固体を単離し、続いて真空下 4 5 で乾燥した。

40

【0072】

単離された固体の化学純度を、H P L C で測定し、表 3 に詳細を示す。硫酸、エタンスルホン酸、メタンスルホン酸、1 - ヒドロキシ - 2 - ナフトエ酸、ピロメリト酸及び塩酸 (無水) を用いて単離された固体は、わずかに低い化学純度を有していた。用いたカウンタ

50

ーイオン及び手順によっては R P L 5 5 4 の有意な分解はなかった。

【 0 0 7 3 】

【 表 3 】

表 3

酸カウンターイオン	当量	固体の色	化学純度 面積%	ろ液の色	RPL554 の共鳴における ¹ H NMR シフト	¹ H NMR API 対カウンターイオンの 化学量
硫酸	1	オフ白色	95.15	無色	Yes、塩	N/A
リン酸	1	薄黄色	98.43	黄色	No	N/A
塩酸水	4	白色	98.56	褐色	Yes、塩	N/A
エタンスルホン酸	1	白色	97.94	褐色	Yes、塩	1:1
臭化水素酸	4	白色	98.15	橙色	Yes、塩	N/A
メタンスルホン酸	4	白色	97.92	無色	Yes、塩	1:2
ナフタレン-1,5-ジスルホン酸	4	白色	99.08	琥珀色	Yes、塩	1:1
エタン-1,2-ジスルホン酸	1	白色	98.09	褐色	Yes、塩	1:1 (概算)
p-トルエンスルホン酸	4	白色	98.37	無色	Yes、塩	1:2
ベンゼンスルホン酸	4	淡黄色	98.06	無色	Yes、塩	1:2
無水塩酸	4	薄黄色	96.62	無色	Yes、塩	N/A
2-ナフタレンスルホン酸	1	白色	98.99	淡黄色	Yes、塩	1:1
2-ナフタレンスルホン酸	4	オフ白色	98.31	無色	Yes、塩	1:2
1-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸	1	黄色			No	1:0.5
1-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸	4	黄色			わずかなシフト	1:1.35
ピロメリト酸	1	淡黄色	96.32		わずかなシフト	1:0.92
ピロメリト酸	4	淡黄色	95.81		わずかなシフト	1:1.47

【 0 0 7 4 】

固体の ¹H NMR スペクトルは、リン酸、1 - ヒドロキシ - 2 - ナフトエ酸及びピロメリト酸を除いて塩の形成と一致する R P L 5 5 4 の共鳴のシフトを示した。スルホン酸のカウンターイオンから誘導される塩の化学量は、R P L 5 5 4 対カウンターイオンが 1 : 1 又は 1 : 2 の何れかであることが見出された。1 - ヒドロキシ - 2 - ナフトエ酸及びピロメリト酸については、化学量に変化し、塩形成が明確ではなかった。

【 0 0 7 5 】

単離された固体の X R P D パターン (図 1、図 2 及び図 3) により、R P L 5 5 4 の改変型が適切な酸カウンターイオン当量で生成し、さまざまな結晶化度を有し、1 当量の 1 - ヒドロキシ - 2 - ナフトエ酸から単離された固体を除いて R P L 5 5 4 の遊離塩基に類似しないということが示された。1 当量の 1 - ヒドロキシ - 2 - ナフトエ酸から単離された固体の X R P D パターンは、R P L 5 5 4 に共通する反射をさらなる反射と共に含んでおり、この固体がおそらく P L 5 5 4 と 1 - ヒドロキシ - 2 - ナフトエ酸の固体混合物であろうということを示していた。得られた X R P D パターンを表 4 に詳細に示す。結晶質の X R P D パターンがほとんどの塩で観察された。

【 0 0 7 6 】

【 表 4 】

酸カウンターイオン	化学量論 RPL554 対カウンターイオン	形態
硫酸	未測定	結晶質
リン酸	未測定	結晶質
塩酸水	未測定	結晶質
エタンスルホン酸	1:1	結晶質
臭化水素酸	未測定	結晶質
メタンスルホン酸	1:2	結晶質
ナフタレン-1,5-ジスルホン酸	1:1	弱い結晶質
エタン-1,2-ジスルホン酸	1:1 (概算)	結晶質
p-トルエンスルホン酸	1:2	結晶質
ベンゼンスルホン酸	1:2	結晶質
無水塩酸	未測定	非常に弱い結晶質
2-ナフタレンスルホン酸 (1 当量)	1:1	結晶質
2-ナフタレンスルホン酸 (4 当量)	1:2	結晶質
1-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸 (1 当量)	1:0.5	結晶質-可能混合物
1-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸 (4 当量)	1:1.35	結晶質
ピロメリト酸 (1 当量)	1:0.92	非常に弱い結晶質
ピロメリト酸 (4 当量)	1:1.47	結晶質

10

20

【 0 0 7 7 】

塩候補の物理化学的特性を測定した。これらを表 5 に示す。

【 0 0 7 8 】

30

40

50

【表 5】

表 5

カウんターイオン	HPLC による RPL554 の CR (面積%)	NMR、又は IC による API：カ ウんターイオンの化学量	固体形態 XRPD/NMR	DSC (°C)	TGA、質量減少 (%)	水に対する RPL554 の 溶解度 (mg/ml)	水性懸濁液/水 溶液の pH	水性懸濁液/水 溶液の pH
硫酸エタノール溶液	98.82	ND	結晶質 塊形成	エンドブロード、130 - 形態変化? エンド、193.5、溶解	2.37% 約 85℃まで - 水ロス	2.52	3.28 懸濁液	変化なし
硫酸エタノール溶液 (繰り返し)	ND	ND ¹	結晶質 塊形成	ND	NR	ND	ND	ND
硫酸水溶液	ND	1:≒1 (0.84)	結晶質 塊形成	エンドブロード、122 - 形態変化? エンド、185 - 形態変化/溶解? エンド、264 - 溶解?	0.53% 約 55℃まで - 水ロス 3.45% 約 185℃でエンドと一 致 - 脱水	12.17	1.87 懸濁液	変化なし
リン酸	99.35	ND	結晶質 塊形成 (推定)	エンド、148.9、溶解	2.83% エンドと一致	>22.52	3.08 溶液	不明 固体回 収なし
リン酸 (繰り返し)	ND	1:≒1 (0.77)	結晶質 塊形成 (推定)	エンド、145.8、溶解	NR	ND	ND	ND
塩酸水ソース	98.48	ND	結晶質 塊形成	エンド、156.6、溶解	4.17% 約 125℃まで - 水ロ ス	4.95	3.84 懸濁液	変化なし
塩酸水ソース (繰り返し)	ND	1:≒1 (0.90)	結晶質 塊形成	エンド、156.8、溶解	NR	ND	ND	ND
エタンスルホン酸	98.79	1:1	結晶質 塊形成	エンドブロード、108.9 - 形態変化? エンド、219.2、溶解	1.54% 約 50℃まで - 水ロス	>21.69	3.04 溶液	不明 固体回 収なし
エタンスルホン酸 (繰り返し)	ND	1:1	結晶質 塊形成	エンドブロード、86.4 - 形態変化? エンド、219.6、溶解	NR	ND	ND	ND
HBr	97.90	ND	結晶質 塊形成	エンド、174.1、溶解	3.74% 約 135℃まで - 水ロ ス	3.66	3.20 懸濁液	変化なし
メタンスルホン酸	97.37	1:1	結晶質 塊形成	エンド、219.7、溶解	0.5% 約 65℃まで - 水ロス	21.15	2.69 溶液	不明 固体回 収なし
ナフタレン-1,5-ジスルホ ン酸	99.29	1:0.5	結晶質 塊形成	エンド、266.2、溶解	2.12% 約 110℃まで - 水ロ ス	0.00	3.37 懸濁液	変化なし
エタン-1,2-ジスルホン酸	98.91	1:0.5	結晶質 塊形成	エンド、216.8、溶解	1.95% 約 120℃まで - 水ロス	1.89	3.72 懸濁液	変化なし
p-トルエンスルホン酸	96.86	1:1	結晶質 塊形成	エンド、207.5、溶解	1.28% 約 85℃まで - 水ロス	0.70	3.40 懸濁液	変化なし
ベンゼンスルホン酸	97.61	1:1	結晶質 塊形成	エンド、161.6、溶解	2.43% 約 140℃まで - 水ロス	1.47	3.43 懸濁液	変化なし
塩酸水ソース	96.98	ND	結晶質 塊形成	エンド、154.7、溶解	3.45% 約 120℃まで - 水ロス	5.16	3.68 懸濁液	変化なし
ナフタレン-2-スルホン酸	95.88	1:1	結晶質 塊形成	エンド、232.5、溶解	エンド後質量減少	0.09	4.74 懸濁液	変化なし
1-ヒドロキシ-2-ナフトエ 酸	97.80	1:≒1.1	低結晶質 塊形成なし	2つのエンド、166.5 及び 180.6 - 種 混合物	NR	0.01	3.71 懸濁液	変化なし
ピロメリト酸	97.49	1:≒1.25	低結晶質 塊形成	2つのエンド、162.7 及び 199.2 - 種 混合物	NR	0.17	2.27 懸濁液	わずかに変 化

ND - 未測定, NR - 記録なし

【0079】

実施例 2 - 25 での食塩水溶液、水及び緩衝水溶液に対する R P L 5 5 4 の塩の溶解度
R P L 5 5 4 の塩の性質を以下の条件下で試験した：

【0080】

- 25 の 0 . 9 % w / w の食塩水中で p H 3 . 5 に緩衝されたリン酸塩
- 25 の 0 . 9 % w / w の食塩水中で p H 4 . 5 に緩衝された酢酸塩
- 25 の 0 . 9 % w / w の食塩水中で p H 4 . 5 に緩衝されたシトロリン酸塩
- 25 の 0 . 9 % w / w の食塩水中で p H 6 . 5 に緩衝されたリン酸塩
- 25 の 0 . 7、0 . 9 及び 1 . 1 % w / w の食塩水

10

20

30

40

50

25 の脱イオン水

【0081】

RPL554の塩及びRPL554（およそ50mg）を、1mlの様々な水媒体中で特定の温度で24時間攪拌しながら懸濁した。固体を単離し、真空下45で乾燥した。保持したる液をHPLCで試験した。

【0082】

さらなるRPL554のメタンスルホン酸塩（およそ50mg）を、25及び37.5で水混合物に加え、懸濁液を得た。他のあらゆる場合において、懸濁液が得られた。

【0083】

RPL554の溶解度を、一点校正を用いたHPLCで測定した。塩ではなくRPL554として示された。用いた様々な条件について表6及び表7に詳細に示す。

【0084】

【表6】

表6	25℃での食塩水及び水に対する RPL554 の溶解度(mg/ml)			
	0.7 w/w% 食塩水	0.9 w/w% 食塩水	1.1 w/w% 食塩水	水
カウンターイオン				
リン酸	7.22	4.78	2.86	41.84
メタンスルホン酸	5.01	3.73	2.52	44.52
エタン-1,2-ジスルホン酸	4.79	4.12	1.03	3.69
塩酸	2.85	1.93	2.48	12.66
硫酸	2.78	1.94	1.35	12.11
ベンゼンスルホン酸	2.27	2.74	2.94	2.57
エタンスルホン酸	1.62	0.79	1.27	21.37
臭化水素酸	0.95	0.82	0.66	3.43
p-トルエンスルホン酸	0.83	0.62	0.8	1.01
ナフタレン-2-スルホン酸	0.17	0.09	0.09	0.13
ナフタレン-1,5-ジスルホン酸	0.01	0	0.01	0.01
なし(RPL554)	0	0	0	0

【0085】

【表7 - 1】

表7	25℃での緩衝液に対する RPL554 の溶解度(mg/ml)			
	pH 3.5 リン酸塩	pH 4.5 酢酸塩	pH 4.5 シトロリン酸塩	pH 6.5 リン酸塩
カウンターイオン				
エタン-1,2-ジスルホン酸	2.66	1.47	4.14	-
リン酸	1.84	1.67	3.29	0.02
メタンスルホン酸	1.72	2.01	3.10	0.02
塩酸	1.07	1.38	1.93	0.02
硫酸	1.22	0.42	1.75	0.00
ベンゼンスルホン酸	1.10	1.39	1.57	0.00
エタンスルホン酸	1.18	0.46	1.55	0.00
臭化水素酸	0.33	0.71	0.75	0.00
p-トルエンスルホン酸	0.18	0.77	0.61	0.00
ナフタレン-2-スルホン酸	0.08	0.41	0.28	0.00
なし(RPL554)	0.30	0.24	0.22	0.00
ナフタレン-1,5-ジスルホン酸	0.00	0.01	0.00	0.00

【0086】

RPL554のエタン - 1 , 2 - ジスルホン酸塩、リン酸塩、メタンスルホン酸塩、塩酸

塩、硫酸塩、ベンゼンスルホン酸塩及びエタンスルホン酸塩は、特に好ましい溶解度特性を有するということが示された。特に、 $\text{pH} 4.5$ のシトロリン酸緩衝液に対する溶解度は、他の塩の溶液と比較して低い酸性度を伴うより高濃度の製剤の製造を可能にする。

【0087】

実施例 3 - 湿度に対する熱的操作及び性質

水和の性質及び塩のロバスト性 / 多型性の予備試験を、熱重量分析 (TGA) 及び蒸気収着重量測定 (GVS) を用いる熱的操作によって評価した。

【0088】

RPL554 の塩酸塩は、形態の変化なしに周囲条件下で可逆的な吸水を示し、塩の安定形態である可能性が高い。融解吸熱下の塩の熱的操作によって形態変化は検出されなかった。

10

【0089】

湿度に対する塩酸塩の性質を、図 4 で示すように、脱着、吸着及び脱着のサイクルについて GVS で試験した。塩酸塩は、ヒステリシスのない湿度範囲で可逆的な吸着及び脱着を示した。塩は、湿度 0 % で無水物であり、最大湿度 90 % で可逆的に水 (最大 2 モル当量) を吸着した。湿度 0 % (A)、湿度 90 % (B) 及びインプット型 (C) での RPL554 の塩酸塩の XRPD パターンを図 5 に示し、それは湿度範囲全体の形態安定性及び可逆的な湿潤 / 水和を示す。

【0090】

脱着、吸着及び脱着のサイクル全体の GVS による湿度に対するビス RPL554 エタン - 1, 2 - ジスルホン酸塩の性質を図 6 に示す。エタン - 1, 2 - ジスルホン酸塩は、ヒステリシスのない湿度範囲で可逆的な吸着及び脱着を示した。塩は、湿度 0 % で無水物であり、最大湿度 90 % で水 (最大 5 モル当量) を吸着した。湿度 50 % での吸水は、4 モル当量に相当し、続いて、湿度 90 % で 5 モル当量に変わった。

20

【0091】

湿度 0 及び 90 % でのビス RPL554 エタン - 1, 2 - ジスルホン酸塩の XRPD パターン (図 7) は、塩のインプット型と同じであり、湿度範囲及び可逆的な湿潤 / 水和に対する形態安定性を証明した。

【0092】

熱及び湿度試験の結果のまとめを表 7 に示す。

30

【0093】

40

50

【表 7 - 2】

表 7

カウンターイオン	等温 105℃ 2時間	熱サイクル	湿度に対する性質	コメント
ヒドロ硫酸塩	形態変化又は有意な重さの減少はない	122 及び 185℃での XRPD の吸熱の形態変化がなくなる。219℃で新たに吸熱する。	湿度 30%以上で四水和物、湿度 0%で無水物 湿度 0~30%でヒステリシス及び可逆的 無水物及び四水和物で形態変化	等温データと熱サイクルデータの相違-異なる形態の性質 熱及び湿度により誘導される形態の変化は相互相関のない条件に依存する 湿度 30%以上での四水和物形態安定性
リン酸塩	形態変化- XRPD によると RPL554 に類似しているが DSC では類似していない (分解の可能性)	形態の変化- XRPD によると RPL554 に類似しているが DSC では類似しない (分解の可能性)	ヒステリシスのない湿度範囲での可逆的な吸着及び脱着 湿潤物を除いて塩の水和はない 極端な湿度での形態安定性	新しい熱特性の発熱及び吸熱が TGA による質量損失と同時に起こる 湿度が変化しても形態の変化のない満足 のいく性質
塩酸塩	可逆的な吸水 形態変化なし	安定した形態	可逆性を伴って湿度 0%で無水物、湿度 90%以下で二水和物 ヒステリシスなし 極端な湿度での形態安定性	可逆的な吸水、熱又は湿度の条件下で形態変化なし 塩の可逆的な水和
エタンスルホン酸塩	変動する吸水はない 形態変化なし	XRPD では形態変化なし 86℃での吸熱がなくなる 主な吸熱に変化なし	湿度 40%以上で一水和物、湿度 0%で無水物 湿度 0~40%でヒステリシス及び可逆的 無水物及び一水和物で形態変化	等温データ及び熱サイクルデータの相違-異なる形態の性質 湿度 40%以上での一水和物形態安定性
メタンスルホン酸塩	変動する吸水はない 形態変化なし	行わず	湿度範囲全体にわたる可逆的な吸着及び脱着 湿度 30~70%でヒステリシス 湿度 70%で二水和物、湿度 90%で四水和物に吸着 湿度 70%で二水和物、湿度 40%で一水和物、湿度 0%で無水物に脱着して変化 水和物及び四水和物で形態変化	熱的条件下で吸水の変化又は形態の変化はない 湿度 30~70%でヒステリシス及び水和の変化
エタン-1,2-ジスルホン酸塩	形態変化なし	行わず	ヒステリシスを伴わない湿度範囲全体にわたる可逆的な吸着及び脱着 湿度 0%で無水物、湿度 50%で四水和物、湿度 90%で最大五水和物 極端な湿度での形態安定性及び可逆的な水和	形態の変化の証拠なし ヒステリシスのない湿度範囲全体にわたる可逆的な吸着及び脱着 塩の「緩い」非形式的な水和物
ベンゼンスルホン酸塩	形態変化なし	行わず	行わず	形態変化の証拠なし

10

20

【 0 0 9 4 】

結論

様々な R P L 5 5 4 の塩の溶解度及び安定性に関する上記の試験に基づいて、エタン - 1 , 2 - ジスルホン酸塩、リン酸塩、メタンスルホン酸塩、塩酸塩、硫酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、エタンスルホン酸塩、臭化水素酸塩及び p - トルエンスルホン酸塩が、好ましい R P L 5 5 4 の塩であるということが見出された。エタン - 1 , 2 - ジスルホン酸塩、リン酸塩、メタンスルホン酸塩、塩酸塩、硫酸塩、ベンゼンスルホン酸塩及びエタンスルホン酸塩が、特に好ましい。エタン - 1 , 2 - ジスルホン酸塩及び塩酸塩が、異なる湿度での溶解度及び熱的安定性で最も好ましい性質を有することが見出された。

30

【 0 0 9 5 】

さらなる開発

実施例 4 - R P L 5 5 4 の塩の形成及び特性

R P L 5 5 4 の塩の形成

選択された酸を用いて、3 セット 3 回、それらを 2 M の濃度に溶媒に溶解し、表 8 に示される D C M 中の 7 g の塩基に当量を加えて塩の形成を行った (塩形成に用いられる 2 M の酸の関連当量に基づく体積及び m m o l 計算値の酸を D C M 中の 7 g の R P L 5 5 4 に加えたものを示す)。

40

【 0 0 9 6 】

50

【表 8】

表 8				
酸カウンターイオン	カウンターイオンのための溶媒	当量	体積 (ml)	酸 mmol
塩酸	EtOH、2M	4	29.32	58.63
リン酸	EtOH、2M	1	7.33	14.66
メタンスルホン酸	EtOH、2M	4	29.32	58.63
エタンスルホン酸	THF、2M	1	7.33	14.66
エタン-1,2-ジスルホン酸	EtOH、2M	1	7.33	14.66
硫酸	EtOH、2M	1	7.33	14.66
ベンゼンスルホン酸	EtOH、2M	4	29.32	58.63
p-トルエンスルホン酸	EtOH、2M	4	29.32	58.63
臭化水素酸	EtOH、2M	4	29.32	58.63

【0097】

シリーズ1

6.995、7.005及び7.004 gのRPL554を、最初の3つのフラスコに秤量し、410 mlのDCMに加え（DCMに対する塩基の溶解度が17 mg/mlであることに基づく）、40℃に加熱し、1時間攪拌し、その後、エタンスルホン酸、エタン-1,2-ジスルホン酸及び硫酸をそれぞれ計画的に加えた。しかしながら、塩基は、所定量のDCMに溶解しなかった。追加の50 mlを各フラスコに加え、温度で30分間攪拌したが、溶解せず、その後、さらに50 mlのDCMを加え、攪拌し、透明の黄色溶液を得た。エタンスルホン酸及び硫酸で観察される透明溶液の色が明るくなった一方で、エタン-1,2-ジスルホン酸は、添加時に白色析出物を生成し、3種の酸を適切なフラスコに加えた。3つの溶液をそのまま室温で終夜攪拌した。

【0098】

エタンスルホン酸塩の透明淡黄色溶液を約20 mlに減少させ、透明黄色溶液を製造し、結晶化し、移動固体を得た。TBME（tert-ブチルメチルエーテル、30 ml）を加え、懸濁液をおよそ1時間半攪拌し、その後、25 mlのTBMEケーキを単離し、洗浄し、淡黄色固体を得た。

【0099】

エタン-1,2-ジスルホン酸塩の白色の薄いスラリー懸濁液を、およそ100 mlに減少させ、スラリーを濃縮した後、25 mlのTBMEケーキを単離し、洗浄し、オフ白色固体を得た。

【0100】

硫酸塩の透明の淡黄色溶液を、約20 mlに減少させ、透明の暗黄色溶液を製造した。TBME（50 ml）を加えると、はじめにガム状物が形成されたが粉末化し、約3時間攪拌し、結晶化固体を得、30 mlのTBMEケーキを単離し、洗浄し、淡黄色固体を得た。

【0101】

3種の塩を真空下60℃で約40時間乾燥した。

【0102】

シリーズ2

はじめに6.5 volのDCMにRPL554を溶解させようと試みた後、6.993、7.001及び7.003 gのRPL554を、3つのフラスコの第二セットに秤量し、その後、500 mlのDCMを加え、40℃で約45分間攪拌し、溶解し、その後、ベンゼンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸及び臭化水素酸それぞれを加えて、3種の黄色溶液の色を薄くし、その後、周囲環境で攪拌した。

【0103】

ベンゼンスルホン酸塩の透明の淡黄色溶液を、そのまま終夜攪拌し、その後、約30 mlに減少させ、続いて、125 mlのTBMEを徐々に加え、析出物を得、約30分間攪拌

し、その後、25 ml の T B M E ケーキを単離し、洗浄し、淡黄色固体を得た。

【0104】

p - トルエンスルホン酸塩及び臭化水素酸塩の両方の溶液を、30 ml に減少させ、その後、125 ml の T B M E をそれぞれに加え、続いて、そのまま終夜攪拌した。p - トルエンスルホン酸塩は少し粘着性の固体を生成し、粉碎してから、約2時間半攪拌し、その後、25 ml の T B M E を単離し、洗浄し、淡黄色固体を得、その一方で、臭化水素酸塩から粉末化を要する粘着性ガム状物を得、苗床を生じさせ、その後、約4時間攪拌し、次いで25 ml の T B M E を単離し、洗浄し、オフ白色固体を得た。

【0105】

3種の塩を真空下60 で約16時間乾燥し、次いで、45 で約60時間乾燥した。

10

【0106】

シリーズ3

7.005、6.993及び6.997 g の R P L 554 を、3種のフラスコの最終セットに秤量し、その後、500 ml の D C M を加え、40 で攪拌して約30分後に溶解し、その後、塩酸、リン酸及びメタンスルホン酸それぞれを加え、3種の黄色溶液の色を薄くし、そのまま周囲環境で約16時間終夜攪拌した。溶液を約30 ml に減少させ、その後、125 ml の T B M E を徐々に加えた。

【0107】

塩酸塩及びメシル酸塩の両方の溶液から強力な流動性析出物を形成させ、そのまま1時間攪拌し、その後、25 ml の T B M E ケーキを単離し、洗浄し、オフ白色固体を得た。

20

【0108】

リン酸塩溶液は、はじめに T B M E の添加時にガム状物が生成したが、塊を物理的に粉碎し、約2時間攪拌し、均一なスラリーを得た。25 ml の T B M E ケーキを単離し、洗浄し、鮮黄色ろ液と共に黄色固体を得た。これらの固体を、塩酸塩及びメシル酸塩と共に、真空下45 で60時間乾燥した。

【0109】

その他のろ液として、ここまで得られたものは無色又は非常に薄いものであり、リン酸塩のろ液を減少させ、黄色固体を得、ろ取し、真空下60 で約16時間乾燥した。

【0110】

塩の形成の結果を、収率及び結末に関して、表9にまとめる。エタンスルホン酸塩及び2種のリン酸塩は、これまでの研究に基づけば、水の成熟に進展することがないため、完全な分析を行っていない。X R P D による塩酸塩の最初の分析は、水の成熟が不要であることを示唆したが、D S C による分析は、これまで得られた塩とはわずかに異なる熱的性質を示し、塩酸塩は、水の成熟を受けた。

30

【0111】

【表9】

表9			
塩カウンターイオン	質量(g)	収率(%)*	成熟 H ₂ O
塩酸塩	6.339	84.07	Yes
リン酸塩	4.812	87.56	No
リン酸塩	2.567		No
メシル酸塩	12.774	定量的	Yes
エタンスルホン酸塩	8.588	99.77	No
エタン-1,2-ジスルホン酸塩	8.207	97.70	Yes
硫酸塩	9.634	定量的	Yes
ベンゼンスルホン酸塩	11.327	定量的	Yes
p-トルエンスルホン酸塩	12.246	定量的	Yes
臭化水素酸塩	9.008	定量的	Yes

40

【0112】

50

* 収率は、活性含有量を示すものではなく、溶媒の調整もしていない。

【 0 1 1 3 】

R P L 5 5 4 の塩の水の成熟

塩酸塩以外の全ての塩のリン酸塩及びエタンスルホン酸塩を 2 0 で約 2 1 ~ 2 2 時間水 (3 0 ~ 6 0 m l) に懸濁した。塩酸塩を 2 2 で 6 時間水 (3 0 m l) に懸濁した。使用される水の量の変化は、十分流動性の懸濁剤を得るのに必要な水の量によりものである。ベンゼンスルホン酸塩、p - トルエンスルホン酸塩及び臭化水素酸塩は、はじめはゴム状物を形成したが、長時間攪拌して流動性懸濁剤を得た (クリア形態 / 形態変化) 。

【 0 1 1 4 】

全ての水の水の成熟塩を、湿潤ケーキを単離し、水で洗浄し、その後、真空下 6 0 で約 1 9 時間乾燥させた。投入量、収率及び水量の詳細を表 1 0 に示す。

【 0 1 1 5 】

【 表 1 0 】

表 10				
塩カウンターイオン	質量(g)		収率(%)	加えた水 (ml)
	投入	生成		
塩酸塩	5.89	5.01	85.06	30
メシル酸塩	11.77	5.19	44.10	50
エタン-1,2-ジスルホン酸塩	7.15	6.37	89.10	50
硫酸塩	8.66	6.69	77.25	50
ベンゼンスルホン酸塩	10.25	7.54	73.56	30
p-トルエンスルホン酸塩	11.24	8.24	73.31	60
臭化水素酸塩	8.01	6.24	77.90	60

【 0 1 1 6 】

変化せずに残った H C l 塩を除いて、水の水の成熟塩は、一般的に、全て、投入した塩よりも X R P D による結晶質物質が得られるか、或いは既存のパターンに一致する塩が得られる (X R P D により予測されるように、熱性を向上させることを意図する) 。

【 0 1 1 7 】

このため、塩酸塩の少量のサンプル (5 2 . 1 m g) を、2 2 で約 2 1 時間、第二の追加の水スラリー (0 . 2 m l) にさらし、その後、湿潤ケーキを単離して水で洗浄した。サンプルを真空下 6 0 で約 1 8 時間乾燥し、3 7 . 2 m g (収率 7 1 . 4 0 %) の塩を得た。しかしながら、X R P D、D S C 及び T G A による分析により、投入した物質と殆ど差がないことが明らかとなった。そのため、残りの R P L 5 5 4 ・ H C l 塩の追加の水成熟は不要であると判断された。

【 0 1 1 8 】

実施例 5 - R P L 5 5 4 塩の粉末化

本発明の R P L 5 5 4 の塩の形態が満足のいくように粉末化できるかどうかを確認するために試験を行った。微粉化前及び後の A P I について走査型電子顕微鏡 (S E M) 及び可視光顕微鏡の検査を行った。

【 0 1 1 9 】

実験的に示された粉砕圧力でのシングルパス粉末化操作を用いて、ジェットミルアクティビティを行った。微粉化生成物の出口から回収された物質のみを保持した。即ち、ジェットミルの内部を被覆した物質は回収しなかった。微粉化の容易さの定性的評価を示した。

【 0 1 2 0 】

ジェットミルパフォーマンス

実施例 4 で製造した 8 つの塩を粉末化した。これらの塩は、エタンスルホン酸塩、p - トルエンスルホン酸塩、メシル酸塩 (メタンスルホン酸塩)、ベンゼンスルホン酸塩、硫酸塩、塩酸塩、エタン - 1 , 2 - ジスルホン酸ヘミ塩及び臭化水素酸塩であった。

【 0 1 2 1 】

サンプルの塩の 8 つの全てのバッチを、S t u r t e v a n t ジェットミルを用いてうまくジェットミルした。8 つの全てのバッチを以下のパラメーターで処理した：粉碎圧力 60 P S I 及びベンチャー圧力 80 P S I。

【 0 1 2 2 】

ジェットミルの前に、エタンスルホン酸塩を除いて全てのサンプル粉末を、乳棒及び乳鉢を用いて軽く粉碎した。多くのサンプルバッチに存在する大きな凝集体を砕くために、このプロセス工程を組み込んだ。しかしながら、エタンスルホン酸塩については、大きな凝集体をへらで容易に砕くことができたので粉碎が必要ではなかった。

【 0 1 2 3 】

サンプル粉末の粉末化挙動のいくつかの差異を観察した。一般的に、7 つの塩は、ジェットミルで同様の挙動を示し、表 1 1 に示すように、およそ 45 % ~ 70 % の範囲の収率だった。エタンスルホン酸塩、塩酸塩及び臭化水素酸塩は、他の塩に比べて、最も容易に粉末化されることが観察された。さらに、8 つの全ての塩が、粉末化の前後にある程度の凝集挙動を示した。

【 0 1 2 4 】

ジェットミルの前後に全てのサンプルバッチを S E M 分析に付した。S E M 分析により、全ての物質についてジェットミル後に同等の定量的な粒径が示された。粒径範囲はおよそ 1 ~ 3 μm であると推定される。

【 0 1 2 5 】

【表 1 1】

表 11					
サンプル塩	投入(g)	回収(g)	収率(%)	粉末化時間(min)	粉末化容易性
エタンスルホン酸塩	3.89	2.75	70.7	5.0	易
p-トルエンスルホン酸塩	7.80	4.26	54.6	12.0	中
メシル酸塩	4.94	2.22	44.9	9.5	中
ベンゼンスルホン酸塩	7.22	4.20	58.2	7.0	中
硫酸塩	6.21	1.31	21.1	15.0	難
塩酸塩	4.56	2.60	57.0	6.0	易
エタン-1,2-ジスルホン酸ヘミ塩	6.12	2.74	44.8	13.2	中
臭化水素酸塩	5.82	3.01	51.8	5.3	易

【 0 1 2 6 】

実施例 6 - 微粉化塩の特性評価

X R P D、D S C 及び T G A 分析により微粉化塩の特性評価を行った。大部分の塩は、予想通りの粒径減少以外で微粉化によっては基本的に変化せず、顕微鏡で観察されたように全ての塩で細粒粒子をもたらした。

【 0 1 2 7 】

微細化塩の ^1H N M R 分析は、非微細化塩に比べて、組成変化及び一般的に残留溶媒の量の減少を示さない。

【 0 1 2 8 】

D S C プロファイルにおけるいくつかの差異を、いくつかの塩を用いて観察した。メタンスルホン酸塩（メシル酸塩）、エタンスルホン酸塩（エシル酸塩）及び硫酸塩の全てが、約 100 の幅広い吸熱を示し、T G A における質量損失割合とは完全に相関しておらず、ある種の熱変性を示唆し得る。

【 0 1 2 9 】

塩酸塩及びメシル酸塩を除くすべての塩で 30 から初期の質量損失の量にいくらかの変化があったものの、T G A プロファイルは一般的に吸熱に対応する質量損失を示した。

【 0 1 3 0 】

実施例 7 - 固有溶解速度の測定

8種のRPL554の塩の固有溶解速度を測定し、いずれの塩が最も好ましい溶解性を有するかを決定した。

【0131】

溶解試験

Sirius inFormを用いて溶解アッセイ（pH依存性サンプル溶解度）を調査した。

【0132】

2時間の実験中、UV吸収分光法を用いて、化合物の圧縮錠剤の溶解を、37、pH 7.0の水の溶解実験（0.15 MのNaCl）でモニターした。直径3 mm、必要とされるおおよその重さ10 mgの錠剤を、100 kgの負荷力の重量下で圧縮した。薬剤の溶解による実験のpHの摂動を最小限に抑えるために、錠剤の片面のみを0.01 Mの酢酸/リン酸緩衝系を含む溶解媒体にさらした。

【0133】

pHを7.0に調整した後、40 mLの水媒体に錠剤ディスクを自動的に降下させ、サンプル導入してすぐの瞬間的なデータ収集を可能にした。溶液の攪拌は、連続的であり、100 rpmの一定の速度であった。吸収データを、予め決定したpH依存性モル吸光係数を用いてサンプルの絶対重量に変換した。＜1.3の吸収値を伴う分光学的データの分析を保証し、UV光源の飽和による誤りのある溶解度の結果を避けるために適切な波長範囲を選択した。

【0134】

溶解実験の結果を図8及び9に示す。各化合物を2重に測定した。留意すべきこととして、図8は化合物放出をミリグラムで示し、図9は化合物放出をマイクログラムで示す。

【0135】

塩の固有溶解速度を表12に示す。

【0136】

【表12】

表 12			
塩	2 時間後に溶解した塩の質量(μg)		
	試験 1	試験 2	平均
硫酸塩	5910	6500	6205
エタンスルホン酸塩	300	410	355
メタンスルホン酸塩	160	290	225
p-トルエンスルホン酸塩	51.2	71.9	61.6
ベンゼンスルホン酸塩	50.0	70.1	60.1
塩酸塩	31.7	39.4	35.6
臭化水素酸塩	30.4	40.1	35.3
エタン-1,2-ジスルホン酸塩	21.1	34.9	28.0
遊離塩基	10.0	17.0	13.5

【0137】

溶解度のプロットにより、同じ条件で、2時間の実験後に、全て塩は遊離塩基よりも多く溶解したということが示されている。図8に示されるように、3つの塩；硫酸塩、メタンスルホン酸塩及びエタンスルホン酸塩は、残りの塩に比べてより高い溶解度を示した。最大のpH変化（pH 7の名目上の開始pHから）は、硫酸塩の約0.15 pH単位の減少であったことに留意すべきである。メタンスルホン酸塩は約0.1 pH単位減少した。残りの塩は0.06 pH単位未満減少した。

【0138】

図9では、5つの他の塩（エタン-1,2-ジスルホン酸塩、HBr、HCl、ベンゼン

スルホン酸塩及び p - トルエンスルホン酸塩) と共に遊離塩基をプロットした。同じ実験で放出したサンプルは少量であった。

【 0 1 3 9 】

メタンスルホン酸塩で観察された特定の挙動として、最初の 2 0 分で高い放出量を示し (8 . 5 分で 3 9 6 0 μ g 溶解及び 1 1 分で 5 2 0 0 μ g 溶解)、続いて沈殿した (図 8)。エタンスルホン酸塩は、溶解時の初期ピークがあまり顕著でないことを示した (5 . 7 分で 6 0 0 μ g 及び 1 3 分で 7 0 0 μ g)。

【 0 1 4 0 】

硫酸塩は、初めに高い放出量を示し、十分な時間を与えればこのサンプルが析出することでも予想された。したがって、実験時間を 2 4 時間に伸ばして別の実験を行った (図 1 0)。図 1 0 で観察された挙動は、初めの 2 時間は以前の硫酸塩の実験と同様であった。その後、サンプルがゆっくりと析出し始めたが、2 4 時間後では依然としてかなりの過飽和状態のままであった。

【 0 1 4 1 】

R P L 5 5 4 の塩は、遊離塩基と比較して全て固有溶解速度が改善したことを示し、一部の塩 (硫酸塩、メタンスルホン酸塩及びエタンスルホン酸塩) は、特に高い溶解速度を示した。

【 0 1 4 2 】

塩の溶解速度の向上は、p M D I、D P I 及び噴霧された懸濁製剤からの肺における薬剤有効性の速度及び程度の両方を潜在的に大幅に増加させる可能性がある。これにより、活性の開始及び期間の両方を変化させる薬剤の薬物動態調整を容易にすることができる。緩衝系の p H の変化を伴わないより急速な溶解は、より低い p H の製剤によって誘発され得る肺の潜在的な刺激を伴わずに、この溶解が起こることを示している。

【 0 1 4 3 】

実施例 8 - p M D I 及び D P I 製剤における R P L 5 5 4 及び塩の変化の評価
方法

H P L C アッセイ分析

噴霧のための R P L 5 5 4 懸濁液の空気力学的液滴サイズ分布の測定のための有効な高速液体クロマトグラフィー (H P L C) 法 (I n t e r t e k M e l b o u r n 科学分析手法 A M / 3 5 8 / 0 1) を使用した。

【 0 1 4 4 】

アイソクラチックポンプ、可変波長検出器、オートサンブラ、恒温カラム区画及び有用な C h e m s t a t i o n L C ソフトウェア R e v . B 0 4 . 0 2 からなるアジレント (英国 A g i l e n t T e c h n o l o g i e s L t d) 1 2 0 0 シリーズ H P L C 系を用いてアッセイを行った。

【 0 1 4 5 】

以下のクロマトグラフィー条件を用いた：カラム：W a t e r s X B r i d g e フェニル (3 . 5 μ m、1 5 0 \times 4 . 6 m m) (品番 1 8 6 0 0 3 3 3 5)；希釈液：アセトニトリル：水 (5 0 : 5 0、v / v)；移動相：アセトニトリル：水：トリフルオロ酢酸 (4 5 : 5 5 : 1 (v / v))；流速：1 . 5 m L / 分；注入体積：1 0 μ L；検出：U V @ 2 5 4 n m；カラム温度：4 0；オートサンブラトレイ温度：室温；実行時間：6 分。

【 0 1 4 6 】

H P L C 安定性分析

H P L C による化学純度測定のための有効な H P L C 法 (O n y x - S c i e n t i f i c、R P L 5 5 4 の最終生成物試験モノグラフ) を用いた。

【 0 1 4 7 】

クォータナリーポンプ、多波長検出器、オートサンブラ、恒温カラム区画、脱ガス装置及び有用な C h e m s t a t i o n L C ソフトウェア R e v . B . 0 4 . 0 2 からなるアジレント (英国 A g i l e n t T e c h n o l o g i e s L t d) 1 2 0 0 シリーズ H P L C 系を用いてアッセイを行った。

10

20

30

40

50

【0148】

以下のクロマトグラフィー条件を用いた：カラム：Waters X Bridgeフェニル（3.5 μm、150×4.6 mm）（品番186003335）；希釈液：アセトニトリル：水（50：50、v/v）；移動相：A - 精製水：トリフルオロ酢酸（100：0.1）；B - アセトニトリル：トリフルオロ酢酸（100：0.1）；流速：1.0 mL / 分；注入体積：10 μl；検出：UV@254 nm；カラム温度：30；ポストラン：5分；グラジエント：[時間（min）：%A：%B]：[0：95：5]、[2：95：5]；[15：5：95]、[20：5：95]、[22：95：5]。

【0149】

一次粒径分析

Scirocco 2000 乾燥粉末分散ユニット（英国Malvern Instruments Ltd）を取り付けたMastersizer 2000を用いて、微粉化されたRPL554及び塩の変異体の一次粒径を分析した。60%の供給速度で振動供給制御装置を介して塩（50 mg）を自動的にサンプリングし、3 barの圧力で圧縮空気中に分散した。

【0150】

化合物の外観検査は、粉末がある程度の凝集挙動を示し、小さな凝集体が粉末の塊内に存在していることを示した。しかしながら、分析前にこれらをさらに脱凝集する必要はなかった。

【0151】

pMDI 製造

HFA134a、HFA227 或いはHFA134a：227の50：50 w/w ブレンドの6 mLの充填物を含むpMDI製剤を、19 mLのPETボトル中で調製した。各PETボトルは、24 mgのRPL554又は塩の変異体を含み、50 μLのKHFAバルブで密封し、200 μg 塩/アクチュエーションを提供した。RPL554塩の形態の分子量の差異のため、アクチュエーションあたりに放出するRPL554の塩基当量は、各塩の分子量の関数として変化した。塩の分子量の差異を調整することなく製剤を調製した。

【0152】

各噴霧剤及び噴霧剤ブレンドについて、0.1%（w/w）Tween（登録商標）80を含む10%（w/w）無水エタノール（エタノール/Tweenと呼ばれる）を含有するようにpMDIに製剤化した。製剤構成成分を以下の表に示す。

【0153】

【表B】

HFA 134a	キャニスターあたり		% w/w	% w/w (薬剤以外)
	mL	g		
HFA 134a	6.0000	7.3080	99.6727	100.0000
HFA 227ea				
エタノール				0.0000
Tween 80				0.0000
RPL554 塩		0.0240	0.3273	
合計	6.0000	7.3320	100.0000	

【0154】

【表C】

HFA 134a 10% エタノール	キャニスターあたり		% w/w	% w/w (薬剤以外)
	mL	g		
HFA 134a	5.3940	6.5699	89.6057	89.900
HFA 227ea				
エタノール	0.9276	0.7308	9.9673	10.000
Tween 80	0.0069	0.0073	0.0997	0.100
RPL554 塩		0.0240	0.3273	
合計	6.3216	7.3320	100.0000	

10

20

30

40

50

【 0 1 5 5 】

【 表 D 】

HFA134a:HFA 227a				
	キャニスターあたり		% w/w	% w/w (薬剤以外)
	mL	g		
HFA 134a	3.0000	3.6540	46.3823	46.5241
HFA 227ea	3.0000	4.2000	53.3130	53.4759
エタノール				0.0000
Tween 80				0.0000
RPL554 塩		0.0240	0.3046	
合計	6.0000	7.8780	100.0000	

【 0 1 5 6 】

10

【 表 E 】

HFA134a:HFA 227a 10% エタノール				
	キャニスターあたり		% w/w	% w/w (薬剤以外)
	mL	g		
HFA 134a	2.6970	3.2849	41.6977	41.8251
HFA 227ea	2.6970	3.7758	47.9284	48.0749
エタノール	0.9970	0.7854	9.9695	10.0000
Tween 80	0.0074	0.007854	0.0997	0.1000
RPL554 塩		0.0240	0.3046	
合計	6.3910	7.8780	100.0000	

【 0 1 5 7 】

20

【 表 F 】

HFA 227a				
	キャニスターあたり		% w/w	% w/w (薬剤以外)
	mL	g		
HFA 134a				
HFA 227ea	6.0000	8.4000	99.7151	100.0000
エタノール				0.0000
Tween 80				0.0000
RPL554 塩		0.0240	0.2849	
合計	6.0000	8.4240	100.0000	

【 0 1 5 8 】

30

【 表 G 】

HFA 227a 10% エタノール				
	キャニスターあたり		% w/w	% w/w (薬剤以外)
	mL	g		
HFA 134a				
HFA 227ea	5.3940	7.5516	89.6439	89.9000
エタノール	1.0663	0.8400	9.9715	10.0000
Tween 80	0.0079	0.0084	0.0997	0.1000
RPL554 塩		0.0240	0.2849	
合計	6.4603	8.4240	100.0000	

【 0 1 5 9 】

40

Tween (登録商標) 80 の無水エタノール原液を、1 % w / w の濃度で調製した。したがって、上記表に示すように、エタノール / Tween 溶液を用いることにより製剤に必要な少量の Tween (登録商標) 80 の添加を達成した。

【 0 1 6 0 】

合計 5 4 個の p M D I サンプルを調製した。

【 0 1 6 1 】

p M D I 製剤の視覚的評価

p M D I 製剤の物理的性質の予備的評価は、視覚的指標、即ち、溶解度、凝集、沈殿及びクリーミングに基づいた。

【 0 1 6 2 】

50

物理特性の評価に関する情報を、デジタル写真画像の形態で記録した。製剤を振盪した直後に p M D I ボトルのデジタル写真を記録し、また、その後、最大 3 分間の間隔をあけて、P E T ボトルの内容物を 5 分間以上そのまま静置した後に画像を撮影した。さらに、分散、凝集の容易さ及び程度、並びに沈殿（又はクリーミング）速度及び沈殿（又はクリーミング）の高さもスコア化した。

【 0 1 6 3 】

物理学的評価の結果に基づき、エアロゾル特性評価試験のために 6 つの製剤を選択した。

【 0 1 6 4 】

選択された p M D I 製剤における R P L 5 5 4 及び塩の溶解度測定

選択された p M D I 製剤（各製剤の 3 つの複製物）の噴霧剤系における R P L 5 5 4 及び塩の変異体の溶解度の定量的評価を行った。

【 0 1 6 5 】

冷却した多用量ガラス製バイアルにゴムセプタムを介して挿入した 2 1 G の針に直列に接続した 0 . 2 0 μ m のフィルターユニットを備えたアダプターに p M D I を直接取り付け付けた。バイアルからの噴霧剤の蒸発を助けるために、1 9 G フィルターの針を、セプタムを通して挿入した。ろ過プロセスの前に、ドライアイス及びアセトンの混合物下でバイアルを冷却し、p M D I からの生成物の回収を容易にするために、確実にバイアル内の圧力を低下させた。p M D I の 1 0 回の連続的アクチュエーションを、フィルターを通して発射し、バイアルに回収した。アクチュエーション間にキャニスターをおよそ 1 0 秒間振盪した。ろ過操作の前後に p M D I ユニットの秤量した。ろ液を室温で保存し、蒸発、乾燥させた。

【 0 1 6 6 】

分析のために H P L C バイアルに移す前に 1 m L の回収溶液でバイアル内部を慎重に洗浄することによりサンプルを回収した。キャニスター内で溶解した R P L 5 5 4 の推定 % を、キャニスター内の R P L 5 5 4 の出発質量から計算し、表 1 3 に示す R P L 5 5 4 の遊離塩基及び塩の変異体の理論的分子量値を用いて順に計算した。塩の理論分子量推定値は、V e r o n a によって提供された（ヘミ塩であると確認されたエタン - 1 , 2 - ジスルホン酸塩を除き、全て 1 : 1 の化学量論の塩とみなした。）。

【 0 1 6 7 】

【表 1 3 】

表 13			
RPL554 の変異体	理論分子量	キャニスター内の RPL554 塩基の計算質量(mg)	アクチュエーションあたりの RPL554 塩基の計算用量 (μg)
遊離塩基	477.56	*24.0	200
エタンスルホン酸塩	587.69	19.5	163
p-トルエンスルホン酸塩	649.78	17.6	147
メタンスルホン酸塩	573.67	20.0	166
ベンゼンスルホン酸塩	635.74	18.0	150
硫酸塩	575.64	19.9	166
塩酸塩	514.02	22.3	186
エタン-1,2-ジスルホン酸塩	572.65	20.0	167
臭化水素酸塩	558.47	20.5	171

【 0 1 6 8 】

p M D I 製剤のエアロゾル特性評価試験

溶解し得る R P L 5 5 4 変異体を補足するために最終の外部フィルターを追加して、標準条件下、即ち流速 3 0 L / 分で次世代インパクター（N G I）を用いて慣性衝突試験を行った。放出用量（E D、μ g）、微粒子用量（F P D、μ g）及び微粒子フラクション（F P F、%）を評価した。キャニスター有効期間の初めに評価を行い、開口部直径 0 . 2

5 mmのアクチュエータ (N M X) を用いて5回連続アクチュエーションを N G I に発射した。アクチュエーションの間に、 N G I インレットからキャニスターを取り出し、およそ15秒間振盪した。10 mLの希釈液を用いてアクチュエータ、誘導ポート、 N G I 回収ステージ及び外部フィルターそれぞれから R P L 5 5 4 を定量的に回収した。 R P L 5 5 4 濃度が H P L C アッセイ法の定量限界 (0 . 0 6 μ g / m L) を確実に超えないように、各サンプルで使用した希釈液 (H P L C グレードの水中、50%アセトニトリル) の量を選択した。

【 0 1 6 9 】

乾燥粉末インヘラー R P L 5 5 4 の遊離塩基及び塩：ラクトース粉末ブレンド
賦形剤としてラクトースを用いて D P I 製剤として R P L 5 5 4 及び塩の変異体を調製した。

10

【 0 1 7 0 】

1 % w / w の R P L 5 5 4 の遊離塩基又は塩の変異体：ラクトースブレンドのバッチ (およそ5 g) を準備した。手短に言えば、 R P L 5 5 4 の遊離塩基又は塩及び少量のラクトースを38 μ m の篩に通した。篩分けした物質及び残りのラクトースをガラス乳鉢中で混合し、その後、ステンレススチールスクリーキャップジャーに移し、さらに T u r b u l a ブレンダーを用いて混合した (4 6 r p m で10分間) 。乾燥粉末ブレンドの組成は、 A P I が0 . 0 5 g 、ラクトースが4 . 9 5 g であった。

【 0 1 7 1 】

ブレンドの内容物の均一性を決定するために、各ブレンドから粉末のアリコート (約20 m g) をサンプリングし、正確に秤量し、希釈液を用いて10 mLのメスフラスコで希釈した。フラスコを3分間超音波処理し、その後、サンプルを分析のための H P L C バイアルに移した。

20

【 0 1 7 2 】

D P I 製剤のエアロゾルパフォーマンス

カプセルに、20 m g の1 % w / w の R P L 5 5 4 の遊離塩基又は塩の変異体：ラクトースブレンド、即ち1カプセルあたり200 μ g の塩を手で充填し、各カプセルの充填質量を記録した。 R P L 5 5 4 の塩の形態の分子量の差異のため、アクチュエーションあたりに放出される R P L 5 5 4 の量は、分子量の関数として変化した。塩の分子量の差異を調整することなく製剤を調製した。

30

【 0 1 7 3 】

C y c l o h a l e r (登録商標) D P I (P C H P h a r m a c h e m i e , B V 、オランダ) を介して粉末を送達した。 C y c l o h a l e r (登録商標) D P I は、低抵抗デバイスであり、90 L / 分の流速で2 . 7秒間操作した。 N G I ユーザーガイドを用いて90 L / 分の流速で N G I 回収段階のカットオフ直径を計算した (M S P C o r p o r a t i o n 、 2 0 0 8) 。

【 0 1 7 4 】

各製剤の5個のカプセルを N G I に沈殿させた後に行った慣性衝突試験から E D 、 F P D 及び F P F を決定した。試験した各カプセルについて、 C y c l o h a l e r (登録商標) 及びカプセルの総重量を、操作前後に測定し、用量が送達されたことを確認した。これらの決定のために、 N G I にプレセパレーターを取り付けた。プレセパレーターの中央のカップに15 mLの希釈液を満たした。沈殿後、溶液を20 mLのメスフラスコに回収し、希釈液で量を調整した。10 mLの希釈液を用いてデバイス、誘導ポート及び N G I 回収ステージそれぞれから R P L 5 5 4 を定量的に回収した。

40

【 0 1 7 5 】

R P L 5 5 4 濃度が定量限界を確実に超えないように各サンプルに使用した希釈液の量を選択した。

【 0 1 7 6 】

R P L 5 5 4 及び塩：ラクトース粉末ブレンドの安定性評価

1 % w / w の R P L 5 5 4 の遊離塩基又は塩の変異体：ラクトースブレンドのサンプルを

50

準備し、7日間高温（70℃）で保存し、対照サンプルを周囲条件で保存し、実験室ベンチで遮光した。全てのサンプル（約0.5g）を、スクリーキャップガラスシンチレーションバイアル（20mL）に正確に秤量した。高温で保存するために、サンプルを遮光した70℃のオープンに入れた。対照サンプルのバイアルにキャップをし、遮光し、7日間ベンチで保存した。

【0177】

RPL554及び塩の変異体のブレンドに加えて、ラクトースのみのサンプルも高温条件（室温での対照サンプル）で保存した。ラクトースのみのサンプルは、HPLC分析のベースラインデータとして役にたった。ラクトースのみのサンプルから生み出されたHPLCトレースを、非薬剤に関連するピークを説明するためにトレースから差し引いた。

10

【0178】

結果及び議論

一次粒径分析

表14は、レーザー光回析を用いて測定された微粉化されたRPL554及び塩の変異体の粒径分布を示し、平均値（n = 3測定）として示す。結果は、呼吸器用の製品としての製剤のために塩が適切に微粉化されたことを示した。全てのD（0.9）値は、5µm未満であった。

【0179】

【表14】

表 14			
RPL554 変異体	D (0.1) (µm)	D (0.5) (µm)	D (0.9) (µm)
遊離塩基	0.58	1.37	3.00
エタンスルホン酸塩	0.56	1.43	4.18
p-トルエンスルホン酸塩	0.47	1.34	4.53
メタンスルホン酸塩	0.45	1.20	3.46
ベンゼンスルホン酸塩	0.46	1.23	3.51
硫酸塩	0.51	1.12	2.30
塩酸塩	0.53	1.37	3.47
エタン-1,2 ジスルホン酸塩	0.52	1.25	2.78
臭化水素酸塩	0.64	1.52	3.23

20

30

【0180】

加圧式定量投与製剤インヘラー評価

pMDI製剤の視覚的評価

噴霧剤（HFA134a、HFA227又は50：50（w/w）HFA134a：227）、エタノール/Tweenの異なる組み合わせそれぞれについての各RPL554の遊離塩基及び塩の変異体のpMDI製剤を、分散性、凝集、沈殿（又はクリーミング）速度及び沈殿（又はクリーミング）の高さ並びにこれらの観察に基づくpMDIとしての製剤の適合性のポテンシャルに関してスコア化した。

40

【0181】

視覚的に評価された変数については、多くの製剤が非常に類似した特徴を示した。

【0182】

エタノール/Tweenを含む50：50の噴霧剤中のRPL554遊離塩基に加えて、慣性衝突分析により評価される残りの選択されたpMDI製剤を以下の通り決定した：

【0183】

1. RPL554遊離塩基HFA134a/227及びエタノール/Tween

50

2. R P L 5 5 4 エタンスルホン酸塩 H F A 2 2 7
 3. R P L 5 5 4 メタンスルホン酸塩 H F A 1 3 4 a
 4. R P L 5 5 4 ベンゼンスルホン酸塩 H F A 1 3 4 a
 5. R P L 5 5 4 硫酸塩 H F A 1 3 4 a
 6. R P L 5 5 4 エタン - 1 , 2 - ジスルホン酸塩 H F A 2 2 7 及びエタノール / T w e e n

【 0 1 8 4 】

選択された p M D I 系における R P L 5 5 4 遊離塩基及び塩の溶解度測定

H F A 1 3 4 a に対する R P L 5 5 4 遊離塩基及び 8 つの塩の変異体の溶解度を表 1 5 に示す。視覚的評価からは、製剤はいずれも噴霧剤に対する溶解性の明確な徴候を示さなかった。しかしながら、溶解度試験の結果によれば、エタンスルホン酸塩及び p - トルエンスルホン酸塩は、定量化可能な溶解度レベルを示した。

10

【 0 1 8 5 】

H F A 1 3 4 a 及びエタノール / T w e e n に対する R P L 5 5 4 遊離塩基及び 8 つの塩の変異体の溶解度を表 1 6 に示す。視覚的評価によれば、製剤の一部は噴霧剤に対する溶解性の兆候を示した。製剤の溶解度試験により、エタノール / T w e e n の添加が、噴霧剤に対する R P L 5 5 4 の溶解度に影響を与えることが示された。最も低いエタン - 1 , 2 - ジスルホン酸塩 (5 μ g / g) から最も高いメタンスルホン酸塩 (2 9 8 μ g / g) まで全ての製剤で検出可能な溶解度レベルを示した。

【 0 1 8 6 】

H F A 2 2 7 に対する R P L 5 5 4 遊離塩基及び 8 つの塩の変異体の溶解度を評価したが、サンプル中に定量化可能なレベル存在しなかった (表 1 7) 。

20

【 0 1 8 7 】

慣性衝突試験の候補の選択として、興味深い物理的性質を示した 2 つの製剤についてさらなる溶解度測定を行った。表 1 8 は、H F A 2 2 7 及びエタノール / T w e e n に対するエタン - 1 , 2 ジスルホン酸塩、並びに H F A 1 3 4 : 2 2 7 及びエタノール / T w e e n に対する遊離塩基について定量化可能な R P L 5 5 4 の溶解度レベルを示す。両方の場合において、可溶化された R P L 5 5 4 のフラクションは、1 % 未満の薬剤が製剤中に存在することを示した。

【 0 1 8 8 】

30

【 表 1 5 】

表 15 - HFA134 に対する溶解度			
RPL554 の変異体	RPL554 溶解度 (μg/g)	アキュエーション 50 μL あたりの 計算溶解 RPL554(μg)	計算溶解 RPL554 (%)
遊離塩基	BLQ	BLQ	BLQ
エタンスルホン酸塩	126.81	9.03	5.56
p-トルエンスルホン酸塩	1.56	0.11	0.08
メタンスルホン酸塩	BLQ	BLQ	BLQ
ベンゼンスルホン酸塩	BLQ	BLQ	BLQ
硫酸塩	BLQ	BLQ	BLQ
塩酸塩	BLQ	BLQ	BLQ
エタン-1,2-ジスルホン酸ヘミ塩	BLQ	BLQ	BLQ
臭化水素酸塩	BLQ	BLQ	BLQ

*BLQ - 定量限界(0.06 μg/mL)以下

40

【 0 1 8 9 】

50

【表 16】

表 16－エタノール/Tween を伴う HFA 134 に対する溶解度			
RPL554 の変異体	RPL554 溶解度 ($\mu\text{g/g}$)	アクチュエーション 50 μL あたりの 推定溶解 RPL554(μg)	推定溶解 RPL554(%)
遊離塩基	16.45	1.12	0.56
エタンスルホン酸塩	266.59	17.81	10.96
p-トルエンスルホン酸塩	152.85	10.58	7.20
メタンスルホン酸塩	298.07	19.38	11.64
ベンゼンスルホン酸塩	90.57	6.05	4.03
硫酸塩	73.19	4.71	2.84
塩酸塩	149.17	9.79	5.27
エタン-1,2-ジスルホン酸ヘミ塩	5.13	0.34	0.20
臭化水素酸塩	96.27	6.40	3.74

10

【0190】

【表 17】

表 17－HFA 227 に対する溶解度			
RPL554 の変異体	RPL554 溶解度 ($\mu\text{g/g}$)	アクチュエーション 50 μL あたりの 計算溶解 RPL554(μg)	計算溶解 RPL554(%)
遊離塩基	BLQ	BLQ	BLQ
エタンスルホン酸塩	BLQ	BLQ	BLQ
p-トルエンスルホン酸塩	BLQ	BLQ	BLQ
メタンスルホン酸塩	BLQ	BLQ	BLQ
ベンゼンスルホン酸塩	BLQ	BLQ	BLQ
硫酸塩	BLQ	BLQ	BLQ
塩酸塩	BLQ	BLQ	BLQ
エタン-1,2-ジスルホン酸ヘミ塩	BLQ	BLQ	BLQ
臭化水素酸塩	BLQ	BLQ	BLQ

20

【0191】

【表 18】

表 18			
RPL554 の変異体	RPL554 溶解度 ($\mu\text{g/g}$)	アクチュエーション 50 μL あたり 推定溶解 RPL554 (μg)	推定溶解 RPL554(%)
エタン-1,2-ジスルホン酸ヘミ塩 －HFA 227 : 10%エタノール : 0.1%Tween	1.69	0.11	0.07
遊離塩基－HFA 134a:227 : 10% エタノール : 0.1%Tween	16.11	1.06	0.53

40

【0192】

pMDI 製剤の慣性衝突試験

図 11 は、NGI における採取後の pMDI 製剤の収率を示す。吸入に適した空気力学的性質を示す大量の物質の沈殿が有望であり、FPF 値（即ち、 $< 5 \mu\text{m}$ の粒子%（アクチュエータ外））は、48.2～81.0%の範囲であり、HFA 134a 中のメタンスルホン酸塩が最も高い FPF を示した。遊離塩基（50 : 50 噴霧剤及びエタノール / Tween）及びエタン - 1, 2 - ジスルホン酸塩（HFA 227 及びエタノール / Tween）の製剤を除いて、インダクションポート（入口スロート）の沈殿は、主に 20%未満であった。

50

【 0 1 9 3 】

表 1 9 の平均計量用量（平均値、 $n = 3$ 、 $\pm S D$ ）は、表 1 3 に示す理論計量用量（吸着無しと仮定）に対して 5 3 ~ 7 5 % の範囲の R P L 5 5 4 の収率を示す。

【 0 1 9 4 】

【表 1 9】

表 19			
RPL554 の変異体	遊離塩基	エタンスルホン酸塩	メタンスルホン酸塩
計量重量 (mg)	66.18 \pm 0.2	77.56 \pm 0.2	70.29 \pm 0.7
アクチュエーションあたりの計量用量 (μ g)	138.60 \pm 1.6	105.28 \pm 1.4	105.71 \pm 2.9
遊離塩基% (アクチュエータ)	6.97 \pm 0.6	11.06 \pm 1.5	10.29 \pm 0.8
アクチュエーションあたりの放出用量 (μ g)	128.93 \pm 0.8	93.65 \pm 2.7	94.84 \pm 2.9
FPF (% < 5 μ m)	60.22 \pm 1.6	79.66 \pm 2.0	81.02 \pm 1.6
MMAD (μ m)	1.35 \pm 0.1	2.20 \pm 0.1	1.84 \pm 0.1
GSD	2.62 \pm 0.1	1.99 \pm 0.1	2.11 \pm 0.02
FPD (μ g < 5 μ m)	77.63 \pm 2.1	74.59 \pm 2.5	76.81 \pm 1.6
RPL554 の変異体	ベンゼンスルホン酸塩	硫酸塩	エタン-1,2-ジスルホン酸塩
計量重量 (mg)	72.69 \pm 0.1	70.08 \pm 0.2	66.71 \pm 0.2
アクチュエーションあたりの計量用量 (μ g)	112.48 \pm 2.6	87.24 \pm 1.4	107.41 \pm 1.6
遊離塩基% (アクチュエータ)	9.13 \pm 0.4	8.03 \pm 1.5	6.77 \pm 0.2
アクチュエーションあたりの放出用量 (μ g)	102.21 \pm 2.3	80.25 \pm 2.3	100.14 \pm 1.2
FPF (% < 5 μ m)	76.41 \pm 2.0	75.69 \pm 3.4	48.15 \pm 1.2
MMAD (μ m)	2.20 \pm 0.2	1.60 \pm 0.1	1.84 \pm 0.1
GSD	1.99 \pm 0.04	2.44 \pm 0.03	3.48 \pm 0.3
FPD (μ g < 5 μ m)	78.08 \pm 2.3	60.74 \pm 3.2	48.21 \pm 0.8

【 0 1 9 5 】

5 0 : 5 0 噴霧剤及びエタノール / T w e e n 中の R P L 5 5 4 遊離塩基 ; H F A 2 2 7 中の R P L 5 5 4 エタンスルホン酸塩 ; H F A 1 3 4 a 中の R P L 5 5 4 メタンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩及び硫酸塩、並びに H F A 2 2 7 及びエタノール / T w e e n 中の R P L 5 5 4 エタン - 1 , 2 - ジスルホン酸塩。

【 0 1 9 6 】

乾燥粉末インヘラー評価

1 % w / w の R P L 5 5 4 遊離塩基又は塩 : ラクトースを含む 1 つのバッチを準備した。R P L 5 5 4 塩基含有量を決定するために各ブレンドのサンプルを試験し、また、各ブレンドの空気力学的性質を試験した。また、安定性を評価するために、調製サンプルを 7 日間高温 (7 0) で保存した。

【 0 1 9 7 】

乾燥粉末インヘラー R P L 5 5 4 遊離塩基及び塩 : ラクトース粉末ブレンド

R P L 5 5 4 : ラクトース粉末ブレンドを、17 及び 56 % R H の温度湿度条件下で調製した。遊離塩基、エタンスルホン酸塩及びメタンスルホン酸塩（平均値、 $n = 3$ 、 $\pm S D$ ）について、表 20 に示すように測定されたブレンドの R P L 5 5 4 含有量は、理論含有量とほぼ一致した（表 13 の分子量から計算）。硫酸塩を除いて残りのブレンドは、理論値の 80 ~ 90 % を与えた。硫酸塩の低い数字は、投入物質の低い純度を表している（H P L C - U V による ~ 15 面積 % の量の不純物を含むことが知られている）。しかしながら、全てのブレンドが、5 % 未満の R S D の含量均一性を有することが判明し、それにより、塩の純度及び含水量が試験日に不明であったことを考えて、さらなる試験に適していると判断された。

【 0 1 9 8 】

【表 20】

表 20			
RPL554 の変異体	総 RPL554 収量 (μg)	理論 RPL554 含有量 μg (1% w/w)	回収 RPL554 含有量(理論%)
塩基	194.17 ± 3.2	201.33 ± 1.5	96.44 ± 0.9
エタンスルホン酸塩	161.89 ± 2.4	163.88 ± 0.5	98.79 ± 1.3
p-トルエンスルホン酸塩	130.98 ± 1.9	147.73 ± 0.7	88.66 ± 1.1
メタンスルホン酸塩	165.05 ± 2.9	166.49 ± 0.0	99.13 ± 1.7
ベンゼンスルホン酸塩	134.89 ± 1.2	150.99 ± 0.8	89.34 ± 0.5
硫酸塩	122.77 ± 2.8	167.03 ± 1.0	73.50 ± 1.3
塩酸塩	158.44 ± 4.4	187.67 ± 1.9	84.42 ± 1.9
エタン-1,2-ジスルホン酸塩	135.96 ± 3.0	169.57 ± 0.5	80.18 ± 1.6
臭化水素酸塩	143.99 ± 0.6	172.73 ± 2.3	83.37 ± 0.8

【 0 1 9 9 】

D P I 製剤のエアロゾルパフォーマンス

各 N G I の測定のために送達された粉末ブレンドの総質量を推定するために、各用量送達前後に C y c l o h a l e r（登録商標）及びカプセルの質量を測定した。質量測定から推定された総送達用量を表 21 に示す（C y c l o h a l e r（登録商標）を介して 20 mg の粉末ブレンドを含む 5 つのカプセル（200 μg 遊離塩基又は塩 / カプセル）；* を除く全ての値を R P L 5 5 4 ベースとして表す）。表は、各 R P L 5 5 4 の変異体について送達された R P L 5 5 4 塩基の質量の計算値も示す。この数値は、各ブレンドの実際の R P L 5 5 4 塩基含有量（即ち理論%）を考慮して調整した。また、N G I からサンプルの H P L C 分析により決定された回収した R P L 5 5 4 塩基の合計 μg を示す。質量バランスは、即ち、実際の回収率（H P L C 分析） / 計算回収率（質量測定）は、全ての 9 つの製剤について、64 ~ 74 % の回収率が達成されたことを示した。

【 0 2 0 0 】

10

20

30

40

50

【表 2 1】

表 21				
RPL554 の変異体	* 20mg 1 %w/w ブレンドあたりの RPL554 変異 体の理論 μg	各カプセル中 20mg 1 %w/w ブレンドあた りの RPL554 の理論 μg	測定ブレンド含有 量 (理論%)	**1 カプセル あたりの調整 RPL554 含有 量 (μg)
遊離塩基	200	200.00	96.44	192.87
エタンスルホン酸塩	200	162.52	98.79	160.55
p-トルエンスルホン酸塩	200	146.99	88.66	130.33
メタンスルホン酸塩	200	166.49	99.13	165.05
ベンゼンスルホン酸塩	200	150.24	89.34	134.22
硫酸塩	200	165.92	73.50	121.95
塩酸塩	200	185.81	84.42	156.86
エタン-1,2-ジスルホン酸塩	200	166.79	80.18	133.73
臭化水素酸塩	200	171.02	83.37	142.58
RPL554 の変異体	† 1 カプセルあ たりの送達 1 %w/w ブレン ド測定質量(mg)	1 カプセルあたりの計 算 RPL554 含有量 (μg) (A)	†† 1 カプセルあた りの放出 RPL554 (μg) (B)	収率% (B/A)
遊離塩基	20.12	194.03	133.59	68.85
エタンスルホン酸塩	20.18	162.00	111.09	68.57
p-トルエンスルホン酸塩	20.02	130.46	86.84	66.57
メタンスルホン酸塩	19.96	164.72	118.69	72.06
ベンゼンスルホン酸塩	20.04	134.49	87.57	65.11
硫酸塩	19.78	120.61	79.35	65.79
塩酸塩	20.14	157.96	102.27	64.75
エタン-1,2-ジスルホン酸塩	19.90	133.06	87.91	66.07
臭化水素酸塩	19.96	142.29	104.28	73.29

【 0 2 0 1 】

- * * 測定されたブレンドの含有量を調整 (理論% - 表 3 . 4 . 1 . 1 を参照)
+ カプセル充填デバイスの質量変化から決定された質量
+ + 回収サンプルの H P L C 分析により決定された質量

【 0 2 0 2 】

C y c l o h a l e r (登録商標) を用いてエアロゾル化した遊離塩基及び塩の粒径分布を、図 1 2 に示し、重要なパフォーマンス指標のまとめを表 2 2 に示す (1 % w / w ラクトースブレンドとして製剤化され、C y c l o h a l e r (登録商標) D P I を介して送達した ; 2 0 m g の粉末ブレンドをそれぞれ含む 5 つのカプセル (2 0 0 μg の R P L 5 5 4 の変異体 / カプセル) を各測定に用いた) 。

【 0 2 0 3 】

最小の F P F が臭化水素酸塩製剤 (2 9 . 4 3 %) について観察された ; 他の全てのブレンドは、F P F が 3 0 % を超え、塩酸塩では、最大値の 4 6 . 2 9 % が測定された。硫酸塩製剤は、最小細粒用量 (R P L 5 5 4 塩基当量) が 2 3 . 2 8 μg である一方で、遊離塩基ブレンドで最大の 4 3 . 3 1 μg であり、計量用量の差異を表していた (そして、硫酸塩の場合では、さらにより低い純度の投入物質)。M M A D 値は、1 . 7 2 μm ~ 2 . 3 1 μm の範囲内であった。

【 0 2 0 4 】

10

20

30

40

50

【表 2 2】

表 22					
RPL554 の変異体	FB	ES	PT	MS	BS
回収 RPL554 塩基 / カプセル (カプセル以外) (μg)	133.59	111.09	86.84	118.69	87.57
RPL554 塩基 / カプセルの放出用量 (デバイス以外) (μg)	123.05	100.75	77.79	111.01	77.30
FPF (% < 5 μm)	35.20	38.70	35.37	38.18	36.99
MMAD (μm)	1.99	1.87	1.74	2.00	1.91
GSD	2.63	2.57	2.55	2.40	2.57
FPD RPL554 塩基 (μg < 5 μm) (デバイス以外)	43.31	38.99	27.52	42.39	28.59
RPL554 の変異体	SF	HC	ED	HB	
回収 RPL554 塩基 / カプセル (カプセル以外) (μg)	79.35	102.27	87.91	104.28	
RPL554 塩基 / カプセルの放出容量 (デバイス以外) (μg)	70.71	92.97	79.95	93.20	
FPF (% < 5 μm)	32.93	46.29	40.39	29.43	
MMAD (μm)	2.10	1.72	1.96	2.31	
GSD	2.69	2.42	2.42	2.24	
FPD RPL554 塩基 (μg < 5 μm) (デバイス以外)	23.28	43.04	32.29	27.43	

【 0 2 0 5 】

キー：F B - 遊離塩基；E S - エタンスルホン酸塩；P T - p - トルエンスルホン酸塩；M S - メタンスルホン酸塩；B S - ベンゼンスルホン酸塩；S F - 硫酸塩；H C - 塩酸塩；E D - エタン - 1, 2 - ジスルホン酸塩；H B - 臭化水素酸塩。

【 0 2 0 6 】

塩酸塩及びエタン - 1, 2 - ジスルホン酸塩について特に好ましい細粒フラクション (F P F) を観察した。

【 0 2 0 7 】

R P L 5 5 4 の変異体：ラクトース粉末ブレンドのブレンド安定性評価

粉末の外観に目に見える変化は観察されなかった。硫酸塩を除く全ての場合において、異なる塩形態の R P L 5 5 4 のピーク面積は、室温及び高温での保存後、総面積の 9 6 ~ 9 9 % を占めた。硫酸塩は、総面積のわずか 8 2 % を示したが、これは投入物質の純度を表し、分解を示唆するものではない。遊離塩基又は塩の何れも、室温又は 7 0 の両方で、保存によるいかなる分解も無いようである。

10

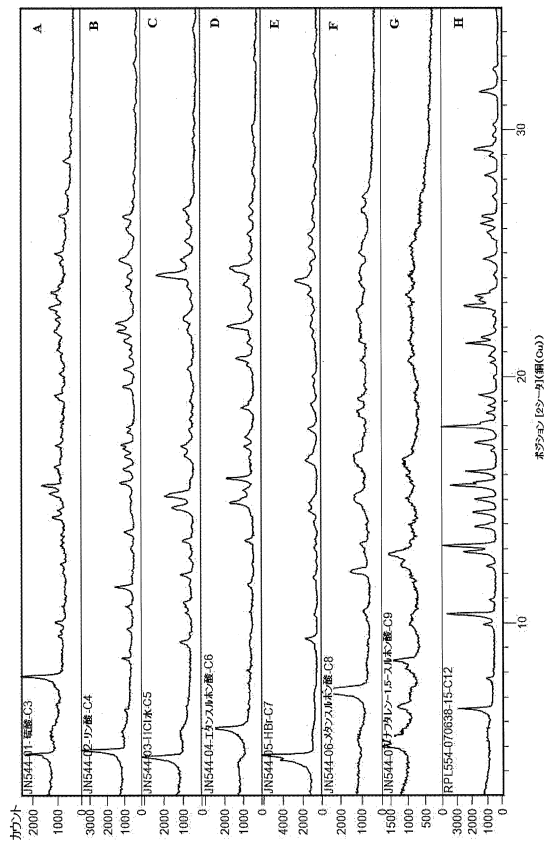
20

30

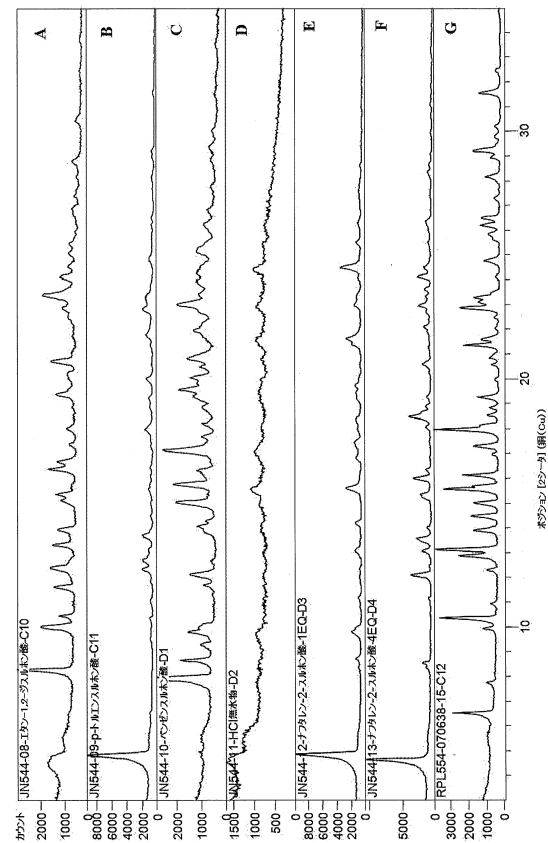
40

50

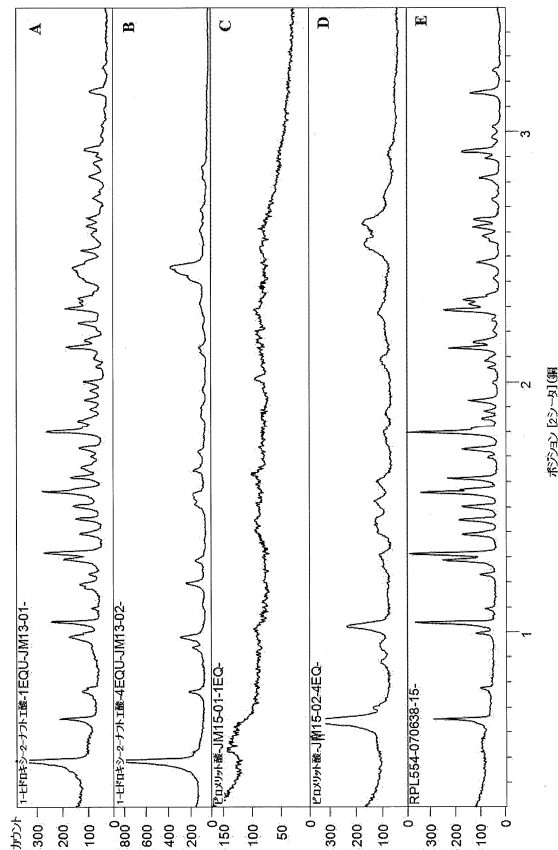
【図面】
【図 1】



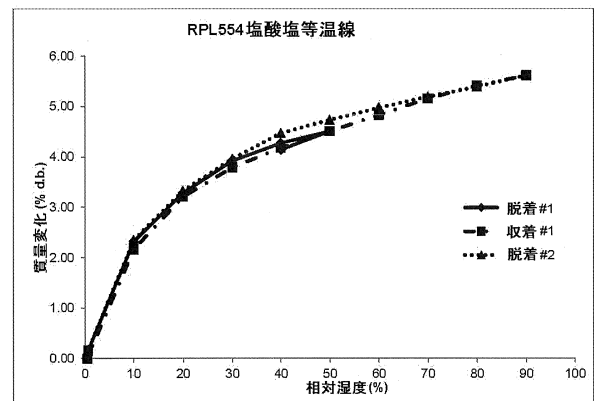
【図 2】



【図 3】



【図 4】



10

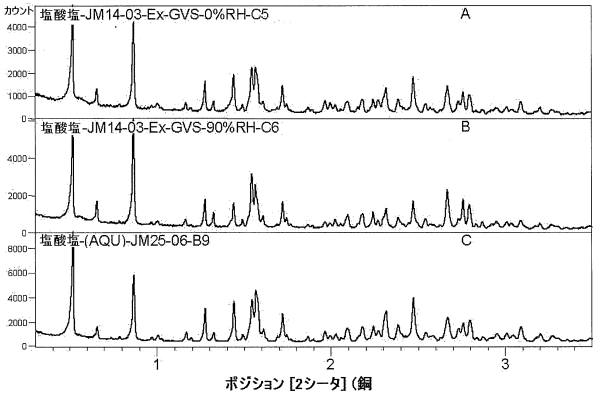
20

30

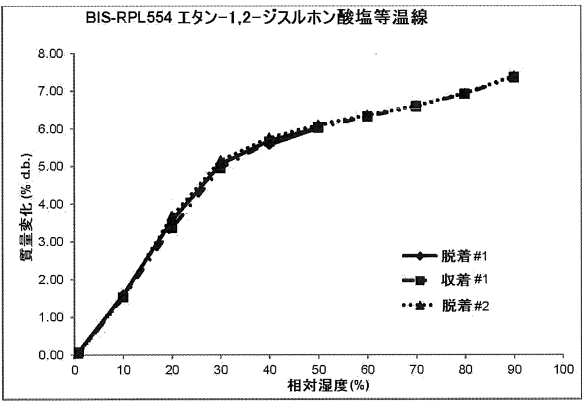
40

50

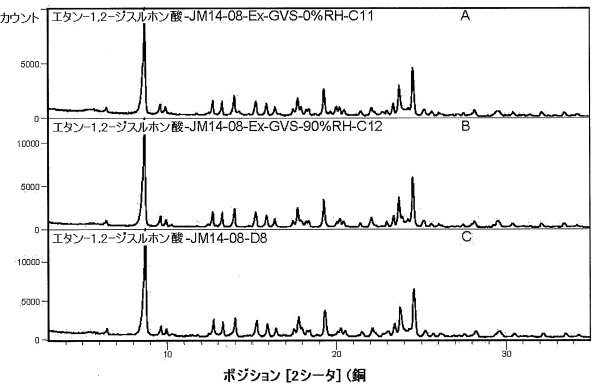
【図 5】



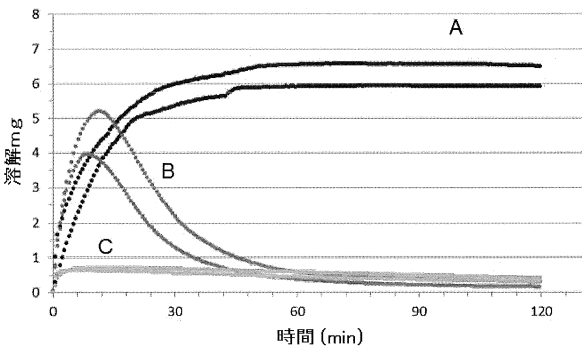
【図 6】



【図 7】



【図 8】



10

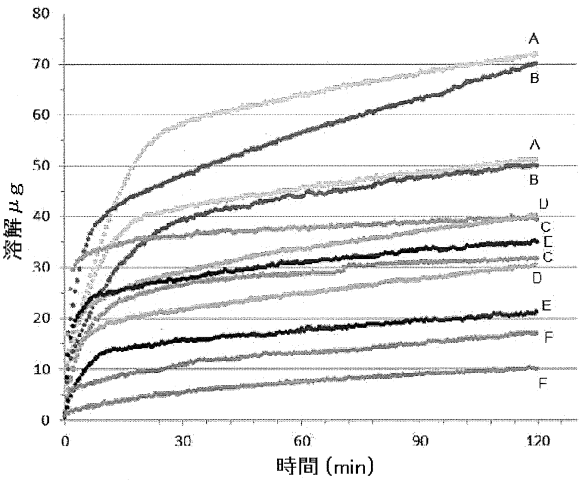
20

30

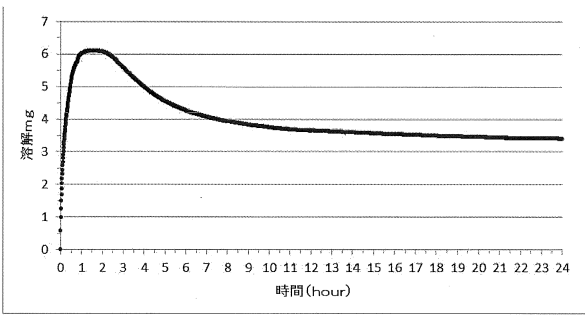
40

50

【図 9】

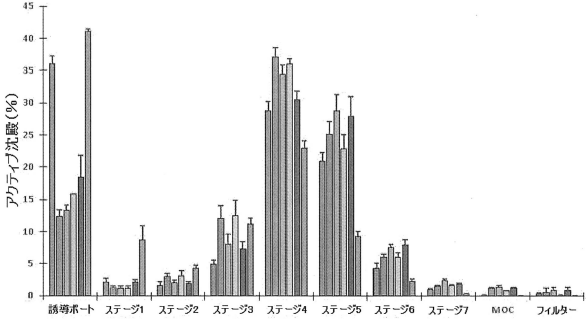


【図 10】

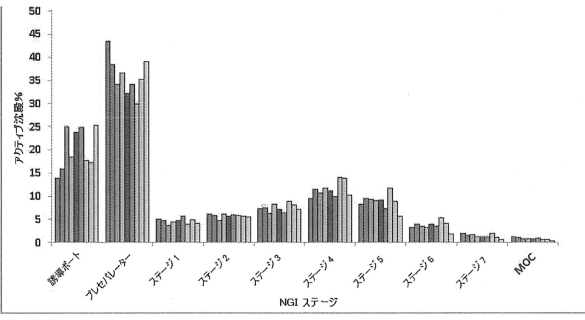


10

【図 11】



【図 12】



20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

A 6 1 P	9/10 (2006.01)	A 6 1 K	47/12
A 6 1 P	11/00 (2006.01)	A 6 1 P	9/10
A 6 1 P	11/02 (2006.01)	A 6 1 P	11/00
A 6 1 P	11/06 (2006.01)	A 6 1 P	11/02
A 6 1 P	17/00 (2006.01)	A 6 1 P	11/06
A 6 1 P	17/04 (2006.01)	A 6 1 P	17/00
A 6 1 P	17/06 (2006.01)	A 6 1 P	17/04
A 6 1 P	27/02 (2006.01)	A 6 1 P	17/06
A 6 1 P	29/00 (2006.01)	A 6 1 P	27/02
A 6 1 P	37/02 (2006.01)	A 6 1 P	29/00
A 6 1 P	37/08 (2006.01)	A 6 1 P	37/02
		A 6 1 P	37/08

英国(GB)

早期審理対象出願

弁理士 赤井 厚子

(74)代理人 100151301

弁理士 戸崎 富哉

(72)発明者 スパーゴ、ピーター リオネル

イギリス国、ケント シーティー 2 8 エヌアール、カンタベリー、ハーブルダウン、ハーブルダウ
ン パーク、ビーチ ドライヴ、ナッシュ ハウス

(72)発明者 フレンチ、エドワード ジェームズ

イギリス国、ケント シーティー 1 3 エルエックス、カンタベリー、2 8 ノーマン ロード

(72)発明者 ノーザン、ジュリアン スコット

イギリス国、タイン アンド ウィア エヌイー 3 3 4 ティーエイチ、サウス シールズ、3 6 ヘ
ブスコット テラス

(72)発明者 マイキティウク、ジョン

イギリス国、タイン アンド ウィア デーエイチ 4 7 ピーピー、ホートン - ル - スプリング、ペ
ンショウ、2 2 キングスウッド

合議体

審判長 大熊 幸治

審判官 富永 保

審判官 関 美祝

(56)参考文献

特表 2 0 0 2 - 5 4 0 2 0 7 (J P , A)

特表 2 0 0 5 - 5 3 3 7 8 8 (J P , A)

国際公開第 2 0 1 4 / 1 4 0 6 4 7 (W O , A 1)

特表 2 0 1 3 - 5 3 3 3 0 1 (J P , A)

国際公開第 2 0 1 3 / 1 4 9 9 5 9 (W O , A 1)

特開 2 0 2 1 - 4 6 4 0 5 (J P , A)

International Journal of Pharmaceutics、(1 9
8 6)、3 3、pp . 2 0 1 ~ 2 1 7

薬剤学、(2 0 1 3)、7 3 (3)、pp . 1 7 6 ~ 1 8 2

JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES、(2 0 0 7)、
9 6 (5)、pp . 9 4 8 ~ 9 5 9

(58)調査した分野 (Int.Cl. , D B 名)

C07D

C A p l u s / R E G I S T R Y (S T N)