



(21)申請案號：103109454

(22)申請日：中華民國 103 (2014) 年 03 月 14 日

(51)Int. Cl.：

A61K31/4704(2006.01)

G01N33/15 (2006.01)

C07C235/16 (2006.01)

C07D215/22 (2006.01)

C07D215/56 (2006.01)

(30)優先權：2013/03/14 美國

61/785,575

(71)申請人：泰瓦藥品工業有限公司(以色列) TEVA PHARMACEUTICAL INDUSTRIES LTD.

(IL)

以色列

(72)發明人：弗蘭柯爾 安東 FRENKEL, ANTON (IL)；拉席爾 艾維托 LAXER, AVITAL

(IL)；伊歐菲 維拉迪米爾 IOFFE, VLADIMIR (IL)；建森 卡爾 艾瑞克

JANSSON, KARL-ERIK (SE)；佛瑞斯特 歐拉 托瑪斯 FRISTEDT, ULF TOMAS

(SE)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：169 項 圖式數：60 共 277 頁

(54)名稱

拉喹莫德鈉之結晶及其製造之改良方法

CRYSTALS OF LAQUINIMOD SODIUM AND IMPROVED PROCESS FOR THE MANUFACTURE THEREOF

(57)摘要

本發明提供拉喹莫德鈉(laquinimod sodium)結晶粒子之混合物，其中(i)佔總體積量 90%或 90%以上之拉喹莫德鈉粒子具有 40 微米或 40 微米以下之粒徑或(ii)佔總體積量 50%或 50%以上之拉喹莫德鈉粒子具有 15 微米或 15 微米以下之粒徑，且其中：a)該混合物具有 0.2g/mL 至 0.4g/mL 之容積密度；b)該混合物具有 0.40g/mL 至 0.7g/mL 之敲緊密度；c)該混合物中重金屬之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過 0.002%的重金屬；d)該混合物中 5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉(MCQ)之量如由 HPLC 所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過 0.15%；e)該混合物中 5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)之量如由 HPLC 所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過 0.15%；或 f)該混合物中 5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)之量如由 HPLC 所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過 0.12%。

本發明亦提供一種醫藥組合物，其包含一定量拉喹莫德及 2-氯-6-(3-(乙基(苯基)胺基)-2-羥基-N-甲基-3-側氧基丙醯胺基)苯甲酸(BH-3-HLAQ)、5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1H)-酮(MCQ)、5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)、5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)、N-乙基苯胺(NEA)及 5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯(MCQEE)中之至少一者。本發明亦提供用於製備 BH-3-HLAQ、MCQ、MCQCA、MCQME、MCQEE 之方法及藉由該等方法製備之化合物。本發明亦提供一種測試拉喹莫德樣品是否含有不希望有的雜質之方法。

本發明另外提供一種製備包含拉喹莫德之驗證醫藥組合物的方法、一種製備包含拉喹莫德之醫藥組合物或用於分配該已驗證批次之包含拉喹莫德之醫藥組合物的方法、一種驗證含有拉喹莫德或其醫藥學上可接受之鹽及醫藥學上可接受之載劑之醫藥產品批次以用於分配的方法、及一種製備包含拉喹莫德或其醫藥學上可接受之鹽之封裝醫藥組合物的方法，每一方法包括測定樣品或批次中 BH-3-HLAQ、MCQ、MCQCA、MCQME、NEA 及 MCQEE 中之至少一者的量。

本發明另外提供一種以 BH-3-HLAQ、MCQ、MCQCA、MCQME、MCQEE 作為參考標準物於偵測包含拉喹莫德之醫藥組合物中痕量雜質上之用途。

最後，本發明提供一種測定包含拉喹莫德之醫藥組合物中 BH-3-HLAQ、MCQ、MCQCA、MCQME、MCQEE、5-HLAQ、SPIRO-LAQ 或 3 H-LAQ 之濃度的方法。

The subject invention provides a mixture of crystalline laquinimod sodium particles, wherein (i) 90% or more of the total amount by volume of the laquinimod sodium particles have a size of 40 microns or less or (ii) 50% or more of the total amount by volume of the laquinimod sodium particles have a size of 15 microns or less, and wherein: a) the mixture has a bulk density of 0.2 g/mL to 0.4 g/mL; b) the mixture has a tapped density of 0.40 g/mL to 0.7 g/mL; c) an amount of heavy metal in the mixture is no more than 0.002% of heavy metal relative to the amount by weight of laquinimod sodium; d) an amount of 5-chloro-4-hydroxy-1-methyl-2-oxo-1,2-dihydroquinoline (MCQ) in the mixture is no more than 0.15% relative to the amount of laquinimod sodium as measured by HPLC; e) an amount of 5-chloro-4-hydroxy-1-methyl-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylic acid (MCQCA) in the mixture is no more than 0.15% relative to the amount of laquinimod sodium as measured by HPLC; or f) an amount of methyl 5-chloro-4-hydroxy-1-methyl-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylate (MCQME) in the mixture is no more than 0.12% relative to the amount of laquinimod sodium as measured by HPLC.

The subject invention also provides a pharmaceutical composition comprising an amount of laquinimod and at least one of 2-chloro-6-(3-(ethyl(phenyl)amino)-2-hydroxy-N-methyl-3-oxopropanamido)benzoic acid (BH-3-HLAQ), 5-Chloro-4-hydroxy-1-methylquinolin-2(1H)-one (MCQ), 5-Chloro-4-hydroxy-1-methyl-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylic acid (MCQCA), Methyl 5-chloro-4-hydroxy-1-methyl-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylate (MCQME), N-Ethylaniline (NEA), and Ethyl 5-chloro-4-hydroxy-1-methyl-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylate (MCQEE). The subject invention also provides processes for preparing BH-3-HLAQ, MCQ, MCQCA, MCQME, MCQEE, and compounds prepared by said processes. The subject invention also provides a process for testing whether a sample of laquinimod contains an undesirable impurity.

The subject invention further provides a process for preparing a validated pharmaceutical composition comprising laquinimod, a process for preparing a pharmaceutical composition comprising laquinimod, or for distributing a validated batch of a pharmaceutical composition comprising laquinimod, a process for validating a batch of a pharmaceutical product containing laquinimod or a pharmaceutically acceptable salt thereof and a pharmaceutically acceptable carrier for distribution, and a process for preparing a packaged pharmaceutical composition comprising laquinimod or a pharmaceutically acceptable salt thereof, each comprising determining the amount of at least one of BH-3-HLAQ, MCQ, MCQCA, MCQME, NEA, and MCQEE in a sample or batch.

The subject invention further provides use of BH-3-HLAQ, MCQ, MCQCA, MCQME, MCQEE as a reference standard to detect trace amounts of the impurity in a pharmaceutical composition comprising laquinimod.

Finally, the subject invention provides methods of determining the concentration of BH-3-HLAQ, MCQ, MCQCA, MCQME, MCQEE, 5-HLAQ, SPIRO-LAQ or 3 H-LAQ in a pharmaceutical composition comprising laquinimod.

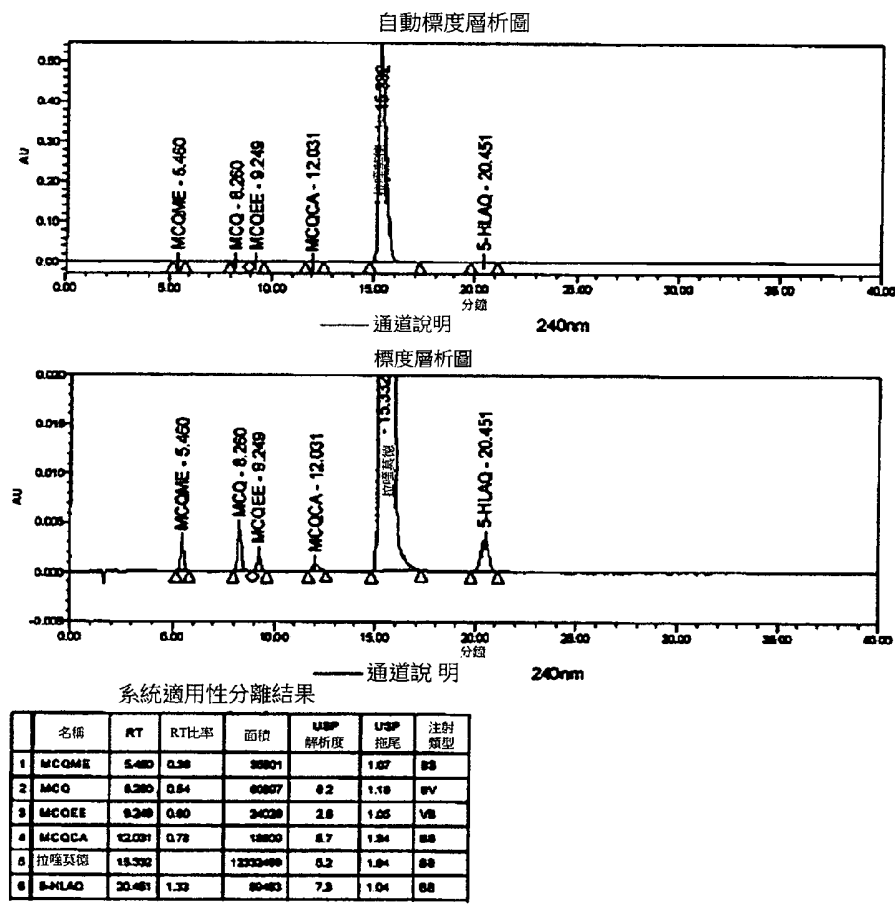
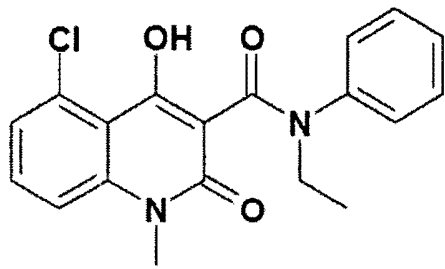


圖3



發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】

拉喹莫德鈉之結晶及其製造之改良方法

CRYSTALS OF LAQUINIMOD SODIUM AND IMPROVED
PROCESS FOR THE MANUFACTURE THEREOF

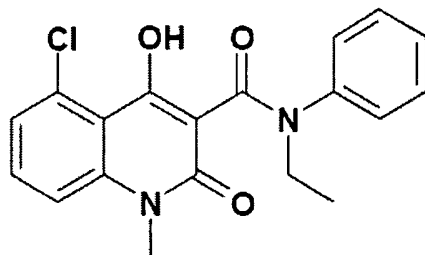
本申請案主張2013年3月14日申請之美國臨時申請案第61/785,575號之優先權，該臨時申請案之全部內容以引用的方式併入本文中。

在本申請案通篇，由第一作者及公開年份提及各種公開案。此等公開案之全部引用呈現於緊接申請專利範圍前之參考文獻部分。參考文獻部分中所引用之公開案的全部揭示內容以引用的方式併入本申請案中，以便更充分地描述至本文所述之本發明日期為止之現有技術。

【先前技術】

拉喹莫德(laquinimod)為已展示在急性實驗性自體免疫性腦脊髓炎(aEAE)模型中有效的化合物(美國專利第6,077,851號)。其化學名稱為N-乙基-N-苯基-1,2,-二氫-4-羥基-5-氯-1-甲基-2-側氧基喹啉-3-甲醯胺，且其化學登記號為248281-84-7。

拉喹莫德為具有以下化學結構的小分子：



拉喹莫德

拉喹莫德鈉具有高口服生物可用率且已建議作為口服調配物用於多發性硬化症(MS)治療。(Polman, C.等人, (2005) 「Treatment with laquinimod reduces development of active MRI lesions in relapsing MS」, *Neurology*. 64:987-991 ; Sandberg-Wollheim M等人, (2005) 「48-week open safety study with high-dose oral laquinimod in patients」, *Mult Scler*.11:S154)。研究亦已展示, 拉喹莫德可減少復發性MS中活動性MRI病變的出現。(Polman, C.等人, (2005) 「Treatment with laquinimod reduces development of active MRI lesions in relapsing MS」, *Neurology*. 64:987-991)。

為將拉喹莫德製備為醫藥產品, 製造方法需要考慮本文中所揭示之雜質存在於該產品中之可能性。拉喹莫德早期合成所產生之產品受諸如5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯及5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉之雜質污染(K. Jansson等人, (2006) 「Synthesis and Reactivity of Laquinimod, a Quinoline-3-carboxamide: Intramolecular Transfer of the Enol Proton to a Nitrogen Atom as a Plausible Mechanism for Ketene Formation, *J. Org. Chem.*, 71, 1658-1667)。亦已揭示數種其他雜質(美國專利第6,077,851號; 美國專利第6,875,869號; 及美國專利第7,884,208號)。美國專利申請公開案第2012/0010239號(其內容以引用的方式併入本申請案中)揭示雜質5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-N-苯基-1,2-二氫喹啉-3-甲醯胺。美國專利申請公開案第2013/0217724號(其內容以引用的方式併入本申請案中)揭示雜質N-乙基-4,5-二羥基-1-甲基-2-側氧基-N-苯基-1,2-二氫喹啉-3-甲醯胺。美國專利申請公開案第2013/00345256號(其內容以引用的方式併入本申請案中)揭示雜質N-乙基-4-羥基-1-甲基-5-(甲基(2,3,4,5,6-五羥基己基)胺基)-2-側氧基-N-苯基-1,2-二氫喹啉-3-甲醯胺。美國專利第8,178,127號(其內容以引用的方式併入本申請案中)揭

示雜質2-氯-6-(1-乙基-N-甲基-2-側氧基吡啶-3-甲醯胺基)苯甲酸、1H,3H-螺[5-氯-1-甲基喹啉-2,4-二酮-3,3'-[1]乙基吡啶-[2]-酮及5-氯-N-乙基-3-羥基-1-甲基-2,4-二側氧基-N-苯基,1,2,3,4-四氫喹啉-3-甲醯胺。

拉喹莫德之合成方法及其鈉鹽之製備方法揭示於美國專利第6,077,851號。具有低含量之某些雜質的拉喹莫德酸(而非拉喹莫德鈉)的其他合成方法揭示於美國專利第6,875,869號。美國專利第7,884,208號教示一種製備拉喹莫德鈉之方法，其在鹽形成步驟後移除存在之某些雜質，由此產生較高純度之結晶混合物以及具有大粒子及經改良之敲緊及容積密度之結晶混合物。包含拉喹莫德鈉之醫藥組合物揭示於PCT國際申請公開案第WO 2005/074899號。

在美國專利第6,077,851號中所揭示之拉喹莫德鈉之製備中，將拉喹莫德酸懸浮於乙醇中且添加5M氫氧化鈉溶液。在攪拌後，過濾所得沈澱，用乙醇洗滌且乾燥。美國專利第6,077,851號中用於製得拉喹莫德鈉之方法通常稱為漿液至漿液之鹽形成。

在美國專利第6,077,851號之漿液至漿液之鹽形成方法中，拉喹莫德鈉未溶解於溶液中。因此不藉由過濾移除任何固體雜質(若存在於拉喹莫德鈉懸浮液中)。

美國專利第6,875,869號揭示一種以高產率及低雜質含量製備基礎化合物拉喹莫德之方法。然而，美國專利第6,875,869號中之方法僅用於合成基礎化合物(拉喹莫德酸)而非鹽。因此，漿液至漿液之鹽形成方法將仍需要用於形成鈉鹽。

美國專利第7,884,208號教示一種經改良之用於製備拉喹莫德鈉之方法，其產生較高純度之結晶以及具有經改良之結晶特徵(例如包含不超過2 ppm之重金屬且具有較高敲緊密度)之結晶。在美國專利第7,884,208號之實例13-17中所揭示之方法中，將拉喹莫德鈉溶解於水

中以形成水溶液；濃縮該水溶液；且隨後將水可混溶之反溶劑添加至該濃溶液以形成拉喹莫德鈉結晶。美國專利第7,884,208號之方法在鹽形成後移除雜質，由此產生純度比直接由美國專利第6,077,851號之「漿液至漿液」方法產生之拉喹莫德鈉高的拉喹莫德鈉。

【發明內容】

本發明提供拉喹莫德鈉結晶粒子之混合物，其中(i)佔總體積量90%或90%以上之拉喹莫德鈉粒子具有40微米或40微米以下之粒徑或(ii)佔總體積量50%或50%以上之拉喹莫德鈉粒子具有15微米或15微米以下之粒徑，且其中：

- a) 該混合物具有0.2 g/mL至0.4 g/mL之容積密度；
- b) 該混合物具有0.40 g/mL至0.7 g/mL之敲緊密度；
- c) 該混合物中存在之重金屬之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過20 ppm的重金屬；
- d) 該混合物中存在之5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.15%；
- e) 該混合物中5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.15%；
- f) 該混合物中存在之5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.12%；
- g) 該混合物中存在之5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.10%；
- h) 該混合物中存在之N-乙基苯胺(NEA)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.10%；或

i) 該混合物中存在之*N*-乙基-4,5-二羥基-1-甲基-2-側氧基-*N*-苯基-1,2-二氫喹啉-3-甲醯胺(5-HLAQ)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.10%。

本發明提供拉喹莫德鈉結晶粒子之混合物，其中(i)佔總體積量90%或90%以上之拉喹莫德鈉粒子具有小於40微米之粒徑，(ii)佔總體積量50%或50%以上之拉喹莫德鈉粒子具有小於15微米之粒徑，及(iii)佔總體積量10%或10%以上之拉喹莫德鈉粒子具有小於5微米之粒徑且其中：

a) 該混合物具有0.2 g/mL至0.4 g/mL之容積密度；

b) 該混合物具有0.40 g/mL至0.7 g/mL之敲緊密度；

c) 該混合物中存在之重金屬之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過20 ppm的重金屬；

d) 該混合物中存在之5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.15%；

e) 該混合物中存在之5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.15%；

f) 該混合物中存在之5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.12%；

1. 該混合物中存在之5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.10%；

2. 該混合物中存在之*N*-乙基苯胺(NEA)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.10%；或

3. 該混合物中存在之*N*-乙基-4,5-二羥基-1-甲基-2-側氧基-*N*-苯

基-1,2-二氫喹啉-3-甲醯胺(5-HLAQ)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.10%。

本發明提供一種醫藥組合物，包含如本文所述之混合物及醫藥學上可接受之載劑。

本發明提供一種使拉喹莫德鈉再結晶之方法，其包括：

- a) 將一定量拉喹莫德鈉溶解於水中以形成水溶液；
- b) 濃縮該水溶液以形成每公克拉喹莫德鈉約1.7-1.8 mL水構成之濃溶液；
- c) 添加丙酮至步驟b)之濃溶液；及
- d) 分離再結晶之拉喹莫德鈉。

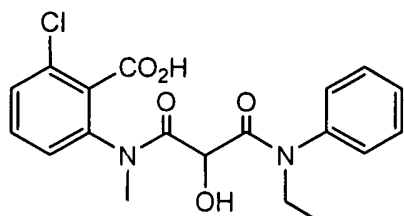
本發明亦提供藉由如本文所述之方法製備之拉喹莫德鈉結晶粒子之混合物及包含該混合物之醫藥組合物。

本發明提供拉喹莫德鈉結晶粒子之混合物，其中(i)佔總體積量90%或90%以上之拉喹莫德鈉粒子具有40微米或40微米以下之粒徑或(ii)佔總體積量50%或50%以上之拉喹莫德鈉粒子具有15微米或15微米以下之粒徑，且其中

- a) 該混合物中鋁之量相對於拉喹莫德鈉重量計為小於5 ppm；
 - b) 該混合物中鈣之量相對於拉喹莫德鈉重量計為小於60 ppm；
 - c) 該混合物中銅之量相對於拉喹莫德鈉重量計為小於1 ppm；
- 或
- d) 該混合物中鋅之量相對於拉喹莫德鈉重量計為小於7 ppm。

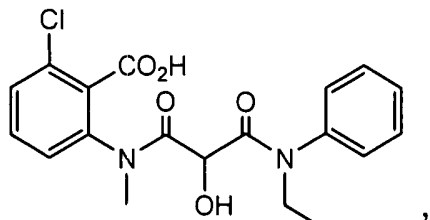
本發明亦提供一種醫藥組合物，包含如本文所述之混合物及醫藥學上可接受之載劑。

本發明亦提供具有以下結構之經分離之化合物：



或其鹽。

本發明亦提供一種組合物，包含具有以下結構之化合物：



或其鹽，其中該組合物無拉喹莫德或其鹽。

● 本發明亦提供一種醫藥組合物，包含一定量拉喹莫德及2-氯-6-(3-(乙基(苯基)胺基)-2-羥基-N-甲基-3-側氧基丙醯胺基)苯甲酸(BH-3-HLAQ)、5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)、5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)、5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)、N-乙基苯胺(NEA)及5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯(MCQEE)中之至少一者，其中

a) 基於藉由HPLC方法之測定，2-氯-6-(3-(乙基(苯基)胺基)-2-羥基-N-甲基-3-側氧基丙醯胺基)苯甲酸(BH-3-HLAQ)以相對於拉喹莫德之濃度不超過**10%**之量存在於該醫藥組合物中，或

b) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)以相對於拉喹莫德之濃度不超過**10%**之量存在於該醫藥組合物中，或

c) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)以相對於拉喹莫德之濃度不超過**10%**之量存在於該醫藥組合物中，或

d) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-

1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)以相對於拉喹莫德之濃度不超過10%之量存在於該醫藥組合物中，或

e) 基於藉由HPLC方法之測定，N-乙基苯胺(NEA)以相對於拉喹莫德之濃度不超過10%之量存在於該醫藥組合物中，或

f) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯(MCQEE)以相對於拉喹莫德之濃度不超過10%之量存在於該醫藥組合物中。

本發明亦提供一種製備2-氯-6-(3-(乙基(苯基)胺基)-2-羥基-N-甲基-3-側氧基丙醯胺基)苯甲酸(BH-3-HLAQ)之方法，其包含以下步驟：

a) 向5-氯-N-乙基-3-羥基-1-甲基-2,4-二側氧基-N-苯基-1,2,3,4-四氫喹啉-3-甲醯胺於水中之懸浮液中添加氫氧化鈉溶液，

b) 攪拌步驟a)之混合物，接著添加鹽酸溶液，

c) 用乙酸乙酯萃取水溶液，

d) 用鹽水洗滌有機相，

e) 經硫酸鈉乾燥該有機相，

f) 過濾該懸浮液，

g) 蒸發濾液，

h) 藉由自異丙醇結晶純化殘餘物，

i) 冷卻該懸浮液，接著過濾且用異丙醇洗滌，及

j) 獲得且乾燥所得白色固體。

本發明亦提供藉由上述方法製備之2-氯-6-(3-(乙基(苯基)胺基)-2-羥基-N-甲基-3-側氧基丙醯胺基)苯甲酸(BH-3-HLAQ)。

本發明亦提供一種製備5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)之方法，其包含以下步驟：

a) 加熱5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸

(MCQCA)及二甲亞碲之混合物，

b) 冷卻步驟a)之混合物，及

c) 過濾步驟b)之混合物且收集所得濾液。

本發明亦提供藉由上述方法製備之5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)。

本發明亦提供一種製備5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)之方法，其包含以下步驟：

a) 加熱5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯(MCQEE)於鹽酸之乙酸溶液中之混合物，

b) 冷卻步驟a)之混合物，

c) 用2-丙醇稀釋步驟b)之混合物且進一步冷卻經稀釋之混合物，及

d) 過濾出由步驟c)產生之結晶。

本發明亦提供藉由上述方法製備之5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)。

本發明亦提供一種製備5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)之方法，其包含以下步驟：

a) 藉由含丙二酸二甲酯之二甲基甲醯胺與甲醇鈉溶液反應形成丙二酸二甲酯鈉，

b) 使中間物5-氯-1-甲基-1*h*-苯并[D][1,3]噁嗪-2,4-二酮與丙二酸二甲酯鈉反應形成5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)鈉鹽，及

c) 使5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)鈉鹽酸化成5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)。

本發明亦提供藉由上述方法製備之5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-

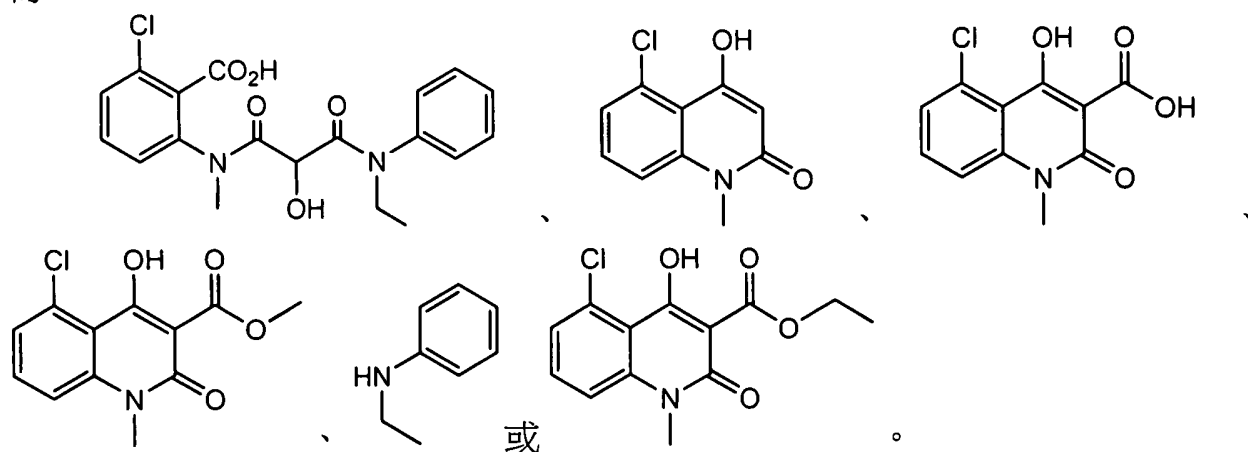
1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)。

本發明亦提供一種製備5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯(MCQEE)之方法，其包含以下步驟：

- a) 將氫化鈉添加至5-氯-1-甲基-1h-苯并[D][1,3]噁嗪-2,4-二酮及丙二酸二乙酯於二甲基甲醯胺中之溶液中，
- b) 在攪拌的同時加熱步驟a)之混合物，
- c) 冷卻步驟b)之溶液，
- d) 淬滅步驟c)之反應混合物，
- e) 使步驟d)之混合物酸化，
- f) 過濾接著乾燥步驟e)之混合物，及
- g) 藉由溶解於乙醇中，接著緩慢冷卻而使步驟f)之粗產物結晶。

本發明亦提供藉由上述方法製備之5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯(MCQEE)。

本發明亦提供一種方法，用於測試拉喹莫德樣品是否含有不希望有的雜質，該方法包括測定該樣品是否含有具有以下結構之化合物：



本發明亦提供一種製備包含拉喹莫德之驗證醫藥組合物之方法，其包括：

- a) 獲得一批次拉喹莫德；

b) 藉由使用 HPLC 方法測定該批次中 5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)、5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)、5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)、N-乙基苯胺(NEA)及 5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯(MCQEE)中之至少一者之量；及

c) 僅在以下情況下由該批次製備該醫藥組合物：

i) 該批次經測定具有相對於拉喹莫德之濃度不超過**0.15%**之 5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)，或

ii) 該批次經測定具有相對於拉喹莫德之濃度不超過**0.15%**之 5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)，或

iii) 該批次經測定具有相對於拉喹莫德之濃度不超過**0.15%**、**0.12%**或**0.1%**之 5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)，或

iv) 該批次經測定具有相對於拉喹莫德之濃度不超過**0.1%**之 N-乙基苯胺(NEA)，或

v) 該批次經測定具有相對於拉喹莫德之濃度不超過**0.1%**之 5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯(MCQEE)。

本發明亦提供一種製備包含拉喹莫德之醫藥組合物或用於分配該已驗證批次之包含拉喹莫德之醫藥組合物的方法，其包含

a) 獲得一批次拉喹莫德或該醫藥組合物；

b) 使用該批次樣品進行穩定性測試；

c) 在穩定性測試後，藉由 HPLC 方法測定該批次樣品中 5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)、5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)、5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)、N-乙基苯胺(NEA)及 5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯(MCQEE)中之至少一者之總量；及

d) 僅在穩定性測試後該批次樣品含有以下之情況下，才驗證該批次以用於分配或由該批次製備該醫藥組合物：

i) 相對於拉喹莫德之濃度，總共不超過**0.15%**之5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)，或

ii) 相對於拉喹莫德之濃度，總共不超過**0.15%**之5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)，或

iii) 相對於拉喹莫德之濃度，總共不超過**0.15%**、**0.12%**或**0.1%**之5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)，或

iv) 相對於拉喹莫德之濃度，總共不超過**0.1%**之N-乙基苯胺(NEA)，或

v) 相對於拉喹莫德之濃度，總共不超過**0.1%**之5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯(MCQEE)。

本發明亦提供一種驗證一批次含有拉喹莫德或其醫藥學上可接受之鹽及醫藥學上可接受之載劑之醫藥產品的方法，其包含

a) 對該批次樣品進行穩定性測試；

b) 在穩定性測試後藉由HPLC方法測定該批次樣品中2-氯-6-(3-(乙基(苯基)胺基)-2-羥基-N-甲基-3-側氧基丙醯胺基)苯甲酸(BH-3-HLAQ)、5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)、5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)、5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)、N-乙基苯胺(NEA)及5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯(MCQEE)中之至少一者之量；及

c) 僅在穩定性測試後該批次樣品含有以下之情況下，才驗證該批次以用於分配：

i) 相對於拉喹莫德之濃度，總共不超過**1.0%**之2-氯-6-(3-(乙基

(苯基)胺基)-2-羥基-N-甲基-3-側氧基丙醯胺基)苯甲酸(BH-3-HLAQ)，或

ii) 相對於拉喹莫德之濃度，總共不超過**0.5%**或**0.1%**之N-乙基苯胺(NEA)，或

iii) 相對於拉喹莫德之濃度，總共不超過**0.5%**之合併的5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)及5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)。

本發明亦提供一種製備包含拉喹莫德或其醫藥學上可接受之鹽之封裝醫藥組合物之方法，其包括：

a) 獲得一批次包含拉喹莫德或其醫藥學上可接受之鹽之醫藥組合物；

b) 使用該批次樣品進行穩定性測試；

c) 在穩定性測試後藉由HPLC方法測定該樣品中2-氯-6-(3-(乙基(苯基)胺基)-2-羥基-N-甲基-3-側氧基丙醯胺基)苯甲酸(BH-3-HLAQ)、5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)、5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)、5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)、N-乙基苯胺(NEA)及5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯(MCQEE)中之至少一者之量；及

d) 僅在以下情況下封裝該醫藥組合物：

i) 該樣品中2-氯-6-(3-(乙基(苯基)胺基)-2-羥基-N-甲基-3-側氧基丙醯胺基)苯甲酸(BH-3-HLAQ)之含量經測定相對於拉喹莫德之濃度不超過**1.0%**，或

ii) 該樣品中N-乙基苯胺(NEA)之含量經測定相對於拉喹莫德之濃度不超過**0.5%**或**0.1%**。

iii) 該樣品中5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)及5-氯-4-羥

基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)之合併含量經測定相對於拉喹莫德之濃度總共不超過**0.5%**。

本發明亦提供一種雜質或其鹽以作為參考標準用於偵測包含拉喹莫德或其醫藥學上可接受之鹽之醫藥組合物中該雜質之痕量，其中該雜質係選自由以下組成之群：2-氯-6-(3-(乙基(苯基)胺基)-2-羥基-N-甲基-3-側氧基丙醯胺基)苯甲酸(BH-3-HLAQ)、5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)、5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)、5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)，N-乙基苯胺(NEA)及5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯(MCQEE)。

本發明亦提供一種測定包含拉喹莫德之醫藥組合物中之雜質濃度的方法，該方法包括

- a) 由該醫藥組合物製備樣品溶液，
- b) 製備包含該雜質之標準溶液
- c) 製備包含拉喹莫德及該雜質之解析溶液，
- d) 藉由將乙酸銨溶解於水中且使用氨水或冰醋酸調整至 7.0 ± 0.05 之pH來製備緩衝溶液，
- e) 製備包含該緩衝溶液及乙腈之稀釋劑溶液，
- f) 製備包含該稀釋劑溶液及乙腈水溶液之空白溶液，
- g) 將該解析溶液、該空白溶液、該標準溶液及該樣品溶液注入HPLC，
- h) 使用在240 nm下之紫外線吸收及該稀釋劑溶液作為移動相來操作HPLC，
- i) 測定該雜質在該樣品溶液之層析圖中的滯留時間(RT)及峰面積，及
- j) 相對於該等標準溶液之層析圖中之對應峰對該雜質進行定

量，

其中該雜質為5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)、5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)、5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)、*N*-乙基-4,5-二羥基-1-甲基-2-側氧基-*N*-苯基-1,2-二氫喹啉-3-甲醯胺(5-HLAQ)或5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯(MCQEE)。

本發明亦提供一種測定包含拉喹莫德之醫藥組合物中之雜質濃度的方法，該方法包括

- a) 由該醫藥組合物製備樣品溶液，
- b) 製備包含該雜質之標準溶液，
- c) 製備包含拉喹莫德及該雜質之解析溶液，
- d) 藉由將乙酸銨溶解於水中且使用氨水或冰醋酸調整至 7.0 ± 0.05 之pH來製備緩衝溶液，
- e) 製備包含該緩衝溶液及乙腈之空白溶液，
- f) 將該解析溶液、該空白溶液、該標準溶液及該樣品溶液注入HPLC，
- g) 使用在240 nm下之紫外線吸收及緩衝溶液及乙腈之混合物的移動相操作HPLC。
- h) 測定該雜質在該樣品溶液之層析圖中的滯留時間(RT)及峰面積，
- i) 相對於該等標準溶液之層析圖中之對應峰對該雜質進行定量，

其中該雜質為*N*-乙基苯胺(NEA)、1*H*,3*H*-螺[5-氯-1-甲基喹啉-2,4-二酮-3,3'-[1]乙基吡啶-2]-酮] (SPIRO-LAQ)或5-氯-*N*-乙基-3-羥基-1-甲基-2,4-二側氧基-*N*-苯基-1,2,3,4-四氫喹啉-3-甲醯胺(3-HLAQ)。

本發明亦提供一種測定包含拉喹莫德及醫藥學上可接受之載劑之醫藥組合物中之雜質濃度的方法，該方法包括

- a) 由該醫藥組合物製備樣品溶液，
- b) 製備包含該雜質之標準溶液
- c) 製備包含該雜質之定量限度(QL)溶液，
- d) 製備包含拉喹莫德及該雜質之解析溶液，
- e) 藉由將磷酸二氫銨溶解於水中且使用氨水或磷酸調整至 7.0 ± 0.10 之pH來製備緩衝溶液，
- f) 製備包含該緩衝溶液及乙腈之空白溶液，
- g) 將該解析溶液、該空白溶液、該QL溶液、該標準溶液及該樣品溶液注入HPLC，
- h) 使用在212 nm下之紫外線吸收及該緩衝溶液、乙腈及甲醇之混合物的移動相操作HPLC，
- i) 測定該雜質在該樣品溶液之層析圖中的滯留時間(RT)及峰面積，及
- j) 相對於該等標準溶液之層析圖中之對應峰對該雜質進行定量，

其中該雜質為2-氯-6-(3-(乙基(苯基)胺基)-2-羥基-N-甲基-3-側氧基丙醯胺基)苯甲酸(BH-3-HLAQ)或N-乙基-4-羥基-1-甲基-5-(2,3,4,5,6-五羥基己基胺基)-2-側氧基-N-苯基-1,2-二氫喹啉-3-甲醯胺(MEG-LAQ)。

本發明亦提供一種測定包含拉喹莫德及醫藥學上可接受之載劑之醫藥組合物中之雜質濃度的方法，該方法包括

- a) 由該醫藥組合物製備樣品溶液，
- b) 製備包含該雜質之標準溶液
- c) 製備包含拉喹莫德及該雜質之解析溶液，

d) 藉由將乙酸銨溶解於水中且使用氨水或冰醋酸調整至 7.0 ± 0.05 之pH來製備緩衝溶液，

e) 製備包含該緩衝溶液及乙腈之空白溶液，

f) 將該解析溶液、該空白溶液、該標準溶液及該樣品溶液注入HPLC，

g) 使用在242 nm下之紫外線吸收及該空白溶液作為移動相來操作HPLC，

h) 測定該雜質在該樣品溶液之層析圖中的滯留時間(RT)及峰面積，及

i) 相對於該等標準溶液之層析圖中之對應峰對該雜質進行定量，

其中該雜質為5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)、5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)、5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)或*N*-乙基-4,5-二羥基-1-甲基-2-側氧基-*N*-苯基-1,2-二氫喹啉-3-甲醯胺(5-HLAQ)。

本發明亦提供一種測定包含拉喹莫德及醫藥學上可接受之載劑之醫藥組合物中之雜質濃度的方法，該方法包括

a) 由該醫藥組合物製備樣品溶液，

b) 製備包含該雜質之標準溶液

c) 製備包含拉喹莫德及該雜質之解析溶液，

d) 製備包含甲醇及乙腈之空白溶液，

e) 藉由將乙酸銨溶解於水中且使用氨水或冰醋酸調整至 7.0 ± 0.05 之pH來製備緩衝溶液，

f) 將該解析溶液、該空白溶液及該樣品溶液注入HPLC，

g) 使用在240 nm下之紫外線吸收及包含乙腈及該緩衝溶液之移動相操作HPLC，

h) 測定該雜質在該樣品溶液之層析圖中的滯留時間(RT)及峰面積，及

i) 相對於該等標準溶液之層析圖中之對應峰對該雜質進行定量，

其中該雜質為N-乙基苯胺(NEA)、5-氯-N-乙基-3-羥基-1-甲基-2,4-二側氧基-N-苯基-1,2,3,4-四氫喹啉-3-甲醯胺(3-HLAQ)或1*H*,3*H*-螺[5-氯-1-甲基喹啉-2,4-二酮-3,3'-[1]乙基吲哚啉-[2]-酮] (SPIRO-LAQ)。

【圖式簡單說明】

圖1：美國專利第7,884,208號之圖1。

圖2：美國專利第7,884,208號之圖2。

圖3：HPLC數據-拉喹莫德鈉之混合物之實例。

圖4：HPLC數據-拉喹莫德鈉之純層析圖。

圖5：典型批次之粗物質拉喹莫德鈉在第一放大倍率水準下之顯微照片。

圖6：典型批次之粗物質拉喹莫德鈉在第二放大倍率水準下之顯微照片。

圖7：批次C在第一放大倍率水準下之顯微照片。

圖8：批次C在第二放大倍率水準下之顯微照片。

圖9：MCQ於DMSO中之¹H-NMR譜。

圖10：MCQ於DMSO中之¹³C-NMR譜。

圖11：MCQ之質譜(ES+模式)。

圖12：MCQ於KBr中之傅立葉變換-紅外光譜。

圖13：MCQCA於D₂O+KOH中之¹H-NMR譜。

圖14：MCQCA於D₂O+KOH中之¹³C-NMR譜。

圖15：MCQCA之質譜(ES+模式)。

圖 16：MCQCA 之傅立葉變換紅外光譜。

圖 17：MCQEE 於 CDCl_3 中之 ^1H -NMR 譜。

圖 18：MCQEE 於 CDCl_3 中之 ^{13}C -NMR 譜。

圖 19：MCQEE 之質譜(ES^+ 模式)。

圖 20：MCQEE 之傅立葉變換紅外光譜。

圖 21：5-HLAQ 於 DMSO 中之 ^1H -NMR 譜。

圖 22：5-HLAQ 於 DMSO 中之 ^{13}C -NMR 譜。

圖 23：5-HLAQ 之質譜(ES^+ 模式)。

圖 24：5-HLAQ 之傅立葉變換紅外光譜。

圖 25：DELAQ 於 CDCl_3 中之 ^1H -NMR 譜。

圖 26：DELAQ 於 CDCl_3 中之 ^{13}C -NMR 譜。

圖 27：DELAQ 之質譜(ES^+ 模式)。

圖 28：DELAQ 於 KBr 中之傅立葉變換紅外光譜。

圖 29：3-HLAQ 於 CDCl_3 中之 ^1H -NMR 譜。

圖 30：3-HLAQ 於 CDCl_3 中之 ^{13}C -NMR 譜。

圖 31：3-HLAQ 之質譜(ES^+ 模式)。

圖 32：3-HLAQ 之傅立葉變換紅外光譜。

圖 33：SPIRO-LAQ 於 DMSO 中之 ^1H -NMR 譜。

圖 34：SPIRO-LAQ 於 DMSO 中之 ^{13}C -NMR 譜。

圖 35：SPIRO-LAQ 之質譜(ES^+ 模式)。

圖 36：SPIRO-LAQ 之傅立葉變換紅外光譜。

圖 37：BH-3-HLAQ 於 DMSO 中之 ^1H -NMR 譜。

圖 38：BH-3-HLAQ 於 DMSO 中之 ^{13}C -NMR 譜。

圖 39：BH-3-HLAQ 之質譜(ES^+ 模式)。

圖 40：BH-3-HLAQ 之 FT-IR 譜。

圖 41：解析測試層析圖(研磨前之拉喹莫德鈉(結晶)及原料藥)-藉

由滯留時間鑑定及藉由HPLC測定分析物及極性雜質/降解產物(極性IDD)。

圖42：稀釋劑層析圖(研磨前之拉喹莫德鈉(結晶)及原料藥)-藉由滯留時間鑑定及藉由HPLC測定分析物及極性雜質/降解產物(極性IDD)。

圖43：用於分析之典型層析圖(研磨前之拉喹莫德鈉(結晶)及原料藥)-藉由滯留時間鑑定及藉由HPLC測定分析物及極性雜質/降解產物(極性IDD)。

圖44：用於雜質測試之典型層析圖(研磨前之拉喹莫德鈉(結晶)及原料藥)-藉由滯留時間鑑定及藉由HPLC測定分析物及極性雜質/降解產物(極性IDD)。

圖45：解析測試層析圖(研磨前之拉喹莫德鈉(結晶)及原料藥)-藉由HPLC測定N-乙基苯胺及非極性雜質(非極性IDD)。

圖46：稀釋劑層析圖(研磨前之拉喹莫德鈉(結晶)及原料藥)-藉由HPLC測定N-乙基苯胺及非極性雜質(非極性IDD)。

圖47：典型樣品層析圖(研磨前之拉喹莫德鈉(結晶)及原料藥)-藉由HPLC測定N-乙基苯胺及非極性雜質(非極性IDD)。

圖48：解析溶液1(解析測試)層析圖(拉喹莫德膠囊)，藉由HPLC鑑定及測定分析物及極性雜質/降解產物。

圖49：解析溶液2層析圖(拉喹莫德膠囊)，藉由HPLC鑑定及測定分析物及極性雜質/降解產物。

圖50：稀釋劑(空白)層析圖(拉喹莫德膠囊)，藉由HPLC鑑定及測定分析物及極性雜質/降解產物。

圖51：用於分析之樣品層析圖(拉喹莫德膠囊)，藉由HPLC鑑定及測定分析物及極性雜質/降解產物。

圖52：用於測定雜質/降解產物之樣品層析圖-(拉喹莫德膠囊)，

藉由HPLC鑑定及測定分析物及極性雜質/降解產物。

圖 53：解析測試層析圖(拉喹莫德膠囊)，測定非極性雜質/降解產物。

圖 54：空白(稀釋劑)層析圖(拉喹莫德膠囊)，測定非極性雜質/降解產物。

圖 55：樣品層析圖(拉喹莫德膠囊)，測定非極性雜質/降解產物。

圖 56：解析溶液之典型層析圖(拉喹莫德膠囊)-藉由HPLC測定MEG-LAQ及BH-3-HLAQ。

圖 57：空白(稀釋劑2)層析圖(拉喹莫德膠囊)-藉由HPLC測定MEG-LAQ及BH-3-HLAQ。

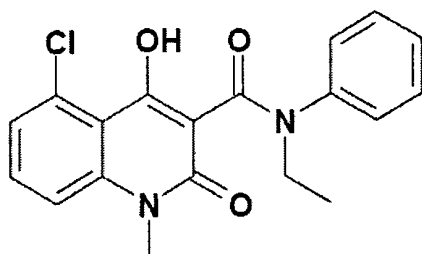
圖 58：QL溶液之層析圖(拉喹莫德膠囊)-藉由HPLC測定MEG-LAQ及BH-3-HLAQ。

圖 59：標準溶液之層析圖(拉喹莫德膠囊)-藉由HPLC測定MEG-LAQ及BH-3-HLAQ。

圖 60：典型樣品層析圖(拉喹莫德膠囊)-藉由HPLC測定MEG-LAQ及BH-3-HLAQ。

【實施方式】

拉喹莫德為具有以下化學結構之小分子：



拉喹莫德

其為一種口服免疫調節劑，已證明在各種實驗性發炎/自體免疫動物模型中之治療效應，諸如實驗性自體免疫性腦脊髓炎(EAE)、多

發性硬化症(MS)之動物模型、發炎性腸病之硫酸葡聚糖鈉(DSS)誘發之結腸炎、I型糖尿病(IDDM)之非肥胖糖尿病(NOD)小鼠、格巴二氏症候群(Guillain-Barre Syndrome)之實驗性自體免疫神經炎(EAN)、全身性紅斑狼瘡症(SLE)、狼瘡腎炎、狼瘡關節炎、克羅恩氏病(Crohn's Disease)及類風濕性關節炎。拉喹莫德在此等模型中之治療活性由多種機制效應產生，包括藉由調節趨化因子介導之T細胞黏著性而減少白血球浸潤於目標組織中、調節細胞激素平衡、下調II類MHC引起抗原呈遞變化、及對於樹突狀細胞亞群之效應(PCT國際申請公開案第WO2013/169746號)。

拉喹莫德之醫藥學上可接受之鹽包括鋰、鈉、鉀、鎂、鈣、錳、銅、鋅、鋁及鐵。拉喹莫德之鹽調配物及其製備方法描述於例如美國專利申請公開案第2005/0192315號及PCT國際申請公開案第WO2005/074899號中，該等公開案特此以引用的方式併入本申請案中。

本發明提供拉喹莫德鈉結晶粒子之混合物，其中(i)佔總體積量90%或90%以上之拉喹莫德鈉粒子具有40微米或40微米以下之粒徑或(ii)佔總體積量50%或50%以上之拉喹莫德鈉粒子具有15微米或15微米以下之粒徑，且其中：

- a) 該混合物具有0.2 g/mL至0.4 g/mL之容積密度；
- b) 該混合物具有0.40 g/mL至0.7 g/mL之敲緊密度；
- c) 該混合物中存在之重金屬之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過20 ppm的重金屬；
- d) 該混合物中存在之5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.15%；
- e) 該混合物中存在之5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.15%；或

f) 該混合物中5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.12%

g) 該混合物中存在之5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.10%；

h) 該混合物中存在之N-乙基苯胺(NEA)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.10%；或

i) 該混合物中存在之N-乙基-4,5-二羥基-1-甲基-2-側氧基-N-苯基-1,2-二氫喹啉-3-甲醯胺(5-HLAQ)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.10%。

在該混合物之一個實施例中，(i)佔總體積量90%或90%以上之拉喹莫德鈉粒子具有小於40微米之粒徑或(ii)佔總體積量50%或50%以上之拉喹莫德鈉粒子具有小於15微米之粒徑。

在該混合物之一個實施例中，佔總體積量10%或10%以上之拉喹莫德鈉粒子具有5微米或5微米以下之粒徑且其中：

a) 該混合物具有0.40 g/mL至0.7 g/mL之敲緊密度；或

b) 該混合物中存在之5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.15%。

本發明提供拉喹莫德鈉結晶粒子之混合物，其中(i)佔總體積量90%或90%以上之拉喹莫德鈉粒子具有小於40微米之粒徑，(ii)佔總體積量50%或50%以上之拉喹莫德鈉粒子具有小於15微米之粒徑，及(iii)佔總體積量10%或10%以上之拉喹莫德鈉粒子具有小於5微米之粒徑且其中：

a) 該混合物具有0.2 g/mL至0.4 g/mL之容積密度；

b) 該混合物具有0.40 g/mL至0.7 g/mL之敲緊密度；

c) 該混合物中存在之重金屬之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過20 ppm的重金屬；

d) 該混合物中存在之5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.15%；

e) 該混合物中存在之5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.15%；或

f) 該混合物中存在之5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.12%；

g) 該混合物中存在之5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.10%；

h) 該混合物中存在之*N*-乙基苯胺(NEA)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.10%；或

i) 該混合物中存在之*N*-乙基-4,5-二羥基-1-甲基-2-側氧基-*N*-苯基-1,2-二氫喹啉-3-甲醯胺(5-HLAQ)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.10%。

在該混合物之一個實施例中，該混合物以包含2.5 kg或2.5 kg以上之拉喹莫德鈉的單一批次加以製備。

在該混合物之一個實施例中，拉喹莫德鈉粒子係基於該混合物未經研磨之樣品加以測定。

在該混合物之一個實施例中，拉喹莫德鈉粒子之粒徑及以體積計之量係基於該混合物經研磨之樣品加以測定。

在該混合物之一個實施例中，該混合物具有0.2 g/mL至0.4 g/mL之容積密度。

在該混合物之一個實施例中，該混合物具有0.40 g/mL至0.7 g/mL之敲緊密度。

在該混合物之一個實施例中，該混合物中鋁之量相對於拉喹莫德鈉重量計為小於5 ppm。

在該混合物之一個實施例中，該混合物中鋁之量相對於拉喹莫德鈉重量計為小於2 ppm。

在該混合物之一個實施例中，該混合物中鈣之量相對於拉喹莫德鈉重量計為小於60 ppm。

在該混合物之一個實施例中，該混合物中鈣之量相對於拉喹莫德鈉重量計為小於25 ppm。

在該混合物之一個實施例中，該混合物中銅之量相對於拉喹莫德鈉重量計為小於1 ppm。

在該混合物之一個實施例中，該混合物中銅之量相對於拉喹莫德鈉重量計為小於0.6 ppm。

在該混合物之一個實施例中，該混合物中鋅之量相對於拉喹莫德鈉重量計為小於7 ppm。

在該混合物之一個實施例中，該混合物中鋅之量相對於拉喹莫德鈉重量計為小於4 ppm。

在該混合物之一個實施例中，該混合物中重金屬之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過20 ppm。

在該混合物之一個實施例中，該混合物中極性雜質之總量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過1.00%。

在該混合物之一個實施例中，該混合物中5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.15%。

在該混合物之一個實施例中，該混合物中5-氯-4-羥基-1-甲基-2-

側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.15%。

在該混合物之一個實施例中，該混合物中5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.12%。在另一實施例中，該混合物中MCQME之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.10%。

在該混合物之一個實施例中，該混合物中5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯(MCQEE)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.10%。

在該混合物之一個實施例中，該混合物中非極性雜質之總量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.50%。

在該混合物之一個實施例中，該混合物中N-乙基苯胺(NEA)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.10%。

在該混合物之一個實施例中，該混合物中N-乙基-4,5-二羥基-1-甲基-2-側氧基-N-苯基-1,2-二氫喹啉-3-甲醯胺(5-HLAQ)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.10%。

在該混合物之一個實施例中，該混合物中5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-N-苯基-1,2-二氫喹啉-3-甲醯胺(DELAQ)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.10%。

在該混合物之一個實施例中，該混合物中拉喹莫德酸之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過1.00%。

在該混合物之一個實施例中，該混合物中丙二酸二甲酯之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.10%。

在該混合物之一個實施例中，該混合物中丙二酸二乙酯之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.10%。

在該混合物之一個實施例中，該混合物中硫酸二甲酯之量相對

於拉喹莫德鈉重量計不超過1 ppm。

在該混合物之一個實施例中，該混合物中水之量如由K.F.電量滴定所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過1.5重量%。

在該混合物之一個實施例中，鈉之量相對於拉喹莫德鈉重量計為5.8%至6.4%。

在該混合物之一個實施例中，該混合物中乙醇之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過5000 ppm。

在該混合物之一個實施例中，該混合物中正庚烷之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過5000 ppm。

在該混合物之一個實施例中，該混合物中正辛烷之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過2000 ppm。在該混合物之另一實施例中，該混合物中正辛烷之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過200 ppm。在該混合物之另一實施例中，該混合物中正辛烷之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過20 ppm。

在該混合物之一個實施例中，該混合物中甲醇之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過3000 ppm。

在該混合物之一個實施例中，該混合物中丙酮之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過5000 ppm。

在該混合物之一個實施例中，該混合物中二噁烷之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過380 ppm。

在該混合物之一個實施例中，該混合物中二甲基甲醯胺之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過880 ppm。

在該混合物之一個實施例中，所列舉之化合物存在於該混合物中。在另一實施例中，所列舉之化合物至少以痕量存在。

本發明提供一種醫藥組合物，其包含本發明之混合物及醫藥學上可接受之載劑。

在該醫藥組合物之一個實施例中，該醫藥組合物中5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)及5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)之總量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.50%。

在該醫藥組合物之一個實施例中，該醫藥組合物中極性雜質之總量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過2.00%。

在該醫藥組合物之一個實施例中，該醫藥組合物中N-乙基苯胺(NEA)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.50%。

在該醫藥組合物之一個實施例中，該醫藥組合物中5-氯-N-乙基-3-羥基-1-甲基-5-2,4-二側氧基-N-苯基-1,2,3,4-四氫喹啉-3-甲醯胺(3-HLAQ)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.50%。

在該醫藥組合物之一個實施例中，該醫藥組合物中非極性雜質之總量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過1.00%。

在該醫藥組合物之一個實施例中，該醫藥組合物中N-乙基-4-羥基-1-甲基-5-(甲基(2,3,4,5,6-五羥基己基)胺基)-2-側氧基-N-苯基-1,2-二氫喹啉-3-甲醯胺(MEG-LAQ)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過1.00%。

在該醫藥組合物之一個實施例中，該醫藥組合物中水之量如由K.F.電量滴定所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過1.50%。

在該醫藥組合物之一個實施例中，該醫藥組合物中水之量如由K.F.電量滴定所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.80%。

在該醫藥組合物之一個實施例中，鈉之量相對於拉喹莫德鈉重量計為5.8%至6.4%。

在該醫藥組合物之一個實施例中，該醫藥組合物中乙醇之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過5000 ppm。

在該醫藥組合物之一個實施例中，該醫藥組合物中正庚烷之量

相對於拉喹莫德鈉重量計不超過5000 ppm。

在該醫藥組合物之一個實施例中，該醫藥組合物中正辛烷之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過2000 ppm。在該醫藥組合物之另一實施例中，該醫藥組合物中正辛烷之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過200 ppm。在該醫藥組合物之另一實施例中，該醫藥組合物中正辛烷之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過20 ppm。

在該醫藥組合物之一個實施例中，該醫藥組合物中甲醇之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過380 ppm。

在該醫藥組合物之一個實施例中，該醫藥組合物中丙酮之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過880 ppm。

在該醫藥組合物之一個實施例中，該醫藥組合物中二噁烷之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過380 ppm。

在該醫藥組合物之一個實施例中，該醫藥組合物中二甲基甲醯胺之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過880 ppm。

在該醫藥組合物之一個實施例中，所列舉之化合物存在於該醫藥組合物中。在另一實施例中，所列舉之化合物至少以痕量存在。

本發明提供一種治療罹患以下病症之個體的方法：多發性硬化症之一種形式、狼瘡腎炎、狼瘡關節炎、類風濕性關節炎、BDNF相關病症、克羅恩氏病、GABA相關病症、1型大麻素受體(CB1)介導之病症或眼睛發炎性病症，該方法包括向該個體投與本發明之混合物或本發明之醫藥組合物，藉以治療該個體。

本發明提供一種緩解以下症狀之方法：多發性硬化症、狼瘡腎炎、狼瘡關節炎、類風濕性關節炎、BDNF相關病症、克羅恩氏病、GABA相關病症、1型大麻素受體(CB1)介導之病症或眼睛發炎性病症，在罹患多發性硬化症之一種形式之個體中，該方法包括向該個體投與本發明之混合物或本發明之醫藥組合物，由此緩解該個體之多發

性硬化症症狀。

在一個實施例中，該混合物或醫藥組合物適用於治療以下病症或緩解以下病症之症狀：多發性硬化症之一種形式、狼瘡腎炎、狼瘡關節炎、類風濕性關節炎、BDNF相關病症、克羅恩氏病、GABA相關病症、1型大麻素受體(CB1)介導之病症或眼睛發炎性病症。

本發明提供一種混合物或醫藥組合物之用途，該混合物或醫藥組合物用於製造用於治療以下病症或緩解以下病症之症狀之藥劑：多發性硬化症之一種形式、GABA相關之病症、1型大麻素受體(CB1)介導之病症、狼瘡腎炎、狼瘡關節炎、類風濕性關節炎、BDNF相關病症、克羅恩氏病或眼睛發炎性病症。

本發明提供一種使拉喹莫德鈉再結晶之方法，其包括：

- a) 將一定量拉喹莫德鈉溶解於水中以形成水溶液；
- b) 濃縮該水溶液以形成每公克拉喹莫德鈉約1.7-1.8 mL水構成之濃溶液；
- c) 添加丙酮至步驟b)之濃溶液；及
- d) 分離再結晶之拉喹莫德鈉。

在該方法之一個實施例中，步驟a)中拉喹莫德鈉之量為2.5 kg或2.5 kg以上。

在該方法之一個實施例中，步驟a)係以每公克拉喹莫德鈉10-12 mL水來進行。

在該方法之一個實施例中，步驟a)係以每公克拉喹莫德鈉約11 mL水來進行。

在該方法之一個實施例中，步驟a)係藉由加熱水溶液至58-75°C之溫度來進行。

在該方法之一個實施例中，步驟a)係藉由加熱水溶液至60-73°C之溫度來進行。

在該方法之一個實施例中，結晶發生在步驟a)之後及步驟c)之前。

在該方法之一個實施例中，結晶係藉由在濃縮步驟b)期間或之後迅速攪拌來誘發。

在該方法之一個實施例中，結晶係藉由在濃縮步驟b)期間或之後添加晶種來誘發。

在該方法之一個實施例中，結晶發生在未添加晶種的情況下。

在該方法之一個實施例中，步驟b)係在適合於在每公克拉喹莫德鈉1.7-1.8 mL水之濃度下誘發結晶的條件下進行。

在該方法之一個實施例中，步驟b)係在28-45°C下進行。

在該方法之一個實施例中，步驟b)係在30-40°C下進行。

在該方法之一個實施例中，步驟c)係以濃溶液在40-55°C下進行。

在該方法之一個實施例中，步驟c)係以濃溶液在45-50°C下進行。

在該方法之一個實施例中，步驟c)係以每公克拉喹莫德鈉6-12 mL丙酮來進行。

在該方法之一個實施例中，步驟c)係以每公克拉喹莫德鈉約10 mL丙酮來進行。

在該方法之一個實施例中，步驟c)係經1-4小時之時間來進行。

在該方法之一個實施例中，步驟c)係經1.2-2.5小時之時間來進行。

在該方法之一個實施例中，步驟c)後為冷卻溶液至不低於-14°C且不超過6°C之溫度。

在該方法之一個實施例中，步驟c)後為冷卻溶液至不低於-4°C且不超過4°C之溫度。

在該方法之一個實施例中，溶液經3-5小時之時間冷卻。

在該方法之一個實施例中，溶液經3.5-4.5小時之時間冷卻。

在該方法之一個實施例中，步驟d)另外包括每公克步驟a)所使用之粗物質拉喹莫德鈉使用1-4 mL丙酮洗滌再結晶之拉喹莫德鈉。

在該方法之一個實施例中，步驟d)另外包括每公克步驟a)所使用之粗物質拉喹莫德鈉使用約3 mL丙酮洗滌再結晶之拉喹莫德鈉。

在該方法之一個實施例中，步驟d)另外包含在30-40°C下，在不超過50 mmHg之真空下，乾燥再結晶之拉喹莫德鈉不少於一小時。

在該方法之一個實施例中，步驟d)中經分離之再結晶之拉喹莫德鈉為拉喹莫德鈉結晶粒子之混合物，其具有以下粒徑分佈使得(i)佔總體積量90%或90%以上之拉喹莫德鈉粒子具有40微米或40微米以下之粒徑，(ii)佔總體積量50%或50%以上之拉喹莫德鈉粒子具有15微米或15微米以下之粒徑，及(iii)佔總體積量10%或10%以上之拉喹莫德鈉粒子具有小於5微米或5微米以下之粒徑。

本發明提供一種藉由本發明之方法製備之拉喹莫德鈉結晶粒子之混合物。

在藉由本發明之方法製備之拉喹莫德鈉結晶粒子之混合物的一個實施例中，(i)佔總體積量90%或90%以上之拉喹莫德鈉粒子具有40微米或40微米以下之粒徑，(ii)佔總體積量50%或50%以上之拉喹莫德鈉粒子具有15微米或15微米以下之粒徑，及(iii)佔總體積量10%或10%以上之拉喹莫德鈉粒子具有5微米或5微米以下之粒徑。

在該混合物之一個實施例中，

- a) 該混合物具有0.2 g/mL至0.4 g/mL之容積密度；
- b) 該混合物具有0.40 g/mL至0.7 g/mL之敲緊密度；
- c) 該混合物中鋁之量相對於拉喹莫德鈉重量計為小於5 ppm；
- d) 該混合物中鈣之量相對於拉喹莫德鈉重量計為小於60 ppm；

- e) 該混合物中銅之量相對於拉喹莫德鈉重量計為小於1 ppm；
- f) 該混合物中鋅之量相對於拉喹莫德鈉重量計為小於7 ppm；
- g) 該混合物中重金屬之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過20 ppm；
- h) 該混合物中極性雜質之總量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過1.00%；
- i) 該混合物中5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.15%；
- j) 該混合物中5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.15%；
- k) 該混合物中5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.12%；
- l) 該混合物中5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.10%；
- m) 該混合物中5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯(MCQEE)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.10%；
- n) 該混合物中非極性雜質之總量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.50%；
- o) 該混合物中N-乙基苯胺(NEA)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.10%；
- p) 該混合物中拉喹莫德酸之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過1.00%；

q) 該混合物中丙二酸二甲酯之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.10%；

r) 該混合物中丙二酸二乙酯之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.10%；

s) 該混合物中硫酸二甲酯之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過1 ppm；

t) 該混合物中水之量如由K.F.電量滴定所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過1.5重量%；

u) 該混合物包含相對於拉喹莫德鈉重量計5.8%至6.4%之鈉量；

v) 該混合物中乙醇之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過5000 ppm；

w) 該混合物中正庚烷之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過5000 ppm；

x) 該混合物中正辛烷之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過2000 ppm；

y) 該混合物中正辛烷之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過200 ppm；

z) 該混合物中正辛烷之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過20 ppm；

aa) 該混合物中甲醇之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過3000 ppm；

bb) 該混合物中丙酮之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過5000 ppm；

cc) 該混合物中二噁烷之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過380 ppm；或

dd) 該混合物中二甲基甲醯胺之量相對於拉喹莫德鈉重量計不

超過880 ppm。

在該混合物之一個實施例中，

- a) 該混合物具有0.2 g/mL至0.4 g/mL之容積密度；
- b) 該混合物具有0.40 g/mL至0.7 g/mL之敲緊密度；
- c) 該混合物中鋁之量相對於拉喹莫德鈉重量計為小於5 ppm；
- d) 該混合物中鈣之量相對於拉喹莫德鈉重量計為小於60 ppm；
- e) 該混合物中銅之量相對於拉喹莫德鈉重量計為小於1 ppm；
- f) 該混合物中鋅之量相對於拉喹莫德鈉重量計為小於7 ppm；
- g) 該混合物中重金屬之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過0.002%；
- h) 該混合物中極性雜質之總量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過1.00%；
- i) 該混合物中5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.15%；
- j) 該混合物中5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.15%；
- k) 該混合物中5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.12%；
- l) 該混合物中5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.10%；
- m) 該混合物中5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯(MCQEE)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.10%；

n) 該混合物中非極性雜質之總量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.50%；

o) 該混合物中N-乙基苯胺(NEA)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.10%；

p) 該混合物中拉喹莫德酸之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過1.00%；

q) 該混合物中丙二酸二甲酯之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.10%；

r) 該混合物中丙二酸二乙酯之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.10%；

s) 該混合物中硫酸二甲酯之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過1 ppm；

t) 該混合物中水之量如由K.F.電量滴定所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過1.5重量%；

u) 該混合物包含相對於拉喹莫德鈉重量計5.8%至6.4%之鈉量；

v) 該混合物中乙醇之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過5000 ppm；

w) 該混合物中正庚烷之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過5000 ppm；

x) 該混合物中正辛烷之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過2000 ppm；

y) 該混合物中甲醇之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過3000 ppm；

z) 該混合物中丙酮之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過5000 ppm；

aa) 該混合物中二噁烷之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過380

ppm；及

bb) 該混合物中二甲基甲醯胺之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過880 ppm。

在一個實施例中，該混合物中正辛烷之量不超過200 ppm。在另一實施例中，該混合物中正辛烷之量不超過20 ppm。

在該混合物之一個實施例中，所列舉之化合物存在於該混合物中。在另一實施例中，所列舉之化合物至少以痕量存在。

本發明提供一種醫藥組合物，包含藉由本發明之方法製備之拉喹莫德鈉結晶粒子之混合物及醫藥學上可接受之載劑。

在該醫藥組合物之一個實施例中，

a) 該醫藥組合物中5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)及5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)之總量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.50%；

b) 該醫藥組合物中極性雜質之總量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過2.00%；

c) 該醫藥組合物中N-乙基苯胺(NEA)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.50%；

d) 該醫藥組合物中非極性雜質之總量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過1.00%；

e) 該醫藥組合物中水之量如由K.F.電量滴定所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.80%；

f) 該醫藥組合物包含相對於拉喹莫德鈉重量計5.8%至6.4%之鈉量；

g) 該醫藥組合物中乙醇之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過5000 ppm；

h) 該醫藥組合物中正庚烷之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過

5000 ppm ;

i) 該醫藥組合物中正辛烷之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過 2000 ppm ;

j) 該醫藥組合物中正辛烷之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過 200 ppm ;

k) 該醫藥組合物中正辛烷之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過 20 ppm ;

l) 該醫藥組合物中甲醇之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過 380 ppm ;

m) 該醫藥組合物中丙酮之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過 880 ppm ;

n) 該醫藥組合物中二噁烷之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過 380 ppm ; 或

o) 該醫藥組合物中二甲基甲醯胺之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過 880 ppm 。

在該醫藥組合物之一個實施例中，

a) 該醫藥組合物中5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)及5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)之總量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.50% ;

b) 該醫藥組合物中極性雜質之總量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過2.00% ;

c) 該醫藥組合物中N-乙基苯胺(NEA)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.50% ;

d) 該醫藥組合物中非極性雜質之總量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過1.00% ;

e) 該醫藥組合物中水之量如由K.F.電量滴定所量測相對於拉喹

莫德鈉之量不超過0.80%；

f) 該醫藥組合物包含相對於拉喹莫德鈉重量計5.8%至6.4%之鈉量；

g) 該醫藥組合物中乙醇之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過5000 ppm；

h) 該醫藥組合物中正庚烷之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過5000 ppm；

i) 該醫藥組合物中正辛烷之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過2000 ppm；

j) 該醫藥組合物中甲醇之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過380 ppm；

k) 該醫藥組合物中丙酮之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過880 ppm；

l) 該醫藥組合物中二噁烷之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過380 ppm；及

m) 該醫藥組合物中二甲基甲醯胺之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過880 ppm。

在一個實施例中，該醫藥組合物中正辛烷之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過200 ppm。在另一實施例中，該醫藥組合物中正辛烷之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過20 ppm。

本發明提供拉喹莫德鈉結晶粒子之混合物，其中(i)佔總體積量90%或90%以上之拉喹莫德鈉粒子具有40微米或40微米以下之粒徑或(ii)佔總體積量50%或50%以上之拉喹莫德鈉粒子具有15微米或15微米以下之粒徑，且其中

a) 該混合物中鋁之量相對於拉喹莫德鈉重量計為小於5 ppm；

b) 該混合物中鈣之量相對於拉喹莫德鈉重量計為小於60 ppm；

c) 該混合物中銅之量相對於拉喹莫德鈉重量計為小於1 ppm；

或

d) 該混合物中鋅之量相對於拉喹莫德鈉重量計為小於7 ppm。

在該醫藥組合物之一個實施例中，所列舉之化合物存在於該醫藥組合物中。在另一實施例中，所列舉之化合物至少以痕量存在。

本發明提供一種醫藥組合物，其包含本發明之混合物及醫藥學上可接受之載劑。

在該混合物之一個實施例中，佔總體積量90%或90%以上之拉喹莫德鈉粒子具有1微米或1微米以上、2微米或2微米以上、3微米或3微米以上或4微米或4微米以上之粒徑。

在該混合物之一個實施例中，佔總體積量90%或90%以上之拉喹莫德鈉粒子具有大於1微米、大於2微米、大於3微米、大於4微米或大於5微米之粒徑。

在該混合物之另一實施例中，該混合物具有0.4 g/mL至0.7 g/mL、0.44 g/mL至0.7 g/mL、0.45 g/mL至0.7 g/mL、0.46 g/mL至0.7 g/mL或0.5 g/mL至0.7 g/mL之敲緊密度。

在該混合物之另一實施例中，該混合物具有0.2 g/mL至0.4 g/mL、0.2 g/mL至0.33 g/mL、0.2 g/mL至0.31 g/mL之容積密度。

在該醫藥組合物之另一實施例中，該醫藥組合物包含甘露糖醇。

在該醫藥組合物之另一實施例中，該醫藥組合物包含葡甲胺。

在該醫藥組合物之另一實施例中，該醫藥組合物包含硬脂醯反丁烯二酸鈉。

在該醫藥組合物之另一實施例中，不少於70%之標示量之拉喹莫德在30分鐘溶解。

在該醫藥組合物之另一實施例中，該醫藥組合物之膠囊含有90-

110%之標示量之拉喹莫德。

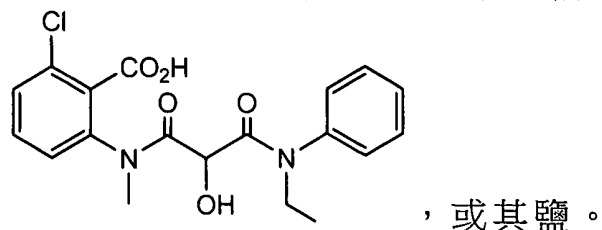
在該醫藥組合物之另一實施例中，該醫藥組合物之膠囊含有95-105%之標示量之拉喹莫德。

在該醫藥組合物之另一實施例中，該醫藥組合物之膠囊含有98.0-102.0%之標示量之拉喹莫德。

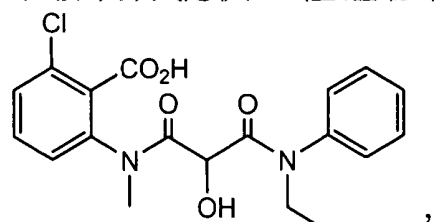
在該醫藥組合物之另一實施例中，該醫藥組合物具有符合美國藥典之裝量一致性。

在該醫藥組合物之另一實施例中，該醫藥組合物具有符合歐洲藥典之裝量一致性。

本發明亦提供一種具有以下結構之經分離之化合物：



本發明亦提供一種組合物，包含具有以下結構之化合物：



或其鹽，其中該組合物無拉喹莫德或其鹽。

本發明亦提供一種醫藥組合物，包含一定量拉喹莫德及2-氯-6-(3-(乙基(苯基)胺基)-2-羥基-N-甲基-3-側氧基丙醯胺基)苯甲酸(BH-3-HLAQ)、5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)、5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)、5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)、N-乙基苯胺(NEA)及5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯(MCQEE)中之至少一者，其中

a) 基於藉由HPLC方法之測定，2-氯-6-(3-(乙基(苯基)胺基)-2-羥基-N-甲基-3-側氧基丙醯胺基)苯甲酸(BH-3-HLAQ)以相對於拉喹莫德之濃度不超過**10%**之量存在於該醫藥組合物中，或

b) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)以相對於拉喹莫德之濃度不超過**10%**之量存在於該醫藥組合物中，或

c) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)以相對於拉喹莫德之濃度不超過**10%**之量存在於該醫藥組合物中，或

d) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)以相對於拉喹莫德之濃度不超過**10%**之量存在於該醫藥組合物中，或

e) 基於藉由HPLC方法之測定，N-乙基苯胺(NEA)以相對於拉喹莫德之濃度不超過**10%**之量存在於該醫藥組合物中，或

f) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯(MCQEE)以相對於拉喹莫德之濃度不超過**10%**之量存在於該醫藥組合物中。

在如本文所述之醫藥組合物之一個實施例中，

a) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)以相對於拉喹莫德之濃度不超過**0.15%**之量存在於該醫藥組合物中，或

b) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)以相對於拉喹莫德之濃度不超過**0.15%**之量存在於該醫藥組合物中，或

c) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)以相對於拉喹莫德之濃度不超過

0.15%之量存在於該醫藥組合物中，或

d) 基於藉由HPLC方法之測定，N-乙基苯胺(NEA)以相對於拉喹莫德之濃度不超過0.1%之量存在於該醫藥組合物中，或

e) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯(MCQEE)以相對於拉喹莫德之濃度不超過0.1%之量存在於該醫藥組合物中。

在一個實施例中，基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)以相對於拉喹莫德之濃度不超過0.12%之量存在於該醫藥組合物中。在另一實施例中，基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)以相對於拉喹莫德之濃度不超過0.1%之量存在於該醫藥組合物中。

在如本文所述之醫藥組合物之一個實施例中，

a) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)以相對於拉喹莫德之濃度小於0.05%之量存在於該醫藥組合物中，或

b) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)以相對於拉喹莫德之濃度小於0.1%之量存在於該醫藥組合物中，或

c) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)以相對於拉喹莫德之濃度小於0.05%之量存在於該醫藥組合物中，或

d) 基於藉由HPLC方法之測定，N-乙基苯胺(NEA)以相對於拉喹莫德之濃度小於0.06%之量存在於該醫藥組合物中，或

e) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯(MCQEE)以相對於拉喹莫德之濃度小於

0.05%之量存在於該醫藥組合物中。

在一個實施例中，基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)以相對於拉喹莫德之濃度小於**0.05%**之量存在於該醫藥組合物中。

在如本文所述之醫藥組合物之一個實施例中，

a) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)以相對於拉喹莫德之濃度小於**0.02%**之量存在於該醫藥組合物中，或

b) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)以相對於拉喹莫德之濃度小於**0.03%**之量存在於該醫藥組合物中，或

c) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)以相對於拉喹莫德之濃度小於**0.02%**之量存在於該醫藥組合物中，或

d) 基於藉由HPLC方法之測定，N-乙基苯胺(NEA)以相對於拉喹莫德之濃度小於**0.02%**之量存在於該醫藥組合物中，或

e) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯(MCQEE)以相對於拉喹莫德之濃度小於**0.02%**之量存在於該醫藥組合物中。

在一個實施例中，基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)以相對於拉喹莫德之濃度小於**0.02%**之量存在於該醫藥組合物中。

在如本文所述之醫藥組合物之一個實施例中，

a) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)以相對於拉喹莫德之濃度大於**0.02%**且不超過**0.15%**之量存在於該醫藥組合物中，或

b) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)以相對於拉喹莫德之濃度大於**0.02%**且不超過**0.15%**之量存在於該醫藥組合物中，或

c) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)以相對於拉喹莫德之濃度大於**0.02%**且不超過**0.15%**之量存在於該醫藥組合物中，或

d) 基於藉由HPLC方法之測定，N-乙基苯胺(NEA)以相對於拉喹莫德之濃度大於**0.02%**且不超過**0.1%**之量存在於該醫藥組合物中，或

e) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯(MCQEE)以相對於拉喹莫德之濃度大於**0.02%**且不超過**0.1%**之量存在於該醫藥組合物中。

在一個實施例中，基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)以相對於拉喹莫德之濃度不超過**0.12%**之量存在於該醫藥組合物中。在另一實施例中，基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)以相對於拉喹莫德之濃度不超過**0.1%**之量存在於該醫藥組合物中。在另一實施例中，基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)以相對於拉喹莫德之濃度大於**0.03%**之量存在於該醫藥組合物中。

在如本文所述之醫藥組合物之一個實施例中，

a) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)以相對於拉喹莫德之濃度大於**0.05%**且不超過**0.15%**之量存在於該醫藥組合物中，或

b) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)以相對於拉喹莫德之濃度大於**0.05%**或大於**0.10%**且不超過**0.15%**之量存在於該醫藥組合物中，或

c) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)以相對於拉喹莫德之濃度大於**0.05%**且小於**0.15%**之量存在於該醫藥組合物中，或

d) 基於藉由HPLC方法之測定，N-乙基苯胺(NEA)以相對於拉喹莫德之濃度大於**0.06%**且不超過**0.10%**之量存在於該醫藥組合物中，或

e) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯(MCQEE)以相對於拉喹莫德之濃度大於**0.05%**且不超過**0.10%**之量存在於該醫藥組合物中。

在一個實施例中，基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)以相對於拉喹莫德之濃度不超過**0.12%**之量存在於該醫藥組合物中。在另一實施例中，基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)以相對於拉喹莫德之濃度不超過**0.1%**之量存在於該醫藥組合物中。

在如本文所述之醫藥組合物之一個實施例中，

a) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)以相對於拉喹莫德之濃度大於**0.02%**且小於**0.05%**之量存在於該醫藥組合物中，或

b) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)以相對於拉喹莫德之濃度大於**0.02%**或大於**0.03%**且小於**0.1%**之量存在於該醫藥組合物中，或

c) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)以相對於拉喹莫德之濃度大於**0.02%**且小於**0.05%**之量存在於該醫藥組合物中，或

d) 基於藉由HPLC方法之測定，N-乙基苯胺(NEA)以相對於拉喹

莫德之濃度大於**0.02%**且小於**0.06%**之量存在於該醫藥組合物中，或

e) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯(MCQEE)以相對於拉喹莫德之濃度大於**0.02%**且小於**0.05%**之量存在於該醫藥組合物中。

在一個實施例中，基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)以相對於拉喹莫德之濃度小於**0.05%**之量存在於該醫藥組合物中。

在如本文所述之醫藥組合物之一個實施例中，該組合物另外包含至少一種醫藥學上可接受之載劑。

在如本文所述之醫藥組合物之一個實施例中，

a) 基於藉由HPLC方法之測定，2-氯-6-(3-(乙基(苯基)胺基)-2-羥基-N-甲基-3-側氧基丙醯胺基)苯甲酸(BH-3-HLAQ)以相對於拉喹莫德之濃度不超過**1.0%**之量存在於該醫藥組合物中，或

b) 基於藉由HPLC方法之測定，N-乙基苯胺(NEA)以相對於拉喹莫德之濃度不超過**0.5%**之量存在於該醫藥組合物中，或

c) 基於藉由HPLC方法之測定，該醫藥組合物中存在之5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)及5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)之合併量相對於拉喹莫德之濃度不超過**0.5%**。

在一個實施例中，基於藉由HPLC方法之測定，N-乙基苯胺(NEA)以相對於拉喹莫德之濃度不超過**0.1%**之量存在於該醫藥組合物中。

在如本文所述之醫藥組合物之一個實施例中，

a) 基於藉由HPLC方法之測定，2-氯-6-(3-(乙基(苯基)胺基)-2-羥基-N-甲基-3-側氧基丙醯胺基)苯甲酸(BH-3-HLAQ)以相對於拉喹莫德之濃度小於**0.05%**之量存在於該醫藥組合物中，或

b) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)以相對於拉喹莫德之濃度小於**0.05%**之量存在於該醫藥組合物中，或

c) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)以相對於拉喹莫德之濃度小於**0.5%**之量存在於該醫藥組合物中，或

d) 基於藉由HPLC方法之測定，N-乙基苯胺(NEA)以相對於拉喹莫德之濃度小於**0.1%**之量存在於該醫藥組合物中，或

e) 基於藉由HPLC方法之測定，該醫藥組合物中存在之5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)及5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)之合併量相對於拉喹莫德之濃度小於**0.1%**。

在一個實施例中，基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)以相對於拉喹莫德之濃度小於**0.1%**之量存在於該醫藥組合物中。

在如本文所述之醫藥組合物之一個實施例中，

a) 基於藉由HPLC方法之測定，2-氯-6-(3-(乙基(苯基)胺基)-2-羥基-N-甲基-3-側氧基丙醯胺基)苯甲酸(BH-3-HLAQ)以相對於拉喹莫德之濃度小於**0.02%**之量存在於該醫藥組合物中，或

b) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)以相對於拉喹莫德之濃度小於**0.02%**之量存在於該醫藥組合物中，或

c) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)以相對於拉喹莫德之濃度小於**0.03%**之量存在於該醫藥組合物中，或

d) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)以相對於拉喹莫德之濃度小於

0.02%之量存在於該醫藥組合物中，或

e) 基於藉由HPLC方法之測定，N-乙基苯胺(NEA)以相對於拉喹莫德之濃度小於**0.03%**之量存在於該醫藥組合物中，或

f) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯(MCQEE)以相對於拉喹莫德之濃度小於**0.02%**之量存在於該醫藥組合物中，或

g) 基於藉由HPLC方法之測定，該醫藥組合物中存在之5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)及5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)之合併量相對於拉喹莫德之濃度小於**0.03%**。

在一個實施例中，基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)以相對於拉喹莫德之濃度小於**0.02%**之量存在於該醫藥組合物中。

在如本文所述之醫藥組合物之一個實施例中，

a) 基於藉由HPLC方法之測定，2-氯-6-(3-(乙基(苯基)胺基)-2-羥基-N-甲基-3-側氧基丙醯胺基)苯甲酸(BH-3-HLAQ)以相對於拉喹莫德之濃度大於**0.02%**且不超過**1.0%**之量存在於該醫藥組合物中，或

b) 基於藉由HPLC方法之測定，N-乙基苯胺(NEA)以相對於拉喹莫德之濃度大於**0.03%**且不超過**0.5%**之量存在於該醫藥組合物中，或

c) 基於藉由HPLC方法之測定，該醫藥組合物中存在之5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)及5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)之合併量相對於拉喹莫德之濃度大於**0.03%**且不超過**0.5%**。

在一個實施例中，基於藉由HPLC方法之測定，N-乙基苯胺(NEA)以相對於拉喹莫德之濃度不超過**0.1%**之量存在於該醫藥組合物中。

在如本文所述之醫藥組合物之一個實施例中，

a) 基於藉由HPLC方法之測定，2-氯-6-(3-(乙基(苯基)胺基)-2-羥基-N-甲基-3-側氧基丙醯胺基)苯甲酸(BH-3-HLAQ)以相對於拉喹莫德之濃度大於**0.05%**且不超過**1.0%**之量存在於該醫藥組合物中，或

b) 基於藉由HPLC方法之測定，N-乙基苯胺(NEA)以相對於拉喹莫德之濃度大於**0.1%**且不超過**0.5%**之量存在於該醫藥組合物中，或

c) 基於藉由HPLC方法之測定，該醫藥組合物中存在之5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)及5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)之合併量相對於拉喹莫德之濃度大於**0.1%**且不超過**0.5%**。

在如本文所述之醫藥組合物之一個實施例中，

a) 基於藉由HPLC方法之測定，2-氯-6-(3-(乙基(苯基)胺基)-2-羥基-N-甲基-3-側氧基丙醯胺基)苯甲酸(BH-3-HLAQ)以相對於拉喹莫德之濃度大於**0.02%**且小於**0.05%**之量存在於該醫藥組合物中，或

b) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)以相對於拉喹莫德之濃度大於**0.02%**且小於**0.05%**之量存在於該醫藥組合物中，或

c) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)以相對於拉喹莫德之濃度大於**0.02%**且小於**0.5%**之量存在於該醫藥組合物中，或

d) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)以相對於拉喹莫德之濃度大於**0.02%**且小於**0.05%**之量存在於該醫藥組合物中，或

e) 基於藉由HPLC方法之測定，N-乙基苯胺(NEA)以相對於拉喹莫德之濃度大於**0.03%**且小於**0.1%**之量存在於該醫藥組合物中，或

f) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-

1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯(MCQEE)以相對於拉喹莫德之濃度大於**0.02%**且小於**0.05%**之量存在於該醫藥組合物中，或

g) 基於藉由HPLC方法之測定，該醫藥組合物中存在之5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)及5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)之合併量相對於拉喹莫德之濃度大於**0.03%**且小於**0.1%**。

在一個實施例中，基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)以相對於拉喹莫德之濃度大於**0.03%**之量存在於該醫藥組合物中。在另一實施例中，基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)以相對於拉喹莫德之濃度小於**0.1%**之量存在於該醫藥組合物中。

在一個實施例中，如本文所述之醫藥組合物另外包含拉喹莫德鈉鹽。在另一實施例中，該醫藥組合物呈口服單位劑型。在另一實施例中，其呈膠囊、錠劑或液體懸浮液形式。在另一實施例中，該口服單位劑型包含超過0.3 mg拉喹莫德。在另一實施例中，該口服單位劑型包含超過0.5 mg拉喹莫德。在另一實施例中，該口服單位劑型包含超過0.6 mg拉喹莫德。

本發明亦提供一種製備2-氯-6-(3-(乙基(苯基)胺基)-2-羥基-N-甲基-3-側氧基丙醯胺基)苯甲酸(BH-3-HLAQ)之方法，其包含以下步驟：

k) 向5-氯-N-乙基-3-羥基-1-甲基-2,4-二側氧基-N-苯基-1,2,3,4-四氫喹啉-3-甲醯胺於水中之懸浮液中添加氫氧化鈉溶液，

l) 攪拌步驟a)之混合物，接著添加鹽酸溶液，

m) 用乙酸乙酯萃取水溶液，

n) 用鹽水洗滌有機相，

- o) 經硫酸鈉乾燥該有機相，
- p) 過濾該懸浮液，
- q) 蒸發濾液，
- r) 藉由自異丙醇結晶純化殘餘物，
- s) 冷卻該懸浮液，接著過濾且用異丙醇洗滌，及
- t) 獲得且乾燥所得白色固體。

本發明亦提供藉由上述方法製備之2-氯-6-(3-(乙基(苯基)胺基)-2-羥基-N-甲基-3-側氧基丙醯胺基)苯甲酸(BH-3-HLAQ)。

本發明亦提供一種製備5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)之方法，其包含以下步驟：

- d) 加熱5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)及二甲亞碲之混合物，
- e) 冷卻步驟a)之混合物，及
- f) 過濾步驟b)之混合物且收集所得濾液。

本發明亦提供藉由上述方法製備之5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)。

本發明亦提供一種製備5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)之方法，其包含以下步驟：

- e) 加熱5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯(MCQEE)於鹽酸之乙酸溶液中之混合物，
- f) 冷卻步驟a)之混合物，
- g) 用2-丙醇稀釋步驟b)之混合物且進一步冷卻經稀釋之混合物，及
- h) 過濾出由步驟c)產生之結晶。

本發明亦提供藉由上述方法製備之5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)。

本發明亦提供一種製備5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)之方法，其包含以下步驟：

d) 藉由含丙二酸二甲酯之二甲基甲醯胺與甲醇鈉溶液反應形成丙二酸二甲酯鈉，

e) 使中間物5-氯-1-甲基-1h-苯并[D][1,3]噁嗪-2,4-二酮與丙二酸二甲酯鈉反應形成5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)鈉鹽，及

f) 使5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)鈉鹽酸化成5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)。

本發明亦提供藉由上述方法製備之5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)。

本發明亦提供一種製備5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯(MCQEE)之方法，其包含以下步驟：

h) 將氫化鈉添加至5-氯-1-甲基-1h-苯并[D][1,3]噁嗪-2,4-二酮及丙二酸二乙酯於二甲基甲醯胺中之溶液中，

i) 在攪拌的同時加熱步驟a)之混合物，

j) 冷卻步驟b)之溶液，

k) 淬滅步驟c)之反應混合物，

l) 使步驟d)之混合物酸化，

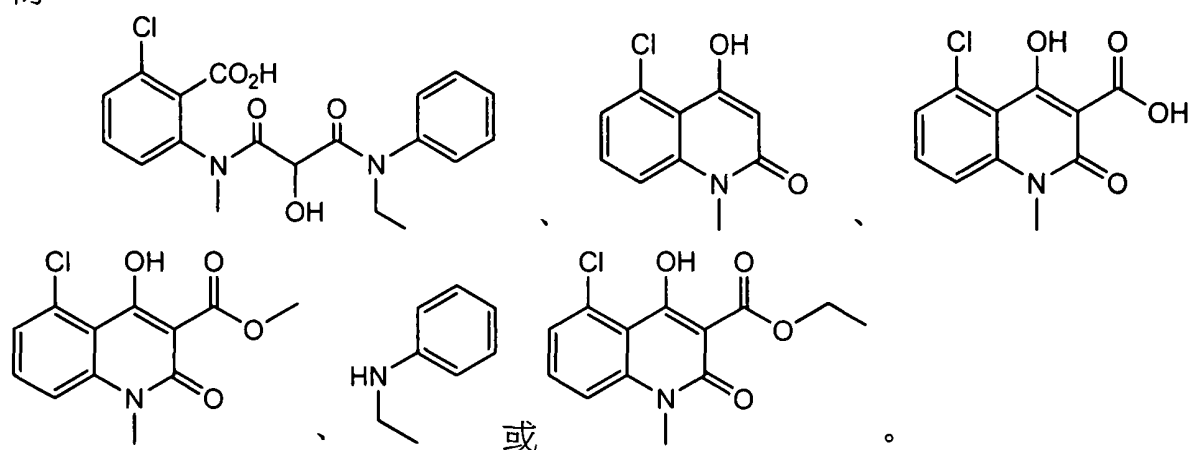
m) 過濾接著乾燥步驟e)之混合物，及

n) 藉由溶解於乙醇中，接著緩慢冷卻而使步驟f)之粗產物結晶。

本發明亦提供藉由上述方法製備之5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯(MCQEE)。

本發明亦提供一種方法，用於測試拉喹莫德樣品是否含有不希

望有的雜質，該方法包括測定該樣品是否含有具有以下結構之化合物：



本發明亦提供一種製備包含拉喹莫德之驗證醫藥組合物之方法，其包括：

a) 獲得一批次拉喹莫德；

b) 藉由使用 HPLC 方法測定該批次中 5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)、5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)、5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)、N-乙基苯胺(NEA)及 5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯(MCQEE)中之至少一者之量；及

c) 僅在以下情況下由該批次製備該醫藥組合物：

vi) 該批次經測定具有相對於拉喹莫德之濃度不超過**0.15%**之 5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)，或

vii) 該批次經測定具有相對於拉喹莫德之濃度不超過**0.15%**之 5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)，或

viii) 該批次經測定具有相對於拉喹莫德之濃度不超過**0.15%**、**0.12%**或**0.1%**之 5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)，或

ix) 該批次經測定具有相對於拉喹莫德之濃度不超過**0.1%**之 N-

乙基苯胺(NEA)，或

x) 該批次經測定具有相對於拉喹莫德之濃度不超過**0.1%**之5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯(MCQEE)。

在一個實施例中，在步驟c)中，僅在該批次經測定具有相對於拉喹莫德之濃度不超過**0.12%**之5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)之情況下，才由該批次製備醫藥組合物。

在另一實施例中，在步驟c)中，僅在該批次經測定具有相對於拉喹莫德之濃度不超過**0.1%**之5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)之情況下，才由該批次製備醫藥組合物。

本發明亦提供一種製備包含拉喹莫德之醫藥組合物或用於分配該已驗證批次之包含拉喹莫德之醫藥組合物的方法，其包含

e) 獲得一批次拉喹莫德或該醫藥組合物；

f) 使用該批次樣品進行穩定性測試；

g) 在穩定性測試後，藉由HPLC方法測定該批次樣品中5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)、5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)、5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)、N-乙基苯胺(NEA)及5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯(MCQEE)中之至少一者之總量；及

h) 僅在穩定性測試後該批次樣品含有以下之情況下，才驗證該批次以用於分配或由該批次製備該醫藥組合物：

vi) 相對於拉喹莫德之濃度，總共不超過**0.15%**之5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)，或

vii) 相對於拉喹莫德之濃度，總共不超過**0.15%**之5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)，或

viii) 相對於拉喹莫德之濃度，總共不超過**0.15%**、**0.12%**或**0.1%**之5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)，

或

ix) 相對於拉喹莫德之濃度，總共不超過**0.1%**之N-乙基苯胺(NEA)，或

x) 相對於拉喹莫德之濃度，總共不超過**0.1%**之5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯(MCQEE)。

在一個實施例中，若在步驟d)中該批次已驗證用於分配，該方法另外包含步驟e)分配該批次。在另一實施例中，在步驟d)中，僅在穩定性測試後該批次樣品含有相對於拉喹莫德之濃度不超過**0.12%**之5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)之情況下，才驗證該批次用於分配或由該批次製備醫藥組合物。在另一實施例中，在步驟d)中，僅在穩定性測試後該批次樣品含有相對於拉喹莫德之濃度不超過**0.1%**之5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)之情況下，才驗證該批次用於分配或由該批次製備醫藥組合物。

本發明亦提供一種驗證一批次含有拉喹莫德或其醫藥學上可接受之鹽及醫藥學上可接受之載劑之醫藥產品以用於分配的方法，其包含

d) 對該批次樣品進行穩定性測試；

e) 在穩定性測試後藉由HPLC方法測定該批次樣品中2-氯-6-(3-(乙基(苯基)胺基)-2-羥基-N-甲基-3-側氧基丙醯胺基)苯甲酸(BH-3-HLAQ)、5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)、5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)、5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)、N-乙基苯胺(NEA)及5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯(MCQEE)中之至少一者之量；及

f) 僅在穩定性測試後該批次樣品含有以下之情況下，才驗證該

批次以用於分配：

i) 相對於拉喹莫德之濃度，總共不超過**1.0%**之2-氯-6-(3-(乙基(苯基)胺基)-2-羥基-N-甲基-3-側氧基丙醯胺基)苯甲酸(BH-3-HLAQ)，或

ii) 相對於拉喹莫德之濃度，總共不超過**0.5%**或**0.1%**之N-乙基苯胺(NEA)，或

iii) 相對於拉喹莫德之濃度，總共不超過**0.5%**之合併的5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)及5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)。

在一個實施例中，在步驟c)中，僅在穩定性測試後該批次樣品相對於拉喹莫德之濃度不超過總共**0.1%**之N-乙基苯胺(NEA)的情況下，驗證該批次以用於分配。

本發明亦提供一種製備包含拉喹莫德或其醫藥學上可接受之鹽之封裝醫藥組合物之方法，其包括：

a) 獲得一批次包含拉喹莫德或其醫藥學上可接受之鹽之醫藥組合物；

b) 使用該批次樣品進行穩定性測試；

c) 在穩定性測試後藉由HPLC方法測定該樣品中2-氯-6-(3-(乙基(苯基)胺基)-2-羥基-N-甲基-3-側氧基丙醯胺基)苯甲酸(BH-3-HLAQ)、5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)、5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)、5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)、N-乙基苯胺(NEA)及5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯(MCQEE)中之至少一者之量；及

d) 僅在以下情況下封裝該醫藥組合物：

iv) 該樣品中2-氯-6-(3-(乙基(苯基)胺基)-2-羥基-N-甲基-3-側氧

基丙醯胺基)苯甲酸(BH-3-HLAQ)之含量經測定相對於拉喹莫德之濃度不超過**1.0%**，或

v) 該樣品中N-乙基苯胺(NEA)之含量經測定相對於拉喹莫德之濃度不超過**0.5%**或**0.1%**。

vi) 該樣品中5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)及5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)之合併含量經測定相對於拉喹莫德之濃度總共不超過**0.5%**。

在一個實施例中，在步驟d)中，僅在該樣品中N-乙基苯胺(NEA)之含量經測定相對於拉喹莫德之濃度不超過**0.1%**的情況下，封裝該醫藥組合物。

在一個實施例中，拉喹莫德為拉喹莫德鈉鹽。

本發明亦提供一種雜質或其鹽以作為參考標準用於偵測包含拉喹莫德或其醫藥學上可接受之鹽之醫藥組合物中該雜質之痕量，其中該雜質係選自由以下組成之群：2-氯-6-(3-(乙基(苯基)胺基)-2-羥基-N-甲基-3-側氧基丙醯胺基)苯甲酸(BH-3-HLAQ)、5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)、5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)、5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)，N-乙基苯胺(NEA)及5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯(MCQEE)。

本發明亦提供一種測定包含拉喹莫德之醫藥組合物中之雜質濃度的方法，該方法包括

k) 由該醫藥組合物製備樣品溶液，

l) 製備包含該雜質之標準溶液

m) 製備包含拉喹莫德及該雜質之解析溶液，

n) 藉由將乙酸銨溶解於水中且使用氨水或冰醋酸調整至7.0±0.05之pH來製備緩衝溶液，

- o) 製備包含該緩衝溶液及乙腈之稀釋劑溶液，
- p) 製備包含該稀釋劑溶液及乙腈水溶液之空白溶液，
- q) 將該解析溶液、該空白溶液、該標準溶液及該樣品溶液注入 HPLC，
- r) 使用在 240 nm 下之紫外線吸收及該稀釋劑溶液作為移動相來操作 HPLC，
- s) 測定該雜質在該樣品溶液之層析圖中的滯留時間(RT)及峰面積，及
- t) 相對於該等標準溶液之層析圖中之對應峰對該雜質進行定量，

其中該雜質為 5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)、5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)、5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)、*N*-乙基-4,5-二羥基-1-甲基-2-側氧基-*N*-苯基-1,2-二氫喹啉-3-甲醯胺(5-HLAQ)或 5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯(MCQEE)。

本發明亦提供一種測定包含拉喹莫德之醫藥組合物中之雜質濃度的方法，該方法包括

- j) 由該醫藥組合物製備樣品溶液，
- k) 製備包含該雜質之標準溶液
- l) 製備包含拉喹莫德及該雜質之解析溶液，
- m) 藉由將乙酸銨溶解於水中且使用氨水或冰醋酸調整至 7.0 ± 0.05 之 pH 來製備緩衝溶液，
- n) 製備包含該緩衝溶液及乙腈之空白溶液，
- o) 將該解析溶液、該空白溶液、該標準溶液及該樣品溶液注入 HPLC，
- p) 使用在 240 nm 下之紫外線吸收及該緩衝溶液與乙腈之混合物

的移動相操作HPLC。

q) 測定該雜質在該樣品溶液之層析圖中的滯留時間(RT)及峰面積，

r) 相對於該等標準溶液之層析圖中之對應峰對該雜質進行定量，

其中該雜質為N-乙基苯胺(NEA)、1*H*,3*H*-螺[5-氯-1-甲基喹啉-2,4-二酮-3,3'-[1]乙基吡啶啉-[2]-酮] (SPIRO-LAQ)或5-氯-N-乙基-3-羥基-1-甲基-2,4-二側氧基-N-苯基-1,2,3,4-四氫喹啉-3-甲醯胺(3-HLAQ)。

本發明亦提供一種測定包含拉喹莫德及醫藥學上可接受之載劑之醫藥組合物中之雜質濃度的方法，該方法包括

k) 由該醫藥組合物製備樣品溶液，

l) 製備包含該雜質之標準溶液

m) 製備包含該雜質之定量限度(QL)溶液，

n) 製備包含拉喹莫德及該雜質之解析溶液，

o) 藉由將磷酸二氫銨溶解於水中且使用氨水或磷酸調整至7.0±0.10之pH來製備緩衝溶液，

p) 製備包含該緩衝溶液及乙腈之空白溶液，

q) 將該解析溶液、該空白溶液、該QL溶液、該標準溶液及該樣品溶液注入HPLC，

r) 使用在212 nm下之紫外線吸收及該緩衝溶液、乙腈及甲醇之混合物的移動相操作HPLC，

s) 測定該雜質在該樣品溶液之層析圖中的滯留時間(RT)及峰面積，及

t) 相對於該等標準溶液之層析圖中之對應峰對該雜質進行定量，

其中該雜質為2-氯-6-(3-(乙基(苯基)胺基)-2-羥基-N-甲基-3-側氧基丙醯胺基)苯甲酸(BH-3-HLAQ)或N-乙基-4-羥基-1-甲基-5-(2,3,4,5,6-五羥基己基胺基)-2-側氧基-N-苯基-1,2-二氫喹啉-3-甲醯胺(MEG-LAQ)。

本發明亦提供一種測定包含拉喹莫德及醫藥學上可接受之載劑之醫藥組合物中之雜質濃度的方法，該方法包括

- j) 由該醫藥組合物製備樣品溶液，
- k) 製備包含該雜質之標準溶液
- l) 製備包含拉喹莫德及該雜質之解析溶液，
- m) 藉由將乙酸銨溶解於水中且使用氨水或冰醋酸調整至 7.0 ± 0.05 之pH來製備緩衝溶液，
- n) 製備包含該緩衝溶液及乙腈之空白溶液，
- o) 將該解析溶液、該空白溶液、該標準溶液及該樣品溶液注入HPLC，
- p) 使用在242 nm下之紫外線吸收及該空白溶液作為移動相來操作HPLC，
- q) 測定該雜質在該樣品溶液之層析圖中的滯留時間(RT)及峰面積，及
- r) 相對於該等標準溶液之層析圖中之對應峰對該雜質進行定量，

其中該雜質為5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)、5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)、5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)或N-乙基-4,5-二羥基-1-甲基-2-側氧基-N-苯基-1,2-二氫喹啉-3-甲醯胺(5-HLAQ)。

本發明亦提供一種測定包含拉喹莫德及醫藥學上可接受之載劑之醫藥組合物中之雜質濃度的方法，該方法包括

- j) 由該醫藥組合物製備樣品溶液，
- k) 製備包含該雜質之標準溶液
- l) 製備包含拉喹莫德及該雜質之解析溶液，
- m) 製備包含甲醇及乙腈之空白溶液，
- n) 藉由將乙酸銨溶解於水中且使用氨水或冰醋酸調整至 7.0 ± 0.05 之 pH 來製備緩衝溶液，
- o) 將該解析溶液、該空白溶液及該樣品溶液注入 HPLC，
- p) 使用在 240 nm 下之紫外線吸收及包含乙腈及該緩衝溶液之移動相操作 HPLC，
- q) 測定該雜質在該樣品溶液之層析圖中的滯留時間(RT)及峰面積，及
- r) 相對於該等標準溶液之層析圖中之對應峰對該雜質進行定量，

其中該雜質為 N-乙基苯胺 (NEA)、5-氯-N-乙基-3-羥基-1-甲基-2,4-二側氧基-N-苯基-1,2,3,4-四氫喹啉-3-甲醯胺 (3-HLAQ) 或 1*H*,3*H*-螺 [5-氯-1-甲基喹啉-2,4-二酮-3,3'-[1]乙基吲哚啉-[2]-酮] (SPIRO-LAQ)。

本文中所揭示之每一實施例預期適用於其他揭示實施例之每一者。因此，本文所述之不同元素之所有組合屬於本發明之範疇內。舉例而言，混合物元素之任何實施例預期適用於醫藥組合物。作為另一實例，0.46 g/mL 至 0.7 g/mL 之敲緊密度的實施例預期適用於混合物中鋁之量相對於拉喹莫德鈉重量計為小於 5 ppm 的混合物。

與先前技術之比較

申請者已出乎意料地取得經改良超過先前技術之拉喹莫德鈉混合物的拉喹莫德鈉結晶之混合物。

美國專利第 7,884,208 號教示一種使拉喹莫德鈉再結晶之方法，

其產生與當時已知拉喹莫德鈉結晶相比具有較大結晶、較低雜質含量及某些改良結晶特徵之拉喹莫德鈉結晶之混合物。

特定言之，美國專利第7,884,208號之方法取得拉喹莫德鈉結晶之混合物，其具有(i)其中佔總體積量10%或10%以上之拉喹莫德鈉粒子具有大於40微米之粒徑且其中佔總體積量50%或50%以上之拉喹莫德鈉粒子具有大於15微米之粒徑，(ii)高密度(敲緊密度及容積密度)，(iii)低重金屬含量，及(iv)低含量之某些極性雜質。

然而，美國專利第7,884,208號之再結晶方法(實例13-17，表1-4)未產生再結晶拉喹莫德鈉粒子之混合物，其中佔總體積量90%或90%以上之拉喹莫德鈉具有40微米或40微米以下之粒徑，或佔總體積量50%或50%以上之拉喹莫德鈉具有15微米或15微米以下之粒徑。

同樣，美國專利第7,884,208號之再結晶方法未產生再結晶拉喹莫德鈉粒子之混合物，其中佔總體積量90%或90%以上之拉喹莫德鈉具有小於40微米之粒徑，其中佔總體積量50%或50%以上之拉喹莫德鈉具有小於15微米之粒徑，且其中佔總體積量10%或10%以上之拉喹莫德鈉具有小於5微米之粒徑。

美國專利第7,884,208號之實例14產生再結晶之拉喹莫德鈉粒子之混合物，其中佔總體積量10%或10%以上之拉喹莫德鈉具有小於5微米之粒徑。然而，此實例亦展示減小品質之結晶特徵，特定言之敲緊密度。由實例14產生之混合物具有可接受之D(0.1)值但不合需要之敲緊密度。

相反地，美國專利第7,884,208號之實例13產生具有高敲緊密度之混合物，但不產生結晶，其中佔總體積量90%或90%以上之拉喹莫德鈉粒子具有40微米或40微米以下之粒徑，或佔總體積量50%或50%以上之拉喹莫德鈉粒子具有15微米或15微米以下之粒徑。

重要的是，美國專利第7,884,208號不能取得再結晶之優勢，亦

即較佳密度及雜質分佈，而亦產生拉喹莫德鈉結晶，其中佔總體積量90%或90%以上之拉喹莫德鈉粒子具有40微米或40微米以下之粒徑，或佔總體積量50%或50%以上之拉喹莫德鈉粒子具有15微米或15微米以下之粒徑。

美國專利第7,884,208號經由實例1(批次A、B及C)及表1-3亦教示美國專利第6,077,851號中所揭示之方法產生具有以下全部四者之拉喹莫德鈉結晶之混合物：(i)佔總體積量90%或90%以上之拉喹莫德鈉粒子具有40微米或40微米以下之粒徑，或佔總體積量50%或50%以上之拉喹莫德鈉粒子具有15微米或15微米以下之粒徑，(ii)不良密度(敲緊密度及容積密度)，(iii)高重金屬含量及(iv)高極性雜質含量。重要的是，雖然美國專利第6,077,851號取得一種混合物，其中佔總體積量90%或90%以上之拉喹莫德鈉粒子具有40微米或40微米以下之粒徑，或佔總體積量50%或50%以上之拉喹莫德鈉粒子具有15微米或15微米之粒徑，但其未取得具有可接受之密度或低雜質含量之結晶。

先前技術不含用於製備拉喹莫德鈉之方法之教示，其中佔總體積量90%或90%以上之拉喹莫德鈉粒子具有40微米或40微米以下之粒徑，或佔總體積量50%或50%以上之拉喹莫德鈉粒子具有15微米或15微米以下之粒徑，且具有所需密度及純度分佈。

本發明提供一種能夠產生再結晶拉喹莫德鈉結晶之混合物的方法，其中佔總體積量90%或90%以上之拉喹莫德鈉粒子具有40微米或40微米以下之粒徑或(ii)佔總體積量50%或50%以上之拉喹莫德鈉粒子具有15微米或15微米以下之粒徑，且具有所需密度及純度分佈，特定言之(i)高密度(敲緊密度或容積密度)、(ii)低重金屬含量或(iii)低極性雜質含量。

由本發明提供之拉喹莫德鈉混合物係藉由經改良之再結晶方法來取得。

經改良之再結晶方法

由本發明之再結晶方法製造之拉喹莫德鈉具有優於美國專利第6,077,851號中所揭示之拉喹莫德鈉之經改良之純度及密度分佈及優於美國專利第7,884,208號之經改良之結晶特徵(尤其粒子較小)。

本發明之經修改之再結晶方法出乎意料地產生不同於美國專利第7,884,208號中所揭示之方法所達成的再結晶條件，且因而產生不同產物。特定言之，濃縮水溶液至1.7-1.8出乎意料地產生具有減小之雜質含量、改良結晶特徵之拉喹莫德鈉結晶粒子，且其中佔總體積量90%或90%以上之拉喹莫德鈉粒子具有40微米或40微米以下之粒徑，佔總體積量50%或50%以上之拉喹莫德鈉粒子具有15微米或15微米以下之粒徑，且佔總體積量10%或10%以上之拉喹莫德鈉粒子具有5微米或5微米以下之粒徑。

在不侷限於任意一種具體理論的情況下，影響結晶之重要因素為結晶溶液之初始濃度。仔細控制溶液濃縮可便於在濃縮步驟結束之前開始自發結晶。本發明之方法可在丙酮添加之前開始自發結晶。

濃縮水溶液以形成每公克拉喹莫德鈉約1.7-1.8 mL水構成之濃溶液為本發明之一個重要態樣。

經改良之拉喹莫德鈉結晶之混合物

美國專利第7,884,208號教示與大粒子相關之優勢。特定言之，美國專利第7,884,208號教示較大粒子之拉喹莫德鈉在製造醫藥組合物時更「可加工」，且較小粒子常常與可干擾加工之類粉塵特性相關，且有時與可干擾製造之流動性問題相關。另外，美國專利第7,884,208號教示化學穩定性已展示隨著較小粒徑引起之表面積增加而降低。(Felmeister, A. Chpt 88, *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 第15版, Mack Publishing Company, Easton, PA (1975))。

然而，本發明已出乎意料地取得經改良之拉喹莫德鈉之混合

物，其中(i)佔總體積量90%或90%以上之拉喹莫德鈉粒子具有40微米或40微米以下之粒徑，(ii)佔總體積量50%或50%以上之拉喹莫德鈉粒子具有15微米或15微米以下之粒徑，且(iii)佔總體積量10%或10%以上之拉喹莫德鈉粒子具有5微米或5微米以下之粒徑。

拉喹莫德已被評級為高效能API，需要特別注意且避免材料與工作者及環境接觸。拉喹莫德已被評級為具有最高效能速率，相當於在操作及製造期間之建議每日容許攝入量(ADI)小於0.01毫克/日或在8小時TWA時 $<1 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 。高效能化合物與控制工程改造、管理或有關程序是否提供所需工作者保護水準相關。舉例而言，高效能化合物可需要無人類介入或人工操作。(Bruce D. Naumann, Control Banding In The Pharmaceutical Industry, <http://www.aioh.org.au/downloads/documents/ControlBandingBNaumann.pdf>)

重要的是，雖然本發明之混合物可經研磨或未經研磨，但本發明係在不需要研磨操作的情況下達成。

本發明之拉喹莫德鈉之混合物克服與具有大粒子之混合物相關的潛在問題。關於加工及製造，本發明之小粒徑的拉喹莫德鈉粒子可免除對研磨及粉碎步驟的需要。美國專利第7,884,208號反映此項技術中之理解，亦即存在與醫藥組合物中之小粒子相關之問題，但本發明之拉喹莫德鈉不具有與穩定性、加工或製造相關之問題。

粉碎引入其自身對原料藥之一組問題，超過引入額外藥物加工步驟之缺點。舉例而言，研磨可引入雜質、新多晶型物、API結晶結構中之非晶形部分、粒子形態之其他變化、聚結差異、增加溶解度、水分含量變化及可壓縮性之變化(Hausner, 「The Role of Particle Size in the Development of Generic Products」 2003)。因此，粉碎可影響原料藥之功效及安全性。粉碎之一些缺點由與大塊結晶呋喃妥因(Nitrofurantoin)相比由微晶硝化呋喃妥因產生之副作用來說明。(Brumfitt, W.及J. M. T. Hamilton-Miller, *J. Antimicrobial Chemotherapy*

42:363:371 (1998))。

因此，有利的為產生不含大粒子之原料藥以避免諸如研磨或篩分之額外加工步驟的低效率。本發明之拉喹莫德鈉提供具有小粒徑之拉喹莫德鈉粒子之混合物，避免安全問題及與研磨有關的額外問題。

在調配過程期間之另一關注內容為保持藥品內容物之均一性。在拉喹莫德之情況下，拉喹莫德之單位劑量相對於藥品(例如錠劑或膠囊)之總重量相當低。舉例而言，典型調配物可在總重量超過200 mg之膠囊中包含僅少量拉喹莫德，例如0.3、0.6或1.2 mg。因此，拉喹莫德之量由於流動性、分離、均一性或不良均質分佈之問題的小波動可導致與所需量(例如0.3、0.6或1.2 mg)之大偏差百分比。本發明之拉喹莫德鈉之混合物在膠囊中提供高內容物均一性及拉喹莫德之量的最小波動。

表1.拉喹莫德摻合物之均一性(UoB)及填充膠囊內容物之均一性(UoC)

批次	UoB AVG	UoB RSD	UoC	UoC AV
a	99.5	1.67	99.3	4.5
b	100.6	0.61	98.7	2.7
c	102.6	1.10	99.9	2.2
d	97.3	0.90	99.4	4.7
e	101.3	1.02	100.6	2.4
f	101.3	1.02	100.8	3.6
g	97.4	0.85	96.4	5.9
h	101.6	1.08	98.6	2.8
i	98.5	0.71	94.2	8.6
j (0.3mg)	101.2	0.66	96.9	8.7
k	101.2	0.66	94.6	7.1
l	97.1	1.35	96.8	5
m	95.3	0.88	98.6	3.5
n	98.6	0.91	101.4	5.2
o	97.1	0.59	96.6	5.7
p	98.8	0.58	98.4	5.3
q	98.2	0.54	98.5	4.3
r	97.2	0.96	100.7	2.4
s	102.2	1.20	100.2	4.6
t	102.9	1.82	98.4	3.3
u	103.6	1.01	99.7	4.4
v	97.9	0.5	98.5	1.4
w	98.7	0.5	99.2	1.6
xA	95.3	0.7	94.2	12.1

xB				
y	97.1	1.2	98	
z1 (0.6mg)	99.8	1.8	97.4	2.2
z2 (0.6mg)	99.8	1.8	97.4	2.2

UoB：摻合物之均一性，RSD為描述填充至膠囊中之前的均一性的參數

UoC：填充膠囊內容物之均一性，AV為與均一性之RSD有關的接受值。

拉喹莫德粒子形狀之均一性亦為在調配期間重要的關注內容，因為缺乏形狀可導致原料藥密度之變化且在藥品形成(例如膠囊或錠劑形成)期間導致問題。拉喹莫德鈉結晶粒子為棒狀粒子。已知研磨操作可導致粒子形狀變化。

已知粒徑減小引起更快的溶解概況。小粒子之溶解速率通常比大粒子之溶解速率快，因為原料藥之較大表面積與液體介質接觸。當調配溶解速率低的藥物時，需要減小粒徑以便增加溶解且因此有助於快速胃腸或口腔吸收。

在原料藥不具有公認與溶解速率相關之問題的該等情況下，粒徑減小可為不可取的且甚至有害的。表面積增加可增加原料藥之降解速率。如例如美國專利第8,178,127號及第7,989,473號中所論述，拉喹莫德鈉對降解敏感。

出乎意料的是，儘管已知缺點與小粒徑相關，但發現經改良之原料藥及藥品由拉喹莫德鈉結晶粒子之混合物產生，其中(i)佔總體積量90%或90%以上之拉喹莫德鈉粒子具有40微米或40微米以下之粒徑，(ii)佔總體積量50%或50%以上之拉喹莫德鈉粒子具有15微米或15微米以下之粒徑，及(iii)佔總體積量10%或10%以上之拉喹莫德鈉粒子具有5微米或5微米以下之粒徑。

因此，本發明之再結晶方法之優勢為所得拉喹莫德鈉結晶之混

合物具有小粒徑粒子，其與關於API於膠囊、錠劑及其他藥品中之分佈的高均一性及均質性相關。小粒徑拉喹莫德鈉結晶可免除或降低對額外研磨步驟的需要。本發明之小粒徑拉喹莫德鈉係在不犧牲所需純度或密度概況的情況下及在不需要先前研磨操作的情況下達成。

本發明之另一個優勢為拉喹莫德鈉結晶具有比由美國專利第6,077,851號之漿液至漿液法產生之拉喹莫德鈉結晶高的密度。低敲緊密度為原料藥或藥品之某些珍視品質的詛咒，諸如可壓縮性，粉末在壓力下體積減少之能力；及可壓實性，粉末壓縮成具有特定強度或硬度之錠劑的能力。亦已知具有低敲緊密度之結晶具有不良流動性，導致最終劑型(尤其錠劑)中之內容物缺乏均一性。(Rudnic等人 Chpt. 45, *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 第20版, Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, MD. (2000))內容物之均一性對於包含有效原料藥(例如拉喹莫德鈉)之醫藥組合物尤其重要。

與美國專利第6,077,851號之漿液至漿液法相比，本發明亦展示低聚集之粒子，且另外提供具有可接受之密度及低雜質含量之粒子。如圖5-8中所示，由美國專利第6,077,851號中所述之方法產生之粗物質拉喹莫德具有高聚集率(圖5及6)，與本發明之低聚集率(圖7及8)相比。

本發明之另一個優勢為本發明之方法在不犧牲所需結晶特徵的情況下為環保的。特定言之，藉由使用水作為主要溶劑，本發明實現環保及經改良之結晶特徵，特定言之關於粒徑分佈優於美國專利第7,884,208號。

術語

如本文所用且除非另外說明，否則以下術語之每一者應具有下文陳述之定義。

如本文所用，「拉喹莫德」意指拉喹莫德酸或其醫藥學上可接受

之鹽，包括拉喹莫德鈉。

如本文所用，「拉喹莫德酸」為N-乙基-N-苯基-1,2,-二氫-4-羥基-5-氯-1-甲基-2-側氧基喹啉-3-甲醯胺，且其化學登記號為248281-84-7。「拉喹莫德鈉」為拉喹莫德酸之鈉鹽。

如本文所用，D(0.1)為以微米為單位之粒徑，10體積%分佈之群體經發現在該粒徑以下。

如本文所用，D(0.5)為以微米為單位之粒徑，50體積%分佈之群體經發現在該粒徑以下。

如本文所用，D(0.9)為以微米為單位之粒徑，90體積%分佈之群體經發現在該粒徑以下。

如本文所用，「結晶特徵」包括粒徑分佈、容積密度及敲緊密度。

如本文所用，「原料藥」係指藥品中或用於藥品之活性成分，其提供藥理學活性或在疾病診斷、治癒、緩解、治療或預防中之其他直接效應，或影響人類或動物身體之結構或任何功能。

如本文所用，「藥品」係指含有原料藥以及至少一種醫藥學上可接受之載劑的調配劑型或最終劑型。

如本文所用，「不含」化學個體之組合物意指組合物含有(若全部)一定量化學個體，其在意欲藉由使化學個體與組合物分離純化組合物之肯定行為後不能避免。

舉例而言，「不含」鹼化劑之組合物意指鹼化劑(若完全存在)為組合物以重量計之少數組分。較佳地，當組合物「不含」組分時，組合物包含小於0.1重量%、0.05重量%、0.02重量%或0.01重量%之組分。

如本文所用，「經分離之」化合物為在肯定的分離行為後自粗物質反應混合物分離之化合物。分離行為涉及使化合物與粗物質反應混

合物之其他已知組分分離，其中一些雜質、未知副產物及殘餘量之粗物質反應混合物之其他已知組分允許保留。純化為肯定分離行為之實例。

如本文所用，「穩定性測試」係指在特定時間間隔及各種環境條件(例如溫度及濕度)下進行之測試以查看藥品經其標明之存放期時間是否降解及降解至何種程度。測試之特定條件及時間為使得其加快藥品預期經其存放期遭遇之條件的特定條件及時間。舉例而言，最終藥劑之穩定性測試的詳細要求編纂於21 C.F.R§211.166中，其全部內容以引用的方式併入本文中。

如本文所用，「溶解速率」係如美國藥典<711>中所指示，基於30分鐘溶解之原料藥之量來測定。

如本文所用，「大氣壓」係指約1 atm之壓力。

如本文所用，「環境溫度」係指約20°C至約30°C之溫度。

如本文所用，在數值或範圍之情形中，「約」意指±所列舉或主張之數值或範圍之10%。

如本文所用，在數值或範圍之情形中，「近似」意指±所列舉或主張之數值或範圍之5%。

如本文關於本發明之組合物所用之術語「穩定醫藥組合物」表示在儲存期間保留活性醫藥成分之物理穩定性/完整性及/或化學穩定性/完整性之組合物。此外，「穩定醫藥組合物」特徵在於與其在時間零點之含量相比，其降解產物含量在40°C/75%RH下6個月後不超過5%或在55°C/75% RH下不超過3%。

如本文所用，「治療」涵蓋例如誘導疾病、病症或病狀之抑制、消退或停滯，或改善或減輕疾病、病症或病狀之症狀。如本文所用，「改善」或「減輕」病狀或病態應意指緩解或減小病狀或病態之症狀。如本文所用，「抑制」個體之疾病進展或疾病併發症意指阻止或

減少個體之疾病進展及/或疾病併發症。

「投與個體」意指給予、施配或施用醫藥、藥物或補救方式至個體以減輕、治癒或減少與病狀(例如病理性病狀)相關之症狀。

本發明之原料藥(例如拉喹莫德鈉)可與關於指定投藥形式及按照習知醫藥實踐適當選擇之合適醫藥稀釋劑、增量劑、賦形劑或載劑(在本文中統稱為醫藥學上可接受之載劑)混合投與。單位應呈適用於口服、直腸、局部、靜脈內或直接注射或非經腸投藥之形式。化合物可單獨或與醫藥學上可接受之載劑混合投與。

此載劑可為固體或液體，且載劑類型一般基於所用投藥類型加以選擇。活性劑可以錠劑或膠囊、脂質體之形式、作為聚結散劑或以液體形式共投與。合適固體載劑之實例包括乳糖、蔗糖、明膠及瓊脂。膠囊或錠劑可易於調配且可使其易於吞嚥或咀嚼；其他固體形式包括顆粒及散裝散劑。

膠囊或錠劑可含有合適黏合劑、潤滑劑、崩解劑、稀釋劑、著色劑、調味劑、流動誘發劑及熔融劑。舉例而言，為以錠劑或膠囊之單位劑型口服投與，活性藥物組分可與口服、無毒、醫藥學上可接受之惰性載劑組合，諸如乳糖、明膠、瓊脂、澱粉、蔗糖、葡萄糖、甲基纖維素、硬脂酸鎂、磷酸氫鈣、硫酸鈣、甘露糖醇、山梨糖醇及其類似物。

合適黏合劑包括澱粉、明膠、天然糖(諸如葡萄糖或 β -乳糖)、玉米甜味劑、天然及合成膠體(諸如阿拉伯膠、黃蓍膠或海藻酸鈉)、聚維酮、羧甲基纖維素、聚乙二醇、蠟及其類似物。

用於此等劑型之潤滑劑包括油酸鈉、硬脂酸鈉、硬脂酸鎂、苯甲酸鈉、乙酸鈉、氯化鈉、硬脂酸、硬脂醯反丁烯二酸鈉、滑石及其類似物。

崩解劑包括(但不限於)澱粉、甲基纖維素、瓊脂、膨潤土、三仙

膠、交聯羧甲基纖維素鈉、羥乙酸澱粉鈉及其類似物。

可用於調配本發明之口服劑型之技術、醫藥學上可接受之載劑及賦形劑之特定實例描述於例如美國專利申請公開案第2005/0192315號、PCT國際申請公開案第WO 2005/074899號、第WO 2007/047863號及第WO 2007/146248號以及美國專利第7,589,208號中。舉例而言，本發明之口服劑型可包含鹼性反應組分，該組分較佳總計該調配物之約1重量%至20重量%以便保持pH超過8。

製得適用於本發明之劑型的技術及組合物描述於以下參考文獻：7 Modern Pharmaceuticals, 第9章及第10章 (Banker及Rhodes, 編輯 1979)；Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets (Lieberman等人, 1981)；Ansel, Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms 第2版 (1976)；Remington's Pharmaceutical Sciences, 第17版 (Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985)；Advances in Pharmaceutical Sciences (David Ganderton, Trevor Jones, 編., 1992)；Advances in Pharmaceutical Sciences 第7卷. (David Ganderton, Trevor Jones, James McGinity, 編, 1995)；Aqueous Polymeric Coatings for Pharmaceutical Dosage Forms (Drugs and the Pharmaceutical Sciences, Series 36 (James McGinity, 編, 1989)；Pharmaceutical Particulate Carriers: Therapeutic Applications: Drugs and the Pharmaceutical Sciences, 第61卷 (Alain Rolland, 編, 1993)；Drug Delivery to the Gastrointestinal Tract (Ellis Horwood Books in the Biological Sciences. Series in Pharmaceutical Technology; J. G. Hardy, S. S. Davis, Clive G. Wilson, 編)；Modern Pharmaceuticals Drugs and the Pharmaceutical Sciences, 第40卷 (Gilbert S. Banker, Christopher T. Rhodes, 編)。所有以上提及之公開案以引入的方式併入本文中。合適液體劑型之實例包括於水、醫藥學上可接受之油脂、醇或其他有機溶劑(包括酯)中之溶液或懸浮液、乳液、糖漿

或酳劑、由非起泡顆粒復原之溶液及/或懸浮液及由起泡顆粒復原之起泡製劑。該等液體劑型可含有例如合適溶劑、防腐劑、乳化劑、懸浮劑、稀釋劑、甜味劑、增稠劑及熔融劑。

口服劑型視情況含有調味劑及著色劑。非經腸及靜脈內形式亦可包括礦物質及其他材料以使其與所選注射或傳遞系統之類型相容。

用於本發明方法之化合物亦可以脂質體傳遞系統之形式投與，諸如單層小微脂粒、單層大微脂粒及多層微脂粒。脂質體可由多種磷脂形成，諸如膽固醇、十八胺或磷脂醯膽鹼。化合物可作為靶向組織之乳液的組分投與。

用於本發明方法之化合物亦可作為可靶向之藥物載劑或作為前藥偶合至可溶性聚合物。該等聚合物包括聚乙烯吡咯啶酮、哌喃共聚物、聚羥基丙基甲基丙烯酸醯胺、聚羥基乙基天冬醯胺或經十六醯基殘基取代之聚氧化乙烯-聚離胺酸。此外，化合物可偶合至一類用於達成藥物控制釋放之生物可降解聚合物，例如聚乳酸、聚乙醇酸、聚乳酸與聚乙醇酸之共聚物、聚 ϵ 己內酯、聚羥基丁酸、聚原酸酯、聚縮醛、聚二氫哌喃、聚氰基丙烯酸酯及水凝膠之交聯或兩性嵌段共聚物。

為以液體劑型口服投與，口服藥物組分與任何口服、無毒、醫藥學上可接受之惰性載劑(諸如乙醇、甘油、水及其類似物)組合。合適液體劑型之實例包括於水、醫藥學上可接受之油脂、醇或其他有機溶劑(包括酯)中之溶液或懸浮液、乳液、糖漿或酳劑、由非起泡顆粒復原之溶液及/或懸浮液及由起泡顆粒復原之起泡製劑。該等液體劑型可含有例如合適溶劑、防腐劑、乳化劑、懸浮劑、稀釋劑、甜味劑、增稠劑及熔融劑。

用於口服投與之液體劑型可含有著色劑及調味劑以增加患者接受度。一般而言，水、合適油、生理食鹽水、右旋糖(葡萄糖)水溶液

及相關糖溶液及乙二醇(諸如丙二醇或聚乙二醇)為用於非經腸溶液之合適載劑。用於非經腸投藥之溶液較佳含有活性成分之水溶性鹽、合適穩定劑且必要時緩衝物質。抗氧化劑(諸如單獨或組合之亞硫酸氫鈉、亞硫酸鈉或抗壞血酸)為合適穩定劑。亦使用檸檬酸及其鹽與EDTA鈉。此外，非經腸溶液可含有防腐劑，諸如氯化苯甲烴銨、對羥基苯甲酸甲酯或對羥基苯甲酸丙酯及氯丁醇。合適醫藥載劑描述於Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company(此領域中之標準參考文獻正文)中。

本發明之原料藥(例如拉喹莫德鈉)可以多種形式投與，包括本文詳述之形式。使用化合物治療可為組合療法之組分或輔助療法，亦即治療需要藥物之個體或患者或給予疾病之另一藥物連同一或多種本發明之化合物。此組合療法可為定序療法，其中患者首先用一種藥物治療且隨後同時給予其他或另兩種藥物。此等藥物藉由同一投藥途徑或藉由兩個或兩個以上不同投藥途徑獨立地投與，視所用劑型而定。

明膠膠囊可含有活性成分化合物及粉末狀載劑，諸如乳糖、澱粉、纖維素衍生物、硬脂酸鎂、硬脂酸及其類似物。類似稀釋劑可用於製得壓製錠劑。錠劑及膠囊可製造為立即釋放產物或持續釋放產物以經數小時之時間提供藥物的連續釋放。壓製錠劑包覆糖衣或包覆膜衣以掩蔽任何使人厭惡的味道且保護錠劑避免氛圍，或包覆腸溶包衣以便在胃腸道中選擇性崩解。

用於本發明方法之化合物亦可經由使用合適鼻內媒劑以鼻內形式投與，或經由經皮途徑使用一般熟習此項技術者所熟知經皮皮膚貼片形式投與。為以經皮傳遞系統之形式投與，在整個給藥方案期間劑量投與一般應連續而非間斷的。

非經腸及靜脈內形式亦可包括礦物質及其他材料以使其與所選注射或傳遞系統之類型相容。

用於本發明方法之化合物的劑量單位可包含單一化合物或其與其他抗細菌劑之混合物。化合物可以如錠劑、膠囊、丸劑、散劑、顆粒、酞劑、酊劑、懸浮液、糖漿及乳液之口服劑型投與。化合物亦可以靜脈內(團式或輸注)、腹膜內、皮下或肌肉內形式投與，或例如藉由注射、局部施用或其他方法直接引入於感染部位中或感染部位上，所有使用劑型為一般熟習醫藥技術者所熟知。

如以毫克為單位量測之拉喹莫德之「劑量」或「劑量單位」係指製劑中存在之拉喹莫德酸之毫克數，與製劑形式無關。劑量單位可包含單一化合物或其化合物之混合物。劑量單位可經製備以用於口服劑型，諸如錠劑、膠囊、丸劑、散劑及顆粒。舉例而言，拉喹莫德之「劑量」或「劑量單位」可為0.3、0.6或1.2 mg。

如本文所用，「醫藥學上可接受之」組分為與合理利益/風險比率相稱，適合用於人類及/或動物而無不當不良副作用(諸如毒性、刺激性及過敏反應)之組分。

如本文所用，「醫藥學上可接受之載劑」係指與合理利益/風險比率相稱，適合用於人類及/或動物而無不當不良副作用(諸如毒性、刺激性及過敏反應)之載劑或賦形劑。其可為醫藥學上可接受之溶劑、懸浮劑或媒劑，用於傳遞本發明之化合物至個體。載劑可為液體或固體且以腦中計劃投與方式加以選擇。「醫藥學上可接受之載劑」包括填滿錠劑或膠囊尺寸之「填充劑」，使得錠劑或膠囊可實踐生產且便於消費者使用。藉由增加總體積，填充劑使得最終產物可能具有適當體積以便患者撐握。「醫藥學上可接受之載劑」亦包括「潤滑劑」，其防止成分結塊在一起且防止黏附於錠劑衝壓機或膠囊填充機。潤滑劑亦確保錠劑形成及脫模可發生在固體與模壁之間低摩擦的情況下。

「醫藥學上可接受之載劑」亦包括惰性載劑，諸如乳糖、明膠、瓊脂、澱粉、蔗糖、葡萄糖、甲基纖維素、磷酸氫鈣、硫酸鈣、甘露糖

醇、山梨糖醇、微晶纖維素及其類似物。脂質體亦為醫藥學上可接受之載劑。

應瞭解，在提供參數範圍的情況下，該範圍內之全部整數及其十分位及百分位亦由本發明提供。舉例而言，「0.15-0.35%」包括0.15%、0.16%、0.17%等直至0.35%。

本發明亦意欲包括本文所揭示之化合物(包括雜質)上存在之原子彈所有同位素。同位素包括具有相同原子序數、但不同質量數之彼等原子。舉一般實例且不加以限制，氫同位素包括氕及氘。碳同位素包括C-13及C-14。

如本文所用，用於篩選或測試樣品中存在化合物之分析方法的「偵測極限」為閾值，低於該閾值無法由所用分析方法偵測出樣品中之化合物。用於偵測含有拉喹莫德之樣品中之雜質的給定HPLC方法的偵測極限可基於該方法及所偵測之雜質而變化。舉例而言，用於偵測5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)之典型HPLC方法的偵測極限為0.03%，且用於偵測5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)、5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉(MCQ)、5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸酯(MCQEE)及未知雜質之給定方法的偵測限制為0.02%。

如本文所用，用於篩選或測試樣品中存在化合物之分析方法的「定量極限」為閾值，低於該閾值無法由所用分析方法定量出樣品中之化合物。用於偵測含有拉喹莫德之樣品中之雜質的給定HPLC方法的定量極限可基於所偵測之雜質而變化。

如本文所用，「密度」為定義為每單位體積物質之質量的量測值。

如本文所用，「容積密度」或「BD」係指鬆散、未壓實之物質的密度量測值，其中該物質之體積包括粒子間截留之空氣。

如本文所用，「敲緊密度」或「TD」係指已敲緊或震實，由此藉由消除粒子間截留之空氣或將其減至最少而使物質體積減至最少的物質的密度量測值。

如本文所用，「迅速攪拌」係指使溶劑飛濺於容器壁上之攪拌。

如本文所用，「摻合物均一性」係指包括拉喹莫德鈉粒子之摻合物或造粒物在囊封、壓錠或除形成最終摻合物以外以其他方式完成藥品之前之均質性，且可表示一種樣品或一種以上樣品之平均值。摻合物均一性可例如藉由獲取代表每一批次最終摻合物之上層、中層及下層的10種樣品，進行HPLC分析以量測樣品中活性成分之量，及比較每一樣品中活性成分之量及活性成分之標示量來加以量測。標準差及相對標準差可基於以每一樣品中原料藥之標示量之百分比形式表示之測試樣品的個別量來測定。

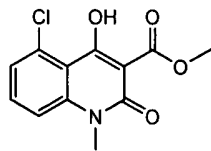
如本文所用，「含量均一性」係指在調配後，劑型(例如膠囊或錠劑)中拉喹莫德鈉含量之均質性。因本文所述之醫藥組合物之含量均一性之劑量單位均一性符合美國藥典<905>接受值及範圍(如規定)； $L1 = 15.0$ 及 $L2 = 25.0$ 。含量均一性可例如據美國藥典所指示加以量測，包括1)分析十個錠劑(或藥品之其他劑型)以確保活性含量之相對標準差(RSD)小於或等於6.0%且無超過85-115%之外的值；及2)再分析二十個錠劑(或藥品之其他劑型)以確保所有三十個之RSD小於或等於7.8%，至多一個值超過85-115%之外且無超過規定含量之75-125%之外的值。

如本文所用，「殘餘溶劑」包括乙醇、正庚烷、正辛烷、甲醇、丙酮、二噁烷及二甲基甲醯胺。殘餘溶劑可例如基於製造商之活性成分/賦形劑中殘餘溶劑含量之陳述及按照美國藥典<467>選項2產物符合USP <467>殘餘溶劑限制準則計算來測定。不一定需要測試。

如本文所用，「NMT」意指不超過。

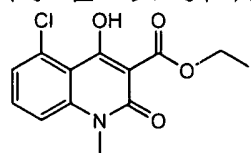
如本文所用，「LT」意指小於。

如本文所用，「MCQME」意指5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯。MCQME揭示於美國專利第7,560,557號及J. Org. Chem., 2006, 71, 1658-1667中，該等文獻之內容以引用的方式併

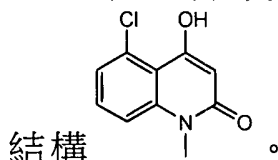


入本申請案中。MCQME具有結構：

如本文所用，「MCQEE」意指5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯。MCQEE揭示於美國專利第7,560,557號中，其內容以引用的方式併入本申請案中。MCQEE具有結構

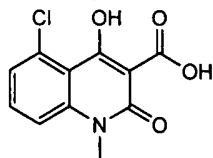


如本文所用，「MCQ」意指5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1H)-酮。MCQ揭示於美國專利第7,560,557號及J. Org. Chem., 2006, 71, 1658-1667中，該等文獻之內容以引用的方式併入本申請案中。MCQ具有



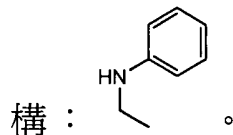
結構

如本文所用，「MCQCA」意指5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸。MCQCA揭示於美國專利第7,560,557號及J. Org. Chem., 2006, 71, 1658-1667中，該等文獻之內容以引用的方式併入本



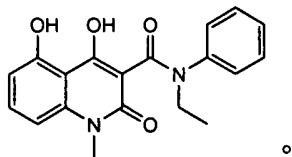
申請案中。MCQCA具有結構：

如本文所用，「NEA」意指N-乙基苯胺。NEA揭示於美國專利第7,560,557號中，其內容以引用的方式併入本申請案中。NEA具有結

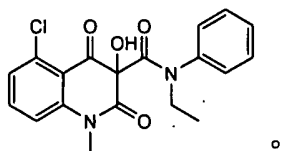


構：

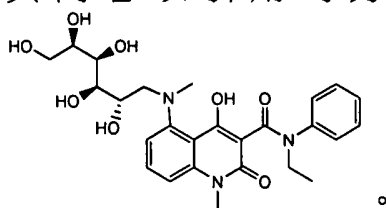
如本文所用，「5-HLAQ」意指N-乙基-4,5-二羥基-1-甲基-2-側氧基-N-苯基-1,2-二氫喹啉-3-甲醯胺。5-HLAQ揭示於PCT國際申請案第PCT/US13/26476號及美國申請公開案第US 2013/0217724 A1號中，該等案件之內容以引用的方式併入本申請案中。5-HLAQ具有結構：



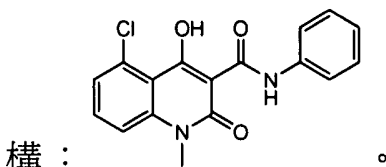
如本文所用，「3-HLAQ」意指5-氯-N-乙基-3-羥基-1-甲基-2,4-二側氧基-N-苯基-1,2,3,4-四氫喹啉-3-甲醯胺。3-HLAQ揭示於PCT國際申請案第PCT/US2008/013890號及美國專利第8,178,127 B2號中，該等案件之內容以引用的方式併入本申請案中。3-HLAQ具有結構：



如本文所用，「MEG-LAQ」意指N-乙基-4-羥基-1-甲基-5-(甲基(2,3,4,5,6-五羥基己基)胺基)-2-側氧基-N-苯基-1,2-二氫喹啉-3-甲醯胺。MEG-LAQ揭示於美國申請公開案第US 2013/0345256 A1號中，其內容以引用的方式併入本申請案中。MEG-LAQ具有結構：

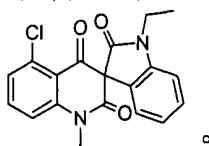


如本文所用，「DELAQ」意指5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-N-苯基-1,2-二氫喹啉-3-甲醯胺。DELAQ揭示於PCT國際申請案第PCT/US2011/043391號及美國申請公開案第US 2012/0010239 A1號中，該等案件之內容以引用的方式併入本申請案中。DELAQ具有結構：

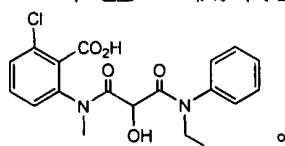


構：

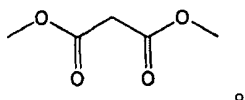
如本文所用，「SPIRO-LAQ」意指1H,3H-螺[5-氯-1-甲基喹啉-2,4-二酮-3,3'-[1]乙基吡啶啉-[2]-酮]。SPIRO-LAQ揭示於PCT國際申請案第PCT/US2008/013890號及美國專利第8,178,127 B2號中，該等案件之內容以引用的方式併入本申請案中。SPIRO-LAQ具有結構：



如本文所用，「BH-3-HLAQ」意指2-氯-6-(3-(乙基(苯基)胺基)-2-羥基-N-甲基-3-側氧基丙醯胺基)苯甲酸。BH-3-HLAQ具有結構：



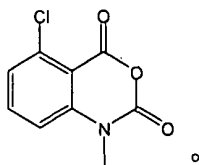
如本文所用，「DMM」意指丙二酸二甲酯。DMM為合成試劑，



及具有結構：

如本文所用，「DMS」意指硫酸二甲酯。DMS為合成試劑。

如本文所用，「MCIA」意指5-氯-1-甲基-1H-苯并[d][1,3]噁嗪-



2,4-二酮。MCIA具有結構

如本文所用，「DMF」意指N,N-二甲基甲醯胺。

如本文所用，「LOD」意指乾燥失重。

具有適當品質之以下市售溶劑亦用作分析標準物以便測試原料藥：乙醇、正庚烷、正辛烷、甲醇、丙酮、1,4-二噁烷及N,N-二甲基甲醯胺(DMF)。丙二酸二甲酯之分析標準物的ID號及來源為S4695599 (Merck)，甲基硫酸鈉為A0294777 (Arcos)，且¹³C₂-硫酸二甲酯為P-5052 (Holland Moran)。

本文所揭示之任何範圍意指在該範圍內之所有百分位、十分位

及整數單位量特別揭示為本發明之一部分。因此，舉例而言，0.01 mg至50 mg意指包括0.02, 0.03 ... 0.09；0.1, 0.2 ... 0.9；及1, 2 ... 49 mg單位量作為本發明之實施例。

除非另外指定，否則藉由常見藥典方法量測雜質。

如本文所用，「反溶劑」為拉喹莫德鈉在室溫(20-25°C)下微溶、極微溶、實際上不溶或不溶於其中之溶劑。根據美國藥典XXV，溶解度術語定義如下。

術語	1份溶質所需之溶劑份數
微溶	自100至1000
極微溶	自1000至10,000
實際上不溶	10,000及以上
不溶	10,000及以上

不純結晶化合物之純化通常藉由自合適溶劑或溶劑混合物再結晶來實現。(Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry. 第5版. Longman Scientific & Technical, 1989.)再結晶方法一般包含以下步驟：a)將不純結晶物質溶解於接近沸點之合適溶劑中；b)過濾熱溶液之不溶性物質之粒子及粉塵；c)使熱溶液冷卻以致使溶解物質結晶出來；及d)使結晶與清液層溶液分離。(Id.)然而，標準再結晶技術在應用於拉喹莫德鈉時伴有低或無產率，如美國專利第7,884,208號中所教示。如美國專利第7,884,208號之實例2-7中所示，嘗試使用標準再結晶程序使拉喹莫德鈉再結晶導致不良產率(若存在)。美國專利第7,884,208號之方法克服與藉由使用反溶劑使拉喹莫德鈉再結晶相關之難題，拉喹莫德鈉實際上不溶於反溶劑中。此外，美國專利第7,884,208號之方法在添加反溶劑之前濃縮拉喹莫德鈉水溶液。本發明之方法相比美國專利第7,884,208號之方法有改良。

藉由參考隨後的實驗詳情及實例將更好地理解本發明，但熟習此項技術者應易於瞭解，所詳述之特定實驗僅說明本發明，如下文之申請專利範圍中更加充分地描述。

實驗詳情

粉末密度之測定

容積密度

1. 混合粉末；
2. 在0.01 g敏感度天平上配衡50 ml空的圓筒；
3. 在不壓實的情況下，將粉末轉移至保持在約45度角度下之圓筒，取得40至50 ml未敲緊之表觀體積。
4. 藉由急劇移動將含有樣品之圓筒帶至垂直位置以便衡量體積用於讀取。
5. 讀取表觀體積(V_a)至最接近的刻度單位；
6. 稱重具有樣品之圓筒(天平給出樣品重量 M)；
7. 根據以下方程式計算以g/ml為單位之容積密度： $BD = M/V_a$ ；
8. 再次進行步驟1-7且記錄一式兩份之平均數據。

敲緊密度

1. 將用於計算容積密度之同一圓筒置於 Quantachrome Dual Autotap儀器中；
2. 進行1250次敲緊；
3. 讀取敲緊體積(V_f)至最接近的刻度單位；
4. 根據以下方程式計算以g/ml為單位之敲緊密度： $TD = M/V_f$ ；
5. 再次進行步驟1-4且記錄一式兩份之平均數據。

粒徑之測定

使用 Mastersizer S 模型，藉由馬爾文雷射繞射(Malvern Laser Diffraction)量測粒徑分佈。雷射繞射依靠光之繞射角與粒徑成反比的事實。粒子之特性經量測且解釋為球體之量測值(球體為可由一個唯一數描述之唯一形狀)。此外，雷射繞射計算基於體積術語之粒徑分佈，由此排除由粒徑測定計數粒子。Mastersizer S模型使用單個技術

及單個範圍設置量測粒子。

D(0.1)為以微米為單位之粒徑，10體積%分佈之群體發現在該粒徑以下。D(0.5)為以微米為單位之粒徑，50體積%分佈之群體經發現在該粒徑以下。D(0.9)為以微米為單位之粒徑，90體積%分佈之群體經發現在該粒徑以下。

重金屬之測定

使用由Spectro (Kleve，德國)製造之感應耦合電漿原子發射光譜法(「ICP-AES」)系統量測金屬含量。在65%硝酸中進行樣品分解，且所用內標為釷。

注意：在以下實例中，相對於拉喹莫德鈉之起始重量計算所用溶劑體積。以重量百分比形式計算產率。

純度之測定-用於鑑定及測定拉喹莫德膠囊中之分析物及極性雜質/降解產物的例示性HPLC程序

使用ODS-3V管柱及包含在pH 7.0下之乙酸銨緩衝液(80%)及乙腈(20%)之混合物的移動相，藉由等濃度逆相高效液相層析(RP-HPLC)測定拉喹莫德鈉及極性雜質/降解產物。偵測技術為在240 nm下之紫外線吸收。

特定HPLC條件：

- 管柱及填料：Inertsil ODS-3V, 5 μm , 4.6×250mm, GL Sciences Inc.
- 前導管柱：Opti-Guard C 18, 1×10mm
- 移動相：乙腈:緩衝液pH 7.0- 20:80 (v/v)。混合且脫氣
- 緩衝液pH 7.0製備：將7.7 g乙酸銨溶解於2000 mL水中且用氨水或冰醋酸調整至pH 7.0±0.05。經由0.45 μm 膜濾器過濾。
- 流動速率：1.5 mL/min
- 偵測：在240 nm下之UV

- 注射體積：50 μL
- 稀釋劑A：乙腈/水-50:50 (v/v)
- 稀釋劑B(及空白)：移動相
- 管柱溫度：40 $^{\circ}\text{C}$
- 自動進樣器溫度：5 $^{\circ}\text{C}$
- 操作時間：40分鐘

典型HPLC程序：

1. 標準溶液製備

1.1 拉喹莫德標準儲備溶液(溶液S)

一式兩份精確稱重約15 mg拉喹莫德鈉標準物至50 mL量瓶中。用多至2/3容量之稀釋劑A稀釋，在冷的音波處理浴中音波處理2分鐘且用稀釋劑A稀釋至容量。

標準儲備溶液之濃度為約300 $\mu\text{g/mL}$ 拉喹莫德鈉。當儲存於2 $^{\circ}\text{C}$ -8 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中時，標準儲備溶液可使用一個月。

1.2 用於分析之拉喹莫德標準物工作溶液(溶液A)

用稀釋劑B稀釋3 mL標準儲備溶液至10 mL(稀釋因數3.33)。

拉喹莫德鈉之濃度為約90 $\mu\text{g/mL}$ 。以拉喹莫德(酸)表示之濃度為約85 $\mu\text{g/mL}$ 。

當儲存於冰箱(2 $^{\circ}\text{C}$ -8 $^{\circ}\text{C}$)中時，標準物工作溶液A可使用7天。

1.3 MCQCA標準儲備溶液

精確稱重約18 mg MCQCA標準物至100 mL量瓶中。用乙腈稀釋至容量，音波處理(在冷的音波處理浴中)直至物質完全溶解-MCQCA儲備溶液。

MCQCA之濃度為約180 $\mu\text{g/mL}$ 。

MCQCA標準儲備溶液應新鮮製備。

1.4 用於雜質測定之標準溶液(溶液I)

製備於稀釋劑B中之溶液，相對於標準溶液A中拉喹莫德之工作濃度，含有0.2%之濃度的拉喹莫德及0.1%之濃度的MCQCA。舉例而言，應用以下程序。

轉移4.0 mL用於分析之拉喹莫德鈉標準溶液(溶液A)及1.0 mL MCQCA標準儲備溶液至100 mL量瓶中且用稀釋劑B稀釋至容量(中間稀釋液)。

將2.5 mL此中間稀釋液置於50 mL量瓶中且用稀釋劑B補足至容量。

拉喹莫德標準物之總稀釋因數為1666.67，MCQCA之總稀釋因數為2000。

拉喹莫德鈉之濃度為約0.18 $\mu\text{g/mL}$ (0.2%)

MCQCA之濃度為約0.09 $\mu\text{g/mL}$ (0.1%，QL水準)。

當儲存於冰箱中時，標準溶液I可使用24小時。

2. 解析溶液製備

2.1 混合溶液

使用稀釋劑A作為溶劑，製備含有以下可能雜質標準物(標記物)之溶液：

混合溶液：

MCQ：5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮

MCQCA：5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸

MCQMA：5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯

5-HLAQ: *N*-乙基-4,5-二羥基-1-甲基-2-側氧基-*N*-苯基-1,2-二氫喹啉-3-甲醯胺

混合溶液可製備如下：

稱重約3 mg各雜質標準物/標記物至100 mL量瓶中，溶解(音波處

理為可接受的)且用稀釋劑A稀釋至容量。

混合溶液中各雜質之濃度為約30 $\mu\text{g/mL}$ 。當冷凍儲存在約 -20°C 下時，混合溶液可使用至多4個月。為此，新製備之混合溶液應分成等分試樣，立即冷凍且儲存在 -20°C 下。在融化後，等分試樣應充分混合且不應再冷凍。

2.2 額外雜質之儲備溶液

稱重約3 mg MCQEE (5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯)至100 mL量瓶中，溶解(音波處理為可接受的)且用稀釋劑A稀釋至容量。此為MCQEE儲備溶液。

當冷凍儲存在約 -20°C 下時，此溶液可使用至多4個月。

為此，新製備之MCQEE儲備溶液應分成等分試樣，立即冷凍且儲存在 -20°C 下。在融化後，等分試樣應充分混合且不應再冷凍。

稱重約3 mg MEG-LAQ(拉喹莫德之葡甲胺加合物)至100 mL量瓶中，溶解(音波處理為可接受的)且用稀釋劑A稀釋至容量。此為MEG-LAQ儲備溶液。

當儲存於冰箱中(2°C - 8°C)時，此溶液可使用一週。

2.3 解析溶液

使用混合溶液分別如下製備兩種解析溶液。

2.3.1 解析溶液1

轉移3 mL拉喹莫德標準儲備溶液(溶液S)、0.3 mL混合溶液及0.3 mL MCQEE儲備溶液至10 mL量瓶且用稀釋劑B稀釋至容量。此為解析溶液1。

其中拉喹莫德鈉之濃度為約90 $\mu\text{g/mL}$ 。各雜質之濃度為約0.9 $\mu\text{g/mL}$ (相對於拉喹莫德之工作濃度約1%)。

解析溶液1用於解析度測試(關於系統適用性)及用於五種雜質之滯留時間(RT)/相對滯留時間(RRT)之測定：MCQ、MCQCA、

MCQME、MCQEE及5-HLAQ。

若儲存於冰箱(2°C-8°C)中，解析溶液1可使用9天。

2.3.2 解析溶液2

轉移3 mL拉喹莫德標準儲備溶液(溶液S)、0.3 mL混合溶液及0.3 mL MEG-LAQ儲備溶液至10 mL量瓶且用稀釋劑B稀釋至容量。此為解析溶液2。

其中拉喹莫德鈉之濃度為約90 µg/mL。各雜質之濃度為約0.9 µg/mL(相對於拉喹莫德之工作濃度約1%)。

解析溶液2用於MEG-LAQ之滯留時間之測定。

若儲存於冰箱(2°C-8°C)中，解析溶液2可使用9天。

3. 樣品溶液製備

精確稱重20個膠囊且將其內容物完全排空至研鉢中。注意將膠囊內容物完全排空至研鉢中，必要時使用刮勺。稱重排空的膠囊。計算膠囊內容物之平均重量。在研鉢中混合且研磨膠囊內容物且將粉末避光保存於緊閉容器中。

一式兩份地精確稱重相當於7個膠囊之量的粉末至50 mL量瓶中。

添加稀釋劑B直至2/3之容量，在200 mot/min下振盪30分鐘。用稀釋劑B稀釋至容量。充分混合。在使用前經由0.45 µm GHP ACRODISC GF過濾器或等效物過濾，棄去前0.5-1 mL。

拉喹莫德(酸)之工作濃度為約84 µg/mL。在製備後，立即將樣品溶液置於冰箱或冷卻至5°C之自動進樣器中。當保持在溫度2°C-8°C下時，樣品溶液可使用24小時。

4. 程序

根據標準操作程序，注射解析溶液、稀釋劑B(空白)、用於分析及IDD之標準溶液及樣品溶液。

測定用於鑑定及分析之樣品溶液及標準溶液之層析圖中的滯留時間(RT)及拉喹莫德峰之面積。

測定樣品溶液之層析圖中的所有已知雜質及任何其他雜質的RT、相對滯留時間(RRT)及峰面積，用於計算雜質/降解產物之含量。

忽略早期賦形劑溶離峰及系統峰(參見用於測定雜質/降解產物之層析圖)。舉例而言。使用0與RRT 0.15(約2.5分鐘)之間的抑制積分。

調整積分參數以排除面積小於標準溶液I(用於測定雜質/降解產物)注射中拉喹莫德峰之平均反應之10%的峰。

忽視注射試樣中MEG-LAQ之峰(按照解析溶液2鑑定)。由不同方法測試MEG-LAQ之含量。

5. 系統適用性測試

5.1 解析度測試

拉喹莫德峰之典型滯留時間為 15.5 ± 2.0 分鐘。

拉喹莫德峰之拖尾因數(USP)應不超過2.0。

所有對峰之解析因數應不少於(NLT)2。

已知雜質/降解產物之峰的RRT應如下：

MCQME：0.33-0.38

MCQ：0.49-0.58

MCQEE：0.56-0.65

MCQCA：0.71-0.85

5-HLAQ：1.2-1.4 (不應超過23分鐘)

MEG-LAQ峰與相鄰峰相比實質上變寬。MEG-LAQ之滯留時間為可變的，對層析條件(pH、乙腈%、溫度等)之最細微變化極其敏感，且因此應使用其在解析溶液2之層析圖中之峰加以定義。通常，其RRT為約0.66。

5.2 系統精密度測試

評估用於分析及IDD之拉喹莫德標準物以便根據標準操作程序測試系統精密度。

溶液I中之MCQCA用於測試系統靈敏性。Std 1之六次注射之面積的RSD以及Std 1與Std 2之間的差異應不超過(NMT)20%。

5.3 空白

注射稀釋劑B以偵測系統峰。

6. 藉由滯留時間(RT)鑑定

樣品層析圖中獲得之主峰的RT應對應於標準溶液注射中關於拉喹莫德峰值所獲得之RT。

7. 計算及記錄

7.1 分析計算

$$\text{分析\% (相對於標示量)} = \frac{\text{面積}_{\text{樣品}} \times \text{濃度}_{\text{標準物}} \times 0.94 \times V_{\text{樣品}} \times \text{平均重量}_{\text{膠囊內容物}}}{\text{面積}_{\text{標準物}} \times W_{\text{樣品}} \times \text{標記量}}$$

其中0.94為拉喹莫德鈉鹽至拉喹莫德(酸)之換算因數。

7.2 雜質/降解產物之計算及評估

7.2.1 相對滯留時間(RRT)之計算

$$\text{RRT雜質} = \frac{RT_{\text{雜質}}}{RT_{\text{拉喹莫德}}}$$

7.2.2 雜質/降解產物之含量的計算

$$\text{雜質\%} = \frac{\text{面積}_{\text{雜質}} \times \text{濃度}_{\text{標準物}} \times V_{\text{樣品}} \times \text{平均重量}_{\text{膠囊內容物}} \times 0.94 \times \text{RRF}}{\text{面積}_{\text{標準物}} \times W_{\text{樣品}} \times \text{標記量}}$$

面積_{雜質}為樣品溶液中雜質/降解產物(已知或未知)峰之面積。

面積_{標準物}為標準溶液I之層析圖中之拉喹莫德峰。

0.94為拉喹莫德鈉鹽至拉喹莫德(酸)之換算因數。

RRF為如以下比率計算之雜質/降解產物之相對響應因子：拉喹莫德回歸線之斜率/雜質回歸線之斜率。

相對於拉喹莫德之相對響應因子之值為：MCQME：0.74；MCQ：0.65；MCQEE：0.85；MCQCA：0.62；及5-HLAQ：1.0。

未知雜質/降解產物之RRF視為1.0。

7.2.3 雜質/降解產物之評估及記錄

MCQME、MCQ、MCQEE、5-HLAQ及未知雜質之定量水準(QL)為0.05%。MCQME、MCQ、MCQEE、5-HLAQ及未知雜質之偵測水準(DL)為0.02%。MCQCA之QL為0.1%。MCQCA之偵測水準DL為0.03%。

使樣品層析圖中之所有峰與系統適用性層析圖中之所有峰相關，伴以±5%之實際相應滯留時間。記錄數據如表2中所示。

表2. HPLC數據之記錄準則

	結果	記錄
指定雜質		
5-HLAQ	$\geq 0.05\%$ $< 0.05\%$ $< 0.02\%$ (或ND)	計算結果 $< 0.05\%$ $< 0.02\%$
MCQ及MCQCA 總和	$\geq 0.01\%$ $< 0.01\%$ $< 0.03\%$ (或ND)	計算結果 $< 0.01\%$ $< 0.03\%$
其他雜質		
MCQME, MCQEE	$\geq 0.05\%$ $< 0.05\%$ $< 0.02\%$ (或ND)	計算結果 $< 0.05\%$ $< 0.02\%$
未知峰(相對於拉 啞莫德之RRT)	$\geq 0.05\%$ $< 0.05\%$ $< 0.02\%$ (或ND)	計算結果 $< 0.05\%$ 未經記錄*
總計	$\geq 0.05\%$ $< 0.05\%$ (或 $< 0.02\%$ 或ND)	計算結果總和 $< 0.05\%$

* 若未偵測到雜質，記錄：任何其他 $<0.2\%$ 。

表3.實例系統適用性結果1

	名稱	RT	RT比	面積	USP解析度	USP拖尾	注射類型
1	MCQME	5.460	0.36	35801		1.07	BB
2	MCQ	8.260	0.54	60687	8.2	1.16	BV
3	MCQEE	9.249	0.6	24029	2.6	1.05	VB
4	MCQCA	12.031	0.78	18609	5.7	1.34	BB
5	拉啞莫德	15.332		12332469	5.2	1.84	BB
6	5-HLAQ	20.451	1.33	89463	7.3	1.04	BB

實例1-經修改之拉啞莫德鈉之再結晶-試生產，按比例擴大100倍(試驗規模批次A及B)

在兩個玻璃襯裡的反應器中進行試驗規模之拉喹莫德鈉再結晶(反應器A, 30升容量及反應器B 60升)。在具有20微米目之Hastelloy C攪拌過濾-乾燥器中過濾且乾燥固體產物。

批量為2.5 kg起始粗物質拉喹莫德鈉。

將粗物質拉喹莫德鈉批次(2.5 kg)引入具有10體積製程水之反應器A。在攪拌下加熱批次至60-73°C直至固體完全溶解為止。

將反應器A中之熱溶液經由0.2 μm 過濾系統轉移至反應器B。用1.2體積製程水洗滌反應器A及過濾器且將洗滌液轉移至反應器B。

積聚真空且在 $P < 45 \text{ mmHg}$ 及夾套溫度 $T < 65^\circ\text{C}$ 下蒸發反應器B中之溶液, 直至殘餘物體積達到5.4升(2.16體積)。接著積聚大氣壓且調整夾套溫度40-50°C。攪拌批次不少於10分鐘且隨後接種拉喹莫德鈉結晶以開始結晶。

再在45°C下攪拌批次90分鐘且在1.5-2.5小時內向反應器中添加7.9體積丙酮。反應器溫度在添加期間保持在40與50°C之間。

所得漿液在3.5-4.5小時期間冷卻至 $0 \pm 4^\circ\text{C}$ 且在此溫度下攪拌10-15小時。接著將漿液轉移至過濾乾燥器且在氮氣壓力下過濾固體。

用丙酮洗滌濾餅兩次(2.2kg), 用氮氣淨化且隨後在真空($P < 50 \text{ mmHg}$)及高溫($T = 40^\circ\text{C}$)下在攪拌下乾燥。

排出乾燥產物, 取樣用於分析且填料。

實例1之論述:

拉喹莫德鈉再結晶之試驗規模方法基於美國專利第7,884,208號之實例15。起始物質為具有低粒徑($d(0.1) = 1-2\mu$, $d(0.5) = 6-11\mu$; $d(0.9) = 20-35\mu$)且表現為聚集固體之粗物質拉喹莫德鈉。美國專利第7,884,208號之實例15涉及根據美國專利第6,875,869號中所揭示之方法製備25.0 g拉喹莫德鈉(實驗室規模)。在實例15中, 將25.0 g拉喹莫德鈉溶解於拉喹莫德鈉之水溶液中且隨後在真空下在攪拌下蒸發至具

有2.14 v/w之體積比的濃溶液，接種所得殘餘物以誘發結晶，接著用反溶劑(丙酮)處理。

使用2.5 kg拉喹莫德鈉進行經修改之試驗規模方法，其為自實例15按比例擴大100倍。此外，經修改之試驗規模方法與美國專利第7,884,208號之實例15的實驗室規模方法具有顯著差異。特定言之，實驗室規模之蒸發在旋轉蒸發器中之圓底燒瓶中在不攪拌的情況下進行，而試驗規模之蒸發在反應器中在攪拌下進行。在試驗規模上，積極攪拌蒸發殘餘物，使液體飛濺於反應器壁上，形成固體沈積且自發結晶。在實驗室規模上，可將亞穩溶液濃縮至2.1-2.2 v/w之體積比，此時不進行結晶且藉由種晶控制成核。在試驗規模上，條件及濃度使得發生自發結晶，亦即在不種晶的情況下誘發結晶。

令人驚訝的是，試驗批次不產生具有基於美國專利第7,884,208號之實例15所預期之粒徑分佈的拉喹莫德鈉粒子。實際上，申請者意外發現試驗批次產生再結晶拉喹莫德鈉粒子之混合物，其中(i)佔總體積量90%或90%以上之拉喹莫德鈉具有小於40微米之粒徑，(ii)佔總體積量50%或50%以上之拉喹莫德鈉粒子具有小於15微米之粒徑，及(iii)佔總體積量10%或10%以上之拉喹莫德鈉粒子具有小於5微米之粒徑。由兩種不同方法產生之粒徑分佈的比較展示於表4中。

表4.

馬爾文PSD	實驗室規模	經修改之試驗規模	
	25 g批次	2.5 kg批次	
	US 7,884,208之實例15	試驗規模批次A	試驗規模批次B
d(0.1) μm	6.1	3.3	4.1
d(0.5) μm	21.2	12.9	13.5
D(0.9) μm	51.8	33.8	33.9
外觀	白色易流動粉末	白色易流動粉末	白色易流動粉末

美國專利第7,884,208號之方法及上述實例1之方法各產生不同產物且並非等效方法。美國專利第7,884,208號之方法的申請者試驗規模版本產生實質上與先前技術不同的條件且產生實質上具有如表4中所

示之較小粒徑的不同產物。

由於拉喹莫德鈉為有效原料藥，故小粒徑對於此API為有利的。形成具有減小粒徑之非聚集拉喹莫德鈉結晶可提供較佳藥品均一性且避免研磨或去結塊操作。起始物質粗物質拉喹莫德鈉以聚集固體形式呈現。再結晶產物為易流動粉末。具有較小粒子之粉末具有較強聚集趨勢。藉由漿液至漿液再結晶(亦即美國專利第6,077,851號之方法)製備之粗物質拉喹莫德鈉產生具有低粒徑之粒子且高度聚集。經修改之方法產生具有低粒徑且易流動的粒子。

目標為在實驗室規模、試驗規模及工業規模上給出較小結晶粒徑、PSD及低聚集作用之可按比例調整的結晶程序。所需PSD概況如下： $d(0.1) < 5 \mu\text{m}$ ， $d(0.5) < 15 \mu\text{m}$ 且 $d(0.9) < 40 \mu\text{m}$ 。該方法基於在丙酮添加前於水相中開始的自發結晶。影響結晶的重要因素為結晶溶液之初始濃度。在新的結晶程序中，在蒸發的最後水體積比自2.14 v/w減小至1.7-1.8 v/w。較高溶液濃度確保在蒸發操作的最後開始自發結晶且提供較高過飽和水準及較低結晶粒徑。

實例2-拉喹莫德鈉之再結晶-實驗室規模(實驗室規模批次A)

在實驗室規模上，在配備有攪拌器、溫度計及用於加熱及冷卻之循環浴的透明攪拌玻璃反應器中進行包括蒸發的拉喹莫德鈉再結晶步驟之全部操作。

將25 g粗物質拉喹莫德鈉及275 ml去離子水引入250 ml攪拌夾套玻璃反應器中。攪拌混合物且加熱至70°C，在固體完全溶解後，經由紙濾器過濾溶液。將所得澄清濾液引入配備有循環浴、攪拌器、溫度計及真空蒸餾系統之250 ml夾套玻璃反應器。

施加真空且在攪拌下蒸餾水，在蒸發期間之壓力為38-40毫巴且夾套溫度為55°C。

在蒸餾約2/3體積後，在液面上方之反應器壁上觀察到自發結

晶。

繼續蒸餾直至殘餘物體積達到45 ml，接著積聚大氣壓且在50℃下攪拌批次一小時。在此步驟發生密集結晶。

在一小時內將200 ml丙酮添加至所得漿液且再在50℃下攪拌批次一小時。

批次在一小時期間冷卻至0-5℃且於Büchner過濾器的上過濾。用75 ml丙酮洗滌固體濾餅。

所收集之濕產物(28.0 g)在烘箱中在真空下在50℃下乾燥至恆定重量。

乾燥產物-23.8 g

結晶產率-95.2%

分析：

顯微觀察-棒狀粒子

馬爾文粒徑分佈：

$D(0.1) = 2.3 \mu\text{m}$

$D(0.5) = 10.8 \mu\text{m}$

$D(0.9) = 32.7 \mu\text{m}$

實例3-拉喹莫德鈉之再結晶-實驗室規模(實驗室規模批次B)

在實驗室規模上，在配備有攪拌器、溫度計及用於加熱及冷卻之循環浴的透明攪拌玻璃反應器中進行包括蒸發的拉喹莫德鈉再結晶步驟之全部操作。

將25 g粗物質拉喹莫德鈉及275 ml去離子水引入250 ml攪拌夾套玻璃反應器中。攪拌混合物且加熱至70℃，在固體完全溶解後，經由紙濾器過濾溶液。將所得澄清濾液引入配備有循環浴、攪拌器、溫度計及真空蒸餾系統之250 ml夾套玻璃反應器。施加真空且在攪拌下蒸餾水，在蒸發期間之壓力為38-40毫巴且夾套溫度為55℃。在蒸餾期

間，當殘餘物體積達到約120 ml時，在反應器壁上觀察到自發結晶。繼續蒸餾直至殘餘物體積達到45 ml，接著積聚大氣壓且在50°C下攪拌批次一小時。在此步驟發生密集結晶。

在一小時內將200 ml丙酮添加至所得漿液且再在50°C下攪拌批次一小時。

批次在一小時期間冷卻至0-5°C，在此溫度下再攪拌一小時且於Büchner過濾器上過濾。用75 ml丙酮洗滌固體濾餅。

所收集之濕產物(27.5 g)在烘箱中在真空下在50°C下乾燥至恆定重量。

乾燥產物-23.65 g

結晶產率-94.6%

分析：

顯微觀察-棒狀粒子

馬爾文粒徑分佈：

$D(0.1) = 2.6 \mu\text{m}$

$D(0.5) = 12.4 \mu\text{m}$

$D(0.9) = 34.3 \mu\text{m}$

表5.實驗室規模拉喹莫德鈉結晶結果

實驗室規模批次號		實驗室規模批次A	實驗室規模批次B
起始物質粗物質拉喹莫德鈉，g		25 g	25 g
乾燥產物，g		23.8 g	23.65 g
結晶產率，%		95.2%	94.6%
PSD	$D(0.1)\mu\text{m}$	2.3	2.6
	$D(0.5)\mu\text{m}$	10.8	12.4
	$D(0.9)\mu\text{m}$	32.7	34.3

實例2及實例3之論述：

實例2及實例3之結果概述於表5中。表5展示該方法可靠地產生拉喹莫德鈉結晶之混合物再結晶拉喹莫德鈉粒子之混合物，其中(i)佔

總體積量90%或90%以上之拉喹莫德鈉粒子具有小於40微米之粒徑，
(ii)佔總體積量50%或50%以上之拉喹莫德鈉粒子具有小於15微米之粒徑，及(iii)佔總體積量10%或10%以上之拉喹莫德鈉粒子具有小於5微米之粒徑。

實例4-拉喹莫德鈉之再結晶-生產規模(生產規模批次C、D及E)

在兩個250公升玻璃襯裡的反應器(反應器I及反應器II)中進行生產規模之拉喹莫德鈉再結晶。在具有20微米目之Hastelloy C-22攪拌過濾-乾燥器中過濾且乾燥固體產物。

批量為6.5-7.5 kg乾燥API。

將粗物質拉喹莫德鈉批次引入具有11體積製程水之反應器I。在攪拌下加熱批次至60-73°C直至固體完全溶解為止。

反應器I中之熱溶液在加熱及攪拌下，在15-20分鐘期間循環穿過0.2 μm 過濾系統。在循環完成後，將濾液經由0.2 μm 過濾器轉移至反應器II。用1.75體積製程水洗滌反應器I及過濾器且將洗滌液轉移至反應器II。

積聚真空且在 $P < 45 \text{ mmHg}$ 及夾套溫度 $T < 65^\circ\text{C}$ 下蒸發反應器II中之溶液，直至殘餘物體積達到14-16公升(約1.7-1.8 v/w水/重量粗物質拉喹莫德鈉起始物質)為止。在此步驟時，在反應器壁上開始自發結晶。接著積聚大氣壓且調整夾套溫度40-50°C。攪拌批次不少於10分鐘。

再在45°C下攪拌批次90分鐘且在1.5-2.5小時內向反應器中添加7.9體積丙酮。反應器溫度在添加期間保持在40與50°C之間。

所得漿液在2-5小時期間冷卻至 $0 \pm 4^\circ\text{C}$ 且在此溫度下攪拌10-15小時。接著將漿液轉移至過濾乾燥器且在氮氣壓力下過濾固體。

用丙酮洗滌濾餅兩次(2×10 公升)，用氮氣淨化且隨後在真空($P < 50 \text{ mmHg}$)及高溫($T = 35 \pm 5^\circ\text{C}$)下在攪拌下乾燥。

排出乾燥產物，取樣用於分析且填料。

3個典型生產GMP批次之數據概述於表6中。表6中提供之PSD值為實例2及實例3提供之實驗室規模實驗結果的良好根據。

表6.生產規模拉喹莫德鈉結晶結果

生產規模批次編號		批次C	批次D	批次E
起始物質粗物質拉喹莫德鈉，kg		8.50	8.55	9.45
乾燥產物，kg		7.40	7.00	6.80
結晶產率，%		87	82	72
產物外觀		白色易流動粉末	白色易流動粉末	白色易流動粉末
容積密度，g/ml		0.308	0.288	0.245
敲緊密度，g/ml		0.609	0.609	0.460
PSD	D(0.1) μ m	4.1	4.1	2.5
	D(0.5) μ m	14.0	14.7	9.5
	D(0.9) μ m	32.0	33.6	21.0

批次C及D亦具有減小的雜質含量(表7)及良好的容積密度及敲緊密度(表6)。

生產規模生產之拉喹莫德鈉的粉末密度分析(22個結晶批次)展示容積密度在0.237與0.364 g/ml之間的範圍內變化。敲緊密度為0.432及0.609 g/ml。

分析批次C及D之結果展示於表7及表8。

表7.分析結果

測試	說明		批次C	批次D
分析 (藉由HPLC)	98.0-102.0%		99.3%	99.9%
相關極性物質 (藉由HPLC)	MCQ	NMT 0.15%	LT 0.02%	LT 0.02%
	MCQCA	NMT 0.15%	LT 0.03%	LT 0.03%
	MCQEE	NMT 0.10%	LT 0.02%	LT 0.02%
	MCQME	NMT 0.12%	LT 0.02%	LT 0.02%
	5-HLAQ	NMT 0.10%	LT 0.02%	LT 0.02%
	任何其他雜質	NMT 0.10%	LT 0.02%	LT 0.02%
	全部雜質	NMT 1.00%	LT 0.05%	LT 0.05%
相關非極性物質 (藉由HPLC)	N-乙基苯胺	NMT 0.10%	LT 0.02%	LT 0.02%
	任何其他雜質	NMT 0.10%	LT 0.02%	LT 0.02%
	全部雜質	NMT 0.50%	LT 0.02%	LT 0.02%
去乙基拉喹莫德 (DELAQ)含量(藉由HPLC)	NMT 0.10%		LT 0.1%	LT 0.1%

LAQ含量(藉由HPLC)	NMT 1.00%		LT 0.2%	LT 0.2%
丙二酸二甲酯含量 (藉由HPLC)	NMT 0.10%		LT 0.05%	LT 0.05%
硫酸二甲酯含量 (藉由LC-MS)	NMT 1 ppm		LT 1 ppm	LT 1 ppm
水(藉由K.F電量滴定)	NMT 1.5% (w/w)		0.3% (w/w)	0.2% (w/w)
重金屬 (藉由IPC-AES)	NMT 20 ppm		LT 20 ppm	LT 20 ppm
鈉含量	5.8-6.4%		6.1%	6.1%
殘留溶劑	乙醇	NMT 5000 ppm	LT 5 ppm	LT 5 ppm
	正庚烷	NMT 5000 ppm	LT 10 ppm	LT 10 ppm
	正辛烷	NMT 2000 ppm	LT 10 ppm	LT 10 ppm
	甲醇	NMT 3000 ppm	LT 30 ppm	LT 30 ppm
	丙酮	NMT 5000 ppm	LT 250 ppm	LT 250 ppm
	二噁烷	NMT 380 ppm	LT 10 ppm	LT 10 ppm
	DMF	NMT 880 ppm	LT 40 ppm	LT 40 ppm
微生物測試	總好氧菌數	NMT 1000 CFU/g	LT 10 CFU/g	LT 10 CFU/g
	真菌/酵母及 黴菌	NMT 100 CFU/g	LT 10 CFU/g	LT 10 CFU/g
	大腸桿菌	不存在大腸桿菌	不存在	不存在

表8.拉喹莫德鈉以PPM計之金屬雜質

雜質	美國專利7,884,208 之實例1(批次D)	美國專利7,884,208 之實例17	實例4新批次 C	實例4新批次 D
Al	14.0	5.6	1.63	1.13
Ca	165	65	6.3	22
Cr	2.6	<0.5	0.55	<0.26
Cu	2.8	1.3	0.325	<0.26
Fe	31.5	5.8	3.44	3.55
Ni	5.5	<0.5	0.79	0.61
S	466	<1	6.7	3.9
Zn	20.5	7.5	<1	3.15

表9.拉喹莫德鈉自MCQME純化

	起始物質，粗物質	再結晶產物
批次號	粗物質	C
外觀	聚集白色固體	易流動白色粉末
藉由HPLC之MCQME，%	0.10	N.D.*

*N.D. - 未偵測到(<0.02%)

典型批次之粗物質及再結晶之拉喹莫德鈉在不同放大倍率下的顯微照片呈現於圖1-4上。

實例4之論述：

經修改之結晶程序證明生產規模上粒徑分佈之良好再現性。蒸

發殘餘物體積減少至1.7-1.8 v/w之比率且開始自發結晶提供所需結晶粒徑。經改良之結晶程序證明在生產規模上結晶粒徑減小至 $d(0.9) < 40 \mu\text{m}$ 之水準及粒徑分佈之良好再現性。

具有減小結晶粒徑之產物不具有聚集的趨勢且不需要研磨或去結塊以便均質化。藉由漿液至漿液程序製備具有類似PSD之產物聚集且因此在調配上成問題。

經修改之結晶程序亦產生具有所需密度及純度分佈之拉喹莫德鈉。

經改良之結晶程序亦提供有機雜質(例如MCQME)之有效純化。

表9中展示之數據證明MCQME雜質藉由工業規模批次之拉喹莫德鈉之再結晶完全移除。由於此中間物具有遺傳毒性的可能性，故其應純化至不可偵測的含量。結晶方法亦提供所有其他已知有機雜質純化至低於偵測極限之含量。

典型批次之粗物質及再結晶之拉喹莫德鈉在不同放大倍率下的顯微照片呈現於圖5-8且顯示兩種產物之棒狀形態。同時，圖5及6上呈現之粗物質遠比圖7及8之再結晶「結晶」產物更加聚集。

實例5-拉喹莫德鈉之醫藥組合物之拉喹莫德膠囊

根據如PCT國際申請公開案第WO 2007/146248號之實例2中所述之方法製造拉喹莫德膠囊，該案之全部內容以引用的方式併入本文中。進行WO 2007/146248之實例2的步驟。各膠囊含有等同0.6 mg拉喹莫德之0.64 mg拉喹莫德鈉。

基於HPLC，相對於拉喹莫德之量，膠囊中之雜質數量低於以下限制。

膠囊具有不超過1.5%之水含量。

囊封醫藥組合物之溶解概況、含量均一性及殘留溶劑符合美國藥典<711> (溶解)、美國藥典<905> (均一性)及美國藥典<467>。

各膠囊含有90.0-110.0%之標示量。

膠囊含有總好氧微生物數(TAMC) NMT 10^3 cfu/g，總合併酵母/黴菌數(TYMC) NMT 10^2 cfu/g，及在1 g中不存在大腸桿菌。

實例5之論述：

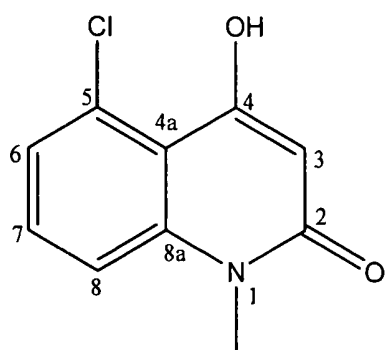
實例5證明在工業規模生產中，可製備具有不可偵測之含量或低含量之極性雜質及非極性雜質的拉喹莫德之醫藥組合物。

實例6-拉喹莫德鈉參考標準物之製備

拉喹莫德鈉主要參考標準物批次係藉由拉喹莫德鈉批次結晶，隨後自水/丙酮混合物(1:4.5 w/w)結晶純化來製備。結晶係藉由將原料藥批次溶解於水中同時加熱來進行。過濾澄清溶液且在減壓下濃縮至已知殘餘物體積。添加丙酮且冷卻溶液。過濾所獲得之結晶，洗滌且乾燥。發現此批次之層析純度為100.0%。極性及非極性雜質之總量為LT 0.05%，DELAQ之含量為LT 0.1%，且拉喹莫德酸含量為LT 0.2%。

實例7-MCQ之製備

MCQ為白色固體。MCQ之分子結構、化學式及分子量提供如下。



5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1H)-酮

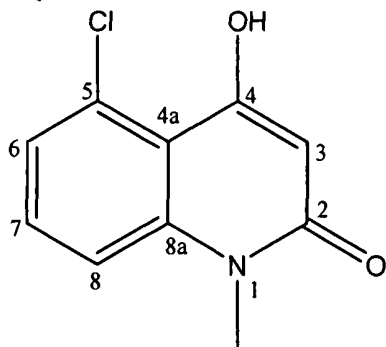
化學式： $C_{10}H_8ClNO_2$

分子量：209.629

MCQ以如下方式製備：

MCQCA及DMSO在75℃下加熱2小時且接著冷卻至室溫。添加水且藉由過濾收集沈澱，用水洗滌且在真空烘箱中在50℃下乾燥獲得純度足以適於用作參考標準物之物質。

MCQ之結構呈現如下。



5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮

化學式：C₁₀H₈ClNO₂

分子量：209.629

MCQ以NMR、MS、元素分析及FT-IR表徵，如下文所詳述。

核磁共振(NMR)光譜術

在Bruker 300MHz儀器上於DMSO中進行MCQ之¹H-NMR及¹³C-NMR表徵。峰分配概述於表10中。¹H-NMR及¹³C-NMR譜分別呈現於圖9及圖10。

表10. MCQ之¹³C及¹H-NMR峰分配

	¹³ C (ppm)	¹ H (ppm)	多重性(Hz) *
N-CH ₃	29.30	3H 3.55	brs
C # 2	161.53	--	--
C # 3	99.57	1H 5.94	brs
C # 4	161.53	--	--
C # 4a	ca. 113.2	--	--
C # 5	ca. 130.5	--	--
C # 6	124.78	1H 7.47	d (8.0)
C # 7	130.93	1H 7.53	t (8.0)
C # 8	114.22	1H 7.29	d (8.0)
C # 8a	142.41	--	--

* brs = 寬單峰，d = 雙峰，t = 三重峰

質譜分析(MS)

在Q-TOF Micro-TM-MICROMASS (TOF)質譜儀上，使用電噴霧電離以陽離子模式(ES^+)獲得MCQ之質譜。含有 ^{35}Cl 及 ^{37}Cl 之MS信號之間的比率相當於此等同位素之天然豐度(約3:1)。圖11中所示之光譜與MCQ之分子量相符合。MCQ之 ES^+ 質譜中主要信號的歸屬呈現於表11中。

表11. MCQ之 ES^+ 質譜之主峰的歸屬

m/z	歸屬
210	$[M(^{35}Cl)+H]^+$
212	$[M(^{37}Cl)+H]^+$
232	$[M(^{35}Cl)+Na]^+$
234	$[M(^{37}Cl)+Na]^+$

元素分析

在Perkin-Elmer 2400 Series II C H N分析儀上進行元素分析之測試。MCQ之結果呈現於表12。C、H及N重量百分比為精確的且可重現於 $\pm 0.3\%$ 內。鹵素之精度為 $\pm 0.5\%$ 。

表12. MCQ之元素分析結果

元素	%C	%H	%N	%Cl
理論	57.30	3.85	6.68	16.91
實驗	57.31	3.64	6.54	17.41

紅外光譜法

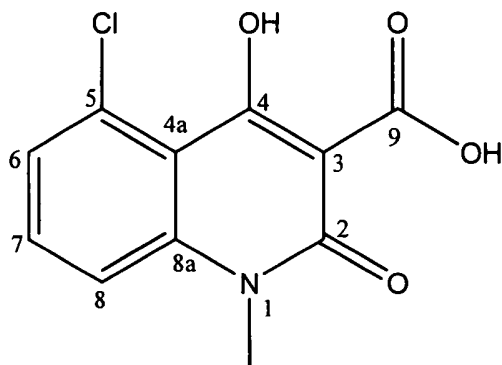
使用Nicolet 6700 「Thermo Scientific」 FT-IR裝置量測MCQ之FT-IR光譜。代表性光譜呈現於圖12。譜帶分配之概述提供於表13。

表13. MCQ於KBr中之IR譜帶分配之概述

轉變能(cm^{-1})	譜帶分配
702-1280	芳族C-H變形振動
1093及1135	芳族C-Cl伸縮
1164-1280	芳族C-OH伸縮
1164 -1413	C-N伸縮
1554 - 1613	芳族C-C伸縮
1449-1613	芳族C=C伸縮
1637	C=O伸縮
2890	N-CH ₃ 伸縮
3450	OH伸縮

實例8-MCQCA之製備

MCQCA為白色固體。MCQCA之分子結構、化學式及分子量提供如下。



5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸

化學式： $C_{11}H_8ClNO_4$

分子量：253.639

MCQCA以如下方式製備：

使用回流冷凝器在65°C下加熱MCQEE於HCl於乙酸中之2.8 M溶液中之混合物6小時。將混合物冷卻至室溫，用2-丙醇稀釋且進一步冷卻至8°C。濾出結晶，用2-丙醇洗滌且在真空烘箱中在50°C下乾燥。

獲得純度足以適於用作參考標準物之物質。

MCQCA以NMR、MS、元素分析及FT-IR表徵，如下所詳述。

核磁共振(NMR)光譜術

在Bruker 300 MHz儀器上於D₂O+KOH中進行MCQCA之¹H-NMR及¹³C-NMR表徵。峰分配概述於表14中。¹H-NMR及¹³C-NMR譜分別呈現於圖13及圖14。

表14. MCQCA之¹³C及¹H-NMR峰分配

	¹³ C (ppm)	¹ H (ppm)	多重性(Hz) *
N-CH ₃	29.78	3H 3.43	s
C # 2	162.31	--	--
C # 3	113.46	--	--

C # 4	176.93	--	--
C # 4a	119.28	--	--
C # 5	131.56	--	--
C # 6	124.88	1H 7.05	d (8.0)
C # 7	129.38	1H 7.21	t (8.0)
C # 8	114.03	1H 7.14	d (8.0)
C # 8a	141.32	--	--
C # 9	169.62	--	--

*d = 雙峰，t = 三重峰，s = 單峰

質譜分析(MS)

在Q-TOF Micro-TM-MICROMASS (TOF)質譜儀上，使用電噴霧電離以陽離子模式(ES^+)獲得MCQCA之質譜。含有 ^{35}Cl 及 ^{37}Cl 之MS信號之間的比率相當於此等同位素之天然豐度(約3:1)。圖15中所示之光譜與MCQCA之分子量相符合。MCQCA之 ES^+ 質譜中主要信號之歸屬呈現於表15。

表15. MCQCA之 ES^+ 質譜之主峰的歸屬

m/z	歸屬
236	$[M(^{35}Cl)+H-H_2O]^+$
238	$[M(^{37}Cl)+H-H_2O]^+$
254	$[M(^{35}Cl)+H]^+$
256	$[M(^{37}Cl)+H]^+$
276	$[M(^{35}Cl)+Na]^+$
278	$[M(^{37}Cl)+Na]^+$

元素分析

在Perkin-Elmer 2400 Series II C H N分析儀上進行元素分析之測試。C、H及N重量百分比為精確的且可重現於 $\pm 0.3\%$ 內。鹵素之精度為 $\pm 0.5\%$ 。

MCQCA GA-17160之結果呈現於表16。

表16. MCQCA之元素分析結果

元素	%C	%H	%N	%Cl
理論	52.09	3.18	5.52	13.98
實驗	52.11	3.16	5.56	13.68

紅外光譜法

使用Nicolet 6700 「Thermo Scientific」 FT-IR裝置量測MCQCA

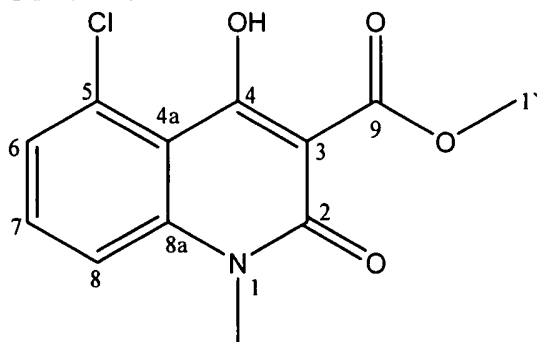
之衰減全反射(ATR) FT-IR光譜。代表性光譜呈現於圖16。譜帶分配之概述提供於表17。

表17. MCQCA之IR譜帶分配的概述

轉變能(cm^{-1})	譜帶分配
706-1206	芳族C-H變形振動
1008-1102	芳族C-Cl伸縮
1148-1284	芳族C-OH伸縮
1008-1434	C-N伸縮
1571-1678	芳族C-C伸縮
1571-1678	芳族C=C伸縮
1678	C=O伸縮
2520	COO-H伸縮
3090	芳族C-H伸縮

實例9-MCQME之製備

MCQME為白色至淺黃色固體。MCQME之分子結構、化學式及分子量提供如下。

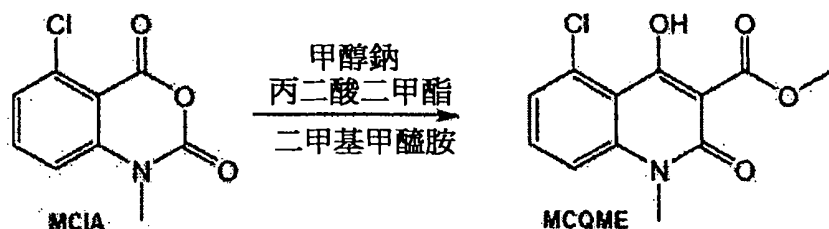


5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯

化學式： $\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{ClNO}_4$

分子量：267.665

MCQME之製備以藉由丙二酸二甲酯於DMF中與甲醇鈉溶液反應形成二甲基丙二酸鈉起始。接著，中間物MCIA與二甲基丙二酸鈉反應形成MCQME鈉鹽。最後，將MCQME鈉鹽酸化成MCQME，用水洗滌且乾燥。以下為MCQME製備之詳細描述。



將DMF (66.5 kg [70.4公升])、丙二酸二甲酯(9.6 kg [72.7 mol, 8.3公升])及甲醇鈉之30%甲醇溶液(11.5 kg [63.9 mol])饋入反應器。攪拌反應混合物且加熱至82°C至88°C並保持在此溫度下1½至2½小時以便形成二甲基丙二酸鈉。接著，冷卻混合物至30-40°C。施加真空且逐漸加熱反應器夾套溫度以便蒸發出甲醇。在甲醇蒸發後(不少於12 kg [14.5公升]餾出物)，用氮氣破壞真空且加熱反應混合物至82°C至88°C。接著逐漸添加MCIA (8.5 kg [40.1 mol])至反應混合物且用DMF (10 kg [10.6公升])洗滌。將反應器內容物冷卻至小於75°C，施加真空，逐漸升高反應器夾套溫度且蒸發甲醇(12 kg [15公升]餾出物)。用氮氣破壞真空且冷卻反應混合物至12°C至35°C。逐漸添加製程水(119 Kg)，保持反應混合物溫度在12°C至35°C下，接著加熱反應混合物至42-48°C。在2至3小時期間添加32% HCl水溶液(11.1 kg [97.3 mol])且用DMF洗去進料管道中之殘留鹽酸溶液。將所形成之漿液冷卻至20°C至30°C且維持在該溫度下不少於30分鐘。

將漿液逐漸轉移至過濾乾燥器。藉由按壓漿液移除母液。添加製程水(每一循環29.8 kg)至過濾乾燥器且壓出。用水洗滌過濾乾燥器內容物，直至流出洗滌液之pH為NLT 4為止。在真空下在40°C至50°C(過濾乾燥器之夾套溫度)下乾燥產物。

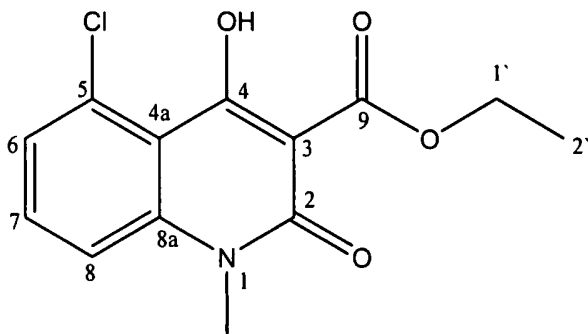
進行真空乾燥，直至過濾乾燥器之樣品的LOD小於2.0%且含水量(藉由卡爾-費休法(Karl-Fischer))不超過0.5%為止。接著，冷卻夾套至20℃至30℃且排出乾燥MCQME。

產率為62%至87%。

將乾燥MCQME去結塊，分析且釋放。

實例10-MCQEE之製備

MCQEE為淡黃色固體。MCQEE之分子結構、化學式及分子量提供如下。



5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯

化學式： $C_{13}H_{12}ClNO_4$

分子量：281.692

MCQEE以如下方式製備：

將氫化鈉添加至MCIA及丙二酸二乙酯於DMF中之溶液中。將混合物逐漸加熱至95°C且攪拌3.5小時，接著冷卻至35°C。用水淬滅反應混合物且隨後用37% HCl酸化。在8°C下1小時後，過濾混合物且用水洗滌(直至母液之pH為4.5為止)，且在真空烘箱中在40°C下乾燥。粗產物藉由在85°C下溶解於乙醇中隨後緩慢冷卻(在冰水浴中)而結晶。過濾所獲得之結晶，用乙醇洗滌且在真空烘箱中在50°C下乾燥。

獲得純度足以適於用作參考標準物之物質。

MCQEE以NMR、MS、元素分析及FT-IR表徵，如下所詳述。

核磁共振(NMR)光譜術

在Bruker 300 MHz儀器上於 $CDCl_3$ 中進行MCQEE之 ^1H -NMR及 ^{13}C -NMR表徵。峰分配概述於表18中。 ^1H -NMR及 ^{13}C -NMR譜分別呈現於圖17及圖18。

表18. MCQEE之 ^{13}C 及 ^1H -NMR峰分配

	^{13}C (ppm)	^1H (ppm)	多重性(Hz) *
N-CH ₃	30.08	3H 3.63	s
C # 2	158.76	--	--
C # 3	98.18	--	--
C # 4	172.99	--	--
C # 4a	112.48	--	--
C # 5	134.50	--	--
C # 6	125.96	1H 7.23	d (8.0)
C # 7	133.28	1H 7.48	t (8.0)
C # 8	113.29	1H 7.24	d (8.0)
C # 8a	143.53	--	--
C # 9	172.67	--	--
C # 1'	62.56	2H 4.51	q (7.0)
C # 2'	14.20	3H 1.48	t (7.0)

* d = 雙峰，t = 三重峰，s = 單峰，q = 四重峰

● 質譜分析(MS)

在Q-TOF Micro-TM-MICROMASS (TOF)質譜儀上，使用電噴霧電離以陽離子模式(ES^+)獲得MCQEE之質譜。含有 ^{35}Cl 及 ^{37}Cl 之MS信號之間的比率相當於此等同位素之天然豐度(約3:1)。圖19中所示之光譜與MCQEE之分子量相符合。MCQEE之 ES^+ 質譜中主要信號的歸屬呈現於表19中。

表19. MCQEE之 ES^+ 質譜之主峰的歸屬

m/z	歸屬
236	$[\text{M}(^{35}\text{Cl})+\text{H}-(\text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{OH})]^+$
238	$[\text{M}(^{37}\text{Cl})+\text{H}-(\text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{OH})]^+$
282	$[\text{M}(^{35}\text{Cl})+\text{H}]^+$
284	$[\text{M}(^{37}\text{Cl})+\text{H}]^+$
304	$[\text{M}(^{35}\text{Cl})+\text{Na}]^+$
306	$[\text{M}(^{37}\text{Cl})+\text{Na}]^+$

● 元素分析

在Perkin-Elmer 2400 Series II C H N分析儀上進行元素分析之測試。C、H及N重量百分比為精確的且可重現於 $\pm 0.3\%$ 內。鹵素之精度為 $\pm 0.5\%$ 。MCQEE之結果呈現於表20。

表20. MCQEE之元素分析結果

元素	%C	%H	%N	%Cl
理論	55.43	4.29	4.97	12.59
實驗	55.44	4.25	4.87	12.57

紅外光譜法

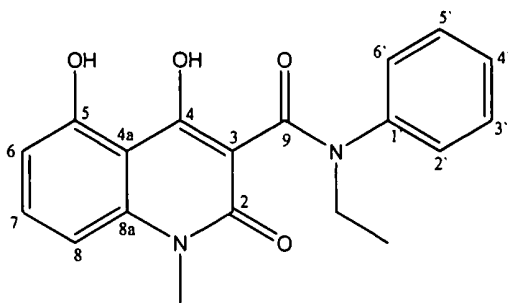
使用 Nicolet 6700 「Thermo Scientific」 FT-IR 裝置量測 MCQEE 之衰減全反射 (ATR) FT-IR 光譜。代表性光譜呈現於圖 20。譜帶分配之概述提供於表 21。

表 21. MCQEE 之 IR 譜帶分配之概述

轉變能(cm^{-1})	譜帶分配
676-1213	芳族 C-H 變形振動
1019-1092	C-Cl 伸縮
1145-1438	C-N 伸縮
1145-1270	芳族 C-OH 伸縮
1438-1603	芳族 C-C 伸縮，芳族 C=C 伸縮
1656	C=O 伸縮

實例 11 - 5-HLAQ 之製備

5-HLAQ 為灰白色固體。5-HLAQ 之分子結構、化學式及分子量提供如下。



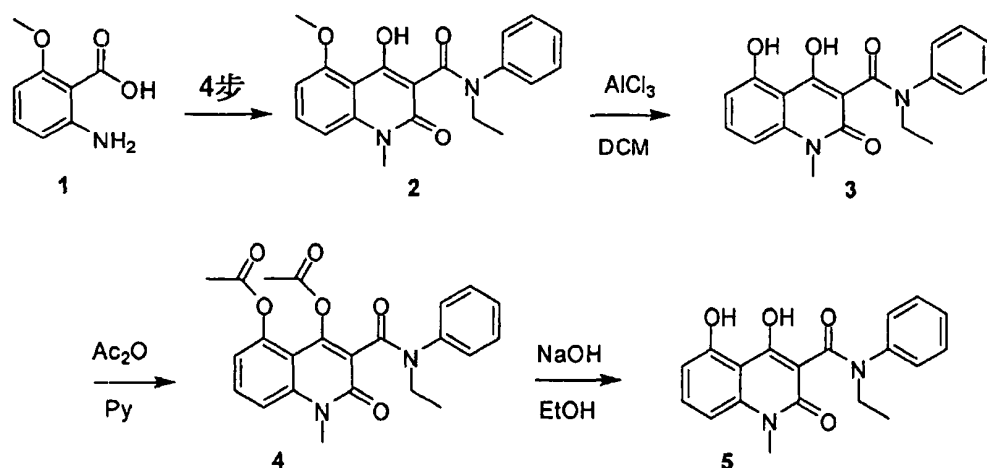
N-乙基-4,5-二羥基-1-甲基-2-側氧基-*N*-苯基-1,2-二氫喹啉-3-甲醯胺

化學式： $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_4$

分子量：338.357

5-HLAQ 在大部分有機溶劑以及水性酸性介質中不穩定。因此，藉由常用方法純化極其困難。因此，該物質之純化係藉由形成二乙酸酯衍生物，隨後鹼性水解、酸性沈澱及快速過濾來進行。

5-HLAQ 係藉由描繪如下之多步驟程序來製備。



合成涉及：1)由2-氨基-6-甲氧基苯甲酸(化合物1)製備5-MeO-拉喹莫德(化合物2)；2)製備5-HLAQ粗物質(化合物3)；3)苯酚基乙醯化產生二乙酸酯-拉喹莫德衍生物(化合物4)；4)水解二乙酸酯衍生物產生經純化之5-HLAQ(化合物5)。

製備5-HLAQ之程序進一步逐步描述於以下段落中：

5-MeO-拉喹莫德(化合物2)

5-MeO-拉喹莫德係藉由以2-氨基-6-甲氧基苯甲酸(化合物1)作為起始物質的四步驟合成程序來獲得。此四個步驟與由ACBA作為起始物質之拉喹莫德的製造方法相同。

5-HLAQ粗物質(化合物3)

將5-MeO-拉喹莫德溶解於二氯甲烷中且將溶液冷卻至0-5°C。添加 AlCl_3 且在0-5°C下攪拌反應混合物0.5小時，隨後在環境溫度下攪拌7小時。溶液在30°C下(在水浴中)蒸發至乾且添加水。過濾所獲得之灰色固體，用1N HCl 洗滌且在30°C下在真空烘箱中乾燥。

二乙酸酯-拉喹莫德(化合物4)

將乙酸酐添加至5-HLAQ粗物質於吡啶中之溶液且在室溫下攪拌反應混合物1小時。將吡啶蒸發至乾且將油狀殘餘物溶解於二氯甲烷中。用1N HCl 繼之以水性洗滌液洗滌有機溶液。粗物質2藉由於矽膠上急驟層析(移動相：含1%甲醇之二氯甲烷)純化。

5-HLAQ (化合物5)

將1 N NaOH溶液添加至4於乙醇中之懸浮液。攪拌反應混合物40分鐘且蒸發乙醇。殘餘物用5 N HCl酸化降至pH 1-2且過濾白色固體，用水洗滌且乾燥。藉由HPLC獲得呈白色固體狀、純度>99%之5-HLAQ。

獲得純度足以適於用作參考標準物之物質。5-HLAQ以NMR、MS、元素分析及FT-IR表徵，如下所詳述。

核磁共振(NMR)光譜術

在Bruker 300 MHz儀器上於DMSO中進行5-HLAQ之 ^1H -NMR及 ^{13}C -NMR表徵。峰分配概述於表22中。 ^1H -NMR及 ^{13}C -NMR譜分別呈現於圖21及圖22。

表22. 5-HLAQ之 ^{13}C 及 ^1H -NMR峰分配

	^{13}C (ppm)	^1H (ppm)	多重性(Hz) *
N-CH ₃	29.09	3H 3.39	brs
C # 2	157.95	--	--
C # 3	102.85	--	--
C # 4	159.65	--	--
C # 4a	--	--	--
C # 5	155.20	--	--
C # 6	107.79	1H 6.84	d (8.0)
C # 7	131.91	1H 7.36	t (8.0)
C # 8	106.35	1H 6.61	d (8.0)
C # 8a	140.47	--	--
C # 9	158.79	--	--
N-CH ₂ -CH ₃	42.81	2H 3.76	dq (7)
N-CH ₂ -CH ₃	12.91	3H 1.08	t (7)
C # 1'	141.59	--	--
C # 2'/6'	126.84	1H 7.3	m
C # 3'/5'	128.46	1H 7.3	m
C # 4'	127.31	1H 7.18	m

* brs = 寬單峰，d = 雙峰，t = 三重峰，s = 單峰，m = 多重峰，dq = 雙四重峰

質譜分析(MS)

在Q-TOF Micro-TM-MICROMASS (TOF)質譜儀上，使用電噴霧

電離以陽離子模式(ES^+)獲得5-HLAQ之質譜。

圖23中所示之光譜與5-HLAQ之分子量相符合。5-HLAQ之 ES^+ 質譜中主要信號之歸屬呈現於下表23中。

表23. 5-HLAQ之 ES^+ 質譜之主峰的歸屬

m/z	歸屬
339	$[M+H]^+$
361	$[M+Na]^+$

元素分析

在Perkin-Elmer 2400 Series II C H N分析儀上進行元素分析之測試。C、H及N重量百分比為精確的且可重現於 $\pm 0.3\%$ 內。鹵素之精度為 $\pm 0.5\%$ 。5-HLAQ之結果呈現於表24。

表24. 5-HLAQ之元素分析結果

元素	%C	%H	%N
理論	67.44	5.36	8.28
實驗	67.05	5.06	8.07

紅外光譜法

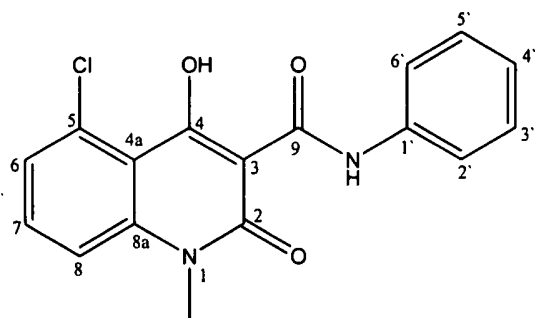
使用Nicolet 6700 「Thermo Scientific」 FT-IR裝置量測5-HLAQ之衰減全反射(ATR) FT-IR光譜。代表性光譜呈現於圖24。譜帶分配之概述提供於表25。

表25 5-HLAQ之IR譜帶分配之概述

轉變能(cm^{-1})	譜帶分配
686-1257	芳族C-H變形振動
1019-1416	C-N伸縮
1157-1249	芳族C-OH伸縮
1586-1631	芳族C-C伸縮，芳族C=C伸縮
1659	C=O伸縮

實例12-DELAQ之製備

DELAQ為灰白色至淺黃色固體。DELAQ之分子結構、化學式及分子量提供如下。



5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-*N*-苯基-1,2-二氫喹啉-3-甲醯胺

化學式：C₁₇H₁₃ClN₂O₃

分子量：328.750

DELAQ以如下方式製備：

MCQME、正庚烷、正辛烷及苯胺之混合物在夾套反應器中加熱至 $T_j = 135^\circ\text{C}$ ，且蒸餾揮發物3小時。停止蒸餾且再添加部分正庚烷及苯胺至混合物。在 $T_j = 135^\circ\text{C}$ 下再繼續蒸餾2小時。冷卻反應混合物至室溫且添加正庚烷。藉由過濾收集所形成之結晶固體且用正庚烷洗滌。在真空烘箱中在 50°C 下乾燥濕潤物質。

獲得純度足以適於用作參考標準物之物質。

DELAQ以NMR、MS、元素分析及FT-IR表徵，如下所詳述。

核磁共振(NMR)光譜術

在Bruker 300 MHz儀器上於CDCl₃中進行DELAQ之¹H-NMR及¹³C-NMR表徵。峰分配概述於表26中。¹H-NMR及¹³C-NMR譜分別呈現於圖25及圖26。

表26. DELAQ之¹³C及¹H-NMR峰分配

	¹³ C (ppm)	¹ H (ppm)	多重性(Hz) *
N-CH ₃	30.23	3H 3.68	s
NH	--	12.57	brs
C # 2	162.09	--	--
C # 3	96.84	--	--
C # 4	173.81	--	--
C # 4a	113.50	--	--
C # 5	134.51	--	--
C # 6	126.61	1H 7.27	m
C # 7	132.89	1H 7.47	m

C # 8	113.81	1H 7.27	m
C # 8a	142.08	--	--
C # 9	169.61	--	--
C # 1'	137.01	--	--
C # 2'/6'	121.29	1H 7.65	m
C # 3'/5'	129.02	1H 7.36	m
C # 4'	124.95	1H 7.17	m

*brs = 寬單峰，s = 單峰，m = 多重峰

質譜分析(MS)

在Q-TOF Micro-TM-MICROMASS (TOF)質譜儀上，使用電噴霧電離以陽離子模式(ES^+)獲得DELAQ之質譜。含有 ^{35}Cl 及 ^{37}Cl 之MS信號之間的比率相當於此等同位素之天然豐度(約3:1)。圖27中所示之光譜與DELAQ之分子量相符合。DELAQ之 ES^+ 質譜中主要信號之歸屬呈現於表27。

表27. DELAQ之 ES^+ 質譜之主峰的歸屬

m/z	歸屬
236	$[M(^{35}Cl)+H-(CH_3)-(Ph)]^+$
238	$[M(^{37}Cl)+H-(CH_3)-(Ph)]^+$
329	$[M(^{35}Cl)+H]^+$
331	$[M(^{37}Cl)+H]^+$

元素分析

在Perkin-Elmer 2400 Series II C H N分析儀上進行元素分析之測試。C、H及N重量百分比為精確的且可重現於 $\pm 0.3\%$ 內。鹵素之精度為 $\pm 0.5\%$ 。DELAQ之結果呈現於表28。

表28. DELAQ之元素分析結果

元素	%C	%H	%N	%Cl
理論	62.11	3.99	8.52	10.78
實驗	61.90	3.83	8.38	10.96

紅外光譜法

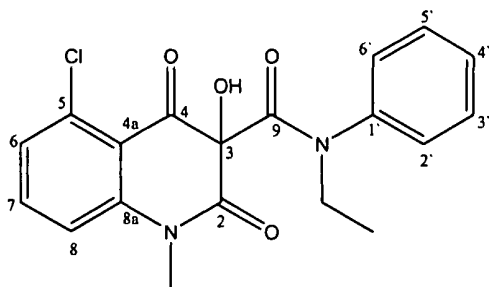
使用Nicolet 6700 「Thermo Scientific」 FT-IR裝置量測DELAQ之FT-IR光譜。代表性光譜呈現於圖28。譜帶分配之概述提供於表29。

表29. DELAQ於KBr中之IR譜帶分配之概述

轉變能(cm^{-1})	譜帶分配
686-1203	芳族C-H變形振動
735-833	N-H變形振動
1077-1089	C-Cl伸縮
1203-1449	C-N伸縮
1203	芳族C-OH伸縮
1489-1620	芳族C-C伸縮，芳族C=C伸縮
1659	C=O伸縮
2951	COO-H伸縮

實例13- 3-HLAQ之製備

3-HLAQ為黃色固體。3-HLAQ之分子結構、化學式及分子量提供如下。



5-氯-N-乙基-3-羥基-1-甲基-2,4-二側氧基-N-苯基-1,2,3,4-四氫喹啉-3-甲醯胺

化學式： $\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{ClN}_2\text{O}_4$

分子量：372.802

3-HLAQ以如下方式製備：

將拉喹莫德鈉於水中之溶液逐滴添加至磷酸氫二鈉二水合物及過硫酸氫鉀($2\text{KHSO}_5 \cdot \text{KHSO}_4 \cdot \text{K}_2\text{SO}_4$)於水中之溶液。添加10% NaOH直至pH為8.0。在室溫下混合溶液30分鐘。過濾所獲得之固體，用水洗滌且在真空烘箱中在 50°C 下乾燥。粗產物自乙酸乙酯及正庚烷混合物再結晶兩次。每次藉由冷卻混合物至 10°C 且攪拌1小時來分離產物。濾出所獲得之結晶，用正庚烷洗滌且在真空烘箱中在 50°C 下乾燥。

獲得純度足以適於用作參考標準物之物質。

3-HLAQ以NMR、MS、元素分析及FT-IR表徵，如下所詳述。

核磁共振(NMR)光譜術

在 Bruker 300 MHz 儀器上於 CDCl_3 中進行 3-HLAQ 之 ^1H -NMR 及 ^{13}C -NMR 表徵。峰分配概述於表 30 中。 ^1H -NMR 及 ^{13}C -NMR 譜分別呈現於圖 29 及圖 30。

表 30. 3-HLAQ 之 ^1H 及 ^{13}C -NMR 峰分配

	^{13}C (ppm)	^1H (ppm)	多重性(Hz) *
N-CH ₃	30.56	3H 3.21	s
C # 2	165.45	--	--
C # 3	77.92	--	--
C # 4	188.90	--	--
C # 4a	136.16	--	--
C # 5	ca. 131.6	--	--
C # 6	126.75	1H 7.14	d (8.0)
C # 7	134.90	1H 7.35	t (8.0)
C # 8	113.78	1H 6.84	d (8.0)
C # 8a	144.51	--	--
C # 9	167.87	--	--
N-CH ₂ -CH ₃	46.96	2H 3.79	q (6.0)
N-CH ₂ -CH ₃	12.55	3H 1.16	bt (6.0)
C # 1'	137.19	--	--
C # 2'/6'	131.62	1H 7.07-7.15	m
C # 3'/5'	128.91	1H 7.07-7.15	m
C # 4'	129.11	1H 7.07-7.15	m

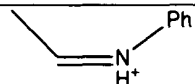
*d = 雙峰，t = 三重峰，s = 單峰，m = 多重峰，q = 四重峰，

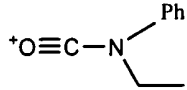
bt = 寬三重峰

質譜分析(MS)

在 Q-TOF Micro-TM-MICROMASS (TOF) 質譜儀上，使用電噴霧電離以陽離子模式(ES^+)獲得 3-HLAQ 之質譜。含有 ^{35}Cl 及 ^{37}Cl 之 MS 信號之間的比率相當於此等同位素之天然豐度(約 3:1)。圖 31 中所示之光譜與 3-HLAQ 之分子量相符合。3-HLAQ 之 ES^+ 質譜中主要信號之歸屬呈現於下表 31 中。

表 31. 3-HLAQ 之 ES^+ 質譜之主峰的歸屬

m/z	歸屬
120	

148	
373	$[M(^{35}\text{Cl})+H]^+$
375	$[M(^{37}\text{Cl})+H]^+$
395	$[M(^{35}\text{Cl})+Na]^+$
397	$[M(^{37}\text{Cl})+Na]^+$

元素分析

在Perkin-Elmer 2400 Series II C H N分析儀上進行元素分析之測試。C、H及N重量百分比為精確的且可重現於 $\pm 0.3\%$ 內。鹵素之精度為 $\pm 0.5\%$ 。3-HLAQ之結果呈現於表32。

表32. 3-HLAQ之元素分析結果

元素	%C	%H	%N	%Cl
理論	61.21	4.60	7.51	9.51
實驗	61.09	4.68	7.38	9.30

紅外光譜法

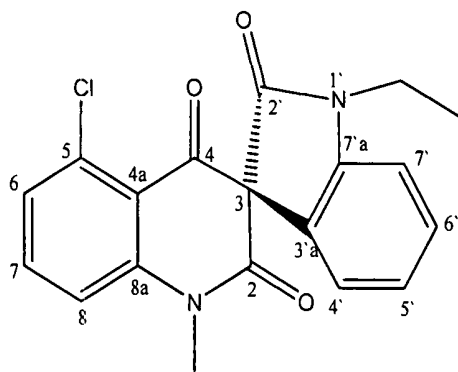
使用Nicolet 6700 「Thermo Scientific」 FT-IR裝置量測3-HLAQ之衰減全反射(ATR) FT-IR光譜。代表性光譜呈現於圖32。譜帶分配之概述提供於表33。

表33. 3-HLAQ之IR譜帶分配之概述

轉變能(cm^{-1})	譜帶分配
794-1244	芳族C-H變形振動
1035-1116	C-Cl伸縮
1061-1417	C-N伸縮
1458-1480	CH_2 變形振動
1583	芳族C-C伸縮，芳族C=C伸縮
1663-1693	C=O伸縮
2979	N- CH_2 中之C-H伸縮

實例14-SPIRO-LAQ之製備

SPIRO-LAQ為白色粉末。SPIRO-LAQ之分子結構、化學式及分子量提供如下。



1H,3H-螺[5-氯-1-甲基喹啉-2,4-二酮-3,3'-[1]-乙基吲哚啉-[2]-酮]

化學式： $C_{19}H_{15}ClN_2O_3$

分子量：354.787

SPIRO-LAQ以如下方式製備：

混合拉喹莫德(游離酸)、硝酸鉍銻(IV)、乙醇及乙酸於水中之混合物1小時。接著，用水繼之以乙醇洗滌且過濾沈澱，且在真空烘箱中在50℃下乾燥。

獲得純度足以適於用作參考標準物之物質。

SPIRO-LAQ以NMR、MS、元素分析及FT-IR表徵，如下所詳述。

核磁共振(NMR)光譜術

在Bruker 300 MHz儀器上於DMSO中進行SPIRO-LAQ之 ^1H -NMR及 ^{13}C -NMR表徵。峰分配概述於表34中。 ^1H -NMR及 ^{13}C -NMR譜分別呈現於圖33及圖34。

表34. SPIRO-LAQ之 ^{13}C 及 ^1H -NMR峰分配

	^{13}C (ppm)	^1H (ppm)	多重性(Hz) *
N-CH ₃	30.95	3H 3.44	brs
C # 2	164.10	--	--
C # 3	71.76	--	--
C # 4	185.60	--	--
C # 4a	124.66	--	--
C # 5	133.49	--	--
C # 6	126.13	1H 7.54	d (8.0)
C # 7	136.03	1H 7.74	t (8.0)
C # 8	115.77	1H 7.20	d (8.0)
C # 8a	145.62	--	--

N-CH ₂ -CH ₃	34.90	2H 3.75	q (8.0)
N-CH ₂ -CH ₃	12.40	3H 1.16	t (8.0)
C # 2'	167.40	--	--
C # 3'a	117.83	--	--
C # 4'	124.87	1H 7.20	d (8.0)
C # 5'	122.84	1H 7.38	ddd (8.0,6.5,2.5)
C # 6'	129.84	1H 7.0-7.1	m
C # 7'	109.64	1H 7.0-7.1	m
C # 7'a	143.17	--	--

* brs = 寬單峰，d = 雙峰，t = 三重峰，s = 單峰，m = 多重複，dd = 雙雙峰，ddd = 雙重雙雙峰，q = 四重峰

質譜分析(MS)

在Q-TOF Micro-TM-MICROMASS (TOF)質譜儀上，使用電噴霧電離以陽離子模式(ES⁺)獲得SPIRO-LAQ之質譜。含有³⁵Cl及³⁷Cl之MS信號之間的比率相當於此等同位素之天然豐度(約3:1)。圖35中所示之光譜與SPIRO-LAQ之分子量相符合。SPIRO-LAQ之ES⁺質譜中主要信號的歸屬呈現於表35中。

表35. SPIRO-LAQ之ES⁺質譜之主峰的歸屬

m/z	歸屬
311	[M(³⁵ Cl)+H-(CH ₂ CH ₃)-(CH ₃)] ⁺
313	[M(³⁷ Cl)+H-(CH ₂ CH ₃)-(CH ₃)] ⁺
355	[M(³⁵ Cl)+H] ⁺
357	[M(³⁷ Cl)+H] ⁺

元素分析

在Perkin-Elmer 2400 Series II C H N分析儀上進行元素分析之測試。C、H及N重量百分比為精確的且可重現於±0.3%內。鹵素之精度為±0.5%。SPIRO-LAQ之結果呈現於表36。

表36. SPIRO-LAQ之元素分析結果

元素	%C	%H	%N	%Cl
理論	64.32	4.26	7.90	9.99
實驗	64.08	4.22	7.75	10.12

紅外光譜法

使用Nicolet 6700 「Thermo Scientific」 FT-IR裝置量測SPIRO-LAQ之衰減全反射(ATR) FT-IR光譜。代表性光譜呈現於圖36。譜帶

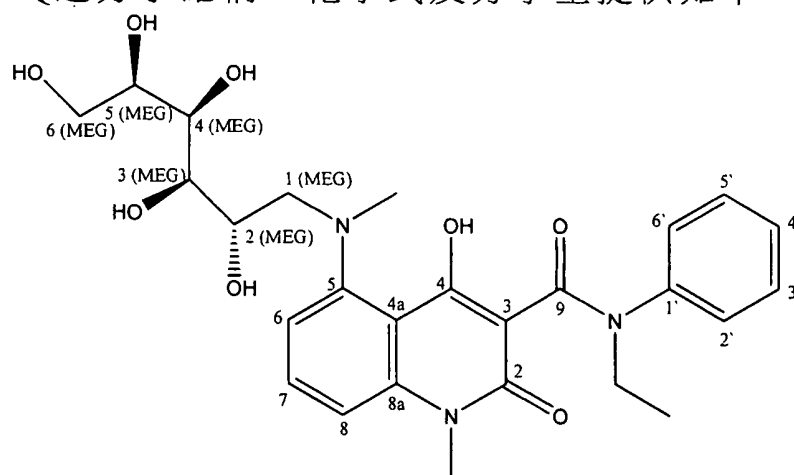
分配之概述提供於表37。

表37. SPIRO-LAQ之譜帶分配的概述

轉變能(cm^{-1})	譜帶分配
687-1244	芳族C-H變形振動
1020-1091	C-Cl伸縮
1020-1454	C-N伸縮
1153-1278	芳族C-OH伸縮
1582	芳族C-C伸縮，芳族C=C伸縮
1667-1738	C=O伸縮

實例15-MEG-LAQ之製備

MEG-LAQ之分子結構、化學式及分子量提供如下。



N-乙基-4-羥基-1-甲基-5(2,3,4,5,6-五羥基己基胺基)-2-側氧基-*N*-苯基-1,2-二氫喹啉-3-甲醯胺

化學式： $\text{C}_{26}\text{H}_{33}\text{N}_3\text{O}_8$

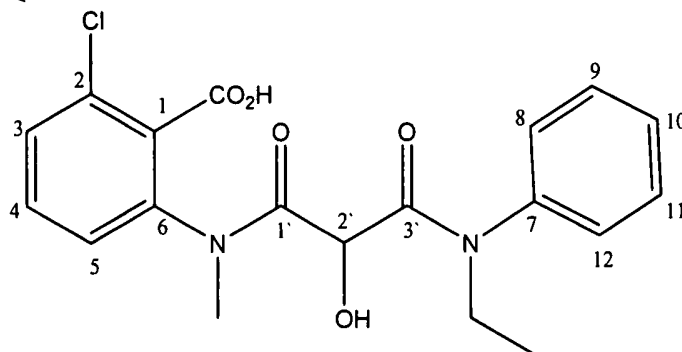
分子量：515.556

使拉喹莫德鈉及葡甲胺之水溶液回流且用空氣鼓泡約1個月。所獲得之溶液用水稀釋兩次且用濃鹽酸酸化至pH 1-2。過濾水溶液隨後用氯仿萃取。接著，將濃縮氫氧化銨溶液添加至水溶液直至中和。蒸發溶液且用甲醇洗滌所獲得之棕色糖漿。使葡甲胺凝固且過濾，隨後添加矽膠至甲醇溶液。蒸發溶劑且藉由矽膠管柱層析(移動相：含20%甲醇之二氯甲烷)純化所獲得之混合物。

此合成及純化產生具有足以適於用作標準物之純度的物質。

實例16-BH-3-HLAQ之製備

BH-3-HLAQ之分子結構、化學式及分子量提供如下。



2-氯-6-(3-(乙基(苯基)胺基)-2-羥基-N-甲基-3-側氧基丙醯胺基)苯甲酸

化學式： $C_{19}H_{19}ClN_2O_5$

分子量：390.818

將1N NaOH溶液添加至3-HLAQ於水中之懸浮液。攪拌黃色溶液0.5小時，接著添加1N HCl溶液。用乙酸乙酯萃取含有白色固體之水溶液。用鹽水洗滌有機相且經硫酸鈉乾燥。過濾懸浮液，蒸發至乾且藉由自IPA:水混合物(1:3.75 v/v)結晶純化固體殘餘物。將懸浮液冷卻至0-5°C且保持1小時，過濾且用IPA:水混合物(1:10 v/v)洗滌。在真空烘箱中在50°C下乾燥所獲得之白色固體。

在初始定性時，藉由IR、元素分析、MS及NMR證明BH-3-HLAQ標準物符合該分子結構。附加測試包括層析純度及乾燥失重。

此合成及純化產生具有足以適於用作標準物之純度的物質。

出於結構闡明目的，BH-3-HLAQ之樣品以NMR、MS、元素分析及FT-IR表徵，如下所描述。

NMR光譜術

在Bruker 300 MHz儀器上於DMSO中進行BH-3-HLAQ之 ^1H -NMR及 ^{13}C -NMR表徵。峰分配概述於表38中。 ^1H -NMR及 ^{13}C -NMR譜分別呈現於圖37及圖38。

表38. BH-3-HLAQ之 ^{13}C 及 ^1H -NMR峰分配

	¹³ C (ppm)	¹ H (ppm)	多重性(Hz) *
CO ₂ H	165.62	--	--
C # 1	130.08	--	--
C # 2	135.13	--	--
C # 3	130.20	1H 7.77	d (8.0)
C # 4	131.66	1H 7.66	t (8.0)
C # 5	129.38	1H 7.19	d (8.0)
C # 6	140.13	--	--
N-CH ₃	37.43	3H 3.09	--
C # 1'	167.55	--	--
C # 2'	68.67	1H 4.25	s
C # 3'	168.93	--	--
NCH ₂ CH ₃	43.43	2H 3.43, 3.38	q (14.0, 7.0, 2.0)之ABq
NCH ₂ CH ₃	12.24	3H 0.86	t (7.0)
C # 7	137.34	--	--
C # 8/12	127.86	2H 6.46	br
C # 9/11	128.93	2H 7.27	m
C # 10	127.80	1H 7.27	m

* s = 單峰，br = 寬峰，m = 多重峰，d = 雙峰，t = 三重峰，
q = 四重峰

質譜分析

在Q-TOF Micro-TM-MICROMASS (TOF)質譜儀上，使用電噴霧電離以陽離子模式(ES⁺)獲得BH-3-HLAQ之質譜。圖39中所示之光譜與BH-3-HLAQ之分子量相符合。BH-3-HLAQ之ES⁺質譜中主要信號的歸屬呈現於表39中。

表39. BH-3-HLAQ之ES⁺質譜之主峰的歸屬

m/z	歸屬
391	[M+H] ⁺
413	[M+Na] ⁺

FT-IR

使用Nicolet 6700 「Thermo Scientific」 FT-IR裝置量測BH-3-HLAQ之衰減全反射(ATR) FT-IR光譜。圖40展示典型光譜。譜帶分配之概述展示於表40中。

表40. BH-3-HLAQ之IR譜帶分配之概述

轉變能(cm ⁻¹)	譜帶分配
703, 737, 769	芳族C-H變形振動
1090	芳族C-Cl伸縮

1492	芳族C=C伸縮
1586	C-N伸縮
1652, 1728	C=O伸縮
3081	芳族C-H伸縮
3442	O-H伸縮

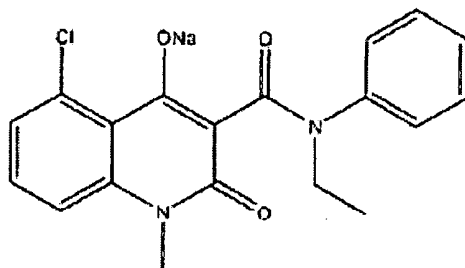
元素分析

在Perkin-Elmer 2400 Series II C H N分析儀上進行元素分析之測試。C、H及N重量百分比為精確的且可重現於 $\pm 0.3\%$ 內。鹵素之精度為 $\pm 0.5\%$ 。BH-3-HLAQ UK-4-570之結果呈現於表41中。

表41. BH-3-HLAQ之元素分析結果

元素	%C	%H	%N	%Cl
理論	58.39	4.90	7.17	9.07
實驗	58.31	4.79	7.15	9.56

實例17-拉喹莫德鈉原料藥之規格



化學式： $C_{19}H_{16}ClN_2NaO_3$

精確質量：378.07

分子量：378.78

m/z: 378.07(100.0%), 380.07(32.0%), 379.08(20.8%), 381.08(6.9%),
380.08(2.8%)

元素分析：C, 60.25; H, 4.26; Cl, 9.36; N, 7.40; Na, 6.07; O, 12.67

拉喹莫德鈉為白色至灰白色粉末，易溶解於水中，其應儲存於密閉容器中在室溫下避光保存。

拉喹莫德鈉之規格如下：

表42.

測試	規格
描述	白色至灰白色粉末

鑑定：	樣品層析圖中主峰之滯留時間相當於標準物之滯留時間。(參見實例19)
a) HPLC(參看實例19)	
b)紅外光譜	透射譜在與參考標準相同的波數下顯示出最小值。
c)紫外光譜	吸收光譜在與參考標準相同的波長下顯示出最大值。
d)鈉鑑定	符合。
LAQ-Na之分析(藉由HPLC，參看實例19)	98.0-102.0%
相關物質	MCQ - NMT 0.15%
a)極性雜質(參看表43)	MCQCA - NMT 0.15%
	MCQME - NMT 0.12%
	5-HLAQ - NMT 0.10%
	MCQEE - NMT 0.10%
	任何其他雜質- NMT 0.10%
	總計- NMT 1.00%
b)N-乙基苯胺及非極性雜質(參看表43)	N-乙基苯胺- NMT 0.10%
	任何其他雜質- NMT 0.10%
	總計- NMT 0.50%
c)DELAQ含量(藉由HPLC)	DELAQ - NMT 0.1%
LAQ含量(藉由HPLC)	NMT 1.0%
丙二酸二甲酯含量(藉由HPLC)	NMT 0.1%
硫酸二甲酯含量(藉由LC-MS)	NMT 1ppm
水含量(藉由KF電量滴定)	NMT 1.5% (w/w)
重金屬	NMT 20 ppm
鈉含量	5.8-6.4%
溶液顏色	顏色不比參考溶液BY ₇ 更深
自由氯離子	NMT 0.1%
殘留溶劑(藉由GC)	乙醇- NMT 5000 ppm
	正庚烷- NMT 5000 ppm
	正辛烷- NMT 2000 ppm
	甲醇- NMT 5000 ppm
	丙酮- NMT 5000 ppm
	二噁烷- NMT 380 ppm
殘留溶劑- DMF(藉由HS GC)	NMT 880 ppm
微生物純度測試	總好氧菌數- NMT 10 ³ cfu/g
	真菌/酵母及黴菌- NMT 10 ² cfu/g
	大腸桿菌- 不存在/g

關於MCQME，替代性規格為NMT 10%及LT 10%。

表43列舉目前用於在釋放時及在穩定性測試期間測定原料藥中之雜質含量的非藥典分析方法。亦列舉每一雜質之方法編號及偵測及定量極限。

表43.用於雜質測定之分析方法

參數	方法 ¹	方法類型	定量極限	偵測限制
MCQ	實例19	RP-HPLC	0.05%	0.02%
MCQCA	實例19	RP-HPLC	0.05% ²	0.02%
MCQME	實例19	RP-HPLC	0.05%	0.02%
5-HLAQ	實例19	RP-HPLC	0.05%	0.02%
MCQEE	實例19	RP-HPLC	0.05%	0.02%
LAQ	實例19	RP-HPLC	0.2%	0.03%
NEA	實例20	RP-HPLC	0.06%	0.02%

實例18-拉喹莫德鈉藥品之規格

拉喹莫德藥品製備為0.6 mg拉喹莫德鈉膠囊。拉喹莫德鈉(0.6 mg)膠囊之規格如下：

表44.釋放及存放期規格

測試	使用 ¹	接受準則
描述	R	用白色至灰白色顆粒填充之灰白色不透明套及殼體的硬明膠膠囊。 在殼體上印上「0.6mg」及在套上印上「LAQ」。
外觀	S	用白色至灰白色顆粒填充之灰白色不透明套及殼體的硬明膠膠囊。 在殼體上印上「0.6mg」及在套上印上「LAQ」。 未觀察到裂縫、脫色及其他外觀缺陷
鑑定	R	藉由HPLC(實例21)：樣品製劑層析圖中主峰之滯留時間相當於標準製劑層析圖中之主峰。
	R	藉由UV光譜：樣品光譜顯示出與標準物相同的最大值
溶解	R+S	30分鐘溶解不少於70% (Q)之標示量。 符合當前Ph.Eur. (2.9.3)
藉由含量均一性測試劑量單元之均一性	R	符合當前Ph.Eur. (2.9.40)
分析	R+S	95.0 - 105.0 %之標示量 (藉由HPLC，實例21)
雜質/降解產物測定 (關於方法參見表46)	R+S	MCQ ² 及MCQCA ³ 之總和：NMT 0.5%
		5-HLAQ ⁴ ：NMT 0.5%
		任何其他：NMT 0.5%
		MEG - LAQ ⁵ ：NMT 1.0%
水含量	R	BH-3-HLAQ ⁶ ：NMT 1.0%
		NMT 0.8%
顏色鑑定 ⁷	S	NMT 1.5%
顏色鑑定 ⁷	R	正確顏色呈陽性
非無菌產品之微生物學檢查法 ⁸	R+S	總好氧微生物數(TAMC)：NMT 10 ³ cfu/g 總合併酵母/黴菌數(TYMC)：NMT 10 ² cfu/g 1 g中不存在大腸桿菌

¹ R = 釋放；S = 穩定性

² MCQ：5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1H)-酮

³ MCQCA：5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸

⁴ 5-HLAQ：N-乙基-4,5-二羥基-1-甲基-2-側氧基-N-苯基-1,2-二氫喹啉-3-甲醯胺

⁵ MEG-LAQ：N-乙基-4-羥基-1-甲基-5-(甲基(2,3,4,5,6-五羥基己基)胺基)-2-側氧基-N-苯基
1,2-二氫喹啉-3-甲醯胺

⁶ BH-3-HLAQ：2-氯-6-(3-(乙基(苯基)胺基)-2-羥基-N-甲基-3-側氧基丙醯胺基)苯甲酸

⁷ 頻率：試驗批次、前三個產品批次及此後按要求不定期測試。

⁸ 頻率：關於釋放：試驗批次、前3個產品批次及此後每第五個批次，或每年至少一個批次(若每年製造少於5個批次)。關於穩定性：a)在零時間及一年一次及/或有效期進行長期測試。b)在零時間及12個月進行中間測試。c)在零時間及6個月進行加速測試。

最終產品穩定性方案封裝尺寸為最大及最小的每一銷售容器/封閉及/或單一劑量組態。

表45.

儲存條件	測試間隔	穩定性批次頻率
長期測試 25±2°C/60±5%RH	0、3、6、9、12、18、 24及36個月 及/或在有效期 ⁹	試驗批次、前三個生產批 次、此後每年一批次及按 要求變化。
加速測試 40±2°C/75±5%RH	0、1、2、3及6個月	試驗批次及按要求變化。
加速測試 40±2°C/75±5%RH	0、3及6個月	前三個生產批次。
中間測試 ¹⁰ 30±2°C/65±5%RH	0、3、6、9及12個月	試驗批次、前三個生產批 次及按要求變化。

⁹ 僅用於驗證批次及市售批次。

¹⁰ 僅在加速測試失敗的情況下。

以下實例描述在釋放時及在穩定性測試期間用於測定藥品之雜質含量的非藥典分析方法。亦列舉每一雜質之方法編號及偵測及定量極限以及對應驗證編號。

表46 用於測定藥品中之雜質的分析方法

參數	實例編號	方法類型	定量極限	偵測極限
MCQ及MCQCA	實例21	RP-HPLC	0.1%	0.03%
5-HLAQ	實例21	RP-HPLC	0.05%	0.02%
NEA ¹	實例22	RP-HPLC	0.1%	0.03%
3-HLAQ ¹	實例22	RP-HPLC	0.1%	0.03%
MEG-LAQ	實例23	RP-HPLC	0.2%	0.1%
BH-3-HLAQ	實例23	RP-HPLC	0.05%	0.02%

¹ NEA及3-HLAQ自商品規格省去，因為其從未觀察到。使用列舉方法監測主要穩定性批次中之此等雜質將繼續直至穩定性程式完成為止。

實例 19- 測定拉喹莫德原料藥之樣品中 Mcq 、 Mcqca 、 5-Hlaq 、 Mcqme及Mcqee之量的方法

藉由 HPLC 分析拉喹莫德鈉原料藥。使用以下 HPLC 方法測定 MCQ、MCQCA、MCQME、MCQEE及5-HLAQ之量。

1. HPLC條件

管柱及填料	Inertsil ODS-3V, 5µm, 4.6×250mm, GL Sciences
前導管柱	Opti-Guard C 18, 1mm
偵測	在240 nm下之UV
流動速率	1.5 mL/min
注射體積	50 µL
管柱溫度	40°C
自動進樣器溫度	5°C
操作時間	30分鐘 (標準物之操作時間可縮短至至少25分鐘。)
移動相	800 mL乙酸銨緩衝劑1溶液，pH 7.0；及200 mL乙腈。充分混合且脫氣。
緩衝液pH 7.0	將7.7 g乙酸銨溶解於2000 mL水中且使用氨水或冰醋酸調整至pH 7.0±0.05。使用0.45 µm膜濾器過濾。
稀釋劑A	乙腈/水(1:1)
稀釋劑B	移動相
空白溶液	稀釋劑A/稀釋劑B (3:7)
注意：調流程動速率及移動相組成以實現所需系統適用性參數。	

在具有不透明封蓋之琥珀色燒瓶中進行所有製備。製備後即刻將溶液置於冰箱或冷卻至5°C之自動進樣器支架中。

2. 標準溶液製備

2.1 標準儲備溶液(溶液S)

精確稱重約15 mg拉喹莫德鈉標準物至50 mL量瓶中。用稀釋劑A稀釋直至2/3容量，在冷的音波處理浴中音波處理約2分鐘且用稀釋劑A稀釋至容量。標準儲備溶液之濃度為約300 µg/mL。標準儲備溶液可在冰箱中儲存一個月。

2.2 用於分析之標準溶液(溶液A)

用稀釋劑B將3 mL標準儲備溶液稀釋至10 mL(稀釋因數3.33)。拉喹莫德鈉之濃度為約90 µg/mL。當儲存於冰箱中時，標準溶液A可使用7天。

2.3 MCQCA標準儲備溶液

精確稱重約18 mg MCQCA標準物至100 mL量瓶中。用乙腈稀釋至容量，音波處理直至物質完全溶解為止- MCQCA儲備溶液。

MCQCA之濃度為約180 µg/mL。

MCQCA標準儲備溶液應新鮮製備。

2.4 用於雜質測定之標準溶液(溶液I)

製備於稀釋劑B中之溶液，相對於標準溶液A中拉喹莫德之工作濃度，含有0.2%之濃度的拉喹莫德及0.1%之濃度的MCQCA。舉例而言，應用以下程序。

轉移4.0 mL用於分析之拉喹莫德鈉標準溶液(溶液A)及1.0 mL MCQCA標準儲備溶液至100 mL量瓶中且用稀釋劑B稀釋至容量(中間稀釋液)。

將2.5 mL此中間稀釋液置於50 mL量瓶中且用稀釋劑B補足至容量。

拉喹莫德標準物之總稀釋因數為1666.67，MCQCA之總稀釋因數為2000。

拉喹莫德鈉之濃度為約0.18 µg/mL (0.2%)。

MCQCA之濃度為約0.09 µg/mL (0.1%，QL水準)。

當儲存於冰箱中時，標準溶液I可使用24小時。

3. 解析溶液製備

3.1 混合溶液

製備以下雜質於稀釋劑A中之溶液：

縮寫	全稱
MCQ	5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1H)-酮
MCQCA	5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸
MCQME	5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯
5-HLAQ	<i>N</i> -乙基-4,5-二羥基-1-甲基-2-側氧基- <i>N</i> -苯基-1,2-二氫喹啉-3-甲醯胺
MCQEE	5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯

混合溶液可製備如下：

稱重約3 mg各雜質至100 mL量瓶中，溶解且用稀釋劑A稀釋至容量-混合溶液。混合溶液中各雜質之濃度為約30 µg/mL。混合溶液僅用於測定已知雜質之精確滯留時間且當儲存在約-20°C下時可使用至多四個月。為此，新製備之混合溶液應分成等分試樣且即刻儲存在約-20°C下。在融化後，等分試樣不應再冷凍。

3.2 解析溶液

轉移3 mL標準儲備溶液(溶液S)及0.3 mL混合溶液至10 mL量瓶且用稀釋劑B稀釋至容量。拉喹莫德鈉形式之濃度為約90 µg/mL。各雜質之濃度為約0.9 µg/mL(相對於拉喹莫德鈉1%)。解析溶液若儲存於冰箱中可使用9天。

4. 樣品製備

精確稱重約15 mg拉喹莫德鈉結晶或DS至50 mL量瓶中。用稀釋劑A稀釋直至2/3容量，在冷的音波處理浴中音波處理約2分鐘且用稀

釋劑A稀釋至容量-樣品儲備溶液。

用稀釋劑B稀釋3 mL樣品儲備溶液至10 mL-工作樣品溶液(稀釋因數3.33)。

拉喹莫德鈉之濃度為約90 µg/mL。

樣品必須在製備後不遲於24小時內加以分析。

5. 程序

根據相關SOP，注射解析溶液、空白溶液、用於分析及IDD之標準溶液、拉喹莫德樣品溶液。

6. 系統適用性測試

6.1 解析度測試

1. 拉喹莫德峰之典型滯留時間為 15.5 ± 2.0 分鐘。
2. 拉喹莫德峰之拖尾因數應不超過2.0。
3. 應實現峰之間NLT 2之解析因數。
4. 指定雜質峰之典型RRT應以下：

雜質	典型RRT
MCQME	0.33 - 0.38
MCQ	0.49 - 0.58
MCQEE	0.56 - 0.65
MCQCA	0.72 - 0.85
5-HLAQ	1.2 - 1.4*

* 5-HLAQ之滯留時間應不超過23分鐘。

6.2 系統精密度測試

根據相關SOP評估用於分析及IDD之拉喹莫德標準物以便測試系統精密度。

溶液I中之MCQCA用以測試系統靈敏性。Std 1之六次注射之面積的RSD以及Std1與Std2之間的差異應NMT 20%。

7. 藉由滯留時間(RT)鑑定

樣品層析圖中獲得之主(拉喹莫德)峰的RT應對應於標準溶液所獲

得之RT。

8. 計算及記錄

8.1 拉喹莫德鈉之分析計算

$$\frac{\text{樣品之面積} \times \text{標準物之濃度} \times 100}{\text{標準物之面積(溶液A)} \times \text{樣品之濃度}} = \text{拉喹莫德鈉之分析\%}$$

在減去拉喹莫德酸含量後，記錄基於乾物質之分析的計算結果。

8.2 雜質之評估及計算

應相對於稀釋的拉喹莫德鈉標準物(溶液I)進行計算。

MCQME、MCQ、MCQEE、5-HLAQ及未知雜質之定量水準為0.05%。

MCQME、MCQ、MCQEE、5-HLAQ及未知雜質之偵測水準為0.02%。

MCQCA之記錄水準為0.10%。

MCQCA之偵測水準為0.03%

調整積分參數以排除面積小於拉喹莫德鈉標準物(溶液I)平均區域之10%的峰。

使樣品層析圖中已知雜質峰與在實際對應滯留時間之±5%內之系統適用性層析圖中之已知雜質峰相關。

計算拉喹莫德鈉中之雜質：

$$\frac{\text{雜質之面積} \times RRF \times \text{標準物之濃度} \times 100}{\text{拉喹莫德鈉(溶液I)之面積} \times \text{樣品之濃度}} = \text{拉喹莫德鈉之雜質\%}$$

RRF-如以下比率計算之雜質之相對響應因子：拉喹莫德回歸線之斜率/雜質回歸線之斜率。

相對於拉喹莫德鈉之相對響應因子(RRF)之值為：

雜質	MCQME	MCQ	MCQEE	MCQCA	5-HLAQ	未知雜質/ 降解產物
RRF	0.70	0.60	0.80	0.58	0.95	1.0

9. 雜質之記錄

記錄雜質如下：

	結果	記錄
MCQME, MCQ, MCQEE, 5-HLAQ	$\geq 0.05\%$ $< 0.05\%$ $< 0.02\%$ (或ND)	計算結果 $< 0.05\%$ $< 0.02\%$
MCQCA	$\geq 0.10\%$ $< 0.10\%$ $< 0.03\%$ (或ND)	計算結果 $< 0.10\%$ $< 0.03\%$
未知雜質	$\geq 0.05\%$ $< 0.05\%$ $< 0.02\%$ (或ND)	計算結果 $< 0.05\%$ 未經記錄*
總計	變化形式1 變化形式2 變化形式3 變化形式4	計算結果總和 $< 0.10\%$ $< 0.05\%$ $< 0.03\%$

*若未偵測到未知雜質，記錄：任何其他 $<0.02\%$ 。

變化形式1：雜質中之至少一者 $\geq 0.05\%$ 或MCQCA $\geq 0.10\%$

變化形式2：所有雜質 $<0.05\%$ 且MCQCA $<0.10\%$

變化形式3：所有雜質 $<0.05\%$ 且MCQCA $<0.03\%$

變化形式4：所有雜質 $<0.02\%$ 且MCQCA $<0.03\%$

圖41呈現以上方法之解析度測試層析圖。圖43之系統適用性結果。

	名稱	RT	RRT	面積	USP解析度	USP拖尾	注射類型
1	MCQME	5.682	0.37	167799		1.1	BB
2	MCQ	8.863	0.57	199156	8.8	1.1	BB
3	MCQEE	9.710	0.63	158206	2.1	1.1	BB
4	MCQCA	11.572	0.75	228929	3.8	1.6	BB
5	Laq	15.481		13270800	6.1	1.6	BB
6	5-HLAQ	20.482	1.32	129109	6.6	1.0	BB

圖42呈現以上方法之稀釋劑層析圖。

圖43呈現以上方法之用於分析之典型層析圖。

圖45之峰結果。

	名稱	RT	面積	面積%	注射類型
1	Laq	15.598	12787417	100.00	BB

圖44呈現以上方法之用於雜質測試之典型層析圖。

圖46之峰結果。

	名稱	RT	面積	面積%	注射類型
1	Laq	15.598	12790697	100.00	BB

實例20-測定拉喹莫德原料藥樣品中NEA、3-HLAQ及SPIRO-LAQ之量的方法

藉由HPLC分析拉喹莫德鈉原料藥。使用以下HPLC方法測定NEA、3-HLAQ及SPIRO-LAQ之量。

1. HPLC條件

管柱及填料	Inertsil ODS-3V, 5 μ m, 4.6x250mm, GL Sciences
前導管柱	Opti-Guard C 18, 1mm (recommended)
偵測	在240 nm下之UV
流動速率	1.5 mL/min
注射體積	50 μ L
管柱溫度	40°C
自動進樣器溫度	5°C
操作時間	30分鐘(標準物之操作時間可減少至至少18分鐘)
移動相	50%溶液A-50%溶液B
溶液A	800 mL乙酸銨緩衝溶液pH 7.0；及 200 mL乙腈，脫氣
溶液B	350 mL乙酸銨緩衝溶液pH 7.0；及 650mL乙腈。 在磁力攪拌器上混合溶液B約0.5小時且隨後脫氣。
緩衝液pH 7.0	將7.7 g乙酸銨溶解於2000 mL水中且使用氨水或冰醋酸調整至pH 7.0 $\pm$ 0.05。經由0.45 μ m膜濾器過濾。
稀釋劑A	乙腈/水(1:1)
稀釋劑B	溶液B
注意：調整流動速率及移動相組成以實現所需系統適用性參數。	

所有製備應在琥珀色燒瓶中進行。建議在使用前用乙腈洗滌量瓶及移液管。應拒絕使用塑膠Pasteur移液管。

2. 標準溶液製備

2.1 NEA標準儲備溶液

精確稱重約25 μ L(約25 mg)N-乙基苯胺(NEA)標準物至50 mL量瓶中。用稀釋劑A稀釋至容量。

標準儲備溶液之濃度為約500 μ g/mL。

當儲存於冰箱中時，NEA標準儲備溶液可使用三週。

2.2 NEA標準初級稀釋溶液

用稀釋劑B稀釋0.5 mL NEA標準儲備溶液至50 mL。

N-乙基苯胺之濃度為約5 $\mu\text{g/mL}$ 。

2.3 NEA工作標準溶液

用稀釋劑B稀釋0.5 mL NEA標準初級稀釋溶液至25 mL(總稀釋因數-5000)。

N-乙基苯胺之濃度為約0.1 $\mu\text{g/mL}$ (約0.1%工作濃度)。

當儲存於冰箱中時，NEA工作標準溶液可使用四天。

3 解析溶液製備

3.1 拉喹莫德鈉儲備溶液

精確稱重約15 mg拉喹莫德鈉標準物至50 mL量瓶中。用稀釋劑A稀釋直至2/3容量，在冷的音波處理浴中音波處理約2分鐘且用稀釋劑A稀釋至容量。

當儲存於冰箱中時，拉喹莫德鈉儲備溶液可使用一個月。

3.2 SPIRO-LAQ儲備溶液

稱量約2.5 mg SPIRO-LAQ至50 mL量瓶中。用95%乙腈-5%水之混合物溶解且稀釋至容量。

3.3 3-HLAQ儲備溶液

稱量約2.5 mg 3-HLAQ至50 mL量瓶中。用95%乙腈-5%水之混合物溶解且稀釋至容量。

3.4 解析溶液

轉移以下等分試樣至50 mL量瓶且用稀釋劑B稀釋至容量：

15 mL拉喹莫德鈉儲備溶液、1.0 mL SPIRO-LAQ儲備溶液、1.0 mL 3-HLAQ儲備溶液及0.1 mL NEA標準儲備溶液。

拉喹莫德鈉之濃度為約90 $\mu\text{g/mL}$ 。

NEA、SPIRO-LAQ及3-HLAQ之濃度為約1 $\mu\text{g/mL}$ (1%)。

解析溶液僅用於測定拉喹莫德、NEA、3-HLAQ及SPIRO-LAQ之滯留時間且當儲存在-20℃下時可使用38天。為此，新製備之解析溶液應分成等分試樣且即刻儲存在-20℃下。在融化後，溶液等分試樣不應再冷凍。

在融化後在注射前劇烈混合解析溶液。

在融化後，當儲存於冰箱中時，解析溶液可使用4天。

4. 樣品溶液製備

精確稱重約15 mg拉喹莫德鈉結晶或DS至50 mL量瓶中。用稀釋劑B稀釋直至2/3容量，音波處理直至物質完全溶解為止且用稀釋劑B稀釋至容量-樣品儲備溶液。

用稀釋劑B稀釋3 mL樣品儲備溶液至10 mL(稀釋因數3.33)。

拉喹莫德鈉之濃度為約90 µg/mL。

注意：製備後即刻將樣品溶液置於冰箱或冷卻至5℃之自動取樣器。樣品必須在製備後不遲於12小時加以分析。

5. 程序

根據相關SOP注射解析溶液、稀釋劑B(兩或三次)、標準溶液及樣品溶液。

6. 系統適用性測試

6.1 解析度測試

拉喹莫德峰之典型滯留時間為 2.2 ± 0.5 分鐘。

NEA峰之典型滯留時間為 12.2 ± 1.5 分鐘。

指定雜質峰之層析定位應按以下順序：3-HLAQ、NEA及SPIRO-LAQ。

應實現兩對峰NLT 2之解析度。

6.2 系統精密度測試

根據相關SOP評估標準物以便測試系統精密度。

6.3 空白

注射稀釋劑B以偵測系統峰。

7. 評估及計算

NEA及任何其他雜質之定量極限為0.06%

NEA及任何其他雜質之偵測極限為0.02%。

調整積分參數以排除面積小於標準物面積15%之峰。

忽視在0與拉喹莫德之RT加一分鐘之間溶離的所有雜質峰。

按照方程式計算非極性雜質之含量：

$$\frac{\text{樣品中雜質之面積} \times \text{標準物之濃度} \times 100 \times RRF}{\text{標準物之面積} \times \text{樣品之濃度}} = \text{雜質\%}$$

其中RRF為NEA相對於雜質之相對響應因子，根據下表：

雜質	NEA	3-HLAQ	SPIRO-LAQ	未知雜質
RRF	1.00	1.37	0.92	1.23

8. 記錄模式

	結果	記錄
NEA、3-HLAQ或 SPIRO-LAQ	≥ 0.06% < 0.06% < 0.02% (或ND)	計算結果 < 0.06% < 0.02%
未知雜質(藉由相對於 拉喹莫德之RRT)	≥ 0.06% < 0.06% < 0.02% (或ND)	計算結果 < 0.06% 未經記錄*
總計	≥ 0.06% < 0.06% < 0.02或ND	計算結果總和 < 0.06% < 0.02%

*若未偵測到未知雜質，記錄：任何其他<0.02%。

圖45呈現以上方法之解析測試層析圖。

圖45之系統適用性分離結果。

	名稱	注射類型	RT	高度(μV)	面積	USP解析度
1	Laq	bb	2.156	1098982	12220719	
2	系統峰	BB	3.442	173	1293	5.2
3	3-HLAQ	BB	10.067	7917	119088	21.9
4	NEA	BB	11.034	12544	165542	2.5
5	SPIRO-LAQ	BB	12.496	8797	146324	3.6

圖46呈現以上方法之稀釋劑層析圖。

圖46之峰結果。

	名稱	注射類型	RT	高度(μV)	面積	面積%
1	系統峰	BB	3.423	313	2191	100.00

圖47呈現以上方法之典型樣品層析圖。

圖47之峰結果。

	名稱	注射類型	RT	高度(μV)	面積	面積%
1	拉喹莫德	bb	2.145	96369	11564891	99.99
2	系統峰	BB	3.421	166	1216	0.01

實例 21-測定拉喹莫德藥品之樣品中MCQ、MCQCA、5-HLAQ、MCQME及MCQEE之量的方法

藉由HPLC分析含有0.6 mg拉喹莫德之拉喹莫德膠囊。使用以下HPLC方法測定MCQ、MCQCA、5-HLAQ、MCQME之量。

1. HPLC條件

管柱及填料	Inertsil ODS-3V, 5μm, 4.6×250mm, GL Sciences Inc.
前導管柱	Opti-Guard C 18, 1×10mm
移動相	乙腈:緩衝液pH 7.0- 20:80(v/v)。混合且脫氣
緩衝液pH 7.0製備	將7.7 g乙酸銨溶解於2000 mL水中且使用氨水或冰醋酸調整至pH 7.0±0.05。經由0.45 μm膜濾器過濾。
流動速率	1.5 mL/min
偵測	在240 nm下之UV
注射體積	50 μL
稀釋劑A	乙腈/水-50:50(v/v)
稀釋劑B(及空白)	移動相
管柱溫度	40°C
自動進樣器溫度	5°C
操作時間	40分鐘
標準物之操作時間	可縮短至23分鐘
注意：可改變流動速率、移動相組成及管柱溫度以便實現所需系統適用性參數。	

所有製劑應避光保存。關於液體製劑，使用具有不透明封蓋之琥珀色燒瓶。僅使用玻璃Pasteur移液管。標準溶液及樣品溶液應在製備後在2-8°C下冷凍保存。

2. 標準溶液製備

2.1 拉喹莫德標準儲備溶液(溶液S)

一式兩份精確稱重約15 mg拉喹莫德鈉標準物至50 mL量瓶中。用稀釋劑A稀釋直至2/3容量，在冷的音波處理浴中音波處理約2分鐘

且用稀釋劑A稀釋至容量。

標準儲備溶液之濃度為約300 $\mu\text{g/mL}$ 拉喹莫德鈉。

當儲存於冰箱(2°C-8°C)中時，標準儲備溶液可使用一個月。

2.2 用於分析之拉喹莫德標準工作溶液(溶液A)

用稀釋劑B稀釋3 mL標準儲備溶液至10 mL(稀釋因數3.33)。

拉喹莫德鈉之濃度為約90 $\mu\text{g/mL}$ 。以拉喹莫德(酸)表示之濃度為約85 $\mu\text{g/mL}$ 。

當儲存於冰箱(2°C-8°C)中時，標準工作溶液A可使用7天。

2.3 MCQCA標準儲備溶液

精確稱重約18 mg MCQCA標準物至100 mL量瓶中。用乙腈稀釋至容量，音波處理(在冷的音波處理浴中)直至物質完全溶解為止-MCQCA儲備溶液。

MCQCA之濃度為約180 $\mu\text{g/mL}$ 。

MCQCA標準儲備溶液應新鮮製備。

2.4 用於測定雜質之標準溶液(溶液I)

製備於稀釋劑B中之溶液，相對於標準溶液A中拉喹莫德之工作濃度，含有0.2%之濃度的拉喹莫德及0.1%之濃度的MCQCA。舉例而言，應用以下程序。

轉移4.0 mL用於分析之拉喹莫德鈉標準溶液(溶液A)及1.0 mL MCQCA標準儲備溶液至100 mL量瓶中且用稀釋劑B稀釋至容量(中間稀釋液)。

將2.5 mL此中間稀釋液置於50 mL量瓶中且用稀釋劑B補足至容量。

拉喹莫德標準物之總稀釋因數為1666.67，MCQCA之總稀釋因數為2000。

拉喹莫德鈉之濃度為約0.18 $\mu\text{g/mL}$ (0.2%)。

MCQCA之濃度為約0.09 µg/mL(0.1%，QL水準)。

當儲存於冰箱中時，標準溶液I可使用24小時。

3. 解析溶液製備

3.1 混合溶液

使用稀釋劑A作為溶劑製備含有以下可能雜質標準物(標記物)之溶液：

混合溶液：

雜質	
縮寫	全稱
MCQ	5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1 <i>H</i>)-酮
MCQCA	5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸
MCQME	5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯
5-HLAQ	<i>N</i> -乙基-4,5-二羥基-1-甲基-2-側氧基- <i>N</i> -苯基-1,2-二氫喹啉-3-甲醯胺

混合溶液可製備如下：

稱重約3 mg各雜質標準物/標記物至100 mL量瓶中，溶解(音波處理為可接受的)且用稀釋劑A稀釋至容量。

混合溶液中各雜質之濃度為約30 µg/mL。

當冷凍儲存於約-20℃下時，混合溶液可使用至多4個月。

為此，新製備之混合溶液應分成等分試樣，即刻冷凍且儲存在-20℃下。在融化後，等分試樣應充分混合且不應再冷凍。

3.2 額外雜質之儲備溶液

稱重約3 mg MCQEE (5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯)至100 mL量瓶中，溶解(音波處理為可接受的)且用稀釋劑A稀釋至容量。此為MCQEE儲備溶液。

當冷凍儲存於約-20℃下時，此溶液可使用至多4個月。

為此，新製備之MCQEE儲備溶液應分成等分試樣，即刻冷凍且儲存在-20℃下。在融化後，等分試樣應充分混合且不應再冷凍。

稱重約3 mg MEG-LAQ(拉喹莫德之葡甲胺加合物)至100 mL量瓶

中，溶解(音波處理為可接受的)且用稀釋劑A稀釋至容量。此為MEG-LAQ儲備溶液。

當儲存於冰箱(2°C-8°C)中時，此溶液可使用一週。

3.3 解析溶液

使用混合溶液分別如下製備兩種解析溶液。

3.3.1 解析溶液1

轉移3 mL拉喹莫德標準儲備溶液(溶液S)、0.3 mL混合溶液及0.3 mL MCQEE儲備溶液至10 mL量瓶、用稀釋劑B稀釋至容量。此為解析溶液1。

其中拉喹莫德鈉之濃度為約90 µg/mL。各雜質之濃度為約0.9 µg/mL(相對於拉喹莫德之工作濃度約1%)。

解析溶液1用於解析度測試(用於系統適用性)及用於測定五種已知雜質之滯留時間(RT)/相對滯留時間(RRT)：MCQ、MCQCA、MCQME、MCQEE及5-HLAQ。

若儲存於冰箱(2°C-8°C)中，解析溶液1可使用9天。

注意：可使用根據實例19之方法製備之解析溶液代替解析溶液1。

3.3.2 解析溶液2

轉移3 mL拉喹莫德標準儲備溶液(溶液S)、0.3 mL混合溶液及0.3 mL MEG-LAQ儲備溶液至10 mL量瓶、用稀釋劑B稀釋至容量。此為解析溶液2。

其中拉喹莫德鈉之濃度為約90 µg/mL。各雜質之濃度為約0.9 µg/mL(相對於拉喹莫德之工作濃度約1%)。

解析溶液2用於測定MEG-LAQ之滯留時間。

若儲存於冰箱(2°C-8°C)中，解析溶液2可使用一週。

4. 樣品溶液製備

精確稱重20個膠囊且將其內容物完全排空至研鉢中。注意將膠囊內容物完全排空至研鉢中，必要時使用刮勺。稱重排空的膠囊。計算膠囊內容物之平均重量。

在研鉢中混合且研磨膠囊內容物且將粉末避光保存於緊閉容器中。

一式兩份地精確稱重相當於7個膠囊之量的粉末至50 mL量瓶中。

添加稀釋劑B直至2/3之容量，在200 mot/min下振盪30分鐘。用稀釋劑B稀釋至容量。充分混合。在使用前經由0.45 μm GHP ACRODISC GF過濾器或等效物過濾，棄去前0.5-1 mL。

拉喹莫德(酸)之工作濃度為約84 $\mu\text{g/mL}$ 。

注意：製備後即刻將樣品溶液置於冰箱或冷卻至5°C之自動進樣器中。當保持在溫度2°C-8°C下時，樣品溶液可使用24小時。

5. 程序

根據相關SOP，注射解析溶液、稀釋劑B(空白)、用於分析及IDD之標準溶液及樣品溶液。

測定用於鑑定及分析之樣品溶液及標準溶液之層析圖中的滯留時間(RT)及拉喹莫德峰之面積。

測定樣品溶液之層析圖中的所有已知雜質及任何其他雜質的RT、相對滯留時間(RRT)及峰面積，用於計算雜質/降解產物之含量。

忽略早期賦形劑溶離峰及系統峰(參見用於測定雜質/降解產物之層析圖)。舉例而言，使用0與RRT 0.15(約2.5分鐘)之間的抑制積分。

調整積分參數以排除面積小於**標準溶液I**(用於測定雜質/降解產物)注射中拉喹莫德峰之平均反應之10%的峰。

忽視注射試樣中MEG-LAQ之峰(按照解析溶液2鑑定)。由不同方法測試MEG-LAQ之含量。

6. 系統適用性測試

6.1 解析度測試

拉喹莫德峰之典型滯留時間為 15.5 ± 2.0 分鐘。

拉喹莫德峰之拖尾因數(USP)應不超過2.0。

所有對峰之解析因數應為NLT 2。

已知雜質/降解產物之峰的RRT應如下：

雜質	RRT
MCQME	0.33 - 0.38
MCQ	0.49 - 0.58
MCQEE	0.56 - 0.65
MCQCA	0.71 - 0.85
5-HLAQ	1.2 - 1.4*

* 5-HLAQ之滯留時間不應大於23分鐘。

MEG-LAQ峰與相鄰峰相比實質上變寬。MEG-LAQ之滯留時間為可變的，對層析條件(pH、乙腈%、溫度等)之最細微變化極其敏感，且因此應使用其在解析溶液2之層析圖中之峰加以定義。通常，其RRT為約0.66。

6.2 系統精密度測試

根據相關SOP評估用於分析及IDD之拉喹莫德標準物以便測試系統精密度。

溶液I中之MCQCA用以測試系統靈敏性。Std 1之六次注射之面積的RSD以及Std 1與Std 2之間的差異應NMT 20%。

6.3 空白

注射稀釋劑B以偵測系統峰。

7. 藉由滯留時間(RT)鑑定

樣品層析圖中獲得之主峰的RT應對應於標準溶液注射中關於拉喹莫德峰值所獲得之RT。

8. 計算及記錄

8.1 分析計算

$$\text{分析\% (相對於標記量)} = \frac{\text{面積}_{\text{樣品}} \times \text{濃度}_{\text{標準物}} \times 0.94 \times V_{\text{樣品}} \times \text{平均重量}_{\text{膠囊內容物}}}{\text{面積}_{\text{標準物}} \times W_{\text{樣品}} \times \text{標記量}} \times 100$$

其中：**0.94**：拉啞莫德鈉鹽至拉啞莫德(酸)之換算因數。

8.2 雜質/降解產物之計算及評估

8.2.1 相對滯留時間(RRT)之計算

$$RRT_{\text{雜質}} = \frac{RT_{\text{雜質}}}{RT_{\text{拉啞莫德}}}$$

8.2.2 雜質/降解產物之含量的計算

$$\text{雜質\%} = \frac{\text{面積}_{\text{雜質}} \times \text{濃度}_{\text{標準物}} \times V_{\text{樣品}} \times \text{平均重量}_{\text{膠囊內容物}} \times 0.94 \times RRF}{\text{面積}_{\text{標準物}} \times W_{\text{樣品}} \times \text{標記量}} \times 100$$

面積_{雜質}：樣品溶液中雜質/降解產物(已知或未知)峰之面積。

面積_{標準物}：標準溶液I之層析圖中之拉啞莫德峰的面積。

0.94：拉啞莫德鈉鹽至拉啞莫德(酸)之換算因數。

RRF：如以下比率計算之雜質/降解產物之相對響應因子：拉啞莫德回歸線之斜率/雜質回歸線之斜率。

相對於拉啞莫德之相對響應因子之值為：

雜質	MCQME	MCQ	MCQEE	MCQCA	5-HLAQ
RRF	0.74	0.65	0.85	0.62	1.0

未知雜質/降解產物之RRF視為1.0。

8.2.3 雜質/降解產物之評估及記錄

MCQME、MCQ、MCQEE、5-HLAQ及未知雜質之定量水準(QL)為0.05%。MCQME、MCQ、MCQEE、5-HLAQ及未知雜質之偵測水準(DL)為0.02%。

MCQCA之QL為0.1%。MCQCA之偵測水準DL為0.03%。

使樣品層析圖中之所有峰與系統適用性層析圖中之所有峰相關，在±5%之實際相應滯留時間內。

記錄如下：

	結果	記錄
指定雜質：		
5-HLAQ	$\geq 0.05\%$ $< 0.05\%$ $< 0.02\%$ (或ND)	計算結果 $< 0.05\%$ $< 0.02\%$
MCQ及MCQCA總和	$\geq 0.1\%$ $< 0.1\%$ $< 0.03\%$ (或ND)	計算結果 $< 0.1\%$ $< 0.03\%$
其他雜質：		
MCQME, MCQEE	$\geq 0.05\%$ $< 0.05\%$ $< 0.02\%$ (或ND)	計算結果 $< 0.05\%$ $< 0.02\%$
未知峰(相對於拉喹莫德之RRT)	$\geq 0.05\%$ $< 0.05\%$ $< 0.02\%$ (或ND)	計算結果 $< 0.05\%$ 未經記錄*
總計	$\geq 0.05\%$ $< 0.05\%$ (或 < 0.02 或ND)	計算結果總和 $< 0.05\%$

*若未偵測到雜質，記錄：任何其他 $< 0.02\%$ 。

圖48呈現以上方法之解析度測試(解析溶液1)層析圖。

圖48之系統適用性分離結果。

	名稱	RT	RT比	面積	USP解析度	USP拖尾	注射類型
1	MCQME	5.460	0.36	35801		1.07	BB
2	MCQ	8.260	0.54	60897	8.2	1.16	BV
3	MCQEE	9.249	0.60	24029	2.6	1.05	VB
4	MCQCA	12.031	0.78	18609	5.7	1.34	BB
5	Laq	15.332		12332469	5.2	1.84	BB
6	5-HLAQ	20.451	1.33	89463	7.3	1.04	BB

圖49呈現以上方法之解析度測試(解析溶液2)層析圖。

圖49之系統適用性分離結果。

	名稱	RT	RT比	面積	USP解析度	USP拖尾	注射類型
1	MCQME	5.457	0.36	151440		1.06	BB
2	MCQ	8.260	0.54	16608	8.1	1.17	BV
3	MCQEE	10.081	0.66	86529	1.7		VB
4	MCQCA	11.856	0.77	183439	1.5	1.9	BB
5	Laq	15.330		12314140	5.8	1.82	BB
6	5-HLAQ	20.446	1.33	120400	7.2	1.04	BB

圖50呈現以上方法之稀釋劑空白層析圖。

圖51呈現以上方法之用於分析之樣品層析圖。

圖52呈現以上方法之用於測定雜質/降解產物之樣品層析圖。

實例22-測定拉喹莫德藥品樣品中NEA、3-HLAQ及SPIRO-LAQ之量

的方法

藉由HPLC分析含有0.6 mg拉喹莫德之拉喹莫德膠囊。使用以下HPLC方法測定NEA、3-HLAQ及SPIRO-LAQ之量。

1. 縮寫

縮寫	全稱
NEA	N-乙基苯胺
3-HLAQ	5-氯-N-乙基-3-羥基-1-甲基-2,4-二側氧基-N-苯基-1,2,3,4-四氫喹啉-3-甲醯胺
SPIRO-LAQ	1H,3H-螺[5-氯-1-甲基喹啉-2,4-二酮-3,3'-[1]-乙基吡啶啉-[2]-酮]

2.HPLC條件

管柱及填料	Inertsil ODS-3V, 5 μ m, 4.6×250mm, GL Sciences
前導管柱	Opti-Guard C 18, 1×10mm
UV偵測	240 nm
移動相：	50%溶液A-50%溶液B(v/v)
溶液A：	乙腈:緩衝液pH 7.0- 20:80 (v/v)
溶液B：	乙腈:緩衝液pH 7.0-65:35 (v/v) 藉由磁力攪拌充分混合約0.5小時。
緩衝液pH7.0	將7.7 g乙酸銨溶解於2000 mL水中且使用氨水或冰醋酸調整至pH 7.0±0.05。經由0.45 μ m膜濾器過濾。
流動速率	1.5 mL/min
注射體積	20 μ L
稀釋劑A	甲醇/乙腈-50:50(v/v)
空白(最終稀釋劑)	甲醇/乙腈-10:90(v/v)
管柱溫度	40°C
自動進樣器溫度	5°C
操作時間	20分鐘
針及封口洗滌液	乙腈/水-50:50(v/v)
注意：可改變流動速率、移動相組成及管柱溫度以便實現所需系統適用性參數。	

所有製劑應避光保存。關於液體製劑，使用具有不透明封蓋之琥珀色燒瓶。

僅使用玻璃Pasteur移液管。

標準溶液及樣品溶液應在製備後在2-8°C下冷凍保存。

3. 標準溶液製備

3.1 NEA標準儲備溶液

一式兩份地精確稱重約18 μ L(約18 mg)N-乙基苯胺(NEA)標準物至50 mL量瓶中。用乙腈稀釋至容量。

標準儲備溶液之濃度為約360 µg/mL。

當儲存於冰箱(2°C-8°C)中時，NEA標準儲備溶液可使用三週。

3.2 NEA標準初級稀釋溶液

用乙腈稀釋0.5 mL NEA標準儲備溶液至50 mL。

標準初級稀釋溶液之濃度為約3.6 µg/mL。

3.3 NEA標準工作溶液

轉移0.5 mL NEA標準初級稀釋溶液至20 mL量瓶。添加4 mL稀釋劑A且用乙腈稀釋至容量。

NEA之濃度為約0.09 µg/mL(拉喹莫德工作濃度之約0.1%)。

當儲存於冰箱(2°C-8°C)中時，NEA工作標準溶液可使用一週。

4. 解析溶液製備

可使用實例20之解析溶液。

4.1 用於解析度測試之拉喹莫德儲備溶液

精確稱重約15 mg拉喹莫德鈉標準物至50 mL量瓶中。用乙腈:水[50:50(v/v)]稀釋直至2/3容量，在冷的音波處理浴中音波處理2分鐘且用乙腈:水[50:50(v/v)]稀釋至容量。

拉喹莫德儲備溶液之濃度為約300 µg/mL。

當儲存於冰箱(2°C-8°C)中時，拉喹莫德儲備溶液可使用一個月。

4.2 用於解析度測試之NEA儲備溶液

精確稱重約25 µL(約25 mg)N-乙基苯胺(NEA)標準物至50 mL量瓶中。用乙腈:水[50:50(v/v)]稀釋至容量。

NEA儲備溶液之濃度為約500 µg/mL。

若儲存於冰箱(2°C-8°C)中時，NEA標準儲備溶液可使用3週。

4.3 用於解析度測試之SPIRO-LAQ儲備溶液

稱重約2.5 mg SPIRO-LAQ至50 mL量瓶中。用乙腈:水[95:5(v/v)]溶解且稀釋至容量。

SPIRO-LAQ儲備溶液之濃度為約50 µg/mL。

4.4 用於解析度測試之3-HLAQ儲備溶液

稱重約2.5 mg 3-HLAQ至50 mL量瓶中。用乙腈:水[95:5(v/v)]溶解且稀釋至容量。

3-HLAQ儲備溶液之濃度為約50 µg/mL。

4.5 解析溶液

轉移以下等分試樣至50 mL量瓶且用移動相溶液B [乙腈:緩衝液 pH 7.0(65:35 v/v)]稀釋至容量：

15 mL用於解析度測試之拉喹莫德儲備溶液，

1.0 mL用於解析度測試之SPIRO-LAQ儲備溶液，

1.0 mL用於解析度測試之3-HLAQ儲備溶液，

0.1 mL用於解析度測試之NEA儲備溶液。

拉喹莫德鈉之濃度為約90 µg/mL。

NEA、SPIRO-LAQ及3-HLAQ之濃度為約1 µg/mL(相對於拉喹莫德工作濃度約1%)。

解析溶液僅用於測定拉喹莫德及已知可能雜質/降解產物之滯留時間且當儲存在-20°C下時可使用38天。為此，新製備之解析溶液應分成等分試樣且即刻儲存在-20°C下。在融化後，溶液等分試樣應劇烈混合且不應再冷凍。

當儲存於冰箱(2°C-8°C)中時，解析溶液可使用4天。

5. 樣品溶液製備

精確稱重至少10個膠囊且將其內容物排空至研鉢中。稱重排空的膠囊。計算膠囊內容物之平均重量。

在研鉢中研磨樣品且將粉末避光保存於緊閉容器中。

一式兩份地精確稱重相當於3個拉喹莫德膠囊之量的粉末至20 mL量瓶中。

添加4至10 mL稀釋劑A且在200 mot/min下振盪15分鐘以溶解。
用乙腈稀釋至容量。充分混合。在使用前經由0.45 μm GHP Acrodisc GF過濾器或等效物過濾，棄去前2 mL。

拉喹莫德之濃度為約90 $\mu\text{g/mL}$ 。

注意：製備後即刻將樣品溶液置於冰箱或冷卻至5°C之自動進樣器中。樣品應在製備後不遲於24小時內加以分析。

6. 程序

根據用於雜質/降解產物測定之相關SOP，注射解析溶液、空白溶液、標準溶液及樣品溶液。

測定標準工作溶液中NEA之峰面積。

測定解析溶液及樣品溶液之層析圖中拉喹莫德峰之滯留時間(RT)

測定樣品溶液之層析圖中至拉喹莫德峰之RT、相對滯留時間(RRT)及所有已知雜質及未知雜質的峰面積。

在0與1.6×拉喹莫德峰之RT(系統峰之RT)之間應用積分抑制。

調整積分參數以排除面積小於NEA標準物面積20%之峰。

7. 系統適用性測試

7.1 解析度測試

拉喹莫德之典型滯留時間為 2.2 ± 0.5 分鐘。

NEA之典型滯留時間為 12.2 ± 1.5 分鐘。

指定雜質/降解產物峰相對於NEA之RRT應如下：

雜質/降解產物	相對於NEA之RRT
3-HLAQ	0.85 - 0.95
SPIRO-LAQ	1.05 - 1.20

應實現已知雜質/降解產物峰距NEA峰NLT 2之解析因數。

7.2 系統精密度測試

根據用於雜質/降解產物測定之相關SOP評估標準物以便測試系統精密度。

7.3 空白

注射空白以偵測系統峰。

8 評估、計算及記錄

8.1 雜質/降解產物之RRT

$$RRT_{imp} = \frac{RT_{imp}}{RT_{Laq}}$$

8.2 雜質/降解產物之含量的計算

計算拉喹莫德膠囊中之IDD%如下：

$$\text{雜質}\% = \frac{\text{面積}_{\text{雜質}} \times \text{濃度}_{\text{標準物NEA}} \times V_{\text{樣品}} \times \text{平均重量}_{\text{膠囊內容物}} \times RRF}{\text{面積}_{\text{標準物NEA}} \times W_{\text{樣品}} \times \text{標記量}} \times 100$$

面積_{雜質}：樣品溶液中NEA、3-HLAQ或未知雜質/降解產物峰之面積。

參見8.3中之注意。

面積_{標準物NEA}：標準工作溶液中NEA之面積。

RRF：如以下比率計算之雜質之相對響應因子：

NEA回歸線之斜率/雜質回歸線之斜率。

注意：關於未知雜質/降解產物，使用拉喹莫德回歸線之斜率。

相對於NEA之相對響應因子之值為：

雜質	NEA	3-HLAQ	未知
RRF	1.0	1.39	1.15

8.4 評估及記錄

NEA、3-HLAQ及任何其他未知雜質/降解產物之定量極限(QL)相對於拉喹莫德工作濃度為0.1%。

NEA、3-HLAQ及任何其他未知雜質/降解產物之偵測極限(DL)相對於拉喹莫德工作濃度為0.03%。

雜質/降解產物之記錄含量如下：

	結果	記錄
NEA或3-HLAQ	≥ 0.1%	計算結果
	< 0.1%	< 0.1%
	< 0.03%或ND	< 0.03%

任何其他雜質峰(藉由相對於拉喹莫德之RRT)	$\geq 0.1\%$ $< 0.1\%$ $< 0.03\%$ 或ND	計算結果 $< 0.1\%$ 未經記錄**
總計	若峰 $\geq 0.1\%$ 若所有峰 $< 0.1\%$ 或 $< 0.03\%$	計算結果總和 $< 0.1\%$

* 使樣品層析圖中NEA及3-HLAQ峰與系統適用性層析圖中之NEA及3-HLAQ峰相關，在實際滯留時間之 $\pm 5\%$ 內。

** 若無未知雜質存在，記錄：「任何其他 $< 0.03\%$ 」

注意：在SPIRO-LAQ之RT(在系統適用性測試中 $\pm 5\%$ 之實際滯留時間)下溶離之峰記錄為「任何其他雜質」峰。

圖53呈現以上方法之解析度測試層析圖。

圖53之系統適用性分離結果。

	名稱	RT	RRT	面積	高度(μV)	USP拖尾	USP解析度
1	LAQ	2.166		5587169	964422	1.22	
2	3-HLAQ	11.228	0.92	81831	4436	1.35	28.23
3	NEA	12.226		63991	4744	1.06	2.34
4	SPIRO-LAQ	1.14	78255	78255	4725	1.02	4.26

圖54呈現以上方法之空白(稀釋劑)層析圖。

圖54之峰結果。

	名稱	注射類型	RT	高度(μV)	面積	面積%
1	系統峰	BB	3.508	116	858	52.53
2	系統峰	BB	5.740	41	775	47.47

圖55呈現以上方法之樣品層析圖。

圖55之峰結果。

	名稱	注射類型	RT	高度(μV)	面積	面積%
1	拉喹莫德	BB	2.1459	923247	4717424	99.97
2	系統峰	BB	3.499	71	666	0.01
3	系統峰	BB	5.736	38	642	0.01

實例23-測定拉喹莫德藥品樣品中MEG-LAQ及BH-3-HLAQ之量的方法

參數	實例編號	方法類型	定量極限	偵測極限
MEG-LAQ	實例23	RP-HPLC	0.2%	0.1%
BH-3-HLAQ	實例23	RP-HPLC	0.05%	0.02%

藉由HPLC分析含有0.6 mg拉喹莫德之拉喹莫德膠囊。使用以下

HPLC方法測定MEG-LAQ及BH-3-HLAQ之量。

1. 層析系統

管柱及填料	Inertsil ODS-3 V, 5 μ m, 3.0 $\times$ 150mm, GL Sciences Inc.
前導管柱 (建議)	Opti-Guard C 18, 1 mm, Optimize Technologies
管柱溫度	43°C $\pm$ 4°C
緩衝溶液製備	溶解5.75 g磷酸二氫銨於300 mL水中。經由0.45 μ m膜濾器過濾。用水稀釋至2000 mL且用氨水或磷酸調整至pH 7.0 $\pm$ 0.10。將比例調整應用於不同體積之製備。
溶劑A	80%(v/v)緩衝溶液及20%(v/v)乙腈之混合物。脫氣
溶劑B	70%(v/v)緩衝溶液及30%(v/v)甲醇之混合物。脫氣。
移動相	選項1：由2個儲器工作：60%(v/v)溶劑A及40%(v/v)溶劑B；調節以達成系統適用性要求。 選項2：由1個儲器工作：以比率60:40(v/v)混合溶劑A及溶劑B；在混合後脫氣。
流動速率：	1.0 mL/min
偵測器	在212 nm下之UV，10 mm流槽路徑長度
自動進樣器溫度	5°C
注射體積	35 μ L
稀釋劑1	乙腈/水-50:50(v/v)
稀釋劑2/空白溶液	溶劑A
注射器洗滌溶液	乙腈/水-50:50(v/v)
操作時間	30分鐘

可改變移動相參數、流動速率及管柱溫度以便達成系統適用性要求。移動相參數可在以下範圍中變化：55%-62%(v/v)溶劑A及45%-38%(v/v)溶劑B。所有溶劑必須具有HPLC級或等效。所有製劑應在2-8°C下冷凍保存且避光保存。使用具有不透明封蓋之琥珀色燒瓶(低光化玻璃器皿)。避免加熱音波處理浴。

2. 縮寫表

縮寫	化學全稱
MEG-LAQ	N-乙基-4-羥基-1-甲基-5-(甲基(2,3,4,5,6-五羥基己基)胺基)-2-側氧基-N-苯基-1,2-二氫喹啉-3-甲醯胺
BH-3-HLAQ	2-氯-6-(3-(乙基(苯基)胺基)-2-羥基-N-甲基3-側氧基丙醯胺基)苯甲酸

3. 標準溶液之製備

3.1 BH-3-HLAQ之儲備溶液

一式兩份地製備。精確稱重約11.5 mg BH-3-HLAQ至50 mL量瓶

中，音波處理以溶解且用稀釋劑1稀釋至容量。

BH-3-HLAQ儲備溶液之濃度為約230 $\mu\text{g/mL}$ 。

若冷凍儲存(2°C-8°C)，BH-3-HLAQ儲備溶液可使用1週。

3.2 MEG-LAQ之儲備溶液

一式兩份地製備。精確稱重約11.5 mg MEG-LAQ至50 mL量瓶中，音波處理以溶解且用稀釋劑1稀釋至容量。MEG-LAQ儲備溶液之濃度為約230 $\mu\text{g/mL}$ 。

若冷凍儲存(2°C-8°C)，MEG-LAQ儲備溶液可使用1週。

注意：由於MEG-LAQ之高度吸濕性，其暴露於空氣應最少：在稱重後即刻用標準物封閉小瓶；建議在受控低濕度條件下稱重MEG-LAQ。

3.3 BH-3-HLAQ之初級稀釋溶液

將2.0 mL BH-3-HLAQ儲備溶液轉移至50 mL量瓶且用稀釋劑2稀釋至容量。BH-3-HLAQ之濃度為約9.2 $\mu\text{g/mL}$ 。

3.4 MEG-LAQ之初級稀釋溶液

將2.0 mL MEG-LAQ儲備溶液轉移至50 mL量瓶且用稀釋劑2稀釋至容量。MEG-LAQ之濃度為約9.2 $\mu\text{g/mL}$ 。

3.5 標準溶液

將1.0 mL BH-3-HLAQ之初級稀釋溶液及2.5 mL MEG LAQ之初級稀釋溶液轉移至50 mL量瓶且用稀釋劑2稀釋至容量。

此標準溶液中之總稀釋因數為：對於BH-3-HLAQ，1250，及對於MEG-LAQ，500(自儲備溶液)。

BH-3-HLAQ之濃度為約0.18 $\mu\text{g/mL}$ (0.2%之拉喹莫德工作濃度)，且MEG-LAQ之濃度為約0.45 $\mu\text{g/mL}$ (0.5%之拉喹莫德工作濃度)。

若冷凍儲存(2°C-8°C)，標準溶液可使用1週。

3.6 QL溶液

一次製備。將0.5 mL BH-3-HLAQ之初級稀釋溶液及2.0 mL MEG LAQ之初級稀釋溶液(各一式兩份中之一者)轉移至100 mL量瓶且用稀釋劑2稀釋至容量。

BH-3-HLAQ之濃度為約0.045 $\mu\text{g/mL}$ (0.05%之拉喹莫德工作濃度)，且MEG-LAQ之濃度為約0.18 $\mu\text{g/mL}$ (0.2%之拉喹莫德工作濃度)。

4. 解析溶液之製備

4.1 拉喹莫德儲備溶液

一次製備。稱重約15 mg拉喹莫德鈉標準物至50 mL量瓶中。用稀釋劑1稀釋直至2/3容量，在音波處理浴中音波處理約2分鐘且用稀釋劑1稀釋至容量。拉喹莫德儲備溶液之濃度為約300 $\mu\text{g/mL}$ 拉喹莫德鈉。

若冷凍儲存(2°C-8°C)，拉喹莫德儲備溶液可使用1個月。

4.2 解析溶液

將3 mL拉喹莫德儲備溶液及1 mL各初級稀釋溶液(各一式兩份中之一者)轉移至10 mL量瓶。用稀釋劑2稀釋至容量。充分混合。

解析溶液中拉喹莫德鈉之濃度為約90 $\mu\text{g/mL}$ (若以拉喹莫德-游離酸表示，約85 $\mu\text{g/mL}$)。各雜質之濃度為約0.9 $\mu\text{g/mL}$ (相對於拉喹莫德之工作濃度約1%)。

若冷凍儲存(2°C-8°C)，解析度溶液可使用一週。

5. 樣品溶液之製備

精確稱重20個膠囊且將其內容物完全排空至研鉢中。注意將膠囊內容物完全排空至研鉢中，必要時使用刮勺。稱重排空的膠囊。計算膠囊內容物之平均重量。

在研鉢中混合且研磨膠囊內容物且將粉末避光保存於緊閉容器中。

一式兩份地精確稱重各相當於7個膠囊之量的粉末至獨立的50 mL量瓶中。

添加稀釋劑2直至2/3之容量，在200 mot/min下振盪30分鐘。用稀釋劑2稀釋至容量。充分混合。在使用前經由0.45 μm ACRODISC GHP GF過濾器或等效物過濾，棄去前0.5-1 mL。

製備後即刻將樣品溶液置於冰箱或冷卻至5°C之自動進樣器中。

拉喹莫德(酸)之工作濃度為約84 $\mu\text{g/mL}$ 。

當保持在溫度2°C-8°C下時，樣品溶液可使用24小時。

6. 系統適用性測試

6.1 解析度測試

注射解析溶液一次。

拉喹莫德峰*之典型滯留時間在12-18分鐘範圍內。

解析溶液注射中峰溶離順序及雜質峰相對於拉喹莫德峰之典型RRT如下：

峰	MEG-LAQ	BH-3-HLAQ	拉喹莫德
典型RRT*	0.55 - 0.75	0.80 - 0.95	1.0

* 僅關於資訊，可由於許多不同管柱或由於實際移動相組成(溶劑A/溶劑B比)及pH之變化而不同。

接受準則：

- MEG-LAQ及BH-3-HLAQ峰之拖尾因數(USP)應在0.8-1.5內。
- 所有三個峰(MEG-LAQ、BH-3-HLAQ及拉喹莫德)之間的解析因數應不小於1.5。

可調整流動速率、溫度及移動相組成(溶劑A與溶劑B之比)以取得所需系統適用性參數。

6.2 空白注射

注射空白(稀釋劑2)兩次以偵測系統峰。忽視系統峰。

6.3 靈敏度測試

自QL溶液之6次重複注射，評估BH-3-HLAQ及MEG-LAQ峰之面積。

6次重複中每一峰之RSD應不超過20%。

6.4 系統精密度測試

根據相關SOP評估標準物注射之層析圖中BH-3-HLAQ及MEG-LAQ峰之面積以便測試系統精密度。

7. 程序

7.1 注射順序

根據相關SOP注射解析溶液、空白溶液-兩次、QL溶液(6次重複)、標準溶液及樣品溶液。

7.2 層析圖之處理

忽視標準溶液及樣品溶液注射中除MEG-LAQ及BH-3-HLAQ以外的所有峰。

測定樣品溶液之層析圖中MEG-LAQ及BH-3-HLAQ之峰的滯留時間(RT)及面積用於鑑定及定量。

調整積分參數以排除面積小於第一次製備之標準溶液之六次連續注射之層析圖中BH-3-HLAQ峰之平均反應之10%的峰。

此相當於相對於拉喹莫德之工作濃度之0.02%(BH-3-HLAQ之DL)。

8. 計算及記錄

8.1 計算

相對於標準溶液層析圖中之對應峰進行各雜質(MEG-LAQ及BH-3-HLAQ)之定量。

使用以下方程式計算MEG-LAQ及BH-3-HLAQ之含量：

$$\%BH-3-HLAQ/MEG-LAQ = \frac{\text{面積}_{\text{樣品}} \times \text{濃度}_{\text{標準物}} \times V_{\text{樣品}} \times \text{平均重量}_{\text{膠囊內容物}}}{\text{面積}_{\text{標準物}} \times W_{\text{樣品}} \times \text{標記量}} \times 100$$

面積樣品：樣品溶液層析圖中MEG-LAQ或BH-3-HLAQ峰之面積

面積標準物：標準溶液層析圖中分別峰MEG-LAQ(平均)或BH-3-HLAQ峰(平均)之面積

標示量：0.6 mg

8.2 評估及記錄

BH-3-HLAQ之QL(定量極限)為0.05%；MEG-LAQ之QL為0.2%

BH-3-HLAQ之DL(偵測極限)為0.02%；MEG-LAQ之DL為0.1%

對於等於或大於QL之值，記錄計算結果。

對於低於QL但高於DL之值，記錄：BH-3-HLAQ「小於0.05%(QL)」且MEG-LAQ「小於0.2%(QL)」。

對於低於DL之值，記錄：BH-3-HLAQ「小於0.02%(DL)」且MEG-LAQ「小於0.1%(DL)」。

圖56呈現以上方法之解析溶液之典型層析圖。

圖56之峰結果。

	名稱	RT	RTT	面積	面積 %	注射類型	USP解析度	寬度 (50%)	USP拖尾	高度 (μV)
1	MEG-LAQ	9.650	0.66	63177	0.66	BB		1.01	0.56	1322
2	BH-3HLAQ	13.203	0.88	145888	1.16	BB	2.61	0.49	0.98	4661
3	Laq	14.962		12369065	86.18	BB	1.76	0.64	2.44	306644

圖57呈現以上方法之空白(稀釋劑2)層析圖。

圖57之峰結果。

	名稱	RT	面積	面積%	注射類型
1	系統峰	2.944	12.128	100.00	BB

圖58呈現以上方法之QL溶液之層析圖。

圖58之峰結果。

	名稱	RT	注射類型	高度(μV)	面積	面積%
1	Meg-LAQ	10.080	BB	303	15402	75.11
2	BH-3HLAQ	15.313	BB	201	5777	23.89

圖59呈現以上方法之標準溶液層析圖。

圖59之峰結果。

	名稱	RT	注射類型	高度(μV)	面積	面積%
1	Meg-LAQ	10.177	BB	760	45319	54.89
2	BH-3HLAQ	15.293	BB	814	25059	35.11

圖60呈現以上方法之典型樣品層析圖。

圖60之峰結果。

	名稱	RT	注射類型	面積	面積%
1	Meg-LAQ	10.503	BB	20741	68.17
2	BH-3HLAQ	13.952	BB	9683	31.83

實例24-拉喹莫德鈉原料藥及中間物中可能具遺傳毒性之雜質的電腦毒物學評估

使用DEREK預測軟體(DERЕК Nexus, 2.0.0版本, 2011i, LHASA Ltd, Leeds, UK)以評估MCQ及MCQME之遺傳毒性可能性。電腦毒物學評估概述於表47中。

表47. MCQ及MCQME之電腦毒物學評估

可能的雜質	來源	毒性載體	端點	概率 ¹
MCQ	副產物及可能的降解產物	喹啉	誘變性	似乎合理
		預培育方法中之AMES數據陰性(CRL研究第962723號)		
MCQME	合成中間物及DS中之方法相關雜	無結構警戒		
		在活體外AMES測試中之弱遺傳毒性活性(CRL研究第963892號), 但在活體內MN中之陰性(Covance研究第8246631號)		

結構具有毒性之可能含量之DEREK定義如下：

似乎合理：有分量的證據支持命題。可疑的：存在相等證據證明及反對命題。

實例25-拉喹莫德鈉原料藥之批次分析

在不同製造設施下製造許多批次之拉喹莫德鈉原料藥且隨後加以分析。在製造及分析期間，提供樣品溶液之足夠光保護。所有批次之原料藥在如實例17中所提供之規格內。

表48及表49展示拉喹莫德鈉原料藥批次之批次分析。

表50展示拉喹莫德酸之批次分析。

表48.拉喹莫德鈉原料藥批次1-12之分析

批次號	極性雜質						NEA及非極性雜質			
	MCQ	MCQCA	MCQ及MCQCA之總和	MCQME	MCQEE	任何其他雜質	總計	NEA	任何其他雜質	總計
	實例19						實例20			
分析方法	NMT 0.15	NMT 0.15	NA	NMT 0.12	NMT 0.10	NMT 0.10	NMT 1.00	NMT 0.10	NMT 0.10	NMT 0.50
規格	LT 0.05	LT 0.05	LT 0.05	LT 0.05	LT 0.05	LT 0.05	LT 0.05	LT 0.05	LT 0.05	LT 0.05
批次1	LT 0.05	LT 0.05	LT 0.05	LT 0.05	LT 0.05	LT 0.05	LT 0.05	LT 0.05	LT 0.05	LT 0.05
批次2	LT 0.02	LT 0.03	NA	LT 0.02	LT 0.02	LT 0.02	LT 0.05	LT 0.02	LT 0.02	LT 0.05
批次3	LT 0.02	LT 0.03	NA	LT 0.02	LT 0.02	LT 0.02	LT 0.05	LT 0.02	LT 0.02	LT 0.05
批次4	LT 0.02	LT 0.03	NA	LT 0.02	LT 0.02	LT 0.02	LT 0.05	LT 0.02	LT 0.02	LT 0.05
批次5	LT 0.02	LT 0.03	NA	LT 0.02	LT 0.02	LT 0.02	LT 0.05	LT 0.02	LT 0.02	LT 0.06
批次6	LT 0.02	LT 0.03	NA	LT 0.02	LT 0.02	LT 0.02	LT 0.05	LT 0.02	LT 0.02	LT 0.06
批次7	LT 0.02	LT 0.03	NA	LT 0.02	LT 0.02	LT 0.02	LT 0.05	LT 0.02	LT 0.02	LT 0.06
批次8	LT 0.02	LT 0.03	NA	LT 0.02	LT 0.02	LT 0.02	LT 0.05	LT 0.02	LT 0.02	LT 0.06
批次9	LT 0.02	LT 0.03	NA	LT 0.02	LT 0.02	LT 0.02	LT 0.05	LT 0.02	LT 0.02	LT 0.02
批次10	LT 0.02	LT 0.03	NA	LT 0.02	LT 0.02	LT 0.02	LT 0.05	LT 0.02	LT 0.02	LT 0.02
批次11	LT 0.02	LT 0.03	NA	LT 0.02	LT 0.02	LT 0.02	LT 0.05	LT 0.02	LT 0.02	LT 0.02
批次12	LT 0.02	LT 0.03	NA	LT 0.02	LT 0.02	LT 0.02	LT 0.05	LT 0.02	LT 0.02	LT 0.02

表48中列舉之雜質的QL及DL值：

	定量極限	偵測極限
MCQ	0.05%	0.02%
MCQCA	0.05% ¹	0.02%
MCQME	0.05%	0.02%
5-HLAQ	0.05%	0.02%
MCQEE	0.05%	0.02%
LAQ	0.2%	0.03%
NEA	0.06%	0.02%
DELAQ	不適用(極限測試)	0.03%
DMM	不適用(極限測試)	0.03%
DMS	不適用(極限測試)	0.5 ppm
丙酮	250 ppm	25 ppm
二噁烷	20 ppm	10 ppm
乙醇	25 ppm	5 ppm
正庚烷	250 ppm	10 ppm
甲醇	150 ppm	30 ppm
正辛烷	100 ppm	10 ppm
DMF	190 ppm	50 ppm

¹ 記錄極限0.10%。

表49.額外拉喹莫德鈉原料藥批次13-18之分析

批次號	相關物質[%]				雜質總和
	任何個別雜質				
	≤1.0				
規格	MCQ	MCQCA	MCQME	≤2.0	
13	任何單個雜質<0.05				
14	任何單個雜質<0.05				
15	0.03	0.03	0.03	0.13	
16	-	-	0.04	0.17	
17	0.01	-	0.01	0.13	
18	-	-	0.05	0.14	

表50.拉喹莫德(酸形式)原料藥批次(批次19-22)之分析

批次號	NEA [%]	相關物質[%]				總計
		MCQ	MCQCA	MCQME	任何未知	
19	-	0.75	-	-	1.2	1.95
20	-	-	-	0.24 ⁴	0.05 ⁴	0.55
					0.05 ⁴	
					0.07 ⁴	
					0.14 ⁴	
21	-	-	-	0.26 ⁴	0.05 ⁴	0.56
					0.05 ⁴	
					0.07 ⁴	
					0.13 ⁴	
22	<0.05	0.19				<0.5

⁴ 與方法不符合。使用不同移動相及波長。

實例26 拉喹莫德原料藥在釋放時及長期及加速儲存後觀測到的雜質

在拉喹莫德鈉批次中在釋放時及在長期及加速儲存後觀測到雜質。

在拉喹莫德鈉批次(包括初級穩定性及驗證批次)中觀測到之雜質含量範圍概述於表51中。

表51.在釋放時及在長期及加速儲存後在拉喹莫德原料藥中觀測到之雜質含量範圍

參數	當前規格	觀測到之雜質含量範圍
MCQ	NMT 0.15%	LT 0.02-LT 0.05%
MCQCA	NMT 0.15%	LT 0.03-LT 0.05%
MCQME	NMT 0.12%	LT 0.02-LT 0.05%
5-HLAQ	NMT 0.10%	LT 0.02-LT 0.05%
MCQEE	NMT 0.10%	LT 0.02-LT 0.05%
LAQ	NMT 1.0%	LT 0.025-LT 0.2%
NEA	NMT 0.10%	LT 0.02-LT 0.05%
DELAQ	NMT 0.1%	LT 0.05-LT 0.1%
DMM	NMT 0.1%	LT 0.05-LT 0.1%
DMS	NMT 1 ppm	LT 1 ppm
乙醇	NMT 5000 ppm	LT 5-LT 25 ppm
正庚烷	NMT 5000 ppm	LT 10-LT 250 ppm
甲醇	NMT 3000 ppm	LT 30-LT 150 ppm
二噁烷	NMT 380 ppm	LT 10 ppm
DMF	NMT 880 ppm	LT 40-93 ppm
丙酮	NMT 5000 ppm	LT 250 ppm
正辛烷	NMT 2000 ppm	LT 10-LT 20 ppm
重金屬	NMT 20 ppm	NMT 20 ppm
自由氫離子	NMT 0.1%	LT 0.1%

實例27-拉喹莫德鈉藥品之批次分析

在不同製造設施下製造許多批次之拉喹莫德鈉藥品且隨後加以分析。在製造及分析期間，提供樣品溶液之足夠光保護。

所有批次之原料藥在規格內。

釋放數據之評估展示所有批次實際上在其釋放時已在規格內。此外，可看出建議用於商業化之所有製造批次之產品(例如拉喹莫德 0.6 mg膠囊)已展示與提出的商品規格相符。在所有量測參數之結果中發現隨時間推移之批次至批次一致性。批次分析結果證明用於臨床研究之所有批次之品質未與初級穩定性/已驗證批次之品質相差明顯，且在兩個建議製造地點之生產提供具有相似品質之材料。

表52、表53、表54、表55、表55及表56涉及拉喹莫德鈉藥品批次之批次分析。

表52.拉喹莫德0.6 mg膠囊批次23-31之批次分析

批次號	極性雜質/降解產物[%]			非極性雜質/降解產物[%]			BH-3-HLAQ [%]
	MCQ及 MCQCA之總和	任何其他	總雜質	NEA	任何其他	總雜質	
當前方法	實例21			實例22			實例23
當前規格	NMT 0.5	NMT 0.5	NMT 2.0	NMT 0.5	NMT 0.5	NMT 1.0	NMT 1.0
批次23	<0.03	<0.02	<0.05	<0.03	<0.03	<0.1	<0.02 ⁵
批次24	<0.03	<0.02	<0.05	<0.03	<0.03	<0.1	<0.02 ⁵
批次25	<0.03	<0.02	<0.05	<0.03	<0.03	<0.1	<0.02 ⁵
批次26	<0.03	<0.02	<0.05	<0.03	<0.03	<0.1	<0.02 ⁵
批次27	<0.03	<0.02	<0.05	<0.03	<0.03	<0.1	<0.02 ⁵ 0.06 ^{5,6}
批次28	<0.03	<0.05	<0.05	<0.03	<0.03	<0.1	<0.02 ⁵
批次29	<0.03	<0.02	<0.05	<0.03	<0.03	<0.1	<0.02 ⁵
批次30	<0.03	<0.05	<0.05	<0.03	<0.03	<0.1	<0.02 ⁵
批次31	<0.03	<0.05	<0.05	<0.03	<0.03	<0.1	<0.02 ⁵

⁴ 使用先前用於測定MEG-LAQ之方法進行分析。

⁵ 在此等批次釋放後引入BH-3-HLAQ之測試。關於BH-3-HLAQ所列舉之結果為所有封裝組態在最後可獲得的穩定性時點在25°C/60%RH下所獲得(批次23及批次27-30為18個月，批次24-26為9個月且批次31為3個月)，一個除外(參見腳註6)。

⁶ 關於批次27，在Alu/Alu發泡劑中獲得0.06%之結果。

表52之當前QL及DL值：

	定量極限	偵測極限
MCQ及MCQCA之總和	0.1%	0.03%
5-HLAQ	0.05%	0.02%
NEA ¹	0.1%	0.03%
3-HLAQ ¹	0.1%	0.03%
MEG-LAQ	0.2%	0.1%
BH-3-HLAQ	0.05%	0.02%

¹ NEA及3-HLAQ自商品規格省略，因為其在批次釋放及在所有測試儲存條件下迄今完成之穩定性測試時從未被觀測到。使用所列舉之方法繼續監測初級穩定性批次中之此等雜質，直至穩定性程式結束為止。



表53.拉喹莫德0.6 mg膠囊之批次分析(批次32-38)

批次號	極性雜質/降解產物[%]			非極性雜質/降解產物[%]			BH-3-HLAQ [%]
	MCQ及MCQCA 之總和	任何其他	總雜質	NEA	任何其他	總雜質	
當前規格	NMT 0.5	NMT 0.5	NMT 2.0	NMT 0.5	NMT 0.5	NMT 1.0	NMT 1.0
批次32	<0.03	MCQME: <0.02 MCQEE: <0.02	<0.05	<0.03	<0.03	<0.1	NA ⁶
批次33	<0.03	MCQME: <0.02 MCQEE: <0.02	<0.05	<0.03	<0.03	<0.1	NA ⁶
批次34	<0.03	MCQME: <0.02 MCQEE: <0.02	<0.05	<0.03	<0.03	<0.1	NA ⁶
批次35	<0.03	MCQME: <0.02 MCQEE: <0.02	<0.05	<0.03	<0.03	<0.1	NA ⁶
批次36	<0.03	MCQME: <0.02 MCQEE: <0.02	<0.05	<0.03	<0.03	<0.1	NA ⁶
批次37	<0.03	MCQME: <0.02 MCQEE: <0.02 RRT 0.23: 0.05	0.05	<0.03	<0.03	<0.1	NA ⁶
批次38	<0.03	MCQME: <0.02 MCQEE: <0.02	<0.05	<0.03	<0.03	<0.1	NA ⁶

⁶ 在此批次釋放後，測定規格中引入之BH-3-HLAQ及水含量。

表53之當前QL及DL值：

	定量極限	偵測極限
MCQ及MCQCA之總和	0.1%	0.03%
5-HLAQ	0.05%	0.02%
NEA ¹	0.1%	0.03%
3-HLAQ ¹	0.1%	0.03%
MEG-LAQ	0.2%	0.1%
BH-3-HLAQ	0.05%	0.02%

¹ NEA及3-HLAQ自商品規格省略，因為其在批次釋放時及在所有測試儲存條件下迄今完成之穩定性測試期間從未被觀測到。使用所列舉之方法繼續監測初級穩定性批次中之此等雜質，直至穩定性程式結束為止。



表54.拉喹莫德膠囊0.3 mg之批次分析(批次39-42)

批次號	使用	極性雜質/降解產物[%]				非極性雜質/降解產物[%]		
		MCQ及 MCQCA之總和	MCQEE	任何其他	總雜質	NEA	任何其他	總雜質
當前規格		NMT 0.5	NA	NMT 0.5	NMT 2.0	NMT 0.5	NMT 0.5	NMT 1.0
批次39	C, S	MCQ: <0.02 MCQCA: <0.03	<0.02	RRT 0.35: <0.05	<0.05	<0.02	<0.02	<0.05
批次40	S	<0.03	NA	MCQME: <0.02 MCQEE: <0.02	<0.05	<0.03	<0.03	<0.1
批次41	C, S	<0.03	NA	MCQME: <0.02 MCQEE: <0.02	<0.05	<0.03	<0.03	<0.1
批次42	C, S	<0.03	NA	MCQME: <0.02 MCQEE: <0.02	<0.05	<0.03	<0.03	<0.1

表55.拉喹莫德膠囊0.3 mg之批次分析(批次43)

批次號	濃度(式)	極性雜質/降解產物[%]					非極性雜質/降解產物[%]			
		MCQ	MCQEE	MCQCA	任何其他	總雜質	NEA	任何其他	總雜質	
規格		NMT 0.5	NMT 0.5	NMT 0.5	NMT 0.5	NMT 2.0	NMT 0.5	NMT 0.5	NMT 1.0	
批次43	0.3 mg (III)	<0.02	<0.02	<0.03	RRT 0.35: <0.05 RRT 0.18: 0.09 RRT 0.24: 0.08	0.3	<0.02	RRT 2.30: 0.09	0.1	

表56.拉喹莫德錠劑0.05 mg、0.25 mg及0.3 mg之批次分析(批次44-49)

批次號	濃度	相關物質[%]				
		NEA	MCQ及MCQCA	MCQEE	任何未知	雜質總和
最新有效規格		NMT 0.1	NMT 0.5	NMT 0.1	NMT 0.2	NMT 1.5
批次44	0.05 mg	<0.0080	各<1.0	各<1.0	各<1.0	<0.10
批次45	0.25 mg	0.009	各<1.0	各<1.0	各<1.0	<0.10
批次46	0.3 mg	0.031	0.22	<0.02	最大<0.03	0.22 ⁴
批次47	0.3 mg	0.04	0.05	<0.020	符合	0.05
批次48	0.3 mg	0.03	0.05	<0.020	符合	0.05
批次49	0.3 mg	0.016	0.17	<0.020	<0.030	0.20

⁴ 附加規定雜質記錄：0.03% MCQME。

表57.拉喹莫德口服溶液1 mg/mL之批次分析(批次50)

批次號	濃度	相關物質[%]	N-乙基苯胺[%]
規格		NMT 4.0	NMT 0.1
批次50	1 mg/mL	<4.0	<0.01

參考文獻

1. U.S. Patent No. 6,077,851; U.S. Patent No. 6,875,869;
2. U.S. Patent No. 7,560,557;
3. U.S. Patent No. 7,589,208;
4. U.S. Patent No. 7,884,208;
5. U.S. Patent No. 7,989,473;
6. U.S. Patent No. 8,178,127;
7. U.S. Patent Application Publication No. 2006/0188581 A1;
8. U.S. Patent Application Publication No. 2012/0010239 A1;
9. U.S. Patent Application Publication No. 2013/0217724 A1;
10. U.S. Patent Application Publication No. 2013/00345256;
11. PCT International Application Publication No. WO 2005/074899;
12. PCT International Application Publication No. WO 2003/106424 A1;
13. PCT International Application Publication No. WO 2007/047863 A22
14. 21 C.F.R. §211.166;
15. Felmeister, A. Chpt 88, *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 15th Edition, Mack Publishing Company, Easton, PA (1975);
16. Hausner, 「The Role of Particle Size in the Development of Generic Products」 2003;
17. Brumfitt, W. and J. M. T. Hamilton-Miller, *J. Antimicrobial Chemotherapy* 42:363:371 (1998);
18. Rudnic et al. Chpt. 45, *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 20th Edition, Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, MD. (2000);

19. United States Pharmacopeia XXV (2000);
20. United States Pharmacopeia 34/National Formulary 29, (2011);
21. 7 Modern Pharmaceutics, Chapters 9 and 10 (Banker & Rhodes, Editors, 1979);
22. Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets (Lieberman et al., 1981);
23. Ansel, Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms 2nd Edition (1976);
24. Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th ed. (Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985);
25. Advances in Pharmaceutical Sciences (David Ganderton, Trevor Jones, Eds., 1992);
26. Advances in Pharmaceutical Sciences Vol. 7. (David Ganderton, Trevor Jones, James McGinity, Eds., 1995);
27. Aqueous Polymeric Coatings for Pharmaceutical Dosage Forms (Drugs and the Pharmaceutical Sciences, Series 36 (James McGinity, Ed., 1989);
28. Pharmaceutical Particulate Carriers: Therapeutic Applications: Drugs and the Pharmaceutical Sciences, Vol 61 (Alain Rolland, Ed., 1993);
29. Drug Delivery to the Gastrointestinal Tract (Ellis Horwood Books in the Biological Sciences. Series in Pharmaceutical Technology; J. G. Hardy, S. S. Davis, Clive G. Wilson, Eds.) (1989);
30. Modern Pharmaceutics Drugs and the Pharmaceutical Sciences, Vol 40 (Gilbert S. Banker, Christopher T. Rhodes, Eds.)(1996);
31. Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry. 5th edition.

Longman Scientific & Technical, 1989;

32. Polman, C. et al., (2005) 「Treatment with laquinimod reduces development of active MRI lesions in relapsing MS」, *Neurology*. 64:987-991;

33. Sandberg-Wollheim M, et al. (2005) 「48-week open safety study with high-dose oral laquinimod in patients」, *Mult Scler*.11:S154); and

34. K. Jansson et al., 「Synthesis and Reactivity of Laquinimod, a Quinoline-3-carboxamide: Intramolecular Transfer of the Enol Proton to a Nitrogen Atom as a Plausible Mechanism for Ketene Formation (2006) *J. Org. Chem.*, 71, 1658-1667.

【符號說明】

無

201519892

發明摘要

※ 申請案號：

103 10 9454

※ 申請日：

103. 3. 14

※IPC 分類：

A61K 31/4704 (2006.01)

G01N 33/15 (2006.01)

C07C 235/16 (2006.01)

C07D 215/52 (2006.01)

C07D 215/56 (2006.01)

【發明名稱】

拉喹莫德鈉之結晶及其製造之改良方法

CRYSTALS OF LAQUINIMOD SODIUM AND IMPROVED
PROCESS FOR THE MANUFACTURE THEREOF

【中文】

本發明提供拉喹莫德鈉(laquinimod sodium)結晶粒子之混合物，其中(i)佔總體積量90%或90%以上之拉喹莫德鈉粒子具有40微米或40微米以下之粒徑或(ii)佔總體積量50%或50%以上之拉喹莫德鈉粒子具有15微米或15微米以下之粒徑，且其中：

a) 該混合物具有0.2 g/mL至0.4 g/mL之容積密度；

b) 該混合物具有0.40 g/mL至0.7 g/mL之敲緊密度；

c) 該混合物中重金屬之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過0.002%的重金屬；

d) 該混合物中5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉(MCQ)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.15%；

e) 該混合物中5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.15%；或

f) 該混合物中5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.12%。

本發明亦提供一種醫藥組合物，其包含一定量拉喹莫德及2-氯-6-(3-(乙基(苯基)胺基)-2-羥基-N-甲基-3-側氧基丙醯胺基)苯甲酸(BH-3-HLAQ)、5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)、5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)、5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)、N-乙基苯胺(NEA)及5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯(MCQEE)中之至少一者。本發明亦提供用於製備BH-3-HLAQ、MCQ、MCQCA、MCQME、MCQEE之方法及藉由該等方法製備之化合物。本發明亦提供一種測試拉喹莫德樣品是否含有不希望有的雜質之方法。

本發明另外提供一種製備包含拉喹莫德之驗證醫藥組合物的方法、一種製備包含拉喹莫德之醫藥組合物或用於分配該已驗證批次之包含拉喹莫德之醫藥組合物的方法、一種驗證含有拉喹莫德或其醫藥學上可接受之鹽及醫藥學上可接受之載劑之醫藥產品批次以用於分配的方法、及一種製備包含拉喹莫德或其醫藥學上可接受之鹽之封裝醫藥組合物的方法，每一方法包括測定樣品或批次中BH-3-HLAQ、MCQ、MCQCA、MCQME、NEA及MCQEE中之至少一者的量。

本發明另外提供一種以BH-3-HLAQ、MCQ、MCQCA、MCQME、MCQEE作為參考標準物於偵測包含拉喹莫德之醫藥組合物中痕量雜質上之用途。

最後，本發明提供一種測定包含拉喹莫德之醫藥組合物中BH-3-HLAQ、MCQ、MCQCA、MCQME、MCQEE、5-HLAQ、SPIRO-LAQ或3 H-LAQ之濃度的方法。

【英文】

The subject invention provides a mixture of crystalline laquinimod sodium particles, wherein (i) 90% or more of the total amount by volume of the laquinimod sodium particles have a size of 40 microns or less or (ii) 50% or more of the total amount by volume of the laquinimod sodium particles have a size of 15 microns or less, and wherein:

- a) the mixture has a bulk density of 0.2 g/mL to 0.4 g/mL;
- b) the mixture has a tapped density of 0.40 g/mL to 0.7 g/mL;
- c) an amount of heavy metal in the mixture is no more than 0.002% of heavy metal relative to the amount by weight of laquinimod sodium;
- d) an amount of 5-chloro-4-hydroxy-1-methyl-2-oxo-1,2-dihydroquinoline (MCQ) in the mixture is no more than 0.15% relative to the amount of laquinimod sodium as measured by HPLC;
- e) an amount of 5-chloro-4-hydroxy-1-methyl-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylic acid (MCQCA) in the mixture is no more than 0.15% relative to the amount of laquinimod sodium as measured by HPLC; or
- f) an amount of methyl 5-chloro-4-hydroxy-1-methyl-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylate (MCQME) in the mixture is no more than 0.12% relative to the amount of laquinimod sodium as measured by HPLC.

The subject invention also provides a pharmaceutical composition comprising an amount of laquinimod and at least one of 2-chloro-6-(3-(ethyl(phenyl)amino)-2-hydroxy-N-methyl-3-oxopropanamido)benzoic acid (BH-3-HLAQ), 5-Chloro-4-hydroxy-1-methylquinolin-2(1*H*)-one (MCQ), 5-Chloro-4-hydroxy-1-methyl-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylic acid (MCQCA), Methyl 5-chloro-4-hydroxy-1-methyl-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylate (MCQME), N-Ethylaniline (NEA), and Ethyl 5-chloro-4-hydroxy-1-methyl-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylate (MCQEE). The subject invention also provides processes for preparing BH-3-HLAQ,

MCQ, MCQCA, MCQME, MCQEE, and compounds prepared by said processes. The subject invention also provides a process for testing whether a sample of laquinimod contains an undesirable impurity.

The subject invention further provides a process for preparing a validated pharmaceutical composition comprising laquinimod, a process for preparing a pharmaceutical composition comprising laquinimod, or for distributing a validated batch of a pharmaceutical composition comprising laquinimod, a process for validating a batch of a pharmaceutical product containing laquinimod or a pharmaceutically acceptable salt thereof and a pharmaceutically acceptable carrier for distribution, and a process for preparing a packaged pharmaceutical composition comprising laquinimod or a pharmaceutically acceptable salt thereof, each comprising determining the amount of at least one of BH-3-HLAQ, MCQ, MCQCA, MCQME, NEA, and MCQEE in a sample or batch.

The subject invention further provides use of BH-3-HLAQ, MCQ, MCQCA, MCQME, MCQEE as a reference standard to detect trace amounts of the impurity in a pharmaceutical composition comprising laquinimod.

Finally, the subject invention provides methods of determining the concentration of BH-3-HLAQ, MCQ, MCQCA, MCQME, MCQEE, 5-HLAQ, SPIRO-LAQ or 3 H-LAQ in a pharmaceutical composition comprising laquinimod.

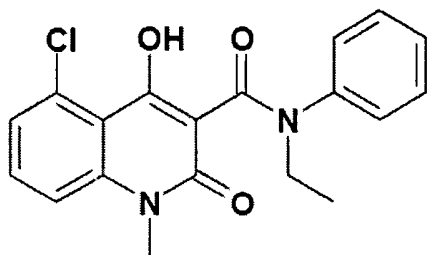
【代表圖】

【本案指定代表圖】：第（3）圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：

無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：



申請專利範圍

1. 一種拉喹莫德鈉(laquininod sodium)結晶粒子之混合物，其中(i)佔總體積量90%或90%以上之該等拉喹莫德鈉粒子具有40微米或40微米以下之粒徑或(ii)佔總體積量50%或50%以上之該等拉喹莫德鈉粒子具有15微米或15微米以下之粒徑，且其中：
 - a. 該混合物具有0.2 g/mL至0.4 g/mL之容積密度；
 - b. 該混合物具有0.40 g/mL至0.7 g/mL之敲緊密度；
 - c. 該混合物中存在之重金屬之量相對於拉喹莫德鈉重量計為不超過20 ppm的重金屬；
 - d. 該混合物中存在之5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.15%；
 - e. 該混合物中存在之5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.15%；
 - f. 該混合物中存在之5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.12%；
 - g. 該混合物中存在之5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.10%；
 - h. 該混合物中存在之*N*-乙基苯胺(NEA)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.10%；或
 - i. 該混合物中存在之*N*-乙基-4,5-二羥基-1-甲基-2-側氧基-*N*-苯基-1,2-二氫喹啉-3-甲醯胺(5-HLAQ)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.10%。

2. 如請求項1之混合物，其中(i)佔總體積量90%或90%以上之該等拉喹莫德鈉粒子具有小於40微米之粒徑或(ii)佔總體積量50%或50%以上之該等拉喹莫德鈉粒子具有小於15微米之粒徑。
3. 如請求項1或2之混合物，其中佔總體積量10%或10%以上之該等拉喹莫德鈉粒子具有5微米或5微米以下之粒徑，且其中：
 - a. 該混合物具有0.40 g/mL至0.7 g/mL之敲緊密度；或
 - b. 該混合物中存在之5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.15%。
4. 一種拉喹莫德鈉結晶粒子之混合物，其中(i)佔總體積量90%或90%以上之該等拉喹莫德鈉粒子具有小於40微米之粒徑，(ii)佔總體積量50%或50%以上之該等拉喹莫德鈉粒子具有小於15微米之粒徑，及(iii)佔總體積量10%或10%以上之該等拉喹莫德鈉粒子具有小於5微米之粒徑且其中：
 - a. 該混合物具有0.2 g/mL至0.4 g/mL之容積密度；
 - b. 該混合物具有0.40 g/mL至0.7 g/mL之敲緊密度；
 - c. 該混合物中存在之重金屬之量相對於拉喹莫德鈉重量計為不超過20 ppm的重金屬；
 - d. 該混合物中存在之5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.15%；
 - e. 該混合物中存在之5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.15%；
 - f. 該混合物中存在之5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.12%；
 - g. 該混合物中存在之5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹

啉-3-甲酸甲酯(MCQME)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.10%；

h. 該混合物中存在之N-乙基苯胺(NEA)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.10%；或

i. 該混合物中存在之N-乙基-4,5-二羥基-1-甲基-2-側氧基-N-苯基-1,2-二氫喹啉-3-甲醯胺(5-HLAQ)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.10%。

5. 如請求項1至4中任一項之混合物，其係製成包含2.5 kg或2.5 kg以上拉喹莫德鈉之單一批次。
6. 如請求項1至5中任一項之混合物，其中該等拉喹莫德鈉粒子係基於該混合物未經研磨之樣品測定。
7. 如請求項1至5中任一項之混合物，其中拉喹莫德鈉粒子之粒徑及以體積計之量係基於該混合物經研磨之樣品測定。
8. 如請求項1至7中任一項之混合物，其具有0.2 g/mL至0.4 g/mL之容積密度。
9. 如請求項1至8中任一項之混合物，其具有0.40 g/mL至0.7 g/mL之敲緊密度。
10. 如請求項1至9中任一項之混合物，其中該混合物中鋁之量相對於拉喹莫德鈉重量計為小於5 ppm。
11. 如請求項1至10中任一項之混合物，其中該混合物中鋁之量相對於拉喹莫德鈉重量計為小於2 ppm。
12. 如請求項1至11中任一項之混合物，其中該混合物中鈣之量相對於拉喹莫德鈉重量計為小於60 ppm。
13. 如請求項1至12中任一項之混合物，其中該混合物中鈣之量相對於拉喹莫德鈉重量計為小於25 ppm。
14. 如請求項1至13中任一項之混合物，其中該混合物中銅之量相對於

於拉喹莫德鈉重量計為小於1 ppm。

15. 如請求項1至14中任一項之混合物，其中該混合物中銅之量相對於拉喹莫德鈉重量計為小於0.6 ppm。
16. 如請求項1至15中任一項之混合物，其中該混合物中鋅之量相對於拉喹莫德鈉重量計為小於7 ppm。
17. 如請求項1至16中任一項之混合物，其中該混合物中鋅之量相對於拉喹莫德鈉重量計為小於4 ppm。
18. 如請求項1至17中任一項之混合物，其中該混合物中重金屬之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過20 ppm。
19. 如請求項1至18中任一項之混合物，其中該混合物中極性雜質之總量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過1.00%。
20. 如請求項1至19中任一項之混合物，其中該混合物中5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.15%。
21. 如請求項1至20中任一項之混合物，其中該混合物中5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.15%。
22. 如請求項1至21中任一項之混合物，其中該混合物中5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.12%。
23. 如請求項1至21中任一項之混合物，其中該混合物中存在之5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.10%。
24. 如請求項1至23中任一項之混合物，其中該混合物中5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯(MCQEE)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.10%。

25. 如請求項1至24中任一項之混合物，其中該混合物中非極性雜質之總量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.50%。
26. 如請求項1至25中任一項之混合物，其中該混合物中N-乙基苯胺 (NEA) 之量如由 HPLC 所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過 0.10%。
27. 如請求項1至26中任一項之混合物，其中該混合物中N-乙基-4,5-二羥基-1-甲基-2-側氧基-N-苯基-1,2-二氫喹啉-3-甲醯胺 (5-HLAQ) 之量如由 HPLC 所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過 0.10%。
28. 如請求項1至27中任一項之混合物，其中該混合物中5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-N-苯基-1,2-二氫喹啉-3-甲醯胺 (DELAQ) 之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.10%。
29. 如請求項1至28中任一項之混合物，其中該混合物中拉喹莫德酸之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過1.00%。
30. 如請求項1至29中任一項之混合物，其中該混合物中丙二酸二甲酯之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.10%。
31. 如請求項1至30中任一項之混合物，其中該混合物中丙二酸二乙酯之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.10%。
32. 如請求項1至31中任一項之混合物，其中該混合物中硫酸二甲酯之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過1 ppm。
33. 如請求項1至32中任一項之混合物，其中該混合物中水之量如由K.F.電量滴定所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過1.5重量%。
34. 如請求項1至33中任一項之混合物，其包含相對於拉喹莫德鈉重量計5.8%至6.4%之鈉量。
35. 如請求項1至34中任一項之混合物，其中該混合物中乙醇之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過5000 ppm。

36. 如請求項1至35中任一項之混合物，其中該混合物中正庚烷之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過5000 ppm。
37. 如請求項1至36中任一項之混合物，其中該混合物中正辛烷之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過2000 ppm。
38. 如請求項37之混合物，其中該混合物中正辛烷之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過200 ppm。
39. 如請求項38之混合物，其中該混合物中正辛烷之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過20 ppm。
40. 如請求項1至39中任一項之混合物，其中該混合物中甲醇之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過3000 ppm。
41. 如請求項1至40中任一項之混合物，其中該混合物中丙酮之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過5000 ppm。
42. 如請求項1至41中任一項之混合物，其中該混合物中二噁烷之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過380 ppm。
43. 如請求項1至42中任一項之混合物，其中該混合物中二甲基甲醯胺之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過880 ppm。
44. 一種醫藥組合物，其包含如請求項1至43中任一項之混合物及醫藥學上可接受之載劑。
45. 如請求項44之醫藥組合物，其中該醫藥組合物中5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)及5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)之總量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.50%。
46. 如請求項44或45之醫藥組合物，其中該醫藥組合物中極性雜質之總量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過2.00%。
47. 如請求項44至46中任一項之醫藥組合物，其中該醫藥組合物中N-乙基苯胺(NEA)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量

不超過0.50%。

48. 如請求項44至47中任一項之醫藥組合物，其中該醫藥組合物中5-氯-N-乙基-3-羥基-1-甲基-2,4-二側氧基-N-苯基-1,2,3,4-四氫喹啉-3-甲醯胺(3-HLAQ)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.50%。
49. 如請求項44至48中任一項之醫藥組合物，其中該醫藥組合物中非極性雜質之總量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過1.00%。
50. 如請求項44至49中任一項之醫藥組合物，其中該醫藥組合物中N-乙基-4-羥基-1-甲基-5-(甲基(2,3,4,5,6-五羥基己基)胺基)-2-側氧基-N-苯基-1,2-二氫喹啉-3-甲醯胺(MEG-LAQ)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過1.00%。
51. 如請求項44至50中任一項之醫藥組合物，其中該醫藥組合物中水之量如由K.F.電量滴定所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過1.50%。
52. 如請求項44至51中任一項之醫藥組合物，其中該醫藥組合物中水之量如由K.F.電量滴定所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.80%。
53. 如請求項44至52之醫藥組合物，其包含相對於拉喹莫德鈉重量計5.8%至6.4%之鈉量。
54. 如請求項44至53之醫藥組合物，其中該醫藥組合物中乙醇之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過5000 ppm。
55. 如請求項44至54之醫藥組合物，其中該醫藥組合物中正庚烷之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過5000 ppm。
56. 如請求項44至55之醫藥組合物，其中該醫藥組合物中正辛烷之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過2000 ppm。

57. 如請求項56之醫藥組合物，其中該醫藥組合物中正辛烷之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過200 ppm。
58. 如請求項57之醫藥組合物，其中該醫藥組合物中正辛烷之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過20 ppm。
59. 如請求項44至58之醫藥組合物，其中該醫藥組合物中甲醇之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過380 ppm。
60. 如請求項44至59之醫藥組合物，其中該醫藥組合物中丙酮之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過880 ppm。
61. 如請求項44至60之醫藥組合物，其中該醫藥組合物中二噁烷之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過380 ppm。
62. 如請求項44至61之醫藥組合物，其中該醫藥組合物中二甲基甲醯胺之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過880 ppm。
63. 一種治療罹患以下病症之個體的方法，該病症為多發性硬化症之一種形式、狼瘡腎炎、狼瘡關節炎、類風濕性關節炎、BDNF相關病症、克羅恩氏病(Crohn's disease)、GABA相關病症、1型大麻素受體(CB1)介導之病症或眼睛發炎性病症，該方法包括向該個體投與如請求項1至43中任一項之混合物或如請求項44至62中任一項之醫藥組合物，藉以治療該個體。
64. 一種為罹患多發性硬化症之一種形式之個體緩解以下病症之症狀的方法，該病症為多發性硬化症、狼瘡腎炎、狼瘡關節炎、類風濕性關節炎、BDNF相關病症、克羅恩氏病、GABA相關病症、1型大麻素受體(CB1)介導之病症或眼睛發炎性病症，該方法包括向該個體投與如請求項1至43中任一項之混合物或如請求項44至62中任一項之醫藥組合物，藉以緩解該個體之多發性硬化症症狀。
65. 如請求項1至43中任一項之混合物或如請求項44至62中任一項之

醫藥組合物，其適用於治療以下病症或緩解以下病症之症狀：
多發性硬化症之一種形式、狼瘡腎炎、狼瘡關節炎、類風濕性關節炎、BDNF相關病症、克羅恩氏病、GABA相關病症、1型大麻素受體(CB1)介導之病症或眼睛發炎性病症。

66. 一種如請求項1至43中任一項之混合物或如請求項44至62中任一項之醫藥組合物之用途，其係用於製造用於治療以下病症或緩解以下病症之症狀之藥劑：多發性硬化症之一種形式、GABA相關之病症、1型大麻素受體(CB1)介導之病症、狼瘡腎炎、狼瘡關節炎、類風濕性關節炎、BDNF相關病症、克羅恩氏病或眼睛發炎性病症。
67. 一種使拉喹莫德鈉再結晶之方法，其包括：
 - a. 將一定量拉喹莫德鈉溶解於水中形成水溶液；
 - b. 濃縮該水溶液，形成每公克拉喹莫德鈉包含約1.7-1.8 mL水之濃溶液；
 - c. 添加丙酮至步驟b)之濃溶液；及
 - d. 分離再結晶之拉喹莫德鈉。
68. 如請求項67之方法，其中步驟a)中拉喹莫德鈉之量為2.5 kg或2.5 kg以上。
69. 如請求項67或68之方法，其中步驟a)係以每公克拉喹莫德鈉使用10-12 mL水來進行。
70. 如請求項69之方法，其中步驟a)係以每公克拉喹莫德鈉使用約11 mL水來進行。
71. 如請求項67至70中任一項之方法，其中步驟a)係藉由加熱該水溶液至58-75°C之溫度來進行。
72. 如請求項71之方法，其中步驟a)係藉由加熱該水溶液至60-73°C之溫度來進行。

73. 如請求項67至72中任一項之方法，其中係在步驟a)之後及步驟c)之前進行結晶。
74. 如請求項73之方法，其中係藉由在濃縮步驟b)期間或之後迅速攪拌來誘發結晶。
75. 如請求項73之方法，其中係藉由在濃縮步驟b)期間或之後添加晶種來誘發結晶。
76. 如請求項73之方法，其中係在未添加晶種的情況下發生結晶。
77. 如請求項67至76中任一項之方法，其中步驟b)係在適合於在每公克拉喹莫德鈉使用1.7-1.8 mL水之濃度下誘發結晶的條件下進行。
78. 如請求項67至76中任一項之方法，其中步驟b)係在28-45°C下進行。
79. 如請求項78之方法，其中步驟b)係在30-40°C下進行。
80. 如請求項67至79中任一項之方法，其中步驟c)係以該濃溶液在40-55°C下進行。
81. 如請求項80之方法，其中步驟c)係以該濃溶液在45-50°C下進行。
82. 如請求項67至81中任一項之方法，其中步驟c)係以每公克拉喹莫德鈉使用6-12 mL丙酮來進行。
83. 如請求項78之方法，其中步驟c)係以每公克拉喹莫德鈉使用約10 mL丙酮來進行。
84. 如請求項67至83中任一項之方法，其中步驟c)係經1-4小時之時間來進行。
85. 如請求項84之方法，其中步驟c)係歷經1.2-2.5小時之時間來進行。
86. 如請求項67至85中任一項之方法，其中步驟c)後為冷卻該溶液至

不低於-14°C且不超過6°C之溫度。

87. 如請求項86之方法，其中步驟c)後為冷卻該溶液至不低於-4°C且不超過4°C之溫度。
88. 如請求項67至87中任一項之方法，其中該溶液經3-5小時之時間冷卻。
89. 如請求項88之方法，其中該溶液經3.5-4.5小時之時間冷卻。
90. 如請求項67至88中任一項之方法，其中步驟d)另外包括每公克步驟a)所使用之粗物質拉喹莫德鈉使用1-4 mL丙酮洗滌該再結晶之拉喹莫德鈉。
91. 如請求項90之方法，其中步驟d)另外包括每公克步驟a)所使用之粗物質拉喹莫德鈉使用約3 mL丙酮洗滌該再結晶之拉喹莫德鈉。
92. 如請求項67至91中任一項之方法，其中步驟d)另外包含在30-40°C下，在不超過50 mmHg之真空下，乾燥該再結晶之拉喹莫德鈉不少於一小時。
93. 如請求項67至92中任一項之方法，其中步驟d)中之該經分離之再結晶拉喹莫德鈉為拉喹莫德鈉結晶粒子之混合物，該等拉喹莫德鈉結晶粒子之粒徑分佈使得(i)佔總體積量90%或90%以上之該等拉喹莫德鈉粒子具有40微米或40微米以下之粒徑，(ii)佔總體積量50%或50%以上之該等拉喹莫德鈉粒子具有15微米或15微米以下之粒徑，及(iii)佔總體積量10%或10%以上之該等拉喹莫德鈉粒子具有小於5微米或5微米以下之粒徑。
94. 一種拉喹莫德鈉結晶粒子之混合物，其係藉由如請求項67至93中任一項來製備。
95. 如請求項94之混合物，其中(i)佔總體積量90%或90%以上之該等拉喹莫德鈉粒子具有40微米或40微米以下之粒徑，(ii)佔總體積

量50%或50%以上之該等拉喹莫德鈉粒子具有15微米或15微米以下之粒徑，及(iii)佔總體積量10%或10%以上之該等拉喹莫德鈉粒子具有5微米或5微米以下之粒徑。

96. 如請求項94或95之混合物，其中：

- a. 該混合物具有0.2 g/mL至0.4 g/mL之容積密度；
- b. 該混合物具有0.40 g/mL至0.7 g/mL之敲緊密度；
- c. 該混合物中鋁之量相對於拉喹莫德鈉重量計為小於5 ppm；
- d. 該混合物中鈣之量相對於拉喹莫德鈉重量計為小於60 ppm；
- e. 該混合物中銅之量相對於拉喹莫德鈉重量計為小於1 ppm；
- f. 該混合物中鋅之量相對於拉喹莫德鈉重量計為小於7 ppm；
- g. 該混合物中重金屬之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過20 ppm；
- h. 該混合物中極性雜質之總量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過1.00%；
- i. 該混合物中5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.15%；
- j. 該混合物中5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.15%；
- k. 該混合物中5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.12%；
- l. 該混合物中5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.10%；

m. 該混合物中5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯(MCQEE)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.10%；

n. 該混合物中非極性雜質之總量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.50%；

o. 該混合物中N-乙基苯胺(NEA)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.10%；

p. 該混合物中拉喹莫德酸之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過1.00%；

q. 該混合物中丙二酸二甲酯之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.10%；

r. 該混合物中丙二酸二乙酯之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.10%；

s. 該混合物中硫酸二甲酯之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過1 ppm；

t. 該混合物中水之量如由K.F.電量滴定所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過1.5重量%；

u. 該混合物包含相對於拉喹莫德鈉重量計5.8%至6.4%之鈉量；

v. 該混合物中乙醇之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過5000 ppm；

w. 該混合物中正庚烷之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過5000 ppm；

x. 該混合物中正辛烷之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過2000 ppm；

y. 該混合物中正辛烷之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過200

ppm ;

z. 該混合物中正辛烷之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過20 ppm ;

aa. 該混合物中甲醇之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過3000 ppm ;

bb. 該混合物中丙酮之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過5000 ppm ;

cc. 該混合物中二噁烷之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過380 ppm ; 或

dd. 該混合物中二甲基甲醯胺之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過880 ppm 。

97. 如請求項94或95之混合物，其中：

a. 該混合物具有0.2 g/mL至0.4 g/mL之容積密度；

b. 該混合物具有0.40 g/mL至0.7 g/mL之敲緊密度；

c. 該混合物中鋁之量相對於拉喹莫德鈉重量計為小於5 ppm；

d. 該混合物中鈣之量相對於拉喹莫德鈉重量計為小於60 ppm；

e. 該混合物中銅之量相對於拉喹莫德鈉重量計為小於1 ppm；

f. 該混合物中鋅之量相對於拉喹莫德鈉重量計為小於7 ppm；

g. 該混合物中重金屬之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過20 ppm；

h. 該混合物中極性雜質之總量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過1.00%；

i. 該混合物中5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.15%；

j. 該混合物中5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-

甲酸(MCQCA)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.15%；

k. 該混合物中5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.12%；

l. 該混合物中5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.10%；

m. 該混合物中5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯(MCQEE)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.10%；

n. 該混合物中非極性雜質之總量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.50%；

o. 該混合物中N-乙基苯胺(NEA)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.10%；

p. 該混合物中拉喹莫德酸之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過1.00%；

q. 該混合物中丙二酸二甲酯之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.10%；

r. 該混合物中丙二酸二乙酯之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.10%；

s. 該混合物中硫酸二甲酯之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過1 ppm；

t. 該混合物中水之量如由K.F.電量滴定所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過1.5重量%；

u. 該混合物包含相對於拉喹莫德鈉重量計5.8%至6.4%之鈉

量；

v. 該混合物中乙醇之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過5000 ppm；

w. 該混合物中正庚烷之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過5000 ppm；

x. 該混合物中正辛烷之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過2000 ppm、200 ppm或20 ppm；

y. 該混合物中甲醇之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過3000 ppm；

z. 該混合物中丙酮之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過5000 ppm；

aa. 該混合物中二噁烷之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過380 ppm；及

bb. 該混合物中二甲基甲醯胺之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過880 ppm。

98. 一種醫藥組合物，其包含如請求項94至97中任一項之混合物及醫藥學上可接受之載劑。

99. 如請求項98之醫藥組合物，其中：

a. 該醫藥組合物中5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)及5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)之總量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.50%；

b. 該醫藥組合物中極性雜質之總量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過2.00%；

c. 該醫藥組合物中N-乙基苯胺(NEA)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.50%；

d. 該醫藥組合物中非極性雜質之總量如由HPLC所量測相對於

拉喹莫德鈉之量不超過1.00%；

e. 該醫藥組合物中水之量如由K.F.電量滴定所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.80%；

f. 該醫藥組合物包含相對於拉喹莫德鈉重量計5.8%至6.4%之鈉量；

g. 該醫藥組合物中乙醇之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過5000 ppm；

h. 該醫藥組合物中正庚烷之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過5000 ppm；

i. 該醫藥組合物中正辛烷之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過2000 ppm；

j. 該醫藥組合物中正辛烷之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過200 ppm；

k. 該醫藥組合物中正辛烷之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過20 ppm；

l. 該醫藥組合物中甲醇之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過380 ppm；

m. 該醫藥組合物中丙酮之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過880 ppm；

n. 該醫藥組合物中二噁烷之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過380 ppm；或

o. 該醫藥組合物中二甲基甲醯胺之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過880 ppm。

100.如請求項98之醫藥組合物，其包括：

a. 該醫藥組合物中5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)及5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)之總

量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.50%；

b. 該醫藥組合物中極性雜質之總量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過2.00%；

c. 該醫藥組合物中N-乙基苯胺(NEA)之量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.50%；

d. 該醫藥組合物中非極性雜質之總量如由HPLC所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過1.00%；

e. 該醫藥組合物中水之量如由K.F.電量滴定所量測相對於拉喹莫德鈉之量不超過0.80%；

f. 該醫藥組合物包含相對於拉喹莫德鈉重量計5.8%至6.4%之鈉量；

g. 該醫藥組合物中乙醇之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過5000 ppm；

h. 該醫藥組合物中正庚烷之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過5000 ppm；

i. 該醫藥組合物中正辛烷之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過2000 ppm、200 ppm或20 ppm；

j. 該醫藥組合物中甲醇之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過380 ppm；

k. 該醫藥組合物中丙酮之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過880 ppm；

l. 該醫藥組合物中二噁烷之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過380 ppm；及

m. 該醫藥組合物中二甲基甲醯胺之量相對於拉喹莫德鈉重量計不超過880 ppm。

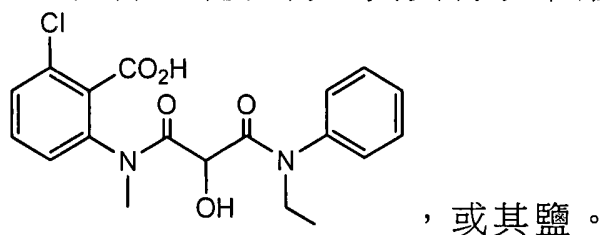
101.一種拉喹莫德鈉結晶粒子之混合物，其中(i)佔總體積量90%或

90%以上之該等拉喹莫德鈉粒子具有40微米或40微米以下之粒徑或(ii)佔總體積量50%或50%以上之該等拉喹莫德鈉粒子具有15微米或15微米以下之粒徑，且其中：

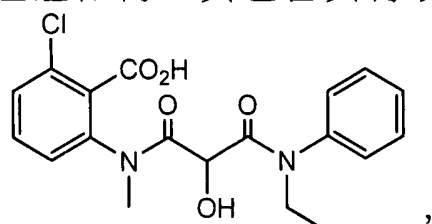
- a. 該混合物中鋁之量相對於拉喹莫德鈉重量計為小於5 ppm；
- b. 該混合物中鈣之量相對於拉喹莫德鈉重量計為小於60 ppm；
- c. 該混合物中銅之量相對於拉喹莫德鈉重量計為小於1 ppm；或
- d. 該混合物中鋅之量相對於拉喹莫德鈉重量計為小於7 ppm。

102.一種醫藥組合物，其包含如請求項101之混合物及醫藥學上可接受之載劑。

103.一種經分離之化合物，其具有以下結構：



104.一種組合物，其包含具有以下結構之化合物：



或其鹽，其中該組合物不含拉喹莫德或其鹽。

105.一種醫藥組合物，其包含一定量拉喹莫德及2-氯-6-(3-(乙基(苯基)胺基)-2-羥基-N-甲基-3-側氧基丙醯胺基)苯甲酸(BH-3-HLAQ)、5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)、5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)、5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)、N-乙基苯胺(NEA)及

5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯(MCQEE)中之至少一者，其中

a) 基於藉由HPLC方法之測定，2-氯-6-(3-(乙基(苯基)胺基)-2-羥基-N-甲基-3-側氧基丙醯胺基)苯甲酸(BH-3-HLAQ)以相對於拉喹莫德之濃度不超過**10%**之量存在於該醫藥組合物中，或

b) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)以相對於拉喹莫德之濃度不超過**10%**之量存在於該醫藥組合物中，或

c) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)以相對於拉喹莫德之濃度不超過**10%**之量存在於該醫藥組合物中，或

d) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)以相對於拉喹莫德之濃度不超過**10%**之量存在於該醫藥組合物中，或

e) 基於藉由HPLC方法之測定，N-乙基苯胺(NEA)以相對於拉喹莫德之濃度不超過**10%**之量存在於該醫藥組合物中，或

f) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯(MCQEE)以相對於拉喹莫德之濃度不超過**10%**之量存在於該醫藥組合物中。

106.如請求項105之醫藥組合物，其中

f) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)以相對於拉喹莫德之濃度不超過**0.15%**之量存在於該醫藥組合物中，或

g) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)以相對於拉喹莫德之濃度不超過**0.15%**之量存在於該醫藥組合物中，或

h) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)以相對於拉喹莫德之濃度不超過**0.15%**之量存在於該醫藥組合物中，或

i) 基於藉由HPLC方法之測定，N-乙基苯胺(NEA)以相對於拉喹莫德之濃度不超過**0.1%**之量存在於該醫藥組合物中，或

j) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯(MCQEE)以相對於拉喹莫德之濃度不超過**0.1%**之量存在於該醫藥組合物中。

107.如請求項106之醫藥組合物，其中基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)以相對於拉喹莫德之濃度不超過**0.12%**之量存在於該醫藥組合物中。

108.如請求項107之醫藥組合物，其中基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)以相對於拉喹莫德之濃度不超過**0.1%**之量存在於該醫藥組合物中。

109.如請求項106至108中任一項之醫藥組合物，其中

f) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)以相對於拉喹莫德之濃度小於**0.05%**之量存在於該醫藥組合物中，或

g) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)以相對於拉喹莫德之濃度小於**0.1%**之量存在於該醫藥組合物中，或

h) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)以相對於拉喹莫德之濃度小於**0.05%**之量存在於該醫藥組合物中，或

i) 基於藉由HPLC方法之測定，N-乙基苯胺(NEA)以相對於拉喹莫德之濃度小於**0.06%**存在於該醫藥組合物中，或

j) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯(MCQEE)以相對於拉喹莫德之濃度小於**0.05%**之量存在於該醫藥組合物中。

110.如請求項109之醫藥組合物，其中基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)以相對於拉喹莫德之濃度小於**0.05%**之量存在於該醫藥組合物中。

111.如請求項109或110之醫藥組合物，其中

f) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)以相對於拉喹莫德之濃度小於**0.02%**之量存在於該醫藥組合物中，或

g) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)以相對於拉喹莫德之濃度小於**0.03%**之量存在於該醫藥組合物中，或

h) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)以相對於拉喹莫德之濃度小於**0.02%**之量存在於該醫藥組合物中，或

i) 基於藉由HPLC方法之測定，N-乙基苯胺(NEA)以相對於拉喹莫德之濃度小於**0.02%**之量存在於該醫藥組合物中，或

j) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯(MCQEE)以相對於拉喹莫德之濃度小於**0.02%**之量存在於該醫藥組合物中。

112.如請求項111之醫藥組合物，其中基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)以相對於拉喹莫德之濃度小於**0.02%**之量存在於該醫藥組合物中。

113.如請求項106之醫藥組合物，其中

f) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)以相對於拉喹莫德之濃度大於**0.02%**且不超過**0.15%**之量存在於該醫藥組合物中，或

g) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)以相對於拉喹莫德之濃度大於**0.02%**且不超過**0.15%**之量存在於該醫藥組合物中，或

h) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)以相對於拉喹莫德之濃度大於**0.02%**且不超過**0.15%**之量存在於該醫藥組合物中，或

i) 基於藉由HPLC方法之測定，N-乙基苯胺(NEA)以相對於拉喹莫德之濃度大於**0.02%**且不超過**0.1%**之量存在於該醫藥組合物中，或

j) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯(MCQEE)以相對於拉喹莫德之濃度大於**0.02%**且不超過**0.1%**之量存在於該醫藥組合物中。

114.如請求項113之醫藥組合物，其中基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)以相對於拉喹莫德之濃度不超過**0.12%**之量存在於該醫藥組合物中。

115.如請求項114之醫藥組合物，其中基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)以相對於拉喹莫德之濃度不超過**0.1%**之量存在於該醫藥組合物中。

116.如請求項113之醫藥組合物，其中基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)以相

對於拉喹莫德之濃度大於**0.03%**之量存在於該醫藥組合物中。

117.如請求項113至116中任一項之醫藥組合物，其中

f) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)以相對於拉喹莫德之濃度大於**0.05%**且不超過**0.15%**之量存在於該醫藥組合物中，或

g) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)以相對於拉喹莫德之濃度大於**0.05%**或大於**0.10%**且不超過**0.15%**之量存在於該醫藥組合物中，或

h) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)以相對於拉喹莫德之濃度大於**0.05%**且小於**0.15%**之量存在於該醫藥組合物中，或

i) 基於藉由HPLC方法之測定，N-乙基苯胺(NEA)以相對於拉喹莫德之濃度大於**0.06%**且不超過**0.10%**存在於該醫藥組合物中，或

j) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯(MCQEE)以相對於拉喹莫德之濃度大於**0.05%**且不超過**0.10%**之量存在於該醫藥組合物中。

118.如請求項117之醫藥組合物，其中基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)以相對於拉喹莫德之濃度不超過**0.12%**之量存在於該醫藥組合物中。

119.如請求項118之醫藥組合物，其中基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)以相對於拉喹莫德之濃度不超過**0.1%**之量存在於該醫藥組合物中。

120.如請求項113至116中任一項之醫藥組合物，其中

f) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)以相對於拉喹莫德之濃度大於**0.02%**且小於**0.05%**之量存在於該醫藥組合物中，或

g) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)以相對於拉喹莫德之濃度大於**0.02%**或大於**0.03%**且小於**0.1%**之量存在於該醫藥組合物中，或

h) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)以相對於拉喹莫德之濃度大於**0.02%**且小於**0.05%**之量存在於該醫藥組合物中，或

i) 基於藉由HPLC方法之測定，N-乙基苯胺(NEA)以相對於拉喹莫德之濃度大於**0.02%**且小於**0.06%**存在於該醫藥組合物中，或

j) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯(MCQEE)以相對於拉喹莫德之濃度大於**0.02%**且小於**0.05%**之量存在於該醫藥組合物中。

121.如請求項120之醫藥組合物，其中基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)以相對於拉喹莫德之濃度小於**0.05%**之量存在於該醫藥組合物中。

122.如請求項105之醫藥組合物，其另外包含至少一種醫藥學上可接受之載劑。

123.如請求項122之醫藥組合物，其中

d) 基於藉由HPLC方法之測定，2-氯-6-(3-(乙基(苯基)胺基)-2-羥基-N-甲基-3-側氧基丙醯胺基)苯甲酸(BH-3-HLAQ)以相對於拉喹莫德之濃度不超過**1.0%**之量存在於該醫藥組合物中，或

e) 基於藉由HPLC方法之測定，N-乙基苯胺(NEA)以相對於拉

喹莫德之濃度不超過**0.5%**之量存在於該醫藥組合物中，或

f) 基於藉由HPLC方法之測定，該醫藥組合物中存在之5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)及5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)之合併量相對於拉喹莫德之濃度不超過**0.5%**。

124.如請求項123之醫藥組合物，其中基於藉由HPLC方法之測定，N-乙基苯胺(NEA)以相對於拉喹莫德之濃度不超過**0.1%**之量存在於該醫藥組合物中。

125.如請求項123或124之醫藥組合物，其中

f) 基於藉由HPLC方法之測定，2-氯-6-(3-(乙基(苯基)胺基)-2-羥基-N-甲基-3-側氧基丙醯胺基)苯甲酸(BH-3-HLAQ)以相對於拉喹莫德之濃度小於**0.05%**之量存在於該醫藥組合物中，或

g) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)以相對於拉喹莫德之濃度小於**0.05%**之量存在於該醫藥組合物中，或

h) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)以相對於拉喹莫德之濃度小於**0.5%**之量存在於該醫藥組合物中，或

i) 基於藉由HPLC方法之測定，N-乙基苯胺(NEA)以相對於拉喹莫德之濃度小於**0.1%**之量存在於該醫藥組合物中，或

j) 基於藉由HPLC方法之測定，該醫藥組合物中存在之5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)及5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)之合併量相對於拉喹莫德之濃度小於**0.1%**。

126.如請求項125之醫藥組合物，其中基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)以相

對於拉喹莫德之濃度小於**0.1%**之量存在於該醫藥組合物中。

127.如請求項125或126之醫藥組合物，其中

h) 基於藉由HPLC方法之測定，2-氯-6-(3-(乙基(苯基)胺基)-2-羥基-N-甲基-3-側氧基丙醯胺基)苯甲酸(BH-3-HLAQ)以相對於拉喹莫德之濃度小於**0.02%**之量存在於該醫藥組合物中，或

i) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)以相對於拉喹莫德之濃度小於**0.02%**之量存在於該醫藥組合物中，或

j) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)以相對於拉喹莫德之濃度小於**0.03%**之量存在於該醫藥組合物中，或

k) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)以相對於拉喹莫德之濃度小於**0.02%**之量存在於該醫藥組合物中，或

l) 基於藉由HPLC方法之測定，N-乙基苯胺(NEA)以相對於拉喹莫德之濃度小於**0.03%**存在於該醫藥組合物中，或

m) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯(MCQEE)以相對於拉喹莫德之濃度小於**0.02%**之量存在於該醫藥組合物中，或

n) 基於藉由HPLC方法之測定，該醫藥組合物中存在之5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)及5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)之合併量相對於拉喹莫德之濃度小於**0.03%**。

128.如請求項127之醫藥組合物，其中基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)以相對於拉喹莫德之濃度小於**0.02%**之量存在於該醫藥組合物中。

129.如請求項122之醫藥組合物，其中

d) 基於藉由HPLC方法之測定，2-氯-6-(3-(乙基(苯基)胺基)-2-羥基-N-甲基-3-側氧基丙醯胺基)苯甲酸(BH-3-HLAQ)以相對於拉喹莫德之濃度大於**0.02%**且不超過**1.0%**之量存在於該醫藥組合物中，或

e) 基於藉由HPLC方法之測定，N-乙基苯胺(NEA)以相對於拉喹莫德之濃度大於**0.03%**且不超過**0.5%**存在於該醫藥組合物中，或

f) 基於藉由HPLC方法之測定，該醫藥組合物中存在之5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)及5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)之合併量相對於拉喹莫德之濃度大於**0.03%**且不超過**0.5%**。

130.如請求項129之醫藥組合物，其中基於藉由HPLC方法之測定，N-乙基苯胺(NEA)以相對於拉喹莫德之濃度不超過**0.1%**之量存在於該醫藥組合物中。

131.如請求項122之醫藥組合物，其中

d) 基於藉由HPLC方法之測定，2-氯-6-(3-(乙基(苯基)胺基)-2-羥基-N-甲基-3-側氧基丙醯胺基)苯甲酸(BH-3-HLAQ)以相對於拉喹莫德之濃度大於**0.05%**且不超過**1.0%**之量存在於該醫藥組合物中，或

e) 基於藉由HPLC方法之測定，N-乙基苯胺(NEA)以相對於拉喹莫德之濃度大於**0.1%**且不超過**0.5%**存在於該醫藥組合物中，或

f) 基於藉由HPLC方法之測定，該醫藥組合物中存在之5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)及5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)之合併量相對於拉喹莫德之濃度

大於**0.1%**且不超過**0.5%**。

132.如請求項122之醫藥組合物，其中

h) 基於藉由HPLC方法之測定，2-氯-6-(3-(乙基(苯基)胺基)-2-羥基-N-甲基-3-側氧基丙醯胺基)苯甲酸(BH-3-HLAQ)以相對於拉喹莫德之濃度大於**0.02%**且小於**0.05%**之量存在於該醫藥組合物中，或

i) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)以相對於拉喹莫德之濃度大於**0.02%**且小於**0.05%**之量存在於該醫藥組合物中，或

j) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)以相對於拉喹莫德之濃度大於**0.02%**且小於**0.5%**之量存在於該醫藥組合物中，或

k) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)以相對於拉喹莫德之濃度大於**0.02%**且小於**0.05%**之量存在於該醫藥組合物中，或

l) 基於藉由HPLC方法之測定，N-乙基苯胺(NEA)以相對於拉喹莫德之濃度大於**0.03%**且小於**0.1%**存在於該醫藥組合物中，或

m) 基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯(MCQEE)以相對於拉喹莫德之濃度大於**0.02%**且小於**0.05%**之量存在於該醫藥組合物中，或

n) 基於藉由HPLC方法之測定，該醫藥組合物中存在之5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)及5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)之合併量相對於拉喹莫德之濃度大於**0.03%**且小於**0.1%**。

133.如請求項132之醫藥組合物，其中基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)以相

對於拉喹莫德之濃度大於**0.03%**之量存在於該醫藥組合物中。

134.如請求項132或133之醫藥組合物，其中基於藉由HPLC方法之測定，5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)以相對於拉喹莫德之濃度小於**0.1%**之量存在於該醫藥組合物中。

135.如請求項105至134中任一項之醫藥組合物，其包含拉喹莫德鈉鹽。

136.如請求項122至135中任一項之醫藥組合物，其係呈口服單位劑型。

137.如請求項122至136中任一項之醫藥組合物，其係呈膠囊、錠劑或液體懸浮液形式。

138.如請求項136或137之醫藥組合物，其中該口服單位劑型包含超過0.3 mg拉喹莫德。

139.如請求項138之醫藥組合物，其中該口服單位劑型包含超過0.5 mg拉喹莫德。

140.如請求項139之醫藥組合物，其中該口服單位劑型包含超過0.6 mg拉喹莫德。

141.一種製備2-氯-6-(3-(乙基(苯基)胺基)-2-羥基-N-甲基-3-側氧基丙醯胺基)苯甲酸(BH-3-HLAQ)之方法，其包括以下步驟：

a) 向5-氯-N-乙基-3-羥基-1-甲基-2,4-二側氧基-N-苯基-1,2,3,4-四氫喹啉-3-甲醯胺於水中之懸浮液中添加氫氧化鈉溶液，

b) 攪拌步驟a)之混合物，接著添加鹽酸溶液，

c) 用乙酸乙酯萃取該水溶液，

d) 用鹽水洗滌有機相，

e) 經硫酸鈉乾燥該有機相，

f) 過濾該懸浮液，

- g) 蒸發濾液，
- h) 由殘餘物自異丙醇中結晶而純化，
- i) 冷卻該懸浮液，接著過濾且用異丙醇洗滌，及
- j) 獲得且乾燥所得白色固體。

142. 一種2-氯-6-(3-(乙基(苯基)胺基)-2-羥基-N-甲基-3-側氧基丙醯胺基)苯甲酸(BH-3-HLAQ)，其係藉由如請求項141之方法製備。

143. 一種製備5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)之方法，其包括以下步驟：

- a) 加熱5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)及二甲亞碲之混合物，
- b) 冷卻步驟a)之混合物，及
- c) 過濾步驟b)之混合物且收集所得濾液。

144. 一種5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)，其係藉由如請求項143之方法製備。

145. 一種製備5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)之方法，其包括以下步驟：

- a) 加熱5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯(MCQEE)於鹽酸之乙酸溶液中之混合物，
- b) 冷卻該步驟a)之混合物，
- c) 用2-丙醇稀釋步驟b)之混合物且進一步冷卻經稀釋之混合物，及
- d) 過濾出由步驟c)產生之結晶。

146. 一種5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)，其係藉由如請求項145之方法製備。

147. 一種製備5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)之方法，其包括以下步驟：

a) 藉由含丙二酸二甲酯之二甲基甲醯胺與甲醇鈉溶液反應形成丙二酸二甲酯鈉，

b) 使中間物5-氯-1-甲基-1h-苯并[D][1,3]噁嗪-2,4-二酮與丙二酸二甲酯鈉反應形成5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)鈉鹽，及

c) 使5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)鈉鹽酸化成5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)。

148. 一種5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)，其係藉由如請求項147之方法製備。

149. 一種製備5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯(MCQEE)之方法，其包括以下步驟：

a) 將氫化鈉添加至5-氯-1-甲基-1h-苯并[D][1,3]噁嗪-2,4-二酮及丙二酸二乙酯含於二甲基甲醯胺之溶液中，

b) 在攪拌的同時加熱步驟a)之混合物，

c) 冷卻步驟b)之溶液，

d) 淬滅步驟c)之反應混合物，

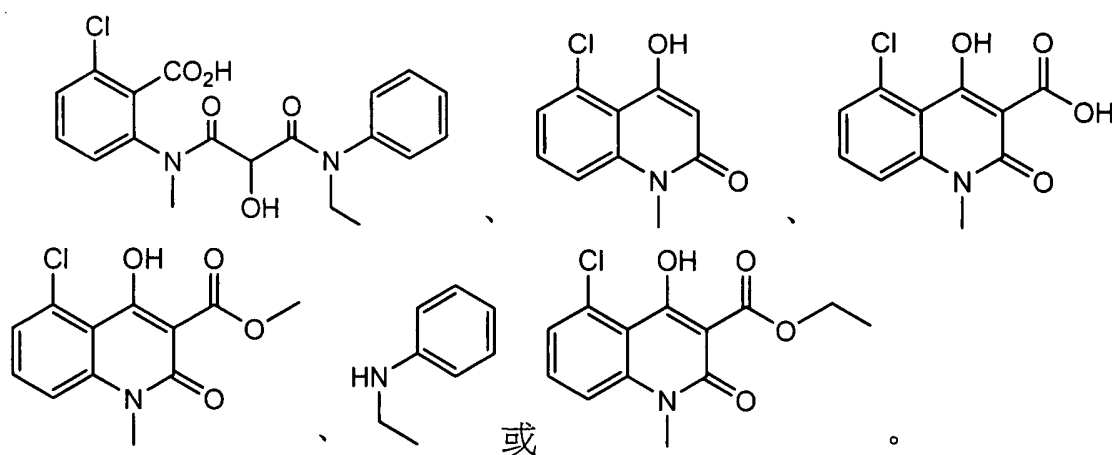
e) 使步驟d)之混合物酸化，

f) 過濾接著乾燥步驟e)之混合物，及

g) 藉由溶解於乙醇中，接著緩慢冷卻而使步驟f)之粗產物結晶。

150. 一種5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯(MCQEE)，其係藉由如請求項149之方法製備。

151. 一種測試拉喹莫德樣品是否含有不希望有的雜質的方法，其包括測定該樣品是否含有具有以下結構之化合物：



152. 一種製備包含拉喹莫德之驗證醫藥組合物之方法，其包括：

a) 獲得一批次拉喹莫德；

b) 藉由使用HPLC方法測定該批次中5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)、5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)、5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)、N-乙基苯胺(NEA)及5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯(MCQEE)中之至少一者之量；及

c) 僅在以下情況下由該批次製備該醫藥組合物：

i) 該批次經測定具有相對於拉喹莫德之濃度不超過**0.15%**之5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)，或

ii) 該批次經測定具有相對於拉喹莫德之濃度不超過**0.15%**之5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)，或

iii) 該批次經測定具有相對於拉喹莫德之濃度不超過**0.15%**、**0.12%**或**0.1%**之5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)，或

iv) 該批次經測定具有相對於拉喹莫德之濃度不超過**0.1%**之N-乙基苯胺(NEA)，或

v) 該批次經測定具有相對於拉喹莫德之濃度不超過**0.1%**

之5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯(MCQEE)。

153.如請求項152之方法，其中在步驟c)中，僅在該批次經測定具有相對於拉喹莫德之濃度不超過**0.12%**之5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)之情況下，才由該批次製備該醫藥組合物。

154.如請求項152之方法，其中在步驟c)中，僅在該批次經測定具有相對於拉喹莫德之濃度不超過**0.1%**之5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)之情況下，才由該批次製備該醫藥組合物。

155.一種製備包含拉喹莫德之醫藥組合物或用於分配已驗證批次之包含拉喹莫德之醫藥組合物的方法，其包括：

a) 獲得一批次拉喹莫德或該醫藥組合物；

b) 使用該批次樣品進行穩定性測試；

c) 在穩定性測試後，藉由HPLC方法測定該批次樣品中5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)、5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)、5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)、N-乙基苯胺(NEA)及5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯(MCQEE)中之至少一者之總量；及

d) 僅在穩定性測試後該批次樣品含有以下之情況下，才驗證該批次以用於分配該醫藥組合物或由該批次製備該醫藥組合物：

i) 相對於拉喹莫德之濃度，總共不超過**0.15%**之5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)，或

ii) 相對於拉喹莫德之濃度，總共不超過**0.15%**之5-氯-4-羥

基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)，或

iii) 相對於拉喹莫德之濃度，總共不超過**0.15%**、**0.12%**或**0.1%**之5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)，或

iv) 相對於拉喹莫德之濃度，總共不超過**0.1%**之N-乙基苯胺(NEA)，或

v) 相對於拉喹莫德之濃度，總共不超過**0.1%**之5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯(MCQEE)。

156.如請求項155之方法，若在步驟d)中該批次已驗證用於分配，則其另外包含步驟e)分配該批次。

157.如請求項155或156之方法，其中在步驟d)中，僅在穩定性測試後該批次樣品含有相對於拉喹莫德之濃度不超過**0.12%**之5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)之情況下，才驗證該批次用於分配或由該批次製備該醫藥組合物。

158.如請求項155或156之方法，其中在步驟d)中，僅在穩定性測試後該批次樣品含有相對於拉喹莫德之濃度不超過**0.1%**之5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)之情況下，才驗證該批次用於分配或由該批次製備該醫藥組合物。

159.一種驗證一批次含有拉喹莫德或其醫藥學上可接受之鹽及醫藥學上可接受之載劑之醫藥產品以用於分配的方法，其包括

a) 對該批次樣品進行穩定性測試；

b) 在穩定性測試後藉由HPLC方法測定該批次樣品中2-氯-6-(3-(乙基(苯基)胺基)-2-羥基-N-甲基-3-側氧基丙醯胺基)苯甲酸(BH-3-HLAQ)、5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)、5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)、5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)、N-乙

基苯胺(NEA)及5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯(MCQEE)中之至少一者之量；及

c) 僅在穩定性測試後該批次樣品含有以下之情況下，才驗證該批次以用於分配：

k) 相對於拉喹莫德之濃度，總共不超過**1.0%**之2-氯-6-(3-(乙基(苯基)胺基)-2-羥基-N-甲基-3-側氧基丙醯胺基)苯甲酸(BH-3-HLAQ)，或

iv) 相對於拉喹莫德之濃度，總共不超過**0.5%**或**0.1%**之N-乙基苯胺(NEA)，或

v) 相對於拉喹莫德之濃度，總共不超過**0.5%**之合併的5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)及5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)。

160.如請求項159之方法，其中在步驟c)中，僅在穩定性測試後該批次樣品相對於拉喹莫德之濃度不超過總共**0.1%**之N-乙基苯胺(NEA)的情況下，才驗證該批次以用於分配。

161.一種製備包含拉喹莫德或其醫藥學上可接受之鹽之封裝醫藥組合物之方法，其包括：

a) 獲得一批次包含拉喹莫德或其醫藥學上可接受之鹽之醫藥組合物；

b) 使用該批次樣品進行穩定性測試；

c) 在穩定性測試後藉由HPLC方法測定該樣品中2-氯-6-(3-(乙基(苯基)胺基)-2-羥基-N-甲基-3-側氧基丙醯胺基)苯甲酸(BH-3-HLAQ)、5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)、5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)、5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)、N-乙基苯胺(NEA)及5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯

(MCQEE)中之至少一者之量；及

d) 僅在以下情況下封裝該醫藥組合物：

i) 該樣品中2-氯-6-(3-(乙基(苯基)胺基)-2-羥基-N-甲基-3-側氧基丙醯胺基)苯甲酸(BH-3-HLAQ)之含量經測定相對於拉喹莫德之濃度不超過**1.0%**，或

ii) 該樣品中N-乙基苯胺(NEA)之含量經測定相對於拉喹莫德之濃度不超過**0.5%**或**0.1%**；

iii) 該樣品中5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)及5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)之合併含量經測定相對於拉喹莫德之濃度總共不超過**0.5%**。

162. 如請求項161之方法，其中在步驟d)中，僅在該樣品中N-乙基苯胺(NEA)之含量經測定相對於拉喹莫德之濃度不超過**0.1%**的情況下，封裝該醫藥組合物。

163. 如請求項141至162中任一項之方法，其中該拉喹莫德為拉喹莫德鈉鹽。

164. 一種雜質或其鹽，其係作為參考標準物，用於偵測包含拉喹莫德或其醫藥學上可接受之鹽之醫藥組合物中該雜質之痕量，其中該雜質係選自由以下組成之群：2-氯-6-(3-(乙基(苯基)胺基)-2-羥基-N-甲基-3-側氧基丙醯胺基)苯甲酸(BH-3-HLAQ)、5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)、5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)、5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)，N-乙基苯胺(NEA)及5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯(MCQEE)。

165. 一種測定包含拉喹莫德之醫藥組合物中之雜質濃度的方法，該方法包括

a) 由該醫藥組合物製備樣品溶液，

- b) 製備包含該雜質之標準溶液，
- c) 製備包含拉喹莫德及該雜質之解析溶液，
- d) 藉由將乙酸銨溶解於水中且使用氨水或冰醋酸調整至 7.0 ± 0.05 之 pH 來製備緩衝溶液，
- e) 製備包含該緩衝溶液及乙腈之稀釋劑溶液，
- f) 製備包含該稀釋劑溶液及乙腈水溶液之空白溶液，
- g) 將該解析溶液、該空白溶液、該標準溶液及該樣品溶液注入 HPLC，
- h) 使用在 240 nm 下之紫外線吸收及該稀釋劑溶液作為移動相來操作該 HPLC，
- i) 測定該雜質在該樣品溶液之層析圖中的滯留時間(RT)及峰面積，及
- j) 相對於該等標準溶液之層析圖中之對應峰對該雜質進行定量，

其中該雜質為 5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1*H*)-酮(MCQ)、5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)、5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)、*N*-乙基-4,5-二羥基-1-甲基-2-側氧基-*N*-苯基-1,2-二氫喹啉-3-甲醯胺(5-HLAQ)或 5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸乙酯(MCQEE)。

166. 一種測定包含拉喹莫德之醫藥組合物中之雜質濃度的方法，該方法包括

- a) 由該醫藥組合物製備樣品溶液，
- b) 製備包含該雜質之標準溶液，
- c) 製備包含拉喹莫德及該雜質之解析溶液，
- d) 藉由將乙酸銨溶解於水中且使用氨水或冰醋酸調整至

7.0±0.05之pH來製備緩衝溶液，

e) 製備包含該緩衝溶液及乙腈之空白溶液，

f) 將該解析溶液、該空白溶液、該標準溶液及該樣品溶液注入HPLC，

g) 使用在240 nm下之紫外線吸收及該緩衝溶液與乙腈之混合物的移動相操作該HPLC，

h) 測定該雜質在該樣品溶液之層析圖中的滯留時間(RT)及峰面積，

i) 相對於該等標準溶液之層析圖中之對應峰對該雜質進行定量，

其中該雜質為N-乙基苯胺(NEA)、1*H*,3*H*-螺[5-氯-1-甲基喹啉-2,4-二酮-3,3'-[1]乙基吡啶啉-[2]-酮] (SPIRO-LAQ)或5-氯-N-乙基-3-羥基-1-甲基-2,4-二側氧基-N-苯基-1,2,3,4-四氫喹啉-3-甲醯胺(3-HLAQ)。

167.一種測定包含拉喹莫德及醫藥學上可接受之載劑之醫藥組合物中之雜質濃度的方法，該方法包括

a) 由該醫藥組合物製備樣品溶液，

b) 製備包含該雜質之標準溶液，

c) 製備包含該雜質之定量限度(QL)溶液，

d) 製備包含拉喹莫德及該雜質之解析溶液，

e) 藉由將磷酸二氫銨溶解於水中且使用氨水或磷酸調整至7.0±0.10之pH來製備緩衝溶液，

f) 製備包含該緩衝溶液及乙腈之空白溶液，

g) 將該解析溶液、該空白溶液、該QL溶液、該標準溶液及該樣品溶液注入HPLC，

h) 使用在212 nm下之紫外線吸收及該緩衝溶液、乙腈及甲醇

之混合物的移動相操作該HPLC，

i) 測定該雜質在該樣品溶液之層析圖中的滯留時間(RT)及峰面積，及

j) 相對於該等標準溶液之層析圖中之對應峰對該雜質進行定量，

其中該雜質為2-氯-6-(3-(乙基(苯基)胺基)-2-羥基-N-甲基-3-側氧基丙醯胺基)苯甲酸(BH-3-HLAQ)或N-乙基-4-羥基-1-甲基-5-(2,3,4,5,6-五羥基己基胺基)-2-側氧基-N-苯基-1,2-二氫喹啉-3-甲醯胺(MEG-LAQ)。

168.一種測定包含拉喹莫德及醫藥學上可接受之載劑之醫藥組合物中之雜質濃度的方法，該方法包括

a) 由該醫藥組合物製備樣品溶液，

b) 製備包含該雜質之標準溶液，

c) 製備包含拉喹莫德及該雜質之解析溶液，

d) 藉由將乙酸銨溶解於水中且使用氨水或冰醋酸調整至 7.0 ± 0.05 之pH來製備緩衝溶液，

e) 製備包含該緩衝溶液及乙腈之空白溶液，

f) 將該解析溶液、該空白溶液、該標準溶液及該樣品溶液注入HPLC，

g) 使用在242 nm下之紫外線吸收及該空白溶液作為移動相來操作該HPLC，

h) 測定該雜質在該樣品溶液之層析圖中的滯留時間(RT)及峰面積，及

i) 相對於該等標準溶液之層析圖中之對應峰對該雜質進行定量，

其中該雜質為5-氯-4-羥基-1-甲基喹啉-2(1H)-酮(MCQ)、5-氯-

4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸(MCQCA)、5-氯-4-羥基-1-甲基-2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-甲酸甲酯(MCQME)或*N*-乙基-4,5-二羥基-1-甲基-2-側氧基-*N*-苯基-1,2-二氫喹啉-3-甲醯胺(5-HLAQ)。

169. 一種測定包含拉喹莫德及醫藥學上可接受之載劑之醫藥組合物中之雜質濃度的方法，該方法包括

- a) 由該醫藥組合物製備樣品溶液，
- b) 製備包含該雜質之標準溶液，
- c) 製備包含拉喹莫德及該雜質之解析溶液，
- d) 製備包含甲醇及乙腈之空白溶液，
- e) 藉由將乙酸銨溶解於水中且使用氨水或冰醋酸調整至 7.0 ± 0.05 之 pH 來製備緩衝溶液，
- f) 將該解析溶液、該空白溶液及該樣品溶液注入 HPLC，
- g) 使用在 240 nm 下之紫外線吸收及包含乙腈及該緩衝溶液之移動相操作該 HPLC，
- h) 測定該雜質在該樣品溶液之層析圖中的滯留時間(RT)及峰面積，及
- i) 相對於該等標準溶液之層析圖中之對應峰對該雜質進行定量，

其中該雜質為 *N*-乙基苯胺(NEA)、5-氯-*N*-乙基-3-羥基-1-甲基-2,4-二側氧基-*N*-苯基-1,2,3,4-四氫喹啉-3-甲醯胺(3-HLAQ)或 1*H*,3*H*-螺[5-氯-1-甲基喹啉-2,4-二酮-3,3'-[1]乙基吲哚啉-[2]-酮](SPIRO-LAQ)。

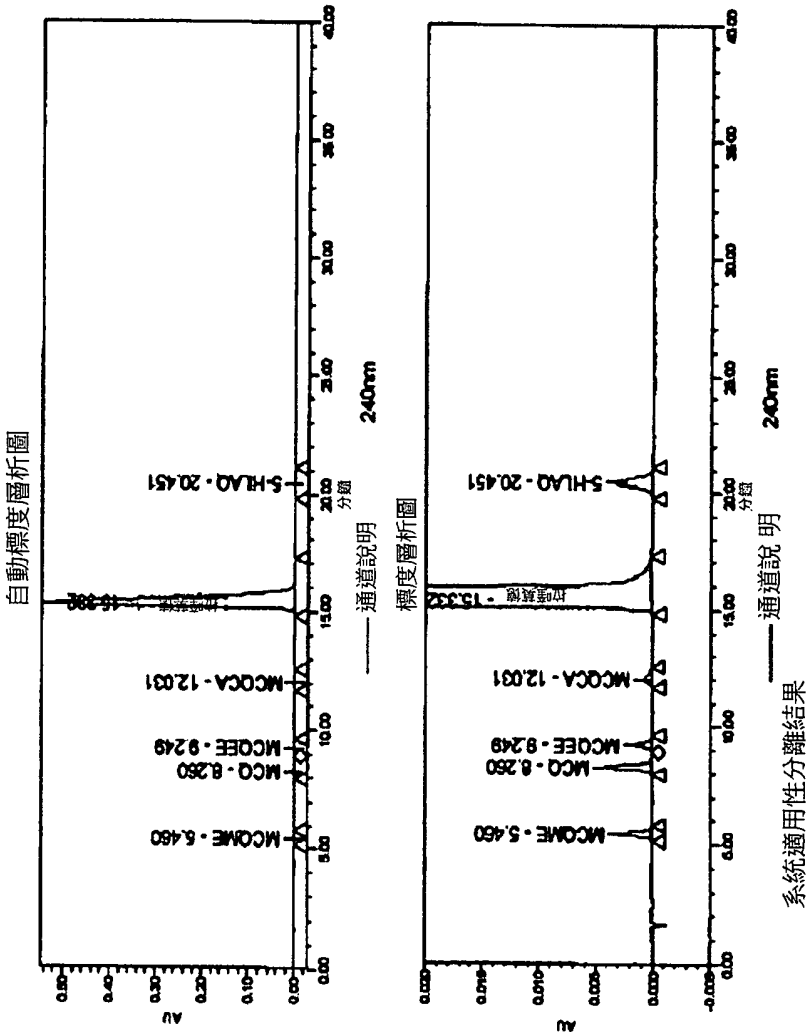


圖3

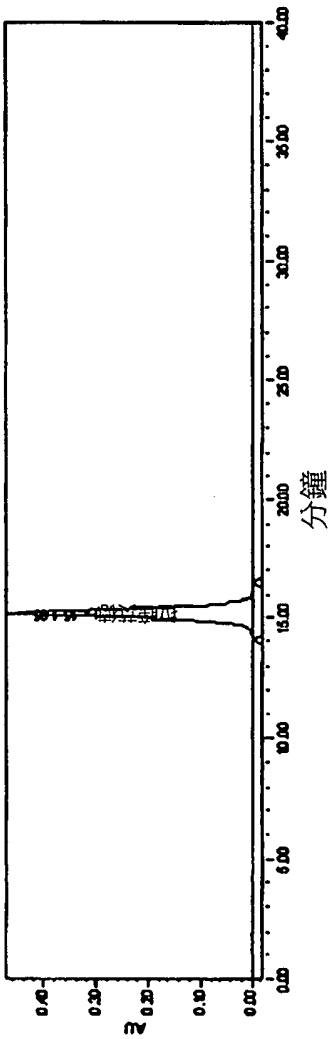


圖4



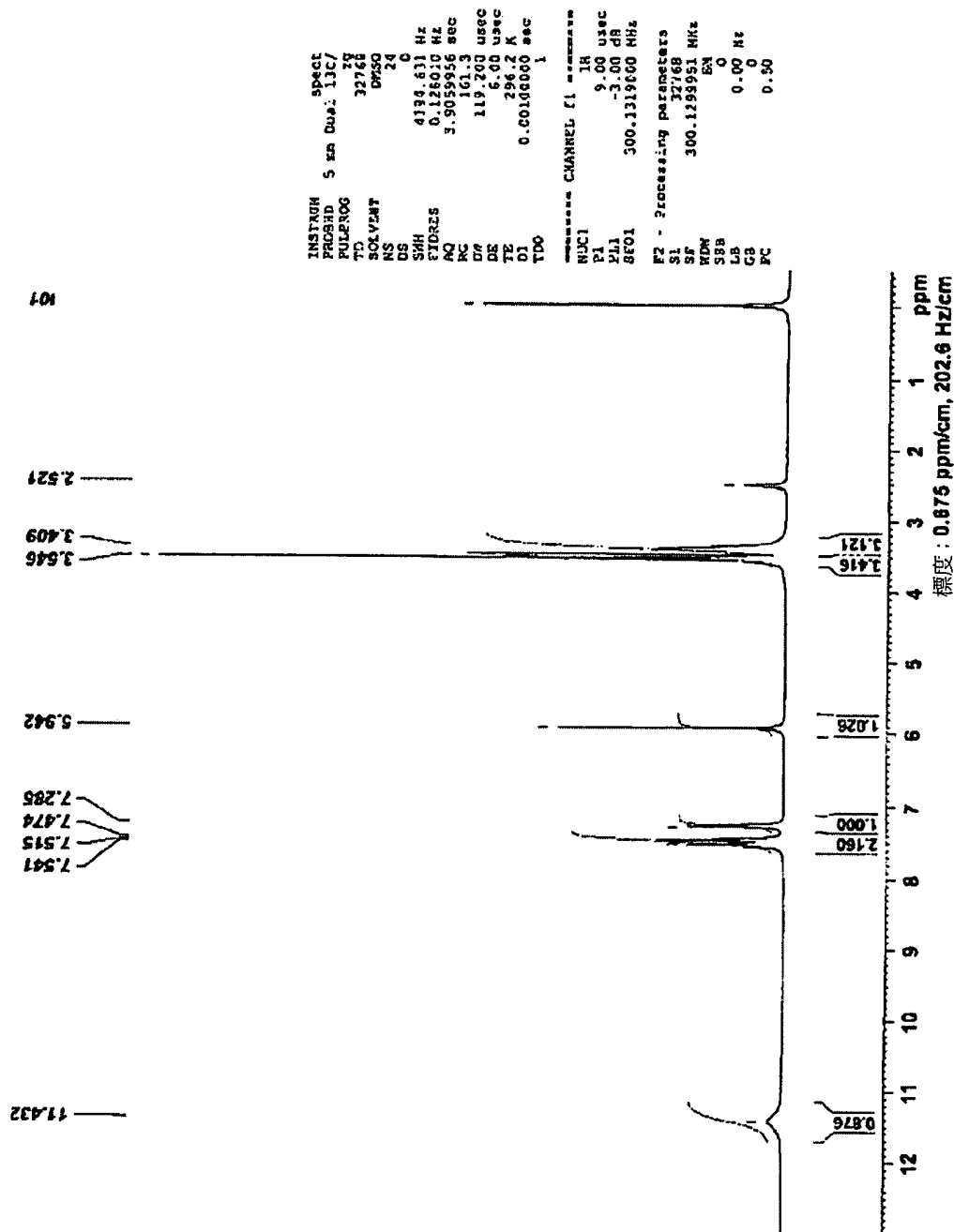


圖 9

77

39.704
39.426
39.148
29.298

161.524
142.412
130.925
124.784
114.215
99.570

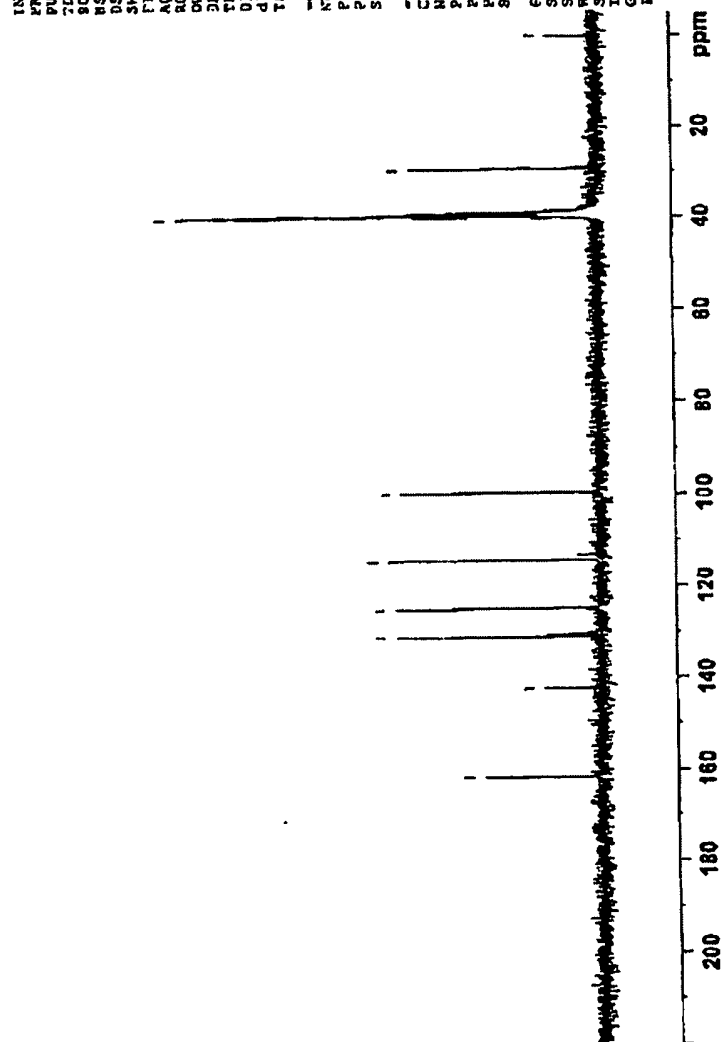
```

INSTRUM spect
PROBRD 5 am Dual 13C/
PULPROG zgpg
TD 32768
SOLVENT CDCl3
NS 684
DS 0
SWH 19723.865 Kz
FIDRES 0.601923 Kz
AQ 0.8307188 sec
RG 3792.6
OR 25.350 usec
DE 9.46 usec
TE 296.2 K
D1 0.1600000 sec
d11 0.0300000 sec
TOD 1

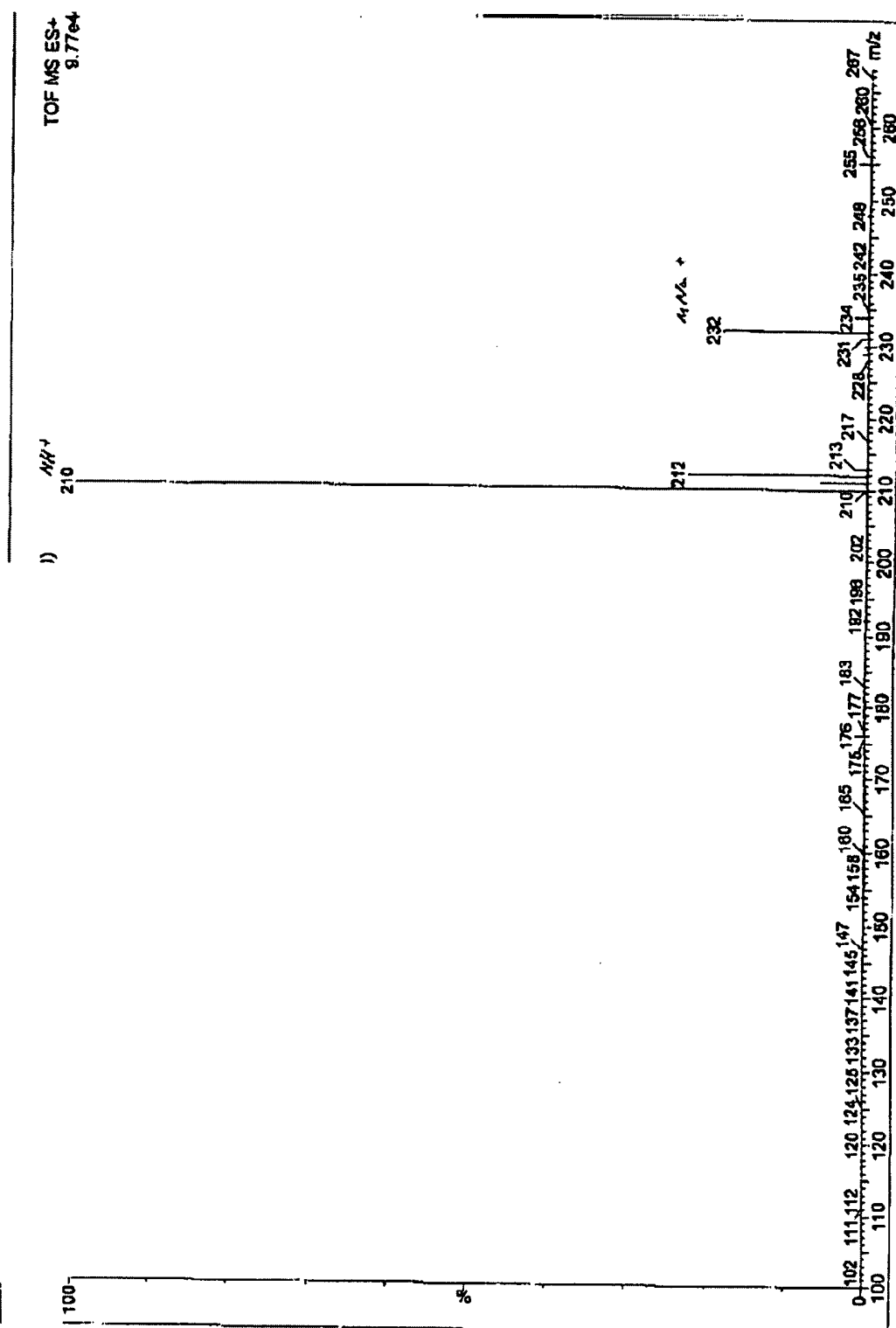
===== CHANNEL F1 =====
NUC1 13C
P1 3.00 usec
PL1 -5.00 dB
SFO1 75.4759867 MHz

===== CHANNEL F2 =====
CPDPRG2 waltz16
NUC2 1H
PCPD2 100.00 usec
PL2 -6.00 dB
PL12 12.00 dB
SFO2 300.1312000 MHz

F2 - Processing parameters
SI 32768
SF 75.4677889 MHz
WDW EM
SSB 0
GB 2.00 Hz
PC 1.00
    
```



10



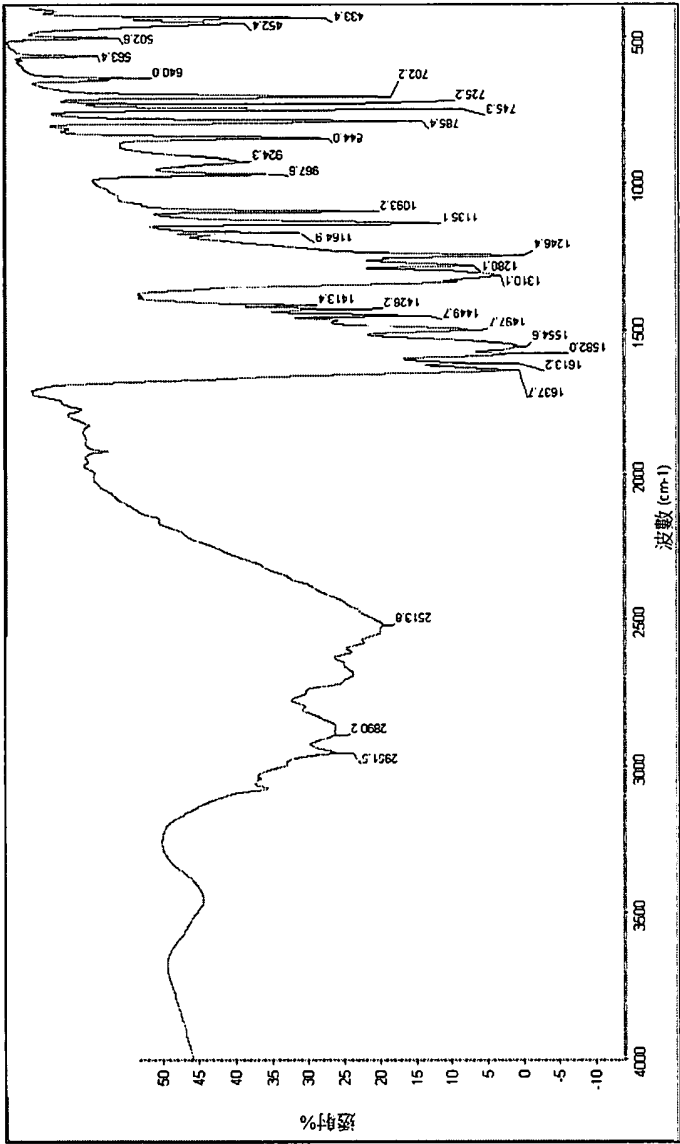


圖 12

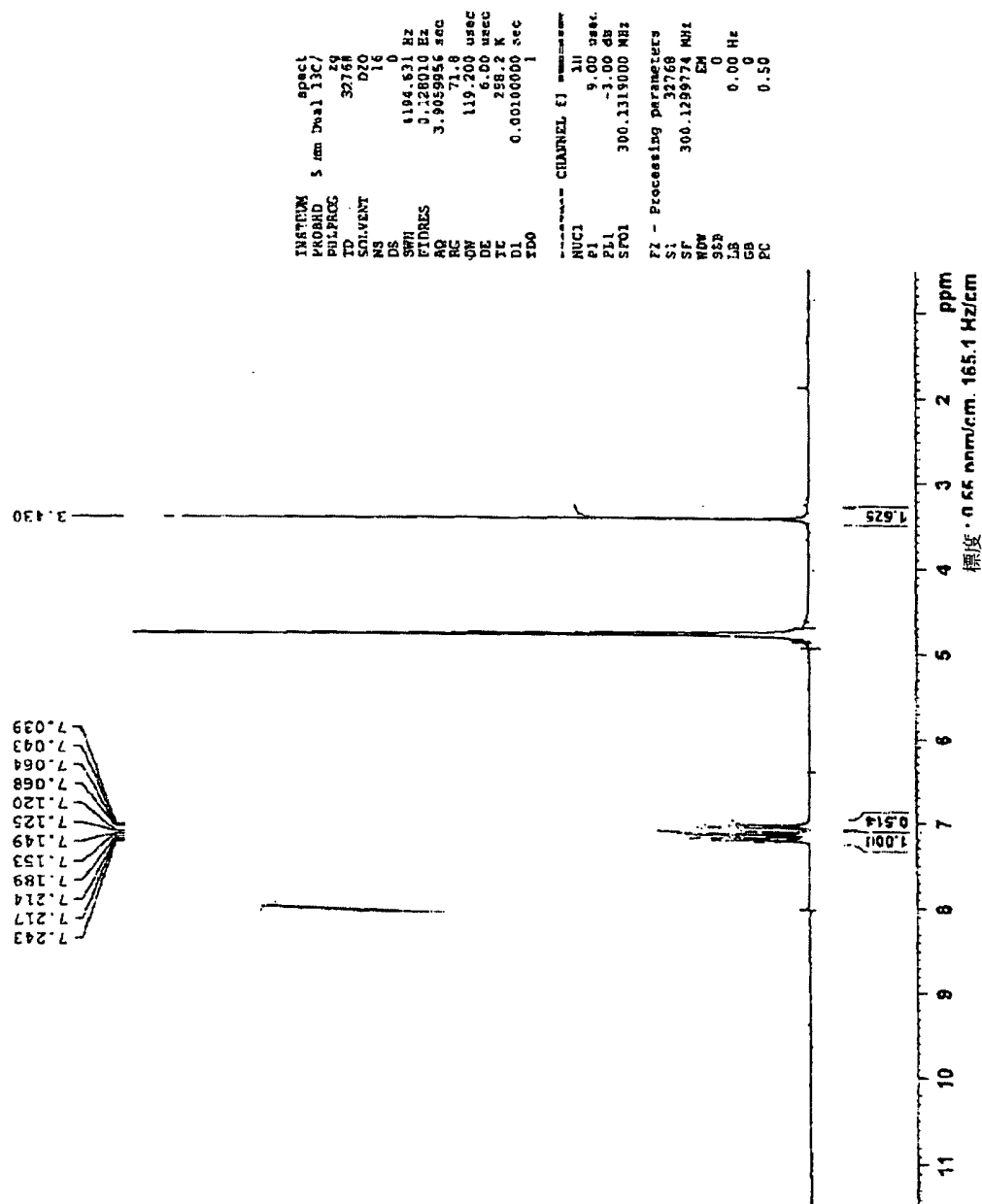
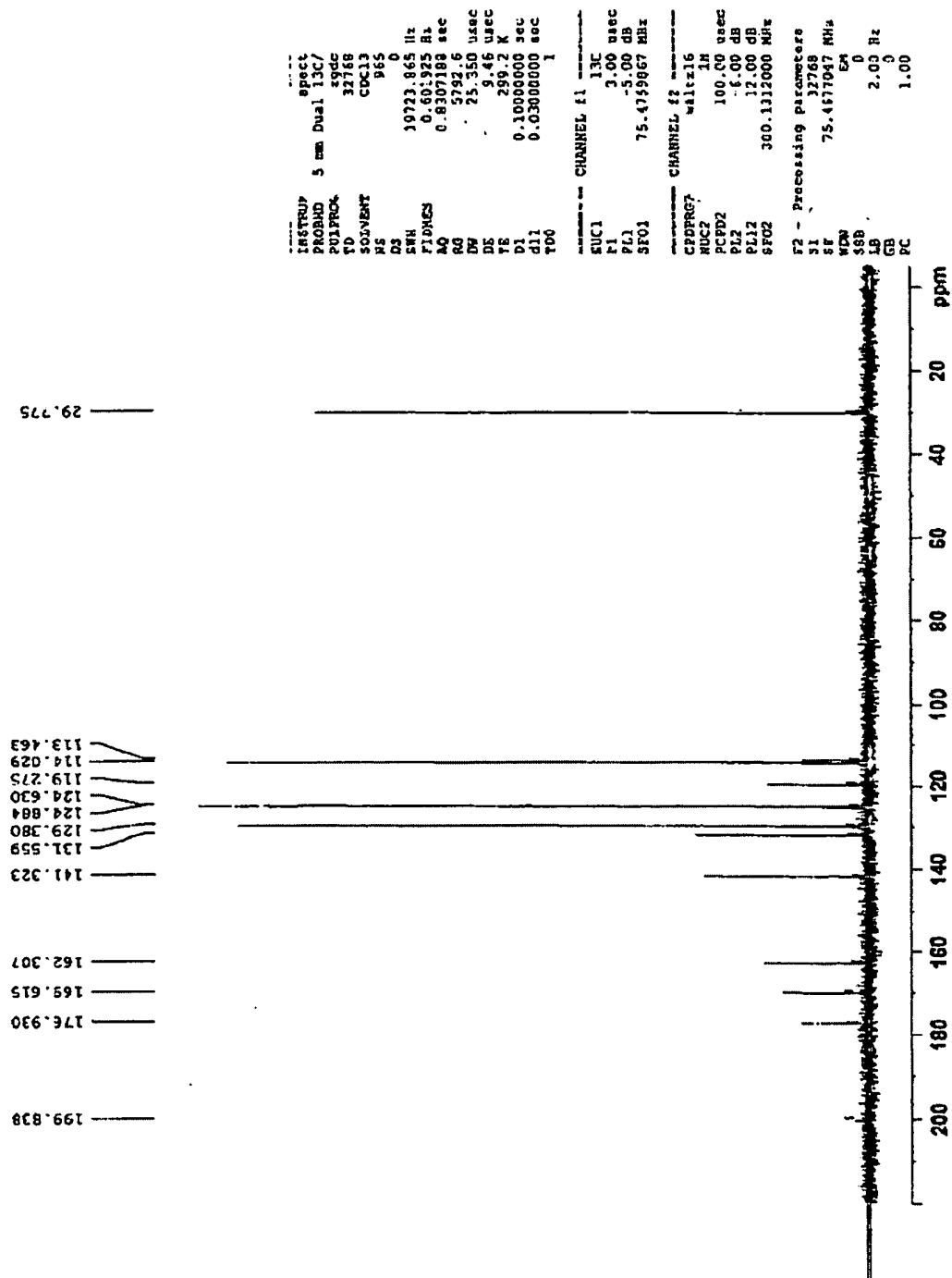


圖13



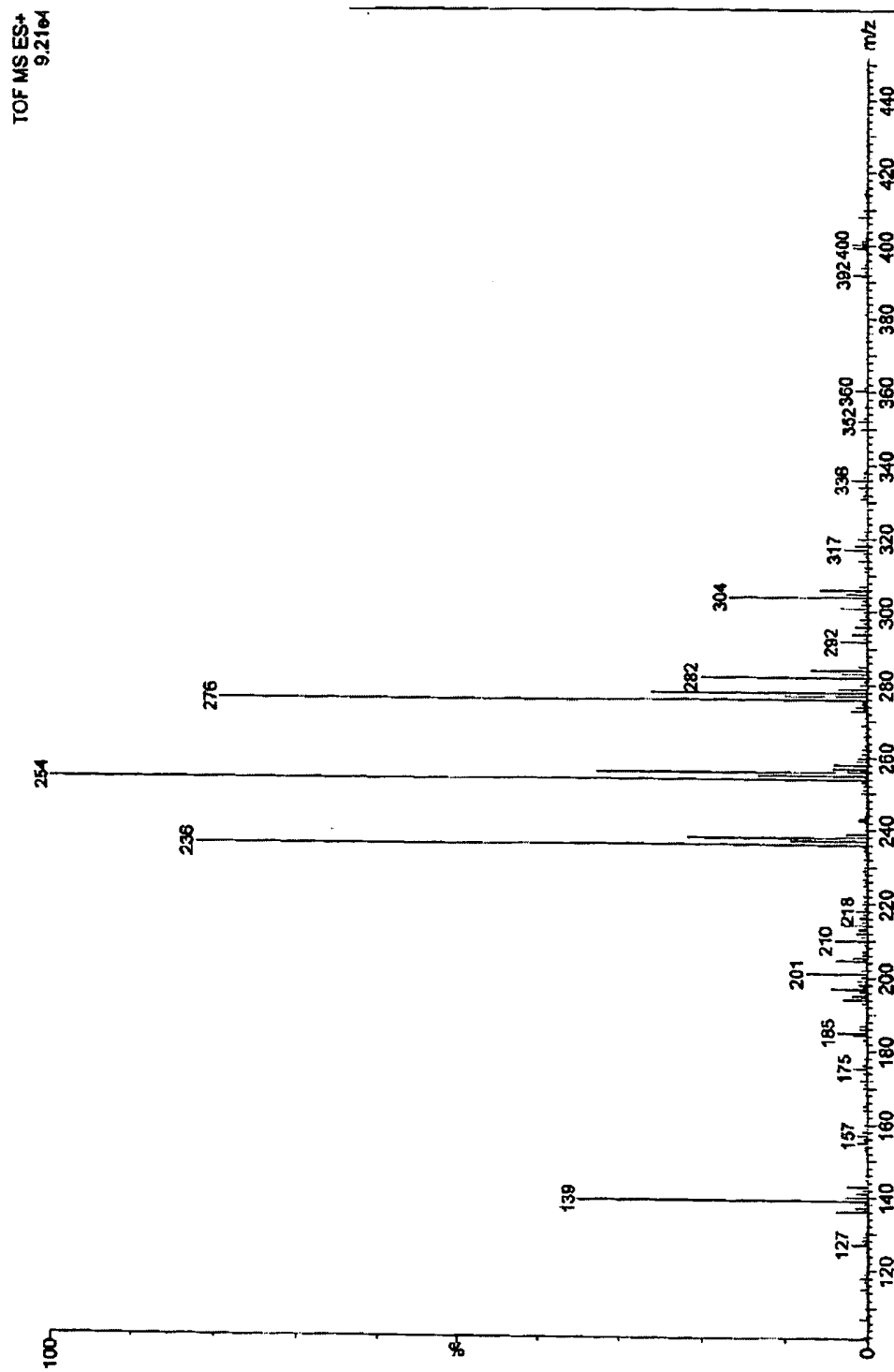


圖 15

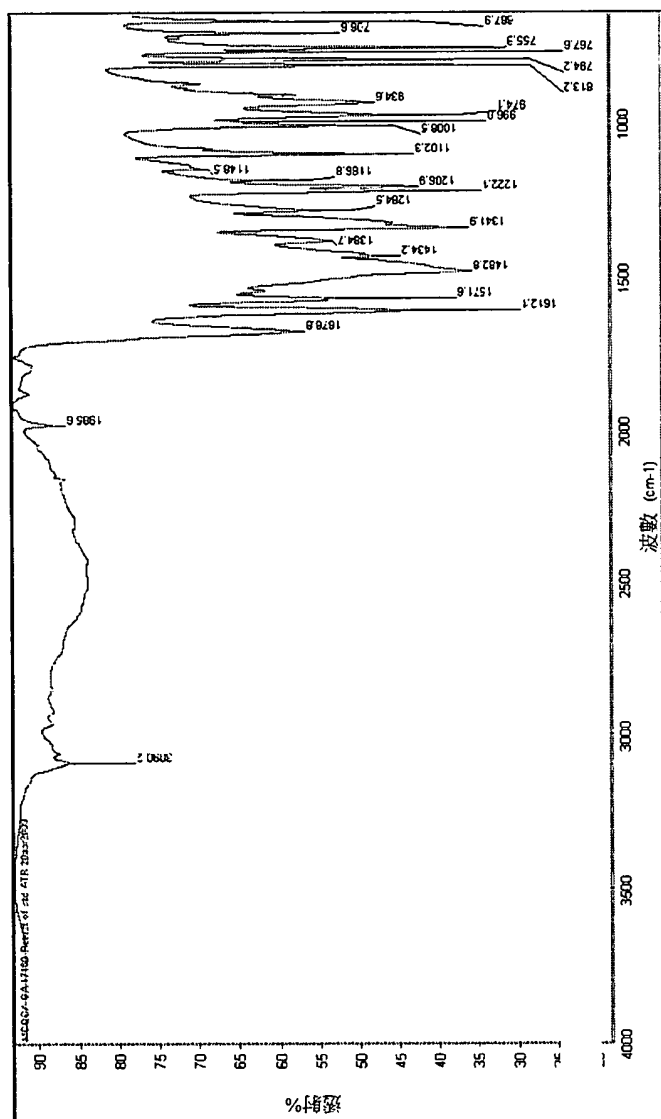


圖 16

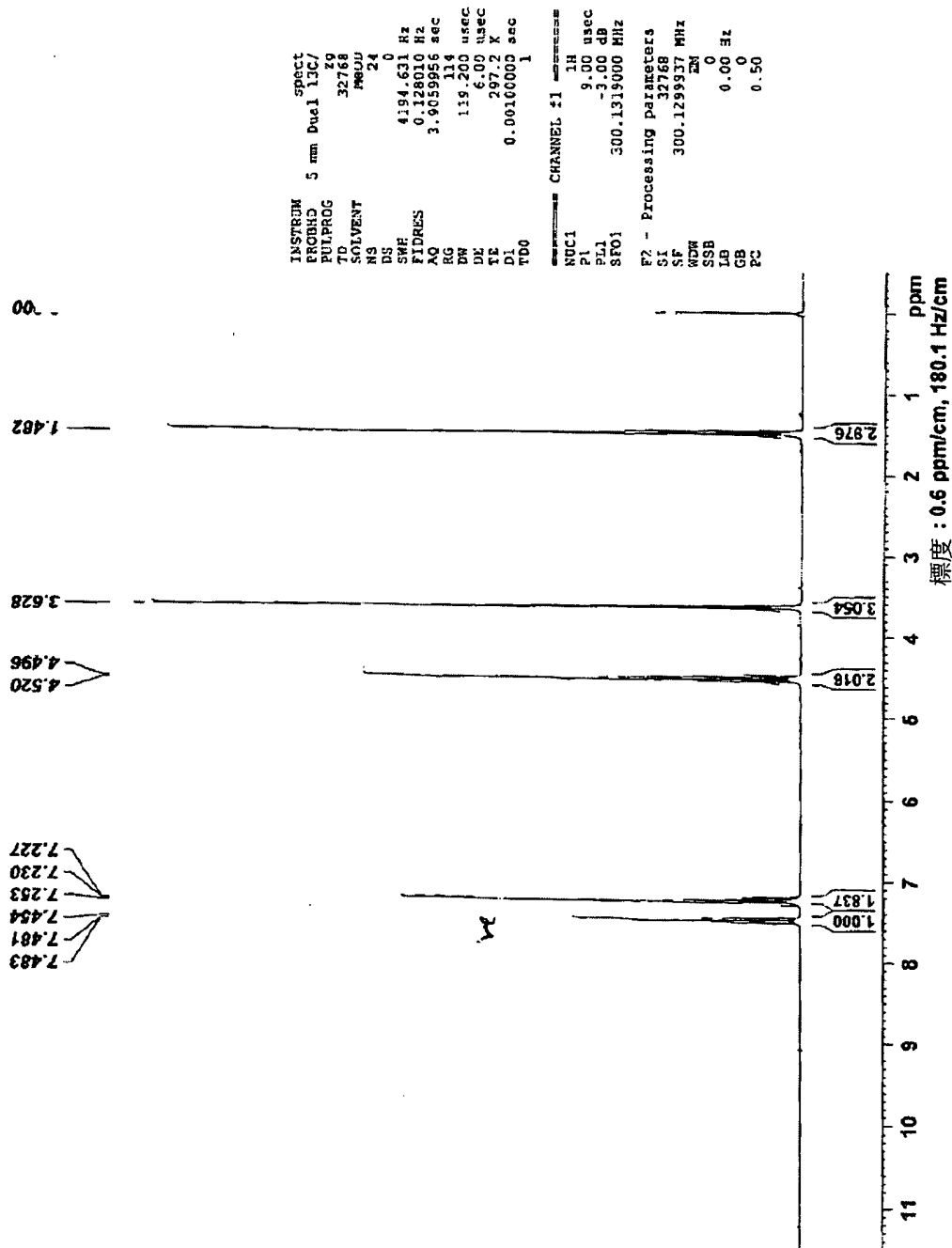
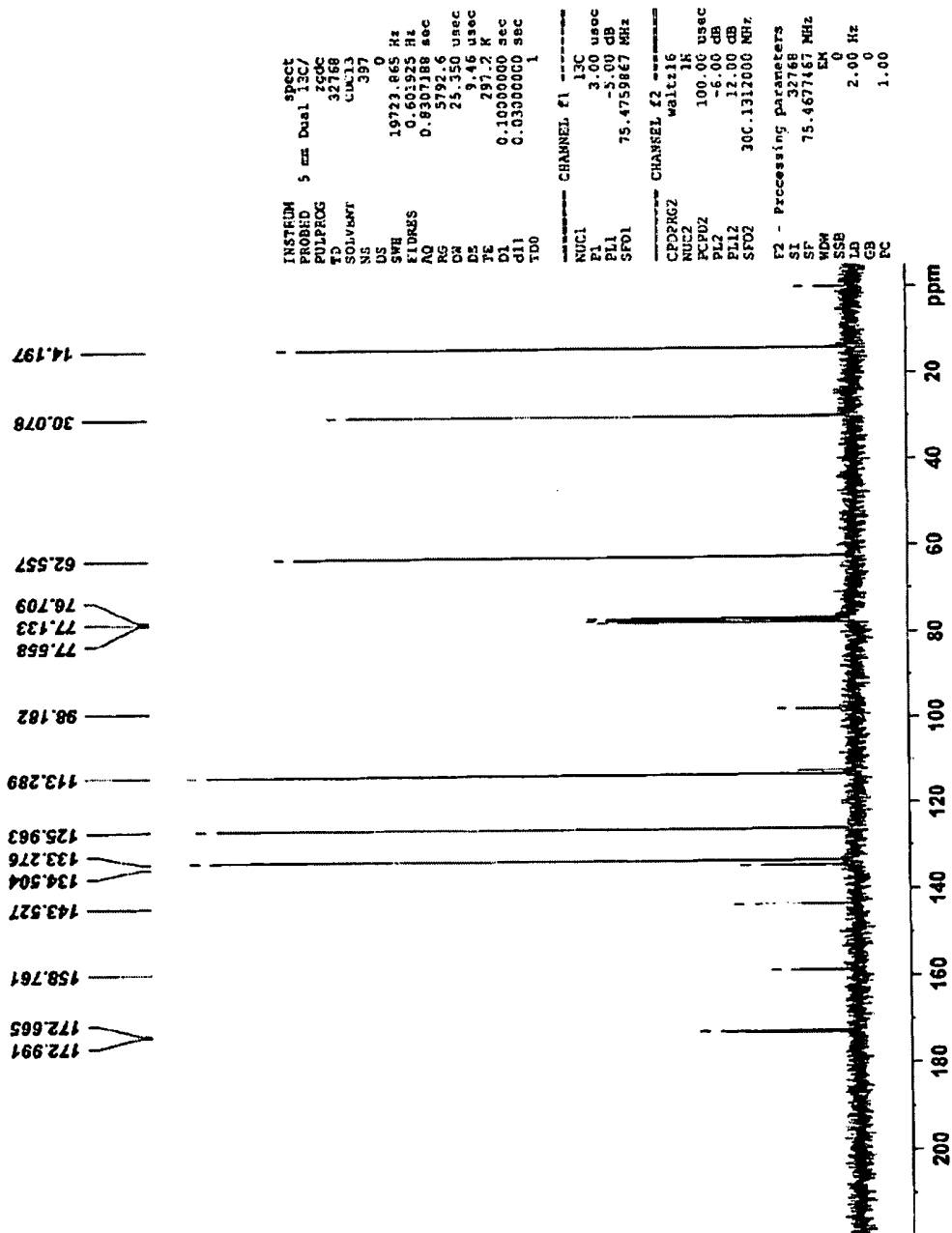
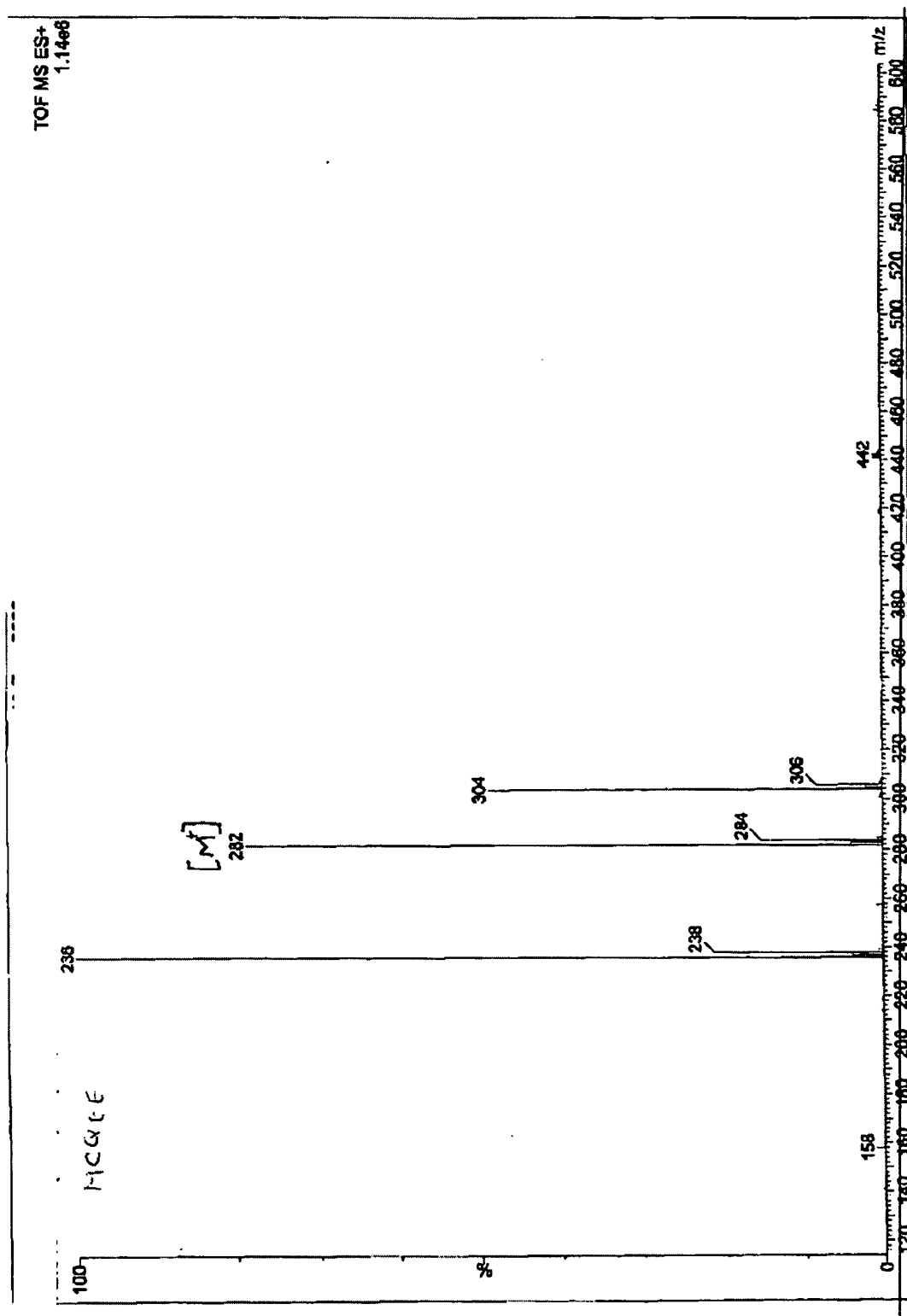


圖 17



18



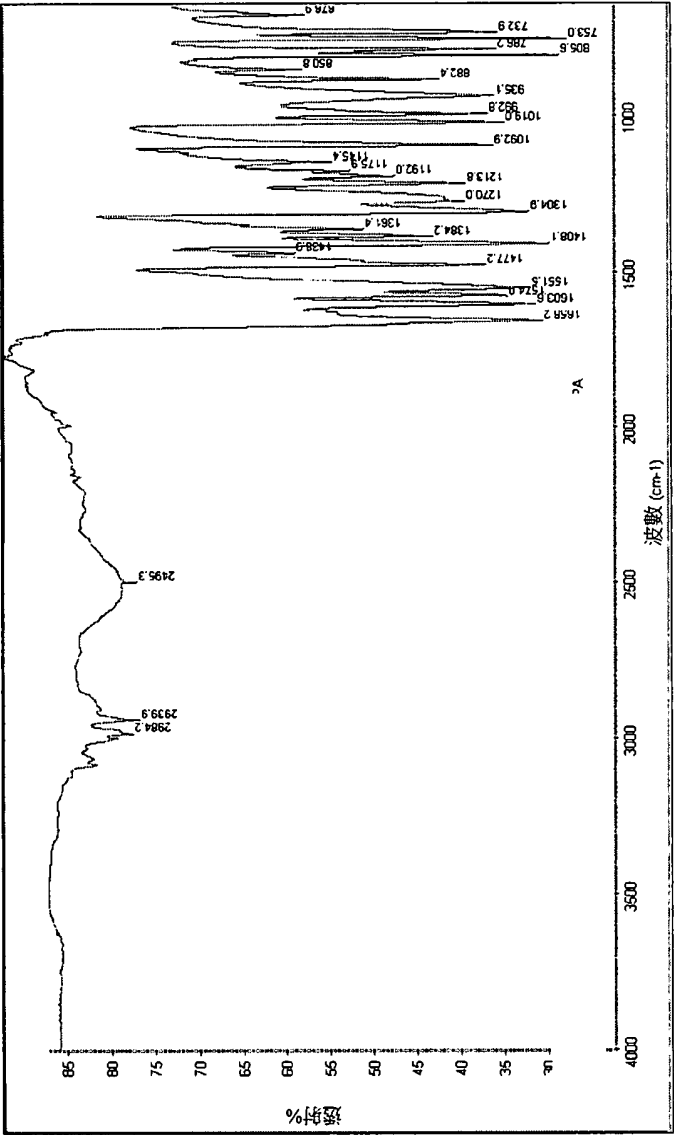
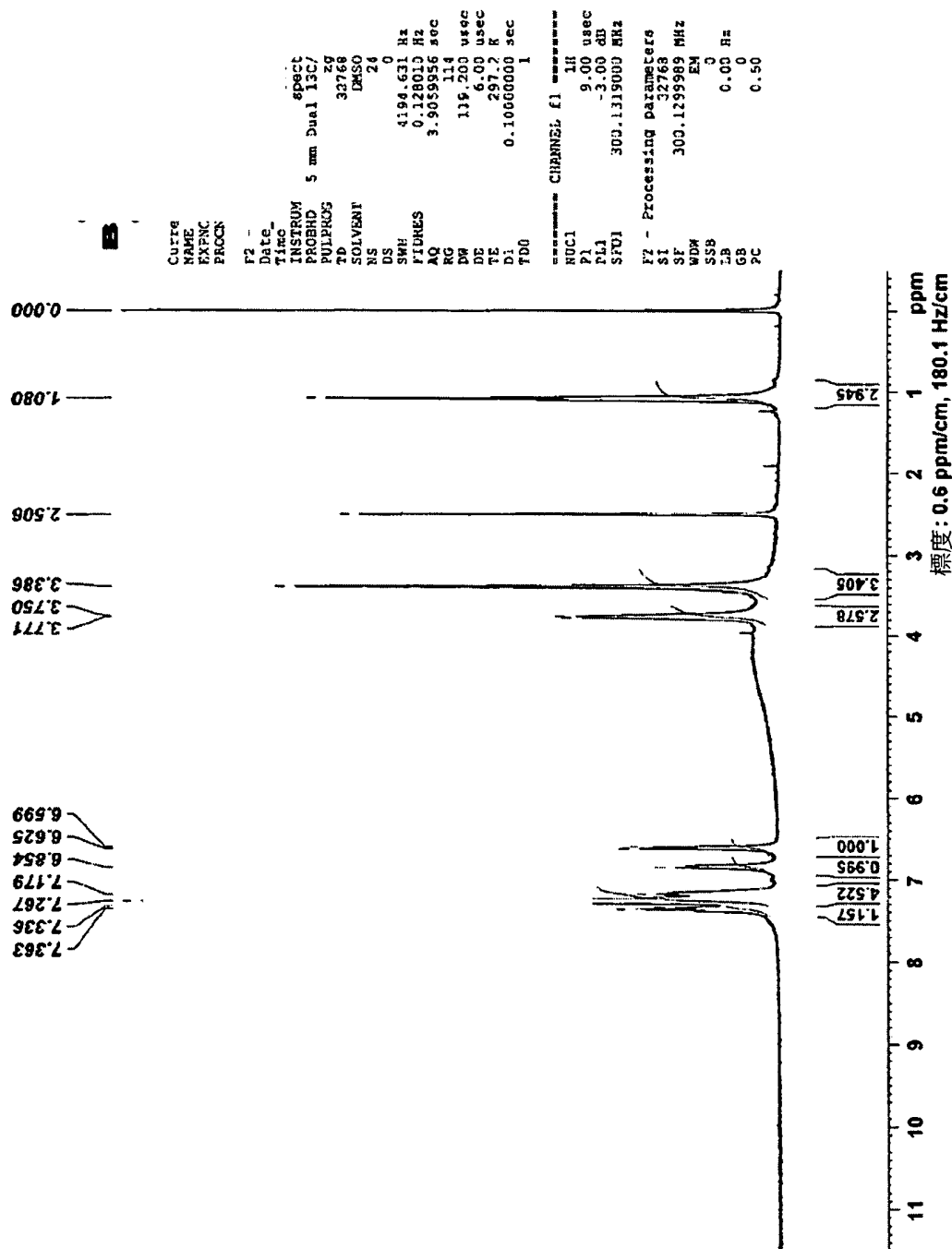


圖 20

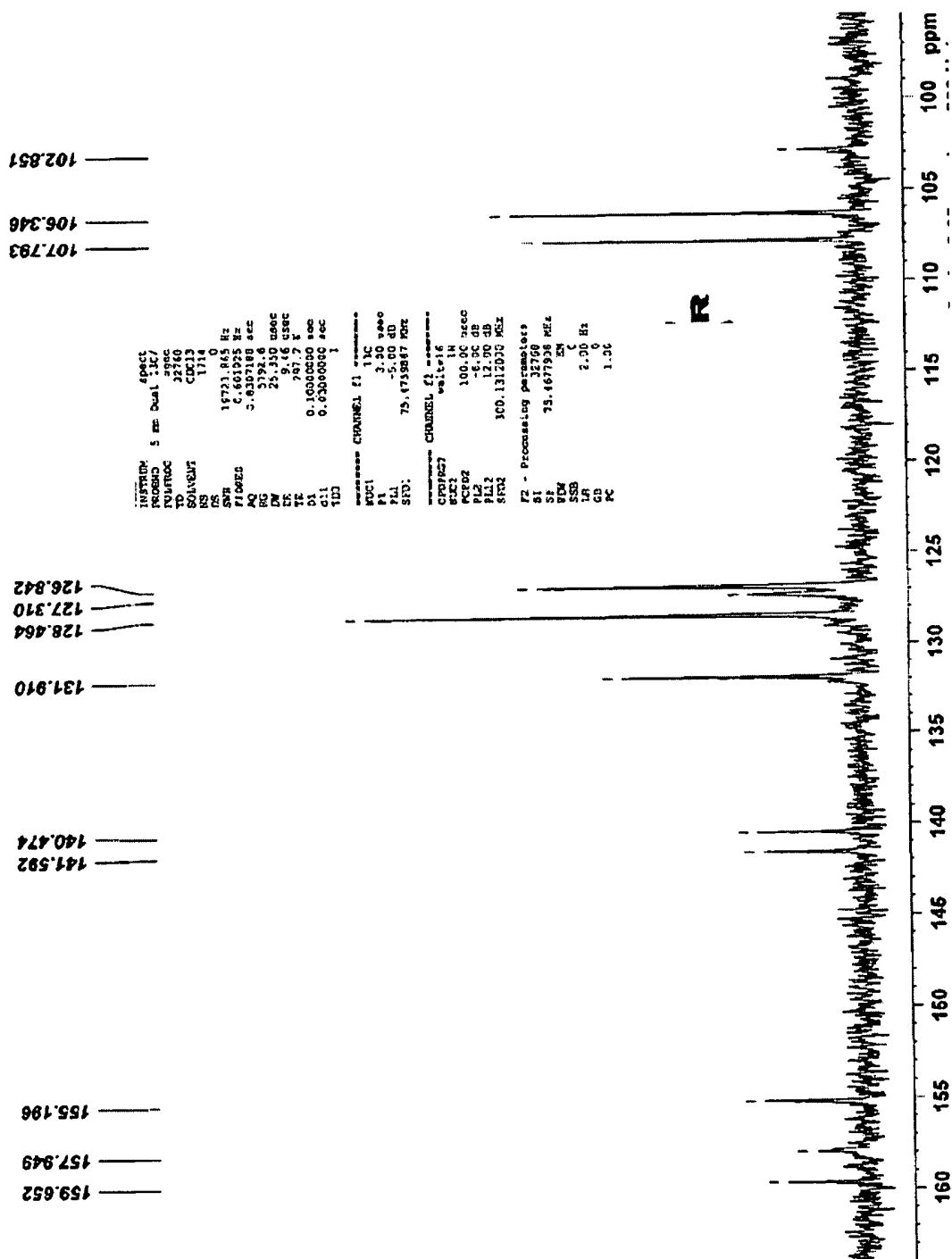


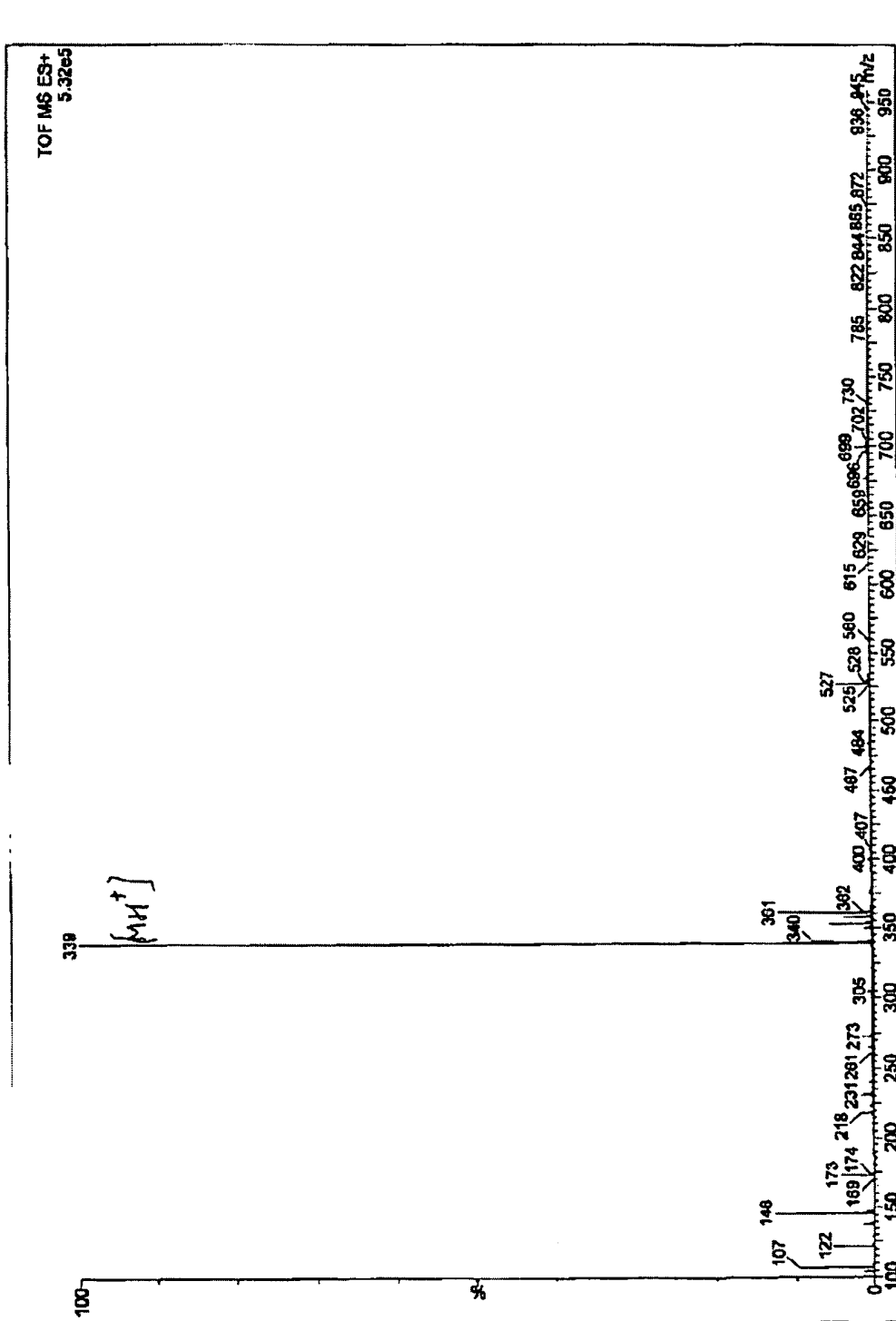
Curie
NAME
EXPNO
PROCNO
F2 -
Date_
Time_
INSTRUM
PROBHD
PULPROG
TD
SOLVENT
NS
DS
SWH
FIDRES
AQ
RG
PC
DE
TE
D1
TD0

5 mm Dual 13C/
32768
DMSO
24
0
4194.631 Hz
0.128013 Hz
3.903936 sec
114
139.203 usec
6.00 usec
297.2 K
0.10000000 sec
1

CHANNEL f1
NUC1
P1
PL1
SFO1
F2 - Processing parameters
S1
SF
WDW
SSB
LB
GB
PC

1H
9.00 usec
-3.00 dB
300.1319000 MHz
32768
300.1299989 MHz
EM
0
0.00 Hz
0
0.50





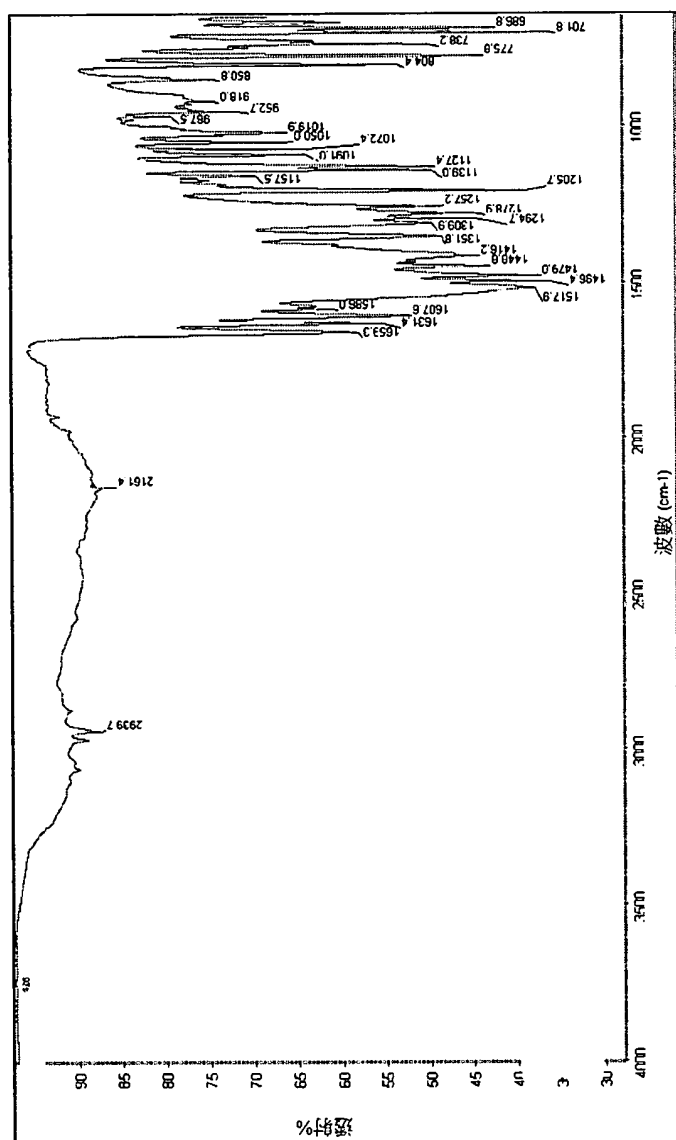
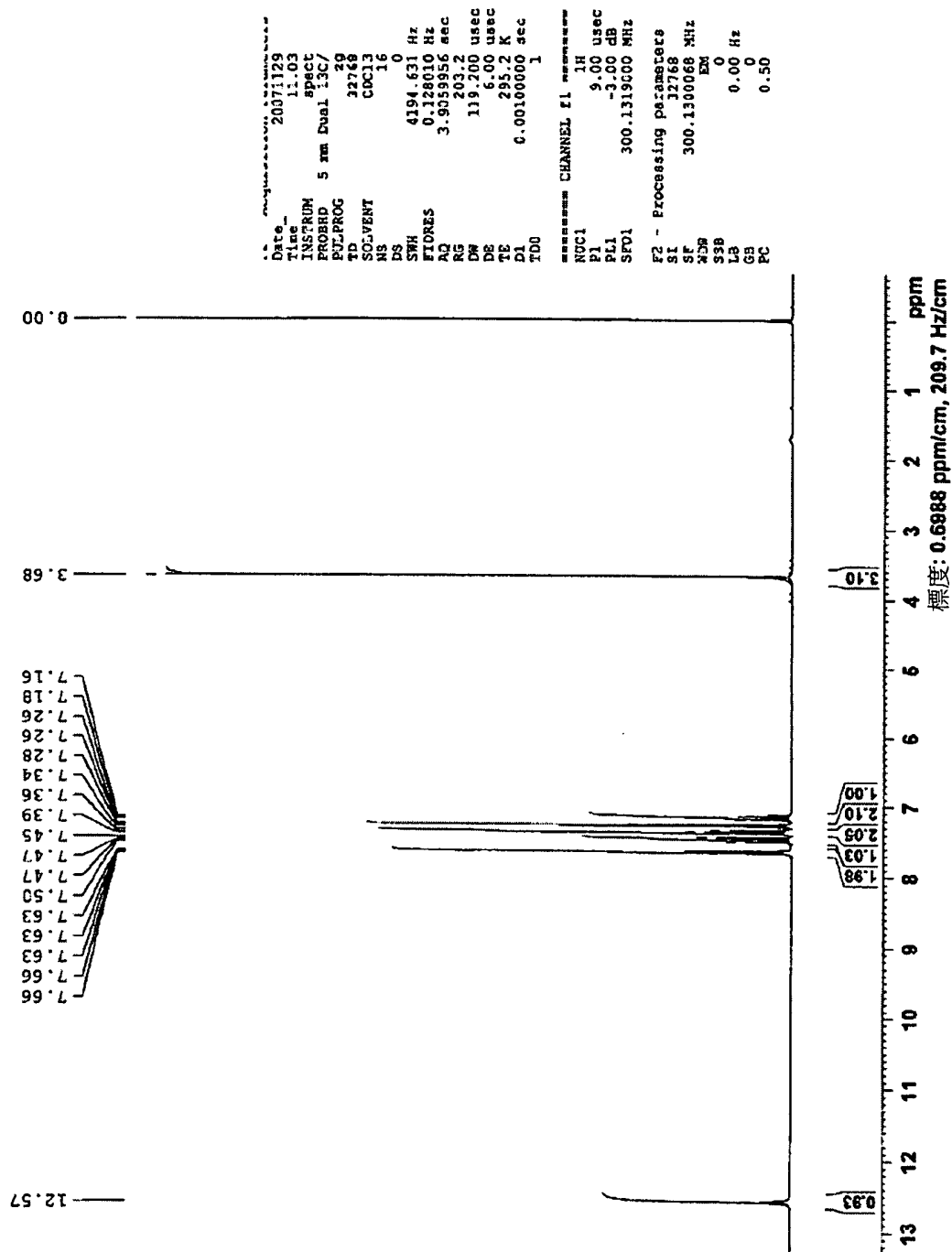
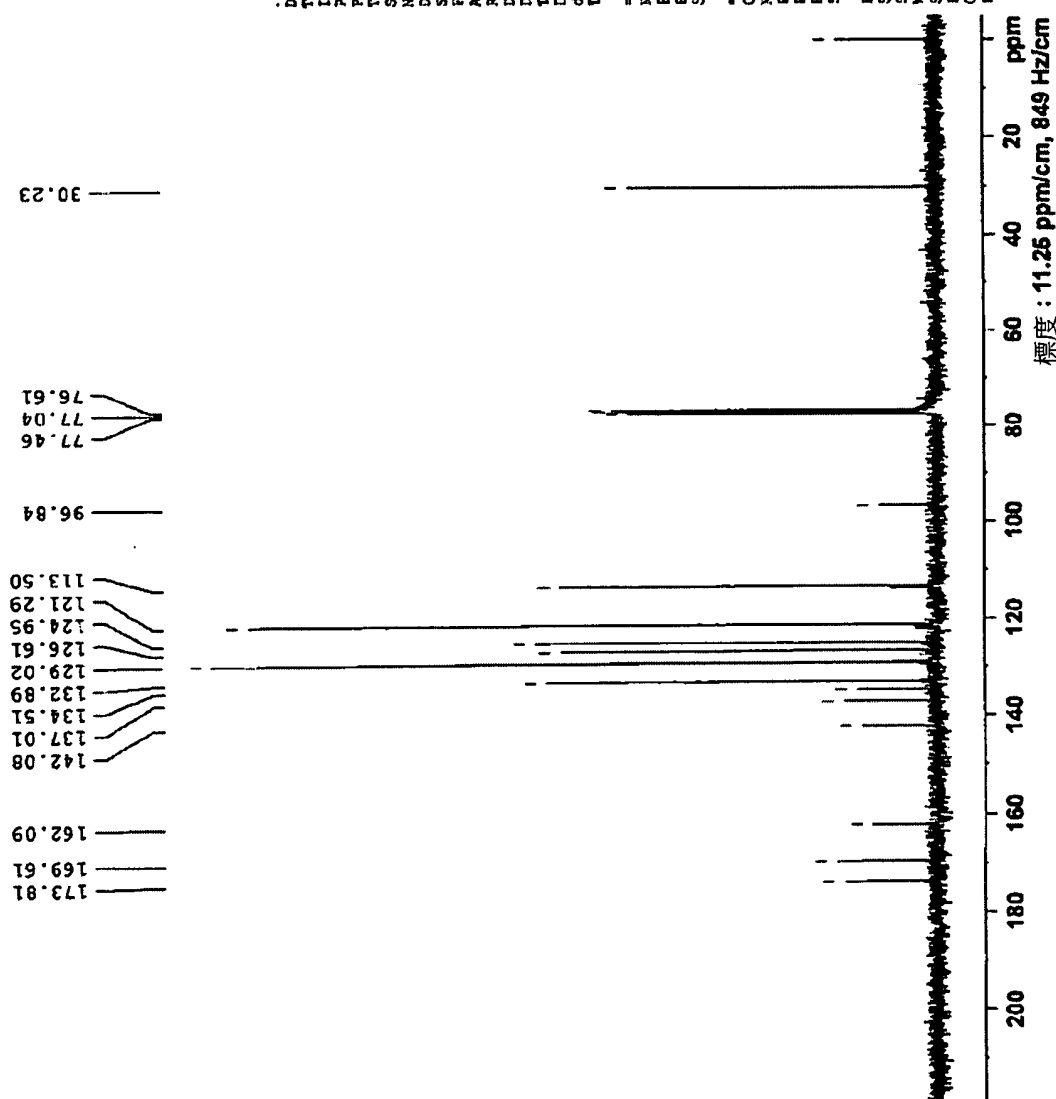


圖 24





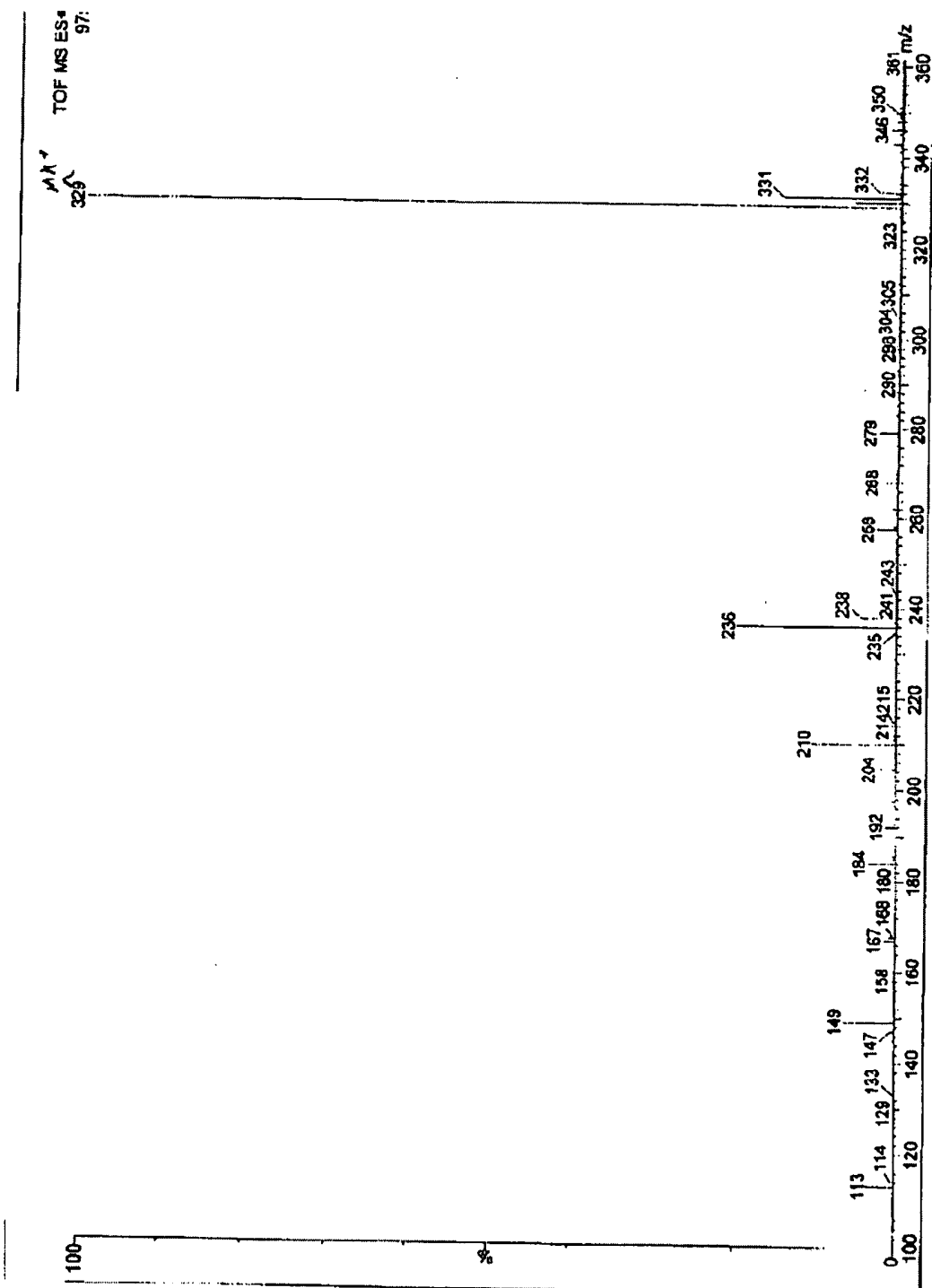
```

Date_ 20071129
Time_ 11.10
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm Dual 13C/
PULPROG zgpg
TD 32768
SOLVENT CDCl3
NS 1293
DS 0
SWH 19723.863 Hz
FIDRES 0.601925 Hz
AQ 0.9307168 sec
RG 5792.6
DE 25.350 usec
TE 295.2 K
D1 0.10000000 sec
d11 0.03000000 sec
TDO 1

CHANNEL f1 13C
NUC1 13C
P1 1.00 usec
PL1 -5.00 dB
SFO1 75.4739867 MHz

CHANNEL f2 1H
C7DPG2 waltz16
NUC2 1H
PCPD2 100.00 usec
PL2 -6.00 dB
PL12 12.00 dB
SFO2 300.1312000 MHz

F2 - Processing parameters
SF 32768
SF 75.4677497 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 2.00 Hz
GB 0
PC 1.00
  
```



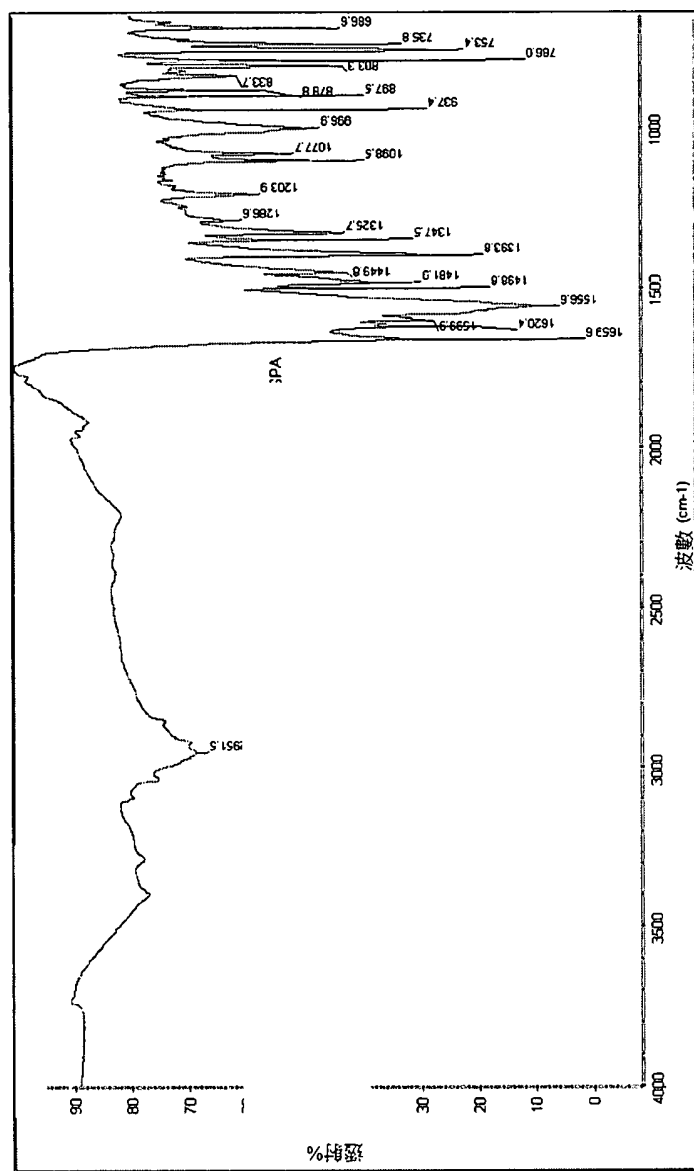


圖28



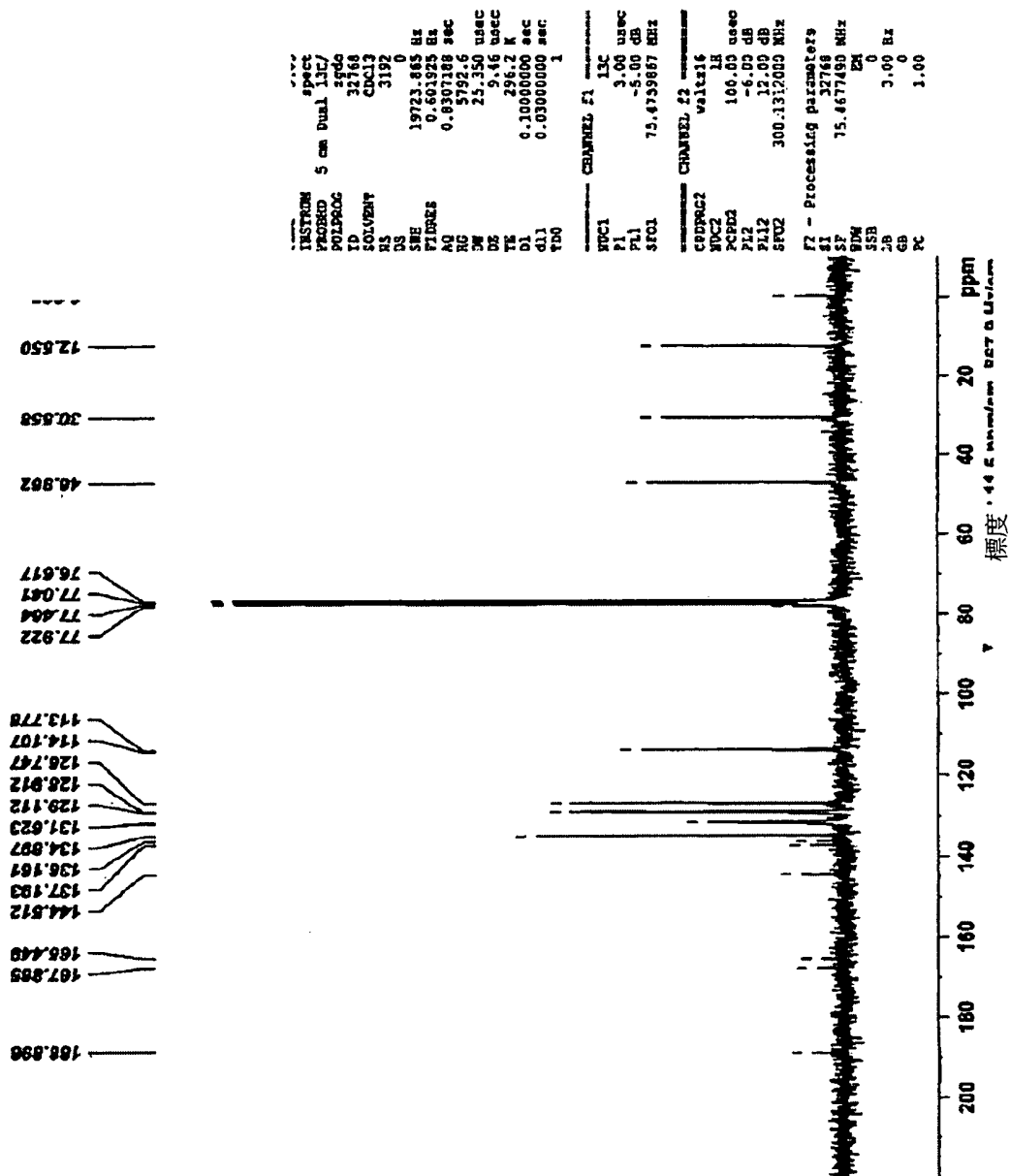


圖 30

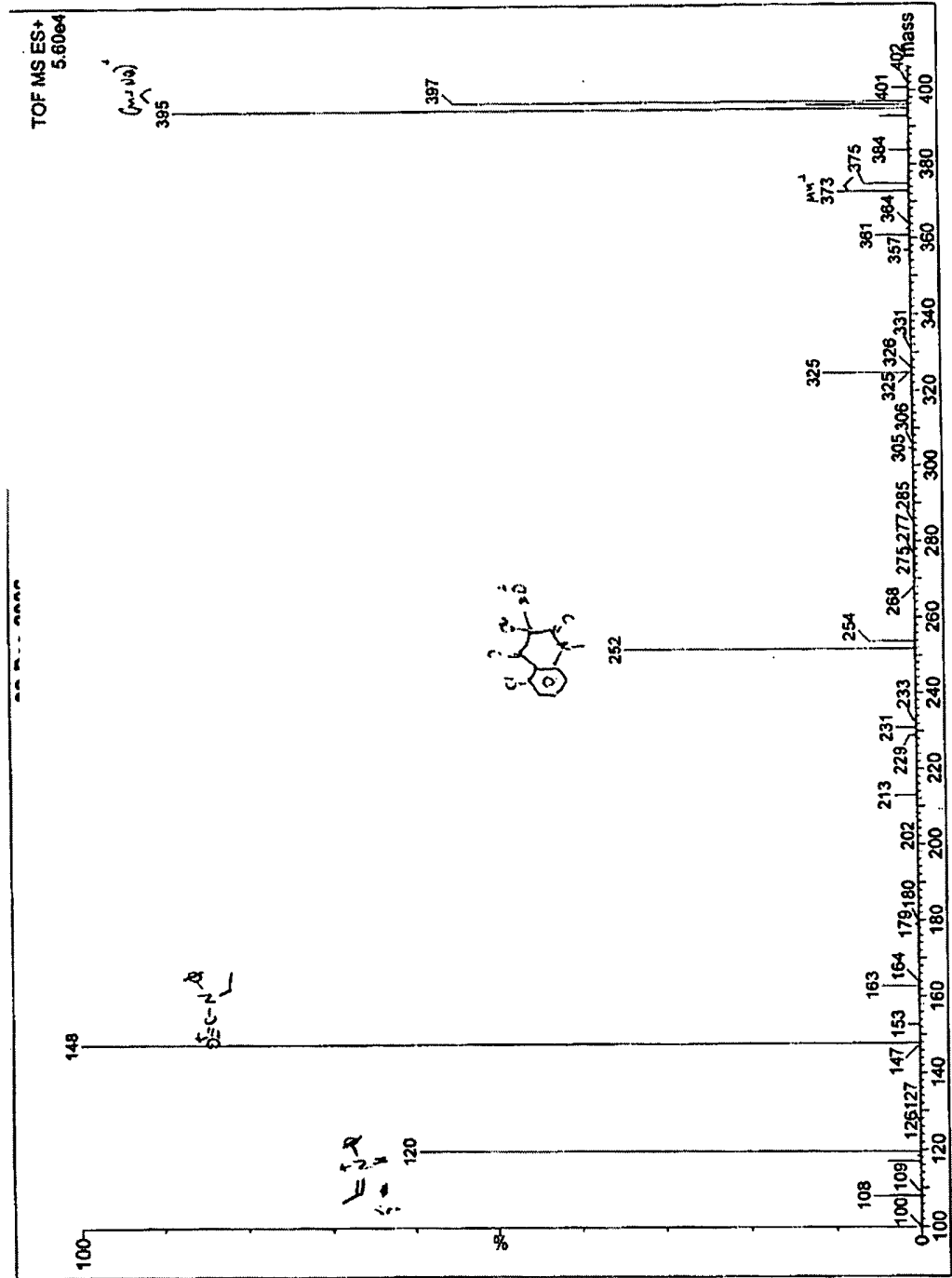


圖 31

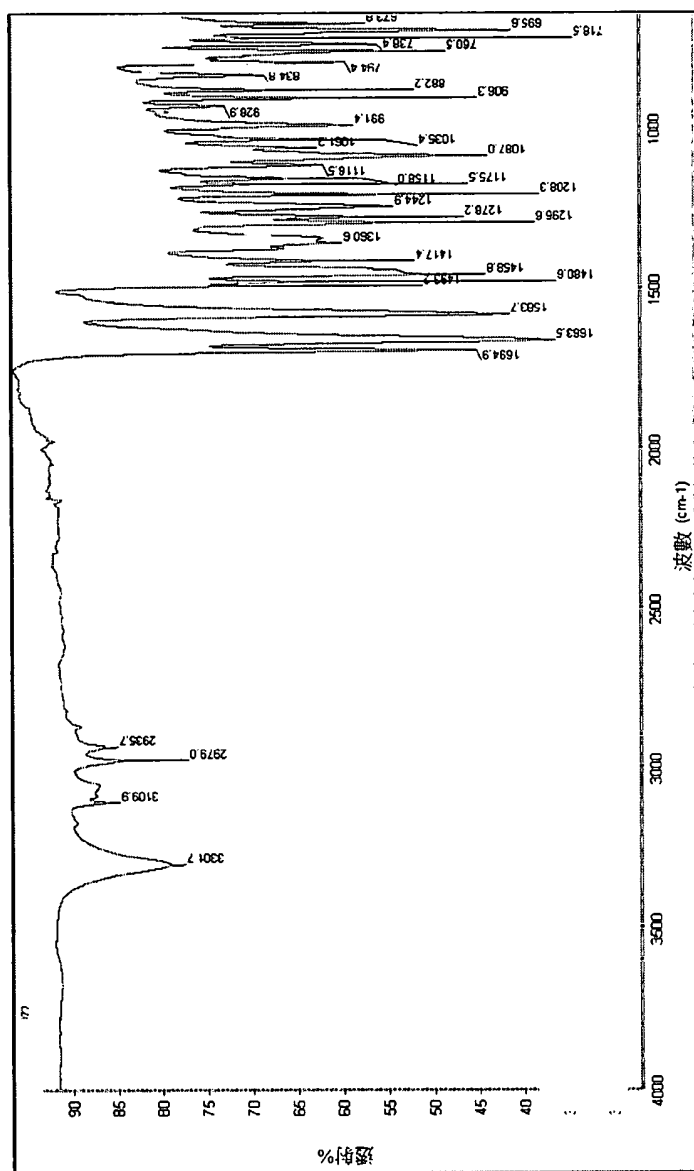
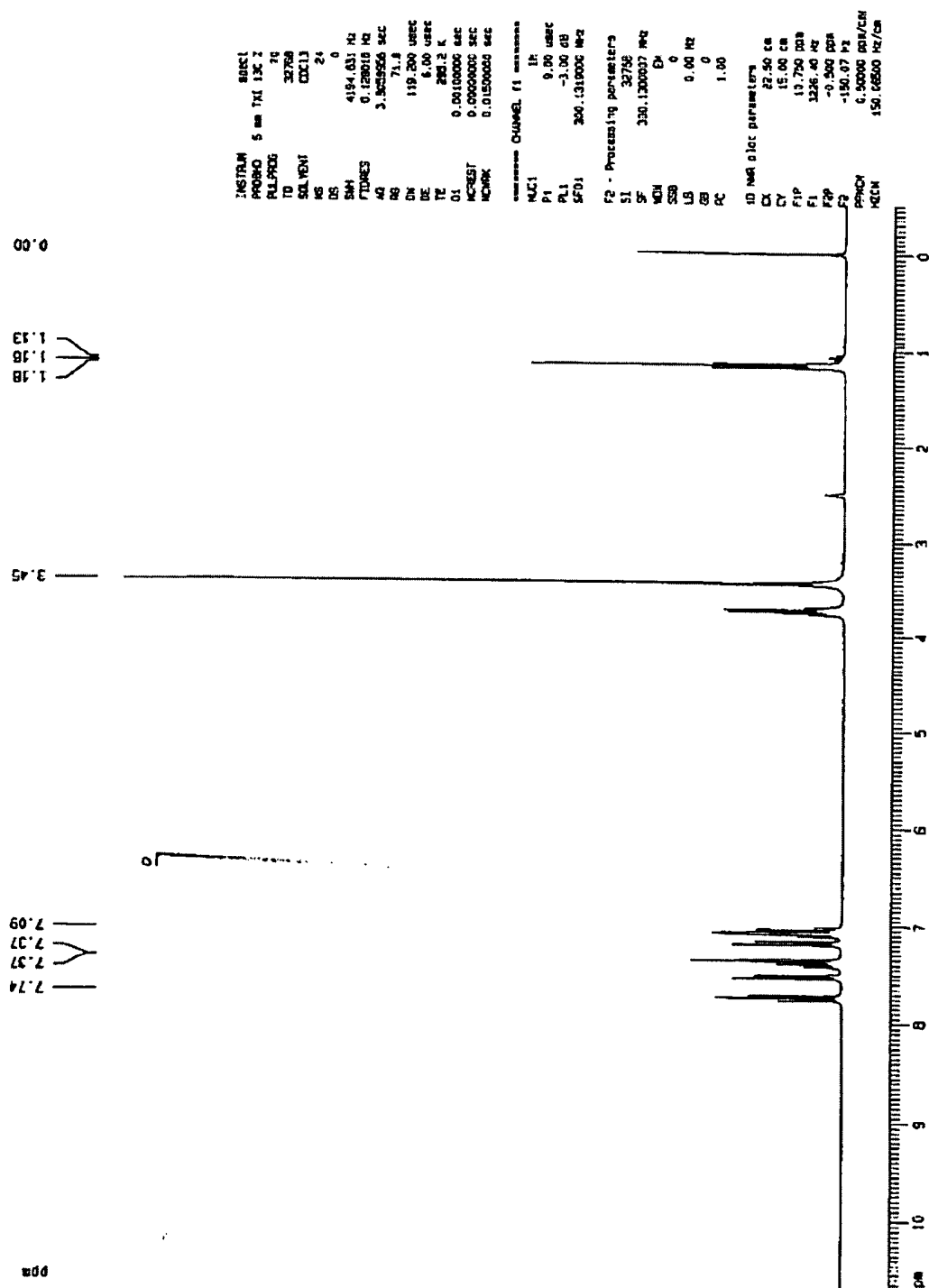


圖 32



33

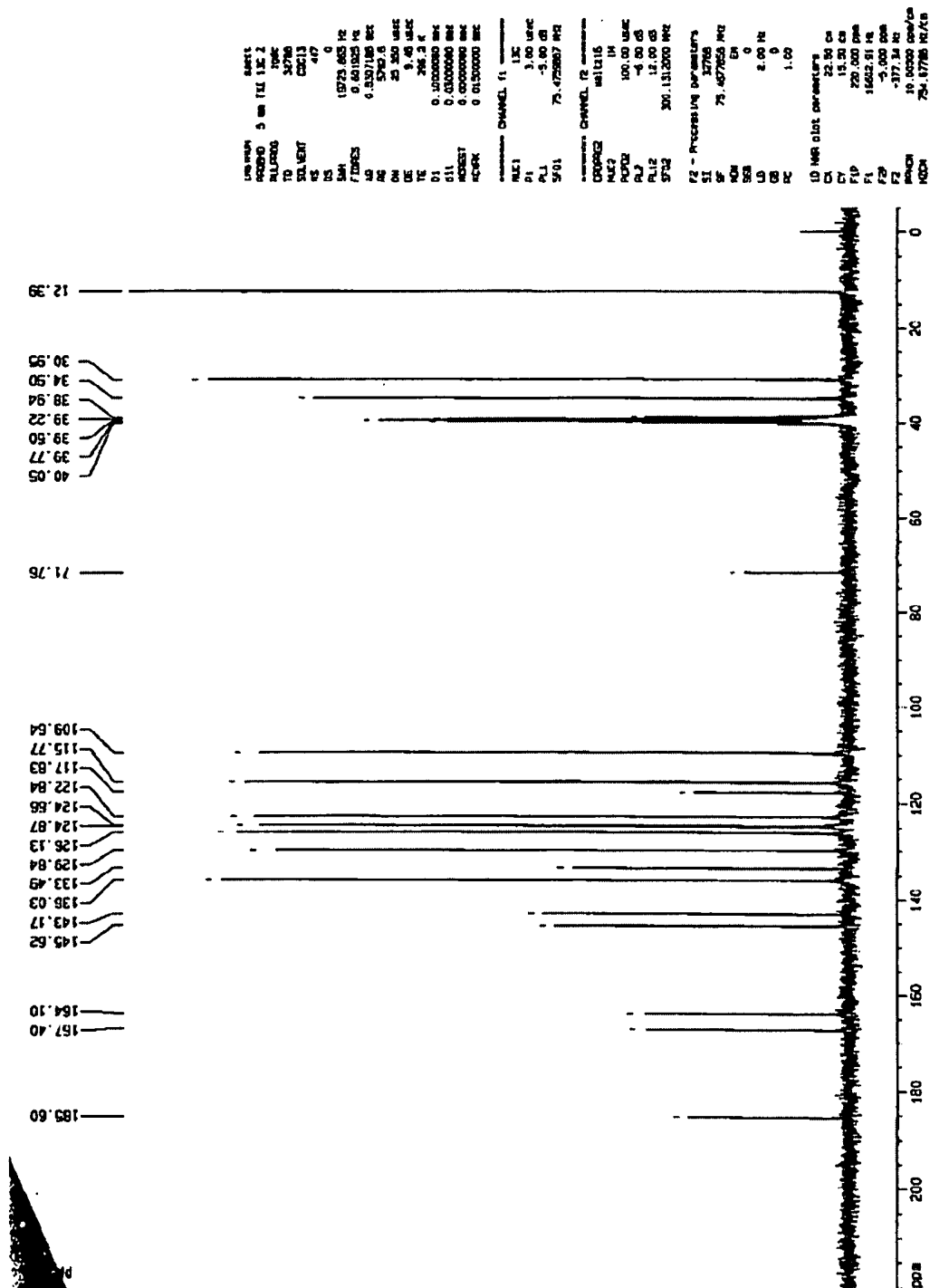


圖 34

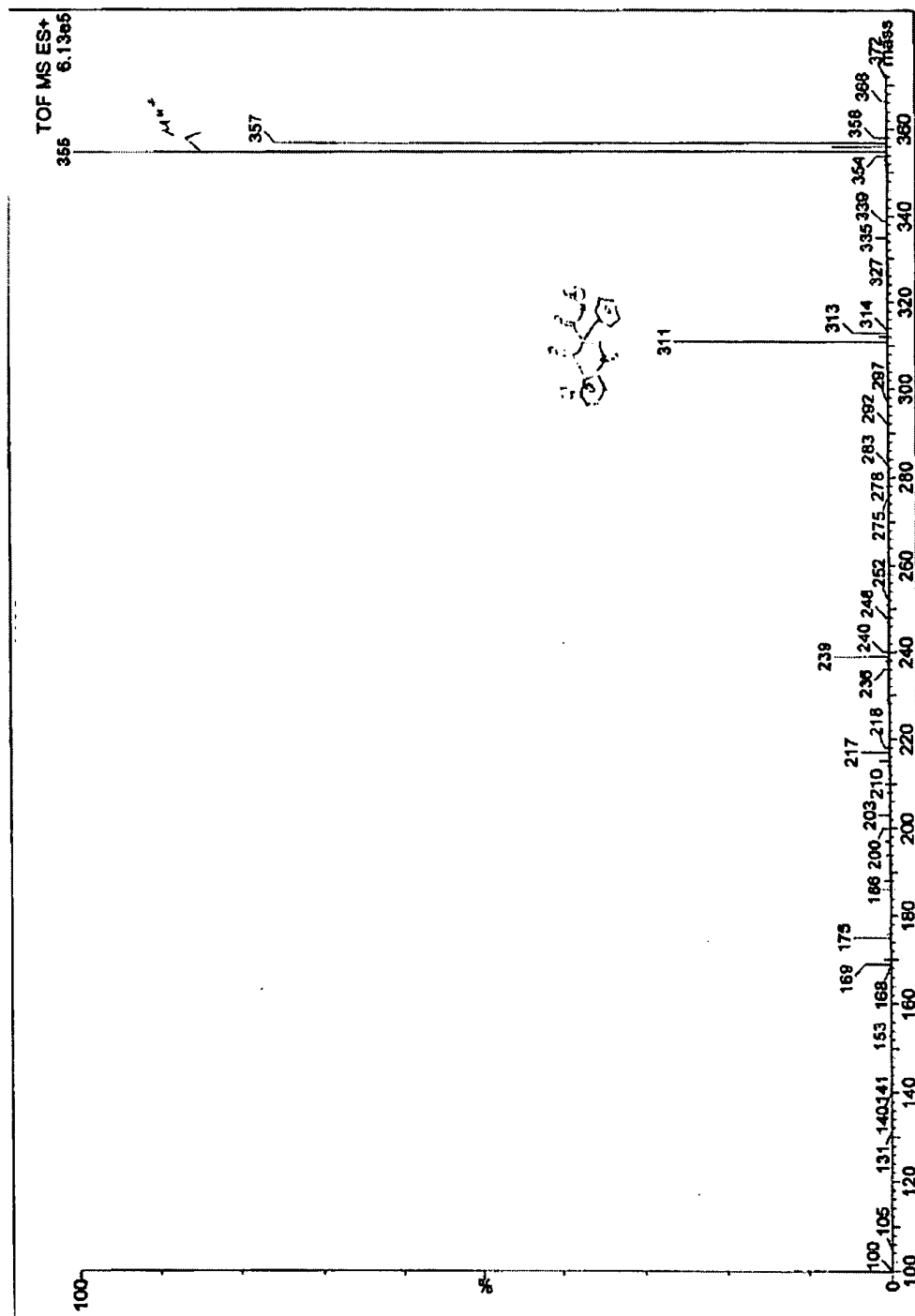


圖 35

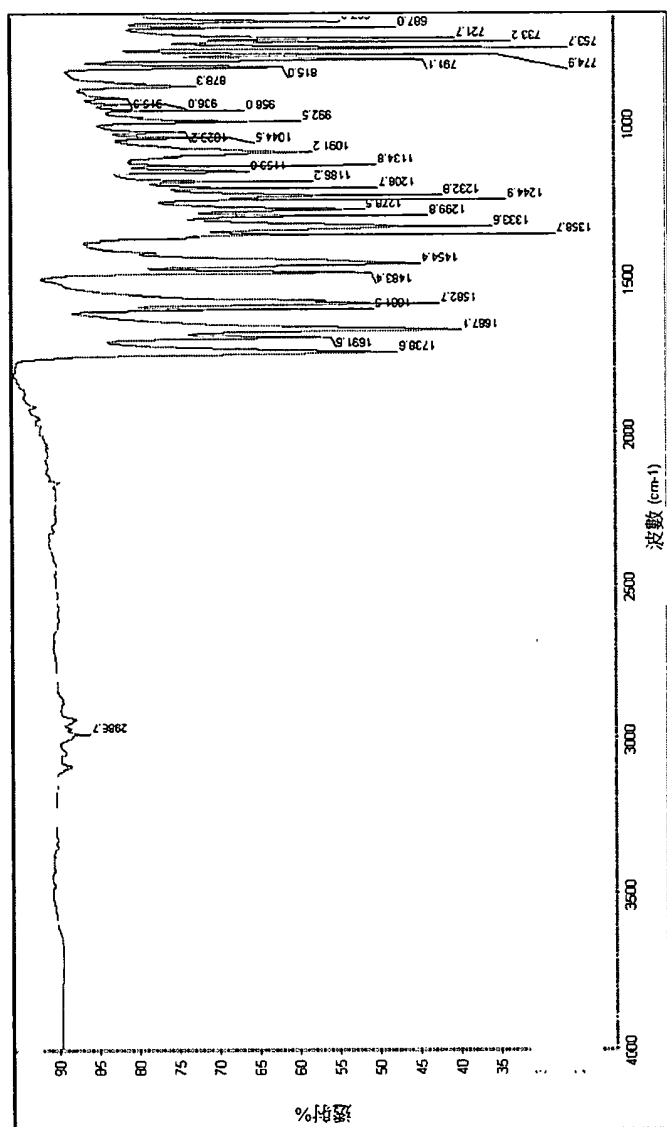


圖 36

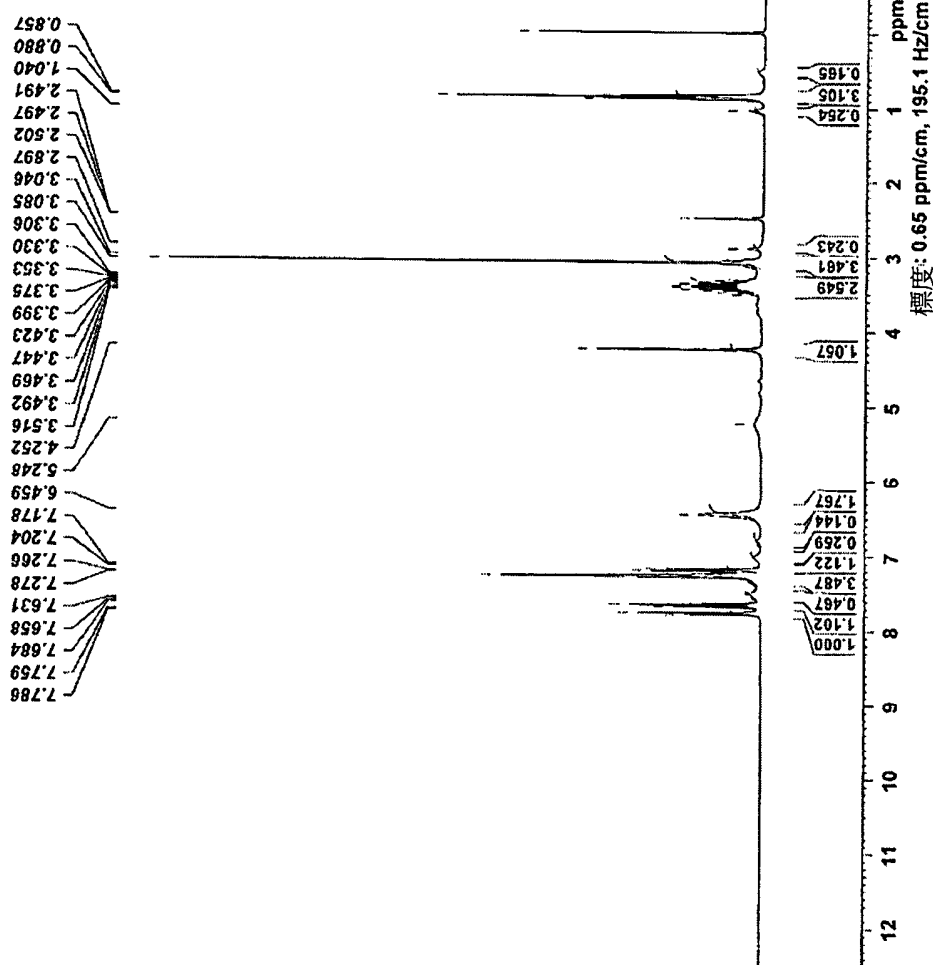


圖 37

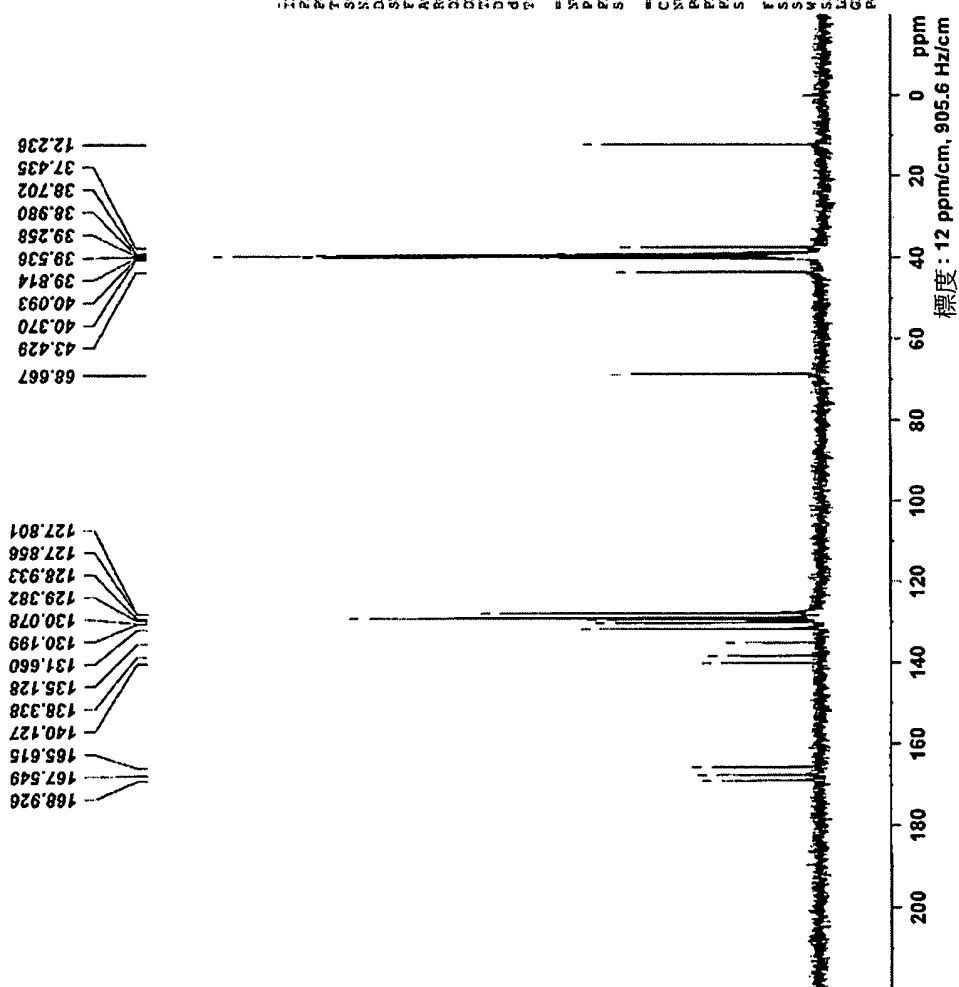
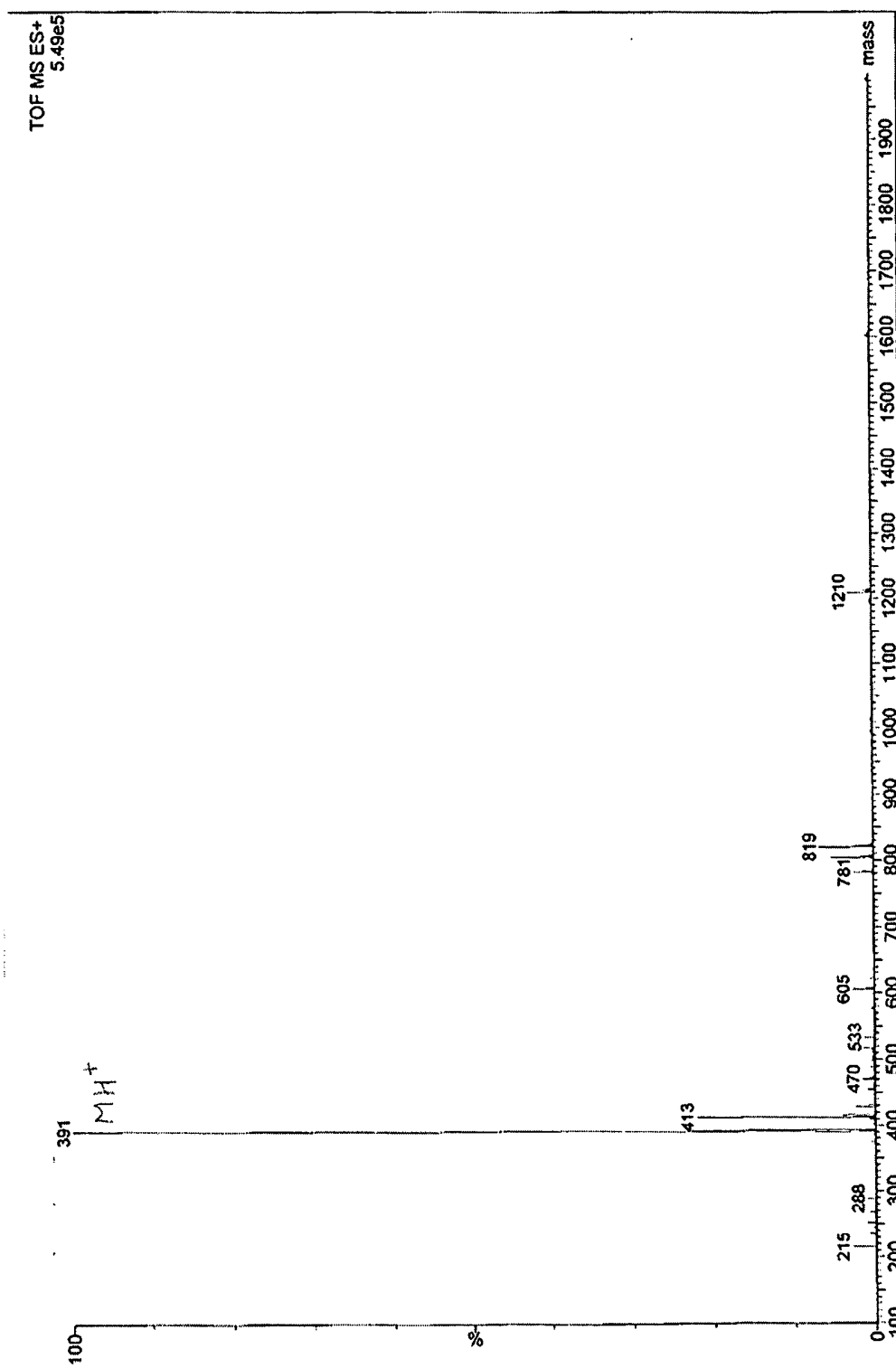


圖 38



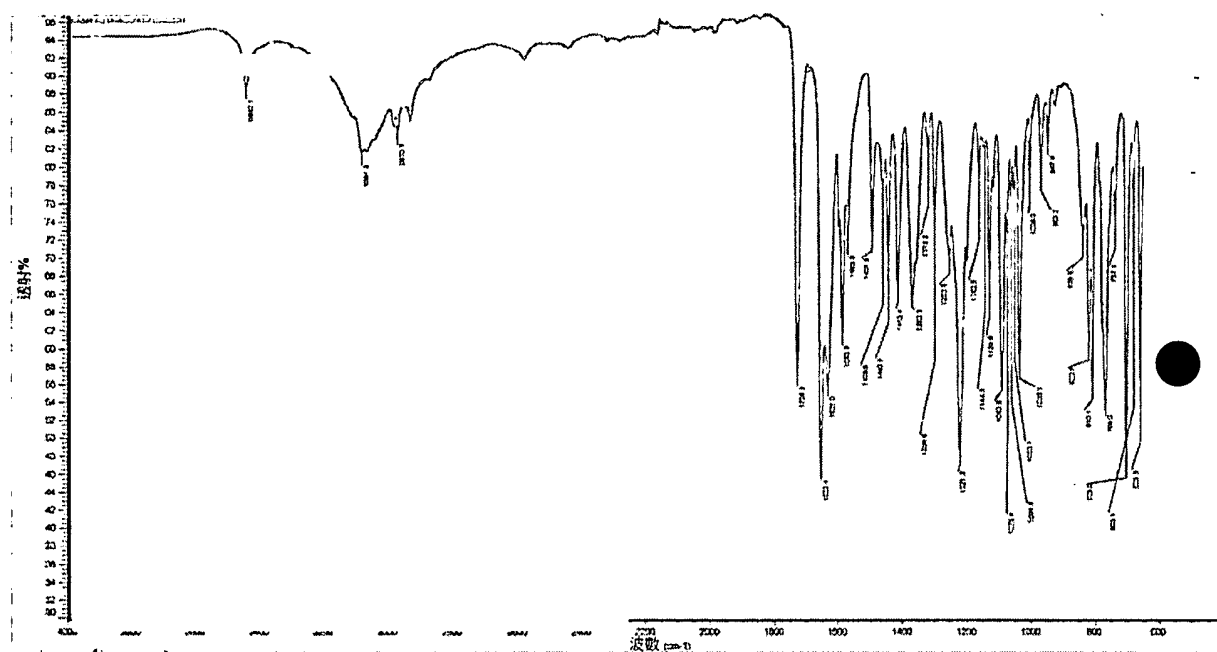


圖40

注射體積：50.00 μ l
操作時間：30.00 分鐘

小瓶

注射 1

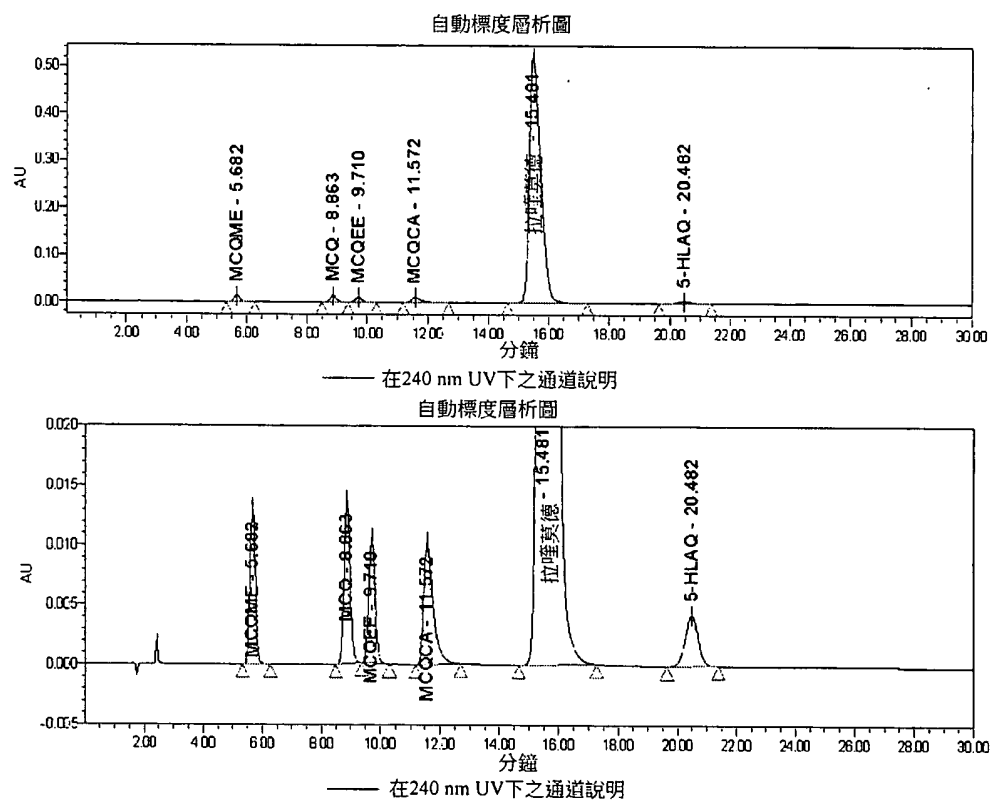


圖41

注射：2 注射體積：50.00 ul

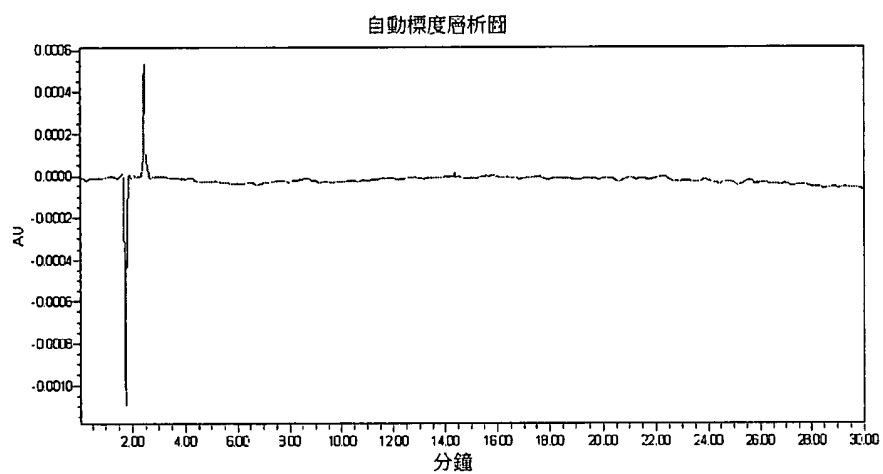


圖42

注射：1

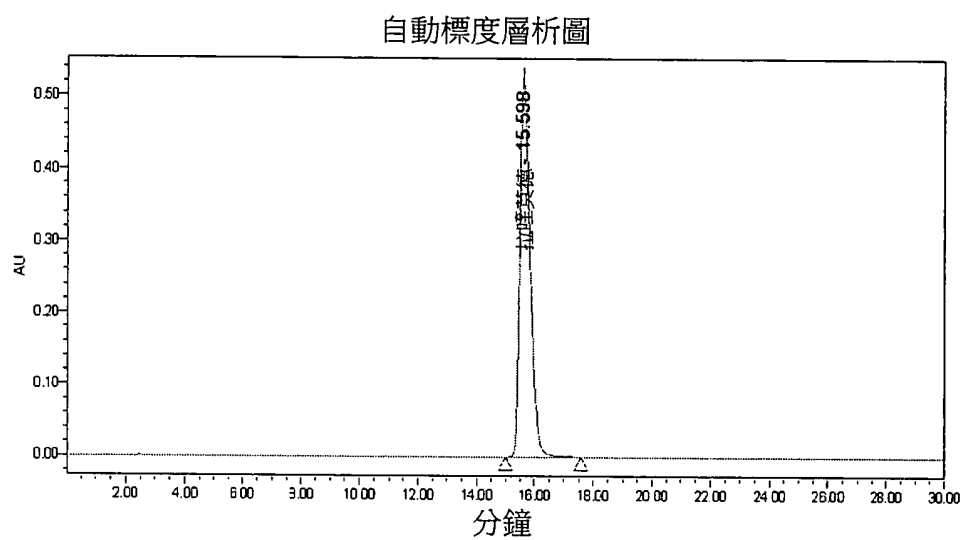
注射體積：50.00 μ l

圖43

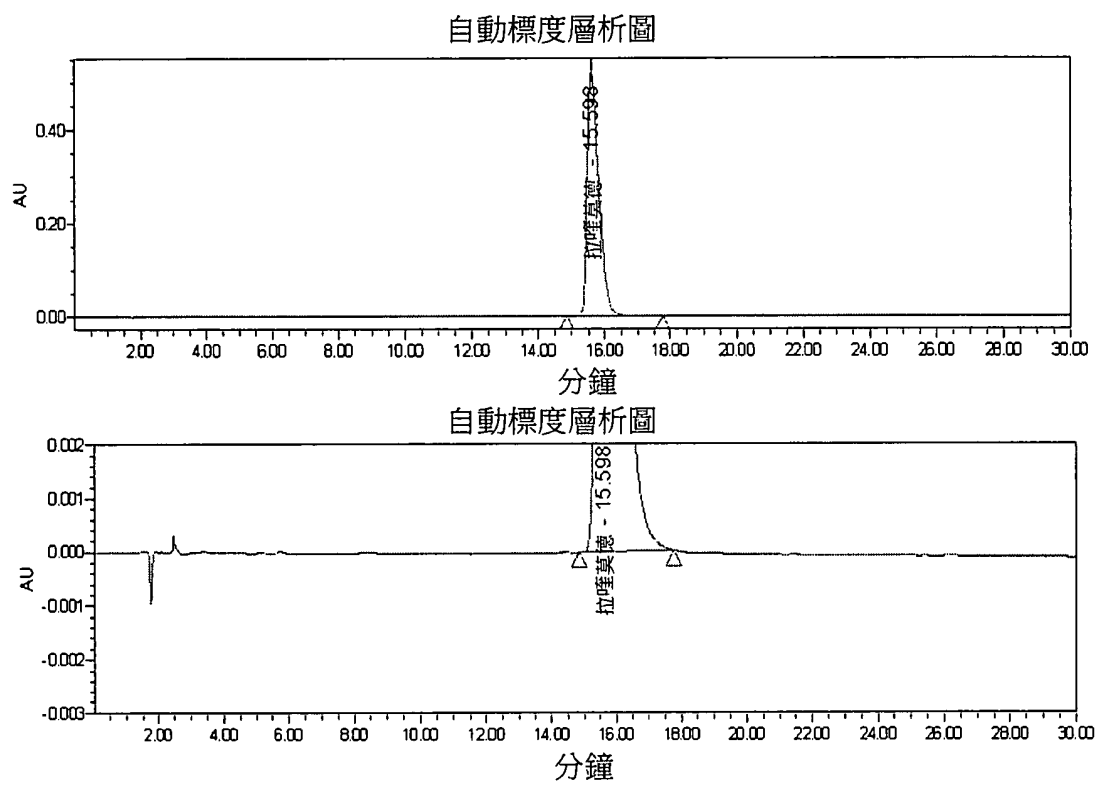
注射體積：50.00 μ l

圖44

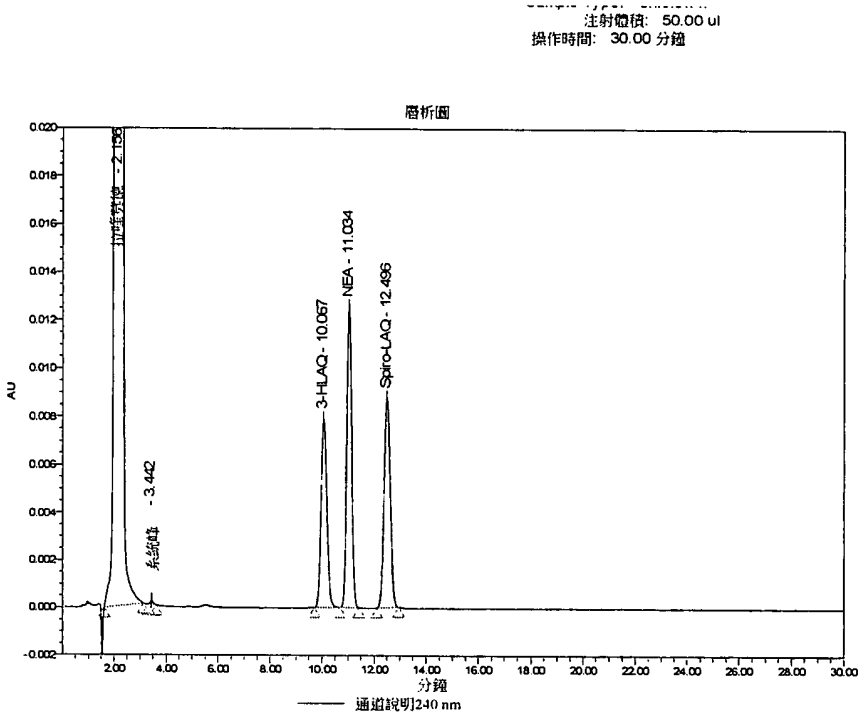


圖45

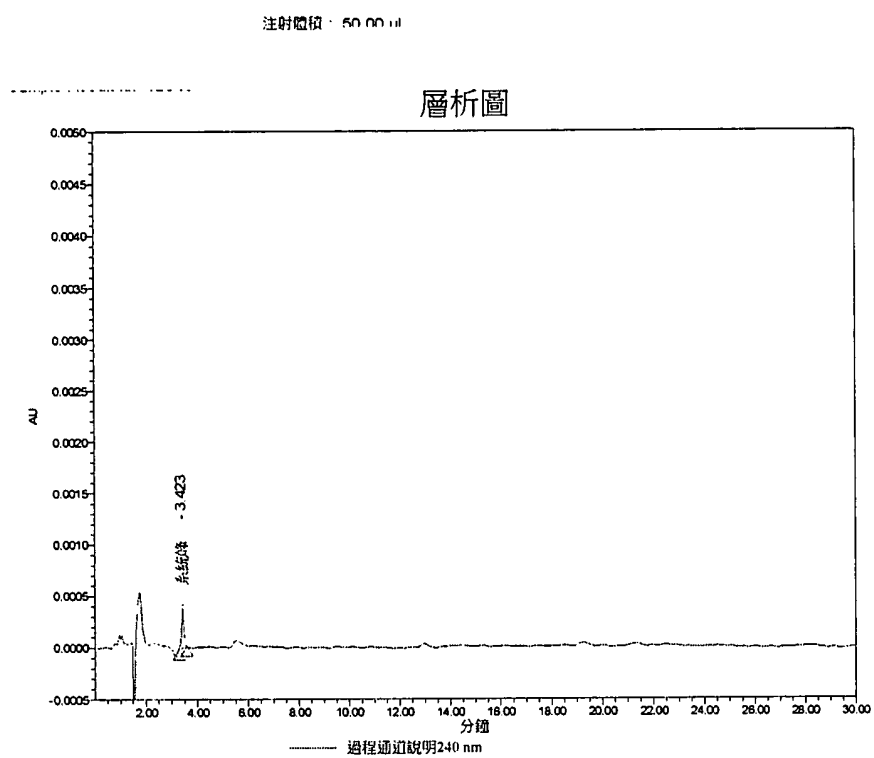


圖46

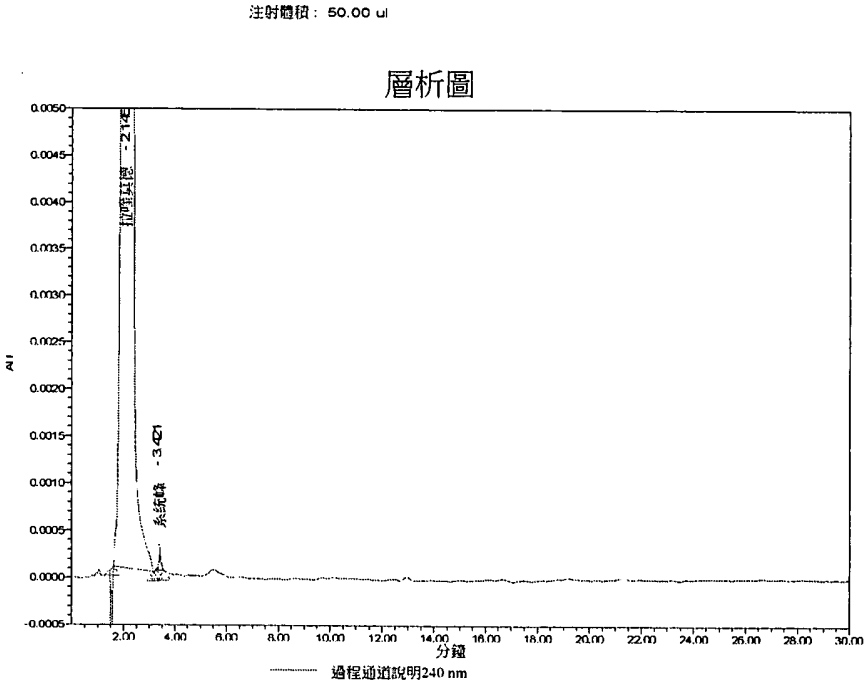
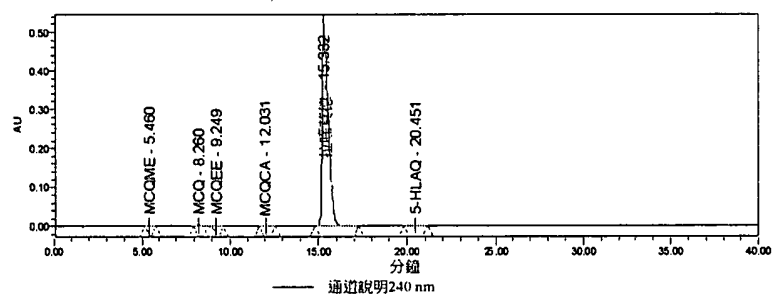


圖47

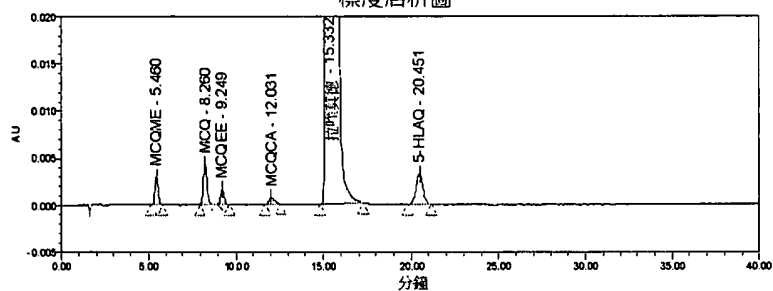
注射體積: 50.00 μ l
操作時間: 40.00 分鐘

自動標度層析圖



通道說明240 nm

標度層析圖



通道說明240 nm

圖48

注射體積： 50.00 ul
操作時間： 40.00 分鐘

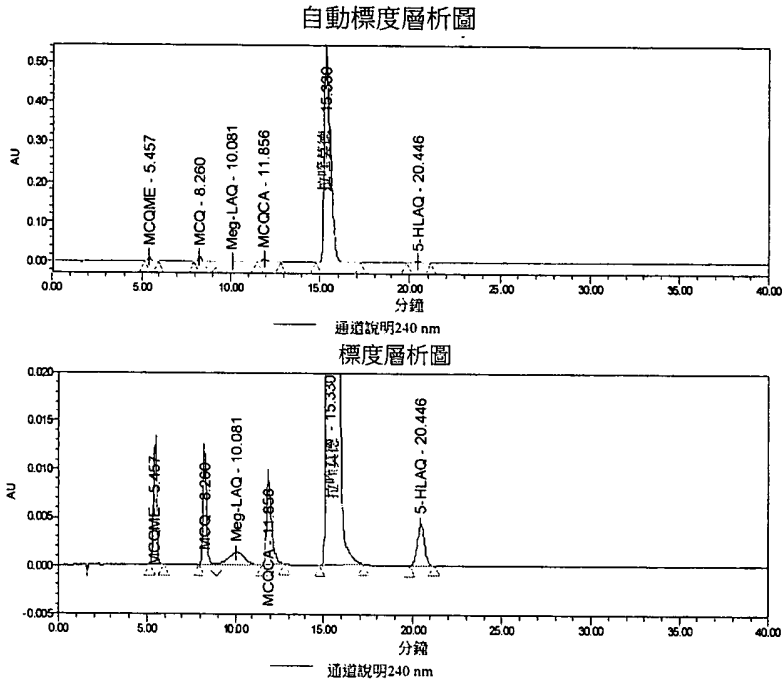


圖49

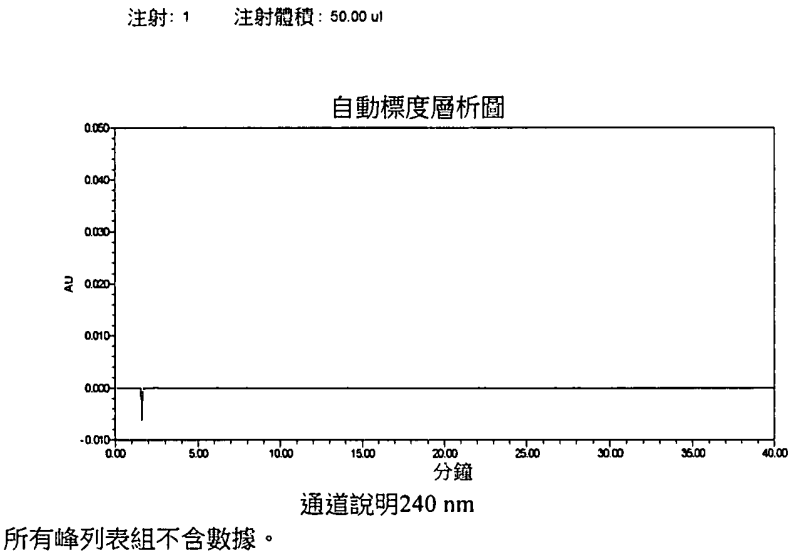


圖50

