



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I718158 B

(45)公告日：中華民國 110 (2021) 年 02 月 11 日

(21)申請案號：105118788

(22)申請日：中華民國 105 (2016) 年 06 月 15 日

(51)Int. Cl. : A61K9/08 (2006.01)

A61K31/215 (2006.01)

A61P31/04 (2006.01)

(30)優先權：2015/06/17 美國

62/180,871

(71)申請人：奧地利商納畢瓦治療有限責任公司 (奧地利) NABRIVA THERAPEUTICS GMBH (AT)

奧地利

(72)發明人：費倫希克 麥瑟斯 FERENCIC, MATHIAS (AT)；赫梅爾 華納 HEILMAYER, WERNER (AT)；漢斯曼 彼得 HINSMANN, PETER (AT)；維恰 沃爾夫岡 WICHA, WOLFGANG (AT)

(74)代理人：林志剛

(56)參考文獻：

TW 201209026A1

CN 1427827A

Prince, W. T., et al. "Phase II clinical study of BC-3781, a pleuromutilin antibiotic, in treatment of patients with acute bacterial skin and skin structure infections." Antimicrobial agents and chemotherapy 57.5 (2013): 2087-2094.

審查人員：陳世芹

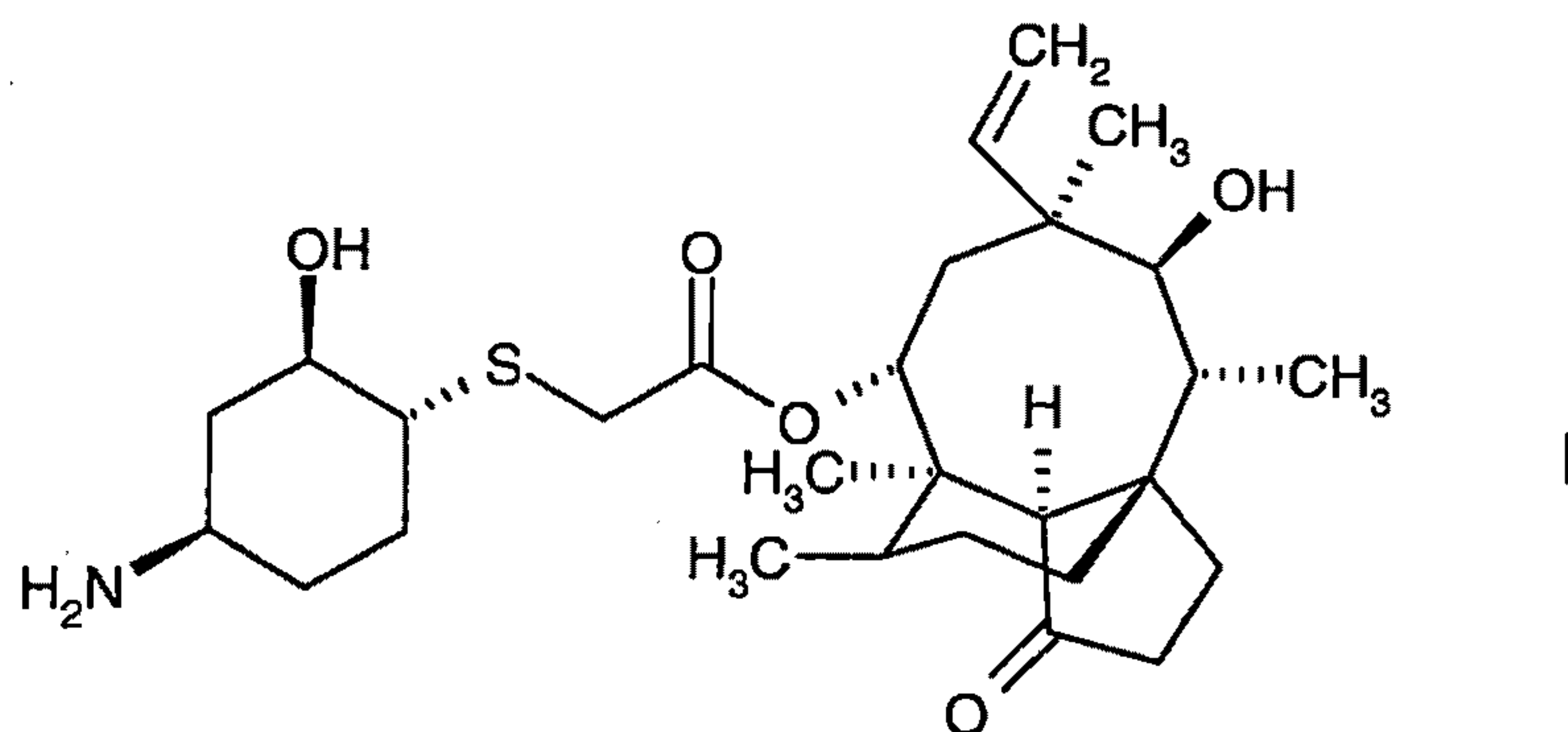
申請專利範圍項數：19 項 圖式數：0 共 35 頁

(54)名稱

藥學組成物

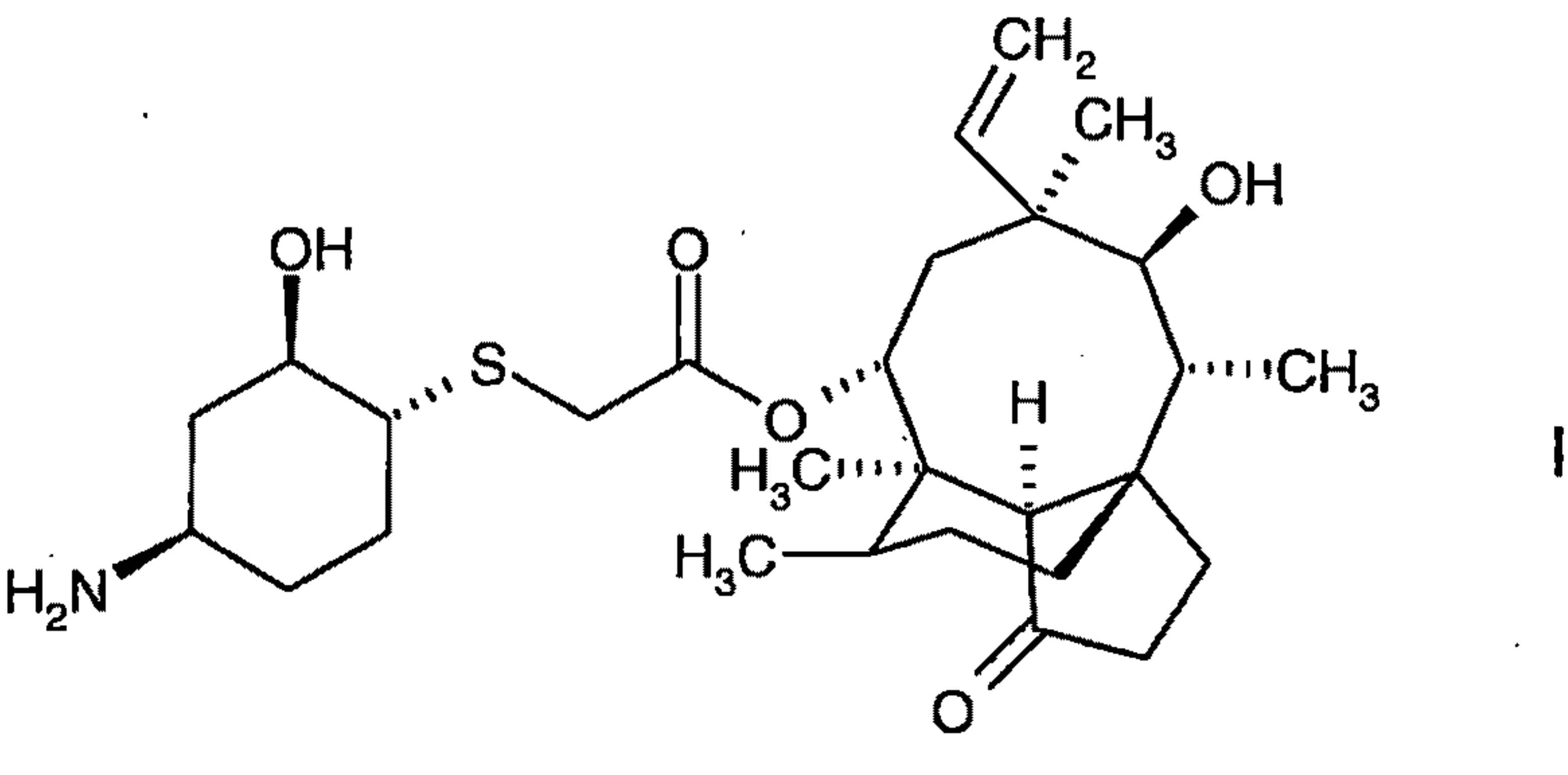
(57)摘要

本發明關於包含式(I)之化合物的可注射藥學調配物



該調配物係經緩衝至藥學可接受之 pH 值，尤其是 2 至 6 之 pH 值，特別是 3 至 5.5 之 pH 值，較佳為約 4 至 5 之 pH 值，特佳為約 5。

The present invention relates to an injectable pharmaceutical formulation comprising a compound of formula (I)



said formulation being buffered to a pharmaceutically acceptable pH-value, especially a pH-value of from 2 to 6, in particular a pH value of from 3 to 5.5, preferred a pH-value of about 4 to 5, particularly preferred about 5.

I718158

發明摘要

※申請案號：105118788

※申請日：105 年 06 月 15 日

※IPC 分類：A61K 9/08 (2006.01)
A61K 31/215 (2006.01)
A61P 31/04 (2006.01)

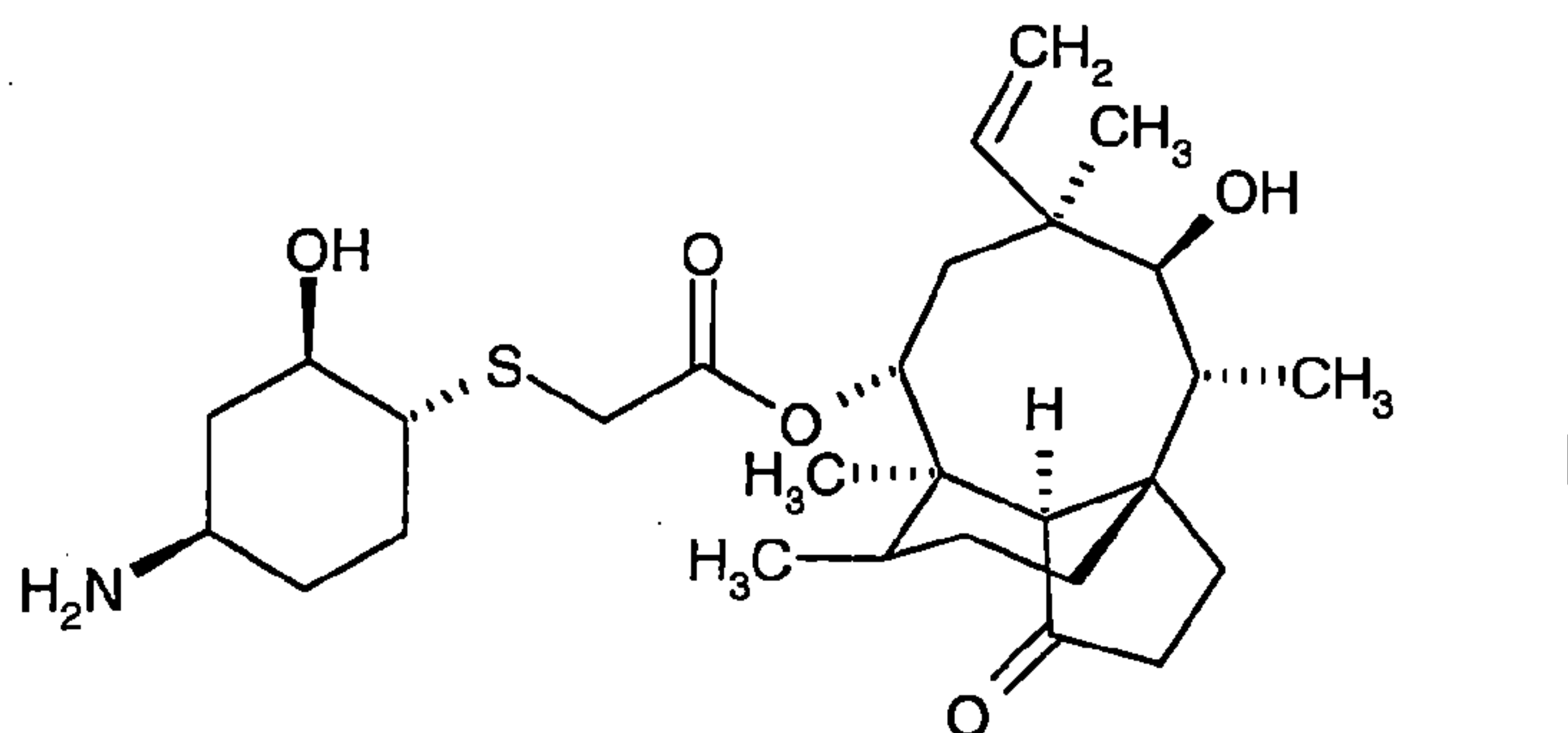
【發明名稱】(中文/英文)

藥學組成物

Pharmaceutical Composition

【中文】

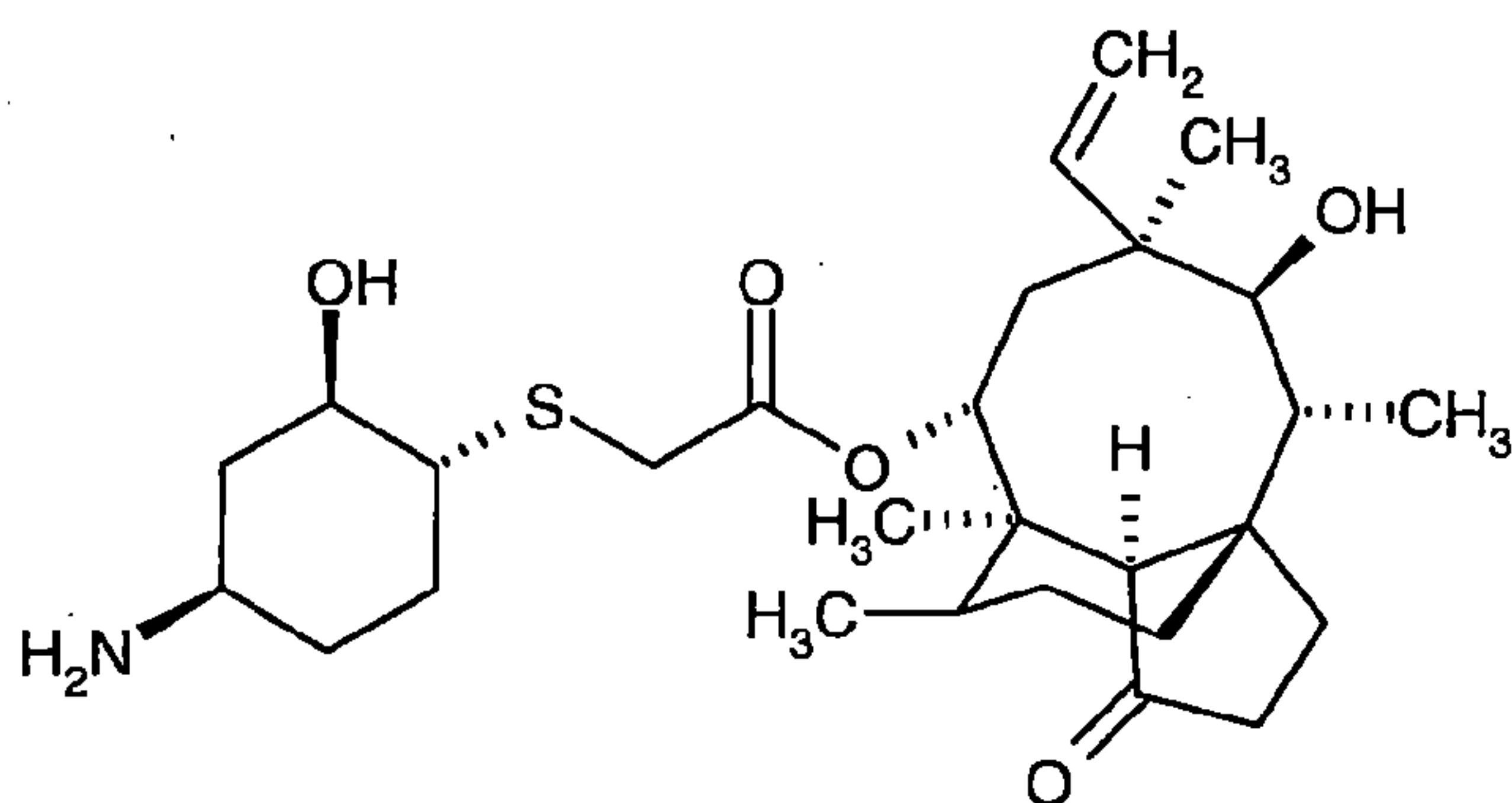
本發明關於包含式 (I) 之化合物的可注射藥學調配物



該調配物係經緩衝至藥學可接受之 pH 值，尤其是 2 至 6 之 pH 值，特別是 3 至 5.5 之 pH 值，較佳為約 4 至 5 之 pH 值，特佳為約 5。

【 英文 】

The present invention relates to an injectable pharmaceutical formulation comprising a compound of formula (I)



said formulation being buffered to a pharmaceutically acceptable pH-value, especially a pH-value of from 2 to 6, in particular a pH value of from 3 to 5.5, preferred a pH-value of about 4 to 5, particularly preferred about 5.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：無。

【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】：無

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

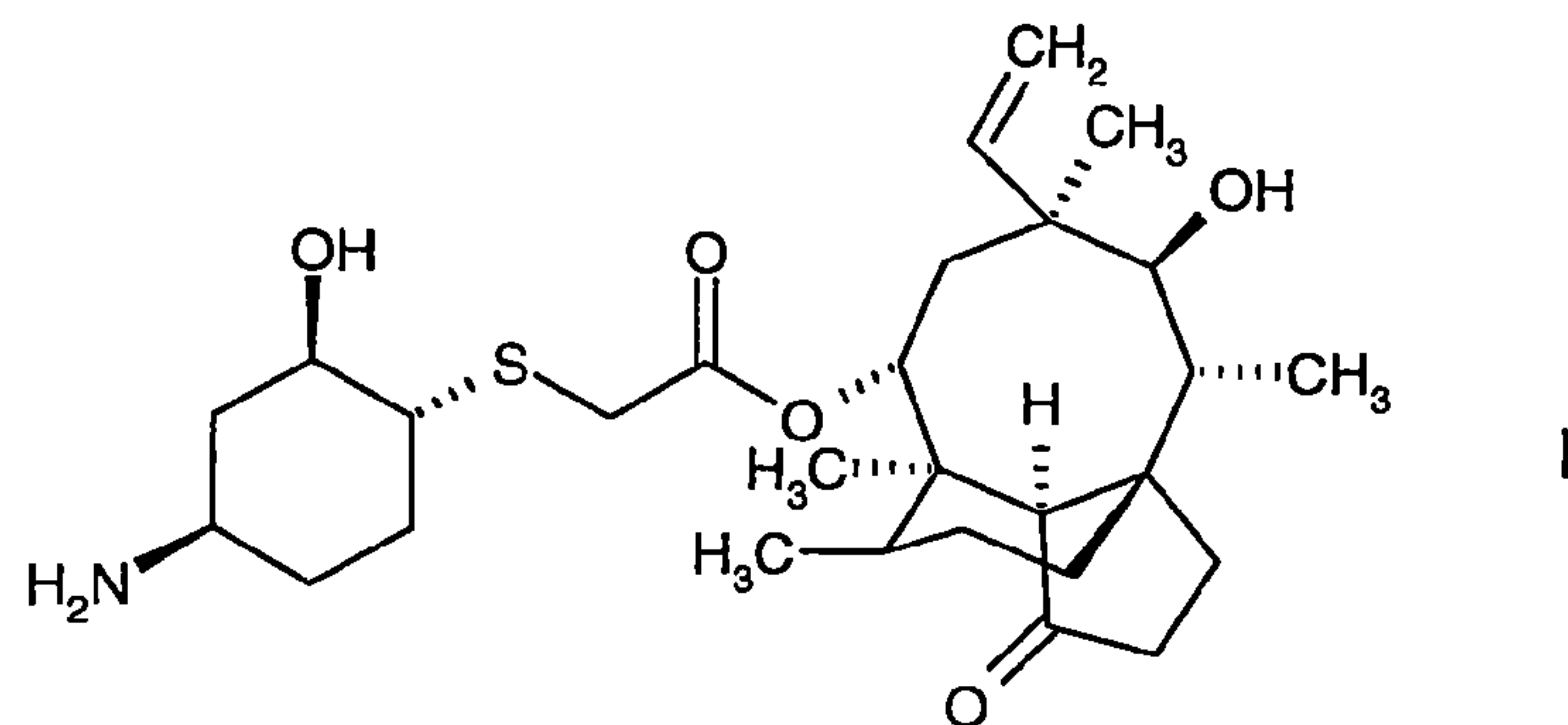
【發明名稱】(中文/英文)

藥學組成物

Pharmaceutical Composition

【技術領域】

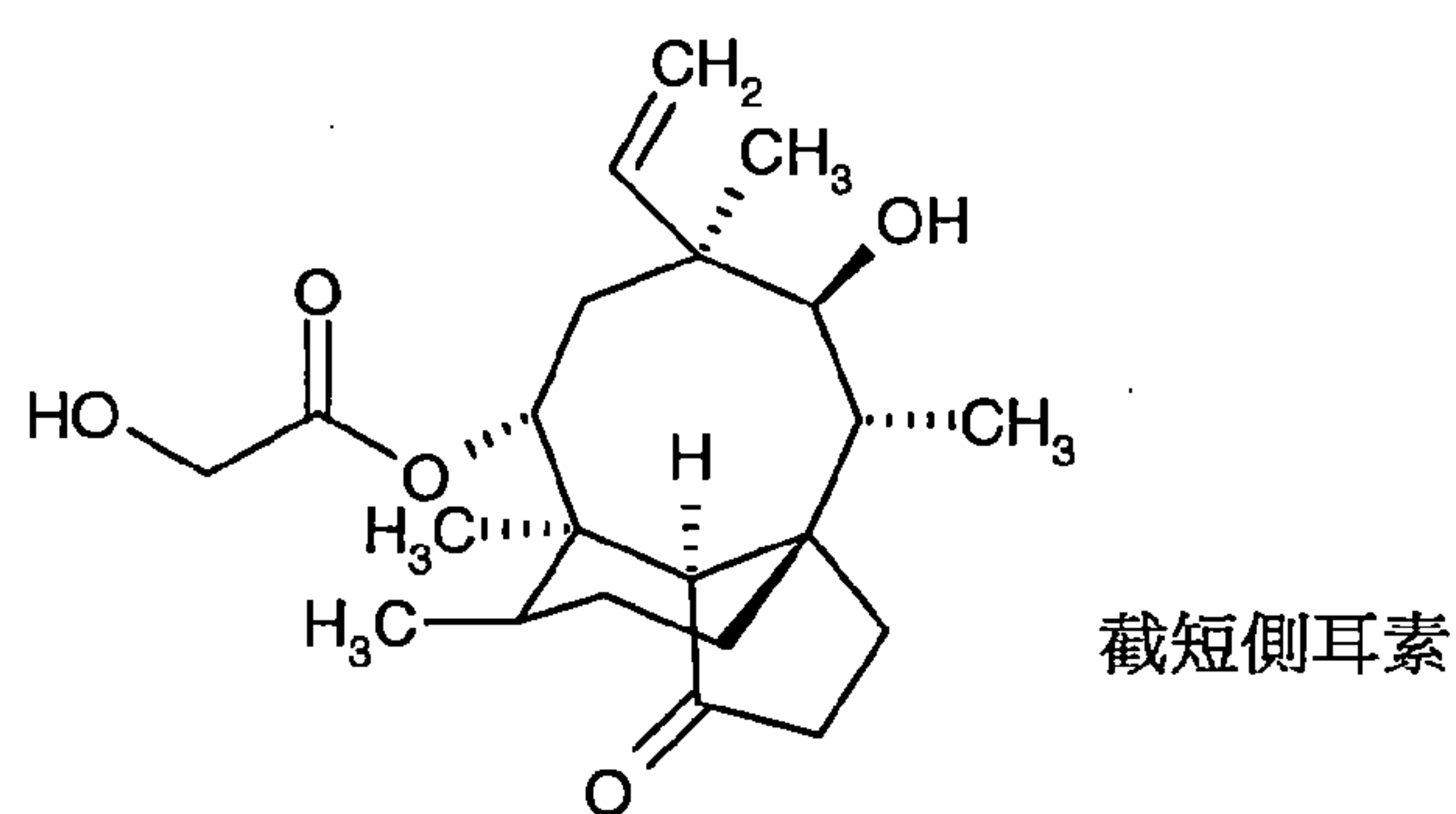
本發明關於包含式(I)之化合物的藥學組成物



即，14-O- { [(1R,2R,4R) -4-胺基-2-羥基-環己基巯基] -乙醯基 } -木替靈 (mutilin) (下文中稱為「BC-3781」) 以及其鹽。

【先前技術】

截短側耳素 (Pleuromutilin) 為下式之化合物



為天然抗生素，由例如擔子菌類 *Pleurotus mutilus* 及 *P. passeckerianus* 產生，詳見例如 *The Merck Index* (12 版，項目 7694)。

一些具有截短側耳素主環結構且一級羥基經取代的其他截短側耳素已發展如作為抗生物劑。因其顯著抗微生物活性之故，已發現截短側耳素衍生物（胺基-羥基-經取代環己基巯基乙醯基本替靈）群組（如 WO 2008/113089 所揭示）特別重要。如 WO2008/113089 所揭示，14-O- { [(4-胺基-2-羥基-環己基) -巯基] -乙醯基} -木替靈為特別有用的化合物，因其對革蘭氏陽性及革蘭氏陰性病原體，尤其是在呼吸道與皮膚及皮膚組織感染的情況。特別是，14-O- { [(1R,2R,4R) -4-胺基-2-羥基-環己基巯基] -乙醯基} -木替靈（下文中稱為「BC-3781」或「利法木靈 (lefamulin)」) 已發展為供全身性治療人類的嚴重感染。BC-3781 已例如由 R. Novak 於 *Are pleuromutilin antibiotics finally fit for human use?* *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1241 (2011) 71-81 中及 W. T. Prince 等人於 *Phase II Clinical Study of BC-3781, a Pleuromutilin Antibiotic, in Treatment of Patients with Acute Bacterial Skin and Skin*

Structure Infections) (Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Vol. 57, No. 5 (2013), 2087-2094 中描述。後者文獻說明了截短側耳素衍生物經由全身性投服治療人類嚴重感染的概念之第一證明。利法木靈可口服及靜脈內投服。當靜脈內投服化合物時，經常觀察到注射位置不耐性。當該化合物係作為靜脈內輸液遞送時，輸液位置刺激經常更加明顯，且在人類使用情況下，程度可從溫和至中等及嚴重。局部不耐性效果包括疼痛、紅斑及靜脈炎。S.H. Yalkowsky 等人於 Journal of Pharmaceutical Sciences, Vol. 87, No. 7, 1998, 787 中已描述與靜脈內藥物遞送有關的調配問題，且彙報溶血現象、沉澱、靜脈炎及疼痛為主要副作用。然而，該先前技術文獻中總體而言並無述及截短側耳素或特別是利法木靈之調配物或調配物發展。

G. Eichenbaum 等人於 Journal of Pharmacological and Toxicological Methods, 68, 2013, 394 中已描述用以評估及改善在首次施用於人類測試之前在生理血液 pH（例如 pH 7.4）下具有低溶解性的化合物之靜脈內調配物的注射位置耐受性之方法。該研究係針對兩性離子性之模型化合物 JNJ-X。然而，BC-3781 既不是兩性離子且在血液 pH 下亦不具低溶解性。

WO 1999/30728 描述在水溶液中含有達福普汀（dalfoprismine）/奎紐普汀（quinupristine）並與用以避免或減少注射位置之不耐性效果的添加劑組合之可注射組

成物。該等添加劑包括緩衝劑溶液。然而，該文獻係關於組合應用在結構及物理化學性質上與截短側耳素衍生物（例如 BC-3781）均非常不同的兩種截然不同化合物之達福普汀/奎紐普汀。此外，BC-3781 係作為單一化合物使用以治療嚴重感染，尤其是高度抗藥性病原體所造成的感染。

其他先前技術文獻描述用於與輸液位置耐受性改善相關之不同分子的調配物發展及研究。此等先前技術之簡短非全面性選錄列出如下：

- a) S. Gupta 等人之 Parenteral Formulation Development of Renin Inhibitor Abbott-72517, J. of Pharm. Sci. & Tech. 48 (2) :86-91 (1994)
- b) P. Simamora 等人之 "Studies in Phlebitis VIII: Evaluations of pH Solubilized Intravenous Dexverapamil Formulations", PDA J. of Pharm. Sci. & Tech. 50 (2) :123-128 (1996)
- c) L. Willems 等人之 Itraconazole oral solution and intravenous formulations: a review of pharmacokinetics and pharmacodynamics, Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics, 2001, 26, 159。

與 BC-3781 相較時，該等其他先前技術文獻中所描述的所有分子之結構及物理化學性質均與截短側耳素衍生物非常不同。因此，發展對利法木靈具有經改善之局部耐受性的調配物的任務與先前技術中所述的方法非常不同。

【發明內容】

此任務係由申請專利範圍第 1 項之標的解決。較佳實施態樣係列於附屬項中。

特別是，本發明關於 BC-3781 之可注射調配物，尤其是用於靜脈內投服者。

BC-3781 及其合成係揭示於例如 WO 2008/113089。

已發現含有經緩衝至藥學可接受之 pH 值，尤其是 2 至 6 之 pH 值，特別是 3 至 5.5 之 pH 值，較佳為約 4 至 5 之 pH 值，特佳為約 5 之 pH 值的 BC-3781 之可注射調配物可避免或至少減少不耐性效果，特別是在注射位置之不耐性效果。

此外，已發現，緩衝劑較佳係選自由檸檬酸鹽緩衝劑、磷酸鹽緩衝劑及其混合物所組成之群組。較佳之檸檬酸鹽緩衝劑係藉由混合檸檬酸與檸檬酸三鈉所製備。

在該調配物內之緩衝劑（尤其是檸檬酸鹽緩衝劑）的量較佳係在 5 mM 至 25 mM 之範圍，較佳為 8 mM 至 20 mM，尤其為約 10 mM 至約 20 mM。

最佳為 10 mM 至 20 mM 之檸檬酸鹽緩衝劑，尤其是 10 mM 之檸檬酸鹽緩衝劑，較佳係用於人類的臨床調配物中。

該可注射調配物之其餘成分及其個別量可由熟習本領域之人士根據可得的一般知識加以選擇。

例如，可注射調配物可基於含有 0.9% (w/v) NaCl 之

生理鹽水溶液（下文亦縮寫為「NSS」）或右旋糖於水中之溶液，諸如於水中之 5%（w/v）（無水）右旋糖（下文亦縮寫為「D5W」）。

較佳組成物係基於 NSS 且含有 10 mM 檸檬酸鹽緩衝劑至 20 mM 檸檬酸鹽緩衝劑，尤佳為 10 mM 檸檬酸鹽緩衝劑。

該調配物中之 BC-3781 的量可在 100 mg/250 ml 至 300 mg/250 ml 溶液之範圍，較佳為約 150 mg/250 ml 溶液，此係以游離鹼形式之 BC-3781 計算。

BC-3781 可用以製備呈藥學可接受之鹽，尤其是結晶鹽形式的根據本發明之可注射調配物。

較佳之 BC-3781 的結晶鹽形式揭示於例如 WO 2011/146954。

在本發明一態樣中，可注射調配物較佳係使用乙酸鹽及/或 L-乳酸鹽作為 BC-3781 之藥學可接受之鹽，最佳為乙酸鹽。

在本發明另一態樣中，提供在靜脈內施用之後（特別是在靜脈內輸液之後）改良 BC-3781 之局部耐受性的靜脈內調配物。

乙酸 BC-3781 在各種不同介質中之溶解性如下：

介質	溶解性〔mg/ml〕
水	≥ 100
0.9% (w/v) 鹽水	
pH 1 (0.1 M HCl)	
pH 6.8 (150 mM 磷酸鹽緩衝劑)	
pH 7.4 (300 mM 磷酸鹽緩衝劑)	

所彙報之局部耐受性爭議經常與該化合物在生理 pH 下之不充分溶解性有關，然而 BC-3781 的情況並非如此。造成局部耐受性問題的其他爭議可能與化合物在生理 pH（例如 pH 6.8 至 7.4）下之安定性有關，而此亦非 BC-3781 的情況，因其在該等 pH 範圍下係觀察到優異的安定性。

BC-3781 所量得之 pKa 值為 9.41，其意指在生理 pH 下大部分該化合物係離子化。

因此，本申請案中所述的當在經緩衝調配物中遞輸時 BC-3781 之經改良耐受性的效果以及調配物概念完全令人意外。

原則上，緩衝劑溶液係製備為數種弱酸及其鹽（鈉鹽等）或數種弱鹼及其鹽的組合。

在一態樣中，調配物係使用酸/鹼系統製備，其中該等成分中之至少一者為 pKa 值在 2 至 6 範圍內的弱酸或弱鹼，且其中所得之系統的 pH 係在該 pKa 值之範圍或低於該 pKa 值。

投服於人類之調配物的較佳 pH 範圍為 3 至 5.5，更

佳為 4 至 5，特佳為約 5。另外較佳 pH 範圍為 4 至 6，較佳為 5 至 6。

又更佳地，該系統可包含一或多種 pKa 值在 2 至 6 之範圍內且與其共軛鹼、與強鹼或與弱鹼組合的藥學可接受之弱有機或無機酸，或者該系統可包含一或多種與至少一種 pKa 值在 2 至 6 之範圍內的屬於酸/鹼偶合之弱鹼組合的藥學可接受之強有機酸或無機酸。

以下酸（或其共軛鹼）為可形成該系統之組成一部分的酸之實例：檸檬酸、乙酸、乳酸、胺基酸、蘋果酸、抗壞血酸、麩胺酸、苯甲酸、組胺酸、戊二酸、丙酸、丁二酸、甲酸、順丁烯二酸、天冬胺酸、丙二酸、葡萄糖酸、葡萄糖甲酸、及磷酸。該等酸可與其共軛鹼、與其他弱酸之共軛、或與氫氧化鈉組合。若情況適當，前文提及之酸的共軛鹼亦可與甲磺酸、氫氯酸、磷酸、或硫酸組合。

在該等實例中，在無強加任何限制的情況下，特別有利的是檸檬酸、磷酸及二者及/或其共軛鹼之組合。

所得之混合物形成經緩衝溶液。

根據本發明之經緩衝調配物可包含藥學可接受之載劑，較佳係選自由生理鹽水溶液、5%右旋糖溶液及其混合物所組成之群組，最佳為生理鹽水。

其他藥學可接受之載劑尤其是 10%或 40%葡萄糖、20%木糖醇、乳酸鹽 Ringer 氏溶液（以下亦稱為「LRS」）及其混合物的溶液。

BC-3781 之最終調配物（藥學可接受之載劑、緩衝

劑、及 BC-3781 鹽，及隨意地具有佐劑）將具有藥學可接受之滲透壓，例如 250 至 400 mosm/kg。

根據本發明，該緩衝劑溶液可根據常用已知方法製備，特別是藉由將氫氧化鈉添加至預定量之酸以達到所希望的 pH（其範圍在 2 至 6），然後添加水至所希望體積來製備。

在本發明一態樣中，BC-3781 之經緩衝溶液可藉由將 100 mM 至 1000 mM 緩衝劑濃縮溶液，較佳為 200 mM 至 800 mM，最佳為 250 mM 至 540 mM 復水成藥學可接受之靜脈內載劑，且藉由優先添加呈藥學可接受之鹽（例如乙酸鹽（下文縮寫為 .Ac）或 L-乳酸鹽（縮寫為 .La））的 BC-3781，或添加 1 mg/ml 至 100 mg/ml，較佳為 5 mg/ml 至 50 mg/ml，最佳為 10 mg/ml 至 15 mg/ml 溶液之 BC-3781 以藥學可接受之鹽形式，例如乙酸鹽或 L-乳酸鹽，形成最終所希望溫度的 BC-3781 而建立。

在本發明另一態樣中，該調配物的所有成分（例如緩衝劑組分及 BC-3781，較佳為藥學可接受之鹽）可直接添加至藥學可接受之靜脈內載劑。

在本發明一態樣中，緩衝劑系統包括檸檬酸緩衝劑、磷酸鹽緩衝劑或其混合物，最佳為在介於 3 至 6 之 pH 範圍，較佳為 pH 4 至 6，最佳為 pH 5 之檸檬酸鹽緩衝劑。

該緩衝劑系統可藉由將有機酸（例如檸檬酸及乙酸）或無機酸（例如磷酸）溶解於水中，或較佳溶解於藥學可接受之靜脈內載劑，且以鹼調整 pH，較佳以鹼金屬鹼

(alkali base) (例如 KOH 及 NaOH)，最佳為 NaOH。

或者，緩衝劑系統可藉由將有機酸（例如檸檬酸及乙酸）或無機酸（例如磷酸鹽）與適當共軛鹼（例如檸檬酸三鈉、磷酸二氫鈉、或乙酸鈉）溶解於水中，或較佳溶解於藥學可接受之靜脈內載劑而製備。隨意地，pH 可使用氫氯酸或氫氧化鈉（微）調至最終所希望 pH。

隨意地，在該經緩衝調配物中，除了較佳係特別選自葡萄糖、氯化鈉、甘油、山梨醇、甘露醇、果糖或聚葡萄糖 40 及 70 的張力劑（tonicity agent）之外，該藥學組成物可含有藥學可接受之佐劑，該佐劑係選自共溶劑、安定劑、防凍劑（cryoprotective agent）、乾燥劑、填料。在不強加任何限制之情況下，共溶劑及安定劑較佳係選自聚乙二醇（例如聚乙二醇 300 及 400），丙二醇、乙醇及界面活性劑，諸如例如聚山梨醇酯 80 或聚氧乙烯化衍生物（Cremophor）；填料及防凍劑較佳係選自單糖，例如葡萄糖、甘露醇、果糖或山梨醇；雙糖，例如蔗糖、乳糖、海藻糖或麥芽糖；或水溶性聚合物，例如聚葡萄糖、羧甲基纖維素、聚乙烯吡咯啉酮或明膠。且安定劑較佳係選自抗氧化劑（例如抗壞血酸、乙醯半胱胺酸、亞硫酸鹽、一硫代甘油）。用於非經腸調配物之賦形劑係由 Y. Mehmood 等人描述於 *Open Science Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2015, 3 (3), 19-27 及由 R. G. Strickley 描述於 *Pharmaceutical Research*, 第 21 卷, 第 2 號, 201-230。

經緩衝調配物中之 BC-3781 的人類劑量將介於 10 mg 與 1000 mg 之間，較佳係介於 15 mg 與 500 mg 之間，最佳係介於 25 mg 與 300 mg 之間，例如 150 mg。隨意地，視治療需求而定，該調配物可一天投服數次，例如 BID、TID。投服體積可從 10 ml 至 1000 ml，較佳為 20 ml 至 500 ml，最佳為介於 20 ml 至 300 ml，例如在成人情況下為 250 或 300 ml。

在根據本發明之調配物的較佳實施態樣中，緩衝劑為 10 mM 至 20 mM 之檸檬酸鹽緩衝劑，該調配物之 pH 值為 3 至 5.5，較佳為 pH 5，BC-3781 的濃度係介於 0.2 至 3 mg/ml（以游離鹼形式計算），且該調配物包含藥學可接受之載劑。

在更佳實施態樣中，緩衝劑為 10 mM 之檸檬酸鹽緩衝劑，調配物之 pH 值為 3 至 5.5，較佳為 pH 5，BC-3781 的濃度係介於 0.3 至 1.2 mg/ml（以游離鹼形式計算），且該調配物包含藥學可接受之載劑。

在更佳實施態樣中，緩衝劑為 10 mM 之檸檬酸鹽緩衝劑，調配物之 pH 值為 3 至 5.5，較佳為 pH 5，BC-3781 的濃度係介於 0.3 至 0.6 mg/ml（以游離鹼形式計算），且該調配物包含藥學可接受之載劑。

應瞭解，隨意地具有佐劑之 BC-3781 的調配物之展示套組亦在本發明內容之內。任何形式之展示套組可適用。

例如，緩衝劑可隨意地作為用於進一步稀釋之緩衝劑濃縮溶液（較佳係於藥學可接受之靜脈內載劑中）展示於

小玻璃瓶中。該緩衝劑濃縮物可稀釋至市售填充藥學可接受之靜脈內載劑的輸液代或瓶中至所希望體積莫耳濃度。BC-3781 係作為濃縮溶液添加至所希望濃度或劑量。

或者，緩衝劑濃縮物可用以填充空輸液（例如 EVA 袋），經藥學可接受之靜脈內載劑稀釋至所希望體積莫耳濃度，且最終添加所希望濃度之呈溶液或固態化合物的 BC-3781。

此外，該緩衝劑可以經選擇體積莫耳濃度展現於輸液袋或輸液瓶中，較佳於藥學可接受之靜脈內載劑中，用於 BC-3781 之復水，可添加例如呈溶液之 BC-3781 至該經緩衝的輸液袋/瓶中。

或者，BC-3781 可展現為在小玻璃瓶中之凍乾物或濃縮溶液以供進一步稀釋至緩衝劑載劑中，二者較佳均基於藥學可接受之靜脈內載劑。

此外，該展示套組可包含立即含有該緩衝劑、藥學可接受之靜脈內載劑、隨意的佐劑及 BC-3781 的可用輸液袋及瓶。

本發明之滅菌調配物，例如尤其適用於人類投服者，可藉由常用的已知方法製備，例如滅菌過濾、滅菌過濾與無菌填充、熱滅菌或 γ 輻射。經選擇之方法將視待滅菌之化合物或溶液的安定性而定，例如用於滅菌在藥學可接受之靜脈內載劑但無 BC-3781 的緩衝劑溶液之較佳方法為滅菌過濾接著熱滅菌。含有 BC-3781 之溶液較佳係滅菌過濾接著無菌填充至適當容器內，例如小玻璃瓶、玻璃瓶、輸

液袋。

在所有上述實施態樣中，藥學可接受之載劑較佳為 NSS、LRS 及/或 D5W，更佳為 NSS。

此外，在所有上述實施態樣中，BC-3781 較佳以藥學可接受之鹽形式使用，特別是乙酸鹽及/或 L-乳酸鹽，特佳係乙酸鹽。

本發明另一態樣係關於用於治療微生物所媒介之疾病的根據本發明之調配物。

在較佳實施態樣中，該調配物可經由靜脈內施用投服。

此外，本發明關於包含根據本發明之可注射調配物的藥學呈現。

此外，本發明關於治療由微生物媒介的疾病之方法，其中將根據本發明之調配物投服給有需要的對象。

在根據本發明之方法中，該調配物較佳係經由靜脈內施用投服。

該靜脈內施用包括單一全劑量（bolus）、緩慢全劑量及輸液投服（包括連續輸液）。

使用以下縮寫：

API 活性藥學成分

BID 一天兩次

EP 歐洲藥典

g 克

JP 日本藥典

kg	公斤
l	公升
M	莫耳
mM	毫莫耳
min	分鐘
ml	毫升
NF	官定處方書
q.s.	足量
TID	一天三次
USP	美國藥典
w/v	重量/體積

【實施方式】

實施例：

用以製備臨床（人類）調配物或其組分之賦形劑為藥典等級，例如 USP 及/或 EP 及/或 NF 及/或 JP。

實施例 1：製備用於研究大鼠脊尾靜脈模型之耐受性的 14-0- { [(1R,2R,4R) -4-胺基-2-羥基-環己基巯基] -乙醯基} -木替靈（BC-3781）調配物

a) 製備/購買藥學載劑

藥學載劑 NSS 之製備係藉由溶解 NaCl 0.9% (w/v) 而建立。D5W 係購自 Fresenius Kabi。

b) 製備緩衝劑溶液

20mM 檸檬酸鹽緩衝劑 pH 5.0(0.9%(w/v)NaCl)：	1.05g 檸檬酸於 250ml 0.9%(w/v)NaCl 中，並以 NaOH 調整至 pH 5.0
20mM 檸檬酸鹽緩衝劑 pH 6.0(0.9%(w/v)NaCl)：	1.05g 檸檬酸於 250ml 0.9%(w/v)NaCl 中，並以 NaOH 調整至 pH 6.0
20mM 檸檬酸鹽緩衝劑 pH 7.0(0.9%(w/v)NaCl)：	1.05g 檸檬酸於 250ml 0.9%(w/v)NaCl 中，並以 NaOH 調整至 pH 7.0
10mM 檸檬酸鹽緩衝劑 pH 5.0(0.9%(w/v)NaCl)：	1ml 之 20mM 檸檬酸緩衝劑 (0.9%(w/v)NaCl)+ 1ml 0.9%(w/v)NaCl
20mM 檸檬酸鹽緩衝劑 pH 5.0(5%(w/v)右旋糖)：	1.05g 檸檬酸於 250ml 5%(w/v)右旋糖中，並以 NaOH 調整至 pH 5.0
20mM 檸檬酸鹽緩衝劑 pH 7.0(5%(w/v)右旋糖)：	1.05g 檸檬酸於 250ml 5%(w/v)右旋糖中，並以 NaOH 調整至 pH 7.0
20mM 檸檬酸鹽緩衝劑 pH 4.5(0.9%(w/v)NaCl)：	1.05g 檸檬酸於 250ml 0.9%(w/v)NaCl 中，並以 NaOH 調整至 pH 4.5
100mM 檸檬酸一水合物	2.10g 檸檬酸溶解於 100ml H ₂ O
200 mM Na ₂ HPO ₄ x2H ₂ O	3.56g Na ₂ HPO ₄ x2H ₂ O 溶解於 100ml H ₂ O
100 mM 檸檬酸鹽/磷酸鹽緩衝劑，pH 5.0	49 ml 100 mM 檸檬酸一水合物+ 51 ml 200 mM Na ₂ HPO ₄ x2H ₂ O
20 mM 檸檬酸鹽/磷酸鹽緩衝劑，pH 5.0(0.7%(w/v)NaCl	5 ml 100 mM 檸檬酸鹽/磷酸鹽緩衝劑，pH 5.0，以 0.9%(w/v)NaCl 稀釋至 25 ml。

c) 調配物之最終製備

將化合物 14-O- { [(1R,2R,4R) -4-胺基-2-羥基-環己基巯基] -乙醯基 } -木替靈 (BC-3781) (以藥學可接受之鹽呈現，例如乙酸鹽或 L 乳酸鹽) 溶解於緩衝劑溶液

NSS 或 D5W 中以獲致 6 mg/ml 之濃度（以游離鹼形式計算）

例如，秤重加入以下之量：

BC-3781 游離鹼之量 [mg]	緩衝劑體積 [ml]
300	50.0
150	25.0

實施例 2：第一階段臨床研究中用以研究局部耐受性差異的之調配物製備—製備 BC-3781 之 10 mM 檸檬酸鹽緩衝劑生理鹽水調配物、BC-3781 之生理鹽水調配物、及個別藥物載劑（下文稱為「安慰劑調配物」或「安慰劑」）

a) 在生理鹽水中之 BC-3781 濃縮溶液

BC-3781 溶液之製備係藉由將 BC-3781 乙酸鹽溶解於水中以供注射且額外地溶解 NaCl 而獲致。在滅菌過濾之後，該溶液隨後在無菌條件下填充至小瓶中。

BC-3781 鹽水小瓶之定量組成

組分	量
BC-3781.Ac	150 mg 游離鹼
氯化鈉	0.135 g
用於注射的水	加至 15 ml

其他較佳 BC-3781 結晶鹽係揭示於 WO 2011/146954。

b) 檸檬酸鹽緩衝劑濃縮溶液

檸檬酸鹽緩衝劑溶液較佳係分開製備。將檸檬酸及檸檬酸三鈉溶解於水中以供注射且隨後填充至小瓶中。

250 mM 檸檬酸鹽緩衝劑濃縮溶液的批料配方

組分	每批次之量
檸檬酸一水合物	16.8 g
檸檬酸三鈉二水合物	50.0 g
用於注射的水	加至 1000 ml

在滅菌條件（例如滅菌過濾、熱壓）下將該檸檬酸鹽緩衝劑濃縮溶液填充至 10 ml 小瓶中。

250 mM 檸檬酸鹽緩衝劑小瓶之定性及定量組成

組分	含量
檸檬酸一水合物	0.168 g
檸檬酸三鈉二水合物	0.500 g
用於注射的水	加至 10 ml

或者，該檸檬酸鹽緩衝劑係以不同體積莫耳濃度製備。

540 mM 檸檬酸鹽緩衝劑濃縮溶液的批料配方

組分	每批 540 mM 濃縮物之量
檸檬酸一水合物	183.0 g
檸檬酸三鈉二水合物	538.0 g
用於注射的水	加至 5000 ml

在滅菌條件（例如滅菌過濾、熱壓）下將該檸檬酸鹽緩衝劑濃縮溶液填充至 5 ml 小瓶中。

檸檬酸鹽緩衝劑小瓶之定量組成

組分	540 mM 濃縮物之含量
檸檬酸一水合物	0.183 g
檸檬酸三鈉二水合物	0.538 g
用於注射的水	加至 5 ml

c) 臨床調配物

視所需要之 BC-3781 輸液溶液的體積及濃度而定，滅菌袋係填充所需量之 i) 於生理鹽水中的 BC-3781 濃縮溶液（製法描述於實施例 2a）、ii) 檸檬酸鹽緩衝劑濃縮溶液（製法描述於實施例 2b）及 iii) 市售 NSS。

使用 250 mM 檸檬酸鹽緩衝劑製備 BC-3781 檸檬酸鹽緩衝劑調配物的臨床調配物之製備中所使用的輸液組分量係示於下表。此外，該表亦列出於 NSS 之 BC-3781 參考調配物及 NSS-安慰劑調配物的製備。

最終 BC-3781 濃度/體積	調配物載劑	整體體 積[ml]	市售 0.9% (w/v)鹽水 [ml]	250 mM 檸檬酸 鹽緩衝劑濃縮物 [ml]	BC-3781 濃縮物 [ml]
400 mg / 200 ml	0.9% (w/v)鹽水	250	200		50
	經檸檬酸鹽緩衝 之 0.9% (w/v) 鹽水#	250	190	10	50
0 mg / ml(250 ml 安慰劑)	0.9% (w/v)鹽水	250	250	-	-
150 mg / 400 ml	經檸檬酸鹽緩衝 之 0.9% (w/v) 鹽水#	500	461.25	20	18.75
200 mg / 400 ml	經檸檬酸鹽緩衝 之 0.9% (w/v) 鹽水#	500	455	20	25
0 mg / ml(500 ml 安慰劑)	0.9% (w/v)鹽水	500	500	-	-

所得之輸液的 pH 為約 5。

使用 540 mM 檸檬酸鹽緩衝劑製備 BC-3781 檸檬酸鹽緩衝劑調配物的臨床調配物之製備中所使用的輸液組分量係示於下表。此外，該表亦列出於生理鹽水中之 BC-3781 參考調配物及生理鹽水安慰劑調配物的製備。

最終 BC-3781 濃度 /體積	調配物載劑	整體體積 [ml]	市售生理鹽 水溶液* [ml]	540 mM 檸檬 酸鹽緩衝劑 濃縮物[ml]	10 mg/ml BC- 3781 濃縮物 [ml]
150 mg / 270 ml	0.9%(w/v)鹽水	270	255	-	15
150 mg / 270 ml	經檸檬酸鹽緩 衝之 0.9%(w/v) 鹽水#	270	250	5	15
0 mg / ml(安慰劑)	0.9%(w/v)鹽水	270	270	-	-

* 市售滅菌 NaCl 溶液，例如 Ecobag；#所得輸液之 pH 為約 5。

將該臨床調配物之輸液組分填充至市售滅菌空輸液袋，例如 300 ml 或 500 ml EVA 袋中。

或者，該調配物亦可藉由將所需量之實施例 2a 中所展現的 BC-3781 濃縮溶液及實施例 2b) 中所展現的緩衝劑濃縮溶液添加至市售預填充生理鹽水輸液袋而復水。隨意地，在添加之前從市售生理鹽水輸液袋抽出所添加之 BC-3781 濃縮物及檸檬酸鹽緩衝劑濃縮溶液的體積。

上表所述之臨床調配物已用以評估 BC-3781 生理鹽水與 BC-3781 生理鹽水檸檬酸鹽緩衝劑調配物的局部耐受性差異。經檸檬酸鹽緩衝之生理鹽水調配物已顯示比生理鹽水調配物優良的局部耐受性。

尤其是在隨機、雙盲安慰劑控制的第一階段臨床研究中已研究以下兩種不同 BC-3781 調配物

- 270 ml 之 150 mg BC-3781 生理鹽水調配物輸液 1 小時
- 270 ml 之經檸檬酸鹽緩衝的 150 mg BC-3781 生理鹽水調配物輸液 1 小時。

實施例 3：

該調配物亦可藉由將 BC-3781 鹽、NaCl、檸檬酸、檸檬酸三鈉直接溶解於水中。隨後，可在無菌條件下將該調配物填充至適當容器，例如輸液袋、輸液瓶。該調配物之 pH 為約 5，且若需要，可使用 HCl 或 NaOH 調整至正好 5.0。

立即可使用之（RTU）輸液袋的批料配方

組分	濃度 (g/l)	每劑量 (g/250 ml)
BC-3781.Ac.	0.60*	0.175
氯化鈉	9.000	2.2500
無水檸檬酸	0.615	0.1537
檸檬酸三鈉二水合物	2.000	0.5000
用於注射的水	適量加至所需體積	適量加至 250 ml

* BC-3781 乙酸鹽之量較高且將視 API 之效能（游離鹼含量）而定。然而，調配物濃度為 0.60 g/l BC-3781 游離鹼。

實施例 4：

該調配物亦可藉由分開製備填充至小瓶的 BC-3781 濃縮溶液及無藥物檸檬酸鹽緩衝劑生理鹽水袋來製備。

BC-3781 濃縮溶液係如實施例 2 之步驟 a) 製備。

該緩衝劑溶液係分開製備，過濾通過 0.45 μm 之匣以留下細菌及粒子，並填充至適當容器，例如輸液袋或輸液瓶中。pH 為約 5。

經檸檬酸鹽緩衝之鹽水袋的批料配方

組分	功能	量/批	量/袋
無水檸檬酸	緩衝劑酸	2829 g	166 mg
檸檬酸三鈉二水合物	緩衝劑鹽	9200 g	0.54 g
氯化鈉	張力調整劑	41.4 kg	2.43 g
用於注射的水	溶劑	加至 4600 l	加至 270 ml

所得之緩衝劑容器係經熱滅菌。

最後，將 BC-3781 濃縮物小瓶的內容物稀釋（復水）至檸檬酸鹽緩衝劑輸液袋中，產生最終調配物。所得之 BC-3781 調配物對應於在 10mM 檸檬酸鹽緩衝劑生理鹽水中的 150 mg 之 BC-3781，且 pH 為約 5。

實施例 5：

製備用於復水至市售生理鹽水袋之含有 BC-3781 乙酸鹽檸檬酸鹽緩衝劑濃縮物小瓶

a) 製備 150 mM 檸檬酸鹽緩衝劑溶液

150 mM 緩衝劑濃縮物之製備係藉由將適當量之檸檬酸一水合物與檸檬酸三鈉二水合物溶解於水中而完成。所得之 pH 為約 5。

	150 mM 檸檬酸鹽緩衝劑
檸檬酸一水合物	48 mM (10084.8 mg/l)
檸檬酸三鈉二水合物	102 mM (29998.2 mg/l)

b) 製備於 150 mM 檸檬酸鹽緩衝劑中之 BC-3781 乙酸鹽

濃縮溶液

將 150 mg 游離鹼當量之 BC-3781 乙酸鹽溶解於 20 ml 之 150 mM 檸檬酸鹽緩衝劑，產生 7.5 mg/ml 之濃度。將該溶液填充至例如小玻璃瓶中。

20 ml 之上述溶液在例如 250 ml 市售鹽水輸液袋或瓶中復水將形成在約 10 mM 檸檬酸鹽緩衝劑中之 150 mg BC-3781 游離鹼，其 pH 為約 5。

已在大鼠尾部模型中以及在人類臨床研究中活體內研究本發明之經緩衝溶液。測試條件細節及令人意外的結果係呈現於以下段落。

用以評估局部耐受性之大鼠尾部模型的說明：

發展 BC-3781 輸液至大鼠脊尾靜脈之輸液耐受性模型位置以研究 BC-3781 之可能的靜脈內臨床調配物。為此，以永久性靜脈導管（BD[®]，G21）對雌性 Sprague Dawley（SD）大鼠插入導管，且以 1 ml/min 之固定輸液速率輸液濃度為 6 mg/ml 之不同 BC-3781 調配物至最終劑量為 75 mg/kg。每 5 至 30 分鐘檢查血漿及尿液之溶血現象的徵兆。在施用 24 小時之後檢查注射位置（尾部靜脈）的局部耐受性。收集所發展之評分系統連同血漿及/或尿液中的溶血現象相關資訊且用以分析。

根據其評分為受測輸液調配物排名。經緩衝之 BC-3781 的輸液溶液顯示經改良局部耐受性，且就低於 pH 7 的經緩衝之調配物而言，未觀察到溶血現象，二者效果均

係與鹽水（NSS）及 D5W 中之參考調配物相較。

進行測試及結果：

a) 局部耐受性模型

為了測定靜脈內調配物之局部耐受性，發展大鼠尾部靜脈輸液模型以測試根據實施例 1 所製備的 BC-3781 之測試調配物。為此，使用評分系統描述注射位置之臨床徵兆。在輸液之後 24 小時的脊尾靜脈之光學檢查界定為讀出時間點。應用以下評分：

在 24 小時之後大鼠尾部靜脈未觀察到異常係評為 0 點

微紅斑點（淤斑） 1 點

中等斑點 2 點，

更嚴重之藍-深紅色斑點係計為 3 點。

在死亡情況下，計為 3 點。

作為參考調配物，使用根據實施例 1 所製備的溶解於 NSS 或 D5W 之 BC-3781（無緩衝劑）。為了區別調配物，在如上述條件下之 NSS 及 D5W 調配物的輸液引發可偵測之溶血現象及輸液位置的中等局部刺激。所有調配物係作為盲樣本遞送至動物的測試位置。調配物之解盲係在研究結束時進行。

b) 血液收集

在輸液結束之後 15 分鐘，從舌下靜脈抽取血液，以 2 g 於 4°C 下離心 5 分鐘。收集血漿並目視檢查溶血現象

的徵兆，且之後在 -20°C 下貯存。為了評估對於各種不同調配物之藥物動力學（PK）的影響，測定及比較血漿的 BC-3781 濃度。

c) 尿液

輸液結束之後，移除麻醉，且在從麻醉恢復期間使動物保持單獨關籠於白色紙巾上。在紙巾上觀察到的微紅色尿滴記錄為溶血現象之徵兆。

d) 資料分析

加總來自各調配物之局部耐受性模型的評分，然後除以對應的動物數目（ $n = 3-12$ ）。此外，考慮血漿及尿液中之溶血現象的徵兆以供調配物之排名。

大鼠尾部模型中之結果

a) 在大鼠尾部靜脈輸液模型中受測的 BC-3781 調配物

調配物	調配物之組成*	類型
調配物 0 (測試設定)	於 0.9%(w/v)NaCl 中之 6 mg/ml BC-3781.Ac	參考調配物
調配物 1	於 0.9%(w/v)NaCl 中之 6 mg/ml BC-3781.Ac	參考調配物
調配物 2	於 5%(w/v)右旋糖中之 6 mg/ml BC-3781.Ac	參考調配物
調配物 3	於 0.9%(w/v)NaCl 中之 6 mg/ml BC-3781.Ac	參考調配物
調配物 5	於 0.9%(w/v)NaCl 中之 10 mM 檸檬酸鹽緩衝劑 (pH 5.0)(安慰劑調配物)	安慰劑調配物
調配物 7	於 0.9%(w/v)NaCl 中之 6 mg/ml BC-3781.Ac	參考調配物
調配物 8	於 5%(w/v)右旋糖中之 6 mg/ml BC-3781.Ac	參考調配物
調配物 9	於 0.9%(w/v)NaCl 中之 10 mM 檸檬酸鹽緩衝劑 (pH 5.0)中的 6 mg/ml BC-3781.Ac	經緩衝之調配物
調配物 12	於 0.9%(w/v)NaCl 中之 20 mM 檸檬酸鹽緩衝劑 (pH 5.0)中的 6 mg/ml BC-3781.La	經緩衝之調配物
調配物 13	於 0.9%(w/v)NaCl 中之 20 mM 檸檬酸鹽緩衝劑 (pH 5.0)中的 6 mg/ml BC-3781.Ac	經緩衝之調配物
調配物 14	於 0.9%(w/v)NaCl 中之 20 mM 檸檬酸鹽緩衝劑 (pH 5.0)中的 6 mg/ml BC-3781.La	經緩衝之調配物
調配物 19	於 5%(w/v)右旋糖中之 20 mM 檸檬酸鹽緩衝劑 (pH 5.0)中的 6 mg/ml BC-3781.Ac	經緩衝之調配物
調配物 20	於 0.9%(w/v)NaCl 中之 20 mM 檸檬酸鹽緩衝劑 (pH 5.0)中的 6 mg/ml BC-3781.Ac	經緩衝之調配物
調配物 22	於 0.9%(w/v)NaCl 中之 20 mM 檸檬酸鹽緩衝劑 (pH 4.5)中的 6 mg/ml BC-3781.Ac	經緩衝之調配物
調配物 30	於 20 mM 檸檬酸鹽/磷酸鹽緩衝劑 0.7%(w/v)NaCl(pH5.0)中之 6 mg/ml BC-3781.Ac	經緩衝之調配物
調配物 37	於 0.9%(w/v)NaCl 中之 20 mM 檸檬酸鹽緩衝劑 (pH 6.0)中的 6 mg/ml BC-3781.Ac	經緩衝之調配物
調配物 38	於 0.9%(w/v)NaCl 中之 20 mM 檸檬酸鹽緩衝劑 (pH 7.0)中的 6 mg/ml BC-3781.Ac	經緩衝之調配物
調配物 39	於 5%(w/v)右旋糖中之 20 mM 檸檬酸鹽緩衝劑 (pH 5.0)中的 6 mg/ml BC-3781.Ac	經緩衝之調配物
調配物 40	於 5%(w/v)右旋糖中之 20 mM 檸檬酸鹽緩衝劑 (pH 7.0)中的 6 mg/ml BC-3781.Ac	經緩衝之調配物

* 6 mg/ml 之濃度係關於 BC-3781 游離鹼含量

調配物製備

調配物之製備係描述於實施例 1。在活性調配物中，將所需量之呈乙酸鹽或 L-乳酸鹽的 BC-3781 溶解於個別緩衝劑溶液（如上表所列之 NSS 或 D5W）中。在完全溶解之後，將所需之稀釋液立刻投服給動物。75 mg/kg BC 3781 劑量係指 BC-3781 之游離鹼含量。

b) 動物之規格及來源

測試動物	大鼠，Sprague Dawley (SD)
供應商	Charles River Deutschland GmbH, D-97633 Sulzfeld
性別	雌性
體重	200-240 g

c) 輸液設定

在加熱燈下加熱該尾部 5 分鐘之後，使用永久性靜脈導管（BD insyte™，24GA）對脊尾靜脈插管。在插管之後，使用濃度為 5% 之異氟醚（isoflurane）開始將大鼠麻醉並使用濃度 3.5% 維持麻醉（面罩）。經由可程式化注射器泵，將各種不同 BC-3781 調配物輸液至經插管之大鼠脊尾靜脈（1 ml/min，6 mg/ml，約 2 min）。在輸液結束之後，以 0.1 - 0.2 ml 鹽水沖洗該導管。拋棄導管及注射器，而連接管係使用乙醇清洗並乾燥以重複使用。每個輸液設定的群組大小為 3。

大鼠尾部模型中之受測調配物的結果
(局部耐受性評分及血漿及尿液中的溶血現象)

調配物	活性/安慰劑	死亡	N*	評分/n
5	P*	0%	3	0
0, 1, 3, 7	A	0%	12	1.5
2, 8	A	0%	6	2
9	A	0%	3	1.0
12, 14	A	0%	6	1.17
13, 20	A	0%	6	0.67
22	A	0%	3	1
37	A	0%	3	0.33
38	A	0%	3	1
30	A	0%	3	0.66
19, 39	A	0%	3	1.33
40	A	0%	3	0

* 符號：A-活性；P-安慰劑；N為受測動物之數目

測試結果確認 BC-3781 經緩衝之溶液的令人意外效果。當與未經緩衝之參考調配物相較時，所有受測經緩衝之溶液展現較佳耐受性評分。令人意外的，此外，該經緩衝之 BC-3781 溶液未觀察到溶血現象，而未經緩衝之溶液或 pH 7 的經緩衝之溶液確實導致血漿及尿液中可觀察到的溶血現象。該等令人意外的效果無法連結至在血液 pH 下之 BC-3781 的溶解性，且該效果亦無法藉由在生理 pH (約 pH 7) 之 BC-3781 的有限溶解性獲致。

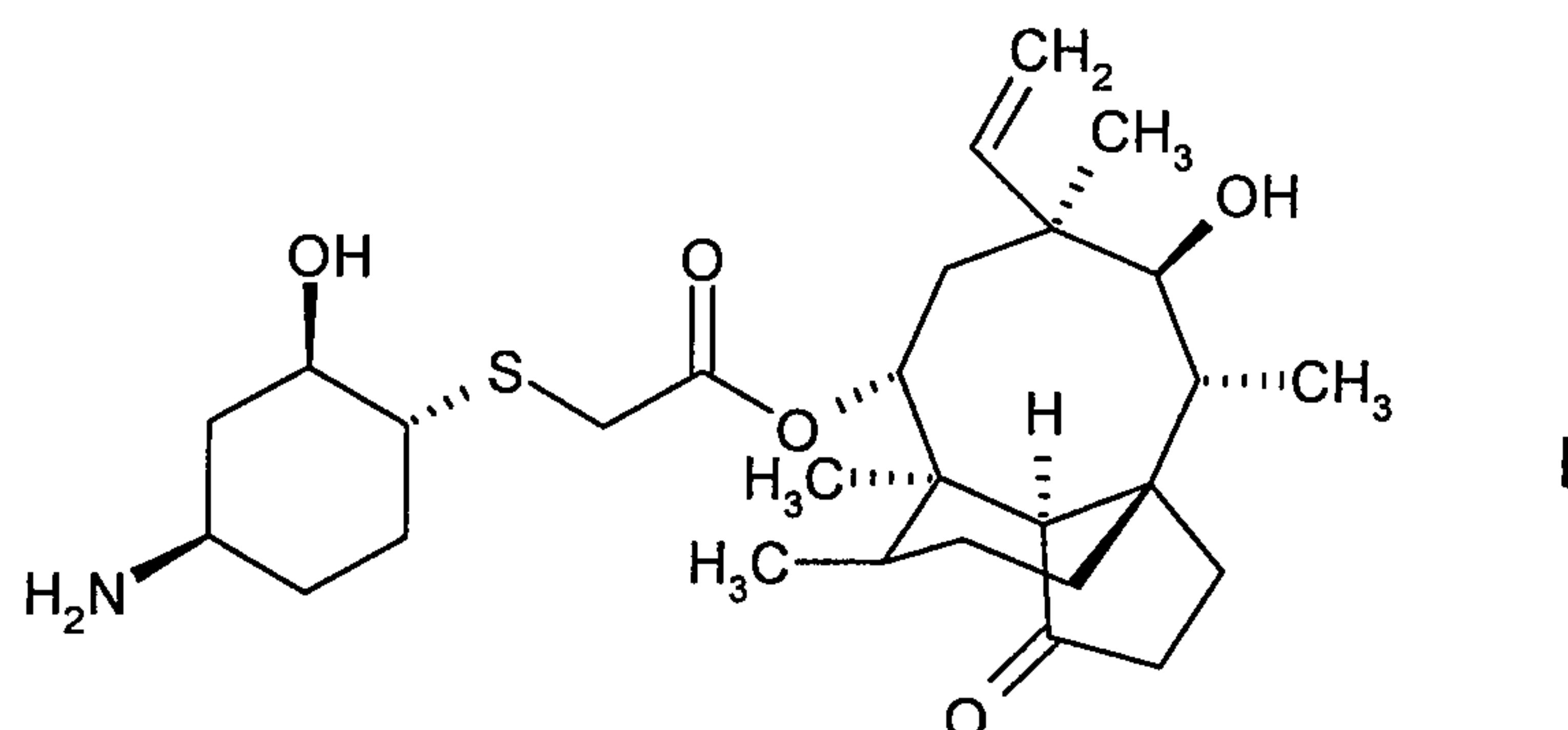
第一階段臨床研究之結果

比較在 NSS 中之 BC-3781 (150 mg BC-3781 於 270 ml 中) 與根據實施例 2 所製備之在經檸檬酸鹽緩衝的鹽水中之 BC-3781 (150 mg BC-3781 於 270 ml 中) 的調配物，在第一階段臨床研究中亦確認 BC-3781 經緩衝之調配物的經改良局部耐受性。該研究為隨機、雙盲及安慰劑控

制（使用生理鹽水作為安慰劑）。總共治療 60 個健康對象—25 位雌性及 35 位雄性。該研究的主要終點係前 3 天的中等疼痛及紅斑。在 1 小時期間輸液該等調配物，且令人意外的，當投服在經檸檬酸鹽緩衝之鹽水中的利法木靈時，在前 3 天發生中等疼痛及/或紅斑為大約一半。例如，從總計 150 個輸液，在生理鹽水中之手臂 13 個輸液（8.7%）造成中等疼痛，而在經檸檬酸鹽緩衝之鹽水手臂輸液，150 個輸液（4%）中只有 6 個與中等疼痛相關聯。

申請專利範圍

1. 一種可注射藥學調配物，其包含式 (I) 之化合物



該調配物係經緩衝至藥學可接受之 pH 值 2 至 6，其中緩衝劑係選自由檸檬酸鹽緩衝劑以及檸檬酸鹽緩衝劑與磷酸鹽緩衝劑之混合物所組成之群組。

2. 如申請專利範圍第 1 項之調配物，其中該調配物係經緩衝至 pH 值 3 至 5.5。

3. 如申請專利範圍第 2 項之調配物，其中該調配物係經緩衝至 pH 值 4 至 5。

4. 如申請專利範圍第 3 項之調配物，其中該緩衝劑為檸檬酸鹽緩衝劑。

5. 如申請專利範圍第 4 項之調配物，其中該緩衝劑為 10 mM 至 20 mM 之檸檬酸鹽緩衝劑。

6. 如申請專利範圍第 5 項之調配物，其中該緩衝劑為 10 mM 之檸檬酸鹽緩衝劑。

7. 如申請專利範圍第 1 項之調配物，其中該經緩衝之調配物包含藥學可接受之載劑，該載劑係選自由下列所組成之群組：生理鹽水溶液、5% 右旋糖溶液及其混合物。

8. 如申請專利範圍第 1 項之調配物，其中該緩衝劑為 10 mM 至 20 mM 之檸檬酸鹽緩衝劑，該調配物之 pH 值為 3 至 5.5，式 (I) 之化合物的濃度係介於 0.2 至 3 mg/ml (以游離鹼形式計算)，且該調配物包含藥學可接受之載劑。

9. 如申請專利範圍第 8 項之調配物，其中該緩衝劑為 10 mM 之檸檬酸鹽緩衝劑，該調配物之 pH 值為 3 至 5.5，式 (I) 之化合物的濃度係介於 0.3 至 1.2 mg/ml (以游離鹼形式計算)，且該調配物包含藥學可接受之載劑。

10. 如申請專利範圍第 9 項之調配物，其中該緩衝劑為 10 mM 之檸檬酸鹽緩衝劑，該調配物之 pH 值為 3 至 5.5，式 (I) 之化合物的濃度係介於 0.3 至 0.6 mg/ml (以游離鹼形式計算)，且該調配物包含藥學可接受之載劑。

11. 如申請專利範圍第 1 至 10 項中任一項之調配物，其中該調配物之 pH 值為 5。

12. 如申請專利範圍第 1 至 10 項中任一項之調配物，其中該式 (I) 之化合物係以藥學可接受之鹽形式使用。

13. 如申請專利範圍第 12 項之調配物，其中該式 (I) 之化合物係以乙酸鹽及/或 L-乳酸鹽使用。

14. 如申請專利範圍第 13 項之調配物，其中該式 (I) 之化合物係以乙酸鹽使用。

15. 如申請專利範圍第 1 至 10 項中任一項之調配物，其係用於治療由微生物媒介之疾病。

16. 如申請專利範圍第 15 項之調配物，其中該調配物係經由靜脈內施用來投服。

17. 一種藥學呈現形式，其包含如申請專利範圍第 1 至 14 項中任一項之可注射藥學調配物。

18. 一種如申請專利範圍第 1 至 14 項中任一項之調配物的用途，其係用於製造供治療由微生物媒介之疾病的藥物。

19. 如申請專利範圍第 18 項之用途，其中該藥物係經由靜脈內施用來投服。