



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 114072136 B

(45) 授权公告日 2024. 11. 29

(21) 申请号 202080047360.0

(22) 申请日 2020.04.28

(65) 同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 114072136 A

(43) 申请公布日 2022.02.18

(30) 优先权数据  
62/840,186 2019.04.29 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日  
2021.12.27

(86) PCT国际申请的申请数据  
PCT/US2020/030282 2020.04.28

(87) PCT国际申请的公布数据  
W02020/223237 EN 2020.11.05

(73) 专利权人 英斯梅德股份有限公司

地址 美国新泽西州

(72) 发明人 J·杜 A·普朗特 V·马利宁

(74) 专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494  
专利代理师 封新琴

(51) Int. Cl.  
A61K 31/165 (2006.01)  
A61K 31/216 (2006.01)  
A61K 31/341 (2006.01)

(56) 对比文件  
WO 2017192993 A1, 2017.11.09  
CN 105848479 A, 2016.08.10

审查员 李玉婷

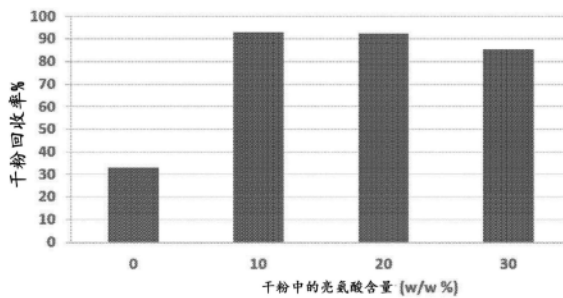
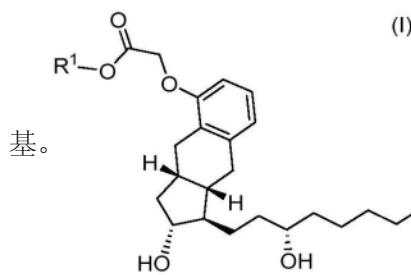
权利要求书2页 说明书55页 附图41页

(54) 发明名称

曲前列素前药的干粉组合物及其使用方法

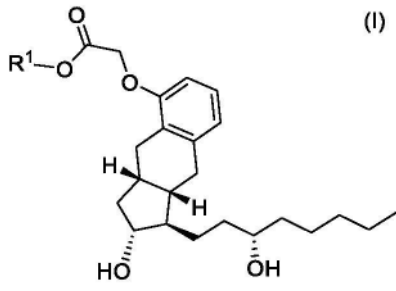
(57) 摘要

本公开文本提供了一种曲前列素前药的干粉组合物以及治疗有需要的患者的肺高压(例如,肺动脉高压)、门脉肺高压或肺纤维化的方法。所述干粉组合物包含(a)约0.1wt%至约3wt%的式(I)的化合物;或其对映异构体、非对映异构体或药学上可接受的盐,(b)约0.01wt%至约3wt%的DSPE-PEG2000,(c)约10wt%至约50wt%的亮氨酸,以及其余为(d)选自海藻糖和甘露糖醇的糖。(a)、(b)、(c)和(d)的整体为100wt%,并且R1是十四烷基、十五烷基、十六烷基、十七烷基或十八烷基。所述方法包括将治疗有效量的所述干粉组合物通过经由干粉吸入器吸入施用至所述患者的肺。在本文提供的某些组合物和方法中,R1是十六烷基,例如线性十六烷



1. 一种干粉组合物,所述干粉组合物由以下组成:

(a) 0.1wt%至3wt%的式(I)的化合物:



或其药学上可接受的盐,其中R<sup>1</sup>是十四烷基、十五烷基、十六烷基、十七烷基或十八烷基,

(b) 0.01wt%至1.5wt%的DSPE-PEG2000,其选自二硬脂酰磷脂酰乙醇胺-聚乙二醇2000和N-(甲基聚氧乙烯氧羰基)-1,2-二硬脂酰-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺的钠盐,

(c) 10wt%至30wt%的亮氨酸,以及

其余为(d)选自海藻糖和甘露糖醇的糖,

其中(a)、(b)、(c)和(d)的整体为100wt%。

2. 根据权利要求1所述的干粉组合物,其中R<sup>1</sup>是十六烷基。

3. 根据权利要求2所述的干粉组合物,其中R<sup>1</sup>是线性十六烷基。

4. 根据权利要求1所述的干粉组合物,其中所述DSPE-PEG2000以所述干粉组合物的总重量的0.03wt%至1.5wt%存在。

5. 根据权利要求3所述的干粉组合物,其中所述DSPE-PEG2000以所述干粉组合物的总重量的0.03wt%至1.5wt%存在。

6. 根据权利要求1所述的干粉组合物,其中所述DSPE-PEG2000以所述干粉组合物的总重量的0.05wt%至1.5wt%存在。

7. 根据权利要求3所述的干粉组合物,其中所述DSPE-PEG2000以所述干粉组合物的总重量的0.05wt%至1.5wt%存在。

8. 根据权利要求1所述的干粉组合物,其中所述式(I)的化合物或其药学上可接受的盐以所述干粉组合物的总重量的1wt%至2wt%存在,所述DSPE-PEG2000以所述干粉组合物的总重量的0.5wt%至1wt%存在。

9. 根据权利要求3所述的干粉组合物,其中所述式(I)的化合物或其药学上可接受的盐以所述干粉组合物的总重量的1wt%至2wt%存在,所述DSPE-PEG2000以所述干粉组合物的总重量的0.5wt%至1wt%存在。

10. 根据权利要求1所述的干粉组合物,所述干粉组合物由以下组成:(a) 1.5wt%的式(I)的化合物或其药学上可接受的盐,(b) 0.75wt%的所述DSPE-PEG2000,(c) 29.30wt%的所述亮氨酸,以及(d) 68.45wt%的所述甘露糖醇。

11. 根据权利要求3所述的干粉组合物,所述干粉组合物由以下组成:(a) 1.5wt%的式(I)的化合物或其药学上可接受的盐,(b) 0.75wt%的所述DSPE-PEG2000,(c) 29.30wt%的所述亮氨酸,以及(d) 68.45wt%的所述甘露糖醇。

12. 根据权利要求1-11中任一项所述的干粉组合物,其中所述DSPE-PEG2000是二硬脂

酰磷脂酰乙醇胺-聚乙二醇2000。

13. 根据权利要求12所述的干粉组合物,其中所述式(I)的化合物或其药学上可接受的盐是式(I)的化合物。

14. 根据权利要求1-9中任一项所述的干粉组合物,其中所述DSPE-PEG2000是二硬脂酰磷脂酰乙醇胺-聚乙二醇2000,并且所述糖是甘露糖醇。

15. 根据权利要求14所述的干粉组合物,其中所述式(I)的化合物或其药学上可接受的盐是式(I)的化合物。

16. 根据权利要求1-11中任一项所述的干粉组合物,其中所述DSPE-PEG2000是N-(甲基聚氧乙烯氧羰基)-1,2-二硬脂酰-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺的钠盐。

17. 根据权利要求16所述的干粉组合物,其中所述式(I)的化合物或其药学上可接受的盐是式(I)的化合物。

18. 根据权利要求1-9中任一项所述的干粉组合物,其中所述DSPE-PEG2000是N-(甲基聚氧乙烯氧羰基)-1,2-二硬脂酰-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺的钠盐,并且所述糖是甘露糖醇。

19. 根据权利要求18所述的干粉组合物,其中所述式(I)的化合物或其药学上可接受的盐是式(I)的化合物。

20. 根据权利要求1-19中任一项所述的干粉组合物在制备用于治疗有治疗需要的患者的肺高压的药物中的用途。

21. 根据权利要求20所述的用途,其中所述肺高压是肺动脉高压。

22. 根据权利要求21所述的用途,其中所述肺动脉高压是由纽约心脏协会(NYHA)所表征的I类、II类、III类或IV类肺动脉高压。

23. 根据权利要求20所述的用途,其中所述肺高压是由世界卫生组织(WHO)所表征的第1组、第2组、第3组、第4组或第5组肺高压。

24. 根据权利要求20所述的用途,其中所述肺高压是慢性血栓栓塞性肺高压、特发性肺动脉高压、家族性肺动脉高压或与间质性肺病相关的肺高压。

25. 根据权利要求24所述的用途,其中所述肺高压是与间质性肺病相关的肺高压。

26. 根据权利要求1-19中任一项所述的干粉组合物在制备用于治疗有治疗需要的患者的门脉肺高压的药物中的用途。

27. 根据权利要求1-19中任一项所述的干粉组合物在制备用于治疗有治疗需要的患者的肺纤维化的药物中的用途。

28. 一种用于治疗肺高压、门脉肺高压或肺纤维化的系统,所述系统包括:

根据权利要求1-19中任一项所述的干粉组合物,以及  
干粉吸入器(DPI)。

## 曲前列素前药的干粉组合物及其使用方法

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2019年4月29日提交的美国临时申请序列号62/840,186的优先权,将其公开内容通过引用以其整体并入本文。

### 背景技术

[0003] 肺高压(PH)的特征在于肺血管中的异常高血压。它是一种进行性的、致死性疾病,其导致心力衰竭,并且可发生在肺动脉、肺静脉或肺毛细血管中。有症状的患者经历呼吸短促、头晕、昏厥和其他症状,所有这些都会因劳累而加重。存在多种原因,并且可能具有未知的起源、特发性,并且可导致其他系统的高压,例如,其中患者同时患有门脉高压和肺高压的门脉肺高压。

[0004] 世界卫生组织(WHO)已将肺高压分为五组。第1组称为肺动脉高压(PAH),并且包括原因不明(特发性)的PAH、遗传性PAH(即家族性PAH或FPAH)、由药物或毒素引起的PAH以及由病症如结缔组织疾病、HIV感染、肝脏疾病和先天性心脏病引起的PAH。第2组肺高压被表征为与左心脏病相关的肺高压。第3组肺高压被表征为与肺病(如慢性阻塞性肺病和间质性肺病)相关的PH以及与睡眠相关呼吸障碍(例如,睡眠呼吸暂停)相关的PH。第4组PH是由慢性血栓形成和/或栓塞性疾病引起的PH,例如由肺中的血块或凝血障碍引起的PH。第5组包括由如下其他障碍或病症引起的PH:例如血液障碍(例如,真性红细胞增多症、原发性血小板增多症)、全身性障碍(例如,结节病、血管炎)和代谢障碍(例如,甲状腺疾病、糖原贮积病)。

[0005] 肺动脉高压(PAH)困扰着全球约200,000人,其中那些患者中有约30,000-40,000人在美国。PAH患者经历肺动脉收缩,其导致肺动脉压力升高,使心脏难以将血液泵入肺部。患者遭受呼吸短促和疲劳,这通常会严重限制进行身体活动的 ability。

[0006] 纽约心脏协会(NYHA)将PAH患者分为四个功能类别,以评定疾病的严重程度。如由NYHA分类的I类PAH患者没有身体活动的限制,因为普通身体活动不会引起过度的呼吸困难或疲劳、胸痛或近乎晕厥。如由NYHA分类的II类PAH患者对于身体活动有轻微限制。这些患者在休息时舒适,但普通身体活动会引起过度的呼吸困难或疲劳、胸痛或近乎晕厥。如由NYHA分类的III类PAH患者的身体活动明显受限。尽管在休息时舒适,但III类PAH患者由于比普通身体活动小的活动而经历过度的呼吸困难或疲劳、胸痛或近乎晕厥。如由NYHA分类的IV类PAH患者无法在没有症状的情况下进行任何身体活动。IV类PAH患者在休息时可能经历呼吸困难和/或疲劳,任何身体活动都会增加不适。IV类PAH患者通常表现出右心力衰竭的体征。

[0007] 患有PAH的患者用内皮素受体拮抗剂(ERA)、5型磷酸二酯酶(PDE-5)抑制剂、鸟苷酸环化酶刺激剂、前列腺素(例如,前列环素)或其组合进行治疗。ERA包括安贝生坦(Letairis®)、西他生坦、波生坦(Tracleer®)和马西替坦(Opsumit®)。用于治疗PAH的PDE-5抑制剂包括西地那非(Revatio®)和他达拉非(Adcirca®)。用于治疗PAH的前列腺素包括伊洛前列素、依前列醇和曲前列素(Remodulin®、Tyvaso®)。一种获得批准的鸟苷酸环化酶

刺激剂是利奥西呱(Adempas®)。另外,患者通常用上述化合物的组合进行治疗。

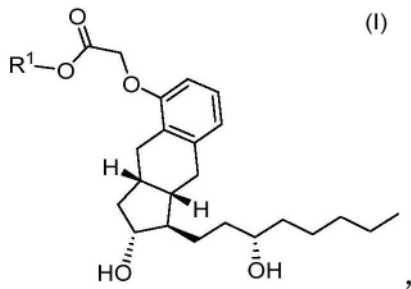
[0008] 门脉肺高压(PPH)被定义为门脉高压和肺高压的并存,并且是肝脏疾病的严重并发症。门脉肺高压的诊断是基于血流动力学标准:(1)门脉高压和/或肝脏疾病(临床诊断-腹水/静脉曲张/脾肿大)、(2)休息时平均肺动脉压>25mmHg、(3)肺血管阻力>240达因s/cm<sup>5</sup>、(4)肺动脉闭塞压<15mmHg或经肺梯度>12mmHg。PPH是肝脏疾病的严重并发症,并且存在于0.25%至4%的患有肝硬化的患者中。今天,PPH是在4%-6%的涉及肝移植的患者中的共病。

[0009] 肺纤维化是呼吸系统疾病,其中肺组织中形成疤痕,导致严重的呼吸问题。疤痕形成即过多纤维结缔组织的积累导致壁增厚并引起血液中的氧气供应减少。作为结果,肺纤维化患者遭受永久性呼吸短促。在一些患者中,所述疾病的具体原因可以被诊断出来,而在另一些患者中无法确定可能的原因,这种情况被称为特发性肺纤维化。

[0010] 本发明通过提供可用于肺部施用的曲前列素前药的干粉组合物以及将其施用至有需要的患者的方法解决对于用于肺高压(PH)(包括肺动脉高压(PAH))、门脉肺高压(PPH)以及肺纤维化的新型治疗选项的需要。

## 发明内容

[0011] 一方面,本公开文本涉及一种干粉组合物。所述干粉组合物包含(a)约0.1wt%至约3wt%的式(I)的化合物:



[0012]

[0013] 或其对映异构体、非对映异构体或药学上可接受的盐,其中R<sup>1</sup>是十四烷基、十五烷基、十六烷基、十七烷基或十八烷基;(b)约0.01wt%至约3wt%的二硬脂酰磷脂酰乙醇胺-聚乙二醇2000(DSPE-PEG2000);(c)约10wt%至约50wt%的亮氨酸;以及其余为(d)选自海藻糖和甘露糖醇的糖。(a)、(b)、(c)和(d)的整体为100wt%。

[0014] 在一个实施方案中,R<sup>1</sup>是十四烷基。在其他实施方案中,R<sup>1</sup>是线性十四烷基。

[0015] 在一个实施方案中,R<sup>1</sup>是十五烷基。在其他实施方案中,R<sup>1</sup>是线性十五烷基。

[0016] 在一个实施方案中,R<sup>1</sup>是十七烷基。在其他实施方案中,R<sup>1</sup>是线性十七烷基。

[0017] 在一个实施方案中,R<sup>1</sup>是十八烷基。在其他实施方案中,R<sup>1</sup>是线性十八烷基。

[0018] 在一个实施方案中,R<sup>1</sup>是十六烷基。在其他实施方案中,R<sup>1</sup>是线性十六烷基。

[0019] 在一个实施方案中,式(I)的化合物或其对映异构体、非对映异构体或药学上可接受的盐以所述干粉组合物的总重量的约0.5wt%至约2wt%存在,并且所述DSPE-PEG2000以所述干粉组合物的总重量的约0.05wt%至约2wt%存在。在其他实施方案中,R<sup>1</sup>是十六烷基。在甚至其他实施方案中,R<sup>1</sup>是线性十六烷基。在其他实施方案中,所述DSPE-PEG2000以所述干粉组合物的总重量的约0.15wt%至约1.4wt%存在。在甚至其他实施方案中,所述

DSPE-PEG2000以所述干粉组合物的总重量的约0.25wt%至约1wt%存在。

[0020] 在一个实施方案中,式(I)的化合物或其对映异构体、非对映异构体或药学上可接受的盐以所述干粉组合物的总重量的约1wt%至约2wt%存在,并且所述DSPE-PEG2000以所述干粉组合物的总重量的约0.1wt%至约2wt%存在。在其他实施方案中, $R^1$ 是十六烷基。在甚至其他实施方案中, $R^1$ 是线性十六烷基。在其他实施方案中,所述DSPE-PEG2000以所述干粉组合物的总重量的约0.3wt%至约1.4wt%存在。在甚至其他实施方案中,所述DSPE-PEG2000以所述干粉组合物的总重量的约0.5wt%至约1wt%存在。

[0021] 在一个实施方案中,式(I)的化合物或其对映异构体、非对映异构体或药学上可接受的盐以所述干粉组合物的总重量的约1.2wt%至约1.8wt%存在,并且所述DSPE-PEG2000以所述干粉组合物的总重量的约0.12wt%至约1.8wt%存在。在其他实施方案中, $R^1$ 是十六烷基。在甚至其他实施方案中, $R^1$ 是线性十六烷基。在其他实施方案中,所述DSPE-PEG2000以所述干粉组合物的总重量的约0.36wt%至约1.26wt%存在。在甚至其他实施方案中,所述DSPE-PEG2000以所述干粉组合物的总重量的约0.6wt%至约0.9wt%存在。

[0022] 在一个实施方案中,式(I)的化合物或其对映异构体、非对映异构体或药学上可接受的盐以所述干粉组合物的总重量的约1wt%至约1.5wt%存在,并且所述DSPE-PEG2000以所述干粉组合物的总重量的约0.1wt%至约1.5wt%存在。在其他实施方案中, $R^1$ 是十六烷基。在甚至其他实施方案中, $R^1$ 是线性十六烷基。在其他实施方案中,所述DSPE-PEG2000以所述干粉组合物的总重量的约0.3wt%至约1.05wt%存在。在甚至其他实施方案中,所述DSPE-PEG2000以所述干粉组合物的总重量的约0.5wt%至约0.75wt%存在。

[0023] 在一个实施方案中,式(I)的化合物或其对映异构体、非对映异构体或药学上可接受的盐以所述干粉组合物的总重量的约1.4wt%至约1.6wt%存在,并且所述DSPE-PEG2000以所述干粉组合物的总重量的约0.14wt%至约1.6wt%存在。在其他实施方案中, $R^1$ 是十六烷基。在甚至其他实施方案中, $R^1$ 是线性十六烷基。在其他实施方案中,所述DSPE-PEG2000以所述干粉组合物的总重量的约0.42wt%至约1.12wt%存在。在甚至其他实施方案中,所述DSPE-PEG2000以所述干粉组合物的总重量的约0.7wt%至约0.8wt%存在。

[0024] 在一个实施方案中,式(I)的化合物或其对映异构体、非对映异构体或药学上可接受的盐以所述干粉组合物的总重量的约1.5wt%存在,并且所述DSPE-PEG2000以所述干粉组合物的总重量的约0.15wt%至约1.5wt%存在。在其他实施方案中, $R^1$ 是十六烷基。在甚至其他实施方案中, $R^1$ 是线性十六烷基。在其他实施方案中,所述DSPE-PEG2000以所述干粉组合物的总重量的约0.45wt%至约1.05wt%存在。在甚至其他实施方案中,所述DSPE-PEG2000以所述干粉组合物的总重量的约0.75wt%存在。

[0025] 在一个实施方案中,式(I)的化合物或其对映异构体、非对映异构体或药学上可接受的盐以所述干粉组合物的总重量的约0.1wt%至约3wt%存在,并且所述DSPE-PEG2000与式(I)的化合物或其对映异构体、非对映异构体或药学上可接受的盐的重量比率在约0.1:1(DSPE-PEG2000:式(I)的化合物或其对映异构体、非对映异构体或药学上可接受的盐)至约1:1(DSPE-PEG2000:式(I)的化合物或其对映异构体、非对映体或药学上可接受的盐)的范围内。在其他实施方案中, $R^1$ 是十六烷基。在甚至其他实施方案中, $R^1$ 是线性十六烷基。在其他实施方案中,式(I)的化合物或其对映异构体、非对映异构体或药学上可接受的盐以所述干粉组合物的总重量的约0.5wt%至约2wt%存在。在其他实施方案中,式(I)的化合物或其

对映异构体、非对映异构体或药学上可接受的盐以所述干粉组合物的总重量的约1wt%至约2wt%存在。在其他实施方案中,式(I)的化合物或其对映异构体、非对映异构体或药学上可接受的盐以所述干粉组合物的总重量的约1.2wt%至约1.8wt%存在。在其他实施方案中,式(I)的化合物或其对映异构体、非对映异构体或药学上可接受的盐以所述干粉组合物的总重量的约1wt%至约1.5wt%存在。在其他实施方案中,式(I)的化合物或其对映异构体、非对映异构体或药学上可接受的盐以所述干粉组合物的总重量的约1.4wt%至约1.6wt%存在。在甚至其他实施方案中,式(I)的化合物或其对映异构体、非对映异构体或药学上可接受的盐以所述干粉组合物的总重量的约1.5wt%存在。在另一个实施方案中,所述DSPE-PEG2000与式(I)的化合物或其对映异构体、非对映异构体或药学上可接受的盐的重量比率在约0.3:1(DSPE-PEG2000:式(I)的化合物或其对映异构体、非对映异构体或药学上可接受的盐)至约0.7:1(DSPE-PEG2000:式(I)的化合物或其对映异构体、非对映异构体或药学上可接受的盐)的范围内。在其他实施方案中,所述DSPE-PEG2000与式(I)的化合物或其对映异构体、非对映异构体或药学上可接受的盐的重量比率为约0.5:1(DSPE-PEG2000:式(I)的化合物或其对映异构体、非对映异构体或药学上可接受的盐)。

[0026] 在本文提供的干粉组合物的一个实施方案中,所述亮氨酸以所述干粉组合物的总重量的约15wt%至约40wt%存在。在其他实施方案中, $R^1$ 是十六烷基。在甚至其他实施方案中, $R^1$ 是线性十六烷基。在另一个实施方案中,所述亮氨酸以所述干粉组合物的总重量的约18wt%至约33wt%存在。在其他实施方案中, $R^1$ 是十六烷基。在甚至其他实施方案中, $R^1$ 是线性十六烷基。在另一个实施方案中,所述亮氨酸以所述干粉组合物的总重量的约20wt%至约30wt%存在。在其他实施方案中, $R^1$ 是十六烷基。在甚至其他实施方案中, $R^1$ 是线性十六烷基。在另一个实施方案中,所述亮氨酸以所述干粉组合物的总重量的约25wt%至约30wt%存在。在其他实施方案中, $R^1$ 是十六烷基。在甚至其他实施方案中, $R^1$ 是线性十六烷基。在另一个实施方案中,所述亮氨酸以所述干粉组合物的总重量的约27wt%至约30wt%存在。在其他实施方案中, $R^1$ 是十六烷基。在甚至其他实施方案中, $R^1$ 是线性十六烷基。在另一个实施方案中,所述亮氨酸以所述干粉组合物的总重量的约30wt%存在。在其他实施方案中, $R^1$ 是十六烷基。在甚至其他实施方案中, $R^1$ 是线性十六烷基。

[0027] 在一些实施方案中,所述糖是甘露糖醇。在其他实施方案中, $R^1$ 是十六烷基。在其他实施方案中, $R^1$ 是线性十六烷基。

[0028] 在一个实施方案中,所述干粉组合物包含(a)约1.5wt%的式(I)的化合物或其对映异构体、非对映异构体或药学上可接受的盐,(b)约0.7wt%的所述DSPE-PEG2000,(c)约29.3wt%的所述亮氨酸,以及其余为(d)甘露糖醇。在其他实施方案中, $R^1$ 是十六烷基。在其他实施方案中, $R^1$ 是线性十六烷基。

[0029] 在一个实施方案中,所述干粉组合物包含(a)约1.5wt%的式(I)的化合物或其对映异构体、非对映异构体或药学上可接受的盐,(b)约0.75wt%的所述DSPE-PEG2000,(c)约29.30wt%的所述亮氨酸,以及(d)约68.45wt%的所述甘露糖醇。在其他实施方案中, $R^1$ 是十六烷基。在其他实施方案中, $R^1$ 是线性十六烷基。

[0030] 在一个实施方案中,所述干粉组合物呈气溶胶的形式,其具有如通过下一代撞击器(NGI)所测量的质量中值空气动力学直径(MMAD)为约 $1\mu\text{m}$ 至约 $3\mu\text{m}$ 的颗粒。在其他实施方案中,所述干粉组合物呈气溶胶的形式,其具有如通过NGI所测量的MMAD为约 $1.3\mu\text{m}$ 至约 $2.0$

$\mu\text{m}$ 的颗粒。在其他实施方案中, $R^1$ 是十六烷基。在其他实施方案中, $R^1$ 是线性十六烷基。

[0031] 在一个实施方案中,所述糖是甘露糖醇,并且所述干粉组合物呈气溶胶的形式,其具有如通过NGI所测量的MMAD为约 $1\mu\text{m}$ 至约 $3\mu\text{m}$ 的颗粒。在另一个实施方案中,所述糖是甘露糖醇,并且所述干粉组合物呈气溶胶的形式,其具有如通过NGI所测量的MMAD为约 $1.7\mu\text{m}$ 至约 $2.7\mu\text{m}$ 的颗粒。在其他实施方案中, $R^1$ 是十六烷基。在其他实施方案中, $R^1$ 是线性十六烷基。

[0032] 在一个实施方案中,所述干粉组合物呈气溶胶的形式,其具有如通过NGI所测量的细颗粒分数(FPF)为约30%至约60%的颗粒。在其他实施方案中, $R^1$ 是十六烷基。在其他实施方案中, $R^1$ 是线性十六烷基。

[0033] 在另一方面,本公开文本涉及一种用于治疗有需要的患者的肺高压的方法。所述方法包括将治疗有效量的本文公开的干粉组合物通过经由干粉吸入器吸入施用至所述患者的肺部。

[0034] 在一个实施方案中,所述肺高压是肺动脉高压(PAH)。在一个实施方案中,所述PAH是如纽约心脏协会(NYHA)所表征的I类PAH。在另一个实施方案中,所述PAH是如由NYHA所表征的II类PAH。在另一个实施方案中,所述PAH是如由NYHA所表征的III类PAH。在另一个实施方案中,所述PAH是如由NYHA所表征的IV类PAH。

[0035] 在一个实施方案中,所述肺高压是如由世界卫生组织(WHO)所表征的第1组肺高压。

[0036] 在另一个实施方案中,所述肺高压是如由WHO所表征的第2组肺高压。

[0037] 在另一个实施方案中,所述肺高压是如由WHO所表征的第3组肺高压。

[0038] 在另一个实施方案中,所述肺高压是如由WHO所表征的第4组肺高压。

[0039] 在另一个实施方案中,所述肺高压是如由WHO所表征的第5组肺高压。

[0040] 在又另一方面,本公开文本涉及一种用于治疗有需要的患者的门脉肺高压或肺纤维化的方法。所述方法包括将治疗有效量的本文公开的干粉组合物通过经由干粉吸入器吸入施用至所述患者的肺部。

[0041] 在本文所述的治疗方法的一个实施方案中,所述施用是以一天一次、一天两次或一天三次给药的形式进行。

[0042] 在本文描述的治疗方法的另一个实施方案中,所述施用包括将所述干粉组合物雾化以及经由吸入将雾化干粉组合物施用至所述患者的肺。在一个实施方案中,所述雾化干粉组合物包含如通过NGI所测量的MMAD为约 $1\mu\text{m}$ 至约 $3\mu\text{m}$ 的颗粒。在另一个实施方案中,所述雾化干粉组合物包含如通过NGI所测量的FPF为约30%至约60%的颗粒。

[0043] 在另一方面,本公开文本涉及一种用于治疗肺高压、门脉肺高压或肺纤维化的系统。所述系统包括本文公开的干粉组合物中的一种和干粉吸入器(DPI)。

[0044] 在一个实施方案中,所述DPI是单剂量或多剂量吸入器。

[0045] 在另一个实施方案中,所述DPI是预计量式或装置计量式。

## 附图说明

[0046] 图1是显示亮氨酸含量对基于甘露糖醇的C16TR(曲前列素棕榈酸酯(treprostinil palmitil))干粉的喷雾干燥回收率的影响的图。

[0047] 图2A-图2D是含有如所示的不同量的亮氨酸的基于甘露糖醇的C16TR(曲前列素棕

桐酸酯)干粉的SEM图像。

[0048] 图3是显示亮氨酸含量对基于甘露糖醇的C16TR(曲前列素棕榈酸酯)干粉中通过激光衍射测量的粒度分布的影响的图。

[0049] 图4是显示C16TR(曲前列素棕榈酸酯)含量对基于甘露糖醇的C16TR(曲前列素棕榈酸酯)干粉的MMAD的影响的图。

[0050] 图5A-图5C是在不同入口温度下喷雾干燥的基于甘露糖醇的C16TR(曲前列素棕榈酸酯)干粉的SEM图像。上方小图的图像是在高放大倍数下拍摄的,并且下方小图的图像是在低放大倍数下拍摄的。

[0051] 图6A和图6B是显示在有或没有碳酸氢铵(ABC,0.5mg/mL)的情况下在135℃的入口温度下喷雾干燥的基于甘露糖醇的C16TR(曲前列素棕榈酸酯)干粉的形态的SEM图像。上方小图的图像是在高放大倍数下拍摄的,并且下方小图的图像是在低放大倍数下拍摄的。

[0052] 图7A是显示基于甘露糖醇的C16TR(曲前列素棕榈酸酯)干粉批次SD-NNP-179的DSC数据的图。

[0053] 图7B是显示基于甘露糖醇的C16TR(曲前列素棕榈酸酯)干粉批次SD-NNP-179的X射线衍射数据的图。

[0054] 图8A和图8B是显示亮氨酸含量对基于海藻糖的C16TR(曲前列素棕榈酸酯)干粉的形态的影响的SEM图像。

[0055] 图9A-图9C是显示喷雾干燥入口温度对基于海藻糖的C16TR(曲前列素棕榈酸酯)干粉的形态的影响的SEM图像。

[0056] 图10A是显示基于海藻糖的C16TR(曲前列素棕榈酸酯)干粉的DSC数据的图。

[0057] 图10B是显示基于海藻糖的C16TR(曲前列素棕榈酸酯)干粉的X射线衍射数据的图。

[0058] 图11是显示基于甘露糖醇的C16TR(曲前列素棕榈酸酯)干粉批次SD-NNP-167(C16TR(曲前列素棕榈酸酯)/DSPE-PEG2000/甘露糖醇/亮氨酸,1/0.5/80/20)的水分吸收的DVS等温线图。

[0059] 图12是显示基于海藻糖的C16TR(曲前列素棕榈酸酯)干粉批次SD-NNP-162(C16TR(曲前列素棕榈酸酯)/DSPE-PEG2000/Treh/Leu,1/0.5/80/20)的水分吸收的DVS等温线图。

[0060] 图13是显示基于海藻糖的C16TR(曲前列素棕榈酸酯)干粉批次SD-NNP-163(C16TR(曲前列素棕榈酸酯)/DSPE-PEG2000/海藻糖/亮氨酸,1/0.5/70/30)的水分吸收的DVS等温线图。

[0061] 图14是显示在基于甘露糖醇的C16TR(曲前列素棕榈酸酯)干粉的加速稳定性研究中MMAD变化的图。

[0062] 图15A和图15B是含有1%的C16TR(曲前列素棕榈酸酯)的基于甘露糖醇的C16TR(曲前列素棕榈酸酯)干粉批次SD-NNP-179分别在T0和T3(3个月)时的SEM图像。

[0063] 图16A和图16B是含有1.5%的C16TR(曲前列素棕榈酸酯)的基于甘露糖醇的C16TR(曲前列素棕榈酸酯)干粉批次SD-NNP-183分别在T0和T3(3个月)时的SEM图像。

[0064] 图17A和图17B是含有2%的C16TR(曲前列素棕榈酸酯)的基于甘露糖醇的C16TR(曲前列素棕榈酸酯)干粉批次SD-NNP-184分别在T0和T3(3个月)时的SEM图像。

[0065] 图18A和图18B是分别含有3%的C16TR(曲前列素棕榈酸酯)(SD-NNP-190)和5%的

C16TR (曲前列素棕榈酸酯) (SD-NNP-191) 的基于甘露糖醇的C16TR (曲前列素棕榈酸酯) 干粉批次在T5 (5个月) 时的SEM图像。

[0066] 图19是显示在基于海藻糖的C16TR (曲前列素棕榈酸酯) 干粉的加速稳定性研究中MMAD变化的图。

[0067] 图20是显示在基于海藻糖的C16TR (曲前列素棕榈酸酯) 干粉的加速稳定性研究中FPF变化的图。

[0068] 图21A和图21B是含有1%的C16TR (曲前列素棕榈酸酯) 的基于海藻糖的C16TR (曲前列素棕榈酸酯) 干粉批次SD-NNP-162分别在T0和T3.5 (3.5个月) 时的SEM图像。

[0069] 图22A和图22B是含有1%的C16TR (曲前列素棕榈酸酯) 的基于海藻糖的C16TR (曲前列素棕榈酸酯) 干粉批次SD-NNP-163分别在T0和T3.5 (3.5个月) 时的SEM图像。

[0070] 图23A和图23B是含有1.5%的C16TR (曲前列素棕榈酸酯) 的基于海藻糖的C16TR (曲前列素棕榈酸酯) 干粉批次SD-NNP-188分别在T0和T3.5 (3.5个月) 时的SEM图像。

[0071] 图24A和图24B是含有2%的C16TR (曲前列素棕榈酸酯) 的基于海藻糖的C16TR (曲前列素棕榈酸酯) 干粉批次SD-NNP-189分别在T0和T3.5 (3.5个月) 时的SEM图像。

[0072] 图25是显示喷雾干燥的曲前列素棕榈酸酯干粉配制品A、B、C和D的压力滴定的图。为了可见性起见,数据点在每个气压类别内按顺序 (A、B、C和D) 偏离 (左到右)。

[0073] 图26是显示曲前列素棕榈酸酯干粉配制品A、B、C和D的粒度分布的图。

[0074] 图27是曲前列素棕榈酸酯干粉配制品A的SEM图像。

[0075] 图28是曲前列素棕榈酸酯干粉配制品B的SEM图像。

[0076] 图29是曲前列素棕榈酸酯干粉配制品C的SEM图像。

[0077] 图30是曲前列素棕榈酸酯干粉配制品D的SEM图像。

[0078] 图31是显示在T=0以及如所示在25°C或40°C下在胶囊中储存1-3个月或在25°C或40°C下散装储存3个月并填充至胶囊中并在同一日给药后的曲前列素棕榈酸酯干粉配制品A的细颗粒剂量 (FPD) 的图。

[0079] 图32是显示在T=0以及如所示在25°C或40°C下在胶囊中储存1-3个月或在25°C或40°C下散装储存3个月并填充至胶囊中并在同一日给药后的曲前列素棕榈酸酯干粉配制品C的细颗粒剂量 (FPD) 的图。

[0080] 图33是显示在T=0以及如所示在25°C或40°C下在胶囊中储存1-3个月或在25°C或40°C下散装储存3个月并填充至胶囊中并在同一日给药后的曲前列素棕榈酸酯干粉配制品D的细颗粒剂量 (FPD) 的图。

[0081] 图34是基于海藻糖的C16TR (曲前列素棕榈酸酯) 干粉配制品的动态气相吸附 (DVS) 等温线图。

[0082] 图35是显示基于海藻糖的C16TR (曲前列素棕榈酸酯) 干粉配制品在T=0以及在40°C和未控制的环境湿度下储存1.5个月、2.5个月和3.5个月 (每个时间点, n=1) 后的气溶胶粒度分布的图。

[0083] 图36是显示吸入基于海藻糖的C16TR (曲前列素棕榈酸酯) 干粉配制品和气雾化INS1009后在肺中的C16TR (曲前列素棕榈酸酯) 等同物 (C16TR (曲前列素棕榈酸酯) 加曲前列素, ng/g) 的浓度的图。

[0084] 图37是显示吸入曲前列素棕榈酸酯干粉配制品D或配制品C后在肺中的C16TR (曲

前列素棕榈酸酯)等同物(C16TReq)的浓度的图。

[0085] 图38是显示吸入曲前列素棕榈酸酯干粉配制品D或配制品C后在肺中的C16TR(曲前列素棕榈酸酯)的浓度的图。

[0086] 图39是显示吸入曲前列素棕榈酸酯干粉配制品D或配制品C后在肺中的TRE的浓度的图。

[0087] 图40是显示吸入曲前列素棕榈酸酯干粉配制品D或配制品C后在血浆中的TRE的浓度的图。

[0088] 图41是显示暴露于曲前列素棕榈酸酯干粉配制品D或配制品C的大鼠中对缺氧挑战的 $\Delta$ RVPP反应的图。

### 具体实施方式

[0089] 贯穿本公开文本,术语“约”可以与数值和/或范围结合使用。术语“约”被理解为意指接近所述值的那些值。例如,“约40[单位]”可以意指意味着在40的 $\pm 25\%$ (例如,从30至50),例如40的 $\pm 20\%$ 、 $\pm 15\%$ 、 $\pm 10\%$ 、 $\pm 9\%$ 、 $\pm 8\%$ 、 $\pm 7\%$ 、 $\pm 6\%$ 、 $\pm 5\%$ 、 $\pm 4\%$ 、 $\pm 3\%$ 、 $\pm 2\%$ 、 $\pm 1\%$ 、小于 $\pm 1\%$ 内,或在期间的其他值或范围或更低的值。

[0090] 术语“药学上可接受的盐”是指由药学上可接受的无毒碱或酸(包括无机碱或有机碱和无机酸或有机酸)制备的盐。盐的性质不是关键,前提是它是药学上可接受的。合适的药学上可接受的酸加成盐可以由无机酸或由有机酸制备。示例性药物盐披露于Stahl, P.H., Wermuth, C.G. 编辑Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use; Verlag Helvetica Chimica Acta/Wiley-VCH: Zurich, 2002, 将其内容通过引用以其整体并入于此。无机酸的具体非限制性例子是盐酸、氢溴酸、氢碘酸、硝酸、碳酸、硫酸和磷酸。合适的有机酸包括但不限于脂肪酸、脂环酸、芳香酸、芳基脂肪酸以及含杂环基的羧酸和磺酸,例如甲酸、乙酸、丙酸、琥珀酸、乙醇酸、葡萄糖酸、乳酸、苹果酸、酒石酸、柠檬酸、抗坏血酸、葡萄糖醛酸、马来酸、富马酸、丙酮酸、天冬氨酸、谷氨酸、苯甲酸、邻氨基苯甲酸、甲磺酸、硬脂酸、水杨酸、对羟基苯甲酸、苯乙酸、扁桃酸、帕莫酸(扑酸)、甲基磺酸、乙基磺酸、苯磺酸、泛酸、甲苯磺酸、2-羟基乙基磺酸、磺胺酸、环己基氨基磺酸、海藻酸、3-羟基丁酸、半乳糖酸或半乳糖醛酸。本文公开的含游离酸的化合物的合适的药学上可接受的盐包括但不限于金属盐和有机盐。示例性金属盐包括但不限于合适的碱金属(Ia族)盐、碱土金属(IIa族)盐和其他生理学上可接受的金属。此类盐可以由铝、钙、锂、镁、钾、钠和锌制成。示例性有机盐可以由伯胺盐、仲胺盐、叔胺盐和季铵盐制成,例如氨丁三醇、二乙胺、四-N-甲基铵、N,N'-二苄基乙二胺、氯普鲁卡因、胆碱、二乙醇胺、乙二胺、葡甲胺(N-甲基葡萄糖胺)和普鲁卡因。

[0091] 在整个本说明书中,为某些量提供了数值范围。应该理解的是,这些范围包含其中所有的子范围。因此,“50-80”的范围包括其中的所有可能范围(例如,51-79、52-78、53-77、54-76、55-75、60-70等)。此外,给定范围内的所有值可以是由此涵盖的范围的端点(例如,范围50--80包括具有端点的范围,如55-80、50-75等)。

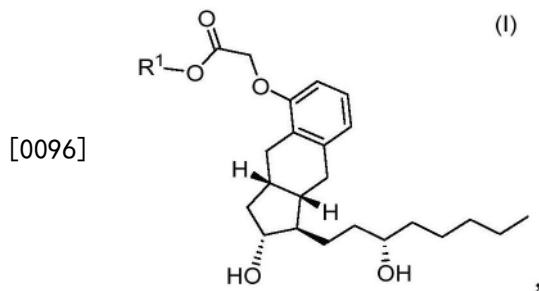
[0092] 在一个实施方案中,术语“治疗”包括:(1)预防或延迟在受试者中发展的状态、障碍或病症的临床症状的出现,所述受试者可能患有或倾向于患上所述状态、障碍或病症但还没有经历或表现出所述状态、障碍或病症的临床或亚临床症状;(2)抑制所述状态、障碍

或病症(例如,在维持治疗的情况下阻止、减轻或延迟疾病的发展、或其至少一种临床或亚临床症状的复发);和/或(3)缓解病症(例如,导致所述状态、障碍或病症或其至少一种临床或亚临床症状的消退)。在一个实施方案中,“治疗”是指抑制所述状态、障碍或病症(例如,在维持治疗的情况下阻止、减轻或延迟所述疾病的发展、或其至少一种临床或亚临床症状的复发)。在另一个实施方案中,“治疗”是指缓解所述病症(例如,通过引起所述状态、障碍或病症或其临床或亚临床症状中的至少一种的消退来缓解)。与所述治疗前同一受试者的状态或病症相比,或与未治疗的对照受试者的状态或病症相比,对于待治疗受试者的益处是统计上显著的,或者所述益处是至少被受试者或医生察觉的。

[0093] “有效量”是指足以导致所需治疗反应的本公开文本的干粉组合物的量。

[0094] 在本发明的一方面,提供了曲前列素前药的干粉组合物。所述干粉组合物包含:

[0095] (a) 式(I)的化合物:



[0097] 或其对映异构体、非对映异构体或药学上可接受的盐,其中 $R^1$ 是十四烷基、十五烷基、十六烷基、十七烷基或十八烷基,并且式(I)的化合物或其对映异构体、非对映异构体或药学上可接受的盐以所述干粉组合物的总重量的约0.1wt%至约3wt%存在;

[0098] (b) 约0.01wt%至约3wt%的DSPE-PEG2000;

[0099] (c) 约10wt%至约50wt%的亮氨酸;以及其余为

[0100] (d) 选自海藻糖和甘露糖醇的糖。(a)、(b)、(c)和(d)的整体为100wt%。

[0101] 在一些实施方案中,式(I)的化合物或其对映异构体、非对映异构体或药学上可接受的盐以所述干粉组合物的总重量的约0.1wt%、约0.3wt%、约0.5wt%、约0.7wt%、约1wt%、约1.3wt%、约1.5wt%、约1.7wt%、约2.0wt%、约2.3wt%、约2.5wt%、约2.7wt%或约3wt%存在。在其他实施方案中,式(I)的化合物或其对映异构体、非对映异构体或药学上可接受的盐以所述干粉组合物的总重量的约1.5wt%存在。式(I)的化合物及其药学上可接受的盐是国际申请公开W0 2015/061720中披露的曲前列素前药,将其公开内容通过引用以其整体并入本文。在一些实施方案中,所述亮氨酸以所述干粉组合物的总重量的约10wt%、约15wt%、约20wt%、约25wt%、约30wt%、约35wt%、约40wt%、约45wt%或约50wt%存在。

[0102] PEG是指聚乙二醇,也称为聚环氧乙烷(PEO)或聚氧乙烯(POE),这取决于其分子量。所述DSPE-PEG2000可以包括平均PEG分子量为2000g/mol的支化或未支化PEG分子。在一个实施方案中,(b)是以所述干粉组合物的总重量的约0.03wt%至约2.1wt%存在的DSPE-PEG2000。在另一个实施方案中,(b)是以所述干粉组合物的总重量的约0.05wt%至约1.5wt%存在的DSPE-PEG2000。

[0103] 在式(I)的化合物或其对映异构体、非对映异构体或药学上可接受的盐的一个实施方案中, $R^1$ 是十四烷基。在其他实施方案中, $R^1$ 是线性十四烷基。

[0104] 在式(I)的化合物或其对映异构体、非对映异构体或药学上可接受的盐的另一个

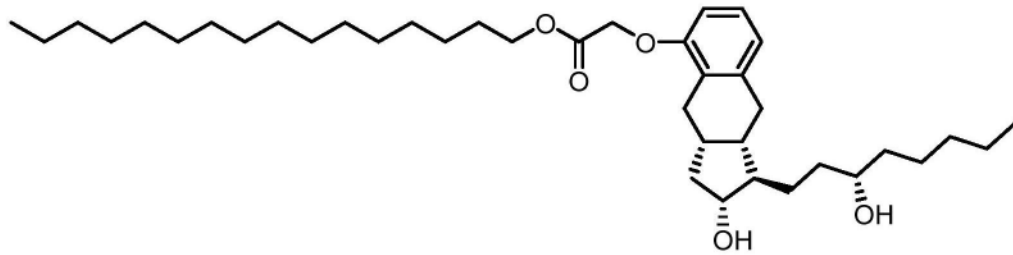
实施方案中, R<sup>1</sup>是十五烷基。在其他实施方案中, R<sup>1</sup>是线性十五烷基。

[0105] 在式(I)的化合物或其对映异构体、非对映异构体或药学上可接受的盐的另一个实施方案中, R<sup>1</sup>是十七烷基。在其他实施方案中, R<sup>1</sup>是线性十七烷基。

[0106] 在式(I)的化合物或其对映异构体、非对映异构体或药学上可接受的盐的另一个实施方案中, R<sup>1</sup>是十八烷基。在其他实施方案中, R<sup>1</sup>是线性十八烷基。

[0107] 在式(I)的化合物或其对映异构体、非对映异构体或药学上可接受的盐的另一个实施方案中, R<sup>1</sup>是十六烷基。在其他实施方案中, R<sup>1</sup>是线性十六烷基, 即式(I)的化合物或其对映异构体、非对映异构体或药学上可接受的盐是式(II)的化合物:

[0108] (II)



[0109]

[0110] 或其对映异构体、非对映异构体或药学上可接受的盐。在一个实施方案中, 式(I)的化合物或其药学上可接受的盐是式(II)的化合物或其药学上可接受的盐。在一些实施方案中, 式(I)的化合物或其药学上可接受的盐是式(II)的化合物。在其他实施方案中, 式(I)的化合物是式(II)的化合物。式(II)的化合物在本文中也称为C16TR或曲前列素棕榈酸酯。在本申请中, C16TR和曲前列素棕榈酸酯可互换使用, 并且是指式(II)的化合物。

[0111] 在一个实施方案中, (a) 是式(I)的化合物或其药学上可接受的盐。在其他实施方案中, (a) 是式(I)的化合物。在另一个实施方案中, (a) 是式(II)的化合物或其药学上可接受的盐。在其他实施方案中, (a) 是式(II)的化合物。

[0112] 在一个实施方案中, 式(I)或(II)的化合物或其对映异构体、非对映异构体或药学上可接受的盐以所述干粉组合物的总重量的约0.5wt%至约2wt%存在, 并且所述DSPE-PEG2000以所述干粉组合物的总重量的约0.05wt%至约2wt%存在。在其他实施方案中, 所述DSPE-PEG2000以所述干粉组合物的总重量的约0.15wt%至约1.4wt%存在。在其他实施方案中, 所述DSPE-PEG2000以所述干粉组合物的总重量的约0.25wt%至约1wt%存在。在一些实施方案中, 式(I)或(II)的化合物或其药学上可接受的盐以所述干粉组合物的总重量的约0.5wt%至约2wt%存在。在一些实施方案中, 式(I)或(II)的化合物以所述干粉组合物的总重量的约0.5wt%至约2wt%存在。

[0113] 在一个实施方案中, 式(I)或(II)的化合物或其对映异构体、非对映异构体或药学上可接受的盐以所述干粉组合物的总重量的约1wt%至约2wt%存在, 并且所述DSPE-PEG2000以所述干粉组合物的总重量的约0.1wt%至约2wt%存在。在其他实施方案中, 所述DSPE-PEG2000以所述干粉组合物的总重量的约0.3wt%至约1.4wt%存在。在其他实施方案中, 所述DSPE-PEG2000以所述干粉组合物的总重量的约0.5wt%至约1wt%存在。在一些实施方案中, 式(I)或(II)的化合物或其药学上可接受的盐以所述干粉组合物的总重量的约1wt%至约2wt%存在。在一些实施方案中, 式(I)或(II)的化合物以所述干粉组合物的总重量的约1wt%至约2wt%存在。

[0114] 在一个实施方案中,式(I)或(II)的化合物或其对映异构体、非对映异构体或药学上可接受的盐以所述干粉组合物的总重量的约1.2wt%至约1.8wt%存在,并且所述DSPE-PEG2000以所述干粉组合物的总重量的约0.12wt%至约1.8wt%存在。在其他实施方案中,所述DSPE-PEG2000以所述干粉组合物的总重量的约0.36wt%至约1.26wt%存在。在其他实施方案中,所述DSPE-PEG2000以所述干粉组合物的总重量的约0.6wt%至约0.9wt%存在。在一些实施方案中,式(I)或(II)的化合物或其药学上可接受的盐以所述干粉组合物的总重量的约1.2wt%至约1.8wt%存在。在一些实施方案中,式(I)或(II)的化合物以所述干粉组合物的总重量的约1.2wt%至约1.8wt%存在。

[0115] 在一个实施方案中,式(I)或(II)的化合物或其对映异构体、非对映异构体或药学上可接受的盐以所述干粉组合物的总重量的约1wt%至约1.5wt%存在,并且所述DSPE-PEG2000以所述干粉组合物的总重量的约0.1wt%至约1.5wt%存在。在其他实施方案中,所述DSPE-PEG2000以所述干粉组合物的总重量的约0.3wt%至约1.05wt%存在。在其他实施方案中,所述DSPE-PEG2000以所述干粉组合物的总重量的约0.5wt%至约0.75wt%存在。在一些实施方案中,式(I)或(II)的化合物或其药学上可接受的盐以所述干粉组合物的总重量的约1wt%至约1.5wt%存在。在一些实施方案中,式(I)或(II)的化合物以所述干粉组合物的总重量的约1wt%至约1.5wt%存在。

[0116] 在一个实施方案中,式(I)或(II)的化合物或其对映异构体、非对映异构体或药学上可接受的盐以所述干粉组合物的总重量的约1.4wt%至约1.6wt%存在,并且所述DSPE-PEG2000以所述干粉组合物的总重量的约0.14wt%至约1.6wt%存在。在其他实施方案中,所述DSPE-PEG2000以所述干粉组合物的总重量的约0.42wt%至约1.12wt%存在。在其他实施方案中,所述DSPE-PEG2000以所述干粉组合物的总重量的约0.7wt%至约0.8wt%存在。在一些实施方案中,式(I)或(II)的化合物或其药学上可接受的盐以所述干粉组合物的总重量的约1.4wt%至约1.6wt%存在。在一些实施方案中,式(I)或(II)的化合物以所述干粉组合物的总重量的约1.4wt%至约1.6wt%存在。

[0117] 在一个实施方案中,式(I)或(II)的化合物或其对映异构体、非对映异构体或药学上可接受的盐以所述干粉组合物的总重量的约1wt%存在,并且所述DSPE-PEG2000以所述干粉组合物的总重量的约0.1wt%至约1wt%存在。在其他实施方案中,所述DSPE-PEG2000以所述干粉组合物的总重量的约0.3wt%至约0.7wt%存在。在其他实施方案中,所述DSPE-PEG2000以所述干粉组合物的总重量的约0.5wt%存在。在一些实施方案中,式(I)或(II)的化合物或其药学上可接受的盐以所述干粉组合物的总重量的约1wt%存在。在一些实施方案中,式(I)或(II)的化合物以所述干粉组合物的总重量的约1wt%存在。

[0118] 在一个实施方案中,式(I)或(II)的化合物或其对映异构体、非对映异构体或药学上可接受的盐以所述干粉组合物的总重量的约1.5wt%存在,并且所述DSPE-PEG2000以所述干粉组合物的总重量的约0.15wt%至约1.5wt%存在。在其他实施方案中,所述DSPE-PEG2000以所述干粉组合物的总重量的约0.45wt%至约1.05wt%存在。在其他实施方案中,所述DSPE-PEG2000以所述干粉组合物的总重量的约0.75wt%存在。在一些实施方案中,式(I)或(II)的化合物或其药学上可接受的盐以所述干粉组合物的总重量的约1.5wt%存在。在一些实施方案中,式(I)或(II)的化合物以所述干粉组合物的总重量的约1.5wt%存在。

[0119] 在一些实施方案中,式(I)或(II)的化合物或其对映异构体、非对映异构体或药学

上可接受的盐以所述干粉组合物的总重量的约0.1wt%至约3wt%、约0.5wt%至约2wt%、约1wt%至约2wt%、约1.2wt%至约1.8wt%、约1wt%至约1.5wt%、约1.4wt%至约1.6wt%、约1wt%、或约1.5wt%存在,并且所述DSPE-PEG2000与式(I)或(II)的化合物或其对映异构体、非对映异构体或药学上可接受的盐的重量比率在如下范围内:约0.1:1(DSPE-PEG2000:式(I)或(II)的化合物)至约1:1(DSPE-PEG2000:式(I)或(II)的化合物)或约0.3:1(DSPE-PEG2000:式(I)或(II)的化合物)至约0.7:1(DSPE-PEG2000:式(I)或(II)的化合物),例如约0.1:1、约0.2:1、约0.3:1、约0.4:1、约0.5:1、约0.6:1、约0.7:1、约0.8:1、约0.9:1或约1:1。在一个实施方案中,所述DSPE-PEG2000与式(I)或(II)的化合物或其对映异构体、非对映异构体或药学上可接受的盐的重量比率在约0.1:1(DSPE-PEG2000:式(I)或(II)的化合物)至约1:1(DSPE-PEG2000:式(I)或(II)的化合物)的范围内。在另一个实施方案中,所述DSPE-PEG2000与式(I)或(II)的化合物或其对映异构体、非对映异构体或药学上可接受的盐的重量比率在约0.3:1(DSPE-PEG2000:式(I)或(II)的化合物)至约0.7:1(DSPE-PEG2000:式(I)或(II)的化合物)的范围内。

[0120] 在一些实施方案中,所述DSPE-PEG2000与式(I)或(II)的化合物或其对映异构体、非对映异构体或药学上可接受的盐的重量比率是约0.5:1(DSPE-PEG2000:式(I)或(II)的化合物)。在此重量比率下,式(I)或(II)的化合物或其对映异构体、非对映异构体或药学上可接受的盐以所述干粉组合物的总重量的约1wt%至约2wt%存在,并且所述DSPE-PEG2000以所述干粉组合物的总重量的约0.5wt%至约1wt%存在。在另一个实施方案中,式(I)或(II)的化合物或其对映异构体、非对映异构体或药学上可接受的盐以所述干粉组合物的总重量的约1.2wt%至约1.8wt%存在,并且所述DSPE-PEG2000以所述干粉组合物的总重量的约0.6wt%至约0.9wt%存在。在另一个实施方案中,式(I)或(II)的化合物或其对映异构体、非对映异构体或药学上可接受的盐以所述干粉组合物的总重量的约1.4wt%至约1.6wt%存在,并且所述DSPE-PEG2000以所述干粉组合物的总重量的约0.7wt%至约0.8wt%存在。在另一个实施方案中,式(I)或(II)的化合物或其对映异构体、非对映异构体或药学上可接受的盐以所述干粉组合物的总重量的约1.5wt%存在,并且所述DSPE-PEG2000以所述干粉组合物的总重量的约0.75wt%存在。在一些实施方案中,式(I)或(II)的化合物或其药学上可接受的盐以每一种上述在所述干粉组合物中的重量百分比或重量百分比范围存在。在一些实施方案中,式(I)或(II)的化合物以每一种上述在所述干粉组合物中的重量百分比或重量百分比范围存在。

[0121] 在一个实施方案中,所述亮氨酸以所述干粉组合物的总重量的约15wt%至约40wt%存在。在其他实施方案中,所述亮氨酸以所述干粉组合物的总重量的约18wt%至约33wt%存在。在其他实施方案中,所述亮氨酸以所述干粉组合物的总重量的约20wt%至约30wt%,例如约20wt%、约25wt%或约30wt%存在。在其他实施方案中,所述亮氨酸以所述干粉组合物的总重量的约25wt%至约30wt%存在。在其他实施方案中,所述亮氨酸以所述干粉组合物的总重量的约27wt%至约30wt%存在。在一个实施方案中,所述亮氨酸以所述干粉组合物的总重量的约20wt%存在。在另一个实施方案中,所述亮氨酸以所述干粉组合物的总重量的约30wt%存在。

[0122] 在一些实施方案中,所述干粉组合物中的糖是海藻糖。在其他实施方案中,所述干粉组合物中的糖是甘露糖醇。

[0123] 在一个实施方案中,所述干粉组合物包含(a)约1.5wt%的式(I)或(II)的化合物或其对映异构体、非对映异构体或药学上可接受的盐,(b)约0.7wt%的所述DSPE-PEG2000,(c)约29.3wt%的所述亮氨酸,以及其余为(d)海藻糖。在其他实施方案中,所述干粉组合物中的(a)是约1.5wt%的式(I)或(II)的化合物或其药学上可接受的盐。在另一个实施方案中,所述干粉组合物中的(a)是约1.5wt%的式(I)或(II)的化合物。在一些实施方案中, $R^1$ 是式(I)的化合物中的十六烷基。在其他实施方案中, $R^1$ 是式(I)的化合物中的线性十六烷基,即式(I)的化合物是式(II)的化合物。

[0124] 在另一个实施方案中,所述干粉组合物包含(a)约1wt%的式(I)或(II)的化合物或其对映异构体、非对映异构体或药学上可接受的盐,(b)约0.5wt%的所述DSPE-PEG2000,(c)约29.6wt%的所述亮氨酸,以及其余为(d)海藻糖。在其他实施方案中,所述干粉组合物中的(a)是约1wt%的式(I)或(II)的化合物或其药学上可接受的盐。在另一个实施方案中,所述干粉组合物中的(a)是约1wt%的式(I)或(II)的化合物。在一些实施方案中, $R^1$ 是式(I)的化合物中的十六烷基。在其他实施方案中, $R^1$ 是式(I)的化合物中的线性十六烷基,即式(I)的化合物是式(II)的化合物。

[0125] 在另一个实施方案中,所述干粉组合物包含(a)约1wt%的式(I)或(II)的化合物或其对映异构体、非对映异构体或药学上可接受的盐,(b)约0.5wt%的所述DSPE-PEG2000,(c)约19.7wt%的所述亮氨酸,以及其余为(d)海藻糖。在其他实施方案中,所述干粉组合物中的(a)是约1wt%的式(I)或(II)的化合物或其药学上可接受的盐。在另一个实施方案中,所述干粉组合物中的(a)是约1wt%的式(I)或(II)的化合物。在一些实施方案中, $R^1$ 是式(I)的化合物中的十六烷基。在其他实施方案中, $R^1$ 是式(I)的化合物中的线性十六烷基,即式(I)的化合物是式(II)的化合物。

[0126] 在另一个实施方案中,所述干粉组合物包含(a)约1.5wt%的式(I)或(II)的化合物或其对映异构体、非对映异构体或药学上可接受的盐,(b)约0.7wt%的所述DSPE-PEG2000,(c)约19.6wt%的所述亮氨酸,以及其余为(d)海藻糖。在其他实施方案中,所述干粉组合物中的(a)是约1.5wt%的式(I)或(II)的化合物或其药学上可接受的盐。在另一个实施方案中,所述干粉组合物中的(a)是约1.5wt%的式(I)或(II)的化合物。在一些实施方案中, $R^1$ 是式(I)的化合物中的十六烷基。在其他实施方案中, $R^1$ 是式(I)的化合物中的线性十六烷基,即式(I)的化合物是式(II)的化合物。

[0127] 在另一个实施方案中,所述干粉组合物包含(a)约1.5wt%的式(I)或(II)的化合物或其对映异构体、非对映异构体或药学上可接受的盐,(b)约0.7wt%的所述DSPE-PEG2000,(c)约29.3wt%的所述亮氨酸,以及其余为(d)甘露糖醇。在其他实施方案中,所述干粉组合物中的(a)是约1.5wt%的式(I)或(II)的化合物或其药学上可接受的盐。在另一个实施方案中,所述干粉组合物中的(a)是约1.5wt%的式(I)或(II)的化合物。在一些实施方案中, $R^1$ 是式(I)的化合物中的十六烷基。在其他实施方案中, $R^1$ 是式(I)的化合物中的线性十六烷基,即式(I)的化合物是式(II)的化合物。

[0128] 在另一个实施方案中,所述干粉组合物包含(a)约1.5wt%的式(I)或(II)的化合物或其对映异构体、非对映异构体或药学上可接受的盐,(b)约0.75wt%的所述DSPE-PEG2000,(c)约29.30wt%的所述亮氨酸,以及(d)约68.45wt%的所述甘露糖醇。在其他实施方案中,所述干粉组合物中的(a)是约1.5wt%的式(I)或(II)的化合物或其药学上可接

受的盐。在另一个实施方案中,所述干粉组合物中的(a)是约1.5wt%的式(I)或(II)的化合物。在一些实施方案中, $R^1$ 是式(I)的化合物中的十六烷基。在其他实施方案中, $R^1$ 是式(I)的化合物中的线性十六烷基,即式(I)的化合物是式(II)的化合物。在一个实施方案中,所述干粉组合物包含(a)约1.5wt%的式(II)的化合物,(b)约0.75wt%的所述DSPE-PEG2000,(c)约29.30wt%的所述亮氨酸,以及(d)约68.45wt%的所述甘露糖醇。

[0129] 在另一个实施方案中,所述干粉组合物包含(a)约1wt%的式(I)或(II)的化合物或其对映异构体、非对映异构体或药学上可接受的盐,(b)约0.5wt%的所述DSPE-PEG2000,(c)约29.6wt%的所述亮氨酸,以及其余为(d)甘露糖醇。在其他实施方案中,所述干粉组合物中的(a)是约1wt%的式(I)或(II)的化合物或其药学上可接受的盐。在另一个实施方案中,所述干粉组合物中的(a)是约1wt%的式(I)或(II)的化合物。在一些实施方案中, $R^1$ 是式(I)的化合物中的十六烷基。在其他实施方案中, $R^1$ 是式(I)的化合物中的线性十六烷基,即式(I)的化合物是式(II)的化合物。

[0130] 在另一个实施方案中,所述干粉组合物包含(a)约1.5wt%的式(I)或(II)的化合物或其对映异构体、非对映异构体或药学上可接受的盐,(b)约0.7wt%的所述DSPE-PEG2000,(c)约19.6wt%的所述亮氨酸,以及其余为(d)甘露糖醇。在其他实施方案中,所述干粉组合物中的(a)是约1.5wt%的式(I)或(II)的化合物或其药学上可接受的盐。在另一个实施方案中,所述干粉组合物中的(a)是约1.5wt%的式(I)或(II)的化合物。在一些实施方案中, $R^1$ 是式(I)的化合物中的十六烷基。在其他实施方案中, $R^1$ 是式(I)的化合物中的线性十六烷基,即式(I)的化合物是式(II)的化合物。

[0131] 在另一个实施方案中,所述干粉组合物包含(a)约1wt%的式(I)或(II)的化合物或其对映异构体、非对映异构体或药学上可接受的盐,(b)约0.5wt%的所述DSPE-PEG2000,(c)约19.7wt%的所述亮氨酸,以及其余为(d)甘露糖醇。在其他实施方案中,所述干粉组合物中的(a)是约1wt%的式(I)或(II)的化合物或其药学上可接受的盐。在另一个实施方案中,所述干粉组合物中的(a)是约1wt%的式(I)或(II)的化合物。在一些实施方案中, $R^1$ 是式(I)的化合物中的十六烷基。在其他实施方案中, $R^1$ 是式(I)的化合物中的线性十六烷基,即式(I)的化合物是式(II)的化合物。

[0132] 质量中值空气动力学直径(MMAD)是如下空气动力学直径的值,其中给定气溶胶中50%的质量与小于中值空气动力学直径(MAD)的颗粒相关,并且50%的质量与大于MAD的颗粒相关。MMAD可以通过撞击器测量来确定,例如安德森级联撞击器(ACT)或下一代撞击器(NGI)。在一些实施方案中,所述干粉组合物呈气溶胶的形式,其包含如通过NGI所测量的MMAD为 $1\mu\text{m}$ 至约 $5\mu\text{m}$ 、约 $1\mu\text{m}$ 至约 $3\mu\text{m}$ 、约 $1.3\mu\text{m}$ 至约 $2.0\mu\text{m}$ 或约 $1.7\mu\text{m}$ 至约 $2.7\mu\text{m}$ 的颗粒。在一个实施方案中,所述干粉组合物中的糖是甘露糖醇。在另一个实施方案中,所述干粉组合物中的糖是海藻糖。

[0133] 在一个实施方案中,所述干粉组合物中的糖是甘露糖醇,并且所述干粉组合物呈气溶胶的形式,其包含如通过NGI所测量的MMAD为约 $1\mu\text{m}$ 至约 $3\mu\text{m}$ 的颗粒。在另一个实施方案中,所述干粉组合物中的糖是甘露糖醇,并且所述干粉组合物呈气溶胶形式,其包含如通过NGI所测量的MMAD为约 $1.7\mu\text{m}$ 至约 $2.7\mu\text{m}$ 的颗粒。

[0134] “细颗粒分数”或“FPF”是指具有如通过级联撞击所测量的小于 $5\mu\text{m}$ 的粒度的气溶胶分数。FPF通常以百分比表示。FPF已被证明与沉积在患者肺中的粉末的分数相关联。在一

些实施方案中,所述干粉组合物呈气溶胶形式,其包含如通过NGI所测量的FPF为至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、约30%至约60%、约35%至约55%、或约40%至约50%的颗粒。在一个实施方案中,所述干粉组合物中的糖是甘露糖醇。在另一个实施方案中,所述糖是海藻糖。

[0135] 粉末的振实密度是粉末的质量与粉末在限定的时间段内振实后所占的体积的比率。粉末的振实密度表示其随机致密堆积。振实密度可以使用USP Bulk Density and Tapped Density, United States Pharmacopeia convention, Rockville, Md., 第10期增刊, 4950-4951, 1999的方法来测定。在一些实施方案中,所述干粉组合物包含振实密度为约0.2g/ml至约0.8g/ml或约0.3g/ml至约0.6g/ml的颗粒。在一个实施方案中,所述干粉组合物中的糖是甘露糖醇。在另一个实施方案中,所述干粉组合物中的糖是海藻糖。

[0136] 本公开文本的干粉组合物可以使用冻干或喷雾干燥技术由液体组合物产生。当使用冻干时,可以将冻干的组合物研磨以获得含有上述所需大小范围内的颗粒的细碎干粉。当使用喷雾干燥时,所述方法在可产生含有上述所需大小范围内的颗粒的细碎干粉的条件下进行。制备干粉形式的药物组合物的示例性方法披露于W0 96/32149、W097/41833、W0 98/29096和美国专利号5,976,574、5,985,248和6,001,336;将其每一个的公开内容通过引用以其整体并入本文。示例性的喷雾干燥方法描述于美国专利号6,848,197和8,197,845,将其每一个的公开内容通过引用以其整体并入本文。

[0137] 在一些实施方案中,本公开文本的干粉组合物通过以下过程来制备。使用有机溶剂如醇(例如,1-丙醇)制备式(I)或(II)的化合物或其对映体、非对映体或药学上可接受的盐以及所述DSPE-PEG2000的储备溶液。还制备了糖(例如,甘露糖醇或海藻糖)以及亮氨酸的水性储备溶液。然后将所需量的上述储备溶液添加至水和有机溶剂的混合物中以形成喷雾干燥进料溶液。在所述喷雾干燥进料溶液中,水与有机溶剂的体积比率可以是约3:2至约1:1。

[0138] 喷雾干燥是通过如下方式启动的:开启干燥气体流,并通过设定所需的入口温度为例如约120°C至约160°C或约135°C至约150°C来加热干燥气体。当喷雾干燥器出口温度达到合适的温度(例如约55°C至约65°C)后,设置液体滑入口以使空白溶剂借助于氮气雾化至喷雾干燥器中,并且使系统冷却并稳定。启动产品过滤器脉冲并且将产品过滤器吹扫流设定为例如10至20scfh。在系统稳定后,将液体滑入口切换为上述制备的进料溶液,并继续该过程,直至进料溶液用尽。在进料溶液用完的时间点,将液体滑入口切换回空白溶剂,使其喷雾约5至约20分钟。此时,粉末被收集在产品过滤器的底部。在将空白溶剂喷雾约5至约20分钟后,通过关闭液体管线、雾化气体、干燥气体加热器、干燥气体入口和最终排气管来关闭系统。

[0139] 在一个实施方案中,本公开文本的干粉组合物经由使用干粉吸入器(DPI)吸入递送至受试者的肺。在一个实施方案中,所述干粉吸入器是单剂量干粉吸入器。DPI作为无推进剂装置,利用受试者吸气将干粉递送至受试者的肺。DPI装置中使用的干粉组合物的单位剂量通常是硬胶囊的干粉吸塑盘。适用于递送本公开文本的干粉组合物的示例性DPI装置包括以下段落中描述的装置以及描述于美国专利号6,766,799、7,278,425和8,496,002中的DPI,将其每一个的公开内容通过引用以其整体并入本文。

[0140] AIR®吸入器(AIkermes)包括小的呼吸激活系统,其从胶囊递送多孔粉末。多孔颗

粒具有1-5 $\mu$ m的空气动力学直径。参见国际专利申请公开号WO 99/66903和WO 00/10541,将其每一个的公开内容通过引用以其整体并入本文。

[0141] Aerolizer™ (Novartis) 是单剂量干粉吸入器。在该装置中,干粉药物储存在胶囊中,并通过用TEFLON涂层钢针刺穿胶囊壁释放。参见美国专利号6,488,027和3,991,761,将其每一个的公开内容通过引用以其整体并入本文。

[0142] Bang Olufsen提供了使用最多60剂的泡罩条的呼吸驱动吸入器。剂量仅在吸入期间通过新型触发机制提供。所述装置配备有剂量计数器,并且可以在使用完所有剂量后丢弃。参见EP 1522325,将其公开内容通过引用以其整体并入本文。

[0143] Clickhaler® (Innovata PLC) 是大型储库呼吸激活多剂量装置。参见美国专利5,437,270,将其公开内容通过引用以其整体并入本文。

[0144] DirectHaler™ (Direct-Haler A/S) 是由聚丙烯制成的单剂量、预计量式、预填充、一次性DPI装置。参见美国专利号5,797,392,将其公开内容通过引用以其整体并入本文。

[0145] Diskus™ (GlaxoSmithKline) 是容纳包含在双箔泡罩条中以提供防潮保护的多达60剂的一次性小型DPI装置。参见GB2242134,将其公开内容通过引用以其整体并入本文。

[0146] Eclipse™ (Aventis) 是呼吸驱动的可重复使用的胶囊装置,其能够递送多达20mg干粉组合物。粉末从胶囊被吸入涡流室,其中当受试者吸入时,旋转球帮助粉末解聚。参见美国专利6,230,707和WO 9503846,将其每一个的公开内容通过引用以其整体并入本文。

[0147] Flexhaler®是塑料呼吸激活干粉吸入器,并且适合与本文提供的干粉组合物一起使用。

[0148] FlowCaps® (Hovione) 是基于胶囊的、适于再装、可重复使用的被动式干粉吸入器,其容纳多达14个胶囊。吸入器本身是防潮的。参见美国专利5,673,686,将其公开内容通过引用以其整体并入本文。

[0149] Gyrohaler® (Vectura) 是含有一个泡罩条的被动式一次性DPI。参见GB2407042,将其公开内容通过引用以其整体并入本文。

[0150] HandiHaler® (Boehringer Ingelheim GmbH) 是单剂量DPI装置。其可以在胶囊中提供多达30mg的干粉组合物。参见国际专利申请公开号WO 04/024156,将其公开内容通过引用以其整体并入本文。

[0151] MicroDose DPI (Microdose Technologies) 是小型电子DPI装置。其使用压电振动器(超声波频率)解聚铝泡罩(单剂量或多剂量)中的药物粉末。参见美国专利号6,026,809,将其公开内容通过引用以其整体并入本文。

[0152] Nektar Dry Powder Inhaler® (Nektar) 是手掌大小且易于使用的装置。其提供了从标准胶囊的方便给药以及与流速无关的肺沉积。

[0153] Nektar Pulmonary Inhaler® (Nektar) 有效地从包装取出粉末、分解颗粒并形成适合深肺递送的气溶胶云团。其使雾化颗粒能够在患者呼吸期间从装置输送至深肺,同时减少喉咙和上气道中的损失。压缩气体用于雾化粉末。参见AU4090599和美国专利号5,740,794,将其每一个的公开内容通过引用以其整体并入本文。

[0154] NEXT DPI™是具有多剂量容量、防潮和剂量计数功能的装置。只有当达到适当的吸气流速时才可以使使用所述装置,而不论方向(向上向下)和剂量如何。参见EP1196146、美国专利号6,528,096、WO 0178693和WO 0053158,将其每一个的公开内容通过引用以其整体并

入本文。

[0155] **Neohaler®**是基于胶囊的塑料呼吸激活干粉吸入器。

[0156] **Oriel™** DPI是主动式DPI,其利用压电膜和非线性振动来雾化粉末配制品。参见国际专利申请公开号WO 0168169,将其公开内容通过引用以其整体并入本文。

[0157] 由意大利的Plastiape开发的RS01单剂量干粉吸入器的特征在于体积小和有效的穿孔系统,并且适用于明胶和HMPC胶囊二者。

[0158] **Pressair™**是塑料呼吸激活干粉吸入器。

[0159] **Pulvinal®**吸入器 (Chiesi) 是呼吸驱动的多剂量 (100剂) 干粉吸入器。干粉储存在这样的储库中,其是透明的并清楚地标记以指示何时递送完第100剂。参见美国专利号5,351,683,将其公开内容通过引用以其整体并入本文。

[0160] **Rotohaler®** (GlaxoSmithKline) 是使用胶囊的一次性装置。参见美国专利号5,673,686和5,881,721,将其每一个的公开内容通过引用以其整体并入本文。

[0161] **Rexam DPI** (Rexam Pharma) 是被设计为与胶囊一起使用的单剂量、可重复使用的装置。参见美国专利号5,651,359和EP 0707862,将其每一个的公开内容通过引用以其整体并入本文。

[0162] **S2** (Innovata PLC) 是用于递送高浓度的干粉组合物的可重复使用或一次性的单剂量DPI。其分散机制需要患者最少努力来实现药物向患者肺的优秀递送。S2易于使用且具有被动式引擎,因此不需要电池或电源。参见AU3320101,将其公开内容通过引用以其整体并入本文。

[0163] **SkyeHaler®**DPI (SkyePharma) 是多剂量装置,其在一次性或可更换药筒中含有多达300个单独剂量。所述装置由呼吸推动,并且不需要呼吸与驱动之间的协调。参见美国专利号6,182,655和WO 97/20589,将其每一个的公开内容通过引用以其整体并入本文。

[0164] **Taifun®**DPI (LAB International) 是多剂量 (多达200) DPI装置。其是呼吸驱动的且与流速无关。所述装置包括独特的水分平衡药物储库,其与用于一致给药的体积剂量计量系统耦合。参见美国专利号6,132,394,将其公开内容通过引用以其整体并入本文。

[0165] **TurboHaler®** (AstraZeneca) 描述于美国专利号5,983,893,将其公开内容通过引用以其整体并入本文。该DPI装置是具有多剂量储库的吸气流量驱动、多剂量干粉吸入器,所述多剂量储库提供多达200剂的干粉组合物,并且剂量范围从几微克到0.5mg。

[0166] **Twisthaler®** (Schering-Plough) 是具有剂量计数功能的多剂量装置,并能够进行14-200次驱动。干粉组合物包装在含有干燥剂的药筒中。参见美国专利号5,829,434,将其公开内容通过引用以其整体并入本文。

[0167] **Ultrahaler®** (Aventis) 结合了准确的剂量计量和良好的分散性。其是易于使用、离散、袖珍型装置,其具有数字剂量计数器、剂量服用指示器和锁定机制。所述装置能够递送多达20mg的干粉组合物。**Ultrahaler®**描述于美国专利号5,678,538和WO 2004026380,将其每一个的公开内容通过引用以其整体并入本文。

[0168] **Xcelovair™** (Meridica/Pfizer) 容纳范围在5-20mg内的60个预计量的不透气的密封剂量。所述装置在40°C/75%RH的加速条件下提供防潮保护。分散系统最大限度地提高细颗粒分数,递送多达50%细颗粒质量。

[0169] 在另一方面,提供了一种系统,所述系统包括(i) 本文所述的干粉组合物中的一种

以及(ii)用于施用所述干粉组合物的干粉吸入器(DPI)。DPI包括(a)包含本文公开的干粉组合物的储库以及(b)用于经由吸入将所述干粉组合物引入所述患者的装置。在一个实施方案中,储库在胶囊或泡罩包装中包含本发明的干粉组合物。胶囊壳的材料可以是明胶、纤维素衍生物、淀粉、淀粉衍生物、壳聚糖或合成塑料。DPI可以是单剂量或多剂量吸入器。另外,DPI可以是预计量式或装置计量式。在一个实施方案中,所述干粉吸入器是单剂量干粉吸入器。

[0170] 在一个实施方案中,所述系统用于治疗肺高压、门脉肺高压或肺纤维化。所述系统包括本文公开的干粉组合物,即包含式(I)或(II)的化合物或其对映异构体、非对映异构体或药学上可接受的盐的干粉组合物;以及DPI。在一个实施方案中,所述干粉组合物包含式(I)或(II)的化合物或其药学上可接受的盐。在另一个实施方案中,所述干粉组合物包含式(I)或(II)的化合物。所述干粉吸入器可以是上述的一种,可以是单剂量或多剂量吸入器,和/或可以是预计量式或装置计量式。在一个实施方案中,所述干粉吸入器是单剂量干粉吸入器。

[0171] 在本发明的另一方面,提供了一种治疗有需要的患者的肺高压(PH)的方法。所述方法包括将有效量的本文公开的干粉组合物,即包含式(I)或(II)的化合物或其对映异构体、非对映异构体或药学上可接受的盐的干粉组合物通过经由干粉吸入器吸入施用至所述患者的肺。在一个实施方案中,所述干粉组合物包含式(I)或(II)的化合物或其药学上可接受的盐。在另一个实施方案中,所述干粉组合物包含式(I)或(II)的化合物。在一个实施方案中,所述施用包括将所述干粉组合物经由DPI雾化以提供雾化干粉组合物,以及将所述雾化干粉组合物经由通过所述DPI吸入施用至所述患者的肺。在一些实施方案中,所述雾化干粉组合物包含如通过NGI所测量的MMAD为 $1\mu\text{m}$ 至约 $10\mu\text{m}$ 、约 $1\mu\text{m}$ 至约 $7\mu\text{m}$ 、约 $1\mu\text{m}$ 至约 $5\mu\text{m}$ 或约 $1\mu\text{m}$ 至约 $3\mu\text{m}$ 的颗粒。在一个实施方案中,所述雾化干粉组合物包含如通过NGI所测量的FPF为约40%至约70%、约30%至约60%、或约50%至约60%的颗粒。

[0172] 世界卫生组织(WHO)将PH分为五组。第1组PH包括肺动脉高压(PAH)、特发性肺动脉高压(IPAH)、家族性肺动脉高压(FPAH)以及与其他疾病相关的肺动脉高压(APAH)。例如,与胶原血管疾病(例如硬皮病)、体循环与肺循环之间的先天性分流、门脉高压和/或HIV感染相关的肺动脉高压包括在第1组PH中。第2组PH包括与左心脏病(例如,心房或心室疾病)或瓣膜疾病(例如,二尖瓣狭窄)相关的肺高压。WHO第3组肺高压的特征在于与肺病(例如,慢性阻塞性肺病(COPD)、间质性肺病(ILD)和/或低氧血症)相关的肺高压。第4组肺高压是由慢性血栓形成和/或栓塞性疾病引起的肺高压。第4组PH也称为慢性血栓栓塞性肺高压。第4组PH患者经历由血块引起的血管阻塞或变窄。第5组PH是“混杂”类别,并且包括由以下引起的PH:例如血液障碍(例如,真性红细胞增多症、原发性血小板增多症)、全身性障碍(例如,结节病、血管炎)和/或代谢障碍(例如,甲状腺疾病、糖原贮积病)。

[0173] 本文提供的方法可以用于治疗如由WHO所表征的第1组(即肺动脉高压或PAH)、第2组、第3组、第4组或第5组PH患者。在所述方法的一个实施方案中,治疗的肺高压是慢性血栓栓塞性肺高压。

[0174] 在所述方法的另一个实施方案中,治疗的肺高压是肺动脉高压(PAH)。在一些实施方案中,治疗的PAH是如由纽约心脏协会(NYHA)所表征的I类PAH、II类PAH、III类PAH或IV类PAH。

[0175] 在一个实施方案中,所述PAH是如由NYHA所表征的I类PAH。

[0176] 在另一个实施方案中,所述PAH是如由NYHA所表征的II类PAH。

[0177] 在又一个实施方案中,所述PAH是如由NYHA所表征的III类PAH。

[0178] 在仍另一个实施方案中,所述PAH是如由NYHA所表征的IV类PAH。

[0179] 在另一方面,本公开文本提供了一种用于治疗有需要的患者的门脉肺高压 (PPH) 的方法。所述方法包括将有效量的本文公开的干粉组合物,即包含式 (I) 或 (II) 的化合物或其对映异构体、非对映异构体或药学上可接受的盐的干粉组合物通过经由干粉吸入器吸入施用至所述患者的肺。在一个实施方案中,所述干粉组合物包含式 (I) 或 (II) 的化合物或其药学上可接受的盐。在另一个实施方案中,所述干粉组合物包含式 (I) 或 (II) 的化合物。在一个实施方案中,所述施用包括将所述干粉组合物用干粉吸入器 (DPI) 雾化以提供雾化干粉组合物,以及将所述雾化干粉组合物经由所述DPI施用至所述患者的肺。在一些实施方案中,所述雾化干粉组合物包含如通过NGI所测量的MMAD为 $1\mu\text{m}$ 至约 $10\mu\text{m}$ 、约 $1\mu\text{m}$ 至约 $7\mu\text{m}$ 、约 $1\mu\text{m}$ 至约 $5\mu\text{m}$ 或约 $1\mu\text{m}$ 至约 $3\mu\text{m}$ 的颗粒。在一个实施方案中,所述雾化干粉组合物包含如通过NGI所测量的FPF为约40%至约70%、约30%至约60%、或约50%至约60%的颗粒。

[0180] 在一些实施方案中,通过公开的方法治疗的PH、PAH或PPH患者表现出以下治疗反应中的一种或多种: (1) 肺血管阻力指数 (PVRI) 相对于治疗前值降低, (2) 平均肺动脉压相对于治疗前值降低, (3) 低氧血症得分相对于治疗前值增加, (4) 氧合指数相对于治疗前值减小, (5) 右心功能相比于治疗前改善,以及 (6) 运动能力相比于治疗前改善 (例如,如通过六分钟步行测试所测量)。

[0181] 在公开的方法的一个实施方案中,向所述PH、PAH或PPH患者每天施用一次所述干粉组合物。在公开的方法的另一个实施方案中,向所述PH、PAH或PPH患者每天施用两次所述干粉组合物。在公开的方法的仍另一个实施方案中,向所述PH、PAH或PPH患者每天施用三次或更多次所述干粉组合物。在一个实施方案中,所述施用与食物一起。在一个实施方案中,每次施用包括来自DPI的1至5剂,例如1剂 (1喷)、2剂 (2喷)、3剂 (3喷)、4剂 (4喷) 或5剂 (5喷)。在一个实施方案中,所述DPI很小并且可由患者便携。在一个实施方案中,所述干粉吸入器是单剂量干粉吸入器。

[0182] 在另一方面,本公开文本提供了一种用于治疗有需要的患者的肺纤维化的方法。所述方法包括将有效量的本文公开的干粉组合物,即包含式 (I) 或 (II) 的化合物或其对映异构体、非对映异构体或药学上可接受的盐的干粉组合物通过经由干粉吸入器吸入施用至所述患者的肺。在一个实施方案中,所述干粉组合物包含式 (I) 或 (II) 的化合物或其药学上可接受的盐。在另一个实施方案中,所述干粉组合物包含式 (I) 或 (II) 的化合物。在一个实施方案中,所述施用包括将所述干粉组合物用DPI雾化以形成雾化干粉组合物,以及将所述雾化干粉组合物经由所述DPI施用至所述患者的肺。在一些实施方案中,所述雾化干粉组合物包含如通过NGI所测量的MMAD为 $1\mu\text{m}$ 至约 $10\mu\text{m}$ 、约 $1\mu\text{m}$ 至约 $7\mu\text{m}$ 、约 $1\mu\text{m}$ 至约 $5\mu\text{m}$ 或约 $1\mu\text{m}$ 至约 $3\mu\text{m}$ 的颗粒。在一个实施方案中,所述雾化干粉组合物包含如通过NGI所测量的FPF为约40%至约70%、约30%至约60%、或约50%至约60%的颗粒。在一个实施方案中,向所述患者施用所述干粉组合物每天一次、每天两次或每天三次或更多次。在一个实施方案中,所述施用与食物一起。在一个实施方案中,每次施用包括来自DPI的1至5剂,例如1剂 (1喷)、2剂 (2喷)、3剂 (3喷)、4剂 (4喷) 或5剂 (5喷)。在一个实施方案中,所述DPI很小并且可由患者便携。

在一个实施方案中,所述干粉吸入器是单剂量干粉吸入器。

[0183] 实施例

[0184] 通过参考以下实施例来进一步说明本发明。然而,应注意的是这些实施例,像以上所述的实施方案,是说明性的并且不以任何方式构成对本发明范围的限制。

[0185] 实施例1-包含式(II)的化合物(曲前列素棕榈酸酯)的可吸入干粉配制品的制备和表征

[0186] 本实施例描述了包含式(II)所示的曲前列素棕榈酸酯的基于甘露糖醇和海藻糖的干粉配制品,其使用配备有惰性气体回路冷凝器B-295和除湿器B-296的Buchi B-290喷雾干燥器通过喷雾干燥所进行的制备,以及配制品的表征和稳定性测试。

[0187] 成功地制备了具有曲前列素棕榈酸酯/DSPE-PEG2000/甘露糖醇/亮氨酸组分(1/0.5/80/20、1.5/0.75/80/20、2/1/80/20,w/w)的基于甘露糖醇的曲前列素棕榈酸酯干粉配制品。在不添加碳酸氢铵的情况下通过将所有组分溶解在1-丙醇/H<sub>2</sub>O共溶剂系统(50/50,v/v)中制备进料储备液。对于基于甘露糖醇的干粉的喷雾干燥产率大于90%。收集的干粉具有球形颗粒、结晶XRD谱和低水分含量。

[0188] 具有曲前列素棕榈酸酯/DSPE-PEG2000/海藻糖/亮氨酸组分(1/0.5/80/20、1/0.5/70/30、1.5/0.75/80/20、2/1/80/20,w/w)的基于海藻糖的曲前列素棕榈酸酯干粉配制品是通过将含有在不添加碳酸氢铵的情况下溶解在1-丙醇/H<sub>2</sub>O共溶剂系统(50/50,v/v)中的所有组分的进料储备液喷雾干燥来产生的。基于海藻糖的干粉含有塌陷的颗粒,从而展现出结晶亮氨酸和无定形海藻糖。基于海藻糖的干粉在3个月内显示出良好的物理稳定性。

[0189] 材料和方法

[0190] 1.材料

[0191] 磷酸盐缓冲盐水:PBS,PH 7.4,目录号10010(Life technologies)或等同物

[0192] 氯化钠:ACS试剂(JT Baker,目录号3628-05)或等同物

[0193] 曲前列素棕榈酸酯,式II,如上

[0194] DSPE-PEG2000:N-(甲基聚氧乙烯氧羰基)-1,2-二硬脂酰-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺、钠盐、SUNBRIGHT®DSPE-020CN(NOF,东京,日本)或等同物

[0195] D-乳糖,一水合物,(Sigma)

[0196] L-亮氨酸,(Sigma)

[0197] 碳酸氢铵(Sigma)

[0198] 无水乙醇(Fisher Sci)

[0199] 1-丙醇(Fisher Sci)

[0200] 2.设备

[0201] 具有惰性气体回路冷凝器B-295、除湿器B-296、双流体喷嘴ID 0.7mm和高性能回旋分离器(Buchi)的Buchi B-290喷雾干燥器。

[0202] SEM:Zeiss-Sigma FE-SEM(德国)

[0203] XRD:(PANalytical,荷兰)

[0204] DSC 250,TA Instruments,纽卡斯尔,特拉华州,美国。

[0205] 振实密度测试仪,JV 1000,(Copley Scientific,英国)

[0206] NGI:下一代撞击器,(MSP Corporation,明尼苏达州,美国)

- [0207] PSD:RODOS/M, (Sympatec, 德国)
- [0208] 卡尔费休滴定仪: Aquastar, AQV33, EMD。
- [0209] DLS: Möbiu<sup>®</sup>, Atlas, (Wyatt Technology, 圣巴巴拉, 加利福尼亚州)
- [0210] 高效液相色谱仪: Waters Alliance 2695型号。HPLC软件: Waters Empower<sup>TM</sup>3
- [0211] 磁力搅拌盘
- [0212] 3. 包含重量比率为1:0.5:80:20的曲前列素棕榈酸酯、DSPE-PEG2000、海藻糖和亮氨酸的干粉配制品的制备

表1. 基于海藻糖的曲前列素棕榈酸酯干粉的配制详情

| 赋形剂                      | 溶剂                        | 组成<br>曲前列素棕榈酸酯<br>/DSPE-PEG2000/海藻<br>糖/亮氨酸/碳酸氢铵<br>(ABC)<br>(mg/mL) | 组成曲前列素棕<br>榈酸酯<br>/DSPE-PEG2000/<br>海藻糖/亮氨酸<br>重量比率 | 进料固体<br>(mg/ml) |
|--------------------------|---------------------------|--|---|-----------------|
| DSPE-PEG2000/<br>海藻糖/亮氨酸 | 1-丙醇 (在<br>水中50%,<br>v/v) | 0.2/0.1/16/4/1   | 1/0.5/80/20   | 20.3            |

- [0213]
- [0214] 储备溶液的制备:
- [0215] 曲前列素棕榈酸酯: 在1-丙醇中10mg/mL
- [0216] DSPE-PEG2000: 在1-丙醇中10mg/mL
- [0217] 海藻糖: 在去离子水中150mg/mL
- [0218] 亮氨酸储备液: 在去离子水中20mg/mL
- [0219] 喷雾干燥进料溶液的制备:
- [0220] 根据表1, 以1:100的曲前列素棕榈酸酯与海藻糖和亮氨酸的总和的重量比率制备喷雾干燥进料溶液。最终进料溶液具有50%的1-丙醇和20.3mg/mL的固体(表2)。
- [0221] 首先将海藻糖和亮氨酸储备溶液添加至水相中, 接着添加1-丙醇并在水浴中超声处理。然后, 分别添加曲前列素棕榈酸酯(式(II))和DSPE-PEG2000。整个过程都施加搅拌。

表2. 对于基于海藻糖的干粉的喷雾干燥储备液的制备

|                | 曲前列<br>素棕榈<br>酸酯 | DSPE-PEG2000 | 1-丙醇 | 海藻糖  | 亮氨酸 | H <sub>2</sub> O |
|----------------|------------------|--------------|------|------|-----|------------------|
| 储备液<br>(mg/mL) | 10               | 10           | N/A  | 150  | 20  | N/A              |
| 重量比率           | 1                | 0.5          | N/A  | 80   | 20  | N/A              |
| 体积<br>(100 mL) | 2                | 1            | 47   | 10.7 | 20  | 20.3             |
| 浓度<br>(mg/mL)  | 0.2              | 0.1          | N/A  | 16   | 4   | N/A              |

- [0222]
- [0223] 含有曲前列素棕榈酸酯/DSPE-PEG2000/海藻糖/亮氨酸(1/0.5/80/20)的基于海藻糖的干粉的喷雾干燥过程:

- [0224] 使用喷雾干燥器Buchi B-290在以下参数下进行喷雾干燥: 150°C入口温度、64°C出口温度、414L/h喷雾空气流量(36mm, 转子高度)、35% m<sup>3</sup>/h抽吸速率以及7.5mL/min(22%)进料速率。表3总结了过程参数。

| [0225] | 入口温度        | 出口温度       | 抽吸                           | 喷雾气体流量          | 进料速率                 |
|--------|-------------|------------|------------------------------|-----------------|----------------------|
| [0226] | (°C)<br>150 | (°C)<br>64 | 100 % (35 m <sup>3</sup> /h) | 36 mm (414 L/h) | 22 %<br>(7.5 mL/min) |

[0227] 4. 包含重量比率为1:0.5:80:20的曲前列素棕榈酸酯、DSPE-PEG2000、甘露糖醇和亮氨酸的干粉配制品的制备

| [0228] | 赋形剂                       | 溶剂                     | 组成<br>曲前列素棕榈酸酯<br>/DSPE-PEG2000/<br>甘露糖醇/亮氨酸<br>/ABC (mg/mL) | 组成曲前列素棕<br>榈酸酯<br>/DSPE-PEG2000/<br>甘露糖醇/亮氨酸<br>重量比率 | 进料固体<br>(mg/ml) |
|--------|---------------------------|------------------------|--|--|-----------------|
|        | DSPE-PEG2000/<br>甘露糖醇/亮氨酸 | 1-丙醇 (在水<br>中50%, v/v) | 0.2/0.1/16/4   | 1/0.5/80/20  | 20.3            |

[0229] 储备溶液的制备:

[0230] 曲前列素棕榈酸酯:在1-丙醇中10mg/mL

[0231] DSPE-PEG2000:在1-丙醇中10mg/mL

[0232] 甘露糖醇:在去离子水中150mg/mL

[0233] 亮氨酸储备液:在去离子水中20mg/mL

[0234] 喷雾干燥进料溶液的制备:

[0235] 根据表4,以1:100的曲前列素棕榈酸酯与甘露糖醇和亮氨酸的总和的重量比率制备喷雾干燥进料溶液。最终进料溶液具有50%的1-丙醇和20.3mg/mL的固体(表5)。

[0236] 首先将甘露糖醇和亮氨酸储备溶液添加至水相中,接着添加丙醇并在水浴中超声处理。然后,分别添加曲前列素棕榈酸酯和DSPE-PEG2000。整个过程都施加搅拌。

| [0237] |                | 曲前列<br>素棕榈<br>酸酯 | DSPE-PEG2000 | 1-丙醇 | 甘露糖醇 | 亮氨酸 | H <sub>2</sub> O |
|--------|----------------|------------------|--------------|------|------|-----|------------------|
|        | 储备液<br>(mg/mL) | 10               | 10           | N/A  | 150  | 20  | N/A              |
|        | 重量比率           | 1                | 0.5          | N/A  | 80   | 20  | N/A              |
|        | 体积<br>(100 mL) | 2                | 1            | 47   | 10.7 | 20  | 20.3             |
|        | 浓度<br>(mg/mL)  | 0.2              | 0.1          | N/A  | 16   | 4   | N/A              |

[0238] 由曲前列素棕榈酸酯/DSPE-PEG2000/甘露糖醇/亮氨酸(1/0.5/80/20)构成的基于甘露糖醇的干粉的喷雾干燥过程:

[0239] 使用喷雾干燥器Buchi B-290在以下参数下进行喷雾干燥:135°C入口温度、60°C出口温度、414L/h喷雾空气流量(36mm,转子高度)、35 % m<sup>3</sup>/h抽吸速率以及7.5mL/min(22%)进料速率。表6总结了过程参数。

表6.对于基于甘露糖醇的干粉的喷雾干燥过程中的参数

|        | 入口温度<br>(°C) | 出口温度<br>(°C) | 抽吸                           | 喷雾气体流量          | 进料速率              |
|--------|--------------|--------------|------------------------------|-----------------|-------------------|
| [0240] | 135          | 60           | 100 % (35 m <sup>3</sup> /h) | 36 mm (414 L/h) | 22 % (7.5 mL/min) |

[0241] 5. 干粉的表征

[0242] 表面电子显微镜 (SEM)

[0243] 将干粉样品 (接收时的样子) 倒在碳带上, 然后使用Electron Microscopy Sciences (EMS150T ES) 溅射镀膜仪涂上20nm金 (Au)。使用电场发射扫描电子显微镜 (FE-SEM) 利用Zeiss-Sigma FE-SEM (德国) 在5keV的工作电压下观察颗粒形态。工作距离保持在8至10mm之间以获得相对较高的分辨率。

[0244] X射线衍射测试 (XRD)

[0245] 将干粉样品 (接收时的样子) 装入零背景样品架中, 然后采用X射线衍射 (XRD) 进行结构特征的评估, 其使用PANalytical (荷兰) X'Pert衍射仪在45kV和40mA下, 采用Cu K $\alpha$  ( $\lambda=1.540598 \text{ \AA}$ ) 辐射以0.04rad<sup>o</sup>/min的扫描速率进行。扫描范围在4<sup>o</sup>至40<sup>o</sup>度 (2 $\theta$ ) 之间, 其中每步的时间为97.92秒且步长为0.0131<sup>o</sup>。

[0246] 差示扫描量热法 (DSC)

[0247] 称取约5-10mg的干粉至DSC样品盘中, 然后将其不透气密封。测试如下进行: 在20<sup>o</sup>C下平衡, 调节温度0.32<sup>o</sup>C持续60秒, 等温1.0min, 以5<sup>o</sup>C/min升温至180.0<sup>o</sup>C。依据激光衍射的粒度分布 (PSD)

[0248] 将约15mg-20mg的干粉放入所需的玻璃管中。使用Sympatech-HOLOS-REDOS模式。测试如下:

|        |       |                          |
|--------|-------|--------------------------|
| [0249] | 测量范围  | R1:0.1/0.18...35 $\mu$ m |
|        | 触发条件  | Rodos标准触发器               |
|        | 分散器   | Rodos (RO-AS-15mm)       |
|        | 分散器类型 | RODOS/M                  |
|        | 注射器   | 4mm, 具有0个级联元件            |
|        | 初始压力  | 0.5bar                   |

[0250] 水分含量测试 (卡尔费休法)

[0251] 使用卡尔费休法分析干粉中的水分含量。称取约30mg样品并将其转移至滴定容器中。使用的设备、材料和操作参数如下所述:

[0252] 材料/设备:

[0253] (1) 滴定仪: 安装有5mL滴定管且具有相关天平的Aquastar AQV33卡尔费休滴定仪

[0254] (2) 天平: 能够称量最多4位小数的分析天平放置为具有能够与Aquastar滴定仪连接的接口。

[0255] (3) 水质标准1%NIST

[0256] (4) 指示100%的干燥剂或4A型分子筛1/16小球

[0257] (5) 无绒布, Kimwipe

[0258] (6) 称重舟

[0259] (7) 注射器3mL

[0260] 溶液:

[0261] (1) 滴定液: Aquastar CombiTitrant 2

[0262] (2) 溶剂: 60/40 甲醇/甲酰胺

[0263] 仪器参数和条件:

[0264] (1) 漂移: <50 $\mu$ g/min

[0265] (2) 搅拌速度: 40%

[0266] (3) 混合时间: 300 秒

[0267] (4) 终止: 相对漂移

[0268] 堆积密度和振实密度

[0269] 密度测试经由振实密度测试仪 JV 1000 (Copley Scientific, 英国) 进行。遵循以下程序。清洁玻璃管, 用压缩空气干燥; 称量玻璃管, 记为 W1; 将干粉转移至玻璃管中, 标记高度为 A, 并记录重量为 W2; 用封口膜密封顶部; 将玻璃管放入 5mL 量筒中, 振实 10min; 振实后标记高度为 B; 从管中取出粉末, 用压缩空气清洁和干燥; 称量玻璃管, 记录为 W3; 加水至刻度 B, 并记录重量为 W5; 加水至刻度 A, 并记录重量为 W4。(假设水的密度等于 1g/mL)

|        |        |                   |
|--------|--------|-------------------|
| [0270] | 干粉装载量  | W2 - W1           |
|        | 堆积密度体积 | (W4 - W3) / 1g/mL |
|        | 振实密度体积 | (W5 - W3) / 1g/mL |
|        | 堆积密度   | 干粉装载量 / 堆积密度体积    |
|        | 振实密度   | 干粉装载量 / 振实密度体积    |

[0271] 使用 NGI 测定的空气动力学粒度分布 (APSD)

[0272] 将填充在 3 号 Vcaps HPMC 胶囊中的约 20mg 粉末通过商业吸入器 (Plastiapae RS01) 分散至以 60L/min 的体积流速运行的下一代级联撞击器 (NGI) (Copley Scientific, 英国) 中并运转 4 秒。通过 HPLC-MS 评估从 NGI 设备每个阶段收集的 药物含量。将细颗粒分数 (FPF) 定义为沉积在 NGI 中的药物质量 (<5 $\mu$ m) 除以排出剂量。

[0273] HPLC 测定

[0274] 曲前列素 (TRE) 和曲前列素棕榈酸酯浓度使用配备有 PDA 检测器 (Waters 2996) 和 Corona 带电气溶胶检测器 (Thermo Fisher Scientific) 的 Waters Alliance 2695 型号来测定。

[0275] 色谱柱: ACE 3C8 HPLC 色谱柱 4.6x50 (Mac-Mod Analytical, 目录号 ACE1120546)

[0276] 柱温: 25 $^{\circ}$ C;

[0277] 流动相 A: 乙腈 25%、甲醇 25%、水 50%、甲酸 0.1%、三乙胺 0.01%

[0278] 流动相 B: 乙腈 50%、甲醇 50%、甲酸 0.1%、三乙胺 0.01%

[0279] 流速: 1mL/min

[0280] 测量 TRE 的梯度:

[0281] 进样体积: 50 $\mu$ L

[0282] UV 波长: 270  $\pm$  2.4nm

[0283] 将样品和标准品溶解在乙腈 33%、甲醇 33%、水 33% 中

[0284] 通过幂函数  $\text{Log}(\text{面积}) = A + B * \text{Log}(\text{浓度})$  拟合进行校准

[0285] 保留时间: TRE 为约 1.8min, C16TR 为约 7.6min

[0286] 总记录时间9min

[0287] 结果

[0288] 1. 基于甘露糖醇的曲前列素棕榈酸酯干粉的批次

[0289] 通过喷雾干燥制备不同批次的基于甘露糖醇的曲前列素棕榈酸酯干粉。在这些批次中,干粉中曲前列素棕榈酸酯量从1%至5% (重量比率,w/w) 变化,而曲前列素棕榈酸酯与DSPE-PEG2000的比率保持在2比1不变。亮氨酸含量在干粉的0至30% (w/w) 之间。还研究了碳酸氢铵的影响。在喷雾干燥过程中,入口温度从120°C至150°C变化。表7A显示了不同批次的基于甘露糖醇的曲前列素棕榈酸酯干粉的组成和入口温度。对于每个批次,曲前列素棕榈酸酯、DSPE-PEG2000、甘露糖醇和亮氨酸的量通过重量比率指示。曲前列素棕榈酸酯和亮氨酸的量也通过由其在重量比率中的比例所示的其近似的重量百分比来指示。表7B显示了基于重量比率计算的在每个批次中曲前列素棕榈酸酯、DSPE-PEG2000、甘露糖醇和亮氨酸的目标重量百分比。

表7A. 基于甘露糖醇的曲前列素棕榈酸酯干粉的批次

| 批次编号              | 组成曲前列素棕榈酸酯/DSPE-PEG2000/甘露糖醇/亮氨酸重量比率 | 干粉中曲前列素棕榈酸酯的近似wt% | 干粉中亮氨酸的近似wt% | 碳酸氢铵(mg/mL) | 入口温度(°C) |
|-------------------|--------------------------------------|-------------------|--------------|-------------|----------|
| SD-NNP-182        | 1/0.5/100/0                          | 1                 | 0            | 0           | 120      |
| SD-NNP-181        | 1/0.5/100/0                          | 1                 | 0            | 0           | 135      |
| SD-NNP-180        | 1/0.5/90/10                          | 1                 | 10           | 0           | 135      |
| SD-NNP-171        | 1/0.5/80/20                          | 1                 | 20           | 0           | 120      |
| SD-NNP-175        | 1/0.5/80/20                          | 1                 | 20           | 0           | 120      |
| [0290] SD-NNP-170 | 1/0.5/80/20                          | 1                 | 20           | 0           | 135      |
| SD-NNP-179        | 1/0.5/80/20                          | 1                 | 20           | 0           | 135      |
| SD-NNP-174        | 1/0.5/80/20                          | 1                 | 20           | 0           | 135      |
| SD-NNP-167        | 1/0.5/80/20                          | 1                 | 20           | 0           | 150      |
| SD-NNP-168        | 1/0/80/20                            | 1                 | 20           | 0           | 150      |
| SD-NNP-172        | 1/0.5/80/20                          | 1                 | 20           | 0.5         | 120      |
| SD-NNP-173        | 1/0.5/80/20                          | 1                 | 20           | 0.5         | 135      |
| SD-NNP-176        | 1/0.5/70/30                          | 1                 | 30           | 0           | 120      |
| SD-NNP-177        | 1/0.5/70/30                          | 1                 | 30           | 0           | 135      |
| SD-NNP-183        | 1.5/0.75/80/20                       | 1.5               | 20           | 0           | 135      |
| SD-NNP-184        | 2/1.0/80/20                          | 2                 | 20           | 0           | 135      |
| SD-NNP-190        | 3/1.5/80/20                          | 3                 | 20           | 0           | 135      |
| SD-NNP-191        | 5/2.5/80/20                          | 5                 | 20           | 0           | 135      |

**表7B. 在基于甘露糖醇的曲前列素棕榈酸酯干粉批次中以重量比率和相应的目标重量百分比表示的曲前列素棕榈酸酯、DSPE-PEG2000、甘露糖醇和亮氨酸的量**

| 批次编号              | 组成<br>曲前列素棕榈酸酯<br>/DSPE-PEG2000/<br>甘露糖醇/亮氨酸<br>重量比率 | 组成Wt%        |              |      |      |
|-------------------|--|--------------|--------------|------|------|
|                   |  | 曲前列素<br>棕榈酸酯 | DSPE-PEG2000 | 甘露糖醇 | 亮氨酸  |
| SD-NNP-182        | 1/0.5/100/0  | 0.99         | 0.49         | 98.5 | 0    |
| SD-NNP-181        | 1/0.5/100/0  | 0.99         | 0.49         | 98.5 | 0    |
| SD-NNP-180        | 1/0.5/90/10  | 0.99         | 0.49         | 88.7 | 9.85 |
| SD-NNP-171        | 1/0.5/80/20  | 0.99         | 0.49         | 78.8 | 19.7 |
| [0291] SD-NNP-175 | 1/0.5/80/20  | 0.99         | 0.49         | 78.8 | 19.7 |
| SD-NNP-170        | 1/0.5/80/20  | 0.99         | 0.49         | 78.8 | 19.7 |
| SD-NNP-179        | 1/0.5/80/20  | 0.99         | 0.49         | 78.8 | 19.7 |
| SD-NNP-174        | 1/0.5/80/20  | 0.99         | 0.49         | 78.8 | 19.7 |
| SD-NNP-167        | 1/0.5/80/20  | 0.99         | 0.49         | 78.8 | 19.7 |
| SD-NNP-168        | 1/0/80/20  | 0.99         | 0            | 79.2 | 19.8 |
| SD-NNP-172        | 1/0.5/80/20  | 0.99         | 0.49         | 78.8 | 19.7 |
| SD-NNP-173        | 1/0.5/80/20  | 0.99         | 0.49         | 78.8 | 19.7 |
| SD-NNP-176        | 1/0.5/70/30  | 0.99         | 0.49         | 68.9 | 29.6 |
| SD-NNP-177        | 1/0.5/70/30  | 0.99         | 0.49         | 68.9 | 29.6 |
| SD-NNP-183        | 1.5/0.75/80/20                                       | 1.47         | 0.73         | 78.2 | 19.6 |
| SD-NNP-184        | 2/1.0/80/20  | 1.94         | 0.97         | 77.7 | 19.4 |
| SD-NNP-190        | 3/1.5/80/20  | 2.87         | 1.44         | 76.6 | 19.1 |
| SD-NNP-191        | 5/2.5/80/20  | 4.65         | 2.33         | 74.4 | 18.6 |

[0292] 1.1. 亮氨酸含量对喷雾干燥回收率的影响

[0293] 评价了亮氨酸对基于甘露糖醇的曲前列素棕榈酸酯干粉的特性的影响。评价了四种亮氨酸负荷即0%、10%、20%和30%。施加甘露糖醇负荷的增加来补偿亮氨酸含量的减少。

**表8. 亮氨酸对喷雾干燥回收率和粉末密度的影响**

| 批次编号              | 亮氨酸含量, (w/w) | 组成曲前列素棕榈酸酯<br>/DSPE-PEG2000/<br>甘露糖醇/亮氨酸<br>wt比率 | 喷雾干燥回收率 (%) | 堆积密度, (g/mL) | 振实密度, (g/mL) |
|-------------------|--------------|--|-------------|--------------|--------------|
| SD-NNP-181        | 0            | 1/0.5/100/0                                      | 33.18       | N/A          | N/A          |
| SD-NNP-180        | 10           | 1/0.5/90/10                                      | 92.98       | 0.237        | 0.425        |
| SD-NNP-179        | 20           | 1/0.5/80/20                                      | 92.24       | 0.360        | 0.651        |
| [0294] SD-NNP-177 | 30           | 1/0.5/70/30                                      | 85.23       | 0.246        | 0.522        |

[0295] 不含亮氨酸的批次的喷雾干燥回收率(%)低。随着亮氨酸水平增加至10%和20%，回收率显著增加。当亮氨酸含量进一步增加至30%时，回收率略有下降(图1)。含有20%亮氨酸的批次具有最高的粉末密度值(表8)。

[0296] 1.2 亮氨酸含量(30%、20%、10%和0%)对粉末形态的影响，

[0297] 进行SEM以检查亮氨酸含量对粉末表面的影响(图2A-图2D)。亮氨酸含量的变化导致甘露糖醇与亮氨酸的重量比率不同，即70/30、80/20、90/10和100/0。

[0298] 产生了具有不同的甘露糖醇与亮氨酸重量比率(70/30、80/20、90/10和100/0)的曲前列素棕榈酸酯干粉样品。SEM数据显示，使亮氨酸含量从20%增加至30%导致具有褶皱

表面的粉末(图2A和图2B)。不含亮氨酸的干粉在喷雾干燥后破碎,且回收率低(图2D)。在进一步的研究中,使用了20%的亮氨酸。

[0299] 1.3. 亮氨酸含量对PSD的影响(通过激光衍射测试)

[0300] 通过激光衍射研究了第三批含有10%、20%和30%亮氨酸(w/w)的基于甘露糖醇的干粉。批次信息示于表9。

| 批次编号              | 干粉中的亮氨酸, (w/w) | 组成<br>曲前列素棕榈酸酯<br>/DSPE-PEG2000/<br>甘露糖醇/亮氨酸<br>wt比率 | D10, $\mu\text{m}$ | D50, $\mu\text{m}$ | D90, $\mu\text{m}$ | 跨度   |
|-------------------|----------------|--|--------------------|--------------------|--------------------|------|
| [0301] SD-NNP-177 | 30             | 1/0.5/70/30  | 1.13               | 4.74               | 9.34               | 1.73 |
| SD-NNP-179        | 20             | 1/0.5/80/20  | 0.61               | 2.75               | 6.58               | 2.17 |
| SD-NNP-180        | 10             | 1/0.5/90/10  | 0.79               | 3.67               | 8.06               | 1.98 |

[0302] 如图3所示,含有20%亮氨酸的配制品具有最小的粒度(D50)。在本实施例的进一步研究中将使用含有20%亮氨酸的配制品。

[0303] 1.4. 不同量的曲前列素棕榈酸酯对MMAD的影响

[0304] 将不同量的曲前列素棕榈酸酯掺入基于甘露糖醇的干粉配制品中,目的是研究它们对干粉特性的影响。如表10所示,制备了五个批次的干粉,其具有在1%至5%范围内的曲前列素棕榈酸酯且曲前列素棕榈酸酯/DSPE-PEG2000的重量比率为2:1。

[0305] 表10.用于研究曲前列素棕榈酸酯含量对MMAD的影响的基于甘露糖醇的曲前列素棕榈酸酯干粉批次

| 批次编号              | 曲前列素棕榈酸酯 (%) | 曲前列素棕榈酸酯/DSPE-PEG2000/甘露糖醇/亮氨酸 (wt比率) |
|-------------------|--------------|---------------------------------------|
| [0306] SD-NNP-179 | 1            | 1/0.5/80/20                           |
| SD-NNP-183        | 1.5          | 1.5/0.75/80/20                        |
| SD-NNP-184        | 2            | 2/1/80/20                             |
| SD-NNP-190        | 3            | 3/1.5/80/20                           |
| SD-NNP-191        | 5            | 5/2.5/80/20                           |

[0307] 当干粉中曲前列素棕榈酸酯为1%至2%时MMAD的值是恒定的,并且当曲前列素棕榈酸酯增加至3%至5%时,其显著增加(图4)。

[0308] 1.5. 150°C、135°C和120°C下的喷雾干燥入口温度对粉末形态的影响

[0309] 在不同的入口温度即150°C、135°C和120°C下,产生了具有相同组分比率的基于甘露糖醇的曲前列素棕榈酸酯干粉(表11)。首先研究了入口温度对干粉形态的影响。SEM揭示,在135°C和120°C的较低入口温度下喷雾干燥的干粉样品中存在较少的表面破损(图5A-图5C)。由于在135°C与120°C之间没有发现显著差异(图5B和图5C),因此在进一步研究中使用135°C的入口温度。

表11.在不同入口温度下喷雾干燥的基于甘露糖醇的干粉

| 批次编号       | 组成<br>曲前列素棕榈酸酯<br>/DSPE-PEG2000/甘露糖醇/<br>亮氨酸 (wt比率) | 喷雾干燥入口温度 (°C) |
|------------|---|---------------|
| SD-NNP-167 | 1/0.5/80/20   | 150           |
| SD-NNP-170 | 1/0.5/80/20   | 135           |
| SD-NNP-171 | 1/0.5/80/20   | 120           |

[0311] 1.6. 进料储备液中碳酸氢铵 (ABC) 对基于甘露糖醇的曲前列素棕榈酸酯干粉形态的影响

[0312] 通过在制备干粉时向进料储备液中添加或不添加ABC来检查ABC对基于甘露糖醇的曲前列素棕榈酸酯干粉形态的影响(表12)。在添加ABC的情况下未观察到粉末表面变化(图6A和图6B)。因此,在基于甘露糖醇的曲前列素棕榈酸酯干粉中未施加ABC。

表12.有或没有碳酸氢铵(ABC)的基于甘露糖醇的曲前列素棕榈酸酯干粉的批次

| 批次编号       | 组成<br>曲前列素棕榈酸酯<br>/DSPE-PEG2000/甘露糖醇/亮<br>氨酸<br>(Wt比率) | ABC (mg/ml) |
|------------|--|-------------|
| SD-NNP-170 | 1/0.5/80/20  | 0           |
| SD-NNP-173 | 1/0.5/80/20  | 0.5         |

[0314] 1.7. 基于甘露糖醇的曲前列素棕榈酸酯干粉的物理化学特性

[0315] 基于甘露糖醇的曲前列素棕榈酸酯干粉通过喷雾干燥含有所有组分的溶液来产生。预计基于甘露糖醇的干粉将显示出一些无定形特性,如在DSC测试中的T<sub>g</sub>和在粉末X射线衍射测试(XRD)中的宽峰。图7A和图7B分别显示了来自具有1%曲前列素棕榈酸酯和20%亮氨酸的批次SD-NNP-179的DSC和XRD数据。从该批次中未检测到T<sub>g</sub>并且在粉末XRD中观察到尖峰。无论组成和喷雾干燥条件的差异如何,在其他批次中也注意到了这两个特征。

[0316] 2. 基于海藻糖的曲前列素棕榈酸酯干粉批次

[0317] 使用喷雾干燥制备不同批次的基于海藻糖的曲前列素棕榈酸酯干粉。表13A显示了用于喷雾干燥过程的批次组成和入口温度。对于每个批次,曲前列素棕榈酸酯、DSPE-PEG2000、海藻糖和亮氨酸的量通过重量比率指示。表13B显示了基于重量比率计算的在每个批次中曲前列素棕榈酸酯、DSPE-PEG2000、海藻糖和亮氨酸的目标重量百分比。所述批次的曲前列素棕榈酸酯含量从1%至2% (重量比率, w/w) 变化,而曲前列素棕榈酸酯与DSPE-PEG2000的比率保持在2比1不变。批次中的亮氨酸含量为20%或30% (w/w)。在喷雾干燥过程中,入口温度从110°C至155°C变化。

表13A.基于海藻糖的曲前列素棕榈酸酯干粉批次

| 批次          | 赋形剂                      | 有机溶剂 | 组成<br>曲前列素棕榈酸酯<br>/DSPE-PEG2000/糖/亮氨酸<br>wt比率 | 入口温度<br>(°C) |
|-------------|--------------------------|------|---|--------------|
| SD-NNP-P144 | 海藻糖/亮氨酸                  | 1-丙醇 | 0/0/80/20                                     | 110          |
| SD-NNP-111  | 海藻糖/亮氨酸                  | 1-丙醇 | 0/0/80/20                                     | 130          |
| SD-NNP-P143 | 海藻糖/亮氨酸                  | 1-丙醇 | 0/0/80/20                                     | 150          |
| SD-NNP-169  | 海藻糖/亮氨酸                  | 1-丙醇 | 1/0/80/20                                     | 150          |
| SD-NNP-112  | DSPE-PEG2000/海藻糖/<br>亮氨酸 | 1-丙醇 | 0/0.5/80/20                                   | 130          |
| SD-NNP-162  | DSPE-PEG2000/海藻糖/<br>亮氨酸 | 1-丙醇 | 1/0.5/80/20                                   | 150          |
| SD-NNP-163  | DSPE-PEG2000/海藻糖/<br>亮氨酸 | 1-丙醇 | 1/0.5/70/30                                   | 150          |
| SD-NNP-188  | DSPE-PEG2000/海藻糖/<br>亮氨酸 | 1-丙醇 | 1.5/0.75/80/20                                | 150          |
| SD-NNP-189  | DSPE-PEG2000/海藻糖/<br>亮氨酸 | 1-丙醇 | 2/1/80/20                                     | 150          |
| SD-NNP-P141 | 海藻糖/乳糖/亮氨酸               | EtOH | 0/0/40/40/20                                  | 155          |
| SD-NNP-140  | 海藻糖/亮氨酸                  | EtOH | 0/0/80/20                                     | 155          |

[0318]

表13B. 在基于海藻糖的曲前列素棕榈酸酯干粉批次中以重量比率和相应的目标重量百分比表示的曲前列素棕榈酸酯、DSPE-PEG2000、海藻糖和亮氨酸的量

| 批次          | 赋形剂                      | 组成<br>曲前列素棕榈酸酯<br>/DSPE-PEG2000/糖/亮氨酸<br>(Wt比率) | 组成wt%        |                          |      |      |
|-------------|--------------------------|---|--------------|--------------------------|------|------|
|             |                          |   | 曲前列素<br>棕榈酸酯 | DSPE<br>-<br>PEG<br>2000 | 海藻糖  | 亮氨酸  |
| SD-NNP-P144 | 海藻糖/亮氨酸                  | 0/0/80/20                                       | 0            | 0                        | 80   | 20   |
| SD-NNP-111  | 海藻糖/亮氨酸                  | 0/0/80/20                                       | 0            | 0                        | 80   | 20   |
| SD-NNP-P143 | 海藻糖/亮氨酸                  | 0/0/80/20                                       | 0            | 0                        | 80   | 20   |
| SD-NNP-169  | 海藻糖/亮氨酸                  | 1/0/80/20                                       | 0.99         | 0                        | 79.2 | 19.8 |
| SD-NNP-112  | DSPE-PEG2000/海藻糖/<br>亮氨酸 | 0/0.5/80/20                                     | 0            | 0.50                     | 79.6 | 19.9 |

[0319]

**表13B. 在基于海藻糖的曲前列素棕榈酸酯干粉批次中以重量比率和相应的目标重量百分比表示的曲前列素棕榈酸酯、DSPE-PEG2000、海藻糖和亮氨酸的量**

| 批次          | 赋形剂                  | 组成<br>曲前列素棕榈<br>酸酯<br>/DSPE-PEG200<br>0/糖/亮氨酸<br>(Wt比率) | 组成wt%        |                          |      |      |
|-------------|----------------------|---|--------------|--------------------------|------|------|
|             |                      |   | 曲前列素<br>棕榈酸酯 | DSPE<br>-<br>PEG<br>2000 | 海藻糖  | 亮氨酸  |
| SD-NNP-162  | DSPE-PEG2000/海藻糖/亮氨酸 | 1/0.5/80/20   | 0.99         | 0.49                     | 78.8 | 19.7 |
| SD-NNP-163  | DSPE-PEG2000/海藻糖/亮氨酸 | 1/0.5/70/30   | 0.99         | 0.49                     | 68.9 | 29.6 |
| SD-NNP-188  | DSPE-PEG2000/海藻糖/亮氨酸 | 1.5/0.75/80/20  | 1.47         | 0.73                     | 78.2 | 19.6 |
| SD-NNP-189  | DSPE-PEG2000/海藻糖/亮氨酸 | 2/1/80/20   | 1.94         | 0.97                     | 77.7 | 19.4 |
| SD-NNP-P141 | 海藻糖/乳糖/亮氨酸           | 0/0/40/40/20  | 未计算          |                          |      |      |
| SD-NNP-140  | 海藻糖/亮氨酸              | 0/0/80/20   | 0            | 0                        | 80   | 20   |

[0320]

[0321] 2.1. 亮氨酸含量对粉末形态的影响

[0322] 制备具有两种亮氨酸水平 (20% 和30%) 的基于海藻糖的曲前列素棕榈酸酯干粉 (表14)。SEM数据显示,使亮氨酸含量从20%增加至30%导致粉末表面起皱 (图8A和图8B)。

[0323] 2.2. 亮氨酸含量对粉末气溶胶性能的影响

[0324] 我们将两种水平 (即20% 和30%) 的亮氨酸掺入基于海藻糖的曲前列素棕榈酸酯干粉中,并比较它们的粒度 (D50,激光衍射) 和MMAD (表14)。

**表14.亮氨酸含量对基于海藻糖的曲前列素棕榈酸酯干粉的气溶胶性能的影响**

| 批次         | 组成曲前列素棕榈<br>酸酯<br>/DSPE-PEG2000/海<br>藻糖/亮氨酸<br>wt比率 | D50<br>( $\mu\text{m}$ ),<br>PSD测<br>试 | MMAD<br>( $\mu\text{m}$ ), NGI<br>测试 | 进气管路 +<br>预分离器<br>(%), NGI<br>测试 | 排出剂量<br>(%), NGI<br>测试 |
|------------|---|--|--------------------------------------|----------------------------------|------------------------|
| SD-NNP-162 | 1/0.5/80/20   | 2.680                                  | 1.41                                 | 41.9                             | 80.5                   |
| SD-NNP-163 | 1/0.5/70/30   | 2.970                                  | 1.37                                 | 26.2                             | 82.1                   |

[0325]

[0326] 表14中的数据表明,与具有20%亮氨酸的干粉相比,具有30%亮氨酸的干粉具有更大的几何粒度 (D50) 和粉末在进气管路和预分离器上更低的沉积。亮氨酸的低溶解度将导致亮氨酸首先沉淀。较高量的亮氨酸将更快地触发沉淀,从而产生更大的颗粒。然而,MMAD没有显著差异。

[0327] 2.3. 曲前列素棕榈酸酯含量对干粉气溶胶性能的影响。

[0328] 将不同量的曲前列素棕榈酸酯掺入基于海藻糖的曲前列素棕榈酸酯干粉中,目的是研究它们对干粉性能的影响。如表15所示,制备了四个批次的干粉,其具有在1%至2%范围内的曲前列素棕榈酸酯含量且曲前列素棕榈酸酯/DSPE-PEG2000的重量比率固定在2:1。

| 批次                | 组成曲前列素棕榈酸酯<br>/DSPE-PEG2000/<br>海藻糖/亮氨酸<br>wt比率 | MMAD ( $\mu\text{m}$ ),<br>NGI测试 | FPF, < 5.0 $\mu\text{m}$<br>(%), NGI测试 | 进气管路 + 预<br>分离器 (%),<br>NGI测试 |
|-------------------|---|----------------------------------|--|-------------------------------|
| [0329] SD-NNP-162 | 1/0.5/80/20                                     | 1.41                             | 40.49                                  | 41.9                          |
| SD-NNP-163        | 1/0.5/70/30                                     | 1.37                             | 55.93                                  | 26.2                          |
| SD-NNP-188        | 1.5/0.75/80/20                                  | 1.88                             | 33.54                                  | 47.0                          |
| SD-NNP-189        | 2/1/80/20                                       | 1.96                             | 33.10                                  | 46.0                          |

[0330] 随着干粉中曲前列素棕榈酸酯越多,MMAD以及在进气管路和预分离器上的沉积增加,同时细颗粒分数(FPF)减少(表15)。

[0331] 2.4.喷雾干燥入口温度对粉末形态的影响

[0332] 预计喷雾干燥过程中的入口温度影响干粉的特性,如水分含量、粒度和粉末形态。使用表16中所示的基于海藻糖的媒介物干粉批次研究130°C和150°C两个入口温度。

| 批次                | 赋形剂                      | 进料储备液溶<br>剂 | 组成曲前列素棕<br>榈酸酯<br>/DSPE-PEG2000/<br>海藻糖/亮氨酸<br>wt比率 | 入口温度(°C) |
|-------------------|--------------------------|-------------|---|----------|
| [0333] SD-NNP-111 | 海藻糖/亮氨酸                  | 1-丙醇50%     | 0/0/80/20   | 130      |
| SD-NNP-P143       | 海藻糖/亮氨酸                  | 1-丙醇50%     | 0/0/80/20   | 150      |
| SD-NNP-112        | DSPE-PEG2000/<br>海藻糖/亮氨酸 | 1-丙醇50%     | 0/0.5/80/20   | 130      |

[0334] SEM显示150°C的高入口温度导致粉末破裂(图9A-图9C)。然而,为了防止最终干粉中的高水分,将使用150°C用于含有曲前列素棕榈酸酯的基于海藻糖的干粉。

[0335] 2.5.基于海藻糖的干粉的物理化学特性

[0336] 与基于甘露糖醇的曲前列素棕榈酸酯干粉相似,基于海藻糖的曲前列素棕榈酸酯干粉通过喷雾干燥含有所有组分的溶液来产生。预计干粉将显示出一些无定形特性,如在DSC中的T<sub>g</sub>和在粉末X射线衍射(XRD)中的宽峰。

[0337] 对表17中所示的基于海藻糖的曲前列素棕榈酸酯干粉批次进行DSC和XRD。在DSC测试中,对于所有批次均观察到T<sub>g</sub>,其在64°C至80°C范围内。如果粉末经由隔夜冻干经历第2次干燥,则T<sub>g</sub>可能增加,如在批次SD-NNP-162和SD-NNP-163中所观察到的,这是由于干粉中的水分减少导致的(图10A)。与基于甘露糖醇的干粉相比,基于海藻糖的干粉的XRD显示出较少的尖峰(图10B),这归因于海藻糖的无定形状态。无论组分的重量比率和喷雾干燥条件的差异如何,所有批次均显示出相似的XRD数据。表17显示了干粉批次的另外的特性,包括MMAD、FPF和进气管路+预分离器沉积。

表17.用于研究物理化学特性的基于海藻糖的曲前列素棕榈酸酯干粉批次

| 批次                | 组成曲前列素棕榈酸酯<br>/DSPE-PEG2000/<br>海藻糖/亮氨酸<br>wt比率 | MMAD ( $\mu\text{m}$ ),<br>NGI测试 | FPF, < 5.0 $\mu\text{m}$<br>(%), NGI测试 | 进气管路 + 预<br>分离器 (%),<br>NGI测试 |
|-------------------|---|----------------------------------|--|-------------------------------|
| [0338] SD-NNP-162 | 1/0.5/80/20                                     | 1.41                             | 40.49                                  | 41.9                          |
| SD-NNP-163        | 1/0.5/70/30                                     | 1.37                             | 55.93                                  | 26.2                          |
| [0339] SD-NNP-188 | 1.5/0.75/80/20                                  | 1.88                             | 33.54                                  | 47.0                          |
| SD-NNP-189        | 2/1/80/20                                       | 1.96                             | 33.10                                  | 46.0                          |

[0340] 3. 基于甘露糖醇和海藻糖的干粉的动态气相吸附 (DVS) 谱

[0341] 在喷雾干燥、包装和储存过程中,水分可能会被引入干粉配制品中,从而导致产品不稳定和包装问题。喷雾干燥后,干粉中的水分可以经由二次干燥减少。然而,在包装过程中,即使在湿度控制条件下,当粉末暴露在环境中时也可能吸收水分。检查了基于甘露糖醇和海藻糖的曲前列素棕榈酸酯干粉的水分吸收。

[0342] 如图11所示,当RH%从0增加至40%时,基于甘露糖醇的曲前列素棕榈酸酯干粉可以吸收高达0.3%的水分。与基于乳糖的曲前列素棕榈酸酯干粉相比,基于甘露糖醇的干粉吸收的水分少得多,这可能是由于基于甘露糖醇的干粉含有结晶甘露糖醇和亮氨酸,并且两者的稳定形式都是未水合形式。

[0343] 基于海藻糖的干粉的水分吸收谱示于图12(具有20%亮氨酸的粉末)和图13(具有30%亮氨酸的粉末)。基于海藻糖的干粉的重量变化在50%RH%时达到峰值。之后,由于海藻糖物理形态从无定形变为结晶,因此水分吸收下降。含有20%和30%亮氨酸的粉末配制品具有相似的水分吸收数据,但后一种配制品具有低1%的吸收。然而,在解吸过程中差异是显著的。含有30%亮氨酸的粉末在0%RH%下展现出更高的水分残留。

[0344] 4. 基于甘露糖醇的曲前列素棕榈酸酯干粉的稳定性测试

[0345] 基于甘露糖醇的曲前列素棕榈酸酯干粉的稳定性测试是在40°C、无湿度控制下经3个月进行的。研究了五个批次的含有1%、1.5%、2%、3%和5%的曲前列素棕榈酸酯的基于甘露糖醇的曲前列素棕榈酸酯干粉(表18)。NGI测试显示,一般而言,干粉的MMAD在2个月时间点处急剧上升,然后回落到与在1个月时间点处相似的水平(图14)。SEM数据显示在粉末表面上生长了致密的小纤维(图15A、图15B、图16A、图16B、图17A、图17B、图18A和图18B)。

表18.用于加速稳定性测试的基于甘露糖醇的曲前列素棕榈酸酯干粉的批次

| 批次编号              | 曲前列素棕榈酸酯 (%) | 曲前列素棕榈酸酯<br>/DSPE-PEG2000/甘露糖醇/亮氨酸<br>(wt比率) |
|-------------------|--------------|--|
| [0346] SD-NNP-179 | 1            | 1/0.5/80/20                                  |
| SD-NNP-183        | 1.5          | 1.5/0.75/80/20                               |
| SD-NNP-184        | 2            | 2/1/80/20                                    |
| SD-NNP-190        | 3            | 3/1.5/80/20                                  |
| SD-NNP-191        | 5            | 5/2.5/80/20                                  |

[0347] 表19显示了基于甘露糖醇的曲前列素棕榈酸酯干粉批次的稳定性数据的详情。在所有批次的含有20%亮氨酸的基于甘露糖醇的干粉中,观察到MMAD和FPF的显著变化。另

外,与具有3%和5%曲前列素棕榈酸酯的干粉相比,具有1%、1.5%和2%曲前列素棕榈酸酯的干粉的初始MMAD较低。

表19.基于甘露糖醇的曲前列素棕榈酸酯干粉的稳定性数据

| 批次编号              | 时间 (月)     | APSD MMAD<br>( $\mu\text{m}$ ) | APSD FPF 5.0<br>$\mu\text{m}$ (%) | PSD D50 ( $\mu\text{m}$ ) |      |
|-------------------|------------|--------------------------------|-----------------------------------|---------------------------|------|
| [0348] SD-NNP-179 | 0          | 1.76                           | 65.8                              | 2.75                      |      |
|                   | 1          | 3.57                           | 35.4                              | 3.54                      |      |
|                   | 2          | 4.83                           | 30.7                              | 3.70                      |      |
|                   | 3          | 3.99                           | 36.3                              | 3.32                      |      |
| SD-NNP-183        | 0          | 1.78                           | 52.0                              | 2.78                      |      |
| [0349]            | 1          | 3.22                           | 46.9                              | 3.32                      |      |
|                   | 2          | 3.97                           | 28.3                              | 3.50                      |      |
|                   | 3          | 3.45                           | 20.7                              | 3.03                      |      |
|                   | SD-NN-184  | 0                              | 1.93                              | 45.5                      | 3.44 |
|                   |            | 1                              | 2.31                              | 45.7                      | 3.35 |
|                   |            | 2                              | 3.52                              | 35.8                      | 3.88 |
|                   | SD-NNP-190 | 3                              | 2.64                              | 51.4                      | 3.00 |
|                   |            | 0                              | 2.61                              | 56.4                      | 2.82 |
|                   |            | 1                              | 5.61                              | 13.1                      | 3.81 |
|                   | SD-NNP-191 | 5                              | 3.16                              | 39.6                      | 3.35 |
|                   |            | 0                              | 2.47                              | 56.8                      | 2.78 |
|                   |            | 1                              | 3.92                              | 33.1                      | 3.99 |
| 5                 |            | 3.29                           | 31.7                              | 4.03                      |      |

[0350] 5. 基于海藻糖的干粉的稳定性测试

[0351] 还在与对于基于甘露糖醇的干粉配制品相同的条件下进行了对于具有20%或30%的亮氨酸以及在1%至2%范围内的曲前列素棕榈酸酯的基于海藻糖的干粉配制品的稳定性研究。在3.5个月的研究时间段内,没有观察到显著变化(表20和图21A、图21B、图22A、图22B、图23A、图23B、图24A和图24B)。

表20.用于稳定性测试的基于海藻糖的曲前列素棕榈酸酯干粉批次

| 批次编号              | 曲前列素棕榈酸酯 (%) | 曲前列素棕榈酸酯 /DSPE-PEG2000/ 海藻糖/亮氨酸 (wt比率) | 1个月 | 1.5个月 | 2个月 | 2.5个月 | 3.5个月 |
|-------------------|--------------|--|-----|-------|-----|-------|-------|
| [0352] SD-NNP-162 | 1            | 1/0.5/80/20                            | N/A | 稳定    | N/A | 稳定    | 稳定    |
| SD-NNP-163        | 1            | 1/0.5/70/30                            | N/A | 稳定    | N/A | 稳定    | 稳定    |
| SD-NNP-188        | 1.5          | 1.5/0.75/80/20                         | 稳定  | N/A   | 稳定  | N/A   | 稳定    |
| SD-NNP-189        | 2            | 2/1/80/20                              | 稳定  | N/A   | 稳定  | N/A   | 稳定    |

[0353] 表21显示了基于海藻糖的曲前列素棕榈酸酯干粉批次的稳定性数据的详情。对于批次SD-NNP-162和SD-NNP-188的MMAD显著增加(表21和图19)。对于批次SD-NNP-162的FPF值减小最为显著(图20)。批次SD-NNP-163(曲前列素棕榈酸酯1%、亮氨酸30%)显示出最低且稳定的MMAD以及最高的稳定FPF。

表21.基于海藻糖的曲前列素棕榈酸酯干粉的稳定性数据

| 批次编号       | 时间 (月) | APSD MMAD<br>( $\mu\text{m}$ ) | APSD FPF 5.0<br>$\mu\text{m}$ (%) | PSD D50 ( $\mu\text{m}$ ) |
|------------|--------|--------------------------------|-----------------------------------|---------------------------|
| SD-NNP-162 | 0      | 1.41                           | 40.5                              | 2.68                      |
|            | 1      | 1.90                           | 37.7                              | 2.84                      |
|            | 2.5    | 2.13                           | 38.7                              | 2.74                      |
|            | 3.5    | 2.80                           | 28.1                              | 4.56                      |
| SD-NNP-163 | 0      | 1.37                           | 55.9                              | 2.97                      |
|            | 1      | 1.25                           | 58.7                              | 3.01                      |
|            | 2.5    | 1.44                           | 55.5                              | 2.90                      |
|            | 3.5    | 1.39                           | 54.6                              | 4.62                      |
| SD-NN-188  | 0      | 1.88                           | 33.5                              | 2.76                      |
|            | 1      | 2.41                           | 49.7                              | 3.00                      |
|            | 2.5    | 2.44                           | 56.2                              | 4.53                      |
|            | 3.5    | 2.84                           | 51.8                              | 2.98                      |
| SD-NNP-189 | 0      | 1.96                           | 33.1                              | 2.84                      |
|            | 1      | 2.67                           | 36.2                              | 3.30                      |
|            | 2.5    | 2.00                           | 47.9                              | 4.92                      |
|            | 3.5    | 2.40                           | 42.0                              | 3.25                      |

[0354]

[0355] 基于甘露糖醇的曲前列素棕榈酸酯干粉配制产品的检查结果的总结

[0356] 在基于甘露糖醇的曲前列素棕榈酸酯干粉中,添加亮氨酸导致高喷雾干燥回收率。具有20%亮氨酸的基于甘露糖醇的干粉显示出球形颗粒形状和低几何直径(D50=2.75  $\mu\text{m}$ )。

[0357] 在喷雾干燥过程中,从120°C至150°C变化的入口温度不影响基于甘露糖醇的曲前列素棕榈酸酯干粉的形态。由于在135°C下产生的干粉的水分含量为约1%,因此入口温度设定为135°C。

[0358] 在DSC测试中未从基于甘露糖醇的曲前列素棕榈酸酯干粉检测到玻璃化转变,这支持了X射线衍射测试(XRD)结果,表明其为结晶材料。另外,喷雾干燥的基于甘露糖醇的曲前列素棕榈酸酯干粉具有较小吸湿性,在90%RH%下吸收水分小于1%。

[0359] 在基于甘露糖醇的曲前列素棕榈酸酯干粉的稳定性测试中,对于具有1%至2%曲前列素棕榈酸酯的配制产品,MMAD急剧增加是在2个月时间点处,而对于具有更高曲前列素棕榈酸酯的配制产品是在1个月时间点处。MMAD在较晚时间点处下降。所有配制产品在储存后都在粉末表面上显示出纤维。

[0360] 基于海藻糖的曲前列素棕榈酸酯干粉配制产品的检查结果的总结

[0361] 与含有20%亮氨酸的基于海藻糖的曲前列素棕榈酸酯干粉相比,含有30%亮氨酸的基于海藻糖的曲前列素棕榈酸酯干粉具有起皱表面且在进气管路和预分离器中沉积更少粉末。然而,二者之间的MMAD没有显著差异。

[0362] 喷雾干燥过程中的入口温度选择为150°C,以实现最终干粉中较低的水分含量。

[0363] 观察到玻璃化转变温度(Tg)在64°C至80°C范围内,表明干粉中海藻糖的无定形状态。与基于甘露糖醇的曲前列素棕榈酸酯干粉相比,基于海藻糖的曲前列素棕榈酸酯干粉显示出更高的水分吸收。

[0364] 在稳定性测试中,大多数测试的基于海藻糖的曲前列素棕榈酸酯干粉配制产品展现出无FPF显著变化。所有配制产品在储存后在粉末表面上均显示出毛发状晶体。

[0365] 综上所述,本实施例的数据表明,在多达2wt%范围内的曲前列素棕榈酸酯含量不

影响曲前列素棕榈酸酯干粉的物理特性。在3wt%和5wt%曲前列素棕榈酸酯下,注意到基于甘露糖醇的粉末的初始MMAD增加。发现亮氨酸含量对于干粉气溶胶特性而言是重要的。

[0366] 实施例2-可吸入的基于甘露糖醇和海藻糖的曲前列素棕榈酸酯干粉配制品的制造、封装和表征

[0367] 本实施例描述了通过喷雾干燥和封装制造四种曲前列素棕榈酸酯干粉配制品,即配制品A、B、C和D。配制品A和D是基于甘露糖醇的,并且以重量比率和基于重量比率计算的目标重量百分比表示的其组成示于表22。配制品B和C是基于海藻糖的,并且以重量比率和基于重量比率计算的目标重量百分比表示的其组成示于表23中。本实施例还描述了作为温度函数的配制品A-D的粒度、形态、含水量、溶剂含量、物理状态、气相吸附谱、热特性以及重量损失随温度的表征。

[0368]

| 配制品 | 组成曲前列素棕榈酸酯<br>/DSPE-PEG2000/<br>甘露糖醇/亮氨酸<br>wt比率 | 组成Wt%        |              |       |       |
|-----|--|--------------|--------------|-------|-------|
|     |  | 曲前列素<br>棕榈酸酯 | DSPE-PEG2000 | 甘露糖醇  | 亮氨酸   |
| A   | 1.5/0.75/80/20                                   | 1.47         | 0.73         | 78.24 | 19.56 |
| D   | 1.5/0.75/70/30                                   | 1.47         | 0.73         | 68.46 | 29.34 |

[0369]

| 配制品 | 组成曲前列素棕榈酸酯<br>/DSPE-PEG2000/<br>海藻糖/亮氨酸<br>wt比率 | 组成Wt%        |              |       |       |
|-----|---|--------------|--------------|-------|-------|
|     |   | 曲前列素<br>棕榈酸酯 | DSPE-PEG2000 | 海藻糖   | 亮氨酸   |
| B   | 1.5/0.5/80/20                                   | 0.99         | 0.49         | 78.82 | 19.70 |
| C   | 1.5/0.75/70/30                                  | 1.47         | 0.73         | 68.46 | 29.34 |

[0370] 1. 配制品A、B、C和D的喷雾干燥制造

[0371] 曲前列素棕榈酸酯干粉配制品A、B、C和D使用BLD-200喷雾干燥器制造,其中每种配制品的进入固体为约55克。在每种条件之间,喷洒空白溶剂溶液以确保先前的配制品从溶液管线清除。在条件之间不另外清洁喷雾干燥器。

[0372] 四种配制品中的每一种都被制备为独立的溶液。溶液在室温下制备,且无需避光。对于每种溶液制备,执行以下步骤:

[0373] 1. 将亮氨酸溶解在去离子水中。

[0374] 2. 将糖(甘露糖醇或海藻糖)溶解在去离子水中。

[0375] 3. 水溶液通过0.2 $\mu$ m PVDF膜过滤。

[0376] 4. 将DSPE-PEG2000溶解在1-丙醇中。

[0377] 5. 将曲前列素棕榈酸酯溶解在1-丙醇中。

[0378] 6. 将有机溶液添加至搅拌的水溶液中。

[0379] 喷雾干燥配制品和过程条件列于表24中。按质量计,制造产量在54%至80%范围内。每种配制品的散装干粉的包装在干燥的手套箱中进行。

表24.配制品和喷雾干燥条件

| 配制品          | A  | B  | C   | D  |
|--------------|--|--|---|--|
| 组成 (wt比率)    | 1.5/0.75/80/20<br>曲前列素棕榈酸酯<br>/DSPE-PEG2000<br>/甘露糖醇/亮氨酸 | 1/0.5/80/20<br>曲前列素棕榈酸酯<br>/DSPE-PEG2000/<br>海藻糖/亮氨酸 | 1.5/0.75/70/30<br>曲前列素棕榈酸酯<br>/DSPE-PEG2000<br>/海藻糖/亮氨酸 | 1.5/0.75/70/30<br>曲前列素棕榈酸酯<br>/DSPE-PEG2000<br>/甘露糖醇/亮氨酸 |
| 溶剂掺混物 (wt%)  | 50/50 1-丙醇/H <sub>2</sub> O                              |  |   |  |
| 固体装载量 (wt%)  | 2  |  |   |  |
| 干燥器规模        | BLD-200  |  |   |  |
| 室压           | 阴性   |  |   |  |
| 旋风           | 3英寸  |  |   |  |
| 喷雾器          | 双流体 (1650/120)   |  |   |  |
| 雾化压力         | 45 PSIG (217 g/min, 13 kg/h)                             |  |   |  |
| 干燥气体 (g/min) | 1300 (78 kg/h)   |  |   |  |
| 进料速率 (g/min) | 30   |  |   |  |
| 入口温度 (°C)    | 145  |  |   |  |
| 出口温度 (°C)    | 60   |  |   |  |
| 出口RH% (计算值)  | 8  |  |   |  |
| 出口RS% (估计值)  | 1.3  |  |   |  |
| 进入固体 (g)     | ~55  |  |   |  |
| 固体产量 (g)     | 29.8   | 42.5   | 32.4  | 43.8   |
| 产率%          | 54   | 77   | 59  | 80   |

[0380]

[0381]

## [0382] 2. 粉末封装

[0383] 干粉配制品通过使用Xceldose 600S来封装,以使每种配制品填充50-51个胶囊。房间的相对湿度小于30%。封装的总结示于表25。例如,胶囊是通过以下方式由配制品D(含有1.50wt%曲前列素棕榈酸酯、0.75wt%DSPE-PEG2000、68.45wt%甘露糖醇和29.30wt%亮氨酸)的典型批次制成的:在每个胶囊中填充112.5 $\mu$ g曲前列素棕榈酸酯、56.2 $\mu$ g DSPE-PEG2000、5133.8 $\mu$ g甘露糖醇和2197.5 $\mu$ g亮氨酸。观察到配制品D的其他批次的每个组分的wt%以如上所示的典型wt%值 $\pm$ 5%独立变化或在如上所示的典型wt%值 $\pm$ 5%内独立变化,以具有等同的特性和性能。将胶囊收集在玻璃罐中,并在具有0.5g分子筛干燥剂的箔袋中热封。

表25.Xcelodose性能总结

| 配制品 | 组成<br>(重量比率)   | 目标范围<br>(mg) | 机器产<br>率 | 平均填充<br>量 (mg) | RSD<br>% | 使用的粉<br>末 (mg) |
|-----|--|--------------|----------|----------------|----------|----------------|
| A   | 1.5/0.75/80/20<br>曲前列素棕榈酸<br>酯<br>/DSPE-PEG2000<br>/甘露糖醇/亮氨酸 | 6.7± 0.7     | 92.4 %   | 6.6 ± 0.2      | 3.3      | ~370           |
| B   | 1/0.5/80/20<br>曲前列素棕榈酸<br>酯<br>/DSPE-PEG2000<br>/海藻糖/亮氨酸     | 10.0± 1.0    | 96.1 %   | 10.2 ± 0.3     | 2.5      | ~530           |
| C   | 1.5/0.75/70/30<br>曲前列素棕榈酸<br>酯<br>/DSPE-PEG2000<br>/海藻糖/亮氨酸  | 6.7± 0.7     | 96.3 %   | 6.6 ± 0.1      | 1.9      | ~350           |
| D   | 1.5/0.75/70/30<br>曲前列素棕榈酸<br>酯<br>/DSPE-PEG2000<br>/甘露糖醇/亮氨酸 | 6.7± 0.7     | 91.6 %   | 6.6 ± 0.2      | 2.6      | ~370           |

[0384]

[0385] 3.分析表征

[0386] 评价了四种配制品中每一种的粒度分布、颗粒形态、含水量、残留溶剂、物理状态、水分吸附和热特性。结果的总结示于表26。

[0387]

表26.分析表征总结

|              | 配制品A            | 配制品B            | 配制品C            | 配制品D            |
|--------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| 粒度<br>分布     |                 |                 |                 |                 |
| D(v 0.1), μm | 0.7 ± 0.01      | 0.7 ± 0.00      | 0.8 ± 0.01      | 0.8 ± 0.03      |
| D(v 0.5), μm | 1.7 ± 0.04      | 1.8 ± 0.02      | 1.8 ± 0.03      | 1.8 ± 0.05      |
| D(v 0.9), μm | 3.4 ± 0.06      | 3.6 ± 0.03      | 3.6 ± 0.07      | 3.5 ± 0.08      |
| 形态           | 塌陷的球体           | 塌陷的球体           | 塌陷的球体           | 塌陷的球体           |
| 含水量, Wt. %   | 0.29 ± 0.01     | 1.65 ± 0.07     | 2.18 ± 0.02     | 0.39 ± 0.03     |
| 残留溶剂Wt. %    | 0.09            | 0.43            | 0.21            | 0.07            |
| 物理状态         | 结晶亮氨酸<br>结晶甘露糖醇 | 结晶亮氨酸<br>无定形海藻糖 | 结晶亮氨酸<br>无定形海藻糖 | 结晶亮氨酸<br>结晶甘露糖醇 |
| 水分吸附         | 50% RH下的事件      | 60% RH下的事件      | 60% RH下的事件      | 过程中             |
| 热<br>特性      |                 |                 |                 |                 |
| Tg, °C       | 未检测到            | 83              | 83              | 未检测到            |
| Tm, °C       | 64, 164         | 64              | 64              | 64, 162         |

[0388]

## [0389] 3.1. 粒度分布

[0390] 由于这些配制品是针对呼吸系递送,因此目标粒度应小于 $5\mu\text{m}$ 。粒度分布是在具有 Scirocco 2000 干粉分散单元的 Malvern Mastersizer 2000 上通过激光衍射测量的。为了方法开发,对所有样品进行了初始压力滴定筛选 ( $n=1$ ),并且观察到在使用的三种分散气压 (2.5、3.0 和 3.5 bar) 之间结果几乎相同 (图 25)。基于该初始筛选,在 3.0 bar 的分散气压下测量了另外的 2 次重复实验 ( $n=2$ )。结果取平均值,且将分布示于图 26 和表 27。对于这些测量,使用 Fraunhofer 近似模型。使用小样品盘,其中进料速率为 65%,背景测量时间为 10 秒,并且样品测量时间为 30 秒。启用遮蔽过滤以捕获在 1% 至 6% 之间的数据。

| 配制品 | D(v 0.1) $\mu\text{m}$ | D(v 0.5) $\mu\text{m}$ | D(v 0.9) $\mu\text{m}$ | 跨度    |
|-----|------------------------|------------------------|------------------------|-------|
| A   | $0.7 \pm 0.01$         | $1.7 \pm 0.04$         | $3.4 \pm 0.06$         | 1.594 |
| B   | $0.7 \pm 0.00$         | $1.8 \pm 0.02$         | $3.6 \pm 0.03$         | 1.559 |
| C   | $0.8 \pm 0.01$         | $1.8 \pm 0.03$         | $3.6 \pm 0.07$         | 1.538 |
| D   | $0.8 \pm 0.03$         | $1.8 \pm 0.05$         | $3.5 \pm 0.08$         | 1.524 |

## [0392] 3.2. 颗粒形态

[0393] 四种配制品中的每一种都使用 Hitachi SU3500 扫描电子显微镜在 500、1500 和 5000 放大倍数下成像。在 5000 放大倍数下拍摄的图像示于图 27 (配制品 A)、图 28 (配制品 B)、图 29 (配制品 C) 和图 30 (配制品 D)。所有配制品都含有直径约  $3\mu\text{m}$  或更小的完整和塌陷的球形颗粒,这与激光衍射结果一致。配制品 C 显现为最多褶皱,而配制品 A 显现为最“光滑”。表面粗糙度可以改善气溶胶性能。对于所有配制品,均未观察到明显的结晶表面形成或颗粒融合。

## [0394] 3.3. 含水量

[0395] 由于配制品是从包含水的溶剂混合物进行喷雾干燥的,因此使用 Metrohm 8740ven Sample Processor 分析样品的含水量。在测试样品之前,首先测试三个空白和三个水标准品以确定系统适用性。对于每种配制品,从  $50^\circ\text{C}$  的起始温度以  $2.5^\circ\text{C}/\text{min}$  的加热速率将二十毫克样品 ( $n=3$  个重复实验) 加热至  $140^\circ\text{C}$ 。如表 28 所示,按质量计,所有配制品的含水量均低于 3%。含有海藻糖的配制品 (B 和 C) 比用甘露糖醇配制的那些 (A 和 D) 展现出更高的含水量。含有较高亮氨酸含量的配制品 (C 和 D) 也展现出较高的含水量。

| 配制品 | 含水量 (wt.%)      |
|-----|-----------------|
| A   | $0.29 \pm 0.01$ |
| B   | $1.65 \pm 0.07$ |
| C   | $2.18 \pm 0.02$ |
| D   | $0.39 \pm 0.03$ |

## [0397] 3.4. 残留溶剂

[0398] 由于喷雾溶剂中的其他组分是 1-丙醇,因此在 Agilent 7890 气相色谱系统上使用顶空法测定 1-丙醇的残留量。所有样品具有按质量计小于 0.5% 的 1-丙醇 (表 29),并且含有更多亮氨酸的配制品 (C 和 D) 具有更低的残留 1-丙醇,含有甘露糖醇的配制品 (A 和 D) 也是如此。

表29.残留溶剂

| 配制品      | 1-丙醇含量(wt.%) |      |
|----------|--------------|------|
|          | Wt%          | PPM  |
| [0399] A | 0.09         | 900  |
| B        | 0.43         | 4300 |
| C        | 0.21         | 2100 |
| D        | 0.07         | 700  |

## [0400] 3.5. 粉末X射线衍射

[0401] 使用Rigaku MiniFlex 600粉末X射线衍射仪评估样品结晶度。在0.2mm零背景支架(ZBH)圆盘上制备样品并将其在仪器上从3至40 2 $\theta$ 运行。配制品A和D展现出结晶甘露糖醇(可能是多晶型混合物)和亮氨酸,而配制品B和C展现出结晶亮氨酸和无定形海藻糖。

[0402] 与喷雾干燥的配制品相比,组分作为纯材料可以展现出不同的衍射强度。含有甘露糖醇的配制品显现出具有相似的衍射图。含有海藻糖的配制品似乎也显现出具有相似的无定形衍射图。

## [0403] 3.6. 差示扫描量热法(DSC)

[0404] 热转变可以用于预测配制品的稳定性。在TA Instruments Q2000差示扫描量热仪上扫描四种配制品。使样品在干燥环境(<5%RH)中平衡过夜,之后将其不透气密封并在仪器上运行。调节设定为 $\pm 1.5^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ,且从0到180 $^{\circ}\text{C}$ 升温速率为2.5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 。所有样品均在64 $^{\circ}\text{C}$ 下观察到热事件,并且该事件可能与曲前列素棕榈酸酯或DSPE-PEG2000的溶解有关。

[0405] 没有观察到样品的结晶事件,即热稳定性的阳性指示。未检测到基于甘露糖醇的配制品(A和D)的玻璃化转变,这支持了结晶材料的粉末X射线衍射(PXRD)结果。配制品A和D在164 $^{\circ}\text{C}$ 下溶解,这与甘露糖醇的溶解温度一致。配制品B和C在83 $^{\circ}\text{C}$ 下展现出玻璃化转变,这可能是由于无定形海藻糖。配制品B还在133 $^{\circ}\text{C}$ 和158 $^{\circ}\text{C}$ 下具有其他样品未观察到的热事件。

## [0406] 3.7. 热重分析(TGA)

[0407] 使用TA Instruments Discovery热重分析仪测量配制品的热分解数据。使样品以2.5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速率从0 $^{\circ}\text{C}$ 到300 $^{\circ}\text{C}$ 运行。配制品在180 $^{\circ}\text{C}$ 后开始迅速分解。在约100 $^{\circ}\text{C}$ 下观察到重量变化,这与水含量相对应。

## [0408] 3.8. 动态气相吸附

[0409] 在Surface Measurement Systems DVS Advantage 1上测量吸附和解吸谱。使样品在25 $^{\circ}\text{C}$ 下从0到90%RH运行,且步长变化为10%RH。所有四种配制品都显现出在约50%或60%RH下开始具有重量变化事件,这取决于配制品。对样品进行第二次循环以评估结晶后的吸水率。在第二个循环中没有观察到任何样品发生变化,并且大多数样品在最后的解吸步骤中没有保留水。

[0410] 与配制品A的结果相比,配制品D的吸附结果表明在较高湿度(约70%RH)下发生变化。在约50%RH下观察到配制品D的质量略有损失,相比之下,配制品A即使从较高湿度吸附额外的水分似乎也持续损失质量。

[0411] 海藻糖配制品的吸收率表明,在40%的相对湿度下,大约需要50至90分钟(取决于亮氨酸含量的水平)达到水分平衡。较低亮氨酸含量比较高亮氨酸含量吸收水分更快。

## [0412] 3.9. 通过依据NGI的空气动力学粒度分布(APSD)评估配制品A、C和D的气溶胶性能

[0413] 曲前列素棕榈酸酯干粉配制品A、C和D的胶囊在25℃或40℃下储存1-3个月。封装的干粉外观没有变化,例如没有褐变或明显的生长或硬度变化。通过激光衍射测量的干粉配制品的粒度分布(PSD)在25℃或40℃下储存3个月后未受影响。

[0414] 将曲前列素棕榈酸酯干粉配制品A、C、D封装,并在40℃下储存1个月、2个月或3个月,或在25℃下储存3个月。通过NGI测量来自储存的胶囊的配制品的细颗粒剂量(FPD)以及配制品的初始(T=0)FPD。曲前列素棕榈酸酯干粉配制品A、C和D也在40℃或25℃下散装储存3个月,然后填充至胶囊中并在同一日给药用于FPD测定。配制品A、C和D的FPD结果分别示于图31、图32和图33。这些数据表明配制品D在25℃下在胶囊中储存3个月后FPD的变化最小(-3.7%)。另外,当在25℃下散装储存3个月并且填充至胶囊中并在同一日给药时配制品D具有-5.2%的FPD变化。此外,对于配制品A、C和D中的每一种,在40℃下储存显现出无法预测在25℃下长期储存时如通过FPD所衡量的气溶胶性能。基于这些数据,无需调理或预处理粉末或胶囊来改变气溶胶性能。

[0415] 还测定了上述胶囊中配制品A、C和D的排出剂量和总回收率,并将结果示于表30。

[0416]

| 配制品 | 条件                       | 排出剂量% | 总回收率% |
|-----|--------------------------|-------|-------|
| A   | T=0M (n=3)               | 73.9  | 92.1  |
|     | T=1M/40°C (n=3)          | 64.2  | 81.8  |
|     | T=2M/40°C (n=3)          | 64.6  | 83.0  |
|     | T=3M/40°C (n=3)          | 66.0  | 85.8  |
|     | T=3M/25°C (n=3)          | 66.6  | 85.4  |
|     | 同一日填充<br>T=3M/40°C (n=3) | 81.7  | 97.8  |
|     | 同一日填充<br>T=3M/25°C (n=3) | 79.0  | 93.6  |
| C   | T=0M (n=3)               | 65.7  | 96.3  |
|     | T=1M/40°C (n=3)          | 56.5  | 94.2  |
|     | T=2M/40°C (n=3)          | 46.8  | 91.4  |
|     | T=3M/40°C (n=3)          | 45.8  | 103.7 |
|     | T=3M/25°C (n=3)          | 52.1  | 93.9  |
|     | 同一日填充<br>T=3M/40°C (n=3) | 80.0  | 99.5  |
| D   | 同一日填充<br>T=3M/25°C (n=3) | 77.9  | 98.3  |
|     | T=0M (n=3)               | 81.8  | 98.0  |
|     | T=1M/40°C (n=3)          | 75.0  | 94.1  |
|     | T=2M/40°C (n=3)          | 72.8  | 92.9  |
|     | T=3M/40°C (n=3)          | 74.6  | 92.4  |
|     | T=3M/25°C (n=3)          | 80.4  | 98.4  |
|     | 同一日填充<br>T=3M/40°C (n=3) | 88.3  | 106.0 |
|     | 同一日填充<br>T=3M/25°C (n=3) | 79.9  | 96.6  |

[0417]

[0418] 上述数据表明,配制品D在25℃下在胶囊中储存3个月以及在25℃下散装储存3个月然后填充至胶囊中并在同一天给药后显示出排出剂量的最小变化。总之,基于气溶胶性能的变化,配制品D显现出在25℃下稳定至少3个月。另外,最新的稳定性数据支持当在2

℃-8℃下储存时保质期6个月。

[0419] 实施例3-测定基于海藻糖的曲前列素棕榈酸酯干粉配制品在加速储存条件下的气溶胶性能以及在大鼠中吸入干粉配制品后的肺药代动力学谱

[0420] 如实施例1中所述使用Buchi B-290系统通过喷雾干燥产生由曲前列素棕榈酸酯、DSPE-PEG2000、海藻糖 (Treh) 和亮氨酸 (Leu) 以1:0.5:70:30的重量比率构成的基于海藻糖的曲前列素棕榈酸酯干粉。将干粉在40℃和未控制的环境湿度下储存在密封的玻璃小瓶中以进行加速稳定性研究。在储存1.5、2.5和3.5个月后测量粉末的气溶胶性能。

[0421] 方法和材料

[0422] 1. 动态气相吸附 (DVS) 研究

[0423] 使用动态气相吸附 (DVS) 自动化重力吸附系统 (DVS Intrinsic1 Plus, Surface Measurement System, 宾夕法尼亚州, 美国) 获得水分吸收曲线。装载约20mg粉末, 并在25℃下进行吸附/解吸等温线循环 (从0%相对湿度 (RH) 至90%RH再到0%RH, 以10%RH为增量)。测定粉末质量随RH的变化 (%) 并绘图。

[0424] 2. DPI装置和空气动力学粒度分布 (APSD) 测试

[0425] 本研究中使用了RS01 Mod.7DPI装置 (高电阻, 代码239700002AA, Plastiap, 意大利)。使用下一代撞击器 (NGI) 以60L/min测量基于海藻糖的曲前列素棕榈酸酯干粉的质量中值空气动力学直径 (MMAD)。

[0426] 将约15mg的曲前列素棕榈酸酯干粉装载至3号尺寸的HPMC胶囊 (Qualicaps, Inc.) 中。将该胶囊装载至DPI装置中并驱动以表征气溶胶粒度分布 (APSD)。通过高效液相色谱 (HPLC) 分析沉积在每个撞击器阶段和过滤器上的药物量。

[0427] 3. 鼻式 (Nose-Only) 吸入

[0428] 使用干粉分散器 (Vilnius气溶胶发生器 (VAG), CH Technologies, 美国) 通过12端口鼻式吸入室递送曲前列素棕榈酸酯干粉。将约1g干粉装载至VAG中。VAG在1.0V下以8L/min的流速持续共20分钟。干粉递送系统更详细地描述于Li等人, "Inhaled INS1009 Demonstrates Localized Pulmonary Vasodilation," European Respiratory Society (ERS) International Congress, 2016年9月3-7日, London, United Kingdom, Abstract No: 853952 (poster PA2845), 将其内容通过引用以其整体并入本文。

[0429] 4. PK样品收集和分析

[0430] 在递送后立即 (约0.5h)、给药后6、12和24h收获大鼠肺组织。通过LC-MS/MS分析肺组织样品的曲前列素棕榈酸酯和曲前列素 (TRE)。结果以“曲前列素棕榈酸酯等同物”表示, 以将死后曲前列素棕榈酸酯的水解考虑在内。

[0431] 曲前列素棕榈酸酯等同物, ng/g = [曲前列素棕榈酸酯, ng/g] + [TRE, ng/g] \* (MM曲前列素棕榈酸酯/MM TRE)

[0432] MM: 摩尔质量

[0433] 结果

[0434] 1. 动态气相吸附 (DVS)

[0435] 曲前列素棕榈酸酯干粉配制品的动态气相吸附 (DVS) 示于图34。当干粉暴露于增加至50%的RH时, 吸收的水分从0%增加至多于8%, 并且与解吸是不完全可逆的, 保持在5.5%或更高。为了使水分含量等于或低于约4%, 在制造过程中该粉末的RH暴露可以控制

为<30%。

[0436] 2. 空气动力学粒度分布 (APSD)

[0437] 通过RS01 Mod.7DPI (高电阻)以60L/min获得的曲前列素棕榈酸酯储存1.5个月(T=1.5M)、2.5个月(T=2.5M)和3.5个月(T=3.5M)的APSD数据以及初始APSD(T=0)示于图35和表31。来自所有四个时间点的分布是可比较的。

[0438]

| 曲前列素棕榈酸酯沉积, 排出剂量的% | 时间点  |       |       |       |
|--------------------|------|-------|-------|-------|
|                    | 0 M  | 1.5 M | 2.5 M | 3.5 M |
| NGI阶段              |      |       |       |       |
| 进气管路 + 预分离器        | 31.8 | 32.2  | 32.3  | 35    |
| 阶段1                | 3.2  | 2.1   | 3.3   | 2.4   |
| 阶段2                | 13.5 | 10.1  | 13    | 11.8  |
| 阶段3                | 11   | 11.3  | 11.6  | 11.3  |
| 阶段4                | 8.6  | 10.7  | 8.5   | 9.6   |
| 阶段5                | 6.8  | 7.1   | 7     | 7.4   |
| 阶段6                | 5.6  | 6.9   | 6     | 5.3   |
| 阶段7                | 4.7  | 6.4   | 5.2   | 4.5   |
| MOC                | 3.8  | 3.9   | 3.9   | 3.7   |
| 过滤器                | 11   | 9.4   | 9     | 8.9   |

[0439] 在40°C和未控制的环境湿度下储存长达3.5个月后,雾化干粉的细颗粒分数(FPF)、MMAD和几何标准偏差(GSD)值总结在表32中。FPF值在54.6%至58.7%范围内。MMAD值在1.25 $\mu$ m至1.44 $\mu$ m范围内。GSD值在3.5至4.1范围内。

[0440]

|                 | 初始 (T=0) | 1.5个月 | 2.5个月 | 3.5个月 |
|-----------------|----------|-------|-------|-------|
| FPF (%)         | 55.9     | 58.7  | 55.5  | 54.6  |
| MMAD ( $\mu$ m) | 1.37     | 1.25  | 1.44  | 1.39  |
| GSD             | 4.11     | 3.51  | 3.92  | 3.64  |

[0441] 3. 大鼠肺PK结果

[0442] 吸入气雾化INS1009或雾化曲前列素棕榈酸酯干粉后在肺中的曲前列素棕榈酸酯等同物(曲前列素棕榈酸酯加曲前列素)的浓度总结在表33和图36中。气雾化INS1009含有悬浮在PBS中的摩尔比率为45:45:10的曲前列素棕榈酸酯以及赋形剂角鲨烷和DSPE-PEG2000(参见Corboz等人,“Preclinical Pharmacology and Pharmacokinetics of Inhaled Hexadecyl-Treprostinil (C16TR), a Pulmonary Vasodilator Prodrug,” J Pharmacol Exp Ther. 363:348-357 (2017),将其内容通过引用以其整体并入本文)。气雾化INS1009以及C16TR(曲前列素棕榈酸酯)干粉在大鼠吸入后具有相似的肺PK谱。这两种谱的统计比较总结在表34中,其显示出两种谱的可比较的斜率。

[0443]

| 时间 (h) | 气雾化INS1009 |       |      | 基于海藻糖的曲前列素棕榈酸酯干粉 |       |      |
|--------|------------|-------|------|------------------|-------|------|
|        | 平均值 (ng/g) | SEM   | 大鼠数量 | 平均值 (ng/g)       | SEM   | 大鼠数量 |
| 0.5    | 3888.5     | 220.1 | 3    | 3330.7           | 253.6 | 6    |
| 6      | 1389.6     | 108.8 | 2    | 1582.3           | 186.6 | 4    |
| 12     | 690.3      | 95.5  | 3    | 729.1            | 68.8  | 6    |
| 24     | 141.7      | 22.3  | 3    | 205.0            | 41.0  | 6    |

\*SEM: 平均值的标准误差

[0444]

| 方程式: $y = a + b \cdot x$ |                |                  |
|--------------------------|----------------|------------------|
| 配制品                      | 气雾化INS1009     | 基于海藻糖的曲前列素棕榈酸酯干粉 |
| 斜率                       | -0.064 ± 0.006 | -0.055 ± 0.003   |
| 皮尔逊r                     | -0.99          | -1.00            |

[0445] 总之,该研究表明,在密封小瓶中40℃且未控制的RH下储存长达3.5个月,基于海藻糖的曲前列素棕榈酸酯干粉配制品的气溶胶粒度分布可再现,并且曲前列素棕榈酸酯干粉配制品的肺PK谱与气雾化INS1009是可比较的。

[0446] 实施例4-基于甘露糖醇和海藻糖的曲前列素棕榈酸酯干粉配制品在大鼠中的药代动力学评价

[0447] 在本研究中,评价了以甘露糖醇(即如实施例2中所述的配制品D)或海藻糖(即如实施例2中所述的配制品C)作为其主要赋形剂的两种不同的曲前列素棕榈酸酯干粉配制品的肺和血浆药代动力学(PK)。以重量比率、基于重量比率计算的目标重量百分比以及来自每种配制品的典型批次的组分的实际重量百分比表示的配制品D和C的组成分别总结在表35A和表35B中。

[0448]

| 组成<br>曲前列素棕榈酸酯<br>/DSPE-PEG2000/甘露糖醇/亮氨酸<br>wt比率 | 组成Wt%    |              |       |       |     |
|--|----------|--------------|-------|-------|-----|
|  | 曲前列素棕榈酸酯 | DSPE-PEG2000 | 甘露糖醇  | 亮氨酸   | 总计  |
| 1.5/0.75/70/30                                   | 目标       |              |       |       |     |
|  | 1.47     | 0.73         | 68.46 | 29.34 | 100 |
|  | 实际*      |              |       |       |     |
|  | 1.50     | 0.75         | 68.45 | 29.30 | 100 |

\*所示的实际wt%值是曲前列素棕榈酸酯干粉配制品D中组分的典型wt%值。观察到各批次的配制品D具有相同的特性和性能,所述各批次的配制品D的每个组分的wt%以如表所示的典型wt%的±5%独立变化或在如表所示的典型wt%的±5%内独立变化。

**表35B.以重量比率、目标重量百分比以及来自典型批次的组分的实际重量百分比表示的配制品C的组成**

| 组成<br>曲前列素棕榈酸酯<br>/DSPE-PEG2000/海藻糖/亮氨酸<br>wt比率 | 组成Wt%    |              |       |       |     |
|---|----------|--------------|-------|-------|-----|
|   | 曲前列素棕榈酸酯 | DSPE-PEG2000 | 海藻糖   | 亮氨酸   | 总计  |
| 1.5/0.75/70/30                                  | 目标       |              |       |       |     |
|   | 1.47     | 0.73         | 68.46 | 29.34 | 100 |
|   | 实际**     |              |       |       |     |
|   | 1.50     | 0.75         | 67.59 | 30.16 | 100 |

\*\*所示的实际wt%值是曲前列素棕榈酸酯干粉配制品C中组分的典型wt%值。观察到各批次的配制品C具有相同的特性和性能，所述各批次的配制品C的每个组分的wt%以如表所示的典型wt%的±5%独立变化或在如表所示的典型wt%的±5%内独立变化。

## [0450] 方法

[0451] 雄性Sprague Dawley大鼠 (300-400g) 暴露于使用12端口鼻式吸入室和Vilinius气溶胶发生器 (VAG) 所得的干粉配制品D或配制品C的气溶胶。大鼠被放置在衔接至室中的鼻式端口的约束管中。在使用配制品D和配制品C的两项独立研究中, 每项研究中使用9只大鼠, 并且1个端口用于在过滤器上收集气溶胶药物。还使用配制品D进行简化研究, 其中使用了6只大鼠, 并且1个端口用于收集沉积在过滤器上的药物量。

[0452] 对于药物暴露, 将一克材料放入VAG中。VAG的输出设置为1伏 (V), 并且药物以8L/min的偏流分散并递送至鼻式室中。空气进入鼻式室的底部并从顶部离开。暴露的持续时间设定为20min。真空源 (0.5L/min) 衔接至过滤器, 并且药物采样时间设置为5min。通过HPLC和带电气溶胶检测器 (CAD) 测量沉积在过滤器上的曲前列素棕榈酸酯的量。递送的药物剂量由吸入的药物浓度 (来自过滤器数据)、暴露的持续时间、每分钟呼吸体积和体重以及用于递送在鼻子的药物的沉积分数1.0和用于递送至肺的药物的沉积分数0.1来计算。剂量以每kg体重表示。

[0453] 在使用配制品D和配制品C的两项初步研究中, 在药物暴露后0.5、2、4、6、12和24小时的时间收集血样。将血样离心以提取血浆。在这些研究中, 在药物暴露后0.5、6、12和24小时的时间收集喉、气管、隆突+支气管和肺的呼吸组织。在使用配制品D的简化研究中, 在药物暴露后0.5、2、4、12和24小时的时间获得血样, 并在药物暴露后0.5和24小时的时间收获呼吸组织。通过LC-MS/MS测量血浆中的曲前列素 (TRE) 和呼吸组织中的曲前列素棕榈酸酯和TRE的浓度。对于所有呼吸组织, 曲前列素棕榈酸酯 (C16TR) 等同物 (C16TR<sub>eq</sub>) 浓度由曲前列素棕榈酸酯和TRE浓度推导出 (C16TR<sub>eq</sub> = 曲前列素棕榈酸酯 + [TRE × 615/390.5ng/g]), 其中615和390.5分别是曲前列素棕榈酸酯和TRE的分子量。使用肺曲前列素棕榈酸酯等同物和血浆TRE数据利用Microsoft Excel中的PK Solver程序推导以下PK参数: λ<sub>z</sub> (最终消除速率常数)、T<sub>1/2</sub>、T<sub>max</sub>、C<sub>max</sub> 和AUC<sub>0-inf</sub>。

## [0454] 结果

[0455] 将大鼠暴露于配制品D和配制品C导致在配制品D的情况下略高的总递送剂量78μg/kg体重, 相比之下在配制品C的情况下总递送剂量为58μg/kg体重。在暴露后0.5小时测量的在配制品D的情况下在肺中的曲前列素棕榈酸酯等同物浓度也略高并且平均值为3072ng/g, 相比之下, 在配制品C的情况下为1711ng/g。

[0456] 1.肺和上气道曲前列素棕榈酸酯、TRE和曲前列素棕榈酸酯等同物

[0457] 在配制品D和配制品C两种情况下,曲前列素棕榈酸酯、TRE和曲前列素棕榈酸酯等同物在肺中的最高浓度均出现在暴露后0.5小时。存在曲前列素棕榈酸酯和TRE经24小时的缓慢单指数下降,其中在配制品D的情况下曲前列素棕榈酸酯和TRE二者的浓度在所有时间点始终较高。对于曲前列素棕榈酸酯等同物(C16TReq)的这些结果示于图37,其显示了肺曲前列素棕榈酸酯等同物浓度经24小时的缓慢下降,其中与配制品C相比,在配制品D的情况下曲前列素棕榈酸酯等同物浓度始终较高。图38显示了吸入配制品D或配制品C之后在肺中的曲前列素棕榈酸酯(C16TR)浓度。图39显示了在吸入配制品D或配制品C之后在肺中的TRE浓度。

[0458] 对肺曲前列素棕榈酸酯等同物的推导出的PK参数进行比较发现, $\lambda_z$ 、 $T_{1/2}$ 和 $T_{max}$ 在配制品D与C之间没有大的差异,但在配制品D的情况下具有79%更高的肺曲前列素棕榈酸酯等同物 $C_{max}$ 以及130%更高的 $AUC_{0-24h}$ (表36)。

[0459]

| 化合物  | $\lambda_z$ | $T_{1/2}$ | $T_{max}$ | $C_{max}$ | $AUC_{0-24h}$                | $AUC_{0-inf\ obs}$           |
|------|-------------|-----------|-----------|-----------|------------------------------|------------------------------|
|      | 1/h         | h         | h         | ng/g      | $\mu\text{g/g}\cdot\text{h}$ | $\mu\text{g/g}\cdot\text{h}$ |
| 配制品D | 0.139       | 4.98      | 0.5       | 3072      | 31.493                       | 32.330                       |
| 配制品C | 0.130       | 5.35      | 0.5       | 1711      | 13.674                       | 14.331                       |

缩写: $\lambda_z$ , 最终消除速率常数; $T_{1/2}$ , 半衰期; $T_{max}$ , 最大浓度的时间; $C_{max}$ , 最大浓度; $AUC_{0-24h}$ , 在时间零点与24小时之间的浓度曲线下面积; $AUC_{0-inf\ obs}$ , 外推至无穷大时浓度曲线下面积。

[0460] 对于曲前列素棕榈酸酯在喉、气管、隆突+支气管和肺中的沉积,大多数曲前列素棕榈酸酯(>97%)沉积在肺中。这在配制品D和配制品C两种情况下均观察到。本研究未收集鼻组织。

[0461] 2.血浆TRE

[0462] 在0.5小时观察到血浆中TRE的最高浓度,其在配制品D的情况下经24小时缓慢下降,并且在配制品C的情况下更快地下降。在配制品C的情况下到24小时的时候血浆TRE浓度低于检测水平(图40)。

[0463] 对血浆TRE的推导出的PK参数进行比较发现,与配制品C相比,在配制品D的情况下具有34%更低的 $\lambda_z$ 和51%更高的 $T_{1/2}$ (表37)。与配制品C相比,在配制品D的情况下血浆TRE  $C_{max}$ 高10%且 $AUC_{0-t}$ 高51%(表37)。

[0464]

| 化合物  | $\lambda_z$ | $T_{1/2}$ | $T_{max}$ | $C_{max}$ | $AUC_{0-24h}$               | $AUC_{0-inf\ obs}$          |
|------|-------------|-----------|-----------|-----------|-----------------------------|-----------------------------|
|      | 1/h         | h         | h         | ng/mL     | $\text{ng/mL}\cdot\text{h}$ | $\text{ng/mL}\cdot\text{h}$ |
| 配制品D | 0.174       | 3.980     | 0.5       | 0.748     | 4.846                       | 4.922                       |
| 配制品C | 0.261       | 2.652     | 0.5       | 0.682     | 3.223                       | 3.366                       |

缩写: $\lambda_z$ , 最终消除速率常数; $T_{1/2}$ , 半衰期; $T_{max}$ , 最大浓度的时间; $C_{max}$ , 最大浓度; $AUC_{0-24h}$ , 在时间零点与24小时之间的浓度曲线下面积; $AUC_{0-inf\ obs}$ , 外推至无穷大时浓度曲线下面积。

[0465] 总之,与吸入曲前列素相比,吸入曲前列素棕榈酸酯干粉配制品D和C导致低曲前列素血浆 $C_{max}$ 值以及在血浆和肺中曲前列素的持续水平。对在相似条件(即1V的VAG输出持续20min)下递送的配制品D与配制品C之间在大鼠中的PK谱进行比较导致在配制品的情况下高34%的递送剂量,即78 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,相比之下,在配制品C的情况下为58 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。在配制品D的

情况下在肺中的曲前列素棕榈酸酯、TRE和曲前列素棕榈酸酯等同物的浓度始终较高,这可能是由于在配制品D的情况下递送剂量较高导致的,但两种配制品均显示出经24小时的缓慢单指数下降。对在配制品D的情况下较高的血浆TRE浓度观察到类似的趋势,并且在两种配制品的情况下均具有经24小时的缓慢下降。大多数TRE和曲前列素棕榈酸酯暴露发生在肺中,其中不到3%沉积在喉、气管、隆突+支气管的上呼吸道区域。

[0466] 配制品D和配制品C的这些结果表明PK谱类似于先前对气雾化INS1009观察到的PK谱,其显示出到30min时在肺中的曲前列素棕榈酸酯等同物和血浆中的TRE的最高浓度,且具有经24小时的缓慢单指数下降。然而,在曲前列素棕榈酸酯干粉配制品与气雾化INS1009之间显现出肺曲前列素棕榈酸酯等同物:血浆TRE  $C_{max}$ 比率的显著差异。对于气雾化INS1009,典型的肺曲前列素棕榈酸酯等同物:血浆TRE  $C_{max}$ 比率为约800,而对于曲前列素棕榈酸酯干粉配制品,所述比率在约1,600-13,000范围内。参见Corboz等人, *J Pharmacol Exp Ther* 363:1-10 (2017), 将其内容通过引用以其整体并入本文。由于肺血管舒张更多地与肺内TRE的局部活性相关,而与血浆中的TRE水平关联较少(参见Chapman RW等人, *Pulm. Pharmacol. Ther.* 49:104-111 (2018), 将其内容通过引用以其整体并入本文), 因此肺曲前列素棕榈酸酯等同物:血浆TRE  $C_{max}$ 比率的出乎意料的差异表明施用曲前列素棕榈酸酯干粉配制品有益地导致较低的TRE全身暴露,从而最大限度地减少潜在的全身不良事件,如全身血压降低。

[0467] 实施例5-基于甘露糖醇和海藻糖的曲前列素棕榈酸酯干粉配制品在缺氧挑战的遥测大鼠中的功效的评价

[0468] 本实施例描述了两种不同的曲前列素棕榈酸酯干粉配制品的体内功效评价:实施例2和实施例4中描述的基于甘露糖醇的配制品D和基于海藻糖的配制品C(表35A和表35B)。在通过以下方式准备的大鼠中测定功效:用遥测探针植入右心室,以测量对通过暴露于吸入的低氧气体混合物而引起的右心室脉压(RVPP)增加的抑制。

[0469] 方法

[0470] 在如下雄性Sprague Dawley大鼠中进行实验,所述大鼠在右心室和降主动脉中植入了遥测探针,以测量RVPP和平均全身动脉血压(mSAP)。这些心血管参数是在呼吸常氧空气(21% O<sub>2</sub>/其余为N<sub>2</sub>)、接着暴露于低氧空气(10% O<sub>2</sub>/其余为N<sub>2</sub>) 10min并恢复为呼吸常氧空气时测量的。在每个实验中,在药物暴露之前以及在暴露于吸入曲前列素棕榈酸酯干粉配制品D或配制品C后1、6、12和24小时测量由于缺氧挑战引起的RVPP增加(由于缺氧引起的 $\Delta$ RVPP)。用在1伏(V)输出下的Vilinius气溶胶发生器(VAG)给予药物配制品,并将其递送至12端口鼻式吸入室中,持续20min。气溶胶以8L/min的偏流从VAG分散并递送至鼻式吸入室的底部。将过滤器与鼻式端口之一连接并附接至0.5L/min的真空流量,持续5min。通过LC-MS/MS测量沉积在过滤器上的曲前列素棕榈酸酯的量。分析大鼠的血浆和呼吸组织样品中的曲前列素棕榈酸酯和/或TRE的浓度。

[0471] 结果

[0472] 大鼠暴露于吸入缺氧使RVPP比常氧值增加10-13mmHg。在缺氧挑战结束时,RVPP在几分钟内立即减少,并在10分钟内恢复到缺氧前的值。通过比较在药物暴露后的多个时间点直到24小时处因缺氧导致的 $\Delta$ RVPP与在药物暴露之前获得的2-3次测定的组合值来确定药物作用。

[0473] 实验结果示于图41。在图41中,值是平均值±SEM(对于配制品D,n=6-8只大鼠;并且对于配制品C,4只大鼠)。第-1天表示药物暴露之前的基线值,并且第0天表示药物暴露之后的值。 $\Delta$ RVPP表示右心室脉压的增加。“\*”表示与在第-1天药物暴露之前(1、6和12小时)的组合值相比, $P<0.05$ 。结果表明,暴露于配制品D降低了由于缺氧导致的 $\Delta$ RVPP,其中在1、6、12和24小时观察到统计上显著( $P<0.05$ )的抑制。用配制品C获得了类似的结果,其中在1、6、12和24小时观察到统计上显著( $P<0.05$ )的抑制。到用配制品D和配制品C治疗后24小时,RVPP趋向于回到在药物暴露之前观察到的基线值。作为对照,暴露于吸入的甘露糖醇媒介物(含有目标重量百分比为69.48wt%的甘露糖醇、目标重量百分比为29.78wt%的亮氨酸和目标重量百分比为0.74wt%的DSPE-PEG2000)在施用后1、6、12和24小时没有抑制对缺氧的 $\Delta$ RVPP反应(数据未显示)。基于吸入的药物的浓度、暴露的持续时间、体重、每分钟呼吸体积以及沉积分数1.0,配制品D的递送剂量为78 $\mu$ g/kg体重(肺曲前列素棕榈酸酯等同物浓度为3072ng/g),并且配制品C的递送剂量为58 $\mu$ g/kg体重(肺曲前列素棕榈酸酯等同物浓度为1711ng/g)。参见Alexander D.J.等人,Inhal.Toxicol.20:1179-1189(2008),将其内容通过引用以其整体并入本文。

[0474] 总之,在缺氧挑战的遥测大鼠中的功效评价表明,吸入的曲前列素棕榈酸酯干粉配制品C和D在药物暴露后长达24小时抑制RVPP增加。到24小时,对缺氧的RVPP反应趋向于回到在暴露于药物之前观察到的基线值。相比之下,雾化INS1009以实现的76 $\mu$ g/kg递送剂量在长达12小时内抑制缺氧诱导的RVPP增加,且到24小时的时候恢复到基线值。吸入的曲前列素以采用的最高剂量(215 $\mu$ g/kg)在2小时内抑制缺氧诱导的RVPP增加,并且在较低吸入剂量(15、53或110 $\mu$ g/kg)下所述抑制持续1小时。这些结果证明在遥测大鼠中曲前列素棕榈酸酯干粉配制品对缺氧诱导的RVPP增加的延长的抑制。

[0475] 实施例6-基于甘露糖醇和海藻糖的曲前列素棕榈酸酯干粉配制品在豚鼠中对咳嗽和通气的作用的评估

[0476] 本实施例描述了基于甘露糖醇的曲前列素棕榈酸酯干粉配制品D和基于海藻糖的曲前列素棕榈酸酯干粉配制品C(描述于实施例2和实施例4;参见表35A和表35B中的配制品组成)对产生咳嗽、通气变化以及Penh(一种通常在有意识的雄性豚鼠支气管收缩期间看到的改变的呼吸模式的无量纲指数)变化的影响的研究。

[0477] 方法

[0478] 在雄性Hartley豚鼠中进行实验。在3天的适应时间段后,将豚鼠放入全身体积描记器中,以使用已建立的技术测量通气(潮气容积、呼吸频率和每分钟通气量)、Penh和咳嗽。参见Corboz等人,J Pharmacol Exp Ther 363:1-10(2017);Chong BTY等人,J.Pharmacol.Toxicol.Methods 39,163-168(1998);Lomask,Exp.and Toxicol.Pathol.57,13-20(2006),将其每一个通过引用以其整体并入本文。通过显示大量吸气接着大量呼气的体积描记器记录来测量咳嗽,并通过手动观察、视频记录和咳嗽声音进行证实。在暴露于干粉气溶胶之前的15min基线时间段期间测量通气、Penh和咳嗽数据。然后将测试品作为干粉递送15min,接着是在施用气溶胶化合物之后的120min观察时间段,所述测试品包括配制品D、配制品C和它们各自的媒介物,即甘露糖醇媒介物(含有目标重量百分比为69.48wt%的甘露糖醇、目标重量百分比为29.78wt%的亮氨酸和目标重量百分比为0.74wt%的DSPE-PEG2000)和海藻糖媒介物(含有目标重量百分比为69.48wt%的海藻

糖、目标重量百分比为29.78wt%的亮氨酸和目标重量百分比为0.74wt%的DSPE-PEG2000)。用于实验所有步骤的气溶胶递送空气由空气压缩机供应。如所测量的,供应的空气的典型湿度为约30%。在暴露于测试品之前、期间和之后测量通气、Penh和咳嗽。使用Vilnius气溶胶发生器(VAG)产生雾化测试品。通过VAG的空气流速设定为4.5L/min以分散气溶胶,并与1L/min的加湿空气(30%加湿)合并以促进气溶胶递送至体积描记器并最大限度地减少静态粘附问题。因此,空气的总流入量为5.5L/min。来自VAG的发生器输出为1、0.75和0.5伏,其中每种VAG输出持续15min以递送3种不同的药物剂量,且在较高电压下递送较高剂量。在体积描记器底部建立8L/min的真空流量,使得空气和气溶胶在系统顶部进入并在系统底部离开。将单独的0.5L/min真空源与过滤器连接,所述过滤器附接至体积描记器的端口,以对药物(曲前列素棕榈酸酯)浓度进行采样。在整个研究期间保持过滤器采样;即使用135min(15min暴露时间除外)来计算鼻式室中药物的气溶胶浓度以及吸入的总递送药物剂量。分析过滤器样品的曲前列素棕榈酸酯浓度。在研究结束时,对豚鼠实施安乐死,并收集血液(血浆)、肺、气管、喉和隆突+支气管以测量这些样品中的曲前列素棕榈酸酯和TRE浓度。

#### [0479] 结果

[0480] 配制品D、配制品C或甘露糖醇和海藻糖媒介物的暴露具有良好的耐受性并且没有导致任何死亡率。

[0481] 在1V下产生并施用15min雾化配制品D(吸入总递送剂量=35.8 $\mu$ g/kg体重)在6只豚鼠中的4只中产生咳嗽。对于此次暴露的平均咳嗽次数为24 $\pm$ 12次。设定为0.75伏并施用15min(吸入总递送剂量=12.8 $\mu$ g/kg体重)在4只豚鼠中的3只中观察到咳嗽,且平均咳嗽计数为19 $\pm$ 7次。设定为0.5V并施用15min(吸入总递送剂量=2.3 $\mu$ g/kg体重)在4只豚鼠中的4只中未观察到咳嗽。在1V的设定下产生并施用15min的甘露糖醇媒介物气溶胶在4只豚鼠中的4只中未产生咳嗽(表38)。在配制品D或甘露糖醇媒介物的情况下通气变化不一致,并且与甘露糖醇媒介物相比,在这种药物的情况下观察到的Penh的小幅增加没有达到统计显著性。

[0482] 在1V的设定下产生并施用15min的雾化配制品C(吸入总递送剂量=10.2 $\mu$ g/kg体重)在6只豚鼠中的3只中产生咳嗽且平均咳嗽计数为10 $\pm$ 5次。以0.75V(吸入总递送剂量=4.7 $\mu$ g/kg体重)和0.5V(吸入总递送剂量=1.5 $\mu$ g/kg体重)的设定并施用暴露15min,在任一组中配制品C在4只豚鼠中的4只中未引起咳嗽。在1V的电压下施用15min的海藻糖媒介物在4只豚鼠中的4只中未产生咳嗽(表38)。在配制品C或海藻糖媒介物的情况下通气或Penh的变化不一致。

[0483] 在配制品D和配制品C两种情况下,肺曲前列素棕榈酸酯等同物浓度作为吸入药物剂量的函数而增加,并且与配制品C相比,配制品D在肺中具有约3倍高的曲前列素棕榈酸酯等同物水平(表38)。这两种配制品在喉、气管和隆突+支气管的上气道组织中的药物沉积百分比方面没有差异,因为大多数吸入的药物沉积在肺中(数据未显示)。

[0484] 在这项研究中没有收集鼻组织。

**表38.暴露于配制品D或配制品C或其媒介物的豚鼠的咳嗽、吸入剂量、肺中曲前列素棕榈酸酯等同物浓度和血浆中TRE的汇总数据**

|      | VAG设定 | n | 咳嗽次数 | 递送剂量 (µg/kg)* | 肺曲前列素棕榈酸酯等同物 (ng/g)† | 血浆TRE (ng/mL)† |
|------|-------|---|------|---------------|----------------------|----------------|
| 配制品D | 媒介物   | 4 | 0    | -             | -                    | -              |
|      | 1.0伏  | 6 | 24   | 35.8          | 633                  | 0.0782         |
|      | 0.75伏 | 4 | 19   | 12.8          | 564                  | 0.0330         |
|      | 0.5伏  | 4 | 0    | 2.3           | 86.9                 | 0.0308         |
| 配制品C | 媒介物   | 4 | 0    | -             | -                    | -              |
|      | 1.0伏  | 6 | 10   | 10.2          | 211                  | 0.0398         |
|      | 0.75伏 | 4 | 0    | 4.7           | 115                  | 0.0150         |
|      | 0.5伏  | 4 | 0    | 1.5           | 59.2                 | 0.00150        |

\*递送剂量 (µg/kg) =  $C (\mu\text{g/L}) \times \text{RMV} (\text{L/min}) \times D (\text{min}) \times \text{DF} / \text{BW} (\text{kg})$

† 在暴露于药物后约150 min获得样品。

[0485]

[0486] 该研究结果表明,在两种配制品的情况下均发生咳嗽,并且对于配制品D在12.8µg/kg的吸入阈值剂量下以及对于配制品C在10.2µg/kg下观察到咳嗽。这些各自的剂量分别是在豚鼠中引起咳嗽的吸入TRE阈值剂量(即1.23µg/kg)的10倍和8倍。暴露于配制品D或配制品C后,第一次咳嗽发生在17与35分钟之间,这晚于在气雾化TRE的情况下咳嗽的时间,其在暴露的前10min内发生。

[0487] 在配制品D的情况下肺中曲前列素棕榈酸酯等同物的浓度大约三倍高(表38),并且这两种配制品之间在沉积在喉、气管和隆突加支气管的上气道中的药物百分比方面没有差异,因为大多数药物沉积在肺中(数据未显示)。与配制品C相比,在配制品D的情况下血浆中TRE浓度是两倍至三倍高(表38)。

[0488] 实施例7-曲前列素棕榈酸酯干粉配制品在治疗8周sugen缺氧(SuHx)诱导的肺动脉高压大鼠模型中的作用的评价

[0489] Sugen缺氧(SuHx)诱导的大鼠PAH模型是有充分记载的模型。所述模型复制了临床疾病中看到的许多病理。在本实施例中,评估了曲前列素棕榈酸酯干粉配制品D(描述于实施例2和实施例4;参见表35A中的配制品组成)以及吸入曲前列素(TRE)、静脉内曲前列素(TRE)和口服司来帕格对8周SuHx诱导的大鼠肺动脉高压(PAH)模型,包括肺动脉压(PAP)和其他心血管参数、右心室肥厚、肺和心脏组织病理学以及与PAH相关的生物标记物的影响。

[0490] 研究组、测试品和媒介物及其施用

[0491] 根据体重将体重在200g与250g之间的雄性Sprague Dawley大鼠随机分成研究组,以确保体重范围在各组之间均匀分布。表39总结了研究组和每个研究组接受的治疗。

表39.治疗组分配和治疗信息

| 组编号      | 组描述                       | 治疗剂量          | 给药描述   | 施用途径     | 治疗开始日 | 手术日 | 组大小 n |
|----------|---------------------------|---------------|--|----------|-------|-----|-------|
| 1        | 常氧对照                      | N/A           | N/A  | N/A      | 22    | 56  | 8     |
| 2        | SuHx + 吸入干粉媒介物            | N/A           | 在1.0伏下, 170 mg                               | 吸入 (QD)  | 22    | 56  | 11    |
| 3        | SuHx + 曲前列素棕榈酸酯干粉配制品D 低剂量 | 57 µg/kg      | 在0.5伏下, 90 mg                                | 吸入 (QD)  | 22    | 56  | 11    |
| [0492] 4 | SuHx + 曲前列素棕榈酸酯干粉配制品D 高剂量 | 138 µg/kg     | 在1.0伏下, 170 mg                               | 吸入 (QD)  | 22    | 56  | 11    |
| 5        | SuHx + 雾化媒介物              | N/A           | 6 mL   | 吸入 (QID) | 22    | 56  | 11    |
| 6        | SuHx + 雾化 TRE             | 110 µg/kg     | 6 mL, 0.5 mM                                 | 吸入 (QID) | 22    | 56  | 11    |
| 7        | SuHx + IV媒介物              | N/A           | N/A  | 持续静脉内输注  | 22    | 56  | 11    |
| 8        | SuHx + IV TRE             | 810 ng/kg/min | 8.75 mg/mL (第22日至第39日) 以及 10.7 mg/mL (第40日至第 | 持续静脉内输注  | 22    | 56  | 11    |

表39.治疗组分配和治疗信息

| 组编号      | 组描述          | 治疗剂量     | 给药描述              | 施用途径     | 治疗开始日 | 手术日 | 组大小 n |
|----------|--------------|----------|-------------------|----------|-------|-----|-------|
|          |              |          | 56日)              |          |       |     |       |
| [0493] 9 | SuHx + 口服媒介物 | N/A      | 10 mL/kg          | 口服 (BID) | 22    | 56  | 11    |
| 10       | SuHx + 司来帕格  | 30 mg/kg | 10 mL/kg, 3 mg/mL | 口服 (BID) | 22    | 56  | 11    |

[0494] 1. 第1组-常氧对照组

[0495] 常氧对照组(第1组)接受一次2mL/kg 100%DMSO皮下注射(用于sugen的媒介物)并且不进行治疗。

[0496] 2. 第2组-使用用于曲前列素棕榈酸酯干粉配制品D的媒介物的治疗组

[0497] 用于曲前列素棕榈酸酯干粉配制品D的媒介物具有70wt%甘露糖醇和30wt%亮氨酸的目标组成。将该媒介物治疗组(第2组)中的大鼠称重并放入Vilnius气溶胶发生器(VAG)的杯(装载170mg媒介物)中并在鼻锥室中在1伏下施用,每天一次,直到所有的材料都被雾化。测量雾化的持续时间。与第3组和第4组并行,该组的媒介物治疗进行35天。

[0498] 3. 第3组和第4组-使用曲前列素棕榈酸酯干粉配制品D的治疗组

[0499] 对于第3组和第4组,将曲前列素棕榈酸酯干粉配制品D称重并放入VAG的杯中(使用90mg并且其在0.5伏(V)下产生以供57µg/kg的目标剂量;使用170mg并且其在1V下产生以

供138 $\mu$ g/kg目标剂量)。将干粉配制品每天给予一次,持续35天,并且对于每次施用,VAG保持开启,直到所有材料雾化。测量雾化的持续时间。干粉配制品在4 $^{\circ}$ C $\pm$ 2 $^{\circ}$ C下储存。

[0500] 4. 第5组-使用用于吸入曲前列素 (TRE) 的气雾化媒介物的治疗组

[0501] 用于吸入曲前列素 (TRE) 的气雾化媒介物是磷酸盐缓冲盐水 (PBS)。与第6组并行,该气雾化媒介物治疗组 (第5组) 中的大鼠在鼻锥室中接受气雾化PBS,在12小时的时间段内每天4次,持续35天。

[0502] 5. 第6组-使用气雾化曲前列素 (TRE) 的治疗组

[0503] 气雾化曲前列素 (TRE) 溶液在pH为7.4的PBS中含有0.5mM TRE。溶液在4 $^{\circ}$ C $\pm$ 2 $^{\circ}$ C下储存,并且有效期设定为制备后7天。溶液用于递送110 $\mu$ g/kg TRE的目标剂量,并通过吸入施用至第6组中的大鼠,在12小时的时间段内每天4次,持续35天。

[0504] 6. 第7组-使用用于静脉内曲前列素的媒介物经由连续输注的治疗组

[0505] 用于静脉内曲前列素的媒介物是含有3.0mg/mL间甲酚、5.3mg/mL NaCl和6.3mg/mL柠檬酸钠的pH为6.0-7.2的水溶液。该组 (第7组) 中的大鼠每只都植入了填充有媒介物的渗透泵,并以如下对于第8组指定的输注速率进行连续输注。与第8组并行,第7组的连续媒介物输注持续35天。

[0506] 7. 第8组-使用静脉内曲前列素 (TRE) 经由连续输注的治疗组

[0507] 为第8组的静脉内施用TRE准备了两种溶液。它们仅在TRE的浓度方面不同。具体地,第一溶液是含有8.75mg/mL TRE、3.0mg/mL间甲酚、5.3mg/mL NaCl和6.3mg/mL柠檬酸钠的pH为6.0-7.2的水溶液。第二溶液是含有10.7mg/mL TRE、3.0mg/mL间甲酚、5.3mg/mL NaCl和6.3mg/mL柠檬酸钠的pH为6.0-7.2的水溶液。该组 (第8组) 的每只大鼠使用植入的渗透泵 (ALZET泵) 接受静脉内输注TRE。每个ALZET泵首先填充有2mL的含有8.75mg/mL TRE的第一溶液,这足以实现对于450g大鼠在28天的时间段内 (基于2.5 $\mu$ L/h的输注速率) 的连续输注并达到810ng/kg/min的目标TRE剂量。在输注的第19天 (整个研究的第40天) 更换ALZET泵,并基于大鼠重量增加至约550g而填充2mL的含有10.7mg/mL TRE的第二溶液。第一和第二溶液中TRE浓度的推导如下所示。连续IV TRE输注持续35天。

[0508] 第一溶液中TRE浓度 (8.75mg/mL) 的推导:

[0509] o假定大鼠重量为450g

[0510] o输注的TRE=810ng/kg/min;=364.5ng/min;=21.87 $\mu$ g/h;=524.88 $\mu$ g/天;=18.37mg/35天

[0511] oALZET输注速率=2.5 $\mu$ L/h;=60 $\mu$ L/天;=2100 $\mu$ L/35天;=2.1mL/35天

[0512] oTRE浓度=18.37mg/2.1mL=8.75mg/mL

[0513] 第二溶液中TRE浓度 (10.7mg/mL) 的推导

[0514] o假定大鼠重量为550g

[0515] o输注的TRE=810ng/kg/min;=445.5ng/min;=26.73 $\mu$ g/h;=641.52 $\mu$ g/天;=22.45mg/35天

[0516] oALZET输注速率=2.5 $\mu$ L/h;=60 $\mu$ L/天;=2100 $\mu$ L/35天;=2.1mL/35天

[0517] oTRE浓度=22.45mg/2.1mL=10.7mg/mL

[0518] 8. 第9组-使用用于司来帕格的媒介物经由口服施用的治疗组

[0519] 用于司来帕格的媒介物是含有0.5% (w/v) 甲基纤维素的pH为7.5-8.0的水溶液。

与第10组并行,该组的大鼠通过口服管饲用媒介物给药,一天两次,持续35天。

[0520] 9. 第10组-使用司来帕格经由口服施用的治疗组

[0521] 制备在0.5% (w/v) 甲基纤维素中含有3.0mg/mL司来帕格的pH为7.5的司来帕格溶液。溶液在室温下储存,并且有效期设定为制备后7天。将溶液通过口服管饲施用至该组大鼠(第10组),一天两次,每次施用时体积为10mL/kg,目标剂量为30mg/kg。司来帕格治疗持续35天。

[0522] 研究设计

[0523] 表39概述了研究设计,并且其详情如下。

[0524] 1. PAH的诱导

[0525] 在第21天,根据如上所述的其体重将大鼠随机分成治疗组。

[0526] 在第0天,制备在DMSO中的10mg/mL sugen溶液,并且来自第2组至第10组的大鼠(参见表39)接受sugen(在2mL/kg体积中的20mg/kg)溶液的单次皮下注射并返回它们的笼子。同样在第0天,第1组的大鼠接受一次2mL/kg的100% DMSO皮下注射(用于sugen的媒介物)并返回它们各自的笼子。

[0527] 将第2-10组的大鼠放入笼子中,使用由通风笼系统控制的氮气和环境空气的混合物将受控制的空气调节为接受相当于0.10(10%)的 $FiO_2$ 。它们在这些缺氧条件下保持21天。在缺氧的同时,每周清洁和更换一次笼子,将大鼠暴露于环境氧气水平不到10分钟。它们从第22天到第56天暴露于环境氧气水平。第1组大鼠在暴露于环境氧气(常氧)水平的笼子中保持56天。每天观察大鼠的行为和一般健康状况的任何变化。

[0528] 从第22天至第56天施用使用测试品或媒介物的治疗。随意给予食物和水。每天观察大鼠的行为和一般健康状况。每周获取一次体重。

[0529] 2. 超声心动图

[0530] 在第0天、第21天(治疗前)和手术日(第56天)对所有大鼠进行疾病进展的超声心动图监测。

[0531] 3. 血液和肺PK采样

[0532] 在第23天(刚好在第二次给药前)、第38天(刚好在下一次给药前)和第57天(最后一次给药后24小时)对所有大鼠进行静脉血(0.5mL,用EDTA抗凝)采样。具有ALZET泵的大鼠从隐静脉采集血液,并且所有其他大鼠从颈静脉采集血液。全血经离心以得到血浆,将其在-80°C下冷冻储存以供分析。

[0533] 4. 干粉吸入(第2-4组)

[0534] 在治疗时间段期间,将每只大鼠放入鼻锥约束室中,所述室与12端口鼻式吸入室(CH Technologies)连接。使用VAG递送曲前列素棕榈酸酯干粉配制品D或其媒介物。气流以7L/min的流速引入VAG中,并与鼻式吸入室连接。对于使用较低剂量的曲前列素棕榈酸酯干粉配制品D治疗的第3组,称取90mg曲前列素棕榈酸酯干粉配制品D并将其装载至VAG解聚器中。将VAG设定为0.5V电压,其对应于0.5mg/L粉末浓度(约7 $\mu$ g/L曲前列素棕榈酸酯)。对于使用较高剂量的曲前列素棕榈酸酯干粉配制品D治疗的第4组,称取170mg曲前列素棕榈酸酯干粉配制品D并将其装载至VAG解聚器,并在1V电压下递送,这对应于1.0mg/L粉末浓度(约14.7 $\mu$ g/L曲前列素棕榈酸酯)。粉末气溶胶输出浓度由便携式气溶胶监测器(Casella MicroDust Pro)持续监测。记录准确的递送时间。对留在VAG解聚器内的干粉进行称重以计

算被雾化的测试干粉的实际量。在雾化开始后5min,将与在0.5L/min真空流量下的真空源连接的玻璃纤维过滤器放置在暴露端口之一上,以在过滤器上收集来自腔室的气溶胶,持续5分钟的时间段。所有过滤器样品均在4℃下保持直至分析。

[0535] 来自第2组的大鼠接受在1.0V设置下施用的170mg用于曲前列素棕榈酸酯干粉配制品D的媒介物。

[0536] 在这项研究中,使用了两种不同的吸入塔以及多组VAG和激光器,一种用于干粉媒介物而另一种用于曲前列素棕榈酸酯干粉配制品D。

[0537] 从VAG的解聚器取出剩余的粉末后,用干燥空气吹扫VAG的所有部件。在第3组(低剂量)与第4组(高剂量)给药之间用干燥空气吹扫塔,并在第4组给药后用0.5%十二烷基硫酸钠(SDS)的水溶液、自来水和蒸馏水进行清洗。

[0538] 5. 气雾化吸入(第5组和第6组)

[0539] 使用来自Aerogen的气雾化器和控制器(Aeroneb Pro)施用曲前列素及其媒介物PBS,所述控制器被制造用于递送质量平均气溶胶直径(MMAD)在2.5至4 $\mu$ m之间且流速在0.2-0.4mL/min范围内。在治疗时间段期间,将每只大鼠放入鼻锥约束室中,所述室与12端口鼻式吸入室(CH Technologies)连接。待气雾化的溶液体积为6mL且气流为6L/min,并且曲前列素的浓度为0.5mM。将玻璃纤维过滤器放在暴露端口之一上并与在0.5L/min真空流量下的真空源连接,持续5分钟的时间段,即在气雾化开始后5min开始到10min结束。

[0540] 使用两个吸入塔和两组单独的鼻锥;一种用于接受PBS的第5组而一组用于接受TRE的第6组。

[0541] 通过以下方式进行气雾化器的清洁:使0.5%SDS的水溶液、自来水和蒸馏水顺序地流动通过气雾化器,并在每次使用之间将PBS气雾化以从药物杯洗出任何残留药物并通过孔板。气雾化塔管和在气雾化过程中使用的其他材料也用上述药剂进行清洁,每天一次。另外,在每次腔室给药后用上述药剂清洁雾化塔管和雾化过程中使用的其他材料。

[0542] 6. IV连续输注(第7组和第8组)

[0543] 将来自第8组的大鼠用异氟烷2%和医疗级空气麻醉。在每只大鼠的背部制造切口以放置填充有含8.75mg/mL TRE的第一溶液的ALZET泵。将导管植入颈静脉中并与ALZET泵连接。对于在35天的时间内连续输注,在输注的第19天,导管暂时夹紧,并且将ALZET泵更换为填充有含10.7mg/mL TRE的第二溶液的新泵。向来自第7组的每只大鼠植入填充了媒介物的ALZET泵。

[0544] 7. 口服施用(第9组和第10组)

[0545] 来自第10组的大鼠从第22天至第56天(35天)通过口服管饲接受参考化合物司来帕格,一天两次。进行照护以通过连续搅拌维持均匀的司来帕格悬浮液,同时将剂量引入管饲注射器中,一次填充一个管饲注射器并在填充下一个注射器之前施用该剂量。以口服管饲的方式通过每次施用10mL/kg体重给予剂量。来自第9组的大鼠从第22天至第56天(35天)通过口服管饲用媒介物给药,一天两次。

[0546] 在功效研究大鼠中的血流动力学和功能参数的外科仪表化和测量

[0547] 1. 在选择的手术日,在最后一次给药后24小时,将大鼠用2%-2.5%异氟醚USP(Abbot Laboratories)在氧气中的混合物进行麻醉,并放在加热垫上以维持体温。

[0548] 2. 将大鼠的气管切开并立即通过设定在 $\approx$ 10ml/kg体重下且频率为90次/min的正

压啮齿动物呼吸器进行通气。

[0549] 3. 将与压力传感器连接的插管插入左股动脉中以测量全身动脉血压 (SAP)。

[0550] 4. 将心脏通过胸骨切开术暴露, 并且将在Insyte中的20GA 1.16引入右心室中并迅速钩住与变换器连接的盐水填充的PE-50导管。

[0551] 5. 在右心室压力记录几秒钟后, Insyte进一步前进至肺动脉中, 以允许PAP再记录60秒。

[0552] 6. 血液动力学参数在手术的持续时间内连续记录或直到PAP信号丢失。

[0553] 7. 在血液动力学监测之后, 通过心脏穿刺获得血液以供生物标记物分析(下文所述)。

[0554] 8. 在收集血液样品之后, 进一步打开胸腔以暴露肺。气管上的肌肉被解剖掉以取出肺和心脏。用PBS冲洗收获的组织以在称重之前去除任何多余的血液。

[0555] 9. 通过分离四个肺叶将右肺打结并立即收集用于药物浓度和生物标记物分析, 将四个肺叶称重后冷冻至液氮中并在 $-80^{\circ}\text{C}$ 下储存。

[0556] 10. 对于心脏的组织学和铸型, 过程如下: 1) 第2-10组中每一组的11只大鼠中的5只用于评估心脏的组织学和生化参数, 因此按以下第11点中所述进行处理; 2) 第2-10组中的其他6只大鼠用于确定富尔顿 (Fulton) 指数并按第12点中所述进行处理。收集富尔顿指数的数据后, 将心脏组织在 $-80^{\circ}\text{C}$ 下储存以供生物标记物分析。

[0557] 11. 对于组织学, 将左肺用0.9% NaCl冲洗。使用填充有固定剂、10%中性缓冲福尔马林 (NBF) 的10mL注射器以及附接的钝头针 (23g) 将左肺膨胀。将针尖插入气管, 用系好的缝合线固定, 而另一个注射器则系在肺动脉上。肺在生理压力下轻轻膨胀, 直到肺完全、均匀且持续扩张 (不允许固定剂渗出肺表面)。这提供了最佳的血管和气道扩张, 而不会造成过度的组织破坏。然后取出针头, 将气管周围缝合系好, 并将肺以1:20的组织与固定剂比率浸入10% NBF中。在PBS中冲洗心脏, 然后将其以1:20的组织与固定剂比率浸入10% NBF中。组织在福尔马林中保存24-48h。然后切下左肺和心脏并转移到70%乙醇中。

[0558] 将所有固定的组织包埋、切片并染色。将肺切片用苏木精和伊红 (H&E) 染色以供形态学测定或进行针对内皮细胞的血管性血友病因子 (VWF) 染色。将心脏切片用H&E染色以及用天狼星红或三色染色进行染色以供胶原纤维可视化和量化。

[0559] 12. 作为富尔顿指数的一部分, 将心脏解剖以用隔膜将右心室与左心室隔开, 然后分别称重。收集富尔顿指数的数据后, 将心脏组织在 $-80^{\circ}\text{C}$ 下储存以供生物标记物分析。

[0560] 实验数据的获取与分析

[0561] 通过来自Axon Instruments的Clampfit软件分析实验迹线。

[0562] 连续记录至少1分钟或连续记录直到信号丢失的PAP用于确定平均肺压、舒张肺压和收缩肺压。

[0563] 连续记录的全身动脉压 (SAP) 用于确定平均动脉压、舒张动脉压和收缩动脉压。

[0564] 在血流动力学参数记录结束时, 包括隔膜在内的左右心室以及肺叶被切除以确定湿重。

[0565] 以下血流动力学和心脏功能参数通过适当的统计分析进行量化。

[0566] • 平均动脉体压

[0567] • 平均动脉肺压

- [0568] • 舒张肺压
- [0569] • 收缩肺压
- [0570] • 收缩右心室压
- [0571] • 饱和度(SO<sub>2</sub>)
- [0572] • 重量增加
- [0573] • 肺重量
- [0574] • 富尔顿指数
- [0575] • 心率
- [0576] • 脉压

[0577] 此外,检查了指示心脏生物化学的分子,包括氧化应激的生物标记物即胶原蛋白(Sircol测定)和羟脯氨酸含量、尿酸、利钠肽(BNP、NT-proBNP(心肌应激的生物标记物))、内皮素-1(心力衰竭)、血管生成素(新血管形成)、血管性血友病因子(内皮细胞)、白细胞介素-6(心脏病发作、中风的生物标记物)、Toll受体C(心脏病的生物标记物)、血浆细胞因子、心房利钠肽ANP(中风、冠状动脉疾病、心肌梗死和心力衰竭的生物标记物)、肌钙蛋白T/I(心脏缺血的生物标记物)和CPK-MB(心肌梗死的生物标记物)。

[0578] 在该实施例中还研究了与PAH有关联的基因,如骨形态发生蛋白2型(BMPRI)、BMP-9、ABCC8、TBX4、ACVRL、SMAD 4/9、KCNK5和TET2。另外,在心脏和肺中,基因如1型胶原 $\alpha$ 1(COL1A1)、1型胶原 $\alpha$ 2(COL1A2)和3型胶原 $\alpha$ 1(COL3A1)与胶原蛋白的形成和分泌相关。P4HA1是胶原蛋白生物合成的关键酶。ACTG2是与肌纤维细胞分化相关的基因。还研究了那些基因的表达的变化。

[0579] 预计曲前列素棕榈酸酯干粉配制品D将改善Su/Hx挑战的大鼠的肺血管和心脏中的病理生理学和组织病理学。

[0580] \*\*\*\*\*

[0581] 虽然已经参考本发明的具体实施方案描述了所述发明,但本领域技术人员应理解,在不脱离本发明的真实精神和范围的情况下,可以进行各种改变并且可以替换等同物。此外,可以进行许多修改以采用特定情况、材料、物质组成、过程、过程步骤或步骤,以达到所述发明的客观精神和范围。预期所有此类修改都在所附权利要求的范围内。

[0582] 出于任何目的,将本文引用的专利、专利申请、专利申请出版物、期刊文章和方案通过引用以其整体并入。

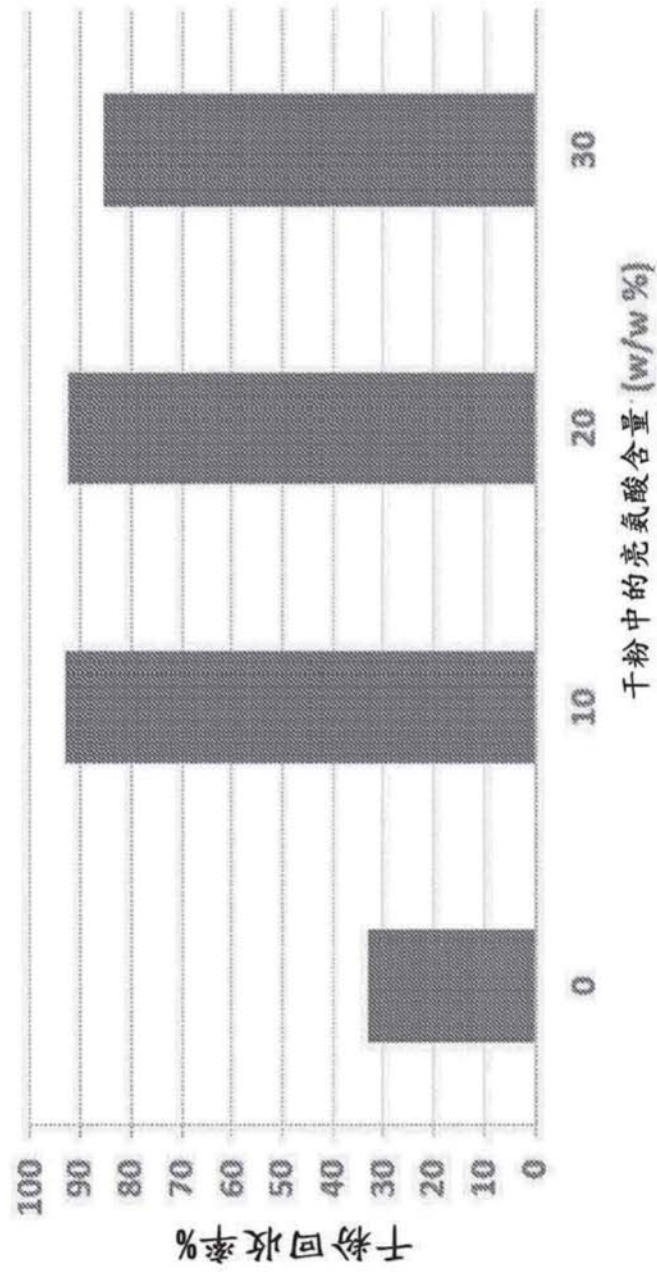


图1

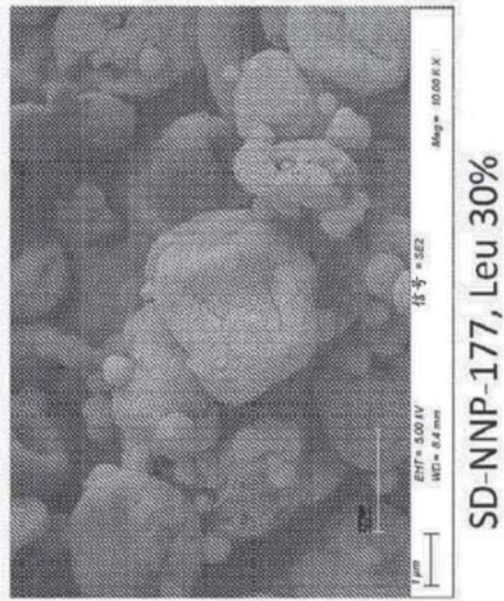


图2A

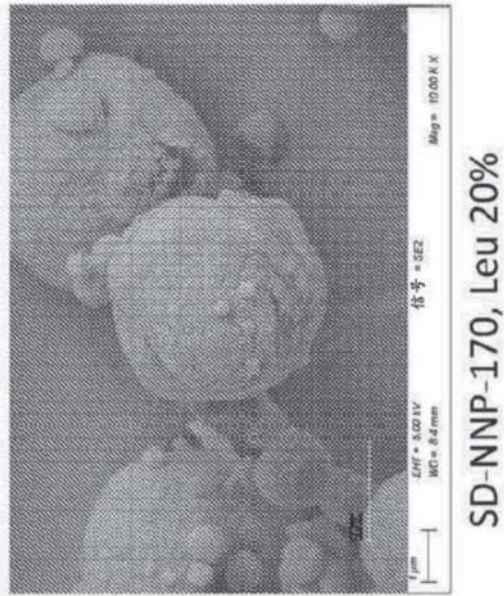


图2B

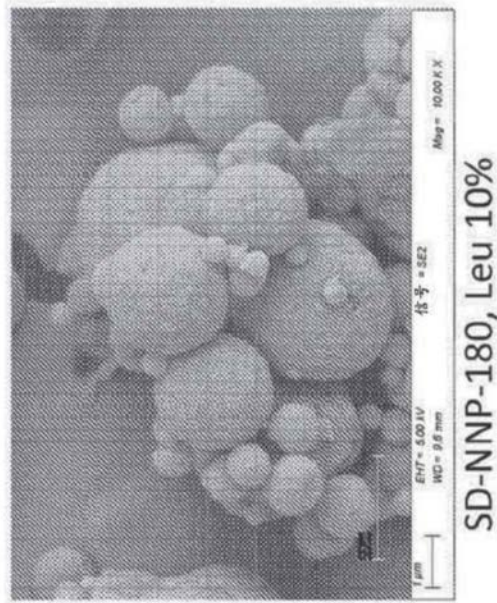


图2C

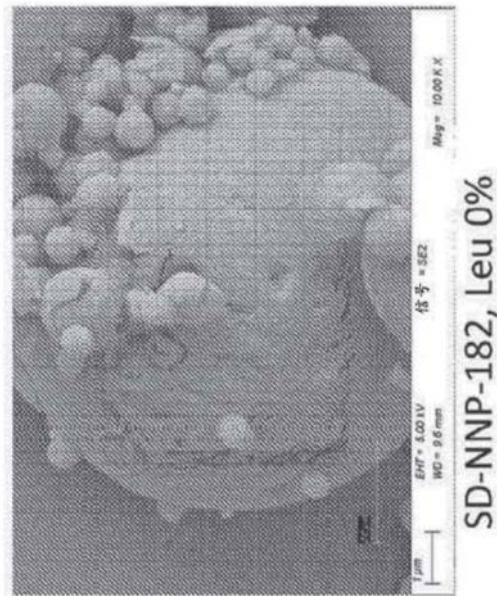


图2D

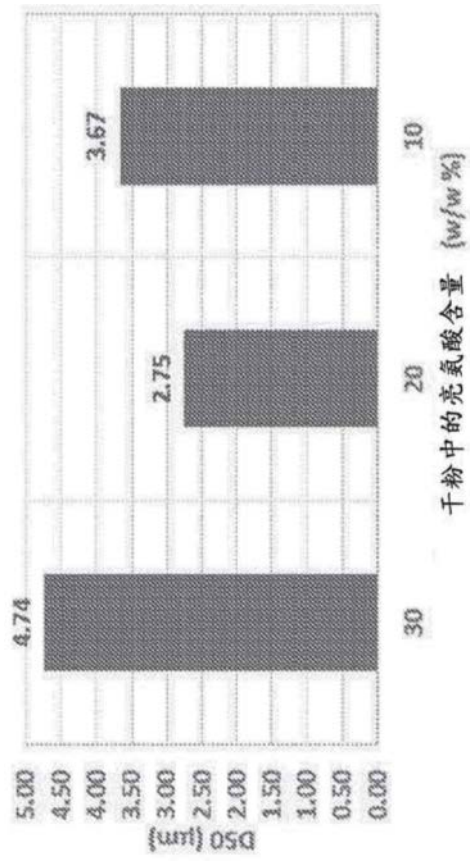


图3

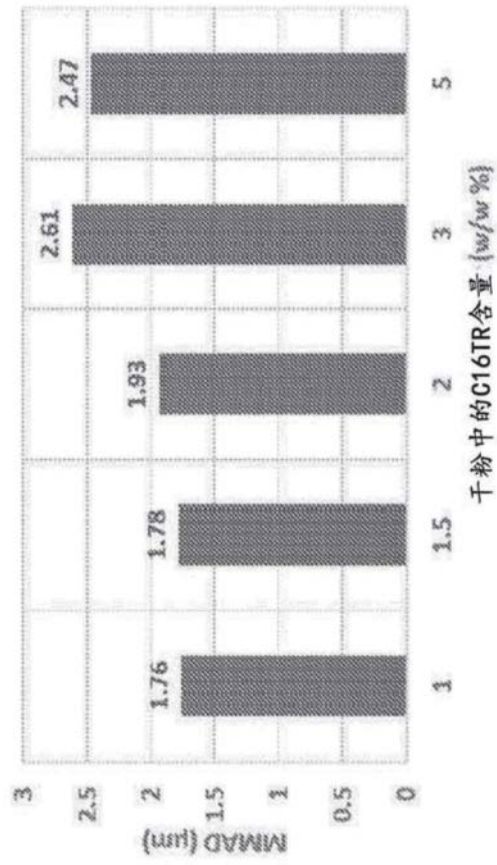


图4

入口T=150,  
SD-NNP-167

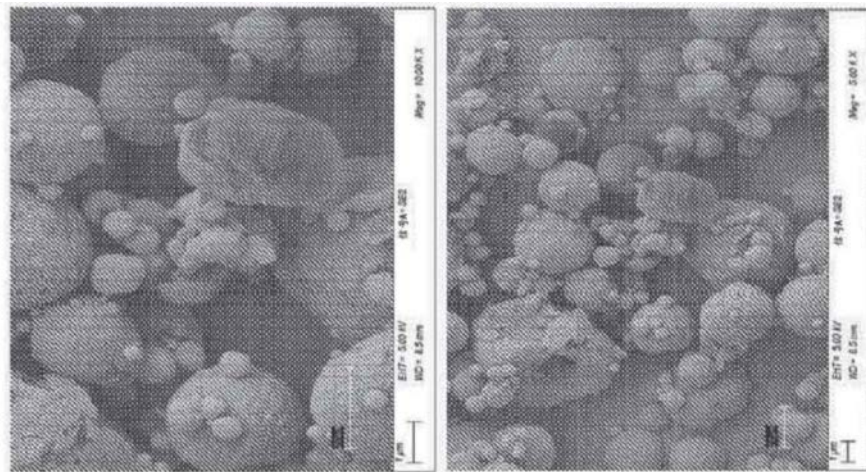


图5A

入口T=135,  
SD-NNP-170

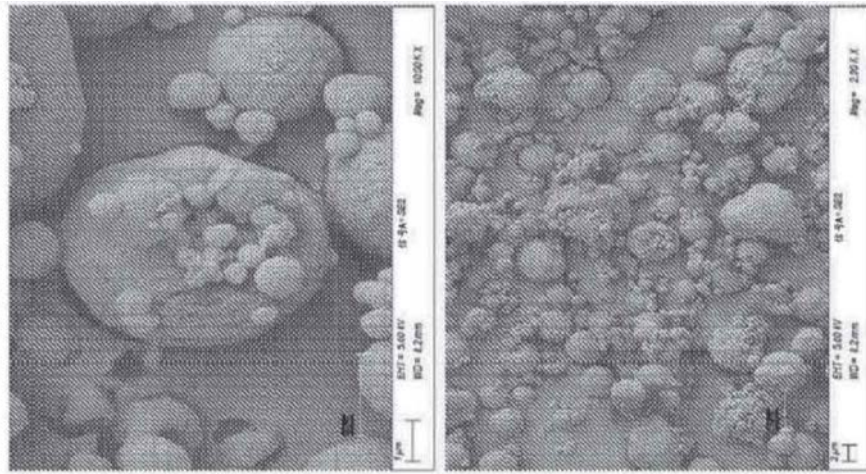


图5B

入口T=120,  
SD-NNP-171

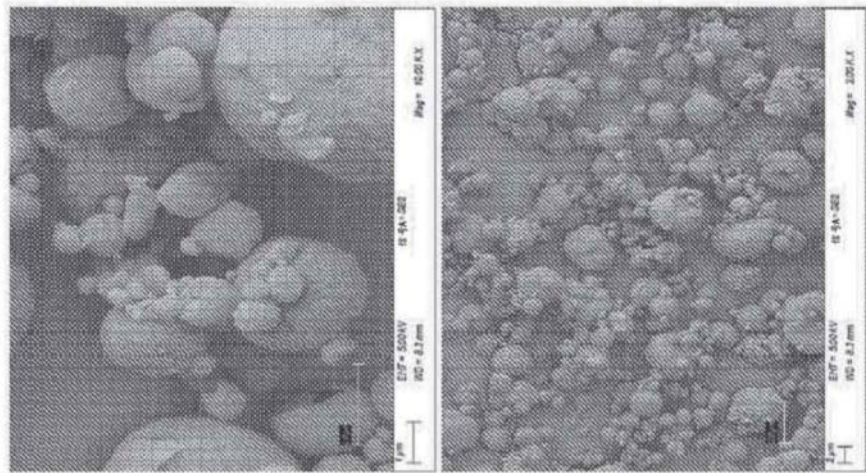


图5C

SD-NNP-170, 入口T=135°C, 无 ABC

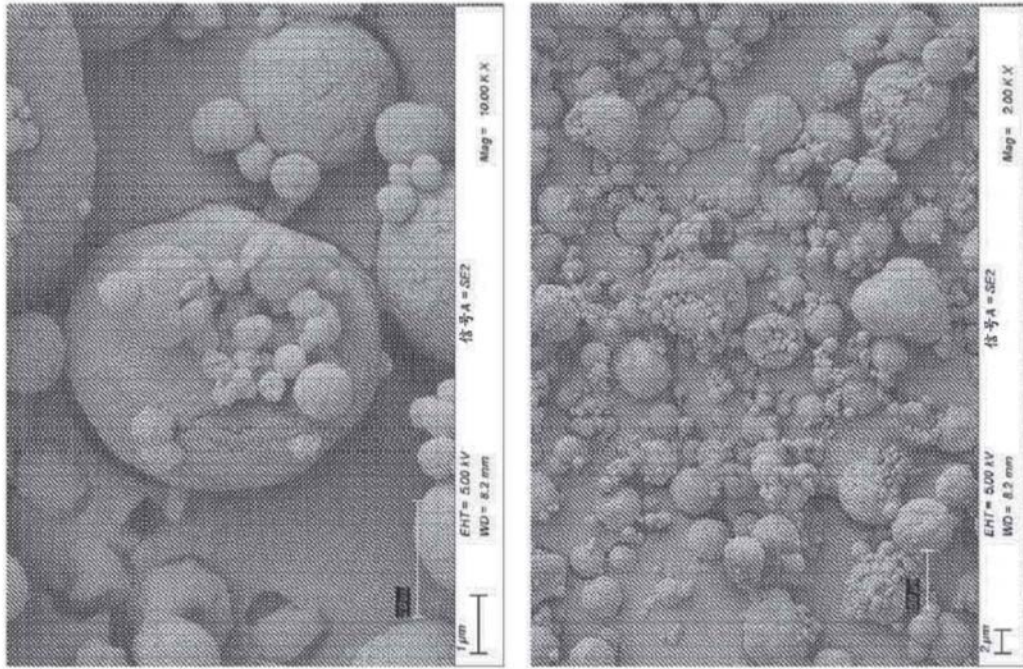


图6A

SD-NNP-173, 入口T=135°C, 0.5 mg/mL的 ABC

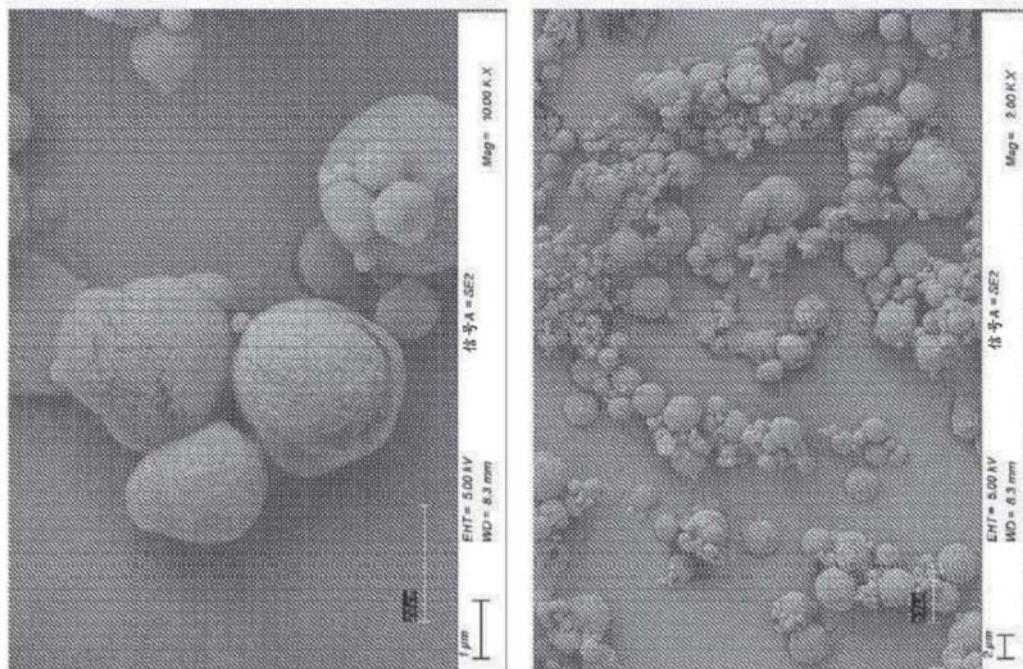


图6B

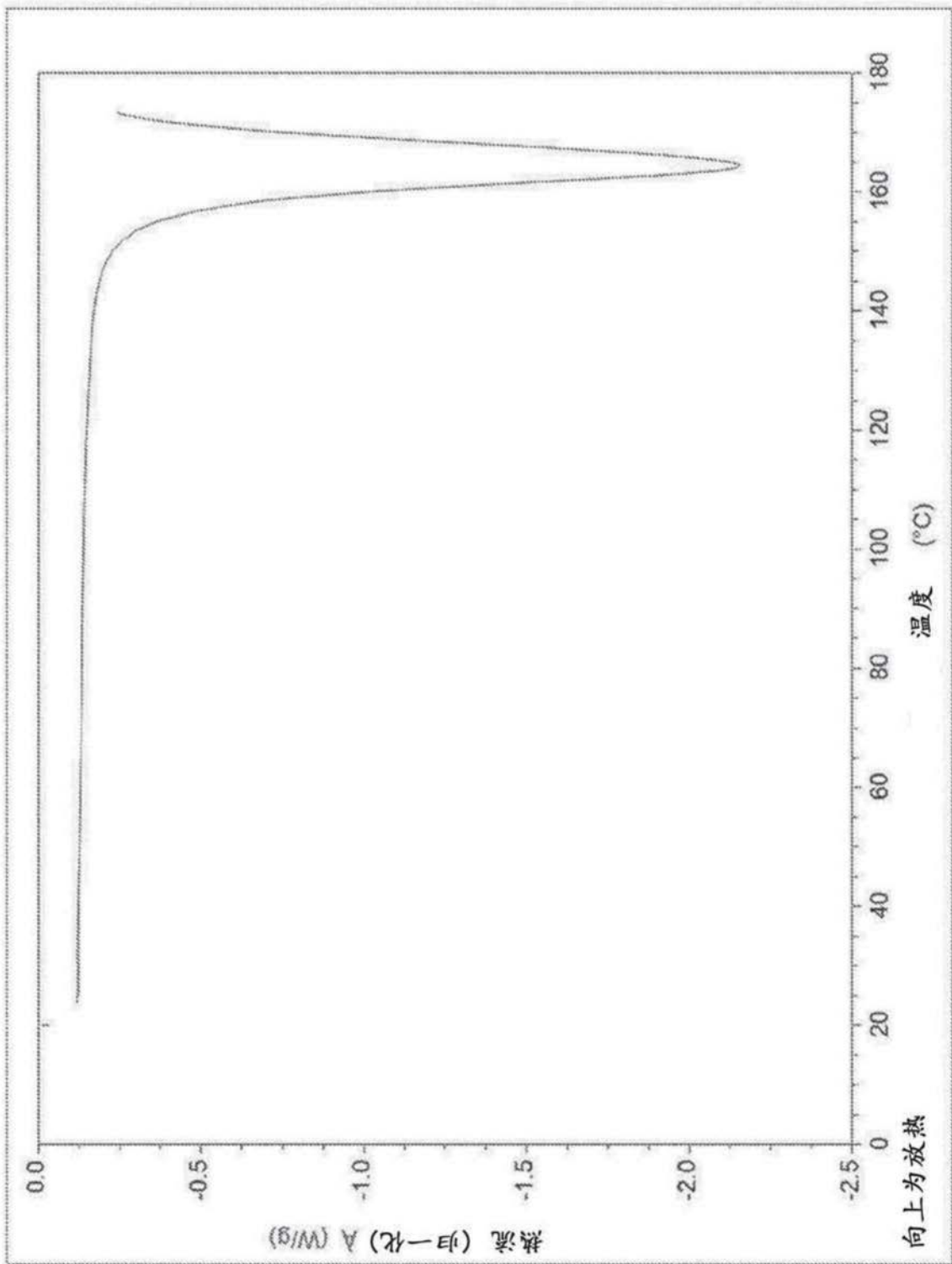


图7A

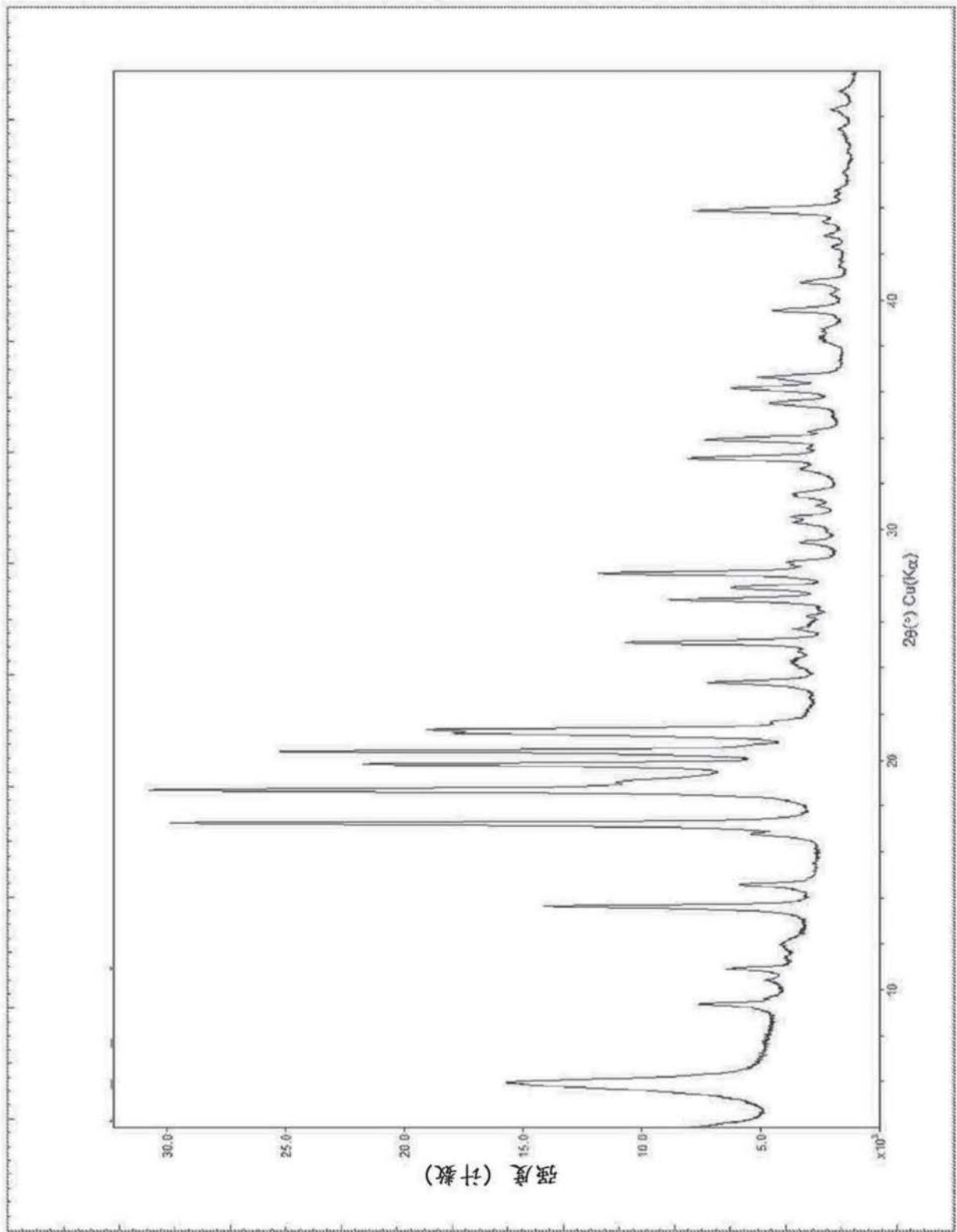


图7B

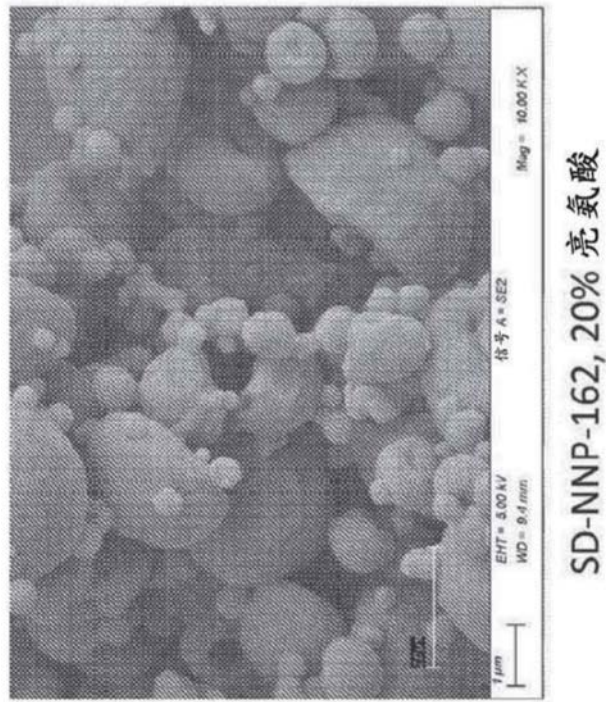


图8A

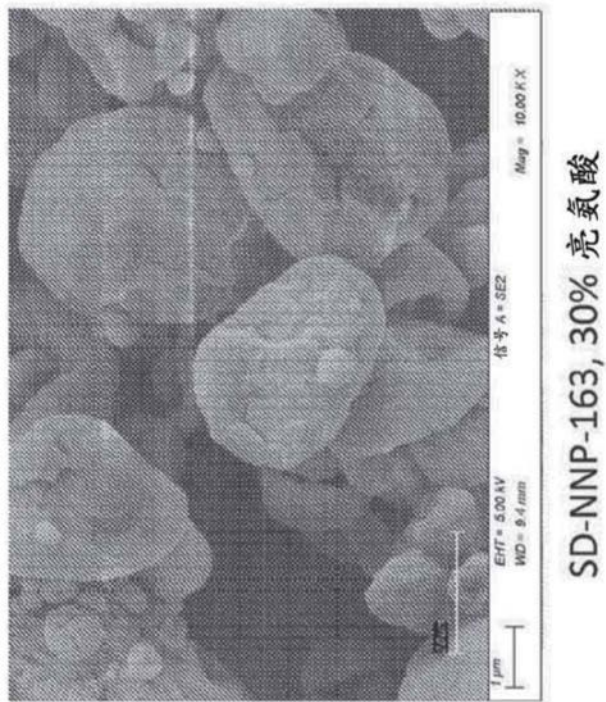
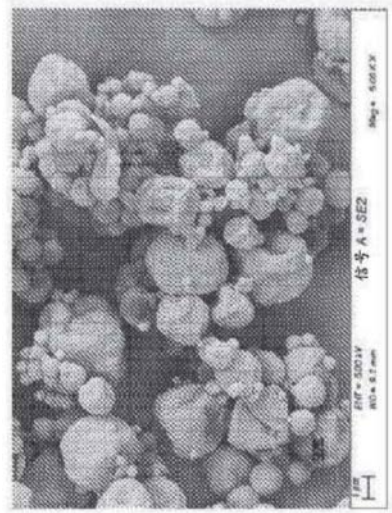
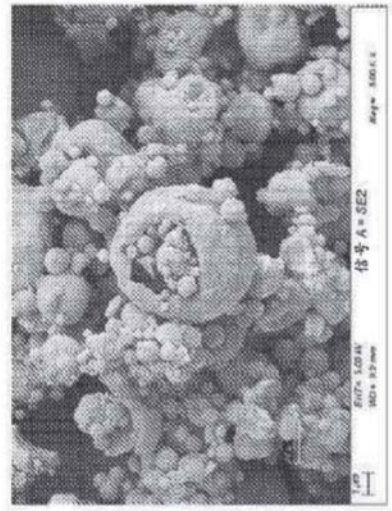


图8B



SD-NNP-111

图9A



SD-NNP-112

图9B

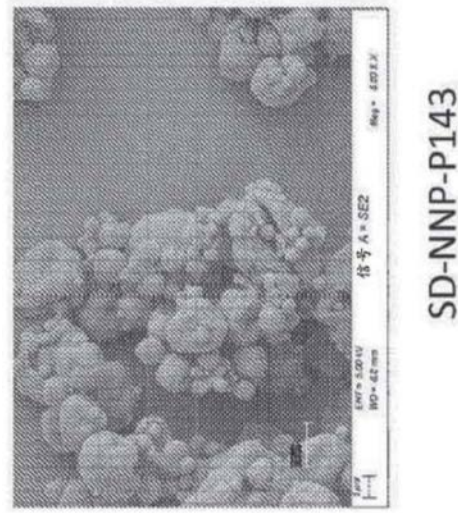


图9C

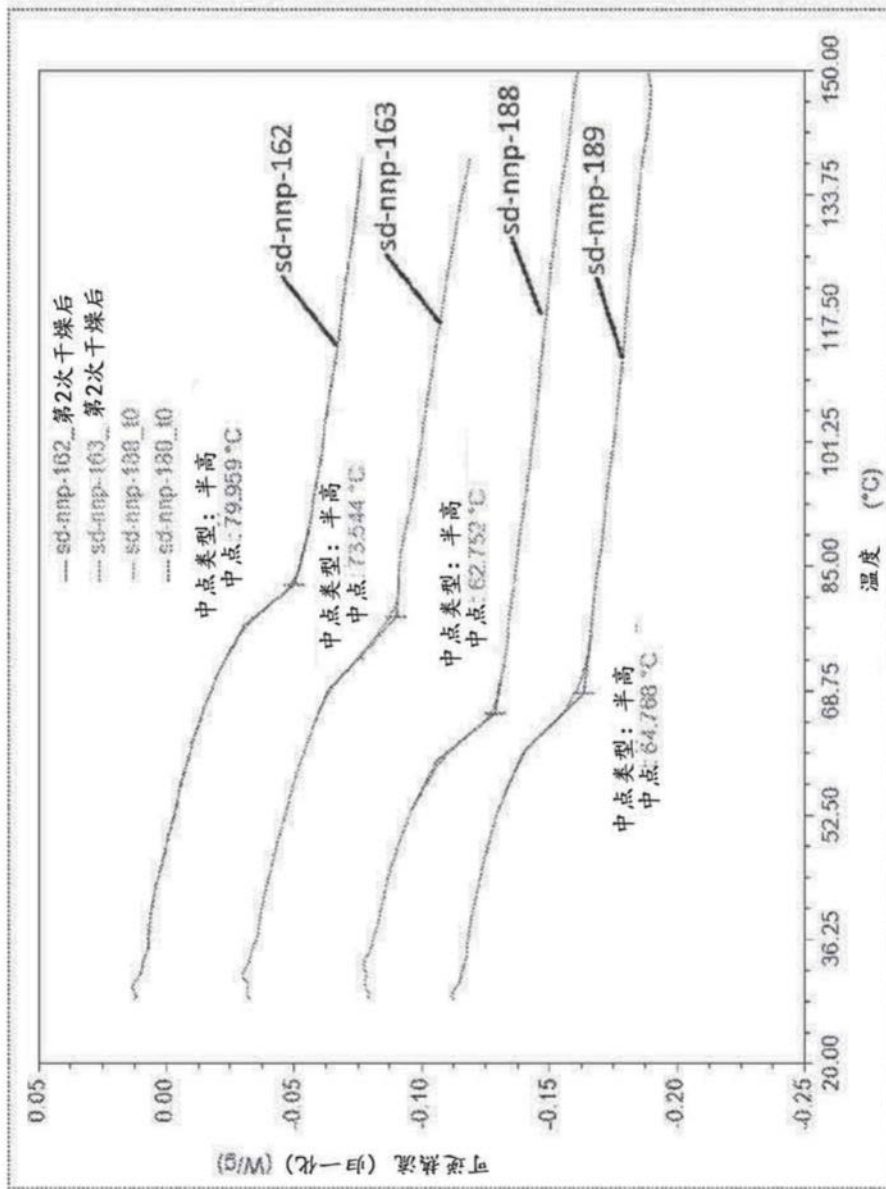


图10A

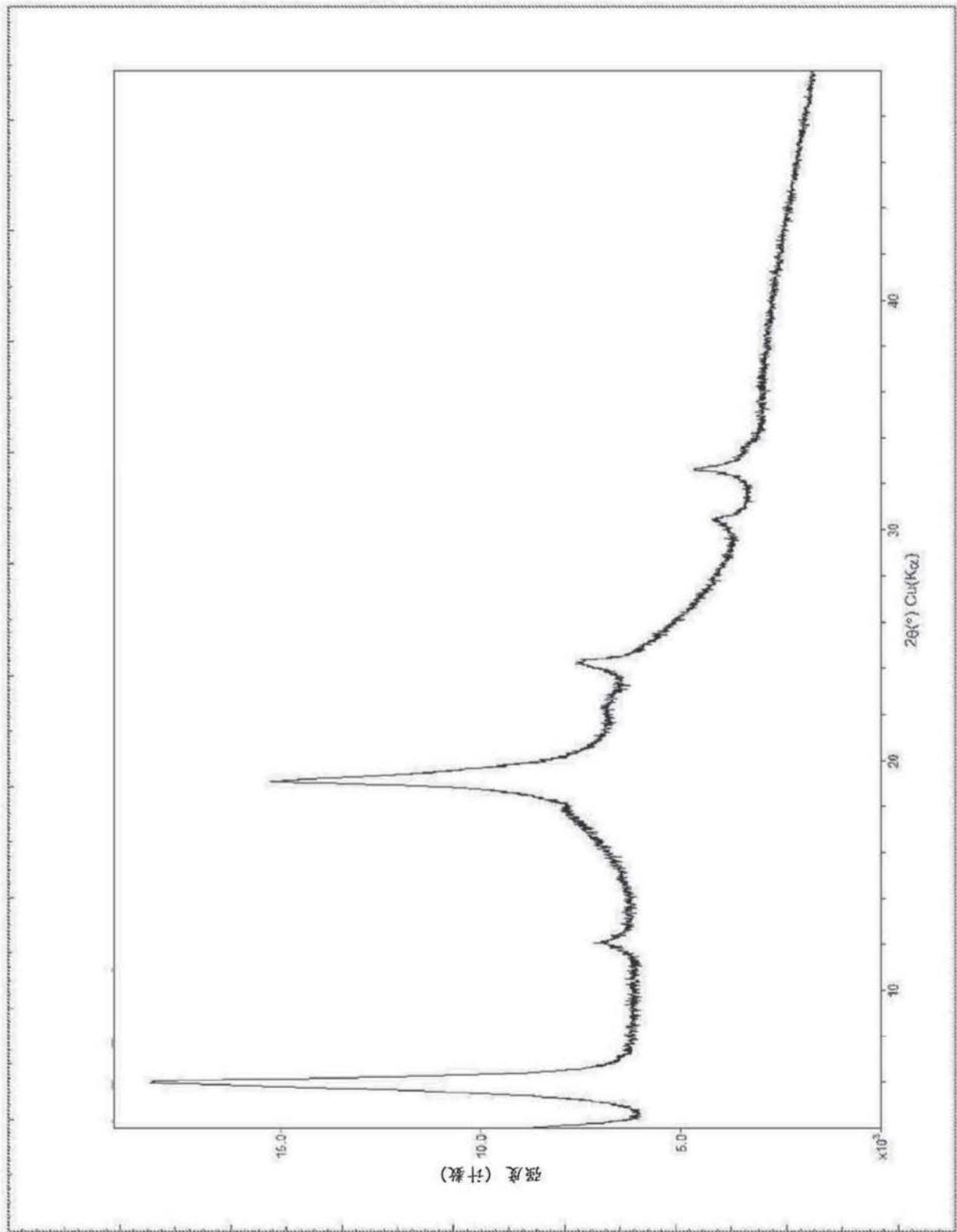


图10B

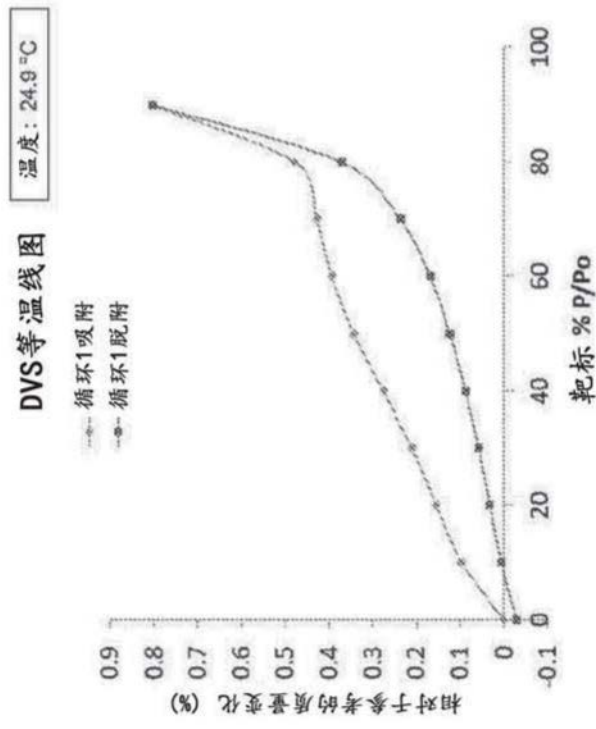


图11

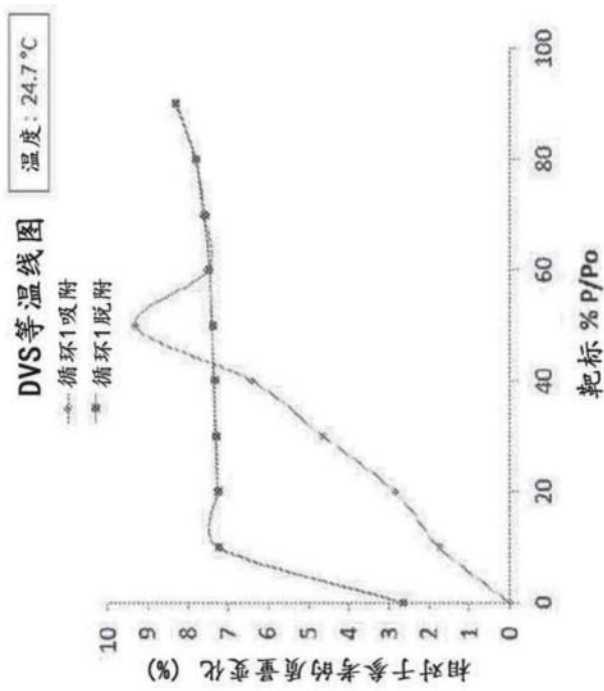


图12

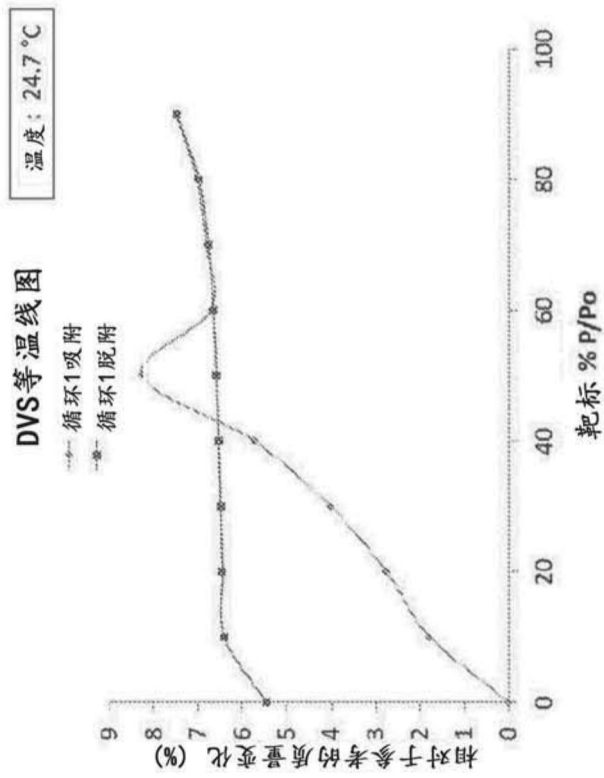


图13

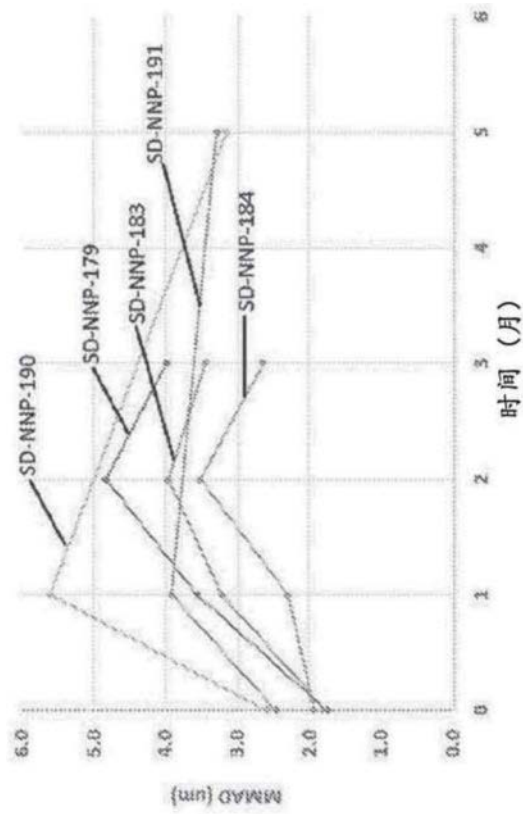


图14

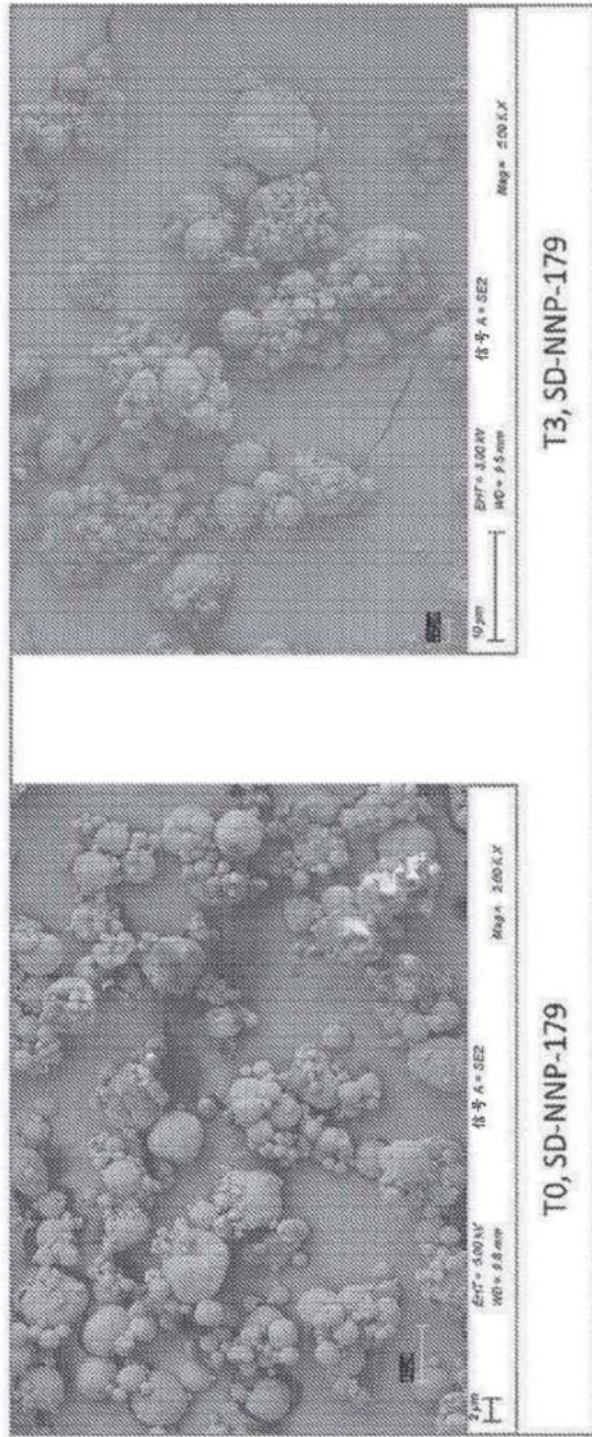


图15B

图15A

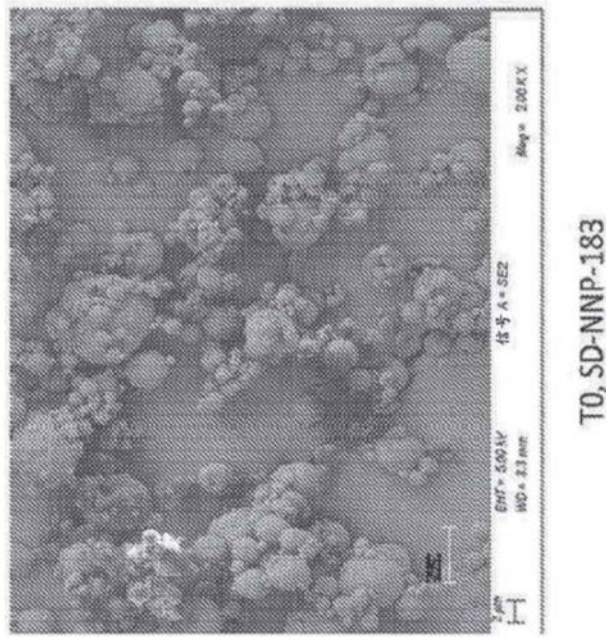


图16A

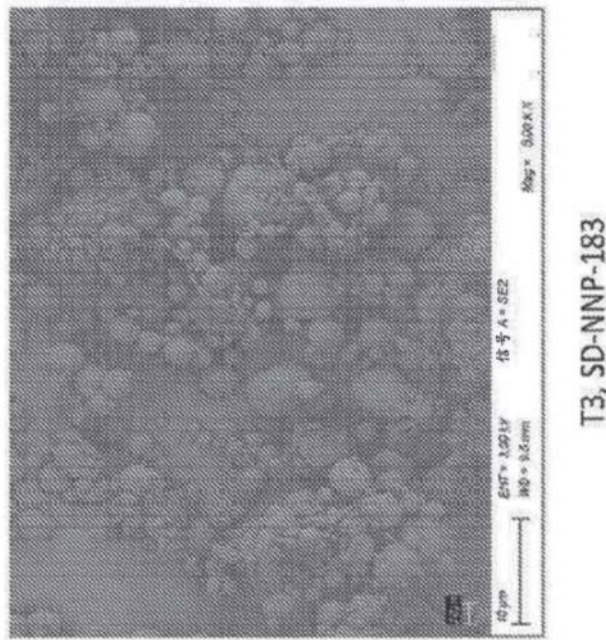


图16B

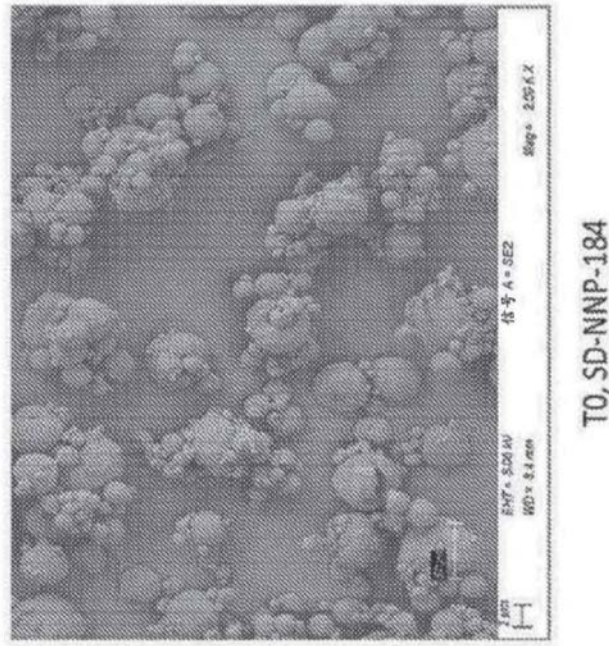


图17A

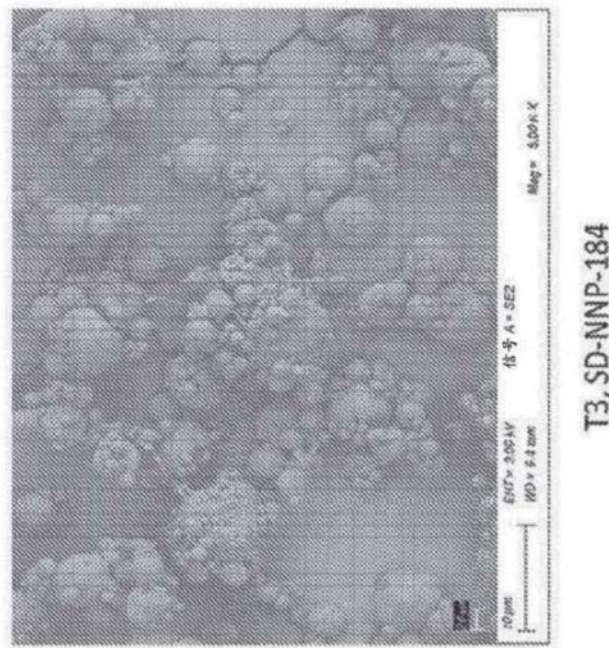


图17B

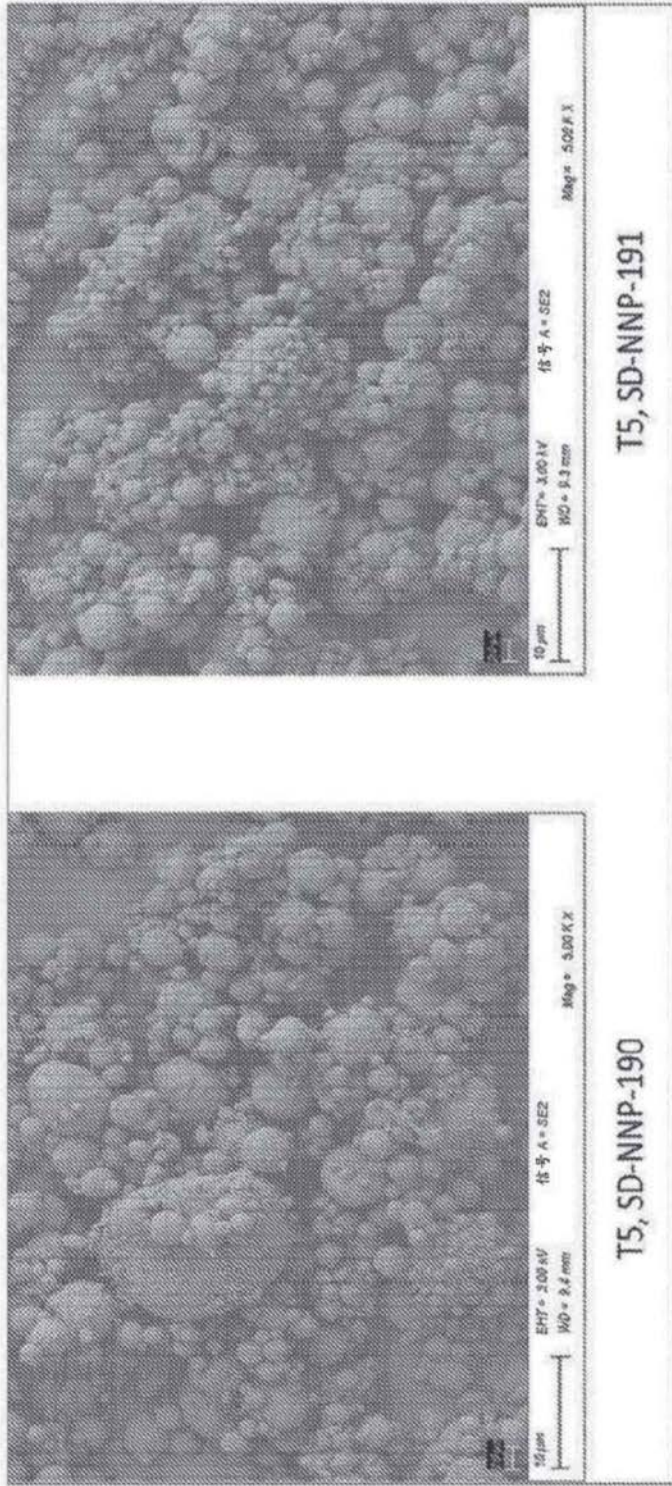


图18B

图18A

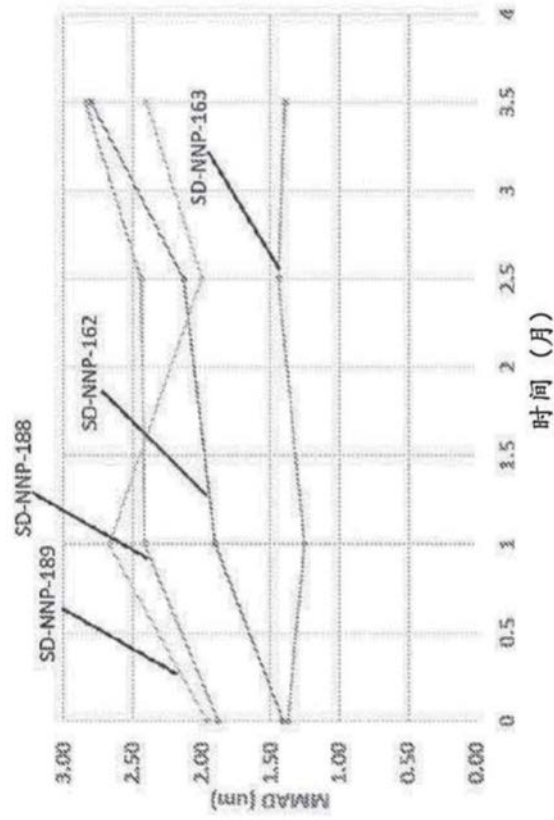


图19

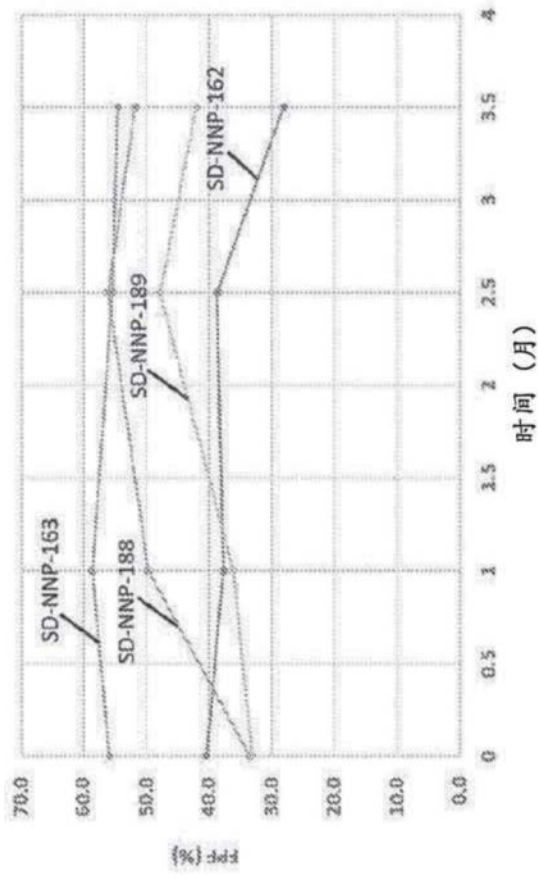


图20

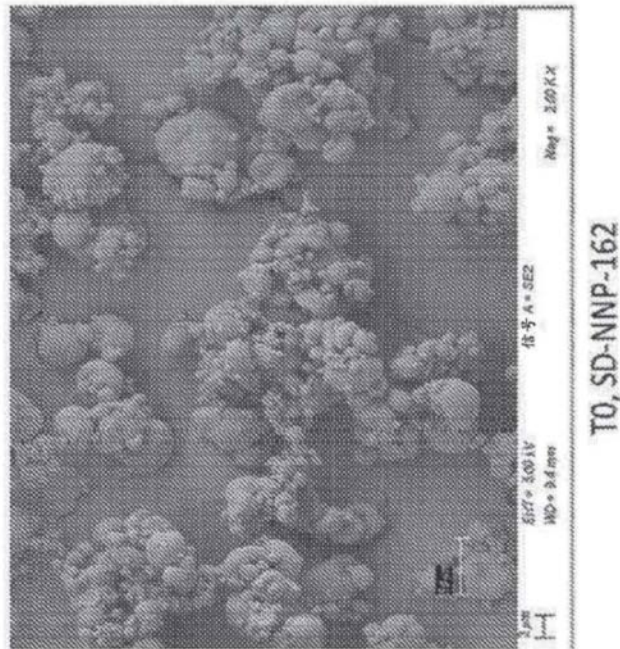


图21A

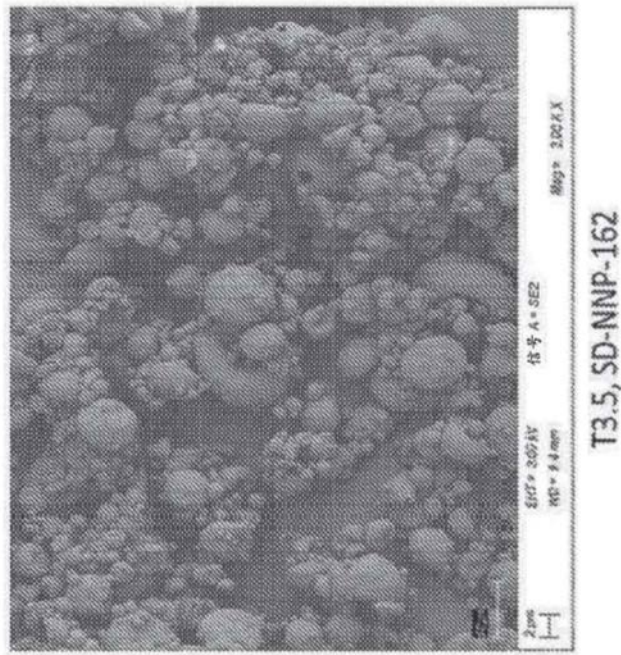


图21B

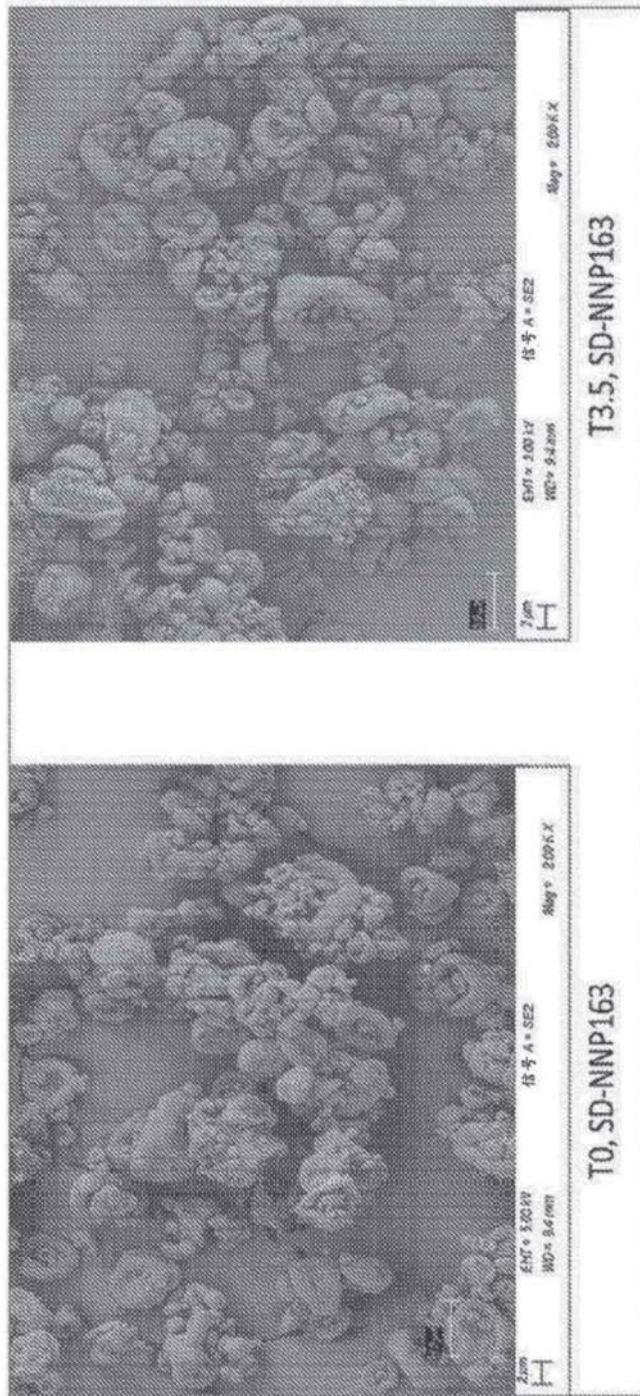


图 22B

图 22A

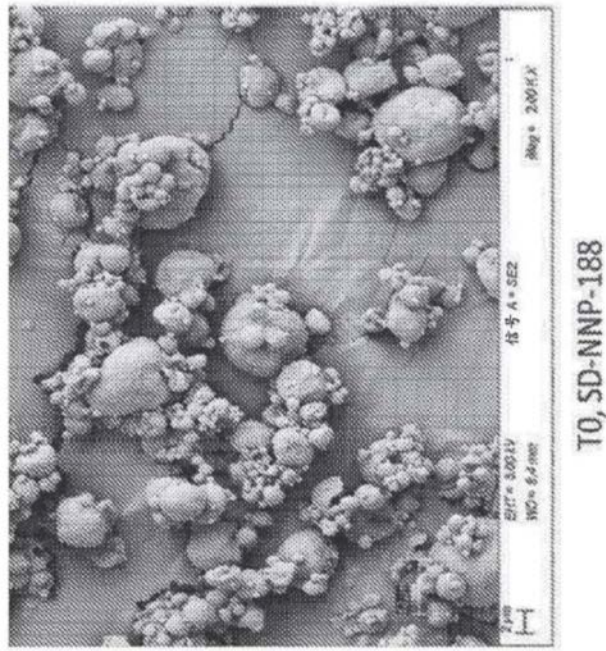


图23A

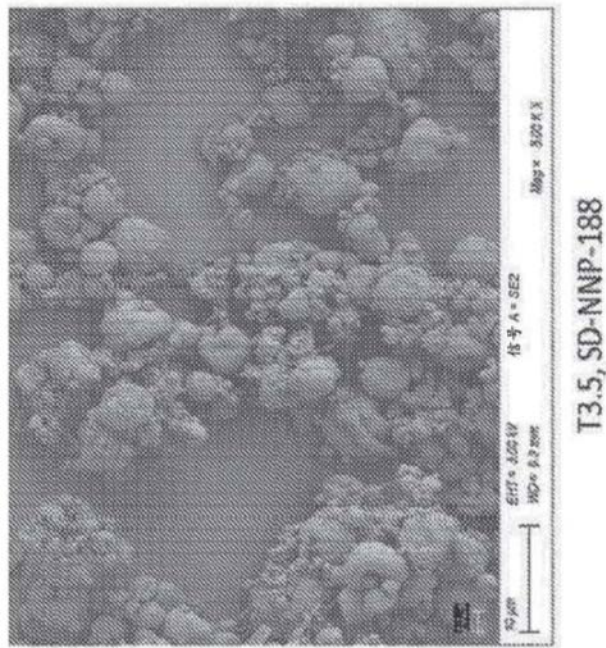


图23B

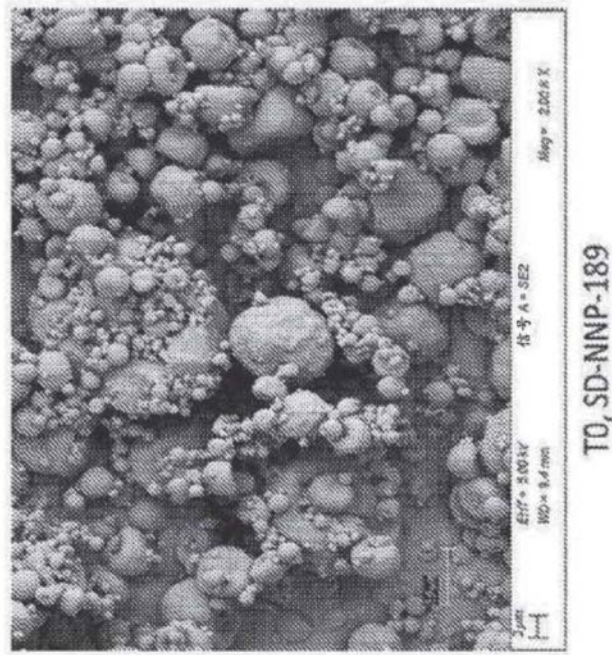


图24A

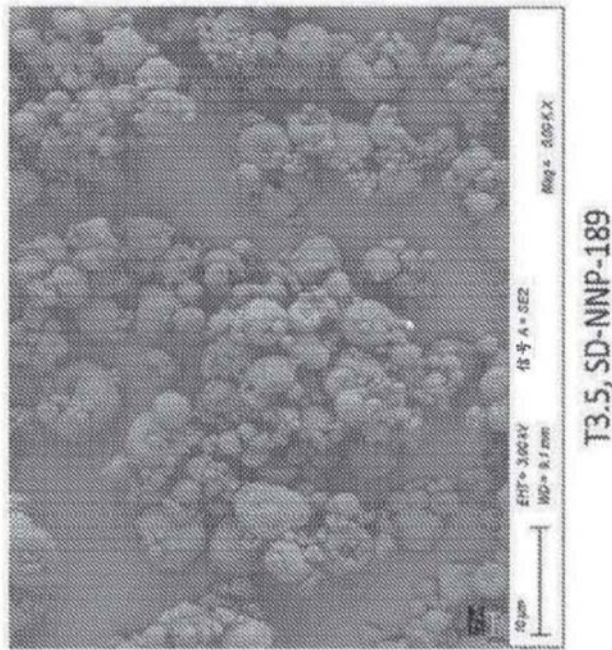


图24B

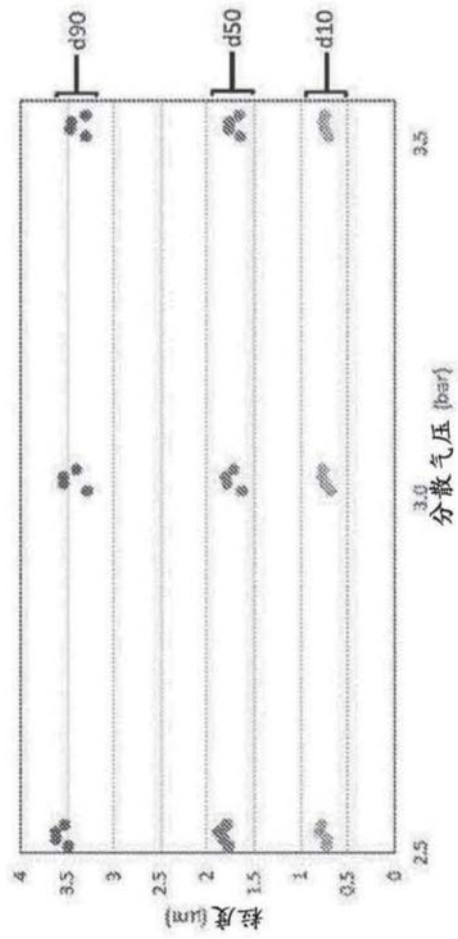


图25

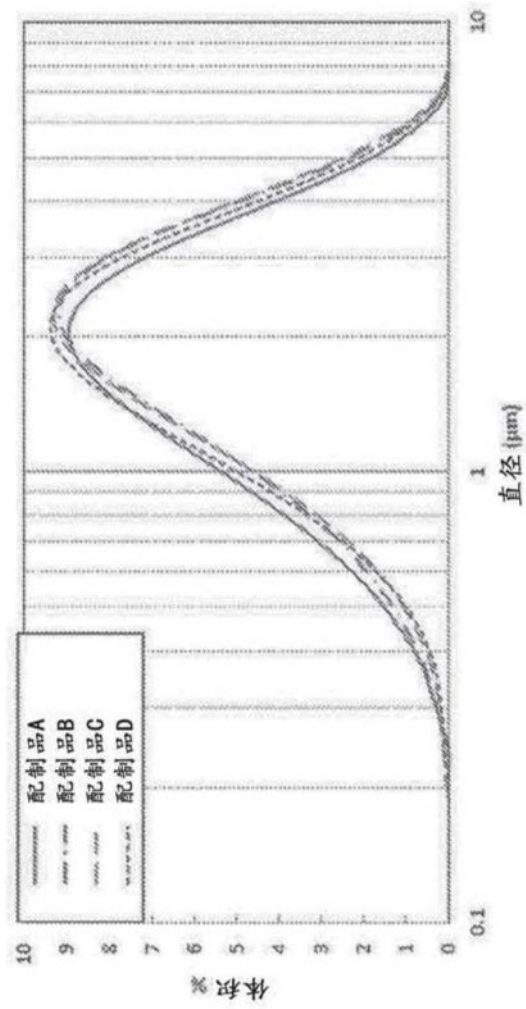


图26

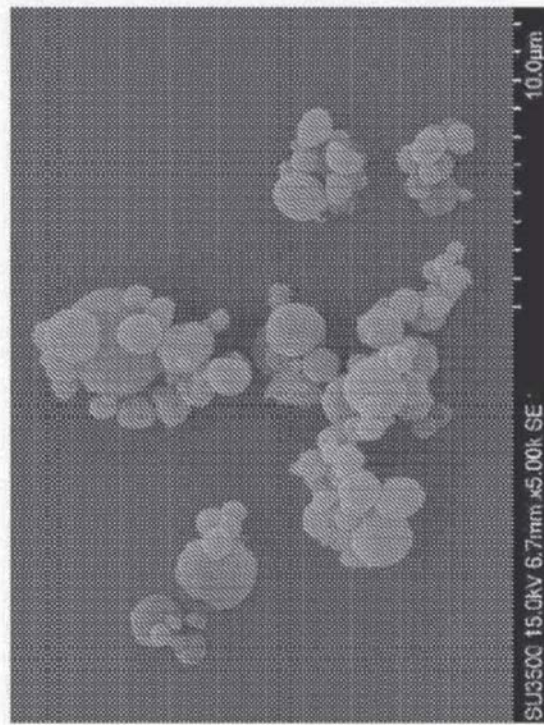


图27

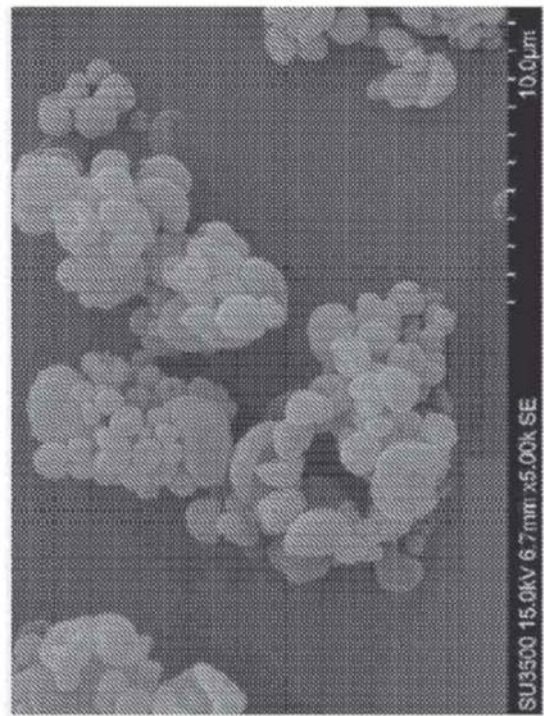


图28

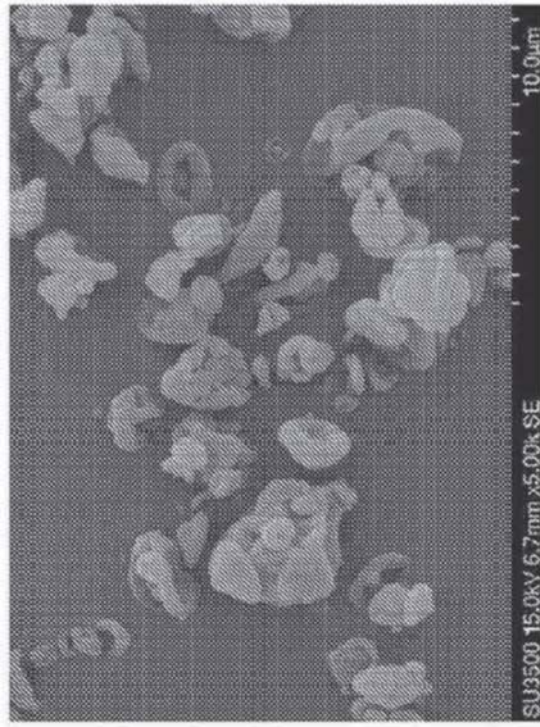


图29

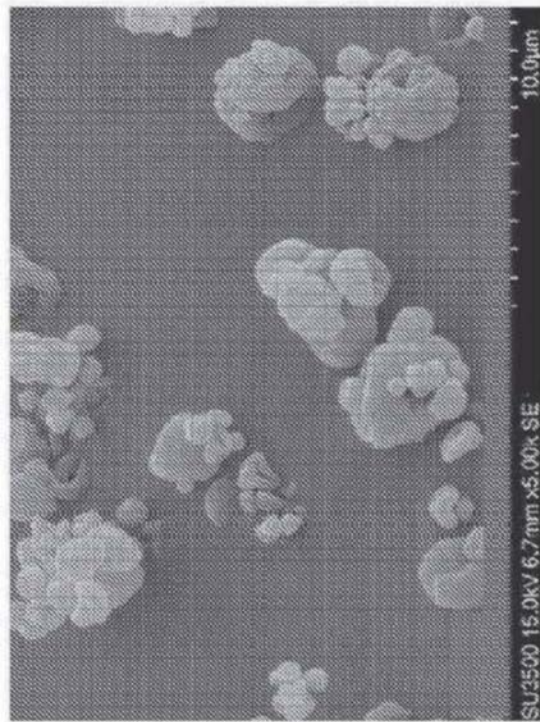


图30

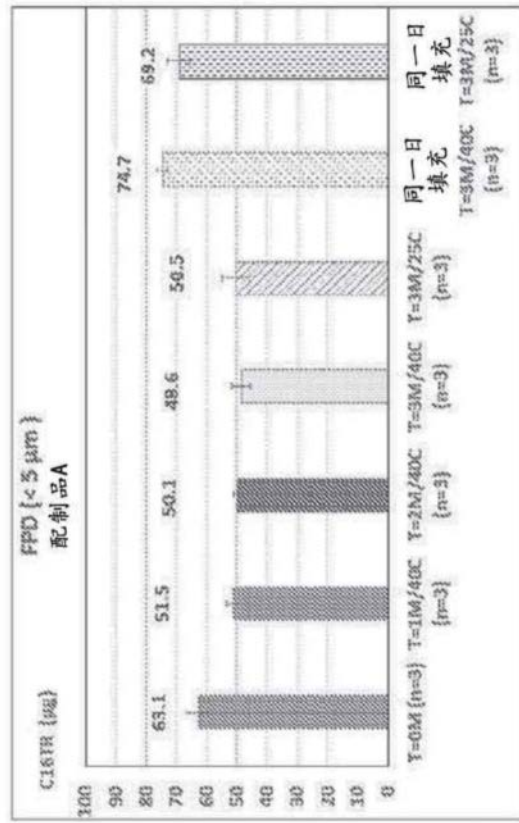


图31

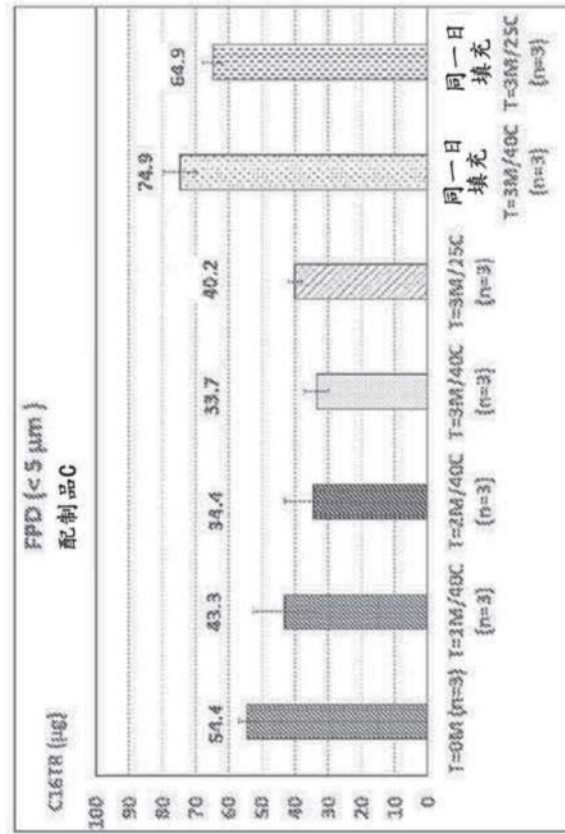


图32

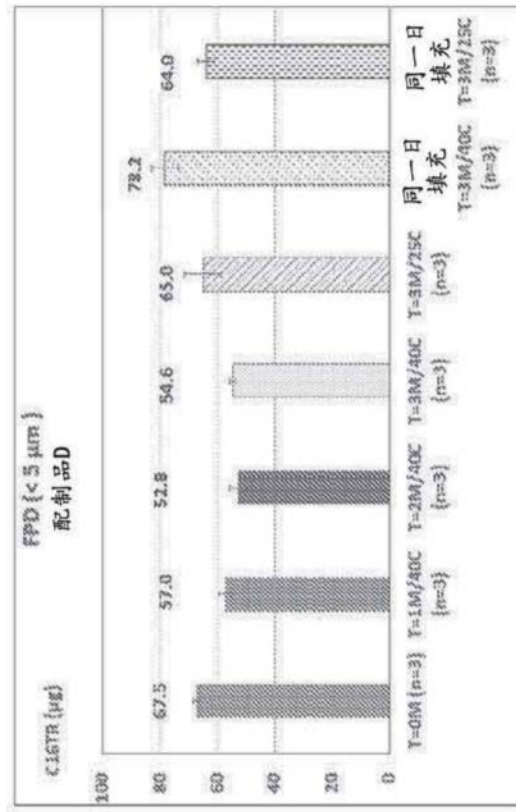


图33

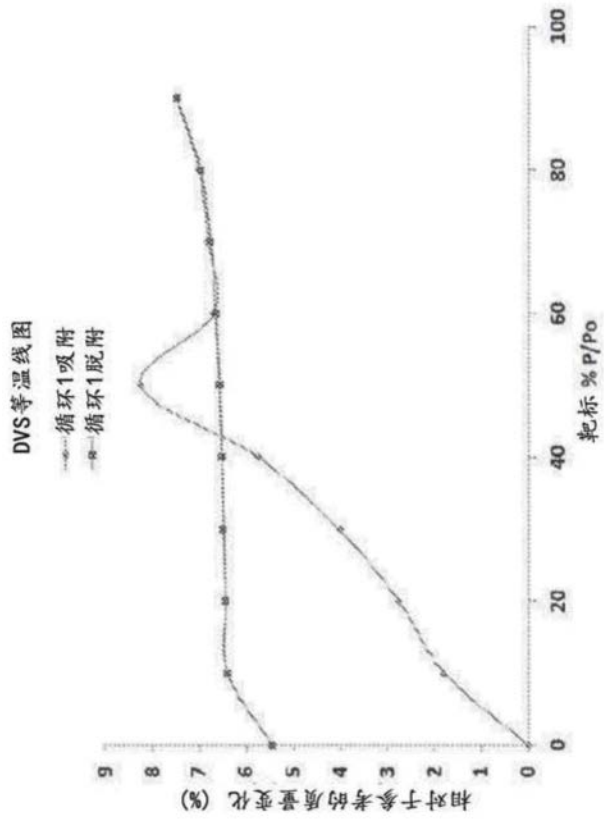


图34

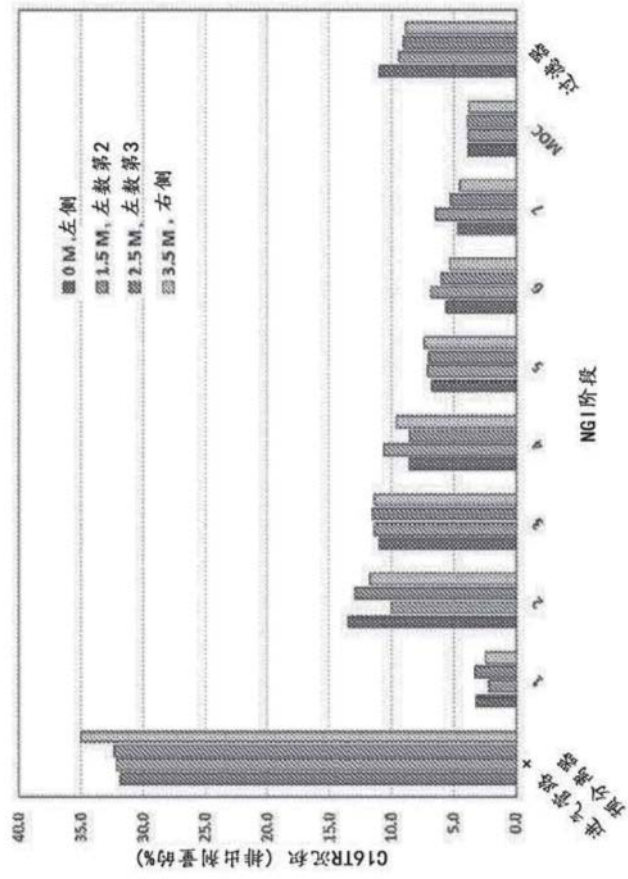


图35

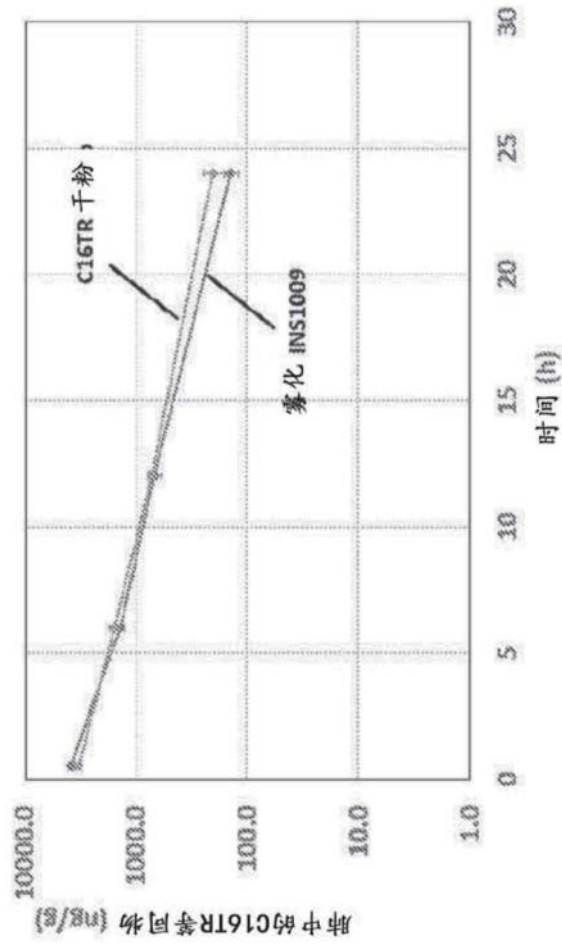


图36

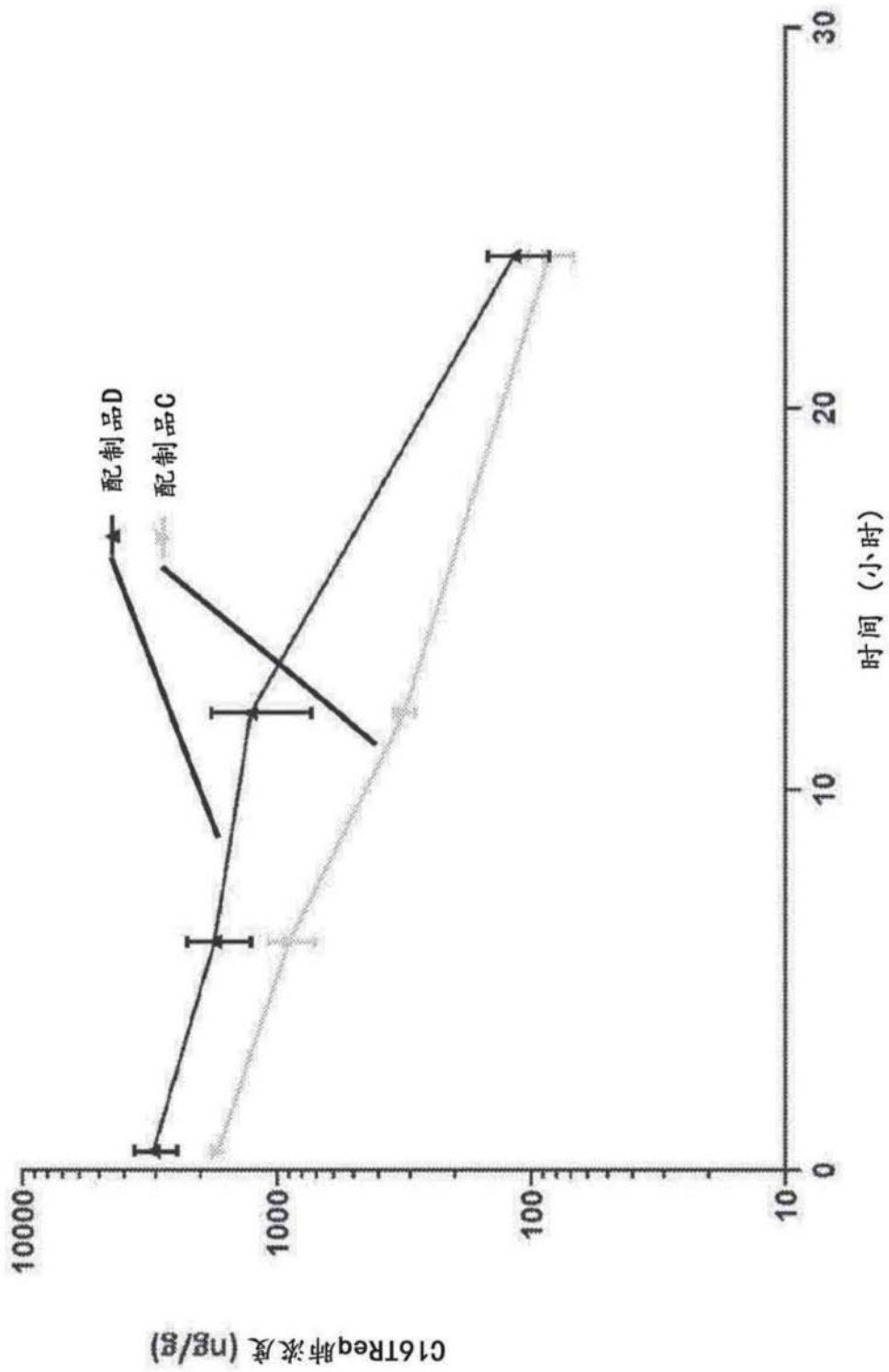


图37

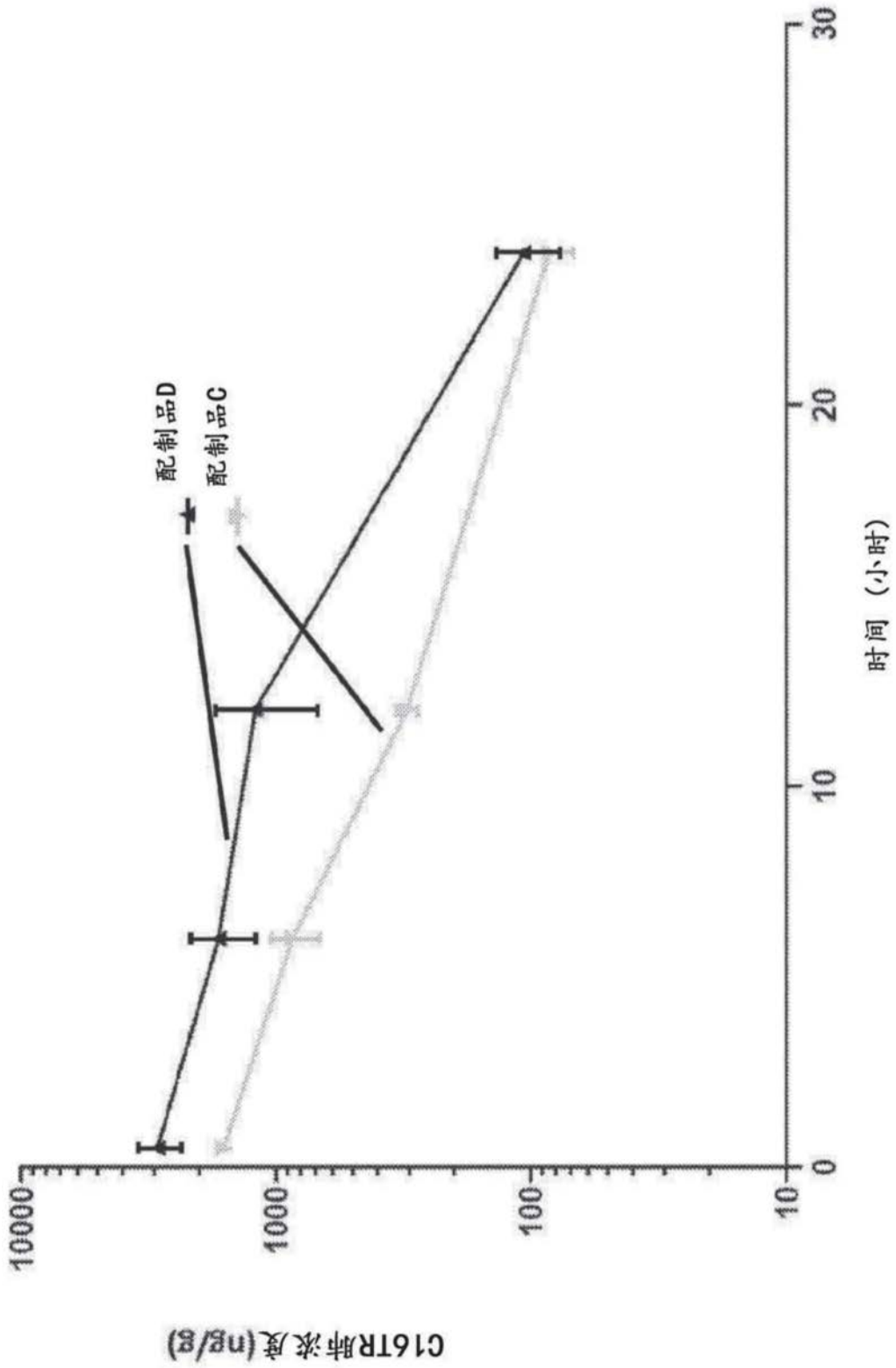


图38

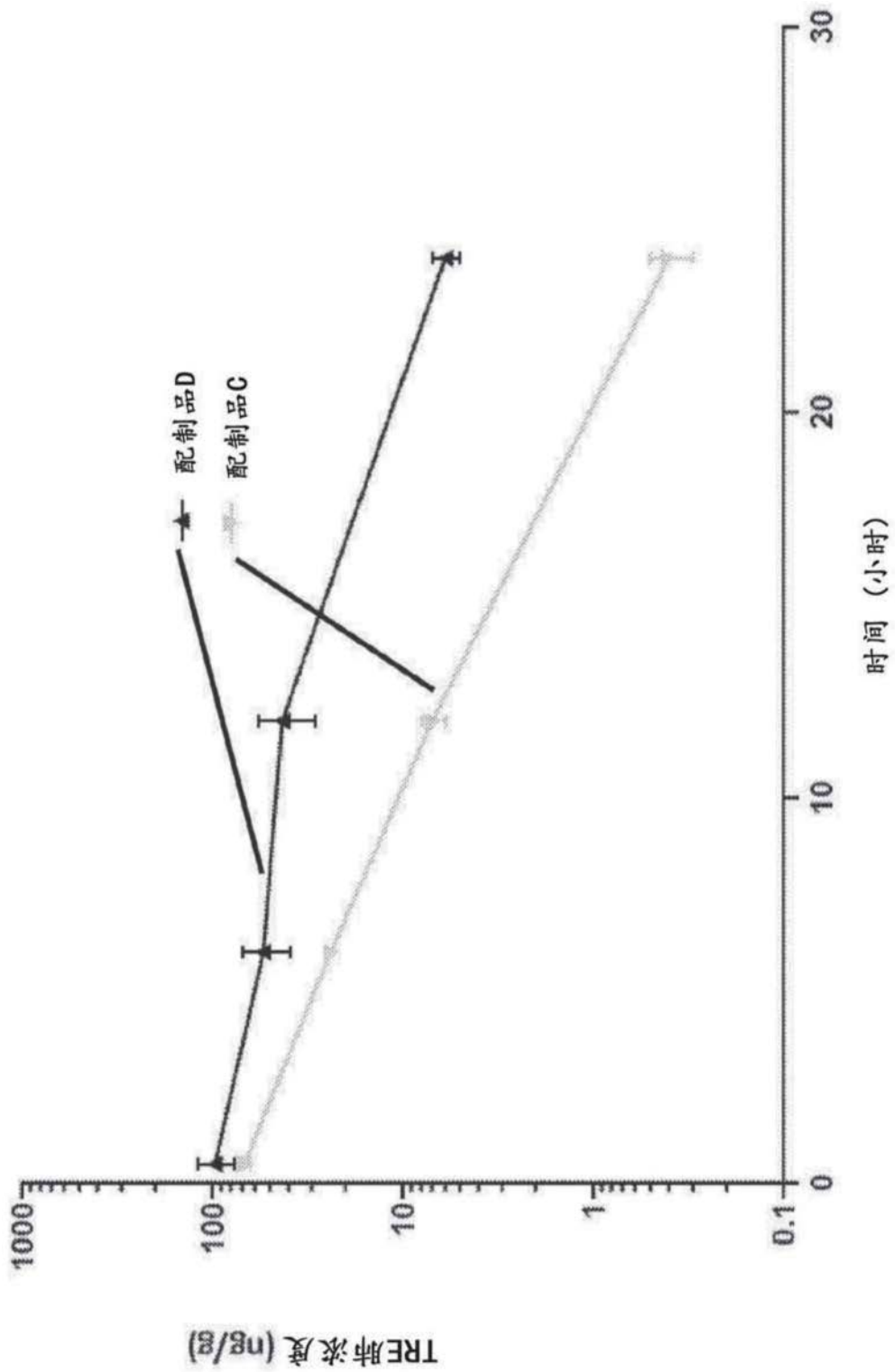


图39

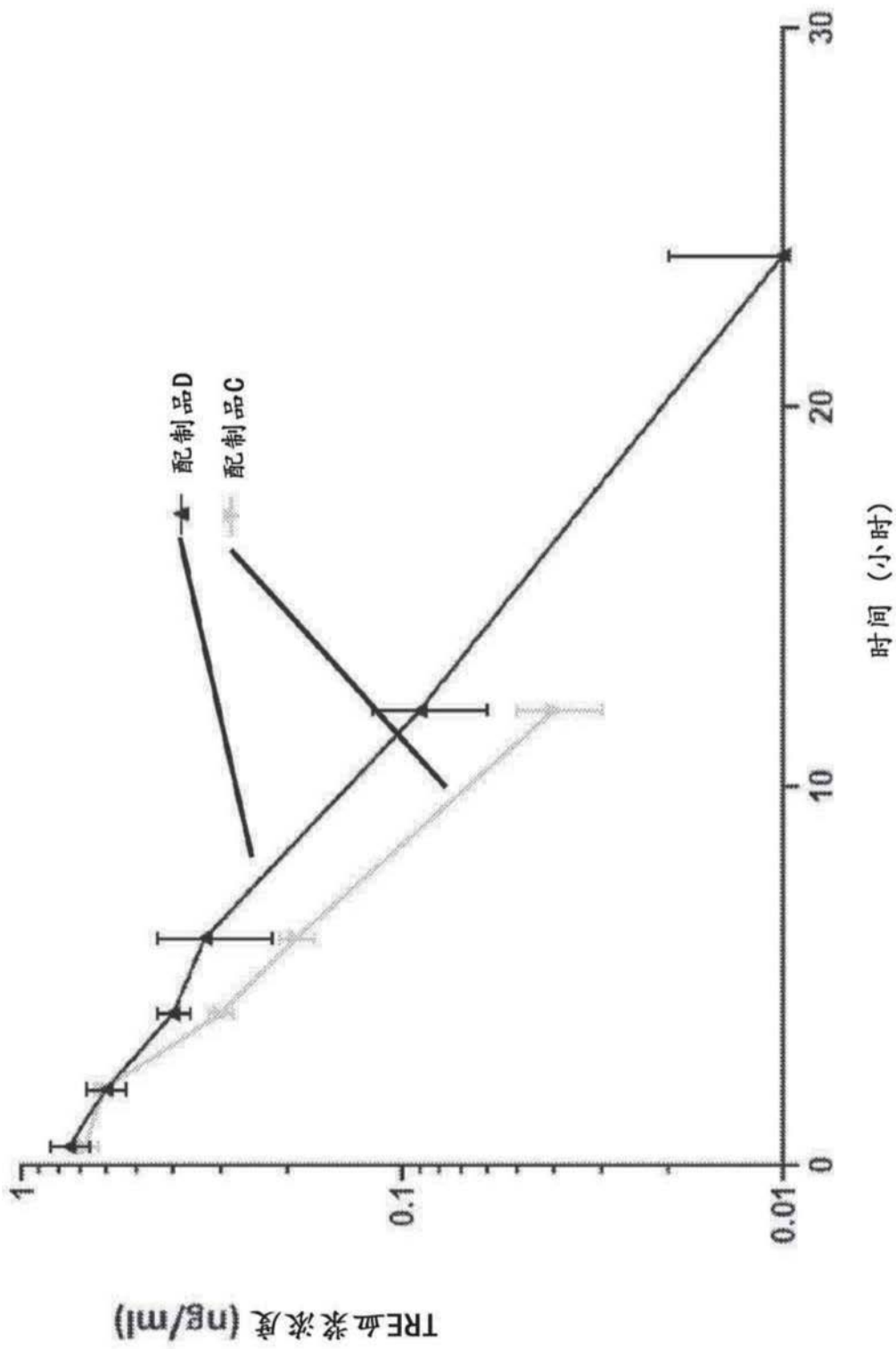


图40

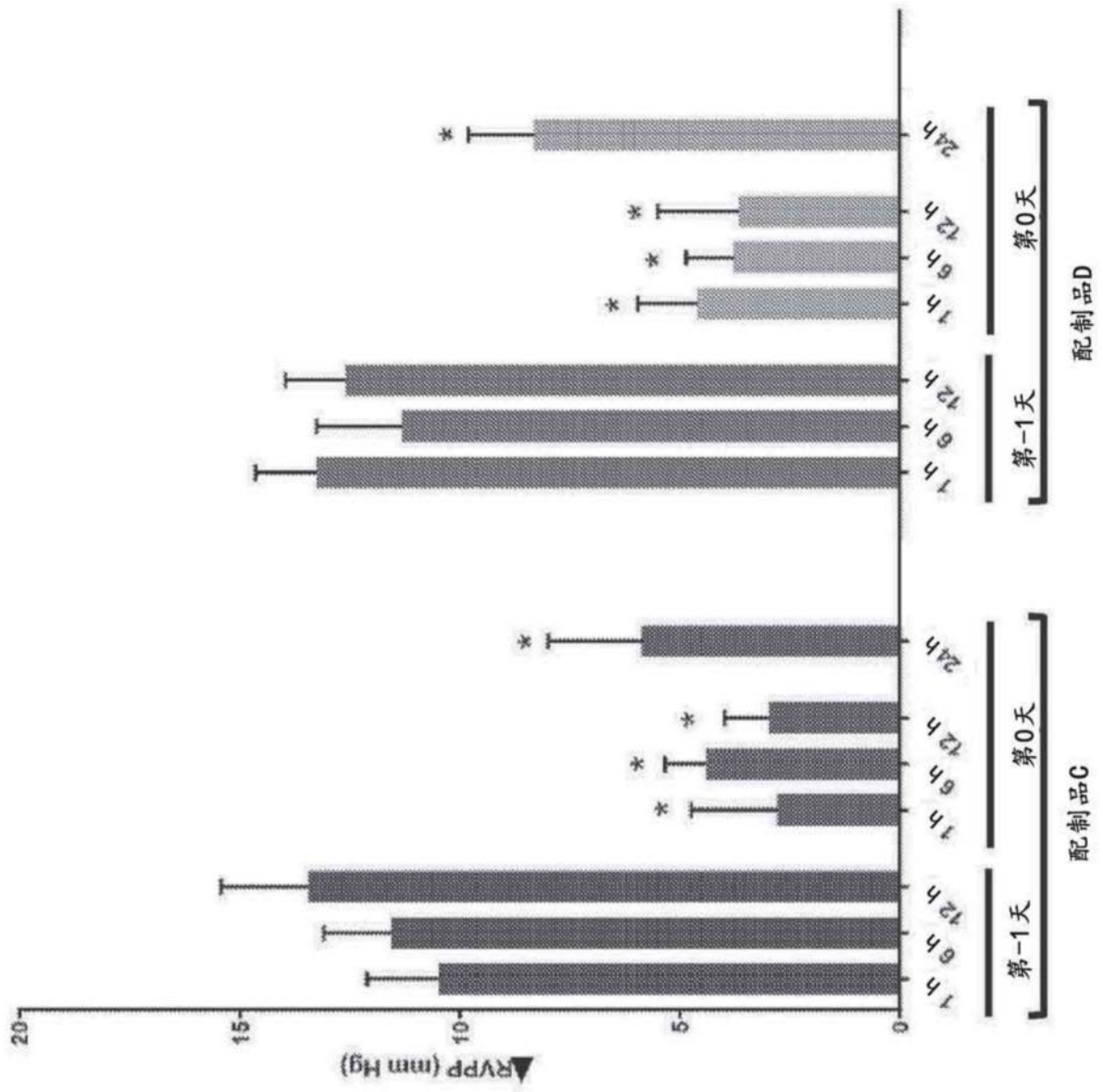


图41