



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 202342034 A

(43)公開日：中華民國 112 (2023) 年 11 月 01 日

(21)申請案號：111150447

(22)申請日：中華民國 111 (2022) 年 12 月 28 日

(51)Int. Cl. : A61K31/4706(2006.01)

A61K9/00 (2006.01)

A61P11/00 (2006.01)

(30)優先權：2021/12/29

歐洲專利局

21218165.5

(71)申請人：德商拜耳廠股份有限公司(德國)BAYER AKTIENGESELLSCHAFT (DE)

德國

德商拜耳製藥股份有限公司(德國)BAYER PHARMA AKTIENGESELLSCHAFT

(DE)

德國

(72)發明人：貝克 佩爾斯特 伊瓦 BECKER-PELSTER, EVA MARIA (DE)；提內耳 漢娜 TINEL, HANNA (PL)；哈恩 邁克爾 HAHN, MICHAEL (DE)；蘭恩 戴爾特 LANG, DIETER (DE)；韋曼 格里特 WEIMANN, GERRIT (DE)；納格施邁茲 約翰內斯 NAGELSCHMITZ, JOHANNES (DE)；迪茲 莉莎 DIETZ, LISA (DE)；沙勒 桑德斯 SALEH, SOUNDOS (DE)；榮格 大衛 JUNG, DAVID (DE)；特雷 貝希 伊爾蒂珂 TEREBSI, ILDIKO (DE)；蒙德里 托比亞斯 MUNDRY, TOBIAS (DE)；里希特 安妮特 RICHTER, ANNETT (DE)；歐力尼克 布利塔 OLENIK, BRITTA (DE)；凱爾 布吉特 KEIL, BIRGIT (DE)；羅斯勒 奔德 ROESLER, BERND (DE)；費 彼得 FEY, PETER (DE)；希爾莫 漢寇 SCHIRMER, HEIKO (DE)；貝克 圭多 BECKER, GUIDO (DE)；伯特 克萊門斯 BOTHE, CLEMENS (DE)；法柏 海蓮娜 FABER, HELENE (DE)；艾格 朱利安 EGGER, JULIAN (DE)；佩瑞 馬克 PARRY, MARK (GB)；沃爾德 大衛 WARD, DAVID (GB)；維特雷 塞西爾 VITRE, CECILE (FR)

(74)代理人：陳彥希；何愛文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：15 項 圖式數：83 共 427 頁

(54)名稱

心肺病症之治療

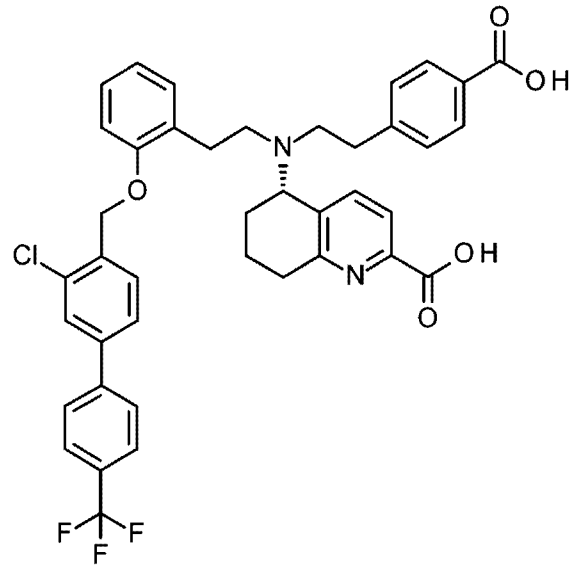
(57)摘要

本發明關於式(I)之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸(較佳於其鹽或溶劑合物和水合物中之一者的形式，較佳地呈式(I-M-I)之單水合物 I 的形式之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸或呈式(I-M-II)之單水合物 II 的形式之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸)於心肺和肺病症(諸如肺動脈高血壓(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高血壓(CTEPH)和與慢性肺部疾病相關之肺高血壓(PH)(第 3 組 PH)諸如慢性阻塞性肺病中之肺高血壓(PH-COPD)和肺高血壓併發特發性間質性肺炎(PH-IIP))的吸入治療之用途，其特徵在於包含 240 至 4000 μg(較佳地 480 至 2000 μg)的式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四

氫喹啉-2-甲酸(較佳於其鹽或溶劑合物和水合物中之一者的形式，較佳地呈式(I-M-I)之單水合物 I 的形式或呈式(I-M-II)之單水合物 II 的形式之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸的吸入劑型係每天一次或兩次為期至少連續兩天(較佳至少連續 2 至 7 天，較佳地為期連續至少 14 天，特別是從開始治療之後經整個病程)投予至有需要的患者，其中該吸入劑型較佳包含活性成分和醫藥上合適的賦形劑或載體之組合，同時較佳地將活性成分和醫藥上適合的賦形劑填充於硬膠囊中。

The present invention relates to the use of (5S)-{[2-(4-carboxyphenyl)ethyl][2-(2-{[3-chloro-4'-(trifluoromethyl)biphenyl-4-yl]methoxy}phenyl)ethyl]-amino}-5,6,7,8-tetrahydroquinoline-2-carboxylic acid of formula (I), preferably in form of one of its salts or solvates or hydrates, preferably (5S)-{[2-(4-carboxyphenyl)ethyl][2-(2-{[3-chloro-4'-(trifluoromethyl)biphenyl-4-yl]methoxy}phenyl)ethyl]-amino}-5,6,7,8-tetrahydroquinoline-2-carboxylic acid in form of monohydrate I of formula (I-M-I) or (5S)-{[2-(4-carboxyphenyl)ethyl][2-(2-{[3-chloro-4'-(trifluoromethyl)biphenyl-4-yl]methoxy}phenyl)ethyl]-amino}-5,6,7,8-tetrahydroquinoline-2-carboxylic acid in form of monohydrate II of formula (I-M-II), in the inhalative treatment of cardiopulmonary and pulmonary disorders, such as pulmonary arterial hypertension (PAH), chronic thromboembolic pulmonary hypertension (CTEPH) and pulmonary hypertension (PH) associated with chronic lung disease (PH group 3) such as pulmonary hypertension in chronic obstructive pulmonary disease (PH-COPD) and pulmonary hypertension with idiopathic interstitial pneumonia (PH-IIP), characterized in that an inhalative dosage form comprising 240 to 4000  $\mu\text{g}$ , preferably 480 to 2000  $\mu\text{g}$  of (5S)-{[2-(4-carboxyphenyl)ethyl][2-(2-{[3-chloro-4'-(trifluoromethyl)biphenyl-4-yl]methoxy}phenyl)ethyl]-amino}-5,6,7,8-tetrahydroquinoline-2-carboxylic acid of formula I, preferably in form of one of its salts or solvates or hydrates, preferably in form of monohydrate I of formula (I-M-I) or (5S)-{[2-(4-carboxyphenyl)ethyl][2-(2-{[3-chloro-4'-(trifluoromethyl)biphenyl-4-yl]methoxy}phenyl)ethyl]-amino}-5,6,7,8-tetrahydroquinoline-2-carboxylic acid in form of monohydrate II of formula (I-M-II), is administered to a patient in need thereof once or twice daily for a period of at least two consecutive days, preferably at least 2 to 7 consecutive days, preferably for a period of at least 14 consecutive days, in particular from after onset of treatment for the whole course of the disease, wherein the inhalative dosage form preferably comprises the combination of the active ingredient and a pharmaceutically suitable excipient or carrier, while preferably the active ingredient and a pharmaceutically suitable excipient are filled in a hard capsule.

特徵化學式：



(I)

## 【發明摘要】

【中文發明名稱】心肺病症之治療

【英文發明名稱】TREATMENT OF CARDIOPULMONARY DISORDERS

【中文】

本發明關於式(I)之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸(較佳於其鹽或溶劑合物和水合物中之一者的形式，較佳地呈式(I-M-I)之單水合物I的形式之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸或呈式(I-M-II)之單水合物II的形式之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸)於心肺和肺病症(諸如肺動脈高血壓(PAH)、慢性血栓性肺高血壓(CTEPH)和與慢性肺部疾病相關之肺高血壓(PH)(第3組PH)諸如慢性阻塞性肺病中之肺高血壓(PH-COPD)和肺高血壓併發特發性間質性肺炎(PH-IIP))的吸入治療之用途，其特徵在於包含240至4000  $\mu\text{g}$ (較佳地480至2000  $\mu\text{g}$ )的式I之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸(較佳於其鹽或溶劑合物和水合物中之一者的形式，較佳地呈式(I-M-I)之單水合物I的形式或呈式(I-M-II)之單水合物II的形式之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸的吸入劑型係每天一次或兩次為期至少連續兩天(較佳至少連續2至7天，較佳地為期連續至少14天，特別是從開始治療之後經整個病程)投予至有需要的患者，其中該吸入劑型較佳包含活性成分和醫藥上合適的賦形劑或載體之組合，同時較佳地將活性成分和醫藥上適合的賦形劑填充於硬膠囊中。

## 【英文】

The present invention relates to the use of

(5S)-{[2-(4-carboxyphenyl)ethyl][2-(2-{[3-chloro-4'-(trifluoromethyl)biphenyl-4-yl]methoxy}phenyl)ethyl]-amino}-5,6,7,8-tetrahydroquinoline-2-carboxylic acid of formula (I), preferably in form of one of its salts or solvates or hydrates, preferably (5S)-{[2-(4-carboxyphenyl)ethyl][2-(2-{[3-chloro-4'-(trifluoromethyl)biphenyl-4-yl]methoxy}phenyl)ethyl]-amino}-5,6,7,8-tetrahydroquinoline-2-carboxylic acid in form of monohydrate I of formula (I-M-I) or

(5S)-{[2-(4-carboxyphenyl)ethyl][2-(2-{[3-chloro-4'-(trifluoromethyl)biphenyl-4-yl]methoxy}phenyl)ethyl]-amino}-5,6,7,8-tetrahydroquinoline-2-carboxylic acid in form of monohydrate II of formula (I-M-II), in the inhalative treatment of cardiopulmonary and pulmonary disorders, such as pulmonary arterial hypertension (PAH), chronic thromboembolic pulmonary hypertension (CTEPH) and pulmonary hypertension (PH) associated with chronic lung disease (PH group 3) such as pulmonary hypertension in chronic obstructive pulmonary disease (PH-COPD) and pulmonary hypertension with idiopathic interstitial pneumonia (PH-IIP), characterized in that an inhalative dosage form comprising 240 to 4000  $\mu\text{g}$ , preferably 480 to 2000  $\mu\text{g}$  of

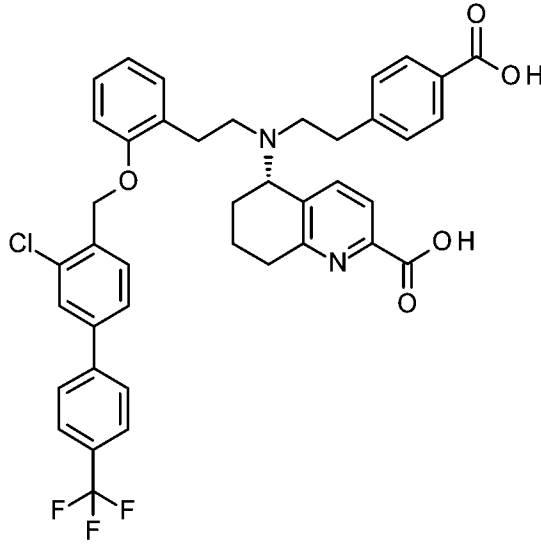
(5S)-{[2-(4-carboxyphenyl)ethyl][2-(2-{[3-chloro-4'-(trifluoromethyl)biphenyl-4-yl]methoxy}phenyl)ethyl]-amino}-5,6,7,8-tetrahydroquinoline-2-carboxylic acid of formula I, preferably in form of one of its salts or solvates or hydrates, preferably in form of monohydrate I of formula (I-M-I) or

(5S)-{[2-(4-carboxyphenyl)ethyl][2-(2-{[3-chloro-4'-(trifluoromethyl)biphenyl-4-yl]methoxy}phenyl)ethyl]-amino}-5,6,7,8-tetrahydroquinoline-2-carboxylic acid in form of monohydrate II of formula (I-M-II), is administered to a patient in need thereof once or twice daily for a period of at least two consecutive days, preferably at least 2 to 7

consecutive days, preferably for a period of at least 14 consecutive days, in particular from after onset of treatment for the whole course of the disease, wherein the inhalative dosage form preferably comprises the combination of the active ingredient and a pharmaceutically suitable excipient or carrier, while preferably the active ingredient and a pharmaceutically suitable excipient are filled in a hard capsule.

【指定代表圖】無

【代表圖之符號簡單說明】無



【特徵化學式】

(I)

## 【發明說明書】

【中文發明名稱】心肺病症之治療

【英文發明名稱】TREATMENT OF CARDIOPULMONARY DISORDERS

【技術領域】

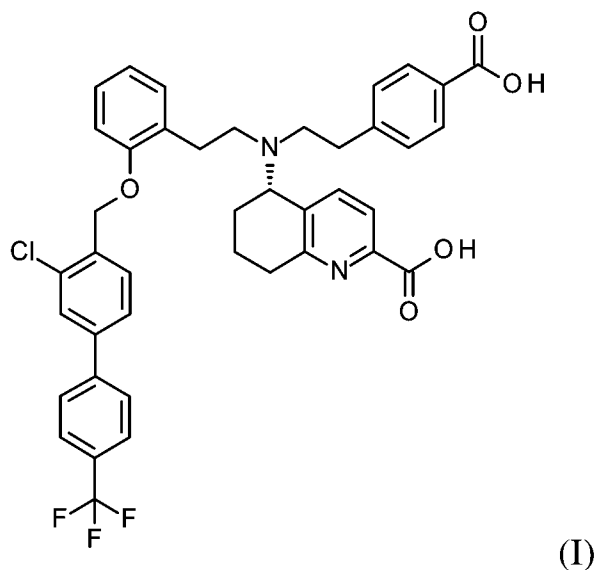
【0001】 本發明關於式(I)之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸(較佳呈其鹽或溶劑合物和水合物中之一者的形式，較佳呈式(I-M-I)之單水合物 I 的形式之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸或呈式(I-M-II)之單水合物 II 的形式之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸)於心肺和肺病症(諸如肺動脈高血壓(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高血壓(CTEPH)和與慢性肺部疾病相關之肺高血壓(PH)(第 3 組 PH)諸如慢性阻塞性肺病中之肺高血壓(PH-COPD)和肺高血壓併發特發性間質性肺炎(PH-IIP))的吸入治療之用途，其特徵在於將包含下列的吸入劑型投予至有需要的患者：240 至 4000  $\mu\text{g}$ (較佳地 480 至 2000  $\mu\text{g}$ )的式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸(較佳於其鹽或溶劑合物和水合物中之一者的形式，較佳地呈式(I-M-I)之單水合物 I 的形式或呈式(I-M-II)之單水合物 II 的形式)之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，每天一次或兩次，經連續至少兩天的期間，較佳至少連續二至七天，較佳地為期連續至少 14 天，特別是從開始治療之後經整個病程，其中該吸入劑型較佳包含活性成分和醫藥上合適的賦形劑或載體之組合，同時較佳地將活性成分和醫藥上適合的賦形劑填充於硬膠囊中。

【0002】 再者本發明關於使用於心肺病症(諸如肺動脈高血壓(PAH)、慢性血栓性肺高血壓(CTEPH)和與慢性肺部疾病相關之肺高血壓(PH)(第3組 PH)諸如慢性阻塞性肺病中之肺高血壓(PH-COPD)和肺高血壓併發特發性間質性肺炎(PH-IIP)的吸入治療之藥劑，其包含式(I)之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸(較佳於其鹽或溶劑合物和水合物中之一者的形式，較佳地呈式(I-M-I)之單水合物 I 的形式之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸或呈式(I-M-II)之單水合物 II 的形式之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸)和視需要地醫藥上合適的賦形劑或載體，較佳地於乾粉調配物的形式，視需要地填充於空腔(例如硬膠囊)中，其經由吸入性投予至有需要的患者，每天一次或兩次，為期等於或超過兩天，較佳至少連續二至七天，較佳地為期連續至少 14 天，特別是從開始治療之後經整個病程，包含 240 至 4000  $\mu\text{g}$ ，較佳地 480 至 2000  $\mu\text{g}$  的活性成分。

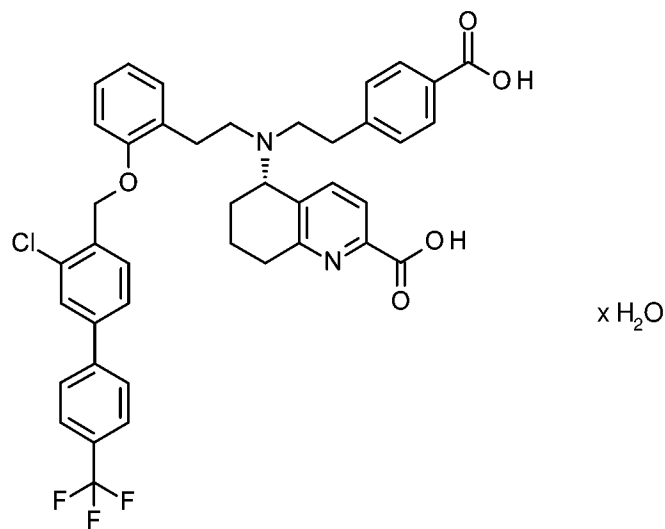
【0003】 再者本發明關於式(I)之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸(較佳呈其鹽或溶劑合物和水合物中之一者的形式，較佳為式(I-M-I)之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸單水合物 I 或式(I-M-II)之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸單水合物 II)之用途，其係用於製備使用於心肺病症(諸如肺動脈高血壓(PAH)、慢性血栓性肺高血壓(CTEPH)和與慢性肺部疾病相關之肺高血壓(PH)(第3組 PH)諸如慢性阻塞性肺病中之肺高血壓(PH-COPD)和肺高血壓併發特發性間質性肺炎(PH-IIP))之治療中的吸入性藥劑，於吸入劑型的形式，較佳地呈乾粉調配物，包含活性成分和醫藥上合適的賦形劑或載體，較佳為活性成分

和醫藥上合適的賦形劑，視需要地填充於硬膠囊中，其中該藥劑係每天一次或兩次投予至有需要的患者為期等於或超過兩天，較佳至少連續二至七天，較佳地為期連續至少 14 天，特別是從開始治療之後經整個病程，及其中該藥劑包含 240 至 4000  $\mu\text{g}$ (較佳地 480 至 4000  $\mu\text{g}$ ，較佳地 480 至 2000  $\mu\text{g}$ )的(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫-喹啉-2-甲酸(較佳於其鹽或溶劑合物和水合物中之一者的形式，較佳為式(I-M-I)之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸單水合物 I 或式(I-M-II)之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸單水合物 II)。

**【0004】** (5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸對應於式(I)



**【0005】** (5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸之新穎晶形，其為 i.a.對應於式(I-M-I)、(I-M-II)之假多晶形單水合物 I (I-M-I)或假多晶形單水合物 II (I-M-II)，



(I-M-I)、(I-M-II)

**【0006】** 式(I)、(I-M-I)和(I-M-II)之化合物充當可溶性鳥苷酸環化酶之活化劑且可用作為使用於預防及/或治療肺、心肺和心血管疾病(諸如例如用於治療肺動脈高血壓(PAH)和與慢性肺部疾病相關之肺高血壓(PH)(第3組PH)諸如慢性阻塞性肺病中之肺高血壓(PH-COPD)和肺高血壓併發特發性間質性肺炎(PH-IIP))之藥劑，更具體地說，其關於一種治療心肺病症(諸如肺動脈高血壓(PAH)、慢性血栓性肺高血壓(CTEPH)和與慢性肺部疾病相關之肺高血壓(PH)(第3組PH)諸如PH-COPD和PH-IIP)之方法。

### 【先前技術】

#### 發明背景

**【0007】** 肺高血壓(PH)是一種進行性肺部疾病，其未經治療會在診斷後幾年內導致死亡。肺高血壓係定義為平均肺動脈壓(mPAP)升高(休息時正常值 < 20 mmHg)。肺高血壓的病理生理學特徵在於肺血管的血管收縮和重塑。在慢性PH中，主要是未肌肉化的(unmuscularized)肺血管出現新肌肉化(neomuscularization)，並且已經肌肉化的血管的血管肌之周長增加。此肺循環之閉塞的增加導致右心臟的壓力增加，其導致右心臟輸出減少且最終導致右心臟衰竭 [M. Humbert et al., *J. Am. Coll. Cardiol.* 2004, 43, 13S-24S] [M. Humbert et al., *J. Am. Coll. Cardiol.*

第4頁，共 358 頁(發明說明書)

2004, 43, 13S-24S]。特發性(或原發性)肺動脈高血壓(IPAH)是一種非常罕見的病症，而繼發性肺高血壓(non-PAH PH)非常常見，且認為後者是目前冠心病和全身性高血壓後的心血管病症的第三大最常見的疾病。自 2008 年以來，肺高血壓根據 Dana Point 分類按照各個病因分為多個亞組 [M. Humbert and V.V. McLaughlin, *J. Am. Coll. Cardiol.* 2009, 54 (1), S1-S2; D. Montana and G. Simonneau, in: A.J. Peacock et al. (Eds.), *Pulmonary Circulation. Diseases and their treatment*, 3<sup>rd</sup> edition, Hodder Arnold Publ., 2011, pp. 197-206; updated Nizza classification Gérald Simonneau, David Montani, David S. Celermajer, Christopher P. Denton, Michael A. Gatzoulis, Michael Krowka, Paul G. Williams, Rogerio Souza: *Haemodynamic definitions and updated clinical classification of pulmonary hypertension*, in: *European Respiratory Journal*, 2018; DOI: 10.1183/13993003.01913-2018]。

【0008】 儘管 PH 的治療所有進展，但目前還沒有治愈這種嚴重疾病的可能性。市場上可獲得的標準療法(例如前列腺環素類似物、內皮素受體拮抗劑、磷酸二酯酶抑制劑)能夠改善患者的生活品質、運動耐量和預後。此等治療原則主要是全身投予(除吸入曲前列環素(Treprostinil)和吸入伊洛前列素(Iloprost)或 NO 之外)，且藉由調節血管血管張力(vessel tone)而主要以血液動力學地作用。由於副作用，這些藥物的適用性受到限制，其中一些副作用很嚴重，及/或投予形式複雜。藉由特定的單一療法可改善或穩定患者臨床狀況的時間是有限的(例如由於耐受性的發展)。最終治療升級且因此應用組合療法，其中必須同時給予多種藥劑。目前，此等標準療法僅批准用於治療肺動脈高血壓(PAH)和慢性血栓性肺高血壓(CTEPH)。關於肺部疾病(第 3 組 PH)諸如 PH-COPD 或 PH-IIP 的繼發性 PH 形式之情況下，在臨床研究中此等治療原則(例如西地那非(sildenafil)、波生坦(bosentan))已失敗，因為非選擇性血管舒張，彼等導致患者動脈氧含量之降低(去飽和)。此可能的原因為由於非選擇性血管擴張劑的全身性投予對異源性肺部病症的肺中通氣-灌注適應產生不利影響 [I. Blanco et al., *Am. J.*

*Respir. Crit. Care Med.* 2010, *181*, 270-278 : D. Stolz et al., *Eur. Respir. J.* 2008, *32*, 619-628]。

**【0009】** 新穎組合療法為一種治療肺高血壓最有前途的未來治療選擇之一。在此方面，發現治療 PH 之新穎藥理學機制特別令人感興趣[Ghofrani et al., *Herz* 2005, *30*, 296-302 : E.B. Rosenzweig, *Expert Opin. Emerging Drugs* 2006, *11*, 609-619 : T. Ito et al., *Curr. Med. Chem.* 2007, *14*, 719-733]。特別是，可與市場上已有的治療概念相結合的新穎治療方法可形成更有效治療的基礎，且因此對患者來說非常有利。此外，該種新作用原理的選擇性肺部適用性可提供不僅將其用於 PAH 的選項，而且尤其是可為患有 PH 之繼發性形式(第 3 組 PH)的患者提供首選治療選項，因為他們經由吸入施用藉由針對性地施用到肺部的通氣區域而避免非選擇性全身性血管舒張。因為它們藉由吸入應用有針對性地應用到肺部的通風區域，從而避免了非選擇性的全身血管擴張。

**【0010】** 與許多心肺疾病相關的氧化壓力導致一氧化氮/可溶性鳥苷酸環化酶傳訊路徑受損，從而將天然可溶性鳥苷酸環化酶轉變為無血紅素的脂溶性 (apo-soluble) 鳥苷酸環化酶。專門針對此 sGC 的 NO 不敏感形式提供概述其治療各種心肺疾病的前所未有之治療機會的潛力。sGC 活化劑經由其獨特的作用模式藉由在氧化壓力條件下恢復關鍵的 cGMP 傳訊，結合一種新穎的局部和肺選擇性應用，可成為一種用於肺高血壓患者之既提高功效又減少副作用的強力新治療選項。

**【0011】** 在肺高血壓之動物模型中，已證明呈微粒形式之 sGC 活化劑 BAY 58-2667(西那西瓜)的吸入投予導致肺動脈壓的劑量依賴性選擇性降低。以此模式，靜脈內投予 of  $^1\text{H}=1,2,4$ -咪唑并[4,3-a]喹啉-1-酮(ODQ)之靜脈內給予，其氧化 sGC 的輔血紅素基團(prosthetic haem group)，降低吸入性 NO(iNO)之血管擴張作用，而此以 BAY 58-2267 而增加。此等結果導致假設 sGC 活化劑之吸入投予可能代表一種用於罹患肺高血壓的患者之新穎有效的治療方法，特

別是若這些患者對 iNO 及/或對 PDE5 抑制劑之反應由於缺乏 NO 或 sGC 氧化而減少[O.V. Evgenov et al., *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2007, 176, 1138-1145]。然而，以此模式，西那西瓜就其本身而言沒有足夠的作用期間，且此外，較高的劑量導致不需要的全身性副作用。

**【0012】** Merck Sharp Dohme 正在開發一種以乾粉吸入施用之 sGC 刺激劑 (MK5475 : NCT04609943)。然而，如在 PH 和其他肺部疾病中，吸入性一氧化氮(iNO)和 sGCC 刺激劑的反應性可能會因 sGC 的氧化而受損。靶向肺部的吸入性 sGC 激活劑可克服此限制。

**【0013】** 在心肺病症(諸如肺動脈高血壓(PAH)、慢性血栓性肺高血壓 (CTEPH)和與慢性肺部疾病相關之肺高血壓(PH)(第 3 組 PH)諸如慢性阻塞性肺病中之肺高血壓(PH-COPD)和肺高血壓併發特發性間質性肺炎(PH-IIP))之領域中，由於潛在肺部疾病(第 3 組 PH)的 PH 患者係以投予開發用於的相關肺部疾病(例如 COPD)之藥物進行一線治療。特定 PH 藥物(例如 IP 促效劑、PDE5 抑制劑、內皮素拮抗劑和 sGC 刺激劑)僅批准用於 PAH 和 CTEPH，且由於觀察到此等全身性施用血管擴張劑的去飽和效應，僅以第 3 組 PH 的形式進行實驗使用。

**【0014】** 口服施用經常是活性藥物的較佳投予路徑。關於心肺適應症，較佳為將藥物局部應用於靶器官肺部，以藉由增加局部藥物濃度來改良療效，並避免藥物因全身性可用率而引起的全身副作用。一般來說，不太頻繁的給藥方案是可取的，例如以改善患者對治療的堅持性(患者的順從性)，但必須確定 24h 的覆蓋範圍，以確保在給藥間隔期間血液動力學活性藥物的持續功效。許多肺部靶向吸入性藥物需要頻繁的施用方案(例如 Iloprost/Ventavis)，由於彼等的(例如)短半衰期及/或肺滯留時間，需要每天多次施用才能覆蓋 24 小時。特別地，由於對患者有利的便利性和順從性原因，每日一次施用是較佳的。然而，此目的有時難以實現，取決於藥物物質的特定行為和性質，尤其是其肺選擇性和肺滯留時間。

【0015】 另一種全身性投予(注射)，甚至更多地與許多缺點(例如，需要臨床訪問的不便、不適、患者厭惡基於針頭的遞送方法、投予側的藥物反應)相關，因此更需要替代投予路徑。

【0016】 藉由吸入肺部遞送為一種該替代投予路徑，其可提供優於口服和注射投予的幾個優點。這些優點尤其是藉由增加局部濃度和降低全身藥物副作用的可能性而具有更高的功效，而且還包括患者自我投予的便利性、易於藉由吸入遞送、淘汰針頭、等等。

【0017】 對於吸入用醫藥製劑，在不需要佐劑的情況下，特別是在懸浮吸入用固體製劑的情況下，製劑可僅由活性成分組成。然而，出於實際原因，例如為了促進極低劑量之活性成分的藥物遞送，製劑經常是除活性成分外還含有一或多種藥理不活性且生理上可接受的賦形劑或載體的藥劑。各種適當製劑對應吸入藥物遞送技術的綜述可見於例如 Paolo Colombo, Daniela Traini and Francesca Buttini 的書籍 "Inhalation Drug Delivery – Techniques and Products" (published by Wiley-Blackwell 2013)。在 2019 年，Moon 等人發表關於口服吸入產物之遞送技術的最新評論(Moon et al , AAPS PharmSciTech 20: 117 pp 1-17)。

#### 先前技藝

【0018】 各種 5-胺基-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸以及彼等在心血管和心肺病症(如例如 PAH)的醫藥用途係揭示於專利申請案 WO 14/012934-A1 中。

【0019】 然而，一些此等化合物(例如實施例 2、37 和 39(參見實驗部分的比較例 3、4 和 5)僅顯示在 PAH 動物模式中有限或中等的作用期間。再者，一些此等化合物(例如實施例 37(參見實驗部分中之比較例 3)不是肺選擇性的。

【0020】 此外，WO 14/012934-A1 中揭示的幾個實施例確實僅顯示有限的熱穩定性(在 90°C 下，7 天)：例如實施例 2 (比較例 5，實驗部分)、24 (比較例 6，

實驗部分)、25(比較例 7, 實驗部分)、28 (比較例 8, 實驗部分)、29 (比較例 9, 實驗部分)和例如 31(比較例 10, 實驗部分)。

【0021】 另外, 文件 WO 14/012934-A1 沒有揭示所述化合物是否適合用於每天一次或兩次的吸入治療方案, 也沒有揭示任何具體劑量。

【0022】 因此, 需要提供一種新穎的使用於治療心肺病症之適當每日一次或兩次吸入劑量方案, 用於基於具有有利性質(例如, 足夠的作用期間、肺選擇性作用(與全身性作用相反, 例如高肺選擇性, 低至無 VQ 不匹配, 其肺滯留時間)的活性成分。再者, 藥物物質應顯示改善的通氣性, 例如支氣管擴張作用及/或對氣道高反應性和發炎的抑制作用, 並因此特別適合使用於治療肺動脈高血壓(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高血壓(CTEPH)和與慢性肺部疾病相關之肺高血壓(PH)(第 3 組 PH)諸如慢性阻塞性肺病中之肺高血壓(PH-COPD)和肺高血壓併發特發性間質性肺炎(PH-IIP)。

【0023】 再者, 需要提供一種適用於上述吸入劑量方案的穩定活性成分。

【0024】 在熱穩定性測試中發現式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫-喹啉-2-甲酸(比較例 11)是穩定的。

【0025】 另外式 I 之酸(=比較例 11)(根據 WO2014/012934-A1 之實施例 23)令人驚訝地顯示更多有利的性質, 例如在預測性 PAH 動物模式中具有極佳持久的功效以及肺內選擇性(C-2.1)。在單側支氣管阻塞模式中比較例 11 有效地降低的肺動脈壓(PAP)。與全身性投予相比, 吸入後未檢測到對去飽和區域的負效應, 為此投予路徑提供更好的風險效益比。結果, 比較例 11 在吸入施用後顯示強肺和肺內選擇性。而且, 我們的數據指示比較例 11 不僅改善循環, 而且顯示支氣管擴張性質(C-3.1 : C-3.2), 其可能有益於治療患有慢性肺部疾病的 PH 患者, 甚至有可能治療氣喘患者(C-3.3)。因此, 比較例 11 可能是一種適當的吸入藥物,

其靶向肺部的通氣區域並僅在通氣區域引起血管舒張，藉此克服此種在當前 PAH 治療選項中經歷過大 V/Q 不匹配之限制。

【0026】 在人類氣道平滑肌細胞(HASMC)中，鬆弛可由 NO-可溶性鳥苷酸環化酶(sGC)-cGMP 傳訊路徑驅動。特別是，大多數嚴重氣喘供體 HASMC 和肺樣品主要表現官能不良的氧化 sGC。因此，尤其是 sGC 活化劑可能是這些患者的新目標選擇 (Arnab Ghosh, Cynthia J. Koziol-White, William F. Jester Jr., Serpil C. Erzurum, Kewal Asosingh, Reynold A. Panettieri Jr.see, Dennis J. Stuehr: An inherent dysfunction in soluble guanylyl cyclase is present in the airway of severe asthmatics and is associated with aberrant redox enzyme expression and compromised NO-cGMP signaling in Redox Biology 39 (2021) 101832; Maggie Lam, Jane E. Bourke, Ph.D., A New Pathway to Airway Relaxation: Targeting the “Other” Cyclase in Asthma American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology Volume 62 Number 1 | January 2020)。據報導，sGC 調節劑在人體小氣道中誘發支氣管擴張 (Cynthia J. Koziol-White, Arnab Ghosh, Peter Sandner, Serpil E. Erzurum, Dennis J. Stuehr, and Reynold A. Panettieri, Jr.: Soluble Guanylate Cyclase Agonists Induce Bronchodilation in Human Small Airways, Am J Respir Cell Mol Biol Vol 62, Iss 1, pp 43–48, Jan 2020)。因此，我們局部施用後比較例 11 的支氣管擴張性質與推出的 sGC 刺激劑里奧西瓜(Riociguat)(比較例 2)和 sGC 活化劑西那西瓜(Cinaciguat)(比較例 1)，目的是測試支氣管擴張性的作用期間(恢復因子作為期間的指標(C-3.1))。與媒液相比，所有 sGC 調節劑西那西瓜(比較例 1)、里奧西瓜(比較例 2)和比較例 11 都誘發舒張。經由西那西瓜(比較例 1)和里奧西瓜(比較例 2)之舒張在 1h 內達到穩定狀態。令人驚訝地，經由比較例 11 之舒張進一步增加。里奧西瓜(比較例 2)誘發之舒張在 1h 內完全洗出(恢復因子 0.34)，西那西瓜(比較例 1)誘發之舒張的穩定略有減少趨勢(恢復因子 0.91)，類似於媒液(恢復因子 0.99)。相比之下，

令人驚訝地由比較例 11 誘發之舒張進一步增強，恢復因子為 1.41，表明具有關於比較例 11 之支氣管擴張性質的更長作用期間。

【0027】 先前的研究已顯示口服投予 PAH 藥物(例如,波生坦、西地那非、里奧西瓜)劑量依賴性地降低缺氧 PAP(即積極的治療效應)但增加去飽和區域(即不需要的去飽和效應)(Becker EM, Stasch JP, Bechem M, Keldenich J, Klipp A, Schaefer K, Ulbrich HF, Truebel H. Effects of different pulmonary vasodilators on arterial saturation in a model of pulmonary hypertension. PLoS One 2013;8:1-8)。sGC 活化集中在吸入施用後的通氣區域(肺內選擇性)可選擇性和有效地減少肺部血管收縮而不影響 V/Q 不匹配。在單側支氣管阻塞模式中吸入性比較例 11 有效降低 PAP。與全身性投予相比，吸入後未檢測到對去飽和區域的負效應，為此投予路徑提供更好的風險效益比。特別地，比較例 11 在吸入施用後顯示出強肺和肺內選擇性(C-2.3)。因此，比較例 11 可能是一種適當的吸入藥物，其靶向肺部的通氣區域並僅在通氣區域引起血管舒張，藉此克服此種在當前 PAH 治療選項中經歷過大 V/Q 不匹配之限制。而且，我們的數據指示比較例 11 不僅改善循環，而且還顯示長作用期間的支氣管擴張性質(C-3.1：C-3.2：C-4.1)，其可能有益於治療患有慢性肺部疾病的 PH 患者，甚至有可能治療氣喘患者(C-3.3)。

【0028】 為了提供一種使用於治療心肺病症的新穎適當吸入劑量方案，需要包含比較例 11(如 WO 14/012934-A1 的實施例 23 中所揭示)作為活性成分之吸入劑型。作為較佳選項，由於乾粉吸入劑型的適用性、便利性和患者的順從性及黏著性，而選擇乾粉吸入劑型。乾粉吸入劑型要求活性成分式(I)之(5S)-{[2-(4-羧基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸需要以單一的限定結晶形式提供。

【0029】 然而，如 WO 14/012934-A1 的實施例 23 中所揭示，(5S)-{[2-(4-羧基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}-苯基)-乙基]氨

基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-羧酸的式(I)只能以無定形形式獲得，其不適合使用於藉由乾粉吸入器施用之吸入劑型。

【0030】 再者，在文獻 WO 14/012934-A1 中，沒有揭示使用於治療心肺病症的基於特定載體之吸入性藥劑，其包含(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸和乳糖載體之乾粉調配物。

【0031】 因此，需要提供一種使用於治療心肺病症之新穎適當吸入劑量方案，其係基於穩定晶形的式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，在人類中具有足夠的作用期 (諸如例如改善的血液動力學效應、降低的肺血管阻力(PVR)、肺內選擇性、支氣管擴張作用、cGMP 和支氣管擴張作用比氣道阻力)適合於長期治療/使用。

【0032】 對於吸入療法，通常可用三種藥品調配物選項且可根據所需劑量、患者群和相關性質、活性成分穩定性進行選擇。若活性成分的溶解性和穩定性允許，一種調配物的形式為經霧化之溶液。霧化藥物的缺點通常是遞送效率低(產生低部分的 $<5\mu\text{m}$  吸入液滴)、每次治療的施用時間延長、缺乏用於按需治療的可攜式裝置選項(並且需要電源)。

【0033】 第二種選項是壓力定量吸入器(*pressurized metered dose inhaler*, pMDI)，其具有加強的可攜性、不需要電源和遞送低劑量的機會(而高劑量通常不可行)。缺點包括使用有機溶劑(推進劑)、需要特殊的製造技術，而且非常重要的是，需要協調呼吸操作與裝置的啟動。此經常通常會導致藥物遞送(和治療)不足且患者順從性低。

【0034】 乾粉吸入器(DPI)具有重要的優點，諸如小型可攜式設計、可能遞送廣泛的劑量範圍內的藥物、不受藥物溶解性的影響以及呼吸操縱與裝置驅

動(被動裝置)不協調。因此，對於許多施用和治療選項，DPI 構成了被選擇的較佳技術。

【0035】 乾粉吸入劑(DPI)通常用於治療肺部疾病，諸如氣喘和肺部感染且其由裝置中的粉末調配物組成，其可吸入下呼吸道。使吸入成為有吸引力的藥物遞送方式的關鍵特徵是：藉由將藥物直接靶向作用位置之裝置最佳化藥物遞送、減少全身副作用、快速起效、由於此藥物投予路徑的非侵入性而患者的接受度、堅持性和順從性提高。吸入用乾粉產物的遞送效率取決於藥物調配物、吸入器裝置和吸入技術。

【0036】 一般目標是當使用用於肺部遞送的醫藥調配物時，遞送的藥物量相對於劑量單位的標稱含量盡可能高。相比之下，肺中非活性成分的沉積應最少化至可能且證明是合理的最低量。不同的一般調配物策略傾向可吸入調配物，其全部都遵循最佳化和增加 $< 5\mu\text{m}$ 的藥物顆粒之活性成分細顆粒沉積的策略，同時將暴露於非活性成分減至最少。

【0037】 滿足此目標的最簡單方法為在沒有任何載體的情況下單獨提供微粉化形式的活性成分，但由於藥物的性質以及更重要的是目標人體劑量通常非常低，這種策略是有限的。然而，對於 DPI 調配物，此方法的實際重要性很低。

【0038】 另一種策略是調配微粉化藥物顆粒或將藥物溶解成經設計之(engineered)顆粒，其中藥物與非活性成分一起調配並產生成形顆粒，其可為是經塗布之藥物微粒或多孔顆粒或具有或多或少均勻或在 $5\mu\text{m}$ 或以下之窄粒徑分布的基質顆粒以增加遞送到肺深部和氣道的藥物量。彼等調配物的一個缺點為載體和藥物結合在一起且將一起遞送到作用部位。Healy 等人發表基於非載體的乾粉吸入調配物之綜合概述。(Advance Drug Delivery reviews 75 (2014) pp 32-52)。

【0039】 有許多調查變數對黏合劑藥物載體混合物的影響之已發表的研究，然而基本了解仍然有限。由於有許多同時發生的可能效應及可具有競爭或協同或拮抗的潛力，因此總體上仍然難以預測給定混合物的氣霧劑性能，尤其是因為活性成分化合物顆粒本身的比表面積和物理性質。

【0040】 為了研究吸入用基於載體的混合物之調配物和分散體所涉及的機制，已經進行了多年的研究和開發。[de Boer et al. in: A critical view on lactose-based drug formulation and device studies for dry powder inhalation: Which are relevant and what interactions to expect? *Advanced Drug Delivery Reviews* 64 (2012) 257–274]。

【0041】 然而，由於不同的因素和成分相互影響且高度取決於藥物物質性質，目前沒有對於新穎藥物物質之如何設計吸入用基於載體的混合物的現存或可推論的明確指引或準則。因此，藥品開發領域的技術人員在面臨開發新穎吸入用基於載體的混合物之任務時，必須遵循針對各新活性成分的從新設計和開發方法。

【0042】 整體上最常見的策略是將活性成分與非活性載體化合物調配成乾粉摻合物，其中微粉化藥物顆粒黏著在非活性載體上，其在大多數情況下為乳糖或其他與糖相關的化合物，例如糖醇如甘露醇。藥物遞送的基本機制是微粉化藥物顆粒暫時黏著在非活性較大載體材料顆粒上及隨後活性微粉化藥物顆粒從載體上去黏聚或釋放，受用於施用調配物之乾粉吸入器內產生的氣流能量影響。大部分載體材料不打算被吸入，並且由於其大小，會沉積在上呼吸道，主要是口腔和喉嚨。在吸入期間，必須克服黏著力以從載體上釋放藥物顆粒，因此控制藥物在載體上的黏著力以允許大部分劑量的最佳釋放變得可用於藥物遞送至肺深部。

【0043】 大多數 DPI 產物都為基於載體的調配物，其由細研磨的藥物顆粒混合通常為乳糖單水合物的粗載體顆粒組成。然而，也使用替代載體諸如葡萄

糖、海藻糖、山梨糖醇和(冷凍乾燥的)甘露糖醇，因為乳糖在用作 DPI 的賦形劑時有一些缺點。例如，乳糖與具有一級胺基的藥物不相容並因此不太適合用於包含敏感藥物的下一代可吸入產品。

**【0044】** 乳糖可以兩種基本異構物形式(即  $\alpha$ -和  $\beta$ -乳糖)或非晶形獲得。 $\alpha$ -乳糖以單水合物和無水形式存在，前者是熱力學最穩定的形式。 $\alpha$ -乳糖單水合物係藉由從低於 93.5°C 的過飽和溶液中結晶製備。其結晶形狀可為棱柱體、金字塔體或戰斧體(tomahawk)且取決於沉澱和結晶方法。無水乳糖(通常含有 70-80% 無水  $\beta$ -乳糖和 20-30% 無水  $\alpha$ -乳糖)最常見是藉由滾筒乾燥 93.5°C 以上的乳糖溶液來製造。接下來，將兩種所得產物研磨以減小粒徑並篩分以選擇適當的粒徑分布。噴霧乾燥的乳糖係藉由將  $\alpha$ -乳糖單水合物晶體在水中之懸浮液以乳糖溶液進行噴霧乾燥而獲得。高於 93.5°C 的溫度，無水  $\beta$ -乳糖形成，而低於此溫度，獲得到  $\alpha$ -乳糖單水合物。[11] G. Pilcer, N. Wauthoz, K. Amighi, *Lactose characteristics and the generation of the aerosol*, *Adv Drug Del Reviews* 64(2012) 233-256]

**【0045】** 存在多種具有不同物理化學性質的乳糖，其可用於 DPI 調配物。乳糖可藉由研磨、篩分、噴霧乾燥或造粒進行處理，從而產生不同的性質。乳糖賦形劑是市售的，因此有各種等級，彼等具有與例如(i.a.)粗糙度、形狀、粒徑、粒徑分佈、水含量、可壓縮性或表面積相關的不同物理化學特性。粉末的氣溶膠性能，例如粒度分佈、形狀和表面特性。粉末的氣霧劑性能在很大程度上取決於乳糖的特性，諸如粒徑分布和形狀和表面性質。[11] G. Pilcer, N. Wauthoz, K. Amighi, *Lactose characteristics and the generation of the aerosol*, *Adv Drug Del Reviews* 64(2012) 233-256]

**【0046】** 報導乳糖顆粒設計的(engineering)另外方法諸如種晶、結晶、塗布、成形、冷凝和沉澱，並且也導致材料具有與例如關於粒徑、粒徑分佈、細粒含量、形狀、表面粗糙度、流動性質、靜電荷、固態變化的不同物理化學性

質。[[12] X. Kou, L. Wah Chan, H. Steckel, P.W.S. Heng, *Physico-chemical aspects of lactose for inhalation, Adv. Drug Del. Reviews 64 (2012) 220-232*]

【0047】 在吸入用之基於載體的混合物中，必須調整混合物在儲存和處理期間的穩定性與在吸入期間的分散性之間的適當平衡。已經顯示，與這些方法相關的變數可以不同的方式相互影響且藉由改變一個變數，其他一些變數的影響可能會逆轉。這可解釋為什麼在關於單一變數的效應之文獻中會得出相反的結論。[De Boer, 2012]

【0048】 人們一致認為一系列後續方法，包括起始材料的選擇或製造、混合方法、吸入器裝置中的分散和去黏聚，以及最後的氣霧劑特徵化，對於確定導致有益於體外沉積結果之適當調配物是必要的。

【0049】 所需的載體性質取決於所要處理的藥物類型、混合物中的藥物濃度(% w/w)以及確定的藥物劑量和以(或計入)劑量系統計量的粉末量，以及打算使用的混合方法的類型。[De Boer, 2012]

【0050】 藥物和載體之間的界面力已經連同產生可能直接影響藥物與載體相互作用的不同顆粒表面性質顆粒製備技術(諸如研磨、冷凝、噴霧乾燥、沉澱和結晶)進行了討論。[De Boer, 2012]

【0051】 主要挑戰是找到控制乾粉吸入器(DPI)系統顆粒沉積顆粒的三種力之間的最佳平衡：混合物中的顆粒間力、在吸入期間由吸入裝置產生的分散力和氣霧劑顆粒在呼吸道中之沈積力。[De Boer, 2012]

【0052】 DPI 的設計控制裝置中的粉末去黏聚。所有市售的被動式 DPI 都具有三個共同的設計特徵：吸嘴、進氣口和粉末儲存/分配系統。也可能存在其他特徵，諸如網格和旋轉膠囊，以促進粉去黏聚。[De Boer, 2012]

【0053】 另外的因素可能是旋轉膠囊的作用和裝置中氣流速率的影響。De Boer 等人 描述對基於載體的調配物吸入吸入製劑之製備和分散方法有影響並另外相互作用的變數：藥物性質、載體表面性質、載體散裝性質、載體表面

有效負載、混合方法、混合物性質、吸入方法、儲存和調節，僅舉幾例。[de Boer et al. in: Dry powder inhalation: past, present and future. EXPERT OPINION ON DRUG DELIVERY, 2017 VOL. 14, NO. 4, 499–512]

【0054】 因此，實際上，a) 吸入用混合物之醫藥調配物和(b)適當載體的選擇以及(c) 吸入裝置的選擇或設計仍然是一種經驗方法，需要開發及適應和設計某些參數以獲得具有足夠穩定性和氣霧劑性能的各個藥物物質的定制調配物。

【0055】 後者的重要性質不能從先前技術參考文獻中預測。

【0056】 DPI 基於載體的粉末之製造通常包括各種步驟，諸如在合適的尺寸範圍內之藥物和載體顆粒之製造(藉由篩分、研磨、噴霧乾燥、等等)，在適當摻合條件與最佳化的參數下混合各種組分，如有必要，還可修飾顆粒的表面性質以增強氣霧劑性能。

【0057】 需要最佳混合以獲得藥物均勻性，特別是對於含有微粒化藥物顆粒的低藥物劑量調配物。在內聚性粉末的情況下，諸如在吸入用乾粉調配物中遇到者，小藥物顆粒與粗乳糖顆粒的組合促進穩定有序混合的形成，其中藥物顆粒黏著於充當載體之較大顆粒上。然而，在添加某比例的細賦形劑之三元混合物的情況下，會遇到一些混合問題，例如黏聚(由於此等小顆粒的內聚性質而形成細粒及/或藥物簇)和分離(或反混合，其特徵為由於粒徑、形狀和密度的差異或顆粒的黏聚誘發之粗顆粒與細顆粒的分離)。事實上，藉由促進藥物顆粒黏著至具有能量低於載體的活性位置之位置來改良氣霧劑性能的細賦形劑減少黏著，並因此影響藥物的均勻性。對於最佳乾粉調配物，必須在黏著力足以保證藥物均勻性和混合物對於處理是穩定的但足夠弱以在吸入期間中從載體中快速釋放藥物顆粒之間取得平衡。結果，在期混合間發生的分離率(segregation rate)可能是預測氣霧劑分散性能的一個有趣因素。

【0058】 最佳混合取決於容器填充的最佳化以保證粉末床之充分膨脹、混合器和粉末特性以及混合條件。混合器係以下列機制中之一或多者為基礎：1) 對流，其為相鄰顆粒組在摻合物中從一處另一處之移動，2) 剪切，其為成分之配置透過在粉末床內形成滑移面或剪切應變之改變，及 3) 擴散，其為個別顆粒藉由彼等相對於彼此的隨機移動之再分佈。混合器可分為分離式混合器和非分離式混合器。混合器的選擇取決於粉末摻合物分離和形成形式黏聚物的傾向。對於包含促進顆粒分離的粉末摻合物之混合物，必須使用非分離混合器，而任何類型的混合器都可使用於不發生反混合的混合物。在由於較小組分的內聚性而黏聚的情況下，在混合期間需要額外的應力(剪切力)來破壞黏聚物。因此，高剪切混合器經常使用於製備內聚性藥物物質的預混物。需要最佳混合時間以獲得均勻摻合物。增加混合時間可改善非分離混合物的均勻性，但不一定會改善分離混合物的均勻性。使用其中摻合藥物與少量賦形劑之預摻合步驟可減少總混合時間。相比之下，多組分混合物的達成可增加混合時間以達到均勻性。[[x] G. Pilcer, N. Wauthoz, K. Amighi, *Lactose characteristics and the generation of the aerosol*, *Adv Drug Del Reviews* 64(2012) 233-256]. 。

### 【發明內容】

發明之詳細說明

### 式(I)之酸的固體形式

【0059】 式(I)化合物之製備係揭示於 WO 2014/012934 (參見實施例 23)中，從前驅物乙基-5-([2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]{2-[4-(甲氧羰基)-苯基]乙基-}胺基)-5,6,7,8-四氫-喹啉-2-甲酸酯(WO 2014/012934 中之實施例 92A)開始並概述於下述流程 1 中。



根據本發明之方法提供高靈活性，因為式(I)之目標化合物可藉由三種路徑製造：

A) 路徑 1 以式(XII)之酯開始(方法步驟[A]和[B] = 路徑 1)，

B) 路徑 2 以的疊進(telescope)方法的式(X)之中間物(WO2021/233783)開始 (方法步驟[C]、[A]和[B] = 路徑 2)，

C) 路徑 3 以式(XII-NSA)之固體 NSA 鹽酯開始(方法步驟[D]、[A]和[B] = 路徑 3)。

**【0064】 流程 2：**製造式(I)化合物之新穎未公開方法，其包括方法路徑 1、2 和 3



種優點。可避免或至少更容易分離幾種若根據先前技術程序製造不可避免地包括在式 I 產物中的副產物。本發明人確定在步驟[B]中由式(I-diNa)之二鈉鹽形成式(I)的目標酸為主要問題。以相反的方式運行此步驟以控制反應混合物的 pH(小心監測以保持在介於 3.8 – 4.2 之間的 pH 範圍內)至關重要。因此，方法步驟[B]需要將式(I-DiNa)之二鈉鹽中間物反向添加等莫耳量的酸當量。藉由此反向添加，與先前技術方法相比，式(I)化合物之微溶單鈉鹽的形成顯著減少(參見比較例 11)。然而，主要形成的低量單鈉鹽以及其他微溶雜質可藉由二鈉鹽溶液的澄清過濾來分離。另外，藉由反向添加避免其他副產物如鹽酸鹽。

**【0066】** 或者，式(I)化合物可在不分離中間物下藉由偶合而從化合物(X)和(XI)開始，隨後二酯裂解和酸釋放來製備(例如在方法步驟[C]、[A]和[B]中所示，參見流程 2 (路徑 2))。

**【0067】** 在替代路徑 3)中，式(I)化合物可以通過製備，其特徵在於在第一步驟[D]中二丁酯必須從式(XII-NSA)之 NSA 鹽中釋放，接著經由兩個步驟將其進一步轉化為游離酸(二丁酯的鹼性皂化(步驟[A])及之後反向添加至酸以釋方式(I)之游離酸(步驟[B]))。

**【0068】** 為了開發包含固體形式的式(I)之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}-苯基)-乙基]氨基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-羧酸之藥用形式，特別是乾粉吸入形式，對於可再現地製造和分離一種確定晶形的式(I)化合物有很高的需求。

**【0069】** 需要許多努力才能將式 I 化合物最終結晶成界定的固體形式。

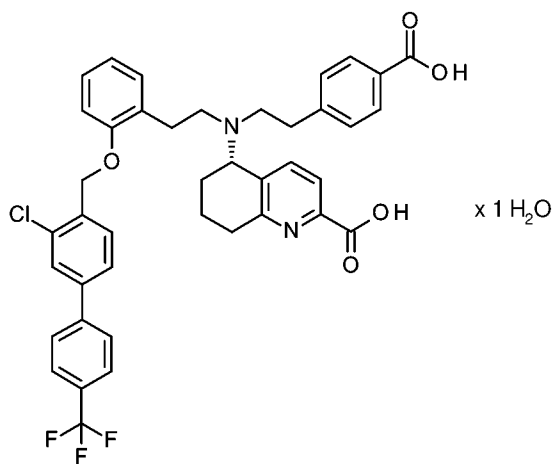
**【0070】** 令人驚訝地，式 I 化合物以假多晶型形式獲得，沒有發現無水晶形。

**【0071】** 然而，在幾種已識別的假多晶形範圍外，必須以幾個階段識別出最合適和最穩定的形式。

【0072】 發現二水合物在乾燥方法期間經歷非晶化(參見圖 10a)。半水合物的晶格呈現無序(見圖 5)，其可支持機械加工(如例如調配方法)中的相變及/或非晶化。因為非常長的攪拌程序，倍半水合物的結晶對於按比例增加來說是不可行的。

【0073】 發現兩種單水合物都可克服不同假多晶形的這些不需要的性質。

【0074】 藉由某些研究發現式(I)之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸以特定多晶形存在，尤其是單水合物形式 I (I-M-I)和單水合物形式 II (I-M-II)：

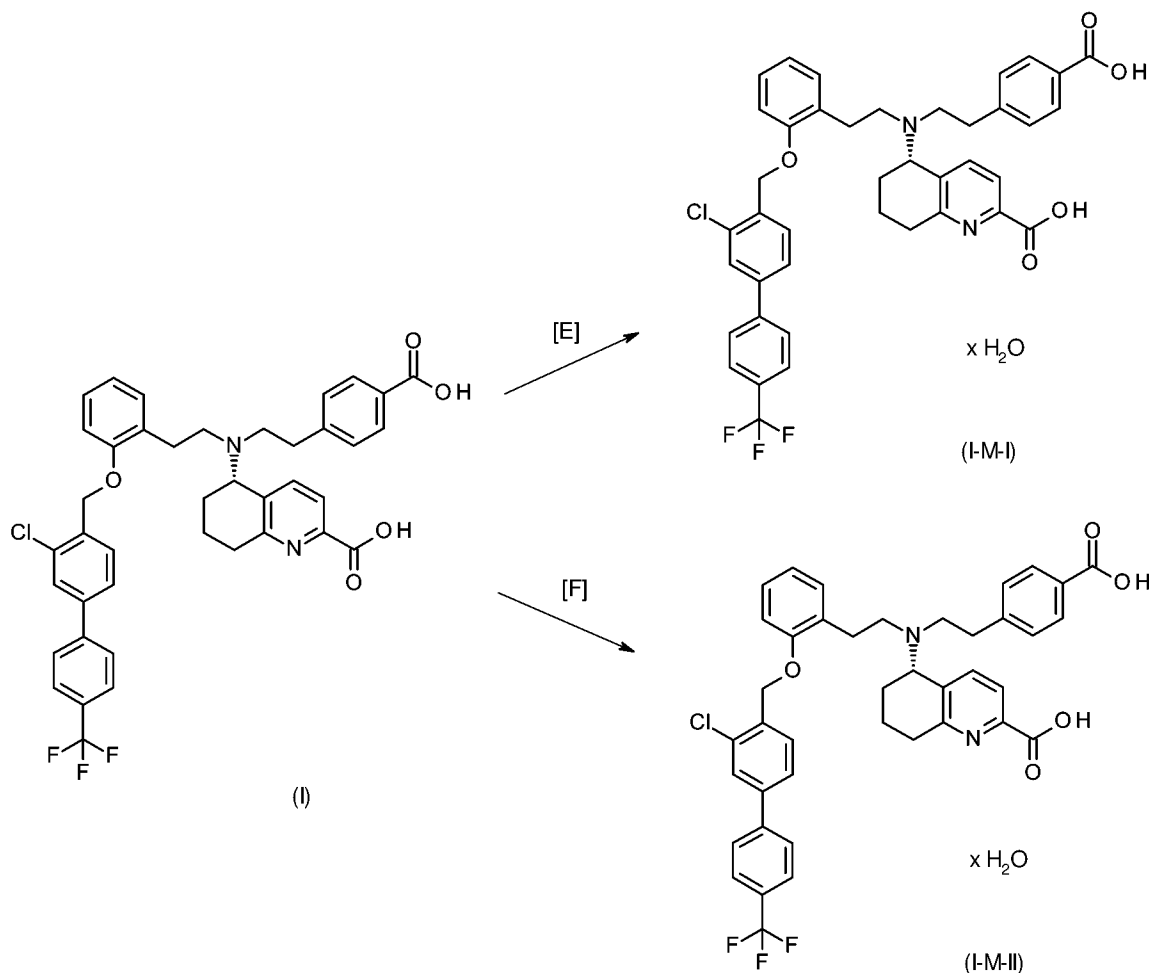


(I-M-I)、(I-M-II)。

【0075】 然而，最終證明此等單水合物形式中只有一種在微粉化期間是穩定的，並因此為例如用於製造吸入性藥劑(尤其是作為基於乾粉的吸入性藥劑)最合適的形式。令人驚訝地，在微粉化期間，發現單水合物 II 取決於微粉化條件顯示部分非晶化(參見實施例 8b，圖 42)或除此之外也轉變至單水合物 I (參見實施例 8a，圖 43)。再者，觀察到單水合物 II 在儲存期間也顯示轉變至單水合物 I(參見實施例 7b，圖 40 和 41)。因此，假多晶型物一水合物 I 適合併優於式 I 化合物的其他固體形式，特別適用於藥物組合物，尤其是乾粉吸入劑型。對於使用於醫藥領域而言，假多晶形單水合物 I 因此適合且優於式 I 化合物之其他固體形式，特別適合於醫藥組成物，尤其是用於乾粉吸入劑型。

【0076】 假多晶形(尤其是水合物，較佳為呈形式 I 和 II 之單水合物)可藉由式(I)之酸的結晶製造(參見流程 3)。

【0077】 流程 3：式(I)之酸之選擇性結晶以產生其單水合物形式



【0078】 取決於所使用之溶劑，形成單水合物(I-M-I)或單水合物(I-M-II)。令人驚訝地從甲醇、丙酮和水或甲醇和水的混合物結晶選擇性地產生化合物(I-M-I)而從丙酮水結晶選擇性地產生呈形式 II(I-M-II)之單水合物。

【0079】 再者，令人驚訝地發現：單水合物(I-M-I)確保防止不需要的轉化成另一形式之式(I)化合物及如上所述的性質之相關改變。因此單水合物 I 形式為式(I)之(5S)-[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-[[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基]苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸的最佳晶形。

【0080】 (5S)-[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-[[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基]苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸之單水合物 I 可以 X 射線粉末繞

射法根據各自的繞射圖示性，該繞射圖係在 25°C 下和使用 Cu-K  $\alpha_1$  輻射(1.5406 Å) 記錄。根據本發明之單水合物 I 顯示至少 3 個，經常至少 5 個，特別是至少 7 個，更特別是至少 10 個，和尤其是所有反射，其在下列中以值引用：

**【0081】** 式(I)化合物之假多晶形，式(I-M-I)之單水合物 I 的特徵可為顯示下列之 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha_1$  作為輻射源)：至少下列反射：12.8 和 29.2 或至少 6.9、7.2 和 7.3 或至少 6.9、7.2、7.3、12.8 和 29.2 或至少 6.9、7.2、7.3、12.8、29.2、23.0 和 15.2，或至少下列反射：6.9、7.2、7.3、12.8、29.2、23.0、15.2、25.8 和 25.1 或至少下列反射：6.9、7.2、7.3、12.8、29.2、23.0、15.2、25.8、25.1、17.7 和 23.7，或至少下列反射：6.9、7.2、7.3、12.8、29.2、23.0、15.2、25.8、25.1、17.7、23.7、9.9、5.7 和 11.5，各自以  $2\theta$  值 $\pm$  0.2° 表示。

**【0082】** 在另一實施態樣中，式(I)化合物之假多晶形，式(I-M-I)之單水合物 I 的特徵可為顯示下列之 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha_1$  作為輻射源)，其至少下列反射：12.8、16.0 和 25.8 或至少 6.9、7.2 和 7.3，或至少 6.9、7.2、7.3、12.8、16.0 和 25.8 或至少 6.9、7.2、7.3、12.8、16.0、25.8、15.2 和 25.1 或至少 6.9、7.2、7.3、12.8、16.0、25.8、15.2、25.1 和 23.7 或至少 6.9、7.2、7.3、12.8、16.0、25.8、15.2、25.1、23.7、9.9、5.7 和 11.5，各自以  $2\theta$  值 $\pm$ 0.2° 表示。

**【0083】** 在另一實施態樣中，式(I)化合物之假多晶形，式(I-M-I)之單水合物 I 的特徵可為顯示下列之 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha_1$  作為輻射源)：至少下列反射：12.8、20.5 和 25.8 或至少 6.9、7.2 和 7.3 或至少 6.9、7.2、7.3、12.8、20.5、25.8、15.2 和 25.1 或至少 6.9、7.2、7.3、12.8、20.5、25.8、15.2、25.1 和 23.7 或至少 6.9、7.2、7.3、12.8、20.5、25.8、15.2、25.1、23.7、9.9、5.7 和 11.5，各自以  $2\theta$  值 $\pm$ 0.2° 表示。

**【0084】** 式(I)化合物之假多晶形，式(I-M-I)之單水合物 I 的特徵另外可為顯示至少下列反射之 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha_1$  作為輻射源)：

5.7、6.9、7.2、7.3、9.9、10.4、10.6、11.1、11.5、12.0、12.3、12.4、12.8、13.7、14.1、14.3、15.2、15.6、16.0、16.9、17.2、17.5、17.7、18.0、18.4、18.8、19.2、19.9、20.2、20.5、20.7、21.3、21.9、22.2、22.5、23.0、23.4、23.7、24.1、25.1、25.8、26.0、26.4、28.9、29.2、29.4、30.6、31.1、32.2、35.3，各自以  $2\theta$  值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

【0085】 式(I)化合物之假多晶形，式(I-M-I)之單水合物 I 的特徵另外可為不顯示至少下列反射之 X 射線粉末繞射圖(在  $25^\circ\text{C}$  下及使用 Cu-K  $\alpha_1$  作為輻射源)：3.1 和 9.3，各自以  $2\theta$  值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

【0086】 式(I)化合物之假多晶形，式(I-M-I)之單水合物 I 的特徵另外可為不顯示至少下列反射之 X 射線粉末繞射圖(在  $25^\circ\text{C}$  下及使用 Cu-K  $\alpha_1$  作為輻射源)：6.1 和 8.5，各自以  $2\theta$  值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

【0087】 式(I)化合物之假多晶形，式(I-M-I)之單水合物 I 的特徵另外可為不顯示至少下列反射之 X 射線粉末繞射圖(在  $25^\circ\text{C}$  下及使用 Cu-K  $\alpha_1$  作為輻射源)：8.5 及/或 30，各自以  $2\theta$  值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

【0088】 式(I)化合物之假多晶形，式(I-M-I)之單水合物 I 的特徵另外可為不顯示至少下列反射之 X 射線粉末繞射圖(在  $25^\circ\text{C}$  下及使用 Cu-K  $\alpha_1$  作為輻射源)：7.9 及/或 31.6，各自以  $2\theta$  值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

【0089】 式(I)化合物之假多晶形，式(I-M-I)之單水合物 I 的特徵另外可為不顯示至少下列反射之 X 射線粉末繞射圖(在  $25^\circ\text{C}$  下及使用 Cu-K  $\alpha_1$  作為輻射源)：7.6，各自以  $2\theta$  值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

【0090】 式(I)化合物之假多晶形，式(I-M-I)之單水合物 I 的特徵另外可為不顯示至少下列反射之 X 射線粉末繞射圖(在  $25^\circ\text{C}$  下及使用 Cu-K  $\alpha_1$  作為輻射源)：14.8，各自以  $2\theta$  值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

【0091】 式(I)化合物之假多晶形，式(I-M-I)之單水合物 I 的特徵另外可為下列 X 射線粉末繞射圖(在  $25^\circ\text{C}$  下及使用 Cu-K  $\alpha_1$  作為輻射源)，其顯示至少下

列反射：12.8 和 29.2 或至少 6.9、7.2 和 7.3 或至少 6.9、7.2、7.3、12.8 和 29.2 或至少 6.9、7.2、7.3 12.8、29.2、23.0 和 15.2、或至少下列反射：6.9、7.2、7.3、12.8、29.2、23.0、15.2、25.8 和 25.1 或至少下列反射：6.9、7.2、7.3 12.8、29.2、23.0、15.2、25.8、25.1、17.7 和 23.7，或至少下列反射：6.9、7.2、7.3、12.8、29.2、23.0、15.2、25.8、25.1、17.7、23.7、9.9、5.7 和 11.5 且同時不顯示至少下列反射：6.1 和 8.5，各自以  $2\theta$  值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

**【0092】** 式(I)化合物之假多晶形，式(I-M-I)之單水合物 I 的特徵另外可為顯示至少下列反射之 X 射線粉末繞射圖(在  $25^\circ\text{C}$  下及使用  $\text{Cu-K } \alpha_1$  作為輻射源)：12.8、16.0 和 25.8 或至少 6.9、7.2 和 7.3，或至少 6.9、7.2、7.3、12.8、16.0 和 25.8 或至少 6.9、7.2、7.3、12.8、16.0、25.8、15.2 和 25.1 或至少 6.9、7.2、7.3、12.8、16.0、25.8、15.2、25.1 和 23.7 或至少 6.9、7.2、7.3、12.8、16.0、25.8、15.2、25.1、23.7、9.9、5.7 和 11.5 且同時不顯示至少下列反射：6.1 和 8.5，各自以  $2\theta$  值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

**【0093】** 式(I)化合物之假多晶形，式(I-M-I)之單水合物 I 的特徵另外可為顯示至少下列反射之 X 射線粉末繞射圖(在  $25^\circ\text{C}$  下及使用  $\text{Cu-K } \alpha_1$  作為輻射源)：12.8、20.5 和 25.8 或至少 6.9、7.2 和 7.3 或至少 6.9、7.2、7.3、12.8、20.5、25.8、15.2 和 25.1 或至少 6.9、7.2、7.3、12.8、20.5、25.8、15.2、25.1 和 23.7 或至少 6.9、7.2、7.3、12.8、20.5、25.8、15.2、25.1、23.7、9.9、5.7 和 11.5 且同時不顯示至少下列反射：6.1 和 8.5，各自以  $2\theta$  值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

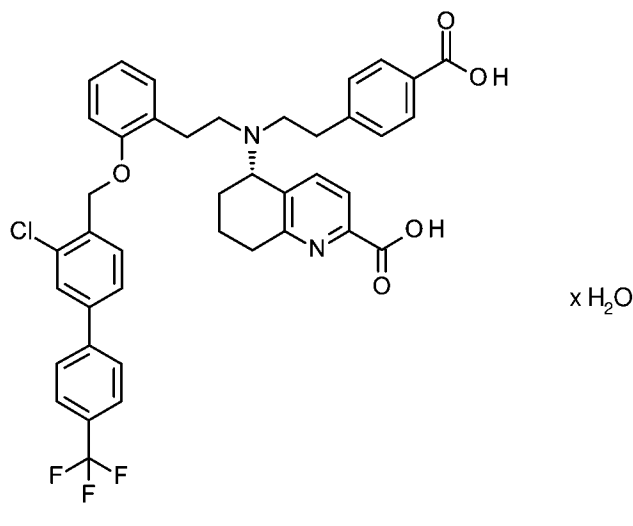
**【0094】** 呈多晶形單水合物 I 之式(I)化合物的明確特徵也可為如圖 6 中所示之 X 射線粉末繞射圖(在  $25^\circ\text{C}$  下及使用  $\text{Cu-K } \alpha_1$  作為輻射源)。

**【0095】** 式(I)化合物之假多晶形，式(I-M-I)之單水合物 I 可以拉曼光譜法加以表徵，其呈現至少下列帶最大值於：3073、2950、2937、1685、1616、1527、1293、1278、1259  $\text{cm}^{-1}$ 。

【0096】 式(I)化合物之假多晶形單水合物 I 可以 IR 光譜法加以表徵，其呈現至少下列帶最大值於：2933、1595、1375、1327、1272、1242、1167、1110  $\text{cm}^{-1}$ 。

實施態樣 7 (式(I-M-I)之單水合物 I)

【0097】 本發明提供呈式(I-M-I)之晶形單水合物 I 的式(I)化合物



其特徵在於該化合物的 x-射線繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha 1$  作為輻射源)顯示至少下列反射，以  $2\theta$  值 $\pm 0.2^\circ$ 表示：12.8 和 29.2。

【0098】 本發明進一步提供呈根據實施態樣 7 的式(I-M-I)之單水合物 I 的晶形之式(I)化合物，其特徵在於該化合物的 x-射線繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha 1$  作為輻射源)顯示至少下列反射，以  $2\theta$  值 $\pm 0.2^\circ$ 表示：6.9、7.2 和 7.3。

【0099】 本發明進一步提供呈根據實施態樣 7 的式(I-M-I)之單水合物 I 的晶形之式(I)化合物，其特徵在於該化合物的 x-射線繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha 1$  作為輻射源)顯示至少下列反射，以  $2\theta$  值 $\pm 0.2^\circ$ 表示：6.9、7.2、7.3、12.8、29.2、23.0 和 15.2。

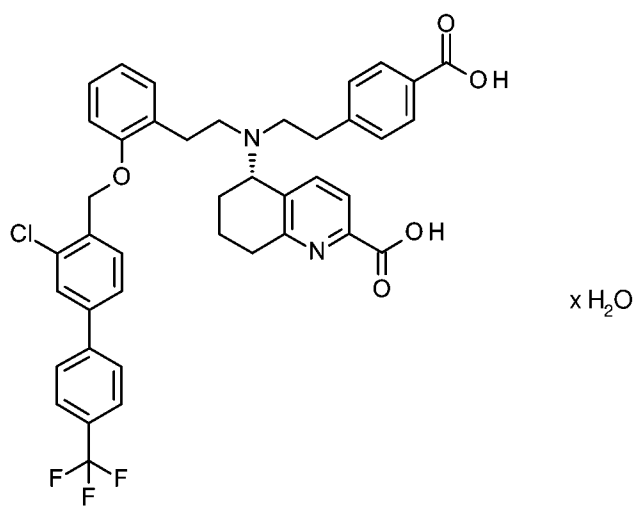
【0100】 本發明進一步提供呈根據實施態樣 7 和一或多個其他上述實施態樣的式(I-M-I)之單水合物 I 的晶形之式(I)化合物，

【0101】 其特徵在於該化合物的 x-射線繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源)顯示至少下列反射，以  $2\theta$  值 $\pm 0.2^\circ$ 表示：6.9、7.2、7.3、12.8、29.2、23.0、15.2、25.8、25.1、17.7 和 23.7。

【0102】 本發明進一步提供呈根據實施態樣 7 和一或多個其他上述實施態樣的式(I-M-I)之單水合物 I 的晶形之式(I)化合物，

【0103】 其特徵在於該化合物的 x-射線繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源)顯示至少下列反射，以  $2\theta$  值 $\pm 0.2^\circ$ 表示：6.9、7.2 和 7.3、12.8、29.2、23.0、15.2、25.8、25.1、17.7、23.7、9.9、5.7 和 11.5。

【0104】 或者本發明提供呈式(I-M-I)之晶形單水合物的 I 式(I)化合物



其特徵在於該化合物的 x-射線繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源)顯示至少下列反射，以  $2\theta$  值 $\pm 0.2^\circ$ 表示：12.8、16.0 和 25.8。

【0105】 本發明進一步提供呈根據實施態樣 7 的式(I-M-I)之單水合物 I 的晶形之式(I)化合物，其特徵在於該化合物的 x-射線繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源)顯示至少下列反射，以  $2\theta$  值 $\pm 0.2^\circ$ 表示：12.8、16.0、25.8、6.9、7.2 和 7.3。

【0106】 本發明進一步提供呈根據實施態樣 7 的式(I-M-I)之單水合物 I 的晶形之式(I)化合物，其特徵在於該化合物的 x-射線繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K

$\alpha 1$  作為輻射源)顯示至少下列反射，以  $2\theta$  值 $\pm 0.2^\circ$ 表示：6.9、7.2 和 7.3、12.8、29.2、23.0 和 15.2。

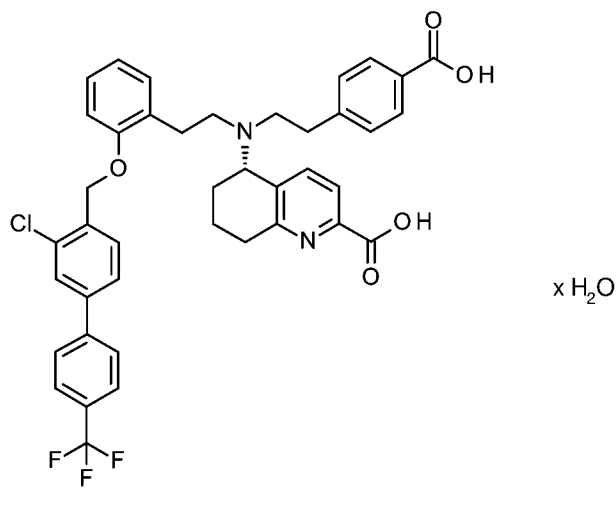
【0107】 本發明進一步提供呈根據實施態樣 7 和一或多個其他上述實施態樣的式(I-M-I)之晶形單水合物 I 的式(I)化合物，

【0108】 其特徵在於該化合物的 x-射線繞射圖(在  $25^\circ\text{C}$  下及使用 Cu-K  $\alpha 1$  作為輻射源)顯示至少下列反射，以  $2\theta$  值 $\pm 0.2^\circ$ 表示：6.9、7.2、7.3、12.8、29.2、23.0、15.2、25.8 和 25.1。

【0109】 本發明進一步提供呈根據實施態樣 7 和一或多個其他上述實施態樣的式(I-M-I)之晶形單水合物 I 的式(I)化合物，

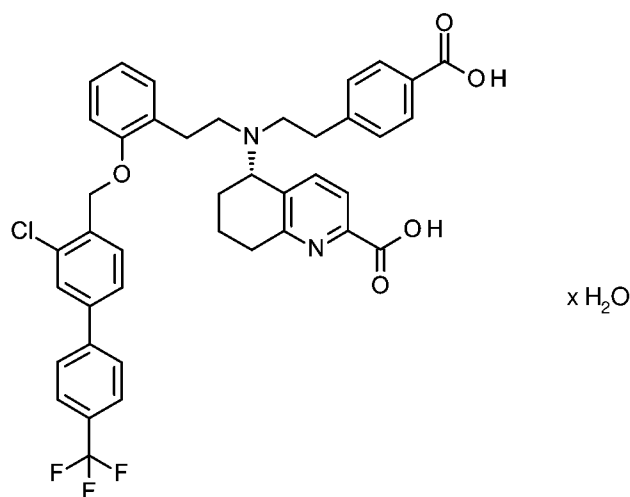
【0110】 其特徵在於該化合物的 x-射線繞射圖(在  $25^\circ\text{C}$  下及使用 Cu-K  $\alpha 1$  作為輻射源)顯示至少下列反射，以  $2\theta$  值 $\pm 0.2^\circ$ 表示：6.9、7.2 和 7.3、12.8、29.2、23.0、15.2、25.8、25.1、17.7、23.7、9.9、5.7 和 11.5。

【0111】 本發明進一步提供呈式(I-M-I)之晶形單水合物 I 的式(I)化合物



其特徵在於該化合物之 IR 光譜呈現於：2933、1595、1375、1327、1272、1242、1167、1110  $\text{cm}^{-1}$  之帶最大值。

【0112】 本發明進一步提供呈式(I-M-I)之晶形單水合物 I 的式(I)化合物



(I-M-I) ,

其特徵在於該化合物之拉曼光譜呈現於：3073、2950、2937、1685、1616、1527、1293、1278、1259  $\text{cm}^{-1}$  之帶最大值。

【0113】 化合物式(I)之其他不同形式可以 X 射線粉末繞射、微差掃描熱量法(DSC)、IR-和拉曼-光譜法來區分。

【0114】 除了單水合物 I, 已經確定其他假多晶形單水合物 II、半水合物, 1,25-水合物, 倍半水合物以及二水合物(參見實施例 6, 圖 2-29), 其進一步加以表徵如下。

【0115】 (5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-[[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基]苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸之假多晶形單水合物 II、半水合物、1,25-水合物、倍半水合物以及二水合物可以 X 射線粉末繞射法根據在 25°C 下和使用 Cu-K $\alpha$ 1 輻射(1.5406 Å)記錄之各自的繞射圖加以表徵。假多晶形單水合物 II、半水合物、1,25-水合物、倍半水合物以及二水合物顯示至少 3 個, 經常至少 5 個, 特別是至少 7 個, 更特別是至少 10 個, 和尤其是所有在下列中以值引用之反射:

【0116】 化合物式(I)之假多晶形單水合物 II 的明確特徵可為下列 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源), 其顯示至少下列反射: 6.1 和 8.5, 且至少 6.1、8.5、12.7、23.9 和 13.9, 較佳至少下列反射: 6.1、8.5、12.7、23.9、13.9、23.0 和 12.2, 更佳至少下列反射: 6.1、8.5、12.7、23.9、13.9、23.0、

12.2、10.8 和 15.3，最佳至少下列反射：6.1、8.5、12.7、23.9、13.9、23.0、12.2、10.8、15.3、17.3、21.7 和 22，亦最佳較佳至少下列反射：6.1、8.5、12.7、23.9、13.9、23.0、12.2、10.8、15.3、17.3、21.7 和 22，各自以  $2\theta$  值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

【0117】 式(I)化合物之假多晶形，式(I-M-II)之單水合物 II 的特徵另外可為顯示至少下列反射之 X 射線粉末繞射圖(在  $25^\circ\text{C}$ 下及使用 Cu-K  $\alpha_1$  作為輻射源)：5.7、6.1、7.1、8.5、9.9、10.2、10.8、11.4、11.6、11.8、12.0、12.2、12.7、13.0、13.9、14.2、15.2、15.3、15.7、16.4、17.3、17.7、17.9、18.3、18.5、18.8、19.2、19.8、20.2、20.8、21.1、21.7、22.0、22.4、22.8、23.1、23.4、23.9、24.2、24.4、25.1、25.5、25.7、26.2、26.4、26.8、27.2、27.5、28.9、30.0、30.1、30.6、32.2、32.4，各自以  $2\theta$  值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

【0118】 式(I)化合物之假多晶形，式(I-M-II)之單水合物 II 的特徵另外可為不顯示至少下列反射之 X 射線粉末繞射圖(在  $25^\circ\text{C}$ 下及使用 Cu-K  $\alpha_1$  作為輻射源)：3.1 和 9.3，各自以  $2\theta$  值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

【0119】 式(I)化合物之假多晶形，式(I-M-II)之單水合物 II 的特徵另外可為不顯示至少下列反射之 X 射線粉末繞射圖(在  $25^\circ\text{C}$ 下及使用 Cu-K  $\alpha_1$  作為輻射源)：6.9、7.2 和 7.3，各自以  $2\theta$  值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

【0120】 式(I)化合物之假多晶形，式(I-M-II)之單水合物 II 的特徵另外可為不顯示至少下列反射之 X 射線粉末繞射圖(在  $25^\circ\text{C}$ 下及使用 Cu-K  $\alpha_1$  作為輻射源)：29.2，各自以  $2\theta$  值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

【0121】 式(I)化合物之假多晶形，式(I-M-II)之單水合物 II 的特徵另外可為不顯示至少下列反射之 X 射線粉末繞射圖(在  $25^\circ\text{C}$ 下及使用 Cu-K  $\alpha_1$  作為輻射源)：7.9 及/或 31.6，各自以  $2\theta$  值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

【0122】 式(I)化合物之假多晶形，式(I-M-II)之單水合物 II 的特徵另外可為不顯示至少下列反射之 X 射線粉末繞射圖(在  $25^\circ\text{C}$ 下及使用 Cu-K  $\alpha_1$  作為輻射源)：7.6，各自以  $2\theta$  值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

【0123】 式(I)化合物之假多晶形，式(I-M-II)之單水合物 II 的特徵另外可為不顯示至少下列反射之 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源)：14.8，各自以  $2\theta$  值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

【0124】 式(I)化合物之假多晶形，式(I-M-II)之單水合物 II 的特徵另外可為下列 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源)，其顯示至少下列反射：6.1 和 8.5，且至少 6.1、8.5、12.8、23.0、和 15.2，較佳至少下列反射：6.1、8.5、12.8、23.0、15.2、25.8 和 25.1，更佳至少下列反射：6.1、8.5、12.8、23.0、15.2、25.8、25.1、17.7 和 23.7，最佳至少下列反射：6.1、8.5、12.8、23.0、15.2、25.8、25.1、17.7、23.7、9.9、5.7 和 11.5，亦最佳較佳至少下列反射：12.8、23.0、15.2、25.8、25.1、17.7、23.7、9.9、5.7、6.1、8.5 和 11.5 且同時不顯示至少下列反射：6.9、7.2 和 7.3，各自以  $2\theta$  值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

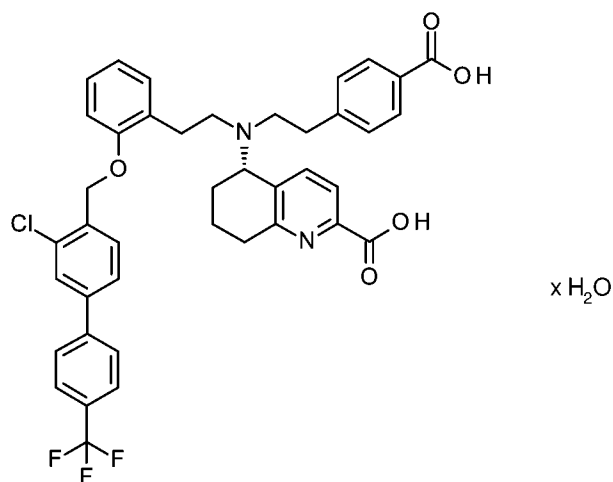
【0125】 呈假多晶形單水合物 II 之式(I)化合物的明確特徵也可為如圖 7 中所示之 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源)。

【0126】 式(I-M-II)化合物之假多晶形單水合物 II 可以拉曼光譜法加以表徵，其呈現至少下列譜帶最大值於：3073、2950、2936、1685、1615、1526、1294、1279、1259  $\text{cm}^{-1}$ 。

【0127】 式(I)化合物之假多晶形單水合物 I 可以拉曼光譜法加以表徵，其呈現至少下列譜帶最大值於：2934、1595、1375、1327、1272、1242、1167、1110  $\text{cm}^{-1}$ 。

#### 實施態樣 8 (式(I-M-II)之單水合物 II)

【0128】 本發明進一步提供呈晶形式(I-M-II)之單水合物 II 的式(I)化合物



(I-M-II) ,

其特徵在於該化合物的 x-射線繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源)顯示至少下列反射，以  $2\theta$  值 $\pm$  0.2°表示：6.1 和 8.1，較佳地 6.1、8.1、12.7、23.9 和 13.9，較佳至少下列反射：6.1、8.1、12.7、23.9、13.9、23.1 和 12.2，更佳至少下列反射：6.1、8.1、12.7、23.9、13.9、23.1、12.2、10.8 和 15.3，最佳至少下列反射：6.1、8.1、12.7、23.9、13.9、23.1、12.2、10.8、15.3、17.3、21.7 和 22.0。

【0129】 呈假多晶形單水合物 II 之式(I)化合物的明確特徵也可為如圖 7 中所示之 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源)。

【0130】 式(I)化合物之假多晶形，式(I-M-II)之單水合物 II 的特徵另外可為不顯示至少下列反射之 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源)：3.1 和 9.3，各自以  $2\theta$  值 $\pm$  0.2°表示。

【0131】 式(I)化合物之假多晶形，式(I-M-II)之單水合物 II 的特徵另外可為不顯示至少下列反射之 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源)：6.9、7.2 和 7.3，各自以  $2\theta$  值 $\pm$  0.2°表示。

【0132】 式(I)化合物之假多晶形，式(I-M-II)之單水合物 II 的特徵另外可為不顯示至少下列反射之 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源)：29.2，各自以  $2\theta$  值 $\pm$  0.2°表示。

【0133】 式(I)化合物之假多晶形，式(I-M-II)之單水合物 II 的特徵另外可為不顯示至少下列反射之 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源)：7.9 及/或 31.6，各自以  $2\theta$  值 $\pm$  0.2°表示。

【0134】 式(I)化合物之假多晶形，式(I-M-II)之單水合物 II 的特徵另外可為不顯示至少下列反射之 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源)：7.6，各自以  $2\theta$  值 $\pm$  0.2°表示。

【0135】 式(I)化合物之假多晶形，式(I-M-II)之單水合物 II 的特徵另外可為不顯示至少下列反射之 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源)：14.8，各自以  $2\theta$  值 $\pm$  0.2°表示。

#### 實施態樣 9 (式(I)化合物之半水合物)

【0136】 式(I)化合物之假多晶形，半水合物的明確特徵可為顯示下列反射之 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源)：3.1、5.3、6.7、7.1、9.3、10.6、12.4、14.3、16.1、19.7、20.8、24.0、31.1，各自以  $2\theta$  值 $\pm$  0.2°表示。

【0137】 式(I)化合物之假多晶形，半水合物的明確特徵可為顯示至少下列反射之 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源)：3.1、5.3、6.7、7.1、9.3 和 31.1，各自以  $2\theta$  值 $\pm$  0.2°表示。

【0138】 呈假多晶形半水合物之式(I)化合物的明確特徵也可為如圖 5 中所示之 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源)。

【0139】 式(I)化合物之假多晶形，半水合物的特徵另外可為不顯示至少下列反射之 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源)：6.9、7.2 和 7.3，各自以  $2\theta$  值 $\pm$  0.2°表示。

【0140】 式(I)化合物之假多晶形，半水合物的特徵另外可為不顯示至少下列反射之 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源)：29.2，各自以  $2\theta$  值 $\pm$  0.2°表示。

【0141】 式(I)化合物之假多晶形，半水合物的特徵另外可為不顯示至少下列反射之 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源)：8.5 及/或 30.0，各自以  $2\theta$  值 $\pm$  0.2°表示。

【0142】 式(I)化合物之假多晶形，半水合物的特徵另外可為不顯示至少下列反射之 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源)：7.9 及/或 31.6，各自以  $2\theta$  值 $\pm$  0.2°表示。

【0143】 式(I)化合物之假多晶形，半水合物的特徵另外可為不顯示至少下列反射之 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源)：7.6，各自以  $2\theta$  值 $\pm$  0.2°表示。

【0144】 式(I)化合物之假多晶形，半水合物的特徵另外可為不顯示至少下列反射之 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源)：14.8，各自以  $2\theta$  值 $\pm$  0.2°表示。

#### 實施態樣 10 (式(I)化合物之 1.25 水合物)

【0145】 式(I)化合物之假多晶形，1,25 水合物的明確特徵可為顯示下列反射之 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源)：5.9、6.1、7.9、10.5、11.9、12.2、12.5、13.2、13.6、13.7、14.4、15.2、15.3、15.4、15.7、15.9、16.5、16.9、17.2、17.4、17.6、17.8、18.3、18.6、18.7、19.0、19.5、19.6、19.8、20.5、20.7、21.0、21.4、22.0、23.2、23.8、24.0、24.4、24.6、25.0、25.2、25.6、26.1、26.8、27.4、27.6、28.4、28.8、30.2、30.7、31.1、31.6、32.3，各自以  $2\theta$  值 $\pm$  0.2°表示。

【0146】 式(I)化合物之假多晶形，1,25 水合物的明確特徵可為顯示至少下列反射之 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源)：7.9、10.5、12.2、12.5、13.6、15.2、16.9、19.0、24.0、24.4、24.6、31.6，各自以  $2\theta$  值 $\pm$  0.2°表示。

【0147】 呈假多晶形 1.25 水合物之式(I)化合物的明確特徵也可為如圖 8 中所示之 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源)。

【0148】 式(I)化合物之假多晶形, 1.25 水合物的特徵另外可為不顯示至少下列反射之 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源): 3.1 和 9.3, 各自以  $2\theta$  值 $\pm$  0.2°表示。

【0149】 式(I)化合物之假多晶形, 1.25 水合物的特徵另外可為不顯示至少下列反射之 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源): 6.9、7.2 和 7.3, 各自以  $2\theta$  值 $\pm$  0.2°表示。

【0150】 式(I)化合物之假多晶形, 1.25 水合物的特徵另外可為不顯示至少下列反射之 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源): 29.2, 各自以  $2\theta$  值 $\pm$  0.2°表示。

【0151】 式(I)化合物之假多晶形, 1.25 水合物的特徵另外可為不顯示至少下列反射之 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源): 8.5 及/或 30.0, 各自以  $2\theta$  值 $\pm$  0.2°表示。

【0152】 式(I)化合物之假多晶形, 1.25 水合物的特徵另外可為不顯示至少下列反射之 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源): 7.9 及/或 31.6, 各自以  $2\theta$  值 $\pm$  0.2°表示。

【0153】 式(I)化合物之假多晶形, 1.25 水合物的特徵另外可為不顯示至少下列反射之 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源): 7.6, 各自以  $2\theta$  值 $\pm$  0.2°表示。

【0154】 式(I)化合物之假多晶形, 1.25 水合物的特徵另外可為不顯示至少下列反射之 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源): 14.8, 各自以  $2\theta$  值 $\pm$  0.2°表示。

實施態樣 11 (式(I)化合物之倍半水合物)

【0155】 式(I)化合物之假多晶形倍半水合物的明確特徵可為顯示下列之 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源): 至少下列反射: 12.2、25.1 和 14.5, 較佳至少 12.2、25.1、14.5、18.7 和 26.4, 較佳至少下列反射: 12.2、25.1、14.5、18.7、26.4、18.3 和 23.4, 更佳至少下列反射: 最佳至少下列反射: 12.2、25.1、14.5、18.7、26.4、18.3、23.4、21.5、8.6 和 5.1、和 7.6, 各自以  $2\theta$  值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

【0156】 式(I)化合物之假多晶形, 倍半水合物的明確特徵也可為顯示至少下列反射之 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源): 5.1、7.6、8.6、12.2、14.5、18.3、18.7、21.5、23.4、24.7、25.1、26.4, 各自以  $2\theta$  值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

【0157】 式(I)化合物之假多晶形, 倍半水合物的明確特徵可為顯示下列反射之 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源): 5.1、6.3、7.6、8.6、11.4、12.2、12.5、12.9、13.3、14.3、14.5、15.2、15.5、15.8、16.2、16.4、16.7、17.3、17.5、17.7、18.3、18.7、19.4、20.5、20.7、20.8、21.4、21.5、21.8、22.4、22.9、23.4、24.0、24.7、25.1、26.1、26.4、27.0、27.4、28.5、32.2、36.5, 各自以  $2\theta$  值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

【0158】 呈假多晶形倍半水合物之式(I)化合物的明確特徵也可為如圖 9 中所示之 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源)。

【0159】 式(I)化合物之假多晶形, 倍半水合物的特徵另外可為不顯示至少下列反射之 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源): 3.1 和 9.3, 各自以  $2\theta$  值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

【0160】 式(I)化合物之假多晶形, 倍半水合物的特徵另外可為不顯示至少下列反射之 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源): 6.9、7.2 和 7.3, 各自以  $2\theta$  值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

【0161】 式(I)化合物之假多晶形, 倍半水合物的特徵另外可為不顯示至少

下列反射之 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源)：29.2，各自以  $2\theta$  值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

【0162】 式(I)化合物之假多晶形，倍半水合物的特徵另外可為不顯示至少下列反射之 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源)：8.5 及/或 30.0，各自以  $2\theta$  值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

【0163】 式(I)化合物之假多晶形，倍半水合物的特徵另外可為不顯示至少下列反射之 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源)：7.9 及/或 31.6，各自以  $2\theta$  值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

【0164】 式(I)化合物之假多晶形，倍半水合物的特徵另外可為不顯示至少下列反射之 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源)：14.8，各自以  $2\theta$  值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

實施態樣 12 (式(I)化合物之二水合物)

【0165】 式(I)化合物之假多晶形，二水合物的明確特徵可為顯示至少下列反射之 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源)：10.1、10.5、11.2、12.5、13.6、14.8、15.5、20.2、20.5、21.1、22.2、23.2、25.1、29.6，各自以  $2\theta$  值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

【0166】 式(I)化合物之假多晶形，二水合物的明確特徵可為顯示下列反射之 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源)：6.1、6.8、10.1、10.5、11.2、11.3、12.3、12.5、13.1、13.6、14.6、14.8、15.5、16.2、16.4、16.8、17.1、17.3、17.9、18.5、18.8、19.5、20.2、20.5、21.1、21.4、22.2、23.2、24.3、25.1、25.4、25.6、26.3、26.9、27.4、28.5、28.7、29.6，各自以  $2\theta$  值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

【0167】 呈假多晶形二水合物之式(I)化合物的明確特徵也可為如圖 10 中所示之 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源)。

【0168】 式(I)化合物之假多晶形，二水合物的特徵另外可為不顯示至少下

列反射之 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源): 3.1 和 9.3 , 各自以  $2\theta$  值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

【0169】 式(I)化合物之假多晶形, 二水合物的特徵另外可為不顯示至少下列反射之 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源): 6.9、7.2 和 7.3 , 各自以  $2\theta$  值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

【0170】 式(I)化合物之假多晶形, 二水合物的特徵另外可為不顯示至少下列反射之 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源): 29.2 , 各自以  $2\theta$  值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

【0171】 式(I)化合物之假多晶形, 二水合物的特徵另外可為不顯示至少下列反射之 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源): 8.5 及/或 30.0 , 各自以  $2\theta$  值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

【0172】 式(I)化合物之假多晶形, 二水合物的特徵另外可為不顯示至少下列反射之 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源): 7.9 及/或 31.6 , 各自以  $2\theta$  值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

【0173】 式(I)化合物之假多晶形, 二水合物的特徵另外可為不顯示至少下列反射之 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源): 7.6 , 各自以  $2\theta$  值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

## 治療方法

【0174】 根據本發明之式(I)化合物之晶形, 較佳地單水合物 I (I-M-I)或單水合物 II (I-M-II), 更佳單水合物 I (I-M-I)具有有效藥理性質且可用於預防和治療人類和動物的疾病。根據本發明之式(I)化合物的形式可開啟進一步的治療選擇並且因此可豐富藥局。

【0175】 在本發明的情況下, 術語"治療(treatment 或 treat)"包括抑制、延遲、遏止、改善、減弱、限制、降低、壓制、逆轉或治癒疾病、病況、病症、

傷害或健康損害、或該等狀態與/或該等狀態之症狀的發展、過程或進展。術語"治療(therapy)"在此係理解為與"治療(treatment)"同義。

【0176】 在本發明的情況下，術語"預防(prevention、prophylaxis 或 precaution)"係以同義詞使用且係指避免或減少得到、染上、罹患或患有疾病、病況、病症、傷害或健康損害，此等狀態及/或此等狀態之症狀的發展或進展之風險。

【0177】 疾病、病況、病症、傷害或健康損害之治療或預防可部分或完全發生。

【0178】 術語“治療功效”在本發明的情況下係定義為藉由投予包含治療有效量的式(I)化合物(尤其是比較例 11 或鹽、溶劑合物或多晶形)或式(I)化合物之鹽的溶劑合物或晶形變體或式(I)化合物(尤其是其假多晶形，如例如(I-M-I)和(I-M-II))的代謝物)之醫藥乾粉調配物來降低患者之平均肺動脈壓且同時臨床上沒有相關的全身血壓改變。

【0179】 術語“肺血管阻力(PVR)”在本發明的情況下係定義為參數 1) 將肺高血壓的嚴重性加以表徵為主要肺血管中的壁張力，其係藉由測量肺動脈中的壓力之侵入性方法分析和 2) 藉由實質上降低此與肺動脈中的壓力直接相關的參數來評估新藥的效果(參見 D. Singh, R. Tal-Singer, I. Faiferman, S. Lasenby, A. Henderson, D. Wessels, A. Goosen, N. Dallow, R. Vessey & M. Goldman, Plethysmography and impulse oscillometry assessment of tiotropium and ipratropium bromide; a randomized, double-blind, placebo-controlled, cross-over study .in healthy subjects, Br. Journal Clin Pharmacol, 2006, 61, 398-404)。

【0180】 改善之 6 分鐘步行測試結果在本發明的情況下係定義為患者在 6 分鐘的時間窗內能夠行走之距離的改善，其對應於接受治療的重症患者之體能增加。

【0181】 “NYHA 分類”的轉變在本發明的情況下係定義為 NYHA 分類的

級數從較高分級改善至較低分級，對應於具有更好的心臟功能之改善的心臟功能。

**【0182】** 肺的生理功能係以肺功能測試(如肺活量測量法或身體體積描記器)在標準化條件下評估，以得到參數(如例如第一秒用力呼氣量(FEV1))之標準化和驗證的測量，可直接評估藥物效應(如支氣管擴張)，一種不同藥物在治療上使用於改善併發支氣管收縮的肺部疾病(如支氣管擴張)的肺功能之效應。

**【0183】** 術語“改善的血液動力學效應”在本發明的情況下係定義為降低肺動脈壓、改善肺通氣區域的血液循環以及改善肺功能而沒有全身性副作用並從而導致個別患者的體能和一般情況的臨床相關改善之藥物的血管舒張效應。

**【0184】** 術語“肺內選擇性”在本發明的情況下意指吸入之活性成分僅在肺的通氣區域而不是在非通氣區域展現其血管舒張的藥效學性質。這是為了防止通氣和灌注之間不匹配的惡化(藉由增加不通氣區域的灌注)，若活性成分也到達不通氣區域，則可能發生這惡化。肺內選擇性特別是通過吸入施用途徑得到保證，該施用途徑通過患者的主動吸入進行。

**【0185】** 術語“支氣管擴張作用”在本發明的情況下係定義為參數(諸如例如卡巴膽鹼預收縮天竺鼠氣管的鬆弛(C-3.1)、肺阻力(RL)和動態順應性(Cdyn)(C-3.2 和 C-3.3)、人類比氣道阻力(C-4.2)、人類的 FEV1 或其他參數指示通氣改善的參數)之改善。

**【0186】** 術語“長期治療/使用”在本發明的情況下係定義為患者每天一次或兩次吸入治為期至少連續兩天，較佳至少連續二至七天，較佳地為期連續至少 14 天，特別是從開始治療之後經整個病程，視需要地也與標準護理(SoC 例如內皮素拮抗劑諸如波生坦(bosentan)、PDE5 抑制劑例如西地那非(sildenafil)、IP 促效劑例如伊洛美定(Ilomedin)或曲前列環素(treprostinil)、鈣通道阻斷劑、索替樂賽(sotatercept)和 sGC 刺激劑例如里奧西瓜(Riociguat)組合。

**【0187】** 術語“每天一次”為熟習該項技術者所熟知的且意指一天一次的

藥物投予且包括一種劑型的投予以及兩或更多種劑型在短時間內同時或連續投予。

【0188】 術語“每天一次或兩次”為熟習該項技術者所熟知的且意指一天一次或一天兩次的藥物投予而每天給藥一次或每天兩次，而在一天中的各對相應時間點的藥物投予包括一個劑型的投予以及在短時間內同時或連續投予兩或更多種劑型。

【0189】 術語“連續天數”意指一個接一個發生的天數，沒有介於中間的天數，並不意指連續的日子或循環的日子。

【0190】 術語“吸入劑型”意指藥物物質(即活性成分，較佳地一種晶形，例如呈單水合物 I 或單水合物 II 或倍半水合物的形式，較佳地呈單水合物 I 或單水合物 II 的形式，更佳呈式(I-M-I)之單水合物 I 的形式)與醫藥上適合的吸入用載體組合之組合。藥物物質和醫藥上適合的吸入用載體之組合係呈乾粉的形式。較佳地乾粉係填充於空腔中，更佳地填充於膠囊。較佳地醫藥上適合的載體為吸入用乳糖。

【0191】 術語“反射”或“峰”是同義詞且與 X 射線值和繞射圖具有相同的含義。晶形最常見以 X 射線粉末繞射 (XRPD) 加以表徵。反射之 XRPD 圖案(峰，通常以  $2\theta$  度表示)通常被認為是特定晶形的指紋。

【0192】 術語“呼吸器官”(或呼吸系統)為了本發明之目的係指氣道-包括鼻子、口腔和咽、喉、氣管、支氣管和肺-作為功能器官系統。

【0193】 與心肺疾病相關的術語“局部投予”或“局部控制”為了本發明之目的意指 - 與意欲經由胃腸道吸收的劑型之口服口服投予相反，及與靜脈內投予相反，兩者都經由血流導致全身藥物分布 - 藉由吸入以可吸入劑型投予活性成分以主要覆蓋作為目標器官的肺，其需要較低的劑量並導致較低的一般藥物暴露。根據本發明使用的粉末形式的製劑或含粉末的懸浮液為吸入製劑。

【0194】 術語“吸入”或“藉由吸入投予”在此方面係指引入呼吸器官(尤其

是引入及/或經由氣道，較佳地引入及/或經由鼻腔或口腔，特佳經由口腔以達成活性成分沉積於作為作用部位的支氣管和肺。

**【0195】** 術語“氣管內”或“氣管內投予”為了本發明之目的係指不是藉由吸入將化合物引入氣管，特別是用於作為投予模型之實驗動物諸如大鼠或小豬和狗的肺部疾病控制(例如經由 PennCentury 裝置之氣管內施用，適用於乾粉以及藥物溶液和懸浮液)。

**【0196】** 根據本發明之化合物(如式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫-喹啉-2-甲酸)及其假多晶形，如例如(I-M-I)和(I-M-II))為可溶性鳥苷酸環化酶之有效活化劑。彼等導致血管舒張、抑制血小板凝集和降低血壓，以及增加冠狀動脈血流量和微循環。再者，彼等具有支氣管擴張作用。此等活性是經由可溶性鳥苷酸環化酶的直接血紅素非依賴性活化和細胞內 cGMP 水平的增加來介導。

**【0197】** 此外，根據本發明之化合物(尤其是式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫-喹啉-2-甲酸)及其假多晶形，如例如(I-M-I)和(I-M-II))具有其他有利的藥理性質，特別是關於彼等的肺選擇性作用(與全身作用相比)，肺內投予後彼等的肺滯留時間及/或彼等的作用期間(C-2.1、C-2.2)和低至無 VQ-不匹配(肺內選擇性)(C-2.3)。再者，藥物物質吸入施用後，臨床前可顯示通氣改善，例如支氣管擴張作用(C-3.1 和 C-3.2)及對氣道高反應性和發炎的抑制作用(C-3.3)。

**【0198】** 根據本發明之化合物(尤其是式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫-喹啉-2-甲酸)及其假多晶形，如例如(I-M-I)和(I-M-II))的良好治療功效和目標參與(target engagement)也可在臨床上顯示：吸入施用後，總比氣道阻力降低(C-4.1)，血漿 cGMP 濃度增加作為肺中藥物濃度的替代物(目標參與之指示)(C-4.1、C-4.2)及肺動脈壓和肺血管阻力的選擇性降低(C-4.4)。

【0199】 再者，可顯示適合於吸入施用之藥物物質的藥物動力性質。藥物物質之口服、靜脈內和吸入性投予後的血漿濃度分析顯示吸入施用後活性成分的最長半衰期(C-4.3)。

【0200】 最後人類吸入 1000  $\mu\text{g}$  後，噴出劑量已確定為 720 $\mu\text{g}$ 。此研究的結果證實沉積的肺劑量和半衰期對於吸入性乾粉投予來說是足夠的，藥物物質(如實施例 4 所示)在肺中的足夠 24 h 藥物覆蓋使得能夠每天一次治療。

【0201】 總之，所有結果顯示式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸以及其假多晶形(如例如(I-M-I)和(I-M-II)，尤其是式(I-M-I)之單水合物 I)特別適合於治療肺動脈高血壓(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高血壓(CTEPH)和與慢性肺部疾病相關之肺高血壓(PH)(第 3 組 PH)諸如慢性阻塞性肺病中之肺高血壓(PH-COPD)和肺高血壓併發特發性間質性肺炎(PH-IIP)且對於吸入乾粉投予來說是足夠的，實施例 4 在肺中的足夠 24 h 藥物覆蓋使得能夠每天一次治療。

【0202】 根據本發明之化合物，式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫-喹啉-2-甲酸以及其假多晶形(如例如(I-M-I)和(I-M-II))特別適合於治療及/或預防心血管、心肺和肺病症，較佳適合於心肺病症。

【0203】 因此，根據本發明之化合物(尤其是(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫-喹啉-2-甲酸)及其假多晶形(如例如(I-M-I)和(I-M-II))可使用於供治療及/或預防心血管和心肺病症諸如肺動脈高血壓(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高血壓(CTEPH)和與慢性肺部疾病相關之肺高血壓(PH)(第 3 組 PH)諸如慢性阻塞性肺病中之肺高血壓(PH-COPD)和肺高血壓併發特發性間質性肺炎(PH-IIP)、以及肺病症諸如氣喘、慢性阻塞性肺病(COPD)或肺纖維化之藥劑。

【0204】 在本發明的情況下，術語“sGC 調節劑”包括兩種能夠調節 sGC

的不同化合物類別，即 sGC 刺激劑和 sGC 活化劑( Sandner P, Becker-Pelster EM, Stasch JP. Discovery and development of sGC stimulators for the treatment of pulmonary hypertension and rare diseases. Nitric Oxide 2018 ; 77:88-95. ; Hoenicka M, Becker EM, Apeler H, Sirichoke T, Schröder H, Gerzer R, Stasch JP. Purified soluble guanylyl cyclase expressed in a baculovirus/Sf9 system: stimulation by YC-1, nitric oxide, and carbon monoxide. J Mol Med (Berl) 1999 ; 77:14-23 ; Evgenov OV, Kohane DS, Bloch KD, Stasch JP, Volpato GP, Bellas E, Evgenov NV, Buys ES, Gnoth MJ, Graveline AR, Liu R, Hess DR, Langer R, Zapol WM. Inhaled agonists of soluble guanylate cyclase induce selective pulmonary vasodilation. Am J Respir Crit Care Med 2007 ; 176:1138-1145)。兩類化合物直接結合於 sGC 作為別位調節劑。sGC 刺激劑具有雙重作用模式，可直接刺激天然 sGC 而與 NO 無關，且也藉由穩定 NO-sGC 結合使 sGC 對低水平 NO 敏感。相比之下，sGC 活化劑結合至未佔用的血色素結合域，從而模擬與 NO 結合的血色素，並活化病理改變之對 NO 無反應的 apo-sGC。最近的證據顯示與許多心肺病症相關的氧化壓力會將細胞內天然 sGC 水平轉移向 apo-sGC 形式( Evgenov OV, Pacher P, Schmidt PM, Hasko G, Schmidt HH, Stasch JP. NO-independent stimulators and activators of soluble guanylate cyclase: discovery and therapeutic potential. Nat Rev Drug Discov 2006 ; 5:755-768 ; Münzel T, Genth-Zotz S, Hink U. Targeting heme-oxidized soluble guanylate cyclase: solution for all cardiorenal problems in heart failure? Hypertension 2007 ; 49:974-976)，提供活化劑在各種心血管病理生理條件(如 PH)下 sGC 的基本原理(Wood KC, Durgin BG, Schmidt HM, Hahn SA, Baust JJ, Bachman T, Vitturi DA, Ghosh S, Ofori-Acquah SF, Mora AL, Gladwin MT, Straub AC. Smooth muscle cytochrome b5 reductase 3 deficiency accelerates pulmonary hypertension development in sickle cell mice. Blood Adv 2019 ; 3:4104-4116. ; Rahaman MM, Nguyen AT, Miller MP, Hahn SA, Sparacino-Watkins C, Jobbagy S, Carew NT,

Cantu-Medellin N, Wood KC, Baty CJ, Schopfer FJ, Kelley EE, Gladwin MT, Martin E, Straub AC. Cytochrome b5 Reductase 3 Modulates Soluble Guanylate Cyclase Redox State and cGMP signaling. *Circ Res* 2017; 121:137-148.; Durgin BG, Hahn SA, Schmidt HM, Miller MP, Hafeez N, Mathar I, Freitag D, Sandner P, Straub AC. Loss of smooth muscle CYB5R3 amplifies angiotensin II-induced hypertension by increasing sGC heme oxidation. *JCI Insight* 2019; 4:e129183.; Sandner P, Zimmer DP, Milne GT, Follmann M, Hobbs A, Stasch JP. Soluble guanylate cyclase stimulators and activators. *Handb Exp Pharmacol* 2019 ; doi:10.1007/164\_2018\_197)。

【0205】 在本發明的情況下，術語術語"肺高血壓"包括其原發性和繼發性亞型，如下述根據其各自病因由 Dana Point/Nizza 分類所定義 [參見 D. Montana and G. Simonneau, in: A.J. Peacock et al. (Eds.), *Pulmonary Circulation. Diseases and their treatment*, 3<sup>rd</sup> edition, Hodder Arnold Publ., 2011, pp. 197-206 ; M.M. Hoeper et al., *J. Am. Coll. Cardiol.* 2009, 54 (1), S85-S96] updated Nizza classification Gérald Simonneau, David Montani, David S. Celermajer, Christopher P. Denton, Michael A. Gatzoulis, Michael Krowka, Paul G. Williams, Rogerio Souza: *Haemodynamic definitions and updated clinical classification of pulmonary hypertension*, in: *European Respiratory Journal*, 2018 ; DOI: 10.1183/13993003.01913-2018]。此等特別包括在第 1 組肺動脈高血壓(PAH)，其中包括特發性和家族性形式(分別為 IPAH 和 FPAH)。再者，PAH 也包括新生兒持續性肺高血壓和與膠原病相關的肺動脈高壓(APAH)、先天性全身肺分流病變、門脈高壓、HIV 感染、某些藥物和藥劑(例如食慾抑制劑)的攝入、具有顯著靜脈/毛細血管成分的病症(諸如肺靜脈閉塞性疾病和肺毛細血管血管瘤病)、或其他疾病(例如甲狀腺疾病、糖原貯積病、戈謝病、遺傳性毛細血管擴張症、血紅素病變、骨髓增生性疾病和脾切除術)。第 2 組包含患有導致左心病症(諸如心室、心房或瓣膜病症)的 PH 患者。第 3 組包含與肺部疾病相關的肺高血壓之形式，例如慢性阻塞性肺病(COPD)、間質性

肺部疾病(ILD)、肺纖維化(IPF)及/或低氧血症(例如睡眠呼吸中止症候群、肺泡換氣不足、慢性高海拔病、遺傳性畸形)。第 4 組包括患有慢性血栓及/或栓塞性病變的 PH 患者,例如在近端及/或遠端肺動脈之血栓性阻塞(CTEPH)或非血栓性阻塞(例如由於腫瘤病、寄生蟲、異物)的情況下。不太常見的肺高血壓(諸如在罹患類肉瘤病、組織細胞增生症 X 或淋巴管瘤病患者中)係總結於第 5 組中。

**【0206】** 根據本發明之化合物(尤其是式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫-喹啉-2-甲酸)及其假多晶形,如例如(I-M-I)和(I-M-II))也適合於治療及/或預防肺病諸如氣喘、慢性阻塞性肺病(COPD)和肺纖維化。

**【0207】** 在本發明的情況下,術語“氣喘”包括肺部氣道的異質性慢性炎性疾病。其特徵為多變且反復出現的症狀、其係因為通常由支氣管的過度反應(hyperreagibility)引起直至支氣管痙攣之可逆氣流阻塞。症狀包括喘息、咳嗽、胸悶和呼吸急促之發作。此等可每天發生幾次或每週發生幾次。因人而異,氣喘症狀可能會在夜間或運動時加重。氣喘被認為是由遺傳和環境因素共同引起的。環境因素包括接觸空氣污染和過敏原。其他潛在的誘因包括藥物諸如阿司匹林和  $\beta$  阻斷劑。診斷通常基於症狀模式、隨時間對治療的反應以及和肺活量測量法肺功能測試。氣喘根據症狀頻率、第一秒用力呼氣量(FEV1)和峰值呼氣流速進行分類。也可分類為異位性或非異位性,其中異位性係指發展 1 型過敏性反應的傾向。沒有已知的氣喘治愈方法,但可以很好地治療。症狀可藉由避免刺激物(trigger)(如過敏原和呼吸道刺激物)來預防,及藉由使用吸入皮質類固醇來抑制。若氣喘症狀仍未得到控制,除了吸入皮質類固醇外,可使用長效  $\beta$  促效劑(LABA)和其他物質(例如抗白三烯劑)。急性惡化症狀的治療通常使用吸入性短效  $\beta$ -2 促效劑(諸如沙丁胺醇(salbutamol)和皮質類固醇。在嚴重的情況下,可能需要全身性皮質類固醇、硫酸鎂和住院治療。氣喘患者的一個子集會發展

為一種疾病的嚴重形式，其病因包括氣道炎症以及尚不明確的內在驅動因素。為了解決這個問題，我們研究了人類氣道平滑肌細胞(HASMC)，其鬆弛驅動氣道支氣管擴張及其官能不良會導致嚴重氣喘患者的氣道阻塞和過敏。因為 HASMC 舒張可由 NO-可溶性鳥苷酸環化酶(sGC)-cGMP 傳訊路徑驅動，所以來自嚴重氣喘供體的 HASMC 可能在彼等的 sGC 或支持 sGC 功能的氧化還原酶中具有固有缺陷。大多數嚴重氣喘供體 HASMC(12/17)和肺樣品主要表現官能不良的 sGC，其對 NO 無反應且具有低異二聚體含量和高 Hsp90 結合。此 sGC 表型與支持氧化還原酶細胞色素 b5 還原酶、過氧化氫酶和硫氧還蛋白還原酶(thioredoxin)-1 的較低表現水平以及血色素加氧酶 1 和 2 的較高表現相關，此暗示嚴重氣喘患者由於固有的 sGC 官能不良而傾向於在彼等的氣道中缺陷 NO-sGC-cGMP 傳訊之假設，其轉而又與影響 sGC 成熟和功能的細胞氧化還原酶的固有改變有關。因此，sGC 活化劑可能是這些患者在這些病理生理條件下最佳化支氣管擴張的新目標選項(參見例如下列參考文獻：Arnab Ghosh, Cynthia J. Koziol-White, William F. Jester Jr., Serpil C. Erzurum, Kewal Asosingh, Reynold A. Panettieri Jr.see, Dennis J. Stuehr: An inherent dysfunction in soluble guanylyl cyclase is present in the airway of severe asthmatics and is associated with aberrant redox enzyme expression and compromised NO-cGMP signaling in Redox Biology 39 (2021) 101832；Maggie Lam,Jane E. Bourke, Ph.D., A New Pathway to Airway Relaxation: Targeting the “Other” Cyclase in Asthma American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology Volume 62 Number 1 | January 2020；Cynthia J. Koziol-White, Arnab Ghosh, Peter Sandner, Serpil E. Erzurum, Dennis J. Stuehr, and Reynold A. Panettieri, Jr.: Soluble Guanylate Cyclase Agonists Induce Bronchodilation in Human Small Airways, Am J Respir Cell Mol Biol Vol 62, Iss 1, pp 43–48, Jan 2020)。

【0208】 由於彼等的活性輪廓，根據本發明之化合物(尤其是式 I 之 (5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4’-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]

胺基}-5,6,7,8-四氫-喹啉-2-甲酸以及其假多晶形(如例如(I-M-I)和(I-M-II))係特別適合於治療及/或預防心血管和心肺病症諸如肺高血壓之原發性和繼發性形式。

**【0209】** 本發明此外提供根據本發明之化合物(尤其是式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫-喹啉-2-甲酸)以及其假多晶形(如例如(I-M-I)和(I-M-II))之用途，其係用於治療及/或預防病症(特別是心肺病症，諸如肺動脈高血壓(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高血壓(CTEPH)和與慢性肺部疾病相關之肺高血壓(PH)(第 3 組 PH)，諸如慢性阻塞性肺病中之肺高血壓(PH-COPD)和肺高血壓併發特發性間質性肺炎(PH-IIP)。

**【0210】** 本發明此外提供根據本發明之化合物(尤其是式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫-喹啉-2-甲酸)以及其假多晶形(如例如(I-M-I)和(I-M-II))之用途，其係用於製備供治療及/或預防疾病(特別是心肺病症，諸如肺動脈高血壓(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高血壓(CTEPH)和與慢性肺部疾病相關之肺高血壓(PH)(第 3 組 PH)，諸如慢性阻塞性肺病中之肺高血壓(PH-COPD)和肺高血壓併發特發性間質性肺炎(PH-IIP))的藥劑。

**【0211】** 本發明此外提供一種使用於治療及/或預防病症(特別是心肺病症，諸如肺動脈高血壓(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高血壓(CTEPH)和與慢性肺部疾病相關之肺高血壓(PH)(第 3 組 PH)諸如慢性阻塞性肺病中之肺高血壓(PH-COPD)和肺高血壓併發特發性間質性肺炎(PH-IIP))之藥劑，其包含至少一種根據本發明之化合物(尤其是式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫-喹啉-2-甲酸)以及其假多晶形(如例如(I-M-I)和(I-M-II))。

**【0212】** 本發明此外提供根據本發明之化合物(尤其是式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}

基}-5,6,7,8-四氫-喹啉-2-甲酸以及其假多晶形(如例如(I-M-I)和(I-M-II)))之用途，其使用於治療及/或預防病症(特別是心肺病症，諸如肺動脈高血壓(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高血壓(CTEPH)和與慢性肺部疾病相關之肺高血壓(PH)(第 3 組 PH)諸如慢性阻塞性肺病中之肺高血壓(PH-COPD)和肺高血壓併發特發性間質性肺炎(PH-IIP))之方法。

**【0213】** 本發明此外提供一種用於治療及/或預防病症(特別是心肺病症，諸如肺動脈高血壓(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高血壓(CTEPH)和與慢性肺部疾病相關之肺高血壓(PH)(第 3 組 PH)諸如慢性阻塞性肺病中之肺高血壓(PH-COPD)和肺高血壓併發特發性間質性肺炎(PH-IIP))之方法，其包含將式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫-喹啉-2-甲酸(尤其是比較例 11) 以及其假多晶形(如例如(I-M-I)和(I-M-II))以吸入劑型(例如於乾粉調配物的形式之乾粉吸入器)每天一次或兩次投予至有需要的患者為期等於或超過兩天，較佳至少連續二至七天，較佳為期連續至少 14 天，特別是從開始治療之後經整個病程，其中當吸入投予至有需要的患者時，該 sGC 活化劑具有為期超過 24 小時的持續功效。

**【0214】** 本發明進一步關於式 I 之 sGC 活化劑(尤其是比較例 11，式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸)以及其假多晶形(如例如(I-M-I)和(I-M-II)))的吸入劑型之用途，其用於製備供治療心肺病症(諸如肺動脈高血壓(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高血壓(CTEPH)和與慢性肺部疾病相關之肺高血壓(PH)(第 3 組 PH)諸如慢性阻塞性肺病中之肺高血壓(PH-COPD)和肺高血壓併發特發性間質性肺炎(PH-IIP))的藥劑，每天投予一次或兩次為期等於或超過兩天，較佳至少連續二至七天，較佳為期連續至少 14 天，特別是從開始治療之後經整個病程，其中當吸入投予至有需要的患者時，該 sGC 活化劑具有為期超過 24 小時的持續功效。

**【0215】** 本發明進一步關於一種包含容器之經包裝醫藥組成物，該容器含

有乾粉吸入器(=DPI)和包含式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸以及其假多晶形(如例如(I-M-I)和(I-M-II))之醫藥調配物，該容器進一步含有使用該乾粉的說明，例如在深吸一口氣後，患者必須屏住呼吸約 2 秒，以便乾粉藥物從氣流中濃縮至更深的肺部區域表面，並沉積在靠近其所欲藥理作用之位置，以治療心肺病症，較佳地肺動脈高血壓(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高血壓(CTEPH)和與慢性肺部疾病相關之肺高血壓(PH)(第 3 組 PH)諸如慢性阻塞性肺病中之肺高血壓(PH-COPD)和肺高血壓併發特發性間質性肺炎(PH-IIP)。

**【0216】** 在一較佳實施態樣中，本發明進一步關於一種包含容器之經包裝醫藥組成物，該容器含有乾粉吸入器(=DPI)和包含式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸以及其假多晶形(如例如(I-M-I)和(I-M-II))之醫藥調配物，該經包裝醫藥組成物包含容器，其含有包含(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸之乾粉，該容器進一步含有用於以每天一次或兩次的頻率投予該乾粉以治療心肺病症，較佳地肺動脈高血壓(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高血壓(CTEPH)和與慢性肺部疾病相關之肺高血壓(PH)(第 3 組 PH)諸如慢性阻塞性肺病中之肺高血壓(PH-COPD)和肺高血壓併發特發性間質性肺炎(PH-IIP)，此外還有肺部疾患的用法說明。

**【0217】** 本發明進一步關於一種藥劑，其含有至少一種根據本發明之化合物，通常連同一或多種惰性無毒醫藥上合適的賦形劑，及其用於上述目的之用途。

**【0218】** 根據本發明之化合物(尤其是式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸)以及其假多晶形(如例如(I-M-I)和(I-M-II))可單獨使用或若有需要的話，可與其他活性化合物組合使用。本發明進一步關於含有至少一種根據本

發明之化合物(尤其是式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫-喹啉-2-甲酸)及其假多晶形(如例如(I-M-I)和(I-M-II))和一或多種其他活性化合物之藥劑,特別是用於治療及/或預防上述疾病。作為適當組合活性化合物,我們例如和較佳地可提及:

- 有機硝酸鹽和 NO 供體,例如: 硝普鈉(sodium nitroprusside)、硝基甘油、單硝酸異山梨醇(isosorbide mononitrate)、二硝酸異山梨醇(isosorbide dinitrate)、嗎多明(molsidomine)或 SIN-1, 與吸入性 NO;
- 用於保留血管反應性(preserved vasoresponsiveness)的 PAH 患者之 Ca-通道阻斷劑
- 抑制環鳥甘單磷酸(cGMP)及/或環腺苷酸單磷酸(cAMP)之降解的化合物,例如磷酸二酯酶(PDE) 1、2、3、4 及/或 5 之抑制劑,特別是 PDE 3 抑制劑如安西芬特林(ensifentrin)、PDE4 抑制劑諸如羅氟司特(roflumilast)或瑞華司特(revamilast), 及 PDE 5 抑制劑諸如昔多芬(西地那非(sildenafil))、伐地那非(vardenafil)、他達拉非(tadalafil)、烏地那非(udenafil)、達生他非(dasantafil)、阿伐那菲(avanafil)、米羅那非(miroadenafil)或羅地那非(lodenafil);
- 鳥苷酸環化酶刺之 NO-獨立性但血紅素-依賴性激劑,特別是里奧西瓜(Riociguat)和 WO 00/06568、WO 00/06569、WO 02/42301、WO 03/095451、WO 2011/147809、WO 2012/004258、WO 2012/028647、WO 2012/059549 和 WO2014/068099 中所述之化合物;
- 前列環素類似物及 IP 受體促效劑,例如且較佳為伊洛前列素(iloprost)、貝前列素(beraprost)、曲前列環素(treprostinil)、依前列醇(epoprostenol)或 NS-304;
- 內皮素受體拮抗劑,例如且較佳為波生坦(bosentan)、達盧生坦(darusentan)、安立生坦(ambriasantan)或西他生坦(sitaxsentan);
- 人類嗜中性球彈性蛋白酶(HNE)抑制劑,例如且較佳為西維來斯他(sivelestat)或 DX-890(瑞托恩(Reltran));

- 抑制訊號轉導級聯之化合物，特別是選自酪胺酸激酶抑制劑之群組，例如且較佳為達沙替尼(dasatinib)、尼洛替尼(nilotinib)、博舒替尼(bosutinib)、瑞戈非尼(regorafenib)、索拉非尼(sorafenib)、舒尼替尼(sunitinib)、西地尼布(cediranib)、阿西替尼(axitinib)、特拉替尼(telatinib)、伊馬替尼(imatinib)、布立尼布(brivanib)、帕唑帕尼(pazopanib)、瓦他拉尼(vatalanib)、吉非替尼(gefitinib)、埃羅替尼(erlotinib)、拉帕替尼(lapatinib)、卡奈替尼(canertinib)、來他替尼(lestaurtinib)、培利替尼(pelitinib)、司馬沙尼(semaxanib)、馬賽替尼(masitinib)、或坦度替尼(tandutinib)；
- 充當配體陷阱(*ligand trap*)的化合物，其對 TGF- $\beta$  超家族的多種蛋白質具有高選擇性，包括活化素、GDF 和其他據信具有阻斷 TGF- $\beta$  超家族傳訊路徑的能力者，從而促進骨形態發生蛋白受體 II 型 (BMPR-II)傳訊，並有可能像索替樂賽(sotatercept)一樣恢復血管穩態；
- Rho 激酶抑制劑，例如且較佳為法舒地爾(fasudil)、Y-27632、SLx-2119、BF-66851、BF-66852、BF-66853、KI-23095 或 BA-1049；
- 抗阻塞劑，如使用於例如治療慢性阻塞性肺病(COPD)或支氣管氣喘，例如且較佳為吸入性或全身性投予之  $\beta$  受體模擬物(例如沙丁胺醇(salbutamol)、沙美特羅(salmeterol))或吸入性投予之抗毒蕈鹼能物質(例如異丙托溴銨(ipratropium)、噻托溴銨(tiotropium)；
- 抗發炎及/或免疫抑制劑，如使用於例如治療慢性阻塞性肺病(COPD)、支氣管性氣喘或肺纖維化，例如且較佳為全身或吸入性投予之皮質類固醇、氟替福莫(flutiform)、吡非尼酮(pirfenidone)、乙醯半胱胺酸、硫唑嘌呤(azathioprine)或 BIBF-1120、尼達尼布(nintedanib)或曲前列環素(treprostinil)；
- 使用於全身性及/或吸入治療肺部病症之活性化合物，例如用於囊狀纖維化( $\alpha$ -1-抗胰蛋白酶、胺曲南(aztreonam)、依伐卡托(ivacaftor)、魯瑪卡托(lumacaftor)、阿他盧崙(ataluren)、阿米卡星(amikacin)、左氧氟沙星

(levofloxacin))、慢性阻塞性肺病(COPD)(噻托溴銨(Tiotropium)、LABA/LAMA、LAS40464、PT003、SUN-101)、急性呼吸窘迫症候群(ARDS)和急性肺損傷(ALI)(干擾素- $\beta$ -1a、查瑪金素(traumakines)、PEG-腎上腺髓質素(*adrenomedullin*)、吸入 sGC 調節劑例如 BAY1211163))、阻塞型睡眠呼吸中止症(VI-0521、TASK 通道阻斷劑和 ADRA2C 拮抗劑)、支氣管擴張症(甘露糖醇、環丙沙星(ciprofloxacin))、阻塞性細支氣管炎(環孢素、胺曲南(aztreonam))；

- 抗血栓劑，例如且較佳選自下列群組之化合物：血小板凝聚抑制劑、抗凝血劑或前纖維蛋白分解的物質(*profibrinolytic substances*)。

**【0219】** 抗血栓劑較佳係理解為選自下列群組之化合物：血小板凝聚抑制劑、抗凝血劑或前纖維蛋白分解的物質(*profibrinolytic substances*)。

**【0220】** 在本發明之一較佳實施態樣中，根據本發明之化合物係與血小板凝集抑制劑(例如且較佳為阿斯匹靈、氯吡多(*clopidogrel*)、氯吡噻啞啉(*ticlopidine*)或雙嘧達莫(*dipyridamol*))組合投予。

**【0221】** 在本發明之一較佳實施態樣中，根據本發明之化合物係與凝血酶抑制劑(例如且較佳為希美加曲(*ximelagatran*)、美拉加群(*melagatran*)、達比加群(*dabigatran*)比伐盧定(*bivalirudin*)或克立生(*Clexane*))組合投予。

**【0222】** 在本發明之一較佳實施態樣中，根據本發明之化合物係與 GPIIb/IIIa 拮抗劑(例如且較佳為替羅非班(*tirofiban*)或阿昔單抗(*abciximab*))組合投予。

**【0223】** 在本發明之一較佳實施態樣中，根據本發明之化合物係與 Xa 因子抑制劑(例如且較佳為利伐沙班(*rivaroxaban*)、阿哌沙班(*apixaban*)、菲得沙班(*fidexaban*)、雷扎沙班(*razaxaban*)、磺達肝素(*fondaparinux*)、抑達肝素(*idraparinux*)、DU-176b、PMD-3112、YM-150、KFA-1982、EMD-503982、MCM-17、MLN-1021、DX 9065a、DPC 906、JTV 803、SSR-126512 或 SSR-128428)組合投予。

【0224】 在本發明之一較佳實施態樣中，根據本發明之化合物係與肝素或低分子量(LMW)肝素衍生物組合投予。

【0225】 在本發明之一較佳實施態樣中，根據本發明之化合物係與維生素K拮抗劑(例如且較佳為白香豆素)組合投予。

【0226】 用於降低肺血壓的藥劑較佳係理解為來自鈣拮抗劑、PDE5 抑制劑、sGC 刺激劑和活化劑、前列環素類似物和 IP 受體促效劑以及內皮素受體拮抗劑的化合物。

【0227】 在本發明之一較佳實施態樣中，根據本發明之化合物係與鈣拮抗劑(例如且較佳為硝苯地平(nifedipine)、氨氯地平(amlodipine)、維拉帕米(verapamil)或地爾硫卓(diltiazem))組合投予。

【0228】 在本發明之一較佳實施態樣中，根據本發明之化合物係與內皮素受體拮抗劑(例如且較佳為波生坦(bosentan)、達盧生坦(darusentan)、安立生坦(ambriasantan)或西他生坦(sitaxsentan))組合投予。

## 技術目標

【0229】 鑒於該術的背景和現狀，本發明的技術目標為提供使用於心肺病症之治療的適當吸入劑型/藥劑以及用於心肺病症之治療的適當吸入劑量方案，該心肺病症係諸如肺動脈高血壓(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高血壓(CTEPH)和與慢性肺部疾病相關之肺高血壓(PH)(第 3 組 PH)諸如慢性阻塞性肺病中之肺高血壓(PH-COPD)和肺高血壓併發特發性間質性肺炎(PH-IIP)。

【0230】 為了開發使用於心肺病症之治療的適當吸入性藥劑使以及用於心肺病症之治療的適當吸入劑量方案，該心肺病症係諸如肺動脈高血壓(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高血壓(CTEPH)和與慢性肺部疾病相關之肺高血壓(PH)(第 3 組 PH)諸如慢性阻塞性肺病中之肺高血壓(PH-COPD)和肺高血壓併發特發性間質性肺炎(PH-IIP)，需要滿足有關藥物物質以及藥品的某些技術和醫學需求與要

求。

**【0231】** 首先，活性成分(藥物物質)需要具有適當的物理化學、藥物動力學和藥效學性質。例如藥物物質需要適合於吸入治療且需要具有治療心肺病症的足夠功效。再者，在預計的 PH 形式中活性成分應具有明確的功效，同時也是護理標準(standard of care)(SoC 例如內皮素拮抗劑諸如波生坦(bosentan)、PDE5 抑制劑例如西地那非(sildenafil)、IP 促效劑例如伊洛美定(Ilomedin)、鈣通道阻斷劑例如和 sGC 刺激劑例如里奧西瓜(Riociguat))。另外，活性成分應具有其他有利性質，特別是關於其肺選擇性作用(與全身作用相比)，例如高肺選擇性、低至無 VQ-不匹配、肺內投予後其肺內滯留時間及/或其作用期間。藥物物質應適合於長期治療方案/使用。再者，藥物物質應顯示通氣改善，例如支氣管擴張作用及/或對氣道高反應性和發炎的抑制作用且因此特別適合於治療肺動脈高血壓 (PAH)、慢性血栓栓塞性肺高血壓(CTEPH)和與慢性肺部疾病相關之肺高血壓 (PH)(第 3 組 PH)諸如慢性阻塞性肺病中之肺高血壓(PH-COPD)和肺高血壓併發特發性間質性肺炎(PH-IIP)。

**【0232】** 藥物物質式(I)之(5S)-{[2-(4-羥苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫-喹啉-2-甲酸以及其式(I-M-I)和(I-M-II)之假多晶形應具有持續的血管舒張和支氣管擴張功效為期超過 12 小時，為期最多 24 小時，其特徵為例如肺血流動力的改善，導致較低的肺血管阻力(PVR)、6 分鐘步行測試中步行距離改善、NYHA(紐約健康協會)患者分類的轉變或肺功能改善例如較高的 FEV1(人在用力呼吸的第一秒內可呼出的用力呼氣量)和較低的比氣道阻力(sRaw)、在吸入性投予時，指示健康肺部的支氣管擴張活性之參數。

**【0233】** 再者，活性成分(藥物物質)需要以限定的穩定的晶形提供，以適合於乾粉醫藥調配物及以特定最佳吸入劑量方案給投予來治療心肺病症。

**【0234】** 另外，最終藥品(調配物)需要具有適當性質，例如足夠的化學穩

定性和足夠的氣霧劑性能，以便將藥物物質以足夠量而對患者具低至無副作用遞送至目標器官(例如肺)。需要足夠的物理化學穩定性來保持活性成分的化學組成並避免不可接受的降解或立體化學轉化。更為重要的是，需要保持物理形態，以免改變影響活性成分之藥物動力性質的生物製藥性質。穩定和適當的氣霧劑性能意指就平均遞送劑量和遞送劑量之均勻性的意義而言，可再現的藥物遞送以及最終劑型中所需大部分的可用標稱藥物劑量可再現地將藥物遞送至作用位置。實際上且藉由適當分析方法諸如空氣動力粒徑分布以級聯衝擊測試，大部分微粉化細活性成分顆粒應以(或者細顆粒質量)和細顆粒分率(相對於遞送劑量及/或標稱劑量之%)回收。

**【0235】** 本發明人令人驚訝地發現式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸可藉由改良的化學方法以可靠的方式進行大規模製造。

**【0236】** 另外，本發明人發現式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸以穩定的晶形(如例如式(I-M-I)之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸單水合物 I 或式(I-M-II)之單水合物 II，較佳為式(I-M-I)之單水合物 I)存在。

**【0237】** 再者，本發明人令人驚訝地發現式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸的晶形可藉由一種新穎的選擇性結晶方法獲得，較佳地單水合物形式 I (I-M-I) 可藉由從甲醇和水或甲醇、丙酮和水結晶而獲得。

**【0238】** 因此，藥物物質式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸首次以適用於吸入劑型、藥物和吸入劑量方案(較佳 DPI)的形式提供。

**【0239】** 令人驚訝地臨床前實驗揭示相較於西那西瓜(Cinaciguat)，sGC 活

化劑式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸以及其假多晶形(如例如(I-M-I)和(I-M-II))(參見 C-2.1)，顯示在離體血管中，隱動脈之穿透較慢，在離體細支氣管中，恢復因子延長，以及在 Langendorff 中，洗出得分心臟實驗增加(參見實驗部分 C-1.1 (離體血管) C-3.1 (細支氣管)和 C-1.2 (Langendorff))以及改善肺選擇性和延長作用期間(在 PAH 動物模式(豬和狗)中，在吸入施用後，延長選擇性肺動脈壓(= PAP)降低而無全身性血壓(=BP)降低效應)(參見實驗部分 C-2.1 (豬)和 C-2.2 (狗)。

【0240】 再者，已研究作用期間的預測和人體劑量的預測。鑒於在小型豬模式中 100 µg/kg 作為有效劑量，300-1370 µg 肺沉積劑量係假定為有效劑量，取決於對不同種間蛋白結合的考慮(參見 C-2.1)。

【0241】 最後已研究活性成分的不同假多晶形的藥理作用。在使用至少 4 小時之長作用期間的急性 PAH 模式中，所有包含比較例 11 的晶形(例如倍半水合物實施例 6e)之乾粉調配物在吸入施用後選擇性地和劑量依賴性地降低 PAP。對於增加的施用劑量，觀察到清晰的劑量反應曲線(參見 C-2.1)。

【0242】 此等研究結果支持式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸以及其假多晶形單水合物 I (實施例 4)或單水合物 II (實施例 2)對於每天一次或兩次吸入治療方案的適合性，該方案包含 240 至 4000 µg(較佳地 480 至 2000 µg)的(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸以及其假多晶形(如例如(I-M-I)和(I-M-II))使用於治療心肺病症，諸如肺動脈高血壓(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高血壓(CTEPH)和與慢性肺部疾病相關之肺高血壓(PH)(第 3 組 PH)諸如慢性阻塞性肺病中之肺高血壓(PH-COPD)和肺高血壓併發特發性間質性肺炎(PH-IIP)。

【0243】 以小型豬模式測試根據本發明和比較例 3、4 和 5 的式 I 之

(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸(比較例 11)以及其式(I-M-I)之多晶形單水合物 I 以評估 (C-2.1) 中的肺選擇性以及作用期間。雖然所有 3 種化合物都顯示適當的肺部選擇性，但只有比較例 11 和比較例 4 顯示足夠的作用期間。比較例 11 顯示經 240 分鐘的整個觀察間隔具有最大效應之選擇性 PAP 效應，而比較例 3 顯示其吸入施用後 30 分鐘對 PAP 的最大效應，其在 120 分鐘後再次完全消除。以清醒缺氧挑戰的狗模式評估比較例 11 和比較例 4 的作用期間(C-2.2)。在此模式中，與比較例 4 相比，比較例 11 顯示持續長達 17 小時的一致長作用期間(PAP 降低)。因此與比較例 3、4 和 5 (在 WO 14/012934-A1 中揭示為實施例 2、37 和 39) 相比，比較例 11 (對應於本發明) 最適合於每日一次至兩次的治療方案。

**【0244】** 為了評估肺內選擇性，以單側支氣管閉塞模式評估比較例 11 相對對全身性施用的血管擴張劑。在此模式中，與全身施用比較例 11 或護理標準相比，吸入施用後未偵測到對去飽和區的負效應。因此，在吸入施用後，比較例 11 與全身性施用的血管擴張劑相比顯示更好的風險效益比，並且可能是在全身性施用的血管擴張劑治療下處於通氣灌注不匹配的風險之 PH 患者的一種有效但也安全的治療(C-2.3)。再者，在藥物物質吸入施用後，通氣得到改善，例如臨床前可顯示支氣管擴張作用(C-3.1 和 C-3.2) 以及對氣道高反應性和發炎的抑制作用(C-3.3)。

**【0245】** 再者，我們發現 sGC 活化劑呈其式(I-M-I)之晶形單水合物 I 的形式之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸(實施例 4) 在首次臨床研究中(參見實驗部分 C-4.1) 增加作為 sGC 活化的第二信使分子之 cGMP 水平作為肺中藥物濃度的替代物(目標參與之指示) 以及在乾粉施用後在健康志願者中為期超過 12 h，最多 24 h 的有益支氣管擴張性質(例如總比氣道阻力(sRaw)的降低，指示肺部支氣管擴張活性的參數)，支持臨床上長較肺滯留時間以及實施例 4 成功使用於治療心肺

疾病的適合性。在健康志願者中觀察到高達 4000  $\mu\text{g}$  的劑量對全身性血壓沒有臨床意義的影響。

【0246】 而且，我們發現在劑量最多 4000  $\mu\text{g}$ (含)下，肺高血壓患者的肺動脈壓和肺血管阻力選擇性降低，對全身血壓沒有臨床相關影響。直到 3h 的測量期結束(>3h 的測量期在技術上是不可行的)，該效應一直持續而反應沒有降低。實施例 4 的肺滯留時間超過 3h(乾粉施用後大概超過 12hr 之時段，最多 24 hr)可從 C 4-3 中所述的研究中測量的長血漿半衰期得出結論(參見實驗部分 C-4.3)。

【0247】 另外，藥物物質(實施例 4)之口服、靜脈內和吸入性投予後的血漿濃度分析顯示吸入施用後活性成分的最長半衰期(C-4.3)。人類吸入 1000  $\mu\text{g}$  後，噴出(肺)劑量已確定為 720 $\mu\text{g}$ 。此研究的結果證實肺劑量和半衰期對於吸入乾粉投予來說是足夠的，實施例 4 在肺中的足夠 24 h 藥物覆蓋使得能夠每天一次治療。

【0248】 總之，所有結果顯示式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸以及其假多晶形(如例如(I-M-I)和(I-M-II)，尤其是式(I-M-I)之單水合物 I)特別適合於治療肺動脈高血壓(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高血壓(CTEPH)和與慢性肺部疾病相關之肺高血壓(PH)(第 3 組 PH)諸如慢性阻塞性肺病中之肺高血壓(PH-COPD)和肺高血壓併發特發性間質性肺炎(PH-IIP)且對於吸入乾粉投予來說是足夠的，使能夠每天一次治療實施例 4 在肺中的足夠 24 h 藥物覆蓋。

【0249】 此等研究結果也支持實施例 4 對於每天一次或兩次吸入治療方案的適合性，該方案包含 240 至 4000  $\mu\text{g}$ (較佳地 480 至 2000  $\mu\text{g}$ )的(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸以及其式(I-M-I)之晶形單水合物 I 為期等於或超過兩天(較佳至少連續 2 至 7 天，較佳地為期連續至少 14 天，特別是從開始治療之後經整個病程)使用於治療心肺病症，諸如肺動脈高血壓(PAH)、慢性血栓栓塞

性肺高血壓(CTEPH)和與慢性肺部疾病相關之肺高血壓(PH)(第 3 組 PH)諸如慢性阻塞性肺病中之肺高血壓(PH-COPD)和肺高血壓併發特發性間質性肺炎(PH-IIP)。

**【0250】** 令人驚訝地，現已發現在健康志願者中用藥 7 天後(第一次給藥後，隨後是 48 小時的無給藥期，之後每 24 小時 6 次給藥)，每天一次吸入投予式 I 之 sGC 活化劑(尤其是實施例 4，呈式(I-M-I)之單水合物 I 的形式之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸)具有為期超過 12 小時，最多 24 小時的延長持續效應，其當每天一次或兩次吸入性投予時經由支氣管擴張可能在患者中導致例如改善之血液動力學效應，如例如較低的肺血管阻力(PVR)、6 分鐘步行測試中步行距離改善、NYHA 患者分類的轉變或肺功能改善例如較高的 FEV1。

**【0251】** 另外，我們發現式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸(比較例 11)具有有益的生理化學性質例如蛋白質結合和 CACO 通量(參見實驗部分 C-5.1 (Caco 滲透性)和 C-5.2 (蛋白質結合))，其使比較例 11 成為用於以乾粉吸入至肺來局部治療心肺病症之適當化合物。而且，我們的數據指示比較例 11(尤其是單水合物形式 I)不僅顯示經由肺中之選擇性血管舒張有效降低 PAP，且與西那西瓜相比，也顯示更持久的支氣管擴張性質，其可有益於有慢性肺病之 PH 患者(第 3 組 PH)每天一次或兩次吸入治療，甚至有可能治療肺功能受限的患者(例如氣喘病患者)。

**【0252】** 因此藥物物質，例如根據本發明的式(I)之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，以及其假多晶形(I-M-I)和(I-M-II)具有極佳的一級藥理性質：

- (5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸為有效和選擇性 sGC 活化劑及提供一種吸入後治療 PH 之新方法。
- (5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸在不同疾病相關動物模式(凝血脂素和缺氧攻擊的大鼠、豬和狗)中吸入施用後選擇性降低升高的 PAP 且作用期間長，表明每天施用一次或兩次，較佳每天施用一次。
- 在作為 VQ 不匹配之取代物的單側通氣小型豬模式中，與全身性施用的血管擴張劑相比，(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸吸入施用後降低 PAP 而對加氧作用沒有負面影響。
- 除 PAH 之護理標準(standard of care) (SoC) (例如波生坦(bosentan)、西地那非(sildenafil)、伊洛美定(Ilomedin)、和里奧西瓜(Riociguat))之外，(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸在 PAH-小型豬模式中吸入施用後選擇性降低升高的 PAP。
- (5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸的功效在氧化壓力的實驗條件(1H-[1,2,4]嘔二唑并[4,3-a]喹啉-1-酮，一種可溶性鳥苷酸環化酶[ODQ]的高選擇性不可逆血色素位置抑制劑，L-N $\omega$ -硝基精胺酸甲酯[L-NAME]治療)下增強。
- 關於通氣，(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸顯示支氣管擴張作用(乙醯膽鹼[ACh]大鼠模式)和對氣道高反應性和發炎的抑制作用(慢性卵白蛋白氣喘小鼠模式)。

- 在三種不同類型(口服、靜脈內、吸入)的投予後(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸(尤其是呈其單水合物 I 的形式(實施例 4)之血漿濃度顯示吸入施用後最長的消除半衰期。
- 人類吸入 1000 µg 後，噴出(肺)劑量已測定為 720 µg。
- 在人體中使用 sGC 活化劑呈其晶形式(I-M-I)之單水合物 I 的形式之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸(實施例 4)的首次研究顯示 sGC 活化和長肺滯留時間結合支氣管擴張性質和選擇性降低肺動脈壓和肺血管阻力，在良好的局部和全身耐受性下達到最高測試劑量 4000 µg(包括)。

**【0253】** 因此，根據本發明之藥物物質，例如式(I)之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，以及其假多晶形(I-M-I)和(I-M-II)在患者中具有極佳一級藥理學和藥效學性質，包括降低肺動脈壓(mPAP)和肺血管阻力(PVR)、如藉由例如 FEV1 測量的支氣管擴張、具有低至無全身性副作用(尤其是對全身血液動力學，諸如臨床相關的血壓或心率之改變)的肺選擇性及低至無增加的 VQ 不匹配以避免相關的去飽和，再者，肺內投予後之足夠的肺滯留時間及/或有足夠的作用期間。

**【0254】** 令人驚訝地，已發現，(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸(尤其是呈單水合物 I 的形式)的局部投予(尤其是吸入投予)有可能成功控制心肺疾病心肺病症(諸如肺動脈高血壓(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高血壓(CTEPH)、和與慢性肺部疾病相關之肺高血壓(PH)(第 3 組 PH)諸如慢性阻塞性肺病中之肺高血壓(PH-COPD)和肺高血壓併發特發性間質性肺炎(PH-IIP))。肺中的活性成分濃度可長期保持在從醫學觀點來看之最佳治療所需的水平。除了在疾病位置之較高和

持久的活性成分水平外，也可能同時達成活性成分之較低全身濃度，從而可以避免藥物的副作用，例如沒有臨床相關的全身性血壓下降。

**【0255】** 令人驚訝地，藥物物質可以式(I-M-I)之單水合物 I 的單一晶形且化學穩定的形式提供。此形式在微粉化條件下也是穩定的。

**【0256】** 令人驚訝地，根據本發明之醫藥乾粉調配物係透過極佳氣霧劑性能(例如高細顆粒劑量、細顆粒分率和量關於標稱劑量之遞送劑)和足夠的化學穩定性加以表徵。再者，根據本發明之醫藥乾粉調配物可藉由新穎方法(例如摻合物均勻性)以技術可靠的方式製造。

**【0257】** 令人驚訝地，包含呈其鹽或溶劑合物和水合物中之一者的形式之式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸(較佳為式(I-M-I)之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸單水合物 I)組合包含呈粗乳糖和細乳糖的混合物之乳糖單水合物的乳糖載體之醫藥乾粉調配物係適合於心肺病症(諸如肺動脈高血壓(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高血壓(CTEPH)和與慢性肺部疾病相關之肺高血壓(PH)(第 3 組 PH)諸如慢性阻塞性肺病中之肺高血壓(PH-COPD)和肺高血壓併發特發性間質性肺炎(PH-IIP))之吸入性治療。

**【0258】** 鑑於先前技術，此等研究結果是不可預見的，因為式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸的極佳一級藥理學和藥效學性質，尤其是與類似的 5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸(如例如比較例 3、4 和 5)相比，其較長的作用期間是不為人所知。

**【0259】** 而且，此等研究結果是不可預見的，因為假多晶形(尤其是結晶穩定的水合物)是不為人所知。

【0260】 令人驚訝地，粉化和穩定性研究後，單水合物形式 I (I-M-I) (實施例 4) 被鑑定為穩定假多晶形之式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸微。

【0261】 再者，令人驚訝的是，變形 I (I-M-I) 可藉由從甲醇、丙酮水中選擇性結晶獲得。

【0262】 再者，沒有包含式(I)之酸也沒有其任何晶形(如例如單水合物形式 I (I-M-I) 或單水合物形式 II(i-M-II)) 的吸入性固體載體調配物是已知的。

【0263】 因此，本發明之技術目標為提供一種用於治療心肺病症之新穎適當吸入劑量方案，其包含將式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，較佳於其鹽或溶劑合物和水合物中之一者的形式，較佳為呈乾粉施用的形式之式(I-M-I)之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸單水合物 I 投予至有需要的患者，其中該活性成分在患者中具有極佳的一級藥理學和藥效學性質，包括降低肺動脈壓(mPAP) 和肺血管阻力(PVR)、如藉由例如 FEV1 測量的支氣管擴張、具有低至無全身性副作用(尤其是對全身血液動力學，諸如臨床相關的血壓或心率之改變)的肺選擇性及低至無增加的 VQ 不匹配以避免相關的去飽和，再者，肺內投予後之足夠的肺滯留時間及/或有足夠的作用期間。

【0264】 本發明人令人驚訝地發現，用於治療心肺病症之新穎適當吸入劑量方案包含將式(I)之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸(較佳於其鹽或溶劑合物和水合物中之一者的形式，較佳為式(I-M-I)之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸單水合物 I 或式(I-M-II)之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸單水合物 II 每天一次或兩

次為期等於或超過兩天(較佳至少連續 2 至 7 天，較佳地為期連續至少 14 天，特別是從開始治療之後經整個病程)以吸入劑型投予至有需要的患者，該吸入劑型包含 240 至 4000  $\mu\text{g}$ (較佳地 480 至 2000  $\mu\text{g}$ )的(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，較佳地呈乾粉施用，較佳呈乾粉吸入器和(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸之組合，呈包含活性成分和醫藥上合適的賦形劑或載體之乾粉調配物，同時較佳地將活性成分和醫藥上適合的賦形劑填充於硬膠囊中。

**【0265】** 為了提供根據本發明之用於治療心肺病症之新穎適當吸入劑量方案，重要的是以限定的可吸入形式提供特定劑量的特定藥物物質，其中標稱劑量足以治療預期的心肺病症。

**【0266】** 為了確定足夠的人體劑量，必需選擇對 PAH 最具預測性的動物模式和確定最小有效劑量，以及界定首次臨床研究中要評估的劑量範圍(最小有效劑量、有效劑量和最大耐受劑量)。

**【0267】** 因此活性成分應以包含 240 至 4000  $\mu\text{g}$ (較佳地 480 至 2000  $\mu\text{g}$ )的吸入劑型每天一次或兩次為期等於或超過兩天(較佳至少連續 2 至 7 天，較佳地為期連續至少 14 天，特別是從開始治療之後經整個病程)投予至有需要的患者。

**【0268】** 最後本發明之用於治療心肺病症的新穎吸入劑量方案根據係適合使用於心肺病症(諸如肺動脈高血壓(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高血壓(CTEPH)、和與慢性肺部疾病相關之肺高血壓(PH)(第 3 組 PH)諸如慢性阻塞性肺病中之肺高血壓(PH-COPD)和肺高血壓併發特發性間質性肺炎(PH-IIP))之治療。

#### 人體劑量估計

**【0269】** 根據本發明之調配物可以藉由過濾器收集管方法測定之遞送劑量(DD)和藉由級聯撞擊測定之細顆粒劑量(FPD)加以表徵。測定遞送劑量和細顆

粒劑量的分析方法在藥典中一般描述為此等方法與可吸入劑型(例如乾粉吸入調配物)和構成品質控制的慣例(例如臨床使用的 DPI 產物之釋出)保持一致。

【0270】 已經發現，具有不同標稱劑量的不同調配物導致不同的遞送劑量，更重要的是，導致加以表徵有效劑量的某細顆粒劑量，因為此被遞送進入肺深部至作用位置。理論上，輸送劑量和細顆粒劑量和分率與填充粉末劑量呈線性關係，但由於幾個相互作用的因素，此不能可靠地預測，實際上可能不同，而需要相關研究。需要遞送劑量盡可能接近標稱劑量。事實上，遞送劑量永遠不會 100% 匹配標稱劑量，因為在吸入膠囊的表面和使用之乾粉吸入器的氣霧劑路徑上總是會一定程度上留下殘留物。當然，此性質高度取決於活性成分的物理化學特性及其從粉末摻合物中的釋放行為。類似地，相對於填充標稱活性成分含量，希望細顆粒劑量和細顆粒分數盡可能高，以盡可能好地利用可用藥物量並減少活性成分的損失或減少遞送至除肺深部之外的其他隔室的部分比(例如藉由吞嚥經由較大的藥物顆粒之口腔效應)。

【0271】 由於可吸入調配物的性質以及與例如口服固體調配物相反，並非所有標稱含量都會被遞送進入肺部。可定義幾個分率，其以特定體外分析方法加以表徵，並支持估計吸入期間遞送至患者的劑量分率(遞送劑量或噴出劑量)和預計會到達深氣道和肺泡之以下細顆粒(例如 5  $\mu\text{m}$  或 4.5  $\mu\text{m}$ )的分率(細顆粒劑量)。關於概述，參見下表 1。

表 1：關於劑量的術語之定義

術語	縮寫	定義	同義詞或相等術語
標稱劑量	ND	API 填充於膠囊(臨床研究)或霧化器(藥理動物實驗)之總計劑量。	膠囊劑量，膠囊濃度，標記在膠囊上之藥物物質的量
噴出劑量	ED	在界定的實驗室測試條件下，實際離開裝置的劑量。	對應於遞送劑量
遞送劑量	DD	估計或計算的動物吸入的劑量(從鼻尖/嘴直到肺泡)或人類可利用的藥物物質量，ex-裝置，基於每劑量。	對應於噴出劑量
肺沉積劑量	LDD / LD	被認為到達各個動物或人類的肺部(氣管與支氣管和肺沉積)的劑量。	據認為 FPD(體外測量)對應於人類肺沉積劑量
細顆粒劑量	FPD	從以體外級聯撞擊分析測定的空氣動力粒徑分布(ASPD)函數計算的參數。含有比 4.5 - 5 $\mu\text{m}$ 空氣動力學直徑	對於 DPI，假設 FPD 基本等同於人體肺沉積劑量

---

細的顆粒之吸入器的  
每次啟動或劑量遞送  
的活性醫藥成分(API)  
之質量(例如根據歐洲  
藥典)。

細顆粒分率 FPF      根據與 ED/DD 或標稱  
劑量相關的 FPD 的細  
顆粒質量分率(%)

---

## 藥物動力學/藥效學(PK/PD)關係的評估

【0272】 麻醉的凝血脂素A2激發PAH小型豬模式(參見實驗部分C-2.1)係視為預測人類最小有效劑量和有效劑量(MED, ED)的最相關和最敏感的模式。為了確定有效的LD, 重複小型豬的實驗, 不同之處在於在管的末端連接吸收過濾以測定沉積的肺劑量。比較例11的霧化導致平均霧化效率為標稱施用劑量的5%, 其導致LD為約0.15 µg/kg(3 µg/kg ND)、0.5 µg/kg(10 µg/kg ND)、1.5 µg/kg(30 µg/kg ND)和 5 µg/kg(100 µg/kg ND)。假設最低有效ND為3 µg/kg(PAP降低5%), 則最低有效沉積LD係視為0.15 µg/kg (參見圖1)。

【0273】 0.15、0.5、1.5 和 5 µg/kg 之在小型豬中之所得肺沉積劑量乘以 60 kg 以達到人類肺部劑量。因此, 反映 60kg 人類之 PAP 降低的 FPD 計算為 9、30、90 和 300 µg。

【0274】 因此, 經由小型豬的直接升級, 基於60 公斤體重的人類之預測MED(5% PAP降低)計算為9 µg LDD, 不考慮呼吸道內的蛋白質結合。作為非結合濃度的替代物, 其為肺中可能的活性濃度, 我們考慮小型豬和人類血漿中非結合分率的各個差異。此考慮導致41 µg LDD之60 kg參與者的最小有效肺劑量(LD), 假設PAP之5%降低。因此, 基於60公斤體重, 預測的最小人類有效劑量在9 µg LDD至41 µg LDD範圍內(參見圖2)。

**表 2：考慮和不考慮蛋白質結合的種間差異之有效肺劑量**

在小型豬中之相對肺 沉積劑量 [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]	在 60 kg 人類中之總肺沉積劑量 [ $\mu\text{g}$ ]	
	不考慮蛋白質結合的 種間差異 <sup>a</sup>	考慮蛋白質結合的種 間差異 <sup>d</sup>
0.15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 標稱劑量)	9	41
0.50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 標稱劑量)	30	137
1.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 標稱劑量)	90	410
5.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 標稱劑量)	300	1370

<sup>a</sup>計算 (在小型豬中之相對肺沉積劑量 x 60 kg)

<sup>b</sup>計算 (在小型豬中之相對肺沉積劑量 x 60 kg x 4.55 (分率非結合小型豬 (血漿 fu 0.348%)/人類(血漿 fu 0.0764%)之比率)

**【0275】** 基於表2中所列的小型豬中之相對肺沉積劑量，也對有效劑量(有效 PAP 降低 > 5%最多至 35%，最多 4hrs 的完整觀察期之更長的時間)進行此轉換。

【0276】 因此，基於小型豬數據，預期人類的有效肺沉積劑量在 9  $\mu\text{g}$  至 1370  $\mu\text{g}$  的範圍內。

【0277】 鑒於100  $\mu\text{g}/\text{kg}$  為小型豬模式中的最高有效劑量而無全身副作用 (BP 降低)，與1370  $\mu\text{g}$ 之對應最大有效人類LDD，9-1370  $\mu\text{g}$ 肺沉積劑量被假定為有效劑量，取決於不同的種間蛋白結合(參見表2)。對於DPI產物，假設細顆粒物劑量(FPD)基本等同於人類肺沉積劑量。

【0278】 為了解決對大範圍的肺沉積劑量的需求並將其轉化為要製造的乾粉吸入膠囊之細顆粒劑量(FPD目標)的技術規格，進行一些計算和概算。通常，若達成大於20%的標稱劑量的細顆粒分率，則認為基於粉末摻合物載體調配物的可吸入產物具有極佳性能。此外，高性能吸入產物需要關於遞送劑量的高FPF(%)且目標為  $\geq 30\%$ 。考慮到技術和實際原因(粉末摻合物中之活性濃度和摻合物的膠囊填充質量)，隨後使用FPD目標以確定成品乾粉吸入膠囊的界定標稱劑量。FPD和DD目標以及對應標稱劑量概述在以下兩個表3和4中。

表 3：標稱劑量目標和細顆粒劑量之目標和%分率(ds)

膠囊標稱劑量 [μg]	平均 FPF (FPD 標稱的%)	平均 FPF (FPD DD 的%)	平均 FPD <4.5μm (目標 <sup>a</sup> ) [μg]	Min FPD < 4.5μm (目標的 65% <sup>b</sup> ) [μg]
60	≥ 20%	≥ 30%	12	8
75	≥ 20%	≥ 30%	15	10
120	≥ 20%	≥ 30%	24	16
480	≥ 20%	≥ 30%	96	62
500	≥ 20%	≥ 30%	100	65
1000	≥ 20%	≥ 30%	200	130
2000	≥ 20%	≥ 30%	400	260
3000	≥ 20%	≥ 30%	600	390
6000	≥ 20%	≥ 30%	1200	780
9000	≥ 20%	≥ 30%	1800	1170

a) 從 FPF 標稱的%目標計算的目標值

b) 由於製造和分析測定的預期可變性，確定最低目標。

**【0279】** 對於遞送劑量和標稱劑量之間的關係，沒有通用約束(例如藥典)要求，因為由於具有不同的性質之不同活性成分及其製造的醫藥調配物的性質非常不同，因此無法定義此關係。而是，遞送劑量的均勻性由藥典定義，以確保劑量間的一致性。目標遞送劑量是得自在標準化條件下使用界定的乾粉吸入裝置多次測定界定的劑型之經驗參數。預期平均遞送劑量應在目標 DD 的 85-115% 範圍內。最小遞送劑量要求占平均遞送劑量範圍的 85% 下限。目標遞送劑量百分比(從 ≥ 50% 至 ≥ 65 標稱的%)係定義為所有非線性的標稱劑量，且需

要考慮相對較高含量的活性成分黏著在例如膠囊和設備表面，特別是具有較低的標稱填充劑量。

表 4：標稱劑量、DD 目標和相關最小遞送劑量

膠囊標稱劑量 [ $\mu\text{g}$ ]	平均 DD (標稱的%)	平均 DD (目標 <sup>A</sup> ) [ $\mu\text{g}$ ]	Min DD (目標的 85%) [ $\mu\text{g}$ ]
60	$\geq 50\%$	30	26
75	$\geq 50\%$	38	32
120	$\geq 60\%$	72	61
480	$\geq 60\%$	288	245
500	$\geq 60\%$	300	255
1000	$\geq 65\%$	650	553
2000	$\geq 65\%$	1300	1105
3000	$\geq 65\%$	1950	1658
6000	$\geq 65\%$	3900	3315
9000	$\geq 65\%$	5850	4973

【0280】 因此根據本發明之醫藥乾粉調配物為用於治療心肺病症(諸如肺動脈高血壓(PAH)、慢性血栓性肺高血壓(CTEPH)和與慢性肺部疾病相關之肺高血壓(PH)(第 3 組 PH)諸如慢性阻塞性肺病中之肺高血壓(PH-COPD)和肺高血壓併發特發性間質性肺炎(PH-IIP))之適當藥劑。

【0281】 鑒於該術的背景和現狀，本發明的技術目標為提供基於適當載體之乾粉調配物，其包含式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，較佳為式(I-M-I)之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸單水合物 I 組合乳糖載體以便獲得使用於治療

心肺病症(諸如肺動脈高血壓(PAH)、慢性血栓性肺高血壓(CTEPH)和與慢性肺部疾病相關之肺高血壓(PH)(第 3 組 PH)諸如慢性阻塞性肺病中之肺高血壓(PH-COPD)和肺高血壓併發特發性間質性肺炎(PH-IIP))之適當吸入性藥劑。

【0282】 為了開發使用於治療心肺病症(諸如肺動脈高血壓(PAH) 慢性血栓性肺高血壓(CTEPH)和與慢性肺部疾病相關之肺高血壓(PH)(第 3 組 PH)諸如慢性阻塞性肺病中之肺高血壓(PH-COPD)和肺高血壓併發特發性間質性肺炎(PH-IIP))之適當吸入性藥劑，需要滿足有關藥物物質以及藥品的某些技術和醫學需求與要求。

【0283】 首先，活性成分(藥物物質)需要具有適當的物理化學、藥物動力學和藥效學性質。例如藥物物質需要適合於吸入治療且需要具有治療心肺病症的足夠功效。再者，在預計的 PH 形式中活性成分應具有明確的功效，同時也是護理標準(standard of care) (SoC 例如內皮素拮抗劑諸如波生坦(bosentan)、PDE5 抑制劑例如西地那非(sildenafil)、IP 促效劑例如伊洛美定(Ilomedin)、鈣通道阻斷劑例如和 sGC 刺激劑例如里奧西瓜(Riociguat))。活性成分也應具有其他有利性質，特別是關於具有肺選擇性作用之高肺選擇性(與全身作用相比)，低至無 VQ-不匹配、肺內投予後其肺內滯留時間及/或其作用期間。因此，藥物物質應適合於長期治療方案/使用。再者，藥物物質應導致通氣改善，例如支氣管擴張作用及對氣道高反應性和發炎的抑制作用且因此特別適合於治療肺動脈高血壓(PAH)、慢性血栓性肺高血壓(CTEPH)和與慢性肺部疾病相關之肺高血壓(PH)(第 3 組 PH)諸如慢性阻塞性肺病中之肺高血壓(PH-COPD)和肺高血壓併發特發性間質性肺炎(PH-IIP)。

【0284】 藥物物質式(I)之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫-喹啉-2-甲酸以及其式(I-M-I)和(I-M-II)之多晶形應具有持續的血管舒張和支氣管擴張功效為期超過 12 小時，為期最多 24 小時，其特徵為例如血液動力學效應的改善，導致較低的肺血管阻

力(PVR)、6分鐘步行測試中步行距離改善、NYHA(紐約健康協會)患者分類的轉變或肺功能改善例如較高的 FEV1(人在用力呼吸的第一秒內可呼出的用力呼氣量)和較低的比氣道阻力(sRaw)、在吸入性投予時，指示健康肺部的支氣管擴張活性之參數。

【0285】 再者，活性成分(藥物物質)需要以適合於治療心肺病症之乾粉醫藥調配物和對應吸入劑量方案的限定穩定的晶形提供。

【0286】 另外，最終藥品(調配物)需要具有適當性質，例如足夠的化學穩定性和足夠的氣霧劑性能，以便將藥物物質以足夠量而對患者具低至無副作用遞送至目標器官(例如肺)。需要足夠的物理化學穩定性來保持活性成分的化學組成並避免不可接受的降解或立體化學轉化。更為重要的是，需要保持物理形態，以免改變影響活性成分之藥物動力性質的生物製藥性質。穩定和適當的氣霧劑性能意指就平均遞送劑量和遞送劑量之均勻性的意義而言，可再現的藥物遞送以及最終劑型中所需大部分的可用標稱藥物劑量可再現地將藥物遞送至作用位置。實際上且藉由適當分析方法諸如空氣動力粒徑分布以級聯衝擊測試，大部分微粉化細活性成分顆粒應以(或者細顆粒質量)和細顆粒分率(相對於遞送劑量及/或標稱劑量之%)回收。

【0287】 本發明人令人驚訝地發現式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸可藉由改良的化學方法以可靠的方式進行大規模製造。

【0288】 另外，本發明人發現式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸以穩定的晶形(如例如式(I-M-I)之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸單水合物 I 或式(I-M-II)之單水合物 II，較佳為式(I-M-I)之單水合物 I)存在。

【0289】 再者，本發明人令人驚訝地發現式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸的晶形可藉由一種新穎的選擇性結晶方法獲得，較佳地單水合物形式 I (I-M-I) 可藉由從甲醇、丙酮和水結晶而獲得。

【0290】 因此，藥物物質式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸首次以適用於吸入劑型、藥物和吸入劑量方案(較佳 DPI)的形式提供。

【0291】 令人驚訝地臨床前實驗揭示相較於西那西瓜(Cinaciguat)，sGC 活化劑式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸(=比較例 11)顯示在離體血管中，隱動脈之穿透較慢，在離體細支氣管中，恢復因子延長，以及在 Langendorff 心臟實驗中，洗出得分增加(參見實驗部分 C-1.1 (離體血管) C-3.1 (細支氣管)和 C-1.2 (Langendorff))以及改善肺選擇性和延長作用期間(在 PAH 動物模式(豬和狗)中，在吸入施用後，延長選擇性肺動脈壓(= PAP)降低而無全身性血壓(=BP)降低效應)(參見實驗部分 C-2.1 (豬)和 C-2.2 (狗)。此等研究結果支持比較例 11 對於每天一次或兩次吸入治療方案的適合性，該方案包含 240 至 4000 µg(較佳地 480 至 2000µg)的(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸使用於治療心肺病症，諸如肺動脈高血壓(PAH)和與慢性肺部疾病相關之肺高血壓(PH)(第 3 組 PH)諸如慢性阻塞性肺病中之肺高血壓(PH-COPD)和肺高血壓併發特發性間質性肺炎(PH-IIP)。

【0292】 以小型豬模式(C-2.1)測試根據本發明和比較例 3、4 和 5 的式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸(=比較例 11)以評估肺選擇性以及作用期間(C-2.1)。雖然所有 3 種化合物都顯示適當的肺部選擇性，但只有比較例 11 和比較例 4 顯示足夠的作用期間。比較例 11 顯示經 240 分鐘的整個觀察間隔具有最

大效應之選擇性 PAP 效應，而比較例 3 顯示其吸入施用後 30 分鐘對 PAP 的最大效應，其在 120 分鐘後再次完全消除。以清醒缺氧挑戰的狗模式評估比較例 11 和比較例 4 的作用期間(C-2.2)。在此模式中，與比較例 4 相比，比較例 11 顯示持續長達 17 小時的一致長作用期間(PAP 降低)。因此與比較例 3、4 和 5 (在 WO 14/012934-A1 中揭示為實施例 2、37 和 39)相比，比較例 11(對應於本發明)最適合於每日一次至兩次的治療方案。

**【0293】** 再者，我們發現 sGC 活化劑呈其式(I-M-I)之單水合物 I 的形式(實施例 4)之式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸(=比較例 11)在首次臨床研究中(參見實驗部分 C-4)增加 cGMP 水平作為 sGC 活化的第二信使分子，作為肺中藥物濃度的替代物(目標參與之指示)以及在乾粉施用後在健康志願者中為期超過 12 小時，最多 24 小時的有益支氣管擴張性質(例如總比氣道阻力(sRaw)的降低，指示肺部支氣管擴張活性的參數)，支持臨床上長較肺滯留時間以及呈其式(I-M-I)之單水合物 I 的形式之式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸(=比較例 11)成功使用於治療心肺疾病的適合性。在健康志願者中觀察到高達 4000 µg 的劑量對全身性血壓沒有臨床意義的影響。

**【0294】** 而且，我們發現在劑量最多 4000 µg(含)下，肺高血壓患者的肺動脈壓和肺血管阻力選擇性降低，對全身血壓沒有臨床相關影響(參見實驗部分 C-4.4)。直到 3h 的測量期結束(>3h 的測量期在技術上是不可行的)，該效應一直持續而反應沒有降低。實施例 4 的肺滯留時間超過測量的 3h(乾粉施用後大概超過 12hr 之時段，最多 24 hr)可從吸入施用後測量的長血漿半衰期得出結論(參見實驗部分 C-4.3)。

**【0295】** 另外，藥物物質之口服、靜脈內和吸入性投予後的血漿濃度之分析顯示吸入施用後活性成分的最長半衰期(C-4.3)。人類吸入 1000 µg 後，噴出(肺)

劑量已確定為 720 $\mu\text{g}$ 。此研究的結果證實肺劑量和半衰期對於吸入乾粉投予來說是足夠的，實施例 4 在肺中的足夠 24 h 藥物覆蓋使得能夠每天一次治療。

【0296】 總之，所有結果顯示式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸以及其假多晶形(如例如(I-M-I)和(I-M-II)，尤其是式(I-M-I)之單水合物 I)特別適合於治療肺動脈高血壓(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高血壓(CTEPH)和與慢性肺部疾病相關之肺高血壓(PH)(第 3 組 PH)諸如慢性阻塞性肺病中之肺高血壓(PH-COPD)和肺高血壓併發特發性間質性肺炎(PH-IIP)且對於吸入乾粉投予來說是足夠的，實施例 4 在肺中的足夠 24 h 藥物覆蓋使得能夠每天一次治療。

【0297】 此等研究結果也支持呈其式(I-M-I)之單水合物 I 的形式之式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸(=比較例 11)用於每天一次或兩次吸入治療方案的適合性，該治療方案包含 240 至 4000  $\mu\text{g}$ (較佳地 480 至 2000  $\mu\text{g}$ )為期等於或超過兩天(較佳至少連續 2 至 7 天，較佳地為期連續至少 14 天，特別是從開始治療之後經整個病程)的呈其式(I-M-I)之單水合物 I 的形式之式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸(=比較例 11)使用於治療心肺病症(諸如肺動脈高血壓(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高血壓(CTEPH)和與慢性肺部疾病相關之肺高血壓(PH)(第 3 組 PH)諸如慢性阻塞性肺病中之肺高血壓(PH-COPD)和肺高血壓併發特發性間質性肺炎(PH-IIP))。

【0298】 另外，我們發現式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸(=比較例 11)具有有益的生理化學性質例如蛋白質結合和 CACO 通量(參見實驗部分 C-5.1 (Caco 滲透性)和 C-5.2 (蛋白質結合))，其使比較例 11 成為用於以乾粉吸入至肺來局部治療心肺病症之適當化合物。而且，我們的數據指示比較例 11(尤其是式

(I-M-I)之單水合物形式 I)不僅顯示經由肺中之選擇性血管舒張有效降低 PAP, 且與西那西瓜相比, 也顯示更持久的支氣管擴張性質, 其可有益於有慢性肺病之 PH 患者(第 3 組 PH)每天一次或兩次吸入治療, 甚至有可能治療肺功能受限的患者(例如氣喘病患者)。

**【0299】** 因此根據本發明之藥物物質, 例如式(I)之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸, 以及其假多晶形(I-M-I)和(I-M-II)具有極佳的一級藥理性質:

- (5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸為有效和選擇性 sGC 活化劑且提供一種吸入後治療 PH 之新方法。
- (5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸吸入施用後選擇性降低升高的 PAP 在不同疾病相關動物模式(凝血脂素和缺氧攻擊的大鼠、豬和狗)中吸入施用後選擇性降低升高的 PAP 且作用期間長, 表明每天施用一次或兩次, 較佳每天施用一次。
- 在作為 VQ 不匹配之取代物的單側通氣小型豬模式中, 與全身性施用的血管擴張劑相比, (5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸吸入施用後降低 PAP 而對加氧作用沒有負面影響。
- 除 PAH 之護理標準(standard of care)(SoC)(波生坦、西地那非、伊洛美定、和里奧西瓜)之外, (5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸在 PAH-小型豬模式中吸入施用後選擇性降低升高的 PAP。
- (5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸的功效在氧化壓力的實驗條件

(1H-[1,2,4]嘔二唑并[4,3-a]喹啉-1-酮，一種可溶性鳥苷酸環化酶[ODQ]的高選擇性不可逆血色素位置抑制劑，L-Nω-硝基精胺酸甲酯[L-NAME]治療)下增強。

- 關於通氣，(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸顯示支氣管擴張作用(乙醯膽鹼[ACh]大鼠模式)和對氣道高反應性和發炎的抑制作用(慢性卵白蛋白氣喘小鼠模式)。
- 藥物物質之口服、靜脈內、吸入投予後，血漿濃度之分析顯示吸入施用後最長的消除半衰期。
- 人類吸入 1000 μg 後，噴出(肺)劑量已測定為 720 μg。
- 在人體中使用 sGC 活化劑呈其晶形式(I-M-I)之單水合物 I 的形式之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸(實施例 4)的首次研究顯示 sGC 活化和長肺滯留時間結合支氣管擴張性質和選擇性降低肺動脈壓和肺血管阻力，在良好的局部和全身耐受性下達到最高測試劑量 4000 μg(包括)。

**【0300】** 因此藥物物質根據本發明的式(I)之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，以及其假多晶形(I-M-I)和(I-M-II)在患者中具有極佳一級藥理學和藥效學性質，包括降低肺動脈壓(mPAP)和肺血管阻力(PVR)、如藉由例如 FEV1 測量的支氣管擴張、具有低至無全身性副作用(尤其是對全身血液動力學，諸如臨床相關的血壓或心率之改變)的肺選擇性及低至無增加的去飽和，再者，肺內投予後之足夠的肺滯留時間及/或有足夠的作用期間。

**【0301】** 令人驚訝地，已發現，式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸(尤其是呈其式(I-M-I)之單水合物 I 的形式)的局部投予(尤其是吸入投予)有可能

成功控制心肺疾病心肺病症(諸如肺動脈高血壓(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高血壓(CTEPH)、和與慢性肺部疾病相關之肺高血壓(PH)(第 3 組 PH)諸如慢性阻塞性肺病中之肺高血壓(PH-COPD)和肺高血壓併發特發性間質性肺炎(PH-IIP))。肺中的活性成分濃度可長期保持在從醫學觀點來看之最佳治療所需的水平。除了在疾病位置之較高和持久的活性成分水平外，也可能同時達成活性成分之較低全身濃度，從而可以避免藥物的副作用，例如沒有臨床相關的全身性血壓下降。

**【0302】** 令人驚訝地，藥物物質可以式(I-M-I)之單水合物 I 的單一晶形且化學穩定的形式提供。此形式在微粉化條件下也是穩定的。

**【0303】** 令人驚訝地，根據本發明之醫藥乾粉調配物係透過極佳氣霧劑性能(例如高細顆粒劑量、細顆粒分率和量關於標稱劑量之遞送劑)和足夠的化學穩定性加以表徵。再者，根據本發明之醫藥乾粉調配物可藉由新穎方法(例如摻合物均勻性)以技術可靠的方式製造。

**【0304】** 令人驚訝地，包含呈其鹽或溶劑合物和水合物中之一者的形式之式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸(較佳為式(I-M-I)之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸單水合物 I)組合包含呈粗乳糖和細乳糖的混合物之乳糖單水合物的乳糖載體之醫藥乾粉調配物係適合於心肺病症(諸如肺動脈高血壓(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高血壓(CTEPH)和與慢性肺部疾病相關之肺高血壓(PH)(第 3 組 PH)諸如慢性阻塞性肺病中之肺高血壓(PH-COPD)和肺高血壓併發特發性間質性肺炎(PH-IIP))之吸入性治療。

**【0305】** 鑑於先前技術，此等研究結果是不可預見的，因為式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸的極佳一級藥理學和藥效學性質，尤其是與類

似的 5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸(如例如比較例 3、4 和 5)相比，其較長的作用期間是不為人所知。

【0306】 而且，此等研究結果是不可預見的，因為假多晶形(尤其是結晶穩定的水合物)是不為人所知。

【0307】 令人驚訝地，微粉化和穩定性研究後，單水合物形式 I (I-M-I) (實施例 4) 被鑑定為穩定假多晶形之式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸。

【0308】 再者，令人驚訝的是，變形 I (I-M-I) 可藉由從甲醇、丙酮水中選擇性結晶獲得。

【0309】 再者，沒有包含式(I)之酸也沒有其任何晶形(如例如單水合物形式 I (I-M-I) 或單水合物形式 II(I-M-II)) 的吸入性固體載體調配物是已知的。

【0310】 因此，本發明之技術目標為提供新穎穩定的醫藥乾粉調配物，其包含呈其鹽或溶劑合物和水合物中之一者的形式之式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，較佳為式(I-M-I)之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸單水合物 I 具有極佳氣霧劑性能(例如細顆粒劑量之高結果，細顆粒分率和遞送劑量相對於標稱劑量)和足夠的化學穩定性，這些屬性係藉由藉由摻合微粉化呈其鹽或溶劑合物和水合物中之一者的形式之式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸(較佳為式(I-M-I)之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸單水合物 I) 與由粗和細顆粒部分組成之乳糖載體而達成。

【0311】 本發明人令人驚訝地發現，新穎穩定的醫藥乾粉調配物，其包含呈其鹽或溶劑合物和水合物中之一者的形式之式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙

基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸(較佳為式(I-M-I)之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸單水合物 I)可藉由組合而活性成分與載體製造，其中該載體為乳糖載體，其包含呈粗乳糖和細乳糖的混合物之乳糖單水合物的乳糖載體之醫藥乾粉調配物。

**【0312】** 為了獲得根據本發明之醫藥乾粉調配物，重要的是調整 a)藥物物質和乳糖載體之間的特定比例和及 b) 使用工程化和定制的乳糖載體，其包含呈粗乳糖和乳糖細粒的混合物之乳糖單水合物，c) 使用藥物物質和具有特定粒徑的乳糖粗粒和乳糖細粒，特別是具有下列規格：

- A) 具有  $X_{90} \leq 6 \mu\text{m}$  之粒徑 及/或介於 1.0 和  $3.0 \mu\text{m}$  之間的  $X_{50}$  的活性成分式(I-M-I)之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸單水合物 I
- B) 具有至少或  $\geq 115 \mu\text{m}$  或至少或  $\geq 120 \mu\text{m}$  或為至少或  $\geq 200 \mu\text{m}$  的  $X_{90}$  之粒徑：及/或粗乳糖具有  $X_{50}$  至少或  $\geq 50 \mu\text{m}$  或為至少或  $\geq 75 \mu\text{m}$  或為至少或  $\geq 125 \mu\text{m}$ ， $X_{50} \geq 50 \mu\text{m}$  之粒徑的粗乳糖
- C) 具有  $X_{90} < 30 \mu\text{m}$  或  $\leq 10 \mu\text{m}$  之粒徑的細乳糖：及/或具有  $X_{50} \leq 5 \mu\text{m}$  或  $< 10 \mu\text{m}$  之粒徑的細乳糖

及其中調配物/乾粉摻合物的粗乳糖含量係介於 94.25%和 75%之間，也介於 98.25%和 75%之間。

**【0313】** 藥物物質與特定比例的乳糖載體組分(即粗乳糖和細乳糖)、所有具有特定粒徑之組分及此外調配物/乾粉摻合物的特定粗乳糖含量的特定組合導致技術效應，即基本的醫藥乾粉調配物極佳氣霧劑性能(例如高細顆粒劑量、細顆粒分率和遞送劑量關於標稱劑量)且在某段時間內具有足夠的化學穩定性。

【0314】 藥物顆粒暫時與載體顆粒結合，但隨後需要在吸入氣溶膠流期間從載體顆粒中釋放且從而可到達肺部深處，而產生優異的氣霧劑性能。微粉化藥物顆粒在乳糖載體顆粒上的強結合可特別以化合物如 I-M-I 發生，據觀察其對多種類型的表面(例如分析玻璃器皿和藥物生產設備的表面、硬膠囊的表面、乾粉的表面和粉末吸入裝置)具有很強的黏著性質。乳糖細顆粒可佔據乳糖載體顆粒上的活性位置，從而降低黏著劑混合物中強結合藥物顆粒之比例及增加在吸入條件(細顆粒劑量 / 細顆粒分率)下的釋放部分。根據本發明之基於載體的乾粉調配物之極佳氣霧劑性能係設計用於肺深部遞送之微粉化活性成分顆粒的最佳臨時結合的結果，其可藉由乾粉吸入裝置中的氣流能量克服從載體上分離和解聚藥物顆粒。

【0315】 此結果，藉由最佳化和定制下列技術參數，達成微粉化活性成分顆粒的最佳臨時結合：

【0316】 乳糖載體組分(即粗乳糖和細乳糖)的特定比率，

【0317】 選擇所有組分的特定粒徑

【0318】 及再者限定調配物/乾粉摻合物粗的乳糖含量

【0319】 此等參數對於獲得具有極佳氣霧劑性能能的根據本發明之基於載體的乾粉調配物是至關重要的。

【0320】 因此包含呈其鹽或溶劑合物和水合物中之一者的形式之式 I 之 (5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，較佳為式(I-M-I)之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸單水合物 I 的根據本發明之醫藥乾粉調配物為用於治療心肺病症(諸如肺動脈高血壓(PAH)、慢性血栓性肺高血壓(CTEPH)和與慢性肺部疾病相關之肺高血壓(PH)(第 3 組 PH)諸如慢性阻塞性肺病中之肺高血壓(PH-COPD)和肺高血壓併發特發性間質性肺炎(PH-IIP))之適當藥劑。

## 發明之詳細說明

吸入用調配物

活性成分

【0321】 根據本發明之乾粉吸入用的固體製劑含有一定量的活性成分(即式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，較佳地呈式(I-M-I)之單水合物 I 的形式之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸)或呈式(I-M-II)之單水合物 II 的形式之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸)，特佳的呈式(I-M-I)之單水合物 I 的形式之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸)，其在用於活性化合物的適當吸入級載體的基質中不超過約 20%。通常活性成分的量係介於 0.5%和 20%之間，較佳地介於 0.75%和 10%之間。其中活性成分的量基於即用製劑通常按重量計為至少 0.75%，或至少 3%，或至少 5%或至少 10%。非常較佳的是具有 3%、0%或 20%含量的活性成分之粉末摻合物。

【0322】 根據本發明之乾粉吸入用的固體製劑含適合於吸入施用的某粒徑之活性成分(即式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，較佳地呈式(I-M-I)之單水合物 I 的形式之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸)或呈式(I-M-II)之單水合物 II 的形式之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸)，特佳的呈式(I-M-I)之單水合物 I

的形式之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸)。

【0323】 活性成分((5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸(較佳地呈式(I-M-I)之單水合物 I 的形式之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸或呈式(I-M-II)之單水合物 II 的形式之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸))的粒徑分布係如下表所定義。

表 5：活性成分(例如式(I-M-I)或(I-M-II)之化合物)的粒徑分布

粒徑上限 X90	max. 6 $\mu\text{m}$
粒徑平均值 X50	1 – 3 $\mu\text{m}$
粒徑下限 X10	max. 1 $\mu\text{m}$

【0324】 對於吸入藥品，重要的是要保證具有有限定粒徑 < 5 $\mu\text{m}$  之藥物物質的均勻性，以確保遞送至深部肺室。此技術要求可藉由藥物物質顆粒的微粉化達成(參見實驗部分 B，實施例 8)。

【0325】 達到此要求之活性成分的粒徑分布之適當規格係如表 5 中所指定來設定。

【0326】 因此，為了確保活性適當遞送至目標位置，尤其是深氣道和肺泡，本發明人發現必須提供活性成分式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，較

佳地呈式(I-M-I)之單水合物 I 的形式或呈式(I-M-II)之單水合物 II 的形式，較佳地於 X90 = max. 6  $\mu\text{m}$  的粒徑及/或 X50 1 – 3  $\mu\text{m}$  及/或 X10 max. 1  $\mu\text{m}$  的呈式(I-M-I)之單水合物 I 的形式之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸)。

### 乳糖載體

**【0327】** 根據本發明之用於乾粉吸入的固體製劑通常含有不超過約 99.25% 的量之用於活性化合物的適當載體。通常吸入級載體的量係介於 99.25% 和 80% 之間，較佳係介於 99.25% 和 90% 之間。其中載體的量通常為基於乾粉摻合物以重量計為至少 99.25%，或至少 97%，或至少 95% 或至少 90%。

**【0328】** 主要可用不同材料的吸入級載體。

**【0329】** 本發明人發現藉由選擇乳糖作為載體材料達成根據本發明之吸入用調配物的極佳氣霧劑性能。

**【0330】** 吸入用乳糖可以不同粒徑範圍和不同特性獲得。

**【0331】** 可預期，由於細藥物顆粒與粗載體顆粒的活性位置的結合相對較強，具有粒徑分佈集中於與活性成分相比為較高的粒徑之粗乳糖載體單獨可導致不良氣霧劑性能(Paolo Colombo, Daniela Traini and Francesca Buttini "Inhalation Drug Delivery – Techniques and Products" (Wiley-Blackwell 2013 出版)。先進氣霧劑性能的特徵為增加的細顆粒劑量和分率以及與標稱劑量相關的遞送劑量。一旦粉末被霧化，藥物與載體的黏著和隨後的分離之間的平衡是預期的，通常也被描述為粉末或藥物分散體。可預期氣霧劑性能行為將隨著添加細載體顆粒或藉由使用含有固有部分的乳糖細粒之乳糖材料而得到改良，儘管程度無法預測(de Boer et al 2012, Grasmeyer et al 2015)。作為改良藥物分散和從載體釋放的一種表現，藉由級聯衝擊器的測量是選擇的既定方法和細顆粒劑量(或者細顆粒質量)以及細顆粒分率(具有限定粒徑上限(例如 5 $\mu\text{m}$  或 4.5 $\mu\text{m}$ )之藥物質量相對於單

一劑量單位的遞送劑量或標稱劑量的百分比分率)。這些方法在現行藥典(例如歐洲藥典(Pharm Eur.)或美國藥典(USP))中也被確立為吸入用產品的強制性品質控制方法。

【0332】 然而，添加細乳糖的可能效應且其幅度無法預測，因為在乾粉黏著劑混合物中可能存在疊加乳糖細粒效應的其他主要效應。非常重要，微粉化藥物本身的性質會對特定藥物分子之顆粒的二元或三元混合物之黏著和內聚性質(例如內聚：黏著平衡(CAB)或表面能)有影響，這甚至可以做出預測更加困難。

【0333】 本發明人發現，根據本發明之吸入用調配物的極佳氣霧劑性能係藉由選擇細乳糖和粗乳糖作為具有特定粒徑的載體材料達成。

【0334】 根據本發明之粗乳糖材料為具有低細顆粒含量之篩分或研磨的晶形  $\alpha$ -乳糖單水合物(例如市售的 Lactohale® 100 或 Lactohale® 206)。

【0335】 具有類似粒徑分布的根據本發明粗乳糖也可選自其他品牌，例如 Meggle Inhalac® 120 或 DFE Respitose® SV010。

【0336】 為了選擇一級粗載體，選擇乳糖品質，具有粒徑 X90 比活性成分的 X90 大至少 10 倍，及低固有細粒含量，以使主要部分的載體之品質一致。

【0337】 選擇細乳糖以改良氣霧劑性能。本發明人假設與活性成分相似的粒徑可能適合於控制活性成分顆粒與粗載體顆粒的暫時結合，儘管其他細乳糖粒徑規格也可能是合適的。因此，選擇具有  $X90 < 10\mu\text{m}$  或  $X90 < 30\mu\text{m}$  或  $X50 \leq 5\mu\text{m}$  或  $1.0 - 3.0\mu\text{m}$  之粒徑的細乳糖產物被認為足以組成乳糖載體。

【0338】 根據本發明之細乳糖材料為具有  $X90 \leq 10\mu\text{m}$  (例如市售的 Lactohale® 300)或  $X90 < 30\mu\text{m}$  或  $X50 \leq 5\mu\text{m}$  或  $1.0 - 3.0\mu\text{m}$  (例如市售的 Lactohale® 230)之低粒徑的研磨或微粉化的晶形乳糖單水合物。也可選擇具有相似性質和粒徑的細研磨或微粉化乳糖，例如 Meggle Inhalac® 500。材料和粉末混合物的粒徑分布通常以雷射繞射光譜法、顯微技術或常規篩分分析和分級來

測量[B.Y. Shekunov, P. Chattopadhyay, H.H.Y. Tong and A.H.L. Chow, Particle size analysis in pharmaceuticals, *Pharm. Res.* 2007, 24 (2), S203-S227] (也參見 D.4)。

【0339】 用於根據本發明之市售吸入用乳糖(例如 Lactohale® 100、Lactohale® 300)的粒徑分布係總結於下表 6 中。

表 6：用於根據本發明之吸入用乳糖的粒徑分布(規格)

	粗乳糖	細乳糖
商品名	Lactohale® 100	Lactohale® 300
粒徑上限 X90	200 - 250 $\mu\text{m}$	$\leq 10 \mu\text{m}$
粒徑平均值 X50	125 - 145 $\mu\text{m}$	$\leq 5 \mu\text{m}$
粒徑下限 X10	45 - 65 $\mu\text{m}$	不限定
商品名	Lactohale® 200	
粒徑上限 X90	120 - 160 $\mu\text{m}$	
粒徑平均值 X50	50 - 100 $\mu\text{m}$	
粒徑下限 X10	5 - 15 $\mu\text{m}$	
商品名	Lactohale® 206	Lactohale® 230
粒徑上限 X90	115 - 170 $\mu\text{m}$	$< 30 \mu\text{m}$
粒徑平均值 X50	75 - 95 $\mu\text{m}$	$< 10 \mu\text{m}$
粒徑下限 X10	20 - 50 $\mu\text{m}$	1.0 - 3.0 $\mu\text{m}$

【0340】 根據本發明之用於乾粉吸入的固體製劑含有粗乳糖(例如 Lactohale® 100)和細乳糖(例如 Lactohale® 300)的混合物。

【0341】 本發明人發現，粗乳糖粒度可在某範圍內改變，而不會危及根據本發明之基於載體的乾粉調配物之氣溶膠性能或混合均勻性。

【0342】 根據本發明，粗乳糖具有  $X_{90} = 200 - 250 \mu\text{m}$  或  $120 - 160 \mu\text{m}$  或  $115 - 170 \mu\text{m}$ ，或  $115-250 \mu\text{m}$  的粒徑。再者，根據本發明，粗乳糖具有  $X_{90} \leq 250 \mu\text{m}$  或  $\leq 170 \mu\text{m}$  或  $\leq 160 \mu\text{m}$  的粒徑。再者，根據本發明，粗乳糖具有  $X_{90}$  為至少或  $\geq 115 \mu\text{m}$  或為至少或  $\geq 120 \mu\text{m}$  或為至少或  $\geq 200 \mu\text{m}$  的粒徑。

【0343】 根據本發明，粗乳糖具有  $X_{50} = 125 - 145 \mu\text{m}$  或  $50 - 100 \mu\text{m}$  或  $75 - 95 \mu\text{m}$  或  $50-145 \mu\text{m}$  的粒徑。再者，根據本發明，粗乳糖具有  $X_{50} \leq 145 \mu\text{m}$  或  $\leq 100 \mu\text{m}$  或  $\leq 95 \mu\text{m}$  的粒徑。再者，根據本發明，粗乳糖具有  $X_{50}$  為至少或  $\geq 50 \mu\text{m}$  或為至少或  $\geq 75 \mu\text{m}$  或為至少或  $\geq 125 \mu\text{m}$  及/或  $X_{10} = 45 - 65 \mu\text{m}$  或  $5 - 15 \mu\text{m}$  或  $20 - 50 \mu\text{m}$  的粒徑。

【0344】 根據本發明，該細乳糖具有  $X_{90} = \leq 10 \mu\text{m}$  或  $< 30 \mu\text{m}$ ， $X_{50} \leq 5 \mu\text{m}$  或  $1.0 - 3.0 \mu\text{m}$  的粒徑。藉由利用具有細顆粒之固有含量的 Lactohale200®，乳糖載體中無需添加任何其他細乳糖顆粒。因此，本發明的基於載體的調配物可用 Lactohale 200 或具有固有乳糖細粒含量的類似乳糖產物調配製。

【0345】 根據本發明，Lactohale 100®和 Lactohale 300®為較佳。

【0346】 再者，本發明人發現根據本發明之吸入用調配物的極佳氣霧劑性能可藉由調整乾粉摻合物內之特定含量的細乳糖和特定含量的粗乳糖而達成。

【0347】 本發明人確定乳糖載體的細乳糖含量為重要的關鍵參數。為了獲得以極佳氣霧劑性能為特徵的根據本發明之吸入用調配物，細乳糖的含量應在某一範圍內選擇。例如，粉末摻合物/乳糖載體中較高含量的細乳糖，例如發現 20%或更多的含量對摻合物均勻性有負面影響(參見例如比較例 20)。顯示根據本發明之粉末摻合物和調配物可具有改變含量的細乳糖，其介於 1%和 10%之間，也可介於 5%和 10%之間的範圍內，而細乳糖含量也可為吸入用乳糖的固有部分，即計算為 5-15 $\mu\text{m}$  的  $X_{10}$ ，如在 Lactohale 2000®之例子中(參見實施態樣 34)，而不會危及氣霧劑性能。

【0348】 根據本發明在該粉末摻合物中細乳糖的含量係介於 1% 和 10% 之間，較佳地介於 5% 和 10% 之間，較佳地介於 2.5% 和 7.5% 之間，較佳地介於 5% 和 7.5% 之間，更佳 5%。

【0349】 本發明人確定粉末摻合物的粗乳糖含量也為重要的關鍵參數。為了獲得以極佳氣霧劑性能為特徵的根據本發明之吸入用調配物，粗乳糖的含量應在某一範圍內選擇。

【0350】 根據本發明該粉末摻合物中粗乳糖的含量係介於 98.25% 和 75% 之間，較佳地介於 94.25% 和 75% 之間，較佳地介於 92.00% 和 75% 之間，更佳從 90.00% 至 75% 和尤佳從 90% 至 85%。

【0351】 當根據本發明之乾粉摻合物為三元混合物，所有三種組分都需要以限定的最大粒徑和某些特定比率的形式提供。

【0352】 本發明人發現根據本發明之吸入用調配物的極佳氣霧劑性能係藉由選擇特定比率的細乳糖和粗乳糖和活性成分達成。

【0353】 根據本發明，在該粉末摻合物中粗乳糖對細乳糖的比率係介於 445 : 5 和 65 : 5，較佳地 94.25 : 5 和 65 : 5，較佳地 94.25 : 5 和 75 : 5、91.75 : 7.5 和 89.25 : 10 之間，較佳地介於 92 : 5 和 75 : 5 之間，特佳的是 92 : 5、85 : 5 以及 75 : 5 的比率。

【0354】 根據本發明在該粉末摻合物中式(I)或(I-M-I)之活性成分對粗乳糖的比率係介於 1 : 126 和 1 : 3.8 之間，較佳地介於 1 : 31 和 1 : 3.8 之間。

【0355】 根據本發明在該粉末摻合物中式(I)或(I-M-I)之活性成分對細乳糖的比率為從 1 : 13 和 1 : 0.1，較佳地介於 1 : 13 和 1 : 0.25 之間，較佳地介於之間 1 : 1.67 和 1 : 0.25。

其他賦形劑

【0356】 根據本發明之製劑通常可包含其他藥理上可接受的賦形劑，尤其包括載體(例如吸入級乳糖、乳糖單水合物、甘露醇)、分散劑、潤濕劑、潤滑劑(例如硬脂酸鎂)、界面活性化合物(例如月桂基硫酸鈉)、二硬脂醯基卵磷脂)、離子化合物(例如氯化鈣、氯化鈉、氯化鉀)、合成和天然聚合物(例如角叉菜膠、羥丙基甲基纖維素、明膠)或 pH 調節劑(例如氫氧化鈉、氯化鈉、檸檬酸鹽、檸檬酸三鈉、著色劑(例如無機顏料，例如鐵或氧化鈦)。

空腔

【0357】 根據本發明，包含呈其單水合物形式 I-M-I 或 I-M-II 之活性成分和乳糖的乾粉摻合物可經由乾粉吸入器(諸如單一單位劑量吸入器，其中各劑量在使用之前加載到裝置中)、多單位劑量吸入器(其中幾個單一單位劑量被個別地密封(預先計量)且可在每次啟動之前在劑量室中噴出)或儲液器多劑量吸入器(其中大量供應的藥物被預加載到裝置中且在每次啟動之前在劑量室中噴出(由裝置計量)投予。較佳地根據本發明之乾粉摻合物係經由包含乾粉摻合物的配備/裝有空腔(例如膠囊或泡罩)的吸入器之單一單位劑量吸入器投予。較佳地空腔為個別膠囊，較佳地明膠之硬膠囊或羥丙基甲基纖維素，最佳為羥丙基甲基纖維素膠囊。

【0358】 包含根據實施例 2 或 4 的微粉化活性成分(例如式(I-M-I)之單水合物 I 或式(I-M-II)之單水合物 II)的乾粉摻合物係填充於硬膠囊(羥丙基甲基纖維素 = Hypromellose = HPMC，例如於 3 號中)或來自硬明膠或其他適當材料之替代膠囊中。醫藥硬膠囊大小被標準化並通過所界定的測量來加以表徵，其中例如 3 號膠囊具有 157 mm 之長度和之直徑 57 mm，而 2 號膠囊具有 176 mm 之長度和 62 mm 之直徑和 1 號膠囊具有 194 mm 之長度和 68 mm 之直徑。

【0359】 取決於填充重量和活性成分濃度，可達成不同標稱劑量。具有標稱劑量的根據實施例 2 或 4 的活性成分(例如式(I-M-I)之單水合物 I 或式(I-M-II)

之單水合物 II)的膠囊之示例性組成物給出於示例性實施態樣 1-3 中且顯示於下表 7 中。

**表 7：**具有確定標稱劑量的根據本發明之調配物的實施例(硬膠囊中的填充粉末)。

	示例性實施 態樣 1	示例性實施 態樣 2	示例性實施 態樣 3
標稱劑量	120 $\mu$ g	480 $\mu$ g	1000 $\mu$ g
粉末摻合物中之活性成分的濃度(實施例 4)	0.75%	3%	10%
填充重量	16 mg	16mg	10 mg

**【0360】** 關於肺內投予，活性成分之量(標稱劑量)，(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，較佳地(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸單水合物 I (參見實施例 4) 為每次吸入約 10  $\mu$ g 至 50000  $\mu$ g，較佳地每次吸入約 100  $\mu$ g 至 10000  $\mu$ g，進一步較佳為每次吸入約 100 至 6000  $\mu$ g，進一步較佳為每次吸入約 120 至 4000  $\mu$ g，進一步較佳為每次吸入約 200 至 4000  $\mu$ g，非常特佳為約 240  $\mu$ g 至 4000  $\mu$ g，非常特佳為約 240  $\mu$ g 至 2000  $\mu$ g，非常特佳為約 240  $\mu$ g 至 1000  $\mu$ g、非常特佳為約 240  $\mu$ g 至 480  $\mu$ g，非常特佳為約 480  $\mu$ g 至 4000  $\mu$ g，非常特佳為約 480  $\mu$ g 至 2000  $\mu$ g，非常特佳為約 480  $\mu$ g 至 1000  $\mu$ g，非常特佳為約 1000  $\mu$ g 至 4000  $\mu$ g，非常特佳為約 1000 mg 至 2000  $\mu$ g，非常特佳為約 1000  $\mu$ g，非常特佳為約 2000  $\mu$ g，非常特佳為約 4000  $\mu$ g。

【0361】 根據本發明之空腔(較佳地基於 HMPC 的硬膠囊，3 號)含有 8-40 mg 之填充質量的吸入用調配物，較佳 10-30 mg 之填充質量的吸入用調配物，更佳 10-20 mg 之填充質量的吸入用調配物，更佳 16-20 mg 之填充質量的吸入用調配物。

【0362】 根據本發明，最佳的是下列組成物：

表 8：包含乾粉摻合物之最終膠囊調配物，基於百分比

標稱劑量	膠囊， 例如 HMPC	粉末填充質量	粉末摻合物中之 API 含量 (%)	粗乳糖含量 (%)	細乳糖含量 (%)	比率 API： 粗乳糖	比率 API：細 乳糖
480 $\mu$ g	3 號	16 mg	3 %	92 %	5 %	1 : 31	1 : 1.67
1000 $\mu$ g	3 號	10 mg	10%	89 %	1 %	1 : 8.9	1 : 0.1
1000 $\mu$ g	3 號	10 mg	10%	87.5%	2.5%	1 : 8.75	1 : 0.25
1000 $\mu$ g	3 號	10 mg	10 %	85 %	5 %	1 : 8.5	1 : 0.5
2000 $\mu$ g	3 號	20 mg	10 %	85 %	5 %	1 : 8.5	1 : 0.5
3000 $\mu$ g	3 號	30 mg	10 %	85 %	5 %	1 : 8.5	1 : 0.5
4000 $\mu$ g	3 號	40 mg	10 %	85 %	5 %	1 : 8.5	1 : 0.5
2000 $\mu$ g	3 號	10 mg	20 %	75 %	5 %	1 : 3.8	1 : 0.25
3000 $\mu$ g	3 號	15 mg	20 %	75 %	5 %	1 : 3.8	1 : 0.25
4000 $\mu$ g	3 號	20 mg	20 %	75 %	5 %	1 : 3.8	1 : 0.25

【0363】 根據本發明，粉末摻合物中具有 3%式(I)或(I-M-I)之活性成分的含量之粉末摻合物包含 480 µg 式(I)或(I-M-I)之活性成分、92%粗乳糖和 5%細乳糖且可以 16 mg 粉末摻合物的對應質量填充於硬膠囊(較佳地 3 號 HMPC 膠囊)中，且其接著可經由“單一單位劑量”吸入器(例如更佳的 Plastiape (Berry) RS01 低阻力裝置)授予。

【0364】 根據本發明，粉末摻合物中具有 10%式(I)或(I-M-I)之活性成分的含量之粉末摻合物包含 1000 µg、2000 µg、3000 µg 或 4000 µg 式(I)或(I-M-I)之活性成分、85%粗乳糖和 5%細乳糖且可填充於(以 10 mg、20 mg、30 mg 或 40 mg 粉末摻合物的對應質量)硬膠囊(較佳地 3 號 HMPC 膠囊)中，且其接著可經由“單一單位劑量”吸入器(例如更佳的 Plastiape (Berry) RS01 低阻力裝置)授予。

【0365】 根據本發明，粉末摻合物中具有 20%式(I)或(I-M-I)之活性成分的含量之粉末摻合物包含 2000 µg、3000 µg 或 4000 µg 式(I)或(I-M-I)之活性成分、75%粗乳糖和 5%細乳糖且可填充於(以 10 mg、15 mg 或 20 mg 粉末摻合物的對應質量)硬膠囊(較佳地 3 號 HMPC 膠囊)中，且其接著可經由“單一單位劑量”吸入器(例如更佳的 Plastiape (Berry) RS01 低阻力裝置)授予。

表 9：包含乾粉摻合物之最終膠囊調配物，基於質量的表徵化：

標稱劑量	膠囊	粉末填充質量	粉末摻合物中之 API 含量 (mg/g)	粗乳糖含量 (mg)	細乳糖含量 (mg)	比率 API：粗乳糖	比率 API：細乳糖
480µg	3 號	16 mg	30 mg/g	14.72 mg	0.8 mg	1：31	1：1.67
1000µg	3 號	10 mg	100 mg/g	8.9 mg	0.1 mg	1：8.9	1：0.1

1000 $\mu$ g	3 號	10 mg	100 mg/g	8.75 mg	0.25 mg	1 : 8.75	1 : 0.25
1000 $\mu$ g	3 號	10 mg	100 mg/g	8.5 mg	0.5 mg	1 : 8.5	1 : 0.5
2000 $\mu$ g	3 號	20 mg	100 mg/g	17.0 mg	1.0 mg	1 : 8.5	1 : 0.5
3000 $\mu$ g	3 號	30 mg	100 mg/g	25.5 mg	1.5 mg	1 : 8.5	1 : 0.5
4000 $\mu$ g	3 號	40 mg	100 mg/g	34.0 mg	2.0 mg	1 : 8.5	1 : 0.5
2000 $\mu$ g	3 號	10 mg	200 mg/g	7.5 mg	0.5 mg	1 : 3.8	1 : 0.25
3000 $\mu$ g	3 號	15 mg	200 mg/g	11.25 mg	0.75 mg	1 : 3.8	1 : 0.25
4000 $\mu$ g	3 號	20 mg	200 mg/g	15.0 mg	1.0 mg	1 : 3.8	1 : 0.25

【0366】 根據本發明，具有 30 mg/g 式(I)或(I-M-I)之活性成分的含量之粉末摻合物，該粉末摻合物中包含 480  $\mu$ g 式(I)或(I-M-I)之活性成分、14.72 mg 粗乳糖和 0.8 mg 細乳糖且可以 16 mg 粉末摻合物的質量填充於硬膠囊(較佳地 3 號 HMPC 膠囊)中，且其接著可經由“單一單位劑量”吸入器(例如更佳的 Plastiape (Berry) RS01 低阻力裝置)投予。

【0367】 根據本發明具有 100 mg/g 式(I)或(I-M-I)之活性成分的含量之粉末摻合物，該粉末摻合物中包含 1000  $\mu$ g、2000  $\mu$ g、3000  $\mu$ g 或 4000  $\mu$ g 式(I)或(I-M-I)之活性成分、8.9 mg、8.75 mg、8.5 mg、17.0 mg、25.5 mg 或 34.0 mg 粗

乳糖和 0.1 mg、0.25 mg、0.5 mg、1.0 mg、1.5 mg 或 2.0 mg 細乳糖且可填充於(以 10 mg、20 mg、30 mg 或 40 mg 粉末摻合物的對應質量)硬膠囊(較佳地 3 號 HMPC 膠囊)中，且其接著可經由“單一單位劑量”吸入器(例如更佳的 Plastiape (Berry) RS01 低阻力裝置)投予。

**【0368】** 根據本發明，具有 200 mg/g 式(I)或(I-M-I)之活性成分的含量之粉末摻合物，該粉末摻合物中包含 2000 µg、3000 µg 或 4000 µg 式(I)或(I-M-I)之活性成分，7.5 mg、11.25 mg 或 15.0 mg 粗乳糖和 0.5 mg、0.75 mg 或 1.0 mg 細乳糖且可填充於(以的對應質量 10 mg、15 mg 或 20 mg 粉末摻合物)硬膠囊(較佳地 3 號 HMPC 膠囊)中，且其接著可經由“單一單位劑量”吸入器(例如更佳的 Plastiape (Berry) RS01 低阻力裝置)投予。

#### 製造方法

**【0369】** 根據本發明之製劑通常可如粉末形式的可吸入自由流動藥物的製備中常見者，藉由將活性成分微粉化並視需要地摻合微粉化的活性成分與非活性載體化合物來製備。

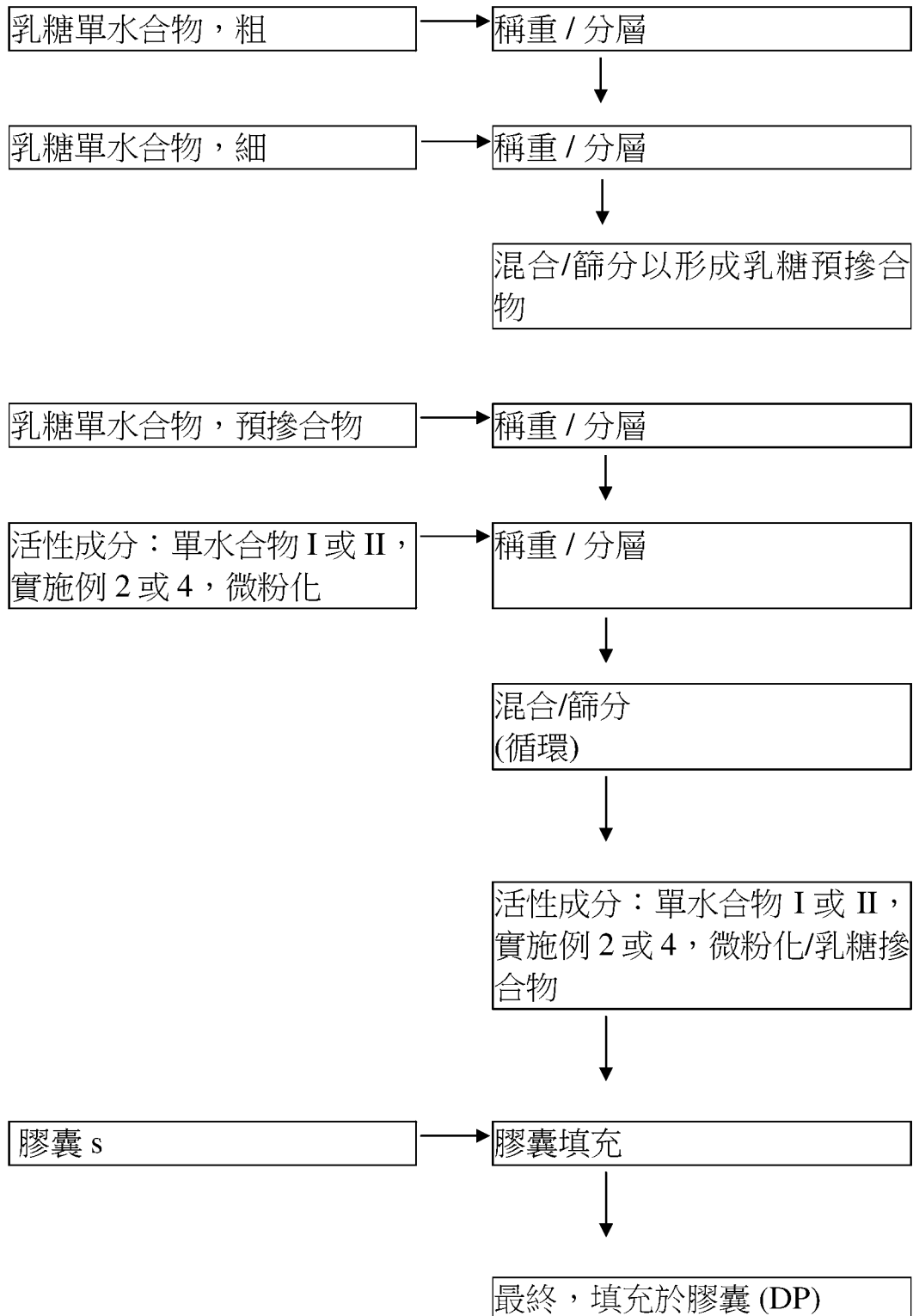
**【0370】** 根據本發明之化合物可轉化為所述的投予形式。此可本身已知的方式藉由與惰性無毒投予上適合的賦形劑混合來進行。

**【0371】** 根據以下流程和說明製造乾粉調配物和成品(乾粉摻合物填充之硬膠囊)。

表 10：

成分

製造步驟



步驟 1：

【0372】 在混合開始前，將細乳糖部分稱重並分層放置於兩層粗乳糖之間。

步驟 2：

【0373】 在滾筒式混合器中以 72rpm、67rpm 或 34rpm 或 32rpm 或 30rpm，較佳地 32 rpm 進行乳糖預摻合物之混合 2 次 (2 循環) 經 20 min。將乳糖預摻合物在循環之間通過 500 $\mu$ m 篩子進行篩分。

步驟 3：

【0374】 活性成分：將微粉化單水合物 I 或 II(實施例 2 或 4)通過 500 $\mu$ m 篩子進行篩分並加至預摻合乳糖，在開始混合循環之前，將乳糖預混合物和活性成分交替分層，中間有 6 層的乳糖預摻合和 5 層的活性成分(單水合物 I 或 II，實施例 2 或 4)。

步驟 4：

【0375】 將這些成分在滾筒式混合器(例如玻璃或不銹鋼，較佳地不銹鋼)中循環混合，例如 3-5 個循環，較佳地 3 個循環。各循環在 72rpm、67rpm、34rpm 或 32rpm 較佳地 32rpm 下進行 20-30 分鐘，較佳地 30 分鐘 (90min 總混合時間)，較佳地在 32 rpm 下進行 30 分鐘，在混合循環之間停止 10 分鐘。如有必要(例如看得見的黏聚物)，摻合物可能分別在摻合循環之間進行篩分。

步驟 5：

【0376】 將摻合物在不銹鋼容器中在室溫(15-25°C)和 35-65%相對濕度下靜置某段時間，較佳地 24-72 小時，更佳 48h。

步驟 6：

【0377】 使用膠囊填充機(例如 MG2 Flexalab)將摻合物以所需填充重量填充於膠囊中。

吸入器裝置

【0378】 在本發明的情況下 sGC 活化劑，利用乾粉吸入器裝置以乾粉或乾粉調配物施用 sGC 活化劑，例如實施例 2 或 4。

【0379】 在本發明的情況下較佳乾粉吸入器裝置係定義為基於膠囊之單一單位劑量吸入器，其為預先計量的吸入裝置(參見圖 3a 和 3b)。在本發明的情況下，劑量係使用 Plastiapne (Berry) RS01 低阻力裝置施加。此裝置(較高電力類型)係揭示和描述在關於治療其他患者群體，例如囊腫纖維化(CF)或非-CF 支氣管擴張之出版物(ELKINS et al. *Inspiratory Flows and Volumes in Subjects with Cystic Fibrosis Using a New Dry Powder Inhaler Device*, *The Open Respiratory Medicine Journal*, 2014, 8, 1-7 and ELKINS et al. *Inspiratory Flows and Volumes in Subjects with Non-CF Bronchiectasis Using a New Dry Powder Inhaler Device*, *The Open Respiratory Medicine Journal*, 2014, 8, 8-13)中。

【0380】 藉由將裝有乾粉調配物的單一膠囊插入裝置來操作吸入器。按下兩個鈕(按鈕)以刺破膠囊及使用者將嘴放在吹嘴周圍並用力深深地吸氣。吸入產生的能量將藥物製劑從膠囊中拉出，將粉末分散成氣霧，活性成分顆粒從乳糖載體顆粒中釋放並帶入呼吸道。取出並丟棄用過的膠囊。根據患者的治療要求和臨床裝置的對應標籤，可重複使用該設備。投予的膠囊數量決定了藥物的劑量。

【0381】 其他預先計量的乾粉吸入裝置(諸如基於泡罩條的多單位劑量裝置)也可用於較佳的施用方法，且若氣霧劑路徑具有相似的設計或性質(例如在限定的流速下的裝置阻力和壓降)，則可導致可比較的結果。

【0382】 在本發明的情況下，也揭示裝置，其包含含有實施例 4 之製劑或可具有將這些製劑摻入膠囊或泡罩中且其適合於藉由以固體形式將其吸入投予之容器，即能夠以固體形式吸入來投予含有活性成分(：例如單水合物 I 或 II，實施例 2 或 4)之製劑的氣霧器(粉末吸入器)。

【0383】 在多劑量施用的情況下，目標血漿濃度(近似穩態)可以在 3 到 5 個半衰期後達到(Donald J. Birkett, in “Pharmacokinetics Made Easy”, McGraw-Hill Education: 2000; p 20)。在穩態下，在各劑量中間(interdose)間隔期間上升和下降的藥物濃度在各劑量中間 (interdose) 間隔內相同地重複 (Goodman and Gillmans ”The Pharmacological Basis of Therapeutics“ 7th Edition, Macmillan Publishing Company, New York, 1985, p 28)

【0384】 肺內投予時，每天一次或兩次，較佳每天兩次，特佳每天一次投予活性化合物(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫-喹啉-2-甲酸。

【0385】 然而，在適當的情況下可能必需偏離所述量，特別是根據體重、投予路徑、對活性化合物的個體反應、製劑類型和投予發生的時間或間隔。因此，在某些情況下，使用少於上述最小量可能就足夠了，而在其他情況下，必須超過上述上限。在施用相對大量的情況下，建議在一天中以多個單次劑量分配此等量。

【0386】 其他預先計量的乾粉吸入裝置(諸如基於泡罩條的多單位劑量裝置)也可用於較佳的施用方法，且若氣霧劑路徑具有相似的設計或性質(例如在限定的流速下的裝置阻力和壓降)，

本發明之具體實施態樣(劑量方案)

1. 使用於心肺病症的吸入治療之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，其



- $\alpha 1$  作為輻射源測量)包含至少於 12.8 和 29.2(較佳於 6.9、7.2、7.3、12.8 和 29.2)之峰，以  $2\theta$  值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。
- 根據請求項 1 至 3 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，其特徵在於包含 240 至 4000  $\mu\text{g}$  的呈其式 (I-M-I)之晶形變體單水合物 I 的形式之式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)-乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸的吸入劑型係每天一次或兩次為期連續至少兩天投予至有需要的患者，其中化合物的 X 射線粉末繞射圖(在  $25^\circ\text{C}$ 下且使用 Cu-K  $\alpha 1$  作為輻射源測量)包含至少於 12.8、16.0 和 25.8(較佳於 6.9、7.2、7.3、12.8、16.0 和 25.8)之峰，以  $2\theta$  值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。
  - 根據請求項 1 至 4 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，其特徵在於包含 240 至 4000  $\mu\text{g}$  的呈其式 (I-M-I)之晶形變體單水合物 I 的形式之式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)-乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，其顯示至少下列反射之 x-射線繞射圖(在  $25^\circ\text{C}$ 下及使用 Cu-K  $\alpha 1$  作為輻射源)：12.8、20.5 和 25.8，較佳地 6.9、7.2、7.3、12.8、20.5 和 25.8，以  $2\theta$  值 $\pm 0.2^\circ$ 表示，的吸入劑型係每天一次或兩次為期連續至少兩天投予至有需要的患者。
  - 根據請求項 1 至 5 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，其特徵在於包含 240 至 4000  $\mu\text{g}$  的呈其式 (I-M-I)之晶形變體單水合物 I 的形式之式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)-乙基]-胺基}-5,6,7,8-

四氫喹啉-2-甲酸，其顯示至少下列反射之 x-射線繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源)：12.8、5.7、6.9、7.2、7.3 和 9.9，以  $2\theta$  值 $\pm$ 0.2°表示，的吸入劑型係每天一次或兩次為期連續至少兩天投予至有需要的患者。

7. 根據請求項 1 至 6 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，其特徵在於包含 240 至 4000  $\mu$ g 的呈其式 (I-M-I) 之晶形變體單水合物 I 的形式之式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)-乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，其顯示至少下列反射之 x-射線繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源)：12.8、5.7 和 16.0，較佳於 12.8、5.7、6.9、7.2、7.3 和 16.0，以  $2\theta$  值 $\pm$ 0.2°表示，的吸入劑型係每天一次或兩次為期連續至少兩天投予至有需要的患者。
8. 根據請求項 1 至 7 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，其特徵在於包含 240 至 4000  $\mu$ g 的呈其式 (I-M-I) 之晶形變體單水合物 I 的形式之式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)-乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，其顯示至少下列反射之 x-射線繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源)：12.8、5.7 和 20.5，較佳於 12.8、5.7、6.9、7.2、7.3 和 20.5，以  $2\theta$  值 $\pm$ 0.2°表示，的吸入劑型係每天一次或兩次為期連續至少兩天投予至有需要的患者。
9. 根據請求項 1 至 8 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，其特徵在於包含 240 至 4000  $\mu$ g 的呈其式 (I-M-I) 之晶形變體單水合物 I 的形式之式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙

基][2-(2-{{3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基}甲氧基}苯基)-乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，其顯示至少下列反射之 x-射線繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源)：12.8、5.7 和 29.2，較佳於 12.8、5.7、6.9、7.2、7.3 和 29.2，以  $2\theta$  值  $\pm$  0.2° 表示，的吸入劑型係每天一次或兩次為期連續至少兩天投予至有需要的患者。

10. 根據請求項 1 至 9 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之(5S)-{{2-(4-羧苯基)乙基}[2-(2-{{3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基}甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，其特徵在於該 X 射線粉末繞射圖進一步包含於 23.0、15.2、25.8 和 25.1 之峰。
11. 根據請求項 1 至 10 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之(5S)-{{2-(4-羧苯基)乙基}[2-(2-{{3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基}甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，其特徵在於呈單水合物 I 的形式之化合物具有如圖 6 中顯示的 X 射線粉末繞射圖案(在 25°C 下且使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源測量)。
12. 根據請求項 1 至 11 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之(5S)-{{2-(4-羧苯基)乙基}[2-(2-{{3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基}甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，其特徵在於呈單水合物 II 的形式之化合物具有如圖 7 中顯示的 X 射線粉末繞射圖案(在 25°C 下且使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源測量)。
13. 根據請求項 1 至 12 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之(5S)-{{2-(4-羧苯基)乙基}[2-(2-{{3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基}甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，其特徵在於呈倍半水合物的形式之化合物具有如圖 9 中顯示的 X 射線粉末繞射圖案(在 25°C 下且使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源測量)。



- 基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，其特徵在於該吸入劑型包含呈乾粉的形式之活性成分。
- 20.根據請求項 1 至 19 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，其特徵在於該吸入劑型包含在膠囊內之呈乾粉的形式之活性成分。
- 21.根據請求項 1 至 20 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，其特徵在於該吸入劑型係經由乾粉吸入器投予。
- 22.根據請求項 1 至 21 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，其特徵在於該吸入劑型包含活性成分組合醫藥上適合的載體。
- 23.根據請求項 1 至 22 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，其特徵在於該吸入劑型包含作為載體之乳糖單水合物，其中較佳地載體包含粗和細乳糖的混合物。
- 24.根據請求項 1 至 23 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，其特徵在於該粗乳糖具有  $X_{50} \geq 50 \mu\text{m}$  或  $\geq 75 \mu\text{m}$  或  $\geq 125 \mu\text{m}$  的粒徑及該細乳糖具有  $X_{50} < 10 \mu\text{m}$  或  $\leq 5 \mu\text{m}$  的粒徑。
- 25.根據請求項 1 至 24 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺

- 基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，其特徵在於該粗乳糖具有  $X_{50} \leq 145 \mu\text{m}$  或  $\leq 100 \mu\text{m}$  或  $\leq 95 \mu\text{m}$  的粒徑及該細乳糖具有  $X_{50} < 10 \mu\text{m}$  或  $\leq 5 \mu\text{m}$  的粒徑。
26. 根據請求項 1 至 25 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，其特徵在於該粗乳糖具有  $X_{90} \geq 115 \mu\text{m}$  或為至少或  $\geq 120 \mu\text{m}$  或為至少或  $\geq 200 \mu\text{m}$  的粒徑及該細乳糖具有  $X_{90} < 30 \mu\text{m}$  或  $\leq 10 \mu\text{m}$  的粒徑。
27. 根據請求項 1 至 26 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，其特徵在於該粗乳糖具有  $X_{90} \leq 250 \mu\text{m}$  或  $\leq 170 \mu\text{m}$  或  $\leq 160 \mu\text{m}$  的粒徑及該細乳糖具有  $X_{90} < 30 \mu\text{m}$  或  $\leq 10 \mu\text{m}$  的粒徑。
28. 根據請求項 1 至 27 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，其特徵在於式(I-M-I)之單水合物 I 具有  $X_{90} \leq 6 \mu\text{m}$  的粒徑。
29. 根據請求項 1 至 28 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，其特徵在於式(I-M-I)之單水合物 I 具有介於 1 – 3  $\mu\text{m}$  之間的  $X_{50}$  之粒徑。
30. 根據請求項 1 至 29 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，其特徵在於該吸入劑型包含 480 至 4000  $\mu\text{g}$  的呈其晶形單水合物 I 的形式之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸。

31. 根據請求項 1 至 30 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，其特徵在於該吸入劑型包含 480 至 2000  $\mu\text{g}$  呈其晶形單水合物 I 的形式之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸。
32. 根據請求項 1 至 31 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，其特徵在於該吸入劑型包含 480 至 1000  $\mu\text{g}$  呈其晶形單水合物 I 的形式之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸。
33. 根據請求項 1 至 32 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，其特徵在於該吸入劑型包含 240  $\mu\text{g}$ 、480  $\mu\text{g}$ 、1000  $\mu\text{g}$ 、2000  $\mu\text{g}$  或 4000  $\mu\text{g}$  呈其晶形單水合物 I 的形式之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸。
34. 根據請求項 1 至 33 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，其特徵在於該心肺病症係選自由下列組成之群組：肺動脈高血壓(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高血壓(CTEPH)和與慢性肺部疾病相關之肺高血壓(PH)(第 3 組 PH)諸如慢性阻塞性肺病中之肺高血壓(PH-COPD)和肺高血壓併發特發性間質性肺炎(PH-IIP)。
35. 一種治療心肺病症之方法，其包含每天一次或兩次為期至少連續兩天投予包含 240 至 4000  $\mu\text{g}$  的呈選自由下列組成之清單的其晶形變體中之一者的形式之式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]

甲氧基}苯基)-乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸的吸入劑型：式(I-M-I)之單水合物 I 或式(I-M-II)之單水合物 II 或倍半水合物，其中式(I-M-I)化合物的 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下且使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源測量)包含至少於 12.8 和 29.2(較佳於 6.9、7.2、7.3、12.8 和 29.2)之峰，以  $2\theta$  值 $\pm$  0.2° 表示，或其中式(I-M-II)化合物的 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下且使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源測量)包含至少於 12.7、5.7、6.1、和 7.1 或於 12.7、5.7、和 8.5 之峰，或其中呈其倍半水合物的形式之化合物的 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下且使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源測量)包含至少於 12.2 和 7.6、或者於 12.2、8.6 和 14.5 之峰，以  $2\theta$  值 $\pm$  0.2° 表示。

36. 根據請求項 35 之治療心肺病症之方法，其特徵在於呈單水合物 I 的形式之化合物具有如圖 6 中顯示的 X 射線粉末繞射圖案(在 25°C 下且使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源測量)。
37. 根據請求項 35 至 36 中任一項之治療心肺病症之方法，其特徵在於化合物的 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下且使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源測量)包含至少於 12.8 之峰和缺少於 27.2 和 27.5 之峰，於繞射角  $2\theta$  值 $\pm$  0.2°。
38. 根據請求項 35 至 37 中任一項之治療心肺病症之方法，其特徵在於化合物的 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下且使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源測量)包含至少於 12.8 和 5.7 之峰和缺少於 8.5 和 6.1 之峰，於繞射角  $2\theta$  值 $\pm$  0.2°。
39. 根據請求項 35 至 38 中任一項之治療心肺病症之方法，其特徵在於呈單水合物 II 的形式之化合物具有如圖 7 中顯示的 X 射線粉末繞射圖案(在 25°C 下且使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源測量)。
40. 根據請求項 35 至 39 中任一項之治療心肺病症之方法，其特徵在於呈倍半水合物的形式之化合物具有如圖 9 中顯示的 X 射線粉末繞射圖案(在 25°C 下且使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源測量)。

41. 根據請求項中 35 至 40 任一項之治療心肺病症之方法，其特徵在於活性成分係投予為期連續至少二至七天。
42. 根據請求項中 35 至 41 任一項之治療心肺病症之方法，其特徵在於活性成分係投予為期連續至少 14 天的期間，特別是從開始治療之後經整個病程。
43. 根據請求項 35 至 42 中任一項之治療心肺病症之方法，其特徵在於該吸入劑型包含呈乾粉的形式之活性成分。
44. 根據請求項 35 至 43 中任一項之治療心肺病症之方法，其特徵在於該吸入劑型包含在膠囊內之呈乾粉的形式之活性成分。
45. 根據請求項 35 至 44 中任一項之治療心肺病症之方法，其特徵在於該吸入劑型包含活性成分組合醫藥上適合的載體。
46. 根據請求項 35 至 45 中任一項之治療心肺病症之方法，其特徵在於該吸入劑型包含作為載體之乳糖單水合物，其中較佳地該載體包含粗和細乳糖的混合物。
47. 根據請求項 46 之治療心肺病症之方法，其特徵在於該粗乳糖具有  $X_{50} \geq 50 \mu\text{m}$  或  $\geq 75 \mu\text{m}$  或  $\geq 125 \mu\text{m}$  的粒徑及該細乳糖具有  $X_{50} < 10 \mu\text{m}$  或  $\leq 5 \mu\text{m}$  的粒徑。
48. 根據請求項 46 或 47 之治療心肺病症之方法，其特徵在於該粗乳糖具有  $X_{50} \leq 145 \mu\text{m}$  或  $\leq 100 \mu\text{m}$  或  $\leq 95 \mu\text{m}$  的粒徑及該細乳糖具有  $X_{50} < 10 \mu\text{m}$  或  $\leq 5 \mu\text{m}$  的粒徑。
49. 根據請求項 46 至 48 中任一項之治療心肺病症之方法，其特徵在於該粗乳糖具有  $X_{90} \geq 115 \mu\text{m}$  或為至少或  $\geq 120 \mu\text{m}$  或為至少或  $\geq 200 \mu\text{m}$  的粒徑及該細乳糖具有  $X_{90} < 30 \mu\text{m}$  或  $\leq 10 \mu\text{m}$  的粒徑。
50. 根據請求項 46 至 49 中任一項之治療心肺病症之方法，其特徵在於該粗乳糖具有  $X_{90} \leq 250 \mu\text{m}$  或  $\leq 170 \mu\text{m}$  或  $\leq 160 \mu\text{m}$  的粒徑及該細乳糖具有  $X_{90} < 30 \mu\text{m}$  或  $\leq 10 \mu\text{m}$  的粒徑。

51. 根據請求項 35 至 50 中任一項之治療心肺病症之方法，其特徵在於式(I-M-I)之單水合物 I 具有  $X_{90} \leq 6 \mu\text{m}$  的粒徑。
52. 根據請求項 35 至 51 中任一項之治療心肺病症之方法，其特徵在於式(I-M-I)之單水合物 I 具有介於  $1-3 \mu\text{m}$  之間的  $X_{50}$  的粒徑。
53. 根據請求項 35 至 52 中任一項之治療心肺病症之方法，其特徵在於該吸入劑型包含 480 至 4000  $\mu\text{g}$  呈其晶形單水合物 I 的形式之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸。
54. 根據請求項 35 至 53 中任一項之治療心肺病症之方法，其特徵在於該吸入劑型包含 480 至 2000  $\mu\text{g}$  呈其晶形單水合物 I 的形式之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸。
55. 根據請求項 35 至 54 中任一項之治療心肺病症之方法，其特徵在於該吸入劑型包含 480 至 1000  $\mu\text{g}$  呈其晶形單水合物 I 的形式之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸。
56. 根據請求項 35 至 55 中任一項之治療心肺病症之方法，其特徵在於該吸入劑型包含 240  $\mu\text{g}$ 、480  $\mu\text{g}$ 、1000  $\mu\text{g}$ 、2000  $\mu\text{g}$  或 4000  $\mu\text{g}$  呈其晶形單水合物 I 的形式之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸。
57. 根據請求項 35 至 56 中任一項之治療心肺病症之方法，其特徵在於該心肺病症係選自由下列組成之群組：肺動脈高血壓(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高血壓(CTEPH)和與慢性肺部疾病相關之肺高血壓(PH)(第 3 組 PH)諸如慢性阻塞性肺病中之肺高血壓(PH-COPD)和肺高血壓併發特發性間質性肺炎(PH-IIP)。

58. 一種使用於心肺病症的吸入治療之藥劑，其特徵在於其包含一種吸入劑型，其包含 240 至 4000  $\mu\text{g}$  的呈選自由下列組成之清單的其晶形變體中之一者的形式之式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸：式(I-M-I)之單水合物 I 或式(I-M-II)之單水合物 II 或倍半水合物，其中式(I-M-I)化合物的 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下且使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源測量)包含至少於 12.8 和 29.2(較佳於 6.9、7.2、7.3、12.8 和 29.2)之峰，以  $2\theta$  值 $\pm$ 0.2°表示，或其中式(I-M-II)化合物的 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下且使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源測量)包含至少於 12.7、5.7、6.1、和 7.1 或於 12.7、5.7、和 8.5 之峰，或其中呈其倍半水合物的形式之化合物的 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下且使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源測量)包含至少於 12.2 和 7.6，或者於 12.2、8.6 和 14.5 之峰，以  $2\theta$  值 $\pm$ 0.2°表示，其中該藥劑每天一次或兩次投予至有需要的患者為期至少連續兩天。
59. 根據請求項 58 之使用於心肺病症的吸入治療之藥劑，其特徵在於呈單水合物 I 的形式之化合物具有如圖 6 中顯示的 X 射線粉末繞射圖案(在 25°C 下且使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源測量)。
60. 根據請求項 58 至 59 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之藥劑，其特徵在於化合物的 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下且使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源測量)包含至少於 12.8 之峰和缺少於 27.2 和 27.5 之峰，於繞射角  $2\theta$  值 $\pm$ 0.2°。
61. 根據請求項 58 至 60 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之藥劑，其特徵在於化合物的 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下且使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源測量)包含至少於 12.8 和 5.7 之峰和缺少於 8.5 和 6.1 之峰，於繞射角  $2\theta$  值 $\pm$ 0.2°。

62. 根據請求項 58 至 61 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之藥劑，其特徵在於呈單水合物 II 的形式之化合物具有如圖 7 中顯示的 X 射線粉末繞射圖案(在 25°C 下且使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源測量)。
63. 根據請求項 58 至 62 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之藥劑，其特徵在於呈倍半水合物的形式之化合物具有如圖 9 中顯示的 X 射線粉末繞射圖案(在 25°C 下且使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源測量)。
64. 根據請求項 58 至 63 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之藥劑，其特徵在於活性成分係投予為期連續至少二至七天。
65. 根據請求項 58 至 64 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之藥劑，其特徵在於活性成分係投予為期連續至少 14 天的期間，特別是從開始治療之後經整個病程。
66. 根據請求項 58 至 65 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之藥劑，其特徵在於該吸入劑型包含呈乾粉的形式之活性成分。
67. 根據請求項 58 至 66 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之藥劑，其特徵在於該吸入劑型包含在膠囊內之呈乾粉的形式之活性成分。
68. 根據請求項 58 至 67 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之藥劑，其特徵在於該吸入劑型包含活性成分組合醫藥上適合的載體。
69. 根據請求項 58 至 68 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之藥劑，其特徵在於該吸入劑型包含作為載體之乳糖單水合物，其中較佳地該載體包含粗和細乳糖的混合物。
70. 根據請求項 58 至 69 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之藥劑，其特徵在於該粗乳糖具有  $X_{50} \geq 50 \mu\text{m}$  或  $\geq 75 \mu\text{m}$  或  $\geq 125 \mu\text{m}$  的粒徑及該細乳糖具有  $X_{50} < 10 \mu\text{m}$  或  $\leq 5 \mu\text{m}$  的粒徑。

71. 根據請求項 58 至 70 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之藥劑，其特徵在於該粗乳糖具有  $X_{50} \leq 145 \mu\text{m}$  或  $\leq 100 \mu\text{m}$  或  $\leq 95 \mu\text{m}$  的粒徑及該細乳糖具有  $X_{50} < 10 \mu\text{m}$  或  $\leq 5 \mu\text{m}$  的粒徑。
72. 根據請求項 58 至 71 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之藥劑，其特徵在於該粗乳糖具有  $X_{90} \geq 115 \mu\text{m}$  或為至少或  $\geq 120 \mu\text{m}$  或為至少或  $\geq 200 \mu\text{m}$  的粒徑及該細乳糖具有  $X_{90} < 30 \mu\text{m}$  或  $\leq 10 \mu\text{m}$  的粒徑。
73. 根據請求項 58 至 72 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之藥劑，其特徵在於該粗乳糖具有  $X_{90} \leq 250 \mu\text{m}$  或  $\leq 170 \mu\text{m}$  或  $\leq 160 \mu\text{m}$  的粒徑及該細乳糖具有  $X_{90} < 30 \mu\text{m}$  或  $\leq 10 \mu\text{m}$  的粒徑。
74. 根據請求項 58 至 73 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之藥劑，其特徵在於式(I-M-I)之單水合物 I 具有  $X_{90} \leq 6 \mu\text{m}$  的粒徑。
75. 根據請求項 58 至 74 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之藥劑，其特徵在於式(I-M-I)之單水合物 I 具有介於  $1\text{-}3 \mu\text{m}$  之間的  $X_{50}$  的粒徑。
76. 根據請求項 58 至 75 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之藥劑，其特徵在於該吸入劑型包含 480 至 4000  $\mu\text{g}$  呈其晶形單水合物的 I 形式之 (5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸。
77. 根據請求項 58 至 76 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之藥劑，其特徵在於該吸入劑型包含 480 至 2000  $\mu\text{g}$  呈其晶形單水合物的 I 形式之 (5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸。
78. 根據請求項 58 至 77 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之藥劑，其特徵在於該吸入劑型包含 480 至 1000  $\mu\text{g}$  呈其晶形單水合物的 I 形式之 (5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸。

79. 根據請求項 58 至 78 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之藥劑，其特徵在於該吸入劑型包含 240 µg、480 µg、1000 µg、2000 µg 或 4000 µg 呈其晶形單水合物的 I 形式之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸。
80. 根據請求項 58 至 79 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之藥劑，其特徵在於該心肺病症係選自由下列組成之群組：肺動脈高血壓(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高血壓(CTEPH)和與慢性肺部疾病相關之肺高血壓(PH)(第 3 組 PH)諸如慢性阻塞性肺病中之肺高血壓(PH-COPD)和肺高血壓併發特發性間質性肺炎(PH-IIP)。
81. 一種使用於心肺病症的吸入治療之經包裝醫藥組成物，其特徵在於其含有乾粉吸入器和乾粉調配物，其包含 240 至 4000 µg 的呈選自由下列組成之清單的其晶形變體中之一者的式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸：式(I-M-I)之單水合物 I 或式(I-M-II)之單水合物 II 或倍半水合物，其中式(I-M-I)化合物的 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下且使用 Cu-K α1 作為輻射源測量)包含至少於 12.8 和 29.2(較佳於 6.9、7.2、7.3、12.8 和 29.2)之峰，以  $2\theta$  值 $\pm$  0.2°表示，或其中式(I-M-II)化合物的 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下且使用 Cu-K α1 作為輻射源測量)包含至少於 12.7、5.7、6.1、和 7.1 或於 12.7、5.7、和 8.5 之峰，或其中呈其倍半水合物的形式之化合物的 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下且使用 Cu-K α1 作為輻射源測量)包含至少於 12.2 和 7.6，或者於 12.2、8.6 和 14.5 之峰，以  $2\theta$  值 $\pm$  0.2°表示，其中該包裝含有以每天一次或兩次的頻率投予該乾粉調配物為期至少連續兩天的說明。
82. 根據請求項 81 之使用於心肺病症的吸入治療之經包裝醫藥組成物，其特徵在於該心肺病症係選自由下列組成之清單：肺動脈高血壓(PAH)和與慢性

肺部疾病相關之肺高血壓(PH)(第 3 組 PH)諸如慢性阻塞性肺病中之肺高血壓(PH-COPD)和肺高血壓併發特發性間質性肺炎(PH-IIP)。

83. 根據請求項 81 至 82 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之經包裝醫藥組成物，其特徵在於該包裝進一步含有藉由吸入使用該乾粉調配物以治療心肺病症的說明，其中吸入程序描述如下：將膠囊放入乾粉吸入器中，深吸一口氣後，患者應屏住呼吸約 2 秒鐘，以便乾粉藥物從氣流中濃縮至更深的肺部區域表面，並沉積在靠近其所欲藥理作用之位置。
84. 根據請求項 81 至 83 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之經包裝醫藥組成物，其特徵在於該乾粉吸入器為基於膠囊之單一單位劑量吸入器(參見圖 3a)。
85. 根據請求項 81 至 84 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之經包裝醫藥組成物，其特徵在於其含有包含 240 至 4000  $\mu\text{g}$  的呈選自由下列組成之清單的其晶形變體中之一者的形式之式 I 之 (5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸的乾粉調配物：式(I-M-I)之單水合物 I 或式(I-M-II)之單水合物 II 或倍半水合物，其中式(I-M-I)化合物的 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下且使用 Cu-K  $\alpha_1$  作為輻射源測量)包含至少於 12.8 和 29.2(較佳於 6.9、7.2、7.3、12.8 和 29.2)之峰，以  $2\theta$  值 $\pm$  0.2°表示，或其中式(I-M-II)化合物的 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下且使用 Cu-K  $\alpha_1$  作為輻射源測量)包含至少於 12.7、5.7、6.1、和 7.1 或於 12.7、5.7、和 8.5 之峰，或其中呈其倍半水合物的形式之化合物的 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下且使用 Cu-K  $\alpha_1$  作為輻射源測量)包含至少於 12.2 和 7.6，或者於 12.2、8.6 和 14.5 之峰，以  $2\theta$  值 $\pm$  0.2°表示，但不是乾粉吸入器。
86. 根據請求項 81 至 85 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之經包裝醫藥組成物，其特徵在於該乾粉調配物包含(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-

氮-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，較佳地呈式(I-M-I)之單水合物 I 的形式或呈式(I-M-II)之單水合物形式 II 的形式組合作為載體之乳糖單水合物，其中該載體包含粗和細乳糖的混合物。

- 87.根據請求項 81 至 86 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之經包裝醫藥組成物，其特徵在於呈單水合物 I 的形式之化合物具有如圖 6 中顯示的 X 射線粉末繞射圖案(在 25°C 下且使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源測量)。
- 88.根據請求項 81 至 87 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之經包裝醫藥組成物，其特徵在於該化合物的 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下且使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源測量)包含至少於 12.8 之峰和缺少於 27.2 和 27.5 之峰，於繞射角  $2\theta$  值 $\pm 0.2^\circ$ 。
- 89.根據請求項 81 至 88 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之經包裝醫藥組成物，其特徵在於該化合物的 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下且使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源測量)包含至少於 12.8 和 5.7 之峰和缺少於 8.5 和 6.1 之峰，於繞射角  $2\theta$  值 $\pm 0.2^\circ$ 。
- 90.根據請求項 81 至 89 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之經包裝醫藥組成物，其特徵在於呈單水合物 II 的形式之化合物具有如圖 7 中顯示的 X 射線粉末繞射圖案(在 25°C 下且使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源測量)。
- 91.根據請求項 81 至 90 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之經包裝醫藥組成物，其特徵在於呈倍半水合物的形式之化合物具有如圖 9 中顯示的 X 射線粉末繞射圖案(在 25°C 下且使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源測量)。
- 92.根據請求項 81 至 91 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之經包裝醫藥組成物，其特徵在於活性成分係投予為期連續至少二至七天。

93. 根據請求項 81 至 92 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之經包裝醫藥組成物，其特徵在於活性成分係投予為期連續至少 14 天的期間，特別是從開始治療之後經整個病程。
94. 根據請求項 81 至 93 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之經包裝醫藥組成物，其特徵在於該吸入劑型包含呈乾粉的形式之活性成分。
95. 根據請求項 81 至 94 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之經包裝醫藥組成物，其特徵在於該吸入劑型包含在膠囊內之呈乾粉的形式之活性成分。
96. 根據請求項 81 至 95 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之經包裝醫藥組成物，其特徵在於該粗乳糖具有  $X_{50} \geq 50 \mu\text{m}$  或  $\geq 75 \mu\text{m}$  或  $\geq 125 \mu\text{m}$  的粒徑及該細乳糖具有  $X_{50} < 10 \mu\text{m}$  或  $\leq 5 \mu\text{m}$  的粒徑。
97. 根據請求項 81 至 96 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之經包裝醫藥組成物，其特徵在於該粗乳糖具有  $X_{50} \leq 145 \mu\text{m}$  或  $\leq 100 \mu\text{m}$  或  $\leq 95 \mu\text{m}$  的粒徑及該細乳糖具有  $X_{50} < 10 \mu\text{m}$  或  $\leq 5 \mu\text{m}$  的粒徑。
98. 根據請求項 81 至 97 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之經包裝醫藥組成物，其特徵在於該粗乳糖具有  $X_{90} \geq 115 \mu\text{m}$  或為至少或  $\geq 120 \mu\text{m}$  或為至少或  $\geq 200 \mu\text{m}$  的粒徑及該細乳糖具有  $X_{90} < 30 \mu\text{m}$  或  $\leq 10 \mu\text{m}$  的粒徑。
99. 根據請求項 81 至 98 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之經包裝醫藥組成物，其特徵在於該粗乳糖具有  $X_{90} \leq 250 \mu\text{m}$  或  $\leq 170 \mu\text{m}$  或  $\leq 160 \mu\text{m}$  的粒徑及該細乳糖具有  $X_{90} < 30 \mu\text{m}$  或  $\leq 10 \mu\text{m}$  的粒徑。
100. 根據請求項 81 至 99 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之經包裝醫藥組成物，其特徵在於式(I-M-I)之單水合物 I 具有  $X_{90} \leq 6 \mu\text{m}$  的粒徑。
101. 根據請求項 81 至 100 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之經包裝醫藥組成物，其特徵在於式(I-M-I)之單水合物 I 具有介於  $1 - 3 \mu\text{m}$  之間的  $X_{50}$  的粒徑。

102. 根據請求項 81 至 101 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之經包裝醫藥組成物，其特徵在於該吸入劑型包含 480 至 4000  $\mu\text{g}$  呈其晶形單水合物的 I 形式之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸。
103. 根據請求項 81 至 102 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之經包裝醫藥組成物，其特徵在於該吸入劑型包含 480 至 2000  $\mu\text{g}$  呈其晶形單水合物的 I 形式之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸。
104. 根據請求項 81 至 103 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之經包裝醫藥組成物，其特徵在於該吸入劑型包含 480 至 1000  $\mu\text{g}$  呈其晶形單水合物的 I 形式之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸。
105. 根據請求項 81 至 103 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之經包裝醫藥組成物，其特徵在於該吸入劑型包含 240  $\mu\text{g}$ 、480  $\mu\text{g}$ 、1000  $\mu\text{g}$ 、2000  $\mu\text{g}$  或 4000  $\mu\text{g}$  呈其晶形單水合物的 I 形式之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸。

### 本發明的其他具體實施態樣(調配物)

1. 一種吸入用調配物，其特徵在於該調配物含有由下列組成之乾粉摻合物：
  - a) 呈其鹽或溶劑合物或水合物中之一者的形式之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸
  - b) 重量濃度為 99.25% (w/w)至 80%(w/w)的乳糖載體，其進一步特徵在於

- c) 呈其鹽或溶劑合物或水合物中之一者的形式之活性成分(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸具有  $X_{90} \leq 6 \mu\text{m}$  的粒徑 及/或介於 1 和  $3 \mu\text{m}$  之間的  $X_{50}$
- d) 該乳糖載體為吸入用乳糖單水合物  
其進一步特徵在於
- e) 該乳糖具有  $X_{90} \geq 120 \mu\text{m}$  : 及/或  $X_{50} \geq 50 \mu\text{m}$  的粒徑及/或  $X_{10} 5 - 15 \mu\text{m}$  。
2. 根據請求項 1 之吸入用調配物，其特徵在於該調配物含有呈選自由下列組成之清單的其晶形變體中之一者的形式之式 I 之 (5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)-乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，該晶形變體係：式(I-M-I)之單水合物 I 或式(I-M-II)之單水合物 II 或倍半水合物，其中式(I-M-I)化合物的 X 射線粉末繞射圖(在  $25^\circ\text{C}$  下且使用  $\text{Cu-K } \alpha 1$  作為輻射源測量)包含至少於 12.8 和 29.2(較佳於 6.9、7.2、7.3、12.8 和 29.2)之峰，以  $2\theta$  值  $\pm 0.2^\circ$  表示，或其中式(I-M-II)化合物的 X 射線粉末繞射圖(在  $25^\circ\text{C}$  下且使用  $\text{Cu-K } \alpha 1$  作為輻射源測量)包含至少於 12.7、5.7、6.1、和 7.1 或於 12.7、5.7、和 8.5 之峰，或其中呈其倍半水合物的形式之化合物的 X 射線粉末繞射圖(在  $25^\circ\text{C}$  下且使用  $\text{Cu-K } \alpha 1$  作為輻射源測量)包含至少於 12.2 和 7.6，或者於 12.2、8.6 和 14.5 之峰，以  $2\theta$  值  $\pm 0.2^\circ$  表示。
3. 根據請求項 1 至 2 中任一項之吸入用調配物，其特徵在於該調配物含有由下列組成之乾粉摻合物
- a) 呈式(I-M-I)之單水合物 I 或式(I-M-II)之單水合物 II 的形式(較佳為式(I-M-I)之單水合物 I)之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸作為活性成分，其中式(I-M-I)之單水合物形式 I 的 x-射線繞射圖(在  $25^\circ\text{C}$  下及使用  $\text{Cu-K } \alpha 1$  作為輻射源)顯示至少下列反射，12.8 和 29.2，較佳於 6.9、7.2、7.3、12.8 和 29.2，以  $2\theta$  值  $\pm 0.2^\circ$  表示，其重量濃度從 0.75% (w/w) 至 20% (w/w)，組合

- b) 重量濃度為 99.25% (w/w)至 80%(w/w)的乳糖載體，  
其進一步特徵在於
- c) 呈式(I-M-I)之單水合物 I 或式(I-M-II)之單水合物 II 的形式之活性成分  
(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)  
乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸具有  $X_{90} \leq 6 \mu\text{m}$  的粒徑及/或介於 1 和  
3  $\mu\text{m}$  之間的  $X_{50}$
- d) 該乳糖載體為由粗乳糖和細乳糖組成之吸入用乳糖單水合物  
其進一步特徵在於
- e) 該粗乳糖具有  $X_{50} \geq 50 \mu\text{m}$  或  $\geq 75 \mu\text{m}$  或  $\geq 125 \mu\text{m}$  的粒徑
- f) 該細乳糖具有  $X_{50} < 10 \mu\text{m}$  或  $\leq 5 \mu\text{m}$  的粒徑
- g) 其中該乾粉摻合物的粗乳糖含量介於 98.25%和 75%之間，較佳地介於 94.25%  
和 75%之間。
4. 根據請求項 1 至 3 中任一項之吸入用調配物，其特徵在於
- e) 該粗乳糖具有  $X_{50} \leq 145 \mu\text{m}$  或  $\leq 100 \mu\text{m}$  或  $\leq 95 \mu\text{m}$  的粒徑
- f) 該細乳糖具有  $X_{50} < 10 \mu\text{m}$  或  $\leq 5 \mu\text{m}$  的粒徑。
5. 根據請求項 1 至 4 中任一項之吸入用調配物，其特徵在於
- e) 該粗乳糖具有  $X_{90} \geq 115 \mu\text{m}$  或為至少或  $\geq 120 \mu\text{m}$  或為至少或  $\geq 200 \mu\text{m}$  的粒徑
- f) 該細乳糖具有  $X_{90} < 30 \mu\text{m}$  或  $\leq 10 \mu\text{m}$  的粒徑。
6. 根據請求項 1 至 5 中任一項之吸入用調配物，其特徵在於
- e) 該粗乳糖具有  $\leq 250 \mu\text{m}$  或  $\leq 170 \mu\text{m}$  或  $\leq 160 \mu\text{m}$  的粒徑及
- f) 該細乳糖具有  $X_{90} < 30 \mu\text{m}$  或  $\leq 10 \mu\text{m}$  的粒徑。
7. 根據請求項 1 至 6 中任一項之吸入用調配物，其特徵在於  
製造調配物之方法
- j) 在混合循環之間包括篩分或不行篩分，較佳不篩分且在混合循環之間有至  
少 10 分鐘的停止時間。

8. 根據請求項 1 至 6 中任一項之吸入用調配物，其特徵在於在製造調配物之方法期間
  - k) 不使用玻璃容器，而是使用不銹鋼容器。
9. 根據請求項 1 至 8 中任一項之吸入用調配物，其特徵在於乾粉摻合物中細乳糖的含量係介於 1%和最多 15%，1%和 10%，或 5%和 10%之間。
10. 根據請求項 1 至 9 中任一項之吸入用調配物，其特徵在於活性成分對粗乳糖的比率係介於 1：126 和 1：3.8 之間。
11. 根據請求項 1 至 10 中任一項之吸入用調配物，其特徵在於活性成分對粗乳糖的比率係介於 1：31 和 1：3.8 之間。
12. 根據請求項 1 至 11 中任一項之吸入用調配物，其特徵在於活性成分對粗乳糖之比率為 1：31。
13. 根據請求項 1 至 12 中任一項之吸入用調配物，其特徵在於活性成分對粗乳糖之比率為 1：8.5。
14. 根據請求項 1 至 13 中任一項之吸入用調配物，其特徵在於活性成分對粗乳糖之比率為 1：3.8。
15. 根據請求項 1 至 14 中任一項之吸入用調配物，其特徵在於活性成分對細乳糖之比率係介於 1：13 至 1：0.1 之間。
16. 根據請求項 1 至 15 中任一項之吸入用調配物，其特徵在於活性成分對細乳糖之比率係介於 1：1.67 和 1：0.25 之間。
17. 根據請求項 1 至 16 中任一項之吸入用調配物，其特徵在於活性成分對細乳糖之比率為 1：1.67。
18. 根據請求項 1 至 17 中任一項之吸入用調配物，其特徵在於活性成分對細乳糖之比率為 1：0.5。
19. 根據請求項 1 至 18 中任一項之吸入用調配物，其特徵在於活性成分對細乳

糖之比率為 1 : 0.25 或為 1 : 0.1。

20. 根據請求項 1 至 19 中任一項之吸入用調配物，其特徵在於粗乳糖對細乳糖之比率係介於 445 : 5 和 65 : 5 之間或介於 94.25 : 5 和 65 : 5 之間。
21. 根據請求項 1 至 20 中任一項之吸入用調配物，其特徵在於粗乳糖對細乳糖之比率為 92 : 5。
22. 根據請求項 1 至 21 中任一項之吸入用調配物，其特徵在於粗乳糖對細乳糖之比率為 85 : 5。
23. 根據請求項 1 至 22 中任一項之吸入用調配物，其特徵在於粗乳糖對細乳糖之比率為 75 : 5。
24. 根據請求項 1 至 23 中任一項之吸入用調配物，其特徵在於活性成分為呈式 (I-M-I) 之單水合物 I 的形式之 (5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸。
25. 根據請求項 1 至 24 中任一項之吸入用調配物，其特徵在於式 (I-M-I) 之活性成分 (5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸單水合物 I 具有  $X_{50} = 1 - 3 \mu\text{m}$  的粒徑。
26. 根據請求項 1 至 25 中任一項之吸入用調配物，其特徵在於活性成分為呈式 (I-M-II) 之單水合物 II 的形式之 (5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸。
27. 根據請求項 1 至 26 中任一項之吸入用調配物，其特徵在於呈式 (I-M-II) 之單水合物 II 的形式之活性成分 (5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸具有  $X_{50} = 1 - 3 \mu\text{m}$  的粒徑。
28. 根據請求項 1 至 27 中任一項之吸入用調配物，其特徵在於式 (I-M-I) 之活性成分 (5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}

苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸單水合物 I 具有  $X_{10} = \max 1 \mu\text{m}$  的粒徑。

29. 根據請求項 1 至 28 中任一項之吸入用調配物,其特徵在於細乳糖具有  $X_{50} \leq 10 \mu\text{m}$  或  $X_{50} = \leq 5 \mu\text{m}$  的粒徑。
30. 根據請求項 1 至 29 中任一項之吸入用調配物,其特徵在於該細乳糖為 Lactohale® 300 或 Lactohale®230。
31. 根據請求項 1 至 30 中任一項之吸入用調配物,其特徵在於該粗乳糖呈篩分或磨碎的結晶乳糖的形式。
32. 根據請求項 1 至 31 中任一項之吸入用調配物,其特徵在於該粗乳糖具有  $X_{90} = 200 - 250 \mu\text{m}$  或  $120 - 160 \mu\text{m}$  或  $115 - 170 \mu\text{m}$  的粒徑。
33. 根據請求項 1 至 32 中任一項之吸入用調配物,其特徵在於該粗乳糖具有  $X_{50} = 125 - 145 \mu\text{m}$  或  $50 - 100 \mu\text{m}$  或  $75 - 95 \mu\text{m}$  的粒徑。
34. 根據請求項 1 至 33 中任一項之吸入用調配物,其特徵在於該粗乳糖具有  $X_{10} = 45 - 65 \mu\text{m}$  或  $5 - 15 \mu\text{m}$  或  $20 - 50 \mu\text{m}$  的粒徑。
35. 根據請求項 1 至 34 中任一項之吸入用調配物,其特徵在於該細乳糖具有  $X_{90} \leq 10 \mu\text{m}$  或  $< 30 \mu\text{m}$  的粒徑。
36. 根據請求項 1 至 35 中任一項之吸入用調配物,其特徵在於該細乳糖具有  $X_{50} \leq 5 \mu\text{m}$  或  $< 10 \mu\text{m}$  的粒徑。
37. 根據請求項 1 至 36 中任一項之吸入用調配物,其特徵在於該粗乳糖具有  $X_{10} = 1 - 3 \mu\text{m}$  的粒徑。
38. 根據請求項 1 至 37 中任一項之吸入用調配物,其特徵在於該粗乳糖為 Lactohale® 100、Lactohale®200 或 Lactohale® 206。
39. 根據請求項 1 至 38 中任一項之吸入用調配物,其特徵在於其含有  $60 \mu\text{g} - 6000 \mu\text{g}$  之標稱劑量的呈式(I-M-I)之單水合物 I 的形式之 5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-

四氫喹啉-2-甲酸。

40. 根據請求項 1 至 39 中任一項之吸入用調配物，其特徵在於其含有 240-4000  $\mu\text{g}$  之標稱劑量的呈式(I-M-I)之單水合物 I 的形式之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸。
41. 根據請求項 1 至 40 中任一項之吸入用調配物，其特徵在於其含有 480-4000  $\mu\text{g}$  之標稱劑量的呈式(I-M-I)之單水合物 I 的形式之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸。
42. 根據請求項 1 至 41 中任一項之吸入用調配物，其特徵在於其含有 480-2000  $\mu\text{g}$  之標稱劑量的呈式(I-M-I)之單水合物 I 的形式之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸。
43. 根據請求項 1 至 42 中任一項之吸入用調配物，其特徵在於其含有 480-1000  $\mu\text{g}$  之標稱劑量的呈式(I-M-I)之單水合物 I 的形式之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸。
44. 根據請求項 1 至 43 中任一項之吸入用調配物，其特徵在於其含有 240  $\mu\text{g}$ 、480  $\mu\text{g}$ 、1000  $\mu\text{g}$ 、2000  $\mu\text{g}$  或 4000  $\mu\text{g}$  之標稱劑量的呈式(I-M-I)之單水合物 I 的形式之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸。
45. 根據請求項 1 至 44 中任一項之吸入用調配物，其特徵在於乾粉摻合物中粗乳糖含量為 98.25%至 75%或較佳地介於 94.25%和 75%之間或更佳從 90.00%至 75%或更佳從 90%至 85%和乾粉摻合物中細乳糖含量為從 1.0%最多 15%或較佳地 1% 最多 10%，較佳地介於 5%和 10%之間，或更佳

2.5%-7.5%，較佳地介於 5%和 7.5%之間或更佳 3-7%或更佳 4%-6%。

46. 根據請求項 1 至 45 中任一項之吸入用調配物，其特徵在於其具有 90-110%，較佳地 95-105% (m/m)之摻合物分析和 NMT (=不超過)10%，較佳地 7.5%，更佳 5%的 RSD (= 相對標準偏差)(n=10)之摻合物均勻性。
47. 根據請求項 1 至 46 中任一項之吸入用調配物，其特徵在於其具有活性成分之 $\geq 20\%$ 的 FPF (活性之標稱劑量的%， $< 4.5 \mu\text{m}$ )和 $\geq 30\%$ 的 FPF (活性之 DD 的% $< 4.5 \mu\text{m}$ )，其以級聯衝擊(Cascade Impaction)和劑量單位取樣設備 (DUSA) 測量。
48. 一種填充於硬膠囊中之根據請求項 1 至 47 中任一項之吸入用調配物，其特徵在於取決於活性成分濃度和膠囊填充質量，其具有 8-780  $\mu\text{g}$  之最小細顆粒劑量。
49. 一種填充於硬膠囊中之根據請求項 1 至 48 中任一項之吸入用調配物，其特徵在於取決於活性成分濃度和膠囊填充質量，其具有 26-3315  $\mu\text{g}$  之最小遞送劑量。
50. 一種空腔，其包含根據請求項 1 至 49 中任一項之吸入用調配物，其可經由乾粉吸入器投予至有需要的患者。
51. 根據請求項 50 之空腔，其為膠囊或泡罩板條。
52. 根據請求項 50 之空腔，其為膠囊。
53. 根據請求項 50 至 52 中任一項之空腔，其特徵在於其含有 8-40 mg 之填充質量的乾粉摻合物。
54. 根據請求項 50 至 52 中任一項之空腔，其特徵在於其含有 10-30 mg 之填充質量的吸入用調配物。
55. 根據請求項 50 至 52 中任一項之空腔，其特徵在於其含有 10-20 mg 之填充質量的吸入用調配物。
56. 根據請求項 50 至 52 中任一項之空腔，其特徵在於其含有 16-20 mg 之填充

質量的吸入用調配物。

57. 一種製造根據請求項 1 至 49 中任一項之吸入用調配物之方法，其特徵在於

a) 在第一步驟 1)中

在開始混合兩種乳糖成分之前，將細乳糖稱重並分層放置在兩層粗乳糖之間，

b) 在第二步驟 2)中

以 72rpm、67rpm 或 34rpm 或 32rpm 或 30rpm 在滾筒式混合器中將 2 種組分摻合 2 次(2 個循環)經 20 分鐘，並在循環之間預摻合物通過 500 $\mu$ m 篩進行篩分，

c) 在第三步驟 3)中

在混合開始前將式(I)之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，較佳為式(I-M-I)之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸單水合物 I 通過 500  $\mu$ m 篩進行預篩分並加至步驟 A 和 B 中所製造的乳糖預摻合物中，及分層，二者之間交替 10 層的乳糖預摻合物和 9 層的活性成分，二者之間交替 6 層的乳糖預摻合物和 5 層的活性成分(實施例 4)、或二者交替 4 層的乳糖預摻合物和 3 層的活性成分(實施例 4)、或二者交替 2 層的乳糖預摻合物和 1 層的活性成分(實施例 4)，較佳地 6/5 層。

d) 在第四步驟 4)中

將步驟 3)中獲得之預分層摻合物在容器(玻璃或不銹鋼)中以 72rpm、67rpm、34rpm 或 32rpm，較佳 32rpm 混合 3-5 個循環，較佳 3 個循環，經 20-30 分鐘，較佳 30 分鐘(90min 總混合時間)，在混合循環之間有 10 分鐘的停止時

間，其特徵在於，

在不銹鋼容器混合步驟 4) 中獲得之產物，

其中介於在各混合循環之間將摻合物進行篩分或較佳地在混合循環之間沒有將摻合物進行篩分，

e) 在第五步驟 E 中，在進行摻合物均勻性取樣和最終膠囊填充之前，將步驟 4) 中獲得之產物在不銹鋼容器中在室溫(15-25°C)和 35-65% 相對濕度下靜置某段時間，較佳地 24-72 小時，更佳 48h。

f) 在第六步驟 6) 中，最後將步驟 E 中獲得之乾粉摻合物填充於膠囊中。

58. 根據請求項 1 至 49 中一或多項之吸入用調配物之用途，其用於製造使用治療心肺病症之藥劑，其特徵在於該藥劑包含吸入劑型，其包含 240 至 4000  $\mu\text{g}$  的呈式(I-M-I)之單水合物 I 的形式之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)-乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，其中式(I-M-I)之單水合物形式 I 的 x-射線繞射圖(在 25°C 下及使用 Cu-K  $\alpha 1$  作為輻射源)顯示至少下列反射 6.9、7.2、7.3、12.8 和 29.2，以  $2\theta$  值  $\pm 0.2^\circ$  表示，係每天一次或兩次為期連續至少兩天投予至有需要的患者。

59. 根據請求項 1 至 49 中一或多項之吸入用調配物之用途，其用於治療心肺病症，其特徵在於吸入劑型，其包含 240 至 4000  $\mu\text{g}$  的呈其式(I-M-I)的晶形變體單水合物 I 的形式之式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)-乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，其中該化合物的 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下且使用 Cu-K  $\alpha 1$  作為輻射源測量)包含至少於 12.8 和 29.2(較佳於 6.9、7.2、7.3、12.8 和 29.2)之峰，以  $2\theta$  值  $\pm 0.2^\circ$  表示，係每天一次或兩次為期連續至少兩天投予至有需要的患者。

60. 根據請求項 1 至 49 中一或多項之吸入用調配物之用途，其用於治療心肺病症之方法，其特徵在於吸入劑型，其包含 240 至 4000  $\mu\text{g}$  的呈其式(I-M-I)的晶形變體單水合物 I 的形式之式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯

-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)-乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，其中該化合物的 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下且使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源測量)包含至少於 12.8 和 29.2(較佳於 6.9、7.2、7.3、12.8 和 29.2)之峰，以  $2\theta$  值 $\pm$ 0.2°表示，係每天一次或兩次為期連續至少兩天投予至有需要的患者。

61. 一種使用於心肺病症的吸入治療之藥劑，其特徵在於其包含吸入劑型，其包含 240 至 4000  $\mu$ g 的呈選自由下列組成之清單的其晶形變體中之一者的式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸：式(I-M-I)之單水合物 I 或式(I-M-II)之單水合物 II 或倍半水合物，其中式(I-M-I)化合物的 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下且使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源測量)包含至少於 12.8 和 29.2，較佳於 6.9、7.2、7.3、12.8 和 29.2 之峰，以  $2\theta$  值 $\pm$ 0.2°表示，或其中式(I-M-II)化合物的 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下且使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源測量)包含至少於 12.7、5.7、6.1、和 7.1 或於 12.7、5.7、和 8.5 之峰，或其中呈其倍半水合物的形式之化合物的 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下且使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源測量)包含至少於 12.2 和 7.6，或者於 12.2、8.6 和 14.5 之峰，以  $2\theta$  值 $\pm$ 0.2°表示，呈吸入劑型，和其中該吸入劑型包含呈乾粉的形式之活性成分。
62. 一種使用於心肺病症的吸入治療之經包裝醫藥組成物，其特徵在於其含有乾粉吸入器和包含下列的乾粉調配物：240 至 4000  $\mu$ g 的其呈選自由下列組成之清單的其結晶變體之式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸：式(I-M-I)之單水合物 I 或式(I-M-II)之單水合物或倍半水合物，其中式(I-M-I)化合物的 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下且使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源測量)包含至少於 12.8 和 29.2，較佳於 6.9、7.2、7.3、12.8 和 29.2 之峰，以  $2\theta$  值 $\pm$ 0.2°表示，或其中式(I-M-II)化合物之 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下且使用 Cu-K

$\alpha 1$  作為輻射源測量)包含至少於 12.7、5.7、6.1、和 7.1 或於 12.7、5.7、和 8.5 之峰，或其中呈其倍半水合物的形式之化合物的 X 射線粉末繞射圖(在 25°C下且使用 Cu-K  $\alpha 1$  作為輻射源測量)包含至少於 12.2和 7.6，或者於 12.2、8.6 和 14.5 之峰，以  $2\theta$  值 $\pm 0.2^\circ$ 表示，其中該包裝含有以每天一次或兩次的頻率投予該乾粉調配物至少連續兩天的說明。

【0387】 下列示例性實施態樣說明本發明。本發明不限於實施例中。

【0388】 除非另有說明，在下列測試和實施例中的百分比數據均為重量百分比；份是重量份。液體/液體溶液的溶劑比、稀釋比和濃度數據在各情況下係基於體積。

#### 【圖式簡單說明】

【0389】 圖1：在投予0.15、0.5、1.5和5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 比較例11後觀察到(符號)和擬合(實線)的肺動脈壓(=PAP)改變

【0390】 圖2：60 kg人類在對應肺沉積劑量下之最大預期PAP降低

【0391】 圖 3a + 3b：基於膠囊的單一單位劑量吸入器

【0392】 圖4：基於使用L-精胺酸之鹽篩選實驗的非晶形殘餘物的X射線粉末繞射圖

【0393】 圖5：半水合物(實施例6a)的X射線粉末繞射圖

【0394】 圖 6：單水合物 I(實施例 6b)的 X 射線粉末繞射圖

【0395】 圖 7：單水合物 II(實施例 6c)的 X 射線粉末繞射圖

【0396】 圖 8：1,25-水合物(實施例 6d)的 X 射線粉末繞射圖

【0397】 圖 9：倍半水合物(實施例 6e)的 X 射線粉末繞射圖

【0398】 圖 10：二水合物(實施例 6f)的 X 射線粉末繞射圖

【0399】 圖 10a：二水合物乾燥後(實施例 6f)的 X 射線粉末繞射圖

【0400】 圖 11：非晶形(實施例 6g)的 X 射線粉末繞射圖

- 【0401】 圖 12：半水合物(實施例 6a)之拉曼光譜
- 【0402】 圖 13：單水合物 I(實施例 6b)之拉曼光譜
- 【0403】 圖 14：單水合物 II(實施例 6c)之拉曼光譜
- 【0404】 圖 15：1,25-水合物(實施例 6d)之拉曼光譜
- 【0405】 圖 16：倍半水合物(實施例 6e)之拉曼光譜
- 【0406】 圖 17：二水合物(實施例 6f)之拉曼光譜
- 【0407】 圖 18：非晶形(實施例 6g)之拉曼光譜
- 【0408】 圖 19：半水合物(實施例 6a)之 IR 光譜
- 【0409】 圖 20：單水合物 I(實施例 6b)之 IR 光譜
- 【0410】 圖 21：單水合物 II(實施例 6c)之 IR 光譜
- 【0411】 圖 22：1,25-水合物(實施例 6d)之 IR 光譜
- 【0412】 圖 23：倍半水合物(實施例 6e)之 IR 光譜
- 【0413】 圖 24：二水合物(實施例 6f)之 IR 光譜
- 【0414】 圖 25：非晶形(實施例 6g)之 IR 光譜
- 【0415】 圖 26：半水合物(實施例 6a)之 DSC-和 TGA-溫度記錄圖
- 【0416】 圖 27：單水合物 I(實施例 6b)之 DSC-和 TGA-溫度記錄圖
- 【0417】 圖 28：單水合物 II(實施例 6c)之 DSC-和 TGA-溫度記錄圖
- 【0418】 圖 29：1,25-水合物(實施例 6d)之 DSC-和 TGA-溫度記錄圖
- 【0419】 圖 30：倍半水合物(實施例 6e)之 DSC-和 TGA-溫度記錄圖
- 【0420】 圖 31：二水合物(實施例 6f)之 DSC-和 TGA-溫度記錄圖
- 【0421】 圖 32：非晶形(實施例 6g)之 DSC-和 TGA-溫度記錄圖
- 【0422】 圖 33：比較例 11(非晶形)的 X 射線粉末繞射圖
- 【0423】 圖 34：實施例 1(單水合物 II)的 X 射線粉末繞射圖
- 【0424】 圖 35：實施例 2 微粉化前(單水合物 II)的 X 射線粉末繞射圖
- 【0425】 圖 36：實施例 2 微粉化後(單水合物 II)的 X 射線粉末繞射圖

【0426】 圖 37：實施例 3(單水合物 I)的 X 射線粉末繞射圖

【0427】 圖 38：實施例 4(單水合物 I)的 X 射線粉末繞射圖

【0428】 圖 39：實施例 5(單水合物 I)的 X 射線粉末繞射圖

【0429】 圖 40：實施例 7 的 X 射線粉末繞射圖(儲存穩定性)：用於儲存穩定性之起始材料，單水合物 II

【0430】 圖 41：實施例 7 的 X 射線粉末繞射圖(儲存穩定性)：材料在儲存一個月後在 25°C 和 60 % 相對濕度下在聚乙烯中之穩定性測試，單水合物 I

【0431】 圖 42：實施例 8b(微粉化)的 X 射線粉末繞射圖之疊加：起始材料(單水合物 II)和材料微粉化後(具有非晶形量之單水合物 II，PTFE 塗布之噴射磨機，25°C)

【0432】 圖 43：實施例 8a(微粉化)的 X 射線粉末繞射圖：材料微粉化後(具有非晶形量之單水合物 I，VA 噴射磨機，25°C)

【0433】 圖 44：X 射線粉末繞射圖(實施例 8e)(微粉化)：材料微粉化後(單水合物 I)

【0434】 圖 45a + 45b：比較例 11 與比較例 1(西那西瓜)對兔隱動脈的 PE-誘發之收縮(培養 0.5 h vs. 2.5 h)的效應相比。數據以平均值 +/- SEM (數字)呈現

【0435】 圖 46：比較例 11 (300 nmol/l)、比較例 2 (100 nmol/l：里奧西瓜、比較例 1 (100 nmol/l：西那西瓜)和比較例 3 (100 nmol/l)對離體 Langendorff 灌注大鼠心臟的冠心血流和彼等之洗出的效應。數據僅以平均值表示。

【0436】 圖 47：媒液溶液、比較例 11(30 µg/kg)、比較例 1(西那西瓜：3 和 10 µg/kg)、比較例 2(里奧西瓜：100 µg/kg)和比較例 3 (30 µg/kg)在小型豬中在凝血脂素類似物 U46619 誘發之 PAH 下吸入施用後對 BP vs 基線(霧化開始前的 5 min 間隔)之 % 改變的效應。數據為平均值 ± SEM。

【0437】 圖 48：媒液溶液、比較例 11 (30 µg/kg)、比較例 1 (西那西瓜：3 和 10 µg/kg)、比較例 2 (里奧西瓜：100 µg/kg)和比較例 3 (30 µg/kg)在小型豬中

在凝血脂素類似物 U46619 誘發之 PAH 下吸入施用後對 PAP vs 基線(霧化開始前的 5 min 間隔)之%改變的效應。數據為平均值  $\pm$  SEM。

【0438】 圖 49：媒液溶液、比較例 11、比較例 4 和比較例 5 (全部化合物均以 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$  的標稱劑量)在小型豬中在凝血脂素類似物 U46619 誘發之 PAH 下吸入施用後對 PAP 和 BP vs 基線(霧化開始前的 5 min 間隔)之%改變的效應。數據為平均值  $\pm$  SEM。所有化合物的霧化間隔需要 5-7 分鐘(黃色條)。

【0439】 圖50：在PAH小型豬模式中媒液溶液、比較例11(10、30和100  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 標稱劑量)和Ventavis(10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 標稱劑量)在吸入施用後的效應。數據以PAP和BP vs 基線(霧化開始前的10 min間隔)中之%改變%表現。數據為平均值  $\pm$  SEM。所有化合物的霧化間隔需要5-7分鐘(灰色條)。

【0440】 圖51：比較例11在小型豬中在凝血脂素類似物U46619誘發之PAH下吸入施用後有和沒有以ODQ預治療的效應。數據為平均值  $\pm$  SEM (n=3)

【0441】 BP：動脈血壓；bpm：每分鐘節拍；HR：心率；iv：靜脈內；mBP：平均血壓；mPAP：平均肺動脈壓；ODQ：<sup>1</sup>H-[1,2,4]噁二唑并[4,3-a]喹啉-1-酮，一種可溶性鳥苷酸環化酶之高選擇性不可逆血色素位置抑制劑；PAH：肺動脈高血壓；PAP：肺動脈壓；SEM：

【0442】 圖52：比較例11在小型豬中在凝血脂素類似物U46619誘發之PAH下吸入施用後有和沒有以L-NAME預治療的效應。數據為平均值  $\pm$  SEM (n=3) iv.：靜脈內；L-NAME：L-N $\omega$ -硝基精胺酸甲酯；mBP：平均血壓；mPAP：平均肺動脈壓；PAH：肺動脈高血壓；PAP：肺動脈壓；SEM：平均值的標準誤差；w/wo：有/沒有；wo：沒有

【0443】 圖53a：在小型豬中在凝血脂素類似物U46619誘發之PAH下，與全身應用波生坦(1mg/kg)、西地那非(300  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ )和里奧西瓜(3  $\mu\text{g}$ )相比，比較例 11(30和100  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 標稱劑量)吸入施用後對PAP和BP之%降低的效應。數據為平均值  $\pm$  SEM (n=3)

[(0444)] 圖 53b：在小型豬中在凝血酵素類似物 U46619 誘發之 PAUC 下，比較例 11 (30  $\mu\text{g}/\text{kg}$  標稱劑量)單獨吸入施用後或除全身性施用波生坦(1mg/kg)、西地那非(300  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ )和甲奧西瓜(3  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ )之外對 PAP 和 IBP 之 % 降低的效應。數據為平均值  $\pm$  SEM (n: 3)

[(0445)] 圖 54：乳糖以及乳糖調劑物 I (7.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )氣管內施用後的效應。數據為平均值  $\pm$  SEM (n: 3)：以 PennCentury 乾粉吸入器和空氣泵進行了氣管內施用：IBP：動脈血壓：PAP：肺動脈壓：SEM：平均值的標準誤差

[(0446)] 圖 55：乳糖以及乳糖調劑物 III (22.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )氣管內施用後的效應。數據為平均值  $\pm$  SEM (n: 3)：以 PennCentury 乾粉吸入器和空氣泵進行了氣管內施用：IBP：動脈血壓：PAP：肺動脈壓：SEM：平均值的標準誤差

[(0447)] 圖 56：乳糖和微粉化倍半水合物(例如實施例 6c (3/5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ))氣管內施用後的效應。數據為平均值  $\pm$  SEM (n: 3)以 PennCentury 乾粉吸入器和空氣泵進行氣管內施用：IBP：動脈血壓：PAP：肺動脈壓：SEM：平均值的標準誤差

[(0448)] 圖 57：不同乳糖媒液、乳糖調劑物 I (7.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )、乳糖調劑物 III (22.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )和微粉化倍半水合物實施例 6c (3/5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )之氣管內施用後的效應。數據以 % 改變 vs. 預置值顯示，呈平均  $\pm$  SEM (n: 3)

[(0449)] 圖 58：比較例 11 在氣管內施用不同水合物：微粉化單水合物 III (實施例 2)、微粉化半水合物(實施例 6a)和微粉化倍半水合物(實施例 6c)後對 IBP 和 PAP 的效應。數據以絕對值[mmol/lg]顯示，呈平均值  $\pm$  SEM (n: 3)

[(0450)] 圖 59：比較例 11 在氣管內施用不同水合物：微粉化單水合物 III (實施例 2)、微粉化半水合物(實施例 6a)和微粉化倍半水合物(實施例 6c)後對 IBP 和 PAP 的效應。數據以絕對值[mmol/lg]顯示，呈平均值  $\pm$  SEM (n: 3)

[(0451)] 圖 60 a 和 60b：圖 60a (左側)：吸入後 5-6h：各動物之 PAP 降低計算如下：PAP 降低：(比較例 11 治療動物之從 10-40min 的 mmPAP 的總和)。(各

個安慰劑治療動物之從 10-40min 的 mPAP 的總和)/時間點數目:圖 60b:(右側):  
在清醒狗中比較例 11 (100 µg/kg 標稱劑量)在缺氧前 1、5、12、16 和 24 小時吸  
入施用後對缺氧誘發之 PAP 升高的效應。數據顯示為平均值 ± SEM (n=3)。

【0452】 圖 61a-61e: 在清醒狗中比較例 11 和比較例 4 (100 µg/kg 標稱劑  
量)在缺氧前 1、5、12、16 和 24 小時吸入施用後對缺氧誘發之 PAP 升高的效應。  
數據顯示為平均值 ± SEM (n=3)

【0453】 圖 62: 在清醒狗中比較例 11 和比較例 4 (100 µg/kg 標稱劑量)在  
缺氧前 1、5、12、16 和 24 小時吸入施用後對 PAP 降低的效應。數據顯示為平  
均值 ± SEM (n=3)

【0454】 圖 63: 在小型豬中在 8 次支氣管阻塞循環期間比較例 11 吸入和  
i.v. 施用和媒液投予後對 PAP 和 SaO<sub>2</sub> 的效應。數據為平均值 (n=3-4): i.v. / iv.:  
靜脈內: inhal: 吸入: PAP: 肺動脈壓: SaO<sub>2</sub>: 血紅素之動脈氧飽和度

【0455】 圖 64: 在小型豬中在 8 次支氣管阻塞循環期間比較例 11 吸入和  
i.v. 施用和媒液投予後對 BP 和 HR 的效應。數據為平均值 (n=3-4) BP: 動脈血壓:  
HR: 心率: i.v.: 靜脈內: inhal: 吸入: iv.: 靜脈內

【0456】 圖 65: 基於代表性循環的效應, 比較例 11 降低最大缺氧 PAP(正  
治療效應)和 AUCSaO<sub>2</sub> (不要的去飽和效應)的能力(n = 4 隻動物); 數據為平均值  
±SEM (n=4) 比較例 11 吸入(100 µg/kg 標稱劑量): i.v. 30 和 100 µg/kg AUCSaO<sub>2</sub>:  
SaO<sub>2</sub> 曲線下面積: iv / i.v.: 靜脈內: PAP: 肺動脈壓: SaO<sub>2</sub>: 血紅素之動脈氧飽  
和度: SEM: 平均值的標準誤差: VQ: 通氣灌注: 一些誤差線(error bar)太小而  
無法看到。

【0457】 圖 66: 比較例 1 (西那西瓜)、比較例 11 和比較例 2 (里奧西瓜)  
對用卡巴可(carbachol)(0.1 µmol/L)預收縮之天竺鼠氣管的效應 (n = 9-13 隻動物):  
數據為平均值

【0458】 圖 67a 和 67b: 在基線條件(基線 RL)和乙醯膽鹼激發後(最大 RL)噻托溴銨(Tiotropium)和比較例 11 (1、10 和 100 $\mu$ g)對肺阻力(RL)的效應。數據以單一動物的絕對值呈現。

【0459】 圖 68: 晚期過敏期(最終 Ova 激發後 24 h)中之氣道高反應性: 產生阻力的 150%增加之有效吸入 MCh 劑量( $\mu$ g))(ED<sub>150</sub>。個別數據和平均)  
\*p < 0.05。 \*\*p < 0.01 與陽性對照組相比。 #p < 0.05 在單一 t-測試中)

ED<sub>150</sub>: 150%的最大有效劑量: MCh: 乙醯甲膽鹼: R<sub>L</sub>: 肺阻力

【0460】 圖 69a-c: 總細胞計數。卵清蛋白激發後 25 h BAL 液中嗜酸性球數和淋巴細胞數 (x10<sup>5</sup>/動物: 個別數據和平均) \*\*p < 0.01 vs. 陽性對照組: #p < 0.05 ##p < 0.01 陽性對照組

BAL: 支氣管肺泡灌洗: vs. 對

【0461】 圖 70: 480  $\mu$ g (實施例 2)劑量組的 cGMP (nmol/L)之平均值  $\pm$  SD – 治療前 (第-1)天、第一 (第 1 天)和最後(第 8 天)治療日的比較(SAF, N = 9)

【0462】 圖 71: 1000  $\mu$ g (實施例 2)劑量組的 cGMP (nmol/L)之平均值  $\pm$  SD – 治療前 (第-1 天)、第一 (第 1 天)和最後(第 8 天)治療日的比較(SAF, N = 9)

【0463】 圖 72: 2000  $\mu$ g (實施例 2)劑量組的 cGMP (nmol/L)之平均值  $\pm$  SD – 治療前 (第-1 天)、第一 (第 1 天)和最後(第 8 天)治療日的比較(SAF, N = 9)

【0464】 圖 73: GMP (nmol/L)之平均值  $\pm$  SD – 安慰劑之治療日組的比較 (SAF, N = 9)

【0465】 圖 74: 在基線日(-1d02h 的比較))vs. 第一吸入日(0d00h -2d00h)、谷測量 2d00h-7d00h 和 7 天吸入後(7d00h- 10d00h)之體液中 cGMP 隨時間(nmol/L)的平均值(N = 9) 10d0。

【0466】 圖 75: 總比氣道阻力(kPa/sec)隨時間的平均值(N = 36, 12 各用於 480、1000 和 2000  $\mu$ g, 實施例 2)和 SD: 篩選 1/2, 基線日 (-1d00h – 0d00h)、

第一吸入日(0d00h - 0d06h)、吸入 2d02h- 6d04h 後和 7 天吸入後(7d00h-7d06h)的測量。

【0467】 圖 76：安慰劑(N = 4)和 1000 µg (N = 17)實施例 4)在治療前一天(-1d00h – -0d09h)、第一吸入日(-0d02h - 1d00h;)、在 2d00h- 2d12h、6d00h- 6d12h、10d00h- 10d12h 吸入前和後(輪廓日)、在第 3d-5d、7d-9d、11d-12d 天和 14 天吸入之最後一天前及後(12d22h- 20d00h)的谷之對基線的 cGMP 濃度隨時間(nmol/L)的平均值。

【0468】 圖 77：為了研究肺沉積進行之治療的流程

【0469】 圖 78：血漿中實施例 4 之濃度(µg/L)的幾何平均值和標準差，半對數刻度。

【0470】 圖 79：部分劑量到達吹嘴(噴出劑量)，部分劑量保留在膠囊中，在裝置中，沉積的肺劑量和部分劑量到達 GIT 道

【0471】 圖 80：PAH 或 CTEPH 患者之臨床研究的研究設計。

【0472】 圖 81：在 PAH 或 CTEPH 患者中進行的臨床研究 A 部分之總結。

【0473】 圖 82：在 PAH 或 CTEPH 患者中，實施例 4 吸入後(0D00H30M 直到 0D03H00M)之肺血管阻力(PVR)隨時間相對於基線(0D00H00M)的相對改變(%)之平均和 SD(N=4，各用於 240、480、1000、2000 和 4000 µg 組，每個方案組)。

【0474】 圖 83：在 PAH 或 CTEPH 患者中，實施例 4 吸入後(0D00H30M 直到 0D03H00M)之平均肺動脈壓(mPAP)隨時間相對於基線(0D00H00M)的相對改變(%)之平均和 SD(N=4，各用於 240、480、1000、2000 和 4000 µg 組，每個方案組)。

## 【實施方式】

### 實驗部分

## 縮寫和首字母縮略字：

abs.	絕對
acac	乙醯丙酮
BINAP	(2,2'-雙(二苯膦基)-1,1'-聯萘)
cat.	催化
CI	化學電離(在 MS 中)
coe	環辛烯
d	天
TLC	薄層層析
DCM	二氯甲烷
DMA	二甲基乙醯胺 (Dimethylacetamide)
DMF	二甲基甲醯胺 (Dimethylformamide)
DMSO	二甲基亞砜
ee	鏡像異構物過量
EI	電子碰撞電離 (在 MS 中)
ent	鏡像異構/ 鏡像異構上純的
eq	當量
ESI	電灑游離 (在 MS 中)
EtOAc	乙酸乙酯
GC-MS	氣相層析-聯用質譜
重量%	重量百分比
h	小時
HPLC	高壓、高效液相層析
ID	內徑

iPrOAc	醋酸異丙酯
iPrOH	異丙醇
conc.	濃縮
LC-MS	液相層析-質譜聯用
LDA	二異丙胺化鋰
LiHMDS	雙(三甲矽)醯胺化鋰
min	分鐘(s)
MS	質譜
MTBE	2-甲氧基-2-甲基丙烷
NMR	磁共振光譜
NMP	N-甲基-2-吡咯啉酮
Ph	苯基
pTsOH	對甲苯磺酸
R <sub>f</sub>	滯留指數 (in TLC)
RP-HPLC	逆相高效液相層析
RRT	相對滯留時間
R <sub>t</sub>	滯留時間
RT	室溫
TESCl	氯三乙基矽烷
THF	四氫呋喃
v/v	(溶液之)體積對體積比
T <sub>內部</sub>	內部溫度
T <sub>護套</sub>	護套溫度
CI	化學電離 (於 MS)
D	天

DC	薄層層析
DMSO	二甲亞砜
o. th.	理論的(產量)
ee	鏡像異構物過量
EI	電子碰撞電離 (於 MS)
Ent	鏡像異構/ 鏡像異構上純的
wt.-%	重量百分比
h	小時
HPLC	高壓液相層析
iPrOAc	醋酸異丙酯
iPrOH	異丙醇
conc.	濃縮
l	升
LC-MS	液相層析-質譜聯用
min	分鐘
MS	質譜
pTsOH	對甲苯磺酸
R <sub>f</sub>	滯留指數 (在 DC 中)
RP-HPLC	逆相高效液相層析
RRT	相對滯留時間
R <sub>t</sub>	滯留時間
RT	室溫
THF	四氫呋喃
v/v	體積對體積比(於溶液)
T 內部	內部溫度

T 護套

護套溫度

## 分析方法

### DSC/TG

【0475】 使用來自 Perkin-Elmer 的差示掃描量熱儀(型號 DSC7、Pyris-1 或鑽石)記錄 DSC 溫度記錄圖。使用非氣密鋁盤以  $2020 \text{ Kmin}^{-1}$  的加熱速率進行測量。流動氣體是氮氣。沒有樣品製備。

【0476】 使用來自 Perkin-Elmer 的熱天平(型號 TGA7 和 Pyris 1)記錄 TGA 溫度記錄圖。使用開放式鉑盤以  $10 \text{ Kmin}^{-1}$  的加熱速率進行測量。流動氣體為氮氣。沒有樣品製備。

### XRPD

【0477】 使用 XRD 繞射計 X`Pert PRO (PANalytical)和 STOE STADI-P (輻射  $\text{Cu K } \alpha 1$ ，波長  $1.5406 \text{ \AA}$ )在室溫下記錄 X-射線繞射圖案。沒有樣品製備。所有 X-射線反射係以  $2\theta$  ( $\theta$ ) 值(峰最大值)與  $\pm 0.2^\circ$  之解析度引用。

### 拉曼

【0478】 使用來自 Bruker 的 FT-拉曼分光光度計(型號 RFS 100 和 MultiRam)在室溫下記錄拉曼光譜。解析度為  $2 \text{ cm}^{-1}$ 。在玻璃瓶或鋁盤中進行測量。沒有樣品製備。

### IR

【0479】 IR-ATR-光譜在室溫下使用來自 Bruker 的具有通用鑽石 ATR 裝置的 FT-IR-分光光度計 Tensor 37 記錄。解析度為  $4 \text{ cm}^{-1}$ 。沒有樣品製備。

## LC-MS 方法

### 方法 A

【0480】 儀器：Waters ACQUITY SQD UPLC System：管柱：Waters Acquity UPLC HSS T3 1.8  $\mu\text{m}$  50 x 1 mm：溶析液 A：1 l Wasser + 0.25 ml 99%固有甲酸，溶析液 B：1 l 乙腈 + 0.25 ml 99%固有甲酸：梯度：0.0 min 90% A  $\rightarrow$  1.2 min 5% A  $\rightarrow$  2.0 min 5% A 烘箱：50°C：流量：0.40 ml/min：UV-偵測：210 nm。

## HPLC 方法

### 方法 B

【0481】 具有恆溫管柱烘箱、UV 偵測器和數據評估系統之高效液相層析儀，測量波長 206 nm，帶寬：6 nm，烘箱溫度 30°C，管柱：chiralpak AD-H，長度：250 mm，內徑：4.6 mm，顆粒大小：5  $\mu\text{m}$ ，動相：A：N-庚烷，B：乙醇 + 0.1% 二乙胺，梯度程式：開始 1 ml / min 70% 溶析液 a，30% 溶析液 B：12 min 1 ml / min 40% 溶析液 a，60% 溶析液 B。樣品溶劑：乙醇 + 0.1% 二乙胺，試液：大約 1.0 mg / ml 的物質，用樣品溶劑溶解，注入體積：5  $\mu\text{l}$  RT：鏡像異構物 1：5.8 min (RRT 1.00)，鏡像異構物 2：7.2 min RRT1.25

### 方法 C

【0482】 具有恆溫管柱烘箱、UV 偵測器和數據評估系統之高效液相層析儀，測量波長 204 nm，帶寬：6 nm，烘箱溫度 45°C，管柱：chiralpak AD-H，長度：250 mm，內徑：4.6 mm，顆粒大小：5  $\mu\text{m}$ ，動相：A：N-庚烷，B：乙醇 + 0.2% 三氟乙酸 + 0.1% 二乙胺，梯度程式：1.5 ml / min 60% 溶析液 a，40% 溶析液 b：樣品溶劑：乙醇，試液：大約 1.0 mg / ml 的物質，用樣品溶劑溶解，注入體積：10  $\mu\text{l}$  RT：鏡像異構物 1 2.9 min RRT 1,00 鏡像異構物 2 3.7 min RRT 1.28

### 方法 L

【0483】 裝置類型 MS : Waters Synapt G2S : 裝置類型 UPLC : Waters Acquity I-CLASS : 管柱 : Waters , HSST3 , 2.1 x 50 mm , C18 1.8  $\mu\text{m}$  : 溶析液 A : 11 水 + 0.01% 甲酸 : 溶析液 B : 11 乙腈 + 0.01% 甲酸 : 梯度 : 0.0 min 2% B  $\rightarrow$  2.0 min 2% B  $\rightarrow$  13.0 min 90% B  $\rightarrow$  15.0 min 90% B : 烘箱 : 50°C : 流速 : 1.20 ml / min : UV 偵測 : 210 nm

## 方法 M

【0484】 具有恆溫管柱烘箱、UV 偵測器和數據評估系統之高效液相層析儀，測量波長 226 nm，帶寬：40 nm。管柱：Zorbax Bonus-RP，長度：150 mm，內徑：3.0 mm，顆粒大小：3.5  $\mu\text{m}$ ，動相：A：水 + 0.1% TFA，B：ACN + 0.1% TFA / 甲醇 = 2 + 1，梯度程式：0.0 min 50% B  $\rightarrow$  12.0 min 70% B  $\rightarrow$  17.0 min 90% B  $\rightarrow$  25.0 min 90% B : 流速：0.60 ml / min : 樣品溶劑：異丙醇 + 0.1% 二乙胺，試液：溶解約 35 mg 的物質在 25 ml ACN 中並用水 + 0.1% TFA 填充至 50 ml。(0.7 mg / mL) : 注入體積：3  $\mu\text{L}$

## 新方法 M

【0485】 具有恆溫管柱烘箱、UV 偵測器和數據評估系統之高效液相層析儀，測量波長 226 nm，帶寬：40 nm。管柱：XBridge Phenyl 長度：50 mm，內徑：4.6 mm，顆粒大小：2.5  $\mu\text{m}$  : 管柱烘箱溫度：22°C

【0486】 動相：A：緩衝液 pH7 (0,66 g/L  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  和 0,58 g/L  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ ) : B：ACN

【0487】 梯度程式：0.00 min = 95 % A，5% B : t 8,3-11 = 20% A，80% B

【0488】 流速：1.2 mL/min. : UV-燈：210 nm

## 方法 N

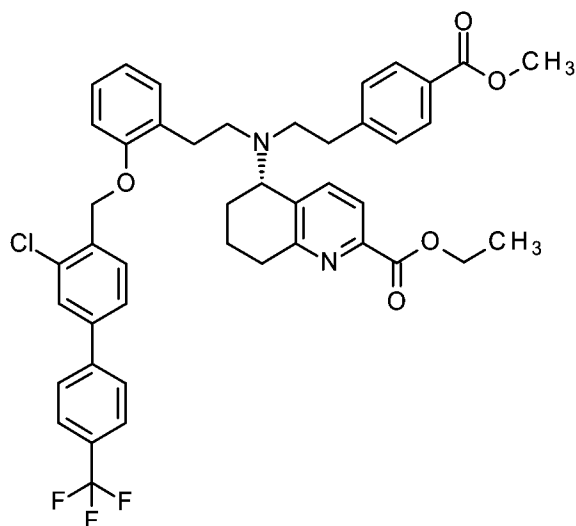
【0489】 具有恆溫管柱烘箱、UV 偵測器和數據評估系統之高效液相層析儀，測量波長 210 nm。管柱：XBridge BEH Phenyl 長度：50 mm，內徑：4,6 mm，顆粒大小：2,5  $\mu\text{m}$ ，動相：在 11 微孔水 (milipore water) 中之 A：0,66 g  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  和 0,58 g  $(\text{NH}_4)\text{H}_2\text{PO}_4$ ；B：ACN，梯度程式：0.00 min 95% B  $\rightarrow$  8,3 min 80% B  $\rightarrow$  11,0 min 80%；流速：1,2 ml/min；樣品溶劑：ACN + 水，注入體積：3  $\mu\text{L}$ 。

## A - 化學實施例

## 起始材料和中間物

## 實施例 1A

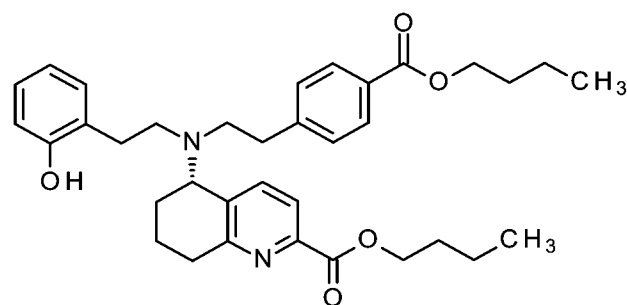
【0490】 (5*S*)-5-([2-(2-[[3-氯-4'-(三氟甲基)[聯苯基]-4-基]甲氧基]苯基)乙基){2-[4-(甲氧羰基)苯基]乙基}胺基)-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸酯(鏡像異構物 2)



【0491】 根據 WO 2014/012934 中實施例 92A 所述之程序合成該化合物。

## 實施例 2A

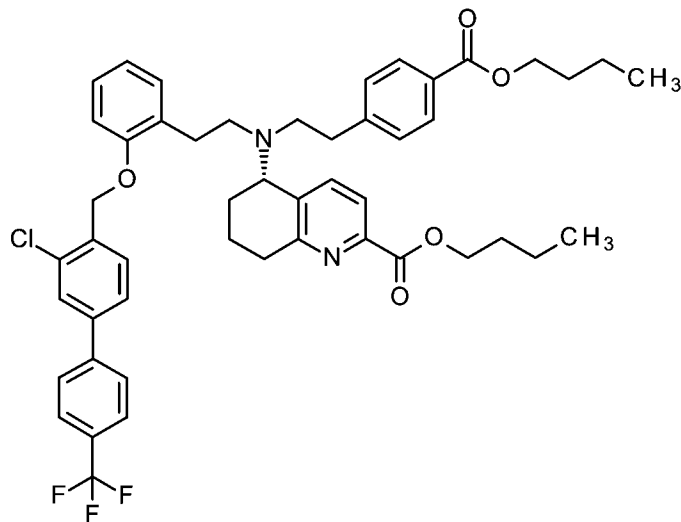
【0492】 丁基-(5*S*)-5-([2-[4-(丁氧羰基)苯基]乙基][2-(2-羥苯基)乙基]胺基)-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸酯



【0493】 根據 WO2021/233783 實施例 10 之中所述之程序合成該化合物。

## 實施例 3A

【0494】 丁基-(5S)-5-({2-[4-(丁氧羰基)苯基]乙基}[2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)[聯苯基]-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基)-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸酯

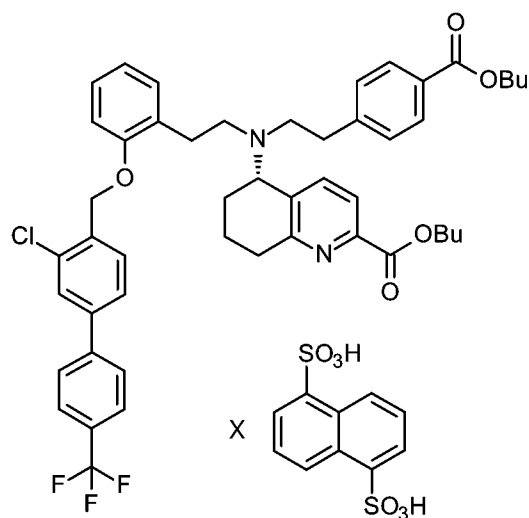


【0495】 根據 WO2021/233783 實施例 11 中所述之程序合成該化合物。

【0496】 另一起始材料 4-(溴甲基)-3-氯-4'-(三氟甲基)[聯苯基] (式 XI 化合物)為市售。

#### 實施例 4A

【0497】 萘-1,5-二磺酸 - 丁基- (5S) - 5 - ( { 2 - [ 4 - ( 丁氧羰基 ) 苯基 ] 乙基 } [ 2 - ( 2 - { [ 3 - 氯 - 4 ' - ( 三氟甲基 ) [ 聯苯基 ] - 4 - 基 ] 甲氧基 } 苯基 ) 乙基 ] 胺基 ) - 5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸酯(1 : 1) 加成物



【0498】 在 3 L 燒瓶中，將 889.1 g (1.06 mol)的丁基-(5S)-5-({2-[4-(丁氧羰基)苯基]乙基}[2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)[聯苯基]-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基)-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸酯(油)溶解在 1850 mL 的四氫呋喃中。在室溫下添加 304.6 g (1.06 mol)的萘-1,5-二磺酸，將混合物攪拌直到其完全溶解。隨後用旋轉蒸發器在 40°C 下將溶液濃縮。在乾燥箱中在 40°C 下在氮氣流中以真空將殘留物(固體)乾燥至 1126.3 g。

【0499】 產量(.粗製產物)：1126.3g：理論產量的 94.4%

【0500】 鏡像異構物純度(HPLC 方法 B)：95.3% ee

【0501】 純度(面積)：81.8% (方法 N),  $R_t$  16.11 (BP-二酯))

#### 實施例 4B-4E

【0502】 以不同的酸形成丁基-(5S)-5-({2-[4-(丁氧羰基)苯基]乙基}[2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)[聯苯基]-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基)-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸酯的穩定鹽之試驗

#### 4B：(+)-二對甲苯醯基-D-酒石酸之添加

【0503】 在 50°C 之溫度下將 4 g (0.005 mol)的丁基-(5S)-5-({2-[4-(丁氧羰基)苯基]乙基}[2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)[聯苯基]-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基)-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸酯(油)逐漸地溶解在總量 75 mL 的甲醇中。添加 1.8 g (0.005 mol) (+)-二對甲苯醯基-D-酒石酸在 2.5 ml 甲醇中之溫溶液。最後將混合物攪拌整個週末。

【0504】 將不同的溶劑加至較小部分的反應混合物中以引發結晶。嘗試以下溶劑但沒有任何效果：MTBE、MIBK、二氯甲烷、甲苯。添加環己烷、正己烷和甲基環己烷的混合物後形成兩層。

【0505】 將幾滴反應混合物在錶玻璃上乾燥並將所得乾燥塊刮下及最後

在環己烷、正己烷和甲基環己烷的混合物中攪拌。所得固體熔化。

【0506】 用甲基環己烷分離固體。固體的 HPLC 分析顯示為酒石酸。

【0507】 將口加至另一部分反應混合物中後，固體分離。固體難以分離。

【0508】 將反應混合物除去 溶劑。獲得 3.1 g 的淡黃色泡沫晶體。

【0509】 將 31 mL 的甲基環己烷加至泡沫晶體並攪拌 4 小時。獲得 2.8 g 的淺黃色固體。

【0510】 未偵測到定義的鹽。

#### 4C：三氟乙酸 (=TFA)之添加

【0511】 將 0.21 g (0.2 mmol)的丁基- (5S) -5 - ({2- [4- (丁氧羰基) 苯基] 乙基} [2- (2 - {[3-氯- 4 '- (三氟甲基) [聯苯基] -4-基] 甲氧基} 苯基) 乙基] 胺基) -5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸酯(油)溶解在 2 mL 的乙腈中。添加 0.1 mL 的 TFA。形成橙色溶液。以真空蒸發溶劑以產生橙色油。

【0512】 沒有觀察到鹽的形成。

#### 4D：甲磺酸之添加

【0513】 將 0.26 g (0.3 mmol)的丁基- (5S) -5 - ({2- [4- (丁氧羰基) 苯基] 乙基} [2- (2 - {[3-氯- 4 '- (三氟甲基) [聯苯基] -4-基] 甲氧基} 苯基) 乙基] 胺基) -5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸酯(油)溶解在 1.5 mL 的二氯甲烷中。添加 20.1  $\mu$ l 的甲磺酸。形成橙色溶液。在室溫下攪拌 1 小時後沒有結晶。

【0514】 在 40°C 下以真空蒸發溶劑以產生黃色泡沫狀結晶。

【0515】 篩分幾種溶劑以引發結晶或純化。

【0516】 二氯甲烷，MIBK、MTBE、乙酸乙酯、丙酮、乙腈、二噁烷、正丁醇，甲醇、乙醇、四氫呋喃、甲苯導致在室溫下溶液。

【0517】 二異丙醚、水、二乙醚、環己烷導致黏性團塊。

【0518】 在室溫下在正己烷中進一步攪拌再次導致黏性團塊。

【0519】 無鹽可分離。

#### 4E：樟腦磺酸之添加

【0520】 將 0.29 g (0.34 mmol)的丁基- (5S) -5 - ({2- [4- (丁氧羰基) 苯基] 乙基} [2- (2 - {[3-氯- 4 '- (三氟甲基) [聯苯基] -4-基] 甲氧基} 苯基) 乙基] 胺基) -5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸酯(油)溶解在 1.5 mL 的二氯甲烷中。80.05  $\mu$ g 的樟腦磺酸添加。形成橙色溶液。

【0521】 在 40°C 下腑真空蒸發溶劑以產生黃色泡沫狀結晶。

【0522】 篩分幾種溶劑以引發結晶或純化。

【0523】 二氯甲烷，MIBK、乙酸乙酯、丙酮、乙腈、二噁烷、正丁醇，甲醇、乙醇、四氫呋喃、甲苯在室溫下導致溶液。

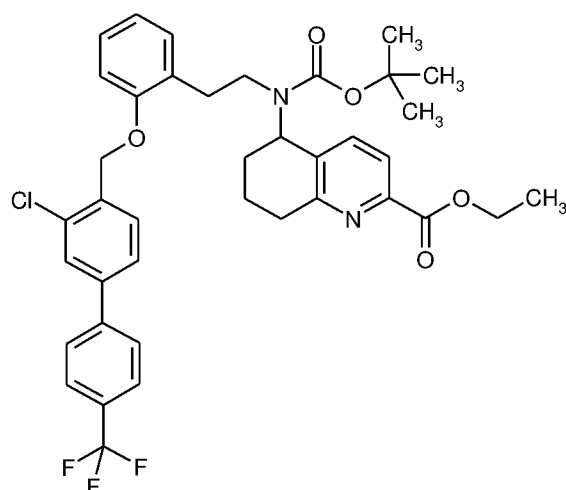
【0524】 MTBE 添加導致油滴形成。

【0525】 水、二異丙醚、二乙醚、環己烷和正庚烷都只提供黏性團塊。

【0526】 無鹽可分離。

#### 實施例 5A 和實施例 6A

【0527】 5-((三級-丁氧羰基)[2-(2-([3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基)苯基)乙基]胺基)-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸乙酯(鏡像異構物 1 和 2)



**【0528】** 將 15 g (21.42 mmol)的外消旋 5-{(三級-丁氧羰基)[2-(2-[[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸乙酯 (實施例 22A)藉由超臨界流體(SFC)用手性相分離成鏡像異構物[管柱：Chiralpak OD-H，20  $\mu\text{m}$ ，400 mm x 50 mm：動相：二氧化碳/異丙醇 70：30 (v/v)：流速：400 ml/min：壓力：80 巴：UV 偵測：220 nm：溫度：37°C]：

**實施例 5A (鏡像異構物 1)：**

**【0529】** 產量：5830 mg

**【0530】**  $R_t = 2.83 \text{ min}$ ：化學純度>99.9%：>99% ee

[管柱：Chiralpak OD-H，5  $\mu\text{m}$ ，250 mm x 4.6 mm：動相：二氧化碳/異丙醇 70：30 (v/v)：流速：3 ml/min：UV 偵測：210 nm]。

**實施例 6A (鏡像異構物 2)：**

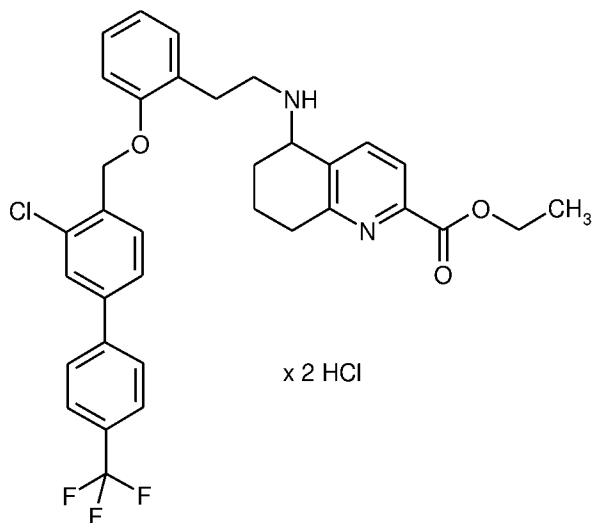
**【0531】** 產量：6330 mg

**【0532】**  $R_t = 5.30 \text{ min}$ ：化學純度>99%：>98% ee

[管柱：Chiralpak OD-H，5  $\mu\text{m}$ ，250 mm x 4.6 mm：動相：二氧化碳/異丙醇 70：30 (v/v)：流速：3 ml/min：UV 偵測：210 nm]。

## 實施例 7A

【0533】 5-{{2-(2-{{3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基}甲氧基}苯基)乙基}胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸乙酯 二鹽酸鹽 (鏡像異構物 1)

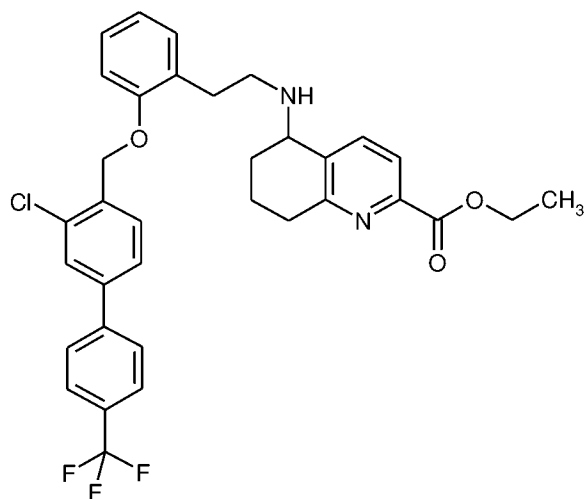


【0534】 將 3208 mL 的氯化氫在二噁烷中之 4 N 溶液，用另外 2240 mL 的二噁烷稀釋，加至 455 g (641.56 mmol) 的 5-{{(三級-丁氧羰基)[2-(2-{{3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基}甲氧基}苯基)乙基}胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸乙酯(鏡像異構物 1，實施例 1A)，並將混合物在室溫下攪拌過夜。接著將反應溶液濃縮至乾並將殘餘物在高真空下過夜乾燥。此產生 448.7 g (641.59 mmol，理論的約 100%) 的目標產物。

【0535】 LC-MS (方法 A) :  $R_t = 1.06 \text{ min}$  :  $m/z = 609/611 (M+H)^+$ 。

## 實施例 8A

【0536】 5-{{2-(2-{{3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基}甲氧基}苯基)乙基}胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲乙酸酯(鏡像異構物 1)



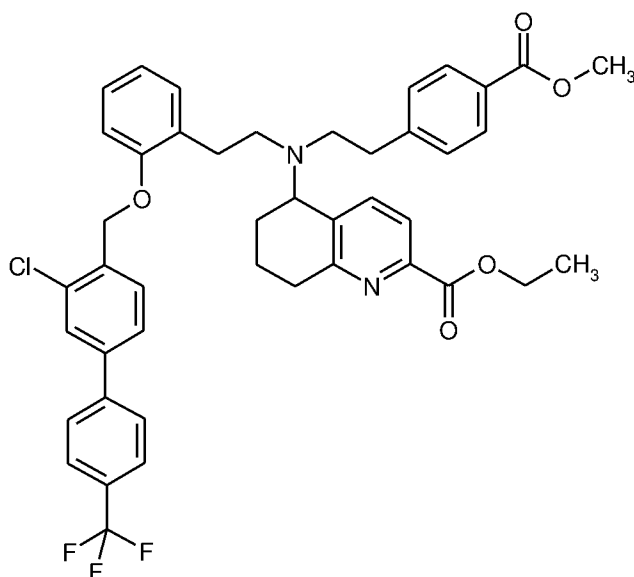
【0537】 將 448.7 g (641.59 mmol)的 5-([2-(2-[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基)-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸乙酯二鹽酸鹽(鏡像異構物 1, 實施例 3A) 溶解在 6869 mL 的 THF 中, 添加 268 mL 的三乙胺並將混合物在室溫下攪拌 1 h。接著將沉澱的氯化三乙銨晶體濾出和用 THF 洗滌。將獲得之濾液蒸發至乾。將殘餘物溶解在乙酸乙酯中, 用 10%濃度的氯化鈉水溶液洗滌兩次, 用硫酸鎂乾燥, 過濾和再次蒸發至乾。此產生 391 g (620.59 mmol, 理論的 97%)之目標化合物。

【0538】 LC-MS (方法 A) :  $R_t = 1.08 \text{ min}$  :  $m/z = 609/611 (M+H)^+$ 。

【0539】  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ,  $\delta/\text{ppm}$ ) : 1.27 (t, 3H), 1.57-1.72 (m, 2H), 1.76-1.87 (m,  $^1\text{H}$ ), 1.87-1.95 (m,  $^1\text{H}$ ), 1.95-2.07 (m,  $^1\text{H}$ ), 2.65-2.88 (m, 6H), 3.75 (br. s,  $^1\text{H}$ ), 4.28 (q, 2H), 5.19 (s, 2H), 6.92 (t,  $^1\text{H}$ ), 7.08 (d,  $^1\text{H}$ ), 7.16-7.26 (m, 2H), 7.65-7.77 (m, 3H), 7.84 (d, 3H), 7.89 (s,  $^1\text{H}$ ), 7.95 (d, 2H)。

## 實施例 9A

【0540】 5-([2-(2-[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基){2-[4-(甲氧羰基)苯基]乙基}胺基)-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸乙酯(鏡像異構物 1)



【0541】 將 378 g (620.59 mmol) 的 5-{{2-{{2-{{3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基}甲氧基}苯基)乙基}胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸乙酯(鏡像異構物 1, 實施例 4A)、360 g (1241.19 mmol) 的 4-(2-碘乙基)苯甲酸甲酯和 98.66 g (930.89 mmol) 的無水碳酸鈉在 8191 mL 的乾燥乙腈中之懸浮液在 110°C 之浴溫下攪拌過夜。接著添加另外 360 g (1241.19 mmol) g 的 4-(2-碘乙基)苯甲酸甲酯和 128.65 g (930.89 mmol) 的粉末碳酸鉀，並將混合物在回流下加熱另 72 h。反應混合物冷卻後，濾出無機鹽並將獲得之濾液蒸發至乾。將所得殘餘物溶解在乙酸乙酯中，用 10% 濃度的氯化鈉水溶液洗滌兩次，用硫酸鎂乾燥，過濾並接著再次蒸發至乾。將所得殘餘物分兩份用矽膠進行層析純化(9 kg)(動相：石油醚/乙酸乙酯 8 : 2 → 7 : 3)。此產生 397 g (551.32 mmol，理論的 89%) 之目標化合物。

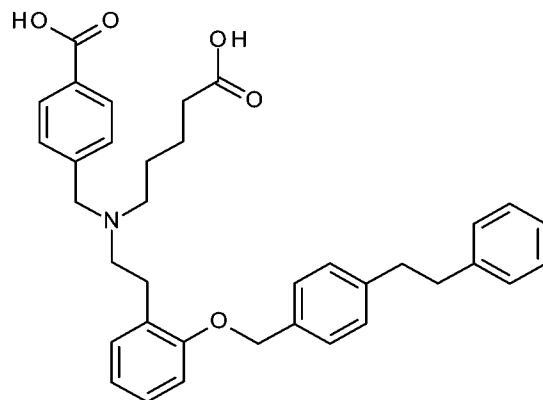
【0542】 LC-MS (方法 A) :  $R_t = 1.67 \text{ min}$  ;  $m/z = 771/773 (M+H)^+$  。

【0543】  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta/\text{ppm}$ ) : 1.27 (t, 3H), 1.37-1.52 (m,  $^1\text{H}$ ), 1.52-1.67 (m,  $^1\text{H}$ ), 1.85-1.96 (m,  $^1\text{H}$ ), 1.96-2.05 (m,  $^1\text{H}$ ), 2.56-2.80 (m, 10H), 3.81 (s, 3H), 3.97-4.09 (m,  $^1\text{H}$ ), 4.26 (q, 2H), 5.07 (m, 2H), 6.87 (t,  $^1\text{H}$ ), 7.01-7.16 (m, 4H), 7.23 (t,  $^1\text{H}$ ), 7.35-7.48 (m, 2H), 7.53 (d,  $^1\text{H}$ ), 7.61 (d,  $^1\text{H}$ ), 7.74 (d, 2H), 7.77-7.89 (m, 5H) 。

## 比較例

## 比較例 1 (西那西瓜(Cinaciguat))

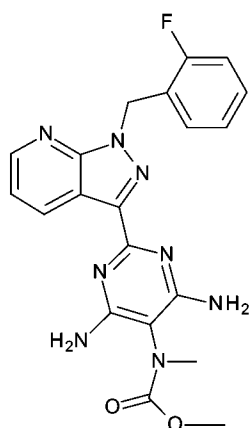
【0544】 4-(((4-羧丁基)-{2-[(4-苄乙基苯甲基)氧基]苯乙基}胺基)甲基)苯甲酸



【0545】 類似於實施例 8A 合成該化合物，WO 01/019780-A1。

## 比較例 2 里奧西瓜(Riociguat)

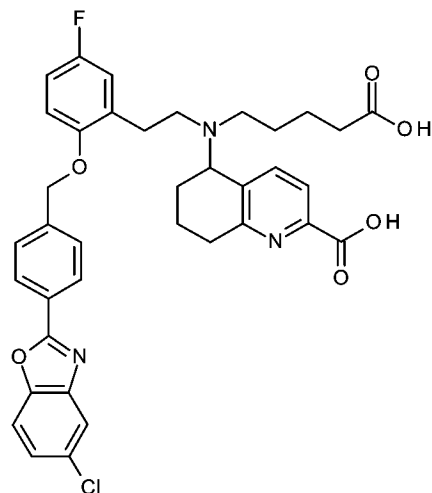
【0546】 甲基-4,6-二胺基-2-[1-(2-氟苯基)-<sup>1</sup>H-吡啶并[3,4-b]吡啶-3-基]-5-嘧啶基(甲基)胺甲酸酯



【0547】 類似於實施例 8 合成該化合物，WO 03/095451-A1。

## 比較例 3

【0548】 (5)-{(4-羧丁基)[2-(2-{[4-(5-氯-1,3-苯并呔唑-2-基)苯甲基]氧基}-5-氟苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸 (鏡像異構物 2)

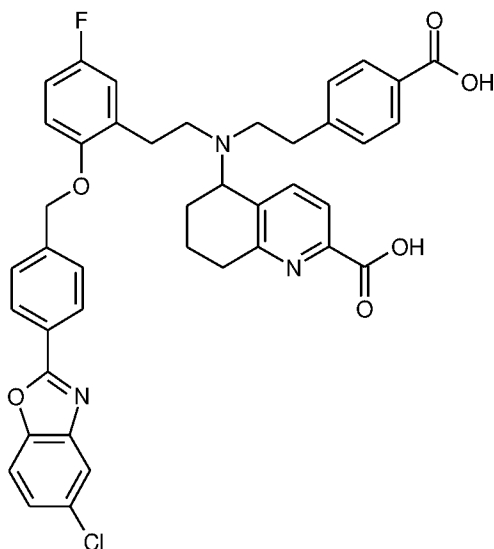


【0549】 類似於 WO 2014/012934-A1 實施例 37 合成該化合物。

【0550】 LC-MS (方法 A) :  $R_t = 1.10 \text{ min}$  :  $m/z = 672/674 (M+H)^+$ 。

#### 比較例 4

【0551】 5-{{2-(4-羧苯基)乙基}[2-(2-{[4-(5-氯-1,3-苯并呔唑-2-基)苯甲基]氧基}-5-氟苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸 (鏡像異構物 2)



【0552】 類似於 WO 2014/012934-A1 實施例 39 合成該化合物。

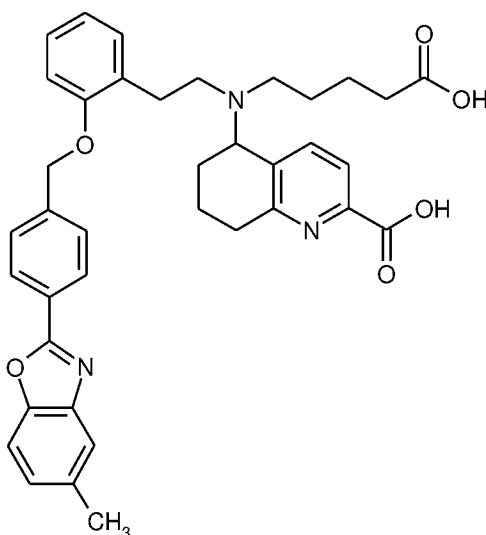
【0553】 LC-MS (方法 A) :  $R_t = 1.28 \text{ min}$  :  $m/z = 720/722 (M+H)^+$ 。

【0554】  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ) :  $\delta$  [ppm] = 1.40-1.72 (m, 2H), 1.88-2.11 (m, 2H), 2.59-2.84 (m, 10H), 4.02-4.13 (m,  $^1\text{H}$ ), 5.00-5.14 (m, 2H), 6.96 (d,  $^1\text{H}$ ), 7.02 (d, 2H), 7.13 (d, 2H), 7.41-7.57 (m, 5H), 7.75 (d, 2H), 7.83 (d,  $^1\text{H}$ ), 7.93 (d,  $^1\text{H}$ ), 8.11 (d, 2H), 12.05-13.41 (br. s, 約 2H)。

【0555】  $[\alpha]_{\text{D}20} = +58.77^\circ$ ,  $c = 0.405$ ,  $\text{DMSO}$ 。

### 比較例 5

【0556】 (+)-5-{(4-羧丁基)[2-(2-{[4-(5-甲基-1,3-苯并呋唑-2-基)苯甲基]氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸 (鏡像異構物 2)



【0557】 類似於 WO 2014/012934-A1 實施例 2 合成該化合物。

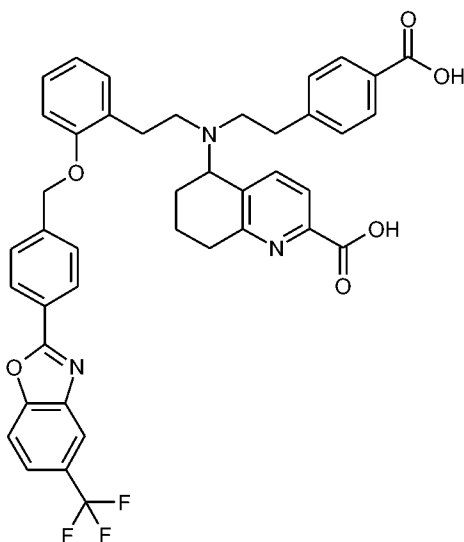
【0558】 LC-MS (方法 A) :  $R_t = 1.03$  min :  $m/z = 634$  ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ 。

【0559】  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ) :  $\delta$  [ppm] = 1.32-1.70 (m, 7H), 1.89-2.03 (m, 2H), 2.07-2.16 (m, 2H), 2.39-2.64 (m, 3H, 被 DMS 訊號部分遮蔽), 2.46 (s, 3H), 2.65-2.87 (m, 4H), 3.95-4.03 (m,  $^1\text{H}$ ), 5.08 (q, 2H), 6.87 (t,  $^1\text{H}$ ), 6.99 (d,  $^1\text{H}$ ), 7.13 (d,  $^1\text{H}$ ), 7.18 (t,  $^1\text{H}$ ), 7.25 (d,  $^1\text{H}$ ), 7.52 (d, 2H), 7.61 (s,  $^1\text{H}$ ), 7.67 (d, 2H), 7.85 (d,  $^1\text{H}$ ), 8.16 (d, 2H), 11.30-12.97 (br. s, 2H)。

【0560】  $[\alpha]_{\text{D}20} = +62.89^\circ$ ,  $c = 0.380$ , 甲醇。

## 比較例 6

【0561】 5-([2-(4-羧苯基)乙基]{2-[2-({4-[5-(三氟甲基)-1,3-苯并噁唑-2-基]苯甲基}氧基)苯基]乙基}胺基)-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸 (鏡像異構物 2)



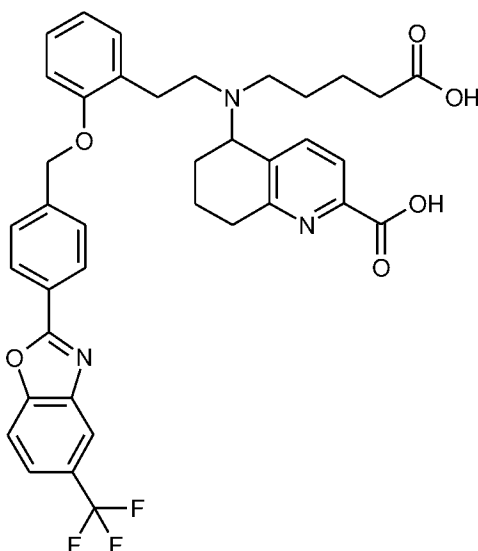
【0562】 類似於 WO 2014/012934-A1 實施例 24 合成該化合物。

【0563】 LC-MS (方法 A) :  $R_t = 1.32 \text{ min}$  :  $m/z = 736 (M+H)^+$ 。

【0564】  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) :  $\delta$  [ppm] = 1.41-1.55 (m,  $^1\text{H}$ ), 1.55-1.71 (m,  $^1\text{H}$ ), 1.88-2.10 (m, 2H), 2.58-2.89 (m, 10H), 4.01-4.14 (m,  $^1\text{H}$ ), 5.03-5.16 (m, 2H), 6.86 (t,  $^1\text{H}$ ), 6.99-7.10 (m, 2H), 7.14 (d, 2H), 7.21 (t,  $^1\text{H}$ ), 7.46 (d,  $^1\text{H}$ ), 7.49-7.60 (m, 3H), 7.72-7.86 (m, 3H), 8.03 (d,  $^1\text{H}$ ), 8.14 (d, 2H), 8.24 (s,  $^1\text{H}$ ), 12.01-13.42 (br. s, 約 2H)。

## 比較例 7

【0565】 5-([4-羧丁基]{2-[2-({4-[5-(三氟甲基)-1,3-苯并噁唑-2-基]苯甲基}氧基)苯基]乙基}胺基)-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸 (鏡像異構物 2)



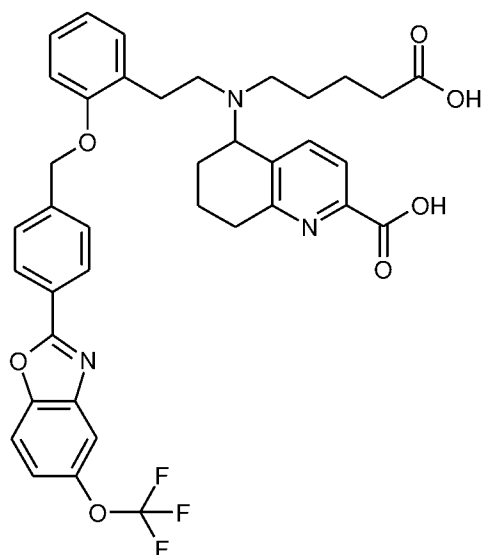
【0566】 類似於 WO 2014/012934-A1 實施例 25 合成該化合物。

【0567】 LC-MS (方法 A) :  $R_t = 1.07 \text{ min}$  :  $m/z = 688 (M+H)^+$ 。

【0568】  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) :  $\delta$  [ppm] = 1.30-1.71 (m, 6H), 1.90-2.04 (m, 2H), 2.07-2.18 (m, 2H), 2.39-2.65 (m, 4H, 被 DMS 訊號部分遮蔽), 2.65-2.91 (m, 4H), 3.87-4.07 (m,  $^1\text{H}$ ), 5.10 (q, 2H), 6.87 (t,  $^1\text{H}$ ), 7.00 (d,  $^1\text{H}$ ), 7.10-7.23 (m, 2H), 7.56 (d, 2H), 7.66 (d,  $^1\text{H}$ ), 7.85 (d, 2H), 8.04 (d,  $^1\text{H}$ ), 8.16-8.30 (m, 3H), 11.10-13.31 (br. s, 約 2H)。

### 比較例 8

【0569】 5-[(4-羧丁基){2-[2-({4-[5-(三氟甲氧基)-1,3-苯并噁唑-2-基]苯甲基}氧基)苯基]乙基}胺基]-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸 (鏡像異構物 2)



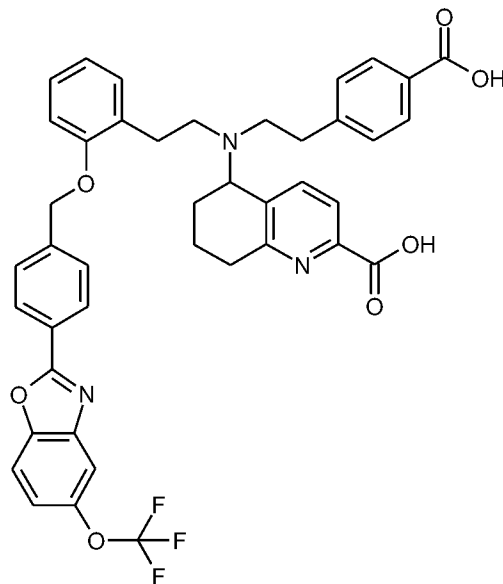
【0570】 類似於 WO 2014/012934-A1 實施例 28 合成該化合物。

【0571】 LC-MS (方法 A) :  $R_t = 1.09 \text{ min}$  :  $m/z = 704 (M+H)^+$ 。

【0572】  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) :  $\delta$  [ppm] = 1.32-1.71 (m, 6H), 1.88-2.05 (m, 2H), 2.07-2.17 (m, 2H), 2.39-2.64 (m, 4H, 被 DMS 訊號部分遮蔽), 2.64-2.88 (m, 4H), 3.93-4.05 (m,  $^1\text{H}$ ), 5.10 (q, 2H), 6.87 (t,  $^1\text{H}$ ), 6.99 (d,  $^1\text{H}$ ), 7.09-7.23 (m, 2H), 7.46 (dd,  $^1\text{H}$ ), 7.54 (d, 2H), 7.66 (d,  $^1\text{H}$ ), 7.85 (d,  $^1\text{H}$ ), 7.89-7.98 (m, 2H), 8.18 (d, 2H), 11.10-13.04 (br. s, 約 2H)。

## 比較例 9

【0573】 5-([2-(4-羧苯基)乙基]{2-[2-({4-[5-(三氟甲氧基)-1,3-苯并噁唑-2-基]苯甲基}氧基)苯基]乙基}胺基)-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸 (鏡像異構物 2)



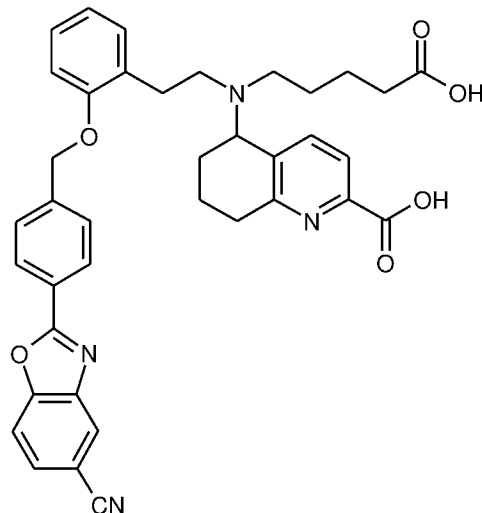
【0574】 類似於 WO 2014/012934-A1 實施例 29 合成該化合物。

【0575】 LC-MS (方法 A) :  $R_t = 1.34 \text{ min}$  :  $m/z = 752 (M+H)^+$ 。

【0576】  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) :  $\delta$  [ppm] = 1.42-1.55 (m,  $^1\text{H}$ ), 1.55-1.71 (m,  $^1\text{H}$ ), 1.88-2.11 (m, 2H), 2.59-2.87 (m, 10H), 3.99-4.13 (m,  $^1\text{H}$ ), 5.09 (q, 2H), 6.88 (t,  $^1\text{H}$ ), 6.98-7.09 (m, 2H), 7.15 (d, 2H), 7.20 (t,  $^1\text{H}$ ), 7.41-7.58 (m, 5H), 7.77 (d, 2H), 7.87-7.96 (m, 2H), 8.12 (d, 2H), 11.89-13.63 (br. s, 約 2H)。

### 比較例 10

【0577】 5-{(4-羧丁基)[2-(2-{[4-(5-氟基-1,3-苯并咪唑-2-基)苯甲基]氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸 (鏡像異構物 2)





重複洗滌。接著將固體溶解在 50 mL 的水中並在室溫下攪拌過夜。再次抽吸過濾後，將固體再用水洗滌並接著在高真空下於 40°C 乾燥過夜。以此方式，獲得 2300 mg (2.9 mmol, 93% 純度，含有未知量的單鈉鹽，具有相同的滯留時間) 的標題化合物。

【0583】 LC-MS (方法 A) :  $R_t = 1.37 \text{ min}$  :  $m/z = 729/731 (M+H)^+$ 。

【0584】  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) :  $\delta$  [ppm] = 1.38-1.71 (m, 2H), 1.84-2.08 (m, 2H), 2.59-2.84 (m, 10H), 3.97-4.11 (m,  $^1\text{H}$ ), 4.99-5.16 (m, 2H), 6.87 (t,  $^1\text{H}$ ), 7.05 (br. d, 2H), 7.12 (br. d, 2H), 7.23 (br. t,  $^1\text{H}$ ), 7.38-7.48 (m, 2H), 7.54 (d,  $^1\text{H}$ ), 7.62 (d,  $^1\text{H}$ ), 7.71-7.91 (m, 7H), 11.90-13.60 (br. s, 約 2H)。

【0585】 XRPD : 非晶相，參見圖 33

【0586】 經由 VCD 光譜法測定比較例 11 的絕對構型：

【0587】 振動圓偏光二色性(VCD)為確定手性分子絕對構型的既定方法(參見 United States Pharmacopeial Convention (USP) and The National Formulary (USP-NF), second suppl. USP-NF 34, chapters 782 and 1782, June 1, 2016 and Abs. config. by VCD, white paper BioTools, 2017)。

【0588】 涉及測定的步驟如下：

【0589】 1. 使用 DMSO 測量實驗 VCD 光譜。在 5.5 mg/0.15 ml 的濃度下測量實施例 1 樣品。

【0590】 2. 使用全始計算(ab initio calculation, 其使用 Gaussian09™ (市售套裝軟體))計算鏡像異構物中之一的 VCD。接著藉由反轉所有譜帶的符號或計算鏡像結構的 VCD 來獲得另一種鏡像異構物的 VCD 光譜。

【0591】 3. 最後步驟為比較實驗光譜與兩個計算光譜，以測定在符號和訊號強度之間產生最佳相關性的鏡像異構物。可使用 CompareVOA™ 軟體計算兩個該光譜之間重疊的可靠度。

【0592】 VCD 分光計 : ChirallR-2X w/ DualPEM

- 【0593】 濃度：5.5 mg/0.15 mL 的在 DMSO 中之實施例 1
- 【0594】 解析度：4 cm<sup>-1</sup>
- 【0595】 PEM 設定：1400 cm<sup>-1</sup>
- 【0596】 掃描次數/ 測量時間：20 小時
- 【0597】 樣品管：BaF<sub>2</sub>
- 【0598】 路徑長度：100 μm
- 【0599】 計算詳細資料：
- 【0600】 Gaussian 版本：Gaussian 09
- 【0601】 用於 Boltzman 和的總低能量構形異構物：92
- 【0602】 用於 DFT 計算的方法和基組：B3LYP/6-31G(d)
- 【0603】 計算之絕對組態：S
- 【0604】 基於 VCD 光譜的一致性，比較例 11 之絕對組態指定為(S)-鏡像異構物。指定的可靠度為 94%。

#### 比較例 11 之熱穩定性的測定：

【0605】 將 0.3 mg 的測試化合物(例如比較例 11)溶解在 0.1 ml 二甲亞砷和 0.4 ml 乙腈中。接著添加 1.0 ml 水。為了完全溶解，搖動 HPLC 小瓶並進行超音波處理。將此溶液立即以 HPLC 進行分析(在 t<sub>0</sub> 時作為參考)。將 0.3 mg 測試化合物稱入另一個 HPLC 小瓶中。將小瓶蓋上蓋子並在加熱塊中於 90°C 下的儲存 7 天。

【0606】 此時之後，打開小瓶的蓋子並將 0.1 ml 二甲亞砷和 0.4 ml 乙腈加至應激化合物中。接著添加 1.0ml 水。為了完全溶解，搖動 HPLC 小瓶並進行超音波處理。以 HPLC 分析樣品(1 週後的樣品)。以百分比表示的峰面積用於定量。以百分比表示的峰面積用於定量。

表 11：

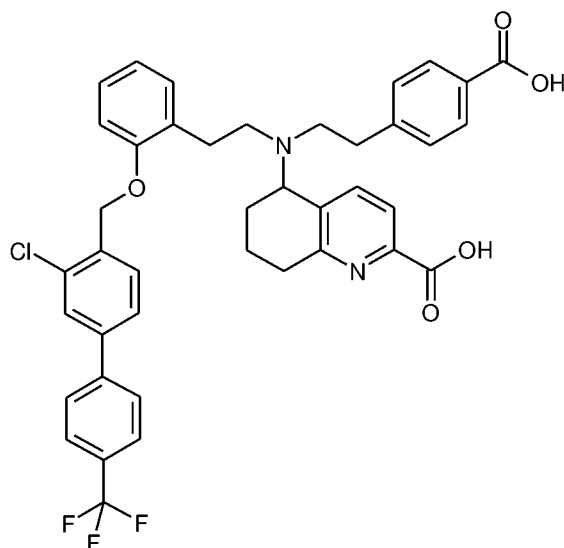
HPLC-方法								
溶析液：	A= 5ml HClO <sub>4</sub> /L 水			梯度：	時間	%B	流量	
	B= ACN				(min.)		(mL/min.)	
管柱：	Nucleodur 100 C18ec 3 $\mu$ m					0,00	2,0	0,750
	50*2mm							
溫度：	30	°C				1,00	2,0	0,750
UV WL.：	210	nm				9,00	98,0	0,750
HPLC 流量：	0,750	mL/min.				13,00	98,0	0,750
						13,50	2,0	0,750
						15,00	2,0	0,750

【0607】 發現比較例 11 在測試期間是穩定的。

【0608】 此外，O 14/012934-A1 中揭示的幾個實施例僅顯示有限的熱穩定性(在 90°C 下，7 天)：例如實施例 2 (比較例 5，實驗部分)、24 (比較例 6，實驗部分)、25 (比較例 7，實驗部分)、28 (比較例 8，實驗部分)、29 (比較例 9，實驗部分) 和例如 31 (比較例 10，實驗部分)。

## 比較例 12

【0609】 (5R)-5-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)[聯苯基]-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸 (鏡像異構物 1)



【0610】 將 291 g (377.29 mmol)的乙基 5-([2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]{2-[4-(甲氧羰基)苯基]乙基}胺基)-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸酯(鏡像異構物 1，實施例 5A)溶解在 3000 mL 的二噁烷中，添加 1132 mL 的 1 N 氫氧化鈉水溶液並接著將混合物在室溫下攪拌過夜。反應已經完成後，用旋轉蒸發器移除二噁烷並將殘餘混合物用約 6000 mL 的水稀釋。接著使用乙酸將混合物酸化至 pH 4-5。以抽吸濾出沉澱的固體並用水(總共約 3000 mL 的水)重複洗滌。接著將固體在高真空下於室溫使用乾燥劑五氧化二磷。乾燥 3 d。接著將乾燥劑移並將固體在 40°C 下乾燥另外 48 h。以此方式，獲得 249 g (342.15 mmol，91%理論的)的標題化合物。

【0611】 LC-MS (方法 A) :  $R_t = 1.33 \text{ min}$  :  $m/z = 729/731 (M+H)^+$ 。

【0612】  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) :  $\delta$  [ppm] = 1.37-1.66 (m, 2H), 1.84-2.05 (m, 2H), 2.56-2.81 (m, 10H), 3.98-4.08 (m,  $^1\text{H}$ ), 5.01-5.14 (m, 2H), 6.87 (t,  $^1\text{H}$ ), 7.05 (d, 2H), 7.12 (d, 2H), 7.23 (t,  $^1\text{H}$ ), 7.39-7.47 (m, 2H), 7.54 (d,  $^1\text{H}$ ), 7.62 (d,  $^1\text{H}$ ), 7.71-7.90 (m, 7H), 11.60-13.85 (br. s, 約 2H)。

【0613】 作為比較例 11，絕對組態被確定為(5S)，比較例 12 的對應絕對組態應為相反的，即(5R)。

### 比較例 13

【0614】 (5R)-5-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)[聯苯基]-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸單鈉(鏡像異構物 1)

【0615】 將 60 g 非晶形 (5R)-5-([2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)[聯苯基]-4-基]甲氧基}苯基)乙基]{2-[4-(甲氧羰基)苯基]乙基}胺基)-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸酯(比較例 12)和 800g 丙酮裝入容器中。將容器加熱至回流溫度。在回流溫度下形成的固體在冷卻至室溫後過濾。

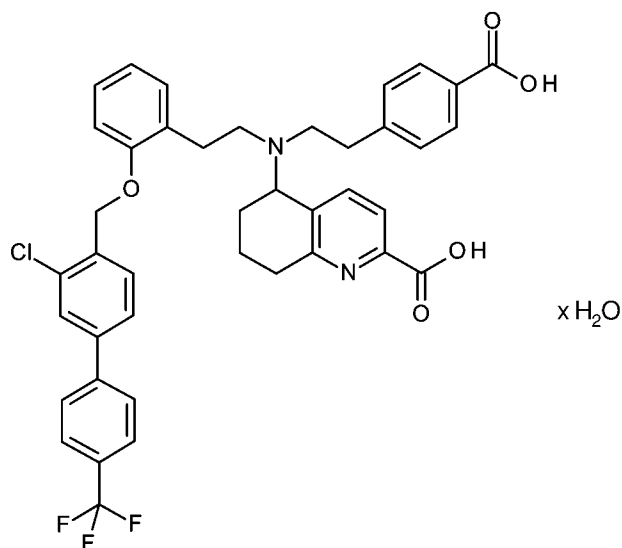
【0616】 產量：8 g 的乾燥產物，13% o. th。

【0617】 鏡像異構物純度(HPLC 方法 C)：100% ee

【0618】 (ICP)：鈉含量：3,1% 鈉

#### 比較例 14

【0619】 (5R)-5-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)[聯苯基]-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸單水合物 II (鏡像異構物 1)



【0620】 將 174.2 g 比較例 12 與 2003.3 g 丙酮在回流下攪拌。將混合物冷卻至 20°C 並濾出不溶固體(19.5 g 乾燥後)。將 273g 丙酮加至濾液，將其加熱至 57°C 並添加 1101.4 g 水和 0.4 g 單水合物 II 之 R 鏡像異構物(從類似於本程序的

小規模預實驗製備)的晶種。添加另外 1101.4 g 水並將其室溫下攪拌過夜。將產物濾出並在 55°C 下以真空(30 毫巴)乾燥至 143.8 g。

【0621】 從 21.0g 根據相同程序製備的比較例 12 中獲得另外 20.3g。

【0622】 合併固體至 164.1g，將 161.0g 的此等固體在與 1993.0 g 丙酮在回流下攪拌。在此溫度下，添加 930.0 g 水和 0.8 g 單水合物 II 之 R 鏡像異構物(從類似於本程序的小規模預實驗製備)的晶種，並將其冷卻至 50°C。添加其他 200.0g 水和 400.0g 丙酮以改良可攪拌性。將其在 50°C 下攪拌 1 h，添加 1263.0 g 水，將其攪拌 30min，在 2h 內冷卻至 20°C 和在室溫下攪拌過夜。將產物濾出和在 55°C 下以真空(30 毫巴)乾燥至 154.4 g。

【0623】 將一部分固體(95.0 g)在 40°C 溶解在 916.7g 的丙酮中，冷卻至室溫並將溶液過濾澄清。添加 170.1 g 的水，30 min 後添加單水合物 II 的 R 鏡像異構物(從類似於本程序的小規模預實驗製備)之晶種並將其攪拌過夜。將稀懸浮液加熱至 50°C，將所得溶液冷卻至室溫，接種單水合物 II 之 R 鏡像異構物(從類似於本程序的小規模預實驗製備)的晶種並攪拌過夜。濾出固體，用 76.0g 丙酮和 19.0g 水(8：2)的混合物洗滌並吸乾至 68.4g。

【0624】 將濾液在 40°C/250 至 15 毫巴下濃縮並濾出沉澱的固體。在 55°C 下將 28.2 g 固體溶解在 157.2 g 丙酮水混合物(9：1 w/w)中，冷卻至 15°C。添加 10 g 水後，用單水合物之 R 鏡像異構物(從類似於本程序的小規模預實驗製備)之晶種接種，並在 15°C 下攪拌過夜。將懸浮液加熱至 50°C，攪拌 30 分鐘並在 4 h 內冷卻至 20°C。在 1 h 內再次加熱至 50°C，在 4.5 小時內冷卻至 15°C，並在 15°C 下攪拌過夜。將固體濾出，用 28 g 丙酮水(8：2 w/w)混合物洗滌並抽乾至 20.6 g。

【0625】 將固體合併至 87.0 g 之目標化合物。

【0626】 鏡像異構物純度(HPLC 方法 C)：99.8%ee

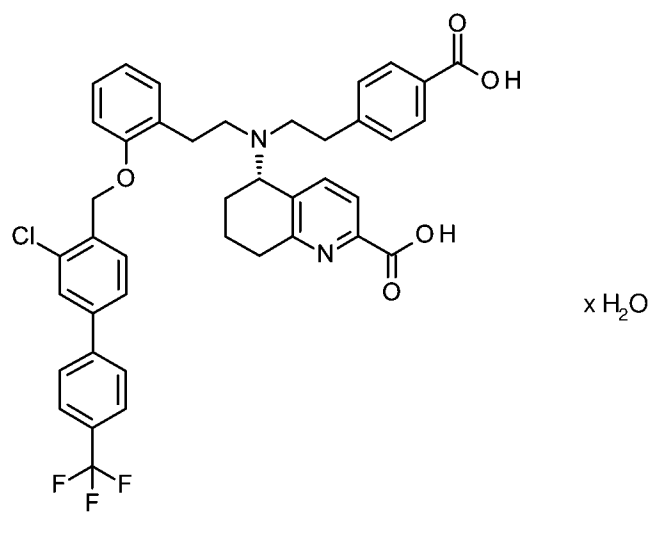
【0627】 純度(方法 M, area)：99.7%，Rf 9.33 min

【0628】 XRPD：單水合物 II

## 實施例

## 實施例 1

【0629】 (5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸單水合物 II (晶種)



【0630】 將 2.0 g 的式(I)之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸(類似於比較例 11 製造)溶解在 16.2 g 丙酮和 1.8 g 水 (8 : 1 混合物)中，添加更多 1.8 g 的水。將透明溶液攪拌過夜並在 1.5 h 後結晶開始。以抽吸濾出固體，用 2 g 的丙酮 / 水 (8 : 2) 洗滌和在 60°C 下以真空用氮氣乾燥過夜：

【0631】 產量：1.5 g 的白色固體，理論的 75%

【0632】 XRPD：單水合物 II，X 射線粉末繞射圖係顯示於圖 34 中

反射(峰最大值)[° 2θ]
5.7
6.1
7.1
8.5

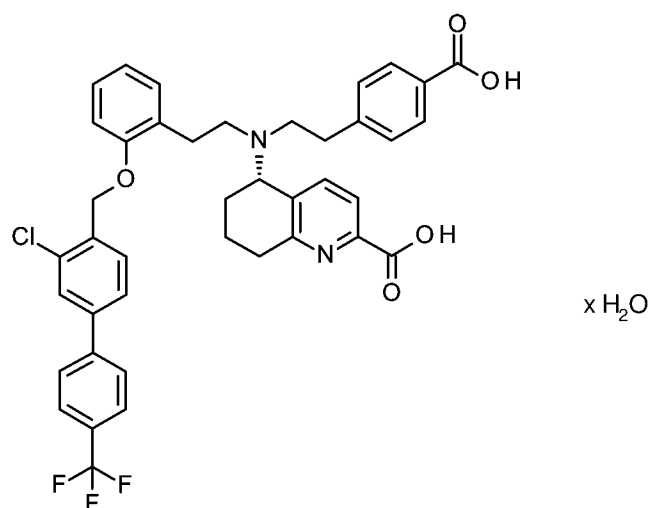
9.4
9.9
10.2
10.8
11.4
11.6
11.7
12.2
12.7
13.0
13.9
14.2
14.5
15.1
15.3
15.7
15.9
16.1
16.4
17.1
17.3
17.7
17.9
18.3
18.5

18.7
19.1
19.7
19.8
20.2
20.4
20.8
21.1
21.2
21.6
22.0
22.3
22.8
23.0
23.4
23.8
24.2
24.4
24.4
25.1
25.5
26.2
26.4
27.1
27.4

27.7
28.0
28.5
28.9
29.2
29.5
29.7
30.0
30.4
30.6
31.2
31.6
32.2
32.4
32.8

## 實施例 2

【0633】 (5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，呈單水合物 II (路徑 3，從丙酮、甲醇和水結晶)



【0634】 將 1067 g 的四氫呋喃放置在 6 L 玻璃攪拌設備和分批添加 333 g (0.396 mol)的萘-1,5-二磺酸 - (5S) -5 - ({2- [4- (丁氧羰基) 苯基] 乙基} [2- (2 - {[3- 氯-4'-(三氟甲基)[聯苯基]-4-基]甲氧基} 苯基)乙基]胺基)-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸丁酯(1 : 1)加成物(實施例 4A)並攪拌。在 20°C 至 25°C 下添加 1335 mL 的水並接著氨水(27%)直至達到 7.8 至 8.2 之 pH(大約 46 g)。添加 1440 g 的二異丙醚，分離出水相，將有機相再次用 1335ml 的水/1ml 的 27%氨水洗滌，並接著用 1335 mL 的水洗滌。將有機相通過覆蓋有 200 g 硫酸鈉(無水)的 Seitz 濾板過濾，將其用 200 g 二異丙醚沖洗並將濾液在 40°C 下以真空濃縮以產生 267 g 蒸發殘餘物。

【0635】 將蒸發後的殘餘物溶解在 848g 的二噁烷中，添加 1583g 的 1N 氫氧化鈉溶液並將混合物在 60°C 下攪拌 5.5h。接著在 20°C 下添加 1480 g 乙酸乙酯並分離出產物水相(二鈉鹽溶液)，用 1480 g 的乙酸乙酯洗滌並在最高 40°C 下以真空蒸餾出殘餘的乙酸乙酯。將殘餘物用 2500 g 的水稀釋並將一部分二鈉鹽溶液 (1178g)滴加至 1095 g 的四氫呋喃和 137 g 的 10%鹽酸之混合物中，直至達到 4.0 之 pH。

【0636】 二鈉鹽溶液的消耗量與提交的鹽酸量有關並計算用於轉化其他部分量的鹽酸量。將第二份二鈉鹽溶液(1789 g)滴加至計算量的四氫呋喃(1789 g)和 10% 濃度的鹽酸(208 g)中，直至達到 4.0 之 pH。

【0637】 將第三份二鈉鹽溶液(1510 g)滴加至計算量的四氫呋喃(1505 g)和 10%濃度的鹽酸(175 g)中，直至達到 4.0 之 pH。

【0638】 將合併的有機相在最高 40°C 下以的真空濃縮，直到無溶劑的水在回流冷凝器上冷凝。以抽吸濾出沉澱的固體並用 750 g 的水洗滌。

【0639】 使用相同的程序，根據上述程序將第二和第三部分各 333 g 的萘-1,5-二磺酸酸 丁基- (5S)-5 - ({2- [4- (丁氧羰基) 苯基] 乙基} [2- (2 - {[3-氯-4'- (三氟甲基) [聯苯基] -4-基] 甲氧基} 苯基) 乙基] 胺基) -5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸酯(1 : 1)加成物(實施例 4A)進行轉換。

【0640】 將合併的潮濕產物在 60°C 下在氮氣流中在真空下乾燥，以產生 587 g(理論值的約 91%)的式 I 之目標化合物。

【0641】 結晶：

【0642】 將固體(587 g)與 3674 g 的丙酮和 470 g 的水之混合物一起加熱至 50°C。將所得溶液通過 Seitz 濾板過濾並加熱至 40°C。將濾液與 1.5 g 的(5S)-5- {[2- (4-羧苯基) 乙基] [2- (2 - {[3-氯-4'- (三氟甲基) [聯苯基] -4-基] 甲氧基} 苯基) 乙基] 胺基} -5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸單水合物 II (實施例 1)之晶種混合，在 2 h 內冷卻至 20 °C，攪拌 0.5 h 並在 2 h 內再次加熱至 50°C。將混合物攪拌 0.5 h，在 3h 內冷卻至 20°C，攪拌 0.5 h 並在 2 h 過程中再次加熱至 50°C。在 3h 內將其冷卻至 20°C，攪拌 0.5 h 並以抽吸濾出固體。用 800 g 丙酮和 90 g 水的混合物洗滌潮濕的產物，並在 25°C 和氮氣流中在真空下乾燥至之恆重 361 g 之恆重。

【0643】 收到的產物之品質及修改的製程中控制不符合要求。因此，再次再結晶。

【0644】 將固體(361 g)與 1949 g 的丙酮和 217 g 的水之混合物一起加熱至 50°C。將所得溶液通過 Seitz 濾板過濾並加熱至 50°C。將其與 1.5 g 的(5S)-5- {[2- (4-羧苯基) 乙基] [2- (2 - {[3-氯-4'- (三氟甲基) [聯苯基] -4-基] 甲氧基} 苯基) 乙基] 胺基} -5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸單水合物 II (實施例 1)之晶種混合，在 3 h 內冷卻

至 20°C，攪拌 0.5 h 並在 3h 內再次加熱至 50°C。將混合物攪拌 0.5 h，在 3h 內冷卻至 20°C，攪拌 0.5 h 並在 3 h 過程中再次加熱至 50°C 並攪拌 0.5 h。在 3h 內將其冷卻至 20°C，攪拌 0.5 h 並以抽吸濾出固體。將潮濕的產物在 25°C 在氮氣流中在真空下乾燥至 271 g 之恆重。

【0645】 過程中控制證實足夠的品質，但未獲得的產物所需的修改。因此，再次再結晶。

【0646】 將固體(271 g)與 1668 g 的丙酮和 75 g 的水之混合物一起加熱至 50°C。將所得溶液通過 Seitz 濾板過濾並加熱至 50°C。將其冷卻至 45°C，1.5 g 的 (5S)-5- {[2- (4-羥苯基) 乙基] [2- (2 - {[3-氯-4' - (三氟甲基) [聯苯基] -4-基] 甲氧基} 苯基) 乙基] 胺基} -5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸單水合物 II (實施例 1) 之晶種，在 3 h 內冷卻至 20°C，攪拌 0.5 h 並在 1 h 內加熱至 40°C。將懸浮液攪拌 0.5 h，在 3 小時內冷卻至 20°C 並攪拌，並以抽吸濾出固體。將潮濕的產物在 25°C 在氮氣流中在真空下乾燥恆重。

【0647】 製程中控制證實產物之品質及修改按照要求。

【0648】 產量：117 g 單水合物 II：18% 的理論產量。

【0649】 鏡像異構物純度(HPLC 方法 C)：99.6% ee

【0650】 純度(面積)：99.8% (方法 M, R<sub>t</sub> 9.33 min)

【0651】 XRPD：單水合物 II，X 射線粉末繞射圖係顯示於圖 35 中

【0652】 微粉化後：

【0653】 鏡像異構物純度(HPLC 方法 C)：100.0% ee

【0654】 純度(面積)：99.7% (方法 M, R<sub>t</sub> 9.35 min)

【0655】 XRPD：具有部分非晶化之單水合物 II，X 射線粉末繞射圖係顯示於圖 36 中

【0656】 微粉化前之單水合物 II：參見圖 35

反射(峰最)

大值)[° 2θ]
5.7
6.1
6.3
7.1
8.5
9.9
10.1
10.2
10.8
11.4
11.6
11.8
12.2
12.7
13.0
13.9
14.3
14.5
15.1
15.3
15.7
15.9
16.2
16.4

17.1
17.3
17.7
17.9
18.3
18.5
18.8
19.2
19.8
20.3
20.5
20.8
21.1
21.3
21.6
22.0
22.4
22.8
23.1
23.3
23.5
23.8
24.2
24.5
25.1

25.4
25.6
26.2
26.4
26.7
27.1
27.4
27.7
28.1
28.3
28.5
28.9
29.2
29.5
29.8
30.0
30.6
30.7
31.2
31.7
32.2
32.4
32.8
34.8
35.3

36.3

【0657】 微粉化後之單水合物 II(部分非晶化)，圖 36

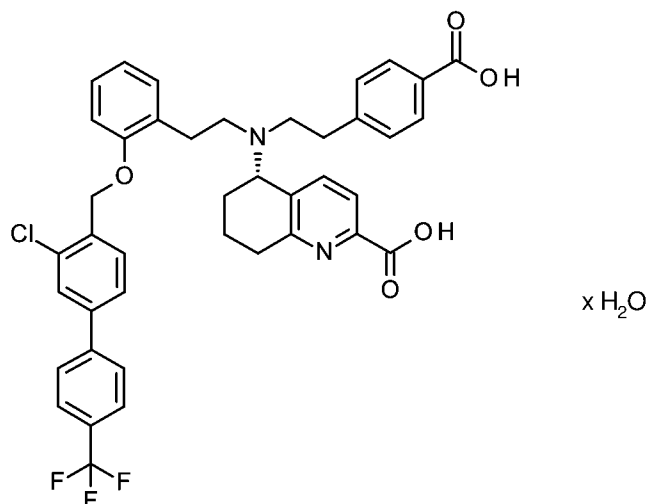
反射(峰最大值)[° 2θ]
5.7
6.1
7.1
8.5
9.9
10.1
10.8
11.5
11.6
12.2
12.7
13.0
13.9
14.2
15.2
15.3
15.7
16.4
17.2

17.3
17.7
18.0
18.3
18.5
18.8
19.1
19.8
20.2
20.8
21.1
21.3
21.6
22.1
22.4
23.1
23.4
23.5
23.9
24.3
24.5
25.2
25.4
25.6
26.3

27.1
27.5
28.9
29.5
30.6
32.4

## 實施例 3

【0658】 (5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸單水合物 I(晶種)



【0659】 將 2.0 g 式(I)之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸(製造類似於比較例 11)溶解在 8.1 g 的甲醇和 1.8 g 的水中，添加 8.1 g 的丙酮和另外 1.8 g 的水。將其攪拌過夜。以抽吸濾出固體，用 2 g 的丙酮 / 水 (8 : 2)洗滌和在 60°C下以真空用氮氣乾燥過夜。

【0660】 產量：1.8 g 的白色固體，理論的 90%。

【0661】 鏡像異構物純度(HPLC 方法 C)：92.0% ee

【0662】 純度(面積)：97.3% (方法 M,  $R_t$  8.94 min)

【0663】 XRPD：單水合物 I，參見圖 37

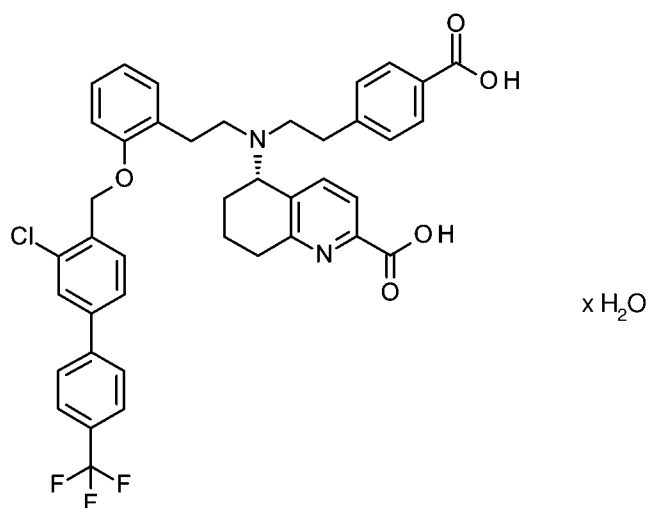
反射 (峰最大值)[° 2θ]
5.7
7.1
9.9
10.2

10.7
11.4
12.2
12.8
14.0
15.1
15.6
15.9
17.2
17.7
19.2
19.5
19.8
20.2
20.3
20.7
21.0
22.2
22.9
23.4
23.8
24.2
24.5
25.0
25.7

26.0
26.4
28.8
29.1
30.5
32.1

#### 實施例 4

【0664】 (5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基) 聯苯-4-基]甲氧基} 苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸呈單水合物 I



【0665】 從 NSA 鹽釋放二丁酯：

【0666】 將 800 g 的四氫喹啉放置在 6 L 玻璃攪拌設備及分批添加 250 g (0.30 mol)的萘-1,5-二磺酸 - 丁基- (5S) -5 - ({2- [4- (丁氧羰基) 苯基] 乙基} [2- (2- {3-氯-4'-(三氟甲基) [聯苯基] -4-基] 甲氧基} 苯基) 乙基] 胺基) -5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸酯(1 : 1) (實施例 4A)並攪拌。在 20°C至 25°C下添加 1 L 的水並接著 27% 氨水，直至達到 7.8 至 8.2 之 pH (大約 27 g)。添加 1080 g 的二異丙醚。分離出有機相，將有機相再次用 1 L 的水/0.8 mL 的 27% 氨水萃取，並接著 1 L 的水洗滌。

將有機相通過覆蓋有 150 g 硫酸鈉(無水)的 Seitz 濾板過濾，將其用 150 g 二異丙醚沖洗並將濾液在 40°C 下以真空濃縮以產生 192 g 蒸發殘餘物。

【0667】 二丁酯的基皂化：

【0668】 將蒸發殘餘物溶解在 610 g 的四氫呋喃中，添加 1139 g 的 1N 氫氧化鈉溶液並將混合物在 60°C 下攪拌 24 h。接著在 20°C 下添加 875 g 的乙酸乙酯，分離出產物水相(二鈉鹽溶液)，並在最高 40°C 下以真空蒸餾出殘餘的乙酸乙酯。

【0669】 式 I 之游離酸的形成：

【0670】 將殘餘物用 1875 g 的水稀釋，通過 Seitz 濾板過濾並將一部分二鈉鹽溶液(835 g)滴加至 821 g 的四氫呋喃和 103 g 的 10% 鹽酸之混合物中，直至達到 4.0 之 pH。添加 174 g 氯化鈉和 420 g 四氫呋喃並分離出有機產物相。

【0671】 二鈉鹽溶液的消耗量與提交的鹽酸量有關並計算用於轉化其他部分量的鹽酸量。將第二份二鈉鹽溶液(2000 g)滴加至計算量的四氫呋喃(2116 g)和 10% 濃度的鹽酸(246 g)中，直至達到 4.0 之 pH。添加 174g 氯化鈉和 420g 四氫呋喃並分離出有機產物相。合併的水相中添加 261g 氯化鈉和 1043g 四氫呋喃並分離出有機產物相。將合併的有機相在最高 40°C 下以真空濃縮至 800 ml 之殘餘體積。

【0672】 結晶：

【0673】 在 20°C 下滴加 184 g 的四氫呋喃及 646 g 的甲醇和 291 g 的水之混合物並攪拌。將其與 0.8 g 的(5S)-5 - {[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2 - {[3-氯-4'-(三氟甲基)[聯苯基]-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基} -5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸單水合物 I (實施例 3)混合並攪拌 12 h。將固體分離並用 112 g 的甲醇和 112 g 的水的混合物洗滌。接著在 20°C 下以真空將固體乾燥至 127 g。使用相同的程序製備 128 g 的第二部分。

【0674】 將合併的固體與 1020 g 丙酮和 1020 g 甲醇的混合物加熱至 50°C，並冷卻至 20°C。將所得溶液通過 Seitz 過濾板過濾，加熱至 50°C 並為期 30 分鐘

滴加 460 g 水。將其接種 1.5 g 的 f 單水合物 I (實施例 3) 之晶種，攪拌 30 min，在至少 30 min 內冷卻至 20°C 並以抽吸濾出固體。將潮濕的產物與 2550g 水一起攪拌 12 小時，接著以抽吸濾出並用 510 g 的水洗滌兩次。將潮濕的產物在 20°C 在氮氣流中在真空下乾燥恆重。

【0675】 產量：230 g 單水合物 I，(I-M-I)：71% o. Th.

【0676】 純度(面積)：96.0% (方法 M， $R_t$  8.94 min)

【0677】 鏡像異構物純度(HPLC 方法 C)：99.3% ee

【0678】 XRPD：單水合物形式 I：參見圖 38

反射(峰最大值)[° 2 $\theta$ ]
5.7
6.9
7.2
7.4
9.9
10.7
11.1
11.5
12.0
12.2
12.4
12.8
13.7
14.1
14.3

15.2
15.6
16.0
16.9
17.2
17.5
17.7
18.0
18.4
18.8
19.1
19.9
20.3
20.5
20.7
20.9
21.3
21.9
22.2
22.5
23.0
23.2
23.4
23.7
24.1

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

### 實施例 5

【0679】 (5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基) 聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸呈單水合物 I

【0680】 在惰性化 2L 反應器中，將(5S)-5-({2-[4-(丁氧羰基) 苯基] 乙基}[2-(2-經苯基) 乙基] 胺基)-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸丁酯(實施例 2A，WO2021/233783)在 T 護套 = 22°C 下(50.8 g，1.0 eq.)溶解在乙腈(380 mL)中。在 T 護套 = 50°C 和 120 毫巴下蒸餾溶液。接著再次添加乙腈(380 ml)並在相同條件下再次蒸餾混合物。將乙腈(660mL)加至溶液中並攪拌 5 min。接著添加 4-(溴甲基)-3-氯-4'-(三氟甲基)[聯苯基](聯芳基苯甲基溴)(53.5 g，1.2 eq.)並將混合物再次攪拌 5 min 直到將其溶解。接著添加碳酸鈉(83.1 g，2.0 eq.)並將混合物攪拌 4 小時。將

碳酸銫 (20.8 g, 0.5 eq.)再次加至懸浮液並將混合物攪拌 1 h。產物懸浮液藉由過濾澄清，濾餅在釜上用乙腈(110mL)洗滌一次。丟棄掉濾餅。

【0681】 將有機反應溶液在惰性化 2L 反應器中在 90 毫巴和 T 護套 = 45°C 下濃縮直到，直到餾出物乾涸。當 T 內部 = 23°C 時，添加 THF(425 mL)。將溶液在 150 毫巴和 T 護套 = 45°C 下濃縮直到直到餾出物乾涸。將 THF (425 mL)和 4% NaOH(680 mL)加至溶液中。將乳液加熱至 T 內部 = 60°C 並再攪拌 20 小時。

【0682】 將溶液冷卻至 T 內部 = 23°C 及添加去離子水(800 ml)和乙酸乙酯 (435 ml)並將混合物攪拌 15 min。分離各相。丟棄有機相並用乙酸乙酯(435 mL)萃取水相。丟棄有機相並將水相在 140-160 毫巴和 T 護套 = 45-40°C 下蒸餾至 T 內部 = 360。以過濾澄清產物溶液，將濾餅用去離子水(80mL)洗滌一次。丟棄掉殘餘物。

【0683】 滴定產物溶液。為此，將 25% HCl、去離子水和 THF 放入惰性化 4 升反應器中。在 T 內部 = 20°C ± 5°C 下添加有機產物溶液直至 pH 3.8 - 4.2。接著添加 THF (360 mL)和氯化鈉(471 g)並將混合物攪拌 30 min。分離各相並用 THF(450mL)萃取水相。丟棄水相並使有機相結晶。為此，將其在 200 毫巴和  $\Delta T = 30^\circ\text{C}$  下濃縮至集水槽質量。接著添加 THF 並在相同條件下將混合物再次蒸餾至理論產率的 4 倍。在 T 內部 = 22°C 下，計量加入去離子水(49 mL)和甲醇(144 ml)的混合物，接種並攪拌 15 min。進一步計量加入去離子水(113ml)和甲醇(335mL)的混合物並將混合物攪拌過夜。將懸浮液過濾並將產物在釜上用去離子水和甲醇 (1:1)的混合物洗滌一次。接著將其在 40-50°C 和 40 - 30 毫巴下乾燥。

【0684】 產量：23.4 g，理論的 67%

【0685】 純度(面積)：99.3% (新方法 M，R<sub>t</sub> 6.28)

【0686】 XRPD：單水合物 I，參見圖 39

## 實施例 6

【0687】 調查式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸的晶形 / 多晶形之研究

### 實施例 6a

【0688】 (5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸半水合物

【0689】 將 2.9 g (5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸單水合物 I (製備的材料類似於實施例 3 / 4)懸浮在 20 mL 的丙酮中。將懸浮液在周圍條件下攪拌三天。過濾殘餘物並將所得固體在周圍條件下乾燥。

【0690】 水含量：1.5 % 水

【0691】 拉曼：參見表 13，參見圖 12

【0692】 IR：參見表 14，參見圖 19

【0693】 XRPD：參見表 12，參見圖 5

### 實施例 6b

【0694】 (5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸單水合物 I

【0695】 類似於實施例 3 製備目標化合物(單水合物 I)。

【0696】 水含量：3.9%水，乾燥前和 2.4 % 水，乾燥後

【0697】 拉曼：參見表 13，參見圖 13

【0698】 IR：參見表 14，參見圖 20

【0699】 XRPD：參見表 12，參見圖 6

### 實施例 6c

【0700】 (5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸單水合物 II

【0701】 物類似於實施例 1 製備目標化合物 (單水合物 II)。

【0702】 水含量：3.9%水，乾燥前和 2.4 % 水，乾燥後

【0703】 拉曼：參見表 13，參見圖 14

【0704】 IR：參見表 14，參見圖 21

【0705】 XRPD：參見表 12，參見圖 7

### 實施例 6d

【0706】 (5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸 1.25 水合物

【0707】 將 3 g (5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸單水合物 I(製備的材料類似於實施例 3 / 4) 懸浮在 20 mL 的異丙醇/水混合物(1：1)中。將懸浮液在 60°C下攪拌八天。過濾殘餘物並將所得固體在周圍條件下乾燥。

【0708】 水含量：2.9% 水

【0709】 拉曼：參見表 13，參見圖 15

【0710】 IR：參見表 14，參見圖 22

【0711】 XRPD：參見表 12，參見圖 8

### 實施例 6e

【0712】 (5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸 倍半水合物

【0713】 將 3 g (5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸單水合物 I (類似於實施例 3 /

4 製備的材料) 懸浮在 15 mL 的異丙醇/水混合物(1 : 1)中。將懸浮液在 80°C下攪拌 4 週。添加額外 10 mL 的溶劑混合物以改良懸浮液的攪拌性質。過濾殘餘物並將所得固體在周圍條件下乾燥。

【0714】 水含量：3.7% 水

【0715】 拉曼：參見表 13，參見圖 16

【0716】 IR：參見表 14，參見圖 23

【0717】 XRPD：參見表 12，參見圖 9

### 實施例 6f

【0718】 (5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸 二水合物

【0719】 將 3 g (5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸單水合物 I(製備的材料類似於實施例 3 / 4) 懸浮在 20 mL 的甲醇中。將懸浮液在周圍條件下攪拌八天。過濾殘餘物並將所得固體在周圍條件下乾燥。

【0720】 水含量：4.8% 水

【0721】 拉曼：參見表 13，參見圖 17

【0722】 IR：參見表 14，參見圖 24

【0723】 XRPD：參見表 12，參見圖 10

【0724】 乾燥後，二水合物形式變為非晶形。

【0725】 XRPD：非晶形，參見圖 10a

### 實施例 6g

【0726】 (5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸

【0727】 類似於比較例 11 製備非晶形。

【0728】 拉曼：參見表 13，參見圖 18

【0729】 IR：參見表 14，參見圖 25

【0730】 XRPD：參見表 12，參見圖 11

式(I)之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸的多晶形之物理示性

表 12：式(I)之化合物的假多晶形之 XRPD (X 射線粉末繞射)數據

【0731】 根據在標題方法項下描述的一般程序記錄 XRPD.

反射(峰最大值)[2 $\theta$ ]					
半水合物	單水合物 I	單水合物 II	1,25-水合物	倍半水合物	二水合物
3.1	5.7	5.7	5.9	5.1	6.1
5.3	6.9	6.1	6.1	6.3	6.8
6.7	7.2	7.1	7.9	7.6	10.1
7.1	7.3	8.5	10.5	8.6	10.5
9.3	9.9	9.9	11.9	11.4	11.2
10.6	10.4	10.2	12.2	12.2	11.3
12.4	10.6	10.8	12.5	12.5	12.3
14.3	11.1	11.4	13.2	12.9	12.5
16.1	11.5	11.6	13.6	13.3	13.1
19.7	12.0	11.8	13.7	14.3	13.6
20.8	12.3	12.0	14.4	14.5	14.6
24.0	12.4	12.2	15.2	15.2	14.8
31.1	12.8	12.7	15.3	15.5	15.5

反射(峰最大值)[2θ]					
半水合物	單水合物 I	單水合物 II	1,25-水合物	倍半水合物	二水合物
	13.7	13.0	15.4	15.8	16.2
	14.1	13.9	15.7	16.2	16.4
	14.3	14.2	15.9	16.4	16.8
	15.2	15.2	16.5	16.7	17.1
	15.6	15.3	16.9	17.3	17.3
	16.0	15.7	17.2	17.5	17.9
	16.9	16.4	17.4	17.7	18.5
	17.2	17.3	17.6	18.3	18.8
	17.5	17.7	17.8	18.7	19.5
	17.7	17.9	18.3	19.4	20.2
	18.0	18.3	18.6	20.5	20.5
	18.4	18.5	18.7	20.7	21.1
	18.8	18.8	19.0	20.8	21.4
	19.2	19.2	19.5	21.4	22.2
	19.9	19.8	19.6	21.5 <sup>1</sup>	23.2
	20.2	20.2	19.8	21.8	24.3
	20.5	20.8	20.5	22.4	25.1
	20.7	21.1	20.7	22.9	25.4
	21.3	21.7	21.0	23.4	25.6
	21.9	22.0	21.4	24.0	26.3
	22.2	22.4	22.0	24.7	26.9
	22.5	22.8	23.2	25.1	27.4

反射(峰最大值)[2θ]					
半水合物	單水合物 I	單水合物 II	1,25-水合物	倍半水合物	二水合物
	23.0	23.1	23.8	26.1	28.5
	23.4	23.4	24.0	26.4	28.7
	23.7	23.9	24.4	27.0	29.6
	24.1	24.2	24.6	27.4	
	25.1	24.4	25.0	28.5	
	25.8	25.1	25.2	32.2	
	26.0	25.5	25.6	36.5	
	26.4	25.7	26.1		
	28.9	26.2	26.8		
	29.2	26.4	27.4		
	29.4	26.8	27.6		
	30.6	27.2	28.4		
	31.1	27.5	28.8		
	32.2	28.9	30.2		
	35.3	30.0	30.7		
		30.1	31.1		
		30.6	31.6		
		32.2	32.3		
		32.4			

表 13：式(I)之化合物的假多晶形之拉曼數據

【0732】 根據在標題方法項下描述的一般程序記錄拉曼光譜。

譜帶[峰最大值， $\text{cm}^{-1}$ ]

半水合物	單水合物 I	單水合物 II	1,25-水 合物	倍半水合物	二水合 物	非晶形
3069	3073	3073	3064	3081	3073	3069
2941	2950	3042	2954	3064	2971	3008
2917	2937	3003	2933	3019	2940	2938
2862	2906	2950	2907	2993	2897	2869
2825	2892	2936	2858	2979	2877	2732
1700	2852	2892	2828	2965	2864	1769
1689	1685	2854	1765	2924	1689	1708
1617	1616	1685	1694	2897	1617	1617
1528	1527	1615	1610	2873	1611	1610
1496	1451	1526	1528	2858	1573	1587
1487	1440	1458	1492	2805	1527	1527
1452	1420	1451	1459	2736	1497	1489
1423	1384	1441	1449	1690	1460	1450
1372	1374	1420	1439	1616	1454	1372
1349	1328	1384	1430	1530	1443	1326
1329	1293	1372	1381	1463	1433	1279
1294	1278	1328	1369	1453	1422	1263
1283	1259	1294	1327	1440	1384	1231
1269	1228	1279	1283	1421	1372	1205
1260	1191	1259	1258	1370	1332	1194
1229	1162	1228	1233	1330	1296	1162
1207	1153	1196	1197	1291	1282	1126
1196	1128	1162	1166	1274	1259	1072

譜帶[峰最大值, cm <sup>-1</sup> ]						
半水合物	單水合物 I	單水合物 II	1,25-水 合物	倍半水合物	二水合 物	非晶形
1163	1116	1153	1128	1263	1228	1054
1131	1056	1128	1116	1231	1196	1037
1074	1042	1057	1053	1199	1169	1015
1054	1033	1043	1041	1183	1149	960
1042	1015	1016	1015	1169	1128	926
1014	997	998	999	1148	1115	883
1002	937	894	938	1131	1059	859
936	922	861	922	1115	1042	843
885	893	843	887	1096	1015	804
860	861	837	858	1071	1003	777
844	844	808	840	1060	937	766
819	808	777	817	1040	924	755
804	793	757	806	964	891	738
776	776	750	775	944	873	692
745	756	701	755	928	861	638
702	750	693	746	911	835	457
693	703	655	739	863	806	440
657	692	638	701	850	777	408
638	655	569	658	835	757	183
572	638	473	637	826	750	107
476	568	463	605	814	741	
464	473	439	587	805	703	

譜帶[峰最大值, $\text{cm}^{-1}$ ]						
半水合物	單水合物 I	單水合物 II	1,25-水 合物	倍半水合物	二水合 物	非晶形
439	464	419	571	767	692	
423	439	410	477	757	658	
407	419	394	462	743	652	
395	410	357	441	701	637	
349	393	323	421	693	601	
300	359	302	403	678	571	
242	323	281	333	656	465	
176	301	233	316	634	438	
145	281	208	297	491	422	
110	230	195	282	464	410	
	197	148	226	440	399	
	149	117	177	422	360	
	117		142	409	314	
			102	394	287	
				372	226	
				349	190	
				341	152	
				326	103	
				301		
				271		
				251		
				243		

譜帶[峰最大值， $\text{cm}^{-1}$ ]						
半水合物	單水合物 I	單水合物 II	1,25-水 合物	倍半水合物	二水合 物	非晶形
				224		
				187		
				156		
				113		

表 14：IR 數據的假多晶形之式(I)之化合物

【0733】 IR 光譜 根據在標題方法項下描述的一般程序記錄。

譜帶[峰最大值, cm <sup>-1</sup> ]						
半水合物	單水合物 I	單水合物 II	1,25-水合物	倍半水合物	二水合物	非晶形
3032	3660	3659	3426	3516	3395	3405
2937	3416	3416	3044	3404	3197	3036
2864	3038	3039	2921	3073	3037	2941
2648	2933	2934	2854	2939	2938	2864
1761	2863	2892	2832	2922	2865	2644
1695	2809	2862	2650	2895	2646	1701
1640	2644	2809	1767	2876	1684	1685
1590	1761	2733	1692	2854	1597	1599
1558	1678	2647	1602	2815	1558	1559
1528	1595	1762	1511	2733	1539	1494
1495	1539	1679	1497	2650	1497	1453
1452	1498	1595	1448	1683	1453	1419
1418	1454	1539	1429	1668	1431	1371
1373	1419	1498	1376	1607	1419	1325
1325	1375	1454	1325	1594	1376	1272
1293	1327	1431	1275	1559	1327	1238
1241	1292	1419	1237	1533	1270	1166
1166	1272	1375	1178	1503	1241	1112
1112	1242	1327	1158	1450	1167	1072

譜帶[峰最大值, cm <sup>-1</sup> ]						
半水合物	單水合物 I	單水合物 II	1,25-水合物	倍半水合物	二水合物	非晶形
1072	1167	1292	1128	1377	1106	1057
1059	1110	1272	1109	1330	1072	1036
1038	1072	1242	1066	1302	1037	1014
1014	1062	1167	1040	1242	1013	925
924	1039	1110	1014	1171	954	882
883	1014	1072	939	1152	924	845
844	956	1062	924	1136	886	821
818	938	1039	887	1105	844	805
750	923	1014	858	1073	819	751
703	887	938	840	1060	804	704
692	858	923	815	1036	750	692
656	845	888	805	1013	703	669
635	818	858	783	992	691	654
591	806	845	748	954	656	637
582	742	818	701	928	634	609
569	703	806	692	910	608	589
	692	756	657	881	575	577
	654	742	646	862	564	558
	637	703	641	849	558	
	608	692	635	819		
	575	654	604	802		
	559	637	577	778		

譜帶[峰最大值, cm <sup>-1</sup> ]						
半水合物	單水合物 I	單水合物 II	1,25-水合物	倍半水合物	二水合物	非晶形
		609	560	755		
		576		740		
		558		700		
				692		
				655		
				640		
				632		
				606		
				566		
				559		

**B –假多晶形的性質****實施例 7**

**【0734】** 式(I)之[(5S)-{2-(4-羧苯基)乙基}[2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸]的假多晶形(例如式(I-M-II)之單水合物 II)的性質

**儲存穩定性**

**【0735】** 化合物之穩定性和均勻性是醫藥的關鍵要求且為獲得衛生當局批准的先決條件。其增加包含式(I)化合物的製劑和調配物的安全性和品質，因此降低對患者的風險。

**【0736】** 呈單水合物 II 的形式之式(I)之(5S)-{2-(4-羧苯基)乙基}[2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸係使用於在各種條件下儲存一、三個月和六個月的穩定性研究：

**表 15：**儲存穩定性研究之結果，單水合物 II 作為起始材料

實施例	容器	溫度	相對濕度	結果
7a	棕色玻璃按扣 閉合	25°C	60 %	單水合物 II
7b	聚乙烯	25°C	60 %	單水合物 I
7c	聚乙烯	40°C	75 %	單水合物 I
7d	用濾紙盤封閉 的棕色玻璃	40°C	75 %	單水合物 I

**【0737】** 在大多數這些儲存條件下，單水合物 II (起始材料，參見圖 40) 轉化為單水合物 I (參見例如圖 41：實施例 7b，XRPD)。

【0738】 相比之下，式(I-M-I)之單水合物 I 在這些條件下是穩定的。

【0739】 特別地，式(I)化合物之單水合物 I 確保防止如上所述之不要的轉化成另一種形式的式(I)化合物及相關的性質改變。

### 實施例 8

【0740】 式(I)之[(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸]的假多晶形(例如式(I-M-II)之單水合物 II)的性質

【0741】 微粉化

【0742】 對於吸入藥物產品，重要的是要保證均勻的藥物物質，具有界定的粒徑 < 5 $\mu\text{m}$ ，以確保遞送至深部肺室。此技術要求可藉由藥物物質顆粒的微粉化來提供。

【0743】 達到此要求之活性成分的粒徑分布之適當規格係如表 16a 中所指定來設定。

表 16a：活性成分(例如式(I-M-I)或(I-M-II)之化合物)的粒徑分布

粒徑上限 X90	max. 6 $\mu\text{m}$
粒徑平均值 X50	1 – 3 $\mu\text{m}$
粒徑下限 X10	max. 1 $\mu\text{m}$

【0744】 為了研究式(I-M-II)之單水合物 II 用於藥品生產的可行性，測試幾種微粉化條件。在必要的微粉化步驟期間，通常不應發生非晶化，即使是部分非晶化或形式轉化。微粉化過程期間即使部分非晶化也可能導致活性成分及/或最終藥品中的活性成分在儲存期間再結晶的風險。

【0745】 使用 50 mm 螺旋噴射磨機和加壓氮氣以下列參數(參見表 16b)將對應批料(實施例 8a-8d)微粉化。

表 16b：不同微粉化條件，單水合物 II 作為起始材料

實 施 例	磨機類型	溫度	注射器壓力	研 磨 壓 力	通過料量	PSD	觀測
8a	VA 噴射磨機	25°C	4.5 巴	4.0 巴	4.5 g/min	X10 : 0.4 $\mu\text{m}$ , X50 : 1.7 $\mu\text{m}$ , X90 : 4.2 $\mu\text{m}$ (乾燥測量 4 巴)	轉變至單水合物 I
8b	PTFE 塗布之噴射磨機	25°C	4.5 巴	4.0 巴	4.5 g/min	X10 : 0.7 $\mu\text{m}$ , X50 : 1.9 $\mu\text{m}$ , X90 : 5.0 $\mu\text{m}$ (乾燥測量 4 巴)	單水合物 II 之部分非晶化
8c	VA 噴射磨機	- 65°C	4.5 巴	4.0 巴	5.5 g/min	X10 : 0.4 $\mu\text{m}$ , X50 : 1.8 $\mu\text{m}$ , X90 : 4.8 $\mu\text{m}$ (乾燥測量 4 巴)	單水合物 II 之部分非晶化
8d	VA 噴射磨機(低應力條件)	- 65°C	4.5 巴	3.0 巴	10.6 g/min	X10 : 0.5 $\mu\text{m}$ , X50 : 2.3 $\mu\text{m}$ , X90 : 9.6 $\mu\text{m}$ (乾燥測量 4 巴)	單水合物 II 之部分非晶化

【0746】 首先，在標準條件下(在 25°C 的溫度下之 VA 噴射磨機(50 毫米))的定向實驗期間發現：可將形式 II 主要微粉化以獲得所需的粒徑分布(參見表 16a 和 16b，實施例 8a)。

【0747】 在式(I-M-II)之單水合物 II 的微粉化期間，在幾種條件下發生部分非晶化，甚至在“低應力”下(參見上表 16b 和圖 42，XRPD)。

【0748】 XRPD：具有部分非晶化之單水合物 II，實施例 8b

【0749】 另外發現在使用 VA 噴射磨機(直徑 50 mm)、25°C 微粉化的情況下，除了部分無定形化之外，也發生從單水合物 II 轉化至單水合物 I(參見表 16b，實施例 8a 和圖 43，XRPD)。

【0750】 由於所有研究條件都顯示形式轉變至形式 I 或形式 II 之部分非晶化，因此進一步調查單水合物 I 以檢查單水合物 I 用於可靠藥物製造的可行性。

【0751】 使用 100 mm 螺旋噴射磨機和加壓氮氣以下列參數(參見表 16c)將對應批料微粉化。

表 16c：大批量微粉化條件，單水合物 I 作為起始材料

實施例	磨機類型	溫度	注射器壓力	研磨壓力 [bar]	通過料量	PSD	觀測
8e	PTFE 塗布之噴射磨機	25°C	5 巴	4.5 巴	22.8 g/min	X10 : 0.7 μm, X50 : 2.1 μm , X90 : 6.1 μm (乾燥測量 4 巴)	單水合物 I
8f	PTFE 塗布之噴射磨機	65°C	5 巴	4.0 巴	23 至 28 g/min	X10 : 0.6 μm, X50 : 2.4 μm , X90 : 6.3 μm (乾燥測量 3 巴, N=3)	單水合物 I
8g	VA (不銹鋼) 噴射磨機	25°C	6 巴	4.5 巴	8,5 g/min	X10 : 0,5 μm, X50 : 1.8 μm ,	單水合物 I

						X90 : 3.9 μm (乾燥測 量 3 巴)	
--	--	--	--	--	--	--------------------------------	--

【0752】 上表中引用的所有測量值都是藉由雷射繞射使用壓縮空氣以乾燥分散體獲得。在含有界面活性劑的水性懸浮液中測量可會導致更小的粒徑(x90 最多 1 μm 及更小)。

【0753】 相比之下，式(I-M-I)之單水合物 I 在微粉化條件下是穩定的(參見表 16c，實施例 8e)。

【0754】 XRPD：單水合物形式 I：參見圖 44

## C -生物例

【0755】 使用下列縮寫：

縮寫	說明
°C	攝氏度
/D	除以劑量
µg	微克
ACh	乙醯膽鹼
AE	不良事件
AHR	氣道高反應性
API	活性醫藥成分
AUC	單一(第一次)劑量後從零到無窮大之濃度對時間曲線下面積
AUC <sub>τ</sub>	實際劑量間隔的 AUC。如果適用，AUC 的日期指定為 AUC <sub>τ</sub> (第 n 天)
AUC <sub>(0-t)</sub>	從時間 0 至 t 小時之濃度時間曲線下面積
AUC <sub>(0-t).md</sub>	多劑量後從時間 0 至 t 小時之濃度對時間曲線下面積
AUC <sub>(0-t),u</sub>	非結合 AUC <sub>(0-t)</sub>
AUC <sub>(0-t)<sub>τ</sub>.md</sub>	多次投予後的 AUC <sub>(0-t)<sub>τ</sub></sub>
AUC <sub>τ,md</sub>	多次投予後的 AUC
AUC <sub>(0-tlast)</sub>	AUC 從時間 0 至最後一個數據點 >LLOQ
AUC <sub>(0-tlast)norm</sub>	AUC 從零時間至最後一個數據點以上定量之下限除以每公斤體重的劑量
AUC <sub>norm</sub>	AUC 除以每公斤體重的劑量 (mg)
BAL	支氣管肺泡灌洗
BALB/c	小鼠纖維母細胞

縮寫	說明
BDC	膽管插管
BP	血壓
bpm	每分鐘節拍
BPsys	收縮壓
BSEP	膽鹽輸出泵
Caco-2 cell	人結腸腺癌細胞
CB	木炭塊
cGMP	環單磷酸鳥苷
CHO	中國倉鼠卵巢
CKD	慢性腎臟病
CL	清除率
CL/F	血管外投予後計算的藥物總清除率(例如，擬口服清除率)
$C_{max}$	單次劑量投予後測量基質中的最大藥物濃度
$C_{max,md}$	多次劑量後的 $C_{max}$
$C_{max,norm}$	$C_{max}$ 除以每公斤體重的劑量(mg)
$C_{max,u}$	非結合 $C_{max}$
CNS	中樞神經系統
CI	信賴區間
Conc.	濃縮
CTEPH	慢性血栓栓塞性肺高血壓
$C_{trough}$	劑量間隔結束時的濃度
CV	變異係數
CYP	細胞色素 P450
D	劑量

縮寫	說明
d	天
DD	遞送劑量
DDI	藥物-藥物交互作用
DEA/NO	二乙胺/一氧化氮
DMSO	二甲亞砜
DPI	吸入用乾粉
DSUR	研發安全性更新報告
EC <sub>50</sub>	半最大有效濃度
ECG	心電圖
ESTP	歐洲毒物病理協會
EtOH	乙醇
F	生體可用率
f	雌性
FiM	首次用於人體
FPD	細顆粒劑量
f <sub>u</sub>	自由(非結合)藥物的分率
GCP	優良臨床操作規範
GGT	γ 麩胺醯基轉移酶
GLP	優良實驗室操作規範
h	小時
Hb	血紅素
HEK-293	人胚腎 293 細胞
hERG	人延遲整流鉀離子通道基因
HF	無血紅素

縮寫	說明
HPMC	羥丙基甲基纖維素
HR	心率
i.e.	那就是 = 即
i.t.	氣管內(地)
i.v. / iv. / iv / IV	靜脈內(地)
IB	研究者手冊
IC <sub>50</sub>	半最大抑制濃度
ICH	人用藥品註冊技術要求國際協調會議
ID	標識符
IF	可吸入分率
IH	吸入
IIP	特發性間質性肺炎
incl.	包括
inf.	輸注
inhal	吸入
IP	前列腺環素受體
kg	公斤
K <sup>+</sup>	鉀離子
K <sub>i</sub>	抑制常數
LC-MS/MS	高壓液相層析和串聯質譜
LD	肺劑量
LDD	肺沉積劑量
LDH	乳酸脫氫酶
LF	肺分率

縮寫	說明
LLOQ	定量下限
L-MDR1	多重耐藥性基因
L-NAME	L-N $\omega$ -硝基精胺酸甲酯
LOEL	最低可見作用劑量(lowest-observable-effect level)
LS	最小平方
LSC	液體閃爍計數
m	雄性
m <sup>3</sup>	立方米
MAD	最大投予劑量
MAP	平均動脈壓
mBP	平均血壓
MBq	兆貝克
MCh	平均血球血紅素
MCV	平均血球血紅素體積
MDCKII	Madin Darby 犬腎 II 型
MEC	莫耳消光係數
MED	最小有效劑量
MedDRA	監管活動醫學詞典(Medical Dictionary for Regulatory Activities)
mg	毫克
min	分鐘
MMAD	質量中數氣動直徑
MNT	微核試驗
MoE	曝光倍數

縮寫	說明
mPAP	平均 肺動脈壓
MPPD	多路徑粒子劑量測定模式
MRT	平均滯留時間
MRT <sub>IV</sub>	靜脈內投予後平均滯留時間
MS/MS	串聯質譜
MTD	最大耐受劑量
myocard	心肌
N/n	數目
n.a.	不適用
n.c.	未計算
n.d.	未確定
NaCl	氯化鈉
NADPH	菸鹼醯胺腺嘌呤二核苷酸磷酸
ND	標稱劑量
NET	正腎上腺素 轉運子
NO	一氧化氮
NOAEL	未觀察到副作用水平
NOEL	沒未觀察到作用水平
NRU	中性紅攝取
OATP	有機陰離子轉運多肽
od / o.d.	每天一次
ODQ	<sup>1</sup> H-[1,2,4] 喹二唑并[4,3-a]喹啉-1-酮 (1H [1,2,4]axadiazolo[4,3 a]quinoxalin 1 one)
OECD	經濟合作暨發展組織(Organisation for Economic Co-operation

縮寫	說明
	and Development)
OP	鴉片劑
Ova	卵清蛋白
P	肺部區域
PAH	肺動脈高血壓
PAP	肺動脈壓
P <sub>app</sub>	表觀滲透性
PD	藥效
PDE-5	磷酸二酯酶 5
PE	苯基腎上腺素
PEG	聚乙二醇
PEG 400	聚乙二醇 400
PenH	暫停增強
P-gp	P-醣蛋白
PH	肺高血壓
pH	酸鹼值( <i>pondus Hydrogenii</i> )測量水溶液酸性的數字計量
PH-COPD	慢性阻塞性肺病的 PH
PH-IIP	與 IIP 相關的 PH
physiol. /	生理
Physiol.	
PK	藥物動力
PMN	多形核細胞
PO / po	藉由口腔 (口服)
PP	灌注壓力

縮寫	說明
PQ	在 ECG 中的 PQ 間隔
PRA	血漿腎素活性
PT	較佳術語
PVOD	肺靜脈閉塞病
PVR	肺血管阻力
QRS	ECG 中的 QRS 間期
QT	ECG 中的 QT 間期
QTc	關於 HR 校正的 QT 間期
QWBA	定量全身自動放射照像術
R <sub>A</sub> AUC	積累率(AUC(0-t <sub>last</sub> ) <sub>ss</sub> / AUC(0-t <sub>last</sub> ) <sub>第 1 天</sub> )
R <sub>A</sub> AUC(0-t <sub>last</sub> )	重複給藥後累積率與從零時間至 LLOQ 以上最後數據點的 AUC 計算的累積率之差
R <sub>A</sub> C <sub>max</sub>	從多次給藥後的 C <sub>max</sub> 和單次給藥後的 C <sub>max</sub> 計算的累積率
Ref.	參考
R <sub>L</sub>	肺阻力
R <sub>LIN</sub>	從多次給藥後的 AUC 和單次給藥後的 AUC 計算之相同劑量 重複投予後之藥物動力的線性因子
RLU	相對光單位
RMV	每分鐘呼吸量
RT	室溫
RV	右心室
RVP <sub>sys</sub>	全身性右心室血壓
SAE	嚴重不良事件
SAF	安全分析組

縮寫	說明
SaO <sub>2</sub>	血紅素之動脈氧飽和度
SD / sd	標準偏差
SEM	平均值的標準誤差
sGC	可溶性鳥苷酸環化酶
SHR	自發性高血壓大鼠
SNAP	S-亞硝基-N-乙醯基-DL-青黴胺
SOC	系統器官類
SoC	護理標準
SOP	標準操作程序
sPAP	肺動脈收縮壓
SUSAR	反應疑似意外嚴重不良反應
t <sub>(int)</sub> / t <sub>int</sub>	採樣間隔期間的最後一個時間點
t <sub>1/2</sub> /T <sub>1/2</sub>	半衰期
t <sub>1/2,md</sub>	首次劑量後拉著多次劑量劑量投予達到血漿中觀察到的最大藥物濃度的時間
TB	氣管支氣管區
TEAE	治療緊急不良事件
TK	毒物動力
t <sub>last</sub>	LLOQ 以上最後一個數據點的時間
t <sub>max</sub>	達到最大濃度的時間
t <sub>max,md</sub>	多次給藥後達到最大濃度的時間
UGT	尿苷-5'二磷酸葡萄糖醛酸轉移酶
URT	上呼吸道
v	每體積

縮寫	說明
v/v	體積 / 體積
Vol.	體積
VQ	通氣灌注
VQ-M	通氣灌注不匹配
vs.	對
V <sub>SS</sub>	血管內投予後於穩態之分布體積
V <sub>z</sub>	血管內投予後在末期期間之分布體積
V <sub>z</sub> /F	血管外投予後在末期期間的擬分布體積
w	每重量
w / w	重量 / 重量
w / wo	有 / 沒有
w/v	重量 / 體積
WHO	世界衛生組織
wo	沒有
WU	威斯達聯合利華(HsdCpb : WU)

## 生物研究

【0756】 本文所述的實施例測試實驗用於說明本發明且本發明不限於所給出的實施例。

【0757】 下列分析可用於說明根據本發明之化合物的商業用途。

【0758】 在選定的生物分析中測試實施例一次或多次。當測試不止一次時，數據報告為平均值或中值，其中

- 平均值，也稱為算術平均值，表示所得值除以測試次數的總和，以及
- 中位數表示按升序或降序排列時值組的中間數。若數據組中值的數量是奇數，則中位數是中間值。如果數據組中值的數量是偶數，則中位數是中間兩個值的算術平均值。

【0759】 合成實施例一次或多次。當多次合成時，來自生物測定的數據表示利用從測試一或多個合成批次獲得的數據組計算的平均值。

【0760】 根據本發明之化合物的藥理作用可以下列試驗顯示：

## C - 1 體外和體內的血液動力學血管舒張作用

### C-1.1 體外血管舒張作用

【0761】 以靜脈注射戊硫代巴比妥鈉(約 50mg/kg)麻醉和處死兔子並放血。將隱動脈移除並分成 3 mm 寬的環。在各情況下將該等環單獨地安裝在一對末端開口上且由 0.3 mm 厚的特殊金屬絲(Remanium®)製成的三角形鉤子。各環在初始張力下放置在 5 ml 具有 Krebs-Henseleit 溶液之器官浴中，該 Krebs-Henseleit 溶液係在 37 係下 C 用卡波金(carbogen)充氣並具有以下組成：NaCl 119 mM；KCl 4.8 mM；CaCl<sub>2</sub> x 2 H<sub>2</sub>O 1 mM；MgSO<sub>4</sub> x 7 H<sub>2</sub>O 1.4 mM；KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.2 mM；NaHCO<sub>3</sub> 25 mM；葡萄糖 10 mM；牛血清白蛋白 0.001%。用 Statham UC2 細胞檢測收縮力，經由 A/D 轉換器(DAS-1802 HC, Keithley Instruments, Munich)放大和數位化，並在圖表記錄器上平行記錄。藉由添加去氧腎上腺素誘發收縮。

【0762】 在數次(通常為 4 次)對照循環後，在各進一步運行中以遞增劑量添加待研究物質，並將測試物質影響下達到的收縮水平與之前最後一次運行達到的收縮水平進行比較。由此計算出將前一對照中達到的收縮降低 50%所需的濃度(IC<sub>50</sub>)。標準施用體積為 5 µl。浴液中 DMSO 的比例相當於 0.1%。

**表 C1.1.1**：對比較例 11 的%收縮的效應與比較例 1(西那西瓜)以升高濃度對兔隱動脈的 PE-誘發之收縮(培養時間 0.5 h vs. 2.5 h)的效應相比。數據以平均值 +/- SEM (數字)呈現

	10 <sup>-12</sup> M/L	10 <sup>-11</sup> M/L	10 <sup>-10</sup> M/L	10 <sup>-9</sup> M/L	10 <sup>-8</sup> M/L	10 <sup>-7</sup> M/L	10 <sup>-6</sup> M/L	10 <sup>-5</sup> M/L
比較例 1 (西那西瓜) 0.5h	n.d.	97±1.2 (3)	101±1.7 (15)	85±4.2 (20)	54±5.2 (20)	28±4.2 (20)	19±6.1 (8)	n.d.
比較例 1 (西那西瓜) 2.5h	n.d.	n.d.	93±2.6 (7)	75±4.6 (7)	48±6.0 (4)	33±5.8 (8)	n.d.	n.d.
比較例 11 0.5h	n.d.	100±1.5 (4)	99±3.4 (4)	103±3.5 (4)	92±3.0 (22)	80±4.6 (22)	59±4.9 (22)	19±3.0 (18)
比較例 11 2.5h	98±0 (1)	91±2.0 (2)	67±5.7 (12)	47±6.2 (13)	29±9.3 (10)	n.d.	n.d.	n.d.

**【0763】** 與比較例 1(西那西瓜)相比，比較例 11 在培養 30 min 後抑制兔隱動脈環濃度依賴性去腎上腺素誘發之收縮，911 nM 的 IC<sub>50</sub> 值(17 nM 的西那西瓜 IC<sub>50</sub> 值)(參見圖 45a 和 45b)。在 2.5 h 的較長預培養期後，比較例 11 與西那西瓜(3 nM 的 IC<sub>50</sub> 值)相比，甚至更有效 (0.8 nM 的 IC<sub>50</sub> 值)。這些結果指示與西那西瓜相比，比較例 11 對隱動脈的穿透更慢。此將指示不需要的全身副作用最小化，如例如與需要盡可能有效的肺部的所要局部血管擴張作用相比，全身血壓降低。

### C-1.2. 根據 Langendorff 的離體灌注心臟

【0764】 用 Narcoren® (100 mg/kg) 麻醉體重為 200-250 g 的雄性 Wistar 大鼠(品系 HsdCpb:WU)。打開胸腔並接著將心臟暴露，切除心臟並藉由將插管放入主動脈而連接到 Langendorff 裝置。用 Krebs-Henseleit 緩衝溶液(充入 95% O<sub>2</sub> 和 5% CO<sub>2</sub>，pH 7.4，35°C；組成，mmol/l：NaCl 118；KCl 3；NaHCO<sub>3</sub> 22；KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.2；MgSO<sub>4</sub> 1.2；CaCl<sub>2</sub> 1.8；葡萄糖 10；丙酮酸鈉 2)。壓力轉換器 記錄灌注系統中的灌注壓力。使用連接至充水氣球之第二個壓力轉換器測量左心室壓力 (LVP)，該氣球經由左心房插入左心室。藉由調整氣球的體積，最初將舒張末期壓力設定為 8mm Hg。心臟自發地跳動來。來自壓力轉換器的訊號被放大，以個人電腦(Powerlab Chart software, ADInstruments)記錄。

【0765】 在 40 分鐘的平衡時間後，將測試化合物加至灌注溶液中經 20 分鐘，其導致 PP 滴落，作為冠狀動脈擴張的標誌。接著在沒有測試物質的情況下將心臟再灌注 120 min(洗出期)。效應的可逆性(洗出得分)計算為洗出 60 min 後 PP 回收相對於測試化合物誘發之 PP 最大下降的百分比。以此方式獲得的洗出得分係用作測試物質在作用位置的滯留時間的測量。

【0766】 在 Langendorff-灌注大鼠心臟中，比較例 11(300 nmol/l：n=6)、比較例 1(西那西瓜：100 nmol/l：n=6)、比較例 2(里奧西瓜：100 nmol/l：n=6)和比較例 3(100 nmol/l：n=6)誘發顯著減少灌注壓力(PP)(圖 46)。在用比較例 2(里奧西瓜)治療的心臟中，PP 在洗出期期間迅速增加並達到施用化合物之前觀察到的水平。里奧西瓜(比較例 2)之洗出得分為 98%。相比之下，比較例 1(西那西瓜)的洗出期被延遲，導致 30%之洗出得分。比較例 11 和比較例 3 的效應甚至更不可逆。比較例 11 和比較例 3 之洗出得分分別為 2.9%和 25.4 %。

【0767】 此等結果指示：相較於里奧西瓜，比較例 11 和比較例 3 在 Langendorff 心臟中顯示出延長的血管擴張活性並因此顯示出組織滯留。比較例 3 與具有洗出得分略低之西那西瓜相當，但比較例 11 顯示在洗出條件下甚至更長時間的組織滯留。

表 C1.2.1.: 不同化合物(300 nmol/l 比較例 11、100 nmol/l 里奧西瓜(比較例 2)、100 nmol/l 西那西瓜(比較例 1)和 100 nmol/l 比較例 3 對離體 Langendorff-灌注大鼠心臟之冠狀動脈血流及彼等洗出的效應。數據以平均值  $\pm$  SEM (平均值的標準誤差) 呈現。

化合物	灌注壓力(%) (於 20 min 之時間點)			灌注壓力(%) (於 90 min 之時間點)			洗出得分 (%)60 min 後
	平均	SEM	n	平均	SEM	n	
比較例 11	69.0	3.62	6	71.9	2.09	6	2.9
西那西瓜 (比較例 1)	62.1	3.90	7	69.3	5.20	7	29.5
里奧西瓜 (比較例 2)	55.4	2.47	6	99.9	1.76	6	98.0
比較例 3	63.3	3.18	6	72.5	3.62	6	25.4

## C-2 以 PAH 動物模型之 sGC 活化劑的吸入投予

【0768】 實驗係以麻醉的 Göttingen 小型豬、麻醉的大鼠和清醒的儀器遙測之狗中進行。誘發急性肺動脈高壓，例如藉由輸注凝血脂素 A2 類似物、藉由急性缺氧治療或數週的缺氧治療及/或藉由投予野百合鹼來誘發。使用 Nebutec® 或 Aeroneb® Pro 霧化器系統及/或藉由用於實驗性氣管內投予的粉末及/或溶液施用器(Liquid MicroSprayer®、Dry Powder Insufflator™、MicroSprayer®、Penn-Century Inc., Wyndmoor, PA, USA)或在固體霧化後插入通氣的吸氣臂。取決於分子結構及取決於實驗的技術可能性，化合物係以固體或溶液使用。血液動力學訊

號藉由壓力轉換器/放大器(Combitransducer B. Braun, Melsungen, Germany 或 CardioMEMS Inc., Atlanta, GA, USA)和 Ponemah®或 CardioMems®作為數據採集軟體之裝置記錄和評估。長期實驗後(例如野百合鹼大鼠),也可進行組織學評估。

## C-2.1 麻醉的凝血脂素激發之小型豬的血液動力學

### 肺選擇性和作用期間

【0769】 使用具有 2-6 kg 體重之雌雄兩性的健康 Göttingen Minipigs® Ellegaard (Ellegaard, Denmark)。i.m.投予投予約 25 mg/kgK 他命和約 10 mg/kg 阿扎哌隆(azaperone)將動物注射鎮靜。以 i.v.投予約 2 mg/kg K 他命和約 0.3 mg/kg 咪達唑侖(midazolam)引發麻醉。以 i.v.投予約 7.5-0 mg/kg/h K 他命和約 1-4 mg/kg/h 咪達唑侖(midazolam)(輸注速率 1-4 ml/kg/h) 維持麻醉和約 150 µg/kg/h 泮庫溴銨(pancuronium bromide)(例如 Pancuronium-Actavis)。插管後,動物藉由呼吸機以恆定的呼吸量(10-12 ml/kg, 35 次呼吸/min: Avea®, Viasys Healthcare, USA, 或 Engström Carestation, GE Healthcare, Freiburg, Germany)通氣,以使達到約 5%的潮氣末 CO<sub>2</sub> 濃度。使用富含約 40%氧氣(含氧量正常)的室內空氣進行通氣。為了測量血流動力學參數諸如肺動脈壓(PAP)、血壓(BP)和心率(HR),將導管插入頸動脈以測量血壓,並引入 Swan-Ganz®導管以流動導向的方式經由頸靜脈進入肺動脈。藉由壓力轉換器(Combitransducer, B. Braun, Melsungen, Germany)/放大器和 Ponemah®作為數據採集軟體之記錄和評估血液動力學訊號。

【0770】 將儀器放入動物體內後,開始連續輸注凝血脂素 A<sub>2</sub> 類似物以增加肺動脈壓。約 0.3-0.75 µg/kg/min 的 9,11-二去氧-9 $\alpha$ ,11 $\alpha$ -環氧亞甲基前列腺素(epoxymethanoprostaglandine)F<sub>2</sub> $\alpha$  (U-44069; Sigma, 目錄號 D0400, 或 Cayman Chemical Company, 目錄號 16440)溶解在生理鹽水中,輸注以達成平均肺動脈壓增加至超過 25 mmHg 的值。輸注開始後 30 分鐘,達到平台期,開始實驗。

【0771】 測試物質以 i.v. 輸注或藉由吸入投予。對於吸入用溶液的製備，採用下列程序：對於具有 4 kg 體重的動物，為了製備儲備溶液 (300 µg/kg)，稱取 1.2 mg 的測試化合物並溶解在 3 ml 總體積(1% DMSO、99% 0.2% 濃度的檸檬酸溶液、1 N 氫氧化鈉水溶液以將 pH 值調整至 8)。接著使用預先用氫氧化鈉水溶液調整至 pH 8 的 0.2%濃度的檸檬酸將溶液稀釋至所採用的濃度。在各測試中，使用 Aeroneb® Pro 霧化器系統在呼吸迴路的吸入臂中將每 4 kg 動物 3 ml 的測試化合物溶液霧化。從霧化開始，平均霧化時間約為 7 分鐘。

表 C2.1.1：在小型豬中的凝血脂素類似物 U46619 誘發之 PAH 的情況下，媒液溶液、比較例 11(30 µg/kg)、比較例 1(西那西瓜；3 和 10 µg/kg)，比較例 2(里奧西瓜；100 µg/kg)和比較例 3 (30 µg/kg)吸入施用後的效應，以 PAP 對基線(霧化開始前 5 分鐘間隔)之改變%。

時間 [min] vs. 開始吸入	媒液				西那西瓜 (比較例 1) 3µg/kg		西那西瓜 10µg/kg		比較例 11 30µg/kg		里奧西瓜 (比較例 2) 100µg/kg		比較例 3 30µg/kg	
-5	99	100	99	99	100	100	100	99	96	101	100	100	99	96
0	102	101	100	100	100	99	100	101	99	99	100	102	100	99
10	105	98	99	100	91	89	89	86	100	99	91	86	98	93
20	107	92	100	103	76	82	83	82	98	96	91	85	94	87
30	109	94	100	103	74	86	82	82	95	94	94	94	95	84
40	110	100	100	104	73	89	84	84	91	91			97	81
50	110	105	99	107	82	94	87	85	90	89			98	86
60	112	108	100	108	88	94	91	87	88	86			101	88
70	112	109	99	109	100	99	94	88	85	86			103	88
80	113	109	99	109	103	100	95	90	86	85			104	92
90	113	110	100	109	105	102	99	92	85	85			106	95

100	113	111	99	109					84	85			107	96
110	112	112	99	110					84	84			109	100
120	112	110	99	111					84	85			111	107
130	111	111	99	113					85	85			111	104
140	111	112	100	112					85	85			112	103
150	111	112	101	112					84	84			112	107
160	110	113	102	114					84	85			112	110
170	110	114	101	114					85	86			113	108
180	109	114	101	115					86	86			113	108
190	110	112	102	115					84	86			113	113
200	109	112	102	116					83	87			112	110
210	108	113	103	117					84	88			112	109
220	110	112	104	116					87	87			113	113
230	110	110	104	115					86	89			111	112
240	108	110	104	114					85	88			110	112

**表 C2.1.2.:** 在小型豬中的凝血脂素類似物 U46619 誘發之 PAH 的情況下，媒液溶液、比較例 11(30 µg/kg)、比較例 1(西那西瓜；3 和 10 µg/kg)、比較例 2(里奧西瓜；100 µg/kg)和比較例 3 (30 µg/kg)吸入施用後的效應，以 PAP 對基線(霧化開始前 5 分鐘間隔)之改變%。

時間 [min] vs. 開 始吸入	媒液				西那西瓜 (比較例 1) 3µg/kg		西那西瓜 (比較例 1) 10µg/kg		比較例 11 30µg/kg		里奧西瓜 (比較例 2) 100µg/kg		比較例 3 30µg/kg	
-5	100	100	100	99	100	100	100	100	99	99	99	101	99	99

0	98	99	102	100	99	99	100	101	99	100	99	99	100	99
10	101	100	100	100	101	100	100	100	99	102	95	92	103	99
20	102	101	102	102	99	98	96	100	97	101	94	90	103	97
30	106	98	104	100	98	98	94	100	97	101	94	90	104	98
40	104	97	102	99	97	98	95	98	97	100			105	95
50	104	95	103	99	97	98	94	96	96	102			106	95
60	106	93	102	99	97	99	95	94	96	101			108	94
70	108	93	102	99	97	100	93	94	95	103			108	93
80	106	92	102	100	95	98	94	92	94	101			110	96
90	109	94	100	99	95	99	93	89	94	102			110	94
100	109	92	99	99					92	103			111	93
110	110	92	96	98					94	102			111	93
120	110	92	97	98					92	101			112	95
130	110	91	96	99					95	102			112	92
140	111	92	97	100					95	101			113	93
150	111	90	96	99					92	100			113	93
160	113	89	93	100					91	100			112	92
170	114	91	96	98					91	101			110	92
180	113	86	95	98					91	101			112	93
190	115	88	94	96					91	101			111	93
200	114	89	93	94					90	101			110	93
210	113	86	93	93					91	101			109	93
220	114	87	93	89					92	99			109	96
230	113	88	92	85					91	102			109	94
240	113	85	92	79					92	99			109	94

【0772】 在 PAH 小型豬模式中，評估不同化合物在吸入施用(霧化)後對 PAP 和 BP 的效應。西那西瓜(比較例 1)和里奧西瓜(比較例 2)誘發 PAP 急劇降低且起效早，最大效應在 10 至 30 min 之間，作用期間短，最長 120 min。相比之下，比較例 11 顯示起效較慢，對 PAP 的最大效應在 60 min 左右且作用期間長更多，240 min 或甚至更長的完整觀察間隔(參見圖 47 和 48)。此外，關於全身性 BP，與西那西瓜和里奧西瓜相比，比較例 11 除了對 PAP 的強且長的功效外，未顯示全身性血壓有任何降低。比較例 3 顯示關於血液動力學效應的良好肺選擇性，但關於 PAP 的作用期間更加短，僅為 120 分鐘。

【0773】 在進一步的實驗中，比較例 11 係與比較例 4 和比較例 5 相比(參見圖 49)。同樣，比較例僅顯示中等作用期間，而比較例 11 以及比較例 4(全部以 100 µg/kg 的標稱劑量)顯示至少 4 hrs 的長作用期間且所有 3 種化合物均具有良好肺選擇性。因此比較例 5 由於作用期間太短而被取消選擇。BP 的細微差異，尤其是在實驗結束時，三種化合物之間的差異可能受到長時間麻醉的影響。

**表 C2.1.3:** 媒液溶液、比較例 11、比較例 4 和比較例 5(全部化合物均以 100 µg/kg 的標稱劑量)在小型豬中在凝血脂素類似物 U46619 誘發之 PAH 下吸入施用後對 PAP 和 BP vs 基線(霧化開始前的 5 min 間隔)之%改變的效應。數據為各個別體動物的%改變。

時間 [min]	媒液							
	BP				PAP			
	%改變 vs. 基線				%改變 vs. 基線			
80	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
90	101.3	97.8	103.4	101.0	103.5	107.8	101.7	103.0
100	104.0	98.5	101.7	101.0	106.9	104.4	100.8	102.8

110	105.3	100.0	103.4	102.1	108.8	97.8	101.4	106.0
120	109.3	98.5	106.0	101.0	111.1	99.0	101.8	105.4
130	106.7	95.5	104.3	100.0	111.7	106.8	101.1	106.2
140	106.7	92.5	105.1	100.0	112.2	111.7	100.8	109.4
150	109.3	92.5	104.3	100.0	114.1	113.1	101.1	110.8
160	110.7	92.5	103.4	100.0	114.3	115.3	100.4	111.7
170	109.3	93.3	103.4	101.0	114.5	115.5	100.3	111.6
180	112.0	92.5	101.7	100.0	115.4	117.2	101.1	111.5
190	112.0	91.0	100.9	100.0	114.7	118.0	100.9	111.9
200	113.3	92.5	98.3	99.0	113.8	118.7	100.2	112.8
210	113.3	89.6	99.1	99.0	113.8	119.2	101.0	113.9
220	113.3	89.6	98.3	100.0	113.2	118.7	101.0	116.1
230	114.7	89.6	99.1	101.0	113.0	118.9	101.2	115.0
240	114.7	89.6	97.4	100.0	112.7	119.2	102.1	115.1
250	116.0	91.0	94.9	101.0	112.4	119.9	104.1	116.8
260	117.3	89.6	97.4	99.0	112.3	121.4	102.7	117.4
270	116.0	89.6	96.6	99.0	110.5	120.6	102.7	118.1
280	118.7	86.6	95.7	96.9	111.5	121.4	103.2	118.4
290	117.3	85.1	94.9	94.8	110.9	119.4	103.9	119.1
300	116.0	88.1	94.9	93.8	109.9	119.9	104.9	120.4
310	117.3	85.1	94.9	89.7	111.8	121.1	105.2	119.0
320	116.0	85.8	94.0	85.6	111.8	118.4	105.2	118.3
330	116.0	85.8	94.0	79.4	110.3	118.0	105.8	117.0

	比較例 5
--	-------

時間 [min]	BP			PAP		
	%改變 vs. 基線			%改變 vs. 基線		
80	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
90	100.0	100.0	100.0	101.5	99.2	102.0
100	99.1	97.7	101.8	98.0	90.0	93.8
110	99.1	97.7	100.0	91.7	86.4	79.0
120	99.1	96.6	97.3	90.0	86.1	73.7
130	98.1	97.7	97.3	87.6	88.6	72.9
140	98.1	98.9	97.3	87.1	93.0	73.7
150	95.3	100.0	97.3	87.6	95.0	75.1
160	96.2	101.1	98.2	88.7	96.4	77.8
170	95.3	101.1	96.4	89.8	97.8	79.2
180	95.3	101.1	97.3	90.0	100.6	81.5
190	94.3	102.3	96.4	90.9	101.9	81.9
200	92.5	103.4	95.5	91.4	102.8	85.2
210	91.5	102.3	96.4	92.7	104.2	88.1
220	91.5	103.4	96.4	94.5	105.8	91.3
230	91.5	103.4	94.6	95.1	106.1	93.1
240	90.6	102.3	94.6	95.5	105.8	92.9
250	90.6	102.3	94.6	96.5	105.8	94.3
260	89.6	101.1	93.8	98.1	106.4	95.5
270	90.6	103.4	93.8	98.6	107.5	95.9
280	89.6	100.0	93.8	98.6	106.4	97.2
290	88.7	102.3	92.9	99.6	105.8	98.4
300	89.6	100.0	92.0	100.1	107.0	98.6

310	89.6	100.0	91.1	101.7	107.5	99.6
320	89.6	105.7	91.1	102.8	109.5	100.1
330	89.6	98.9	89.3	102.9	106.1	99.3

時間 [min]	比較例 11						比較例 4					
	BP			PAP			BP			PAP		
	%改變 vs. 基線			%改變 vs. 基線			%改變 vs. 基線			%改變 vs. 基線		
80	103.2	100.0	100.1	103.3	100.0	98.5	101.1	101.2	101.0	102.0	96.2	97.5
90	98.8	98.2	100.1	98.8	102.2	99.6	98.7	100.3	101.0	100.2	102.2	100.2
100	101.0	100.0	100.1	99.4	97.3	97.5	101.1	100.3	98.3	100.0	93.1	96.4
110	98.8	99.1	98.2	94.0	90.4	94.4	99.9	102.2	98.3	97.2	88.9	89.8
120	98.8	98.2	98.2	87.4	80.2	88.8	101.1	101.2	101.9	86.5	86.2	86.0
130	98.8	98.2	99.2	84.3	75.6	86.1	99.9	99.4	100.1	77.5	78.6	84.6
140	98.8	96.5	102.0	82.2	69.4	82.1	99.9	99.4	100.1	76.3	77.7	81.3
150	97.7	95.6	103.0	80.0	67.4	77.3	99.9	98.5	100.1	77.3	75.0	78.7
160	98.8	93.9	101.1	78.2	66.2	74.6	99.9	96.7	99.2	75.5	71.4	77.3
170	98.8	95.6	99.2	78.1	65.9	72.4	101.1	97.6	99.2	72.1	71.9	75.1
180	97.7	92.1	99.2	78.5	62.7	72.2	102.3	95.8	99.2	74.0	68.0	75.9
190	98.8	91.2	96.3	77.0	61.7	68.1	102.3	95.8	99.2	74.5	65.0	77.1
200	99.9	90.4	98.2	77.0	62.5	68.2	102.3	94.0	99.2	70.1	70.6	77.2
210	98.8	90.4	97.3	76.5	62.0	67.9	103.5	94.0	99.2	70.8	65.6	76.8
220	101.0	90.4	97.3	77.2	61.2	68.1	105.9	95.8	98.3	77.8	66.7	75.3
230	99.9	90.4	96.3	76.3	61.2	67.7	107.1	94.9	97.4	82.5	71.3	73.9
240	98.8	89.5	95.4	76.5	62.5	67.8	107.1	94.0	97.4	81.0	67.4	75.0
250	98.8	89.5	95.4	77.6	63.0	69.1	109.4	94.9	98.3	79.0	72.2	75.0

260	97.7	87.7	95.4	77.4	62.0	67.4	107.1	94.9	98.3	75.0	72.7	76.7
270	96.6	86.8	99.2	77.5	61.5	67.9	107.1	94.9	97.4	70.3	71.1	78.4
280	96.6	86.8	96.3	77.5	63.0	68.1	107.1	94.9	99.2	65.8	75.6	79.7
290	97.7	86.8	94.4	77.3	62.5	67.8	107.1	94.0	98.3	68.3	73.4	79.9
300	96.6	85.1	93.4	78.1	63.0	67.3	107.1	94.9	99.2	69.1	76.2	79.6
310	95.5	83.3	93.4	76.7	60.5	68.1	107.1	94.9	98.3	62.8	79.9	79.5
320	95.5	81.6	92.5	75.6	63.2	67.7	104.7	94.9	99.2	61.8	76.5	81.3
330	95.5	79.8	92.5	76.5	63.0	67.6	107.1	94.0	101.0	63.1	77.9	83.3

### 在人類中的作用期間之預測

【0774】 關於人類研究的作用期間之預測，在 PAH 小型豬模式中比較例 11 在吸入施用後與 Ventavis® (= 伊洛前列素(Iloprost)，10µg/kg 標稱劑量)進行比較，其用作為臨床參考。Ventavis®具有約 40 min 的最長作用期間。在整個 240 min 觀察間隔期間，所有劑量的比較例 11 都顯示劑量依賴性功效(見圖 50)。因此，在此臨床前動物模式中，作用期間與 Ventavis 相比長 6 倍以上。在臨床研究中，Ventavis 顯示約 60 min 的血液動力學(PVR)之作用期間(參見：Favorable Effects of Inhaled Treprostinil in Severe Pulmonary Hypertension Results From Randomized Controlled Pilot Studies Robert Voswinckel, MD,\* Beate Enke, MD,\* Frank Reichenberger, MD,\* Markus Kohstall, MD,\* Andree Kreckel, MD,\* Stefanie Krick, MD,\* Henning Gall, MD,\* Tobias Gessler, MD, PHD,\* Thomas Schmehl, PHD,\* Hossein A. Ghofrani, MD,\* Ralph Theo Schermuly, PHD,\* Friedrich Grimminger, MD, PHD,\* Lewis J. Rubin, MD,† Werner Seeger, MD,\* Horst Olschewski, MD\*‡Journal of the American College of Cardiology Vol. 48, No. 8, 2006)，其與我們觀察到的約 40 min 的作用期間有良好的相關性。

【0775】 假設比較例 11 的作用期間在 PAH 小型豬模式和人類之間具有可比性，如 Ventavis 的類似顯示和描述，比較例 11 在人類中的作用期間應至少為 6 小時甚至更長。

表 C.2.1.4：在 PAH 小型豬模式中媒液溶液、比較例 11(10、30 和 100 µg/kg 標稱劑量)和 Ventavis(10 µg/kg 標稱劑量)在吸入施用後的效應。PAP vs 基線(霧化開始前的 10 min 間隔)中之%改變%。數據為平均值± SD。

PAP %改變 vs 預置值										
時間	媒液 n=4		Ventavis® n=3		比較例 11 10µg/kg n=3		比較例 11 30µg/kg n=3		比較例 11 100µg/kg n=3	
	平均	SD	平均	SD	平均	SD	平均	SD	平均	SD
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	-0.2	2.7	-30.3	9.0	0.6	0.5	0.3	0.6	-2.1	2.7
20	-0.4	6.3	-20.7	21.6	0.2	0.3	-2.0	1.0	-7.2	3.8
30	0.5	6.5	-6.9	13.5	-0.7	0.4	-4.6	0.8	-14.6	6.0
40	2.4	4.1	1.7	2.9	-1.5	2.2	-7.8	0.9	-18.1	6.9
50	4.3	4.0	4.9	0.9	-2.3	2.7	-9.8	0.6	-22.2	8.6
60	5.6	4.6			-3.5	3.3	-11.8	1.0	-25.1	7.9
70	6.2	5.2			-4.2	3.2	-14.1	0.7	-27.0	7.4
80	6.2	5.2			-3.7	4.2	-14.2	0.7	-27.9	7.3
90	7.0	5.3			-4.3	4.6	-14.4	0.2	-28.9	9.1
100	7.0	5.3			-5.3	4.9	-14.8	0.3	-31.1	8.8
110	7.0	5.7			-6.2	4.9	-15.3	0.3	-30.8	8.4

120	7.6	5.5			-6.7	5.4	-15.3	1.0	-31.3	8.4
130	7.9	5.9			-6.2	4.9	-15.5	1.9	-31.2	9.1
140	7.7	5.5			-7	5.0	-15.3	2.2	-31.6	8.7
150	7.9	5.1			-7.6	5.3	-16.3	1.7	-31.1	8.2
160	8.9	4.8			-7.6	6.1	-16.3	2.3	-30.1	8.5
170	9	5.8			-8.2	5.9	-14.9	2.1	-31.1	8.9
180	8.6	6.0			-8.0	4.4	-14.7	2.1	-31.1	9.2
190	9.2	6.0			-7.8	4.7	-15.1	2.1	-30.5	8.5
200	8.9	5.7			-7.3	3.6	-15.3	2.6	-30.9	8.6
210	9.4	6.0			-7.5	4.5	-13.8	2.3	-30.6	8.9
220	9.9	5.3			-7.2	3.7	-13.6	2.2	-31.6	9.2
230	9.1	4.7			-7.2	3.4	-12.8	2.4	-31.2	7.4
240	8.4	4.1			-7.6	2.7	-13.4	1.9	-31.0	8.0

## 人類劑量預測

【0776】 為了產生人類劑量估計值，在 PAH 小型豬模式中重複比較例 11 的實驗，不同之處在於將吸收過濾器附接在管的末端以測定沉積的肺劑量。比較例 11 的霧化導致標稱施用劑量之 3-6% 的霧化效率。基於過濾器實驗的所有結果，沉積在過濾器上的氣霧劑分之算術平均值為 5%，導致約 0.15  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (3  $\mu\text{g}/\text{kg}$  標稱劑量)、0.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (10  $\mu\text{g}/\text{kg}$  標稱劑量)、1.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (30  $\mu\text{g}/\text{kg}$  標稱劑量) 和 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (100  $\mu\text{g}/\text{kg}$  標稱劑量) 的相對肺沉積劑量。假設 PAP 減少 5% 的最小有效標稱劑量為 3  $\mu\text{g}/\text{kg}$  和平均霧化效率為 5%，則基於 PAH 小型豬模式，最小有效沉積的肺劑量被認為是 0.15  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。因此，對於為 60 kg 體重的人類患者，最小有效肺沉積劑為 9-41  $\mu\text{g}$ ，取決於是否假定不同蛋白質結合的效應(參見表 2.1.5)。鑒於 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$

作為小型豬模式中的有效劑量，300-1370  $\mu\text{g}$  肺沉積劑量被假定為有效劑量，同樣取決於對不同種間蛋白質結合的考慮。

**表 C2.1.5.：**考慮和不考慮蛋白質結合之種間差異的有效肺劑量

小型豬中之相對肺沉積劑量 [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]	人類中之總肺沉積劑量 [ $\mu\text{g}$ ]	
	不考慮蛋白質結合的種間差異 <sup>a</sup>	考慮蛋白質結合的種間差異 <sup>b</sup>
0.15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 標稱劑量)	<b>9</b>	<b>41</b>
0.50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 標稱劑量)	<b>30</b>	<b>137</b>
1.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 標稱劑量)	<b>90</b>	<b>410</b>
5.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 標稱劑量)	<b>300</b>	<b>1370</b>

<sup>a</sup>計算(小型豬×型豬×g 中肺部相對沉積劑量)

<sup>b</sup>計算(小型豬×型豬相對沉積劑量間中相對肺沉積劑量(小型豬之未結合分率的比例(血漿 fu 0.348%)/人類(血漿 fu 0.0764%))

### 在氧化壓力條件下的效應

【0777】 為了模擬假定存在於不同心血管病症中的氧化壓力或低 NO 濃度的條件，在有和沒有以 ODQ(sGC 的抑制劑)或 L-NAME(NOS 抑制劑)預治療的情況下評估比較例 11。在 PAH 條件下，比較例 11(30 µg/kg ND)顯示選擇性降低 PAP 而對 BP 沒有任何效應(參見圖 51 和 52)。ODQ 或 L-NAME 的預治療導致以比較例 11 之 PAP 的降低增強，而對全身性 BP 沒有效應。相比之下，在氧化壓力或低 NO 濃度的條件下 Ventavis®的效應沒有增強。此外，同樣在此等病理生理條件下，比較例 11 的作用期間與 Ventavis®相比要長得多。

**表 C2.1.6：** 在 PAH 小型豬模式中 Ventavis® (10 µg/kg 標稱劑量)、媒液溶液和比較例 11(30 µg/kg 標稱劑量)和吸入施用後的效應。數據以各動物的絕對數字顯示。

時間	沒有預治療之動物						以 L-NAME 預治療之動物					
	PAP			BP			PAP			BP		
50	37.2	36.0	37.3	105.0	106.0	110.0	36.5	37.8	40.3	103.0	130.0	115.0
60	37.5	36.8	38.6	103.0	106.0	110.0	40.7	38.7	40.2	104.0	127.0	115.0
70	26.1	28.2	29.6	107.0	109.0	116.0	31.7	27.4	28.7	105.0	133.0	125.0
80	34.7	36.7	37.4	102.0	110.0	113.0	41.2	33.5	29.7	106.0	131.0	123.0
90	38.9	38.9	41.2	99.0	109.0	111.0	42.2	37.9	32.1	102.0	124.0	121.0
100	37.9	39.2	41.9	98.0	106.0	108.0	41.5	39.6	38.9	101.0	124.0	117.0
110	38.4	39.5	42.2	95.0	105.0	106.0	41.5	41.0	41.0	101.0	125.0	114.0
120	39.4	39.9	42.1	95.0	106.0	107.0	41.5	40.7	43.4	101.0	126.0	114.0
130	39.3	39.3	42.1	94.0	105.0	107.0	41.0	40.3	40.7	100.0	128.0	116.0
140	39.0	39.9	42.4	92.0	106.0	106.0	41.2	41.3	41.7	102.0	129.0	116.0
150	40.2	39.3	43.3	92.0	107.0	107.0	42.1	41.2	41.1	102.0	128.0	114.0

160	40.6	39.2	43.3	92.0	109.0	108.0	41.0	41.0	39.8	102.0	130.0	119.0
170	39.7	38.0	42.6	90.0	108.0	108.0	39.5	36.2	34.6	103.0	135.0	123.0
180	38.5	37.1	41.5	90.0	108.0	108.0	38.9	29.1	30.8	104.0	139.0	127.0
190	37.0	35.9	40.3	90.0	107.0	108.0	38.0	25.9	28.4	104.0	137.0	127.0
200	36.5	35.2	39.0	89.0	109.0	109.0	36.8	24.6	28.1	104.0	135.0	129.0
210	35.6	34.2	38.5	89.0	108.0	109.0	36.5	23.9	26.6	105.0	133.0	127.0
220	34.7	33.9	36.8	88.0	110.0	108.0	36.6	23.8	25.5	107.0	131.0	127.0
230	34.8	33.4	37.1	87.0	108.0	108.0	35.5	23.6	25.6	108.0	127.0	129.0
240	34.5	33.6	37.0	87.0	109.0	108.0	35.0	24.0	25.0	106.0	128.0	128.0
250	34.3	33.5	36.7	86.0	110.0	109.0	34.5	23.5	24.8	106.0	126.0	130.0
260	34.1	33.3	36.5	87.0	109.0	110.0	34.6	24.2	24.7	107.0	126.0	130.0
270	34.0	33.6	36.2	86.0	108.0	110.0	34.1	24.0	24.3	104.0	126.0	129.0
280	34.5	33.5	35.6	88.0	109.0	109.0	33.4	23.7	24.4	103.0	125.0	129.0
290	34.7	33.6	35.5	88.0	108.0	110.0	34.4	23.4	24.2	104.0	126.0	128.0
300	34.1	33.2	35.4	86.0	107.0	111.0	34.2	24.1	24.0	105.0	125.0	127.0
310	34.0	33.6	35.1	85.0	107.0	109.0	33.3	23.6	24.3	103.0	125.0	128.0
320	34.5	34.0	35.8	85.0	108.0	109.0	33.8	23.1	24.0	104.0	125.0	126.0
330	34.8	34.0	35.9	85.0	108.0	109.0	34.1	22.8	23.9	105.0	126.0	125.0
340	34.3	34.1	35.8	85.0	108.0	109.0	33.7	23.4	24.1	104.0	126.0	125.0
350	33.8	34.4	35.7	84.0	108.0	109.0	33.7	23.7	23.8	103.0	126.0	123.0
360	34.3	34.9	36.6	85.0	108.0	112.0	34.0	25.3	23.9	103.0	124.0	122.0
370	35.2	34.5	36.3	86.0	106.0	113.0	34.0	22.3	24.0	105.0	122.0	122.0
380	35.1	35.2	36.6	85.0	109.0	113.0	34.8	24.0	24.0	101.0	124.0	122.0
390	34.7	34.8	36.7	86.0	106.0	112.0	35.0	25.9	25.2	106.0	125.0	124.0

	以 ODQ 預治療之動物					
時間	PAP			BP		
50	37.5	38.2	39.8	98.0	107.0	85.0
60	37.6	39.8	37.7	95.0	107.0	89.0
70	33.6	26.4	25.9	97.0	103.0	92.0
80	37.4	32.8	32.1	98.0	105.0	92.0
90	38.5	37.5	38.2	100.0	104.0	92.0
100	38.8	40.6	39.2	101.0	104.0	93.0
110	39.3	39.5	40.0	103.0	103.0	94.0
120	38.2	40.6	39.6	104.0	102.0	95.0
130	38.1	38.3	38.9	103.0	101.0	95.0
140	38.5	40.4	40.2	104.0	100.0	94.0
150	38.8	39.6	40.2	107.0	100.0	94.0
160	39.6	40.1	40.9	109.0	100.0	94.0
170	37.2	35.4	38.0	108.0	99.0	95.0
180	35.2	34.5	36.6	108.0	99.0	96.0
190	33.8	31.5	32.3	107.0	100.0	96.0
200	32.1	30.6	30.2	107.0	101.0	95.0
210	31.0	28.4	31.6	106.0	99.0	97.0
220	31.4	27.5	31.1	106.0	98.0	97.0
230	29.9	26.3	31.7	106.0	97.0	98.0
240	30.6	25.0	30.7	106.0	96.0	98.0
250	29.4	25.6	31.4	107.0	96.0	100.0
260	30.1	24.0	29.3	109.0	95.0	97.0
270	29.4	23.7	31.4	107.0	95.0	98.0

280	29.6	22.8	30.8	109.0	92.0	99.0
290	29.5	23.2	33.0	109.0	91.0	96.0
300	29.3	22.3	30.6	105.0	89.0	101.0
310	29.6	22.9	32.4	105.0	89.0	102.0
320	29.5	21.4	31.7	104.0	86.0	101.0
330	29.3	23.4	32.0	105.0	85.0	101.0
340	30.7	21.8	32.4	108.0	83.0	100.0
350	30.8	22.8	32.3	108.0	83.0	100.0
360	31.4	21.0	32.7	108.0	80.0	100.0
370	31.7	22.6	30.6	109.0	82.0	98.0
380	31.6	21.3	31.9	109.0	80.0	97.0
390	32.1	22.2	31.4	109.0	79.0	97.0

### 與 PAH 之護理標準(SoC)相比的效應

【0778】 在 PAH 小型豬模式中比較吸入性比較例 11 之功效與全身性施用的波生坦、西地那非和里奧西瓜(參見圖 53a)。波生坦導致血壓下降且對 PAP 的效應很小，而西地那非和里奧西瓜的輸注導致 PAP 和血壓均下降。吸入性比較例 11 導致類似(30 µg/kg)或甚至更大 (100 µg/kg)的效應，而對 BP 沒有效應或效應很小。

【0779】 因此，與護理標準相比，比較例 11 的吸入施用提供明顯的益處，因為避免了全身性作用。與比較例 11 單獨治療相比，比較例 11(30 µg/kg)當與波生坦、西地那非或里奧西瓜組合時，保持其有關 PAP 的功效，而對 BP 沒有額外效應(參見圖 53b)。

**表 C2.1.7.A**：在小型豬中在凝血脂素類似物 U46619 誘發之 PAH 下，與全身施用波生坦(1mg/kg)、西地那非(300 µg/kg/h)和里奧西瓜(3 µg)相比，比較例 11(30 和 100 µg/kg 標稱劑量)吸入施用後對 PAP 和 BP 之%降低的效應。數據為各個動物的%改變。

	PAP 降低%				BP 降低%			
波生坦 1mg/kg	-3.7	3.9	-7.7	-16.0	-6.7	-15.0	-10.3	-12.7
西地那非 300 µg/kg/h	-15.3	-34.3	-16.1		-10.6	-6.1	-14.5	
里奧西瓜 3µg/kg/h	-9.1	-9.1	-16.8		-0.3	-8.8	-10.9	
比較例 11 30 µg/kg	-19.9	-22.8	-21.7		-6.8	1.6	3.5	
比較例 11 100 µg/kg	-33.1	-45.1	-38.2		-4.5	-9.9	-3.1	

**表 C2.1.7.B**：比較例 11 (30 µg/kg 標稱劑量)單獨吸入施用後或除全身性施用波生坦(1mg/kg)、西地那非(300 µg/kg/h)和里奧西瓜(3 µg/kg/h)之外對 PAP 和 BP 之%降低的效應。數據為各個動物的%改變。

	PAP 降低%			BP 降低%		
比較例 11 30 µg/kg 以 及波生坦 1mg/kg	-29.7	-27.1		-12.8	3.6	

比較例 11 30 µg/kg 以 及西地那非 300 µg/kg/h	-33.6	-36.9	-42.8	-6.9	-6.4	1.2
比較例 11 30 µg/kg 以 及里奧西瓜 3µg/kg/h	-29.7	-24.2	-26.3	3.1	-1.1	11.5
比較例 11 30 µg/kg	-19.9	-22.8	-21.7	-6.8	1.6	3.5

### 乾粉調配物的效應

【0780】 在化合物溶液霧化後，在比較例 11 之效應的表徵化後，在進一步的步驟中，以麻醉的 PAH 小型豬研究不同乾粉乳糖調配物之吸入施用後，比較例 11 之晶形(例如倍半水合物，例如實施例 6e)對 PAP 和 BP 之效應(表 C2.1.8)。

**表 C2.1.8：**小型豬實驗中施用的比較例 11 之晶形(例如倍半水合物，例如實施例 6e)的乾粉調配物

調配物	藥物負載 % (w/w)	每隻動物施用的乾 粉/ 藥物劑量	施用的比較例 11 之 晶形劑量
乳糖中之比較例 11 之晶 形的乳糖調配物 I	2	1.5 mg/ 30 µg	7.5 µg/kg
乳糖中之比較例 11 之晶 形的乳糖調配物 II	6	1.5 mg/ 90 µg	22.5 µg/kg
倍半水合物實施例 6e， 微粉化	100	1.5 mg/ 1500 µg	375 µg/kg

w/w：重量 / 重量

【0781】 經由連接到氣泵的 PennCentury®乾粉吹入器氣管內(i.t.)施用 1.5 mg/4 kg 動物重量乳糖媒液(LH300/LH200 20/78 或 LH300/LH200 20/80)、乳糖調配物 I(包含 2 w-%的比較例 11 之晶形的 LH300/LH200 20/78)、乳糖調配物 II(包含 6 w-%的比較例 11 之晶形或比較例 11 之微粉化晶形(例如倍半水合物，例如實施例 6e 的 LH300/LH200 20/80)。在所有動物中，乳糖施用導致 PAP 的增加而對血壓沒有任何效應(參見圖 54 - 57)。效應的開始在乳糖調配物 I(2% w/w)、乳糖調配物 II(6% w/w)或呈比較例 11 之微粉化晶形(例如倍半水合物，例如實施例 6e)之 i.t. 施用後，觀察到 PAP 降低而對 BP 沒有任何效應(參見圖 54-56)。如圖 57 中所示，在 i.t. 施用後，使用乳糖調配物 I (2% w/w)在大約 190 min 後、使用乳糖調配物 II (6% w/w) 在大約 170 min 後和使用微粉化倍半水合物實施例 6e 在大約 80 min 後緩慢達到最大效應。對於所有劑量，對 PAP 的選擇性效應持續完整 4h 觀察間隔。以此動物模式在此等實驗條件下使用乳糖製劑 II 以及微粉化倍半水合物實施例 6e 達到可達到的最大效應。如乳糖製劑 I 已經有效，比較例 11 以及其假多晶形(例如倍半水合物和單水合物 I 或單水合物 II，在以下測試中已顯示式 I 化合物之不同假多晶形的相似功效)的 MED 為 <7.5 µg/kg，其非常符合用液體溶液推導人類劑量預測(MED 3µg/kg)的實驗。由於技術限制，較低劑量不適用。

**表 C2.1.9：**不同乳糖媒液、乳糖調配物 I (7.5 µg/kg)、乳糖調配物 II (22.5 µg/kg) 和微粉化倍半水合物，例如實施例 6e (375 µg/kg)之後氣管內施用後的效應。數據以 PAP 和 BP[mmHg]的絕對值顯示(n=3)

	乳糖 1.5mg/4kg (@0min) +乳糖調配物 I 2% 1.5mg/4kg (@90min)		乳糖 1.5mg/4kg (@0min) +乳糖調配物 II 6% 1.5mg/4kg (@90min)	
時 間	PAP	BP	PAP	BP

0	38.8	37.1	37.2	101	106	119	38.6	36.8	40.0	110	115	93
10	37.3	37.7	37.6	95	110	118	39.4	37.1	39.2	111	112	92
20	35.3	36.8	38.4	96	106	119	39.9	37.9	39.1	113	117	88
30	40.4	37.2	38.7	101	105	119	40.3	37.4	39.8	114	115	89
40	41.8	37.8	39.4	103	105	119	40.9	38.5	40.9	113	116	92
50	41.9	39.4	39.2	105	102	118	41.7	38.1	41.0	113	115	93
60	41.9	40.9	39.7	107	100	118	42.4	38.0	39.8	112	114	91
70	40.9	41.2	39.6	108	101	116	42.8	39.2	41.6	112	113	95
80	37.6	42.4	37.4	108	94	111	43.3	39.5	40.6	111	113	93
90	35.5	42.3	38.4	111	97	111	43.0	39.2	40.2	111	110	93
100	38.1	43.8	37.5	113	100	110	43.2	40.0	42.5	110	112	94
110	38.8	43.8	36.5	114	93	107	44.2	38.5	40.4	110	111	94
120	40.9	43.8	35.3	115	96	107	42.7	36.5	40.1	110	111	96
130	40.9	43.6	34.2	115	89	106	40.8	36.4	38.6	110	109	96
140	41.3	42.3	33.5	116	86	105	40.6	35.6	35.6	109	110	96
150	41.3	39.5	33.2	117	89	104	39.9	35.0	35.9	110	108	98
160	40.4	39.0	32.9	116	87	103	38.8	34.1	34.1	110	107	98
170	40.9	38.1	32.9	116	86	102	37.1	34.8	32.5	110	106	97
180	40.9	38.1	32.6	114	88	101	35.5	31.6	32.6	109	105	98
190	41.5	39.7	33.6	116	90	102	34.4	31.7	30.8	108	106	96
200	39.3	39.7	32.5	112	89	103	34.5	31.7	30.5	108	106	95
210	40.2	39.7	32.3	112	90	102	34.5	31.5	30.3	107	106	96
220	38.6	38.7	31.5	110	89	104	34.2	29.9	28.6	106	104	95
230	39.3	38.7	31.5	111	88	105	32.7	29.5	28.6	106	104	96
240	38.2	38.5	30.5	109	89	104	32.2	28.6	28.0	106	104	96

250	40.3	38.1	31.2	110	90	103	31.6	29.1	27.4	105	102	96
260	39.6	36.4	30.0	107	90	100	29.6	28.7	27.7	105	102	97
270	38.7	36.9	29.3	108	94	98	28.8	27.9	26.6	104	103	94
280	39.6	36.2	28.9	106	91	98	32.5	27.2	26.2	105	102	93
290	40.1	37.0	28.3	107	91	95	31.5	26.6	26.6	105	100	91
300	38.2	37.9	28.0	104	90	92	30.6	26.6	25.7	104	101	94
310	40.0	37.1	27.4	105	91	92	30.6	26.3	26.0	105	97	93
							30.3	26.2	26.1	104	95	93
							30.2	26.0	25.7	103	95	93
							29.7	25.3	26.5	102	90	94

乳糖 1.5mg/4kg (@30min) + 倍半水合物的晶形實施例 6c 微粉化 1.5mg/4kg (@90min)												
時間	PAP						BP					
0												
10												
20		42.0		36.4		37.5		99		107		119
30		41.9		37.1		37.5		99		104		117
40		42.0		37.3		38.6		99		108		119
50		41.4		37.4		39.8		99		109		118
60		41.4		36.8		41.2		100		107		118
70		41.0		37.4		41.3		100		109		118
80		40.9		38.1		40.8		101		114		119
90		40.4		39.5		40.7		102		116		118
100		40.7		38.7		39.6		99		111		117

110	36.5	37.6	35.4	101	112	116
120	34.3	36.4	30.8	101	114	115
130	32.3	35.7	28.6	101	114	115
140	30.8	35.0	27.5	99	120	114
150	30.3	29.0	26.6	99	121	114
160	29.0	30.3	26.9	100	122	114
170	28.0	28.3	25.1	101	121	115
180	25.8	30.8	25.3	99	119	115
190	25.1	30.8	23.9	99	123	114
200	25.5	30.6	24.6	98	116	113
210	25.0	30.8	24.2	99	117	116
220	24.3	32.9	23.6	97	123	114
230	24.0	31.5	23.6	97	119	114
240	24.3	31.0	23.5	97	119	112
250	24.2	31.3	22.9	97	118	111
260	24.0	31.5	23.5	96	116	112
270	24.5	29.8	22.6	99	115	109
280	23.9	29.8	22.8	97	111	110
290	23.5	30.3	22.0	97	110	107
300	24.6	30.0	22.2	98	109	108
310	23.9	29.6	21.9	97	109	105
	25.3	29.1	22.5	94	108	105
	25.1	28.5	21.6	97	108	105

表 C2.1.10：不同乳糖煤液、乳糖調配物 I (7.5 µg/kg)、乳糖調配物 II (22.5 µg/kg) 和微粉化倍半水合物實施例 6e (375 µg/kg) 之氣管內施用後的效應。各動物之數據以對 PAP 之 % 改變 vs. 基線顯示，呈絕對值。

時間	乳糖調配物 I 2%			乳糖 LH300/LH200 20 : 78 m/m			乳糖調配物 II 6%			乳糖 LH300/LH200 20 : 80 m/m		
80	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
90	97.6	100.8	99.8	96.0	101.5	101.0	100.7	101.9	105.7	102.0	100.7	97.9
100	89.7	103.8	94.3	90.9	99.3	103.2	102.8	98.0	100.6	103.3	102.9	97.6
110	84.7	103.6	96.8	103.9	100.2	104.0	99.3	93.0	99.7	104.3	101.5	99.4
120	90.9	107.1	94.6	107.7	101.9	105.7	95.1	92.7	96.0	105.8	104.6	102.0
130	92.6	107.1	92.0	107.9	106.3	105.4	94.6	90.6	88.5	108.0	103.6	102.3
140	97.5	107.1	88.8	108.0	110.1	106.7	92.8	89.1	89.4	109.8	103.3	99.5
150	97.5	106.7	86.0				90.2	86.9	84.7	110.8	106.4	103.8
160	98.6	103.5	84.3				86.3	88.6	80.7	112.1	107.4	101.3
170	98.4	96.6	83.7				82.6	80.5	81.1	111.2	106.6	100.4
180	96.4	95.5	82.9				80.1	80.8	76.7	111.9	108.6	106.1
190	97.6	93.3	82.9				80.4	80.9	76.0			
200	97.6	93.3	82.1				80.2	80.1	75.4			
210	98.8	97.1	84.6				79.6	76.1	71.0			
220	93.7	97.3	81.9				76.1	75.2	71.2			
230	95.8	97.3	81.3				74.9	72.9	69.6			
240	92.1	94.6	79.4				73.5	74.1	68.2			
250	93.7	94.6	79.3				68.9	73.1	68.9			
260	91.0	94.1	76.8				66.9	71.1	66.1			
270	96.1	93.1	78.5				75.6	69.4	65.1			

280	94.5	89.2	75.5				73.4	67.8	66.1			
290	92.3	90.2	73.7				71.2	67.9	64.0			
300	94.3	88.6	72.8				71.2	67.1	64.7			
310	95.7	90.5	71.3				70.6	66.7	65.0			
320	91.0	92.8	71.3				70.2	66.3	63.9			
330	95.4	90.8	69.1				69.2	64.5	66.0			

時間	微粉化倍半水合物實施例 6e			乳糖 LH300/LH200 20 : 80 m/m		
80	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
90	98.9	103.6	99.8	99.7	101.8	100.1
100	99.5	101.4	97.3	100.0	102.3	103.2
110	89.3	98.7	86.8	98.6	102.5	106.3
120	84.0	95.6	75.7	98.6	101.0	110.1
130	78.9	93.7	70.2	97.7	102.6	110.1
140	75.2	91.8	67.5	97.4	104.6	108.8
150	74.0	76.0	65.4			
160	71.0	79.5	65.9			
170	68.5	74.3	61.5			
180	63.2	80.8	62.0			
190	61.5	80.8	58.6			
200	62.3	80.3	60.2			
210	61.0	80.7	59.4			
220	59.5	86.3	57.8			
230	58.6	82.6	57.8			
240	59.3	81.5	57.6			

250	59.3	82.2	56.1			
260	58.8	82.7	57.6			
270	59.9	78.3	55.4			
280	58.4	78.3	55.9			
290	57.4	79.6	53.9			
300	60.1	78.7	54.5			
310	58.4	77.6	53.7			
320	61.8	76.3	55.1			
330	61.3	74.8	53.0			

【0782】 總之，在此急性 PAH 之模式中包含比較例 11 之晶形(例如倍半水合物實施例 6e)的乾粉調配物在吸入施用後選擇性地和劑量依賴性地降低 PAP，具有至少 4 h 之長作用期間(參見圖 57)。增加施用劑量，觀察到清晰的劑量反應曲線。與霧化液體調配物(開始吸入後約約 90 min 的最大效應)相比，使用乳糖調配物，乳糖製劑 I 最大效應延遲至較晚的時間點(乳糖調配物 I (2% w/w) ~190 min，乳糖調配物 II (6% w/w)~ 170 min)。

### 乾粉的不同水合物之功效的評估

【0783】 此外，為了評估比較例 11 的不同水合物的功效，在 PAH 小型豬中經由 PennCentury®乾粉吹入器以 1.5mg/4kg (=375 µg/kg)的劑量氣管內施用呈微粉化單水合物 II (實施例 2)、微粉化半水合物(類似於實施例 6a)、以及微粉化倍半水合物(類似於實施例 6e)之比較例 11。在各實驗開始時施用純乳糖媒液作為參考。所有 3 種水合物顯示關於 PAP 降低和全身性 BP 降低之可比的功效(參見圖 58 和 59)。在觀察間隔的最後一小時內，所有 3 種水合物對全身性血壓都有輕微效應。此輕微的全身性 BP 降低可能是經由以相對較高的標稱 375 µg/kg i.t.

劑量施用之藥物的全身性溢出(overspill)引起。在麻醉期間的過程中在麻醉動物中也可能反映 BP 的一些降低。

**表 C2.1.11:** 比較例 11 在氣管內施用不同水合物: 微粉化單水合物 II (實施例 2)、微粉化半水合物(實施例 6a)和微粉化倍半水合物(實施例 6e)後對 BP 和 PAP 的效應。數據以絕對值[mmHg]顯示，呈平均值  $\pm$  SEM (n=3)

時間	單水合物 II (實施例 2)						半水合物(實施例 6a)					
	BP (平均)			PAP(平均)			BP (平均)			PAP(平均)		
-10	116	126	139	37.9	37.8	39.4	99	85	86	38.7	40.6	38.7
0	109	127	136	35.8	38.7	39.7	101	85	85	39.6	40.8	38.5
10	110	126	135	35.8	38.7	37.1	103	83	79	40.2	41.1	41.1
20	117	128	139	38.9	38.2	40.2	101	83	84	40.4	41.3	41.3
30	121	128	139	39.8	38.6	40.0	100	81	88	40.2	41.3	41.3
40	123	127	137	40.4	39.0	40.7	98	81	90	40.4	41.8	41.0
50	120	127	135	39.7	39.2	40.2	99	78	89	40.7	41.7	40.9
60	121	127	136	39.9	39.2	40.8	100	79	86	41.2	42.0	40.9
70	124	126	137	39.1	36.0	37.2	102	78	87	38.8	40.6	40.1
80	123	124	135	39.1	36.1	35.9	102	79	90	34.1	39.9	37.7
90	122	125	134	37.9	35.2	34.5	101	81	92	30.1	37.7	36.6
100	122	124	132	36.8	33.2	32.7	100	80	95	28.3	35.9	35.0
110	122	125	133	35.5	31.9	31.2	99	79	99	27.2	34.8	34.0
120	121	125	132	34.8	30.2	29.8	99	79	96	26.4	34.1	32.9
130	120	124	131	34.2	29.7	29.3	98	81	97	25.7	33.7	31.7

140	119	125	131	34.3	29.3	28.6	99	82	98	25.3	33.2	31.3
150	117	124	130	33.7	28.4	28.4	97	82	97	25.0	32.9	30.7
160	117	121	130	33.7	27.8	27.8	96	81	97	24.5	32.5	30.2
170	116	120	129	33.5	27.5	28.0	95	79	95	24.0	32.4	29.9
180	114	117	132	33.5	27.1	28.1	94	79	94	23.7	31.9	29.7
190	112	116	133	33.6	26.7	28.3	94	85	93	24.4	32.4	29.2
200	109	115	131	33.5	26.8	28.0	92	85	92	24.8	32.4	29.4
210	110	117	130	33.4	26.3	27.6	90	81	91	24.8	31.9	29.2
220	110	116	128	33.7	26.3	27.1	89	79	89	24.7	31.7	29.1
230	111	115	129	33.8	26.0	27.6	87	78	89	24.0	31.3	28.6
240	111	113	121	33.3	26.6	26.8	87	77	87	24.1	31.3	28.1
250	109	110	123	33.2	26.0	26.3	85	76	85	24.2	30.7	28.1
260	109	108	119	33.4	26.3	26.7	85	76	84	24.1	30.6	28.1
270	108	106	119	33.6	25.9	26.3	85	76	87	24.4	30.6	27.8
280	108	104	116	33.4	26.3	26.2	85	75	84	24.3	30.7	28.0
290	106	102	114	33.2	25.9	25.8	84	75	83	24.1	30.7	27.6
300	105	101	114	33.1	25.9	25.7	83	77	82	23.7	30.5	27.7

倍半水合物(實施例 6e)						
時間	BP (平均)			PAP(平均)		
-10	99	107	119	42.0	36.4	37.5
0	99	104	117	41.9	37.1	37.5
10	99	108	119	42.0	37.3	38.6
20	99	109	118	41.4	37.4	39.8

30	100	107	118	41.4	36.8	41.2
40	100	109	118	41.0	37.4	41.3
50	101	114	119	40.9	38.1	40.8
60	102	116	118	40.4	39.5	40.7
70	99	111	117	40.7	38.7	39.6
80	101	112	116	36.5	37.6	35.4
90	101	114	115	34.3	36.4	30.8
100	101	114	115	32.3	35.7	28.6
110	99	120	114	30.8	35.0	27.5
120	99	121	114	30.3	29.0	26.6
130	100	122	114	29.0	30.3	26.9
140	101	121	115	28.0	28.3	25.1
150	99	119	115	25.8	30.8	25.3
160	99	123	114	25.1	30.8	23.9
170	98	116	113	25.5	30.6	24.6
180	99	117	116	25.0	30.8	24.2
190	97	123	114	24.3	32.9	23.6
200	97	119	114	24.0	31.5	23.6
210	97	119	112	24.3	31.0	23.5
220	97	118	111	24.2	31.3	22.9
230	96	116	112	24.0	31.5	23.5
240	99	115	109	24.5	29.8	22.6
250	97	111	110	23.9	29.8	22.8
260	97	110	107	23.5	30.3	22.0
270	98	109	108	24.6	30.0	22.2

280	97	109	105	23.9	29.6	21.9
290	94	108	105	25.3	29.1	22.5
300	97	108	105	25.1	28.5	21.6

**表 C2.1.12:** 比較例 11 在氣管內施用不同水合物: 微粉化單水合物 II (實施例 2)、微粉化半水合物(實施例 6a)和微粉化倍半水合物(實施例 6e)後對 BP 和 PAP 的效應。數據以各動物的%改變 vs. 預置值顯示, 呈絕對值

時間	單水合物 II (實施例 2)						半水合物(實施例 6a)					
	PAP			BP			PAP			BP		
50	99.1	99.2	98.5	99.1	100.1	100.0	99.3	98.7	98.9	99.6	98.4	100.6
60	99.7	99.3	99.8	99.9	100.1	100.7	100.7	99.4	99.2	100.6	99.7	97.2
70	97.7	91.1	91.0	102.4	99.3	101.4	94.7	96.1	97.0	102.6	98.4	98.4
80	97.7	91.3	88.0	101.6	97.7	100.0	83.4	94.5	91.2	102.6	99.7	101.8
90	94.7	89.1	84.5	100.7	98.5	99.2	73.4	89.2	88.7	101.6	102.2	104.0
100	91.8	84.0	80.0	100.7	97.7	97.7	69.0	85.0	84.7	100.6	101.0	107.4
110	88.8	80.9	76.3	100.7	98.5	98.5	66.5	82.4	82.1	99.6	99.7	111.9
120	87.0	76.6	73.0	99.9	98.5	97.7	64.4	80.8	79.7	99.6	99.7	108.6
130	85.5	75.2	71.7	99.1	97.7	97.0	62.8	79.9	76.7	98.6	102.2	109.7
140	85.6	74.3	70.0	98.3	98.5	97.0	61.8	78.7	75.7	99.6	103.5	110.8
150	84.1	71.9	69.4	96.6	97.7	96.3	60.9	78.0	74.3	97.6	103.5	109.7
160	84.1	70.4	68.1	96.6	95.3	96.3	59.9	77.1	73.1	96.6	102.2	109.7
170	83.8	69.8	68.5	95.8	94.5	95.5	58.6	76.7	72.3	95.6	99.7	107.4
180	83.8	68.7	68.9	94.1	92.2	97.7	58.0	75.4	71.8	94.6	99.7	106.3
190	83.9	67.7	69.3	92.5	91.4	98.5	59.5	78.4	70.7	94.6	108.5	105.2

200	83.7	67.9	68.5	90.0	90.6	97.0	60.5	76.8	71.1	92.6	107.3	104.0
210	83.4	66.5	67.7	90.8	92.2	96.3	60.6	75.5	70.8	90.6	102.2	102.9
220	84.0	66.7	66.2	90.8	91.4	94.8	60.3	75.1	70.3	89.6	99.7	100.6
230	84.5	65.8	67.6	91.6	90.6	95.5	58.7	74.1	69.1	87.6	98.4	100.6
240	83.2	67.3	65.6	91.6	89.0	89.6	58.9	74.2	68.0	87.6	97.2	98.4
250	83.0	65.7	64.3	90.0	86.7	91.1	59.0	72.7	67.9	85.5	95.9	96.1
260	83.3	66.7	65.4	90.0	85.1	88.1	58.8	72.5	68.0	85.5	95.9	95.0
270	83.8	65.6	64.3	89.2	83.5	88.1	59.6	72.4	67.3	85.5	95.9	98.4
280	83.3	66.5	64.1	89.2	81.9	85.9	59.3	72.6	67.8	85.5	94.6	95.0
290	82.8	65.5	63.1	87.5	80.4	84.4	58.8	72.6	66.7	84.5	94.6	93.9
300	82.7	65.7	62.9	86.7	79.6	84.4	57.9	72.2	67.1	83.5	97.2	92.7

倍半水合物(實施例 6c)						
時 間	PAP			BP		
	50	98.3	96.2	101.2	101.4	98.5
60	97.2	99.6	101.1	102.5	100.3	99.4
70	97.8	97.5	98.5	99.4	96.0	98.6
80	87.8	94.9	87.9	101.4	96.8	97.7
90	82.5	92.0	76.6	101.4	98.5	96.9
100	77.6	90.1	71.1	101.4	98.5	96.9
110	74.0	88.3	68.4	99.4	103.7	96.1
120	72.8	73.1	66.2	99.4	104.6	96.1
130	69.8	76.4	66.8	100.4	105.5	96.1
140	67.3	71.4	62.2	101.4	104.6	96.9

150	62.1	77.7	62.8	99.4	102.9	96.9
160	60.4	77.7	59.3	99.4	106.3	96.1
170	61.3	77.3	61.0	98.4	100.3	95.2
180	60.0	77.6	60.1	99.4	101.1	97.7
190	58.5	83.0	58.5	97.4	106.3	96.1
200	57.6	79.4	58.5	97.4	102.9	96.1
210	58.3	78.3	58.3	97.4	102.9	94.4
220	58.3	79.0	56.8	97.4	102.0	93.5
230	57.8	79.6	58.3	96.4	100.3	94.4
240	58.9	75.3	56.1	99.4	99.4	91.8
250	57.4	75.3	56.6	97.4	96.0	92.7
260	56.4	76.5	54.6	97.4	95.1	90.2
270	59.1	75.7	55.2	98.4	94.2	91.0
280	57.4	74.6	54.4	97.4	94.2	88.5
290	60.8	73.3	55.8	94.4	93.4	85.9
300	60.3	72.0	53.7	101.4	90.8	84.3

### C-2.2 清醒缺氧激發的(challenged)狗

【0784】 我們評估在清醒條件下，在另一個物種中以及在用於 PAP 升高的更多生理刺激下之比較例 11 的肺選擇性和作用期間。將狗暴露於低氧環境經 30 分鐘以誘發低氧介導的 PAP 升高，並在缺氧前 1、5、12、16 和 24 小時藉由吸入施用比較例 11 (100 µg/kg 標稱劑量)。與媒液治療的動物相比，使用比較例 11 觀察到缺氧誘發之 PAP 升高的減弱經 1-17 小時，並在 24 小時後消散(參見圖 60a、60b、61a-e、和 62)。觀察到對 HR 沒有效應(數據未顯示)。

**表 C2.2.1**：在清醒狗中比較例 11 (100 µg/kg 標稱劑量)在缺氧前 1、5、12、16 和 24 小時吸入施用後對缺氧誘發之 PAP 升高的效應。數據係以絕對值 vs. 媒液治療的動物顯示(n=3)

吸入後 時間	比較例 11 在缺氧期間的 mPAP 降低[mmHg]		
1-2h	-12.44	-11.44	-10.13
5-6h	-16.13	-5.44	-8.75
12-13h	-3.44	-4.81	-1.69
16-17h	-2.25	-4.25	-3.00
24-25h	-0.13	-1.94	-0.50

**【0785】** 比較例 11 在此模式中的作用期間為 16-17 小時。100 µg/kg 的標稱劑量與小型豬實驗中的有效相似，不幸地沉積的肺劑量的測定在技術上是不可能的。

**【0786】** 缺氧狗模式也使用於比較在清醒條件下的不同候選藥物之作用期間。比較例 11 和比較例 4，其在 PAH 小型豬模式中顯示相似的肺選擇性和較長的作用期間，在 100 µg/kg 標稱劑量吸入施應用後在缺氧狗模式中進行面對面的直接比較。吸入後長達 6 小時，兩種化合物都顯示可比較的功效。吸入後 12 和 16 hrs 進行的實驗指出比較例 11 關於作用期間的優點，與比較例 4 相比，比較例 11 的 PAP 降低更有效。在吸入後 24hr 測量到的實例 4 的降低被認為是不一致的發現，因為與比較例 11 相比，其也不符合實驗的時程(參見圖 61a-61e 和圖 62)。

表 C2.2.2: 在清醒狗中比較例 11 和比較例 4 (100 µg/kg 標稱劑量) 在缺氧前 1、5、12、16 和 24 小時吸入施用後對缺氧誘發之 PAP 升高的效應。數據係以各動物的絕對值顯示

1h									
時間 [min]	媒液			比較例 11			比較例 4		
0	10	16	12	9	13	9	11	15	12
2	10	14	11	11	13	7	9	13	11
4	11	13	11	10	13	8	9	15	10
6	11	13	10	12	13	8	9	14	11
8	12	14	18	10	12	9	10	14	11
10	12	14	14	10	12	10	9	14	11
12	19	20	18	10	14	9	12	15	9
14	24	24	17	10	15	10	12	17	8
16	24	27	22	10	15	11	12	17	7
18	25	26	21	10	15	12	11	16	8
20	28	33	22	10	17	11	12	16	9
22	26	34	20	11	15	11	13	16	9
24	25	31	20	12	17	10	12	19	9
26	27	33	21	12	18	10	12	18	9
28	27	33	20	13	19	8	13	18	8
30	27	31	22	12	18	10	13	18	10
32	28	29	22	14	19	10	13	21	9
34	25	30	22	13	19	10	13	20	8
36	24	30	23	12	19	11	14	22	9
38	24	29	22	15	19	12	13	21	11

40	21	30	22	13	20	11	15	23	12
42	15	22	15	11	14	10	13	17	13
44	12	17	10	11	15	10	11	18	12
46	13	16	13	10	15	10	12	19	11
48	12	19	9	10	16	10	11	18	11
50	12	16	9	11	17	10	12	15	12
5h									
時間 [min]	媒液			比較例 11			比較例 4		
0	18	13	18	10	14	15	12	16	15
2	18	12	16	9	15	15	11	15	12
4	17	11	15	7	15	14	10	14	13
6	17	12	16	8	15	13	10	14	13
8	16	10	14	8	13	13	10	13	16
10	19	11	14	7	13	10	10	14	12
12	23	23	19	12	17	15	13	14	10
14	20	18	22	11	17	15	10	14	15
16	23	20	23	11	17	16	12	14	14
18	26	24	23	12	16	13	13	16	15
20	26	24	23	12	17	15	9	15	14
22	28	26	23	12	17	14	12	14	15
24	29	25	24	11	18	14	13	17	14
26	31	26	24	11	18	14	12	16	16
28	29	28	25	12	18	12	12	16	15
30	30	25	22	11	18	15	13	16	16

<b>32</b>	28	26	23	11	19	11	11	19	16
<b>34</b>	28	24	23	9	16	14	14	16	14
<b>36</b>	30	21	24	9	19	16	11	17	15
<b>38</b>	29	21	23	9	19	14	12	20	16
<b>40</b>	28	21	26	9	17	13	13	18	16
<b>42</b>	21	16	16	9	14	11	9	16	12
<b>44</b>	18	12	14	9	13	11	8	16	11
<b>46</b>	18	12	11	9	13	12	8	14	11
<b>48</b>	17	11	12	9	12	10	9	15	12
<b>50</b>	17	13	12	8	13	11	8	18	10
12h									
時間 [min]	媒液			比較例 11			比較例 4		
<b>0</b>	8	17	6	6	15	9	6	15	9
<b>2</b>	9	14	7	5	16	10	4	14	7
<b>4</b>	7	13	7	7	15	7	4	15	
<b>6</b>	8	11	6	6	15		5	13	7
<b>8</b>	8	13	6	5	15	7	5	16	8
<b>10</b>	11	13	7	4	15	7	5	14	6
<b>12</b>	17	16	11	20	17	10	18	16	11
<b>14</b>	18	19	11	19	17	10	22	16	11
<b>16</b>	19	19	12	19	17	10	23	20	14
<b>18</b>	20	24	16	22	21	14	22	18	14
<b>20</b>	24	25	15	21	20	15	25	19	15
<b>22</b>	23	26	15	24	23	19	26	19	16

<b>24</b>	23	25	18	20	22	13	26	20	16
<b>26</b>	24	28	17	19	22	13	23	22	16
<b>28</b>	26	32	17	18	21	15	25	22	17
<b>30</b>	23	28	20	21	23	16	25	23	17
<b>32</b>	27	30	17	21	22	15	24	23	17
<b>34</b>	24	29	19	19	20	18	20	23	16
<b>36</b>	30	27	19	18	21	17	24	25	18
<b>38</b>	24	32	18	18	23	14	20	24	19
<b>40</b>	22	29	17	17	21	16	19	24	17
<b>42</b>	8	21	8	9	15	10	12	16	10
<b>44</b>	8	18	7	7	15	9	8	15	7
<b>46</b>	8	16	6	6	15	11	6	15	7
<b>48</b>	5	17	7	7	15	11	6	15	7
<b>50</b>	9	17	8	6	15	10	6	13	7
16h									
時間 [min]	媒液			比較例 11			比較例 4		
<b>0</b>	8	17	8	8	13	9	5	16	10
<b>2</b>	7	16	7	7	13	7	5	16	7
<b>4</b>	6	14	8	7	14	6	6	16	8
<b>6</b>	7	15	7	7	13	7	6	15	6
<b>8</b>	6	15	8	8	13	5	7	15	7
<b>10</b>	10	16	7	8	13	5	7	15	7
<b>12</b>	18	20	14	20	16	8	19	24	11
<b>14</b>	20	20	11	19	21	13	19	22	14

16	20	24	15	18	21	13	25	23	16
18	21	30	17	15	20	12	23	25	16
20	23	26	19	23	18	15	24	22	16
22	22	22	13	23	23	12	23	26	13
24	23	30	18	21	27	14	23	26	14
26	27	28	15	23	24	12	21	32	15
28	22	31	21	21	25	15	22	29	17
30	24	32	20	21	23	14	26	31	18
32	24	31	19	18	26	16	24	29	16
34	21	34	20	18	28	15	23	32	21
36	22	32	22	17	25	18	20	29	19
38	20	28	20	18	27	17	25	29	12
40	19	29	13	17	28	17	25	30	22
42	13	21	9	9	19	13	12	21	8
44	7	19	9	7	18	9	9	17	7
46	7	20	8	7	18	6	9	16	8
48	7	19	8	6	16	9	6	16	8
50	7	18	9	7	15	8	6	15	6
24h									
時間 [min]	媒液			比較例 11			比較例 4		
0	10	16	12	10	15	15	10	16	15
2	10	14	11	9	14	12	12	16	17
4	11	13	11	8	14	10	10	15	16
6	11	13	10	8	16	11	10	13	14

<b>8</b>	12	14	18	8	14	9	9	14	12
<b>10</b>	12	14	14	9	11	10	10	15	14
<b>12</b>	19	20	18	20	20	15	18	22	14
<b>14</b>	24	24	17	23	22	19	18	19	15
<b>16</b>	24	27	22	27	24	22	20	23	17
<b>18</b>	25	26	21	27	26	20	23	25	17
<b>20</b>	28	33	22	29	29	23	23	24	21
<b>22</b>	26	34	20	27	30	22	22	26	17
<b>24</b>	25	31	20	26	28	22	24	25	18
<b>26</b>	27	33	21	24	29	17	23	25	19
<b>28</b>	27	33	20	26	29	20	22	27	18
<b>30</b>	27	31	22	24	30	21	23	33	19
<b>32</b>	28	29	22	25	28	20	26	28	20
<b>34</b>	25	30	22	25	34	22	23	27	19
<b>36</b>	24	30	23	25	28	22	24	31	22
<b>38</b>	24	29	22	24	28	24	22	26	21
<b>40</b>	21	30	22	23	27	21	24	28	21
<b>42</b>	15	22	15	15	21	12	19	24	15
<b>44</b>	12	17	10	11	22	14	13	22	12
<b>46</b>	13	16	13	11	21	12	13	21	10
<b>48</b>	12	19	9	9	20	9	13	17	10
<b>50</b>	12	16	9	9	17	9	10	18	14

**表 C2.2.3:** 在清醒狗中比較例 11 和比較例 4 (100 µg/kg 標稱劑量) 在缺氧前 1、5、12、16 和 24 小時吸入施用後對缺氧誘發之 PAP 升高的效應。數據係以各動物在缺氧期間平均 PAP 降低的絕對值以及平均值±SEM 顯示。

吸入 後時 間	比較例 11 在缺氧期間 的 mPAP 降低[mmHg]			比較例 11 平均 +/- SEM	比較例 4 在缺氧期間的 mPAP 降低[mmHg]			比較例 4 平 均 +/- SEM
	n=3				n=3			
1-2h	-12.44	-11.44	-10.13	-11.33±0.67	-11.69	-10.19	-11.38	-11.08±0.46
5-6h	-16.13	-5.44	-8.75	-10.10±3.16	-14.81	-6.69	-8.00	-9.83±2.52
12-13h	-3.44	-4.81	-1.69	-3.31±0.90	-0.50	-4.63	-0.56	-1.90±1.36
16-17h	-2.25	-4.25	-3.00	-3.17±0.58	0.81	-0.56	-1.06	-0.27±0.56
24-25h	-0.13	-1.94	-0.50	-0.85±0.55	-2.56	-3.13	-2.25	-2.65±0.26

### C-2.3 對動脈加氧作為 VQ-不匹配的取代物- 肺內選擇性的影響

**【0787】** 在媒液治療的麻醉小型豬(對照組動物)中，單側肺通氣重複 10 min 循環導致 PAP 的可重複增加，伴隨著血紅素(SaO<sub>2</sub>)的動脈氧飽和度(SaO<sub>2</sub>)下降(參見圖 63)。在整個實驗過程期間 HR 和全身性 BP 穩定(參見圖 64)；只有比較例 11(30 µg/kg 和 100 µg/kg)的 i.v. 施用誘發預期的血壓下降。在實驗過程期間，媒液治療的對照動物證明在隨後的單側通氣循環中 PAP 水平的小增量增加的趨勢。在以吸入施用比較例 11(100 µg/kg 標稱劑量)治療的動物中，與媒液治療的對照組動物(介入循環[吸入] 圖 63)相比，觀察到趨向於較小的去飽和區域以及含氧量正常的條件下 PAP 下降，但也在支氣管閉塞循環。此等效應在比較例 11 吸入後 90 min(第二個介入循環(吸入))更為明顯。吸入後 90 min，比較例 11 顯示出最大效果。i.v. 施用後，與媒液治療的動物(介入循環[i.v.]相比，比較例 11 導致去飽和區域的增加以及 PAP 進一步降低。

【0788】 氧 PAP 的改變(按所要效應減少),另一方面比較不要的去飽和惡化。因此,在各個組內比較最大缺氧 PAP 的平均%改變和氧飽和度曲線 [AUCSaO2]下面積的相關%改變(參見圖 65)。作為各組中的參考循環,我們將第 3 循環使用於吸入施用,將第 4 循環使用於 i.v。在單側通氣循環期間,缺氧誘發之平均肺動脈壓(mPAP)升高在吸入後(循環 6)以及 i.v. 施用後(循環 7 和 8)被比較例 11 有效降低。由於同時施用,在循環 5 中沒有觀察到減少。關於去飽和效應,比較例 11 在吸入施用後並沒有增加去飽和區域,甚至顯示有去飽和區域減小的趨勢。相比之下,在後全身性施用,比較例 11 誘發去飽和區域的劑量依賴性增加,如全身性施用的血管擴張劑(例如波生坦、西地那非、里奧西瓜)所述(參照 Becker EM, Stasch J-P, Bechem M, Keldenich J, Klipp A, et al. (2013) Effects of Different Pulmonary Vasodilators on Arterial Saturation in a Model of Pulmonary Hypertension. PLoS ONE 8(8): e73502. doi:10.1371/journal.pone.0073502)。

**表 C2.3.1**：基於代表性循環的效應,比較例 11 降低最大缺氧 PAP(正治療效應)和 AUCSaO2 (不要的去飽和效應)的能力(n = 4 隻動物);數據為平均值±SEM (n=4)

媒液吸入		吸入 I 循環 5		吸入 II 循環 6		媒液推注		iv 推注 30µg		iv 推注 100µg	
%減 少 δ	%增 加	%減 少 δ	%增 加	%減 少 δ	%增 加	%減 少 δ	%增 加	%減 少 δ	%增 加	%減 少 δ	%增 加
PAP	AUC SaO2	PAP	AUC SaO2	PAP	AUC SaO2	PAP	AUC SaO2	PAP	AUC SaO2	PAP	AUC SaO2
0	0	1.8± 3.2		-19. 6±	-39.4 ±10.3	0	0	-23. 8±	48.1± 43.7	-14. 3±1	282.8 ±176. 4

				5.3				5.0		2.5	
--	--	--	--	-----	--	--	--	-----	--	-----	--

【0789】 總之，在單側支氣管阻塞之模式中比較例 11 有效降低 PAP 升高。在此模型中，與全身性施用的比較例 11 相比，吸入施用後沒有檢測到對去飽和區域的負面影響。因此，在吸入施用後，與全身性施用的血管擴張劑相比，比實施例 11 顯示更好的風險效益比，且對於在全身性施用的血管擴張劑之治療下處於通氣灌注不匹配的風險之 PH 的患者可能是一種有效但也是安全的治療。

### C-3. 體外和體內支氣管擴張作用

#### C-3.1 體外支氣管舒張

【0790】 使用二氧化碳將雄性 Dunkin Hartley 天竺鼠安樂死。移出初級支氣管(primary bronchus)並放置於下列組成的冰冷 Krebs-Henseleit 緩衝液中：NaCl 112、KCl 5.9、CaCl<sub>2</sub> 2.0 MgCl<sub>2</sub> 1.2、NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.2、NaHCO<sub>3</sub> 25、glucose 11.5。將支氣管切成由 2 個支氣管環組成的環，並轉移到含有在 37°C 下用 95% O<sub>2</sub>、5% CO<sub>2</sub> 平衡之 Krebs-Henseleit 溶液的 20 ml 器官浴中。為了記錄等長張力(isometric tension)，將支氣管環安裝在兩個鉤子之間。一個鉤子連接至轉換器，另一個是可移動的且可精確調整於 1.5 g 的靜息張力(resting tension)。在 60 min 的平衡期間，每 20 min 用緩衝液洗滌組織。各實驗都以將製劑暴露於乙醯膽鹼(10 μmol/l)開始。接著使用 0.1 μmol/l 卡巴可(carbachol)預收縮氣管環。30 min 後，構建測試化合物的累積劑量反應曲線。培養各濃度直至反應穩定。卡巴可誘發之穩定收縮定義為 100%張力。舒張表示為百分比張力。對於洗出實驗，將測試化合物以一種濃度施用於浴經 1 h 及之後使用含有 0.1 μmol/l 卡巴可的 Krebs-Henseleit 緩衝液洗出。

【0791】 恢復因子計算為化合物施用後 1h 的支氣管擴張和移除(洗出)測試化合物後 1h 的支氣管擴張的比率。與媒液對照組相比，西那西瓜(比較例 1)、

里奧西瓜(比較例 2)和比較例 11 誘發預先收縮的天竺鼠氣管環之舒張(見圖 66)。經由西那西瓜(比較例 1)和里奧西瓜(比較例 2)之舒張在 1h 培養時間內達到穩定狀態。經由比較例 11 之舒張進一步增加。里奧西瓜(比較例 2)誘發之舒張是完全可逆的(恢復因子 0.34)。西那西瓜(比較例 1)誘發之舒張保持穩定,具有與媒液(恢復因子 0.99)相似的輕微降低(恢復因子 0.91)。相比之下,比較例 11 誘發之舒張在洗出期期間進一步進展(恢復因子 1.41)。

**【0792】** 此等研究結果表明與里奧西瓜和西那西瓜相比,比較例 11 關於支氣管擴張性質之較長作用期間。

**表 C3.1.1:** 不同化合物: 比較例 1 (西那西瓜) 1 nmol/l、比較例 11 1  $\mu$ mol/l、比較例 2 (里奧西瓜) 1  $\mu$ mol/l)對支氣管擴張的效應。數據顯示為平均值  $\pm$  SEM。

化合物	舒張(%) (於 70 min 之時間點)			舒張(%) (於 130 min)之時間 點			60 min 後 之恢復因 子
	平均	SEM	n	平均	SEM	N	
媒液	88.3	4.72	13	88.4	4.04	13	0.99
比較例 11	72.2	4.60	11	51.3	6.29	11	1.41
比較例 2, 里奧西瓜	29.1	11.26	9	85.1	5.52	9	0.34
比較例 1, 西那西瓜	60.4	4.68	12	66.2	4.10	12	0.91

--	--	--	--	--	--	--	--

### C-3.2 體內支氣管舒張

【0793】 支氣管收縮模式(參見 Hoymann HG. Lung function measurements in rodents in safety pharmacology studies. *Front Pharmacol* 2012;3:156)使用雄性 Brown Norway 大鼠(Charles River, Sulzfeld, Germany : 10-12 週年齡)隨機分為三個治療組(比較例 11 , 1  $\mu\text{g}/\text{kg}$  、 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$  和 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ; n= 12-13) , 1 個陽性對照組(噻托溴銨(tiotropium)1  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ; n=12)和 1 媒液對照組(n=17)。在激發前 60 分鐘用吸入的測試化合物治療動物。比較例 11、賦形劑或噻托溴銨使用微進料系統和用加壓空氣操作的分散噴嘴霧化。氣霧劑濃度藉由過濾器取樣和重量分析測定,並以光度計連續監測。從吸入劑量評估肺沉積劑量(Raabe OG, Al-Bayati MA, Teague SV, Rasolt A. Regional Deposition of Inhaled Monodisperse Coarse and Fine Aerosol Particles in Small Laboratory Animals. *The Annals of Occupational Hygiene* 1988;32:53-63)。如前所述進行用於激發試驗的乙醯膽鹼氣霧劑的產生(Bronchy III 型和 Fraunhofer ITEM 分散噴嘴)(Hoymann H, Heinrich U. Measurement of lung function in rodents in vivo. In: Uhlig S, Taylor A, editors. *Methods in Pulmonary Research*: Birkhäuser Basel; 1998. p. 1-28; Glaab T, Mitzner W, Braun A, Ernst H, Korolewitz R, Hohlfeld JM, Krug N, Hoymann HG. Repetitive measurements of pulmonary mechanics to inhaled cholinergic challenge in spontaneously breathing mice. *J Appl Physiol* 2004;97:1104-1111; Hoymann HG. New developments in lung function measurements in rodents. *Exp Toxicol Pathol* 2006;57 Suppl 2:5-11.)。治療後和額外的暫停以符合從治療結束到乙醯膽鹼激發開始的 60 分鐘-時間段,將動

物麻醉(腹膜內 80 mg/kg 他命和 4 mg/kg 甲苯噻嗪(xylazine))進行經口氣管插管並置於身體體積變化描記器。將氧氣調整至大約 40%。呼吸達到穩定狀態後，將自主呼吸動物的肺功能記錄為 $\geq 2$ 分鐘的基線值；在其他參數中，肺阻力(= RL)和動態順應性(= Cdyn)用於評估支氣管收縮。使用 HEM 軟體 4.2 版(Notocord Systems, Croissy, France)進行數據記錄和處理。在吸入治療後  $60 \pm 15$  分鐘記錄基線值後，用乙醯膽鹼(5% 水溶液氣霧劑)激發動物。肺功能的評估在暴露期間和暴露後 $\geq 3$ 分鐘持續。

**【0794】** 將測試化合物的支氣管擴張功效與媒液對照組和陽性對照噻托溴銨組進行比較；參數測試、ANOVA 和參數 Dunnett 測試用於評估組間的任何顯著差異。為了評估功效，計算乙醯膽鹼誘發之支氣管收縮反應的抑制。

**【0795】** 在麻醉大鼠在基線和支氣管收縮(乙醯膽鹼-激發)後測量肺功能。為了定量對乙醯膽鹼的支氣管收縮反應，評估 RL 的增加和 Cdyn 的減少。長效膽鹼能 M3 受體阻斷劑噻托銨係用作陽性對照並抑制乙醯膽鹼誘發之支氣管痙攣，同時 RL 降低(參見圖 67a 和 67b)。類似地，比較例 11 誘發在基線以及乙醯膽鹼之支氣管痙攣下之劑量依賴性顯著(1、10 和 100 $\mu$ g/kg)的支氣管擴張作用。

### C- 3.3 慢性氣喘模式

**【0796】** 進行該研究以調查在致敏小鼠中用比較例 11 的吸入治療是否對實驗性過敏原誘發之晚期氣道高反應性和發炎具有保護作用。雌性 BALB/c 小鼠用卵白蛋白(Ova)和氫氧化鋁佐劑致敏並加強(第 0、14 和 21 天)，接受 NaCl 的陰性對照組除外。在第 28 天和第 29 天，用 Ova 氣霧劑激發動物。在第 30 天，對所有組的所有動物進行高反應性測試，接著進行支氣管肺泡灌洗(BAL)。治療組 D(10 $\mu$ g)和 E(100 $\mu$ g)在每次 Ova 激發前 2 小時用比較例 11 吸入治療。A 組和 B 組，即陽性和陰性對照組，用媒液進行相應治療。Ova 致敏陽性對照組 A 應顯示完全過敏反應，及相比之下，假致敏陰性對照組 B 應顯示無過敏反應。作

為參照組，C組的動物用皮質類固醇地塞米松(dexamethasone)吸入治療，但由於其不同的作用機制，在每次 Ova 激發前 18h 和 1h(在第 27、28 和 29 天)。在第 30 天，在過敏晚期中 Ova 激發後 24 h，在經口氣管插管的小鼠中測量肺功能，尤其是 RL，並進行對氣道高反應性的測試(雙倍劑量步驟中的吸入乙醯甲膽鹼(methacholine)激發)。與陰性對照組相比，在陽性對照中發現晚期過敏期的顯著氣道高反應性和嗜酸性球增多，其證明動物模式的有效性。用地塞米松治療的動物顯示氣道高反應性的 89%和 70%抑制(最大有效劑量[ED100]、150%的最大有效劑量[ED150]；產生阻力的 100%或 150%增加之有效吸入 MCh 劑量( $\mu\text{g}$ )和嗜酸性球流入(eosinophilic influx)的 100%抑制。此等抑制效應顯示成功的治療干預。相比之下，比較例 11 在低劑量下沒有或只有邊際效應，但在 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$  的高劑量下有一定的抑制效應，氣道高反應性的 38%和 32%抑制(參見圖 68)。另外，在低劑量組和高劑量組中用比較例 11 的預處理產生比陽性對照組高的淋巴細胞計數，但 19%和 31%抑制的嗜酸性球流入(參見圖 69a-c)。總體而言，在使用過敏性氣喘之小鼠模式的預防性治療概念中，比較例 11 在 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$  之肺沉積劑量下顯示對氣道高反應性和發炎的抑制效應。

#### C-4.1 健康男性個體中投予 sGC 活化劑經 7 天 - cGMP 和支氣管擴張

【0797】 年齡在 18 至 45 歲且身體質量指數(BMI)高於/等於 18.5 且低於/等於 29.9  $\text{kg}/\text{m}^2$  的健康白人男性個體在臨床藥理 I 期研究中接受為期 7 天的治療，每天一次吸入 480  $\mu\text{g}$  或 1000  $\mu\text{g}$  或 2000  $\mu\text{g}$ (2 個 1000  $\mu\text{g}$  膠囊)(標稱劑量)的劑量之實施例 2 或安慰劑的乾粉調配物。個體藉由一次深吸氣從插入手持式吸入裝置的膠囊中吸入藥粉(見 D-1 項，例如表 22 和 23)。該藥物的乾粉調配物分散至氣流中，及細顆粒被輸送到肺部深處，其中意欲使 PH 患者的血管舒張，從而實質降低 PAH 患者或其他 PH 亞型之中樞肺血管之血壓升高。在健康肺部的個體中無法顯示此效應。此外，吸入藥物會導致支氣管氣道擴張並因此改良具有病

理性支氣管收縮的 PH 患者的肺部疾病狀態。此效應是經由身體體積描記器以健康個體比氣道阻力阻力的減少測量。深吸氣後，個體屏住呼吸 2 秒，以使乾粉藥物從氣流中濃縮至更深的肺部區域表面，沉積在靠近其所欲藥理作用之位置。藥物在一天內溶解並經由內襯液體(lining fluid)平衡肺。作為肺中藥物濃度的替代物，分析隨時間的血漿濃度，並顯示吸入後 2.0 至 2.5 h 的最大血藥濃度，其之後經由血流支持肺部的藥物平衡。首次吸入後，產生持續 48h 之可測量的血漿濃度，如所有劑量投予所見，在 14 天之每日一次吸入後，24 h 內產生穩態藥物濃度且從而支持藥物在 od 吸入後的 24/7 活性。

【0798】 在健康個體中藉由分析血液樣品的 cGMP(在 7 天治療的第一天和最後一天藥物吸入後之前 sGC 藥理活化的即時產物)與所有劑量的治療前一天的測量值相比來控制在健康男性中的藥物活性。

【0799】 此參數相對於基線的改變之分析顯示 cGMP 的劑量依賴性增加，從第一次吸入後約 2 h 開始，在實施例 2 投予 6 h (480 和 1000  $\mu\text{g}$  劑量)和 8 h (2000  $\mu\text{g}$  劑量)具有一峰(參見圖 70 - 74)。與全身性藥物濃度相比，此延長的活性是由以吸入乾粉的投予模式引起的，其將藥物沉積在肺的較深部分，導致每天吸入一次後歷經 24 h 的活性藥物濃度。在投予 480、1000 和 2000  $\mu\text{g}$  實施例 2 後，在第一概況(profile)日觀察到的峰平均值 $\pm$  SD cGMP 值為  $8.84\pm 1.35$ 、 $11.69\pm 1.86$  和  $16.52\pm 4.24$  nmol/L。

【0800】 重複給藥 7 天後，觀察到 cGMP 的平均峰值進一步增加，在個別劑量投予後為  $11.96\pm 2.80$ 、 $16.70\pm 2.96$  和  $32.67\pm 9.48$  nmol/L。在第一次治療後第 10 天，平均 cGMP 濃度已恢復到接近給藥前觀察到的濃度。cGMP 數據顯示每天一次吸入藥物實施例 2 會在 sGC 目標產生的所要劑量依賴性效應(參見圖 74)。

表 C4.1.1：相對於基線之環鳥甘單磷酸改變(nmol/L)(SAF)

	安慰劑	480 $\mu\text{g}$ , 實 施例 2	1000 $\mu\text{g}$ , 實施例 2	2000 $\mu\text{g}$ , 實施例 2
-0D 22H 00M	0.47 $\pm$ 0.90	1.17 $\pm$ 1.00	0.08 $\pm$ 1.41	0.66 $\pm$ 0.79
-0D 20H 00M	-0.11 $\pm$ 1.13	0.52 $\pm$ 0.95	-0.24 $\pm$ 1.75	0.48 $\pm$ 0.71
-0D 18H 00M	0.71 $\pm$ 1.41	0.21 $\pm$ 1.74	-0.87 $\pm$ 1.44	0.17 $\pm$ 0.78
-0D 16H 00M	-0.26 $\pm$ 1.89	0.41 $\pm$ 0.96	-0.43 $\pm$ 1.49	0.29 $\pm$ 1.17
-0D 12H 00M	-0.11 $\pm$ 1.34	0.22 $\pm$ 1.17	-0.77 $\pm$ 1.72	0.28 $\pm$ 0.97
-0D 09H 00M	-0.67 $\pm$ 1.25	0.20 $\pm$ 1.59	-0.84 $\pm$ 2.04	-0.18 $\pm$ 0.90
0D 00H 00M	-0.77 $\pm$ 1.27	0.11 $\pm$ 1.10	-0.11 $\pm$ 1.62	0.68 $\pm$ 1.14
0D 02H 00M	0.42 $\pm$ 0.52	1.73 $\pm$ 0.82	3.26 $\pm$ 2.04	4.78 $\pm$ 1.35
0D 04H 00M	-0.68 $\pm$ 2.23	3.04 $\pm$ 1.39	5.64 $\pm$ 2.54	9.18 $\pm$ 2.50
0D 06H 00M	-0.40 $\pm$ 2.23	3.33 $\pm$ 1.39	6.78 $\pm$ 2.79	11.04 $\pm$ 3.21
0D 08H 00M	0.33 $\pm$ 2.56	2.94 $\pm$ 1.38	5.94 $\pm$ 2.65	11.69 $\pm$ 2.78
0D 12H	-0.24 $\pm$	2.10 $\pm$ 1.18	4.86 $\pm$ 2.91	8.56 $\pm$ 2.19

00M	2.07			
0D 15H	-0.58 ±	1.53 ± 1.50	3.70 ± 2.59	7.54 ± 2.32
00M	2.14			
1D 00H	-0.18 ±	0.84 ± 0.89	1.26 ± 1.98	3.48 ± 0.90
00M	2.06			
2D 00H	-0.30 ±	0.74 ± 1.59	0.33 ± 1.99	1.57 ± 0.86
00M	2.26			
3D 00H	-0.14 ±	1.00 ± 1.92	2.31 ± 2.68	5.17 ± 1.51
00M	2.10			
4D 00H	0.31 ± 1.99	1.46 ± 1.24	2.86 ± 2.63	9.33 ± 2.55
00M				
5D 00H	0.27 ± 2.34	1.50 ± 0.98	3.59 ± 2.51	11.10 ±
00M				3.49
6D 00H	0.71 ± 2.21	1.92 ± 1.21	4.32 ± 2.82	11.71 ±
00M				2.66
7D 00H	0.21 ± 0.83	1.68 ± 0.85	4.74 ± 2.98	11.36 ±
00M				3.37
7D 02H	0.07 ± 0.81	4.22 ± 2.29	6.93 ± 2.99	17.33 ±
00M				4.18
7D 04H	0.20 ± 0.71	5.39 ± 2.34	10.84 ±	22.23 ±
00M			2.91	4.75
7D 06H	0.72 ± 1.06	6.44 ± 2.26	11.79 ±	27.39 ±
00M			3.70	6.93
7D 08H	1.26 ± 1.68	5.19 ± 1.64	11.00 ±	27.83 ±
00M			4.58	7.77

7D 12H 00M	0.59 ± 1.00	3.71 ± 1.79	9.19 ± 5.26	23.33 ± 5.53
7D 15H 00M	0.02 ± 0.73	3.04 ± 2.09	8.00 ± 4.41	19.08 ± 4.95
8D 00H 00M	0.81 ± 0.54	1.69 ± 2.65	4.47 ± 3.81	11.17 ± 3.69
8D 12H 00M	0.66 ± 1.11	0.69 ± 1.53	2.30 ± 3.05	8.02 ± 2.45
9D 00H 00M	0.08 ± 0.73	0.13 ± 1.97	1.38 ± 2.59	5.64 ± 1.36
9D 12H 00M	0.70 ± 1.64	1.10 ± 1.01	1.02 ± 2.24	4.57 ± 2.15
10D 00H 00M	0.89 ± 1.47	-0.00 ± 0.64	1.42 ± 2.87	3.26 ± 1.07

表 C4.1.2：cGMP 隨時間的平均值(N=9 各用於安慰劑、480、1000 和 2000 µg，實施例 2)：藥物吸入前(基線)(-1d02h – 0d00h)、第一吸入日後(0d00h - 2d00h)，在第 3d00h- 7d00h 天吸入後和 7 天吸入的最後一天後(7d00h- 10d00h)的谷測量。

	安慰劑	480 µg，實施 例 2	1000 µg，實施 例 2	2000 µg，實施 例 2
-1D 02H 00M	5.83 ± 2.01	5.40 ± 1.41	5.02 ± 1.59	4.16 ± 1.70
-0D 22H 00M	6.30 ± 2.42	6.57 ± 1.22	5.10 ± 1.46	4.81 ± 2.22
-0D 20H 00M	5.72 ± 2.00	5.92 ± 0.83	4.78 ± 1.37	4.63 ± 1.86
-0D 18H 00M	6.54 ± 2.68	5.61 ± 0.71	4.16 ± 0.92	4.32 ± 1.33
-0D 16H 00M	5.58 ± 2.13	5.81 ± 1.09	4.59 ± 1.06	4.44 ± 2.15

-0D 12H 00M	5.72 ± 2.17	5.62 ± 1.26	4.26 ± 0.99	4.43 ± 2.24
-0D 09H 00M	5.17 ± 1.90	5.60 ± 1.08	4.18 ± 0.82	3.98 ± 1.91
0D 00H 00M	5.07 ± 1.90	5.51 ± 1.00	4.91 ± 1.27	4.83 ± 2.52
0D 02H 00M	5.49 ± 2.03	7.24 ± 1.25	8.17 ± 1.07	9.61 ± 3.65
0D 04H 00M	4.39 ± 1.20	8.56 ± 1.45	10.56 ± 1.47	14.01 ± 4.51
0D 06H 00M	4.67 ± 1.25	8.84 ± 1.35	11.69 ± 1.86	15.88 ± 5.09
0D 08H 00M	5.40 ± 1.70	8.46 ± 1.59	10.86 ± 1.66	16.52 ± 4.24
0D 12H 00M	4.82 ± 1.35	7.61 ± 1.01	9.77 ± 2.11	13.39 ± 4.01
0D 15H 00M	4.49 ± 0.90	7.04 ± 1.50	8.61 ± 1.63	12.38 ± 4.17
1D 00H 00M	4.89 ± 1.16	6.36 ± 1.10	6.17 ± 1.05	8.31 ± 2.88
2D 00H 00M	4.77 ± 0.74	6.26 ± 2.17	5.24 ± 1.28	6.40 ± 2.09
3D 00H 00M	4.92 ± 0.87	6.51 ± 2.62	7.22 ± 2.04	10.00 ± 3.51
4D 00H 00M	5.38 ± 1.06	6.97 ± 1.96	7.77 ± 1.87	14.17 ± 4.36
5D 00H 00M	5.33 ± 1.07	7.01 ± 1.72	8.50 ± 2.13	15.93 ± 5.52
6D 00H 00M	5.78 ± 1.42	7.43 ± 1.69	9.23 ± 2.12	16.54 ± 4.60
7D 00H 00M	5.28 ± 1.86	7.19 ± 1.47	9.66 ± 2.30	16.19 ± 5.02
7D 02H 00M	5.13 ± 1.97	9.73 ± 3.00	11.84 ± 2.18	22.17 ± 6.07
7D 04H 00M	5.27 ± 2.05	10.90 ± 3.12	15.76 ± 2.29	27.07 ± 7.01
7D 06H 00M	5.79 ± 2.16	11.96 ± 2.80	16.70 ± 2.96	32.22 ± 8.83
7D 08H 00M	6.32 ± 3.30	10.70 ± 2.27	15.91 ± 3.86	32.67 ± 9.48
7D 12H 00M	5.66 ± 2.17	9.22 ± 2.37	14.10 ± 4.55	28.17 ± 7.50
7D 15H 00M	5.09 ± 1.97	8.56 ± 2.80	12.91 ± 3.72	23.91 ± 6.59
8D 00H 00M	5.88 ± 2.07	7.20 ± 3.23	9.38 ± 3.11	16.00 ± 5.77
8D 12H 00M	5.72 ± 2.10	6.20 ± 2.00	7.21 ± 2.24	12.86 ± 3.96
9D 00H 00M	5.14 ± 1.60	5.64 ± 2.53	6.29 ± 1.86	10.48 ± 3.49

9D 12H 00M	5.77 ± 3.38	6.61 ± 1.80	5.93 ± 1.39	9.40 ± 3.10
10D 00H 00M	5.96 ± 2.26	5.51 ± 1.39	6.33 ± 2.30	8.09 ± 2.81

【0801】 經由身體體積描記器之肺功能參數的測量顯示相較於基線，於實施例 2 第一次給藥 6 小時後測量，-0.142 至 -0.296 kPa/sec 之總比氣道阻力 sRaw(用於健康肺中支氣管擴張活性之參數)的降低，且在所有劑量組中均觀察到(參見圖 75)。

表 C4.1.3：總比氣道阻力(kPa/sec)隨時間的平均值(N = 9 各用於安慰劑、480、1000 和 2000 µg，實施例 2)：篩選 1/2，治療前一天(-1d00h - 0d00h)、第一吸入日(0d00h - 0d06h)、吸入後(2d02h- 6d04h)和 7 天吸入的最後一天 (7d00h-7d06h)後的測量。

	安慰劑	480 µg，實施例 2	1000 µg，實施例 2	2000 µg，實施例 2
篩選	0.829 ± 0.494	0.844 ± 0.327	0.867 ± 0.376	0.899 ± 0.150
篩選 2	0.934 ± 0.522	0.832 ± 0.280	1.009 ± 0.340	0.957 ± 0.140
-1D 00H 00M	0.896 ± 0.301	0.939 ± 0.344	0.996 ± 0.194	0.962 ± 0.266
-0D 22H 00M	0.916 ± 0.332	0.928 ± 0.392	0.903 ± 0.255	0.933 ± 0.165
-0D 18H 00M	0.942 ± 0.302	0.921 ± 0.305	0.901 ± 0.187	0.943 ± 0.245
0D 00H 00M	0.991 ± 0.341	1.078 ± 0.375	0.967 ± 0.233	0.947 ± 0.143
0D 02H 00M	0.948 ± 0.307	0.839 ± 0.182	0.859 ± 0.143	0.677 ± 0.139
0D 06H 00M	0.876 ± 0.268	0.800 ± 0.187	0.824 ± 0.180	0.651 ± 0.149
2D 02H 00M	0.913 ± 0.211	0.883 ± 0.310	0.797 ± 0.141	0.748 ± 0.155
4D 02H 00M	0.902 ± 0.197	0.807 ± 0.200	0.853 ± 0.172	0.709 ± 0.178
6D 04H 00M	0.872 ± 0.192	0.798 ± 0.193	0.787 ± 0.168	0.722 ± 0.168

7D 00H 00M	0.978 ± 0.261	0.823 ± 0.274	0.917 ± 0.227	0.844 ± 0.097
7D 02H 00M	0.872 ± 0.223	0.777 ± 0.282	0.764 ± 0.140	0.716 ± 0.089
7D 06H 00M	0.918 ± 0.212	0.803 ± 0.280	0.787 ± 0.188	0.730 ± 0.151

#### C-4.2 在健康男性個體中 sGC 活化劑之吸入投予經 14 天以評估穩態藥物動力

【0802】 年齡在 18 至 45 歲且身體質量指數(BMI)高於/等於 18.5 且低於/等於 29.9 kg/m<sup>2</sup> 的健康白人男性個體在臨床藥理 I 期研究中接受為期 7 天的治療，每天一次吸入 1000 µg(標稱劑量)的劑量之安慰劑或實施例 4 的乾粉。個體藉由一次深吸氣從插入手持式吸入裝置的膠囊中將藥粉吸入至肺深部(見 D-1 項，例如表 17 和 20)。該藥物的乾粉調配物分散至氣流中，及細顆粒被輸送到肺部深處，其中意欲使 PH 患者的血管舒張，從而實質降低 PAH 患者或其他 PH 亞型之中樞肺血管之血壓升高。個體之中央肺血管血壓升高的所要顯著降低無法在沒有肺功能之病理生理損傷下評估。作為肺中藥物濃度的替代物，已經分析隨時間的血漿濃度。在劑量投予 14 天以每天一次在 24 小時內產生穩態藥物濃度後的此分析顯示在吸入 7 至 11 天後達到最大藥物濃度。在健康個體中藉由分析血液樣品的 cGMP 來控制健康男性的藥物活性/目標參與。結果以平均值顯示於表 C4.2.1 中並在圖 76 和表 C4.2.2 中以對基線之改變顯示。7 天治療后達到最大值且在持續治療期間未見進一步增加，顯示 cGMP 濃度最遲在治療 11 天後達到穩定狀態，作為持續目標參與的生物標誌物。

**表 C4.2.1：** 安慰劑(N = 4)和 1000 µg (N = 17)實施例 4)在治療前一天(-1d00h - -0d09h)、第一吸入日(-0d02h - 1d00h；)、在 2d00h- 2d12h、6d00h- 6d12h、10d00h- 10d12h 吸入前和後(輪廓)、在第 3d-5d、7d-9d、11d-12d 天和 14 天吸入之最後一天前及後(12d22h- 20d00h)的谷之 cGMP 濃度隨時間(nmol/L)的平均值 +/-標準偏差。

平均	安慰劑(n=4)	1000µg, (n=17)實施例 4
-1D 02H 00M	4775.0 +/- 1530.5	5264.7 +/- 2006.8
-0D 22H 00M	4800.0 +/- 469.0	5164.7 +/- 1680.0
-0D 20H 00M	4175.0 +/- 1345.1	4311.8 +/- 1956.4
-0D 18H 00M	4925.0 +/- 797.4	5011.8 +/- 1875.5
-0D 16H 00M	5250.0 +/- 914.7	5941.2 +/- 2641.7
-0D 12H 00M	7900.0 +/- 3763.9	5570.6 +/- 2087.4
-0D 09H 00M	6400.0 +/- 1180.4	5488.2 +/- 1654.9
-0D 02H 00M	3900.0 +/- 668.3	4329.4 +/- 1509.5
0D 02H 00M	6200.0 +/- 1930.5	9170.6 +/- 2348.3
0D 04H 00M	4625.0 +/- 1173.0	11623.5 +/- 2636.9
0D 06H 00M	4000.0 +/- 559.8	14276.5 +/- 3557.1
0D 08H 00M	4500.0 +/- 469.0	14888.2 +/- 3618.2
0D 12H 00M	4500.0 +/- 1409.5	11812.5 +/- 2708.5
0D 15H 00M	4750.0 +/- 1443.4	11064.7 +/- 2963.1
1D 00H 00M	4425.0 +/- 590.9	7305.9 +/- 1593.5
2D 00H 00M	4200.0 +/- 697.6	8876.5 +/- 2507.6
2D 03H 00M	5366.7 +/- 1150.4	17282.4 +/- 4749.9
2D 08H 00M	4700.0 +/- 1493.3	20770.6 +/- 6604.0
2D 12H 00M	4233.3 +/- 1436.4	16941.2 +/- 5408.8
3D 00H 00M	4033.3 +/- 1050.4	9488.2 +/- 2238.5
4D 00H 00M	3466.7 +/- 1429.5	10694.1 +/- 2193.0
5D 00H 00M	3166.7 +/- 1059.9	10252.9 +/- 2390.4
6D 00H 00M	4566.7 +/- 2285.5	9423.5 +/- 2613.1

6D 03H 00M	3800.0 +/- 608.3	17735.3 +/- 4290.1
6D 08H 00M	4266.7 +/- 1222.0	24452.9 +/- 7374.6
6D 12H 00M	4266.7 +/- 750.6	18194.1 +/- 4785.2
7D 00H 00M	3700.0 +/- 1058.3	10511.8 +/- 2026.4
8D 00H 00M	3733.3 +/- 1331.7	10529.4 +/- 1910.7
9D 00H 00M	3800.0 +/- 173.2	10911.8 +/- 2620.6
10D 00H 00M	3766.7 +/- 1011.6	10776.5 +/- 2286.0
10D 03H 00M	4200.0 +/- 1212.4	17058.8 +/- 4319.2
10D 08H 00M	4666.7 +/- 1703.9	21858.8 +/- 6188.5
10D 12H 00M	3800.0 +/- 655.7	17329.4 +/- 4529.3
11D 00H 00M	3966.7 +/- 1357.7	11270.6 +/- 2814.9
12D 00H 00M	4400.0 +/- 1389.2	12388.2 +/- 3016.4
12D 22H 00M	4466.7 +/- 1021.4	11276.5 +/- 3261.8
13D 02H 00M	3800.0 +/- 700.0	13447.1 +/- 2802.9
13D 04H 00M	3200.0 +/- 624.5	17276.5 +/- 4328.9
13D 06H 00M	3633.3 +/- 461.9	21370.6 +/- 5581.2
13D 08H 00M	3933.3 +/- 901.8	22047.1 +/- 5535.0
13D 12H 00M	3700.0 +/- 964.4	17217.6 +/- 4806.0
13D 15H 00M	3433.3 +/- 896.3	16382.4 +/- 4045.9
14D 00H 00M	3300.0 +/- 1053.6	9735.3 +/- 2740.0
15D 00H 00M	3433.3 +/- 960.9	6852.9 +/- 1222.3
15D 12H 00M	4533.3 +/- 1680.3	7370.6 +/- 1654.8
16D 00H 00M	3666.7 +/- 665.8	6329.4 +/- 1357.3
16D 12H 00M	4800.0 +/- 1500.0	6735.3 +/- 1394.6
17D 00H 00M	2866.7 +/- 577.4	4729.4 +/- 995.5

20D 00H 00M	4033.3 +/- 1893.0	5518.8 +/- 1505.2
FOLLOW-UP	4566.7 +/- 1078.6	5847.1 +/- 2013.4

**表 C4.2.2：** 在治療前一天(-1d00h – -0d09h)、第一吸入日(-0d02h - 1d00h；)、吸入後在第 2d00h-2d12h、6d00h-6d12h、10d00h-10d12h 天(輪廓日)、在第 3d-5d、7d-9d、11d-12d 天和 14 天吸入之最後一天後(12d22h-20d00h)之 cGMP 相對於基線的改變(nmol/L)。

δ 基線	安慰劑(n=4)	1000µg, (n=17)實施例 4
-1D 02H 00M	基線	基線
-0D 22H 00M	25.0 +/- 1408.0	-100.0 +/-1403.1
-0D 20H 00M	-600.0 +/- 2219.6	-952.9 +/-1984.7
-0D 18H 00M	150.0 +/-2120.5	-252.9 +/-1345.9
-0D 16H 00M	475.0 +/-2091.8	676.5 +/-1844.1
-0D 12H 00M	3125.0 +/-2742.7	305.9 +/-1880.3
-0D 09H 00M	1625.0 +/-2118.8	223.5 +/-1396.2
-0D 02H 00M	基線	基線
0D 02H 00M	2300.0 +/-1529.7	4841.2 +/-2006.9
0D 04H 00M	725.0 +/-981.1	7294.1 +/-2972.3
0D 06H 00M	100.0 +/-516.4	9947.1 +/-3796.2
0D 08H 00M	600.0 +/-778.9	10558.8 +/-3607.1
0D 12H 00M	600.0 +/-1067.7	7531.3 +/-3057.2
0D 15H 00M	850.0 +/-1097.0	6735.3 +/-2917.4
1D 00H 00M	525.0 +/-1158.7	2976.5 +/-1785.2
2D 00H 00M	300.0 +/-1067.7	4547.1 +/-2374.4
2D 03H 00M	1600.0 +/-1058.3	12952.9 +/-4814.8

2D 08H 00M	933.3 +/-1059.9	16441.2 +/-6525.1
2D 12H 00M	466.7 +/-1527.5	12611.8 +/-5555.1
3D 00H 00M	266.7 +/-1594.8	5158.8 +/-2554.4
4D 00H 00M	-300.0 +/-1833.0	6364.7 +/-2482.9
5D 00H 00M	-600.0 +/-1646.2	5923.5 +/-2801.2
6D 00H 00M	800.0 +/-2330.2	5094.1 +/-2382.9
6D 03H 00M	33.3 +/-945.2	13405.9 +/-4568.6
6D 08H 00M	500.0 +/-1819.3	20123.5 +/-7302.6
6D 12H 00M	500.0 +/-1081.7	13864.7 +/-4528.5
7D 00H 00M	-66.7 +/-1429.5	6182.4 +/-2095.9
8D 00H 00M	-33.3 +/-1934.8	6200.0 +/-2018.7
9D 00H 00M	33.3 +/-776.7	6582.4 +/-2425.7
10D 00H 00M	0.0 +/-1311.5	6447.1 +/-2255.0
10D 03H 00M	433.3 +/-1450.3	12729.4 +/-4182.7
10D 08H 00M	900.0 +/-1907.9	17529.4 +/-6277.2
10D 12H 00M	33.3 +/-1184.6	13000.0 +/-4616.5
11D 00H 00M	200.0 +/-1915.7	6941.2 +/-2865.1
12D 00H 00M	633.3 +/-2064.8	8058.8 +/-2949.8
12D 22H 00M	700.0 +/-1200.0	6947.1 +/-3016.4
13D 02H 00M	33.3 +/-503.3	9117.6 +/-2994.0
13D 04H 00M	-566.7 +/-251.7	12947.1 +/-4570.3
13D 06H 00M	-133.3 +/-896.3	17041.2 +/-5998.9
13D 08H 00M	166.7 +/-1422.4	17717.6 +/-5772.9
13D 12H 00M	-66.7 +/-1331.7	12888.2 +/-4847.5
13D 15H 00M	-333.3 +/-1159.0	12052.9 +/-3938.8

14D 00H 00M	-466.7 +/-1550.3	5405.9 +/-3158.2
15D 00H 00M	-333.3 +/-1436.4	2523.5 +/-1666.0
15D 12H 00M	766.7 +/-1628.9	3041.2 +/-1792.7
16D 00H 00M	-100.0 +/-1058.3	2000.0 +/-1581.1
16D 12H 00M	1033.3 +/-2003.3	2405.9 +/-1555.4
17D 00H 00M	-900.0 +/-964.4	400.0 +/-1434.8
20D 00H 00M	266.7 +/-2542.3	1218.8 +/-1715.1
FOLLOW-UP	800.0 +/-1743.6	1517.6 +/-2343.9

#### C-4.3 健康男性個體之吸入、口服和靜脈投予單一劑量 GC 活化劑 - 肺沉積

【0803】 年齡在 18 至 45 歲且身體質量指數(BMI)高於/等於 18.5 且低於/等於 29.9 kg/m<sup>2</sup>的健康白人男性個體在臨床藥理 I 期研究中以 1000 µg(標稱劑量)的單一吸入劑量、1000 µg(標稱劑量)的單一吸入劑量+ 木炭塊、1000 µg 的單一口服劑量和 100 µg 的實施例 4 的單一輸注經 2 h。由於靜脈內施用的生體可用率根據定義通常為 100%和因此高於口服或靜脈內投予之情形，所以小心選擇靜脈內劑量低於口服和吸入劑量，以避免由高 IV 劑量所產生的較高血漿濃度和潛在的副作用，例如血壓降低或暈厥。因此，在此研究中選擇 100 µg 作為 IV 劑量。治療之間施用 7 天的洗出除期。個體吞服口服溶液(20 ml 包含 1000µg，參見 D-2 項，表 50)。個體接受單次輸注溶液歷經 2 小時(參見 D-2 項表 50)。個體以深吸一口氣從插入手持吸入裝置的膠囊吸入藥粉(參見 D-1 項，例如表 17 和 20)。吸入此藥物的乾粉調配物後，一部分的標稱劑量留在膠囊和裝置中，在吸嘴處到身體的劑量稱為噴出劑量。發射劑量可計算/測定如下：標稱劑量 -(留在膠囊中 + 留在設備中)。吸入乾粉後，一部分噴出劑量進入胃腸道(GIT)且稱為口服部分之噴出劑量，另一部分通過呼吸道到達肺部的噴出劑量稱為肺劑量且表示肺沉積劑量。由於肺是作用的目標器官，所以必須定量肺沉積劑量。藉由測定達 GIT

的標稱劑量之部分及膠囊和裝置中的剩餘部分，可以間接估計肺沉積。為了研究和測定肺沉積，進行下列研究(也參見圖 77)：

- 1- 1000  $\mu\text{g}$  的乾粉之單一劑量的吸入施用。
- 2- 1000  $\mu\text{g}$  的乾粉之單一劑量並組合口服投予木炭塊的吸入施用。木炭限制劑量的 GIT 部分之口服吸收(如實施例 4)，因為實施例 4 完全吸附於木炭塊上。此意味著所測量的實施例 4 的濃度經由肺到達體循環。
- 3- 1000  $\mu\text{g}$  實施例 4 之單一劑量的投予以測定口服吸收。
- 4- 實施例 4 之 2 h 輸注的投予以研究消除。

**【0804】** 在所有不同類型的投予以後測量實施例 4 的血漿濃度，此外在吸入施用後後測量裝置和膠囊中的殘留物。血漿濃度的分析顯示實施例 4 在靜脈內投予以後快速消除，消除半衰期為 0.26 h。口服投予以後的消除半衰期為 4.43 h。在有/沒有木炭下吸入施用後的消除半衰期分別為 16.1 h 和 15.1 h，見圖 78。吸入後較長的終末半衰期可解釋為肺中之實施例 4 的肺貯庫，從其物質不斷地轉移到循環系統中。

**【0805】** 實施例 4 之與木炭一起投予以和沒有與木炭一起投予以的乾粉調配物之絕對生體可用率為 16.3%和 18.8%。此意指到達肺之實施例 4 的乾粉為標稱劑量的 16.3%被認為是肺劑量，及到達身體的乾粉之總部分為標稱劑量的 18.8%。實施例 4 與木炭一起吸入施用後對沒有與木炭一起投予以的相對生體可用率為 86.9%。此指示口服部分的劑量大約為 13%的標稱劑量。參見表 C4.3.1 和 C4.3.2。噴出劑量計算為 720  $\mu\text{g}$ ，因為膠囊中的殘留物為 160  $\mu\text{g}$ ，裝置中的殘留物為 120  $\mu\text{g}$ ，見圖 79。

**【0806】** 此研究的結果證實沉積的肺劑量和半衰期對於吸入性乾粉投予以來說是足夠的，在肺中的足夠 24 h 藥物覆蓋使得能夠每天一次治療。

表 C4.3.1：1000 µg 吸入、1000 µg 吸入 + 木炭和 100 µg 口服投予後的實施例 4 之隨時間的血漿濃度(µg/L)之幾何平均值和(幾何標準偏差 SD，%)

	1000 µg 實施例 4， 吸入 + 木炭塊		1000 µg 實施例 4， 吸入		1000 µg 實施例， 口服	
	N=16		N=16		N=16	
劑量後之 時間(h)	幾何平均	幾何 SD	幾何平均	幾何 SD	幾何平均	幾何 SD
0	>0.0500	n.a.	>0.0500	n.a.	>0.0500	n.a.
0.25	0.0583	(1.78)	0.0628	(1.79)	0.777	(1.44)
0.5	0.261	(1.56)	0.316	(1.32)	3.64	(1.30)
0.75	0.491	(1.46)	0.622	(1.32)	5.28	(1.32)
1	0.662	(1.43)	0.869	(1.29)	5.68	(1.35)
1.5	0.900	(1.39)	1.16	(1.30)	4.69	(1.31)
2	0.969	(1.38)	1.20	(1.31)	3.32	(1.33)
2.5	1.02	(1.31)	1.18	(1.32)	2.26	(1.31)
3	0.933	(1.33)	1.07	(1.32)	1.60	(1.36)
4	0.812	(1.29)	0.927	(1.31)	1.01	(1.46)
6	0.508	(1.31)	0.583	(1.30)	0.424	(1.33)
8	0.373	(1.37)	0.415	(1.36)	0.233	(1.31)
12	0.220	(1.43)	0.250	(1.37)	0.126	(1.38)
15	0.157	(1.46)	0.181	(1.43)	0.0714	(1.60)
24	0.0931	(1.81)	0.106	(1.69)	n.a.	n.a.
28	0.0761	(1.69)	0.0793	(1.77)	n.a.	n.a.
32	0.0696	(1.63)	0.0698	(1.79)	n.a.	n.a.

36	0.054	(1.79)	0.058	(1.86)	n.a.	n.a.
----	-------	--------	-------	--------	------	------

表 C4.3.2：100 µg 靜脈內投予後的實施例 4 之隨時間的血漿濃度(µg/L)之幾何平均值和(幾何標準偏差 SD，%)

100 µg 實施例 4，IV mg		
N=15		
劑量後之時間(h)	幾何平均	幾何 SD
0	>0.0500	n.a.
0.25	1.76	(1.20)
0.5	2.52	(1.11)
0.75	2.68	(1.14)
1	2.99	(1.12)
1.5	3.15	(1.17)
2	3.07	(1.19)
2.083	2.57	(1.16)
2.25	1.42	(1.20)
2.5	0.559	(1.19)
2.75	0.264	(1.23)
3	0.132	(1.24)

#### C-4.4 PAH 或 CTEPH 患者之單一劑量的吸入投予以研究肺血管阻力(PVR)的降低

【0807】 PAH 或 CTEPH 患者在臨床 1b 期研究中以劑量遞增的口腔吸入 240 µg(2 顆 120 µg 的膠囊)、480 µg、1000 µg、2000(2 顆 1000 µg 膠囊)或 4000 µg(4

顆 1000 µg 的膠囊)之實施例 4 的乾粉之單一\*劑量(插入手持式吸入裝置,以深吸氣吸入肺部深處)(見 D-1 項,例如表 17 和 20)。( \*單一劑量意指一個劑型/膠囊的投予以及兩或多種劑型/膠囊在短時間內同時或連續的投予)。納入的患者沒有使用針對 PAH 或 CTEPH 的標準護理(SoC)藥物治療(例如內皮素拮抗劑、前列腺素類、第 5 型磷酸二酯酶抑制劑或可溶性鳥苷酸環化酶刺激劑)之背景治療。此研究中的患者接受了侵入性右心導管插入作為醫學指示的常規診斷。該研究的主要目的為調查 PVR 之相對於基線的峰百分比降低。患者必需具有 $\geq 25$  mmHg 的基線肺動脈壓(mPAP)和 $\geq 400$  dyn·sec·cm<sup>-5</sup> 的 PVR(5 個伍氏單位(Wood units)), 並且未顯示對初始 iNO 吸入測試有血管反應才能納入每個方案分析中。在投予後的幾個時間點測量投予藥物的血漿濃度(藥物動力學), 並評估安全性和耐受性。

**【0808】** 該研究分為 A 部分和 B 部分兩部分。在 A 部分中, 將遞增上述單一劑量投予至沒有使用針對 PAH 或 CTEPH 的標準護理(SoC)藥物治療(例如內皮素拮抗劑、前列腺素類、第 5 型磷酸二酯酶抑制劑或可溶性鳥苷酸環化酶刺激劑) 之背景治療的患者。在 B 部分中, A 部分完成後, 在沒有 SoC 背景治療的其他患者(第 1 組)以及接受 SoC 單一療法(第 2 組)和接受 SoC 雙組合療法(第 3 組)的患者中以從 A 部分的選定劑量進行測試。

**【0809】** PVR 是從右心導管插入程序期間直接測量的參數導出的參數。計算中包括的直接參數為: 平均肺動脈壓[mmHg](mPAP)、肺毛細血管楔壓[mmHg] (PCWP)、和心輸出量[l/min] (CO)。PVR 係根據下式計算:  $PVR [dyn*sec*cm-5] = 80*(mPAP - PCWP)/CO$ 。

**【0810】** 研究設計如圖 80 所示, 完成 A 部分的總結係顯示於圖 81 中。

**【0811】** 總共有 38 名患者接受實施例 4 的乾粉之劑量。各劑量組中總共有 4 名患者按計劃納入符合方案組(總共 20 名患者)。可清楚地觀察到 PVR 相對於基線的劑量依賴性平均改變在 2000 µg 和 4000 µg 組中以大約-30%的持久平均

改變達到峰值(關於 PVR 的詳細說明，請參見圖 82 和表 C4.4.1)。PVR 的降低主要由肺動脈壓降低驅動(關於平均 PAP 的詳細說明參見圖 83 和表 C4.4.2)。-20% 的平均峰值改變水平 - 作為預定義的相關閾值水平 - 明顯超過在 2000  $\mu\text{g}$  和 4000  $\mu\text{g}$  組的峰值(對於 240、480、1000、2000 和 4000  $\mu\text{g}$  之平均峰值改變分別為：-21.0%、-16.1%、-25.9%、-38.1%、-36.3%)。在歷史比較中，單一投予後，PVR 相對於基線之 -30% 的平均改變之幅度與吸入競爭藥物曲前列環素 (Treprostinil) (Tyvaso®) 於相同水平[Voswinckel et al, Journal of American College of Cardiology Vol. 48, No. 8, 2006 October 17, 2006 : 1672-81]。然而，實施例 4 施用後的效應有利地持續且沒有降低直到 3h 的測量期結束(>3h 的測量期對於研究中的右心導管患者在技術上是不可行的)。超過測量的 3h 之肺部滯留時間(乾粉施用後大概為期超過 12hr，最多 24 hrs)可從如另一項研究中測量的實施例 4 之長血漿半衰期得出結論(參見 C-4-3)。全身性 cGMP(環單磷酸鳥苷)的增加證實 sGC 活化的強目標參與。看到整體良好的耐受性，包括 4000  $\mu\text{g}$  的最高劑量。觀察到的全身性血壓、心率和氧飽和度的改變在任何劑量下都不代表安全問題。總的來說，沒有全身性血流動力學的相關改變之所觀察到的肺血流動力學參數(PVR 和 mPAP)的改變係完全符合選擇性肺血管擴張所要的效應。

**表 C4.4.1**：在 PAH 或 CTEPH 患者中實施例 4 於基線(0D00H00M)和吸入後(0D00H30M 直到 0D03H00M)的隨時間之肺血管阻力(PVR)的平均和 SD (N=4，各用於 240、480、1000、2000 和 4000  $\mu\text{g}$  組，符合方案集)。相對於基線的改變係顯示於圖 82 中。

	240 $\mu\text{g}$ , N=4	480 $\mu\text{g}$ , N=4	1000 $\mu\text{g}$ , N=4	2000 $\mu\text{g}$ , N=4	4000 $\mu\text{g}$ , N=4
0D00H0	788.338±416.	1055.863±317	608.898±135.	468.608±20.5	713.998±117.

0M	914	.077	153	37	204
0D00H3	749.012±398.	1003.264±300	645.387±211.	464.586±58.2	616.894±97.7
0M	928	.639	946	00	74
0D01H0	734.427±396.	1007.504±290	558.324±169.	421.730±81.6	542.417±97.1
0M	799	.883	860	02	03
0D01H3	726.362±364.	1031.647±252	542.130±187.	340.782±82.5	573.812±123.
0M	099	.210	227	66	865
0D02H0	710.844±410.	908.704±252.	487.951±144.	339.924±105.	501.071±97.9
0M	668	569	546	884	79
0D02H3	716.209±419.	1038.344±263	537.812±204.	338.404±	526.648±144.
0M	311	.837	640	87.381	679
0D03H0	657.829±291.	909.265±259.	535.636±235.	327.284±	493.103±130.
0M	191	510	786	25.882	480

表 C4.4.2：在 PAH 或 CTEPH 患者中實施例 4 於基線(0D00H00M)和吸入後 (0D00H30M 直到 0D03H00M)的隨時間之平均肺動脈壓(mPAP)平均和 SD (N=4，各用於 240、480、1000、2000 和 4000 µg 組，符合方案集)。相對於基線的改變係顯示於圖 83 中。

	240 µg， N=4	480 µg， N=4	1000 µg， N=4	2000 µg， N=4	4000 µg， N=4
0D 00H 00M	42.8±11.1	55.0±8.6	34.3±4.9	33.5±3.4	46.0±8.1
0D 00H 30M	42.5±11.0	52.3±8.4	33.8±7.5	33.3±6.3	43.0±4.6
0D 01H	44.3±10.4	53.8±9.1	31.8±7.4	30.8±5.6	41.3±4.6

00M					
0D 01H 30M	43.0±8.0	55.0±8.0	32.0±8.9	28.5±7.3	40.3±5.1
0D 02H 00M	39.5±7.9	52.5±7.9	32.3±9.0	27.0±6.1	40.0±5.3
0D 02H 30M	42.0±6.5	54.0±9.7	33.5±10.7	27.3±6.0	39.8±3.0
0D 03H 00M	39.0± 4.2	56.0±11.1	34.0±11.6	27.5±5.2	39.8±4.1

## C-5. 其他表徵

### C-5.1 Caco-2 滲透性試驗

【0812】 測試化合物穿過 Caco-2 細胞單層的體外滲透是一種用於預測胃腸道的滲透性的公認分析系統(1)。如下所述測定本發明化合物在該 Caco-2 細胞中的滲透性：

【0813】 將人 caco-2 細胞接種在 24 孔插入板上，並使其生長 14-16 天。對於滲透性研究，將測試化合物溶解在 DMSO 中，並用運輸緩衝液[Hanks 緩衝鹽溶液，Gibco/Invitrogen，進一步補充葡萄糖和 HEPES]稀釋至 2  $\mu$ M 的最終測試濃度。為了測定頂端到底側面的滲透性(PappA-B)，將測試化合物溶液加至細胞單層的頂端側，並將運輸緩衝液加至單層的底側面側；為了測定底側面至頂端的滲透性(PappB-A)，將測試化合物溶液加至細胞單層的底側面，並將運輸緩衝液加至單層的頂端側。在實驗開始時從供體室取樣以確認質量平衡。在 37°C 培養 2 h 後，從兩個室中取出樣品。以 LC-MS/MS 分析樣品，並計算比滲透係數。測定各細胞單層的螢光黃滲透性以確保細胞單層的完整性，並確定各批次

的阿替洛爾(Atenolol)(低滲透性標記物)和柳氮磺胺吡啶(sulfasalazine)(活性排泄標記物)的滲透性作為定性對照組。

表 C5.1.1：滲透性試驗

Caco-2 (2 μM)	Papp A-B (nm/s) (平均 +/- SD)	Papp B-A (nm/s) (平均 +/- SD)	Efflux 比率
比較例 11 (2.0 μM)	15.1 ± 1.7	9.7 ± 0.6	0.64 ± 0.1
比較例 2 (里 奧西瓜) (2.4 μM)	35 ± 8.4	367 ± 75	11 ± 3.3
比較例 1 (西 那西瓜) (2.0 μM)	31 ± 3.9	631 ± 71	20 ± 3.5

所有實施例顯示在 Caco-2 細胞之中等滲透性。

【0814】 與比較例 2 (里奧西瓜)和比較例 1(西那西瓜)相比，比較例 11 顯示最低的滲透率，為 15.1 +/- 1.7 nm/s。另外，比較例 11 沒有顯示外排比(efflux ratio)。外排比指示轉運子參與例如腸道及/或肝臟。轉運子蛋白，例如滲透性糖蛋白(=PgP)或乳癌抗藥性蛋白(=BCRP)可能會影響藥物的全身暴露。

【0815】 比較例 11 在此顯示一個明顯的優勢，因為其顯示最低的滲透性並且似乎不存在轉運子參與，因此顯示其適用於具有可能非常低的全身暴露之局部吸入治療。

## C-5.2 蛋白質結合

經由下述 Transil 分析來分析比較例 11 和比較例 1 的蛋白質結合

【0816】 測試物質在 Transil® (固定在二氧化矽珠上的卵磷脂脂質雙層) 和血漿之間的分布是任何藥物化合物的典型特徵且取決於其與血漿蛋白的結合程度。藉由比較 Transil®和緩衝液之間的分布與任何感興趣物種和血漿之間的分布，可在體外計算各個動物物種之血漿中的未結合分率。經由放射性分析測定各個血漿和緩衝液濃度。Schuhmacher 等人發表對該方法及其驗證的詳細說明。(2)。

經由下述超過濾分析來分析比較例 2 的蛋白質結合。

【0817】 對於此測定，使用 30 kDa 孔徑的濾膜來分離血漿和無蛋白質的超濾液。藉由離心施加過濾之驅動力。在蛋白質結合研究之前，藉由過濾以四種濃度溶解在緩衝液中的測試化合物來檢查測試化合物對超濾裝置的吸附(回收)和測試化合物通過濾膜的能力。測試化合物的足夠穩定性和幾乎完全回收(用於實驗之實際化合物量的 $\geq 90\%$ )是使用超濾方法的先決條件。加至血漿中的有機溶劑量不得超過總培養體積的 2%。將血液樣品收集在肝素化管中，可合併(除人類和猴子以外的所有物種)或單獨(人類和猴子)收集，並在 24 h 內使用於在血液中的培養實驗。藉由離心肝素化血樣製備血漿。將血漿儲存在 $-15^{\circ}\text{C}$ 下直至使用。控制血漿穩定性、化合物回收、與膜和測試裝置的非特異性結合以及血細胞和血漿之間的分配。藉由液體閃爍計數測定與物質相關的放射性。使用此分析方法，不可能區分未改變的物質和放射性代謝物。有關放射分析方法和樣品後處理的詳細說明，參見 Goeller 等人(3)。Zhang 等人在 2012 年發表一般超濾方法的說明(4)。

表 C5.2.1：化合物的蛋白質結合



## 參考文獻：

1. Artursson P and Karlsson J. Correlation between oral drug absorption in humans and apparent drug permeability coefficients in human intestinal epithelial (Caco-2) cells, High-throughput determination of the free fraction of drugs strongly bound to plasma proteins. *Biochem. Biophys*, 1991. 175 (3), 880-885.
2. Schuhmacher J, Kohlsdorfer C, Buhner K, Brandenburger T, Kruk R. High-throughput determination of the free fraction of drugs strongly bound to plasma proteins. *J Pharm Sci*. 2004;93(4):816-30.
3. Goeller G, Daehler HP, Winkelmann H: Determination of Radioactivity in Liquid and Solid Biological Samples from Pharmacokinetic Experiments. 1996, Bayer Pharma Report No. 25507.
4. Zhang F, Xue J, Shao J, Jia. Compilation of 222 drugs' plasma protein binding data and guidance for study designs. *Drug Discovery Today* 2012;9-10(17):475-485.
5. Begg M, Edwards CD, Hamblin N, Pefani E, Wilson R, Gilbert J, Vitulli G, Mallett D, Morrell J, Hingle MI, Uddin S, Ehtesham F, Marotti M, Harrell A, Newman CF, Fernando D, Clark J, Cahn A, Hessel EM. Translation of Inhaled Drug Optimization Strategies into Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics Using GSK2292767A, a Novel Inhaled Phosphoinositide 3-Kinase d Inhibitor. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2019;369: 443-453.

## D – 醫藥組成物

### D-1 吸入用乾粉製劑

【0820】 以下列方式將根據本發明之化合物例如式(I-M-I)之單水合物 I (實施例 4)或式(I-M-II)之單水合物 II (實施例 2)調配和製造成醫藥乾粉製劑：

### 製造方法

【0821】 根據以下說明描述製造乾粉調配物和成品(乾粉摻合物填充硬膠囊)。

【0822】 步驟 1：在開始混合之前，將細乳糖部分稱重並在兩層或粗乳糖之間分層。

【0823】 步驟 2：以 32 rpm 的速度將乳糖預摻合物之混合進行 2 x 20 分鐘。將乳糖預摻合物在循環之間通過 500 $\mu$ g 篩子進行篩分。

【0824】 步驟 3：將微粉化活性成分(例如式(I-M-I)之單水合物 I，實施例 4 或式(I-M-II)之單水合物 II，實施例 2)通過 500 $\mu$ m 篩子進行篩分並加至預摻合乳糖。在開始混合循環之前，將乳糖預混合物和活性成分分層，二者之間交替 10 層的乳糖預摻合物和 9 層的活性成分，二者之間交替 6 層的乳糖預摻合物和 5 層的活性成分(例如式(I-M-I)之單水合物 I，實施例 4 或式(I-M-II)之單水合物 II，實施例 2)、或二者交替 2 層的乳糖預摻合物和 1 層的活性成分(實施例 4)，較佳地 6/5 層。

【0825】 步驟 4：將該等成分在滾筒式混合器中循環混合。各循環在 32rpm 下進行 30 分鐘，在混合循環之間有 10 分鐘之停止時間。如有必要(例如看得見的黏聚物)，摻合物可能分別在摻合循環之間進行篩分。

【0826】 步驟 5：使摻合物在不銹鋼容器中在室溫(15-25°C)和 35-65%相對濕度下靜置至少 48 小時。

【0827】 步驟 6：使用膠囊填充機(例如 MG2 Flexalab)將摻合物以所需的填充重量填充於膠囊中。

## 吸入用乾粉摻合物：

表 17：示例性實施態樣 1-3(包含實施例 4)的組成物(乳糖含量/比率)

	示例性實施態樣 1		示例性實施態樣 2		示例性實施態樣 3	
	量 (g)	量 (%)	量 (g)	量 (%)	量 (g)	量 (%)
API 濃度和批 量	(0.75%活性， 300g)		(3%活性，300g)		(10%活性，300g)	
活性成分：單 水合物 I，實施 例 4*	2.25	0.75%	9.00	3%	30.00	10%
粗乳糖 (Lactohale 100)	282.75	94.25%	276.00	92%	255.00	85%
細乳糖 (Lactohale 300)	15.00	5%	15.00	5%	15.00	5%
總計	300.00		300.00		300.00	
摻合物均勻性 分析 (RSD%)		99% (2.1%)		102% (2.2%)		102% (4.4%)
乳糖混合物中 的 LH 300 細 顆粒含量 **		5.0%		5.2%		5.6%
比率 活性成分： LH 100		1 : 126		1 : 31		1 : 8.5

比率					
活性成分：		1 : 6.7		1 : 1.67	1 : 0.5
LH 300*					

\*\*出於實際原因，略為改變細乳糖(LH 300)對粗乳糖(LH 100)的比率，粉末摻合物中細乳糖的實際量保持不變且藉由減少 LH100 粗乳糖含量調整 API (化合物 1)的改變量。細乳糖(LH 300)的百分比含量在所有調配物中都是恆定的，活性成分對細乳糖部分和粗乳糖部分的比例在指定範圍內改變。

**【0828】** 對於吸入性藥品，重要的是要保證均勻的藥物物質，其具有限定的粒徑 $< 5\mu\text{m}$ ，以確保遞送至深部肺室。此技術要求可藉由藥物物質顆粒的微粉化來達成。

**【0829】** 達到此要求之活性成分的粒徑分布之適當規格係設定如表 16 中規定。

**【0830】** 根據本發明之活性成分式(I-M-I)之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸單水合物(實施例 4))的粒徑分布係如下表 18 中所定義。

**表 18：實施例 4 的粒徑分布**

粒徑上限 X90	max. 6 $\mu\text{m}$
粒徑平均值 X50	1 – 3 $\mu\text{m}$
粒徑下限 X10	max. 1 $\mu\text{m}$

**【0831】** 根據本發明吸入用乳糖係以不同粒徑範圍和不同的特性使用。

**【0832】** 將根據本發明之粗乳糖材料(具有低細顆粒含量的晶形  $\alpha$ -乳糖單水合物(例如市售的 Lactohale® 100))進行篩分。

【0833】 一種不同的中粗乳糖為磨碎 Lactohale® 200，其已含有大量的乳糖細粒，該乳糖細粒基本上可為客戶定制所需的粒徑和細粒含量。

【0834】 另一種不同的粗乳糖為 Lactohale® 206，其為一種具有嚴格控制的粒度而沒有任何細顆粒之磨碎  $\alpha$ -乳糖。

【0835】 根據本發明之細乳糖材料為具有粒徑("乳糖細粒")  $X_{90} \leq 10 \mu\text{m}$  的低粒徑之微粉化晶形  $\alpha$ -乳糖單水合物("乳糖細粒")(例如市售的 Lactohale® 300)。也可選擇具有相似性質和粒徑的根據本發明之微粉化乳糖例如 Meggle Inhalac® 500。

【0836】 一種不同的細乳糖材料為 Lactohale 230®，其為一種具有  $X_{90} < 30 \mu\text{m}$  低粒徑、經研磨、具有不規則形狀的顆粒之  $\alpha$ -乳糖單水合物；

【0837】 根據本發明之吸入用乳糖(例如 Lactohale® 100、Lactohale® 300 及其他)的粒徑分布係如下表 19 中所定義。

表 19：乳糖載體組分的粒徑分布

	粗乳糖	細乳糖
	Lactohale® 100	Lactohale® 300
粒徑上限 $X_{90}$	200 - 250 $\mu\text{m}$	$\leq 10 \mu\text{m}$
粒徑平均值 $X_{50}$	125 - 145 $\mu\text{m}$	$\leq 5 \mu\text{m}$
粒徑下限 $X_{10}$	45 - 65 $\mu\text{m}$	不限定
	Lactohale® 200*	
粒徑上限 $X_{90}$	120 - 160 $\mu\text{m}$	
粒徑平均值 $X_{50}$	50 - 100 $\mu\text{m}$	
粒徑下限 $X_{10}$	5 - 15 $\mu\text{m}$	

	Lactohale® 206**	Lactohale® 230***
粒徑上限 X90	115 - 170 µm	< 30 µm
粒徑平均值 X50	75 - 95 µm	< 10 µm
粒徑下限 X10	20 - 50 µm	1.0 – 3.0 µm

\* 如使用於比較例 20 和示例性實施態樣 34-35

\*\* 如使用於示例性實施態樣 39-44

\*\*\* 如使用於示例性實施態樣 36-38 和 42-44

**【0838】** 如 D.3 所述，藉由測量摻合物分析和均勻性來評估摻合物的品質。

**【0839】** 作為品質要求，根據本發明之摻合物應滿足下列標準：

**【0840】** 90-110%的摻合物分析，較佳為 95-105% (%含量的活性成分)

**【0841】** 及 RSD 之摻合物均勻性(=相對標準偏差用於 n=10 個樣品)的 NMT (=不超過) 10%，較佳為 7.5%，更佳為 5%。

**膠囊中之乾粉摻合物(成品吸入用調配物)：**

**【0842】** 將包含微粉化活性成分(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸(較佳地 (5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸單水合物 I (實施例 4)以及乳糖載體組分：細乳糖和粗乳糖的乾粉摻合物填充於硬膠囊(經丙基甲基纖維素 = Hypromellose = HPMC，例如於 3 號中)或從硬明膠或其他適當材料製造的替代膠囊中。

**【0843】** 取決於填充重量和活性成分濃度，可達成不同標稱劑量。具有不同標稱劑量的實施例 4 (單水合物 I)之用於膠囊的示例性組成物係顯示於下表中。

評估終產物(在硬凝膠膠囊中的乾粉組成物)彼等的對應氣霧劑性能(參見表 20)。

**表 20：** 示例性實施態樣 1 -3 的氣霧劑性能

	示例性實施 態樣 1	示例性實施 態樣 2	示例性實施 態樣 3
<b>標稱劑量</b>	<b>120µg</b>	<b>480µg</b>	<b>1000µg</b>
粉末摻合物中之實施例 4 活性成分的濃度	0.75%	3%	10%
填充重量	16 mg	16mg	10 mg
遞送劑量(DD)	71µg	316µg	705µg
DD (標稱的%)	59%	66%	71%
細顆粒劑量 <4.5µm (FPD)	32µg	128µg	258µg
FPF (標稱的%)	27%	27%	26%
FPF (DD 的%)	45%	41%	37%

【0844】 氣霧劑性能包括參數如遞送劑量(DD、細顆粒劑量 (=FPD)和細顆粒分率(=FPF)。DD 係根據方法 D.1 測量，細顆粒劑量 (=FPD)和細顆粒分率(=FPF)係根據方法 D.2(空氣動力粒徑分布)測量。

【0845】 作為品質要求，根據本發明之膠囊中的乾粉摻合物應滿足下列標準：

【0846】  $\geq 20\%$  的 FPF (< 4,5 µm 活性之標稱劑量的%)及

【0847】  $\geq 30\%$  之活性成分的 FPF(< 4,5 µm 活性之 DD 的%)

【0848】 如上表中所示，示例性實施態樣 1-3 證明極佳氣霧劑性能及摻合物之適當均勻性 和良好化學穩定性(參見穩定性數據)。

### 比較例和本發明之其他示例性實施態樣

【0849】 也用單水合物 II(實施例 2)之物理形式的式(I-M-II)之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸單水合物 II 並使用部分不同的製造方法(參見下文)來製造乾粉混合物。

【0850】 根據本發明之活性成分式(I-M-II)之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸單水合物 II，實施例 2)的粒徑分布係如下表 21 中所定義。

表 21：實施例 2 的粒徑分布

粒徑上限 X90	max. 6 $\mu\text{m}$
粒徑平均值 X50	1 – 3 $\mu\text{m}$
粒徑下限 X10	max. 1 $\mu\text{m}$

【0851】 示例性實施態樣 4-6 係總結於下表 22 中。

表 22：包含實施例 2 的示例性實施態樣 4-6 之組成物(乳糖含量)

	示例性實施態樣 4		示例性實施態樣 5		示例性實施態樣 6	
	量 (g)	量 (%)	量 (g)	量 (%)	量 (g)	量 (%)
API 濃度和批 量	(0.75%活性， 300g)		(3%活性，300g)		(10%活性，300g)	
活性成分：	3.75	0.75%	9.00	3%	20.00	10%

(實施例 2)*						
粗乳糖 (Lactohale 100)	471.25	94.25%	276.00	92%	170.00	85%
細乳糖 (Lactohale 300)	25.00	5%	15.00	5%	10.00	5%
總計	500.00		300.00		200.00	
摻合物均勻性 分析 (RSD%)		96% (1.5%)		98% (0.8%)		103% (4.4%)
LH 300 細顆粒 含量乳糖混合 物**		5.0%		5.2%		5.6%
比率 活性成分： LH 100**		1 : 126		1 : 31		1 : 8.5
比率 活性成分： LH 300**		1 : 6.7		1 : 1.67		1 : 0.5

\*以單水合物 II 使用

\*\* 細乳糖(LH 300)對粗乳糖(LH 100)的比率係解釋於根據本發明之示例性實施態樣 1-3 的部分中。

**【0852】** 示例性實施態樣 4-6 之製造方法的不同之處在於步驟 2、3 和 4

【0853】 步驟 2：乳糖預摻合物的混合以 67 rpm(72rpm 用於示例性實施態樣 4 的低濃度摻合物)進行 2 x 20 分鐘。在循環之間將預摻合物通過 500 $\mu$ m 篩子進行篩分。

【0854】 步驟 3：活性成分：將微粉化單水合物 II(實施例 2) 加至預摻合乳糖而沒有篩分。在混合開始前循環，將乳糖預混合物和活性成分分層，二者之間交替 4 層的乳糖預摻合物和 3 層的活性成分(實施例 2，單水合物 II 化合物 1)。

【0855】 步驟 4：在第一個混合週期開始之前，將分層混合物通過 500  $\mu$ m 篩子進行篩分。將組分在滾筒式混合器中以 3 個循環混合。各循環在 67 rpm (72rpm 用於示例性實施態樣 4 的低濃度摻合物)下進行 30 分鐘，並在混合循環之間將預摻合物通過 500 $\mu$ m 篩子進行篩分。

【0856】 獲得下列來自示例性實施態樣 4-6 的填充膠囊之結果。

表 23：示例性實施態樣 4-6 的氣霧劑性能

	示例性實施態樣 4.1 + 4.2 低/高粉末填充)		示例性實 施態樣 5	示例性實 施態樣 6
標稱劑量	60 $\mu$ g	120 $\mu$ g	480 $\mu$ g	1000 $\mu$ g
粉末摻合物中之活 性成分(實施例 2)的 濃度	0.75%	0.75%	3%	10%
填充重量	8 mg	16 mg	16mg	10 mg
遞送劑量(DD)	30 $\mu$ g	82 $\mu$ g	316 $\mu$ g	671 $\mu$ g
DD (標稱的%)	50%	68%	66%	67 %
細顆粒劑量 <4.5 $\mu$ m	12 $\mu$ g	31 $\mu$ g	126 $\mu$ g	242 $\mu$ g

(FPD)				
FPF (標稱的%)	20%	26%	26%	24%
FPF (DD 的%)	40%	38%	40%	36%

【0857】 來自示例性實施態樣 4-6 之結果顯示使用式(I-M-II)之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸單水合物 II 形式(實施例 2)調配根據本發明之乾粉摻合物可達成類似的有利氣霧劑性能。

【0858】 使用式(I-M-I)之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸單水合物(實施例 4)作為活性成分和使用部分不同的製造方法製造其他乾粉摻合物。

【0859】 所得比較例 7-9 係總結於下表 24 中。

表 24：包含實施例 4 之比較例 7-9 的組成物(乳糖含量)

API 濃度和批 量	比較例 7		比較例 8		比較例 9	
	量 (g)	量 (%)	量 (g)	量 (%)	量 (g)	量 (%)
	(0.75%活性, 20g)		(3%活性, 20g)		(10%活性, 300g)	
活性成分：實 施例 4*	0.15	0.75%	0.6	3%	30.00	10%
粗乳糖 (Lactohale 100)	18.85	94.25%	18.4	92%	255.00	85%
細乳糖 (Lactohale	1.0	5%	1.0	5%	15.00	5%

300)						
總計	20.0		20.0		300.00	
摻合物均勻性 分析 (RSD%)		97% (2.4%)		102% (5.7%)		96% (1.5%)
LH 300 細顆 粒含量乳糖混 合物**		5.0%		5.2%		5.6%
比率 活性成分： LH 100**		1 : 126		1 : 30		1 : 8.5
比率 活性成分： LH 300**		1 : 6.7		1 : 1.67		1 : 0.5

\*以單水合物 I 使用

\*\*細乳糖(LH 300)對粗乳糖(LH 100)的比率係說明於根據本發明之示例性實施態樣的部分中。

【0860】 比較例 7-9 之製造方法的不同之處在於步驟 4。

【0861】 步驟 4：將該等成分在滾筒式混合器中混合 3 個循環。各循環在 32rpm 下進行 30 分鐘。在循環之間將摻合物通過 500 $\mu$ m 篩子進行篩分。在混合循環之間沒有實施停止時間。

【0862】 比較例 7-9 之填充膠囊的氣溶膠性能之結果係總結於表 25 中。

表 25：示例性實施態樣 7-9 的氣霧劑性能

	比較例 7	比較例 8	比較例 9
--	-------	-------	-------

標稱劑量	120µg	480µg	1000µg
粉末摻合物中之活性成分(實施例 4)的濃度	0.75%	3%	10%
填充重量	16 mg	16 mg	10 mg
遞送劑量(DD)	64 µg*	264 µg*	585 µg
DD (標稱的%)	53%	55%	58 %
細顆粒劑量 <4.5µm (FPD)	16 µg	62 µg	163 µg
FPF (標稱的%)	13%	13%	16 %
FPF (DD 的%)	25%	23%	28%

\*由 NGI 中的回收總和測定

【0863】 使用式(I-M-I)之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸單水合物(實施例 4)的氣霧劑性能之結果不符合品質要求。

【0864】 摻合物中的小批量(20 g)之此等探索性批料與低藥物物質濃度一起(0.75%和 3%)可能會導致製造設備表面上的活性成分細顆粒。此外，隨著粉末摻合物中活性濃度減少，由於活性成分的相對損失較高，粉末填充膠囊中的表面黏著對細顆粒劑量和分率具有不利影響。如用較大批量(300 g)以及較高藥物濃度(10%)製造的比較例 9 所觀察到的，改良氣霧劑性但仍低於目標。以相同 API 批料製備的比較例 23(1-4)類似地觀察到此點。可能的解釋為所用批料的具體特性，例如導致黏聚或吸附損失的黏著或內聚性質。此可能是因為該批料具有相對較高的殘餘丙酮含量(大約 10 倍)，其在其他 API 批料未觀察到。

【0865】 再者，使用於製造比較實施態樣 7-9 的方法涉及與所有其他實施態樣(除了比較實施態樣 23.1 – 4)所使用程序的偏差：混合循環之間的篩分和混合循環之間沒有停止時間。

【0866】 使用此 API 批料製造之產物的氣霧劑性能隨後可藉由方法改變來改良，以排除混合循環之間的篩分步驟(示例性實施態樣 11)。

【0867】 用式(I-M-I)之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸單水合物 I(實施例 4)但使用部分不同的製造方法製造其他乾粉摻合物。

【0868】 示例性實施態樣 10 和 11 的組成物係總結於下表 26 中。

表 26：包含實施例 4 之示例性實施態樣 10-11 的組成物(乳糖含量)

API 濃度和批 量	示例性實施態樣 10 (10%活性，20g)		示例性實施態樣 11 (10%活性，20g)	
	量 (g)	量 (%)	量 (g)	量 (%)
活性成分實施 例 4*	2.0	10%	2.0	10%
粗乳糖 (Lactohale 100)	17.0	85%	17.0	85%
細乳糖 (Lactohale 300)	1.0	5%	1.0	5%
總計	20.0		20.0	
摻合物均勻性		102%		100%

分析 (RSD%)		(2.8%)		(4.0%)
乳糖混合物中之 LH 300 細顆粒含量**		5.5%		5.5%
比率 活性成分： LH 100**		1 : 8.5		1 : 8.5
比率 活性成分： LH 300**		1 : 0.5		1 : 0.5

\*以單水合物 I 使用

\*\*細乳糖(LH 300)對粗乳糖(LH 100)的比率係解釋於根據本發明之示例性實施態樣的部分。

**【0869】** 示例性實施態樣 10-11 的製造方法與示例性實施態樣 1-3 不同之處在於步驟 3 和 4。

**【0870】** 步驟 3：將微粉化的式(I-M-I)之單水合物 I(實施例 4)通過 500 $\mu$ m 篩子進行篩分並加至預摻合乳糖。在混合開始前循環，將乳糖預摻合物和活性成分分層，二者之間交替 6 層的乳糖預摻合物和 5 層的活性成分(實施例 4)。使用微粉化式(I-M-I)之單水合物 I(實施例 4)的 5%過量(示例性實施態樣 10)。

**【0871】** 步驟 4：將該等成分在滾筒式混合器中循環混合。各循環在 32rpm 下進行 30 分鐘。在循環之間將摻合物通過 500 $\mu$ m 篩子進行篩分(示例性實施態樣 10)。對於示例性實施態樣 11，在混合循環之間沒有給予停止時間(示例性實施態樣 10 和 11)。

【0872】 示例性實施態樣 10-11 之填充膠囊的氣霧劑性能之結果係總結於表 27 中。

表 27：示例性實施態樣 10-11 之填充膠囊的氣霧劑性能

	示例性實施態樣 <b>10</b>	示例性實施態樣 <b>11</b>
<b>標稱劑量</b>	<b>1000µg</b>	<b>1000µg</b>
粉末摻合物濃度	10%	10%
填充重量	10 mg	10 mg
遞送劑量(DD)	636 µg*	567* µg
DD (標稱的%)	64%	57%
細顆粒劑量 <4.5µm (FPD)	190 µg	290 µg
FPF (標稱的%)	19%	29 %
FPF (DD 的%)	30%	51%

\*由 NGI 中的回收總和測定

【0873】 與在混合循環之間使用篩分步驟之前述標準方法相比，省略篩分步驟的氣霧劑性能之結果明顯較佳(如比較例 7-8 中所示)。與涉及在混合循環之間進行摻合物篩分的方法相比，以標稱的%表示的 FPD 和 DD 的%激烈地增加。同樣，省略篩分步驟也不會損害摻合物均勻性。這是令人驚訝的，因為篩分本來預計會導致更好的摻合物均勻性。在混合 30 mins 後，不僅篩分摻合物(示例性實施態樣 10)的 BU 處於較高水平(RSD = 8.7%篩分前和 8.5%篩分後，分別)，但在最終摻合階段(90min 加 48h 停止)時，BU (%RSD)在篩分和未篩分摻合物之間也在相同水平。

【0874】 使用部分不同的製造方法以(5R)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸單水合物 II (比較例 14，微粉化活性成分)製造其他乾粉摻合物。

【0875】 進行這項研究以調查乳糖細粒含量對摻合物勻性和氣霧劑性能的影響。

【0876】 比較例 12 (無細乳糖含量)和示例性實施態樣 13-15 的對應組成物係總結於下表 28 中。

表 28：包含比較例 14 之比較例 12 和示例性實施態樣 13-15 的組成物

	比較例 12		示例性實施態樣 13		示例性實施態樣 14		示例性實施態樣 15	
	量 (g)	量 (%)	量 (g)	量 (%)	量 (g)	量 (%)	量 (g)	量 (%)
API 濃度和 批量	(0.75%活性， 50g)		(0.75%活性， 50g)		(0.75%活性， 50g)		(0.75%活性， 50g)	
活性成分比較 例 14*	0.375	0.75%	0.375	0.75%	0.375	0.75%	0.375	0.75%
粗乳糖 (Lactohale 100)	49.625	99.25 %	47.125	94.25 %	45.875	91.75 %	44.625	89.25 %
細乳糖 (Lactohale 300)		0%	2.5	5%	3.75	7.5%	5.0	10.0%
總計	50.0		50.0		50.0		50.0	

摻合 物均 勻性 分析 (RS D%)	3 0 m in	96% (1.0%)	93% (5.8%)	89% (1.6%)	92% (8.2%)
	6 0 m in	92% (0.6%)	91% (4.6%)	93% (5.0%)	92% (4.1%)
	9 0 m in	92% (1.4%)	89% (5.6%)	96% (9.2%)	92% (1.7%)
	1 2 0 m in	95% (11.6 %)	92% (1.6%)	93% (10.3 %)	96% (10.0 %)
乳糖混 合物中 的 LH 300 細顆 粒含量	0.0%	5.0%	7.6%	10.1%	
比率 活性成 分：LH	1： 132	1： 126	1： 122	1： 119	

100								
比率 活性成分： LH 300				1 : 6.6		1 : 10		1 : 13

\*以單水合物 II 使用

【0877】 比較例 12 和示例性實施態樣 13-15 的製造方法與示例性實施態樣 1-3 不同之處在於步驟 1-6 全部。

【0878】 步驟 1：將細乳糖和粗乳糖部分稱入容器中，篩分並轉移至混合器的混合容器中。

【0879】 步驟 2：沒有進行乳糖預摻合物的混合。

【0880】 步驟 3：將微粉化的單水合物 II 之 R 鏡像異構物(比較例 14)加至預先稱重和篩分乳糖中。在混合開始前，將乳糖預摻合物和活性成分分層，二者交替 4 層的乳糖預摻合物和 3 層的活性成分(單水合物 II：比較例 14 之 R 鏡像異構物)。

【0881】 步驟 4：將該等成分在滾筒式混合器中循環混合。各循環(總計 4 個循環)在 72 rpm 下進行 30 分鐘。在循環之間將摻合物通過 500 $\mu$ m 篩子進行篩分。在混合循環之間沒有給予停止時間。

【0882】 步驟 5：沒有定義最終摻合物的停止期

【0883】 步驟 6：將摻合物以所需的填充重量手動填充於膠囊中。

【0884】 比較例 12 和示例性實施態樣 13-15 之填充膠囊的氣霧劑性能係顯示於下表 29 中。

表 29：比較例 12 和示例性實施態樣 13-15 之填充膠囊的氣霧劑性能

	比較例 12	示例性實 施態樣 13	示例性實 施態樣 14	示例性實 施態樣 15
標稱劑量	75µg	75µg	75µg	75µg
粉末摻合物濃度	0.75%	0.75%	0.75%	0.75%
填充重量	10 mg	10 mg	10 mg	10 mg
遞送劑量(DD)	41 µg*	38 µg*	38 µg*	39 µg*
DD (標稱的%)	55%	51 %	51 %	52%
細顆粒劑量 <4.5µm (FPD)	8 µg	19 µg	19 µg	20 µg
FPF (標稱的%)	11%	25%	25%	27%
FPF (DD 的%)	20%	50%	50%	51%

\*由 NGI 中的回收總和測定

【0885】 上述結果顯示，在組成物不含細乳糖(參見比較例 12)的情況下，關於標稱和遞送劑量的細顆粒分率降低且不如示例性實施態樣 13-15。對於與乳糖細粉含量(5%、7.5%或 10%)無關製造的所有變體，FPD 和 FPF 明顯較高。令人驚訝的是，不同量的乳糖細粒之結果幾乎相同。因此，顯示根據本發明之粉末摻合物和調配物可具有不同含量的細乳糖而不危害氣霧劑性能。摻合物均勻性結果主要顯示 BU 沒有隨著混合時間的增加而明顯增加。更確切地說，除了含有 5%乳糖細粒的調配物外，在 90 min 以上觀察到均勻性的另一個降低。

【0886】 使用部分不同的製造方法以(5R)-[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸單水合物 II (比較例 14)作為活性成分製造其他乾粉摻合物。

【0887】 進行該研究以調查混合時間對較大規模摻合物之最終膠囊的均勻性和氣霧劑性能的影響。

【0888】 比較例 16 和示例性實施態樣 17-19 的組成物係總結於下表 30 中。

**表 30：**對於包含比較例 14 的不同混合時間之比較例 16 和示例性實施態樣 17-19 的組成物及各個摻合物均勻性

		比較例 16		示例性實施態樣 17		示例性實施態樣 18		示例性實施態樣 19	
API 濃度和 批量		(0.75%活性，200g)		(10%活性，50g)		(0.75%活性，200g)		(10%活性，200g)	
		量 (g)	量 (%)	量 (g)	量 (%)	量 (g)	量 (%)	量 (g)	量 (%)
活性成分 (比較例 14)*		1.5	0.75%	5.0	10%	1.5	0.75%	20.0	10%
粗乳糖 (Lactohale 100)		188.5	94.25%	42.5	85%	188.5	94.25%	170.0	85%
細乳糖 (Lactohale 300)		10.0	5%	2.5	5%	10.0	5%	10.0	5%
總計		200.0		50.0		200.0		200.0	
摻 合 物 均 勻 性 分 析 (RS D%)	30 min		84% (2.8%)		103% (6.7%)		93% (3.2%)		105% (7.2%)
	60 min		81% (3.2%)		100% (9.8%)		95% (3.2%)		102% (9.4%)
	90 min		91% (3.7%)		96% (5.4%)		93% (1.8%)		98% (0.6%)
	120 min		--- (---)		94% (4.4%)		96% (9.3%)		97% (1.5%)
乳糖混合物 中的 LH 300 細顆粒含量			5.3%		5.9%		5.3%		5.9%
比率 活性成分： LH 100			1 : 126		1 : 8.5		1 : 126		1 : 8.5
比率 活性成分： LH 300			1 : 6.7		1 : 0.5		1 : 6.7		1 : 0.5

\*以單水合物 II 使用

【0889】 比較例 16 和示例性實施態樣 17-19 的製造方法與示例性實施態樣 1-3 不同之處在於步驟 1-6 全部。

【0890】 步驟 1：將細乳糖和粗乳糖部分稱入容器中，篩分並轉移至混合器的混合容器中。

【0891】 步驟 2：沒有進行乳糖預摻合物的混合

【0892】 步驟 3：將微粉化的比較例 14 加至預先稱重和篩分乳糖中。在混合開始前，將乳糖預摻合物和活性成分分層，二者交替 4 層的乳糖預摻合物和 3 層的活性成分(比較例 14)。

【0893】 步驟 4：將該等成分在滾筒式混合器中循環混合。各循環(總計 4 個循環)在 72 rpm 下進行 30 分鐘。玻璃容器係使用於比較例 16 和示例性實施例 17。不銹鋼容器係使用於示例性實施例 18 和 19。在循環之間將摻合物通過 500 $\mu$ m 篩子進行篩分。在混合循環之間沒有給予停止時間。

【0894】 步驟 5：沒有定義最終摻合物的停止期

【0895】 步驟 6：將摻合物以所需的填充重量手動填充於膠囊中。

【0896】 比較例 16 和示例性實施態樣 17-19 的氣霧劑性能填充膠囊係顯示於下表 31 中。

**表 31：比較例 16 和示例性實施態樣 17-19 之填充膠囊的氣霧劑性能**

	比較例 <b>16</b>	示例性實 施態樣 <b>17</b>	示例性實 施態樣 <b>18</b>	示例性實 施態樣 <b>19</b>
標稱劑量 (膠囊)	<b>75<math>\mu</math>g</b>	<b>1000<math>\mu</math>g</b>	<b>75<math>\mu</math>g</b>	<b>1000<math>\mu</math>g</b>
粉末摻合濃度	0.75%	10%	0.75%	10%
填充重量	10 mg	10 mg	10 mg	10 mg
<b>30 min 摻合時間後之</b>				

<b>結果</b>				
遞送劑量(DD)	23 $\mu$ g*	546 $\mu$ g*	34 $\mu$ g*	674 $\mu$ g*
DD (標稱的%)	31%	55%	45%	67%
細顆粒劑量 <4.5 $\mu$ m (FPD)	9 $\mu$ g	301 $\mu$ g	17 $\mu$ g	411 $\mu$ g
FPF (標稱的%)	12%	30%	23%	41%
FPF (DD 的%)	39%	55%	50%	61%
<b>60 min 摻合時間後之 結果</b>				
遞送劑量(DD)	25 $\mu$ g*	526 $\mu$ g*	33 $\mu$ g*	581 $\mu$ g*
DD (標稱的%)	33%	53%	44%	58%
細顆粒劑量 <4.5 $\mu$ m (FPD)	9 $\mu$ g	189 $\mu$ g	17 $\mu$ g	311 $\mu$ g
FPF (標稱的%)	12%	19%	22%	31%
FPF (DD 的%)	38%	36%	51%	53%
<b>90 min 摻合時間後之 結果</b>				
遞送劑量(DD)	29 $\mu$ g*	467 $\mu$ g*	32 $\mu$ g*	---
DD (標稱的%)	39%	47%	42%	---
細顆粒劑量 <4.5 $\mu$ m (FPD)	12 $\mu$ g	210 $\mu$ g	16 $\mu$ g	---
FPF (標稱的%)	16%	21%	21%	---
FPF (DD 的%)	42%	45%	50%	---
<b>120 min 摻合時間後之 結果</b>				

遞送劑量(DD)	---	551µg*	34µg*	534µg*
DD (標稱的%)	---	55%	45%	53%
細顆粒劑量 <4.5µm (FPD)	---	261µg	16µg	284µg
FPF (標稱的%)	---	26%	22%	28%
FPF (DD 的%)	---	47%	48%	53%

\*由 NGI 中的回收總和測定

---在此時間點沒有測試。

【0897】 從上表中的結果清楚地顯示摻合物的混合時間對摻合物品質有影響，即摻合物均勻性。通常摻合物均勻性以混合時間改良，在 90 min 後觀察到最較化。比較例 16 在整個混合中顯示不良分析值，並且大部分也未能達到 FPD/FPF% 目標。在此情況下，似乎主要是混合容器(=玻璃)的性質導致均勻性不良並產生低氣霧劑性能(最終細 API 含量留在混合容器中)。

【0898】 然而，當混合時間延長時，有時會觀察到 BU 之降低(RSD%之增加)，這是一個意外的發現。同樣，氣霧劑性能(FPD、FPF)似乎基本不受混合時間的影響。在玻璃容器中摻合的乾粉與在不銹鋼容器中摻合的乾粉之間的結果有顯著不同。不銹鋼容器摻合的粉末(示例性實施態樣 18-19)之結果優於從玻璃容器摻合的粉末(比較例 16 和示例性實施態樣 17)獲得之結果，這是出乎意料的，因為兩種材料都被認為是物理和化學惰性。

【0899】 也使用部分不同的製造方法以(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸單水合物 I 和 II (實施例 2 和 4)作為活性成分製造其他乾粉摻合物。研究範圍是製造更大規模的粉末摻合物和不同乳糖細粒含量。所得比較例 20 和示例性實施態樣 21 和 22 係總結於下表 32 中。

表 32：比較例 20 和示例性實施態樣 21 和 22 的組成物

	比較例 20		示例性實施態樣 21		示例性實施態樣 22	
API 濃度和批 量	(5%活性，850g)		(5%活性，1050g)		(5%活性，8200g)	
	量 (g)	量 (%)	量 (g)	量 (%)	量 (g)	量 (%)
活性成分(用 於比較例 20 之實施例 2 / 用於實施態樣 21 + 22 之實 施例 4)*	44.5	5%	52.5	5%	410.0	5%
粗乳糖 (Lactohale 100)	---	---	945.0	90%	7380.0	90%
磨碎粗乳糖 (Lactohale 200)	635.5	75%	---	---	---	---
細乳糖 (Lactohale 300)	170.0	20%	52.5	5%	410.0	5%
總計	850.0		1050.0		8200.0	
摻合物均勻性 分析 (RSD%)		69.3% (21.8%)		95.9% (3.2%)		106.6% (6.0%)

摻合物均勻性 再處理**		48.9% (10.1%)		---		---
乳糖混合物中 之 LH 300 細 顆粒含量細		21.1%		5.3%		5.3%%
比率 活性成分： LH 100/LH200		1 : 14		1 : 18		1 : 18
比率 活性成分： LH 300		1 : 3.8		1 : 1		1 : 1

\*以單水合物 II 使用於比較例 20 和以單水合物 I 使用於示例性實施態樣 21 和 22：

\*\* 製造步驟 7A-7D 之後，參照下文；

**【0900】** 比較例 20 的製造方法與示例性實施態樣 1-3 的製造不同之處在於步驟 1-5。

**【0901】** 步驟 1：將細乳糖和粗乳糖(LH200)部分稱入混合容器中。

**【0902】** 步驟 2：不進行乳糖預混物的摻合。將乳糖預摻合物在循環之間通過 630 $\mu$ m 篩子進行篩分。乳糖預混物在循環之間通過 630 $\mu$ m 的篩子進行篩分。

**【0903】** 步驟 3：將微粉化活性成分(用於比較例 20 之實施例 2 /用於實施態樣 21 + 22 之實施例 4) 通過 630 $\mu$ m 篩子進行篩分並加至預混乳糖而沒有分層。

【0904】 步驟 4：將該等成分在滾筒式混合器中混合 3 個循環。各循環在 32rpm 下進行 20 分鐘。在循環之間將摻合物通過 630 $\mu$ m 篩子進行篩分。在混合循環之間沒有實施停止時間。

【0905】 步驟 5：在取樣和填充之前，混合物不會靜置界定的時間。

【0906】 步驟 6：使用膠囊填充機將摻合物以所需的填充重量填充於膠囊中。

【0907】 (另外的) 步驟 7：由於均勻性結果較差，將比較例 20 的摻合物進行進一步處理。

- 7A：將摻合物通過 630 $\mu$ m 篩子進行篩分
- 7B：將摻合物分成兩部分且各部分以 67 rpm 的速度混合 60min
- 7C：兩個摻合部分都通過 630 $\mu$ m 篩子過篩進行篩分
- 7D：將兩部分重新合併並在 67rpm 下再混合 30min

【0908】 使用如示例性實施態樣 4-6 所應用的方法製造示例性實施態樣 21。

【0909】 使用如示例性實施態樣 1-3 所應用的方法製造示例性實施態樣 22。

【0910】 比較例 20 和示例性實施態樣 21-22 之填充膠囊的氣霧劑性能之結果係總結於表 33 中。

**表 33：比較例 20 和示例性實施態樣 21-22 之填充膠囊的氣霧劑性能**

	比較例 20	示例性實施態樣 21	示例性實施態樣 22
標稱劑量	500 $\mu$ g	500 $\mu$ g	500 $\mu$ g
粉末摻合物濃度	5%	5%	5%
填充重量	10 mg	10 mg	10 mg

遞送劑量(DD)*	385 µg	298 µg	308 µg
DD (標稱的%)	77%	60%	62%
細顆粒劑量 <4.5µm (FPD)	171 µg	101 µg	122 µg
FPF (標稱的%)	34%	20%	24%
FPF (DD 的%)	44%	34%	40%

\*以 DUSA 測試，以此計算之 FPF (DD 的%)

【0911】 來自示例性實施態樣 21 和 22 之結果顯示也可用既定方法製造規模高 5 倍和 50 倍的乾粉摻合物。摻合物均勻性以及氣霧劑性能能都在所需的目標/範圍內。比較例 20 未能產生均勻摻合物，這可能是由於高乳糖細粒含量和所產生之非常凝聚性的的混合物。低分析指示活性成分且黏在製造設備上。即使經過大量額外的摻合操作後達成乳糖摻合物中活性的可接受分佈，均勻性仍然很差，儘管填充摻合物之膠囊的氣霧劑性能顯示可接受的結果。

【0912】 因此，顯示根據本發明之粉末摻合物和調配物可具有在 5% 和 10% 之間的範圍內之改變含量的細乳糖，而不會危及氣霧劑性能(參見示例性實施態樣 13、14 和 15)。然而，細乳糖之 20% 的上限是關鍵。

【0913】 使用式(I-M-I)之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸單水合物 I (實施例 4)作為活性成分和使用部分不同的製造方法製造其他乾粉摻合物。

【0914】 該研究的範圍是製造具有更高的活性濃度的本發明之實施態樣及更高的摻合物填充於膠囊中以實現更高的標稱劑量及以更高的規模證明更高的劑量。

【0915】 所得比較例 23 (1-4)和示例性實施態樣 24 - 26 係總結於中下表 34。

表 34：比較例 23 和示例性實施態樣 24 – 26 的組成物，包含實施例 2 作為活性成分

		比較例 23		示例性實施態樣 24		示例性實施態樣 25		示例性實施態樣 26	
API 濃度和批量		(10%活性，20g)		(20%活性，20g)		(30%活性，20g)		(20%活性，290g)	
		量 (g)	量 (%)	量 (g)	量 (%)	量 (g)	量 (%)	量 (g)	量 (%)
活性成分 (單水合物 I，實施例 4)*		2.0	10%	4.0	20%	6.0	30%	58.0	20%
粗乳糖 (Lactohale 100)		17.0	85%	15.0	75%	13.0	65%	217.5	75%
細乳糖 (Lactohale 300)		1.0	5%	1.0	5%	1.0	5%	14.5	5%
總計		20.0		20.0		20.0		290.0	
摻合物均勻性分析 (RSD %)	30 min		99% (6.8%)		92% (8.5%)		86% (24.5%)		---
	60 min		94% (4.3%)		92% (3.2%)		101% (10.8%)		---
	90 min		97% (3.6%)		95% (2.7%)		101% (12.9%)		94% (3.0%)
	120 min		97% (4.9%)		93% (3.8%)		93% (6.8%)		---
乳糖混合物中的 LH 300 細顆粒含量			5.6%		6.3%		7.1%		6.3%
比率 活性成分：LH 100			1：8.5		1：3.8		1：2.2		1：3.8
比率			1：0.5		1：0.25		1：0.17		1：0.25

活性成分：LH 300								
----------------	--	--	--	--	--	--	--	--

\*以單水合物 I 使用

【0916】 比較例 23 和示例性實施態樣 24-26 係以與使用於比較例 7-9 相似的方法和相同的 API 批料製造，但對於四個循環，使用略低的循環速率 34 rpm 而不是 32 rpm。在各循環後測試摻合物均勻性。在第 4 次摻合循環之後，將摻合物靜置 72h，接著進行另一摻合循環，通過 500 $\mu$ m 篩子之篩分步驟和最終 BU 測試。以手填充用於氣霧劑性能測試之膠囊。

【0917】 示例性實施態樣 26 係以與使用於比較例 7-9 相似的方法製造，但以 34rpm 而不是 32rpm 和以手填充膠囊。

【0918】 具有不同填充重量以達到不同標稱劑量的比較例 23 和示例性實施態樣 24-26 之填充膠囊的氣霧劑性能之結果係總結於表 35 中。

表 35：比較例 23 和示例性實施態樣 24-26 之填充膠囊的氣霧劑性能

	比較例 23-1	比較例 23-2	比較例 23-3	比較例 23-4
標稱劑量 (膠囊)	1000 $\mu$ g	2000 $\mu$ g	3000 $\mu$ g	4000 $\mu$ g
粉末摻合物濃度	10%	10%	10%	10%
填充重量	10 mg	20 mg	30 mg	40 mg
遞送劑量(DD)	671 $\mu$ g	1398 $\mu$ g	2238 $\mu$ g	2984 $\mu$ g
DD (標稱的%)	67%	70%	75%	75%
細顆粒劑量 <4.5 $\mu$ m (FPD)	168 $\mu$ g	293 $\mu$ g	475 $\mu$ g	604 $\mu$ g
FPF (標稱的%)	17%	15%	16%	15%
FPF (DD 的%)	25%	21%	21%	20%

	示例性實 施態樣 <b>24-1</b>	示例性實 施態樣 <b>24-2</b>	示例性實 施態樣 <b>25-1</b>	示例性實 施態樣 <b>25-2</b>
<b>標稱劑量 (膠囊)</b>	<b>2000<math>\mu</math>g</b>	<b>6000<math>\mu</math>g</b>	<b>3000<math>\mu</math>g</b>	<b>9000<math>\mu</math>g</b>
粉末摻合物濃度	20%	20%	30%	30%
填充重量	10 mg	30 mg	10 mg	30 mg
遞送劑量(DD)	1336 $\mu$ g	4756 $\mu$ g	2229 $\mu$ g	7172 $\mu$ g
DD (標稱的%)	67%	79%	74%	80%
細顆粒劑量 <4.5 $\mu$ m (FPD)	411 $\mu$ g	1302 $\mu$ g	929 $\mu$ g	2805 $\mu$ g
FPF (標稱的%)	21%	22%	31%	31%
FPF (DD 的%)	31%	27%	42%	39%
	示例性實 施態樣 <b>26</b>			
	<b>6000<math>\mu</math>g</b>			
粉末摻合物濃度	20%			
填充重量	30 mg			
遞送劑量(DD)	4924 $\mu$ g			
DD (標稱的%)	82%			
細顆粒劑量 <4.5 $\mu$ m (FPD)	1779 $\mu$ g			
FPF (標稱的%)	30%			
FPF (DD 的%)	36%			

【0919】 如示例性實施態樣 24-26 所證明，可以高於 10%的更高藥物含量製造根據本發明之調配物。對於含有 30%活性成分的摻合物，由於高細顆粒含量(來自高微粉化的 API 部分)，以適當的摻合時間不可能摻合均勻混合物。儘管 BU RSD% 隨著時間改良直到 120 min，但該值仍保持於相對較高的水平。令人驚訝地，氣霧劑性能沒有被危及，反而產生了更高的 FPD/FPF，與較低濃度摻合物一樣。對於 10%和 20% 摻合物，在混合時間增加直到 90 min 時，證明良好的摻合物均勻性。在 10%濃度的各種填充量下，出乎意料地沒有觀察到氣霧劑性能顯著改變，反而由於活性成分在膠囊壁上的相對表面黏著較低，預計會增加遞送劑量和 FPF%。因此，可能在 10%的 API 濃度和更高的膠囊填充重量下，不會導致氣霧劑性能的顯著改變。比較例 23 的所有填充均未達到 FPF%目標，其在以相同 API 批料和方法方法製造的比較例 7-9 中類似地觀察到。一個因素可能是僅 20 g 的小探索性批量，其中製造期間和設備表面上的損失對批料的 API 細顆粒含量的影響更大。藉由比較具有較高 API 濃度 20%)且仍未顯著超過性能目標的示例性實施態樣 24-1 和-2，也可觀察到批量的影響。再者，具有小規模批料的示例性實施態樣 26-1 相同的組成和膠囊填充重量的放大批料的示例性實施態樣 26-1 呈現更好的氣霧劑性能性能，其顯示製造批量的影響。在示例性實施例 7-9 之結果的上下文中，不良氣霧劑性能進一步歸因於 API 批料(與示例性實施例所使用者相同)的性質導致摻合物中不利的內聚或凝聚效應並在 APSD 分析期間導致細顆粒損失。此可能是因為該批料具有相對較高的殘餘丙酮含量(大約 10 倍)，其在其他 API 批料未觀察到。

【0920】 示例性實施態樣 26 的放大製造進一步顯示使用 20%的活性摻合物可達成填充膠囊的摻合物均勻性和的氣霧劑性。

【0921】 製造具有不同含量(例如 2.5%和更少以及 15%和更多)的精乳糖之本發明其他實施例。

【0922】 使用部分不同的製造方法以(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸單水合物 I 作為活性成分製造其他乾粉摻合物。

【0923】 進行研究以調查在較高規模下，摻合方法開始前前初始層數的影響以及的摻合循環之間的篩分步驟的影響。

【0924】 示例性實施態樣 27-30 的組成物係總結於下表 36 中。

表 36：示例性實施態樣 27-30 的組成物 and 不同混合時間的各個摻合物均勻性

	示例性實施態樣 27		示例性實施態樣 28		示例性實施態樣 29		示例性實施態樣 30	
API 濃度和批量	(10%活性，200g)		(10%活性，200g)		(10%活性，200g)		(10%活性，200g)	
	量 (g)	量 (%)	量 (g)	量 (%)	量 (g)	量 (%)	量 (g)	量 (%)
活性成分(ex.4) *	20.0	10%	20.0	10%	20.0	10%	20.0	10%
粗乳糖 (Lactohale 100)	170.0	85%	170.0	85%	170.0	85%	170.0	85%
細乳糖 (Lactohale 300)	10.0	5%	10.0	5%	10.0	5%	10.0	5%
總計	200.0		200.0		200.0		200.0	
摻合物均勻性分析 (RSD%) 90 min		98% (1.5%)		100% (2.0%)		102% (2.4%)		97% (0.9%)
乳糖混合物中的 LH 300 細顆粒含量		5.9%		5.9%		5.9%		5.9%
比率 活性成		1 : 8.5		1 : 8.5		1 : 8.5		1 : 8.5

第327頁，共 358 頁(發明說明書)

分：LH 100								
比率 活性成分：LH 300		1 : 0.5		1 : 0.5		1 : 0.5		1 : 0.5

\*以單水合物 I 使用，實施例 4

【0925】 示例性實施態樣 27-30 的製造方法與示例性實施態樣的不同之處在於步驟 3、4 和 6 中。

【0926】 步驟 3：在混合開始前將二者之間 2 個乳糖預摻合物層和 1 個活性成分層(示例性實施態樣 27)及二者之間 10 個乳糖預摻合物層和 9 個活性成分層(示例性實施態樣 28)稱入摻合容器。

【0927】 步驟 4：將摻合物在循環之間通過 500 $\mu$ m 篩子進行篩分(示例性實施態樣 30)

【0928】 步驟 6：將摻合物以所需的填充重量手動填充於膠囊中。

【0929】 示例性實施態樣 27-30 之填充膠囊的氣霧劑性能係顯示於下表 37 中

表 37：示例性實施態樣 27-30 之填充膠囊的氣霧劑性能

	示例性實 施態樣 27	示例性實 施態樣 28	示例性實 施態樣 29	示例性實 施態樣 30
標稱劑量(膠囊)	75 $\mu$ g	1000 $\mu$ g	75 $\mu$ g	1000 $\mu$ g
粉末摻合物濃度	10%	10%	10%	10%
填充重量	10 mg	10 mg	10 mg	10 mg
遞送劑量(DD)	556 $\mu$ g*	638 $\mu$ g*	598 $\mu$ g*	630 $\mu$ g*
DD (標稱的%)	56%	64%	60%	63%
細顆粒劑量 <4.5 $\mu$ m	317 $\mu$ g	348 $\mu$ g	333 $\mu$ g	341 $\mu$ g

(FPD)				
FPF (標稱的%)	32%	35%	33%	34%
FPF (DD 的%)	57%	55%	56%	54%

\*由 NGI 中的回收總和測定

--- 在此時間點沒有測試。

【0930】 從以臨床規模進行的此研究的結果顯示與初始初始預摻合物和 API 層的數量無關以及與混合循環之間的篩分步驟無關，都能達成極佳摻合物均勻性和氣霧劑性能。

【0931】 使用式(I-M-I)之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸單水合物(實施例 4)作為活性成分和使用稍微不同的製造方法製造其他乾粉摻合物。

【0932】 進行研究以調查高和低細乳糖含量對對既定摻合方法和所得氣霧劑性能的影響。

【0933】 所得示例性實施態樣 31-32 和比較例 33 係總結於下表 38 中。

表 38：示例性實施態樣 31-32 和比較例 33 的組成物(乳糖含量)

	示例性實施態樣 31		示例性實施態樣 32		比較例 33	
	量 (g)	量 (%)	量 (g)	量 (%)	量 (g)	量 (%)
API 濃度和批 量	(10%活性, 50g)		(10%活性, 50g)		(10%活性, 50g)	
活性成分：實 施例 4*	5.0	10%	5.0	10%	5.0	10%
粗乳糖 (Lactohale 100)	44.5	89%	43.75	87.5%	37.5	75%
細乳糖 (Lactohale 300)	0.5	1%	1.25	2.5%	7.5	15%

總計	50.0		50.0		50.00	
摻合物均勻性 分析 (RSD%)		107% (11.0%)		115% (9.7%)		88% (15.5%)
LH 300 細顆 粒含量 乳糖 混合物中的**		1.1%		2.9%		20.0%
比率 活性成分： LH 100**		1 : 8.9		1 : 8.75		1 : 7.5
比率 活性成分： LH 300**		1 : 0.1		1 : 0.25		1 : 1.5

\*以單水合物 I 使用

\*\*細乳糖(LH 300)對粗乳糖(LH 100)的比率係解釋於根據本發明之示例性實施態樣的部分中。

【0934】 示例性實施態樣 31-32 和比較例 33 之製造方法的不同之處在於步驟 6。

【0935】 步驟 6：將摻合物以所需的填充重量手動填充於膠囊中。

【0936】 示例性實施態樣 31-32 和比較例 33 之填充膠囊的氣霧劑性能之結果係總結於表 39 中。

表 39：示例性實施態樣 31-32 和比較例 33 的氣霧劑性能

	示例性實施態 樣 31	示例性實施態 樣 32	比較例 33
<b>標稱劑量</b>	<b>1000µg</b>	<b>1000µg</b>	<b>1000µg</b>
活性成分的濃度，實 施例 4 粉末摻合物中 之	10%	10%	10%

填充重量	10 mg	10 mg	10 mg
遞送劑量(DD)*	503 µg	484 µg	514 µg
DD (標稱的%)	50%	48%	51 %
細顆粒劑量 <4.5µm (FPD)	310 µg	279 µg	314 µg
FPD (RSD %)	9.4%	8.4%	16.0%
FPF (標稱的%)	31%	28%	31 %
FPF (DD 的%)	62%	60%	65%

\*由 NGI 中的回收總和測定

【0937】 來自示例性實施態樣 31-32 和比較例 33 之填充膠囊的氣溶膠性能結果均達到目標。然而，以高乳糖細粒含量(15%)製造的比較例之混合均勻性較差，高於目標值 15.5%。此實施例之細顆粒劑量的變化(RSD%)也很高。因此，具有>15%之乳糖細粒含量的組成物被認為是不合適的，而低至 1%的低乳糖細粒含量預計遞送具有適當製造和和氣霧劑性能性質的產物。

【0938】 使用式(I-M-I)之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸單水合物(實施例 4)作為活性成分和使用略為不同的製造方法製造其他乾粉摻合物。

【0939】 進行研究以調查具有固有細顆粒(Lactohale 200)的粗磨乳糖類型，有或沒另外的細乳糖(LH300)含量，對既定摻合方法和所得氣霧劑性能的影響。也進行研究以產生數據來與比較例 20 進行比較(參見表 32)。

【0940】 所得示例性實施態樣 34-35 係總結於下表 40 中。

表 40：示例性實施態樣 34-35 的組成(乳糖含量)

	示例性實施態樣 34	示例性實施態樣 35
--	------------	------------

API 濃度和批 量	(10%活性，50g)		(10%活性，50g)	
	量 (g)	量 (%)	量 (g)	量 (%)
活性成分：實 施例 4*	5.0	10%	5.0	10%
粗乳糖 (Lactohale 200)	45.0	90%	42.5	85%
細乳糖 (Lactohale 300)	0.0	0%	2.5	5%
總計	50.0		50.0	
摻合物均勻性 分析 (RSD%)		115% (6.7%)		112% (10.5%)
LH 300 細顆 粒含量乳糖混 合物		0%		5.0%
比率 活性成分： LH 200**		1 : 9		1 : 8.5
比率 活性成分： LH 300**		1 : 0		1 : 0.5

\*以單水合物 I 使用

【0941】 示例性實施態樣 34-35 之製造方法的不同之處在於步驟 6。

【0942】 步驟 6：將摻合物以所需的填充重量手動填充於膠囊中。

【0943】 示例性實施態樣 34-35 之填充膠囊的氣霧劑性能之結果係總結於表 41 中。

表 41：示例性實施態樣 34-35 的氣霧劑性能

	示例性實施態樣 34	示例性實施態樣 35
<b>標稱劑量</b>	<b>1000µg</b>	<b>1000µg</b>
粉末摻合物中之活性成分(實施例 4)的濃度	10%	10%
填充重量	10 mg	10 mg
遞送劑量(DD)*	599 µg	645 µg
DD (標稱的%)	60%	65%
細顆粒劑量 <4.5µm (FPD)	197 µg	207 µg
FPD (RSD %)	8.0%	7.4%
FPF (標稱的%)	20%	21%
FPF (DD 的%)	32%	34%

\*由 NGI 中的回收總和測定

【0944】 來自示例性實施例 34-35 之填充膠囊的氣霧劑性能之結果滿足所有目標。兩種摻合物的摻合物均勻性是可接受的。氣霧劑性能僅略高於標稱 FPF% 和遞送劑量之%的目標限值。且與使用 LH100/LH300 組成物的實施態樣相比，來自此等與示例性實施態樣 31-32 和比較例 33 相同的順序製造之實施態樣

的結果顯著降低，顯示 LH200 vs LH100 粗乳糖的比較性能較差。添加 5% LH300 細粒不會導致更好的 FPD/FPF 結果。如比較例 20 所示，藉由將乳糖細粒增加至 20% 可能會提高性能，但因此會導致摻合方法和摻合物均勻性不足。使用式(I-M-I)之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸單水合物 I(實施例 4)之乳糖摻合物在使用 LH200 粗乳糖(有和沒有高達 5%之 LH300)的既定方法中仍然顯示導致可接受的產物。

【0945】 使用式(I-M-I)之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸單水合物 I(實施例 4)作為活性成分和使用部分不同的製造方法製造其他乾粉摻合物。

【0946】 該研究的範圍是製造本發明之其他實施態樣，其使用在 2.5% - 7.5%範圍內改變之細乳糖含量，但使用具有粒徑略高/見表 6)之不同細乳糖品質(Lactohale® 230)，而粗乳糖品質保持不變，並觀察方法和和氣霧劑性能。

【0947】 所得示例性實施態樣 36-38 係總結於下表 42 中。

表 42：示例性實施態樣 36 - 38 的組成物

		示例性實施態樣 36		示例性實施態樣 37		示例性實施態樣 38	
API 濃度和批量		(10%活性，200g)		(10%活性，200g)		(10%活性，200g)	
		量 (g)	量 (%)	量 (g)	量 (%)	量 (g)	量 (%)
活性成分(實施例 4)*		20.0	10%	20.0	10%	20.0	10%
粗乳糖(Lactohale 100)		175.0	87.5%	170.0	85%	165.0	82.5%
細乳糖 (Lactohale 230)		5.0	2.5%	10.0	5%	15.0	7.5%
總計		200.0		200.0		200.0	
摻合物均勻性分析	30 min		110% (9.6%)		100% (8.3%)		104% (5.6%)

(RSD %)	60 min		111% (5.3%)		100% (3.7%)		109% (5.6%)
	90 min		106% (6.7%)		103% (4.5%)		112% (9.3%)
	120 min		103% (10.2%)		--** --		116% (11.7%)
LH 230 細顆粒含量 乳糖混合物中的			2.8%		5.6%		8.3%
比率 活性成分：LH 100			1 : 8.75		1 : 8.5		1 : 8.25
比率 活性成分：LH 230			1 : 0.25		1 : 0.5		1 : 0.75

\*以單水合物 I 使用

\*\*數據不可得

【0948】 示例性實施態樣 34-35 之製造方法的不同之處在於步驟 6。

【0949】 步驟 6：將摻合物以所需的填充重量手動填充於膠囊中。

【0950】 示例性實施態樣 34-35 之填充膠囊的氣霧劑性能之結果係總結於表 43 中。摻合 90 分鐘(代表根據本發明之確立方法的摻合時間)後測量氣霧劑性能。

表 43：示例性實施態樣 36-38 的氣霧劑性能

	示例性實施態 樣 36	示例性實施態 樣 37	示例性實施態 樣 38
<b>標稱劑量</b>	<b>1000µg</b>	<b>1000µg</b>	<b>1000µg</b>
實施例 4 粉末摻合物 中之活性成分的濃度	10%	10%	10%
填充重量	10 mg	10 mg	10 mg

遞送劑量(DD)*	490 µg	496 µg	642 µg
DD (標稱的%)	49%	50%	64%
細顆粒劑量 <4.5µm (FPD)	269 µg	259 µg	287 µg
FPF (標稱的%)	27%	26%	29%
FPF (DD 的%)	55%	52%	45%

\*由 NGI 中的回收總和測定

**【0951】** 來自示例性實施例 36-38 之填充膠囊的氣霧劑性能之結果滿足所有目標。兩種摻合物的摻合物均勻性是可接受的。所有摻合物的摻合物均勻性是可接受的，但是具有超出高細粒目標的趨勢(7.5%，示例性實施例 38 和更長的混合時間)。增加乳糖細粒(LH230)的含量顯示總遞送劑量增加，而 FPD 僅少量增加，並因此降低 FPF(DD 的%)。使用式(I-M-I)之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸單水合物 I(實施例 4)之乳糖摻合物在使用 LH200 粗乳糖(與 LH300 微粉化乳糖粉相比具有不同的粒度分布)的既定方法中顯示導致可接受的產物和可製造性。

**【0952】** 使用式(I-M-I)之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸單水合物 I(實施例 4)作為活性成分和使用部分不同的製造方法製造其他乾粉摻合物。

**【0953】** 該研究的範圍是製造本發明之其他實施態樣，其使用在 2.5% - 7.5%根據本發明之細顆粒含量(LH300®)的範圍內之替代粗乳糖產物(Lactohale® 206，具有略小於 Lactohale®100 的粒徑，參見表 6)，並觀察方法和氣霧劑性能。

**【0954】** 所得示例性實施態樣 39-41 係總結於下表 44 中。

表 44：示例性實施態樣 39 - 41 的組成物

		示例性實施態樣 39		示例性實施態樣 40		示例性實施態樣 41	
API 濃度和批量		(10%活性，200g)		(10%活性，200g)		(10%活性，200g)	
		量 (g)	量 (%)	量 (g)	量 (%)	量 (g)	量 (%)
活性成分(實施例 4)*		20.0	10%	20.0	10%	20.0	10%
粗乳糖(Lactohale 206)		175.0	87.5%	170.0	85%	165.0	82.5%
細乳糖 (Lactohale 300)		5.0	2.5%	10.0	5%	15.0	7.5%
總計		200.0		200.0		200.0	
摻合物均勻性分析 (RSD %)	30 min		109% (9.2%)		117% (18.2%)		107% (14.7%)
	60 min		107% (11.9%)		104% (17.2%)		98% (7.8%)
	90 min		108% (15.5%)		104% (6.7%)		115% (19.4%)
	120 min		101% (5.5%)		112% (11.7%)		118% (7.7%)
LH 300 細顆粒含量 乳糖混合物中的			2.8%		5.6%		8.3%
比率 活性成分：LH 206			1 : 8.75		1 : 8.5		1 : 8.25
比率 活性成分：LH 300			1 : 0.25		1 : 0.5		1 : 0.75

\*以單水合物 I 使用

\*\*數據不可用

【0955】 示例性實施態樣 39-41 之製造方法的不同之處在於步驟 6。

【0956】 步驟 6：將摻合物以所需的填充重量手動填充於膠囊中。

【0957】 示例性實施態樣 39-41 之填充膠囊的氣霧劑性能之結果係總結於表 45 中。摻合 90 分鐘(代表根據本發明之確立方法的摻合時間)後測量氣霧劑性能。

表 45：示例性實施態樣 39-41 的氣霧劑性能

	示例性實施態 樣 39	示例性實施態 樣 40	示例性實施態 樣 41
<b>標稱劑量</b>	<b>1000µg</b>	<b>1000µg</b>	<b>1000µg</b>
活性成分的濃度，實 施例 4 粉末摻合物中 之	10%	10%	10%
填充重量	10 mg	10 mg	10 mg
遞送劑量(DD)*	606 µg	678 µg	596 µg
DD (標稱的%)	61%	68%	60%
細顆粒劑量 <4.5µm (FPD)	285 µg	304 µg	239 µg
FPF (標稱的%)	29%	30%	24%
FPF (DD 的%)	45%	45%	40%

\*由 NGI 中的回收總和測定

【0958】 來自示例性實施例 39-41 之填充膠囊的氣霧劑性能之結果滿足所有目標。摻合物均勻性對於摻合物是可接受的，然而並非所有時間點的所有摻合物都是可接受的。混合 90 min 後可見 5%細粒為最佳，對應於根據本發明建立的方法。增加乳糖細粒(LH300)的含量並未顯示任何氣霧劑性能參數的所得傾向，而是在根據本發明之 5%細粒下觀察到最佳性能。在既定方法中使用式(I-M-I)之

(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸單水合物(實施例 4)之乳糖摻合物與 LH300 粗細乳糖和 LH206 粗乳糖(與 LH100 乳糖相比具有不同粒徑分布)顯示導致可接受的產物和可製造性。

【0959】 使用式(I-M-I)之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸單水合物 I(實施例 4)作為活性成分和使用部分不同的製造方法製造其他乾粉摻合物。

【0960】 該研究的範圍是製造本發明之其他實施態樣，其使用在 2.5% - 7.5% 細顆粒含量之範圍內之替代粗乳糖產物(LH206®)和替代細乳糖產物(LH230®)，並觀察方法和氣霧劑性能。

【0961】 所得示例性實施態樣 42-44 係總結於下表 46 中。

表 46：示例性實施態樣 42-44 的組成物

		示例性實施態樣 42		示例性實施態樣 43		示例性實施態樣 44	
API 濃度和批量		(10%活性，200g)		(10%活性，200g)		(10%活性，200g)	
		量 (g)	量 (%)	量 (g)	量 (%)	量 (g)	量 (%)
活性成分(實施例 4)*		20.0	10%	20.0	10%	20.0	10%
粗乳糖(Lactohale 206)		175.0	87.5%	170.0	85%	165.0	82.5%
細乳糖 (Lactohale 230)		5.0	2.5%	10.0	5%	15.0	7.5%
總計		200.0		200.0		200.0	
摻合物均勻性分析 (RSD %)	30 min		104% (8.4%)		97% (5.6%)		110% (11.3%)
	60 min		115% (12.9%)		111% (10.5%)		107% (9.4%)

	90 min		109% (5.9%)		101% (9.1%)		112% (11.1%)
	120 min		119% (10.5%)		113% (12.5%)		106% (6.5%)
LH 230 細顆粒含量 乳糖混合物中的			2.8%		5.6%		8.3%
比率 活性成分：LH 206			1 : 8.75		1 : 8.5		1 : 8.25
比率 活性成分：LH 230			1 : 0.25		1 : 0.5		1 : 0.75

\*以單水合物 I 使用

\*\*數據不可用

【0962】 示例性實施態樣 42-44 之製造方法的不同之處在於步驟 6。

【0963】 步驟 6：將摻合物以所需的填充重量手動填充於膠囊中。

【0964】 示例性實施態樣 42-44 之填充膠囊的氣霧劑性能之結果係總結於表 47 中。摻合 90 分鐘(代表根據本發明之確立方法的摻合時間，除了示例性實施例 44，其中僅在摻合 120 分鐘後進行測量)後測量氣霧劑性能。

表 47：示例性實施態樣 42-44 的氣霧劑性能

	示例性實施態 樣 42	示例性實施態 樣 43	示例性實施態 樣 44
<b>標稱劑量</b>	<b>1000µg</b>	<b>1000µg</b>	<b>1000µg</b>
實施例 4 粉末摻合物 中之活性成分的濃 度，	10%	10%	10%
填充重量	10 mg	10 mg	10 mg

遞送劑量(DD)*	569 µg	588 µg	599 µg
DD (標稱的%)	57%	59%	60%
細顆粒劑量 <4.5µm (FPD)	206 µg	206 µg	214 µg
FPF (標稱的%)	21%	21%	21%
FPF (DD 的%)	36%	35%	36%

\*由 NGI 中的回收總和測定

【0965】 來自示例性實施態樣 42-44 之填充膠囊的氣霧劑性能之結果滿足所有目標，然而都接近目標極限。摻合物均勻性對於摻合物是可接受的，然而並非所有時間點的所有摻合物都是可接受的。有時在混合 90 min 後，有時在 120 min 後觀察到最佳值。根據本發明之具有 5% 細乳糖的示例性實施態樣 43 在 90 min 後關於 RSD% 和摻合物分析是可接受的，而有時摻合物分析之結果大於 110% 的目標。增加乳糖細粒(LH300)的含量未顯示對任何氣霧劑性能參數有任何影響，對於所有實施態樣 42-44 是非常相似。使用式(I-M-I)之(5S)-{[2-(4-羥苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸單水合物(實施例 4)的乳糖摻合物在既定方法中與 LH230 細乳糖(相較於 LH300，具有不同粒徑分布)和 LH206 粗乳糖(相較於 LH100 乳糖，具有不同粒徑分布)係顯示導致可接受的產物和可製造性。

【0966】 最後從上述實施例可得出結論：

【0967】 乳糖載體的細乳糖含量可調整至剛好約 1% 或甚至更低，若例如使用具有固有細乳糖含量的粗乳糖(例如 lactohale 200®)。細乳糖的上限應調整至最多 10 或約最多 15%，以免危及摻合物均勻性。通常，為了獲得呈現極佳氣霧劑性能之基於載體的調配物，某最小含量的細乳糖是必要的。

## 穩定性測試

【0968】 分別用低濃度(120 $\mu$ g，根據本發明，示例性實施態樣 1)和高濃度(1000 $\mu$ g 根據本發明，示例性實施態樣 3)之各一個臨床批次的進行穩定性研究。對外觀、遞送劑量、空氣動力粒徑分布、分析和降解產物以及物理形態(僅限高濃度批次)進行穩定性測試。根據表 34 中概述的實驗程序(protocol)進行該研究。

表 48：穩定性實驗程序 - 包含實施例 2 的長期吸入用膠囊

儲存條件	儲存 [月]								
	0	1	3	6	9	12	18	24	36
25°C/60 % RH	x	x	x	x	(x)	x	x	x	(x)

RH 相對濕度

x 測試站

(x) 視需要的測試站

【0969】 在整個測試期，沒有觀察到任何測試參數有明顯改變的跡象。因此，根據本發明之粉末摻合物調配物對於所要用途和儲存期而言是足夠穩定的。穩定性數據列於下列表 49 中。

表 49：穩定性數據 - 包含實施例 2 的長期吸入用膠囊

測試	儲存時間	實施態樣 1	實施態樣 2
驗收標準	[月]	(120 $\mu$ g)	(BN016/18)
			(1000 $\mu$ g)
調配物	初始	符合	符合
(硬膠囊，透明 & 無色	1	符合	符合
無標記)	3	符合	符合

測試 驗收標準	儲存時間 [月]	實施態樣 1 (120µg)	實施態樣 2 (BN016/18) (1000µg)
	6	符合	符合
	12	符合	符合
	18	符合	符合
	24	符合	符合
膠囊內容物的外觀 (白色至灰白色粉末)	初始	白色粉末	灰白色粉末
	1	白色粉末	白色粉末
	3	白色粉末	白色粉末
	6	白色粉末	白色粉末
	12	白色粉末	白色粉末
	18	白色粉末	白色粉末
	24	白色粉末	白色粉末
遞送劑量均勻性	初始	71	625
平均遞送劑量	1	67	659
120µg : 64 – 92 µg	3	75	691
1000µg : 550 – 750 µg	6	70	625
	12	66	644
	18	63	646
	24	68	660
等級 1 (n=10)	初始	符合	符合

測試 驗收標準	儲存時間 [月]	實施態樣 1 (120 $\mu$ g)	實施態樣 2 (BN016/18) (1000 $\mu$ g)
(10 個中有 9 個必須介於 75% 和 125% 之間	1	符合	符合
及(10 個中有 10 個介於平均的 65% 和 135% 之間)	3	符合	符合
	6	符合	符合
	12	符合	符合
	18	符合	符合
	24	符合	符合
等級 2 (n=30)	初始	n.a.	n.a.
(所有 30 個值中不超過 3 個	1	n.a.	n.a.
超出 75% 至 125% 的極限，及	3	n.a.	n.a.
沒有值	6	n.a.	n.a.
超出平均值的	12	n.a.	n.a.
65% 至 135% 之極限)	18	n.a.	n.a.
	24	n.a.	n.a.
氣動力粒徑	初始	3.2	3.1
分布	1	3.3	3.1
MMAD	3	3.4	3.2
(1.8 – 5.0 $\mu$ m)	6	3.3	3.1
	12	3.5	3.1
	18	3.5	3.3

測試 驗收標準	儲存時間 [月]	實施態樣 1 (120 $\mu$ g)	實施態樣 2 (BN016/18) (1000 $\mu$ g)
	24	3.5	3.1
FPD	初始	34	230
120 $\mu$ g : 15 – 37 $\mu$ g	1	24	235
1000 $\mu$ g 123 – 312 $\mu$ g	3	20	255
	6	24	276
	12	23	260
	18	26	252
	24	22	265
<b>實施例 2 之降解產物</b>	初始	< 0.05	< 0.05
BP 胺基酸	1	n.d.	n.d.
(max. 1.5 %)	3	n.d.	n.d.
	6	< 0.05	< 0.05
	12	< 0.05	< 0.05
	18	< 0.05	< 0.05
	24	< 0.05	< 0.05
BP-THQ-甲酸	初始	0.1	< 0.05
(max. 1.5 %)	1	0.1	n.d.
	3	0.1	n.d.

測試 驗收標準	儲存時間 [月]	實施態樣 1 (120µg)	實施態樣 2 (BN016/18) (1000µg)
	6	0.1	0.05
	12	0.1	0.05
	18	0.1	0.05
	24	0.1	0.06
任何未指定的降解產物 (max. 1.5 %)	初始	0.3	0.3
	1	0.3	0.3
	3	0.3	0.3
	6	0.3	0.3
	12	0.3	0.3
	18	0.3	0.3
	24	0.3	0.3
所有降解產物的總和 (max. 5.0 %)	初始	1.0	0.9
	1	0.8	0.8
	3	0.8	0.7
	6	0.8	0.8
	12	1.0	0.9
	18	1.2	1.0
	24	1.1	1.1

測試 驗收標準	儲存時間 [月]	實施態樣 1 (120µg)	實施態樣 2 (BN016/18) (1000µg)
實施例 2 的分析	初始	115	962
120µg : 108 – 132 µg/膠囊	1	116	995
1000µg : 900 – 1100 µg/膠囊	3	113	961
	6	113	965
	12	113	955
	18	114	967
	24	112	977
物理形式 (單水合物)	初始	--	單水合物
	1	--	--
	3	--	--
	6	--	--
	12	--	單水合物
	18	--	--
	24	--	單水合物

n.d. = 未檢出，--未測試

#### D-2 用於臨床研究(例如口服和靜脈內投予)的工作(service)溶液

【0970】 包含實施例 4 的工作(service)溶液：

【0971】 用 0.005%之濃度的活性成分(實施例 4 (式(I-M-I)之單水合物 I)) 以 20 ml 之總體積製造用於臨床研的工作溶液(參見實施例 C-4.3)，最後裝入棕色玻璃瓶中。

**表 50：包含實施例 4 之工作溶液的定量組成**

組成	量 [mg]	填充量 <sup>a</sup> [mg]
<b>藥物物質</b>		
活性成分，實施例 4 (式(I-M-I)之單水 合物 I	1.0000	1.0450
<b>賦形劑</b>		
經丙基倍他環糊精	200.00	209.00
胺丁三醇	24.200	25.289
氯化鈉	152.00	158.84
氫氧化鈉 1 N	q.s.	q.s.
鹽酸 10 %	q.s.	q.s.
注射用水	19773	20664

a 量包括 0.9 ml 溢出，確保可萃取體積為 20.0 ml

b 根據現行版 Ph. Eur. 由 NaOH 和純化水組成。

q.s. 適量

## 製造

【0972】 步驟 1：將約 85%的所需注射用水量裝入容器中。

【0973】 步驟 2：將所稱量的羥丙基倍他環糊精轉移至容器中，攪拌溶液直至完全溶解。

【0974】 步驟 3：將所稱量的量胺丁三醇(trometamol)轉移至容器中，攪拌溶液直到完全溶解。

【0975】 步驟 4：用適當量的氫氧化鈉 1 N 將 pH 調整至 12.0 (11.8 – 12.2)。

【0976】 步驟 5：將所稱量的活性成分實施例 4 (式(I-M-I)之單水合物 I) 轉移至容器中，攪拌溶液直到完全溶解。

【0977】 步驟 6：將所稱量的氯化鈉轉移至容器中，攪拌溶液直到完全溶解。

【0978】 步驟 7：用適當量的鹽酸 10% 將 pH 調整至 7.8 (7.7 – 7.9)。

【0979】 步驟 8：計算最終重量的水量且添加所需量的注射用水並攪拌。

【0980】 步驟 9：將溶液經過預過濾(過濾器 1)，負荷菌(bioburden)減少過濾器)和無菌過濾(過濾器 2)，然後通過膜過濾器(孔徑 0.2  $\mu\text{m}$ )無菌裝入玻璃瓶中。

【0981】 步驟 10：將溶液裝入無菌去熱原的 20 mL 棕色玻璃注射瓶中。

【0982】 步驟 11：將小瓶加蓋並捲壓以完全封閉。

## E – 分析方法 (遞送劑量、細顆粒劑量、摻合物分析 & 均勻性)

【0983】 以下詳細描述測定遞送劑量和細顆粒劑量的分析方法。

### E-1：遞送劑量 (DD)

該方法係根據 Ph. Eur. Monograph *Preparations for Inhalation – Powders for inhalation*，以使用指定的樣品收集管(劑量單位取樣適配器 = DUSA)、數位流量計和真空泵之乾粉吸入器(參見說明，第 89 頁，圖 3a 和 3b)和吸入膠囊(膠囊的製備

參見 C.)進行。取樣以 90L/min 的流量進行 2.4 sec，對應於 3.6L 吸入體積。在 20°C 和 40-55%RH 下進行 DD 樣品製備。

使用具 UV-偵測的高效液相層測量樣品(總結如下)

**E-2 空氣動力粒徑分布(APSD) (用於測定 FPD)**

該方法係根據 *Ph. Eur. 2.9.18 aerodynamic assessment of fine particles* 以使用設備 E (下一代衝擊器，NGI)、數位流量計和真空泵之乾粉吸入器(參見說明，第89頁，圖3a和3b)和吸入膠囊(膠囊的製備參見 C.)進行。各NGI取樣杯以2mL的1%聚矽氧油在己烷中之溶液塗布。取樣以 90L/min的流量進行2.4 sec，對應於3.6L 吸入體積。在20°C和40-55%RH下進行DD 樣品製備。對於120µg膠囊，5個個別膠囊如上所述連續發射到NGI 中，對於更高的劑量濃度(例如480µg、1000µg)，每次NGI 分析一個膠囊就足夠了。

使用具有 UV 偵測的逆相高效液相層析測量樣品(總結如下)

**RP-HPLC-UV 方法 (用於 APSD 和 DD 測試和膠囊 分析的樣品)**

該分析方法係用於在遞送劑量均勻性(藉由 DUSA 取樣管)和氣動力粒徑測定(藉由下一代撞擊器)期間的樣品中之實施例 2 或 4 或比較例 14 的含量之分析。

設備

具有恆溫管管柱烘箱、UV-偵測器或二極

體陣列偵測器和層析數據系統之高效液相層析儀

管柱	HPLC 管柱 Poroshell 120 EC-C8 , 2.7 $\mu\text{m}$ , 150 $\times$ 4.6 mm 。
樣品稀釋劑 [Sol]	乙腈/水/磷酸 50/50/0.35(用於 APSD & DD)
酸化水	磷酸/水 (7 : 1000 (v : v))
樣品製備	將所需數量的膠囊傾空至含有酸化水的容量瓶中。用乙醇沖洗膠囊並將包括膠囊殼的溶液轉移至容量瓶。所得溶液具有 6 $\mu\text{g/mL}$ 的濃度。 用於 APSD 之樣品係藉由 NGI 杯用乙腈萃取製備。 用於 DD 之樣品係藉由用樣品稀釋劑洗滌樣品管來製備。

#### HPLC 條件

溶析液	A) 52 : 48 H <sub>2</sub> O : 具有 0.3 % 磷酸之 MeCN 。
	B) 5 : 95 H <sub>2</sub> O : 具有 0.3 % 磷酸之 MeCN 。

#### 溶析

梯度		
時間 (min)	%A	%B
0.0	100	0
6.0	100	0
6.5	0	100

8.0	0	100
8.5	100	0
11.0	100	0

層析圖運行時間	11 分鐘
流速	1.5 mL/分鐘
管柱烘箱的溫度	35 °C (± 2 °C)
偵測	於 260 nm 之分光光度計
注入體積	100 µL

### E-3 摻合物分析/均勻性 (HPLC)

具有 UV-偵測之高效液相層析(HPLC)。

設備	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 具有恆溫管管柱烘箱、UV-偵測器或二極體陣列偵測器和層析數據系統之高效液相層析儀。</li> <li>2. HPLC 管柱 Poroshell 120 EC-C8 , 2.7 µm , 150 × 4.6 mm 。</li> <li>3. 超音波浴。</li> </ol>
試劑	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 磷酸 (例如 Merck).</li> <li>2. 乙腈 (MeCN) (HPLC-級).</li> <li>3. 去礦質水(例如 Millipore).</li> </ol>
樣品稀釋劑 [Sol]	乙腈/水/磷酸 50/50/0.35
酸化水	磷酸/水 (7 : 1000 (v : v))
試液 [TS]	製備試液 10 倍。所有測試溶液在周圍/光照條件下穩定 7 天。
7.5 µg/mg 摻合濃度(1.2 µg/mL)	將約 8.0 mg 的 7.5 µg/mg 散裝摻合物精確

樣品溶液)	稱入 50 mL 容量瓶中。溶解並用稀釋劑使至該容量以產生 1.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 實施例 2 或 4 或比較例 14 溶液。
目標膠囊濃度：60 $\mu\text{g}$	
7.5 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 摻合濃度(1.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 樣品溶液)	將約 16.0 mg 的 7.5 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 散裝摻合物精確稱入 100 mL 容量瓶中。溶解並用稀釋劑使至該容量以產生 1.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 實施例 2 或 4 或比較例 14 溶液。
目標膠囊濃度：120 $\mu\text{g}$	
30 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 摻合濃度 (4.8 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 儲備溶液，(1.44 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 樣品溶液)	將約 16.0 mg 的 30 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 摻合物精確稱入 100 mL 容量瓶中。溶解並用稀釋劑使至該容量及用稀釋劑稀釋 3.0mL 至 10mL 以產生 1.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 實施例 2 或 4 或比較例 14 溶液。
目標膠囊濃度：480 $\mu\text{g}$	
100 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 摻合濃度(5 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 儲備溶液，1.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 樣品溶液)	將約 10.0 mg 的散裝摻合物精確稱入 200 mL 容量瓶中。溶解並用稀釋劑使至該容量，及用稀釋劑稀釋 6.0 mL 至 20 mL 以產生 1.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 實施例 2 或 4 或比較例 14 溶液。
目標膠囊濃度：1000 $\mu\text{g}$	
標準儲備溶液 [SSS] (15 $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	稱取產生約 15 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 溶液所需之實施例 2 或 4 或比較例 14 參考標準的量並轉移到 100 mL 容量瓶中。超音波處理並用稀釋劑稀釋至該容量。將儲備溶液標記為 SSS 1 和 SSS 2。

	可使用不同重量的標準物質和不同的稀釋步驟，若彼等導致相同的最終濃度。
標準溶液 [SS] (1.5 µg/mL)	使用稀釋劑將 5.0 mL 的各標準標準品稀釋至 50 mL，並充分混合以產生工作標準溶液。
HPLC 條件	如遞送劑量和細顆粒劑量所述。
<b>E-4 粒徑分布</b> (雷射繞射)	適用於例如 API 或乳糖
原理	將適當濃度分散在適當液體或氣體中的代表性樣品通過單色光束，通常是雷射。藉由多元素偵測器以各種角度散射的光測量顆粒。然後使用適當的光學模式和數學程序轉換散射圖案值，以產生形成體積粒徑分布之總體積與尺寸等級的離散數量之比例。
設備	具有 RODOS` 乾燥分散體單元之 Sympatec <b>HELOS</b>
參數	壓力：4 巴 進給率：18% 焦距 (RODOS)：100 mm
精確度	變異係數 max 5%

**【0984】 用於雷射繞射測量的替代配置**

設備	具有乾燥分散體單元之 Malvern
----	--------------------

	Mastersizer 3000
參數	壓力：3.5 巴
	進給率：20 %
	焦距：300 mm
	取樣時間：3s
精確度	變異係數：max 5%

**【0985】** 粒徑分析數據通常報告為計算的累積過細體積分布。符號  $x$  用於表示粒徑，其定義為體積等效球體的直徑。最常見的特徵值係以內插法從粒徑分布計算。經常使用為體積分布的 10%、50%和 90%的細體值之粒徑，表示為  $x_{10}$ 、 $x_{50}$  和  $x_{90}$ 。 $x_{50}$  也稱為中值粒徑。符號  $d$  廣泛用於指定粒徑，因此符號  $x$  可用符號  $d$  代替。

## E-5 另外的穩定性測試方法

外觀	看得見的測試
RP-HPLC-UV 方法 (用於降解產物)	具有於 260 nm 之 UV-偵測和外部校準之 逆相高效液相層析 (HPLC)。
設備	具有恆溫管管柱烘箱、UV-偵測器或二極 體陣列偵測器和層析數據系統之高效液 相層析儀
管柱	HPLC 管柱 Poroshell 120 EC-C8，2.7 $\mu\text{m}$ ，150 × 4.6 mm.
樣品稀釋劑 [Sol]	乙腈/水/磷酸 50/50/0.35
酸化水	磷酸/水 (7：1000 (v：v))
樣品製備	將所需數量的膠囊傾空至含有酸化水的

容量瓶中。用乙腈沖洗膠囊並將沒有膠囊殼的溶液轉移至容量瓶。用乙腈使容量瓶至體積以產生 60µg/mL 實施例 2 或 4 或比較例 14 溶液。

#### HPLC 條件

##### 溶析液

A) 55 : 45 H<sub>2</sub>O : 具有 0.3 % 磷酸之 MeCN。

B) 5 : 95 H<sub>2</sub>O : 具有 0.3 % 磷酸之 MeCN。

##### 溶析

##### 梯度

時間 (min)	%A	%B
0.0	100	0
12.0	100	0
32.0	0	100
35.0	0	100
35.1	100	0
42.0	100	0

##### 層析圖運行時間

42 分鐘

##### 流速

1.5 mL/分鐘

##### 管柱烘箱的溫度

35 °C (± 2 °C)

##### 偵測

於 260 nm 之分光光度計

##### 注入體積

100 µL

#### 多晶形現象 – X 射線粉末繞射

##### 方法原理

固態形式的鑑定係根據‘藉由 X 射線粉末繞射之晶形和部分晶形固體之加以表徵’

(Ph. Eur. 2.9.33)的測試程序進行。

樣品製備：	將錠劑或壓碎的錠劑以薄層包封在兩層箔(例如聚乙酸酯箔紙)之間。
設備：	X 射線粉末繞射計
產生器：	40 kV / 40 mA
偵測器：	Mythen (PSD)
輻射：	鍺單色化 $\text{CuK}\alpha_1$ -輻射
技術：	透射
掃描範圍：	$5^\circ \leq 2\theta \leq 30^\circ$
步寬：	$0.1^\circ$
測量時間：	Mythen 60 sec/步(PSD 240 sec/步)

#### E-6 表徵成品乾粉摻合物中 API 和乳糖顆粒的顆粒分布和大小的其他方法

方法原理 自動光學和拉曼顯微鏡整合系統，用於分析複合粉末樣品的形態/粒徑和數量，同時鑑定粉末摻合物組分的化學性質。

設備： Malvern Morphologi 4-ID

乾燥分散體(示例性設定)： 體積： $5 \text{ mm}^3$

壓力：3 巴

分散體時間：3 ms

沉降時間：60 s

形態(示例性設定)： 光源：透射：Diascopic

物鏡(放大倍率)x50

掃描面積  $784 \text{ mm}^2$

拉曼(示例性設定)： 獲取時間：15 s

光譜掩蔽：在  $0.520\text{ cm}^{-1}$  和  $790 - 1740\text{ cm}^{-1}$   
區域

【符號說明】無

【生物材料寄存】無

## 【發明申請專利範圍】

【請求項1】 一種使用於心肺病症的吸入治療之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，其特徵在於包含 240 至 4000  $\mu\text{g}$  的呈其式(I-M-I)之晶形變體晶形變體單水合物I的形式之式I之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)-乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸的吸入劑型係每天一次或兩次為期連續至少兩天投予至有需要的患者，其中該化合物的 X 射線粉末繞射圖(在 25°C下且使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源測量)包含至少於 6.9、7.2、7.3、12.8 和 29.2 之峰，以  $2\theta$  值 $\pm$  0.2°表示。

【請求項2】 根據請求項 1 之使用於心肺病症的吸入治療之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，其特徵在於該吸入劑型包含作為載體之乳糖單水合物，其中該載體包含粗和細乳糖的混合物。

【請求項3】 根據請求項 1 或 2 之使用於心肺病症的吸入治療之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，其特徵在於呈其式(I-M-I)之單水合物 I 的形式之式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)-乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸係投予為期連續至少 14 天，特別是從治療開始後的整個疾病過程。

【請求項4】 根據請求項 1 至 3 中任一或多項之使用於心肺病症的吸入治療之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，其特徵在於該吸入劑型包含 480 至 2000  $\mu\text{g}$  的呈式(I-M-I)之單水合物 I 的形式之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸。

【請求項5】 根據請求項 1 至 4 中任一或多項之使用於心肺病症的吸入治療之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，其特徵在於該吸入劑型包含在膠囊內之呈乾粉的形式之呈式(I-M-I)之單水合物 I 的形式之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)-乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸。

【請求項6】 根據請求項 1 至 5 中任一或多項之使用於心肺病症的吸入治療之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，其特徵在於呈式(I-M-I)之單水合物 I 的形式之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)-乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸係經由乾粉吸入器投予。

【請求項7】 一種治療心肺病症之方法，其包含將包含 240 至 4000  $\mu\text{g}$  的呈其式(I-M-I)之單水合物 I 的形式之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸之吸入劑型每天一次或兩次為期至少連續五到七天投予至有需要的患者，其中式(I-M-I)化合物的 X 射線粉末繞射圖(在 25°C 下且使用 Cu-K  $\alpha 1$  作為輻射源測量)包含至少於 12.8 和 29.2(較佳於 6.9、7.2、7.3、12.8 和 29.2)之峰，以  $2\theta$  值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

【請求項8】 根據請求項 7 之治療心肺病症之方法，其特徵在於該吸入劑型包含在膠囊內之呈乾粉的活性成分。

【請求項9】 根據請求項 1 至 8 中任一項之方法或用途，其特徵在於該心肺病症係選自由下列組成之清單：肺動脈高血壓(PAH)和與慢性肺部疾病相關之肺高血壓(PH)(第 3 組 PH)諸如慢性阻塞性肺病中之肺高血壓(PH-COPD)和肺高血壓併發特發性間質性肺炎(PH-IIP)。

【請求項10】 一種使用於心肺病症的吸入治療之藥劑，其特徵在於其包含吸入劑型，其包含 240 至 4000  $\mu\text{g}$  的呈式(I-M-I)之單水合物 I 的形式之式 I 之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-

胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，其中式(I-M-I)化合物的 X 射線粉末繞射圖(在 25°C下且使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源測量)包含至少於 12.8 和 29.2 之峰，較佳於 6.9、7.2、7.3、12.8 和 29.2，以  $2\theta$  值 $\pm$  0.2°表示，其中該藥劑每天一次或兩次為期至少連續兩天投予至有需要的患者。

**【請求項11】** 一種使用於心肺病症的吸入治療之經包裝醫藥組成物，其特徵在於其含有乾粉吸入器和乾粉調配物，該乾粉調配物包含 240 至 4000  $\mu$ g 的呈其式(I-M-I)之單水合物 I 的形式之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，其中式(I-M-I)化合物的 X 射線粉末繞射圖(在 25°C下且使用 Cu-K  $\alpha$ 1 作為輻射源測量)包含至少於 12.8 和 29.2 之峰，較佳於 6.9、7.2、7.3、12.8 和 29.2，以  $2\theta$  值 $\pm$ 0.2°表示，其中該包裝含有以每天一次或兩次的頻率為期至少連續兩天投予該乾粉調配物的說明。

**【請求項12】** 根據請求項 11 之使用於心肺病症的吸入治療之經包裝醫藥組成物，其特徵在於該心肺病症係選自由下列組成之清單：肺動脈高血壓(PAH)和與慢性肺部疾病相關之肺高血壓(PH)(第 3 組 PH)諸如慢性阻塞性肺病中之肺高血壓(PH-COPD)和肺高血壓併發特發性間質性肺炎(PH-IIP)。

**【請求項13】** 根據請求項 11 或 12 之使用於心肺病症的吸入治療之經包裝醫藥組成物，其特徵在於該包裝進一步含有藉由吸入使用該乾粉調配物以治療心肺病症的說明，其中吸入程序描述如下：深吸一口氣後，患者應屏住呼吸約 2 秒鐘，以使乾粉藥物從氣流中濃縮至更深的肺部區域表面，沉積在靠近其所欲藥理作用之位置。

**【請求項14】** 根據請求項 9 至 13 中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之經包裝醫藥組成物，其特徵在於該乾粉調配物包含(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，較佳地呈在膠囊中之式(I-M-I)之單水合物 I 的形式。

【請求項15】 根據請求項9至14中任一項之使用於心肺病症的吸入治療之經包裝醫藥組成物，其特徵在於該乾粉調配物包含480至2000  $\mu\text{g}$ 的呈其式(I-M-I)之單水合物I的形式之(5S)-{[2-(4-羧苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸。

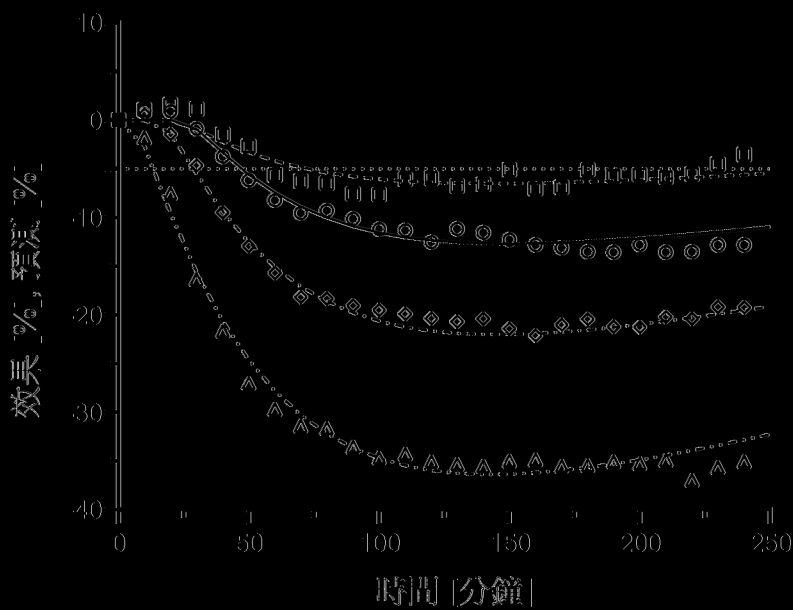


圖 1：在投予 0.15、0.5、1.5 和 15  $\mu\text{g}/\text{kg}$  比較例 11 後觀察到(符號)和擬合(實線)的肺動脈壓(PAP)改變(劑量以肺液積劑量表現)對小型豬(以液體噴霧劑吸入 7 min)。5% 的相關 PAP 降低以虛線指示

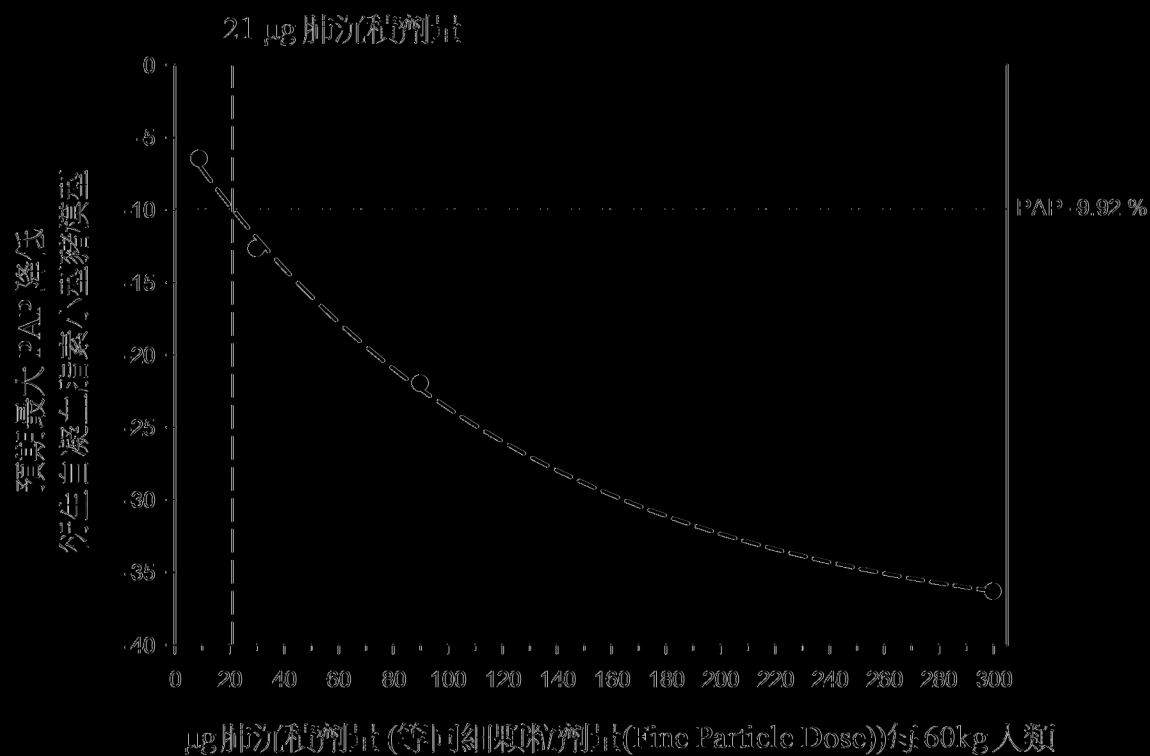


圖 2：基於不考慮蛋白質結合的種間差異之麻醉凝血酶素小型豬模式的結果之 60 kg 人類在對應肺沉積(FPD)的劑量下之最大預期 PAP 降低。



圖 3a：基於膠囊之單一單位劑量吸入器



圖 3b：基於膠囊之單一單位劑量吸入器

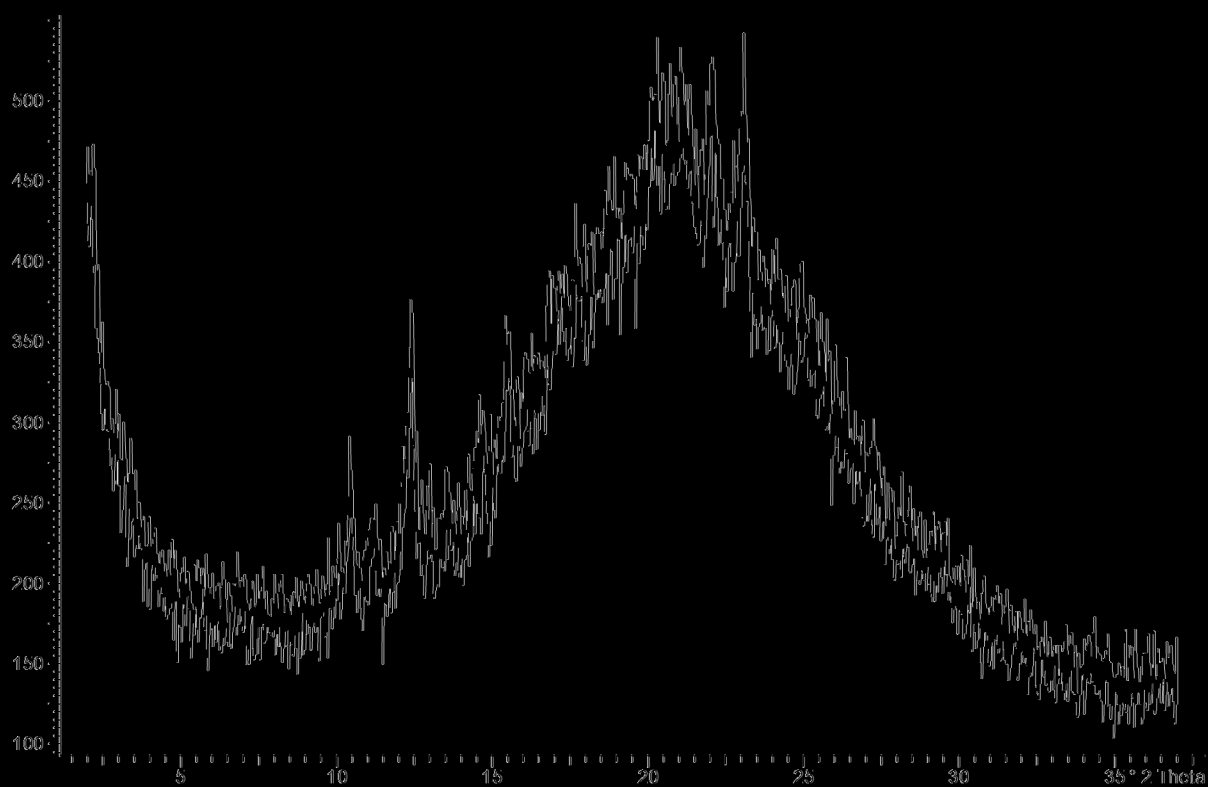


圖 4：基於使用 L-精胺酸之鹽篩選實驗的非晶形殘餘物的 X 射線粉末繞射圖

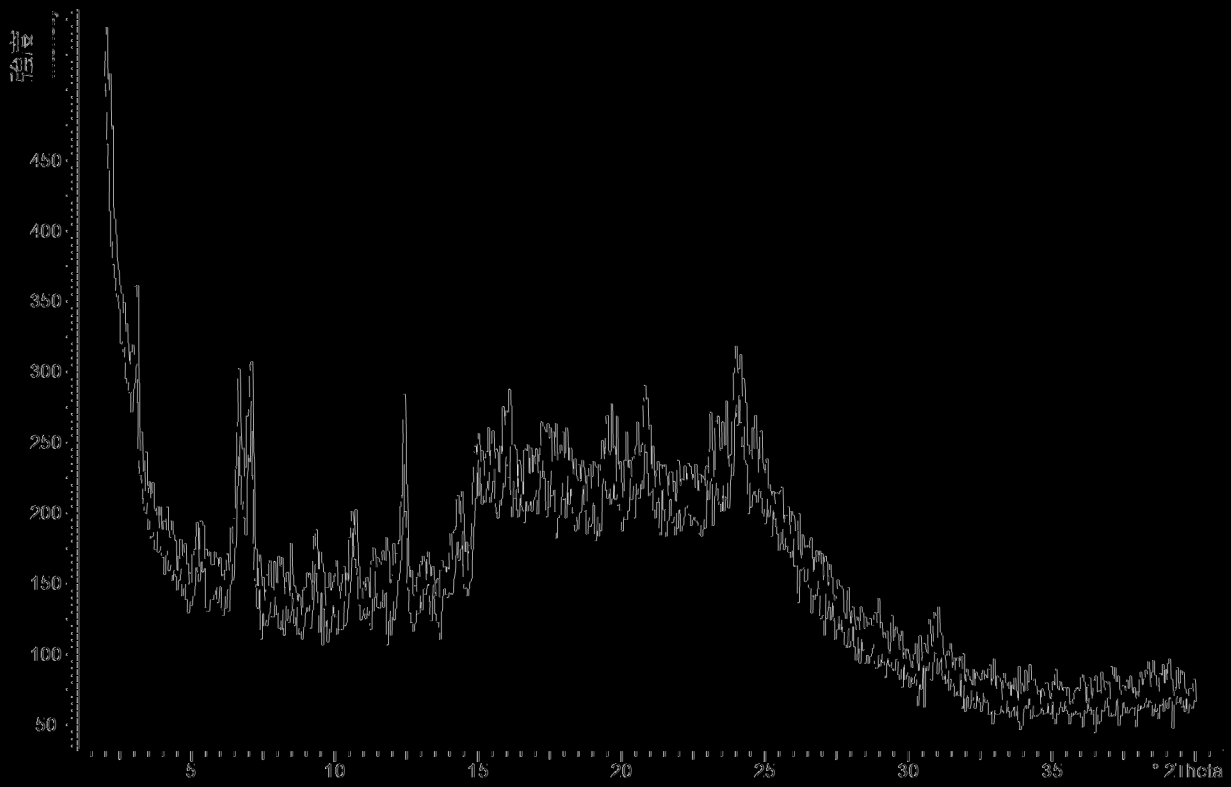


圖 5：半水合物(實施例 6a)的 X 射線粉末繞射圖

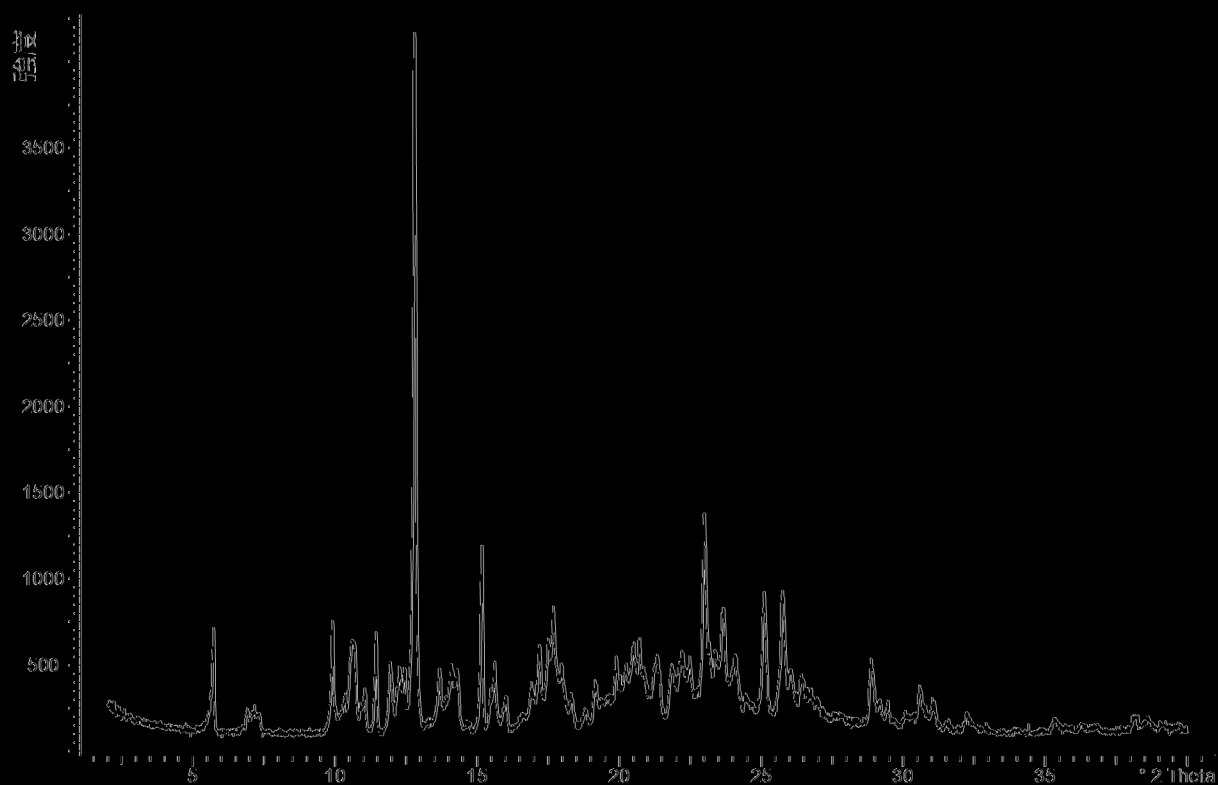


圖 6：單水合物 I(實施例 6b)的 X 射線粉末繞射圖

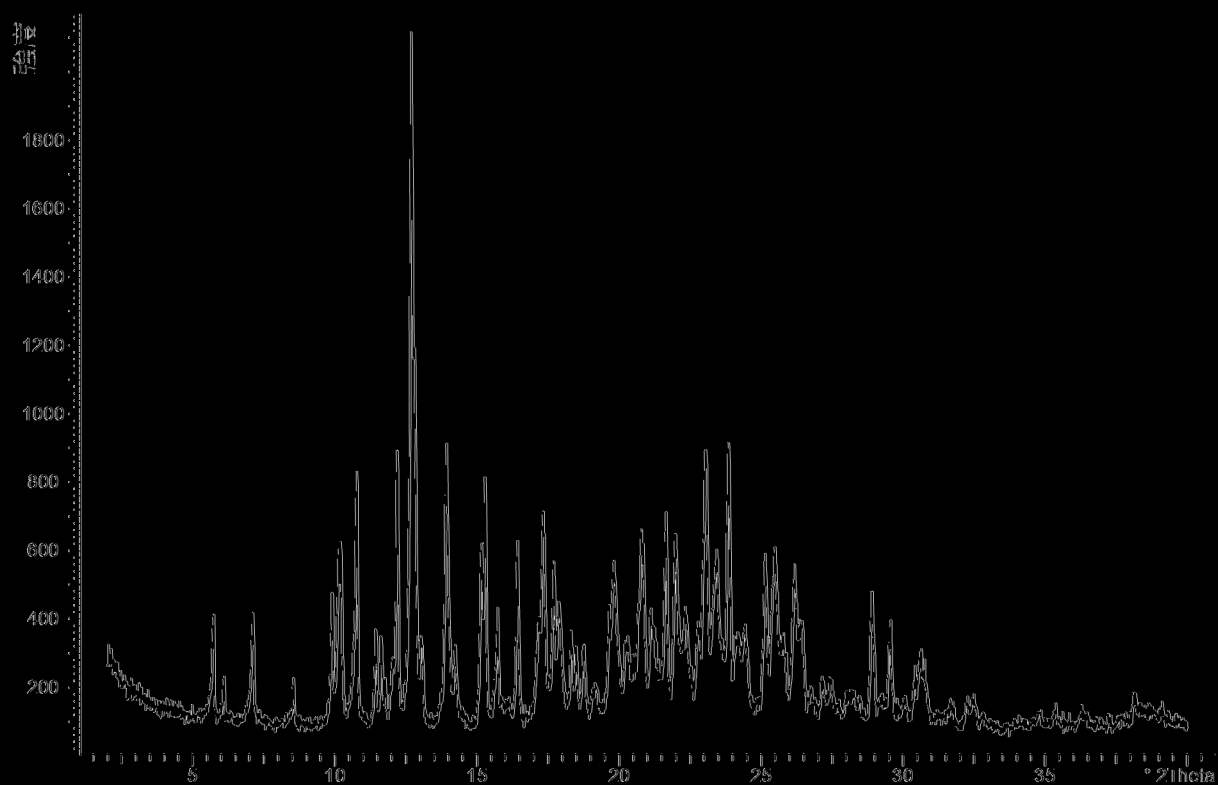


圖 7：單水合物 II(實施例 6c)的 X 射線粉末繞射圖

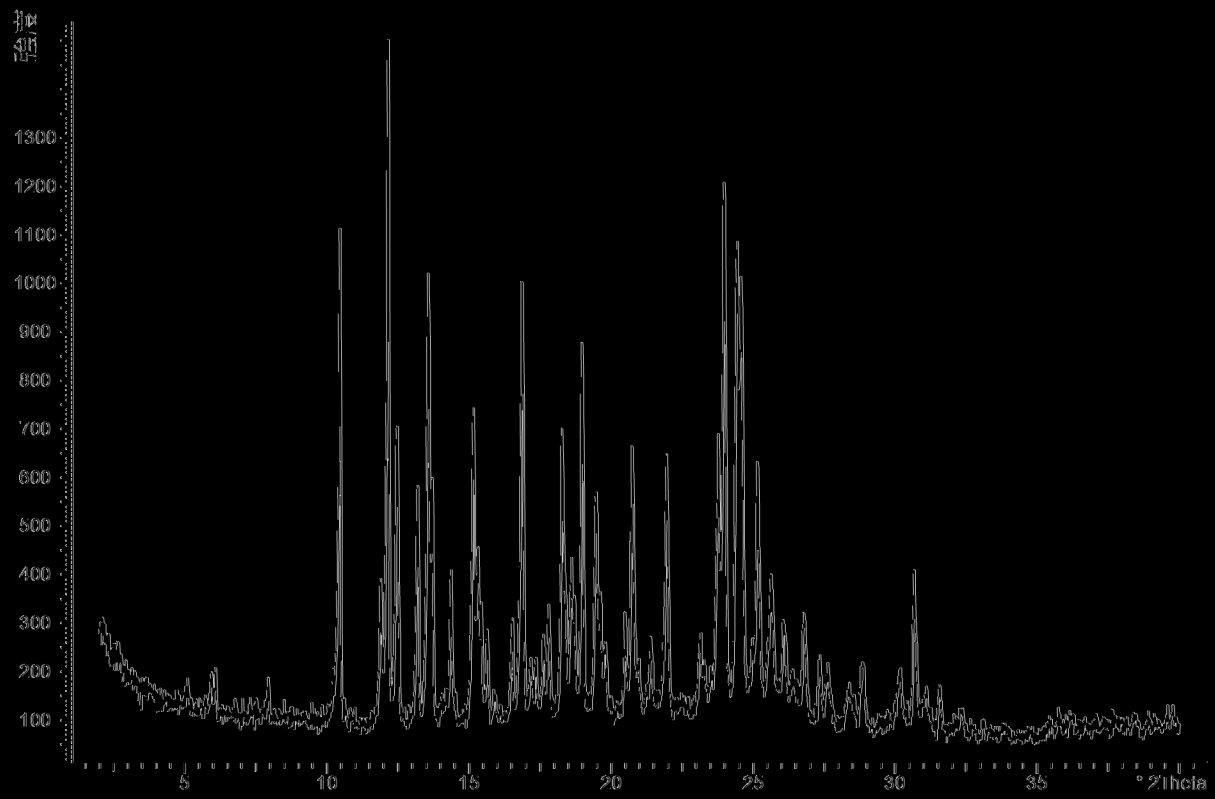


圖 8：1,25 水合物(實施例 6d)的 X 射線粉末繞射圖

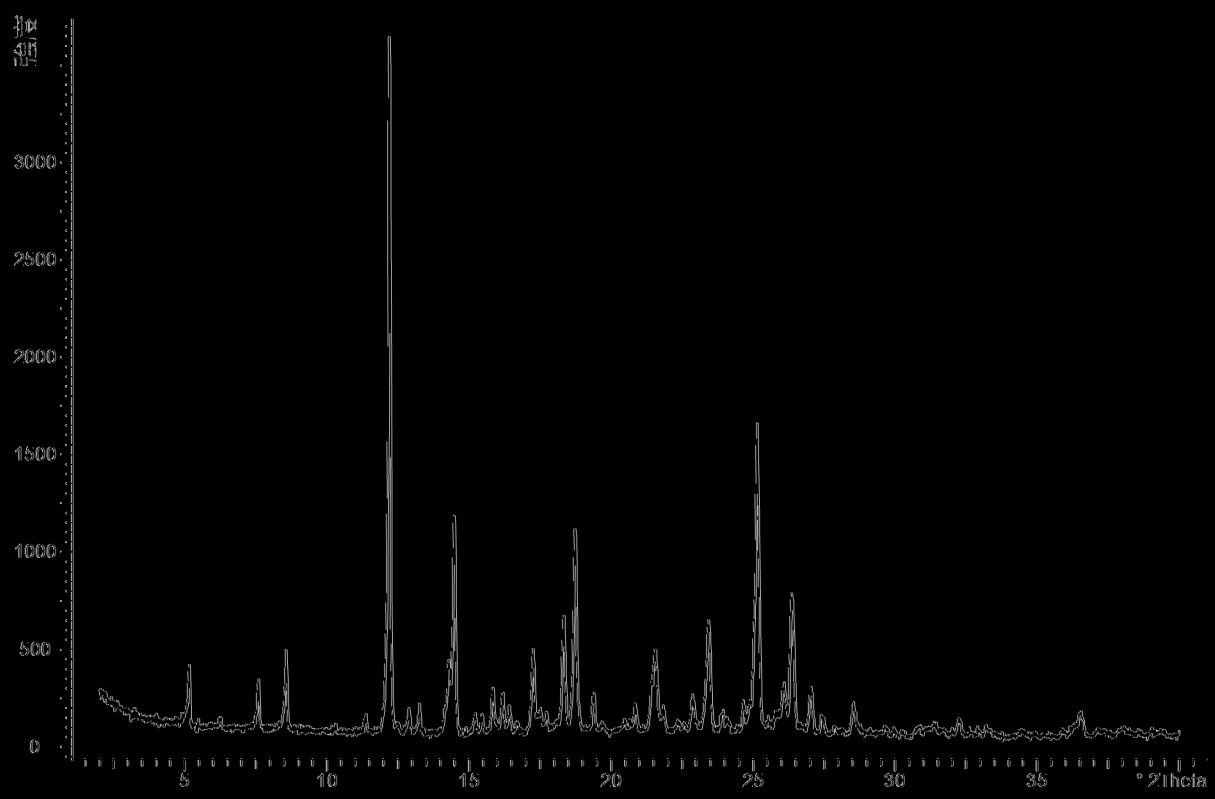


圖 9：1/2 水合物(實施例 6c)的 X 射線粉末繞射圖

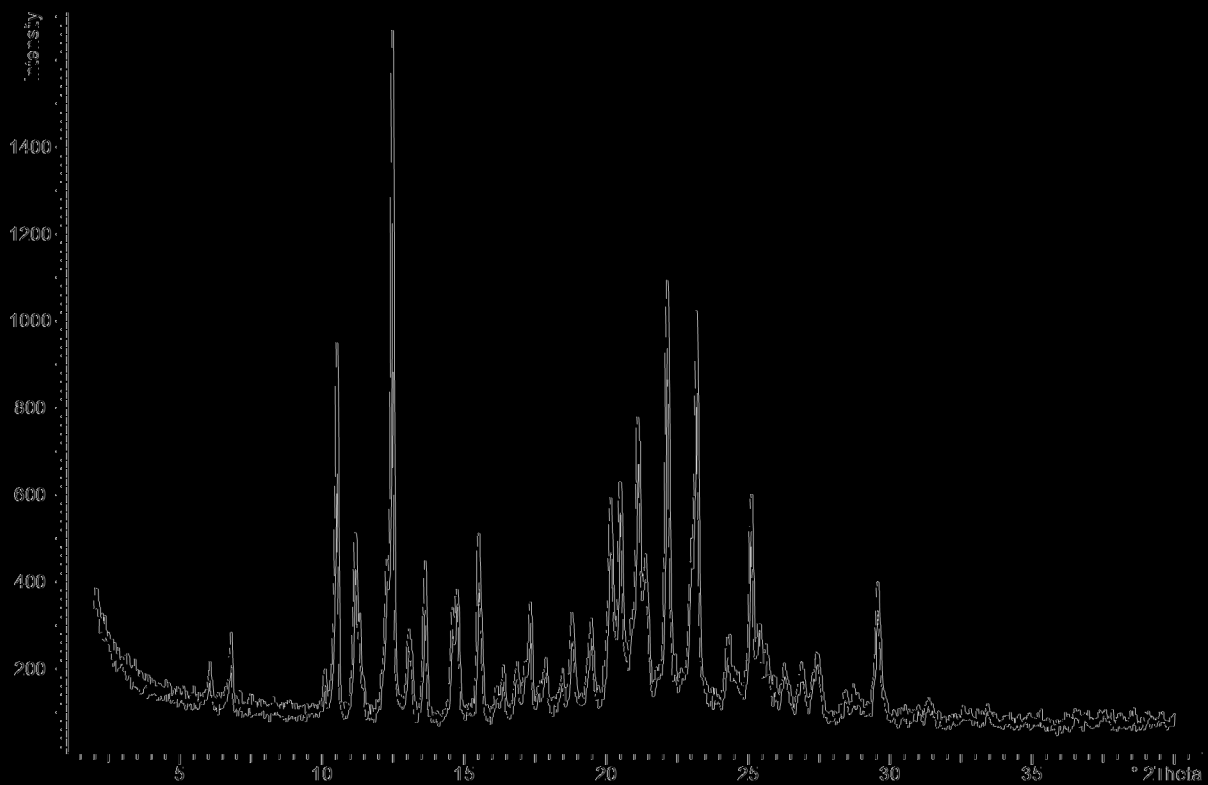


圖 10：三水合物(實施例 6f)的 X 射線粉末繞射圖

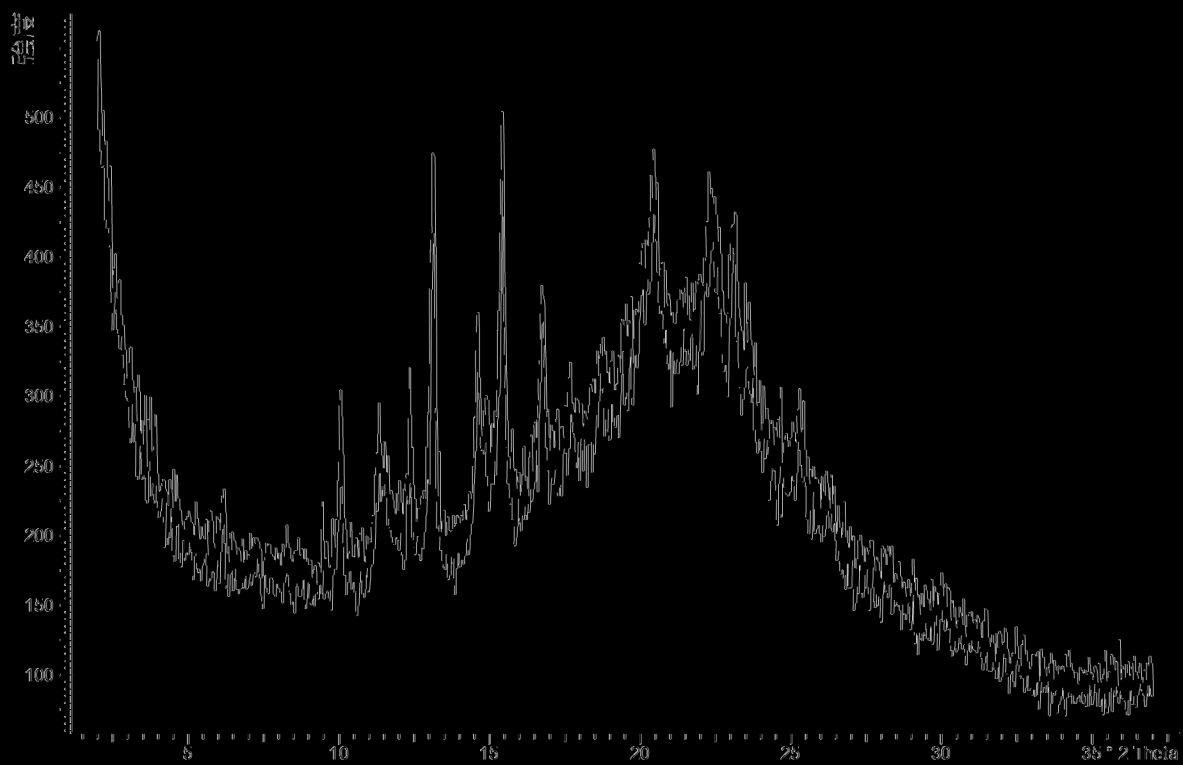


圖 10a：實施例 6f 乾燥後的 X 射線粉末繞射圖

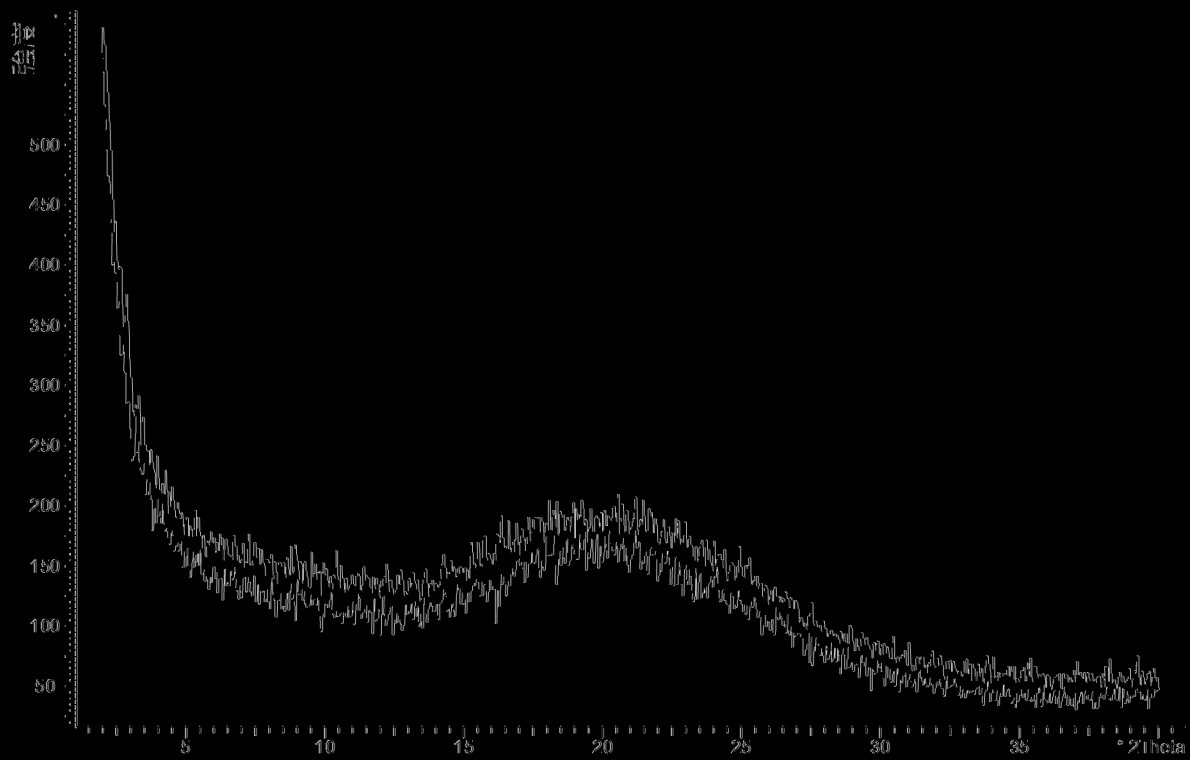


圖 11：非晶形(實施例 6g)的 X 射線粉末繞射圖

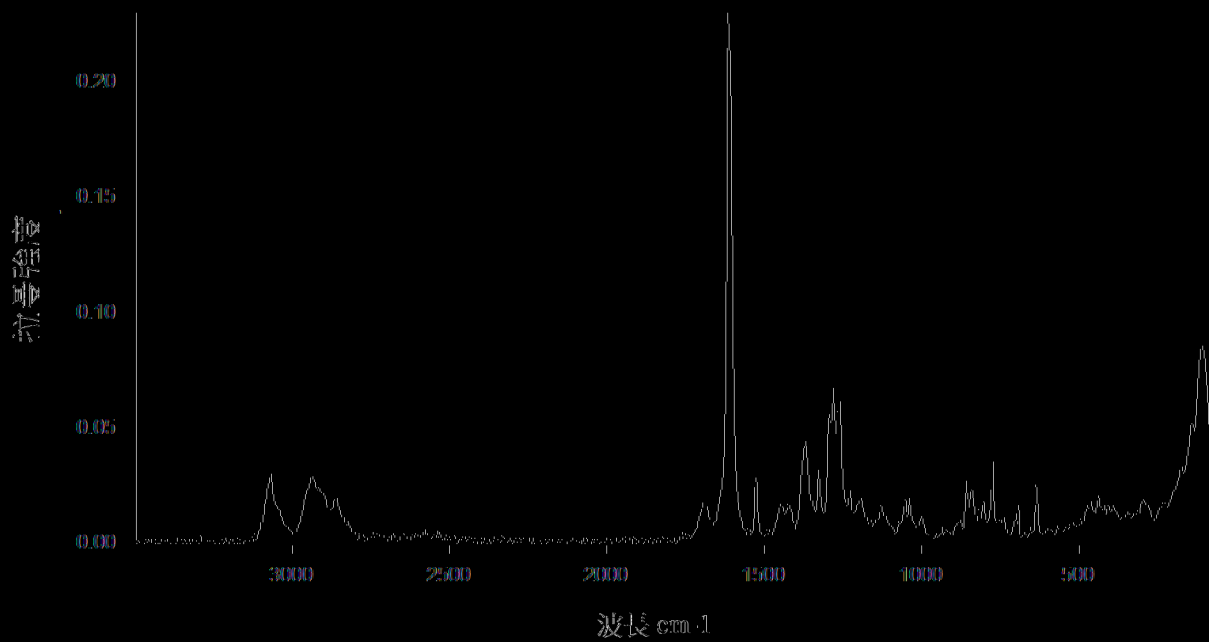


圖 12：半水合物(實施例 6a)之拉曼光譜







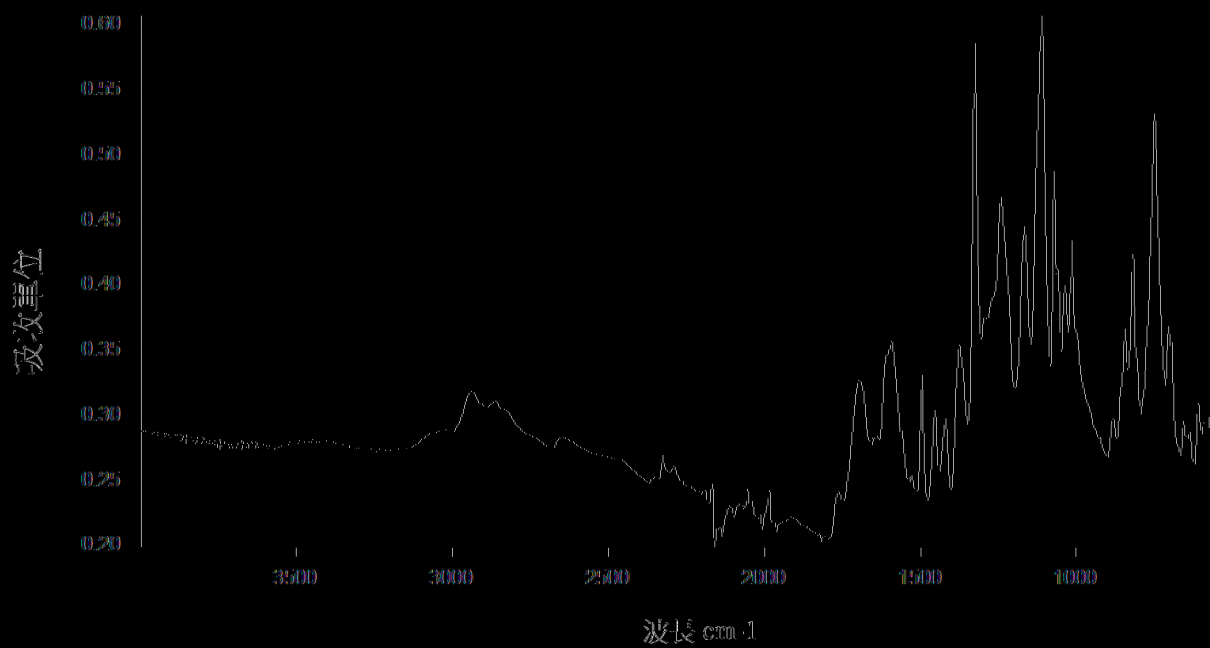


圖 19：半水合物(實施例 6a)之 IR 光譜

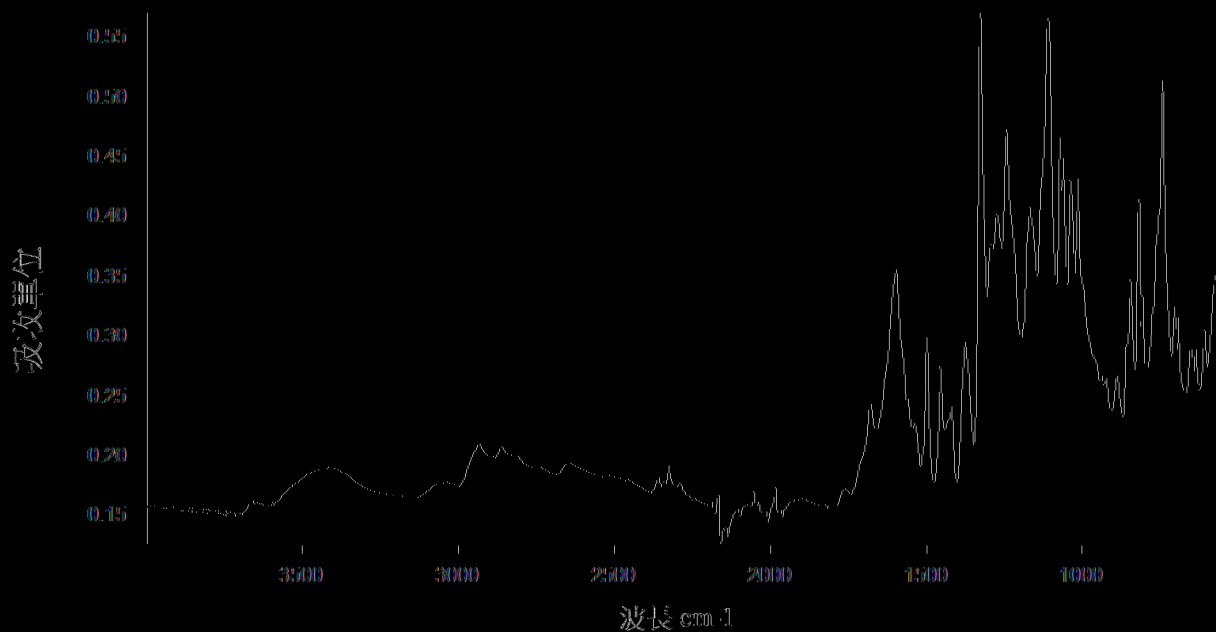


圖 20：單水合物 I(實施例 6b)之 IR 光譜

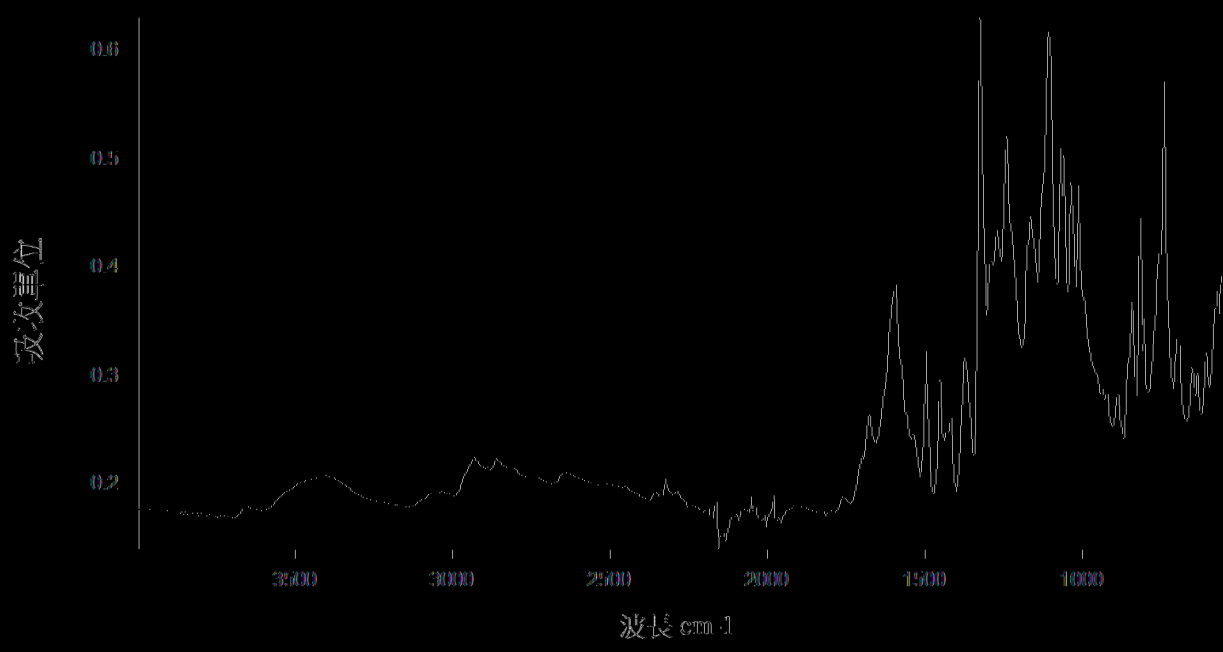


圖 21：單水合物 II(實施例 6c)之 IR 光譜

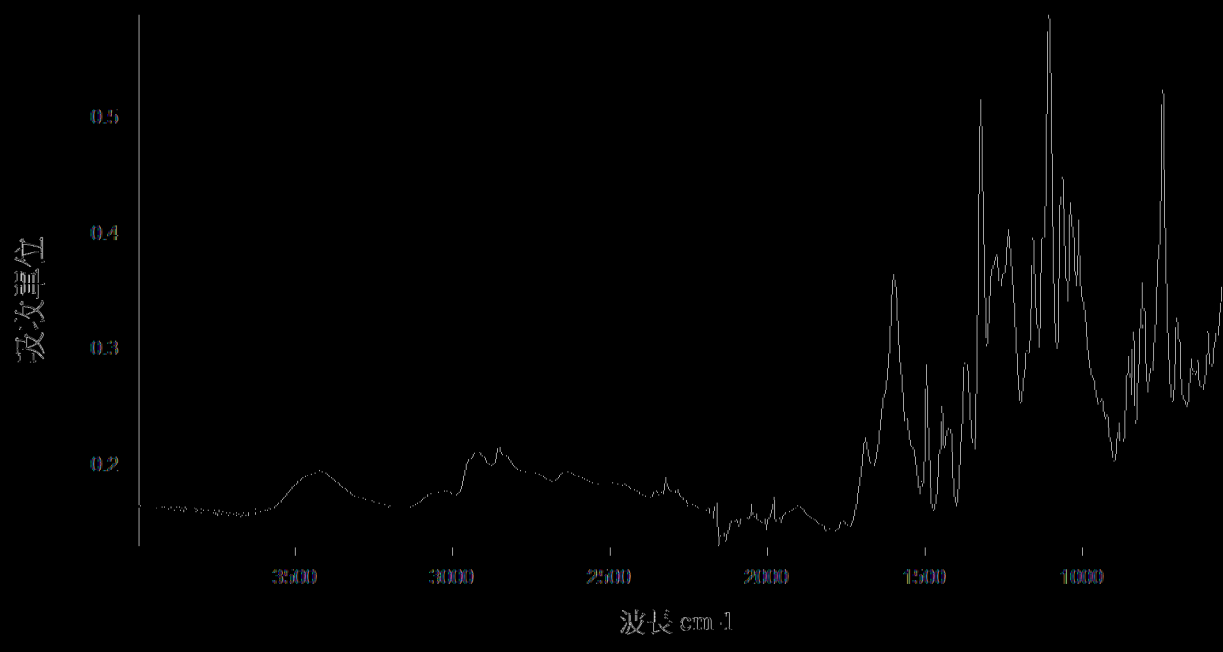


圖 22：1.25 水合物(實施例 6c)之 IR 光譜

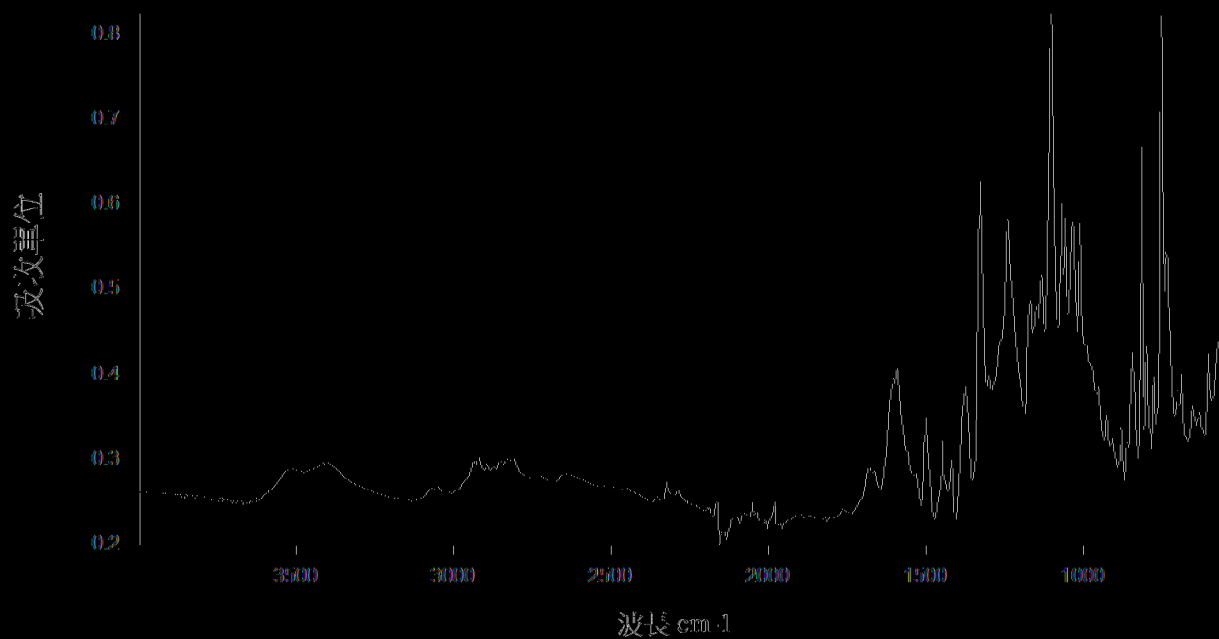


圖 23：倍半水合物(實施例 6c)之 IR 光譜

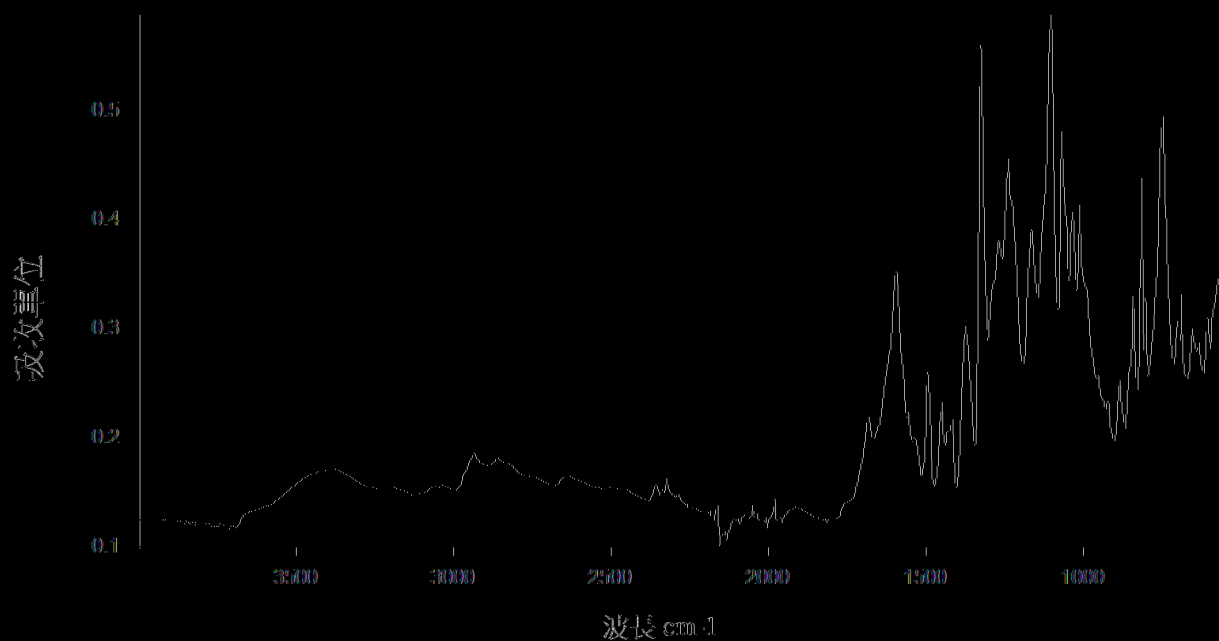


圖 24：二水合物(實施例 6d)之 IR 光譜

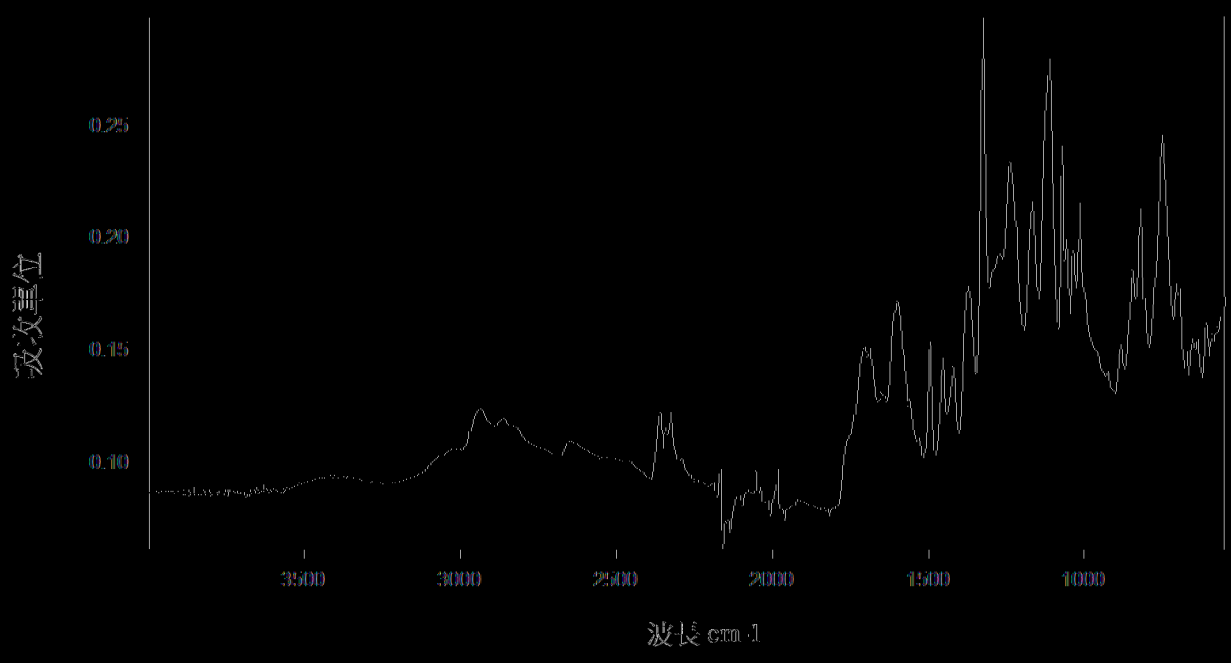


圖 25：非晶形(實施例 6g)之 IR 光譜

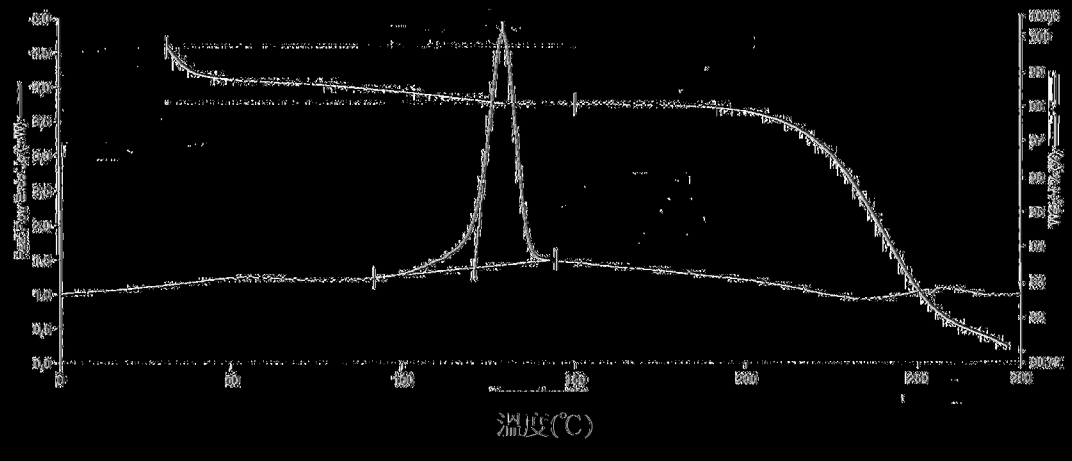


圖 26：半水合物(實施例 6a)之 DSC 和 TGA 溫度記錄圖

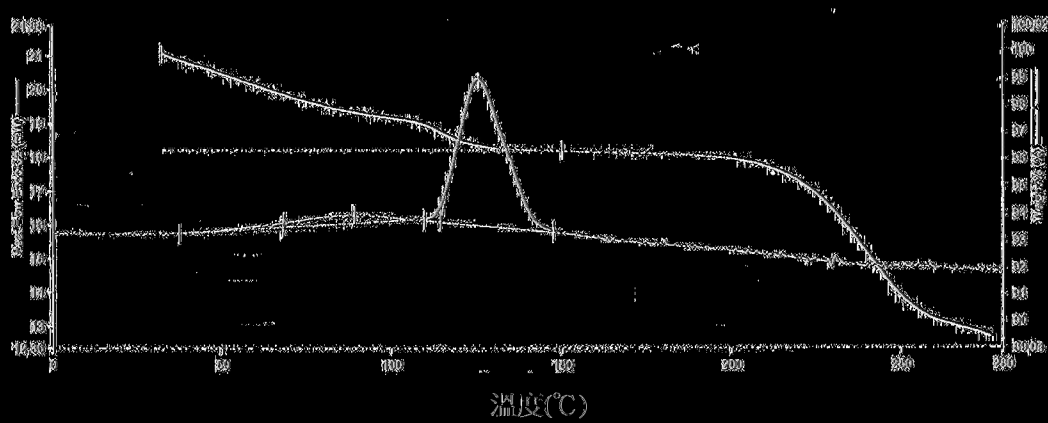


圖 27：單水合物 I(實施例 6b)之 DSC 和 TGA 溫度記錄圖

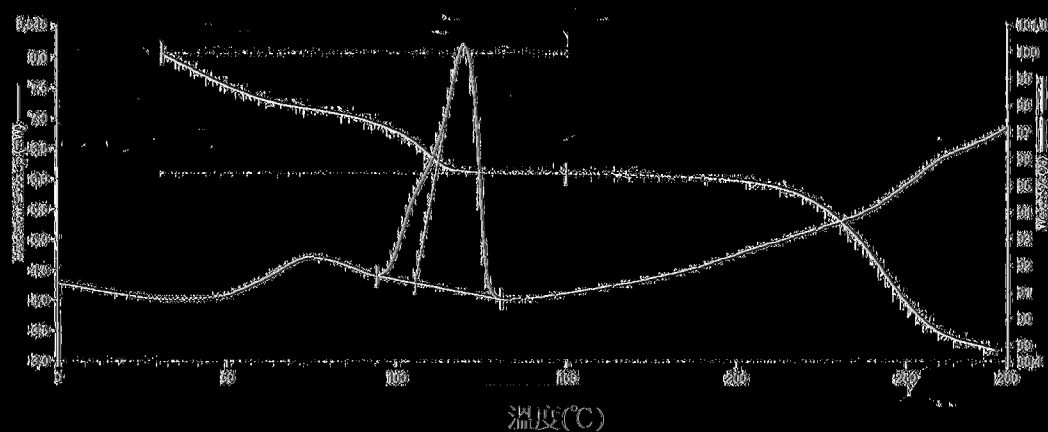


圖 28：單水合物 II(實施例 6c)之 DSC 和 TGA 溫度記錄圖

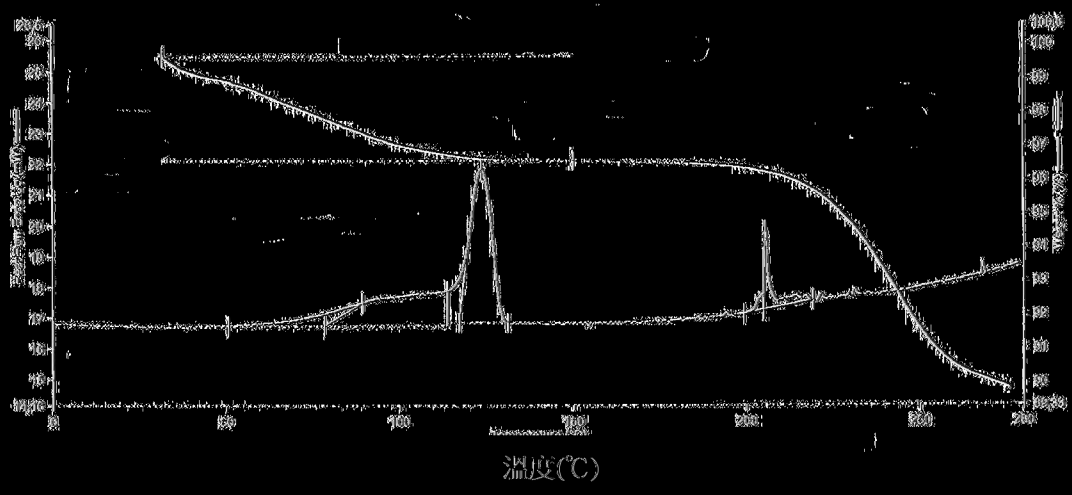


圖 29：1.25 水合物(實施例 6c)之 DSC 和 TGA 溫度記錄圖

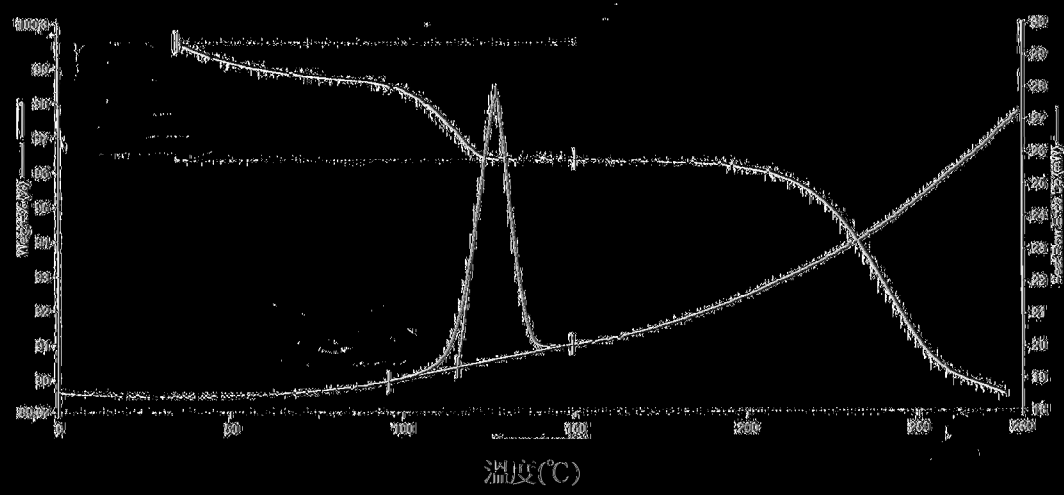


圖 30：1.5 水合物(實施例 6c)之 DSC 和 TGA 溫度記錄圖

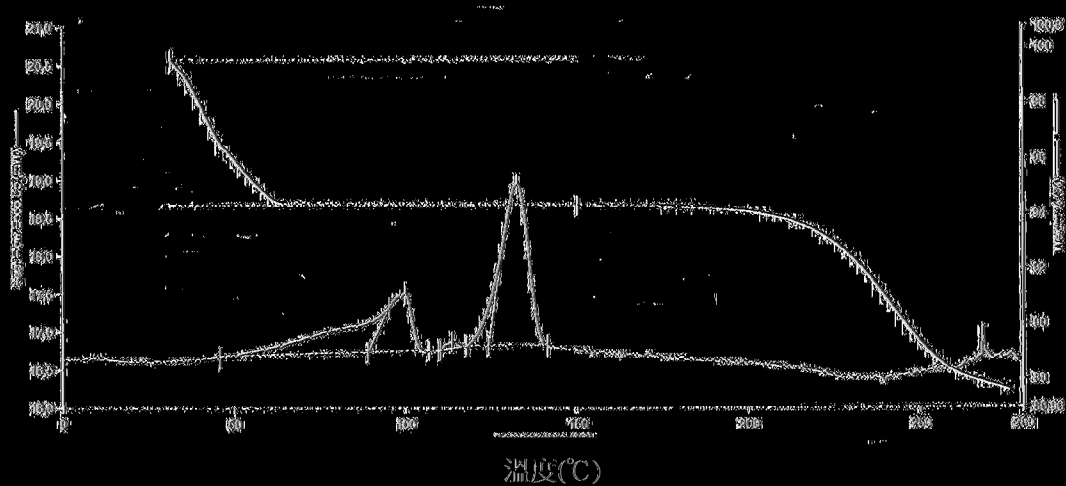


圖 31：二水合物(實施例 6f)之 DSC 和 TGA 溫度記錄圖

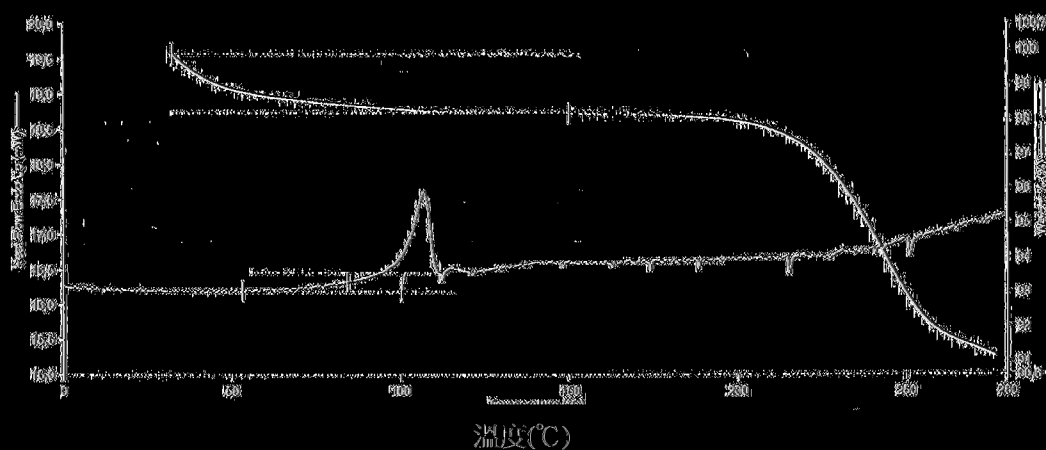


圖 32：非晶形(實施例 6g)之 DSC 和 TGA 溫度記錄圖

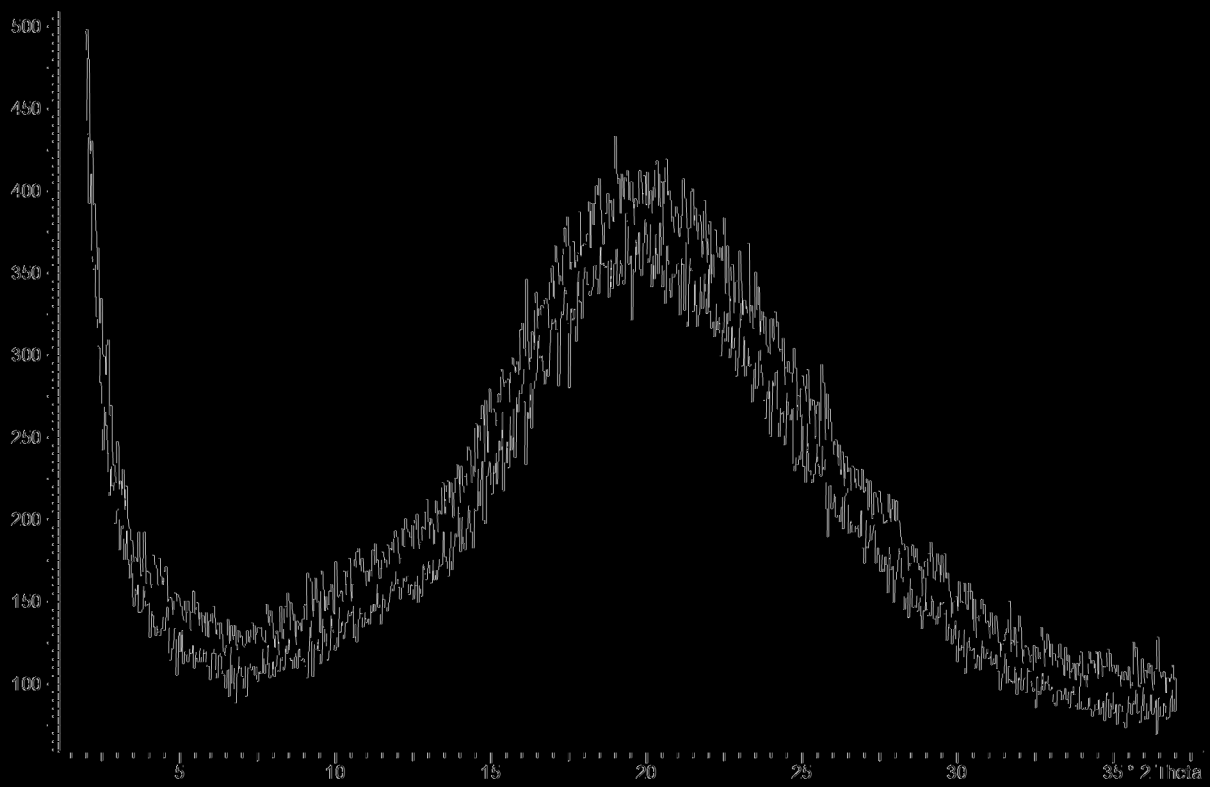


圖 33：比較例 11 非晶形的 X 射線粉末繞射圖

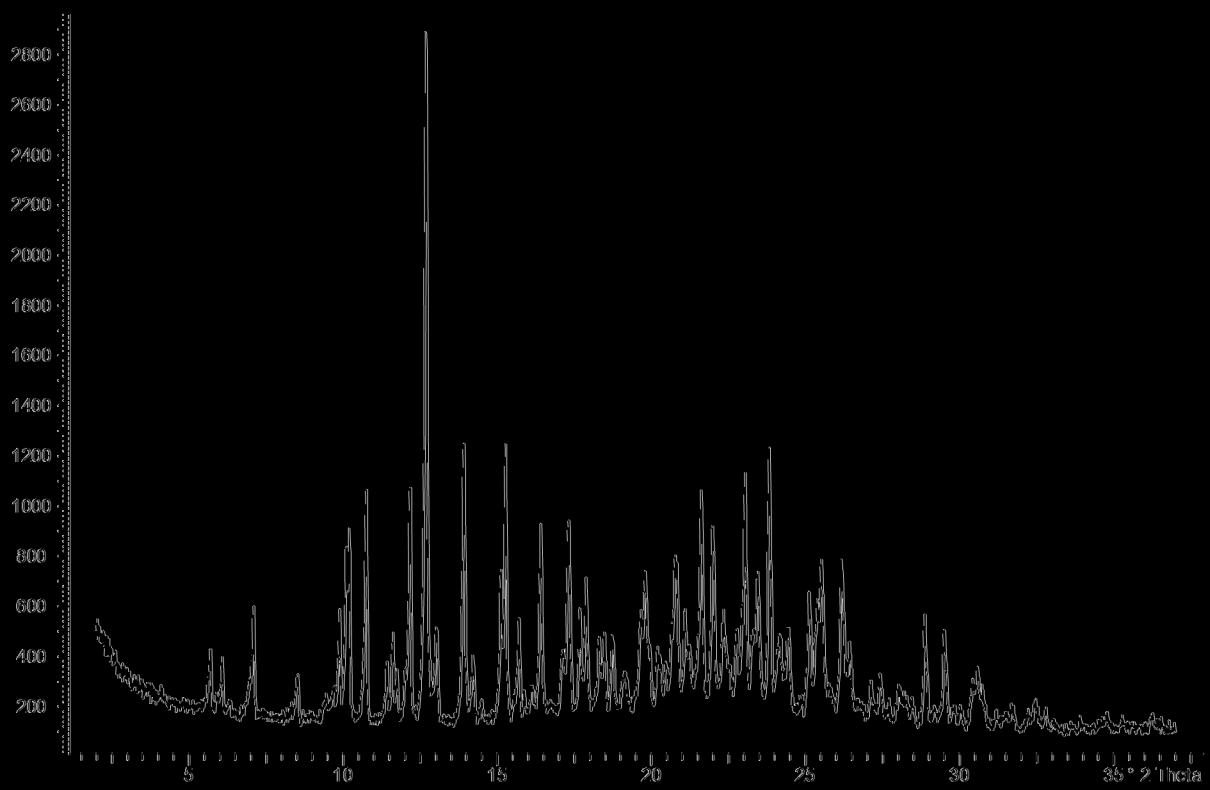


圖 34：實施例 1 單水合物 II 的 X 射線粉末繞射圖

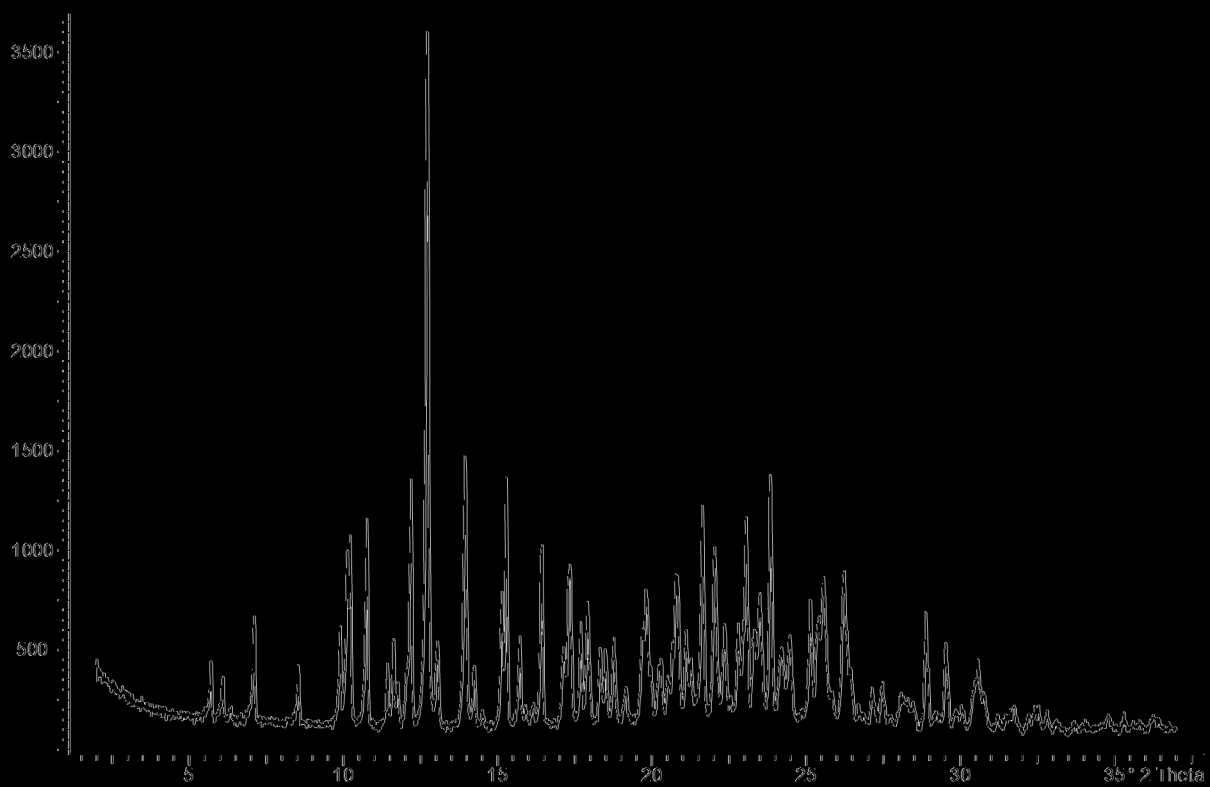


圖 35：實施例 2 微粉化前單水合物 III 的 X 射線粉末繞射圖

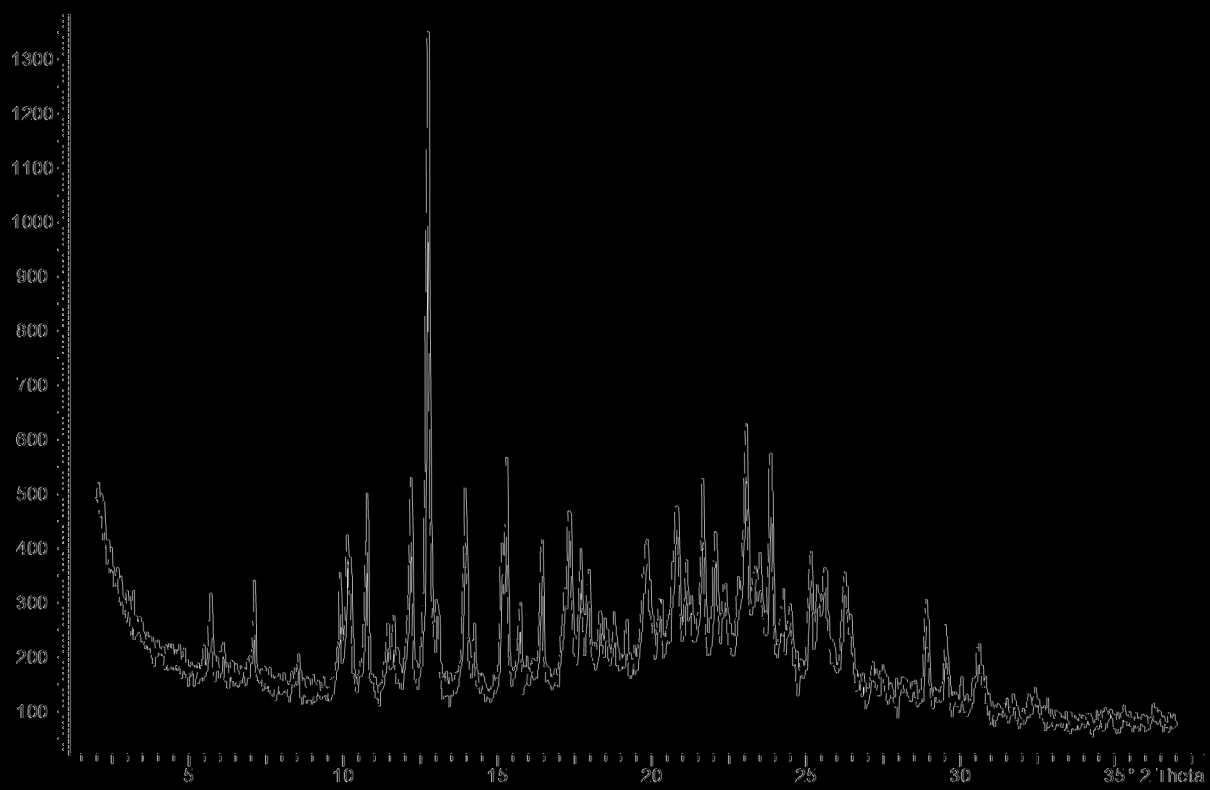


圖 36：實施例 2 微粉化後單水合物 III 部分非晶化的 X 射線粉末繞射圖

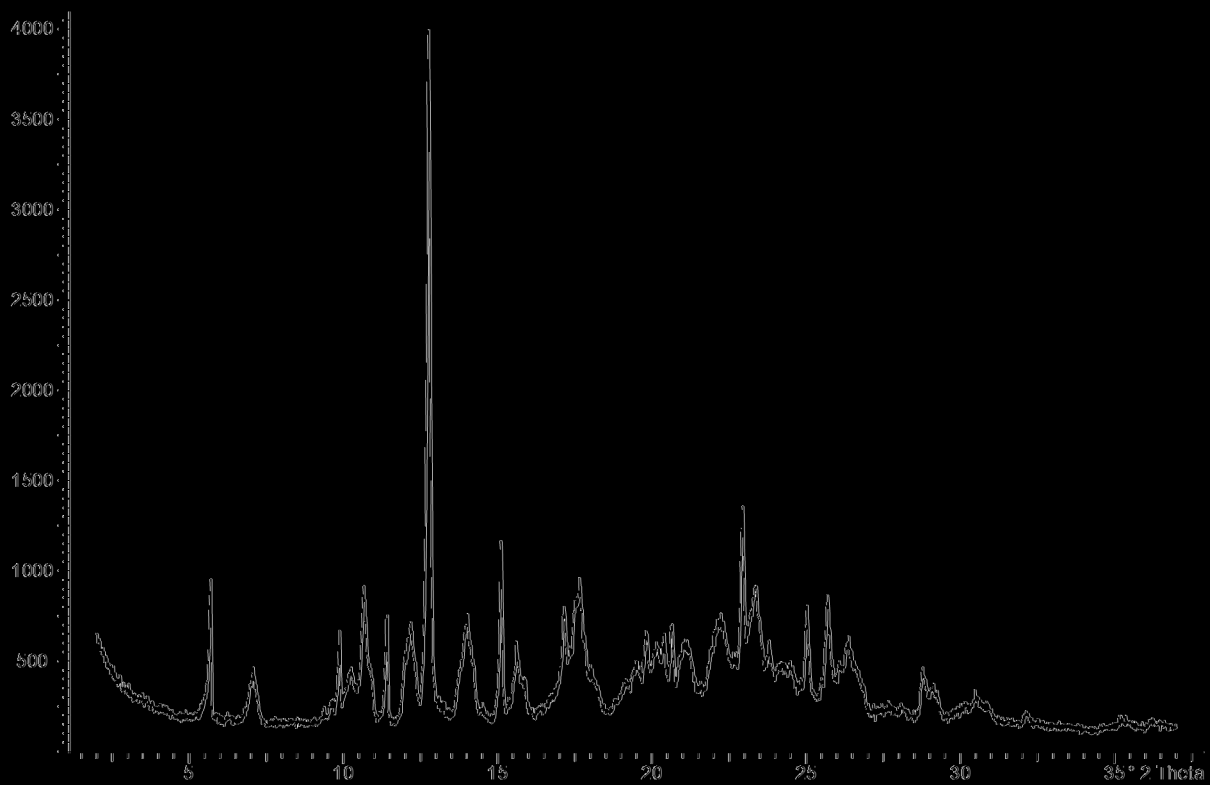


圖 37：實施例 3 單水合物 I 的 X 射線粉末繞射圖

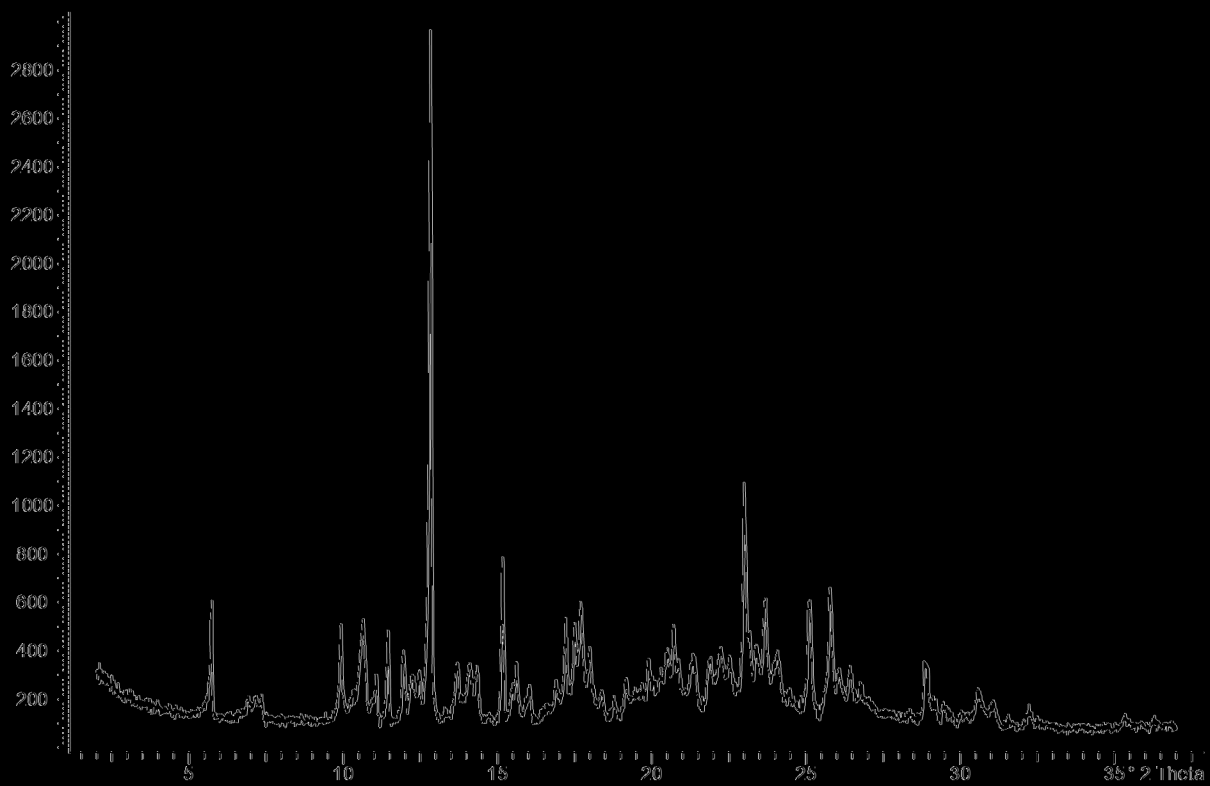


圖 38：實施例 4 單水合物 I 的 X 射線粉末繞射圖

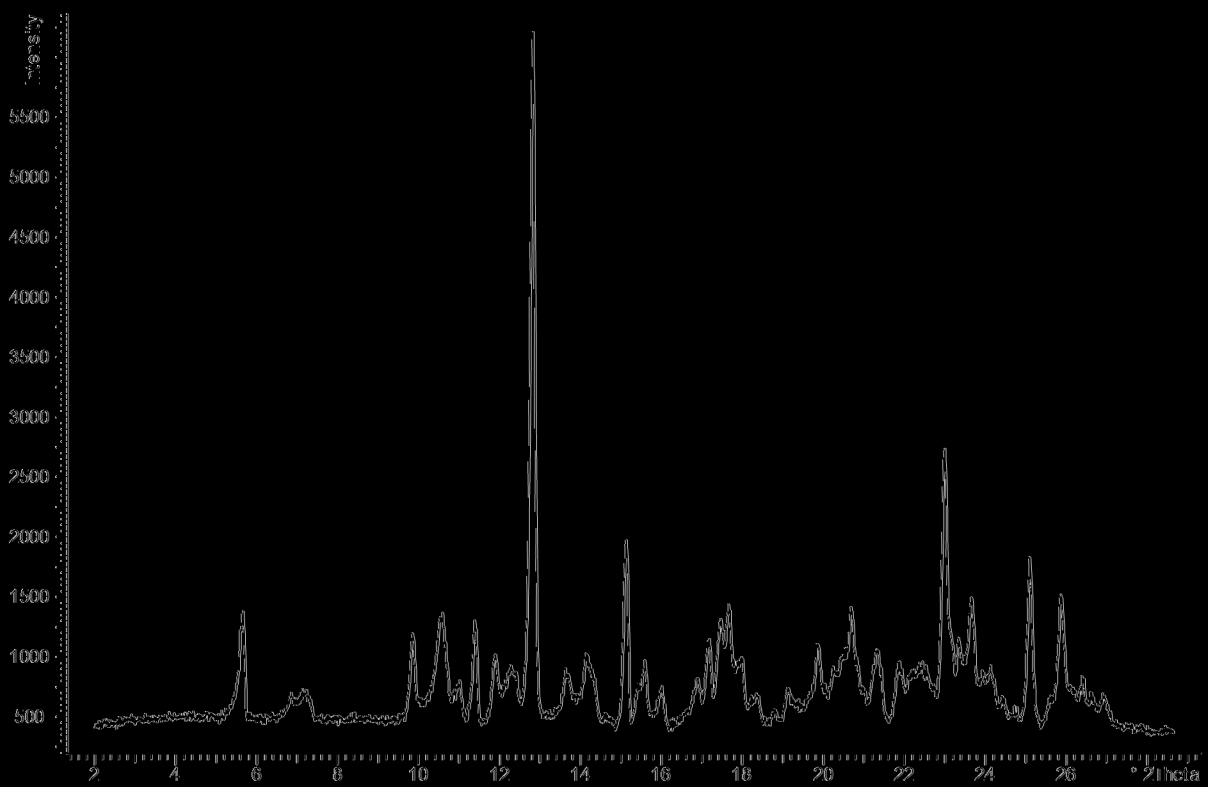


圖 39：實施例 5 單水合物 I 的 X 射線粉末繞射圖

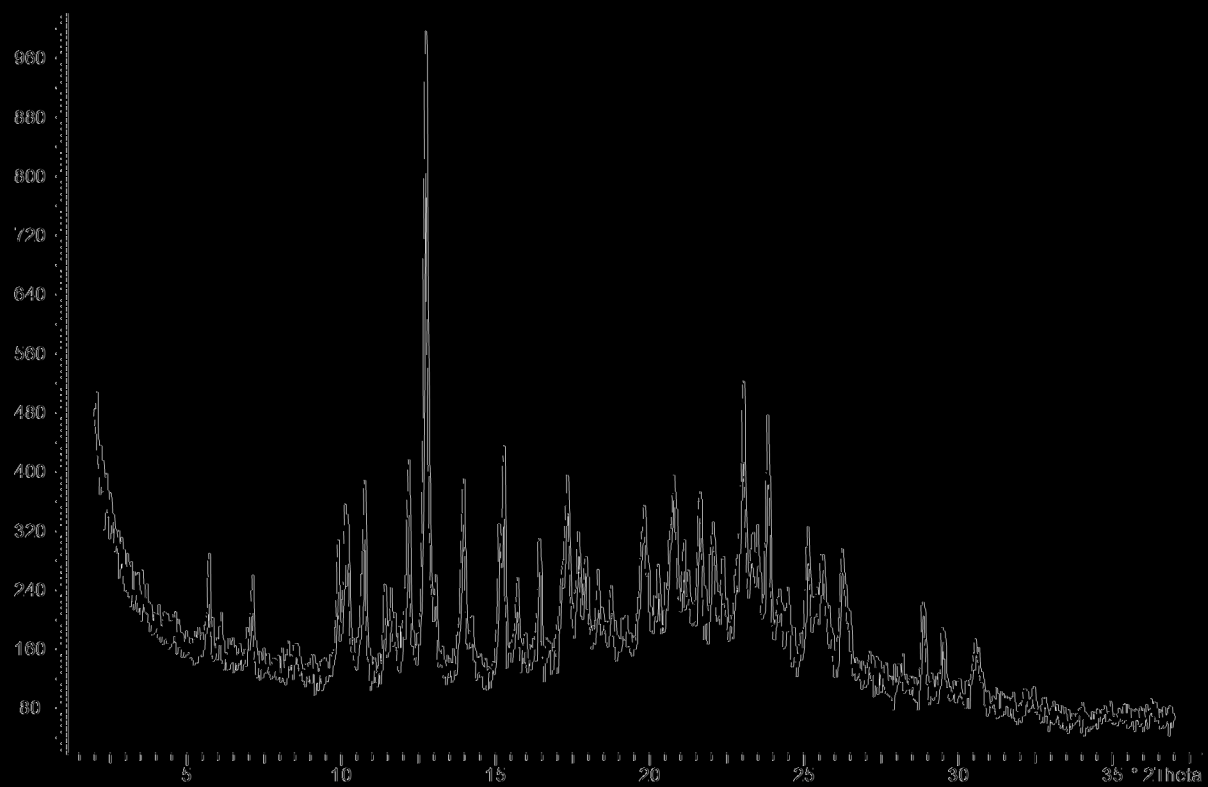


圖 40：實施例 7 的 X 射線粉末繞射圖(儲存穩定性)：起始材料之儲存穩定性(單水合物 II)

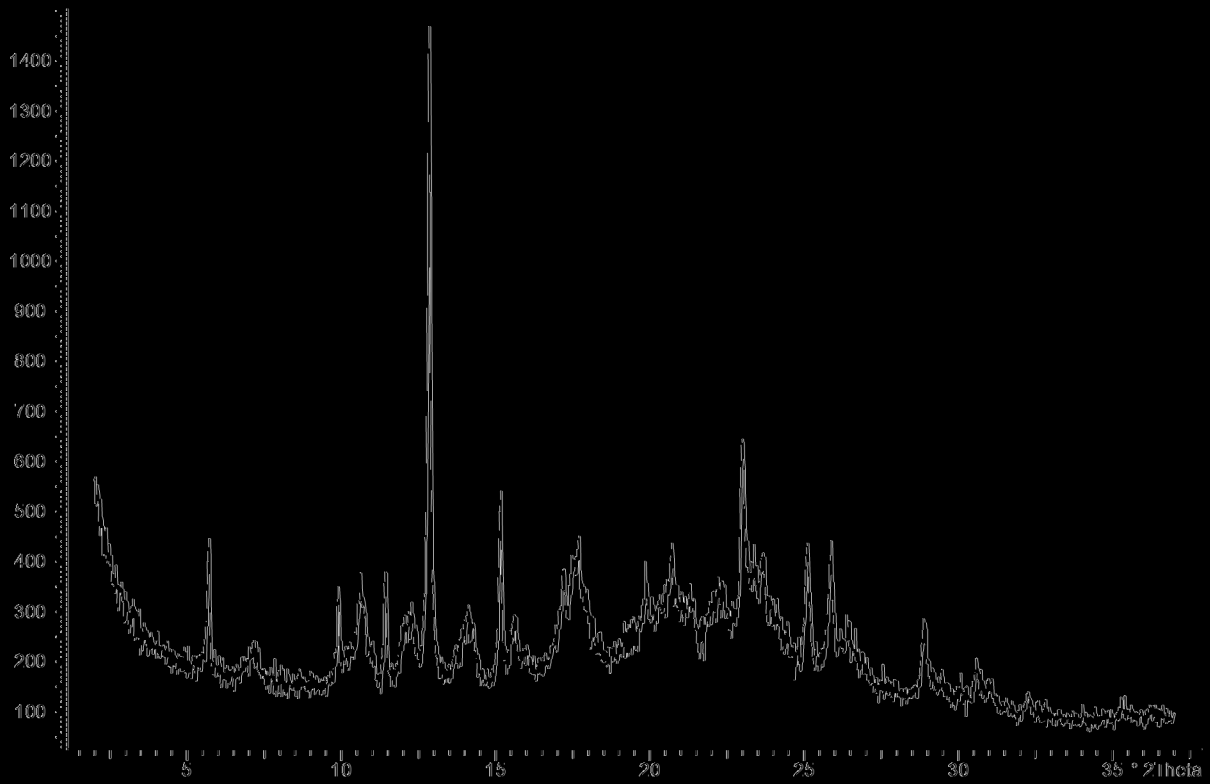


圖 41: 實施例 7b 的 X 射線粉末繞射圖(儲存穩定性): 材料在儲存一個月後在 25°C 和 60% 相對濕度下在聚乙烯中之穩定性測試, 單水合物 I

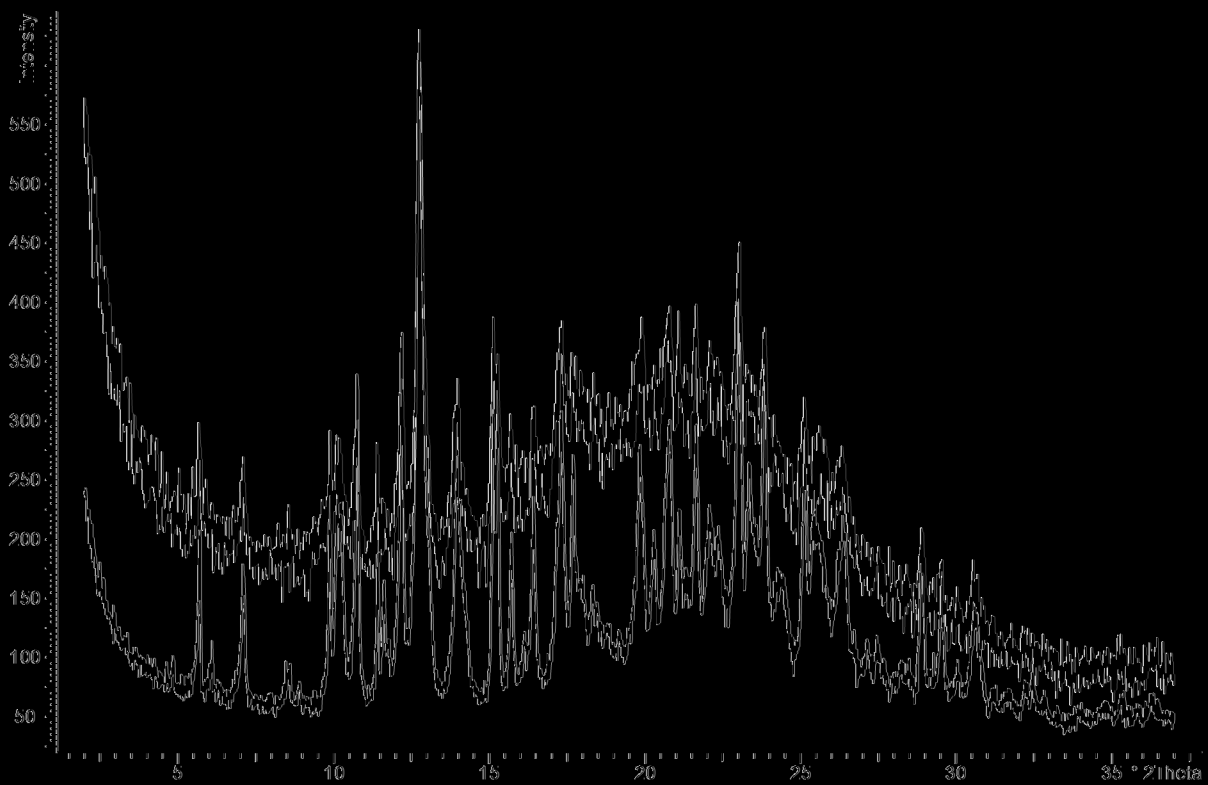


圖 42: 實施例 8b(微粉化)的 X 射線粉末繞射圖之增加: 起始材料(單水合物 II)(底線)和材料微粉化後(具有非晶形量之單水合物 II, PTFE 塗布之噴射磨機, 25°C)(頂線)

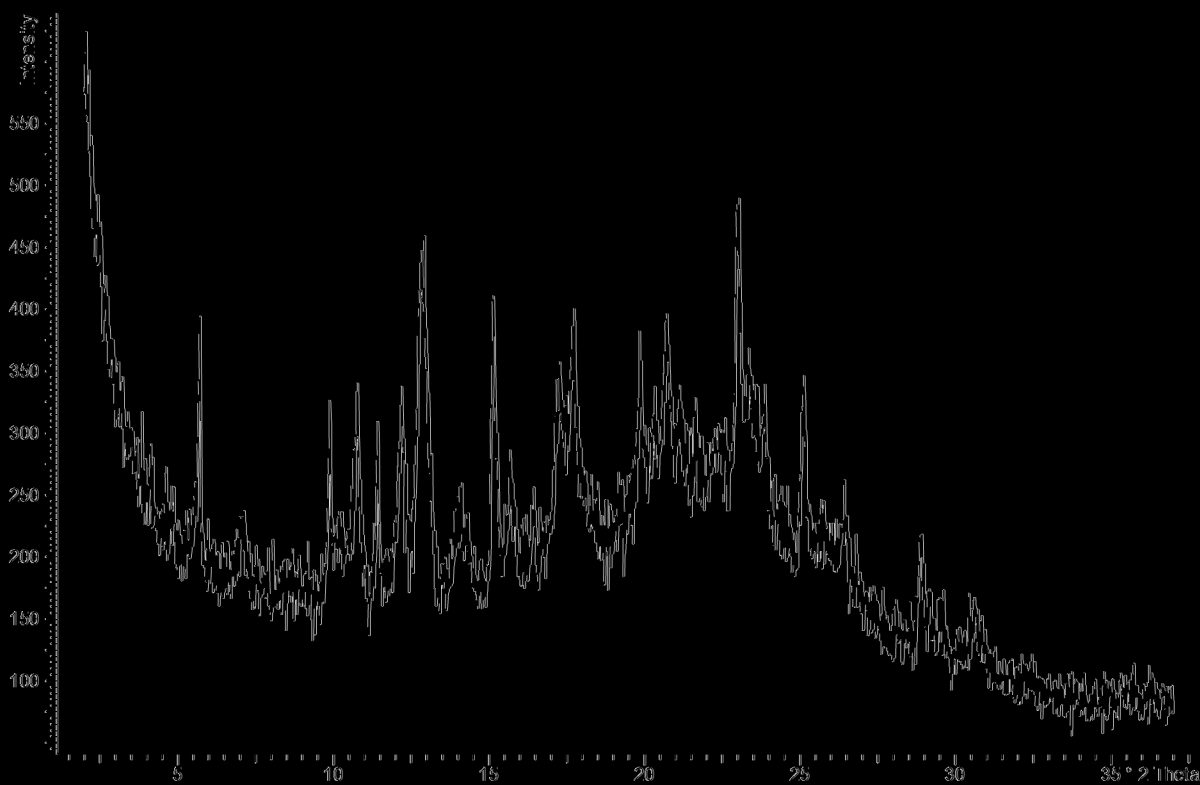


圖 43：實施例 8a 的 X 射線粉末繞射圖：材料微粉化後 (具有非晶形量之單水合物 1，VA 噴射磨機，25°C)

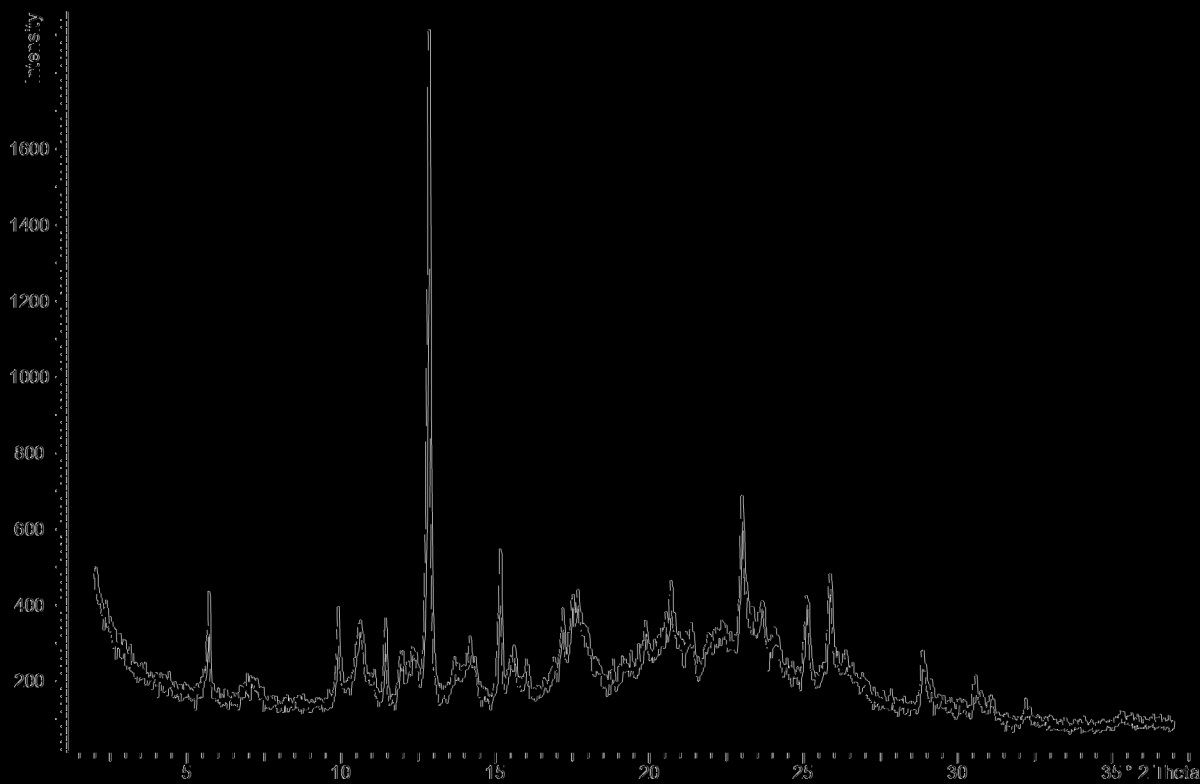
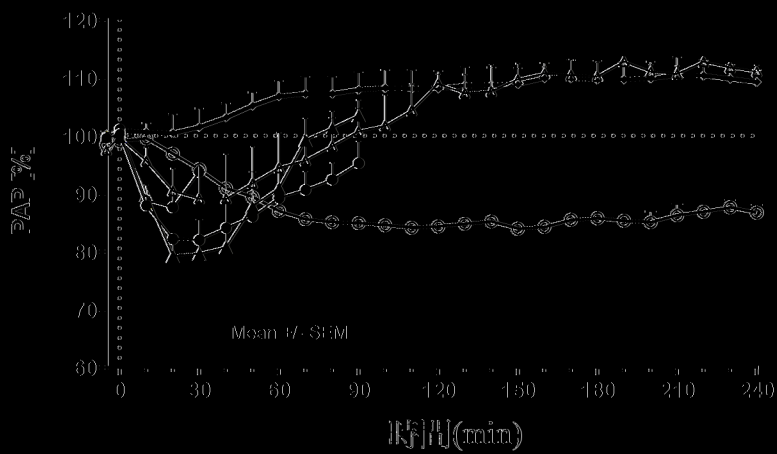


圖 44：X 射線粉末繞射圖(實施例 8c)：微粉化後 (單水合物 1)

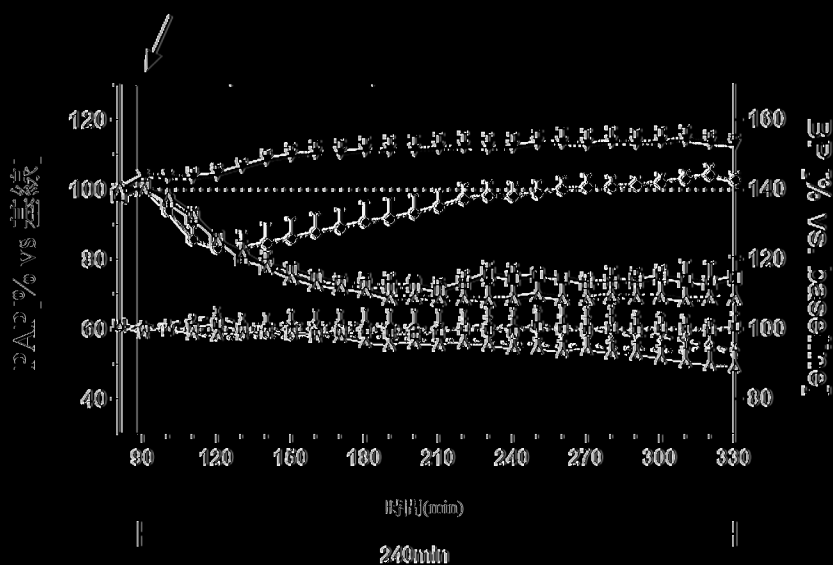






- 媒液 (n=4)
- 比較例 11 (30  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) (n=2)
- △ 比較例 2 (甲奧西瓜(Biocygan) 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) (n=2)
- ◇ 比較例 1 (西那西瓜 3  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) (n=2)
- 比較例 1 (西那西瓜 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) (n=2)
- ▲ 比較例 3 (30  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) (n=2)

圖 48：媒液溶液、比較例 11 (30  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )、比較例 1 (西那西瓜：3 和 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )、比較例 2 (甲奧西瓜：100  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) 和比較例 3 (30  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) 在小型豬中在凝血酵素類似物 U46619 誘發之 PAIU 下吸入施用後對 PAP vs 基線(霧化開始前的 5 min 間隔)之 % 改變的效應。數據為平均值  $\pm$  SEM。



↓ 藥液 (n=4) 或比較例 11 (n=3) 或比較例 5 (n=3) 或比較例 4 的 5 l/min 吸入 (n=3)

- V ● PAP 藥液
- C ● PAP 比較例 5 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$
- H ● PAP 比較例 4 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$
- A ● PAP 比較例 11 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$
- ● ● BP 藥液
- ● ● BP 比較例 5 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$
- H ● BP 比較例 4 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$
- A ● BP 比較例 11 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$

圖 49：藥液溶液、比較例 11、比較例 4 和比較例 5 (全部化合物均以 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$  的標稱劑量) 在小型豬中在凝血素類似物 U46619 誘發之 PAH 下吸入施用後對 PAP 和 BP vs 基線 (霧化開始前的 5 min 間隔) 之 % 改變的效應。數據為平均值  $\pm$  SEM。所有化合物的霧化間隔需要 5 l 分鐘 (黃色條)。

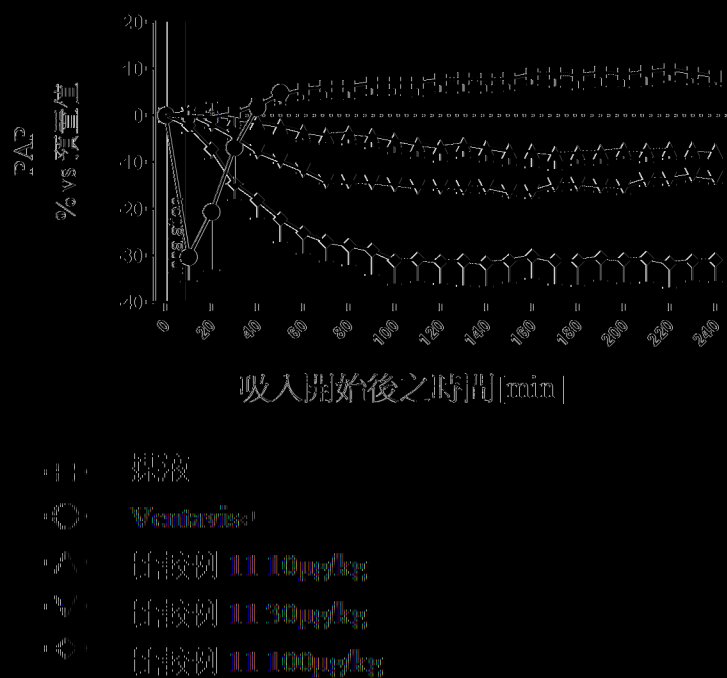
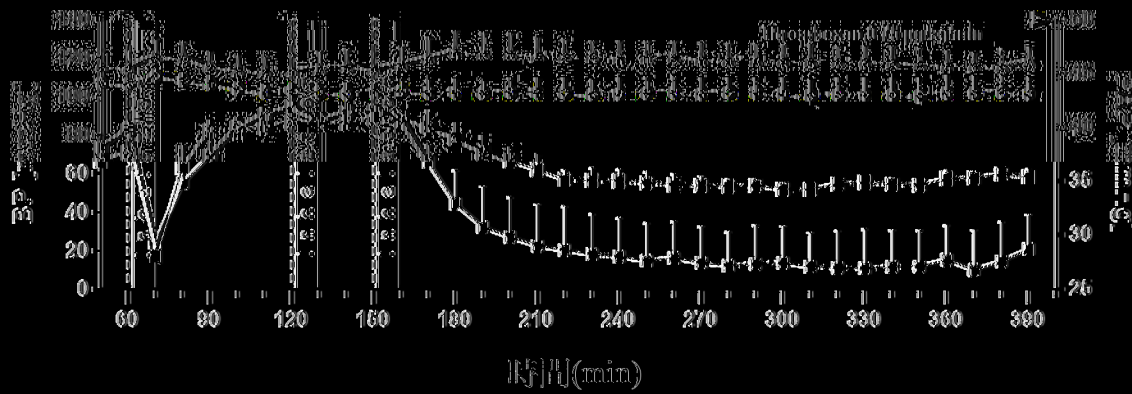


圖50：在PAPII小型豬模式中藥液溶液、比較例11(10、30和100 µg/kg標稱劑量)和Ventavis(10 µg/kg標稱劑量)在吸入施用後的效應。數據以PAP和IBP vs 基線(霧化開始前的10 min間隔)中之%改變%表現。數據為平均值 ± SEM。所有化合物的霧化間隔需要5 1/分鐘(灰色條)。





吸入：@60min：Ventavis 10 $\mu$ g/kg；@120min：媒液；@150min：比較例11 30 $\mu$ g/kg

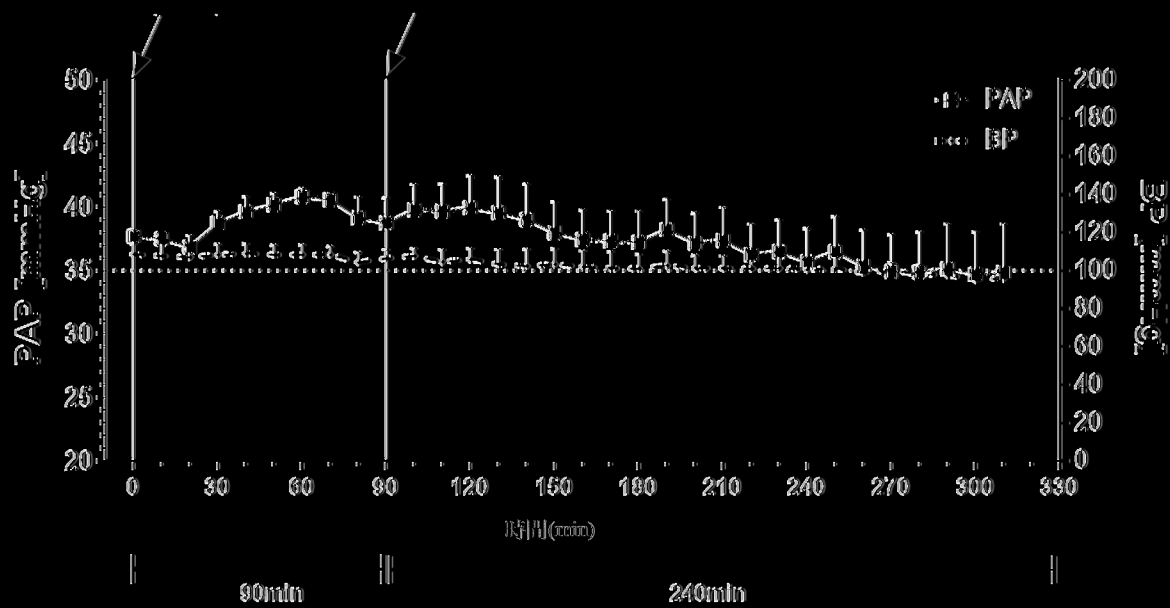
●●：BP wo L-NAME      ●●：PAP 有 L-NAME

●●：PAP wo L-NAME      ●●：BP 有 L-NAME

圖52：比較例11在小型豬中在凝血酶素類似物U46619誘發之PAH下吸入施用後有和沒有以L-NAME預治療(10mg iv.推注接著5 mg/kg/h輸注)的效應。數據為平均值 $\pm$ SEM (n=3) iv.：靜脈內；L-NAME：L-N $\omega$ -硝基精氨酸甲酯；mBP：平均血壓；mPAP：平均肺動脈壓；PAH：肺動脈高血壓；PAP：肺動脈壓；SEM：平均值的標準誤差；w/wo：有/沒有；wo：沒有





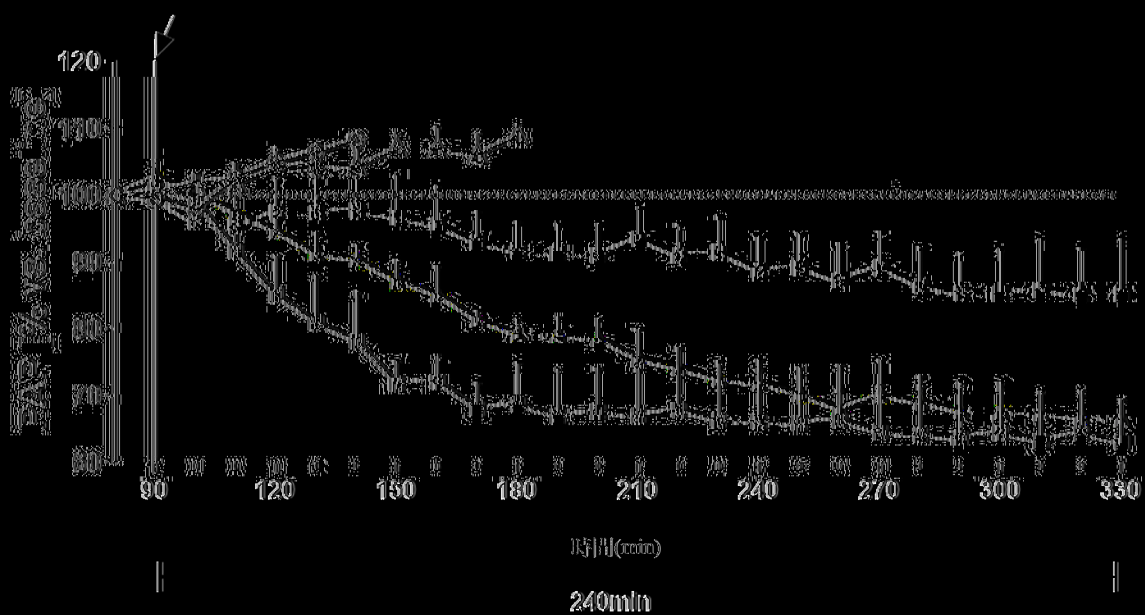


↓ @0 min : 乳糖 1.5mg/4kg : @90 min : 乳糖調配物 I (2%) 1.5mg/4kg

圖 51 : 乳糖以及乳糖調配物 I (1.5  $\mu$ g/kg) 氣管內施用後的效應。數據為平均值  $\pm$  SEM (n = 3) : 以 PennCentury 乾粉吸入器和空氣泵進行氣管內施用 ; BP : 動脈血壓 ; PAP : 肺動脈壓 ; SEM : 平均值的標準誤差







↙ @90 min : 實施例 6c (mikro.) 或乳糖調配物 I 或 II (2 或 6%) 或乳糖 1.5mg/kg

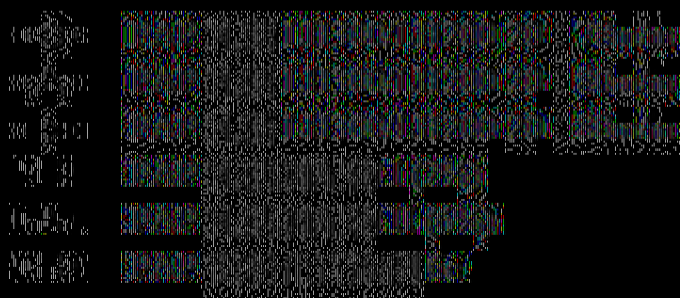
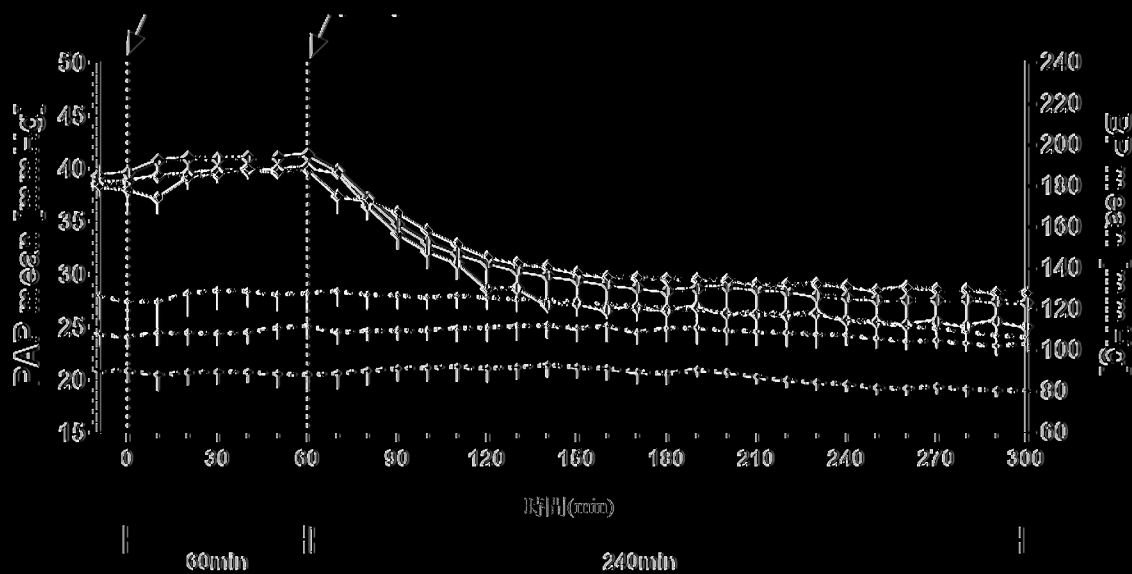


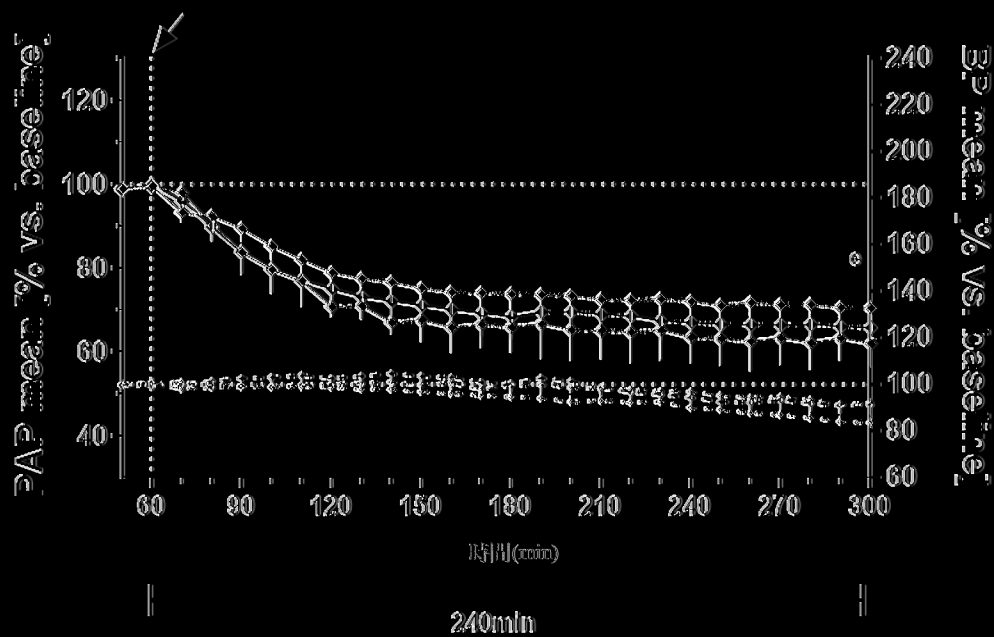
圖 51：不同乳糖媒液、乳糖調配物 I (1.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )、乳糖調配物 II (22.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) 和微粉化倍半水合物實施例 6c (375  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) 之氣管內施用後的效應。數據以 % 改變 vs. 預置值顯示，呈平均  $\pm$  SEM (n = 3)



↓ @0 min : 乳糖 L11300/L11200 1.5mg/4kg @60min : 比較例 11 的水合物微粉化;  
1.5mg/4kg

- PAP 平均在實施例 2 單水合物(n=3)
- BP 平均在實施例 2 單水合物(n=3)
- PAP 平均 半水合物類似於實施例 6a(n=3)
- BP 平均 半水合物類似於實施例 6a(n=3)
- PAP 平均 倍半水合物類似於實施例 6c(n=3)
- BP 平均 倍半水合物類似於實施例 6c(n=3)

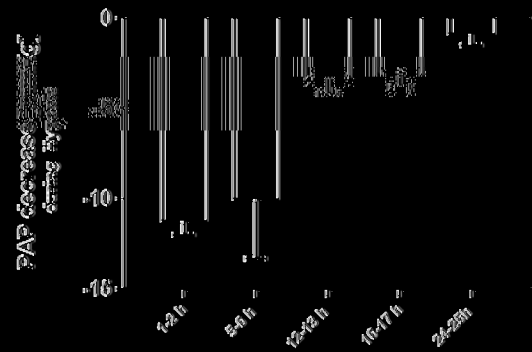
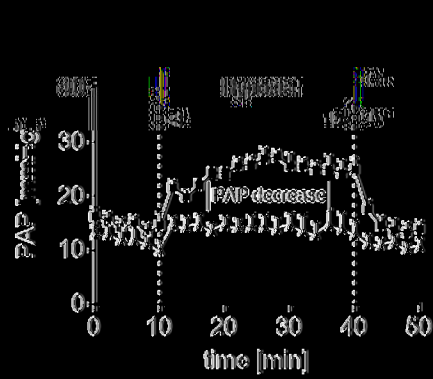
圖 58 : 比較例 11 在氣管內施用不同水合物 : 微粉化單水合物 II (實施例 2)、微粉化半水合物(實施例 6a)和微粉化倍半水合物(實施例 6c)後對 BP 和 PAP 的效應。數據以絕對值 [mmHg] 顯示，呈平均值 ± SEM (n=3)



↙ @60 min : 比較例 11 的水合物微粉化; 1.5mg/1kg

- ◆ PAP 平均 (實施例 2) 單水合物 (n=3)
- BP 平均 (實施例 2) 單水合物 (n=3)
- ◆ PAP 平均 (半水合物類似於實施例 6a) (n=3)
- BP 平均 (半水合物類似於實施例 6a) (n=3)
- ◆ PAP 平均 (倍半水合物類似於實施例 6c) (n=3)
- BP 平均 (倍半水合物類似於實施例 6c) (n=3)

圖 59：比較例 11 在氣管內施用不同水合物：微粉化單水合物 II (實施例 2)、微粉化半水合物 (實施例 6a) 和微粉化倍半水合物 (實施例 6c) 後對 BP 和 PAP 的效應。數據以絕對值 [mmHg] 顯示



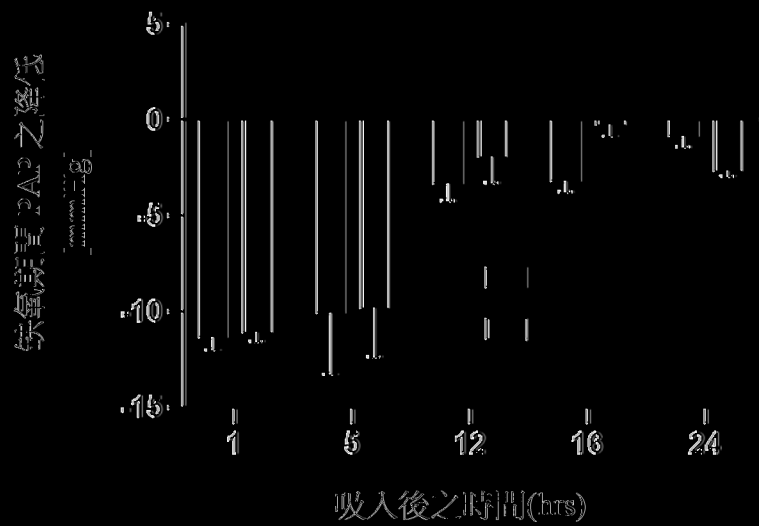
○ 安慰劑

● 比較例 11 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$

圖 60 a 和 60b：圖 60a (左側)：吸入後 5-6h：各動物之 PAP 降低計算如下：PAP 降低 = (比較例 11 治療動物之從 10-40min 的 mPAP 的總和) / (各個安慰劑治療動物之從 10-40min 的 mPAP 的總和) / 時間點數目；圖 60b：(右側)：在清醒動物中比較例 11 (100  $\mu\text{g}/\text{kg}$  標稱劑量) 在缺氧前 1、5、12、16 和 24 小時吸入施用後對缺氧誘發之 PAP 升高的效應。數據顯示為平均值  $\pm$  SEM (n = 3)。



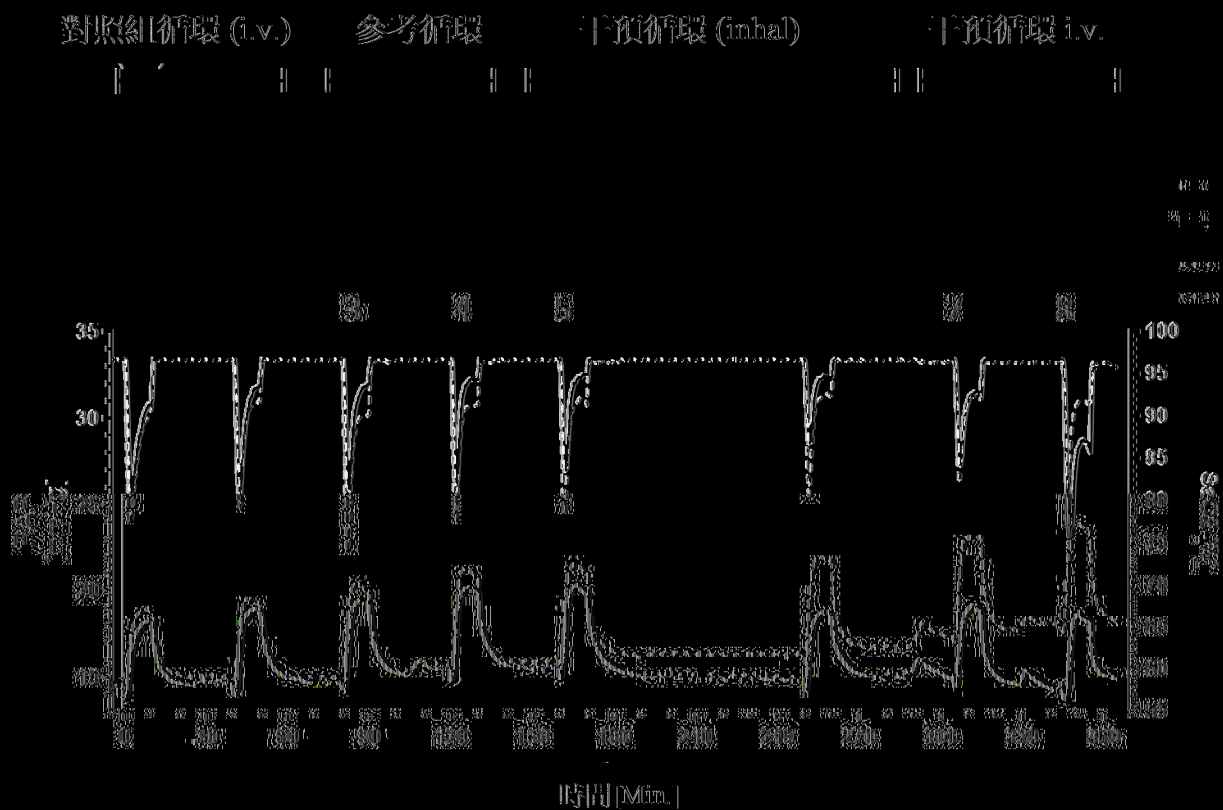
圖 61a-61e：在清醒狗中比較例 11 和比較例 4 (100  $\mu\text{g}/\text{kg}$  標稱劑量) 在缺氧前 1、5、12、16 和 24 小時吸入施用後對缺氧誘發之 PAP 升高的效應。數據顯示為平均值  $\pm$  SEM (n = 3)



■ 比較例 11

■ 比較例 4

圖 62: 在清醒狗中比較例 11 和比較例 4 (100  $\mu\text{g}/\text{kg}$  標稱劑量) 在缺氧前 1、5、12、16 和 24 小時吸入施用後對 PAP 降低的效應。數據顯示為平均值  $\pm$  SEM (n = 3)



3 : 吸入媒液 4 : i.v.推注媒液 5 : 吸入比較例 11 100 $\mu$ g/kg 或安慰劑 7 : i.v.推注比較例 11 30 $\mu$ g/kg 或安慰劑 18 : i.v.推注比較例 11 100 $\mu$ g/kg 或安慰劑

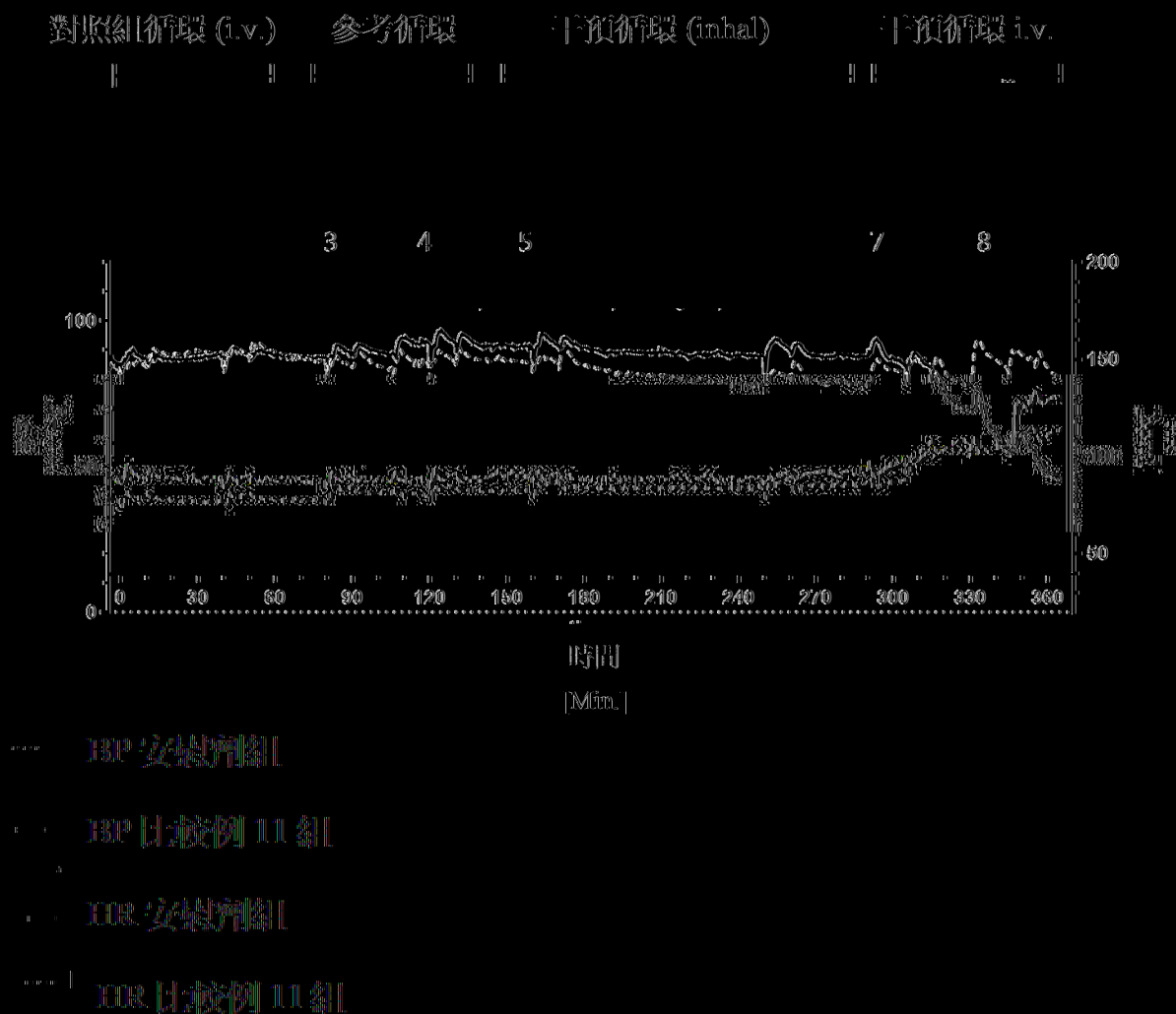
■ : PAP 比較例 11

□ : SaO<sub>2</sub> 比較例 11

● : PAP 媒液

○ : SaO<sub>2</sub> 媒液

圖 63 : 在小型豬中在 8 次支氣管阻塞循環期間比較例 11 吸入和 i.v. 施用和媒液投予後對 PAP 和 SaO<sub>2</sub> 的效應。數據為平均值 (n = 3-4) ; i.v. / iv. : 靜脈內 ; inhal : 吸入 ; PAP : 肺動脈壓 ; SaO<sub>2</sub> : 血紅素之動脈氧飽和度



3 : 吸入媒液    4 : i.v.推注媒液    5 : 吸入比較例 11 100 $\mu$ g/kg 或安慰劑  
 7 : i.v.推注比較例 11 30 $\mu$ g/kg 或安慰劑    18 : i.v.推注比較例 11 100 $\mu$ g/kg 或安慰劑

圖 64 : 在小型豬中在 8 次支氣管阻塞循環期間比較例 11 吸入和 i.v. 施用和媒液投予後對 BP 和 HR 的效應。數據為平均值 (n = 3-4) BP : 動脈血壓 ; HR : 心率 ; i.v. : 靜脈內 ; inhal : 吸入 ; iv. : 靜脈內

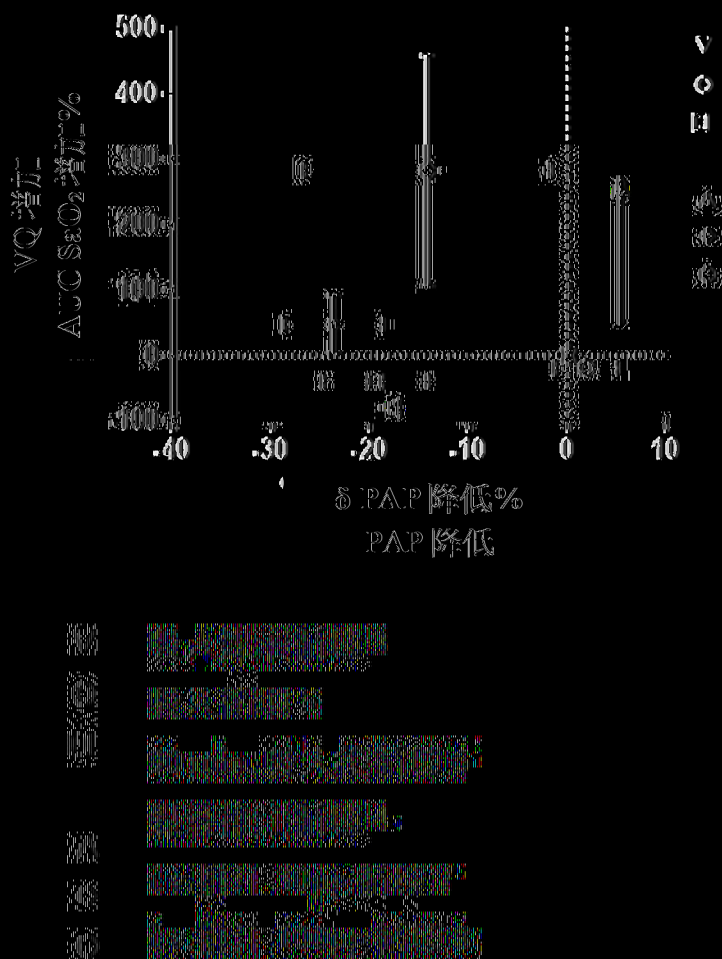
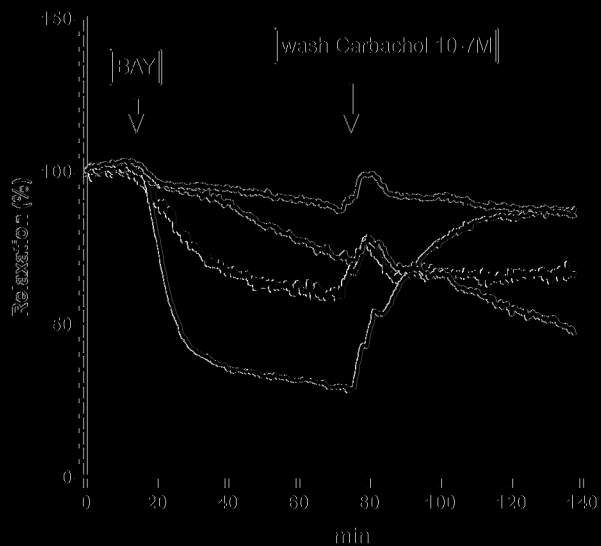


圖 65：基於代表性循環的效應，比較例 11 降低最大缺氧 PAP(正治療效應)和 AUC SaO<sub>2</sub> (非所欲的去飽和效應)的能力(n = 4 隻動物)；數據為平均值 ± SEM (n = 4) 比較例 11 吸入(100 μg/kg 標稱劑量)：iv, 30 和 100 μg/kg AUC SaO<sub>2</sub>：SaO<sub>2</sub> 曲線下面積；iv/i.v.：靜脈內；PAP：肺動脈壓；SaO<sub>2</sub>：血紅素之動脈氧飽和度；SEM：平均值的標準誤差；VQ：通氣灌注；—：無可見標準誤差線(error bar)太小而無法看到。



- 藥液 (0.0003%)，n = 13
- 比較例 11 (1  $\mu\text{mol}$ )，n = 11
- 比較例 1 (西那西瓜) 1  $\mu\text{mol}$ ，n = 12
- 比較例 2 (里奧西瓜) 1  $\mu\text{mol}$ ，n = 9

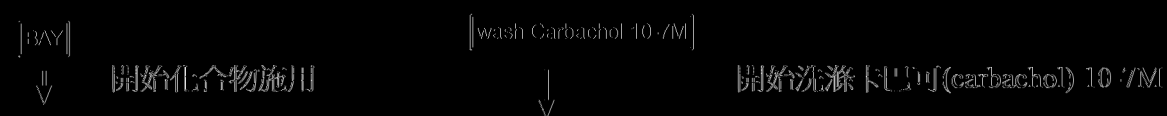
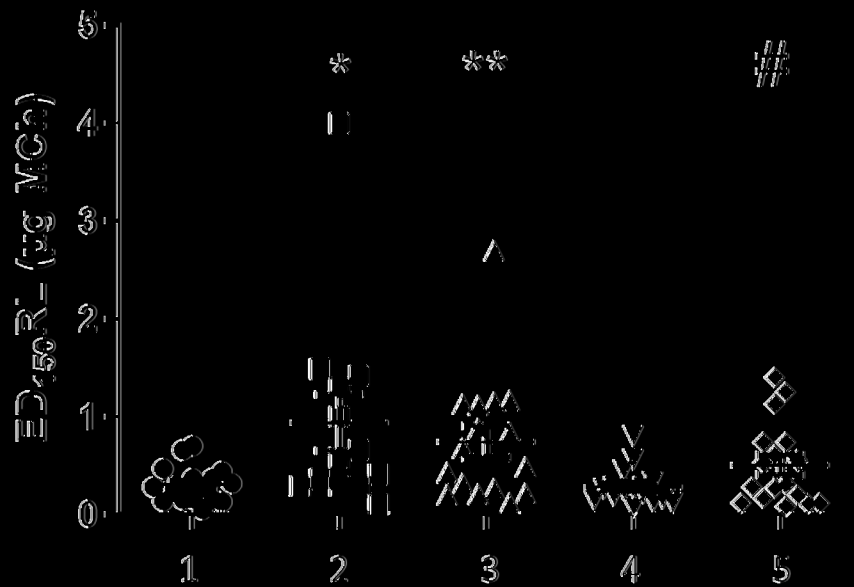


圖 66：比較例 1 (西那西瓜)、比較例 11 和比較例 2 (里奧西瓜)對用卡巴可(carbachol)(0.1  $\mu\text{mol/L}$ )預收縮之大鼠氣管的效應 (n = 9-13 隻動物)：培養物質 1h 接著 1h 洗出：數據為平均值。



1：對照組；2：噻托溴銨(tiotropium)；3：比較例 11 (~1 $\mu\text{g}$ )；4：比較例 11 (~10 $\mu\text{g}$ )；5：比較例 11 (~100 $\mu\text{g}$ )

圖 6/a 和 6/b：在基線條件(基線 RL)和乙酰膽鹼激發後(最大 RL)噻托溴銨(tiotropium)和比較例 11 (1、10 和 100 $\mu\text{g}$ )對肺阻力(RL)的效應。數據以單一動物的絕對值呈現。

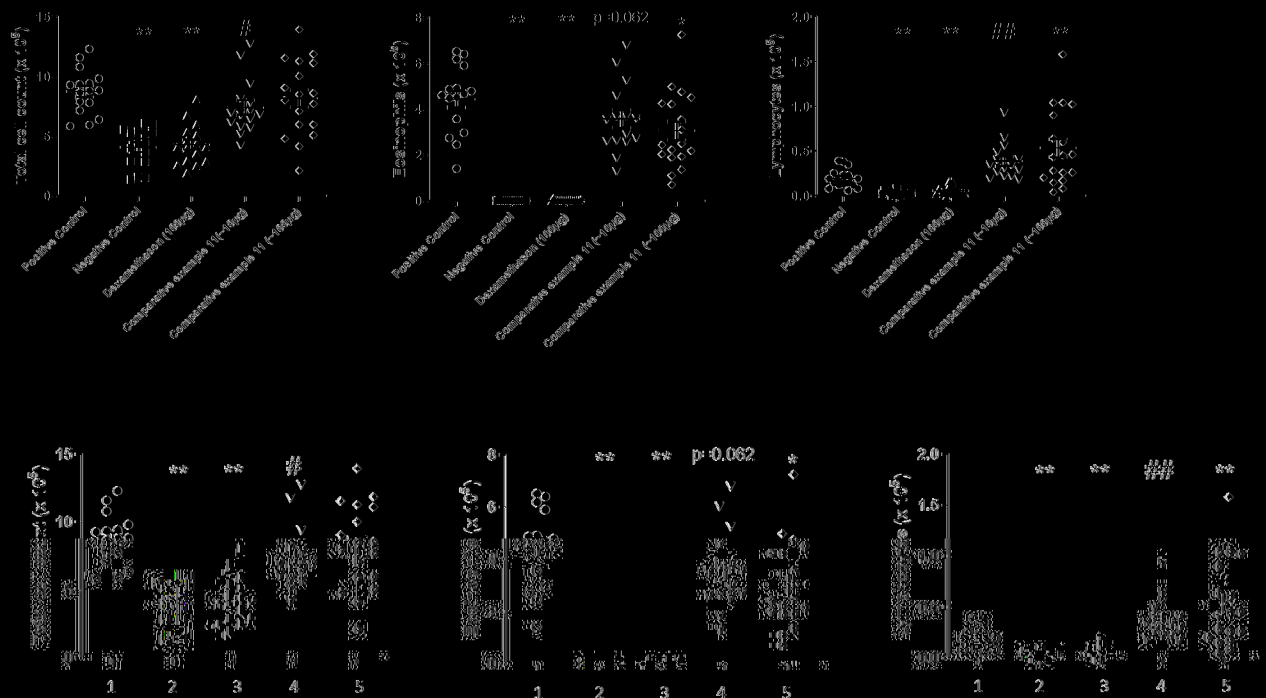


1：陽性對照；2：陰性對照；3：地塞米松(100 µg)；4：比較例 11 (~10 µg)；5：比較例 11 (~100 µg)

圖 68：晚期過敏期(最終 Ova 激發後 24 h)中之氣道高反應性：產生阻力的 150% 增加之有效吸入 MCh 劑量(µg))(ED<sub>150</sub>。個別數據和平均)

\*p < 0.05。 \*\*p < 0.01 與陽性對照組相比； #p < 0.05 在單 t 測試中)

ED<sub>150</sub>：150% 的最大有效劑量；MCh：乙酰甲膽鹼；R<sub>L</sub>：肺阻力



1: 陽性對照組; 2: 陰性對照組; 3: 地塞米松(100 µg); 4: 比較例 11 (~10µg);  
 5: 比較例 11 (~100µg)

圖 69a c: 總細胞計數。卵清蛋白激發後 25 h BAL 液中嗜酸性球數和淋巴細胞數 (x10<sup>5</sup>/動物: 個別數據和平均) \*\*p < 0.01 vs. 陽性對照組; //p < 0.05 ///p < 0.01 陽性對照組

BAL: 支氣管肺泡灌洗; vs. 對

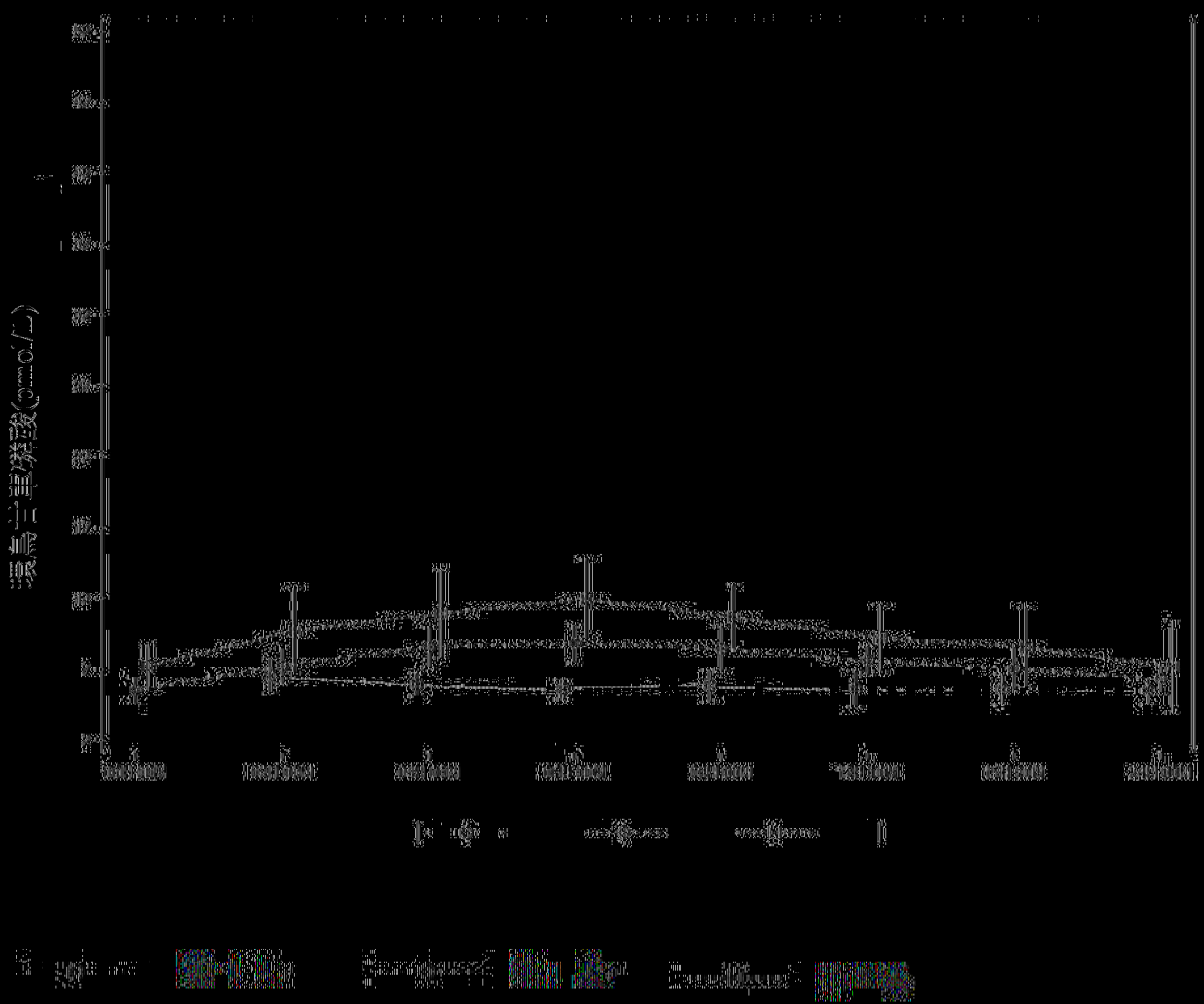


圖 70：480 µg (實施例 2)劑量組的 cGMP (nmol/L)之平均值 ± SD。治療前(第 0 天)、第 1、(第 1 天)和最後(第 8 天)治療日的比較(SAF, N = 9)

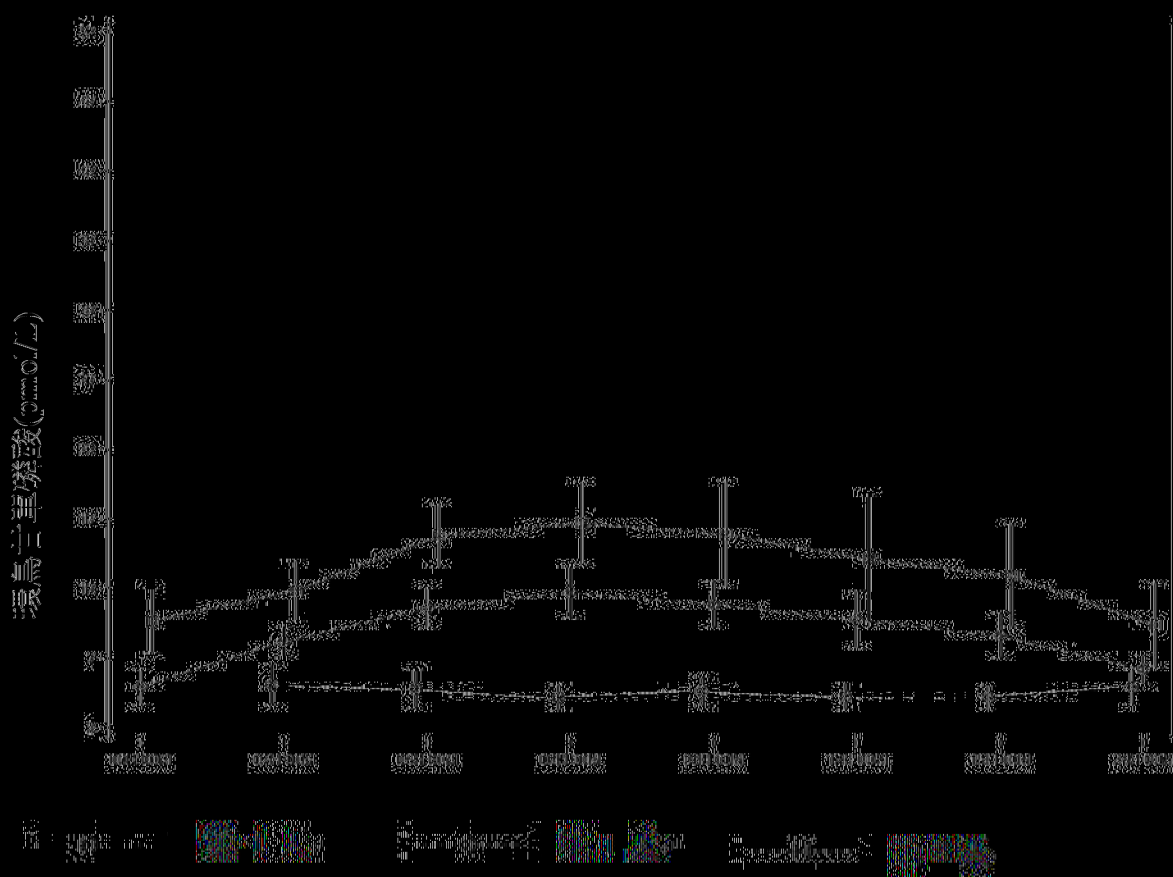


圖 71：1000  $\mu\text{g}$  (實施例 2)劑量組的 cGMP (pmol/L)之平均值  $\pm$  SD 治療前(第 1 天)、第一(第 1 天)和最後(第 8 天)治療日的比較(SAF, N = 9)

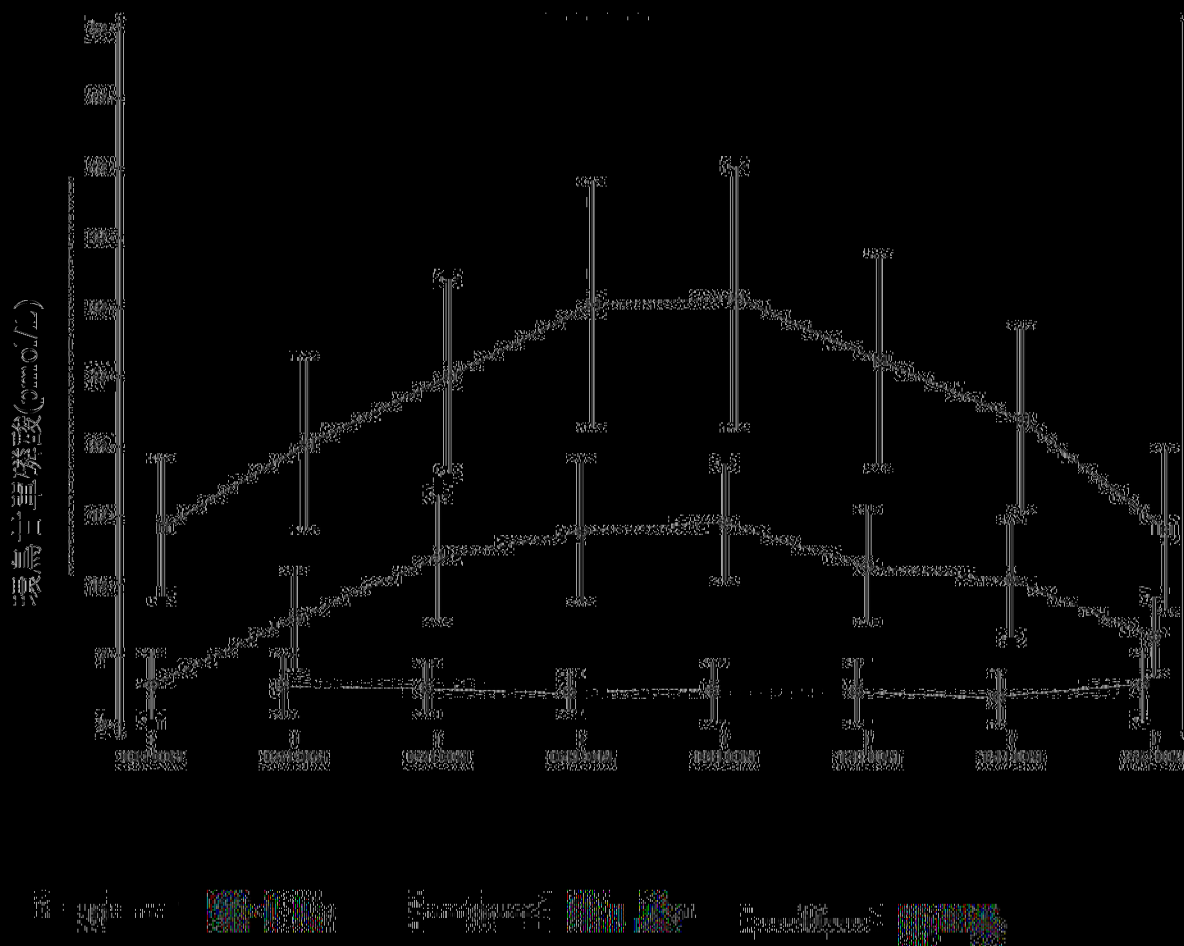


圖 72：2000  $\mu\text{g}$  (實施例 2) 的劑量組的 cGMP (nmol/L) 之平均值  $\pm$  SD。治療前 (第 0 天)、第一 (第 1 天) 和最後 (第 8 天) 治療日的比較 (SAF, N = 9)

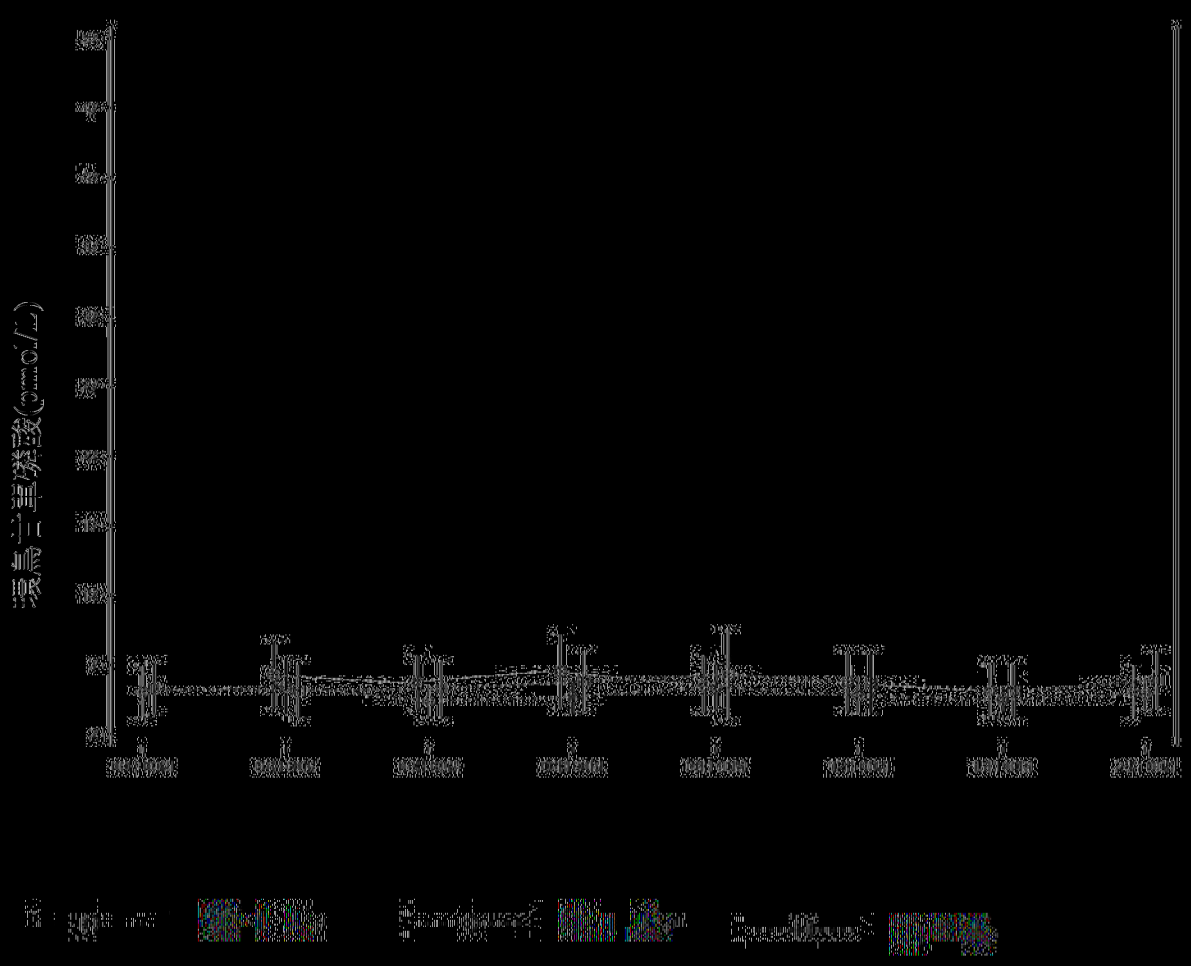


圖 13 : GMP (nmol/L)之平均值 ± SD (安慰劑之治療組)之比較(SAE, N = 9)

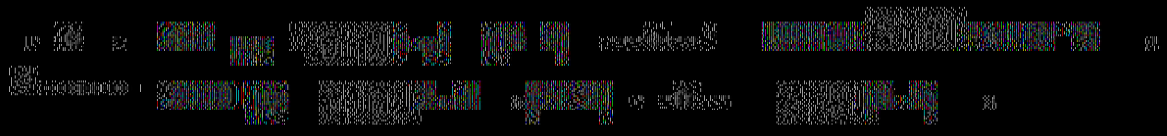
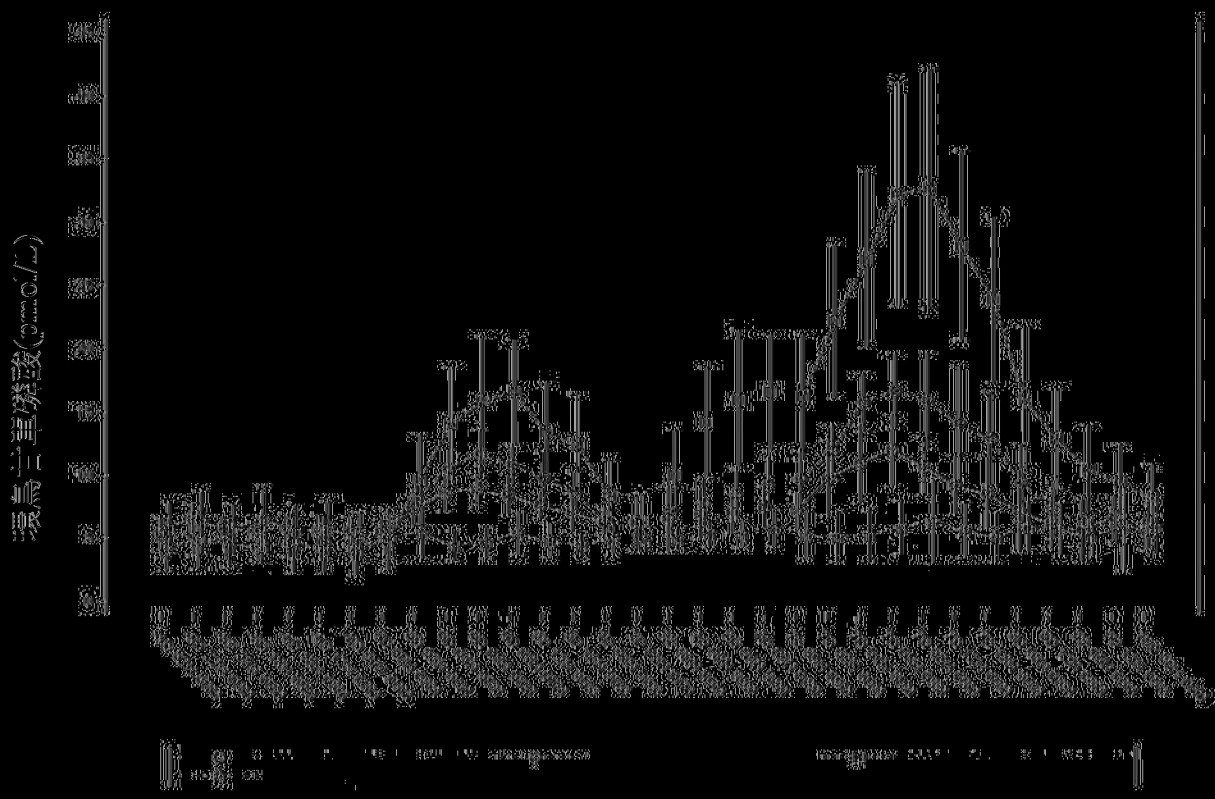


圖 7/4: 在基線日(1d02h ~ 1d00h)、第一吸入日(0d00h ~ 2d00h)、谷測量(2d00h ~ 7d00h)和 7 天吸入後(7d00h ~ 10d00h)之體液中 cGMP 隨時間 (nmol/L) 的平均值(N = 9) ± SD。

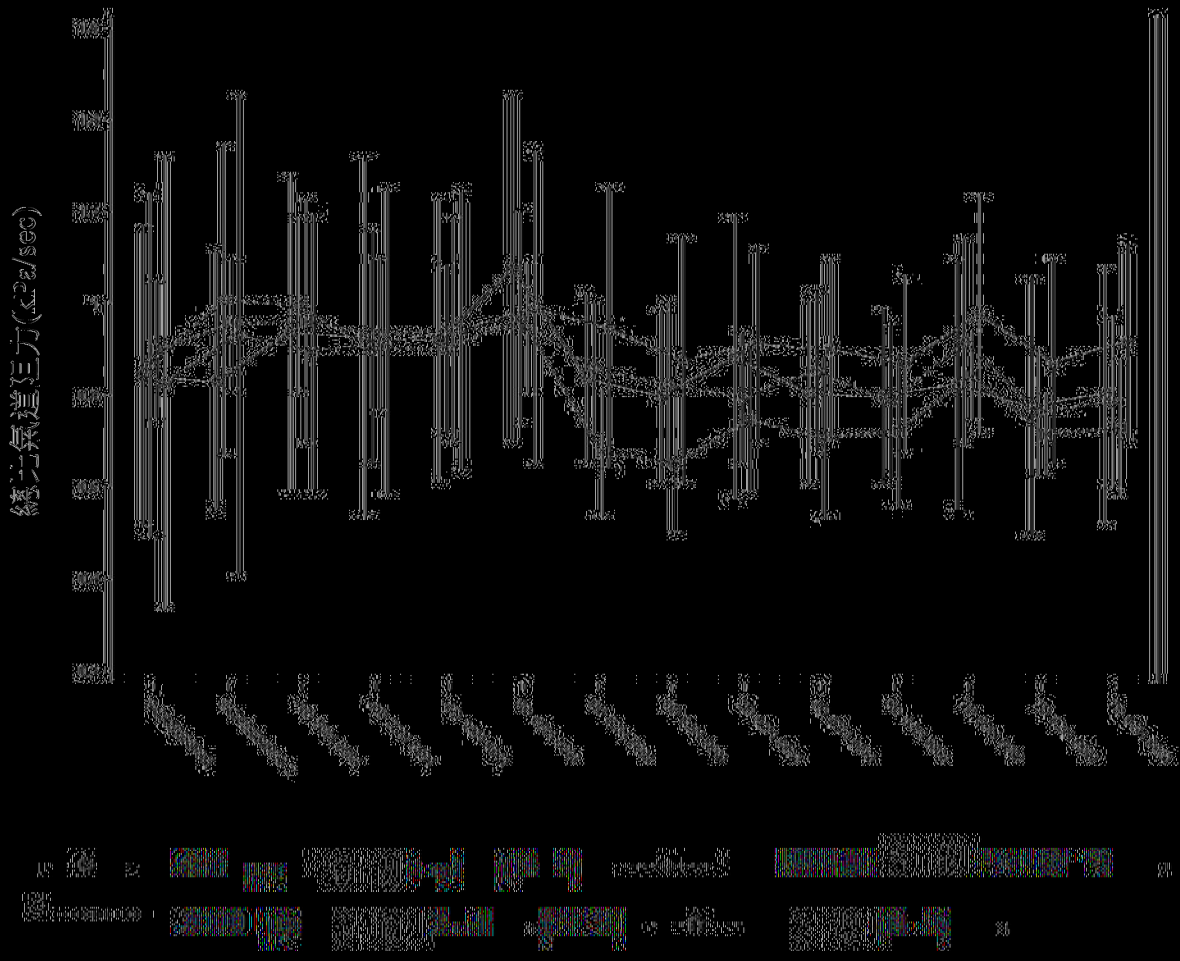


圖 7/5 : 總比氣道阻力(kPa/sec)隨時間的平均值(N = 36, 12 各用於 480、1000 和 2000  $\mu\text{g}$ , 實施例 2)和 1 SD: 篩選 1/2, 基線 1 (1d00h - 1d06h)、第一吸入 1 (1d06h - 1d06h)、吸入 2d02h、6d04h 後和 7 天吸入後 (7d00h - 7d06h) 的測量。

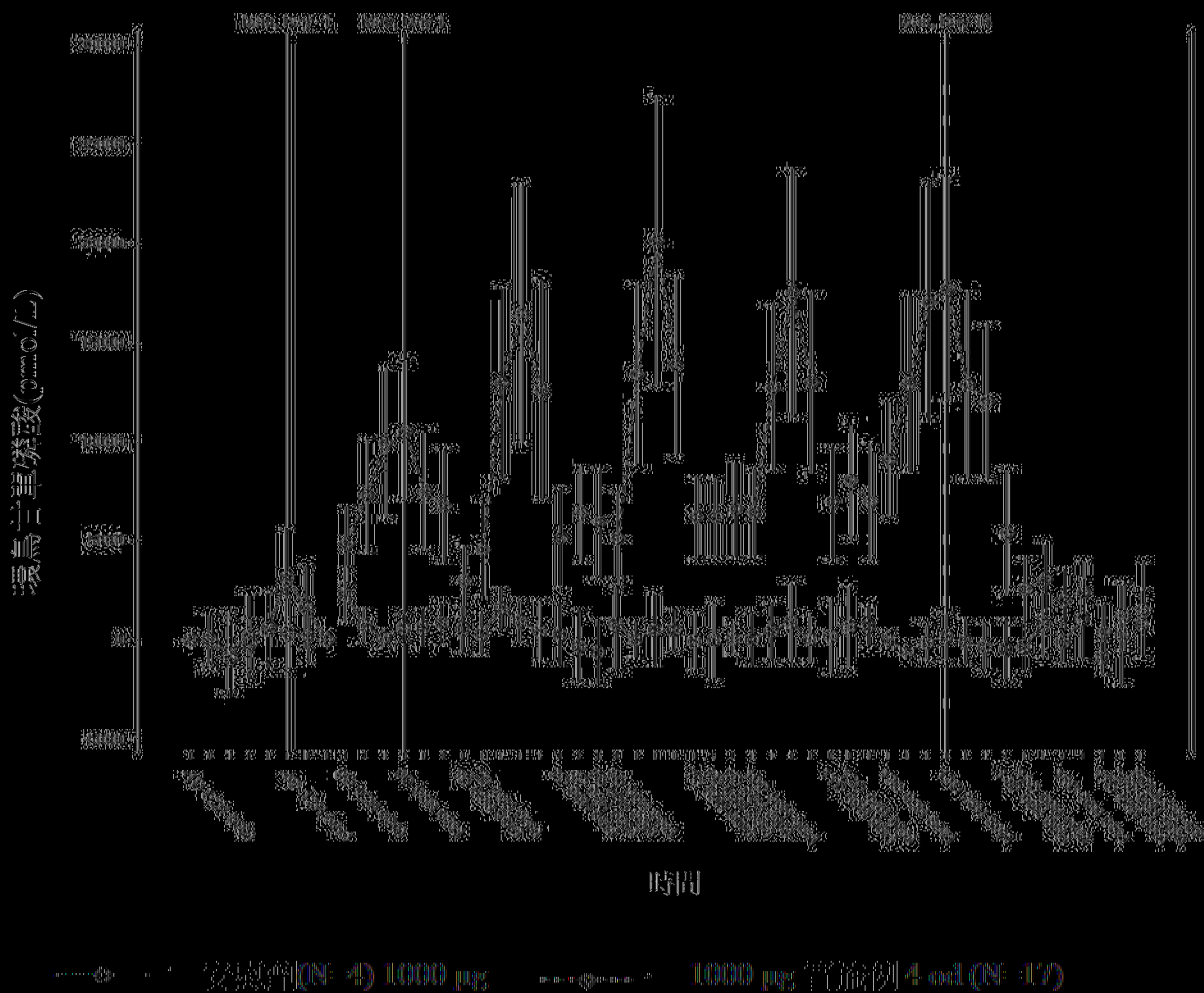


圖 76: 安慰劑(N = 4)和 1000  $\mu\text{g}$  (N = 17) 實施例 4) 在治療前一天(1d00h - 0d09h)、第一天吸入前(0d02h - 1d00h;)、在 2d00h、2d12h、6d00h、6d12h、10d00h、10d12h(輪廓 I) 吸入前和後、在第 3d 5d、7d 9d、11d、12d 天和 14 天吸入之最後一天前及後(12d22h - 20d00h) 的谷之對基線的 cGMP 濃度隨時間(nmol/L) 的平均值。

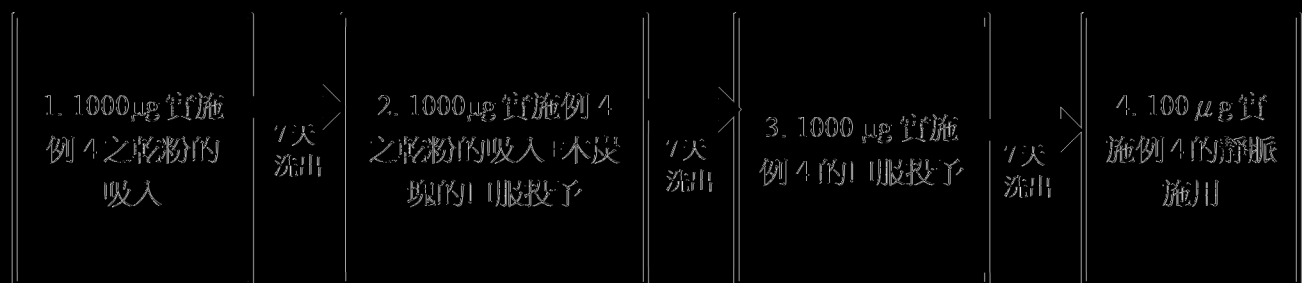
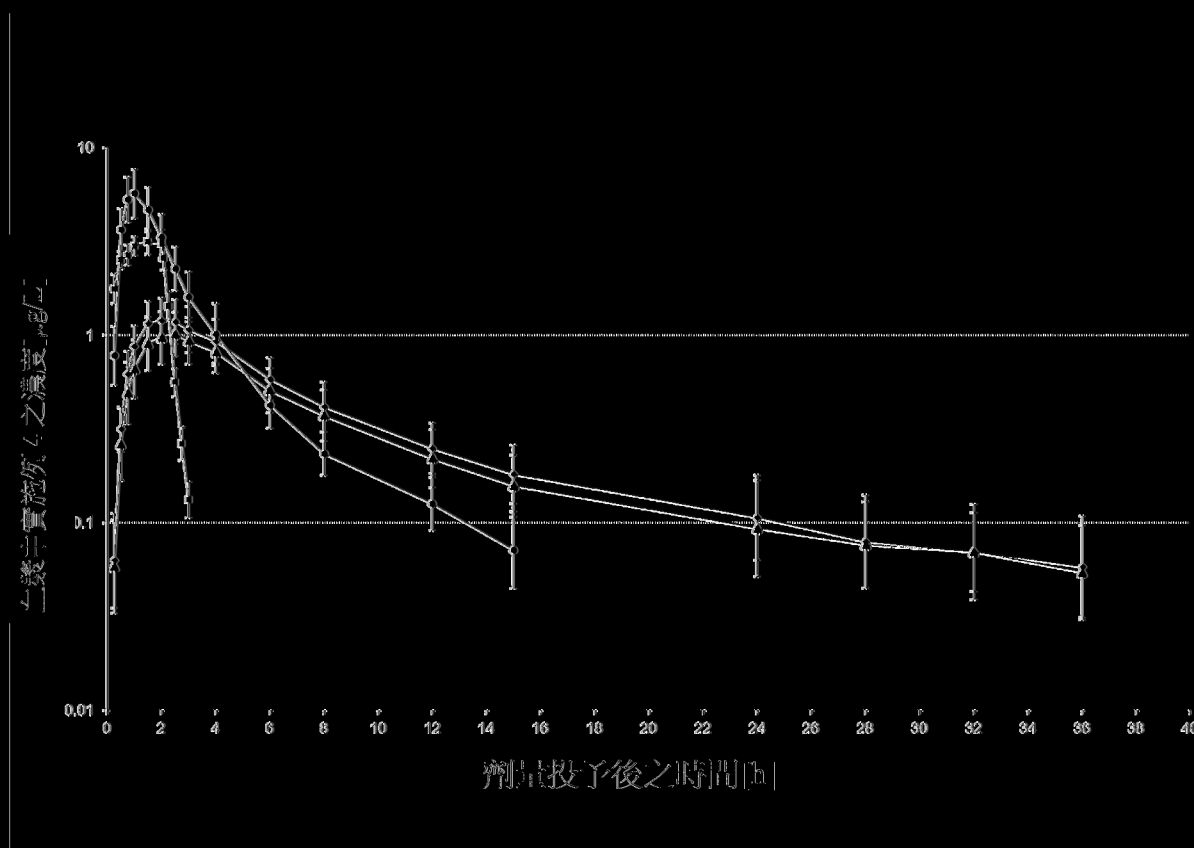


圖 77: 為了研究副作用積進行之治療的流程



● 100 μg 實施例 4 靜脈內，n = 15， ○ 實施例 4 的 1000 μg 吸入，n = 16

△ 實施例 4 加木皮的 1000 μg 吸入，n = 16， □ 實施例 4 的 1000 μg 口服劑量，n = 16

圖 78：血漿中實施例 4 之濃度(μg/L)的幾何平均值和標準差，半對數刻度。

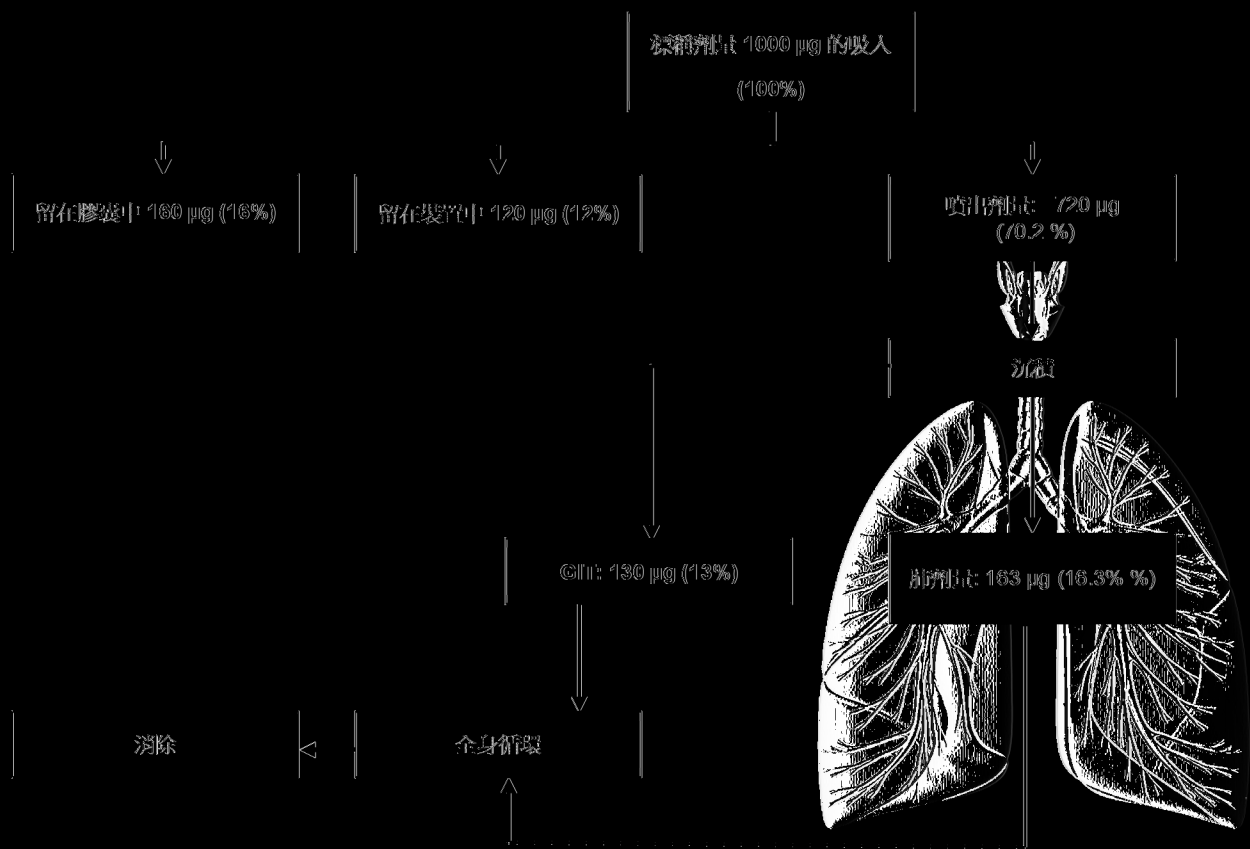
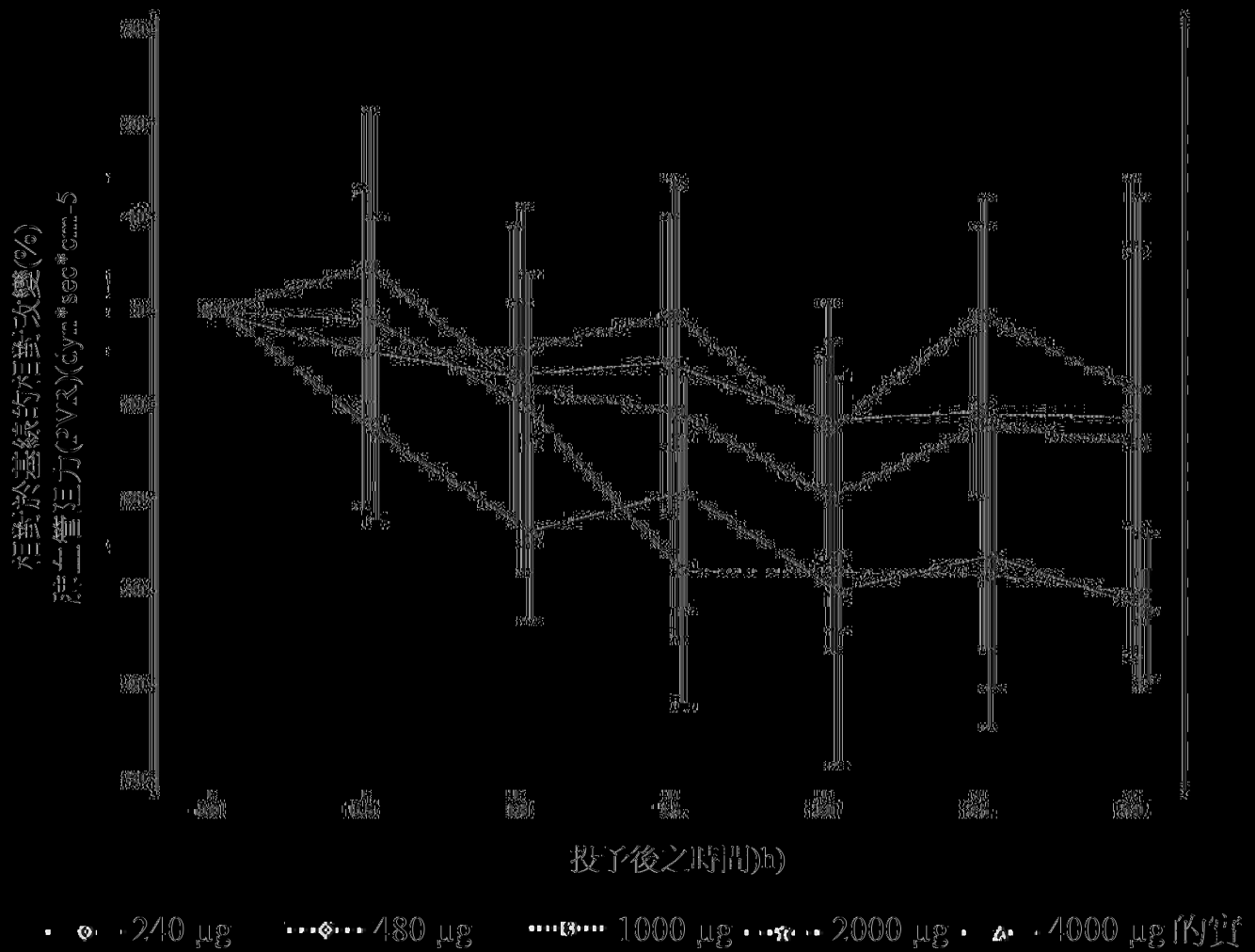


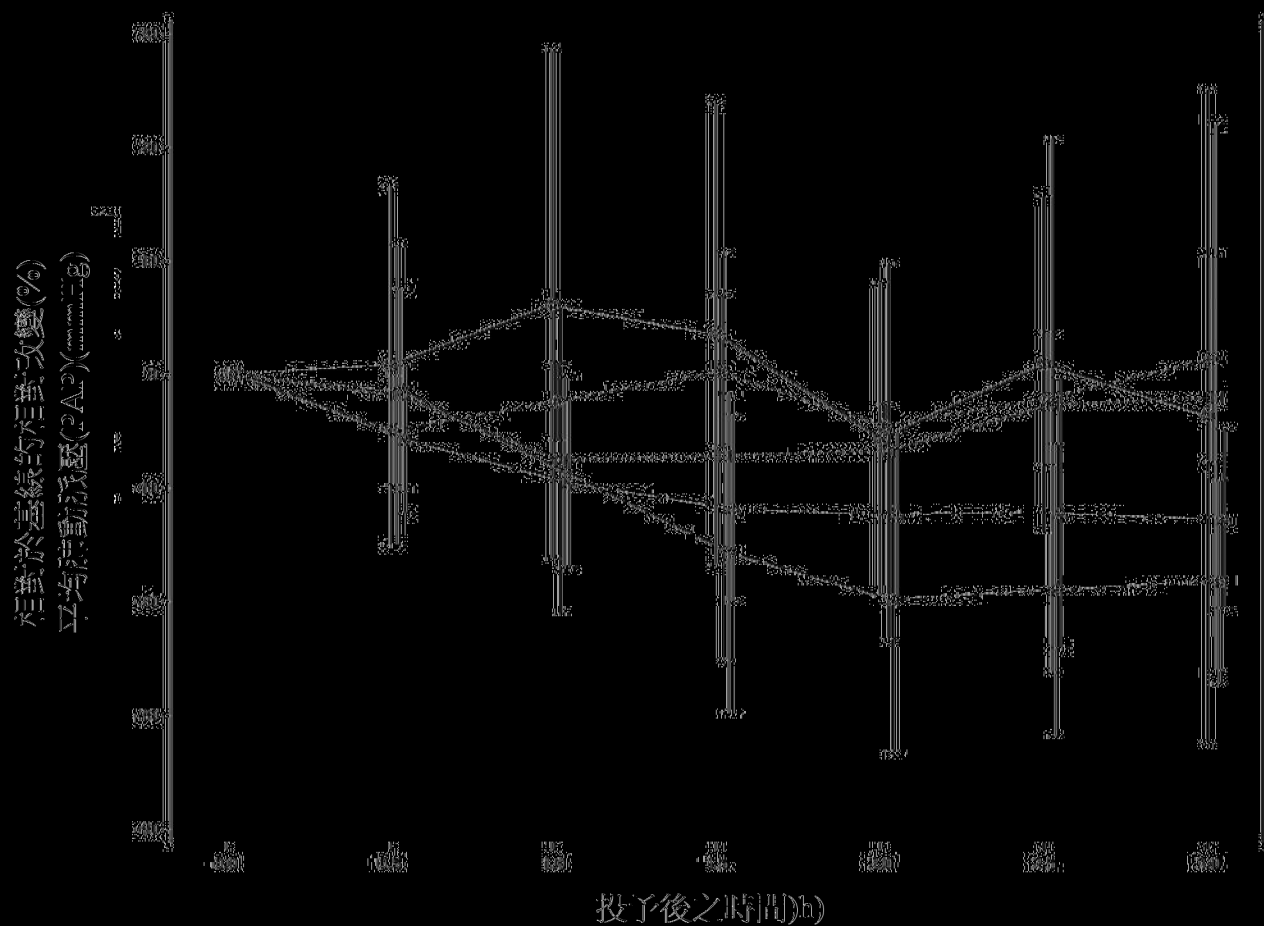
圖 79：部分劑量到達吹嘴(噴出劑量)，部分劑量保留在膠囊中，在裝置中，沉積的劑量和部分劑量到達 GIT 道





#### 實施例 4

圖 82: 在 PAH 或 CTEPH 患者中, 實施例 4 吸入後(0D00E130M 直到 0D03E100M) 之肺血管阻力(PVR)隨時間相對於基線(0D00E100M)的相對改變(%)之平均和 1 SD(N=4, 各用於 240、480、1000、2000 和 4000 µg 組, 每個方案組)。



● ○ · 240 µg    ···◇··· 480 µg    ···■··· 1000 µg    ·-△- 2000 µg    ▲ · 4000 µg 的實施例 4

圖 83: 在 PAH 或 CTEPH 患者中, 實施例 4 吸入後(OD00H30M 直到 OD03H00M) 之平均肺動脈壓(mPAP)隨時間相對於基線(OD00H00M)的相對改變(%)之平均和 SD(N = 4, 各用於 240、480、1000、2000 和 4000 µg 組, 每個方案組)。