202342035

(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 202342035 A

(43)公開日： 中華民國 112 (2023) 年 11 月 01 日

(21)申請案號：111150501 (22)申請日： 中華民國 111 (2022) 年 12 月 28 日

(51)Int. Cl.： *A61K31/4706 (2006.01)* *A61K47/26 (2006.01)*
A61K9/00 (2006.01) *A61P11/00 (2006.01)*

(30)優先權：2021/12/29 歐洲專利局 21218160.6

(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：蒙德里 托比亞斯 MUNDRY, TOBIAS (DE)；特雷貝希 伊爾蒂珂 TEREBESI, ILDIKO (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)；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)；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：65 共 317 頁

(54)名稱

醫藥乾粉吸入配製物

(57)摘要

本發明是有關醫藥乾粉配製物，其包含與乳糖載劑組合之式(I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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或水合物之一的形式，較佳為式(I-M-I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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，該乳糖載劑包含呈粗乳糖和細乳糖之混合物的乳糖單水合物；以及製造此等醫藥乾粉配製物的方法與其用於治療心肺病症中的應用，心肺病症為諸如肺動脈高壓(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高壓(CTEPH)以及與慢性肺病相關的肺高壓(PH)(第 3 類 PH)，諸如慢性阻塞性肺病中的肺高壓(PH-COPD)和伴有特發性間質性肺炎的肺高壓(PH-IIP)。

The present invention relates to pharmaceutical dry powder formulations, comprising (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 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 monohydrate II of formula (I-M-II) in combination with a lactose carrier, comprising lactose monohydrate as a mixture of coarse lactose and fine lactose, and to the process of manufacturing such pharmaceutical dry powder formulations and its application for use in the treatment of cardiopulmonary 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).

指定代表圖：

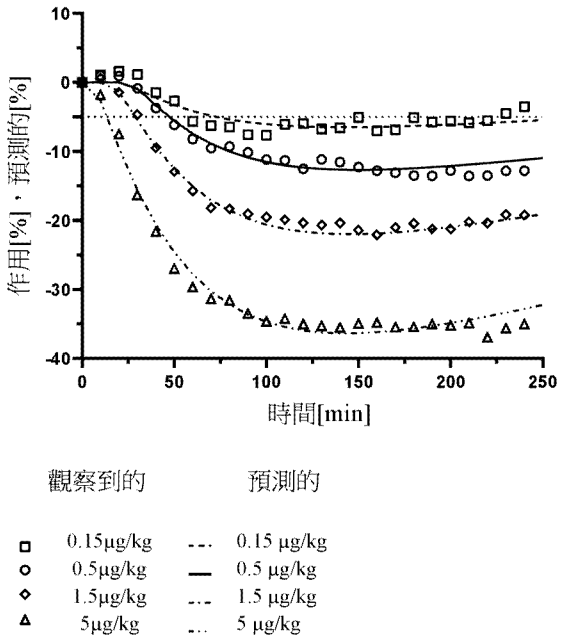


圖1：在向小型豬(7 min吸入為液體氣溶膠)投與0.15、0.5、1.5和5 μg/kg比較例11 (劑量表示為肺部沉積劑量)後，觀察到的(符號)和擬合(實線)的肺動脈壓(=PAP)變化。5%的相關PAP減少以虛線表示

【圖1】

【發明摘要】

【中文發明名稱】醫藥乾粉吸入配製物

【英文發明名稱】PHARMACEUTICAL DRY POWDER INHALATION FORMULATION

【中文】

本發明是有關醫藥乾粉配製物，其包含與乳糖載劑組合之式(I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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或水合物之一的形式，較佳為式(I-M-I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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，該乳糖載劑包含呈粗乳糖和細乳糖之混合物的乳糖單水合物；以及製造此等醫藥乾粉配製物的方法與其用於治療心肺病症中的應用，心肺病症為諸如肺動脈高壓(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高壓(CTEPH)以及與慢性肺病相關的肺高壓(PH) (第3類PH)，諸如慢性阻塞性肺病中的肺高壓(PH-COPD)和伴有特發性間質性肺炎的肺高壓(PH-IIP)。

【英文】

The present invention relates to pharmaceutical dry powder formulations, comprising (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 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 monohydrate II of formula (I-M-II) in combination with a lactose carrier, comprising lactose monohydrate as a mixture of coarse lactose and fine lactose, and to the process of manufacturing such pharmaceutical dry powder formulations and its application for use in the treatment of cardiopulmonary 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).

【指定代表圖】圖1

【代表圖之符號簡單說明】無

【特徵化學式】無

【發明說明書】

【中文發明名稱】醫藥乾粉吸入配製物

【英文發明名稱】PHARMACEUTICAL DRY POWDER INHALATION FORMULATION

【技術領域】

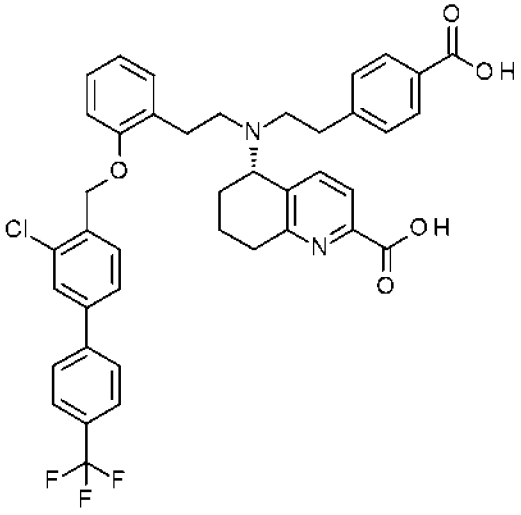
【0001】 本發明是有關醫藥乾粉配製物，其包含與乳糖載劑組合之式(I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，較佳呈其鹽或溶劑合物或水合物之一的形式，較佳為式(I-M-I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸單水合物I或式(I-M-II)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸單水合物II，該乳糖載劑包含呈粗乳糖和細乳糖之混合物的乳糖單水合物；以及製造此等醫藥乾粉配製物的方法與其用於治療心肺病症中的應用，心肺病症為諸如肺動脈高壓(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高壓(CTEPH)以及與慢性肺病相關的肺高壓(PH) (第3類PH)，諸如慢性阻塞性肺病中的肺高壓(PH-COPD)和伴有特發性間質性肺炎的肺高壓(PH-IIP)。

【0002】 本發明進一步是有關用於製造醫藥乾粉配製物的特定製造方法，該醫藥乾粉配製物包含式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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，其在化學上呈穩定形式，即防潮並在吸入期間以與每單位劑量的標稱藥物含量相關的高分率從配製物中釋放活性成分可吸入顆粒，以及活性成分在乳糖載劑基質中展現出穩定和適當分布。

【0003】本發明進一步是有關包含與乳糖載劑組合之式(I)、(I-M-I)和(I-M-II)的化合物的醫藥乾粉配製物的用途，其用於治療肺動脈高壓(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高壓(CTEPH)以及與慢性肺病相關的肺高壓(PH) (第3類PH)，諸如慢性阻塞性肺病中的肺高壓(PH-COPD)和伴有特發性間質性肺炎的肺高壓(PH-IIP)，更具體地，它是有關一種治療心肺病症的方法，心肺病症為諸如肺動脈高壓(PAH)以及與慢性肺病相關的肺高壓(PH) (第3類PH)，諸如PH-COPD和PH-IIP。

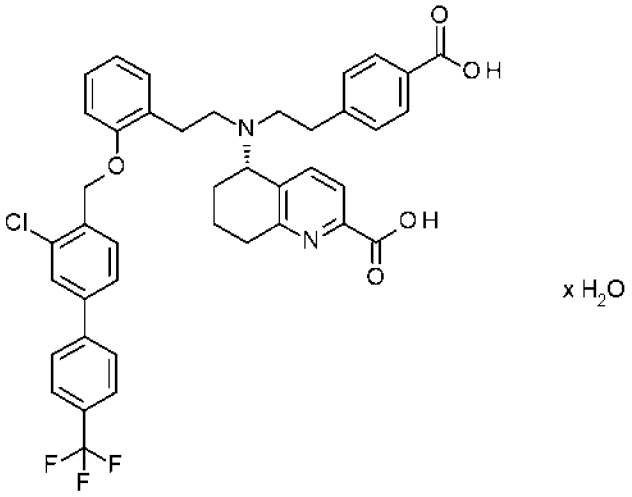
【0004】(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸對應於式(I)



(I)

【0005】在本發明的上下文中，(I-A)是指呈非晶形形式的式(I)化合物；結晶變型I，單水合物I稱為(I-M-I)，而結晶變型II，單水合物II稱為(I-M-II)。在未進一步區分的情況下，式(I)化合物以一或多種變型或作為溶劑合物(尤其是作為水合物)存在。

【0006】 (5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸的新型結晶形式，其為假多型形式單水合物I (I-M-I)或假多型形式單水合物II (I-M-II)對應於式(I-M-I)、(I-M-II)，



(I-M-I)、(I-M-II)。

【0007】 式(I)、(I-M-I)和(I-M-II)化合物作為可溶性鳥苷酸環化酶的活化劑，且可用作為防治及/或治療肺、心肺和心血管疾病的藥劑，諸如例如用於治療肺動脈高壓(PAH)以及與慢性肺病相關的肺高壓(PH) (第3類PH)，諸如慢性阻塞性肺病中的肺高壓(PH-COPD)和伴有特發性間質性肺炎的肺高壓(PH-IIP)，更具體地，它是有關治療心肺病症的方法，心肺病症為諸如肺動脈高壓(PAH)以及與慢性肺病相關的肺高壓(PH) (第3類PH)，諸如PH-COPD和PH-IIP。

【先前技術】

發明背景

【0008】 肺高壓(PH)是一種進行性肺部病症，未經治療會在診斷後幾年內造成死亡。肺高壓被定義為平均肺動脈壓(mPAP)升高(靜止時正常值< 20 mmHg)。肺高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，主要是未肌肉化的肺血管出現新肌肉化(neomuscularization)，而已經肌肉化的血

管的血管肌周長增加。這種肺循環閉塞增加會對右心造成漸進的壓力，造成右心輸出量減少，最終導致右心衰竭[M. Humbert et al., J. Am. Coll. Cardiol. 2004, 43, 13S-24S]。特發性(或原發性)肺動脈高壓(IPAH)是一種非常罕見的疾病，而繼發性肺高壓(非PAH PH)則相當常見，後者被認為是目前第三大最常見的心血管病症，僅次於冠心病和全身性高血壓。自2008年以來，根據各自的病因學，肺高壓依照Dana Point分類法分為多類[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, 3rd 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]。

【0009】 儘管PH的療法有了全面進展，但目前還沒有治癒這種嚴重疾病的前景。市面上可取得的標準療法(例如前列腺環素類似物(prostacyclin analogs)、內皮素受體拮抗劑、磷酸二酯酶抑抑制劑)能夠改善患者的生活品質、運動耐量和預後。這些治療原理主要是全身性投藥(除吸入性曲前列環素(Treprostinil)和吸入性Iloprost或NO以外)，主要透過調節血管緊張度而在血液動力學上發揮作用。這些藥劑的適用性會因為副作用(其中一些副作用很嚴重)，及/或投藥形式複雜而受到限制。可藉由特定的單藥療法而使患者臨床狀況得到改善或穩定所經歷的時間是有限的(例如由於耐受性的發生)。最後療法升級，因此應用組合療法，其中必須同時給予多種藥劑。目前，這些標準治療劑僅被批准用於治療肺動脈高壓(PAH)和慢性血栓栓塞性肺高壓(CTEPH)。在與肺病相關的繼發性PH形式(第3類PH) (諸如PH-COPD或PH-IIP)的情況下，這些治療原理(例如西地那非

(sildenafil)、波生坦(bosentan))之後在臨床研究中失敗了，由於非選擇性血管擴張，它們導致患者動脈氧含量降低(去飽和)。可能的原因是因為非選擇性血管擴張劑的全身性投藥，在異質性肺病症中對肺通氣-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]。

【0010】 新穎的組合療法是治療肺高壓最受期待的未來治療選擇之一。在這方面，發現治療PH的新藥理學機制特別令人感到興趣[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]。特別是可以與市場上已有的治療概念相結合的新型治療方法可以形成更有效治療的基礎，因此對患者有很大益處。此外，這種新作用原理的選擇性肺部適用性不僅可以提供將其用於PAH的選擇，還可以特別為患有繼發性PH形式(第3類PH)的患者提供首選治療選擇，因為它們經由吸入施用，透過標靶施用至肺部的通氣區域，從而避免了非選擇性全身性血管舒張。

【0011】 與許多心肺疾病相關的氧化壓力會導致一氧化氮/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apo可溶性鳥苷酸環化酶(heme-free apo-soluble guanylate cyclase)。特異性靶向這種NO不敏感形式的sGC提供了概述其供治療各種心肺疾病的前所未見的治療機會潛力。sGC活化經由其獨特的作用模式，透過在氧化壓力條件下回復關鍵的cGMP傳訊，結合一種新穎的局部和肺選擇性施用，可以成為一種強大的新穎治療選項，對肺高壓患者來說療效更高且副作用更少。

【0012】 在肺高壓的動物模型中，已證實吸入性投與呈微粒形式的sGC活化劑BAY 58-2667 (西尼西呱(cinaciguat))會導致肺動脈壓以劑量依賴性的方式選擇性降低。在這個模型中，靜脈內投與1H-1,2,4-噁二唑并[4,3-a]喹喏啉-1-酮

(ODQ) (其氧化sGC的血紅素輔基)會降低吸入性NO (iNO)的血管舒張作用，而這是受到BAY 58-2267所增加。這些結果引導至以下假設：吸入性投與sGC活化劑可能代表著一種有效治療肺高壓患者的新穎方法，特別是如果這些患者對iNO及/或對PDE5抑制劑的反應因為缺乏NO或sGC氧化而降低[O.V. Evgenov et al., Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2007, 176, 1138-1145]。然而，在這個模型中，西尼西呱本身並沒有足夠的作用持續時間，而此外，劑量更高會導致不樂見的全身性副作用。

【0013】 Merck Sharp Dohme正在開發一種像乾粉的PAH用sGC刺激劑吸入型施用(MK5475；NCT04609943)。然而，與PH和其他肺病一樣，對吸入型一氧化氮(iNO)和sGC刺激劑的反應性可能會因為sGC氧化作用而減損。針對肺部的吸入型sGC活化劑可以克服這個限制。

【0014】 在心肺病症(諸如肺動脈高壓(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高壓(CTEPH)以及與慢性肺病相關的肺高壓(PH) (第3類PH)，諸如慢性阻塞性肺病中的肺高壓(PH-COPD)和伴有特發性間質性肺炎的肺高壓(PH-IIP))的領域中，帶有因為潛在肺病所致之PH (第3類PH)的患者，在第一線是透過投與針對相關肺病(例如COPD)所開發的藥物來進行治療。特異性PH藥物(例如IP促效劑、PDE5抑制劑、內皮素拮抗劑和sGC刺激劑)僅被批准用於PAH和CTEPH，並且因為觀察到這些全身性施用血管擴張劑的去飽和作用，僅在實驗上使用於第3類PH形式中。

【0015】 經口施用通常是活性藥物的偏好投藥路徑。就心肺適應症來說，偏好將藥物局部施用到目標器官肺部，以便藉由增加局部藥物濃度來提高功效，並避免藥物因全身性利用度而引起全身性副作用。大體上需要較低頻率的給藥方案，例如以提高患者對治療的依從性(患者的順應性)，但必須確定24h覆蓋率，以確保在給藥區間期間血液動力學活性藥物的持續功效。由於許多靶向

肺部的吸入型藥物(例如)半衰期及/或肺部滯留時間短，需要頻繁施用方案(例如Iloprost/Ventavis)，其需要每天施用多次以達到24小時覆蓋率。特別地，由於對患者方便有利和順應性的原因，偏好每天施用一次。然而，這個目標有時難以達到，取決於原料藥的特異性行為和性質，尤其是其肺選擇性和肺滯留時間。

【0016】 另一種全身性投藥方式(注射)甚至與許多缺點更為相關(例如，需要臨床訪視的不便、不適、患者厭惡基於針頭的遞送方法、投藥側的藥物反應)，因此更需要替代的投藥路徑。

【0017】 藉由吸入的肺遞送就是一種這樣的替代投藥路徑，它可以提供數個更勝於經口和注射投藥的優點。這些優點尤其是透過增加局部濃度和降低全身性藥物副作用的可能性而具有更高的功效，而且還包括患者自行投藥的便利性、易於吸入遞送、排除針頭與類似者。

【0018】 就吸入用醫藥製品來說，在不需要佐劑的情況下，特別是在懸浮吸入用固體製品的情況下，製品可以僅由活性成分組成。然而，出於實務原因(例如為了促進極低劑量活性成分的藥物遞送)，除了活性成分外，製品通常是含有一或多種藥理學上不活化和生理學上可接受的賦形劑或載劑的藥劑。可以在例如Paolo Colombo, Daniela Traini and Francesca Buttini "Inhalation Drug Delivery - Techniques and Products"的書(由Wiley-Blackwell 2013發行)及其中引用的文獻中找到各種合適的製品和對應的吸入藥物遞送技術的綜述。2019年，Moon等人發表了關於經口吸入型產品遞送技術的最新評論(Moon et al., AAPS PharmSciTech (2019) 20: 117 pp 1-17)。

先前技藝

【0019】 專利申請案WO 14/012934-A1中揭示了各種5-胺基-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸及其在心血管和心肺疾病(像是例如PAH)中的醫藥用途。

【0020】 內科藥理學研究出乎意料地揭露，與也揭示在WO 2014/012934中的相似5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸相比，WO 2014/012934的實例23，即式(I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸具有更為增進的藥理學性質，像是例如作用持續時間更長。因此式(I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸適用於治療心肺疾病。

【0021】 並未揭示包含(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)]聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸與乳糖載劑的乾粉配製物的基於特定載劑的吸入性藥劑用於治療心肺疾病(諸如肺動脈高壓(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高壓(CTEPH)以及與慢性肺病相關的肺高壓(PH) (第3類PH)，諸如慢性阻塞性肺病中的肺高壓(PH-COPD)和伴有特發性間質性肺炎的肺高壓(PH-IIP))。

【0022】 為了提供用於治療心肺疾病的新穎、合適的吸入性劑型，需要包含(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)]聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸作為活性成分的吸入性劑型。由於乾粉吸入性劑型的適用性、便利性以及患者順應性和依從性，因此選擇了較佳的配製物選項乾粉吸入劑型。乾粉吸入劑型要求活性成分式(I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)]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、明確的結晶形式提供。

【0023】 然而，如WO 14/012934-A1的實例23中所揭示，式(I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)]聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸只能以非晶形形式獲得，其不適合藉由乾粉吸入器施用的吸入性劑型。

【0024】 因此，需要提供一種新穎、合適的基於乾粉的吸入性劑型，供用於治療心肺疾病，特別是用於治療肺動脈高壓(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高壓(CTEPH)以及與慢性肺病相關的肺高壓(PH) (第3類PH)，諸如慢性阻塞性肺病中的肺高壓(PH-COPD)和伴有特發性間質性肺炎的肺高壓(PH-IIP)。

【發明內容】

供肺遞送的配製物

【0025】 就吸入型療法來說，通常有三種藥品配製物選項可用，且可根據所需劑量、患者群體和相關性質、活性成分穩定性來進行挑選。若活性成分的溶解度和穩定性允許的話，一種形式的配製物是霧化溶液。霧化藥物的缺點通常是遞送效率不佳(生成吸入型液滴<5μm的比例低)、每次治療的施用時間長、缺乏用於按需治療的攜帶式裝置選項(並且需要電源)。

【0026】 第二個選項是加壓計量劑量吸入器(pMDI)，它提供更高的攜帶性、不需要供應電源且有遞送低劑量的可能性(但高劑量通常不可行)。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，需要協調呼吸動作與設備啟動。這通常會導致藥物遞送(和治療)不足且患者順應性低。

【0027】 乾粉吸入器(DPI)具有重要的優勢，諸如小型可攜帶設計、可在廣泛的劑量範圍內遞送藥物、不受藥物溶解度影響以及不用協調呼吸動作與設備啟動(被動設備)。因此，就許多施用和治療選擇來說，DPI是首選技術。

【0028】 乾粉吸入器(DPI)經常用於治療肺病，諸如氣喘和肺感染，它由裝置中的粉末配製物組成，粉末配製物可以被吸入到下呼吸道。使吸入成為一種有吸引力的藥物遞送模式的關鍵特徵是：藉由將藥物直接靶向到作用部位來優化藥物遞送、減少全身性副作用、開始快速作用、提高患者接受度、因為這個

藥物投藥路徑的非侵入性所產生的依從性和順應性。吸入用乾粉產品的遞送效率取決於藥物配製物、吸入器裝置和吸入技術。

【0029】 當使用肺遞送用的藥物配製物時，一般目標是遞送的藥物量相對於一個單位劑量的標稱含量要盡可能地高。相比之下，肺中非活性成分的沉積應盡可能降至最低並被證明是合理的。可吸入配製物有不同的通用配製策略，所有這些策略都遵循優化和增加藥物顆粒< 5μm的活性成分細粒沉積的策略，同時使非活性成分的暴露降至最低。

【0030】 就DPI來說，要實現這個目標，最簡單的方法是在沒有任何載劑的情況下單獨遞送呈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類劑量通常極低，這個策略受到限制。然而，就DPI配製物來說，這種方法的實務重要性很低。

【0031】 另一個策略是將微粉化藥物顆粒或溶解的藥物配製成經設計的顆粒，其中藥物與非活性成分一起配製並產生成型顆粒(shaped particle)，這些顆粒可能是包衣藥物微粒或多孔顆粒，或具有或多或少均勻或窄粒度分布在5μm或以下以增加被遞送到肺部深處和氣道的藥物量的基質顆粒。這些配製物的一個缺點是載劑和藥物結合在一起，且將一起被遞送到作用部位。Healy等人發表了基於非載劑的乾粉吸入配製物(設計顆粒)的綜合概述(Advanced Drug Delivery reviews 75 (2014) pp 32-52。

【0032】 有許多已發表的研究調查了變量對黏合性藥物載劑混合物的影響，但基本了解仍然有限。由於有許多同時發生的潛在影響，並且可能具有競爭或協同或拮抗的可能，因此整體上仍然難以預測給定混合物的氣溶膠性能，不只是因為活性成分化合物顆粒本身的比表面積和物理性質。

【0033】 已耗費多年研究和開發來調查涉及調配並分散基於載劑的吸入用混合物。[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，Grasmejier et al: Recent Advances in the Fundamental Understanding of Adhesive Mixtures for Inhalation; Current Pharmaceutical Design 21 (2015), 5900-5914]。

【0034】 然而，由於不同的因素和成分彼此影響，另外還高度依賴於原料藥性質，目前還沒有明確的指導方針或指南，也沒有關於新穎原料要如何設計吸入用基於載劑的新穎混合物的推論。因此，習於藥品開發領域者在面臨開發吸入用基於載劑之新穎混合物的任務時，必須針對每種新活性成分遵循從頭設計和開發方法。

【0035】 大體上最常見的策略是將活性成分與非活性載劑化合物配製成乾粉摻合物，其中微粉化藥物顆粒黏附在非活性載劑上，非活性載劑在大多數情況下是乳糖或其他糖類相關化合物，例如糖醇(像是甘露糖醇)。在此，藥物遞送的基本機制是微粉化藥物顆粒暫時黏附在非活性較大載劑材料顆粒上，隨後受乾粉吸入器內產生的氣流能量所影響，活性微粉化藥物顆粒從載劑上解聚或釋放以便施用配製物。大部分載劑材料不希望被吸入，並且由於其尺寸，會沉積在上呼吸道(主要是口部和喉嚨)。在吸入期間，必須克服黏附力以便從載劑釋放藥物顆粒，因此以允許大部分劑量變得可供藥物遞送到肺部深處內而達到最佳釋放的方式來控制藥物對載劑的黏附力是關鍵因素。

【0036】 大多數DPI產品都是基於載劑的配製物，其由經精細研磨的藥物顆粒和通常為乳糖單水合物的粗載劑顆粒混合而成。然而，也會使用替代載劑(諸如葡萄糖、海藻糖、山梨糖醇和(經冷凍乾燥的)甘露糖醇，因為乳糖在用作為DPI的賦形劑時有一些缺點。舉例來說，乳糖與具有一級胺基的藥物不相容，因此不太適合用於包含敏感性藥物的下一代可吸入產品。

【0037】 乳糖可以兩種基本異構形式(即α-乳糖和β-乳糖)中的任一者獲得，或以非晶形形式獲得。α-乳糖以單水合物和無水形式存在，前者在熱力學上是最為穩定的形式。α-乳糖單水合物是藉由在低於93.5℃的過飽和溶液中結晶所製備的。它的結晶形狀可以是棱柱體、金字塔體或戰斧形，取決於沉澱和結晶製程。無水乳糖(通常含有70-80%無水β-乳糖和20-30%無水α-乳糖)最常在93.5℃以上藉由滾筒乾燥乳糖溶液所生產。接下來，將兩種所得產物研磨以縮小粒度並過篩以挑選合適的粒度分布。經噴霧乾燥的乳糖是藉由將α-乳糖單水合物結晶在乳糖溶液的水中的懸浮液噴霧乾燥而獲得的。溫度高於93.5℃時，會形成無水β-乳糖，而低於這個溫度時，會得到α-乳糖單水合物。G. Pilcer, N. Wauthoz, K. Amighi, Lactose characteristics and the generation of the aerosol, Adv Drug Del Reviews 64(2012) 233-256]

【0038】 有多種具有不同物理-化學性質的乳糖可用於DPI配製。乳糖可以透過研磨、過篩、噴霧乾燥或造粒進行加工，從而產生不同的性質。乳糖賦形劑是可商購的，因此有各種等級，它們具有與粗糙度、形狀、粒度、粒度分布、含水量、可壓縮性或表面積相關的不同物理-化學特徵。粉末的氣溶膠性能很大一部分取決於乳糖特徵，諸如粒度分布、和形狀與表面性質。G. Pilcer, N. Wauthoz, K. Amighi, Lactose characteristics and the generation of the aerosol, Adv Drug Del Reviews 64(2012) 233-256]

【0039】 也報導了乳糖顆粒設計的其他製程(諸如種晶、結晶、塗覆、成型、冷凝和沉澱)，並且還產生了具有不同物理-化學性質的材料，這些性質與例如粒度、尺寸分布、細粒含量、形狀、表面粗糙度、流動性質、靜電荷、固態變化有關。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]

【0040】 在吸入用基於載劑的混合物中，摻合物於儲存和處理期間的穩定性與吸入期間的分散性之間必須建立適當平衡。已經證明，與這些方法相關的變量可能以不同的方式彼此影響，且透過改變一個變量，其他一些變量的影響可能會被逆轉。這可能解釋了為什麼在文獻中關於單一變量的影響會得到相反的結論。[De Boer, 2012]

【0041】 一致認為，一連串後續製程(包含起始材料的挑選或生產、混合製程、吸入器裝置中的分散和解聚，以及最終氣溶膠特徵鑑定)對於確定合適的配製物是必要的，從而有益於體外沉積結果。

【0042】 所需的載劑性質取決於待加工藥物的類型、混合物中的藥物濃度(% w/w)以及經確定的藥物劑量和劑量系統所計量(或計量成)的粉末量，還有打算使用的混合製程的類型。[De Boer, 2012]

【0043】 已經與顆粒製備技術一起來討論藥物和載劑之間的界面力，顆粒製備技術為諸如研磨、冷凝、噴霧乾燥、沉積和結晶，這些技術會產生可能直接影響到藥物與載劑交互作用的不同顆粒表面性質。[De Boer, 2012]

【0044】 主要挑戰是要找到以下三種類型力量之間的最佳平衡：控制乾粉吸入器(DPI)系統的顆粒沉積：混合物中的微粒間力；吸入器裝置在吸入期間所產生的分散力和氣溶膠顆粒在呼吸道中的沉積力。[De Boer, 2012]

【0045】 DPI的設計控制設備中的粉末解聚。所有市售的被動式DPI都具有三個共同的設計特點：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)以促進粉末解聚。[De Boer, 2012]

【0046】 其他因素可能是旋轉膠囊的作用和氣流速率在設備中的影響。De Boer等人描述了對基於載劑的吸入用配製物的製備和分散製程有影響並額外彼此交互作用的變量：藥物性質、載劑表面性質、載劑本體性質、載劑表面有效負載、混合製程、混合物性質、吸入過程、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]

【0047】 因此，在實務上，a)吸入用混合物的醫藥配製與(b)合適載劑的挑選，以及(c)吸入裝置的挑選或設計仍然是一種需要經驗的過程，其需要開發、採用和設計某些參數以獲得有足夠穩定性和絕佳氣溶膠性能性質的對應原料藥的訂製配製物。

【0048】 這些構成了無法從現有技術參考資料中預測到的重要特性。

【0049】 因此，需要提供一種新穎的、合適的基於乾粉的吸入性劑型，用於治療心肺疾病，特別是用於治療肺動脈高壓(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高壓(CTEPH)以及與慢性肺病相關的肺高壓(PH) (第3類PH)，諸如慢性阻塞性肺病中的肺高壓(PH-COPD)和伴有特發性間質性肺炎的肺高壓(PH-IIP)。

【0050】 製造DPI基於載劑的粉末通常包括多個步驟，諸如在合適的尺寸範圍內生產藥物和載劑顆粒(藉由過篩、研磨、噴霧乾燥等)、在適當的摻合條件以及經優化的參數下將各種組份混合，若有必要，還可以改變顆粒的表面性質以增強氣溶膠性能。

【0051】 需要最佳混合以獲得藥物均勻性，特別是針對含有微粉化藥物顆粒的低藥物劑量配製物。在黏性粉末的情況下(諸如在吸入用乾粉配製物中所遇到的那些)，出現與粗乳糖顆粒組合的小型藥物顆粒會促進穩定有序混合的形成，其中藥物顆粒黏附到充當載劑的較大顆粒上。然而，在添加某個比例的細粒賦形劑的三元混合物的情況下，會遇到一些混合問題，諸如黏聚(由於這些小顆粒的內聚性質而形成細粒及/或藥物簇)和分離(或分層(demixing)，特徵在於由於粒度、形狀和密度差異或顆粒的黏聚所引起的粗顆粒與細粒分離)。事實上，細粒賦形劑透過促進藥物顆粒黏附到能量低於載劑活性部位的部位來改善氣溶膠性能。這會降低活性成分黏附，從而影響藥物均勻性和再分散。對於最佳的

乾粉配製物來說，必須在足以保證藥物均勻性的黏附力與在處理上穩定但弱到足以在吸入期間從載劑快速釋放藥物顆粒的摻合物之間取得平衡。因此，混合期間發生的分離可能是開發吸入用乾粉配製物的另一個障礙。

【0052】 最佳混合仰賴容器填充的優化(以確保粉末床充分膨脹)、混合器和粉末特性，以及混合條件。混合器是基於以下一或多種機制：1)對流，其為成群相鄰顆粒在摻合物中從一處移動到另一處；2)剪力，其為成分在粉末床內透過形成滑移面或剪力應變的構形；以及3)擴散，其為單獨顆粒因為其彼此相對隨機運動而重新分布。混合器可分為分離式混合器和非分離式混合器。混合器的選擇則視粉末摻合物分離和形成黏聚物的趨勢而定。就含有促進顆粒分離的粉末摻合物的混合物來說，必須使用非分離式混合器，而任何類型的混合器都可用於不發生分層的混合物。在由於較小組份的內聚性而黏聚的情況下，在混合期間需要額外的壓力(剪力)來破壞黏聚物。因此，高剪力混合器經常用於製備黏性原料藥的預混物。需要最佳混合時間以獲得均質的摻合物。增加混合時間可能會改善非分離式混合器的均質性，但不一定會改善分層混合物的均質性。使用預摻合步驟(即藥物與少量賦形劑摻合)可以減少總混合時間。相反，多組份混合物的實現可以增加混合時間以達到均質性。G. Pilcer, N. Wauthoz, K. Amighi, Lactose characteristics and the generation of the aerosol, Adv Drug Del Reviews 64(2012) 233-256]。

【圖式簡單說明】

【0053】

圖1：在向小型豬(7 min吸入為液體氣溶膠)投與0.15、0.5、1.5和5 μg/kg比較例11 (劑量表示為肺部沉積劑量)後，觀察到的(符號)和擬合(實線)的肺動脈壓(=PAP)變化。5%的相關PAP減少以虛線表示

圖2：根據經麻醉凝血脂素小型豬模型的結果，在不考慮物種間蛋白質結合差異的情況下，60 kg人類在對應肺部沉積劑量(FPD)處的最大預期PAP降低

圖3a：基於膠囊的單次單位劑量吸入器

圖3b：基於膠囊的單次單位劑量吸入器

圖4：非晶形殘餘物的X射線粉末繞射圖，基於L-精胺酸的鹽篩選實驗所建立

圖5：半水合物，實例6a的X射線粉末繞射圖

圖6：單水合物I，實例6b的X射線粉末繞射圖

圖7：單水合物II，實例6c的X射線粉末繞射圖

圖8：1.25-水合物，實例6d的X射線粉末繞射圖

圖9：倍半水合物，實例6e的X射線粉末繞射圖

圖10：二水合物，實例6f的X射線粉末繞射圖

圖10a：乾燥後二水合物，實例6f的X射線粉末繞射圖

圖11：非晶形形式，實例6g的X射線粉末繞射圖

圖12：半水合物，實例6a的拉曼光譜

圖13：單水合物I，實例6b的拉曼光譜

圖14：單水合物II，實例6c的拉曼光譜

圖15：1.25-水合物，實例6d的拉曼光譜

圖16：倍半水合物，實例6e的拉曼光譜

圖17：二水合物，實例6f的拉曼光譜

圖18：非晶形形式，實例6g的拉曼光譜

圖19：半水合物，實例6a的IR光譜

圖20：單水合物I，實例6b的IR光譜

圖21：單水合物II，實例6c的IR光譜

圖22：1.25-水合物，實例6d的IR光譜

圖23：倍半水合物，實例6e的IR光譜

圖24：二水合物，實例6f的IR光譜

圖25：非晶形形式，實例6g的IR光譜

圖26：半水合物，實例6a的DSC和TGA熱分析圖

圖27：單水合物I，實例6b的DSC和TGA熱分析圖

圖28：單水合物II，實例6c的DSC和TGA 熱分析圖

圖29：1.25-水合物，實例6d的DSC和TGA熱分析圖

圖30：倍半水合物，實例6e的DSC和TGA熱分析圖

圖31：二水合物，實例6f的DSC和TGA熱分析圖

圖32：非晶形形式，實例6g，非晶形形式的DSC和TGA熱分析圖

圖33：比較例11，非晶形形式的X射線粉末繞射圖

圖34：實例1，單水合物II的X射線粉末繞射圖

圖35：微粉化前實例2，單水合物II的X射線粉末繞射圖

圖36：微粉化後實例2、單水合物II、部分非晶化的X射線粉末繞射圖

圖37：實例3，單水合物I的X射線粉末繞射圖

圖38：實例4，單水合物I的X射線粉末繞射圖

圖39：實例5，單水合物I的X射線粉末繞射圖

圖40：實例7，單水合物II的X射線粉末繞射圖(儲存穩定性)：用於儲存穩定性的起始材料

圖41：實例7，單水合物I的X射線粉末繞射圖(儲存穩定性)：在25℃和60%相對濕度下於聚乙烯中進行一個月儲存穩定性測試後的材料

圖42：實例8b (微粉化)的X射線粉末繞射圖的疊加圖：起始材料(單水合物II) (基部線)和微粉化後的材料(具有非晶形數量的單水合物II，經PTFE塗覆的噴射研磨機，25℃) (上方線)

圖43：實例8a (微粉化)的X射線粉末繞射圖：微粉化後的材料(具有非晶形數量的單水合物I，VA噴射研磨機，25℃)

圖44：X射線粉末繞射圖(實例8e) (微粉化)：微粉化後的材料(單水合物I)

圖45：媒劑溶液、比較例11 (10、30和100 μg/kg 標稱劑量)和Ventavis (10 μg/kg標稱劑量)在PAH小型豬模型中吸入施用後的作用。數據表示為PAP和BP相對於基線的%變化(霧化開始前的10分鐘區間)。數據是平均值±SEM。所有化合物的霧化區間需要5-7分鐘(灰色條)。

圖46：乳糖以及乳糖配製物I (7.5 μg/kg)在氣管內施用後的作用。數據為平均值±SEM (n=3)；用PennCentury乾粉吸入器和氣泵進行氣管內施用；BP：動脈血壓；PAP：肺動脈壓；SEM：平均值的標準偏差

圖47：乳糖以及乳糖配製物II (22.5 μg/kg)在氣管內施用後的作用。數據為平均值±SEM (n=3)；用PennCentury乾粉吸入器和氣泵進行氣管內施用；BP：動脈血壓；PAP：肺動脈壓；SEM：平均值的標準偏差

圖48：氣管內施用後乳糖和微粉化倍半水合物(例如實例6e (375 μg/kg))的作用。數據為平均值±SEM (n=3) 用PennCentury乾粉吸入器和氣泵進行氣管內施用；BP：動脈血壓；PAP：肺動脈壓；SEM：平均值的標準偏差

圖49：氣管內施用不同乳糖媒劑、乳糖配製物I (7.5 μg/kg)、乳糖配製物II (22.5 μg/kg)和微粉化倍半水合物實例6e (375 μg/kg)的作用。數據顯示為相對於前值的%變化，作為平均值 ± SEM(n=3)

圖50：比較例11在氣管內施用不同水合物微粉化單水合物II (實例2)、微粉化半水合物(實例6a)和微粉化倍半水合物(實例6e)後對BP和PAP的作用。數據顯示為絕對值[mmHg]，作為平均值 ± SEM(n=3)

圖51：比較例11在氣管內施用不同水合物微粉化單水合物II (實例2)、微粉化半水合物(實例6a)和微粉化倍半水合物(實例6e)後對BP和PAP的作用。數據顯示為絕對值 mmHg]，作為平均值 ± SEM(n=3)

圖52：cGMP (nmol/L)的平均值 ± SD - 480 µg (實例2)劑量組的治療前(第-1天)、第一天(第1天)以及最後一天(第8天)治療的比較(SAF，N = 9)

圖53：cGMP (nmol/L)的平均值 ± SD - 1000 µg (實例2)劑量組的治療前(第-1天)、第一天(第1天)以及最後一天(第8天)治療的比較(SAF，N = 9)

圖54：cGMP (nmol/L)的平均值 ± SD - 2000 µg (實例2)劑量組的治療前(第-1天)、第一天(第1天)以及最後一天(第8天)治療的比較(SAF，N = 9)

圖55：cGMP (nmol/L)的平均值 ± SD – 安慰劑組的治療天數比較(SAF，N = 9)

圖56：在基線日(-1d02h - 0d00h)第一次吸入日(0d00h -2d00h)，2d00h-7d00h和7天吸入之後(7d00h - 10d00h)的谷測量值，體液中cGMP (nmol/L)隨時間推移的平均值± SD (N = 9)。

圖57：篩選1/2、基線日(-1d00h - 0d00h)第一次吸入日(0d00h - 0d06h)，吸入後2d02h - 6d04h)和7天吸入後(7d00h - 7d06h)的測量值，總比氣道阻力(kPa/sec)隨時間推移的平均值(N = 36，480、1000和2000 µg各為12，實例2)與SD。

圖58：在治療前當日(-1d00h - -0d09h)第一次吸入日(-0d02h - 1d00h；)，在吸入之前和之後2d00h-2d12h、6d00h-6d12h、10d00h-10d12h (分析日)的測量值、在第3d-5d、7d-9d、11d-12d天吸入之前，以及14天吸入的最後一天

(12d22h- 20d00h)的谷，cGMP(nmol/L)隨時間推移相對於基線的差異的平均值(安慰劑(N = 4)和1000 µg (N = 17)實例4)。

圖59：為研究肺部沉積而進行治療的方案

圖60：血漿中實例4濃度(µg/L)的幾何平均值和標準偏差，半對數尺度。

圖61：部分劑量到達吸嘴(發射劑量)，而部分劑量保留在膠囊中、在裝置中，沉積的肺部劑量和部分劑量到達GIT道

圖62：PAH或CTEPH患者臨床研究的研究設計

圖63：在PAH或CTEPH患者中進行的臨床研究A部分總結

圖64：在PAH或CTEPH患者中，吸入實例4之後(0D00H30M至0D03H00M)，肺血管阻力(PVR)隨時間推移相對於基線(0D00H00M)的相對變化(%)的平均值和SD (240、480、1000、2000和4000 µg組各N = 4，按照方案組)

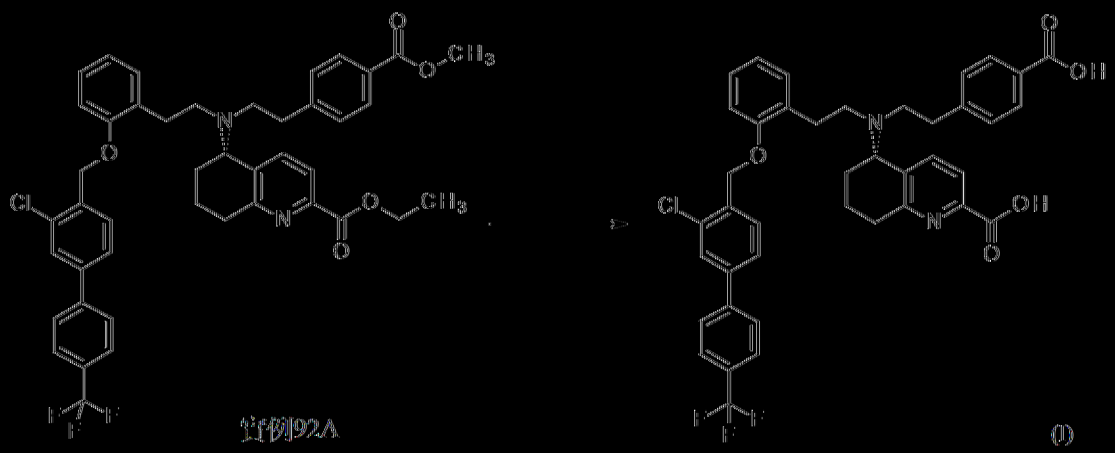
圖65：在PAH或CTEPH患者中，吸入實例4之後(0D00H30M至0D03H00M)，平均肺動脈壓(mPAP)隨時間推移相對於基線(0D00H00M)的相對變化(%)的平均值和SD (240、480、1000、2000和4000 µg組各N = 4，按照方案組)。

【實施方式】

【0054】 式(I)之酸的固體形式

【0055】 式(I)化合物的製備揭示於WO 2014/012934 (參見實例23)，始於前體5-([2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]{2-[4-(甲氧基羰基)-苯基]乙基-}胺基)-5,6,7,8-四氫-喹啉-2-甲酸乙酯(WO 2014/012934中的實例92A)並概述於以下方案1中。

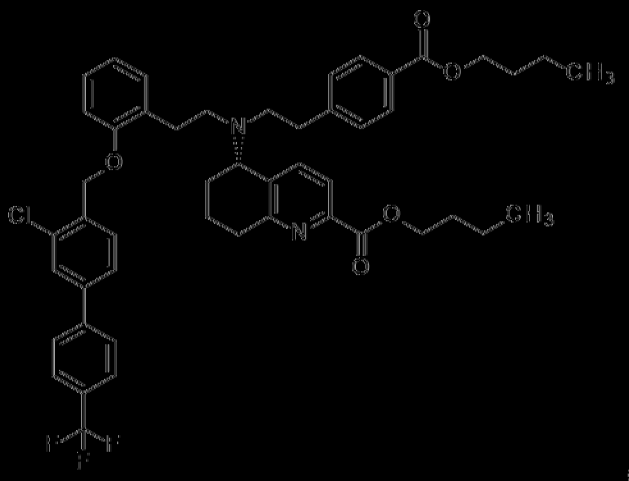
【0056】 方案1：合成式(I)之(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，如WO 2014/012934中揭示



實例92A (I)

[0057] 但是，藉由這個方法僅獲得呈非晶形形式的式(I)化合物(參見比較例11)。

[0058] 式(I)化合物的另一種前藥(即5-((2-((3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基)甲氧基)苯基)乙基)(2-(4-(甲氧基羰基)苯基)乙基)胺基)-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸乙酯(化合物XII))的改良合成



(XII)

已揭示於WO2021/233783中。然而，在這份參考文獻中並未揭示式(I)化合物本身的合成方法。

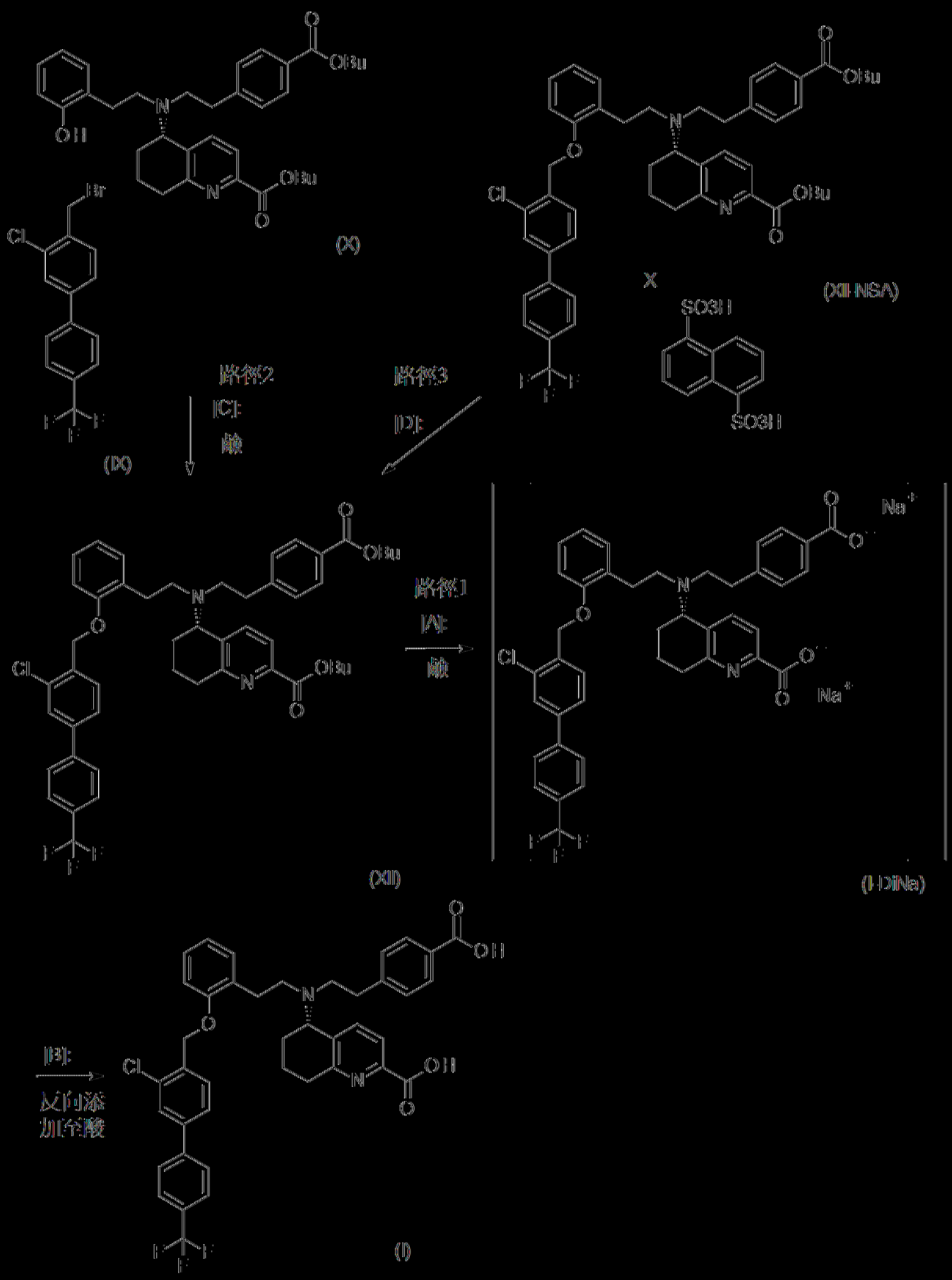
[0059] 如方案2中所示的一種新穎、未公開過的方法的特徵在於，中間物的純化步驟是經由成鹽/萃取/澄清過濾來完成，從而避免了矽析純化步驟。此外，根據本發明的方法提供了高度選擇性，因為式(I)的目標化合物可以透過三種路徑來製得：

A)路徑1始於式(XII)的酯(方法步驟[A]和[B]；路徑1)，

B)路徑2始於縮短方法(telescope process)的式(X)中間物(WO2021/233783)(方法步驟[C]、[A]和[B]=路徑2)，

C)路徑3始於式(XII-NSA)的固體NSA鹽(方法步驟[D]、[A]和[B]=路徑3)。

【0060】 方案2：製得式(I)化合物的新穎的、未公開過的方法，包括方法路徑1、2和3



[0061] 包含步驟[A]和[B]的核心方法(路徑1)用於所有三個替代路徑中。根據本發明的這個方法與WO 2014/012934中揭示的先前技術方法相比具有若干優點。如果根據先前技術程序製得，則可以避免無法避免地包括在式I產物中的幾種副產物或至少更容易分離。發明人將在步驟[B]中由式(I-diNa)的二鈉鹽形成

式(I)的目標酸認定是主要問題。以反向的方式運行此步驟來控制反應混合物的pH (小心監控以將pH值保持在3.8 - 4.2之間的範圍內)至關重要。因此，方法步驟[B]需要將式(I-DiNa)的二鈉鹽中間物反向添加至等莫耳量的酸等效物。藉由這樣的反向添加，與先前技術方法相比，式(I)化合物的微溶性單鈉鹽形成明顯減少(參見比較例11)。然而，主要形成的少量單鈉鹽以及其他微溶性雜質可以透過將二鈉鹽溶液澄清過濾予以分離。另外，藉由反向添加避免了其他副產物(像是鹽酸鹽)。

【0062】 或者，式(I)化合物可以在不分離中間物的情況下從化合物(X)和(XI)開始透過偶合、隨後的二酯裂解與酸性釋放來製備(例如在方法步驟[C]、[A]和[B]中所見，參見方案2(路徑2))。

【0063】 在替代路徑3)中，式(I)化合物可以經由其NSA鹽製備，特徵在於在第一個步驟[D]中，必須從式(XII-NSA)的NSA鹽釋放出二丁酯，其接而經由兩個步驟(二丁酯的鹼性皂化(步驟[A])，然後反向添加至酸以釋放出式(I)的游離酸(步驟[B]))進一步被轉化為游離酸。

【0064】 為了開發一種包含式(I)之(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸(呈固體形式)的醫藥形式，特別是呈乾粉吸入形式，對於以某種明確結晶形式可再現地製造和分離式(I)化合物有很高的需求。

【0065】 需要許多努力才能將式I化合物最終結晶成明確的固體形式。

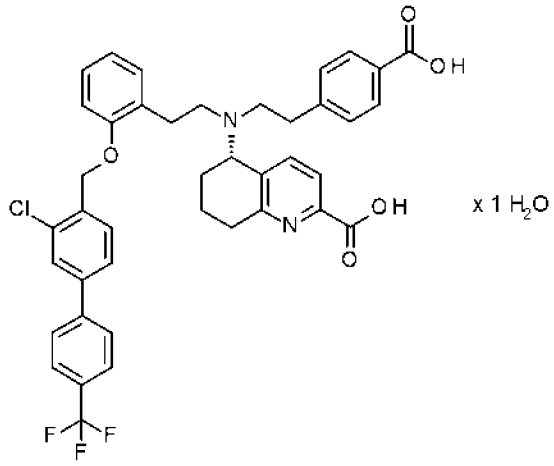
【0066】 令人驚訝的是，式I化合物以數種假多型形式獲得，沒有發現到無水結晶形式。

【0067】 然而，在幾個已鑑定出的假多型形式中，必須在幾個階段期間鑑定出最為合適且最穩定的形式。

【0068】發現到二水合物在乾燥製程期間發生非晶化(amorphization) (參見圖10a)。半水合物的晶格表現出無序(參見圖5)，這可以幫助機械加工(像是例如配製製程)時的相變及/或非晶化。由於攪拌程序非常長，倍半水合物的結晶對於放大規模來說並不可行的。

【0069】發現這兩種單水合物都克服了不同假多型形式的這些不樂見性質。

【0070】透過某些研究，發現到式(I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸以特定的多型形式存在，尤其是呈單水合物形式I (I-M-I)和單水合物形式II (I-M-II)：



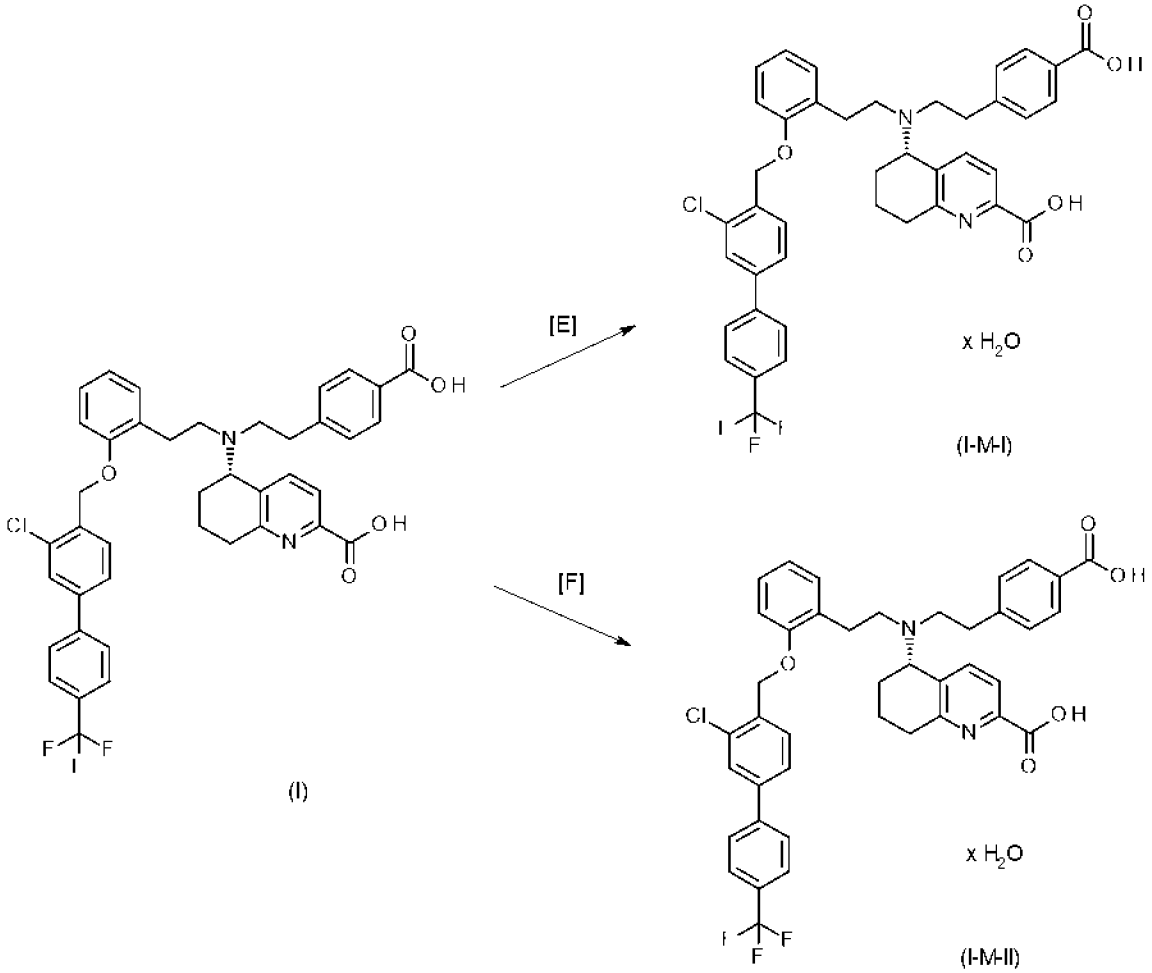
(I-M-I)、(I-M-II)。

【0071】然而最終證明這些單水合物形式中只有一者在微粉化期間是穩定的，並且因此是最適合例如用於生產吸入性藥劑(特別是作為基於乾粉的吸入性藥劑)的形式。令人驚訝的是，在微粉化期間，發現單水合物II隨著微粉化條件而顯示出部分非晶化(參見實例8b，圖42)，或除此之外還轉變為單水合物I (參見實例8a，圖43)。另外，觀察到單水合物II也在儲存期間顯示轉變為單水合物I (參見實例7b，圖40和41)。因此，就使用於醫藥領域中來說，假多型形式單水合物I

適合並優於式I化合物的其他固體形式，尤其適用於醫藥組成物，特別是乾粉吸入性劑型。

【0072】 假多型形式(特別是水合物，較佳呈形式I和II的單水合物)可以藉由將式(I)之酸結晶來製得(參見方案3)：

【0073】 方案3：選擇性結晶式(I)之酸以產生其單水合物形式



【0074】 根據使用的溶劑，形成單水合物(I-M-I)或單水合物(I-M-II)。令人驚訝的是，由甲醇、丙酮和水，或甲醇和水的混合物進行結晶會選擇性地產生化合物(I-M-I)，而由丙酮水進行結晶會選擇性地產生形式II的單水合物(I-M-II)。

【0075】 此外，出乎意外發現到，單水合物(I-M-I)確保不希望轉化為另一種形式的式(I)化合物並防止如上所述的相關性質變化。因此，單水合物I形式是

式(I)之(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸最為偏好的結晶形式。

【0076】 (5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸的單水合物I可以藉由X射線粉末繞射法根據各自的繞射圖進行特徵鑑定，這些繞射圖是在25℃下並利用Cu-K α1輻射(1.5406 Å)所記錄的。根據本發明的單水合物I展現出至少3個，通常至少5個，特別是至少7個，更特別是至少10個，且尤其是所有如下值引用的所有反射：

【0077】 式(I)化合物的假多型形式，式(I-M-I)的單水合物I可以透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，其展現至少以下反射：12.8以及29.2，或至少6.9、7.2以及7.3，或至少6.9、7.2、7.3、12.8以及29.2，或至少6.9、7.2、7.3、12.8、29.2、23.0以及15.2，或至少以下反射：6.9、7.2、7.3、12.8、29.2、23.0、15.2、25.8以及25.1，或至少以下反射：6.9、7.2、7.3、12.8、29.2、23.0、15.2、25.8、25.1、17.7以及23.7，或至少以下反射：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以及11.5，各者以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0078】 在另一個具體例中，式(I)化合物的假多型形式，式(I-M-I)的單水合物I可以透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，其展現至少以下反射：12.8、16.0以及25.8，或至少6.9、7.2以及7.3、或至少6.9、7.2、7.3、12.8、16.0以及25.8，或至少6.9、7.2、7.3、12.8、16.0、25.8、15.2以及25.1，或至少6.9、7.2、7.3、12.8、16.0、25.8、15.2、25.1以及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以及11.5，各者以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0079】 在另一個具體例中，式(I)化合物的假多型形式，式(I-M-I)的單水合物I可以透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵

鑑定，其展現至少以下反射：12.8、20.5以及25.8，或至少6.9、7.2以及7.3，或至少6.9、7.2、7.3、12.8、20.5、25.8、15.2以及25.1，或至少6.9、7.2、7.3、12.8、20.5、25.8、15.2、25.1以及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以及11.5，各者以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0080】 式(I)化合物的假多型形式，式(I-M-I)的單水合物I可另外透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，其展現至少以下反射：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，各者以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0081】 式(I)化合物的假多型形式，式(I-M-I)的單水合物I可另外透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，其未展現至少以下反射：3.1以及9.3，各者以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0082】 式(I)化合物的假多型形式，式(I-M-I)的單水合物I可另外透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，其未展現至少以下反射：6.1以及8.5，各者以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0083】 式(I)化合物的假多型形式，式(I-M-I)的單水合物I可另外透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，其未展現至少以下反射：8.5及/或30，各者以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0084】 式(I)化合物的假多型形式，式(I-M-I)的單水合物I可另外透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，其未展現至少以下反射：7.9及/或31.6，各者以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0085】 式(I)化合物的假多型形式，式(I-M-I)的單水合物I可另外透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，其未展現至少以下反射：7.6，各者以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0086】 式(I)化合物的假多型形式，式(I-M-I)的單水合物I可另外透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，其未展現至少以下反射：14.8，各者以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0087】 式(I)化合物的假多型形式，式(I-M-I)的單水合物I可另外透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，其展現至少以下反射：12.8以及29.2，或至少6.9、7.2以及7.3，或至少6.9、7.2、7.3、12.8以及29.2，或至少6.9、7.2、7.3、12.8、29.2、23.0以及15.2，或至少以下反射：6.9、7.2、7.3、12.8、29.2、23.0、15.2、25.8以及25.1，或至少以下反射：6.9、7.2、7.3、12.8、29.2、23.0、15.2、25.8、25.1、17.7以及23.7，或至少以下反射：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以及11.5，以及同樣未展現至少以下反射：6.1以及8.5，各者以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0088】 式(I)化合物的假多型形式，式(I-M-I)的單水合物I可另外透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，其展現至少以下反射：12.8、16.0以及25.8，或至少6.9、7.2以及7.3，或至少6.9、7.2、7.3、12.8、16.0以及25.8，或至少6.9、7.2、7.3、12.8、16.0、25.8、15.2以及25.1，或至少6.9、7.2、7.3、12.8、16.0、25.8、15.2、25.1以及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以及11.5，以及同樣未展現至少以下反射：6.1以及8.5，各者以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0089】 式(I)化合物的假多型形式，式(I-M-I)的單水合物I可另外透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，其展現至少以下反射：12.8、20.5以及25.8，或至少6.9、7.2以及7.3，或至少6.9、7.2、7.3、

12.8、20.5、25.8、15.2以及25.1，或至少6.9、7.2、7.3、12.8、20.5、25.8、15.2、25.1以及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以及11.5，以及同樣未展現至少以下反射：6.1以及8.5，各者以2Θ值 ± 0.2°引用。

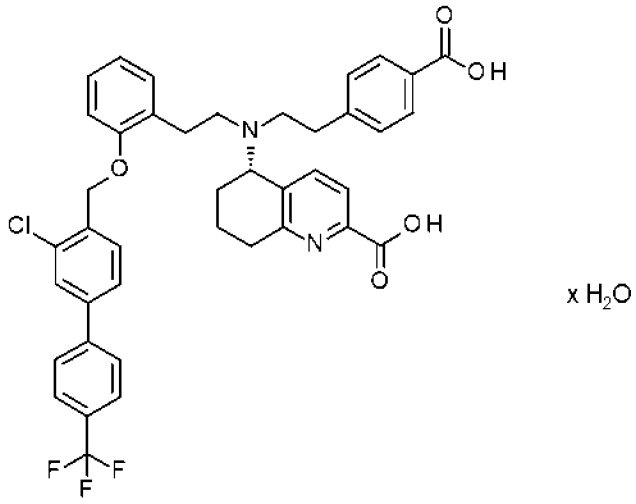
【0090】 式(I)化合物的假多型形式(呈式(I-M-I)的單水合物I)也可以明確透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，如圖6中所示。

【0091】 式(I)化合物的假多型形式，式(I-M-I)的單水合物I可透過拉曼光譜學進行特徵鑑定，其至少在以下帶處展現最大值：3073、2950、2937、1685、1616、1527、1293、1278、1259 cm-1。

【0092】 式(I)化合物的假多型形式單水合物I可透過IR光譜學進行特徵鑑定，其至少在以下帶處展現最大值：2933、1595、1375、1327、1272、1242、1167、1110 cm-1。

【0093】 具體例7 (式(I-M-I)的單水合物I))

【0094】 本發明提供式(I)化合物，其呈式(I-M-I)的結晶形式單水合物I



x H_2O

(I-M-I)，

特徵在於該化合物的X射線繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)展現至少以下反射：12.8以及29.2，以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0095】 本發明還提供根據具體例7呈式(I-M-I)單水合物I之結晶形式的式(I)化合物，其特徵在於化合物的X射線繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)展現至少以下反射：6.9、7.2和7.3，以2Θ值 ± 0.2°引用。

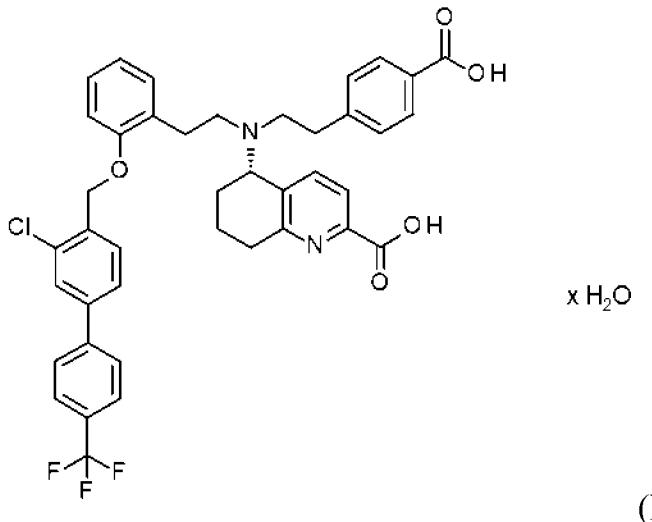
【0096】 本發明還提供根據具體例7呈式(I-M-I)單水合物I之結晶形式的式(I)化合物，其特徵在於化合物的X射線繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)展現至少以下反射：6.9、7.2、7.3、12.8、29.2、23.0以及15.2，以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0097】 本發明還提供根據具體例7以及以上一或多種更多具體例呈式(I-M-I)單水合物I之結晶形式的式(I)化合物，

其特徵在於化合物的X射線繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)展現至少以下反射：6.9、7.2、7.3、12.8、29.2、23.0、15.2、25.8、25.1、17.7以及23.7，以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0098】 本發明還提供根據具體例7以及以上一或多種更多具體例呈式(I-M-I)單水合物I之結晶形式的式(I)化合物，其特徵在於化合物的X射線繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)展現至少以下反射：6.9、7.2與7.3、12.8、29.2、23.0、15.2、25.8、25.1、17.7、23.7、9.9、5.7以及11.5，以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0099】 或者，本發明提供式(I)化合物，其呈式(I-M-I)的結晶形式單水合物I



(I-M-I)，

特徵在於該化合物的X射線繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)展現至少以下反射：12.8、16.0以及25.8，以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0100】 本發明還提供根據具體例7呈式(I-M-I)單水合物I之結晶形式的式(I)化合物，其特徵在於化合物的X射線繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)展現至少以下反射：12.8、16.0、25.8、6.9、7.2以及7.3，以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0101】 本發明還提供根據具體例7呈式(I-M-I)單水合物I之結晶形式的式(I)化合物，其特徵在於化合物的X射線繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)展現至少以下反射：6.9、7.2以及7.3、12.8、29.2、23.0以及15.2，以2Θ值 ± 0.2°引用。

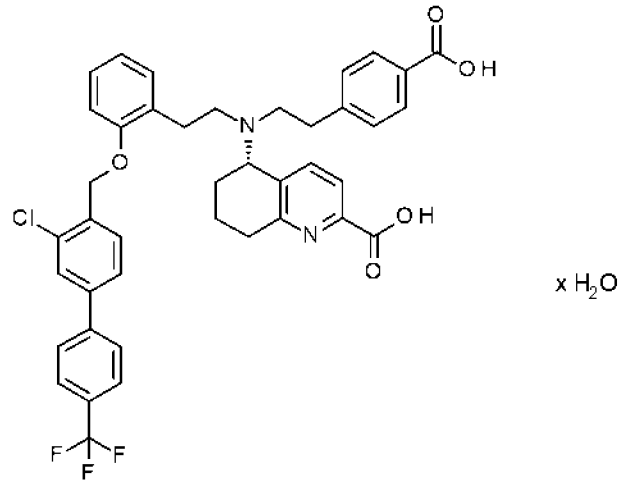
【0102】 本發明還提供根據具體例7以及以上一或多種更多具體例呈式(I-M-I)單水合物I之結晶形式的式(I)化合物，

其特徵在於化合物的X射線繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)展現至少以下反射：6.9、7.2、7.3、12.8、29.2、23.0、15.2、25.8以及25.1，以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0103】 本發明還提供根據具體例7以及以上一或多種更多具體例呈式(I-M-I)單水合物I之結晶形式的式(I)化合物，其特徵在於化合物的X射線繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)展現至少以下反射：6.9、7.2以及7.3、12.8、

29.2、23.0、15.2、25.8、25.1、17.7、23.7、9.9、5.7以及11.5，以2Θ值 ± 0.2°引用。

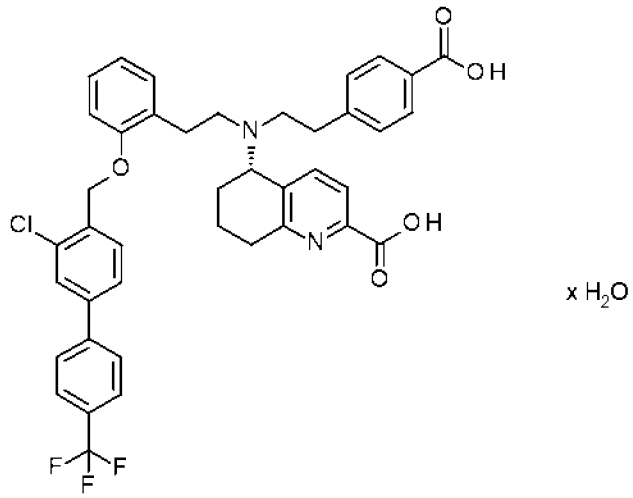
【0104】 本發明還提供式(I)化合物，其呈式(I-M-I)的結晶形式單水合物I



(I-M-I)，

特徵在於該化合物的IR光譜在以下帶處展現最大值：2933、1595、1375、1327、1272、1242、1167、1110 cm-1。

【0105】 本發明還提供式(I)化合物，其呈式(I-M-I)的結晶形式單水合物I



(I-M-I)，

特徵在於該化合物的拉曼光譜在以下帶處展現最大值：3073、2950、2937、1685、1616、1527、1293、1278、1259 cm-1。

【0106】 式(I)化合物的其他不同形式可以藉由X射線粉末繞射、差示掃描量熱法(DSC)、IR-光譜學和拉曼-光譜學來區分。

【0107】 除了單水合物I之外，還鑑定了更多假多型形式單水合物II、半水合物、1,25-水合物、倍半水合物以及二水合物(參見實例6，圖2-29)，其進一步特徵鑑定如下。

【0108】 (5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸的假多型形式單水合物II、半水合物、1,25-水合物、倍半水合物以及二水合物可以藉由X射線粉末繞射法根據各自的繞射圖進行特徵鑑定，這些繞射圖是在25℃下並利用Cu-K α1輻射(1.5406 Å)所記錄的。假多型形式單水合物II、半水合物、1,25-水合物、倍半水合物以及二水合物展現出至少3個，通常至少5個，特別是至少7個，更特別是至少10個，且尤其是所有如下值引用的所有反射：

【0109】 式(I)化合物的假多型形式單水合物II可明確透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，其展現至少以下反射：6.1以及8.5，還有至少6.1、8.5、12.7、23.9以及13.9，較佳至少以下反射：6.1、8.5、12.7、23.9、13.9、23.0以及12.2，更佳至少以下反射：6.1、8.5、12.7、23.9、13.9、23.0、12.2、10.8以及15.3，最佳至少以下反射：6.1、8.5、12.7、23.9、13.9、23.0、12.2、10.8、15.3、17.3、21.7以及22，還有最佳至少以下反射：6.1、8.5、12.7、23.9、13.9、23.0、12.2、10.8、15.3、17.3、21.7以及22，各者以2Θ值 ± 0.2° 引用。

【0110】 式(I)化合物的假多型形式，式(I-M-II)的單水合物II可另外透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，其展現至少以下反射：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，各者以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0111】 式(I)化合物的假多型形式，式(I-M-II)的單水合物II可另外透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，其未展現至少以下反射：3.1以及9.3，各者以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0112】 式(I)化合物的假多型形式，式(I-M-II)的單水合物II可另外透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，其未展現至少以下反射：6.9、7.2以及7.3，各者以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0113】 式(I)化合物的假多型形式，式(I-M-II)的單水合物II可另外透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，其未展現至少以下反射：29.2，各者以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0114】 式(I)化合物的假多型形式，式(I-M-II)的單水合物II可另外透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，其未展現至少以下反射：7.9及/或31.6，各者以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0115】 式(I)化合物的假多型形式，式(I-M-II)的單水合物II可另外透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，其未展現至少以下反射：7.6，各者以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0116】 式(I)化合物的假多型形式，式(I-M-II)的單水合物II可另外透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，其未展現至少以下反射：14.8，各者以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0117】 式(I)化合物的假多型形式，式(I-M-II)的單水合物II可另外透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，其展現至少以下反射：6.1以及8.5，還有至少6.1、8.5、12.8、23.0以及15.2，較佳至少以下反射：6.1、8.5、12.8、23.0、15.2、25.8以及25.1，更佳至少以下反射：6.1、

8.5、12.8、23.0、15.2、25.8、25.1、17.7以及23.7，最佳至少以下反射：6.1、8.5、12.8、23.0、15.2、25.8、25.1、17.7、23.7、9.9、5.7以及11.5，還有最佳至少以下反射：12.8、23.0、15.2、25.8、25.1、17.7、23.7、9.9、5.7、6.1、8.5以及11.5，以及同時未展現至少以下反射：6.9、7.2以及7.3，各者以2Θ值 ± 0.2°引用。

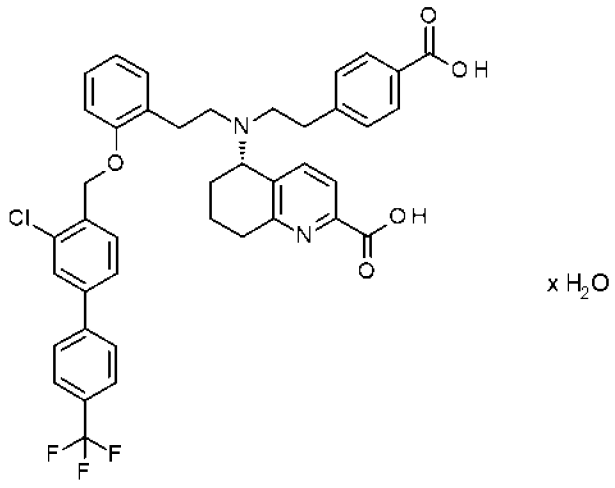
【0118】 式(I)化合物(呈假多型形式單水合物II)還可以明確透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，如圖7中所示。

【0119】 式(I-M-II)化合物的假多型形式單水合物II可透過拉曼光譜學進行特徵鑑定，其至少在以下帶處展現最大值：3073、2950、2936、1685、1615、1526、1294、1279、1259 cm-1。

【0120】 式(I)化合物的假多型形式單水合物I可透過IR光譜學進行特徵鑑定，其至少在以下帶處展現最大值：2934、1595、1375、1327、1272、1242、1167、1110 cm-1。

【0121】 具體例8 (式(I-M-II)的單水合物II)

【0122】 本發明進一步提供式(I)化合物，其呈式(I-M-II)的結晶形式單水合物II



x H_2O

(I-M-II)，

特徵在於該化合物的X射線繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)展現至少以下反射：6.1以及8.1，較佳6.1、8.1、12.7、23.9以及13.9，較佳至少以下反

射：6.1、8.1、12.7、23.9、13.9、23.1以及12.2，更佳至少以下反射：6.1、8.1、12.7、23.9、13.9、23.1、12.2、10.8以及15.3，最佳至少以下反射：6.1、8.1、12.7、23.9、13.9、23.1、12.2、10.8、15.3、17.3、21.7以及22.0，以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0123】 式(I)化合物(呈假多型形式單水合物II)還可以明確透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，如圖7中所示。

【0124】 式(I)化合物的假多型形式，式(I-M-II)的單水合物II可另外透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，其未展現至少以下反射：3.1以及9.3，各者以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0125】 式(I)化合物的假多型形式，式(I-M-II)的單水合物II可另外透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，其未展現至少以下反射：6.9、7.2以及7.3，各者以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0126】 式(I)化合物的假多型形式，式(I-M-II)的單水合物II可另外透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，其未展現至少以下反射：29.2，各者以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0127】 式(I)化合物的假多型形式，式(I-M-II)的單水合物II可另外透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，其未展現至少以下反射：7.9及/或31.6，各者以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0128】 式(I)化合物的假多型形式，式(I-M-II)的單水合物II可另外透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，其未展現至少以下反射：7.6，各者以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0129】 式(I)化合物的假多型形式，式(I-M-II)的單水合物II可另外透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，其未展現至少以下反射：14.8，各者以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0130】 具體例9 (式(I)化合物的半水合物)

【0131】 式(I)化合物的假多型形式，半水合物可明確透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，其展現以下反射：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，各者以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0132】 式(I)化合物的假多型形式，半水合物可明確透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，其展現至少以下反射：3.1、5.3、6.7、7.1、9.3以及31.1，各者以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0133】 式(I)化合物(呈假多型形式半水合物)還可明確透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，如圖5中所示。

【0134】 式(I)化合物的假多型形式，半水合物可另外透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，其未展現至少以下反射：6.9、7.2以及7.3，各者以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0135】 式(I)化合物的假多型形式，半水合物可另外透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，其未展現至少以下反射：29.2，各者以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0136】 式(I)化合物的假多型形式，半水合物可另外透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，其未展現至少以下反射：8.5及/或30.0，各者以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0137】 式(I)化合物的假多型形式，半水合物可另外透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，其未展現至少以下反射：7.9及/或31.6，各者以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0138】 式(I)化合物的假多型形式，半水合物可另外透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，其未展現至少以下反射：7.6，各者以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0139】 式(I)化合物的假多型形式，半水合物可另外透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，其未展現至少以下反射：14.8，各者以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0140】 具體例10 (式(I)化合物的1.25水合物)

【0141】 式(I)化合物的假多型形式，1.25水合物可明確透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，其展現以下反射：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，各者以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0142】 式(I)化合物的假多型形式，1.25水合物可明確透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，其展現至少以下反射：7.9、10.5、12.2、12.5、13.6、15.2、16.9、19.0、24.0、24.4、24.6、31.6，各者以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0143】 式(I)化合物(呈假多型形式1.25水合物)還可明確透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，如圖8中所示。

【0144】 式(I)化合物的假多型形式，1.25水合物可另外透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，其未展現至少以下反射：3.1以及9.3，各者以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0145】 式(I)化合物的假多型形式，1.25水合物可另外透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，其未展現至少以下反射：6.9、7.2以及7.3，各者以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0146】 式(I)化合物的假多型形式，1.25水合物可另外透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，其未展現至少以下反射：29.2，各者以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0147】 式(I)化合物的假多型形式，1.25水合物可另外透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，其未展現至少以下反射：8.5及/或30.0，各者以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0148】 式(I)化合物的假多型形式，1.25水合物可另外透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，其未展現至少以下反射：7.9及/或31.6，各者以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0149】 式(I)化合物的假多型形式，1.25水合物可另外透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，其未展現至少以下反射：7.6，各者以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0150】 式(I)化合物的假多型形式，1.25水合物可另外透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，其未展現至少以下反射：14.8，各者以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0151】 具體例11 (式(I)化合物的倍半水合物)

【0152】 式(I)化合物的假多型形式，倍半水合物可明確透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，其展現至少以下反射：12.2、25.1以及14.5，較佳至少12.2、25.1、14.5、18.7以及26.4，較佳至少以下反射：12.2、25.1、14.5、18.7、26.4、18.3以及23.4，更佳至少以下反射：：最佳至少以下反射：12.2、25.1、14.5、18.7、26.4、18.3、23.4、21.5、8.6以及5.1、以及7.6，各者以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0153】 式(I)化合物的假多型形式，倍半水合物可明確透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，其展現至少以下反

射：5.1、7.6、8.6、12.2、14.5、18.3、18.7、21.5、23.4、24.7、25.1、26.4，各者以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0154】 式(I)化合物的假多型形式，倍半水合物可明確透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)明確進行特徵鑑定，其展現以下反射：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，各者以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0155】 式(I)化合物(呈假多型形式倍半水合物)還可明確透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，如圖9中所示。

【0156】 式(I)化合物的假多型形式，倍半水合物可另外透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，其未展現至少以下反射：3.1以及9.3，各者以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0157】 式(I)化合物的假多型形式，倍半水合物可另外透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，其未展現至少以下反射：6.9、7.2以及7.3，各者以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0158】 式(I)化合物的假多型形式，倍半水合物可另外透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，其未展現至少以下反射：29.2，各者以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0159】 式(I)化合物的假多型形式，倍半水合物可另外透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，其未展現至少以下反射：8.5及/或30.0，各者以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0160】 式(I)化合物的假多型形式，倍半水合物可另外透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，其未展現至少以下反射：7.9及/或31.6，各者以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0161】 式(I)化合物的假多型形式，倍半水合物可另外透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，其未展現至少以下反射：14.8，各者以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0162】 具體例12 (式(I)化合物的二水合物)

【0163】 式(I)化合物的假多型形式，二水合物可明確透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)明確進行特徵鑑定，其展現至少以下反射：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，各者以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0164】 式(I)化合物的假多型形式，二水合物可明確透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，其展現以下反射：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，各者以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0165】 式(I)化合物(呈假多型形式二水合物)還可明確透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，如圖10中所示。

【0166】 式(I)化合物的假多型形式，二水合物可另外透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，其未展現至少以下反射：3.1以及9.3，各者以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0167】 式(I)化合物的假多型形式，二水合物可另外透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，其未展現至少以下反射：6.9、7.2以及7.3，各者以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0168】 式(I)化合物的假多型形式，二水合物可另外透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，其未展現至少以下反射：29.2，各者以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0169】 式(I)化合物的假多型形式，二水合物可另外透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，其未展現至少以下反射：8.5及/或30.0，各者以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0170】 式(I)化合物的假多型形式，二水合物可另外透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，其未展現至少以下反射：7.9及/或31.6，各者以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0171】 式(I)化合物的假多型形式，二水合物可另外透過X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)進行特徵鑑定，其未展現至少以下反射：7.6，各者以2Θ值 ± 0.2°引用。

【0172】 治療方法

【0173】 根據本發明式(I)化合物的結晶形式，較佳單水合物I (I-M-I)或單水合物II (I-M-II)，更佳單水合物I (I-M-I)具有有用的藥理學性質並且可以在人類和動物中用於預防和治療疾病。根據本發明式(I)化合物的形式可以開闢出更多治療替代選項並且因此可以在藥學上更加豐富。

【0174】 在本發明的上下文中，術語「治療(treatment或treat)」包括抑制、延遲、阻止、改善、減弱、限制、減少、抑制、逆轉或治癒疾病、病況、病症、損害或健康損害、此類狀態的發展、過程或進展及/或此類狀態的症狀。在此，術語「療法」被理解為與術語「治療」同義。

【0175】在本發明的上下文中，術語「預防」、「防治」或「防止」作為同義詞使用，並指避免或降低得到、感染、罹患或患有疾病、病況、病症、損害或健康損害、此類狀態的發展或進展及/或此類狀態的症狀的風險。

【0176】疾病、病況、病症、損害或健康損害的治療或預防可能會部分或完全發生。

【0177】在本發明的上下文中，術語「治療功效」被定義為透過投與醫藥乾粉配製物，患者的平均肺動脈壓降低，同時在臨床上沒有相關的全身性血壓變化，醫藥乾粉配製物包含治療有效量之式(I)化合物(尤其是比較例11的化合物)或式(I)化合物的鹽、溶劑合物或多型形式或溶劑合物或鹽的結晶變體或式(I)化合物的代謝物，特別是其假多型形式，像是例如(I-M-I)和(I-M-II)。

【0178】在本發明的上下文中，術語「肺血管阻力(PVR)」被定義為以下參數：1)將肺高壓的嚴重程度特徵鑑定為主要肺血管中的壁張力，藉由測量血壓的侵入性方法在肺動脈中進行分析；以及2)藉由顯著降低與肺動脈血壓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)。

【0179】在本發明的上下文中，6分鐘步行測試結果得到改善被定義為患者能夠在6分鐘時間範圍內步行的距離得到改善，其對應於患有嚴重疾病的受治療患者的身體能力增加。

【0180】在本發明的上下文中，「NYHA等級」的轉變被定義為NYHA分類編號從較高等級提升到較低等級，對應於心臟功能改善加上更好的心臟能力。

【0181】在標準化條件下，在肺功能測試(像是肺活量測量法(spirometry)或身體體積描記法(bodyplethysmography))方面對肺的生理功能進行評估，以獲得標準化和有效的參數測量值(例如1秒用力呼氣容積(FEV1))，從而可以直接評估藥物效用(像是支氣管擴張作用)，其為不同藥物在治療上使用時改善帶有支氣管收縮的肺病(如COPD或氣喘)的肺功能的效用。

【0182】在本發明的上下文中，術語「血液動力學效用得到改善」被定義為藥物降低肺動脈壓、改善肺部通氣區域內血液循環以及改善肺功能的血管舒張作用而沒有全身性副作用，從而導致個別患者身體能力和一般情況的臨床相關改善。

【0183】在本發明的上下文中，術語「肺內選擇性(intrapulmonary selectivity)」是指吸入型活性成分僅在肺部的通氣區域而不是在非通氣區域內展現其血管舒張藥效學性質的性質。這是為了防止通氣和灌注之間不匹配惡化(因為非通氣區域的灌注增加)，如果活性成分也到達非通氣區域，則可能發生這種情況。肺內選擇性特別是藉由吸入型施用路徑而確保，而施用是由患者的主動吸入來進行。

【0184】在本發明的上下文中，術語「支氣管擴張效用」被定義為參數的改善，參數為諸如例如經卡巴膽鹼(carbachol)預先收縮的天竺鼠氣管舒張、肺阻力(RL)和動態順應性(Cdyn)、人體內的比氣道阻力(E-2.1)、人體內的FEV1或其他表示通氣獲得改善的參數。

【0185】在本發明的上下文中，術語「長期治療/使用」被定義為患者每天一次或兩次吸入性治療，持續至少連續兩天，較佳至少連續2至7天，較佳持續一段至少連續14天的時間，特別是從治療開始後持續整個疾病過程，視情況還與標準護理(SoC，例如內皮素拮抗劑(諸如波生坦)、PDE5抑制劑(例如西地那

非)、IP促效劑(例如伊洛美定或曲前列尼)、鈣通道阻滯劑(索特西普(sotatercept))和sGC刺激劑(例如利奧西呱(riociguat)))。

【0186】術語「每天一次」為習於技藝者所熟知，並表示一天投與藥物一次，包括投與一種劑型以及在一段短時間內同時或連續投與兩種或更多種劑型。

【0187】術語「每天一次或兩次」為習於技藝者所熟知，並表示一天投與藥物一次或一天兩次，而在該日的每個對應時間點投藥包括投與一種劑型以及在一段短時間內同時或連續投與兩種或更多種劑型。

【0188】術語「連續日」是指一段一天接著一天而沒有插入日的時間，並不意味著依序日或循環日。

【0189】術語「吸入性劑型」表示原料藥(即活性成分)的組合，較佳呈一種結晶形式，例如呈單水合物I或單水合物II或倍半水合物的形式，較佳呈單水合物I或單水合物II，更佳呈式(I-M-I)的單水合物I形式，其與吸入用醫藥上合適的載劑組合。原料藥和醫藥上合適的吸入用載劑的組合是呈乾粉形式。較佳地將乾粉填充在空腔中，更佳填充在膠囊中。較佳地，醫藥上合適的載劑是吸入用乳糖。

【0190】術語「反射」或「峰」是同義詞並且與X射線值和繞射圖組合時具有相同含義。結晶形式最常透過X射線粉末繞射(XRPD)進行特徵鑑定。XRPD反射圖(峰，通常以度2-θ表示)經常被認為是特定晶形的指紋。

【0191】出於本發明之目的，術語「呼吸器官」(或呼吸系統)是指氣道(包括鼻子、口腔和咽、喉、氣管、支氣管和肺)，其作為功能性器官系統。

【0192】與心肺病症組合的「局部投藥」或「局部控制」表示出於本發明之目的(與經口投與要經由胃腸道吸收的劑型相反，也與靜脈內投與相反，這兩者都導致藥物經由血流而全身性分布)，呈可吸入劑型的形式透過吸入來投與活性成分，主要涵蓋作為目標器官的肺部，這需要較低的劑量並導致較低的整體

藥物暴露。根據本發明使用之呈粉末形式的製品或含粉末的懸浮液是要被吸入的製品。

【0193】術語「吸入」或「藉由吸入投藥」在這方面是指引入呼吸器官，尤其是引入及/或經由氣道，較佳引入及/或經由鼻腔或口腔，特別是經由口腔以使得活性成分沉積到作為作用部位的支氣管和肺部。

【0194】出於本發明之目的，術語「氣管內」或「氣管內投藥」是指將化合物引入氣管而不是透過吸入，特別是用於實驗動物(諸如大鼠或小型豬和狗，作為投藥模型)的肺病控制(例如，經由PennCentury設備進行氣管內施用，適用於乾粉以及藥物溶液和懸浮液)。

【0195】根據本發明的化合物，像是式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫-喹啉-2-甲酸及其假多型形式，像是例如(I-M-I)和(I-M-II)是可溶性鳥苷酸環化酶的有效活化劑。它們導致血管舒張、抑制血小板聚集並降低血壓，還增加冠狀動脈血流和微循環。此外，它們具有支氣管擴張效用。這些活性是經由血紅素非依賴性直接活化可溶性鳥苷酸環化酶和細胞內cGMP含量增加所媒介的。

【0196】此外，根據本發明的化合物，尤其式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫-喹啉-2-甲酸及其假多型形式，像是例如(I-M-I)和(I-M-II)進一步具有有利的藥理學性質，特別是關於其肺選擇性作用(與全身性作用相反)、其肺滯留時間及/或其在肺內投藥後的作用持續時間(E-1)。

【0197】根據本發明的化合物，尤其式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫-喹啉-2-甲酸及其假多型形式，像是例如(I-M-I)和(I-M-II)的良好治療功效以及目標接合(target engagement)可在臨床上得到證明：吸入施用後，總比氣道阻力降低

(E-2.1)、血漿cGMP濃度增加(cGMP濃度作為肺內藥物濃度的替代指標) (目標接合的指標) (E-2.1、E-2.2)，和肺動脈壓力和肺血管阻力(E-2.4)的選擇性降低可以在臨床上得到證明。

【0198】 此外，吸入施用原料藥的合適藥動學性質可得到證明。原料藥經口、靜脈內和吸入投藥後的血漿濃度分析顯示，在吸入施用後活性成分的半衰期最長(E-2.3)。

【0199】 最後，人體吸入1000 μg後，排放劑量經測定為720 μg。這個調查的結果證實沉積的肺劑量，以及對吸入型乾粉投藥來說每天一次治療，半衰期足夠使原料藥能在肺部內有充分24 h藥物覆蓋率(如實例4所示)。

【0200】 總之，所有結果證明，式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸及其假多型形式，像是例如(I-M-I)和(I-M-II)，尤其是式(I-M-I)的單水合物I特別適用於治療肺動脈高壓(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高壓(CTEPH)以及與慢性肺病相關的肺高壓(PH) (第3類PH)，諸如慢性阻塞性肺病中的肺高壓(PH-COPD)和伴有特發性間質性肺炎的肺高壓(PH-IIP)，且對吸入型乾粉投藥來說每天一次治療足夠使原料藥能在肺部內有充分24 h藥物覆蓋率(如實例4所示)。

【0201】 根據本發明的化合物，(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫-喹啉-2-甲酸及其假多型形式，像是例如(I-M-I)和(I-M-II)特別適用於治療及/或預防心血管、心肺和肺部病症，較佳用於心肺病症。

【0202】 因此，根據本發明的化合物，尤其(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫-喹啉-2-甲酸及其假多型形式，像是例如(I-M-I)和(I-M-II)可用於供治療及/或預防以下的藥劑中：心血管和心肺病症，諸如肺動脈高壓(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高

壓(CTEPH)以及與慢性肺病相關的肺高壓(PH) (第3類PH)，諸如慢性阻塞性肺病中的肺高壓(PH-COPD)和伴有特發性間質性肺炎的肺高壓(PH-IIP)，以及肺部病症，諸如氣喘、慢性阻塞性肺病(COPD)或肺纖維化。

【0203】在本發明的上下文中，術語「sGC調節劑」含括能夠調節sGC的兩類不同的化合物，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)。這兩類化合物作為另位調節劑直接結合至sGC。sGC刺激劑具有雙重作用模式，不仰賴NO直接刺激天然sGC，並透過穩定NO-sGC結合使sGC對低量NO敏感。相比之下，sGC活化劑結合至未被佔用的血紅素結合域，從而模擬與NO結合的血紅素，並活化病理學上經改變、對NO無反應的apo-sGC。近來的證據已證明，與許多心肺疾病相關的氧化壓力會將細胞內天然含量的sGC轉變為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)，在不同心血管病理生理條件下(諸如PH)為sGC活化劑提供基

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)。

【0204】在本發明的上下文中，術語「肺高壓」包括其原發性和繼發性亞型，根據其各自的病因學，如下文依照Dana Point/Nizza分類所定義的[參見D. Montana and G. Simonneau, in: A.J. Peacock et al. (Eds.), Pulmonary Circulation. Diseases and their treatment, 3rd 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]。這些尤其包括第1類肺動脈高壓(PAH)，其中涵蓋特發性和家族性形式(分別為IPAH和FPAH)。此外，PAH還涵蓋新生兒持續性

肺動脈高壓和與膠原病(collagenoses)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、攝入某些藥物和藥劑(例如食慾抑制劑)、患有具有顯著靜脈/毛細血管成分的病症(諸如肺靜脈閉塞性病症和肺毛細血管瘤病)，或患有其他病症(諸如甲狀腺病症、糖原貯積病、高歇病、遺傳性毛細血管擴張症、血紅素病、骨髓增生性病症和脾切除術)。第2類包含患有病原性左心病症的PH患者，諸如心室、心房或瓣膜病症。第3類包含與肺部病症相關的肺高壓形式，例如伴有慢性阻塞性肺病(COPD)、間質性肺病(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、慢性高山病、遺傳性畸形)。第4類包括患有慢性血栓性及/或栓塞性病症的PH患者，例如近端及/或遠端肺動脈血栓栓塞性阻塞(CTEPH)或非血栓性栓塞(例如由於腫瘤病症、寄生蟲、異物)。第5類中歸納了不常見形式的肺高壓，諸如患有類肉瘤病、X型組織細胞增生症或淋巴管瘤病的患者。

【0205】根據本發明的化合物，尤其式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫-喹啉-2-甲酸及其假多型形式，像是例如(I-M-I)和(I-M-II)也適用於治療及/或預防肺部病症，諸如氣喘、慢性阻塞性肺病(COPD)和肺纖維化。

【0206】在本發明的上下文中，術語「氣喘」含括異質性慢性肺氣道發炎性疾病。其特徵在於症狀多變且反覆，從可逆性氣流阻塞(通常由支氣管的高反應性引起)到支氣管痙攣。症狀包括喘息、咳嗽、胸悶和呼吸急促事件。這些可能一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惡化。氣喘被認為是由遺傳和環境因素共同引起的。環境因素包括暴露於空氣污染和過敏原。其他潛在的誘因包括諸如阿司匹靈和β阻斷劑的用藥。診斷通常是基於症狀模式、隨時間對治療的反應以及肺活量測量法肺功能測試。根據症狀頻率、一秒用力呼氣容積(FEV1)和峰呼氣流速對氣喘進行分類。它也可以分

為特發性或非特發性，其中特發性是指發生第1型過敏反應的傾向。氣喘目前尚無已知的治癒方法，但可以很好地進行全身性治療。可以藉由避免誘因(諸如過敏原和呼吸道刺激物)來預防症狀，並使用吸入性皮質類固醇來抑制症狀。如果氣喘症狀仍未得到控制，除了吸入性皮質類固醇外，還可以使用長效β促效劑(LABA)和其他物質，例如抗白三烯藥劑。急性惡化症狀的治療通常使用吸入性短效β2促效劑(諸如沙丁胺醇(salbutamol)和皮質類固醇)來進行。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。一部分氣喘患者會惡化成嚴重疾病，其病因學涉及氣道發炎以及病因尚不明確的內在驅動因素。為解決這個問題，吾人研究了人類氣道平滑肌細胞(HASMC)，其鬆弛可驅使氣道支氣管擴張，其功能失調則會在嚴重氣喘時導致氣道阻塞和過敏反應。因為HASMC鬆弛可受到NO可溶性鳥苷酸環化酶(sGC)-cGMP傳訊路徑所驅動，因此來自嚴重氣喘捐贈者的HASMC可能在其sGC或支持sGC功能的氧化還原酶中帶有固有缺陷。大多數嚴重氣喘捐贈者HASMC (12/17)和肺樣品主要表現功能失調的sGC，它對NO無反應，且異二聚體含量低，而Hsp90締合高。這種sGC表型與輔助性氧化還原酶細胞色素b5還原酶、過氧化氫酶以及硫氧還蛋白-1的表現量較低，還有血紅素加氧酶1和2的表現較高有關，暗示著一個假設：由於固有的sGC功能失調，嚴重氣喘患者在其氣道平滑肌中有缺陷型NO-sGC-cGMP傳訊的傾向，復而又與影響sGC成熟和功能的細胞氧化還原酶的固有變化有關。因此，在這些病理生理條件下，sGC活化劑對這些患者來說可能是優化支氣管擴張的一個新穎目標選項(例如，參見以下參考文獻：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)。

【0207】 憑藉著其活性特徵，根據本發明的化合物，尤其式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫-喹啉-2-甲酸及其假多型形式，像是例如(I-M-I)和(I-M-II)特別適用於治療及/或預防心血管和心肺病症，諸如原發性和繼發性形式的肺高壓。

【0208】 本發明還提供了根據本發明的化合物，尤其式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫-喹啉-2-甲酸及其假多型形式，像是例如(I-M-I)和(I-M-II)的用途，其用於治療及/或預防病症，特別是心肺病症，諸如肺動脈高壓(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高壓(CTEPH)以及與慢性肺病相關的肺高壓(PH) (第3類PH)，諸如慢性阻塞性肺病(PH-COPD)中的肺高壓和伴有特發性間質性肺炎的肺高壓(PH-IIP)。

【0209】 本發明還提供了根據本發明化的合物，尤其式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫-喹啉-2-甲酸及其假多型形式，像是例如(I-M-I)和(I-M-II)的用途，其用於製備用以治療及/或預防病症，特別是心肺病症，諸如肺動脈高壓(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高壓(CTEPH)以及與慢性肺病相關的肺高壓(PH)(第3類PH)，諸如慢性阻塞性肺病(PH-COPD)中的肺高壓和伴有特發性間質性肺炎的肺高壓(PH-IIP)的藥劑。

【0210】本發明還提供包含本發明化合物，尤其式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫-喹啉-2-甲酸及其假多型形式，像是例如(I-M-I)和(I-M-II)中至少一者的藥劑，其用於治療及/或預防病症，特別是心肺病症，諸如肺動脈高壓(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高壓(CTEPH)以及與慢性肺病相關的肺高壓(PH) (第3類PH)，諸如慢性阻塞性肺病(PH-COPD)中的肺高壓和伴有特發性間質性肺炎的肺高壓(PH-IIP)。

【0211】本發明還提供本發明化合物，尤其式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫-喹啉-2-甲酸及其假多型形式，像是例如(I-M-I)和(I-M-II)的用途，其用於治療及/或預防病症，特別是心肺病症，諸如肺動脈高壓(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高壓(CTEPH)以及與慢性肺病相關的肺高壓(PH) (第3類PH)，諸如慢性阻塞性肺病(PH-COPD)中的肺高壓和伴有特發性間質性肺炎的肺高壓(PH-IIP)的方法中。

【0212】本發明還提供一種用於治療及/或預防病症，特別是心肺病症，諸如肺動脈高壓(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高壓(CTEPH)以及與慢性肺病相關的肺高壓(PH) (第3類PH)，諸如慢性阻塞性肺病(PH-COPD)中的肺高壓和伴有特發性間質性肺炎的肺高壓(PH-IIP)的方法，其包含以吸入性劑型(例如呈乾粉配製物形式的乾粉吸入器)每天一次或兩次向有需要的患者投與式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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)及其假多型形式，像是例如(I-M-I)和(I-M-II)，持續一段相當於或多於兩天，較佳至少連續2至7天的時間，較佳一段至少連續14天的時間，特別是從治療開始後持續整個疾病過程，其中該sGC活化劑在吸入投與給有需要的患者時具有超過一段24小時時間的持續功效。

【0213】本發明進一步是有關式I之sGC活化劑的吸入性劑型，特別是比較例11，式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫-喹啉-2-甲酸及其假多型形式，像是例如(I-M-I)和(I-M-II)的用途，其用於製造用治療心肺病症，諸如肺動脈高壓(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高壓(CTEPH)以及與慢性肺病相關的肺高壓(PH) (第3類PH)，諸如慢性阻塞性肺病(PH-COPD)中的肺高壓和伴有特發性間質性肺炎的肺高壓(PH-IIP)的藥劑，每天一次或兩次投與持續一段相當於或多於兩天，較佳至少連續2至7天的時間，較佳一段至少連續14天的時間，特別是從治療開始後持續整個疾病過程，其中該sGC活化劑在吸入投與給有需要的患者時具有超過一段24小時時間的持續功效。

【0214】本發明進一步是有關包含容器的套裝醫藥組成物，該容器含有乾粉吸入器(=DPI)以及包含式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸及其假多型形式，像是例如(I-M-I)和(I-M-II)的醫藥組成物，該容器進一步含有使用該乾粉的說明書，例如在一次深吸氣後個體必須屏住呼吸約2秒，以使得乾粉藥物從氣流凝結至更深的肺區域表面，它沉積的地方靠近其預期藥理作用的部位，以便治療心肺病症，諸如肺動脈高壓(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高壓(CTEPH)以及與慢性肺病相關的肺高壓(PH) (第3類PH)，諸如慢性阻塞性肺病(PH-COPD)中的肺高壓和伴有特發性間質性肺炎的肺高壓(PH-IIP)。

【0215】在一個較佳具體例中，本發明進一步有關一種包含容器的套裝醫藥組成物，該容器含有乾粉吸入器(=DPI)以及包含式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸及其假多型形式，像是例如(I-M-I)和(I-M-II)的醫藥組成物，該套裝醫藥組成物包含容器，該容器含有乾粉，該乾粉包含式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙

基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸及其假多型形式，像是例如(I-M-I)和(I-M-II)，該容器進一步含有以每天一次或兩次的頻率投與該乾粉，以便治療心肺病症，較佳肺動脈高壓(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高壓(CTEPH)以及與慢性肺病相關的肺高壓(PH) (第3類PH)，諸如慢性阻塞性肺病(PH-COPD)中的肺高壓和伴有特發性間質性肺炎的肺高壓(PH-IIP)，進一步肺部病症的說明書。

【0216】本發明進一步是有關含有至少一種本發明化合物，通常連同一或多種惰性、無毒、醫藥上合適的賦形劑的藥劑，及其供上述目的之用途。

【0217】根據本發明的化合物，尤其式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫-喹啉-2-甲酸及其假多型形式，像是例如(I-M-I)和(I-M-II)可以單獨使用，或有需要的話與其他活性化合物組合使用。本發明進一步是有關於含有至少一種本發明化合物，尤其式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫-喹啉-2-甲酸及其假多型形式，像是例如(I-M-I)和(I-M-II)，以及一或多種其他活性化合物的藥劑，其特別是用於治療及/或預防上述疾病。作為合適的組合活性化合物，我們可能提及例如並較佳：

- 有機硝酸鹽和NO供體，例如硝普鈉(sodium nitroprusside)、硝酸甘油、單硝酸異山梨酯(isosorbide mononitrate)、二硝酸異山梨酯(isosorbide dinitrate)、嗎多明(molsidomine)或SIN-1，以及吸入性NO
- Ca通道阻斷劑，用於保有血管反應性的PAH患者
- 抑制環單磷酸鳥苷(cGMP)及/或環單磷酸腺苷(cAMP)降解的化合物，例如磷酸二酯酶(PDE)1、2、3、4及/或5的抑制劑，特別是PDE 3抑制劑(如恩塞芬汀(ensifentrine))、PDE 4抑制劑(諸如羅氟司特(roflumilast)、他尼司特(tanimilast)或瑞威斯特(revamilast))和PDE 5抑制劑(諸如西地那非、伐地那

非(vardenafil)、他達拉非(tadalafil)、烏地那非(udenafil)、達桑他非(dasantafil)、阿伐那非(avanafil)、米羅地那非(mirodenafil)或洛地那非(lodenafil))；

• 鳥苷酸環化酶的NO非依賴性但血紅素依賴性刺激劑，特別是利西呱和描述於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中所述的化合物；

• 前列環素類似物和IP受體促效劑，例如且較佳伊洛前列素(iloprost)、貝拉前列素(beraprost)、曲前列環素(treprostinil)、依前列醇(epoprostenol)或NS-304；

• 內皮素受體拮抗劑，例如且較佳波生坦、達魯生坦(darusentan)、安立生坦(ambrisentan)或西他生坦(sitaxsentan)；

• 人類嗜中性球彈性蛋白酶(HNE)抑制劑，例如且較佳西維來司他(sivelestat)或DX-890 (Reltran)；

• 抑制信號轉導級聯的化合物，特別是來自酪胺酸激酶抑制劑的群組，例如且較佳達沙替尼(dasatinib)、尼羅替尼(nilotinib)、伯舒替尼(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)、瓦他尼布(vatalanib)、吉非替尼(gefitinib)、厄洛替尼(erlotinib)、拉帕替尼(lapatinib)、卡奈替尼(canertinib)、(lestaurtinib)、來他替尼(pelitinib)、塞馬尼布(semaxanib)、馬賽替尼(masitinib)或坦度替尼(tandutinib)；

• 作為配體阱的化合物，對TGF-β超家族中的多種蛋白質具有高度選擇性，包括活化素、GDF和其他被認為能阻斷TGF-β超家族傳訊路徑者，從

而促進第II型骨形態發生蛋白受體(BMPR-II)信號傳導的再平衡，並有可能像索特西普一樣恢復血管穩態

- Rho激酶抑制劑，例如且較佳法舒地爾(fasudil)、Y-27632、SLx-2119、BF-66851、BF-66852、BF-66853、KI-23095或BA-1049；
- 抗阻塞劑，例如用於治療慢性阻塞性肺病(COPD)或支氣管氣喘，例如且較佳吸入或全身投與的β-受體模擬物(例如沙丁胺醇、沙美特羅(salmeterol))或吸入投與的抗毒蕈鹼能物質(如異丙托銨(ipratropium)、噻托溴銨(tiotropium))；
- 消炎劑及/或免疫抑制劑，例如用於治療慢性阻塞性肺病(COPD)、支氣管氣喘或肺纖維化，例如且較佳全身或吸入投與的皮質類固醇、富馬酸福莫特羅(flutiform)、吡非尼酮(pirfenidone)、乙醯半胱胺酸、硫唑嘌呤或BIBF-1120，尼達尼布(nintedanib)或曲前列環素(treprostinil)；
- 用於全身性及/或吸入性治療肺病的活性化合物，例如囊性纖維化(α-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-β-1a、創傷因子(traumakine)、PEG-腎上腺髓質素、吸入型sGC調節劑，例如BAY1211163)、阻塞性睡眠呼吸暫停(VI-0521、TASK通道阻滯劑和ADRA2C拮抗劑)、支氣管擴張(甘露醇、環丙沙星(ciprofloxacin))、閉塞性細支氣管炎(環孢菌素((cyclosporine)、胺曲南(aztreonam))；
- 抗血栓劑，例如並且較佳選自血小板聚集抑制劑、抗凝血劑或促纖維蛋白溶解物質之群。

【0218】 抗血栓劑較佳理解為來自血小板聚集抑制劑、抗凝血劑或促纖維蛋白溶解物質之群的化合物。

【0219】 在本發明的較佳具體例中，本發明化合物與血小板聚集抑制劑(例如且較佳阿司匹靈(aspirin)、氯吡格雷(clopidogrel)、噻氯匹定(ticlopidine)或雙嘧達莫(dipyridamole))組合投與。

【0220】 在本發明的較佳具體例中，本發明化合物與凝血酶抑制劑(例如且較佳希美加群(ximelagatran)、美拉加群(melagatran)、達比加群(dabigatran)、比伐盧定(bivalirudin)或Clexane)組合投與。

【0221】 在本發明的較佳具體例中，本發明化合物與GPIIb/IIIa拮抗劑(例如且較佳替羅非班(tirofiban)或阿昔單抗(abciximab))組合投與。

【0222】 在本發明的一個較佳具體例中，本發明化合物與因子Xa抑制劑(例如且較佳利伐沙班(rivaroxaban)、阿哌沙班(apixaban)、非地沙班(fidexaban)、雷沙班(razaxaban)、磺達肝素(fondaparinux)、依德拉肝素(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)組合投與。

【0223】 在本發明的較佳具體例中，本發明化合物與肝素或低分子量(LMW)肝素衍生物組合投與。

【0224】 在本發明的一個較佳具體例中，本發明化合物與維生素K拮抗劑(例如並較佳香豆素(coumarin))組合投與。

【0225】 用於降低肺血壓的藥劑較佳地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之群的化合物。

【0226】 在本發明的較佳具體例中，本發明化合物與鈣拮抗劑(例如且較佳硝苯地平(nifedipine)、氨氯地平(amlodipine)、維拉帕米(verapamil)或地爾硫卓(diltiazem))組合投與。

【0227】 在本發明的一個較佳具體例中，本發明化合物與內皮素受體拮抗劑(例如且較佳波生坦、達盧生坦(darusentan)、安立生坦(ambrisentan)或西他生坦(sitaxsentan))組合投與。

技術目標

【0228】 考量到當前技藝的背景，本發明目標是提供一種基於適當載劑的乾粉配製物，其包含與乳糖載劑組合之式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，較佳式(I-M-I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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(I-M-II)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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，以獲得適當的吸入性藥劑，供用於治療心肺病症，諸如肺動脈高壓(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高壓(CTEPH)以及與慢性肺病相關的肺高壓(PH) (第3類PH)，諸如慢性阻塞性肺病(PH-COPD)中的肺高壓和伴有特發性間質性肺炎的肺高壓(PH-IIP)。

【0229】 為了開發出用於治療心肺病症，諸如肺動脈高壓(PAH)以及與慢性肺病相關的肺高壓(PH) (第3類PH)，諸如慢性阻塞性肺病(PH-COPD)中的肺高壓和伴有特發性間質性肺炎的肺高壓(PH-IIP)的合適吸入性藥劑，必需滿足有關原料藥和藥品的某些技術與醫學需求和要求。

【0230】 首先，活性成分(原料藥)需要具有合適的物理化學、藥動學和藥效學性質，例如原料藥必須適於吸入性治療，並且必須有足夠的功效來治療心肺病症。此外，活性成分在設想的pH形式中應具有清楚的功效，也在護理標準

(SoC，例如內皮素拮抗劑(諸如波生坦)、PDE5抑制劑(例如西地那非)、IP促效劑(例如伊洛美定)、鈣通道阻滯劑(例如和sGC刺激劑，例如利奧西呱))之上。此外，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(相對於全身性作用)，例如高肺選擇性、低至無VQ-不匹配、其在肺內投藥後的肺滯留時間及/或其作用持續時間。原料藥應適於長期治療方案/使用。此外，原料藥應證明通氣獲得改善，例如支氣管擴張效用及/或對氣道高反應性和發炎的抑制作用，因此特別適用於治療肺動脈高壓(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高壓(CTEPH)以及與慢性肺病相關的肺高壓(PH) (第3類PH)，諸如慢性阻塞性肺病(PH-COPD)中的肺高壓和伴有特發性間質性肺炎的肺高壓(PH-IIP)。

【0231】 原料藥(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，及其式(I-M-I)和(I-M-II)的假多型形式應具有持續的血管舒張和支氣管擴張功效超過一段12小時，至多24小時的時間，其特徵在於例如肺血液動力學的改善，導致較低的肺血管阻力(PVR)、6分鐘步行測試中的步行距離改善、NYHA(紐約健康協會)患者分類的轉變或肺功能改善，例如FEV1 (一個人在用力呼吸的第一秒內可以呼出的用力呼氣容積)更高和比氣道阻力(sRaw)更低，這是一種表明吸入投藥時在健康肺部中有支氣管擴張活動的參數。

【0232】 此外，活性成分(原料藥)需要以明確的穩定結晶形式提供，以適用於乾粉醫藥配製物，並以特定的、優化的吸入劑量方案投藥，以供治療心肺病症。

【0233】 此外，最終藥品(配製物)必須具有合適的性質，例如充分的化學穩定性和足夠的氣溶膠性能，以便在對患者的副作用很小或沒有副作用的情況下將原料藥以足夠的量遞送至目標器官(例如肺部)。需要足夠的物理化學穩定性來保持活性成分的化學結構並且避免無法接受的降解或立體化學轉換。更重要

的是，需要維持物理形態，以免改變影響到活性成分藥動學行為的生物製藥性質。穩定且適當的氣溶膠性能意味著在平均遞送劑量和遞送劑量的均勻性上可再現的藥物遞送，以及最終劑型中可用標稱藥物劑量有理想高部分可再現藥物遞送至作用部位。實際上，藉由諸如級聯衝擊的空氣動力學粒度分布的適當分析方法進行測試，大部分微粉化細活性成分顆粒應以細粒劑量(或者細粒質量)和相對於遞送劑量及/或標稱劑量的細粒分率(以%計)來回收。

【0234】發明人出乎意料發現到，式I之(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸可以藉由經改善的化學方法按照可靠的方式大規模製造。

【0235】此外，發明人發現到，式(I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸以穩定的結晶形式存在，像是例如式(I-M-I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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，較佳式(I-M-I)的單水合物I。

【0236】此外，發明人出乎意料發現到，式(I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸的結晶形式可以藉由一種新穎的、選擇性結晶方法得到，較佳地單水合物形式I (I-M-I)可以選擇性地由甲醇和水，或甲醇、丙酮和水結晶得到。

【0237】因此原料藥式(I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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性劑型、藥劑和吸入性劑量方案的形式(較佳DPI)提供。

【0238】 令人驚訝的是，sGC活化劑(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸及其假多型形式，像是例如(I-M-I)和(I-M-II) (參見E-1)的臨床前實驗揭示，在PAH動物模型中的肺選擇性有所增進且作用持續時間延長(在吸入型施用後沒有全身性血壓(=BP)降低影響的情況下延長選擇性肺動脈壓(=PAP)降低) (參見實驗部分E-1)。此外，已經研究了作用持續時間的預測和人類劑量的預測。考慮到100 μg/kg在小形豬模型中作為有效劑量，300-1370 μg肺部沉積劑量被假定為有效劑量，這取決於對不同物種間蛋白質結合的考慮。

【0239】 最後研究了活性成分的不同假多型形式的藥理學作用。在這個急性PAH模型中，所有包含比較例11的結晶形式(例如倍半水合物實例6e)的乾粉配製物於吸入施用後選擇性地且劑量依賴性地降低PAP，具有至少4 h的長作用持續時間。就增加施用劑量來說，觀察到清楚的劑量反應曲線(參見E-1)。

【0240】 這些發現結果支持(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸及其假多型形式單水合物I (實例4)或單水合物II (實例2)，用於每天一次或兩次吸入性治療方案的合宜性，該治療方案包含240至4000 μg，較佳480至2000 μg的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸用於治療心肺疾病，諸如肺動脈高壓(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高壓(CTEPH)以及與慢性肺病相關的肺高壓(PH) (第3類PH)，諸如慢性阻塞性肺病(PH-COPD)中的肺高壓和伴有特發性間質性肺炎的肺高壓(PH-IIP)。

【0241】 測試本發明之式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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)，和比較例3、4與5，以便在小型豬模型中評估肺選擇性還有作用持續時間

(E-1)。儘管所有3種化合物都顯示出合適的肺選擇性，但只有比較例11和比較例4顯示出足夠的作用持續時間。比較例11顯示選擇性PAP作用，在240 min的整個觀察區間內具有最大效用，而比較例3顯示其在吸入施用後30 min對PAP的效用最大，在120 min後又完全消失。在經有意識缺氧挑戰的狗模型中，針對比較例11和比較例4的作用持續時間進行評估。在這個模型中，與比較例4不同，比較例11顯示了持續高達17 hrs的一致長效用持續時間(PAP降低)。因此，與比較例3、4和5 (在WO 14/012934-A1中揭示為實例2、37和39)相比，對應於本發明的比較例11，其為最適合每天一次至兩次的治療方案。

【0242】 此外，在首次臨床研究中(參見實驗部分E-2.1)，吾人發現sGC活化劑(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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形式(實例4)於肺部中提高了cGMP含量(作為sGC活化的第二信使分子，當作藥物濃度替代物) (目標接合的指標)，且健康志願者在乾粉施用後一段超過12 hr、至多24 hr的時間內有利的支氣管擴張性質(例如總比氣道阻力(sRaw)降低，是一個指示肺部支氣管擴張活動的參數)，這在臨床上支持肺滯留時間較長以及(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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形式(實例4))成功用於治療心肺疾病。在健康志願者中，觀察到至多4000 μg的劑量對全身性血壓並無臨床上有意義的影響。

【0243】 此外，於肺高壓患者中，吾人發現在劑量高達4000 μg(包括4000 μg在內)下肺動脈壓和肺血管阻力有選擇性降低，而對全身性血壓沒有臨床上相關影響。直到3h的測量期結束(>3h的測量期在技術上是不可行的)時，效用一直持續且反應沒有降低直到結束。在這個研究中，從實例4所測得的長血漿半衰期可以推論有超出3h測量值的肺滯留時間(推測在乾粉施用後一段超過12hr，至多24 hr的時間) (參見實驗部分E-2.4)。

【0244】 此外，原料藥(實例4)在經口、靜脈內和吸入性投藥後的血漿濃度分析證實，吸入性施用後的活性成分半衰期最長(E-2.3)。在吸入1000 μg後，人體內的排放(肺)劑量經測定為720 μg。這個研究的結果確認了肺劑量且半衰期對於吸入型乾粉投藥來說是足夠的，每天治療一次使得實例4在肺部裡有充分24 h藥物覆蓋率。

【0245】 總之，所有結果證明，式(I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，以及其假多型形式(例如像是(I-M-I)和(I-M-II)，尤其是式(I-M-II)的單水合物I)特別適於治療肺動脈高壓(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高壓(CTEPH)以及與慢性肺病相關的肺高壓(PH) (第3類PH)，諸如慢性阻塞性肺病(PH-COPD)中的肺高壓和伴有特發性間質性肺炎的肺高壓(PH-IIP)，並且對於吸入型乾粉投藥來說是足夠的，每天治療一次使得實例4在肺部裡有充分24 h藥物覆蓋率。

【0246】 這些發現還支持(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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形式(實例4)供每天一次或兩次吸入性治療方案的適用性，該治療方案包含240至4000 μg，較佳480至2000 μg的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，持續一段相當於或多於兩天，較佳至少連續2至7天的時間，較佳持續一段至少連續14天的時間，特別是從治療開始後持續整個疾病過程，供用於治療心肺疾病，諸如肺動脈高壓(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高壓(CTEPH)以及與慢性肺病相關的肺高壓(PH) (第3類PH)，諸如慢性阻塞性肺病(PH-COPD)中的肺高壓和伴有特發性間質性肺炎的肺高壓(PH-IIP)。

【0247】 此外，吾人發現到，(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，尤其呈其

單水合物I形式(實例4)具有有益的物理化學性質，例如蛋白質結合和CACO通量(參見實驗部分E-3.1(Caco滲透性)和E-3.2(蛋白質結合))，其使得(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，尤其呈其單水合物I形式(實例4)因為乾粉吸入至肺部而成為一種供局部治療心肺疾病的合適化合物。此外，吾人的數據指出，(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，特別是呈其單水合物I形式(實例4)(I-M-I)，不僅顯示經由肺部內的選擇性血管舒張作用而有效降低PAP，且與西尼西呱相比，它還顯示出更為持久的支氣管擴張性質，可能有益於每天一次或兩次吸入性治療罹患慢性肺病的PH患者(第3類PH)，甚至有治療肺功能有限的患者(例如氣喘患者)的潛力。

【0248】 因此，原料藥，例如本發明(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸及其假多型形式(I-M-I)和(I-M-II)具有優異的主要藥理學性質：

- (5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸是一種有效且具選擇性的sGC活化劑，並在吸入後在PH治療方面提供了一種新方法。
- 在不同疾病相關動物模型(經凝血脂素(thromoboxane)和缺氧挑戰的大鼠、豬和狗)中，(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸於吸入施用後選擇性地降低升高的PAP且作用持續時間長，建議每天施用兩次。
- 與全身性施用的血管擴張劑相比，在作為VQ-不匹配替代物的單側通氣小型豬模型中，(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸於吸入施用後，降低PAP但對氧合作用沒有負面影響。

- 在PAH護理標準(SoC) (例如波生坦、西地那非、伊洛美定和利奧西呱)之上，(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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PAH小型豬模型中吸入施用後選擇性地降低升高的PAP。
- (5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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實驗條件(1H-[1,2,4]-噁二唑并[4,3-a]喹喏啉-1-酮，一種高度選擇性、不可逆、可溶性鳥苷酸環化酶[ODQ]的血紅素位點抑制劑，L-Nω-硝基精胺酸甲酯[LNAME]處理)下得到增強。
- 關於通氣，(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸證實有支氣管擴張效用(乙醯膽鹼[ACh]大鼠模型)和對氣道高反應性與發炎(慢性卵白蛋白氣喘小鼠模型)的抑制性作用。
- 在三種不同類型的投藥(經口、靜脈內、吸入)後，測量(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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形式(實例4)的血漿濃度，並揭示了吸入施用後的最長消除半衰期。
- 吸入1000 μg後，在人體內的排放(肺)劑量被測定為720 μg。
- 在人體內使用呈其式(I-M-I)之結晶形式單水合物I形式(實例4)的sGC活化劑(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸的首次研究證明，在最高測試劑量為4000 μg (含4000 μg)下，有sGC活化作用以及肺滯留時間長，加上支氣管擴張性質且選擇性地降低肺動脈壓和肺血管阻力，且有良好的局部和全身性耐受性。

【0249】因此，原料藥，例如本發明式(I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸及其假多型形式(I-M-I)和(I-M-II)在患者中具有絕佳的主要藥理學和藥效學性質，包括肺動脈壓(mPAP)和肺血管阻力(PVR)降低、藉由例如FEV1測得的支氣管擴張、具有低至無全身性不良反應的肺選擇性(特別是對全身血液動力學，諸如臨床上相關的血壓或心率變化)以及VQ-不匹配的增加很少或沒有增加以避免相關的去飽和作用，此外肺內投藥後有充分的肺滯留時間及/或足夠的作用持續時間。

【0250】令人驚訝的是，已經發現到局部投藥(尤其是吸入性投藥)(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，尤其單水合物I有可能成功控制心肺病症，諸如肺動脈高壓(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高壓(CTEPH)以及與慢性肺病相關的肺高壓(PH)(第3類PH)，諸如慢性阻塞性肺病(PH-COPD)中的肺高壓和伴有特發性間質性肺炎的肺高壓(PH-IIP)。從醫學觀點來看，肺內的活性成分濃度可以長期維持在就最佳治療而言所需的程度。除了疾病部位較高和長效的活性成分含量外，還可以同時實現相對較低的活性成分全身性濃度，從而可以避免用藥的副作用，例如沒有臨床上相關的全身性血壓降低。

【0251】出乎意料的是，原料藥可以呈單一的、結晶和化學上穩定的形式提供，即式(I-M-I)的單水合物I。這種形式在微粉化條件下也是穩定的。

【0252】令人驚訝的是，本發明醫藥乾粉配製物的特徵在於優異的氣溶膠性能(例如高細粒劑量、細粒分率和相對於標稱劑量的遞送劑量)還有充分的化學穩定性。此外，本發明醫藥乾粉配製物可以藉由新方法(例如摻合物均勻性)以技術上可靠的方式來製得。

【0253】 出乎意料的是，包含式(I)之(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸(呈其鹽或溶劑合物或水合物之一的形式)，較佳式(I-M-I)之(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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與乳糖載劑(包含呈粗乳糖和細乳糖之混合物的乳糖單水合物)的醫藥乾粉配製物適用於吸入性治療心肺病症，諸如肺動脈高壓(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高壓(CTEPH)以及與慢性肺病相關的肺高壓(PH) (第3類PH)，諸如慢性阻塞性肺病(PH-COPD)中的肺高壓和伴有特發性間質性肺炎的肺高壓(PH-IIP)。

【0254】 鑑於先前技術，這些發現是無法預知的，因為式(I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸的優異主要藥理學以及藥效學性質，尤其是與像是例如比較例3、4和5的類似5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸相比，其作用持續時間更長既非公眾所知，也無法預見。

【0255】 此外，這些發現是不可預見的，因為假多型形式，尤其是穩定的結晶水合物並非公眾所知。

【0256】 令人驚訝的是，在微粉化以及穩定性研究後，單水合物形式I (I-M-I) (實例4)被鑑定為式(I)之(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸。

【0257】 此外，令人驚訝的是，變體I (I-M-I)可藉由從甲醇、丙酮水進行選擇性結晶而獲得。

【0258】 另外，尚不知包含式(I)之酸或其任何結晶形式(像是例如單水合物形式I (I-M-I)或單水合物形式II (I-M-II))的吸入性固體載劑配製物。

【0259】因此，本發明之技術目的是提供新穎的、穩定的醫藥乾粉配製物，其包含呈其鹽或溶劑合物或水合物之一的形式之式(I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，較佳式(I-M-I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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具有優異的氣溶膠性能(例如細粒劑量、細粒分率和相對於標稱劑量的遞送劑量的重要結果)以及充分的化學穩定性，這些屬性是藉由將微粉化的呈其鹽或溶劑合物或水合物之一的形式之式(I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，較佳式(I-M-I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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與乳糖載劑(由粗粒部分和細粒部分組成)予以摻合而達致。

【0260】發明人意外發現到，包含呈其鹽或溶劑合物或水合物之一的形式之式(I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，較佳式(I-M-I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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可以藉由將活性成分與載劑合併來製造，其中載劑是乳糖載劑，其包含呈粗乳糖和細乳糖之混合物的乳糖單水合物。

【0261】為了獲得本發明醫藥乾粉配製物，重要的是調整a)原料藥和乳糖載劑和b)使用經設計和訂製的乳糖載劑(包含呈粗乳糖和細乳糖之混合物的乳糖單水合物)之間的特定比例，以及c)使用具有特定粒度的原料藥和粗乳糖與細乳糖，特別是具有以下規格：

A) 具有粒度為X90 ≦ 6 μm及/或X50介於1.0 - 3.0 μm的活性成分式(I-M-I)之(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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) 具有粒度為X90至少或≧ 115 μm，或至少或≧ 120 μm，或至少或≧ 200 μm的粗乳糖；及/或具有粒度為X50至少或≧ 50 μm，或至少或≧ 75 μm或至少或≧ 125 μm的粗乳糖

C) 具有粒度為X90 < 30 μm或≦ 10 μm的細乳糖；及/或具有粒度為X50 ≦ 5 μm或< 10 μm的細乳糖

且其中配製物/乾粉摻合物的粗乳糖含量介於94.25%和75%，也介於98.25%和75%。

【0262】 原料藥與特定比例的乳糖載劑組份(即粗乳糖和細乳糖)的特定組合，所有組份均具有特定粒度，此外配製物/乾粉摻合物的明確粗乳糖含量導致技術效果，即潛在的醫藥乾粉配製物顯示出優越的氣溶膠性能(例如高細粒劑量、細粒分率和相對於標稱劑量的遞送劑量)，並且在某段時間內具有充分的化學穩定性。

【0263】 藥物顆粒暫時結合至載劑顆粒，但隨後於吸入期間需要在吸入氣溶膠流中從載劑顆粒中被釋放出來，從而可以到達肺部深處區域，產生優異的氣溶膠性能。微粉化藥物顆粒強力結合至乳糖載劑顆粒上可能尤其發生在像I-M-I這樣的化合物上，據觀察，它對多種類型的表面(例如分析型玻璃器皿和醫藥生產設備的表面，硬膠囊的表面和乾粉吸入裝置的表面)具有強黏附性質。乳糖細粒可以佔據乳糖載劑顆粒上的活性位點，從而降低黏合混合物中強力結合藥物之顆粒比例，並增加於吸入條件下被釋放的部分(細粒劑量/細粒分率)。本發明基於載劑的乾粉配製物的優異氣溶膠性能是因為微粉化活性成分顆粒針對

肺部深處遞送所設計的最佳臨時結合，肺部深處遞送可以藉由乾粉吸入裝置中的氣流能量克服而將藥物顆粒與載劑分離並使藥物顆粒解聚。

【0264】 透過優化和訂製以下技術參數，以實現了微粉化活性成分顆粒的最佳暫時性結合：

乳糖載劑組份(即粗乳糖和細乳糖)的特定比例

針對所有組份挑選特定的粒度

以及配方/乾粉摻合物的明確的粗乳糖含量。

【0265】 這些參數至關重要，以便獲得具有優異氣溶膠性能的本發明之基於載劑的乾粉配製物。

【0266】 為了根據本發明提供用於治療心肺病症的經改良吸入性劑量方案，重要的是以明確吸入性形式提供特定劑量的特定原料藥，其中標稱劑量足以治療預期的心肺疾病。

【0267】 為了確定足夠的人類劑量，有必要挑出對PAH最具預測性的動物模型，並測定最小有效劑量，且定義出首次臨床研究中待評估的劑量範圍(最小有效劑量、有效劑量和最大耐受劑量)。

【0268】 因此，活性成分應該每天一次或兩次被投與給有需要的患者，持續一段至少相當於或超過兩天，較佳至少連續五至七天的時間，該活性成分呈吸入性劑型，包含240至4000 μg，較佳480至2000 μg。

【0269】 因此，本發明醫藥乾粉配製物是用於治療心肺病症，諸如肺動脈高壓(PAH)以及與慢性肺病相關的肺高壓(PH) (第3類PH)，諸如慢性阻塞性肺病(PH-COPD)中的肺高壓和伴有特發性間質性肺炎的肺高壓(PH-IIP)的合適藥劑。

人類劑量估算

【0270】 本發明配製物的特徵在於遞送劑量(DD)，其是藉由過濾器收集管方法來測定，而細粒劑量(FPD)是藉由級聯衝擊(cascade impaction)來測定。測定

遞送劑量和細粒劑量的分析方法一般描述於藥典中，因為這些方法與可吸入劑型(例如乾粉吸入配製物)所使用者一致，並構成品質控制的慣例，例如臨床使用的DPI產品的放行。

【0271】已經發現到，具有不同標稱劑量的不同配製物會導致不同的遞送劑量，更重要的是，導致表徵有效劑量的某些細粒劑量，因為它被遞送到肺部深處到達作用部位。理論上，遞送劑量和細粒劑量和分率與填充粉末劑量呈線性關係，但由於幾個不能可靠預測的交互作用因素，實際上可能有所不同，還需要相關研究。期望遞送劑量盡可能接近標稱劑量。在實務上，遞送劑量永遠不會100%符合標稱劑量，因為在吸入膠囊的表面和使用過的乾粉吸入器的氣溶膠路徑上總是會留下某個程度的殘餘物。當然，這種性質在很大程度上取決於活性成分的物理化學性質及其從粉末摻合物的釋放行為。同樣地，相對於填充的標稱活性成分含量，希望細粒劑量和細粒分率盡可能為高，以盡可能好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肺部深處以外的其他隔室的部分(例如因為吞嚥經由較大藥物顆粒的經口衝擊)。

【0272】由於可吸入配製物的本質，並且與例如口服固體配製物相反，並不是所有的標稱含量都會被遞送到肺部裡。可以定義幾個分率，這些分率由特定分析方法進行活體外特徵鑑定，且協助估算於吸入期間被遞送給患者的劑量分率(遞送劑量或排放劑量)還有低於例如5 μm或4.5 μm (取決於FPD的定義，尺寸截止值以μm計)的細粒分率，因為預期細粒會到達氣道深部和肺泡(細粒劑量)。有關概述，參見下表1。

表1：關於吸入性藥品劑量的術語定義

術語	縮寫	定義	同義詞或等效術語
標稱劑量	ND	膠囊(臨床研究)或霧化器(藥理學動物實驗)中填充的 API 總劑量。	膠囊劑量、膠囊強度、膠囊上標示的原料藥數量。
排放劑量	ED	在規定的實驗室測試條件下，於吸嘴處	對應於遞送劑量

		實際離開設備的劑量。	
遞送劑量	DD	估計或計算出被動物吸入的劑量(從鼻尖/嘴尖到肺泡)的劑量或人類可利用的原料藥量，前裝置，基於每劑量。	對應排放劑量
肺部沉積劑量	LDD / LD	被認為到達相應動物或人類肺部(氣管支氣管和肺部沉積)的劑量。	認為 FPD (活體外測得)對應於人體內的肺部沉積劑量。
細粒劑量	FPD	藉由活體外級聯衝擊分析測得的空氣動力學粒度分布(ASPD)函數計算的參數。吸入器每次啟動或劑量遞送的活性醫藥成分(API)的質量包含在空氣動力學直徑小於 4.5 - 5 μm 的顆粒中(例如根據歐洲藥典)。	就 DPI 來說，假設 FPD 基本上相當於人類肺部沉積劑量
細粒分率	FPF	根據與 ED/DD 或標稱劑量相關的 FPD，細粒質量的分率(以%計)	

藥動學/藥效學(PK/PD)關係的評估

【0273】 就預測人類最小有效劑量和有效劑量(MED、ED)來說，經麻醉之受到凝血脂素A2攻擊的PAH-小型豬模型(參見實驗部分E-1)被認為是最為密切且最為靈敏的模型。為了測定有效LD，重複實驗，不同之處在於吸收過濾器連接在管路末端以便測定沉積的肺劑量。比較例11的霧化導致平均霧化效率為標稱施用劑量的5%，使得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)。假設最小有效ND為3 μg/kg (PAP減少5%)，則最小有效沉積LD被認為是0.15 μg/kg (見圖1)。

【0274】 小型豬模型的3、10、30和100 μg/kg標稱劑量乘以5%的過濾器沉積係數，得到小型豬的肺部沉積劑量為0.15、0.5、1.5和5 μg/kg。將這些值乘以60 kg即可得到人體內的肺劑量。因此，反映60 kg人類的PAP減少的FPD經計算為9、30、90和300 μg。

【0275】 因此，經由從小型豬的直接按規模放大，基於60公斤體重，人類的預測MED (5% PAP減少)計算為9 μg LDD，不考慮呼吸道內的蛋白質結合。作為未結合濃度的替代物(其可能是肺中的活性濃度)，吾人考慮了小型豬和人類血

漿中未結合分率的對應差異。假設PAP減少5%，這種考慮導致60 kg參與者的最小有效肺劑量(LD)為41 µg LDD。因此，基於60公斤體重，預測最低人類有效劑量在9 µg LDD至41 µg LDD範圍內(參見圖2)。

表2：在考慮和不考慮蛋白質結合的物種間差異下的有效肺劑量

小型豬的相對肺部沉積劑量 [µg/kg]	60 kg 人類的總肺部沉積劑量 [µg]	
	不考慮蛋白質結合的物種間差異 a	考慮蛋白質結合的物種間差異 b
0.15 µg/kg (3 µg/kg 標稱劑量)	9	41
0.50 µg/kg (10 µg/kg 標稱劑量)	30	137
1.5 µg/kg (30 µg/kg 標稱劑量)	90	410
5.0 µg/kg (100 µg/kg 標稱劑量)	300	1370

a 計算(小型豬的相對肺部沉積劑量 x 60 kg)
b 計算(小型豬的相對肺部沉積劑量 x 60 kg x 4.55(未結合小型豬 (血漿 fu 0.348%)/人(血漿 fu 0.0764%)的分率比例))

【0276】 根據如表2中所列的小型豬的相對肺部沉積劑量，還針對有效劑量(有效PAP降低>五%到至多35%，持續時間至多4小時的完整觀察期)進行了這個轉換。

【0277】 因此，根據小型豬數據，預期人類的有效肺部沉積劑量在9 µg至1370 µg範圍內。

【0278】 考慮到100 µg/kg在小型豬模型中做為最高有效劑量且無全身性副作用(BP降低)，對應最大有效人類LDD為1370 µg，9-1370 µg肺部沉積劑量被假定為有效劑量，取決於不同的物種間蛋白質結合(參見表2)。就DPI產品來說，假設細粒劑量(FPD)基本上相當於人類肺部沉積劑量。

【0279】 為了解決對大範圍肺部沉積劑量的需求並將其轉換為要製造之乾粉吸入膠囊的細粒劑量(FPD目標)的技術規格，進行了一些計算和逼近。大體上，如果細粒分率達到標稱劑量的20%以上，則認為基於粉末摻合物載劑配製物的可吸入產品具有出色的性能。此外，就高性能吸入產品來說，需要與遞送劑量相近的高FPF (%)，目標為≧30%。考慮到技術和實務因素(粉末摻合物中的活性濃度和摻合物的膠囊填充質量)，FPD目標隨後用於確立成品乾粉吸入膠囊的明確標稱劑量。FPD和DD目標以及對應標稱劑量列於以下兩個表3和4中。

表3：標稱劑量目標和細粒劑量和%分率(ds)的目標

膠囊標稱劑量[μg]	平均 FPF (標稱的 FPD%)	平均 FPF (DD 的 FPD%)	<4.5μm 的平均 FPD (目標 a) [μg]	< 4.5μm 的最低 FPD (目標的 65%b) [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)由標稱目標的FPF%算出的目標值

b)最低目標是因為製造和分析測定的預期可變性而建立的。

【0280】 就遞送劑量和標稱劑量之間的關係來說，沒有一般性結合(例如藥典)要求，因為不同活性成分的性質非常不同，具有不同的性質及其製造的醫藥配製物，故無法定義這一點。相反，遞送劑量的均勻性是由藥典定義，以確保劑量間的一致性。目標遞送劑量是一個經驗參數，在標準化條件下使用明確的乾粉吸入裝置由多次測定明確劑型而產生。預期平均遞送劑量應在目標DD的

85-115%範圍內。最低遞送劑量要求佔平均遞送劑量範圍下限85%。目標遞送劑量百分比(從標稱的≧50%到≧65%)被定義為非線性的所有標稱劑量，需要考慮相對較高含量的活性成分黏附在例如膠囊和裝置表面，特別是較低的標稱填充劑量下。

表4：標稱劑量、DD 目標和相關的最小遞送劑量

膠囊標稱劑量[μg]	平均 DD (標稱的%)	平均 DD (目標 A) [μg]	最低 DD (目標的 85%) [μg]
60	≧ 50%	30	26
75	≧ 50%	38	32
120	≧ 60%	72	61
480	≧ 60%	288	245
500	≧ 60%	300	255
1000	≧ 65%	650	553
2000	≧ 65%	1300	1105
3000	≧ 65%	1950	1658
6000	≧ 65%	3900	3315
9000	≧ 65%	5850	4973

【0281】因此，本發明醫藥乾粉配製物是用於治療心肺病症(諸如肺動脈高壓(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高壓(CTEPH)以及與慢性肺病相關的肺高壓(PH)(第3類PH)，諸如慢性阻塞性肺病中的肺高壓(PH-COPD)和伴有特發性間質性肺炎的肺高壓(PH-IIP))的合適藥劑。

發明的詳細說明

吸入用配製物

活性成分

【0282】本發明供乾粉吸入的固體製品在針對活性化合物之適合吸入級載劑的基質中含有某量的活性成分(即式(I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹

啉-2-甲酸，較佳呈式(I-M-I)之單水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，尤佳呈式(I-M-I)之單水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸)，其不超過約20%。通常活性成分的量介於0.5%和20%，較佳介於0.75%和10%。基於即用製品，其中的活性成分量通常為以重量計至少0.75%、或至少3%、或至少5%或至少10%。非常偏好具有3%、10%或20%活性成分含量的粉末摻合物。

【0283】本發明供乾粉吸入的固體製品含有活性成分(即式(I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，較佳呈式(I-M-I)之單水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，尤佳呈式(I-M-I)之單水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，其具有一定粒度，適合吸入性施用)。

【0284】根據本發明，活性成分(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，較佳呈式(I-M-I)之單水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-

基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，尤佳呈式(I-M-I)之單水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸的粒度分布如下表中所定義。

表5：活性成分(例如式(I-M-I)或(I-M-II)化合物)的粒度分布

粒度上限 X90	最大值 6 μm
粒度平均 X50	1 - 3 μm
粒度下限 X10	最大值 1 μm

【0285】 有關吸入性藥品，重要的是要保證原料藥的均質性，其明確的粒度<5 μm，以確保遞送到肺部深處隔室。這樣的技術要求可以透過原料藥顆粒的微粉化來達成(參見實驗部分B，實例8)。

【0286】 如表5中明確指出為了要達到這個要求而設定的活性成分粒度分布的適當規格。

【0287】 因此，為了確保活性物質適當遞送到目標部位，尤其是氣道深處和肺泡，發明人發現提供活性成分式(I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，較佳呈式(I-M-I)之單水合物I形式或呈式(I-M-II)之單水合物II形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，較佳呈式(I-M-I)之單水合物I形式是必不可少的，其粒度為X90=最大值6 μm及/或X50 1 - 3 μm及/或X10最大值1 μm。

乳糖載劑

【0288】 本發明供乾粉吸入的固體製品大體上含有數量不超過約99.25%之用於活性化合物的合適載劑。通常吸入級載劑的數量介於99.25%和80%，較佳介於99.25%和90%。其中載劑的數量通常為基於乾粉摻合物重量的至少99.25%，或至少97%，或至少95%或至少90%。

【0289】 吸入級載劑主要有不同材料可用。

【0290】 發明人發現倒，透過挑選乳糖作為載劑材料實現了本發明吸入用配製物的優異氣溶膠性能。

【0291】 吸入用乳糖有不同的粒度範圍和不同的特徵可用。

【0292】 與活性成分相比，粗乳糖載劑單獨(具有集中於較高粒度的粒度分布)可能會導致氣溶膠性能不良，因為藥物細粒與載劑粗粒的活性位點的結合相對較強(Paolo Colombo, Daniela Traini and Francesca Buttini "Inhalation Drug Delivery - Techniques and Products" (published by Wiley-Blackwell 2013)。先進氣溶膠性能的特徵在於細粒劑量和分率增加，以及與標稱劑量有關的遞送劑量。這是藥物與載劑黏附之間的平衡，且一旦粉末被氣溶膠化，隨後分離，通常也被描述為粉末或藥物分散體所預期到。還可能預期到利用添加載劑細粒或藉由使用含有乳糖細粒的固有部分的乳糖材料來改善氣溶膠性能行為，儘管程度無法被預測(de Boer et al 2012, Grasmejier et al 2015)。作為增進藥物分散和從載劑釋放的用語(expression)，級聯衝擊器的測量是針對選擇細粒劑量(或者細粒質量)以及細粒分率(藥物質量的百分比分率，具有明確的粒度上限，例如5 μm或4.5μm，與單劑量單位的遞送劑量或標稱劑量有關)所建立的方法。在現行藥典(例如歐洲藥典(Pharm Eur.)或美國藥典(USP))中，這些方法也被確立為吸入產品的強制性品質控制方法。

【0293】 然而，無法預測添加細乳糖的潛在影響及其幅度，因為在乾粉黏合混合物中可能有疊加乳糖細粒影響的其他重大影響。非常重要的是，微粉化藥物本身的性質會對特定藥物分子顆粒的二元或三元混合物的黏附性和內聚性(例如內聚性：黏附平衡(CAB)或表面能)產生衝擊，這甚至讓預測更為困難。

【0294】 發明人發現到，本發明吸入用配製物優異的氣溶膠性能是藉由挑選細乳糖和粗乳糖作為具有特定粒度的載劑材料而實現的。

【0295】 本發明的粗乳糖材料是經過過篩或研磨的，具有低細粒含量的結晶、α-乳糖單水合物(例如，如Lactohale® 100或Lactohale® 206可商購)。

【0296】 也可能從其他品牌挑選出具有相似粒度分布的本發明粗乳糖，例如Meggle Inhalac® 120或DFE Respitose® SV010。

【0297】 為了挑選主要的粗載劑，選定乳糖品質，其粒度X90與活性成分的X90相比將會大至少10倍，且固有細粒含量低，使得載劑主要部分的品質一致。

【0298】 挑選細乳糖以增進氣溶膠性能。發明人假設，與活性成分相似的粒度可能適合於控制活性成分顆粒與載劑粗粒的暫時性結合，儘管其他乳糖細粒粒度規格也可能是合適的。因此，選擇粒度為X90< 10μm或X90< 30 μm或X50 ≦ 5 μm或1.0 - 3.0 μm的細乳糖產品被認為足以構成乳糖載劑。

【0299】 本發明的細乳糖材料是具有X90 ≦ 10 μm的低粒度(「乳糖細粒」)的經研磨或微粉化的結晶α-乳糖單水合物(例如如Lactohale® 300可商購)或X90 < 30 μm或X50 ≦ 5 μm或1.0 - 3.0 μm (例如如Lactohale® 230可商購)。也可以挑選具有相似性質和粒度的經精細研磨或微粉化乳糖，例如Meggle Inhalac® 500。材料和粉末混合物的粒度分布通常是透過雷射繞射光譜學、顯微技術或常規篩分分析和分類病因學[B.Y. Shekunov, P. Chattopadhyay, H.H.Y. Tong and A.H.L. Chow, Particle size analysis in pharmaceutics, *Pharm. Res.* 2007, *24 (2)*, S203-S227](另見D.4)來進行測量。

【0300】 下表6中總結了針對吸入品質的本發明可商購乳糖(例如Lactohale® 100、Lactohale® 300)的粒度分布。

表6：本發明吸入用乳糖的粒度分布(規格)

	粗乳糖	細乳糖
交易名稱	Lactohale® 100	Lactohale® 300
粒度上限 X90	200 - 250 μm	≦ 10 μm
粒度平均 X50	125 - 145 μm	≦ 5 μm
粒度下限 X10	45 - 65 μm	未定義
交易名稱	Lactohale® 200	

粒度上限 X90	120 - 160 μm	
粒度平均 X50	50 - 100 μm	
粒度下限 X10	5 - 15 μm	
交易名稱	Lactohale® 206	Lactohale® 230
粒度上限 X90	115 - 170 μm	< 30 μm
粒度平均 X50	75 - 95 μm	< 10 μm
粒度下限 X10	20 - 50 μm	1.0 – 3.0 μm

【0301】 本發明乾粉吸入用固體製品含有粗乳糖(例如Lactohale® 100)和細乳糖(例如Lactohale® 300)的混合物。

【0302】 發明人發現到，粗乳糖粒度可以在一定範圍內有所不同，但不會危及本發明之基於載劑的配製物的氣溶膠性能或摻合物均勻性。

【0303】 根據本發明，粗乳糖的粒度為X90 = 200-250 μm或120-160 μm或115-170 μm，或115-250 μm。此外，根據本發明，粗乳糖的粒度為X90 ≦ 250 μm或≦ 170 μm或 ≦ 160 μm。此外，根據本發明，粗乳糖的粒度為X90為至少或 ≧ 115 μm或為至少或≧ 120 μm或為至少或≧200 μm。

【0304】 根據本發明，粗乳糖的粒度為X50 = 125-145 μm或50-100 μm或75-95 μm或50-145 μm。此外，根據本發明，粗乳糖的粒度為X50 ≦ 145 μm或≦ 100 μm或≦ 95 μm。此外，根據本發明，粗乳糖的粒度為X50為至少或≧ 50 μm或為至少或≧ 75 μm或為至少或≧ 125 μm及/或X10 = 45 - 65 μm或5 -15 μm或20 - 50 μm。

【0305】 根據本發明，細乳糖的粒度為X90 = ≦10 μm或<30 μm，X50 ≦ 5 μm或1.0-3.0 μm。藉由採用具有固有細粒含量的Lactohale200®，無需向乳糖載劑添加任何其他乳糖細粒。因此，本發明之基於載劑的配製物可以用Lactohale 200®或具有固有乳糖細粒含量的類似乳糖產品來進行配製。

【0306】 根據本發明，Lactohale 100®和Lactohale 300®是較佳的。

【0307】 此外，發明人發現，本發明吸入用配製物的優異氣溶膠性能是藉由在乾粉混摻合物中調整細乳糖的特定含量和粗乳糖的特定含量來實現的。

【0308】 發明人確定乳糖載劑的細乳糖含量是一個重要的關鍵參數。為了獲得本發明之以優異氣溶膠性能為特徵的吸入用配製物，細乳糖的含量應該在某個範圍內進行選擇。例如，發現粉末摻合物/乳糖載劑中細乳糖含量越高(例如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)。已經證明，本發明的粉末摻合物和配製物可以具有在1%和10%之間、也可以在5%和10%之間的範圍內變化的細乳糖含量，而細乳糖含量也可以是吸入用乳糖的固有部分，即計算X10為5-15 μm，如在Lactohale 2000®的情況下(參見具體例34)的情況，但並未危及氣溶膠性能。

【0309】 根據本發明，粉末摻合物中的細乳糖含量1介於%至10%，較佳介於5%至10%，較佳介於2.5%至7.5%，較佳介於5%至7.5%，更佳5%。

【0310】 然而，發明人發現，可以將細粒含量調節到至多15%而不會危及氣溶膠性能。因此，這個範圍也希望涵蓋在本發明中。

【0311】 發明人也確定粉末摻合物的粗乳糖含量是一個重要參數。為了獲得本發明之以優異氣溶膠性能為特徵的吸入用配製物，粗乳糖的含量應在某個範圍內進行選擇。

【0312】 根據本發明，粉末摻合物中的粗乳糖含量介於98.25%至75%，較佳介於94.25%至75%，較佳介於92.00%至75%，更佳介於90.00%至75%，尤佳介於90%至85%。

【0313】 由於根據本發明的乾粉摻合物是三元混合物，所有三種組份都需要以明確的最大粒度和某個特定比例的形式提供。

【0314】 發明人發現，透過選定細乳糖和粗乳糖與活性成分的特定比例，可以實現本發明吸入用配製物的優異氣溶膠性能。

【0315】根據本發明，在粉末摻合物中，粗乳糖與細乳糖的比例介於445：5至65：5，較佳94.25：5至65：5，較佳94.25：5至75：5、91.75：7.5和89.25：10，較佳92：5和75：5之間，尤佳92：5、85：5以及75：5的比例。

【0316】根據本發明，在粉末摻合物中，式(I)或(I-M-I)的活性成分與粗乳糖的比例介於1：126至1：3.8，較佳介於1：31至1：3.8。

【0317】根據本發明，在粉末摻合物中，式(I)或(I-M-I)的活性成分與細乳糖的比例介於1：13至1：0.1，較佳介於1：13至1：0.25，較佳介於1：1.67和1：0.25。

其他賦形劑

【0318】根據本發明的製品通常含有其他藥理學上可接受的賦形劑，尤其包括載劑(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)、表面活性化合物(例如月桂基硫酸鈉、二硬脂醯磷脂醯膽鹼)、離子化合物(例如氯化鈣、氯化鈉、氯化鉀)、合成和天然聚合物(例如鹿角菜膠、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，諸如例如氧化鐵或氧化鈦)。

空腔

【0319】根據本發明，包含呈其單水合物形式I-M-I或I-M-II形式的活性成分和乳糖的乾粉摻合物可以經由乾粉吸入器投藥，乾粉吸入器為例如單次單位劑量吸入器(其中每個劑量在使用之前被裝載至裝置中)、多次單位劑量吸入器(其中數個單次劑量被單獨密封(預先計量)並且可以在每次啟動之前被排到給藥室中)，以及貯器多次單位劑量吸入器(其中大量補給的藥物被預先裝載到給藥室中且在每次啟動之前(由裝置計量)被排到給藥室中)。較佳地，本發明的乾粉摻合物是經由配備/裝載空腔的單次單位劑量吸入器進行投藥，空腔為諸如包含乾

粉摻合物的膠囊或泡殼。較佳地，空腔是單獨的膠囊，較佳為明膠或羥丙基甲基纖維素的硬膠囊，最佳為羥丙基甲基纖維素膠囊。

【0320】 將包含根據實例2或4的微粉化活性成分(例如式(I-M-I)的單水合物I或式(I-M-II)的單水合物II)的乾粉摻合物填充到硬膠囊(羥丙基甲基纖維素＝羥丙甲纖維素＝HPMC，例如3號)或由硬明膠或其他合適材料製成的替代膠囊。醫藥硬膠囊尺寸是標準化的，並依據明確的度量來表徵，例如，3號膠囊的長度為157 mm，直徑為57 mm，而2號膠囊的長度為176 mm，直徑為62 mm，1號膠囊的長度為194 mm，直徑為68 mm。

【0321】 根據填充重量和活性成分濃度，可以獲得不同的標稱劑量。具有不同標稱劑量的活性成分(例如根據實例2或4，式(I-M-I)的單水合物I或式(I-M-II)的單水合物II)的例示性膠囊組成物提供於例示性具體例1-3中並如下表7中所示。

表7：本發明之具有明確標稱劑量的配製物實例(硬膠囊中的填充粉末)。

	例示性具體例 1	例示性具體例 2	例示性具體例 3
標稱劑量	120μg	480μg	1000μg
粉末摻合物中的活性成分(實例4)濃度	0.75%	3%	10%
填充重量	16 mg	16mg	10 mg

【0322】 在肺內投藥時，活性成分(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4’-(三氟甲基)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(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4’-(三氟甲基)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 (參見實例4)的數量(標稱劑量)為每次吸入約10 μg至50000 μg，較佳每次吸入約100 μg至10000 μg，更佳每次吸入約100至6000 μg，又更佳每次吸入約120至4000 μg，又更佳每次吸入約200至4000 μg，尤佳約240 μg至4000 μg，尤佳約240 μg至2000 μg，尤佳約240 μg至1000 μg，尤佳約240 μg至480 μg，尤佳約480 μg至4000 μg，尤佳約480 μg至2000 μg，尤佳

約480 μg至1000 μg，尤佳約1000 μg至4000 μg，尤佳約1000 μg至2000 μg，尤佳約1000 μg，尤佳約2000 μg，尤佳約4000 μg。

【0323】 根據本發明，3號空腔(較佳硬膠囊，更佳是基於HMPC的硬膠囊)含有填充質量為8-40 mg的吸入用配製物，較佳填充質量為10-30 mg的吸入用配製物，更佳填充質量為10-20 mg的吸入用配製物，更佳填充質量為16-20 mg的吸入用配製物。

【0324】 根據本發明，最佳的是以下組成：

表8：本發明之包含乾粉摻合物的最終膠囊配製物，基於百分比

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

【0325】 根據本發明，在粉末摻合物中，式(I)或(I-M-I)活性成分含量為3%的粉末摻合物包含480 μg式(I)或(I-M-I)活性成分、92%粗乳糖和5%細乳糖，且可按16 mg粉末摻合物的質量被填充在硬膠囊中(較佳3號HMPC膠囊)，然後可以經由「單次單位劑量」吸入器投藥，吸入器例如偏好為Plastiape (Berry) RS01低阻力裝置。

【0326】 根據本發明，在粉末摻合物中，式(I)或(I-M-I)活性成分含量為10%的粉末摻合物包含1000 μg、2000 μg、3000 μg或4000 μg式(I)或(I-M-I)活性成分，85%粗乳糖和5%細乳糖，並可(按10 mg、20 mg、30 mg或40 mg粉末摻合物的對

應質量)被填充在硬膠囊中(較佳3號HMPC膠囊)，並可以經由「單次單位劑量」吸入器投藥，吸入器例如偏好為Plastiape (Berry) RS01低阻力裝置。

【0327】 根據本發明，在粉末摻合物中，式(I)或(I-M-I)活性成分含量為20%的粉末摻合物包含2000 μg、3000 μg或4000 μg式(I)或(I-M-I)活性成分，75%粗乳糖和5%細乳糖，並可(按10 mg、15 mg或20 mg粉末摻合物的對應質量)被填充在硬膠囊中(較佳3號HMPC膠囊)，然後可以經由「單次單位劑量」吸入器投藥，吸入器例如偏好為Plastiape (Berry) RS01低阻力裝置。

表9：本發明之包含乾粉摻合物的最終膠囊配製物，基於質量的特徵歸納：

標稱劑量	膠囊	粉末填充質量	粉末摻合物中的 API 含量(mg/g)	粗乳糖含量(mg)	細乳糖含量(mg)	比例 API：粗乳糖	比例 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
1000μg	3 號	10 mg	100 mg/g	8.75 mg	0.25 mg	1：8.75	1：0.25
1000μg	3 號	10 mg	100 mg/g	8.5 mg	0.5 mg	1：8.5	1：0.5
2000μg	3 號	20 mg	100 mg/g	17.0 mg	1.0 mg	1：8.5	1：0.5
3000μg	3 號	30 mg	100 mg/g	25.5 mg	1.5 mg	1：8.5	1：0.5
4000μg	3 號	40 mg	100 mg/g	34.0 mg	2.0 mg	1：8.5	1：0.5
2000μg	3 號	10 mg	200 mg/g	7.5 mg	0.5 mg	1：3.8	1：0.25
3000μg	3 號	15 mg	200 mg/g	11.25 mg	0.75 mg	1：3.8	1：0.25
4000μg	3 號	20 mg	200 mg/g	15.0 mg	1.0 mg	1：3.8	1：0.25

【0328】 根據本發明，在粉末摻合物中，式(I)或(I-M-I)活性成分含量為30 mg/g的粉末摻合物包含480 μg式(I)或(I-M-I)活性成分、14.72 mg粗乳糖和0.8 mg細乳糖，並可按16 mg粉末摻合物的質量被填充在硬膠囊中(較佳3號HMPC膠囊)，然後可以經由「單次單位劑量」吸入器投藥，吸入器例如偏好為Plastiape (Berry) RS01低阻力裝置。

【0329】 根據本發明，在粉末摻合物中，式(I)或(I-M-I)活性成分含量為100 mg/g的粉末摻合物包含1000 μg、2000 μg、3000 μg或4000 μg式(I)或(I-M-I)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，並可(按10 mg、20 mg、30 mg

或40 mg粉末摻合物的對應質量)被填充在硬膠囊中(較佳3號HMPC膠囊)，然後可以經由「單次單位劑量」吸入器投藥，吸入器例如偏好為Plastiape (Berry) RS01低阻力裝置。

【0330】 根據本發明，在粉末摻合物中，式(I)或(I-M-I)活性成分含量為200 mg/g的粉末摻合物包含2000 μg、3000 μg或4000 μg式(I)或(I-M-I)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，並可(按10 mg、15 mg或20 mg粉末摻合物的對應質量)被填充在硬膠囊中(較佳3號HMPC膠囊)，然後可以經由「單次單位劑量」吸入器投藥，吸入器例如偏好為Plastiape (Berry) RS01低阻力裝置。

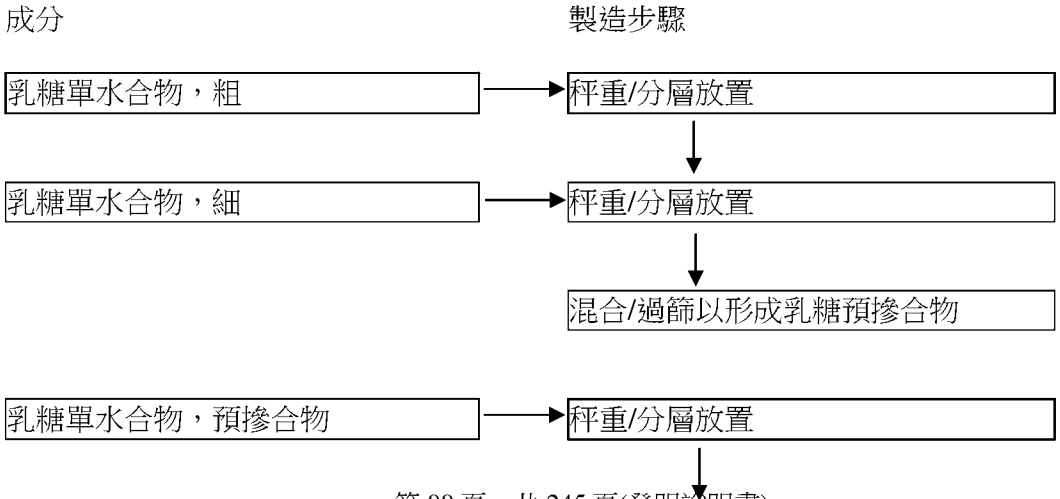
製造方法

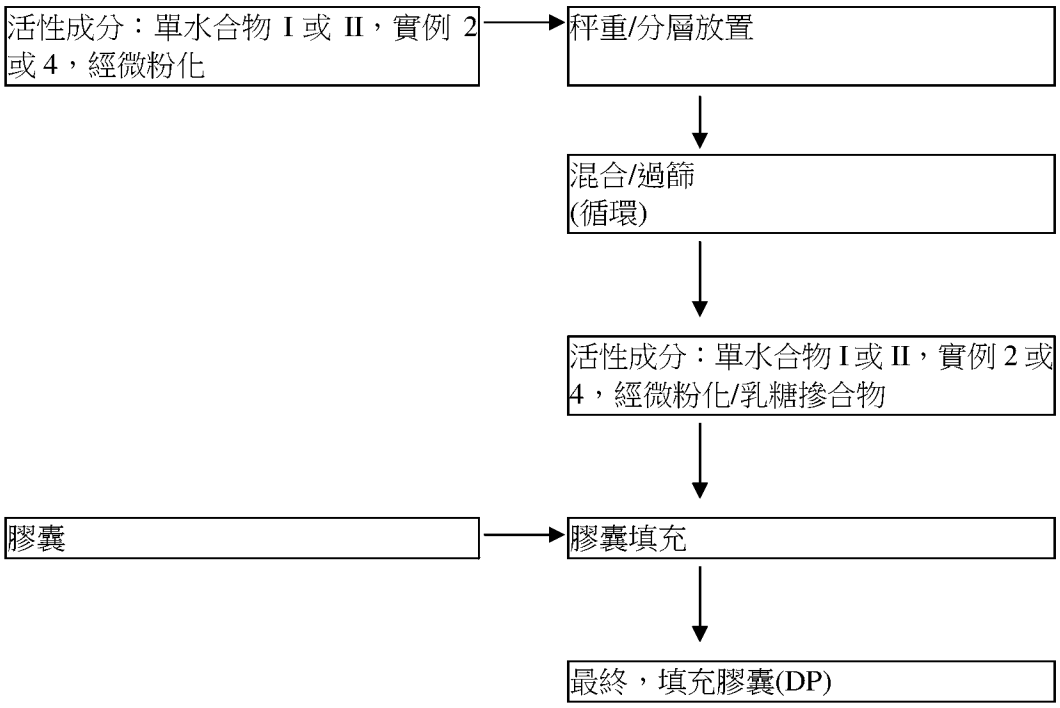
【0331】 本發明製品通常可以藉由將活性成分微粉化並視情況將經微粉化的活性成分與非活性載劑化合物摻合來製備，正如製造呈粉末形式的可吸入自由流動藥劑中常見的那般。

【0332】 本發明化合物可以轉化為所述的投藥形式。這可以按本身已知的方式藉由與惰性、無毒、醫藥上合適的賦形劑混合來進行。

【0333】 乾粉配製物和成品(填充乾粉摻合物的硬膠囊)是根據以下流程圖和說明進行製造。

表10：





【0334】 步驟1：

在開始混合之前，將細乳糖部分秤重並分層放置(layered)在兩層粗乳糖之間。

【0335】 步驟2：

乳糖預摻合物的混合是在滾筒混合器中以72 rpm、67 rpm或34 rpm或32 rpm或30 rpm、較佳32 rpm進行2次(2個循環)，持續20分鐘。乳糖預摻合物在循環之間通過500 μg篩網進行過篩。

【0336】 步驟3：

活性成分：單水合物I或II (實例2或4，經微粉化)通過500 μm篩網進行過篩，並被加入預摻合乳糖中。在開始混合循環之前，將乳糖預摻合物和活性成分以6層乳糖預摻合物和5層活性成分(單水合物I或II，實例2或4)交替分層放置。

【0337】 步驟4：

各組份在滾筒混合器(例如玻璃或不銹鋼，較佳不銹鋼)中以數個循環進行混合，例如3-5個循環，較佳3個循環。每個循環以72 rpm、67 rpm、34 rpm或32 rpm，

較佳32 rpm進行20-30分鐘，較佳30分鐘(90分鐘總混合時間)，較佳32 rpm持續30分鐘，混合循環之間有10分鐘的休息時間。若有需要(例如視覺黏聚物)，可分別在摻合循環之間將摻合物過篩。

【0338】 步驟5：

在不銹鋼容器中，將摻合物於室溫(15-25℃)和35-65%相對濕度下靜置某一段時間，較佳24-72小時，更佳48h。

【0339】 步驟6：

使用膠囊填充機(例如MG2 Flexalab)，將摻合物按所需的填充重量填充到膠囊中。

吸入器裝置

【0340】 在本發明的上下文中，例如實例2或4的sGC活化劑是藉由乾粉吸入器裝置以乾粉或乾粉配製物來施用。

【0341】 在本發明的上下文中，偏好的乾粉吸入器裝置被定義為基於膠囊的單次單位劑量吸入器，其是預先計量的吸入裝置(參見圖3a和3b)。在本發明的上下文中，劑量是使用Plastiape (Berry) RS01低阻力裝置施用的。這個裝置(以更高的阻力類型)揭示並描述於在出版物(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以及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，其是有關治療其他患者群體，例如囊性纖維化(CF)或非CF支氣管擴張症。

【0342】 藉由將填充有乾粉配製物的單個膠囊插入裝置中來操作吸入器。按下兩個鈕(按鈕)以刺破膠囊，使用者將嘴放在吸嘴周圍並深深且用力地吸氣。吸入產生的能量將藥物製品從膠囊中拉出，使粉末分散成氣溶膠，活性成

分顆粒從乳糖載劑顆粒被釋放出來並將其帶入呼吸道。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，可以重複使用該裝置。所投與的膠囊數量決定了用藥的劑量。

【0343】其他預先計量的乾粉吸入裝置(諸如基於泡殼條狀包裝(blister strip)的多次單位劑量裝置)也可用於偏好的施用方法，且如果氣溶膠路徑具有類似的設計或性質(例如裝置阻力並且以明確的流速壓降)，則可能產生不相上下的結果。

【0344】在本發明的上下文中，還揭示了裝置，其包含含有實例4的製品，或可具有將這些製品併入膠囊或泡殼中且適於以固體形式吸入投藥的容器(即氣霧器，其能夠藉由吸入投與呈固體形式之含有活性成分的製品：活性成分為例如單水合物I或II，實例2或4 (粉末吸入器))。

【0345】在肺內投藥時，每天投藥一次或兩次活性化合物(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫-喹啉-2-甲酸，較佳每天兩次，尤佳每天一次。

【0346】然而，在適當的情況下可能有必要偏離所述量，特別是與體重、投藥路徑、對活性化合物的個體反應、製品類型和投藥發生的時間或區間有關。因此，在一些情況下，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。在投與相對大量的情況下，建議在一天中以多個單次劑量分配這些。

本發明(配製物)的特定具體例

1.一種吸入用配製物，其特徵在於該配製物含有由以下組成的乾粉摻合物

a) (5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，呈其鹽或溶劑合物或水合物中之一的形式

b) 乳糖載劑，濃度按重量計為99.25% (w/w)至80% (w/w)，

其進一步特徵在於

c) 呈其鹽或溶劑合物或水合物中之一的形式之活性成分(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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X90 ≦ 6 μm及/或X50介於1和3 μm的粒度

d) 乳糖載劑為吸入用乳糖單水合物

其進一步特徵在於

e) 乳糖具有X90 ≧ 120 μm；及/或X50 ≧ 50 μm及/或X10 5 - 15 μm的粒度。

2. 如請求項1之吸入用配製物，其特徵在於該配製物含有式(I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，呈其選自由式(I-M-I)之單水合物I或式(I-M-II)之單水合物II或倍半水合物組成之列表的結晶變體之一的形式，其中式(I-M-I)化合物的X射線粉末繞射圖(在25℃下測量並利用Cu-K α1作為輻射源)包含至少在以下的峰：12.8以及29.2，較佳6.9、7.2、7.3、12.8和29.2，以2Θ值 ± 0.2°引用，或其中式(I-M-II)化合物的X射線粉末繞射圖(在25℃下測量並利用Cu-K α1作為輻射源)包含至少在以下的峰：12.7、5.7、6.1以及7.1，或12.7、5.7以及8.5，或其中呈其倍半水合物形式之化合物的X射線粉末繞射圖(在25℃下測量並利用Cu-K α1作為輻射源)包含至少在以下的峰：12.2以及7.6，或12.2、8.6以及14.5，以2Θ值 ± 0.2°引用。

3. 如請求項1至2中任一項之吸入用配製物，其特徵在於該配製物含有由以下組成的乾粉摻合物

a) 呈式(I-M-I)之單水合物I或式(I-M-II)之單水合物II形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，較佳式(I-M-I)之單水合物I做為活性成分，其中式(I-M-I)的單水

合物形式I的X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)展現至少以下反射：12.8以及29.2，較佳6.9、7.2、7.3、12.8以及29.2，以2Θ值 ± 0.2°引用，濃度按重量計為0.75%(w/w)到20%(w/w)，其與以下組合

b) 乳糖載劑，濃度按重量計為99.25%(w/w)至80%(w/w)

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形式的活性成分(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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X90 ≦ 6 μm及/或X50介於1和3 μm的粒度

d) 乳糖載劑為吸入用乳糖單水合物，由粗乳糖與細乳糖組成

其進一步特徵在於

e) 粗乳糖具有X50 ≧ 50 μm或≧ 75 μm或≧ 125 μm的粒度

f) 細乳糖具有X50 < 10 μm或≦ 5 μm的粒度

g) 其中乾粉摻合物的粗乳糖含量介於98.25%和75%，較佳介於94.25%和75%。

4. 如請求項1至3中任一項之吸入用配製物，其特徵在於

e) 粗乳糖具有X50 ≦ 145 μm或≦ 100 μm或≦ 95 μm的粒度

f) 細乳糖具有X50 < 10 μm或≦ 5 μm的粒度。

5. 如請求項1至4中任一項之吸入用配製物，其特徵在於

e) 粗乳糖具有X90≧115 μm或為至少或≧120μm或為至少或≧200μm的粒度

f) 細乳糖具有X90 < 3 0 μm或≦ 10 μm的粒度。

6. 如請求項1至5中任一項之吸入用配製物，其特徵在於

e) 粗乳糖具有≦ 250 μm或≦ 170 μm或≦ 160 μm的粒度，以及

f) 細乳糖具有X90 < 30 μm或≦ 10 μm的粒度。

7. 如請求項1至6中任一項之吸入用配製物，其特徵在於

製造該配製物的方法

j) 確實涉及在混合循環之間進行過篩或不進行過篩，較佳不進行過篩並且在混合循環之間至少有10 min的休息時間。

8. 如請求項1至7中任一項之吸入用配製物，其特徵在於

在製造該配製物的方法期間

k) 不使用玻璃容器而使用不銹鋼容器。

9. 如請求項1至8中任一項之吸入用配製物，

其特徵在於在乾粉摻合物中，細乳糖的含量介於1%至多達15%、1%至10%，或5%至10%。

10. 如請求項1至9中任一項之吸入用配製物，

其特徵在於活性成分與粗乳糖的比例介於1：126和1：3.8。

11. 如請求項1至10中任一項之吸入用配製物，

其特徵在於活性成分與粗乳糖的比例介於1：31和1：3.8。

12. 如請求項1至11中任一項之吸入用配製物，

其特徵在於活性成分與粗乳糖的比例為1：31。

13. 如請求項1至12中任一項之吸入用配製物，

其特徵在於活性成分與粗乳糖的比例為1：8.5。

14. 如請求項1至13中任一項之吸入用配製物，

其特徵在於活性成分與粗乳糖的比例為1：3.8。

15. 如請求項1至14中任一項之吸入用配製物，其特徵在於活性成分與細乳糖的比例介於1：13和1：0.1。

16. 如請求項1至15中任一項之吸入用配製物，其特徵在於活性成分與細乳糖的比例介於1：1.67和1：0.25。

17. 如請求項1至16中任一項之吸入用配製物，其特徵在於活性成分與細乳糖的比例為1：1.67。

18. 如請求項1至17中任一項之吸入用配製物，其特徵在於活性成分與細乳糖的比例為1：0.5。

19. 如請求項1至18中任一項之吸入用配製物，其特徵在於活性成分與細乳糖的比例為1：0.25或為1：0.1。

20. 如請求項1至19中任一項之吸入用配製物，其特徵在於粗乳糖與細乳糖的比例介於445：5至65：5，或介於94.25：5至65：5。

21. 如請求項1至20中任一項之吸入用配製物，其特徵在於粗乳糖與細乳糖的比例為92：5。

22. 如請求項1至21中任一項之吸入用配製物，其特徵在於粗乳糖與細乳糖的比例為85：5。

23. 如請求項1至22中任一項之吸入用配製物，其特徵在於粗乳糖與細乳糖的比例為75：5。

24. 如請求項1至23中任一項之吸入用配製物，其特徵在於活性成分為呈式(I-M-I)之單水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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. 如請求項1至24中任一項之吸入用配製物，其特徵在於活性成分式(I-M-I)之(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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X50 = 1 - 3 μm的粒度。

26. 如請求項1至25中任一項之吸入用配製物，其特徵在於活性成分為呈式(I-M-II)之單水合物II形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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. 如請求項1至26中任一項之吸入用配製物，其特徵在於活性成分呈式(I-M-II)之單水合物II形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)

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X50 = 1 - 3 μm的粒度。

28. 如請求項1至27中任一項之吸入用配製物，其特徵在於活性成分式(I-M-I)之(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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X10 = 最大值1 μm的粒度。

29. 如請求項1至28中任一項之吸入用配製物，其特徵在於細乳糖具有X50 ≦ 10 μm或X50 = ≦5 μm的粒度。

30. 如請求項1至29中任一項之吸入用配製物，其特徵在於細乳糖是Lactohale® 300或Lactohale®230。

31. 如請求項1至30中任一項之吸入用配製物，其特徵在於粗乳糖呈經過篩或經研磨的結晶乳糖形式。

32. 如請求項1至31中任一項之吸入用配製物，其特徵在於粗乳糖具有X90 = 200-250 μm或120-160 μm或115-170 μm的粒度。

33. 如請求項1至32中任一項之吸入用配製物，其特徵在於粗乳糖具有X50 = 125-145 μm或50-100 μm或75-95 μm的粒度。

34. 如請求項1至33中任一項之吸入用配製物，其特徵在於粗乳糖具有X10 = 45-65 μm或5-15 μm或20-50 μm的粒度。

35. 如請求項1至34中任一項之吸入用配製物，其特徵在於細乳糖具有X90 ≦ 10 μm或< 30 μm的粒度。

36. 如請求項1至35中任一項之吸入用配製物，其特徵在於細乳糖具有X50 ≦ 5 μm或≦ 10 μm的粒度。

37. 如請求項1至36中任一項之吸入用配製物，其特徵在於粗乳糖具有X10 = 1-3μm的粒度。

38. 如請求項1至37中任一項之吸入用配製物，其特徵在於粗乳糖是Lactohale® 100、Lactohale®200或Lactohale®206。

39. 如請求項1至38中任一項之吸入用配製物，其特徵在於其含有標稱劑量為60 μg-6000 μg之呈式(I-M-I)的單水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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. 如請求項1至39中任一項之吸入用配製物，其特徵在於其含有標稱劑量為240-4000 μg之呈式(I-M-I)的單水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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. 如請求項1至40中任一項之吸入用配製物，其特徵在於其含有標稱劑量為480-4000 μg之呈式(I-M-I)的單水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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. 如請求項1至41中任一項之吸入用配製物，其特徵在於其含有標稱劑量為480-2000 μg之呈式(I-M-I)的單水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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. 如請求項1至42中任一項之吸入用配製物，其特徵在於其含有標稱劑量為480-1000 μg之呈式(I-M-I)的單水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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. 如請求項1至43中任一項之吸入用配製物，其特徵在於其含有標稱劑量為240 μg、480 μg、1000 μg、2000 μg或4000 μg之呈式(I-M-I)的單水合物I形式

的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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. 如請求項1至44中任一項之吸入用配製物，其特徵在於在乾粉摻合物中，粗乳糖含量為98.25%至75%，或較佳介於94.25%至75%，或更佳90.00%至75%或更佳90%至85%，且在乾粉摻合物中，細乳糖含量為1.0.%到至多15%，或較佳1%到至多10%，較佳介於5%至10%，或更佳2.5%-7.5%，較佳介於5%至7.5%，或更佳3-7%或更佳4%-6%。

46. 如請求項1至45中任一項之吸入用配製物，其特徵在於其具有90-110%，較佳95-105% (m/m)的摻合含量(blend assay)，以及RSD (＝相對標準偏差) (n = 10)為NMT(=不超過) 10%，較佳7.5%，更佳5%的摻合物均勻性。

47. 如請求項1至46中任一項之吸入用配製物，其特徵在於藉由級聯衝擊和劑量單位取樣裝置(DUSA)測量，其具有≧20%活性成分的FPF (活性成分標稱劑量的%，< 4.5 μm)和≧30%活性成分的FPF (活性成分的DD%，< 4.5 μm)。

48. 如請求項1至47中任一項之填充至硬膠囊的吸入用配製物，其特徵在於根據活性成分濃度和膠囊填充質量，具有8-780 μg的最小細粒劑量。

49. 如請求項1至48中任一項之填充至硬膠囊的吸入用配製物，其特徵在於根據活性成分濃度和膠囊填充質量，具有26-3315 μg的最小遞送劑量。

50. 一種包含如請求項1至49中任一項之吸入用配製物的空腔，其可以經由乾粉吸入器被投與給有需要的患者。

51. 如請求項50之空腔，其為膠囊或泡殼條狀包裝。

52. 如請求項50之空腔，其為膠囊。

53. 如請求項50至52中任一項之空腔，其特徵在於其含有填充質量為8-40 mg的乾粉摻合物。

54. 如請求項50至52中任一項之空腔，其特徵在於其含有填充質量為10-30 mg的吸入用配製物。

55. 如請求項50至52中任一項之空腔，其特徵在於其含有填充質量為10-20 mg的吸入用配製物。

56. 如請求項50至52中任一項之空腔，其特徵在於其含有填充質量為16-20 mg的吸入用配製物。

57. 一種用於製造如請求項1至49中任一項之吸入用配製物的製造方法，其特徵在於

a. 在第一步驟1)中

在開始混合兩種乳糖組份之前，將細乳糖秤重並分層放置在兩層粗乳糖之間，

b. 在第二步驟2)中

2種組份的摻合是在滾筒混合器中以72 rpm、67 rpm或34 rpm或32 rpm或30 rpm進行2次(2個循環)，持續20分鐘，且預摻合物在循環之間通過500 μg篩網進行過篩，

c. 在第三步驟3)中，式(I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，較佳式(I-M-I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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 μm篩網進行預過篩，並被加入如步驟A與B中所製造的乳糖預摻合物中，且在開始混合前10層乳糖預摻合物和9層活性成分，6層乳糖預摻合物和其間5層活性成分(實例4)，或4層乳糖預摻合物和其間3層活性成分(實例4)，或2層乳糖預摻合物和其間1層活性成分(實例4)，較佳6/5層交替分層放置，

d. 在第四步驟4)中

在容器(玻璃或不銹鋼)中以3-5個循環(較佳3個循環)混合步驟3)所得到之預分層放置摻合物，以72 rpm、67 rpm、34 rpm或32 rpm，較佳32 rpm進行20-30分鐘，

較佳30分鐘(90分鐘總混合時間)，混合循環之間有10分鐘的休息時間，其特徵在於

在步驟4)所得到之產物是在不銹鋼容器中進行混合，

其中摻合物在每個混合循環之間進行過篩或不需要在混合循環之間將摻合物過篩，

e. 在第五步驟E中，在不銹鋼容器中，將步驟4)得到的產物於室溫(15-25℃)和35-65%相對濕度下靜置某段時間，較佳24-72小時，更佳48小時，然後進行摻合物均勻性取樣與最終膠囊填充，

f. 在第六步驟6)中，步驟E所得到的乾粉摻合物最後被填充到膠囊中。

58. 一種如請求項1至49中任一項之吸入用配製物的用途，其用於生產用以治療心肺病症的藥劑，其特徵在於向有需要的患者每日一次或兩次投與包含吸入性劑型的藥劑持續一段至少連續兩天的時間，該吸入性劑型包含240至4000 μg呈式(I-M-I)之單水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)展現至少以下反射：6.9、7.2、7.3、12.8和29.2，以2Θ值 ± 0.2°引用。

59. 一種如請求項1至49中任一項之吸入用配製物的用途，其用於治療心肺病症，其特徵在於向有需要的患者每日一次或兩次投與吸入性劑型持續一段至少連續兩天的時間，該吸入性劑型包含240至4000 μg呈式(I-M-I)之其結晶變體單水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，其中式該化合物的X射線粉末繞射圖(在25℃下測量並利用Cu-K α1作為輻射源)包含至少在以下的峰：12.8和29.2，較佳6.9、7.2、7.3、12.8和29.2，以2Θ值 ± 0.2°引用。

60. 一種如請求項1至49中任一項之吸入用配製物在心肺病症治療方法中的用途，其特徵在於向有需要的患者每日一次或兩次投與吸入性劑型持續一段至少連續兩天的時間，該吸入性劑型包含240至4000 μg呈式(I-M-I)之其結晶變體單水合物I形式的式(I)之(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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℃下測量並利用Cu-K α1作為輻射源)包含至少在以下的峰：12.8以及29.2，較佳6.9、7.2、7.3、12.8以及29.2，以2Θ值 ± 0.2°引用。

61. 一種用於吸入性治療心肺病症的藥劑，其特徵在於其包含吸入性劑型，該吸入性劑型包含240至4000 μg呈選自由式(I-M-I)之單水合物I或式(I-M-II)之單水合物II或倍半水合物組成之列表的其結晶變體之一形式的式I之(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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℃下測量並利用Cu-K α1作為輻射源)包含至少在以下的峰：12.8以及29.2，較佳6.9、7.2、7.3、12.8以及29.2，以2Θ值 ± 0.2°引用，或其中式(I-M-II)化合物的X射線粉末繞射圖(在25℃下測量並利用Cu-K α1作為輻射源)包含至少在以下的峰：12.7、5.7、6.1以及7.1，或12.7、5.7以及8.5，或其中呈其倍半水合物形式之化合物的X射線粉末繞射圖(在25℃下測量並利用Cu-K α1作為輻射源)包含至少在以下的峰：12.2以及7.6，或12.2、8.6以及14.5，以2Θ值 ± 0.2°引用，且其中該吸入性劑型包含呈乾粉形式的活性成分。

62. 一種用於吸入性治療心肺病症的套裝醫藥組成物，其特徵在於其含有乾粉吸入器及乾粉配製物，該乾粉配製物包含240至4000 μg呈選自由式(I-M-I)之單水合物I或式(I-M-II)之單水合物II或倍半水合物組成之列表的其結晶變體之一形式的式I之(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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℃下測量並利用Cu-K α1作為輻射源)包含至少在以下的峰：12.8以及29.2，較佳6.9、7.2、7.3、12.8以及29.2，以2Θ值 ± 0.2°引用，或其中式(I-M-II)化合物的X射線粉末繞射圖(在25℃下測量並利用Cu-K α1作為輻射源)包含至少在以下的峰：12.7、5.7、6.1以及7.1，或12.7、5.7以及8.5，或其中呈其倍半水合物形式之化合物的X射線粉末繞射圖(在25℃下測量並利用Cu-K α1作為輻射源)包含至少在以下的峰：12.2以及7.6，或12.2、8.6以及14.5，以2Θ值 ± 0.2°引用，其中該套裝含有以每天一次或兩次的頻率投與該乾粉配製物持續一段至少連續兩天時間的說明書。

本發明的更多特定具體例(劑量方案)

1. 一種用於吸入性治療心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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 μg呈其鹽或溶劑合物或水合物中之一形式的式I之(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸的吸入性劑型每天一次或兩次被投與給有需要的患者持續一段至少連續兩天的時間。

2. 一種用於吸入性治療心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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 μg呈選自由式(I-M-I)之單水合物I或式(I-M-II)之單水合物II或倍半水合物組成之列表的其結晶變體之一形式的式I之(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸的吸入性劑型每天一次或兩次被投與給有需要的患者持續一段至少連續兩天的時間，其中式(I-M-I)化合物的X射線粉末繞射圖(在25℃下測量並利用Cu-K α1作為輻射源)包含至少在以下的峰：12.8以及29.2，較佳6.9、7.2、7.3、12.8以及29.2，以2Θ值 ± 0.2°引用，或其中式(I-M-II)化合物的X射線粉末繞射圖

(在25℃下測量並利用Cu-K α1作為輻射源)包含至少在以下的峰：12.7、5.7、6.1以及7.1，或12.7、5.7以及8.5，或其中呈其倍半水合物形式之化合物的X射線粉末繞射圖(在25℃下測量並利用Cu-K α1作為輻射源)包含至少在以下的峰：12.2以及7.6，或12.2、8.6以及14.5，以2Θ值 ± 0.2°引用。

3. 如請求項1至2中任一項之用於吸入性治療心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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 μg呈式(I-M-I)之其結晶變體單水合物I形式的式I之(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸的吸入性劑型每天一次或兩次被投與給有需要的患者持續一段至少連續兩天的時間，其中該化合物的X射線粉末繞射圖(在25℃下測量並利用Cu-K α1作為輻射源)包含至少在以下的峰：12.8以及29.2，較佳6.9、7.2、7.3、12.8以及29.2，以2Θ值 ± 0.2°引用。

4. 如請求項1至3中任一項之用於吸入性治療心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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 μg呈式(I-M-I)之其結晶變體單水合物I的式I之(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸的吸入性劑型每天一次或兩次被投與給有需要的患者持續一段至少連續兩天的時間，其中該化合物的X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)包含至少在以下的峰：12.8、16.0以及25.8，較佳6.9、7.2、7.3、12.8、16.0以及25.8，以2Θ值 ± 0.2°引用。

5. 如請求項1至4中任一項之用於吸入性治療心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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 μg呈式(I-M-I)之其結晶變體單水合物I形式的式I之(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲

氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸的吸入性劑型每天一次或兩次被投與給有需要的患者持續一段至少連續兩天的時間，其在X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)顯示至少以下反射：12.8、20.5以及25.8，較佳6.9、7.2、7.3、12.8、20.5以及25.8，以2Θ值 ± 0.2°引用。

6. 如請求項1至5中任一項之用於吸入性治療心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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 μg呈式(I-M-I)之其結晶變體單水合物I形式的式I之(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸的吸入性劑型每天一次或兩次被投與給有需要的患者持續一段至少連續兩天的時間，其在X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)顯示至少以下反射：12.8、5.7、6.9、7.2、7.3以及9.9，以2Θ值 ± 0.2°引用。

7. 如請求項1至6中任一項之用於吸入性治療心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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 μg呈式(I-M-I)之其結晶變體單水合物I形式的式I之(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸的吸入性劑型每天一次或兩次被投與給有需要的患者持續一段至少連續兩天的時間，其在X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)顯示至少以下反射：12.8、5.7以及16.0，較佳12.8、5.7、6.9、7.2、7.3以及16.0，以2Θ值 ± 0.2°引用。

8. 如請求項1至7中任一項之用於吸入性治療心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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 μg呈式(I-M-I)之其結晶變體單水合物I形式的式I之(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲

氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸的吸入性劑型每天一次或兩次被投與給有需要的患者持續一段至少連續兩天的時間，其在X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)顯示至少以下反射：12.8、5.7以及20.5，較佳12.8、5.7、6.9、7.2、7.3以及20.5，以2Θ值 ± 0.2°引用。

9. 如請求項1至8中任一項之用於吸入性治療心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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 μg呈式(I-M-I)之其結晶變體單水合物I形式的式I之(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸的吸入性劑型每天一次或兩次被投與給有需要的患者持續一段至少連續兩天的時間，其在X射線粉末繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)包含至少以下反射：12.8、5.7以及29.2，較佳12.8、5.7、6.9、7.2、7.3以及29.2，以2Θ值 ± 0.2°引用。

10. 如請求項1至9中任一項之用於吸入性治療心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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X射線粉末繞射圖進一步包含在23.0、15.2、25.8以及25.1的峰。

11. 如請求項1至10中任一項之用於吸入性治療心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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形式之化合物具有如圖6中所示的X射線粉末繞射圖(在25℃下測量並利用Cu-K α1作為輻射源)。

12. 如請求項1至11中任一項之用於吸入性治療心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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形式之化合物具有如圖7中所示的X射線粉末繞射圖(在25℃下測量並利用Cu-K α1作為輻射源)。

13. 如請求項1至12中任一項之用於吸入性治療心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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形式之化合物具有如圖9中所示的X射線粉末繞射圖(在25℃下測量並利用Cu-K α1作為輻射源)。

14. 如請求項1至13中任一項之用於吸入性治療心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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)之其結晶變體單水合物I形式的化合物在微粉化期間是穩定的。

15. 如請求項1至14中任一項之用於吸入性治療心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，其特徵在於該化合物的X射線粉末繞射圖(在25℃下測量並利用Cu-K α1作為輻射源)包含至少在12.8的峰且缺乏在27.2和27.5的峰，在2Θ值 ± 0.2°的繞射角度下。

16. 如請求項1至15中任一項之用於吸入性治療心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，其特徵在於該化合物的X射線粉末繞射圖(在25℃下測量並利用Cu-K α1作為輻射源)包含至少在12.8和5.7的峰且缺乏在5.8和6.1的峰，在2Θ值 ± 0.2°的繞射角度下。

17. 如請求項1至16中任一項之用於吸入性治療心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，其特徵在於投與活性成分持續一段至少連續兩天至七天的時間。

18. 如請求項1至17中任一項之用於吸入性治療心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺

基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，其特徵在於投與活性成分持續一段至少連續14天的時間，特別是從治療開始後持續整個疾病過程。

19. 如請求項1至18中任一項之用於吸入性治療心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，其特徵在於吸入性劑型包含呈乾粉形式的活性成分。

20. 如請求項1至19中任一項之用於吸入性治療心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，其特徵在於吸入性劑型包含呈膠囊內乾粉形式的活性成分。

21. 如請求項1至20中任一項之用於吸入性治療心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，其特徵在於吸入性劑型經由乾粉吸入器投與。

22. 如請求項1至21中任一項之用於吸入性治療心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，其特徵在於吸入性劑型包含與醫藥上可接受之載劑組合的活性成分。

23. 如請求項1至22中任一項之用於吸入性治療心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，其特徵在於吸入性劑型包含乳糖單水合物作為載劑，其中較佳載劑包含粗乳糖與細乳糖的混合物。

24. 如請求項1至23中任一項之用於吸入性治療心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺

基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，其特徵在於粗乳糖具有X50 ≧ 50 μm或≧ 75 μm或≧ 125 μm的粒度，而細乳糖具有X50 < 10 μm 或≦ 5 μm的粒度。

25. 如請求項1至24中任一項之用於吸入性治療心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，其特徵在於粗乳糖具有X50 ≦ 145 μm或≦ 100 μm或≦ 95 μm的粒度，而細乳糖具有X50 < 10 μm 或≦ 5 μm的粒度。

26. 如請求項1至25中任一項之用於吸入性治療心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，其特徵在於粗乳糖具有X90 ≧ 115 μm，或為至少或≧ 120 μm，或為至少或≧ 200 μm的粒度，而細乳糖具有X90 < 30 μm或≦ 10 μm的粒度。

27. 如請求項1至26中任一項之用於吸入性治療心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，其特徵在於粗乳糖具有X90 ≦ 250 μm或≦ 170 μm或 ≦ 160 μm的粒度，而細乳糖具有X90 < 30 μm或≦10 μm的粒度。

28. 如請求項1至27中任一項之用於吸入性治療心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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)的單水合物I具有為X90 ≦ 6 μm的粒度。

29. 如請求項1至28中任一項之用於吸入性治療心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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)的單水合物I具有X50介於1-3 μm的粒度。

30. 如請求項1至29中任一項之用於吸入性治療心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，其特徵在於吸入性劑型包含480至4000 μg呈其結晶形式單水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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. 如請求項1至30中任一項之用於吸入性治療心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，其特徵在於吸入性劑型包含480至2000 μg呈其結晶形式單水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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. 如請求項1至31中任一項之用於吸入性治療心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，其特徵在於吸入性劑型包含480至1000 μg呈其結晶形式單水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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. 如請求項1至32中任一項之用於吸入性治療心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，其特徵在於吸入性劑型包含240 μg、480 μg、1000 μg、2000 μg或4000 μg呈其結晶形式單水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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. 如請求項1至33中任一項之用於吸入性治療心肺病症的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，其特徵在於心肺病症是選自由以下組成之群：肺

動脈高壓(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高壓(CTEPH)以及與慢性肺病相關的肺高壓(PH) (第3類PH)，諸如慢性阻塞性肺病中的肺高壓(PH-COPD)和伴有特發性間質性肺炎的肺高壓(PH-IIP)。

35. 一種治療心肺病症的方法，包含每天一次或兩次投與吸入性劑型持續一段至少連續兩天的時間，該吸入性劑型包含240至4000 μg呈選自由式(I-M-I)之單水合物I或式(I-M-II)之單水合物II或倍半水合物組成之列表的其結晶變體中之一者形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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℃下測量並利用Cu-K α1作為輻射源)包含至少在以下的峰：12.8以及29.2，較佳6.9、7.2、7.3、12.8以及29.2，以2Θ值 ± 0.2°引用，或其中式(I-M-II)化合物的X射線粉末繞射圖(在25℃下測量並利用Cu-K α1作為輻射源)包含至少在以下的峰：12.7、5.7、6.1以及7.1，或12.7、5.7以及8.5，或其中呈其倍半水合物形式之化合物的X射線粉末繞射圖(在25℃下測量並利用Cu-K α1作為輻射源)包含至少在以下的峰：12.2以及7.6，或12.2、8.6以及14.5，以2Θ值 ± 0.2°引用。

36. 如請求項35之治療心肺病症的方法，其特徵在於呈單水合物I形式的化合物具有如圖6中所示的X射線粉末繞射圖(在25℃下測量並利用Cu-K α1作為輻射源)。

37. 如請求項35至36中任一項之治療心肺病症的方法，其特徵在於該化合物的X射線粉末繞射圖(在25℃下測量並利用Cu-K α1作為輻射源)包含至少在12.8的峰且缺乏在27.2和27.5的峰，在2Θ值 ± 0.2°的繞射角度下。

38. 如請求項35至37中任一項之治療心肺病症的方法，其特徵在於該化合物的X射線粉末繞射圖(在25℃下測量並利用Cu-K α1作為輻射源)包含至少在12.8和5.7的峰且缺乏在5.8和6.1的峰，在2Θ值 ± 0.2°的繞射角度下。

39. 如請求項35至38中任一項之治療心肺病症的方法，其特徵在於呈單水合物II形式的化合物具有如圖7中所示的X射線粉末繞射圖(在25℃下測量並利用Cu-K α1作為輻射源)。

40. 如請求項35至39中任一項之治療心肺病症的方法，其特徵在於呈倍半水合物形式的化合物具有如圖9中所示的X射線粉末繞射圖(在25℃下測量並利用Cu-K α1作為輻射源)。

41. 如請求項35至40中任一項之治療心肺病症的方法，其特徵在於投與活性成分持續一段至少連續兩天至七天的時間。

42. 如請求項35至41中任一項之治療心肺病症的方法，其特徵在於投與活性成分持續一段至少連續14天的時間，特別是從治療開始後持續整個疾病過程。

43. 如請求項35至42中任一項之治療心肺病症的方法，其特徵在於吸入性劑型包含呈乾粉形式的活性成分。

44. 如請求項35至43中任一項之治療心肺病症的方法，其特徵在於吸入性劑型包含呈膠囊內乾粉形式的活性成分。

45. 如請求項35至44中任一項之治療心肺病症的方法，其特徵在於吸入性劑型包含與醫藥上可接受之載劑組合的活性成分。

46. 如請求項35至45中任一項之治療心肺病症的方法，其特徵在於吸入性劑型包含乳糖單水合物作為載劑，其中較佳載劑包含粗乳糖與細乳糖的混合物。

47. 如請求項46之治療心肺病症的方法，其特徵在於粗乳糖具有X50 ≧ 50 μm或≧ 75 μm或≧ 125 μm的粒度，而細乳糖具有X50 < 10 μm 或≦ 5 μm的粒度。

48. 如請求項46或47之治療心肺病症的方法，其特徵在於粗乳糖具有X50 ≦ 145 μm或≦ 100 μm或≦ 95 μm的粒度，而細乳糖具有X50 < 10 μm 或≦ 5 μm的粒度。

49. 如請求項46至48中任一項之治療心肺病症的方法，其特徵在於粗乳糖具有X90 ≧ 115 μm，或為至少或≧ 120 μm，或為至少或≧ 200 μm的粒度，而細乳糖具有X90 < 30 μm或≦ 10 μm的粒度。

50. 如請求項46至49中任一項之治療心肺病症的方法，其特徵在於粗乳糖具有X90 ≦ 250 μm或≦ 170 μm或 ≦ 160 μm的粒度，而細乳糖具有X90 < 30 μm或≦ 10 μm的粒度。

51. 如請求項35至50中任一項之治療心肺病症的方法，其特徵在於式(I-M-I)的單水合物I具有為X90 ≦ 6 μm的粒度。

52. 如請求項35至51中任一項之治療心肺病症的方法，其特徵在於式(I-M-I)的單水合物I具有X50介於1-3 μm的粒度。

53. 如請求項35至52中任一項之治療心肺病症的方法，其特徵在於吸入性劑型包含480至4000 μg呈其結晶形式單水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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. 如請求項35至53中任一項之治療心肺病症的方法，其特徵在於吸入性劑型包含480至2000 μg呈其結晶形式單水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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. 如請求項35至54中任一項之治療心肺病症的方法，其特徵在於吸入性劑型包含480至1000 μg呈其結晶形式單水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙

基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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. 如請求項35至55中任一項之治療心肺病症的方法，其特徵在於吸入性劑型包含240 μg、480 μg、1000 μg、2000 μg或4000 μg呈其結晶形式單水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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. 如請求項35至56中任一項之治療心肺病症的方法，其特徵在於心肺病症是選自由以下組成之群：肺動脈高壓(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高壓(CTEPH)以及與慢性肺病相關的肺高壓(PH) (第3類PH)，諸如慢性阻塞性肺病中的肺高壓(PH-COPD)和伴有特發性間質性肺炎的肺高壓(PH-IIP)。

58. 一種用於吸入性治療心肺病症的藥劑，其特徵在於其包含吸入性劑型，該吸入性劑型包含240至4000 μg呈選自由式(I-M-I)之單水合物I或式(I-M-II)之單水合物II或倍半水合物組成之列表的其結晶變體中之一者形式的式I之(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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℃下測量並利用Cu-K α1作為輻射源)包含至少在以下的峰：12.8以及29.2，較佳6.9、7.2、7.3、12.8以及29.2，以2Θ值 ± 0.2°引用，或其中式(I-M-II)化合物的X射線粉末繞射圖(在25℃下測量並利用Cu-K α1作為輻射源)包含至少在以下的峰：12.7、5.7、6.1以及7.1，或12.7、5.7以及8.5，或其中呈其倍半水合物形式之化合物的X射線粉末繞射圖(在25℃下測量並利用Cu-K α1作為輻射源)包含至少在以下的峰：12.2以及7.6，或12.2、8.6以及14.5，以2Θ值 ± 0.2°引用，其中每天一次或兩次投與該藥劑持續一段至少連續兩天的時間。

59. 如請求項58之用於吸入性治療心肺病症的藥劑，其特徵在於呈單水合物I形式的化合物具有如圖6中所示的X射線粉末繞射圖(在25℃下測量並利用Cu-K α1作為輻射源)。

60. 如請求項58至59中任一項之用於吸入性治療心肺病症的藥劑，其特徵在於該化合物的X射線粉末繞射圖(在25℃下測量並利用Cu-K α1作為輻射源)包含至少在12.8的峰且缺乏在27.2和27.5的峰，在2Θ值 ± 0.2°的繞射角度下。

61. 如請求項58至60中任一項之用於吸入性治療心肺病症的藥劑，其特徵在於該化合物的X射線粉末繞射圖(在25℃下測量並利用Cu-K α1作為輻射源)包含至少在12.8和5.7的峰且缺乏在5.8和6.1的峰，在2Θ值 ± 0.2°的繞射角度下。

62. 如請求項58至61中任一項之用於吸入性治療心肺病症的藥劑，其特徵在於呈單水合物II形式的化合物具有如圖7中所示的X射線粉末繞射圖(在25℃下測量並利用Cu-K α1作為輻射源)。

63. 如請求項58至62中任一項之用於吸入性治療心肺病症的藥劑，其特徵在於呈倍半水合物形式的化合物具有如圖9中所示的X射線粉末繞射圖(在25℃下測量並利用Cu-K α1作為輻射源)。

64. 如請求項58至63中任一項之用於吸入性治療心肺病症的藥劑，其特徵在於投與活性成分持續一段至少連續兩天至七天的時間。

65. 如請求項58至64中任一項之用於吸入性治療心肺病症的藥劑，其特徵在於投與活性成分持續一段至少連續14天的時間，特別是從治療開始後持續整個疾病過程。

66. 如請求項58至65中任一項之用於吸入性治療心肺病症的藥劑，其特徵在於吸入性劑型包含呈乾粉形式的活性成分。

67. 如請求項58至66中任一項之用於吸入性治療心肺病症的藥劑，其特徵在於吸入性劑型包含呈膠囊內乾粉形式的活性成分。

68. 如請求項58至67中任一項之用於吸入性治療心肺病症的藥劑，其特徵在於吸入性劑型包含與醫藥上可接受之載劑組合的活性成分。

69. 如請求項58至68中任一項之用於吸入性治療心肺病症的藥劑，其特徵在於吸入性劑型包含乳糖單水合物作為載劑，其中較佳載劑包含粗乳糖與細乳糖的混合物。

70. 如請求項58至69中任一項之用於吸入性治療心肺病症的藥劑，其特徵在於粗乳糖具有X50 ≧ 50 μm或≧ 75 μm或≧ 125 μm的粒度，而細乳糖具有X50 < 10 μm 或≦5 μm的粒度。

71. 如請求項58至70中任一項之用於吸入性治療心肺病症的藥劑，其特徵在於粗乳糖具有X50 ≦ 145 μm或≦ 100 μm或≦ 95 μm的粒度，而細乳糖具有X50 < 10 μm 或≦ 5 μm的粒度。

72. 如請求項58至71中任一項之用於吸入性治療心肺病症的藥劑，其特徵在於粗乳糖具有X90 ≧ 115 μm，或為至少或≧ 120 μm，或為至少或≧ 200 μm的粒度，而細乳糖具有X90 < 30 μm或≦ 10 μm的粒度。

73. 如請求項58至72中任一項之用於吸入性治療心肺病症的藥劑，其特徵在於粗乳糖具有X90 ≦ 250 μm或≦ 170 μm或 ≦ 160 μm的粒度，而細乳糖具有X90 < 30 μm或≦ 10 μm的粒度。

74. 如請求項58至73中任一項之用於吸入性治療心肺病症的藥劑，其特徵在於式(I-M-I)的單水合物I具有X90 ≦ 6 μm的粒度。

75. 如請求項58至74中任一項之用於吸入性治療心肺病症的藥劑，其特徵在於式(I-M-I)的單水合物I具有X50介於1-3 μm的粒度。

76. 如請求項58至75中任一項之用於吸入性治療心肺病症的藥劑，其特徵在於吸入性劑型包含480至4000 μg呈其結晶形式單水合物I形式的(5S)-{[2-(4-

羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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. 如請求項58至76中任一項之用於吸入性治療心肺病症的藥劑，其特徵在於吸入性劑型包含480至2000 μg呈其結晶形式單水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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. 如請求項58至77中任一項之用於吸入性治療心肺病症的藥劑，其特徵在於吸入性劑型包含480至1000 μg呈其結晶形式單水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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. 如請求項58至78中任一項之用於吸入性治療心肺病症的藥劑，其特徵在於吸入性劑型包含240 μg、480 μg、1000 μg、2000 μg或4000 μg呈其結晶形式單水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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. 如請求項58至79中任一項之用於吸入性治療心肺病症的藥劑，其特徵在於心肺病症是選自由以下組成之群：肺動脈高壓(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高壓(CTEPH)以及與慢性肺病相關的肺高壓(PH) (第3類PH)，諸如慢性阻塞性肺病中的肺高壓(PH-COPD)和伴有特發性間質性肺炎的肺高壓(PH-IIP)。

81. 一種用於吸入性治療心肺病症的套裝醫藥組成物，其特徵在於其含有乾粉吸入器以及乾粉配製物，該乾粉配製物包含240至4000 μg呈選自由式(I-M-I)之單水合物I或式(I-M-II)之單水合物II或倍半水合物組成之列表的其結晶變體中之一者形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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℃下測量並利用Cu-K α1作為輻射源)包含至少在以下的

峰：12.8以及29.2，較佳6.9、7.2、7.3、12.8以及29.2，以2Θ值±0.2°引用，或其中(I-M-II)化合物的X射線粉末繞射圖(在25℃下測量並利用Cu-K α1作為輻射源)包含至少在以下的峰：12.7、5.7、6.1以及7.1，或12.7、5.7以及8.5，或其中呈其倍半水合物形式之化合物的X射線粉末繞射圖(在25℃下測量並利用Cu-K α1作為輻射源)包含至少在以下的峰：12.2以及7.6，或12.2、8.6以及14.5，以2Θ值±0.2°引用，其中該套裝含有以每天一次或兩次頻率投與該乾粉配製物持續一段至少連續兩天的時間的說明書。

82. 如請求項81之用於吸入性治療心肺病症的套裝醫藥組成物，其特徵在於心肺病症是選自由以下組成之列表：肺動脈高壓(PAH)以及與慢性肺病相關的肺高壓(PH) (第3類PH)，諸如慢性阻塞性肺病中的肺高壓(PH-COPD)和伴有特發性間質性肺炎的肺高壓(PH-IIP)。

83. 如請求項81至82中任一項之用於吸入性治療心肺病症的套裝醫藥組成物，其特徵在於該套裝進一步含有使用該乾粉配製物藉由吸入來治療心肺病症的說明書，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氣約2秒，使乾粉藥物從氣流中凝結到更深的肺部區域表面，那裡更為接近預期藥理作用部位。

84. 如請求項81至83中任一項之用於吸入性治療心肺病症的套裝醫藥組成物，其特徵在於乾粉吸入器是基於膠囊的單次單位劑量吸入器(參見圖3a)。

85. 如請求項81至84中任一項之用於吸入性治療心肺病症的套裝醫藥組成物，其特徵在於其含有乾粉配製物，該乾粉配製物包含240至4000 μg呈選自由式(I-M-I)之單水合物I或式(I-M-II)之單水合物II或倍半水合物組成之列表的其結晶變體中之一者形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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X射線粉末繞射圖(在25℃下測量並利用Cu-K α1作為輻射源)包含至少在以下的

峰：12.8以及29.2，較佳6.9、7.2、7.3、12.8以及29.2，以2Θ值±0.2°引用，或其中式(I-M-II)化合物的X射線粉末繞射圖(在25℃下測量並利用Cu-K α1作為輻射源)包含至少在以下的峰：12.7、5.7、6.1以及7.1，或12.7、5.7以及8.5，或其中呈其倍半水合物形式之化合物的X射線粉末繞射圖(在25℃下測量並利用Cu-K α1作為輻射源)包含至少在以下的峰：12.2以及7.6，或12.2、8.6以及14.5，以2Θ值±0.2°引用，而非乾粉吸入器所包含。

86. 如請求項81至85中任一項之用於吸入性治療心肺病症的套裝醫藥組成物，其特徵在於乾粉配製物包含與作為載劑之乳糖單水合物組合的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，較佳呈式(I-M-I)之單水合物I形式或呈式(I-M-II)之單水合物II形式，其中載劑包含粗乳糖與細乳糖的混合物。

87. 如請求項81至86中任一項之用於吸入性治療心肺病症的套裝醫藥組成物，其特徵在於呈單水合物I形式的化合物具有如圖6中所示的X射線粉末繞射圖(在25℃下測量並利用Cu-K α1作為輻射源)。

88. 如請求項81至87中任一項之用於吸入性治療心肺病症的套裝醫藥組成物，其特徵在於該化合物的X射線粉末繞射圖(在25℃下測量並利用Cu-K α1作為輻射源)包含至少在12.8的峰且缺乏在27.2和27.5的峰，在2Θ值±0.2°的繞射角度下。

89. 如請求項81至88中任一項之用於吸入性治療心肺病症的套裝醫藥組成物，其特徵在於該化合物的X射線粉末繞射圖(在25℃下測量並利用Cu-K α1作為輻射源)包含至少在12.8和5.7的峰且缺乏在5.8和6.1的峰，在2Θ值±0.2°的繞射角度下。

90. 請求項81至89中任一項之用於吸入性治療心肺病症的套裝醫藥組成物，其特徵在於呈單水合物II形式的化合物具有如圖7中所示的X射線粉末繞射圖(在25℃下測量並利用Cu-K α1作為輻射源)。

91. 如請求項81至90中任一項之用於吸入性治療心肺病症的套裝醫藥組成物，其特徵在於呈倍半水合物形式的化合物具有如圖9中所示的X射線粉末繞射圖(在25℃下測量並利用Cu-K α1作為輻射源)。

92. 如請求項81至91中任一項之用於吸入性治療心肺病症的套裝醫藥組成物，其特徵在於投與活性成分持續一段至少連續兩天至七天的時間。

93. 如請求項81至92中任一項之用於吸入性治療心肺病症的套裝醫藥組成物，其特徵在於投與活性成分持續一段至少連續14天的時間，特別是從治療開始後持續整個疾病過程。

94. 如請求項81至93中任一項之用於吸入性治療心肺病症的套裝醫藥組成物，其特徵在於吸入性劑型包含呈乾粉形式的活性成分。

95. 如請求項81至94中任一項之用於吸入性治療心肺病症的套裝醫藥組成物，其特徵在於吸入性劑型包含呈膠囊內乾粉形式的活性成分。

96. 如請求項81至95中任一項之用於吸入性治療心肺病症的套裝醫藥組成物，其特徵在於粗乳糖具有X50 ≧ 50 μm或≧ 75 μm或≧ 125 μm的粒度，而細乳糖具有X50 < 10 μm 或≦ 5 μm的粒度。

97. 如請求項81至96中任一項之用於吸入性治療心肺病症的套裝醫藥組成物，其特徵在於粗乳糖具有X50 ≦ 145 μm或≦ 100 μm或≦ 95 μm的粒度，而細乳糖具有X50 < 10 μm 或≦ 5 μm的粒度。

98. 如請求項81至97中任一項之用於吸入性治療心肺病症的套裝醫藥組成物，其特徵在於粗乳糖具有X90 ≧ 115 μm，或為至少或≧ 120 μm，或為至少或≧ 200 μm的粒度，而細乳糖具有X90 < 30 μm或≦ 10 μm的粒度。

99. 如請求項81至98中任一項之用於吸入性治療心肺病症的套裝醫藥組成物，其特徵在於粗乳糖具有X90 ≦ 250 μm或≦ 170 μm或 ≦ 160 μm的粒度，而細乳糖具有X90 < 30 μm或≦ 10 μm的粒度。

100. 如請求項81至99中任一項之用於吸入性治療心肺病症的套裝醫藥組成物，其特徵在於式(I-M-I)的單水合物I具有X90 ≦ 6 μm的粒度。

101. 如請求項81至100中任一項之用於吸入性治療心肺病症的套裝醫藥組成物，其特徵在於式(I-M-I)的單水合物I具有X50介於1-3 μm的粒度。

102. 如請求項81至101中任一項之用於吸入性治療心肺病症的套裝醫藥組成物，其特徵在於吸入性劑型包含480至4000 μg呈其結晶形式單水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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. 如請求項81至102中任一項之用於吸入性治療心肺病症的套裝醫藥組成物，其特徵在於吸入性劑型包含480至2000 μg呈其結晶形式單水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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. 如請求項81至103中任一項之用於吸入性治療心肺病症的套裝醫藥組成物，其特徵在於吸入性劑型包含480至1000 μg呈其結晶形式單水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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. 如請求項81至103中任一項之用於吸入性治療心肺病症的套裝醫藥組成物，其特徵在於吸入性劑型包含240 μg、480 μg、1000 μg、2000 μg或4000 μg呈其結晶形式單水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸。

【0347】 以下例示性具體例說明了本發明。但本發明不限於實例。

【0348】除非另有指明，否則以下測試和實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每種情況下均基於體積。

實驗部分

【0349】縮寫和字首語

CI	化學電離(在 MS)
D	天
DC	薄層層析
DMSO	二甲亞碸
o. th.	理論(產率)的
ee	過量對映異構物
EI	電子衝擊電離(在 MS)
Ent	對映異構物/對映異構上為純的
wt.-%	重量百分比
H	小時
HPLC	高壓液相層析
iPrOAc	乙酸異丙酯
iPrOH	異丙醇
conc.	濃縮
l	公升
LC-MS	偶合液相層析的質譜法
min	分
MS	質譜法
pTsOH	對-甲苯磺酸
Rf	滯留指標(在 DC)
RP-HPLC	逆相高效液相層析
RRT	相對滯留時間
Rt	滯留時間
RT	室溫
THF	四氫呋喃
v/v	體積比(在溶液中)
Tinternal	內部溫度
Tsheath	護套溫度
abs.	絕對
acac	乙醯基丙酮酸根(acetylacetonato)
BINAP	(2,2'-雙(二苯基膦)-1,1'-聯萘)

cat.	催化
CI	化學電離(在 MS)
coe	環辛烯
d	天
TLC	薄層層析
DCM	二氯甲烷
DMA	二甲基乙醯胺
DMF	二甲基甲醯胺
DMSO	二甲亞碸
	公升
ee	對映異構過量
EI	電子衝擊電離(在 MS)
ent	對映異構物/在對映異構上為純的
eq	當量
ESI	電噴霧電離(在 MS)
EtOAc	乙酸乙酯
GC-MS	偶合氣相層析的質譜法
% by weight	重量百分比
h	小時
HPLC	高壓高效液相層析
ID	內徑
iPrOAc	乙酸異丙酯
iPrOH	異丙醇
conc.	濃縮
LC-MS	偶合液相層析的質譜法
LDA	二異丙基胺基鋰
LiHMDS	雙(三甲基矽基)胺基鋰
min	分
MS	質譜法
MTBE	2-甲氧基-2-甲基丙烷
NMR	核磁共振質譜法
NMP	N-甲基-2-吡咯啶酮
Ph	苯基
pTsOH	對甲苯磺酸
R_f	滯留指標(在 TLC)
RP-HPLC	逆相高效液相層析
RRT	相對滯留時間
R_t	滯留時間
RT	室溫

TESCl	氯三乙基矽烷
THF	四氫呋喃
v/v	(溶液的)體積比
$T_{internal}$	內部溫度
T_{sheath}	護套溫度

分析方法

【0350】 DSC/TG

使用Perkin-Elmer的差示掃描量熱計(型號DSC7、Pyris-1或Diamond)記錄DSC熱分析圖。使用非氣密鋁盤以20 Kmin-1的加熱速率進行測量。流動氣體是氮氣。沒有樣品製備。

【0351】 使用Perkin-Elmer的熱天平(型號TGA7和Pyris 1)記錄TGA熱分析圖。使用開放式鉑盤以10 Kmin-1的加熱速率進行測量。流動氣體是氮氣。沒有樣品製備。

【0352】 XRPD

在室溫下使用XRD繞射儀X`Pert PRO (PANalytical)和STOE STADI-P (輻射Cu K α 1，波長1.5406 Å)記錄X射線繞射圖。沒有樣品製備。所有X射線反射均以°2Θ (西塔)值(最大峰值)表示，解析度為±0.2°。

【0353】 拉曼

在室溫下使用Bruker的FT-Raman分光光度計(型號RFS 100和MultiRam)記錄拉曼光譜。解析度為2 cm-1。在玻璃小瓶或鋁盤中進行測量。沒有樣品製備。

【0354】 IR

在室溫下使用帶有Bruker的通用金剛石ATR裝置的FT-IR-分光光度計Tensor 37記錄IR-ATR-光譜。解析度為4 cm-1。沒有樣品製備。

【0355】 LC-MS方法

【0356】 方法A

儀器：Waters ACQUITY SQD UPLC系統；管柱：Waters Acquity UPLC HSS T3 1.8 µm 50 x 1 mm；溶析液A：1 l Wasser + 0.25 ml 99%ige甲酸，溶析液B：1 l 乙腈 + 0.25 ml 99%ige甲酸；梯度：0.0 min 90% A → 1.2 min 5% A → 2.0 min 5% A 烘箱：50℃；流速：0.40 ml/min；UV偵測：210 nm。

【0357】 HPLC方法

【0358】 方法B

帶有恆溫管柱烘箱、UV偵測器和數據評估系統的高效液相層析，測量波長206 nm，帶寬：6 nm，烘箱溫度30℃，管柱：chiralpak AD-H，長度：250 mm，內徑：4.6 mm，粒度：5 µm，移動相：A：N-庚烷，B：乙醇+0.1%二乙胺，梯度程序：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，測試溶液：約1.0 mg/ml物質，用樣品溶劑溶解，注射體積：5 µl RT：對映異構物1：5.8 min (RRT 1.00)，對映異構物2：7.2 min RRT1.25。

【0359】 方法C

帶有恆溫管柱烘箱、UV偵測器和數據評估系統的高效液相層析，測量波長204 nm，帶寬：6 nm，烘箱溫度45℃，管柱：chiralpak AD-H，長度：250 mm，內徑：4.6 mm，粒度：5 µm，移動相：A：N-庚烷，B：乙醇+0.2%三氟乙酸+0.1%二乙胺，梯度程序：1.5 ml/min 60%溶析液a，40%溶析液b；樣品溶劑：乙醇，測試溶液：約1.0 mg/ml物質，用樣品溶劑溶解，注射體積：10 µl RT：對映異構物1 2.9 min RRT 1,00 對映異構物2 3.7 min RRT 1.28。

【0360】 方法L

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 µm；溶析液A：1 l水 + 0.01%甲酸；溶析液B：1 l乙腈 + 0.01%甲酸；梯度：0.0 min 2% B → 2.0 min 2%

B → 13.0 min 90% B → 15.0 min 90% B；烘箱：50℃；流速：1.20 ml/min；UV偵測：210 nm。

【0361】 方法M

帶有恆溫管柱烘箱、UV偵測器和數據評估系統的高效液相層析，測量波長226 nm，帶寬：40 nm。管柱：Zorbax Bonus-RP，長度：150 mm，內徑：3.0 mm，粒度：3.5 µm，移動相：A：水 + 0.1% TFA，B：ACN + 0.1% TFA/甲醇 = 2 + 1，梯度程序：0.0 min 50% B → 12.0 min 70% B → 17.0 min 90% B → 25.0 min 90% B；流速：0.60 ml/min；樣品溶劑：異丙醇+0.1%二乙胺，測試溶液：約35 mg物質溶於25 ml ACN中，並用水 + 0.1% TFA補足至50 ml。(0.7 mg/ml)；注射體積：3 µL。

【0362】 新方法M

帶有恆溫管柱烘箱、UV偵測器和數據評估系統的高效液相層析，測量波長226 nm，帶寬：40 nm。管柱：XBridge Phenyl長度：50 mm，內徑：4.6 mm，粒度：2.5 µm；管柱烘箱溫度：22℃

移動相：A：緩衝液pH7 (0.66 g/L (NH4)2HPO4和0.58 g/L NH4H2PO4)；B：ACN

梯度程序：0.00 min = 95 % A，5% B；t 8.3-11 = 20% A，80% B

流速：1.2 mL/min.；UV燈：210 nm

【0363】 方法N

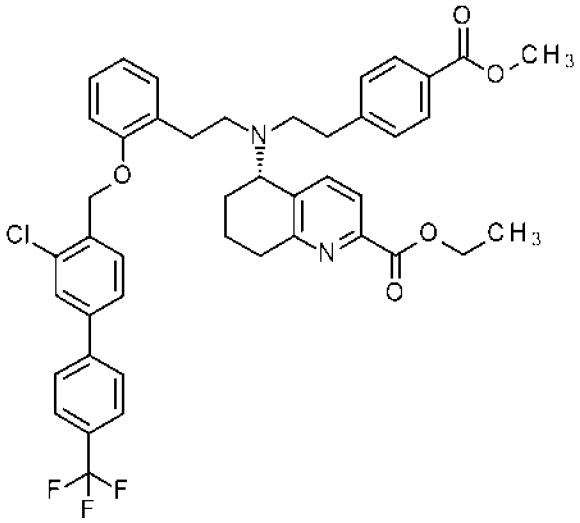
帶有恆溫管柱烘箱、UV偵測器和數據評估系統的高效液相層析，測量波長210 nm。管柱：XBridge BEH Phenyl長度：50 mm，內徑：4.6 mm，粒度：2.5 µm，移動相：A：0.66 g (NH4)2HPO4和0.58 g (NH4)H2PO4在1 l milipore水中；B：ACN，梯度程序：0.00 min 95% B → 8.3 min 80% B → 11.0 min 80%；流速：1.2 ml/min；樣品溶劑：ACN + 水，注射體積：3 µL。

【0364】 A-化學實例

【0365】 起始材料及中間物

【0366】 實例1A

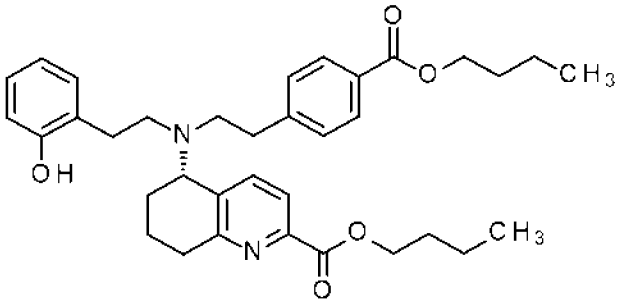
(5S)-5-([2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)[聯苯]-4-基]甲氧基}苯基)乙基]{2-[4-(甲氧基羰基)苯基]乙基}胺基)-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸酯(對映異構物2)



【0367】 化合物是根據如WO 2014/012934，實例92A中所揭示的程序進行合成。

【0368】 實例2A

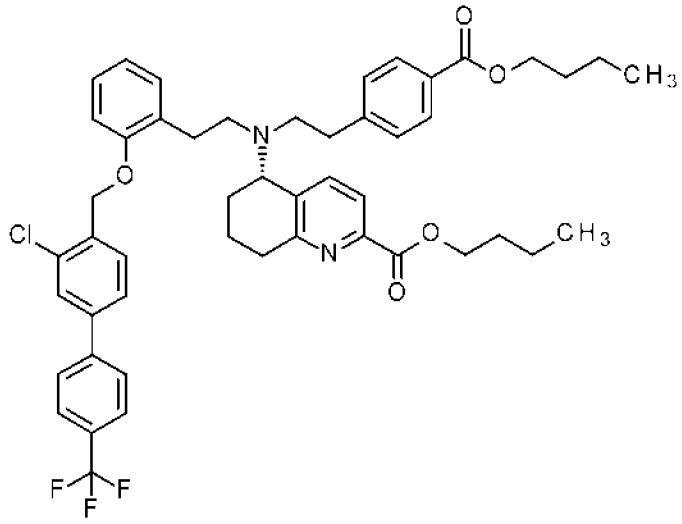
(5S)-5-({2-[4-(丁氧基羰基)苯基]乙基}[2-(2-羥基苯基)乙基]胺基)-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸丁酯



【0369】 化合物是根據如WO2021/233783，實例10中所揭示的程序進行合成。

【0370】 實例3A

(5S)-5-({2-[4-(丁氧基羰基)苯基]乙基}[2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)[聯苯]-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基)-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸丁酯

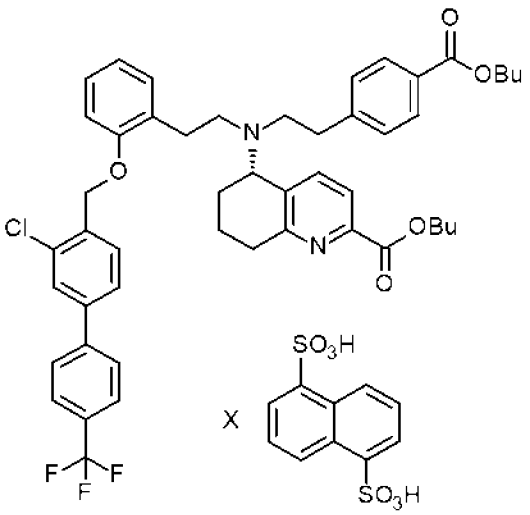


【0371】 化合物是根據如WO2021/233783，實例11中所揭示的程序進行合成。

【0372】 另一種起始材料4-(溴甲基)-3-氯-4'-(三氟甲基)[聯苯] (式XI化合物)可商購。

【0373】 實例4A

萘-1,5-二磺酸-(5S)-5-({2-[4-(丁氧基羰基)苯基]乙基}[2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)[聯苯]-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



【0374】 在3 L燒瓶中，889.1 g (1.06 mol) (5S)-5-({2-[4-(丁氧基羰基)苯基]乙基}[2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)[聯苯]-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基)-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸丁酯(油)溶於1850 ml四氫呋喃中。在室溫下加入304.6 g (1.06mol)的萘-1,5-二磺酸，攪拌混合物直至完全溶解。隨後在旋轉蒸發器上，將溶液在40℃下濃縮。在真空乾燥箱中，將殘餘物(固體)於40℃下在氮氣流中乾燥至1126.3 g。

【0375】 產率(粗產物)：1126.3 g；理論產率的94.4%

【0376】 對映異構純度(HPLC方法B)：95.3% ee

【0377】 純度(面積)：81.8% (方法N)，Rt 16.11(BP-二酯))

【0378】 實例4B-4E

(5S)-5-({2-[4-(丁氧基羰基)苯基]乙基}[2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)[聯苯]-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基)-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸丁酯與不同酸形成穩定鹽的試驗。

【0379】 4B：添加(+)-二-對-甲苯甲醯基-D-酒石酸

4 g (0.005 mol) (5S)-5-({2-[4-(丁氧基羰基)苯基]乙基}[2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)[聯苯]-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基)-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸丁酯(油)在50℃的溫度下逐漸溶解在總量為75 ml的甲醇中。加入1.8 g (0.005 mol) (+)-二-對-甲苯甲醯基-D-酒石酸在2.5 ml甲醇中的溫熱溶液。最後將混合物攪拌過週末。

【0380】 向較小部分的反應混合物中加入不同溶劑以引發結晶。嘗試了以下溶劑但沒有任何效果：MTBE、MIBK、二氯甲烷、甲苯。在加入環己烷、n-己烷和甲基環己烷的混合物後形成兩層。

【0381】 將幾滴反應混合物在錶面皿上乾燥，將所得乾燥物質刮下並最終在環己烷、n-己烷和甲基環己烷的混合物中攪拌。所得固體溶化。

【0382】 用甲基環己烷分離出固體。固體的HPLC分析顯示為酒石酸。

【0383】 向另一部分反應混合物中加入水後，分離出固體。固體難以分離。

【0384】 將反應混合物氣提出溶劑。獲得3.1 g淡黃色泡沫狀結晶。

【0385】 向泡沫結晶中加入31 ml甲基環己烷並攪拌4小時。獲得2.8 g淺黃色固體。

【0386】 未偵測到明確的鹽。

【0387】 4C：添加三氟乙酸(=TFA)

0.21 g (0.2 mmol) (5S)-5-({2-[4-(丁氧基羰基)苯基]乙基}[2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)[聯苯]-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基)-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸丁酯(油)溶解在2 ml乙腈中。添加0.1 ml TFA。形成橙色溶液。真空蒸發溶劑得到橙色油狀物。

【0388】 沒有觀察到鹽形成。

【0389】 4D：添加甲磺酸

0.26 g (0.3 mmol) (5S)-5-({2-[4-(丁氧基羰基)苯基]乙基}[2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)[聯苯]-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基)-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸丁酯(油)溶於1.5 ml二氯甲烷。加入20.1 µl甲烷磺酸。形成橙色溶液。在室溫下攪拌1小時後無結晶。

【0390】 在40℃下真空蒸發溶劑，得到黃色泡沫狀結晶。

【0391】 篩選幾種溶劑以啟動結晶或純化。

【0392】 二氯甲烷、MIBK、MTBE、乙酸乙酯、丙酮、乙腈、二噁烷、n-丁醇、甲醇、乙醇、四氫呋喃、甲苯在室溫下形成溶液。

【0393】 二異丙醚、水、二乙醚、環己烷產生黏性物質。

【0394】 在室溫下於n己烷中進一步攪拌再次產生黏性物質。

【0395】 沒有鹽可分離。

【0396】 4E：添加樟腦磺酸

0.29 g (0.34 mmol) (5S)-5-({2-[4-(丁氧基羰基)苯基]乙基}[2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)[聯苯]-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基)-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸丁酯(油)溶於1.5 ml二氯甲烷。加入80.05 µg樟腦磺酸。形成橙色溶液。

【0397】 在40℃下真空蒸發溶劑，得到黃色泡沫狀結晶。

【0398】 篩選幾種溶劑以啟動結晶或純化。

【0399】 二氯甲烷、MIBK、乙酸乙酯、丙酮、乙腈、二噁烷、n-丁醇、甲醇、乙醇、四氫呋喃、甲苯在室溫下形成溶液。

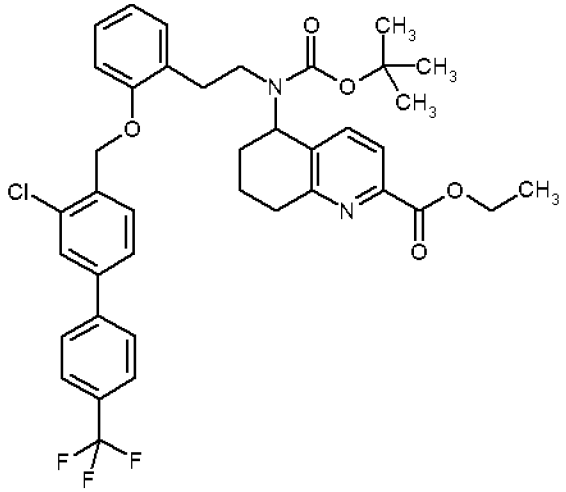
【0400】 添加MTBE導致油滴形成。

【0401】 水、二異丙醚、二乙醚、環己烷和n庚烷都只提供黏性物質。

【0402】 沒有鹽可分離。

【0403】 實例5A和實例6A

5-{(三級丁氧基羰基)[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(對映異構物1和2)



【0404】 15 g (21.42 mmol)外消旋5-{(三級丁氧基羰基)[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(實例22A)是藉由超臨界流體層析(SFC)在手性相上分離成對映異構物[管柱：Chiralpak

OD-H，20 μm，400 mm x 50 mm；移動相：二氧化碳/異丙醇/0：30 (v/v)；流速：400 ml/min；壓力：80巴；UV偵測：220 nm；溫度：37℃]：

[0405] 實例5A (對映異構物1)：

[0406] 產率：5830 mg

[0407] Rt：2.83 min；化學純度>99.9%；>99% cc

[0408] [管柱：Chiralpak OD-H，5 μm，250 mm x 4.6 mm；移動相：二氧化碳/異丙醇/0：30 (v/v)；流速：3 ml/min；UV偵測：210 nm]。

[0409] 實例6A (對映異構物2)：

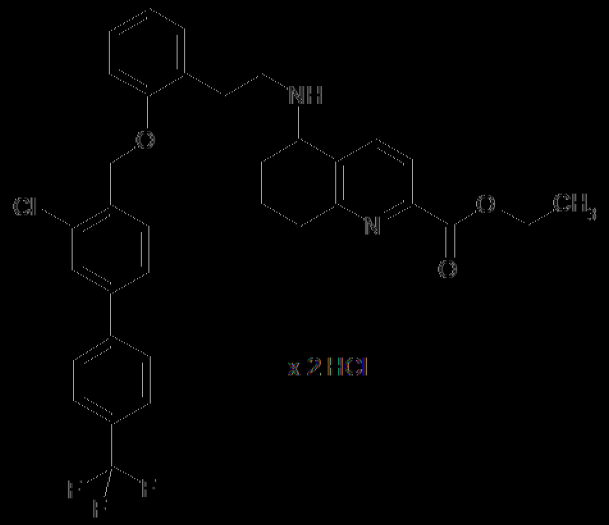
[0410] 產率：6330 mg

[0411] Rt：5.30 min；化學純度>99%；>98% cc

[0412] [管柱：Chiralpak OD-H，5 μm，250 mm x 4.6 mm；移動相：二氧化碳/異丙醇/0：30 (v/v)；流速：3 ml/min；UV偵測：210 nm]。

[0413] 實例7A

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(對映異構物1)



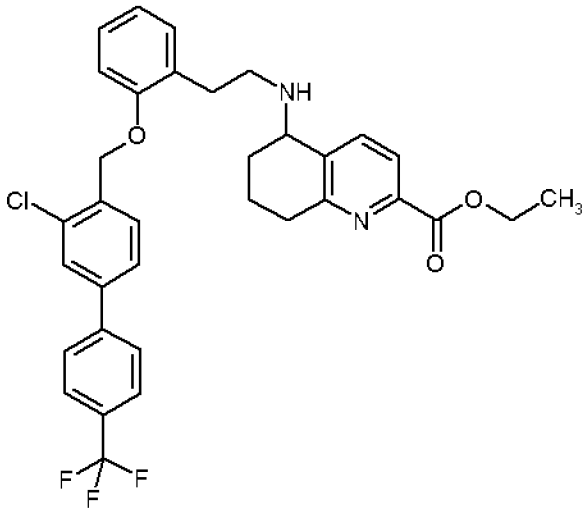
[0414] 將用額外2240 ml二噁烷稀釋的3208 ml於二噁烷中之4 N氯化氫溶液加入到455 g (641.56 mmol) 5-{(三級丁氧基羰基)[2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)

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(對映異構物1，實例1A)，並在室溫下將混合物攪拌過夜。然後將反應溶液濃縮至乾，並將殘餘物在高度真空下乾燥過夜。得到448.7 g (641.59 mmol，理論的約100%)目標產物。

【0415】 LC-MS (方法A)：Rt = 1.06 min；m/z = 609/611 (M+H)+。

【0416】 實例8A

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(對映異構物1)



【0417】 448.7 g (641.59 mmol) 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(對映異構物1，實例3A)溶解在6869 ml THF中，加入268 ml三乙胺，並將混合物在室溫下攪拌1 h。接著濾出沉澱的三乙基氯化銨結晶並用THF洗滌。將所得濾液蒸發至乾。將殘餘物溶解在乙酸乙酯中，用10%強度氯化鈉水溶液洗滌兩次，經硫酸鎂乾燥，過濾並再次蒸發至乾。得到391 g (620.59 mmol，理論的97%)目標化合物。

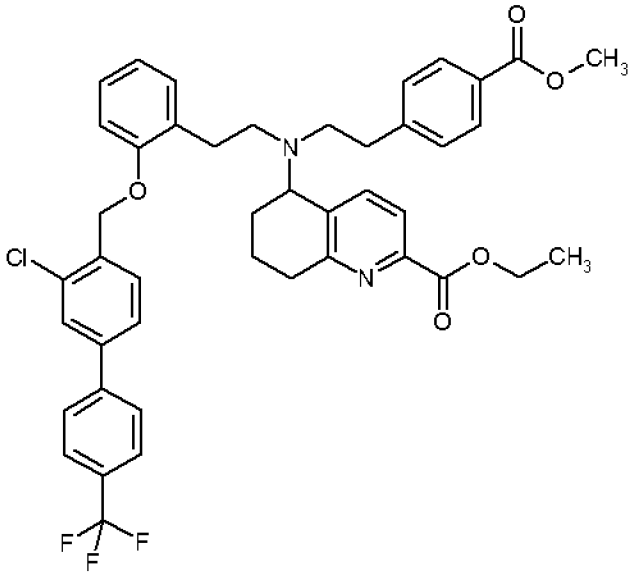
【0418】 LC-MS (方法A)：Rt = 1.08 min；m/z = 609/611 (M+H)+。

【0419】 1H-NMR (400 MHz, DMSO-d6, δ/ppm): 1.27 (t, 3H), 1.57-1.72 (m, 2H), 1.76-1.87 (m, 1H), 1.87-1.95 (m, 1H), 1.95 -2.07 (m, 1H), 2.65-2.88 (m, 6H), 3.75

(br. s, 1H), 4.28 (q, 2H), 5.19 (s, 2H), 6.92 (t, 1H), 7.08 (d , 1H), 7.16-7.26 (m, 2H), 7.65-7.77 (m, 3H), 7.84 (d, 3H), 7.89 (s, 1H), 7.95 (d, 2H)。

【0420】 實例9A

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



【0421】 378 g (620.59 mmol) 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(對映異構物1，實例4A)、360 g (1241.19 mmol) 4-(2-碘乙基)苯甲酸甲酯和98.66 g (930.89 mmol)無水碳酸鈉於8191 ml乾燥乙腈中的懸浮液在110℃的浴溫下攪拌過夜。然後進一步加入360 g (1241.19 mmol) g 4-(2-碘乙基)苯甲酸甲酯和128.65 g (930.89 mmol)粉末狀碳酸鉀，並將混合物在回流下加熱又再72 h。反應混合物冷卻後，濾出無機鹽並將所得濾液蒸發至乾。將所得殘餘物溶解在乙酸乙酯中，用10%強度氯化鈉水溶液洗滌兩次，經硫酸鎂乾燥，過濾，然後再次蒸發至乾。將所得殘餘物分2份在矽膠(9 kg)上以層析的方式進行純化(移動相：石油醚/乙酸乙酯8：2→7：3)。得到397 g (551.32 mmol，理論的89%)目標化合物。

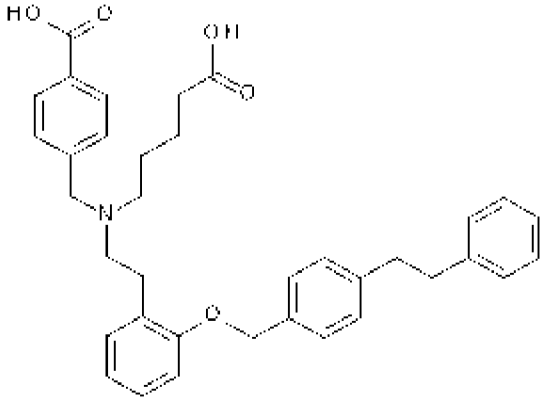
【0422】 LC-MS (方法A)：Rt = 1.67 min；m/z = 771/773 (M+H)+。

【0423】 1H-NMR (400 MHz, DMSO-d6, δ/ppm): 1.27 (t, 3H), 1.37-1.52 (m, 1H), 1.52-1.67 (m, 1H), 1.85-1.96 (m, 1H), 1.96 -2.05 (m, 1H), 2.56-2.80 (m, 10H), 3.81 (s, 3H), 3.97-4.09 (m, 1H), 4.26 (q, 2H), 5.07 (m, 2H), 6.87 (t , 1H), 7.01-7.16 (m, 4H), 7.23 (t, 1H), 7.35-7.48 (m, 2H), 7.53 (d, 1H), 7.61 (d, 1H), 7.74 (d, 2H), 7.77-7.89 (m, 5H)。

【0424】 比較例

【0425】 比較例1 (西尼西呱)

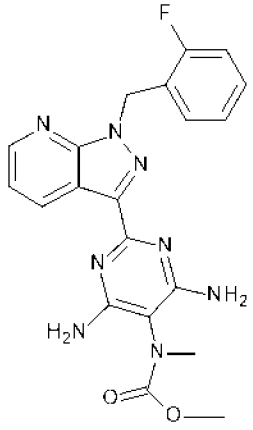
4-[((4羧基丁基)-{2-[(4-苯基苯甲基)氧基]苯基}胺基)甲基]苯甲酸



【0426】 化合物以類似於WO 01/019780-A1，實例8A的方式進行合成。

【0427】 比較例2利奧西呱

4,6-二胺基-2-[1-(2-氟苯甲基)-1H-吡唑并[3,4-b]吡啶-3-基]-5-嘧啶(甲基)胺基甲酸甲酯



【0428】 化合物以類似於WO 03/095451-A1，實例8的方式進行合成。

[0429] 比較例3

(5)-{(4-羧基)苄基}2-(2-{[4-(5-氯-1,3-苯并噁唑-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(對映異構物2)

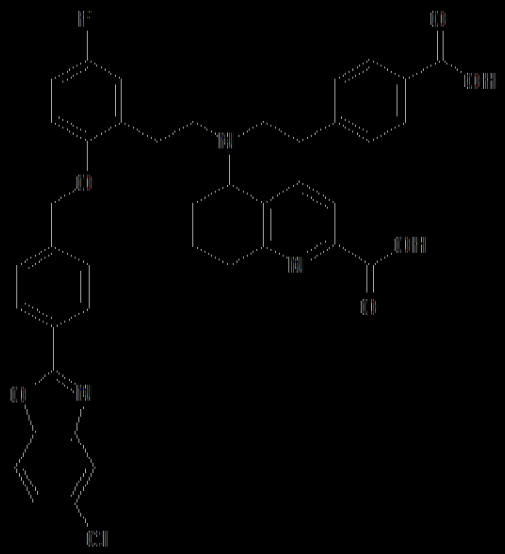


[0430] 化合物以類似於WO 2014/012934 A1，實例3'的方式進行合成。

[0431] LC-MS (方法A)：R_t = 1.10 min；m/z = 672/674 $(M+H)^+$。

[0432] 比較例4

[0433] 5-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[4-(5-氯-1,3-苯并噁唑-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(對映異構物2)



[0434] 化合物以類似於WO 2014/012934 A1，實例39的方式進行合成。

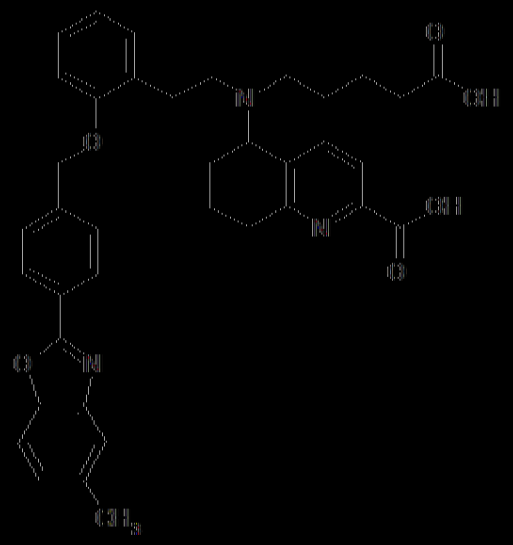
[0435] LC-MS (方法A)：R_t = 1.28 min；m/z = 720/722 $(M+H)^+$。

[0436] ^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ [ppm] = 1.40-1.72 (m, 2H), 1.88-2.11 (m, 2H), 2.59-2.84 (m, 10H), 4.02-4.13 (m, 1H), 5.00-5.14 (m, 2H), 6.96 (d, 1H), 7.02 (d, 2H), 7.13 (d, 2H), 7.41-7.57 (m, 5H), 7.75 (d, 2H), 7.83 (d, 1H), 7.93 (d, 1H), 8.11 (d, 2H), 12.05-13.41 (br. s,約2H)。

[0437] [α]$_D^{20}$ = +58.77°，c = 0.405, DMSO。

[0438] 比較例5

(+)-5-{(4-羧基]乙基}-2-(2-{[4-(5-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(對映異構物2)



[0439] 化合物以類似於WO 2014/012934-A1，實例2的方式進行合成。

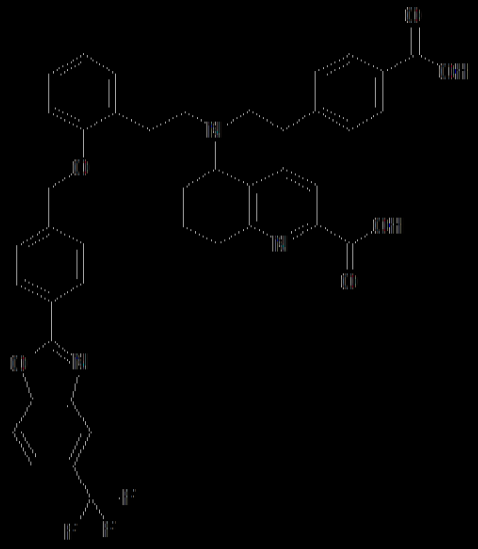
[0440] LC-MS (方法A)：R$_t$ = 1.03 min；m/z = 634(M+H)$^+$。

[0441] ^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ [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，部分受到DMSO訊號遮蓋), 2.46 (s, 3H), 2.65-2.87 (m, 4H), 3.95-4.03 (m, 1H), 5.08 (q, 2H), 6.87 (t, 1H), 6.99 (d, 1H), 7.13 (d, 1H), 7.18 (t, 1H), 7.25 (d, 1H), 7.52 (d, 2H), 7.61 (s, 1H), 7.67 (d, 2H), 7.85 (d, 1H), 8.16 (d, 2H), 11.30-12.97 (br. s, 2H)。

[0442] [α]$_D^{20}$ = +62.89°，c = 0.380，甲醇。

[0443] 比較例6

5-({2-(4-羧基苯基)乙基]{2-[2-({4-[5-(三氟甲基)-1,3-苯并噁唑-2-基]苄基}氧基)苯基]乙基}胺基)-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸(醚吠奧精物2)



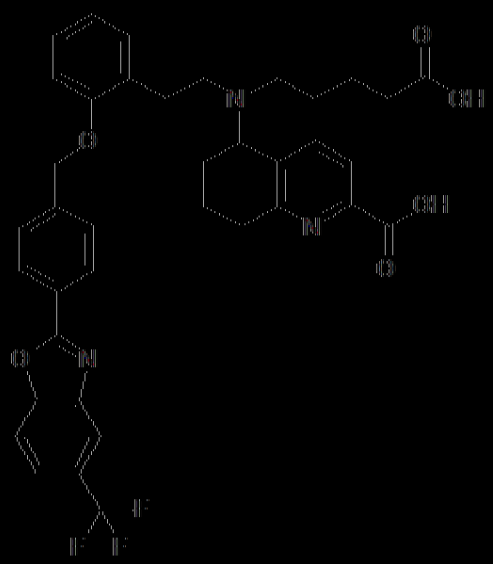
[0444] 化合物是以類似於WO 2014/012934 A1，實例24的方式進行合成。

[0445] LC-MS (方法A)：R_t = 1.32 min；m/z = 736(M+H)$^+$。

[0446] ^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ [ppm] = 1.41-1.55 (m, 1H), 1.55-1.71 (m, 1H), 1.88-2.10 (m, 2H), 2.58-2.89 (m, 10H), 4.01-4.14 (m, 1H), 5.03-5.16 (m, 2H), 6.86 (t, 1H), 6.99-7.10 (m, 2H), 7.14 (d, 2H), 7.21 (t, 1H), 7.46 (d, 1H), 7.49-7.60 (m, 3H), 7.72-7.86 (m, 3H), 8.03 (d, 1H), 8.14 (d, 2H), 8.24 (s, 1H), 12.01-13.42 (br. s, 約2H)。

[0447] 比較例7

5-[(4-羧基苄基){2-[2-({4-[5-(三氟甲基)-1,3-苯并噁唑-2-基]苄基}氧基)苯基]乙基}胺基]-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸(醚吠奧精物2)



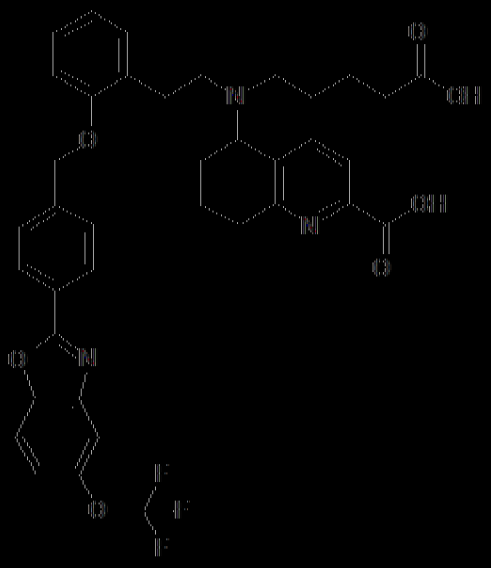
[0448] 化合物以類似於WO 2014/012934 A1，實例25的方式進行合成。

[0449] LC-MS (方法A)：R_t = 1.07 min；m/z = 688(M+H)$^+$。

[0450] ^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ [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, 部分受到DMSO訊號遮掩), 2.65-2.91 (m, 4H), 3.87-4.07 (m, 1H), 5.10 (q, 2H), 6.87 (t, 1H), 7.00 (d, 1H), 7.10-7.23 (m, 2H), 7.56 (d, 2H), 7.66 (d, 1H), 7.85 (d, 2H), 8.04 (d, 1H), 8.16-8.30 (m, 3H), 11.10-13.31 (br. s, 約2H)。

[0451] 比較例8

5-[(4-羧基-1-{[2-(2-{[4-(5-(三氟甲氧基)-1,3-苯并噁唑-2-基)苄基]氧}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸(對映異構物2)



[0452] 化合物以類似於WO 2014/012934 A1，實例28的方式進行合成。

[0453] LC-MS (方法A)：R_t = 1.09 min；m/z = 704(M+H)$^+$。

[0454] ^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ [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, 部分受到DMSO訊號遮掉), 2.64-2.88 (m, 4H), 3.93-4.05 (m, 1H), 5.10 (q, 2H), 6.87 (t, 1H), 6.99 (d, 1H), 7.09-7.23 (m, 2H), 7.46 (dd, 1H), 7.54 (d, 2H), 7.66 (d, 1H), 7.85 (d, 1H), 7.89-7.98 (m, 2H), 8.18 (d, 2H), 11.10-13.04 (br. s, 約2H)。

[0455] 比較例9

5-{[2-(4-羧基苯基)乙基]{2-[2-({4-[5-(三氟甲氧基)-1,3-苯并噁唑-2-基]苄基}氧基)苯基]乙基}胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸(對映異構物2)



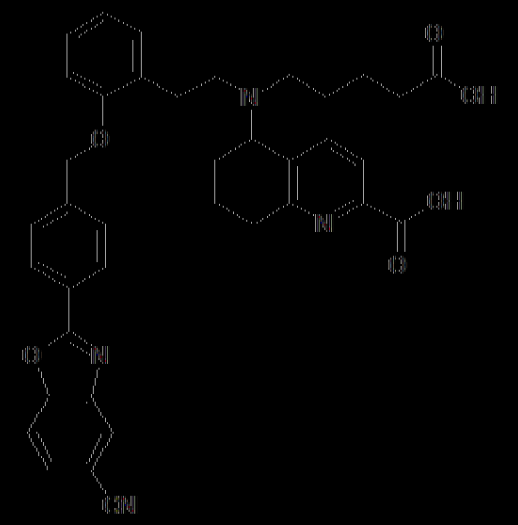
[0456] 化合物以類似於WO 2014/012934 A1，實例29的方法進行合成。

[0457] LC-MS (方法A)：R_t = 1.34 min；m/z = 752 $(M+H)^+$。

[0458] ^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ [ppm] = 1.42-1.55 (m, 1H), 1.55-1.71 (m, 1H), 1.88-2.11 (m, 2H), 2.59-2.87 (m, 10H), 3.99-4.13 (m, 1H), 5.09 (q, 2H), 6.88 (t, 1H), 6.98-7.09 (m, 2H), 7.15 (d, 2H), 7.20 (t, 1H), 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)。

[0459] 比較例10

5-{(4-羧基)苯基}-2-(2-{[4-(5-氰基-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(醫師決定精物2)



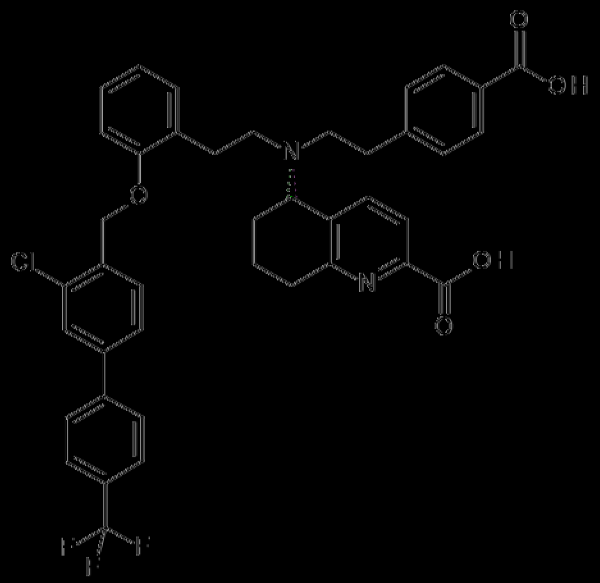
[0460] 化合物以類似於WO 2014/012934 A1，實例31的方式進行合成。

[0461] LC-MS (方法A)：R_t = 0.93 min；m/z = 645(M+H)$^+$。

[0462] ^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ [ppm] = 1.31-1.77 (m, 6H), 1.90-2.05 (m, 2H), 2.05-2.18 (m, 2H), 2.39-2.64 (m, 4H, 部分受到DMSO訊號遮掩), 2.65-2.88 (m, 4H), 3.92-4.05 (m, 1H), 5.10 (q, 2H), 6.87 (t, 1H), 6.99 (d, 1H), 7.10-7.22 (m, 2H), 7.55 (d, 2H), 7.67 (d, 1H), 7.85 (d, 1H), 7.93 (d, 1H), 8.04 (d, 1H), 8.19 (d, 2H), 8.44 (s, 1H), 11.38-12.79 (br. s, 約2H)。

[0463] 比較例11

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



[0464] 將2450 mg (3.18 mmol) (5S)-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(實例1A，對映異構物2)溶解在25 ml二噁烷中，添加9.5 ml 1 N氫氧化鈉水溶液，然後在室溫下將混合物攪拌過夜。反應完成後，在旋轉蒸發器上移除二噁烷並將剩餘的混合物用約50 ml水稀釋。接著使用乙酸將混合物酸化至pH 4-5。抽濾出沉澱的固體並用水反覆洗滌(總共約50 ml水)。繼而將固體溶於50 ml水中並在室溫下攪拌過夜。利用又一次抽吸過濾後，再次用水洗滌固體，然後

在40℃下高度真空乾燥過夜。以這個方式，得到2300 mg標題化合物(2.9 mmol，純度93%，含有未知量的單鈉鹽，滯留時間相同)。

【0465】 LC-MS (方法A)：Rt = 1.37 min；m/z = 729/731(M+H)+。

【0466】 1H-NMR (400 MHz, DMSO-d6): δ [ppm] = 1.38-1.71 (m, 2H), 1.84-2.08 (m, 2H), 2.59-2.84 (m, 10H), 3.97-4.11 (m, 1H), 4.99-5.16 (m, 2H), 6.87 (t, 1H), 7.05 (br. d, 2H), 7.12 (br. d, 2H), 7.23 (br. t, 1H), 7.38-7.48 (m, 2H), 7.54 (d, 1H), 7.62 (d, 1H), 7.71-7.91 (m, 7H), 11.90-13.60 (br. s, 約2H)。

【0467】 XRPD：非晶形相，參見圖33。

【0468】 經由VCD光譜學來測定比較例11的絕對構型：

【0469】 振動圓二色性(VCD)是一種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)。

【0470】 涉及測定的步驟如下：

1. 實驗VCD光譜是使用DMSO測量的。在5.5 mg/0.15 ml的濃度下測量樣品實例1。

2. 其中一種對映異構物的VCD是使用Gaussian09TM (市售套裝軟體)從頭計算。然後藉由反轉所有帶的符號或計算鏡像結構的VCD來獲得另一個對映異構物的VCD光譜。

3. 最後一步是將實驗光譜與兩個計算光譜進行比較，以確定在符號和信號強度之間提供最佳相關性的對映異構物。可以使用CompareVOA™軟體計算兩個此類光譜之間重疊的信賴度水準。

【0471】 VCD光譜儀：ChirallR-2X w/ DualPEM

【0472】 濃度：5.5 mg/0.15 ml實例1於DMSO中

【0473】 解析度：4 cm-1

【0474】 PEM設定：1400 cm-1

【0475】 掃描次數/測量時間：20小時

【0476】 樣品槽：BaF2

【0477】 路徑長度：100 μm

【0478】 計算詳情：

【0479】 高斯版本：Gaussian 09

【0480】 用於玻茲曼總和(Boltzman sum)的低能量構象異構物總數：92

【0481】 DFT計算的方法學和基礎集：B3LYP/6-31G(d)

【0482】 所計算的絕對構型：S

【0483】 基於VCD光譜的一致性，比較例11的絕對構型被確定為(S)-對映異構物。確定的信賴度水準為94%。

【0484】 測定比較例11的熱穩定性：

【0485】 將0.3 mg比較例11溶解在0.1 ml二甲亞碸和0.4 ml乙腈中。然後加入1.0 ml水。為了完全溶解，搖動HPLC小瓶並進行超音波處理。立即藉由HPLC分析這個溶液(在t0時的參考品)。將0.3 mg測試化合物秤入另一個HPLC小瓶中。將小瓶上蓋並在90℃的加熱組中儲存7天。

【0486】 此後，打開小瓶的蓋子，將0.1 ml二甲亞碸和0.4 ml乙腈添加到受壓化合物。然後加入1.0 ml水。為了完全溶解，搖動HPLC小瓶並進行超音波處理。藉由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。

表11

HPLC-方法								
溶析液：	A= 5ml HClO4/L 水 B= ACN				梯度	時間 (min.)	%B	流速 (mL/min.)
管柱：	Nucleodur 100 C18ec 3μm 50*2mm					0.00	2.0	0.750
溫度：	30	℃				1.00	2.0	0.750
UV WL.：	210	nm				9.00	98.0	0.750

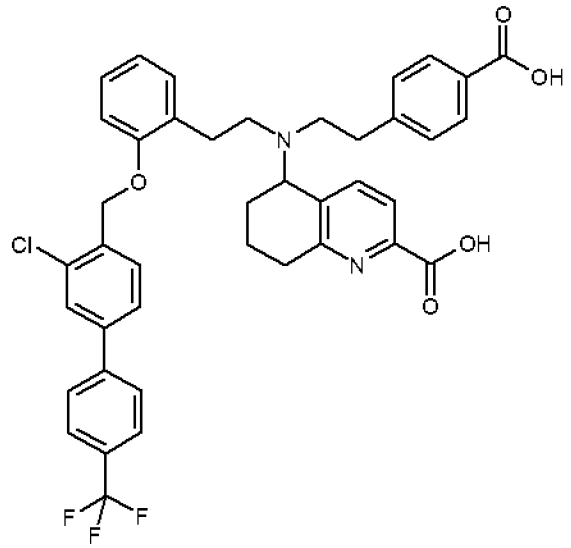
HPLC 流速：	0.750	mL/min.				13.00	98.0	0.750
						13.50	2.0	0.750
						15.00	2.0	0.750

【0487】 發現到比較例11在測試期期間是穩定的。

【0488】 此外，WO 14/012934-A1中所揭示的幾個實例確實僅顯示出有限的熱穩定性(在90℃下，7天)：例如實例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)和實例31 (比較例10，實驗部分)。

【0489】 比較例12

(5R)-5-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)[聯苯]-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸(對映異構物1)



【0490】 291 g (377.29 mmol) 5-([2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]{2-[4-(甲氧基羰基)[苯基]乙基}胺基)-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸乙酯(對映異構物1，實例5A)溶於3000 ml二噁烷，加入1132 ml 1 N氫氧化鈉水溶液，接著在室溫下攪拌混合物過夜。反應完成後，在旋轉蒸發器上移除二噁烷並將剩餘的混合物用約6000 ml水稀釋。然後使用乙酸將混合物酸化至pH 4-5。抽濾出沉澱的固體並用水反覆洗滌(總共約3000 ml水)。然後在室溫下使用乾燥劑五

氧化二磷在高度真空下乾燥固體3天。然後移除乾燥劑並將固體在40℃下再乾燥48 h。以這種方式，獲得249 g (342.15 mmol，理論的91%)標題化合物。

【0491】 LC-MS (方法A)：Rt = 1.33 min；m/z = 729/731(M+H)+。

【0492】 1H-NMR (400 MHz, DMSO-d6): δ [ppm] = 1.37-1.66 (m, 2H), 1.84-2.05 (m, 2H), 2.56-2.81 (m, 10H), 3.98-4.08 (m, 1H), 5.01-5.14 (m, 2H), 6.87 (t, 1H), 7.05 (d, 2H), 7.12 (d, 2H), 7.23 (t, 1H), 7.39-7.47 (m, 2H), 7.54 (d, 1H), 7.62 (d, 1H), 7.71-7.90 (m, 7H), 11.60-13.85 (br. s, 約2H)。

【0493】 就比較例11來說，絕對構型被確定為(5S)，比較例12的對應絕對構型應該是相反的，即(5R)。

【0494】 比較例13

(5R)-5-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)[聯苯]-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸單鈉鹽(對映異構物1)

【0495】 在容器中裝入60 g非晶形(5R)-5-([2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)[聯苯]-4-基]甲氧基}苯基)乙基]{2-[4-(甲氧基羰基)苯基]乙基}胺基)-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸酯(比較例12)和800 g丙酮。將容器加熱至回流溫度。在回流溫度下形成的固體於冷卻至室溫後進行過濾。

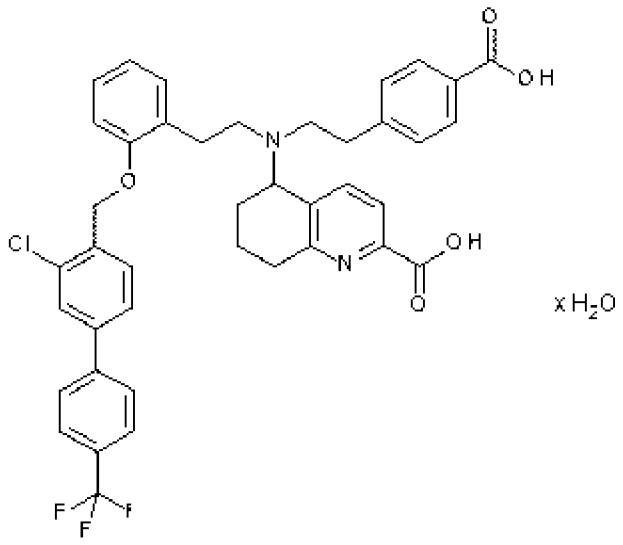
【0496】 產率：8 g乾產物，13% o. th.

【0497】 對映異構純度(HPLC方法C)：100% ee

【0498】 (ICP)：鈉含量：3.1%鈉

【0499】 比較例14

(5R)-5-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)[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 (對映異構物1)



【0500】 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℃並濾出不溶性固體(乾燥後19.5 g)。將273 g丙酮加入到濾液中，將其加熱至57℃並加入1101.4 g水和0.4 g單水合物II，R對映異構物的晶種(從類似於本程序的小規模預實驗製備)。再加入1101.4 g水並在室溫下攪拌過夜。濾出產物並在55℃下真空(30 mbar)乾燥至143.8 g。

【0501】 已從根據相同程序製備的21.0g比較例12中獲得另外20.3 g。

【0502】 合併固體至164.1 g，將161.0 g這些固體與1993.0 g丙酮在回流下攪拌。在這個溫度下，加入930.0 g水和0.8 g單水合物II，R對映異構物的晶種(從類似於本程序的小規模預實驗製備)並將其冷卻至50℃。又再加入200.0 g水和400.0 g丙酮以增進可攪拌性。在50℃下攪拌1 h，加入1263.0 g水，攪拌30 min，2h內冷卻至20℃，並在室溫下攪拌過夜。濾出產物並在55℃下真空(30 mbar)乾燥至154.4 g。

【0503】 將一部分固體(95.0 g)在40℃下溶解於916.7 g丙酮中，冷卻至室溫並將溶液過濾澄清。加入170.1 g水，30分鐘後加入單水合物II，R對映異構物的晶種(從類似於本程序的小規模預實驗製備)並將其攪拌過夜。將稀懸浮液加熱至50℃，將所得溶液冷卻至室溫，接種單水合物II、R對映異構物的晶種(從類似於

本程序的小規模預實驗製備)並將其攪拌過夜。濾出固體，用76.0 g丙酮和19.0 g水(8：2)的混合物洗滌且吸乾至68.4 g。

【0504】 濾液在40℃/250至15 mbar下濃縮，濾出沉澱的固體。在55℃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℃。加入10 g水後，用單水合物II、R對映異構物的晶種(從類似於本程序的小規模預實驗製備)接種，並在15℃下攪拌過夜。將懸浮液加熱至50℃，攪拌30分鐘並在4 h內冷卻至20℃。在1 h內再次加熱至50℃，在4.5 h內冷卻至15℃，並在15℃下攪拌過夜。濾出固體，用28 g丙酮水(8：2 w/w)洗滌混合物並吸乾至20.6 g。

【0505】 將固體合併為87.0 g目標化合物。

【0506】 對映異構純度(HPLC方法C)：99.8% ee

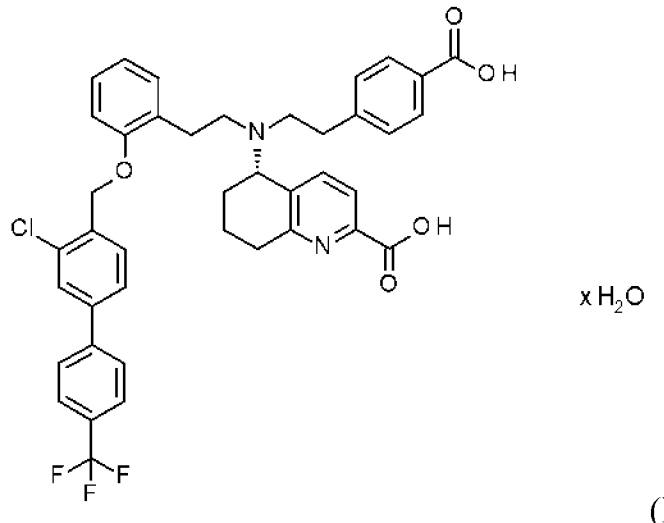
【0507】 純度(方法M，面積)：99.7%，Rf 9.33 min

【0508】 XRPD：單水合物II

【0509】 實例

【0510】 實例1

(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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)



x H_2O

(I-M-II)

【0511】 將2.0 g式(I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸(以類似於比較例11的方式製造)溶解在16.2 g丙酮和1.8 g水(8：1混合物)中，再加入1.8 g水。將澄清溶液攪拌過夜並在1.5 h後開始結晶。抽濾出固體，用2 g丙酮/水(8：2)洗滌並在60℃下用氮氣真空乾燥過夜：

【0512】 產率：1.5 g白色固體，理論的75%

【0513】 XRPD：單水合物II，X射線粉末繞射圖如圖34中所示

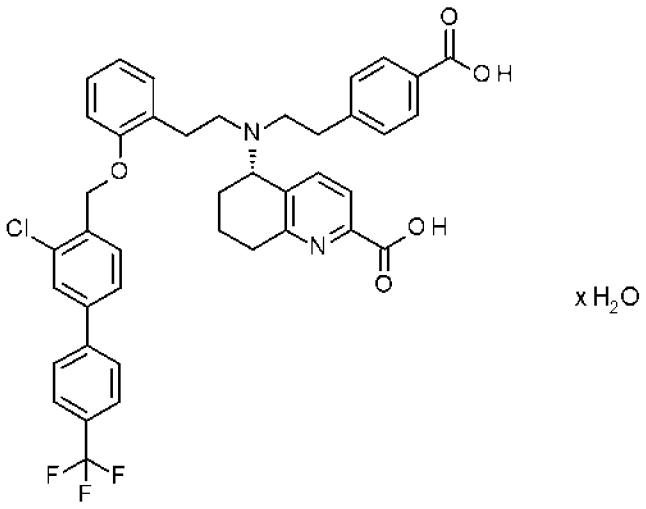
反射(最大峰值) [° 2θ]
5.7
6.1
7.1
8.5
9.4
9.9
10.2
10.8
11.4
11.6
11.7
12.2
12.7
13.0
13.9
14.2
14.5
15.1
15.3
15.7
15.9
16.1
16.4
17.1
17.3
17.7
17.9
18.3
18.5
18.7
19.1
19.7
19.8
20.2
20.4
20.8

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

【0514】 實例2

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

(路徑3，由丙酮、甲醇和水中結晶)



【0515】 將1067 g四氫呋喃置於6 L玻璃攪拌裝置中，在攪拌同時逐份加入333 g (0.396 mol)萘-1,5-二磺酸-(5S)-5-({2-[4-(丁氧基羰基)苯基]乙基}[2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)[聯苯]-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(實例4A)。在20℃至25℃下加入1335 ml水，然後加入氨水(27%)，直至達到pH為7.8至8.2 (約46 g)。加入1440 g二異丙醚，分離出水相，有機相再次用1335 ml水/1 ml 27%氨水洗滌，然後用1335 ml水洗滌。有機相通過覆蓋有200 g硫酸鈉(無水)的Seitz濾板予以過濾，用200 g二異丙醚沖洗，濾液在40℃下真空濃縮，得到267 g蒸發殘餘物。

【0516】 將蒸發後的殘餘物溶解在848 g二噁烷中，加入1583 g 1 N氫氧化鈉溶液並將混合物在60℃下攪拌5.5 h。然後在20℃下加入1480 g乙酸乙酯，分離出水相產物(二鈉鹽溶液)，用1480 g乙酸乙酯洗滌並在最高40℃下真空蒸餾出殘餘的乙酸乙酯。殘餘物用2500 g水稀釋，將一部分二鈉鹽溶液(1178 g)逐滴加到1095 g四氫呋喃和137 g 10%鹽酸的混合物中，直至達到pH為4.0。

【0517】 二鈉鹽溶液的消耗量與提交的鹽酸量有關，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)逐滴加到計算量的四氫呋喃(1789 g)和10%強度鹽酸(208 g)中，直至達到pH為4.0。

【0518】 將第三份二鈉鹽溶液(1510 g)逐滴加到計算量的四氫呋喃(1505 g)和10%強度鹽酸(175 g)中，直至達到pH為4.0。

【0519】 將合併的有機相在最高40℃下真空濃縮，直到無溶劑的水在回流冷凝器上冷凝。抽濾出沉澱的固體並用750 g水洗滌。

【0520】 使用相同的程序，將第二部分和第三部分各333 g萘-1,5-二磺酸(5S)-5-({2-[4-(丁氧基羰基)苯基]乙基}[2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)[聯苯]-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(實例4A)根據上述程序進行轉化。

【0521】 將合併的潮濕產物在60℃下於氮氣流中真空乾燥，得到587 g (約91% o.th.)目標式I化合物。

【0522】 結晶：

【0523】 將固體(587 g)與3674 g丙酮和470 g水的混合物一起加熱至50℃。將獲得的溶液通過Seitz濾板過濾並加熱至40℃。將濾液與1.5 g的(5S)-5-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)[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 (實例1)晶種混合，在2 h內冷卻至20℃，攪拌0.5h，2 h內再次加熱至50℃。將混合物攪拌0.5 h，在3 h內冷卻至20℃，攪拌0.5 h並在2 h過程內再次加熱至50°C。在3 h內將其冷卻至20℃，攪拌0.5 h並抽濾出固體。用800 g丙酮和90 g水的混合物洗滌潮濕產物，並在25℃下於真空氮氣流中乾燥至恆重361 g。

【0524】 接收到的產物的製程品質控制及修改不符合要求。因此，再次重結晶。

【0525】 將固體(361 g)與1949 g丙酮和217 g水的混合物一起加熱至50℃。將獲得的溶液通過Seitz濾板過濾並加熱至50℃。將其與1.5 g (5S)-5-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)[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 (實例1)的晶種混合，3 h內冷卻至20℃，攪拌0.5 h，並3 h內再次加熱至50℃。將混合物攪拌0.5 h，在3 h內冷卻至20℃，攪拌0.5 h並在3 h內再次加熱至50℃且攪拌0.5 h。在3 h內將其冷卻至20℃，攪拌0.5 h並抽濾出固體。潮濕產物在25℃下於氮氣流中真空乾燥至271 g的恆重。

【0526】 製程控制證實了品質足夠，但未對獲得的產品進行所需的修改。因此，再次重結晶。

【0527】 將固體(271 g)與1668 g丙酮和75 g水的混合物一起加熱至50℃。將獲得的溶液通過Seitz濾板過濾並加熱至50℃。將其冷卻至45℃，添加1.5 g (5S)-5-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)[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 (實例1)的晶種，3 h內冷卻至20℃，攪拌0.5 h並在1 h內加熱至40℃。將懸浮液攪拌0.5 h，在3 h內冷卻至20℃並攪拌，且抽濾出固體。潮濕產物在25℃下於氮氣流中真空乾燥至恆重。

【0528】 製程控制確認產物的品質和修改與需求一致。

【0529】 產率：117 g單水合物II；理論產率的18%。

【0530】 對映異構純度(HPLC方法C)：99.6% ee

【0531】 純度(峰面積)：99.8% (方法M，Rt 9.33 min)

【0532】 XRPD：單水合物II，X射線粉末繞射圖顯示於圖35中

【0533】 微粉化後：

【0534】 對映異構純度(HPLC方法C)：100.0% ee

【0535】 純度(面積)：99.7% (方法M，Rt 9.35 min)

【0536】 XRPD：部分非晶化的單水合物II，X射線粉末繞射圖顯示於圖36中

【0537】 微粉化前的單水合物II：參見圖35

反射(最大峰值) [° 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

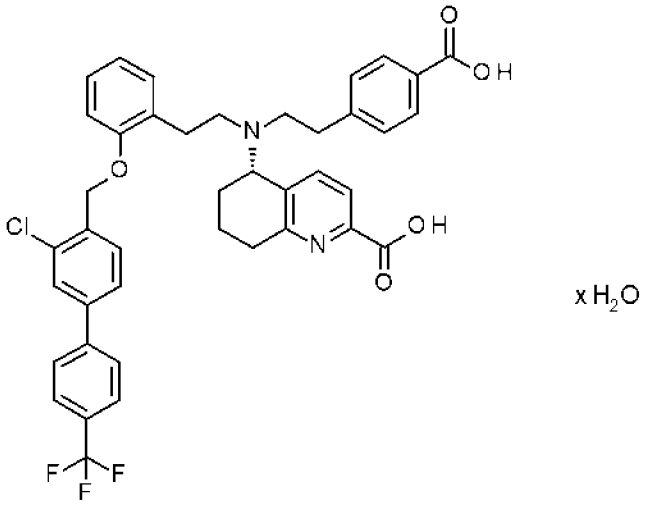
【0538】 微粉化後的單水合物II (部分非晶化)，圖36

反射(最大峰值) [° 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

【0539】 實例3

(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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)



x H_2O

【0540】 將2.0 g式(I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸(以類似於比較例11的方式製造)溶於8.1 g甲醇和1.8 g水，並添加8.1 g丙酮和額外1.8 g水。攪拌過夜。抽濾出固體，用2 g丙酮/水(8：2)洗滌並在60℃下用氮氣真空乾燥過夜。

【0541】 產率：1.8 g白色固體，理論的90%。

【0542】 對映異構純度(HPLC方法C)：92.0% ee

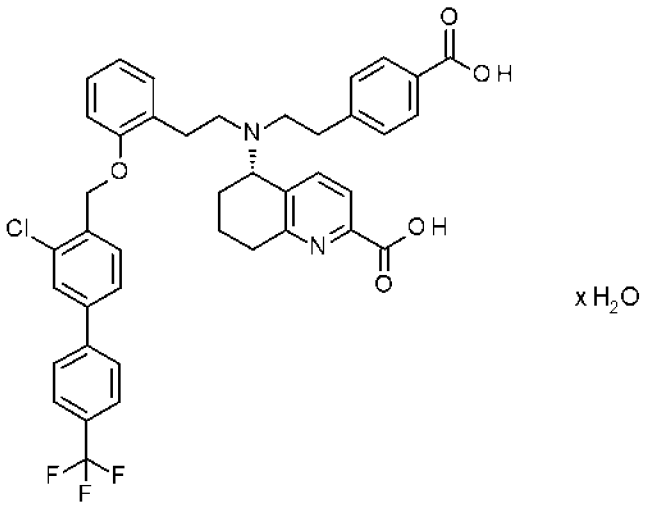
【0543】 純度(面積)：97.3% (方法M，Rt 8.94 min)

【0544】 XRPD：單水合物I，參見圖37

反射(最大峰值) [° 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

【0545】 實例4

(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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



【0546】 從NSA鹽釋放二丁酯：

【0547】 將800 g四氫呋喃置於6 L玻璃攪拌裝置，並在攪拌同時逐份添加250 g (0.30 mol)萘-1,5-二磺酸-(5S)-5-({2-[4-(丁氧基羰基)苯基]乙基}[2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)[聯苯]-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) (實例4A)。在20℃至25℃下加入1 L水，然後加入27%氨水，直至達到pH為7.8至8.2 (約27 g)。加入1080 g二異丙醚，分離出水相，再次用1 L水/0.8 ml 27%氨水萃取有機相，然後用1 L水洗滌。通過覆蓋有150 g硫酸鈉(無水)的Seitz濾板來過濾有機相，用150 g二異丙醚沖洗，並將濾液在40℃下真空濃縮至192 g蒸發殘餘物。

【0548】 二丁酯的皂化：

【0549】 將蒸發殘餘物溶於610 g四氫呋喃中，加入1139 g 1 N氫氧化鈉溶液並將混合物在60℃下攪拌24 h。然後在20℃下加入875 g乙酸乙酯，分離出產物水相(二鈉鹽溶液)並在最高40℃下真空蒸餾出殘餘乙酸乙酯。

【0550】 式I的游離酸的形成：

【0551】 殘餘物用1875 g水稀釋，通過Seitz濾板過濾，將一部分二鈉鹽溶液(835 g)逐滴加到821 g四氫呋喃和103 g 10%鹽酸的混合物中，直至達到pH值為4.0。添加174 g氯化鈉和420 g四氫呋喃並分離出產物有機相。

【0552】 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)逐滴加到計算量的四氫呋喃(2116 g)和10%強度鹽酸(246 g)中，直至達到pH為4.0。添加174 g氯化鈉和420 g四氫呋喃並分離出產物有機相。向合併的水相中加入261 g氯化鈉和1043 g四氫呋喃並分離出產物有機相。合併的有機相在最高40℃下真空濃縮至殘餘體積為800 ml。

【0553】 結晶：

【0554】 添加184 g四氫呋喃並在20℃下攪拌的同時逐滴添加646 g甲醇和291 g水的混合物。將其與0.8 g的(5S)-5-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)[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 (實例3)混合並攪拌12 h。分離固體並用112 g甲醇和112 g水的混合物洗滌。然後將固體在20℃下真空乾燥至127 g。使用相同的程序製備第二份128 g。

【0555】 用1020 g丙酮和1020 g甲醇的混合物將合併的固體加熱至50℃，並冷卻至20℃。將獲得的溶液通過Seitz濾板過濾，加熱至50℃並在一段30分鐘的時間內逐滴添加460 g水。向其接種1.5 g單水合物I (實例3)的晶種，攪拌30 min，在至少30分鐘內冷卻至20℃並吸濾出固體。將潮濕產物與2550 g水一起攪拌12小時，然後抽濾並用510 g水洗滌兩次。將潮濕產物在20℃下於氮氣流中真空乾燥至恆重。

【0556】 產率：230 g單水合物I，(I-M-I)；理論的71%。

【0557】 純度(面積)：96.0% (方法M，Rt 8.94 min)

【0558】 對映異構純度(HPLC方法C)：99.3% ee

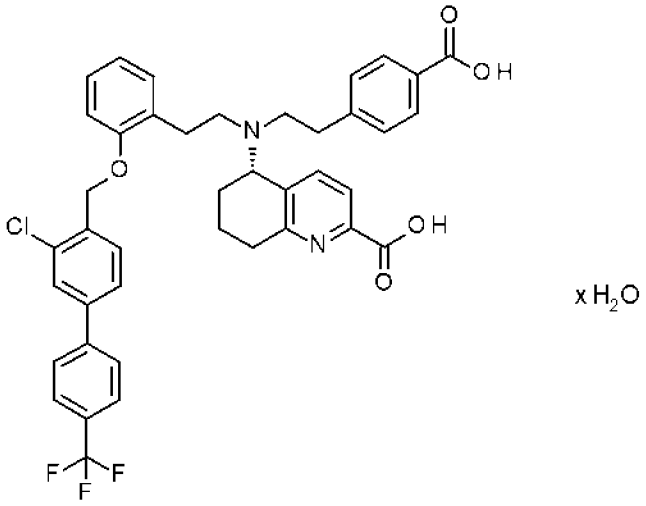
【0559】 XRPD：單水合物形式I；參見圖38

反射(最大峰值) [° 2θ]
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

【0560】 實例5

(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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



【0561】 在惰性化的2L反應器中，將(5S)-5-({2-[4-(丁氧基羰基)苯基]乙基}[2-(2-羥基苯基)乙基]胺基)-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸丁酯(實例2A，WO2021/233783) (50.8 g, 1.0 eq.)在Tsheatht = 22℃下溶解在乙腈(380 mL)中。在Tsheatht = 50℃和120 mbar下蒸餾溶液。然後再次加入乙腈(380 ml)並在相同條件下再次蒸餾混合物。向溶液中加入乙腈(660 mL)並攪拌5分鐘。然後加入4-(溴甲基)-3-氯-4'-(三氟甲基)[聯苯](聯芳基苯甲基溴)(53.5 g，1.2 eq.)且再次攪拌混合物5 min直至其溶解。然後加入碳酸銫(83.1 g，2.0 eq.)並將混合物攪拌4小時。又再將碳酸銫(20.8 g，0.5 eq.)加入到懸浮液中並將混合物攪拌1小時。產物懸浮液藉由過濾予以澄清，濾餅在鍋上用乙腈(110 mL)洗滌一次。處理掉濾餅。

【0562】 在90 mbar和Tsheath = 45℃下，將有機反應溶液在惰性2L反應器中濃縮，直至餾出物乾涸。當Tsheath = 23℃時，加入THF (425 mL)。將溶液在150 mbar和Tsheath = 45℃下濃縮，直到餾出物乾涸。向溶液中加入THF (425 mL)和4% NaOH (680 mL)。將乳液加熱至Tinternal = 60℃並攪拌又再20小時。

【0563】 將溶液冷卻至Tinternal = 23℃，加入去離子水(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。丟棄有機相並在140-160 mbar和Tsheath = 45-40℃至Tinternal = 36℃下蒸餾水相。產物溶液藉由過濾予以澄清，濾餅用去離子水(80 mL)洗滌一次。處理掉殘餘物。

【0564】 滴定產物溶液。為此，將25% HCl、去離子水和THF放入惰性化4公升反應器中。在Tinternal = 20℃ ± 5℃下添加有機產物溶液直至pH 3.8 - 4.2。然後加入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 (450 mL)萃取水相。除去水相並使有機相結晶。為此，在200 mbar和ΔT = 30℃下將其濃縮至儲槽質量(sump mass)。接著加入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Tinternal = 22℃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(113 ml)和甲醇(335 mL)的混合物並將混合物攪拌過夜。將懸浮液過濾並將產物在鍋上用去離子水和甲醇(1：1)的混合物洗滌一次。然後在40-50℃和40-30 mbar下乾燥。

【0565】 產率：23.4 g，理論的67%

【0566】 純度(面積)：99.3% (新方法M，Rt 6.28)

【0567】 XRPD：單水合物I，參見圖39

【0568】 實例6

探討式I之(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸的結晶/多型形式的研究

【0569】 實例6a

(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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

【0570】 將2.9 g(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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 (以類似於實

例3/4的方式製備的材料)懸浮在20 ml丙酮中。懸浮液在環境條件下攪拌三天。將殘餘物過濾並將所得固體在環境條件下乾燥。

【0571】 含水量：1.5%水

【0572】 拉曼：參見表13，參見圖12

【0573】 IR：參見表14，參見圖19

【0574】 XRPD：參見表12，參見圖5

【0575】 實例6b

(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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

【0576】 以類似於實例3 (單水合物I)的方式製備目標化合物。

【0577】 含水量：乾燥前3.9%水，而乾燥後2.4%水

【0578】 拉曼：參見表13，參見圖13

【0579】 IR：參見表14，參見圖20

【0580】 XRPD：參見表12，參見圖6

【0581】 實例6c

(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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

【0582】 以類似於實例1 (單水合物II)的方式製備目標化合物。

【0583】 含水量：乾燥前3.9%水，而乾燥後2.4%水

【0584】 拉曼：參見表13，參見圖14

【0585】 IR：參見表14，參見圖21

【0586】 XRPD：參見表12，參見圖7

【0587】 實例6d

(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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

【0588】 將3 g (5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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 (以類似於實例3/4的方式製備的材料)懸浮在20 mL異丙醇/水混合物(1：1)中。懸浮液在60℃下攪拌八天。將殘餘物過濾並將所得固體在環境條件下乾燥。

【0589】 含水量：2.9%水

【0590】 拉曼：參見表13，參見圖15

【0591】 IR：參見表14，參見圖22

【0592】 XRPD：參見表12，參見圖8

【0593】 實例6e

(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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

【0594】 將3 g (5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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 (以類似於實例3/4的方式製備的材料)懸浮在15 mL異丙醇/水混合物(1：1)中。懸浮液在80℃下攪拌四週。加入額外10 mL溶劑混合物以增進懸浮液的攪拌性質。將殘餘物過濾並將所得固體在環境條件下乾燥。

【0595】 含水量：3.7%水

【0596】 拉曼：參見表13，參見圖16

【0597】 IR：參見表14，參見圖23

【0598】 XRPD：參見表12，參見圖9

【0599】 實例6f

(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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

【0600】 將3 g (5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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 (以類似於實例3/4的方式製備的材料)懸浮在20 mL甲醇中。將懸浮液在環境條件下攪拌八天。將殘餘物過濾並將所得固體在環境條件下乾燥。

【0601】 含水量：4.8%水

【0602】 拉曼：參見表13，參見圖17

【0603】 IR：參見表14，參見圖24

【0604】 XRPD：參見表12，參見圖10

【0605】 乾燥後，二水合物形式變為非晶形。

【0606】 XRPD：非晶形形式，參見圖10a

【0607】 圖6g

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

【0608】 以類似於比較例11的方式製備非晶形形式。

【0609】 拉曼：參見表13，參見圖18

【0610】 IR：參見表14，參見圖25

【0611】 XRPD：參見表12，參見圖11

【0612】 式(I)之(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸多型形式的物理特徵鑑定

表12：式(I)化合物假多型形式的XRPD (X射線粉末繞射)數據

根據標題方法所述的一般程序記錄XRPD。

反射(最大峰值) [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
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
	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	21.51	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
	23.0	23.1	23.8	26.1	28.5

反射(最大峰值) [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
	23.4	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)化合物假多型形式的拉曼數據

根據標題方法所述的一般程序記錄拉曼光譜。

帶[最大峰值，以 cm-1 計]						
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

帶[最大峰值，以 cm-1 計]						
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
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
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	
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	

帶[最大峰值，以 cm-1 計]						
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
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		
				224		
				187		
				156		
				113		

表14：式(I)化合物假多型形式的IR數據

根據標題方法所述的一般程序記錄IR光譜。

帶[最大峰值，以 cm-1 計]						
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

帶[最大峰值，以 cm-1 計]						
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
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
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		
		609	560	755		
		576		740		
		558		700		
				692		
				655		
				640		
				632		
				606		
				566		
				559		

【0613】 B-假多型形式的性質

【0614】 實例7

式(I)之(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸的假多型形式，例如式(I-M-II)的單水合物II的性質

【0615】 儲存穩定性

【0616】 化合物的穩定性和均勻性是醫藥品的關鍵要求，也是獲得衛生當局批准的先決條件。它提高了包含式(I)化合物的製品和配製物的安全性與品質，因此降低了對患者的風險。

【0617】 呈單水合物II形式之式(I)之(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸用於在不同條件下歷時一個月、三個月和六個月的儲存穩定性研究：

表15：儲存穩定性研究結果，單水合物II作為起始材料

實例	容器	溫度	相對溼度	結果
7a	棕色玻璃暗扣封閉件	25℃	60 %	單水合物 II
7b	聚乙烯	25℃	60 %	單水合物 I
7c	聚乙烯	40℃	75 %	單水合物 I
7d	棕色玻璃，經濾紙盤封閉	40℃	75 %	單水合物 I

【0618】 在大多數這些儲存條件下，單水合物II (起始材料，參見圖40)經歷轉化為單水合物I (參見例如圖41：實例7b，XRPD)。

【0619】 相比之下，式(I-M-I)的單水合物I在這些條件下是穩定的。

【0620】 尤其是，式(I)化合物的單水合物I確保防止不樂見轉化成式(I)化合物的另一種形式和如上所述的相關性質變化。

【0621】 實例8

式(I)之(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸的假多型形式，例如式(I-M-II)的單水合物II的性質

【0622】 微粉化

【0623】 關於吸入性藥品，重要的是要確保原料藥均質，其明確的粒度<5μm，以確保地遞送到肺部深處隔室。這個技術要求可以透過原料藥顆粒的微粉化得到滿足。

【0624】 表16a中規定了為達到這個要求而設定的活性成分粒度分布的適當規格。

表16a：活性成分(例如式(I-M-I)或(I-M-II)的化合物)的粒度分布

粒度上限 X90	最大值 6 μm
粒度平均 X50	1 - 3 μm
粒度下限 X10	最大值 1 μm

【0625】 為了研究式(I-M-II)的單水合物II用於藥品製造的可行性，測試了幾種微粉化條件。在必要的微粉化步驟期間，通常不應發生非晶化(甚至是部分非晶化)或形式轉化。即使微粉化期間的部分非晶化也可能導致活性成分及/或最終藥品中活性成分在儲存期間重結晶的風險。

【0626】 利用以下參數，使用50 mm螺旋噴射研磨機和加壓氮氣將對應批次(實例8a-8d)進行微粉化(參見表16b)。

表16b：不同的微粉化條件，單水合物II作為起始材料

實例	研磨機類型	溫度	注射器壓力	研磨壓力	通量	PSD	觀察結果
8a	VA 噴射研磨機	25°C	4.5 巴	4.0 巴	4.5 g/min	X10：0.2 μm, X50：1.7 μm, X90：4.2 μm (乾式測量 4 巴)	轉化成單水合物 I
8b	包覆 PTFE 的噴射研磨機	25°C	4.5 巴	4.0 巴	4.5 g/min	X10：0.4 μm, X50：1.9 μm, X90：5.0 μm (乾式測量 4	單水合物 II 部分非晶化

						巴)	
8c	VA 噴射研磨機	- 65°C	4.5 巴	4.0 巴	5.5 g/min	X10：0.4 μm, X50：1.8 μm, X90：4.8 μm (乾式測量 4 巴)	單水合物 II 部分非晶化
8d	VA 噴射研磨機(低壓條件)	- 65°C	4.5 巴	3.0 巴	10.6 g/min	X10：0.7 μm, X50：2.3 μm, X90：9.6 μm (乾式測量 4 巴)	單水合物 II 部分非晶化

【0627】 首先，在標準條件下(在溫度為25℃下，VA噴射研磨機(50 mm))的定向實驗期間發現到，單水合物II主要可以被微粉化以獲得所需的粒度分布(參見表16a和16b，實例8a)。

【0628】 在式(I-M-II)的單水合物II微粉化期間，在幾種條件下發生部分非晶化，甚至是在「低壓」下(參見上表16b和圖42，XRPD)。

【0629】 XRPD：部分非晶化的單水合物II，實例8b

【0630】 此外，發現到除了部分無非晶化之外，在使用VA噴射研磨機(直徑50 mm)、25℃進行微粉化的情況下，還發生了從單水合物II轉化成單水合物I(參見表16b、實例8a和圖43，XRPD)。

【0631】 由於所有研究條件都顯示形式轉化成形式I或形式II的部分非晶化，因此進一步研究單水合物I以檢查單水合物I用於可靠藥物製造的可行性。

【0632】 利用以下參數，使用100 mm螺旋噴射研磨機和加壓氮氣將對應批次進行微粉化(參見表16c)。

表16c：大型批量微粉化條件，單水合物I作為起始材料

實例	研磨機類型	溫度	注射器壓力	研磨壓力[巴]	通量	PSD	觀察結果
8e	包覆 PTFE 的噴射研磨機	25°C	5 巴	4.5 巴	22.8 g/min	X10：0.7 μm，X50：2.1 μm，X90：6.1 μm (乾式測量 4 巴)	單水合物 I

8f	包覆PTFE的噴射研磨機	- 65°C	5巴	4.0巴	23 to 28 g/min	X10：0.6 μm，X50：2.4 μm，X90：6.3 μm (乾式測量 3 巴，N=3)	單水合物I
8g	VA (不鏽鋼)噴射研磨機	- 25°C	6巴	4.5巴	8,5 g/min	X10：0,5 μm，X50：1.8 μm，X90：3.9 μm (乾式測量3巴)	單水合物I

【0633】 上表中引用的所有測量值都是藉由使用壓縮空氣的乾式分散雷射繞射而獲得的。在帶有表面活性劑的水性懸浮液中進行測量可能會導致粒度更小(x90至多1 μm更小)。

【0634】 相比之下，式(I-M-I)的單水合物I在微粉化條件下是穩定的。(參見表16c，實例8e)

【0635】 XRPD：單水合物形式I；參見圖44

【0636】 C-醫藥組成物

【0637】 C-1吸入用乾粉製品

【0638】 根據以下製造說明，將本發明化合物(例如式(I-M-I)的單水合物I (實例4)或式(I-M-II)的單水合物II (實例2))配製並製造成醫藥乾粉製品。這個製程適用於最終產品，針對每個例示性具體例或比較例(4-44)，如果適用的話，描述各個製造步驟的偏離步驟(deviating step)：

【0639】 製造方法

【0640】 步驟1：在開始混合之前，秤取細乳糖部分並分層置放在兩層或粗乳糖之間。

【0641】 步驟2：以32 rpm進行乳糖預摻合物的混合持續2 x 20分鐘。乳糖預摻合物在循環之間通過500 μg篩網進行過篩。

【0642】 步驟3：將經微粉化的活性成分(例如式(I-M-I)的單水合物I，實例4，或式(I-M-II)的單水合物II，實例2)通過500μm篩網進行過篩並加入到預摻合的乳糖中。在開始混合循環之前，將乳糖預摻合物和活性成分以10層乳糖預摻合物和9層活性成分、6層乳糖預摻合物和其間5層活性成分(例如式(I-M-I)的單水合物I，實例4，或式(I-M-II)的單水合物II，實例2)，有2層乳糖預摻合物和其間1層活性成分(實例4)，較佳在開始混合前6/5層交替分層放置。

【0643】 步驟4：將組份在滾筒混合器中混合數個循環。每個循環在32 rpm下進行30分鐘，混合循環之間有10分鐘的休息時間。如果需要的話(例如視覺黏聚物)，可以分別在混合循環之間將混合物過篩。

【0644】 步驟5：將摻合物在室溫(15-25℃)和35-65%相對濕度下，於不銹鋼容器中靜置歷時至少48小時

【0645】 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到膠囊中。

【0646】 吸入用乾粉摻合物：

表17：例示性具體例1-3 (包含實例4)的組成(乳糖含量/比例)

	例示性具體例 1		例示性具體例 2		例示性具體例 3	
API 濃度和批量	0.75%活性成分，300g		3%活性成分，300g		10%活性成分，300g	
	數量(g)	數量(%)	數量(g)	數量(%)	數量(g)	數量(%)
活性成分：單水合物 I，實例 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 細粒含量 **		5.0%		5.2%		5.6%
比例		1：126		1：31		1：8.5

活性成分：LH 100						
比例 活性成分：LH 300*		1：6.7		1：1.67		1：0.5

*用作單水合物I。

**細乳糖(LH 300)與粗乳糖(LH 100)的比例略有不同，出於實務原因，粉末摻合物中的細乳糖實際數量保持不變，並且藉由LH 100粗乳糖含量降低來調整API (化合物1)的數量不同。細乳糖(LH 300)的含量百分比在所有配製物中都是固定的，活性成分與細乳糖部分和粗乳糖部分的比例在指定範圍內變化。

【0647】 對於吸入性藥品來說，重要的是要保證原料藥的均質性，其明確的粒度< 5μm，以確保輸送到肺部深處隔室。這個技術要求可以藉由原料藥顆粒的微粉化來達成。

【0648】 表18中規定了為達到這個要求而設定的活性成分粒度分布的適當規格。

【0649】 根據本發明，活性成分式(I-M-I)之(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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 (實例4)如下表18中所定義。

表18：實例4的粒度分布

粒度上限 X90	最大值 6 μm
粒度平均 X50	1 - 3 μm
粒度下限 X10	最大值 1 μm

【0650】 根據本發明，吸入用乳糖以不同的粒度範圍和不同特徵來使用。

【0651】 根據本發明，粗乳糖材料是經過篩的、結晶、細粒含量低的α-乳糖單水合物(例如以Lactohale® 100商購)。

【0652】 一種不同的中等粗乳糖是經研磨的Lactohale® 200，它已經含有大量的乳糖細粒，基本上可以為客戶訂製所需的粒度和細粒含量。

【0653】另一種不同的粗乳糖是Lactohale® 206，它是一種經研磨的α-乳糖，具有嚴格控制的粒度，不含任何細粒。

【0654】根據本發明，細乳糖材料是具有X90 ≦ 10 μm的低粒度(「乳糖細粒」)的微粉化、結晶、α-乳糖單水合物(例如以Lactohale® 300商購)。根據本發明，可以挑選具有相似性質和粒度的精細微粉化乳糖(例如Meggle Inhalac® 500)。

【0655】一種不同的細乳糖材料是Lactohale 230®，一種具有低粒度的α-乳糖單水合物，X90 < 30 μm，經過研磨，具有不規則形狀的顆粒；

【0656】根據本發明，吸入用乳糖(例如Lactohale® 100、Lactohale® 300與其他)的粒度分布如下表19中所定義。

表19：乳糖載劑組份的粒度分布

	粗乳糖	細乳糖
	Lactohale® 100	Lactohale® 300
粒度上限 X90	200 - 250 μm	≦ 10 μm
粒度平均 X50	125 - 145 μm	≦ 5 μm
粒度下限 X10	45 - 65 μm	未定義
	Lactohale® 200*	
粒度上限 X90	120 - 160 μm	
粒度平均 X50	50 - 100 μm	
粒度下限 X10	5 - 15 μm	
	Lactohale® 206**	Lactohale® 230***
粒度上限 X90	115 - 170 μm	< 30 μm
粒度平均 X50	75 - 95 μm	< 10 μm
粒度平均 X10	20 - 50 μm	1.0 – 3.0 μm

*如用於比較例20和例示性具體例34-35

**如用於例示性具體例39-44

***如用於例示性具體例例36-38和42-44

【0657】如D.3所述，藉由測量摻合物含量和均勻性來評估摻合物的品質。

【0658】作為品質要求，本發明的摻合物應滿足以下標準：

摻合含量為90-110%，較佳95-105% (活性成分含量，以%計)

以及RSD (＝相對標準偏差，n = 10個樣品)為NMT(=不超過) 10%，較佳7.5%，更佳5%的摻合物均勻性。

【0659】 膠囊中的乾粉摻合物(吸入用成品配製物)：

【0660】 將包含微粉化活性成分(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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 (實例4)以及乳糖載劑組份(細乳糖和粗乳糖)的乾粉摻合物填充到硬膠囊(羥丙基甲基纖維素=羥丙甲纖維素=HPMC，例如3號)或由硬明膠或其他合適材料製成的替代膠囊中。

【0661】 根據填充重量和活性成分濃度，可以獲得不同的標稱劑量。具有不同標稱劑量的實例4 (單水合物I)的膠囊的例示性組成展示在下表中。評估最終產品(硬明膠膠囊中的乾粉組成物)的對應氣溶膠性能(參見表20)。

表20：例示性實例1-3的氣溶膠性能

	例示性具體例 1	例示性具體例 2	例示性具體例 3
標稱劑量	120µg	480µg	1000µg
在粉末摻合物中，活性成分實例 4 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%
細粒劑量<4.5µm (FPD)	32µg	128µg	258µg
FPF (標稱的%)	27%	27%	26%
FPF (DD 的%)	45%	41%	37%

【0662】 氣溶膠性能包括像是遞送劑量(DD)、細粒劑量(=FPD)和細粒分率(=FPF)的參數。根據方法D.1測量DD，根據方法D.2 (空氣動力學粒度分布)測量細粒劑量(=FPD)和細粒分率(=FPF)。

【0663】 作為品質要求，根據本發明膠囊中的乾粉摻合物應滿足以下標準：

FPF (活性成分的標稱劑量%，< 4.5 µm) ≧20%，以及

FPF (活性成分的DD% < 4.5 μm) ≧活性成分的30%

【0664】 如上表中所示，例示性具體例例1-3展示了優異的氣溶膠性能和摻合物的適當均勻性，以及良好的化學穩定性(參見穩定性數據)。

【0665】 比較例與本發明的更多例示性具體例

【0666】 也利用呈物理單水合物II形式(實例2)之式(I-M-II)之(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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來製造乾粉摻合物(見下文)。

【0667】 根據本發明，活性成分式(I-M-II)之(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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 (實例2)的粒度分布如下表21中所定義。

表21：實例2的粒度分布

粒度上限 X90	最大值 6 μm
粒度平均 X50	1 - 3 μm
粒度下限 X10	最大值 1 μm

【0668】 例示性具體例4-6總結在下表中。

表22：包含實例2的例示性實例4-6的組成(乳糖含量)

	例示性具體例 4		例示性具體例 5		例示性具體例 6	
API濃度和批量	(0.75%活性成分，300g)		(3%活性成分，300g)		(10%活性成分，300g)	
	數量(g)	數量(%)	數量(g)	數量(%)	數量(g)	數量(%)
活性成分：(實例 2)*	3.75	0.75%	9.00	3%	20.00	10%
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 細粒含量乳糖混合物**		5.0%		5.2%		5.6%

比例 活性成分：LH 100**		1：126		1：31		1：8.5
比例 活性成分：LH 300**		1：6.7		1：1.67		1：0.5

*用作單水合物II

**細乳糖(LH 300)與粗乳糖(LH 100)的比例在本發明例示性具體例1-3的部分中進行了解釋。

【0669】 例示性具體例4-6的製造方法在步驟2、3和4有所不同

【0670】 步驟2：以67 rpm (針對例示性具體例4的低強度摻合物為72 rpm)進行乳糖預摻合物的混合歷時2 × 20分鐘。乳糖預摻合物在循環之間通過500μg篩網過篩。

【0671】 步驟3：活性成分：單水合物II，經微粉化實例2被加入預摻合乳糖中，無需過篩。在開始混合循環之前，將乳糖預摻合物和活性成分交替分層放置，4層乳糖預摻合物和其間3層活性成分(實例2，單水合物II化合物1)。

【0672】 步驟4：在第一個混合循環開始之前，將分層混合物通過500μm篩網進行過篩。組份在滾筒混合器中以3個循環進行混合。每個循環以67 rpm (針對例示性具體例4的低強度摻合物為72 rpm)進行30分鐘，並在混合循環之間通過500μm篩網進行過篩。

【0673】 獲得以下例示性具體例4-6的填充膠囊結果。

表23：例示性具體例4-6的氣溶膠性能

	例示性具體例 4.1 + 4.2 (低/高粉末填充)		例示性具體例 5	例示性具體例 6
標稱劑量	60μg	120μg	480μg	1000μg
在粉末摻合物中，活性成分，實例 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)	30μg	82μg	316μg	671 μg
DD (標稱的%)	50%	68%	66%	67 %
細粒劑量<4.5μm (FPD)	12μg	31μg	126μg	242 μg
FPF (標稱的%)	20%	26%	26%	24 %

FPF (DD的%)	40%	38%	40%	36%

【0674】 例示性具體例4-6的結果證明，使用式(I-M-II)形式之(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)]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，實例2來調配的本發明乾粉摻合物可以達到類似的有利氣溶膠性能。

【0675】 進一步使用式(I-M-I)形式之(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)]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，實例4作為活性成分並使用部分不同的製造方法製造乾粉摻合物。

【0676】 得到的比較例7-9總結在下表24中。

表24：包含實例4的比較例7-9的組成(乳糖含量)

	比較例 7		比較例 8		比較例 9	
API 濃度和批量	(0.75%活性成分，20g)		(3%活性成分，20g)		(10%活性成分，300g)	
	數量(g)	數量(%)	數量(g)	數量(%)	數量(g)	數量(%)
活性成分:實例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 300)	1.0	5%	1.0	5%	15.00	5%
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 細粒含量乳糖混合物**		5.0%		5.2%		5.6%
比例 活性成分：LH 100**		1：126		1：30		1：8.5
比例 活性成分：LH 300**		1：6.7		1：1.67		1：0.5

*用作單水合物I

**細乳糖(LH 300)與粗乳糖(LH 100)的比例在本發明例示性具體例的部分中進行了解釋。

【0677】比較例7-9的製造方法在步驟4有所不同。

【0678】步驟4：將組份在鼓筒混合器中混合3個循環。每個循環在32 rpm下進行30分鐘。摻合物在循環之間通過500μm篩網過篩。混合循環之間沒有休息時間。

【0679】比較例7-9的填充膠囊的氣溶膠性能結果總結在表25中。

表25：例示性具體例7-9的氣溶膠性能

	比較例 7	比較例 8	比較例 9
標稱劑量	120μg	480μg	1000μg
在粉末摻合物中，活性成分，實例 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中回收的總和確定

【0680】使用式(I-M-)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)]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 (實例4)的氣溶膠性能結果不符合品質要求。

【0681】這些探索性批次的小批量(20 g)以及摻合物中的低原料藥濃度(0.75%和3%)可能會導致製造設備表面上出現活性成分細粒。此外，隨著粉末摻合物中活性成分濃度的降低，由於活性成分的相對損失較高，粉末填充膠囊中的表面黏附對細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，氣溶膠性能得到改善但仍低於目標。對於用相同API批次製備的比較例23 (1-4)觀察到類似這樣。一個可能的解釋是所用批次的具體特性，例如導致黏聚或吸附損失的黏附或內聚性質。這可能是因為該批次具有相對較高的殘留丙酮含量(約10倍)，而其他API批次未觀察到這一點。

【0682】 此外，用於製造比較具體例7-9的方法涉及與用於所有其他具體例(比較例23.1-4除外)的程序的偏差：混合循環之間的過篩和混合循環之間沒有休息時間。

【0683】 用這個API批次製造的產物的氣溶膠性能隨後可以藉由方法改變而被改善，以便排除混合循環之間的過篩步驟(例示性具體例11)。

【0684】 利用式(I-M-I)之(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)]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(實例4)，但使用部分不同的製造方法來製造其他乾粉摻合物。

【0685】 例示性具體例10和11的組成總結在下表26中。

表26：包含實例4的例示性具體例10-11的組成(乳糖含量)

	例示性具體例 10		例示性具體例 11	
API 濃度和批量	高強度摻合物 (10%活性成分，20g)		高強度摻合物 (10%活性成分，20g)	
	數量(g)	數量(%)	數量(g)	數量(%)
活性成分:實例 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	
摻合物均勻性分析(RSD%)		102% (2.8%)		100% (4.0%)
乳糖混合物中的 LH 300 細粒含量**		5.5%		5.5%
比例 活性成分：LH 100**		1 : 8.5		1 : 8.5
比例 活性成分：LH 300**		1 : 0.5		1 : 0.5

*用作單水合物I

**細乳糖(LH 300)與粗乳糖(LH 100)的比例在本發明的例示性具體例部分中進行了解釋。

【0686】 例示性具體例10-11的製造方法與例示性具體例1-3的不同之處在於步驟3和4。

【0687】 步驟3：式(I-M-I)的單水合物I，實例4經微粉化通過500μm篩網過篩，並被加入預摻合乳糖中。在開始混合循環之前，將乳糖預摻合物和活性成分交替分層置放，6層乳糖預摻合物和其間5層活性成分(實例4)。使用5%過量的式(I-M-I)的單水合物I，實例4經微粉化(例示性具體例10)

【0688】 步驟4：將組份在滾筒混合器中循環混合。每個循環在32 rpm下進行30分鐘。摻合物(例示性具體例10)在循環之間通過500μm篩網過篩。針對例示性具體例11，在混合循環之間沒有進行過篩。混合循環之間沒有提供休息時間(例示性具體例10和11)。

【0689】 例示性具體例10-11的填充膠囊的氣溶膠性能結果總結在表27中。

表27：例示性具體例10-11的填充膠囊的氣溶膠性能

	例示性具體例 10	例示性具體例 11
標稱劑量	1000μg	1000μg
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%
細粒劑量<4.5μm (FPD)	190 μg	290 μg
FPF (標稱的%)	19%	29 %
FPF (DD 的%)	30%	51%

*由NGI中回收的總和確定

【0690】 與之前在混合循環之間有過篩步驟的標準方法相比，省略過篩步驟的氣溶膠性能結果明顯更好(如比較例7-8中所示)。與在混合循環之間涉及摻合物過篩的方法相比，以標稱%表示的FPD和DD的%大大增加。同樣，省略過篩步驟也不會影響摻合物均勻性。這是出乎意料的，因為過篩本來預期會導致

更好的摻合均質性。不僅在混合30分鐘後過篩摻合物(例示性具體例10)的BU (RSD = 分別為過篩前8.7%和篩分後8.5%)處於較高程度，而且BU (%RSD)在最終摻合階段(90分鐘加48小時休息)，過篩和未過篩摻合物之間為相同程度。

【0691】 利用(5R)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)]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，使用部分不同的製造方法來製造更多乾粉摻合物。

【0692】 進行這項研究是為了調查乳糖細粒含量對摻合物均勻性和氣溶膠性能的影響。

【0693】 下表28中總結了比較例12(無細乳糖含量)和例示性實例13-15的對應組成。

表28：比較例12和例示性實例13-15的組成，包括比較例14

		比較例 12		例示性具體例 13		例示性具體例 14		例示性具體例 15	
API 濃度和批量		(0.75%活性成分，50g)		(0.75%活性成分，50g)		(0.75%活性成分，50g)		(0.75%活性成分，50g)	
		數量(g)	數量(%)	數量(g)	數量(%)	數量(g)	數量(%)	數量(g)	數量(%)
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 (RSD%)	30 min		96% (1.0%)		93% (5.8%)		89% (1.6%)		92% (8.2%)
	60 min		92% (0.6%)		91% (4.6%)		93% (5.0%)		92% (4.1%)
	90 min		92% (1.4%)		89% (5.6%)		96% (9.2%)		92% (1.7%)
	120 min		95% (11.6%)		92% (1.6%)		93% (10.3%)		96% (10.0%)
乳糖混合物中的 LH 300 細粒含量			0.0%		5.0%		7.6%		10.1%
比例 活性成分：LH 100			1：132		1：126		1：122		1：119

比例 活性成分：LH 300				1：6.6		1：10		1：13

*用作單水合物II

【0694】比較例12和例示性實例13-15的製造方法在所有步驟1-6都不同於例示性實例1-3。

【0695】步驟1：將細乳糖部分和粗乳糖部分秤量到容器中，過篩並轉移到混合器的混合容器中。

【0696】步驟2：不對乳糖預摻合物進行混合

【0697】步驟3：將微粉化單水合物II的R對映異構物(比較例14)加入到預先秤重和過篩的乳糖中。在開始混合之前，將乳糖預摻合物和活性成分交替分層放置，4層乳糖預摻合物和其間3層活性成分(單水合物II的R對映異構物；比較例14)。

【0698】步驟4：將組份在滾筒混合器中循環混合。每個循環(總共4個循環)在72 rpm下進行30分鐘。摻合物在循環之間通過500μm篩網過篩。混合循環之間沒有提供休息時間。

【0699】步驟5：沒有定義最終摻合物的休息期

【0700】步驟6：將摻合物以所需的填充重量手動填充到膠囊中。

【0701】比較例12和例示性具體例13-15的填充膠囊的氣溶膠性能顯示於下表29中。

表29：比較例12和例示性具體例13-15的填充膠囊的氣溶膠性能

	比較例 12	例示性具體例 13	例示性具體例 14	例示性具體例 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)	41μg*	38μg*	38μg*	39μg*
DD (標稱的%)	55%	51 %	51 %	52%
細粒劑量<4.5μm (FPD)	8μg	19μg	19μg	20μg
FPF (標稱的%)	11%	25%	25%	27%
FPF (DD 的%)	20%	50%	50%	51%

*由NGI回收的總和確定

【0702】 上述結果顯示，在組成物不含細乳糖的情況下(參見比較例12)，相對於標稱劑量的細粒分率和遞送劑量降低且不如例示性具體例13-15。對於獨立於乳糖細粒含量(5%、7.5%或10%)製造的所有變體，FPD和FPF明顯更高。令人驚訝的是，數量不等的乳糖細粒的結果幾乎相同。因此，證明本發明粉末摻合物和配製物可以具有不同含量的細乳糖而不危害到氣溶膠性能。摻合物均勻性結果主要證明BU沒有隨著混合時間增加而明顯增加。相反，在90分鐘以上觀察到均質性又再降低，除了含有5%乳糖細粒的配製物以外。

【0703】 利用(5R)-{[2-(4-羧基苯基)乙基](2-(2{[3-氯-4'-(三氟甲基)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，使用部分不同的製造方法來製造更多乾粉摻合物。

【0704】 進行研究以調查混合時間在較大規模下對摻合物的最終膠囊的均勻性和氣溶膠性能的影響。

【0705】 下表30中總結了比較例16和例示性具體例17-19的組成。

表30：比較例16和例示性具體例17-19的組成以及不同混合時間下的對應摻合物均勻性

		比較例 16		例示性具體例 17		例示性具體例 18		例示性具體例 19	
API 濃度和批量		(0.75%活性成分，200g)		(10%活性成分，50g)		(0.75%活性成分，200g)		(10%活性成分，200g)	
		數量(g)	數量(%)	數量(g)	數量(%)	數量(g)	數量(%)	數量(g)	數量(%)
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	
均勻性	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 細粒含量			5.3%		5.9%		5.3%		5.9%
比例 活性成分:LH 100			1：126		1：8.5		1：126		1：8.5
比例 活性成分:LH 300			1：6.7		1：0.5		1：6.7		1：0.5

*用作單水合物II

【0706】 比較例16和例示性具體例17-19的製造方法在所有步驟1-6中都不同於例示性具體例1-3。

【0707】 步驟1：將細乳糖部分和粗乳糖部分秤量到容器中，過篩並轉移到混合器的混合容器中。

【0708】 步驟2：不對乳糖預摻合物進行混合

【0709】 步驟3：將經微粉化比較例14加入到預先秤重並過篩的乳糖中。在開始混合之前，將乳糖預摻合物和活性成分交替分層放置，4層乳糖預摻合物和其間3層活性成分(活性成分比較例14)。

【0710】 步驟4:將組份在滾筒混合器中循環混合。每個循環(總共4個循環)在72 rpm下進行30分鐘。玻璃容器用於比較例16和例示性具體例17。不銹鋼容器用於例示性具體例18和19。摻合物在循環之間通過500μm篩網過篩。混合循環之間沒有提供休息時間。

【0711】 步驟5：沒有定義最終摻合物的休息期

【0712】 步驟6：將摻合物以所需的填充重量手動填充到膠囊中。

【0713】 比較例16和例示性具體例17-19的填充膠囊的氣溶膠性能顯示於下表31中。

表31：比較例16和例示性具體例17-19的填充膠囊的氣溶膠性能

	比較例 16	例示性具體例 17	例示性具體例 18	例示性具體例 19
標稱劑量(膠囊)	75μg	1000μg	75μg	1000μg
粉末摻合物濃度	0.75%	10%	0.75%	10%
填充重量	10 mg	10 mg	10 mg	10 mg
30 min 摻合時間後的結果				
遞送劑量(DD)	23μg*	546μg*	34μg*	674μg*
DD (標稱的%)	31%	55%	45%	67%
細粒劑量<4.5μm (FPD)	9μg	301μg	17μg	411μg
FPF (標稱的%)	12%	30%	23%	41%
FPF (DD 的%)	39%	55%	50%	61%
60 min 摻合時間後的結果				
遞送劑量(DD)	25μg*	526μg*	33μg*	581μg*
DD (標稱的%)	33%	53%	44%	58%
細粒劑量<4.5μm (FPD)	9μg	189μg	17μg	311μg
FPF (標稱的%)	12%	19%	22%	31%
FPF (DD 的%)	38%	36%	51%	53%
90 min 摻合時間後的結果				
遞送劑量(DD)	29μg*	467μg*	32μg*	---
DD (標稱的%)	39%	47%	42%	---
細粒劑量<4.5μm (FPD)	12μg	210μg	16μg	---
FPF (標稱的%)	16%	21%	21%	---
FPF (DD 的%)	42%	45%	50%	---
120 min 摻合時間後的結果				
遞送劑量(DD)	---	551μg*	34μg*	534μg*
DD (標稱的%)	---	55%	45%	53%
細粒劑量<4.5μm (FPD)	---	261μg	16μg	284μg
FPF (標稱的%)	---	26%	22%	28%
FPF (DD 的%)	---	47%	48%	53%

*由NGI回收的總和決定

---在這個時間點未測試。

【0714】從上表中的結果清楚地證明，摻合物的混合時間對摻合物品質(即摻合物均勻性)有影響。大體上，混合均勻性隨著混合時間而增進，通常在90 min後觀察到最佳結果。比較例16在整個混合過程中顯示出較差的含量值，且大部分也未能符合FPD/FPF%目標。在這種情況下，似乎主要是混合容器(=玻璃)的性質導致均質性不佳並導致所得氣溶膠性能低(最終精細的API內容物留在混合容器中)。

【0715】 然而，當混合時間延長時，有時會觀察到BU降低(RSD%增加)，這是一個意料外的發現。同樣，氣溶膠性能(FPD、FPF)大多不受混合時間所影響。在玻璃容器中摻合的乾粉與在不銹鋼容器中摻合的乾粉的結果存在顯著差異。不銹鋼容器摻合粉末(例示性具體例18-19)的結果優於玻璃容器摻合粉末(比較例16和例示性具體例17)獲得的結果，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。

【0716】 利用(5R)-{[2-(4-羧基苯基)乙基](2-(2{[3-氯-4'-(三氟甲基)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II (實例2和4)作為活性成分，使用部分不同的製造方法來製造更多乾粉摻合物。研究範圍是以更大規模製造粉末摻合物和利用不同乳糖細粒含量。下表32中總結了所得比較例20和例示性具體例21與22。

表32：比較例20和例示性具體例21與22的組成

	比較例 20		例示性具體例 21		例示性具體例 22	
	中等強度摻合物 (5%活性成分，850g)		中等強度摻合物 (5%活性成分，1050g)		中等強度摻合物 (5%活性成分，8200g)	
	數量(g)	數量(%)	數量(g)	數量(%)	數量(g)	數量(%)
活性成分(比較例 20 為實例 2/具體例 21 + 22 為實例 4)*	44.5	5%	52.5	5%	410.0	5%
粗乳糖 (Lactohale 100)	---	---	945.0	90%	7380.0	90%
經研磨粗乳糖 (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%)		---		---
乳糖混合物中的 LH 300 細粒含量		21.1%		5.3%		5.3%%
比例 活性成分：LH		1：14		1：18		1：18

100/LH200						
比例 活性成分:LH 300		1：3.8		1：1		1：1

*用作比較例20的單水合物II以及用作例示性具體例21和22的單水合物I；**在製造步驟7A-7D之後，參見下文；

【0717】 比較例20的製造方法在步驟1-5中不同於例示性具體例1-3的製造。

【0718】 步驟1：將細乳糖部分和粗乳糖部分(LH200或LH100)部分秤入混合容器中。

【0719】 步驟2：不進行乳糖預混合物的摻合。乳糖預摻合物在循環之間通過630μm篩網過篩。

【0720】 步驟3：將活性成分(實例2用於比較例20/實例4用於具體例21+22)微粉化通過630μm篩網，並在不分層放置的情況下加入預混合乳糖中。

【0721】 步驟4:將組份在滾筒式混合器中混合3個循環。每個循環在32 rpm下進行20分鐘。摻合物在循環之間通過630μm篩網過篩。混合循環之間沒有實施休息時間。

【0722】 步驟5：取樣和填充之前，摻合物沒有靜置歷時明確時間。

【0723】 (額外)步驟7：由於均勻性結果不佳，對比較例20的摻合物進行進一步處理。

•7A：摻合物通過630μm篩網過篩

•7B：將摻合物分成兩部分，每部分以67 rpm混合60 min

•7C：兩個摻合部分都通過630μm篩網過篩

•7D：兩部分重新合併並以67 rpm再混合30 min

【0724】 例示性具體例21是使用應用於例示性具體例4-6的方法所製造。

【0725】 例示性具體例22是使用應用於例示性具體例1-3的方法所製造。

【0726】 表33中總結了填充膠囊比較例20和例示性具體例21-22的氣溶膠性能結果。

表33：填充膠囊比較例20和例示性具體例21-22的氣溶膠性能

	比較例 20	例示性具體例 21	例示性具體例 22
標稱劑量(膠囊)	500µg	500µg	500µg
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%

*由DUSA測試，FPF (DD的%)以此值計算

【0727】 例示性具體例21和22的結果證明，在5倍和50倍的更高規模下，乾粉摻合物也可以用已建立的方法來製造。摻合物均勻性以及氣溶膠性能都在所需的目標/範圍內。比較例20未能產生均質的摻合物，這可能是因為高乳糖細粒含量和所得相當黏的混合物。低含量表示活性成分並黏附在製造設備上。即使經過大量額外的摻合操作以達到活性成分在乳糖摻合物中可接受的分布，均勻性仍然很差，儘管填充膠囊的摻合物的氣溶膠性能顯示出結果可接受。

【0728】 因此，證明本發明的粉末摻合物和配製物可以具有介於5%和10%的範圍內變化的細乳糖含量而不危害氣溶膠性能(參見例示性具體例13、14和15)。然而，20%細乳糖的上限很關鍵。

【0729】 使用式(I-M-I)之(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基](2-(2{[3-氯-4'-(三氟甲基)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 (實例4)作為活性成分，並使用部分不同的製造方法來製造更多乾粉摻合物。

【0730】 研究範圍是製造膠囊中有更高活性濃度和更高摻合物填充的本發明具體例，以實現更高的標稱劑量以及在更大規模下驗證更高的劑量。

【0731】 下表34中總結了得到的比較例23 (1-4)和例示性具體例24-26。

表34：比較例23和例示性具體例24-26的組成

		比較例 23		例示性具體例 24		例示性具體例 25		例示性具體例 26	
API 濃度和批量		(10%活性成分，20g)		(20%活性成分，20g)		(30%活性成分，20g)		(20%活性成分，290g)	
		數量(g)	數量(%)	數量(g)	數量(%)	數量(g)	數量(%)	數量(g)	數量(%)
活性成分：(實例 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 細粒含量			5.6%		6.3%		7.1%		6.3%
比例 活性成分：LH 100			1：8.5		1：3.8		1：2.2		1：3.8
比例 活性成分：LH 300			1：0.5		1：0.25		1：0.17		1：0.25

*用作單水合物I

【0732】 利用與比較例7-9相似的方法和相同的API批次來製造比較例23和例示性具體例24-26，但是使用略低的循環速率34 rpm而不是32 rpm持續四個循環。在每個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，然後進行又一個摻合循環、通過500μm篩網的過篩步驟和最終BU測試。膠囊是手工填充的，用於氣溶膠性能測試。

【0733】 使用與比較例7-9相同的方法來製造例示性具體例26，但是循環為34rpm而非32rpm並手工填充膠囊。

【0734】具有不同填充重量以達到不同標稱劑量的比較例23和例示性具體例24-26的填充膠囊的氣溶膠性能結果總結在表35中。

表35：比較例23和例示性具體例24-26的填充膠囊的氣溶膠性能

	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)	1000μg	2000μg	3000μg	4000μg
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)	671μg	1398μg	2238μg	2984μg
DD (標稱的%)	67%	70%	75%	75%
細粒劑量<4.5μm (FPD)	168μg	293μg	475μg	604μg
FPF (標稱的%)	17%	15%	16%	15%
FPF (DD的%)	25%	21%	21%	20%
	例示性具體例 24-1	例示性具體例 24-2	例示性具體例 25-1	例示性具體例 25-2
標稱劑量(膠囊)	2000μg	6000μg	3000μg	9000μg
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)	1336μg	4756μg	2229μg	7172μg
DD (標稱的%)	67%	79%	74%	80%
細粒劑量<4.5μm (FPD)	411μg	1302μg	929μg	2805μg
FPF (標稱的%)	21%	22%	31%	31%
FPF (DD的%)	31%	27%	42%	39%
	例示性具體例 26			

	6000μg			
粉末摻合物濃度	20%			
填充重量	30 mg			
遞送劑量(DD)	4924μg			
DD (標稱的%)	82%			
細粒劑量<4.5μm (FPD)	1779μg			
FPF (標稱的%)	30%			
FPF (DD的%)	36%			

【0735】如透過例示性具體例24-26所證實，本發明的配製物可利用高出10%的更高藥物含量進行製造。就含有30%活性成分的摻合物來說，由於細粒含量高(來自高微粉化的API部分)，不可能在適當的摻合時間內摻合均質的混合物。儘管BU RSD%隨著時間推移到120 min而獲得改善，但該值仍處於相對較高的程度。令人驚訝的是，氣溶膠性能並沒有受到影響，反而產生了更高的FPD/FPF，與較低強度的摻合物一樣。就10%和20%摻合物來說，在混合時間增加到至多90 min時，證明有良好的摻合物均勻性。出乎意料的是，在10%強度的各種填充量下，氣溶膠性能觀察到沒有顯著變化，因為活性成分在膠囊壁上的相對表面黏附力較低，預期會增加遞送劑量和FPF%。因此，在10% API濃度和更高的膠囊填充重量下，很可能不會導致氣溶膠性能發生顯著變化。比較例23的所有填充物均未達到FPF%目標，這在使用相同API批次和方法的比較例7-9觀察到類似情況。一個因素可能是僅20 g的小型探索性批量，其中製造期間和設備表面上的損失對批次中API細粒含量的影響更大。透過比較具有較高API濃度20%且仍未顯著超過性能目標的例示性具體例24-1和-2，也可以觀察到批量的影響。另外，具有與例示性具體例24-2的小規模批次相同組成和膠囊填充重量的例示性具體例26-1的放大規模批次表現出更好的氣溶膠性能，顯示了製造批量的影

響。在例示性具體例7-9結果的上下文中，氣溶膠性能不佳進一步歸因於API批次的性質(與例示性具體例7-9所用的相同)，導致摻合物中不利的黏附或內聚效應並導致細粒在APSD分析期間損失。這可能是因為該批次具有相對較高的殘留丙酮含量(約10倍)，而其他API批次未觀察到。

【0736】 例示性具體例26的放大規模製造進一步證明，利用20%活性摻合物可以達到填充膠囊的充分摻合物均質性和氣溶膠性能。

【0737】 利用不同含量的細乳糖(例如2.5%和更少以及15%和更多)製造本發明的更多具體例。

【0738】 利用(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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，使用部分不同的製造方法製造更多乾粉摻合物。

【0739】 進行這項研究是為了調查在更大規模下，開始摻合方法之前初始層數的影響以及摻合循環之間過篩步驟的影響。

【0740】 例示性實例27-30的組成總結在下表36中。

表36：例示性具體例27-30的組成和不同摻合時間的相應摻合物均勻性

	例示性具體例 27		例示性具體例 28		例示性具體例 29		例示性具體例 30	
API 濃度和批量	(10%活性成分，200g)		(10%活性成分，200g)		(10%活性成分，200g)		(10%活性成分，200g)	
	數量(g)	數量(%)	數量(g)	數量(%)	數量(g)	數量(%)	數量(g)	數量(%)
活性成分*	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		5.9%		5.9%		5.9%		5.9%

物中的 LH 300 細粒含量								
比例 活性成分：LH 100		1：8.5		1：8.5		1：8.5		1：8.5
比例 活性成分：LH 300		1：0.5		1：0.5		1：0.5		1：0.5

*用作單水合物I，實例4

【0741】 例示性具體例27-30的製造方法在步驟3、4和6中不同於例示性具體例1-3。

【0742】 步驟3：在開始混合之前，將2層乳糖預摻合物和其間1層活性成分(例示性具體例27)以及10層乳糖預摻合物和其間9層活性成分(例示性實例28)秤重到摻合容器。

【0743】 步驟4：在循環之間通過500μm篩網篩分摻合物(例示性具體例30)

【0744】 步驟6：將摻合物按所需的填充重量手動填充到膠囊中。

【0745】 例示性具體例27-30的填充膠囊的氣溶膠性能顯示在下表37中。

表37：例示性具體例27-30的填充膠囊的氣溶膠性能

	例示性具體例 27	**例示性具體例 28**	**例示性具體例 29**	**例示性具體例 30**
標稱劑量(膠囊)	75μg	1000μg	75μg	1000μg
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)	556μg*	638μg*	598μg*	630μg*
DD (標稱的%)	56%	64%	60%	63%
細粒劑量<4.5μm (FPD)	317μg	348μg	333μg	341μg
FPF (標稱的%)	32%	35%	33%	34%
FPF (DD 的%)	57%	55%	56%	54%

*NGI回收的總和決定

---在這個時間點並未測試。

【0746】在臨床規模上進行的這項研究結果證明，無論初始預摻合物和API層數為何，以及混合循環之間的過篩步驟為何，都可以獲得優異的摻合物均勻性和氣溶膠性能。

【0747】利用式(I-M-I)之(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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 (實例4)作為活性成分，並使用略為不同的製造方法製造更多乾粉摻合物。

【0748】進行這項研究是為了調查高和低乳糖細粒含量對已建立的摻合方法和所得氣溶膠性能的影響。

【0749】所得例示性具體例31-32和比較例33總結在下表38中。

表38：例示性具體例31-32和比較例33的組成(乳糖含量)

	例示性具體例 31		例示性具體例 32		例示性具體例 33	
API 濃度和批量	(10%活性成分，50g)		(10%活性成分，50g)		(10%活性成分，50g)	
	數量(g)	數量(%)	數量(g)	數量(%)	數量(g)	數量(%)
活性成分實例 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%)
乳糖混合物中的 LH 300 細粒含量 **		1.1%		2.9%		20.0%
比例 活性成分：LH 100**		1：8.9		1：8.75		1：7.5
比例 活性成分：LH 300**		1：0.1		1：0.25		1：1.5

*用作單水合物I

**細乳糖(LH 300)與粗乳糖(LH 100)的比例在本發明的例示性具體例部分中進行了解釋。

【0750】 例示性具體例31-32與比較例33的製造方法在步驟6有所不同。

【0751】 步驟6：將摻合物以所需的填充重量手動填充到膠囊中。

【0752】 例示性具體例31-32和比較例33的填充膠囊的氣溶膠性能結果總結在表39中。

表39：例示性具體例31-32和比較例33的氣溶膠性能

	例示性具體例 31	例示性具體例 32	比較例 33
標稱劑量	**1000µg**	**1000µg**	**1000µg**
在粉末摻合物中，活性成分實例 4 的濃度	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%

*NGI回收的總和確定

【0753】 例示性具體例31-32和比較例33的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%)製造的比較例的摻合物均勻性較差，高出目標值15.5%。這個實例中細粒劑量的變化(RSD%)也很高。因此，乳糖細粒含量>15%的組成被推斷是不合適的，而低至1%的低乳糖細粒含量預期提供具有合適摻合物均勻性和氣溶膠性能的產物。

【0754】 利用式(I-M-I)之(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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 (實例4)作為活性成分，並使用略為不同的製造方法製造更多乾粉摻合物。

【0755】 進行研究是為了調查具有固有細粒的經研磨粗磨乳糖類型(Lactohale 200)在有與沒有額外乳糖細粒(LH300)含量的情況下對已建立之摻合方法和所得氣溶膠性能的影響。還進行研究以產生數據來與比較例20進行比較(見表32)。

【0756】 所得例示性具體例34-35總結在下表40中。

表40：例示性具體例34-35的組成(乳糖含量)

	例示性具體例 34		例示性具體例 35	
API 濃度和批量	(10%活性成分，50g)		(10%活性成分，50g)	
	數量(g)	數量(%)	數量(g)	數量(%)
活性成分實例 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%
Total	50.0		50.0	
摻合物均勻性分析(RSD%)		115% (6.7%)		112% (10.5%)
LH 300 細粒含量乳糖混合物		0%		5.0%
比例 活性成分：LH 200**		1：9		1：8.5
比例 活性成分：LH 300**		1：0		1：0.5

*用作單水合物I

【0757】 例示性具體例34-35的製造方法在步驟6有所不同。

【0758】 步驟6：將摻合物以所需的填充重量手動填充到膠囊中。

【0759】 例示性具體例34-35的填充膠囊的氣溶膠性能結果總結於表41中。

表41：例示性具體例34-35的氣溶膠性能

	例示性具體例 34	例示性具體例 35
標稱劑量	**1000µg**	**1000µg**
在粉末摻合物中，活性成分實例 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%

*NGI回收的總和確定

【0760】例示性具體例34-35的填充膠囊的氣溶膠性能結果滿足所有目標。兩種摻合物的摻合物均勻性都是可接受的。氣溶膠性能僅略高於標稱劑量的FPF%和遞送劑量%的目標限值。此外，與具有LH100/LH300組成的具體例相比，以與例示性具體例31-32和比較例33相同的順序製造的這些具體例的結果也明顯更低，顯示LH200與LH100粗乳糖的比較性能較差。添加5% LH300細粒並不會造成更好的FPD/FPF結果。如比較例20所證明，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均勻性不足。使用式(I-M-I)之(5S)-{[2-(4-羧佳苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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 (實例4)的乳糖摻合物在利用LH200粗乳糖的已建立方法中，於有和沒有LH300 (至高5%)的情況下仍顯示會產生可接受的產物。

【0761】使用式(I-M-I)之(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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 (實例4)作為活性成分，並使用部分不同的製造方法製造更多乾粉摻合物。

【0762】研究範圍是為了製造本發明的更多具體例，其中細乳糖含量在2.5% - 7.5%範圍內變化，但採用不同品質的細乳糖(Lactohale® 230) (粒度略高/見表6)，而粗乳糖品質保持不變並觀察方法和氣溶膠性能。

【0763】所得例示性具體例36-38總結在下表42中。

表42：例示性具體例36-38的組成

	例示性具體例 36		例示性具體例 37		例示性具體例 38	
API濃度和批量	(10%活性成分，200g)		(10%活性成分，200g)		(10%活性成分，200g)	
	數量(g)	數量(%)	數量(g)	數量(%)	數量(g)	數量(%)
活性成分(實例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	5.0	2.5%	10.0	5%	15.0	7.5%

(Lactohale 230)							
總計		200.0		200.0		200.0	
摻合物均勻性分析 (RSD%)	30 min		110% (9.6%)		100% (8.3%)		104% (5.6%)
	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%)
乳糖混合物中的 LH 230 細粒含量			2.8%		5.6%		8.3%
比例 活性成分：LH 100			1：8.75		1：8.5		1：8.25
比例 活性成分：LH 230			1：0.25		1：0.5		1：0.75

*用作單水合物I

**數據不可用

【0764】 例示性具體例34-35的製造方法在步驟6有所不同。

【0765】 步驟6：將摻合物以所需的填充重量手動填充到膠囊中。

【0766】 例示性具體例34-35之填充膠囊的氣溶膠性能結果總結於表43中。氣溶膠性能是在摻合90分鐘後(代表根據本發明已建立之方法的摻合時間)測量的。

表43：例示性具體例36-38的氣溶膠性能

	例示性具體例 36	例示性具體例 37	例示性具體例 38
標稱劑量	**1000µg**	**1000µg**	**1000µg**
在粉末摻合物中，活性成分實例 4 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%

*NGI回收的總和確定

【0767】 例示性具體例36-38的填充膠囊的氣溶膠性能結果滿足所有目標。所有摻合物的摻合物均勻性都是可接受的，但是高細粒有超出目標的趨勢(7.5%，例示性具體例38和更長的混合時間)。增加乳糖細粒(LH230)的含量顯示整體遞送劑量增加，而FPD僅少量增加，從而降低FPF (DD的%)。使用式(I-M-I)之(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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 (實例4)的乳糖摻合物在利用LH230細乳糖(與LH300微粉化乳糖細粒相比具有不同的粒度分布)的已建立方法中證明會產生可接受的產物和可製造性。

【0768】 使用式(I-M-I)之(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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 (實例4)作為活性成分，並使用部分不同的製造方法製造更多乾粉摻合物。

【0769】 研究範圍是要根據本發明在細粒(LH300®)含量2.5% - 7.5%範圍內利用替代粗乳糖產品(Lactohale® 206，其粒度略小於Lactohale®100，參見表6)來製造本發明的更多具體例，並觀察方法和氣溶膠性能。

【0770】 所得例示性具體例39-41總結於下表44中。

表44：例示性具體例39-41的組成

	例示性具體例 39		例示性具體例 40		例示性具體例 41	
API濃度和批量	(10%活性成分，200g)		(10%活性成分，200g)		(10%活性成分，200g)	
	數量(g)	數量(%)	數量(g)	數量(%)	數量(g)	數量(%)
活性成分(實例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	5.0	2.5%	10.0	5%	15.0	7.5%

(Lactohale 300)							
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%)
乳糖混合物中的 LH 300 細粒含量			2.8%		5.6%		8.3%
比例 活性成分：LH 206			1：8.75		1：8.5		1：8.25
比例 活性成分：LH 300			1：0.25		1：0.5		1：0.75

*用作單水合物I

**數據不可用

【0771】 例示性具體例39-41的製造方法在步驟6有所不同。

【0772】 步驟6：將摻合物以所需的填充重量手動填充到膠囊中。

【0773】 例示性具體例39-41的填充膠囊的氣溶膠性能結果總結在表45中。氣溶膠性能是在摻合90分鐘後(代表根據本發明已建立之方法的摻合時間)測量的。

表45：例示性具體例39-41的氣溶膠性能

	例示性具體例 39	例示性具體例 40	例示性具體例 41
標稱劑量	**1000µg**	**1000µg**	**1000µg**
在粉末摻合物中，活性成分實例 4 的濃度	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%

*NGI回收的總和確定

【0774】例示性具體例39-41的填充膠囊的氣溶膠性能結果滿足所有目標。摻合物的摻合物均勻性都是可接受的，但並非所有摻合物在所有時間點都是可接受的。混合90 min後發現最佳值為5%細粒，這對應於根據本發明已建立的方法。增加乳糖細粒(LH300)的含量並未顯示出任何氣溶膠性能參數的對應趨勢，而是根據本發明在5%細粒下觀察到最佳性能。使用式(I-M-I)之(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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 (實例4)的乳糖摻合物在利用LH300細乳糖和LH206粗乳糖(與LH100乳糖相比具有不同的粒度分布)的已建立方法中證明會產生可接受的產物和可製造性。

【0775】使用式(I-M-I)之(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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 (實例4)作為活性成分，並使用部分不同的製造方法製造更多乾粉摻合物。

【0776】研究範圍是要根據本發明在細粒含量2.5% - 7.5%範圍內利用替代粗乳糖產品(LH206®)以及替代細乳糖產品(LH230®)來製造本發明的更多具體例，並觀察方法和氣溶膠性能。

【0777】所得例示性具體例42-44總結在下表46中。

表46：例示性具體例42-44的組成

	Exemplary Embodiment 42		Exemplary Embodiment 43		Exemplary Embodiment 44	
API濃度和批量	(10%活性成分，200g)		(10%活性成分，200g)		(10%活性成分，200g)	
	數量(g)	數量(%)	數量(g)	數量(%)	數量(g)	數量(%)
活性成分(實例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%)
乳糖混合物中的 LH 230 細粒含量			2.8%		5.6%		8.3%
比例 活性成分：LH 206			1：8.75		1：8.5		1：8.25
比例 活性成分：LH 230			1：0.25		1：0.5		1：0.75

*用作單水合物I

**數據不可用

【0778】 例示性具體例42-44的製造方法在步驟6有所不同。

【0779】 步驟6：將摻合物以所需的填充重量手動填充到膠囊中。

【0780】 例示性具體例42-44的填充膠囊的氣溶膠性能結果總結於表47中。氣溶膠性能是在摻合90分鐘後(代表根據本發明已建立之方法的摻合時間)測量的(例示性具體例44除外，其中測量僅在摻合120 min後進行)。

表47：例示性具體例42-44的氣溶膠性能

	例示性具體例 42	例示性具體例 43	例示性具體例 44
標稱劑量	**1000µg**	**1000µg**	**1000µg**
在粉末摻合物中，活性成分	10%	10%	10%

實例 4 的濃度			
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%

*NGI回收的總和確定

【0781】 例示性具體例42-44的填充膠囊的氣溶膠性能結果滿足所有目標，但是全都接近目標限值。摻合物的摻合物均勻性是可接受的，但並非所有摻合物在所有時間點都是可接受的。有時在混合90 min後觀察到最佳值，有時在120 min後觀察到最佳值。根據本發明具有5%乳糖細粒的例示性具體例43在90 min後就RSD%和摻合物分析而言是可接受的，而有時摻合物分析結果高於目標的110%。增加乳糖細粒(LH300)的含量並未顯示對任何氣溶膠性能參數有任何影響，所有具體例22-44的這些參數非常相似。使用式(I-M-I)之(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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 (實例4)在利用LH230細乳糖(與LH300相比具有不同的粒度分布)和LH206粗乳糖(與LH100乳糖相比具有不同的粒度分布)的已建立方法中證明會產生可接受的產物和可製造性。

【0782】 最後可以從上述實例得到結論：

如果採用例如具有固有細乳糖含量的粗乳糖(像是例如lactohale 200®)，則乳糖載劑的細乳糖含量可以調整至恰好約1%或甚至更低。細乳糖的上限應調整到最多10%或大約最多15%，以免損害摻合物均勻性。大致上，為了獲得展現出優異氣溶膠性能的基於載劑的配製物，某個最小含量的細乳糖是必需的。

【0783】 穩定性測試

【0784】 穩定性研究是利用各為低強度(120µg，根據本發明，例示性具體例1)和高強度(1000µg，根據本發明，例示性具體例3)的臨床批次進行。對外觀、

遞送劑量、空氣動力學粒度分布、含量和降解產物以及物理形式(僅限高強度批次)進行了穩定性測試。研究是根據表48中概述的方案進行。

表48：穩定性方案-包含實例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℃/60% RH	x	x	x	x	(x)	x	x	x	(x)

RH 相對溼度
x 測試站
(x) 可選測試站

【0785】在整個測試期中，觀察到任何測試參數都沒有明顯變化的跡象。因此，根據本發明的粉末摻合物配製物對於預期用途和儲存期來說是足夠穩定的。穩定性數據列於下表49中。

表49：穩定性數據-包含實例4的長期吸入用膠囊

測試 接受標準	儲存時間 [月]	具體例 1 (120μg)	具體例 2 (1000μg)
調配	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
	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	初始	白色粉末	米白色粉末
(白色至米白色粉末)	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
第 1 層(n=10)	初始	符合	符合
(10 個中有 9 個必須介於 75%和	1	符合	符合
125%	3	符合	符合
且 10 個中有 10 個位於	6	符合	符合

測試 接受標準	儲存時間 [月]	具體例 1 (120μg)	具體例 2 (1000μg)
平均值的 65%和 135%)	12	符合	符合
	18	符合	符合
	24	符合	符合
第 2 層(n=30)	初始	n.a.	n.a.
(所有 30 個值中不超過 3 個位於	1	n.a.	n.a.
75%至 125%的限值以外且	3	n.a.	n.a.
沒有值	6	n.a.	n.a.
位於平均值的 65%至 135%的限值以外)	12	n.a.	n.a.
	18	n.a.	n.a.
	24	n.a.	n.a.
空氣動力學粒度	初始	3.2	3.1
分布	1	3.3	3.1
MMAD	3	3.4	3.2
(1.8 - 5.0μm)	6	3.3	3.1
	12	3.5	3.1
	18	3.5	3.3
	24	3.5	3.1
FPD	初始	34	230
120μg：15 - 37 μg	1	24	235
1000μg 123 - 312μg	3	20	255
	6	24	276
	12	23	260
	18	26	252
	24	22	265
實例 4 的降解產物	初始	< 0.05	< 0.05
BP 胺基酸	1	n.d.	n.d.
(最大值 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-羧酸	初始	0.1	< 0.05
(最大值 1.5 %)	1	0.1	n.d.
	3	0.1	n.d.
	6	0.1	0.05
	12	0.1	0.05
	18	0.1	0.05
	24	0.1	0.06
任何未指明的降解產物	初始	0.3	0.3
(最大值 1.5 %)	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

測試 接受標準	儲存時間 [月]	具體例 1 (120μg)	具體例 2 (1000μg)
	24	0.3	0.3
所有降解產物的總和 (最大值 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
實例 4 的分析 120μg：108 - 132 μg/膠囊 1000μg：900 - 1100 μg/膠囊	初始	115	962
	1	116	995
	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. = 未偵測到，--未測試

【0786】 C-2 臨床研究用服務溶液(service solution)，例如經口和靜脈投藥

【0787】 包含實例4的服務溶液：

【0788】 製造臨床研究用服務溶液(參見實例E-2.3)，濃度為0.005%活性成分實例4 (式(I-M-I)的單水合物I)，總體積為20 ml，最後裝入棕色玻璃小瓶中。

表49a：包含實例4的服務溶液的定量組成

組成	**數量** **[mg]**	**填充數量** [a] **[mg]**

原料藥		
活性成分，實例 4 (式 (I-M-I)的單水合物 I)	1.0000	1.0450
賦形劑		
羥丙基 β 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 數量包括 0.9 ml 滿溢，確保可提取體積為 20.0 ml

b 根據 Ph. Eur. 當前版本，由 NaOH 和純淨水組成

q.s. 適量

【0789】 製造

步驟1：容器中裝入大約85%所需量的注射用水。

步驟2：將秤取量的羥丙基β環糊精(Hydroxypropylbetadex)轉移到容器中，攪拌溶液直至完全溶解。

步驟3：將秤取量的胺丁三醇轉移至容器中，攪拌溶液直至完全溶解。

步驟4：用適量的1 N氫氧化鈉將pH調整至12.0 (11.8 - 12.2)。

步驟5：將秤取量的活性成分，實例4 (式(I-M-I)的單水合物I)轉移到容器中，攪拌溶液直至完全溶解。

步驟6：將秤取量的氯化鈉轉移到容器中，攪拌溶液直至完全溶解。

步驟7：用適量的10%鹽酸將pH調整至7.8 (7.7 - 7.9)。

步驟8：計算最終重量的水量，邊攪拌邊加入所需量的注射用水。

步驟9：在通過膜過濾器(孔徑0.2 μm)無菌填充到玻璃小瓶之前，將溶液預過濾(過濾器1，生物負載減少過濾器)和無菌過濾(過濾器2)。

步驟10：將溶液裝入無菌、去熱原的20 mL棕色玻璃注射小瓶中。

步驟11：將小瓶加蓋並捲邊以完全封閉。

【0790】 D-分析方法(輸送劑量、細粒劑量、摻合物分析和均勻性)

【0791】 下面詳細描述了測定遞送劑量和細粒劑量的分析方法。

D.1：遞送劑量(DD)

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，根據 Ph. Eur.專論 Preparations for Inhalation - Powders for inhalation，利用乾粉吸入器(參見說明第 72 頁，圖 3a 和 3b)和吸入膠囊(關於膠囊的製備參見 C.)進行方法。取樣以 90L/min 的流速進行 2.4 sec，對應於 3.6L 的吸入容積。DD 樣品製備在 20℃和 40-55% RH 下進行。

使用帶有 UV-偵測的高效液相層析測量樣品(總結如下)

D.2 空氣動力學粒度分布(APSD) (用於測定 FPD)

使用設備 E (下一代衝擊器，NGI)、數字流量計和真空泵，根據 Ph. Eur. 2.9.18 aerodynamic assessment of fine particles，利用乾粉吸入器(參見說明第 72 頁，圖 3a 和 3b)和吸入膠囊(關於膠囊的製備參見 C.)進行方法。NGI 取樣杯各自塗覆有 2 mL 1%矽油的已烷溶液。取樣以 90L/min 的流速進行 2.4 sec，對應於 3.6L 的吸入容積。DD 樣品製備在 20℃和 40-55% RH 下進行。就 120μg 膠囊來說，將 5 個單獨的膠囊如上所述連續發射到 NGI 中，對於更高劑量強度(例如 480μg、1000μg)，每次 NGI 分析一個膠囊就足夠了。

使用帶有 UV-偵測的逆向高效液相層析測量樣品(總結如下)

RP-HPLC-UV 方法

(用於 APSD 與 DD 測試以及膠囊分析的樣品)

分析方法用於分析遞送劑量均勻性(DUSA 取樣管)和空氣動力學粒度測定(下一代衝擊器)期間所製備的樣品中，實例 2 或 4 或比較例 14 的含量。

儀器

帶有恆溫管柱烘箱、UV-偵測器或二極管陣列偵測器

和層析數據系統的高效液相層析

管柱	HPLC 管柱 Poroshell 120 EC-C8, 2.7 µm, 150 × 4.6 mm.
樣品溶析液[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	將所需的膠囊數量倒入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。所得溶液的濃度為 6µg/mL。 APSD 用樣品是藉由用乙腈萃取 NGI 杯製備的。 DD 用樣品是藉由用樣品稀釋劑清洗樣品管來製備。
HPLC 條件	
溶析液	A) 52：8 H2O：MeCN 加上 0.3%磷酸。 B) 5：95 H2O：MeCN 加上 0.3%磷酸。
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
管柱烘箱溫度	35℃ (± 2℃)
偵測	分光光度計在 260 nm 下

注射體積	100 µL

D.3 摻合物分析/均勻性(HPLC)	高效液相層析(HPLC)，帶有 UV-偵測
儀器	1. 帶有恆溫管柱烘箱、UV-偵測器或二極管陣列偵測器和層析數據系統的高效液相層析。 2. HPLC 管柱 Poroshell 120 EC-C8, 2.7 µm, 150 × 4.6 mm. 3. 超音波浴。
試劑	1. 磷酸(例如 Merck)。 2. 乙腈(MeCN) (HPLC-級)。 3. 去礦物質水(例如 Millipore)。
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))
測試溶液[TS]	準備測試溶液 10 次。所有測試溶液在環境/光照條件下可穩定 7 天。
7.5 µg/mg 摻合物強度 (1.2 µg/mL 樣品溶液) 目標膠囊強度：60 µg	準確秤取約 8.0 mg 的 7.5 µg/mg 散裝摻合物放入 50 mL 容量瓶中。用稀釋劑溶解並補足體積以產生 1.2 µg/mL 實例 2 或 4 或比較例 14 溶液。
7.5 µg/mg 摻合物強度 (1.2 µg/mL 樣品溶液) 目標膠囊強度：120 µg	準確秤取約 16.0 mg 的 7.5 µg/mg 散裝摻合物放入 100 mL 容量瓶中。用稀釋劑溶解並補足體積以產生 1.2 µg/mL 實例 2 或 4 或比較例 14 溶液。
30 µg/mg 摻合物強度 (4.8 µg/mg 原液，(1.44 µg/mL 樣品溶液) 目標膠囊強度：480 µg	準確秤取約 16.0 mg 的 30 µg/mg 散裝摻合物放入 100 mL 容量瓶中。用稀釋劑溶解並補足體積，且用稀釋劑將 3.0 mL 稀釋至 10mL 以產生 1.4 µg/mL 實例 2 或 4 或比較例 14 溶液。
100 µg/mg 摻合物強度 (5 µg/mg 原液，1.5 µg/mL 樣品溶液) 目標膠囊強度：1000 µg	準確秤取約 10.0 mg 的散裝摻合物放入 200 mL 容量瓶中。用稀釋劑溶解並補足體積，且用稀釋劑將 6.0 mL 稀釋至 20mL 以產生 1.5 µg/mL 實例 2 或 4 或比較例 14 溶液。
標準原液[SSS] (15 µg/mL)	以二重複秤取製得大約 15 µg/mL 溶液所需的實例 2 或 4 或比較例 14 參考標準品的量，並轉移到 100 mL 容量瓶中。超音波處理並用稀釋劑稀釋至體積。將原液標記為 SSS 1 和 SSS 2。

	如果最終濃度相同，可以使用不同重量的標準物質和不同的稀釋步驟。
標準溶液[SS] (1.5 µg/mL)	使用稀釋劑將每個原液標準品的 5.0 mL 稀釋至 50 mL，並充分混合以產生工作標準品溶液。
HPLC 條件	如遞送劑量和細粒劑量所述。

D.4 粒度分布 (雷射繞射)	適用於例如 API 或乳醣
原理	以適當濃度分散在合適的液體或氣體中的代表性樣品通過單色光束(通常是雷射)。顆粒在不同角度下散射的光由多元素偵測器進行測量。然後使用適當的光學模型和數學程序來轉換散射模式值，以產生總體積與離散數量的尺寸等級的比例，形成體積粒度分布
儀器	Sympatec HELOS，具有 RODOS 乾式分散單元
參數	壓力：4 巴 進料率：18% 聚焦長度(RODOS)：100 mm
準確度	變異係數：最大值 5%

雷射繞射測量的替代配置

儀器	Malvern Mastersizer 3000，具有乾式分散單元
參數	壓力：3.5 巴 進料率：20 % 聚焦長度：300 mm 取樣時間：3s
準確度	變異係數：最大值 5%

【0792】粒度分析數據通常是按體積計的累積尺寸過小分布來記述。符號x用於表示粒度，其被定義為體積等效球體的直徑。最常見的特徵值是藉由內插

法從粒度分布計得。經常使用的是尺寸過小值為體積分布10%、50%和90%的粒度，表示為x10、x50和x90。x50也稱為中值粒度。符號d廣泛用於表示粒度，因此符號x可用符號d代替。

D.5 額外穩定性測試方法

外觀	視覺測試
RP-HPLC-UV 方法 **(用於降解產物)**	具有在 260 nm 下的 UV-偵測和外部校準的逆相高效液相層析(HPLC)。
儀器	帶有恆溫管柱烘箱、UV-偵測器或二極管陣列偵測器和層析數據系統的高效液相層析
管柱	HPLC 管柱 Poroshell 120 EC-C8, 2.7 µm, 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	將所需的膠囊數量倒入含有酸化水的容量瓶中。用乙腈沖洗膠囊並將不包括膠囊殼的溶液轉移至容量瓶。用乙腈將容量瓶補足體積以產生 60 µg/mL 的實例 2 或 4 或比較例 14 溶液。
HPLC 條件	
溶析劑	A) 55：45 H2O：MeCN 加上 0.3%磷酸。 B) 5：95 H2O：MeCN 加上 0.3%磷酸。
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
管柱烘箱溫度	35℃ (± 2℃)
偵測	分光光度計在 260 nm 下
注射體積	100 µL

多型-X 射線粉末繞射

方法原理	固態形式的鑑定是根據「Characterisation of crystalline and partially crystalline solids by X-ray powder diffraction」(Ph. Eur. 2.9.33)的測試程序進行的。
樣品製備：	將片劑或壓碎的片劑作為薄層包裹在兩層箔紙(例如聚乙酸酯箔紙)之間。
儀器：	X-射線粉末繞射儀
發電機：	40 kV / 40 mA
偵測器：	Mythen (PSD)
輻射：	鍺單色化 CuKα1-輻射
技術：	透射
掃瞄範圍：	5° ≤ 2Θ ≤30°
步寬：	0.1°
測量時間：	Mythen 60 sec/步(PSD 240 sec/步)

D.6 在成品乾粉摻合物中，鑑定API和乳糖顆粒的顆粒分布和尺寸的額外方法

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學/粒度和數量，同時鑑定粉末摻合物組份的化學性質。
儀器：	Malvern Morphologi 4-ID
乾式分散(例示性設定)：	體積：5 mm^3 壓力：3 巴 分散時間：3 ms

	設定時間：60 s
形態學(例示性設定)：	光源：Diascopic 物鏡(倍率) x50 掃描面積：784 mm^2
拉曼(例示性設定)：	擷取時間：15 s 光譜掩蔽：在 0.520 cm^{-1} 與 790 – 1740 cm^{-1} 的區域內

【0793】 E-生物實例

【0794】 E-1 經麻醉的受凝血脂素挑戰的小型豬的血液動力學

【0795】 肺選擇性和作用持續時間

【0796】 使用健康的Göttingen Minipigs® Ellegaard (Ellegaard, Denmark)，其兩性均有且體重為2-6 kg。藉由i.m.投與約25 mg/kg氯酮胺和約10 mg/kg阿扎哌隆(azaperone)使動物鎮靜。藉由i.v.投與約2 mg/kg氯胺酮和約0.3 mg/kg咪達唑侖開始麻醉。藉由i.v.投與約7.5-30 mg/kg/h氯胺酮和約1-4 mg/kg/h咪達唑侖(輸注速率1-4 ml/kg/h)和約150 μg/kg/h泮庫溴銨(例如Pancuronium-Actavis)維持麻醉。插管後，動物是藉由呼吸器(ventilator)以恆定呼吸容積(10-12 ml/kg，35次呼吸/min；Avea®, Viasys Healthcare, USA，或Engström Carestation, GE Healthcare, Freiburg, Germany)進行通氣，以便達到約5%的吐氣末端CO2濃度。使用富含約40%氧氣(含氧量正常)的室內空氣進行通氣。為了測量諸如肺動脈壓(PAP)、血壓(BP)和心率(HR)的血液動力學參數，將導管插入頸動脈測量血壓，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。藉由壓力傳感器(Combitransducer, B. Braun, Melsungen, Germany)/放大器和作為數據擷取軟體的Ponemah®來記錄並評估血液動力學信號。

【0797】 將儀器放入動物體內後，開始連續輸注凝血脂素A2類似物以增加肺動脈壓。將約0.3-0.75 μg/kg/min的9,11-二去氧基-9α,11α-環氧基甲橋前列腺素F2α (U-44069；Sigma，目錄號D0400，或Cayman Chemical Company，目錄號16440)

溶於生理鹽水中，被輸注以實現平均肺動脈壓增加到超過25 mmHg的值。輸注開始後30分鐘，達到平台區(plateau)並開始實驗。

【0798】 測試物質以i.v.輸注或藉由吸入被投藥。關於吸入用溶液的製備，採用以下程序：針對體重為4 kg的動物，為了製備原液(300 µg/kg)，秤取1.2 mg測試化合物並以總體積為3 ml溶解(1% DMSO、99%強度為0.2%的檸檬酸溶液、1 n氫氧化鈉水溶液以將pH調整至8)。然後使用已用氫氧化鈉水溶液調整至pH 8的0.2%濃度檸檬酸將溶液稀釋至所採用的濃度。在每個測試中，使用Aeroneb® Pro霧化器系統將3 ml測試化合物溶液/每隻4 kg動物在呼吸管路的吸入臂中霧化。從霧化開始，平均霧化時間為約7 min。

【0799】 預測在人類體內的影響持續時間

【0800】 關於預測人類研究的作用持續時間，在吸入施用Ventavis® (=Iloprost，10µg/kg標稱劑量)後，於PAH小型豬模型中對比較例11進行比對，吾人將Ventavis®用作臨床參考品。Ventavis®的最長作用持續時間為約40 min。在整個240 min觀察區間期間，比較例11的所有劑量都顯示出劑量依賴性功效(見圖45)。因此，在這個臨床前動物模型中，作用持續時間與Ventavis相比長超過6倍。在臨床研究中，Ventavis顯示對血液動力學(PVR)的作用持續時間約為60 min (參考文獻：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)，這與我們觀察到作用持續時間為約40 min有很好的相關性。

【0801】 假設在PAH小型豬模型和人類之間，比較例11的作用持續時間不相上下，如Ventavis類似顯示和描述，則比較例11在人體內的作用持續時間應該至少為6小時甚至更長。

表50：媒劑溶液、比較例11 (10、30和100 μg/kg標稱劑量)和Ventavis (10 μg/kg標稱劑量)在PAH小型豬模型中吸入施用後的作用。PAP相對於基線(霧化開始前的10分鐘區間)的%變化。數據是平均值 ± SD。

相對於前值的 PAP %變化										
時間	媒劑 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	
	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD	平均值	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

【0802】 預測人類劑量

【0803】 為了生成人類劑量估算值，重複比較例11在PAH小型豬模型中的實驗，不同之處在於在管的末端處附接吸收過濾器以確定沉積的肺部劑量。比較例11的霧化導致霧化效率為標稱施用劑量的3-6%。基於過濾器實驗的所有結果，沉積在過濾器上的氣溶膠分率的算術平均值為5%，導致相對肺部沉積劑量為約0.15 μg/kg (3 μg/kg標稱劑量)、0.5 μg/kg (10 μg/kg標稱劑量)、1.5 μg/kg (30 μg/kg標稱劑量)和5 μg/kg (100 μg/kg標稱劑量)。假設用於降低5% PAP的最小有效標稱劑量為3 μg/kg且平均霧化效率為5%，則基於PAH小型豬模型，最小有效肺部沉積劑量被認為是0.15 μg/kg。因此，對於60 kg體重的人類患者來說，最小有效肺部沉積劑量為9-41 μg，這取決於假定不同蛋白質結合是否有影響(見表37)。考慮到100 μg/kg在小型豬模型中作為有效劑量，300-1370 μg肺部沉積劑量被假定為有效劑量，同樣取決於對不同物種間蛋白質結合的考慮。

表51：在考慮和不考慮物種間蛋白質結合差異的情況下的有效肺劑量

在小型豬中的相對肺部沉積劑量 [μg/kg]	在 60 kg 人類中的總肺部沉積劑量 [μg]

	不考慮物種間蛋白質結合差異	考慮物種間蛋白質結合差異
0.15 μg/kg (3 μg/kg 標稱劑量)	9	41
0.50 μg/kg (10 μg/kg 標稱劑量)	30	137
1.5 μg/kg (30 μg/kg 標稱劑量)	90	410
5.0 μg/kg (100 μg/kg 標稱劑量)	300	1370

a 計算(小型豬的相對肺部沉積劑量×60 kg)
b 計算(小型豬的相對肺部沉積劑量 × 60 kg × 4.55(未結合小型豬(血漿 fu 0.348%)/人類(血漿 fu 0.0764%)的分率比例)

【0804】乾粉配製物的作用

【0805】在霧化化合物溶液後對比較例11的作用進行特徵鑑定後，於經麻醉的PAH小型豬體內以進一步步驟研究比較例11的結晶形式(例如倍半水合物，例如實例6e)在吸入施用不同的乾粉乳糖配製物後對PAP和BP的作用(表52)。

表52：在小型豬實驗中所施用之比較例11的結晶形式(例如倍半水合物，例如實例6E)的乾粉配製物

配製物	藥物負載 % (w/w)	每隻動物所施用的乾粉/藥物劑量	施用的比較例 11 的結晶形式
在乳糖中，比較例 11 的結晶形式的乳糖配製物 I	2	1.5 mg/ 30 μg	7.5 μg/kg
在乳糖中，比較例 11 的結晶形式的乳糖配製物 II	6	1.5 mg/ 90 μg	22.5 μg/kg
倍半水合物實例 6e，微粉化	100	1.5 mg/ 1500 μg	375 μg/kg

w/w：重量/重量

【0806】1.5 mg/4 kg 動物體重乳糖媒劑(LH300/LH200 20/78 或 LH300/LH200 20/80)、乳糖配製物I (LH300/LH200 20/78，包含2 w-%比較例11的結晶形式)、乳糖配製物II (LH300/LH200 20/80，包含6 w-%比較例11的結晶形式或微粉化倍半水合物實例6e)經由連接到氣泵的PennCentury®乾粉吸入器進行

氣管內(i.t.)施用。在所有動物中，乳糖施用導致PAP增加而對BP沒有任何影響(圖46-49)。在i.t.施用乳糖配製物I (2% w/w)、乳糖配製物II (6% w/w)或作為微粉化比較例11的結晶形式(例如倍半水合物實例6e)觀察到PAP降低而對BP沒有任何影響(圖46-48)。如圖49中所示，影響開始是緩慢的，乳糖配製物I (2% w/w)在i.t.後大約190 min後達到最大作用，而乳糖配製物II (6% w/w)為大約170 min後，且微粉化倍半水合物實例6e為大約80 min後。所有劑量對PAP的選擇性作用持續完整4h的觀察區間。於這個模型中使用乳糖配製物II以及微粉化倍半水合物實例6e在這些實驗條件下可在這個動物模型中達到最大效果。由於乳糖配製物I已經有效，比較例11的MED及其假多型形式(例如倍半水合物和單水合物I或單水合物II(式I化合物的不同假多型形式的類似功效已在以下測試中受到證明))為<7.5 μg/kg，這與使用液體溶液(MED 3μg/kg)推導人類劑量預測的實驗完全一致。由於技術限制，較低劑量不適用。

表53：氣管內施用不同乳糖媒劑、乳糖配製物I (7.5 μg/kg)、乳糖配製物II (22.5 μg/kg)和微粉化倍半水合物(例如實例6e (375 μg/kg))的作用。數據顯示為PAP和BP [mmHg]的絕對值(n=3)

	乳糖 1.5mg/4kg (@0min) + 乳糖配製物 I 2% 1.5mg/4kg (@90min)						乳糖 1.5mg/4kg (@0min) + 乳糖配製物 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) + 倍半水合物的結晶形式實例 6e 經微粉化 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54：氣管內施用不同乳糖媒劑、乳糖配製物I (7.5 μg/kg)、乳糖配製物II (22.5 μg/kg)和微粉化倍半水合物(例如實例6e (375 μg/kg))的作用。數據顯示為相對於基線對PAP的%變化，作為每隻動物的絕對值。

時間	乳糖配製物 I 2%			乳糖 LH300/LH200 20：78 m/m			乳糖配製物 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	倍半水合物實例 6e 經微粉化			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			

【0807】 總而言之，所有包含比較例11之結晶形式(例如倍半水合物實例6e)的乾粉配製物在這個急性PAH模型中被吸入施用後，選擇性地並以劑量依賴的方式降低PAP，作用持續時間長到至少4小時。就增加施用劑量來說觀察到清楚的劑量反應曲線。與霧化液體配製物(開始吸入後最大作用為約90 min)相比，使用乾粉配製物的最大作用延遲到較晚的時間點(乳糖配製物I (2% w/w) ~190 min，乳糖配製物II (6% w/w) ~ 170 min) (參見圖49)。

【0808】 評估不同乾粉水合物的功效

【0809】 此外，為了評估比較例11的不同水合物的功效，將比較例11以1.5 mg/4kg (=375 µg/kg)的劑量經由PennCentury®乾粉吸入器以微粉化單水合物II

(實例2)、微粉化半水合物(類似於實例6a)，以及微粉化倍半水合物(類似於實例6e)在小型豬模型中進行氣管內施用。在每個實驗開始時施用純乳糖媒劑作為參考品。所有3種水合物在降低PAP以及降低全身性BP方面都顯示出不相上下的功效(參見圖50和51)。在觀察區間的最後一小時內，所有3種水合物對全身性血壓都有輕微影響。這種輕微的全身性BP下降可能是由於藥物的全身性溢出(systemic overspill)所引起的，其以相對較高的劑量(標稱375 µg/kg)施用。它也可能反映了經麻醉動物在麻醉持續期間會有一些BP下降。

表55：比較例11在氣管內施用不同水合物後對BP和PAP的作用：微粉化單水合物II (實例2)、微粉化半水合物(實例6a)和微粉化倍半水合物(實例6e)。數據顯示為絕對值[mmHg]，作為平均值 ± SEM (n=3)

	單水合物 II (實例 2)						半水合物(實例 6a)					
時間	BP (平均值)			PAP(平均值)			BP (平均值)			PAP(平均值)		
-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(實例 6e)					
時間	BP (平均值)			PAP(平均值)		
-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56：比較例11在氣管內施用不同水合物後對BP和PAP的作用：微粉化單水合物II (實例2)、微粉化半水合物(實例6a)和微粉化倍半水合物(實例6e)。數據顯示為相對於前值的%變化，作為每隻動物的絕對值

	單水合物 II (實例 2)						半水合物(實例 6a)					
時間	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(實例 6e)					
時間	PAP			BP		
50	98.3	96.2	101.2	101.4	98.5	100.3
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

【0810】 E-2.1 在健康男性受試者中吸入性投與sGC活化劑持續7天-cGMP和支氣管擴張

【0811】 年齡在18至45歲且身體質量指數(BMI)高於/等於18.5和低於/等於29.9 kg/m2的健康白人男性受試者在臨床藥理學第I期研究中接受為期7天的治療，每天一次吸入劑量為480或1000或2000 μg (2個1000 μg膠囊) (標稱劑量)的實例2的乾粉配製物或安慰劑。受試者藉由一次深吸氣從插入到手持式吸入裝置的膠囊(參見C，例如表22和23)吸入藥物粉末。藥物的乾粉配製物被分散到氣流中，而細粒被輸送到肺部深處，目的是使PH患者的血管舒張，從而在PAH患者或其他PH亞型中顯著降低中央肺血管的血壓升高。這種作用無法在肺部健康的受試者身上顯示出來。此外，吸入型藥物會導致支氣管氣道擴張，從而改善具有病理性支氣管收縮的PH患者的肺病疾病狀態。這種作用是在健康受試者中經由身體體積描記法測量為比氣道阻力減少。深吸氣後，受試者屏住呼吸2秒，以便乾粉藥物從氣流中凝結到肺部深處區域的表面，其沉積在那裡接近其預期藥理作用部位之處。藥物在一天內溶解並經由內襯液平衡肺。在肺部內作為藥物濃度的替代物，隨時間分析血漿濃度，並證明在吸入後2.0至2.5 h達到最大血液濃度，之後經由血流協助肺部的藥物平衡。首次吸入後產生可測量到的血漿濃度並持續48 h，如所有投藥劑量可見，在每日一次吸入14天後，在24 h內產生穩態藥物濃度，從而維持藥物在od吸入後的24/7活性。

【0812】 在健康受試者中，於7天治療的第一次和最後一次藥物吸入之前之後透過分析血液樣品的cGMP來控制健康男性的藥物活性，cGMP是sGC藥理學活化的直接產物，與所有劑量在治療前當天的測量值進行比較。

【0813】 對這個參數相對於基線變化的分析顯示cGMP以劑量依賴的方式增加，在第一次吸入後大約2 h開始，在實例2投藥後於6 h時(480和1000 μg劑量)

和8 h時(2000 μg劑量)達到峰值(參見圖52-56)。與全身性藥物濃度相比，這種延長的活性是由作為吸入型乾粉的投藥模式引起的，這種投藥模式將藥物沉積在肺部的更深處部分，導致每天一次吸入後在24 h內都有活性藥物濃度。投與480、1000和2000 μg實例2後，在第一個分析日觀察到的峰值平均值 ± SD cGMP值分別為8.84±1.35、11.69±1.86和16.52±4.24 nmol/L。

【0814】 重複給藥7天後，於投與對應劑量後，觀察到cGMP的平均峰值進一步增加為11.96±2.80、16.70±2.96和32.67±9.48 nmol/L。在第一次治療後10天，平均cGMP濃度已恢復到接近給藥前當日所觀察到的濃度。cGMP數據顯示每天一次吸入藥物實例2會在sGC目標處產生預期的劑量依賴作用(參見圖56)。

表57：環單磷酸鳥苷相對於基線的變化(nmol/L) (SAF)

	安慰劑	480 μg，實例2	1000 μg，實例2	2000 μg，實例2
-0D 22H 00M	0.47 ± 0.90	1.17 ± 1.00	0.08 ± 1.41	0.66 ± 0.79
-0D 20H 00M	-0.11 ± 1.13	0.52 ± 0.95	-0.24 ± 1.75	0.48 ± 0.71
-0D 18H 00M	0.71 ± 1.41	0.21 ± 1.74	-0.87 ± 1.44	0.17 ± 0.78
-0D 16H 00M	-0.26 ± 1.89	0.41 ± 0.96	-0.43 ± 1.49	0.29 ± 1.17
-0D 12H 00M	-0.11 ± 1.34	0.22 ± 1.17	-0.77 ± 1.72	0.28 ± 0.97
-0D 09H 00M	-0.67 ± 1.25	0.20 ± 1.59	-0.84 ± 2.04	-0.18 ± 0.90
0D 00H 00M	-0.77 ± 1.27	0.11 ± 1.10	-0.11 ± 1.62	0.68 ± 1.14
0D 02H 00M	0.42 ± 0.52	1.73 ± 0.82	3.26 ± 2.04	4.78 ± 1.35
0D 04H 00M	-0.68 ± 2.23	3.04 ± 1.39	5.64 ± 2.54	9.18 ± 2.50
0D 06H 00M	-0.40 ± 2.23	3.33 ± 1.39	6.78 ± 2.79	11.04 ± 3.21
0D 08H 00M	0.33 ± 2.56	2.94 ± 1.38	5.94 ± 2.65	11.69 ± 2.78
0D 12H 00M	-0.24 ± 2.07	2.10 ± 1.18	4.86 ± 2.91	8.56 ± 2.19
0D 15H 00M	-0.58 ± 2.14	1.53 ± 1.50	3.70 ± 2.59	7.54 ± 2.32
1D 00H 00M	-0.18 ± 2.06	0.84 ± 0.89	1.26 ± 1.98	3.48 ± 0.90
2D 00H 00M	-0.30 ± 2.26	0.74 ± 1.59	0.33 ± 1.99	1.57 ± 0.86
3D 00H 00M	-0.14 ± 2.10	1.00 ± 1.92	2.31 ± 2.68	5.17 ± 1.51
4D 00H 00M	0.31 ± 1.99	1.46 ± 1.24	2.86 ± 2.63	9.33 ± 2.55
5D 00H 00M	0.27 ± 2.34	1.50 ± 0.98	3.59 ± 2.51	11.10 ± 3.49
6D 00H 00M	0.71 ± 2.21	1.92 ± 1.21	4.32 ± 2.82	11.71 ± 2.66
7D 00H 00M	0.21 ± 0.83	1.68 ± 0.85	4.74 ± 2.98	11.36 ± 3.37
7D 02H 00M	0.07 ± 0.81	4.22 ± 2.29	6.93 ± 2.99	17.33 ± 4.18
7D 04H 00M	0.20 ± 0.71	5.39 ± 2.34	10.84 ± 2.91	22.23 ± 4.75
7D 06H 00M	0.72 ± 1.06	6.44 ± 2.26	11.79 ± 3.70	27.39 ± 6.93
7D 08H 00M	1.26 ± 1.68	5.19 ± 1.64	11.00 ± 4.58	27.83 ± 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58：cGMP隨時間推移的平均值(安慰劑、480、1000和2000 μg實例2，各自N = 9)：藥物吸入前(基線)(-1d02h - 0d00h)在第一次吸入日之後(0d00h - 2d00h)，在第3d00h-7d00h天吸入後和7天吸入的最後一天後(7d00h-10d00h)的谷測量值。

	安慰劑	480 μg，實例 2	1000 μg，實例 2	2000 μg，實例 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

【0815】 經由身體體積描記法測量的肺功能參數顯示，與基線相比，第一次給藥實例2後6小時測量到健康肺內的總比氣道阻力sRaw (支氣管擴張活動的一種參數)降低為-0.142至-0.296 kPa/sec，且在所有劑量組別中均有觀察到(參見圖57和表59)。

表59：總比氣道阻力(kPa/sec)隨時間推移的平均值(安慰劑、480、1000和2000 µg，實例2，各自N = 9)：篩選1/2，治療前當日(-1d00h - 0d00h)第一次吸入日(0d00h - 0d06h)，吸入後(2d02h - 6d04h)和7天吸入的最後一天後(7d00h - 7d06h)的測量值。

	安慰劑	480 µg，實例 2	1000 µg，實例 2	2000 µg，實例 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

【0816】 E-2.2 在健康男性受試者中吸入性投與sGC活化劑持續14天以評估穩態藥動學

【0817】 年齡在18至45歲且身體質量指數(BMI)高於/等於18.5和低於/等於29.9 kg/m2的健康白人男性受試者在臨床藥理學第I期研究中接受為期14天的治療，每天一次吸入劑量為1000 µg(標稱劑量)或實例4的乾粉的安慰劑。受試者藉由一次深吸氣從插入到手持式吸入裝置的膠囊(參見C，例如表17和20)吸入藥物粉末至肺部深處部分。在沒有肺功能病理生理損傷的受試者中無法評估中央肺血管中血壓升高有預期顯著降低。在肺部內作為藥物濃度的替代物，隨著時間分析血漿濃度。這個分析在投與劑量持續14天後，在24 h內產生穩態藥物濃度，每日一次吸入顯示在吸入7至11天後達到穩態。藉由分析血液樣品的cGMP來控制健康受試者的藥物活性/目標接合。結果在表60中以平均值顯示，在圖58和表61中顯示為相對於基線的變化，最大值在1週治療後，並且顯示cGMP濃度最遲在治療11天後達到穩態，其為恆定目標接合的生物標記。

表60：在治療前當日(-1d00h - -0d09h)第一次吸入日(-0d02h - 1d00h；)，在第2d00h-2d12h、6d00h-6d12h、10d00h-10d12h天吸入之前和之後(分析)、在第3d-5d、7d-9d、11d-12d天吸入之前，以及14天吸入的最後一天之前與之後(12d22h-20d00h)的谷，隨時間推移的cGMP濃度(nmol/L)的平均值+/- 標準偏差(安慰劑(N = 4)和1000 µg (N = 17)實例4)。

平均值	安慰劑(n=4)	1000µg，(n=17)實例 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
追蹤	4566.7 +/- 1078.6	5847.1 +/- 2013.4

表61：在治療前當日(-1d00h - -0d09h)第一次吸入日(-0d02h - 1d00h；)、第2d00h-2d12h、6d00h-6d12h、10d00h-10d12h天(分析天數)吸入後、在第3d - 5d、7d-9d、11d-12d吸入前以及14天吸入的最後一天後(12d22h-20d00h)的谷，cGMP相對於基線的變化(nmol/L)

Δ基線	安慰劑(n=4)	1000μg，(n=17)實例 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
追蹤	800.0 +/-1743.6	1517.6 +/-2343.9

【0818】 E-2.3在健康男性受試者中吸入性、經口和靜脈內投與單次劑量的sGC活化劑--肺部沉積

【0819】 年齡在18至45歲之間、身體質量指數(BMI)高於/等於18.5且低於/等於29.9 kg/m^{2}的健康白人男性受試者在臨床第I期研究中接受了單次吸入劑量為1000 µg (標稱劑量)、單次吸入劑量為1000 µg (標稱劑量)+木炭塊、單次經口劑量為1000 µg和在2小時內單次輸注100 µg實例4的治療。由於靜脈內施用的生物利用度依據定義通常為100%，因此高於經口或靜脈內投藥的情況，挑選靜脈內劑量為低於經口和吸入劑量，避免高IV劑量導致更高的血漿濃度和潛在副作用(例如血壓降低或暈厥)。因此，在本次調查中選定100 µg作為IV劑量。治療之間使用了七天清除期。受試者吞服經口投藥用溶液(20 ml，包含1000 µg，參見C-2，表49a)。受試者在2小時內接受溶液作為單次輸注(2 ml，包含100 µg，參見C-2表49a)。受試者藉由一次深吸氣從插入到手持式吸入裝置的膠囊(見C-1，表17和20)吸入乾粉。吸入此藥的乾粉配製物後，標稱劑量的一部分殘留在膠囊和裝置中，在吸嘴處到達身體的劑量稱為發射劑量。發射劑量可按以下方式計算/決定：標稱劑量-(膠囊中的殘餘量+裝置中的殘餘量)。吸入乾粉後，一部分發射劑量進入胃腸道(GIT)，並被稱為發射劑量的口服部分，另一部分透過呼吸道到達肺部的發射劑量被稱為肺劑量且表示肺部沉積劑量。由於肺是作用的目標器

官，因此必須量化肺部沉積劑量。藉由測定到達GIT的標稱劑量部分以及膠囊和裝置中的殘餘量，可以間接估計肺部沉積。為研究和測定肺部沉積，進行了以下研究(另參見圖59)：

1. 吸入施用單次劑量為1000 μg乾粉。

2. 吸入施用單次劑量為1000 μg乾粉組合經口木炭塊。木炭塊限制了GIT部分劑量的經口吸收，因為實例4完全吸附到木炭塊上。這意味著所測得的實例4濃度經由肺部到達全身性循環。

3. 投與單次經口劑量為1000 μg實例4以測定經口吸收。

4. 投與實例4的2 h輸注以研究消除。

【0820】 在所有不同投藥類型後測量實例4的血漿濃度，此外在吸入施用後測量裝置和膠囊中的殘餘量。血漿濃度的分析顯示，實例4在靜脈內投藥後快速消除，消除半衰期為0.26 h。經口投藥後的消除半衰期為4.43 h。在有/沒有木炭的情況下，吸入施用後的消除半衰期分別為16.1 h和15.1 h，參見圖60。吸入後終末半衰期較長可以透過在肺中形成實例4的肺貯庫來解釋，物質不斷地從肺貯庫轉移到循環系統。

【0821】 與木炭一起投與的乾粉配製物的絕對生物利用度為16.3%，而在沒有木炭的情況下所投與的實例4的絕對生物利用度為18.8%。這意味著實例4的乾粉標稱劑量的16.3%到達肺部(被認為是肺劑量)，而到達身體的乾粉的整個部分是標稱劑量的18.8%。實例4在與木炭塊一起吸入施用後相對於沒有與木炭塊一起吸入投藥的相對生物利用度為86.9%。這表明經口部分的劑量約為標稱劑量的13%。參見表62和63。發射劑量算出為720 μg，因為膠囊中的殘餘量為160 μg，裝置中的殘餘量為120 μg，參見圖61。

【0822】 這個研究的結果證實，肺劑量和半衰期對於吸入型乾粉投藥來說是足夠的，每天一次治療使得實例4能夠在肺中有足夠的24小時藥物覆蓋。

表62：在投與1000 μg (吸入)、1000 μg (吸入) + 木炭和1000 μg (經口)後，實例4的血漿濃度(以μg/L計)隨時間推移的幾何平均值和(以%計的幾何標準偏差SD)

	1000 μg 實例 4，吸入 + 木炭塊		1000 μg 實例 4，吸入		1000 μg 實例 4，經口	
	N=16		N=16		N=16	
給藥後的時間(h)	幾何平均值	幾何 SD	幾何平均值	幾何 SD	幾何平均值	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63：在靜脈內投與100 μg後，實例4的血漿濃度(以μg/L計)隨時間推移的幾何平均值和(以%計的幾何標準偏差SD)

	100 μg 實例 4，IV mg	
	N=15	
給藥後的時間(h)	幾何平均值	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)

【0823】 E-2.4 對PAH或CTEPH患者進行單次劑量吸入性投藥以研究肺血管阻力(PVR)的降低

【0824】 PAH或CTEPH患者在臨床第1b期研究中接受了單次經口吸入遞增劑量*為240 μg (2個120 μg的膠囊)、480 μg、1000 μg、2000 (2個1000 μg的膠囊)或4000 μg (4個1000 μg的膠囊)的實例4乾粉(見C-1，例如表17和20)，其被插入手持式吸入裝置，藉由深吸氣被吸入肺部深處部分。(*單次劑量表示在一段短時間內同時或連續投與一種劑型/膠囊以及投與兩種或更多種劑型/膠囊)。納入的患者沒有使用針對PAH或CTEPH的標準護理(SoC)用藥(諸如內皮素拮抗劑、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)的背景治療。本研究中的患者接受了侵入性右心導管插入術，其在醫學上表示常規診斷。研究的主要目的是調查PVR相對於基線的峰值降低百分比。患者的基線肺動脈壓(mPAP)為≧ 25 mmHg，而PVR為≧ 400 dyn·sec·cm^{-5} (5個Wood單位)，並且未顯示對初始iNO吸入測試有血管反應性才能被納入在每個方案分析中。在投藥後的幾個時間點測量投與藥物的血漿濃度(藥動學)，並評估安全性和耐受性。

【0825】 研究分為A部分和B部分兩部分。在A部分中，對沒有接受PAH或CTEPH標準護理(SoC)用藥(諸如內皮素拮抗劑、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)背景治療的患者投與前述遞增單次劑量。在B部分中，於A部分終了後，將在沒有背景SoC治療(第1組)以及接受SoC單藥

療法(第2組)和接受SoC雙重組合療法(第3組)的更多患者中測試A部分的選定劑量。

【0826】 PVR是在右心導管插入術程序期間直接測得的參數所導出的參數。計算時所包括的直接參數是：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)。根據以下公式計算PVR：PVR [dyn*sec*cm^{-5}] = 80*(mPAP - PCWP)/CO。

【0827】 研究設計如圖62中所示，完成的A部分的總結如圖63中所示。

【0828】 總共38名患者接受了實例4的乾粉劑量。每個劑量組中總共4名患者按計畫被納入各方案組(總共20名患者)。在2000 μg和4000 μg組別中，可以清楚地觀察到PVR相對於基線的劑量依賴性平均值變化達到峰值，持續平均變化為大約-30% (PVR的詳細內容參見圖64和表64)。PVR降低主要由肺動脈壓降低所驅動(平均PAP的詳細內容參見圖65和表51)。-20%的平均峰值變化程度(作為預定義的相關閾值程度)明顯超過2000 μg和4000 μg組別的峰值(平均峰值變化為：240、480、1000、2000和4000 μg分別-21.0%、-16.1%、-25.9%、-38.1%、-36.3%)。在歷史比較中，單次投藥後PVR相對於基線的-30%平均變化幅度與吸入型競爭藥物曲前列尼(Tyvaso®)的程度相同[Voswinckel et al, *Journal of American College of Cardiology* Vol. 48, No. 8, 2006 October 17, 2006:1672-81]。然而，實例4施用後的作用有利地持續且反應並沒有降低直到3h的測量期結束(對於研究中的右心導管患者來說，>3h的測量期在技術上是不可行的)。在本研究中測得實例4的長血漿半衰期可以推論超過3小時測量值的肺滯留時間(推測在乾粉施用後超過12hr，最多24小時的時間)。全身性cGMP (環單磷酸鳥苷)的增加證實了sGC活化的有效目標接合。看到總體耐受性良好，包括4000 μg的最高劑量。觀察到的全身性血壓、心率和氧飽和度的變化在任何劑量下都不代表安全問題。總的來說，

觀察到的肺血液動力學參數(PVR和mPAP)的變化而沒有與全身性血液動力學相關的變化，與選擇性肺血管擴張的預期作用非常一致。

表64：在PAH或CTEPH患者中(N=4，各為240、480、1000、2000和4000 μg組，依照方案組)，在基線(0D00H00M)和吸入實例4後(0D00H30M至0D03H00M)，肺血管阻力(PVR)隨時間推移的平均值和SD。相對於基線的相對變化如圖64中所示。

	240 μg，N=4	480 μg，N=4	1000 μg，N=4	2000 μg，N=4	4000 μg，N=4
0D00H00M	788.338±416.914	1055.863±317.077	608.898±135.153	468.608±20.537	713.998±117.204
0D00H30M	749.012±398.928	1003.264±300.639	645.387±211.946	464.586±58.200	616.894±97.774
0D01H00M	734.427±396.799	1007.504±290.883	558.324±169.860	421.730±81.602	542.417±97.103
0D01H30M	726.362±364.099	1031.647±252.210	542.130±187.227	340.782±82.566	573.812±123.865
0D02H00M	710.844±410.668	908.704±252.569	487.951±144.546	339.924±105.884	501.071±97.979
0D02H30M	716.209±419.311	1038.344±263.837	537.812±204.640	338.404±87.381	526.648±144.679
0D03H00M	657.829±291.191	909.265±259.510	535.636±235.786	327.284±25.882	493.103±130.480

表65：在PAH或CTEPH患者中(N=4，各為240、480、1000、2000和4000 μg組，依照方案組)，在基線(0D00H00M)和吸入實例4後(0D00H30M至0D03H00M)，平均肺動脈壓(mPAP)隨時間推移的平均值和SD。相對於基線的相對變化如圖65中所示。

	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 00M	44.3±10.4	53.8±9.1	31.8±7.4	30.8±5.6	41.3±4.6
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

【0829】 E-3 進一步的特徵鑑定

【0830】 E-3.1　　Caco-2滲透性測試

【0831】 測試化合物穿過Caco-2細胞單層的活體外滲透是一個已被建立的分析系統，用於預測胃腸道的滲透性(1)。如下所述測定本發明化合物在此類Caco-2細胞中的滲透性：

【0832】將人類caco-2細胞接種在24孔插入盤上，並使其生長14-16天。有關滲透性研究，將測試化合物溶解在DMSO中，並用運輸緩衝液[Hank氏緩衝鹽溶液，Gibco/Invitrogen，進一步補充葡萄糖和HEPES]稀釋至最終測試濃度為2 μM。為了測定頂端到基底外側的滲透性(PappA-B)，將測試化合物溶液添加到細胞單層的頂端側，並將運輸緩衝液添加到單層的基底外側；為了測定基底外側到頂端的滲透性(PappB-A)，將測試化合物溶液添加到細胞單層的基底外側，並將運輸緩衝液添加到單層的頂端側。在實驗開始時從供體隔室取出樣品以確認質量平衡。在37℃下培育2 h後，從兩個隔室中取出樣品。藉由LC-MS/MS分析樣品，並計算表觀滲透係數。分析每個細胞單層的Lucifer Yellow滲透性以確保細胞單層完整性，並確定每批次的阿替洛爾(Atenolol) (低滲透性標記)和柳氮磺胺吡啶(活性排泄標記)的滲透性作為品質控制。

表66：滲透性測試

Caco-2 (2 μM)	Papp A-B (nm/s) (平均值 +/- SD)	Papp B-A (nm/s) (平均值 +/- SD)	流出比
比較例 11 (2.0 μM)	15.1 ±1.7	9.7 ± 0.6	0.64 ± 0.1
比較例 2 (利奧西呱) (2.4 μM)	35 ± 8.4	367 ± 75	11 ± 3.3
比較例 1 (西尼西呱) (2.0 μM)	31 ± 3.9	631 ± 71	20 ± 3.5

【0833】所有三個實例在Caco-2細胞中均顯示出適度的滲透性。

【0834】與比較例2 (利奧西呱)和比較例1 (西尼西呱)相比，比較例11顯示滲透率最低，為15.1 +/- 1.7 nm/s。另外，比較例11未顯示有流出比。流出比表明在例如腸道及或肝臟中的轉運蛋白參與。轉運蛋白(像是例如滲透性醣蛋白(=PgP)或乳癌抗性蛋白(=BCRP))可能會影響藥物的全身性暴露。

【0835】比較例11在這裡證明了一個明顯的好處，因為它顯示出最低的滲透性並且似乎不存在轉運蛋白參與，因此證明它適用於局部吸入性治療，同時全身性暴露的可能非常低。

【0836】E-3.2 蛋白質結合

【0837】比較例11和比較例1的蛋白質結合是經由如下所述的Transil分析進行分析。

【0838】測試物質在Transil® (固定在二氧化矽珠粒上的磷脂醯膽鹼脂質雙層)和血漿之間的分布是任何醫藥化合物的特徵，並且取決於其與血漿蛋白質的結合程度。藉由將Transil®和緩衝液之間的分布與Transil®和任何感興趣物種的血漿之間的分布進行比較，可以在活體外計算各個動物物種血漿中的未結合分率。經由放射性分析確定了對應血漿和緩衝液濃度。Schuhmacher等人發表了對方法的詳細說明及其驗證。

【0839】比較例2的蛋白質結合是經由如下所述的超濾分析進行分析。

【0840】有關這個分析，使用30 kDa孔徑的濾膜來分離血漿和不含蛋白質的超濾液。藉由離心施加過濾驅動力。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。測試化合物的充分穩定性和幾乎完全回收(實驗用化合物實際量的≧90%)是使用超濾方法的先決條件。添加到血漿中的有機溶劑量不得超過總培育體積的2%。將血液樣品集中(除人類和猴子以外的所有物種)或單獨(人類和猴子)收集在肝素化管中，並在24小時內用於血液中的培育實驗。藉由離心肝素化血液樣品來製備血漿。血漿儲存在-15℃下直至使用。控制血漿穩定性、化合物回收率、與膜和測試裝置的非特異性結合以及血球和血漿之間的分層。與物質相關的放射性是藉由液體閃爍計數來確定。使用這種分析

方法，無法區分未變化的物質和放射性代謝物。有關放射分析方法和樣品處理的詳細內容，參見Goeller *et al.* (3)。Zhang等人發表了一般超濾方法的說明。

表67：化合物的蛋白質結合

未結合的分率 (%)	Rat 大鼠	小獵犬	人類(男性)	恆河猴	小型豬(雌)
比較例 11	0.224	0.108	0.0764	0.0485	0.348
比較例 2 (利奧西呱)	15.7	17.1	4.97	n.d.	n.d.
比較例 1 (西尼西呱)	0.351	1.12	0.392	0.0799	n.d.

n.d.未測定

【0841】比較例11和比較例1 (西尼西呱)顯示出非常高的蛋白質結合，在所有研究的物種中游離分率低於1%。但是，實例1在所有測試物種中顯示了游離分率最低，其中提供了比較結果。在大鼠血漿中，比較例11的未結合分率比比較例1還低1.6倍，在人類和猴子血漿中游離分率低2倍，而在狗血漿中未結合分率比比較例1還低10倍。比較例2 (利奧西呱)顯示在15.7和4.97%之間的更高游離分率。

【0842】高蛋白質結合被視作高肺選擇性的一個指標，如Begg等人(5)所述。因此比較例11顯示出更甚於比較例1和2的有益性質。

【0843】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 intoClinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics Using GSK2292767A, a Novel Inhaled Phosphoinositide 3-Kinase d Inhibitor. J. Pharmacol. Exp. Ther. 2019;369: 443-453.

【發明申請專利範圍】

【請求項1】一種吸入用配製物，其特徵在於該配製物含有由以下組成的乾粉摻合物

a) 呈式(I-M-I)之單水合物I形式之(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸做為活性成分，濃度按重量計為0.75% (w/w)至20% (w/w)，其中式(I-M-I)的單水合物I的X射線繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)顯示至少以下反射：6.9、7.2、7.3、12.8和29.2，以2Θ值 ± 0.2°引用

與以下組合

b) 乳糖載劑，濃度按重量計為99.25% (w/w)至80% (w/w)，

進一步特徵在於

c) 呈式(I-M-I)之單水合物I形式之活性成分(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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X50介於1和3 μm的粒度

d) 乳糖載劑為吸入用乳糖單水合物

其進一步特徵在於

e) 乳糖具有X50 ≧ 50 μm的粒度。

【請求項2】如請求項1之吸入用配製物，其特徵在於該配製物含有由以下組成的乾粉摻合物

a) 呈式(I-M-I)之單水合物I形式之(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸做為活性成分，濃度按重量計為0.75% (w/w)至20% (w/w)，其中式(I-M-I)的單

水合物I的X射線繞射圖(在25℃下並利用Cu-K α1作為輻射源)顯示至少以下反射：6.9、7.2、7.3、12.8和29.2，以2Θ值 ± 0.2°引用

與以下組合

b) 乳糖載劑，濃度按重量計為99.25% (w/w)至80% (w/w)，

其進一步特徵在於

c) 呈式(I-M-I)之單水合物I形式的活性成分(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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X50介於1和3 μm的粒度

d) 乳糖載劑為吸入用乳糖單水合物，由粗乳糖與細乳糖組成

其進一步特徵在於

e) 粗乳糖具有X50 ≧ 50 μm的粒度

f) 細乳糖具有X50 < 10 μm的粒度

g) 其中乾粉摻合物的粗乳糖含量介於98.25%和70%。

【請求項3】 如請求項2之吸入用配製物，其特徵在於，在乾粉摻合物中的細乳糖含量介於1%和10%。

【請求項4】 如請求項1、2或3之吸入用配製物，其特徵在於活性成分與粗乳糖的比例介於1：126和1：3.8。

【請求項5】 如請求項2至4中任一或多項之吸入用配製物，其特徵在於活性成分與細乳糖的比例介於1：13和1：0.1。

【請求項6】 如請求項2至5中任一或多項之吸入用配製物，其特徵在於粗乳糖與細乳糖的比例介於445：5和75：5。

【請求項7】 如請求項2至6中任一或多項之吸入用配製物，其中細乳糖為Lactohale® 300或Lactohale® 230。

【請求項8】 如請求項1至7中任一或多項之吸入用配製物，其中粗乳糖具有X50 = 125 - 145 μm的粒度。

【請求項9】 如請求項2至8中任一或多項之吸入用配製物，其中細乳糖具有X50 ≦ 50 μm的粒度。

【請求項10】 如請求項1至9中任一或多項之吸入用配製物，其特徵在於其含有標稱劑量為480-4000 μg之呈式(I-M-I)的單水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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11】 如請求項1至10中任一或多項之吸入用配製物，其特徵在於其具有≧20%的細粒分率(=FPF) (活性成分標稱劑量的%，< 4.5 μm)和≧30%活性成分的FPF (活性成分的DD%，< 4.5 μm)，如藉由級聯衝擊和劑量單位取樣裝置(DUSA)測量。

【請求項12】 一種包含如請求項1至11中任一或多項之吸入用配製物的空腔，其可以經由乾粉吸入器被投與給有需要的患者。

【請求項13】 如包含如請求項1至11中任一或多項之吸入用配製物的空腔，其特徵在於其含有填充質量為10-20 mg的吸入用配製物。

【請求項14】 一種用於製造如請求項1至13中任一或多項之吸入用配製物的製造方法，其特徵在於

在第一步驟1)中

在開始混合兩種乳糖組份之前，將細乳糖秤重並在兩層粗乳糖之間分層，

b. 在第二步驟2)中

2種組份的摻合是在滾筒混合器中以72 rpm、67 rpm或34 rpm或32 rpm或30 rpm進行2次(2個循環)，持續20分鐘，且預摻合物在循環之間通過500 μg篩網進行過篩，

c. 在第三步驟3)中，式(I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)聯苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-胺基}-5,6,7,8-四氫喹啉-2-甲酸，較佳式(I-M-I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)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 μm篩網進行預過篩，並被加入如步驟1)與2)中所製造的乳糖預摻合物中，且在開始混合前10層乳糖預摻合物和9層活性成分，6層乳糖預摻合物和其間5層活性成分(實例4)，或4層乳糖預摻合物和其間3層活性成分(實例4)，或2層乳糖預摻合物和其間1層活性成分(實例4)，較佳6/5層交替分層放置，

d. 在第四步驟4)中

在容器(玻璃或不銹鋼)中以3-5個循環(較佳3個循環)混合步驟3)所得到之預分層放置摻合物，以72 rpm、67 rpm、34 rpm或32 rpm，較佳32 rpm進行20-30分鐘，較佳30分鐘(90分鐘總混合時間)，混合循環之間有10分鐘的休息時間，其特徵在於

在步驟4)所得到之產物是在不銹鋼容器中進行混合，

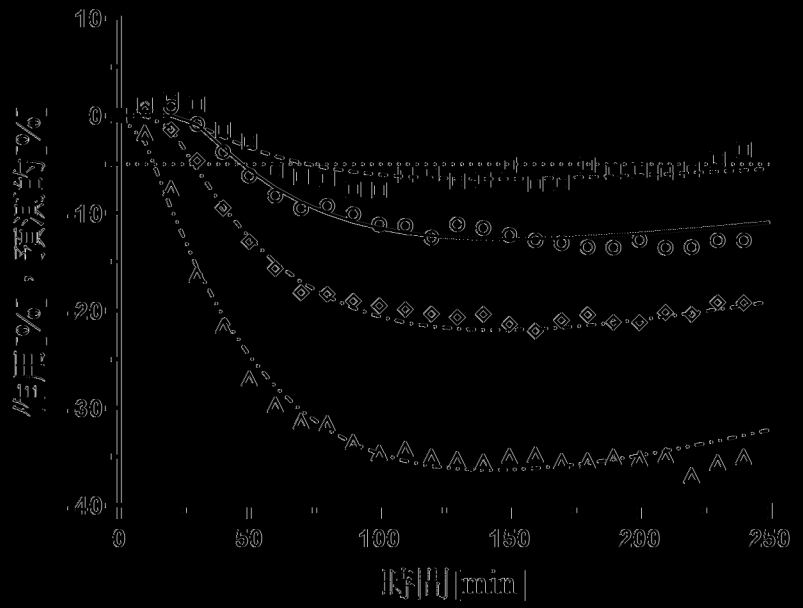
其中摻合物在每個混合循環之間進行過篩或不需要在混合循環之間將摻合物過篩，

e. 在第五步驟5)中，在不銹鋼容器中，將步驟4)得到的產物於室溫(15-25℃)和35-65%相對濕度下靜置某段時間，較佳24-72小時，更佳48小時，然後進行摻合物均勻性取樣與最終膠囊填充，

f. 在第六步驟6)中，步驟E所得到的乾粉摻合物最後被填充到膠囊中。

【請求項15】一種如請求項1至13中任一或多項之吸入用配製物的用途，其用於製造供用以治療心肺病症之藥劑，心肺病症為諸如肺動脈高壓(PAH)以及與慢性肺病相關的肺高壓(PH) (第3類PH)，諸如慢性阻塞性肺病中的肺高壓(PH-COPD)和伴有特發性間質性肺炎的肺高壓(PH-IIP)。

(發明圖式)



觀察到的		預測的
□	0.15μg/kg	0.15 μg/kg
○	0.5μg/kg	0.5 μg/kg
◇	1.5μg/kg	1.5 μg/kg
△	5μg/kg	5 μg/kg

圖1：在向小豬豬(7 min吸入為液體氣溶膠)投與0.15、0.5、1.5和5 μg/kg比較例11 (劑量表示為肺部沉積劑量)後，觀察到的(符號)和擬合(實線)的肺動脈壓(PAP)變化。5%的和95%的PAP減少以虛線表示

(圖1)

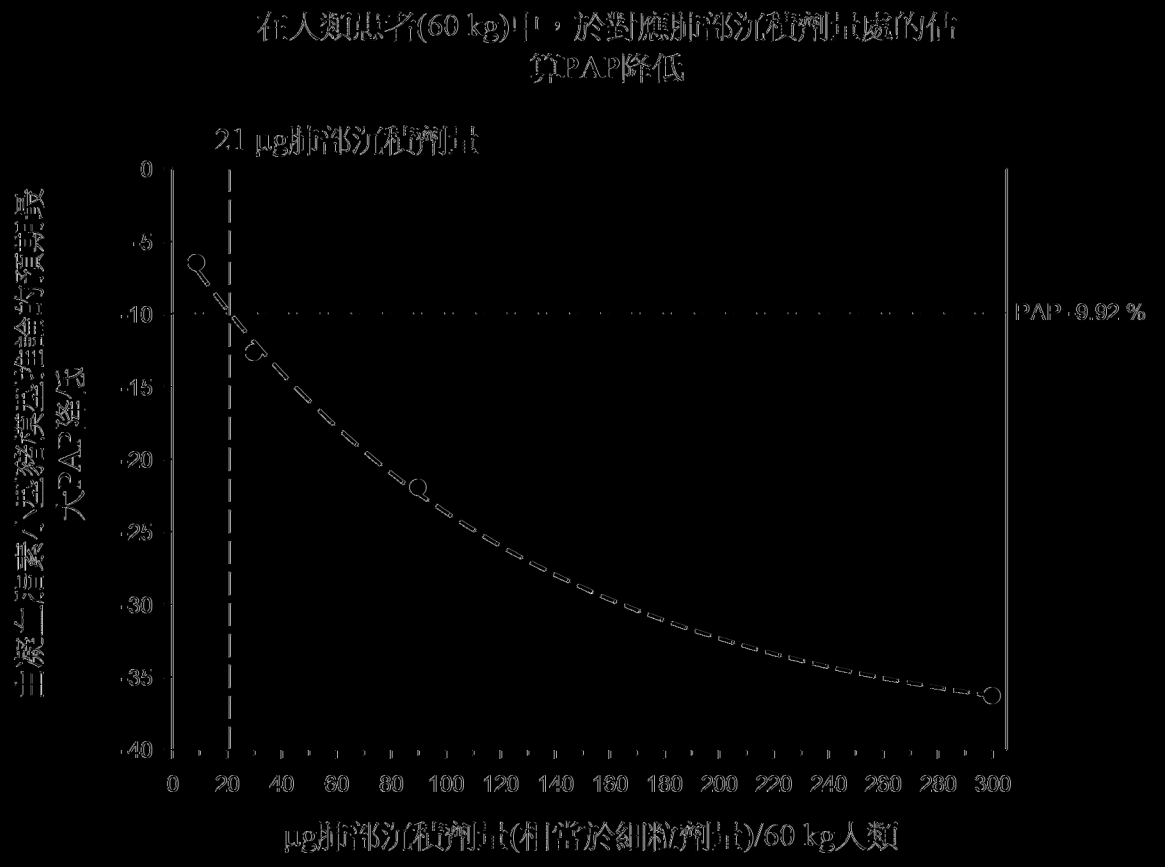


圖2：根據經麻醉凝血肝素小型豬模型的結果，在不考慮物種間蛋白質結合差異的情況下，60 kg人類在對應肺部沉積劑量(EPD)處的最大預期PAP降低

(圖2)

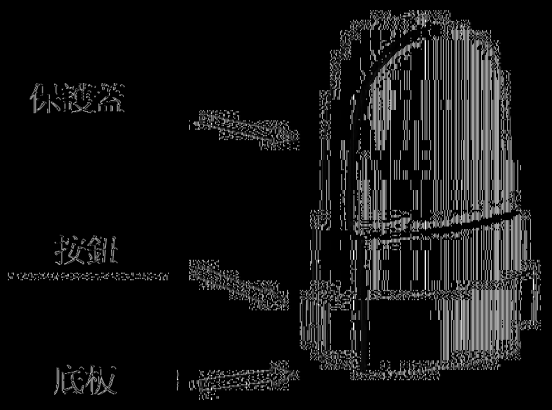


圖3a：其於膠裝的單次單位劑量吸入器

（圖3a）



圖3b：其於膠裝的單次單位劑量吸入器

（圖3b）

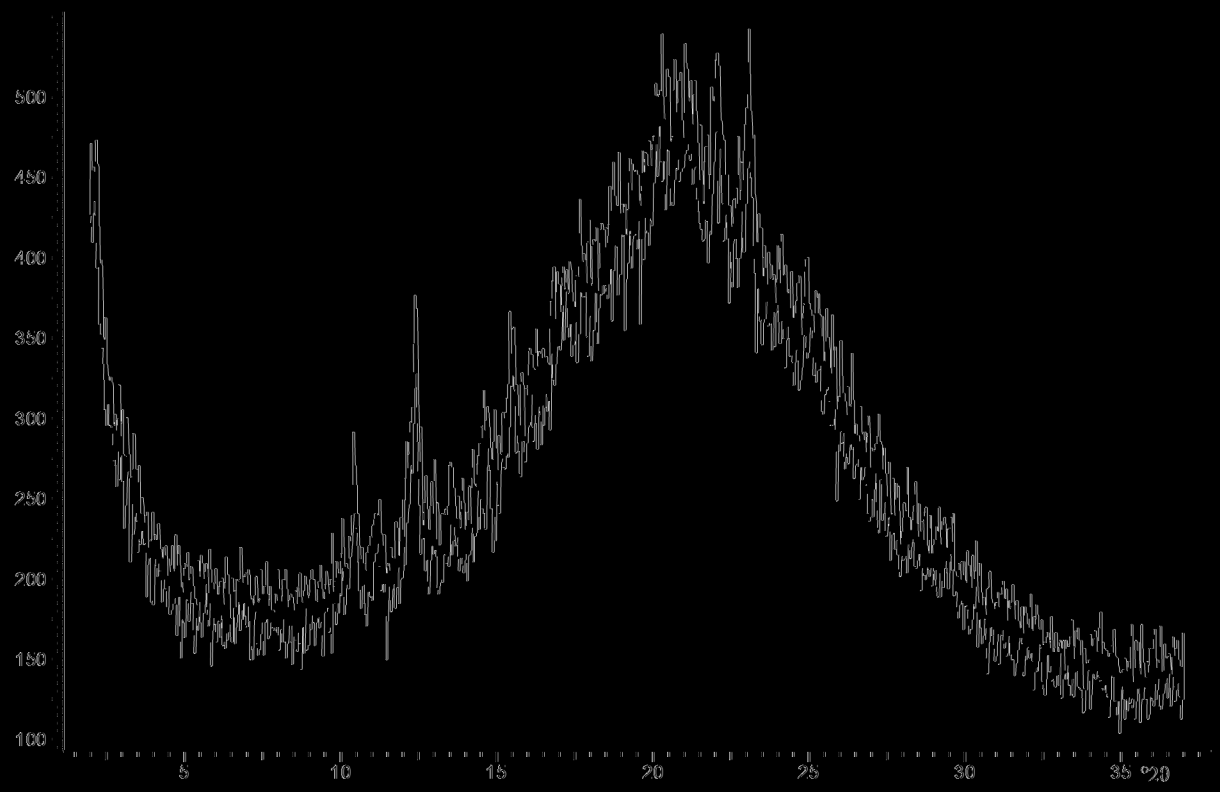


圖4：非晶形殘餘物的X射線粉末繞射圖，其於L-精胺酸的篩選實驗所建立

(圖4)

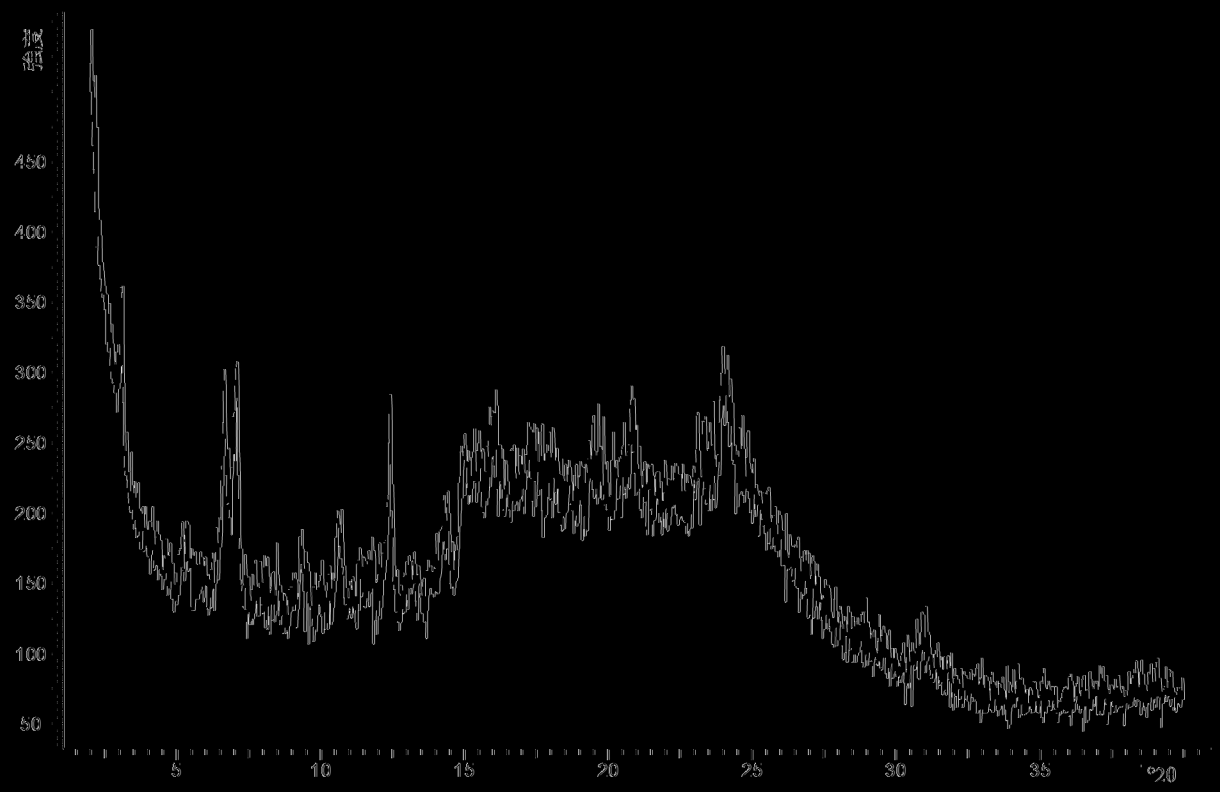


圖5：半水合物，實例6a的X射線粉末繞射圖

（圖5）

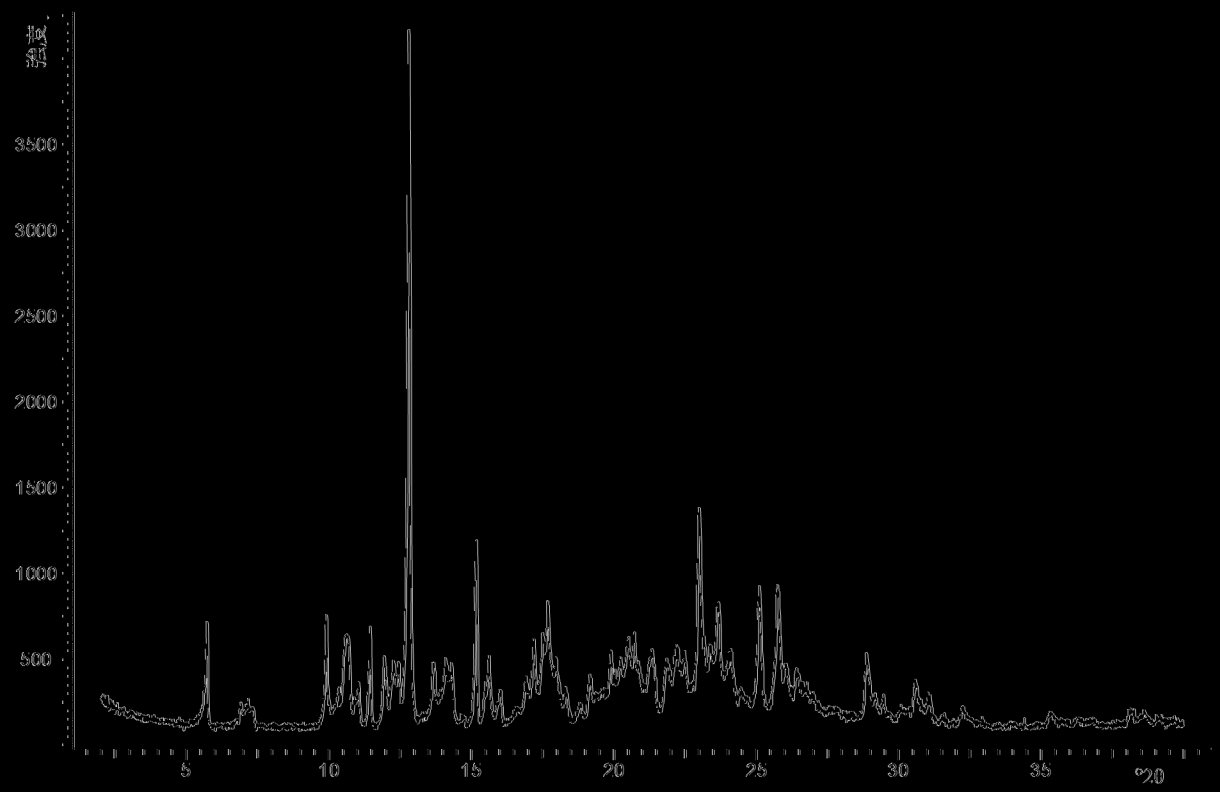


圖6：甘水合物I，實例6b的X射線粉末繞射圖

（圖6）

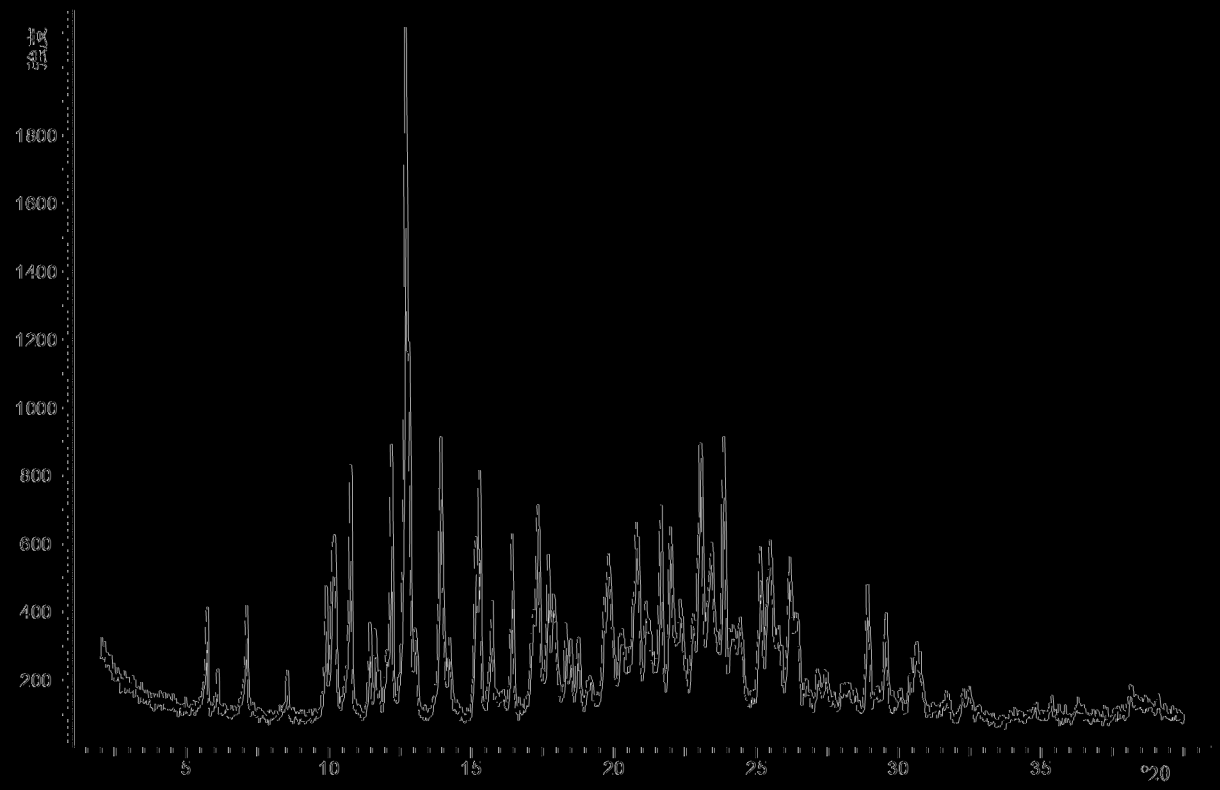


圖7：單水合物II，實例6c的X射線粉末繞射圖

（圖7）

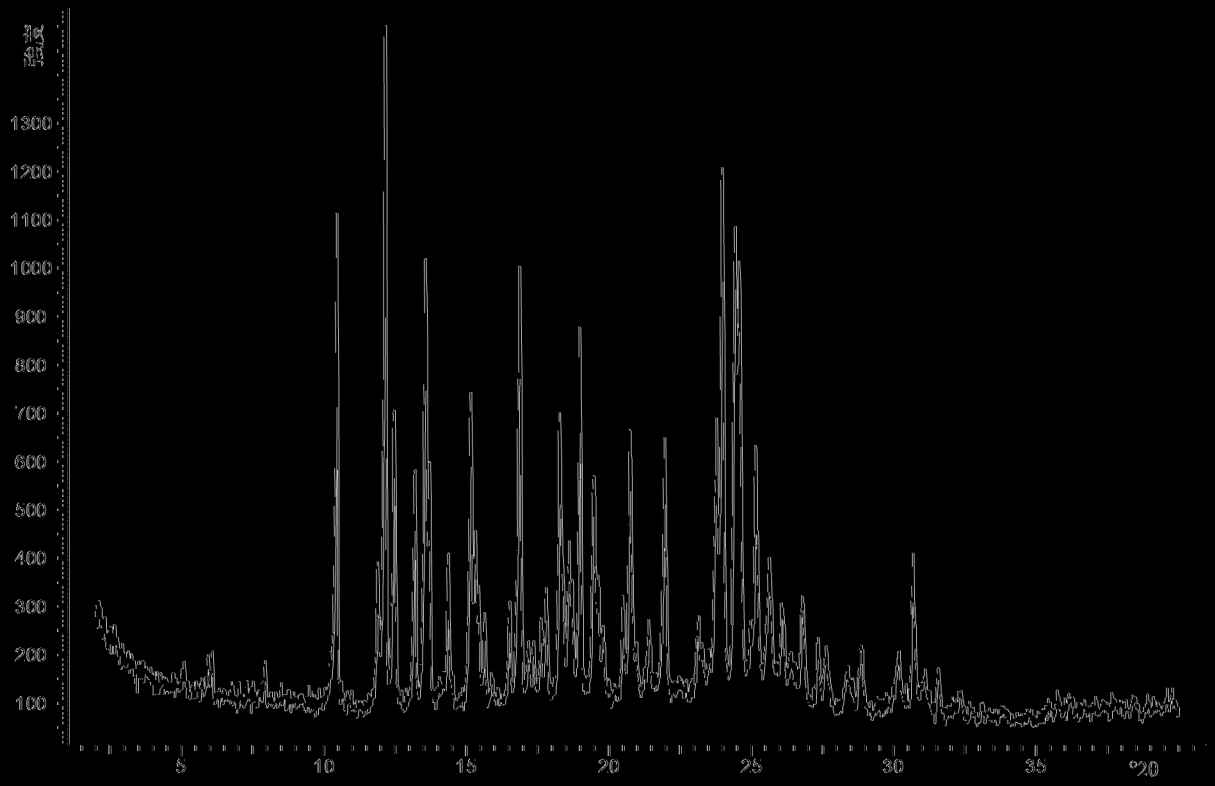


圖8：1.25 水合物，實例6d的X射線粉末繞射圖

|（圖8）|

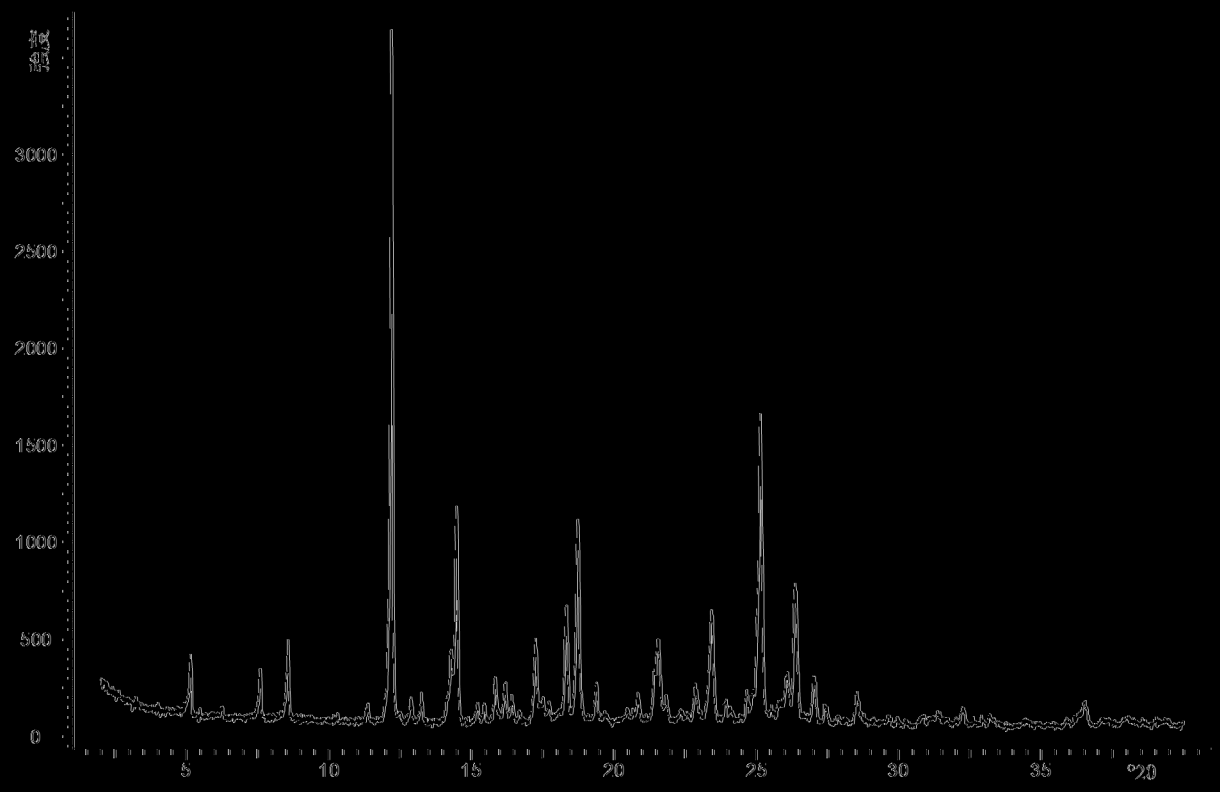


圖9：晶半水合物，實例6c的X射線粉末繞射圖

|(圖9)|

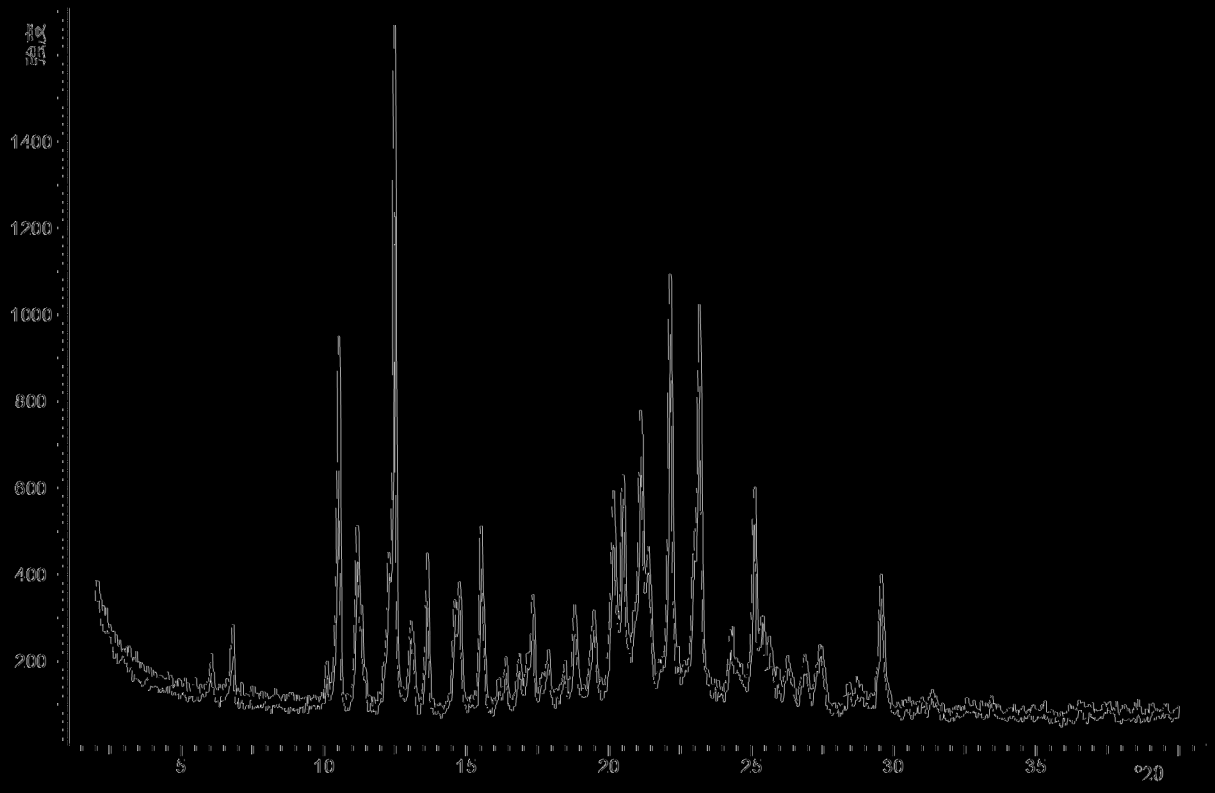


圖10：[illegible]水合物，實例61的X射線粉末繞射圖

(圖10)

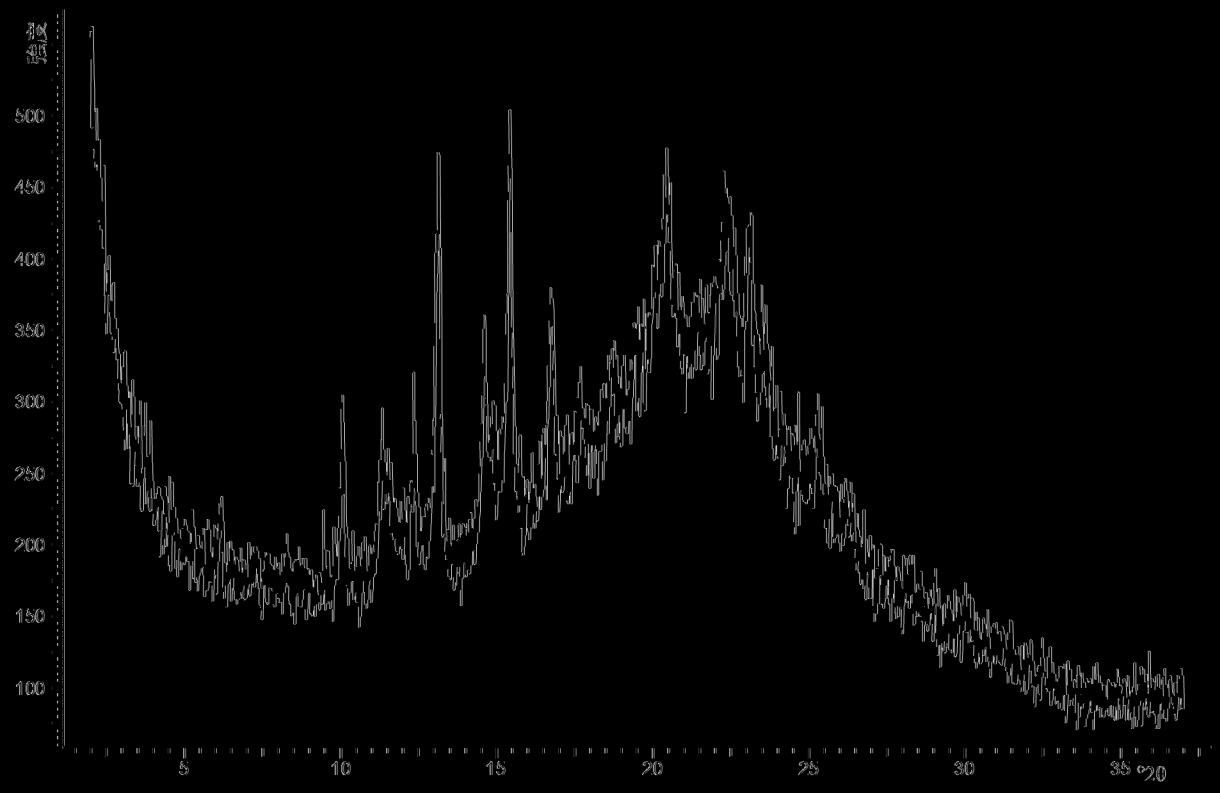


圖10a：乾燥後實例6的X射線粉末繞射圖

（圖10a）

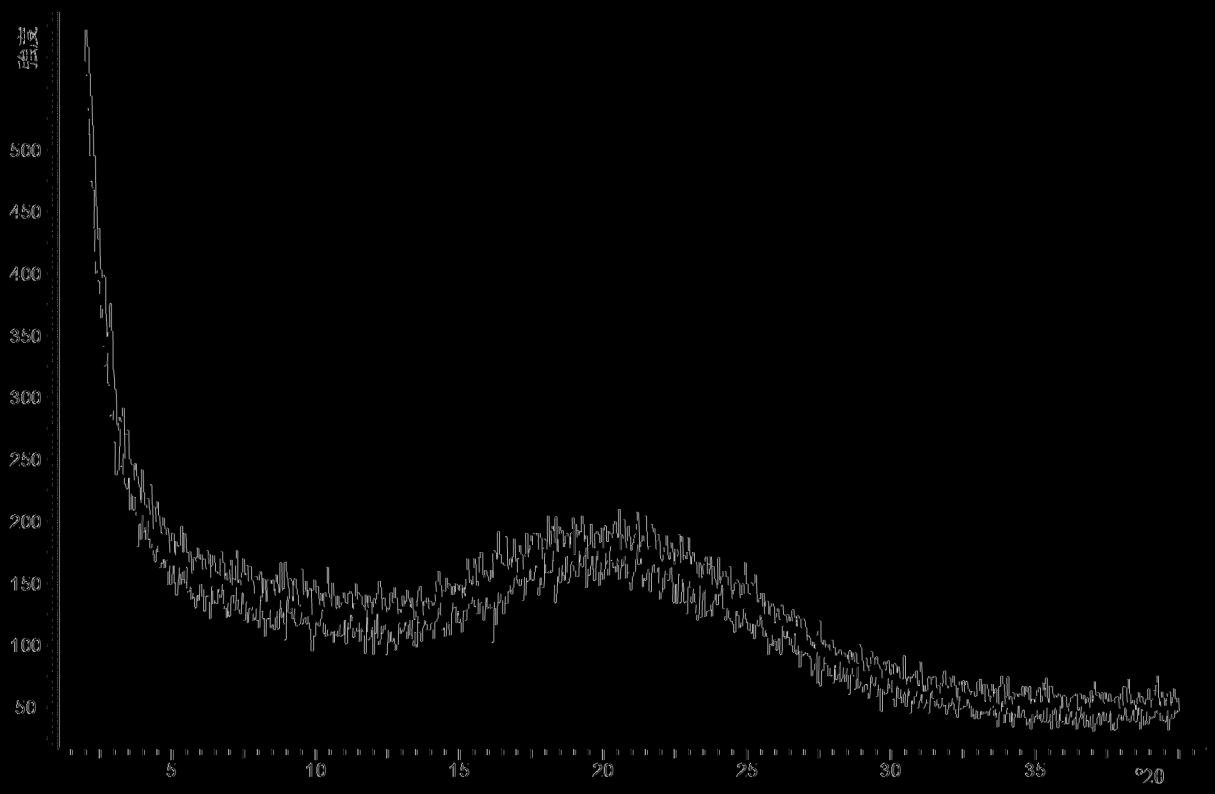


圖11：非晶形形式，實例6g的X射線粉末繞射圖

(圖11)

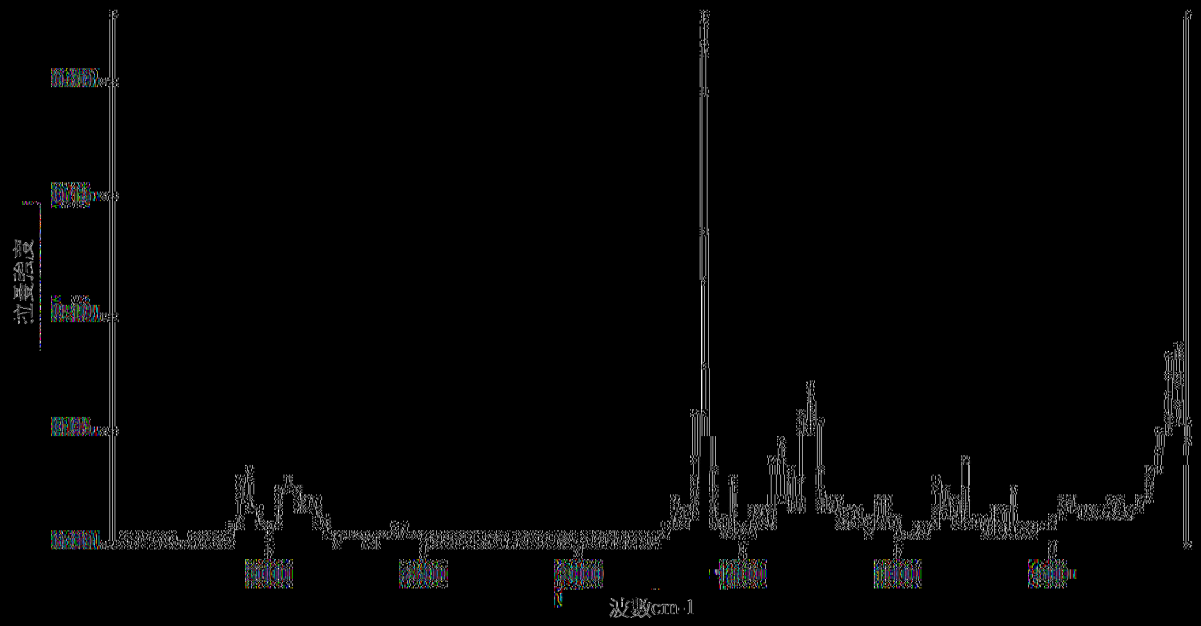


圖12：半水合物，實例6a的拉曼光譜

|(圖12)|

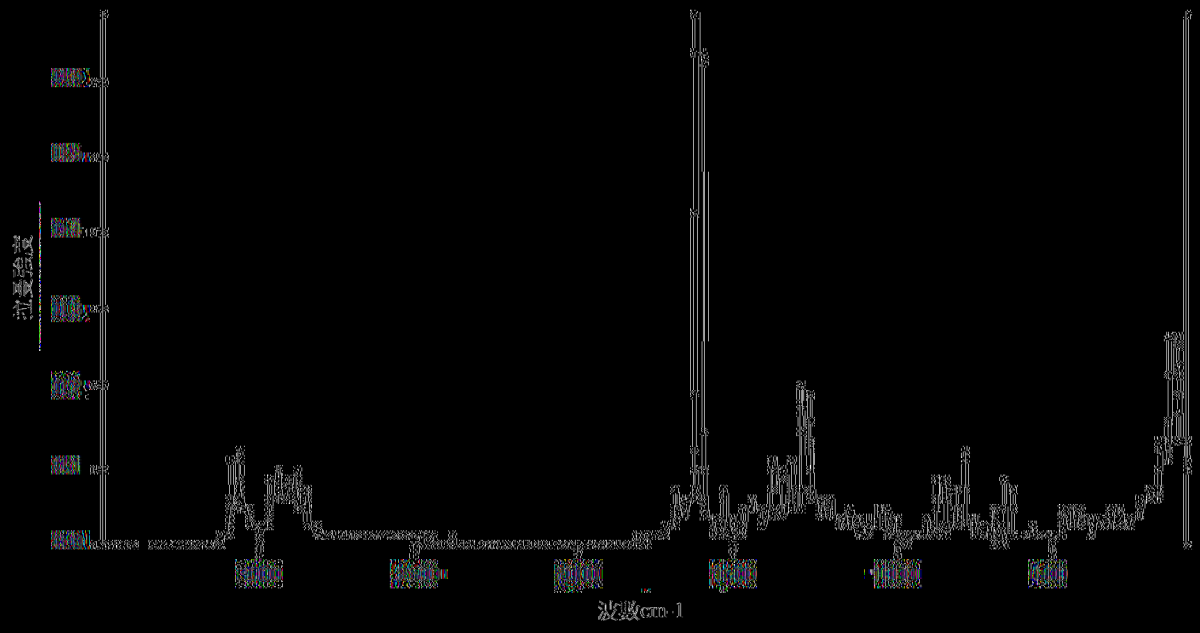


圖13：甘水仔物1，實例6b的拉曼光譜

(圖13)

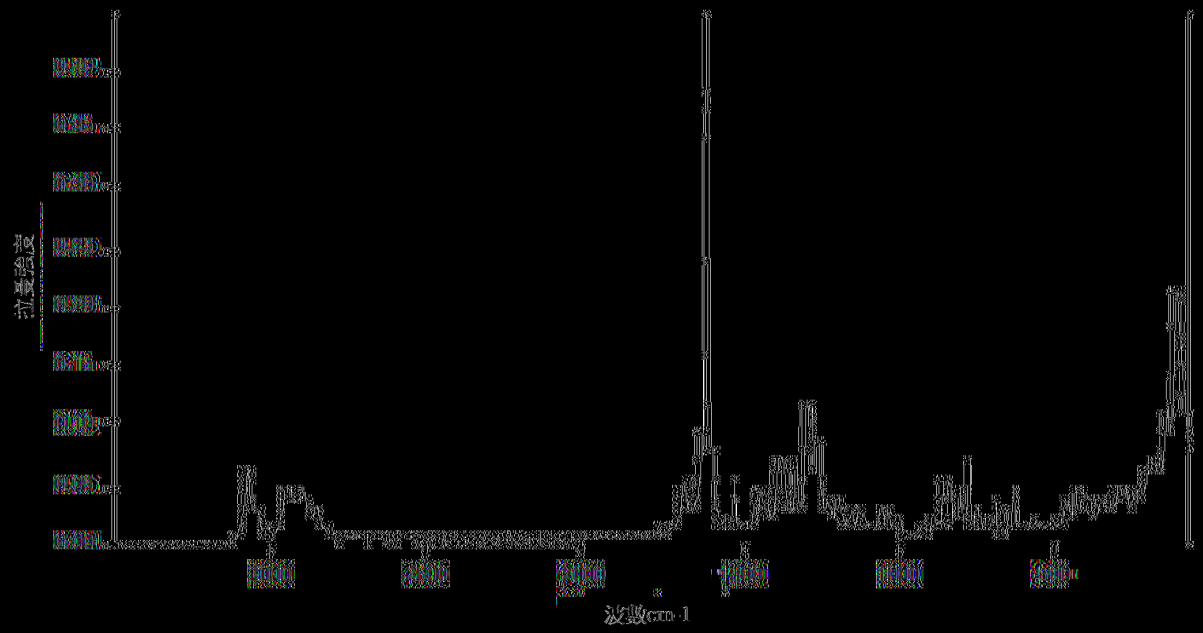


圖14：單水合物II，實例6c的拉曼光譜

|(圖14)|

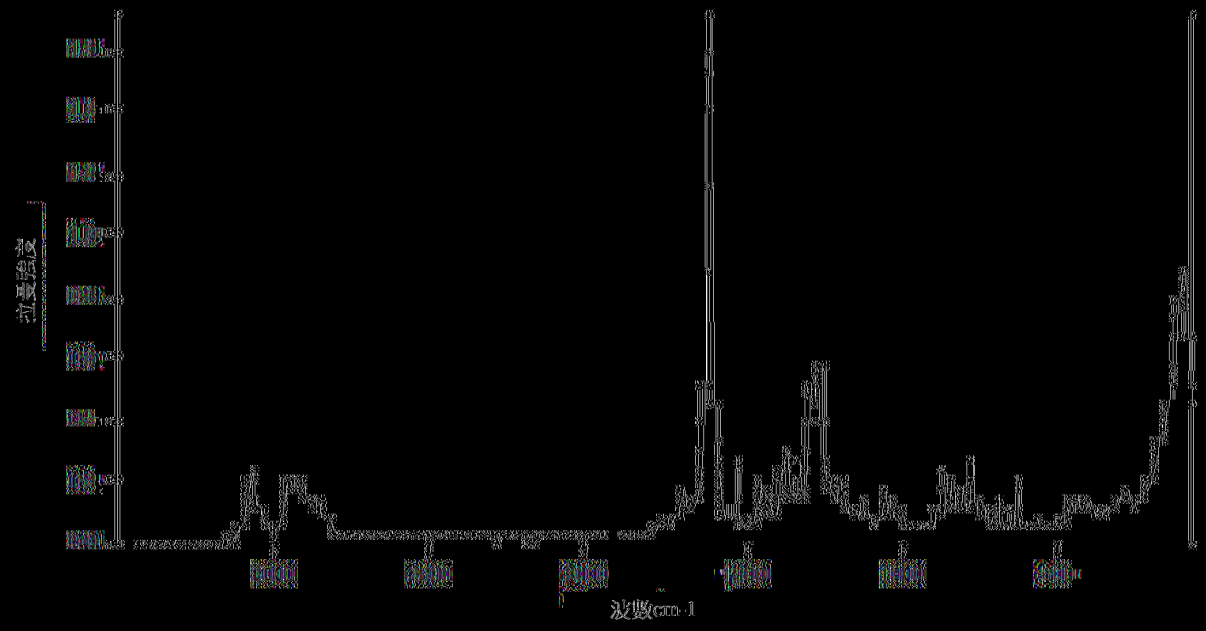


圖15：1.25 水合物，實例6d的拉曼光譜

(圖15)

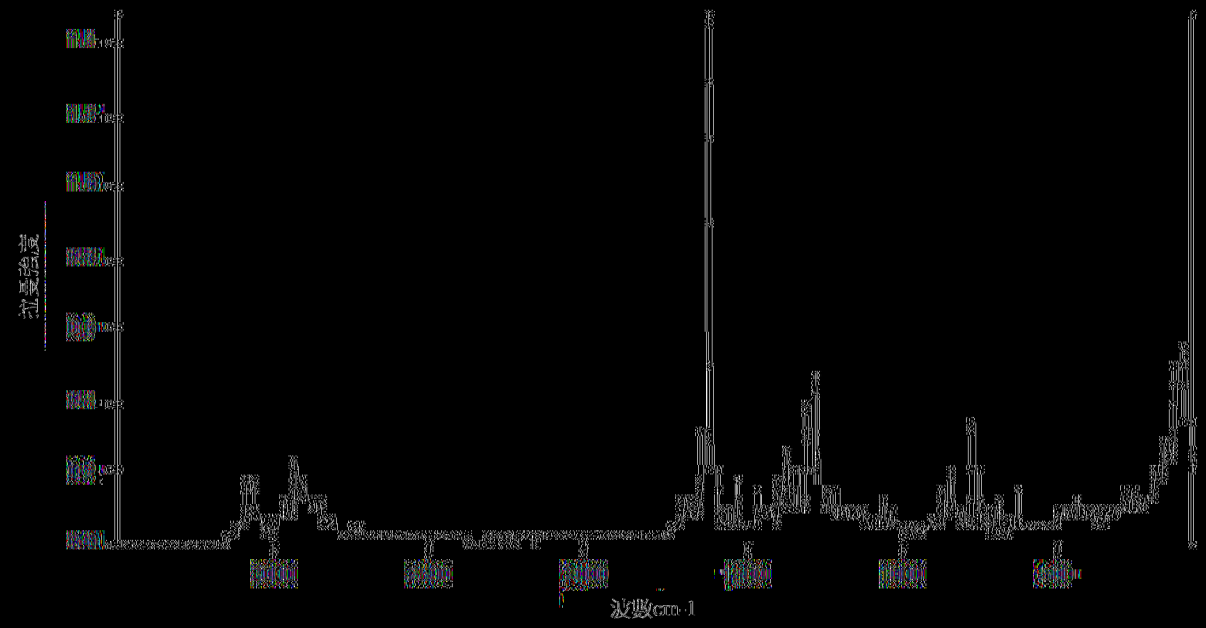


圖16：各半水合物，實例6cl的拉曼光譜

|(圖16)|

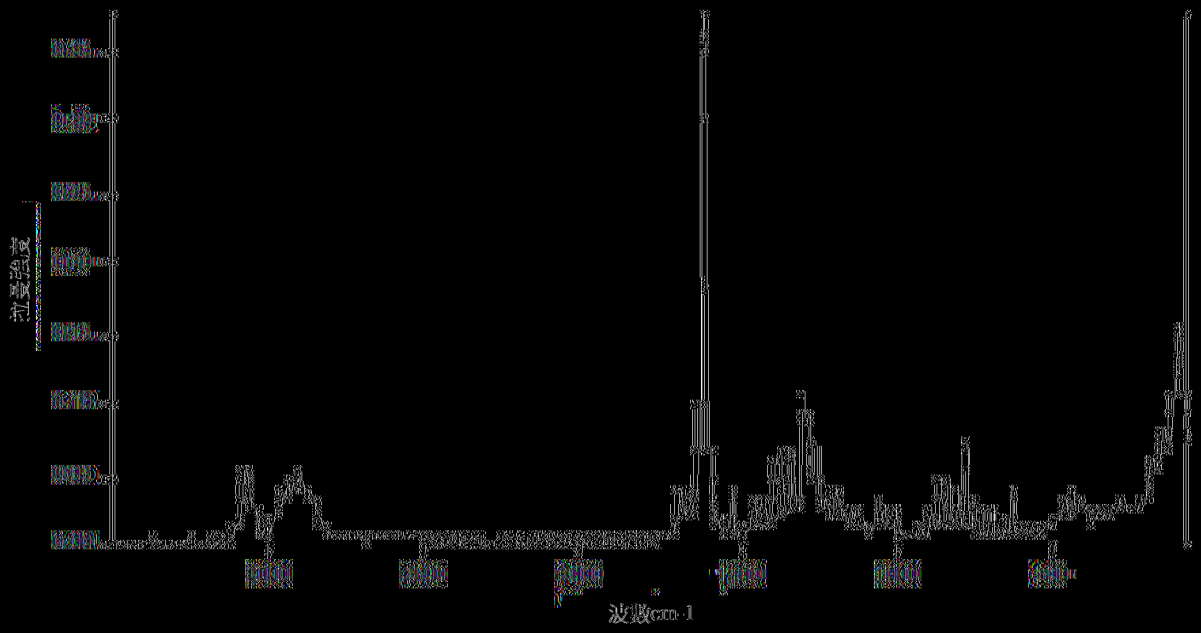


圖17：[illegible]水合物，實例6的拉曼光譜

（圖17）

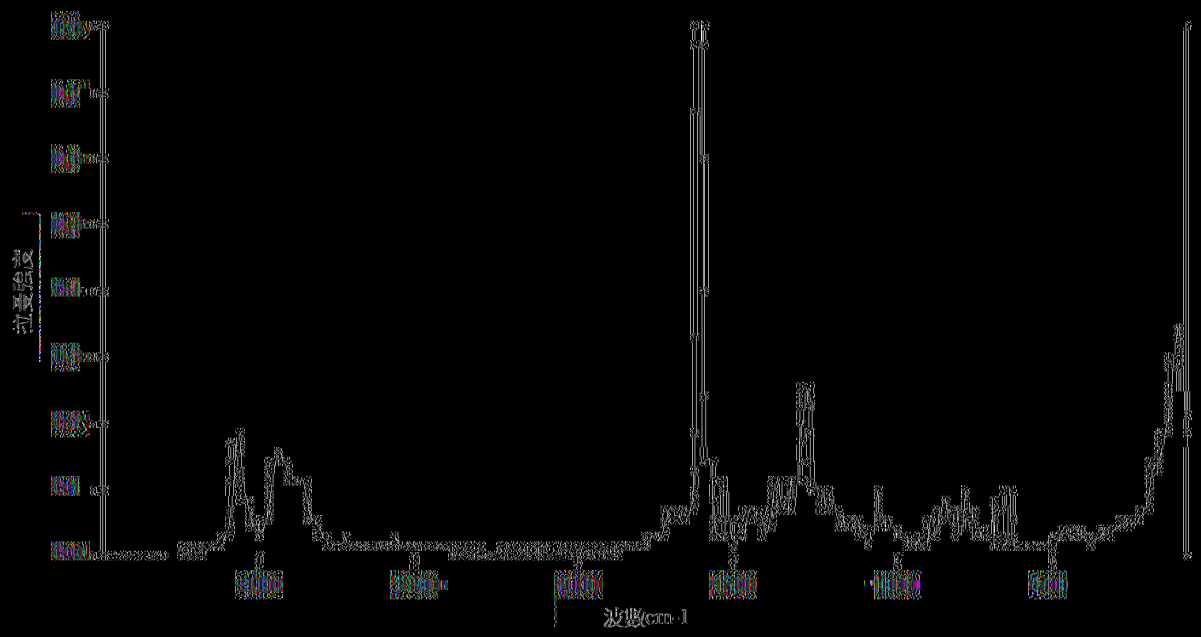


圖18：非晶形形式，實例6g的拉曼光譜

（圖18）

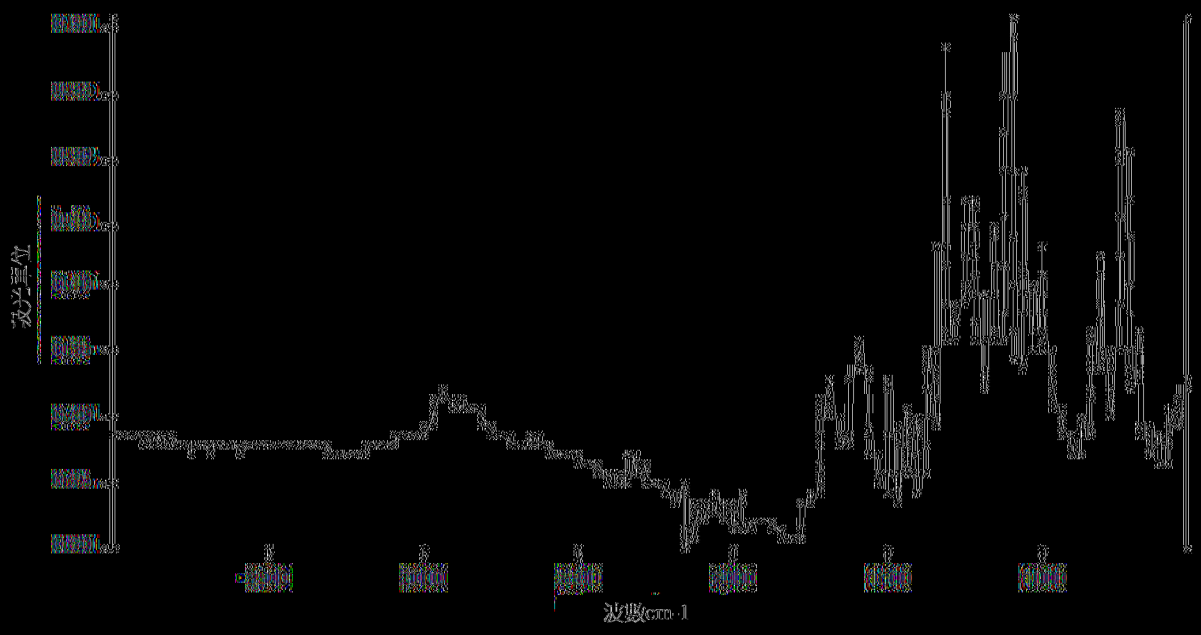


圖19：半水合物，實例6a的IR光譜

|(圖19)|

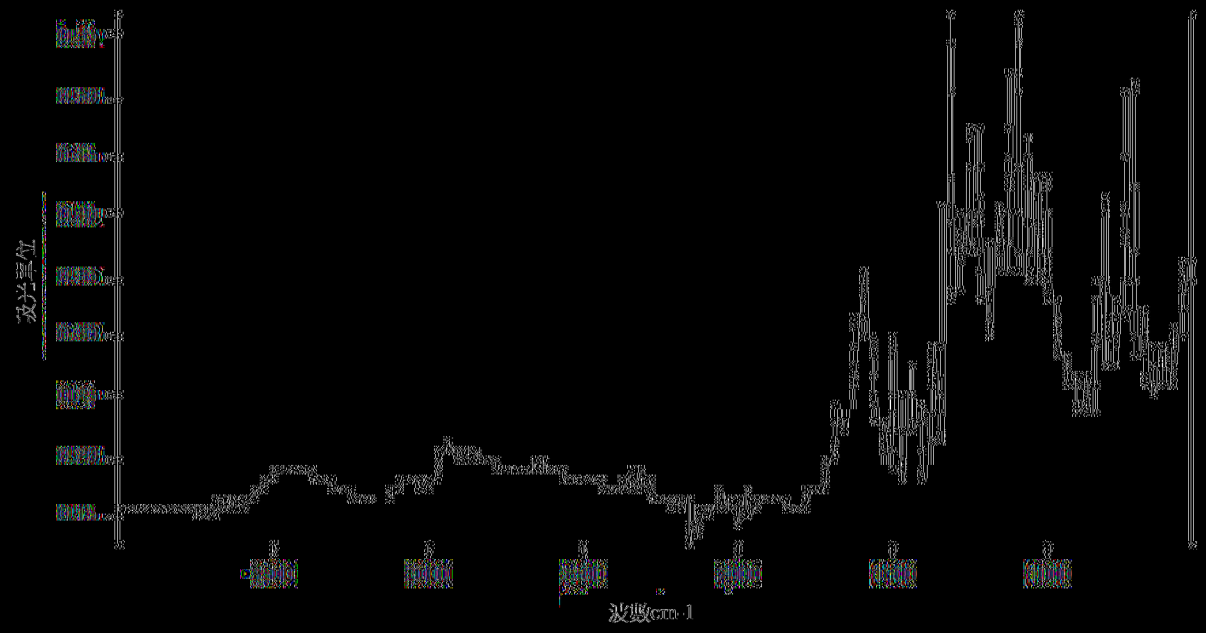


圖20：甲水合物I，實例6b的IR光譜

（圖20）

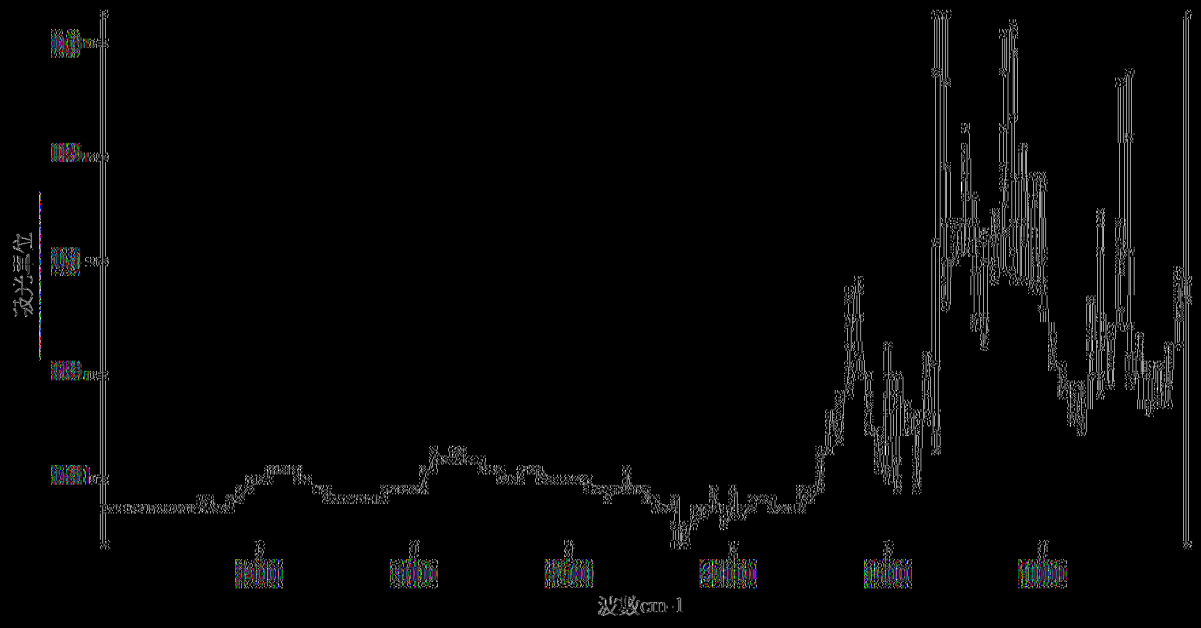


圖21：甘草水合物II，實例6cm的IR光譜

|(圖21)|

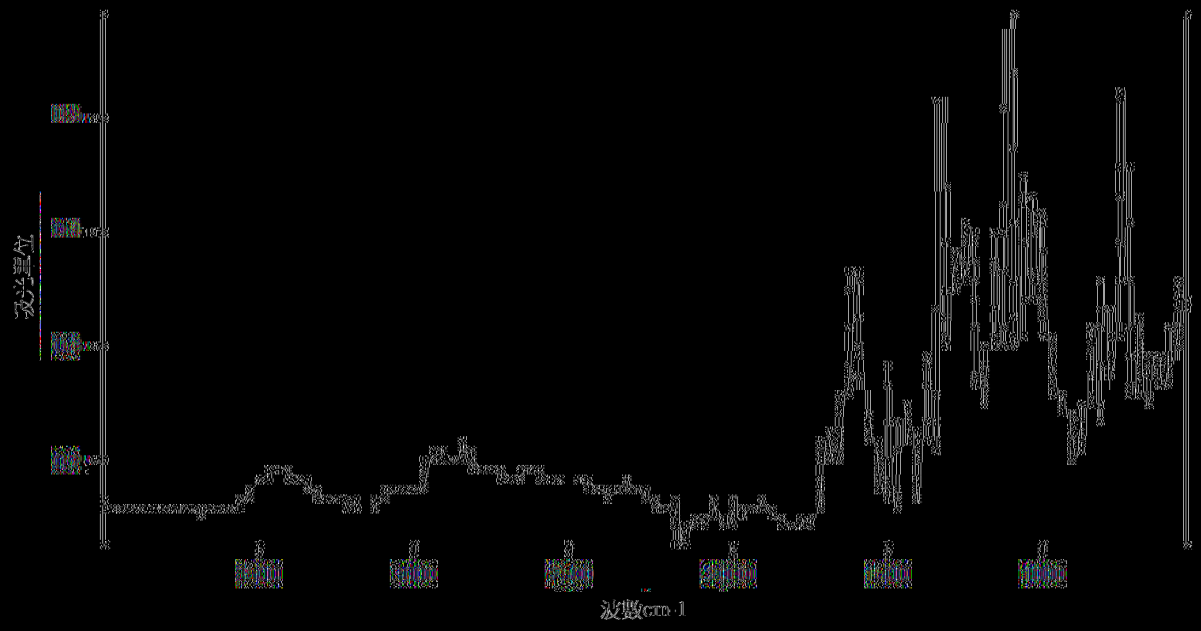


圖22：1.25 水合物，實例6d的IR光譜

|(圖22.)|

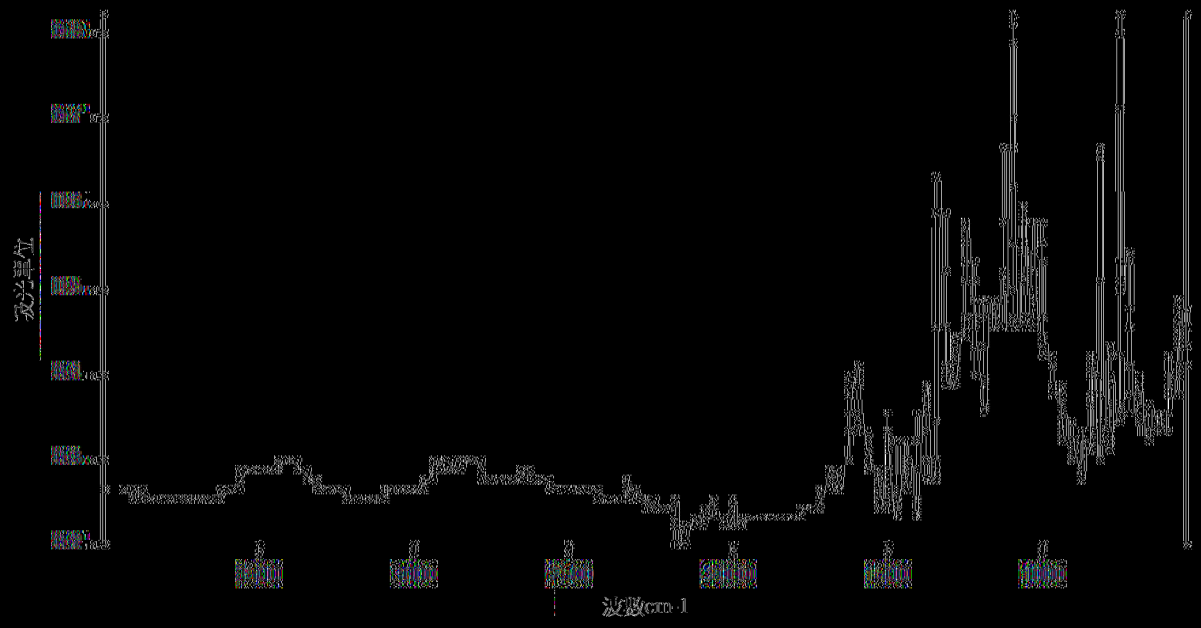


圖23：含半水合物，實例6c的IR光譜

（圖23）

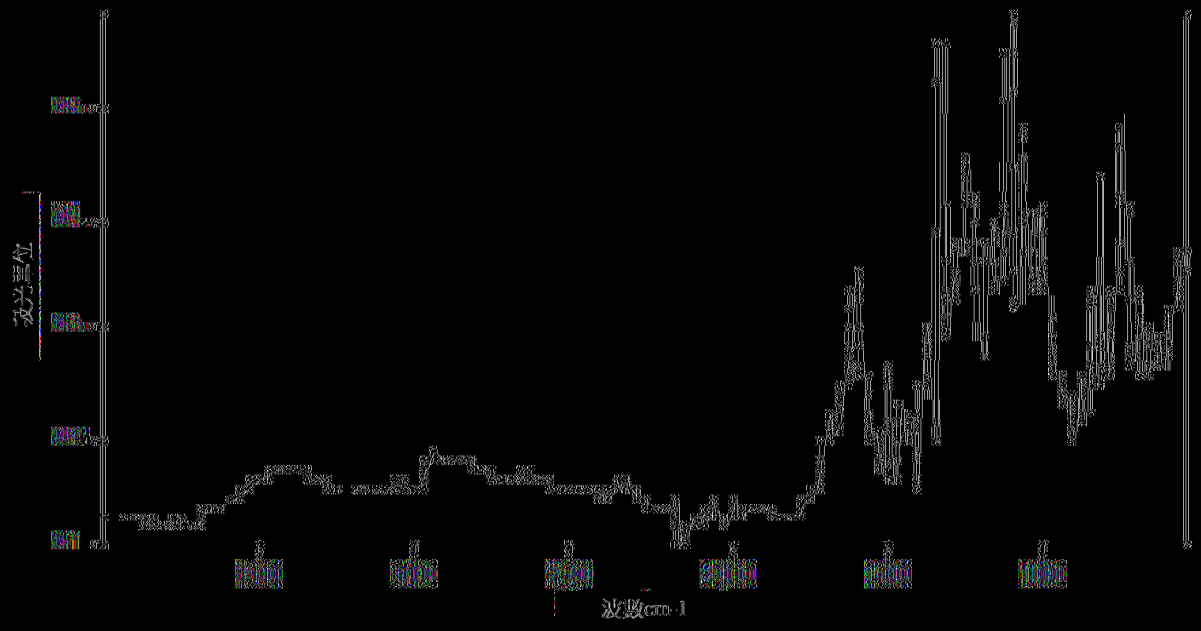


圖24：二水合物，實例6的IR光譜

（圖24）

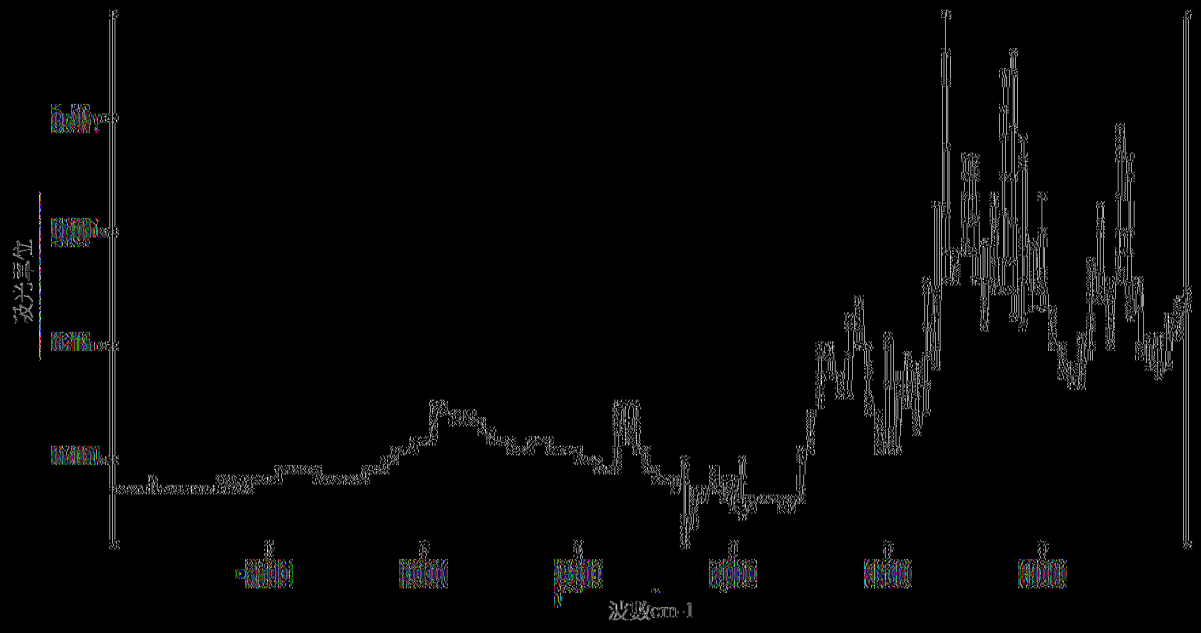


圖25：非晶形形式，實例6g的IR光譜

（圖25）

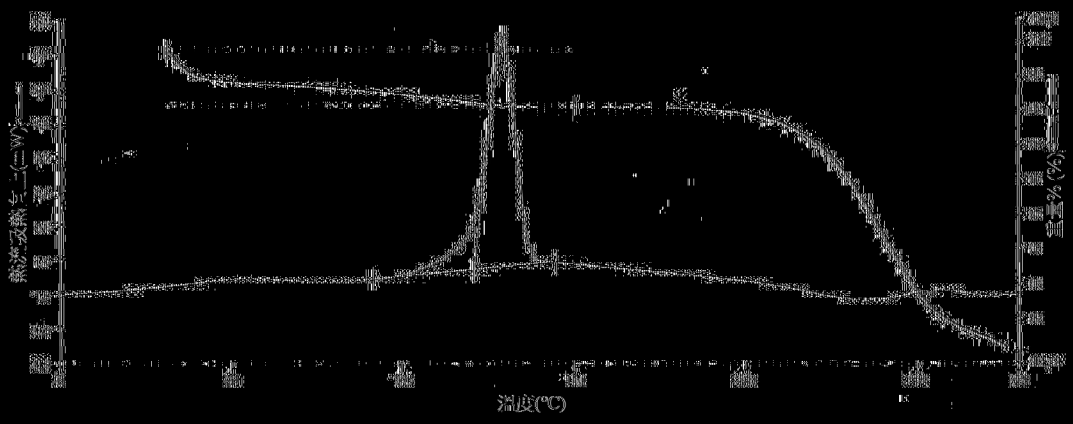


圖26：半水合物，實例6a的DSC和TGA熱分析圖

|（圖26）|

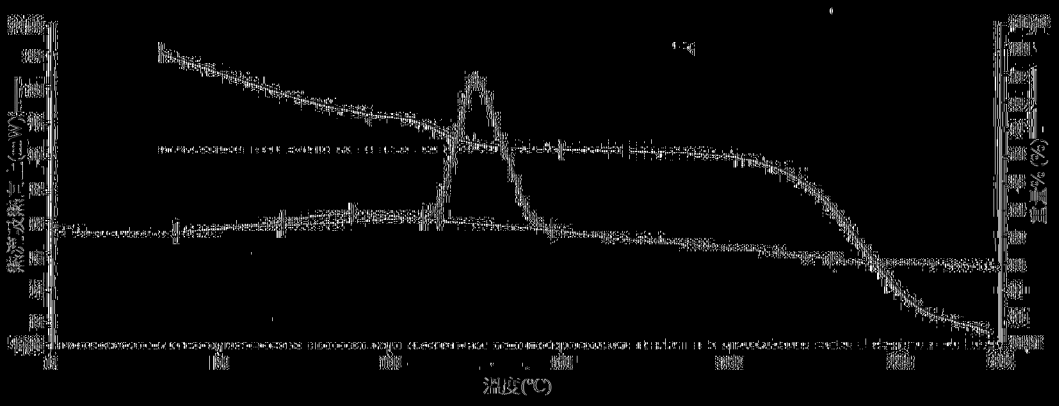


圖27：甲水合物I，實例6b的DSC和TGA熱分析圖

(圖27)

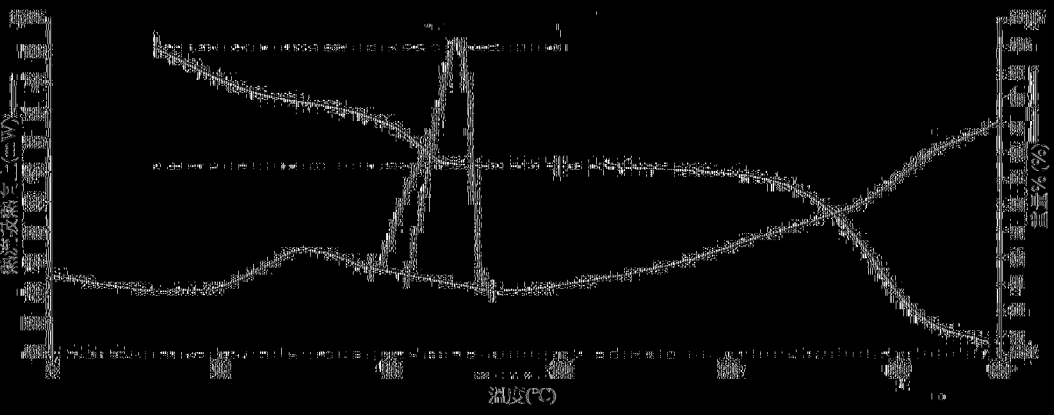


圖28：甘水合物II，實例6c的DSC和TGA 熱分析圖

|(圖28)|

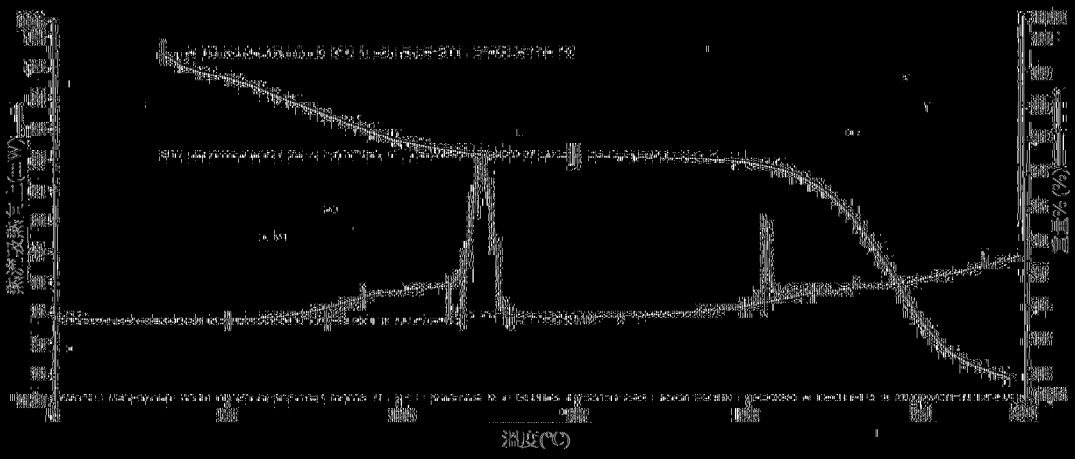


圖29：1.25 水合物，實例6d的DSC和TGA熱分析圖

|(圖29)|

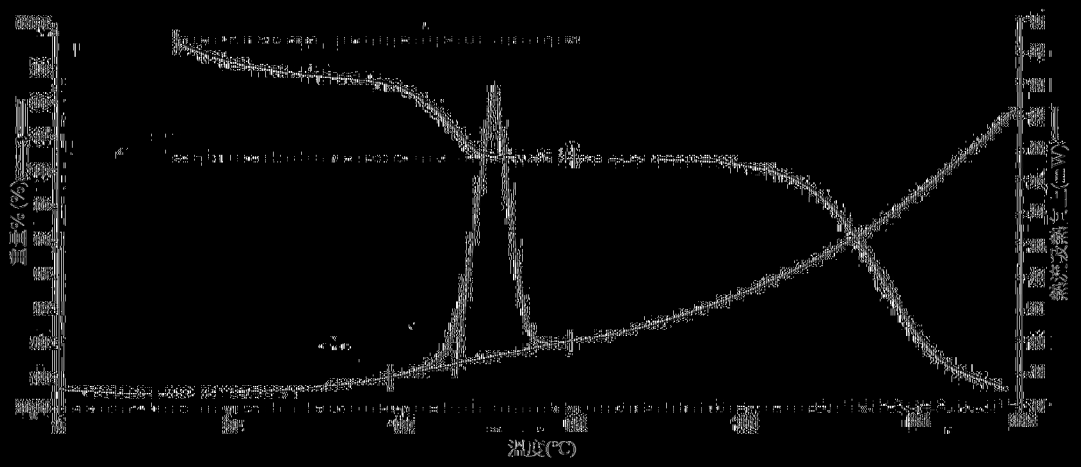


圖30：倍半水合物，實例6c的DSC和TGA熱分析圖

|(圖30)|

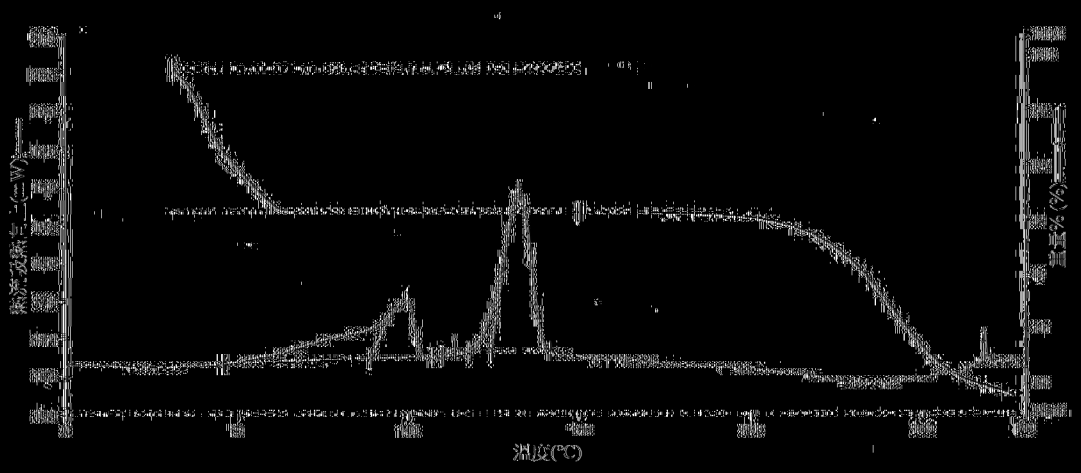


圖31：二水合物，實例6的DSC和TGA熱分析圖

（圖31）

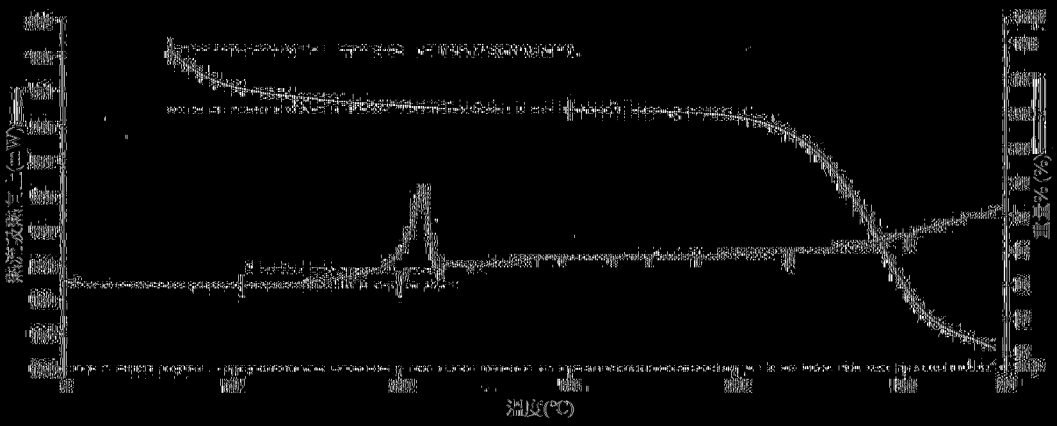


圖32：非晶形形式，實例6g，非晶形形式的DSC和TGA熱分析圖

(圖32)

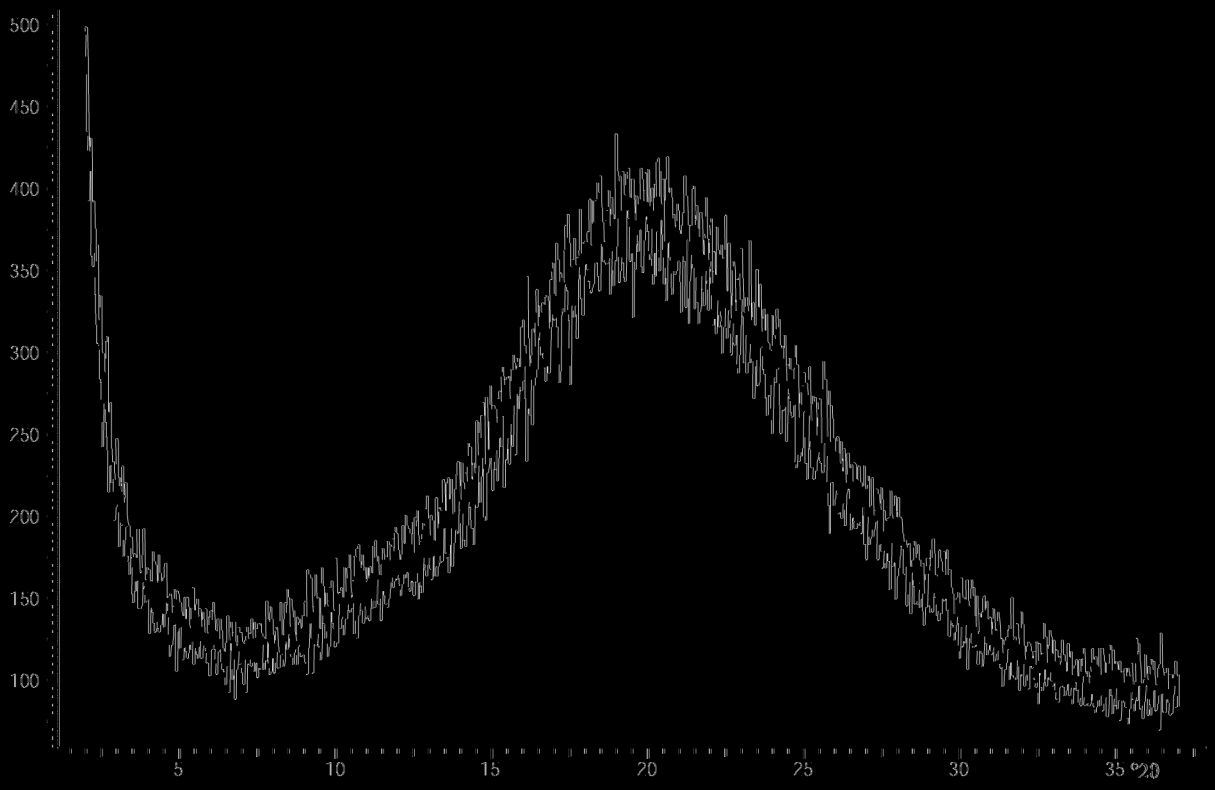


圖33：比較例11，非晶形形式的X射線粉末繞射圖

（圖33）

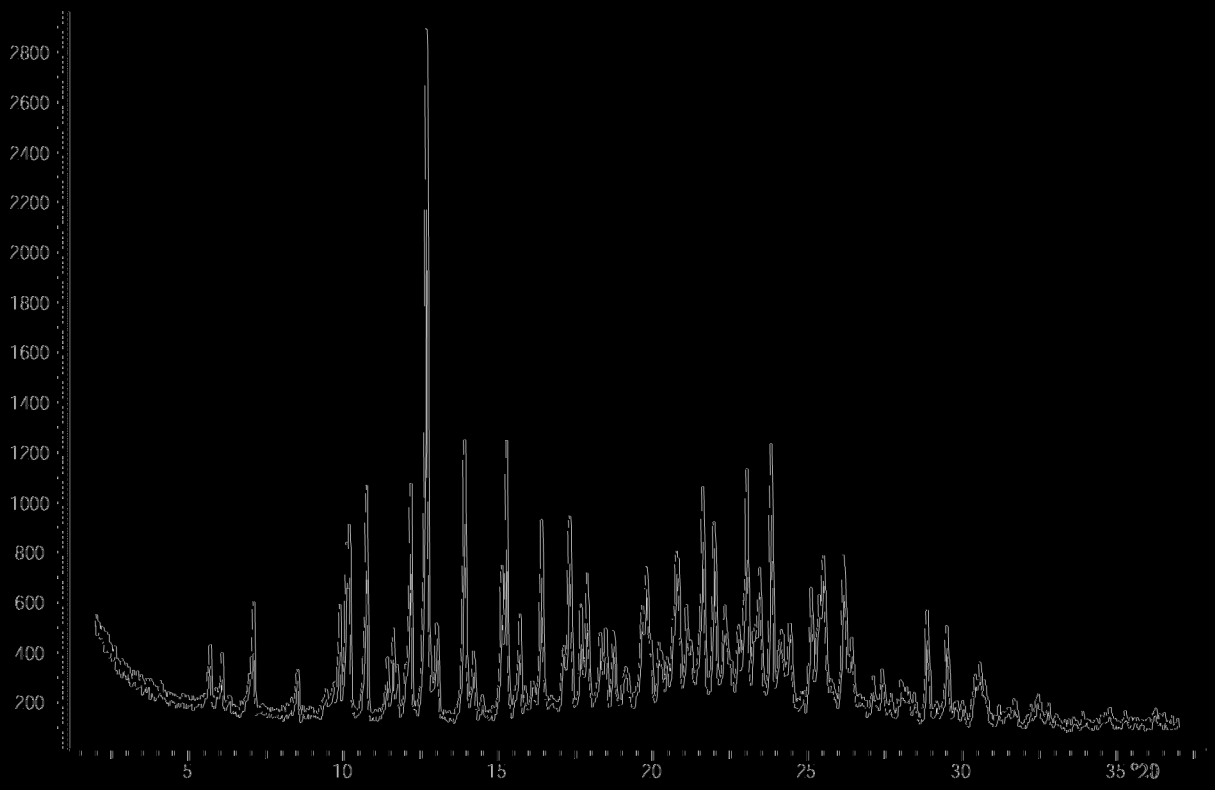


圖34：實例1，單水合物II的X射線粉末繞射圖

(圖34)

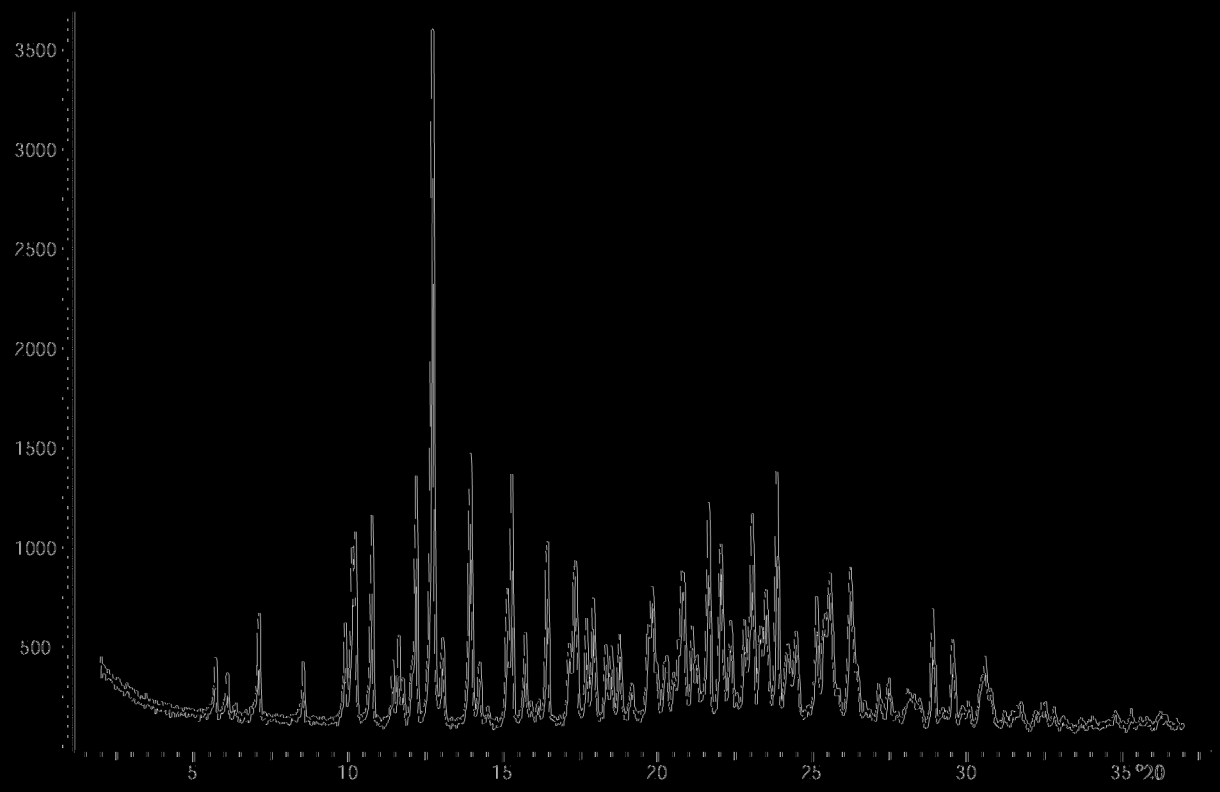


圖35：微粉化前實例2，單水合物II的X射線粉末繞射圖

（圖35）

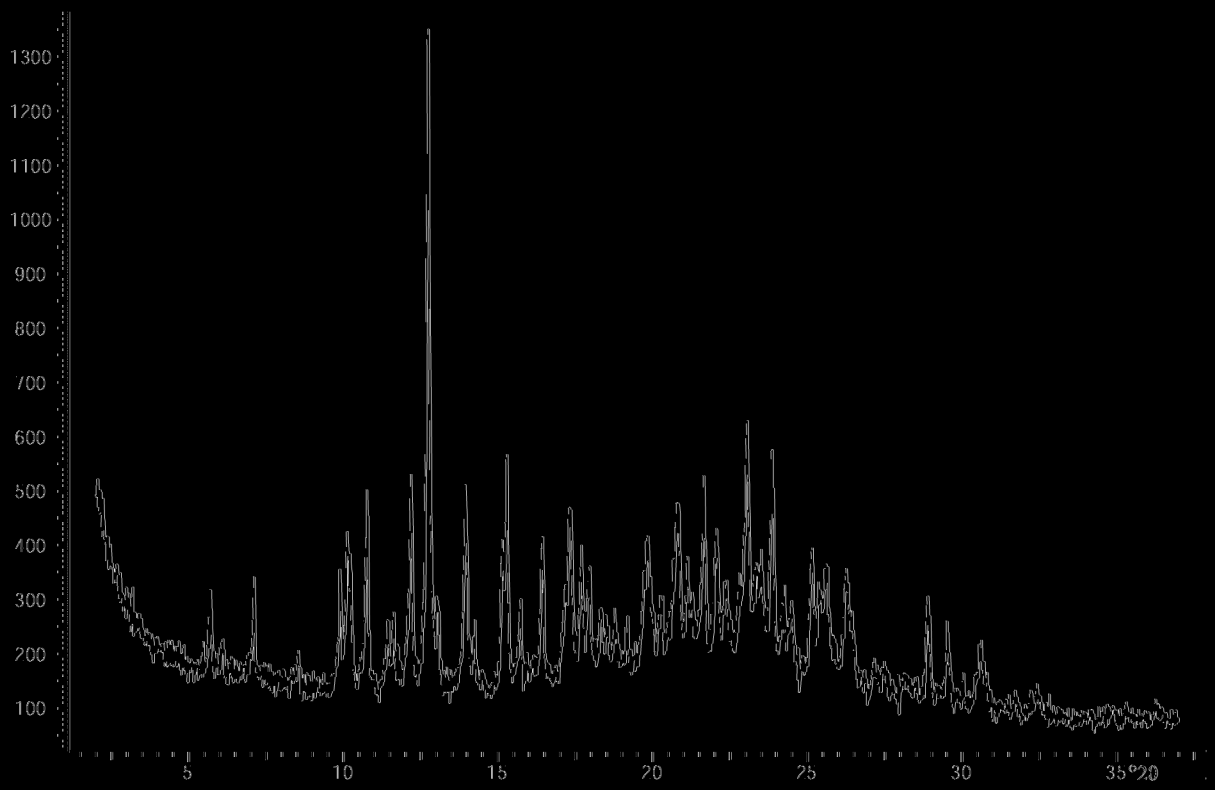


圖36：微粉化後實例2、單水合物II、部分非晶化的X射線粉末繞射圖

|(圖36)|

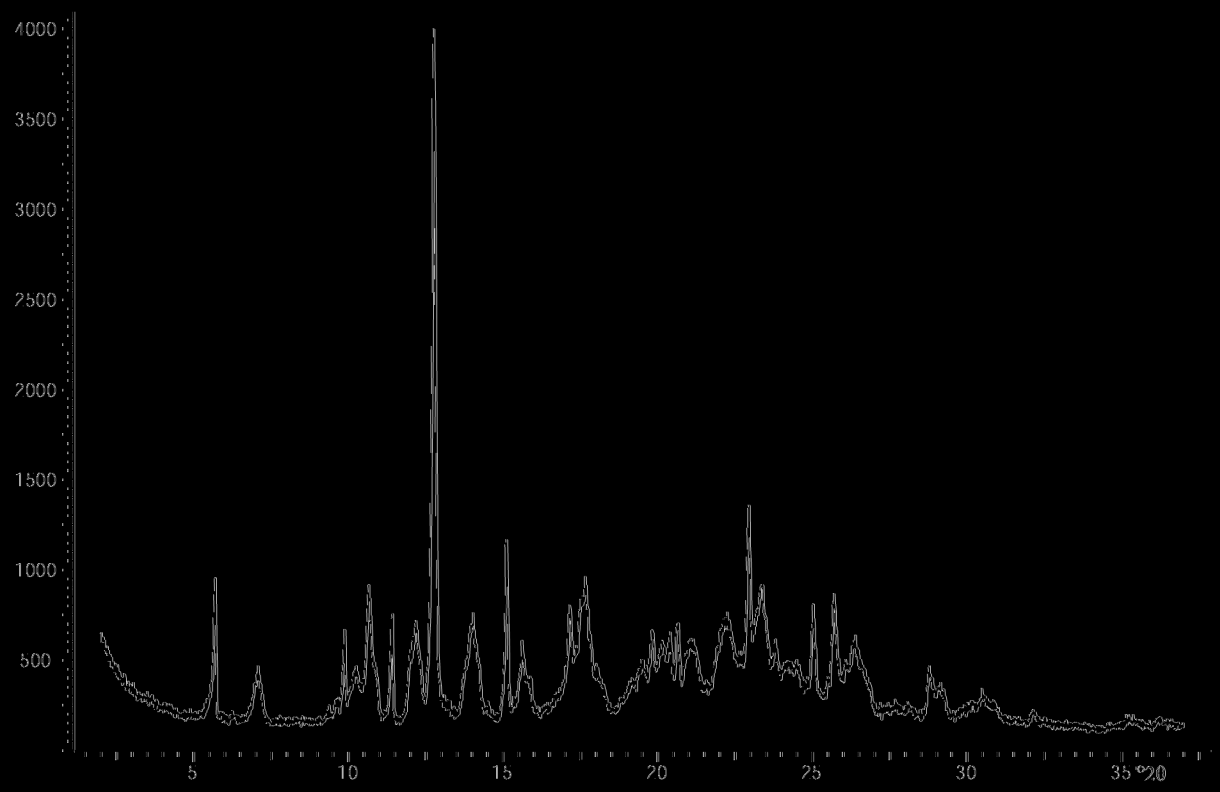


圖37：實例3，甘水合物的X射線粉末繞射圖

|(圖37)|

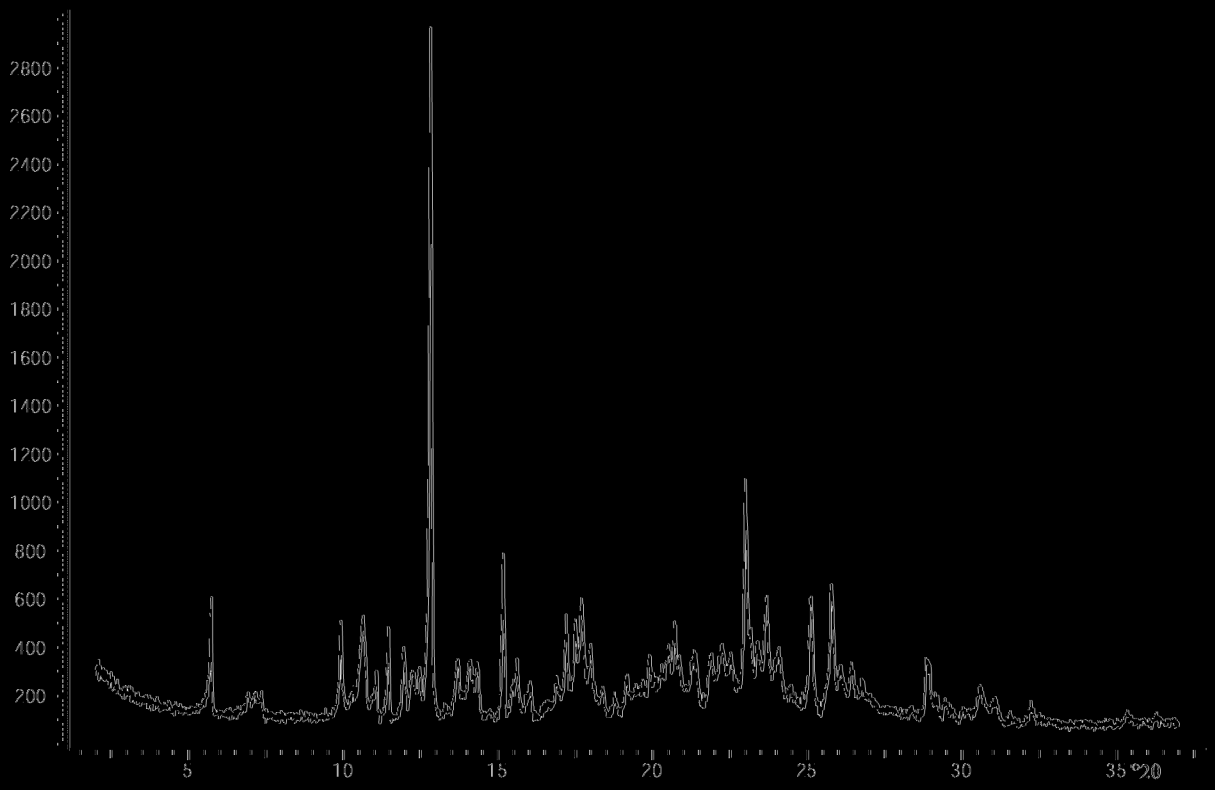


圖38：實例4，單水合物的X射線粉末繞射圖

（圖38）

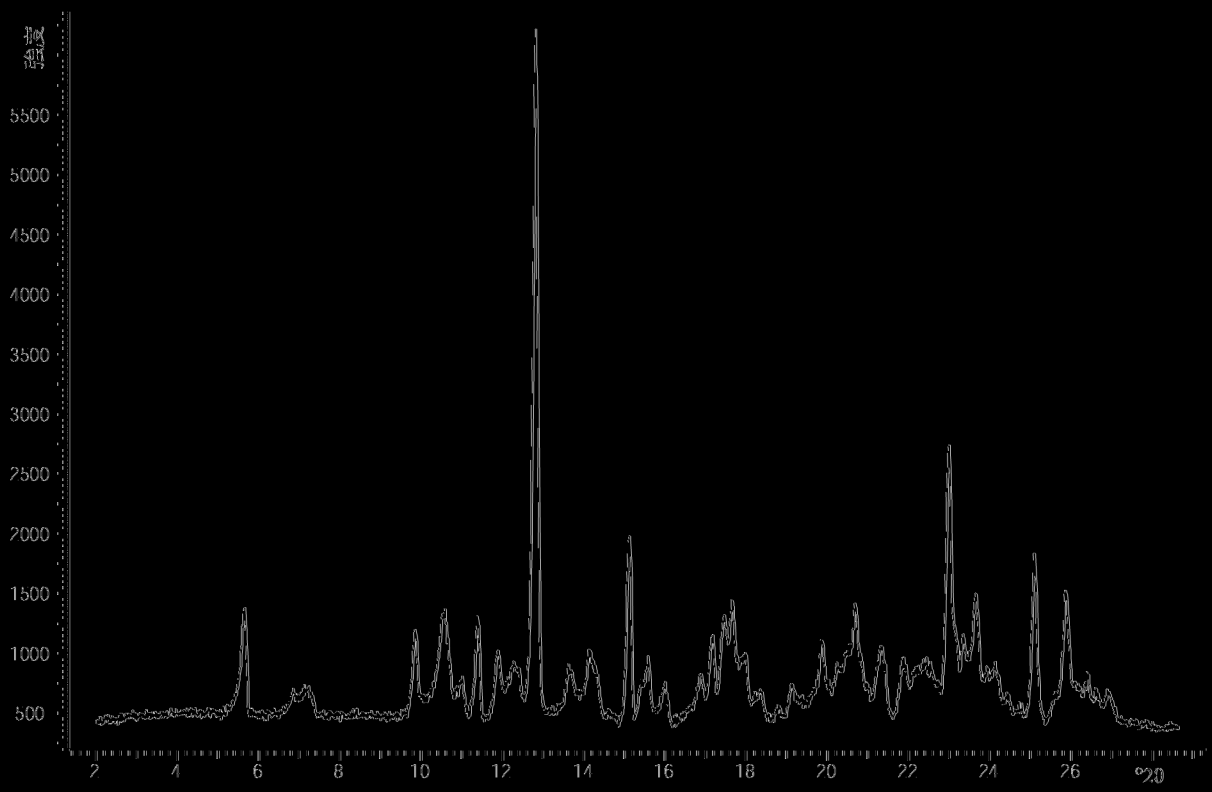


圖39：實例5，晶水合物I的X射線粉末繞射圖

|(圖39)|

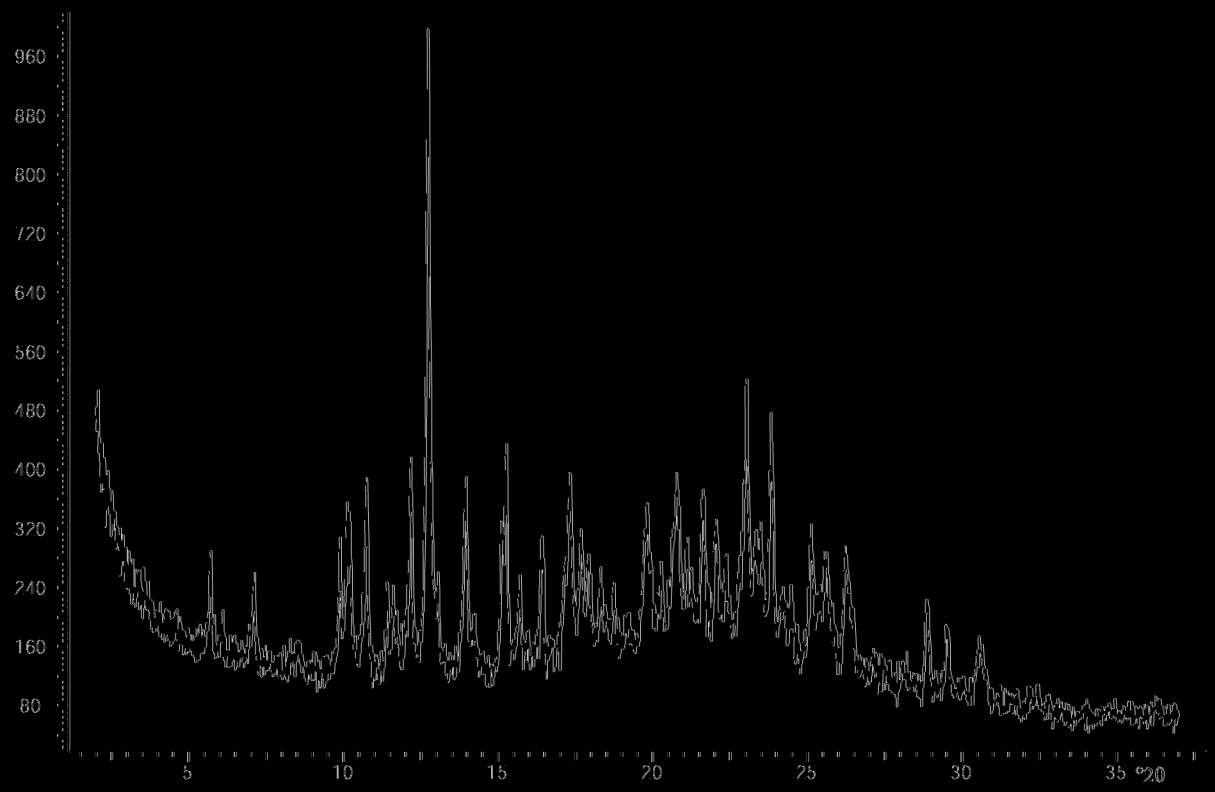


圖40：實例7，單水合物II的X射線粉末繞射圖(儲存穩定性)：用於儲存穩定性的起始材料

(圖40)

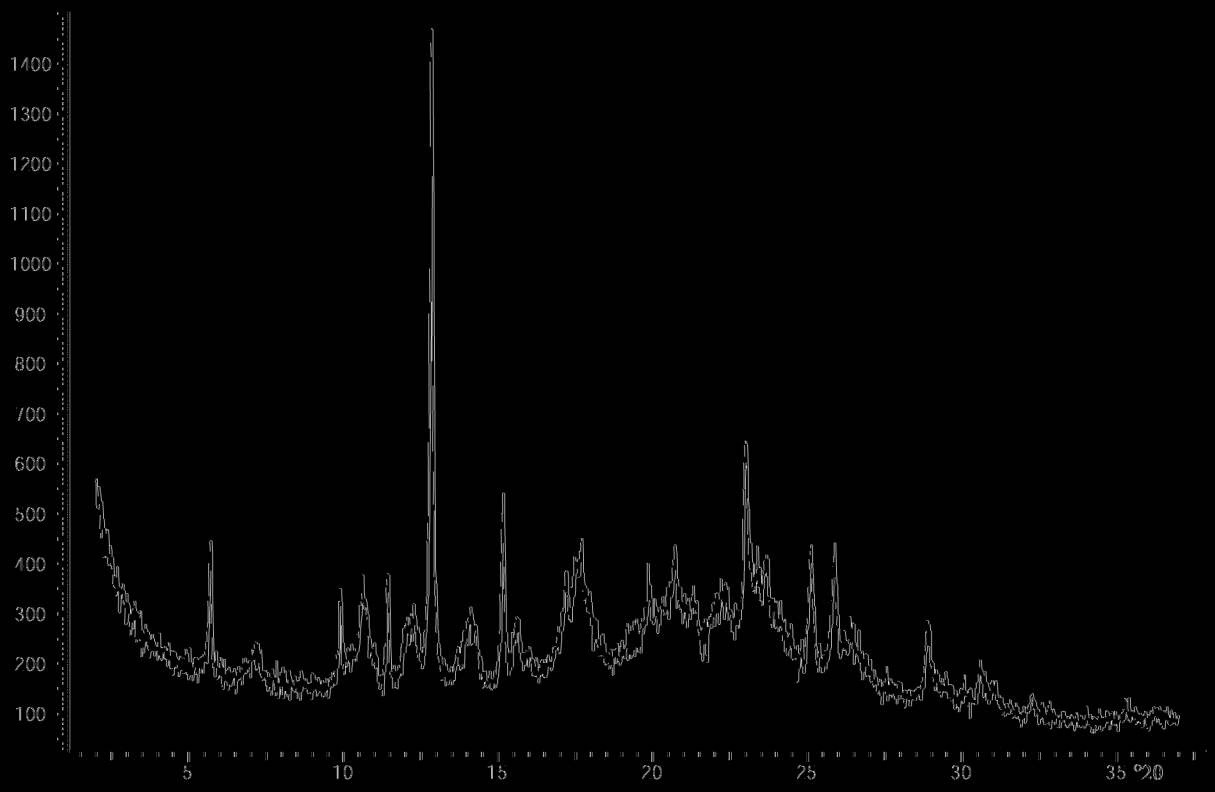


圖41：實例7b，單水合物I的X射線粉末繞射圖(儲存穩定性)：在25℃和60%相對濕度下於紫乙烯中進行一個月儲存穩定性測試後的材料

(圖41)

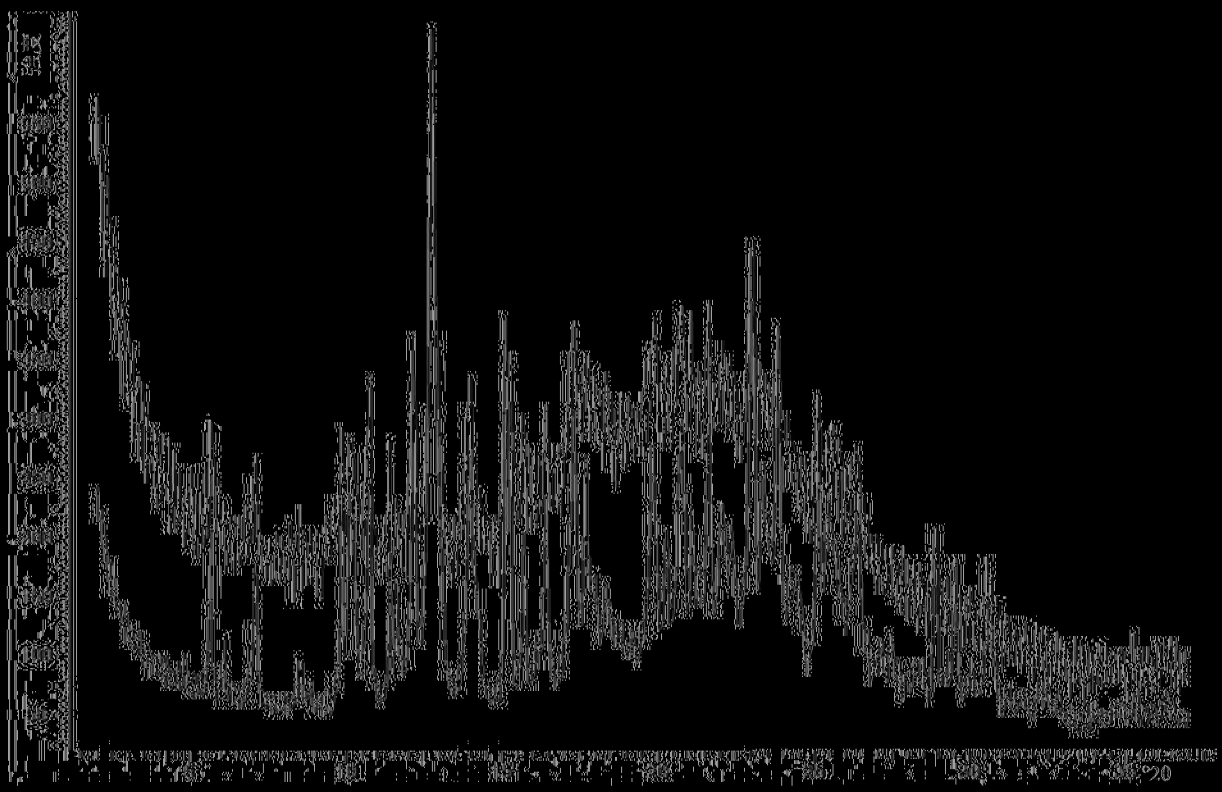


圖42：實例8b (微粉化)的X射線粉末繞射圖的疊加圖：起始材料(單水合物II)(上部線)和微粉化後的材料(具有非晶形數量的單水合物II，經PTFE塗覆的質射研磨機，25°C) (下方線)

|(圖42)|

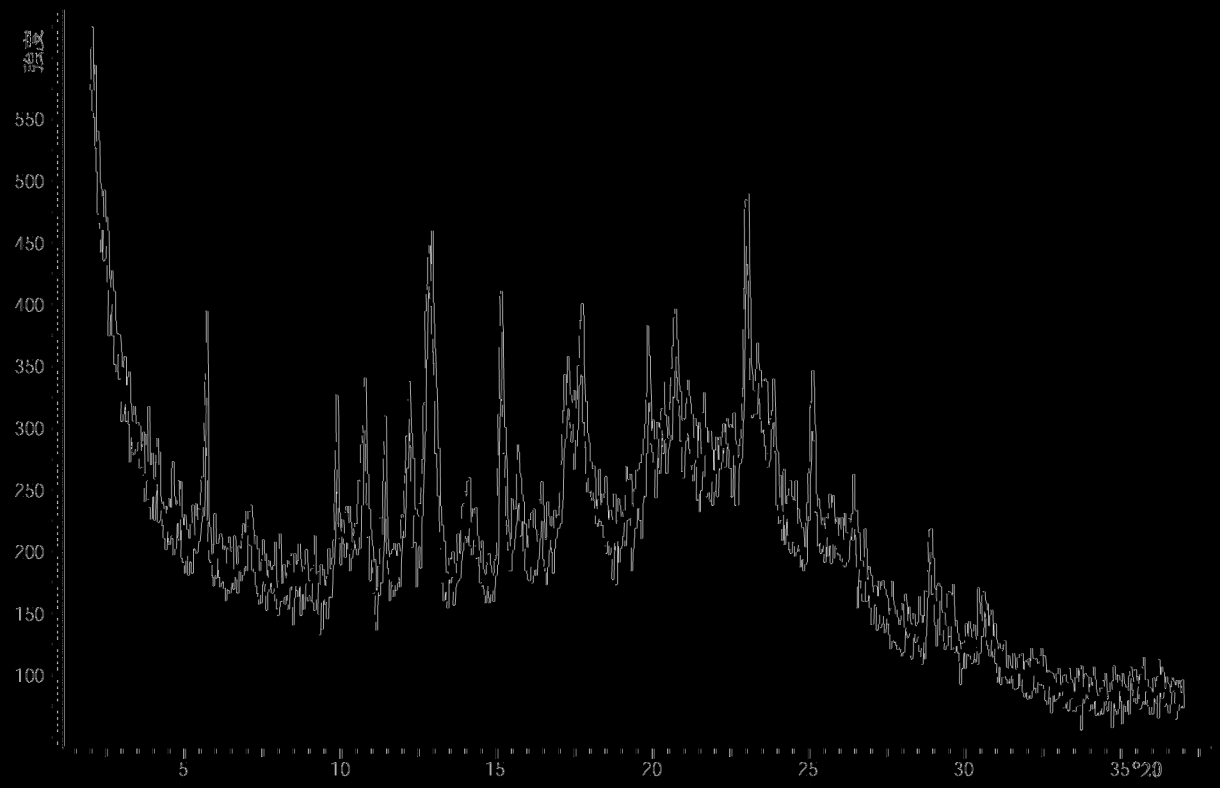


圖43：實例8a的X射線粉末繞射圖：微粉化後的材料(具有非晶形數量的單水合物I，VANTEC-1檢測器，25℃)

(圖43)

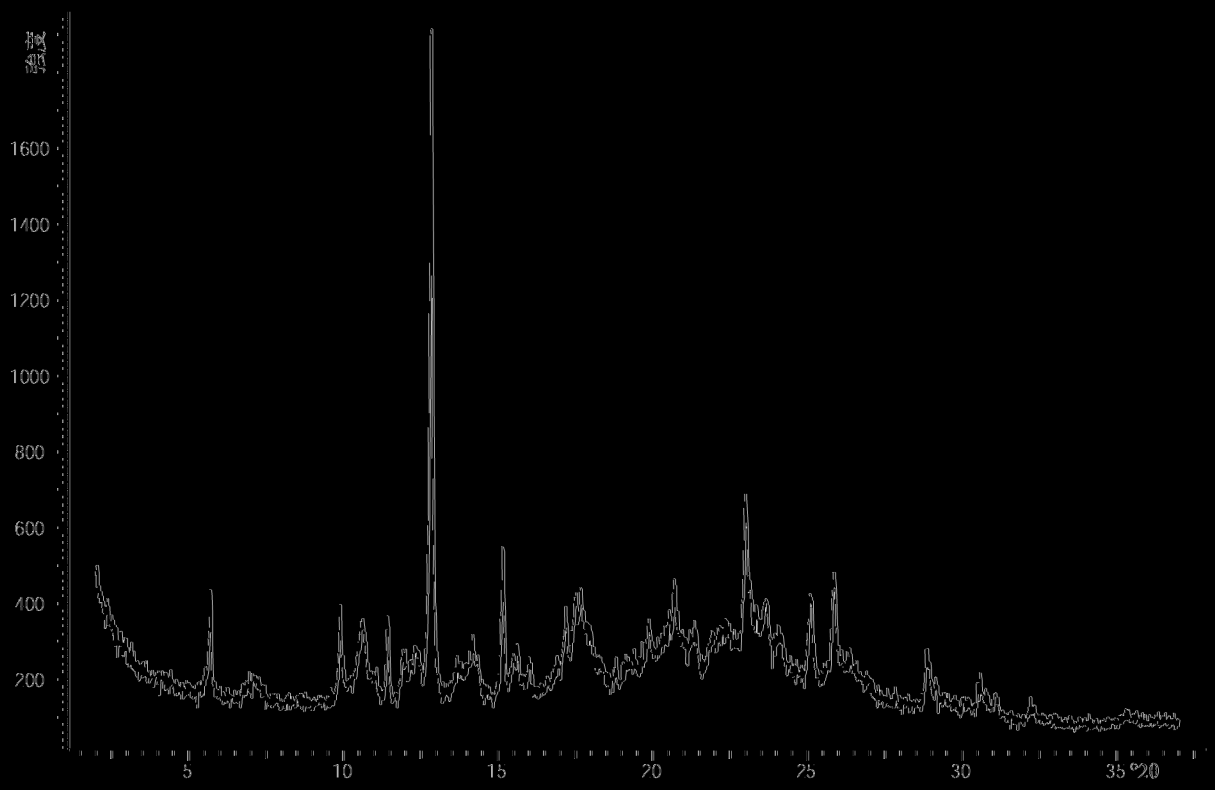
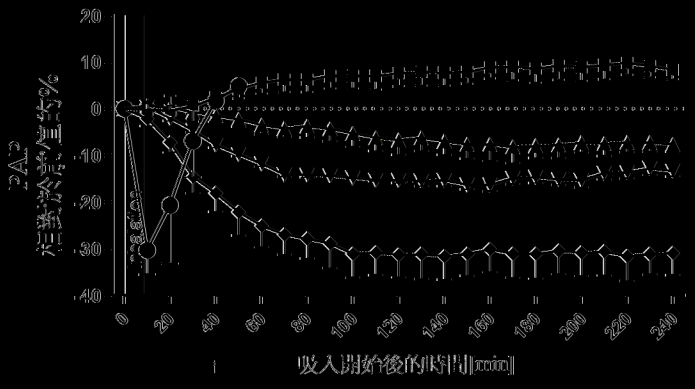


圖44：X射線粉末繞射圖(實例8e) (微粉化)：微粉化後(半水合物I)

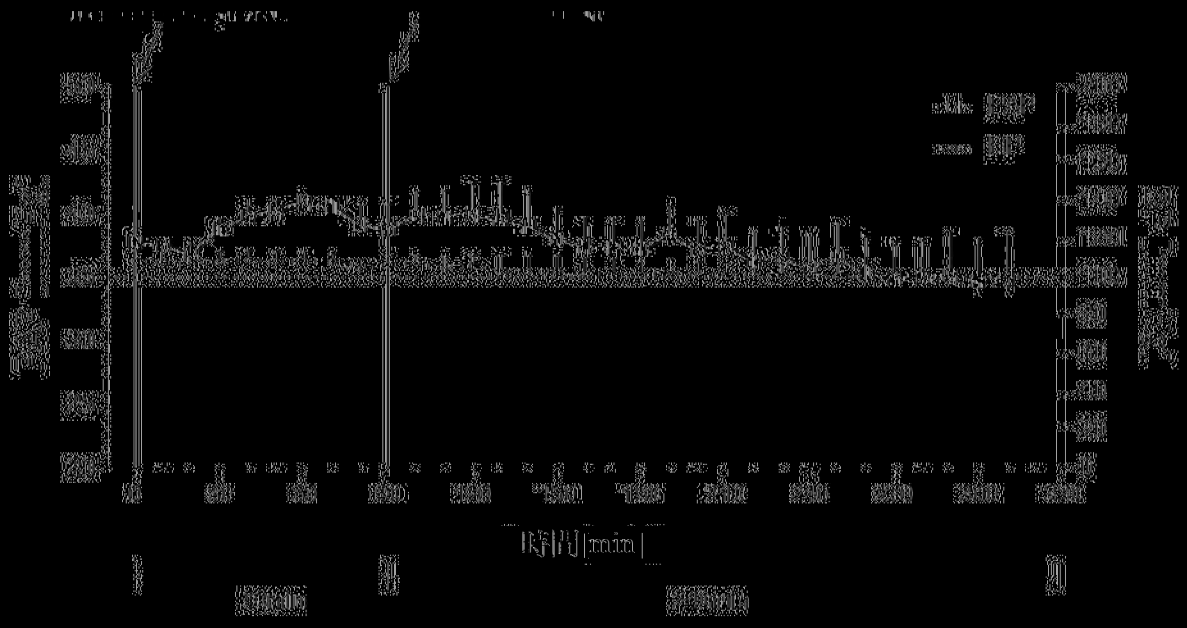
(圖44)



- 媒劑
- Ventavis
- 比較例11 10 μg/kg
- 比較例11 30 μg/kg
- 比較例11 100 μg/kg

圖45：媒劑溶液、比較例11 (10、30和100 μg/kg 標稱劑量)和Ventavis (10 μg/kg標稱劑量)在PAH小型豬模型中吸入施用後的作用。數據表示為PAP和BP相對於基線的%變化(雾化開始前的10分鐘區間)。數據是平均值±SEM。所有化合物的雾化區間都要5-7分鐘(灰色條)。

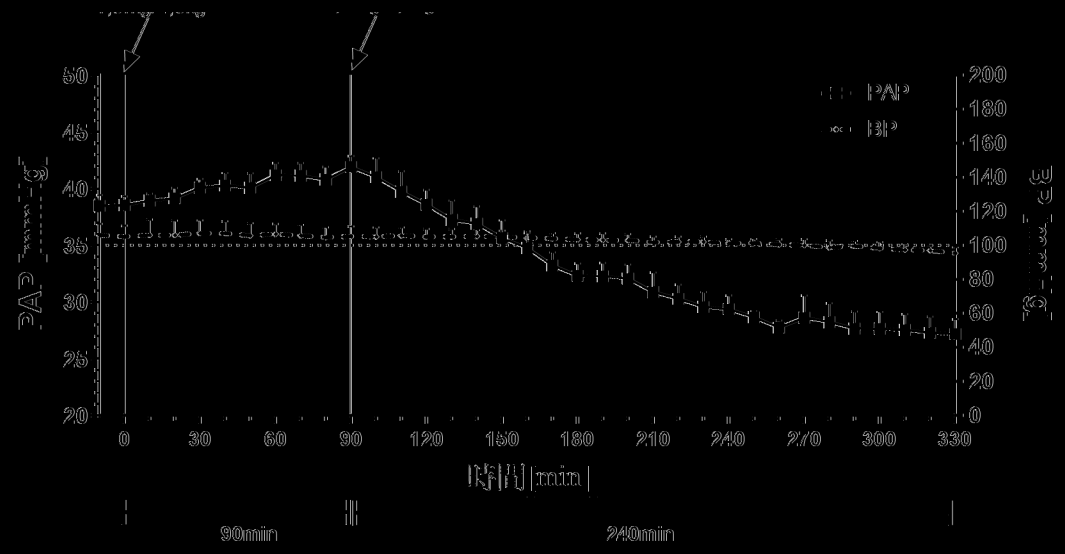
(圖45)



@0 min：乳糖1.5mg/kg；@90 min：乳糖配製物I (2%) 1.5 mg/kg

圖46：乳糖以及乳糖配製物I (7.5 μg/kg)在氣管內施用後的作用。數據為平均值±SEM (n = 3)；用PennCentury乾粉吸入器和鼠鼻進行氣管內施用；BP：動脈血壓；PAP：肺動脈壓；SEM：平均值的標準偏差

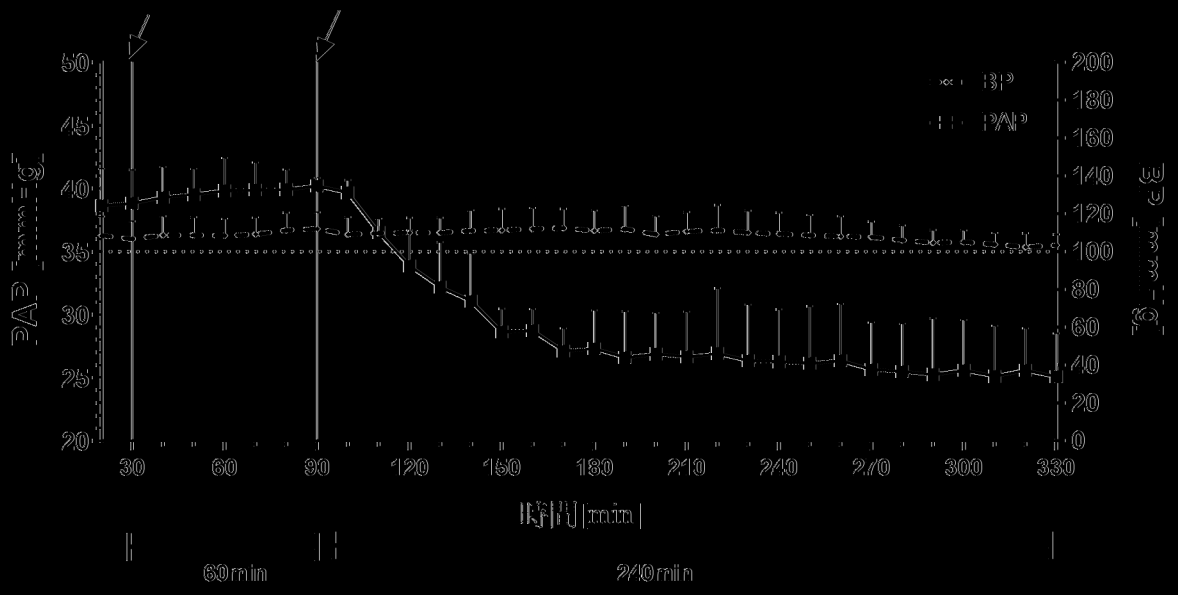
(圖46)



↙@0 min：乳糖1.5mg/4kg；@90 min：乳糖配製物II (6%) 1.5 mg/4kg

圖47：乳糖以及乳糖配製物II (22.5 μg/kg)在氣管內施用後的作用。數據為平均值±SEM (n = 3)；用PennCentury乾粉吸入器和氣泵進行氣管內施用；BP：動脈血壓；PAP：肺動脈壓；SEM：

|(圖47)|



↓@30 min：乳糖1.5mg/kg；@90 min：微粉化實例6c 1.5 mg/kg

圖48：乳糖和微粉化合半水合物(例如I實例6c (3.75 μg/kg))氣管內施用後的作用。數據為平均值 ± SEM (n = 3)。用PennCentury乾粉吸入器和氣泵進行氣管內施用；BP：動脈血壓；PAP：肺動脈壓；SEM：平均值的標準偏差

|(圖48)|

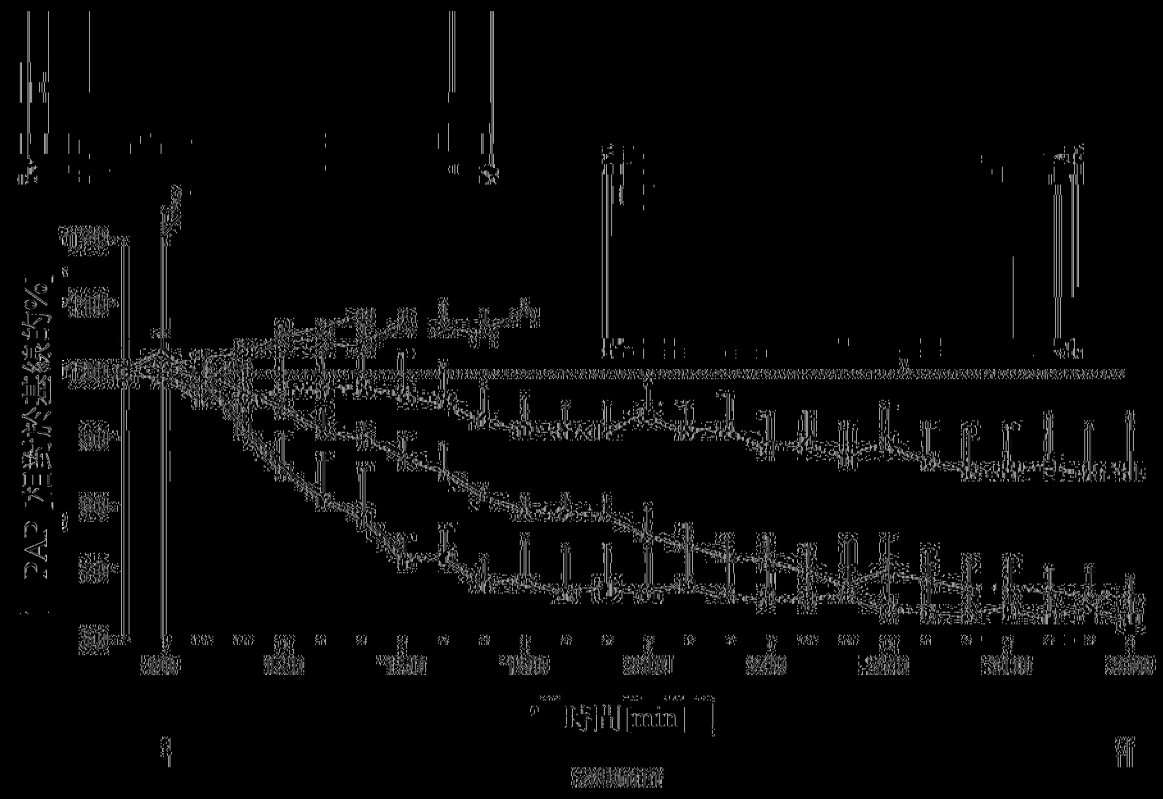
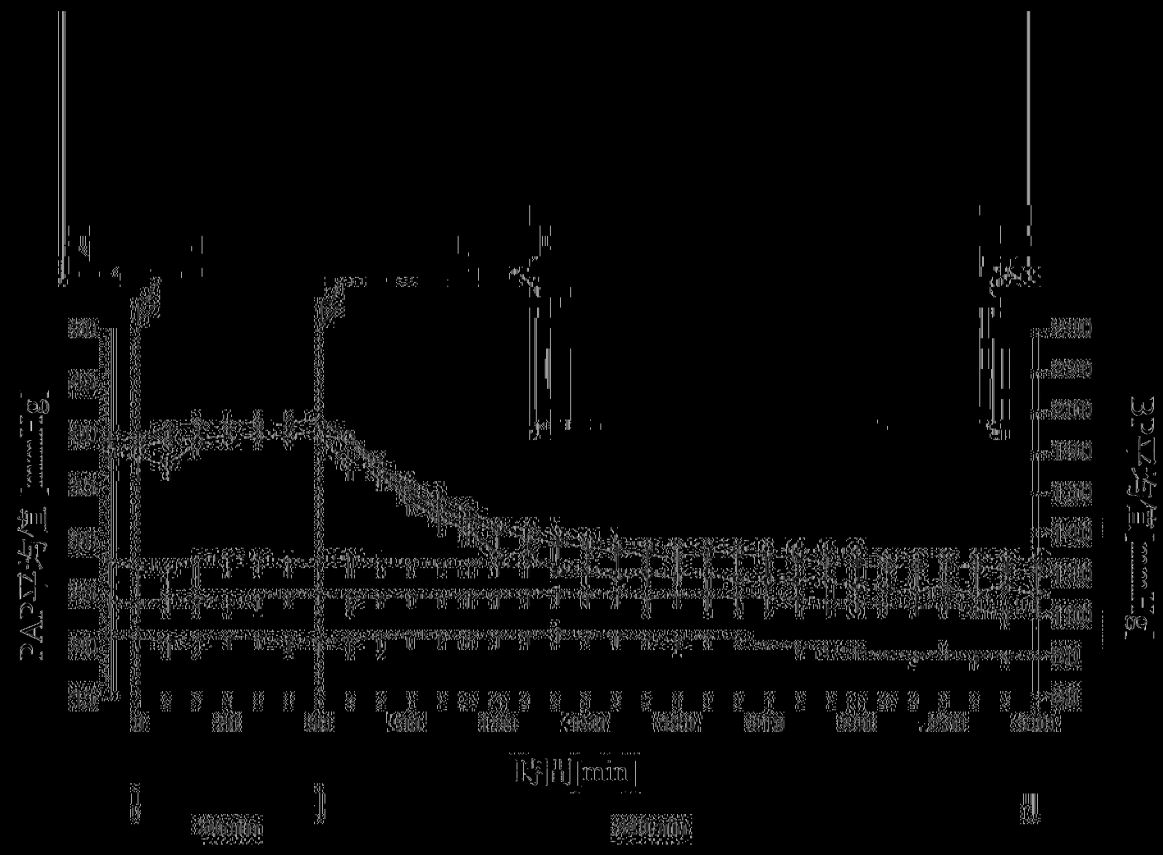


圖49：氣管內施用不同乳糖媒劑、乳糖配製物I (7.5 μg/kg)、乳糖配製物II (22.5 μg/kg)和微粉化倍半水合物實例6c (37.5 μg/kg)的作用。數據顯示為相對於前值的%變化，作為平均值 ± SEM(n = 3)

(圖49)



↙@0 min：乳糖LH300/LH200 1.5mg/4kg @60min：比較例11的微粉化水合物1.5mg/4kg

- PAP平均值，單水合物II，實例2 (n 3)
- BP平均值，單水合物II，實例2 (n 3)
- PAP平均值，類似於實例6a的半水合物(n 3)
- BP平均值，類似於實例6a的半水合物(n 3)
- PAP平均值，類似於實例6c的倍半水合物(n 3)
- BP平均值，類似於實例6c的倍半水合物(n 3)

圖50：比較例11在氣管內施用不同水合物微粉化單水合物II (實例2)、微粉化半水合物(實例6a)和微粉化倍半水合物(實例6c)後對BP和PAP的作用。數據顯示為絕對值[mmHg]，作為平均值 ± SEM(n 3)

(圖50)

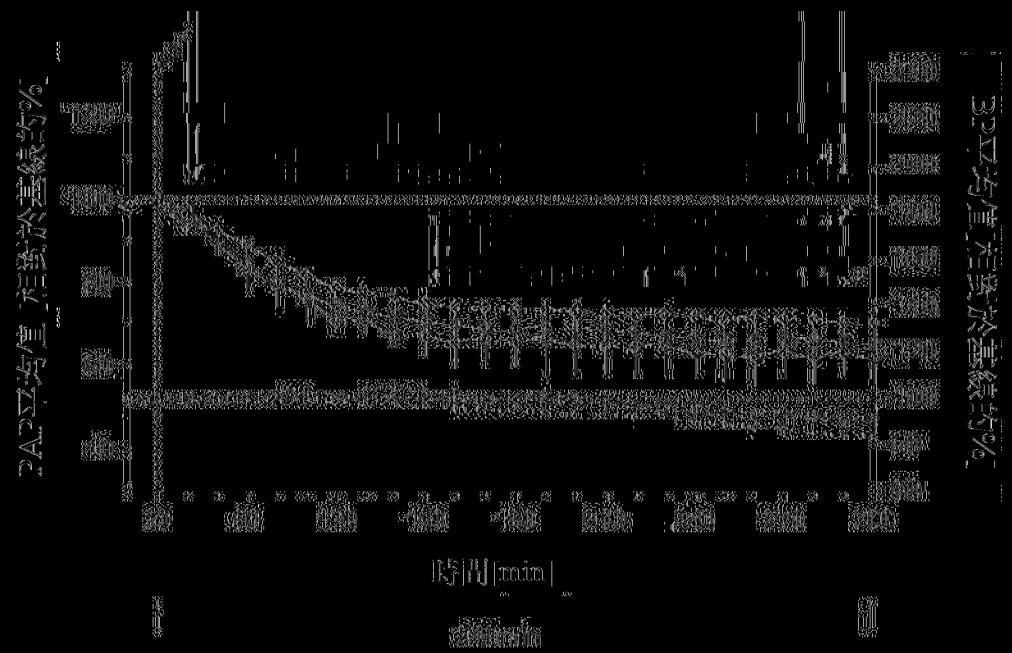


圖51：比較例11在氣管內施用不同水合物微粉化單水合物II (實例2)、微粉化半水合物(實例6a)和微粉化倍半水合物(實例6c)後對BP和PAP的作用。數據顯示為絕對值 mmHg]，作為平均值 ± SEM(n 3)

[(圖51)]

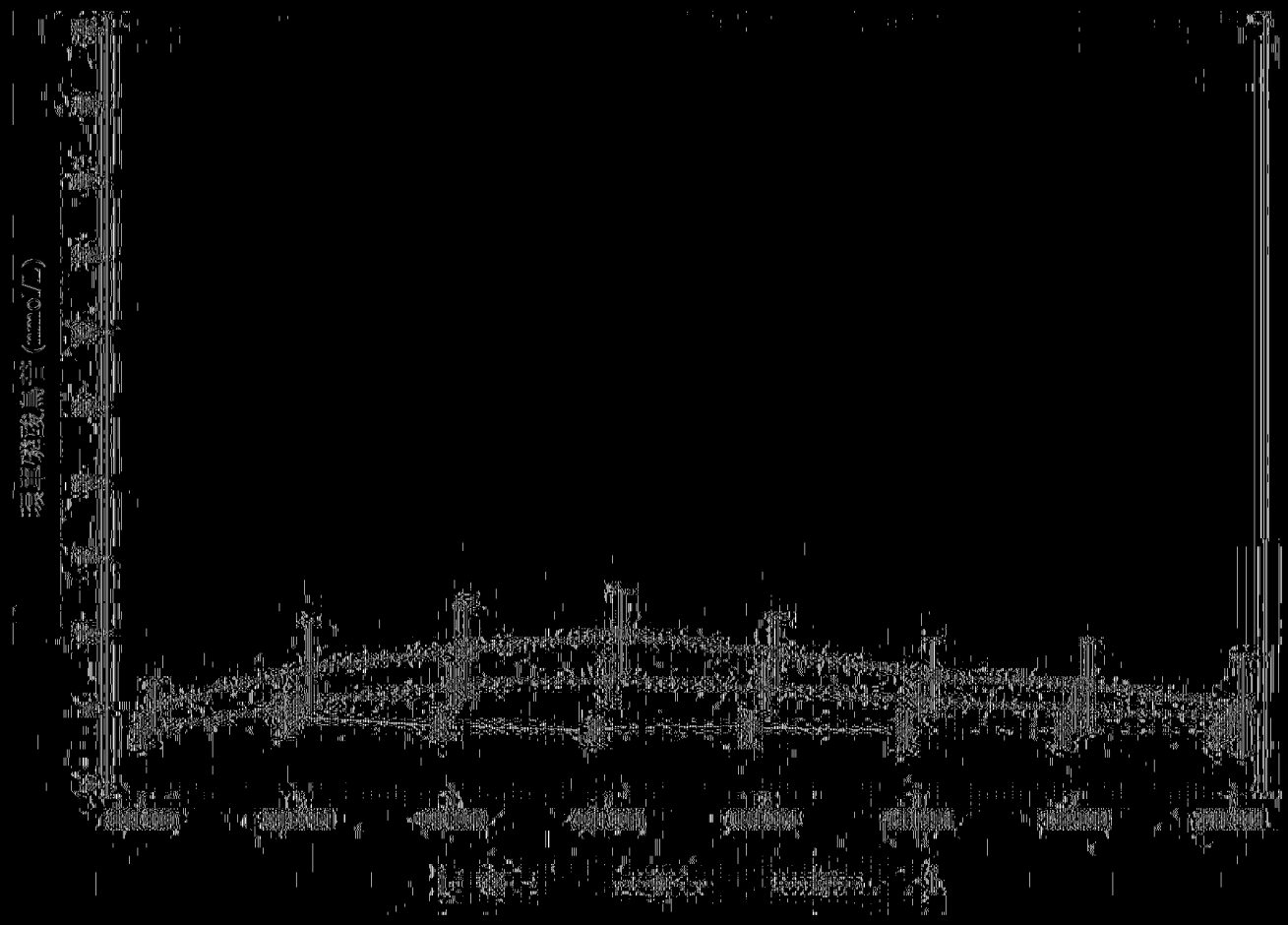


圖52：cGMP (nmol/L)的平均值 ± SD，480 μg (實例2)制品組的治療前(第1天)、第 7天(第1天)以及最後 7天(第8天)治療的比較(SAF，N = 9)

|(圖52)|

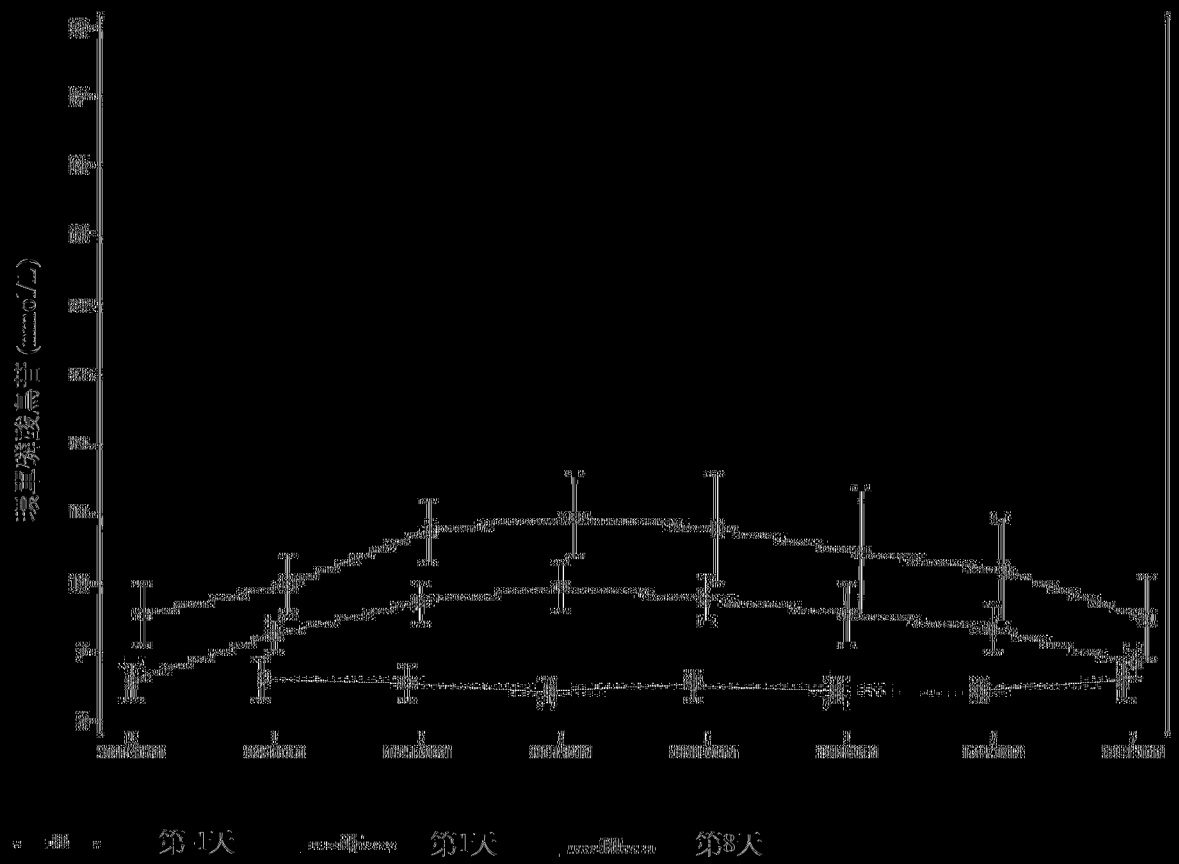


圖53：cGMP (nmol/L)的平均值 ± SD，1000 μg (實例2)劑量組的治療前(第1天)、第一次(第1次)以及最後一次(第8次)治療的比較(SAF，N = 9)

(圖53)

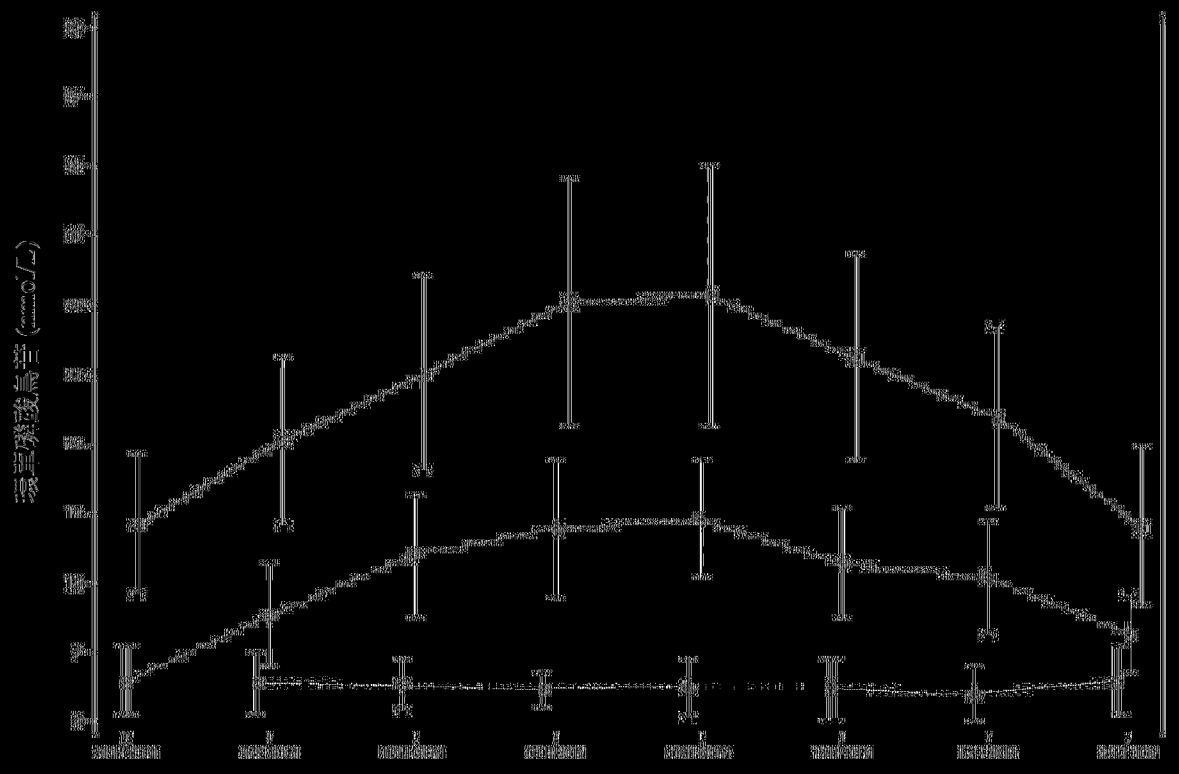


圖54：cGMP (nmol/L)的平均值 ± SD，2000 μg (實例2)劑量組的治療前(第-1天)、第一天(第1天)以及最後一天(第8天)治療的比較(SAF，N = 9)

|(圖54)|

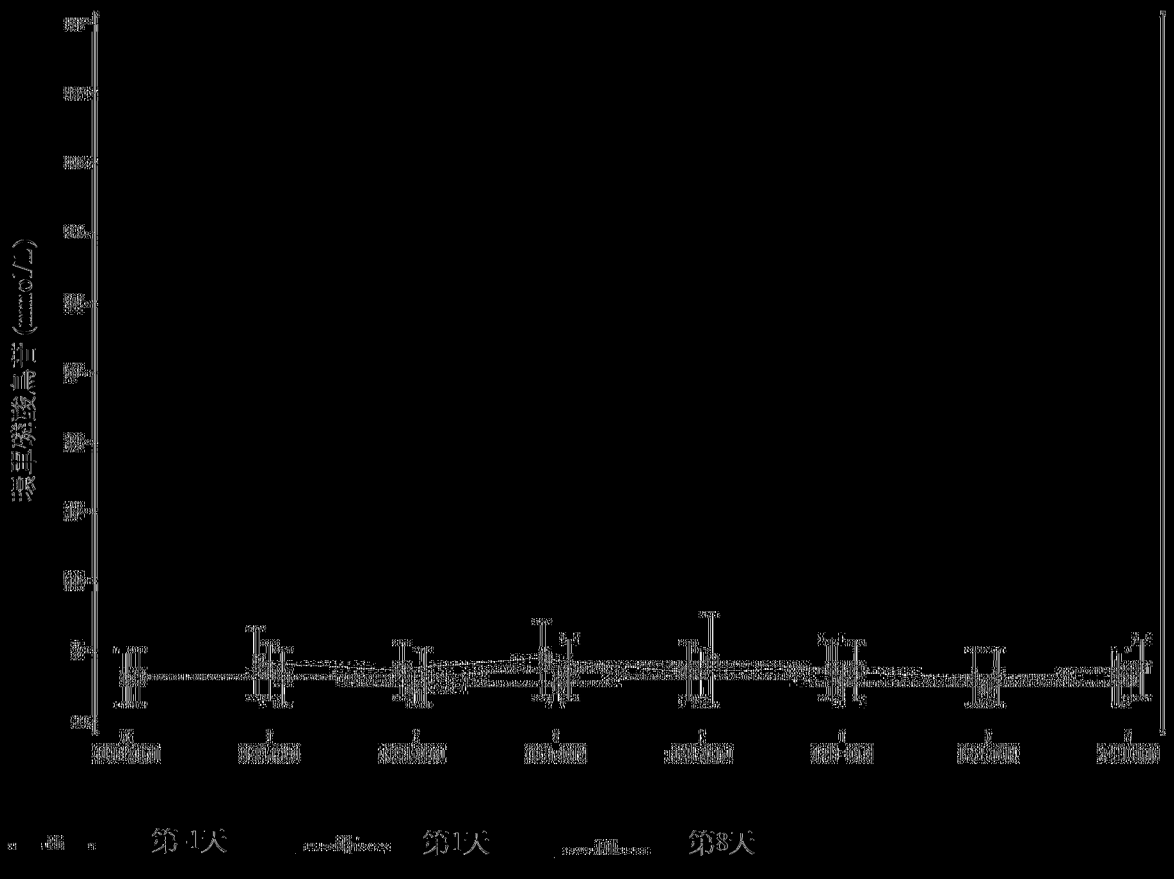


圖55：cGMP (nmol/L)的中位值＋SD－安慰劑組的治療天數比較(SAF，N＝9)

(圖55)

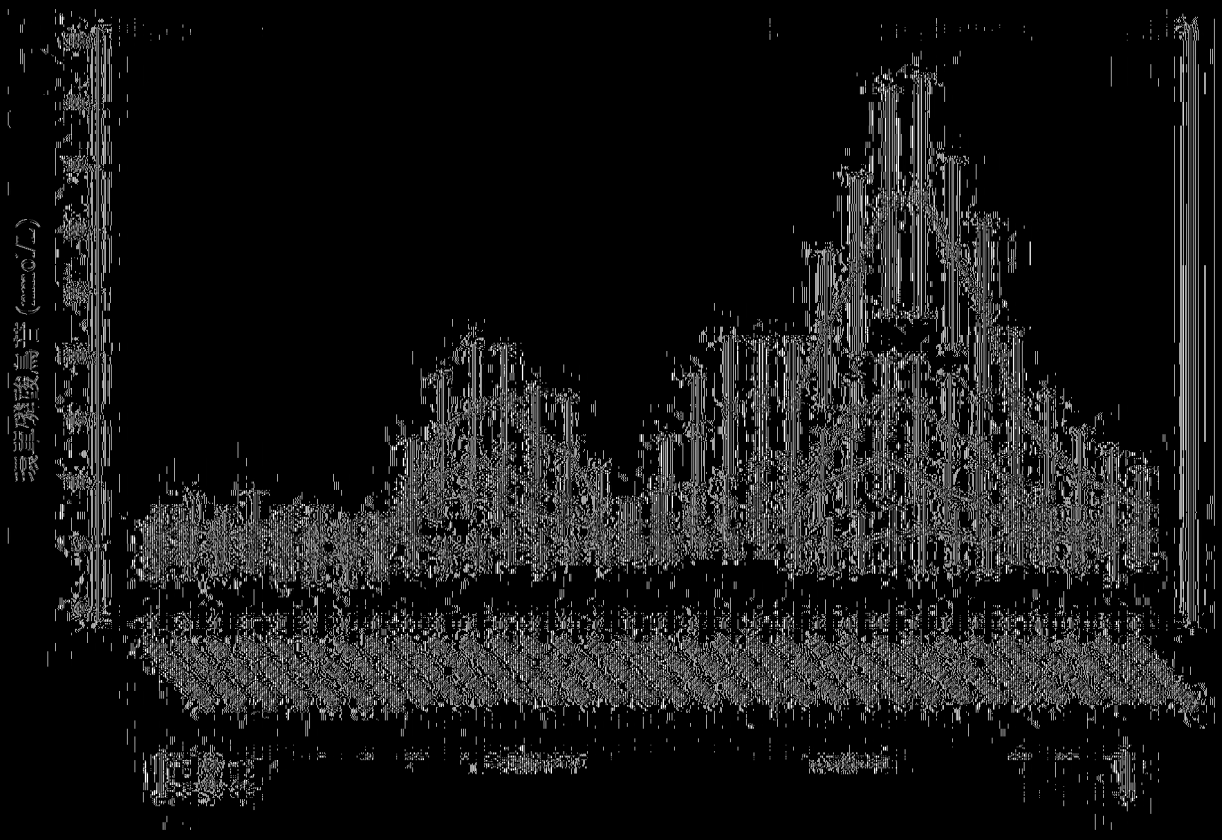


圖56：在基線（-1d02h至0d00h)第一次吸入後(0d00h至2d00h)，2d00h至7d00h和7天吸入之後(7d00h至10d00h)的各測量值，靜液中cGMP (nmol/L)隨時間推移的平均值±SD (N=9)。

|(圖56)|

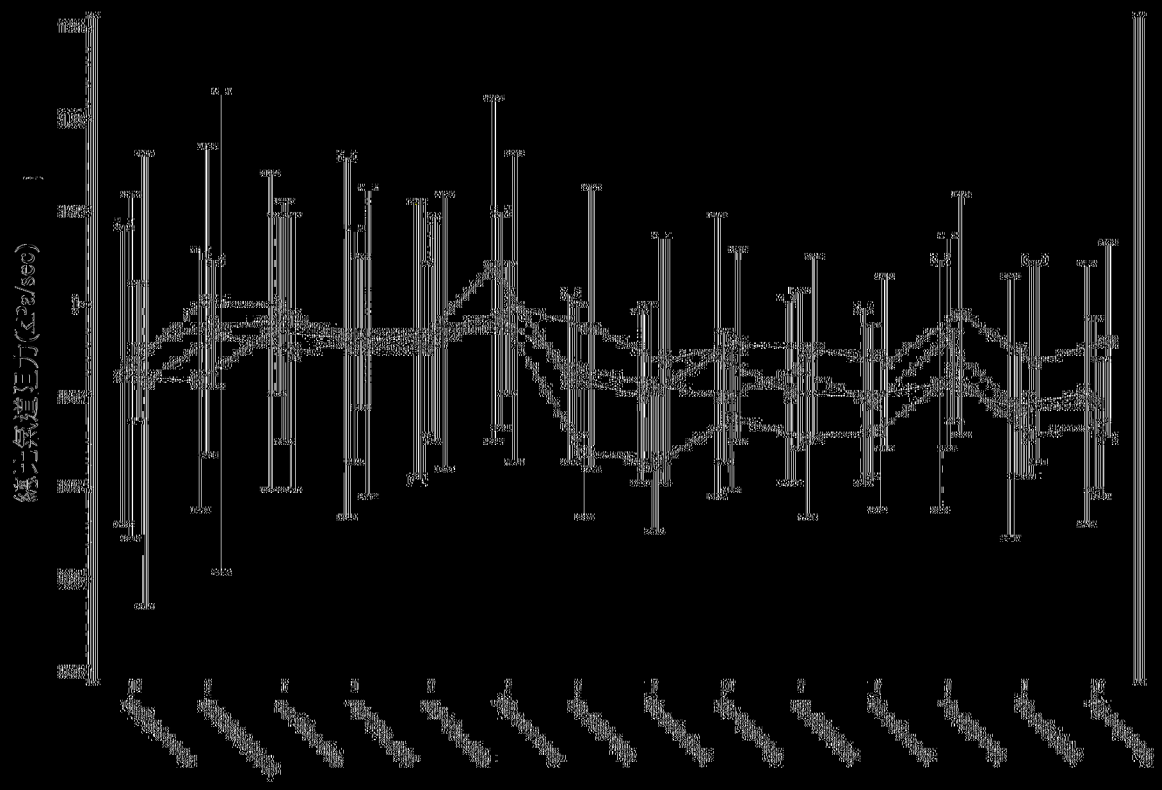


圖57：篩選1/2、基線日(-1d00h～0d00h)第一次吸入日(0d00h～0d06h)，吸入後2d02h～6d04h)和7天吸入後(7d00h～7d06h)的測量值，總比氣道阻力(kPa/sec)隨時間推移的平均值(N＝36，480、1000和2000 μg各為12，實例2)與SD。

|(圖57)|

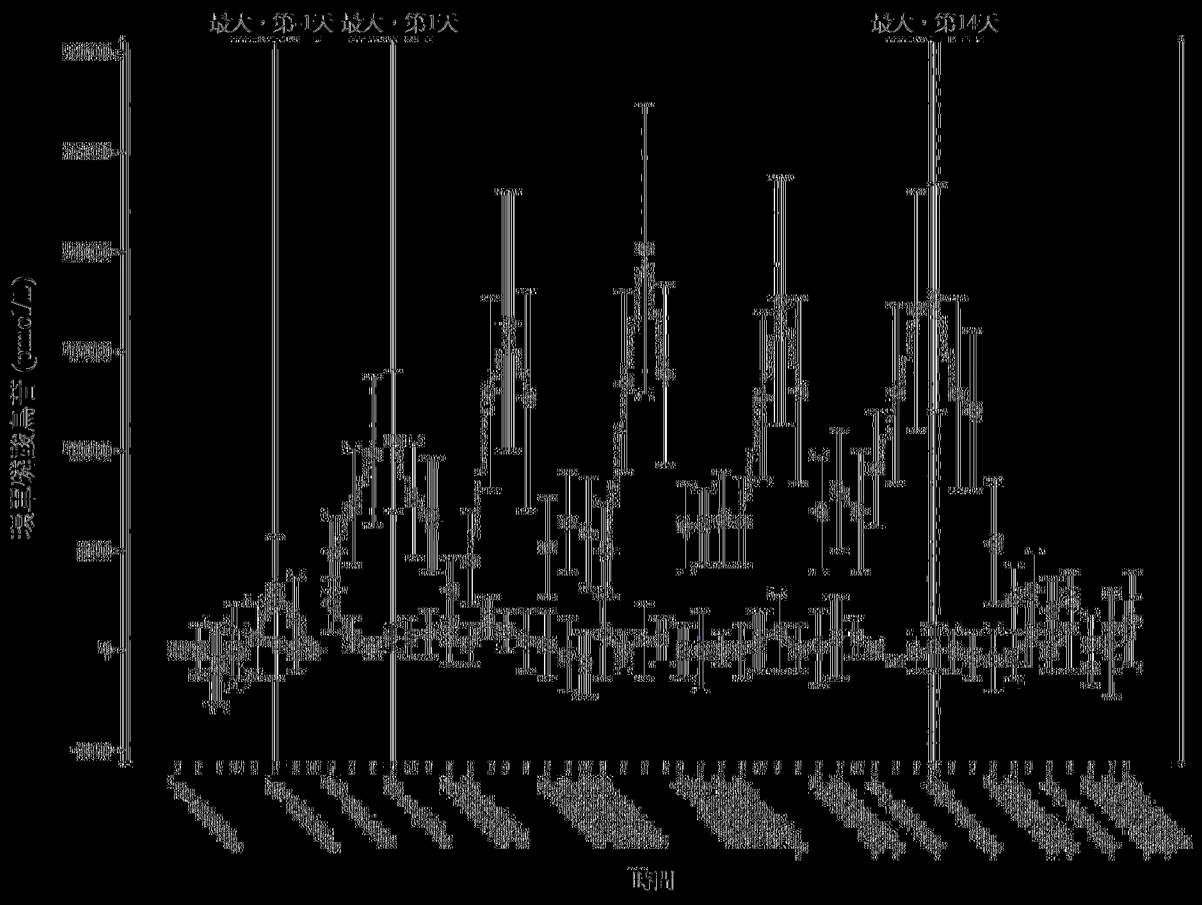


圖58：在治療前當日(-1d00h至-0d09h)第一次吸入日(0d02h至1d00h；)，在吸入之前和之後2d00h、2d12h、6d00h、6d12h、10d00h、10d12h(分析日)的測量值、在第3d、5d、7d、9d、11d、12d天吸入之前，以及14天吸入的最後一天(12d22h至20d00h)的谷，cGMP(nmol/L)隨時間推移相對於基線的差異的平均值(安慰劑(N=4)和1000 μg (N=17)實例4)。

(圖58)

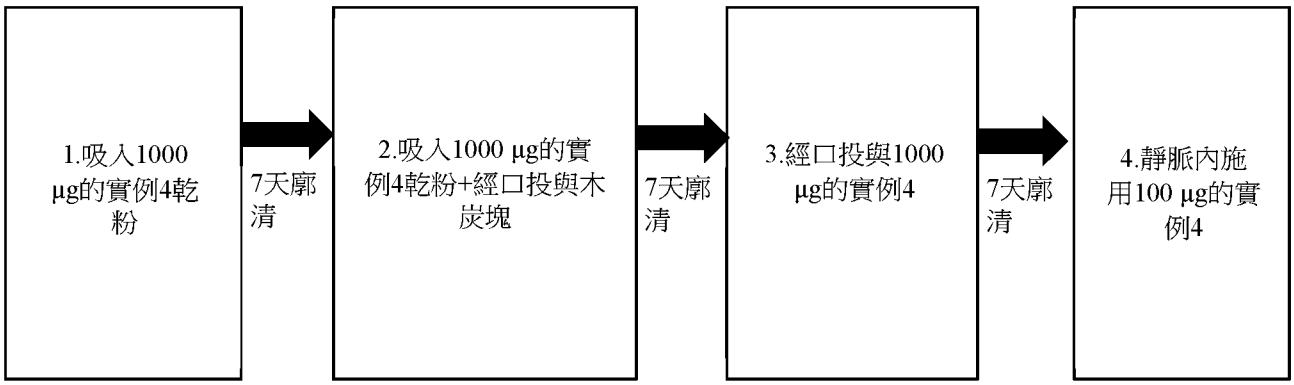
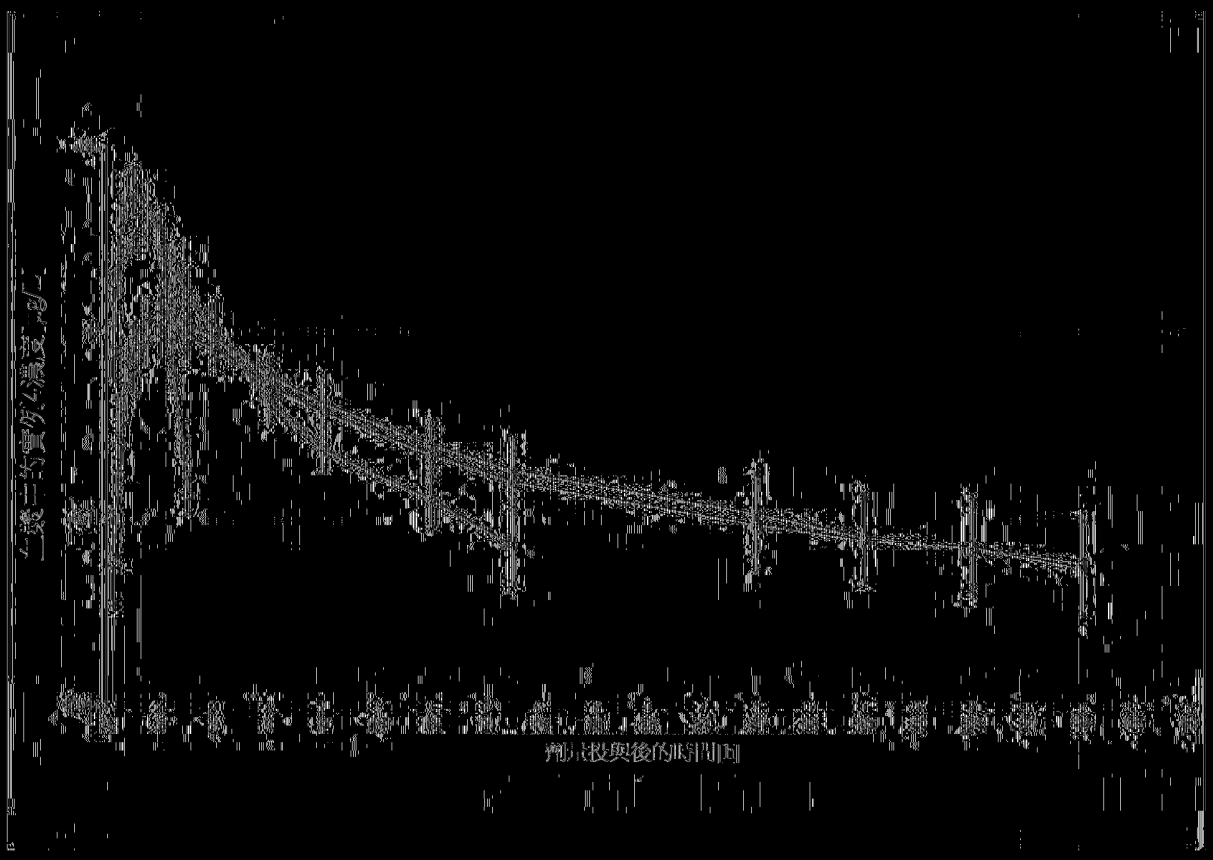


圖59：為研究肺部沉積而進行治療的方案

【圖59】



■ 100 μg實例4靜脈內，n=15

▲ 1000 μg吸入實例4，n=16

▼ 1000 μg吸入實例4：木炭，n=16

◆ 1000 μg經口劑量的實例4，n=16

圖60：血漿中實例4濃度(μg/L)的幾何平均值和標準偏差，半對數尺度。

(圖60)

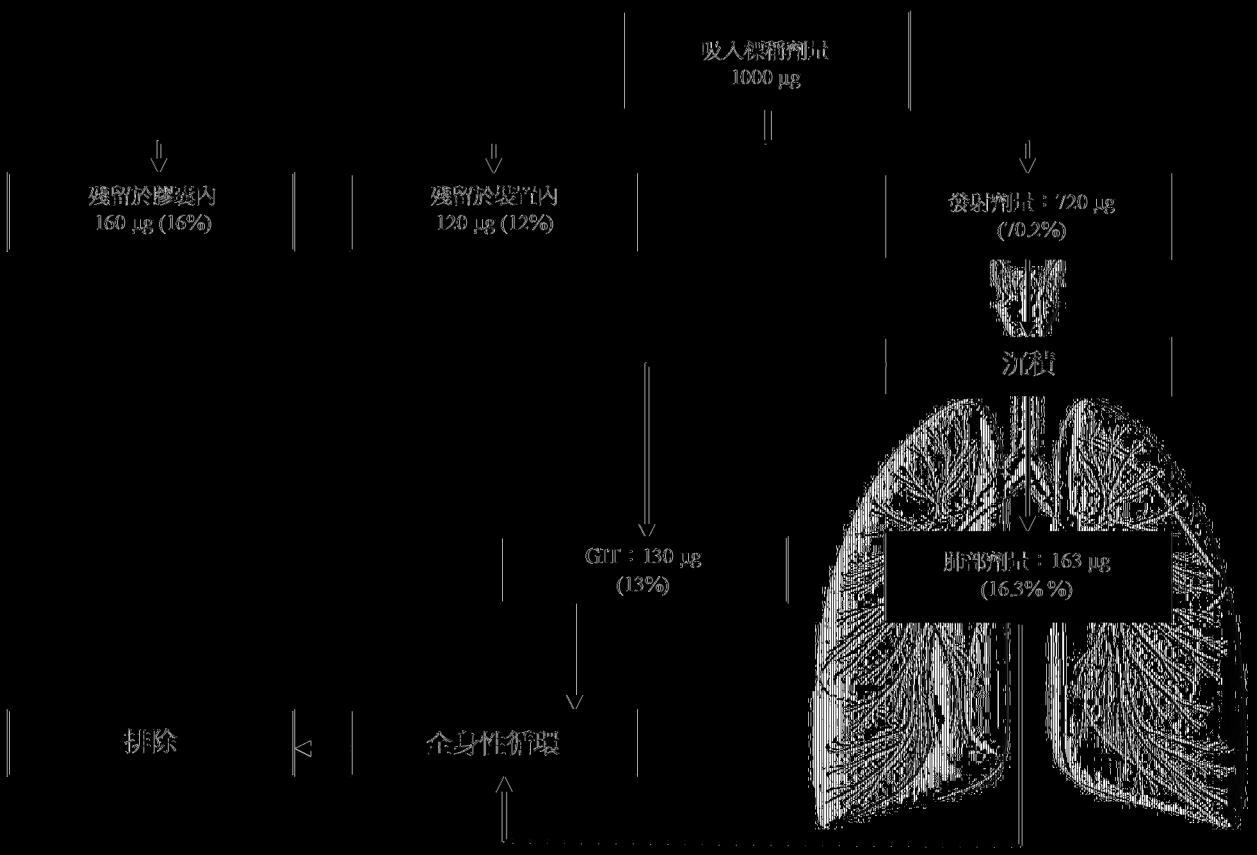


圖61：部分劑量到達吸嘴(發射劑量)，而部分劑量殘留在膠囊中、在裝置中，沉積的肺部劑量和部分劑量到達GIT道

(圖61)

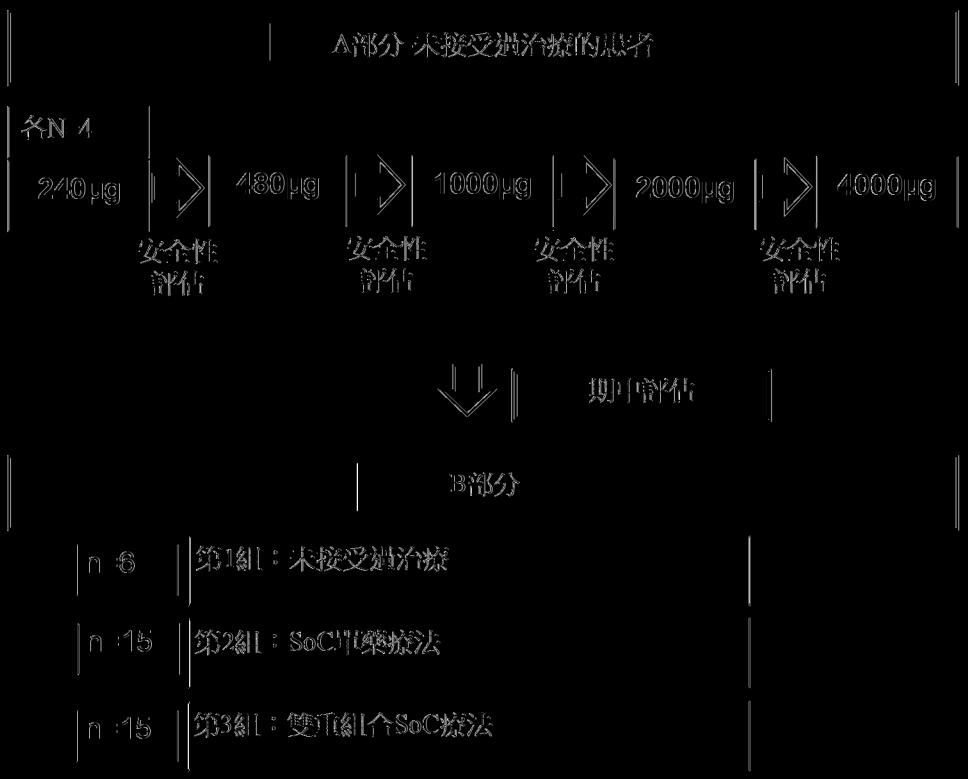


圖62：PAH或CTEPH患者臨床研究的研究設計

（圖62）



*SAF：安全性分析組：所有患者符合納入與排除標準(IC/EC)

*PPS：依照方案組：IC/EC符合：PVR > 400 dyn，PAP在吸入期間降低

- 一氧化氮(NO)挑戰< 10 mmHG (排除血管反應性))

圖63：在PAH或CTEPH患者中進行的臨床研究A部分總結

|(圖63)|

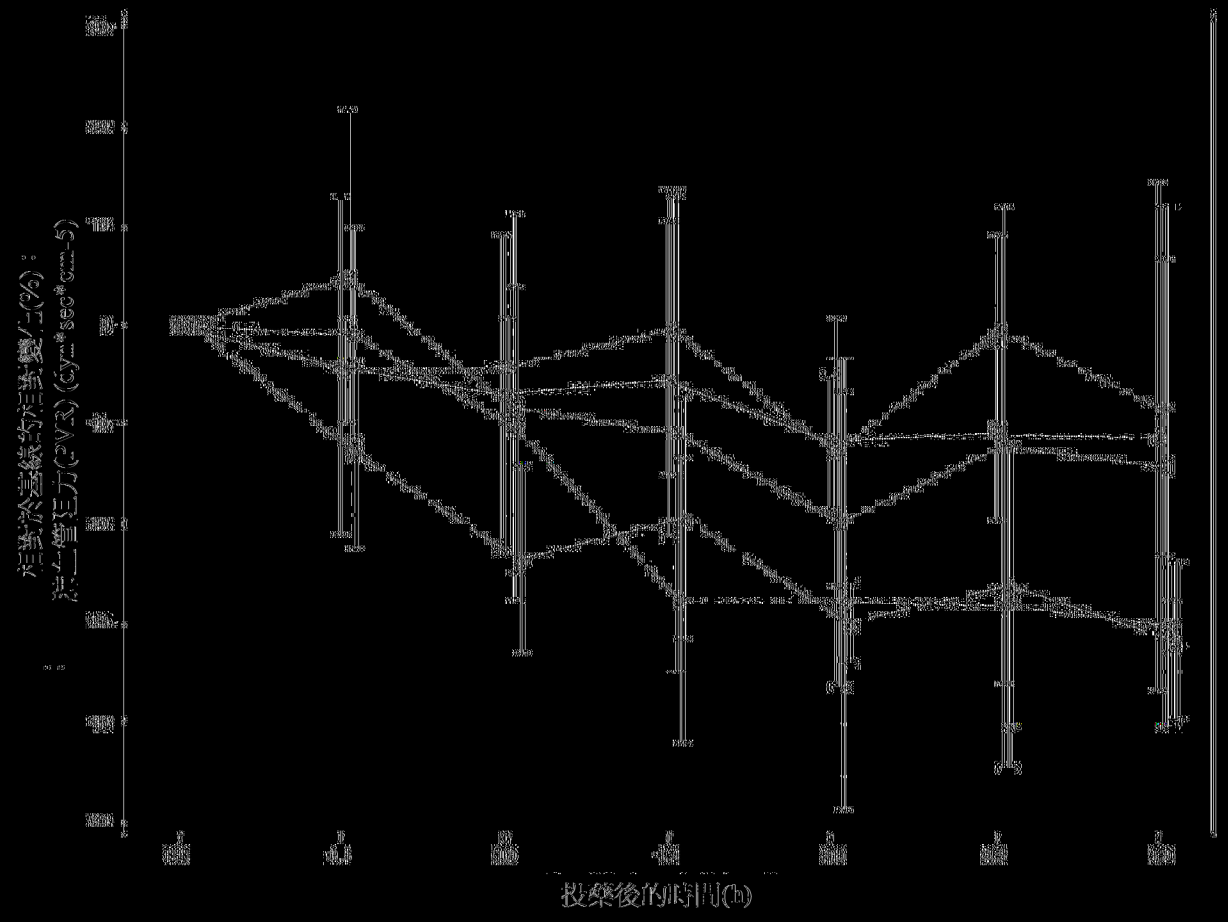


圖64：在PAH或CTEPH患者中，吸入實例4之後(0D00H30M至0D03H00M)，肺血管阻力(PVR)隨時間推移相對於基線(0D00H00M)的相對變化(%)的平均值和SD(240、480、1000、2000和4000 μg組各N = 4，按照方案組)

(圖64)

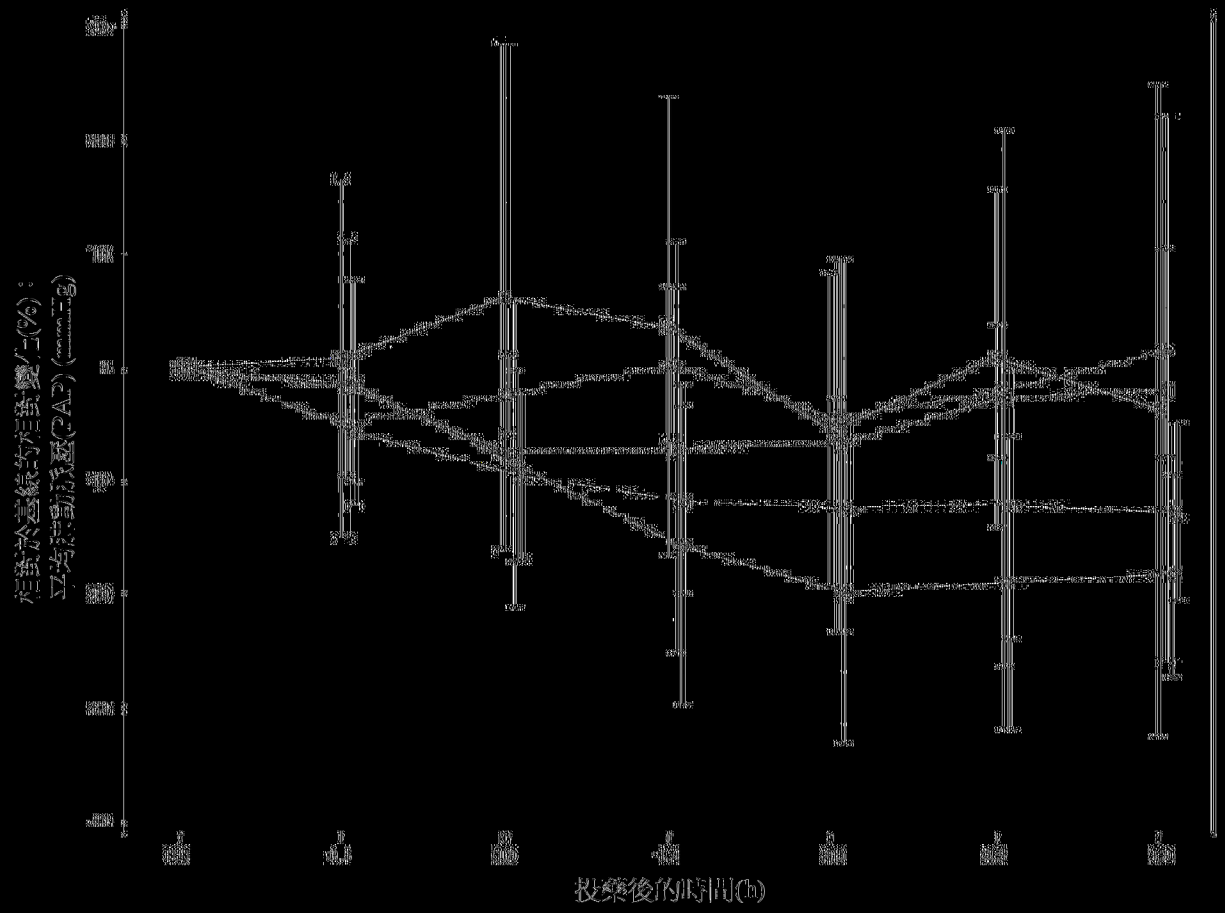


圖65：在PAH或CTEPH患者中，吸入實例4之後(0D00H30M至0D03H00M)，平均肺動脈壓(mPAP)隨時間推移相對於基線(0D00H00M)的相對變化(%)的平均值和SD (240、480、1000、2000和4000 μg組各N = 4，按照方案組)。

|(圖65)|