201710256

(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 201710256 A

(43)公開日： 中華民國 106 (2017) 年 03 月 16 日

(21)申請案號：105111608 (22)申請日： 中華民國 105 (2016) 年 04 月 14 日

(51)Int. Cl.： *C07D471/04 (2006.01)* *A61K31/437 (2006.01)*
A61P29/00 (2006.01) *A61P35/00 (2006.01)*
A61P37/02 (2006.01)

(30)優先權：2015/04/24 英國 1507031.1
2015/04/24 英國 1507036.0

(71)申請人：波羅馬恩有限公司 (英國) PROXIMAGEN LIMITED (GB)
英國

(72)發明人：沙歐 愛德華 SAVORY, EDWARD (GB)；希伯頓 麥克 HIGGINBOTTOM, MICHAEL (GB)

(74)代理人：陳昭誠

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：25 項 圖式數：4 共 46 頁

(54)名稱

新穎醫藥鹽形態及結晶形態

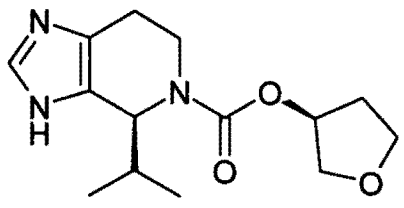
NEW PHARMACEUTICAL SALT FORMS AND CRYSTALLINE FORMS

(57)摘要

本發明係有關一種(4S)-4-異丙基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3S)-四氫呋喃-3-基酯之新穎鹽形態、及其於醫學中之用途。本發明亦有關一種(4S)-4-異丙基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3S)-四氫呋喃-3-基酯之結晶甲磺酸鹽形態，及其於醫學中之用途。

The present invention relates to new salt forms of (3S)-Tetrahydrofuran-3-yl(4S)-4-isopropyl-1,4,6,7-tetrahydro -5H-imidazo[4,5-c]pyridine-5-carboxylate, and to their use in medicine. This invention relates also to a crystalline mesylate salt form of (3S)-Tetrahydrofuran-3-yl(4S)-4-isopropyl-1,4,6, 7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-c]pyridine-5-carboxylate, and to the use of the same in medicine.

特徵化學式：



201710256

發明摘要

※申請案號：105111608

※申請日： 105. 4. 14

※IPC分類：C07D 471/04 (2006.01)
A61K 31/437 (2006.01)
A61P 29/00 35/00 37/02 (2006.01)

【發明名稱】(中文/英文)

新穎醫藥鹽形態及結晶形態

NEW PHARMACEUTICAL SALT FORMS AND CRYSTALLINE FORMS

【中文】

本發明係有關一種(4S)-4-異丙基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3S)-四氫呋喃-3-基酯之新穎鹽形態、及其於醫學中之用途。本發明亦有關一種(4S)-4-異丙基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3S)-四氫呋喃-3-基酯之結晶甲磺酸鹽形態，及其於醫學中之用途。

【英文】

The present invention relates to new salt forms of (3S)-Tetrahydrofuran-3-yl(4S)-4-isopropyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-c]pyridine-5-carboxylate, and to their use in medicine. This invention relates also to a crystalline mesylate salt form of (3S)-Tetrahydrofuran-3-yl(4S)-4-isopropyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-c]pyridine-5-carboxylate, and to the use of the same in medicine.

【代表圖】

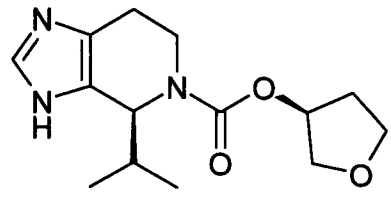
【本案指定代表圖】：本案無指定代表圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：無。

由於本案的圖僅係試驗數據，並非本案的代表圖。

故本案無指定代表圖。

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：



發明專利說明書

（本說明書格式、順序，請勿任意更動）

【發明名稱】（中文/英文）

新穎醫藥鹽形態及結晶形態

NEW PHARMACEUTICAL SALT FORMS AND CRYSTALLINE FORMS

【技術領域】

【0001】 本發明係有關一種(4S)-4-異丙基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3S)-四氫呋喃-3-基酯之新穎鹽形態、及其於醫學中之用途。本發明亦有關一種(4S)-4-異丙基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3S)-四氫呋喃-3-基酯之結晶甲磺酸鹽形態，及其於醫學中之用途。

【先前技術】

【0002】 胺基脲-敏感性胺氧化酶(Semicarbazide-sensitive amine oxidase)(SSAO)活性係由血管黏附蛋白質-1(Vascular Adhesion Protein-1)(VAP-1)或含銅胺氧化酶 3(Amine Oxidase, Copper Containing 3)(AOC3)(屬於含銅胺氧化酶酵素家族(EC.1.4.3.6))所表現之酵素活性。因此 SSAO 酵素之抑制劑亦可調控 VAP-1 蛋白質之生物功能。

【0003】 SSAO 活性已出現在各種不同組織，包括血管與非血管平滑肌組織、內皮、與脂肪組織[Lewinsohn, *Braz. J. Med. Biol. Res.* **1984**, *17*, 223-256；Nakos & Gossrau, *Folia Histochem. Cytobiol.* **1994**, *32*, 3-10；Yu 等人之 *Biochem.*

Pharmacol. **1994**, *47*, 1055-1059；Castillo 等人之 *Neurochem. Int.* **1998**, *33*, 415-423；Lyles & Pino, *J. Neural. Transm. Suppl.* **1998**, *52*, 239-250；Jaakkola 等人之 *Am. J. Pathol.* **1999**, *155*, 1953-1965；Morin 等人之 *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2001**, *297*, 563-572；Salmi & Jalkanen, *Trends Immunol.* **2001**, *22*, 211-216]。此外，SSAO 蛋白質出現在血漿中，此可溶形態似乎具有類似組織結合形態之性質[Yu 等人之 *Biochem. Pharmacol.* **1994**, *47*, 1055-1059；Kurkijärvi 等人之 *J. Immunol.* **1998**, *161*, 1549-1557]。

【0004】 此多種酵素之正確生理角色尚未完全確定，但 SSAO 與其反應產物似乎在細胞訊號傳導與調節中具有數種功能。例如：近來的結果顯示 SSAO 在 GLUT4-介導之葡萄糖吸收[Enrique-Tarancon 等人之 *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 8025-8032；Morin 等人之 *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2001**, *297*, 563-572]與脂肪細胞分化[Fontana 等人之 *Biochem. J.* **2001**, *356*, 769-777；Mercier 等人之 *Biochem. J.* **2001**, *358*, 335-342]二者上扮演某種角色。此外，SSAO 已顯示涉及發炎過程，其係作為白血球之黏附蛋白質[Salmi & Jalkanen, *Trends Immunol.* **2001**, *22*, 211-216；Salmi & Jalkanen 述於「*Adhesion Molecules: Functions and Inhibition*」K. Ley (Ed.), **2007**, pp. 237-251]，而且亦可能在結締組織母質發育與維持中扮演某種角色[Langford 等人之 *Cardiovasc. Toxicol.* **2002**, *2(2)*, 141-150；Göktürk 等人之 *Am. J. Pathol.* **2003**, *163(5)*, 1921-1928]。此外，近來已發現 SSAO 與血管

新生之間之相關性[Noda 等人之 *FASEB J.* **2008**, *22(8)*, 2928-2935]，並基於此相關性，期望 SSAO 之抑制劑具有抗血管新生效應。

【0005】 數項人體試驗已證實，在如：充血性心臟衰竭、糖尿病、阿茲海默症、發炎等病症中，血漿中之 SSAO 活性會提高[Lewinsohn, *Braz. J. Med. Biol. Res.* **1984**, *17*, 223-256；Boomsma 等人之 *Cardiovasc. Res.* **1997**, *33*, 387-391；Ekblom, *Pharmacol. Res.* **1998**, *37*, 87-92；Kurkijärvi 等人之 *J. Immunol.* **1998**, *161*, 1549-1557；Boomsma 等人之 *Diabetologia* **1999**, *42*, 233-237；Meszaros 等人之 *Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet.* **1999**, *24*, 299-302；Yu 等人之 *Biochim. Biophys. Acta* **2003**, *1647(1-2)*, 193-199；Mátyus 等人之 *Curr. Med. Chem.* **2004**, *11(10)*, 1285-1298；O'Sullivan 等人之 *Neurotoxicology* **2004**, *25(1-2)*, 303-315；del Mar Hernandez 等人之 *Neurosci. Lett.* **2005**, *384(1-2)*, 183-187]。已顯示由內因性胺氧化酶產生之反應性醛類與過氧化氫會造成心血管疾病、糖尿病併發症與阿茲海默症惡化[Callingham 等人之 *Prog. Brain Res.* **1995**, *106*, 305-321；Ekblom, *Pharmacol. Res.* **1998**, *37*, 87-92；Yu 等人之 *Biochim. Biophys. Acta* **2003**, *1647(1-2)*, 193-199；Jiang 等人之 *Neuropathol Appl Neurobiol.* **2008**, *34(2)*, 194-204]。此外，已知 SSAO 強力表現在血管內皮，表示 SSAO 酵素活性涉及發炎位點之白血球血管滲出過程[Salmi 等人之 *Immunity* **2001**, *14(3)*, 265-276；Salmi & Jalkanen 敘述於「*Adhesion Molecules：Functions and*

Inhibition」K. Ley (Ed.), **2007**, pp. 237-251]。因此已提出抑制 SSAO 即具有預防糖尿病併發症與發炎疾病之醫療價值[Ekblom, *Pharmacol. Res.* **1998**, *37*, 87-92；Salmi 等人之 *Immunity* **2001**, *14(3)*, 265-276；Salter-Cid 等人之 *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2005**, *315(2)*, 553-562]。

【0006】 WO2007/146188 教示阻斷 SSAO 活性可以抑制白血球募集，降低發炎反應，且預期有利於預防及治療例如：癲癇之發作。

【0007】 O'Rourke 等人(J Neural Transm. 2007；114(6): 845-9)探討了 SSAO 抑制劑於神經疾病中之潛力，因為過去曾在大鼠之中風模式中證實抑制 SSAO 之效果。SSAO 抑制劑係於復發-緩解型實驗性自體免疫腦脊髓炎(EAE)中測試，其係一種會出現與人類多發性硬化症許多共通特徵之小鼠模式。數據證實小分子抗-SSAO 療法在此模式中之潛在臨床效益，因此可治療人類多發性硬化症。

【0008】 剔除 SSAO 之動物在表型上顯然正常，但對各種不同發炎刺激所引發之發炎反應顯著降低[Stolen 等人之 *Immunity* **2005**, *22(1)*, 105-115]。此外，在人類疾病之多種動物模式(例如：鹿角菜膠誘發之爪發炎、噁唑酮誘發之結腸炎、脂多醣誘發之肺發炎、膠原蛋白誘發之關節炎、內毒素誘發之葡萄膜炎)中，在野生型動物中使用抗體與/或小分子拮抗其功能已顯示其保護性，可以降低白血球浸潤、降低疾病表型之嚴重性、及降低發炎細胞素與化學素含量[Kirton 等人之 *Eur. J. Immunol.* **2005**, *35(11)*,

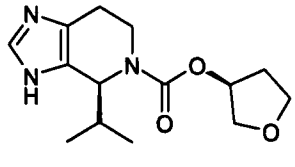
3119-3130；Salter-Cid 等人之 *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2005**, *315(2)*, 553-562；McDonald 等人之 *Annual Reports in Medicinal Chemistry* **2007**, *42*, 229-243；Salmi & Jalkanen 述於「*Adhesion Molecules：Functions and Inhibition*」K. Ley (Ed.), **2007**, pp. 237-251；Noda 等人之 *FASEB J.* **2008** *22(4)*, 1094-1103；Noda 等人之 *FASEB J.* **2008**, *22(8)*, 2928-2935]。此抗炎性保護作用似乎已跨越很大範圍之發炎模式，其等具有各自獨立之肇因機轉，而非限於一種特定疾病或疾病模式。此點將顯示 SSAO 可能為調節此發炎反應之關鍵點，因此 SSAO 抑制劑可能為多種人類疾病之有效抗炎藥物。VAP-1 亦已涉及纖維化疾病(包括肝與肺之纖維化疾病)之惡化與維持。Weston 與 Adams (J Neural Transm. **2011**, 118(7), 1055-64)已總結涉及肝纖維化中 VAP-1 之實驗數據，且 Weston 等人(EASL Poster 2010)提出阻斷 VAP-1 可加速解析四氯化碳所誘發之纖維化。此外，VAP-1 已涉及肺部發炎(例如：Singh 等人之 **2003**, Virchows Arch 442:491-495)，建議 VAP-1 阻斷劑可以降低肺發炎，因此可藉由治療疾病之促纖維化與促炎而有利於治療囊腫纖維化。

【0009】 SSAO(VAP-1)係在胃癌中上調，且已在人類之黑色素瘤、肝瘤、及頭與頸腫瘤之腫瘤血管中判別出(Yoong KF, McNab G, Hubscher SG, Adams DH. (1998), J Immunol **160**, 3978-88.；Irjala H, Salmi M, Alanen K, Gre'nman R, Jalkanen S (2001), Immunol. **166**, 6937-6943；

Forster-Horvath C, Dome B, Paku S 等人(2004), Melanoma Res. **14**, 135-40.)。一份報告(Marttila-Ichihara F, Castermans K, Auvinen K, Oude Egbrink MG, Jalkanen S, Griffioen AW, Salmi M. (2010), J Immunol. **184**, 3164-3173.)已顯示帶有酵素惰性 VAP-1 之小鼠之黑色素瘤生長比較慢，且腫瘤血管數量及直徑已降低。此等腫瘤之生長降低亦反映骨髓抑制性細胞之浸潤減少(減少 60-70%)。令人鼓舞的是，VAP-1 缺陷並未影響正常組織中之血管或淋巴形成。

【0010】 基於上述原因，希望抑制 SSAO 將可降低促炎性酵素產物含量(醛類、過氧化氫與氨)，同時亦可降低免疫細胞之黏附能力及其相應之活化性與最終之滲出。預期可能因此等活性而受到醫療效益之疾病包括所有在病變之引發、維持或解析上受到免疫細胞顯著影響之疾病，如：發炎疾病與免疫/自體免疫疾病。此等疾病實例包括多發性硬化、關節炎與血管炎。

【0011】 新穎及改良之 SSAO 抑制劑仍無法滿足醫學需求。WO2010/031789(其揭示內容已以引用之方式併入本文中)揭示一種可靠之 SSAO 抑制劑化合物，尤指實例 16，其係(4*S*)-4-異丙基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3*S*)-四氫呋喃-3-基酯之游離鹼，具有下列結構式：



【0012】 (4*S*)-4-異丙基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3*S*)-四氫呋喃-3-基酯之游離鹼為一種

吸濕性無定形玻璃/膠質。該玻璃態化點為相當低溫之 39℃，因此該游離鹼經常呈膠質。

【0013】 本文說明之本發明係有關一種具有驚人改良性質之 SSAO 抑制劑(4*S*)-4-異丙基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3*S*)-四氫呋喃-3-基酯之新穎鹽形態。

【發明內容】

【0014】 吸濕性為藥物不期望之性質，因為吸入水會造成許多問題。此等問題實例包括由於水量會變化以致藥物很難稱重，且由於容易變黏，因此很難操作藥物。通常不希望膠質，因為黏著且很難操作。結晶比無定形膠質佳，因為結晶具有較佳過濾性質，因此較容易乾燥。

【0015】 亦希望藥物具有良好熱安定性。習知研磨與壓錠過程期間之溫度一般會超過 50℃(參照例如：Developing Solid Oral Dosage Forms：Pharmaceutical Theory & Practice；Yihong Qiu, Yisheng Chen, Geoff G.Z. Zhang, Lirong Liu, William Porter, 2009)。其顯著風險在於研磨或壓錠過程期間會發生「熱點」，且熱點之溫度會超過藥物熔點。出現在研磨或壓錠過程期間之熔融藥物會造成藥物粒子結塊，或形成凝聚物。此等熔解、結塊或凝聚將會阻礙準確性與一致性。

【0016】 下文深入探討(4*S*)-4-異丙基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3*S*)-四氫呋喃-3-基酯游離鹼與其鹽形態之製備與性質，本申請者已發現有利之鹽形態，亦即甲磺酸鹽，其具有高熱安定性及有利之低吸濕性

之優點；以及硫酸鹽，其係呈水合物，具有有利之高熱安定性，與有利之低吸濕性。

【0017】 本發明包括一種包含(4*S*)-4-異丙基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3*S*)-四氫呋喃-3-基酯之硫酸鹽或甲磺酸鹽、與一或多種醫藥上可接受之賦形劑之組成物。

【0018】 預期(4*S*)-4-異丙基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3*S*)-四氫呋喃-3-基酯之硫酸鹽與甲磺酸鹽適用於治療發炎、發炎疾病、免疫或自體免疫疾患，或抑制腫瘤生長。一項具體實施例中，該發炎或發炎疾病或免疫或自體免疫疾患為關節炎(包括類風濕關節炎、幼年性類風濕關節炎、骨關節炎與乾癬性關節炎)、滑膜炎、血管炎、薛格連氏症(Sjogren's disease)、與腸部發炎有關之病症(包括克隆氏症(Crohn's disease)、潰瘍性結腸炎、發炎性腸疾病與腸躁症)、粥狀動脈硬化、多發性硬化、阿茲海默症、血管性失智、巴金森氏症(Parkinson's disease)、腦澱粉樣血管病變、體顯性腦動脈血管病變併發皮質下腦梗塞及腦白質病變、肺部發炎疾病(包括氣喘、慢性阻塞性肺部疾病與急性呼吸窘迫症候群)、纖維化疾病(包括特發性肺部纖維化、心臟纖維化、肝臟纖維化與全身性硬化(硬皮症))、皮膚發炎疾病(包括接觸性皮膚炎、異位性皮膚炎與乾癬)、眼睛發炎疾病(包括老年性黃斑部病變、葡萄膜炎與糖尿病視網膜病變)、全身性發炎反應症候群、敗血症、肝臟之發炎與/或自體免疫病症(包括自體免疫肝炎、原發

性膽道性肝硬化、酒精性肝臟疾病、硬化性膽管炎、與自體免疫膽管炎)、糖尿病(I 或 II 型)與/或其併發症、慢性心臟衰竭、充血性心臟衰竭、缺血性疾病(包括中風與缺血-再灌流傷害)或心肌梗塞與/或其併發症、或癲癇。

【0019】 本發明包括該(4*S*)-4-異丙基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3*S*)-四氫呋喃-3-基酯之硫酸鹽與甲磺酸鹽之用途，其係用於製造供治療或預防上述病症與疾病之醫藥。本發明亦包括治療或預防此等病症與疾病之方法，其包括對需要此等處理之哺乳動物(包括人類)投與有效量之如上述定義之化合物。

【0020】 (4*S*)-4-異丙基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3*S*)-四氫呋喃-3-基酯之甲磺酸鹽(亦即甲烷磺酸鹽)之特定具體實施例中，本申請者已可取得高度結晶多晶型，其高結晶性係於本文中由 X-射線粉末繞射(XRPD)與偏光顯微鏡(PLM)證實。

【圖式簡單說明】

【0021】 **第 1 圖**出示(4*S*)-4-異丙基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3*S*)-四氫呋喃-3-基酯游離鹼之 XRPD。

【0022】 **第 2 圖**出示(4*S*)-4-異丙基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3*S*)-四氫呋喃-3-基酯甲磺酸鹽之結晶之 XRPD。該 XRPD 係進行二重覆。

【0023】 **第 3 圖**出示(4*S*)-4-異丙基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3*S*)-四氫呋喃-3-基酯游離鹼(標

記為(A))與鹽酸鹽(標記為(B))之 1H NMR 圖譜。

【0024】 **第 4 圖**出示(4*S*)-4-異丙基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3*S*)-四氫呋喃-3-基酯游離鹼(標記為(C))與磷酸鹽(標記為(D))之 1H NMR 圖譜。

【實施方式】

【0025】 本申請者在長期研究由(4*S*)-4-異丙基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3*S*)-四氫呋喃-3-基酯與 22 種酸類(鹽酸、硫酸、1,2-乙二磺酸、對甲苯磺酸、甲烷磺酸、苯磺酸、L-天冬胺酸、馬來酸、磷酸、乙磺酸、L-麩胺酸、L-酒石酸、富馬酸、檸檬酸、L-蘋果酸、D-葡糖酸、D/L-乳酸、L-乳酸、苯甲酸、琥珀酸、己二酸、與乙酸)反應形成鹽之後，發現四種新穎結晶鹽形態，亦即：

(4*S*)-4-異丙基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3*S*)-四氫呋喃-3-基酯鹽酸鹽；

(4*S*)-4-異丙基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3*S*)-四氫呋喃-3-基酯 磷酸鹽；

(4*S*)-4-異丙基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3*S*)-四氫呋喃-3-基酯硫酸鹽水合物；與

(4*S*)-4-異丙基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3*S*)-四氫呋喃-3-基酯甲磺酸鹽。

【0026】 已發現由游離鹼與 1,2-乙二磺酸、對甲苯磺酸、苯磺酸、L-天冬胺酸、馬來酸、乙磺酸、L-麩胺酸、L-酒石酸、富馬酸、檸檬酸、L-蘋果酸、D-葡糖酸、D/L-

乳酸、L-乳酸、苯甲酸、琥珀酸、己二酸、與乙酸所形成之鹽為非結晶。

【0027】 測試4種結晶鹽類，以決定其操作難易度、吸濕性、與熱安定性。鹽酸鹽與磷酸鹽基於其結晶性，而具有比游離鹼玻璃/膠質改良之操作性質。然而，預備試驗中顯示這兩種鹽形態仍有一些吸濕性。這兩種鹽在40℃之75%相對濕度環境下存放一夜後均會潮解。

【0028】 甲磺酸鹽與硫酸鹽基於其結晶性，而具有比游離鹼膠質改良之操作性質。這兩種鹽均具有驚人之降低吸濕性。甲磺酸鹽在40℃之75%相對濕度環境下存放3天後潮解。硫酸鹽在40℃之75%相對濕度環境下存放7天後仍無變化。

【0029】 甲磺酸鹽與硫酸鹽之優點在於顯著改良之熱安定性。甲磺酸鹽之熔點為189℃。硫酸鹽之熔點為106℃。基於此等熔點，預期甲磺酸鹽與硫酸鹽二者均可耐受研磨與壓製過程，不會熔解或阻礙製程。因此硫酸鹽與甲磺酸鹽二者相較於對應游離鹼均具有驚人之改良吸濕性與驚人之改良熱安定性。

【0030】 由X-射線粉末繞射(XRPD)與偏光顯微鏡(PLM)顯示(4*S*)-4-異丙基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3*S*)-四氫呋喃-3-基酯之甲磺酸鹽(亦即甲烷磺酸鹽)為高度結晶。

定義

【0031】 本文採用「治療」包括預防所指名之疾患

或病症，或緩解或消除一旦已確立之疾患。

【0032】 「有效量」係指可對接受治療之個體賦與醫療效果之化合物用量。該醫療效果可為客觀性(亦即可由某些試驗或標記物量測)或主觀性(亦即由個體提出所出現之效果或感覺)。

【0033】 「醫藥上可接受」意指適用於製備醫藥組成物，其通常為安全、無毒且不可為生物上或其他方面無法接受者，且包括適用於獸醫用途及人類醫藥用途者。

【0034】 除非另有說明，否則本文說明鹽形態時所使用之相關術語「(4*S*)-4-異丙基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3*S*)-四氫呋喃-3-基酯」包括(3S,4S)與(3R,4R)對映異構物之混合物。一項具體例中，(4*S*)-4-異丙基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3*S*)-四氫呋喃-3-基酯與其鹽具有絕對純度為>95%，較佳為>99%，更佳為>99.5%。一項具體例中，(4*S*)-4-異丙基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3*S*)-四氫呋喃-3-基酯意指具有對映異構性純度為>95%，較佳為>99%，更佳為>99.5%之(3S,4S)對映異構物。一項具體例中，(4*S*)-4-異丙基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3*S*)-四氫呋喃-3-基酯具有非對映異構性純度為>95%，較佳為>99%，更佳為>99.5%。

組成物

【0035】 用於臨床上之本發明化合物係調配成供各種不同投藥模式之醫藥調配物。咸了解，本發明化合物可

以與生理上可接受之載劑、賦形劑、或稀釋劑共同投藥。本發明醫藥組成物可採用任何合適途徑投藥，較佳為經口、直腸、鼻、局部(包括經頰與舌下)、舌下、穿皮、鞘內、穿黏膜或非經腸式(包括皮下、肌內、靜脈內與皮內)投藥。

【0036】 其他調配物宜呈單位劑型，例如：錠劑與持續釋放性膠囊，及含於微脂粒中，且可採用藥學相關技藝上習知之任何方法製備。醫藥調配物之一般製法為混合活性物質或其醫藥上可接受之鹽，與常用之醫藥上可接受之載劑、稀釋劑或賦形劑。賦形劑實例為水、明膠、阿拉伯膠、乳糖、微晶纖維素、澱粉、澱粉乙醇酸鈉、磷酸氫鈣、硬脂酸鎂、滑石、二氧化矽膠體，與類似物。此等調配物亦可包含其他醫藥活性劑，與常用之添加劑，如：安定劑、濕化劑、乳化劑、調味劑、緩衝劑，與類似物。通常，活性化合物含量為製劑之 0.1-95%重量比，較佳在非經腸式用製劑中為 0.2-20%重量比，及更佳係在經口投藥製劑中為 1-50%重量比。

【0037】 該調配物可進一步採用已知方法製備，如：造粒、壓製、微包埋、噴塗，等等。調配物可採用習知方法製成錠劑、膠囊、粒劑、粉劑、糖漿、懸浮液、栓劑或注射液等劑型。液態調配物可由活性物質溶解或懸浮於水或其他合適媒劑中製成。錠劑與膠囊可依習知方式塗佈。為了長期維持醫療有效血漿濃度，可將本發明化合物併入緩釋性調配物中。

【0038】 特定化合物之劑量程度與投藥頻率將會隨各種不同因素變化，包括所使用特定化合物之效力、該化合物之代謝安定性與作用效期、患者之年齡、體重、一般健康、性別、飲食、投藥模式與時間、排泄速率、藥物組合、所治療病症之嚴重性、及患者正在進行之療法而變化。每日劑量可為例如：每公斤體重約 0.001 mg 至約 100 mg 之範圍，可投與單一劑量或多重劑量，例如：各約 0.01 mg 至約 25 mg。通常，此等劑量為經口投藥，但亦可選擇非經腸式投藥。

實驗方法

【0039】 *鹽形成實驗*

鹽篩選法係採用 24 種酸性抗衡離子(見表 1)進行，若適當時試圖形成單鹽與半鹽二者。採用不同系列的溶劑系統與條件進行 9 組實驗。

表 1：用於鹽形成實驗之酸類

抗衡離子	添加形式	抗衡離子	添加形式
鹽酸	1M THF溶液	L-酒石酸	1M THF溶液
硫酸	1M THF溶液	富馬酸	0.5M THF-MeOH溶液
1,2-乙二磺酸	1M THF溶液	檸檬酸	1M THF溶液
對甲苯磺酸	1M EtOH溶液	L-蘋果酸	1M THF溶液
甲磺酸	1M THF溶液	D-葡糖酸	50%w/w水溶液
苯磺酸	1M THF溶液	D/L-乳酸	液體
L-天冬胺酸	固體	L-乳酸	1M THF溶液
馬來酸	1M THF溶液	苯甲酸	1M IPA溶液
磷酸	1M THF溶液	琥珀酸	1M MeOH溶液
乙磺酸	1M THF溶液	己二酸	1M MeOH：THF溶液
L-麩胺酸	固體	乙酸	1M THF溶液

【0040】 *緩慢冷卻形成鹽實驗*

取(4S)-4-異丙基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3S)-四氫呋喃-3-基酯游離鹼(20mg)樣本分開溶於IPA(2.5 vol)、IPAc (2.5 vol)、丙酮-水(9：1 v/v, 2.5 vol)或DIPE(10 vol)中。加熱溶液至 40℃，在溫和攪拌下添加各試驗酸(1 或 0.5 當量，見表 1)。小瓶子保持在 40℃下 1h 後，以 1℃/min 冷卻至 5℃。混合物保持在 5℃下一夜。過濾收集得到之所有固體，採用 XRPD 分析。取油質與膠質進行成熟循環：RT 至 50℃，每種溫度 4h，以利於結晶。讓溶液於環境條件下蒸發。殘質採用 ^{1}H-NMR 與 DSC 分

析，以分析鹽形成與/或加熱時可能之結晶作用。

【0041】 添加反溶劑之鹽形成實驗

取(4S)-4-異丙基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3S)-四氫呋喃-3-基酯游離鹼(15mg)樣本分開溶於IPAc(含及不含 3%v/v 之水；5vol)，將溶液加熱至 40℃。在溫和攪拌下添加對應酸類(1 或 0.5 當量，見表 1)。小瓶子保持在 40℃下 1h 後，添加逐漸增加量之反溶劑(正庚烷或 TBME)，直到溶液轉呈混濁為止。此時，所有樣本以 1℃/分鐘冷卻至 5℃，保持 5℃下一夜。若沒有沉澱出現，則再加更多反溶劑。過濾收集得到之所有固體，採用 XRPD 分析。取油質與膠質進行成熟循環，RT 至 50℃，每種溫度下 4h，以利於結晶作用。若沒有沉澱出現時，則讓溶液冷卻至環境溫度以下並使蒸發。

【0042】 *分析方法*

X-射線粉末繞射(XRPD)

X-射線粉末繞射圖形係於 Bruker AXS C2 GADDS 繞射儀，採用 Cu Kα 輻射(40kV, 40mA)，自動化 XYZ 台，自動定位樣本之雷射攝影顯微鏡與 HiStar 2 維面積檢測器。X-射線光學裝置係由單一哥柏多層鏡(Göbel multilayer mirror)偶聯 0.3mm 之針孔式準直儀組成。每周一次使用認證的剛玉標準(NIST 1976 Corundum)(平板)檢驗該儀器的性能。光束發散度(亦即 X-射線光束在樣本上之有效大小)為約 4mm。採用 θ-θ 連續掃瞄模式，樣本與檢測器之距離為 20cm，產生有效 2θ 範圍為 3.2°-29.7°。通常樣本會曝露

在 X-射線光束下 120 秒。用於收集數據之軟體為用於 WNT 4.1.16 之 GADDS，分析數據，採用 Diffrac Plus EVA v 9.0.0.2 或 v 13.0.0.2 呈現。在環境條件下操作之樣本係使用未研磨的情況下接收的粉末製備成平板樣本。取約 1-2 mg 樣本輕壓在玻璃片上，得到平坦表面。在非環境條件下操作之樣本則放在含有導熱化合物之矽晶片上。隨後以約 10℃/min 加熱樣本至適當溫度，然後保持恆溫約 1min 後，才開始收集數據。

【0043】 或者，X-射線粉末繞射圖形係以 Bruker D8 繞射儀收集，其使用 Cu Kα 輻射(40kV, 40mA)，θ-2θ 測角器，V4 發散與接收狹縫，Ge 單色器、與 Lynxeye 檢測器。使用認證的剛玉標準(Corundum standard (NIST 1976))來檢驗該儀器的性能。用於收集數據之軟體為 Diffrac Plus XRD Commander v2.5.0 並分析數據，採用 Diffrac Plus EVA v 11.0.0.2 或 v 13.0.0.2 呈現。樣本係使用所接收的粉末成為平板樣本，在環境條件下操作。取約 20mg 樣本輕輕地裝入切割成拋光的零背景(510)矽晶片的空腔中。分析期間之樣本係在自己的平面旋轉。收集數據之詳細內容為- 角度範圍：2 至 42° 2θ；步進大小：0.05° 2θ；收集時間：0.5 秒/步

【0044】 *核磁共振(NMR)*

^{1}H NMR 圖譜係在裝備有自動取樣器與由 DRX400 控制臺控制的 Bruker 400MHz 儀器收集。自動化實驗係採用以 Topspin v 1.3(修補等級(patch level)10)操作的 ICONNMR

v4.0.4(版本 1)，使用標準布魯克(Bruker)載入實驗來獲得。透過僅使用 Topspin 取得非例行光譜數據。樣本係於 d6-DMSO 中製備，除非另有說明。離線分析係採用 ACD SpecManager v 12.00 (29094 版)進行。或者，於 Bruker Avance III 400MHz QNP Ultrashield Plus Cryo 上收集 ^{1}H NMR 圖譜。

【0045】 *液相層析-質譜法(LCMS)*

分析級 LCMS 係於 Agilent 1100 HPLC 系統連接 Waters ZQ 質譜儀進行，其使用 Phenomenex Synergi 管柱(RP-Hydro，150x4.6mm，4um，1.5mL/min，30℃，梯度 5-100% MeCN (+0.085% TFA)之水溶液(+0.1% TFA)，歷時 7min -保持 0.5min，200-300nm)。

【0046】 *差示掃描量熱法(DSC)*

在裝備有 50 個位置之自動取樣器的 TA Instruments Q2000 上收集 DSC 數據。使用藍寶石來校準熱容，並且使用認證的銦來校準能量與溫度。典型地，在針孔鋁盤中，以 10℃/min，讓每個樣本 0.5-3mg 從 25℃加熱至 350℃。保持以 50mL/min 乾燥氮氣在樣本上吹掃。調控溫度之 DSC 係採用基本加熱速率 2℃/min 及溫度調控參數±1.27℃/min 與 60 秒進行。儀器控制軟體為 Advantage for Q Series v2.8.0.392 與 Thermal Advantage v4.8.3，使用 Universal Analysis v4.3A 來分析數據。

【0047】 *熱重分析法(TGA)*

在裝備有 16 個位置自動取樣器的 TA Instruments Q500 TGA 上收集 TGA 數據。使用認證的鋁鎳錳合金(Alumel)與

鎳對儀器進行溫度校正。典型地，將每個樣本 5-30mg 加載至預先扣重的鉑坩堝與鋁 DSC 盤上，並且以 10℃/min 從環境溫度加熱至 350℃。保持以 60mL/min 氮氣在樣本上吹掃。儀器控制軟體為 Advantage for Q Series v2.8.0.392 與 Thermal Advantage v4.8.3。

【0048】 *偏光顯微鏡(PLM)*

樣本係以 Leica LM/DM 偏光顯微鏡研究，採用數位攝影機取得影像。取少量各樣本置於玻璃片上，架在浸泡油中，蓋上蓋玻片，儘可能分開每一個粒子。在偶聯 λ 假色濾鏡(false color filter)及適當放大倍數與部份偏光下觀測樣本。

【0049】 *加熱板顯微鏡(HSM)[熔點]*

加熱板顯微鏡係採用 Leica LM/DM 偏光顯微鏡加裝 Mettler-Toledo MTFP82HT 加熱板與用於取得影像之數位攝影機進行。取少量各樣本置於玻璃片上，儘可能分開每一個粒子。在偶聯 λ 假色濾鏡及適當放大倍數與部份偏光下，同時典型以 10-20℃/min，於從環境溫度起之加熱下觀測樣本。

【0050】 *採用 HPLC 之化學純度測定法*

純度分析法係於裝備二極體陣列檢測器之 Agilent HP1100 系列系統，及使用 ChemStation 軟體 vB.02.01-SR1，採用下列詳細說明之方法進行(表 1)。

【0051】 **表 1**

樣本製備	0.5mg/ml 乙腈：水(1：1)中		
管柱	Supelco Ascentis Express C18, 100×4.6mm, 2.7μm		
管柱溫度(℃)	25		
注射(μl)	5		
波長，帶寬(nm)	255，90nm		
流速($ml.min^{-1}$)	2.0		
A 相	0.1%TFA 水溶液		
B 相	0.085%TFA 之乙腈溶液		
時間表	時間(min)	A 相%	B 相%
	0	95	5
	6	5	95
	6.2	95	5
	8	95	5

【0052】 *採用對掌性 HPLC 測定對掌性純度*

對掌性 HPLC 係以 Agilent 1200 系統進行，使用 Astec Chirobiotic T 100×4.6mm 5um 管柱，極性逆相，150×4.6mm，5um，等度 85% MeOH 15% 20mM 乙酸銨，歷時 10min，1.0mL/min，220nm。

【0053】 *採用卡爾-費雪滴定法(Karl Fischer Titration)(KF)測定水*

各樣本之水含量係於 Mettler Toledo DL39 Coulometer 比色計上，使用 Hydranal Coulomat AG 試劑與氬氣吹掃下

測定。取稱重之固體樣本加至連接螺紋血清塞(subaseal)(以避免水滲入)之白金 TGA 盤上之容器內。每次滴定使用 10mg 樣本，並進行二重覆測定。

【0054】 *重力蒸氣吸附法(GVS)*

吸附等溫曲線係採用由 DVS Intrinsic Control 軟體 v1.0.0.30 控制的 SMS DVS 固有水分吸附分析儀獲得。藉由儀器控制使樣本溫度保持在 25℃。使用乾與濕之混合氮氣流，依總流速 200mL/min 來控制濕度。藉由位於樣本附近的校準的 Rotronic 探頭(1.0-100% RH 的動態範圍)來測量相對濕度。藉由微量天平(精度±0.005mg)持續監測樣本的重量變化(以%RH 為函數之樣本質量減輕(mass relaxation))。通常取 5-20mg 樣本置於環境條件下之已扣重不銹鋼網籃中。在 40% RH 和 25℃(典型室內條件)下加載和卸載樣本。依下文說明完成水分吸附等溫曲線(1 個完整循環為 2 次掃瞄)。在 25℃下，以 10% RH 間隔，在 0.5%-90% RH 範圍內完成標準等溫曲線。使用 DVS Analysis Suite v6.0.0.7，在微軟 Excel 中進行數據分析。SMS DVS 固有實驗之方法參數：吸附掃瞄 1 40-90；解吸附/吸附掃瞄 2 90-0、0-40；間隔(%RH) 10；掃瞄數 4；流速(mL/min)200；溫度(℃)25；安定性(℃/min)0.2；吸附時間(h)6h 截止。在完成等溫曲線之後回收樣本，並且採用 XRPD 重新分析。

【0055】 *離子層析法(IC)*

於 Metrohm 761 Compact IC(用於陽離子)與 Metrohm 861 Advanced Compact IC(用於陰離子)上，使用 IC Net 軟體

v2.3 收集數據。取準確稱重之樣本於適當溶解溶液中製成儲液，先稀釋 1：9 後再用於試驗。與所分析離子之已知濃度標準溶液比較，進行定量。陰離子層析法之 IC 方法參數：方法型態- 陰離子交換；管柱-Metrosep A Supp 5-250 (4.0×250mm)；管柱溫度(℃) 環境溫度；注射(μl)20；檢測-導電性檢測器；流速(mL/min) 0.7；溶離液 3.2mM 碳酸鈉，1.0mM 碳酸氫鈉之 5%丙酮水溶液。

【0056】 *結果*

單離結晶鹽酸鹽、硫酸鹽、磷酸鹽與甲磺酸鹽，採用部份或所有 XRPD、^{1}H NMR、DSC、TGA、GVS、IC、PLM、HSM、HPLC 與 KF 分析其等之特徵(見表 2)。鹽酸鹽與磷酸鹽為高吸濕性。進一步分析甲磺酸鹽與硫酸鹽。

【0057】 *(4S)-4-異丙基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3S)-四氫呋喃-3-基酯、及其甲磺酸鹽與硫酸鹽形態之合成：*

已採用下列縮寫：

Aq	水溶液
DCM	二氯甲烷
DIPEA	二異丙基乙胺
ee	對映異構性超量
ES^+	電噴灑
EtOAc	乙酸乙酯
h	小時(數)
HPLC	高效液相層析法

HRMS	高解析質譜
LCMS	液相層析質譜
M	莫耳濃度
MeOH	甲醇
$[MH^+]$	質子化分子態離子
min	分
RP	逆相
MS	質譜
R_T	滯留時間
sat	飽和
THF	四氫呋喃
TFA	三氟乙酸

【0058】 *實驗方法*

所有試劑均係商品等級，且除非另有說明，否則未進一步純化即使用。所有例子均採用試劑級溶劑。分析級 LCMS 係於連接 Agilent 1100 HPLC 系統之 Waters ZQ 質譜儀上進行。分析級 HPLC 係於 Agilent 1100 系統進行。高解析質譜(HRMS)係得自連接 Agilent 1100 HPLC 系統之 Agilent MSD-TOF。分析期間，若需要時，採用兩種質量檢查校正並自動修正。依正電噴灑模式取得圖譜。所取得之質量範圍為 m/z 100-1100。採用質量波峰之圖形檢測法。快速層析法係於裝備 RediSep 矽石管柱之 CombiFlash Companion 系統或裝備 Strata SI-1 矽石 Gigatubes 之 Flash Master Personal 系統進行。逆向 HPLC 係於裝備 Phenomenex

Synergi Hydro RP 150×10 mm、YMC ODS-A 100/150×20 mm 或 Chirobiotic T 250×10 mm 管柱之 Gilson 系統(裝備 Gilson 321 平衡幫浦與 Gilson 215 自動取樣器之 G ilson 322 幫浦)上進行。逆相管柱層析法係於裝備 Merck LiChroprep® RP-18 (40-63 μm)矽石管柱之 Gilson 系統(Gilson 321 幫浦與 Gilson FC204 溶出份收集器)上進行。化合物係採用 ACD 6.0 自動命名。所有化合物均於真空烘箱中乾燥一夜。

分析級 HPLC 與 LCMS 數據係得自：

系統 A：Phenomenex Synergi Hydro RP (C18, 30×4.6 mm, 4 μm)，梯度 5-100% CH_3CN(+0.085% TFA)之水溶液(+0.1% TFA)，1.5 mL/min，梯度時間 1.75 min，200 nm，30℃；或

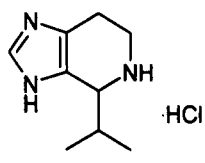
系統 B：Phenomenex Synergi Hydro RP (C18，150×4.6 mm，4 μm)，梯度 5-100% CH_3CN (+0.085% TFA)之水溶液(+0.1% TFA)，1.5 mL/min，梯度時間 7 min，200 nm，30℃。

對掌性 HPLC 數據係得自：

系統 C：Chirobiotic V 極性離子性模式(150×4.6 mm)，70% MeOH 含於 10 mM 甲酸銨緩衝水溶液中，1.0 mL/min，歷時 10 min，200 nm，30℃。

【0059】 中間物 1

4-異丙基-4,5,6,7-四氫-1H-咪唑并[4,5-c]吡啶鹽酸鹽



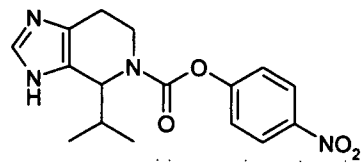
取組織胺二鹽酸鹽(61.9 g, 336 mmol)溶於 NaOH(33.6 g, 841 mmol)之水(125 mL)與 MeOH(500 mL)溶液中，添加異丁

醛(61.4 mL, 672 mmol)。反應混合物於 80℃下回流加熱 24 h，冷卻至室溫，使用 1 M HCl 水溶液(250 mL)調整 pH 至 7，真空排除溶劑。殘質溶於溫熱 MeOH(300 mL)中，靜置 1h，過濾，真空排除溶劑。殘質於 MeOH(50 mL)與丙酮(400 mL)中攪拌 2h，冷卻至 4℃ 2h。過濾所得之沉澱，使用丙酮(100mL)洗滌，產生 4-異丙基-4,5,6,7-四氫-1H-咪唑并[4,5-c]吡啶鹽酸鹽 (33.0 g, 48.7%)之白色固體。

分析級 LCMS：純度>90% (系統 A, R_T = 0.51 min)，ES^+：166.4 $[MH]^+$。

【0060】 中間物 2

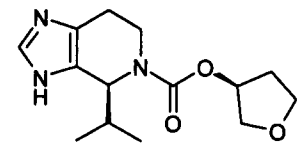
4-異丙基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸 4-硝基苯基酯



取中間物 1(2.78 g, 8.28 mmol, 60%純度)與 DIPEA(5.27 mL, 30.3 mmol)溶於 DCM(100 mL)。反應混合物冷卻至 0℃，添加氯甲酸 4-硝基苯基酯(4.07 g, 20.2 mmol)。反應混合物於室溫下攪拌 18 h。反應混合物使用飽和 $NaHCO_3$ 水溶液(5x100 mL)洗滌，脫水($MgSO_4$)，及真空排除溶劑，產生 4-異丙基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸 4-硝基苯基酯(5.28 g，粗產物)之黃色膠質。

分析級 HPLC：純度 41% (系統 B, R_T = 4.70 min)；分析級 LCMS：純度 86% (系統 A, R_T = 1.70 min)，ES^+：331.0 $[MH]^+$。

【0061】 **(4*S*)-4-異丙基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3*S*)-四氫呋喃-3-基酯**



取 NaH(0.40 g, 10.0 mmol, 於礦物油中之 60%勻散液)懸浮於無水 THF(20 mL)中，冷卻至 0℃，添加(*S*)-3-羥基四氫呋喃(0.88 g, 0.68 mL, 10.0 mmol)。懸浮液於 0℃下攪拌 30 min 後，加至含中間物 2(3.30 g, 10.0 mmol, 70%純度)之 THF(60 mL)溶液中，於室溫下攪拌反應混合物。分別在 5 與 29h 後，再添加兩份此份量之 NaH 與含(*S*)-3-羥基四氫呋喃之 THF。2 天後，加水(10 mL)至反應混合物以中止反應，真空排除溶劑。殘質溶於 EtOAc(100 mL)，使用 1M Na_2CO_3 水溶液(4×100 mL)洗滌，脫水($MgSO_4$)，及真空排除溶劑。殘質經管柱層析純化(正相，20 g，Strata SI-1，矽石 Gigatube，DCM (200 mL)，然後為含 2%、4%與 5% MeOH 之 DCM 溶液(各 200 mL))與逆相 HPLC (YMC ODS-A 100×20 mm, 5 μm, 25 mL/min，梯度 30%至 60%(歷時 7 min)，然後 100%(3 min)MeOH 之 10% MeOH/水溶液)，產生 4-異丙基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3*S*)-四氫呋喃-3-基酯 (34.8 mg, 1.1%)之白色固體。

分析級 HPLC：純度 100% (系統 B, R_T = 3.63 min)；分析級 LCMS：純度 100% (系統 B, R_T = 4.01 min), ES^+：280.1 $[MH]^+$。

取 4-異丙基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3*S*)-四氫呋喃-3-基酯 (39.91 mg)溶於 10 mM 甲酸銨緩衝

液與 MeOH(2 mL, 1：1)中，採用逆相對掌性 HPLC (Chirobiotic T 250×10 mm，3 mL/min，等度操作 70% MeOH 之 10 mM 甲酸銨緩衝液溶液(40 min), pH 7.4)純化 2 次，產生單一非對映異構物，(4*S*)-4-異丙基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3*S*)-四氫呋喃-3-基酯 (6.90 mg, 99% ee)。

分析級 HPLC：純度 100% (系統 B, R_T = 3.63 min)；對掌性 HPLC：純度 99.5% (系統 C, R_T = 2.22 min)；分析級 LCMS：純度 100% (系統 B, R_T = 3.90 min), ES^+：280.1 $[MH]^+$；HRMS $C_{14}H_{21}N_3O_3$：計算值 279.1583，實測值 279.1571。

【0062】 (4*S*)-4-異丙基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3*S*)-四氫呋喃-3-基酯甲磺酸鹽

於室溫下，取(4S)-4-異丙基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3S)-四氫呋喃-3-基酯游離鹼(460mg, 1.65mmol)溶於 EtOAc(10mL)，產生澄清無色溶液。在溫和加熱下，分批添加甲磺酸(107uL)。讓溶液冷卻至室溫一夜。過濾收集所得結晶，使用 EtOAc(2×10mL)洗滌，及於 40℃下真空乾燥一夜。得到(4S)-4-異丙基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3S)-四氫呋喃-3-基酯甲磺酸鹽，99%產率(615mg)之白色固體。HPLC：滯留時間 2.27min，純度 99.5%。熔點：189℃。LCMS：滯留時間 4.19min，ES^+ 280.0 $[MH]^+$，100%純度。對掌性 HPLC：滯留時間 3.70min，>99.5% de。^1H NMR (400MHz, $CDCl_3$)：δ_H 8.72 (1H, m, NHC**H**NH$^+$), 5.29 (1H, m, OC**H**), 5.05 (0.5H, d, J

8.4Hz, CCHN), 4.89 (0.5H, d, J 7.6Hz, CCHN), 4.59 (0.5H, m, NCH_ACH_B), 4.39 (0.5H, m, NCH_ACH_B), 3.97-3.85 (4H, m, CH_2OCH_2), 3.20 (1H, m, $NCHACH_B$), 2.89 (3H, s, $CH_3SO_3^-$), 2.89-2.72 (2H, m, CCH_2CH_2N), 2.23-2.07 (3H, m, $CH(CH_3)_2$, OCH_2CH_2), 1.16 (3H, d, J 6.4Hz, CH_3)與 1.06-0.96 (3H, m, CH_3)。

【0063】 (4*S*)-4-異丙基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3*S*)-四氫呋喃-3-基酯硫酸鹽

取(4S)-4-異丙基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3S)-四氫呋喃-3-基酯游離鹼(440.4mg, 1.6mmol)溶於 IPAc(5 vol；2.20mL)。將該澄清溶液加熱至 40℃，維持此溫度 30min。然後在溫和攪拌下添加 H_2SO_4(1M THF 溶液, 1 當量, 1.6mL)，產生白色固體沉澱。此懸浮液設定以 1℃/min 冷卻至 5℃，並維持此溫度 20h。抽吸過濾固體，於室溫下真空乾燥一夜。得到(4S)-4-異丙基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3S)-四氫呋喃-3-基酯硫酸鹽，65%產率，白色固體。HPLC 純度 99.3%。熔點：106℃。^{1}H NMR (400MHz, $CDCl_3$)：δ_H 13.70 (1H, br, HSO_4^-), 9.05 (1H, m, $NHCHNH^+$), 5.28 (1H, m, OCH), 4.95 (0.5H, d, J 8.4Hz, CCHN), 4.86 (0.5H, d, J 7.6Hz, CCHN), 4.55 (0.5H, m, NCH_ACH_B), 4.35 (0.5H, m, NCH_ACH_B), 3.95-3.74 (4H, m, CH_2OCH_2), 3.15 (1H, m, NCH_ACH_B), 2.78-2.67 (2H, m, CCH_2CH_2N), 2.21-1.99 (3H, m, $CH(CH_3)_2$, OCH_2CH_2), 1.09 (3H, d, CH_3)與 0.94-0.81 (3H, m, CH_3)。

【0064】 **表 2：(4*S*)-4-異丙基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3*S*)-四氫呋喃-3-基酯之游離鹼與鹽酸鹽、磷酸鹽、硫酸鹽與甲磺酸鹽之性質說明**

樣本	形態	MP	吸濕性
游離鹼	無定形膠質	—	在 25℃/60%RH 下 < 24h 潮解
鹽酸鹽	結晶固體	168℃	在 40℃/75%RH 下 < 24h 潮解
磷酸鹽	結晶固體	ND	在 40℃/75%RH 下 < 24h 潮解
硫酸鹽 (.1.5H_2O)	結晶固體	106℃	在 40℃/ 75%RH 下長達 7 天無變化
甲磺酸鹽	結晶固體	189℃	在 40℃/75%RH 下 3 天後潮解

【0065】 *長期儲存期間之安定性/吸濕性*

亦分析(4*S*)-4-異丙基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3*S*)-四氫呋喃-3-基酯甲磺酸鹽之安定性與吸濕性，其係取一份 3g 加至雙重 LDPE 墊層中，使用束帶密封並加入一個乾燥劑包至箔袋中，隨後熱封。箔袋隨後置入加裝 HDPE 蓋子的 HDPE 桶中。此等條件係模擬典型 GMP 等級儲存條件。採用 HPLC 分析安定性，及採用卡爾-費雪(KF)滴定法分析吸濕性。(4*S*)-4-異丙基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3*S*)-四氫呋喃-3-基酯甲磺酸鹽在 25℃/60%RH 下經過 3 年僅降解 0.1%，沒有吸水，在 40℃

/75%RH 下 6 個月後僅降解 0.1%，僅吸水 0.1%。

【0066】 *單一結晶 X-射線繞射(SXRPD)*

於裝備 Oxford Cryosystems Cobra 冷卻裝置之 Oxford Diffraction SuperNova 雙源繞射，零銅，Atlas CCD 繞射儀收集數據。數據係採用 CuKα 輻射收集。典型使用 SHELXS 或 SHELXD 程式來解析結構，並使用作為 Bruker AXS SHELXTL 套裝軟體的一部分的 SHELXTL 程式來精修。除非另有說明，否則連接碳的氫原子係依幾何學放置，並且可以用控制各向同性的位移參數(riding isotropic displacement parameter)進行精修。連接到雜原子的氫原子以差分傅里葉合成法(difference Fourier synthesis)進行定位，並且可以用各向同性的位移參數(isotropic displacement factor)自由地精修。

【0067】 *單一結晶結構測定*

(4*S*)-4-異丙基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3*S*)-四氫呋喃-3-基酯甲磺酸鹽之單一結晶係從乙酸乙酯/甲醇中慢慢蒸發而成長。

結構解析係採用直接方法得到，由 F^2 進行全陣列最小平方法精算(full-matrix least-squares refinement)，加權 $w^{-1}=\sigma^2(F_o^2) + (0.0490P)^2 + (0.3000P)$，其中 $P = (F_o^2+2Fc^2)/3$，各向異性移位參數。採用球面調和函數，代入 SCALE3 ABSPACK 縮放演算法進行經驗吸收校正。

絕對結構參數 =0.002(13)。所有數據最終 $wR^2=\{\Sigma[w(F_o^2-Fc^2)^2]/\Sigma[w(F_o^2)^2]^{1/2}\} = 0.0657$，$F_o > 4\sigma(F_o)$之 2651 個反

射之 F 值之常用 $R_1 = 0.024$，所有數據與 234 個參數之 S = 1.007。最終 Δ / σ (最大值) 0.000，Δ / σ (平均值)0.000。最終差異譜在+0.24 與-0.288 e $Å^{-3}$ 之間。

解析之結晶結構參數如下(表 3)：

【0068】 **表 3**

分子式	$C_{15}H_{25}N_3O_6S$				
分子量	375.44				
結晶系統	斜方晶系				
空間群	P2(*1*)2(*1*)2(*1*)	*a*	8.75780(10)Å,	α	90°,
		b	9.70830(10)Å,	β	90°,
		c	20.6736(2)Å,	γ	90°,
V	175.74(3) $Å^3$				
Z	4				
Dc	1.419g.cm^{-1}				
μ	1.975mm^{-1}				
來源，λ	Cu-Kα 1.5418 Å				
F(000)	800				
T	100(2)K				
結晶	無色塊狀，0.09×0.05×0.02 mm				
數據截短至	0.80 Å				
θ_{max}	62.35°				
完成度	99.2%				
反射	13291				
獨特反射	2736				
R_{int}	0.0256				

【0069】 表 3

原子坐標如下：

	x	y	z
S1	-0.953688	-0.131935	-0.071370
O1	-0.020659	-0.149398	-0.484602
O2	-0.234768	-0.155566	-0.365860
O3	-0.474652	-0.066100	-0.365092
O4	-0.912055	-0.134194	-0.140238
O5	-1.110792	-0.173740	-0.060477
O6	-0.844708	-0.208722	-0.032208
N1	-0.412770	-0.253710	-0.303870
N2	-0.617297	-0.224842	-0.147335
H2A	-0.722228	-0.196131	-0.146105
N3	-0.392648	-0.259773	-0.107928
H3A	-0.324241	-0.261543	-0.081273
C1	0.073273	-0.055487	-0.449929
H1A	0.096656	0.026304	-0.476759
H1B	0.170449	-0.099983	-0.437205
C2	-0.017615	-0.014548	-0.390676
H2B	-0.004410	0.084643	-0.381074
H2C	0.014557	-0.068772	-0.352479
C3	-0.183226	-0.046385	-0.408629
H3B	-0.249376	0.037232	-0.405075
C4	-0.171565	-0.096071	-0.477738
H4B	-0.248192	-0.168773	-0.486334
H4C	-0.188739	-0.019057	-0.508271
C5	-0.383218	-0.150898	-0.346637

C6	-0.560166	-0.254872	-0.270030
H6B	-0.616936	-0.169106	-0.281832
C7	-0.521333	-0.248342	-0.198878
C8	-0.536619	-0.232888	-0.092882
H8A	-0.575742	-0.221293	-0.050370
C9	-0.379700	-0.269963	-0.174418
C10	-0.240769	-0.305362	-0.212417
H10A	-0.184330	-0.381585	-0.191434
H10B	-0.172218	-0.224586	-0.215739
C11	-0.296381	-0.348962	-0.279498
H11A	-0.208892	-0.350915	-0.309809
H11B	-0.339647	-0.443040	-0.277151
C12	-0.659963	-0.380274	-0.288449
H12A	-0.612652	-0.464685	-0.269297
C13	-0.664766	-0.397753	-0.361667
H13A	-0.560447	-0.406134	-0.378360
H13B	-0.714279	-0.317374	-0.381222
H13C	-0.722663	-0.480993	-0.372510
C14	-0.821261	-0.366359	-0.261740
H14A	-0.816850	-0.355260	-0.214661
H14B	-0.880046	-0.449226	-0.272353
H14C	-0.870697	-0.285637	-0.281016
C15	-0.939731	0.041434	-0.046714
H15A	-0.966523	0.048834	-0.000821
H15C	-1.009980	0.097844	-0.072401
H15B	-0.834933	0.074003	-0.053214

【0070】 X-射線粉末繞射

(4*S*)-4-異丙基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3*S*)-四氫呋喃-3-基酯甲磺酸鹽之粉末 X-射線繞射圖形在 8.549、9.851、10.899、12.295、13.198、13.393、14.083、15.897、16.280、17.097、17.744、18.289、19.694、20.180、20.443、20.597、20.886、21.948、22.112、22.444、23.194、23.653、24.144、24.714、25.292、25.590、25.810、26.526、26.765、27.084、27.283、27.662、28.159、28.996、29.135、29.912 與 30.868 度 2θ 處出現波峰。考量正常實驗變異，上文所判別之波峰應視為精確度達到+/- 0.2 度 2θ，如：+/- 0.1、+/- 0.05、+/- 0.01、+/- 0.005、與+/- 0.001。此等波峰之相對強度如下(**表 4**)：

【0071】 表 4

角度 (2-θ °)	強度 (%)
8.549	3.7
9.851	24.2
10.899	7.2
12.295	2.3
13.198	6.9
13.393	4.9
14.083	4.2
15.897	3.2
16.280	23.7
17.097	13.7
17.744	47.0
18.289	7.4
19.694	21.5
20.180	4.2
20.443	18.1
20.597	7.3
20.886	42.8
21.948	100.0

角度 (2-θ °)	強度 (%)
22.112	22.5
22.444	4.5
23.194	14.5
23.653	21.9
24.144	11.8
24.714	3.3
25.292	4.1
25.590	5.3
25.810	4.3
26.526	4.0
26.765	4.0
27.084	17.2
27.283	10.5
27.662	3.4
28.159	9.8
28.996	5.3
29.135	4.1
29.912	10.5
30.868	5.0

【0072】 其他特徵分析

(4*S*)-4-異丙基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3*S*)-四氫呋喃-3-基酯游離鹼(上方線，標記為(A))與對

應鹽酸鹽(下方線，標記為(B))之 1H NMR 圖譜示於第 3 圖。

(4*S*)-4-異丙基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3*S*)-四氫呋喃-3-基酯游離鹼(上方線，標記為(C))與對應磷酸鹽(下方線，標記為(D))之 1H NMR 圖譜示於第 4 圖。

【符號說明】

無。

申請專利範圍

1. 一種(4*S*)-4-異丙基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3*S*)-四氫呋喃-3-基酯甲磺酸鹽、與其水合物。
2. 一種(4*S*)-4-異丙基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3*S*)-四氫呋喃-3-基酯硫酸鹽、與其水合物。
3. 一種(4*S*)-4-異丙基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3*S*)-四氫呋喃-3-基酯硫酸鹽 1.5 H_2O。
4. 一種結晶(4*S*)-4-異丙基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]-吡啶-5-羧酸(3*S*)-四氫呋喃-3-基酯甲磺酸鹽，其具有空間群 *P2(1)2(1)2(1)*，與實質上如下之晶胞大小：

a	8.75780(10)Å	α	90°
b	9.70830(10)Å,	β	90°,
c	20.6736(2)Å,	γ	90°,

。

5. 一種結晶(4*S*)-4-異丙基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]-吡啶-5-羧酸(3*S*)-四氫呋喃-3-基酯之甲磺酸鹽，其具有之 XRPD 圖形包含使用 CuKα 輻射測得之下列 2θ 值：21.948。
6. 如申請專利範圍第 5 項所述之鹽，其具有之 XRPD 圖形包含使用 CuKα 輻射測得之下列 2θ 值：17.744 與 21.948。
7. 如申請專利範圍第 5 或 6 項所述之鹽，其具有之 XRPD 圖形包含使用 CuKα 輻射測得之下列 2θ 值：17.744、20.886、21.948。

8. 如申請專利範圍第 5 至 7 項中任一項所述之鹽，其具有之 XRPD 圖形包含使用 CuKα 輻射測得之下列 2θ 值：17.744、20.886、21.948、與 9.851。

9. 如申請專利範圍第 5 至 8 項中任一項所述之鹽，其具有之 XRPD 圖形包含使用 CuKα 輻射測得之下列 2θ 值：17.744、20.886、21.948、9.851 與 16.280。

10. 如申請專利範圍第 5 至 9 項中任一項所述之鹽，其具有之 XRPD 圖形包含使用 CuKα 輻射測得之下列 2θ 值：9.851、16.280、17.097、17.744、19.694、20.443、20.886、21.948、22.112、23.194、23.653、24.144、27.084、27.283 與 29.912。

11. 如申請專利範圍第 5 至 10 項中任一項所述之鹽，其具有如表 4 與/或第 2 圖所示之 XRPD 圖形。

12. 如申請專利範圍第 1 至 11 項中任一項所述之鹽，其具有高於 95%之純度。

13. 如申請專利範圍第 1 至 11 項中任一項所述之鹽，其具有高於 99%之純度。

14. 如申請專利範圍第 1 至 11 項中任一項所述之鹽，其具有高於 99.5%之純度。

15. 如申請專利範圍第 1 至 14 項中任一項所述之鹽，其具有高於 95%之對映異構性純度。

16. 如申請專利範圍第 1 至 14 項中任一項所述之鹽，其具有高於 99%之對映異構性純度。

17. 如申請專利範圍第 1 至 14 項中任一項所述之鹽，其具

有高於 99.5%之對映異構性純度。

18. 一種醫藥組成物，其包含如申請專利範圍第 1 至 17 項中任一項所述之鹽，與一種或多種合適之賦形劑。

19. 如申請專利範圍第 1 至 17 項中任一項所述之鹽，或如申請專利範圍第 18 項之醫藥組成物，其係用於治療選自發炎、發炎疾病、免疫或自體免疫疾患之疾病或病症、或抑制腫瘤生長，或用於製造供治療選自發炎、發炎疾病、免疫或自體免疫疾患之疾病或病症、或抑制腫瘤生長之醫藥。

20. 一種治療選自發炎、發炎疾病、免疫或自體免疫疾患之疾病、或抑制腫瘤生長之方法，其包括對罹患此等疾病之個體投與有效量之如申請專利範圍第 1 至 17 項中任一項所述之鹽，或如申請專利範圍第 18 項之所述醫藥組成物。

21. 如申請專利範圍第 17 項所述之鹽、或如申請專利範圍第 18 項所述之醫藥組成物、或如申請專利範圍第 20 項所述之方法，其中該發炎或發炎疾病或免疫或自體免疫疾患為關節炎(包括類風濕關節炎、幼年性類風濕關節炎、骨關節炎與乾癬性關節炎)、滑膜炎、血管炎、薛格連氏症(Sjogren's disease)、與腸部發炎有關之病症(包括克隆氏症(Crohn's disease)、潰瘍性結腸炎、發炎性腸疾病與腸躁症)、粥狀動脈硬化、多發性硬化、阿茲海默症、血管性失智、巴金森氏症(Parkinson's disease)、腦澱粉樣血管病變、體顯性腦動脈血管病變

併發皮質下腦梗塞及腦白質病變、肺部發炎疾病(包括氣喘、慢性阻塞性肺部疾病與急性呼吸窘迫症候群)、纖維化疾病(包括特發性肺部纖維化、心臟纖維化、肝臟纖維化與全身性硬化(硬皮症))、皮膚發炎疾病(包括接觸性皮膚炎、異位性皮膚炎與乾癬)、眼睛發炎疾病(包括老年性黃斑部病變、葡萄膜炎與糖尿病視網膜病變)、全身性發炎反應症候群、敗血症、肝臟之發炎與/或自體免疫病症(包括自體免疫肝炎、原發性膽道性肝硬化、酒精性肝臟疾病、硬化性膽管炎、與自體免疫膽管炎)、糖尿病(I 或 II 型)與/或其併發症、慢性心臟衰竭、充血性心臟衰竭、缺血性疾病(包括中風與缺血-再灌流傷害)或心肌梗塞與/或其併發症、或癲癇。

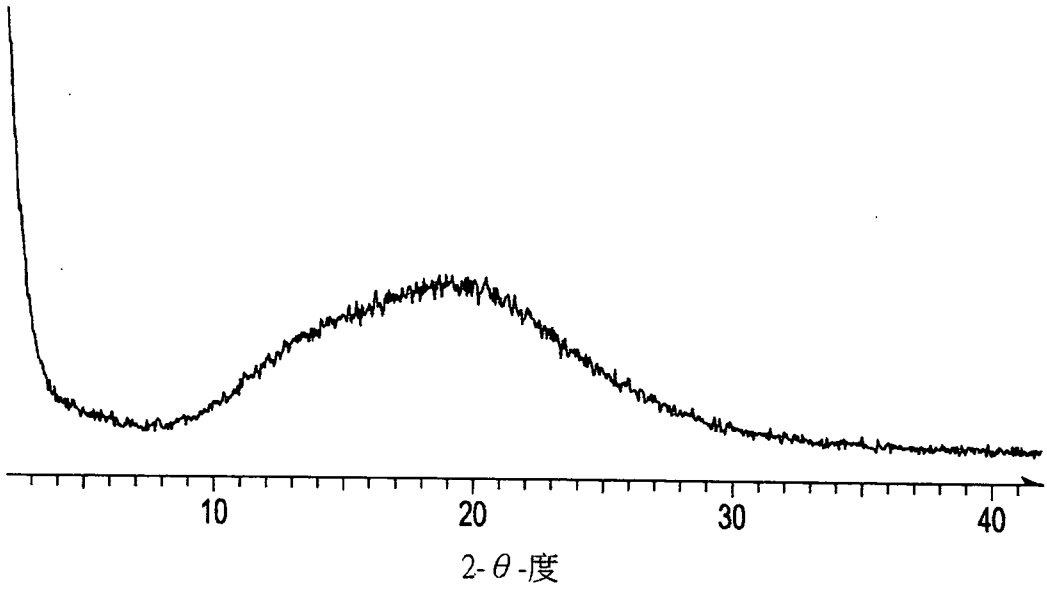
22. 如申請專利範圍第 17 項所述之鹽、或如申請專利範圍第 18 項所述之醫藥組成物、或如申請專利範圍第 20 項所述之方法，其係用於治療選自：類風濕關節炎、骨關節炎、肝臟纖維化、慢性阻塞性肺部疾病、多發性硬化、薛格連氏症(Sjogren's disease)、阿茲海默症、巴金森氏症(Parkinson's disease)、發炎性腸疾病、或血管性失智之疾病。

23. 一種製造結晶(4*S*)-4-異丙基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3*S*)-四氫呋喃-3-基酯甲磺酸鹽之方法，其係由(4*S*)-4-異丙基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3*S*)-四氫呋喃-3-基酯之游離鹼形成甲磺酸鹽。

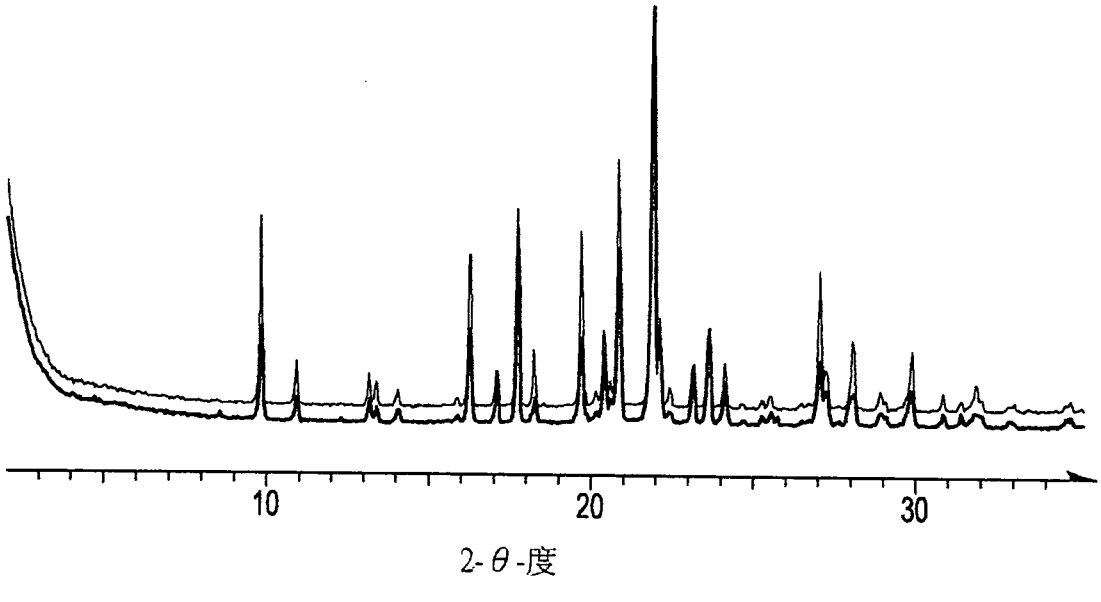
24. 如申請專利範圍第 23 項所述之製法，其中該甲磺酸鹽係添加甲磺酸至 (4*S*)-4-異丙基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3*S*)-四氫呋喃-3-基酯之游離鹼中所形成者。

25. 一種結晶(4*S*)-4-異丙基-1,4,6,7-四氫-5H-咪唑并[4,5-c]-吡啶-5-羧酸(3*S*)-四氫呋喃-3-基酯甲磺酸鹽，其係採用如申請專利範圍第 23 或 24 項所述之製法得到。

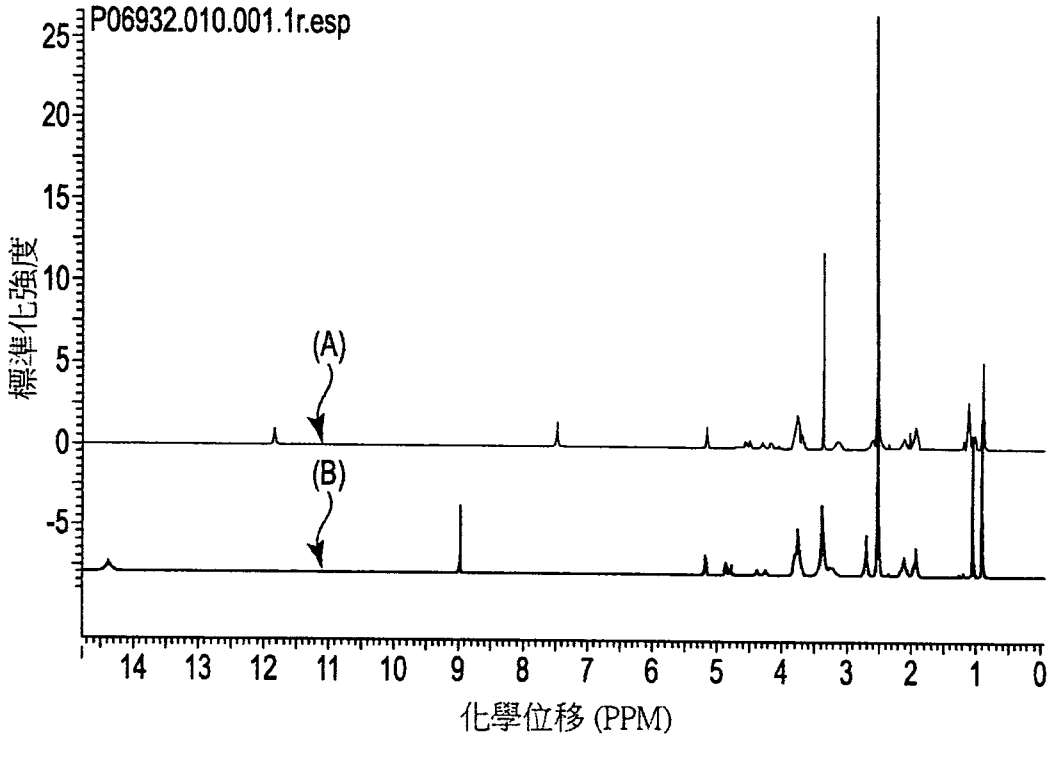
圖式



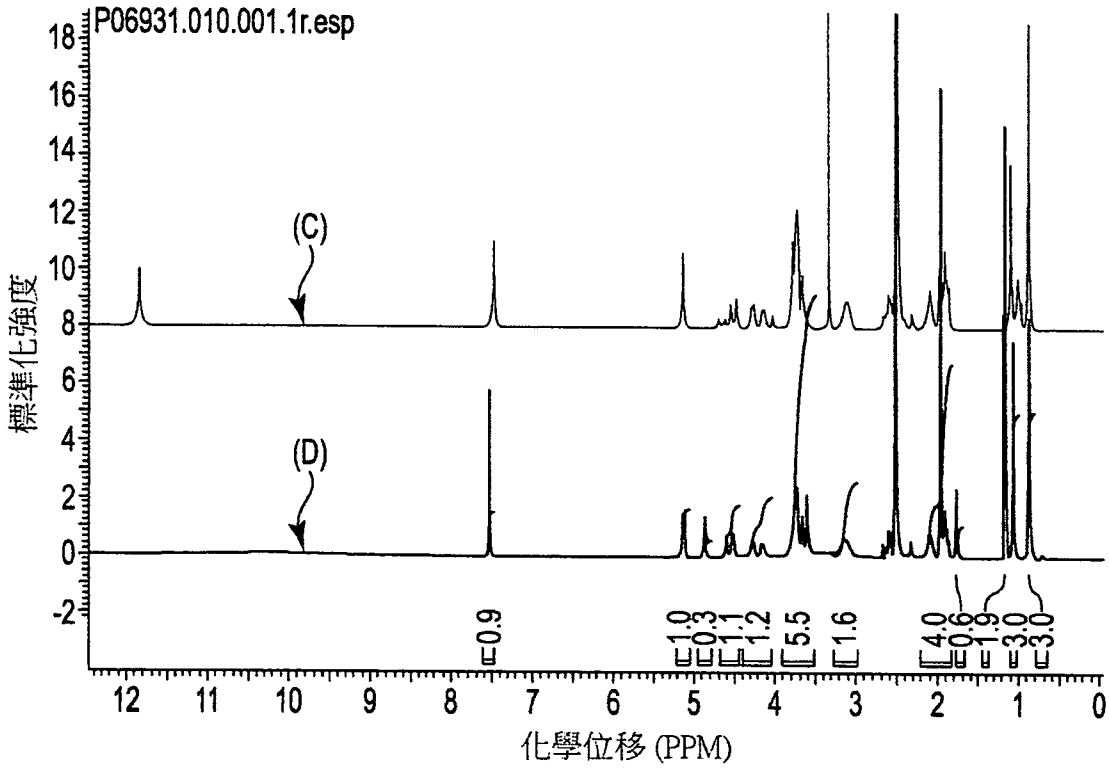
第1圖



第2圖


P06932.010.001.1r.esp
標準化強度
25
20
15
10
5
0
-5
(A)
(B)
14 13 12 11 10 9 8 7 6 5 4 3 2 1 0
化學位移 (PPM)

第3圖


P06931.010.001.1r.esp
(C)
(D)
標準化強度
化學位移 (PPM)
0.9
1.0
0.3
1.1
1.2
5.5
1.6
4.0
0.6
1.9
3.0
3.0

第4圖