



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 118765272 A

(43) 申请公布日 2024. 10. 11

(21) 申请号 202280092729.9

(22) 申请日 2022.12.28

(30) 优先权数据

21218163.0 2021.12.29 EP

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2024.08.28

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2022/087952 2022.12.28

(87) PCT国际申请的公布数据

W02023/126436 EN 2023.07.06

(71) 申请人 拜耳股份公司

地址 德国莱沃库森

申请人 拜耳制药股份公司

(72) 发明人 B·奥勒尼克 B·凯尔

B·罗斯勒 P·费 H·施尔默

G·贝克 J·艾格 C·博特

H·费伯

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001

专利代理师 彭昶

(51) Int.Cl.

C07D 215/48 (2006.01)

A61P 11/00 (2006.01)

A61K 31/47 (2006.01)

权利要求书6页 说明书167页 附图43页

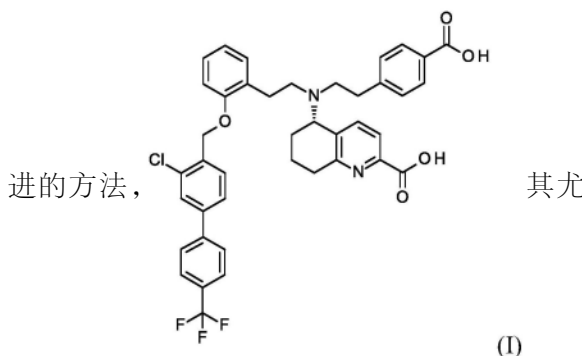
(54) 发明名称

制备用作药物活性化合物的(5S)-{2-(4-羧基苯基)乙基}[2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸及其结晶形式的方法

(57) 摘要

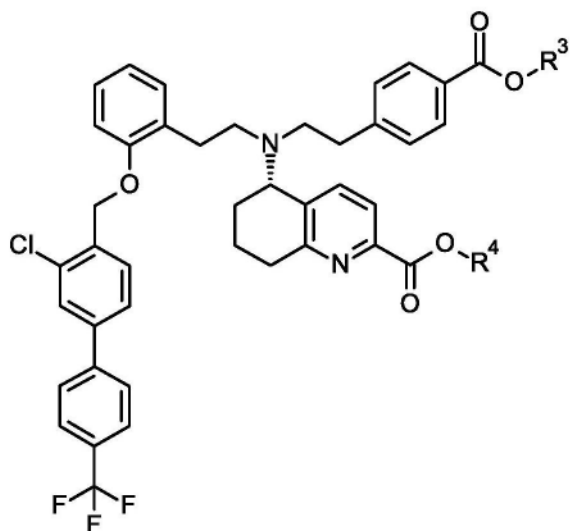
本发明涉及用于制备式(I)的(5S)-{2-(4-羧基苯基)乙基}[2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸及其新型结晶形式的新型和改进的方法,

于制备假多晶形式一水合物I(I-M-I)或假多晶形式一水合物II(I-M-II),优选地式(I-M-I)的一水合物I的新型和选择性结晶方法,以及包含式(I-M-I)的一水合物I的药物组合物及其用于治疗 and/或防止疾病的用途,尤其是用于治疗 and/或防止肺疾病和心肺疾病以及心血管疾病的用途。



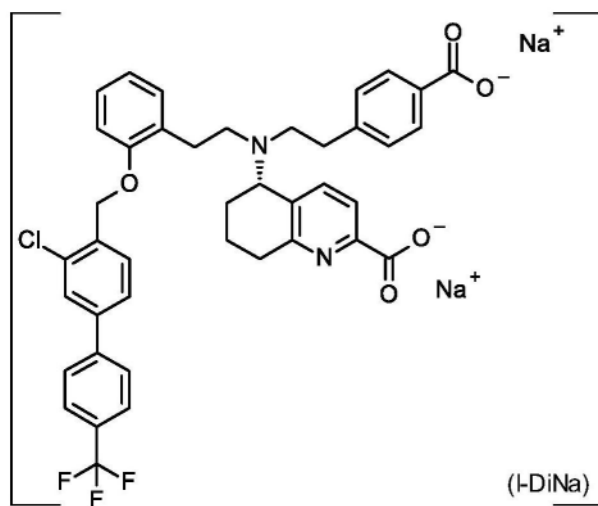
其是假多晶形式一水合物I(I-M-I)或假多晶形式一水合物II(I-M-II),此外本发明涉及用

1. 一种用于制备式 (I) 化合物的方法, 其特征在于在第一步骤 [A] 中将溶解在合适溶剂中的式 (XII-1) 化合物



(XII-1)

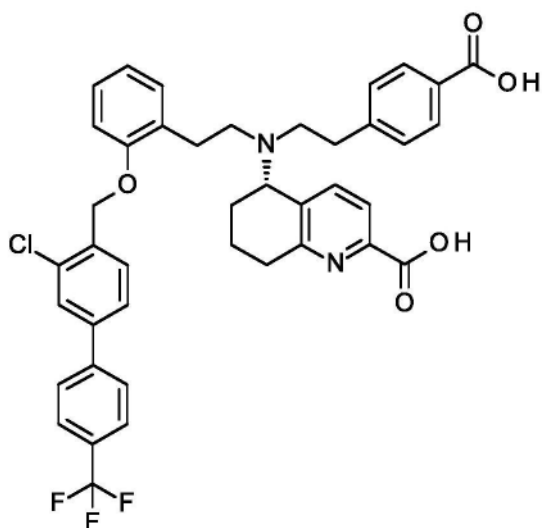
其中 R^3 和 R^4 独立地是 C_1 - C_4 -烷基,
与氢氧化钠溶液反应, 产生二钠盐 (I-DiNa)



(I-DiNa)

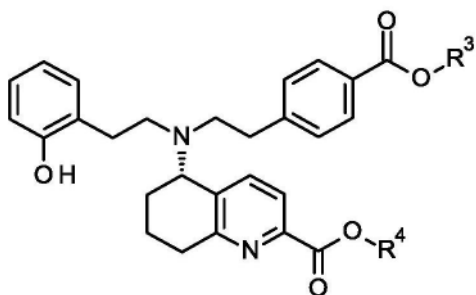
(I-DiNa)

将其萃取纯化但无进一步分离后, 在第二步骤 [B] 中通过以下方式进行反应: 将反应溶液分批添加到无机酸在合适溶剂中的混合物中, 直到达到 3.8 至 4.2 的 pH 值, 其中最初装入的无机酸混合物的 pH 值具有小于 3.8 的值, 并且最多包含与所述二钠盐相关的两个酸当量, 最后得到式 (I) 化合物



(I)。

2. 如权利要求1所述的用于制备式I化合物的方法,其特征在于在第一步骤[C]中将式(X-1)化合物,

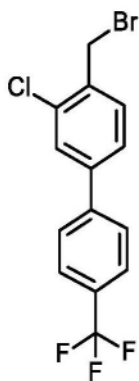


(X-1),

其中

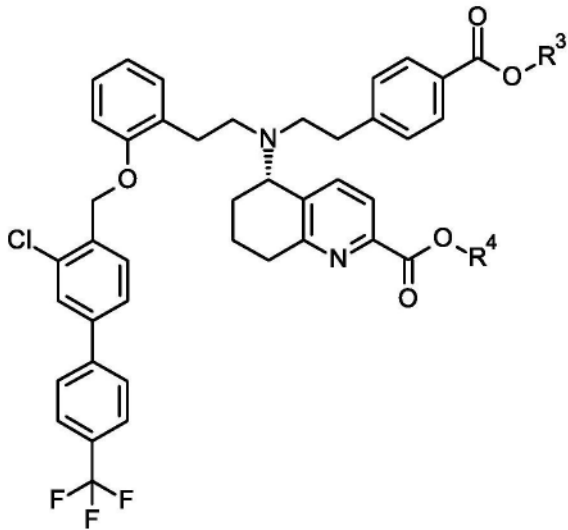
R^3 和 R^4 独立地是 C_1 - C_4 -烷基,

在选自由碱金属碳酸盐、碱金属氢氧化物或四烷基铵碳酸盐组成的组中的碱的存在下,与式(XI)化合物反应,



(XI),

得到式(XII-1)化合物,

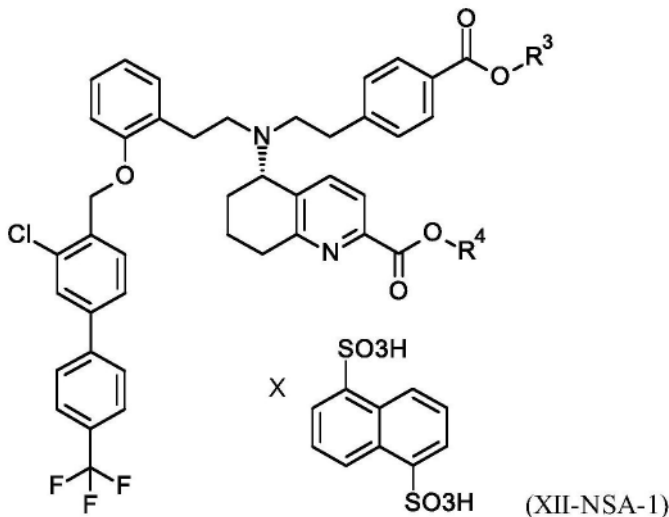


(XII-1)

其中 R^3 和 R^4 独立地是 C_1 - C_4 -烷基,

其进一步的特征在于式(XII-1)化合物在无进一步的纯化下于如权利要求1所述的后续步骤[A]和[B]中反应。

3. 如权利要求1所述的用于制备式I化合物的方法,其特征在于在第一步骤[D]中将式(XII-NSA-1)的NSA盐

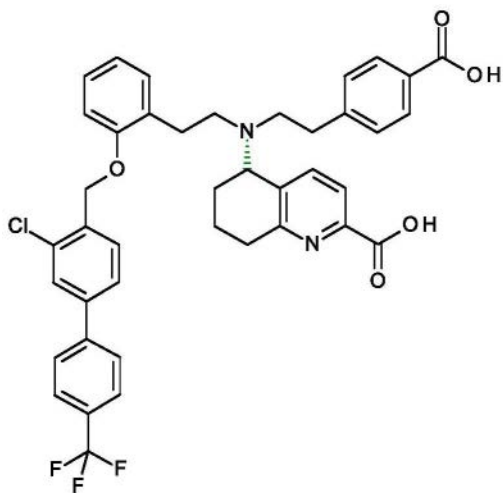


(XII-NSA-1)

其中 R^3 和 R^4 独立地是 C_1 - C_4 -烷基,

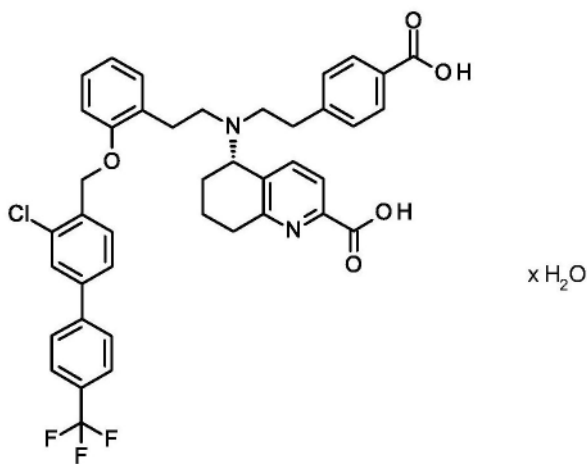
用合适的醚处理并与水和氨水在 10°C 至 25°C 的温度下搅拌,借此最终达到7.8至8.2的pH值,之后用与水不混溶的有机溶剂处理反应混合物,分离各相,并且最后浓缩有机相,产生式(XII-1)的丁酯,将其在不经纯化的情况下于如权利要求1所述的后续步骤[A]和[B]中进一步反应。

4. 一种用于制备呈结晶形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸(I)的方法,其特征在于将式(I)化合物



(I)

从极性溶剂的混合物中结晶,其中所述极性溶剂选自甲醇、丙酮、水所组成的清单,其中至少甲醇和水的混合物在20°C至100°C的温度下为必需的,并将化合物(I-M-I)



(I-M-I)

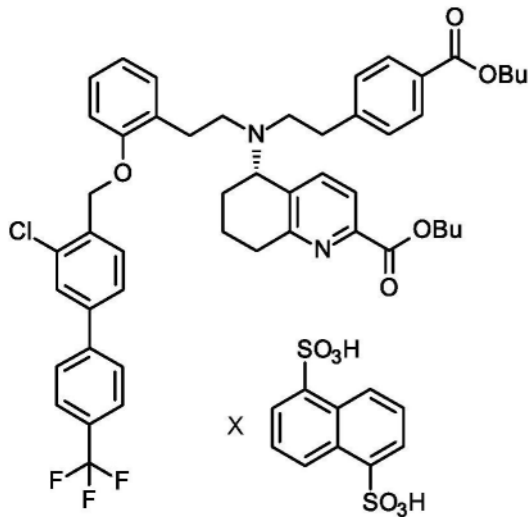
分离,任选地在冷却后,

其特征在于式(I-M-I)化合物的X射线衍射图(在25°C下并以Cu-K α 1作为放射源)展示至少以下反射:12.8和29.2,以2 θ 值 \pm 0.2°表示。

5. 如权利要求4所述的用于制备呈结晶形式的(5S) - {[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基} -5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸(I)的方法,其特征在于将所述式I的酸首先在50°C的温度下溶解在1:1的甲醇和丙酮混合物中,优选地相对于以克(g)计的式I固体化合物的量,以每种溶剂4倍(相对于1:1混合物8倍量)并冷却至室温,优选地20°C,通过过滤来使溶液澄清,再次加热至50°C并在一段时间内逐滴添加相对于以克(g)计的固体式I化合物的量1.8倍量的水。

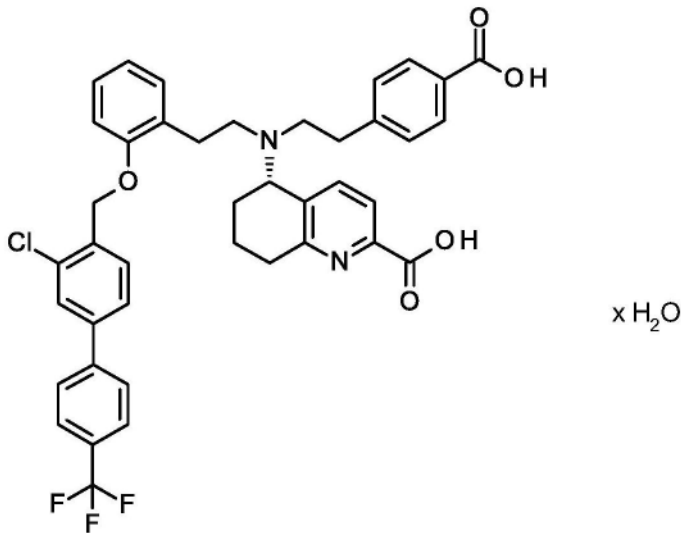
6. 如权利要求4或5所述的用于制备呈结晶变体一水合物I的(5S) - {[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基} -5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸(I) (I-M-I)的方法,其特征在于所述式I的酸通过如权利要求1至3中任一项所述的方法所制备。

7. 一种式(XIII)化合物



(XIII)。

8. 一种式 (I-M-I) 的呈结晶变体一水合物 I 的 (5S) - {[2 - (4 - 羧基苯基) 乙基] [2 - (2 - {[3 - 氯 - 4' - (三氟甲基) 联苯 - 4 - 基] 甲氧基} 苯基) 乙基] 氨基} - 5,6,7,8 - 四氢喹啉 - 2 - 甲酸



(I-M-I)

其特征在于所述化合物的x射线衍射图(在25℃下并以Cu-Kα1作为放射源)展示至少以下反射,以2θ值±0.2°表示:12.8和29.2。

9. 如权利要求8所述的式 (I-M-I) 一水合物 I, 其特征为于25℃和以Cu-Kα1作为放射源所测量的X射线衍射图展示至少以下反射,以2θ值±0.2°表示:6.9、7.2、7.3、12.8和29.2。

10. 一种药物组合物,其包含如权利要求8或9所述的式 (I) 化合物的式 (I-M-I) 的结晶形式一水合物 I 和任选地另外的药学上可接受的赋形剂。

11. 如权利要求8至9中任一项所述的式 (I) 化合物的式 (I-M-I) 的结晶形式一水合物 I, 其用于治疗和/或预防心肺疾病。

12. 如权利要求10所述的药物组合物,其用于治疗 and/或预防心肺病症,诸如肺动脉高压 (PAH)、慢性血栓栓塞性肺高压 (CTEPH) 和与慢性肺疾病相关的肺高压 (PH) (第3类PH), 诸如慢性阻塞性肺疾病中的肺高压 (PH-COPD) 和肺高血压并发特发性间质性肺炎 (PH-IIP)。

13. 如权利要求8至9中任一项所定义的化合物的用途,其用于制造用于治疗或防止心肺病症,诸如肺动脉高压 (PAH)、慢性血栓栓塞性肺高压 (CTEPH) 和与慢性肺疾病相关的肺

高压 (PH) (第3类PH), 诸如慢性阻塞性肺疾病中的肺高压 (PH-COPD) 和肺高血压并发特发性间质性肺炎 (PH-IIP) 的药物组合物。

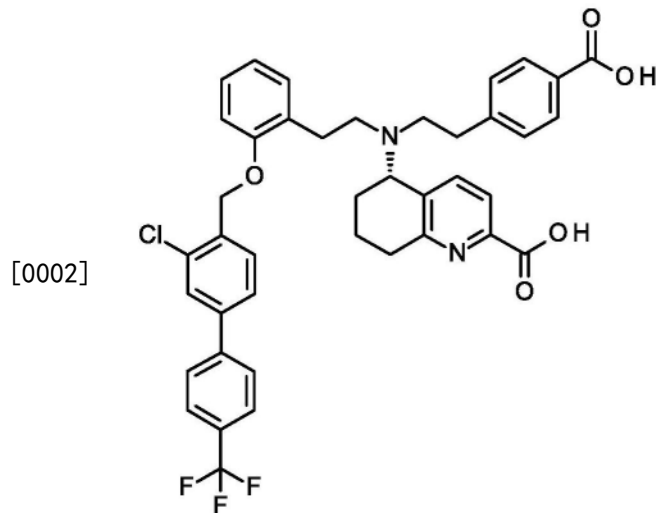
14. 如权利要求8至9中任一项所定义的式 (I-M-I) 化合物的用途, 其用于制造用于干粉吸入器的稳定的吸入剂型。

15. 一种在哺乳动物中治疗或防止心肺病症的方法, 其特征在于所述心肺病症选自由以下组成的组: 肺动脉高压 (PAH)、慢性血栓栓塞性肺高压 (CTEPH) 和与慢性肺疾病相关的肺高压 (PH) (第3类PH), 诸如慢性阻塞性肺疾病中的肺高压 (PH-COPD) 和肺高血压并发特发性间质性肺炎 (PH-IIP), 所述方法包括向有需要的哺乳动物施用治疗有效量的如权利要求8至9中任一项所述的式 (I-M-I) 化合物。

制备用作药物活性化合物的 (5S) - {[2- (4-羧基苯基) 乙基] [2- (2- {[3-氯-4'- (三氟甲基) 联苯-4-基] 甲氧基} 苯基) 乙基] 氨基} -5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸及其结晶形式的方法

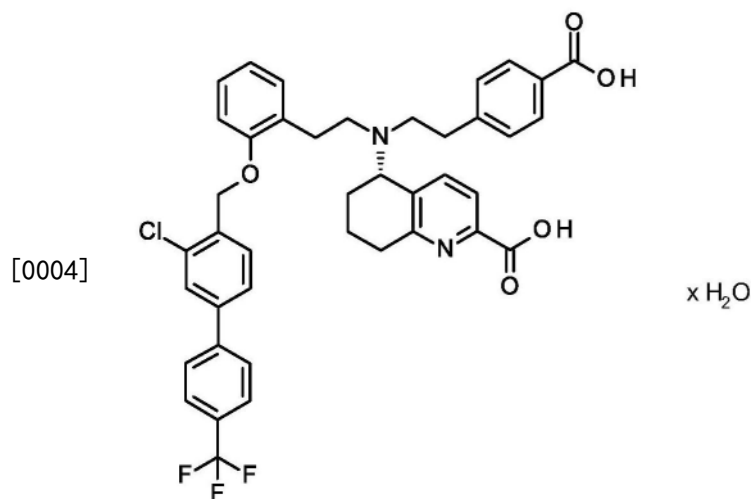
技术领域

[0001] 本发明涉及用于制备式 (I) 的 (5S) - {[2- (4-羧基苯基) 乙基] [2- (2- {[3-氯-4'- (三氟甲基) 联苯-4-基] 甲氧基} 苯基) 乙基] 氨基} -5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸及其新型结晶形式的新型和改进的方法,



(I)

[0003] 其尤其是假多晶形式一水合物I (I-M-I) 或一水合物II (I-M-II),



(I-M-I), (I-M-II)。

[0005] 此外本发明涉及用于制备假多晶形式一水合物I (I-M-I) 或假多晶形式一水合物II (I-M-II), 优选地式 (I-M-I) 的一水合物I的新型和选择性结晶方法, 以及包含式 (I-M-I) 的一水合物I或假多晶形式一水合物II (I-M-II), 优选地式 (I-M-I) 的一水合物I的药物组合物及其用于治疗 and/或预防疾病的用途, 尤其是用于治疗 and/或预防肺疾病、心肺疾病和心血管疾病, 诸如肺动脉高压 (PAH)、慢性血栓栓塞性肺高压 (CTEPH) 和与慢性肺疾病相关的肺高压 (PH) (第3类PH), 诸如慢性阻塞性肺疾病中的肺高压 (PH-COPD) 和肺高血压

并发特发性间质性肺炎(PH-IIP)的用途。

[0006] 在本发明的上下文中, (I-A)是指无定形形式的式(I)化合物;结晶变体I,一水合物I称为(I-M-I),并且结晶变体II,一水合物II称为(I-M-II)。在无进一步区分下,式(I)化合物以一种或多种变体或以溶剂化物,尤其是以水合物存在。

[0007] 未发表的药理学研究令人惊讶地揭示了W02014/012934的实例23,即式(I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸相比于W02014/012934中所公开的类似5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸具有改善的药理学性质,如,例如更长的作用时间。因此,式I的酸适用于治疗心肺疾病和用于制造用于这些疾病的吸入性药物。

[0008] 由于其在目标肺部疾病中的适用性、便利性以及患者的顺从性和依从性,因此选择干粉吸入剂型作为优选的药物形式。

[0009] 然而,如W0 14/012934-A1的实例23所公开,式(I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸仅能以无定形形式获得(参见比较实施例11),不适用于通过干粉吸入器施用的吸入剂型。

[0010] 对于开发药用形式,尤其是呈包含呈固体形式的式(I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸的干粉吸入形式,对于可重复制造和分离呈一种限定的结晶形式的式(I)化合物存在很高的需求。

[0011] 需要许多努力才能将式I化合物最终结晶成限定的固体形式。

[0012] 通常式(I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸倾向于以无定形状态固化。为了克服此性质,进行了盐选择筛选,试图找出具有有益性质的新结晶物质。所有的试验都导致无定形或高度无序的物质,并且并未观察到盐形成。

[0013] 提出用L-精氨酸实验所产生的残余物的XRPD图作为实例(参见图4)。

[0014] 令人惊讶地,获得数种假多晶形形式的式I化合物,并未发现无水结晶形式。

[0015] 已鉴定出以下式(I)化合物的结晶形式,其为假多晶形形式一水合物I和II((I-M-I)和(I-M-II))、半水合物、倍半水合物、二水合物和1,25水合物(参见实施例6,图5至图32)。在本文中,变体、多晶形形式和多晶型具有相同的含义。另外,还存在无定形形式。所有这些-假多晶形形式和无定形形式-都是式(I)化合物的不同的固体形式。

[0016] 化合物的稳定性和均一性是医药的关键要求以及取得卫生当局批准的先决条件。其增加了包含式(I)化合物的制备物和制剂的安全性和质量,并且因此降低了对患者的风险。

[0017] 然而,在数个鉴定的假多晶形形式中,必须在数个阶段期间鉴定出最合适和稳定的形式。

[0018] 发现二水合物在干燥过程中经历了无定形化(参见图10a)。半水合物的晶格表现出无序(参见图5),其可支持机械加工,如,例如配制过程中的相变和/或无定形化。因为搅拌过程非常长,倍半水合物的结晶对于大规模制造并不可行。

[0019] 发现两种一水合物克服了这些不同假多晶形形式的不想要的性质。然而最终证明

这些一水合物形式中仅有一种在微粉化过程中是稳定的,因此最合适的形式例如用于生产吸入性药物,尤其是作为干粉为基底的吸入性药物。令人惊讶地,在微粉化过程中,发现一水合物II根据微粉化条件显示部分无定形化(参见实施例8b,图42)或除此之外还转变为一水合物I(参见实施例8a,图43)。此外,观察到一水合物II也在储存期间显示转变成一水合物I(参见实施例7b,图40和41)。因此假多晶形式一水合物I适合用于医药领域并优于式I化合物的其他固体形式,特别适用于药物组合物,尤其是干粉吸入剂型。

[0020] 特别是式(I)化合物的一水合物I形式确保防止不期望的转化为式(I)化合物的另一种形式和如上所述的相关性质变化。

[0021] 式(I)、(I-M-I)和(I-M-II)的化合物作为可溶性鸟苷酸环化酶的活化剂并可用作用于预防和/或治疗肺、心肺和心血管疾病的剂,诸如例如用于治疗肺动脉高压(PAH)和与慢性肺疾病相关的肺高压(PH)(第3类PH),诸如慢性阻塞性肺病中的肺高压(PH-COPD)和肺高血压并发特发性间质性肺炎(PH-IIP),更具体地,其涉及治疗心肺病症的方法,诸如肺动脉高压(PAH)和与慢性肺疾病(第3类PH)相关的肺高压(PH),诸如PH-COPD和PH-IIP。

背景技术

[0022] 肺高压(PH)是一种进行性肺病症,如果不治疗,会在诊断后数年内导致死亡。肺高压由平均肺动脉压(mPAP)升高来定义(静止时正常值 $<20\text{mmHg}$)。肺高压的病理生理学特征为肺血管的血管收缩和重塑。在慢性PH中,主要是未肌肉化的肺血管出现新肌肉化,以及已肌肉化的血管的血管肌周长增加。这种逐渐增加的肺循环闭塞造成对于右心渐进的压力,从而导致右心输出量减少和最终导致右心衰竭[M. Humbert等人, J. Am. Coll. Cardiol. 2004, 43, 13S-24S]。特发性(或原发性)肺动脉高压(IPAH)是一种非常罕见的病症,而继发性肺高压(非PAH PH)则非常常见,并且有人认为后者是目前第三大最常见的冠心病和全身性高血压后的心血管疾病类群。自2008年以来,根据Dana Point分类,肺高压根据各自的病因分为多个亚群[M. Humbert和V. V. McLaughlin, J. Am. Coll. Cardiol. 2009, 54(1), S1-S2; D. Montana和G. Simonneau, in: A. J. Peacock等人(编), Pulmonary Circulation. Diseases and their treatment, 第3版, Hodder Arnold Publ., 2011, 第197-206页; 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]。

[0023] 尽管PH的治疗已有所进展,但目前尚未有治愈此严重病症的前景。市面上可获得的标准疗法(例如前列环素类似物、内皮素受体拮抗剂、磷酸二酯酶抑制剂)能够改善患者的生活质量、运动耐受力 and 预后。这些治疗原则主要是全身施用(除吸入的曲前列尼尔(Treprostinil)和吸入伊洛前列素(Iloprost)或NO之外)和主要通过调节血管紧张度在血流动力学上发挥作用。这些药物的应用由于副作用而受限,其中某些副作用很严重,和/或施用形式复杂。通过特定的单一疗法可改善或稳定患者临床状况的时间是有限的(例如由于耐受性的发展)。最终治疗升级并因此应用其中必须同时给予多种药物的组合疗法。目前,这些标准疗剂仅批准用于治疗肺动脉高压(PAH)和慢性血栓栓塞性肺高压(CTEPH)。在

与肺疾病(第3类PH)相关的继发性PH形式,诸如PH-COPD或PH-IIP的情况下,这些治疗原则(例如西地那非(sildenafil)、波生坦(bosentan))在临床研究中失败,因为非选择性血管舒张剂,其造成了患者中动脉氧含量降低(去饱和)。就此可能的原因是由于非选择性血管舒张剂的全身施用对异质性肺病症的肺通气-灌注调适产生不利影响[I. Blanco等人, Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2010, 181, 270-278; D. Stolz等人, Eur. Respir. J. 2008, 32, 619-628]。

[0024] 新型组合疗法是治疗肺高压的最有前景的未来治疗选择之一。在这方面,发现治疗PH的新药理学机制特别有利[Ghofrani等人, Herz 2005, 30, 296-302; E. B. Rosenzweig, Expert Opin. Emerging Drugs 2006, 11, 609-619; T. Ito等人, Curr. Med. Chem. 2007, 14, 719-733]。特别是可与市面上已有的治疗概念相结合的新型治疗方法可能形成更有效治疗的基础,因此对患者有很大的好处。另外,此新型作用原理的选择性肺部适用性不仅可提供将其用于PAH的选项,而且还可为罹患PH的继发性形式(第3类PH)的患者提供第一治疗选项,因为其经由吸入应用靶向应用到肺部的通气区域,避免非选择性的全身血管舒张。

[0025] 在肺高压的动物模型中,证明了吸入性施用呈微粒形式的sGC活化剂BAY 58-2667(西那西呱(cinaciguat))导致肺动脉压的剂量依赖的选择性降低。在此模型中,静脉内施用1H-1,2,4-噁二唑并[4,3-a]喹啉-1-酮(ODQ),其氧化sGC的修复血红素基团,降低了吸入NO(iNO)的血管舒张效应,而这是由于BAY 58-2267而增加。这些结果导致了吸入性施用sGC活化剂可能代表一种新型的有效治疗罹患肺高压患者的方法的假设,特别是如果这些患者因缺乏NO或sGC氧化而对iNO和/或PDE5抑制剂的反应降低[O. V. Evgenov等人, Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2007, 176, 1138-1145]。然而,在此模型中,西那西呱本身并不具有足够的作用持续时间,并且另外,更高的剂量会导致不想要的全身性副作用。

[0026] Merck Sharp Dohme正在开发一种sGC刺激剂吸入应用,作为用于PAH的干粉(MK5475; NCT04609943)。然而,如同PH和其他肺部疾病,吸入的一氧化氮(iNO)和sGC刺激剂的反应性可能因sGC的氧化而受损。靶向肺部的吸入性sGC活化剂可能克服此限制。

[0027] 就此,应可将(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸与已批准、既有的肺高压标准疗法,以及与慢性肺疾病(例如COPD)和继发性PH形式的IIP的基本疗法结合。

[0028] 口服应用通常是活性药物的优选施用途径。对于心肺适应症,将药物局部应用于目标器官肺部是优选的,以便通过增加局部药物浓度来提高功效,并避免药物因全身利用度而造成的全身副作用。一般而言,较低频率的剂量方案是理想的,例如用以提高患者对治疗的依从性(患者的顺从性),但必须确定24小时的覆盖供在给药间隔期间血流动力学活性药物的持续功效。许多肺部靶向的吸入药物需要频繁应用方案(例如伊洛前列素/万他维(Ventavis)),由于其例如半衰期和/或肺部保留时间短,需要每日多次应用供24小时覆盖。具体地说,由于对患者有利的方便性和顺从性因素,每日应用一次是优选的。然而,根据药物物质的特定行为和性质,尤其是其肺选择性和肺保留时间,此目标有时难以达成。

[0029] 另一种全身施用方式,注射,甚至与许多缺点相关(例如,需要临床就诊的不便、不适、患者对于基于针头的递送方法的厌恶、施用侧的药物反应),更需要替代施用途径。

[0030] 通过吸入的肺部递送是一种可提供优于口服和注射施用数个优点的替代施用途径。这些优点尤其是通过增加局部浓度和降低全身药物副作用的可能性而功效更高,并且

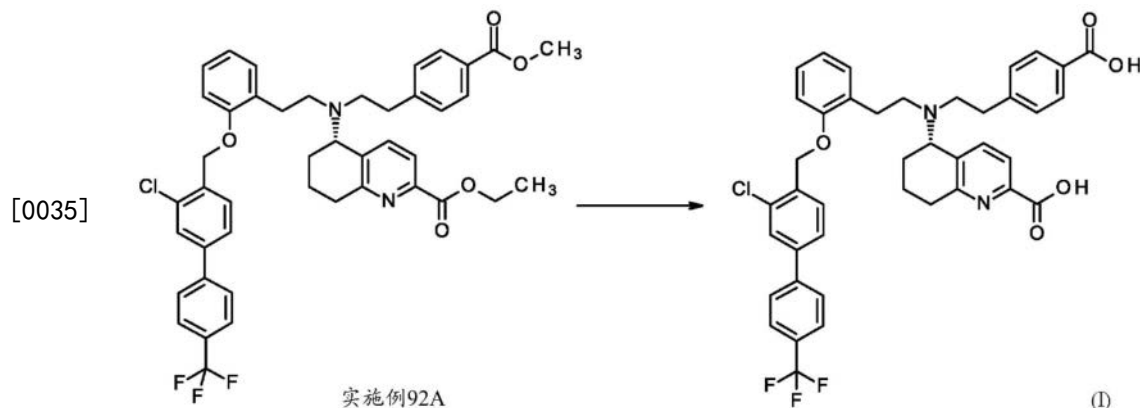
还包括患者自我施用的便利性、易于通过吸入递送、免除针头等。

[0031] 对于吸入用药物制备物,其中不需要佐剂,特别是在用于悬浮液吸入的固体制备物的情况下,制备物可单独由活性成分组成。然而,出于实际原因,例如为了促进非常低剂量活性成分的药物递送,制备物通常是除了活性成分外还含有一种或多种药理上无活性且生理上可接受的赋形剂或载剂的药物。例如,在R.Stangl,“An Overview of Innovative Inhalation Devices”,European Pharmaceutical Review,第50-55页,(2002)和文中引用的参考文献中可找到各种合适的制备物和对应的施用辅助的综述。在2019年,Moon等人发表了关于口服吸入产品递送技术的最新综述(Moon等人,AAPS PharmSciTech 20,2019 117 第1-17页)。

[0032] 先前技术

[0033] 无定形形式的式(I)化合物(参见比较实施例11)及其制备方法描述于专利申请W0 2014/012934(参见实施例23)中,从前体5-(2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基){2-[4-(甲氧基羰基)-苯基]乙基}氨基)-5,6,7,8-四氢-喹啉-2-甲酸乙酯(W0 2014/012934中的实施例92A)开始,并概述于以下流程1中。

[0034] 方案1:根据W0 2014/012934制备式(I)化合物

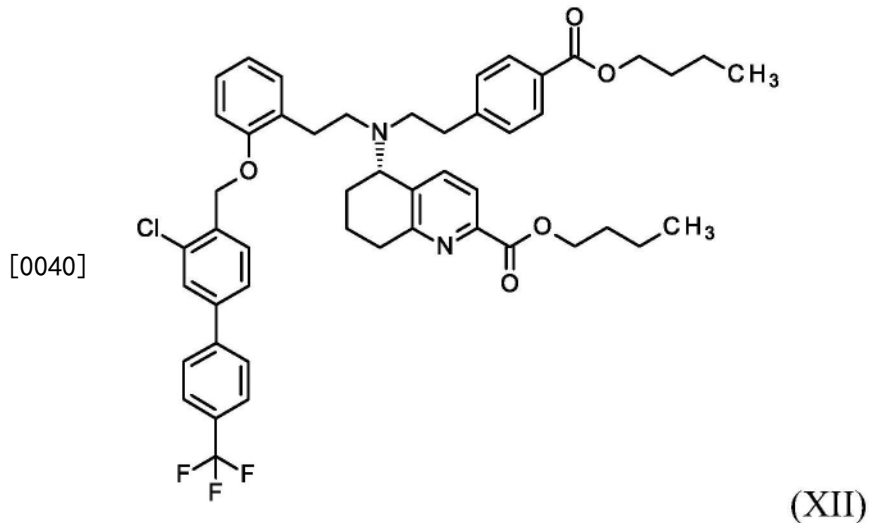


[0036] 通过浓缩色谱级分,获得无定形固体的式(I)化合物(moslicigat)。用于调整多晶型物的最后阶段结晶的定义方法迄今未有描述。

[0037] 此种制造方法的另一项缺点是其导致增加的低溶解度单钠盐的形成(参见例如比较实施例12)。不可能通过添加另外的酸将此单钠盐转化为游离酸。这导致大量未使用的单钠盐,其就药物物质的质量要求而言是不可接受的并且必须滤除,因此降低了式I化合物的产率。

[0038] 此外,在W0 2014/012934所公开的方法中使用二噁烷作为溶剂,不符合ICH指南。与此相反的,在本发明方法中以THF替换二噁烷。

[0039] 式(I)化合物的另一种前体,即(5S)-5-({2-[4-(丁氧基羰基)苯基]乙基}[2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯]-4-基]甲氧基}苯基)乙基)氨基)-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸丁酯(化合物XII)的改进的合成



[0041] 已公开于W02021/233783中。然而,在此参考文献中并没有公开式(I)化合物本身的合成方法。

[0042] 因此,需要可重现地以高总产率、低生产成本和高纯度满足所有法规要求来提供式(I)化合物和尤其是结晶一水合物I(I-M-I)和/或II(I-M-II),优选地式(I-M-I)的一水合物I,在大工业规模上可实行的改进合成。

附图说明

[0043] 图1a和图1b:基于胶囊的单一单位剂量吸入器

[0044] 图2:在施用0.15、0.5、1.5和5 μ g/kg比较实施例11后观察到的(符号)和拟合的(实线)肺动脉压(=PAP)变化

[0045] 图3:在对应的肺沉积剂量下,60kg人的最大预期PAP降低

[0046] 图4:建立在L-精氨酸盐筛选实验上的无定形残余物的X射线粉末衍射图

[0047] 图5:实施例6a,半水合物的X射线粉末衍射图

[0048] 图6:实施例6b,一水合物I的X射线粉末衍射图

[0049] 图7:实施例6c,一水合物II的X射线粉末衍射图

[0050] 图8:实施例6d,1,25-水合物的X射线粉末衍射图

[0051] 图9:实施例6e,倍半水合物的X射线粉末衍射图

[0052] 图10:实施例6f,二水合物的X射线粉末衍射图

[0053] 图10a:实施例6f,干燥后二水合物的X射线粉末衍射图

[0054] 图11:实施例6g,无定形形式的X射线粉末衍射图

[0055] 图12:实施例6a,半水合物的拉曼光谱

[0056] 图13:实施例6b,一水合物I的拉曼光谱

[0057] 图14:实施例6c,一水合物II的拉曼光谱

[0058] 图15:实施例6d,1,25-水合物的拉曼光谱

[0059] 图16:实施例6e,倍半水合物的拉曼光谱

[0060] 图17:实施例6f,二水合物的拉曼光谱

[0061] 图18:实施例6g,无定形形式的拉曼光谱

[0062] 图19:实施例6a,半水合物的IR光谱

- [0063] 图20:实施例6b,一水合物I的IR光谱
- [0064] 图21:实施例6c,一水合物II的IR光谱
- [0065] 图22:实施例6d,1,25-水合物的IR光谱
- [0066] 图23:实施例6e,倍半水合物的IR光谱
- [0067] 图24:实施例6f,二水合物的IR光谱
- [0068] 图25:实施例6g,无定形形式的IR光谱
- [0069] 图26:实施例6a,半水合物的DSC-和TGA-温谱图
- [0070] 图27:实施例6b,一水合物I的DSC-和TGA-温谱图
- [0071] 图28:实施例6c,一水合物II的DSC-和TGA-温谱图
- [0072] 图29:实施例6d,1,25-水合物的DSC-和TGA-温谱图
- [0073] 图30:实施例6e,倍半水合物的DSC-和TGA-温谱图
- [0074] 图31:实施例6f,二水合物的DSC-和TGA-温谱图
- [0075] 图32:实施例6g,无定形形式的DSC-和TGA-温谱图
- [0076] 图33:比较实施例11,无定形形式的X射线粉末衍射图
- [0077] 图34:实施例1,一水合物II的X射线粉末衍射图
- [0078] 图35:实施例2,微粉化前,一水合物II的X射线粉末衍射图图36:实施例2,微粉化后,一水合物II,部分无定形化的X射线粉末衍射图
- [0079] 图37:实施例3,一水合物I的X射线粉末衍射图
- [0080] 图38:实施例4,一水合物I的X射线粉末衍射图
- [0081] 图39:实施例5,一水合物I的X射线粉末衍射图
- [0082] 图40:实施例7的X射线粉末衍射图(储存稳定性):针对储存稳定性的起始物质,一水合物II
- [0083] 图41:实施例7的X射线粉末衍射图(储存稳定性):在25℃和60%相对湿度下于聚乙烯中一个月的储存稳定性测试后的物质,一水合物I
- [0084] 图42:实施例8b(微粉化)的X射线粉末衍射图的覆盖图:起始物质(一水合物II)(下方线)和微粉化后的物质(具有无定形量的一水合物II,涂覆PTFE的气流粉碎机,25℃)(上方线)
- [0085] 图43:实施例8a的X射线粉末衍射图(微粉化):微粉化后的物质(具有无定形量的一水合物I,VA气流粉碎机,25℃)
- [0086] 图44:X射线粉末衍射图(实施例8e)(微粉化):微粉化后的物质(一水合物I)
- [0087] 图45:媒介物溶液、比较实施例11(10、30和100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 标称剂量)和万他维(10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 标称剂量)在PAH小型猪模型中吸入应用后的效应。数据表示为PAP和BP相对于基线(雾化开始前的10min间隔)的%变化。数据为平均值 \pm SEM。所有化合物的雾化间隔花费5-7min(灰色长条)。
- [0088] 图46:乳糖以及乳糖制剂I(7.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$)在气管内应用后的效应。数据为平均值 \pm SEM(n=3);用PennCentury干粉吹入器和空气泵进行气管内应用;BP:动脉血压;PAP:肺动脉压;SEM:平均值的标准误差
- [0089] 图47:乳糖以及乳糖制剂II(22.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$)在气管内应用后的效应。数据为平均值 \pm SEM(n=3);用PennCentury干粉吹入器和空气泵进行气管内应用;BP:动脉血压;PAP:肺动

脉压;SEM:平均值的标准误差

[0090] 图48:乳糖和微粉化倍半水合物,例如实施例6e (375 μ g/kg) 在气管内应用后的效应。数据为平均值 \pm SEM (n=3);用PennCentury干粉吸入器和空气泵进行气管内应用;BP:动脉血压;PAP:肺动脉压;SEM:平均值的标准误差

[0091] 图49:气管内应用不同乳糖媒介物、乳糖制剂I (7.5 μ g/kg)、乳糖制剂II (22.5 μ g/kg) 和微粉化倍半水合物实施例6e (375 μ g/kg) 的效应。数据示出为相对于预置值的%变化,以平均值 \pm SEM (n=3) 表示

[0092] 图50:在气管内应用不同水合物,微粉化一水合物II (实施例2)、微粉化半水合物 (实施例6a) 和微粉化倍半水合物 (实施例6e) 后的比较实例11对BP和PAP的效应。数据示出为绝对值 [mmHg],以平均值 \pm SEM (n=3) 表示

[0093] 图51:在气管内应用不同水合物,微粉化一水合物II (实施例2)、微粉化半水合物 (实施例6a) 和微粉化倍半水合物 (实施例6e) 后的比较实例11对BP和PAP的效应。数据示出为绝对值 [mmHg],平均值 \pm SEM (n=3) 表示

[0094] 图52:cGMP (nmol/L) 的平均值 \pm SD-480 μ g (实施例2) 剂量组 (SAF, N=9) 的治疗前 (第-1天)、第一 (第1天) 和最后 (第8天) 治疗日的比较

[0095] 图53:cGMP (nmol/L) 的平均值 \pm SD-1000 μ g (实施例2) 剂量组 (SAF, N=9) 的治疗前 (第-1天)、第一 (第1天) 和最后 (第8天) 治疗日的比较

[0096] 图54:cGMP (nmol/L) 的平均值 \pm SD-2000 μ g (实施例2) 剂量组 (SAF, N=9) 的治疗前 (第-1天)、第一 (第1天) 和最后 (第8天) 治疗日的比较

[0097] 图55:cGMP (nmol/L) 的平均值 \pm SD-安慰剂组 (SAF, N=9) 的治疗日比较

[0098] 图56:在基线日 (-1d02h-0d00h)、第一次吸入日 (0d00h-2d00h)、谷测量 (2d00h-7d00h) 和吸入7天后 (7d00h-10d00h) 随时间变化的体液中cGMP的平均值 (N=9) \pm SD (nmol/L)

[0099] 图57:随时间变化的总比气道阻力 (kPa/秒) 的平均值 (480、1000和2000 μ g各N=36,12,实施例2) 和SD:筛选1/2、基线日 (-1d00h-0d00h)、第一次吸入日 (0d00h-0d06h),吸入后的测量 (2d02h-6d04h) 和吸入7天后 (7d00h-7d06h)。

[0100] 图58:安慰剂 (N=4) 和1000 μ g (N=17) 实施例2在治疗前的日子 (-1d00h--0d09h)、第一次吸入日 (-0d02h-1d00h),吸入之前和之后的测量 (2d00h-2d12h,6d00h-6d12h,10d00h-10d12h) (概况分析日)、日子 (3d-5d,7d-9d,11d-12d) 吸入之前的谷和最后14天吸入 (12d22h-20d00h) 随时间变化的cGMP与基线的差异平均值 (nmol/L)。

[0101] 图59:为研究肺沉积而进行的治疗方案

[0102] 图60:半对数标度上,血浆中实施例4浓度 (μ g/L) 的几何平均值和标准偏差。

[0103] 图61:到达咬嘴的部分剂量 (喷出剂量),和残留在胶囊中、在装置中的部分剂量,沉积的肺剂量和到达GIT道的部分剂量

[0104] 图62:PAH或CTEPH患者临床研究的研究设计

[0105] 图63:在PAH或CTEPH患者中进行的临床研究A部分的汇总

[0106] 图64:在吸入实施例4后 (0D00H30M至0D03H00M) 在PAH或CTEPH患者中 (240、480、1000、2000和4000 μ g组,各N=4,符合方案集),随时间变化的肺血管阻力 (PVR) 与基线 (0D00H00M) 相比的相对变化 (%) 的平均值和SD

[0107] 图65:在吸入实施例4后(0D00H30M至0D03H00M)在PAH或CTEPH患者中(240、480、1000、2000和4000 μg 组,各N=4,符合方案集),随时间变化的平均肺动脉压(mPAP)与基线(0D00H00M)相比的相对变化(%)的平均值和SD

具体实施方式

[0108] 方法

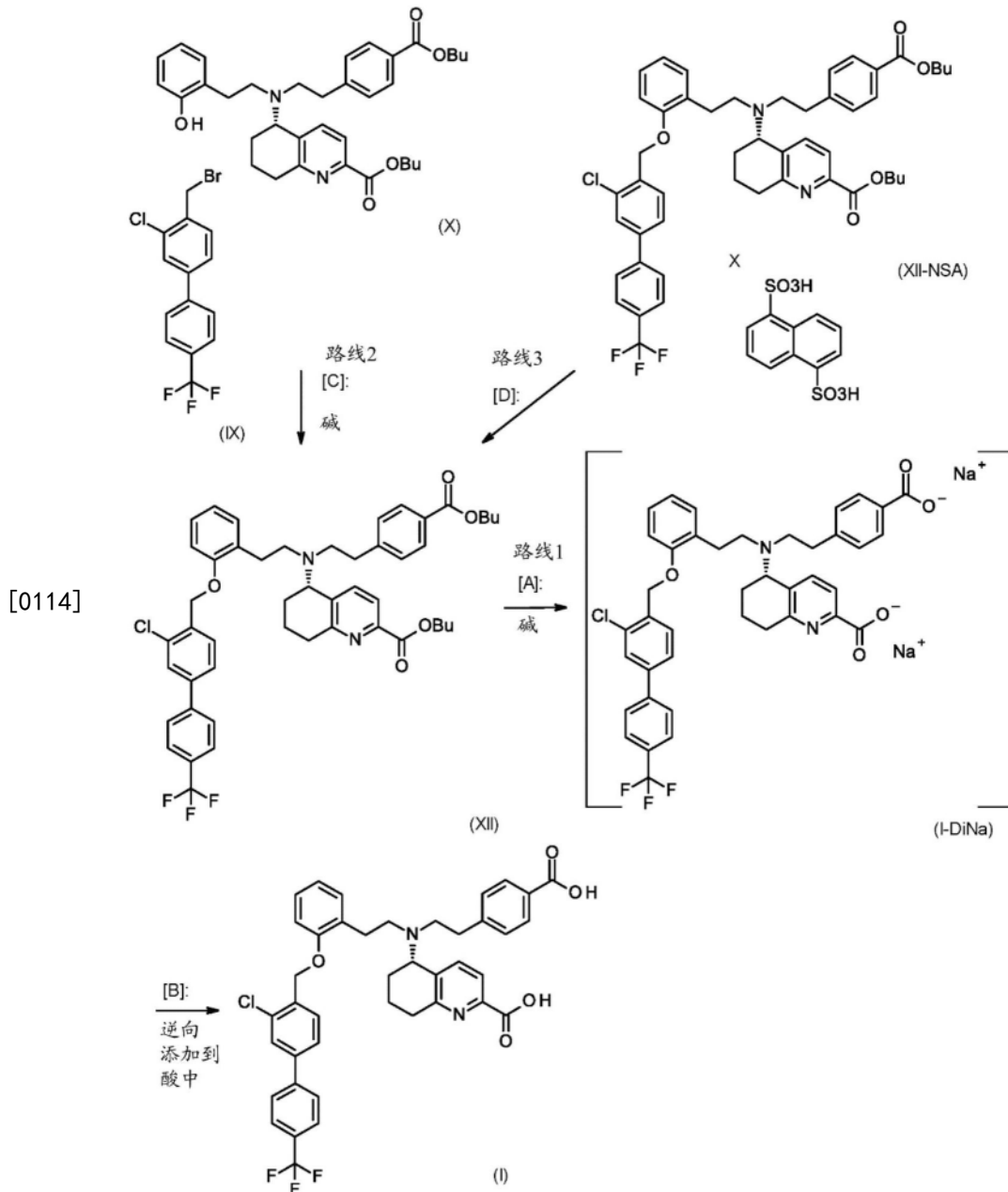
[0109] 根据本发明方法,如方案2所示,其特征在于中间体的纯化步骤经由形成盐/萃取/澄清过滤来进行并借此避免色谱纯化步骤。另外,根据本发明方法提供了高灵活性,因为式(I)的目标化合物可通过三种路线来制造:

[0110] A) 路线1由式(XII)的酯开始(方法步骤[A]和[B]=路线1),

[0111] B) 路线2由叠缩方法的式(X)的中间体开始(WO2021/233783)(方法步骤[C]、[A]和[B]=路线2),

[0112] C) 路线3由式(XII-NSA)的固体NSA盐开始(方法步骤[D]、[A]和[B]=路线3)。

[0113] 方案2:制造根据本发明的式(I)化合物的方法,包括方法路线1、2和3



[0115] 包括步骤[A]和[B]的核心方法(路线1)用于全部三个替代路线。根据本发明方法具有优于W0 2014/012934中公开的先前技术方法的数个优点。如果根据先前技术方法制造,则不可避免地包括在式I产物中的数种副产物,而这些副产物可避免或至少较容易分离。本发明人鉴定出步骤[B]中从式(I-diNa)的二钠盐形成式(I)的目标酸为主要问题。以反向的方式控制反应混合物的pH来进行此步骤至关重要。因此,方法步骤[B]需要将式(I-DiNa)的二钠盐中间体逆向添加到等摩尔量的酸当量中。相比于先前技术方法,通过此逆向添加,式(I)化合物的微溶单钠盐的形成显著减少(参见比较实施例11)。然而,主要形成的低量单钠盐以及其他微溶杂质可通过二钠盐溶液的澄清过滤来分离。另外,通过逆向添加避免了其他副产物如盐酸盐。

[0116] 替代地,式(I)化合物可在不分离中间体的情况下从化合物(X)和(XI)开始通过偶联,随后的二酯裂解和酸释放来制备(例如方法步骤[C]、[A]和[B]中所示,参见方案2(路线2))。

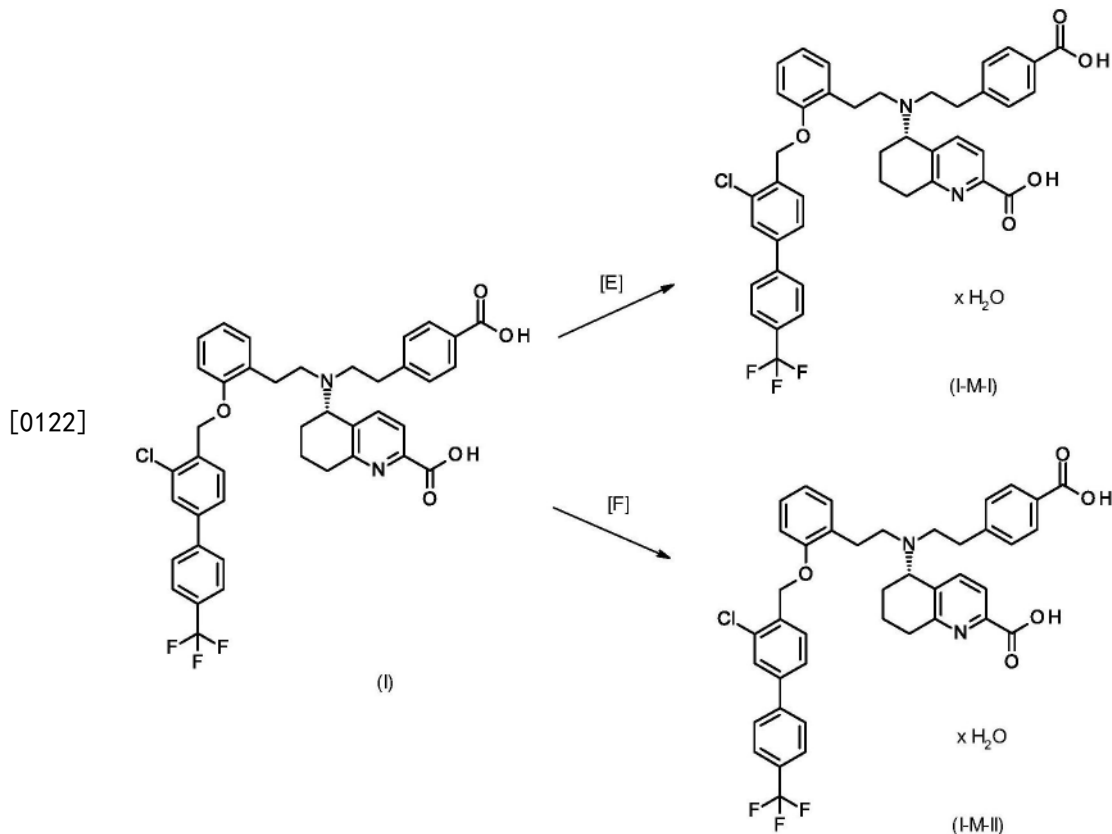
[0117] 在替代的路线3)中,式(I)化合物可经由其NSA盐来制备,其特征在于在第一步骤[D]中,必须从式(XII-NSA)的NSA盐中释放二丁酯,然后经由二个步骤进一步转化为游离酸(二丁酯的碱性皂化(步骤[A]),以及之后逆向添加到酸中用以释放式(I)的游离酸(步骤[B])。

[0118] 因此与W0 2014/012934中所公开的方法相反,根据本发明方法提供产率增加和高纯度的式(I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢-喹啉-2-甲酸。

[0119] 为了提供期望的高纯度式(I-M-I)的结晶形式一水合物I,需要一种选择性结晶方法。

[0120] 如方案3所示的根据本发明的选择性结晶方法的特征在于:式(I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸以晶体、纯形式获得,尤其是呈一水合物变体I(I-M-I)或一水合物变体II(I-M-II),优选地一水合物变体I(I-M-I)形式。

[0121] 方案3:式(I)的酸的选择性结晶用以产生其一水合物形式



[0123] 根据所使用的溶剂,形成一水合物(I-M-I)或一水合物(I-M-II)。令人惊讶地,从丙酮、甲醇和水或甲醇和水的混合物中结晶(方法[E])选择性地产生一水合物I,式(I-M-I)化合物,而从丙酮和水的混合物中结晶(方法[F])选择性地产生一水合物II,式(I-M-II)化合物。

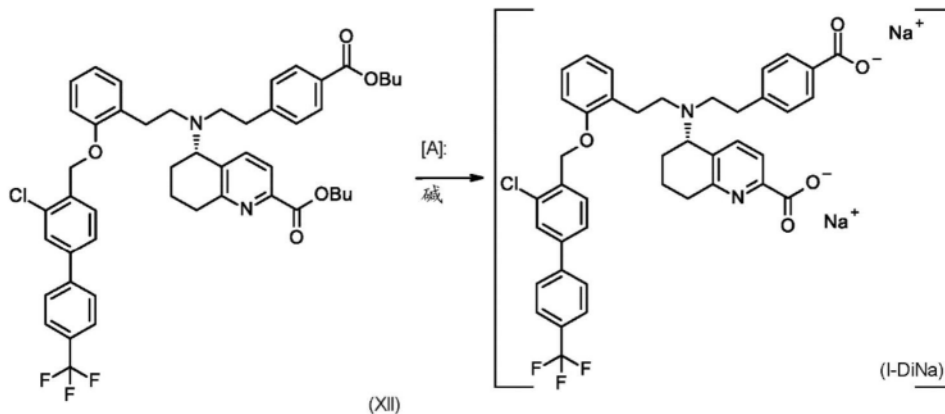
[0124] 所描述的制造方法,包括根据本发明的全部三个方法路线1、2和3(参见方案2),可有利地与所描述结晶方法(参见方案3)组合,以便通过使用从甲醇和水的混合物中结晶(方法[E]),选择性地和以高产率和纯度获得式(I)的酸的结晶形式,优选地式(I-M-I)的一水

合物I。

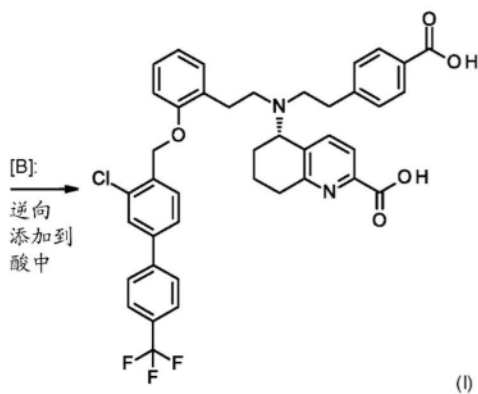
[0125] 根据本发明的方法因此适用于在工业规模合成中以高产率和高纯度,重复地制造式(I)的酸,尤其是呈一水合物变体I(I-M-I)或一水合物变体II(I-M-II)的形式,优选地一水合物变体I(I-M-I)。

[0126] 以下方案4、5和6以示例性方式例示根据本发明的方法:(路线1)、(路线2)和路线3。

[0127] 方案4:经由二钠盐(I-DiNa)的逆向酸滴定,制备式(I)化合物的方法(路线1)



[0128]



[0129] 此方法包括以下步骤:式(XII)化合物的二酯,例如式(XII)的二丁酯的碱裂解(步骤[A]),和随后于方法步骤[B]中酸释放最终式(I)的酸,方案4)。此方法的特征在于,将二钠盐(I-DiNa)分批添加到无机酸在合适溶剂,例如THF的溶液中,其中小心监测溶液pH的终点用以保持在3.8和4.2的pH值之间的窗口内。

[0130] 方法步骤[A]

[0131] 为了从二酯(XII)制备式(I)的目标酸,首先裂解二酯(XII)。

[0132] 经由其前体(X)与4-(溴乙基)-3-氯-4'-(三氟甲基)[联苯](XI)的偶联反应于惰性极性溶剂中可获得式(XII)化合物(公开于W02021/233783,实施例11中)。

[0133] 对于酯裂解(XII)→(I-DiNa)(步骤[A]),将式(XII)化合物溶解在THF或二噁烷,优选THF和合适的碱,例如氢氧化钠、氢氧化钾或氢氧化锂溶液,优选氢氧化钠溶液,特别优选4%氢氧化钠溶液(1N)中,添加过量,优选4倍摩尔过量,并在20℃至70℃,优选60℃的温度下搅拌,直至完全转化为式(I)化合物的二钠盐、二锂盐或二钾盐。为了纯化反应混合物,添加合适的酯作为溶剂,优选乙酸乙酯,和任选地去离子水,优选在10℃至40℃,优选23℃的温度下,并且将含有二-碱金属盐(I-DiM),例如(I-DiNa)、(I-DiK)或(I-DiLi),优选(I-

DiNa)的水相分离。优选合适的酯,优选乙酸乙酯再次进行萃取。在不超过40°C,优选36°C的温度于减压下蒸馏去除水相中残留的酯溶剂。任选地,可将反应混合物过滤,将过滤残余物丢弃。将滤液用于下个步骤。

[0134] 方法步骤[B]

[0135] 从二碱金属盐(I-DiM),例如(I-DiNa)、(I-DiK)或(I-DiLi),优选式(I)化合物的二钠盐(I-DiNa)释放式(I)的二甲酸,令人惊讶地无法通过将无机酸添加到式(I)化合物的二钠盐的溶液中定量实现。这导致转化不完全并形成大量式(I)化合物的单钠盐,其沉淀并且即使通过进一步添加无机酸也无法转化为式(I)化合物。

[0136] 令人惊讶地,已发现可能通过将式(I)化合物的二钠盐(I-DiNa)的溶液添加到限定量的酸中,直到调整至狭义限定的pH值来制备式(I)化合物。用下述方法(“逆向方法”),高效的(I-DiNa)→(I)的反应是可能的。

[0137] 提供THF和无机酸,优选盐酸的混合物。

[0138] 由于与过量盐酸的反应导致不想要的式(I)化合物的盐酸盐形成,而盐酸不足造成残留量的钠盐,因此将酸调整至等摩尔量至关重要。因此,由于式I化合物含有两个碱性羧酸盐官能团,因此需要与2当量的酸反应,例如优选2当量的盐酸。根据本发明方法,式(XII)的主要前体二丁酯可以数种形式存在:a)以限定含量(例如通过从NSA盐中释放)或b)作为从叠缩方法获得的中间溶液。因此任选地,为了确定二钠盐溶液的含量以及计算对应所需的酸量,可将少量二钠盐溶液与限定量的酸溶液,优选盐酸一起研磨(湿磨)。

[0139] 然后,相对于提交的盐酸量设定二钠盐溶液的消耗量,并且据此计算用于另一部份量转化的盐酸的量。

[0140] 最初装入的盐酸/THF混合物的pH小于3.8。将步骤[A]中获得的式(I-DiNa)化合物的溶液分成几个部分的量添加到此混合物中,其中小心监测溶液pH终点以保持在3.8与4.2之间的pH值的窗口内。然后分离出反应混合物的有机相。

[0141] 分离优选在将氯化钠和THF添加到反应混合物和随后搅拌之后进行。

[0142] 对于式(I)的目标化合物的分离/纯化和/或结晶,将有机相浓缩。浓缩有机相优选在降低的大气压力,非常优选在200mbar和优选于20与50°C之间的温度,非常优选于40°C下进行。

[0143] 任选地,式I的目标化合物可分离为固体,例如通过在升高的温度,例如在60°C下在氮气流中,在真空下,于降低的大气压下,非常优选于200mbar下干燥。

[0144] 本发明还提供了上文所介绍的部分反应的组合,用于制备式(I)化合物的结晶变体I,式(I-M-I)的一水合物I,或变体II,式(I-M-II)的一水合物II,优选式(I-M-I)的一水合物I。

[0145] 在前述“逆向”方法中,代替二丁酯衍生物,还可使用其他酯衍生物作为用氢氧化钠溶液碱水解步骤中的起始物质。

[0146] 相比于先前技术(WO 2014/012934,实施例23),此新型方法具有减少微溶单钠盐形成的优点(参见,例如比较实施例12)。由于不可能通过添加另外的酸将此单钠盐转化为游离酸,这导致必须滤除大量未使用的单钠盐并因而降低式I化合物的产率。这令人惊讶的结果是通过将二钠盐溶液逆向加到2当量的无机酸中所获得的。

[0147] 此外,获得高纯度的式I化合物。因此,与先前技术(WO 2014/012934)相反,可免除

复杂的色谱。另外,在本发明方法中,残留的钠盐可在结晶前通过过滤分离。

[0148] 此外,在WO 2014/012934公开的方法中使用二噁烷作为溶剂,其不符合ICH指南。与此相反的,在本发明方法中以THF替换二噁烷。

[0149] 令人惊讶地,根据所选的溶剂而定,获得限定结晶形式的式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸:a)式(I-M-I)的一水合物I,b)式(I-M-II)的一水合物II。而通过先前技术合成,式I化合物仅可获得无定形形式。

[0150] 令人惊讶地,当从包括甲醇、丙酮和水,或甲醇和水的溶剂混合物结晶时,获得一种限定结晶形式为式(I-M-I)的一水合物I的式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸。

[0151] 令人惊讶地,当从包括丙酮和水的溶剂混合物结晶时,获得一种限定结晶形式为式(I-M-II)的一水合物II的式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸。

[0152] 已发现,通过上述结晶方法获得的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸以高产率和纯度选择性地以式(I-M-I)的一水合物I形式结晶。

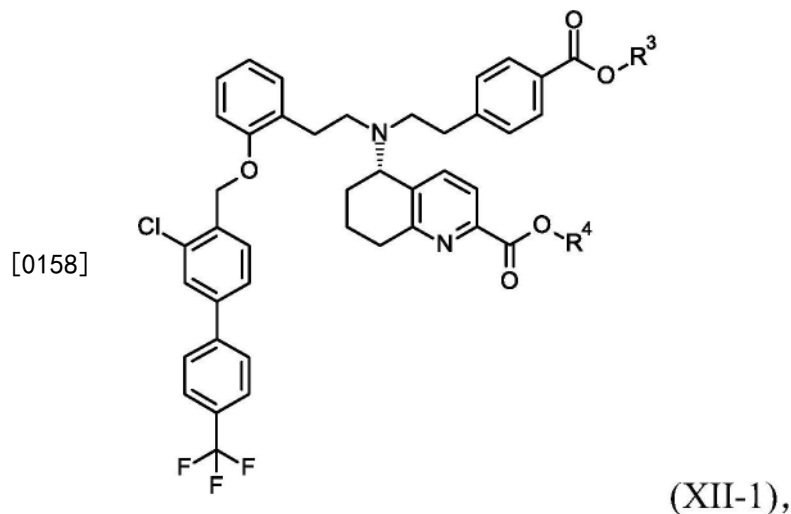
[0153] (5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸并非以无定形形式形成,而是以高总产率形成式(I-M-I)的一水合物I的结晶形式,包括皂化、二钠盐形成和进一步转化为式I的游离酸以及最后纯化和结晶的步骤,例如理论产量的71%,尤其是在大规模的情况下。从式XI的二芳基苄基溴开始,总产率达到理论产量的67%。此外,所述化合物以高纯度获得,例如钠盐可在结晶前通过过滤分离,而盐酸盐和其他杂质可通过根据本发明的结晶方法分离出。

[0154] 因此,对比先前技术(WO 2014/012934),可免除复杂的色谱,并且最终以高纯度和产率获得目标化合物式I的酸,例如式(I-M-I)的呈结晶一水合物I的形式。

[0155] 实施方案1(路线1)

[0156] 本发明提供用于制备式(I)化合物的方法,

[0157] 其特征在于在第一步骤[A]中将溶解在合适溶剂中的式(XII-1)化合物,

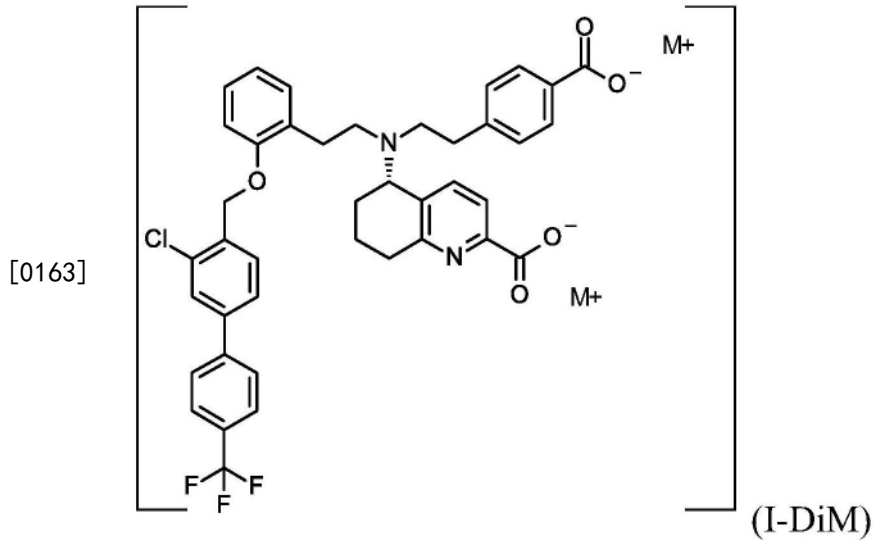


[0159] 其中

[0160] R_3 和 R_4 独立地是 C_1 - C_4 -烷基,

[0161] 与选自氢氧化钠、氢氧化锂或氢氧化钾的碱反应,产生二碱金属盐 (I-DiM),

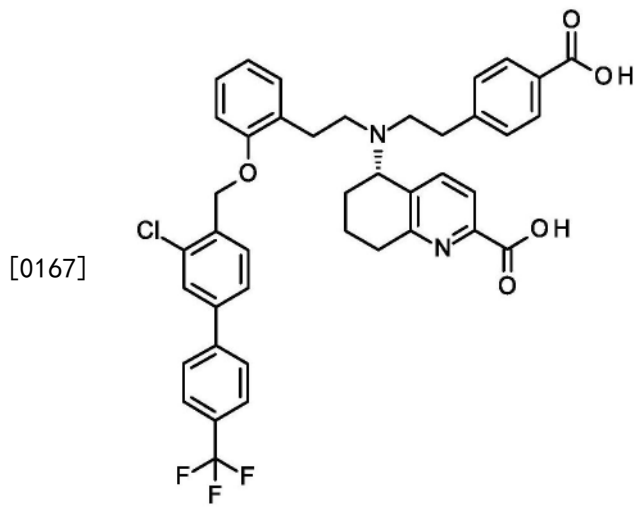
[0162] 其中 $M=Na$ 、 Li 或 K



[0164] 将其萃取纯化,但未经进一步分离后,在第二步骤[B]中通过以下方式进行反应:

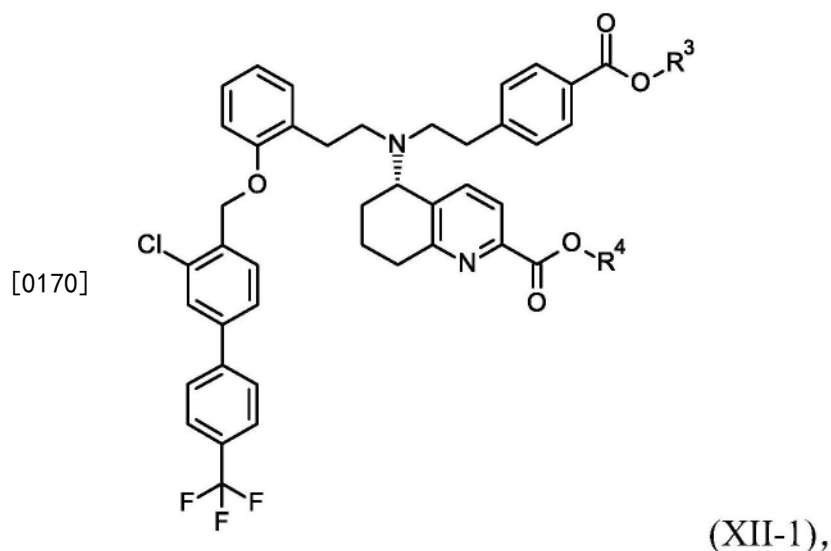
[0165] 将反应溶液分批添加到无机酸在合适溶剂中的混合物中,直到达到3.8至4.2的pH值,其中最初装入的无机酸混合物的pH值具有小于3.8的值,并且最多包含与二钠盐相关的两个酸当量

[0166] 最后得到式(I)化合物



[0168] 本发明还提供了一种用于制备式(I)化合物的方法,

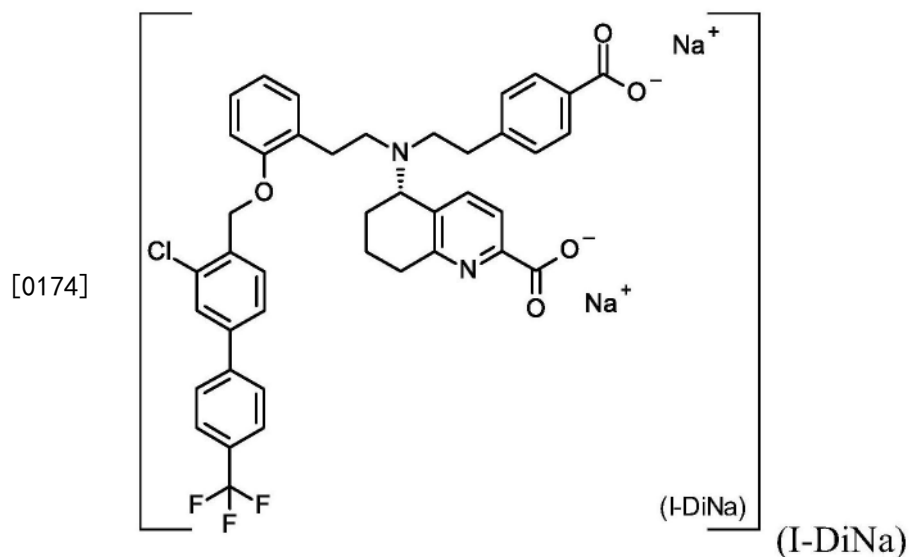
[0169] 其特征在于在第一步骤[A]中将根据实施方案1的溶解在合适溶剂中的式(XII-1)化合物,



[0171] 其中

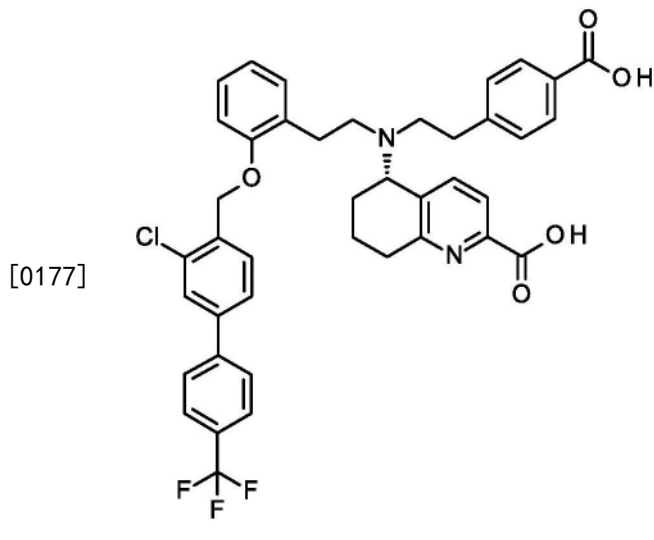
[0172] R_3 和 R_4 独立地是 C_1 - C_4 -烷基,

[0173] 与氢氧化钠溶液反应,产生二钠盐(I-DiNa)



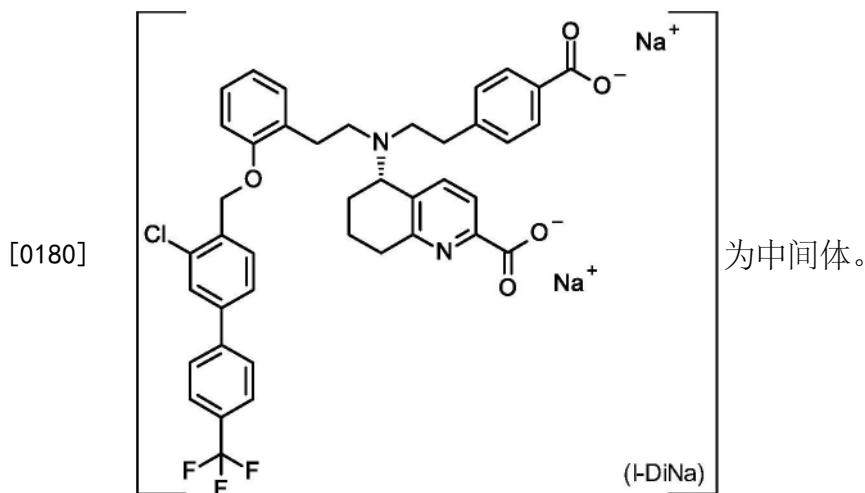
[0175] 将其萃取纯化,但未经进一步分离后,在第二步骤[B]中通过以下方式进行反应:

[0176] 将反应溶液分批添加到无机酸在合适溶剂中的混合物中,直到达到3.8至4.2的pH值,其中最初装入的无机酸混合物的pH值具有小于3.8的值,并且最多包含与二钠盐相关的两个酸当量



[0178] 最后得到式 (I) 化合物。

[0179] 本发明还提供了一种用于制备如上述根据实施方案1和上文一个或多个另外的实施方案的式 (I) 化合物的方法,其特征在于在步骤[A]中使用氢氧化钠溶液作为碱以获得二钠盐



[0181] 本发明还提供了一种用于制备如上述根据实施方案1和上文一个或多个另外的实施方案的式 (I) 化合物的方法,其中在式 (XII-1) 中残基R3和R4是相同的,尤其优选当R3=R4=丁基时。

[0182] 本发明还提供了一种用于制备如上述根据实施方案1和上文一个或多个另外的实施方案的式 (I) 化合物的方法,其中在第一步骤[A]中的溶剂是四氢呋喃或二噁烷,优选四氢呋喃。

[0183] 本发明的另外的目标是用于制备如上述根据实施方案1和上文一个或多个另外的实施方案的式 (I) 化合物的方法,其中在第一步骤[A]中使用以式 (XII-1) 化合物为基础的过量,优选4当量的氢氧化钠或氢氧化钾溶液,优选4%氢氧化钠溶液 (1N)。

[0184] 本发明还提供了一种用于制备如上述根据实施方案1和上文一个或多个另外的实施方案的式 (I) 化合物的方法,其中第一步骤[A]在40℃至70℃,优选60℃的温度下进行。

[0185] 本发明还提供了一种用于制备如上述根据实施方案1和上文一个或多个另外的实

实施方案的式(I)化合物的方法,其中二钠盐溶液通过用有机溶剂优选乙酸乙酯萃取来纯化。

[0186] 本发明还提供了一种用于制备如上述根据实施方案1和上文一个或多个另外的实施方案的式(I)化合物的方法,其中第二步骤[B]的无机酸是盐酸。

[0187] 本发明还提供了一种用于制备如上述根据实施方案1和上文一个或多个另外的实施方案的式(I)化合物的方法,其中在第二步骤[B]中,有机产物层在将氯化钠添加到混合物中后分离。

[0188] 本发明还提供了一种用于制备如上述根据实施方案1和上文一个或多个另外的实施方案的式(I)化合物的方法,其特征在于有机产物层的浓缩在降低的大气压,优选在200mbar和优选20与50°C之间的温度,非常优选在40°C的温度下进行。

[0189] 本发明还提供了一种用于制备如上述根据实施方案1和上文一个或多个另外的实施方案的式(I)化合物的方法,其特征在于将式(I)化合物分离为固体,或将有机产物层浓缩至残余体积。

[0190] 本发明还提供了一种用于制备如上述根据实施方案1和上文一个或多个另外的实施方案的式(I)化合物的方法,其中式I的目标化合物可分离为固体,例如通过在升高的温度,例如在60°C下在氮气流中于真空下,在降低的大气压下,非常优选在200mbar下干燥。

[0191] 本发明还提供了一种用于制备如上述根据实施方案1和上文一个或多个另外的实施方案的式(I)化合物的方法,其特征在于将式(I)化合物分离为固体。

[0192] 本发明还提供了一种用于制备如上述根据实施方案1和上文一个或多个另外的实施方案的式(I)化合物的方法,其特征在于式(I)化合物通过过滤分离为固体或为浓缩的残余体积

[0193] 其特征在于

[0194] • 将有机产物层从混合物分离出来,

[0195] • 浓缩有机产物层,其中分离出固体,

[0196] • 通过过滤分离所述固体以及

[0197] • 将分离的固体干燥。

[0198] • 或将有机产物层浓缩至残余体积。

[0199] 本发明还提供了一种用于制备如上述根据实施方案1和上文一个或多个另外的实施方案的式(I)化合物的方法,其特征在于添加盐水后分离有机溶剂。

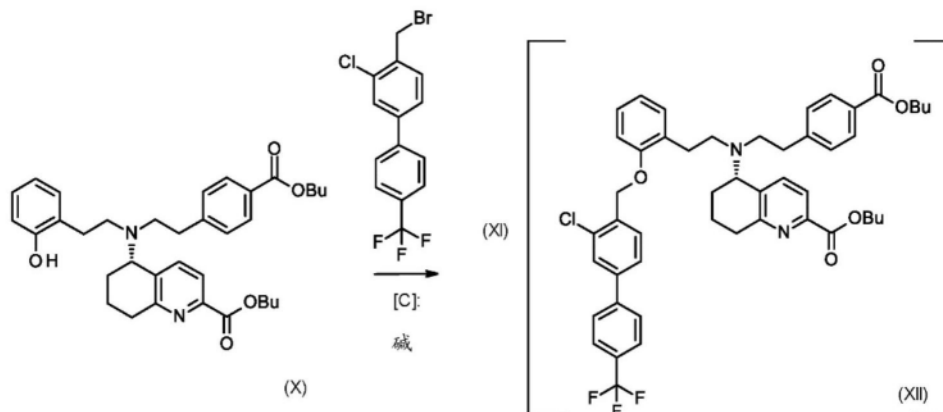
[0200] 本发明还提供了一种用于制备如上述根据实施方案1和上文一个或多个另外的实施方案的式(I)化合物的方法,其特征在于有机溶剂的浓缩在降低的大气压下,优选在200mbar和优选在20与50°C之间的温度下,非常优选在40°C下进行。

[0201] 本发明还提供了一种用于制备如上述根据实施方案1和上文一个或多个另外的实施方案的式(I)化合物的方法,其特征在于通过过滤分离所述固体。

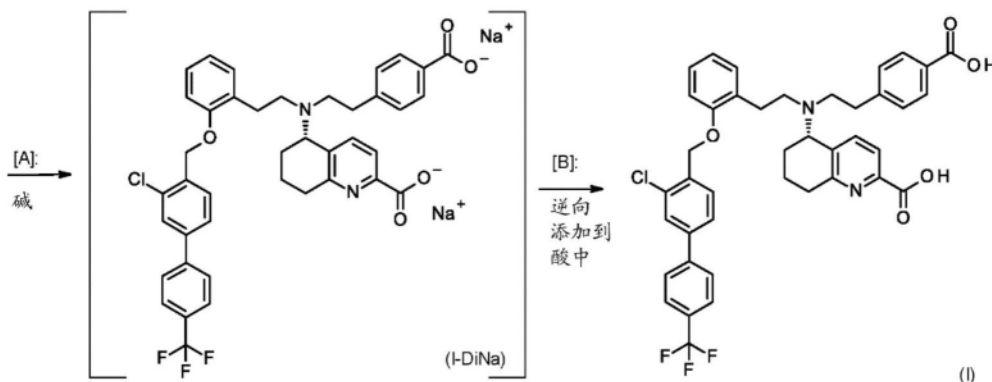
[0202] 本发明还提供了一种用于制备如上述根据实施方案1和上文一个或多个另外的实施方案的式(I)化合物的方法,其特征在于在40°C至50°C之间的温度和40mbar至30mbar的降低大气压力下干燥固体。

[0203] 替代地,式(I)化合物可在不分离中间体的情况下从化合物(X)和(XI)开始通过偶联,随后的裂解二酯和酸释放来制备(例如在路线2中所示,包括方法步骤[C]、[A]和[B](参见方案5)。

[0204] 方案5:在不分离二丁酯(XII)的情况下制造式(I)化合物的方法(路线2)



[0205]



[0206] 下文详细描述用于制备化合物(I)的根据本发明替代方法。

[0207] 方法步骤[C]

[0208] 替代地,式(I)化合物可在不分离中间体的情况下由式(X)化合物制备(叠缩方法)。出于此目的,进行偶联反应(步骤[C]),类似于如W02021/233783中所公开的方案2中的方法步骤11。

[0209] 式(X)化合物可经由例如其前体在作为溶剂的正丁醇中的酸性酯化反应来获得(公开于W02021/233783,实施例10中)。

[0210] 为了获得根据式(XII)的化合物,将式(X)的(5S)-5-({2-[4-(丁氧基羰基)苯基]乙基}[2-(2-羟苯基)乙基]氨基)-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸丁酯在10°C与40°C之间,优选在25°C的温度下,溶解于惰性极性溶剂中,例如醚、丙酮或乙腈中,优选乙腈中。优选将反应混合物于40°C与60°C之间的温度和减压下,优选80mbar与120mbar之间,非常优选120mbar蒸馏,并添加另外的乙腈。此程序可重复。

[0211] 相对于化合物(X),优选以1eq至2eq之间的量,非常优选1,2eq,添加式(XI)的4-(溴甲基)-3-氯-4'-(三氟甲基)[联苯]。向溶液中添加碱,其中碱选自以下组成的组:碱金属碳酸盐,例如碳酸钠、碳酸钾或碳酸铯或碱金属氢氧化物,例如氢氧化钠或氢氧化钾,或四烷基铵碳酸盐,优选碳酸铯。碱以摩尔过量添加,优选相对于化合物(X)以2eq至4eq,非常优选2eq的量添加。搅拌反应混合物直到反应完全以获得化合物(XII)。优选,可在持续搅拌下向反应混合物中添加另外量的碱,优选碳酸铯。将获得的悬浮液过滤。在丢弃过滤残余物(滤饼)之前,优选用乙腈洗涤。液体反应混合物可在不分离式(XII)化合物的情况下在另一反应步骤中,例如在反应步骤[A]中进一步反应。

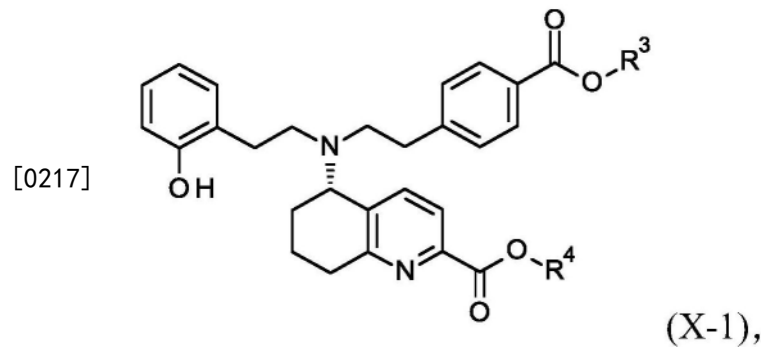
[0212] 替代地,式(XII)的化合物可分离为油状物,并且然后其可在另一反应步骤,例如反应步骤[A]中反应。对于分离所述油状物,将混合物浓缩成油状物,优选在用乙腈洗涤后,在15°C与60°C之间,优选30°C与50°C之间,特别优选在40°C的温度下。浓缩优选在降低的大气压力下进行。

[0213] 液体反应溶液在不分离式(XII)化合物的情况下以油状物用于下个阶段中,通过首先借助于蒸馏将溶剂换成THF或二噁烷,其中优选使用THF。

[0214] 然后类似于如上所述的方法步骤[A],进行酯裂解步骤[A]以及类似于如上所述的方法步骤[B],从式(I-DiNa)步骤[B]的二钠盐释放式(I)的二甲酸。

[0215] 实施方案2(路线2)

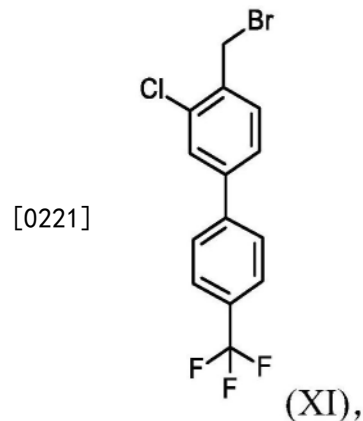
[0216] 本发明提供一种用于制备式(I)化合物的方法,其特征在于在第一步[C]中将式(X-1)化合物,



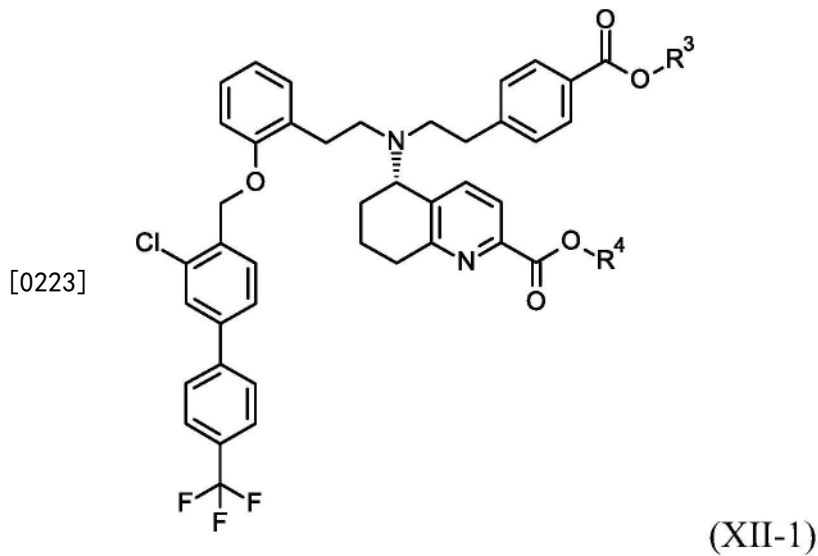
[0218] 其中

[0219] R_3 和 R_4 独立地是 C_1 - C_4 -烷基,

[0220] 在选自由碱金属碳酸盐、碱金属氢氧化物或四烷基铵碳酸盐组成的组的碱的存在下,与式(XI)化合物反应,



[0222] 得到式(XII-1)化合物,



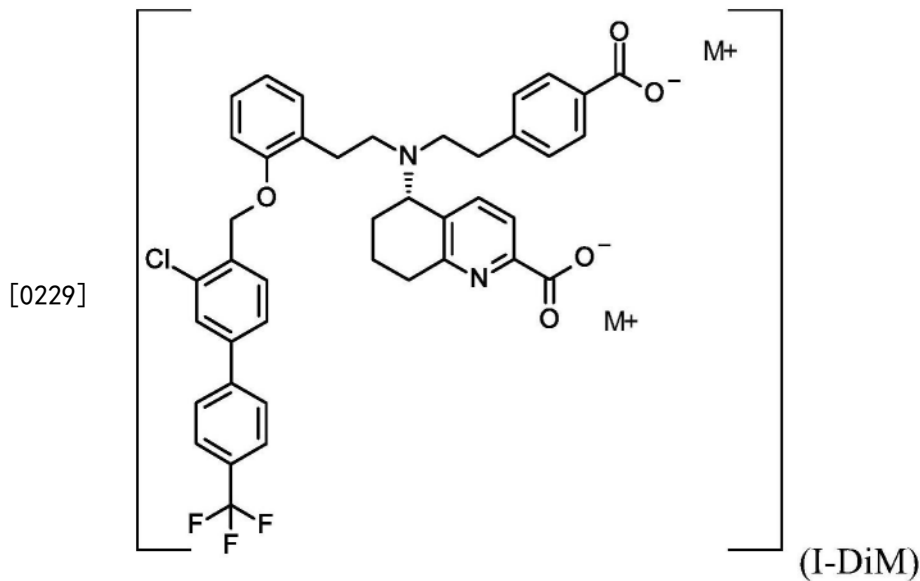
[0224] 其中

[0225] R_3 和 R_4 独立地是 C_1 - C_4 -烷基,

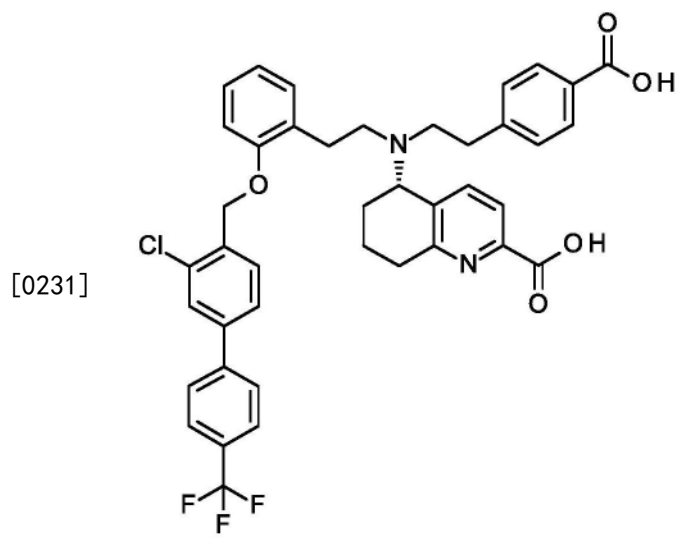
[0226] 其进一步的特征在于将溶解在合适的溶剂中的式 (XII-1) 化合物在不经纯化的情况下在第二步骤[A]中

[0227] 与选自氢氧化钠、氢氧化锂或氢氧化钾溶液的碱反应,产生二碱金属盐 (I-DiM),

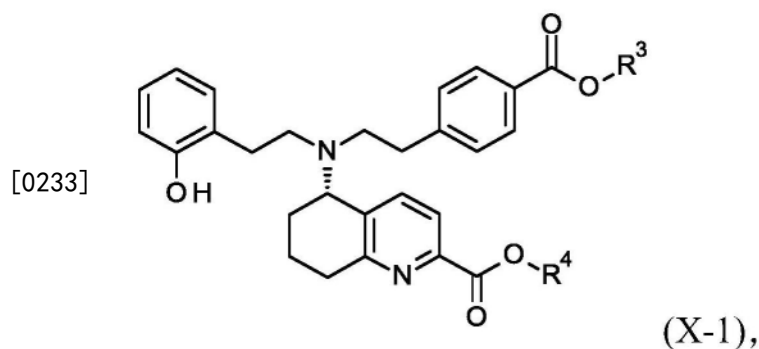
[0228] 其中 $M=Na$ 、 Li 或 K



[0230] 将其萃取纯化,但不经进一步分离后,在第二步骤[B]中通过以下方式进行反应:将反应溶液分批添加到无机酸在合适溶剂中的混合物中,直到达到3.8至4.2的pH值,其中最初装入的无机酸混合物的pH值小于3.8并且最多包含与二钠盐相关的两个酸当量最后得到式 (I) 化合物



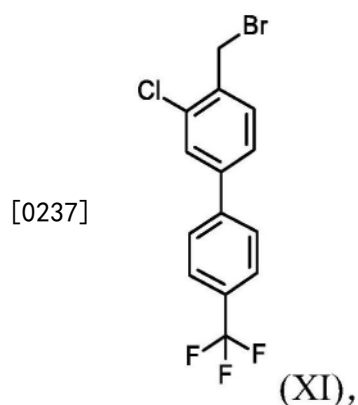
[0232] 本发明还提供了一种用于制备根据实施方案2的式(I)化合物的方法,其特征在于在第一步骤[C]中将式(X-1)化合物,



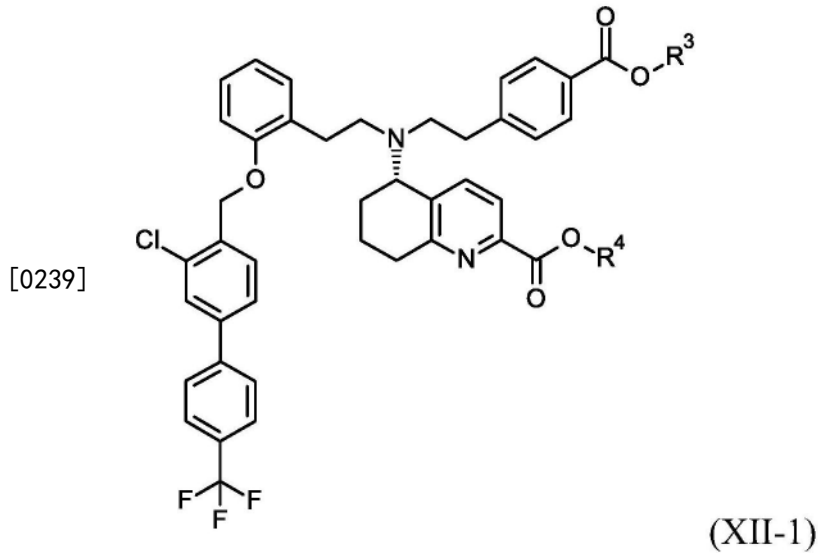
[0234] 其中

[0235] R_3 和 R_4 独立地是 C_1 - C_4 -烷基

[0236] 在选自由碱金属碳酸盐、碱金属氢氧化物或四烷基铵碳酸盐组成的组的碱的存在下,与式(XI)化合物反应,



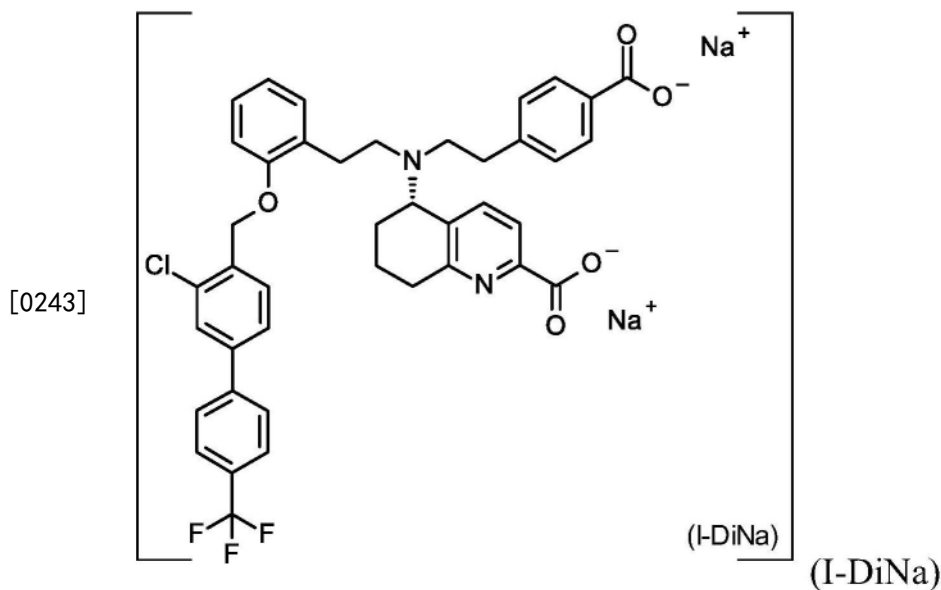
[0238] 得到式(XII-1)化合物,



[0240] 其中

[0241] R_3 和 R_4 独立地是 C_1 - C_4 -烷基

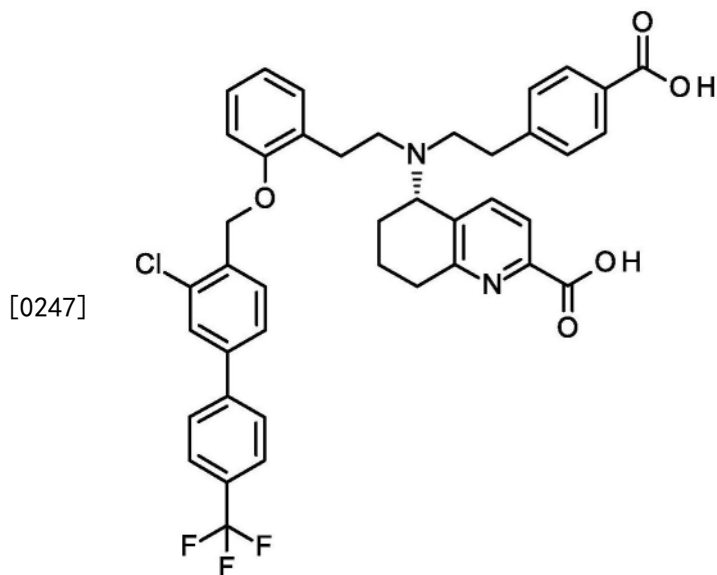
[0242] 其进一步的特征在于将溶解在合适的溶剂中的式 (XII-1) 化合物在不经纯化的情况下在第二步骤[A]中与氢氧化钠反应,产生二钠盐 (I-DiNa)



[0244] 将其萃取纯化,但未经进一步分离后,在第二步骤[B]中通过以下方式进行反应:

[0245] 将反应溶液分批添加到无机酸在合适溶剂中的混合物中,直到达到3.8至4.2的pH值,其中最初装入的无机酸混合物的pH值小于3.8,并且最多包含与二钠盐相关的两个酸当量

[0246] 最后得到式 (I) 化合物



[0248] 本发明还提供了一种用于制备如上述根据实施例2和上文一个或多个另外实施方案的式(I)化合物的方法,其中在式(XII-1)中残基 R_3 和 R_4 是相同的,尤其优选当 $R_3=R_4$ =丁基时。

[0249] 本发明的另外的目的是用于制备如上述根据实施方案2和上文一个或多个另外实施方案的式(I)化合物的方法,其特征在于在第一步骤[C]中使用选自由醚、丙酮或乙腈组成的组的合适溶剂,优选乙腈。

[0250] 本发明的另外的目的是用于制备如上述根据实施方案2和上文一个或多个另外实施方案的式(I)化合物的方法,其特征在于在第一步骤[C]中使用选自由碱金属碳酸盐组成的组的合适的碱,例如碳酸钠、碳酸钾或碳酸铯,优选碳酸铯。

[0251] 本发明的另外的目的是用于制备如上述根据实施方案2和上文一个或多个另外实施方案的式(I)化合物的方法,其特征在于在第一步骤[C]中,所述碱是碱金属氢氧化物,选自由氢氧化钠或氢氧化钾组成的组。

[0252] 本发明的另外的目的是用于制备如上述根据实施方案2和上文一个或多个另外实施方案的式(I)化合物的方法,其特征在于在第一步骤[C]中使用四烷基铵碳酸盐作为碱。

[0253] 本发明的另外的目的是用于制备如上述根据实施方案2和上文一个或多个另外实施方案的式(I)化合物的方法,其特征在于在第一步骤[C]中,使用选自由碱金属碳酸盐、碱金属氢氧化物或四烷基铵碳酸盐组成的组的摩尔过量的碱,优选以相对于式(X)化合物2eq至4eq的量,特别优选相对于化合物(X)为2eq。

[0254] 本发明的另外的目的是用于制备如上述根据实施方案2和上文一个或多个另外实施方案的式(I)化合物的方法,其特征在于在第一步骤[C]中,式(XI)化合物优选相对于式(X)化合物以1:1至2:1的摩尔比来使用,特别优选相对于式(X)的化合物以1,2:1的摩尔比来使用。

[0255] 本发明还提供了一种用于制备如上述根据实施方案2和上文一个或多个另外实施方案的式(I)化合物的方法,其中在第二步骤[A]中所述溶剂是四氢呋喃或二噁烷,优选四氢呋喃。

[0256] 本发明的另外的目的是用于制备如上述根据实施方案2和上文一个或多个另外实

实施方案的式(I)化合物的方法,其中在第二步骤[A]中使用氢氧化钠或氢氧化钾溶液,优选基于式(XII-1)化合物过量的4%氢氧化钠溶液(1N),优选4当量。

[0257] 本发明还提供了一种用于制备如上述根据实施方案2和上文一个或多个另外实施方案的式(I)化合物的方法,其中在第二步骤[A]中所述步骤在40°C至70°C的温度,优选60°C下进行。

[0258] 本发明还提供了一种用于制备如上述根据实施方案2和上文一个或多个另外实施方案的式(I)化合物的方法,其中所述二钠盐溶液通过用有机溶剂,优选乙酸乙酯萃取进行纯化。

[0259] 本发明还提供了一种用于制备如上述根据实施方案2和上文一个或多个另外实施方案的式(I)化合物的方法,其中在第三步骤[B]中所述无机酸是盐酸。

[0260] 本发明还提供了一种用于制备如上述根据实施方案2和上文一个或多个另外实施方案的式(I)化合物的方法,其中在第三步骤[B]中所述有机产物层在将氯化钠加到混合物中后分离。

[0261] 本发明还提供了一种用于制备如上述根据实施方案2和上文一个或多个另外实施方案的式(I)化合物的方法,其中式I的目标化合物可分离为固体,例如通过在升高的温度下,例如在60°C下在氮气流中于真空下,在降低的大气压下,非常优选在200mbar下干燥。

[0262] 本发明还提供了一种用于制备如上述根据实施方案2和上文一个或多个另外实施方案的式(I)化合物的方法,其特征在于将式(I)化合物分离为固体,或将所述有机产物层浓缩为残余体积。

[0263] 本发明还提供了一种用于制备如上述根据实施方案2和上文一个或多个另外实施方案的式(I)化合物的方法,其特征在于式(I)化合物通过过滤分离为固体或为浓缩的残余体积

[0264] 其特征在于

- [0265] • 从混合物分离出有机产物层,
- [0266] • 浓缩有机产物层,其中分离出固体,
- [0267] • 通过过滤分离所述固体以及
- [0268] • 将分离的固体干燥。
- [0269] • 或将有机产物层浓缩至残余体积。

[0270] 本发明还提供了一种用于制备如上述根据实施方案2和上文一个或多个另外实施方案的式(I)化合物的方法,其特征在于所述有机溶剂在添加盐水后分离。

[0271] 本发明还提供了一种用于制备如上述根据实施方案2和上文一个或多个另外实施方案的式(I)化合物的方法,其特征在于有机溶剂的浓缩在降低的大气压下,优选在200mbar和优选在20与50°C之间的温度下,非常优选在40°C下进行。

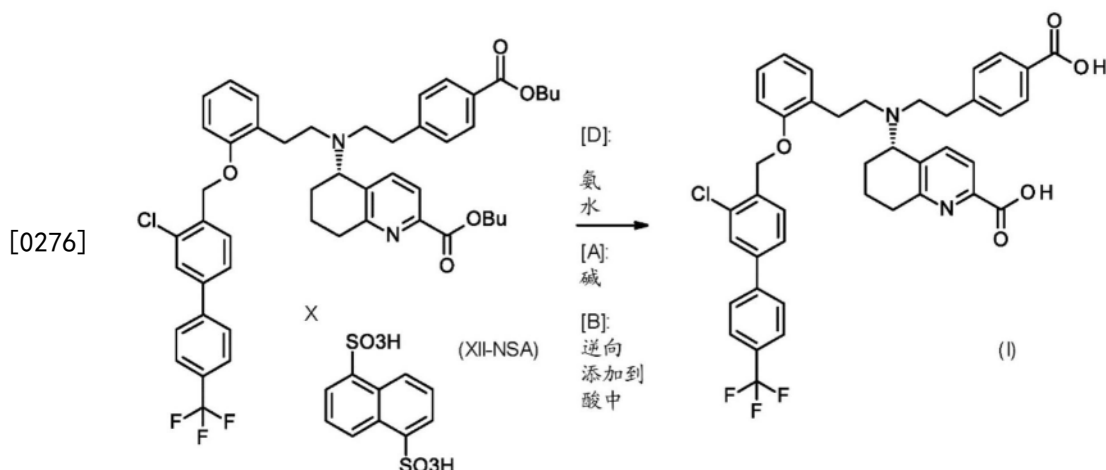
[0272] 本发明还提供了一种用于制备如上述根据实施方案2和上文一个或多个另外实施方案的式(I)化合物的方法,其特征在于通过过滤分离所述固体。

[0273] 本发明还提供了一种用于制备如上述根据实施方案2和上文一个或多个另外实施方案的式(I)化合物的方法,其特征在于在40°C至50°C之间的温度和40mbar至30mbar的降低大气压力下干燥固体。

[0274] 经由式(XII-NSA)的NSA盐制造式(I)的目标化合物的另一种替代方法概述于方案

6中。

[0275] 方案6:经由式(XII-NSA)的NSA盐制造式(I)化合物的方法(路线3)



[0277] 此方法的特征在于式(XII-NSA)的固体NSA盐(经由反应步骤[G]可获得,参见方案7)经由三个步骤(第一:碱性释放式(XII)的二丁酯(步骤[D]),第二:二丁酯的碱裂解(步骤[A]),以及后将式(I-DiNa)的二钠盐逆向添加到酸中(步骤[B]),转变为游离酸。

[0278] 方法步骤[D]

[0279] 为了从式(XII-NSA)化合物开始获得式(I)化合物,在第一步骤中从盐中释放式(XII)化合物[步骤D]。因此,将式(XII-NSA)化合物用合适的醚,优选THF处理,并在10°C至25°C的温度下与水和氨水一起搅拌,由此最终达到7.8至8.2的pH值。通过添加与水不混溶的有机溶剂,例如和优选二异丙醚,实现相分离。

[0280] 令人惊讶地,相分离仅在使用氨水作为碱时才有可能。其他碱,例如碳酸钾、氢氧化钾或氢氧化钠由于形成广泛的阻隔层(duff layer)而失败。

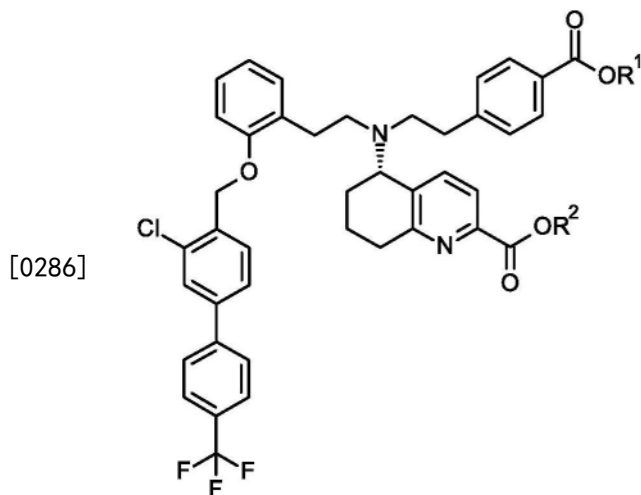
[0281] 丢弃水相。将有机相浓缩成蒸发残余物,优选在用水和氨水的混合物(pH值为7.8至8.2)洗涤并经硫酸钠干燥之后。将所获得的蒸发残余物在下一个步骤中反应。浓缩在最高40°C的温度在降低的大气压力下进行。

[0282] 令人惊讶地,经由NSA盐的形成和释放的方法具有优势,即油状二丁酯可转化为固体。这使得整体可加工性甚至更方便。令人惊讶地,我们发现,尽管其他常见酸,如,例如甲苯磺酸,但仅盐酸与NSA形成稳定的固体。

[0283] 方法步骤[A]

[0284] 对于酯裂解(XII)→(I-DiNa)(反应步骤[A]),将步骤[D]中所获得的式(XII)的二酯溶解于THF或二噁烷中,优选THF,并添加合适的碱,例如氢氧化钠、氢氧化钾或氢氧化锂溶液,优选氢氧化钠溶液,特别优选添加过量4重量%的氢氧化钠溶液,优选4当量,在40°C至70°C的温度下,优选60°C。搅拌反应混合物直至完全转化为式(I)化合物的二钠盐、二锂盐或二钾盐。

[0285] 对于所述反应,还可利用式(XII-1)的二酯代替式(XII)化合物



(XII-1),

[0287] 其中 R_1 和 R_2 独立地是 C_1 - C_4 -烷基。

[0288] 为了纯化反应混合物,添加合适的酯作为溶剂,优选乙酸乙酯,和任选地去离子水,优选在 10°C 至 40°C ,优选 23°C 的温度下,并将含有二碱金属盐(I-DiM),例如(I-DiNa)、(I-DiK)或(I-DiLi),优选(I-DiNa)的水相分离。优选用相同的酯重复萃取。在最高 40°C ,优选 36°C 的温度在减压下蒸馏去除水相中残留的酯溶剂。任选地可过滤反应混合物,其中将过滤残余物丢弃。将反应混合物用于下个反应步骤(方法步骤[B])。

[0289] 方法步骤[B]

[0290] 从二碱金属盐(I-DiM),例如(I-DiNa)、(I-DiK)或(I-DiLi),优选式(I)化合物的二钠盐(I-DiNa)释放式(I)的二酸羧令人惊讶地无法通过将无机酸添加到式(I)化合物的二钠盐溶液中定量实现。这导致不完全转化并形成大量的式(I)化合物的单钠盐,其沉淀并且即使通过另外添加无机酸也无法转化为式(I)化合物。

[0291] 令人惊讶地,已发现可能通过将式(I)化合物的二钠盐(I-DiNa)的溶液加到过量的酸中直到调整至狭义限定的pH值来制备式(I)化合物。用下述方法(“逆向方法”),高效的(I-DiNa)→(I)反应为可能的。

[0292] 提供THF和无机酸,优选盐酸的混合物。

[0293] 由于与过量盐酸的反应使得不想要的式(I)化合物的盐酸盐形成以及盐酸不足造成钠盐的残留量,因此将酸调整至等摩尔量至关重要。因此,由于式I的化合物含有两个碱性羧酸盐官能团,因此需要与2当量的酸,例如优选2当量的盐酸反应。因此任选地,为了确定二钠盐溶液的含量和计算对应必需的酸量,可将少量二钠盐溶液用限定量的酸溶液,优选盐酸研磨。

[0294] 然后相对于提交的盐酸量设定二钠盐溶液的消耗量,并且据此计算用于转化另外部分量的盐酸的量。

[0295] 最初装入的盐酸/THF混合物的pH小于3.8。将在步骤[A]中获得的式(I-DiNa)化合物的溶液分成几个部分的量添加到混合物中直至达到3.8至4.2的pH。然后分离出反应混合物的有机相。

[0296] 分离优选在将氯化钠和THF添加到反应混合物中和随后搅拌之后进行。

[0297] 对于式(I)的目标化合物的分离/纯化和/或结晶,将有机相浓缩。有机相的浓缩优选在降低的大气压力下,非常优选在200mbar和优选在介于 20°C 与 50°C 之间的温度下,非常优

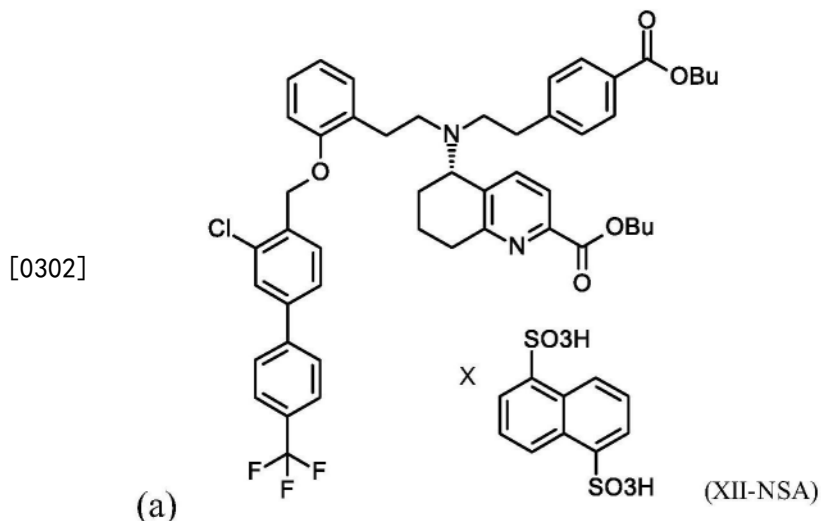
选40℃下进行。

[0298] 任选地,式I的目标化合物可分离为固体,例如通过在升高的温度,例如在60℃下在氮气流中于真空下,在降低的大气压下,非常优选在200mbar下干燥。

[0299] 实施方案3(NSA盐)

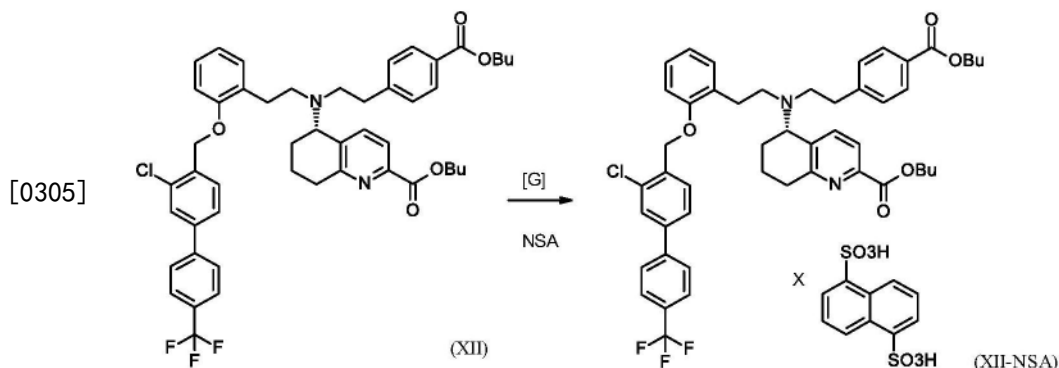
[0300] 式(XII-NSA)的NSA盐是新型的。

[0301] 本发明的另一实施方案是下式的NSA盐



[0303] 合成式(XII-NSA)的NSA盐概述于以下方案7中。

[0304] 方案7:合成式(XII-NSA)的NSA盐

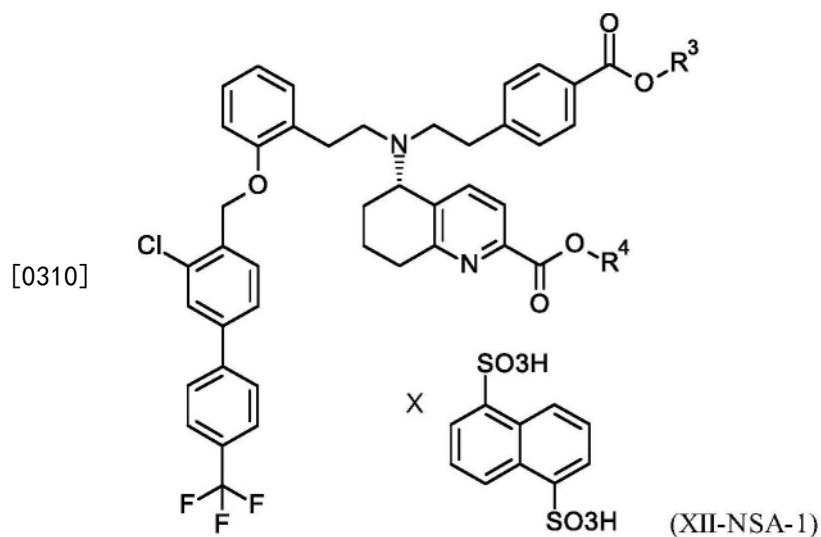


[0306] 方法步骤[G]

[0307] 为了在反应步骤[G]中获得根据式(XII-NSA)的化合物(方案7),在介于15℃与40℃之间的温度下,优选在25℃下,将式(XII)化合物溶解于THF中,添加萘-1,5-二磺酸,并搅拌直到反应完全。将反应混合物在介于15℃与60℃之间,优选介于30℃与50℃之间的温度下,非常优选在40℃下浓缩,并且最后将残余物在相同温度下干燥直至达到恒重。干燥过程优选在惰性气体,优选在氮气和/或在减压下进行。

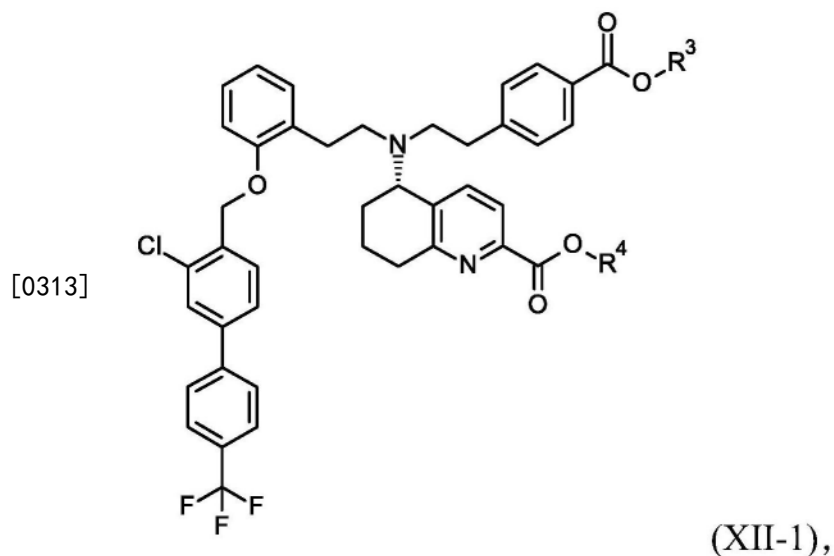
[0308] 实施方案4(路线3)

[0309] 本发明提供了一种用于制备式(I)化合物的方法,其特征在于在第一步骤[D]中将式(XII-NSA-1)的NSA盐



[0311] 其中 R_1 和 R_2 独立地是 C_1 - C_4 -烷基,

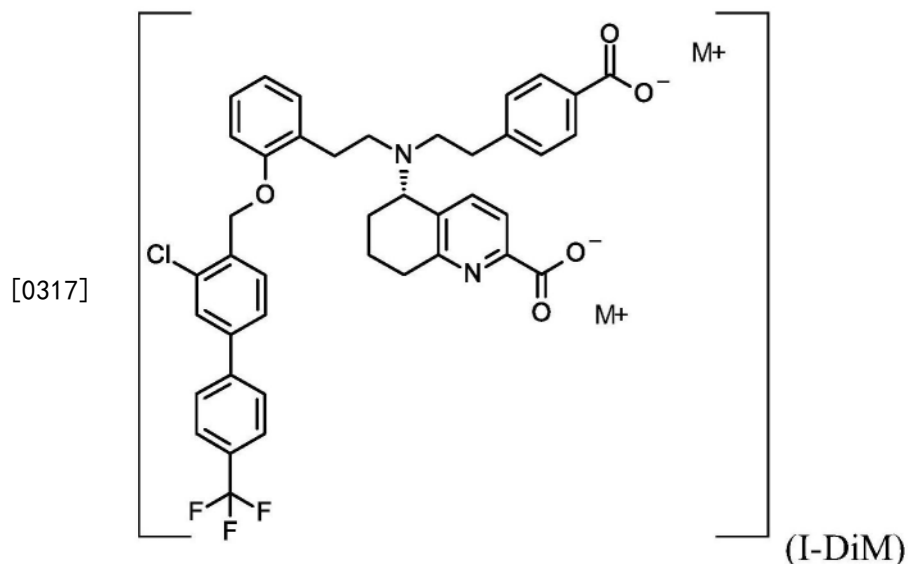
[0312] 用合适的醚处理并在 10°C 至 25°C 的温度下与水和氨水一起搅拌,最终达到介于7.8与8.2之间的pH值,之后将反应混合物用不混溶解在水的有机溶剂处理,分离各相,并且最后浓缩有机相,其进一步的特征在于在第二步骤[A]中,将溶解在合适溶剂中的式(XII-1)化合物,



[0314] 其中 R_1 和 R_2 独立地是 C_1 - C_4 -烷基,

[0315] 与选自氢氧化钠、氢氧化锂或氢氧化钾溶液的碱反应,产生二碱金属盐(I-DiM),

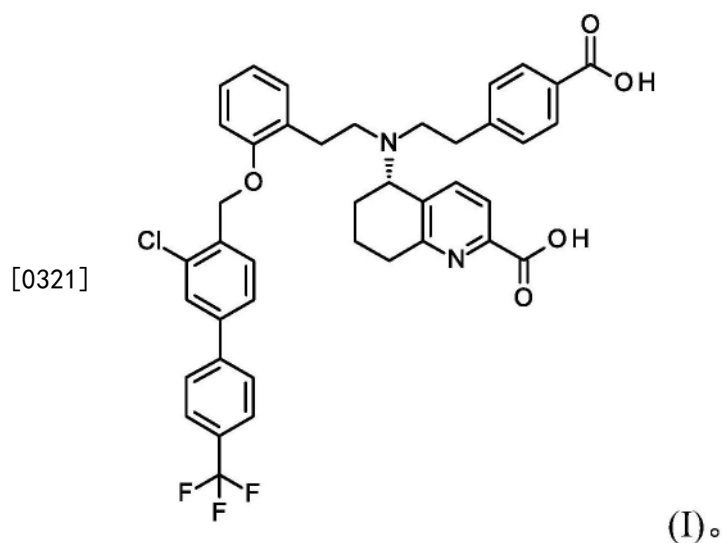
[0316] 其中 $M = \text{Na}, \text{Li}$ 或 K



[0318] 将其萃取纯化,但不经进一步分离后,在第三步骤[B]中反应

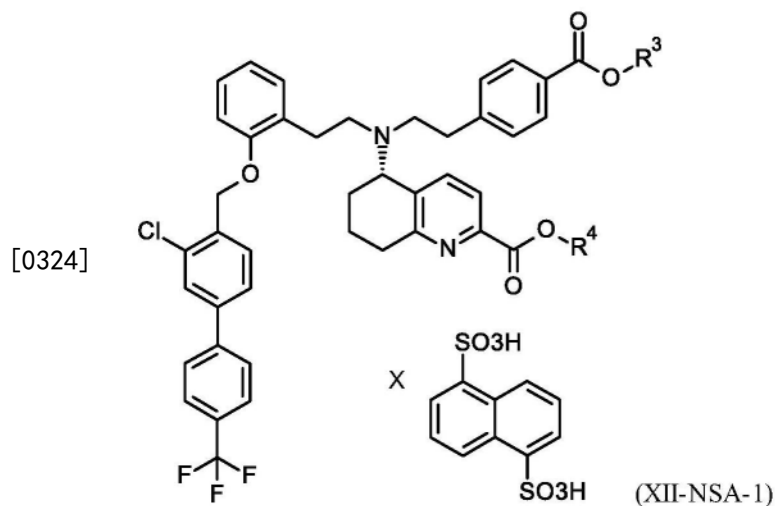
[0319] 通过将反应溶液分批添加到无机酸在合适溶剂中的混合物中,直到达到3.8至4.2的pH值,其中最初装入的无机酸混合物具有小于3.8的pH值,并且最多包含与二钠盐相关的两个酸当量

[0320] 最后得到式(I)化合物



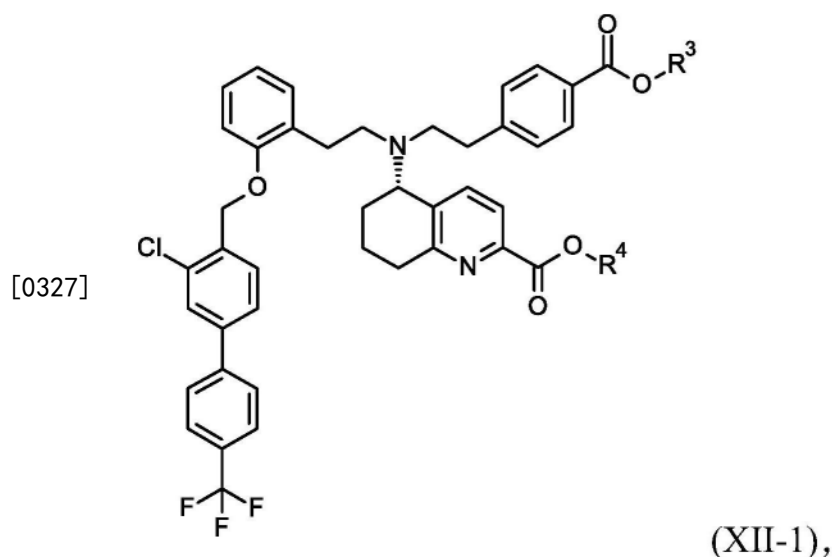
[0322] 本发明还提供了一种用于制备根据实施方案4的式(I)化合物的方法,

[0323] 其特征在于在第一步骤[D]中将式(XII-NSA-1)的NSA盐



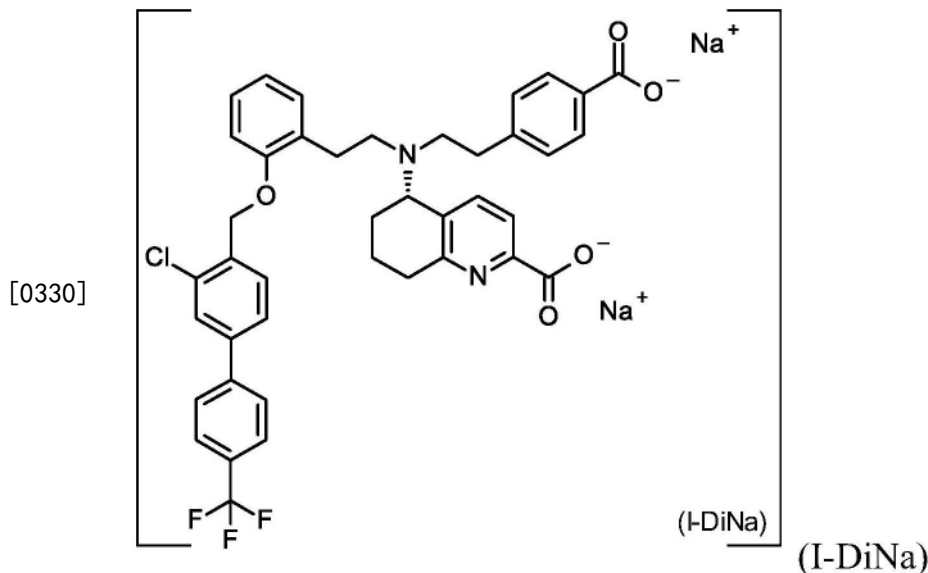
[0325] 其中 R_1 和 R_2 独立地是 C_1 - C_4 -烷基,

[0326] 用合适的醚处理并在 10°C 至 25°C 的温度下与水和氨水一起搅拌,最后达到介于7.8与8.2之间的pH值,之后将反应混合物用不混溶解在水的有机溶剂处理,分离各相,并且最后浓缩有机相,其进一步的特征在于在第二步骤[A]中将溶解在合适溶剂中的式(XII-1)化合物,



[0328] 其中 R_1 和 R_2 独立地是 C_1 - C_4 -烷基,

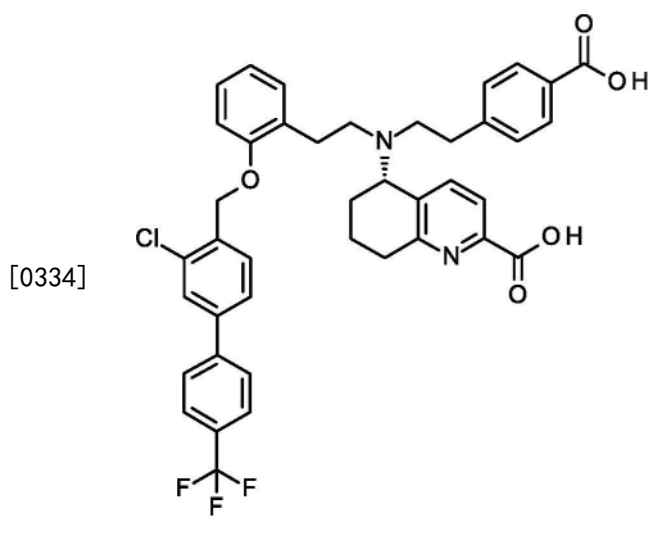
[0329] 与氢氧化钠溶液反应,产生二钠盐(I-DiNa)



[0331] 将其萃取纯化,但不经进一步分离后,在第三步骤[B]中反应

[0332] 通过将反应溶液分批添加到无机酸在合适溶剂中的混合物中,直到达到3.8至4.2的pH值,其中最初装入的无机酸混合物具有小于3.8的pH值,并且最多包含与二钠盐相关的两个酸当量

[0333] 最后得到式(I)化合物



[0335] 本发明还提供了一种用于制备如上述根据实施方案4和上文一个或多个另外的实施方案的式(I)化合物的方法,其中在式(XII-1)中残基R3和R4是相同的,特别优选当R3=R4=丁基时。

[0336] 本发明还提供了一种用于制备如上述根据实施方案4和上文一个或多个另外的实施方案的式(I)化合物的方法,其中在第一步骤[D]中所述醚是四氢呋喃。

[0337] 本发明还提供了一种用于制备如上述根据实施方案4和上文一个或多个另外的实施方案的式(I)化合物的方法,其中在第一步骤[D]中所添加的溶剂是二异丙醚。

[0338] 本发明还提供了一种用于制备如上述根据实施方案4和上文一个或多个另外的实施方案的式(I)化合物的方法,其中在第一步骤[D]中于相分离后丢弃水相并将有机相浓缩成固体,优选在用水和氨水的混合物,氨水溶液(7.8至8.2的pH值)洗涤以及经硫酸钠干燥

后。

[0339] 本发明还提供了一种用于制备如上述根据实施方案4和上文一个或多个另外的实施方案的式(I)化合物的方法,其中在第二步骤[A]中所述溶剂是四氢呋喃或二噁烷,优选四氢呋喃。

[0340] 本发明另一个目的是用于制备如上述根据实施方案4和上文一个或多个另外的实施方案的式(I)化合物的方法,其中在第二步骤[A]中使用氢氧化钠或氢氧化钾溶液,优选基于式(XII-1)化合物过量的4%氢氧化钠溶液(1N),优选4当量。

[0341] 本发明还提供了一种用于制备如上述根据实施方案4和上文一个或多个另外的实施方案的式(I)化合物的方法,其中在第二步骤[A]中所述步骤在40°C至70°C,优选60°C的温度下进行。

[0342] 本发明还提供了一种用于制备如上述根据实施方案4和上文一个或多个另外的实施方案的式(I)化合物的方法,其中所述二钠盐溶液通过用有机溶剂,优选乙酸乙酯萃取进行纯化。

[0343] 本发明还提供了一种用于制备如上述根据实施方案4和上文一个或多个另外的实施方案的式(I)化合物的方法,其中在一第三步骤[B]中所述无机酸是盐酸。

[0344] 本发明还提供了一种用于制备如上述根据实施方案4和上文一个或多个另外的实施方案的式(I)化合物的方法,其中在一第三步骤[B]中所述有机产物层在将氯化钠添加到所述混合物中后分离。

[0345] 本发明还提供了一种用于制备如上述根据实施方案4和上文一个或多个另外的实施方案的式(I)化合物的方法,其特征在于所述有机产物层的浓缩在降低的大气压力下,优选在200mbar和优选在介于20与50°C之间的温度下,非常优选在40°C下进行。

[0346] 本发明还提供了一种用于制备如上述根据实施方案4和上文一个或多个另外的实施方案的式(I)化合物的方法,其特征在于将式(I)化合物分离为固体或将有机产物层浓缩至残余体积。

[0347] 本发明还提供了一种用于制备如上述根据实施方案4和上文一个或多个另外的实施方案的式(I)化合物的方法,其特征在于式(I)化合物通过过滤分离为固体或为浓缩的残余体积

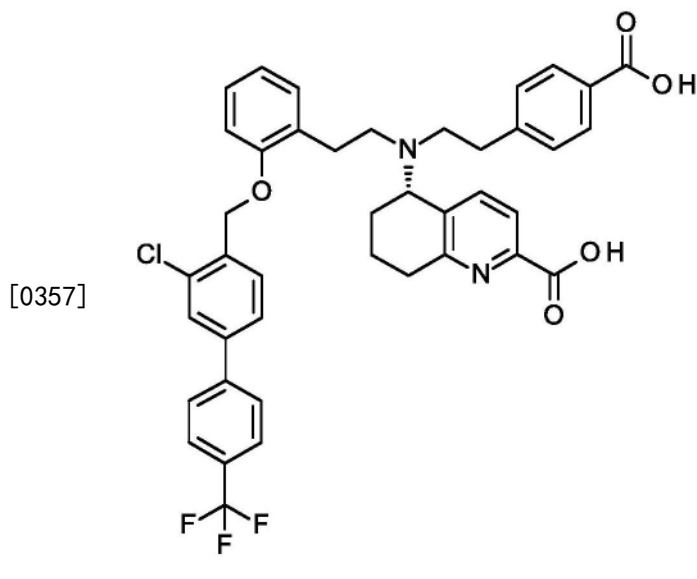
[0348] 其特征在于

- [0349] • 从混合物分离出有机产物层,
- [0350] • 浓缩有机产物层,其中分离出固体,
- [0351] • 通过过滤分离所述固体以及
- [0352] • 将分离的固体干燥。
- [0353] • 或将有机产物层浓缩至残余体积。

[0354] 本发明还提供了一种用于制备如上述根据实施方案4和上文一个或多个另外的实施方案的式(I)化合物的方法,其特征在于将固体在至多60°C的温度于氮气流中和于降低的大气压力下,例如40mbar至30mbar下干燥。

[0355] 本发明还提供了上文所介绍的部分反应的组合,用于制备式(I)化合物的结晶变体I,式(I-M-I)的一水合物I,或变体II,式(I-M-II)的一水合物II,优选式(I-M-I)的一水合物I。

[0356] 以示例性方式,描述经由上述方法路线1、2和3可获得的式(I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸的进一步纯化



[0358] (参见方案2),最后得到式(I-M-I)的一水合物I。

[0359] 根据规模和方法路线,可能优选的是在最终结晶之前纯化式I化合物。因此,结晶可包括组合的方法步骤[H]和[E]。也可能仅根据步骤[E]使式(I)化合物结晶。这以示例性方式描述。

[0360] 方法步骤[H]:

[0361] 纯化目标化合物I(1.结晶):

[0362] 将含有式I的游离酸的粗有机相(例如经由上述方法路线1、2或3之一(参见方案2)获得)真空浓缩,溶解在四氢呋喃中,优选相对于四氢呋喃的蒸发残余物0.8至1.1倍的量,并且然后添加2.2:1的甲醇和水的混合物,优选相对于丁酯,于约5倍量的2.2:1甲醇水混合物中在20°C在搅拌下。添加(5S)-5- {[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯]-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸一水合物I的种晶并搅拌一段时间,优选12h。将固体分离并以1:1的甲醇和水的混合物洗涤。然后将固体在20°C下真空干燥。

[0363] 干燥在优选40°C和50°C的温度和40mbar至30mbar下进行。

[0364] 方法步骤[E]:

[0365] 结晶/形成一水合物形式I, (I-M-I): 甲醇、丙酮、水结晶

[0366] 将经由上述方法路线1、2或3之一,例如经由路线3获得的式I化合物(呈固体形式、呈蒸发残余物形式或作为THF中的浓缩物)加热至升高的温度,优选加热至50°C,以1:1的丙酮和甲醇混合物,优选4至8倍量,优选相对于式I的固体化合物的量每种溶剂约4倍的量,并冷却至20°C。将获得的溶液过滤,例如通过Seitz过滤板,加热至50°C,并且最后在一段时间内,优选于30分钟内逐滴添加水,优选相对于式I的固体化合物的量1.8倍的水量。因此,最后将化合物在2.2:2.2:1丙酮、甲醇和水的混合物中搅拌,其中相对于式(I)的固体酸的克(g)重,溶剂的克量为约10:1。将溶液接种少量式(I-M-I)的一水合物I的种晶,根据规模而

定至多几克的少量,搅拌30分钟,于至少30分钟内冷却至20°C并抽吸过滤出固体。湿产物优选与水,优选相对于式I固体化合物的量10倍的水量,一起搅拌一段时间,优选12小时。最后,抽吸过滤出固体并用水洗涤两次,优选相对于式I固体化合物的量2倍的水量。将湿产物在20°C下于氮气流中在真空下干燥至恒重以获得的式I化合物结晶变体I,式(I-M-I)的一水合物I。

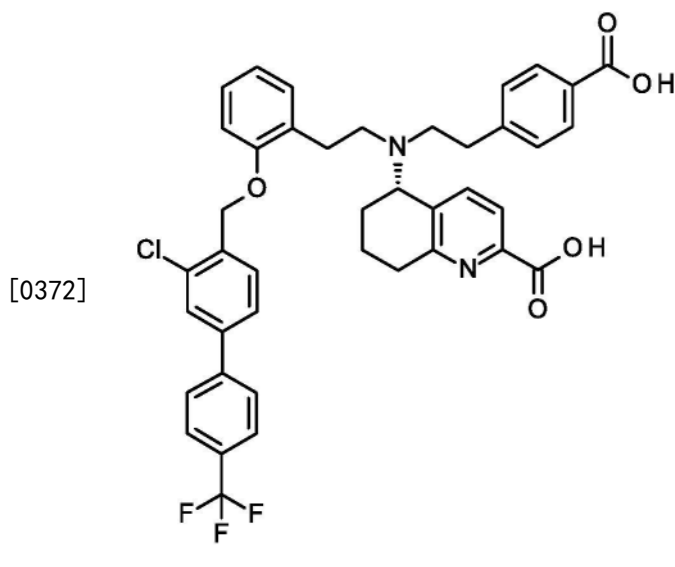
[0367] 替代地,将例如经由上述方法路线1、2或3之一(参见方案2),例如经由路线2所获得的含有式I游离酸的粗有机相,在真空中浓缩,溶解在四氢呋喃中,优选相对于四氢呋喃蒸发残余物的0.8至1.1倍的克(g)量,并且然后添加2.3:1的甲醇和水混合物,优选相对于丁酯,2.3:1甲醇水混合物约7倍的量,优选在20°C搅拌下。添加(5S)-5-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯]-4-基}甲氧基)苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸一水合物I的种晶。然后再计量添加约17.3倍量的2.3:1甲醇水混合物。因此最后在相对于固体化合物24.3倍克(g)量的2.3:1甲醇水混合物中搅拌所述化合物。将其搅拌一段时间,优选过夜。分离固体并用1:1的甲醇和水混合物洗涤。然后将固体,优选在40至50°C和40至30mbar下真空干燥。

[0368] 替代地,将式I的固体化合物溶解在4:1的甲醇和水混合物中,其中溶剂与固体的比率如下:相对于式(I)化合物的克(g)量以克(g)计4倍量甲醇和相对于式(I)化合物的克(g)量以克(g)计约1倍量的水。之后添加4:1的丙酮和水混合物,其中溶剂与固体的比率如下:添加4倍量的丙酮和约1倍量的水。因此,最后将化合物在4:4:2的丙酮、甲醇和水混合物中搅拌,其中相对于式(I)的固体酸的克(g)量,溶剂克(g)量为约10:1。将其搅拌过夜。抽吸过滤出固体,用1倍量的丙酮/水(8:2)混合物洗涤,并在60°C下用氮气真空干燥过夜。

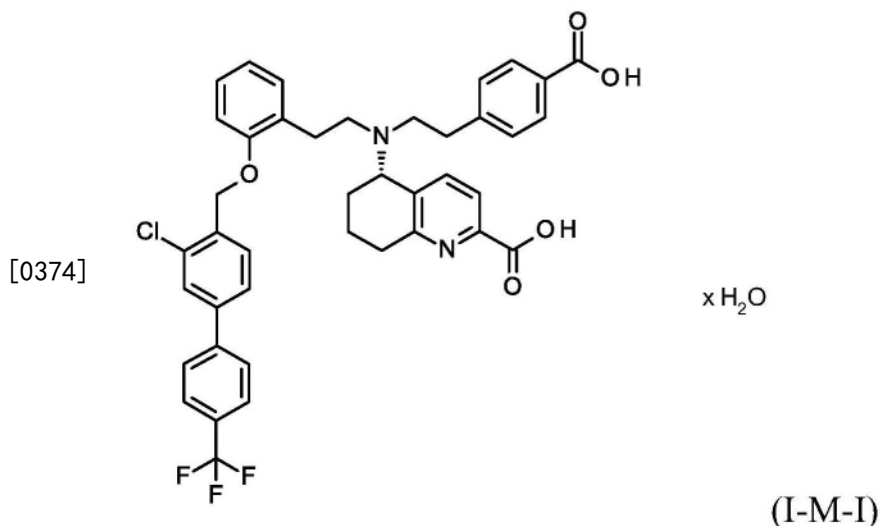
[0369] 实施方案5(一水合物I的结晶方法[E])

[0370] 本发明提供了一种用于制备呈结晶变体一水合物I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯]-4-基}甲氧基)苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸(I)的(I-M-I)的方法,

[0371] 其特征在于将式(I)化合物



[0373] 从极性溶剂的混合物结晶,其中所述极性溶剂选自由甲醇、丙酮、水组成的清单,其中至少甲醇和水的混合物必须处于20°C至100°C的温度并且将式(I-M-I)化合物



[0375] 分离,任选地在冷却后。

[0376] 本发明还提供了一种用于制备根据上文实施方案5的呈结晶变体一水合物I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸(I) (I-M-I)的方法,

[0377] 其特征在于将含有式I的游离酸的粗有机相(例如经由上述方法路线1、2或3之一(参见方案2)获得)真空浓缩,溶解在四氢呋喃中,优选相对于四氢呋喃的蒸发残余物0.8至1.1倍的克(g)量,并且然后添加2.2:1的甲醇和水混合物,优选相对于丁酯约5倍量的2.2:1甲醇水混合物,优选在20℃搅拌下逐滴添加。

[0378] 本发明还提供了一种用于制备根据实施方案5和上文一个或多个另外的实施方案的呈结晶变体一水合物I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸(I) (I-M-I)的方法,其特征在于式(I)化合物在2.2:1或2.3:1的甲醇和水混合物中在介于约20℃至约50℃之间的温度下搅拌。

[0379] 本发明还提供了一种用于制备根据实施方案5和上文一个或多个另外的实施方案的呈结晶变体一水合物I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸(I) (I-M-I)的方法,其特征在于式(I)化合物在2.2:1或2.3:1的甲醇和水混合物中在介于约20℃至约50℃之间的温度下搅拌,并且相对于以克(g)计的式I固体化合物的量,甲醇和水混合物的量以克(g)计为约5至24,优选约10倍量。

[0380] 本发明还提供了一种用于制备根据实施方案5和上文一个或多个另外的实施方案的呈结晶变体一水合物I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸(I) (I-M-I)的方法,其特征在于将式(I)化合物首先在约50℃的温度下溶解在1:1的甲醇和丙酮混合物,冷却至室温并将溶液过滤澄清。

[0381] 本发明还提供了一种用于制备根据实施方案5和上文一个或多个另外的实施方案的呈结晶变体一水合物I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸(I) (I-M-I)的方法,其特征在于将式(I)化合物首先溶解在1:1的甲醇和丙酮混合物中,其中每种溶剂相对于以克(g)

计的式I固体化合物的量,以克(g)计4至8倍的量来提供。

[0382] 本发明还提供了一种用于制备根据实施方案5和上文一个或多个另外的实施方案的呈结晶变体一水合物I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸(I)(I-M-I)的方法,其特征在于在约50℃的温度下将式(I)化合物首先溶解在1:1的甲醇和丙酮混合物中,优选相对于以克(g)计的式I固体化合物的量,以4倍量的每种溶剂(相对于1:1混合物为8倍量),并且冷却至室温,优选20℃,通过过滤来使溶液澄清,加热至50℃并在一段时间内逐滴添加水。

[0383] 本发明还提供了一种用于制备根据实施方案5和上文一个或多个另外的实施方案的呈结晶变体一水合物I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸(I)(I-M-I)的方法,其特征在于在30分钟的时间内逐滴添加水。

[0384] 本发明还提供了一种用于制备根据实施方案5和上文一个或多个另外的实施方案的呈结晶变体一水合物I的(I-M-I)(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸(I)的方法,其特征在于水以相对于以克(g)计的式I固体化合物的量,在30分钟的时间内逐滴添加1.8倍的量。

[0385] 本发明还提供了一种用于制备根据实施方案5和上文一个或多个另外的实施方案的呈结晶变体一水合物I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸(I)(I-M-I)的方法,其特征在于在添加水后,优选相对于以克(g)计的式I固体化合物的量,添加以克(g)计1.8倍的水量,将式(I-M-I)化合物的种晶添加到搅拌的混合物中。

[0386] 本发明还提供了一种用于制备根据实施方案5和上文一个或多个另外的实施方案的呈结晶变体一水合物I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸(I)(I-M-I)的方法,其特征在于在添加水后,优选相对于以克(g)计的式I固体化合物的量,添加以克(g)计1.8倍的水量,将式(I-M-I)化合物的种晶添加到搅拌的混合物中,持续搅拌一段时间,优选30分钟并将混合物冷却至20℃并且最后过滤出固体。

[0387] 本发明还提供了一种用于制备根据实施方案5和上文一个或多个另外的实施方案的呈结晶变体一水合物I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸(I)(I-M-I)的方法,其特征在于在添加水后,优选相对于以克(g)计的固体式I化合物的量,添加以克(g)计1.8倍的水量,接种式(I-M-I)化合物的种晶,持续搅拌一段时间,优选30分钟并将湿产物的滤液与水搅拌,优选相对于式I的固体化合物的量,10倍的水量,持续一段时间,优选12小时。

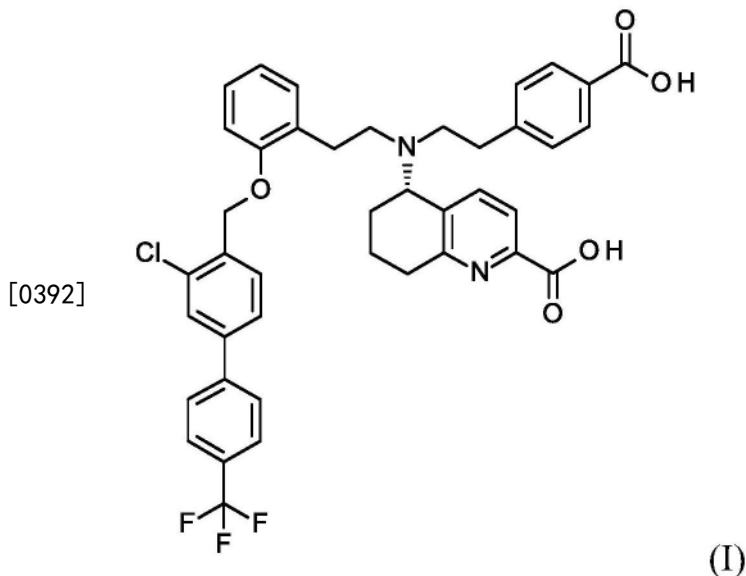
[0388] 本发明还提供了一种用于制备根据实施方案5和上文一个或多个另外的实施方案的呈结晶变体一水合物I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸(I)(I-M-I)的方法,其特征在于最后将固体抽吸过滤并用水洗涤两次,优选相对于式I固体化合物的量,2倍的水量。

[0389] 本发明还提供了一种用于制备根据实施方案5和上文一个或多个另外的实施方案的呈结晶变体一水合物I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸(I)(I-M-I)的方法,其特征

在于在过滤固体后,将湿产物于20℃氮气流中在真空下,例如40至30mbar干燥至恒重。

[0390] 本发明还提供了一种用于制备根据实施方案5和上文一个或多个另外的实施方案的呈结晶变体一水合物I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸(I)(I-M-I)的方法,其特征在于在过滤固体后,将湿产物在升高的温度,例如介于40℃与50℃之间于真空下,例如40至30mbar干燥至恒重。

[0391] 以示例性方式,描述经由上述方法路线1、2或3(参见方案2)可获得的式(I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸的进一步纯化



[0393] 最后产生式(I-M-II)的一水合物II。

[0394] 这以示例性方式描述。

[0395] 方法步骤[F]

[0396] 结晶/形成一水合物形式II, (I-M-II): 丙酮水结晶(参见上文方案3)

[0397] 将经由上述方法路线1、2或3之一,例如经由路线3获得的式I化合物(呈固体形式、呈蒸发残余物形式或作为THF中的浓缩物)加热至升高的温度,优选用丙酮和水的混合物加热至50℃,其中丙酮和水的比率在7.8:1、9:1和22.2:1之间变化,其特征在于相对于式I的固体化合物,溶剂的总量以克(g)计为约2至3倍。将获得的溶液冷却至20℃并过滤,例如通过Seitz过滤板,加热至50℃。将其冷却至45℃,接种呈一水合物II的形式的(5S)-5-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯]-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,冷却至20℃历时一段时间,优选约3小时,搅拌并加热至40℃(结晶1和2加热至50℃)。搅拌悬浮液,冷却至20℃并搅拌,并且抽吸过滤出固体。将湿产物在25℃于氮气流中在真空下干燥至恒重以获得的式I化合物结晶变体II,式(I-M-II)的一水合物II。

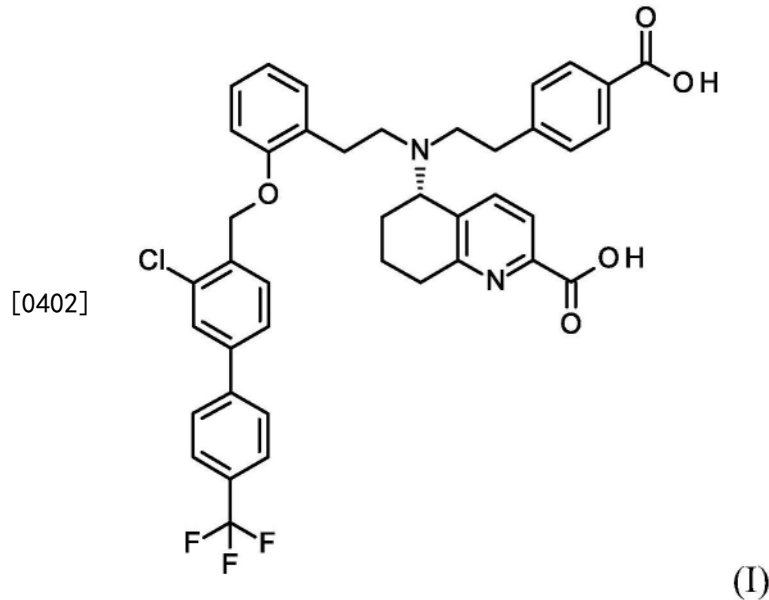
[0398] 替代地,将式I的固体化合物溶解在8:1的丙酮和水混合物中,其中溶剂与固体的比率如下:相对于式(I)化合物的克(g)量,以克(g)计8倍的丙酮量和相对于式(I)化合物的克(g)量,以克(g)计约1倍的水量。因此,最后将化合物在8:1的丙酮和水混合物中搅拌,其

中相对于式 (I) 的固体酸的克 (g) 量溶剂的克 (g) 量为约 9:1。将其搅拌过夜。抽吸过滤固体，用 1 倍量的丙酮/水 (8:2) 混合物洗涤，并在 60°C 下用氮气真空干燥过夜。

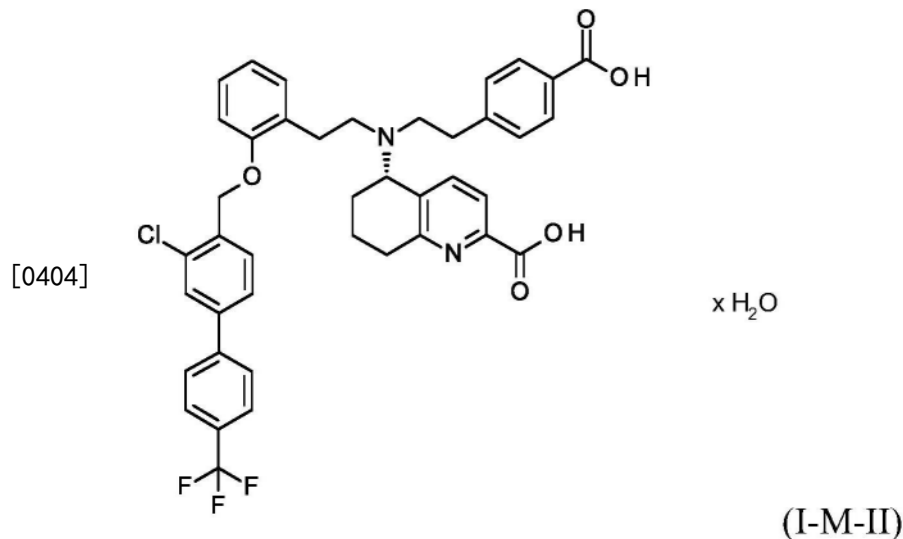
[0399] 实施方案 6 (一水合物 II 的结晶方法 [F])

[0400] 本发明提供了一种用于制备 (5S) - {[2- (4-羧基苯基) 乙基] [2- (2- {[3-氯-4'-(三氟甲基) 联苯-4-基] 甲氧基) 苯基) 乙基] 氨基} -5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸 (I) 结晶变体一水合物 II (I-M-II) 的方法，

[0401] 其特征在于将式 (I) 化合物



[0403] 在 20°C 至 100°C 的温度下从丙酮和水的混合物结晶并将式 (I-M-II) 化合物



[0405] 分离，任选地在冷却后。

[0406] 本发明还提供了一种用于制备根据实施方案 6 的 (5S) - {[2- (4-羧基苯基) 乙基] [2- (2- {[3-氯-4'-(三氟甲基) 联苯-4-基] 甲氧基) 苯基) 乙基] 氨基} -5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸 (I) 结晶变体一水合物 II (I-M-II) 的方法

[0407] 其特征在于将式 (I) 化合物在 50°C 的温度下于丙酮和水的混合物中搅拌，其中丙酮与水的比率介于 23:1 和 4:1 之间，优选 23:1 和 7:1。

[0408] 本发明还提供了一种用于制备根据实施方案6和上文一个或多个实施方案的(5S) - {[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基} -5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸(I) 结晶变体一水合物II (I-M-II)的方法,其特征在于在丙酮和水的混合物中搅拌式I的酸,其中丙酮与水的比率介于23:1与7:1之间并且另外其中相对于以克(g)计的式I固体化合物的量,丙酮以4至8倍量提供而其中水以0.2至0.8倍量提供。

[0409] 本发明还提供了一种用于制备根据实施方案6和上文一个或多个实施方案的(5S) - {[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基} -5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸(I) 结晶变体一水合物II (I-M-II)的方法,其特征在于在丙酮和水的混合物中搅拌式I的酸,其中丙酮与水的比率介于23:1与7:1之间并且另外其中相对于以克(g)计的式I固体化合物的量,丙酮以4至8倍量提供而其中水以0.2至0.8倍量提供,将混合物加热至50°C并过滤使溶液澄清。

[0410] 本发明还提供了一种用于制备根据实施方案6和上文一个或多个实施方案的(5S) - {[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基} -5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸(I) 结晶变体一水合物II (I-M-II)的方法,其特征在于在丙酮和水的混合物中搅拌式I的酸,其中丙酮与水的比率介于23:1与7:1之间并且另外其中相对于以克(g)计的式I固体化合物的量,丙酮以4至8倍量提供而其中水以0.2至0.8倍量提供,将混合物加热至50°C并过滤使溶液澄清并且然后在介于45至50°C间的温度下将式(I-M-II)化合物的种晶添加到搅拌的混合物中。

[0411] 本发明还提供了一种用于制备根据实施方案6和上文一个或多个实施方案的(5S) - {[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基} -5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸(I) 结晶变体一水合物II (I-M-II)的方法,其特征在于在丙酮和水的混合物中搅拌式I的酸,其中丙酮与水的比率介于23:1与7:1之间并且另外其中相对于以克(g)计的式I固体化合物的量,丙酮以4至8倍量提供而其中水以0.2至0.8倍量提供,将混合物加热至50°C并过滤使溶液澄清,并且然后在介于45至50°C间的温度下将式(I-M-II)化合物的种晶加到搅拌的混合物中,持续搅拌一段时间,优选30分钟并将混合物冷却至20°C并且最后过滤出固体。

[0412] 本发明还提供了一种用于制备根据实施方案6和上文一个或多个实施方案的(5S) - {[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基} -5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸(I) 结晶变体一水合物II (I-M-II)的方法,其特征在于在过滤固体后将湿产物于25°C下在氮气流中于真空,例如40至30mbar下干燥至恒重。

[0413] (假-)多晶形式

[0414] W0 2014/012934公开了仅为无定形固体的式(I)的(5S) - {[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基} -5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸。根据W0 2014/012934的实施例23中描述的合成所制备的式(I)化合物的对应X射线衍射图示于图33中(参见对比实施例11),其并不适用于通过干粉吸入器施用的吸入剂型。

[0415] 对于开发包含呈固体形式的式(I)的(5S) - {[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基} -苯基) -乙基]氨基} -5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸的药用形式,尤其是呈干粉吸入形式,对于可重复制造和分离呈一种限定结晶形式的式(I)化

合物有很高的需求。

[0416] 需要许多努力才能将式I的化合物最后结晶成限定的固体形式。

[0417] 首先尝试将(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸转化成结晶形式失败了并且仅产生具有不受控制相变的不期望的无定形形式。

[0418] 为了克服此性质,进行盐选择筛选,试图找出具有有利性质的新结晶物质。然而,所有的试验都导致了无定形或高度无序的物质,并且并未观察到盐形成(参见图4:L-精氨酸的盐筛选实验)。

[0419] 令人惊讶地,式I化合物以几种假多晶形式获得,没有发现无水结晶形式。

[0420] 已鉴定出以下式(I)化合物的结晶形式,其为假多晶形式一水合物I和II((I-M-I)和(I-M-II))、半水合物、倍半水合物、二水合物和1,25水合物(参见实施例6和图5至图32)。在本文中,变体、多晶形式和多晶型具有相同的含义。另外,还存在无定形形式。所有这些-假多晶形式和无定形形式-都是式(I)化合物的不同的固体形式。

[0421] 化合物的稳定性和均一性是医药的关键要求以及取得卫生当局批准的先决条件。其增加了包含式(I)化合物的制备物和制剂的安全性和质量,并且因此降低了对患者的风险。

[0422] 然而,在几种鉴定出的假多晶形式中,必须在几个阶段中鉴定出最合适和稳定的形式。

[0423] 发现二水合物在干燥方法期间经历无定形化(参见图10a)。半水合物的晶格表现出无序(参见图5),其可支持机械加工,如例如,配制过程中的相变和/或无定形化。因为搅拌过程非常长,倍半水合物的结晶对于大规模制造并不可行。

[0424] 发现两种一水合物都可克服不同假多晶形式的这些不想要的性质。然而最终证明这些一水合物形式中仅有一种在微粉化过程中是稳定的,因此最合适的形式例如用于生产吸入性药物,尤其是作为干粉为基底的吸入性药物。令人惊讶地,在微粉化过程中,发现一水合物II根据微粉化条件显示部分无定形化(参见实施例8b,图42)或除此之外还转变为一水合物I(参见实施例8a,图43)。此外,观察到一水合物II也在储存期间显示转变成一水合物I(参见实施例7b,图40和图41)。因此假多晶形式一水合物I适合用于医药领域并优于式I化合物的其他固体形式,特别适用于药物组合物,尤其是干粉吸入剂型。

[0425] 具体地说,式(I)化合物的一水合物I形式确保防止了不期望的转化为另一种形式的式(I)化合物以及如上所述的相关性质改变。

[0426] 本发明的目的因此是提供具有优越的应用性质,诸如在微粉化过程期间的机械稳定性和与固态转化相关的储存稳定性的假多晶型。

[0427] 目前令人惊讶地发现,通过应用特定的结晶条件所获得的一水合物I具有此类优越的性能。具体地说,如果与先前技术中已知的无定形形式或本文所描述的所有其他假多晶形式相比,一水合物I展示出改进的性质,如微粉化过程中的机械稳定性、增强的储存稳定性和更好的可加工性。具体地说,一水合物I展示出增加的稳定性并因此确保防止不期望地转化为式(I)化合物的另一种假多晶形式,并因此防止如上所述的相关性质变化。增加的稳定性提升了包含式(I)化合物的制剂的安全性和质量。

[0428] 因此,式(I)化合物的假多晶形式一水合物I(I-M-I)是工业应用上最优选的式I

化合物形式。

[0429] 使用根据本发明的方法(参见上文方案2和3),有可能以高产率和纯度选择性地分离式(I-M-I)的一水合物I结晶形式的式(I)化合物。

[0430] 多晶形式,尤其是水合物,优选形式I和II的一水合物可通过式(I)的酸的结晶来制造(参见方案3)。

[0431] 根据所使用的溶剂,形成一水合物(I-M-I)或一水合物(I-M-II)。从甲醇和水的混合物或丙酮、甲醇和水的混合物结晶选择性地产生式(I-M-I)的呈其一水合物I的形式的式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,而从丙酮和水的混合物结晶则选择性地产生形式II的一水合物(I-M-II)。

[0432] (5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸的一水合物I可通过X射线粉末衍射法基于各自的衍射图来表征,所述衍射图在25°C下并以Cu-K α 1辐射(1.5406 Å)记录。根据本发明的一水合物I展示至少2个,通常至少3个,通常至少5个,特别是至少7个,更特别是至少10个,并且尤其是以下引用数值的全部反射:

[0433] 式(I)化合物的假多晶形式,式(I-M-I)的一水合物I可通过X射线粉末衍射图(在25°C下并以Cu-K α 1作为放射源)来表征,其展示至少以下反射:12.8和29.2或至少6.9、7.2和7.3或至少6.9、7.2、7.3、12.8和29.2或至少6.9、7.2、7.3、12.8、29.2、23.0和15.2,或至少以下反射:6.9、7.2、7.3、12.8、29.2、23.0、15.2、25.8和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和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和11.5,各自以 2θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

[0434] 在另一个实施方案中,式(I)化合物的假多晶形式,式(I-M-I)的一水合物I可通过X射线粉末衍射图(在25°C下并以Cu-K α 1作为放射源)来表征,其展示至少以下反射:12.8、16.0和25.8或至少6.9、7.2和7.3,或至少6.9、7.2、7.3、12.8、16.0和25.8或至少6.9、7.2、7.3、12.8、16.0、25.8、15.2和25.1或至少6.9、7.2、7.3、12.8、16.0、25.8、15.2、25.1和23.7或至少6.9、7.2、7.3、12.8、16.0、25.8、15.2、25.1、23.7、9.9、5.7和11.5,各以 2θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

[0435] 在另一个实施方案中,式(I)化合物的假多晶形式,式(I-M-I)的一水合物I可通过X射线粉末衍射图(在25°C下并以Cu-K α 1作为放射源)来表征,其展示至少以下反射:12.8、20.5和25.8或至少6.9、7.2和7.3或至少6.9、7.2、7.3、12.8、20.5、25.8、15.2和25.1或至少6.9、7.2、7.3、12.8、20.5、25.8、15.2、25.1和23.7或至少6.9、7.2、7.3、12.8、20.5、25.8、15.2、25.1、23.7、9.9、5.7和11.5,各自以 2θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

[0436] 式(I)化合物的假多晶形式,式(I-M-I)的一水合物I另外可通过X射线粉末衍射图(在25°C下并以Cu-K α 1作为放射源)来表征,其展示至少以下反射: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,各自以 2θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

[0437] 式(I)化合物的假多晶形式,式(I-M-I)的一水合物I另外可通过X射线粉末衍射

图(在25℃下并以Cu-K α 1作为放射源)来表征,其不展示至少以下反射:3.1和9.3,各自以2 θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

[0438] 式(I)化合物的假多晶形形式,式(I-M-I)的一水合物I另外可通过X射线粉末衍射图(在25℃下并以Cu-K α 1作为放射源)来表征,其不展示至少以下反射:6.1和8.5,各自以2 θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

[0439] 式(I)化合物的假多晶形形式,式(I-M-I)的一水合物I另外可通过X射线粉末衍射图(在25℃下并以Cu-K α 1作为放射源)来表征,其不展示至少以下反射:8.5和/或30,各自以2 θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

[0440] 式(I)化合物的假多晶形形式,式(I-M-I)的一水合物I另外可通过X射线粉末衍射图(在25℃下并以Cu-K α 1作为放射源)来表征,其不展示至少以下反射:7.9和/或31.6,各自以2 θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

[0441] 式(I)化合物的假多晶形形式,式(I-M-I)的一水合物I另外可通过X射线粉末衍射图(在25℃下并以Cu-K α 1作为放射源)来表征,其不展示至少以下反射:7.6,各自以2 θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

[0442] 式(I)化合物的假多晶形形式,式(I-M-I)的一水合物I另外可通过X射线粉末衍射图(在25℃下并以Cu-K α 1作为放射源)来表征,其不展示至少以下反射:14.8,各自以2 θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

[0443] 式(I)化合物的假多晶形形式,式(I-M-I)的一水合物I另外可通过X射线粉末衍射图(在25℃下并以Cu-K α 1作为放射源)来表征,其展示至少以下反射:12.8和29.2或至少6.9、7.2和7.3或至少6.9、7.2、7.3、12.8和29.2或至少6.9、7.2、7.3、12.8、29.2、23.0和15.2,或至少以下反射:6.9、7.2、7.3、12.8、29.2、23.0、15.2、25.8和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和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和11.5并且同时不展示至少以下反射:6.1和8.5,各自以2 θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

[0444] 式(I)化合物的假多晶形形式,式(I-M-I)的一水合物I另外可通过X射线粉末衍射图(在25℃下并以Cu-K α 1作为放射源)来表征,其展示至少以下反射:12.8、16.0和25.8或至少6.9、7.2和7.3,或至少6.9、7.2、7.3、12.8、16.0和25.8或至少6.9、7.2、7.3、12.8、16.0、25.8、15.2和25.1或至少6.9、7.2、7.3、12.8、16.0、25.8、15.2、25.1和23.7或至少6.9、7.2、7.3、12.8、16.0、25.8、15.2、25.1、23.7、9.9、5.7和11.5并且同时不展示至少以下反射:6.1和8.5,各自以2 θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

[0445] 式(I)化合物的假多晶形形式,式(I-M-I)的一水合物I另外可通过X射线粉末衍射图(在25℃下并以Cu-K α 1作为放射源)来表征,其展示至少以下反射:12.8、20.5和25.8或至少6.9、7.2和7.3或至少6.9、7.2、7.3、12.8、20.5、25.8、15.2和25.1或至少6.9、7.2、7.3、12.8、20.5、25.8、15.2、25.1和23.7或至少6.9、7.2、7.3、12.8、20.5、25.8、15.2、25.1、23.7、9.9、5.7和11.5并且同时不展示至少以下反射:6.1和8.5,各自以2 θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

[0446] 多晶形形式一水合物I的式(I)化合物还可通过如图6所示的X射线粉衍射图(在25℃下并以Cu-K α 1作为放射源)明确地表征式(I)化合物。

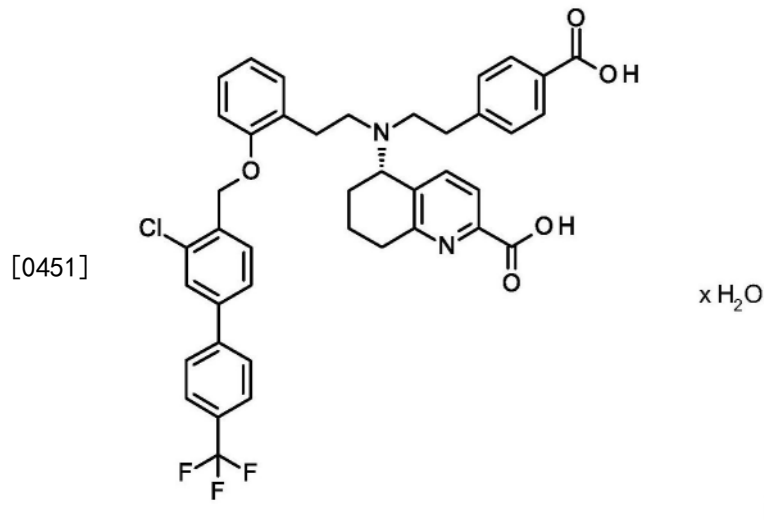
[0447] 式(I)化合物的假多晶形形式形式,式(I-M-I)的一水合物I可通过拉曼光谱法表征,其至少表现在以下各处的最大谱带:3073、2950、2937、1685、1616、1527、1293、1278、

1259 cm^{-1} 。

[0448] 式(I)化合物的假多晶形式一水合物I可通过IR光谱法表征,其至少表现在以下各处的最大谱带:2933、1595、1375、1327、1272、1242、1167、1110 cm^{-1} 。

[0449] 实施方案7(式(I-M-I)的一水合物I)

[0450] 本发明提供式(I)化合物的式(I-M-I)的结晶形式一水合物I



[0452] 其特征在于所述化合物的X射线衍射图(在25 $^{\circ}\text{C}$ 下并以Cu-K α 1作为放射源)展示出至少以下反射,以 2θ 值 $\pm 0.2^{\circ}$ 表示:12.8和29.2。

[0453] 本发明还提供了根据实施方案7的式(I-M-I)一水合物I结晶形式的式(I)化合物,其特征在于所述化合物的X射线衍射图(在25 $^{\circ}\text{C}$ 下并以Cu-K α 1作为放射源)展示出至少以下反射,以 2θ 值 $\pm 0.2^{\circ}$ 表示:6.9、7.2和7.3。

[0454] 本发明还提供了根据实施方案7的式(I-M-I)一水合物I结晶形式的式(I)化合物,其特征在于所述化合物的X射线衍射图(在25 $^{\circ}\text{C}$ 下并以Cu-K α 1作为放射源)展示出至少以下反射,以 2θ 值 $\pm 0.2^{\circ}$ 表示:6.9、7.2、7.3、12.8、29.2、23.0和15.2。

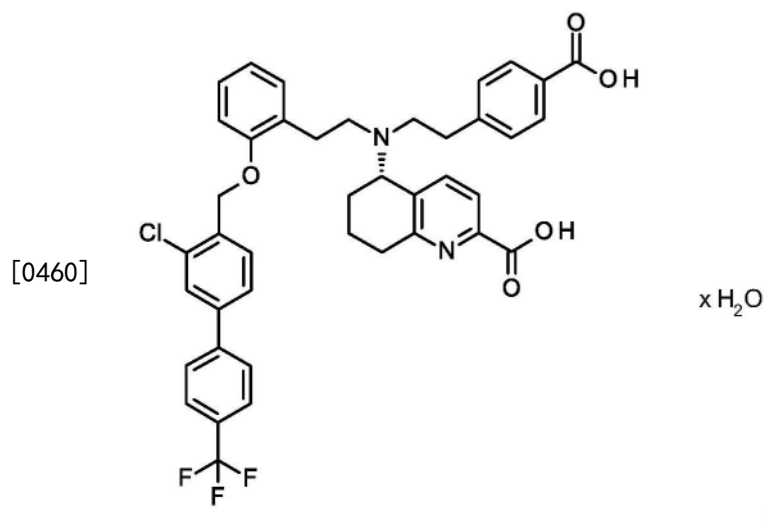
[0455] 本发明还提供了根据实施方案7和上文一个或多个另外实施方案的式(I-M-I)一水合物I结晶形式的式(I)化合物,

[0456] 其特征在于所述化合物的X射线衍射图(在25 $^{\circ}\text{C}$ 下并以Cu-K α 1作为放射源)展示出至少以下反射,以 2θ 值 $\pm 0.2^{\circ}$ 表示:6.9、7.2、7.3、12.8、29.2、23.0、15.2、25.8、25.1、17.7和23.7。

[0457] 本发明还提供了根据实施方案7和上文一个或多个另外实施方案的式(I)化合物的式(I-M-I)一水合物I结晶形式,

[0458] 其特征在于所述化合物的X射线衍射图(在25 $^{\circ}\text{C}$ 下并以Cu-K α 1作为放射源)展示出至少以下反射,以 2θ 值 $\pm 0.2^{\circ}$ 表示:6.9、7.2和7.3、12.8、29.2、23.0、15.2、25.8、25.1、17.7、23.7、9.9、5.7和11.5。

[0459] 替代地,本发明提供了式(I)化合物的式(I-M-I)一水合物I的结晶形式



[0461] 其特征在于所述化合物的X射线衍射图(在25℃下并以Cu-K α 1作为放射源)展示出至少以下反射,以 2θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 表示:12.8、16.0和25.8。

[0462] 本发明还提供了根据实施方案7的式(I)化合物的式(I-M-I)一水合物I结晶形式,其特征在于所述化合物的X射线衍射图(在25℃下并以Cu-K α 1作为放射源)展示出至少以下反射,以 2θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 表示:12.8、16.0、25.8、6.9、7.2和7.3。

[0463] 本发明还提供了根据实施方案7的式(I-M-I)一水合物I结晶形式的式(I)化合物,其特征在于所述化合物的X射线衍射图(在25℃下并以Cu-K α 1作为放射源)展示出至少以下反射,以 2θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 表示:6.9、7.2和7.3、12.8、29.2、23.0和15.2。

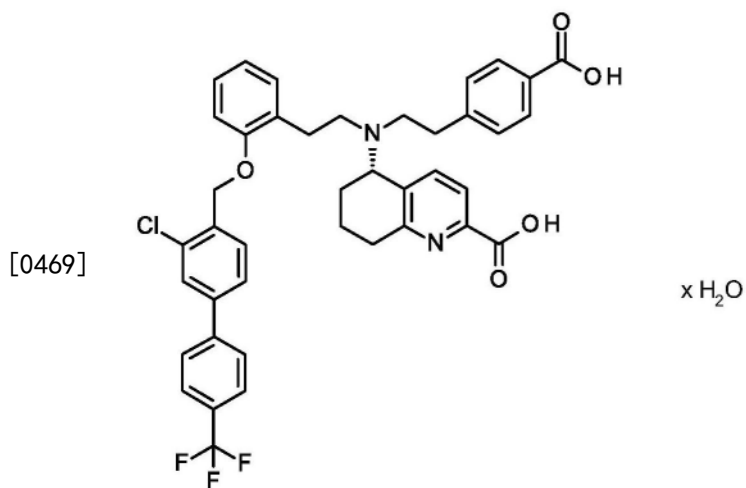
[0464] 本发明还提供了根据实施方案7和上文一个或多个另外的实施方案的式(I)化合物的式(I-M-I)结晶形式一水合物I,

[0465] 其特征在于所述化合物的X射线衍射图(在25℃下并以Cu-K α 1作为放射源)展示出至少以下反射,以 2θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 表示:6.9、7.2、7.3、12.8、29.2、23.0、15.2、25.8和25.1。

[0466] 本发明还提供了根据实施方案7和上文一个或多个另外的实施方案的式(I)化合物的式(I-M-I)结晶形式一水合物I,

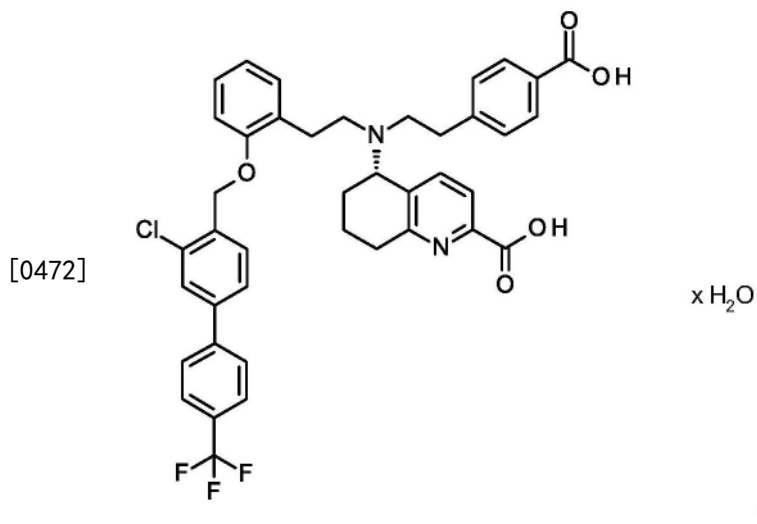
[0467] 其特征在于所述化合物的X射线衍射图(在25℃下并以Cu-K α 1作为放射源)展示出至少以下反射,以 2θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 表示:6.9、7.2和7.3、12.8、29.2、23.0、15.2、25.8、25.1、17.7、23.7、9.9、5.7和11.5。

[0468] 本发明还提供了式(I)化合物的式(I-M-I)的结晶形式一水合物I



[0470] 其特征在于所述化合物的IR光谱表现在2933、1595、1375、1327、1272、1242、1167、1110cm⁻¹处的最大谱带。

[0471] 本发明还提供了式(I)化合物的式(I-M-I)的结晶形式一水合物I



[0473] 其特征在于所述化合物的拉曼光谱表现在3073、2950、2937、1685、1616、1527、1293、1278、1259cm⁻¹处的最大谱带。

[0474] 可通过X射线粉末衍射、差示扫描量热法(DSC)、IR-和拉曼-光谱法区分其他不同形式的式(I)化合物。

[0475] 除了一水合物I之外,还鉴定出其他假多晶形式一水合物II、半水合物、1,25-水合物、倍半水合物以及二水合物(参见实施例6,图2至图29),其进一步的特征如下。

[0476] (5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸的假多晶形式一水合物II、半水合物、1,25-水合物、倍半水合物以及二水合物可通过X射线粉末衍射基于各自的衍射图来表征,所述衍射图在25℃下并以Cu-Kα1放射(1.5406 Å)记录。假多晶形式一水合物II、半水合物、1,25-水合物、倍半水合物以及二水合物展示出至少3个,通常至少5个,特别是至少7个,更特别是至少10个,并且尤其是以下引用数值的全部反射:

[0477] 式(I)化合物的假多晶形式一水合物II可通过X射线粉末衍射图(在25℃下并以

Cu-K α 1作为放射源)来表征,其展示至少以下反射:6.1和8.5,以及至少6.1、8.5、12.7、23.9和13.9,优选至少以下反射:6.1、8.5、12.7、23.9、13.9、23.0和12.2,更优选至少以下反射:6.1、8.5、12.7、23.9、13.9、23.0、12.2、10.8和15.3,最优选至少以下反射:6.1、8.5、12.7、23.9、13.9、23.0、12.2、10.8、15.3、17.3、21.7和22,以及最优选至少以下反射:6.1、8.5、12.7、23.9、13.9、23.0、12.2、10.8、15.3、17.3、21.7和22,各自以 2θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

[0478] 式(I)化合物的假多晶形形式,式(I-M-II)的一水合物II另外可通过X射线粉末衍射图(在25 $^\circ\text{C}$ 下并以Cu-K α 1作为放射源)来表征,其展示至少以下反射: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,各自以 2θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

[0479] 式(I)化合物的假多晶形形式,式(I-M-II)的一水合物II另外可通过X射线粉末衍射图(在25 $^\circ\text{C}$ 下并以Cu-K α 1作为放射源)来表征,其不展示至少以下反射:3.1和9.3,各自以 2θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

[0480] 式(I)化合物的假多晶形形式,式(I-M-II)的一水合物II另外可通过X射线粉末衍射图(在25 $^\circ\text{C}$ 下并以Cu-K α 1作为放射源)来表征,其不展示至少以下反射:6.9、7.2和7.3,各自以 2θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

[0481] 式(I)化合物的假多晶形形式,式(I-M-II)的一水合物II另外可通过X射线粉末衍射图(在25 $^\circ\text{C}$ 下并以Cu-K α 1作为放射源)来表征,其不展示至少以下反射:29.2,各自以 2θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

[0482] 式(I)化合物的假多晶形形式,式(I-M-II)的一水合物II另外可通过X射线粉末衍射图(在25 $^\circ\text{C}$ 下并以Cu-K α 1作为放射源)来表征,其不展示至少以下反射:7.9和/或31.6,各自以 2θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

[0483] 式(I)化合物的假多晶形形式,式(I-M-II)的一水合物II另外可通过X射线粉末衍射图(在25 $^\circ\text{C}$ 下并以Cu-K α 1作为放射源)来表征,其不展示至少以下反射:7.6,各自以 2θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

[0484] 式(I)化合物的假多晶形形式,式(I-M-II)的一水合物II另外可通过X射线粉末衍射图(在25 $^\circ\text{C}$ 下并以Cu-K α 1作为放射源)来表征,其不展示至少以下反射:14.8,各自以 2θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

[0485] 式(I)化合物的假多晶形形式,式(I-M-II)的一水合物II另外可通过X射线粉末衍射图(在25 $^\circ\text{C}$ 下并以Cu-K α 1作为放射源)来表征,其展示至少以下反射:6.1和8.5,以及至少6.1、8.5、12.8、23.0和15.2,优选至少以下反射:6.1、8.5、12.8、23.0、15.2、25.8和25.1,更优选至少以下反射:6.1、8.5、12.8、23.0、15.2、25.8、25.1、17.7和23.7,最优选至少以下反射:6.1、8.5、12.8、23.0、15.2、25.8、25.1、17.7、23.7、9.9、5.7和11.5,以及最优选至少以下反射:12.8、23.0、15.2、25.8、25.1、17.7、23.7、9.9、5.7、6.1、8.5和11.5并且同时不展示至少以下反射:6.9、7.2和7.3,各自以 2θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

[0486] 假多晶形形式一水合物II的式(I)化合物还可通过如图7中所示的X射线粉末衍射图(在25 $^\circ\text{C}$ 下并以Cu-K α 1作为放射源)明确表征。

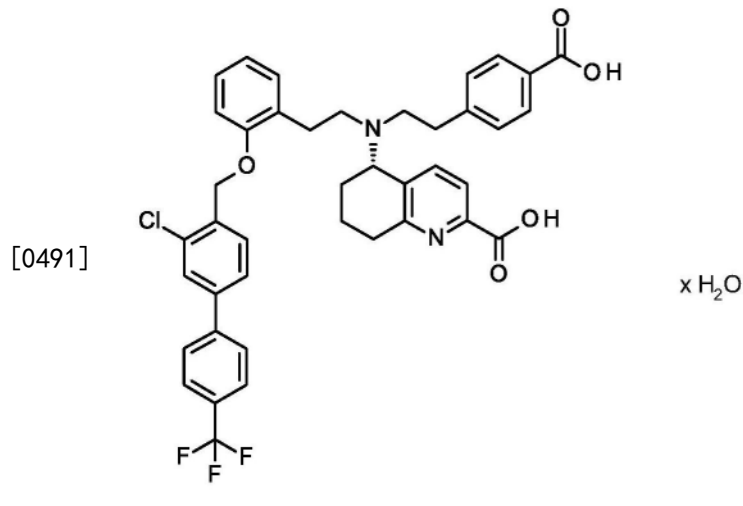
[0487] 式(I-M-II)化合物的假多晶形形式一水合物II还可通过拉曼光谱法来表征,其至

少表现在以下各处的最大谱带:3073、2950、2936、1685、1615、1526、1294、1279、1259 cm^{-1} 。

[0488] 式(I)化合物的假多晶形式一水合物I还可通过IR光谱法来表征,其至少表现在以下各处的最大谱带:2934、1595、1375、1327、1272、1242、1167、1110 cm^{-1} 。

[0489] 实施方案8(式(I-M-II)的一水合物II)

[0490] 本发明还提供了式(I)化合物的式(I-M-II)的结晶形式一水合物II



[0492] 其特征在于所述化合物的X射线衍射图(在25 $^{\circ}\text{C}$ 下并以Cu-K α 1作为放射源)展示至少以下反射,以 2θ 值 $\pm 0.2^{\circ}$ 表示:6.1和8.1,优选6.1、8.1、12.7、23.9和13.9,优选至少以下反射:6.1、8.1、12.7、23.9、13.9、23.1和12.2,更优选至少以下反射:6.1、8.1、12.7、23.9、13.9、23.1、12.2、10.8和15.3,最优选至少以下反射:6.1、8.1、12.7、23.9、13.9、23.1、12.2、10.8、15.3、17.3、21.7和22.0。

[0493] 假多晶形式一水合物II的式(I)化合物还可通过如图7中所示的X射线粉末衍射图(在25 $^{\circ}\text{C}$ 下并以Cu-K α 1作为放射源)明确表征。

[0494] 式(I)化合物的假多晶形式,式(I-M-II)的一水合物II另外可通过X射线粉末衍射图(在25 $^{\circ}\text{C}$ 下并以Cu-K α 1作为放射源)来表征,其不展示至少以下反射:3.1和9.3,各自以 2θ 值 $\pm 0.2^{\circ}$ 表示。

[0495] 式(I)化合物的假多晶形式,式(I-M-II)的一水合物II另外可通过X射线粉末衍射图(在25 $^{\circ}\text{C}$ 下并以Cu-K α 1作为放射源)来表征,其不展示至少以下反射:6.9、7.2和7.3,各自以 2θ 值 $\pm 0.2^{\circ}$ 表示。

[0496] 式(I)化合物的假多晶形式,式(I-M-II)的一水合物II另外可通过X射线粉末衍射图(在25 $^{\circ}\text{C}$ 下并以Cu-K α 1作为放射源)来表征,其不展示至少以下反射:29.2,各自以 2θ 值 $\pm 0.2^{\circ}$ 表示。

[0497] 式(I)化合物的假多晶形式,式(I-M-II)的一水合物II另外可通过X射线粉末衍射图(在25 $^{\circ}\text{C}$ 下并以Cu-K α 1作为放射源)来表征,其不展示至少以下反射:7.9和/或31.6,各自以 2θ 值 $\pm 0.2^{\circ}$ 表示。

[0498] 式(I)化合物的假多晶形式,式(I-M-II)的一水合物II另外可通过X射线粉末衍射图(在25 $^{\circ}\text{C}$ 下并以Cu-K α 1作为放射源)来表征,其不展示至少以下反射:7.6,各自以 2θ 值 $\pm 0.2^{\circ}$ 表示。

[0499] 式(I)化合物的假多晶形式,式(I-M-II)的一水合物II另外可通过X射线粉末衍

射图(在25℃下并以Cu-K α 1作为放射源)来表征,其不展示至少以下反射:14.8,各自以2 θ 值 \pm 0.2°表示。

[0500] 实施方案9(式(I)化合物的半水合物)

[0501] 式(I)化合物的假多晶形式半水合物可通过X射线粉末衍射图(在25℃下并以Cu-K α 1作为放射源)明确表征,其展示至少以下反射: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,各自以2 θ 值 \pm 0.2°表示。

[0502] 式(I)化合物的假多晶形式半水合物可通过X射线粉末衍射图(在25℃下并以Cu-K α 1作为放射源)明确表征,其展示至少以下反射:3.1、5.3、6.7、7.1、9.3和31.1,各自以2 θ 值 \pm 0.2°表示。

[0503] 假多晶形式半水合物的式(I)化合物还可通过如图5中所示的X射线粉末衍射图(在25℃下并以Cu-K α 1作为放射源)明确表征。

[0504] 式(I)化合物的假多晶形式半水合物另外可通过X射线粉末衍射图(在25℃下并以Cu-K α 1作为放射源)来表征,其不展示至少以下反射:6.9、7.2和7.3,各自以2 θ 值 \pm 0.2°表示。

[0505] 式(I)化合物的假多晶形式半水合物另外可通过X射线粉末衍射图(在25℃下并以Cu-K α 1作为放射源)来表征,其不展示至少以下反射:29.2,各自以2 θ 值 \pm 0.2°表示。

[0506] 式(I)化合物的假多晶形式半水合物另外可通过X射线粉末衍射图(在25℃下并以Cu-K α 1作为放射源)来表征,其不展示至少以下反射:8.5和/或30.0,各自以2 θ 值 \pm 0.2°表示。

[0507] 式(I)化合物的假多晶形式半水合物另外可通过X射线粉末衍射图(在25℃下并以Cu-K α 1作为放射源)来表征,其不展示至少以下反射:7.9和/或31.6,各自以2 θ 值 \pm 0.2°表示。

[0508] 式(I)化合物的假多晶形式半水合物另外可通过X射线粉末衍射图(在25℃下并以Cu-K α 1作为放射源)来表征,其不展示至少以下反射:7.6,各自以2 θ 值 \pm 0.2°表示。

[0509] 式(I)化合物的假多晶形式半水合物另外可通过X射线粉末衍射图(在25℃下并以Cu-K α 1作为放射源)来表征,其不展示至少以下反射:14.8,各自以2 θ 值 \pm 0.2°表示。

[0510] 实施方案10(式(I)化合物的1.25水合物)

[0511] 式(I)化合物的假多晶形式1,25水合物可通过X射线粉末衍射图(在25℃下并以Cu-K α 1作为放射源)明确表征,其展示以下反射: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,各自以2 θ 值 \pm 0.2°表示。

[0512] 式(I)化合物的假多晶形式1,25水合物可通过X射线粉末衍射图(在25℃下并以Cu-K α 1作为放射源)明确表征,其展示至少以下,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,各自以2 θ 值 \pm 0.2°表示。

[0513] 假多晶形式1.25水合物的式(I)化合物还可通过如图8中所示的X射线粉末衍射图(在25℃下并以Cu-K α 1作为放射源)明确表征。

[0514] 式(I)化合物的假多晶形式1.25水合物另外可通过X射线粉末衍射图(在25℃下

并以Cu-K α 1作为放射源)来表征,其不展示至少以下反射:3.1和9.3,各自以 2θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

[0515] 式(I)化合物的假多晶形式1.25水合物另外可通过X射线粉末衍射图(在25 $^\circ$ C下并以Cu-K α 1作为放射源)来表征,其不展示至少以下反射:6.9、7.2和7.3,各自以 2θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

[0516] 式(I)化合物的假多晶形式1.25水合物另外可通过X射线粉末衍射图(在25 $^\circ$ C下并以Cu-K α 1作为放射源)来表征,其不展示至少以下反射:29.2,各自以 2θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

[0517] 式(I)化合物的假多晶形式1.25水合物另外可通过X射线粉末衍射图(在25 $^\circ$ C下并以Cu-K α 1作为放射源)来表征,其不展示至少以下反射:8.5和/或30.0,各自以 2θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

[0518] 式(I)化合物的假多晶形式1.25水合物另外可通过X射线粉末衍射图(在25 $^\circ$ C下并以Cu-K α 1作为放射源)来表征,其不展示至少以下反射:7.9和/或31.6,各自以 2θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

[0519] 式(I)化合物的假多晶形式1.25水合物另外可通过X射线粉末衍射图(在25 $^\circ$ C下并以Cu-K α 1作为放射源)来表征,其不展示至少以下反射:7.6,各自以 2θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

[0520] 式(I)化合物的假多晶形式1.25水合物另外可通过X射线粉末衍射图(在25 $^\circ$ C下并以Cu-K α 1作为放射源)来表征,其不展示至少以下反射:14.8,各自以 2θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

[0521] 实施方案11(式(I)化合物的倍半水合物)

[0522] 式(I)化合物的假多晶形式倍半水合物可通过X射线粉末衍射图(在25 $^\circ$ C下并以Cu-K α 1作为放射源)明确表征,其展示至少以下反射:12.2、25.1和14.5,优选至少12.2、25.1、14.5、18.7和26.4,优选至少以下反射:12.2、25.1、14.5、18.7、26.4、18.3和23.4,更优选至少以下反射:最优选至少以下反射:12.2、25.1、14.5、18.7、26.4、18.3、23.4、21.5、8.6和5.1和7.6,各自以 2θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

[0523] 式(I)化合物的假多晶形式倍半水合物可通过X射线粉末衍射图(在25 $^\circ$ C下并以Cu-K α 1作为放射源)明确表征,其展示至少以下反射:5.1、7.6、8.6、12.2、14.5、18.3、18.7、21.5、23.4、24.7、25.1、26.4,各自以 2θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

[0524] 式(I)化合物的假多晶形式倍半水合物可通过X射线粉末衍射图(在25 $^\circ$ C下并以Cu-K α 1作为放射源)明确表征,其展示至少以下反射: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,各自以 2θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

[0525] 假多晶形式倍半水合物的式(I)化合物还可通过如图9中所示的X射线粉末衍射图(在25 $^\circ$ C下并以Cu-K α 1作为放射源)明确表征。

[0526] 式(I)化合物的假多晶形式倍半水合物另外可通过X射线粉末衍射图(在25 $^\circ$ C下并以Cu-K α 1作为放射源)来表征,其不展示至少以下反射:以下反射:3.1和9.3,各自以 2θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

[0527] 式(I)化合物的假多晶形式倍半水合物另外可通过X射线粉末衍射图(在25 $^\circ$ C下并以Cu-K α 1作为放射源)来表征,其不展示至少以下反射:6.9、7.2和7.3,各自以 2θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 表示。

[0528] 式(I)化合物的假多晶形式倍半水合物另外可通过X射线粉末衍射图(在25℃下并以Cu-K α 1作为放射源)来表征,其不展示至少以下反射:29.2,各自以2 θ 值 \pm 0.2°表示。

[0529] 式(I)化合物的假多晶形式倍半水合物另外可通过X射线粉末衍射图(在25℃下并以Cu-K α 1作为放射源)来表征,其不展示至少以下反射:8.5和/或30.0,各自以2 θ 值 \pm 0.2°表示。

[0530] 式(I)化合物的假多晶形式倍半水合物另外可通过X射线粉末衍射图(在25℃下并以Cu-K α 1作为放射源)来表征,其不展示至少以下反射:7.9和/或31.6,各自以2 θ 值 \pm 0.2°表示。

[0531] 式(I)化合物的假多晶形式倍半水合物另外可通过X射线粉末衍射图(在25℃下并以Cu-K α 1作为放射源)来表征,其不展示至少以下反射:14.8,各自以2 θ 值 \pm 0.2°表示。

[0532] 实施方案12(式(I)化合物的二水合物)

[0533] 式(I)化合物的假多晶形式二水合物可通过X射线粉末衍射图(在25℃下并以Cu-K α 1作为放射源)明确表征,其展示至少以下反射: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各以2 θ 值 \pm 0.2°表示。

[0534] 式(I)化合物的假多晶形式二水合物可通过X射线粉末衍射图(在25℃下并以Cu-K α 1作为放射源)明确表征,其展示至少以下反射: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,各自以2 θ 值 \pm 0.2°表示。

[0535] 假多晶形式二水合物的式(I)化合物还可通过如图10中所示的X射线粉末衍射图(在25℃下并以Cu-K α 1作为放射源)明确表征。

[0536] 式(I)化合物的假多晶形式二水合物另外可通过X射线粉末衍射图(在25℃下并以Cu-K α 1作为放射源)来表征,其不展示至少以下反射:3.1和9.3,各自以2 θ 值 \pm 0.2°表示。

[0537] 式(I)化合物的假多晶形式二水合物另外可通过X射线粉末衍射图(在25℃下并以Cu-K α 1作为放射源)来表征,其不展示至少以下反射:6.9、7.2和7.3,各自以2 θ 值 \pm 0.2°表示。

[0538] 式(I)化合物的假多晶形式二水合物另外可通过X射线粉末衍射图(在25℃下并以Cu-K α 1作为放射源)来表征,其不展示至少以下反射:29.2,各自以2 θ 值 \pm 0.2°表示。

[0539] 式(I)化合物的假多晶形式二水合物另外可通过X射线粉末衍射图(在25℃下并以Cu-K α 1作为放射源)来表征,其不展示至少以下反射:8.5和/或30.0,各自以2 θ 值 \pm 0.2°表示。

[0540] 式(I)化合物的假多晶形式二水合物另外可通过X射线粉末衍射图(在25℃下并以Cu-K α 1作为放射源)来表征,其不展示至少以下反射:7.9和/或31.6,各自以2 θ 值 \pm 0.2°表示。

[0541] 式(I)化合物的假多晶形式二水合物另外可通过X射线粉末衍射图(在25℃下并以Cu-K α 1作为放射源)来表征,其不展示至少以下反射:7.6,各自以2 θ 值 \pm 0.2°表示。

[0542] 治疗方法:

[0543] 根据本发明的式(I)化合物的结晶形式,优选一水合物I(I-M-I)或一水合物II(I-M-II),更优选一水合物I(I-M-I)具有有用的药理学性质并可用于预防和治疗人和动物的

病症。根据本发明的式 (I) 化合物的形式可开辟另外的治疗选项并因此可丰富配药。

[0544] 在本发明的上下文中,术语“治疗(treatment/treat)”包括抑制、延迟、阻止、改善、减弱、限制、减少、阻抑、逆转或治愈疾病、疾患、病症、损伤或健康损害、此类状态的发展、过程或进展和/或此类状态的症状。在此,术语“疗法”应理解为与术语“治疗”是同义的。

[0545] 在本发明的上下文中,术语“预防(prevention/prophylaxis/precaution)”作为同义词使用并且是指避免或降低得到、感染、罹患或患有一疾病、疾患、病症、损伤或健康损害、此类状态的发展或进展和/或此类状态的症状的风险。

[0546] 疾病、疾患、病症、损伤或健康损害的治疗或预防可部分或完全发生。

[0547] 在本发明的上下文中,术语“治疗功效”定义为通过施用包含治疗有效量的式 (I) 化合物,尤其是比较实施例11的式 (I) 化合物或盐、溶剂化物或多晶形式或式 (I) 化合物的盐的溶剂化物或晶体变体或式 (I) 化合物的代谢物,尤其是其假多晶形式,如例如(I-M-I)和(I-M-II)的药物干粉制剂,降低患者的平均肺动脉压,同时临床上没有相关的全身血压改变。

[0548] 在本发明的上下文中,术语“肺血管阻力(PVR)”定义为以下参数:1)将肺动脉高压的严重度表征为主要肺血管中的壁张力,通过侵入性方法测量肺动脉血压进行分析,以及2)通过实质上降低与肺动脉血压直接相关的此参数来评价新药物的效应(参见D.Singh, R.Tal-Singer, I.Faiferman, S.Lasenby, A.Henderson, D.Wessels, A.Goosen, N.Dallow, R.Vessey和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)。

[0549] 在本发明的上下文中,6分钟行走测试结果的改善定义为患者能在6分钟的时间窗口内行走的距离上的改善,其对应于患有严重疾病正在治疗中的患者体能的增加。

[0550] 在本发明的上下文中,“NYHA类别”的转变定义为NYHA分类的类别编号从较高类别改善至较低类别编号,对应于具有更好的心脏性能的改善的心功能。

[0551] 肺的生理功能在标准化条件下以肺功能测试如肺活量或身体体积描记法进行评价,得到标准化和有效的参数测量结果,如例如1秒内用力呼气容积(FEV1)可直接评估如支气管扩张剂的药物效应,一种被不同药物在治疗上用来改善有支气管收缩的肺部疾病,如COPD或哮喘的肺功能的效应。

[0552] 在本发明的上下文中,术语“改善的血流动力学效应”定义为降低肺动脉压、改善肺通气区域的血液循环以及改善肺功能而无全身性副作用并因此引起个体患者体能和整体状况的临床上相关改善的药物的血管舒张效应。

[0553] 在本发明的上下文中,术语“肺内选择性”意指吸入的活性成分仅在肺的通气区域而不是在非通气区域发挥其血管舒张的药效动力学性质的特性。这是为了防止通气和灌注之间不匹配的恶化(通过增加不通气区域的灌注),如果活性成分也到达不通气区域,则可能发生所述情况。肺内选择性尤其通过借由患者主动吸入进行的应用途径来确保。

[0554] 在本发明的上下文中,术语“支气管扩张效应”定义为参数的改善,诸如例如卡巴胆碱(carbachol)预收缩豚鼠气管的松弛、肺阻力(RL)和动态顺应性(Cdyn)、人体比气道阻力(specific airway resistance)(E-2.1)、人体FEV1或其他指示通气改善的参数。

[0555] 在本发明的上下文中,术语“慢性治疗/使用”定义为患者每日一次或两次吸入治疗持续至少连续两天,优选至少连续2至7天的时间段,优选持续至少连续14天的时间段,特别是从对于整个疾病过程开始治疗后,任选地还与护理标准组合(SoC,例如内皮素拮抗剂,诸如波生坦(bosentan);PDE5抑制剂,例如西地那非;IP激动剂,例如伊洛美定(Ilomedin)或曲前列尼尔、钙通道阻断剂、索特西普(sotatercept)和sGC刺激剂,例如利奥西呱(riociguat))。

[0556] 术语“每日一次”已为本领域技术人员所熟知并且意指每天一次施用药物,并包括施用一种剂型以及在短时间内同时或连续施用两个或更多个剂型。

[0557] 术语“每日一次或两次”已为本领域技术人员所熟知并且意指每天一次或每天两次施用药物,而在一天中每个对应的时间点施用药物包括施用一种剂型以及在短时间内同时或连续施用两个或更多个剂型。

[0558] 术语“连续的日子”意指没有间隔的日子一个接一个之后发生的一段时间,并且并不意味着依序的日子或周期性的日子。

[0559] 术语“吸入剂型”意指药物物质,即活性成分的组合,优选呈一种结晶形式,例如呈一水合物I或一水合物II或倍半水合物的形式,优选呈一水合物I或一水合物II的形式,更优选呈式(I-M-I)的一水合物I的形式,与药学上合适的吸入用载剂组合。吸入用药物物质和药学上合适的载剂的组合呈干粉形式。优选将干粉填充在空腔中,更优选填充在胶囊中。优选地,药学上合适的载剂是吸入用乳糖。

[0560] 术语“反射”或“峰”为同义词并且在X射线值和衍射图方面具有相同含义。结晶形式最常见通过X射线粉末衍射(XRPD)来表征。XRPD反射图(峰,典型地以 $2-\theta$ 度表示)通常被认为是特定结晶形式的指纹。

[0561] 出于本发明的目的,术语“呼吸器官”(或呼吸系统)是指气道-包括鼻、口腔和咽、喉、气管、支气管以及肺-作为功能器官系统。

[0562] 出于本发明的目的,与心肺病症相关联的术语“局部施用”或“局部控制”意指-相对于意图经由胃肠道吸收的口服施用的剂型,以及相对于静脉内施用,(两者经由血流造成全身药物分布)-通过吸入以可吸入剂型施用活性成分,用以主要覆盖肺部作为目标器官,其需要较低的剂量并引起较低的总体药物暴露。根据本发明使用的呈粉末形式的制备物或含粉末的悬浮液是吸入的制备物。

[0563] 术语“吸入”或“通过吸入施用”在这方面是指引入到呼吸器官,尤其是进入和/或经由气道,优选进入和/或经由鼻腔或口腔,特别优选经由口腔以达到活性成分沉积到作为作用部位的支气管和肺。

[0564] 出于本发明的目的,术语“气管内”或“气管内给药”是指将化合物引入气管而非通过吸入,特别是用于实验动物诸如大鼠或小猪和犬作为施用模型的肺部疾病控制(例如经由PennCentury装置的气管内施用,适用于干粉以及药物溶液和悬浮液)。

[0565] 根据本发明的化合物,如式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢-喹啉-2-甲酸以及其假多晶形式,如,例如(I-M-I)和(I-M-II)是有效的可溶性鸟苷酸环化酶活化剂。其导致血管舒张、抑制血小板聚集和降低血压,以及增加冠状动脉血流和微循环。此外,其具有支气管扩张效应。这些活性经由直接的可溶性鸟苷酸环化酶的血红素非依赖性活化和细胞内cGMP

水平的增加来介导的。

[0566] 另外,根据本发明的化合物,尤其是式I的(5S) - {[2- (4- 羧基苯基) 乙基][2- (2- {[3- 氯-4'- (三氟甲基) 联苯-4-基] 甲氧基} 苯基) 乙基] 氨基} -5,6,7,8-四氢-喹啉-2-甲酸以及其假多晶形形式,如,例如(I-M-I)和(I-M-II)具有其他有利的药理学性质,特别是关于在肺内施用后其肺选择性作用(相对于全身作用)、其肺保留时间和/或其作用持续时间(E-1)。

[0567] 临床上还可显示根据本发明的化合物,尤其是式I的(5S) - {[2- (4- 羧基苯基) 乙基][2- (2- {[3- 氯-4'- (三氟甲基) 联苯-4-基] 甲氧基} 苯基) 乙基] 氨基} -5,6,7,8-四氢-喹啉-2-甲酸以及其假多晶形形式,如,例如(I-M-I)和(I-M-II)的良好治疗功效和目标参与:在吸入应用后,观察到总比气道阻力降低(E-2.1)、作为肺中药物浓度的替代物(指示目标参与)的血浆cGMP浓度增加(E-2.1,E-2.2)和肺动脉压和肺血管阻力的选择性降低(E-2.4)。

[0568] 此外,可显示用于吸入应用的药物物质的合适药代动力学性质。药物物质的口服、静脉内和吸入性施用后的血浆浓度分析显示吸入给药后的半衰期最长(E-2.3)。人吸入1000 μ g后,喷出剂量测定为720 μ g。此项研究的结果证实了对于吸入干粉施用,沉积的肺剂量和半衰期是足够的,使每日一次的治疗能在肺中供药物物质足够的24h药物覆盖(如实施例4所示)。

[0569] 总之,所有的结果显示式I的(5S) - {[2- (4- 羧基苯基) 乙基][2- (2- {[3- 氯-4'- (三氟甲基) 联苯-4-基] 甲氧基} 苯基) 乙基] -氨基} -5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸以及其假多晶形形式,如,例如(I-M-I)和(I-M-II),尤其是式(I-M-I)的一水合物I特别适用于治疗肺动脉高压(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高压(CTEPH)和与慢性肺疾病相关的肺动脉高压(PH)(第3类PH),诸如慢性阻塞性肺疾病中的肺高压(PH-COPD)和肺高血压并发特发性间质性肺炎(PH-IIP),并且适合吸入干粉施用,使每日一次的治疗能在肺中供实施例4足够的24h药物覆盖。

[0570] 根据本发明的化合物,式I的(5S) - {[2- (4- 羧基苯基) 乙基][2- (2- {[3- 氯-4'- (三氟甲基) 联苯-4-基] 甲氧基} 苯基) 乙基] 氨基} -5,6,7,8-四氢-喹啉-2-甲酸以及其假多晶形形式,如,例如(I-M-I)和(I-M-II)特别适用于治疗和/或预防心血管、心肺和肺病症,优选用于心肺病症。

[0571] 因此,根据本发明的化合物,尤其是(5S) - {[2- (4- 羧基苯基) 乙基][2- (2- {[3- 氯-4'- (三氟甲基) 联苯-4-基] 甲氧基} 苯基) 乙基] 氨基} -5,6,7,8-四氢-喹啉-2-甲酸以及其假多晶形形式,如,例如(I-M-I)和(I-M-II)可用于供治疗和/或预防心血管和心肺病症,诸如肺动脉高压(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高压(CTEPH)和与慢性肺疾病相关的肺动脉高压(PH)(第3类PH),诸如慢性阻塞性肺疾病中的肺高压(PH-COPD)和肺高血压并发特发性间质性肺炎(PH-IIP),以及肺部病症,诸如哮喘、慢性阻塞性肺疾病(COPD)或肺纤维化的药物中。

[0572] 在本发明的上下文中,术语“sGC调节剂”涵盖能够调节sGC的两个不同的化合物类别,sGC刺激剂和sGC活化剂(Sandner P,Becker-Pelster EM,Stasch JP.Discovery and development of sGC stimulators for the treatment of pulmonary hypertension and rare diseases.Nitric Oxide2018;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)。这两类化合物直接与sGC结合作为变构调节剂。sGC刺激剂具有双重作用模式,可不依赖于NO直接刺激天然sGC,并通过稳定NO-sGC结合使sGC对低水平的NO敏化。相比之下,sGC活化剂与未被占用的血红素结合结构域相结合,从而模拟NO-结合的血红素,并活化病理上改变、对NO无反应的apo-sGC。最近的证据已证明,与许多心肺疾病相关的氧化应激将细胞内天然sGC水平转变为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), 其为在各种心血管病理生理学疾患诸如PH中的sGC活化剂提供理论依据 (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)。

[0573] 在本发明的上下文中,术语“肺高压”涵盖其原发性和继发性亚型,如下文根据其各自病因学以Dana Point/Nizza分类所定义[参见D. Montana和G. Simonneau, in: A.J. Peacock等人(编), *Pulmonary Circulation. Diseases and their treatment*, 第3版, Hodder Arnold Publ., 2011, 第197-206页; M.M. Hoeper等人, *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]。这些包括特别是第1类肺动脉高压(PAH), 其中包括特发性和家族性形式(分别为IPAH和FPAH)。此外, PAH还包括新生儿持续性肺高压和与

胶原病相关的肺高压 (APAH)、先天性体肺分流病变、门脉高压、HIV感染、某些药物和药剂 (例如食欲抑制剂) 的摄入, 以及具有显著静脉/微血管组分的病症, 诸如肺静脉闭塞性病症和肺微血管瘤, 或伴随其他病症, 诸如甲状腺病症、糖原沉积病、戈谢病 (Gaucher disease)、遗传性毛细血管扩张症、血红蛋白病变、骨髓增生性病症和脾切除。第2类包括患有诱因性左心病症, 诸如心室、心房或瓣膜病症的PH患者。第3类包括与肺部病症相关的肺高压形式, 例如慢性阻塞性肺疾病 (COPD)、间质性肺疾病 (ILD)、肺纤维化 (IPF) 和/或低氧血症 (例如, 睡眠呼吸暂停综合征、肺泡通气不足、慢性高原病、遗传性畸形)。第4类包括患有慢性血栓性和/或栓塞性疾病, 例如近端和/或远端肺动脉血栓栓塞性阻塞 (CTEPH) 或非血栓性栓塞 (例如, 由于肿瘤病症、寄生虫、异物引起) 的PH患者。较不常见的肺高压形式, 诸如罹患结节病、组织细胞增生症X或淋巴管瘤的患者则归纳在第5类中。

[0574] 根据本发明的化合物, 特别是式I的(5S) - {[2- (4- 羧基苯基) 乙基] [2- (2- {[3-氯-4'- (三氟甲基) 联苯-4-基] 甲氧基} 苯基) 乙基] 氨基} -5,6,7,8-四氢-喹啉-2-甲酸以及其假多晶形式, 如, 例如 (I-M-I) 和 (I-M-II) 还适用于治疗和/或预防肺部病症, 诸如哮喘、慢性阻塞性肺病 (COPD) 和肺纤维化。

[0575] 在本发明的上下文中, 术语“哮喘”涵盖肺气道的异质性慢性炎性疾病。其特征为多变和反复出现的症状, 从可逆性气流阻塞 (通常由支气管的过度反应引起) 到支气管痉挛。症状包括喘息、咳嗽、胸闷和呼吸短促的情况。这些症状可能每天发生几次或每周发生几次。因人而异, 哮喘症状可能在夜间或运动时加重。哮喘被认为是由遗传和环境因素所共同引起。环境因素包括暴露于空气污染和过敏原。其他潜在的触发因素包括药品, 诸如阿司匹林 (aspirin) 和 β 阻断剂。诊断通常基于症状模式、随时间对治疗的反应以及肺活量测定肺功能测试。哮喘根据症状的频率、一秒内用力呼气容积 (FEV1) 和峰值呼气流速进行分类。其也可分为特应性或非特应性, 其中特应性是指发展出1型过敏反应的倾向。目前尚无已知的哮喘治愈方法, 但可完善的进行系统性治疗。可通过避开触发因素, 诸如过敏原和呼吸道刺激物来预防症状, 并使用吸入的皮质类固醇来阻抑。如果哮喘症状仍未得到控制, 除了吸入皮质类固醇外, 还可使用长效 β 激动剂 (LABA) 和其他物质, 例如抗白三烯剂。急性恶化症状的治疗通常用吸入的短效 β -2激动剂, 诸如沙丁胺醇 (salbutamol) 和皮质类固醇来进行。在严重的情况下, 可能需要全身性皮质类固醇、硫酸镁和住院。一部分的哮喘患者会发展出疾病的严重形式, 其病因涉及气道炎症以及尚不明确的内在驱动因素。为了解决这个问题, 我们研究了人气道平滑肌细胞 (HASM C), 其松弛驱动气道支气管扩张, 并且其功能障碍导致了严重哮喘中的气道阻塞和过敏反应。因为HASM C松弛可由NO-可溶性鸟苷酸环化酶 (sGC) - cGMP信号传导通路所驱动, 所以来自严重哮喘供体的HASM C可能在其sGC或支持sGC功能的氧化还原酶中具有内在缺陷。大多数严重哮喘供体HASM C (12/17) 和肺样本主要表达功能失调的sGC, 其对NO无反应并且异二聚体含量低并且Hsp90关联性高。这种sGC表型与支持性氧化还原酶细胞色素b5还原酶、触酶 (catalase) 和硫氧还蛋白-1 (thioredoxin-1) 的较低表达水平以及血红素氧化酶1和2的较高表达相关, 其暗示了严重哮喘患者由于内在的sGC功能障碍, 而在其气道平滑肌中具有缺陷的NO-sGC-cGMP信号传导倾向的假设, 其转而又与影响sGC成熟和功能的细胞氧化还原酶的内在变化相关。因此, sGC活化剂可以是这些患者在这些病理生理条件下优化支气管扩张的新目标选项 (参见例如以下参考文献: 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* 第62卷第1期 | 2020年1月; 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* 第62卷, 第1期, 第43-48页, 2020年1月.)。

[0576] 凭借其活性概况, 根据本发明的化合物, 尤其是式I的(5S) - {[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基} -5,6,7,8-四氢-喹啉-2-甲酸以及其假多晶形形式, 如, 例如(I-M-I)和(I-M-II)特别适用于治疗和/或预防心血管和心肺病症, 诸如肺高压的原发性和继发性形式。

[0577] 本发明此外提供了根据本发明的化合物, 尤其是式I的(5S) - {[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基} -5,6,7,8-四氢-喹啉-2-甲酸以及其假多晶形形式, 如, 例如(I-M-I)和(I-M-II)的用途, 其用于治疗 and/或预防病症, 特别是心肺病症, 诸如肺动脉高压(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高压(CTEPH)和与慢性肺疾病相关的肺高压(PH)(第3类PH), 诸如慢性阻塞性肺疾病中的肺高压(PH-COPD)和肺高血压并发特发性间质性肺炎(PH-IIP)。

[0578] 本发明此外提供了根据本发明的化合物, 尤其是式I的(5S) - {[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基} -5,6,7,8-四氢-喹啉-2-甲酸以及其假多晶形形式, 如, 例如(I-M-I)和(I-M-II)的用途, 其用于制备用于治疗 and/或预防病症, 特别是心肺病症, 诸如肺动脉高压(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高压(CTEPH)和与慢性肺疾病相关的肺高压(PH)(第3类PH), 诸如慢性阻塞性肺疾病中的肺高压(PH-COPD)和肺高血压并发特发性间质性肺炎(PH-IIP)的药物。

[0579] 本发明此外提供了包含至少一种根据本发明的化合物, 尤其是式I的(5S) - {[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基} -5,6,7,8-四氢-喹啉-2-甲酸以及其假多晶形形式, 如, 例如(I-M-I)和(I-M-II)的药物, 其用于治疗 and/或预防病症, 特别是心肺病症, 诸如肺动脉高压(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高压(CTEPH)和与慢性肺疾病相关的肺高压(PH)(第3类PH), 诸如慢性阻塞性肺疾病中的肺高压(PH-COPD)和肺高血压并发特发性间质性肺炎(PH-IIP)。

[0580] 本发明此外提供了根据本发明的化合物, 尤其是式I的(5S) - {[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基} -5,6,7,8-四氢-喹啉-2-甲酸以及其假多晶形形式, 如, 例如(I-M-I)和(I-M-II)在用于治疗 and/或预防病症, 特别是心肺病症, 诸如肺动脉高压(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高压(CTEPH)和与慢性肺疾病相关的肺高压(PH)(第3类PH), 诸如慢性阻塞性肺疾病中的肺高压(PH-COPD)和肺高血压并发特发性间质性肺炎(PH-IIP)的方法中的用途。

[0581] 本发明此外提供了一种用于治疗 and/或预防病症, 特别是心肺病症, 诸如肺动脉高

压 (PAH)、慢性血栓栓塞性肺高压 (CTEPH) 和与慢性肺疾病相关的肺高压 (PH) (第3类PH), 诸如慢性阻塞性肺疾病中的肺高压 (PH-COPD) 和肺高血压并发特发性间质性肺炎 (PH-IIP) 的方法, 其包括向有需要的患者每日一次或两次施用式I的 (5S) - {[2- (4-羧基苯基) 乙基] [2- (2- {[3-氯-4'-(三氟甲基) 联苯-4-基] 甲氧基} 苯基) 乙基] 氨基} -5,6,7,8-四氢-喹啉-2-甲酸, 尤其是比较实施例11以及其假多晶形式, 如, 例如 (I-M-I) 和 (I-M-II) 持续一段等于或多于两天的时间段, 优选至少连续2至7天, 优选持续一段至少连续14天的时间段, 特别是以吸入剂型, 例如呈干粉制剂形式的干粉吸入器从整个疾病过程的治疗开始后, 其中当向有需要的患者吸入性施用, 所述sGC活化剂具有24小时的持续功效。

[0582] 本发明还涉及式I的sGC活化剂吸入剂型, 尤其是比较实施例11, 式I的 (5S) - {[2- (4-羧基苯基) 乙基] [2- (2- {[3-氯-4'-(三氟甲基) 联苯-4-基] 甲氧基} 苯基) 乙基] 氨基} -5,6,7,8-四氢-喹啉-2-甲酸以及其假多晶形式, 如, 例如 (I-M-I) 和 (I-M-II) 的用途, 其用于制造用于治疗心肺病症, 诸如肺动脉高压 (PAH)、慢性血栓栓塞性肺高压 (CTEPH) 和与慢性肺疾病相关的肺高压 (PH) (第3类PH), 诸如慢性阻塞性肺疾病中的肺高压 (PH-COPD) 和肺高血压并发特发性间质性肺炎 (PH-IIP) 的药物, 每日一次或两次施用持续一段等于或多于两天的时间段, 优选至少连续2至7天, 优选持续一段至少连续14天的时间段, 特别是从整个疾病过程的治疗开始后, 其中当向有需要的患者吸入性施用, 所述sGC活化剂具有24小时的持续功效。

[0583] 本发明还涉及一种包装的药物组合物, 其包含含有干粉吸入器 (=DPI) 和包含式I的 (5S) - {[2- (4-羧基苯基) 乙基] [2- (2- {[3-氯-4'-(三氟甲基) 联苯-4-基] 甲氧基} 苯基) 乙基] 氨基} -5,6,7,8-四氢-喹啉-2-甲酸以及其假多晶形式, 如, 例如 (I-M-I) 和 (I-M-II) 的药物制剂的容器, 所述容器此外含有使用所述干粉的说明, 例如在深吸一口气后, 所述受试者必须屏住呼吸约2秒, 以便干粉药物从气流中凝结到更深的肺部区域表面, 所述药物在这里沉积在靠近其预期药理作用部位处, 用以治疗心肺病症, 优选肺动脉高压 (PAH)、慢性血栓栓塞性肺高压 (CTEPH) 和与慢性肺疾病相关的肺高压 (PH) (第3类PH), 诸如慢性阻塞性肺疾病中的肺高压 (PH-COPD) 和肺高血压并发特发性间质性肺炎 (PH-IIP)。

[0584] 在一个优选实施方案中, 本发明还涉及一种包装的药物组合物, 其包含含有干粉吸入器和包含式I的 (5S) - {[2- (4-羧基苯基) 乙基] [2- (2- {[3-氯-4'-(三氟甲基) 联苯-4-基] 甲氧基} 苯基) 乙基] 氨基} -5,6,7,8-四氢-喹啉-2-甲酸以及其假多晶形式, 如, 例如 (I-M-I) 和 (I-M-II) 的药物制剂的容器, 所述包装的药物组合物, 其包含含有干粉的容器, 所述干粉包含 (5S) - {[2- (4-羧基苯基) 乙基] [2- (2- {[3-氯-4'-(三氟甲基) 联苯-4-基] 甲氧基} 苯基) 乙基] 氨基} -5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸, 所述容器此外含有用于以每日一次或两次的频率施用所述干粉的说明, 用以治疗心肺病症, 优选肺动脉高压 (PAH)、慢性血栓栓塞性肺高压 (CTEPH) 和与慢性肺疾病相关的肺高压 (PH) (第3类PH), 诸如慢性阻塞性肺疾病中的肺高压 (PH-COPD) 和肺高血压并发特发性间质性肺炎 (PH-IIP), 此外还有肺病症。

[0585] 本发明还涉及含有至少一种根据本发明的化合物, 通常与一种或多种惰性、无毒、药学上合适的赋形剂一起的药物, 及其用于前述目的用途。

[0586] 根据本发明的化合物, 尤其是式I的 (5S) - {[2- (4-羧基苯基) 乙基] [2- (2- {[3-氯-4'-(三氟甲基) 联苯-4-基] 甲氧基} 苯基) 乙基] 氨基} -5,6,7,8-四氢-喹啉-2-甲酸以及其假多晶形式, 如, 例如 (I-M-I) 和 (I-M-II) 可单独使用或如果需要与其他的活性化合物组

合使用。本发明还涉及含有至少一种根据本发明的化合物,尤其是式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢-喹啉-2-甲酸以及其假多晶形式,如,例如(I-M-I)和(I-M-II)和一种或多种另外的活性化合物的药物,特别是用于治疗 and/或预防前述疾病。作为合适的组合活性化合物,我们可提及的例如且优选地有:

[0587] • 有机硝酸盐和NO供体,例如硝普钠(sodium nitroprusside)、硝酸甘油、单硝酸异山梨酯、二硝酸异山梨酯、吗多明(molsidomine)或SIN-1,以及吸入性NO

[0588] • Ca-通道阻断剂,用于具有保留的血管反应性的PAH患者

[0589] • 抑制环鸟苷单磷酸盐(cGMP)和/或环腺苷单磷酸盐(cAMP)降解的化合物,例如磷酸二酯酶(PDE)1、2、3、4和/或5的抑制剂,特别是PDE 3抑制剂如恩塞芬汀(ensifentrine),PDE 4抑制剂,诸如罗氟司特(roflumilast)、他尼司特(tanimilast)或瑞伐司特(revamilast),以及PDE 5抑制剂,诸如西地那非、伐地那非(vardenafil)、他达拉非(tadalafil)、乌地那非(udenafil)、达桑他非(dasantafil)、阿伐那非(avanafil)、米罗那非(miroadenafil)或洛地那非(lodenafil);

[0590] • NO-非依赖性但血红素-依赖性的鸟苷酸环化酶刺激剂,特别是利奥西呱和描述于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中的化合物;

[0591] • 前列环素类似物和IP受体激动剂,例如且优选伊洛前列素、贝拉前列素(beraprost)、曲前列尼尔、依前列醇(epoprostenol)或NS-304;

[0592] • 内皮素受体拮抗剂,例如且优选波生坦、达鲁生坦(darusentan)、安立生坦(ambrisentan)或西他生坦(sitaxsentan);

[0593] • 人嗜中性粒细胞弹性蛋白酶(HNE)抑制剂,例如且优选西维来司他(sivelestat)或DX-890(Reltran);

[0594] • 抑制信号转导级联的化合物,特别是来自酪氨酸激酶抑制剂的组,例如且优选达沙替尼(dasatinib)、尼罗替尼(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)、伊马替尼(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)、卡纽替尼(canertinib)、来他替尼(lestaurtinib)、培利替尼(pelitinib)、司马赛尼(semaxanib)、马西替尼(masitinib)或坦度替尼(tandutinib);

[0595] • 作为配体陷阱的化合物,对TGF- β 超家族内的多种蛋白质具有高选择性,包括活化素(activin)、GDF和其他据信能够阻断TGF- β 超家族信号传导通路,从而可提升骨形态发生蛋白受体II型(BMPRII)信号传导的重新平衡的化合物,和潜在地,恢复血管稳态的化合物如索特西普(sotatercept)

[0596] • Rho激酶抑制剂,例如且优选法舒地尔(fasudil)、Y-27632、SLx-2119、BF-66851、BF-66852、BF-66853、KI-23095或BA-1049;

[0597] • 抗阻塞剂,例如用于治疗慢性阻塞性肺病(COPD)或支气管哮喘,例如且优选吸入性或全身施用的 β -受体模拟物(例如沙丁胺醇、沙美特罗(salmeterol))或吸入性施用的

抗-毒蕈碱物质(例如异丙托溴铵(ipratropium)、噻托溴铵(tiotropium));

[0598] • 抗炎剂和/或免疫抑制剂,例如用于治疗慢性阻塞性肺病(COPD)、支气管哮喘或肺纤维化,例如且优选全身或吸入性施用的皮质类固醇、呼特康(flutiform)、吡非尼酮(pirfenidone)、乙酰半胱氨酸、硫唑嘌呤(azathioprine)或BIBF-1120、尼达尼布(nintedanib)或曲前列尼尔;

[0599] • 用于全身和/或吸入治疗肺病症的活性化合物,例如囊状纤维化(α -1-抗胰蛋白酶、氨曲南(aztreonam)、伊瓦卡夫特(ivacaftor)、鲁玛卡托(lumacaftor)、阿塔鲁伦(ataluren)、阿米卡星(amikacin)、左氧氟沙星(levofloxacin))、慢性阻塞性肺病(COPD)(噻托溴铵、LABA/LAMA、LAS40464、PT003、SUN-101)、急性呼吸窘迫综合征(ARDS)和急性肺损伤(ALI)(干扰素- β -1a、创伤因子、PEG-肾上腺髓质素、吸入sGC调节剂,例如BAY1211163)、阻塞性睡眠呼吸暂停(VI-0521、TASK通道阻断剂和ADRA2C拮抗剂)、支气管扩张(甘露醇、环丙沙星(ciprofloxacin))、闭塞性细支气管炎(环孢菌素(cyclosporine)、氨曲南);

[0600] • 抗血栓形成剂,例如且优选来自血小板聚集抑制剂、抗凝血剂或促纤维蛋白溶解物质的组。

[0601] 抗血栓形成剂优选应理解为来自血小板聚集抑制剂、抗凝血剂或促纤维蛋白溶解物质的组的化合物。

[0602] 在本发明的一个优选实施方案中,根据本发明的化合物与血小板聚集抑制剂组合施用,例如且优选阿司匹林、氯吡格雷(clopidogrel)、噻氯匹啉(ticlopidine)或双嘧达莫(dipyridamole)。

[0603] 在本发明的一个优选实施方案中,根据本发明的化合物与凝血酶原抑制剂组合施用,例如且优选希美加群(ximelagatran)、美拉加群(melagatran)、达比加群(dabigatran)、比伐卢定(bivalirudin)或克立生(Clexane)。

[0604] 在本发明的一个优选实施方案中,根据本发明的化合物与GPIIb/IIIa拮抗剂组合施用,例如且优选替罗非班(tirofiban)或阿昔单抗(abciximab)。

[0605] 在本发明的一个优选实施方案中,根据本发明的化合物与Xa因子抑制剂组合施用,例如且优选利伐沙班(rivaroxaban)、阿哌沙班(apixaban)、非地沙班(fidexaban)、雷沙班(razaxaban)、磺达肝素(fondaparinux)、依达肝素(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。

[0606] 在本发明的一个优选实施方案中,根据本发明的化合物与肝素或低分子量(LMW)肝素衍生物组合施用。

[0607] 在本发明的一个优选实施方案中,根据本发明的化合物与维生素K拮抗剂组合施用,例如且优选香豆素(coumarin)。

[0608] 用于降低肺部血压的剂优选应理解为来自钙拮抗剂、PDE5抑制剂、sGC刺激剂和活化剂、前列环素类似物和IP受体激动剂以及内皮素受体拮抗剂的组的化合物。

[0609] 在本发明的一个优选实施方案中,根据本发明的化合物与钙拮抗剂组合施用,例如且优选硝苯地平(nifedipine)、氨氯地平(amlodipine)、维拉帕米(verapamil)或地尔硫卓(diltiazem)。

[0610] 在本发明的一个优选实施方案中,根据本发明的化合物与内皮素受体拮抗剂组合施用,例如且优选波生坦(bosentan)、达卢生坦(darusentan)、安立生坦(ambisentan)或西他生坦(sitaxsentan)。

[0611] 本发明的详细描述

[0612] 吸入用制剂

[0613] 本发明还涉及含有至少一种根据本发明的式(I)化合物的结晶形式,优选式(I-M-I)的一水合物I或式(I-M-II)的一水合物II,特别优选式(I-M-I)的一水合物I通常与一种或多种惰性、无毒、药学上合适的赋形剂一起的药物,及其用于前述目的用途。

[0614] 本发明的一个优选实施方案是包含式(I)化合物的一水合物I并且无显著分数的式(I)化合物的另一种形式和任选地另外药学上可接受的赋形剂的药物组合物。更优选地,所述药物组合物相对于存在于组合物中的式(I)化合物的所有形式的总量,含有按重量计大于85%,更优选按重量计大于90%,最优选按重量计大于95%的式(I)化合物的一水合物I。

[0615] 活性成分

[0616] 根据本发明的干粉吸入用固体制备物在适用于活性化合物的吸入级载剂的基质中含有一定量的活性成分(即式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,优选式(I-M-I)的呈一水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸)或式(I-M-II)的呈一水合物II形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸),特别优选式(I-M-I)的呈一水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸),所述量不超过约20%。通常活性成分的量介于0.5%与20%之间,优选介于0.75%与10%之间。其内活性成分的量基于可供使用的制备物,按重量计通常为至少0.75%,或至少3%,或至少5%或至少10%。非常优选活性成分量为3%、10%或20%。

[0617] 根据本发明的干粉吸入用固体制备物含有特定粒度、适用于吸入应用的活性成分(即式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,优选式(I-M-I)的呈一水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸)或式(I-M-II)的呈一水合物II形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸),特别优选式(I-M-I)的呈一水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸)。

[0618] 根据本发明的活性成分((5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,优选式(I-M-I)的呈一水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸)或式(I-M-II)的呈一水合物

II形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸),特别优选式(I-M-I)的呈一水合物I形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸)的粒度分布如下表所限定。

[0619] 表1:活性成分,例如式(I-M-I)或(I-M-II)的化合物的粒度分布

[0620]	粒度上限X90	最大6 μm
	粒度平均值X50	1-3 μm
	粒度下限X10	最大1 μm

[0621] 对于吸入性药物产品,重要的是保证具有限定粒度 $<5\mu\text{m}$ 的均质药物物质以确保递送至深肺部隔室。此技术要求可通过药物物质颗粒的微粉化来实现(参见实验部分B,实施例8)。

[0622] 达到此要求的活性成分的粒度分布的适当规格如表1中所指定来设定。

[0623] 因此,为了确保适合递送活性物质于目标部位,尤其是深层气道和肺泡,本发明人发现提供活性成分,X90=6 μm 和/或X50 1-3 μm 和/或X10最大1 μm 粒度的式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,优选式(I-M-I)的呈一水合物I的形式或式(I-M-II)的呈一水合物II的形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,优选式(I-M-I)的呈一水合物I的形式至关重要。

[0624] 乳糖载剂

[0625] 根据本发明的干粉吸入用固体制备物通常含有一定量的适用于活性化合物的载剂,所述量不超过约99.25%。通常吸入级载剂的量介于99.25%与80%之间,优选介于99.25%与90%之间。其内载剂的量,基于干粉共混物,按重量计通常为至少99.25%,或至少97%,或至少95%或至少90%。

[0626] 不同的吸入级载剂的物质基本上是可获得的。

[0627] 本发明人发现,根据本发明吸入用制剂优越的气雾剂性能通过选择乳糖作为载剂物质来实现。

[0628] 吸入用乳糖具有不同的粒度范围和不同的特征。

[0629] 由于细药物颗粒与粗载剂颗粒活性位点的相当强力的结合,预期,相比于活性成分,粒度分布集中在较高粒度的单独粗乳糖载剂可能会导致较差的气雾剂性能(Paolo Colombo, Daniela Traini and Francesca Buttini "Inhalation Drug Delivery-Techniques and Products" (由Wiley-Blackwell 2013发表)。高气雾剂性能的特征在于增加的细颗粒剂量和分数以及与标称剂量相关的递送剂量。一旦粉末被雾化,药物与载剂的粘附和随后的离析之间的平衡是预期的,通常也描述为粉末或药物分散。还可预期,气雾剂性能行为将随着添加细载剂颗粒或通过使用含有乳糖细粒内在部分的乳糖物质而改善,尽管程度无法预测(de Boer等人2012,Grasmeijer等人2015)。作为改善药物分散和从载剂释放的表现,通过阶式冲击器进行测量是用于细颗粒剂量(或者细颗粒质量)以及用于细颗粒分数(具有限定粒度上限,例如,相对于单一剂量单位的递送剂量或标称剂量5 μm 或4.5 μm 的药物质量的百分比分数)的既定选择方法。这些方法也被确立为现行药典(例如,欧洲药典

(Pharm Eur.)或美国药典(USP))中用于吸入产品的强制性质量控制方法。

[0630] 然而,添加细乳糖的潜在效应及其幅度无法预测,因为在干粉粘合剂混合物内可能存在叠加乳糖细粒效应的其他主要效应。非常重要,微粉化药物本身的性质可能对特定药物分子颗粒的二元或三元混合物的粘合性质和内聚性质(例如内聚:粘合平衡(CAB)或表面能)产生影响,这甚至使预测更加困难。

[0631] 发明人发现,根据本发明吸入用制剂的优越气雾剂性能通过选择细乳糖和粗乳糖作为具有特定粒度的载剂物质来实现。

[0632] 根据本发明的粗乳糖物是经筛分或研磨的、结晶的、具有低细颗粒含量的 α -乳糖一水合物(例如,可商购获得的Lactohale®100或Lactohale®206)。

[0633] 具有相似粒度分布的根据本发明的粗乳糖还可选自其他品牌,例如Meggler Inhalac®120或DFE Respitose®SV010。

[0634] 为了选择主要的粗载剂,乳糖质量的选择,其应具有粒度X90比活性成分的X90大至少10倍以及低的内在细粒含量,以保证载剂主要部分的质量一致。

[0635] 选择细乳糖以改善气雾剂性能。本发明人假设类似于活性成分的粒度可能适于控制活性成分颗粒与粗载剂颗粒的暂时结合,尽管其他细乳糖粒度规格可能也是合适的。因此,选择具有X90<10 μ m或X90<30 μ m或X50 \leq 5 μ m或1.0-3.0 μ m的粒度的细乳糖产品被认为足以组成乳糖载剂。

[0636] 根据本发明的细乳糖物质是粉碎或微粉化的、结晶的 α -乳糖一水合物,其具有X90 \leq 10 μ m(“乳糖细粒”) (例如,可商购获得的Lactohale®300)或X90<30 μ m或X50 \leq 5 μ m或1.0-3.0 μ m(例如,可商购获得的Lactohale®230)的低粒度。还可选择具有类似性质和粒度的细研磨或微粉化乳糖,例如Meggler Inhalac®500。物质和粉末混合物的粒度分布通常通过激光衍射光谱法、显微镜技术或常规筛分分析和分类来测量[B. Y. Shekunov, P. Chattopadhyay, H. H. Y. Tong and A. H. L. Chow, Particle size analysis in pharmaceuticals, Pharm. Res. 2007, 24(2), S203-S227] (另参见D.4)。

[0637] 根据本发明用于吸入质量的商购可获得的乳糖(例如Lactohale®100、Lactohale®300)的粒度分布汇总于下表2中。

[0638] 表2:根据本发明吸入用乳糖的粒度分布(规格)

	粗乳糖	细乳糖
商品名	Lactohale® 100	Lactohale® 300
粒度上限 X90	200-250 μ m	\leq 10 μ m
粒度平均值 X50	125-145 μ m	\leq 5 μ m
粒度下限 X10	45-65 μ m	未限定
商品名	Lactohale® 200	
粒度上限 X90	120-160 μ m	
粒度平均值 X50	50-100 μ m	
粒度下限 X10	5-15 μ m	
商品名	Lactohale® 206	Lactohale® 230
粒度上限 X90	115-170 μ m	<30 μ m
粒度平均值 X50	75-95 μ m	<10 μ m
粒度下限 X10	20-50 μ m	1.0-3.0 μ m

[0639]

[0640] 根据本发明干粉吸入用固体制备物含有粗乳糖的混合物。

[0641] 本发明人发现,粗乳糖粒度可在特定范围内变化,而不会损害基于根据本发明的制剂的载剂的气雾剂性能或共混物均匀性。

[0642] 根据本发明,粗乳糖具有 $X_{90}=200-250\mu\text{m}$ 或 $120-160\mu\text{m}$ 或 $115-170\mu\text{m}$,或 $115-250\mu\text{m}$ 的粒度。此外,根据本发明,粗乳糖具有 $X_{90}\leq 250\mu\text{m}$ 或 $\leq 170\mu\text{m}$ 或 $\leq 160\mu\text{m}$ 的粒度。此外,根据本发明,粗乳糖具有至少或 $\geq 115\mu\text{m}$ 或至少或 $\geq 120\mu\text{m}$ 或至少或 $\geq 200\mu\text{m}$ 的 X_{90} 的粒度。

[0643] 根据本发明,粗乳糖具有 $X_{50}=125-145\mu\text{m}$ 或 $50-100\mu\text{m}$ 或 $75-95\mu\text{m}$ 或 $50-145\mu\text{m}$ 的粒度。此外,根据本发明,粗乳糖具有 $X_{50}\leq 145\mu\text{m}$ 或 $\leq 100\mu\text{m}$ 或 $\leq 95\mu\text{m}$ 的粒度的粒度。此外,根据本发明,粗乳糖具有至少或 $\geq 50\mu\text{m}$,或至少或 $\geq 75\mu\text{m}$,或至少或 $\geq 125\mu\text{m}$,或 $X_{10}=45-65\mu\text{m}$ 或 $5-15\mu\text{m}$ 或 $20-50\mu\text{m}$ 的 X_{50} 的粒度。

[0644] 根据本发明,细乳糖具有 $X_{90}=\leq 10\mu\text{m}$ 或 $<30\mu\text{m}$, $X_{50}\leq 5\mu\text{m}$ 或 1.0 至 $3.0\mu\text{m}$ 的粒度。通过使用具有固有细颗粒含量的Lactohale 200®,无需向乳糖载剂中添加任何其他细乳糖颗粒。因此,基于本发明载剂的制剂可用Lactohale 200®或具有内在乳糖细粒含量的类似乳糖产品进行配制。

[0645] 根据本发明,Lactohale 100®和Lactohale 300®是优选的。

[0646] 此外,本发明人发现,根据本发明吸入用制剂的优越气雾剂性能通过调整干粉混合物内细乳糖的具体含量和粗乳糖的具体含量来实现。

[0647] 本发明人确定乳糖载剂的细乳糖含量是一个重要参数。为了获得特征为优越的气雾剂性能的根据本发明吸入用制剂,细乳糖的含量应在特定范围内选择。例如,发现粉末共混物/乳糖载剂中较高的细乳糖含量,例如20%或更高的含量对共混物均匀性具有负面影响(参见例如,比较实施例20)。已证明,根据本发明的粉末共混物和制剂可具有介于1%与10%之间,以及以介于5%与10%之间的范围内变化的细乳糖含量,而细乳糖含量也可为吸入用乳糖的内在部分,即按照Lactohale 2000®的情况(参见实施例34)计算为 $5-15\mu\text{m}$ 的 X_{10} ,而不会损害气雾剂性能。

[0648] 根据本发明,粉末共混物中细乳糖的含量介于1%与10%之间,优选介于5%与10%之间,优选介于2.5%与7.5%之间,优选介于5%与7.5%之间,更优选5%。

[0649] 本发明人确认粉末共混物的粗乳糖含量也是一个重要参数。为了获得特征为优越气雾剂性能的根据本发明吸入用制剂,粗乳糖的含量应在特定的范围内选择。

[0650] 根据本发明,粉末共混物中粗乳糖的含量介于98.25%与75%之间,优选介于94.25%与75%之间,优选介于92.00%与75%之间,更优选90.00%至75%,并且尤其优选90%至85%。

[0651] 由于根据本发明的干粉共混物是三元混合物,因此所有三种组分需要以限定的最大粒度形式和以某些特定比率的形式提供。

[0652] 本发明人发现,根据本发明吸入用制剂的优越气雾剂性能通过选择特定比率的细乳糖和粗乳糖以及活性成分来实现。

[0653] 根据本发明,粉末共混物中粗乳糖与细乳糖的比率介于445:5与65:5之间,优选94.25:5与65:5,优选94.25:5与75:5、91.75:7.5与89.25:10,优选92:5与75:5之间,特别优选为92:5、85:5以及75:5的比率。

[0654] 根据本发明,粉末共混物中式(I)或(I-M-I)的活性成分与粗乳糖的比率介于1:

126与1:3.8之间,优选介于1:31与1:3.8之间。

[0655] 根据本发明,粉末共混物中式(I)或(I-M-I)的活性成分与细乳糖的比率为1:13和1:0.1,优选介于1:13与1:0.25之间,优选介于1:1.67与1:0.25之间。

[0656] 其他赋形剂

[0657] 根据本发明的制备物通常可含有其他药理学上可接受的赋形剂,尤其包括载剂(例如,吸入级乳糖、乳糖一水合物、甘露醇)、分散剂、湿润剂、润滑剂(例如,硬脂酸镁)、表面活性化合物(例如,月桂基硫酸钠、二硬脂酰磷脂酰胆碱)、离子化合物(例如氯化钙、氯化钠、氯化钾)、合成和天然聚合物(例如角叉菜胶、羟丙基甲基纤维素、明胶)或pH调节剂(例如氢氧化钠、氯化钠、柠檬酸盐,柠檬酸三钠)、着色剂(例如无机颜料,诸如例如氧化铁或氧化钛)。

[0658] 空腔

[0659] 根据本发明,包含呈其一水合物形式I-M-I或I-M-II形式的活性成分和乳糖的干粉共混物可经由干粉吸入器施用,诸如单一单位剂量吸入器,其中每个剂量在使用前加载到装置中,多单位剂量吸入器,其中数个单剂量单独密封(预先计量)并且可在每次启动之前在给药腔室中排放,或储库多单位剂量吸入器,其中大量供应药物预先加载到装置中并在每次启动之前在给药腔室中排放(由装置计量)。优选地,根据本发明的干粉共混物经由配备/装载有空腔的单一单位剂量吸入器施用,诸如包含干粉共混物的胶囊或泡罩。优选地,所述空腔是单独的胶囊,优选明胶或羟丙基甲基纤维素的硬胶囊,最优选羟丙基甲基纤维素胶囊。

[0660] 将包含微粉化的活性成分(例如式(I-M-I)的一水合物I或式(I-M-II)的一水合物II,根据实施例2或4)的干粉共混物填充到硬胶囊(羟丙基甲基纤维素=羟丙甲纤维素=HPMC,例如3号)或来自硬明胶或其他合适材料的替代胶囊中。药物硬胶囊大小是标准化的,并且特征为限定的度量,例如3号胶囊具有157mm的长度和57mm的直径,而2号胶囊具有176mm的长度和62mm的直径,并且1号胶囊具有194mm的长度和68mm的直径。

[0661] 根据填充重量和活性成分浓度,可实现不同的标称剂量。具有不同活性成分(例如式(I-M-I)的一水合物I或式(I-M-II)的一水合物II,根据实施例2或4)的标称剂量的胶囊的示例性组合物,于示例性实施方案1-3中给出并展示于下表3中。

[0662] 表3:具有限定的标称剂量的根据本发明的制剂的实施例(硬胶囊中填充的粉末)。

	示例性实施方案 1	示例性实施方案 2	示例性实施方案 3
[0663] 标称剂量	120 μ g	480 μ g	1000 μ g
粉末共混物中活性成分的浓度(实施例 4)	0.75%	3%	10%
填充重量	16 mg	16 mg	10 mg

[0664] 关于肺内施用,活性成分,(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,优选(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸一水合物I(参见实施例4)的量(标称剂量)为每次吸入约10 μ g至50000 μ g,优选每次吸入约100 μ g至10000 μ g,进一步优选每次吸入约100至6000 μ g,进一步优

选每次吸入约120至4000 μg ,进一步优选每次吸入约200至4000 μg ,非常特别优选约240 μg 至4000 μg ,非常特别优选约240 μg 至2000 μg ,非常特别优选约240 μg 至1000 μg ,非常特别优选约240 μg 至480 μg ,非常特别优选约480 μg 至4000 μg ,非常特别优选约480 μg 至2000 μg ,非常特别优选约480 μg 至1000 μg ,非常特别优选约1000 μg 至4000 μg ,非常特别优选约1000mg至2000 μg ,非常特别优选约1000 μg ,非常特别优选约2000 μg ,非常特别优选约4000 μg 。

[0665] 根据本发明的空腔(优选硬胶囊,非常优选基于HMPC的硬胶囊,3号)含有8-40mg的填充质量的吸入用制剂,优选10-30mg的填充质量的吸入用制剂,更优选10-20mg的填充质量的吸入用制剂,更优选16-20mg的填充质量的吸入用制剂。

[0666] 根据本发明,最优选为以下组成:

[0667] 表4:根据本发明的包含干粉共混物的最终胶囊制剂,基于百分比

标称剂量	胶囊例如 HMP C	粉末填充质量	干粉共混物中的 API 含量(%)	粗乳糖含量(%)	细乳糖含量(%)	API:粗乳糖比率	API:细乳糖比率
480 μg	3号	16 mg	3%	92%	5%	1:31	1:1.67
1000 μg	3号	10 mg	10%	89%	1%	1:8.9	1:0.1
1000 μg	3号	10 mg	10%	87.5%	2.5%	1.8.75	1:0.25
1000 μg	3号	10 mg	10%	85%	5%	1:8.5	1:0.5
2000 μg	3号	20 mg	10%	85%	5%	1:8.5	1:0.5
3000 μg	3号	30 mg	10%	85%	5%	1:8.5	1:0.5
4000 μg	3号	40 mg	10%	85%	5%	1:8.5	1:0.5
2000 μg	3号	10 mg	20%	75%	5%	1:3.8	1:0.25
3000 μg	3号	15 mg	20%	75%	5%	1:3.8	1:0.25
4000 μg	3号	20 mg	20%	75%	5%	1:3.8	1:0.25

[0669] 根据本发明,粉末共混物中具有3%式(I)或(I-M-I)的活性成分的含量的粉末共混物包含480 μg 式(I)或(I-M-I)的活性成分、92%粗乳糖和5%细乳糖并可以16mg粉末共混物的质量填充在硬胶囊(优选地3号HMPC胶囊)中,并且其然后可经由“单一单位剂量”吸入器(例如优选的Plastiap (Berry) RS01低阻力装置)施用。

[0670] 根据本发明,粉末共混物中具有10%式(I)或(I-M-I)的活性成分的含量的粉末共混物包含1000 μg 、2000 μg 、3000 μg 或4000 μg 式(I)或(I-M-I)的活性成分、85%粗乳糖和5%细乳糖并可填充在(以10mg、20mg、30mg或40mg粉末共混物的对应质量)硬胶囊(优选3号HMPC胶囊)中,并且其然后可经由“单一单位剂量”吸入器(例如优选的Plastiap (Berry) RS01低阻力装置)施用。

[0671] 根据本发明,粉末共混物中具有20%式(I)或(I-M-I)的活性成分的含量的粉末共混物包含2000 μg 、3000 μg 或4000 μg 式(I)或(I-M-I)的活性成分、75%粗乳糖和5%细乳糖并可填充在(以10mg、15mg或20mg粉末共混物的对应质量)硬胶囊(优选3号HMPC胶囊)中,并且其然后可经由“单一单位剂量”吸入器(例如优选的Plastiap (Berry) RS01低阻力装置)施用。

[0672] 表5:根据本发明的包含干粉共混物的最终胶囊制剂,基于质量的表征:

标称剂量	胶囊	粉末填充质量	干粉共混物中的 API 含量(mg/g)	粗乳糖含量 (mg)	细乳糖含量 (mg)	API: 粗乳糖比率	API: 细乳糖比率
480 μ g	3 号	16 mg	30 mg/g	14.72 mg	0.8 mg	1:31	1:1.67
1000 μ g	3 号	10 mg	100 mg/g	8.9 mg	0.1 mg	1:8.9	1:0.1
1000 μ g	3 号	10 mg	100 mg/g	8.75 mg	0.25 mg	1:8.75	1:0.25
1000 μ g	3 号	10 mg	100 mg/g	8.5 mg	0.5 mg	1:8.5	1:0.5
2000 μ g	3 号	20 mg	100 mg/g	17.0 mg	1.0 mg	1:8.5	1:0.5
3000 μ g	3 号	30 mg	100 mg/g	25.5 mg	1.5 mg	1:8.5	1:0.5
4000 μ g	3 号	40 mg	100 mg/g	34.0 mg	2.0 mg	1:8.5	1:0.5
2000 μ g	3 号	10 mg	200 mg/g	7.5 mg	0.5 mg	1:3.8	1:0.25
3000 μ g	3 号	15 mg	200 mg/g	11.25 mg	0.75 mg	1:3.8	1:0.25
4000 μ g	3 号	20 mg	200 mg/g	15.0 mg	1.0 mg	1:3.8	1:0.25

[0673] 根据本发明,粉末共混物中具有30mg/g的式(I)或(I-M-I)活性成分含量的粉末共混物包含480 μ g式(I)或(I-M-I)的活性成分,14.72mg粗乳糖和0.8mg细乳糖,并且可在硬胶囊,优选3号HMPC胶囊中填充质量为16mg的粉末共混物,并且其然后可经由“单一单位剂量”吸入器(例如优选的Plastiape (Berry) RS01低阻力装置)施用。

[0675] 根据本发明,粉末共混物中具有100mg/g的式(I)或(I-M-I)活性成分含量的粉末共混物包含1000 μ g、2000 μ g、3000 μ g或4000 μ g式(I)或(I-M-I)的活性成分,8.9mg、8.75mg、8.5mg、17.0mg、25.5mg或34.0mg粗乳糖和0.1mg、0.25mg、0.5mg、1.0mg、1.5mg或2.0mg细乳糖,并可填充(以10mg、20mg、30mg或40mg粉末共混物的对应质量)于硬胶囊,优选3号HMPC胶囊中,并且其然后可经由“单一单位剂量”吸入器(例如优选的Plastiape (Berry) RS01低阻力装置)施用。

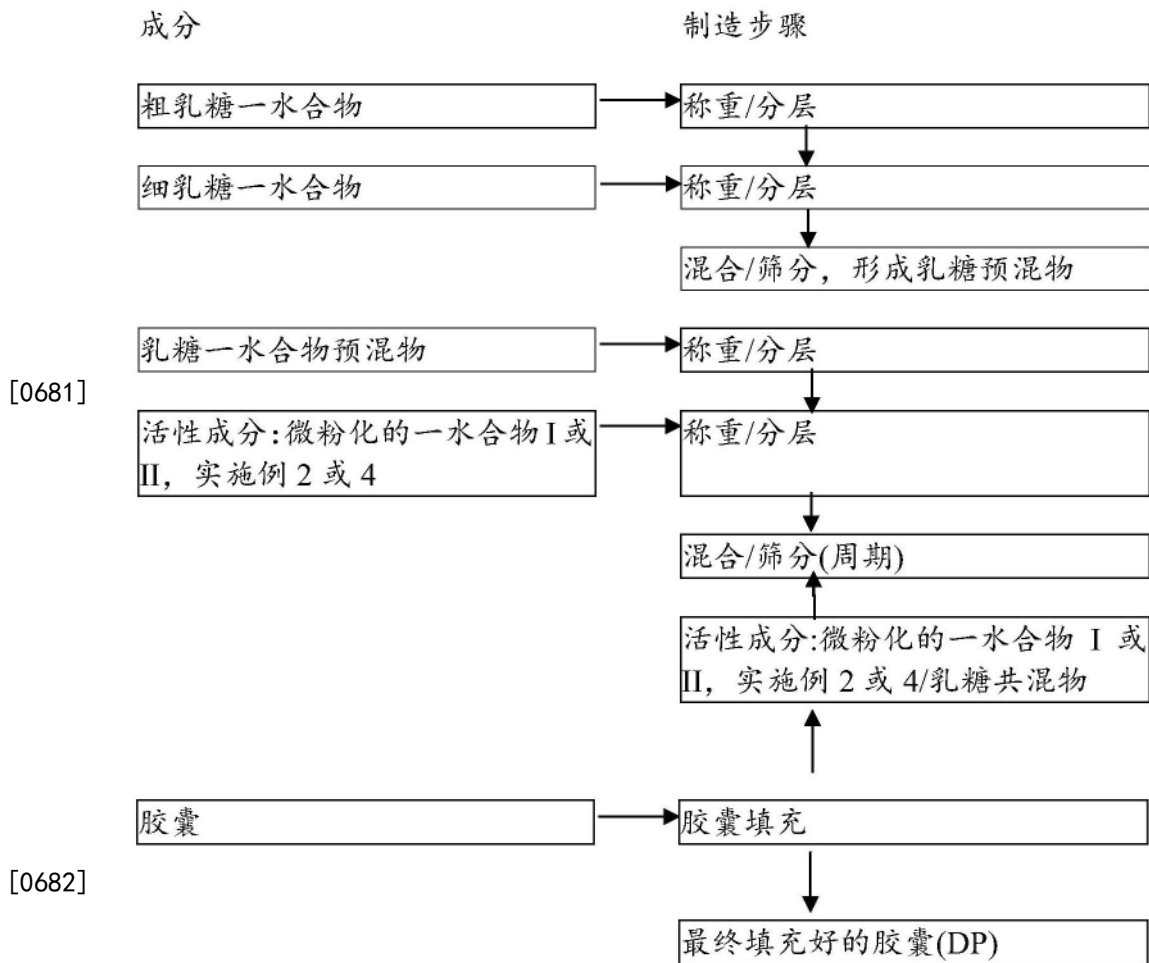
[0676] 根据本发明,粉末共混物中具有200mg/g的式(I)或(I-M-I)活性成分含量的粉末共混物包含2000 μ g、3000 μ g或4000 μ g式(I)或(I-M-I)的活性成分,7.5mg、11.25mg或15.0mg粗乳糖和0.5mg、0.75mg或1.0mg细乳糖,并可填充(以10mg、15mg、20mg粉末共混物的对应质量)于硬胶囊,优选3号HMPC胶囊中,并且其然后可经由“单一单位剂量”吸入器(例如优选的Plastiape (Berry) RS01低阻力装置)施用。

[0677] 制造方法

[0678] 根据本发明的制备物通常可通过将活性成分微粉化并任选地将微粉化的活性成分与非活性载体化合物共混来生产-如同通常生产呈粉末形式的可吸入自由流动的药物一样。

[0679] 根据本发明的化合物可转化为所述的施用形式。这可通过与惰性、无毒、药学上合适的赋形剂混合以本身已知的方式来进行。干粉制剂和成品(填充干粉共混物的硬胶囊)根据以下流程图和描述来制造。

[0680] 表6:



[0683] 步骤1:

[0684] 在开始混合之前,将细乳糖部分称重并分层于在两层粗乳糖之间。

[0685] 步骤2:

[0686] 乳糖预混物的混合在滚筒混合器中以72rpm、67rpm或34rpm或32rpm或30rpm,优选32rpm进行2次(2个周期)持续20min。将乳糖预混物在周期之间通过500μg筛网筛分。

[0687] 步骤3:

[0688] 活性成分:微粉化的一水合物I或II,实施例2或4,通过500μm筛网筛分并添加到预混的乳糖中。在开始混合周期之前,将乳糖预混物和活性成分分层,其间交替着6层乳糖预混物和5层活性成分(一水合物I或II,实施例2或4)。

[0689] 步骤4:

[0690] 将各组分在滚筒混合器,例如玻璃或不锈钢混合器,优选不锈钢混合器中在周期,例如3-5个周期,优选3个周期中混合。每个周期以72rpm、67rpm、34rpm或32rpm,优选32rpm进行20-30分钟,优选30分钟(90min总混合时间),优选32rpm持续30分钟,其中混合周期之间有10分钟的停止时间。如果需要(例如,目视结块),可在共混周期之间个别筛分共混物。

[0691] 步骤5:

[0692] 将共混物留在不锈钢容器中于室温(15-25℃)和35-65%相对湿度下静置一段特定时间,优选24至72小时,更优选48小时。

[0693] 步骤6:

- [0694] 使用胶囊填充机(例如MG2 Flexalab)将共混物以期望的填充重量填充至胶囊中。
- [0695] 吸入器装置
- [0696] 在本发明的上下文中,sGC活化剂,例如实施例2或4以干粉或干粉制剂通过干粉吸入器装置来应用。
- [0697] 本发明的上下文中优选的干粉吸入器装置定义为基于胶囊的预先计量吸入装置的单一单位剂量吸入器(参见图1a和图1b)。在本发明的上下文中,使用Plastiap (Berry) RS01低阻力装置应用剂量。此装置(较高阻力类型)公开且描述于与治疗其他患者群族,例如囊性纤维化(CF)或非CF支气管扩张有关的出版物中(ELKINS等人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和ELKINS等人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)。
- [0698] 吸入器通过将填充有干粉制剂的单一胶囊插入装置中来操作。按下两个钮(按钮)刺破胶囊,并且使用者将其嘴巴放置在咬嘴周围并深深地用力吸气。吸入产生的能量将药物制备物从胶囊中引出,将粉末分散成气雾剂,活性成分颗粒从乳糖载剂颗粒释放出并将其带入呼吸道。将用过的胶囊移出并丢弃。根据患者的治疗需求和对应的临床装置标签,所述装置可能重复使用。施用的胶囊数量决定药品的剂量。
- [0699] 其他预先计量的干粉吸入装置诸如基于泡罩条的多单位剂量装置也可用于优选的应用方法并且如果气雾剂路径具有类似的设计或性质(例如装置阻力和限定流速的压力下降),则可能产生相当的结果。
- [0700] 在本发明的上下文中,还公开了包含含有实施例1的制备物或可能具有将这些制备物掺入胶囊或泡罩中并适合通过吸入其固体形式施用的容器的装置,即能通过吸入以固体形式施用含有活性成分:例如一水合物I或II,实施例2或4的制备物的雾化器(粉末吸入器)。
- [0701] 人剂量估算
- [0702] 根据本发明的制剂可根据由过滤器收集管法测定的递送剂量(DD)和通过阶式冲击测定的细颗粒剂量(FPD)来表征。测定递送剂量和细颗粒剂量的分析方法通常描述于药典中,因为这些方法对于可吸入剂型,例如干粉吸入制剂是统一的并为用于例如释放临床使用的DPI产品的质量控制的构成惯例。
- [0703] 已经发现,具有不同标称剂量的不同制剂导致不同的递送剂量,并且更重要地,当所述剂量被递送到肺部深处的作用部位时,会产生表征有效剂量的特定细颗粒剂量。理论上,递送剂量和细颗粒剂量和分数与填充粉末剂量具有线性关系,但由于数个相互作用的因素,无法可靠地预测,实际上可能不同并需要相关研究。希望递送剂量尽可能接近标称剂量。实际上,递送剂量与标称剂量永远不会100%匹配,因为在吸入胶囊的表面和使用过的干粉吸入器的气雾剂路径上在一定程度上总会留下残留物。当然,这种性质高度依赖于活性成分的物理化学性质及其从粉末共混物的释放行为。类似地,相对于填充的标称活性成分含量,希望细颗粒剂量和细颗粒分数尽可能高,以尽可能好好利用可用的药物量并减少活性成分的损失或降低递送到肺部深处以外的其他隔室的部分(例如通过经口吞咽较大药

物颗粒的影响)。

[0704] 由于可吸入制剂的性质以及相对于例如口服固体制剂,并非所有标称含量都将递送到肺部。可定义几个分数,其通过特定的体外分析方法表征,并支持估算吸入期间递送给患者的剂量分数(递送剂量或喷出剂量)和预计会到达深部气道和肺泡的低于例如 $5\mu\text{m}$ 或 $4.5\mu\text{m}$ (以 μm 计的大小截止值取决于FPD的定义)的细颗粒的分数(细颗粒剂量)。有关概述,请参阅下表。

[0705] 表7:有关吸入性药物产品剂量的术语定义

术语	缩写	定义	同义词或等效术语
标称剂量	ND	填充于胶囊(临床研究)或雾化器(药理学动物实验)中的 API 总剂量。	胶囊剂量, 胶囊浓度, 胶囊上标记的药物物质的量
喷出剂量	ED	在限定的实验室测试条件下, 实际从装置咬嘴处离开的剂量。	对应于递送剂量
递送剂量	DD	估算或计算由动物所吸入的剂量(从鼻尖/嘴尖至肺泡)或人可利用的药物物质的量, 装置外, 以每剂量为基础。	对应于喷出剂量
肺沉积剂量	LDD/LD	认为到达相应动物和人肺部(支气管和肺沉积)的剂量。	认为 FPD (体外测量)对应于人的肺沉积剂量
细颗粒剂量	FPD	由通过体外阶式冲击分析测定的空气动力学粒度分布(ASPD)函数所计算的参数。吸入器每次启动或剂量递送时空气动力学直径小于 $4.5 - 5\mu\text{m}$ 的颗粒中所含活性药物成分(API)的质量(例如, 根据欧洲药典)。	对于 DPI, 假设 FPD 基本上等于人肺沉积剂量
细颗粒分数	FPF	根据有关 ED/DD 或标称剂量的 FPD, 细颗粒质量的分数(以%计)	

[0707] 药代动力学/药效动力学(PK/PD)关系的评价

[0708] 麻醉的血栓素A2攻击PAH小型猪模型(参见实验部分E-1)被认为是预测人最小有效剂量和有效剂量(MED, ED)的最相关和最敏感的模型。为了测定有效LD, 重复实验, 不同之处在于吸收过滤器连接在管末端以测定沉积的肺剂量。实施例1的雾化产生的平均雾化效率为标称应用剂量的5%, 产生约 $0.15\mu\text{g}/\text{kg}$ ($3\mu\text{g}/\text{kg}$ ND)、 $0.5\mu\text{g}/\text{kg}$ ($10\mu\text{g}/\text{kg}$ ND)、 $1.5\mu\text{g}/\text{kg}$ ($30\mu\text{g}/\text{kg}$ ND)和 $5\mu\text{g}/\text{kg}$ ($100\mu\text{g}/\text{kg}$ ND)的LD。假设最小有效ND为 $3\mu\text{g}/\text{kg}$ (PAP降低5%), 则最小有效沉积LD被认为是 $0.15\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

[0709] 将小型猪模型3、10、30和 $100\mu\text{g}/\text{kg}$ 的标称剂量乘以5%的过滤器沉积因子, 得到小型猪中0.15、0.5、1.5和 $5\mu\text{g}/\text{kg}$ 的肺沉积剂量。将这些值乘以60kg即为人中肺剂量。因此, 反映60kg人PAP减少的FPD经计算为9、30、90和 $300\mu\text{g}$ 。

[0710] 因此,经由小型猪的直接放大,不考虑呼吸道内的蛋白质结合,基于60kg体重的人的预测MED(5% PAP降低)计算为9 μ g LDD。作为未结合浓度的替代物,其为肺中可能的活性浓度,我们考虑了小型猪和人血浆中未结合分数的各自差异。对于假设PAP降低5%而言,这一考虑产生了60kg参与者41 μ g LDD的最小有效肺剂量(LD)。因此,基于60kg体重,预测的最小人有效剂量在9 μ g LDD至41 μ gLDD的范围内(参见图3)。

[0711] 表8:考虑和不考虑蛋白质结合的种间差异的有效肺剂量

小型猪中相对肺沉积 剂量[μ g/kg]	60 kg 人中总肺沉积剂量[μ g]	
	不考虑蛋白质结合的种 间差异 a	考虑蛋白质结合的种间 差异 b
0.15 μ g/kg (3 μ g/kg 标称剂量)	9	41
0.50 μ g/kg (10 μ g/kg 标称剂量)	30	137
1.5 μ g/kg (30 μ g/kg 标称剂量)	90	410
5.0 μ g/kg (100 μ g/kg 标称剂量)	300	1370

[0713] a计算(小型猪中相对肺沉积剂量x 60kg)

[0714] b计算(小型猪中相对肺沉积剂量x 60kg x 4.55(小型猪(血浆未结合分数

[0715] 0.348%)/人(血浆未结合分数0.0764%)未结合分数的比率)

[0716] 基于如表8中所列的小型猪中相对肺沉积剂量,还针对有效剂量进行了此转换(有效PAP降低>5,在较长时间内最高可达35%,最长可达4hr的完整观察期)。

[0717] 因此,基于小型猪数据的人中有效肺沉积剂量预期在9 μ g-1370 μ g的范围内。

[0718] 考虑到100 μ g/kg是小型猪模型中无全身副作用(BP降低)的最高有效剂量,其中假定9-1370 μ g肺沉积剂量为有效剂量,对应的最大有效人LDD为1370 μ g,根据不同的种间蛋白质结合的影响(参见表7)。就DPI产品,假设细颗粒物剂量(FPD)基本等同人体肺部沉积剂量。

[0719] 为了解决对大范围的肺沉积剂量的需求并将其转化为要制造的干粉吸入胶囊的细颗粒剂量(FPD目标)的技术规范,进行了一些计算和粗略估计。一般而言,如果细颗粒分数达到标称剂量的20%以上,则认为基于粉末共混物载剂制剂的可吸入产品具有优越的性能。此外,高性能吸入产品需要与递送剂量相关的高FPF(%)并以 $\geq 30\%$ 为目标。考虑到技术和实际因素(粉末共混物中的活性物质浓度和共混物的胶囊填充质量),后续使用FPD目标来为成品干粉吸入胶囊建立限定的标称剂量。FPD和DD目标以及对应的标称剂量概述于以下两个表9和10中。

[0720] 表9:标称剂量目标和细颗粒剂量和%分数的目标(ds)

	胶囊标称剂量 [μg]	平均 FPF (标称的 FPD%)	平均 FPF (DD 的 FPD%)	平均 FPD <4.5 μm (目标 ^{a)}) [μg]	最小 FPD< 4.5 μm (目标的 65% ^{b)}) [μg]
	60	$\geq 20\%$	$\geq 30\%$	12	8
	75	$\geq 20\%$	$\geq 30\%$	15	10
[0721]	120	$\geq 20\%$	$\geq 30\%$	24	16
	480	$\geq 20\%$	$\geq 30\%$	96	62
	500	$\geq 20\%$	$\geq 30\%$	100	65
	1000	$\geq 20\%$	$\geq 30\%$	200	130
	2000	$\geq 20\%$	$\geq 30\%$	400	260
	3000	$\geq 20\%$	$\geq 30\%$	600	390
	6000	$\geq 20\%$	$\geq 30\%$	1200	780
[0722]	9000	$\geq 20\%$	$\geq 30\%$	1800	1170

[0723] a) 由标称目标的 FPF % 计算的目标值

[0724] b) 由于制造和分析测定中预期的变化性, 因此建立最小目标。

[0725] 对于递送与标称剂量之间的关系, 没有一般约束力(例如药典)要求, 因为不同活性成分的性质非常不同, 具有不同性质及其制造的药物制剂, 因此无法限定这一点。相反, 递送剂量的均匀性由药典限定, 以确保剂量间的一致性。目标递送剂量是在标准化条件下使用限定的干粉吸入装置对限定剂型的多次测定而得出的经验参数。预期的平均递送剂量应落在目标 DD 的 85-115% 范围内。最小递送剂量要求占平均递送剂量范围下限的 85%。目标给药剂量百分比(标称剂量的 $\geq 50\%$ 至 $\geq 65\%$) 针对所有标称剂量进行限定, 所述百分比不是线性的, 并需要考虑例如, 胶囊和装置表面上活性成分粘附含量相对较高的情况, 特别是在标称填充剂量较低的情况下。

[0726] 表10: 标称剂量, DD 目标和相关最小递送剂量

	胶囊标称剂量 [μg]	平均 DD (标称的%)	平均 DD (目标 A) [μg]	最小 DD (目标的 85%) [μg]
	60	$\geq 50\%$	30	26
	75	$\geq 50\%$	38	32
	120	$\geq 60\%$	72	61
[0727]	480	$\geq 60\%$	288	245
	500	$\geq 60\%$	300	255
	1000	$\geq 65\%$	650	553
	2000	$\geq 65\%$	1300	1105
	3000	$\geq 65\%$	1950	1658
	6000	$\geq 65\%$	3900	3315
	9000	$\geq 65\%$	5850	4973

[0728] 令人惊讶地,临床前实验揭示sGC活化剂,式I的(5S) - {[2- (4-羧基苯基) 乙基] [2- (2- {[3-氯-4'- (三氟甲基) 联苯-4-基] 甲氧基} 苯基) 乙基] -氨基} -5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸以及其假多晶形式,如,例如(I-M-I)和(I-M-II) (参见E-1) 在PAH动物模型中改善了肺选择性并延长了作用持续时间(吸入应用后,在无全身血压(=BP)降低效应下延长了选择性肺动脉压(=PAP)降低) (参见实验部分E-1)。此外,已研究了作用持续时间的预测和人体剂量的预测。考虑到 $100\mu\text{g}/\text{kg}$ 为小型猪模型中的有效剂量,根据不同种间蛋白质结合的考虑,300-1370 μg 肺沉积剂量被假定为有效剂量。

[0729] 最后研究了活性成分的不同假多晶形式的药理学效应。所有包含结晶形式的化合物实施例11,例如倍半水合物实施例6e的干粉制剂,在此急性PAH模型中于吸入应用后均选择性地且剂量依赖性地降低PAP,具有至少4h的长作用持续时间。随着应用剂量的增加,观察到清晰的剂量反应曲线(参见E-1)。

[0730] 此外,我们发现sGC活化剂(5S) - {[2- (4-羧基苯基) 乙基] [2- (2- {[3-氯-4'- (三氟甲基) 联苯-4-基] 甲氧基} 苯基) 乙基] -氨基} -5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,尤其是呈其一水合物II的形式(实施例2) 在首次临床研究中(参见实验部分E-2.1) 增加作为sGC活化的第二信使分子的cGMP水平作为肺中药物浓度的替代物(指示目标参与) 以及健康志愿者在超过12hr的时间段内有利的支气管扩张性质,至多达干粉应用后24hr,例如总比气道阻力(sRaw)的下降,指示肺中支气管扩张活性的参数,其支持了临床上长的肺保留时间以及(5S) - {[2- (4-羧基苯基) 乙基] [2- (2- {[3-氯-4'- (三氟甲基) 联苯-4-基] 甲氧基} 苯基) 乙基] -氨基} -5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,尤其是呈其一水合物II的形式(实施例2) 成功地用于心肺疾病治疗的适性。在健康志愿者中,观察到至多4000 μg 的剂量对全身血压无临床上有意义的影响。

[0731] 此外,我们发现,在剂量至多4000 μg (含) 时对全身血压无临床上相关影响下,在患有肺高压患者中肺动脉压和肺血管阻力选择性降低。直到3h的测量期结束(>3h的测量期在技术上是不可行的),所述影响持续并且反应没有下降。在此研究中可从测量的实施例4的长血浆半衰期推断出超过3h测量值的肺保留时间(大概持续超过12hr的时间,至多达干粉

应用后24hr) (参见实验部分E-2.4)。

[0732] 另外, 药物物质 (实施例4) 的口服、静脉内和吸入性施用后的血浆浓度分析显示, 吸入应用后活性成分的半衰期最长 (E-2.3)。在人中吸入1000 μ g后, 喷出 (肺) 剂量测定为720 μ g。此研究的结果证实了肺剂量和半衰期对于吸入干粉施用而言是足够的, 能使每日一次的治疗足够实施例4在肺中24h的药物覆盖。

[0733] 总结, 所有的结果显示式I的 (5S) - {[2- (4-羧基苯基) 乙基] [2- (2- {[3-氯-4'- (三氟甲基) 联苯-4-基] 甲氧基} 苯基) 乙基] -氨基} -5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸以及其假多晶形式, 如, 例如 (I-M-I) 和 (I-M-II), 尤其是式 (I-M-I) 的一水合物I特别适用于治疗肺动脉高压 (PAH)、慢性血栓栓塞性肺高压 (CTEPH) 和与慢性肺疾病相关的肺高压 (PH) (第3类 PH), 诸如慢性阻塞性肺疾病 (PH-COPD) 和肺高血压并发特发性间质性肺炎 (PH-IIP), 并且适合吸入干粉施用, 使每日一次治疗足够实施例4在肺中的24小时的药物覆盖。

[0734] 另外, 我们发现 (5S) - {[2- (4-羧基苯基) 乙基] [2- (2- {[3-氯-4'- (三氟甲基) 联苯-4-基] 甲氧基} 苯基) 乙基] -氨基} -5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸, 尤其是呈其一水合物I的形式 (实施例4) 具有有利的物理化学性质, 例如蛋白质结合和CACO通量 (参见实验部分E-3.1 (Caco渗透性) 和E-3.2 (蛋白质结合), 其使得 (5S) - {[2- (4-羧基苯基) 乙基] [2- (2- {[3-氯-4'- (三氟甲基) 联苯-4-基] 甲氧基} 苯基) 乙基] -氨基} -5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸, 尤其是呈其一水合物I的形式 (实施例4) 是一种适合通过将干粉吸入肺部来局部治疗心肺疾病的化合物。此外, 我们的数据指示 (5S) - {[2- (4-羧基苯基) 乙基] [2- (2- {[3-氯-4'- (三氟甲基) 联苯-4-基] 甲氧基} 苯基) 乙基] -氨基} -5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸, 尤其是呈其一水合物I的形式 (实施例4) (I-M-I) 不仅显示出经由肺部选择性血管舒张有效降低PAP, 而且相比于西那西呱显示出更持久的支气管扩张性质, 其可有益于患有慢性肺病 (第3类PH) 的PH患者每日一次或两次吸入治疗, 甚至有治疗肺功能受限的患者 (例如哮喘患者) 的潜力。

[0735] 因此, 根据本发明的药物物质, 例如根据本发明的式 (I) 的 (5S) - {[2- (4-羧基苯基) 乙基] [2- (2- {[3-氯-4'- (三氟甲基) 联苯-4-基] 甲氧基} 苯基) 乙基] -氨基} -5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸以及其假多晶形式 (I-M-I) 和 (I-M-II) 具有以下优越的主要药理学性质:

[0736] • (5S) - {[2- (4-羧基苯基) 乙基] [2- (2- {[3-氯-4'- (三氟甲基) 联苯-4-基] 甲氧基} 苯基) 乙基] -氨基} -5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸是一种有效和选择性sGC活化剂, 并且在吸入后提供一种治疗PH的新方法。

[0737] • (5S) - {[2- (4-羧基苯基) 乙基] [2- (2- {[3-氯-4'- (三氟甲基) 联苯-4-基] 甲氧基} 苯基) 乙基] -氨基} -5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸在不同疾病相关动物模型 (血栓素和缺氧攻击的大鼠、猪和犬) 中于吸入应用后选择性降低了升高的PAP, 具有长的作用持续时间, 建议每日应用两次。

[0738] • 在作为VQ-不匹配代表的单侧通气小型猪模型中, (5S) - {[2- (4-羧基苯基) 乙基] [2- (2- {[3-氯-4'- (三氟甲基) 联苯-4-基] 甲氧基} 苯基) 乙基] -氨基} -5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸在吸入应用后, 与全身性应用的血管舒张剂相比, 降低了PAP而不会对氧合作用产生负面影响。

[0739] • 在PAH护理标准 (SoC) (例如波生坦、西地那非、伊洛美定和利奥西呱) 的基础上, (5S) - {[2- (4-羧基苯基) 乙基] [2- (2- {[3-氯-4'- (三氟甲基) 联苯-4-基] 甲氧基} 苯基) 乙基] -氨基} -5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸在吸入应用后, 与全身性应用的血管舒张剂相比, 降低了PAP而不会对氧合作用产生负面影响。

基)-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸在PAH小型猪模型中于吸入应用后选择性降低了升高的PAP。

[0740] • (5S) - {[2- (4-羧基苯基) 乙基] [2- (2- {[3-氯-4'- (三氟甲基) 联苯-4-基] 甲氧基) 苯基) 乙基] -氨基} -5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸的功效在氧化应激的实验条件下 (1H-[1,2,4]噁二唑并[4,3-a]喹啉-1-酮,一种高选择性、不可逆的可溶性鸟苷酸环化酶的血红素位点抑制剂[ODQ],L-N ω -硝基精氨酸甲基酯[L-NAME]治疗) 增强。

[0741] • 就通气而言, (5S) - {[2- (4-羧基苯基) 乙基] [2- (2- {[3-氯-4'- (三氟甲基) 联苯-4-基] 甲氧基) 苯基) 乙基] -氨基} -5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸显示出支气管扩张效应 (乙酰胆碱[ACh]大鼠模型) 和对气道过度反应性和炎症 (慢性卵清蛋白哮喘小鼠模型) 的抑制作用。

[0742] • 在三种不同类型的施用(口服、静脉内、吸入)后测量 (5S) - {[2- (4-羧基苯基) 乙基] [2- (2- {[3-氯-4'- (三氟甲基) 联苯-4-基] 甲氧基) 苯基) 乙基] -氨基} -5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,尤其是呈其一水合物I的形式 (实施例4) 的血浆浓度,并且揭示吸入应用后的消除半衰期最长。

[0743] • 在人中吸入1000 μ g后,喷出(肺)剂量测定为720 μ g。

[0744] • 在人中使用sGC活化剂,式(I-M-I)的呈其结晶形式一水合物I的形式的 (5S) - {[2- (4-羧基苯基) 乙基] [2- (2- {[3-氯-4'- (三氟甲基) 联苯-4-基] 甲氧基) 苯基) 乙基] -氨基} -5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸 (实施例4) 的首次研究显示sGC活化和长肺保留时间,同时具有支气管扩张性质和选择性降低肺动脉压和肺血管阻力,以良好的局部和全身耐受性至多达4000 μ g (含) 的最高测试剂量。

[0745] 因此药物物质,例如根据本发明的式(I)的 (5S) - {[2- (4-羧基苯基) 乙基] [2- (2- {[3-氯-4'- (三氟甲基) 联苯-4-基] 甲氧基) 苯基) 乙基] -氨基} -5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸以及其假多晶形式 (I-M-I) 和 (I-M-II) 在患者中具有优越的主要药理学和药效动力学性质,包括降低肺动脉压 (mPAP) 和肺血管阻力 (PVR),通过例如FEV1测量的支气管扩张、具有低至无全身不良反应 (尤其是对全身血流动力学,诸如临床相关的血压或心率变化) 的肺选择性和低至无增加的VQ-不匹配,以避免相关的去饱和,此外还具有在肺内施用后足够的肺保留时间和/或足够的作用持续时间。

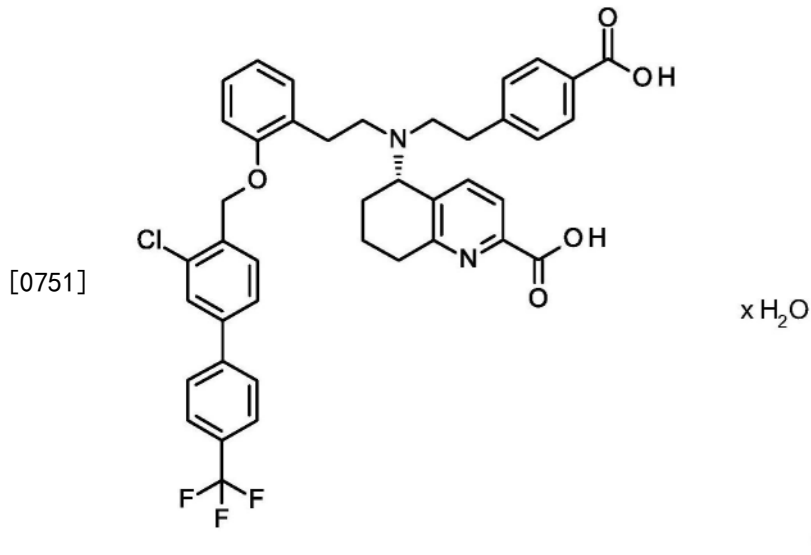
[0746] 因此,根据本发明的药物干粉制剂是用于治疗心肺病症,诸如肺动脉高压 (PAH)、慢性血栓栓塞性肺高压 (CTEPH) 和与慢性肺疾病相关的肺高压 (PH) (第3类PH),诸如慢性阻塞性肺疾病中的肺高压 (PH-COPD) 和肺高血压并发特发性间质性肺炎 (PH-IIP) 的合适药物。

[0747] 除非另有说明,否则以下测试和实施例中的重量数据为重量百分比;份数为重量份。液体/液体溶液的溶剂比率、稀释比率和浓度数据基于每种情况的体积。

[0748] 本发明的具体实施方案(假多晶形式)

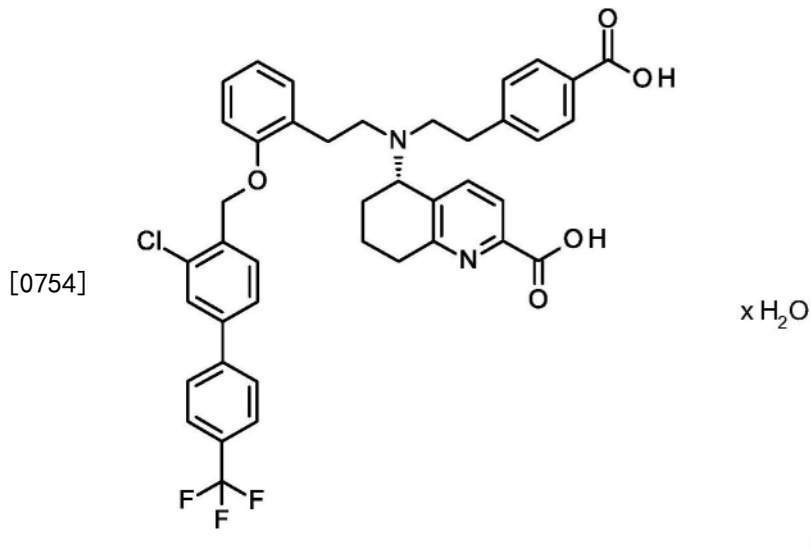
[0749] 一水合物I

[0750] 1.一种化合物,其为式(I-M-I)的呈结晶变体一水合物I的 (5S) - {[2- (4-羧基苯基) 乙基] [2- (2- {[3-氯-4'- (三氟甲基) 联苯-4-基] 甲氧基) 苯基) 乙基] 氨基} -5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸



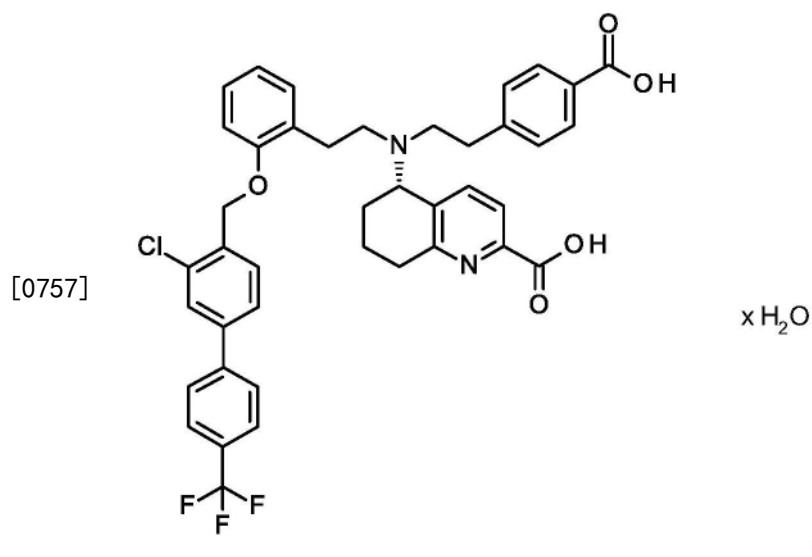
[0752] 其中所述化合物的X射线粉末衍射图(在25℃下并以Cu-K α 1作为放射源测量)包含在衍射角2 θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 至少为12.8和29.2,或在6.9、7.2、7.3、12.8和29.2处的峰。

[0753] 2. 一种化合物, 其为式(I-M-I)的呈结晶变体一水合物I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸



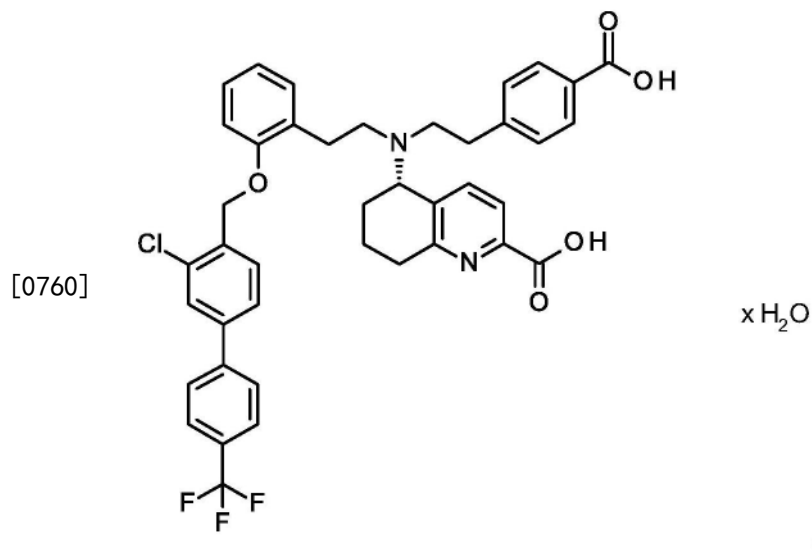
[0755] 其中所述化合物的X射线粉末衍射图(在25℃下并以Cu-K α 1作为放射源测量)包含在衍射角2 θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 至少为12.8、16.0和25.8,或至少为6.9、7.2、7.3、12.8、16.0和25.8处的峰。

[0756] 3. 一种化合物, 其为式(I-M-I)的呈结晶变体一水合物I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸



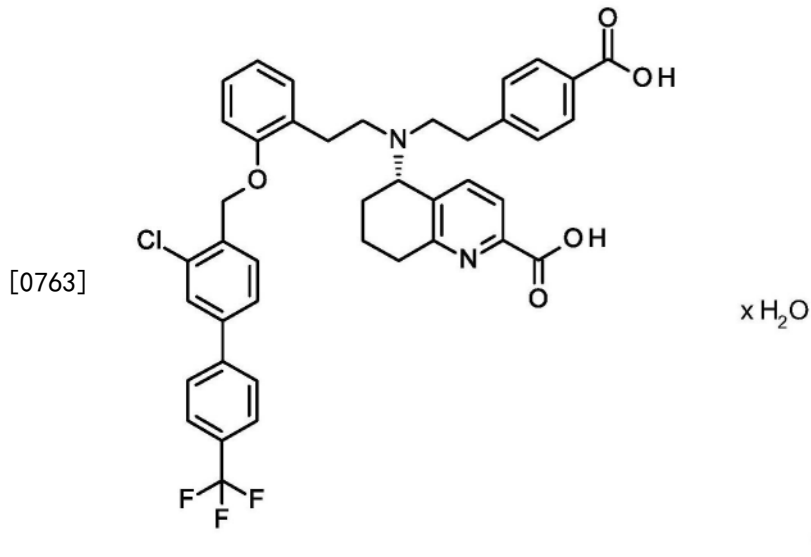
[0758] 其中所述化合物的X射线粉末衍射图(在25°C下并以Cu-K α 1作为放射源测量)包含在衍射角2 θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 至少为12.8、20.5和25.8,或至少为6.9、7.2、7.3、12.8、20.5和25.8处的峰。

[0759] 4. 一种化合物,其为式(I-M-I)的呈结晶变体一水合物I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸



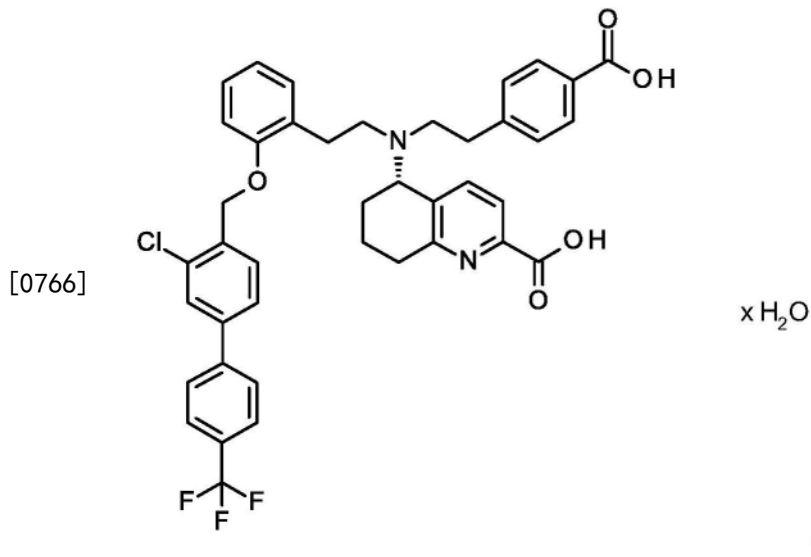
[0761] 其中所述化合物的X射线粉末衍射图(在25°C下并以Cu-K α 1作为放射源测量)包含在衍射角2 θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 至少为12.8、5.7、6.9、7.2、7.3和9.9处的峰。

[0762] 5. 一种化合物,其为式(I-M-I)的呈结晶变体一水合物I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸



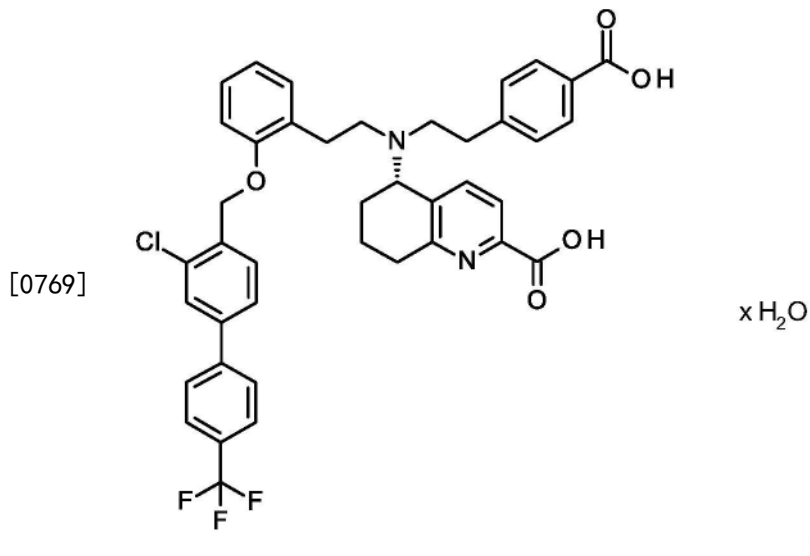
[0764] 其中所述化合物的X射线粉末衍射图(在25℃下并以Cu-K α 1作为放射源测量)包含在衍射角2 θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 至少为12.8、5.7和16.0,或至少为6.9、7.2、7.3、12.8、5.7和16.0处的峰。

[0765] 6.一种化合物,其为式(I-M-I)的呈结晶变体一水合物I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸



[0767] 其中所述化合物的X射线粉末衍射图(在25℃下并以Cu-K α 1作为放射源测量)包含在衍射角2 θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 至少为12.8、5.7和20.5,或至少为6.9、7.2、7.3、12.8、5.7和20.5处的峰。

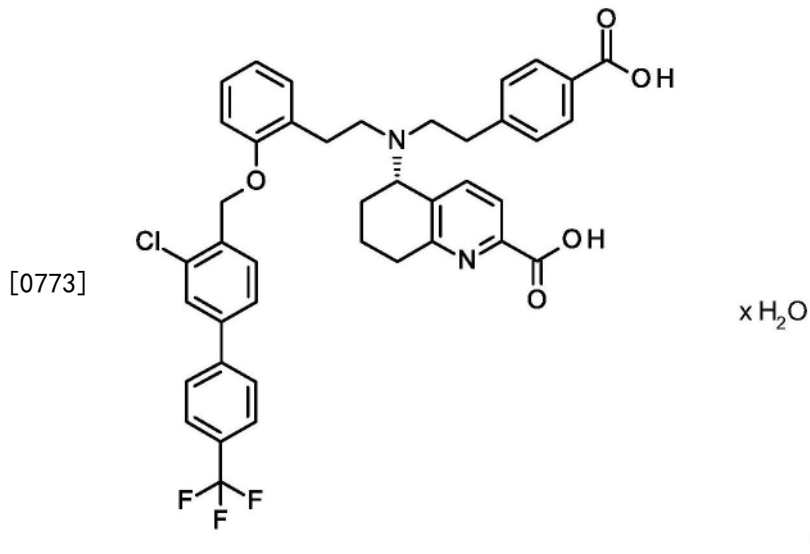
[0768] 7.一种化合物,其为式(I-M-I)的呈结晶变体一水合物I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸



[0770] 其中所述化合物的X射线粉末衍射图(在25℃下并以Cu-K α 1作为放射源测量)包含在衍射角2 θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 至少为12.8、5.7和29.2,或至少为6.9、7.2、7.3、12.8、5.7和29.2处的峰。

[0771] 8.如权利要求8至14中任一项所述的化合物,其中所述X射线粉末衍射图还包含在23.0、15.2、25.8和25.1处的峰。

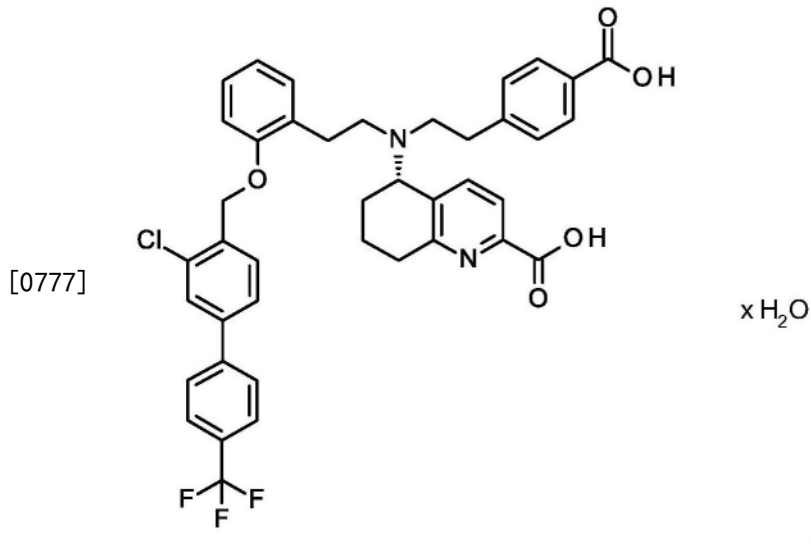
[0772] 9.一种化合物,其为式(I-M-I)的呈结晶变体一水合物I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸



[0774] 其具有如图6中所示的X射线粉末衍射图(在25℃下并以Cu-K α 1作为放射源测量)。

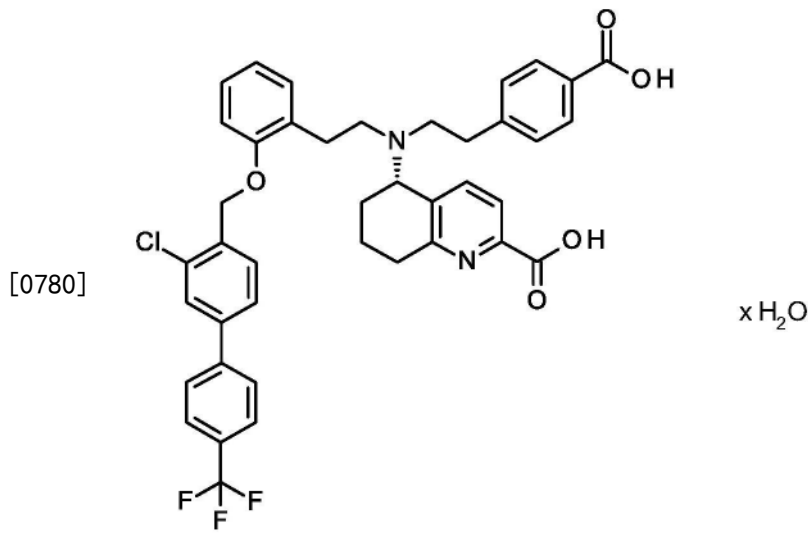
[0775] 10.如权利要求8至16中任一项所述的化合物,其中所述结晶形式在微粉化期间使稳定的。

[0776] 11.一种化合物,其为式(I-M-I)的呈结晶变体一水合物I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸



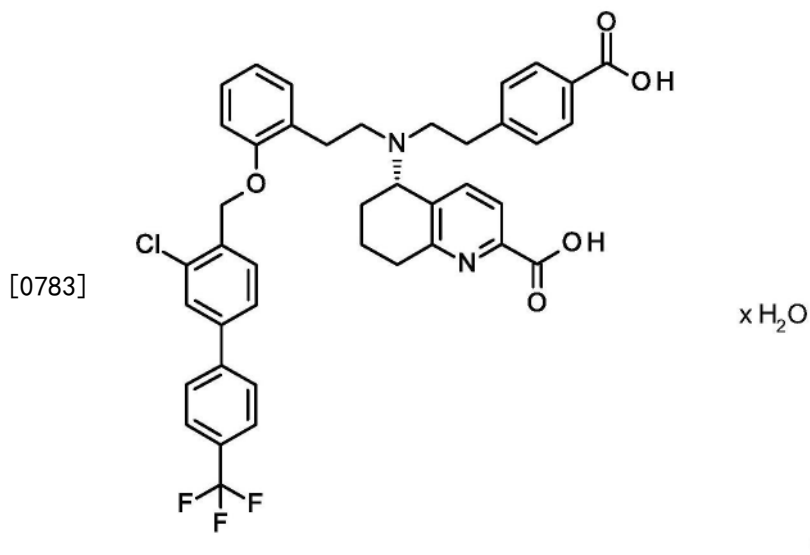
[0778] 其中所述化合物的X射线粉末衍射图(在25℃下并以Cu-K α 1作为放射源测量)包含在衍射角2 θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 至少为12.8处的峰,并且所述化合物具有如图27中所示的DSC温谱图。

[0779] 12.一种化合物,其为式(I-M-I)的呈结晶变体一水合物I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸



[0781] 其中所述化合物的X射线粉末衍射图(在25℃下并以Cu-K α 1作为放射源测量)包含在衍射角2 θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 至少为12.8处的峰并缺少在在衍射角2 θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 为27.2和27.5处的峰。

[0782] 13.一种化合物,其为式(I-M-I)的呈结晶变体一水合物I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸



[0784] 其中所述化合物的X射线粉末衍射图(在25°C下并以Cu-K α 1作为放射源测量)包含在衍射角2 θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 至少为12.8和5.7处的峰并缺少在衍射角2 θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 为8.5和6.1处的峰。

[0785] 14.一种药物组合物,其包含如权利要求1至13中任一项所述的化合物和药学上可接受的赋形剂。

[0786] 15.如权利要求1至13中任一项所述的化合物,其用于治疗和/或预防心肺疾病。

[0787] 16.如权利要求15所述的药物组合物,其用于治疗和/或预防心肺病症,诸如肺动脉高压(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高压(CTEPH)和与慢性肺疾病相关的肺高压(PH)(第3类PH),诸如慢性阻塞性肺疾病中的肺高压(PH-COPD)和肺高血压并发特发性间质性肺炎(PH-IIP)。

[0788] 17.如权利要求1至13中任一项所定义的化合物的用途,其用于制造用于治疗或预防心肺病症,诸如肺动脉高压(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高压(CTEPH)和与慢性肺疾病相关的肺高压(PH)(第3类PH),诸如慢性阻塞性肺疾病中的肺高压(PH-COPD)和肺高血压并发特发性间质性肺炎(PH-IIP)的药物组合物。

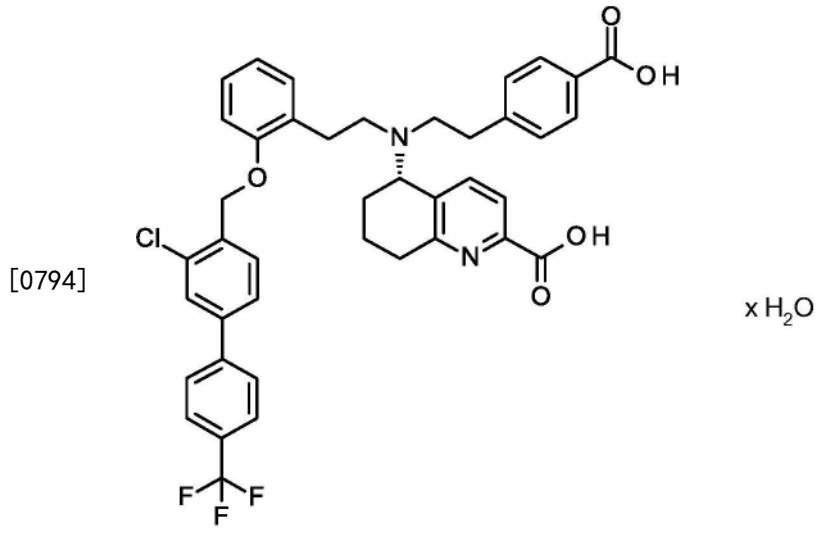
[0789] 18.如权利要求1至13中任一项所述的化合物的用途,其用于制造用于干粉吸入器的稳定的吸入性剂型。

[0790] 19.一种治疗或预防心肺病症的方法,其中所述心肺病症选自由以下组成的组:肺动脉高压(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高压(CTEPH)和与慢性肺疾病相关的肺高压(PH)(第3类PH),包括慢性阻塞性肺疾病中的肺高压(PH-COPD)和肺高血压并发特发性间质性肺炎(PH-IIP),所述方法包括向有需要的哺乳动物施用治疗有效量的如权利要求1至13中任一项所述的化合物。

[0791] 20.如权利要求19所述的方法,其中所述心肺病症是慢性阻塞性肺疾病中的肺高压(PH-COPD)和肺高血压并发特发性间质性肺炎(PH-IIP)。

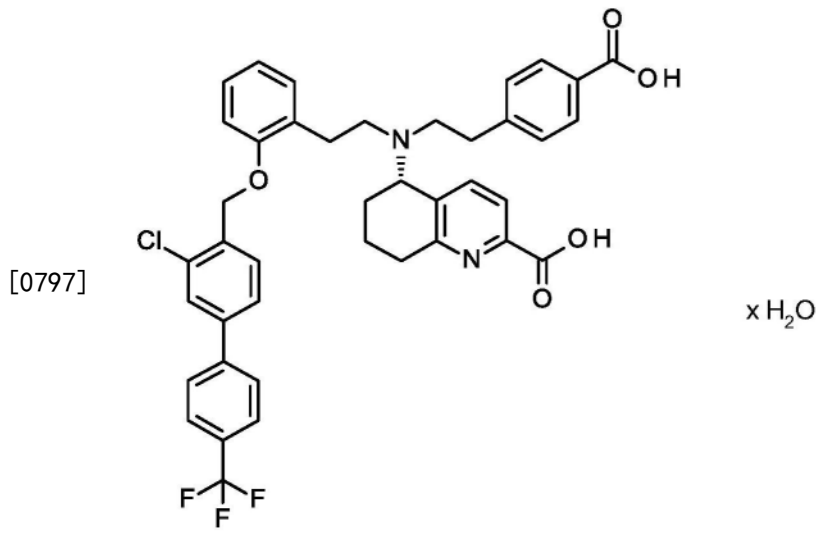
[0792] 一水合物II

[0793] 1.一种化合物,其为式(I-M-II)的呈结晶变体一水合物II的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸



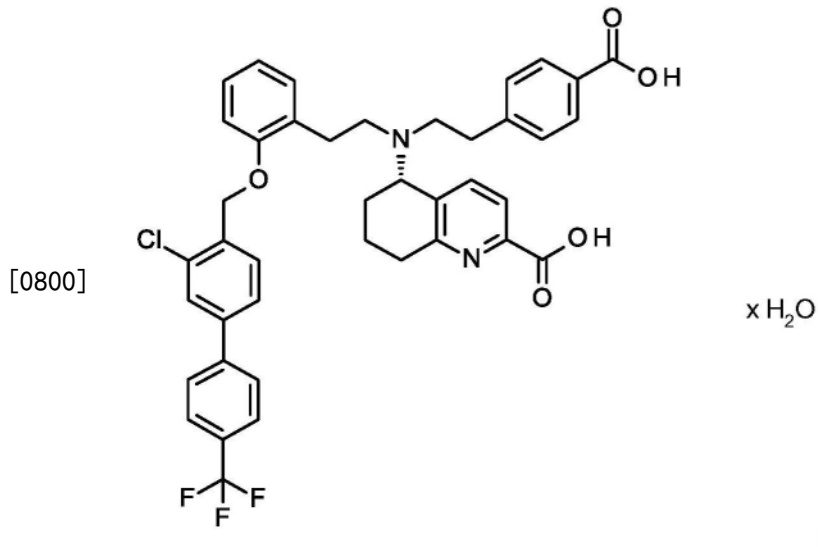
[0795] 其中所述化合物的X射线粉末衍射图(在25℃下并以Cu-K α 1作为放射源测量)包含在衍射角2 θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 至少为12.7、13.9、21.7和16.4处的峰。

[0796] 2.一种化合物,其为式(I-M-II)的呈结晶变体一水合物II的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸



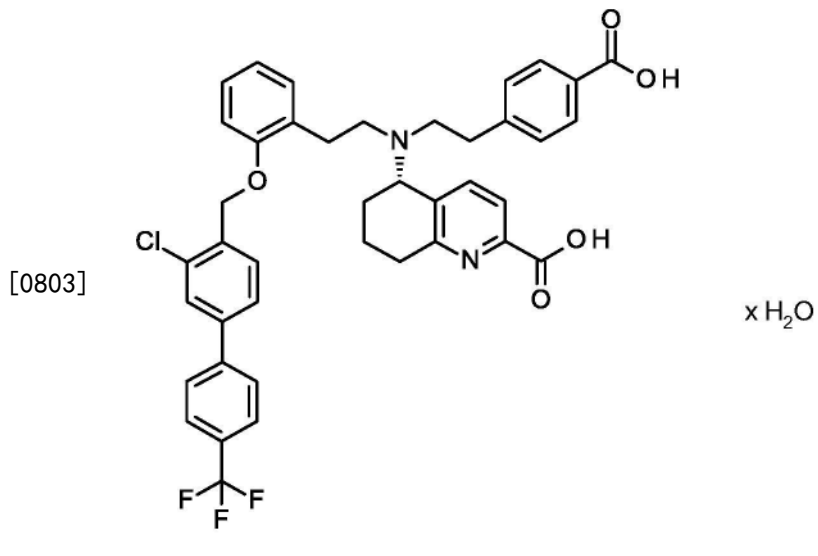
[0798] 其中所述化合物的X射线粉末衍射图(在25℃下并以Cu-K α 1作为放射源测量)包含在衍射角2 θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 至少为12.7、13.9、21.7和24.4处的峰。

[0799] 3.一种化合物,其为式(I-M-II)的呈结晶变体一水合物II的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸



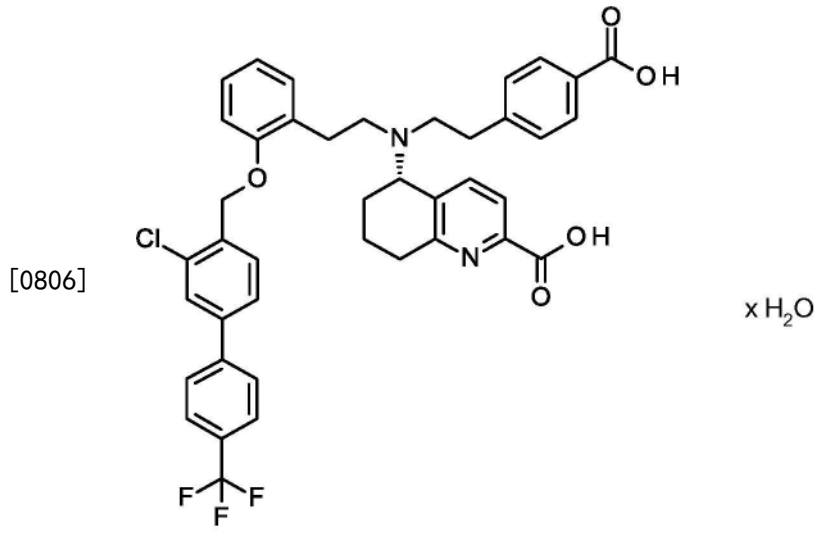
[0801] 其中所述化合物的X射线粉末衍射图(在25°C下并以Cu-K α 1作为放射源测量)包含在衍射角2 θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 至少为12.7、21.7和25.5处的峰。

[0802] 4.一种化合物,其为式(I-M-II)的呈结晶变体一水合物II的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸



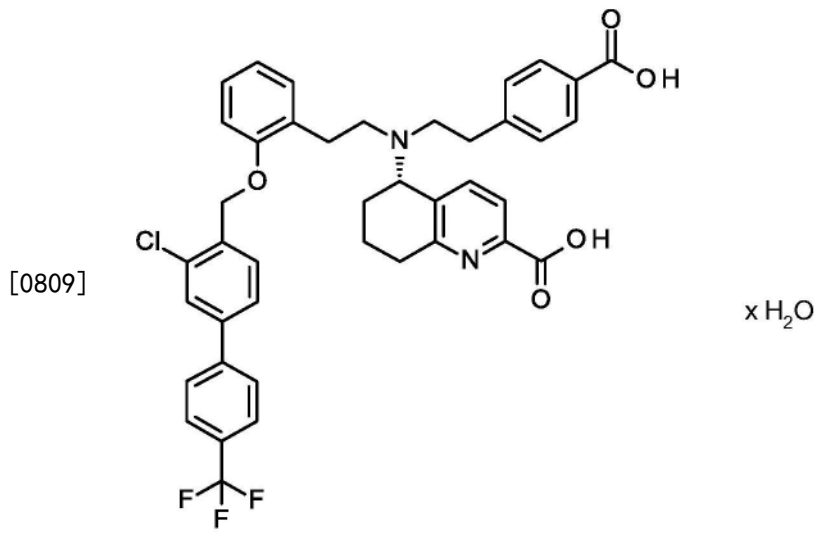
[0804] 其中所述化合物的X射线粉末衍射图(在25°C下并以Cu-K α 1作为放射源测量)包含在衍射角2 θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 至少为12.7、5.7、6.1和7.1处的峰。

[0805] 5.一种化合物,其为式(I-M-II)的呈结晶变体一水合物II的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸



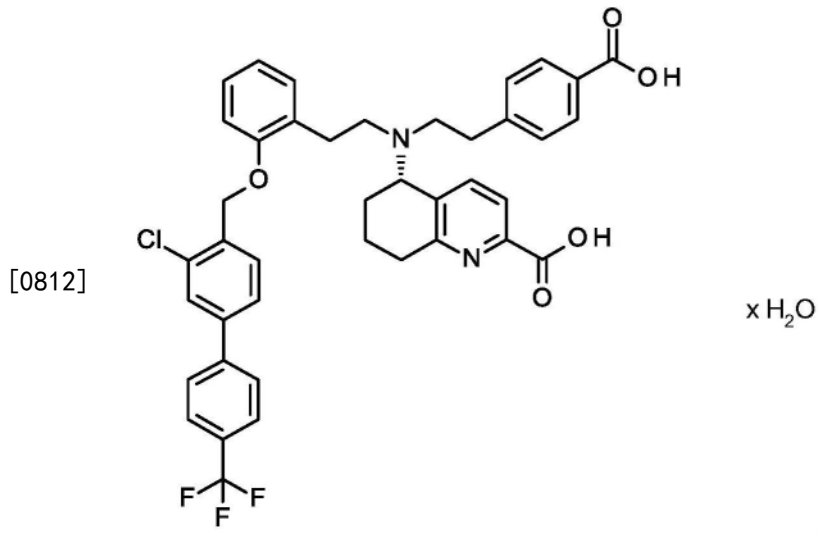
[0807] 其中所述化合物的X射线粉末衍射图(在25℃下并以Cu-K α 1作为放射源测量)包含在衍射角2 θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 至少为12.7、5.7和8.5处的峰。

[0808] 6.一种化合物,其为式(I-M-II)的呈结晶变体一水合物II的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸



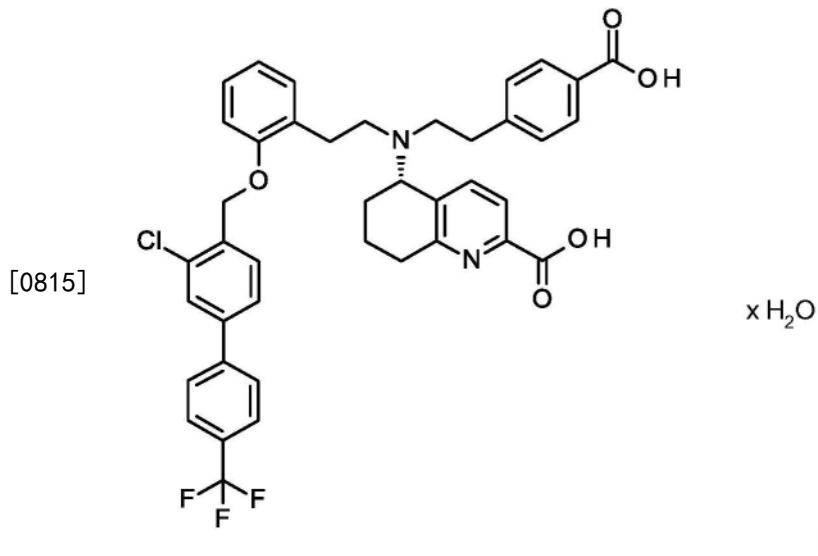
[0810] 其中所述化合物的X射线粉末衍射图(在25℃下并以Cu-K α 1作为放射源测量)包含在衍射角2 θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 至少为12.7、6.1和9.9处的峰。

[0811] 7.一种化合物,其为式(I-M-II)的呈结晶变体一水合物II的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸



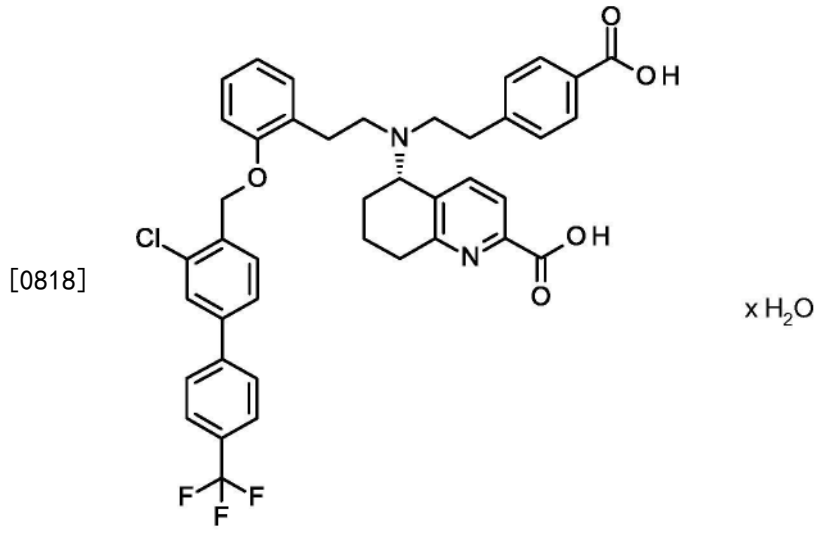
[0813] 其中所述化合物的X射线粉末衍射图(在25°C下并以Cu-K α 1作为放射源测量)包含在衍射角 2θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 至少为12.7、7.1和8.5处的峰。

[0814] 8.一种化合物,其为式(I-M-II)的呈结晶变体一水合物II的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸



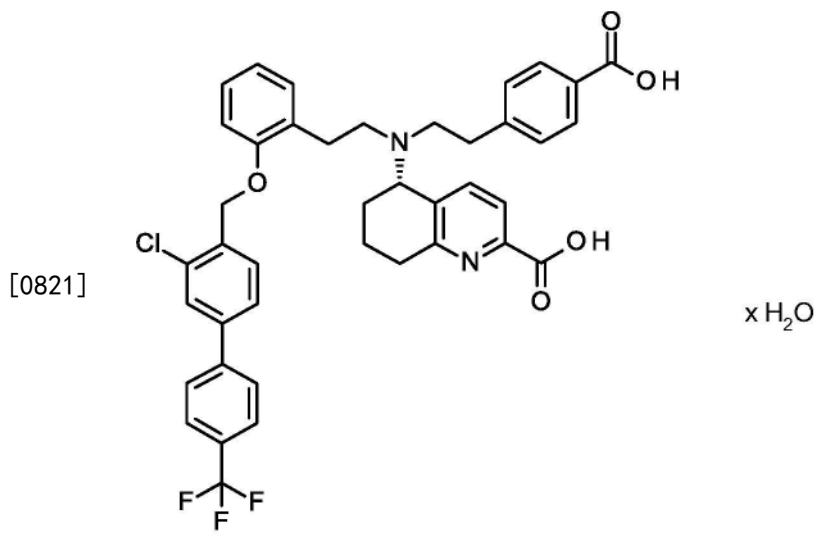
[0816] 其中所述化合物的X射线粉末衍射图(在25°C下并以Cu-K α 1作为放射源测量)包含在衍射角 2θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 至少为12.7、7.1和6.1处的峰。

[0817] 9.一种化合物,其为式(I-M-II)的呈结晶变体一水合物II的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸



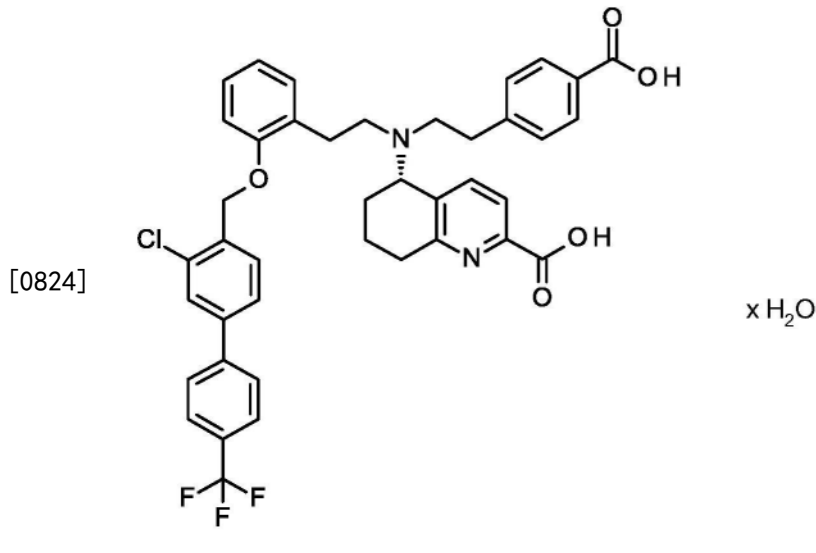
[0819] 具有如图7中所示的X射线粉末衍射图(在25℃下并以Cu-K α 1作为放射源测量)。

[0820] 10.一种化合物,其为式(I-M-II)的呈结晶变体一水合物II的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸



[0822] 其中所述化合物的X射线粉末衍射图(在25℃下并以Cu-K α 1作为放射源测量)包含在衍射角 2θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 至少为12.7处的峰并且所述化合物具有如图28中所示的DSC温谱图。

[0823] 11.一种化合物,其为式(I-M-II)的呈结晶变体一水合物II的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸



[0825] 其中所述化合物的X射线粉末衍射图(在25℃下并以Cu-K α 1作为放射源测量)包含在衍射角2 θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 至少为12.7处的峰并缺少在衍射角2 θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 为(1) 11.1和20.5, (2) 11.1和29.2, (3) 20.5和29.2, (4) 11.1和16.0, (5) 11.1和16.9, 和/或(6) 16.0和16.9处的峰。

[0826] 12. 如权利要求11所述的化合物,其缺少在衍射角2 θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 为11.1和29.2处的峰。

[0827] 13. 如权利要求11所述的化合物,其缺少在衍射角2 θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 为11.1和20.5处的峰。

[0828] 14. 如权利要求1至13中任一项所述的化合物,其中所述X射线粉末衍射图包含在衍射角2 θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 为12.7、23.9、13.9、23.0和12.2处的峰。

[0829] 15. 一种药物组合物,其包含如权利要求1至14中任一项所述的化合物和药学上可接受的赋形剂。

[0830] 16. 如权利要求1至14中任一项所述的化合物,其用于治疗 and/或预防心肺疾病。

[0831] 17. 如权利要求15所述的药物组合物,用于治疗 and/或预防心肺病症,诸如肺动脉高压(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高压(CTEPH)和与慢性肺疾病相关的肺高压(PH)(第3类PH),诸如慢性阻塞性肺疾病中的肺高压(PH-COPD)和肺高血压并发特发性间质性肺炎(PH-IIP)。

[0832] 18. 如权利要求1至14中任一项所定义的化合物的用途,其用于制造用于治疗或预防心肺病症,诸如肺动脉高压(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高压(CTEPH)和与慢性肺疾病相关的肺高压(PH)(第3类PH),诸如慢性阻塞性肺疾病中的肺高压(PH-COPD)和肺高血压并发特发性间质性肺炎(PH-IIP)的药物组合物。

[0833] 19. 如权利要求1至14中任一项所述的化合物的用途,其用于制造用于干粉吸入器的稳定的吸入性剂型。

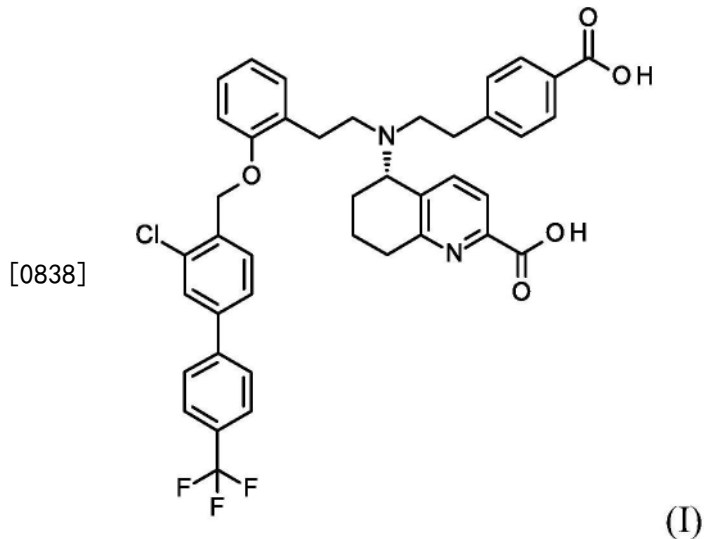
[0834] 20. 一种治疗或预防心肺病症的方法,其中所述心肺病症选自由以下组成的组:肺动脉高压(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高压(CTEPH)和与慢性肺疾病相关的肺高压(PH)(第3类PH),包括慢性阻塞性肺疾病中的肺高压(PH-COPD)和肺高血压并发特发性间质性肺炎(PH-IIP),所述方法包括向有需要的哺乳动物施用治疗有效量的如权利要求1至14中任一项所

述的化合物。

[0835] 21. 如权利要求20所述的方法,其中所述心肺病症是慢性阻塞性肺疾病中的肺高压(PH-COPD)和肺高血压并发特发性间质性肺炎(PH-IIP)。

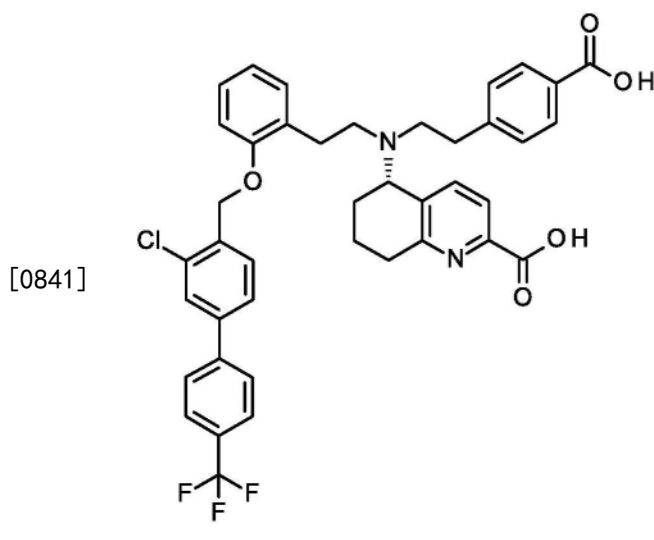
[0836] 倍半水合物

[0837] 1. 一种化合物,其为呈结晶变体倍半水合物的式(I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸



[0839] 其中所述化合物的X射线粉末衍射图(在25℃下并以Cu-K α 1作为放射源测量)包含在衍射角2 θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 至少为12.2和7.6处的峰。

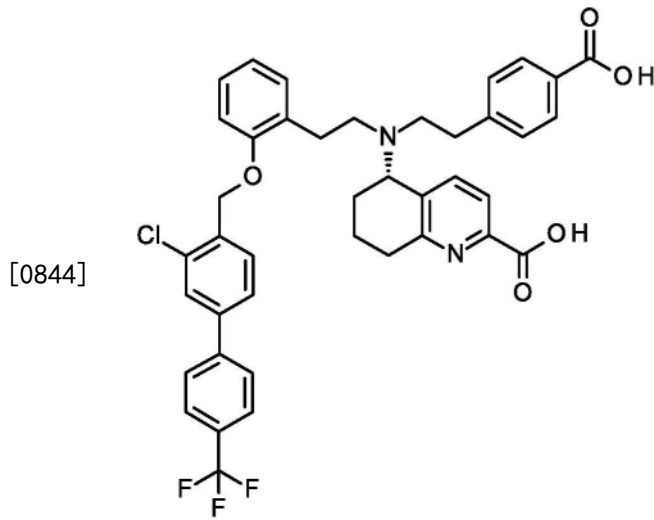
[0840] 2. 一种化合物,其为呈结晶变体倍半水合物的式(I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸



[0842] 其中所述化合物的X射线粉末衍射图(在25℃下并以Cu-K α 1作为放射源测量)包含在衍射角2 θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 至少为12.2、5.1和26.4处的峰。

[0843] 3. 一种化合物,其为呈结晶变体倍半水合物的式(I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙

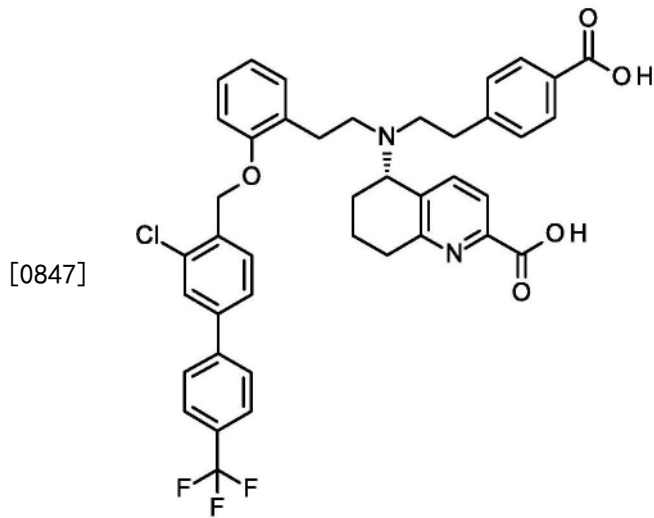
基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸



(I)

[0845] 其中所述化合物的X射线粉末衍射图(在25°C下并以Cu-K α 1作为放射源测量)包含在衍射角2 θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 至少为12.2、8.6和14.5处的峰。

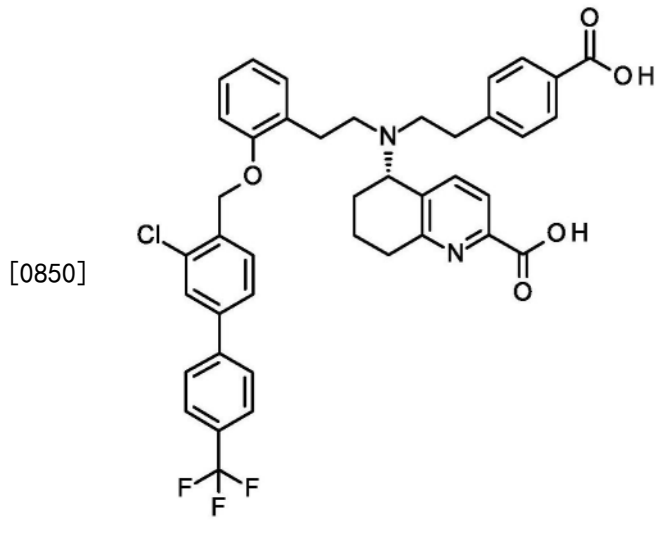
[0846] 4.一种化合物,其为呈结晶变体倍半水合物的式(I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸



(I)

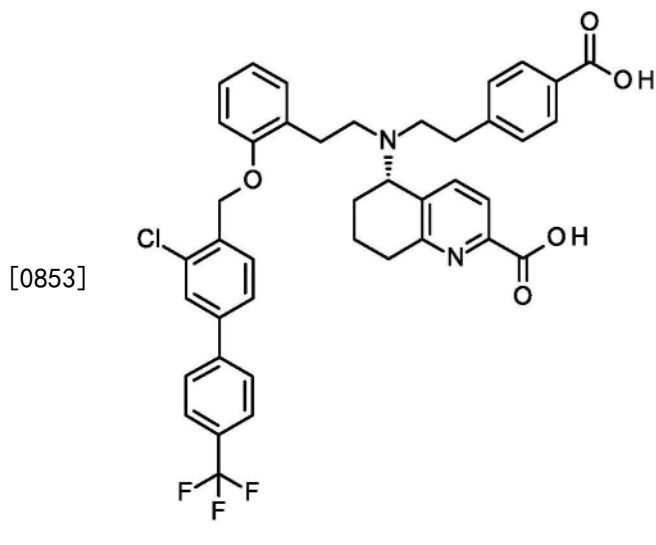
[0848] 其具有如图9中所示的X射线粉末衍射图(在25°C下并以Cu-K α 1作为放射源测量)。

[0849] 5.一种化合物,其为呈结晶变体倍半水合物的式(I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸



[0851] 其中所述化合物的X射线粉末衍射图(在25°C下并以Cu-K α 1作为放射源测量)包含在衍射角 2θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 至少为12.2处的峰并且所述化合物具有如图30中所示的DSC温谱图。

[0852] 6. 一种化合物,其为呈结晶变体倍半水合物的式(I)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸



[0854] 其中所述化合物的X射线粉末衍射图(在25°C下并以Cu-K α 1作为放射源测量)包含在衍射角 2θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 至少为12.2处的峰并缺少在衍射角 2θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 为(1)10.6, (2)25.8和6.7(3)25.8和7.1, (4)25.8和10.6, (5)10.4, (6)5.7和6.7和/或(6)25.5、5.7和6.7处的峰。

[0855] 7. 如权利要求6所述的化合物,其缺少在衍射角 2θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 为10.6处的峰。

[0856] 8. 如权利要求6所述的化合物,其缺少在衍射角 2θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 为5.7和6.7处的峰。

[0857] 9. 如权利要求1至8中任一项所述的化合物,其中所述X射线粉末衍射图包含在衍射角 2θ 值 $\pm 0.2^\circ$ 为12.2、14.5、18.7、25.1和27.0处的峰。

[0858] 10. 一种药物组合物,其包含如权利要求1至9中任一项所述的化合物和药学上可接受的赋形剂。

[0859] 11. 如权利要求1至9中任一项所述的化合物,其用于治疗和/或预防心肺疾病。

[0860] 12. 如权利要求9所述的药物组合物,其用于治疗和/或预防心肺病症,诸如肺动脉高压(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高压(CTEPH)和与慢性肺疾病相关的肺高压(PH)(第3类PH),诸如慢性阻塞性肺疾病中的肺高压(PH-COPD)和肺高血压并发特发性间质性肺炎(PH-IIP)。

[0861] 13. 如权利要求1至9中任一项所定义的化合物的用途,其用于制造用于治疗或预防心肺病症,诸如肺动脉高压(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高压(CTEPH)和与慢性肺疾病相关的肺高压(PH)(第3类PH),诸如慢性阻塞性肺疾病中的肺高压(PH-COPD)和肺高血压并发特发性间质性肺炎(PH-IIP)的药物组合物。

[0862] 14. 如权利要求1至9中任一项所述的化合物的用途,其用于制造用于干粉吸入器的稳定的吸入性剂型。

[0863] 15. 一种治疗或预防心肺病症的方法,其中所述心肺病症选自由以下组成的组:肺动脉高压(PAH)、慢性血栓栓塞性肺高压(CTEPH)和与慢性肺疾病相关的肺高压(PH)(第3类PH),包括慢性阻塞性肺疾病中的肺高压(PH-COPD)和肺高血压并发特发性间质性肺炎(PH-IIP),所述方法包括向有需要的哺乳动物施用治疗有效量的如权利要求1至9中任一项所述的化合物。

[0864] 16. 如权利要求15所述的方法,其中所述心肺病症是慢性阻塞性肺疾病中的肺高压(PH-COPD)和肺高血压并发特发性间质性肺炎(PH-IIP)。

[0865] 实验部分

[0866] 缩写和首字母缩略词

[0867] abs. 绝对

[0868] acac 乙酰丙酮

[0869] BINAP (2,2'-双(二苯基膦基)-1,1'-联萘)

[0870] cat. 催化

[0871] CI 化学电离(在MS中)

[0872] coe 环辛烯

[0873] d 天

[0874] TLC 薄层色谱

[0875] DCM 二氯甲烷

[0876] DMA 二甲基乙酰胺

[0877] DMF 二甲基甲酰胺

[0878] DMSO 二甲基亚砷

[0879] ee 对映体过量

[0880] EI 电子碰撞电离(在MS中)

[0881] ent 对映体/对映体纯

[0882] eq 当量

[0883] ESI 电喷雾电离(在MS中)

[0884] EtOAc 乙酸乙酯

[0885] GC-MS 气相色谱-联用质谱

[0886] %by weight 重量百分比

- [0887] h 小时
- [0888] HPLC 高压高效液相色谱
- [0889] ID 内径
- [0890] iPrOAc 乙酸异丙酯
- [0891] iPrOH 异丙醇
- [0892] conc. 浓缩的
- [0893] LC-MS 液相色谱-联用质谱
- [0894] LDA 二异丙基氨基锂
- [0895] LiHMDS 双(三甲基甲硅烷基)氨基锂
- [0896] min 分钟
- [0897] MS 质谱
- [0898] MTBE 2-甲氧基-2-甲基丙烷
- [0899] NMR 核磁共振光谱
- [0900] NMP N-甲基-2-吡咯烷酮
- [0901] Ph 苯基
- [0902] pTsOH 对甲苯磺酸
- [0903] Rf 保留指数(在TLC中)
- [0904] RP-HPLC 反相高效液相色谱
- [0905] RRT 相对保留时间
- [0906] Rt 保留时间
- [0907] RT 室温
- [0908] TESC1 氯三乙基硅烷
- [0909] THF 四氢呋喃
- [0910] v/v (溶液的) 体积与体积的比率
- [0911] aq. 水性, 水溶液
- [0912] Tinternal 内部温度
- [0913] Tsheath 护套温度
- [0914] 分析方法
- [0915] DSC/TG
- [0916] 使用来自Perkin-Elmer的差示扫描量热仪(型号DSC7, Pyris-1或Diamond)记录DSC温谱图。使用非气密铝坩埚以20Kmin⁻¹的加热速率进行测量。流动气体为氮气。无样品制备。
- [0917] 使用来自Perkin-Elmer的热天平(型号TGA7和Pyris 1)记录TGA温谱图。使用开放式铂金盘以10Kmin⁻¹的加热速率进行测量。流动气体为氮气。无样品制备。
- [0918] XRPD
- [0919] 使用XRD-衍射仪X`Pert PRO (PANalytical) 和STOE STADI-P (辐射Cu K α 1, 波长1.5406 Å) 在室温下记录X射线衍射图。无样品制备。所有X射线反射均以 $^{\circ}2\theta$ (theta) 值(峰最大值)表示, 分辨率 $\pm 0.2^{\circ}$ 。
- [0920] 拉曼

[0921] 使用来自Bruker的FT-Raman-拉曼分光光度计(型号RFS100和MultiRam)在室温下记录拉曼光谱。分辨率为 2cm^{-1} 。测量在玻璃瓶或铝坩埚中进行。无样品制备。

[0922] IR

[0923] 使用来自Bruker的FT-IR分光光度计Tensor 37和通用金刚石ATR装置在室温下记录IR-ATR光谱。分辨率为 4cm^{-1} 。无样品制备。

[0924] LC-MS方法

[0925] 方法A

[0926] 仪器:Waters ACQUITY SQD UPLC System;柱:Waters Acquity UPLC HSS T3 $1.8\ \mu\text{m}$ $50\times 1\text{mm}$;洗脱液A:1l Wasser+0.25ml 99%ige甲酸,洗脱液B:1l乙腈+0.25ml 99%ige甲酸;梯度:0.0min 90%A \rightarrow 1.2min 5% A \rightarrow 2.0min 5% A烘箱: 50°C ;流速: $0.40\text{ml}/\text{min}$;UV-检测: 210nm 。

[0927] HPLC方法

[0928] 方法B

[0929] 高效液相色谱配置有恒温柱烘箱、UV检测器和数据评价系统,测量波长 206nm ,带宽: 6nm ,烘箱温度 30°C ,柱:chiralpak AD-H,长度: 250mm ,内径: 4.6mm ,晶粒大小: $5\ \mu\text{m}$,流动相:A:正庚烷,B:乙醇+0.1%二乙胺,梯度程序:开始 $1\text{ml}/\text{min}$ 70%洗脱液A,30%洗脱液B;12min $1\text{ml}/\text{min}$ 40%洗脱液A,60%洗脱液B。样品溶剂:乙醇+0.1%二乙胺,测试溶液:约 $1.0\text{mg}/\text{ml}$ 的物质,用样品溶剂溶解,进样量: $5\ \mu\text{l}$ RT:对映体1: 5.8min (RRT 1.00),对映体2: 7.2min RRT1.25

[0930] 方法C

[0931] 高效液相色谱配置有恒温柱烘箱、UV检测器和数据评价系统,测量波长 204nm ,带宽: 6nm ,烘箱温度 45°C ,柱:chiralpak AD-H,长度: 250mm ,内径: 4.6mm ,晶粒大小: $5\ \mu\text{m}$,流动相:A:正庚烷,B:乙醇+0.2%三氟乙酸+0.1%二乙胺,梯度程序: $1.5\text{ml}/\text{min}$ 60%洗脱液A,40%洗脱液B;样品溶剂:乙醇,测试溶液:约 $1.0\text{mg}/\text{ml}$ 的物质,用样品溶剂溶解,进样量: $10\ \mu\text{l}$ RT:对映体1: 2.9min RRT 1,00,对映体2 3.7min RRT1.28

[0932] 方法L

[0933] 装置类型MS:Waters Synapt G2S;装置类型UPLC:Waters Acquity I-CLASS;柱:Waters,HSST3, $2.1\times 50\text{mm}$,C18 $1.8\ \mu\text{m}$;洗脱液A:1l水+0.01%甲酸;洗脱液B:1l乙腈+0.01%甲酸;梯度:0.0min 2% B \rightarrow 2.0min 2% B \rightarrow 13.0min 90% B \rightarrow 15.0min 90% B;烘箱: 50°C ;流速: $1.20\text{ml}/\text{min}$;UV检测: 210nm

[0934] 方法M

[0935] 高效液相色谱配置有恒温柱烘箱、UV检测器和数据评价系统,测量波长 226nm ,带宽: 40nm ,烘箱温度 30°C ,柱:Zorbax Bonus-RP,长度: 150mm ,内径: 3.0mm ,晶粒大小: $3.5\ \mu\text{m}$,流动相:A:水+0.1% TFA,B:ACN+0.1% TFA/甲醇=2+1,梯度程序:0.0min50% B \rightarrow 12.0min 70% B \rightarrow 17.0min 90% B \rightarrow 25.0min 90% B;流速: $0.60\text{ml}/\text{min}$;样品溶剂:异丙醇+0.1%二乙胺,测试溶液:将大约 35mg 的物质溶解在 25ml ACN中并用水+0.1% TFA加至 50ml 。 $(0.7\text{mg}/\text{mL})$,进样量: $3\ \mu\text{l}$

[0936] 新方法M

[0937] 高效液相色谱配置有恒温柱烘箱、UV检测器和数据评价系统,测量波长 226nm ,带

宽:40nm,柱:XBridge Phenyl长度:50mm,内径:4.6mm,晶粒大小:2.5 μ m;柱温度:22 $^{\circ}$ C

[0938] 流动相:A:缓冲液pH7(0.66g/L(NH₄)₂HPO₄和0.58g/LNH₄H₂PO₄);B:ACN

[0939] 梯度程序:0.00min=95% A,5% B;t 8,3-11=20% A,80% B

[0940] 流速:1.2mL/min.;UV-灯:210nm

[0941] 方法N

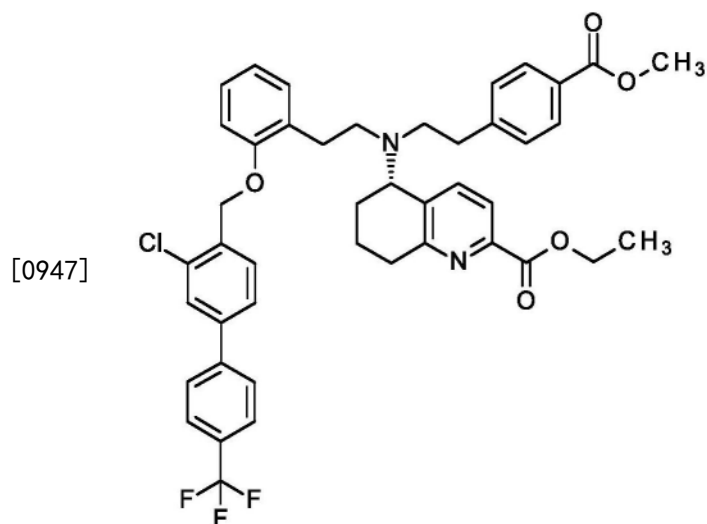
[0942] 高效液相色谱配置有恒温柱烘箱、UV检测器和数据评价系统,测量波长210nm,柱:XBridge BEH Phenyl长度:50mm,内径:4.6mm,晶粒大小:2.5 μ m;柱温度:22 $^{\circ}$ C;流动相:A:0.66g(NH₄)₂HPO₄和0.58g(NH₄)₂H₂PO₄溶解在11纯水;B:ACN,梯度程序:0.00min95% B \rightarrow 8.3min 80% B \rightarrow 11.0min 80%;流速:1.2ml/min;样品溶剂:ACN+水,进样量:3 μ L。

[0943] A-化学实施例

[0944] 起始物质和中间体

[0945] 实施例1A

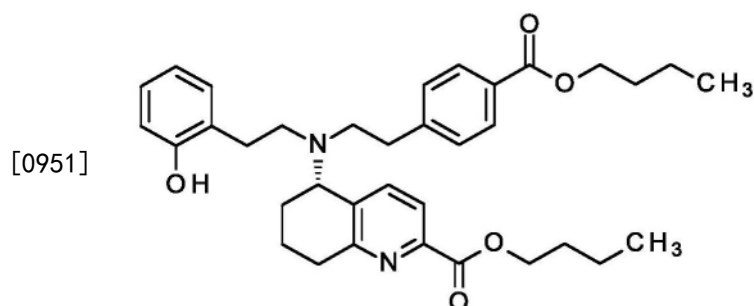
[0946] (5S)-5-([2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)[联苯]-4-基]甲氧基}苯基)乙基]{2-[4-(甲氧基羰基)苯基]乙基}氨基)-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸酯(对映体2)



[0948] 根据如WO 2014/012934实施例92A中所公开的程序合成所述化合物。

[0949] 实施例2A

[0950] (5S)-5-([2-[4-(丁氧基羰基)苯基]乙基][2-(2-羟苯基)乙基]氨基)-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸丁酯

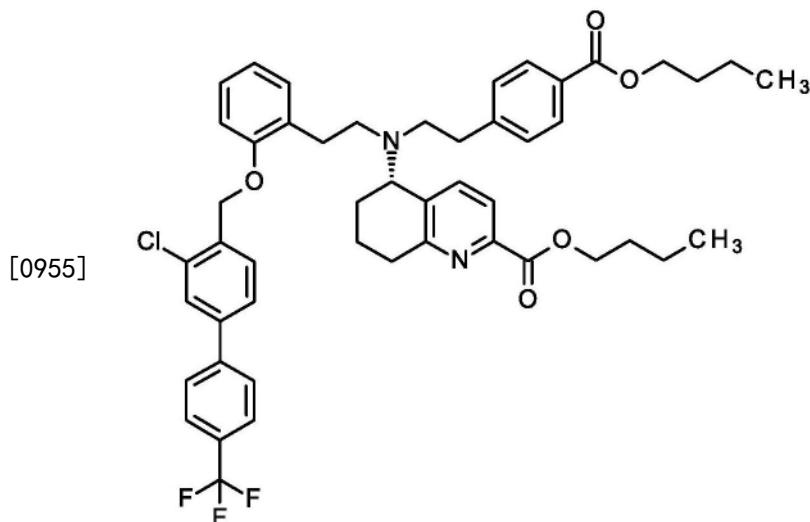


[0952] 根据如W02021/233783实施例10中所公开的程序合成所述化合物。

[0953] 实施例3A

[0954] (5S)-5-([2-[4-(丁氧基羰基)苯基]乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)[联苯]-

4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基)-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸丁酯

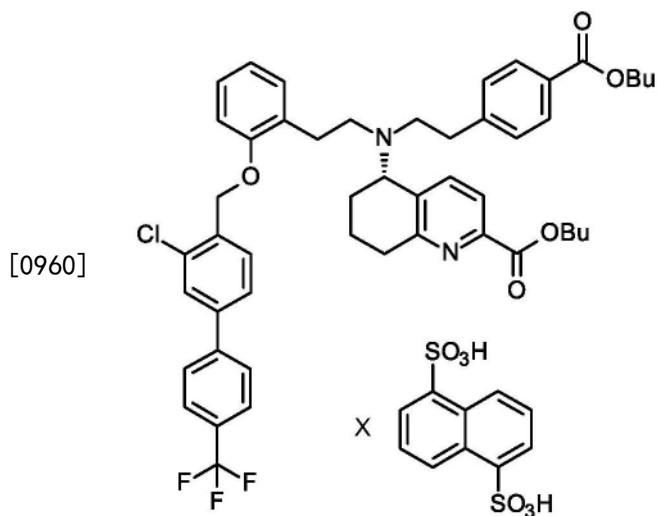


[0956] 根据如W02021/233783实施例11中所公开的程序合成所述化合物。

[0957] 另一起始物质4-(溴甲基)-3-氯-4'-(三氟甲基)[联苯](式XI化合物)是可商购获得的。

[0958] 实施例4A

[0959] 萘-1,5-二磺酸-丁基-(5S)-5-({2-[4-(丁氧基羰基)苯基]乙基}[2-(2-{{3-氯-4'-(三氟甲基)[联苯]-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基)-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸酯(1:1)加合物



[0961] 在3L烧瓶中,将889.1g (1.06mol)的(5S)-5-({2-[4-(丁氧基羰基)苯基]乙基}[2-(2-{{3-氯-4'-(三氟甲基)[联苯]-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基)-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸丁酯(油)溶解在1850ml的四氢呋喃中。在室温下添加304.6g (1.06mol)的萘-1,5-二磺酸,搅拌混合物直到其完全溶解。随后,将溶液在旋转蒸发器上在40℃下浓缩。将残余物(固体)在真空干燥箱内在40℃下于氮气流中干燥至1126.3g。

[0962] 产量(粗产物):1126.3g;理论产量的94.4%

[0963] 对映体纯度(HPLC方法B):95.3% ee

[0964] 纯度(面积):81.8%(方法N), Rt 16.11 (BP-Diester)

- [0965] 实施例4B-4E
- [0966] 用不同的酸形成(5S)-5-({2-[4-(丁氧基羰基)苯基]乙基}[2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)[联苯]-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基)-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸丁酯的稳定盐的试验
- [0967] 4B:添加(+)-二-对-甲苯酰基-D-酒石酸
- [0968] 将4g(0.005mol)的(5S)-5-({2-[4-(丁氧基羰基)苯基]乙基}[2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)[联苯]-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基)-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸丁酯(油)在50℃的温度下逐渐溶解在总量75ml的甲醇中。添加溶解在2.5ml甲醇中的1.8g(0.005mol)(+)-二-对-甲苯酰基-D-酒石酸。最后将混合物搅拌过整个周末。
- [0969] 向较小部分的反应混合物中添加不同的溶剂以引发结晶。尝试以下溶剂均无效果:MTBE、MIBK、二氯甲烷(methylenechloride)、甲苯。添加环己烷、正己烷和甲基环己烷的混合物后形成两层。
- [0970] 将几滴反应混合物在表面皿上干燥并且将所得干燥块刮下并最终在环己烷、正己烷和甲基环己烷的混合物中搅拌。所得固体融化。
- [0971] 用甲基环己烷,分离出固体。固体的HPLC分析揭示为酒石酸。
- [0972] 在将水添加到另一部分的反应混合物后,分离出固体。所述固体难以分离。
- [0973] 将反应混合物脱去溶剂。得到3.1g淡黄色泡沫晶体。
- [0974] 向泡沫晶体中添加31ml的甲基环己烷并搅拌4小时。得到2.8g浅黄色固体。
- [0975] 没有检测出限定的盐。
- [0976] 4C:添加三氟乙酸(=TFA)
- [0977] 将0.21g(0.2mmol)的(5S)-5-({2-[4-(丁氧基羰基)苯基]乙基}[2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)[联苯]-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基)-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸丁酯(油)溶解在2ml的乙腈中。添加0.1ml的TFA。形成橙色溶液。真空蒸发溶剂以得到橙色油状物。
- [0978] 未观察到盐形成。
- [0979] 4D:添加甲磺酸
- [0980] 将0.26g(0.3mmol)的(5S)-5-({2-[4-(丁氧基羰基)苯基]乙基}[2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)[联苯]-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基)-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸丁酯(油)溶解在1.5ml的二氯甲烷中。添加20.1 μ l的甲磺酸。形成橙色溶液。在室温下搅拌1小时后无结晶。
- [0981] 在40℃下真空蒸发溶剂以得到黄色泡沫晶体。
- [0982] 筛选数种溶剂以引发结晶或纯化。
- [0983] 二氯甲烷、MIBK、MTBE、乙酸乙酯、丙酮、乙腈、二噁烷、正丁醇、甲醇、乙醇、四氢呋喃、甲苯在室温下产生溶液。
- [0984] 二异丙醚、水、乙醚、环己烷产生粘稠块。
- [0985] 进一步在室温下于正己烷中搅拌,再次产生粘稠块。
- [0986] 无盐可分离出。
- [0987] 4E:添加樟脑磺酸
- [0988] 将0.29g(0.34mmol)的(5S)-5-({2-[4-(丁氧基羰基)苯基]乙基}[2-(2-{[3-氯-

4'- (三氟甲基) [联苯]-4-基]甲氧基) 苯基) 乙基]氨基) -5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸丁酯 (油) 溶解在1.5ml的二氯甲烷中。添加80.05 μ g的樟脑磺酸。形成橙色溶液。

[0989] 在40 $^{\circ}$ C下真空蒸发溶剂以得到黄色泡沫晶体。

[0990] 筛选数种溶剂用以引发结晶或纯化。

[0991] 二氯甲烷、MIBK、乙酸乙酯、丙酮、乙腈、二噁烷、正丁醇、甲醇、乙醇、四氢呋喃、甲苯在室温下产生溶液。

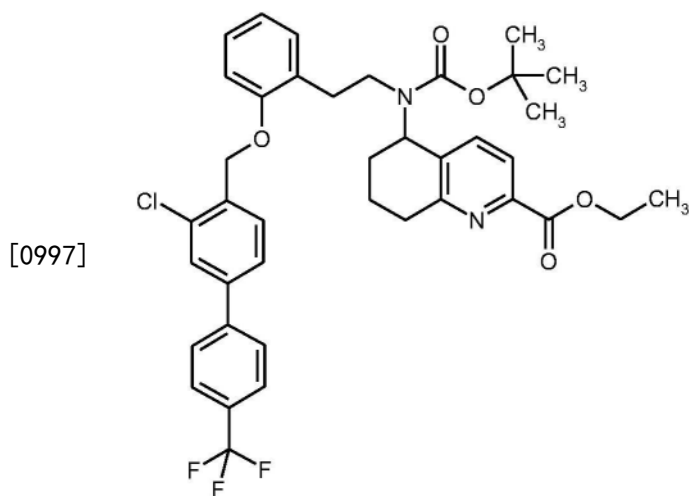
[0992] MTBE添加导致油滴形成。

[0993] 水、二异丙醚、乙醚、环己烷和正庚烷均仅得到粘稠块。

[0994] 无盐可分离出。

[0995] 实施例5A和实施例6A

[0996] 5- { (叔丁氧基羰基) [2- (2- { [3-氯-4'- (三氟甲基) 联苯-4-基] 甲氧基} 苯基) 乙基] 氨基} -5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸乙酯 (对映体1和2)



[0998] 将15g (21.42mmol) 的外消旋5- { (叔丁氧基羰基) [2- (2- { [3-氯-4'- (三氟甲基) 联苯-4-基] 甲氧基} 苯基) 乙基] 氨基} -5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸乙酯 (实施例22A) 通过超临界流体色谱 (SFC) 在手性相上分离成对映体 [柱: Chiralpak OD-H, 20 μ m, 400mm x 50mm; 流动相: 二氧化碳/异丙醇70:30 (体积/体积); 流速: 400ml/min; 压力: 80bar; UV检测: 220nm; 温度: 37 $^{\circ}$ C]:

[0999] 实施例5A (对映体1):

[1000] 产量: 5830mg

[1001] Rt=2.83min; 化学纯度>99.9%; >99% ee

[1002] [柱: Chiralpak OD-H, 5 μ m, 250mm x 4.6mm; 流动相: 二氧化碳/异丙醇70:30 (体积/体积); 流速: 3ml/min; UV检测: 210nm]。

[1003] 实施例6A (对映体2):

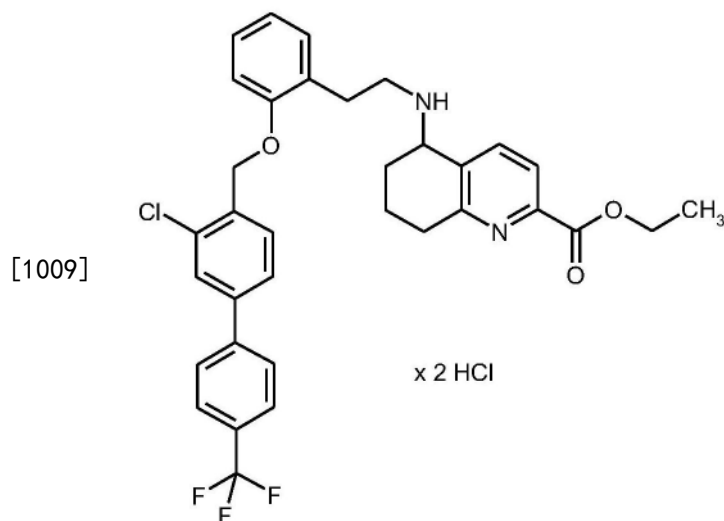
[1004] 产量: 6330mg

[1005] Rt=5.30min; 化学纯度>99%; >98% ee

[1006] [柱: Chiralpak OD-H, 5 μ m, 250mm x 4.6mm; 流动相: 二氧化碳/异丙醇70:30 (体积/体积); 流速: 3ml/min; UV检测: 210nm]。

[1007] 实施例7A

[1008] 5- {[2-(2- {[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸乙酯二盐酸盐(对映体1)

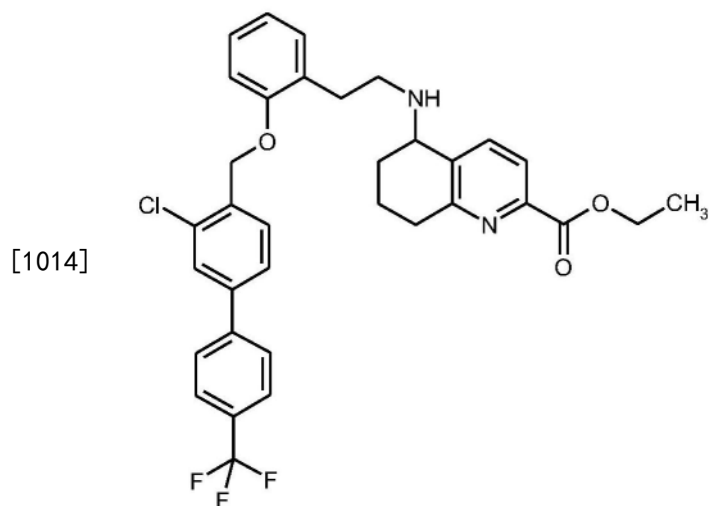


[1010] 将用另外2240ml的二噁烷稀释的3208ml在二噁烷中的4N氯化氢溶液添加到455g (641.56mmol)的5- {(叔丁氧基羰基) [2-(2- {[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸乙酯(对映体1,实施例1A)中,并将混合物在室温下搅拌过夜。然后将反应溶液浓缩至干并在高真空下将残余物干燥过夜。由此得到448.7g (641.59mmol,理论产量的约100%)的目标产物。

[1011] LC-MS(方法A): $R_t=1.06\text{min}$; $m/z=609/611(M+H)^+$ 。

[1012] 实施例8A

[1013] 5- {[2-(2- {[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸乙酯(对映体1)



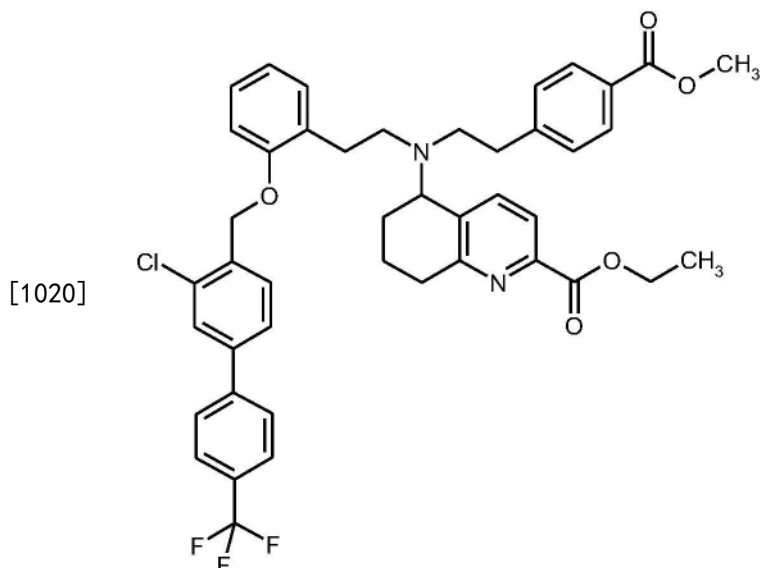
[1015] 将448.7g (641.59mmol)的5- {[2-(2- {[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸乙酯二盐酸盐(对映体1,实施例3A)溶解在6869ml的THF中,添加268ml的三乙胺,并将混合物在室温下搅拌1h。然后滤出沉淀的氯化三乙胺晶体并用THF洗涤。将获得的滤液蒸发至干。将残余物溶解在乙酸乙酯中,用10%浓度的氯化钠水溶液洗涤两次,经硫酸镁干燥,过滤并再次蒸发至干。由此得到391g (620.59mmol,理论产量的97%)的目标化合物。

[1016] LC-MS(方法A):Rt=1.08min;m/z=609/611(M+H)⁺。

[1017] ¹H-NMR(400MHz,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)。

[1018] 实施例9A

[1019] 5-([2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]{2-[4-(甲氧基羰基)苯基]乙基}氨基)-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸乙酯(对映体1)



[1021] 将378g(620.59mmol)的5-([2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]-甲氧基}苯基)乙基]氨基)-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸乙酯(对映体1,实施例4A)、360g(1241.19mmol)的4-(2-碘乙基)苯甲酸甲酯和98.66g(930.89mmol)的无水碳酸钠在8191ml无水乙腈中的悬浮液在110℃的浴温下搅拌过夜。然后另外添加360g(1241.19mmol)的4-(2-碘乙基)苯甲酸甲酯和128.65g(930.89mmol)的碳酸钾粉末,并将混合物再加热回流72h。冷却反应混合物后,滤出无机盐并将获得的滤液蒸发至干。将所得残余物溶解在乙酸乙酯中,用10%浓度的氯化钠水溶液洗清两次,经硫酸镁干燥,过滤,并且然后再次蒸发至干。将所获得的残余物分成两份在硅胶(9kg)上色谱纯化(流动相:石油醚/乙酸乙酯8:2→7:3)。由此得到397g(551.32mmol,理论产量的89%)的目标化合物。

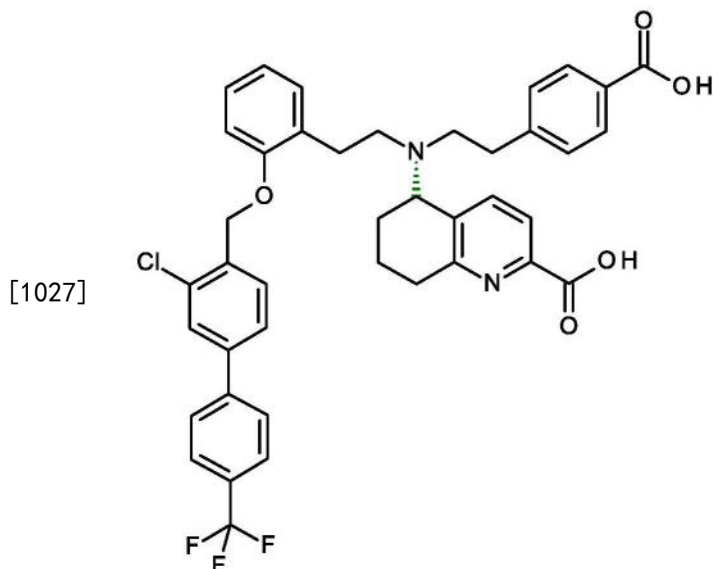
[1022] LC-MS(方法A):Rt=1.67min:m/z=771/773(M+H)⁺。

[1023] ¹H-NMR(400MHz,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)。

[1024] 比较实施例

[1025] 比较实施例11

[1026] (5S)-5-([2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯]-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基)-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸



[1028] 将2450mg (3.18mmol) 的(5S)-5-([2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)[联苯]-4-基]甲氧基}苯基)乙基){2-[4-(甲氧基羰基)苯基]乙基}氨基)-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸乙酯(实施例1A,对映体2)溶解在25ml的二噁烷中,添加9.5ml的1N氢氧化钠水溶液,并且然后将混合物在室温下搅拌过夜。反应完成后,在旋转蒸发器上去除二噁烷,并将剩余的混合物用约50ml的水稀释。然后使用乙酸将混合物酸化至pH 4-5。抽吸过滤出沉淀的固体并用水重复洗涤(总共约50ml的水)。然后将固体溶解在50ml水中并在室温下搅过夜。再次抽吸过滤后,再次用水洗涤固体,并且然后在40℃下高真空下干燥过夜。以此方式获得2300mg (2.9mmol, 93%纯度,含有未知量的单钠盐,具有相同的保留时间)的标题化合物。

[1029] LC-MS (方法A): $R_t = 1.37 \text{ min}; m/z = 729/731 (M+H)^+$ 。

[1030] $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO-d_6): 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, 约2H)。

[1031] XRPD: 无定形相, 参见图33

[1032] 经由VCD光谱法测定比较实施例11的绝对构型:

[1033] 振动圆二色性(VCD)是一种测定手性分子的绝对构型的既定方法(参见美国药典委员会(USP)和国家处方集(USP-NF), 第二增刊USP-NF 34, 第782章和1782, 2016年6月1和VCD的绝对构型, 白皮书BioTools, 2017)。

[1034] 涉及测定的步骤如下:

[1035] 1. 使用DMSO测量实验VCD光谱。测量实施例1的样品浓度为5.5mg/0.15ml。

[1036] 2. 对映体之一的VCD使用Gaussian09TM(可商购获得的软件包)利用从头记算法(ab initio calculations)计算。然后通过反转所有谱带的符号或计算镜像结构的VCD来获得另一个对映体的VCD光谱。

[1037] 3. 最后的步骤是实验光谱与两个计算光谱的比较, 以确定在符号与信号强度之间得到最佳相关性的对映体。可使用CompareVOATM软件计算两个此类光谱之间重叠的置信水平。

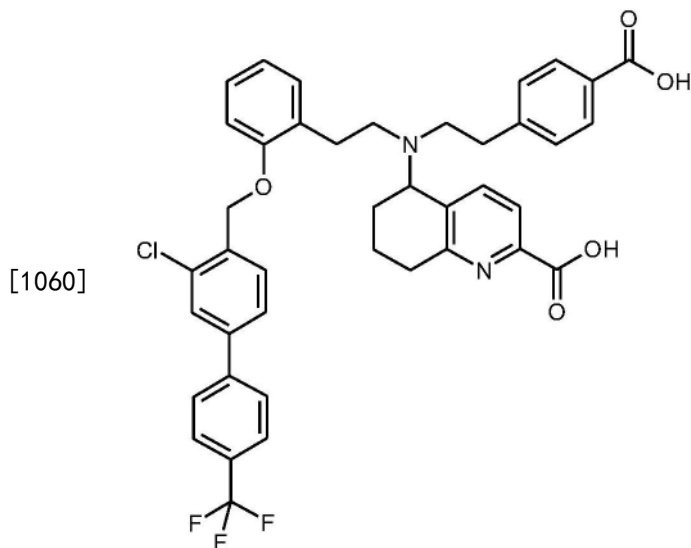
[1038] VCD光谱仪: ChiralIR-2X w/DualPEM

- [1039] 浓度:5.5mg/0.15mL的在DMSO中的实施例1
- [1040] 分辨率:4cm⁻¹
- [1041] PEM设定:1400cm⁻¹
- [1042] 扫描次数/测量时间:20小时
- [1043] 样品室:BaF₂
- [1044] 路径长度:100μm
- [1045] 计算细节:
- [1046] Gaussian版本:Gaussian 09
- [1047] 用于波兹曼总和(Boltzman sum)的总低能量构象异构体:92
- [1048] DFT计算的方法和基组:B3LYP/6-31G(d)
- [1049] 计算的绝对构型:S
- [1050] 基于VCD光谱的一致性,比较实施例11的绝对构型分配为(S)-对映体。分配的置信水平为94%。
- [1051] 测定比较实施例11的热稳定性:
- [1052] 将0.3mg的比较实施例11溶解在0.1ml二甲基亚砷和0.4ml乙腈中。然后添加1.0ml水。震荡HPLC小瓶并超声处理以便完全溶解。将此溶液立即通过HPLC分析(以t₀为参考)。称取0.3mg的测试化合物至另一个HPLC小瓶中。将小瓶加盖并在90℃的加热板块中储存7天。
- [1053] 此段时间过后,打开小瓶的盖子,并将0.1ml二甲基亚砷和0.4ml乙腈添加到受压化合物中。然后添加1.0ml水。震荡HPLC小瓶并超声处理以便完全溶解。通过HPLC分析样品(1周后的样品)。以百分比表示的峰面积用于量化。
- [1054] 表11:

HPLC-方法							
洗脱液:	A= 5 ml HClO ₄ /L 水 B= ACN			梯度:	时间 (min.)	%B	流速 (mL/ min.)
柱:	Nucleodur 100 C18ec 3μm 50*2mm				0,00	2,0	0,750
[1055] 温度:	30	°C			1,00	2,0	0,750
UV 波长:	210	nm			9,00	98,0	0,750
HPLC 流 量:	0,750	mL/min.			13,00	98,0	0,750
					13,50	2,0	0,750
					15,00	2,0	0,750

- [1056] 发现比较实施例11在测试期间是稳定的。
- [1057] 另外,W0 14/012934-A1中公开的数个实施例仅显示出有限的热稳定性(在90℃下,7天):例如实施例2(实验部分比较例实施例5),实施例24(实验部分比较例6),实施例25(实验部分比较例7),实施例28(实验部分比较例8),实施例29(实验部分比较例9)以及例如实施例31(实验部分比较实施例10)。
- [1058] 比较实施例12
- [1059] (5R)-5-{{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{{[3-氯-4'-(三氟甲基)[联苯]-4-基]甲

氧基)苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸(对映体1)



[1061] 将291g (377.29mmol)的5-([2-(2-([3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基)苯基)乙基]{2-[4-(甲氧基羰基)苯基]乙基}氨基)-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸乙酯(对映体1,实施例5A)溶解在3000ml的二噁烷中,添加1132ml的1N氢氧化钠水溶液并且然后将混合物在室温下搅拌过夜。反应完成后,在旋转蒸发器上去除二噁烷,并将剩余的混合物用约6000ml的水稀释。然后使用乙酸将混合物酸化至pH 4-5。抽吸过滤出沉淀的固体并用水重复洗涤(总共约3000ml水)。然后使用干燥剂五氧化二磷在室温下在高真空下将固体干燥3天。然后去除干燥剂并将固体在40℃下另外干燥48h。以此方式获得249g (342.15mmol,理论产量的91%)的标题化合物。

[1062] LC-MS(方法A): $R_t=1.33\text{min}; m/z=729/731(M+H)^+$ 。

[1063] $^1\text{H-NMR}(400\text{MHz}, \text{DMSO-}d_6): \delta[\text{ppm}] = 1.37-1.66(\text{m}, 2\text{H}), 1.84-2.05(\text{m}, 2\text{H}), 2.56-2.81(\text{m}, 10\text{H}), 3.98-4.08(\text{m}, 1\text{H}), 5.01-5.14(\text{m}, 2\text{H}), 6.87(\text{t}, 1\text{H}), 7.05(\text{d}, 2\text{H}), 7.12(\text{d}, 2\text{H}), 7.23(\text{t}, 1\text{H}), 7.39-7.47(\text{m}, 2\text{H}), 7.54(\text{d}, 1\text{H}), 7.62(\text{d}, 1\text{H}), 7.71-7.90(\text{m}, 7\text{H}), 11.60-13.85(\text{br. s}, \text{约}2\text{H})$ 。

[1064] 至于比较实施例11的绝对构型确定为(5S),而比较实施例12的对应绝对构型应为相反物,即(5R)。

[1065] 比较实施例13

[1066] (5R)-5-([2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-([3-氯-4'-(三氟甲基)联苯]-4-基)甲氧基)苯基)乙基]氨基)-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸单钠盐(对映体1)

[1067] 在容器中装入60g无定形(5R)-5-([2-(2-([3-氯-4'-(三氟甲基)联苯]-4-基)甲氧基)苯基)乙基]{2-[4-(甲氧基羰基)苯基]乙基}氨基)-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸酯(比较实施例12)和800g丙酮。将容器加热至回流温度。在冷却至室温后,将回流温度下所形成的固体过滤。

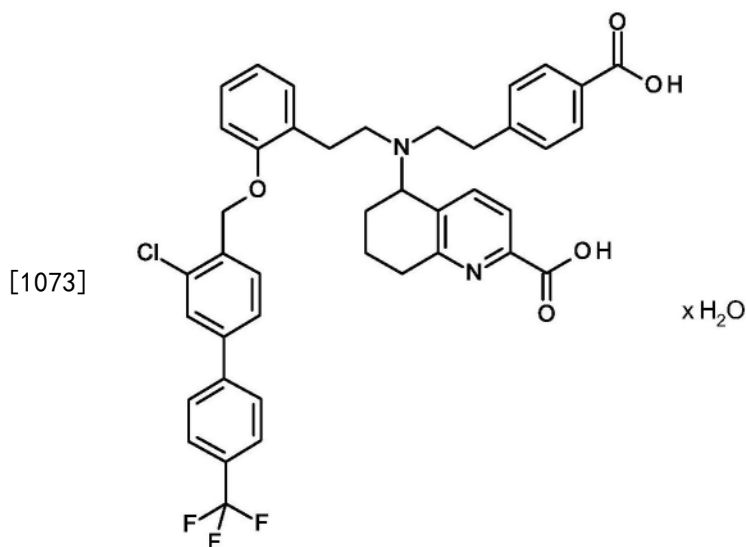
[1068] 产量:8g的干燥产物,理论产量的13%

[1069] 对映体纯度(HPLC方法C):100% ee

[1070] (ICP):钠含量:3,1% 钠

[1071] 比较实施例14

[1072] (5R)-5-{{2-(4-羧基苯基)乙基}[2-(2-{{3-氯-4'-(三氟甲基)[联苯]-4-基}甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸一水合物II(对映体1)



[1074] 将174.2g比较实施例12与2003.3g丙酮在回流下搅拌。将混合物冷却至20℃并滤出不溶性固体(干燥后19.5g)。将273g丙酮添加到滤液中,将其加热至57℃,并添加1101.4g水和0.4g一水合物II,R对映体的种晶(由类似于本程序的小规模预实验制备)。另外添加1101.4g水,并将其在室温下搅拌过夜。滤出产物并在55℃下真空(30mbar)干燥至143.8g。

[1075] 由根据相同程序制备的21.0g比较实施例12另外获得20.3g。

[1076] 将固体合并为164.1g,并将161.0g的这些固体与1993.0g丙酮在回流下搅拌。在此温度下,添加930.0g水和0.8g一水合物II,R对映体的种晶(由类似于本程序的小规模预实验制备)并将其冷却至50℃。另外添加200.0g水和400.0g丙酮以改善可搅拌性。将其在50℃下搅拌1h,添加1263.0g水,将其搅拌30min,在2h内冷却至20℃并在室温下搅拌过夜。滤出产物并在55℃下真空(30mbar)干燥至154.4g。

[1077] 将一部分固体(95.0g)在40℃下溶解在916.7g丙酮中,冷却至室温并将溶液过滤澄清。添加170.1g水,30min后添加一水合物II,R对映体的种晶(由类似于本程序的小规模预实验制备)并搅拌过夜。将稀悬浮液加热至50℃,将所得溶液冷却至室温,接种一水合物II,R对映体的种晶(由类似于本程序的小规模预实验制备)并搅拌过夜。滤出固体,用76.0g丙酮和19.0g水(8:2)的混合物洗涤并抽吸干燥至68.4g。

[1078] 将滤液在40℃/250至15mbar下浓缩并滤出沉淀的固体。在55℃下将28.2g固体溶解在157.2g丙酮水混合物中(9:1w/w),冷却至15℃。添加10g水后,将其接种一水合物II,R对映体的种晶(由类似于本程序的小规模预实验制备),并在15℃下搅拌过夜。将悬浮液加热至50℃,搅拌30min并在4h内冷却至20℃。在1h内再次加热至50℃,于4.5h内冷却至15℃,并在15℃下搅拌过夜。滤出固体,用28g的丙酮水(8:2w/w)混合物洗涤并抽吸干燥至20.6g。

[1079] 将固体合并为87.0g的目标化合物。

[1080] 对映体纯度(HPLC方法C):99.8%ee

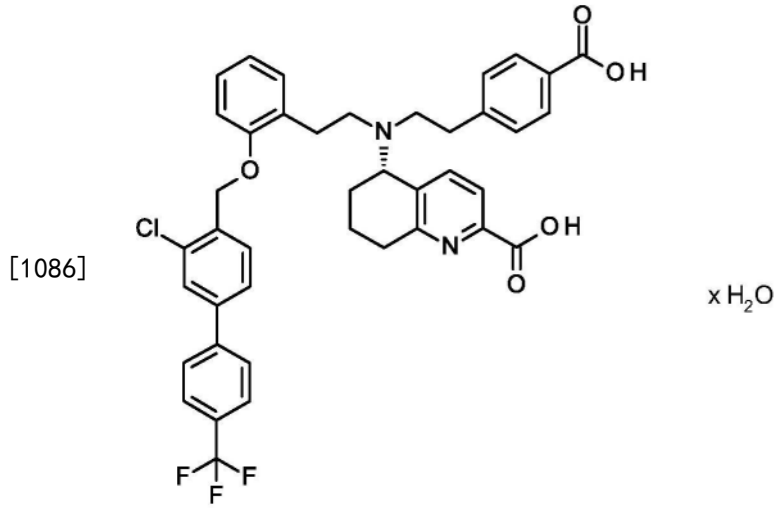
[1081] 纯度(方法M,面积):99.7%,R_f 9.33min

[1082] XRPD:一水合物II

[1083] 实施例

[1084] 实施例1

[1085] (5S) - {[2- (4-羧基苯基) 乙基] [2- (2- {[3-氯-4'- (三氟甲基) 联苯-4-基] 甲氧基} - 苯基) - 乙基] 氨基} - 5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸一水合物II (种晶)



[1087] 将2.0g的式(I)的(5S) - {[2- (4-羧基苯基) 乙基] [2- (2- {[3-氯-4'- (三氟甲基) 联苯-4-基] 甲氧基} 苯基) - 乙基] 氨基} - 5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸(与比较实施例11类似地制造)溶解在16.2g丙酮和1.8g水(8:1混合物),再添加1.8g水。将澄清溶液搅拌过夜并在1.5h后开始结晶。抽吸过滤出固体,用2g丙酮/水(8:2)洗涤并在60℃下用氮气真空干燥过夜:

[1088] 产量:1.5g的白色固体,理论产量的75%

[1089] XRPD:一水合物II,X射线粉末衍射图示于图34中

[1090]

反射(峰最大值)[°2θ]
5.7
6.1
7.1
8.5
9.4
9.9
10.2
10.8
11.4
11.6
11.7
12.2
12.7
13.0

[1091]

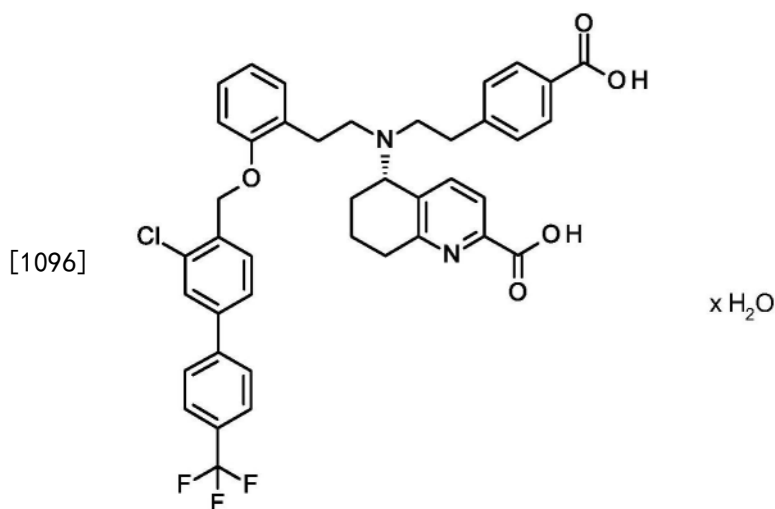
13.9
14.2
14.5
15.1
15.3
15.7
15.9
16.1
16.4
17.1
17.3
17.7
17.9
18.3
18.5
18.7
19.1
19.7
19.8
20.2
20.4
20.8
21.1
21.2
21.6
22.0
22.3
22.8
23.0
23.4
23.8
24.2
24.4
24.4
25.1
25.5
26.2
26.4
27.1
27.4
27.7
28.0
28.5
28.9
29.2
29.5
29.7
30.0

	30.4
	30.6
	31.2
[1092]	31.6
	32.2
	32.4
	32.8

[1093] 实施例2

[1094] (5S) - {[2- (4-羧基苯基) 乙基] [2- (2- {[3-氯-4' - (三氟甲基) 联苯-4-基] 甲氧基} 苯基) 乙基] 氨基} -5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸, 呈一水合物II

[1095] (路线3, 从丙酮、甲醇和水结晶)



[1097] 将1067g的四氢喹啉置于6L玻璃搅拌装置中并在搅拌下分批添加333g (0.396mol) 的萘-1,5-二磺酸-丁基(5S)-5-({2-[4-(丁氧基羰基)苯基]乙基}[2-(2- {[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯]-4-基}甲氧基)苯基]乙基)氨基)-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸酯(1:1)加合物(实施例4A)。在20℃至25℃下添加1335ml水,并且然后添加氨水(27%),直至达到7.8至8.2的pH(大约46g)。添加1440g异丙醚,分离出水相,用1335ml水/1ml 27%氨水再次洗涤有机相并且然后用1335ml水洗涤。将有机相通过覆盖200g硫酸钠(无水)的Seitz滤板过滤,用以200g异丙醚冲洗,并将滤液在40℃下真空浓缩以得到267g的蒸发残余物。

[1098] 将蒸发后的残余物溶解在848g二噁烷中,添加1583g的1N氢氧化钠溶液并将混合物在60℃下搅拌5.5h。然后在20℃下添加1480g乙酸乙酯,分离出水性产物项(二钠盐溶液),用1480g乙酸乙酯洗涤,并在最高40℃下真空蒸馏出残余的乙酸乙酯。将残余物用2500g水稀释,并将一部分的二钠盐溶液(1178g)逐滴添加到1095g的四氢喹啉和137g 10%的盐酸的混合物中,直至达到4.0的pH。

[1099] 二钠盐溶液的消耗量根据提交的盐酸量而设定,并计算用于另外部分量转化的盐酸量。将第二份二钠盐溶液(1789g)逐滴添加到计算量的四氢喹啉(1789g)和10%浓度的盐酸(208g)中,直至达到4.0的pH。

[1100] 将第三份二钠盐溶液(1510g)逐滴添加到计算量的四氢喹啉(1505g)和10%浓度的盐酸(175g)中,直至达到4.0的pH。

[1101] 将合并的有机相在最高40℃下真空浓缩,直到无溶剂的水凝结于回流冷凝器上。

抽吸过滤出沉淀的固体并用750g的水洗涤。

[1102] 使用相同的程序,根据上述程序转化第二和第三部分各333g的萘-1,5-二磺酸-丁基(5S)-5-({2-[4-(丁氧基羰基)苯基]乙基}[2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)[联苯]-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基)-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸酯(1:1)加合物(实施例4A)。

[1103] 将合并的湿产物于60°C下在氮气流中在真空下干燥以得到587g(理论产量的约91%)的式I的目标化合物。

[1104] 结晶:

[1105] 将固体(587g)与3674g丙酮和470g水的混合物加热至50°C。将所获得的溶液通过Seitz滤板过滤并加热至40°C。将滤液与1.5g的(5S)-5-{{2-(4-羧基苯基)乙基}[2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)[联苯]-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基)-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸一水合物II(实施例1)的种晶混合,在2h内冷却至20°C,搅拌0.5h并于2h内再次加热至50°C。将混合物搅拌0.5h,于3h内冷却至20°C,搅拌0.5h并在2h内再次加热至50°C。在3h内将其冷却至20°C,搅拌0.5h并抽吸过滤出固体。用800g丙酮和90g水的混合物洗涤湿产物,并于25°C下在氮气流中于真空下干燥至361g的恒重。

[1106] 质量的过程中控制和所收到产物的变体不符合要求。因此,再次重结晶。

[1107] 将固体(361g)与1949g丙酮和217g水的混合物加热至50°C。将获得的溶液通过Seitz滤板过滤并加热至50°C。将其与1.5g的(5S)-5-{{2-(4-羧基苯基)乙基}[2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)[联苯]-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基)-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸一水合物II(实施例1)的种晶混合,在3h内冷却至20°C,搅拌0.5h并于3h内再次加热至50°C。将混合物搅拌0.5h,于3h内冷却至20°C,搅拌0.5h并在3h内再次加热至50°C。在3h内将其冷却至20°C,搅拌0.5h并抽吸过滤出固体。将湿产物于25°C下在氮气流中于真空下干燥至271g的恒重。

[1108] 过程中控制确认了足够的质量,但并非所获得产物的期望的变体。因此,再次重结晶。

[1109] 将固体(271g)与1668g丙酮和75g水的混合物加热至50°C。将获得的溶液通过Seitz滤板过滤并加热至50°C。将其冷却至45°C,与1.5g的(5S)-5-{{2-(4-羧基苯基)乙基}[2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)[联苯]-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基)-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸一水合物II(实施例1)的种晶混合,在3h内冷却至20°C,搅拌0.5h并于1小时内加热至40°C。将悬浮液搅拌0.5h,于3h内冷却至20°C并搅拌,并且抽吸过滤出固体。将湿产物于25°C下在氮气流中于真空下干燥至恒重。

[1110] 过程中控制确认了足够的质量,并且产物的变体符合要求。

[1111] 产量:117g一水合物II;理论产量的18%

[1112] 对映体纯度(HPLC方法C):99.6%ee

[1113] 纯度(面积):99.8%(方法M,Rt 9.33min)

[1114] XRPD:一水合物II,X射线粉末衍射图示于图35中

[1115] 微粉化后:

[1116] 对映体纯度(HPLC方法C):100.0%ee

[1117] 纯度(面积):99.7%(方法M,Rt 9.35min)

[1118] XRPD:具有部分无定形化的一水合物II,X射线粉末衍射图示于图36中。

[1119] 微粉化前的一水合物II:参见图35

[1120]

反射(峰最大值)[°2θ]
5.7
6.1
6.3
7.1
8.5
9.9
10.1
10.2
10.8
11.4
11.6
11.8
12.2
12.7
13.0
13.9
14.3
14.5
15.1
15.3
15.7
15.9
16.2
16.4
17.1

	17.3
	17.7
	17.9
	18.3
	18.5
	18.8
	19.2
	19.8
	20.3
	20.5
	20.8
	21.1
	21.3
	21.6
	22.0
	22.4
	22.8
	23.1
	23.3
	23.5
	23.8
	24.2
	24.5
[1121]	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
[1122]	35.3
	36.3

[1123] 微粉化后的一水合物II (部分无定形化), 图36

反射(峰最大值)[°2 θ]
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

[1124]

[1125]	25.6
	26.3
	27.1
	27.5
	28.9
	29.5
	30.6
	32.4

[1126] 实施例3

[1127] (5S) - {[2- (4-羧基苯基) 乙基] [2- (2- {[3-氯-4' - (三氟甲基) 联苯-4-基] 甲氧基) - 苯基) - 乙基] 氨基} - 5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸一水合物I (种晶)

[1128] 将2.0g式(I)的(5S) - {[2- (4-羧基苯基) 乙基] [2- (2- {[3-氯-4' - (三氟甲基) 联苯-4-基] 甲氧基) 苯基) 乙基] 氨基} - 5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸(与比较实施例11类似地制造)溶解在8.1g甲醇和1.8g水中,添加8.1g丙酮和另外1.8g水。搅拌过夜。抽吸过滤出固体,用2g丙酮/水(8:2)洗涤并在60°C下用氮气真空干燥过夜。

[1129] 产量:1.8g的白色固体,理论产量的90%

[1130] 对映体纯度(HPLC方法C):92.0% ee

[1131] 纯度(面积):97.3% (方法M, Rt 8.94min)

[1132] XRPD:一水合物I,参见图37

反射(峰最大值)[°2θ]	
[1133]	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
[1134]	23.4
	23.8
	24.2
	24.5
	25.0
	25.7
	26.0
	26.4
	28.8
	29.1
	30.5
	32.1

[1135] 实施例4

[1136] (5S) - {[2- (4-羧基苯基) 乙基] [2- (2- {[3-氯-4'- (三氟甲基) 联苯-4-基] 甲氧基} 苯基) 乙基] 氨基} -5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸, 呈一水合物I

[1137] 从NSA盐释放二丁酯:

[1138] 将800g的四氢呋喃置于6L玻璃搅拌装置并在搅拌下分批添加250g (0.30mol) 的萘-1,5-二磺酸-丁基-(5S)-5-({2-[4-(丁氧基羰基) 苯基] 乙基} [2-(2-{[3-氯-4'- (三氟甲基) 联苯]-4-基] 甲氧基} 苯基) 乙基] 氨基) -5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸酯(1:1) (实施例4A)。在20°C至25°C下添加1L水并且然后添加27%的氨水, 直至达到7.8至8.2的pH(约27g)。添加1080g异丙醚, 分离出水相, 将有机相再次用1L水/0.8ml 27%氨水萃取, 并且然后用1L水洗涤。将有机相通过覆盖150g硫酸钠(无水)的Seitz滤板过滤, 用150g异丙醚冲洗, 并将滤液在40°C下真空浓缩至192g蒸发残余物。

[1139] 二丁酯的皂化:

[1140] 将蒸发残余物溶解在610g的四氢呋喃中, 添加1139g的1N氢氧化钠溶液, 并将混合物在60°C下搅拌24h。然后在20°C下添加875g的乙酸乙酯, 分离出水性产物相(二钠盐溶液) 并在最高40°C下真空蒸馏出残余的乙酸乙酯。

[1141] 形成式I的游离酸:

[1142] 将残余物用1875g水稀释, 通过Seitz滤板过滤, 并将一部分二钠盐溶液(835g) 逐滴添加到821g四氢呋喃和103g 10%盐酸的混合物中直至达到4.0的pH值。添加174g氯化钠和420g四氢呋喃并分离出有机产物相。

[1143] 二钠盐溶液的消耗量与提交的盐酸量有关, 并计算用于另外部分量转化的盐酸

量。将第二份二钠盐溶液(2000g)逐滴添加到计算量的四氢呋喃(2116g)和10%浓度的盐酸(246g)中,直至达到4.0的pH。添加174g的氯化钠和420g的四氢呋喃并分离出有机产物相。在合并的水相中添加261g的氯化钠和1043g的四氢呋喃并分离出有机产物相。将合并的有机相在最高40°C下真空浓缩至800ml的残余体积。

[1144] 结晶:

[1145] 添加184g的四氢呋喃并在20°C下搅拌下逐滴添加646g的甲醇和291g的水的混合物。将其与0.8g的(5S)-5-{{2-(4-羧基苯基)乙基}[2-(2-{{3-氯-4'-(三氟甲基)[联苯]-4-基}甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸一水合物I(实施例3)混合并搅拌12h。将固体分离并用112g甲醇和112g水的混合物洗涤。然后将固体在20°C下真空干燥至127g。使用相同的程序制备第二部分128g。

[1146] 将合并的固体与1020g的丙酮和1020g的甲醇的混合物加热至50°C,并冷却至20°C。将获得的溶液通过Seitz过滤板过滤,加热至50°C并在30min内逐滴添加460g的水。接种1.5g的一水合物I的种晶(实施例3),搅拌30min,在至少30min内冷却至20°C,并抽吸过滤出固体。将湿产物与2550g水一起搅拌12h,然后抽吸过滤并用510g的水洗涤两次。将湿产物于20°C下在氮气流中在真空下干燥至恒重。

[1147] 产量:230g一水合物I,(I-M-I);理论产量的71%

[1148] 纯度(面积):96.0%(方法M, R_t 8.94min)

[1149] 对映体纯度(HPLC方法C):99.3%ee

[1150] XRPD:一水合物形式I;参见图38

[1151]

反射(峰最大值)[°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
[1152]	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

[1153] 实施例5

[1154] (5S) - {[2- (4-羧基苯基) 乙基] [2- (2- {[3-氯-4' - (三氟甲基) 联苯-4-基] 甲氧基} 苯基) 乙基] 氨基} -5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸, 呈一水合物I

[1155] 在惰化的2L反应器中, 将(5S) -5- ({2-[4-(丁氧基羰基) 苯基] 乙基} [2-(2-羟苯基) 乙基] 氨基) -5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸丁酯(WO2021/233783的实施例2A) 在T护套=22°C (50.8g, 1.0eq.) 下溶解在乙腈(380mL) 中。在T护套=50°C和120mbar下蒸馏溶液。然后再次添加乙腈(380ml) 并在相同条件下再次蒸馏混合物。将乙腈(660mL) 添加到溶液中并搅拌5min。然后添加4-(溴甲基)-3-氯-4'-(三氟甲基)[联苯](二芳基苯甲基溴)(53.5g, 1.2eq.) 并将混合物再次搅拌5min直至其溶解。然后添加碳酸铯(83.1g, 2.0eq.) 并将混合物搅拌4h。再次将碳酸铯(20.8g, 0.5eq.) 添加到悬浮液中并将混合物搅拌1h。将产物悬浮液通过过滤来澄清并将滤饼在釜内用乙腈(110mL) 洗涤一次。将滤饼丢弃。

[1156] 在90mbar和T护套=45°C下, 将有机反应溶液在惰化2L反应器中浓缩, 直到蒸馏物干涸。当T护套=23°C时, 添加THF(425mL)。在150mbar和T护套=45°C下将溶液浓缩, 直到蒸馏物干涸。将THF(425mL) 和4% NaOH(680mL) 添加到溶液中。将乳液加热至T内部=60°C并另外搅拌20小时。

[1157] 将溶液冷却至T内部=23°C, 并添加去离子水(800ml) 和乙酸乙酯(435ml), 并且将混合物搅拌15min。分离各相。将有机相丢弃并用乙酸乙酯(435mL) 萃取水相。丢弃有机相并在140-160mbar和T护套=45-40°C至T内部=36°C下蒸馏水相。将产物溶液通过过滤来澄清

并用去离子水(80mL)洗涤滤饼一次。将残余物丢弃。

[1158] 滴定产物溶液。出于此目的,将25% HCl、去离子水和THF置于惰化4升反应器中。在T内部=20°C±5°C下添加有机产物溶液直至pH 3.8-4.2。然后添加THF(360mL)和氯化钠(471g)并将混合物搅拌30min。分离各相并用THF(450mL)萃取水相。丢弃水相并将有机相结晶。出于此目的,将其在200mbar和 $\Delta T=30^\circ\text{C}$ 下浓缩至汇集质量(sump mass)。然后添加THF并在相同条件下将混合物再次蒸馏至理论产量的4倍。在T内部=22°C下,计量加入去离子水(49mL, 49g)和甲醇(144mL, 114g)的混合物,接种并搅拌15min。另外计量加入去离子水(113mL, 113g)和甲醇(335mL, 265g)的混合物并将混合物搅拌过夜。将悬浮液过滤并将产物在釜内用去离子水和甲醇的混合物(1:1)洗涤一次。然后将其在40-50°C和40至30mbar下干燥。

[1159] 产量:23.4g,理论产量的67%

[1160] 纯度(面积):99.3%(新方法M, Rt 6.28)

[1161] XRPD:一水合物I,参见图39

[1162] 实施例6

[1163] 探究式I的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸的结晶/多晶形式研究

[1164] 实施例6a

[1165] (5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸半水合物

[1166] 将2.9g(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸一水合物I(与实施例3/4类似地制备的物质)悬浮于20ml的丙酮中。在环境条件下将悬浮液搅拌三天。过滤残余物并将所得固体在环境条件下干燥。

[1167] 水含量:1.5%水

[1168] 拉曼:参见表13,参见图12

[1169] IR:参见表14,参见图19

[1170] XRPD:参见表12,参见图5

[1171] 实施例6b

[1172] (5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸一水合物I

[1173] 与实施例3类似地制备目标化合物(一水合物I)。

[1174] 水含量:干燥前3.9%,以及干燥后2.4%

[1175] 拉曼:参见表13,参见图13

[1176] IR:参见表14,参见图20

[1177] XRPD:参见表12,参见图6

[1178] 实施例6c

[1179] (5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}-苯基)-乙基]氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸一水合物II

[1180] 与实施例1类似地制备目标化合物(一水合物II)。

- [1181] 水含量:干燥前3.9%,以及干燥后2.4%
- [1182] 拉曼:参见表13,参见图14
- [1183] IR:参见表14,参见图21
- [1184] XRPD:参见表12,参见图7
- [1185] 实施例6d
- [1186] (5S) - {[2- (4-羧基苯基) 乙基] [2- (2- {[3-氯-4' - (三氟甲基) 联苯-4-基] 甲氧基} 苯基) 乙基] 氨基} -5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸1.25水合物
- [1187] 将3g (5S) - {[2- (4-羧基苯基) 乙基] [2- (2- {[3-氯-4' - (三氟甲基) 联苯-4-基] 甲氧基} 苯基) 乙基] 氨基} -5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸一水合物I (与实施例3/4类似地制备的物质) 悬浮于20mL的异丙醇/水混合物(1:1)中。将悬浮液在60℃下搅拌八天。将残余物过滤并将所得固体在环境条件下干燥。
- [1188] 水含量:2.9%水
- [1189] 拉曼:参见表13,参见图15
- [1190] IR:参见表14,参见图22
- [1191] XRPD:参见表12,参见图8
- [1192] 实施例6e
- [1193] (5S) - {[2- (4-羧基苯基) 乙基] [2- (2- {[3-氯-4' - (三氟甲基) 联苯-4-基] 甲氧基} 苯基) 乙基] 氨基} -5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸倍半水合物
- [1194] 将3g (5S) - {[2- (4-羧基苯基) 乙基] [2- (2- {[3-氯-4' - (三氟甲基) 联苯-4-基] 甲氧基} 苯基) 乙基] 氨基} -5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸一水合物I (与实施例3/4类似地制备的物质) 悬浮于15mL的异丙醇/水混合物(1:1)中。将悬浮液在80℃下搅拌四周。添加另外10mL的溶剂混合物以改善悬浮液的搅拌性质。将残余物过滤并将所得固体在环境条件下干燥。
- [1195] 水含量:3.7%水
- [1196] 拉曼:参见表13,参见图16
- [1197] IR:参见表14,参见图23
- [1198] XRPD:参见表12,参见图9
- [1199] 实施例6f
- [1200] (5S) - {[2- (4-羧基苯基) 乙基] [2- (2- {[3-氯-4' - (三氟甲基) 联苯-4-基] 甲氧基} 苯基) 乙基] 氨基} -5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸二水合物
- [1201] 将3g (5S) - {[2- (4-羧基苯基) 乙基] [2- (2- {[3-氯-4' - (三氟甲基) 联苯-4-基] 甲氧基} 苯基) 乙基] 氨基} -5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸一水合物I (与实施例3/4类似地制备的物质) 悬浮于20mL的甲醇中。将悬浮液在环境条件下搅拌八天。将残余物过滤并将所得固体在环境条件下干燥。
- [1202] 水含量:4.8%水
- [1203] 拉曼:参见表13,参见图17
- [1204] IR:参见表14,参见图24
- [1205] XRPD:参见表12,参见图10
- [1206] 干燥后二水合物形式变为无定形。
- [1207] XRPD:无定形形式,参见图10a

[1208] 实施例6g

[1209] (5S) - {[2- (4-羧基苯基) 乙基] [2- (2- {[3-氯-4' - (三氟甲基) 联苯-4-基] 甲氧基} 苯基) 乙基] 氨基} -5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸

[1210] 与比较实施例11类似地制备无定形形式。

[1211] 拉曼:参见表13,参见图18

[1212] IR:参见表14,参见图25

[1213] XRPD:参见表12,参见图11

[1214] 式(I)的(5S) - {[2- (4-羧基苯基) 乙基] [2- (2- {[3-氯-4' - (三氟甲基) 联苯-4-基] 甲氧基} 苯基) 乙基] 氨基} -5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸的多晶形形式的物理表征

[1215] 表12:式(I)化合物的假多晶形形式的XRPD(X射线粉末衍射)数据

[1216] XRPD根据标题方法下所描述的一般程序来记录。

[1217] 表12:

反射(峰最大值)[2θ]						
[1218]	半水合物	一水合物 I	一水合物 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

[1219]

反射(峰最大值)[20]					
半水合物	一水合物 I	一水合物 II	1,25-水合物	倍半水合物	二水合物
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
	23.4	23.4	24.0	26.4	28.7

反射(峰最大值)[2θ]					
半水合物	一水合物 I	一水合物 II	1,25-水合物	倍半水合物	二水合物
	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			

[1220]

[1221] 表13:式(I)化合物的假多晶形形式的拉曼数据

[1222] 拉曼光谱根据标题方法下所描述的一般程序来记录。

谱带[峰最大值, cm-1]						
半水合物	一水合物 I	一水合物 II	1,25-水合物	倍半水合物	二水合物	无定形形
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

[1223]

[1224]

谱带[峰最大值, cm-1]						
半水合物	一水合物 I	一水合物 II	1,25-水合物	倍半水合物	二水合物	无定形形
1452	1420	1451	1459	2736	1497	1489
1423	1384	1441	1449	1690	1460	1450
1372	1374	1420	1439	1616	1454	1372
1349	1328	1384	1430	1530	1443	1326
1329	1293	1372	1381	1463	1433	1279
1294	1278	1328	1369	1453	1422	1263
1283	1259	1294	1327	1440	1384	1231
1269	1228	1279	1283	1421	1372	1205
1260	1191	1259	1258	1370	1332	1194
1229	1162	1228	1233	1330	1296	1162
1207	1153	1196	1197	1291	1282	1126
1196	1128	1162	1166	1274	1259	1072
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	

谱带[峰最大值, cm-1]						
半水合物	一水合物 I	一水合物 II	1,25-水合物	倍半水合物	二水合物	无定形形
	410	357	441	701	637	
	393	323	421	693	601	
	359	302	403	678	571	
	323	281	333	656	465	
	301	233	316	634	438	
	281	208	297	491	422	
	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		

[1225] 表14: 式 (I) 化合物的假多晶形形式的IR数据

[1227] IR光谱根据标题方法下所描述的一般程序来记录。

谱带[峰最大值, cm-1]						
半水合物	一水合物 I	一水合物 II	1,25-水合物	倍半水合物	二水合物	无定形形
	3660	3659	3426	3516	3395	3405
	3416	3416	3044	3404	3197	3036
	3038	3039	2921	3073	3037	2941
	2933	2934	2854	2939	2938	2864
	2863	2892	2832	2922	2865	2644
	2809	2862	2650	2895	2646	1701

[1229]

谱带[峰最大值, cm-1]						
半水合物	一水合物 I	一水合物 II	1,25-水合物	倍半水合物	二水合物	无定形形
1640	2644	2809	1767	2876	1684	1685
1590	1761	2733	1692	2854	1597	1599
1558	1678	2647	1602	2815	1558	1559
1528	1595	1762	1511	2733	1539	1494
1495	1539	1679	1497	2650	1497	1453
1452	1498	1595	1448	1683	1453	1419
1418	1454	1539	1429	1668	1431	1371
1373	1419	1498	1376	1607	1419	1325
1325	1375	1454	1325	1594	1376	1272
1293	1327	1431	1275	1559	1327	1238
1241	1292	1419	1237	1533	1270	1166
1166	1272	1375	1178	1503	1241	1112
1112	1242	1327	1158	1450	1167	1072
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		

谱带[峰最大值, cm-1]						
半水合物	一水合物 I	一水合物 II	1,25-水合物	倍半水合物	二水合物	无定形
		558		700		
				692		
[1230]				655		
				640		
				632		
				606		
				566		
				559		

[1231] B-假多晶形形式的性质

[1232] 实施例7

[1233] 式(I)的[(5S)-{2-(4-羧基苯基)乙基}[2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基]-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸的假多晶形形式,例如式(I-M-II)的一水合物II的性质

[1234] 储存稳定性

[1235] 化合物的稳定性和均匀性是药物的关键要求以及取得卫生当局批准的先决条件。其增加了包含式(I)化合物的制备物和制剂的安全性和质量,从而降低了对患者的风险。

[1236] 使用呈一水合物II的形式的式(I)的(5S)-{2-(4-羧基苯基)乙基}[2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基]-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸在各种条件下进行储存稳定性研究持续一个月、三个月和六个月:

[1237] 表15:储存稳定性研究结果,一水合物II

实施例	容器	温度	相对湿度	结果
[1238] 7a	按扣盖棕色玻璃	25°C	60%	一水合物 II
7b	聚乙烯	25°C	60%	一水合物 I
7c	聚乙烯	40°C	75%	一水合物 I
[1239] 7d	用纸质滤盘封盖的棕色玻璃	40°C	75%	一水合物 I

[1240] 在大多数这些储存条件下,一水合物II(起始物质,参见图40)经历了转化为水合物I(参见例如图41:实施例7b,XRPD)。

[1241] 相比之下,式(I-M-I)的一水合物I在这些条件下是稳定的。

[1242] 具体地说,式(I)化合物的一水合物I确保防止不期望的转化为另一种形式的式(I)化合物以及如上所述的性质上的相关变化。

[1243] 实施例8

[1244] 式(I)的[(5S)-{2-(4-羧基苯基)乙基}[2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]氨基]-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸的假多晶形形式,例如式(I-M-II)的一水合物II的性质

[1245] 微粉化

[1246] 对于吸入性药物产品,重要的是保证具有限定粒度 $<5\mu\text{m}$ 的均质药物物质以确保递送至深肺部隔室。此技术要求可通过药物物质颗粒的微粉化来满足。

[1247] 达到此要求的活性成分的粒度分布的适当规格如表16a中所指定来设定。

[1248] 表16a:活性化合物,例如式(I-M-I)或(I-M-II)的化合物的粒度分布

[1249]	粒度上限X90	最大 $6\mu\text{m}$
	粒度平均值X50	1- $3\mu\text{m}$
	粒度下限X10	最大 $1\mu\text{m}$

[1250] 为了研究式(I-M-II)的一水合物II用于药物产品制造的可行性,测试了数种微粉化条件。在必要的微粉化步骤期间,一般不应发生无定形化即使是部分无定形化或形式转化。甚至微粉化过程中的部分无定形化也可能导致活性成分和/或后来在储存期间最终药物产品中活性成分重结晶的风险。

[1251] 使用50mm螺旋气流粉碎机和加压氮气将对应批次(实施例8a-8d)微粉化,参数如下(参见表16b)。

[1252] 表16b:不同微粉化条件,一水合物II作为起始物质

[1253]

实施例	粉碎机类型	温度	喷射器压力	研磨压力	生产量	PSD	观察结果
8a	VA 气流粉碎机	25°C	4.5 bar	4.0 bar	4.5 g/min	X10: 0.4 μm , X50: 1.7 μm , X90: 4.2 μm (干法测量 4 bar)	转变为一水合物 I
8b	涂覆 PTFE 气流粉碎机	25°C	4.5 bar	4.0 bar	4.5 g/min	X10: 0.7 μm , X50: 1.9 μm , X90: 5.0 μm (干法测量 4 bar)	部分无定形化的一水合物 II
8c	VA 气流粉碎机	-65°C	4.5 bar	4.0 bar	5.5 g/min	X10: 0.4 μm , X50: 1.8 μm , X90: 4.8 μm (干法测量 4 bar)	部分无定形化的一水合物 II
8d	VA 气流粉碎机(低压条件)	-65°C	4.5 bar	3.0 bar	10.6 g/min	X10: 0.5 μm , X50: 2.3 μm , X90: 9.6 μm (干法测量 4 bar)	部分无定形化的一水合物 II

[1254] 首先在标准条件下(VA气流粉碎机(50mm),温度25°C)在定向实验期间发现,一水合物II基本上可微粉化而获得期望的粒度分布(参见表16a和16b,实施例8a)。

[1255] 在式(I-M-II)的一水合物II微粉化期间,部分无定形化在几种条件下发生,甚至在“低压力”下(参见上表16b和图42,XRPD)。

[1256] XRPD:具有部分无定形化的一水合物II,实施例8b

[1257] 另外发现,除了部分无定形化之外,在VA气流粉碎机(直径50mm),25°C的微粉化下,也发生从一水合物II转变为一水合物I(参见表16b,实施例8a和图43,XRPD)。

[1258] 由于所有的研究条件都显示形式转变为形式I或部分无定形化的形式II,因此进一步研究一水合物I以检查一水合物I用于可靠药物制造的可行性。

[1259] 使用100mm螺旋气流粉碎机和的加压氮气将对应批次微粉化,参数如下(参见表16c)。

[1260] 表16c:大批量微粉化条件,一水合物I作为起始物质

实施例	粉碎机类型	温度	喷射器压力	研磨压力[bar]	生产量	PSD	观察
8e	涂覆PTFE气流粉碎机	25°C	5 bar	4.5 bar	22.8 g/min	X10: 0.7 μm, X50: 2.1 μm, X90: 6.1 μm (干法测量 4 bar)	一水合物 I
[1261] 8f	PTFE气流粉碎机 1	65°C	5 bar	4.0 bar	23 to 28 g/min	X10: 0.6 μm, X50: 2.4 μm, X90: 6.3 μm (干法测量 3 bar, N=3)	一水合物 I
8g	VA (不锈钢)气流粉碎机	25°C	6 bar	4,5 bar	8,5 g/min	X10: 0,5 μm, X50: 1.8 μm, X90: 3.9 μm (干法测量 3 bar)	一水合物 I
[1262]							

[1263] 上表中引用的所有测量结果均通过使用压缩空气以干法分散的激光衍射获得。在含有表面活性剂的水悬浮液中测量可能导致较小的粒度 (x90最多小1μm)。

[1264] 相比之下,式(I-M-I)的一水合物I在微粉化条件下是稳定的。

[1265] XRPD:一水合物形式I;参见图44

[1266] C-药物组合物

[1267] C-1吸入用干粉制备物

[1268] 将根据本发明的化合物,例如式(I-M-I)的一水合物I(实施例4)或式(I-M-II)的一水合物II(实施例2)按以下方式配制并制造成药物干粉制备物:

[1269] 制造方法

[1270] 干粉制剂和成品(填充干粉共混物的硬胶囊)根据以下描述制造。

[1271] 步骤1:在开始混合之前,将细乳糖部分称重并在分层于两层或粗乳糖之间。

[1272] 步骤2:乳糖预混物的混合以32rpm进行2x 20分钟。在周期之间将乳糖预混物通过500μg筛网筛分。

[1273] 步骤3:将微粉化的活性成分,例如式(I-M-I)的一水合物I,实施例4,或式(I-M-II)的一水合物II,实施例2,通过500μm筛网筛分,并添加到预混的乳糖中。在开始混合周期之前,将乳糖预混物和活性成分分层,其间交替着6层乳糖预混物和5层活性成分,例如式(I-M-I)的一水合物I实施例4或式(I-M-II)的一水合物II实施例2。

[1274] 步骤4:将各组分在滚筒混合器中在周期中混合。每个周期以32rpm进行30分钟,其

中共混周期之间有10分钟的停止时间。如果需要(例如,目视结块),共混物可分别在共混周期之间进行筛分。

[1275] 步骤5:将共混物留在不锈钢容器中于室温(15-25℃)和35-65%相对湿度下静置至少48小时。

[1276] 步骤6:使用胶囊填充机(例如MG2 Flexalab)将共混物以期望的填充重量填充至胶囊中。

[1277] 吸入用干粉共混物:

[1278] 表17:示例性实施方案1-3的组成(乳糖含量/比率)

	示例性实施方案 1		示例性实施方案 2		示例性实施方案 3	
	低浓度共混物 (0.75%活性成分, 300g)		中浓度共混物(3%活 性成分, 300g)		高浓度共混物 (10%活性成分, 300g)	
	量(g)	量(%)	量(g)	量(%)	量(g)	量(%)
活性成分: 一 水合物 I, 实 施例 4*	2.25	0.75%	9.00	3%	30.00	10%
粗乳糖 (Lactohale 100)	282.75	94.25%	276.00	92%	255.00	85%
细乳糖 (Lactohale 300)	15.00	5%	15.00	5%	15.00	5%
总计	300.00		300.00		300.00	
共混物均匀性 测定(RSD%)		99% (2.1%)		102% (2.2%)		102% (4.4%)
乳糖混合物中 的 LH 300 细 粒含量**		5.0%		5.2%		5.6%
比率 活性成分:LH 100		1:126		1:31		1:8.5
比率 活性成分:LH 300*		1:6.7		1:1.67		1:0.5

[1280] *以一水合物I的形式使用。

[1281] **出于实际原因,细乳糖(LH 300)与粗乳糖(LH 100)的比率略有变化,粉末共混物中细乳糖的实际量保持不变,并且变化的API(化合物1)量通过降低LH 100粗乳糖含量来调整。细乳糖(LH 300)的百分比含量在所有制剂中是固定的,活性成分与细乳糖部分和粗乳糖部分的比率则在指定的范围内变化。

[1282] 对于吸入性药物产品,重要的是保证具有限定粒度 $<5\mu\text{m}$ 的均质药物物质以确保递送至深肺部隔室。此技术要求可通过药物物质颗粒的微粉化来满足。

[1283] 达到此要求的活性成分的粒度分布的适当规格如表18中所指定来设定。

[1284] 根据本发明的活性成分((5S)-{2-(4-羧基苯基)乙基}[2-(2-{3-氯-4'-(三氟

甲基)联苯-4-基]甲氧基)苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,式(I-M-I)的一水合物I,实施例4)的粒度分布如下表18中所限定。

[1285] 表18:实施例4的粒度分布

[1286]	粒度上限X90	最大6 μm
	粒度平均值X50	1-3 μm
	粒度下限X10	最大1 μm

[1287] 根据本发明使用不同粒度范围和不同特征的吸入用乳糖。

[1288] 根据本发明的粗乳糖物质式具有低细颗粒含量的经筛分的、结晶的 α -乳糖一水合物(例如,可商购获得的Lactohale®100)。

[1289] 一种不同的中粗乳糖是粉碎的Lactohale®200,其已含有大量的乳糖细粒,基本上可为客户量身定制期望的粒度和细粒含量。

[1290] 另一种不同的粗乳糖是Lactohale®206,其是一种粉碎的 α -乳糖,具有严格控制的粒度,无任何细颗粒。

[1291] 根据本发明的细乳糖物质式微粉化的、结晶的 α -乳糖一水合物,具有 $X90 \leq 10\mu\text{m}$ 的低粒度(“乳糖细粒”)(例如可商购获得的Lactohale®300)。也可选择具有相似性质和粒度的根据本发明的细微粉化乳糖,例如Meggle Inhalac®500。

[1292] 一种不同的细乳糖物质是Lactohale 230®,其是一种具有低粒度, $X90 < 30\mu\text{m}$,粉碎的 α -乳糖一水合物,具有不规则形状的颗粒;

[1293] 根据本发明吸入用乳糖(例如Lactohale®100、Lactohale®300等)的粒度分布如下表19中所限定。

[1294] 表19:乳糖载剂组分的粒度分布

	粗乳糖	细乳糖
	Lactohale® 100	Lactohale® 300
[1295]	粒度上限 X90	200 - 250 μm
	粒度平均值 X50	125 - 145 μm
	粒度下限 X10	45 - 65 μm
	Lactohale® 200*	
	粒度上限 X90	120 - 160 μm
	粒度平均值 X50	50 - 100 μm
	粒度下限 X10	5 - 15 μm
	Lactohale® 206**	Lactohale® 230***
	粒度上限 X90	115 - 170 μm
	粒度平均值 X50	75 - 95 μm
	粒度下限 X10	20 - 50 μm
		未限定
		$\leq 10 \mu\text{m}$
		$\leq 5 \mu\text{m}$
		$< 30 \mu\text{m}$
		$< 10 \mu\text{m}$
		1.0 - 3.0 μm

[1296] *用于比较实施例20和示例性实施方案34-35

[1297] **用于示例性实施方案39-44

[1298] ***用于示例性实施方案36-38和42-44

[1299] 共混物的质量通过测量共混物测定和均匀性来评估,如D.3中所述。

[1300] 作为质量要求,根据本发明的共混物应满足以下准则:

[1301] 90-110%的共混物测定,优选95-105%(以%表示的活性成分含量)

[1302] 和NMT(=不超过)10%,优选7.5%,更优选5%的共混物均匀性的RSD(=相对标准偏差)(n=10)。

[1303] 胶囊中的干粉共混物(成品吸入用制剂):

[1304] 将包含微粉化的活性成分(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,优选(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸一水合物I(实施例4)以及乳糖载剂组分:细乳糖和粗乳糖的干粉共混物填充到硬胶囊(羟丙基甲基纤维素=羟丙甲纤维素=HPMC,例如3号)或由硬明胶或其他合适材料制成的替代胶囊中。

[1305] 根据填充重量和活性成分浓度,可实现不同的标称剂量。具有实施例4(一水合物I)的不同标称剂量的胶囊的示例性组合物示于下表中。将最终产品针对其对应气雾剂性能进行评估(硬凝胶胶囊中的干粉组合物)(参见表20)。

[1306] 表20:示例性实施方案1-3的气雾剂性能

	示例性实施方案 1	示例性实施方案 2	示例性实施方案 3
标称剂量	120 μ g	480 μ g	1000 μ g
粉末共混物中活性成分 实施例 4 的浓度	0.75%	3%	10%
[1307] 填充重量	16 mg	16mg	10 mg
递送剂量(DD)	71 μ g	316 μ g	705 μ g
DD (标称的%)	59%	66%	71%
细颗粒剂量<4.5 μ m (FPD)	32 μ g	128 μ g	258 μ g
FPF (标称的%)	27%	27%	26%
FPF (DD 的%)	45%	41%	37%

[1308] 气雾剂性能包括,如递送剂量(DD)、细颗粒剂量(=FPD)和细颗粒分数(=FPF)的参数。DD根据方法D.1测量,细颗粒剂量(=FPD)和细颗粒分数(=FPF)根据方法D.2测量(空气动力学粒度分布)。

[1309] 作为质量要求,根据本发明的胶囊中的干粉共混物应满足以下准则:

[1310] $\geq 20\%$ 的FPF(<4,5 μ m活性成分的标称剂量的%) 和

[1311] $\geq 30\%$ 活性成分的FPF(<4,5 μ m活性成分的DD的%)

[1312] 如上表所示,示例性实施方案1-3展示优越的气雾剂性能和适当的共混物均匀性以及良好的化学稳定性(参见稳定性数据)。

[1313] 使用(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,式(I-M-I)的一水合物I(实施例2)作为活性成分并使用部分不同的制造方法制造另外的干粉共混物。

[1314] 根据本发明的活性成分式(I-M-II)的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸,式(I-M-II)的一水合物II(实施例2)的粒度分布如下表21中所限定。

[1315] 表21:实施例2的粒度分布

[1316]	粒度上限X90	最大6 μm
	粒度平均值X50	1-3 μm
	粒度下限X10	最大1 μm

[1317] 示例性实施方案4-6汇总于下表22中。

[1318] 表22:包含实施例2的示例性实施方案4-6的组成(乳糖含量)

[1319]		示例性实施方案 4	示例性实施方案 5	示例性实施方案 6			
	API 浓度和 批次大小	(0.75%活性成分, 300g)	(3%活性成分, 300g)	(10%活性成分, 300g)			
		量(g)	量(%)	量(g)	量(%)		
	活性成分: (实施例 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%
	细乳糖 (Lactohale 300)	25.00	5%	15.00	5%	10.00	5%
	总计	500.00		300.00		200.00	
[1320]	共混物均匀 性测定 (RSD%)		96% (1.5%)		98% (0.8%)		103% (4.4%)
	乳糖混合物 中的 LH 300 细粒含量 **		5.0%		5.2%		5.6%
	比率 活性成分:LH 100**		1:126		1:31		1:8.5
	比率 活性成分:LH 300**		1:6.7		1:1.67		1:0.5

[1321] *以一水合物I的形式使用

[1322] **细乳糖(LH 300)与粗乳糖(LH 100)的比率解释于根据本发明的示例性实施方案1-3的章节中。

[1323] 示例性实施方案4-6的制造方法在步骤2、3和4中是不同的。

[1324] 步骤2:乳糖预混物的混合以67rpm(示例性实施方案4的低浓度共混物为72rpm)进行2x 20分钟。乳糖预混物在周期之间通过500 μg 筛网筛分。

[1325] 步骤3:将活性成分:微粉化的一水合物II实施例2添加到预混乳糖中,无需过筛。在混合周期开始之前,将乳糖预混物和活性成分分层,其间交替着4层乳糖预混物和3层活

性成分(实施例2,一水合物II化合物1)。

[1326] 步骤4:在第一个混合周期开始之前,将分层共混物通过500 μm 筛网筛分。在滚筒混合器中以3个周期将组分混合。每个周期以67rpm(示例性实施方案4的低浓度共混物为72rpm)进行30分钟,并在混合周期之间通过500 μm 筛网筛分。

[1327] 获得示例性实施方案4-6的填充胶囊的以下结果。

[1328] 表23:示例性实施方案4-6的气雾剂性能

	示例性实施方案 4.1 + 4.2 (低/高粉末填充)		示例性实施 方案 5	示例性实 施方案 6
	60 μg	120 μg	480 μg	1000 μg
标称剂量	60 μg	120 μg	480 μg	1000 μg
粉末共混物中活性成分实施例 2 的浓度	0.75%	0.75%	3%	10%
[1329] 填充重量	8 mg	16 mg	16mg	10 mg
递送剂量(DD)	30 μg	82 μg	316 μg	671 μg
DD (标称的%)	50%	68%	66%	67%
细颗粒剂量 <4.5 μm (FPD)	12 μg	31 μg	126 μg	242 μg
FPF (标称的%)	20%	26%	26%	24%
FPF (DD 的%)	40%	38%	40%	36%

[1330] 示例性实施方案4-6的结果显示,使用式(I-M-II)形式的(5S)-{[2-(4-羧基苯基)乙基][2-(2-{[3-氯-4'-(三氟甲基)联苯-4-基]甲氧基}苯基)乙基]-氨基}-5,6,7,8-四氢喹啉-2-甲酸一水合物II,实施例2配制根据本发明的干粉共混物可实现类似的有利气雾剂性能。

[1331] 稳定性测试

[1332] 对低浓度(120 μg ,根据本发明,示例性实施方案1)和高浓度(1000 μg ,根据本发明,示例性实施方案3)各一个临床批次进行了稳定性研究。针对外观、递送剂量、空气动力学粒度分布、测定和降解产物以及物理形式(仅高浓度批次)进行了稳定性测试。根据概述于表24和25中的方案进行本研究。

[1333] 表24:稳定性方案-包含实施例4的长期吸入用胶囊(临床批次)

储存条件	储存[月]								
	0	1	3	6	9	12	18	24	36
[1334] 25°C/60% RH	x	x	x	x	(x)	x	x	x	(x)

[1335] RH 相对湿度

[1336] x 测试站(x)任意的测试站

[1337] 在整个测试期间,并未观察到任何测试参数有显著变化的迹象。因此,根据本发明的粉末共混物制剂对于预期用途和储存期而言足够稳定。稳定性数据呈现于下表25中。

[1338] 表25:稳定性数据-包含实施例4的长期吸入用胶囊

测试 验收准则	储存时间 [月]	实施方案 1 (120 μ g)	实施方案 2 (1000 μ g)
制剂 (硬胶囊, 透明且无色 无标记)	初始	符合	符合
	1	符合	符合
	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
[1339] 胶囊内容物的外观 (白色至灰白色粉末)	初始	白色粉末	灰白色粉末
	1	白色粉末	白色粉末
	3	白色粉末	白色粉末
	6	白色粉末	白色粉末
	12	白色粉末	白色粉末
	18	白色粉末	白色粉末
	24	白色粉末	白色粉末
递送剂量均匀性 平均递送剂量 120 μ g: 64 – 92 μ g 1000 μ g: 550 – 750 μ g	初始	71	625
	1	67	659
	3	75	691
	6	70	625
	12	66	644
	18	63	646
	24	68	660
等级 1 (n=10) (10 个中的 9 个必须位于 75%)	初始	符合	符合
	1	符合	符合

测试 验收准则	储存时间 [月]	实施方案 1 (120 μ g)	实施方案 2 (1000 μ g)
与 125%之间 并且 10 个中的 10 个位于 平均值的 65%与 135%之间)	3 6 12 18 24	符合 符合 符合 符合 符合	符合 符合 符合 符合 符合
等级 2 (n=30) (所有 30 个值中有不超过 3 个 超出 75%至 125%的限值 并且没有值超出 平均值的 65%至 135%的限值)	初始 1 3 6 12 18 24	n.a. n.a. n.a n.a n.a n.a n.a	n.a. n.a. n.a n.a n.a n.a n.a
空气动力学粒度分布 MMAD (1.8 – 5.0 μ m)	初始 1 3 6 12 18 24	3.2 3.3 3.4 3.3 3.5 3.5 3.5	3.1 3.1 3.2 3.1 3.1 3.3 3.1
[1340]			
FPD 120 μ g: 15 – 37 μ g 1000 μ g 123 – 312 μ g	初始 1 3 6 12 18 24	34 24 20 24 23 26 22	230 235 255 276 260 252 265
实施例 4 产品的降解 BP 氨基酸 (最大 1.5%)	初始 1 3 6 12 18 24	< 0.05 n.d. n.d. < 0.05 < 0.05 < 0.05 < 0.05	< 0.05 n.d. n.d. < 0.05 < 0.05 < 0.05 < 0.05
BP-THQ-甲酸 (最大 1.5%)	初始 1 3 6 12	0.1 0.1 0.1 0.1	< 0.05 n.d. n.d. 0.05 0.05

测试 验收准则	储存时间 [月]	实施方案 1 (120 μ g)	实施方案 2 (1000 μ g)
	18	0.1	0.05
	24	0.1	0.06
任何未指定的降解产物 (最大 1.5%)	初始	0.3	0.3
	1	0.3	0.3
	3	0.3	0.3
	6	0.3	0.3
	12	0.3	0.3
	18	0.3	0.3
	24	0.3	0.3
所有降解产物的总和 (最大 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
[1341]	18	1.2	1.0
	24	1.1	1.1
实施例 4 的测定	初始	115	962
120 μ g: 108 – 132 μ g/胶囊	1	116	995
1000 μ g: 900 – 1100 μ g/胶囊	3	113	961
	6	113	965
	12	113	955
	18	114	967
	24	112	977
物理形式 (一水合物)	初始	--	一水合物
	1	--	--
	3	--	--
	6	--	--
	12	--	一水合物
	18	--	--
	24	--	一水合物

[1342] n.d. = 未检出, -- 未测试

[1343] C-2用于临床研究,例如口服和静脉内施用的共用溶液 (Service solution)

[1344] 包含实施例4的共用溶液:

[1345] 用0.005%的浓度的活性成分(实施例4(式(I-M-I)的一水合物I))以20ml的总体积生产用于临床研究的共用溶液(参见实施例E-2.3),最后填充至棕色玻璃瓶中。

[1346] 表26: 包含实施例4的共用溶液的定量组成

组成	量 [mg]	填充量 ^a [mg]
药物物质		
活性成分, 实施例 4 (式(I-M-I)的一水合物 I)	1.0000	1.0450
[1347] 赋形剂		
羟丙基 β 环糊精	200.00	209.00
氨丁三醇(Trometamol)	24.200	25.289
氯化钠	152.00	158.84
氢氧化钠 1 N	q.s.	q.s.
盐酸 10%	q.s.	q.s.
注射用水	19773	20664
[1348]	a量包括0.9ml溢出, 确保20.0ml的可提取体积	
[1349]	b根据欧洲药典现行版本, 由NaOH和纯水组成	
[1350]	q. s. 足量	
[1351]	制造	
[1352]	步骤1: 将容器装入大约85%的所需量的注射用水。	
[1353]	步骤2: 将称取量的羟丙基β环糊精转移到容器中, 搅拌溶液直到完全溶解。	
[1354]	步骤3: 将称取量的氨丁三醇转移至容器中, 搅拌溶液直到完全溶解。	
[1355]	步骤4: 用适量的1N氢氧化钠将pH调整至12.0(11.8-12.2)。	
[1356]	步骤5: 将称取量的活性成分, 实施例4 (式 (I-M-I) 一水合物I) 转移到容器中, 搅拌溶液直到完全溶解。	
[1357]	步骤6: 将称取量的氯化钠转移到容器中, 搅拌溶液直到完全溶解。	
[1358]	步骤7: 用适量的10%盐酸将pH调整至7.8(7.7-7.9)。	
[1359]	步骤8: 计算最终重量的水量, 并且边搅拌边添加所需量的注射用水。	
[1360]	步骤9: 将溶液预过滤(过滤器1, 生物负载减少过滤器) 和无菌过滤(过滤器2) 在, 然后通过膜过滤器(孔径0.2μm) 无菌填充到玻璃小瓶中。	
[1361]	步骤10: 将溶液填充到无菌、去热原的20mL棕色玻璃注射小瓶中。	
[1362]	步骤11: 将小瓶加盖并卷边进行完全封闭。	
[1363]	D-分析方法(递送剂量, 细颗粒剂量, 共混物测定和均匀性)	
[1364]	下文详细描述了测定递送剂量和细颗粒剂量的分析方法。	

D.1: 递送剂量(DD)

[1365]

所述方法根据 Ph. Eur. Monograph Preparations for Inhalation – Powders for inhalation, 采用干粉吸入器(参见说明书, 第 94 页, 图 1a 和图 1b)和吸入胶囊(有关胶囊的制备参见 C.), 使用指定的样品收集管(剂量单位采样适配器=DUSA)、数字流量计和真空泵来进行。采样以 90L/min 的流量进行 2.4 秒, 对应于 3.6L 的吸入量。DD 样品制备在 20°C 和 40-55% RH 下进行。使用带有 UV-检测的高效液相色谱测量样品(汇总如下)

**D.2 空气动力学粒度分布 (APSD)
(用于测定 FPD)**

所述方法根据 Ph. Eur. 2.9.18 aerodynamic assessment of fine particles, 采用干粉吸入器(参见说明书, 第 86 页, 图 A 和图 B)和吸入胶囊(关于胶囊的制备参见 C.), 使用装置 E (新一代冲击器, NGI)、数字流量

计和真空泵来进行。将 NGI 采样杯各涂覆 2mL 含 1% 硅油的己烷溶液。采样以 90L/min 的流量进行 2.4 秒，对应于 3.6L 的吸入量。DD 样品制备在 20°C 和 40-55% RH 下进行。对于 120µg 胶囊，将 5 个个别的胶囊连续发射到如上所述的 NGI 中，对于较高的剂量浓度(例如 480µg、1000µg)，针对每次 NGI 分析一个胶囊是足够的。使用带有 UV-检测的反相高效液相色谱测量样品(汇总如下)

<p>RP-HPLC-UV 方法 (针对来自 APSD 和 DD 测试和胶囊测定的样品)</p>	<p>所述测定方法用于测定在递送剂量均匀性(通过 DUSA 采样管)和空气动力学粒度测定(通过新一代冲击器)期间制备的样品中实施例 2 或 4 或比较实施例 14 的含量。</p>
<p>设备</p>	<p>带有恒温柱烘箱、UV-检测器或二极管阵列检测器和色谱数据系统的高效液相色谱</p>
<p>[1366] 柱</p>	<p>HPLC 柱 Poroshell 120 EC-C8, 2.7 µm, 150 × 4.6 mm.</p>
<p>样品稀释剂[Sol]</p>	<p>乙腈/水/磷酸 50/50/0.35 (用于 APSD 和 DD)</p>
<p>酸化水</p>	<p>磷酸/水(7:1000 (体积:体积))</p>
<p>样品制备</p>	<p>将所需数量的胶囊倒入含有酸化水的容量瓶中。用乙醇冲洗胶囊并将包括胶囊壳的溶液转移到容量瓶中。所得溶液具有 6µg/mL 的浓度。 用于 APSD 的样品通过用乙腈萃取 NGI 杯来制备。 用于 DD 的样品通过用样品稀释液洗涤样品管来制备。</p>

HPLC 条件

- 洗脱液
- A) 52:48 H₂O:MeCN 含 0.3%磷酸。
 - B) 5:95 H₂O:MeCN 含 0.3%磷酸。

洗脱

梯度

时间(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
色谱运行时间	11 分钟		
流速	1.5 mL/分钟		
柱烘箱的温度	35°C (±2°C)		
检测	分光光度计于 260 nm 处		
进样量	100 µL		

	D.3 共混物测定/均匀性(HPLC)	带有 UV-检测的高效液相色谱(HPLC)。
	设备	1. 带有恒温柱烘箱、UV-检测器或二极管阵列检测器和色谱数据系统的高效液相色谱。 2. HPLC 柱 Poroshell 120 EC-C8, 2.7 µm, 150 × 4.6 mm。 3. 超声浴。
	试剂	1. 磷酸(例如, Merck)。 2. 乙腈(MeCN) (HPLC 级)。 3. 去矿化水(例如 Millipore)。
	样品稀释剂[Sol]	乙腈/水/磷酸 50/50/0.35
[1367]	酸化水	磷酸/水(7:1000 (体积:体积))
	测试溶液[TS]	制备测试溶液 10 次。所有测试溶液在环境/光照条件下可稳定达 7 天。
	7.5 µg/mg 共混物浓度 (1.2 µg/mL 样品溶液)	精确称取大约 8.0 mg 的 7.5 µg/mg 散装共混物于 50 mL 容量瓶中。溶解并用稀释剂定容以产生 1.2 µg/mL 实施例 2 或 4 或比较实施例 14 溶液。
	目标胶囊浓度: 60 µg	
	7.5 µg/mg 共混物浓度 (1.2 µg/mL 样品溶液)	精确称取大约 16.0 mg 的 7.5 µg/mg 散装共混物于 100 mL 容量瓶中。溶解并用稀释剂定容以产生 1.2 µg/mL 实施例 2 或 4 或比较实施例 14 溶液。
	目标胶囊浓度: 120 µg	
	30 µg/mg 共混物浓度 (4.8 µg/mg 储备溶液, (1.44 µg/mL 样品溶液)	精确称取大约 16.0 mg 的 30 µg/mg 散装共混物于 100 mL 容量瓶中。溶解并用稀释剂定容, 并且用稀释剂将 3.0 mL 稀释至 10 mL 以产生 1.4 µg/mL 实施例 2 或 4 或比较实施例 14 溶液。
	目标胶囊浓度: 480 µg	
	100 µg/mg 共混物浓度 (5 µg/mg 储备溶液, 1.5 µg/mL 样品溶液)	精确称取大约 10.0 mg 的散装共混物于 200 mL 容量瓶中。溶解并用稀释剂定容, 并且用稀释剂将 6.0 mL 稀释至 20 mL 以产生 1.5 µg/mL 实施例 2 或 4 或比较实施例 14 溶液。
	目标胶囊浓度: 1000 µg	
	标准储备溶液[SSS] (15 µg/mL)	一式两份称取制备大约 15 µg/mL 溶液所需的实施例 2 或 4 或实施例 14 参考

标准品的量并转移到 100 mL 容量瓶中。超声处理并用稀释剂稀释至体积。将储备溶液标记为 SSS1 和 SSS2。如果达到相同的最终浓度，则可使用不同重量的标准物质和不同的稀释步骤。

标准溶液[SS] (1.5 µg/mL)

使用稀释剂将 5.0 mL 的每种储存标准品稀释至 50 mL 并充分混合以产生工作标准溶液。

HPLC 条件

如针对递送剂量和细颗粒剂量所述。

D.4 粒度分布(激光衍射)

原理

适用于例如 API 和乳糖

将以足够的浓度分散在合适液体或气体中的代表性样品通过一束单色光，通常是激光。通过多元素检测器测量由颗粒以不同角度散射的光。然后使用适当的光学模型和数学程序对散射图样值进行转换，得到总体积与离散数量

[1368]

设备

带有 RODOS 干法分散单元的 Sympatec HELOS

参数

压力：4 bar

进给速率：18%

焦距(RODOS)：100 mm

精确度

变异系数最大 5%

用于激光衍射测量的替代配置

设备

带有干法分散单元的 Malvern Mastersizer 3000

参数

压力：3.5 bar

进给速率：20%

焦距：300 mm

采样时间：3s

精确度

变异系数：最大 5%

[1369] 粒度分析数据通常报告为以体积计的筛下物累积分布。符号x用于表示粒度，其定义为体积等效球形的直径。最常见的特征值是通过内插法根据粒度分布计算出来的。经常使用的是体积分布的10%、50%与90%筛下值的粒度，以x10、x50和x90表示。x50也称为中值粒度。符号d被广泛用来指定粒度，因此符号x可由符号d代替。

[1370] D.5另外的稳定性测试方法

	外观	目视检查																					
	RP-HPLC-UV 方法 (针对降解产物)	带有在 260 nm 处的 UV-检测和外部校正的反相高效液相色谱(HPLC)。																					
	设备	带有恒温柱烘箱、UV-检测器或二极管阵列检测器和色谱数据系统的高效液相色谱																					
	柱	HPLC 柱 Poroshell 120 EC-C8, 2.7 μm , 150 \times 4.6 mm.																					
	样品稀释剂[Sol]	乙腈/水/磷酸 50/50/0.35																					
	酸化水	磷酸/水(7:1000 (体积:体积))																					
	样品制备	将所需数量的胶囊倒入含有酸化水的容量瓶中。用乙腈冲洗胶囊并将无胶囊壳的溶液转移到容量瓶中。用乙腈将容量瓶定容以产生 60 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的实施例 4 溶液。																					
	HPLC 条件																						
[1371]	洗脱液	A) 55:45 H ₂ O:MeCN 含 0.3%磷酸。 B) 5:95 H ₂ O:MeCN 含 0.3%磷酸。																					
	洗脱	梯度																					
		<table border="1"> <thead> <tr> <th>时间(min)</th> <th>%A</th> <th>%B</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0.0</td> <td>100</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>12.0</td> <td>100</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>32.0</td> <td>0</td> <td>100</td> </tr> <tr> <td>35.0</td> <td>0</td> <td>100</td> </tr> <tr> <td>35.1</td> <td>100</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>42.0</td> <td>100</td> <td>0</td> </tr> </tbody> </table>	时间(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
时间(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																					
	色谱运作时间	42 分钟																					
	流速	1.5 mL/分钟																					
	柱烘箱的温度	35°C (\pm 2°C)																					
	检测	分光光度计于 260 nm 处																					
	进样量	100 μL																					
[1372]	D.6 表征成品干粉共混物中 API 和乳糖颗粒的颗粒分布和大小的另外方法 方法的原理	自动光学和拉曼显微镜集成系统, 用于分析复合粉末样品的形态/粒度和数量, 同时鉴定粉末共混物组分的化学性质。																					
	装置:	Malvern Morphologi 4-ID																					
[1373]	干法分散(示例性设定):	体积: 5 mm ³ 压力: 3 bar 分散时间: 3 ms 稳定时间: 60 s																					
	形态学(示例性设定):	光源: Diascopic 物镜(放大倍率) x50 扫描面积 784 mm ²																					
[1374]	拉曼(示例性设定):	采集时间: 15 s 光谱掩蔽: 在 0.520 cm ⁻¹ 和 790–1740 cm ⁻¹ 区域																					
[1375]	E-生物实施例																						

[1376] E-1血栓素攻击的麻醉小型猪的血流动力学

[1377] 肺选择性和作用持续时间

[1378] 使用雌雄两性和具有2-6kg体重的健康哥廷根小型猪(Göttingen Minipigs® Ellegaard) (Ellegaard, Denmark)。通过肌肉内施用约25mg/kg氯胺酮(ketamine)和约10mg/kg阿扎哌隆(azaperone)使动物镇静。通过静脉内施用约2mg/kg氯胺酮和约0.3mg/kg咪达唑仑(midazolam)开始麻醉。通过静脉内施用约7.5-30mg/kg/h氯胺酮和约1-4mg/kg/h咪达唑仑(输注速率1-4ml/kg/h)和约150µg/kg/h泮库溴铵(pancuronium bromide)(例如Pancuronium-Actavis)维持麻醉。插管后,将动物通过呼吸机以恒定呼吸量(10-12ml/kg, 35次呼吸/分钟; Avea®, Viasys Healthcare, USA, 或Engström Carestation, GE Healthcare, Freiburg, Germany)进行通气,使得呼气末CO₂浓度达到约5%。使用富含约40%氧气(正常氧浓度)的室内空气进行通气。对于测量诸如肺动脉压(PAP)、血压(BP)和心率(HR)的血流动力学参数,将导管插入颈动脉以测量血压,并将Swan-Ganz®导管以流导方式经由颈静脉引入肺动脉。通过压力传感器(Combitransducer, B. Braun, Melsungen, Germany)/放大器和Ponemah®作为数据采集软件,记录和评价血流动力学信号。

[1379] 在将仪器放入动物后,开始连续输注血栓素A₂类似物以增加肺动脉压。输注溶解在生理盐水中约0.3-0.75µg/kg/min的9,11-二去氧-9 α ,11 α -环氧亚甲基前列腺素F_{2 α} (U-44069;Sigma,目录号D0400,或Cayman Chemical Company,目录号16440),以达到平均肺动脉压增加到超过25mmHg的值。输注开始后30分钟,达到平台期并开始实验。

[1380] 测试物质以静脉内输注或通过吸入施用。对于吸入用溶液的制备,采用以下程序:对于具有4kg体重的动物,为了制备储备溶液(300µg/kg),称取1.2mg的测试化合物并溶解在3ml总体积(1% DMSO、99%0.2%浓度的柠檬酸溶液、1N氢氧化钠水溶液以将pH调整至8)。然后使用预先用氢氧化钠水溶液调整至pH 8的0.2%浓度的柠檬酸将溶液稀释至所采用的浓度。在每次测试中,使用Aeroneb®Pro雾化器系统在呼吸回路的吸入臂中将每4kg动物3ml的测试化合物溶液雾化。从雾化开始,平均雾化时间为约7min。

[1381] 预测人中的效应持续时间

[1382] 关于预测人研究的作用持续时间,将比较实施例11在吸入应用万他维®(=伊洛前列素,10µg/kg标称剂量)后在PAH小型猪模型中进行了比较,将其用作临床参考。万他维®具有约40min的最大作用持续时间。比较实施例11的所有剂量在整个240min的观察间隔期间显示出剂量依赖性功效(参见图45)。因此,在此临床前动物模型中,作用持续时间比万他维长6倍以上。在临床研究中,万他维显示出对血流动力学(PVR)约60min的作用持续时间(参考文献: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第48卷,第8期, 2006),这与我们观察到的约40min的作用持续时间具良好相关性。

[1383] 在比较实施例11的作用持续时间在PAH小型猪模型与人之间是可比较的假设下,如类似万他维所示和描述,比较实施例11在人中的作用持续时间应至少为6小时或甚至更长。

[1384] 表27:媒介物溶液、比较实施例11(10、30和100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 标称剂量)和万他维(10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 标称剂量)在PAH小型猪模型中吸入应用后的效应。PAP相对于基线的%变化(雾化开始前10min间隔)。数据为平均值 \pm SD。

相对于预置值的 PAP %变化										
时间	媒介物 n=4		万他维® n=3		比较实施例 11 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ n=3		比较实施例 11 30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ n=3		比较实施例 11 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ n=3	
	平均	SD	平均	SD	平均	SD	平均	SD	平均	SD
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	-0.2	2.7	-30.3	9.0	0.6	0.5	0.3	0.6	-2.1	2.7
20	-0.4	6.3	-20.7	21.6	0.2	0.3	-2.0	1.0	-7.2	3.8
30	0.5	6.5	-6.9	13.5	-0.7	0.4	-4.6	0.8	-14.6	6.0
40	2.4	4.1	1.7	2.9	-1.5	2.2	-7.8	0.9	-18.1	6.9
50	4.3	4.0	4.9	0.9	-2.3	2.7	-9.8	0.6	-22.2	8.6
60	5.6	4.6			-3.5	3.3	-11.8	1.0	-25.1	7.9
70	6.2	5.2			-4.2	3.2	-14.1	0.7	-27.0	7.4
80	6.2	5.2			-3.7	4.2	-14.2	0.7	-27.9	7.3
[1385] 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

[1386] 预测人剂量

[1387] 为了产生人剂量估计值,在PAH小型猪模型中对比较实施例11重复实验,其不同之处在于管的末端连接了吸收过滤器以测定沉积的肺剂量。比较实施例11的雾化造成标称应用剂量的3-6%的雾化效率。基于过滤器实验的所有结果,沉积在过滤器上的气雾剂分数的算术平均值为5%,产生约0.15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 标称剂量),0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 标称剂量)、1.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 标称剂量)和5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 标称剂量)的相对肺沉积剂量。假设PAP降低5%的最小有效标称剂量为3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 且平均雾化效率为5%,则基于PAH小型猪模型,最小有效沉积肺剂量被认为是0.15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。因此,对于60kg体重的人患者,根据无论是否有不同蛋白

质结合的影响,假定最小有效肺沉积剂量为9-41 μg (参见表28)。考虑到在小型猪模型中有效剂量为100 $\mu\text{g}/\text{kg}$,再次根据对不同种间蛋白质结合的考虑,假定300-1370 μg 肺沉积剂量为有效剂量。

[1388] 表28:考虑和不考虑蛋白质结合的种间差异的有效肺剂量

小型猪中相对肺沉积 剂量[$\mu\text{g}/\text{kg}$]	60 kg 人中总肺沉积剂量 [μg]	
	不考虑蛋白质结合的种间差 异 a	考虑蛋白质结合的 种间差异 b
0.15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 标称剂量)	9	41
[1389] 0.50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 标称剂量)	30	137
1.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 标称剂量)	90	410
5.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 标称剂量)	300	1370

[1390] a计算(小型猪中相对肺沉积剂量 \times 60kg)

[1391] b计算(小型猪中相对肺沉积剂量 \times 60kg \times 4.55(小型猪(血浆未结合分数

[1392] 0.348%)/人(血浆未结合分数0.0764%)未结合分数的比率)

[1393] 干粉制剂的效应

[1394] 在表征化合物溶液雾化后比较实施例11的效应后,在另一步骤中研究化合物实施例11的结晶形式,例如倍半水合物,例如实施例6e,在麻醉的PAH小型猪中于吸入应用不同干粉乳糖制剂(表29)后对PAP和BP的效应。

[1395] 表29:应用于小型猪实验中比较实施例11的结晶形式,例如倍半水合物,例如实施例6e的干粉制剂

制剂	药物载量 % (w/w)	干粉/每只动物应 用的药物剂量	应用的比较实施例 11 的结晶形式剂量
[1396] 化合物实施例 11 结晶形 式于乳糖中的乳糖制剂 I	2	1.5 mg/ 30 μg	7.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$
化合物实施例 11 结晶形 式于乳糖中的乳糖制剂 II	6	1.5 mg/ 90 μg	22.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$
微粉化的倍半水合物实施 例 6e	100	1.5 mg/ 1500 μg	375 $\mu\text{g}/\text{kg}$

[1397] w/w:重量/重量

[1398] 1.5mg/4kg动物体重乳糖媒介物(LH300/LH200 20/78或LH300/LH200 20/80),

[1399] 乳糖制剂I(包含2w-%化合物实施例11的结晶形式的LH300/LH200 20/78),乳糖制剂II(包含6w-%化合物实施例11的结晶形式或微粉化的化合物实施例11的结晶形式,例

如倍半水合物,例如实施例6e的LH300/LH200 20/80)经由连接至空气泵的PennCentury®干粉吹入器在气管内应用(i. t.). 在所有动物中,乳糖应用导致PAP增加,而对BP没有任何效应(图46至图49)。在气管内应用乳糖制剂I (2% w/w)、乳糖制剂II (6% w/w) 或微粉化的化合物11的结晶形式,例如倍半水合物实施例6e后,观察到PAP降低,但对BP没有任何效应(图46至图48)。如图49所示,在气管内应用后效应开始缓慢,乳糖制剂I (2% w/w) 在大约190min后达到最大效应,乳糖制剂II (6% w/w) 在1大约70min后达到最大效应,并且微粉化倍半水合物实施例6e在大约80min后达到最大效应。对于所有剂量,对PAP的选择性效应持续了完整的4h观察间隔。在这些实验条件下,在此动物模型中可实现的最大效应是在此模型中使用乳糖制剂II以及微粉化倍半水合物实施例6e达到的。由于乳糖制剂I已是有效的,比较实施例11以及其假多晶形式,例如倍半水合物和一水合物I或一水合物II (式I化合物的不同假多晶形式的类似功效已显示于以下测试中)的MED为 $<7.5\mu\text{g}/\text{kg}$,这与用液体溶液推导出人剂量预测的实验 (MED $3\mu\text{g}/\text{kg}$) 非常吻合。由于技术限制,较低剂量并不适用。

[1400] 表30: 气管内应用不同乳糖媒介物、乳糖制剂I ($7.5\mu\text{g}/\text{kg}$)、乳糖制剂II ($22.5\mu\text{g}/\text{kg}$) 和微粉化倍半水合物,例如实施例6e ($375\mu\text{g}/\text{kg}$) 后的效应。数据示出为PAP和BP [mmHg] 的绝对值 (n=3)

[1401]

时间	乳糖 1.5mg/4kg (0min 时)+乳糖制剂 I 2% 1.5mg/4kg (90min 时)						乳糖 1.5mg/4kg (0min 时)+乳糖制剂 II 6% 1.5mg/4kg (90min 时)					
	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

[1402]

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

[1403]

乳糖 1.5 mg/4kg (30min 时)+微粉化倍半水合物的结晶形式实施例 6e 1.5 mg/4kg (90min 时)						
时间	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

[1404] 表31:气管内应用不同乳糖媒介物、乳糖制剂I (7.5 μ g/kg)、乳糖制剂II (22.5 μ g/kg)和微粉化倍半水合物,例如实施例6e (375 μ g/kg)后的效应。数据示出为每只动物的PAP相对于基线的%变化,以绝对值表示。

时间	乳糖制剂 I 2%			乳糖 LH300/LH200 20:78 m/m			乳糖制剂 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
[1405] 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			

时间	微粉化倍半水合物实施例 6e			乳糖 LH300/LH200 20:80 m/m		
80	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
90	98.9	103.6	99.8	99.7	101.8	100.1
100	99.5	101.4	97.3	100.0	102.3	103.2
110	89.3	98.7	86.8	98.6	102.5	106.3
120	84.0	95.6	75.7	98.6	101.0	110.1
130	78.9	93.7	70.2	97.7	102.6	110.1
140	75.2	91.8	67.5	97.4	104.6	108.8
150	74.0	76.0	65.4			
160	71.0	79.5	65.9			
170	68.5	74.3	61.5			
180	63.2	80.8	62.0			
190	61.5	80.8	58.6			
[1406] 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			

[1407] 总之,包含化合物实施例11的结晶形式,例如倍半水合物实施例6e的所有干粉制剂在此急性PAH模型中吸入应用干粉后选择性地和剂量依赖性地降低了PAP,具有至少4h的长作用持续时间。对于比较实施例11的结晶形式的递增剂量,观察到清晰的剂量反应曲线。相比于雾化液体制剂(最大效应在开始吸入后约90min),干粉制剂最大效应延迟到较晚的时间点(乳糖制剂I(2%w/w)~190min,乳糖制剂II(6%w/w)~170min)(参见图49)。

[1408] 评价不同水合物的干粉的功效

[1409] 另外,为评价比较实施例11的不同水合物的功效,将比较实施例11以1.5mg/4kg(=375 μ g/kg)的剂量作为微粉化一水合物II(实施例2)、微粉化半水合物(类似于实施例6a),以及微粉化倍半水合物(类似于实施例6e)经由PennCentury®干粉吹入器气管内应用于PAH小型猪中。在每次实验开始时应用纯乳糖媒介物作为参考。所有3种水合物在有关PAP降低以及全身BP降低上显示出相当的功效(参见图50和图51)。在观察间隔的最后一小时内,所有3种水合物对全身血压有轻微影响。在相当高的标称剂量375 μ g/kg气管内应用时,此轻微的全身BP下降可能是经由药物的全身性溢出所致。其也可能反映出麻醉动物在麻醉过程期间的BP有所下降。

[1410] 表32:在气管内应用不同水合物微粉化一水合物II(实施例2)、微粉化半水合物

(实施例6a)和微粉化倍半水合物(实施例6e)后比较实施例11对BP和PAP的效应。数据示出为绝对值[mmHg],以平均值 \pm SEM表示(n=3)。

时间	一水合物 II (实施例 2)						半水合物(实施例 6a)					
	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

时间	倍半水合物(实施例 6e)					
	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

[1415] 表33:在气管内应用不同水合物微粉化一水合物II(实施例2)、微粉化半水合物(类似于实施例6a)和微粉化倍半水合物(类似于实施例6e)后比较实施例11对BP和PAP的效应。数据示出为每只动物的相对于预置值的%变化,以绝对值表示。

[1416]

时间	一水合物 II (实施例 2)						半水合物(实施例 6a)					
	PAP			BP			PAP			BP		
50	99.1	99.2	98.5	99.1	100.1	100.0	99.3	98.7	98.9	99.6	98.4	100.6
60	99.7	99.3	99.8	99.9	100.1	100.7	100.7	99.4	99.2	100.6	99.7	97.2
70	97.7	91.1	91.0	102.4	99.3	101.4	94.7	96.1	97.0	102.6	98.4	98.4
80	97.7	91.3	88.0	101.6	97.7	100.0	83.4	94.5	91.2	102.6	99.7	101.8
90	94.7	89.1	84.5	100.7	98.5	99.2	73.4	89.2	88.7	101.6	102.2	104.0
100	91.8	84.0	80.0	100.7	97.7	97.7	69.0	85.0	84.7	100.6	101.0	107.4
110	88.8	80.9	76.3	100.7	98.5	98.5	66.5	82.4	82.1	99.6	99.7	111.9
120	87.0	76.6	73.0	99.9	98.5	97.7	64.4	80.8	79.7	99.6	99.7	108.6
130	85.5	75.2	71.7	99.1	97.7	97.0	62.8	79.9	76.7	98.6	102.2	109.7
140	85.6	74.3	70.0	98.3	98.5	97.0	61.8	78.7	75.7	99.6	103.5	110.8
150	84.1	71.9	69.4	96.6	97.7	96.3	60.9	78.0	74.3	97.6	103.5	109.7
160	84.1	70.4	68.1	96.6	95.3	96.3	59.9	77.1	73.1	96.6	102.2	109.7
170	83.8	69.8	68.5	95.8	94.5	95.5	58.6	76.7	72.3	95.6	99.7	107.4
180	83.8	68.7	68.9	94.1	92.2	97.7	58.0	75.4	71.8	94.6	99.7	106.3
190	83.9	67.7	69.3	92.5	91.4	98.5	59.5	78.4	70.7	94.6	108.5	105.2
200	83.7	67.9	68.5	90.0	90.6	97.0	60.5	76.8	71.1	92.6	107.3	104.0
210	83.4	66.5	67.7	90.8	92.2	96.3	60.6	75.5	70.8	90.6	102.2	102.9

[1417]

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

[1418]

倍半水合物(实施例 6e)						
时间	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

[1419]

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

[1420] E-2.1在健康男性受试者中吸入性施用sGC活化剂7天-cGMP和支气管扩张

[1421] 健康的白人男性受试者年龄为18至45岁,身体质量指数(BMI)高于/等于18.5kg/

m²和低于/等于29.9kg/m²,在为期七天的临床药理学I期研究中以每日一次吸入480μg或1000μg或2000μg剂量(2粒1000μg胶囊)(标称剂量)的包含实施例2的干粉制剂或安慰剂进行治疗。受试者通过一次深吸气从插入手持式吸入装置中的胶囊(见C-1,例如表22和23)吸入药粉。所述药物的干粉制剂分散至气流中并将细颗粒递送到肺部深处,意图在这里使PH患者的血管舒张,从而实质降低PAH患者或其他PH亚型的中央肺血管中增加的血压。在肺部健康的受试者中无法显示出这种效应。另外,吸入的药物引起支气管扩张,从而改善患有病理性支气管收缩的PH患者中的肺部疾病状态。这种效应是经由身体体积描记法测量的,即健康受试者中比气道阻力的降低。深度吸气后,受试者屏住呼吸2秒,使得干粉药物从气流凝结于更深的肺部区域的表面,所述药物在这里沉积在靠近其预期药理作用部位处。药物在一天内溶解并经由内衬液平衡肺部。分析了随时间变化的血浆浓度,作为肺中药物浓度的替代物,并在吸入后2.0至2.5h显示出最大血液浓度,之后经由血流支持肺部的药物平衡。第一次吸入后产生可测量的血浆浓度,如所有施用的剂量所示,其持续48h,在每日一次吸入14天后24h内产生稳态药物浓度,从而支持药物在每日一次(od)吸入后的24/7活性。

[1422] 通过分析在7天治疗的第一次药物吸入之前之后和最后一次药物吸入之后血液样品的cGMP(sGC药理学活化的直接产物),并与所有剂量治疗前的日子的测量值进行比较,来在健康受试者中控制健康男性的药物活性。

[1423] 此参数与基线相比的变化分析显示出cGMP的剂量依赖性增加,在第一次吸入后大约2h开始,在施用实施例2后6h(480和1000μg剂量)和8h(2000μg剂量)达到峰值(参见图52至图56)。相比于全身药物浓度,此延长的活性由以吸入干粉的施用模式引起,其将药物沉积在肺的更深部分,导致每日一次吸入后24h内的活性药物浓度。在施用480、1000和2000μg实施例2后,在第一个概况日观察到的峰值平均值±SD cGMP值为8.84±1.35、11.69±1.86和16.52±4.24nmol/L。

[1424] 重复给药7天后,观察到cGMP的平均峰值进一步增加,为施用相应剂量后11.96±2.80、16.70±2.96和32.67±9.48nmol/L。在第一次治疗后10天,平均cGMP浓度已回到接近给药前所观察到的浓度。cGMP数据显示每日一次吸入药物实施例2在sGC目标上产生预期的剂量依赖性效应(参见图56)。

[1425] 表34:与基线相比的环单磷酸鸟苷变化(nmol/L)(SAF)

	安慰剂	480 μg , 实施例 2	1000 μg , 实施例 2	2000 μg , 实施例 2
[1426] -0D 22H 00M	0.47 \pm 0.90	1.17 \pm 1.00	0.08 \pm 1.41	0.66 \pm 0.79
-0D 20H 00M	-0.11 \pm 1.13	0.52 \pm 0.95	-0.24 \pm 1.75	0.48 \pm 0.71
-0D 18H 00M	0.71 \pm 1.41	0.21 \pm 1.74	-0.87 \pm 1.44	0.17 \pm 0.78
-0D 16H 00M	-0.26 \pm 1.89	0.41 \pm 0.96	-0.43 \pm 1.49	0.29 \pm 1.17
-0D 12H 00M	-0.11 \pm 1.34	0.22 \pm 1.17	-0.77 \pm 1.72	0.28 \pm 0.97
-0D 09H 00M	-0.67 \pm 1.25	0.20 \pm 1.59	-0.84 \pm 2.04	-0.18 \pm 0.90
0D 00H 00M	-0.77 \pm 1.27	0.11 \pm 1.10	-0.11 \pm 1.62	0.68 \pm 1.14
0D 02H 00M	0.42 \pm 0.52	1.73 \pm 0.82	3.26 \pm 2.04	4.78 \pm 1.35
0D 04H 00M	-0.68 \pm 2.23	3.04 \pm 1.39	5.64 \pm 2.54	9.18 \pm 2.50
0D 06H 00M	-0.40 \pm 2.23	3.33 \pm 1.39	6.78 \pm 2.79	11.04 \pm 3.21
0D 08H 00M	0.33 \pm 2.56	2.94 \pm 1.38	5.94 \pm 2.65	11.69 \pm 2.78
0D 12H 00M	-0.24 \pm 2.07	2.10 \pm 1.18	4.86 \pm 2.91	8.56 \pm 2.19
0D 15H 00M	-0.58 \pm 2.14	1.53 \pm 1.50	3.70 \pm 2.59	7.54 \pm 2.32
1D 00H 00M	-0.18 \pm 2.06	0.84 \pm 0.89	1.26 \pm 1.98	3.48 \pm 0.90
2D 00H 00M	-0.30 \pm 2.26	0.74 \pm 1.59	0.33 \pm 1.99	1.57 \pm 0.86
3D 00H 00M	-0.14 \pm 2.10	1.00 \pm 1.92	2.31 \pm 2.68	5.17 \pm 1.51
4D 00H 00M	0.31 \pm 1.99	1.46 \pm 1.24	2.86 \pm 2.63	9.33 \pm 2.55
5D 00H 00M	0.27 \pm 2.34	1.50 \pm 0.98	3.59 \pm 2.51	11.10 \pm 3.49
6D 00H 00M	0.71 \pm 2.21	1.92 \pm 1.21	4.32 \pm 2.82	11.71 \pm 2.66
7D 00H 00M	0.21 \pm 0.83	1.68 \pm 0.85	4.74 \pm 2.98	11.36 \pm 3.37
7D 02H 00M	0.07 \pm 0.81	4.22 \pm 2.29	6.93 \pm 2.99	17.33 \pm 4.18
7D 04H 00M	0.20 \pm 0.71	5.39 \pm 2.34	10.84 \pm 2.91	22.23 \pm 4.75
7D 06H 00M	0.72 \pm 1.06	6.44 \pm 2.26	11.79 \pm 3.70	27.39 \pm 6.93
7D 08H 00M	1.26 \pm 1.68	5.19 \pm 1.64	11.00 \pm 4.58	27.83 \pm 7.77
7D 12H 00M	0.59 \pm 1.00	3.71 \pm 1.79	9.19 \pm 5.26	23.33 \pm 5.53
7D 15H 00M	0.02 \pm 0.73	3.04 \pm 2.09	8.00 \pm 4.41	19.08 \pm 4.95
[1427] 8D 00H 00M	0.81 \pm 0.54	1.69 \pm 2.65	4.47 \pm 3.81	11.17 \pm 3.69
8D 12H 00M	0.66 \pm 1.11	0.69 \pm 1.53	2.30 \pm 3.05	8.02 \pm 2.45
9D 00H 00M	0.08 \pm 0.73	0.13 \pm 1.97	1.38 \pm 2.59	5.64 \pm 1.36
9D 12H 00M	0.70 \pm 1.64	1.10 \pm 1.01	1.02 \pm 2.24	4.57 \pm 2.15
10D 00H 00M	0.89 \pm 1.47	-0.00 \pm 0.64	1.42 \pm 2.87	3.26 \pm 1.07

[1428] 表35:随时间变化的cGMP平均值(安慰剂、480、1000和2000 μg ,实施例2各N=9):药物吸入前(基线)(-1d02h-0d00h)、第一次吸入日后(0d00h-2d00h)、在日子3d00h-7d00h吸入后的谷测量和最后7天吸入后(7d00h-10d00h)。

[1429]

	安慰剂	480 μg , 实施例 2	1000 μg , 实施例 2	2000 μg , 实施例 2
-1D 02H 00M	5.83 ± 2.01	5.40 ± 1.41	5.02 ± 1.59	4.16 ± 1.70
-0D 22H 00M	6.30 ± 2.42	6.57 ± 1.22	5.10 ± 1.46	4.81 ± 2.22
-0D 20H 00M	5.72 ± 2.00	5.92 ± 0.83	4.78 ± 1.37	4.63 ± 1.86
-0D 18H 00M	6.54 ± 2.68	5.61 ± 0.71	4.16 ± 0.92	4.32 ± 1.33
-0D 16H 00M	5.58 ± 2.13	5.81 ± 1.09	4.59 ± 1.06	4.44 ± 2.15
-0D 12H 00M	5.72 ± 2.17	5.62 ± 1.26	4.26 ± 0.99	4.43 ± 2.24
-0D 09H 00M	5.17 ± 1.90	5.60 ± 1.08	4.18 ± 0.82	3.98 ± 1.91
0D 00H 00M	5.07 ± 1.90	5.51 ± 1.00	4.91 ± 1.27	4.83 ± 2.52
0D 02H 00M	5.49 ± 2.03	7.24 ± 1.25	8.17 ± 1.07	9.61 ± 3.65
0D 04H 00M	4.39 ± 1.20	8.56 ± 1.45	10.56 ± 1.47	14.01 ± 4.51
0D 06H 00M	4.67 ± 1.25	8.84 ± 1.35	11.69 ± 1.86	15.88 ± 5.09
0D 08H 00M	5.40 ± 1.70	8.46 ± 1.59	10.86 ± 1.66	16.52 ± 4.24
0D 12H 00M	4.82 ± 1.35	7.61 ± 1.01	9.77 ± 2.11	13.39 ± 4.01
0D 15H 00M	4.49 ± 0.90	7.04 ± 1.50	8.61 ± 1.63	12.38 ± 4.17
1D 00H	4.89 ± 1.16	6.36 ± 1.10	6.17 ± 1.05	8.31 ± 2.88

	00M				
	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
[1430]	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

[1431] 经由身体体积描记法测量的肺功能参数显示,在第一次给药实施例2后6h测量的总比气道阻力sRaw,一种健康肺中支气管扩张活性的参数,与基线相比下降了-0.142至-0.296kPa/秒,并在所有剂量组中均观察到(参见图57和表36)。

[1432] 表36:随时间变化的总比气道阻力的平均值(安慰剂、480、1000和2000 μ g,实施例2各N=9)(kPa/秒):筛选1/2,治疗前的日子(-1d00h-0d00h),第一次吸入日(0d00h-0d06h),吸入后(2d02h-6d04h)的测量和最后7天吸入后(7d00h-7d06h)。

	安慰剂	480 μg , 实施例 2	1000 μg , 实施例 2	2000 μg , 实施例 2
[1433] 筛选	0.829 \pm 0.494	0.844 \pm 0.327	0.867 \pm 0.376	0.899 \pm 0.150
筛选 2	0.934 \pm 0.522	0.832 \pm 0.280	1.009 \pm 0.340	0.957 \pm 0.140
-1D 00H 00M	0.896 \pm 0.301	0.939 \pm 0.344	0.996 \pm 0.194	0.962 \pm 0.266
-0D 22H 00M	0.916 \pm 0.332	0.928 \pm 0.392	0.903 \pm 0.255	0.933 \pm 0.165
-0D 18H 00M	0.942 \pm 0.302	0.921 \pm 0.305	0.901 \pm 0.187	0.943 \pm 0.245
0D 00H 00M	0.991 \pm 0.341	1.078 \pm 0.375	0.967 \pm 0.233	0.947 \pm 0.143
0D 02H 00M	0.948 \pm 0.307	0.839 \pm 0.182	0.859 \pm 0.143	0.677 \pm 0.139
0D 06H 00M	0.876 \pm 0.268	0.800 \pm 0.187	0.824 \pm 0.180	0.651 \pm 0.149
2D 02H 00M	0.913 \pm 0.211	0.883 \pm 0.310	0.797 \pm 0.141	0.748 \pm 0.155
4D 02H 00M	0.902 \pm 0.197	0.807 \pm 0.200	0.853 \pm 0.172	0.709 \pm 0.178
6D 04H 00M	0.872 \pm 0.192	0.798 \pm 0.193	0.787 \pm 0.168	0.722 \pm 0.168
7D 00H 00M	0.978 \pm 0.261	0.823 \pm 0.274	0.917 \pm 0.227	0.844 \pm 0.097
7D 02H 00M	0.872 \pm 0.223	0.777 \pm 0.282	0.764 \pm 0.140	0.716 \pm 0.089
7D 06H 00M	0.918 \pm 0.212	0.803 \pm 0.280	0.787 \pm 0.188	0.730 \pm 0.151

[1434] E-2.2在健康男性受试者中吸入性施用sGC活化剂14天以评价稳态药代动力学

[1435] 年龄在18至45岁且身体质量指数 (BMI) 高于/等于18.5且低于/等于29.9kg/m²的健康白人男性受试者在临床药理I期研究中接受持续7天的治疗,每日一次吸入1000 μg (标称剂量) 的剂量的安慰剂或含有实施例4的干粉制剂。受试者通过一次深吸气从插入手持式吸入装置中的胶囊 (参见C, 例如表17和20) 吸入药粉, 进入肺部深处。在无肺功能病理生理损伤的受试者中无法评价中央肺血管中增加的血压的预期实质性降低。已分析随时间变化的血浆浓度, 作为肺中药物浓度的替代物。在每日一次吸入施用14天以产生在24h期间稳态药物浓度后的分析显示, 在吸入7至11天后达到稳态。在健康的受试者中通过分析血液样品的cGMP来控制健康男性中药物活性/目标参与。结果以平均值示于表37以及图58和表38中与基线相比的变化中, 其中最大值出现在1周治疗后, 并显示最迟在治疗11天后达到cGMP浓度的稳态, 作为持续目标参与的生物标志物。

[1436] 表37: 安慰剂 (N=4) 和1000 μg , (N=17) 实施例4在治疗前的日子 (-1d00h--0d09h)、第一次吸入日 (-0d02h-1d00h)、在日子2d00h-2d12h、6d00h-6d12h、10d00h-10d12h吸入之前和之后 (概况分析)、在日子3d-5d、7d-9d、11d-12d吸入之前的谷, 和最后14天吸入之前和之后 (12d22h-20d00h), 随时间变化的cGMP浓度 (nmol/L) 的平均值 \pm 标准偏差。

[1437]

平均值	安慰剂(n=4)	1000 μ g, (n=17)实施例 4
-1D 02H 00M	4775.0 +/- 1530.5	5264.7 +/- 2006.8
-0D 22H 00M	4800.0 +/- 469.0	5164.7 +/- 1680.0
-0D 20H 00M	4175.0 +/- 1345.1	4311.8 +/- 1956.4
-0D 18H 00M	4925.0 +/- 797.4	5011.8 +/- 1875.5
-0D 16H 00M	5250.0 +/- 914.7	5941.2 +/- 2641.7
-0D 12H 00M	7900.0 +/- 3763.9	5570.6 +/- 2087.4
-0D 09H 00M	6400.0 +/- 1180.4	5488.2 +/- 1654.9
-0D 02H 00M	3900.0 +/- 668.3	4329.4 +/- 1509.5
0D 02H 00M	6200.0 +/- 1930.5	9170.6 +/- 2348.3
0D 04H 00M	4625.0 +/- 1173.0	11623.5 +/- 2636.9
0D 06H 00M	4000.0 +/- 559.8	14276.5 +/- 3557.1
0D 08H 00M	4500.0 +/- 469.0	14888.2 +/- 3618.2
0D 12H 00M	4500.0 +/- 1409.5	11812.5 +/- 2708.5
0D 15H 00M	4750.0 +/- 1443.4	11064.7 +/- 2963.1
1D 00H 00M	4425.0 +/- 590.9	7305.9 +/- 1593.5
2D 00H 00M	4200.0 +/- 697.6	8876.5 +/- 2507.6
2D 03H 00M	5366.7 +/- 1150.4	17282.4 +/- 4749.9
2D 08H 00M	4700.0 +/- 1493.3	20770.6 +/- 6604.0
2D 12H 00M	4233.3 +/- 1436.4	16941.2 +/- 5408.8
3D 00H 00M	4033.3 +/- 1050.4	9488.2 +/- 2238.5
4D 00H 00M	3466.7 +/- 1429.5	10694.1 +/- 2193.0
5D 00H 00M	3166.7 +/- 1059.9	10252.9 +/- 2390.4
6D 00H 00M	4566.7 +/- 2285.5	9423.5 +/- 2613.1
6D 03H 00M	3800.0 +/- 608.3	17735.3 +/- 4290.1
6D 08H 00M	4266.7 +/- 1222.0	24452.9 +/- 7374.6
6D 12H 00M	4266.7 +/- 750.6	18194.1 +/- 4785.2
7D 00H 00M	3700.0 +/- 1058.3	10511.8 +/- 2026.4

	8D 00H 00M	3733.3 +/- 1331.7	10529.4 +/- 1910.7
	9D 00H 00M	3800.0 +/- 173.2	10911.8 +/- 2620.6
	10D 00H 00M	3766.7 +/- 1011.6	10776.5 +/- 2286.0
	10D 03H 00M	4200.0 +/- 1212.4	17058.8 +/- 4319.2
	10D 08H 00M	4666.7 +/- 1703.9	21858.8 +/- 6188.5
	10D 12H 00M	3800.0 +/- 655.7	17329.4 +/- 4529.3
	11D 00H 00M	3966.7 +/- 1357.7	11270.6 +/- 2814.9
	12D 00H 00M	4400.0 +/- 1389.2	12388.2 +/- 3016.4
	12D 22H 00M	4466.7 +/- 1021.4	11276.5 +/- 3261.8
	13D 02H 00M	3800.0 +/- 700.0	13447.1 +/- 2802.9
	13D 04H 00M	3200.0 +/- 624.5	17276.5 +/- 4328.9
[1438]	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
	随访	4566.7 +/- 1078.6	5847.1 +/- 2013.4

[1439] 表38:在治疗前的日子(-1d00h--0d09h)、第一次吸入日(-0d02h-1d00h;)、在日子2d00h-2d12h、6d00h-6d12h、10d00h-10d12h(概况分析日)吸入后、在日子3d-5d、7d-9d、11d-12d吸入前的谷和最后14天吸入后(12d22h-20d00h),与基线相比的cGMP变化(nmol/L)

	Δ 基线	安慰剂(n=4)	1000μg, (n=17)实施例 4
	-1D 02H 00M	基线	基线
	-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
[1440]	-0D 02H 00M	基线	基线
	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
[1441]	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
	随访	800.0 +/-1743.6	1517.6 +/-2343.9

[1442] E-2.3在健康男性受试者中吸入、口服和静脉内施用单剂量的sGC(一种活化剂) — 肺沉积

[1443] 健康的白人男性受试者,年龄18至45岁,身体质量指数(BMI)高于/等于 $18.5\text{kg}/\text{m}^2$ 和低于/等于 $29.9\text{kg}/\text{m}^2$,在临床I期研究中以单一吸入剂量 $1000\mu\text{g}$ (标称剂量),单一吸入剂量 $1000\mu\text{g}$ (标称剂量)+木炭块,单一口服剂量 $1000\mu\text{g}$,以及2h内单一输注 $100\mu\text{g}$ 的实施例4进行治疗。由于静脉内应用的生物利用度根据定义一般为100%,因而高于口服或静脉内施用,因此仔细选择静脉内剂量低于口服和吸入剂量,以避免高静脉内(IV)剂量所导致的较高血浆浓度和潜在的副作用,例如血压降低或晕厥。因此,在本次研究中针对IV剂量选择 $100\mu\text{g}$ 。在治疗之间应用了七天的清除期。对于口服施用,受试者吞服溶液(20ml含 $1000\mu\text{g}$,参见C-2,表26)。受试者在2小时内接受单一输注形式的溶液(2ml含 $100\mu\text{g}$,参见C-2,表26)。

受试者通过一次深吸气从插入手持式吸入装置中的胶囊(参见C-1,表17和20)吸入药粉。在吸入药物的干粉制剂后,标称剂量的一些部分仍留在胶囊和装置中,在咬嘴处到达身体的剂量称为喷出剂量。喷出剂量可如下计算/测定:标称剂量-(留在胶囊中+留在设备中)。吸入干粉后,一部分的喷出剂量进入胃肠道(GIT)并称为口服部分的喷出剂量,通过呼吸道到达肺部的另一部分的喷出剂量称为肺剂量并代表肺沉积剂量。由于肺是作用的目标器官,因此必须量化肺沉积剂量。可通过测定到达GIT以及留在胶囊和装置中的标称剂量部分,间接估算肺沉积。为了研究和测定肺沉积,进行以下研究(另参见图59):

[1444] 1-吸入应用单剂量1000 μ g的干粉。

[1445] 2-吸入应用单剂量1000 μ g干粉与口服施用木炭块的组合。木炭块限制了GIT部分的剂量的口服吸收,因为实施例4完全吸附到木炭块上。这意味着测量的实施例4的浓度经由肺部到达体循环。

[1446] 3-施用单一口服剂量1000 μ g实施例4以测定口服吸收。

[1447] 4-施用2h输注的实施例4以研究消除作用。

[1448] 在全部不同类型的施用后测量实施例4的血浆浓度,另外在吸入应用后测量装置和胶囊中的残余物。血浆浓度分析显示实施例4在静脉内施用后迅速消除,消除半衰期为0.26h。口服施用后的消除半衰期为4.43h。有/无木炭的吸入应用后的消除半衰期分别为16.1h和15.1h,参见图60。吸入后较长的终末半衰期可解释为实施例4在肺部形成了肺贮库,物质从所述贮库持续地转移到循环系统。

[1449] 与木炭一起施用的干粉制剂的绝对生物利用度为16.3%,并且施用实施例4而不使用木炭为18.8%。这表示到达肺部的16.3%的实施例4干粉标称剂量被视为肺部剂量,并且到达身体的总干粉部分为标称剂量的18.8%。有木炭块的吸入应用后与无木炭块的吸入应用后实施例4的相对生物利用度为86.9%。这指示口服部分的剂量为大约标称剂量的13%。参见表39和40。计算得出喷出剂量为720 μ g,因为胶囊中的残余物为160 μ g,并且装置中的残余物为120 μ g,参见图61。

[1450] 此研究的结果证实了肺剂量和半衰期对于吸入干粉施用是足够的,使每日一次的治疗能在肺中供实施例4足够的24h药物覆盖。

[1451] 表39:在施用1000 μ g吸入、1000 μ g吸入+木炭和1000 μ g口服后,实施例4的随时间变化的血浆浓度几何平均值(以 μ g/L表示)和(以%表示的几何标准偏差SD)

[1452]

	1000 µg 实施例 4, 吸入+木炭块		1000 µg 实施例 4, 吸入		1000 µg 实施例 4, 吸入	
	N=16		N=16		N=16	
剂量后时间(h)	几何平均值	几何 SD	几何平均值	几何 SD	几何平均值	几何 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.

[1453] 表40:静脉内施用100µg后,实施例4的随时间变化的血浆浓度几何平均值(以µg/L表示)和(以%表示的几何标准偏差SD)

[1454]

	100 µg 实施例 4, IV mg	
	N=15	
剂量后时间(h)	几何平均值	几何 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)

[1455] E-2.4向PAH或CTEPH患者吸入施用单剂量以研究肺血管阻力(PVR)的降低

[1456] 年龄18至80岁患有PAH或CTEPH的患者在临床1b期研究中以口服吸入单剂量*240µg(2粒120µg胶囊)、480µg(1粒480µg胶囊)、1000µg(1粒1000µg胶囊)、2000µg(2粒1000µg胶

囊)或4000 μg (4粒1000 μg 胶囊)包含实施例4的干粉制剂(参见C-1,例如表17和20),插入手持式吸入装置中,通过深吸气吸入肺部深处进行治疗(*单剂量意指施用一种剂型/胶囊以及同时或在短时间内连续施用两种或更多种剂型/胶囊)。纳入的患者未接受过针对PAH或CTEPH的护理标准(SoC)药品的背景治疗(诸如内皮素拮抗剂、前列腺素类药物、5型磷酸二酯酶抑制剂或可溶性鸟苷酸环化酶刺激剂)。在本研究中患者如医学指示例行诊断,接受了侵入性右心导管插入术。此研究的主要目的是探究PVR相对于基线的峰值百分比降低。患者必须具有基线肺动脉压(mPAP) $\geq 25\text{mmHg}$ 和PVR $\geq 400\text{dyn}\cdot\text{sec}\cdot\text{cm}^{-5}$ (5个伍德单位(Wood Unit)),并且没有显示出对初始iNO吸入测试的血管反应性才能被纳入在每个方案分析中。在施用后的数个时间点,测量施用药物的血浆浓度(药代动力学),并评估安全性和耐受性。

[1457] 本研究分为A部分和B部分两个部分。在A部分中,向无针对PAH或CTEPH的护理标准(SoC)药品的背景治疗(诸如内皮素拮抗剂、前列腺素类药物、5型磷酸二酯酶抑制剂或可溶性鸟苷酸环化酶刺激剂)的患者施用递增的前述单剂量。在B部分中,在A部分完成后,从A部分选出的剂量将在无背景SoC治疗的另外患者(第1组)以及另外在经SoC单一治疗(第2组)和以SoC双重组合治疗(第3组)的患者中进行测试。

[1458] PVR是从右心导管插入术期间直接测量的参数所得出的参数。包括在计算中的直接参数为:平均肺动脉压[mmHg](mPAP)、肺毛细血管楔压[mmHg](PCWP)和心输出量[l/min](CO)。PVR根据下式计算:PVR[$\text{dyn}\cdot\text{sec}\cdot\text{cm}^{-5}$]= $80\cdot(\text{mPAP}-\text{PCWP})/\text{CO}$ 。

[1459] 研究设计示于图62中并且最终A部分的汇总示于图63中。

[1460] 总共38位患者接受实施例4干粉的剂量。每个剂量组中总计4位患者按计划纳入符合方案集(总计20位患者)。在2000 μg 和4000 μg 组中,可清楚地观察到PVR相比于基线的剂量依赖性平均变化,以大约-30%的持续平均变化达到峰值(有关PVR的详情,参见图64和表41)。PVR的下降主要由肺动脉压下降所驱动(有关平均PAP的详情,参见图65和表42)。-20%的平均峰值变化水平-为预定义的相关阈值水平-明显超过2000 μg 和4000 μg 组中的峰值(平均峰值变化为:对于240、480、1000、2000和4000 μg 分别为-21.0%、-16.1%、-25.9%、-38.1%、-36.3%)。在历史比较中,在单次施用后PVR相比于基线-30%的平均变化幅度与吸入竞争药曲前列尼尔(Tyvaso®)处于同一水平[Voswinckel等人,Journal of American College of Cardiology第48卷,第8期,2006年10月17日,2006:1672-81]。然而,实施例4之后的效应有利地持续到3h的测量期结束时反应并无下降(>3h的测量期在技术上对于研究中使用右心导管的患者是不可行的)。从本研究中测量的实施例4的长的血浆半衰期可得出结论,肺保留时间超过测量的3h(大概在干粉应用后超过12hr,至多24hr的时间段内)。全身cGMP(环磷酸鸟苷)的增加证实了sGC活化的强力目标参与。看到了总体良好的耐受性,包括4000 μg 的最高剂量。观察到的全身血压、心率和氧饱和度的变化在任何剂量下都不代表安全性问题。整体而言,在全身血流动力学没有发生相关变化的情况下,观察到的肺血流动力学参数(PVR和mPAP)的变化与选择性肺血管舒张的预期效应非常一致。

[1461] 表41:在PAH或CTEPH患者中在基线(0D00H00M)和吸入实施例4后(0D00H30M至0D03H00M)随时间变化的肺血管阻力(PVR)的平均值和SD(240、480、1000、2000和4000 μg 组,各N=4,符合方案集)。与基线相比的相对变化示于图64中。

	240 μg , N=4	480 μg , N=4	1000 μg , N=4	2000 μg , N=4	4000 μg , N=4
[1462] 0D00H0 0M	788.338 \pm 41 6.914	1055.863 \pm 317.0 77	608.898 \pm 13 5.153	468.608 \pm 20.537	713.998 \pm 117. 204
0D00H3 0M	749.012 \pm 39 8.928	1003.264 \pm 300.6 39	645.387 \pm 21 1.946	464.586 \pm 58.200	616.894 \pm 97.7 74
0D01H0 0M	734.427 \pm 39 6.799	1007.504 \pm 290.8 83	558.324 \pm 16 9.860	421.730 \pm 81.602	542.417 \pm 97.1 03
0D01H3 0M	726.362 \pm 36 4.099	1031.647 \pm 252.2 10	542.130 \pm 18 7.227	340.782 \pm 82.566	573.812 \pm 123. 865
0D02H0 0M	710.844 \pm 41 0.668	908.704 \pm 252.56 9	487.951 \pm 14 4.546	339.924 \pm 105.884	501.071 \pm 97.9 79
0D02H3 0M	716.209 \pm 41 9.311	1038.344 \pm 263.8 37	537.812 \pm 20 4.640	338.404 \pm 87.381	526.648 \pm 144. 679
0D03H0 0M	657.829 \pm 29 1.191	909.265 \pm 259.51 0	535.636 \pm 23 5.786	327.284 \pm 25.882	493.103 \pm 130. 480

[1463] 表42: 在PAH或CTEPH患者中在基线(0D00H00M)和吸入实施例4后(0D00H30M至0D03H00M)随时间变化的肺动脉压(mPAP)的平均值和SD(240、480、1000、2000和4000 μg 组,各N=4,符合方案集)。与基线相比的相对变化示于图65中。

	240 μg , N=4	480 μg , N=4	1000 μg , N=4	2000 μg , N=4	4000 μg , N=4
[1464] 0D 00H 00M	42.8 \pm 11.1	55.0 \pm 8.6	34.3 \pm 4.9	33.5 \pm 3.4	46.0 \pm 8.1
0D 00H 30M	42.5 \pm 11.0	52.3 \pm 8.4	33.8 \pm 7.5	33.3 \pm 6.3	43.0 \pm 4.6
0D 01H 00M	44.3 \pm 10.4	53.8 \pm 9.1	31.8 \pm 7.4	30.8 \pm 5.6	41.3 \pm 4.6
0D 01H 30M	43.0 \pm 8.0	55.0 \pm 8.0	32.0 \pm 8.9	28.5 \pm 7.3	40.3 \pm 5.1
[1465] 0D 02H 00M	39.5 \pm 7.9	52.5 \pm 7.9	32.3 \pm 9.0	27.0 \pm 6.1	40.0 \pm 5.3
0D 02H 30M	42.0 \pm 6.5	54.0 \pm 9.7	33.5 \pm 10.7	27.3 \pm 6.0	39.8 \pm 3.0
0D 03H 00M	39.0 \pm 4.2	56.0 \pm 11.1	34.0 \pm 11.6	27.5 \pm 5.2	39.8 \pm 4.1

[1466] E-3. 进一步表征

[1467] E-3.1Caco-2渗透性测试

[1468] 测试化合物穿过Caco-2细胞单层的体外渗透是一种预测胃肠道肠道渗透性的完善的测定系统(1)。如下所述在此类Caco-2细胞中测定本发明化合物的渗透性:

[1469] 将人Caco-2细胞接种在24孔插入板上,并使其生长14-16天。对于渗透性研究,将测试化合物溶解在DMSO中,并以运输缓冲液[汉克氏缓冲盐溶液(Hanks'Buffered Salt Solution),Gibco/Invitrogen,进一步补充有葡萄糖和HEPES]稀释至2 μM 的最终测试浓度。对于测定顶端到基底外侧的渗透性(PappA-B),将测试化合物溶液添加到细胞单层的顶端并且将运输缓冲液添加到单层的基底外侧,对于测定基底外侧到顶端的渗透性(PappB-A),将测试化合物溶液添加到细胞单层的基底外侧,并将运输缓冲液添加到单层的顶端。在实验开始时从供体隔室中采集样品以确认质量平衡。在37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育2h后,从两个隔室中采集样品。通过LC-MS/MS分析样品,并计算表观渗透系数。针对每个细胞单层测定荧光黄渗透性(Lucifer Yellow permeability),以确保细胞单层完整性,并针对每个批次测定阿替洛尔(atenolol)(低渗透性的标志物)和柳氮磺吡啶(Sulfasalazine)(主动排泄的标志物)的渗

透性,作为质量控制。

[1470] 表43:渗透性测试

	Caco-2 (2 μM)	Papp A-B (nm/s) (平均 \pm SD)	Papp B-A (nm/s) (平均 \pm SD)	外排率
[1471]	比较实施例 11 (2.0 μ M)	15.1 \pm 1.7	9.7 \pm 0.6	0.64 \pm 0.1
	比较实施例 2 (利奥西呱) (2.4 μ M)	35 \pm 8.4	367 \pm 75	11 \pm 3.3
	比较实施例 1	31 \pm 3.9	631 \pm 71	20 \pm 3.5
[1472]	(西那西呱) (2.0 μ M)			

[1473] 所有三个实施例在Caco-2细胞中均显示出中度渗透性。

[1474] 相比于比较实施例2(利奥西呱)和比较实施例1(西那西呱),比较实施例11显示出最低的渗透性,为15.1 \pm 1.7nm/s。另外,比较实施例11并未显示出外排率。外排率指示例如肠道和/或肝脏中的转运蛋白参与。转运蛋白,例如渗透性糖蛋白(=PgP)或乳腺癌耐药性蛋白(=BCRP)可能会影响药物的全身暴露。

[1475] 比较实施例11在此处显示出明确的益处,因为其显示出最低的渗透性,并且似乎无转运蛋白参与,从而显示出其对于局部吸入性治疗的适用性,具有潜在非常低的全身暴露。

[1476] E-3.2蛋白质结合

[1477] 如下所述,经由Transil测定分析比较实施例11和比较实施例1的蛋白质结合

[1478] 测试物质在**Transil®**(固定于硅胶珠粒上的磷脂酰胆碱脂质双层)和血浆之间的分布是任何药物化合物的代表性特征,并且取决于其与血浆蛋白结合的程度。通过比较**Transil®**和缓冲液之间的分布与**Transil®**和任何感兴趣物种血浆之间的分布,可在体外计算出相应动物物种的血浆中的未结合分数。经由放射性分析测定相应血浆和缓冲液浓度。所述方法的详细描述及其验证由Schuhmacher等人发表(2)。

[1479] 如下所述,经由超滤测定分析比较实施例2的蛋白质结合。

[1480] 对于此测定,使用30kDa孔径的滤膜来分离血浆和无蛋白质的超滤液。通过离心施加过滤的驱动力。在蛋白质结合研究之前,通过过滤溶解在缓冲液中的四种浓度的测试化合物,检查超滤装置对测试化合物的吸附(回收)和测试化合物通过滤膜的能力。测试化合物的足够稳定性和几乎完全回收($\geq 90\%$ 用于实验的化合物的实际量)是使用超滤方法的先决条件。向血浆中添加的有机溶剂的量不能超过总孵育量的2%。将血液样品汇集(除人和猴子以外的所有物种)或个别(人和猴子)收集于肝素化试管中,并在24h内用于血液中的孵育实验。血浆通过将肝素化血液样品离心制备。将血浆储存在-15°C下,直到使用。控制血浆稳定性,化合物回收,与膜和测试装置的非特异性结合以及血细胞与血浆之间的分配。通过液体闪烁计数测定与物质相关的放射性。使用此分析方法,无法区分出无变化物质和放射性代谢物。有关放射分析方法的细节和样品的后处理,参见Goeller等人(3)。一般超滤方法的描述由Zhang等人在2012年发表(4)。

[1481] 表44:化合物的蛋白质结合

	未结合分数 (%)	Wistar 大鼠	比格犬	人(男性)	猕猴	小型猪(雌性)
[1482] 比较实施例 11		0.224	0.108	0.0764	0.0485	0.348
比较实施例 2 (利奥西呱)		15.7	17.1	4.97	n.d.	n.d.
比较实施例 1 (西那西呱)		0.351	1.12	0.392	0.0799	n.d.

[1483] n.d. 未测定

[1484] 比较实施例11和比较实施例1(西那西呱)显示出非常高的蛋白质结合,在所有研究的物种中,游离分数低于1%。但在得到的比较结果的所有测试物种中,实施例1显示出最低的游离分数。在大鼠血浆中,比较实施例11与比较实施例1相比未结合分数低1.6倍,在人和猕猴血浆中游离分数低2倍,而在犬血浆中未结合分数低10倍。比较实施例2(利奥西呱)显示出较高的游离分数,介于15.7%与4.97%之间。

[1485] 高蛋白质结合被视为如Begg等人所述的高肺选择性的指标(5)。因此,比较实施例11显示出优于比较实施例1和2的有益性质。

[1486] 参考文献:

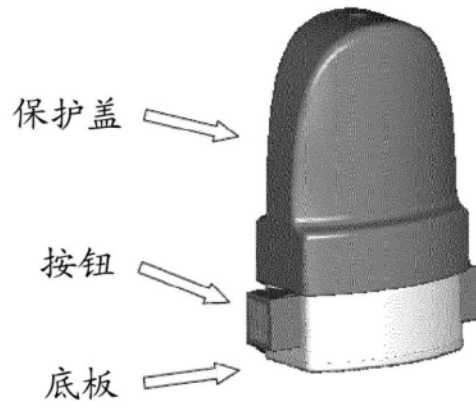
[1487] 1.Artursson P and Karlsson J.Correlation between oral drug absorption in humans and apparent drug permeability coefficients in human intestinal epithelial(Caco-2)cells,High-throughput determination of the free fraction of drugs strongly bound to plasma proteins.Biochem.Biophys,1991.175(3),880-885.

[1488] 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.

[1489] 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.

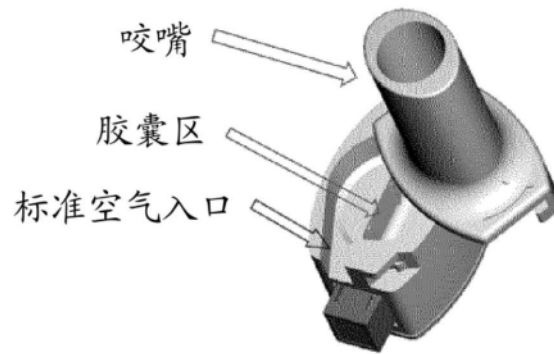
[1490] 4.Zhang F,Xue J,Shao J,Jia.Compilation of 222 drugs' plasma protein binding data and guidance for study designs.Drug Discovery Today 2012;9-10(17):475-485.

[1491] 5.Begg M,Edwards CD,Hamblin N,Pefani E,Wilson R,Gilbert J,Vitulli G, Mallett D,Morrell J,Hingle MI,Uddin S,Ehtesham F,Marotti M,Harrell A,Newman CF,Fernando D,Clark J,Cahn A,Hessel EM.Translation of Inhaled Drug Optimization Strategies into Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics Using GSK2292767A,a Novel Inhaled Phosphoinositide 3-Kinase d Inhibitor.J.Pharmacol.Exp.Ther.2019;369:443-453.



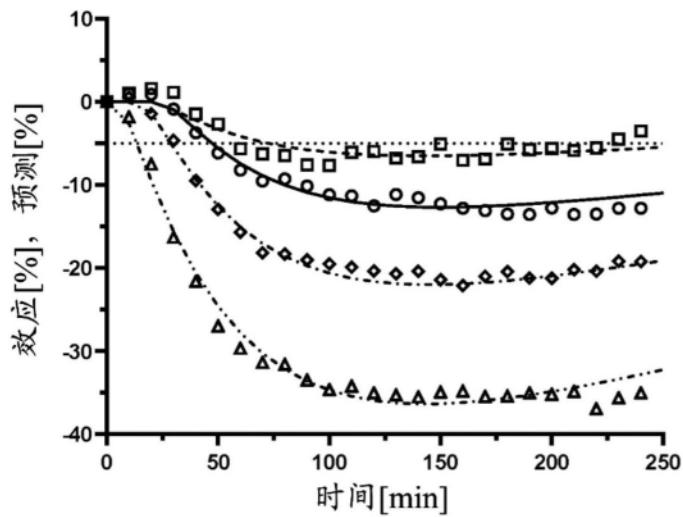
基于胶囊的单一单位剂量吸入器

图1a



基于胶囊的单一单位剂量吸入器

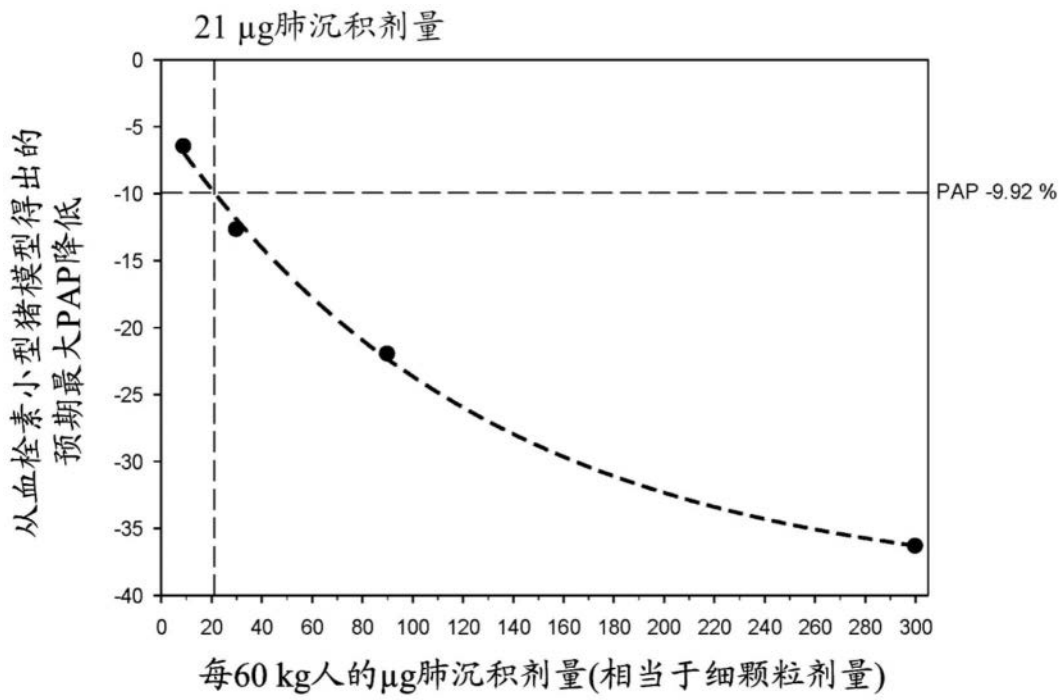
图1b



观察		预测	
□	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

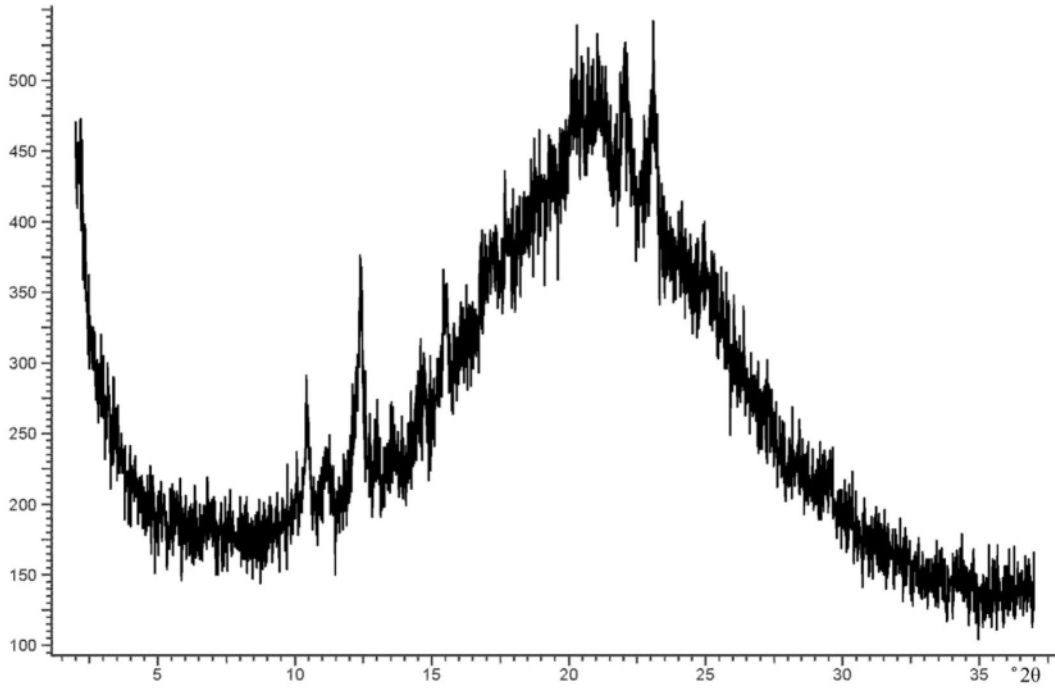
在将0.15、0.5、1.5和5 µg/kg实施例1 (剂量以肺沉积剂量表示)施用给小型猪后 (以液体气雾剂形式吸入7 min)观察到的(符号)和拟合的(实线) PAP。以虚线指示相关PAP降低5%

图2



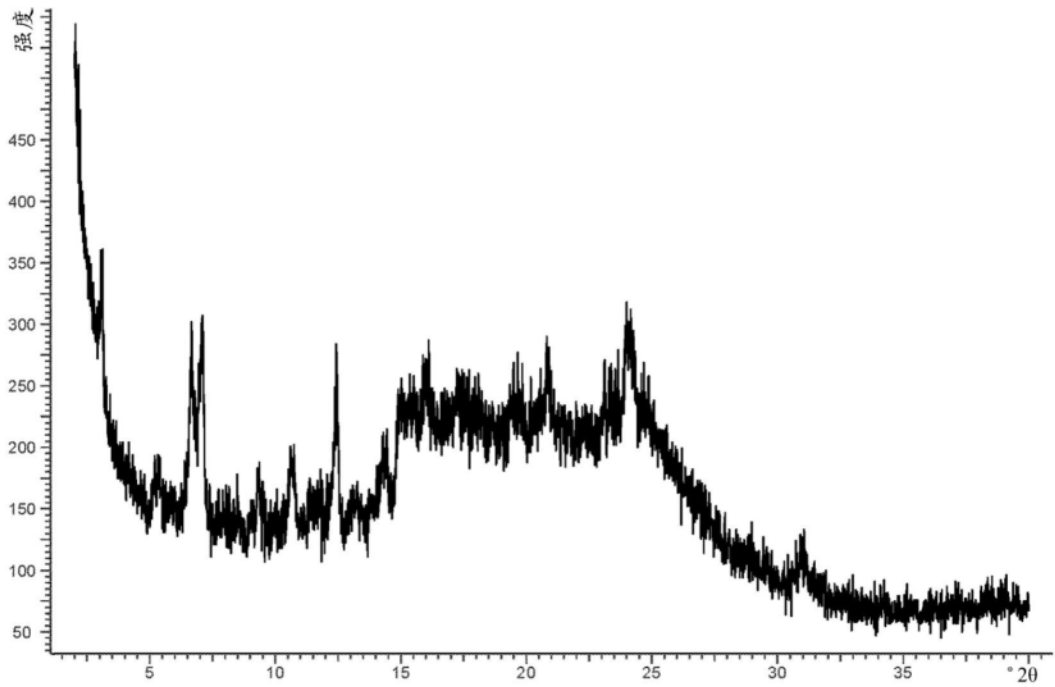
基于麻醉血栓素小型猪模型的结果，不考虑蛋白质结合的种间差异，60 kg人在对应肺沉积剂量(FPD)下的最大预期PAP降低。

图3



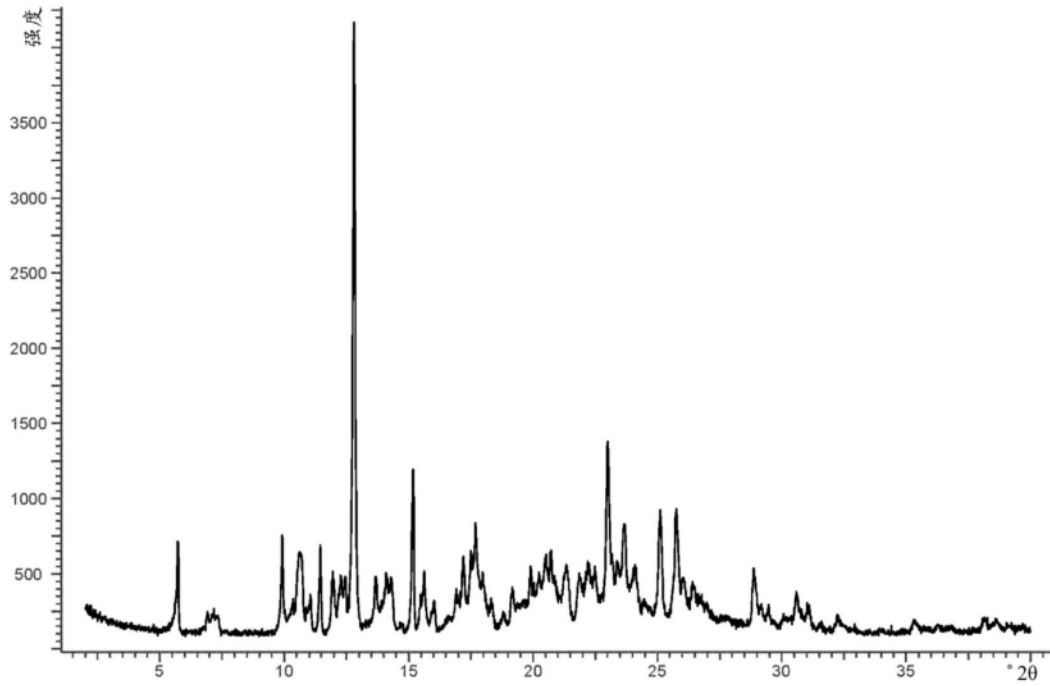
建立在L-精氨酸盐筛选实验上的无定形残余物的X射线粉末衍射图

图4



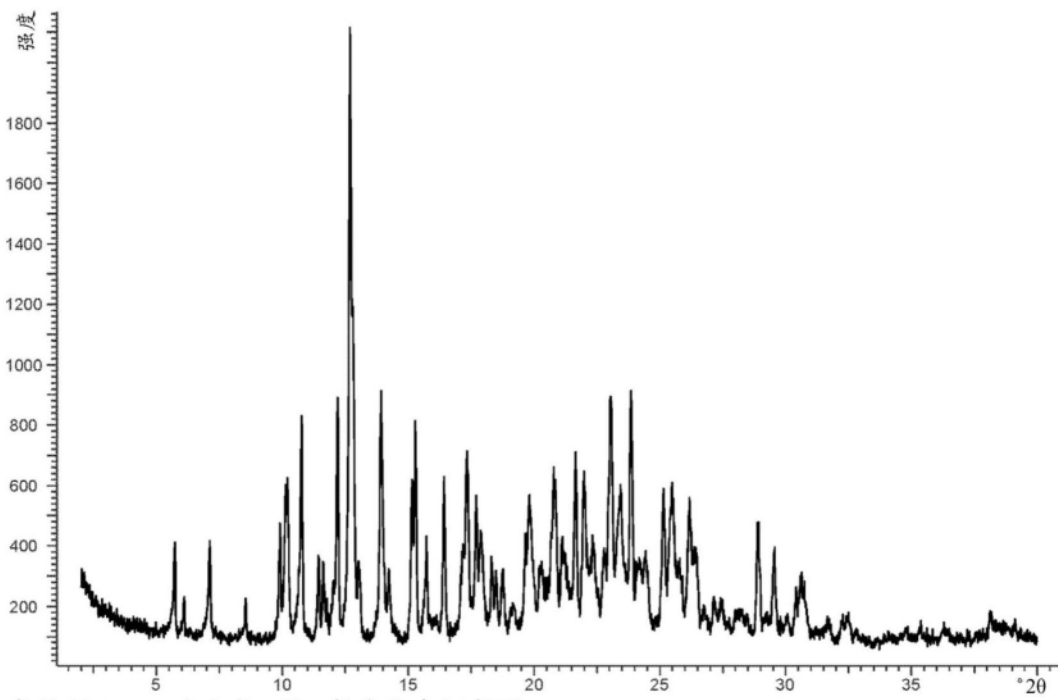
实施例6a, 半水合物的X射线粉末衍射图

图5



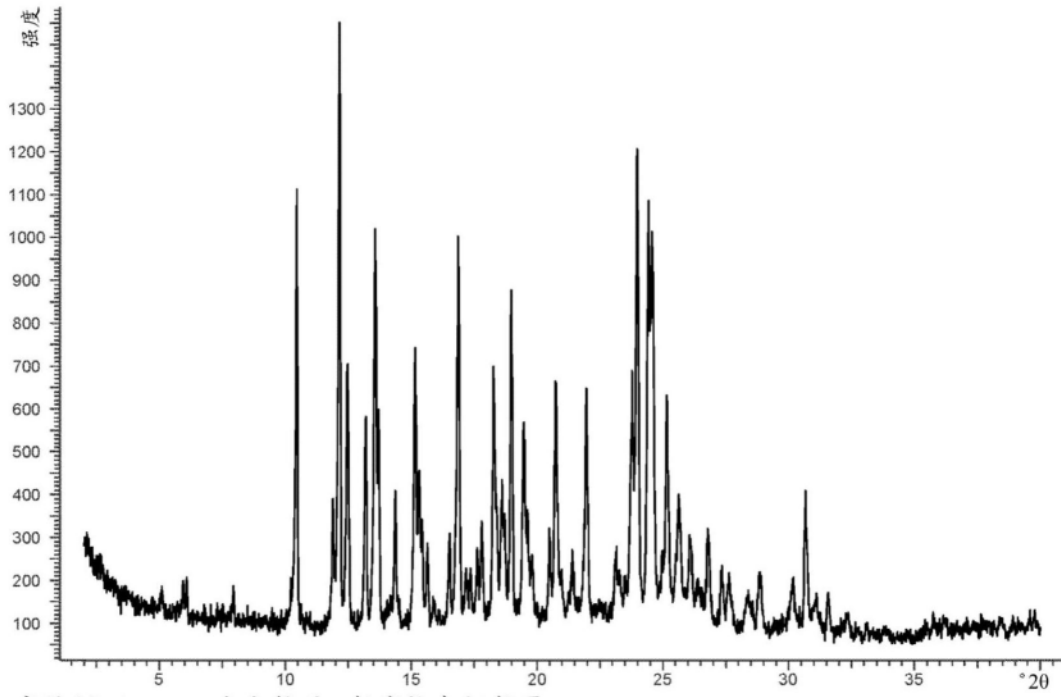
实施例6b, 一水合物I的X射线粉末衍射图

图6



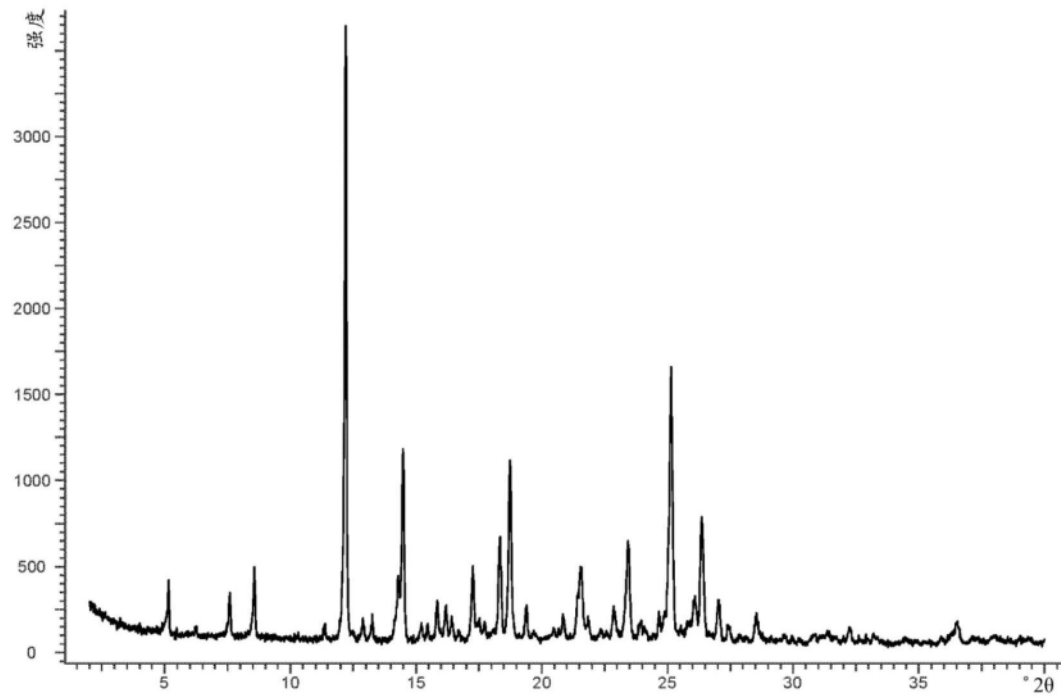
实施例6c, 一水合物II的X射线粉末衍射图

图7



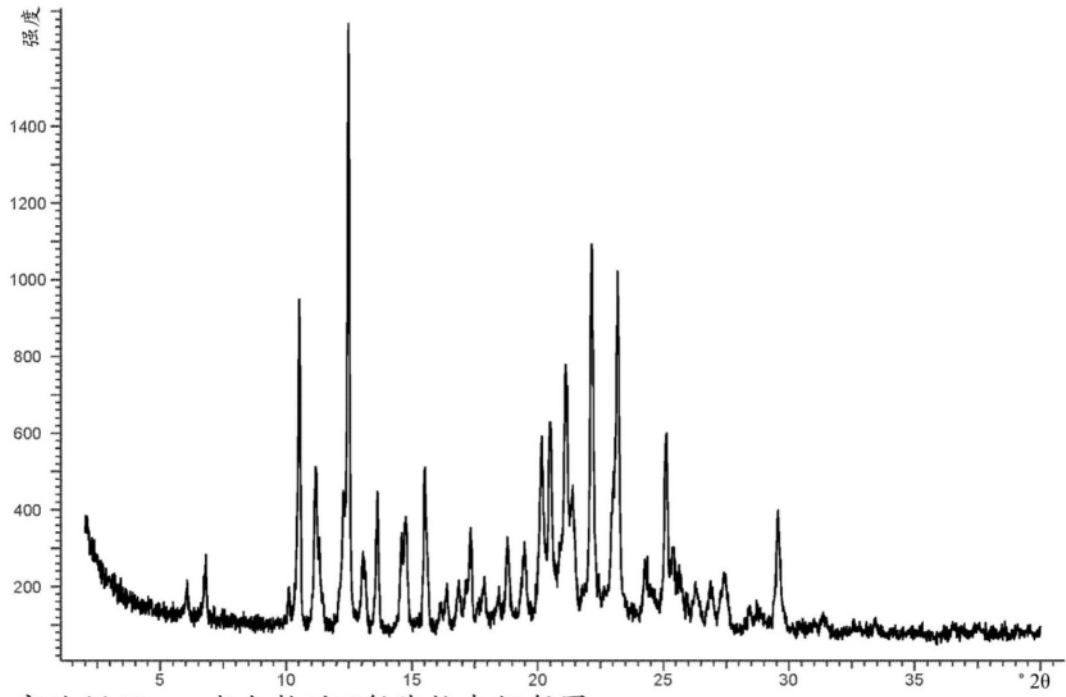
实施例6d, 1,25-水合物的X射线粉末衍射图

图8



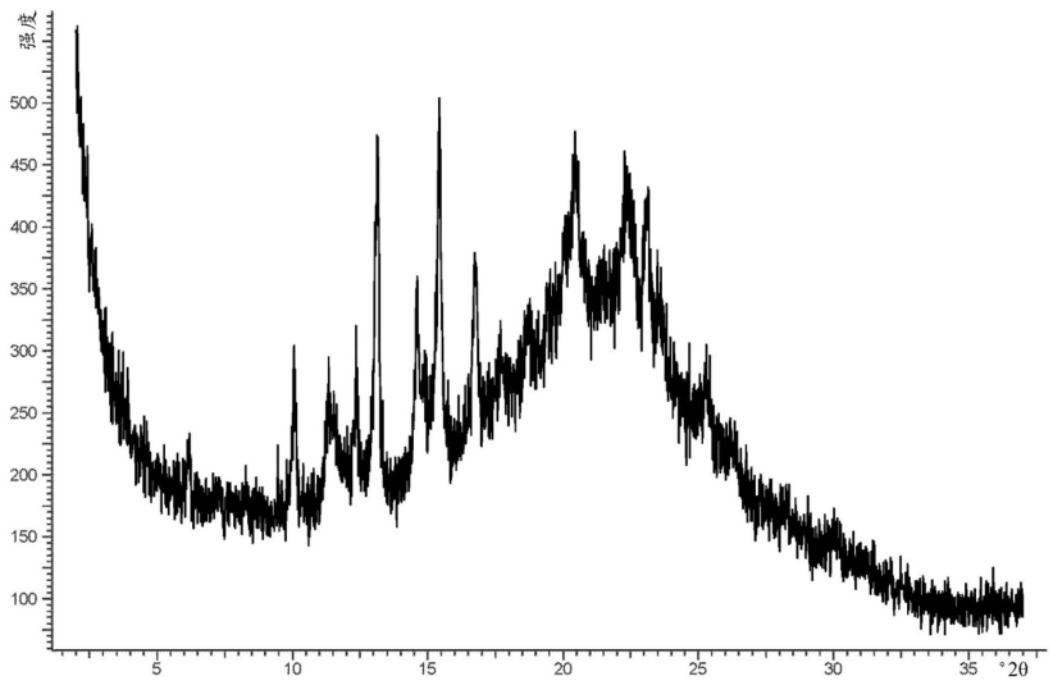
实施例6e, 倍半水合物的X射线粉末衍射图

图9



实施例6f, 二水合物的X射线粉末衍射图

图10



干燥后实施例6f的X射线粉末衍射图

图10a

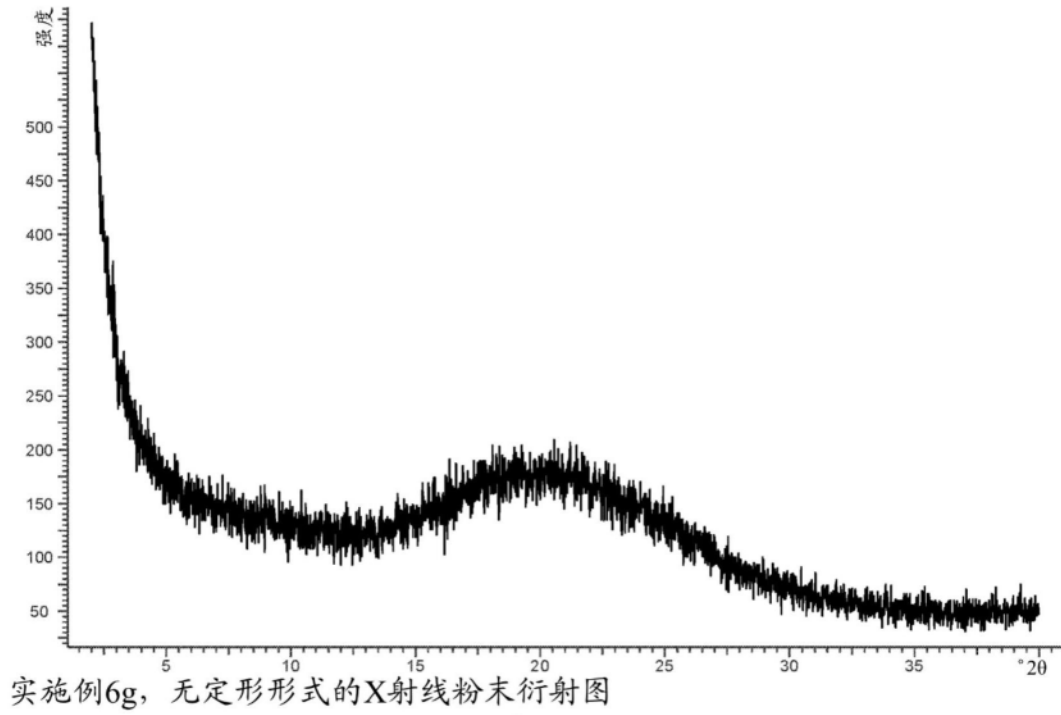
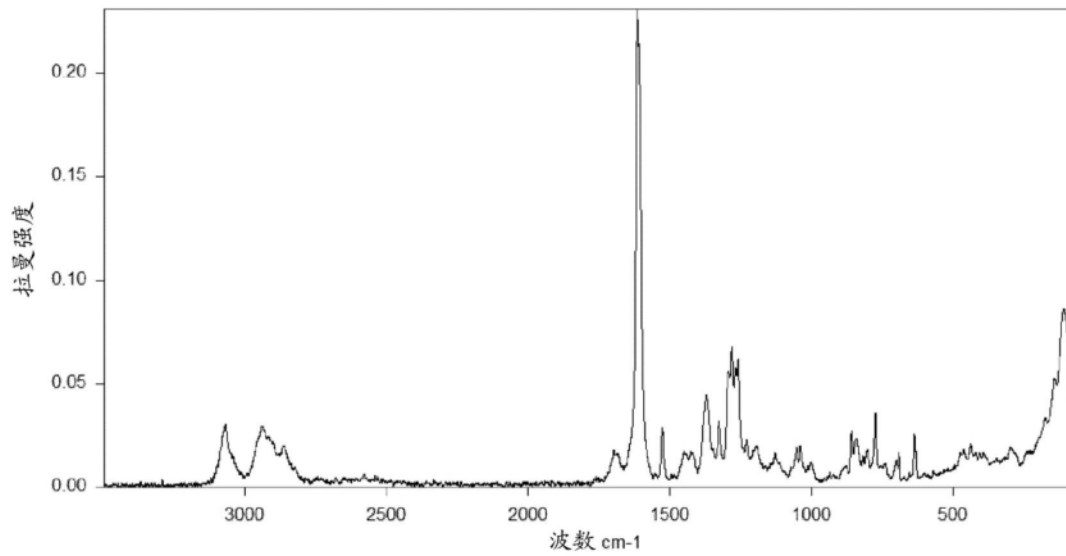
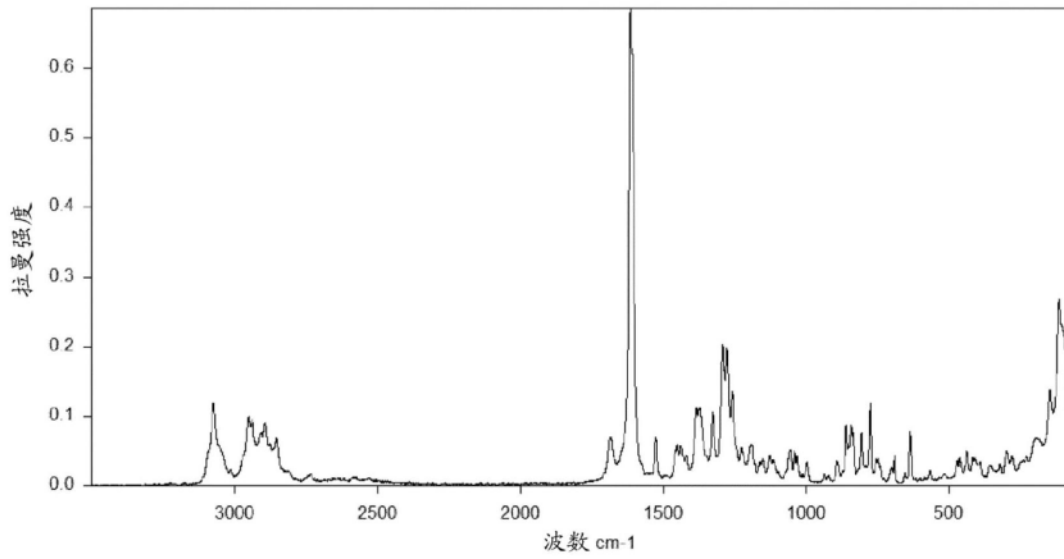


图11



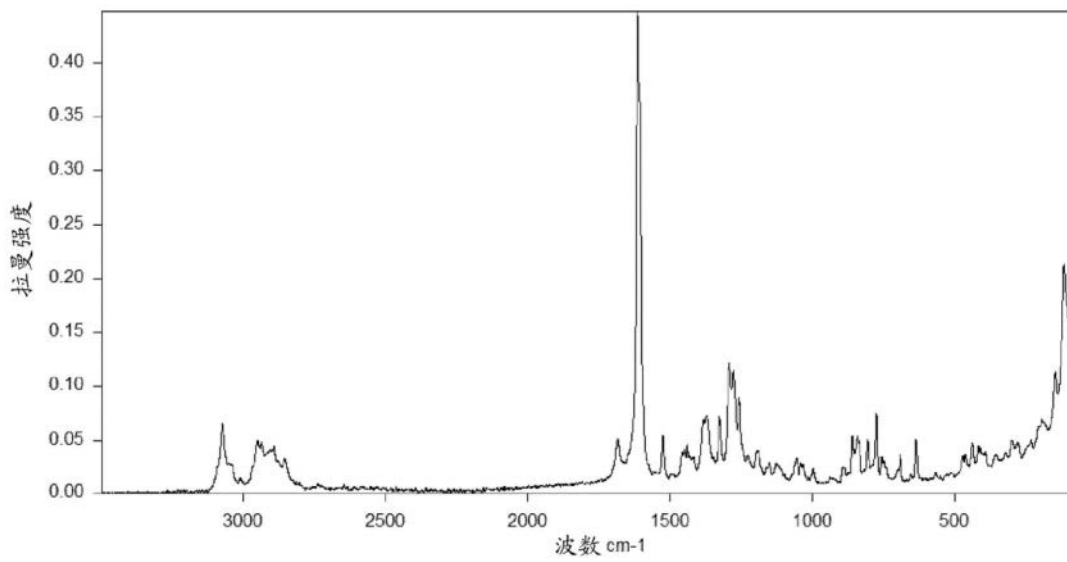
实施例6a, 半水合物的拉曼光谱

图12



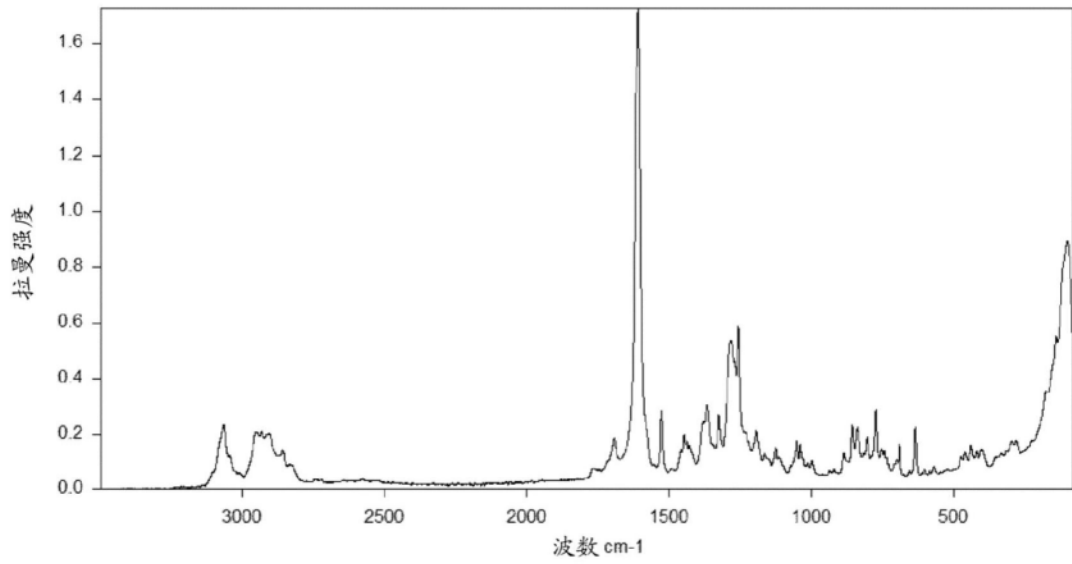
实施例6b, 一水合物I的拉曼光谱

图13



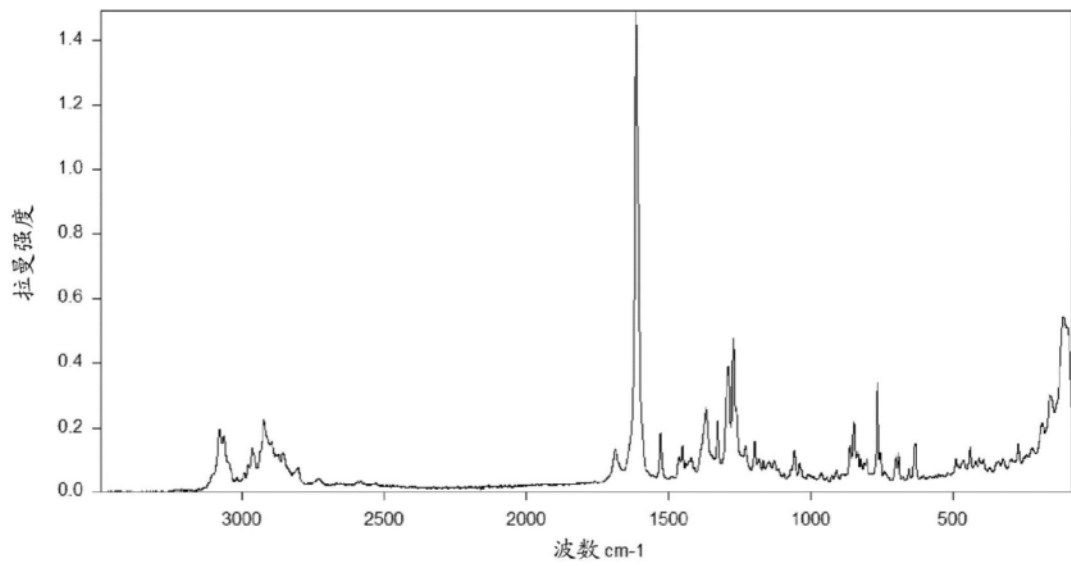
实施例6c, 一水合物II的拉曼光谱

图14



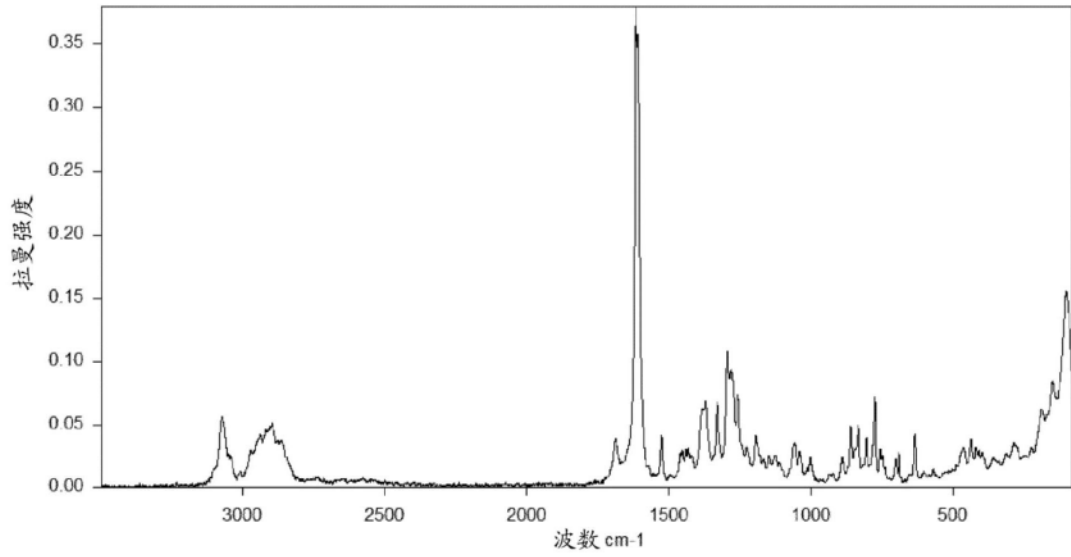
实施例6d, 1,25-水合物的拉曼光谱

图15



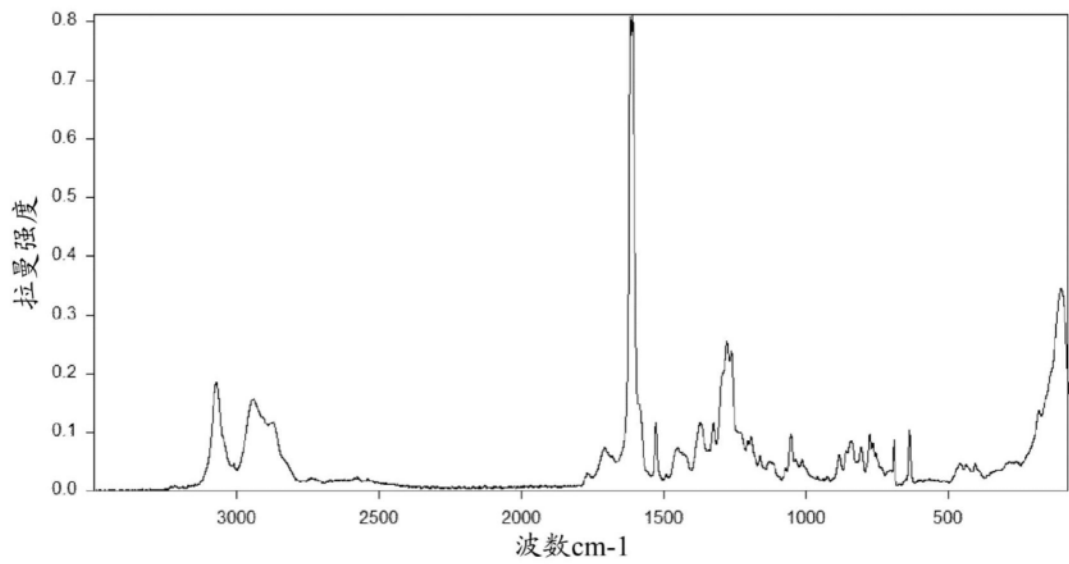
实施例6e, 倍半水合物的拉曼光谱

图16



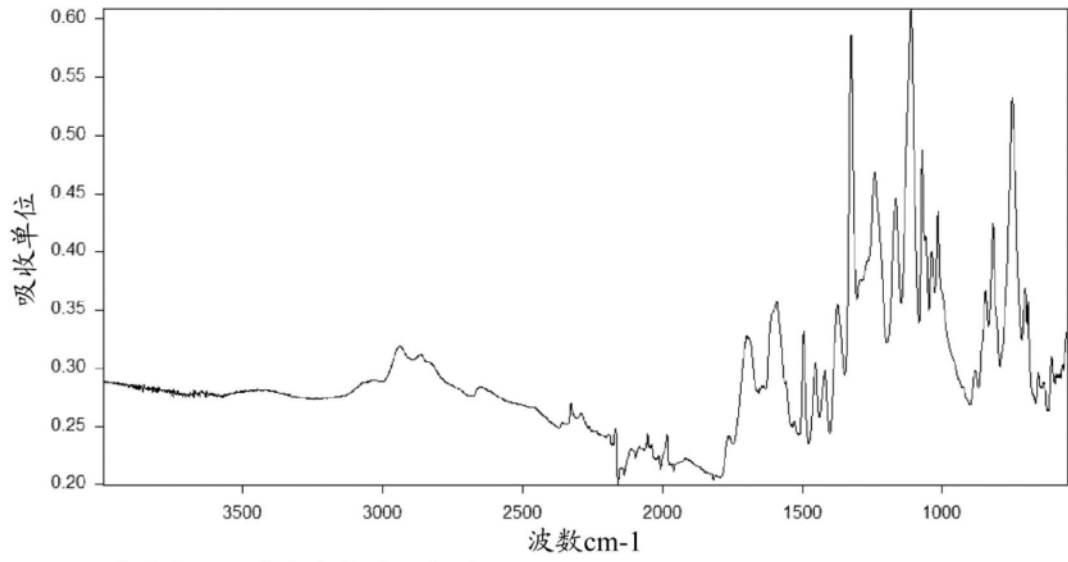
实施例6f, 二水合物的拉曼光谱

图17



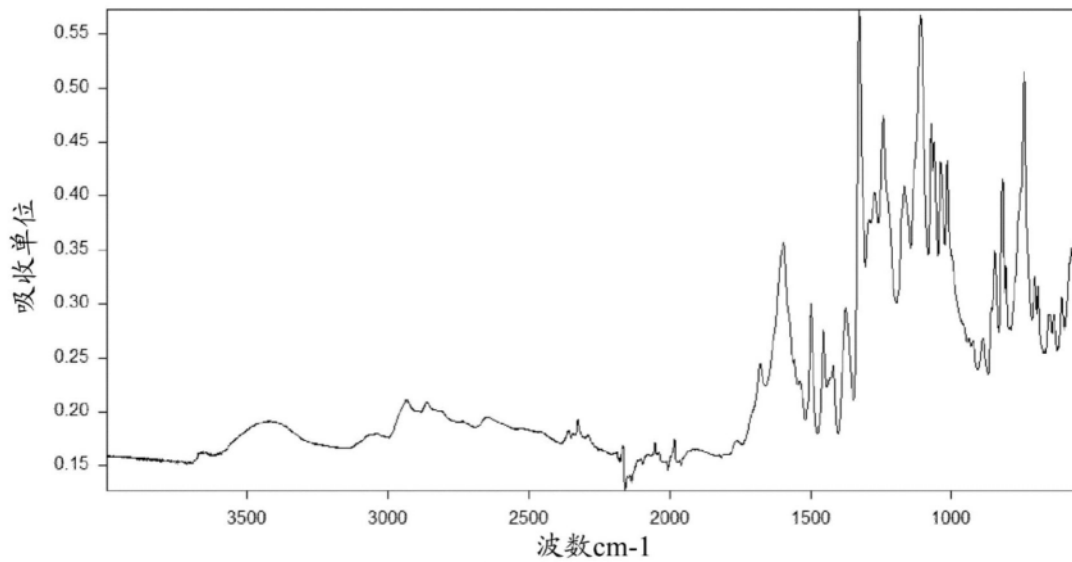
实施例6g, 无定形形式的拉曼光谱

图18



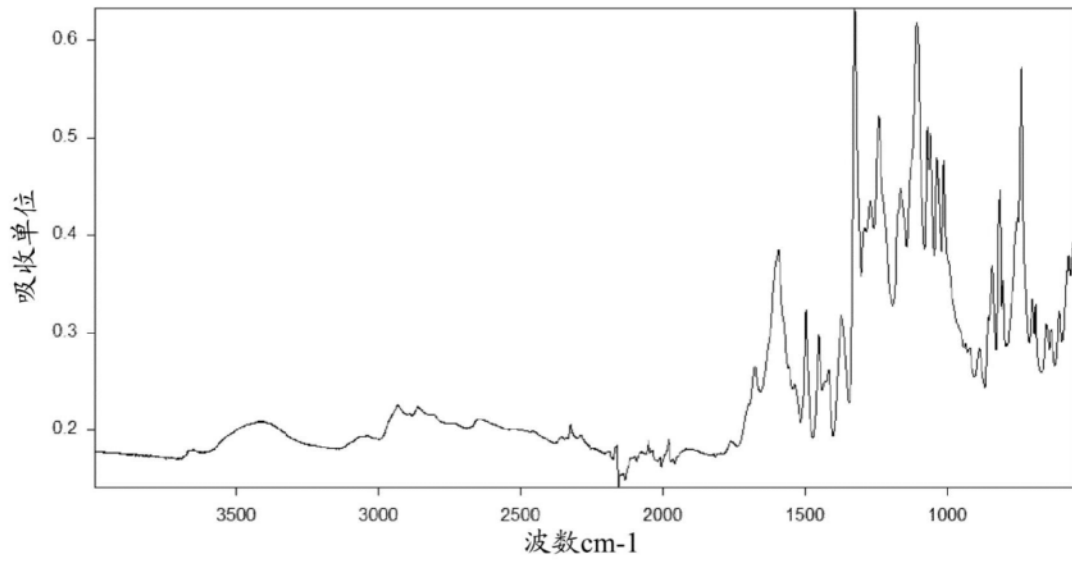
实施例6a, 半水合物的IR光谱

图19



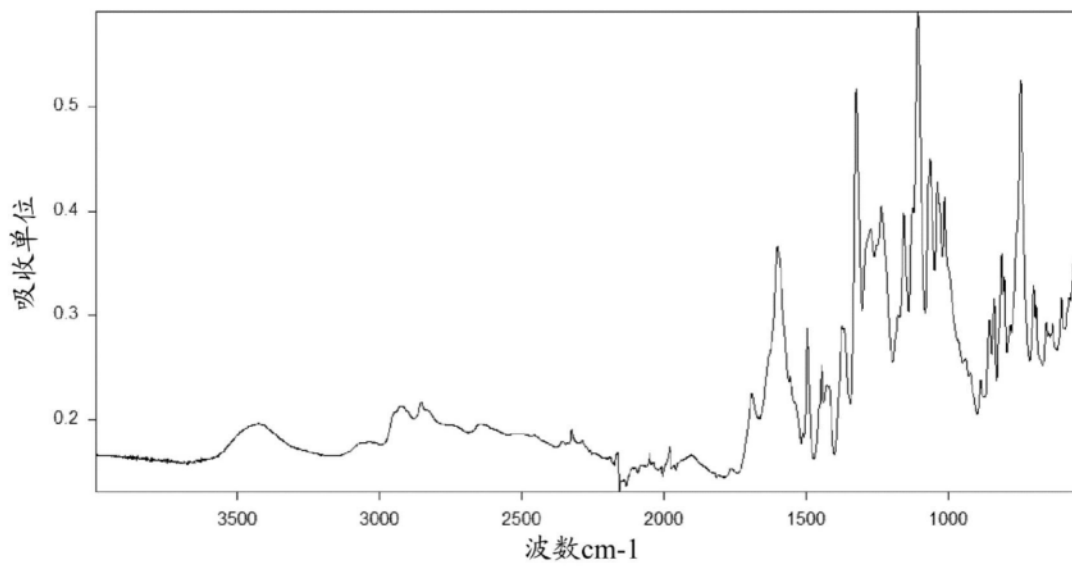
实施例6b, 一水合物I的IR光谱

图20



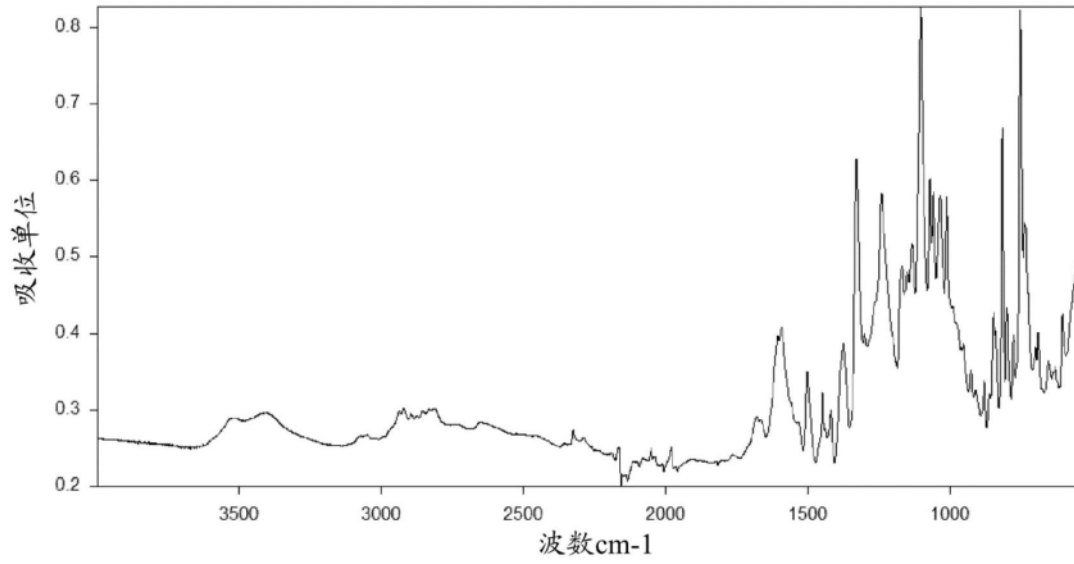
实施例6c, 一水合物II的IR光谱

图21



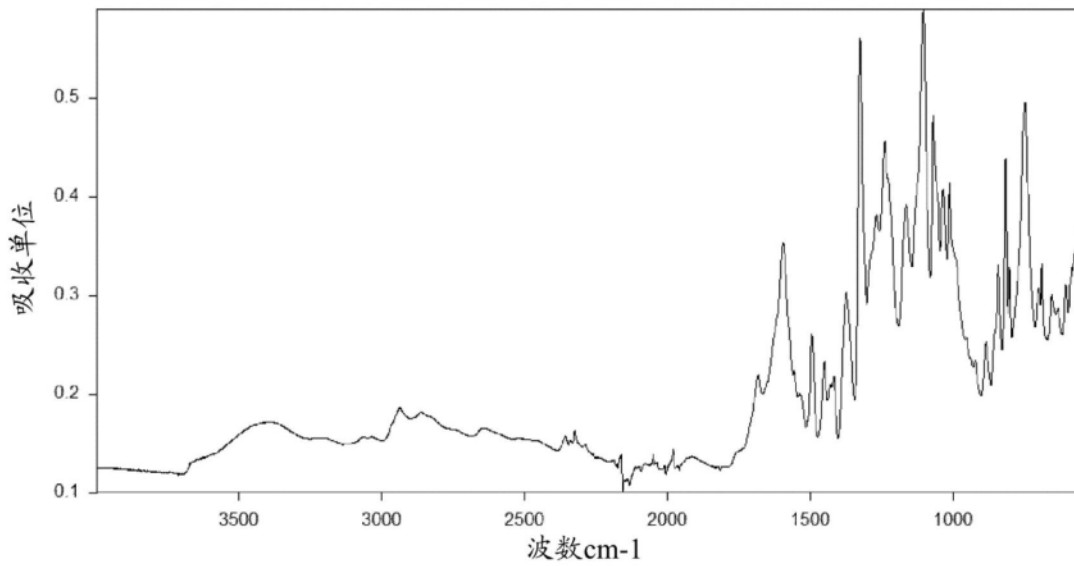
实施例6d, 1,25-水合物的IR光谱

图22



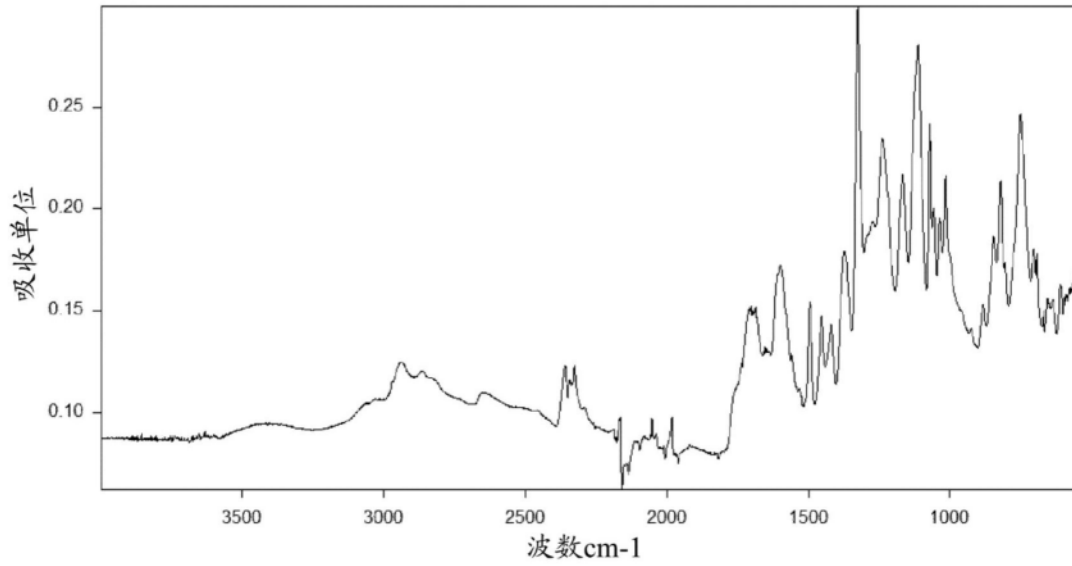
实施例6e, 倍半水合物的IR光谱

图23



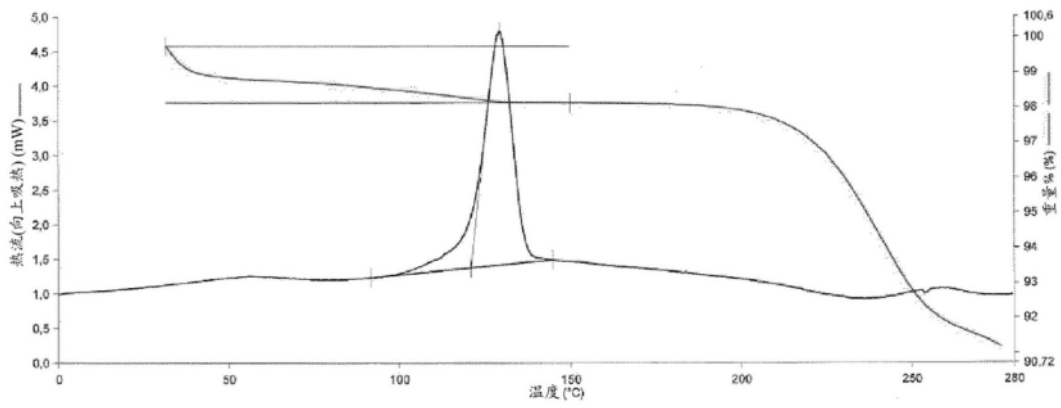
实施例6f, 二水合物的IR光谱

图24



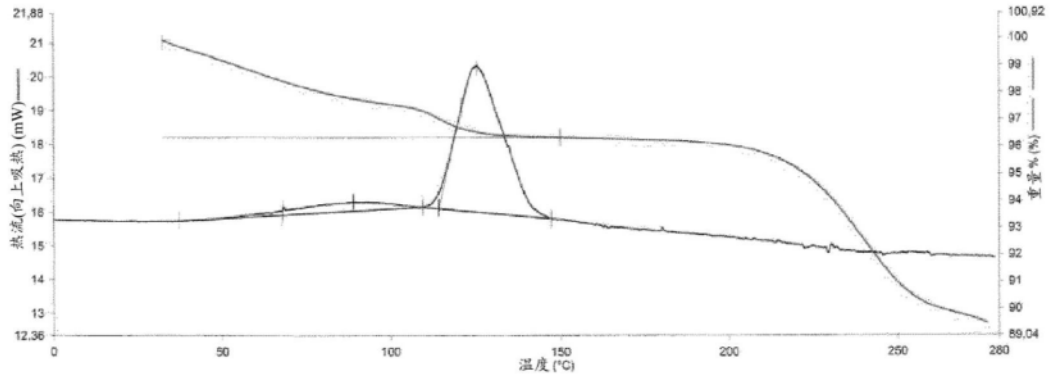
实施例6g, 无定形形式的IR光谱

图25



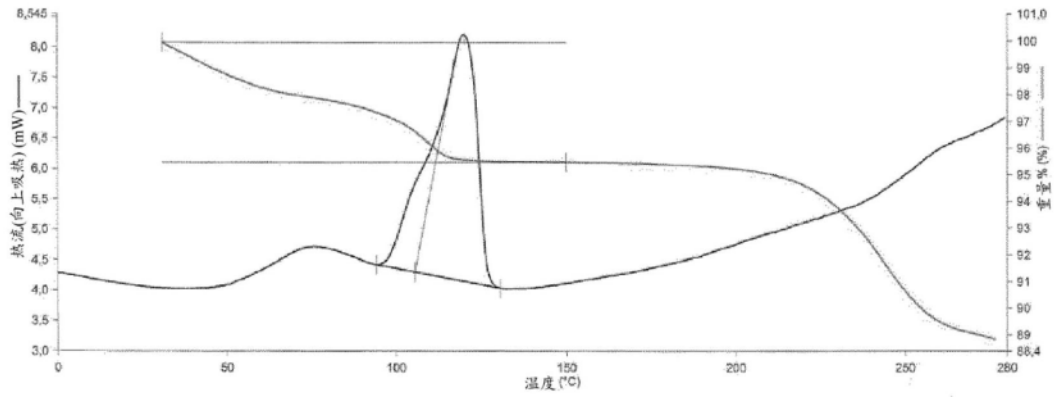
实施例6a, 半水合物的DSC-和TGA-温谱图

图26



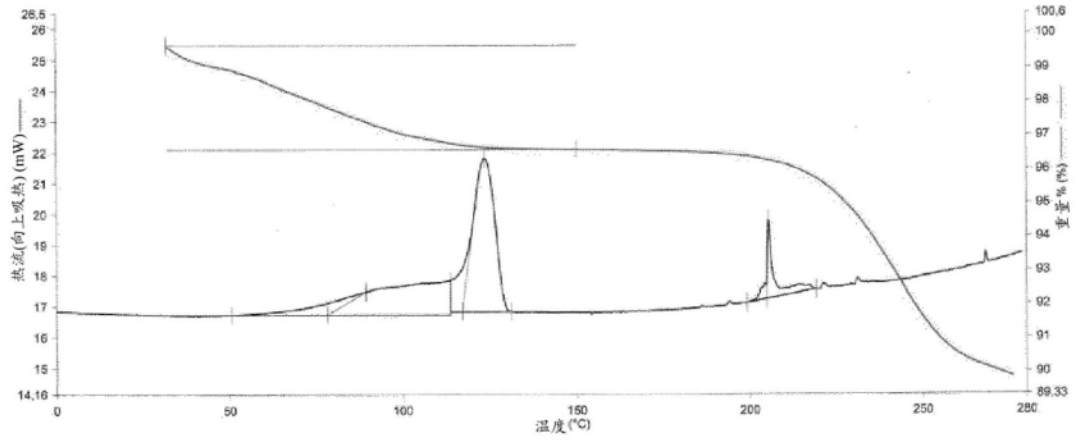
实施例6b, 一水合物I的DSC-和TGA-温谱图

图27



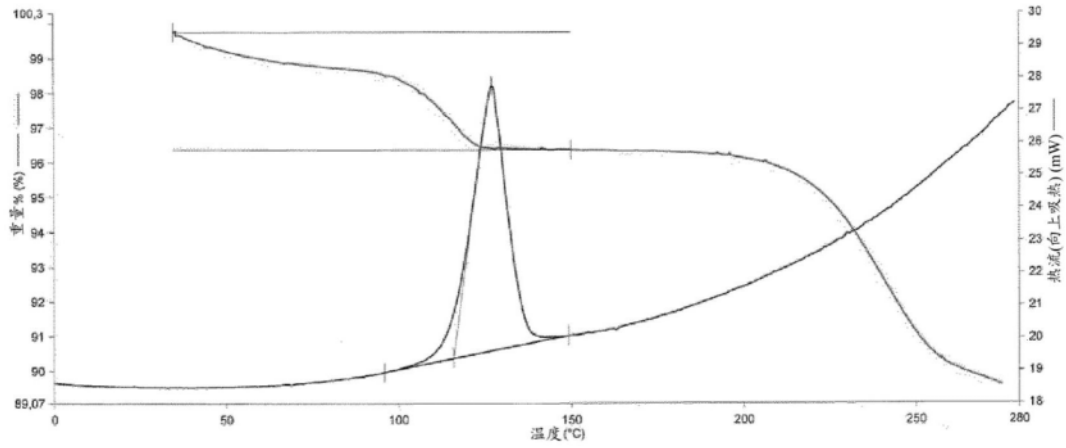
实施例6c, 一水合物II的DSC-和TGA-温谱图

图28



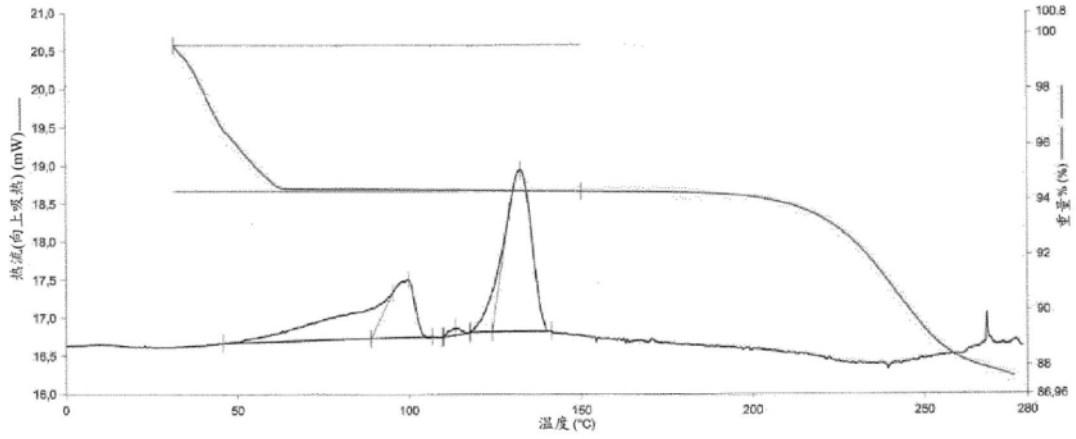
实施例6d, 1,25-水合物的DSC-和TGA-温谱图

图29



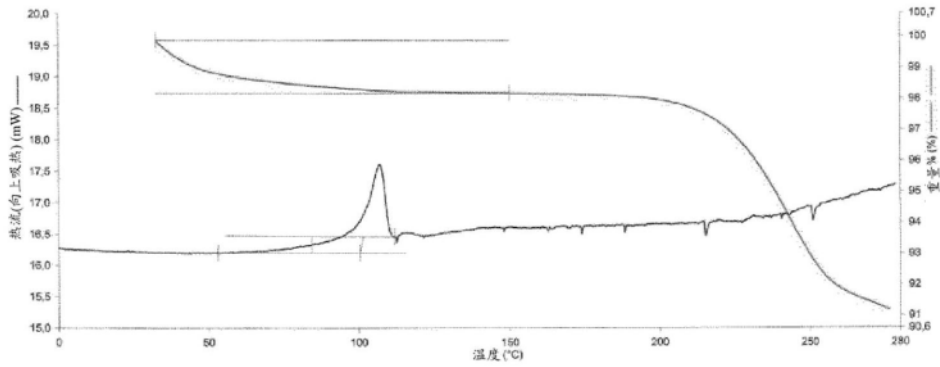
实施例6e, 倍半水合物的DSC-和TGA-温谱图

图30



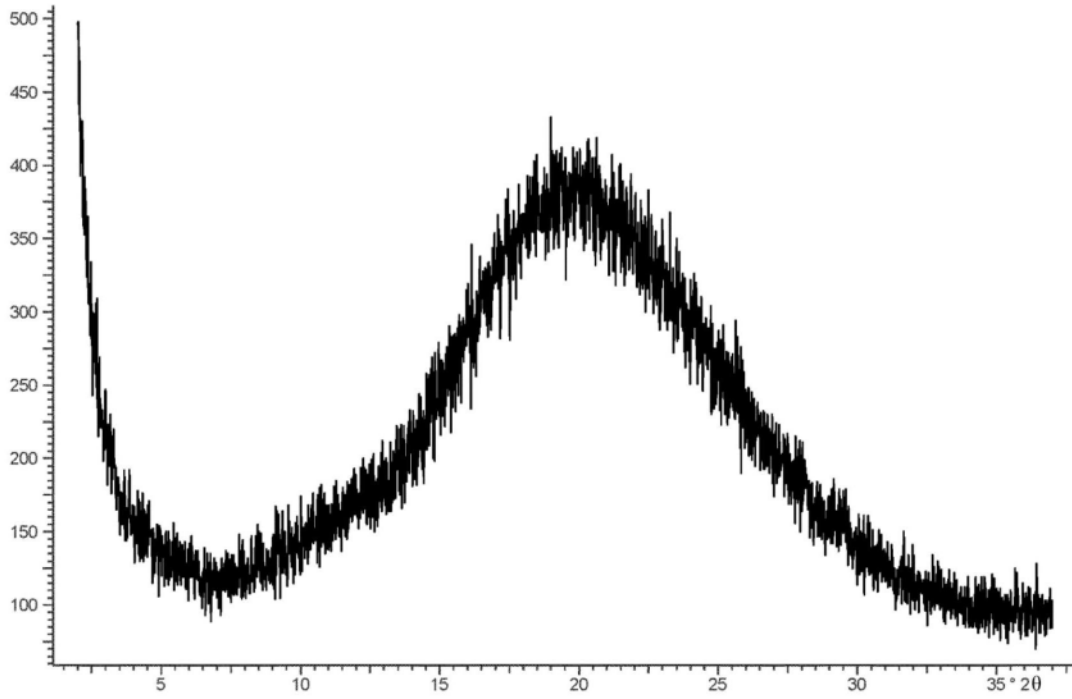
实施例6f, 二水合物的DSC-和TGA-温谱图

图31



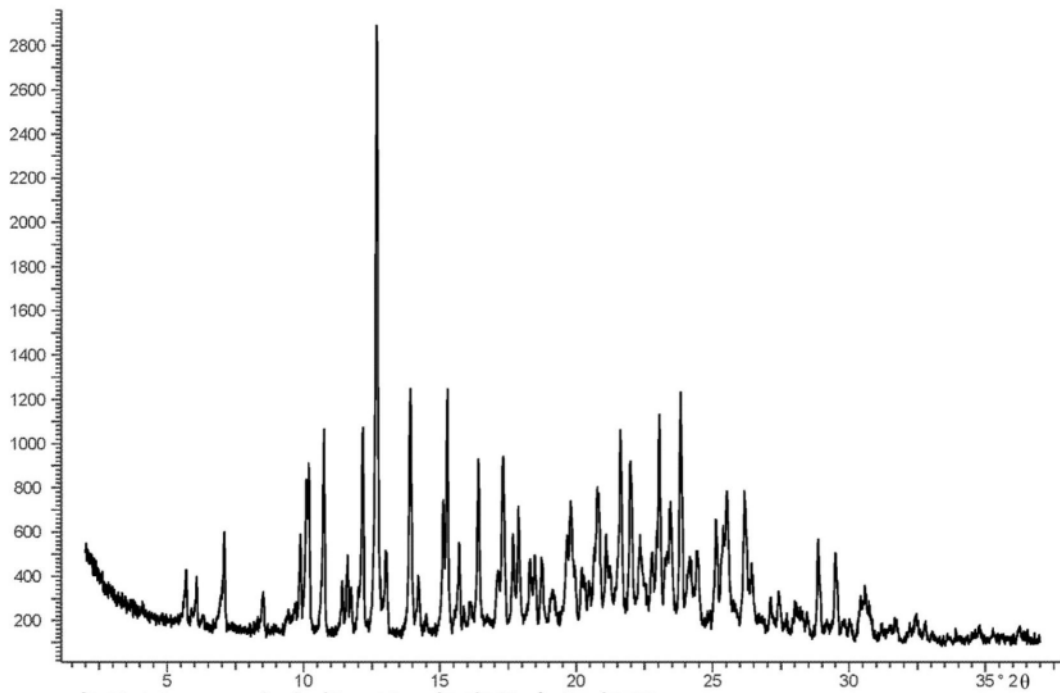
实施例6g, 无定形形式的DSC-和TGA-温谱图

图32



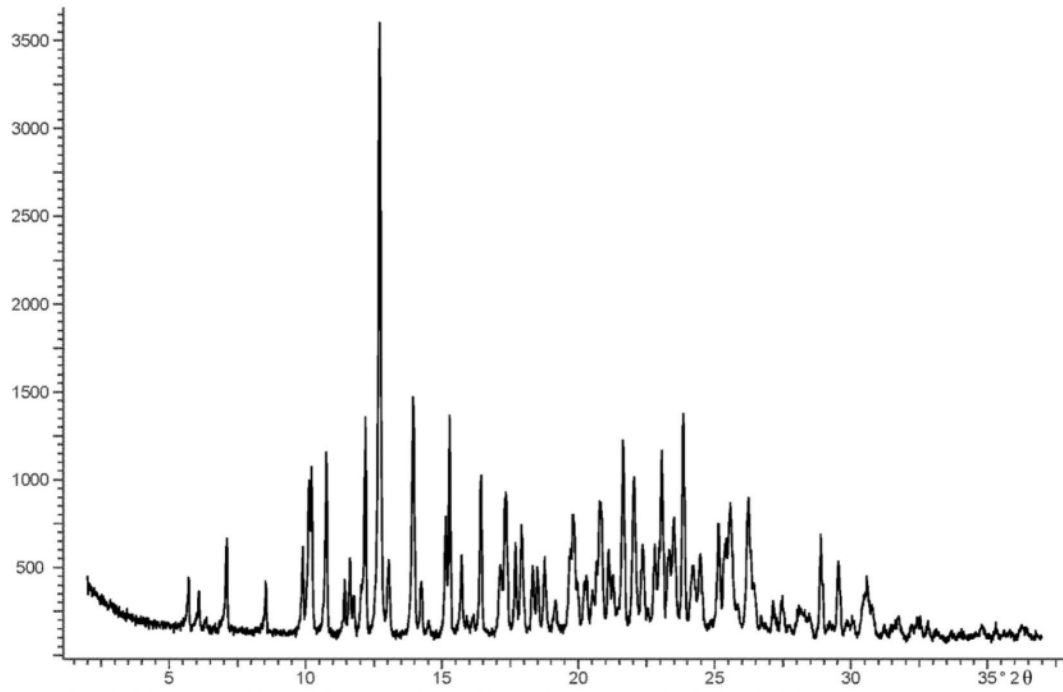
比较实施例11，无定形形式的X射线粉末衍射图

图33



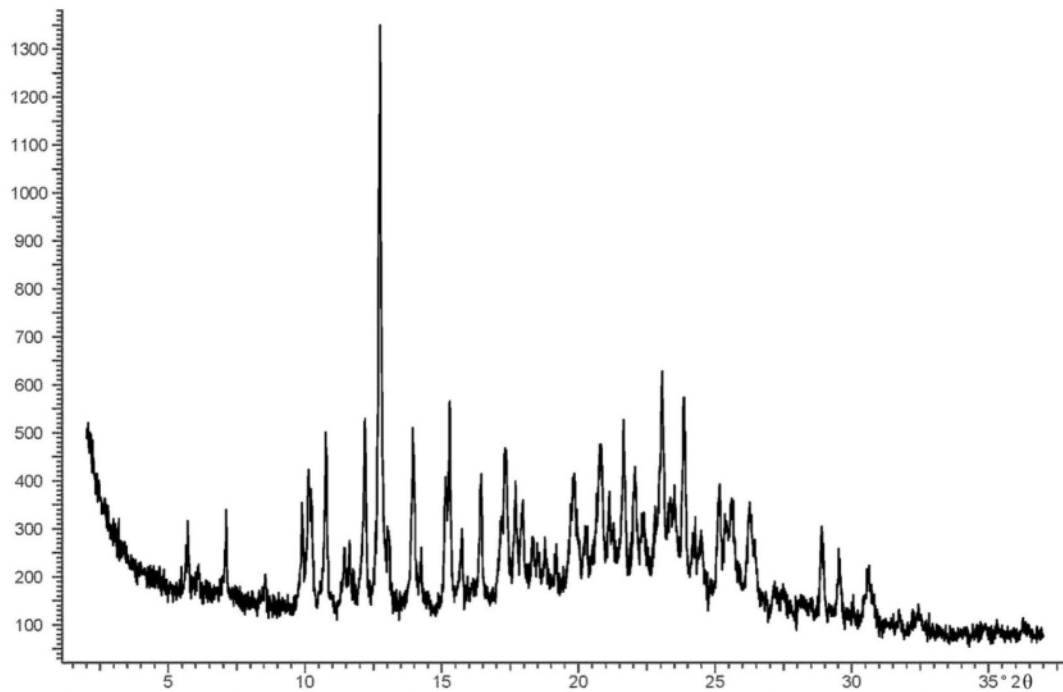
实施例1，一水合物II的X射线粉末衍射图

图34



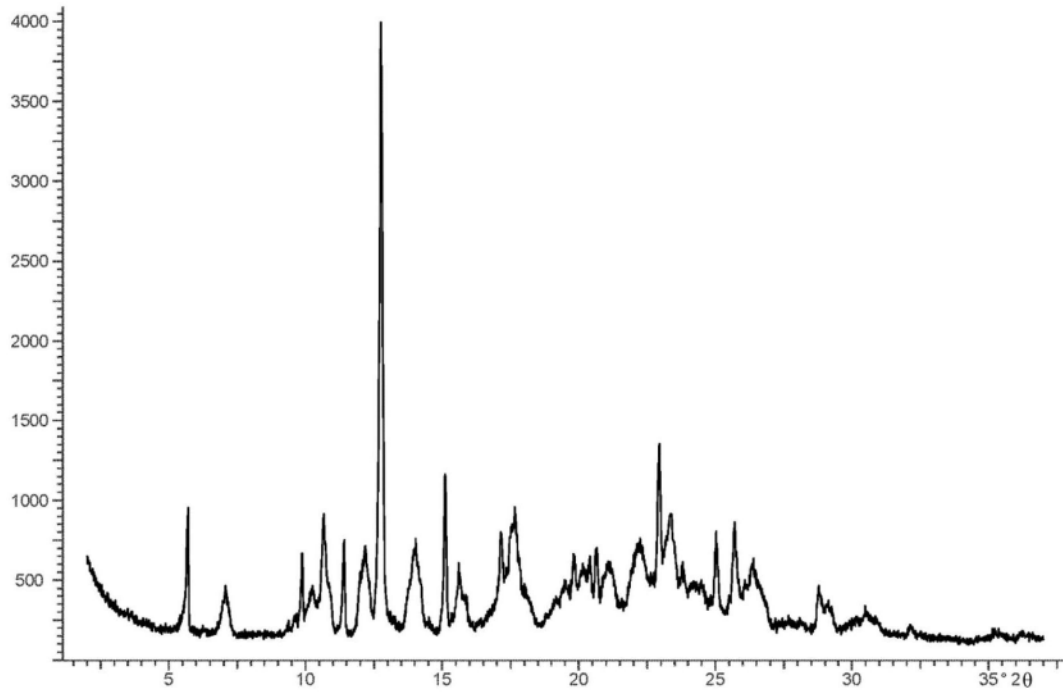
实施例2，微粉化前，一水合物II的X射线粉末衍射图

图35



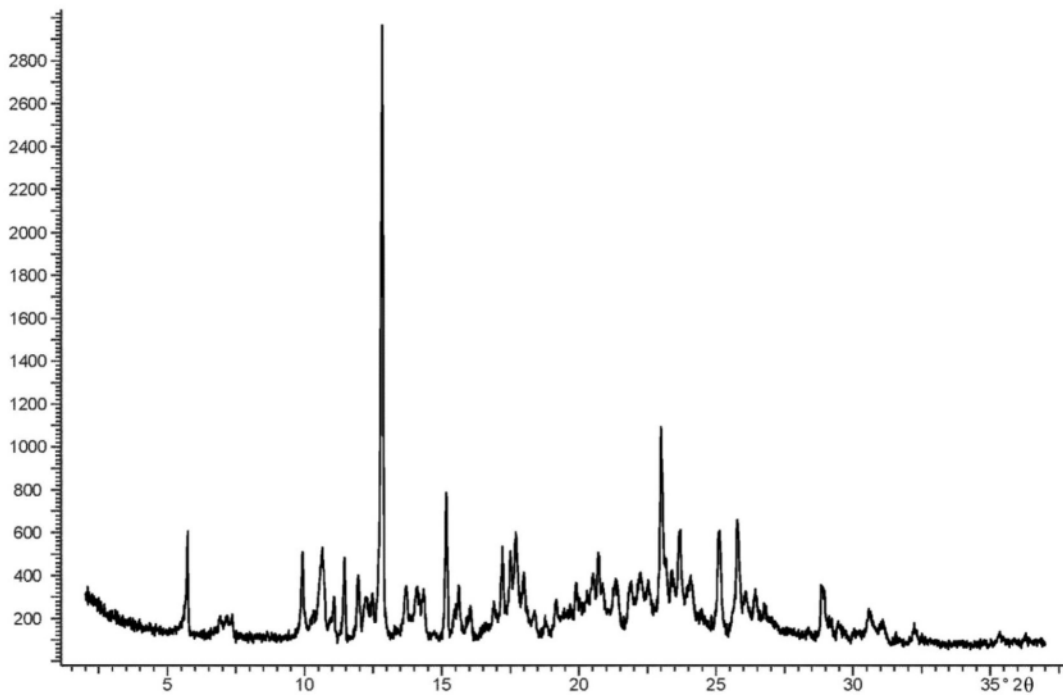
实施例2，微粉化后，一水合物II，部分无定形化的X射线粉末衍射图

图36



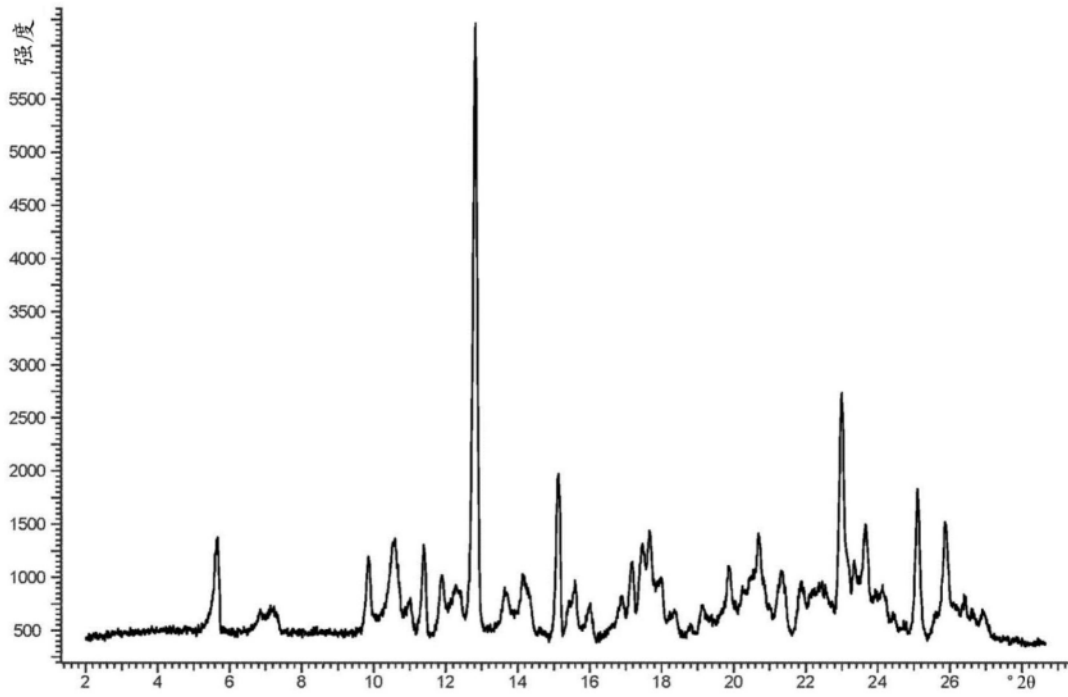
实施例3，一水合物I的X射线粉末衍射图

图37



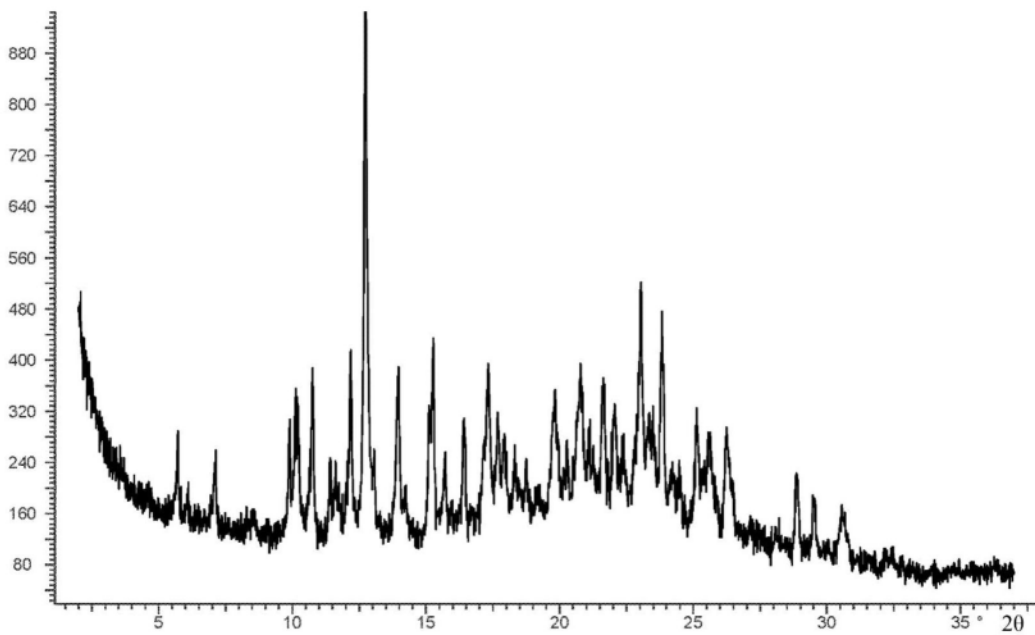
实施例4，一水合物I的X射线粉末衍射图

图38



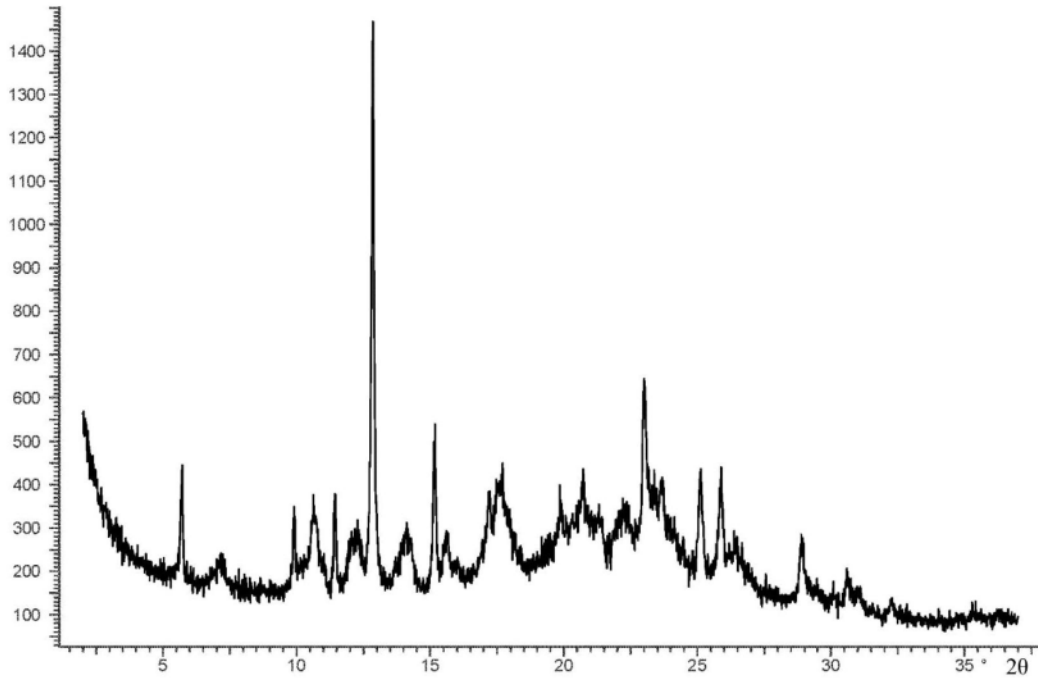
实施例5, 一水合物I的X射线粉末衍射图

图39



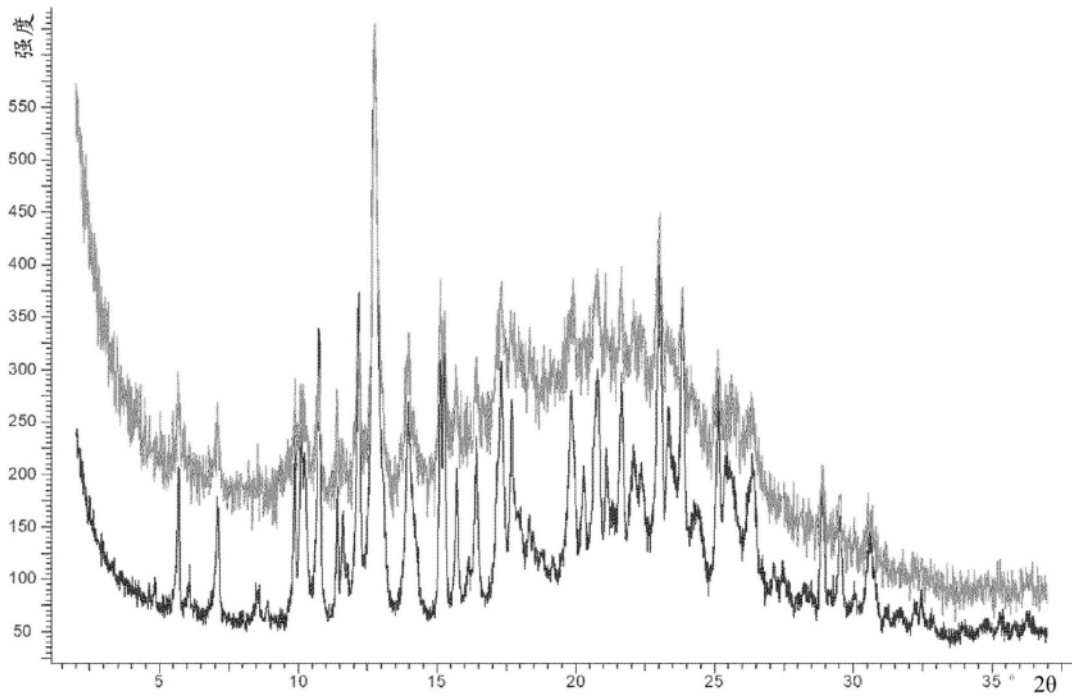
实施例7的X射线粉末衍射图(储存稳定性): 针对储存稳定性的起始物质, 一水合物II

图40



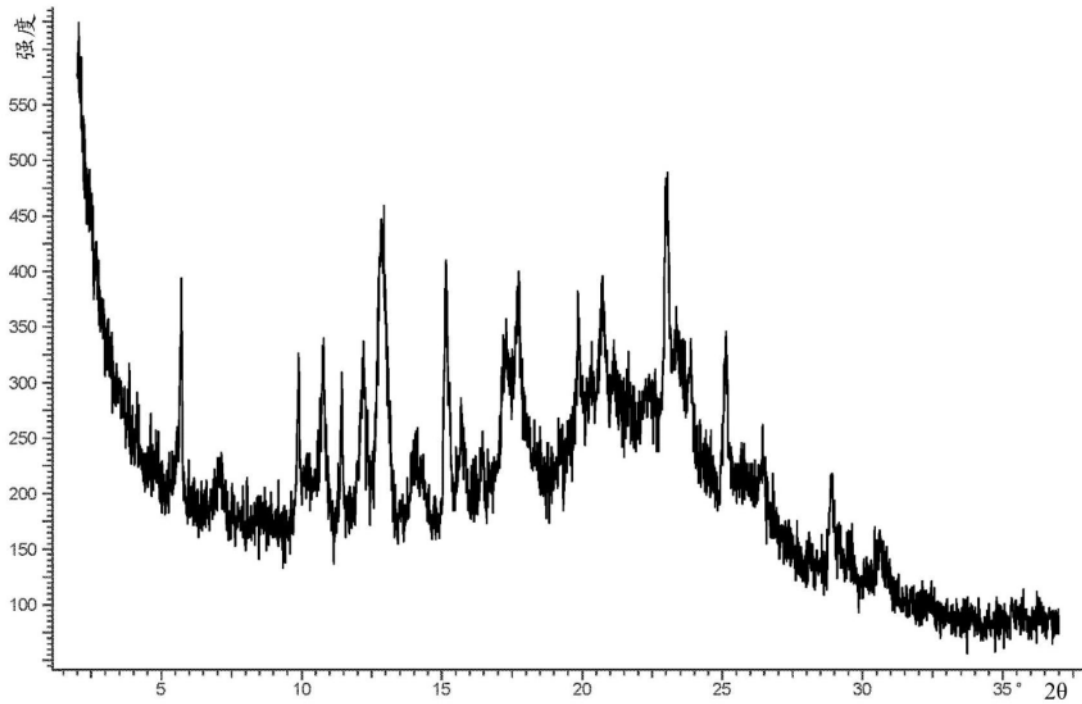
实施例7b的X射线粉末衍射图(储存稳定性): 在25°C和60%相对湿度下于聚乙烯中一个月的储存稳定性测试后的物质, 一水合物I

图41



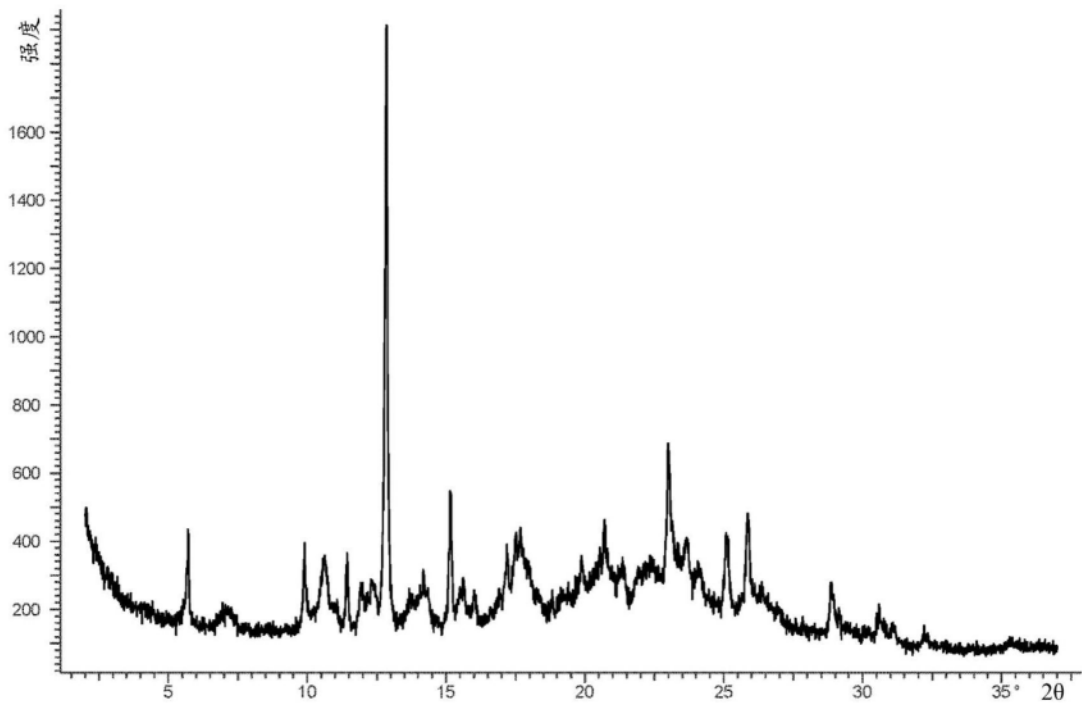
实施例8b (微粉化)的X射线粉末衍射图的覆盖图: 起始物质(一水合物II) (下方线)和微粉化后的物质(具有无定形量的一水合物II, 涂覆PTFE的气流粉碎机, 25°C) (上方线)

图42



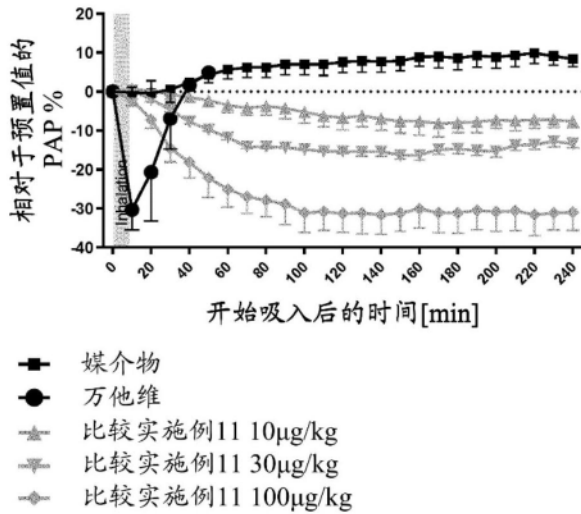
实施例8a的X射线粉末衍射图：微粉化后的物质(具有无定形量的一水合物I, VA气流粉碎机, 25°C)

图43



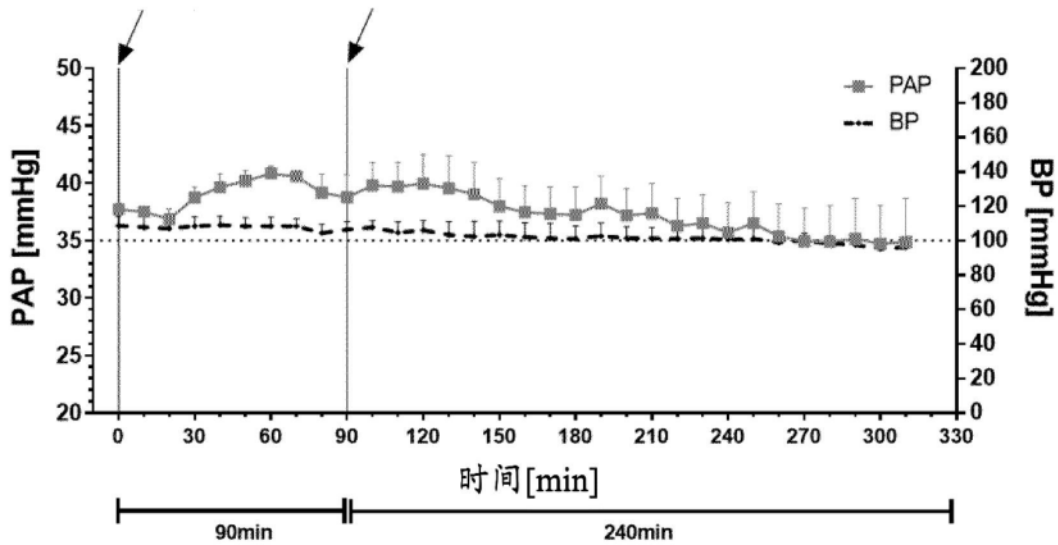
X射线粉末衍射图(实施例8e)：微粉化后(一水合物I)

图44



媒介物溶液、比较实施例11 (10、30和100 µg/kg标称剂量)和万他维(10 µg/kg 标称剂量)在PAH小型猪模型中吸入应用后的效应。数据表示为PAP和BP相对于基线(雾化开始前的10 min间隔)的%变化。数据为平均值±SEM。所有化合物的雾化间隔花费5-7 min (灰色长条)。

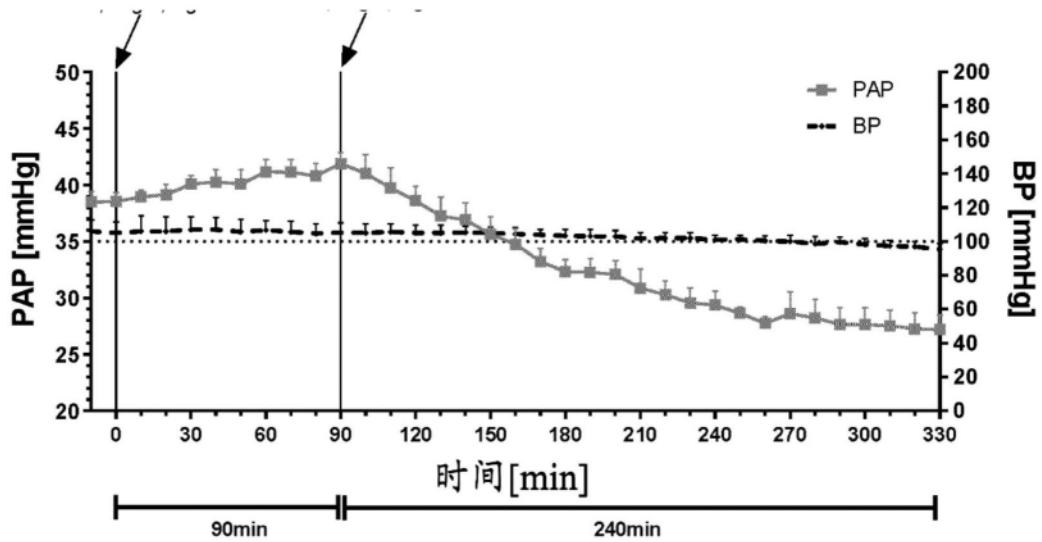
图45



↙ 0 min时: 乳糖1.5mg/4kg; 90 min时: 乳糖制剂I (2%) 1.5mg/4kg

乳糖以及乳糖制剂I (7.5 µg/kg)在气管内应用后的效应。数据为平均值±SEM (n=3); 用PennCentury干粉吹入器和空气泵进行气管内应用; BP: 动脉血压; PAP: 肺动脉压; SEM: 平均值的标准差

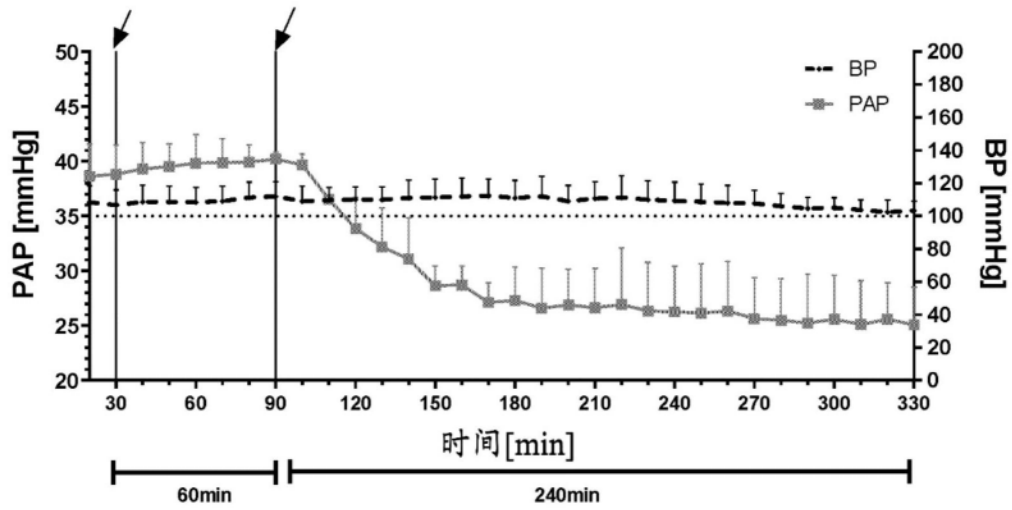
图46



0 min时: 乳糖1.5mg/4kg; 90 min时: 乳糖制剂II (6%) 1.5mg/4kg

乳糖以及乳糖制剂II (22.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$)在气管内应用后的效应。
数据为平均值 \pm SEM (n=3); 用PennCentury干粉吹入器和空气泵进行气管内应用; BP: 动脉血压; PAP: 肺动脉压; SEM: 平均值的标准差

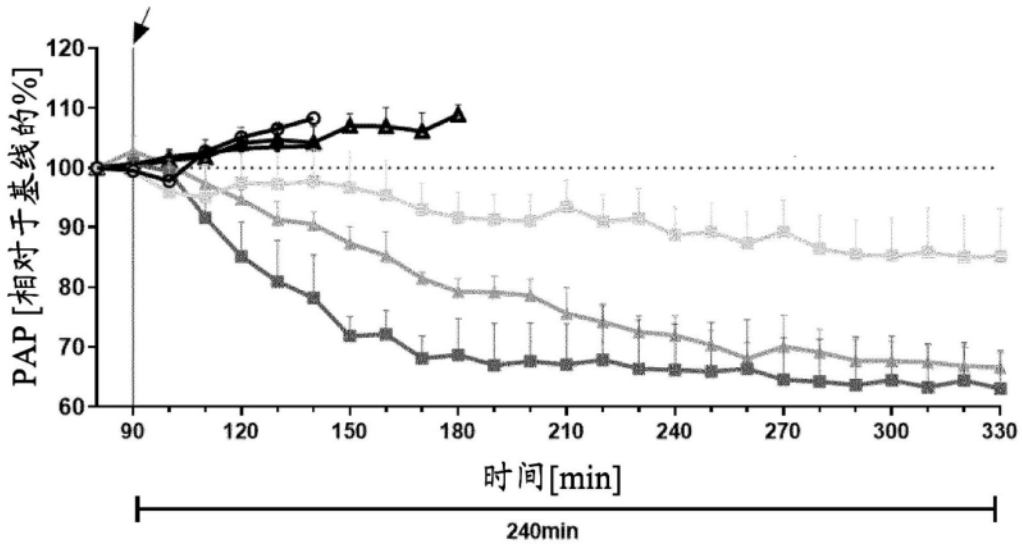
图47



↙ 30 min时: 乳糖1.5mg/4kg; 90 min时: 微粉化实施例6e 1.5mg/4kg

乳糖和微粉化倍半水合物, 例如实施例6e (375 $\mu\text{g}/\text{kg}$)在气管内应用后的效应。
 数据为平均值 \pm SEM (n=3); 用PennCentury干粉吹入器和空气泵进行气管内应用; BP: 动脉血压; PAP: 肺动脉压;
 SEM: 平均值的标准差

图48

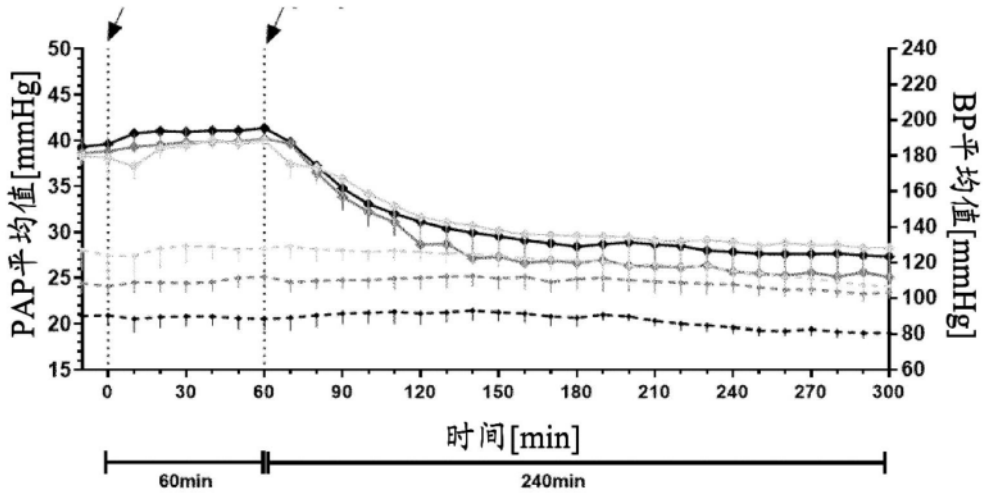


↙ 90 min时: 实施例6e (微粉化)或乳糖制剂I或II (2%或6%)或乳糖1.5mg/4kg

- PAP乳糖LH300/LH200 20:78m/m
- ▲ PAP乳糖LH300/LH200 20:80m/m
- ◆ PAP乳糖LH300/LH200 20:80m/m
- ◻ PAP乳糖制剂I (2%)
- ◼ PAP乳糖制剂II (6%)
- PAP微粉化 实施例 6e

气管内应用不同乳糖媒介物、乳糖制剂I (7.5 μg/kg)、乳糖制剂II (22.5 μg/kg)和微粉化倍半水合物实施例6e (375 μg/kg)的效应。数据示出为相对于预置值的%变化,以平均值±SEM表示(n=3)

图49

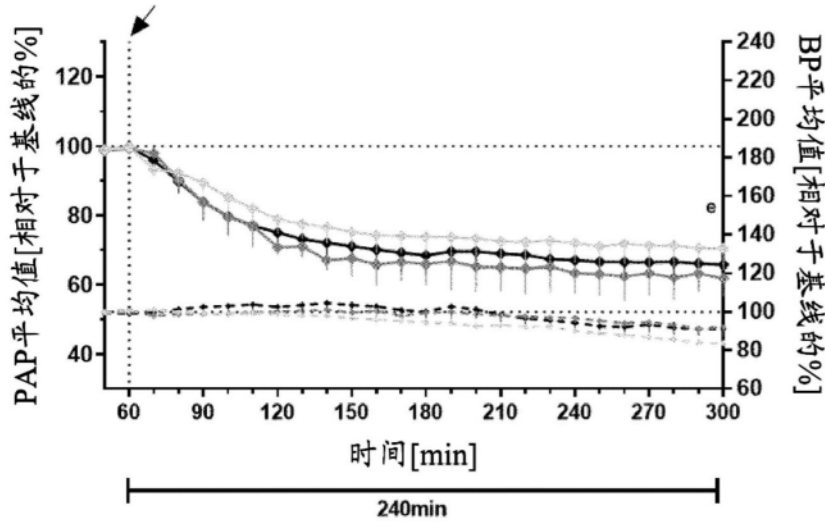


0 min时: 乳糖LH300/LH200 1.5mg/4kg 60 min时: 微粉化比较实施例11的水合物1.5mg/4kg

- PAP平均值, 一水合物II, 实施例2 (n=3)
- - - BP平均值, 一水合物II, 实施例2 (n=3)
- ◆— PAP平均值, 类似于实施例6a的半水合物 (n=3)
- - - BP平均值, 类似于实施例6a的半水合物 (n=3)
- ◇— PAP平均值, 类似于实施例6e的半水合物(n=3)
- - - BP平均值, 类似于实施例6e的半水合物(n=3)

在气管内应用不同水合物, 微粉化一水合物II (实施例2)、微粉化半水合物 (实施例6a)和微粉化倍半水合物(实施例6e)后的比较实施例11对BP和PAP的效应。数据示出为绝对值[mmHg], 以平均值±SEM表示(n=3)

图50

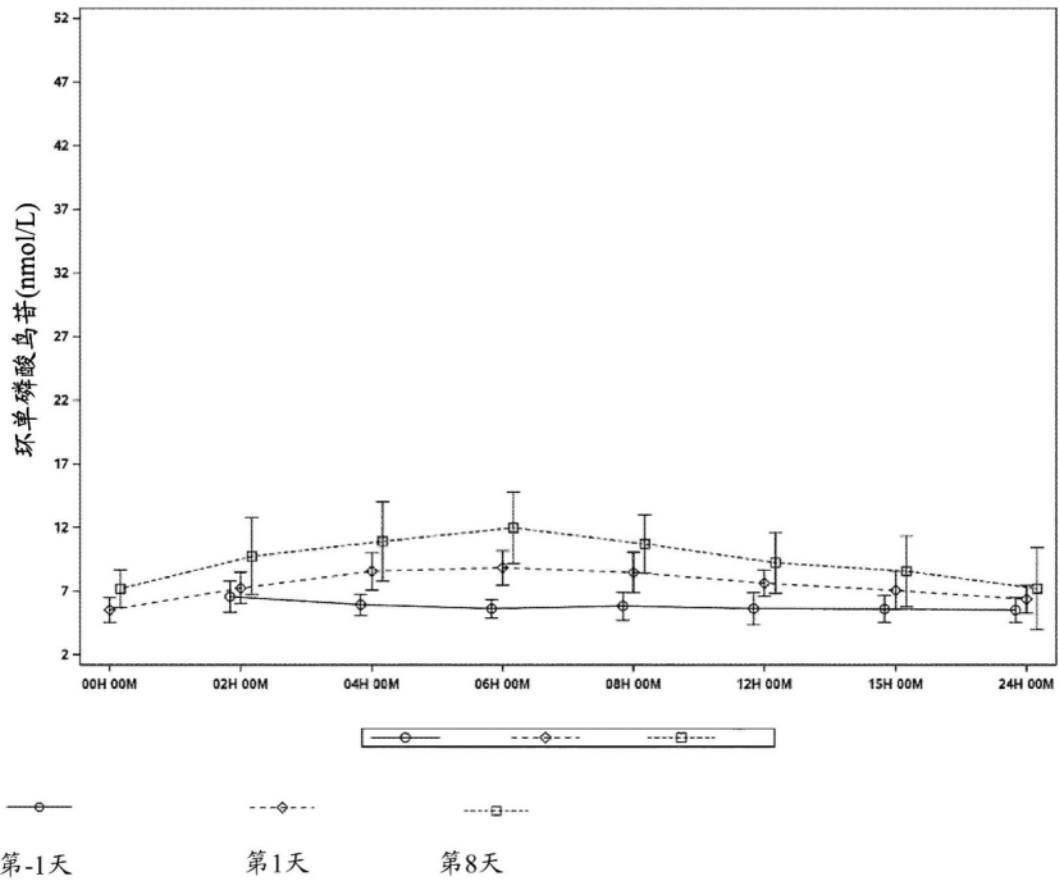


60 min时：微粉化比较实施例11的水合物1.5mg/4kg

- PAP平均值，一水合物II，实施例2 (n=3)
- - - BP平均值，一水合物II，实施例2 (n=3)
- ◆— PAP平均值，类似于实施例6a的半水合物 (n=3)
- - - BP平均值，类似于实施例6a的半水合物 (n=3)
- ◆— PAP平均值，类似于实施例6e的半水合物 (n=3)
- - - BP平均值，类似于实施例6e的半水合物 (n=3)

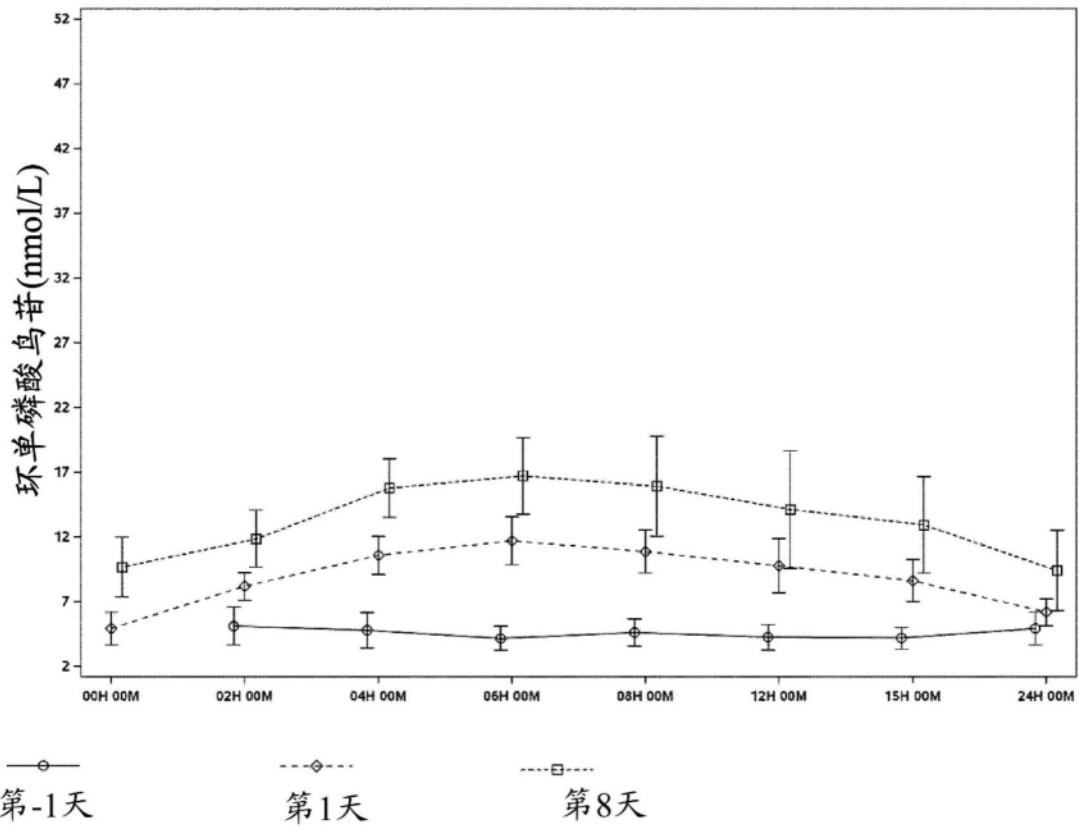
在气管内应用不同水合物，微粉化一水合物II (实施例2)、微粉化半水合物 (实施例6a)和微粉化倍半水合物(实施例6e)后的比较实施例11对BP和PAP的效应。数据示出为绝对值[mmHg]，以平均值±SEM表示(n=3)

图51



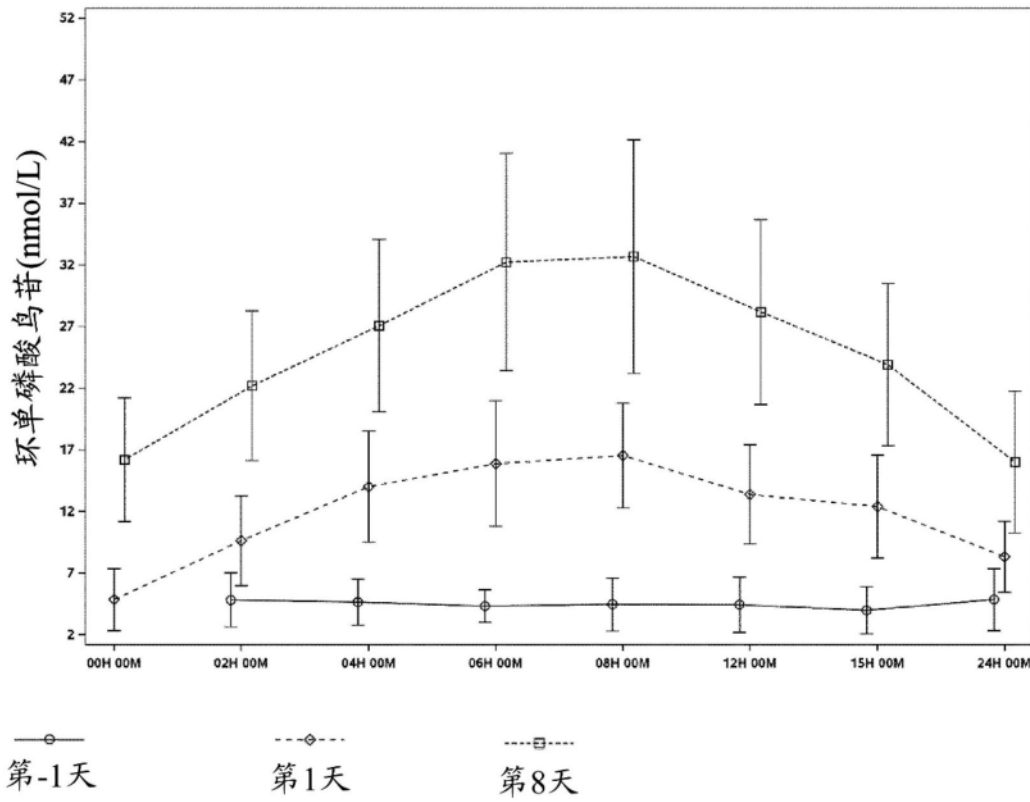
cGMP (nmol/L)的平均值±SD - 480 μg (实施例2)剂量组(SAF, N=9)的治疗前(第-1天)、第一(第1天)和最后(第8天)治疗日的比较

图52



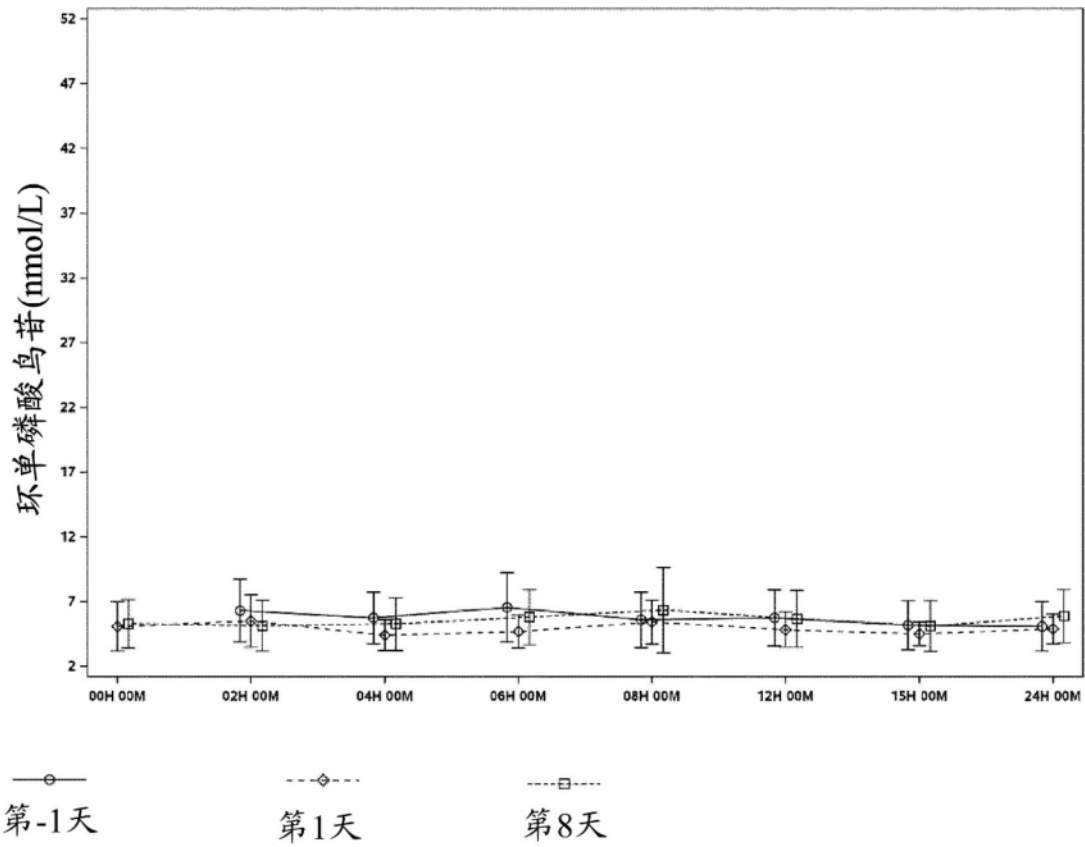
cGMP (nmol/L)的平均值±SD - 1000 μg (实施例2)剂量组(SAF, N=9)的治疗前(第-1天)、第一(第1天)和最后(第8天)治疗日的比较

图53



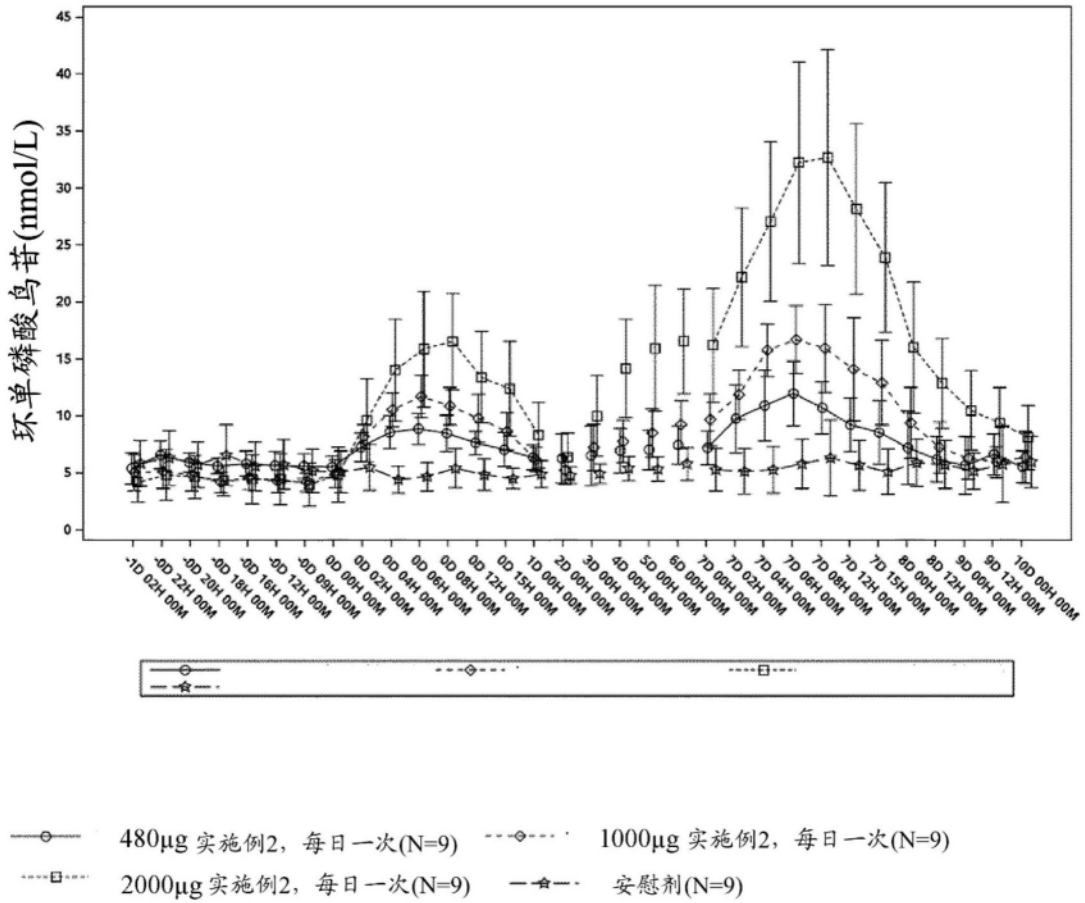
cGMP (nmol/L)的平均值±SD - 2000 μg (实施例2)剂量组(SAF, N=9)的治疗前(第-1天)、第一(第1天)和最后(第8天)治疗日的比较

图54



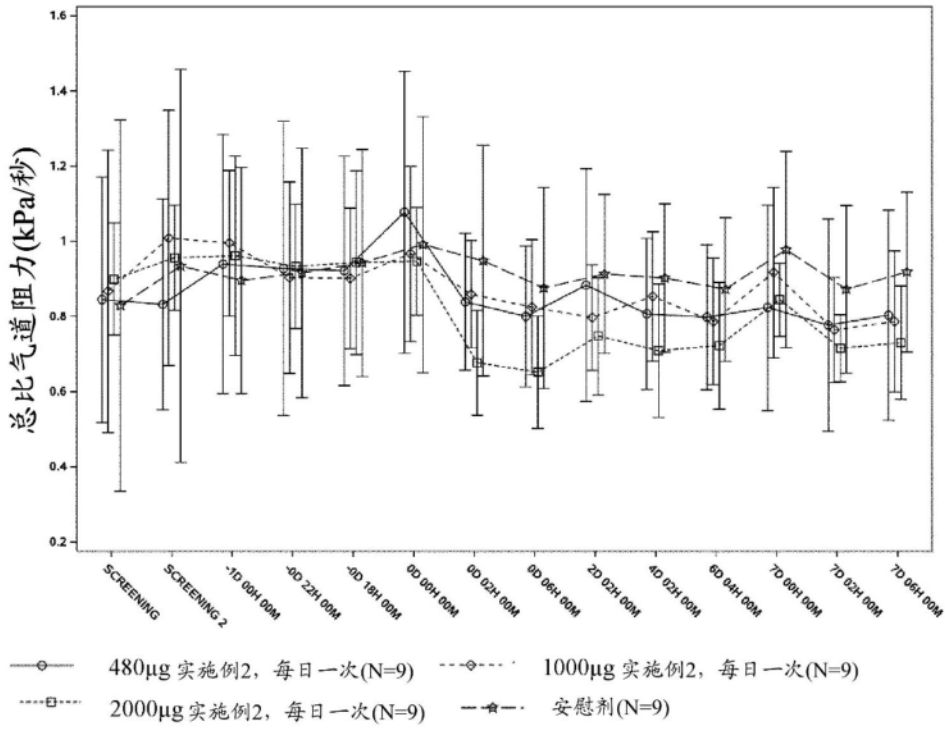
cGMP (nmol/L)的平均值±SD - 安慰剂组(SAF, N=9)的治疗日比较

图55



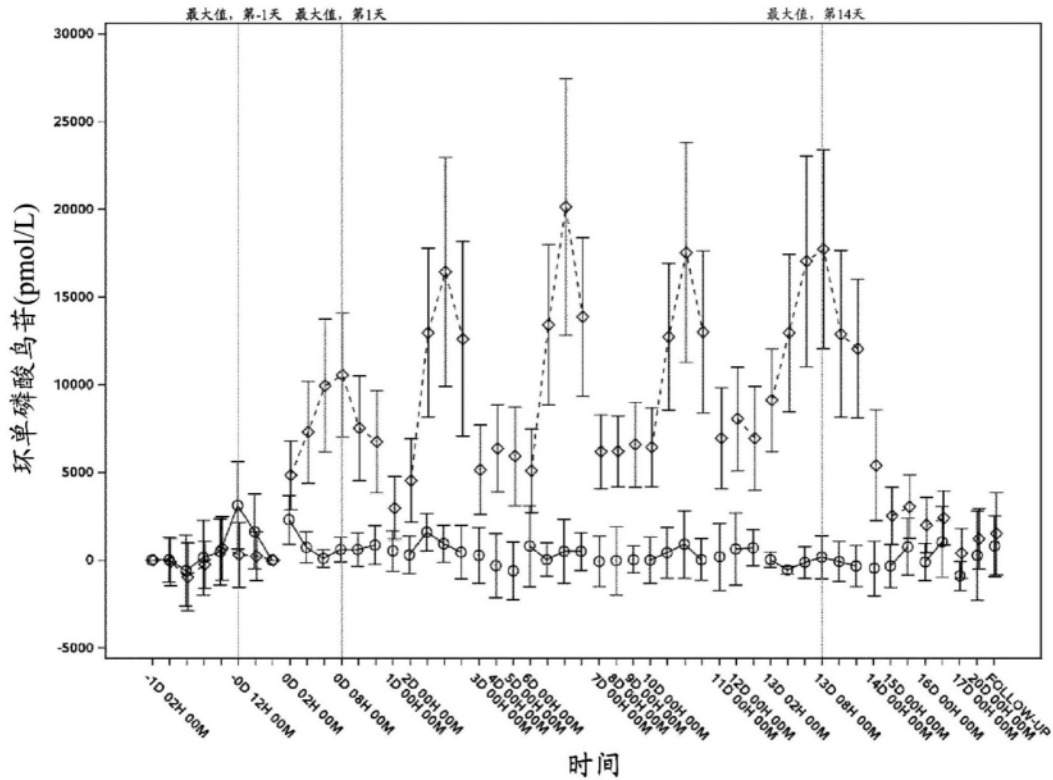
在基线日(- 1d02h - 0d00h)、第一次吸入日(0d00h - 2d00h)、谷测量(2d00h - 7d00h)和吸入7天后(7d00h - 10d00h)随时间变化的体液中cGMP的平均值 (N = 9)± SD (nmol/L)。

图56



随时间变化的总比气道阻力(kPa/秒)的平均值(480、1000和2000 µg 各N=36, 12, 实施例2)和SD: 筛选1/2、基线日(-1d00h - 0d00h)、第一次吸入日(0d00h - 0d06h)、吸入后的测量(2d02h - 6d04h)和吸入7天后(7d00h - 7d06h)。

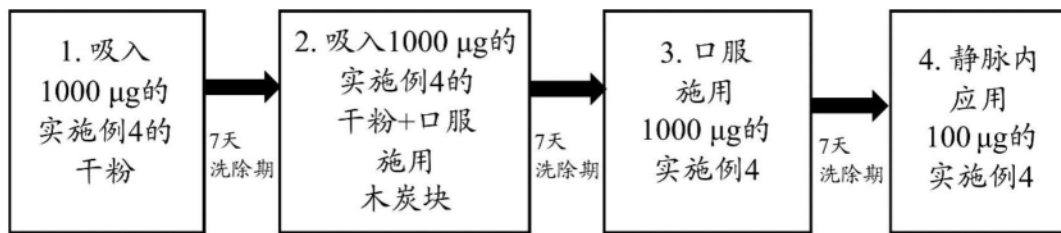
图57



—○— 安慰剂(N=4) 1000 μg -◇- 1000 μg 实施例4, 每日一次(N=17)

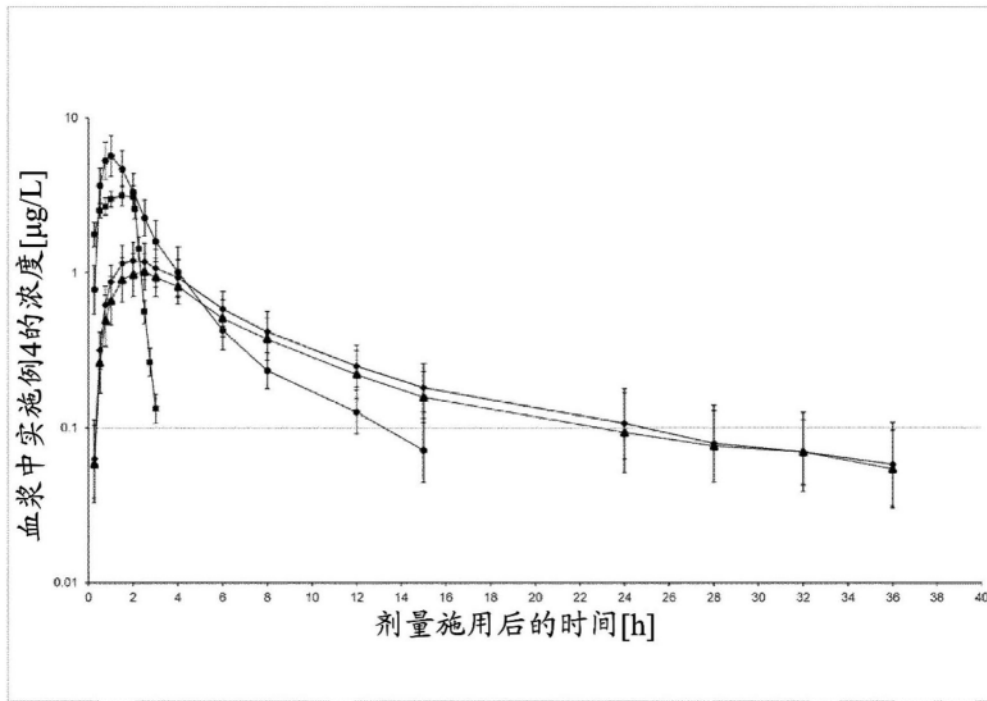
安慰剂(N=4)和1000 μg (N=17)实施例4在治疗前的日子(- 1d00h - - 0d09h)、第一次吸入日(- 0d02h - 1d00h)、吸入之前和之后的测量(2d00h - 2d12h、6d00h - 6d12h、10d00h - 10d12h)(概况分析日)、日子(3d - 5d、7d - 9d、11d - 12d)吸入之前的谷和最后14天吸入(12d22h - 20d00h)随时间变化的cGMP与基线的差异平均值(nmol/L)。

图58



为研究肺沉积而进行的治疗方案

图59

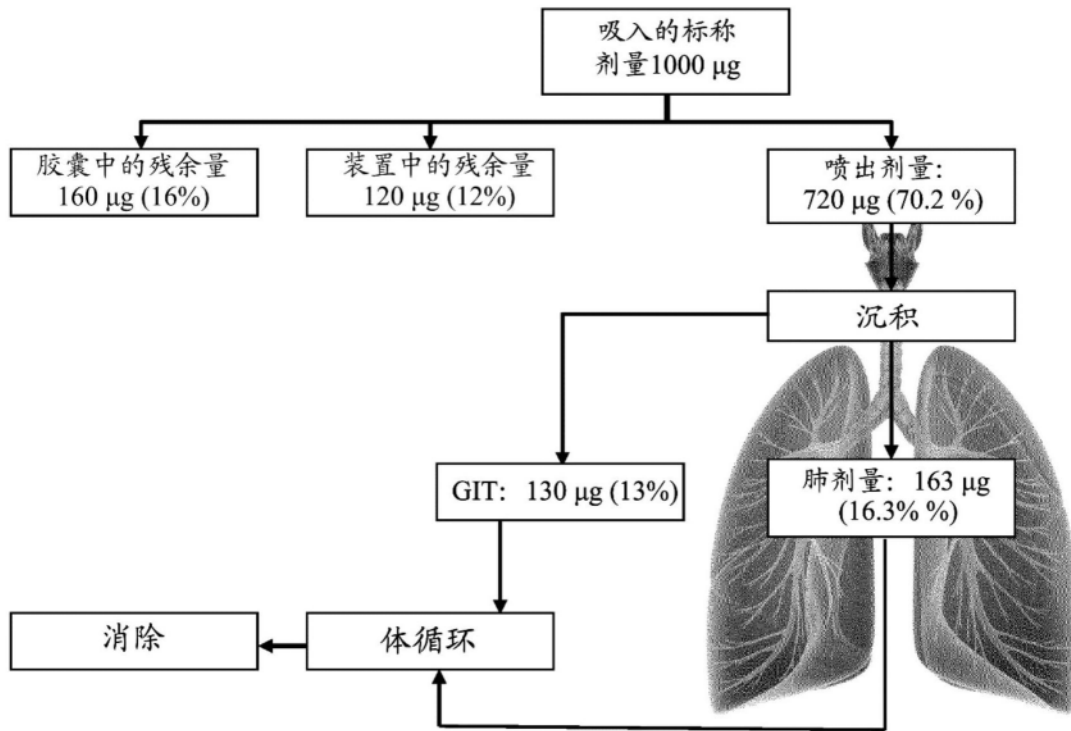


■ 100 µg 静脉内实施例4, n=15, ▲ 1000 µg吸入实施例4, n=16

◆ 1000 µg吸入实施例4+木炭, n=16 ◆ 1000 µg口服剂量实施例4, n=16

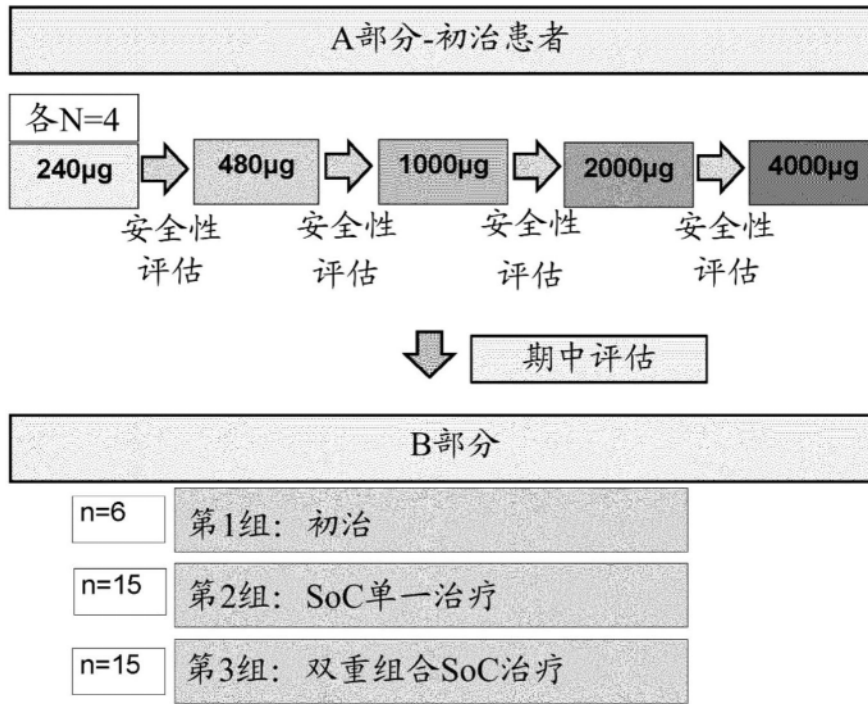
半对数标度上, 血浆中实施例4的浓度(µg/L)的几何平均值和标准偏差。

图60



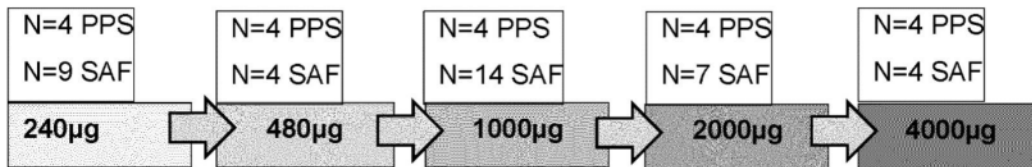
到达咬嘴的部分剂量(喷出剂量), 和残留在胶囊中、在装置中的部分剂量, 沉积的肺剂量和到达GIT道的部分剂量

图61



PAH或CTEPH患者临床研究的研究设计

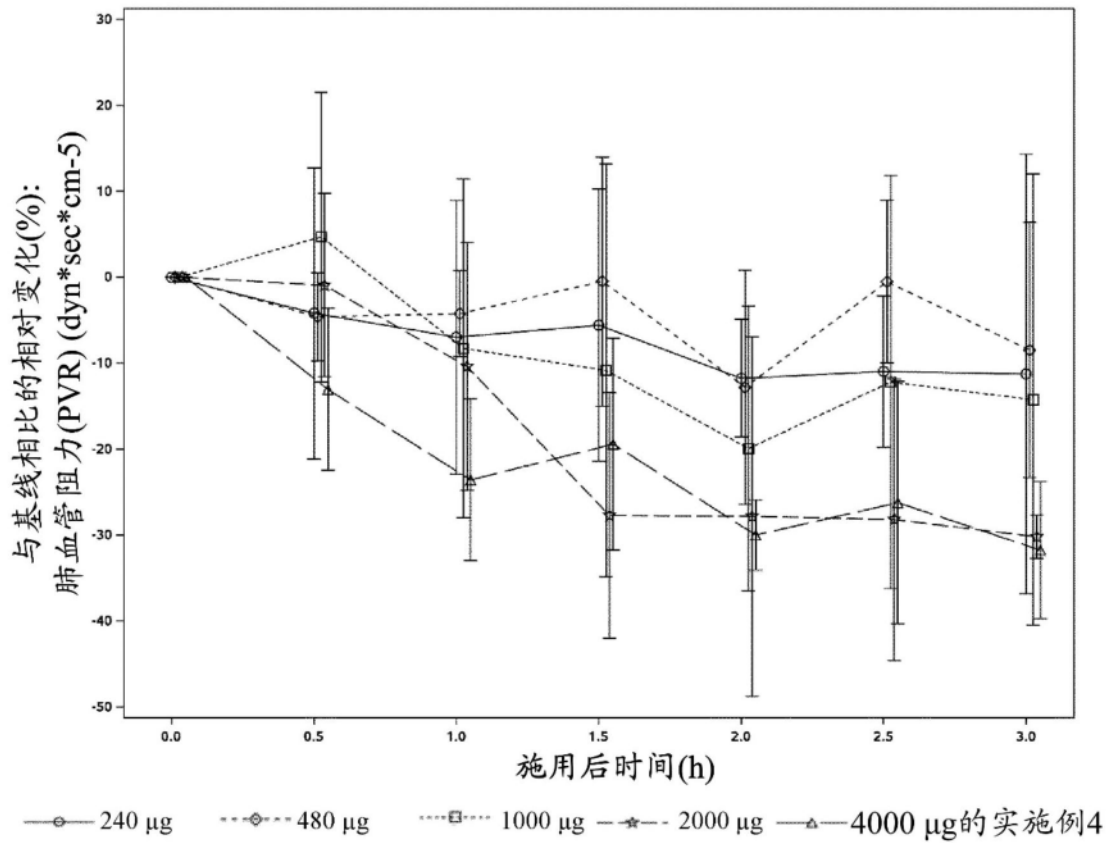
图62



*SAF: 安全性分析集: 符合纳入和排除准则(IC/EC)的所有患者
 *PPS: 符合方案集: 满足IC/EC + PVR > 400 dyn
 +吸入一氧化氮(NO)攻击期间PAP下降 < 10 mmHG (排除血管反应性)

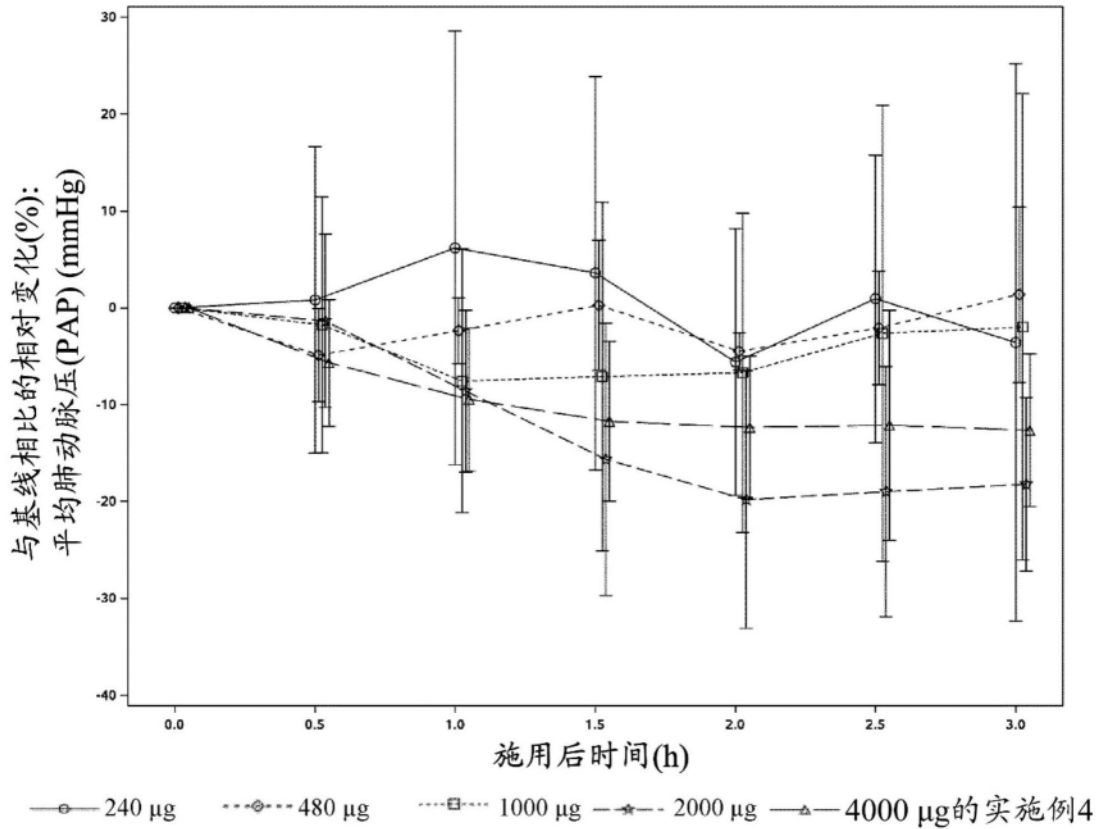
在PAH或CTEPH患者中进行的临床研究A部分的汇总

图63



在吸入实施例4后(0D00H30M至0D03H00M)在PAH或CTEPH患者中(240、480、1000、2000和4000 µg组, 各N=4, 符合方案集), 随时间变化的肺血管阻力(PVR)与基线(0D00H00M)相比的相对变化(%)的平均值和SD

图64



在吸入实施例4后(0D00H30M至0D03H00M)在PAH或CTEPH患者中(240、480、1000、2000和4000 μg组, 各N=4, 符合方案集), 随时间变化的平均肺动脉压(mPAP)与基线(0D00H00M)相比的相对变化(%)的平均值和SD

图65