



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 118515598 A

(43) 申请公布日 2024. 08. 20

(21) 申请号 202410495669.6

A61P 1/00 (2006.01)

(22) 申请日 2019.11.21

A61P 1/04 (2006.01)

(30) 优先权数据

A61P 17/06 (2006.01)

62/776,965 2018.12.07 US

A61P 35/00 (2006.01)

(62) 分案原申请数据

A61P 35/02 (2006.01)

201980090936.9 2019.11.21

A61K 31/404 (2006.01)

(71) 申请人 斯塔蒂亚生物制药有限公司

地址 美国纽约州

(72) 发明人 王龙贵

(74) 专利代理机构 北京戈程知识产权代理有限公司

公司 11314

专利代理师 程伟

(51) Int. Cl.

C07D 209/34 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

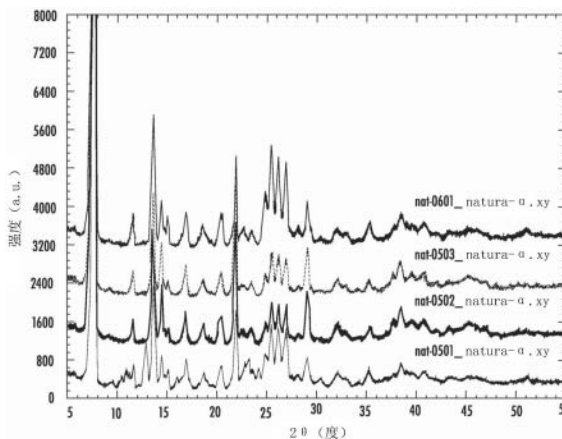
权利要求书1页 说明书19页 附图17页

(54) 发明名称

甲异靛的多晶型和甲异靛的改进制剂

(57) 摘要

本发明涉及甲异靛的多晶型和甲异靛的改进制剂。具体地,本发明涉及一种新型晶型、制备过程、包含N-甲基异靛晶体的药物组合物、制剂和药物、制备方法和N-甲基异靛晶体在制备用于预防癌症、或治疗癌症或与促炎性细胞因子表达和/或抗炎性细胞因子表达减少相关的炎症相关疾病的药物中的用途。



1. 一种N-甲基异靛的固体形式或N-甲基异靛的固体晶型(晶型I),其具有的X射线粉末衍射图谱包含以 $2-\theta$ 计在约 7.71° 、约 17° 、约 18° 和约 29° 处的峰,并且具有平均粒径 d_{50} 低于 $25\mu\text{m}$ 的粒径分布。
2. 根据权利要求1所述的固体形式或固体晶型,其具有的X射线粉末衍射图谱基本上如图5所示。
3. 根据权利要求1或2所述的固体形式或固体晶型,其具有基本上如图1所示的N-甲基异靛的红外光谱。
4. 根据权利要求1至3中任一项所述的固体形式或固体晶型,其具有基本上如图2所示的N-甲基异靛的NMR谱。
5. 根据权利要求1所述的固体形式或固体晶型,其具有小于2.50的粒径分布比例($d_{90}-d_{10}$)/ d_{50} 和低于 $100\mu\text{m}$ 的最大粒径。
6. 根据权利要求5所述的固体形式或固体晶型,其中粒径分布有利于在配制期间的药学加工,并增强固体形式或固体晶型的稳定性和生物利用度。
7. 一种药物组合物,其包含根据权利要求1至6中任一项所述的固体形式或固体晶型,和药学上可接受的载体。
8. 根据权利要求7所述的药物组合物,其中所述固体形式或固体晶型以按重量计至少约90%的量存在于所述组合物中。
9. 根据权利要求1至6中任一项所述的固体形式或固体晶型,其基本上是纯化的。
10. 根据权利要求1至6中任一项所述的固体形式或固体晶型,其是结晶的。
11. 一种用于制备根据权利要求1至6中任一项所述的固体形式或固体晶型的方法,其包括从包含有机溶剂的溶液中沉淀出结晶形式。
12. 根据权利要求11所述的方法,其中所述溶液包含冰醋酸。
13. 根据权利要求12所述的方法,其中所述溶液进一步包含N-甲基异靛红、羟吡啶、和/或HCl。
14. 一种通过根据权利要求11至13中任一项所述的方法制备并在任何其他可接受的有机溶剂中,优选在冰醋酸中重结晶的N-甲基异靛的固体形式或固体晶型。
15. 一种治疗癌症的方法,其包括向有需要的患者施用根据权利要求1至6中任一项所述的固体形式或固体晶型或根据权利要求7至8中任一项所述的药物组合物。
16. 一种治疗与细胞因子表达水平有关的炎症相关疾病的方法,其包括向有需要的患者施用根据权利要求1至6中任一项所述的固体形式或固体晶型或根据权利要求7至8中任一项所述的药物组合物。

甲异靛的多晶型和甲异靛的改进制剂

[0001] 本申请是申请号为201980090936.9,申请日为2019年11月21日,发明名称为“甲异靛的多晶型和甲异靛的改进制剂”的中国专利申请的分案申请。

[0002] 相关申请的交叉引用

[0003] 本申请要求于2018年12月7日提交的美国临时专利申请第62/776,965号的优先权,其通过引用整体并入本文。

技术领域

[0004] 本发明涉及一种药物组合物,更特别地涉及一种甲异靛(meisoindigo)的新结晶形式,制备方法,和预防癌症、治疗癌症或治疗与抑制细胞周期蛋白依赖性激酶、促炎细胞因子表达或抗炎细胞因子表达减少相关的炎症相关疾病的方法。

背景技术

[0005] 在过去的十年中,由于流行病学、治疗技术和提供早期诊断能力的进步,美国的癌症预防和治疗有了显著的改善。然而,寻找治疗多种癌症(如肺癌、乳腺癌、前列腺癌、结肠癌等)的方法仍然是一项重大挑战。然而,目前用于治疗癌症的方法仍然限于延长寿命或提高生活质量。此外,大多数有意义的疗法仍然具有显著的副作用。因此,寻找更有效、副作用更低的治疗剂势在必行。

[0006] 肿瘤细胞的特征在于不受控制的细胞增殖,原因在于细胞外信号与细胞周期机制的整合和协调的丧失。典型的细胞周期分为G1、S、G2和M期。在哺乳动物细胞中,增殖在细胞周期的G1期受到控制。在限制点,细胞可以有不同的命运。这些细胞命运的示例包括:1)离开细胞周期并进入可逆的静止期;2)退出细胞周期并经历细胞凋亡;3)分化并不可逆地退出细胞周期;4)通过限制点并在很大程度上独立于细胞外信号并自动通过随后的细胞周期阶段(S、G2、M)进入下一个G1期。各种蛋白质反过来负责细胞在细胞周期中的调节进程。细胞周期机制的关键组分是细胞周期蛋白、细胞周期蛋白依赖性激酶(CDK)及其抑制剂。细胞周期蛋白是一个非常多样化的蛋白质家族,其在细胞周期的G1期的中期/后期至M期合成,然后迅速降解。CDK通常包含一个由300个氨基酸组成的催化结构域,其本身是无活性的。Cdk通过与细胞周期蛋白结合而活化。cdk的活性受到其内源性抑制剂(CDK抑制剂或cdkI,包括p15/p16/p18/p19和p21/p27)的抑制。特定的细胞周期蛋白/CDK复合物在细胞周期的特定阶段形成,它们的活性是细胞周期通过S期和有丝分裂的进程所必需的。

[0007] CDK的过度活化是大部分人类肿瘤细胞的特征。已经开发了策略,其通过直接靶向催化CDK亚基或间接影响CDK调节通路3)来调节CDK活性以用于治疗干预。小分子CDK抑制剂被设计为与CDK的ATP结合位点特异性相互作用,如夫拉平度(flavopiridol)同系物、聚硫酸盐、丰加霉素(toyocamycin)衍生物等。这些试剂的临床试验已显示出抗癌作用。可以通过调节CDK的磷酸化或改变CDK或其抑制剂(CDKI)的表达来实现CDK活性的调节。很难找到不干扰其他细胞周期组分且不影响正常细胞的特定调节剂。

[0008] 我们之前的研究表明,甲异靛(第二代靛玉红(indirubin))在G期阻止白血病细

胞,抑制癌基因c-myb的表达,并在低浓度(低毒性)下诱导细胞分化和成熟,其中细胞生长被完全抑制而细胞活力没有降低。

[0009] 需要具有更好的溶解度和生物利用度和/或更长的保质期的改进的甲异靛制剂。

发明内容

[0010] 本发明提供一种甲异靛的新型晶型(固体形式)(晶型I),其对多种自身免疫疾病/炎性疾病以及癌症表现出优异的治疗功效。本发明进一步提供一种用于制备晶型(晶型I)的方法,以及包含新型晶型的药物组合剂和剂型。

[0011] 在一些实施方案中,本发明提供一种N-甲基异靛的固体形式或N-甲基异靛的固体晶型(晶型I),其具有的X射线粉末衍射图谱包含以 $2-\theta$ 计在约 7.71° 处的峰。

[0012] 在一个实施方案中,所述固体形式或固体晶型具有的X射线粉末衍射图谱包含以 $2-\theta$ 计在约 7.71° 、约 17° 、约 18° 和约 29° 处的峰。

[0013] 在另一个实施方案中,所述固体形式或固体晶型具有的X射线粉末衍射图谱基本上如图5所示。

[0014] 在某些方面,所述固体形式或固体晶型具有基本上如图1所示的N-甲基异靛的红外光谱。在其他方面,所述固体形式或固体晶型具有基本上如图2所示的N-甲基异靛的NMR谱。

[0015] 在其他方面,所述固体形式或固体晶型具有的差示扫描量热法(DSC)温谱图包含在约 235°C 至 237°C 处的吸热峰。在一个方面,所述固体形式或固体晶型具有的差示扫描量热法(DSC)温谱图基本上如表1所示。

[0016] 在一些实施方案中,所述固体形式或固体晶型具有平均粒径 d_{50} 低于 $25\mu\text{m}$ 的粒径分布。在某些实施方案中,所述固体形式或固体晶型具有平均粒径 d_{50} 低于 $25\mu\text{m}$ 、低于 $24\mu\text{m}$ 、低于 $23\mu\text{m}$ 、低于 $22\mu\text{m}$ 、低于 $21\mu\text{m}$ 、低于 $20\mu\text{m}$ 、低于 $19\mu\text{m}$ 、低于 $18\mu\text{m}$ 、低于 $17\mu\text{m}$ 或低于 $16\mu\text{m}$ 的粒径分布。在其他实施方案中,所述固体形式或固体晶型具有平均粒径 d_{50} 为 $1\mu\text{m}$ 至 $25\mu\text{m}$ (例如 $1\mu\text{m}$ 至 $25\mu\text{m}$ 、 $1\mu\text{m}$ 至 $20\mu\text{m}$ 、 $5\mu\text{m}$ 至 $25\mu\text{m}$ 、 $5\mu\text{m}$ 至 $20\mu\text{m}$ 、 $10\mu\text{m}$ 至 $25\mu\text{m}$ 或 $10\mu\text{m}$ 至 $20\mu\text{m}$)的粒径分布。

[0017] 在某些方面,所述固体形式或固体晶型具有小于2.50的粒径分布比例($d_{90}-d_{10}$)/ d_{50} 。在一些方面,粒径分布比例($d_{90}-d_{10}$)/ d_{50} 小于2.50、小于2.40、小于2.30、小于2.20、小于2.10、小于2.00或小于1.90。

[0018] 在其他方面,固体形式或固体晶型具有低于 $100\mu\text{m}$ 的最大粒径。在某些方面,最大粒径低于 $100\mu\text{m}$ 、低于 $90\mu\text{m}$ 、低于 $80\mu\text{m}$ 、低于 $70\mu\text{m}$ 、低于 $60\mu\text{m}$ 或低于 $50\mu\text{m}$ 。

[0019] 在某些方面,粒径分布有利于在固体形式或固体晶型的配制期间的药学加工。在其他方面,粒径分布增强固体形式或固体晶型的稳定性和生物利用度。

[0020] 在一些实施方案中,本发明提供一种药物组合物,其包含本文公开的固体形式或固体晶型,和药学上可接受的载体。

[0021] 在某些实施方案中,固体形式或固体晶型以按重量计至少约90%的量存在于药物组合物中。在其他实施方案中,固体形式或固体晶型以按重量计至少约10%、按重量计至少约20%、按重量计至少约30%、按重量计至少约40%、按重量计至少约50%、按重量计至少约60%、按重量计至少约70%、按重量计至少约80%或按重量计至少约90%的量存在于药物组合物中。

[0022] 在其他实施方案中,固体形式或固体晶型以按重量计1%至90%(即,按重量计1%至90%、按重量计1%至80%、按重量计1%至70%、按重量计1%至60%、按重量计1%至50%、按重量计1%至40%、按重量计1%至30%、按重量计1%至20%或按重量计1%至10%)的量存在于药物组合物中。

[0023] 在某些方面,固体形式或固体晶型基本上是纯化的。在其他方面,固体形式或固体晶型是结晶的。

[0024] 在某些实施方案中,本发明提供一种用于制备本文公开的固体形式或固体晶型的方法,所述方法包括从包含有机溶剂的溶液中沉淀出结晶形式。在一个实施方案中,溶液包含冰醋酸。在另一个实施方案中,溶液进一步包含N-甲基靛红、羟吲哚和/或HCl。

[0025] 在其他实施方案中,本发明提供一种通过本文公开的方法制备并在任何其他可接受的有机溶剂中,优选在冰醋酸中重结晶的N-甲基异靛的固体形式或固体晶型。

[0026] 在一些实施方案中,本发明提供一种治疗癌症的方法,其包括向有需要的患者施用本文公开的N-甲基异靛的固体形式或固体晶型或本文公开的药物组合物。

[0027] 在其他实施方案中,本发明提供一种治疗与细胞因子表达水平有关的炎症相关疾病的方法,其包括向有需要的患者施用本文公开的N-甲基异靛的固体形式或固体晶型或本文公开的药物组合物。

[0028] 在某些方面,本发明提供一种药物组合物,其基本上由本文公开的N-甲基异靛的固体形式或固体晶型组成。

附图说明

[0029] 图1为N-甲基异靛的红外光谱。

[0030] 图2为N-甲基异靛的NMR谱。

[0031] 图3为N-甲基异靛的质谱(正Q1扫描)。

[0032] 图4为N-甲基异靛的质谱(负Q1扫描)。

[0033] 图5显示X射线粉末衍射图谱的比较。四种N-甲基异靛样品的不平滑XRD数据。在7.71度处的约40,000计数的峰已被截断,以便可以详细查看 $5 < 2\theta < 55$ 度范围内的数据。注意样品0501(蓝色曲线)中的额外峰,其在图6和表2中进一步详细说明。

[0034] 图6描绘峰选择分析的结果。所有4个N-甲基异靛样品的所有4个XRD图谱的 $5 < 2\theta < 31$ 度区域的细节。将样品0501中的额外峰标记为a至m,并列于表2中。在约7.71度(d -空间 = 11.5 Å)处观察到最大强度,对于所有样品最大强度为约40,000计数,最大强度与N-甲基异靛的分子平面几乎平行于晶体结构的晶胞中的轴的概念相一致。

[0035] 图7描绘基于剑桥结构数据库参考代码“ISOIND”的单晶坐标计算的异靛的粉末衍射图谱(Cu K α 辐射, $\lambda=1.5418\text{\AA}$)。

[0036] 图8为N-甲基异靛样品1至6的 ^1H -NMR谱的示例。

[0037] 图9为N-甲基异靛样品1至6的 ^{13}C -NMR谱的示例。

[0038] 图10A显示样品1至6的X射线粉末衍射图谱的比较。样品1、2、3、4、5和6的单独X射线粉末衍射图谱分别显示在图10B、图10C、图10D、图10E、图10F和图10G中。

[0039] 图11显示甲异靛的晶型I的粒径及其分布的示例。

具体实施方式

[0040] 在本文中,本发明人公开一种新颖独特的晶型(晶型I)和制备结晶N-甲基异靛的方法,所述结晶N-甲基异靛在治疗各种自身免疫/炎性疾病和癌症中显示出优异的功效。

[0041] 在某些方面,本发明提供一种N-甲基异靛的固体形式或N-甲基异靛的固体晶型,其具有基本上如图10A所示的X射线粉末衍射图谱。在一个方面,所述N-甲基异靛的固体形式或N-甲基异靛的固体晶型具有基本上如图10B所示的X射线粉末衍射图谱。在另一个方面,所述N-甲基异靛的固体形式或N-甲基异靛的固体晶型具有基本上如图10C所示的X射线粉末衍射图谱。在另一个方面,所述N-甲基异靛的固体形式或N-甲基异靛的固体晶型具有基本上如图10D所示的X射线粉末衍射图谱。在另一个方面,所述N-甲基异靛的固体形式或N-甲基异靛的固体晶型具有基本上如图10E所示的X射线粉末衍射图谱。在另一个方面,所述N-甲基异靛的固体形式或N-甲基异靛的固体晶型具有基本上如图10F所示的X射线粉末衍射图谱。在另一个方面,所述N-甲基异靛的固体形式或N-甲基异靛的固体晶型具有基本上如图10G所示的X射线粉末衍射图谱。

[0042] 在其他方面,所述固体形式或固体晶型具有基本上如图8和/或图9所示的N-甲基异靛的NMR谱。

[0043] 在某些实施方案中,所述固体形式或固体晶型为可用于施用至患者或有需要的患者的药物组合物或制剂的形式。可以通过口服、静脉内、局部、局部装置、腹膜内或经鼻途径施用固体形式或固体晶型。所述组合物可用于通过向有需要的患者施用来实现期望的药理作用。

[0044] 就本发明的目的而言,患者为需要治疗特定病症或疾病的哺乳动物,包括人。因此,本发明包括药物组合物,其由药学上可接受的载体和药学有效量的固体形式或固体晶型组成。药学上可接受的载体优选在与活性成分的有效活性一致的浓度下对患者相对无毒且无害,从而可归因于载体的任何副作用不会削弱固体形式或固体晶型的有益作用。

[0045] 固体形式或固体晶型的药学有效量优选为对所治疗的特定病症产生结果或发挥影响的量。可以使用任何有效的常规剂量单位形式(包括速释、缓释和定时释放制剂),将本发明的固体形式或固体晶型与本领域熟知的药学上可接受的载体一起口服、肠胃外、局部、鼻内、经眼(ophthalmically)、经眼(optically)、舌下、直肠、阴道等施用。

[0046] 根据本发明的化合物可能具有全身和/或局部活性。为此目的,可以以合适的方式施用它们,例如经由口服、肠胃外、肺、鼻、舌下、舌、颊、直肠、阴道、皮肤、透皮、结膜、耳部途径或作为植入物或支架。

[0047] 对于这些施用途径,可以以合适的施用形式施用根据本发明的化合物。

[0048] 对于口服施用,可以将根据本发明的化合物配制成本领域已知的剂型,所述剂型快速和/或以改进的方式递送本发明的化合物,例如片剂(未包衣或包衣的片剂,例如具有延迟溶解或不溶性的肠溶或控释包衣)、口腔崩解片、膜剂/薄片、膜剂/冻干剂、胶囊(例如硬或软明胶胶囊)、糖衣片剂、颗粒剂、丸剂、粉末剂、乳剂、混悬剂、气雾剂或溶液剂。可以将结晶和/或无定形和/或溶解形式的根据本发明的化合物掺入所述剂型中。

[0049] 肠胃外施用可以在避免吸收步骤(例如静脉内、动脉内、心内、脊柱内或腰椎内)的情况下或包含吸收(例如肌肉内、皮下、皮内、经皮或腹膜内)的情况下来实现。适合肠胃外施用的施用形式尤其为溶液剂、混悬剂、乳剂、冻干剂或无菌粉末形式的用于注射和输注的

制剂。

[0050] 适用于其他施用途径的示例为用于吸入的药物形式[尤其是粉末吸入器、雾化器]、滴鼻剂、鼻溶液、鼻喷雾剂；用于舌、舌下或颊内施用的片剂/膜剂/薄片/胶囊；栓剂；滴眼液、眼药膏、洗眼液、眼部插入剂、滴耳液、喷耳剂、耳粉、洗耳液、耳棉塞、阴道胶囊、水混悬剂(洗剂、振荡混合物(mixturae agitandae))、亲脂性混悬剂、乳剂、软膏、霜剂、透皮治疗系统(例如贴剂)、乳液、糊剂、泡沫剂、撒粉剂(dusting powder)、植入物或支架。

[0051] 可以根据本发明的化合物掺入到所述的施用形式中。这可以通过与药学上合适的赋形剂混合以本身已知的方式实现。药学上合适的赋形剂尤其包括，

[0052] • 填充剂和载体(例如纤维素、微晶纤维素(例如Avicel[®])、乳糖、甘露醇、淀粉、磷酸钙(例如Di-Cafos[®]))，

[0053] • 软膏基质(例如凡士林、石蜡、甘油三酯、蜡、羊毛蜡、羊毛蜡醇、羊毛脂、亲水性软膏、聚乙二醇)，

[0054] • 用于栓剂的基质(例如聚乙二醇、可可脂、硬脂)，

[0055] • 溶剂(例如水、乙醇、异丙醇、甘油、丙二醇、中链甘油三酯脂肪油、液体聚乙二醇、石蜡)，

[0056] • 表面活性剂、乳化剂、分散剂或润湿剂(例如十二烷基硫酸钠)、卵磷脂、磷脂、脂肪醇(例如Lanette[®])、脱水山梨糖醇脂肪酸酯(例如Span[®])、聚氧乙烯脱水山梨糖醇脂肪酸酯(例如Tween[®])、聚氧乙烯脂肪酸甘油酯(例如Cremophor[®])、聚氧乙烯脂肪酸酯、聚氧乙烯脂肪醇醚、甘油脂肪酸酯、泊洛沙姆(例如Pluronic[®])，

[0057] • 缓冲剂、酸和碱(例如磷酸盐、碳酸盐、柠檬酸、乙酸、盐酸、氢氧化钠溶液、碳酸铵、氨丁三醇、三乙醇胺)，

[0058] • 等渗剂(例如葡萄糖、氯化钠)，

[0059] • 吸附剂(例如高分散二氧化硅)，

[0060] • 增粘剂、凝胶形成剂、增稠剂和/或粘合剂(例如聚乙烯吡咯烷酮、甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、羟丙基纤维素、羧甲基纤维素钠、淀粉、卡波姆、聚丙烯酸(例如Carbopol[®])、藻酸盐、明胶)，

[0061] • 崩解剂(例如改性淀粉、羧甲基纤维素钠、羟基乙酸淀粉钠(例如Explotab[®])、交联聚乙烯吡咯烷酮、交联羧甲基纤维素钠(例如AcDiSof))，

[0062] • 流动性调节剂、润滑剂、助流剂和脱模剂(例如硬脂酸镁、硬脂酸、滑石粉、高分散二氧化硅(例如Aerosil[®]))，

[0063] • 涂布材料(例如糖、虫胶)和用于快速溶解或以改进方式溶解的薄膜或扩散膜的成膜剂(例如聚乙烯吡咯烷酮(例如Kollidon[®])、聚乙烯醇、羟丙基甲基纤维素、羟丙基纤维素、乙基纤维素、邻苯二甲酸羟丙基甲基纤维素、醋酸纤维素、醋酸邻苯二甲酸纤维素、聚丙烯酸酯、聚甲基丙烯酸酯，例如Eudragit[®])，

[0064] • 胶囊材料(例如明胶、羟丙基甲基纤维素)，

[0065] • 合成聚合物(例如聚丙交酯、聚乙交酯、聚丙烯酸酯、聚甲基丙烯酸酯(例如Eudragit[®])、聚乙烯吡咯烷酮(例如Kollidon[®])、聚乙烯醇、聚乙烯乙酸酯、聚环氧乙烷、聚乙二醇及其共聚物和嵌段共聚物)，

[0066] • 增塑剂(例如聚乙二醇、丙二醇、甘油、三醋精、柠檬酸三乙酯、邻苯二甲酸二丁

酯)、渗透促进剂,

[0067] • 稳定剂(例如抗氧化剂,如抗坏血酸、抗坏血酸棕榈酸酯、抗坏血酸钠、丁基羟基茴香醚、丁基羟基甲苯、没食子酸丙酯),

[0068] • 防腐剂(例如对羟基苯甲酸酯、山梨酸、硫柳汞、苯扎氯铵、醋酸氯己定、苯甲酸钠),

[0069] • 着色剂(例如无机颜料,如氧化铁、二氧化钛),

[0070] • 调味剂、甜味剂、味道和/或气味掩蔽剂。

[0071] 本发明还涉及根据本发明的药物组合物及其用途,所述药物组合物包含本文公开的N-甲基异靛的晶型,通常连同一种或多种药学上合适的赋形剂。

[0072] 可以用本文公开的N-甲基异靛的晶型治疗各种疾病和病症。在下面更详细地描述这些疾病和病症。

[0073] 非常规和/或异常炎症

[0074] 非常规和/或异常炎症是多种人类疾病的主要组成部分。患有多种变性疾病的人通常在血液中显示出过量水平的促炎标志物。这些促炎标志物的一种类型为促炎标志细胞因子,包括IL-1 α 、IL-1 β 、IL-2、IL-3、IL-6、IL-7、IL-9、IL-12、IL-17、IL-18、IL-23、TNF- α 、LT、LIF、制瘤素和IFN γ 1 α 、IFN γ 1 β 、IFN γ 1 γ 。

[0075] 由炎性细胞因子直接引起的常见医学问题的非限制性列表包括:关节炎,其中炎性细胞因子破坏导致滑膜损伤以及关节软骨和骨的破坏;肾功能衰竭,其中炎性细胞因子限制循环并破坏肾单位;狼疮,其中炎性细胞因子诱导自身免疫攻击;哮喘,其中炎性细胞因子关闭气道;银屑病,其中炎性细胞因子诱导皮炎;胰腺炎,其中炎性细胞因子诱导胰腺细胞损伤;过敏,其中炎性细胞因子诱导自身免疫反应;纤维化,其中炎性细胞因子攻击创伤组织;手术并发症,其中炎性细胞因子阻止愈合;贫血,其中炎性细胞因子攻击促红细胞生成素产生;和纤维肌痛,其中纤维肌痛患者的炎性细胞因子升高。其他与慢性炎症相关的疾病包括癌症,其由慢性炎症引起;心脏病发作,其中慢性炎症导致冠状动脉粥样硬化;阿尔茨海默病,其中慢性炎症破坏脑细胞;充血性心力衰竭,其中慢性炎症导致心肌萎缩;中风,其中慢性炎症促进血栓栓塞事件;和主动脉瓣狭窄,其中慢性炎症损害心脏瓣膜。动脉硬化、骨质疏松症、帕金森病、感染、炎性肠病包括克罗恩病和溃疡性结肠炎以及多发性硬化症(一种典型的自身免疫性炎症相关疾病)也与炎症有关。一些处于晚期阶段的疾病可能会危及生命。有多种方法可用于治疗这些炎性疾病;然而,结果通常并不令人满意,原因在于疗效缺乏和与之相关的药物相关副作用。

[0076] 炎性肠病

[0077] 炎性肠病(IBD)包括克罗恩病(CD)和溃疡性结肠炎(UC),两者都是特发性慢性疾病,在世界许多地方发生的频率越来越高。在美国,每年有超过600,000人患病。IBD可以涉及小肠和大肠中的一个或两者。CD可以涉及胃肠道的任何部分,但最常涉及远端小肠和结肠。其要么不伤害直肠,要么引起直肠周围引流(drainage)的炎症或感染。UC通常在大肠下部引起溃疡,通常从直肠开始。症状多样,但可能包括腹泻、发烧和疼痛。持续患有UC的患者患结肠癌的风险增加。目前没有令人满意的治疗方法,因为尽管提出了感染和免疫机制,但IBD的原因仍不清楚。IBD治疗旨在控制炎症症状,通常使用皮质类固醇、氨基水杨酸盐和标准免疫抑制剂,如硫唑嘌呤(6-巯基嘌呤)、甲氨蝶呤和环孢素。其中,唯一的缓解疾病的疗

法是免疫抑制剂:硫唑嘌呤和甲氨蝶呤,这两者起效缓慢,仅具有中等疗效。长期治疗可能引起肝损伤(纤维化或肝硬化)和骨髓抑制。此外,患者经常对这种治疗产生抵触(refractory)。其他治疗方案仅解决症状。

[0078] 银屑病

[0079] 银屑病是最常见的免疫介导的慢性皮肤病之一,具有不同的形式和不同的严重程度,在美国影响约2%或超过450万人,其中150万人被认为具有该病的中度至重度形式。百分之十至三十的银屑病患者还会患上一种关节炎——银屑病关节炎,其损伤关节周围的骨骼和结缔组织。银屑病表现为被片状白色堆积物覆盖的凸起的红色皮肤斑块。其也可以有丘疹样外观(脓疱型银屑病)或烧伤外观(红皮病型)。银屑病也可能引起剧烈的瘙痒和灼痛。患者在心理上和身体上都遭受痛苦。目前有多种方法可用于治疗银屑病,包括局部治疗、光疗和全身应用。然而,它们通常被认为只是疾病抑制和疾病缓解。它们都不是治愈性的。此外,许多治疗方法要么是美容学上不合意的,不便于长期使用,要么具有显著的毒性。

[0080] 在过去的20年里,随着对银屑病的生物学特性的了解增加,已经出现了生物疗法,所述生物疗法靶向导致该疾病炎症性质的T淋巴细胞和细胞因子的活性。目前,治疗银屑病的药物包括最初用于类风湿性关节炎(RA)治疗的TNF- α 抑制剂、ENBREL[®](依那西普)、REMICADE[®](英夫利昔单抗)和HUMIRA[®](阿达木单抗),以及于2002年获得批准的来自Biogen的T细胞抑制剂AMEVIVE[®](阿法赛特(alefacept))和于2003年获得批准的来自Genentech/Xoma的RAPTIVA[®](依法利珠(efalizumab))。最近,已经开发了生物制剂,如针对IL-17的抗体(例如,礼来公司的ixekizumab)或针对IL-23的抗体(例如,强生公司的guselkumab)。AMEVIVE[®](阿法赛特)为一种免疫球蛋白融合蛋白,其由融合至人IgG(1)的铰链、C(H)2和C(H)3结构域的人LFA-3的第一胞外结构域组成。其通过NK细胞抑制T细胞增殖。RAPTIVA[®](依法利珠)也称为抗CD11a,为一种靶向T细胞粘附分子、白细胞功能相关抗原1(LFA-1)的人源化单克隆抗体。阻止LFA-1与其配体(ICAM-1,细胞间粘附分子1)的结合可抑制淋巴细胞活化和迁移,导致淋巴细胞浸润下降,从而限制最终导致银屑病体征和症状的事件级联。然而,TNF- α 抑制剂的潜在副作用很严重,包括淋巴瘤的发展、充血性心力衰竭加重、导致严重感染和败血症,以及多发性硬化症和中枢神经系统问题的恶化。尽管T细胞抑制剂AMEVIVE[®](阿法赛特)或RAPTIVA[®](依法利珠)的副作用在银屑病治疗中可能更可耐受,但这些疗法发挥免疫抑制剂的作用。免疫抑制剂可能增加感染风险、重新激活潜伏的慢性感染或增加癌症发展的风险。

[0081] 尽管在过去二十年中,对银屑病的生物学特性的理解已经取得了许多进展,并且如上所述已经出现了用于银屑病的非常规治疗,但是其产生的许多痛苦仍然没有得到充分解决。在1998年,由国家银屑病基金会(National Psoriasis Foundation)对40,000多名美国银屑病患者进行的调查显示,79%的年轻患者因治疗无效而感到沮丧。在患有严重疾病的人中,32%的人认为他们的治疗不够积极。

[0082] 类风湿性关节炎

[0083] 类风湿性关节炎(RA)代表另一个棘手的炎性疾病的示例。其为一种常见的慢性炎症相关疾病,其特征在于关节的膜衬里(滑膜)和/或其他内脏器官的慢性炎症。炎症细胞还可以侵入并损伤骨骼和软骨。所涉及的关节可能失去其形状和排列,导致无法运动。RA患者

具有关节疼痛、僵硬、发热、发红和肿胀,以及其他全身症状,如发烧、疲劳和贫血。目前,美国约有1%的人口或210万人患病,其中女性(150万)多于男性(60万)。尽管已假定不适当的免疫反应的级联作为一种机制,但RA的病理学尚未完全了解。遗憾的是,常规治疗在RA中效率低下(29)。这种疾病对对症药物(包括自1950年代以来使用的皮质类固醇和非甾体抗炎药(NSAID))没有完全的反应。此外,这些药物具有产生严重副作用的风险。缓解疾病的抗风湿药(DMARD,如甲氨蝶呤(MTX))的治疗效果通常时好时坏且持续时间短。

[0084] 基于对细胞因子、TNF- α 和IL-1在炎症过程中的作用的理解,最近开发了一类用于治疗RA的新型生物DMARD(缓解疾病的抗风湿药)。FDA已经批准了多种此类DMARD,包括在1998年批准的来自Immunex/安进公司的ENBREL[®](依那西普)、来自Centocor/强生的REMICADE[®](英夫利昔单抗)、在2002年批准的来自雅培公司的HUMIRA[®](阿达木单抗)和在2001年批准的来自安进的KINERET[®](阿那白滞素(anakinra))。ENBREL[®](依那西普)是一种可溶的TNF受体(TNFR)重组蛋白。REMICADE[®](英夫利昔单抗)是一种人源化小鼠(嵌合)抗TNF- α 单克隆抗体。HUMIRA[®](阿达木单抗)是一种使用噬菌体展示技术产生的全人抗TNF单克隆抗体,所述噬菌体展示技术产生具有人源重链和轻链可变区及人IgG1:k恒定区的抗体。所有这三种基于蛋白质的药物均靶向并结合至TNF- α 以阻断TNF- α 的作用。

KINERET[®](阿那白滞素)是一种重组IL-1受体拮抗剂,它与天然的人IL-1Ra相似,只是在其氨基末端增加了一个甲硫氨酸残基。KINERET[®](阿那白滞素)通过竞争性抑制IL-1与IL-1I型受体(IL-1RI)的结合来阻断IL-1的生物活性,从而降低IL-1的促炎作用。

[0085] 使用这些生物DMARD的治疗在中度至重度活动性RA患者中缓解症状,抑制结构损伤的进展,并改善身体功能。当与MTX(一种广泛使用的DMARD)联合治疗RA患者时,三种上市的TNF- α 阻断剂具有相似的功效。尽管这些生物治疗在短期和中期对许多RA患者提供显著的疗效和良好的整体安全性,但其可能产生严重的问题和长期副作用(如对肝脏),仍然需要进行评估。ENBREL[®](依那西普)或REMICADE[®](英夫利昔单抗)的使用与淋巴瘤的发展之间存在着令人不安的关联。如上所述,多份报告表明,接受ENBREL[®](依那西普)或REMICADE[®](英夫利昔单抗)治疗的患者会加重充血性心力衰竭并发展出严重感染和败血症,并增加多发性硬化症和其他中枢神经系统问题的恶化。

[0086] 泌尿科慢性盆腔疼痛综合征

[0087] 间质性膀胱炎或膀胱疼痛综合征和慢性前列腺炎或慢性盆腔疼痛综合征最近更名为泌尿科慢性盆腔疼痛综合征(UCPPS)。UCPPS是一种慢性疾病,其特征在于不舒服的膀胱压力、膀胱疼痛和/或骨盆疼痛的组合,其范围可以从轻度灼热或不适到剧烈疼痛。其影响大约100万美国人。尽管其可以影响儿童和男性,但大多数受影响的是女性。UCPPS可以对患者的生活质量产生长期的不利且显著的影响。尽管已不断进行努力,但目前既没有有效的治疗方法,也没有对UCPPS发病机制的机理性理解。

[0088] 有多种药物和疗法可以使用,它们仅基于症状缓解。这些疗法包括:口服药物;使用二甲亚砷膀胱灌注(通过插入尿道的细软管直接灌注至膀胱,或灌注含有药物组合的溶液,如肝素、利多卡因和碳酸氢钠的组合);神经刺激(经皮神经电刺激或TENS),使用温和的电脉冲来缓解盆腔疼痛,并在某些情况下减少尿频;膀胱扩张;和手术(膀胱增大、电灼术或切除术)。

[0089] 口服药物是最方便的疗法,其目的是通过放松和保护膀胱免受刺激来缓解疼痛和/或其他症状,其利用镇痛药(布洛芬和非甾体抗炎药);三环类抗抑郁药,如阿米替林或丙咪嗪;或抗组胺药,如苯海拉明和氯雷他定;或戊聚糖,一种半合成生产的类肝素大分子碳水化合物衍生物,其在化学和结构上类似于糖胺聚糖。其中,戊聚糖(Elmiron)是美国食品药品监督管理局(FDA)唯一批准的专门用于间质性膀胱炎的口服药物。戊聚糖的作用原理尚不清楚,但其可以给膀胱的内表面加衬(line)或以其他方式修复膀胱的内表面,以保护膀胱壁免受尿液中可能刺激它的物质的影响。然而,可能需要几个月的时间,患者才会开始感到疼痛减轻,而感到尿频减少则需要长达半年的时间。

[0090] UCPPS的病因是未知的。不过,存在多种假设,包括炎症/自身免疫、细胞增殖异常、隐匿性感染、遗传、化学、神经学、心理、激素和多因素。其中,增殖和炎症可能是最重要的。在组织学上,其特征在于膀胱上皮内层变薄或溃疡。UCPPS患者膀胱的膀胱镜检查异常包括称为“肾丝球状出血(glomerulation)”的点状出血和延伸到固有层的溃疡(Hunner溃疡)。最一致的组织学异常包括膀胱上皮剥脱或变薄至1至2个细胞层。这些发现提示UCPPS可能是由正常膀胱上皮细胞增殖的抑制引起的,导致上皮屏障完整性的丧失,随后膀胱壁中的感觉神经细胞暴露于尿液成分。最近从UCPPS患者的膀胱上皮细胞中鉴定出一种细胞增殖的糖基化卷曲相关肽抑制物,支持了这一假设。这种抗增殖因子(APF)通过调节细胞粘附分子和生长因子的产生显著抑制膀胱细胞增殖。

[0091] 多发性硬化症

[0092] 多发性硬化症(MS)是一种自身免疫性疾病,在美国有350,000至500,000人被诊断患病。大脑和脊髓中的多个炎症区域和髓鞘瘢痕形成意味着该疾病。根据髓鞘瘢痕形成的位置和程度,MS患者表现出不同程度的神经损伤。MS的常见症状包括疲劳、虚弱、痉挛、平衡问题、膀胱和肠道问题、麻木、视力丧失、震颤和抑郁。目前对MS的治疗只能缓解症状或延缓残疾的进展,多种用于MS新疗法(包括干细胞移植和基因疗法)是有前途的。尽管抗TNF抗体在实验性自身免疫性脑脊髓炎(EAE)中显示出保护作用,但它们加重MS患者的疾病,提示仅抑制TNF- α 是不够的。

[0093] 神经变性疾病

[0094] 阿尔茨海默病(AD)和帕金森病(PD)是两种最常见的神经变性疾病。AD是一种脑部疾病。其严重影响一个人进行日常活动的的能力。其涉及控制思维、记忆和语言的大脑部分。据估计,大约有400万美国人(通常在60岁以后)患有AD。

[0095] PD是一种中枢神经系统的进行性疾病,影响美国超过150万人。临床上,该疾病的特征在于自发运动减少、步态困难、姿势不稳、僵硬和震颤。PD是由大脑黑质中色素神经元的变性引起的,导致多巴胺可用性降低。这些神经变性疾病的原因尚不清楚,目前还没有治愈这种疾病的方法。

[0096] 因此,需要用于治疗上述和其他炎症相关疾病的新方法。尽管引起炎症相关疾病的机制尚不清楚,并且往往彼此不同,但已证明由细胞因子失调引起的免疫系统功能障碍在炎症的发生和发展中发挥重要作用。

[0097] 细胞因子通常可分为三种类型:促炎性(IL-1 α 、IL-1 β 、IL-2、IL-3、IL-6、IL-7、IL-9、IL-12、IL-17、IL-18、IL-23、TNF- α 、LT、LIF、制瘤素和IFN γ 1 α 、IFN γ 1 β 、IFN γ 1 γ);抗炎性(IL-4、IL-10、IL-11、W-13和TGFB);和趋化因子(IL-8、Gro α 、MIP-1、MCP-1、ENA-78和

RANTES)。

[0098] 在许多炎症病症中,促炎性细胞因子(尤其是TNF- α 、IL-1 β 和IL-6)以及抗炎细胞因子IL-10似乎在各种炎症相关疾病的发病机理中发挥重要作用,因此可以作为潜在的治疗靶点。例如,已在多种炎症相关疾病(如CD、银屑病、RA、格雷夫斯病和桥本甲状腺炎)中观察到一些促炎性细胞因子(TNF- α 、IFN γ 、IL-1、IL-2、IL-6和IL-12)和趋化因子(IL-8、MCP-1和RANTES)水平的升高,这与可溶性TNF受体、IL-1受体拮抗剂和抗炎细胞因子IL-10的增加同时发生。已证明IL-10在体外LPMC培养物中和患者体内抑制升高的促炎性细胞因子产生。用IL-10治疗的CD患者的阳性反应证明CD中促炎性细胞因子的产生与抗炎性细胞因子的产生之间也可能存在失衡。

[0099] 综上所述,近年来治疗炎症相关疾病的方法发生了演变,部分是由于对这些疾病的严重性的关注增长,部分是由于对细胞因子在其免疫发病机制中的重要作用的理解取得了重大进展。大多数努力都集中在靶向TNF- α 和IL-1上,并且有多种产品(TNF- α 抑制剂:英夫利昔单抗,一种单克隆抗TNF- α 抗体;和依那西普,一种p75 TNF- α 受体)目前已上市或正在进行临床试验用于治疗上面提及的RA、银屑病和IBD。其他几种靶向IL-1、IL-6、IL17、IL23或IL-10的候选药物或策略已被开发或正在开发中。这些生物治疗在许多患有RA或其他自身免疫/炎症疾病的患者中提供了短期和中期的显著疗效。尽管这些药物耐受性良好且总体安全性良好,但仍需要积极的药物警戒。基于其作用机制和先前对各种不良反应的通报,需要检查副作用的长期风险,所述副作用包括血液学、感染性、神经学、肿瘤学和免疫学作用。

[0100] 作为抗炎疗法的靶向单一促炎性细胞因子的策略忽略了一个非常重要的事实,即炎症相关疾病涉及复杂的细胞因子网络“系统”。例如,趋化因子(一种与IL-8相关的免疫分子家族)包含大约50个配体和20个受体,在发挥作用时通常具有冗余度,因此使得选择合适的特异性拮抗剂不仅困难而且缺乏长期功效。此外,目前市场上销售的产品或正在开发的产品主要是基于蛋白质的药剂,其生产成本高且施用(即输注)不方便。因此,由于免疫系统的功能通过促炎性和抗炎性介质或细胞因子的活性被很好地平衡,通过小分子调节多种促炎性/抗炎性细胞因子而非阻断一种特定的促炎性细胞因子不仅可以实现更好的治疗功效和更少的副作用,而且还将具有小分子药物的许多优点。

[0101] 基于这个观念,我们之前检测了多种类型的小分子以测试它们调节多种细胞因子的能力,并探索了它们用于治疗多种炎症相关疾病的潜在临床应用。

[0102] 甲异靛为一种靛玉红衍生物,其在中国已被用于治疗慢性粒细胞白血病(CML),副作用较小。我们证明甲异靛及其衍生物通过抑制细胞周期蛋白依赖性激酶、诱导细胞分化和促进细胞凋亡的能力而对实体瘤具有活性。在本发明中,我们展示了这类分子在治疗各种炎症相关疾病(包括啮齿动物和人的炎性肠病和银屑病)方面的新治疗活性。我们证明这种类型的药剂抑制细胞系中多种促炎性细胞因子(包括IL-1 β 、IL-6和TNF- α)的分泌和表达,并促进抗炎性细胞因子IL-10的产生。在最近的临床试验中,甲异靛已被证明对溃疡性结肠炎非常有效,同时没有观察到显著的副作用。

[0103] 甲异靛已被证明有效预防癌症、治疗癌症和治疗炎症相关疾病,所述炎症相关疾病与促炎性细胞因子表达、抗炎性细胞因子表达减少或这两者相关。

[0104] 在某些方面,本文公开的甲异靛的结晶形式在光照、高温和高湿条件下是稳定的。

本文公开的甲异靛的结晶形式在研磨、加压和加热条件下也是稳定的,满足药品的生产、运输和储存要求。

[0105] 在其他方面,本文公开的甲异靛的结晶形式在例如纯度、可操作性(较低的吸湿性)、流动性、可研磨性和/或质量控制方面比其他晶型更优异,并且可用作适用于药物制剂的晶体。即使与热、光、氧气、湿气或其他分子接触,这些结晶形式也表现出优异的稳定性。此外,本发明的晶型具有优异的过滤性能、干燥特性和流动性,并且可以以工业上有利的方式生产。

[0106] 此外,本发明的晶型作为药物是安全的,其中残留溶剂的量低于ICH(人用药品注册技术要求国际协调会议(International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use))指南中残留溶剂指南中描述的参考值。此外,所公开的晶型具有相对小的电荷量,且在药物的生产和包装中易于处理。

[0107] 在其他方面,本发明的晶型具有一种或多种有益特性,特别是以下优点:改进的稳定性、改进的在水中或水性体系中的溶解度和溶解速率、改进的热力学稳定性和/或改进的储存稳定性。

[0108] 在一个方面,本文公开的制备方法稳定、可重复且可控,使得其适合工业化生产。

[0109] 晶型I的制备

[0110] 设备和起始材料

[0111] 反应容器:在12升圆底烧瓶中进行制备,所述烧瓶具有用于温度计套管、回流冷凝器和装入试剂和溶剂的开口。

[0112] 过滤烧瓶:20升玻璃过滤烧瓶,其带有连接至真空的侧臂。

[0113] 桌面过滤漏斗:高密度聚乙烯漏斗,内径为10.25",总高度为8",包含固定的多孔过滤板,并配有12.7mm真空连接器。

[0114] 起始材料:N-甲基靛红和羟吡啶。

[0115] 主要工艺步骤

[0116] 用于生产大量N-甲基异靛(Natura- α , NAT)的制造方法包括以下主要步骤。

[0117] 1. 将3.75L冰醋酸加入至12L三颈圆底烧瓶中,然后加入0.75kg (4.65mol) N-甲基靛红、0.63kg (4.73mol) 羟吡啶和30ml浓HCl,所述烧瓶设置在加热套上并设置有顶部搅拌器。

[0118] 2. 将反应混合物加热至85至95°C持续2至3小时。

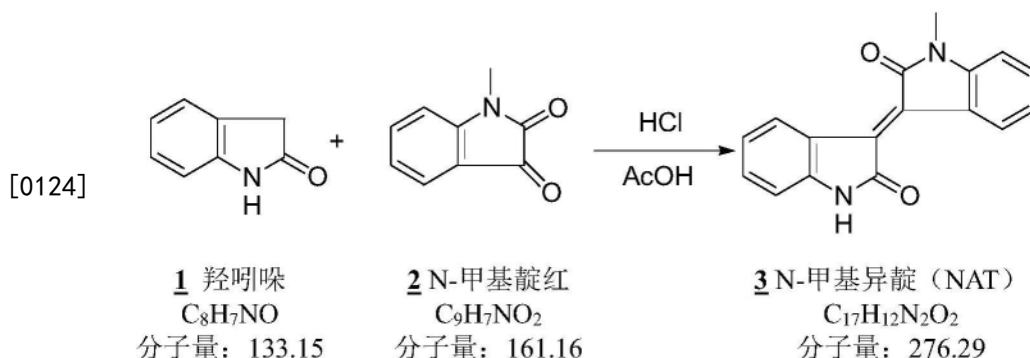
[0119] 3. 将反应混合物冷却至25至30°C,抽滤沉淀的产物。

[0120] 4. 将滤饼用0.75L和0.38L冰醋酸洗涤并抽干。

[0121] 5. 将滤饼重新溶解在4.5L回流的冰醋酸中,抽滤重结晶产物,用0.75L和0.38L冰醋酸洗涤,并在50°C真空干燥。

[0122] 通过使用发挥催化作用的浓HCl在乙酸中使N-甲基靛红与羟吡啶缩合来制备Natura- α (NAT),如下所示。

[0123] 方案1. 制备方法路线



[0125] 在本文中,本发明人还公开一种N-甲基异靛结晶组合物。

[0126] N-甲基异靛为一种深红色结晶粉末。N-甲基异靛的熔点为235至237°C。N-甲基异靛略溶于丙酮、氯仿和乙醇。N-甲基异靛微溶于水。

[0127] 在初级标准品SR-I 205a批次上进行N-甲基异靛的结构解析和确认。N-甲基异靛的固体状态如下所示(在“其他特征”部分)。

[0128] 结构和其他特征的解析

[0129] 结构解析:提供了化合物N-甲基异靛的结构解析和结构。用于结构解析的分析技术为红外分光光度法、核磁共振光谱法和质谱法。

[0130] 红外光谱

[0131] 用化合物在无水KBr中的1%混合物的颗粒来获得化合物的红外光谱。1685和 1695cm^{-1} 处的IR吸收是期望产物的羰基吸收的特征。结果在下文图1中提供。

[0132] 核磁共振谱

[0133] 核磁共振谱由NuMega Resonance Labs公司(圣地亚哥,CA)记录。在氘代氯仿溶液中获得光谱,使用 $\delta 7.27\text{ppm}$ 处的残余质子共振作为参考峰; $\delta 3.29\text{ (s, 3H)}$, $6.79\text{ (d, J=8Hz, 1H)}$, $6.81\text{ (d, J=8Hz, 1H)}$, $7.06\text{ (dd, J=8, 8Hz, 1H)}$, $7.08\text{ (dd, J=8, 8Hz, 1H)}$, $7.31\text{ (dd, J=8, 8Hz, 1H)}$, $7.39\text{ (dd, J=8, 8Hz, 1H)}$, 7.85 (bs, 1H) , $9.12\text{ (d, J=8Hz, 1H)}$ 和 $9.19\text{ (d, J=8Hz, 1H)}$ 处的质子共振与期望产物的结构一致。结果在下文图2中提供。

[0134] 质谱法

[0135] 质谱也由NuMega Resonance Labs公司记录。通过使用电喷雾电离方法来实现电离。正Q1扫描中277质量单位的正离子(图3)和负Q1扫描中275质量单位的负离子(图4)分别为期望产物的M+H和M-H离子的特征。

[0136] 其他特征

[0137] 固体状态

[0138] 熔点

[0139] 使用毛细管型熔点装置获得熔点。毛细管为0.8至1.1mm O.D.,长90mm,一端密封。用经校准的电子温度计使用K型热电偶测量熔化温度。熔程应为235°C至237°C,其中变化 $<3^\circ\text{C}$ 。

[0140] 表1.N-甲基异靛晶型(晶型1)的熔点

批号	NAT-0501	NAT-0502	NAT-0503	NAT-0601
熔点(°C)	236.0-236.6	235.8-236.3	235.4-235.9	235.2-236.5

[0142] 表1中的数据证明批次之间具有可比性。

[0143] 多晶型研究

[0144] 多晶型的筛选

[0145] 使用四批原料药NAT-0501、NAT-0502、NAT-0503和NAT-0601来评价X射线衍射图谱。

[0146] 四个样品的原始X射线衍射图谱如图5所示,为清楚起见,具有人工y轴偏移和100%峰截止(在 $2\theta=7.71^\circ$ 处)。从这四个X射线衍射图谱中可以明显看出:

[0147] 1. 来自相同制造程序的所有四个样品都包含相同的化合物晶型,其中 $2\theta=7.71^\circ$ 处的一个峰占主导地位(约40,000计数,而次高峰为2,000计数)。

[0148] 2. 样品NAT-0502和NAT-0503在结晶成分方面几乎相同。

[0149] 3. 样品NAT-0601的结晶度略高于其他样品,因此较弱的峰更明显,例如在17、18和 29° 峰的肩部。

[0150] 4. 样品NAT-0501包含额外的峰,这意味着粉末中存在少量额外组分(例如,在11、16和 23° 附近有多个多重但次要的峰)。对此的一个可能解释是Lot#0501被重新加工(rework)过。制备lot#NAT-0501时,没有重结晶步骤,发现纯度低于98%。增加重结晶步骤,所得产物符合规格。

[0151] 图6显示了Jade程序中峰选择分析的详细视图,所有四个样品的实测 2θ 值的列表汇编在表2中。

[0152] 样品的粉末X射线衍射图谱中特征峰的搜索/匹配在粉末X射线数据库(PDF 2006和ICSD 2007)中没有产生任何已知的相。因此,无法确定相。然而,正如从异靛的粉末图的外观(从剑桥结构数据库中获得)中所注意到的,样品的图谱与异靛的近似尺寸和取向(在晶体晶胞中)的平面延伸分子一致,其也有一个主峰为 7.7° 且弱得多,但“手指状”区域在 $13^\circ < 2\theta < 30^\circ$,如图7所示。

[0153] 数据是在Philips XPert系统上收集的,其具有石墨单色化Cu $K\alpha_x$ 辐射($\lambda = 1.5418 \text{ \AA}$),扫描步长和速度分别为 0.02deg 和 0.01deg sec^{-1} 。使用WinplotR程序和Jade程序分析XY图。

[0154] 表2. 多晶型研究样品的 2θ 值列表。样品0501、0502、0503、0601在JADE中挑选的峰的实测 2θ 角(deg)和强度(计数)。括号中的平均粒径是基于三个最大和最孤立反射的FWHM值。图6还显示了标识样品0501中额外峰的字母(a到m)。

[0155]

501	(28 nm)		502	(28 nm)	503	(27 nm)	601	(26 nm)
2θ	强度		2θ	强度	2θ	强度	2θ	强度
5.71	410		5.77	78	5.71	503	5.77	566
6.09	282							
7.71	27773	*	7.71	45547	7.69	39269	7.73	35260
8.29	79		8.49	134	8.39	144		
9.33	99		9.21	148	9.21	143	9.19	144
9.53	120	a	9.51	95				
10.15	93	b						
10.43	217	c						
10.89	369	d	10.67	48				
11.19	301	e						
11.55	455		11.55	463	11.55	451	11.57	647
12.11	60	f	11.93	36	11.87	33	12.01	17
12.81	868	g	12.59	70	12.67	67	12.61	96
13.61	2063	*	13.61	2294	13.59	2073	13.63	2653
14.41	633		14.39	1073	14.37	968	14.41	879
14.71	280	h	14.71	295	14.67	282	14.69	365
15.05	387		15.05	299	15.07	294	15.07	643
15.55	35		15.41	52			15.45	48
16.01	223	i						
16.41	202						16.49	237
16.85	543		16.83	657	16.83	587	16.87	676
17.21	205	j						
18.21	89		18.21	128	18.17	110	18.23	174
18.61	315		18.57	354	18.59	327	18.65	415
18.97	170		19.01	115	18.99	113	19.01	216
19.43	70		19.41	91	19.35	86	19.43	109
20.43	461		20.43	513	20.41	476	20.43	616
21.45	164							
21.89	1395	*	21.87	2406	21.85	2218	21.89	1770
22.35	126		22.33	205	22.43	235	22.51	289
22.81	417	k	22.71	225	22.75	230	22.73	342
23.11	539	l						
23.49	332		23.43	292	23.41	275	23.49	290
24.15	343	m						
24.81	656		24.83	387	24.81	392	24.85	1019

	25.43	1258		25.47	764	25.45	832	25.45	2001
	26.13	1176		26.13	733	26.13	739	26.15	1733
	26.89	1070		26.93	706	26.91	712	26.91	1723
	27.29	135		27.33	136	27.37	129	27.31	305
	27.53	112							
	28.17	96		28.11	163	28.11	149	28.11	339
	29.09	476		29.07	976	29.05	891	29.09	768
	29.39	135		29.39	145	29.39	130	29.39	276
	30.39	128		30.43	58	30.45	45	30.43	94
	31.77	167				31.77	172	31.69	150
	32.15	276		32.07	311	32.07	278	32.11	294
	32.37	213							
[0156]	32.85	169		32.85	168	32.81	152	32.89	206
	33.15	138						33.05	188
	35.25	242		35.31	233	35.27	222	35.27	359
	36.87	110							
	37.73	221		37.69	344	37.67	344	37.77	292
	38.49	411		38.47	605	38.39	556	38.55	503
	39.03	245		39.13	257	39.15	247	39.07	292
	39.55	217		39.55	316	39.55	307	39.59	307
	40.53	184		40.33	243	40.27	227	40.49	256
	40.75	217		40.59	308	40.83	298	40.79	334
	40.99	170		40.81	314	41.11	158	40.99	269
	41.57	69		41.89	85	41.47	66		
	41.99	26		42.09	100	42.11	98	42.11	106

[0157] 术语“约”和“基本上如……所示”通常在X射线粉末衍射(XRPD)峰中是指 $\pm 0.2^\circ$ ，在差示扫描量热法(DSC)中是指 $\pm 3^\circ\text{C}$ 。

[0158] 粒径和分布

[0159] 分析晶型I的粒径和分布。使用Malvern Mastersizer 2000 (MIIA14730, 马尔文, 英国) 测试了五个批次。

[0160] 如表3所示,发现五批晶型I的粒径非常均匀且分布均匀。图11显示化合物的晶型I的颗粒分布的示例。这些物理特性有助于药物加工,如根据需要配制各种固体和局部制剂,而无需对原始活性药物成分(API)材料进行额外加工。物理特性也有助于批次之间的等效且稳定的生物利用度。

[0161]

表 3. 五批甲异靛晶型 I 的粒径测定结果。使用 Malvern Mastersizer 2000 (MIIA14730) 进行测试。以(d90-d10)/d50 计算粒径分布比。

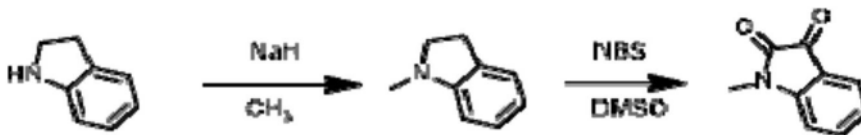
客户样品	Exova 样品 #	参数	规格	结果	粒径分布比
Natura- α NAT-1201	87301	d10	报告结果 μm	3.599 μm	1.75
		d50	报告结果 μm	13.301 μm	
		d90	报告结果 μm	26.897 μm	
Natura- α NAT-0601 C00105	87302	d10	报告结果 μm	2.506 μm	1.86
		d50	报告结果 μm	12.464 μm	
		d90	报告结果 μm	25.635 μm	
Natura- α NAT-1202	87304	d10	报告结果 μm	5.035 μm	1.62
		d50	报告结果 μm	15.603 μm	
		d90	报告结果 μm	30.339 μm	
Natura- α NAT-0801 C00105	87305	d10	报告结果 μm	3.249 μm	1.69
		d50	报告结果 μm	12.268 μm	
		d90	报告结果 μm	23.99 μm	
Natura- α NAT-1203 C00105	87306	d10	报告结果 μm	5.295 μm	1.58
		d50	报告结果 μm	15.674 μm	
		d90	报告结果 μm	30.015 μm	

[0162] 实验数据表明晶型 I 具有均匀的粒径和理想的分布 (见图 11)。这种均匀的粒径有利于将晶型 I 配制成药物组合物。均匀的粒径也表明形成晶型 I 的方法的可重复性。

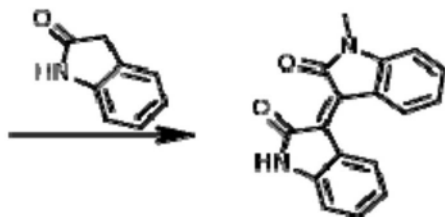
[0163] 其他晶型的制备

[0164] 在探索了不同的合成路线和不同的结晶/重结晶条件产生不同的N-甲基异靛(Natura- α)晶型后,发明人确定了以下其他的合成和结晶/重结晶条件。使用X射线粉末衍射(XRD)检测所得的产物。

[0165] 方案2. 样品#1、2、3、4、5和6的N-甲基异靛的合成方法路线



[0166]



[0167] 使用NaH作为催化剂使吲哚与甲基碘反应以生成甲基吲哚,甲基吲哚在N-溴代琥珀酰亚胺(NBS)和二甲亚砜(DMSO)的存在下被氧化成1-甲基靛蓝。然后,在酸化条件下使1-甲基靛蓝与2-羟吲哚反应生成N-甲基异靛。然后,将化合物通过柱色谱纯化,在下面描述的不同条件下重结晶,并使用¹H-NMR、¹³C-NMR和LC-MS表征结构。代表性光谱如图8至图9所示。

[0168] 样品#1:在甲醇/水中重结晶:将三百(300)mg新合成的N-甲基异靛加热至80°C,向其中加入80ml甲醇,并加热回流直至变得澄清。然后,在加热回流下向溶液中缓慢加入两百(200)ml水。溶液再次变得混浊,继续加热回流直至再次变得澄清,然后趁热过滤。将溶液静置并冷却至室温。化合物逐渐沉淀,然后过滤并干燥。

[0169] 样品#2:在甲醇中重结晶:将三百(300)mg新合成的N-甲基异靛加热至80°C,向其中加入80ml甲醇,并加热回流直至变得澄清。然后将溶液趁热过滤,静置并冷却至室温。化合物逐渐沉淀,然后过滤并干燥。

[0170] 样品#3:在乙酸乙酯和轻石油中重结晶:将一百(100)mg新合成的N-甲基异靛加热至80°C,在加热回流下向其中加入40ml乙酸乙酯,直至变得澄清。然后,将一百二十(120)ml轻石油缓慢加入至溶液中。溶液变得混浊,然后加热回流直至再次变得澄清。将溶液趁热过滤,静置并冷却至室温。化合物逐渐沉淀,然后过滤并干燥。

[0171] 样品#4:在乙酸乙酯中重结晶:将一百(100)mg新合成的N-甲基异靛加热至80°C,在加热回流下向其中加入30ml乙酸乙酯,直至变得澄清。将溶液趁热过滤,静置并冷却至室温。化合物逐渐沉淀,然后过滤并干燥。

[0172] 样品#5:在乙醇和水中重结晶:将一百(100)mg新合成的N-甲基异靛加热至80°C,在加热回流下向其中加入30ml乙醇,直至变得澄清。然后,将六十(60)ml蒸馏水加入到溶液中。溶液适度变得混浊,然后再次变得澄清。将溶液趁热过滤,静置并冷却至室温。化合物逐渐沉淀,然后过滤并干燥。

[0173] 样品#6:在乙醇中重结晶:将一百(100)mg新合成的N-甲基异靛加热至80°C,在加热回流下向其中加入30ml乙醇,直至变得澄清。将溶液趁热过滤,静置并冷却至室温。化合物逐渐沉淀,然后过滤并干燥。

[0174] 分析样品1至6的纯度,发现每个样品的纯度均>98.00%。

[0175] 样品#1至#6的一些物理性质示于表4中。这些晶型的外观不同:样品#1和#5为粉末状的;样品#2和#4为树状的;样品#3和#6为针状的。众所周知,树状和针状都具有较差的流速,因此不适合药物制剂。重要的是,所有这些晶型都显示出较低的熔点(即,225.4°C至229.5°C,相比之下上面公开的晶型I为235.2°C至236.6°C),表明这些晶型不同于晶型I。

[0176] 表4. 样品#1至#6的物理性质

样品#	颜色	结晶性质	熔点
1	棕色	粉末状	226.4°C ~227.2°C
2	棕色	树状	226.7°C ~227.6°C
[0177] 3	散沫花桃花心木 (Henna Mahogany)	针状	228.3°C ~228.9°C
4	散沫花桃花心木	树状	227.8°C ~229.3°C
5	散沫花桃花心木	粉末状	228.0°C ~229.5°C
6	散沫花桃花心木	针状	225.4°C ~228.3°C

[0178] 新合成的N-甲基异靛的结构表征通过¹H NMR、¹³C-NMR和LC-MS进行,代表性光谱如图8和图9所示。

[0179] 图10A至图10G显示了6个结晶样品的X射线光谱(PXRD)。它们均没有互相重复。PXRD提示样品1至6为多种结晶形式的混合物。

[0180] 与其他样品相比,样品1和样品5的XRD图谱显示出许多窄而尖锐的峰,表明所产生的甲异靛具有相对好的结晶状态。然而,在较大的 θ 处出现相对宽的峰,意味着还存在非结晶形式。相对而言,样品1表现出比样品5更好的甲异靛结晶状态,因为其比样品5产生更尖且更强的峰,熔程更短。

[0181] 样品2和样品4显示出较少的窄峰和较少的高峰,表明该结晶形式不仅具有更大的粒径,而且是晶体类型的混合物。

[0182] 与其他样品相比,样品3和6显示出的峰不仅窄而且相对不纯。这些样品的许多峰相互重叠,表明是典型的甲异靛晶体类型的混合物。样品3和6中的晶体类型的数量远多于其他4个样品。这表明在给定的重结晶条件下迅速产生了许多结晶形式,并且该结晶形式可能含有溶剂。这些结果表明样品3和6的重结晶条件不适于产生均匀的结晶粉末。

[0183] 由于N-甲基异靛在化学上被归类为“共轭芳族内酰胺”,因此分子之间容易形成氢键(H-键)和 π -堆叠结构。因此,这些化合物难以溶解在溶剂中,在结晶期间容易形成晶体和可能含有溶剂的非典型晶型。样品1至6的晶型包含不均匀且流速差的颗粒。这使得在没有额外处理程序的情况下更难以配制样品1至6的晶型。相比之下,晶型I的性质是独特的,具有均匀的粒径、流动性和生产和分离中的重现性。

[0184] 除非另有定义,本文中的所有技术和科学术语具有与本发明所属领域的普通技术人员通常理解的相同的含义。尽管类似于或等同于本文所述的那些方法和材料的任何方法和材料可用于本发明的实践或测试,但本文描述了优选的方法和材料。引用的所有出版物、专利和专利出版物出于所有目的通过引用整体并入本文。

[0185] 本文讨论的出版物仅提供在本申请的申请日之前的公开内容。本文中的任何内容均不应被解释为承认本发明无权因在先发明而早于此类出版物。

[0186] 虽然已经结合其特定实施方案描述了本发明,但应当理解,能够进行进一步的改进,并且本申请旨在涵盖本发明的任何变化、用途或改编,通常遵循本发明的原理,并包括在本发明所属领域内的已知或惯用实践中以及可应用于上文所述的基本特征以及所附权利要求的范围内的与本公开内容的偏离。

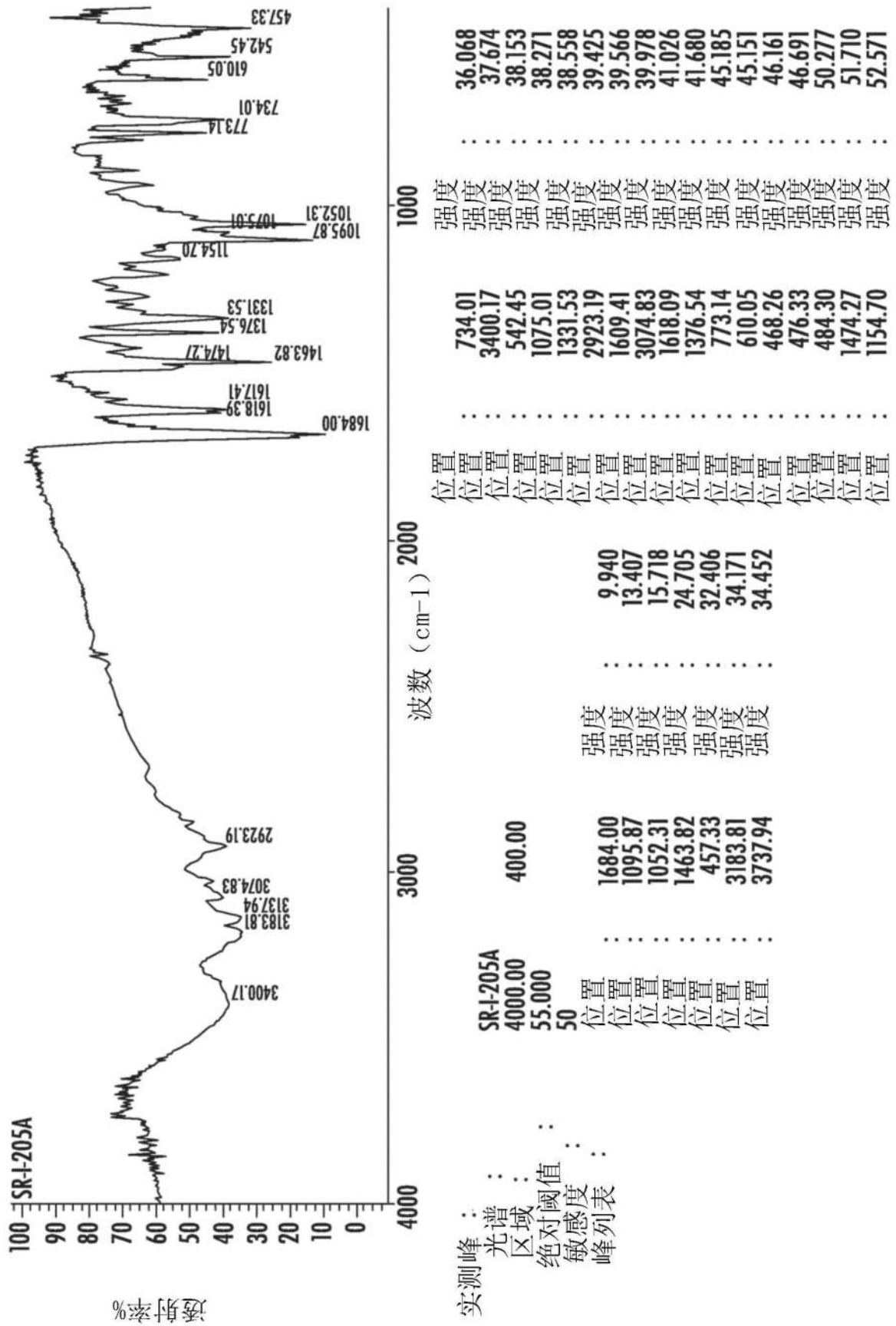


图1

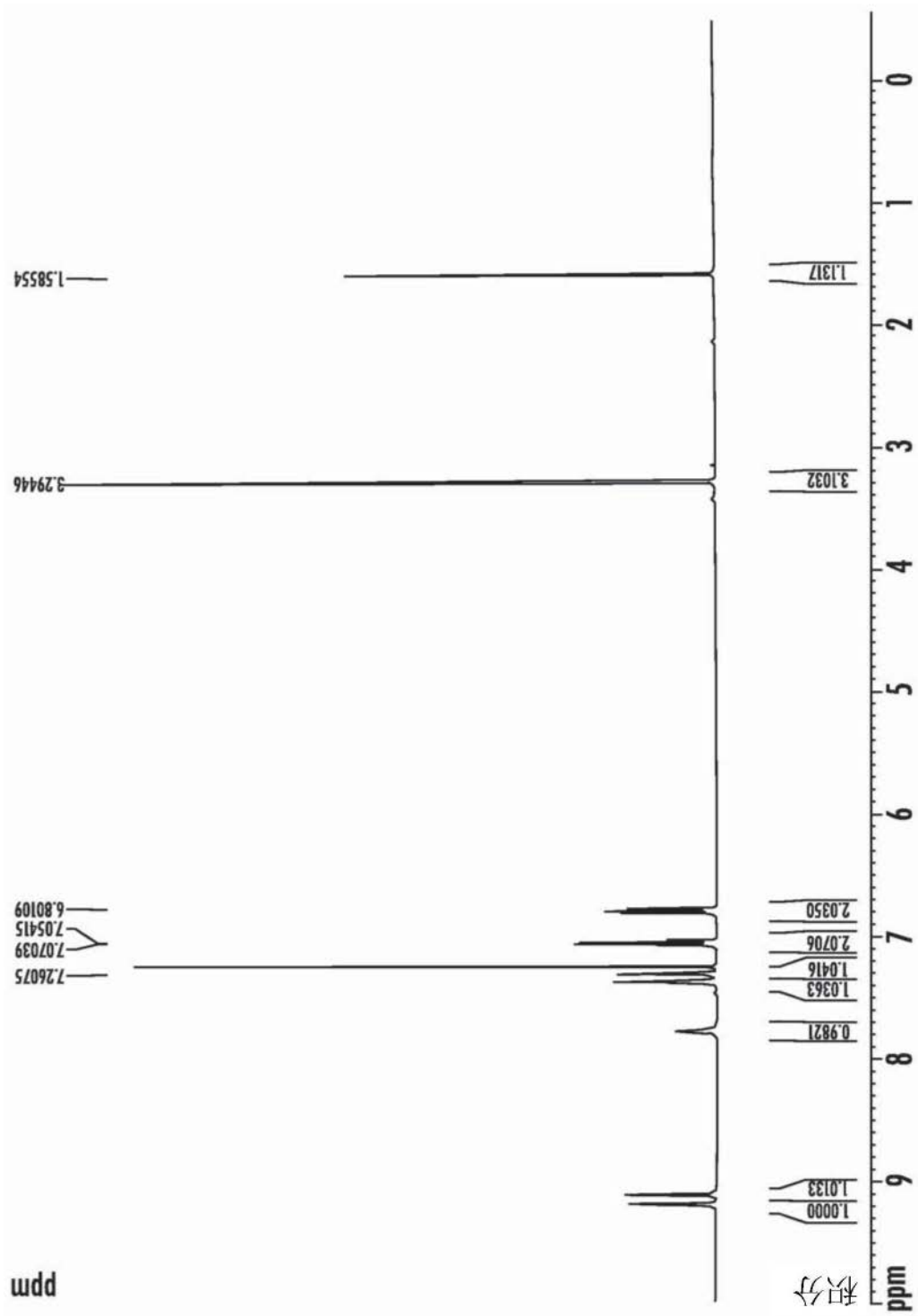


图2

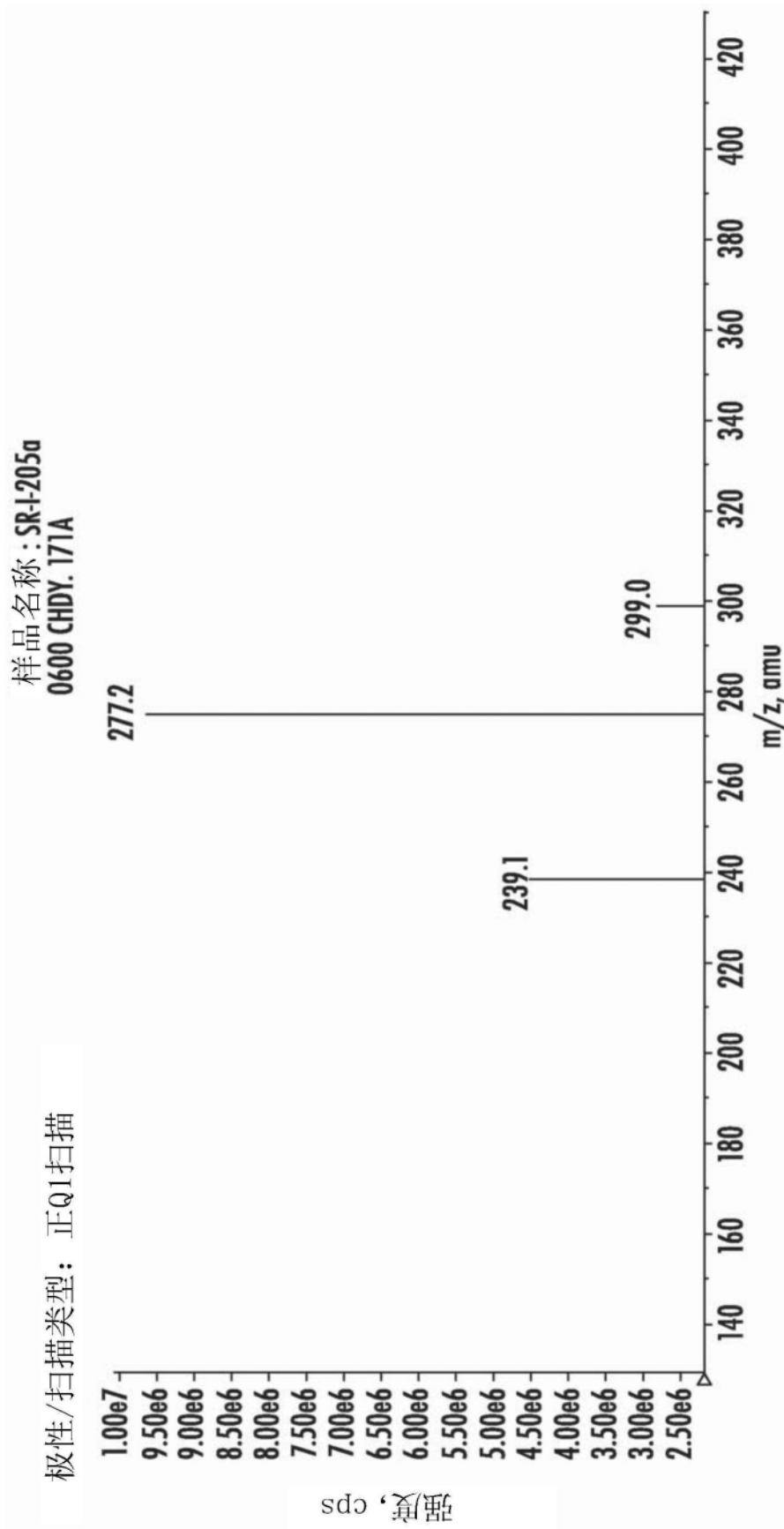


图3

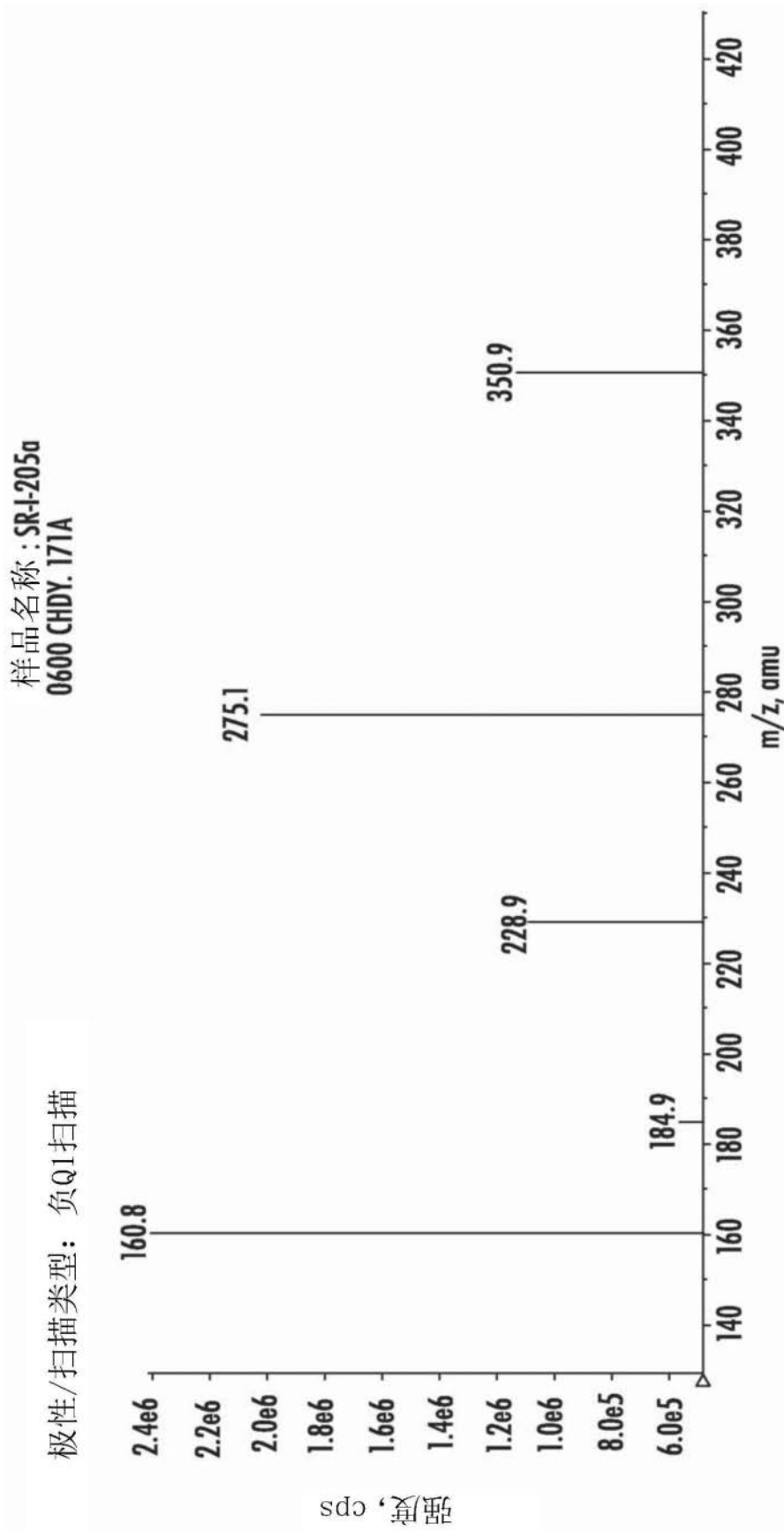


图4

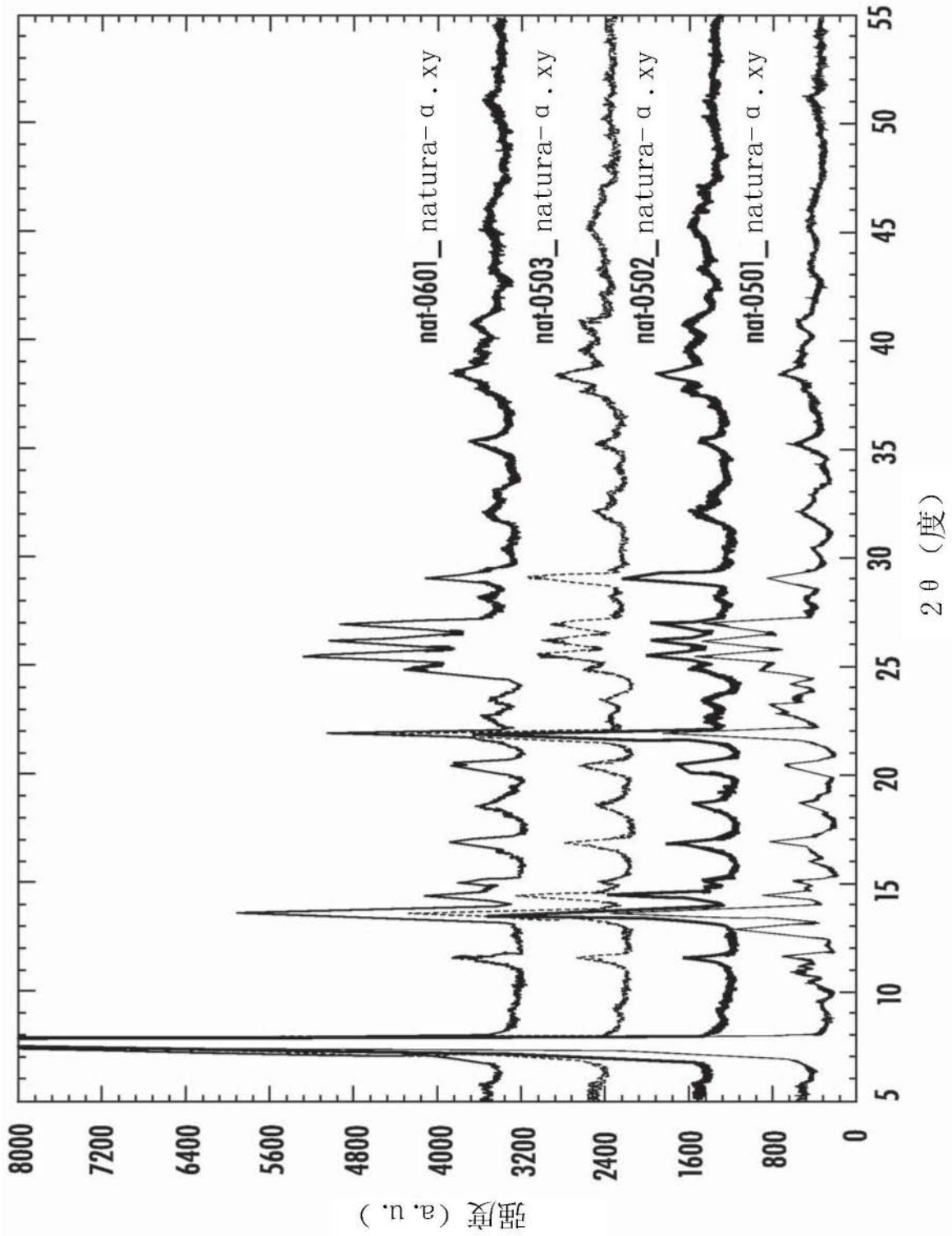


图5

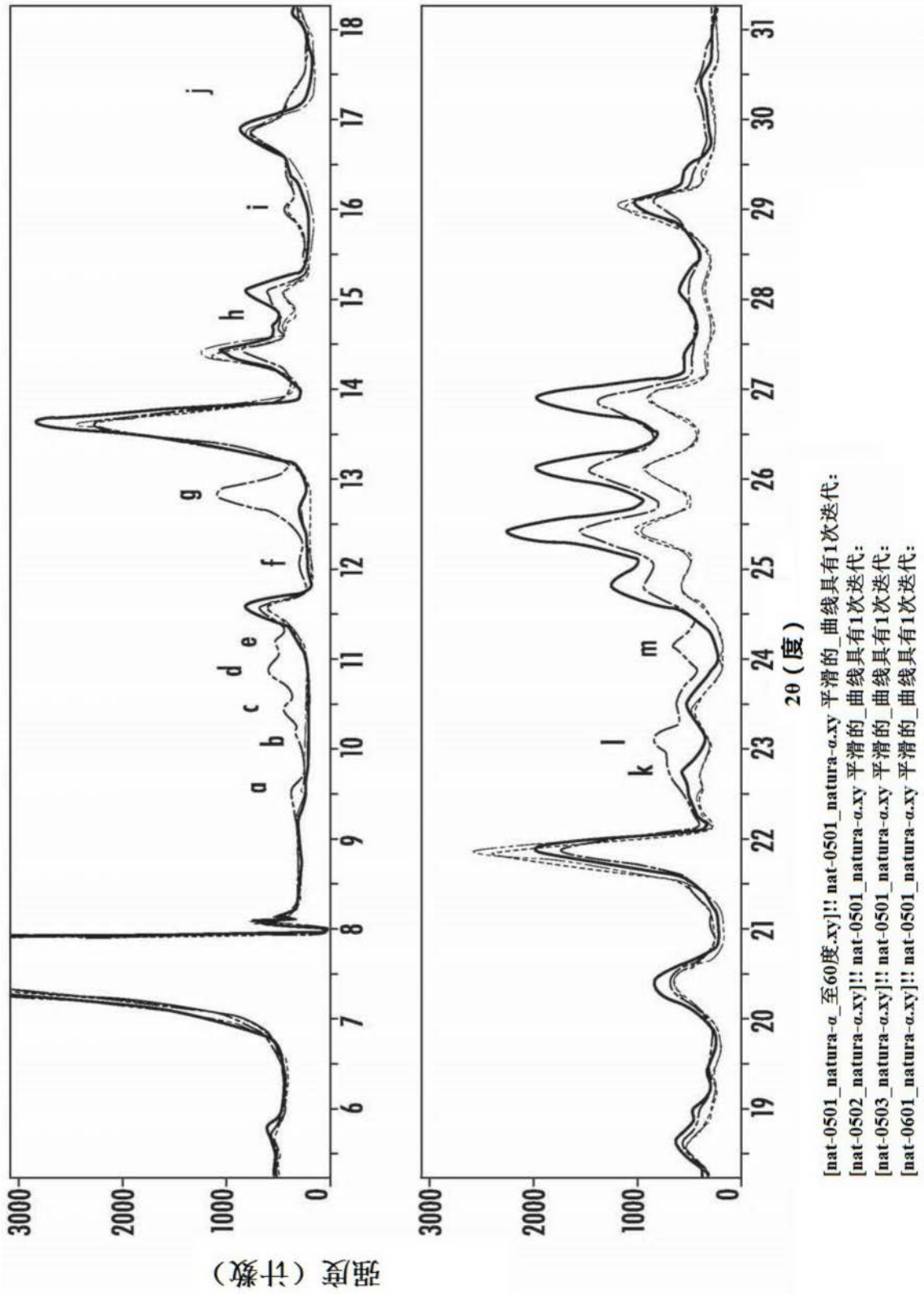


图6

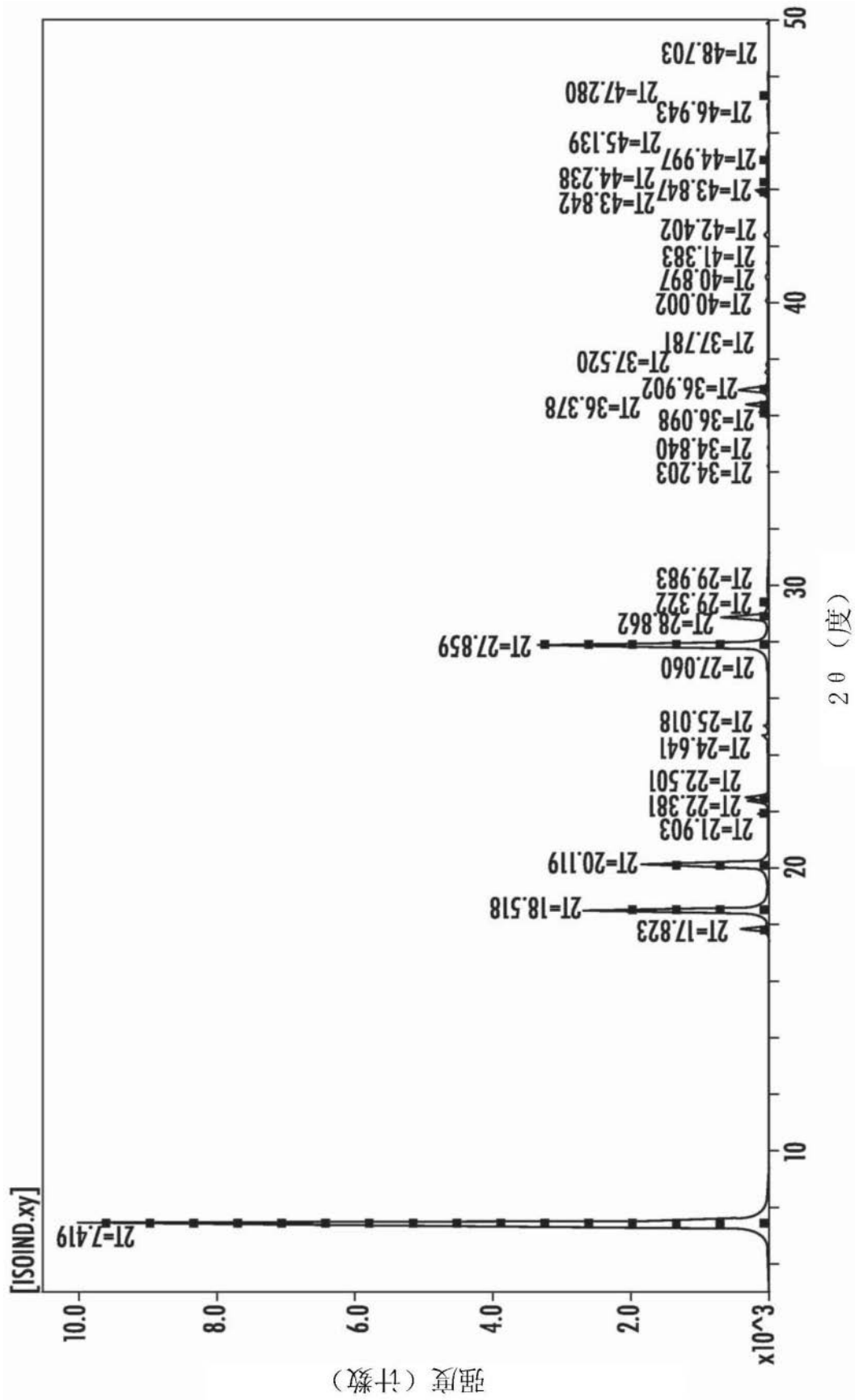


图7

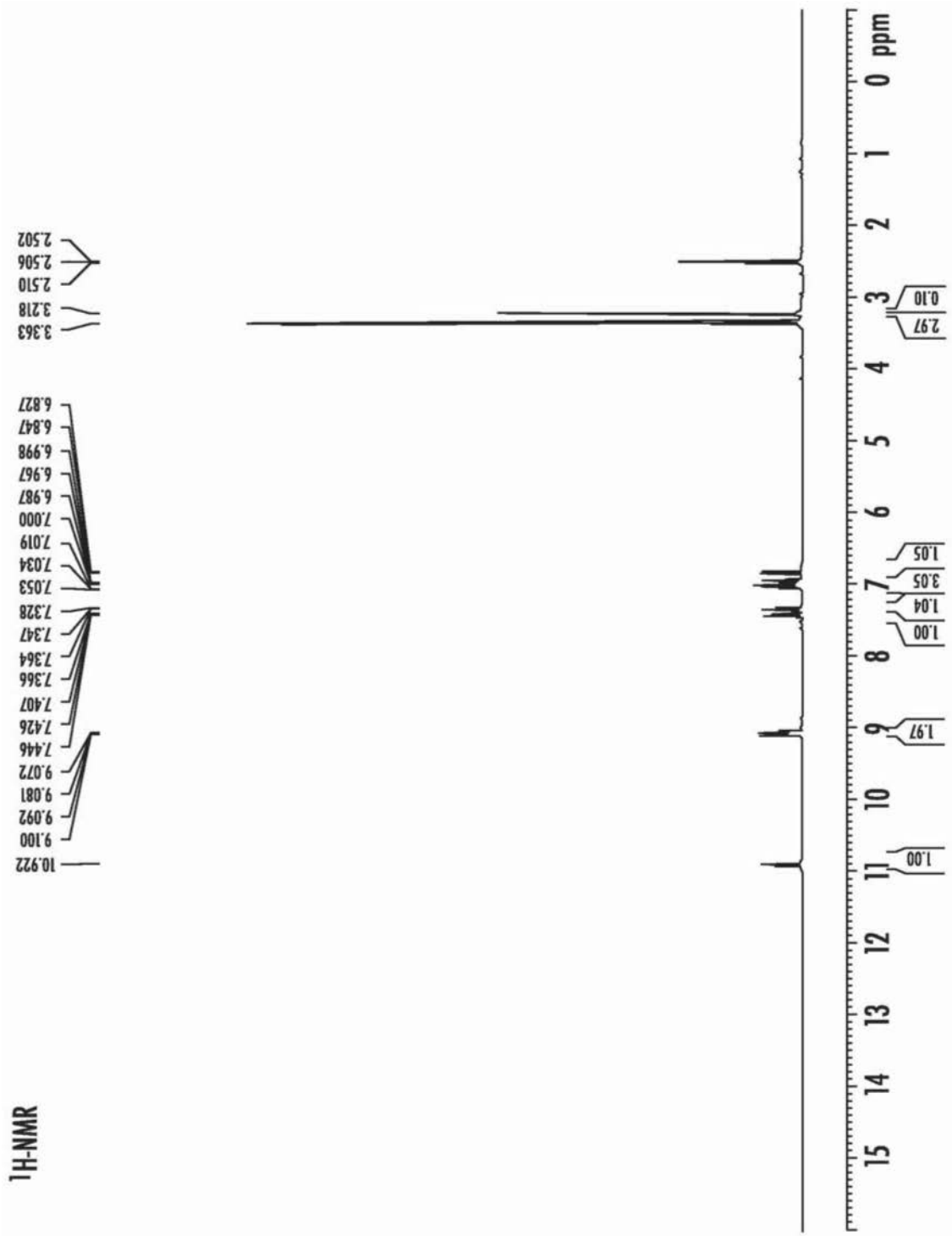


图8

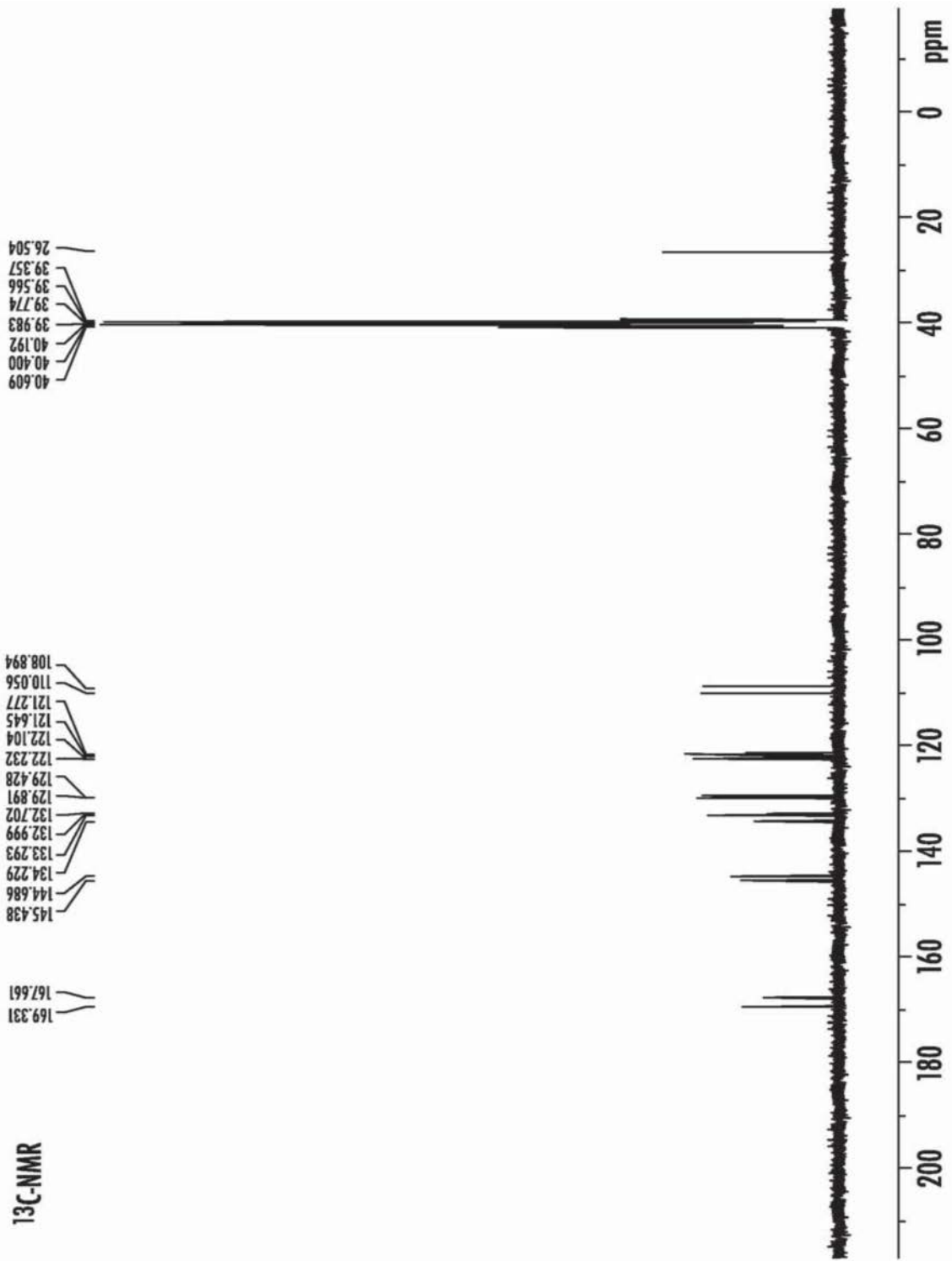


图9

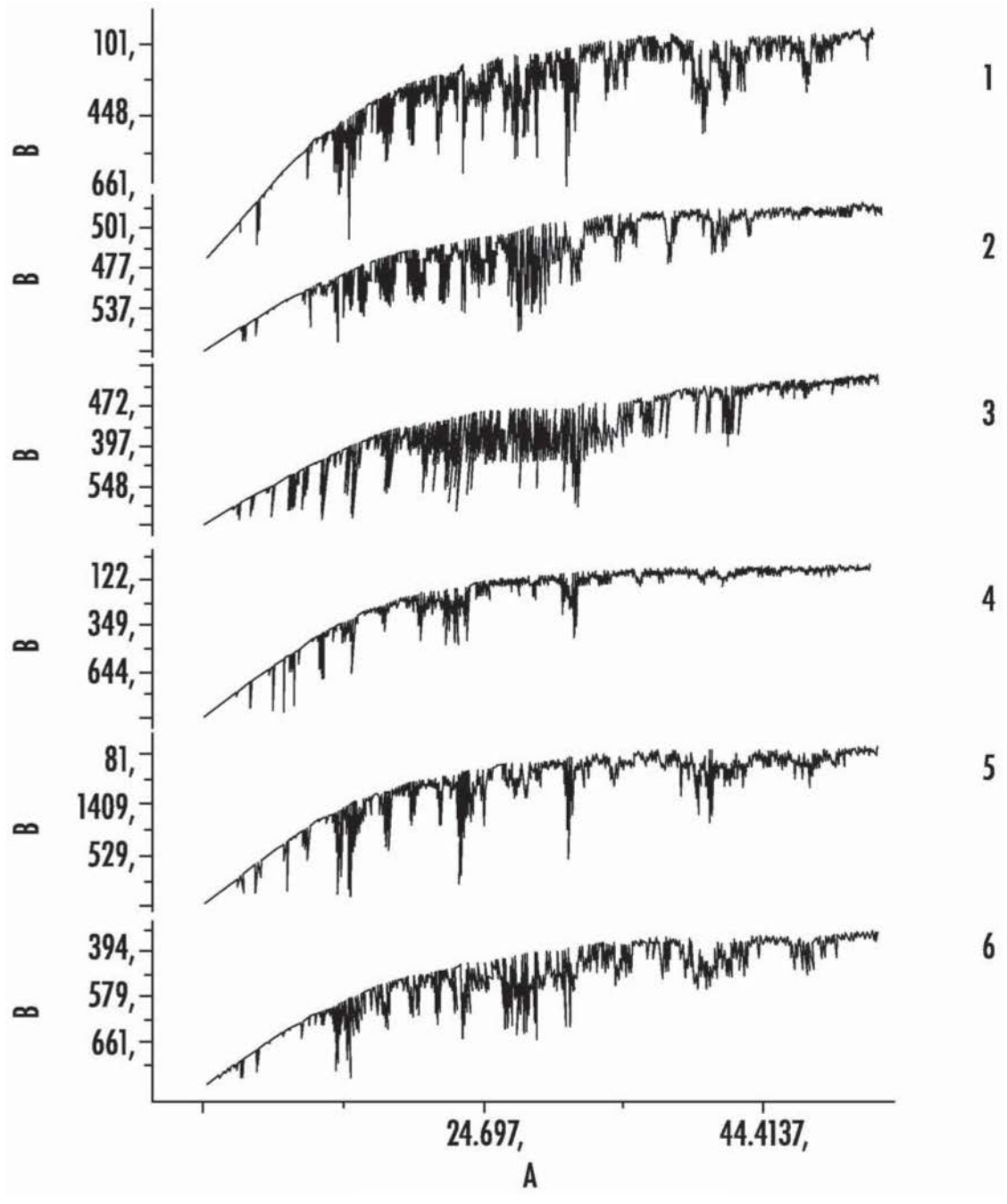


图10A

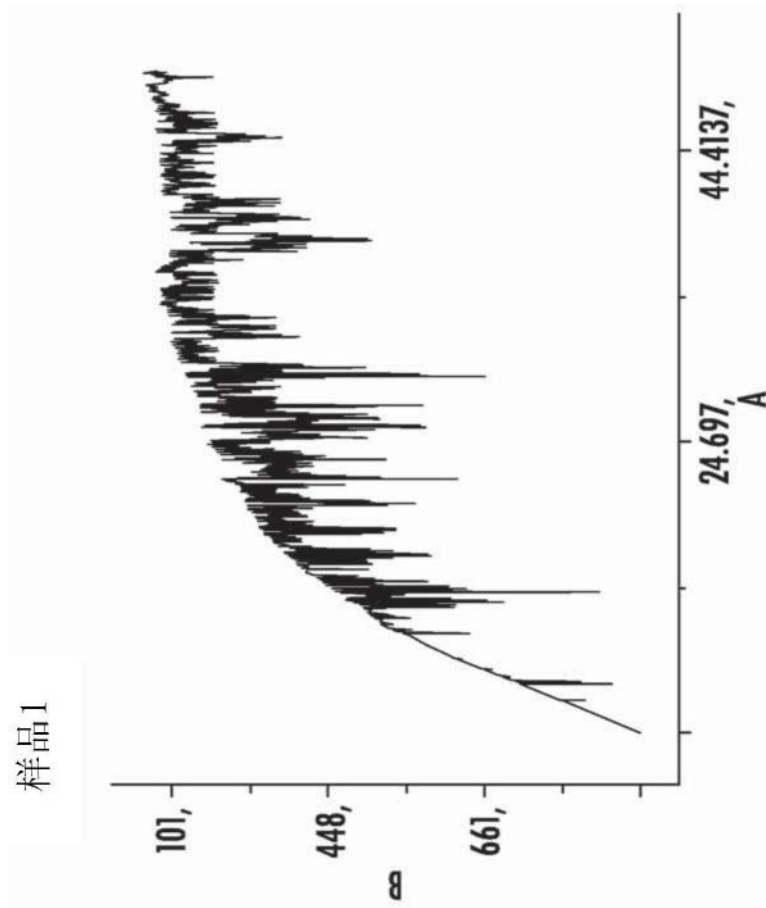


图10B

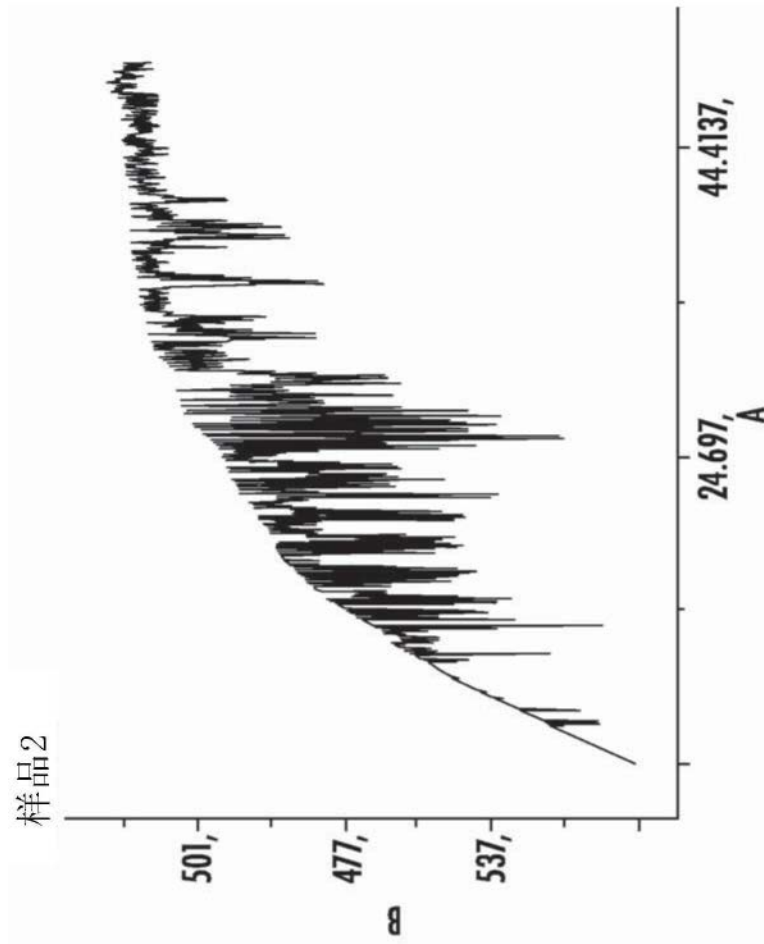


图10C

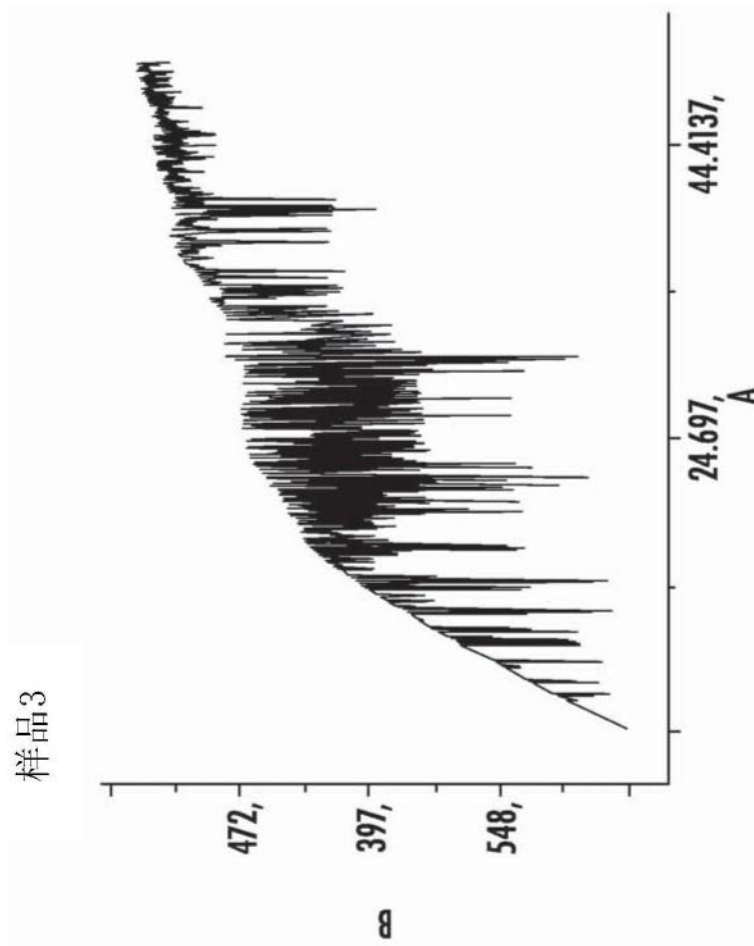


图10D

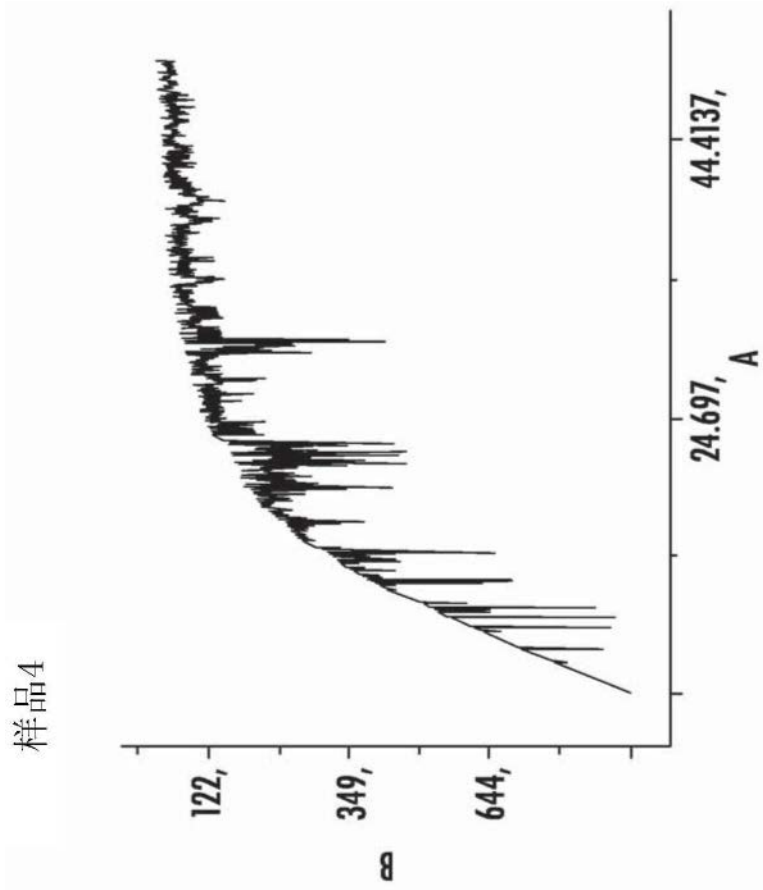


图10E

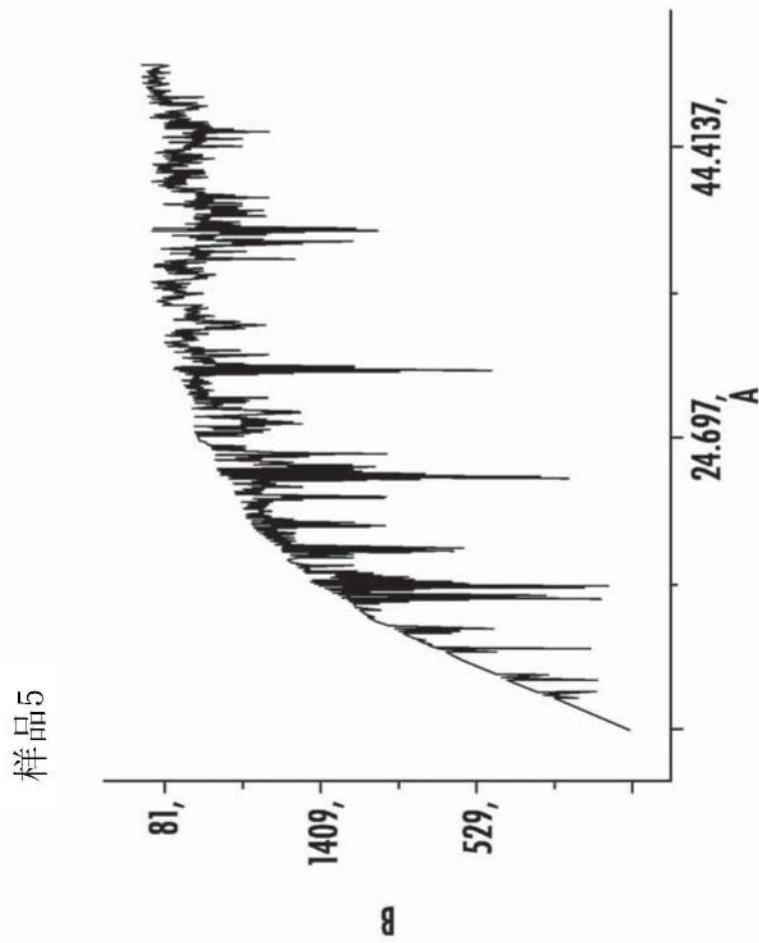


图10F

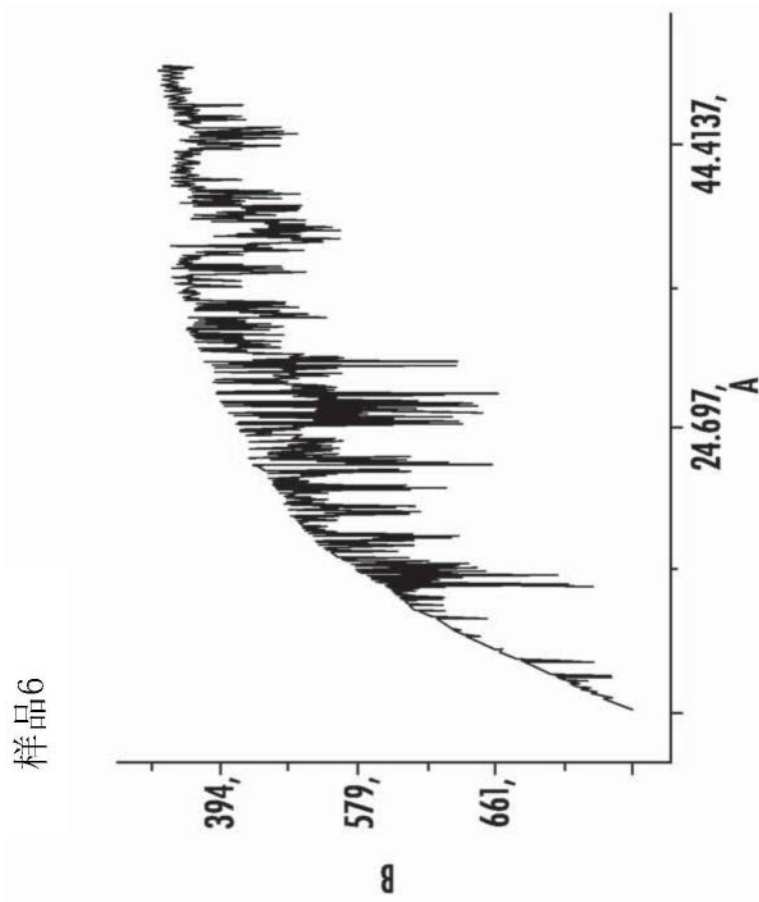


图10G

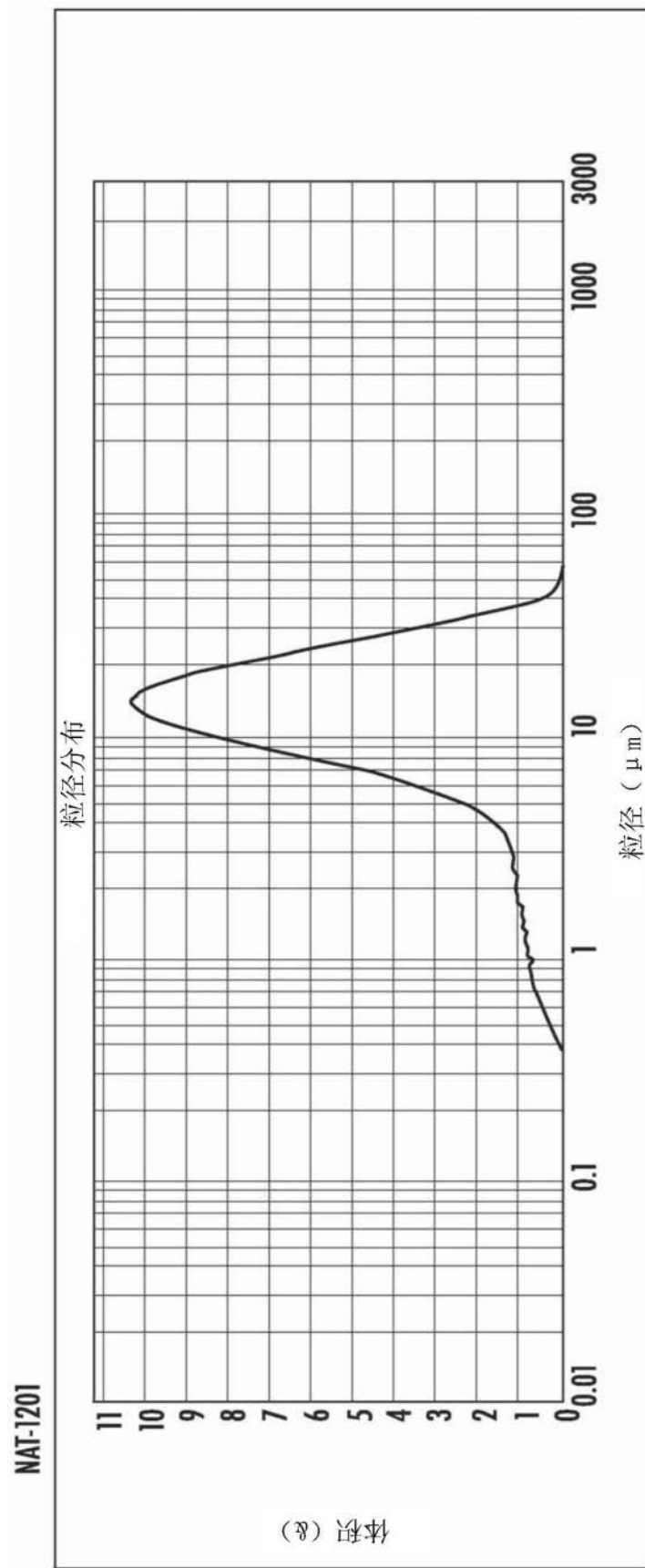


图11