



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109232278 A

(43)申请公布日 2019.01.18

(21)申请号 201811061377.2

C07D 241/04(2006.01)

(22)申请日 2014.11.17

C07C 59/42(2006.01)

(30)优先权数据

C07D 295/027(2006.01)

61/904,600 2013.11.15 US

C07C 409/04(2006.01)

(62)分案原申请数据

A61K 31/202(2006.01)

201480071412.2 2014.11.17

A61K 31/327(2006.01)

(71)申请人 DS生物制药有限公司

A61K 31/495(2006.01)

地址 爱尔兰都柏林

A61P 17/10(2006.01)

A61P 17/00(2006.01)

(72)发明人 M·曼库 D·考夫兰 B·唐斯

A61P 29/00(2006.01)

A61P 25/00(2006.01)

(74)专利代理机构 深圳市百瑞专利商标事务所

A61P 1/16(2006.01)

(普通合伙) 44240

A61P 31/00(2006.01)

代理人 金辉

(51)Int.Cl.

C07C 215/10(2006.01)

C07C 229/26(2006.01)

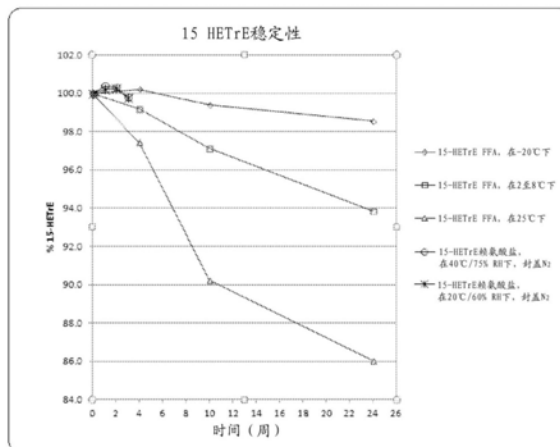
权利要求书2页 说明书45页 附图19页

(54)发明名称

多不饱和羟基脂肪酸的药学上可接受的盐

(57)摘要

本分案申请提供15-脂氧合酶产物的药学上可接受的稳定盐形式,例如15-HETrE赖氨酸盐,包含其的组合物以及其制造和使用方法。



1. 一种15-氢过氧基-二十碳-5(Z), 8(Z), 11(Z), 13(E), 17(Z)-五烯酸(15-OHEPA)的盐, 其中所述盐是赖氨酸、钠、鸟氨酸、哌嗪、葡甲胺或其组合。
2. 一种13-氢过氧基十八碳-9Z, 11E-二烯酸(13-HODE)的盐, 其中所述盐是赖氨酸、钠、鸟氨酸、哌嗪、葡甲胺或其组合。
3. 一种15-氢过氧基-5, 8, 11, 13-二十碳四烯酸(15-HETE)的盐, 其中所述盐是赖氨酸、钠、鸟氨酸、哌嗪、葡甲胺或其组合。
4. 一种15-羟基-二十碳-8(Z), 11(Z), 13(E)-三烯酸(15-HETrE)的盐, 其中所述盐是钠、鸟氨酸、哌嗪、葡甲胺或其组合。
5. 一种组合物, 其包含根据权利要求1到4中任一项所述的盐。
6. 一种药物组合物, 其包含根据权利要求1到4中任一项所述的盐。
7. 根据权利要求6所述的药物组合物, 其另外包含赋形剂。
8. 根据权利要求6或权利要求7所述的药物组合物, 其中在储存至少约4周之后, 所述药物组合物包含初始量的至少约98%、至少约99%或约100%的所述盐。
9. 根据权利要求6到8中任一项所述的药物组合物, 其中在储存至少约10周之后, 所述药物组合物包含初始量的至少约90%、至少约91%、至少约92%、至少约93%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%、至少约99%或约100%的所述盐。
10. 根据权利要求6到9中任一项所述的药物组合物, 其中在储存至少约24周之后, 所述药物组合物包含初始量的至少约86%、至少约87%、至少约88%、至少约89%、至少约90%、至少约91%、至少约92%、至少约93%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%、至少约99%或约100%的所述盐。
11. 根据权利要求6到10中任一项所述的药物组合物, 其中所述药物组合物储存在2-8℃下、20℃下、25℃下或40℃下。
12. 根据权利要求8到11中任一项所述的药物组合物, 其中所述药物组合物储存在60%RH下或75%RH下。
13. 根据权利要求6到12中任一项所述的药物组合物, 其中所述药物组合物包含治疗有效量的所述盐。
14. 根据权利要求13所述的药物组合物, 其中15-脂肪氧合酶产物的盐形式的治疗有效量是约0.1wt.%到约20wt.%。
15. 根据权利要求6到14中任一项所述的药物组合物, 其中所述药物组合物呈适合局部给药的形式。
16. 根据权利要求6到15中任一项所述的药物组合物, 其中所述盐是所述药物组合物中的唯一显著活性成分或唯一活性成分。
17. 根据权利要求6到15中任一项所述的药物组合物, 其另外包含额外活性剂。
18. 根据权利要求17所述的药物组合物, 其中将所述盐和所述额外活性剂共同配制成单一剂量单位。
19. 根据权利要求17所述的药物组合物, 其中将所述盐和所述额外活性剂配制成至少两个剂量单位, 用于协同、组合或伴随给药。
20. 根据前述权利要求中任一项所述的盐或药物组合物, 其用于治疗或疾病或病症。
21. 根据权利要求20所述的盐或药物组合物, 其中所述疾病或病症选自自由以下组成的

组：痤疮、红斑、感染、脂肪肝、神经病以及皮肤炎症。

22. 根据权利要求20所述的盐或药物组合物,其中所述盐或药物组合物按0.001毫克/千克/天到100毫克/千克/天的量向受试者施用。

## 多不饱和羟基脂肪酸的药学上可接受的盐

[0001] 本申请为申请号201480071412.2、申请日2014-11-17、发明名称“多不饱和羟基脂肪酸的药学上可接受的盐”的分案申请。

[0002] 优先权要求

[0003] 本申请要求2013年11月15日提交的美国临时专利申请序列号61/904,600的优先权,所述临时专利申请的整个内容以引用的方式并入本文中并作为依据。

### 技术领域

[0004] 本公开大体上涉及15-脂氧合酶产物的药学上可接受的稳定盐形式。

### 背景技术

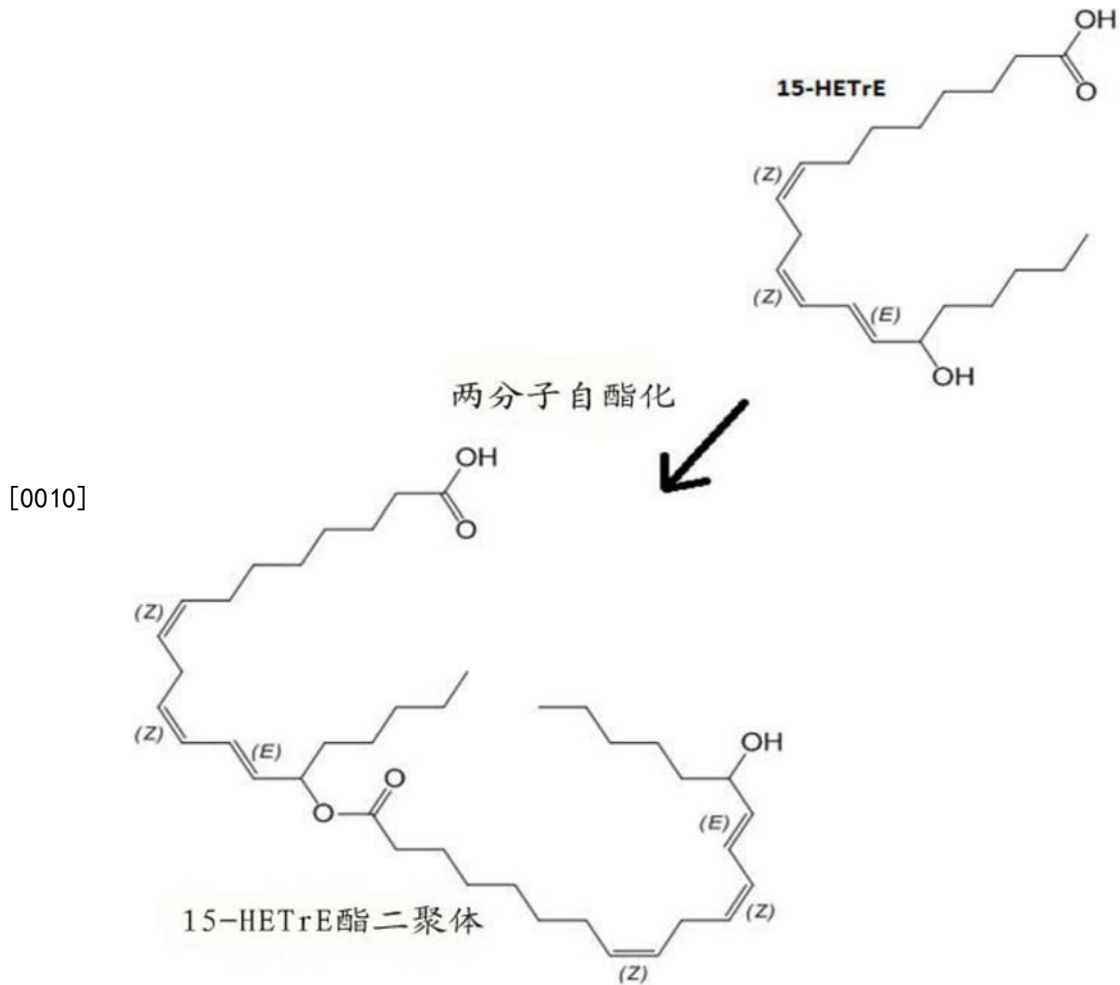
[0005] 酶是高度选择性催化剂,极大地促进生物化学反应的速率和特异性。在酶促反应中,在过程开始时的分子(被称为底物)被转化成不同的分子(被称为产物)。

[0006] 脂氧合酶是催化多不饱和脂肪酸的氧化的酶。15-脂氧合酶(15-LOX)是这样一种酶,其催化底物如亚麻酸、二高- $\gamma$  亚麻酸、二十碳五烯酸和花生四烯酸氧化成相应的产物13-HODE、15-HETrE、15-OHEPA和15-HETE。

[0007] 15-LOX负责将花生四烯酸转化成各种生物活性代谢物,包括15-羟基-5,8,11,13-二十碳四烯酸(15-HETE)。15-HETE已经通过促进支气管收缩、粘液分泌和嗜曙红细胞迁移而牵涉于气道和过敏性疾病如哮喘的发病机制中。虽然15-HETE已经牵涉于促炎性反应中,但其他15-LOX产物如15-OHEPA、15-HETrE和13-HODE已显示具有抗炎作用并且可以是医学上有用的。

[0008] 以引用的方式并入的15-LOX产物的潜在医学有用适应症的实例包括(但不限于)痤疮治疗(美国专利8,293,790)、红斑治疗(美国专利申请公开2013/0101533)、抗微生物剂(美国专利申请公开2012/0264705)、脂肪肝治疗(GB1300628.3)、神经病治疗(WO2010/125330A1)和皮肤炎症治疗(美国专利8,536,223)。

[0009] 15-LOX代谢产物在室温下是不稳定的并且需要被储存在-20°C或更低的温度下。由于这种不稳定性,15-LOX产物尚未被配制用于医疗用途。如下所示,这些化合物的问题是15-LOX源羟基基团通过与脂肪酸的羧基基团形成酯键而形成脂肪酸二聚体的趋势。



[0011] 由于不稳定性和二聚体形成,其开发作为药物的潜力一直是个挑战。本文描述了15-LOX产物的药学上可接受的稳定形式。

### 发明内容

[0012] 本公开提供包含15-脂氧合酶脂肪酸产物的稳定的药学上有用的盐的组合物。

[0013] 本发明还提供包含任何本文所述的化合物和药学上可接受的载体的药物组合物。

[0014] 在一些实施方案中,所述脂肪酸是15-HETrE、15-OHEPA或13-HODE。在另一个实施方案中,所述盐形式是15-HETrE、15-OHEPA或13-HODE的钠或赖氨酸盐。在一个特定实施方案中,本发明是15-HETrE的赖氨酸盐。

### 附图说明

[0015] 图1示出15-HETrE的X射线粉末衍射图。

[0016] 图2示出15-HETrE在10°C/分钟的速率下从-70°C至200°C的差示扫描量热法(DSC)温谱图。

[0017] 图3示出15-HETrE在200°C/分钟的速率下从-75°C至150°C的快速差示扫描量热法(Hyper DSC)温谱图。

[0018] 图4示出HETrE在d<sub>4</sub>-甲醇中在500MHz下的质子-NMR光谱。

[0019] 图5示出15-HETrE的FT-IR光谱。

[0020] 图6示出呈游离酸形式的15-HETrE(顶部图)与碳酸氢钠(中间图)和15-HETrE钠盐(底部图)的X射线粉末衍射图的比较。

[0021] 图7示出呈游离酸形式的15-HETrE(顶部光谱)与15-HETrE钠盐(底部光谱)的质子NMR光谱的比较。

[0022] 图8示出15-HETrE钠盐的FT-IR光谱。

[0023] 图9示出15-HETrE钠盐的差示扫描量热法(DSC)温谱图。

[0024] 图10示出15-HETrE游离酸(顶部图)、通过盐裂解制备的赖氨酸(从上向下第二个图)、赖氨酸单水合物(从上向下第三个图)和15-HETrE赖氨酸盐(底部图)的X射线粉末衍射图的比较。

[0025] 图11示出赖氨酸(顶部光谱)、15-HETrE游离酸(中间光谱)和15-HETrE赖氨酸盐(底部光谱)的质子NMR光谱的比较。

[0026] 图12示出15-HETrE赖氨酸盐的FT-IR光谱。

[0027] 图13示出15-HETrE赖氨酸盐的差示扫描量热法(DSC)温谱图。

[0028] 图14示出15-HETrE游离酸(顶部图)、通过盐裂解制备的鸟氨酸(中间图)和15-HETrE鸟氨酸盐(底部图)的X射线粉末衍射图的比较。

[0029] 图15示出鸟氨酸(顶部光谱)、15-HETrE游离酸(中间光谱)和15-HETrE鸟氨酸盐(底部光谱)的质子NMR光谱的比较。

[0030] 图16示出15-HETrE鸟氨酸盐的FT-IR光谱。

[0031] 图17示出15-HETrE鸟氨酸盐在10°C/分钟的速率下从30°C至300°C的差示扫描量热法(DSC)温谱图。

[0032] 图18示出15-HETrE游离酸(顶部图)、哌嗪(中间图)和15-HETrE哌嗪盐(底部图)的X射线粉末衍射图的比较。

[0033] 图19示出15-HETrE游离酸(顶部光谱)和15-HETrE哌嗪盐(底部光谱)的质子NMR光谱的比较。

[0034] 图20A-H示出15-HETrE赖氨酸盐在一级红板下的10倍放大图像(图20A)和在交叉偏振光下的10倍放大图像(图20B);15-HETrE钠盐在一级红板下的10倍放大图像(图20C)和在交叉偏振光下的10倍放大图像(图20D);15-HETrE鸟氨酸盐在一级红板下的10倍放大图像(图20E)和在交叉偏振光下的10倍放大图像(图20F);和15-HETrE哌嗪盐在一级红板下的10倍放大图像(图20G)和在交叉偏振光下的10倍放大图像(图20H)。

[0035] 图21示出15-HETrE赖氨酸盐在动态水分吸附(DVS)分析之前(顶部图)和之后(底部图)的X射线粉末衍射图的比较。

[0036] 图22示出15-HETrE赖氨酸盐在d4-甲醇中的质子NMR光谱。

[0037] 图23示出15-HETrE赖氨酸盐的热重/差热分析("TG/DTA")温谱图。

[0038] 图24示出15-HETrE赖氨酸盐在10°C/分钟的速率下从30°C至300°C的差示扫描量热法(DSC)温谱图。

[0039] 图25A-D示出15-HETrE赖氨酸盐在30°C下(图25A)、在120°C下(图25B)、在200°C下(图25C)和在环境温度下在熔融后(图25D)的热台显微镜图像。

[0040] 图26示出15-HETrE赖氨酸盐的动态水分吸附(DVS)等温线。

[0041] 图27示出15-HETrE赖氨酸盐的FT-IR光谱。

[0042] 图28示出15-HETrE游离酸(“15-HETrE FFA”)当在-20°C下、在2-8°C下和在25°C下储存至多24周时和15-HETrE赖氨酸盐当在40°C和75%RH下(“15-HETrE赖氨酸盐40/75”)和在20°C和60%RH下(“15-HETrE赖氨酸盐20/60”)在氮气下封盖储存时的稳定性。

[0043] 图29示出从15-HETrE和葡甲胺(顶部图)以及葡甲胺(底部图)分离的固体的X射线粉末衍射图的比较。

[0044] 图30示出从15-HETrE和葡甲胺分离的固体的质子NMR光谱。

[0045] 图31A-B示出在一级红板下(图31A)和在交叉偏振光下(图31B)捕获的15-HETrE葡甲胺盐的10倍显微照片。

## 具体实施方式

[0046] 13-HODE是通过15-LOX对亚油酸的作用而形成的。亚油酸被氧化成13-过氧羟基十八碳-9Z,11E-二烯酸(13-HODE)。如本文所用,术语“13-HODE”是指呈游离酸形式的13-HODE。

[0047] 15-羟基-二十碳-8(Z),11(Z),13(E)-三烯酸(“15-HETrE”或“HETrE”)是二高- $\gamma$ 亚麻酸(DGLA)的15-LOX衍生物。15-HETrE可以根据本领域中的方法从DGLA合成。如本文所用,术语“15-HETrE”是指呈游离酸形式的15-HETrE(例如,15-羟基-二十碳-8(Z),11(Z),13(E)-三烯酸)。

[0048] 15-羟基-二十碳-5(Z),8(Z),11(Z),13(E),17(Z)-五烯酸(“15-OHEPA”)是EPA的15-LOX衍生物。15-OHEPA可以根据本领域中已知的方法从EPA合成。如本文所用,术语“15-OHEPA”是指呈游离酸形式的15-OHEPA(例如,15-羟基-二十碳-5,8,11,13,17-五烯酸)。

[0049] 如本文所用,术语“药学上有用的”是指在化学上和物理上与其他药物组分相容(例如,基本上可混溶和/或不反应)的化合物和/或组合物,或者是指在常见储存条件(例如,室温或冷藏)下通常稳定持续足够长时间以提供商业上可行的保存期的药物组合物。

[0050] 在多个实施方案中,本发明提供药物组合物,例如可局部递送的组合物,其包含13-HODE、15-OHEPA、15-HETrE中的一种或多种或其混合物。

[0051] 在一个实施方案中,本公开提供包含例如一定量(例如,治疗有效量)的13-HODE、15-OHEPA、15-HETrE的盐形式或其组合的局部用药物组合物。在一个实施方案中,所述药物组合物包含约0.1重量%至约20重量%的13-HODE、15-OHEPA、15-HETrE或其组合,例如约0.1重量%、约0.2重量%、约0.3重量%、约0.4重量%、约0.5重量%、约0.6重量%、约0.7重量%、约0.8重量%、约0.9重量%、约1重量%、约1.1重量%、约1.2重量%、约1.3重量%、约1.4重量%、约1.5重量%、约1.6重量%、约1.7重量%、约1.8重量%、约1.9重量%、约2重量%、约2.1重量%、约2.2重量%、约2.3重量%、约2.4重量%、约2.5重量%、约2.6重量%、约2.7重量%、约2.8重量%、约2.9重量%、约3重量%、约3.1重量%、约3.2重量%、约3.3重量%、约3.4重量%、约3.5重量%、约3.6重量%、约3.7重量%、约3.8重量%、约3.9重量%、约4重量%、约4.1重量%、约4.2重量%、约4.3重量%、约4.4重量%、约4.5重量%、约4.6重量%、约4.7重量%、约4.8重量%、约4.9重量%、约5重量%、约5.1重量%、约5.2重量%、约5.3重量%、约5.4重量%、约5.5重量%、约5.6重量%、约5.7重量%、约5.8重量%、约5.9重量%、约6重量%、约6.1重量%、约6.2重量%、约6.3重量%、约6.4重量%、约6.5重量%、约6.6重量%、约6.7重量%、约6.8重量%、约6.9重量%、约7重量%、约7.1重量%、约7.2重

量%、约7.3重量%、约7.4重量%、约7.5重量%、约7.6重量%、约7.7重量%、约7.8重量%、约7.9重量%、约8重量%、约8.1重量%、约8.2重量%、约8.3重量%、约8.4重量%、约8.5重量%、约8.6重量%、约8.7重量%、约8.8重量%、约8.9重量%、约9重量%、约9.1重量%、约9.2重量%、约9.3重量%、约9.4重量%、约9.5重量%、约9.6重量%、约9.7重量%、约9.8重量%、约9.9重量%、约10重量%、约10.1重量%、约10.2重量%、约10.3重量%、约10.4重量%、约10.5重量%、约10.6重量%、约10.7重量%、约10.8重量%、约10.9重量%、约11重量%、约11.1重量%、约11.2重量%、约11.3重量%、约11.4重量%、约11.5重量%、约11.6重量%、约11.7重量%、约11.8重量%、约11.9重量%、约12重量%、约12.1重量%、约12.2重量%、约12.3重量%、约12.4重量%、约12.5重量%、约12.6重量%、约12.7重量%、约12.8重量%、约12.9重量%、约13重量%、约13.1重量%、约13.2重量%、约13.3重量%、约13.4重量%、约13.5重量%、约13.6重量%、约13.7重量%、约13.8重量%、约13.9重量%、约14重量%、约14.1重量%、约14.2重量%、约14.3重量%、约14.4重量%、约14.5重量%、约14.6重量%、约14.7重量%、约14.8重量%、约14.9重量%、约15重量%、约15.1重量%、约15.2重量%、约15.3重量%、约15.4重量%、约15.5重量%、约15.6重量%、约15.7重量%、约15.8重量%、约15.9重量%、约16重量%、约16.1重量%、约16.2重量%、约16.3重量%、约16.4重量%、约16.5重量%、约16.6重量%、约16.7重量%、约16.8重量%、约16.9重量%、约17重量%、约17.1重量%、约17.2重量%、约17.3重量%、约17.4重量%、约17.5重量%、约17.6重量%、约17.7重量%、约17.8重量%、约17.9重量%、约18重量%、约18.1重量%、约18.2重量%、约18.3重量%、约18.4重量%、约18.5重量%、约18.6重量%、约18.7重量%、约18.8重量%、约18.9重量%、约19重量%、约19.1重量%、约19.2重量%、约19.3重量%、约19.4重量%、约19.5重量%、约19.6重量%、约19.7重量%、约19.8重量%、约19.9重量%或约20重量%的13-HODE、15-OHEPA、15-HETrE或其组合。

[0052] 本领域技术人员已知的任何药学上可接受的赋形剂可用于根据本公开的药物组合物中。被选择用于治疗 and 美容组合物中的任何赋形剂应该是药学上和/或美容学上可接受的并且适于治疗组合物将被使用的形式，例如，乳膏、凝胶、乳剂、油剂、洗剂等。优选地，所述赋形剂对皮肤具有亲和性，耐受性良好，并且当以足以提供所需稠度和施用容易性的量使用时是稳定的。仅举例来说，根据本公开的药物组合物可包含以下中的一种或多种：表面活性剂、防腐剂、调味剂、共溶剂、粘度助剂、悬浮助剂和亲脂相。

[0053] 在另一个方面，本发明提供包含治疗有效量的15-HETrE、15-OHEPA或13-HODE的盐形式的药物组合物。所述15-HETrE、15-OHEPA或13-HODE的盐形式可为所述组合物中和如本文所述的方法和用途中的唯一显著活性成分。所述15-HETrE、15-OHEPA或13-HODE的盐形式可为唯一活性成分。可选地，所述15-HETrE、15-OHEPA或13-HODE的盐形式可与用于治疗疾病或病症的其他药剂组合用于共配制或共施用。如果使用另一种活性剂，则所述15-HETrE、15-OHEPA或13-HODE的盐形式可以共配制成单一剂量单位或者可以配制成两种至多种剂量单位以用于配合、组合或相伴施用。

[0054] 在多个实施方案中，本发明提供药物组合物，例如可经口递送的组合物，其包含15-HETrE、15-OHEPA或13-HODE的盐形式。在一个实施方案中，所述组合物包含治疗有效量的15-HETrE、15-OHEPA或13-HODE的盐形式。在一个实施方案中，所述药物组合物包含约0.1重量%至约99.9重量%、约1重量%至约95重量%、或约5重量%至约90重量%的15-HETrE、

15-OHEPA或13-HODE的盐形式,例如约1重量%、约2重量%、约3重量%、约4重量%、约5重量%、约6重量%、约7重量%、约8重量%、约9重量%、约10重量%、约11重量%、约12重量%、约13重量%、约14重量%、约15重量%、约16重量%、约17重量%、约18重量%、约19重量%、约20重量%、约21重量%、约22重量%、约23重量%、约24重量%、约25重量%、约26重量%、约27重量%、约28重量%、约29重量%、约30重量%、约31重量%、约32重量%、约33重量%、约34重量%、约35重量%、约36重量%、约37重量%、约38重量%、约39重量%、约40重量%、约41重量%、约42重量%、约43重量%、约44重量%、约45重量%、约46重量%、约47重量%、约48重量%、约49重量%、约50重量%、约51重量%、约52重量%、约53重量%、约54重量%、约55重量%、约56重量%、约57重量%、约58重量%、约59重量%、约60重量%、约61重量%、约62重量%、约63重量%、约64重量%、约65重量%、约66重量%、约67重量%、约68重量%、约69重量%、约70重量%、约71重量%、约72重量%、约73重量%、约74重量%、约75重量%、约76重量%、约77重量%、约78重量%、约79重量%、约80重量%、约81重量%、约82重量%、约83重量%、约84重量%、约85重量%、约86重量%、约87重量%、约88重量%、约89重量%、约90重量%、约91重量%、约92重量%、约93重量%、约94重量%、约95重量%、约96重量%、约97重量%、约98重量%、约99重量%、约99.5重量%或约99.9重量%的15-HETrE、15-OHEPA或13-HODE的盐形式。

[0055] 在一个实施方案中,所述药物组合物大约包含至少约70重量%、至少约71重量%、至少约72重量%、至少约73重量%、至少约74重量%、至少约75重量%、至少约76重量%、至少约77重量%、至少约78重量%、至少约79重量%、至少约80重量%、至少约81重量%、至少约82重量%、至少约83重量%、至少约84重量%、至少约85重量%、至少约86重量%、至少约87重量%、至少约88重量%、至少约89重量%、至少约90重量%、至少约91重量%、至少约92重量%、至少约93重量%、至少约94重量%、至少约95重量%、至少约96重量%、至少约97重量%、至少约98重量%、至少约99重量%、至少约99.5重量%或约99.9重量%的15-HETrE、15-OHEPA或13-HODE的盐形式。

[0056] 在一个实施方案中,所述药物组合物包含至少约50重量%、至少约60重量%、至少约70重量%、至少约80重量%或至少约90重量%的15-HETrE、15-OHEPA或13-HODE的盐形式。

[0057] 在另一个实施方案中,所述15-HETrE、15-OHEPA或13-HODE的盐形式以约1mg至约10,000mg、约25mg至约7500mg、约25mg至约5000mg、约50mg至约5000mg、约50mg至约3000mg、约75mg至约2500mg、或约100mg至约1000mg,例如约1mg、约2mg、约3mg、约4mg、约5mg、约6mg、约7mg、约8mg、约9mg、约10mg、约11mg、约12mg、约13mg、约14mg、约15mg、约16mg、约17mg、约18mg、约19mg、约20mg、约21mg、约22mg、约23mg、约24mg、约25mg、约50mg、约75mg、约100mg、约125mg、约150mg、约175mg、约200mg、约225mg、约250mg、约275mg、约300mg、约325mg、约350mg、约375mg、约400mg、约425mg、约450mg、约475mg、约500mg、约525mg、约550mg、约575mg、约600mg、约625mg、约650mg、约675mg、约700mg、约725mg、约750mg、约775mg、约800mg、约825mg、约850mg、约875mg、约900mg、约925mg、约950mg、约975mg、约1000mg、约1025mg、约1050mg、约1075mg、约1100mg、约1025mg、约1050mg、约1075mg、约1200mg、约1225mg、约1250mg、约1275mg、约1300mg、约1325mg、约1350mg、约1375mg、约1400mg、约1425mg、约1450mg、约1475mg、约1500mg、约1525mg、约1550mg、约1575mg、约1600mg、约

1625mg、约1650mg、约1675mg、约1700mg、约1725mg、约1750mg、约1775mg、约1800mg、约1825mg、约1850mg、约1875mg、约1900mg、约1925mg、约1950mg、约1975mg、约2000mg、约2025mg、约2050mg、约2075mg、约2100mg、约2125mg、约2150mg、约2175mg、约2200mg、约2225mg、约2250mg、约2275mg、约2300mg、约2325mg、约2350mg、约2375mg、约2400mg、约2425mg、约2450mg、约2475mg、约2500mg、2525mg、约2550mg、约2575mg、约2600mg、约2625mg、约2650mg、约2675mg、约2700mg、约2725mg、约2750mg、约2775mg、约2800mg、约2825mg、约2850mg、约2875mg、约2900mg、约2925mg、约2950mg、约2975mg、约3000mg、约3025mg、约3050mg、约3075mg、约3100mg、约3125mg、约3150mg、约3175mg、约3200mg、约3225mg、约3250mg、约3275mg、约3300mg、约3325mg、约3350mg、约3375mg、约3400mg、约3425mg、约3450mg、约3475mg、约3500mg、约3525mg、约3550mg、约3575mg、约3600mg、约3625mg、约3650mg、约3675mg、约3700mg、约3725mg、约3750mg、约3775mg、约3800mg、约3825mg、约3850mg、约3875mg、约3900mg、约3925mg、约3950mg、约3975mg、约4000mg、约4025mg、约4050mg、约4075mg、约4100mg、约4125mg、约4150mg、约4175mg、约4200mg、约4225mg、约4250mg、约4275mg、约4300mg、约4325mg、约4350mg、约4375mg、约4400mg、约4425mg、约4450mg、约4475mg、约4500mg、约4525mg、约4550mg、约4575mg、约4600mg、约4625mg、约4650mg、约4675mg、约4700mg、约4725mg、约4750mg、约4775mg、约4800mg、约4825mg、约4850mg、约4875mg、约4900mg、约4925mg、约4950mg、约4975mg、约5000mg、约5025mg、约5050mg、约5075mg、约5100mg、约5125mg、约5150mg、约5175mg、约5200mg、约5225mg、约5250mg、约5275mg、约5300mg、约5325mg、约5350mg、约5375mg、约5400mg、约5425mg、约5450mg、约5475mg、约5500mg、约5525mg、约5550mg、约5575mg、约5600mg、约5625mg、约5650mg、约5675mg、约5700mg、约5725mg、约5750mg、约5775mg、约5800mg、约5825mg、约5850mg、约5875mg、约5900mg、约5925mg、约5950mg、约5975mg、约6000mg、约6025mg、约6050mg、约6075mg、约6100mg、约6125mg、约6150mg、约6175mg、约6200mg、约6225mg、约6250mg、约6275mg、约6300mg、约6325mg、约6350mg、约6375mg、约6400mg、约6425mg、约6450mg、约6475mg、约6500mg、约6525mg、约6550mg、约6575mg、约6600mg、约6625mg、约6650mg、约6675mg、约6700mg、约6725mg、约6750mg、约6775mg、约6800mg、约6825mg、约6850mg、约6875mg、约6900mg、约6925mg、约6950mg、约6975mg、约7000mg、约7025mg、约7050mg、约7075mg、约7100mg、约7125mg、约7150mg、约7175mg、约7200mg、约7225mg、约7250mg、约7275mg、约7300mg、约7325mg、约7350mg、约7375mg、约7400mg、约7425mg、约7450mg、约7475mg、约7500mg、约7525mg、约7550mg、约7575mg、约7600mg、约7625mg、约7650mg、约7675mg、约7700mg、约7725mg、约7750mg、约7775mg、约7800mg、约7825mg、约7850mg、约7875mg、约7900mg、约7925mg、约7950mg、约7975mg、约8000mg、约8025mg、约8050mg、约8075mg、约8100mg、约8125mg、约8150mg、约8175mg、约8200mg、约8225mg、约8250mg、约8275mg、约8300mg、约8325mg、约8350mg、约8375mg、约8400mg、约8425mg、约8450mg、约8475mg、约8500mg、约8525mg、约8550mg、约8575mg、约8600mg、约8625mg、约8650mg、约8675mg、约8700mg、约8725mg、约8750mg、约8775mg、约8800mg、约8825mg、约8850mg、约8875mg、约8900mg、约8925mg、约8950mg、约8975mg、约9000mg、约9025mg、约9050mg、约9075mg、约9100mg、约9125mg、约9150mg、约9175mg、约9200mg、约9225mg、约9250mg、约9275mg、约9300mg、约9325mg、约9350mg、约9375mg、约9400mg、约9425mg、约

9450mg、约9475mg、约9500mg、约9525mg、约9550mg、约9575mg、约9600mg、约9625mg、约9650mg、约9675mg、约9700mg、约9725mg、约9750mg、约9775mg、约9800mg、约9825mg、约9850mg、约9875mg、约9900mg、约9925mg、约9950mg、约9975mg或约10,000mg的量存在于本发明的组合物中。

[0058] 在一个实施方案中,本发明的组合物中存在的15-HETrE、15-OHEPA或13-HODE的盐形式包含至少90重量%的15-HETrE、15-OHEPA或13-HODE的盐形式。含有15-HETrE、15-OHEPA或13-HODE的盐形式的组合物可以包含甚至更高纯度,例如至少91重量%、至少92重量%、至少93重量%、至少94重量%、至少95重量%、至少96重量%或至少97重量%的15-HETrE、15-OHEPA或13-HODE的盐形式。

[0059] 在一个实施方案中,本公开提供15-脂氧合酶产物的盐。在一些实施方案中,所述盐是药学上可接受的盐。在一些实施方案中,所述盐包含15-脂氧合酶产物的赖氨酸盐。在一些实施方案中,所述盐包含15-脂氧合酶产物的钠盐。在一些实施方案中,所述盐包含15-脂氧合酶产物的鸟氨酸盐。在一些实施方案中,所述盐包含15-脂氧合酶产物的哌嗪盐。在一些实施方案中,所述盐包含15-脂氧合酶产物的葡甲胺盐。在一些实施方案中,所述盐还包含呈游离酸形式的15-脂氧合酶产物。在一些实施方案中,所述盐选自:钠、赖氨酸、鸟氨酸、哌嗪、葡甲胺和其组合。在一些实施方案中,所述盐是钠盐。在一些实施方案中,所述盐是赖氨酸盐。在一些实施方案中,所述盐是鸟氨酸。在一些实施方案中,所述盐是哌嗪盐。在一些实施方案中,所述盐是葡甲胺盐。在一些实施方案中,所述15-脂氧合酶产物选自:13-HODE、15-HETrE、15-OHEPA、15-HETE和其组合。在一些实施方案中,所述15-脂氧合酶产物是13-HODE。在一些实施方案中,所述15-脂氧合酶产物是15-HETrE。在一些实施方案中,所述15-脂氧合酶产物是15-OHEPA。在一些实施方案中,所述15-脂氧合酶产物是15-HETE。

[0060] 在一些实施方案中,本公开提供13-过氧羟基十八碳-9Z,11E-二烯酸的盐。在一些实施方案中,所述盐是钠盐。在一些实施方案中,所述盐是赖氨酸盐。在一些实施方案中,所述盐是鸟氨酸盐。在一些实施方案中,所述盐是哌嗪盐。在一些实施方案中,所述盐是葡甲胺盐。

[0061] 在一些实施方案中,本公开提供15-羟基-二十碳-8(Z),11(Z),13(E)-三烯酸的盐。在一些实施方案中,所述盐是钠盐。在一些实施方案中,所述盐是赖氨酸盐。在一些实施方案中,所述盐是鸟氨酸盐。在一些实施方案中,所述盐是哌嗪盐。在一些实施方案中,所述盐是葡甲胺盐。

[0062] 在一些实施方案中,本公开提供15-羟基-二十碳-5(Z),8(Z),11(Z),13(Z),17(Z)-五烯酸的盐。在一些实施方案中,所述盐是钠盐。在一些实施方案中,所述盐是赖氨酸盐。在一些实施方案中,所述盐是鸟氨酸盐。在一些实施方案中,所述盐是哌嗪盐。在一些实施方案中,所述盐是葡甲胺盐。

[0063] 在一些实施方案中,本公开提供15-羟基-5,8,11,13-二十碳四烯酸的盐。在一些实施方案中,所述盐是钠盐。在一些实施方案中,所述盐是赖氨酸盐。在一些实施方案中,所述盐是鸟氨酸盐。在一些实施方案中,所述盐是哌嗪盐。在一些实施方案中,所述盐是葡甲胺盐。

[0064] 在一些实施方案中,本公开提供包含13-过氧羟基十八碳-9Z,11E-二烯酸、15-羟基-二十碳-8(Z),11(Z),13(E)-三烯酸、15-羟基-二十碳-5(Z),8(Z),11(Z),13(Z),17(Z)-

五烯酸和/或15-羟基-5,8,11,13-二十碳四烯酸的盐的组合物。在一些实施方案中,所述盐包含或者是钠盐。在一些实施方案中,所述盐包含或者是赖氨酸盐。在一些实施方案中,所述盐包含或者是鸟氨酸盐。在一些实施方案中,所述盐包含或者是哌嗪盐。在一些实施方案中,所述盐包含或者是葡甲胺盐。

[0065] 在一些实施方案中,本公开提供包含15-脂氧合酶产物的盐形式的药物组合物。在一些实施方案中,所述15-脂氧合酶产物的盐形式包含13-过氧羟基十八碳-9Z,11E-二烯酸、15-羟基-二十碳-8(Z),11(Z),13(E)-三烯酸、15-羟基-二十碳-5(Z),8(Z),11(Z),13(Z),17(Z)-五烯酸和/或15-羟基-5,8,11,13-二十碳四烯酸中的任何一种或多种的盐。在一些实施方案中,所述药物组合物还包含赋形剂。

[0066] 在一些实施方案中,在储存至少约4周后,所述药物组合物包含至少约98%、至少约99%或约100%的初始量的所述15-脂氧合酶产物的盐形式。在一些实施方案中,在储存至少约10周后,所述药物组合物包含至少约90%、至少约91%、至少约92%、至少约93%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%、至少约99%或约100%的初始量的所述15-脂氧合酶产物的盐形式。在一些实施方案中,在储存至少约24周后,所述药物组合物包含至少约86%、至少约87%、至少约88%、至少约89%、至少约90%、至少约91%、至少约92%、至少约93%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%、至少约99%或约100%的初始量的所述15-脂氧合酶产物的盐形式。在任何前述实施方案中,所述药物组合物可被储存在2-8°C下、在20°C下、在25°C下或在40°C下。在一些实施方案中,所述药物组合物被储存在60%RH下或在75%RH下。

[0067] 在一些实施方案中,所述药物组合物包含治疗有效量的所述15-脂氧合酶产物的盐。在一些实施方案中,所述15-脂氧合酶产物的盐形式的治疗有效量是约0.1重量%至约20重量%。

[0068] 在一些实施方案中,所述药物组合物呈适合局部施用的形式。

[0069] 在一些实施方案中,所述15-脂氧合酶产物的盐形式是药物组合物中的唯一显著活性成分或唯一活性成分。在其他实施方案中,所述药物组合物还包含另一种活性剂。

[0070] 在一些实施方案中,所述15-脂氧合酶产物的盐形式和所述另外的活性剂被共同配制成单一剂量单位。在一些实施方案中,所述15-脂氧合酶产物的盐形式和所述另外的活性剂被配制成至少两种剂量单位以用于配合、组合或相伴施用。

[0071] 本发明包括用于治疗或改善有需要的个体中对15-LOX产物有反应的疾病或病症的治疗方法,其包括向有需要的个体施用有效量的本文公开的15-LOX产物的盐形式。

[0072] 施用方法包括在治疗过程期间的不同时间或者以组合形式同时施用有效量的本发明的化合物或组合物。本发明的方法包括所有已知治疗性处理方案。

[0073] “有效量”是指药物物质(即本发明的15-LOX产物的盐形式)在个体中引起所需生物反应的量。这种反应包括所治疗疾病或病症的症状的减轻。在这种治疗方法中所公开的15-LOX产物的盐形式的有效量是约0.001毫克/千克/天至约100毫克/千克/天、0.01毫克/千克/天至约10毫克/千克/天,优选地约0.5毫克/千克/天至5毫克/千克/天。

[0074] 本发明包括所公开的15-LOX产物的盐形式用于制备用于在有需要的个体中治疗或改善慢性病症或疾病或感染的组合物的用途,其中所述组合物包含一种或多种所公开的15-LOX产物的盐形式和任选的药学上可接受的载体的混合物。

[0075] “药学上可接受的载体”是指具有足够纯度和质量以用于配制本发明组合物的化合物和组合物,其当适当施用至动物或人类时,不产生不良反应,并且被用作药物物质(即本发明的15-LOX产物的盐形式)的媒介物。“药学上可接受的载体”还应包括如下物质,其(i)可与所述组合物的其他成分相容而不会使得所述组合物不适合其预期目的,和(ii)适用于如本文所提供的个体而无不适当的不良副作用(例如毒性、刺激性和过敏反应)。当其风险超过所述组合物提供的益处时,副作用是“不适当的”。药学上可接受的载体的非限制性实例包括(但不限于)任何标准药物载体如磷酸盐缓冲盐水溶液、无菌等渗盐水、水,和乳液例如油/水乳液和微乳液。

[0076] “药学上可接受的稀释剂”是指具有足够纯度和质量以用于配制本发明组合物的化合物和组合物,其当适当施用至动物或人类时,不产生不良反应,并且被用作药物物质(即本发明的15-LOX产物的盐形式)的稀释剂。

[0077] 因此,在一些实施方案中,本公开提供治疗有需要的个体中的疾病或病症的方法,所述方法包括向所述个体施用如本文所公开的药物组合物。在一些实施方案中,所述疾病或病症选自:痤疮、红斑、感染、脂肪肝、神经病和皮肤炎症。在一些实施方案中,所述药物组合物以足以提供治疗有效量的所述15-脂氧合酶产物的盐形式的量施用至所述个体。在一些实施方案中,所述治疗有效量是约0.001毫克/千克/天至约100毫克/千克/天。

[0078] 在一些实施方案中,本公开提供制造15-LOX化合物(例如,13-HODE、15-HETrE或15-OHEPA)的方法。在一些实施方案中,所述方法包括在氧气存在下使相应的15-LOX前体化合物(例如,亚油酸、DGLA或EPA)与脂氧合酶(例如,包含脂氧合酶的组合物)接触。在一些实施方案中,所述氧气在大于大气压的压力(例如,2-3巴)下存在,任选地在还原剂(例如,半胱氨酸)存在下,形成15-LOX化合物。在一些实施方案中,进行成盐步骤,其包括将成盐剂与所述15-LOX化合物混合。在一些实施方案中,所述成盐步骤在无氧或基本上无氧条件下进行。在一些实施方案中,所述成盐步骤在与使15-LOX前体化合物与脂氧合酶接触的步骤相同或不同的容器中进行。在一些实施方案中,所述方法还包括过滤所得15-LOX化合物盐。在一些实施方案中,所述方法不包括15-LOX化合物盐的色谱纯化。

[0079] 在一些实施方案中,所述方法包括在碱性pH(例如,约9-10)下在化学计量过量的半胱氨酸存在下在加压氧气毯覆下(例如,在约2巴、约2.5巴或约3巴下)使DGLA与化学计量过量的脂氧合酶接触并搅拌直至DGLA完全消耗。在一些实施方案中,所述方法还包括酸化至约pH 3-4(例如,通过添加适当量的固体柠檬酸)和分离滤液中所含的15-HETrE游离酸。在一些实施方案中,然后对从滤液分离的15-HETrE游离酸进行成盐步骤,例如通过在相同或另一容器中在无氧或基本上无氧条件下暴露于成盐剂如L-赖氨酸。在一些实施方案中,用溶剂(例如,MtBE)洗涤所得盐(例如赖氨酸盐)一次至约4次。在一些实施方案中,在不使用色谱纯化技术的情况下,所得15-HETrE赖氨酸盐具有至少90%、至少约92%或至少95%的纯度。

[0080] 实施例

[0081] 实施例1:15-HETrE的盐

[0082] 使用24种共成型剂和酸来筛选15-HETrE的稳定形式,但大部分得到油状物或凝胶。从筛选中分离具有改进处理特性的盐:钠、鸟氨酸、赖氨酸、葡甲胺和哌嗪,但都不良结晶。五种盐中的四种是粘性固体,但赖氨酸盐以粉末形式存在并且在环境温度下在真空下

化学稳定8天。

[0083] 表1:用于15-(S)-HETrE的盐和共晶体筛选的共成形剂/酸

[0084]

| 碱 (成盐剂)            | 中性共晶体成形剂 | 具有所需性质的酸 (口服和局部) |
|--------------------|----------|------------------|
| 精氨酸                | 脲        | 4-羟基苯甲酸          |
| 胆碱                 | 烟酰胺      | 抗坏血酸             |
| 赖氨酸                | 半胱氨酸     | 杜鹃花酸 (壬二酸)       |
| 葡甲胺                | 尿囊素      | 苯甲酸              |
| 鸟氨酸                | -        | 柠檬酸              |
| 缓血酸胺(TRIS)         | -        | 没食子酸             |
| NaHCO <sub>3</sub> | -        | 乙醇酸 (羟基乙酸)       |
| DABCO <sup>1</sup> | -        | 苹果酸(L)           |
| 咪唑 <sup>1</sup>    | -        | 琥珀酸 (丁二酸)        |
| 哌嗪                 | -        | 酒石酸(L)           |

[0085] <sup>1</sup>这些共成形剂不是药学上可接受的,但检查看看处理是否可针对制造而改进。

[0086] 实施例2:15-HETrE油状物的表征

[0087] 15-HETrE是粘稠油状物并且通过XRPD分析确定为X射线无定形的(图1)。在材料的差示扫描量热法(DSC)分析期间未观测到热事件(图2)。通过hyper DSC分析在-52°C下注意到15-HETrE的可能的玻璃化转变(Tg)。在较高温度下注意到其他热事件,但在无进一步分析的情况下,其原因是未知的(图3)。所述材料的<sup>1</sup>H-NMR光谱表明它与分子结构相一致(图4)。15-HETrE的FT-IR光谱示于图5中。游离酸的羰基伸展在1707cm<sup>-1</sup>下是可见的。

[0088] 实施例3:所收到的15-HETrE的溶解度筛选

[0089] 使用等分试样添加方法在10种溶剂中估计15-HETrE的溶解度。发现15-HETrE在所测试的所有溶剂中都是可混溶的,在所有情况下都显示高溶解性。然而,当与丙烯酸1,1,1,3,3,3-六氟异丙酯("HFIPA")组合时,观测到从透明无色到血红色到深紫色/黑色的快速颜色变化。这被认为是由于15-HETrE的降解,因此HFIPA不用于15-HETrE的任何进一步研究中。溶解度数据示于下表2中。

[0090] 表2:15-HETrE在多种溶剂中的估计溶解度。

| 溶剂         | 缩写    | 溶解度范围<br>mg/dl<br>(mg/mL) |
|------------|-------|---------------------------|
| 乙腈         | ACN   | 93-278                    |
| THF        | -     | 332-996                   |
| 丙酮         | -     | 312-936                   |
| [0091] 二噁烷 | -     | 166-498                   |
| DCM        | -     | 117-352                   |
| 乙酸乙酯       | EtOAc | 189-566                   |
| DMF        | -     | 123-368                   |
| 乙醇         | EtOH  | 126-378                   |
| 甲醇         | MeOH  | 212-636                   |

[0092] 所述实验得到凝胶或油状物。通过XRPD对这些材料的分析已表明它们由X射线无定形材料或者X射线无定形材料和共成形剂构成。四种共成形剂提供固体或半固体材料并且相比于原料具有改进的处理特性：NaHCO<sub>3</sub>、鸟氨酸、赖氨酸和哌嗪。

[0093] 实施例4：15-HETrE钠盐

[0094] 在乙醇/水共溶剂体系蒸发后，分离出呈灰白色蜡状固体形式的根据实施例1使用NaHCO<sub>3</sub>和15-HETrE制备的材料。溶解在乙醇中，接着蒸发，改进了所述材料的可处理性。此外通过与MTBE一起制浆分离出无序材料。

[0095] 当通过XRPD分析时，发现所述材料由非常无序的结晶材料构成(图6)。此外也存在一些无定形内含物。

[0096] 在所述材料的<sup>1</sup>H-NMR光谱中观测到的峰位移表明钠盐形成(图7)。

[0097] 所述钠盐样品的FT-IR分析未显示在1707cm<sup>-1</sup>下在游离酸中存在的羰基伸展，表明盐形成(图8)。

[0098] 15-HETrE钠盐的DSC分析显示具有起始温度71.3°C的小吸热峰(图9)。在游离酸的热分析期间未观测到这个吸热峰(参见例如图2-3)。

[0099] 实施例5：15-HETrE赖氨酸盐

[0100] 根据实施例1使用赖氨酸和15-HETrE制备的材料。所述材料是从乙醇/水共溶剂体系的蒸发以灰白色粉末状固体形式分离的。溶解在乙醇中，接着蒸发，改进了所述材料的可处理性。

[0101] 当通过XRPD分析时，所述材料由无序结晶材料构成，并且可含有一些无定形内含物(图10)。在低角度下的等距衍射峰表明形成中间相，例如液晶。

[0102] 从包括蒸发、研磨和超声处理(纯物质和在溶剂存在下)的多个实验观测到相同的XRPD图。

[0103] 在所述材料的<sup>1</sup>H-NMR光谱中观测到的15-HETrE和赖氨酸的峰位移指示可能的盐形成(图11)。15-HETrE:赖氨酸的比率为0.9:1。

[0104] 赖氨酸盐样品的FT-IR分析显示，在1707cm<sup>-1</sup>下在游离酸中存在的强羰基伸展已消

失,这表明盐形成(图12)。

[0105] 15-HETrE赖氨酸盐的DSC分析显示起始温度分别为87.1°C和115.5°C的两个小吸热峰(图13)。在游离酸的热分析期间未观测到这些吸热峰(参见例如图2-3)。

[0106] 实施例6:15-HETrE鸟氨酸盐

[0107] 在乙醇/水共溶剂体系蒸发后,分离出呈灰白色蜡状/油性固体形式的根据实施例1使用鸟氨酸和15-HETrE制备的材料。溶解在乙醇中,接着蒸发,改进了所述材料的可处理性。当通过XRPD分析时,所述材料由非常无序的结晶材料构成,并且可含有一些无定形内含物(图14)。

[0108] 从包括蒸发、研磨、沉淀和超声处理(纯物质和在溶剂存在下)的多个实验观测到相同的XRPD图。

[0109] 在<sup>1</sup>H-NMR光谱中观测到15-HETrE和鸟氨酸的峰位移,指示可能的盐形成(图15)。HETrE:鸟氨酸的比率测量为1:0.8。

[0110] 鸟氨酸盐样品的FT-IR分析显示,在1707cm<sup>-1</sup>下在游离酸中存在的强羰基伸展已消失,这表明盐形成(图16)。

[0111] 15-HETrE赖氨酸盐的DSC分析显示起始温度分别为34.7°C和约120°C的两个吸热峰(图17)。第一吸热峰可能是由于所述材料的熔融,而第二较大吸热峰可能是由于所述材料的分解。在游离酸的热分析期间未观测到这些吸热峰(参见例如图2-3)。

[0112] 实施例7:HETrE哌嗪盐

[0113] 从纯哌嗪和15-HETrE的超声处理分离出黄色半固体材料,接着蒸发1:1乙酸异丁酯和乙醇共溶剂体系。

[0114] XRPD分析显示所述盐由非常无序的结晶材料构成(图18)。也可能存在一些无定形内含物。

[0115] 在疑似盐的<sup>1</sup>H-NMR光谱中观测到峰位移,这表明盐形成(图19)。15-HETrE:哌嗪的比率为1:0.66。

[0116] 实施例8:15-HETrE的钠、赖氨酸、鸟氨酸和哌嗪盐的特性

[0117] 将根据实施例4-7制备的15-HETrE盐的特性相对于彼此和相对于15-HETrE游离酸API进行比较。钠、鸟氨酸和哌嗪盐各自是粘性或蜡状固体,但赖氨酸盐可制成粉末形式并且在环境温度下在真空下化学稳定8天。

[0118] 表3比较了在筛选期间评估的每种盐的特性并且包括结晶度、外观、根据NMR的溶剂含量、化学稳定性、制备方法和根据NMR分析的化学计量。

[0119] 赖氨酸盐代表用于开发的最佳候选物,因为它可制备成可处理粉末并且通过多种方法制造。通过<sup>1</sup>H-NMR和FT-IR光谱分析证实盐形成并且所述盐展示等摩尔化学计量。

[0120] 表3:从盐/共晶体筛选分离的固体特性的表格

[0121]

| 化合物        | 结晶度  | 外观                    | 溶剂含量             | 8天稳定性<br>40/75% RH | 制备方法            | 化学计量<br>(碱:API) |
|------------|------|-----------------------|------------------|--------------------|-----------------|-----------------|
| HETrE 赖氨酸盐 | 非常无序 | 灰白色粉末                 | 痕量 THF<br>或 EtOH | 97%纯度              | 蒸发, 制浆,<br>超声处理 | 1:1             |
| HETrE 钠盐   | 非常无序 | 灰白色蜡状固体               | 痕量 EtOH          | 95%纯度              | 蒸发或制浆           | 不能通过<br>NMR 测定  |
| HETrE 鸟氨酸盐 | 非常无序 | 灰白色蜡状固体, 在储存时<br>黄色着色 | 痕量 THF<br>或 EtOH | 96%纯度              | 蒸发, 制浆,<br>超声处理 | 0.9:1           |
| HETrE 哌嗪盐  | 非常无序 | 黄色粘性半固体               | 痕量 EtOH          | 未测试                | 蒸发或超声<br>处理     | 0.7:1           |
| HETrE API  | 无定形  | 油状物                   | -                | -                  | -               | -               |

[0122] 钠盐作为备用候选物用于进一步研究, 因为它是蜡状固体并且是通过多种不同方法制造的。化学计量不能通过NMR光谱分析确定。

[0123] 鸟氨酸盐不建议用于进一步研究, 因为它的粘性很大并且随时间显示黄色着色。哌嗪盐表现出最差的处理特性并且是粘性的半固体材料, 其似乎在环境温度下在暴露于空气时流动, 这可能是由于水分吸收。

[0124] 每种盐的显微照片图像显示于图20A-H中。在交叉偏振光下在存在和不存在一级红色滤光片(其增强结晶和无定形内含物之间的对比度)的情况下捕捉每种盐的图像。比例尺长度代表200 $\mu$ m。明亮颜色是结晶度的证据。

[0125] 实施例9: 15-HETrE赖氨酸盐规模放大

[0126] 发现制浆方法作为先前使用的旋转蒸发方法的替代方案以使用EtOAc作为溶剂来制备赖氨酸盐, 但当规模放大时不能产生所述盐。在800mg规模上, 向EtOAc添加9%MeOH产生盐, 纯度为96%。已开始对于赖氨酸盐的稳定性研究(20 $^{\circ}$ C/60%RH空气/N<sub>2</sub>和40 $^{\circ}$ C/75%RH空气/N<sub>2</sub>, 开放/封闭小瓶)。

[0127] 未发现通过制浆来制备15-HETrE钠盐并避免需要旋转蒸发的替代方法。如果使用水, 则碱溶解, 但所得盐也高度可溶并且因此不会沉淀。如果排除水, 则碱不溶解并且因此不与15-HETrE反应。使用依次从10%EtOH水溶液和EtOH旋转蒸发, 完成15-HETrE钠盐的规模放大和表征。所回收材料具有黄色着色。如通过UPLC分析所测量的纯度为约81%。

[0128] 实施例10: 规模放大的15-HETrE-赖氨酸盐的表征

[0129] 通过XRPD分析根据实施例9制备的15-HETrE-赖氨酸盐并且发现其由无序结晶材料构成(图21)。

[0130] 通过<sup>1</sup>H-NMR光谱分析(溶剂: d<sub>4</sub>-MeOD)证实盐形成, 如通过赖氨酸和14-HETrE质子的峰位移所证明(图22)。HETrE: 赖氨酸的比率测量为1:1。

[0131] 15-HETrE-赖氨酸盐的TG/DTA分析显示在<160 $^{\circ}$ C下可忽略的重量损失, 这表明所述盐是无水的。注意到在116 $^{\circ}$ C(起始)下的小吸热峰, 但原因未知(图23)。

[0132] DSC温谱图显示在88°C和115°C下起始的多个小吸热峰,接着是较宽的吸热峰,其可能与熔融和分解事件相关(图24)。

[0133] 所述盐在30°C与200°C之间的热台显微镜分析显示没有可观测的熔融直至约140°C,但所述材料在200°C下未完全熔融(图25A-D)。

[0134] 所述材料的Hyper DSC分析表明,玻璃化转变( $T_g$ )温度是16°C(半 $C_p$ 值,图26)。

[0135] 15-HETrE赖氨酸盐的DVS分析显示,在低于70%RH下重量增加不到1%,但在70-80%RH之间增加另外1%(图26),并且表明所述材料根据欧洲药典分类是吸湿的。在高于80%RH下的重量增加足够大以表明样品潮解。样品的DVS后XRPD分析表明,它与输入材料相一致(图21)。

[0136] 图27示出根据实施例9制备的15-HETrE赖氨酸盐的FT-IR光谱。

[0137] 实施例11:15-HETrE赖氨酸盐的规模放大和可操作性研究

[0138] 最初通过旋转蒸发分离15-HETrE赖氨酸盐以除去残余溶剂并降低固体的粘性。然而,进行少量实验以找出可用于在更大规模上制备呈无水固体形式的盐的更合适方法。

[0139] 设置制浆实验以在不同条件下形成赖氨酸盐。根据下表4添加溶剂,溶剂:反溶剂比率为1:3。

[0140] 表4:制备HETrE赖氨酸盐的制浆实验

[0141]

| 样品编号        | 溶剂/反溶剂             | 观测结果           | XRPD             |
|-------------|--------------------|----------------|------------------|
| 1946-035-01 | EtOAc              | 灰白色粉末          | 与先前赖氨酸盐相同        |
| 1946-035-02 | 丙酮-EtOAc           | 灰白色粉末          | 与先前赖氨酸盐相同, 一些新的峰 |
| 1946-035-03 | EtOH- MTBE         | 具有黄色蜡状固体的灰白色粉末 | 与先前赖氨酸盐相同        |
| 1946-035-04 | IPA-EtOAc          | 具有黄色蜡状固体的灰白色粉末 | 与先前赖氨酸盐相同        |
| 1946-043-01 | EtOAc              | 白色固体, 于溶液中     | 与先前赖氨酸盐相同        |
| 1946-047-01 | EtOAc              | 黄色/桃红色固体       | HETrE 赖氨酸盐+游离赖氨酸 |
| 1946-055-01 | EtOAc              | 白色/奶黄色固体       | HETrE 赖氨酸盐       |
| 1946-055-02 | EtOAc-EtOH         | 白色/奶黄色固体       | HETrE 赖氨酸盐+游离赖氨酸 |
| 1946-055-03 | EtOAc-丙酮           | 白色/奶黄色固体       | HETrE 赖氨酸盐       |
| 1946-055-04 | EtOAc-IPA          | 白色/奶黄色固体       | HETrE 赖氨酸盐       |
| 1946-055-05 | EtOAc-MeOH         | 白色/奶黄色固体       | HETrE 赖氨酸盐       |
| 1946-059-01 | EtOAc              | 混浊溶液           | N/A              |
| 1946-059-02 | EtOH               | 白色/奶黄色固体       | HETrE 赖氨酸盐       |
| 1946-059-03 | 10:1<br>EtOAc:MeOH | 白色/奶黄色固体       | HETrE 赖氨酸盐       |
| 1946-059-04 | 丙酮                 | 黄色/棕色溶液        | N/A              |
| 1946-059-05 | IPA                | 白色/奶黄色固体       | HETrE 赖氨酸盐       |
| 1946-063-01 | 10:1<br>EtOAc:MeOH | 浅黄色固体          | HETrE 赖氨酸盐       |
| 1946-067-01 | 10:1<br>EtOAc:MeOH | 浅黄色固体          | HETrE 赖氨酸盐       |

[0142] 15-HETrE赖氨酸浆液得到具有一些蜡状黄色固体的灰白色粉末。XRPD图与先前的15-HETrE赖氨酸盐图匹配。EtOAc中的样品1946-035-01经过选择以放大规模至100mg,接着1g规模。

[0143] 所述材料在100mg下成功地放大规模,然而,当在1g规模上制备盐时遇到问题。

[0144] 成反应相比于先前所观测花费更长时间(6天对1天)。

[0145] 所述材料看起来非常细并且不能容易地过滤。通过离心分离15-HETrE赖氨酸盐,倾析并在真空中干燥。所述材料以黄色固体形式分离,但被残余赖氨酸污染。

[0146] 进行其他实验来找出替代溶剂并且发现EtOAc-MeOH(9:1)最适合作为在添加1小时内发生的成盐。其他溶剂组合产生盐,但需要若干小时或过夜混合。依次在250mg和800mg

规模上进行规模放大是成功的并且在几个小时内形成盐,过滤并干燥。

[0147] 对于800mg规模批料,根据UPLC的纯度是96%,而对于250mg规模批料,根据UPLC的纯度是97%。

[0148] 图28示出15-HETrE-赖氨酸盐相比于15-HETrE游离脂肪酸在不同条件下的稳定性。游离15-HETrE是不稳定的并且在所有条件(排除-20℃)下降解。15-HETrE-赖氨酸盐在20℃和40%湿度下以及在40℃和75%湿度下是稳定的,这使得所述赖氨酸盐可用于制药应用。在更大规模上制备呈白色粉末形式的15-HETrE赖氨酸盐用于结晶化筛选。XRPD分析表明它是无序的并且与先前分析非常相似。

[0149] 表5:15-HETrE赖氨酸盐的结晶化筛选

[0150]

| 样品编号(1922-) | 溶剂/反溶剂                  | 条件     | 观测结果                     |
|-------------|-------------------------|--------|--------------------------|
| 077-01      | EtOH-水                  | 旋转蒸发   | 大规模制备                    |
| 087-01      | 1:1:1 MeOH:ACN:<br>二噁烷  | 蒸发     | 灰白色粉末                    |
| 087-02      | 20:1 二噁烷:水              | 蒸发     | 灰白色粉末,略带粘性的粉末,一些双折射      |
| 087-03      | 3:1:3 MIBK:丙酮:MeOH      | 蒸发     | 淡橙色粉末状固体,略带粘性,具有团块,一点双折射 |
| 091-01      | EtOAc                   | 蒸气应力   | 略带粘性的粉末,轻微双折射            |
| 091-02      | 丙酮                      | 蒸气应力   | 略带粘性的粉末,轻微双折射            |
| 091-03      | DCM                     | 蒸气应力   | 略带粘性的粉末,轻微双折射            |
| 083-01      | MTBE                    | 制浆(室温) | 灰白色蜡状固体。中间相,双折射薄膜        |
| 083-02      | 乙酸异丁酯                   | 制浆(室温) | 白色糊状物                    |
| 083-03      | 环己烷                     | 制浆(室温) | 白色糊状物-中间相。薄膜,一些双折射       |
| 083-02A     | Et <sub>2</sub> O/ MTBE | 制浆(室温) | 白色固体                     |
| 083-03A     | EtOH/ EtOAc             | 制浆(室温) | 具有白色固体的双折射凝胶             |
| 083-03A     | -                       | 真空干燥   | 双折射白色粘性固体                |
| 083-04      | Et <sub>2</sub> O       | 制浆(室温) | 黄色蜡状固体。中间相。球晶。薄膜,一些双折射   |

[0151]

|         |                          |         |              |
|---------|--------------------------|---------|--------------|
| 083-04A | 二噁烷/ EtOAc               | 制浆 (室温) | 黄色粘性固体+溶液    |
| 083-04A | -                        | 真空干燥    | 双折射黄色固体      |
| 087-01A | ACN/ EtOAc               | 制浆 (室温) | 浅黄色凝胶        |
| 087-02A | 丙酮/ EtOAc                | 制浆 (室温) | 具有固体的浅黄色凝胶   |
| 087-02A | -                        | 真空干燥    | 浅黄色固体        |
| 087-03A | 环己烷/ EtOAc               | 制浆 (室温) | 具有溶液的浅黄色固体   |
| 087-03A | -                        | 真空干燥    | 浅黄色固体        |
| 091-01A | DCM/ EtOAc               | 制浆 (室温) | 具有溶液的浅黄色固体   |
| 091-02A | MeOH/ EtOAc              | 制浆 (室温) | 具有一些晶体的浅黄色固体 |
| 091-03A | Et <sub>2</sub> O/ EtOAc | 制浆 (室温) | 白色固体, 于溶液中   |

[0152] 实施例12:15-HETrE钠盐的规模放大和可操作性研究

[0153] 根据XRPD分析(图9),15-HETrE钠盐是高度无序的,并且是蜡状固体。

[0154] 通过<sup>1</sup>H-NMR光谱分析(溶剂:d<sub>4</sub>-MeOD)对材料进行分析,表明已经发生成盐,如通过15-HETrE质子的峰位移所证明(图10)。化学计量不能通过<sup>1</sup>H-NMR光谱分析确定。

[0155] 15-HETrE钠盐的TG/DTA分析显示在高于环境温度下的连续逐渐重量损失,这对常无序的材料是不常见的并且可能是由于挥发性组分的损失。

[0156] DSC温谱图显示一系列复杂的小的热事件,其原因未知。

[0157] 从hyper DSC温谱图未观测到不同的玻璃化转变(T<sub>g</sub>)信号。

[0158] 15-HETrE钠盐的DVS分析显示样品在低于40%RH下重量增加不到1%,但其后重量增加按指数规律增加并且在高RH下潮解。这表明所述材料根据欧洲药典分类是非常吸湿的。未进行DVS后XRPD分析,因为所述材料潮解。

[0159] 图15示出根据这个实施例制备的15-HETrE钠盐的FT-IR光谱。

[0160] 最初通过旋转蒸发分离15-HETrE钠盐以除去残余溶剂并降低固体的粘性。然而,进行少量实验以找出可用于在更大规模上制备呈无水固体形式的盐的更合适方法。

[0161] 设置制浆实验以在不同条件下形成钠盐。根据下表添加溶剂,溶剂:反溶剂比率为1:3。

[0162] 对于非水性浆液,碱以固体形式添加但不溶解。也尝试以水溶液形式添加碱,但未发生盐的沉淀并且溶剂必须被蒸发。因此,未找到制备HETrE钠盐的合适的制浆方法。

[0163] 使用旋转蒸发在克规模上进行规模放大并且产生盐,但固体显示黄色着色。

[0164] 如通过UPLC测量的纯度为约81%。

[0165] 表6:尝试通过制浆方法来制备15-HETrE钠盐

| 样品编号        | 溶剂/反溶剂                 | 观测结果 |
|-------------|------------------------|------|
| 1946-035-05 | EtOAc <sup>1</sup>     | 混浊溶液 |
| 1946-035-06 | 丙酮-EtOAc <sup>1</sup>  | 混浊溶液 |
| 1946-035-07 | EtOH-MTBE <sup>1</sup> | 混浊溶液 |
| 1946-035-08 | IPA-EtOAc <sup>1</sup> | 混浊溶液 |
| 1946-035-09 | MTBE-EtOH              | 混浊溶液 |

[0166]

|        |              |                      |               |
|--------|--------------|----------------------|---------------|
|        | 1946-035-10  | 庚烷-EtOH              | 混浊溶液          |
|        | 1946-035-11  | 环己烷-EtOH             | 混浊溶液          |
|        | 1946-035-12  | IPOAc-EtOH           | 混浊溶液          |
|        | 1946-035-05A | 丙酮                   | 溶液, 未溶解       |
|        | 1946-035-06A | ACN                  | 溶液, 未溶解, 黄色固体 |
|        | 1946-035-07A | DMF                  | 混浊黄色溶液, 未溶解   |
|        | 1946-035-08A | DMSO                 | 浅黄色溶液, 未溶解    |
| [0167] | 1946-035-09A | EtOH                 | 混浊溶液, 未溶解     |
|        | 1946-035-10A | IPA                  | 混浊溶液, 未溶解     |
|        | 1946-035-11A | MeOH                 | 混浊溶液, 未溶解     |
|        | 1946-035-12A | THF                  | 混浊溶液, 未溶解     |
|        | 1946-035-05B | 丙酮-H <sub>2</sub> O  | 溶液, 浅黄色, 未溶解  |
|        | 1946-035-12B | THF-H <sub>2</sub> O | 溶液, 浅黄色, 未溶解  |
|        | 1946-045-01  | 丙酮 <sup>2</sup>      | 溶液, 黄色        |
|        | 1946-045-02  | THF <sup>2</sup>     | 溶液, 微黄色       |

[0168] 注释<sup>1</sup>: 添加另外560 $\mu$ L MTBE以尝试形成沉淀物。

[0169] 注释<sup>2</sup>: 添加饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液以制浆。

[0170] 表7: HETrE钠盐的结晶化筛选

[0171]

| 样品编号<br>(1922-) | 溶剂/反溶剂                    | 条件     | 观测结果                     |
|-----------------|---------------------------|--------|--------------------------|
| 075-01          | EtOH-水                    | 旋转蒸发   | 大规模制备                    |
| 085-01          | 1:1:1<br>MeOH:ACN:二噁<br>烷 | 蒸发     | 中间相。球晶，微粘性粒子，一些双折射       |
| 085-03          | 3:1:1 MIBK:丙<br>酮:MeOH    | 蒸发     | 中间相 - 看起来像中间相中的小<br>针    |
| 085-02          | 20:1 二噁烷:水                | 蒸发     | 中间相，微粘性粒子，一些双折<br>射      |
| 089-01          | EtOAc                     | 蒸气应力   | 微粘性，具有一些双折射，粉末           |
| 089-02          | 丙酮                        | 蒸气应力   | 微粘性，具有一些双折射              |
| 089-03          | DCM                       | 蒸气应力   | 微粘性，具有一些双折射              |
| 079-01          | MTBE                      | 制浆（室温） | 灰白色蜡状固体 - 明亮颜色，双<br>折射薄膜 |
| 079-02          | 乙酸异丁酯                     | 制浆（室温） | 白色凝胶，糊状物，明亮颜色            |
| 079-02A         | EtOH-MTBE                 | 制浆（室温） | 白色凝胶                     |
| 079-03          | 环己烷                       | 制浆（室温） | 底部白色糊状物。固体圆边，粘<br>性粉末    |
| 079-03A         | 二噁烷- MTBE                 | 制浆（室温） | 黄色固体，凝胶                  |
| 079-04          | Et <sub>2</sub> O         | 制浆（室温） | 白色/透明蜡状固体，双折射，双<br>折射薄膜  |
| 085-01A         | ACN- MTBE                 | 制浆（室温） | 双折射蜡状固体                  |
| 085-01A         | -                         | 真空干燥   | 双折射蜡状固体                  |
| 085-02A         | 丙酮- MTBE                  | 制浆（室温） | 双折射蜡状固体                  |

[0172]

|         |            |        |              |
|---------|------------|--------|--------------|
| 085-02A | -          | 真空干燥   | 双折射蜡状固体      |
| 089-01A | 环己烷- MTBE  | 制浆（室温） | 双折射，灰白色蜡状固体  |
| 089-01A | -          | 真空干燥   | 双折射，灰白色蜡状固体  |
| 089-02A | DCM- MTBE  | 制浆（室温） | 双折射，蜡状白色固体   |
| 089-02A | -          | 真空干燥   | 双折射，蜡状白色固体   |
| 089-03A | MeOH- MTBE | 制浆（室温） | 黄色粘性固体，一些双折射 |
| 089-03A | -          | 真空干燥   | 黄色粘性固体，一些双折射 |

[0173] 实施例13:15-HETrE钠葡甲胺盐的规模放大和可操作性研究

[0174] 从15-HETrE与N-甲基-D-葡糖胺(葡甲胺)制备的样品得到凝胶并且储存在冷冻条件下以促进结晶化。在一段时间后,注意到所述材料已固化并且XRPD图指示存在结晶度,但也存在一些无定形内含物(图29)。所述XRPD图不同于葡甲胺的XRPD图,这表明形成独特的固体形式。

[0175] 样品的质子NMR光谱指示1:1化学计量并且注意到峰位移,这表明盐形成(图30)。检测到一摩尔的EtOH,其可表明溶剂化物形成。

[0176] 虽然XRPD图指示它是从筛选产生的最大结晶性样品,但所述样品是粘性固体并且

当在显微镜载玻片之间受压时流动,这表明液晶特性(图31A-B)。图31A-B中的比例尺代表200 $\mu\text{m}$ 。将所述材料在真空中干燥过夜以除去残余EtOH并且所述样品仍是粘性的。

[0177] 在较大规模上制备呈粘稠油状物形式的15-HETrE葡甲胺盐以用于结晶化筛选。

[0178] 然后将葡甲胺盐再分到多个小瓶中并且经受不同应力条件并且用氮气吹扫样品(表8)。使用水性和非水性条件并且使用分子筛干燥溶剂。也用氮气吹扫溶剂。

[0179] 大部分样品当在不同条件下受压时仍是凝胶。然而,一种样品在冰箱中从ACN-EtOH中部分结晶。将所述样品用于接种其他样品,但未注意到进一步结晶。

[0180] 表8:15-HETrE葡甲胺盐的结晶化筛选

[0181]

| 样品编号        | 溶剂/反溶剂     | 条件                            | 观测结果   |
|-------------|------------|-------------------------------|--|
| 1922-073-01 | EtOH-水     | 旋转蒸发                          | 大规模制备  |
| 1922-081-09 | -          | 40 $^{\circ}\text{C}$ /75% RH | 深黄色凝胶  |
| 1922-095-06 | -          | 温度应力                          | 浅黄色凝胶  |
| 1922-093-01 | EtOAc-EtOH | 蒸气应力                          | 溶液   |
| 1922-093-01 | -          | 真空干燥                          | 浅黄色凝胶  |
| 1922-093-02 | 丙酮-EtOH    | 蒸气应力                          | 溶液   |
| 1922-093-02 | -          | 真空干燥                          | 浅黄色凝胶  |
| 1922-093-03 | DCM-EtOH   | 蒸气应力                          | 溶液   |
| 1922-093-03 | -          | 真空干燥                          | 浅黄色凝胶  |
| 1922-093-04 | ACN-EtOH   | 蒸气应力                          | 白色固体, 双折射针状物。当从冰箱中移出时熔融。用作晶种。在冰箱中固化成白色固体, 粘性, 聚结 |
| 1922-093-05 | THF-EtOH   | 蒸气应力                          | 溶液   |
| 1922-093-05 | -          | 真空干燥                          | 浅黄色凝胶  |
| 1922-093-10 | 水-EtOH     | 蒸气应力                          | 溶液   |

[0182]

|              |             |        |                     |
|--------------|-------------|--------|---------------------|
| 1922-093-10  | -           | 真空干燥   | 浅黄色凝胶               |
| 1922-081-07  | EtOH-水      | 制浆(室温) | 溶液                  |
| 1922-081-08  | EtOH: IPOAc | 制浆(室温) | 溶液                  |
| 1946-003-01  | 水-EtOH      | 制浆(室温) | 溶液                  |
| 1946-003-01  | -           | 真空干燥   | 浅黄色凝胶               |
| 1946-003-02  | IPOAc-EtOH  | 制浆(室温) | 溶液                  |
| 1946-003-02  | -           | 真空干燥   | 浅黄色凝胶               |
| 1946-003-03  | ACN-MTBE    | 制浆(室温) | 溶液                  |
| 1946-003-03  | -           | 真空干燥   | 浅黄色凝胶               |
| 1946-003-04  | 丙酮-MTBE     | 制浆(室温) | 凝胶。用 1922-093-04 接种 |
| 1946-003-04A | -           | 接种     | 具有晶种的黄色凝胶           |
| 1946-003-05  | 环己烷-MTBE    | 制浆(室温) | 凝胶。用 1922-093-04 接种 |
| 1946-003-05A | -           | 接种     | 具有晶种的黄色凝胶           |
| 1946-003-06  |             |        |                     |
| 1946-003-06  | -           | 真空干燥   | 浅黄色凝胶               |
| 1946-003-07  | 二噁烷-EtOAc   | 制浆(室温) | 溶液                  |
| 1946-003-07  | -           | 真空干燥   | 浅黄色凝胶               |

[0183] 基于这些结果,15-HETrE赖氨酸和钠盐仍代表用于进一步研究的最佳候选物,因

为它们比葡甲胺盐的粘性小。然而，葡甲胺盐的特性可显示进一步加工的改进。

[0184] 实施例14:从DGLA制备15-(S)-HETrE

[0185] 通过在水(10L)中装入硼酸(61.8g, 1mol)和NaOH(120.0g, 3mol)来制备硼酸钠缓冲液(0.1M)。向20L哈氏合金(hastealloy)容器中装入10.0L硼酸钠缓冲液,接着装入半胱氨酸(237.2g, 1.958mol, 2.0当量)。缓冲液和半胱氨酸在搅拌下完全溶解后,添加DGLA(300g, 9.79mol)并且将混合物在pH 9.6下冷却至0-5°C。添加LPX1酶粉末(2.66g, 8.85mg/g DGLA, 1.8兆单位/克DGLA, 0.88重量%)并且利用纯氧将容器加压至2.5巴。在搅拌一小时后,缓慢地释放氧头压力以避免起泡。移出等分试样并用柠檬酸溶液(25%w/v)酸化至pH 3。将所述等分试样用氯化氯仿萃取,经硫酸钠干燥,过滤并通过NMR分析。

[0186] 添加另外的LPX1酶粉末(0.503g, 1.8mg/g DGLA, 0.36兆单位/克DGLA, 0.18重量%)和另外1当量的半胱氨酸(117.0g, 0.979mol)并且将混合物在氧气下再搅拌1小时。如上所述对另一个等分试样的分析表明反应完成。

[0187] 将混合物用氮气(2巴, 2个循环)吹扫并在氮气毯覆下在900rpm下搅拌过夜。然后将混合物装入氮气毯覆的10L汽油罐中。然后在氩气毯覆下将混合物添加至20L反应器中并且以50g份添加固体柠檬酸直至pH降至3.5。

[0188] 在氩气下利用烧结漏斗收集沉淀的固体。在将固体再转移至反应器之后,添加3L甲基叔丁基醚(MtBE)并且将混合物在400rpm下搅拌10分钟。将这些步骤再重复两次,然后利用40°C浴(旋转蒸发仪)在250毫巴下蒸发残余溶剂,直至不再观测到馏出物。用氩气使旋转蒸发仪通风。

[0189] 实施例15:通过色谱法纯化粗15-(S)-HETrE

[0190] 将实施例14中制备的粗15-(S)-HETrE的一半溶解在130mL MtBE/环己烷(20:80v/v)溶剂混合物中。将溶液分成两份;使用已经用环己烷预洗脱的Biotage 75L二氧化硅滤筒纯化每一份。以5个阶段实现15-(S)-HETrE的洗脱:(1)MtBE/环己烷(10:90):4L;(2)MtBE/环己烷(20:80):3L;(3)MtBE/环己烷(30:70):2L;(4)MtBE/环己烷(50:50):4L;和(5)MtBE:2L。将根据TLC分析包括15-(S)-HETrE的级分(级分4-9)合并并在氩气下利用旋转蒸发仪(250毫巴,在40°C下)浓缩,直至不再观测到馏出物。纯度为95.5%(根据<sup>1</sup>H-NMR)或96.4%(根据uHPLC)。

[0191] 实施例16:15-(S)-HETrE L-赖氨酸盐的制备

[0192] 将L-赖氨酸单水合物(399±2mg)悬浮在20mL snap cap小瓶中的醇(表9)中,将15-(S)-HETrE(803±2mg)溶解在非极性溶剂(4mL)中并添加至赖氨酸的搅拌悬浮液,再使用非极性溶剂(2mL)来冲洗HETrE小瓶并添加至赖氨酸/HETrE悬浮液。然后添加余量的非极性溶剂(所添加溶剂总体积为8mL),对于实验3至10在此时添加晶种,并在250rpm下搅拌过夜。

[0193] 表9. 溶剂体系

[0194]

| 反应编号       | 溶剂(非极性) | 溶剂(极性) | 比率    |
|------------|---------|--------|-------|
| 2032-001-1 | 乙酸乙酯    | 甲醇     | 95:5  |
| 2032-001-2 | 乙酸乙酯    | 甲醇     | 90:10 |
| 2032-001-3 | 乙酸乙酯    | 乙醇     | 90:10 |

|             |       |     |       |
|-------------|-------|-----|-------|
| 2032-001-4  | 乙酸乙酯  | 异丙醇 | 80:20 |
| 2032-001-5  | 乙酸乙酯  | 丙酮  | 80:20 |
| 2032-001-6  | 乙酸异丙酯 | 甲醇  | 95:5  |
| 2032-001-7  | 乙酸异丙酯 | 甲醇  | 90:10 |
| 2032-001-8  | 乙酸异丙酯 | 乙醇  | 90:10 |
| 2032-001-9  | 乙酸异丙酯 | 异丙醇 | 80:20 |
| 2032-001-10 | 乙酸异丙酯 | 丙酮  | 80:20 |

[0195] 反应编号1和2未被接种；反应编号3至10利用从反应编号1的滤饼获得的晶种接种。

[0196] 每个反应的产物外观是白色的。利用烧结漏斗(3号,10mm直径)在轻度真空下进行过滤。一些滤饼产物外观是黄色的。将约200 $\mu$ L的第一滤液转移至HPLC小瓶中。剩余反应混合物的过滤(在高真空与中度真空之间交替)得到滤饼,将其转移至真空腔室并干燥过夜,然后储存在冷冻器中。盐本身不溶于氯仿和DMSO中,但易溶于水中。

[0197] 通过将赖氨酸的 $\alpha$ 质子校准为1,使用在D<sub>2</sub>O中的NMR分析来确定盐的赖氨酸含量(表10)。

[0198] 表10.15(S)-HETrE L-赖氨酸盐的赖氨酸含量

[0199]

| 反应编号        | 赖氨酸信号 | 在5.6 ppm下的HETrE | 差值       | 在6 ppm下的HETrE | 差值       |
|-------------|-------|-----------------|----------|---------------|----------|
| 2032-001-1  | 1     | 0.9493          | 0.01941  | 0.94          | 0.00698  |
| 2032-001-2  | 1     | 0.9095          | -0.02039 | 0.9164        | -0.01662 |
| 2032-001-3  | 1     | 0.9277          | -0.00219 | 0.9622        | 0.02918  |
| 2032-001-4  | 1     | 0.9283          | -0.00159 | 0.9237        | -0.00932 |
| 2032-001-5  | 1     | 0.9488          | 0.01891  | 0.9371        | 0.00408  |
| 2032-001-6  | 1     | 0.9503          | 0.02041  | 0.9451        | 0.01208  |
| 2032-001-7  | 1     | 0.9247          | -0.00519 | 0.9115        | -0.02152 |
| 2032-001-8  | 1     | 0.9032          | -0.02669 | 0.9434        | 0.01038  |
| 2032-001-9  | 1     | 0.9407          | 0.01081  | 0.9311        | -0.00192 |
| 2032-001-10 | 1     | 0.9164          | -0.01349 | 0.9197        | -0.01332 |
| 平均值=        |       | 0.92989         |          | 0.93302       |          |

[0200] 反应的观测结果总结于表11中。

[0201] 表11.

[0202]

| 反应编号        | 溶剂        | 比率    | 滤饼重量 (mg) | 滤饼纯度 (%) | 滤液纯度 (%) | 过滤时间近似值 (分钟) | 滤饼外观 | 浆液迁移性 | 排放 |
|-------------|-----------|-------|-----------|----------|----------|--------------|------|-------|----|
| 2032-001-1  | 乙酸乙酯/甲醇   | 95:5  | 921       | 97.1     | 83.05    | 35           | Y, H | 4     | 3  |
| 2032-001-2  | 乙酸乙酯/甲醇   | 90:10 | 990       | 97.1     | 82.77    | 30           | W, P | 4     | 3  |
| 2032-001-3  | 乙酸乙酯/乙醇   | 90:10 | 945       | 97.1     | 82.61    | 25           | Y, H | 4     | 3  |
| 2032-001-4  | 乙酸乙酯/异丙醇  | 80:20 | 813       | 97.1     | 82.13    | 30           | Y, H | 4     | 3  |
| 2032-001-5  | 乙酸乙酯/丙酮   | 80:20 | 1113      | 96.8     | -        | 50           | Y, H | 5     | 4  |
| 2032-001-6  | 乙酸异丙酯/甲醇  | 95:5  | 932       | 97.2     | 86.91    | 30           | Y, H | 4     | 3  |
| 2032-001-7  | 乙酸异丙酯/甲醇  | 90:10 | 1000      | 96.8     | 81.04    | 35           | W, P | 4     | 3  |
| 2032-001-8  | 乙酸异丙酯/乙醇  | 90:10 | 951       | 97.1     | 83.39    | 35           | Y, H | 4     | 3  |
| 2032-001-9  | 乙酸异丙酯/异丙醇 | 80:20 | 932       | 96.9     | 80.24    | 35           | Y, H | 4     | 3  |
| 2032-001-10 | 乙酸异丙酯/丙酮  | 80:20 | 910       | 96.8     | 79.64    | 50           | Y, H | 5     | 4  |

[0203] 过滤时间:滤饼达到半干状态(不湿)的时间

[0204] 滤饼外观:干燥后的滤饼外观,w=白色,y=黄色(滤饼颜色),H=坚硬,P=粉末状

[0205] 浆液迁移性:1=稀薄,流动性很大,2=中等浓稠,流动,3=浓稠,但大部分在冲洗之前转移,4=浓稠,不容易转移,5=非常浓稠,在无新鲜稀释剂的情况下不流动

[0206] 排放(抽吸过滤):1=容易,2=中等,3=困难,4=无

[0207] 反应编号1至10的杂质概况示于表12中。

[0208] 表12. 杂质概况

|       | RRT  | 保留时间  | 峰面积 (%) | 001-1 (盐) | 001-1 (液体) | 001-2 (盐) | 001-2 (液体) | 001-3 (盐) | 001-3 (液体) |
|-------|------|-------|---------|-----------|------------|-----------|------------|-----------|------------|
| IMP 1 | 0.62 | 4.35  | 0.13    | 0.03      | 0.35       | 0.02      | 0.25       | 0.02      | 0.31       |
| IMP 2 | 0.64 | 4.44  | 0.19    | 0.05      | 0.5        | 0.04      | 0.36       | 0.04      | 0.47       |
| IMP 3 | 0.69 | 4.81  | 0.31    | 0.07      | 0.78       | 0.05      | 0.56       | 0.06      | 0.71       |
| IMP 4 | 0.91 | 6.34  | 1.22    | 0.95      | 2.9        | 1.01      | 2.61       | 0.99      | 3.23       |
| HETrE | 1    | 6.97  | 97.3    | 97.07     | 83.05      | 97.09     | 82.77      | 97.11     | 82.61      |
| IMP 5 | 1.03 | 7.2   | 0       | 0.11      | 0.8        | 0.1       | 0.89       | 0.12      | 1.09       |
| IMP 6 | 1.1  | 7.7   | 1.5     | 1.48      | 1.54       | 1.45      | 1.54       | 1.48      | 1.57       |
| IMP 7 | 1.75 | 12.25 | 未知      | 0.1       | 2.87       | 0.1       | 3.3        | 0.11      | 3.56       |

|       | RRT  | 保留时间  | 峰面积 (%) | 001-4 (盐) | 001-4 (液体) | 001-5 (盐) | 001-5 (液体) | 001-6 (盐) | 001-6 (液体) |
|-------|------|-------|---------|-----------|------------|-----------|------------|-----------|------------|
| IMP 1 | 0.62 | 4.35  | 0.13    | 0.03      | 0.42       | 0.03      | -          | 0.03      | 0.19       |
| IMP 2 | 0.64 | 4.44  | 0.19    | 0.04      | 0.51       | 0.05      | -          | 0.04      | 0.27       |
| IMP 3 | 0.69 | 4.81  | 0.31    | 0.06      | 0.86       | 0.07      | -          | 0.06      | 0.43       |
| IMP 4 | 0.91 | 6.34  | 1.22    | 0.99      | 3.59       | 0.99      | -          | 0.96      | 2.32       |
| HETrE | 1    | 6.97  | 97.3    | 97.07     | 82.13      | 96.77     | -          | 97.17     | 86.91      |
| IMP 5 | 1.03 | 7.2   | 0       | 0.12      | 1.17       | 0.12      | -          | 0.12      | 0.62       |
| IMP 6 | 1.1  | 7.7   | 1.5     | 1.47      | 1.7        | 1.46      | -          | 1.42      | 1.67       |
| IMP 7 | 1.75 | 12.25 | 未知      | 0.13      | 3.77       | 0.18      | -          | 0.12      | 2.15       |

|       | RRT  | 保留时间  | 峰面积 (%) | 001-7 (盐) | 001-7 (液体) | 001-8 (盐) | 001-8 (液体) | 001-9 (盐) | 001-9 (液体) |
|-------|------|-------|---------|-----------|------------|-----------|------------|-----------|------------|
| IMP 1 | 0.62 | 4.35  | 0.13    | 0.03      | 0.4        | 0.02      | 0.33       | 0.02      | 0.43       |
| IMP 2 | 0.64 | 4.44  | 0.19    | 0.05      | 0.43       | 0.04      | 0.51       | 0.05      | 0.64       |
| IMP 3 | 0.69 | 4.81  | 0.31    | 0.05      | 0.67       | 0.05      | 0.75       | 0.06      | 0.92       |
| IMP 4 | 0.91 | 6.34  | 1.22    | 1.07      | 2.65       | 0.96      | 2.9        | 1.01      | 3.07       |
| HETrE | 1    | 6.97  | 97.3    | 96.83     | 81.04      | 97.1      | 83.39      | 96.92     | 80.24      |
| IMP 5 | 1.03 | 7.2   | 0       | 0.12      | 1.17       | 0.12      | 0.86       | 0.12      | 1.06       |
| IMP 6 | 1.1  | 7.7   | 1.5     | 1.48      | 1.62       | 1.44      | 1.62       | 1.48      | 1.6        |
| IMP 7 | 1.75 | 12.25 | 未知      | 0.13      | 4.08       | 0.11      | 3.36       | 0.13      | 4.08       |

|       | RRT  | 保留时间  | 峰面积 (%) | 001-10 (盐) | 001-10 (液体) |
|-------|------|-------|---------|------------|-------------|
| IMP 1 | 0.62 | 4.35  | 0.13    | 0.03       | 0.42        |
| IMP 2 | 0.64 | 4.44  | 0.19    | 0.07       | 0.59        |
| IMP 3 | 0.69 | 4.81  | 0.31    | 0.07       | 0.82        |
| IMP 4 | 0.91 | 6.34  | 1.22    | 0.99       | 3.1         |
| HETrE | 1    | 6.97  | 97.3    | 96.8       | 79.64       |
| IMP 5 | 1.03 | 7.2   | 0       | 0.11       | 1.01        |
| IMP 6 | 1.1  | 7.7   | 1.5     | 1.46       | 1.68        |
| IMP 7 | 1.75 | 12.25 | 未知      | 0.18       | 3.43        |

[0211] 实施例17: 甲醇作为共溶剂的研究

[0212] 基于实施例16的结果, 研究了甲醇与乙酸乙酯或乙酸异丙酯的比率以确定对15-(S)-HETrE产率的影响, 如表13中所示。

[0213] 表13.

| 实验编号  | 溶剂<br>(非极性) | 溶剂(极性) | 比率    |
|-------|-------------|--------|-------|
| 009-1 | 乙酸乙酯        | 甲醇     | 90:10 |
| 009-2 | 乙酸乙酯        | 甲醇     | 85:15 |
| 009-3 | 乙酸乙酯        | 甲醇     | 80:20 |
| 009-4 | 乙酸异丙酯       | 甲醇     | 90:10 |
| 009-5 | 乙酸异丙酯       | 甲醇     | 85:15 |
| 009-6 | 乙酸异丙酯       | 甲醇     | 80:20 |

[0215] 反应的结果总结于表14中。

[0216] 表14.

| 实验编号  | 滤饼重量(mg) | 滤饼纯度(%) | 滤液纯度(%) | 过滤时间近似值(分钟) | 滤饼外观  | 浆液迁移性 | 排放 |
|-------|----------|---------|---------|-------------|-------|-------|----|
| 009-1 | 876*     | 96.69   | 78.09   | 30          | W, P  | 4     | 3  |
| 009-2 | 996      | 96.73   | 79.28   | 35          | W, P  | 4     | 3  |
| 009-3 | 999      | 96.66   | 77.39   | 35          | W, P  | 4     | 3  |
| 009-4 | 943      | 96.66   | 79.23   | 30          | W, P  | 4     | 3  |
| 009-5 | 1000     | 96.41   | 79.38   | 35          | W, P  | 4     | 3  |
| 009-6 | 987      | 96.51   | 76.69   | 30          | W, P# | 4     | 3  |

[0218] \*=最初通过较大的过滤器过滤反应物,但转移至较小的烧结漏斗。

[0219] #=滤饼在滤饼边缘具有黄色坚硬特性。

[0220] 过滤时间:滤饼达到半干状态(不湿)的时间

[0221] 滤饼外观:干燥后的滤饼外观,w=白色,y=黄色(滤饼颜色),H=坚硬,P=粉末状

[0222] 浆液迁移性:1=稀薄,流动性很大,2=中等浓稠,流动,3=浓稠,但大部分在冲洗之前转移,4=浓稠,不容易转移,5=非常浓稠,在无新鲜稀释剂的情况下不流动

[0223] 排放(抽吸过滤):1=容易,2=中等,3=困难,4=无

[0224] 实验的赖氨酸盐和液体部分的杂质概况总结于表15中。

[0225] 表15. 杂质概况

[0226]

|       | RRT  | 保留时间  | 峰面积 (%) | 009-1 (盐) | 009-1 (液体) | 009-2 (盐) | 009-2 (液体) | 009-3 (盐) | 009-3 (液体) |
|-------|------|-------|---------|-----------|------------|-----------|------------|-----------|------------|
| IMP 1 | 0.62 | 4.35  | 0.13    | 0.04      | 0.15       | 0.03      | 0.17       | 0.04      | 0.19       |
| IMP 2 | 0.64 | 4.44  | 0.19    | 0.09      | 0.49       | 0.09      | 0.49       | 0.09      | 0.52       |
| IMP 3 | 0.69 | 4.81  | 0.31    | 0.11      | 1.13       | 0.11      | 1.14       | 0.11      | 1.23       |
| IMP 4 | 0.91 | 6.34  | 1.22    | 1.04      | 2.46       | 0.98      | 2.55       | 1.01      | 2.52       |
| HETrE | 1    | 6.97  | 97.3    | 96.69     | 78.09      | 96.73     | 79.28      | 96.66     | 77.39      |
| IMP 5 | 1.03 | 7.2   | 0       | 0.14      | 0.85       | 0.14      | 0.88       | 0.15      | 0.87       |
| IMP 6 | 1.1  | 7.7   | 1.5     | 1.42      | 1.36       | 1.39      | 1.47       | 1.39      | 1.37       |
| IMP 7 | 1.75 | 12.25 | 未知      | 0.23      | 4.44       | 0.25      | 4.24       | 0.26      | 4.45       |

|       | RRT  | 保留时间  | 峰面积 (%) | 009-4 (盐) | 009-4 (液体) | 009-5 (盐) | 009-5 (液体) | 009-6 (盐) | 009-6 (液体) |
|-------|------|-------|---------|-----------|------------|-----------|------------|-----------|------------|
| IMP 1 | 0.62 | 4.35  | 0.13    | 0.04      | 0.22       | 0.05      | 0.23       | 0.03      | 0.32       |
| IMP 2 | 0.64 | 4.44  | 0.19    | 0.13      | 0.49       | 0.13      | 0.51       | 0.04      | 0.52       |
| IMP 3 | 0.69 | 4.81  | 0.31    | 0.14      | 1.1        | 0.07      | 1.17       | 0.14      | 1.18       |
| IMP 4 | 0.91 | 6.34  | 1.22    | 1.01      | 2.54       | 0.99      | 2.57       | 1.06      | 2.61       |
| HETrE | 1    | 6.97  | 97.3    | 96.66     | 79.23      | 96.41     | 79.38      | 96.51     | 76.69      |
| IMP 5 | 1.03 | 7.2   | 0       | 0.14      | 0.89       | 0.12      | 0.84       | 0.14      | 1.14       |
| IMP 6 | 1.1  | 7.7   | 1.5     | 1.39      | 1.56       | 1.46      | 1.5        | 1.39      | 1.46       |
| IMP 7 | 1.75 | 12.25 | 未知      | 0.2       | 4.43       | 0.18      | 4.28       | 0.31      | 4.84       |

[0227] 实施例18. 赖氨酸与15-(S)-HETrE的比率

[0228] 使用实施例16的方案研究了赖氨酸与15-(S)-HETrE的比率的影响。所用的赖氨酸与15-(S)-HETrE的初始比率示于表16中。

[0229] 表16.

| 反应编号  | 溶剂 (非极性) | 溶剂 (极性) | 比率    | 赖氨酸 (摩尔%) |
|-------|----------|---------|-------|-----------|
| 013-1 | 乙酸乙酯     | 甲醇      | 85:15 | 97.5      |
| 013-2 | 乙酸乙酯     | 甲醇      | 85:15 | 95        |
| 013-3 | 乙酸异丙酯    | 甲醇      | 85:15 | 97.5      |
| 013-4 | 乙酸异丙酯    | 甲醇      | 85:15 | 95        |
| 013-5 | 乙酸乙酯     | 甲醇      | 80:20 | 97.5      |
| 013-6 | 乙酸乙酯     | 甲醇      | 80:20 | 95        |

[0231] 六个反应的结果总结于表17中。

[0232] 表17.

[0233]

| 反应编号  | 滤饼重量(mg) | 滤饼纯度(%) | 滤液纯度(%) | 过滤时间近似值(分钟) | 滤饼外观 | 浆液迁移性 | 排放 |
|-------|----------|---------|---------|-------------|------|-------|----|
| 013-1 | 972      | 96.43   | 85.66   | 30          | W, P | 4     | 3  |

[0234]

|       |      |       |       |    |      |   |   |
|-------|------|-------|-------|----|------|---|---|
| 013-2 | 975  | 96.67 | 86.41 | 35 | W, P | 4 | 3 |
| 013-3 | 1011 | 96.83 | 86.73 | 35 | W, P | 4 | 3 |
| 013-4 | 926  | 96.61 | 87.31 | 35 | W, P | 4 | 3 |
| 013-5 | 934  | 96.61 | 86.00 | 30 | W, P | 4 | 3 |
| 013-6 | 827  | 96.47 | 85.85 | 35 | W, P | 4 | 3 |

[0235] 过滤时间:滤饼达到半干状态(不湿)的时间

[0236] 滤饼外观:干燥后的滤饼外观,w=白色,y=黄色(滤饼颜色),H=坚硬,P=粉末状

[0237] 浆液迁移性:1=稀薄,流动性很大,2=中等浓稠,流动,3=浓稠,但大部分在冲洗之前转移,4=浓稠,不容易转移,5=非常浓稠,在无新鲜稀释剂的情况下不流动

[0238] 如表18中所示,通过NMR测定赖氨酸与15-(S)-HETrE的最终比率。

[0239] 表18.

[0240]

| 反应编号  | 赖氨酸峰 | 在5.6 ppm下的峰值 | 差值       | 在6 ppm下的峰值 | 差值       |
|-------|------|--------------|----------|------------|----------|
| 013-1 | 1    | 0.9604       | -0.00785 | 0.9435     | -0.00335 |
| 013-2 | 1    | 0.9653       | -0.00295 | 0.9426     | -0.00425 |
| 013-3 | 1    | 0.9726       | 0.00435  | 0.9591     | 0.01225  |
| 013-4 | 1    | 0.9973       | 0.02905  | 0.9528     | 0.00595  |
| 013-5 | 1    | 0.958        | -0.01025 | 0.9478     | 0.00095  |
| 013-6 | 1    | 0.9559       | -0.01235 | 0.9353     | -0.01155 |
| 平均值=  |      | 0.96825      |          | 0.94685    |          |

[0241] 六个反应的杂质概况示于表19中。

[0242] 表19. 杂质概况

[0243]

|       | RR<br>T | 保留时<br>间 | 峰面积<br>(%) | 013-<br>1<br>(盐<br>) | 013-1<br>(液<br>体) | 013-<br>2<br>(盐<br>) | 013-2<br>(液<br>体) | 013-3<br>(盐<br>) | 013-3<br>(液<br>体) |
|-------|---------|----------|------------|----------------------|-------------------|----------------------|-------------------|------------------|-------------------|
| IMP 1 | 0.62    | 4.35     | 0.20       | 0.06                 | 0.18              | 0.06                 | 0.16              | 0.05             | 0.18              |
| IMP 2 | 0.64    | 4.44     | 0.125      | 0.1                  | 1.44              | 0.10                 | 1.49              | 0.03             | 0.92              |
| IMP 3 | 0.69    | 4.81     | 0.27       | 0.6                  | 1.44              | 0.06                 | 1.48              | 0.04             | 1.42              |
| IMP 4 | 0.91    | 6.34     | 1.30       | 1.11                 | 2.73              | 1.04                 | 2.88              | 1.04             | 2.82              |
| HETrE | 1       | 6.97     | 95.67      | 96.4<br>3            | 85.66             | 96.6<br>7            | 86.41             | 96.83            | 86.73             |
| IMP 5 | 1.03    | 7.2      | 0          | 0.14                 | 0.97              | 0.14                 | 0.92              | 0.13             | 0.93              |
| IMP 6 | 1.1     | 7.7      | 1.44       | 1.41                 | 1.39              | 1.40                 | 1.46              | 1.4              | 1.49              |
| IMP 7 | 1.75    | 12.25    | 0.55       | 0.25                 | 3.97              | ND                   | 3.22              | 0.16             | 2.69              |
|       | RR<br>T | 保留时<br>间 | 峰面积<br>(%) | 013-<br>4<br>(盐<br>) | 013-4<br>(液<br>体) | 013-<br>5<br>(盐<br>) | 013-5<br>(液<br>体) | 013-6<br>(盐<br>) | 013-6<br>(液<br>体) |
| IMP 1 | 0.62    | 4.35     | 0.20       | 0.05                 | 0.28              | 0.05                 | 0.3               | 0.09             | 0.45              |
| IMP 2 | 0.64    | 4.44     | 0.125      | 0.09                 | 0.92              | 0.09                 | 0.98              | 0.11             | 1.66              |
| IMP 3 | 0.69    | 4.81     | 0.27       | 0.05                 | 1.27              | 0.05                 | 1.3               | 0.09             | 1.65              |
| IMP 4 | 0.91    | 6.34     | 1.30       | 1.05                 | 2.84              | 1.02                 | 2.81              | 1.00             | 2.88              |

[0244]

|       |      |       |       |           |       |           |       |       |       |
|-------|------|-------|-------|-----------|-------|-----------|-------|-------|-------|
| HETrE | 1    | 6.97  | 95.67 | 96.6<br>1 | 87.31 | 96.6<br>1 | 86.00 | 96.47 | 85.85 |
| IMP 5 | 1.03 | 7.2   | 0     | 0.13      | 0.89  | 0.13      | 0.92  | 0.14  | 0.86  |
| IMP 6 | 1.1  | 7.7   | 1.44  | 1.37      | 1.53  | 1.32      | 1.32  | 1.31  | 1.43  |
| IMP 7 | 1.75 | 12.25 | 0.55  | 0.18      | 2.05  | 0.21      | 3.04  | 0.25  | 2.72  |

[0245] 实施例19. 在15-(S)-HETrE成盐条件下去除DGLA

[0246] 为了确定成盐条件是否可同时从反应混合物中清除残余DGLA, 将根据表20的各种溶剂体系中的DGLA的量掺杂到15-(S)-HETrE中, 然后根据实施例16添加甲醇赖氨酸。

[0247] 表20.

[0248]

| 反应编号  | 溶剂<br>(非极性) | 溶剂<br>(极性) | 比率    | DGLA (重<br>量%) |
|-------|-------------|------------|-------|----------------|
| 017-1 | 乙酸乙酯        | 甲醇         | 85:15 | 1.25           |
| 017-2 | 乙酸乙酯        | 甲醇         | 85:15 | 2.5            |
| 017-3 | 乙酸乙酯        | 甲醇         | 85:15 | 5              |
| 017-4 | 乙酸异丙酯       | 甲醇         | 85:15 | 1.25           |
| 017-5 | 乙酸异丙酯       | 甲醇         | 85:15 | 2.5            |
| 017-6 | 乙酸异丙酯       | 甲醇         | 85:15 | 5              |

[0249] 六个反应的结果总结于表21中。

[0250] 表21.

[0251]

| 反应编号  | 滤饼重量(mg) | 滤饼纯度(%) | 滤液纯度(%) | 过滤时间近似值(分钟) | 滤饼外观 | 浆液迁移性 | 排放 |
|-------|----------|---------|---------|-------------|------|-------|----|
| 017-1 | 868      | 96.26   | 84.49   | 35          | W, P | 4     | 3  |
| 017-2 | 928      | 96.42   | 81.55   | 35          | W, P | 4     | 3  |
| 017-3 | 880      | 96.36   | 85.09   | 35          | W, P | 4     | 3  |
| 017-4 | 957      | 95.70   | 85.79   | 30          | W, P | 4     | 3  |
| 017-5 | 945      | 95.67   | 83.93   | 30          | W, P | 4     | 3  |
| 017-6 | 976      | 95.92   | 83.05   | 35          | W, P | 4     | 3  |

[0252] 过滤时间:滤饼达到半干状态(不湿)的时间

[0253] 滤饼外观:干燥后的滤饼外观,w=白色,y=黄色(滤饼颜色),H=坚硬,P=粉末状

[0254] 浆液迁移性:1=稀薄,流动性很大,2=中等浓稠,流动,3=浓稠,但大部分在冲洗之前转移,4=浓稠,不容易转移,5=非常浓稠,在无新鲜稀释剂的情况下不流动

[0255] 如表22中所示,通过NMR测定赖氨酸与15-(S)-HETrE的最终比率。

[0256] 表22.

[0257]

| 反应编号  | 赖氨酸峰 | 在5.6 ppm下的峰值 | 差值           | 在6 ppm下的峰值 | 差值           |
|-------|------|--------------|--------------|------------|--------------|
| 017-1 | 1    | 0.9469       | 0.009916667  | 0.9338     | 0.009116667  |
| 017-2 | 1    | 0.9326       | -0.004383333 | 0.9216     | -0.003083333 |
| 017-3 | 1    | 0.9266       | -0.010383333 | 0.9093     | -0.015383333 |
| 017-4 | 1    | 0.9482       | 0.011216667  | 0.9366     | 0.011916667  |
| 017-5 | 1    | 0.9407       | 0.003716667  | 0.9245     | -0.000183333 |

[0258]

|       |   |             |              |             |              |
|-------|---|-------------|--------------|-------------|--------------|
| 017-6 | 1 | 0.9269      | -0.010083333 | 0.9223      | -0.002383333 |
| 平均值=  |   | 0.936983333 |              | 0.924683333 |              |

[0259] 六个反应的杂质数据示于表23中。

[0260] 表23. 杂质数据

[0261]

|       | RRT  | 保留时间  | 峰面积 (%) | 017-1 (盐) | 017-1 (液体) | 017-2 (盐) | 017-2 (液体) | 017-3 (盐) | 017-3 (液体) |
|-------|------|-------|---------|-----------|------------|-----------|------------|-----------|------------|
| IMP 1 | 0.62 | 4.35  | 0.20    | 0.04      | 0.18       | 0.05      | 0.22       | 0.04      | 0.18       |
| IMP 2 | 0.64 | 4.44  | 0.12    | 0.15      | 21.4       | 0.16      | 2.55       | 0.13      | 2.20       |
| IMP 3 | 0.69 | 4.81  | 0.27    | 0.22      | 2.07       | 0.22      | 2.44       | 0.21      | 2.14       |
| IMP 4 | 0.91 | 6.34  | 1.30    | 1.07      | 2.78       | 1.08      | 2.89       | 1.01      | 2.86       |
| HETrE | 1    | 6.97  | 95.67   | 96.29     | 84.49      | 96.42     | 81.55      | 96.36     | 85.09      |
| IMP 5 | 1.03 | 7.2   | 0       | 0.09      | 0.84       | 0.07      | 1.07       | 0.07      | 0.78       |
| IMP 6 | 1.1  | 7.7   | 1.44    | 1.49      | 1.65       | 1.62      | 1.63       | 1.62      | 1.65       |
| IMP 7 | 1.75 | 12.25 | 0.55    | 0.21      | 2.95       | 0.17      | 3.51       | 0.17      | 2.32       |

|       | RRT  | 保留时间  | 峰面积 (%) | 017-4 (盐) | 017-4 (液体) | 017-5 (盐) | 017-5 (液体) | 017-6 (盐) | 017-6 (液体) |
|-------|------|-------|---------|-----------|------------|-----------|------------|-----------|------------|
| IMP 1 | 0.62 | 4.35  | 0.20    | 0.06      | 0.28       | 0.06      | 0.37       | 0.06      | 0.34       |
| IMP 2 | 0.64 | 4.44  | 0.125   | 0.10      | 3.52       | 0.31      | 4.12       | 0.20      | 4.17       |
| IMP 3 | 0.69 | 4.81  | 0.27    | 0.24      | 3.39       | 0.30      | 3.95       | 0.30      | 3.98       |
| IMP 4 | 0.91 | 6.34  | 1.30    | 1.34      | 2.92       | 1.11      | 3.21       | 1.03      | 3.18       |
| HETrE | 1    | 6.97  | 95.67   | 95.70     | 85.79      | 95.67     | 83.93      | 95.92     | 83.01      |
| IMP 5 | 1.03 | 7.2   | 0       | 0.08      | 0.77       | 0.10      | 0.95       | 0.07      | 0.93       |
| IMP 6 | 1.1  | 7.7   | 1.44    | 1.62      | 1.71       | 1.76      | 1.56       | 1.57      | 1.58       |
| IMP 7 | 1.75 | 12.25 | 0.55    | 0.23      | 0.2        | 0.06      | 0.03       | 0.17      | 0.04       |

[0262] 如表24中所示,通过CAD测定15-(S)-HETrE赖氨酸盐的DGLA含量。

[0263] 表24. 15-(S)-HETrE赖氨酸盐的DGLA含量

[0264]

| 反应编号  | 掺入的DGLA (w/w) | 样品浓度 (mg/mL) | 峰面积     | 盐中的DGLA (测定值) (w/w) |
|-------|---------------|--------------|---------|---------------------|
| DGLA  |               | 0.1625       | 3449760 |                     |
| 017-1 | 1.25          | 1.51         | 244710  | 0.76                |
| 017-2 | 2.5           | 1.5          | 448768  | 1.41                |
| 017-3 | 5             | 1.47         | 954206  | 3.06                |
| 017-4 | 1.25          | 1.49         | 233803  | 0.74                |
| 017-5 | 2.5           | 1.63         | 523225  | 1.51                |
| 017-6 | 5             | 1.59         | 1003375 | 2.97                |

[0265] 实施例20. 再制浆实验

[0266] 进行实验来确定在暴露于乙酸乙酯后15-(S)-HETrE与赖氨酸的比率是否将改变。将15-(S)-HETrE赖氨酸盐(100mg)悬浮在HPLC级乙酸乙酯(1mL)中并在室温下剧烈搅拌过夜。然后如先前实施例中所述过滤悬浮液。起始15-(S)-HETrE赖氨酸盐(“制浆前”)和制浆的过滤盐(“再制浆后”)的杂质概况示于表25中。

[0267] 表25.

[0268]

|       | RRT  | 保留时间 | 再制浆前 | 再制浆后 |
|-------|------|------|------|------|
| IMP 1 | 0.62 | 4.35 | 0.04 | 0.16 |

|       |      |       |       |       |
|-------|------|-------|-------|-------|
| IMP 2 | 0.64 | 4.44  | 0.09  | 0.39  |
| IMP 3 | 0.69 | 4.81  | 0.11  | 0.16  |
| IMP 4 | 0.91 | 6.34  | 1.01  | 1.08  |
| HETrE | 1    | 6.97  | 96.66 | 95.69 |
| IMP 5 | 1.03 | 7.2   | 0.15  | 0.07  |
| IMP 6 | 1.1  | 7.7   | 1.39  | 1.47  |
| IMP 7 | 1.75 | 12.25 | 0.26  | 0.11  |

[0269] NMR光谱分析证实15-(S)-HETrE:赖氨酸的比率无变化。

[0270] 实施例21.15-(S)-HETrE赖氨酸盐的溶剂诱导降解

[0271] 进行实验来确定15-(S)-HETrE赖氨酸盐当与乙酸乙酯或甲醇接触时的降解(如果存在的话)。将15-(S)-HETrE赖氨酸盐(100mg)溶解在溶剂(1mL)中并搅拌过夜。所得混合物相比于原始15-(S)-HETrE赖氨酸盐的UPLC分析示于表26中。

[0272] 表26.

[0273]

|       | RRT  | 保留时间  | 峰面积(%) | 在甲醇中  | 在乙酸乙酯中 |
|-------|------|-------|--------|-------|--------|
| IMP 1 | 0.62 | 4.35  | 0.20   | 0.03  | 0.05   |
| IMP 2 | 0.64 | 4.44  | 0.12   | 0.24  | 0.86   |
| IMP 3 | 0.69 | 4.81  | 0.27   | 0.45  | 0.96   |
| IMP 4 | 0.91 | 6.34  | 1.30   | 1.16  | 1.30   |
| HETrE | 1    | 6.97  | 95.67  | 95.40 | 94.20  |
| IMP 5 | 1.03 | 7.2   | 0      | 0.13  | 0.29   |
| IMP 6 | 1.1  | 7.7   | 1.44   | 1.34  | 1.35   |
| IMP 7 | 1.75 | 12.25 | 0.55   | 0.31  | 0.14   |

[0274] 实施例22.接种时间选择

[0275] 进行实验来确定有效添加晶种的时间选择。设置与实施例16类似的两个实验。将溶解在乙酸乙酯中的15-(S)-HETrE以总乙酸乙酯进料百分比形式添加(参见表27),并且添加至赖氨酸水合物(399±2mg)于甲醇(1.2mL)中的搅拌悬浮液中并观测一段时间。

[0276] 表27.

[0277]

| 实验 | 15-(S)-HETrE(进料%) |
|----|-------------------|
| 1  | 10                |
| 2  | 20                |

[0278] 在实验1和2的每个中,向赖氨酸悬浮液添加15-(S)-HETrE溶液产生粘稠非流动悬

[0279] 浮液。

[0280] 实施例23.15-(S)-HETrE甲酯的制备

[0281] 通过将15-(S)-HETrE(100mg)、碳酸钾(129mg,3当量)和碘代甲烷(220mg,5当量)组合在DMF(0.5mL)中来制备15-(S)-HETrE甲酯。将混合物在室温下搅拌18小时。在用水(5mL)淬灭后,用MtBE(2×5mL)萃取有机相并且将合并的有机相用盐水(5mL)洗涤,干燥并浓缩。

[0282] 实施例24.15-(S)-HETrE赖氨酸盐的制备

[0283] 进行一系列实验来确定各种工艺参数。

[0284] 反应021-A:悬浮在甲醇中的L-赖氨酸

[0285] 将L-赖氨酸单水合物(798±2mg)悬浮在充氮的50mL三颈圆底烧瓶(RBF)中的脱气甲醇(3.2mL)中。将15-(S)-HETrE(1606±2mg)溶解在脱气乙酸乙酯(12.8mL)中并添加至赖氨酸的搅拌悬浮液。随后添加晶种(100mg)并在250rpm下搅拌过夜。将悬浮液在氮气下通过3号烧结玻璃漏斗(40mm直径)过滤并用乙酸乙酯(12mL,3×4mL)份洗涤。

[0286] 反应021-B:悬浮在乙酸乙酯中的L-赖氨酸

[0287] 将L-赖氨酸单水合物(798±2mg)悬浮在充氮的50mL三颈RBF中的脱气乙酸乙酯(12.8mL)中。将15-(S)-HETrE(1606±2mg)溶解在脱气甲醇(3.2mL)中并添加至赖氨酸的搅拌悬浮液。随后添加晶种(100mg)并在250rpm下搅拌过夜。将悬浮液在氮气下通过3号烧结玻璃漏斗(40mm直径)过滤并用乙酸乙酯(12mL,3×4mL)份洗涤。

[0288] 反应021-C:添加热15-(S)-HETrE

[0289] 如上述进行实验,不同之处在于将15-(S)-HETrE溶液加热至45℃,然后添加至赖氨酸悬浮液中。

[0290] 反应021-D:向热赖氨酸悬浮液添加15-(S)-HETrE

[0291] 如上述进行实验,不同之处在于将赖氨酸悬浮液加热至45℃持续15分钟以平衡,然后添加15-(S)-HETrE溶液。然后添加晶种(100mg),并且将混合物搅拌5分钟并使其在油浴中冷却至室温。

[0292] 反应021-E:不添加晶种

[0293] 进行与反应021-D相同的实验,不同之处在于不添加晶种。

[0294] 反应021-F:另外的温度循环

[0295] 利用如下另一种温度循环来重复反应021-E:在45℃下发生成盐后,将混合物冷却至20℃,然后再加热至45℃并保持2小时。最后冷却至20℃过夜。

[0296] 反应021-G:另外的搅拌时间

[0297] 重复反应021-E,不同之处在于将混合物从45℃冷却至20℃并搅拌6小时,然后收集15-(S)-HETrE赖氨酸盐。

[0298] 反应021-A至021-G的结果示于表28中。

[0299] 表28.

[0300]

| 反应编号  | 比率    | 滤饼重量(mg) | 滤饼纯度(%) | 过滤时间近似值(分钟) | 滤饼外观               | 浆液迁移性 | 排放 |
|-------|-------|----------|---------|-------------|--------------------|-------|----|
| 021-A | 80:20 | 1672     | 95.34   | 15          | W, P               | 4     | 3  |
| 021-B | 80:20 | 1587     | 95.24   | 15          | Y, H (当滤饼破裂时为W, P) | 4     | 3  |

[0301]

|       |       |      |       |       |                    |               |   |
|-------|-------|------|-------|-------|--------------------|---------------|---|
| 021-C | 80:20 | 1509 | 94.99 | 15    | Y, H (当滤饼破裂时为W, P) | 4             | 3 |
| 021-D | 80:20 | 1678 | 95.06 | 10-12 | W, P               | 2 (可从RBF倾倒浆液) | 2 |
| 021-E | 80:20 | 1627 | 95.21 | 10-12 | Y, H (当滤饼破裂时为W, P) | 2             | 2 |
| 021-F | 80:20 | 1498 | 94.20 | 10-12 | Y, H (当滤饼破裂时为W, P) | 2             | 2 |
| 021-G | 80:20 | 1680 | 94.94 | 15    | W, P (黄色外壳)        | 2             | 2 |

[0302] 如表29中所示,通过NMR测定赖氨酸与15-(S)-HETrE的比率。

[0303] 表29.

[0304]

| 反应编号  | 赖氨酸峰 | 在5.6 ppm下的峰值 | 差值      | 在6 ppm下的峰值  | 差值       |
|-------|------|--------------|---------|-------------|----------|
| 021-A | 1    | 0.9454       | 0.0157  | 0.9034      | 0.00054  |
| 021-B | 1    | 0.9581       | 0.0284  | 0.9221      | 0.01924  |
| 021-C | 1    | 0.8764       | -0.0533 | 0.8629      | -0.03996 |
| 021-D | 1    | 0.9249       | -0.0048 | 0.9154      | 0.01254  |
| 021-E | 1    | 0.915        | -0.0147 | 0.8928      | -0.01006 |
| 021-F | 1    | 0.92         | -0.0097 | 0.9016      | -0.00126 |
| 021-G | 1    | 0.9681       | 0.9681  | 0.9218      | 0.92180  |
| 平均值=  |      | 0.9297       |         | 0.902857143 |          |

[0305] 每个反应的杂质概况示于表30中。

[0306] 表30. 杂质概况

[0307]

|           | RR<br>T | 保留<br>时间 | 峰面<br>积<br>(%) | 021-<br>A | 021-<br>B | 021-<br>C | 021-<br>D | 021-<br>E | 021-<br>F | 021-G<br>(盐) | 021-<br>G(液<br>体) |
|-----------|---------|----------|----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|--------------|-------------------|
| IMP 1     | 0.62    | 4.35     | 0.12           | 0.17      | 0.22      | 0.24      | 0.19      | 0.17      | 0.27      | ND           | 0.74              |
| IMP 2     | 0.64    | 4.44     | 0.51           | 0.08      | 0.12      | 0.10      | 0.08      | 0.18      | 0.20      | 0.24         | 1.38              |
| IMP 3     | 0.66    | 4.64     | 0.89           | 0.33      | 0.44      | 0.40      | 0.38      | 0.44      | 0.55      | 0.52         | 3.57              |
| IMP 4     | 0.69    | 4.81     | 0.13           | 0.18      | 0.22      | 0.23      | 0.21      | 0.18      | 0.28      | 0.26         | 0.57              |
| IMP 5     | 0.72    | 4.99     | 1.29           | 0.19      | 0.24      | 0.2       | 0.19      | 0.31      | 0.44      | 0.46         | 3.94              |
| IMP 6     | 0.85    | 5.92     | 0.16           | 0.08      | 0.08      | 0.13      | 0.09      | 0.08      | 0.12      | 0.08         | 0.57              |
| IMP 7     | 0.91    | 6.34     | 1.17           | 1.06      | 0.75      | 0.95      | 1.08      | 0.98      | 0.96      | 1.01         | 1.91              |
| IMP 8     | 0.98    | 6.84     | 0.29           | 0.09      | 0.29      | 0.16      | 0.11      | 0.14      | 0.14      | 0.89         | 0.51              |
| HETr<br>E | 1       | 6.97     | 91.3<br>8      | 95.34     | 95.24     | 94.99     | 95.06     | 95.21     | 94.20     | 94.94        | 69.51             |
| IMP 9     | 1.03    | 7.32     | 0.18           | 0.15      | 0.13      | 0.14      | 0.16      | 0.16      | 0.15      | 0.16         | 0.85              |
| IMP<br>10 | 1.1     | 7.41     | 0.23           | 1.41      | 1.32      | 1.26      | 1.39      | 1.24      | 1.30      | 1.36         | 1.00              |

[0308]

|           |      |           |      |      |      |      |      |      |      |      |      |
|-----------|------|-----------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| IMP<br>11 | 1.75 | 12.2<br>5 | 0.88 | 0.18 | 0.11 | 0.23 | 0.25 | 0.25 | 0.38 | 0.31 | 6.63 |
|-----------|------|-----------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|

[0309] 将反应021-D中制备的盐(400mg)在乙酸乙酯/甲醇(80/20,2mL)中在以下条件下再

[0310] 制浆:

[0311] 021-D-A:在20℃下搅拌6小时。

[0312] 021-D-B:在使温度从20℃匀变到45℃的同时搅拌,然后在45℃下搅拌2小时,然后冷却至20℃(总搅拌时间:6小时)。

[0313] NMR和杂质数据分别示于表31和表32中。

[0314] 表31.

| 反应      | 赖氨酸峰 | 在 5.6 ppm<br>下的峰值 | 差值       | 在 6 ppm 下<br>的峰值 | 差值       |
|---------|------|-------------------|----------|------------------|----------|
| 021-D-A | 1    | 1.1043            | 0.03065  | 03.9818          | -0.00765 |
| 021-D-B | 1    | 1.043             | -0.03065 | 0.9971           | 0.00765  |
| 平均值=    |      | 1.07365           |          | 0.98945          |          |

[0316] 表32.

|              | RRT  | 保留时间  | 峰面积(%)<br>021-D | 021-D-A | 021-D-B |
|--------------|------|-------|-----------------|---------|---------|
| [0317] IMP 1 | 0.62 | 4.35  | 0.19            | 0.22    | 0.22    |
| IMP 2        | 0.64 | 4.44  | 0.08            | 0.05    | 0.05    |
| IMP 3        | 0.66 | 4.64  | 0.38            | 0.36    | 0.35    |
| IMP 4        | 0.69 | 4.81  | 0.21            | 0.23    | 0.21    |
| IMP 5        | 0.72 | 4.99  | 0.19            | 0.11    | 0.10    |
| IMP 6        | 0.85 | 5.92  | 0.09            | 0.08    | 0.08    |
| IMP 7        | 0.91 | 6.34  | 1.08            | 1.09    | 1.04    |
| IMP 8        | 0.98 | 6.84  | 0.11            | 0.09    | 0.09    |
| HETrE        | 1    | 6.97  | 95.06           | 95.50   | 95.64   |
| IMP 9        | 1.03 | 7.32  | 0.16            | 0.16    | 0.16    |
| IMP 10       | 1.1  | 7.41  | 1.39            | 1.42    | 1.37    |
| IMP 11       | 1.75 | 12.25 | 0.25            | 0.16    | 0.18    |

[0318] 重复反应021-D和021-E,其中使用加压过滤器进行最终盐的过滤。盐的产率和纯度、NMR数据和杂质概况分别示于表33-35中。

[0319] 表33.

| 实验           | 滤饼重量(mg) | 滤饼纯度(%) | 过滤时间近似值(分钟) | 滤饼外观                | 浆液迁移性 | 排放 |
|--------------|----------|---------|-------------|---------------------|-------|----|
| [0320] 029-A | 1795     | 94.10   | 15          | Y, H<br>(当研磨时为白色粉末) | 2     | 2  |
| [0321] 029-B | 1933     | 93.83   | 15          | Y, H<br>(当研磨时为白色粉末) | 2     | 2  |

[0322] 表34.

[0323]

| 实验    | 赖氨酸峰 | 在5.6 ppm下的峰值 | 差值       | 在6 ppm下的峰值 | 差值       |
|-------|------|--------------|----------|------------|----------|
| 029-A | 1    | 1.0165       | 0.00035  | 0.9869     | -0.00070 |
| 029-B | 1    | 1.0158       | -0.00035 | 0.9883     | 0.00070  |
| 平均值=  |      | 1.01615      |          | 0.9876     |          |

[0324] 表35.

[0325]

|        | RRT  | 保留时间  | 峰面积 (%) | 029-A (盐) | 029-A (液体) | 029-B (盐) | 029-B (液体) |
|--------|------|-------|---------|-----------|------------|-----------|------------|
| IMP 1  | 0.62 | 4.35  | 0.12    | 0.23      | 0.93       | 0.27      | 0.93       |
| IMP 2  | 0.64 | 4.44  | 0.51    | 0.32      | 1.37       | 0.29      | 1.37       |
| IMP 3  | 0.66 | 4.64  | 0.89    | 0.67      | 3.67       | 0.74      | 3.73       |
| IMP 4  | 0.69 | 4.81  | 0.13    | 0.24      | 0.99       | 0.29      | 0.99       |
| IMP 5  | 0.72 | 4.99  | 1.29    | 0.77      | 3.97       | 0.33      | 3.78       |
| IMP 6  | 0.85 | 5.92  | 0.16    | 0.02      | 1.01       | 0.02      | 0.96       |
| IMP 7  | 0.91 | 6.34  | 1.17    | 1.05      | 1.93       | 1.06      | 1.95       |
| IMP 8  | 0.98 | 6.84  | 0.29    | 0.26      | 0.65       | 0.21      | 0.65       |
| HETrE  | 1    | 6.97  | 91.38   | 94.10     | 65.65      | 93.83     | 66.17      |
| IMP 9  | 1.03 | 7.32  | 0.18    | 0.19      | 0.13       | 0.18      | 0.13       |
| IMP 10 | 1.1  | 7.41  | 1.41    | 1.42      | 1.26       | 1.34      | 1.36       |
| IMP 11 | 1.75 | 12.25 | 0.88    | 0.36      | 6.99       | 0.01      | 6.92       |

[0326] 实施例25. 洗涤溶剂

[0327] 进行实验来确定不同洗涤溶剂(参见表36)对15-(S)-HETrE赖氨酸盐的产率和纯度的影响。

[0328] 表36.

[0329]

| 实验    | 洗涤溶剂           | 滤饼重量(mg) | 滤饼纯度(%) | 过滤时间近似值(分钟) | 滤饼外观                | 浆液迁移性 | 排放 |
|-------|----------------|----------|---------|-------------|---------------------|-------|----|
| 023-A | 乙酸乙酯:甲醇(80/20) | 777      | 94.32   | 10          | Y, H<br>(当研磨时为白色粉末) | 2     | 2  |
| 023-B | 乙酸乙酯           | 826      | 94.10   | 10          | Y, H<br>(当研磨时为白色粉末) | 2     | 2  |
| 023-C | 甲醇             | 760      | 94.34   | 10          | Y, H<br>(当研磨时为白色粉末) | 2     | 2  |

[0330]

|  |  |  |  |  |     |  |  |
|--|--|--|--|--|-----|--|--|
|  |  |  |  |  | 粉末) |  |  |
|--|--|--|--|--|-----|--|--|

[0331] NMR和杂质数据分别示于表37和38中。

[0332] 表37.

[0333]

| 实验    | 赖氨酸峰 | 在5.6 ppm下的<br>峰值 | 差值           | 在6 ppm下的<br>峰值 | 差值       |
|-------|------|------------------|--------------|----------------|----------|
| 023-A | 1    | 1.0124           | 0.000933333  | 0.9814         | -0.00707 |
| 023-B | 1    | 1.0104           | -0.001066667 | 0.9965         | 0.00803  |
| 023-C | 1    | 1.0116           | 0.000133333  | 0.9875         | -0.00097 |
| 平均值=  |      | 1.011466667      |              | 0.988466667    |          |

[0334] 表38.

|        | RRT  | 保留时间  | 峰面积<br>(%) | 023-A | 023-B | 023-C |
|--------|------|-------|------------|-------|-------|-------|
| IMP 1  | 0.62 | 4.35  | 0.12       | 0.01  | 0.01  | 0.01  |
| IMP 2  | 0.64 | 4.44  | 0.51       | 0.38  | 0.38  | 0.38  |
| IMP 3  | 0.66 | 4.64  | 0.89       | 0.66  | 0.65  | 0.62  |
| IMP 4  | 0.69 | 4.81  | 0.13       | 0.40  | 0.40  | 0.40  |
| IMP 5  | 0.72 | 4.99  | 1.29       | 0.48  | 0.48  | 0.51  |
| IMP 6  | 0.85 | 5.92  | 0.16       | 0.03  | 0.02  | 0.04  |
| IMP 7  | 0.91 | 6.34  | 1.17       | 1.00  | 1.07  | 1.18  |
| IMP 8  | 0.98 | 6.84  | 0.29       | 0.23  | 0.21  | 0.21  |
| HETrE  | 1    | 6.97  | 91.38      | 94.32 | 94.10 | 94.34 |
| IMP 9  | 1.03 | 7.32  | 0.18       | 0.18  | 0.18  | 0.19  |
| IMP 10 | 1.1  | 7.41  | 1.41       | 1.4   | 1.40  | 1.49  |
| IMP 11 | 1.75 | 12.25 | 0.88       | 0.33  | 0.47  | 0.52  |

[0336] 实施例26. 乙酸异丙酯

[0337] 进行实验来检查在使15-(S)-HETrE暴露于乙酸异丙酯后是否将观测到任何降解。将15-(S)-HETrE (100mg) 溶解在乙酸异丙酯 (1mL) 中并搅拌过夜。将此直接取样用于UPLC分析(表39)。

[0338] 表39.

[0339]

|        | RRT  | 保留时间  | 峰面积(%) | 实施例26 |
|--------|------|-------|--------|-------|
| IMP 1  | 0.62 | 4.35  | 0.12   | 0.22  |
| IMP 2  | 0.64 | 4.44  | 0.51   | 1.48  |
| IMP 3  | 0.66 | 4.64  | 0.89   | 1.47  |
| IMP 4  | 0.69 | 4.81  | 0.13   | 0.19  |
| IMP 5  | 0.72 | 4.99  | 1.29   | 3.02  |
| IMP 6  | 0.85 | 5.92  | 0.16   | 0.43  |
| IMP 7  | 0.91 | 6.34  | 1.17   | 1.56  |
| IMP 8  | 0.98 | 6.84  | 0.29   | 0.62  |
| HETrE  | 1    | 6.97  | 91.38  | 85.56 |
| IMP 9  | 1.03 | 7.32  | 0.18   | 0.28  |
| IMP 10 | 1.1  | 7.41  | 1.41   | 1.79  |
| IMP 11 | 1.75 | 12.25 | 0.88   | 1.14  |

[0340] 实施例27. 半纯化和粗制15-(S)-HETrE的赖氨酸盐形成

[0341] 进行实验来确定盐形成对15-(S)-HETrE原料纯度的影响。基于如通过UPLC分析所测定的15-(S)-HETrE纯度来调整所用赖氨酸的量。将15-(S)-HETrE (10g) 装载在预湿柱上并用环己烷: MtBE (50:50) (350mL) 洗脱直至15-(S)-HETrE斑点根据TLC不再是显而易见的。将相关级分浓缩。产率和纯度数据示于表40中; NMR和杂质概况分别示于表41-42中。

[0342] 表40.

[0343]

| 实验    | 15-(S)-HE TrE  | 滤饼重量(mg) | 滤饼纯度 (%) | 过滤时间近似值(分钟) | 滤饼外观             | 浆液迁移性 | 排放 |
|-------|----------------|----------|----------|-------------|------------------|-------|----|
| 027-A | 粗制 (91.6% 纯度)  | 1896     | 94.75    | 7           | Y, H (当研磨时为白色粉末) | 2     | 1  |
| 027-B | 半纯化 (92.3% 纯度) | 1820     | 95.37    | 15          | Y, H (当研磨时为白色粉末) | 2     | 2  |

[0344] 表41.

[0345]

| 实验    | 赖氨酸峰 | 在5.6 ppm 下的峰值 | 差值      | 在6 ppm 下的峰值 | 差值       |
|-------|------|---------------|---------|-------------|----------|
| 027-A | 1    | 1.0014        | -0.0082 | 0.994       | -0.01140 |
| 027-B | 1    | 1.0178        | 0.0082  | 1.0168      | 0.01140  |
| 平均值=  |      | 1.0096        |         | 1.0054      |          |

[0346] 表42.

[0347]

|        | RRT  | 保留时间  | 峰面积 (粗), % | 027-A (盐) | 027-A (液体) | 峰面积 (半纯化), % | 027-B (盐) | 027-B (液体) |
|--------|------|-------|------------|-----------|------------|--------------|-----------|------------|
| IMP 1  | 0.62 | 4.35  | 0.05       | 0.07      | 0.52       | 0.09         | 0.03      | 0.26       |
| IMP 2  | 0.64 | 4.44  | 0.05       | 0.05      | 0.34       | 0.10         | 0.05      | 0.2        |
| IMP 3  | 0.66 | 4.64  | 0.55       | 0.57      | 15.68      | 0.63         | 0.24      | 18.84      |
| IMP4   | 0.69 | 4.81  | 0.13       | 0.17      | 0.63       | 0.14         | 0.12      | 0.62       |
| IMP 5  | 0.72 | 4.99  | 0.15       | 0.15      | 0.84       | 0.1          | 0.27      | 0.14       |
| IMP 6  | 0.85 | 5.92  | 0.84       | 0.14      | 17.40      | 0.08         | 0.09      | 21.78      |
| IMP 7  | 0.91 | 6.34  | 1.18       | 1.09      | 0.95       | 1.09         | 1.14      | 0.56       |
| IMP 8  | 0.98 | 6.84  | 0.05       | 0.01      | 0.98       | 0.01         | 0.01      | 0.02       |
| HETrE  | 1    | 6.97  | 91.6       | 94.75     | 28.09      | 92.3         | 95.37     | 20.37      |
| IMP 9  | 1.03 | 7.32  | 0.31       | 0.1       | 5.50       | 0.36         | 0.19      | 6.45       |
| IMP 10 | 1.1  | 7.41  | 1.48       | 1.38      | 7.21       | 1.46         | 1.45      | 8.58       |
| IMP 11 | 1.75 | 12.25 | 0.35       | 0.24      | 4.88       | 0.56         | 0.43      | 5.68       |

[0348] 实施例28. 在0°C下的成盐

[0349] 将L-赖氨酸单水合物 (820mg) 悬浮在25mL RBF中的乙酸乙酯 (脱气, 3.2mL) 中并加

热至45℃。将15-(S)-HETrE (1606±2mg) 溶解在甲醇 (12.8mL) 中并添加至赖氨酸的搅拌悬浮液。使悬浮液在油浴中冷却至室温并且然后将烧瓶转移至水浴并经一段时间冷却至0℃，此后将其再搅拌2小时。通过压力过滤收集盐并用母液洗涤。产率和过滤性能数据示于表43中。

[0350] 表43.

|        | 滤饼重量 (mg) | 滤饼纯度 (%) | 过滤时间近似值(分钟) | 滤饼外观                   | 浆液迁移性 | 排放 |
|--------|-----------|----------|-------------|------------------------|-------|----|
| [0351] | 2009      | 未说明      | 7-10        | W, P (当进一步干燥时是坚硬和浅黄色的) | 2     | 1  |

[0352] 实施例29. 在甲醇或乙醇中的成盐

[0353] 将L-赖氨酸单水合物 (399±2mg) 悬浮在20mL snap cap小瓶中的1.6mL甲醇 (反应031-A) 或乙醇 (反应031-B) 中, 将15-(S)-HETrE (803±2mg) 溶解在相同的醇 (6.4mL) 中并添加至赖氨酸的搅拌悬浮液, 并在250rpm下搅拌过夜。在甲醇溶剂体系中未观测到成盐。用来自先前实验的盐接种不诱导成盐。在乙醇体系中形成赖氨酸盐。产率和纯度数据示于表44中; NMR和杂质概况分别示于表45-46中。

[0354] 表44.

[0355]

| 实验    | 溶剂 | 滤饼重量(mg) | 滤饼纯度(%) | 过滤时间近似值(分钟) | 滤饼外观             | 浆液迁移性 | 排放 |
|-------|----|----------|---------|-------------|------------------|-------|----|
| 031-B | 乙醇 | 833      | 93.13   | 10          | Y, H (当研磨时为白色粉末) | 2     | 2  |

[0356] 表45.

[0357]

| 实验    | 赖氨酸峰 | 在5.6 ppm下的峰值 | 差值 | 在6 ppm下的峰值 | 差值 |
|-------|------|--------------|----|------------|----|
| 031-B | 1    | 1.03         | -  | 1.002      | -  |

[0358] 表46.

|              | RRT  | 保留时间 | 峰面积(%) | 031-B (盐) | 031-B (液体) |
|--------------|------|------|--------|-----------|------------|
| [0359] IMP 1 | 0.62 | 4.35 | 0.12   | 0.31      | 1.88       |
| IMP 2        | 0.64 | 4.44 | 0.51   | 0.60      | 1.62       |
| IMP 3        | 0.66 | 4.64 | 0.89   | 0.62      | 4.32       |
| IMP 4        | 0.69 | 4.81 | 0.13   | 0.34      | 1.73       |
| IMP 5        | 0.72 | 4.99 | 1.29   | 0.49      | 3.39       |
| IMP 6        | 0.85 | 5.92 | 0.16   | 0.01      | 0.56       |
| IMP 7        | 0.91 | 6.34 | 1.17   | 1.01      | 1.76       |

|              |      |       |       |       |       |
|--------------|------|-------|-------|-------|-------|
| [0360] IMP 8 | 0.98 | 6.84  | 0.29  | 0.02  | 0.27  |
| HETrE        | 1    | 6.97  | 91.38 | 93.13 | 71.78 |
| IMP 9        | 1.03 | 7.32  | 0.18  | 0.15  | 0.59  |
| IMP 10       | 1.1  | 7.41  | 1.41  | 1.39  | 1.19  |
| IMP 11       | 1.75 | 12.25 | 0.88  | 0.60  | 3.6   |

[0361] 实施例30. 来自各种15-(S)-HETrE原料的杂质概况

[0362] 根据与实施例16一致的方法从具有不同纯度水平的15-(S)-HETrE原料(下文缩写为“FA”)来制备15-(S)-HETrE赖氨酸盐。如通过UPLC所测定,所得赖氨酸盐(下文缩写为“HLS”)的杂质概况示于表47中。

[0363] 表47. 杂质概况

[0364]

|        | 保留时间  | 纯化FA  | HLS-1 | 半纯化FA | HLS-2 | 粗制FA  | HLS-3 | 注释  |
|--------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-----|
| IMP 1  | 4.35  | 0.01  | 0.04  | 0.01  | 0.03  | 0.05  | 0.07  |     |
| IMP 2  | 4.44  | 0.10  | 0.06  | 0.09  | 0.06  | 0.06  | 0.05  |     |
| IMP 3  | 4.64  | 0.16  | 0.09  | 0.10  | 0.11  | 0.62  | 0.56  |     |
| IMP 4  | 4.81  | 0.02  | 0.04  | 0.63  | 0.24  | 0.78  | 0.18  |     |
| IMP 5  | 4.89  | 0.01  | 0.03  | 0.01  | 0.02  | 0.14  | 0.17  |     |
| IMP 6  | 4.99  | 0.29  | 0.11  | 0.13  | 0.07  | 0.16  | 0.11  |     |
| IMP 7  | 5.44  | -     | -     | 0.02  | 0.04  | 0.06  | 0.01  | (1) |
| IMP 8  | 5.53  | -     | -     | 0.06  | 0.03  | 0.07  | 0.05  | (1) |
| IMP 9  | 5.92  | 0.14  | 0.02  | 0.79  | 0.27  | 0.84  | 0.14  | (2) |
| IMP 10 | 6.34  | 0.03  | 0.03  | 0.03  | 0.03  | 0.04  | 0.04  |     |
| IMP 11 | 6.46  | 1.3   | 1.04  | 1.14  | 1.13  | 1.22  | 1.09  |     |
| HETrE  | 6.97  | 95.37 | 96.69 | 92.28 | 94.27 | 91.63 | 94.61 |     |
| IMP 12 | 7.32  | 0.10  | 0.14  | 0.17  | 0.19  | 0.20  | 0.09  |     |
| IMP 13 | 7.41  | 0.10  | 0.05  | 0.37  | 0.15  | 0.42  | 0.10  | (2) |
| IMP 14 | 7.78  | 1.43  | 1.42  | 1.48  | 1.44  | 1.49  | 1.38  |     |
| IMP 15 | 7.98  | -     | -     | 0.34  | 0.02  | 0.55  | 0.02  | (1) |
| IMP 16 | 8.311 | -     | -     | 0.04  | -     | 0.04  | 0.04  | (1) |
| IMP 17 | 8.57  | -     | -     | 0.1   | 0.08  | 0.10  | 0.07  | (1) |
| IMP 18 | 9.57  | -     | -     | 0.07  | 0.07  | 0.06  | 0.04  | (1) |
| IMP 19 | 9.67  | -     | -     | 0.09  | 0.07  | 0.09  | 0.09  | (1) |
| IMP 20 | 9.77  | -     | -     | 0.35  | 0.29  | 0.35  | 0.16  | (1) |
| IMP 21 | 9.93  | -     | -     | 0.09  | 0.06  | 0.09  | 0.01  | (1) |
| IMP 22 | 10.31 | -     | -     | 0.24  | 0.17  | 0.24  | 0.19  | (1) |
| IMP 23 | 12.11 | 0.56  | 0.23  | 0.56  | 0.43  | 0.34  | 0.24  |     |

[0365] 表47注释:

[0366] (1) 在柱色谱法期间清除的杂质。

- [0367] (2) 在成盐后浓度降低的杂质。
- [0368] 其他实施例
- [0369] 其他实施例1:一种15-脂氧合酶产物的盐。
- [0370] 其他实施例2:如其他实施例1所述的盐,其中所述盐是药学上可接受的盐。
- [0371] 其他实施例3:如其他实施例1或其他实施例2所述的盐,其中所述盐包含所述15-脂氧合酶产物的赖氨酸盐。
- [0372] 其他实施例4:如其他实施例1至3中的任一项所述的盐,其中所述盐包含所述15-脂氧合酶产物的钠盐。
- [0373] 其他实施例5:如其他实施例1至4中的任一项所述的盐,其中所述盐包含所述15-脂氧合酶产物的鸟氨酸盐。
- [0374] 其他实施例6:如其他实施例1至5中的任一项所述的盐,其中所述盐包含所述15-脂氧合酶产物的哌嗪盐。
- [0375] 其他实施例7:如其他实施例1至6中的任一项所述的盐,其中所述盐包含所述15-脂氧合酶产物的葡甲胺盐。
- [0376] 其他实施例8:如其他实施例1至7中的任一项所述的盐,其还包含呈游离酸形式的所述15-脂氧合酶产物。
- [0377] 其他实施例9:如其他实施例1至8中的任一项所述的盐,其中所述盐选自:钠、赖氨酸、鸟氨酸、哌嗪、葡甲胺和其组合。
- [0378] 其他实施例10:如其他实施例1至9中的任一项所述的盐,其中所述盐是钠。
- [0379] 其他实施例11:如其他实施例1至9中的任一项所述的盐,其中所述盐是赖氨酸。
- [0380] 其他实施例12:如其他实施例1至9中的任一项所述的盐,其中所述盐是鸟氨酸。
- [0381] 其他实施例13:如其他实施例1至9中的任一项所述的盐,其中所述盐是哌嗪。
- [0382] 其他实施例14:如其他实施例1至9中的任一项所述的盐,其中所述盐是葡甲胺。
- [0383] 其他实施例15:如其他实施例1至14中的任一项所述的盐,其中所述15-脂氧合酶产物选自:13-HODE、15-HETrE、15-OHEPA、15-HETE和其组合。
- [0384] 其他实施例16:如其他实施例1至15中的任一项所述的盐,其中所述15-脂氧合酶产物是13-HODE。
- [0385] 其他实施例17:如其他实施例1至15中的任一项所述的盐,其中所述15-脂氧合酶产物是15-HETrE。
- [0386] 其他实施例18:如其他实施例1至15中的任一项所述的盐,其中所述15-脂氧合酶产物是15-OHEPA。
- [0387] 其他实施例19:如其他实施例1至15中的任一项所述的盐,其中所述15-脂氧合酶产物是15-HETE。
- [0388] 其他实施例20:一种13-过氧羟基十八碳-9Z,11E-二烯酸钠盐。
- [0389] 其他实施例21:一种13-过氧羟基十八碳-9Z,11E-二烯酸赖氨酸盐。
- [0390] 其他实施例22:一种13-过氧羟基十八碳-9Z,11E-二烯酸鸟氨酸盐。
- [0391] 其他实施例23:一种13-过氧羟基十八碳-9Z,11E-二烯酸哌嗪盐。
- [0392] 其他实施例24:一种13-过氧羟基十八碳-9Z,11E-二烯酸葡甲胺盐。
- [0393] 其他实施例25:一种15-过氧羟基-二十碳-8(Z),11(Z),13(E)-三烯酸钠盐。

- [0394] 其他实施例26:一种15-过氧羟基-二十碳-8(Z),11(Z),13(E)-三烯酸赖氨酸盐。
- [0395] 其他实施例27:一种15-过氧羟基-二十碳-8(Z),11(Z),13(E)-三烯酸鸟氨酸盐。
- [0396] 其他实施例28:一种15-过氧羟基-二十碳-8(Z),11(Z),13(E)-三烯酸哌嗪盐。
- [0397] 其他实施例29:一种15-过氧羟基-二十碳-8(Z),11(Z),13(E)-三烯酸葡甲胺盐。
- [0398] 其他实施例30:一种15-过氧羟基-二十碳-5(Z),8(Z),11(Z),13(E),17(Z)-五烯酸钠盐。
- [0399] 其他实施例31:一种15-过氧羟基-二十碳-5(Z),8(Z),11(Z),13(E),17(Z)-五烯酸赖氨酸盐。
- [0400] 其他实施例32:一种15-过氧羟基-二十碳-5(Z),8(Z),11(Z),13(E),17(Z)-五烯酸鸟氨酸盐。
- [0401] 其他实施例33:一种15-过氧羟基-二十碳-5(Z),8(Z),11(Z),13(E),17(Z)-五烯酸哌嗪盐。
- [0402] 其他实施例34:一种15-过氧羟基-二十碳-5(Z),8(Z),11(Z),13(E),17(Z)-五烯酸葡甲胺盐。
- [0403] 其他实施例35:一种15-过氧羟基-5,8,11,13-二十碳四烯酸钠盐。
- [0404] 其他实施例36:一种15-过氧羟基-5,8,11,13-二十碳四烯酸赖氨酸盐。
- [0405] 其他实施例37:一种15-过氧羟基-5,8,11,13-二十碳四烯酸鸟氨酸盐。
- [0406] 其他实施例38:一种15-过氧羟基-5,8,11,13-二十碳四烯酸哌嗪盐。
- [0407] 其他实施例39:一种15-过氧羟基-5,8,11,13-二十碳四烯酸葡甲胺盐。
- [0408] 其他实施例40:一种13-过氧羟基十八碳-9Z,11E-二烯酸钠盐。
- [0409] 其他实施例41:一种13-羟基十八碳-9Z,11E-二烯酸赖氨酸盐。
- [0410] 其他实施例42:一种13-羟基十八碳-9Z,11E-二烯酸鸟氨酸盐。
- [0411] 其他实施例43:一种13-羟基十八碳-9Z,11E-二烯酸哌嗪盐。
- [0412] 其他实施例44:一种13-羟基十八碳-9Z,11E-二烯酸葡甲胺盐。
- [0413] 其他实施例45:一种15-羟基-二十碳-8(Z),11(Z),13(E)-三烯酸钠盐。
- [0414] 其他实施例46:一种15-羟基-二十碳-8(Z),11(Z),13(E)-三烯酸赖氨酸盐。
- [0415] 其他实施例47:一种15-羟基-二十碳-8(Z),11(Z),13(E)-三烯酸鸟氨酸盐。
- [0416] 其他实施例48:一种15-羟基-二十碳-8(Z),11(Z),13(E)-三烯酸哌嗪盐。
- [0417] 其他实施例49:一种15-羟基-二十碳-8(Z),11(Z),13(E)-三烯酸葡甲胺盐。
- [0418] 其他实施例50:一种15-羟基-二十碳-5(Z),8(Z),11(Z),13(E),17(Z)-五烯酸钠盐。
- [0419] 其他实施例51:一种15-羟基-二十碳-5(Z),8(Z),11(Z),13(E),17(Z)-五烯酸赖氨酸盐。
- [0420] 其他实施例52:一种15-羟基-二十碳-5(Z),8(Z),11(Z),13(E),17(Z)-五烯酸鸟氨酸盐。
- [0421] 其他实施例53:一种15-羟基-二十碳-5(Z),8(Z),11(Z),13(E),17(Z)-五烯酸哌嗪盐。
- [0422] 其他实施例54:一种15-羟基-二十碳-5(Z),8(Z),11(Z),13(E),17(Z)-五烯酸葡甲胺盐。

- [0423] 其他实施例55:一种15-羟基-5,8,11,13-二十碳四烯酸钠盐。
- [0424] 其他实施例56:一种15-羟基-5,8,11,13-二十碳四烯酸赖氨酸盐。
- [0425] 其他实施例57:一种15-羟基-5,8,11,13-二十碳四烯酸鸟氨酸盐。
- [0426] 其他实施例58:一种15-羟基-5,8,11,13-二十碳四烯酸哌嗪盐。
- [0427] 其他实施例59:一种15-羟基-5,8,11,13-二十碳四烯酸葡甲胺盐。
- [0428] 其他实施例60:一种组合物,其包含如其他实施例1至59中的任一项所述的盐。
- [0429] 其他实施例61:一种药物组合物,其包含15-脂氧合酶产物的盐形式。
- [0430] 其他实施例62:如其他实施例61所述的药物组合物,其中所述15-脂氧合酶产物的盐形式包含如其他实施例1至59中的任一项所述的盐。
- [0431] 其他实施例63:如其他实施例61或其他实施例62所述的药物组合物,其还包含赋形剂。
- [0432] 其他实施例64:如其他实施例61至63中的任一项所述的药物组合物,其中在储存至少约4周后,所述药物组合物包含至少约98%、至少约99%或约100%的初始量的所述15-脂氧合酶产物的盐形式。
- [0433] 其他实施例65:如其他实施例61至64中的任一项所述的药物组合物,其中在储存至少约10周后,所述药物组合物包含至少约90%、至少约91%、至少约92%、至少约93%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%、至少约99%或约100%的初始量的所述15-脂氧合酶产物的盐形式。
- [0434] 其他实施例66:如其他实施例61至65中的任一项所述的药物组合物,其中在储存至少约24周后,所述药物组合物包含至少约86%、至少约87%、至少约88%、至少约89%、至少约90%、至少约91%、至少约92%、至少约93%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%、至少约99%或约100%的初始量的所述15-脂氧合酶产物的盐形式。
- [0435] 其他实施例67:如其他实施例64至66中的任一项所述的药物组合物,其中所述药物组合物被储存在2-8℃下、在20℃下、在25℃下或在40℃下。
- [0436] 其他实施例68:如其他实施例64至67中的任一项所述的药物组合物,其中所述药物组合物被储存在60%RH下或在75%RH下。
- [0437] 其他实施例69:如其他实施例61至68中的任一项所述的药物组合物,其中所述药物组合物包含治疗有效量的所述15-脂氧合酶产物的盐。
- [0438] 其他实施例70:如其他实施例69所述的药物组合物,其中所述15-脂氧合酶产物的盐形式的所述治疗有效量是约0.1重量%至约20重量%。
- [0439] 其他实施例71:如其他实施例61至70中的任一项所述的药物组合物,其中所述药物组合物呈适合局部施用的形式。
- [0440] 其他实施例72:如其他实施例61至71中的任一项所述的药物组合物,其中所述15-脂氧合酶产物的盐形式是所述药物组合物中的唯一显著活性成分或唯一活性成分。
- [0441] 其他实施例73:如其他实施例61至71中的任一项所述的药物组合物,其还包含另一种活性剂。
- [0442] 其他实施例74:如其他实施例73所述的药物组合物,其中所述15-脂氧合酶产物的盐形式和所述另外的活性剂被共配制成单一剂量单位。
- [0443] 其他实施例75:如其他实施例73所述的药物组合物,其中所述15-脂氧合酶产物的

盐形式和所述另外的活性剂被配制成至少两种剂量单位以用于配合、组合或相伴施用。

[0444] 其他实施例76:一种治疗有需要的个体中的疾病或病症的方法,所述方法包括向所述个体施用如其他实施例61至75中的任一项所述的药物组合物。

[0445] 其他实施例77:如其他实施例76所述的方法,其中所述疾病或病症选自:痤疮、红斑、感染、脂肪肝、神经病和皮肤炎症。

[0446] 其他实施例78:如其他实施例76或其他实施例77所述的方法,其中所述药物组合物以足以提供治疗有效量的所述15-脂氧合酶产物的盐形式的量施用至所述个体。

[0447] 其他实施例79:如其他实施例78所述的方法,其中所述治疗有效量是约0.001毫克/千克/天至约100毫克/千克/天。

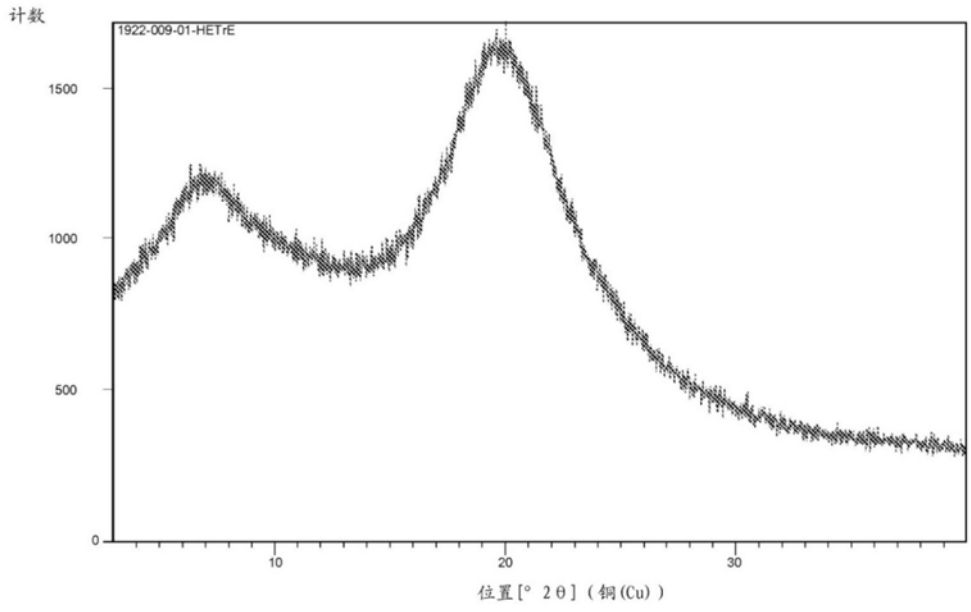


图1

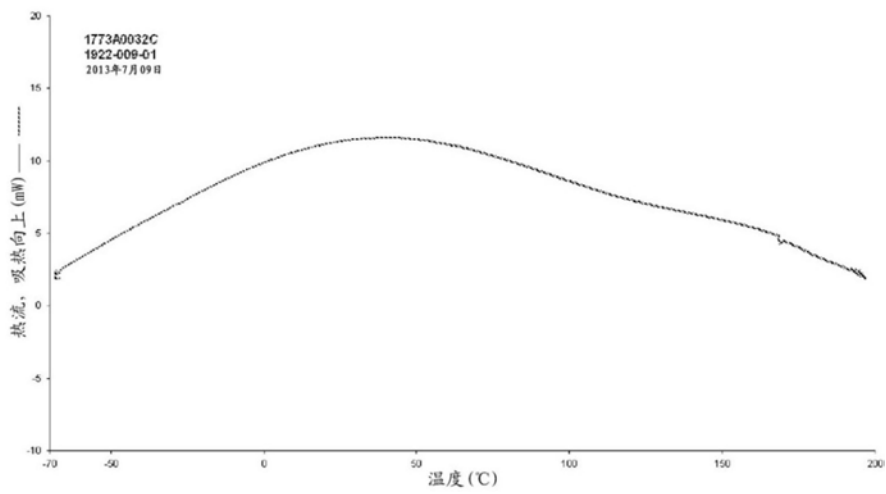


图2



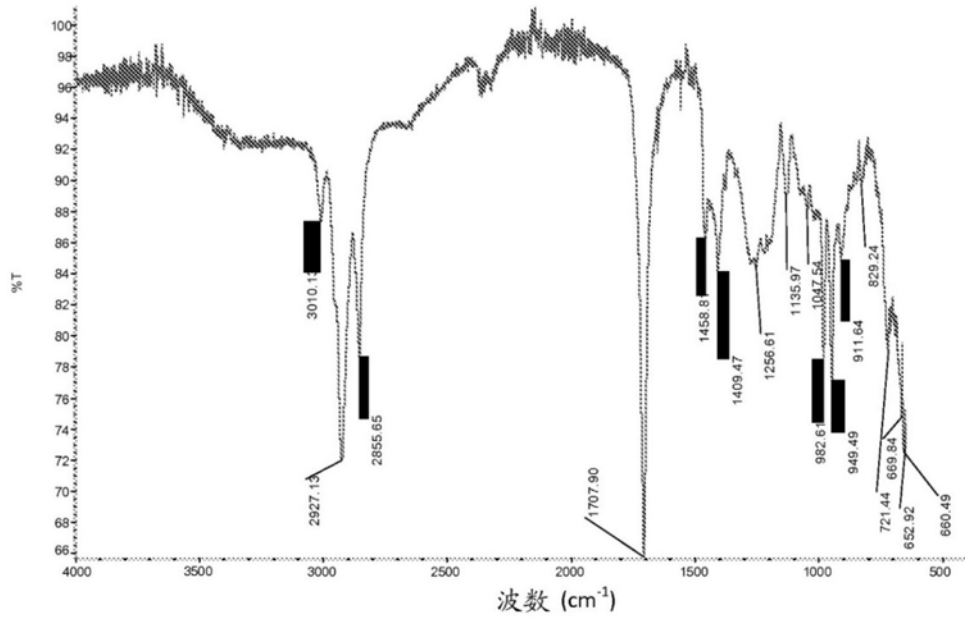


图5

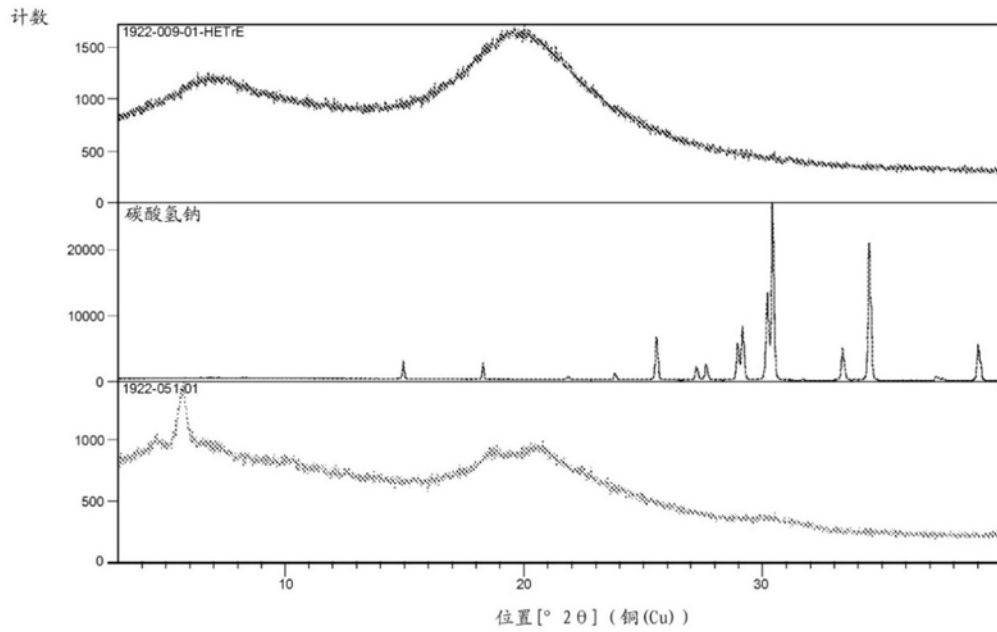


图6

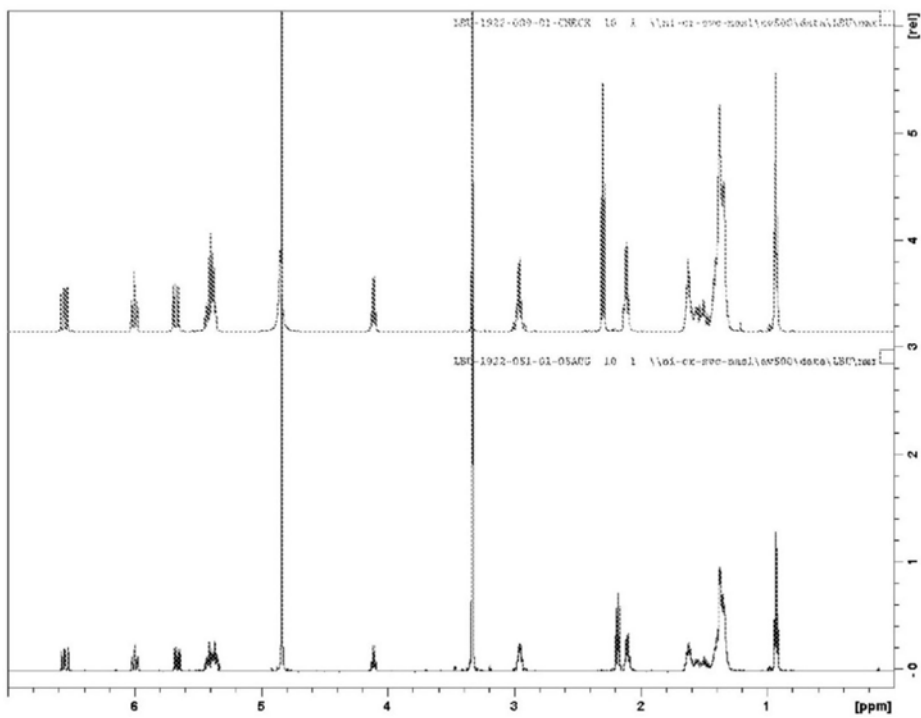


图7

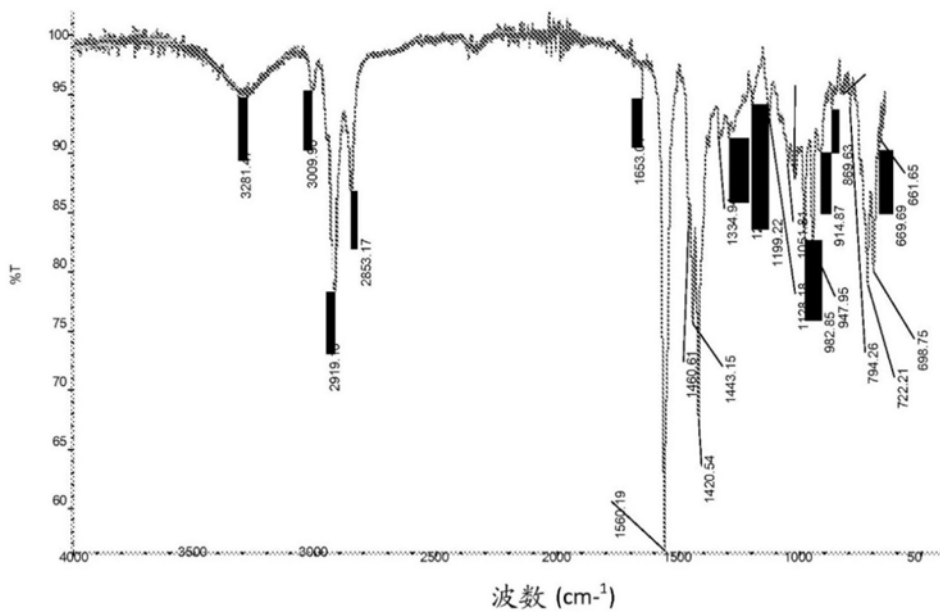


图8

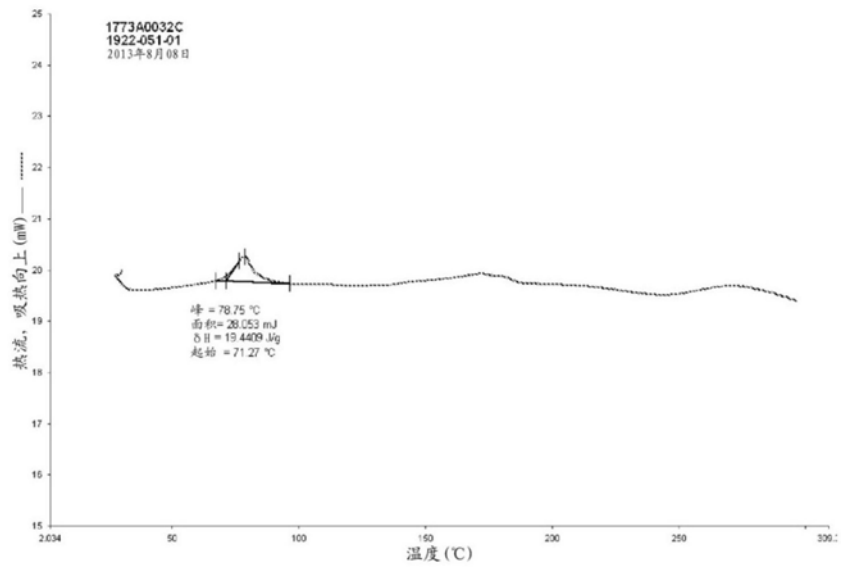


图9

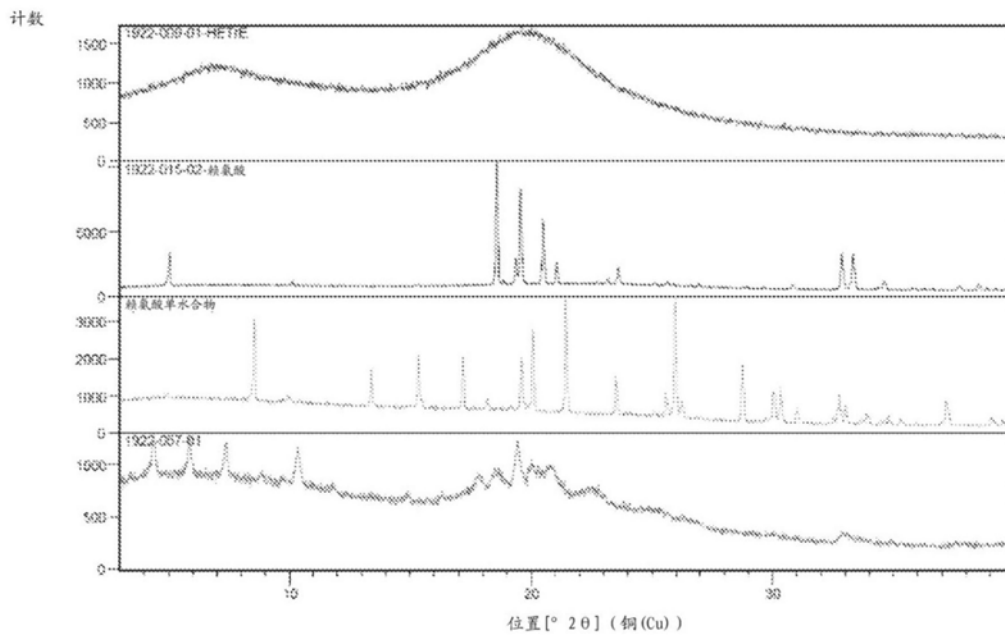


图10

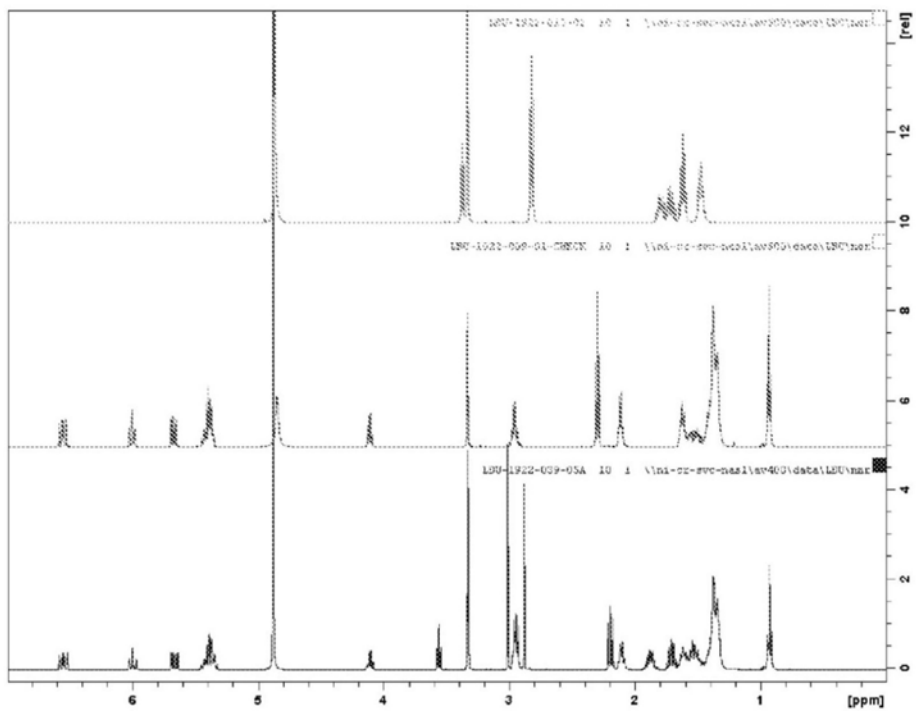


图11

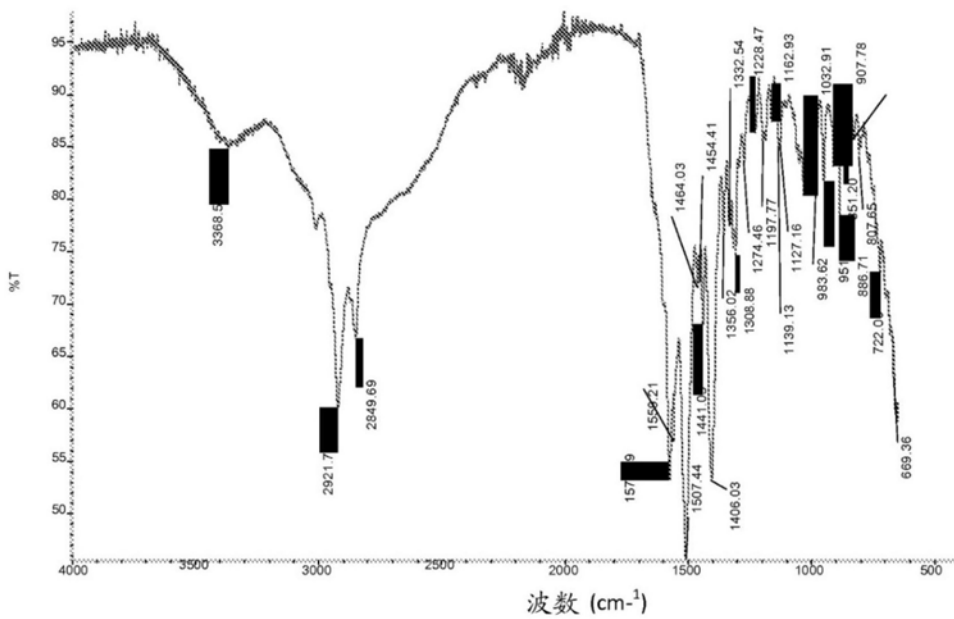


图12

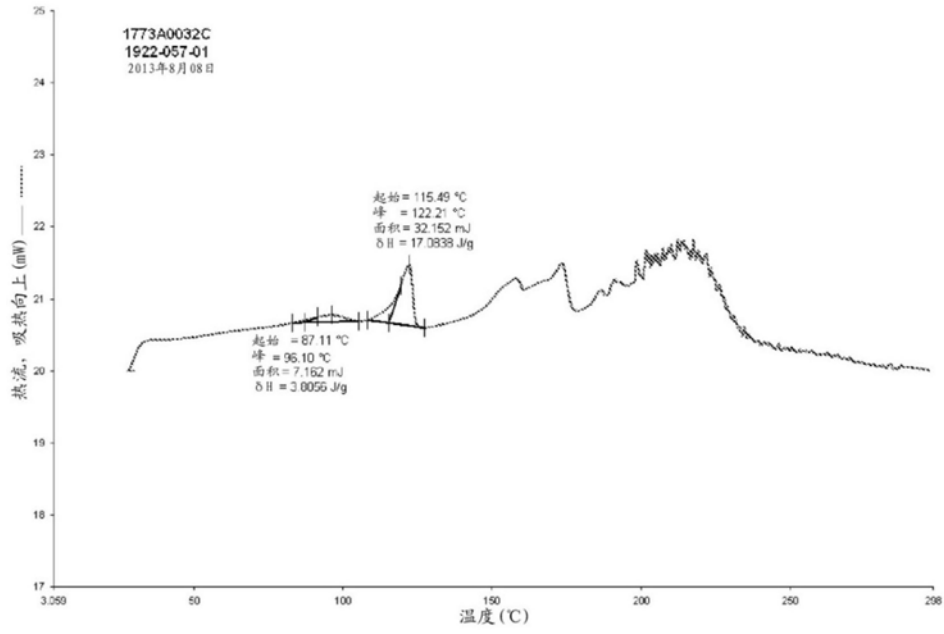


图13

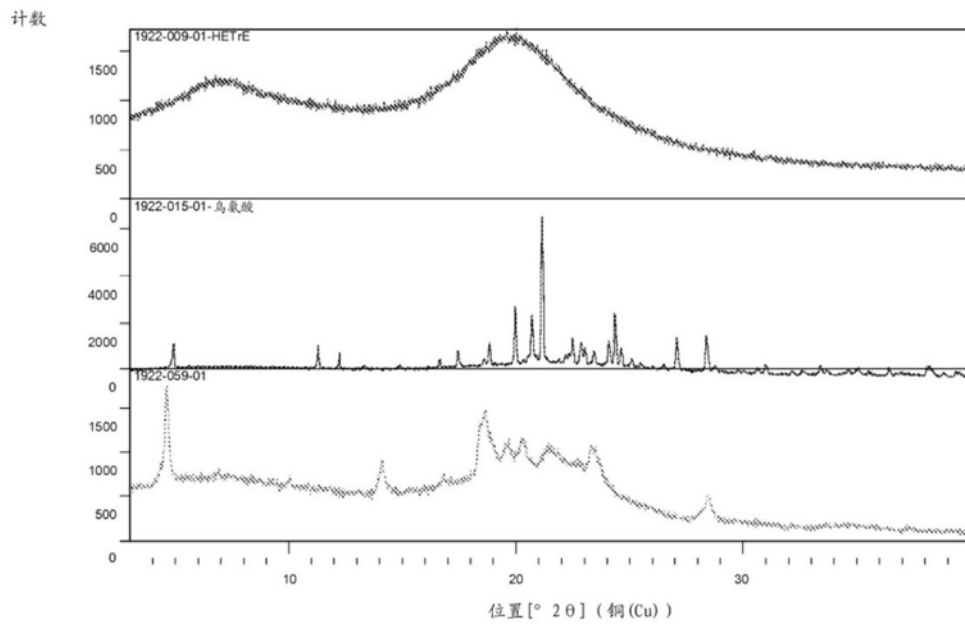


图14

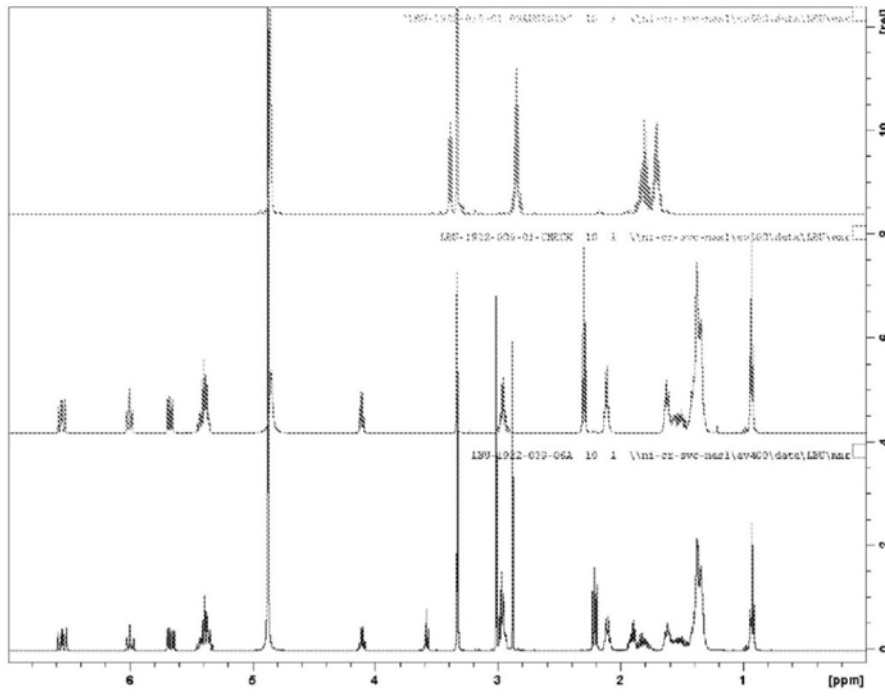


图15

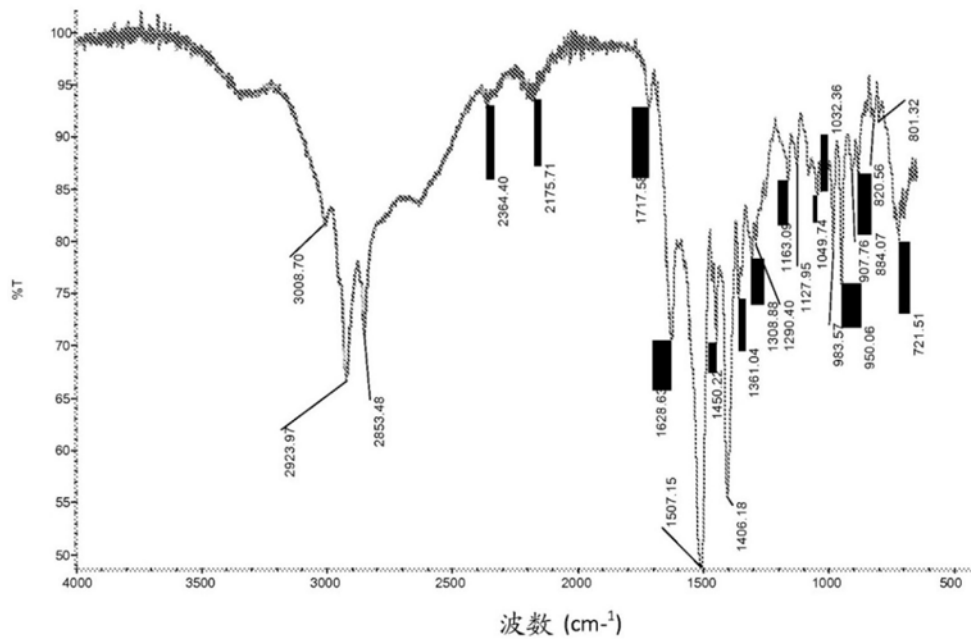


图16

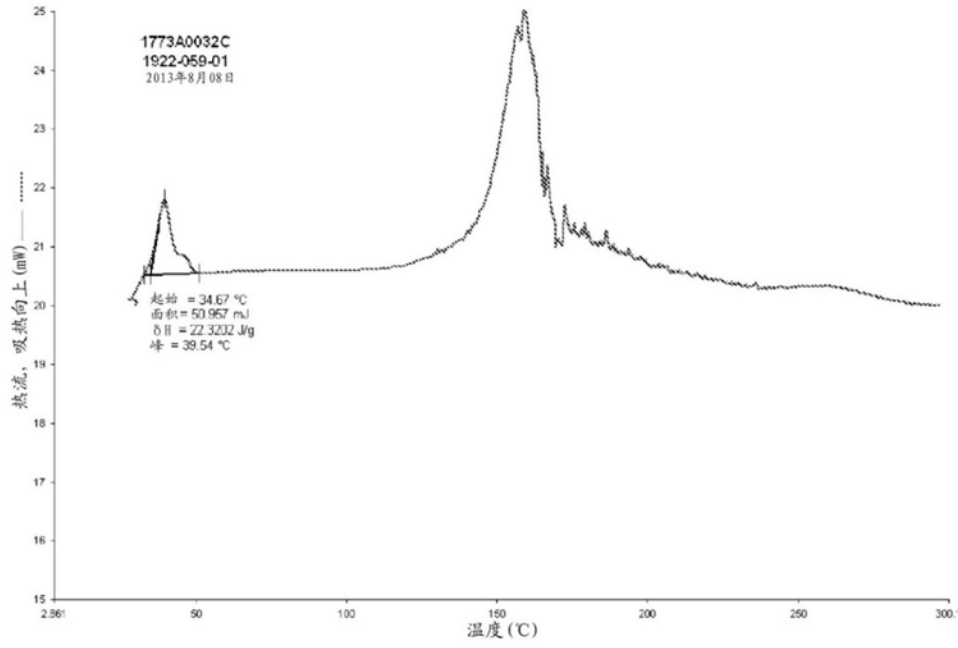


图17

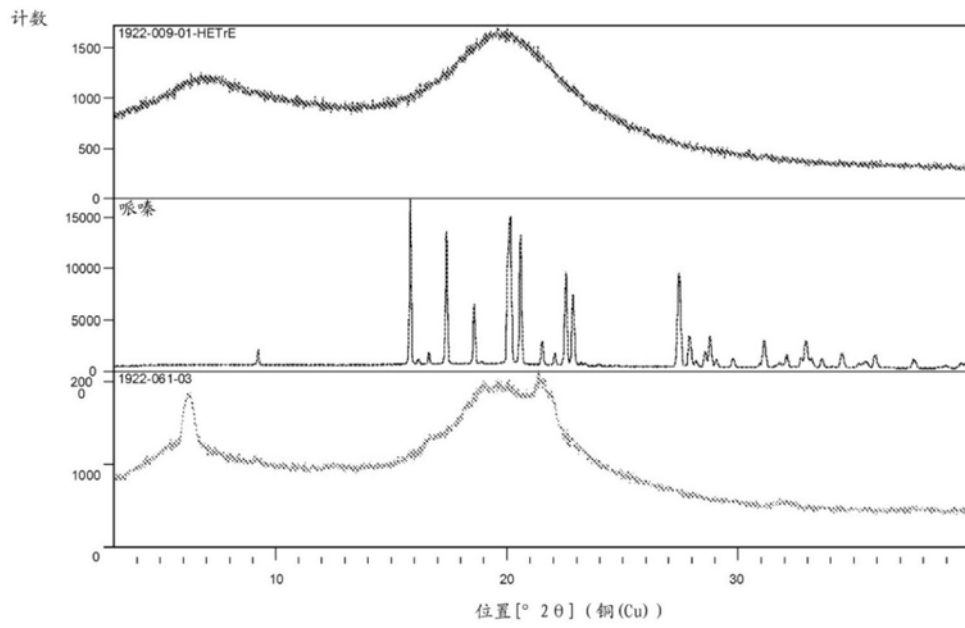


图18

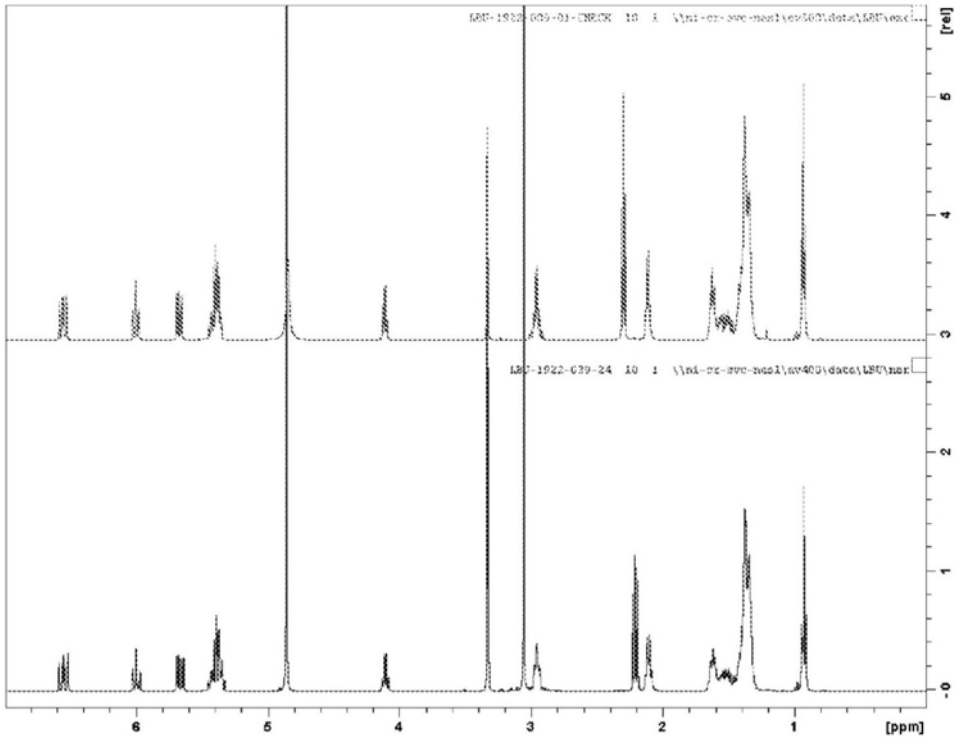


图19

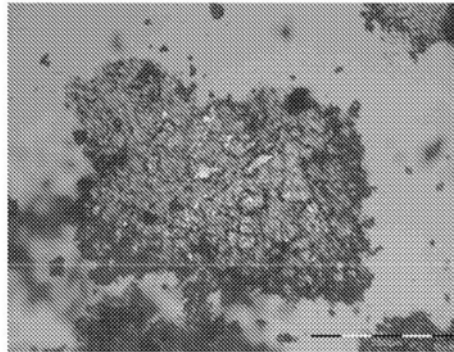


图20A

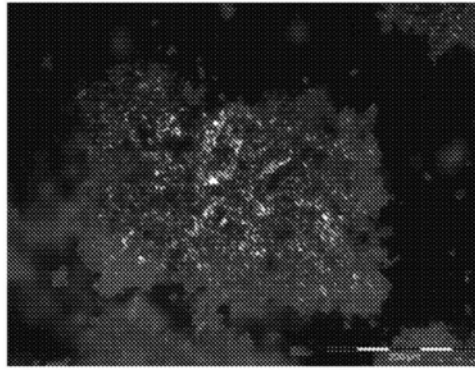


图20B

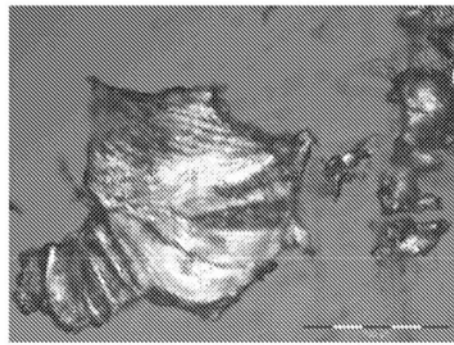


图20C

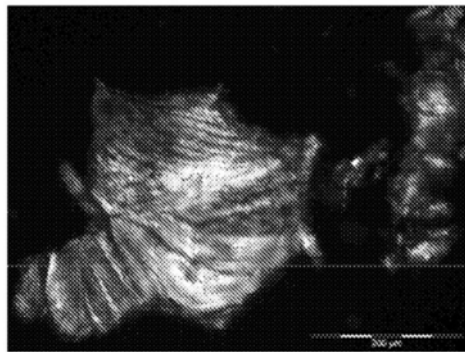


图20D

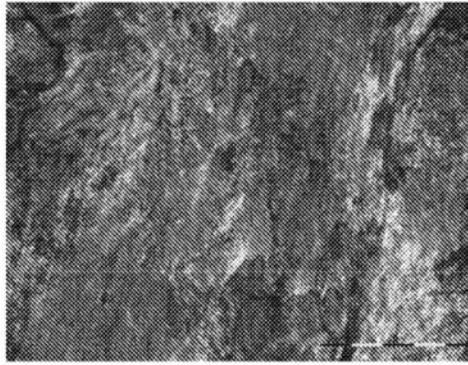


图20E

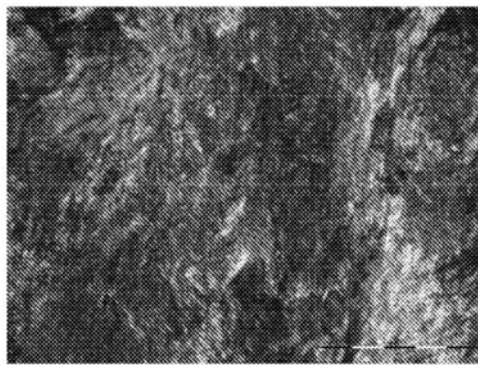


图20F

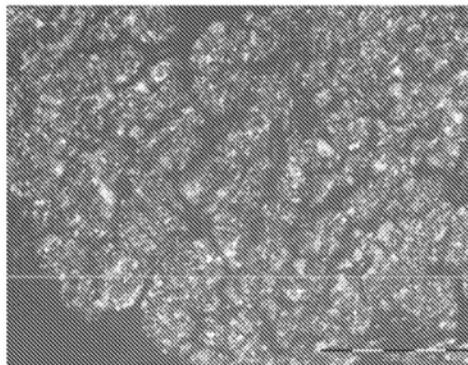


图20G

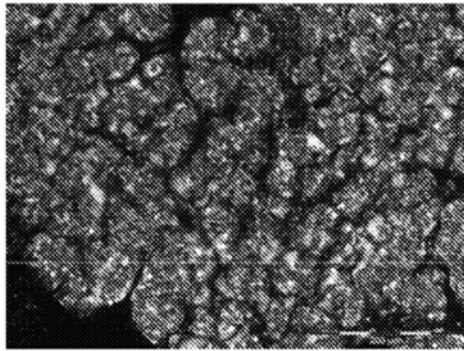


图20H

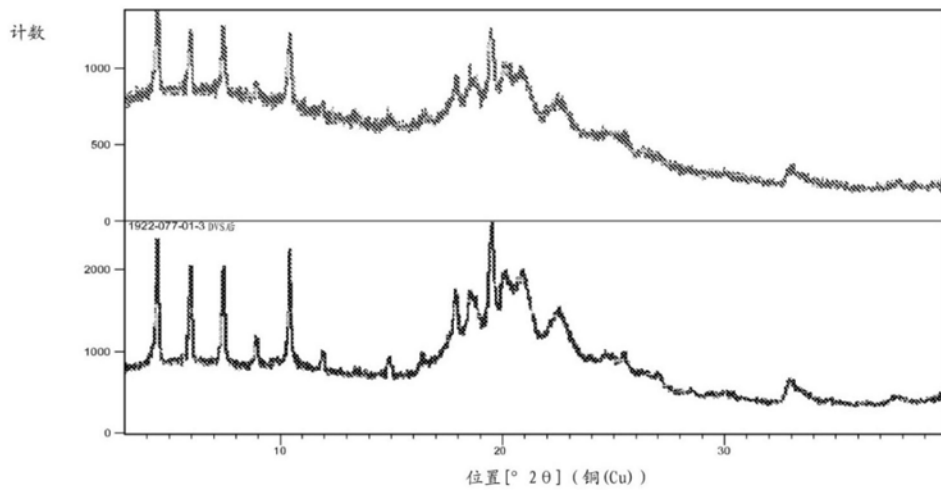


图21

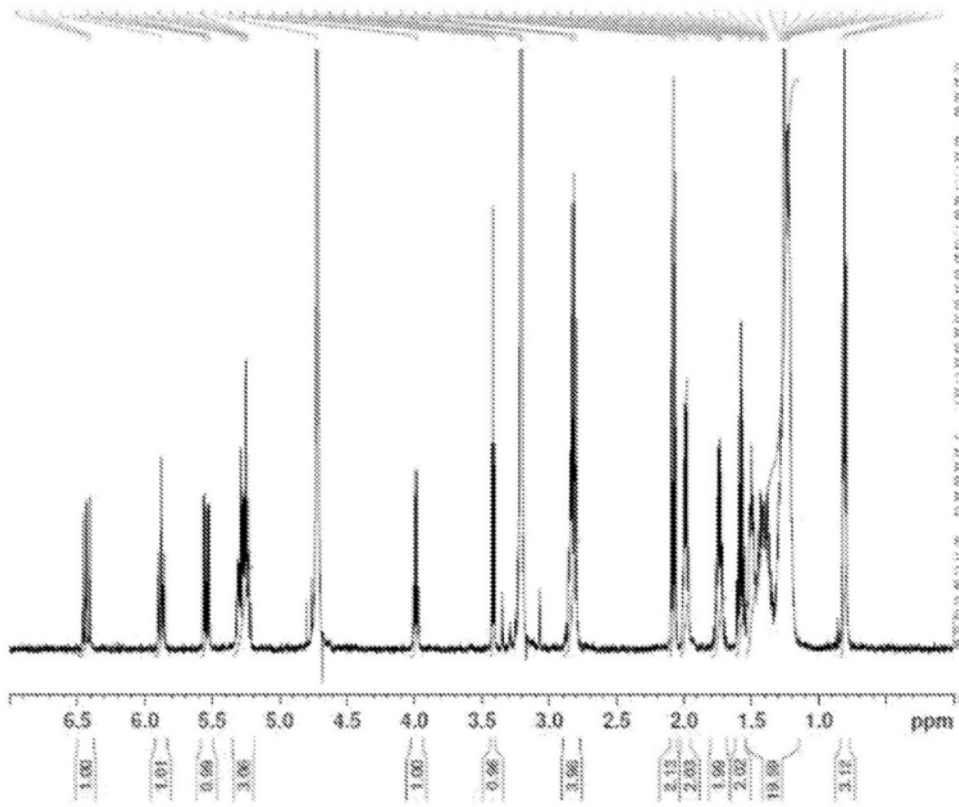


图22

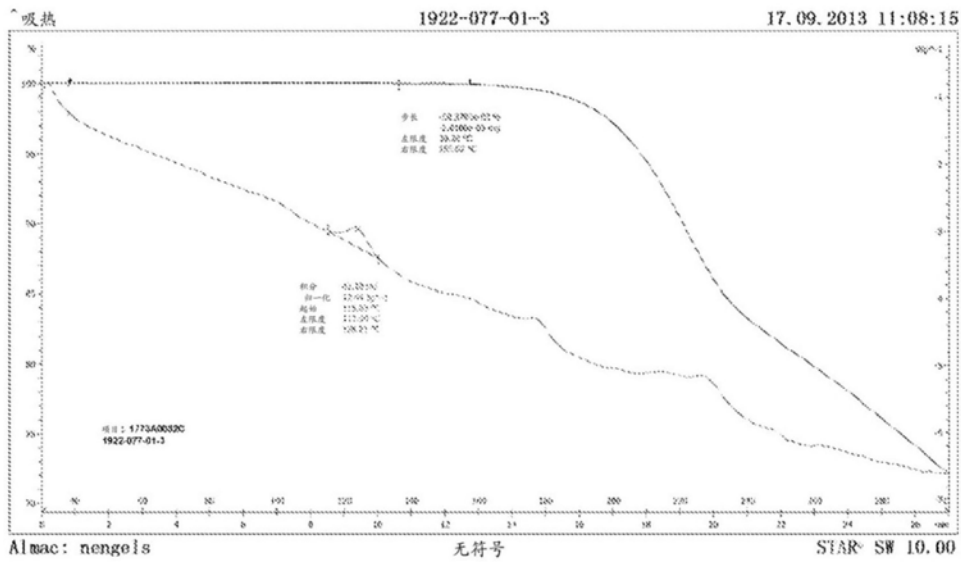


图23

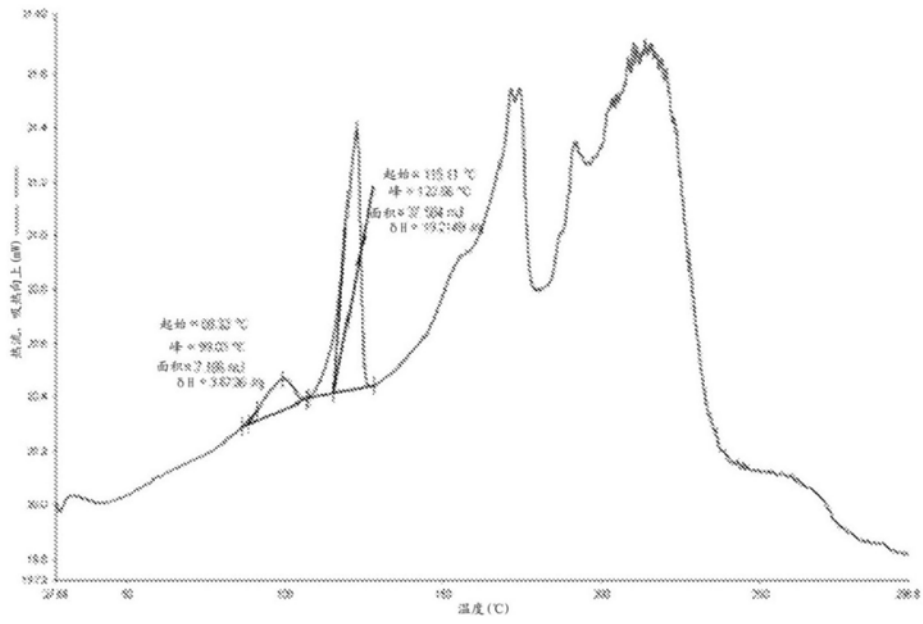


图24

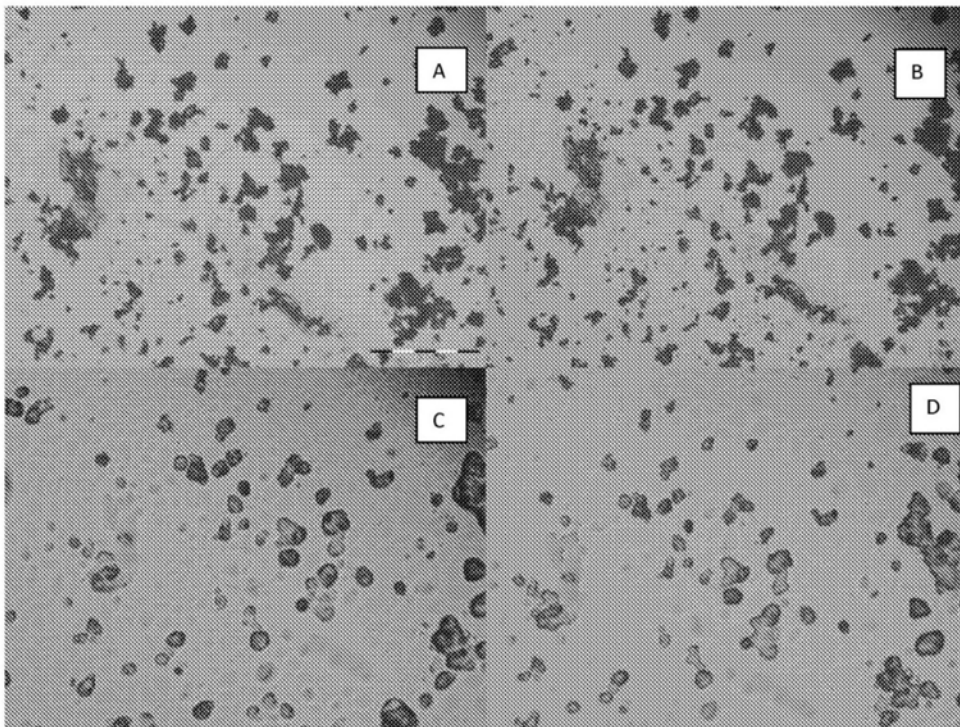


图25

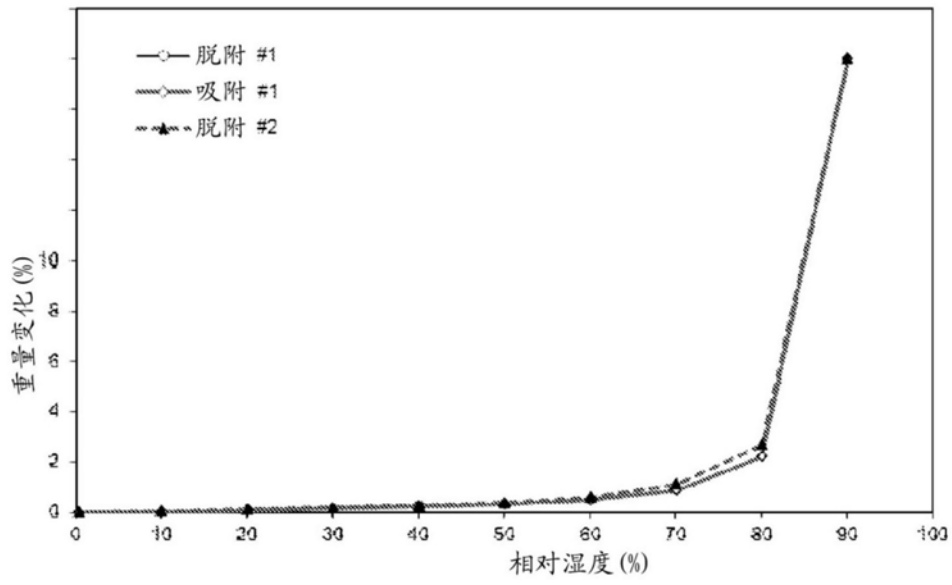


图26

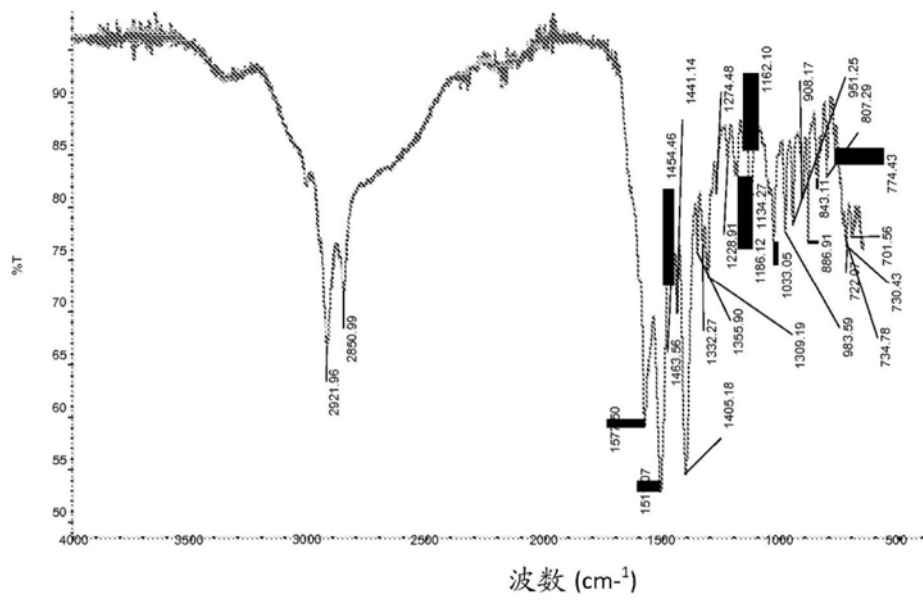


图27

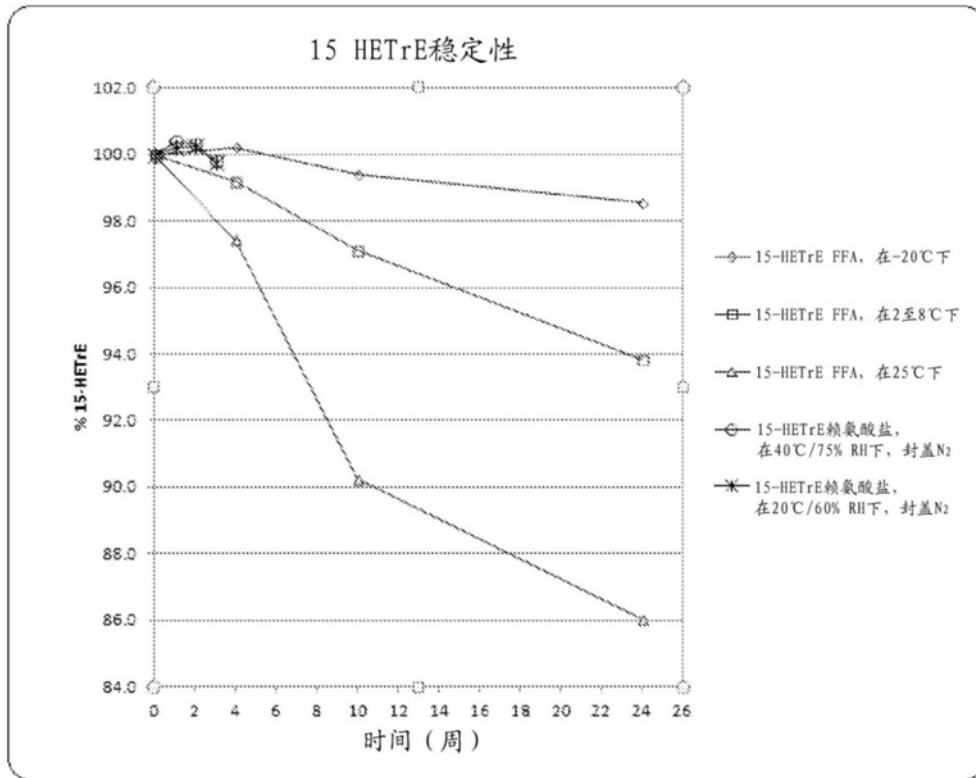


图28

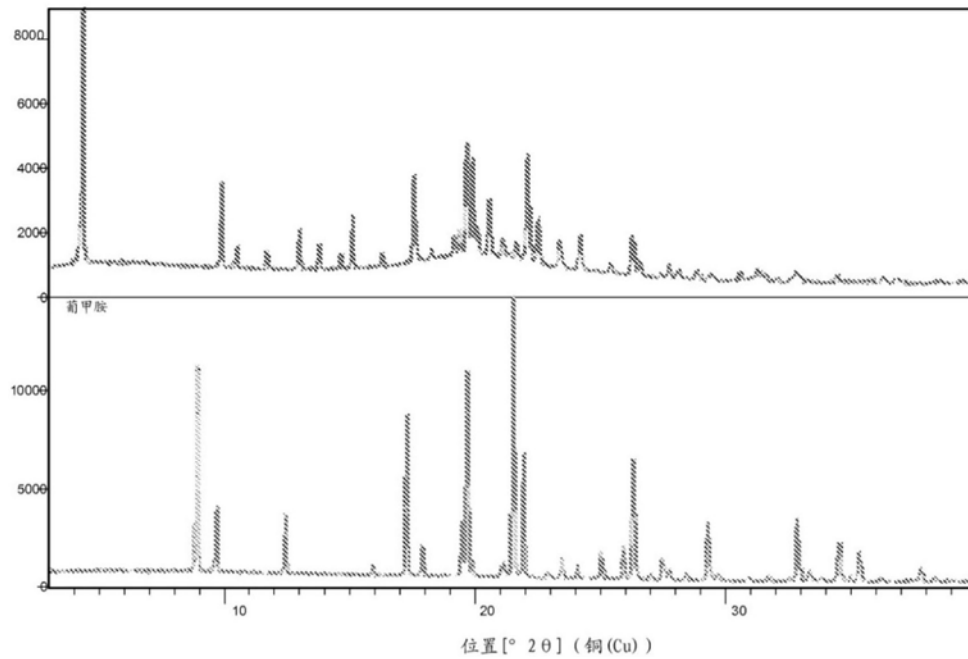


图29

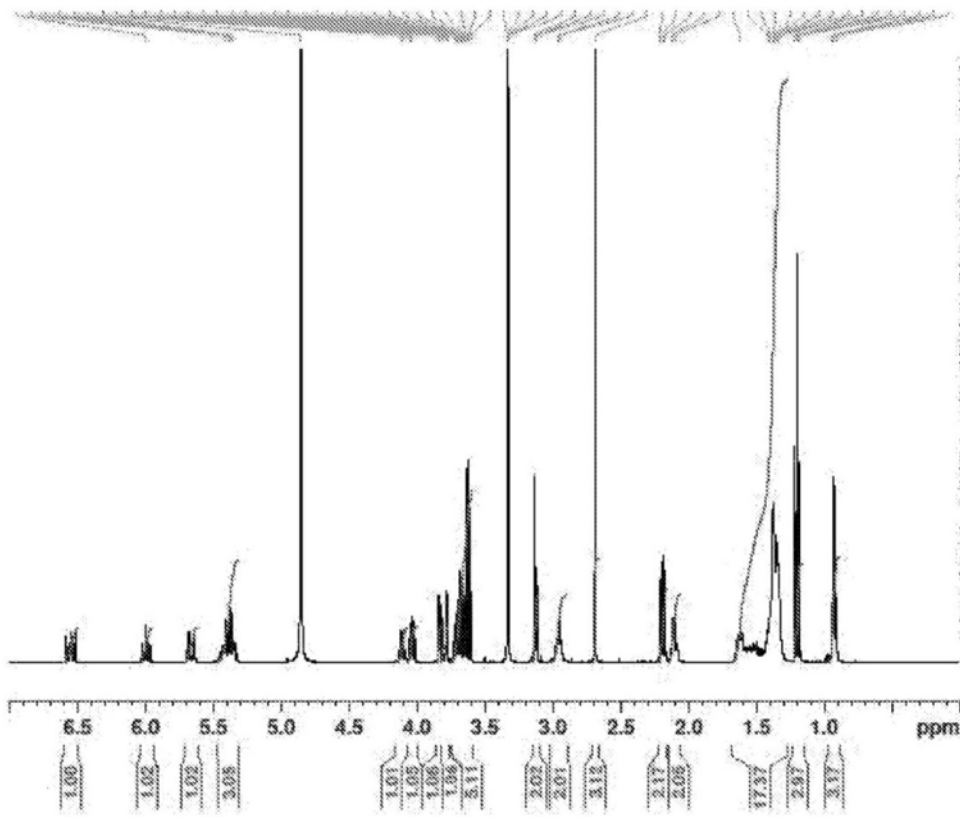


图30

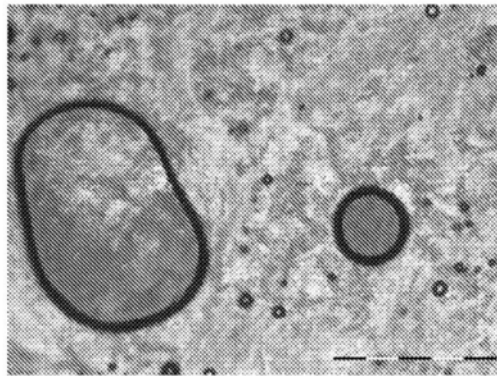


图31A

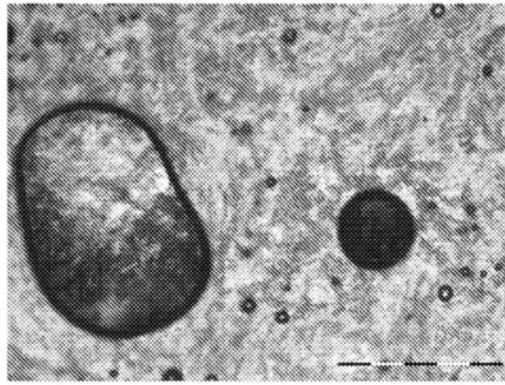


图31B