



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 104844472 B

(45)授权公告日 2018.02.13

(21)申请号 201510265009.X

C07C 231/12(2006.01)

(22)申请日 2009.05.26

C07C 231/24(2006.01)

(65)同一申请的已公布的文献号

C07C 303/32(2006.01)

申请公布号 CN 104844472 A

C07C 303/44(2006.01)

C07C 309/30(2006.01)

(43)申请公布日 2015.08.19

A61K 31/65(2006.01)

(30)优先权数据

A61P 31/04(2006.01)

61/128712 2008.05.23 US

(62)分案原申请数据

200980129398.6 2009.05.26

(73)专利权人 帕拉特克药品公司

地址 美国麻萨诸塞州

(72)发明人 R.维托维奇 T.瓦乔尔

(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001

代理人 李炳爱

(56)对比文件

John Y. L. Chung等.Synthesis development of an aminomethylcycline antibiotic via an electronically tuned acyliminium Friedel-Crafts reaction.《Tetrahedron Letters》.2008,第49卷第6095页左栏倒数第1段,右栏第1段,第6099页左栏第2段,第6100页右栏倒数第2段.

审查员 吴俊威

(51)Int.Cl.

C07C 237/26(2006.01)

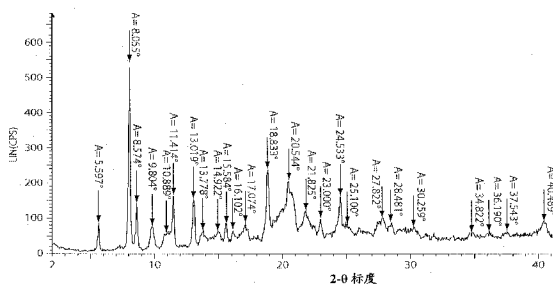
权利要求书2页 说明书30页 附图10页

(54)发明名称

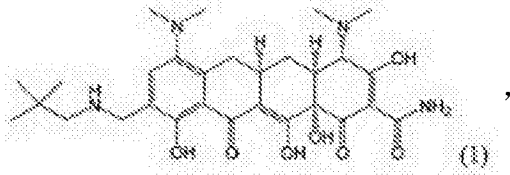
四环素化合物的盐和多晶型物

(57)摘要

本文提供用于治疗四环素化合物敏感状态的化合物的晶形,包括盐和多晶型物在此被提供。晶体化合物用于治疗或预防疾病和病症例如细菌感染和肿瘤以及其它对于四环素类化合物通常已知的用途。



1. 化合物1的甲苯磺酸盐的晶形：



其选自以下组成的组：

多晶形物，其特征在于具有采用Cu K α 辐射在5.60、8.06、8.57、9.80、10.89、11.41、13.02、13.78、14.92、15.58、16.10、17.07、18.83、20.54、21.83、23.00、24.53、25.10、27.82、28.48、30.26、34.82、36.19、37.54和40.49 °2 θ 包含峰的X-射线粉末衍射图。

2. 权利要求1的晶形，其特征在于具有基本上如图8所示的X-射线粉末衍射图。

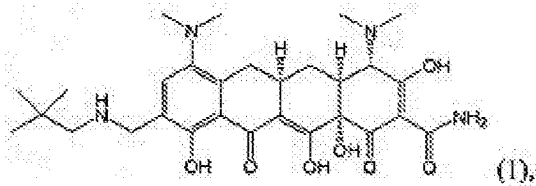
3. 一种药用组合物，所述组合物包含权利要求1的晶形和药学上可接受的赋形剂或载体。

4. 权利要求3的药用组合物，其中所述晶形以纯的形式存在。

5. 权利要求3的药用组合物，其中所述药学上可接受的载体是稀释剂。

6. 一种制备权利要求1的晶形的方法，其中所述方法包括使化合物1的甲苯磺酸盐自异丙醇中结晶。

7. 一种制备化合物1的稳定晶体甲苯磺酸盐的方法：



所述化合物1的稳定晶体甲苯磺酸盐的特征在于具有采用Cu K α 辐射在5.60、8.06、8.57、9.80、10.89、11.41、13.02、13.78、14.92、15.58、16.10、17.07、18.83、20.54、21.83、23.00、24.53、25.10、27.82、28.48、30.26、34.82、36.19、37.54和40.49 °2 θ 包含峰的X-射线粉末衍射图，

其中该方法包括：

使化合物1的游离碱溶于第一种溶剂或溶剂组合中，形成第一种溶液；

使对-甲苯磺酸溶于第二种溶剂或溶剂组合中，形成第二种溶液；和

混合所述第一和第二种溶液，形成第三种溶液。

8. 权利要求7的方法，其中第一种溶剂或溶剂组合与第二种溶剂或溶剂组合为相同或者不同的。

9. 权利要求7的方法，其中第一种溶剂组合与第二种溶剂组合各自独立地为醇溶剂的组合。

10. 权利要求9的方法，其中溶剂的每一种组合独立地为两种醇溶剂的组合。

11. 权利要求10的方法，其中两种醇溶剂为乙醇和异丙醇。

12. 权利要求11的方法，其中乙醇和异丙醇以2:1的体积:体积比存在。

13. 权利要求7的方法，其中溶剂的每一种组合包含醇溶剂和抗溶剂。

14. 权利要求13的方法，其中醇溶剂为甲醇。

15. 权利要求13的方法,其中抗溶剂选自酮、醚和酯。
16. 权利要求15的方法,其中醚为甲基叔丁基醚。
17. 权利要求7的方法,其中溶剂的每一种组合包含甲醇和甲基叔丁基醚。
18. 权利要求17的方法,其中甲醇和甲基叔丁基醚以1:1.2的体积:体积比存在。
19. 权利要求7的方法,其中对-甲苯磺酸以相对于所述化合物1的量的25-75 wt%的量提供。
20. 权利要求7的方法,其中对-甲苯磺酸以对-甲苯磺酸一水合物的形式提供。
21. 权利要求7的方法,该方法进一步包括向所述第三种溶液中加入化合物1的1型多晶型物甲苯磺酸盐以形成第四种溶液。
22. 权利要求21的方法,其中第四种溶液在搅拌时形成浆状物。
23. 权利要求22的方法,该方法进一步包括干燥所述浆状物。
24. 权利要求1-2中任一项的晶形或权利要求3-5中任一项的药用组合物在制备用于在有需要的患者中治疗细菌感染的药物中的用途。
25. 权利要求24的用途,其中所述细菌感染与革兰氏阴性菌有关。
26. 权利要求24的用途,其中所述细菌感染与革兰氏阳性菌有关。
27. 权利要求24的用途,其中所述细菌感染与克雷伯氏肺炎杆菌 (*K. pneumoniae*)、沙门氏菌属 (*Salmonella*)、希拉肠球菌 (*E. hirae*)、鲍曼不动杆菌 (*A. baumannii*)、卡他布兰汉菌 (*B. catarrhalis*)、流感嗜血杆菌 (*H. influenzae*)、铜绿假单胞菌 (*P. aeruginosa*)、屎肠球菌 (*E. faecium*)、大肠杆菌 (*E. coli*)、金黄色葡萄球菌 (*S. aureus*) 或粪肠球菌 (*E. faecalis*) 有关。
28. 权利要求24的用途,其中所述细菌感染对其它四环素类抗生素有抗性。
29. 权利要求28的用途,其中所述其它四环素类抗生素选自以下组成的组:四环素、米诺环素、强力霉素、山环素、金霉素、去甲金霉素、土霉素、螯霉素、罗利环素、赖甲环素、甲烯土霉素、阿哌环素、氯莫环素、匹哌环素、mepylcycline、甲葡环素、胍甲环素、培莫环素和乙莫环素。

四环素化合物的盐和多晶型物

[0001] 本申请是申请日为2009年5月26日、发明名称同上的PCT/US2009/045143的发明专利申请的分案申请,原申请的中国专利申请号为200980129398.6。

[0002] 相关申请

[0003] 本申请依据35 U.S.C. 119(e),要求于2008年5月23日递交的待审的美国临时申请第61/128712号的优先权益,其全部内容通过参照结合到本文中。

[0004] 发明背景

[0005] 四环素类抗生素的开发是系统筛选自全世界许多地区采集的土壤样本用于证明能够产生杀菌和/或抑菌组合物的微生物的直接结果。这些新化合物中的第一个于1948年以名称金霉素(chlortetracycline)进入市场。两年后,土霉素(oxytetracycline)成为可利用的。这些化合物化学结构的阐明证实了它们的相似性并在1952年为这组抗生素第三个成员四环素的生产提供了分析基础。一类新的不含早期四环素类中存在的环连接的甲基的四环素类化合物于1957年被制备并在1967年成为普遍使用的;并且到1972年米诺环素(minocycline)被投入使用。

[0006] 最近,已将研究努力集中在开发于不同治疗条件和给药途径下有效的新型四环素抗生素组合物。新的四环素类似物也已被研究,它们可证明与最初引入的四环素类化合物等效或者更加有效。实例包括美国专利第2980584、2990331、3062717、3165531、3454697、3557280、3674859、3957980、4018889、4024272和4126680号。这些专利为药用活性四环素和四环素类似物组合物范围内的代表。

[0007] 在历史上,在它们被初步开发和引入后不久,发现四环素类为药理学上对抗立克次体、多种革兰氏阳性和革兰氏阴性菌高度有效的;并且药物对性病淋巴肉芽肿、包涵体性结膜炎和鹦鹉热有作用。因此,四环素类被称为“广谱”抗生素。伴随随后建立的它们的体外抗微生物活性、在实验性感染中的有效性和药理性质,四环素类作为一类抗生素迅速成为广泛用于各种治疗目的的药物。然而,四环素类对主要和次要疾病和疾患两者的广泛使用直接导致对这些抗生素产生抗性,甚至在共生菌和病原菌两者的高度易敏菌种(susceptible bacterial species)(例如肺炎双球菌和沙门氏菌)中出现抗性。四环素抗性生物的出现已经导致在选择抗生素时,四环素类和四环素类似物组合物的使用普遍降低。

[0008] 每一种药用化合物具有最佳的治疗血药浓度和致死浓度。化合物的生物利用度决定了药物制剂中获得理想血药水平必要的剂量强度(dosage strength)。如果药物可结晶为两种或更多种生物利用度不同的多晶型物,最佳剂量应依存在于剂型中的多晶型而定。一些药物显示在治疗和致死浓度之间的狭窄容许极限(narrow margin)。例如,氯霉素-3-棕榈酸酯(CAPP)为一种已知可以至少三种多晶型物和一种无定形形式的广谱抗生素。最稳定的晶形A上市。在该多晶型物与另外一种晶型B两者之间的生物活性差异为因子8,因此如果由于加工和/或贮存期间的变化无意中作为晶型B给药,那么就造成了致命的过量给予化合物的可能性。因此,管理机构例如美国食品药品监督管理局已开始密切控制固体剂型中活性成分的多晶型物的含量。通常,对于以多晶型存在的药物,如果除了纯的、热力学优选

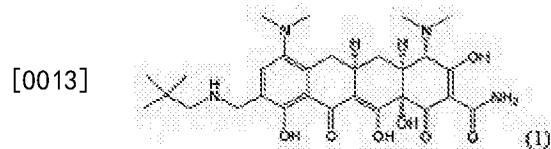
的多晶型物以外的任何物质打算上市,管理机构可需要一批批地监测。因此,对于医疗和商业原因两者而言,制备和上市以其热力学最稳定的多晶型物存在的、基本上不含其他动力学有利的多晶型物的纯的药物变得非常重要。

[0009] 例如,已知化合物的盐形式和游离化合物或盐的多晶型形式在制药领域中影响例如化合物的溶解性、溶出率、生物利用度、化学和物理稳定性、流动性、破碎性和可压缩性以及基于化合物的药物产品的安全性和效力(参见例如Knapman, Modern Drug Discovery, 2000, 3(2): 53)。

[0010] 因此,具有最佳物理和化学性质的化合物的盐形式或游离碱的鉴定将促进四环素化合物作为药物的开发。最有用的这样的物理和化学性质包括:容易和可再生式(reproducible)制备、结晶性、非吸湿性、水溶性、对可见和紫外光的稳定性、在温度和湿度的加速稳定性条件下低的降解速率、同分异构体形式之间的低异构化速率和长期给予人体的安全性。

[0011] 发明概述

[0012] 在一个实施方案中,本发明至少部分地涉及氨基烷基四环素化合物,以下化合物1的稳定固态形式例如晶体形式:



[0014] (4S,4AS,5AR,12AS)-4-7-双(二甲基氨基)-9-[(2,2-二甲基丙基)氨基]甲基]-3,10,12,12A-四羟基-1,11-二氧代-1,4,4A,5,5A,6,11,12A-八氢并四苯-2-甲酰胺

[0015] (9-(2,2-二甲基-丙基-氨基甲基)-米诺环素)。

[0016] 在另一个实施方案中,本发明至少部分地涉及化合物1的HCl盐。在另一个实施方案中,本发明至少部分地涉及化合物1的甲苯磺酸盐(对-甲苯磺酸盐)。在另一个实施方案中,本发明至少部分地涉及化合物1的甲磺酸盐。

[0017] 在另一个实施方案中,本发明至少部分地涉及化合物1的稳定晶形。

[0018] 在另一个实施方案中,本发明至少部分地涉及化合物1的稳定晶形。例如,盐的稳定晶形为化合物1的甲苯磺酸盐、HCl盐或甲磺酸盐的稳定晶形。

[0019] 在另一个实施方案中,本发明至少部分地涉及化合物1的多晶型物。

[0020] 在另一个实施方案中,本发明至少部分地涉及化合物1的盐的多晶型物。

[0021] 例如,本发明涉及化合物1的甲苯磺酸盐的多晶型物。本发明部分地涉及化合物1的1型多晶型物。本发明部分地涉及化合物1的2型多晶型物。本发明部分地涉及化合物1的3型多晶型物。

[0022] 例如,化合物1的甲苯磺酸盐的1型多晶型物采用Cu K α 辐射在约8.06、13.02和18.83° 2 θ 具有X-射线粉末衍射峰。在一些实施方案中,化合物1的甲苯磺酸盐的1型多晶型物采用Cu K α 辐射在约8.06、11.41、13.02、18.83、20.54和24.53° 2 θ 具有X-射线粉末衍射峰。在一些实施方案中,化合物1的甲苯磺酸盐的1型多晶型物采用Cu K α 辐射在约5.60、8.06、8.57、11.41、13.02、15.58、18.83、20.54和24.53° 2 θ 具有X-射线粉末衍射峰。

[0023] 例如,化合物1的甲苯磺酸盐的1型多晶型物在约0°C-约70°C范围内的温度下稳

定。在一些实施方案中,化合物1的甲苯磺酸盐的1型多晶型物在约5°C-约50°C范围内的温度下稳定。在一些实施方案中,化合物1的甲苯磺酸盐的1型多晶型物在约20°C-约30°C范围内的温度下稳定。

[0024] 通过将所述化合物1的甲苯磺酸盐自异丙醇中结晶可得到化合物1的甲苯磺酸盐的1型多晶型物。

[0025] 例如,化合物1的甲苯磺酸盐的2型多晶型物采用Cu K α 辐射在7.82、11.88、16.12和21.46° 2 θ 具有X-射线粉末衍射图峰。

[0026] 例如,化合物1的甲苯磺酸盐的3型多晶型物采用Cu K α 辐射在5.11、8.89、10.34、11.76和15.60° 2 θ 具有X-射线粉末衍射图峰。

[0027] 在又一个实施方案中,本发明包括含有化合物1的晶体形式和药学上可接受的稀释剂、赋形剂或载体的药用组合物。

[0028] 例如,本发明的药用化合物组合物包括含有化合物1的多晶型物和药学上可接受的稀释剂、赋形剂或载体的组合物。

[0029] 在另一个实施方案中,本发明的药用化合物组合物包括化合物1的盐和药学上可接受的稀释剂、赋形剂或载体。例如,盐可为HCl盐、甲苯磺酸盐或甲磺酸盐。

[0030] 在一个实施方案中,本发明的药用组合物化合物包括化合物1的盐的多晶型物和药学上可接受的稀释剂、赋形剂或载体。例如,多晶型物可为化合物1的甲苯磺酸盐、HCl盐或甲磺酸盐的多晶型物。

[0031] 在一些实施方案中,药用组合物包含以纯形式存在的化合物1或其盐的多晶型物。

[0032] 在另一个实施方案中,本发明的药用组合物包含化合物1的甲苯磺酸盐的多晶型物和药学上可接受的稀释剂、赋形剂或载体。例如,多晶型物可为化合物1的甲苯磺酸盐的1型、2型或3型多晶型物。

[0033] 在一些实施方案中,药用组合物包含以纯形式存在的化合物1的甲苯磺酸盐、HCl盐或甲磺酸盐的多晶型物。

[0034] 在本发明的另一个方面,化合物1的盐比化合物1的游离碱更加稳定。

[0035] 在另一个实施方案中,本发明包括用于制备化合物1的稳定晶形的方法。

[0036] 在另一个实施方案中,本发明包括用于制备化合物1的盐的稳定晶形的方法。例如,稳定的晶体可为化合物1的甲苯磺酸盐、HCl盐或甲磺酸盐的晶体。

[0037] 在另一个实施方案中,本发明包括用于制备化合物1的盐的多晶型物的方法。例如,多晶型物可为化合物1的甲苯磺酸盐、HCl盐或甲磺酸盐的多晶型物。

[0038] 在另一个实施方案中,本发明包括用于制备化合物1的甲苯磺酸盐的多晶型物的方法。例如,多晶型物可为化合物1的甲苯磺酸盐的1型、2型或3型多晶型物。

[0039] 在一个实施方案中,本发明包括用于制备化合物1的甲苯磺酸盐的1型多晶型物的方法,其中方法包括:混合化合物1与溶剂产生浆状物;并加入对-甲苯磺酸。例如,溶剂可为醇溶剂如异丙醇。以相对于所述化合物1的量的25-75 wt%,例如相对于所述化合物1的量25-50 wt%、30-40 wt%或33 wt%的量提供对-甲苯磺酸。例如,对-甲苯磺酸以对-甲苯磺酸一水合物的形式提供。

[0040] 例如,在加入对-甲苯磺酸之前温热浆状物。

[0041] 例如,在加入对-甲苯磺酸之后搅拌浆状物。例如,在20-25°C范围内的温度下实施

搅拌。例如,搅拌进行10-24小时。

[0042] 例如,干燥浆状物。例如,所述浆状物上清液的水含量在0.2-1.0 mg/mL的范围内,或者在0.4-0.8 mg/mL的范围内。

[0043] 在又一个实施方案中,本发明包括用于制备化合物1的甲苯磺酸盐的1型多晶型物的方法,其中方法包括:制备化合物1在溶剂或溶剂组合中的溶液;并加入对-甲苯磺酸在溶剂或溶剂组合中的溶液。

[0044] 例如,溶剂为醇溶剂如甲醇、乙醇或异丙醇。例如,溶剂组合包含醇溶剂。例如,溶剂组合进一步包含第二种醇溶剂。例如,溶剂组合包含乙醇和异丙醇。例如,溶剂组合进一步包含抗溶剂如酮、醚和酯。例如,醚包括(但不限于)甲基叔丁基醚。例如,溶剂组合包含醇溶剂和抗溶剂。例如,溶剂组合包含甲醇和甲基叔丁基醚。

[0045] 例如,以相对于所述化合物1的量的25-75 wt%、30-50 wt%、35-45 wt%或40 wt%的量提供对-甲苯磺酸。例如,对-甲苯磺酸以对-甲苯磺酸一水合物的形式提供。

[0046] 例如,在0-60°C范围内的温度下、在15-45°C范围内的温度下或在20-25°C范围内的温度下制备溶液。

[0047] 例如,在制备之后温热溶液。例如,将溶液保持在20-50°C范围内的温度下或在约45°C下。

[0048] 例如,方法进一步包括加入化合物1的一甲苯磺酸盐的晶种以产生浆状物。可搅拌浆状物10-24小时或约22小时。可在15-45°C范围内的温度下或在约20°C下搅拌浆状物。浆状物可被干燥。例如,浆状物的水含量在1-10 wt%的范围内或在2-6 wt%的范围内或为约3 wt%。

[0049] 在另一个实施方案中,本发明包括用于制备化合物1的甲苯磺酸盐的1型多晶型物的方法,其中方法包括:使化合物1的游离碱溶于第一种溶剂或溶剂组合中以形成第一种溶液;使对-甲苯磺酸溶于第二种溶剂或溶剂组合中以形成第二种溶液;并且混合所述第一和第二种溶液形成第三种溶液。

[0050] 在一个实施方案中,第一和第二种溶剂或溶剂组合可为相同或者不同。在另一个实施方案中,溶剂可为醇溶剂例如甲醇、乙醇和异丙醇。在另一个实施方案中,溶剂组合为两种醇溶剂的组合,醇溶剂包括(但不限于)乙醇和异丙醇。在一个优选的实例中,乙醇与异丙醇的体积:体积比为2:1。在又一个实施方案中,溶剂组合为包括(但不限于)醇溶剂和抗溶剂(例如酮、醚、酯等)的组合。例如,溶剂组合为包括(但不限于)甲醇和甲基叔丁基醚的组合。在一个优选的实例中,甲醇与甲基叔丁基醚的体积:体积比为1:1.2。

[0051] 在另一个实施方案中,方法进一步包括向第三种溶液中加入化合物1的1型多晶型甲苯磺酸盐以形成第四种溶液。例如,1型多晶型甲苯磺酸盐为晶种。在一些实施方案中,第四种溶液在搅拌时形成浆状物。浆状物可用溶剂或溶剂组合洗涤,所述溶剂或溶剂组合可与第一种溶剂或溶剂组合、或者第二种溶剂或溶剂组合相同或不同。浆状物可被干燥。

[0052] 在另一个实施方案中,本发明涉及包含化合物1的纯组合物,其中在组合物中为约90-100%,优选地为95-100%,更优选地为98-100% (wt./wt.) 或者99-100% (wt./wt.) 纯度;例如存在少于约10%、少于约5%、少于约2%或少于约1%杂质。这样的杂质包括例如降解产物、氧化产物、差向异构体、溶剂和/或其它不合需要的杂质。

[0053] 在又一个实施方案中,本发明包括通过给予患者有效量的化合物1晶体形式用于

在患者中治疗四环素敏感状态 (responsive state) 的方法。例如,患者为人患者。

[0054] 在又一个实施方案中,本发明包括通过给予患者有效量的化合物1的稳定盐用于在患者中治疗四环素敏感状态的方法。例如,稳定的盐为化合物1的甲苯磺酸盐、HCl盐或甲磺酸盐。

[0055] 在又一个实施方案中,本发明包括通过给予患者有效量的化合物1的多晶型物用于在患者中治疗四环素敏感状态的方法。

[0056] 在又一个实施方案中,本发明包括通过给予患者有效量的化合物1的盐的多晶型物用于在患者中治疗四环素敏感状态的方法。例如,多晶型物可为化合物1的甲苯磺酸盐、HCl盐或甲磺酸盐的多晶型物。

[0057] 在又一个实施方案中,本发明包括通过给予患者有效量的化合物1的甲苯磺酸盐的多晶型物用于在患者中治疗四环素敏感状态的方法。例如,甲苯磺酸盐的多晶型物可为化合物1的甲苯磺酸盐的1型、2型或3型多晶型物。

[0058] 例如,四环素敏感状态为细菌感染。细菌感染可与革兰氏阳性菌或革兰氏阴性菌有关。在一些实施方案中,细菌感染与大肠杆菌、金黄色葡萄球菌或粪肠球菌有关。

[0059] 在一些实施方案中,细菌感染对包括(但不限于)以下的其它四环素类抗生素有抗性:四环素、米诺环素、强力霉素、山环素、金霉素、去甲金霉素、土霉素、螯霉素、罗利环素、赖甲环素、甲烯土霉素、阿哌环素、氯莫环素、匹哌环素、mepylcycline、甲葡环素、胍甲环素、培莫环素和乙莫环素。

[0060] 附图简述

[0061] 图1提供了包含晶体化合物1的样品在25°C下的X-射线粉末衍射图;

[0062] 图2提供了化合物1的起始原料(E00285)、1型甲苯磺酸盐、2型甲苯磺酸盐、3型甲苯磺酸盐和无定形甲苯磺酸盐形式在25°C下的X-射线粉末衍射图;

[0063] 图3提供了晶体化合物1(E00285)和包含自化合物1的无定形甲苯磺酸盐在IPA中重结晶得到的1型甲苯磺酸盐的样品在25°C下的X-射线粉末衍射图的比较;

[0064] 图4提供了包含被真空干燥过夜的1型甲苯磺酸盐、2型甲苯磺酸盐和3型甲苯磺酸盐的样品在25°C下的X-射线粉末衍射图的比较;

[0065] 图5提供了包含2型甲苯磺酸盐的样品不同温度的X-射线粉末衍射分析;

[0066] 图6提供了包含3型甲苯磺酸盐的样品不同温度的X-射线粉末衍射分析;

[0067] 图7提供了包含1型甲苯磺酸盐和3型甲苯磺酸盐的50:50混合物在IPA中的浆状物的样品不同温度的X-射线粉末衍射分析;

[0068] 图8提供了包含化合物1的1型甲苯磺酸盐的样品高分辨X-射线粉末衍射图;

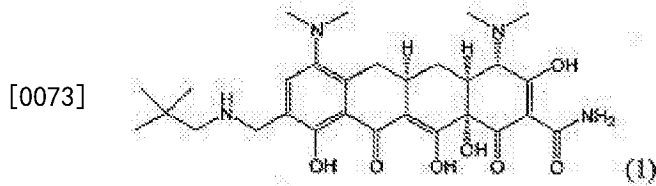
[0069] 图9提供了包含化合物1的2型甲苯磺酸盐(93.2% HPLC纯度)的样品高分辨X-射线粉末衍射图;

[0070] 图10提供了包含化合物1的3型甲苯磺酸盐(96.7% HPLC纯度)的样品高分辨X-射线粉末衍射图。

[0071] 发明详述

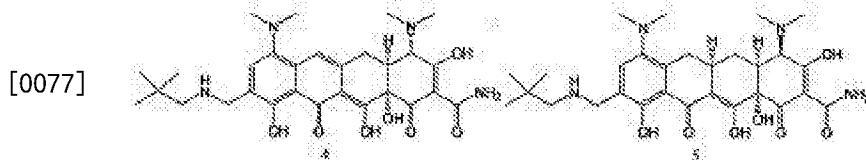
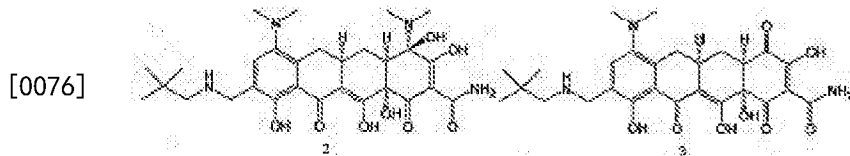
[0072] 四环素型抗生素化合物长期以来已知以固相游离碱形式存在具有有限的稳定性。一种这样的非晶体四环素类似物化合物,(4S,4AS,5AR,12AS)-4-7-双(二甲基氨基)-9-[[(2,2-二甲基丙基)氨基]甲基]-3,10,12,12A-四羟基-1,11-二氧代-1,4,4A,5,5A,6,11,

12A-八氢并四苯-2-甲酰胺(化合物1;MW = 556.66, MF = C₂₉H₄₀N₄O₇),在以固相存在曝露于空气、光线和/或水分时具有有限的稳定性。



[0074] (4S,4AS,5AR,12AS)-4-7-双(二甲基氨基)-9-[(2,2-二甲基丙基)氨基]甲基)-3,10,12,12A-四羟基-1,11-二氧代-1,4,4A,5,5A,6,11,12A-八氢并四苯-2-甲酰胺。

[0075] 具体地讲,化合物1为在高于0℃的温度下和当曝露于空气时不稳定的黄色无定形固体。化合物1必须储存在低于0℃的温度下伴随以固相存在时有限地曝露于空气、光线和水分。超出这些有限的暴露条件,化合物1降解产生降解产物,包括空气降解产物2、3和4以及4-差向-异构体5。



[0078] 在该公开之前,已知没有化合物1的稳定晶形或稳定的晶体酸式盐。

[0079] 本发明涉及晶体化合物1、化合物1的盐形式、化合物1的多晶型物或化合物1的盐的多晶型物;包含化合物1的晶形、盐形式、多晶型物或盐的多晶型物的药用组合物;制备化合物1的晶形、盐形式、多晶型物或盐的多晶型物的方法;及其用于治疗四环素敏感状态的方法。

[0080] 1. 固体形式化合物

[0081] 化合物1为四环素化合物。术语“四环素化合物”包括具有与四环素相似环结构的多种化合物。四环素化合物的实例包括四环素、金霉素、土霉素、去甲金霉素、甲烯土霉素、山环素、强力霉素和米诺环素。

[0082] 化合物1的游离碱和某些药学上可接受的盐在相应于美国公开号2005/0026876 A1的美国申请系列号10/786881中有描述。没有讲授或提示化合物1的晶形,或者任何所描述的盐形式优于其它形式,如通过以上描述的性质的列表所判断的那样。

[0083] 因此,本发明致力于改进的四环素化合物的需要和四环素化合物用于制备和生物利用度的改进的固态形式的需要。

[0084] 四环素化合物,化合物1的固态形式可为晶体形式。化合物的晶形可为游离碱。可形成游离碱化合物的不同盐的晶形。可用于将游离碱转化为盐的酸的实例包括(但不限于)HCl、对-甲苯磺酸、三氟乙酸、甲磺酸、苯磺酸和乙酸。

[0085] 通过使盐与碱或酸接触并然后以常规方式分离母体化合物可再生化合物的中性形式。化合物的母体形式在某些物理性质例如在极性溶剂中的溶解性方面可不同于各种盐

形式。

[0086] 如在此描述的那样,可借以产生化合物1的不同晶形的方法已经被开发。更具体地讲,本发明人已经显示所得到的晶形主要取决于在工艺方法中所采用溶剂的性质。为了该描述的目的,术语“晶形”无差别地指多晶型物或非无定形形式。“多晶型物”指仅包含溶质分子并且具有特有的晶体特征(crystalline signature)的有机结构。

[0087] 术语“多晶型”和“多晶型物”及在此的相关术语指相同分子的晶体形式,并且不同的多晶型物可由于分子在晶格中排列或构象的结果具有不同的物理性质例如熔化温度、熔化热、溶解度、溶出率和/或振动光谱。由多晶型物呈现的物理性质差异影响药用参数例如储存稳定性、可压缩性和密度(在制剂和产品制造中是重要的)以及溶出率(是生物利用度的重要因素)。稳定性差异也可由于化学反应性(例如差别氧化(differential oxidation),以至于剂型在包含一种多晶型物时比包含另一种多晶型物时更快速地褪色)或机械性能(例如片剂在储存时由于动力学有利的多晶型物转化为热力学更稳定的多晶型物而破碎)或两者(例如一种多晶型物的片剂更易于在高的湿度下分解破裂)的变化引起。由于溶解度/溶出差异的结果,在极端情况下,一些多晶型物转换可导致效力缺乏,或者在其它的极端情况下导致毒性。另外,晶体的物理性质在加工处理中可以是重要的,例如一种多晶型物更可能形成溶剂合物或者可能难以过滤和洗去杂质(即颗粒形状和粒度分布在多晶型之间可能不同)。

[0088] 通过如本领域已知的多种方法可得到分子的多晶型物。这样的方法包括(但不限于)熔融重结晶、熔体冷却、溶剂重结晶、去溶剂化作用、快速蒸发、急冷、慢冷、蒸汽扩散和升华作用。

[0089] 用于表征多晶型物的技术包括(但不限于)差示扫描量热法(DSC)、X-射线粉末衍射学(XRPD)、单晶X-射线衍射学;振动光谱学例如IR和拉曼光谱学、固态NMR、热载台光学显微镜、扫描电镜(SEM)、电子晶体学和定量分析、粒度分析(PSA)、表面积分析、溶解性研究和溶出研究。

[0090] 如在此使用的术语“溶剂合物”指包含溶剂的物质的晶形。术语“水合物”指其中溶剂为水的溶剂合物。

[0091] 去溶剂化的溶剂合物为仅可通过自溶剂合物除去溶剂制备的物质的晶形。

[0092] 如在此使用的术语“无定形形式”指物质的非晶体形式。

[0093] 如在此使用的术语“纯的”意指约90-100%,优选地为95-100%,更优选地为98-100%(wt/wt.)或者99-100%(wt/wt.)的纯化合物;例如存在少于约10%、少于约5%、少于约2%或少于约1%的杂质。这样的杂质包括例如降解产物、氧化产物、差向异构体、溶剂和/或其它不合需要的杂质。

[0094] 如在此使用的,当在恒定的湿度、光线暴露条件下和在高于0°C的温度下经4周时间没有观察到显著量的降解产物时化合物为“稳定的”。在某些条件下当出现降解杂质或现有杂质的面积百分数开始增大时认为化合物是不稳定的。降解增长量作为时间的函数在确定化合物的稳定性中是重要的。

[0095] 在此提出的所有范围打算包括所述范围所指出的端点以及所有所包含的数值和范围,包括没有具体提出的那些数值和范围。

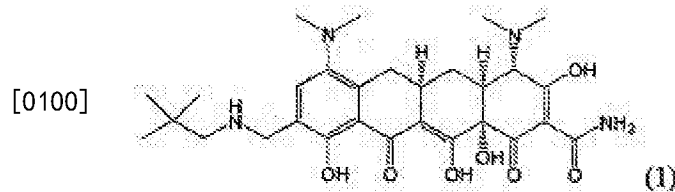
[0096] 本发明涉及化合物1的晶形、盐形式和多晶型;包含单独或与其它活性组分组合的

晶形、盐形式和多晶型的组合物；制备晶体、盐和多晶型物的方法；及其用于调节四环素化合物敏感状态的方法。尽管不打算受到任何具体的操作理论的束缚，晶形、盐和多晶型物的储存稳定性、可压缩性、密度或溶出性质对于四环素化合物的制备、配制和生物利用度是有益的。

[0097] 本发明的优选盐和多晶型物为其特征在于物理性质例如稳定性、溶解性、吸湿性和溶出率适合于临床和治疗剂型的那些盐和多晶型物。本发明的优选多晶型物为其特征在于物理性质例如结晶形态学、可压缩性和硬度适合于制备固体剂型的那些多晶型物。这样的性质可采用如在此描述和本领域已知的技术例如X-射线衍射、显微镜学、IR光谱学、热分析和吸湿性分析测定。

[0098] 1.1 化合物1的盐

[0099] 在一个方面，本发明提供了化合物1的尤其药学上可接受的盐的晶体形式。本发明的该方面提供了化合物1的HCl盐、甲磺酸盐和甲苯磺酸盐的晶体形式：



[0101] (4S, 4AS, 5AR, 12AS)-4-7-双(二甲基氨基)-9-[(2,2-二甲基丙基)氨基]甲基-3,10,12,12A-四羟基-1,11-二氧化-1,4,4A,5,5A,6,11,12A-八氢并四苯-2-甲酰胺。

[0102] 本发明的每一种盐可自化合物1的制备来制备。可按照对本领域技术人员显而易见的任何方法合成或得到化合物1。在优选的实施方案中，按照在以下实施例中详细描述的方法制备化合物1。参见例如美国公开第2005/0026876 A1号，其内容由此通过参照以其全部结合到本文中。

[0103] 或者，可通过分离化合物1的具体盐并经用合适的碱处理将化合物1这样的盐转化为中性形式制备化合物1。例如，可通过经过滤分离化合物1的盐酸盐，然后经用在乙酸乙酯中的碳酸氢钠或其它合适的碱处理将其转化为中性形式制备化合物1。

[0104] 经任何方法制备的化合物1可与合适的酸接触，酸为纯的（即没有混合物或稀释物）或在合适的惰性溶剂或溶剂中，得到本发明的盐形式。例如，化合物1可与对-甲苯磺酸接触，得到本发明的甲苯磺酸盐形式。

[0105] 对游离碱化合物1和化合物1的无定形二HCl盐实施稳定性研究。通过使化合物溶解于水溶液中，将溶液的pH调节至约4.2，随后冻干形成该盐。游离碱在40℃下于不到1个月中和和在4℃下于约3个月降解。相反，化合物1的二HCl盐在40℃下稳定6个月和在室温（25℃）下稳定两年。

[0106] 如在以下实施例中详细显示的那样，化合物1的甲苯磺酸盐及其无定形显示合乎需要的性质。

[0107] 1.2 化合物1的多晶型物

[0108] 本发明也提供了化合物1的多晶型物。在某些实施方案中，本发明的多晶型物为化合物1的甲苯磺酸盐的多晶型物。

[0109] 本发明的每一种多晶型物可自化合物1的制备来制得。固体化合物1可被溶解并然后自以下描述的溶剂混合物中结晶，得到本发明的多晶型物。在本发明的具体实施方案中，

化合物1的甲苯磺酸盐可被溶解并然后自以下描述的溶剂混合物中结晶,得到本发明的某些多晶型物。在本发明的一些实施方案中,化合物1的游离碱可被溶解并然后加入酸,形成化合物1的晶体盐。

[0110] 在一个实施方案中,本发明提供了化合物1的甲苯磺酸盐的多晶型物。

[0111] 在另一个实施方案中,本发明提供了具有与图8相似的X-射线粉末衍射图的化合物1的甲苯磺酸盐的1型多晶型物,衍射图的特征全部显示在表1中。例如,本发明的特定1型多晶型物采用Cu K α 辐射在5.60、8.06、8.57、11.41、13.02、15.58、18.83、20.54和24.53° 2 θ 具有X-射线粉末衍射图峰。例如,本发明的特定1型多晶型物采用Cu K α 辐射在8.06、11.41、13.02、18.83、20.54和24.53° 2 θ 具有X-射线粉末衍射图峰。例如,本发明的特定1型多晶型物在8.06、13.02、18.83和24.53° 2 θ 具有X-射线粉末衍射图峰。例如,本发明的特定1型多晶型物在8.06和18.83° 2 θ 具有主要X-射线粉末衍射图峰。

[0112] 表1

[0113]

角 (2- θ)	d值 (埃)	强度 (计数)	强度 (%)
5.60	15.78	347	15.9
8.06	10.97	2184	100.0
8.57	10.30	581	26.6
9.80	9.01	308	14.1
10.89	8.12	233	10.7
11.41	7.75	667	30.5
13.02	6.79	626	28.7
13.78	6.42	261	12.0
14.92	5.93	252	11.5
15.58	5.68	346	15.8
16.10	5.50	262	12.0
17.07	5.19	345	15.8
18.83	4.71	979	44.8
20.54	4.32	838	38.4
21.83	4.07	489	22.4
23.00	3.86	395	18.1
24.53	3.63	661	30.3
25.10	3.55	341	15.6
27.82	3.20	404	18.5
28.48	3.13	357	16.3
30.26	2.95	302	13.8
34.82	2.57	236	10.8
36.19	2.48	254	11.6
37.54	2.39	247	11.3
40.49	2.23	368	16.8

[0114] 在另一个实施方案中,本发明提供了化合物1的2型甲苯磺酸盐。在一个实施方案中,化合物1的甲苯磺酸盐的2型多晶型物具有与图9相似的X-射线粉末衍射图,衍射图的特征全部显示在表2中。例如,一种特定的本发明的2型多晶型物采用Cu K α 辐射在7.82、11.88、12.68、16.12、18.63、21.46和23.74° 2 θ 具有X-射线粉末衍射图峰。例如,一种特定的本发明的2型多晶型物在7.82、11.88、16.12和21.46° 2 θ 具有主要X-射线粉末衍射图峰。例如,一种特定的本发明的2型多晶型物在11.88和16.12° 2 θ 具有X-射线粉末衍射图峰。

[0115] 表2

[0116]

角(2- θ)	d值(埃)	强度(计数)	强度(%)
5.317	16.62224	135	10.6
6.272	14.09246	275	21.5
6.511	13.57561	274	21.5
7.108	12.43554	137	10.8
7.821	11.30413	827	64.8
9.712	9.10741	173	13.5
10.783	8.20461	340	26.6
11.875	7.4528	1258	98.6
12.682	6.97995	904	70.8
13.182	6.7162	611	47.9
13.985	6.33261	299	23.4
15.578	5.68838	512	40.1
16.122	5.49766	1100	86.2
16.635	5.32915	467	36.6
17.397	5.09763	697	54.7
18.63	4.76275	967	75.8
20.235	4.38856	647	50.7
20.666	4.298	636	49.8
21.456	4.14147	1276	100
22.51	3.9499	747	58.6
23.744	3.7473	1076	84.3
24.448	3.64103	749	58.7
25.651	3.47293	652	51.1
26.303	3.38824	638	50
27.225	3.27554	678	53.2
27.4	3.25505	747	58.5
27.823	3.20648	763	59.8
28.193	3.16532	588	46.1

[0117] 在又一个实施方案中,本发明提供了化合物1的3型。在另一个实施方案中,化合物1的甲苯磺酸盐的3型多晶型物具有与图10相似的X-射线粉末衍射图,衍射图的特征全部显

示在表3中。例如，一种特定的本发明的3型多晶型物采用Cu K α 辐射在5.11、8.89、10.34、11.76、13.70、14.81和15.60° 2 θ 具有X-射线粉末衍射图峰。例如，一种特定的本发明的3型多晶型物在5.11、8.89、10.34、11.76和15.60° 2 θ 具有主要X-射线粉末衍射图峰。例如，一种特定的本发明的3型多晶型物在5.11和15.60° 2 θ 具有主要X-射线粉末衍射图峰。

[0118] 表3

[0119]

角(2- θ)	d值(埃)	强度(计数)	强度(%)
5.11	12.79	1184	66.4
8.89	9.95	475	26.6
10.34	8.56	431	24.2
11.76	7.53	404	22.7
13.70	6.46	524	29.4
14.81	5.98	552	31
15.60	5.68	1783	100
17.23	5.15	661	37.1
17.93	4.95	1014	56.9
18.35	4.83	832	46.6
18.74	4.74	914	51.3
19.00	4.67	874	49
20.15	4.41	889	49.9
20.36	4.36	913	51.2
20.65	4.30	940	52.7
21.65	4.10	681	38.2
22.59	3.94	923	51.8
23.25	3.83	1206	67.7
23.71	3.75	872	48.9
24.94	3.57	718	40.3
25.43	3.50	551	30.9
26.12	3.41	745	41.8
26.64	3.35	709	39.8
27.15	3.28	689	38.7
27.55	3.24	754	42.3

[0120] 化合物1的甲苯磺酸盐作为非常小的不规则颗粒结晶，通常为5-8微米大小。图1描绘了化合物1的甲苯磺酸盐的结晶固体的X-射线粉末衍射(XRPD)。该化合物显示在190°C熔化，随后分解。

[0121] 对于化合物1或其甲苯磺酸盐实施重量蒸汽吸附。确定了每分子的化合物1存在2.5分子水。实施XRPD以比较起始原料(E00285)与脱水物质。数据表明在晶型上没有变化。

[0122] 2. 化合物1的合成

[0123] 将9-(氨基甲基)-米诺环素二盐酸盐(200 mg, 1当量)、DMF和三甲基乙醛(45 μ l,

1当量)在40 mL烧瓶中合并并搅拌。然后加入三乙胺(150 μL , 3当量)。在于室温下搅拌几分钟后,加入 $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (175 mg, 2当量)和 InCl_3 (9 mg, 0.1当量)。在1小时后,反应物的澄清并为红色的。液相色谱法显示反应为单一产物。用甲醇猝灭反应,除去溶剂并采用柱层析法纯化产物。

[0124] 纯化

[0125] 通过经将化合物的含水低pH溶液注射到以极性有机溶剂梯度运行的HPLC,并合并产物流分,以纯化化合物的色谱法纯化化合物1。选择合适的酸性流动相增强方法的稳定性和选择性。有机和无机酸流动相在通过pH控制或酸的选择分离包括差向异构体杂质的副产物和密集洗脱副产物时是有效的。酸性流动相也保护以防化合物的氧化降解。

[0126] 例如,低pH溶液具有约2-3的pH。被采用的溶液的实例包括甲磺酸的0.1%水溶液和三氟乙酸的0.1%水溶液。在某些实施方案中,94%等梯度的水溶液和6%乙腈或另一种极性有机溶剂被用于纯化化合物与差向异构和密集洗脱的副产物分开。

[0127] 所生成的含水产物流分可被合并并可采用碱(例如 NaOH)将pH调节至约4.0-4.5。疏水性杂质和化合物的氧化降解产物可通过用非极性有机溶剂(例如 CH_2Cl_2)洗涤水溶液除去。弃去有机层并合并和保留水层。

[0128] 应该注意有机溶剂例如二氯甲烷可用于自化合物的酸性水溶液选择性地除去后洗脱的疏水性杂质例如4-羰基副产物及其它氧化降解产物。

[0129] 然后可将所合并水层的pH调节至中性pH,例如约7.5-约8.5。可通过加入碱例如 NaOH 调节pH。然后用非极性有机溶剂例如二氯甲烷洗涤中性溶液。应该注意选择性的pH调节至中性pH范围也使得化合物能够被提取至有机溶剂中,同时将不合需要的 β -差向异构体和副产物保留在水相中。

[0130] 另外,也可向在此描述的化合物的水溶液中加入抗氧化剂。可提供抗氧化剂以防止化合物的氧化降解。可采用抗氧化剂例如亚硫酸铵或亚硫酸氢铵。

[0131] 3. 制备化合物1的多晶型物的方法

[0132] 本发明也涉及制备晶体化合物1的多晶型物的方法。

[0133] 在一个实施方案中,基于在此的讲授,通过对本领域技术人员显而易见的制备1型的任何方法,可制备化合物1的甲苯磺酸盐的1型。在某些实施方案中,自化合物1的无定形甲苯磺酸盐在异丙醇、丙酮、乙酸乙酯、甲基戊酮、甲苯或乙腈溶液中的熟化可形成1型。也可自在异丙醇中浆化的无定形甲苯磺酸盐重结晶得到1型。也可通过使游离碱溶于合适的溶剂或溶剂组合例如两种醇或者一种醇与一种抗溶剂例如酮、醚、酯等中得到1型。在加入酸之后,盐可以恰当的形式缓慢结晶。

[0134] 其中杂质和化合物1的游离碱为可溶的,同时化合物1的稳定晶体盐为不可溶的,例如可通过沉淀形成晶体浆状物的溶剂系统可被选择。

[0135] 在另一个实施方案中,基于在此的讲授,通过对本领域技术人员显而易见的制备2型的任何方法,可制备化合物1的甲苯磺酸盐的2型。在某些实施方案中,自化合物1的无定形甲苯磺酸盐在二氯甲烷中的熟化可形成2型。

[0136] 在另一个实施方案中,基于在此的讲授,通过对本领域技术人员显而易见的制备3型的任何方法,可制备化合物1的甲苯磺酸盐的3型。在某些实施方案中,自化合物1的无定形甲苯磺酸盐在甲基乙基酮、乙酸乙酯或甲基戊酮中的熟化可形成3型。3型也可得自1型在

甲基戊酮中的熟化。

[0137] 在另一个实施方案中,通过包括合并化合物1与溶剂产生浆状物并加入对-甲苯磺酸的步骤的方法可产生以上描述的化合物1的甲苯磺酸盐的多晶型物。

[0138] 任何合适的溶剂可用于产生浆状物。可用于实施方案的溶剂包括醇溶剂例如异丙醇。任何合适的溶剂组合可用于产生盐从中结晶的溶液。可用于实施方案的溶剂组合包括(但不限于)甲醇和甲基叔丁基醚或者乙醇和异丙醇。

[0139] 例如,可在约0°C-约60°C,例如约15°C-约45°C或约20°C-约25°C的温度下产生化合物1在溶剂或溶剂组合中的浆状物。在其被产生之后,可任选地在约15°C-约60°C,例如约20°C-约50°C或约45°C的温度下温热和/或保持浆状物。

[0140] 一旦浆状物被产生,可以足以产生化合物1的对-甲苯磺酸盐的量加入对-甲苯磺酸。在一个实施方案中,以相对于化合物1的量的约25-约75 wt%、约25-约50 wt%、约30-约40 wt%或约33 wt%的量提供对-甲苯磺酸。对-甲苯磺酸可以对-甲苯磺酸一水合物的形式加入。

[0141] 化合物1的甲苯磺酸盐的多晶型物可通过溶液方法形成。例如,可在约0°C-约60°C,例如约15°C-约45°C或约20°C-约25°C的温度下产生化合物1的溶液。在其被产生之后,可任选地在约15°C-约60°C,例如约20°C-约50°C或约45°C的温度下温热和/或保持溶液。

[0142] 一旦产生溶液,可以足以产生化合物1的对-甲苯磺酸盐的量加入对-甲苯磺酸。在一个实施方案中,以相对于化合物1的量的约25-约75 wt%、约30-约50 wt%、约35-约45 wt%或约40 wt%的量提供对-甲苯磺酸。对-甲苯磺酸可以对-甲苯磺酸一水合物的形式加入。

[0143] 在一个实施方案中,可加入用于给溶液引晶的1型多晶型物。任何合适的溶剂可用于形成对-甲苯磺酸溶液。合适的溶剂包括醇溶剂例如异丙醇或溶剂组合例如甲醇和甲基叔丁基醚。在一个优选的实施方案中,甲醇与甲基叔丁基醚的体积/体积比率为1:1.2。合适的溶剂包括两种或更多种醇溶剂的组合,例如乙醇和异丙醇的组合。在一个优选的实施方案中,乙醇与异丙醇的体积/体积比率为2:1。在特定的实施方案中,对-甲苯磺酸溶液包含用于产生化合物1的浆状物或溶液的相同溶剂。

[0144] 在加入于合适溶剂中的对-甲苯磺酸之后,形成化合物的甲苯磺酸盐的1型多晶型物的浆状物。浆状物上清液的水含量可在加入对-甲苯磺酸之后被调节至适当水平。通常,浆状物上清液的水含量可在约0.2-约1.0 mg/mL,例如约0.4-约0.8 mg/mL的范围内,例如为约0.6 mg/mL、约0.54 mg/mL等。

[0145] 在加入对-甲苯磺酸之后,可搅拌浆状物或溶液以产生晶体浆状物。可实施搅拌多于48小时。然而,搅拌通常实施约5-约36小时,例如约10-约24小时或约18小时的时间。

[0146] 可在适合于产生晶体浆状物的任何温度下实施搅拌。例如,可在约0°C-约60°C,例如约15°C-约45°C或约20°C-约25°C的温度下搅拌浆状物。

[0147] 在晶体形成之后,可过滤晶体浆状物以除去上清液,并且可用任何合适的溶剂洗涤晶体。在实施方案中,晶体可洗涤1-4次,并且溶剂可为适合于制备晶体浆状物的任何溶剂。具体地讲,用于洗涤晶体的溶剂可为用于形成初始浆状物或溶液的相同一种或多种溶剂或者对-甲苯磺酸溶液。

[0148] 然后可通过任何合适的方法干燥所产生的晶体以除去过量溶剂。例如,可通过一种或多种方法实现干燥,方法包括(但不限于)在约0°C-约60°C,例如约15°C-约45°C范围内

的升高温度下；向晶体吹送干燥氮气；和向晶体吹送湿润的氮气。

[0149] 实施其中化合物1的甲苯磺酸盐样品在不同溶剂中浆化、过滤并经XRPD分析湿润固体的熟化研究。观察化合物1的甲苯磺酸盐的3种多晶型物。图2描绘了起始原料(E00285)、化合物1的1型甲苯磺酸盐、2型甲苯磺酸盐、3型甲苯磺酸盐和无定形形式的XRPD光谱。

[0150] 表4列出了用于熟化实验的溶剂。

[0151] 表4

[0152]

实施例号	溶剂	晶型
1	水	1型
2	硝基甲烷	无定形
3	苯甲醚	2型
4	2-丙醇	1型
5	甲基乙基酮	3型
6	丙酮	1型
7	乙酸乙酯	1型
8	二噁烷	无定形
9	乙腈	1型
10	甲苯	1型
11	二氯甲烷	2型
12	氯仿	无定形
13	TBME	无定形
14	乙酸异丙酯	2型
15	NMP	溶解
16	4-甲基-2-戊酮	3型
17	THF	树脂
18	10% EtOAc/环己烷	无定形
19	10%水/EtOH	无定形
20	10%水/THF	无定形
21	10%水/ACN	无定形
22	10%水/2-丙醇	无定形
23	10%水/丙酮	无定形
24	10%水/二噁烷	无定形

[0153] 在多种溶剂中实施化合物1的无定形物料的重结晶。如在表5中显示的那样，仅在2-丙醇(异丙醇，IPA)中重结晶得到1型甲苯磺酸盐。图3比较了对照组化合物1(E00285)与自IPA中重结晶的1型甲苯磺酸盐的XRPD光谱。

[0154] 表5

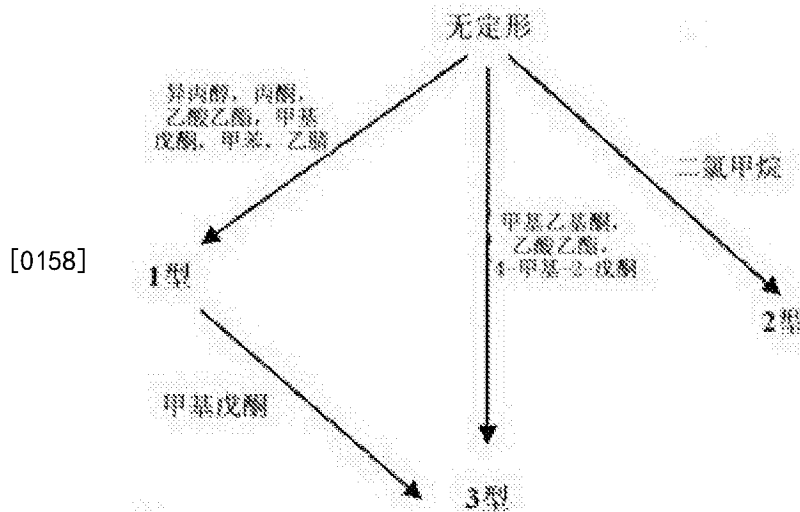
[0155]

实施例号	溶剂	体积	在50℃下	沉淀固体的XRPD
------	----	----	-------	-----------

1	硝基甲烷	24	可溶	
2	苯甲醚	200	不可溶	无定形
3	2-丙醇	60	可溶	1型
4	甲基乙基酮	100	可溶	无定形
5	丙酮	80	可溶	无定形
6	乙酸乙酯	200	不可溶	无定形
7	二噁烷	120	可溶	无定形
8	乙腈	80	可溶	
9	甲苯	200	不可溶	无定形
10	二氯甲烷	5	可溶	无定形
11	氯仿	5	可溶	无定形
12	TBME	200	不可溶	无定形
13	乙酸异丙酯	200	不可溶	无定形
14	4-甲基-2-戊酮	200	不可溶	无定形
15	THF	100	可溶	无定形
16	10% EtOAc/环己烷	200	不可溶	无定形

[0156] 化合物1的多晶型甲苯磺酸盐的概述呈现在流程1中：

[0157] 流程1



[0159] 在重结晶之后,将1型、2型和3型甲苯磺酸盐的样品真空干燥过夜并如在图4中显示的那样经XRPD分析。在干燥后晶型没有变化。

[0160] 对化合物1的2型和3型甲苯磺酸盐实施变化温度的XRPD。分别参见图5和图6。

[0161] 分析化合物1的多晶型物的相对稳定性。例如,使1型甲苯磺酸盐在IPA或甲基戊酮中经受熟化实验24小时,用2或3型甲苯磺酸盐引晶。在该试验期间,1型没有变为2或3型。如在图7中显示的那样,在0℃、25℃、40℃和60℃下,于IPA中分析1型和3型的50:50混合物的浆状物18小时。1型没有变为3型。

[0162] 重结晶实验表明通过于IPA中浆化可自无定形甲苯磺酸盐重现性地得到1型甲苯磺酸盐。也可通过加入对甲基苯磺酸重现性地得到化合物1的1型。1型的高分辨XRPD扫描在图8中得到描绘并且衍射图的特征显示在表1中。

[0163] 4. 包含本发明的化合物、其盐、晶形或多晶型物的药用组合物

[0164] 在另一个实施方案中,本发明涉及包含本发明的四环素化合物(例如经本发明方法合成或纯化)或其药学上可接受的盐、前药或者酯的药用组合物。药用组合物可包含药学上可接受的载体。

[0165] 如在此使用的术语“组合物”打算包括包含规定组分(并且以规定的量存在,如果指明的话)的产物以及其直接或间接由以规定量的规定组分的组合生成的任何产物。所谓“药学上可接受的”意指稀释剂、赋形剂或载体必须与剂型中的其它组分可适配并且对其接受者无害。

[0166] 如以上所表示的那样,本发明的某些实施方案可包含碱型官能团例如氨基或烷基氨基并因此能够与药学上可接受的酸形成药学上可接受的盐。术语“药学上可接受的盐”在本领域被认识到并且包括本发明的相对非毒性、无机和有机酸加成盐。这些盐可在本发明化合物的最终分离和纯化期间就地制备,或者通过使其游离碱形式存在的本发明的纯化化合物与合适的有机或无机酸独立地反应并分离因此所形成的盐来制备。代表性的盐包括氢溴酸盐、盐酸盐、硫酸盐、硫酸氢盐、磷酸盐、硝酸盐、乙酸盐、戊酸盐、油酸盐、棕榈酸盐、硬脂酸盐、月桂酸盐、苯甲酸盐、乳酸盐、磷酸盐、甲磺酸盐、枸橼酸盐、马来酸盐、富马酸盐、琥珀酸盐、酒石酸盐、萘二甲酸盐(naphthylate)、甲磺酸盐、葡庚糖酸盐、乳糖酸盐和十二烷基磺酸盐等(参见例如Berge等,(1977)“Pharmaceutical Salts”, *J. Farm. SCI.* 66:1-19)。

[0167] 在其它情况中,本发明的化合物可包含一个或多个酸性官能团并因此能够与药学上可接受的碱形成药学上可接受的盐。术语“药学上可接受的盐”在这些情况中包括本发明化合物的相对非毒性、无机和有机的碱加成盐。这些盐同样可在化合物的最终分离和纯化期间就地制备,或者通过使其游离酸形式的纯化化合物与合适的碱例如药学上可接受的金属阳离子的氢氧化物、碳酸盐或碳酸氢盐、与氨或与药学上可接受的有机伯、仲或叔胺独立地反应来制备。代表性的碱或碱土金属盐包括锂、钠、钾、钙、镁和铝盐等。用于形成碱加成盐的代表性有机胺包括乙胺、二乙胺、乙二胺、乙醇胺、二乙醇胺、哌嗪等。

[0168] 术语“药学上可接受的酯”指本发明化合物的相对非毒性酯化产物。这些酯可在化合物的最终分离和纯化期间就地制备,或者通过使其游离酸或羟基形式的纯化化合物与合适的酯化剂独立地反应来制备。羧酸可通过在催化剂存在下用醇处理转化为酯。羟基可通过用酯化剂例如链烷酰基卤化物处理转化为酯。术语也包括能够在生理条件下被溶剂化的低级烃基例如烷基酯、甲基、乙基和丙基酯(参见例如Berge等,上文)。

[0169] 本发明也涉及通过本发明方法合成和/或纯化的四环素化合物及其药学上可接受的盐。

[0170] 短语“药学上可接受的载体”在本领域被认识到并且包括适合于给予哺乳动物的本发明化合物的药学上可接受的物质、组合物或者媒介物。载体包括与将受试物质自身体体的一个器官或部分运送或输送至身体的另一个器官或部分有关的液态或固态填充剂、稀释剂、赋形剂、溶剂或包囊材料。每一种载体在与剂型的其它组分可适配和对患者无害的意义上必须是“可接受的”。可用作药学上可接受载体的材料的一些实例包括:糖类例如乳糖、葡萄糖和蔗糖;淀粉类例如玉米淀粉和马铃薯淀粉;纤维素及其衍生物例如羧甲基纤维素钠、乙基纤维素和醋酸纤维素;粉末化黄耆胶、麦芽、明胶、滑石粉;赋形剂例如可可豆脂和栓剂

蜡；油类例如花生油、棉籽油、红花油、芝麻油、橄榄油、玉米油和大豆油；二醇类例如丙二醇；多元醇类例如甘油、山梨醇、甘露醇和聚乙二醇；酯类例如油酸乙酯和月桂酸乙酯；琼脂；缓冲剂例如氢氧化镁和氢氧化铝；海藻酸、无热源水、等渗盐水、林格氏溶液、乙醇、磷酸盐缓冲溶液及其它用于药用剂型的非毒性可适配物质。

[0171] 湿润剂、乳化剂和润滑剂例如十二烷基硫酸钠和硬脂酸镁以及着色剂、脱模剂、包衣材料、甜味剂、矫味和香味剂、防腐剂及抗氧化剂也可存在于组合物中。

[0172] 药学上可接受的抗氧化剂的实例包括：水溶性抗氧化剂例如抗坏血酸、半胱氨酸盐酸盐、硫酸氢钠、焦亚硫酸钠、亚硫酸钠等；油溶性抗氧化剂例如抗坏血酸棕榈酸酯、丁羟茴醚(BHA)、丁羟甲苯(BHT)、卵磷脂、没食子酸丙酯、 α -生育酚等；和金属螯合剂例如枸橼酸、乙二胺四乙酸(EDTA)、山梨醇、酒石酸、磷酸等。

[0173] 本发明剂型包括适合于口服、鼻、局部、经皮、颊、舌下、直肠、阴道和/或非肠道给药的那些剂型。剂型可便利地以单位剂型呈现并可通过药学领域熟知的任何方法制备。可与载体物料混合产生单一剂型的活性组分的量通常为产生治疗作用的化合物的量。通常，除百分之一百以外，该量在活性组分的约1%~约99%范围内，优选地为约5%~约70%，最优选地为约10%~约30%。

[0174] 制备这些剂型或组合物的方法包括使本发明的化合物与载体和任选地与一种或多种助剂联合在一起的步骤。通常，通过使本发明化合物与液体载体或细分的固体载体或两者均匀和紧密地联合在一起并然后如果必要的话加工成型为产物来制备制剂。

[0175] 适合于口服给药的本发明剂型可以胶囊剂、扁囊剂、丸剂、片剂、锭剂(采用矫味基质，通常为蔗糖和阿拉伯胶或黄蓍胶)、散剂、颗粒剂的形式或作为在水或非水液体中的溶液剂或混悬剂，或作为水包油或油包水液体乳剂，或作为酞剂或糖浆剂，或作为软锭剂(采用惰性基质例如明胶和甘油或者蔗糖和阿拉伯胶)和/或作为漱口水等存在，每一种包含预定量的作为活性组分的本发明化合物。本发明化合物也可作为大丸剂、干药糖剂或糊剂给药。

[0176] 在用于口服给药的本发明固体剂型(胶囊剂、片剂、丸剂、糖衣药丸、散剂、颗粒剂等)中，活性组分与一种或多种药学上可接受的载体例如枸橼酸钠或磷酸氢钙和/或任何一种以下组分混合：填充剂或增量剂例如淀粉、乳糖、蔗糖、葡萄糖、甘露醇和/或硅酸；粘合剂例如羧甲基纤维素、藻酸盐、明胶、聚乙烯吡咯烷酮、蔗糖和/或阿拉伯胶；湿润剂例如甘油；崩解剂例如琼脂、碳酸钙、马铃薯或木薯淀粉、海藻酸、某些硅酸盐和碳酸钠；溶液阻滞剂例如石蜡；吸收加速剂例如季铵化合物；湿润剂例如鲸蜡醇和甘油单硬脂酸酯；吸收剂例如高岭土和膨润土；润滑剂例如滑石粉、硬脂酸钙、硬脂酸镁、固态聚乙二醇、十二烷基硫酸钠及其混合物；以及着色剂。在胶囊剂、片剂和丸剂的情况中，药用组合物也可包含缓冲剂。相似类型的固体组合物也可用作采用这样的赋形剂例如乳糖(lactose)或乳糖(milk sugars)以及高分子量聚乙二醇等的软和硬填充明胶胶囊中的填充剂。

[0177] 可任选地用一种或多种助剂，通过压制或模压制备片剂。可采用粘合剂(例如明胶或羟丙基甲基纤维素)、润滑剂、惰性稀释剂、防腐剂、崩解剂(例如淀粉羟基乙酸钠或交联羧甲基纤维素钠)、表面活性剂或分散剂制备压制片剂。可通过在合适的机械中模压用惰性液体稀释剂润湿的粉末状化合物的混合物制备模压片剂。

[0178] 本发明药用组合物的片剂及其它固体剂型例如糖衣药丸、胶囊剂、丸剂和颗粒剂

可被任选地压痕或用包衣和壳层例如药用制剂领域熟知的肠包衣及其它包衣制备。它们也可采用例如以变化比例存在的以提供要求的释放分布的羟丙基甲基纤维素、其它聚合物基质、脂质体和/或微球制剂,以提供其中活性组分的缓慢或控制释放。它们可通过例如经细菌拦截滤器过滤,或者通过在使用之前即刻加入可溶于灭菌水或一些其它灭菌可注射介质中的以灭菌固态组合物形式存在的灭菌剂来灭菌。这些组合物也可任选地包含乳浊剂并可属于仅仅,或者优选地在胃肠道的某些部分,任选地以延迟的方式释放活性组分的组合物。可被使用的包埋组合物的实例包含高分子物质和蜡。活性组分也可以微囊化形式存在,如果合适的话,包含一种或多种以上描述的赋形剂。

[0179] 用于口服给予本发明化合物的液体剂型包括药学上可接受的乳剂、微乳剂、溶液剂、混悬剂、糖浆剂和酏剂。除了活性组分以外,液体剂型可包含本领域通常使用的惰性稀释剂,例如水或其它溶剂、增溶剂和乳化剂,例如乙醇、异丙醇、碳酸乙酯、乙酸乙酯、苄醇、苯甲酸苄酯、丙二醇、1,3-丁二醇、油类(尤其是棉籽、花生、玉米、胚芽、橄榄、蓖麻和芝麻的油)、甘油、四氢糠醇、聚乙二醇和脱水山梨醇的脂肪酸酯及其混合物。

[0180] 除了惰性稀释剂外,口服组合物也可包含佐剂例如湿润剂、乳化和悬浮剂、甜味剂、矫味剂、着色剂、香味和防腐剂。

[0181] 除了活性化合物以外,混悬剂还可包含悬浮剂例如乙氧基化异十八烷醇、聚氧乙烯山梨醇和脱水山梨醇酯、微晶纤维素、氢氧化铝氧化物(aluminum metahydroxide)、膨润土、琼脂和黄蓍胶及其混合物。

[0182] 用于直肠或阴道给药的本发明药用组合物的剂型可作为栓剂存在,其可通过混合一种或多种本发明化合物与一种或多种合适的包括例如可可豆脂、聚乙二醇、栓剂蜡或水杨酸酯的非刺激性赋形剂或载体制备,并且其在室温下为固体,但是在体温下为液体,并因此在直肠或阴道腔熔化并释放活性化合物。

[0183] 适合于阴道给药的本发明剂型也包括包含本领域已知为合适的这样的载体的阴道环、棉塞、霜剂、凝胶、糊剂、泡沫或喷雾剂。

[0184] 用于局部或经皮给予本发明化合物的剂型包括散剂、喷雾剂、软膏剂、糊剂、霜剂、洗剂、凝胶、溶液剂、贴剂和吸入剂。活性化合物可在无菌条件下与药学上可接受的载体,和与可被要求的任何防腐剂、缓冲剂或抛射剂混合。

[0185] 除了本发明的活性化合物以外,软膏剂、糊剂、霜剂和凝胶可包含赋形剂例如动物和植物脂肪、油类、蜡、石蜡、淀粉、黄蓍胶、纤维素衍生物、聚乙二醇类、硅酮、膨润土、硅酸、滑石粉和氧化锌或其混合物。

[0186] 除了本发明化合物以外,散剂和喷雾剂可包含赋形剂例如乳糖、滑石粉、硅酸、氢氧化铝、硅酸钙、和聚酰胺粉末或者这些物质的混合物。喷雾剂可另外包含惯常的抛射剂例如氯氟烃类和挥发性未取代的烃类例如丁烷和丙烷。

[0187] 经皮贴剂具有向身体提供控制传递本发明化合物的附加有利条件。这样的剂型可通过使化合物溶解或分散于适当的介质中来制备。吸收促进剂也可用于增加化合物的经皮流动。这样流动的速率可通过提供速度控制膜或使活性化合物分散于聚合物基质或凝胶中来进行控制。

[0188] 眼用剂型、眼药膏、粉末剂、溶液剂等也被期待处于本发明范围内。

[0189] 适合于非肠道给药的本发明药用组合物包含与一种或多种药学上可接受的无菌

等渗水或非水溶液、分散液、混悬液或乳液组合的一种或多种本发明化合物,或者可在临用之前重构成为无菌可注射溶液或分散液的无菌粉末,其可包含抗氧化剂、缓冲剂、抑菌剂、使得剂型能够与所打算的接受者的血液等渗的溶质,或者悬浮剂或增稠剂。

[0190] 可用于本发明药用组合物的合适的水和非水载体的实例包括水、乙醇、多元醇(例如甘油、丙二醇、聚乙二醇等)及其合适的混合物、植物油例如橄榄油和可注射有机酯例如油酸乙酯。例如通过使用包衣材料如卵磷脂,通过在分散液的情况中保持要求的颗粒大小,和通过使用表面活性剂,可保持适当的流度。

[0191] 这些组合物也可包含辅助剂例如防腐剂、湿润剂、乳化剂和分散剂。可通过包含各种抗菌和抗真菌物质例如尼泊金酯类、氯丁醇、苯酚、山梨酸等确保预防微生物的作用。在组合物中包含等渗剂例如糖类、氯化钠等也可以是合乎需要的。另外,可通过包含延迟吸收的物质例如单硬脂酸铝和明胶引起可注射药用形式的延长吸收。

[0192] 在一些情况中,为了延长药物作用,合乎需要的是减慢来自皮下或肌肉注射药物的吸收。这可通过使用具有不佳水溶性的晶体或无定形物料的液体混悬液来实现。那么药物的吸收速率取决于其溶出速率,后者本身又可取决于晶体粒度和晶形。或者,非肠道给予药物形式的延迟吸收可通过使药物溶解或悬浮于油介质中实现。

[0193] 通过形成本化合物在可生物降解聚合物例如聚丙交酯-聚乙交酯中的微胶囊基质制备可注射储库制剂形式。依药物与聚合物的比例和所采用具体聚合物的性质而定,药物释放速率可得到控制。其它可生物降解聚合物的实例包括聚原酸酯和聚酸酐。储库可注射剂型也通过将药物捕集在与机体组织可相容的脂质体或微乳中制备。

[0194] 本发明制剂可被口服、非肠道、局部或直肠给予。它们通过适合于每一种给药途径的形式给予。例如,它们以片剂或胶囊剂形式给药。例如,它们通过注射、输注、吸入、洗剂、软膏剂、栓剂等给药。口服给药为优选。

[0195] 如在此使用的短语“非肠道给药”和“胃肠外给药”意指非经肠和局部给药,通常通过注射的给药方式,并且包括(但不限于)静脉内、肌肉内、动脉内、鞘内、囊内、眼窝内、心内、皮内、腹膜内、经气管、皮下、表皮下、关节内、包囊下、蛛网膜下、脊髓内和胸骨内注射和输注。

[0196] 如在此使用的短语“全身给药”、“系统给药”、“外周给药”和“外周给予”意指化合物、药物或其它物质非直接给予中枢神经系统,以使药物进入患者的系统并因此经历代谢及其它类似过程,例如皮下给药。

[0197] 这些化合物可通过任何合适的给药途径包括口服、鼻(如通过喷雾剂)、直肠、阴道内、非肠道、池内和局部(如通过散剂、软膏剂或滴剂,包括颊和舌下)给予人或其它动物用于疗法。

[0198] 不管所选择的给药途径,可以合适的水合形式和/或本发明药用组合物使用的本发明化合物通过本领域技术人员已知的常规方法配置为药学上可接受的剂型。

[0199] 术语“治疗有效量”指对由研究人员、兽医、医生或其他临床医生探寻的组织、系统、动物或人产生生物或医学应答的或者足以防止所治疗疾病的一种或多种症状发展或在一些程度上缓解症状的所述盐或多晶型物的量。

[0200] 本发明药用组合物中活性组分的实际剂量水平可以变化以得到用于具体患者、组合物和给药方式有效获得要求的治疗应答而对患者没有毒性的活性组分的量。

[0201] 所选择的剂量水平将取决于多种因素,包括所使用的本发明具体化合物或其酯、盐或者酰胺的活性、给药途径、给药次数、所使用具体化合物的排泄速率、治疗持续时间、与所使用具体化合物联合使用的其它药物、化合物和/或物质、所治疗患者的年龄、性别、体重、病症、一般健康和之前的医疗史及医疗领域熟知的类似因素。

[0202] 具有本领域普通技能的医师或兽医可易于确定和开具所要求药用组合物的有效量。例如,医师或兽医可以低于为得到所需治疗作用所要求水平的水平开始给予用于药用组合物的本发明化合物,并逐渐增加剂量直到达到要求的作用。

[0203] 通常,本发明化合物的合适每天剂量应为有效产生治疗作用的最低剂量的化合物的量。这样的有效剂量通常取决于以上所描述的因素。通常,当用于所指示的镇痛作用时,用于患者的本发明化合物的静脉内和皮下剂量将在约0.0001-约100 mg每公斤体重每天,更优选地在约0.01-约50 mg每公斤体重每天,并且仍然更优选地在约0.1-约10 mg每公斤体重的范围内。例如,在一些实施方案中,剂量在0.5和4.0 mg/kg/天之间。如果要求的话,活性化合物的有效日剂量可作为在整天或周的时间间隔或其它合适的时间段,任选地以单位剂型分开给予的1、2、3、4、5、6或更多个亚剂量给药。

[0204] 尽管对于本发明化合物可以单独给药,优选的是作为药用组合物给予所述化合物。

[0205] 5. 使用本发明四环素化合物的方法

[0206] 本发明也涉及用于通过给予患者有效量的包含本发明化合物1或其药学上可接受的盐的组合物治疗患者的四环素敏感状态的方法,以使所述状态得到治疗。

[0207] 如在此使用的术语“治疗”、“医治”或者“处理”指缓解或消除疾病或病症(例如四环素化合物敏感状态)和/或其伴随症状的方法。如在此使用的术语“预防”、“防止”或者“防御”指防止患者获得疾病或病症的方法。如在此使用的“患者”包括哺乳动物。哺乳动物可为例如任何哺乳动物例如人、灵长目动物、小鼠、大鼠、狗、猫、牛、马、山羊、骆驼、绵羊或者猪。优选地,哺乳动物为人。

[0208] 术语“四环素化合物敏感状态”或“四环素敏感状态”包括可通过给予本发明的四环素化合物治疗、预防或缓解的疾病状态。四环素化合物敏感状态包括细菌、病毒和真菌感染(包括对其它四环素化合物抵抗的那些感染)、癌症(例如前列腺癌、乳腺癌、结肠癌、肺癌、黑色素瘤、淋巴瘤及特征在于不需要的细胞增殖的其它病症,包括(但不限于)在U.S. 6100248中描述的那些病症)、关节炎、骨质疏松症、糖尿病以及已经发现四环素类化合物对其具有活性的其它状态(参见例如美国专利第5789395、5834450、6277061和5532227号,其每一个明确地在此通过参照结合到本文中)。本发明化合物可用于预防或控制重要的哺乳动物和兽医疾病例如腹泻、尿道感染、皮肤和皮肤结构感染、耳、鼻和喉感染、伤口感染、乳腺炎等。另外,用于采用本发明四环素化合物治疗肿瘤的方法也包括在内(van der Bozert等, *Cancer Res.*, 1998, 48:6686-6690)。在一个实施方案中,四环素敏感状态不为细菌感染。在另一个实施方案中,本发明的四环素化合物基本上为非抗菌剂。例如,本发明的非抗菌四环素化合物可具有如通过本领域已知试验测定的大于约4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的MIC值。

[0209] 四环素化合物敏感状态也包括炎性过程相关状态(IPAS)。术语“炎性过程相关状态”包括其中炎症或炎性因子(例如基质金属蛋白酶(MMPs)、一氧化氮(NO)、TNF、白细胞介素、血浆蛋白、细胞防御系统、细胞因子、脂类代谢物、蛋白酶、毒性自由基、粘附分子等)以

异常量被包含或存在于表面的状态。炎症过程为活组织对损伤的反应。炎症的原因可能是由于物理损伤、化学物质、微生物、组织坏死、癌症或其它作用因子。急性炎症仅仅短期持续几天。然而,如果其持续较长时间,那么其可被称为慢性炎症。

[0210] IPAS包括炎性病症。炎性病症通常的特征在于发热、红、肿、痛或功能丧失。炎性病症起因的实例包括(但不限于)微生物感染(例如细菌和真菌感染)、物理作用因素(例如烧伤、辐射和创伤)、化学作用因素(例如毒素和腐蚀性物质)、组织坏死及各种类型的免疫反应。在另一个实施方案中,IPAS包括在美国专利第5929055和5532227号中描述的病症,在此通过参照以其全部结合到本文中。

[0211] 炎性病症的实例包括(但不限于)骨关节炎、类风湿性关节炎、急性和慢性感染(细菌和真菌,包括白喉和百日咳)、急性和慢性支气管炎、鼻窦炎、上呼吸道感染(感冒等)、急性和慢性胃肠炎和结肠炎、急性和慢性膀胱炎和尿道炎、急性和慢性皮炎、急性和慢性结膜炎、急性和慢性浆膜炎(心包炎、腹膜炎、滑膜炎、胸膜炎和腱炎)、尿毒症性心包炎、急性和慢性胆囊炎、急性和慢性阴道炎、急性和慢性葡萄膜炎、药物反应、昆虫咬伤、烧伤(热、化学和电的)及晒伤。

[0212] 术语“炎症过程相关状态”在一个实施方案中包括NO相关状态。术语“NO相关状态”包括涉及或与一氧化氮(NO)或者诱导型一氧化氮合酶(iNOS)有关的状态。NO相关状态包括其特征在于异常量的NO和/或iNOS的状态。优选地,NO相关状态可通过给予本发明的四环素化合物来治疗。在美国专利第6231894、6015804、5919774和5789395号中描述的病症、疾病和状态也作为NO相关状态被包括在内。这些专利中每一篇的全部内容由此通过参照在此结合到本文中。

[0213] NO相关状态的其它实例包括(但不限于)疟疾、衰老、糖尿病、血管性中风、神经变性性疾病(阿尔茨海默氏病、亨廷顿舞蹈症和帕金森病)、心脏病(梗塞后再灌注相关损伤)、儿童糖尿病、炎性病症、骨关节炎、类风湿性关节炎、急性、复发性和慢性感染(细菌、病毒和真菌)、急性和慢性支气管炎、鼻窦炎和呼吸道感染(感冒等)、急性和慢性胃肠炎和结肠炎、急性和慢性膀胱炎和尿道炎、急性和慢性皮炎、急性和慢性结膜炎、急性和慢性浆膜炎(心包炎、腹膜炎、滑膜炎、胸膜炎和腱炎)、尿毒症性心包炎、急性和慢性胆囊炎、囊性纤维化、急性和慢性阴道炎、急性和慢性葡萄膜炎、药物反应、昆虫咬伤、烧伤(热、化学和电的)及晒伤。

[0214] 术语“炎症过程相关状态”在一个实施方案中也包括基质金属蛋白酶相关状态(MMPAS)。MMPAS包括特征在于异常量的MMPs或MMP活性的状态。这些也作为可采用本发明化合物治疗的四环素化合物敏感状态被包括在内。

[0215] 基质金属蛋白酶相关状态(MMPAS 's)的实例包括(但不限于)动脉硬化症、角膜溃疡、肺气肿、骨关节炎、多发性硬化(Liedtke等, *Ann. Neurol.* 1998, 44:35-46; Chandler等, *J. Neuroimmunol.* 1997, 72:155-71)、骨肉瘤、骨髓炎、支气管扩张、慢性阻塞性肺疾病、皮肤和眼疾病、牙周炎、骨质疏松症、类风湿性关节炎、溃疡性结肠炎、炎性病症、肿瘤生长和侵袭(Stetler-Stevenson等, *Annu. Rev. Cell Biol.* 1993, 9:541-73; Tryggvason等, *Biochim. Biophys. Acta* 1987, 907:191-217; Li等, *Mol. Carcinog.* 1998, 22:84-89)、转移、急性肺损伤、中风、局部缺血、糖尿病、主动脉或血管动脉瘤、皮肤组织创伤、干眼症、骨和软骨退化(Greenwald等, *Bone* 1998, 22:33-38; Ryan等, *Curr.*

Op. Rheumatol 1996, 8:238-247)。其它MMPAS包括在美国专利第5459135、5321017、5308839、5258371、4935412、4704383、4666897和RE 34656号中描述的那些,在此通过参照以其全部结合到本文中。

[0216] 在另一个实施方案中,四环素化合物敏感状态为癌症。本发明的四环素化合物可用于治疗的癌症的实例包括所有实体肿瘤即癌症例如腺癌和肉瘤。腺癌为源于腺组织或其中肿瘤细胞形成可辨腺性结构的癌症。肉瘤广泛包括其细胞被包埋在纤维状或均质物质如胚胎性结缔组织中的肿瘤。可采用本发明化合物治疗的癌症实例包括(但不限于)前列腺、乳腺、卵巢、睾丸、肺、结肠和乳腺癌的癌症。本发明的方法不限于治疗这些肿瘤类型,而是扩展至源于任何器官系统的任何实体肿瘤。可治疗的癌症实例也包括(但不限于)结肠癌、膀胱癌、乳腺癌、黑色素瘤、卵巢癌、前列腺癌、肺癌及多种其它癌症。本发明方法也致使在腺癌例如前列腺、乳腺、肾脏、卵巢、睾丸和结肠的癌症中抑制癌症生长。

[0217] 在一个实施方案中,本发明涉及通过给予有效量的取代的四环素化合物以便发生癌细胞生长,即细胞增殖、侵袭、转移的抑制,或肿瘤发生率被减少、减慢或终止,来治疗患有癌症或处于患有癌症风险中的患者的方法。抑制作用可由于抑制炎性过程、下调炎性过程、一些其它机制或机制的组合引起。或者,四环素化合物可用于预防癌症复发,例如在手术切除或放射疗法后治疗残留癌组织。本发明有用的四环素化合物在它们与其它癌症治疗相比较为基本上非毒性时是尤其有利的。在另一个实施方案中,本发明化合物与标准癌症疗法例如(但不限于)化学疗法联合给予。

[0218] 四环素敏感状态的实例也包括神经紊乱,其包括神经精神疾病和神经变性疾病两者,但不限于阿尔茨海默氏病、与阿尔茨海默氏病相关的痴呆例如皮克氏病、帕金森病及其它弥漫性路易体疾病、老人痴呆症、亨顿舞蹈症、多发性抽动-秽语综合征(Gilles de la Tourette's syndrome)、多发性硬化、肌萎缩侧索硬化(ALS)、进行性核上性麻痹、癫痫和库雅氏症(Creutzfeldt-Jakob disease)、自律功能紊乱(autonomic function disorders)例如高血压和睡眠障碍、神经精神病(抑郁症、精神分裂症、分裂情感性精神障碍(schizoaffective disorder)、柯氏精神病(Korsakoff's psychosis)、躁狂症、焦虑症、恐惧症(phobic disorder)等)、学习或记忆障碍(记忆缺失或年龄相关的记忆丧失、注意力缺陷障碍等)、心境恶劣障碍、重度抑郁症、强迫观念与行为障碍、精神活性物质使用障碍、焦虑症、恐慌症、惊恐障碍以及双相情感障碍(严重双相情感(情绪)障碍(BP-1)、双相情感神经障碍例如偏头痛和肥胖症等)。另外的神经障碍包括例如在美国精神病学会的精神障碍诊断和统计手册(American Psychiatric Association's Diagnostic and Statistical manual of Mental Disorders (DSM))中列举的那些神经障碍,其最流行的版本在此通过参照以其全文结合到本文中。

[0219] 在另一个实施方案中,四环素化合物敏感状态为糖尿病例如儿童糖尿病、糖尿病、I型糖尿病或II型糖尿病。在另一个实施方案中,蛋白质糖基化不受给予本发明四环素化合物的影响。在另一个实施方案中,本发明的四环素化合物与标准糖尿病疗法例如(但不限于)胰岛素疗法联合给予。

[0220] 在另一个实施方案中,四环素化合物敏感状态为骨量病症(bone mass disorder)。骨量病症包括其中所述骨为其中骨形成、修复或重塑为有利的病症和/或状态的病症。例如,骨量病症包括骨质疏松症(例如在骨强度和密度方面的降低)、骨折、与手术

方法(例如面容重建)相关的骨形成、成骨不全(脆骨症)、低磷酸酯酶症、佩吉特氏病(Paget's disease)、纤维性结构不良、骨硬化病、骨髓癌病和骨中钙消耗,例如与原发甲状旁腺功能亢进症相关的骨中钙消耗。骨量病症包括其中骨的形成、修复或重塑为对患者有利的所有状态以及可用本发明的四环素化合物治疗的所有其它与患者的骨或骨骼系统相关的病症。在另一个实施方案中,骨量病症包括在美国专利第5459135、5231017、5998390、5770588号、RE 34656、5308839、4925833、3304227和4666897号中描述的那些病症,其每一篇在此通过参照以其全部结合到本文中。

[0221] 在另一个实施方案中,四环素化合物敏感状态为急性肺损伤。急性肺损伤包括成人呼吸窘迫综合征(ARDS)、泵后综合征(PPS)和创伤。创伤包括由外来因素或事件所引起的活体组织的任何损伤。创伤的实例包括(但不限于)挤伤、与硬表面接触或者对肺的切割或其它损害。

[0222] 本发明也涉及通过给予本发明取代的四环素化合物治疗急性肺损伤的方法。

[0223] 本发明的四环素敏感状态也包括慢性肺疾病。本发明涉及通过给予四环素化合物,例如在此描述的那些化合物治疗慢性肺疾病的方法。方法包括给予患者有效量的取代的四环素化合物以便治疗慢性肺疾病。慢性肺疾病的实例包括(但不限于)哮喘、囊性纤维化病和肺气肿。在另一个实施方案中,本发明的四环素化合物用于治疗急性和/或慢性肺疾病,例如在美国专利第5977091、6043231、5523297和5773430号中描述的那些肺疾病,其每一篇在此通过参照以其全部结合到本文中。

[0224] 在又一个实施方案中,四环素化合物敏感状态为局部缺血、中风或缺血性脑卒中。本发明也涉及通过给予有效量的本发明取代的四环素化合物治疗局部缺血、中风或缺血性脑卒中的方法。在另一个实施方案中,本发明的四环素化合物用于治疗如在美国专利第6231894、5773430、5919775和5789395号中描述的这样的病症,通过参照在此结合到本文中。

[0225] 在另一个实施方案中,四环素化合物敏感状态为皮肤创伤。本发明也至少部分地涉及用于对急性创伤性损伤(例如切割、烧伤、擦伤等)改善表皮组织(例如皮肤、粘膜等)愈合反应的方法。方法可包括采用本发明的四环素化合物(其可或不具有抗菌活性)改善表皮组织愈合急性创伤的能力。方法可增加愈合组织的胶原积聚速率。方法也可通过降低MMPs的胶原溶解和/或溶胶活性减少表皮组织的蛋白水解活性。在另一个实施方案中,本发明的四环素化合物被给予皮肤表面(例如局部)。在另一个实施方案中,本发明的四环素化合物用于治疗皮肤创伤及其它如例如在美国专利第5827840、4704383、4935412、5258371、53088391、5459135、5532227和6015804号中描述的这样的病症,其每一篇在此通过参照以其全部结合到本文中。

[0226] 在又一个实施方案中,四环素化合物敏感状态为患者(例如具有或处于患有主动脉或血管动脉瘤风险等的患者)的血管组织的主动脉或血管动脉瘤。四环素化合物可有效减少血管动脉瘤大小或者可在血管动脉瘤发生之前被给予患者以便预防动脉瘤。在一个实施方案中,血管组织为动脉例如主动脉,例如腹主动脉。在另一个实施方案中,本发明的四环素化合物用于治疗在美国专利第6043225和5834449号中描述的病症,在此通过参照以其全部结合到本文中。

[0227] 细菌感染可由广泛种类的革兰氏阳性和革兰氏阴性细菌引起。本发明化合物用作

抗耐其它四环素化合物的生物体的抗生素。本发明的四环素化合物的抗菌活性可采用在 Waitz, J.A., *National Commission for Clinical Laboratory Standards, Document M7-A2*, 第10卷, 第8期, 第13-20页, 第2版, Villanova, PA (1990) 中描述的体外标准肉汤培养液稀释法测定。

[0228] 四环素化合物也可用于治疗习惯地用四环素化合物治疗的感染例如立克次体感染、多种革兰氏阳性和革兰氏阴性细菌感染、性病性淋巴肉芽肿、包涵体性结膜炎和鹦鹉热。四环素化合物可用于治疗例如克雷伯氏肺炎杆菌 (*K. pneumoniae*)、沙门氏菌属 (*Salmonella*)、希拉肠球菌 (*E. hirae*)、鲍曼不动杆菌 (*A. baumannii*)、卡他布兰汉菌 (*B. catarrhalis*)、流感嗜血杆菌 (*H. influenzae*)、铜绿假单胞菌 (*P. aeruginosa*)、屎肠球菌 (*E. faecium*)、大肠杆菌 (*E. coli*)、金黄色葡萄球菌 (*S. aureus*) 或粪肠球菌 (*E. faecalis*) 的感染。在一个实施方案中, 四环素化合物用于治疗耐其它四环素抗生素类化合物的细菌感染。本发明的四环素化合物可与药学上可接受的载体一起给予。

[0229] 术语与另一种治疗药物或治疗“联合”包括共同给予四环素化合物(例如抑制剂)与另一种治疗药物或治疗; 首先给予四环素化合物, 随后给予另一种治疗药物或治疗; 和首先给予另一种治疗药物或治疗, 随后给予四环素化合物。另一种治疗药物可为本领域已知治疗、预防或减少疾病或病症例如IPAS的症状的任何药物。另外, 另一种治疗药物可为当与给予四环素化合物联合给药时对患者有益的任何药物。在一个实施方案中, 通过本发明方法治疗的疾病, 例如癌症包括在美国专利第6100248、5843925、5837696和5668122号中描述的那些疾病, 在此通过参照以其全部结合到本文中。

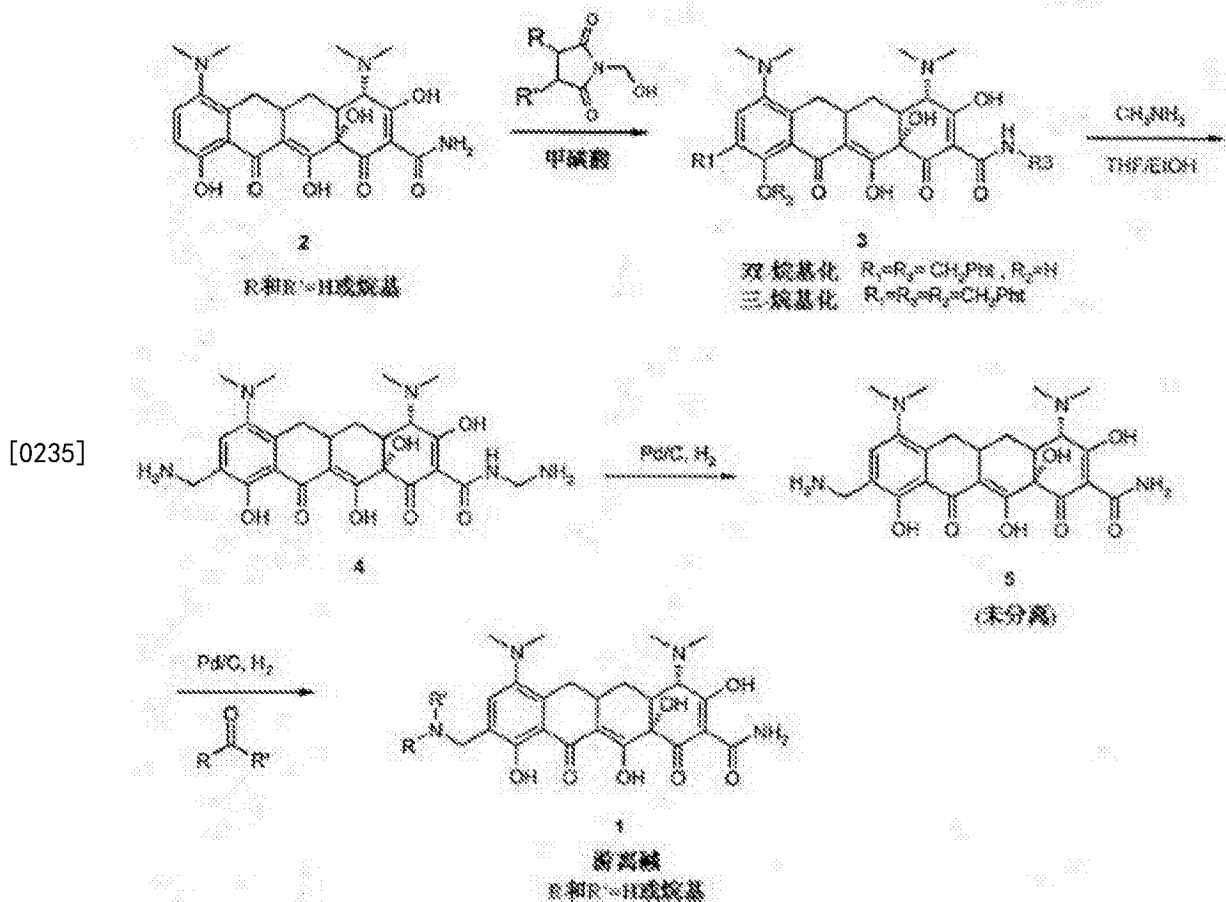
[0230] 术语化合物的“有效量”为对于治疗或预防四环素化合物敏感状态必要和足够的量。有效量可依这样的因素如患者的体积和重量、疾病类型或具体的四环素化合物而变化。例如, 四环素化合物的选择可影响什么构成“有效量”。本领域的普通技术人员应能够研究上述因素并对于四环素化合物的有效量作出决定而无需过度的实验。

[0231] 在本发明的治疗方法中, 一种或多种本发明的四环素化合物可被单独给予患者, 或者更通常地本发明化合物将作为与常规赋形剂, 即药学上可接受的适合于非肠道、口服或其它要求的给药并且与活性化合物不发生有害反应和对其接受者无害的有机或无机载体物质混合的药用组合物的部分给药。

[0232] 本发明通过以下实施例得到进一步阐明, 这些实施例不应构成进一步的限制。

[0233] 6. 本发明的例证

[0234] 实施例1: 9-烷基氨基甲基米诺环素的合成



[0236] 流程2

[0237] 使盐酸米诺环素(化合物2)溶于含有甲磺酸酐或类似除水剂(water scavenger)酸例如三氟甲磺酸的甲磺酸或氢氟酸中。向反应混合物中加入N-羟甲基邻苯二甲酰亚胺。在20-35℃下搅拌混合物直到反应完全。将酸性溶液加入到冰/水混合物中,并且三氟甲磺酸盐可易于沉淀,过滤并收集。使固体再次溶于丙酮中并用碱使成为中性pH。通过加入水沉淀产物。如果存在作为除水剂的三氟甲磺酸,产物可被沉淀而无须中和。分离作为双和三烷基化产物混合物的产品。所分离的该反应物料以要求的双烷基化比率(90%)富集

[0238] 使固体悬浮于EtOH或MeOH中。通过使用甲胺实施氨解(aminolysis)。当反应进行时邻苯二甲酰胺副产物沉淀并经过滤除去。通过向反应混合物中加入约1.5体积的叔丁基甲基醚沉淀出浅黄色的固体产物并通过简单过滤收集,在溶液中剩余许多小的杂质和甲胺试剂。通过用低级脂肪醇例如甲醇再次浆化,实施化合物的进一步纯化。

[0239] 将作为游离碱的化合物4转移至载有甲醇和醛的氢化容器中。加入钝化的Pd/C催化剂并将容器用氢气加压。在约30 Psi氢气压力下将反应混合物氢化约24小时。当化合物4转化为1完全时,过滤溶液并通过C盐垫洗涤。此时反应混合物含有非常低的β C-4差向异构体,约3-7%。

[0240] 如下处理产物(1)以选择性地使产物与其杂质分离。用浓HCl将溶液的pH调节至约4.5并用二氯甲烷提取溶液。用二氯甲烷提取水层以选择性地回收优选的差向异构体产物(例如α)。合并二氯甲烷层并浓缩。且加入2 L正庚烷以沉淀产物。通过用或不用叔丁基甲基醚重复处理方法以溶解粗产物,得到进一步纯化。

[0241] 实施例2: 化合物1的纯化

[0242] 使9-(2',2'-二甲基丙基氨基甲基)米诺环素游离碱(40 g)溶于150 mL缓冲液A(甲磺酸-MSA的0.1%水溶液)中并用MSA将pH调节至2-3。

[0243] 将溶液过滤并注射到HPLC且用94%缓冲液A和6%乙腈的等度洗脱液来洗脱产物。当检测到产物峰时开始收集产物流分。分析每一种流分并且大于主峰80% AUC的验收准则被用于早期产物流分。当合并流分时,所合并流分的杂质水平和相对浓度被提取为(factored into)满足最终产物规格的选择标准。向产物流分中加入相当于所收集流分初始体积10%的亚硫酸钠的10%水溶液。

[0244] 以下实施例表示单次注射的输出。也可合并来自多次注射的输出并处理。收集3.5 L的产物流分体积(包括亚硫酸钠)并采用氢氧化钠溶液将pH调节至4.0-4.5。用2 L二氯甲烷洗涤水溶液并分离和弃去有机层。

[0245] 采用氢氧化钠将水层的pH调节至7.5-8.5并用2.4 L二氯甲烷提取产物4次。在每一次提取之前用氢氧化钠或MSA将pH再次调节至7.5-8.5

[0246] 合并4份二氯甲烷层并浓缩至约200 mL,然后将其缓慢加入到(经约10分钟的时间期间)剧烈搅拌的正庚烷(2.5 L)中。在室温下搅拌混悬液约10分钟并用正庚烷1.5 L缓慢稀释(经5分钟的时间期间)。使浆状物冷却至0-5℃并搅拌1-2小时。过滤悬浮的固体并用3 x 150 mL份的正庚烷洗涤。在40℃真空干燥产物至少24小时,直到得到恒重并且所有残留溶剂的水平在规定范围内。分离为黄色固体的约13.6 g 9-(2',2'-二甲基丙基氨基甲基)米诺环素游离碱。

[0247] 实施例3: 化合物1的晶体HCl盐的制备

[0248] 使化合物1(13 g)溶于丙酮(300 mL)中,过滤并用丙酮另外洗涤滤器。使合并的滤液和洗液冷却至5℃。向合并的滤液和洗液中,在伴随剧烈搅拌下缓慢加入浓HCl(3.9 mL)在丙酮(79 mL)中的溶液。在冰浴中搅拌生成的浆状物15分钟并滤出。

[0249] 用冷的丙酮和戊烷洗涤第一批收获的固体并真空干燥48小时,得到13.7 g黄色无定形固体。用铝箔遮盖含有饱和滤液的烧瓶并放置2周,期间观察到单晶生长。经过滤收集晶体并用庚烷洗涤。

[0250] 实施例4: 化合物1的晶体甲磺酸盐的制备

[0251] 向在惰性氮气氛下的25-mL 3颈烧瓶中,加入3 mL异丙醇(IPA)。通过向烧瓶中加入225 mg化合物1的无定形游离碱制备浆状物。将浆状物温热至45℃的温度。然后向浆状物中加入甲磺酸水合物(98.0 mg)。在45℃下搅拌浆状物1小时,然后冷却至22℃,产生稠的晶体浆状物。过滤浆状物并用IPA(2 x 1 mL)洗涤。通过在55℃下干燥多于2小时自晶体滤饼除去过量的IPA,得到恒重。分离化合物1的晶体甲磺酸(甲烷磺酸)盐(180 mg)。测定到晶体甲磺酸盐在5℃下不稳定。

[0252] 实施例5: 化合物1的晶体甲苯磺酸盐的制备(采用浆状物方法)

[0253] 向在惰性氮气氛下的5-L 3颈烧瓶中,加入2.0 L异丙醇(IPA)。通过向烧瓶中加入289 g化合物1的无定形游离碱制备浆状物。然后向浆状物中加入对-甲苯磺酸水合物(97.0 g)在IPA(400 mL)中的溶液。在伴随加入水(9 mL)下,将浆状物上清液的水含量调节至0.6 g/L,并在20-25℃下搅拌浆状物18小时,产生稠的晶体浆状物。过滤浆状物并用IPA(2 x 500 mL)洗涤。经吹送干燥氮气通过滤饼24小时自晶体滤饼除去过量的IPA。固体含有3重

量% (wt %) 的IPA, 在70-75%相对湿度下, 吹送湿润的氮气通过滤饼24小时进一步干燥滤饼。滤饼保留有0.9 wt %的IPA, 其通过该方法没有进一步减少。然后经吹送干燥氮气通过滤饼24小时, 自滤饼除去过量的水。分离为橙色粉末的化合物1的甲苯磺酸盐(337 g)。所分离的化合物1的甲苯磺酸盐为仅有一种形式被观察到的晶体: 非化学计量的半水化合物, 如通过x-射线粉末衍射(XPRD)和热解重量(thermogravimetric TG)分析测定的那样。

[0254] 实施例6: 化合物1的晶体甲苯磺酸盐的制备(采用溶液方法)

[0255] 向在惰性氮气氛下的5-L 3颈烧瓶中, 加入1.7 L甲醇和1.7 L甲基叔丁基醚。伴随搅拌下向烧瓶中加入对-甲苯磺酸一水合物(209 g)和化合物1的无定形游离碱(556 g), 得到澄明的溶液。加入晶种量(3 g)的化合物1的以甲苯磺酸盐以引发结晶并加入另外量的甲醇(0.1 L)和甲基叔丁基醚(0.5 L)。在约20°C下搅拌生成的浆状物22小时, 产生稠的晶体浆状物。过滤浆状物并先后用1.1 L甲醇与1.3 L甲基叔丁基醚的混合物和甲基叔丁基醚(2 x 2.4 L)洗涤。分离为橙色粉末的化合物1的甲苯磺酸盐。经吹送干燥氮气通过滤饼24小时自晶体滤饼除去过量的溶剂。然后在约30°C下真空干燥滤饼直到固体包含约6重量% (wt %)的溶剂。在约45°C下进一步真空干燥滤饼直到固体包含少于3重量% (wt %)的溶剂。所分离的化合物1的甲苯磺酸盐为如通过x-射线粉末衍射(XPRD)测定的被观察到的1型的晶体。

[0256] 实施例7: 化合物1的甲苯磺酸盐的表征

[0257] 所分离化合物1的甲苯磺酸盐的XRPD图在5.6、8.0、8.6、11.4、13.0、15.5、18.8、20.4和24.5度包含2 θ 值。

[0258] 在氮气流下, 于10°C/分钟的加热速率下, 使晶体甲苯磺酸盐经历热解重量(TG)分析。由于失水, 在高达81.3°C下观察到重量减轻3.9%。

[0259] 在干燥下, 化合物1的晶体甲苯磺酸盐中的水含量被计算为0.5%。在于室温下放置24小时后, 该值增加5%。与无定形化合物1相反, 化合物1的晶体甲苯磺酸盐在室温下稳定数周和数月, 保持水含量为约5%。

[0260] 采用对称水蒸汽吸附分析仪测定受试晶体甲苯磺酸盐的吸湿性, 并且报告为作为25°C下以5%间隔自5%-95%-1%百分比相对湿度(%RH)的函数得到的wt%。观察到在95% RH下最大增重12 wt%, 伴随解吸轻微滞后, 并观察到由于IPA造成2 wt%减少。

[0261] 晶体甲苯磺酸盐被测定具有概述于以下表6中的溶解度。通过在环境温度下混合过量的固体与溶剂2小时, 随后过滤上清液测定溶解度。通过高效液相色谱法(HPLC)测定上清液浓度。通过在0.5 mL水中平衡56.8 mg受试晶体甲苯磺酸盐和在1.0 mL水中平衡122.1 mg受试晶体甲苯磺酸盐得到澄明溶液。122.1 mg受试晶体甲苯磺酸盐在1.0 mL水中的pH被测定为5.70。

[0262] 表6

[0263]

溶剂	溶解度 (mg/mL)
水	>100
乙腈	5.9
甲醇	86.1
IPA	5.8

[0264] 实施例8: 化合物1的XRPD

[0265] 在采用Cu K α 辐射(40 kV, 40 mA)、 θ - θ 角度计、V20发散(divergence)和接收狭缝、石墨二级单色光镜和闪烁计数器的Siemens D5000衍射仪上收集X-射线粉末衍射图。采用认证的Corundum标准(NIST 1976)检查仪器性能。用于数据收集的软件为Diffrac Plus XRD Commander v2.3.1并采用Diffrac Plus EVA v 11.0.0.2或v 13.0.0.2分析并呈现数据。

[0266] 将粉末状样品制备为平板样本使用。将约35 mg样品轻轻填装到切割为平滑的零背景(510)硅晶片腔体内。在分析期间以其自身平面旋转样品。数据收集的细节为:

[0267] 角度范围:2-42°2 θ

[0268] 步长:0.05°2 θ

[0269] 收集时间:4秒/步

[0270] 在采用Cu K α 辐射(40 kV, 40 mA)、自动化XYZ镜台、用于自动样品定位的激光视频显微镜和HiStar 2维平面检测器的Bruker AXS C2 GADDS衍射仪上收集高分辨X-射线粉末衍射图。X-射线光学仪器由连接于0.3 mm针孔型准直仪的单一Göbel多层镜组成。

[0271] 样品上的光束发散度即X-射线光束的有效大小为约4 mm。 θ - θ 连续扫描模式用于样品-检测器距离为20 cm,得到3.2°-29.7°的有效2 θ 范围。通常,使样品曝露于X-射线光束120秒。用于数据收集的软件为用于WNT 4.1.16的GADDS并且采用Diffrac Plus EVA v 9.0.0.2或v 13.0.0.2分析并呈现数据。

[0272] 实施例9: 温度和水分稳定性研究

[0273] 通过用高效液相色谱法(HPLC)对每一种盐在曝露于各种温度和/或湿度条件时监测杂质分布变化,对化合物1的甲苯磺酸盐和甲磺酸盐实施稳定性研究。将每一个样品置于密闭容器中并曝露于三种受到控制的环境条件下:冷藏(5°C)、20°C和60%相对湿度及40°C和75%相对湿度。在2周后,晶体甲苯磺酸盐被测定为化合物1的最稳定晶型。继续晶体甲苯磺酸盐的稳定性研究。

[0274] 通过以下反相HPLC杂质分布方法,对甲苯磺酸盐在时间点0、1、2、4周(表7)和3个月(表8);和对甲磺酸盐在时间点0、1和2周(表9)分析样品。

[0275] 尽管期望采用相似或等同的柱子分析得到相似的结果,但是采用SYMMETRY SHIELD RP 18柱(4.6 x 250 mm, 5 μ m粒度)实施反相HPLC分析。流动相组分为(A) 在pH 3.3下于水中和(B) 于乙腈中的0.01 M乙酸铵。流动相组成为于5分钟内自6%增加至15% B, 在15% B下保持15分钟,于10分钟内自15%增加至60% B,然后于2分钟内自60%增加至90% B,并然后在6% B下再次平衡系统4分钟的梯度。流速为1.0 mL/分钟,并且注射体积为10.0 μ L。柱温保持在30°C下。经在280 nm下紫外光(UV)检测。化合物1的保留时间为约15.7分钟。将样品溶液以流动相A制备至最终浓度为2.0 mg/mL。

[0276] 表7

[0277]

时间点	总杂质**	RRT 0.52 (%)	RRT 0.77 (%)	RRT 0.93 (%)	RRT 1.19 (%)	RRT*** 1.26 (%)	RRT 1.77 (%)	化合物1 (%)
初始	1.60	0.06	ND	ND	0.24	1.2	0.10	98.4
<u>1周</u>								
5°C	1.51	0.09	ND	ND	0.21	1.1	0.11	98.5
20°C和 60% RH*	1.63	0.09	ND	ND	0.21	1.2	0.12	98.3
40°C和 75% RH	1.80	0.09	0.05	ND	0.21	1.3	0.14	98.2
<u>2周</u>								
5°C	1.62	0.08	ND	0.08	0.24	1.1	0.12	98.4
20°C和 60% RH*	1.66	0.08	ND	0.08	0.25	1.1	0.15	98.4
40°C和 75% RH	1.68	0.08	ND	0.09	0.25	1.1	0.16	98.3
<u>4周</u>								
5°C	1.61	0.09	0.08	0.07	0.23	1.0	0.14	98.3
20°C和 60% RH*	1.84	0.10	0.10	0.12	0.24	1.1	0.18	98.2
40°C和 75% RH	1.96	0.10	0.17	0.13	0.26	1.1	0.20	98.1

[0278] *RH意指相对湿度

[0279] **总杂质包括具体批次中的所有杂质

[0280] *** RRT 1.26意指β-差向异构体。

[0281] 表8

[0282]

时间点	20°C和 60% RH*				40°C和 75% RH			
	β-差向异构体 RRT=1.26	4-酮基化合物 RRT=1.37	M-2 杂质 RRT=0.84	总杂质**	β-差向异构体 RRT=1.26	4-酮基化合物 RRT=1.57	M-2 杂质 RRT=0.84	总杂质
0个月	1.76%	0.05%	-	2.12%	1.76%	0.05%	-	2.12%
3个月	1.74%	0.10%	0.18%	2.86%	1.66%	0.14%	0.31%	3.12%

[0283] *RH意指相对湿度

[0284] **总杂质包括具体批次中的所有杂质

[0285] 表9

[0286]

时间点	总杂质(%)	RRT 0.52 (%)	RRT 0.77 (%)	RRT 0.93 (%)	RRT 1.19 (%)	RRT 1.26 (%)	RRT 1.77 (%)	化合物1 (%)
初始	1.70	ND	ND	ND	0.20	1.5	ND	98.3
1周								
5°C	1.85	ND	ND	ND	0.17	1.6	0.08	98.2
20°C和 60% RH*	2.06	ND	ND	ND	0.17	1.8	0.09	98.0
40°C和 75% RH	2.97	0.07	0.05	ND	0.16	2.6	0.09	97.1
2周								
5°C	1.65	ND	ND	0.06	0.20	1.3	0.09	98.3
20°C和 60% RH*	1.87	ND	ND	0.06	0.20	0.11	0.11	98.1
40°C和 75% RH	3.38	0.05	0.07	0.06	0.19	0.11	0.11	96.6

[0287] 以上数据证明了当在冷藏和/或20°C与60% RH条件下储存至少4周时,化合物1的甲苯磺酸盐是稳定的。化合物1的甲苯磺酸盐在0°C-70°C范围内,或在5°C-50°C范围内,或在20°C-30°C范围内是稳定的。

[0288] 实施例10: 光稳定性研究

[0289] 对化合物1的甲苯磺酸盐实施光稳定性研究。在透明的玻璃有盖培养皿中制备两个样品。一个样品用铝箔包裹用作对照样品。将两个样品置于ES 2000 Environmental Light 10 Chamber中并曝露于12千勒的冷白色荧光光线 (fluorescent light) 总计47小时。然后经HPLC杂质分布方法分析样品并且结果概述于表10中。

[0290] 表10

[0291]

样品	RRT 0.52 (%)	RRT 0.64 (%)	RRT 0.77 (%)	RRT 0.83 (%)	RRT 0.93 (%)	RRT 1.19 (%)	RRT 1.26 (%)	RRT 1.77 (%)	化合物1 (%)
对照组	0.06	ND	0.08	ND	0.12	0.26	1.2	0.16	98.2
曝露的	0.06	ND	0.09	ND	0.13	0.26	1.1	0.16	98.2

[0292] 等价物

[0293] 本领域技术人员应认识到或者能够采用不多于常规实验确定在此所描述的具体实施方案和方法的许多等价物。这样的等价物打算包括在以下权利要求书的范围内。

[0294] 本文所引用的所有的专利、专利申请及参考文献均通过参照明确地结合到本文中。

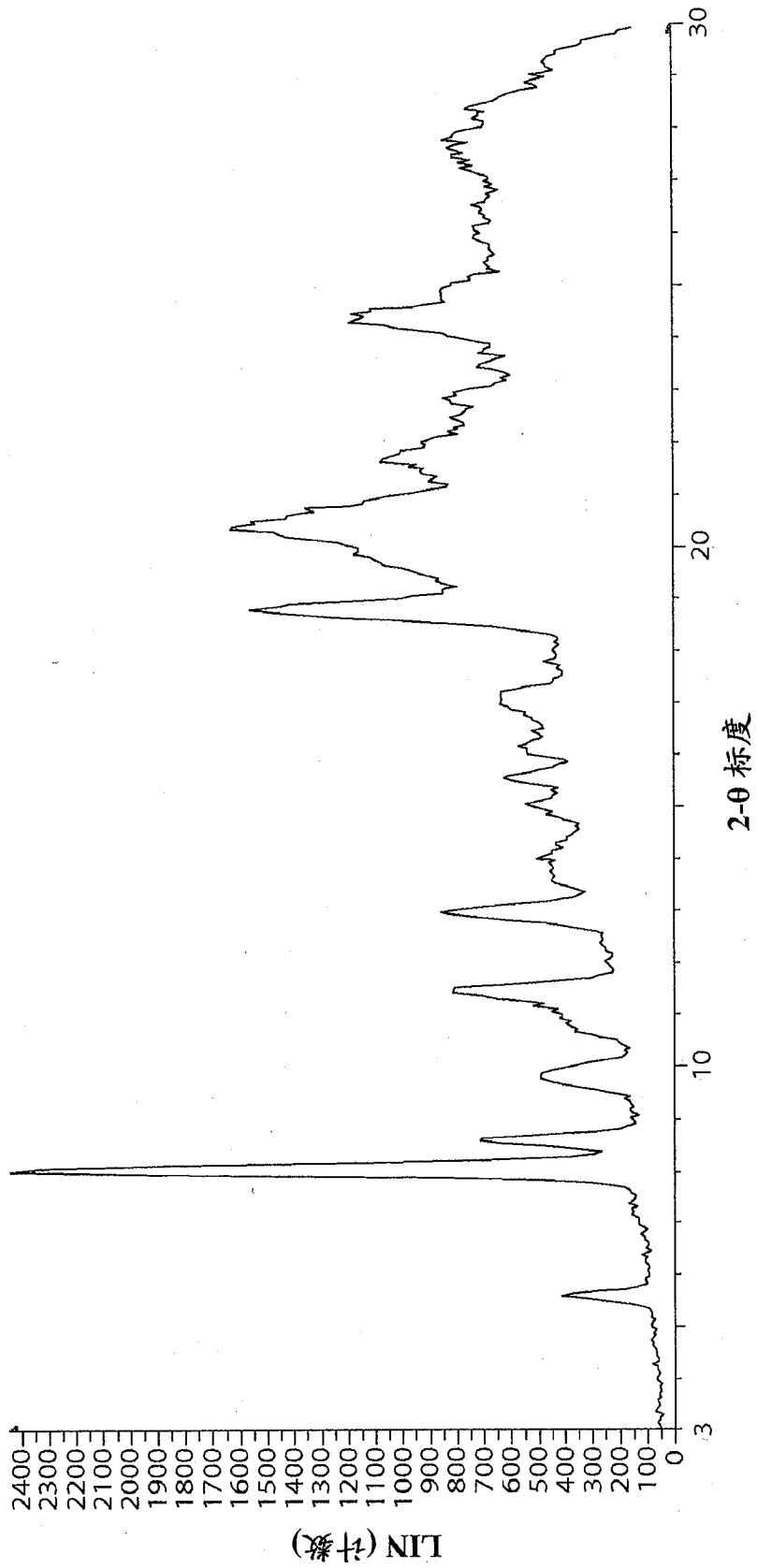


图 1

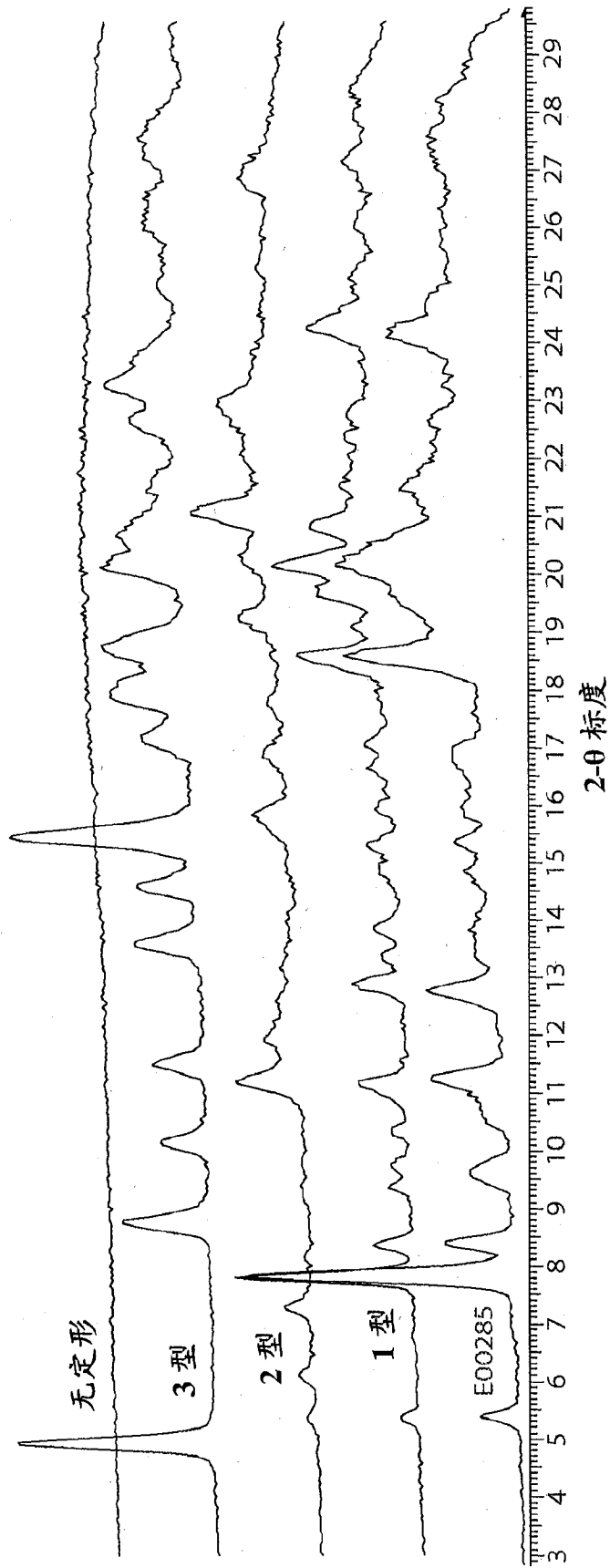


图 2

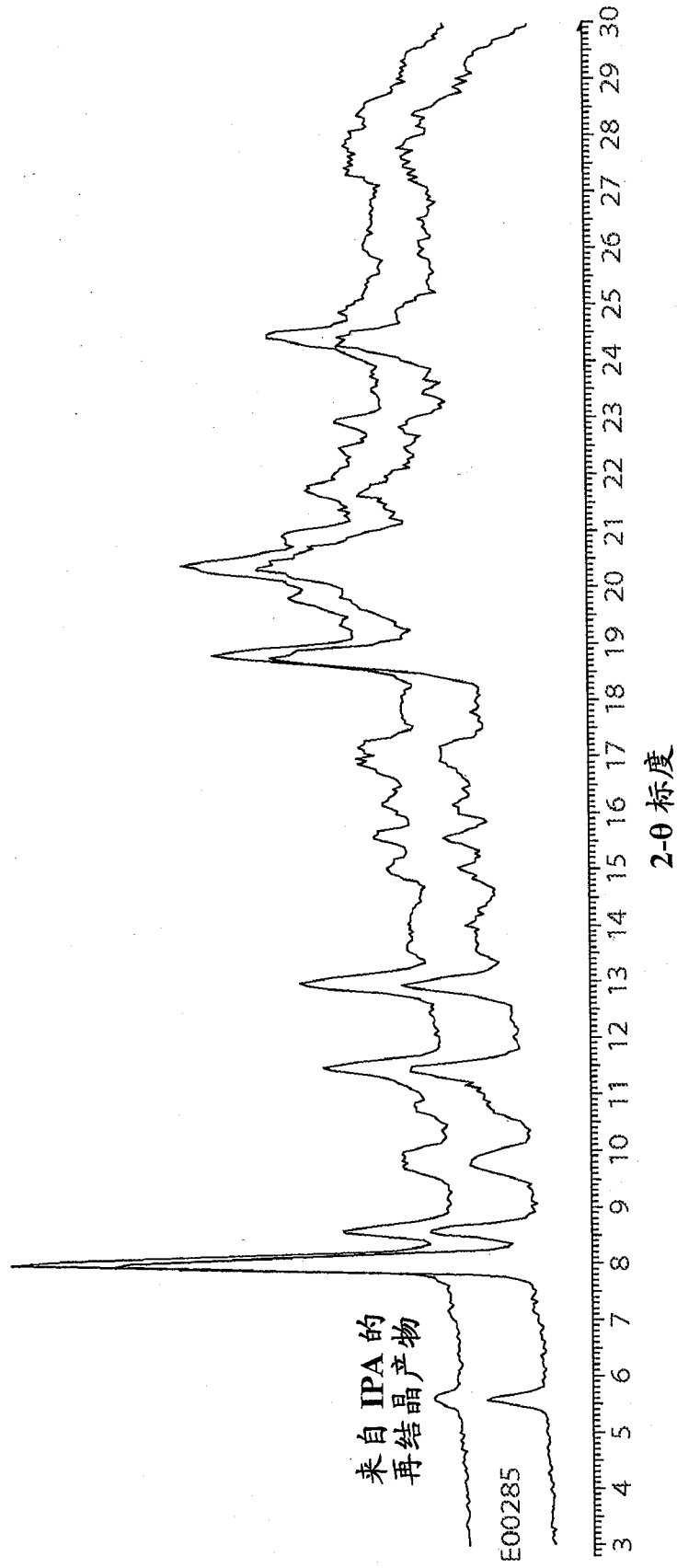


图 3

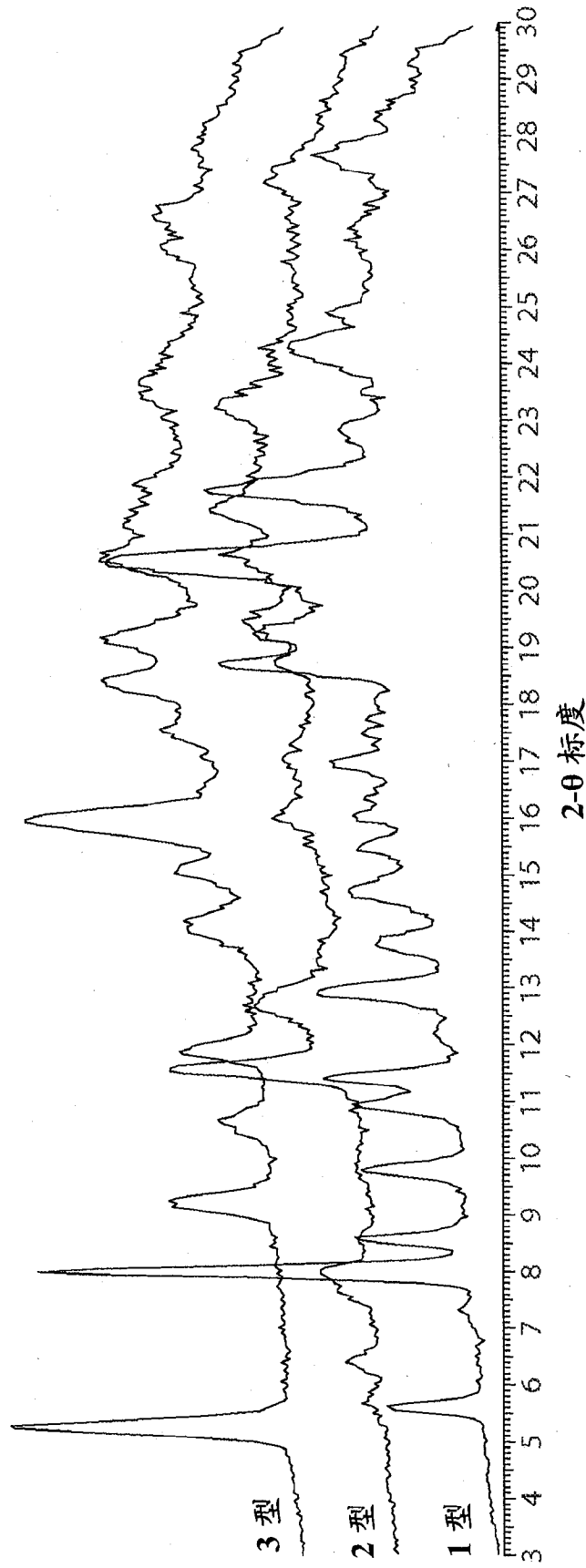


图 4

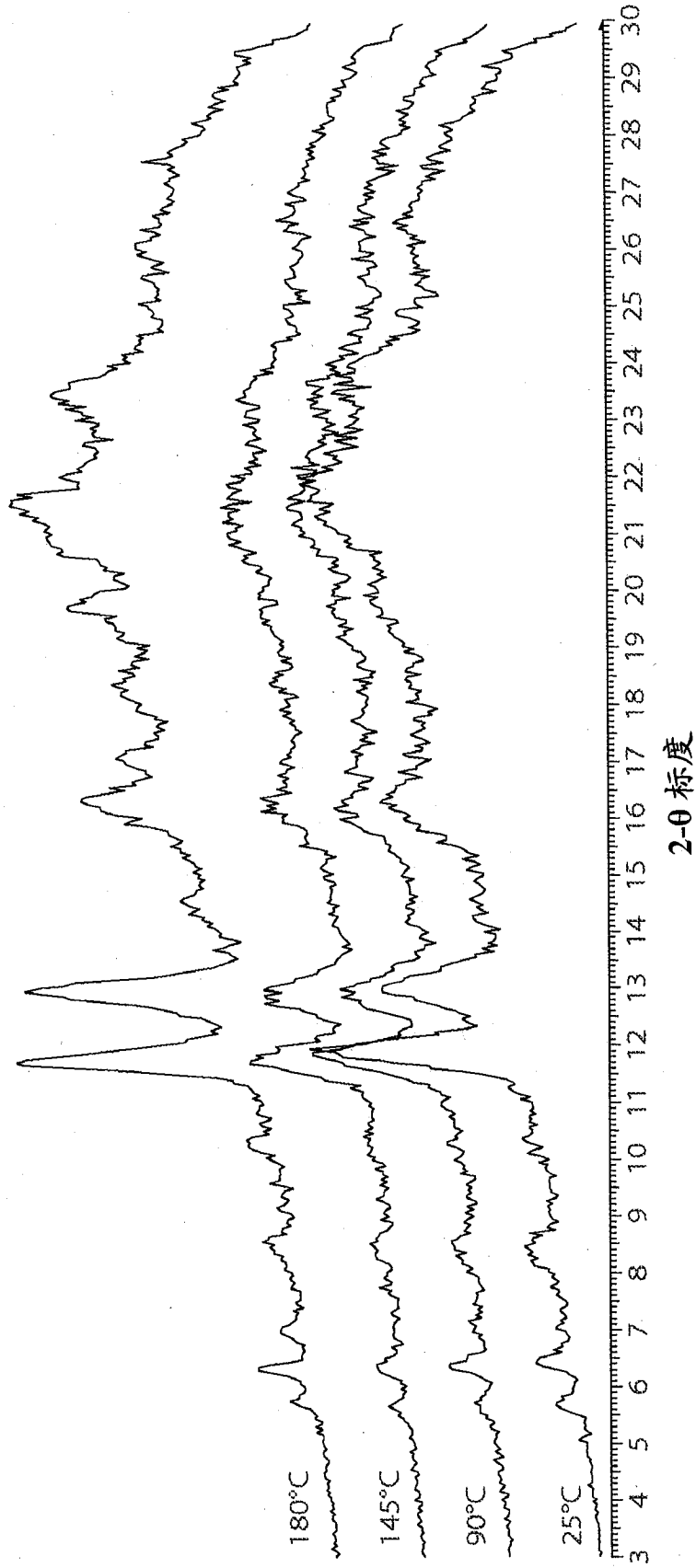


图 5

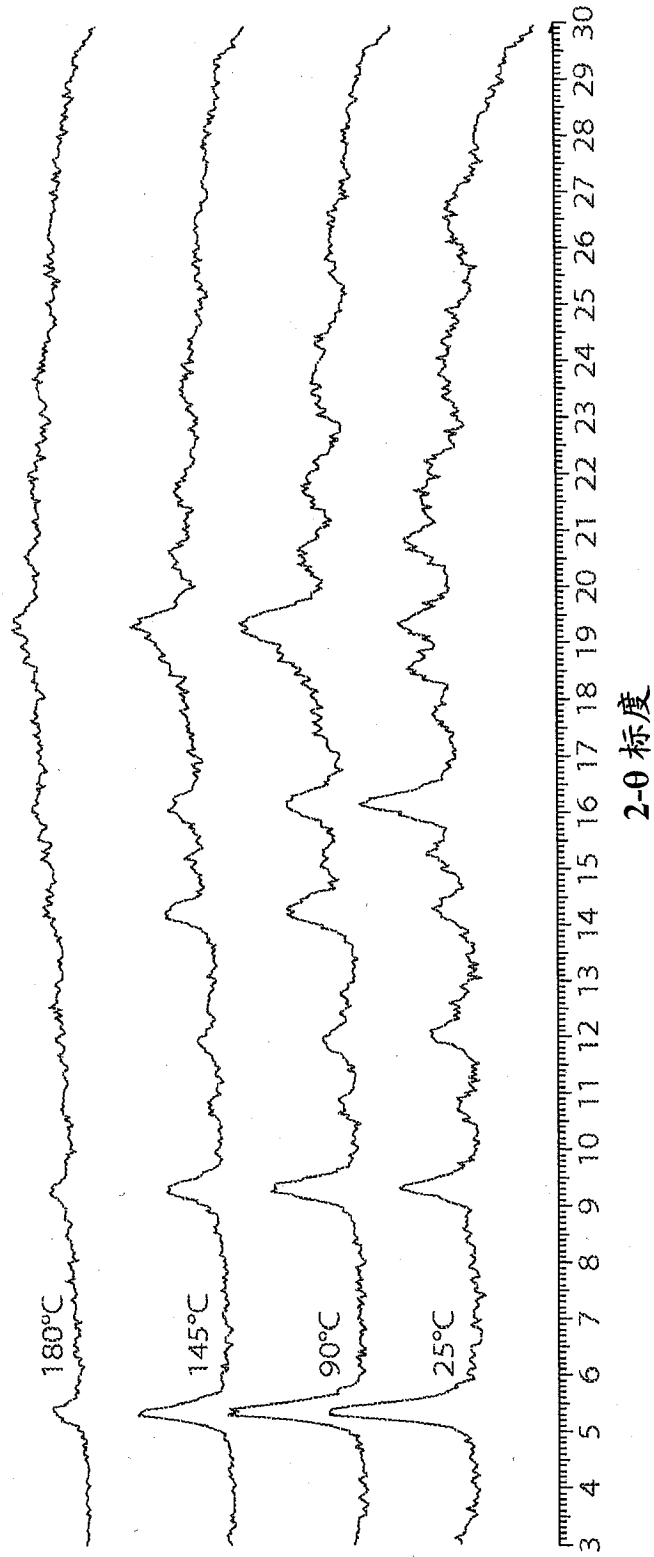


图 6

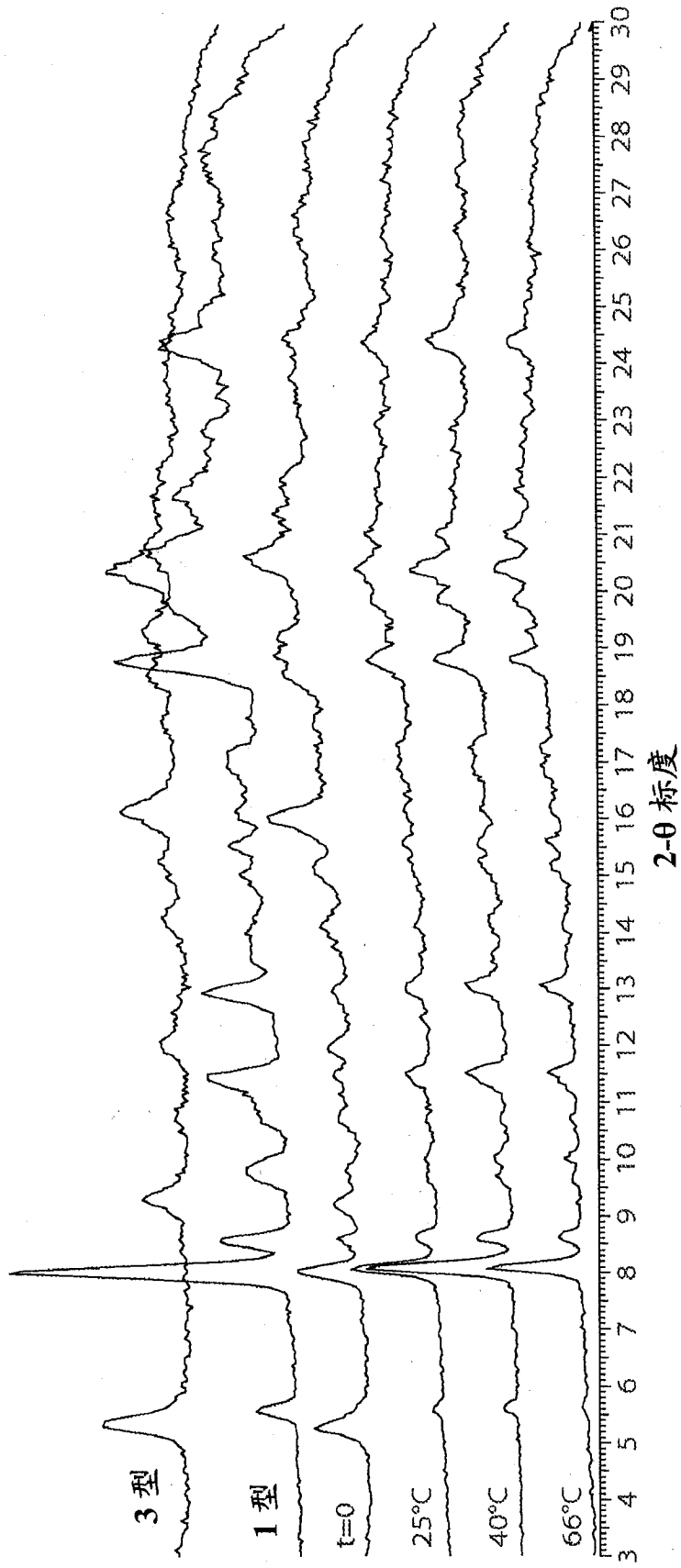


图 7

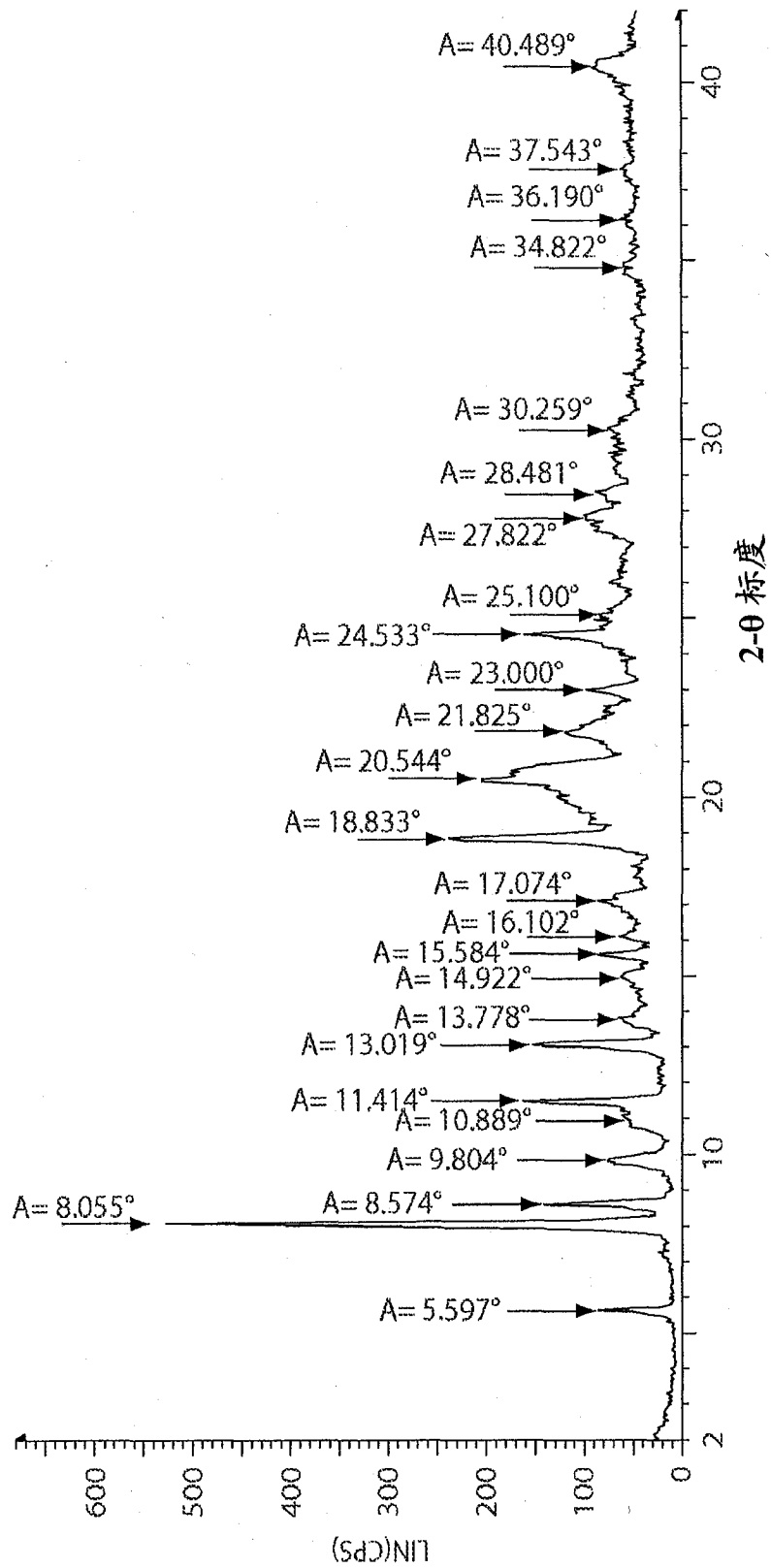


图 8

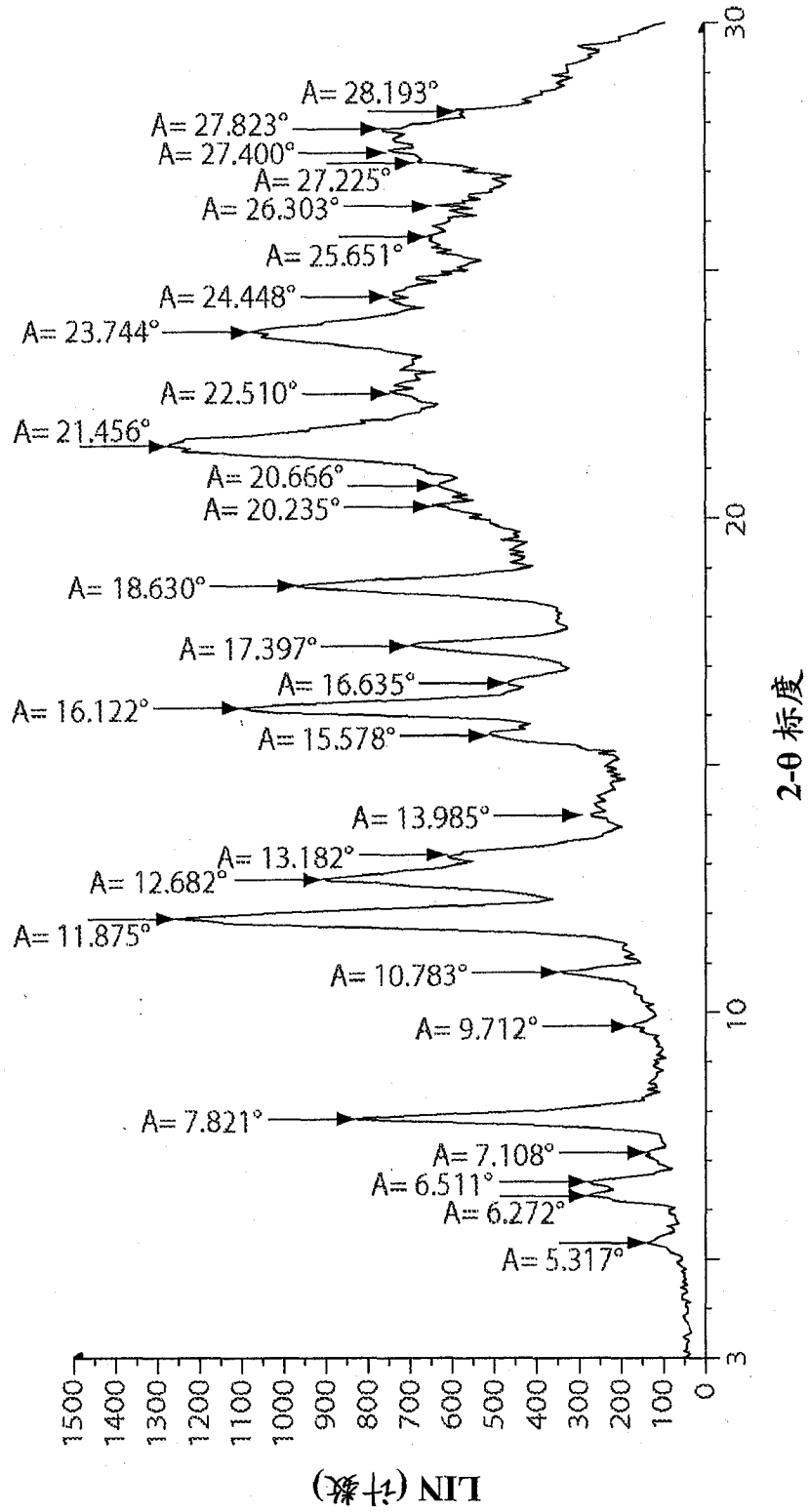


图 9

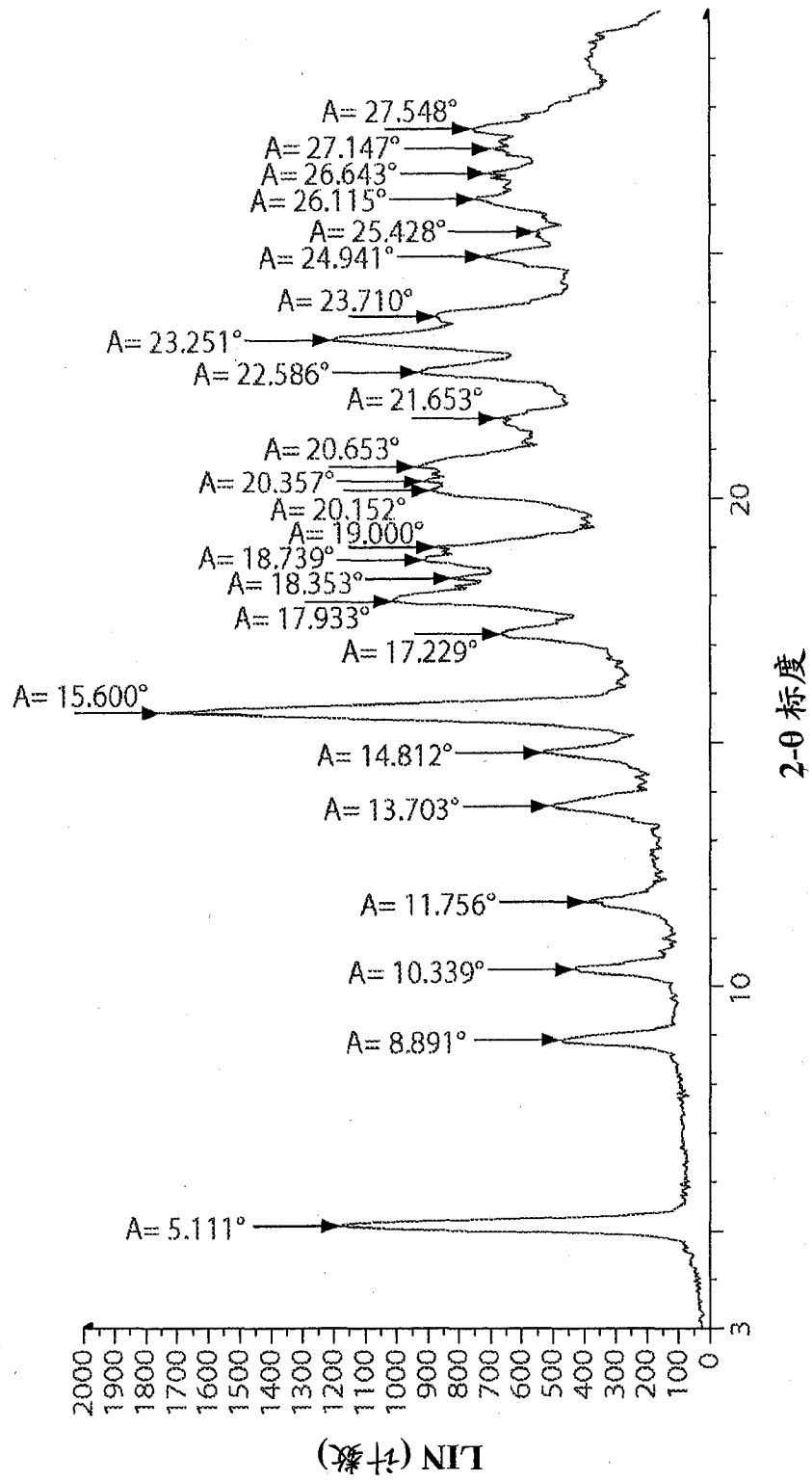


图 10