



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I455941 B

(45)公告日：中華民國 103 (2014) 年 10 月 11 日

(21)申請案號：101122882

(22)申請日：中華民國 94 (2005) 年 11 月 04 日

(51)Int. Cl. : C07D498/22 (2006.01)

C07B63/00 (2006.01)

(30)優先權：2004/11/05 美國

60/625,343

2005/01/07 美國

60/642,131

(71)申請人：諾華公司 (瑞士) NOVARTIS AG (CH)

瑞士

(72)發明人：賀恩 帕斯卡 HOEHN, PASCALE (FR) ; 科奇 柏德 KOCH, BERND (DE) ; 莫茲
麥克 MUTZ, MICHAEL (DE)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：

US 4107297A

US 5093330A

審查人員：李淑禎

申請專利範圍項數：3 項 圖式數：4 共 0 頁

(54)名稱

純化十字孢靈素之方法

PROCESS FOR PURIFYING STAUROSPORINE

(57)摘要

本發明係有關 N-苄醯基-十字孢靈素(staurosporine)的新穎結晶形 II；包含其之組合物；其製備方法；和 N-苄醯基-十字孢靈素的新穎結晶形 II 在溫血動物(特別是人類)之診斷方法或治療方面的用途。本發明係有關非晶形的 N-苄醯基-十字孢靈素；包含其之組合物；其製備方法；和非晶形 N-苄醯基-十字孢靈素在溫血動物(特別是人類)之診斷方法或治療方面的用途。

The invention relates to a new crystalline form II of N-benzoyl-staurosporine; compositions containing the same; processes for the preparation thereof; and the use of crystalline form II of N-benzoyl-staurosporine in diagnostic methods or therapeutic treatment of warm-blooded animals, especially humans. The invention relates to the amorphous forms of N-benzoyl-staurosporine; compositions containing the same; processes for the preparation thereof; and the use of amorphous N-benzoyl-staurosporine in diagnostic methods or therapeutic treatment of warm-blooded animals, especially humans.

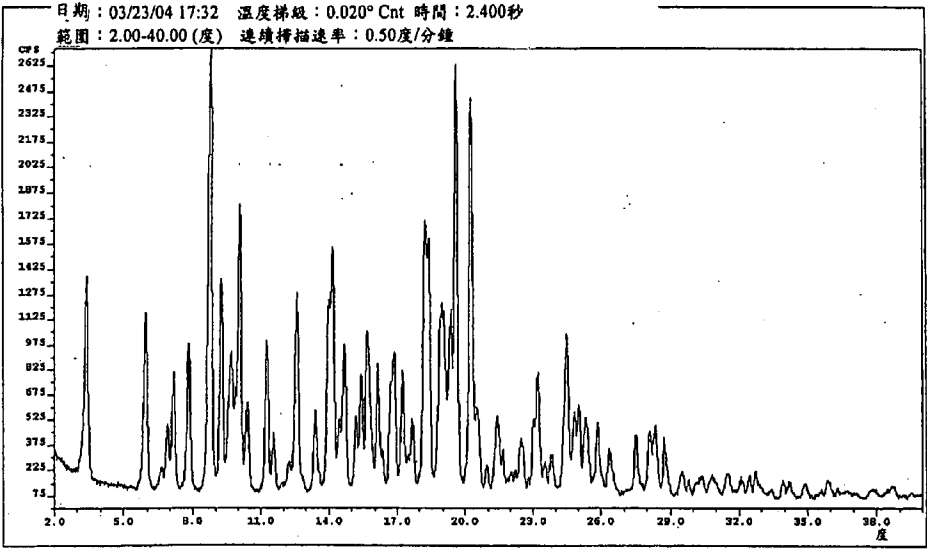


圖1

發明專利說明書

公告本

分割案

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※ 申請案號：/ 0112288

※ 申請日：94.11.4

※IPC 分類：C07D 448/52 (2006.01)

原申請案號：094138677

C07B 63/00 (2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

純化十字孢靈素之方法

PROCESS FOR PURIFYING STAUROSPOURINE

二、中文發明摘要：

本發明係有關N-苄醯基-十字孢靈素(staurosporine)的新穎結晶形II；包含其之組合物；其製備方法；和N-苄醯基-十字孢靈素的新穎結晶形II在溫血動物(特別是人類)之診斷方法或治療方面的用途。本發明係有關非晶形的N-苄醯基-十字孢靈素；包含其之組合物；其製備方法；和非晶形N-苄醯基-十字孢靈素在溫血動物(特別是人類)之診斷方法或治療方面的用途。

三、英文發明摘要：

The invention relates to a new crystalline form II of *N*-benzoyl-staurosporine; compositions containing the same; processes for the preparation thereof; and the use of crystalline form II of *N*-benzoyl-staurosporine in diagnostic methods or therapeutic treatment of warm-blooded animals, especially humans. The invention relates to the amorphous forms of *N*-benzoyl-staurosporine; compositions containing the same; processes for the preparation thereof; and the use of amorphous *N*-benzoyl-staurosporine in diagnostic methods or therapeutic treatment of warm-blooded animals, especially humans.

四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第(1)圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

(無元件符號說明)

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

(無)

六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係有關N-苳醯基-十字孢靈素(staurosporine)的新穎結晶形II；製備N-苳醯基-十字孢靈素的新穎結晶形II的方法；包含N-苳醯基-十字孢靈素的新穎結晶形II的組合物，和N-苳醯基-十字孢靈素新穎結晶形II在溫血動物(特別是人類)之診斷方法或治療方面的用途。

本發明係有關非晶形的N-苳醯基-十字孢靈素；製備非晶形N-苳醯基-十字孢靈素的方法，包含非晶形N-苳醯基-十字孢靈素的組合物，和非晶形N-苳醯基-十字孢靈素在溫血動物(特別是人類)之診斷方法或治療方面的用途。

【先前技術】

藥品，N-苳醯基-十字孢靈素被用來作為一種抗腫瘤劑。N-苳醯基-十字孢靈素的製備方法一般是業界已知的。然而，亦已知的是，相同藥品之不同多晶型在某些具醫學重要性的性質上確有大幅的差異。因此，N-苳醯基-十字孢靈素新穎的固態型和新的製備方法是持續需要的。

【發明內容】

根據某一態樣，本發明係提供N-苳醯基-十字孢靈素的結晶形II。N-苳醯基-十字孢靈素結晶形II的X-射線繞射光譜如圖1所描繪在反射角 2θ 為 8.7 ± 0.2 之處具有一譜峰。該N-苳醯基-十字孢靈素的結晶形II在95%的相對濕度和25℃下仍保持為乾燥的。

根據另一態樣，本發明係提供包含固態之N-苳醯基-十

字孢靈素的組合物，其中至少80重量%的該固態N-苄醯基-十字孢靈素為X-射線繞射光譜如圖1所描繪在反射角 2θ 為 8.7 ± 0.2 之處具有一譜峰的結晶形II。亦提供各式各樣的具體實施例和變體。

根據另一態樣，本發明係提供包含N-苄醯基-十字孢靈素的結晶形II和醫藥上可接受載體或稀釋劑的醫藥組合物。該醫藥組合物較佳為經口服投藥者。

根據又另一態樣，本發明亦係有關非晶形的N-苄醯基-十字孢靈素，製備非晶形N-苄醯基-十字孢靈素的方法，和包含非晶形N-苄醯基-十字孢靈素的組合物。

根據另一態樣，本發明係提供一種醫藥組合物，包括一疾病預防上或醫療上有效量的N-苄醯基-十字孢靈素和一或多種的醫藥上可接受賦形劑。本發明此態樣的醫藥組合物可調配成例如經口服投藥者。。

根據又一態樣，本發明係提供純化十字孢靈素的方法。

根據另一態樣，本發明係提供令十字孢靈素和苄酞反應製備N-苄醯基-十字孢靈素的方法。此方法視情況進一步包含播種該反應溶液，以製造非晶形的N-苄醯基-十字孢靈素或N-苄醯基-十字孢靈素的結晶形II。

根據又一態樣，本發明係提供製備非晶形N-苄醯基-十字孢靈素的方法，涉及噴霧乾燥包含N-苄醯基-十字孢靈素的溶液。

亦提供包括以所述方法製得之疾病預防上或醫療上有效量的N-苄醯基-十字孢靈素和一或多種的醫藥上可接受賦

形劑的醫藥組合物。

根據另一態樣，本發明係提供製備N-苄醯基-十字孢靈素結晶形II的方法，該方法包含：

- (a)提供溶於質子性或非質子性溶劑中的N-苄醯基-十字孢靈素溶液；
- (b)播種N-苄醯基-十字孢靈素的結晶形II，並讓該反應混合物和一種醇溶劑接觸，形成一種沉澱物；和
- (c)分離此沉澱物，其乃N-苄醯基-十字孢靈素的結晶形II。

也提供各式各樣的具體實施例和變體。

【實施方式】

除非另有定義，否則本文所用的所有技藝和科學術語皆和本發明有關的一般技術者所公認的定義是一樣的。雖然任何類似或等同於本文所述的方法和材質皆可用於本發明的實施和試驗中，但所描述的乃較佳的方法和材質。

對本發明目的而言，以下術語係定義如下。

結晶化合物，本文指定為"結晶形II"且於下文中稱之為N-苄醯基-十字孢靈素的結晶形II。透過x-射線的粉末繞射，和/或紅外線光譜學作鑑定。

"醫藥上可接受"意指其有助於製備一種通常是無毒以及不是生物學上不受歡迎的醫藥組合物，包括對獸醫的使用和/或人類醫學上的使用是可接受的。

"反溶劑"是當其添加至某一物質的現有溶液中時會降低該物質的溶解度的溶劑。

"組合物"乙詞包括(但不限於)粉末，溶液，懸浮液，凝膠，軟膏，乳劑和/或其混合物。術語組合物意涵蓋包含特定量之特定成份的產物，以及任何直接或間接導致特定成份以特定量結合的產物。"組合物"可包括一種單一化合物或化合物的混合物。"化合物"是一種包括相同化學結構之分子的化學物質。

術語"醫藥組合物"意涵蓋包含活性成份，構成載體之醫藥上可接受賦形劑的產物，以及任何直接或間接導致兩種或多種該等組份的結合，錯合或聚集的產物，或導致一或多種該等組份分解的產物，或導致一或多種該等組份之其他類型的反應或相互作用的產物。因此，本發明的醫藥組合物涵蓋任何藉摻合活性成份，額外的活性成份和醫藥上可接受賦形劑的組合物。

術語"賦形劑"意指醫藥組合物中不是活性成份(像是填料，稀釋劑和載體)的組份。有助於製備醫藥組合物的賦形劑通常是安全，無毒且既不是生物學上不受歡迎也不是其他方面不受歡迎的，並且對獸醫的使用和人類醫學上的使用是可接受的。說明書和申請專利範圍中所用"醫藥上可接受賦形劑"包括一和一種以上的此種賦形劑。

"醫療上有效量"意指當投藥供治療或預防一種疾病之化合物的量足以對這個疾病的治療或預防產生效果的量。"醫療上有效量"會依化合物，待治療病患的疾病和其嚴重性與年齡，體重等等而變。

當指的是一種化學反應時，術語"處理"，"接觸"和"反應"

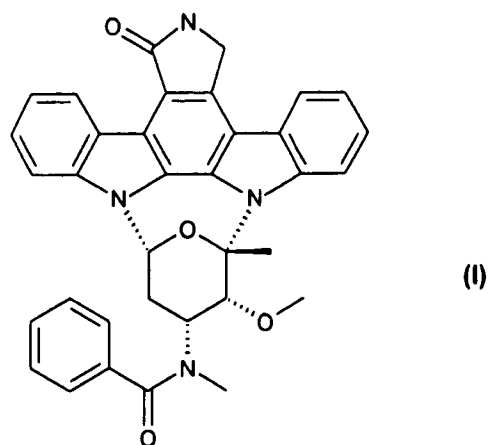
本文中是可以交替使用的，並且指的是在適當條件下添加或混合兩種或兩種以上的試劑，以製得所指和/或所希的產物。應理解地是，產生所指和/或所希產物的反應未必直接起因於一開始所添加之兩種試劑的結合，也就是說，有可能是一或一種以上於混合物中生成的中間物，其最後導致形成所指和/或所希的產物。

本文所用有關組合物的術語"大體上不含"意指該組合物不含的物形無法以熟悉本技術者已知的方法偵測出。

術語"非晶形"意指大體上不含結晶形雜質的材料，或是包含大量之結晶形雜質者。包含大量為雜質之結晶形質的非晶形材料在此稱之為"基本上是非晶形的N-苳醯基-十字孢靈素"。如圖4所示，結晶形雜質的存在不會產生一種對大體上不含結晶材料的非晶形為典型之暈圈般的漂亮圖案。大體上不含結晶形的非晶形材料稱之為"N-苳醯基-十字孢靈素的純非晶形"。圖3說明此形態的X-射線繞射光譜圖，此處圖案的暈圈形說明實質上不存在結晶構造。譜峰在這些是結晶形特徵的區域內尤其是找不到的。

實例進一步說明獲得"基本上是非晶形的N-苳醯基-十字孢靈素"和"N-苳醯基-十字孢靈素的純非晶形"兩者的方法。

N-苳醯基-十字孢靈素已知為(9 α ,10 β ,11 β ,13 α)-N-(2,3,10,11,12,13-六氫-10-甲氧基-9-甲基-1-氧-9,13-環氧-1h,9H-二吡啶[1,2,3-gh:3',2',1'-lm]吡咯[3,4-j][1,7]苯并重氮寧-11-基)-N-甲基-苳甲醯胺)並具有以下的化學結構：



美國專利第5,093,330號('330專利案)(該案之全文以引用的方式併入本文中)請求N-苄醯基-十字孢靈素。本發明特定係有關如上所述下文稱之為式(I)化合物之N-苄醯基-十字孢靈素衍生物之結晶形II的特殊形態，以及有關N-苄醯基-十字孢靈素的非晶形。

不同固形的相同藥品也許具有不同的性質，包括其等作為藥品之用途具機能含意的特徵在具醫學重要性的性質方面(如溶解速率和生物可利用性)可能有很大的差異。同樣地，不同的多晶形物可能會有不同的加工性質，像是吸溼性，流動性等等，其可能影響作為商業製造用之活性醫藥品的溶解度。

利用Bragg-Brentano的對交幾何學，在Scintag INC X 1上測量X-射線的粉末繞射光譜。圖1的X-射線繞射光譜總結於表1中。

表 1. N-苳醯基-十字孢靈素之結晶形II改質的粉末狀X-射線
繞射譜峰

2 θ (度數)	d-間隔(埃)	相對強度
3.4	26.1	中
6.0	14.8	中
7.8	11.3	中
8.7	10.1	強
9.2	9.6	中
9.7	9.1	中
10.1	8.8	中
10.4	8.5	低
11.2	7.9	中
12.6	7.0	中
14.1	6.3	中
15.7	5.7	中
16.8	5.3	中
18.2	4.9	中
18.9	4.7	中
19.3	4.6	中
19.6	4.5	強
20.2	4.4	強
24.5	3.6	中

應謹記在心的是，觀察到的2 θ 角或間隔值因所用的特定繞射儀，化驗人員和樣品的製作技術的不同如有稍許的變化是可預期的。相對譜峰強度有更多的變化也是可以預期的。一化合物之精確結晶形的鑑定主要應以對相對譜峰強度較不具重要性之觀察到的2 θ 角為基礎。

本文記錄的每個2 θ 角值會存在某誤差限度。一較佳變體中，N-苳醯基-十字孢靈素結晶形II的指定誤差限度對每一譜峰而言約為 ± 0.2 。

N-苳醯基-十字孢靈素的結晶形II也可用紅外線光譜學描繪其特徵。結晶形II會表現出如圖2之紅外線(IR)光譜分析的獨有吸收圖案。IR的光譜分析是於Bruker IFS-55上測量

的。N-苄醯基-十字孢靈素的結晶形II具有特有和其他多晶型相區別的吸收值，IR光譜分析上的譜峰位置為約789，773，743，704，1066，1026，1458，1398，1383，1602，1577，1497，1627，1680，2934和3055公分⁻¹。本文記錄的每個特定吸收值會存在某誤差限度。特定吸收值的指定誤差限度在1900-800公分⁻¹範圍內約為2公分⁻¹。

一或一種以上的物理性質和/或光譜性質可以是描繪N-苄醯基-十字孢靈素的結晶形或多晶型特徵的基礎。

本發明亦提供一種包含固態N-苄醯基-十字孢靈素的組合物，其中組合物中固態N-苄醯基-十字孢靈素的至少80%是結晶形II。該組合物的較佳型態為在調配醫藥產品時適合用來作為活性成份的N-苄醯基-十字孢靈素固體粉末。組合物中固態N-苄醯基-十字孢靈素剩餘的部份，也就是N-苄醯基-十字孢靈素總重的20%或少於20%的部份可以是例如其他結晶形的N-苄醯基-十字孢靈素。一特定具體實施例中，該組合物包含佔組合物中固態N-苄醯基-十字孢靈素總重至少90% N-苄醯基-十字孢靈素的結晶形II。另一特定具體實施例中，該組合物包含佔組合物中固態N-苄醯基-十字孢靈素總重至少95% N-苄醯基-十字孢靈素的結晶形II。

另一層面中，本發明亦提供純化十字孢靈素的方法。同時，本發明並不限定於任何特殊的理論，發明人發現一種涉及以下步驟的方法：

(a)在醇溶劑中提供十字孢靈素的懸浮液；

- (b)讓此懸浮液和甲烷磺酸接觸獲得一種溶液；
- (c)再讓此溶液和三乙胺接觸；以及
- (d)分離出產物。

該方法進一步包括在質子性或非質子性溶劑中清洗該產物。質子性溶劑的非限制性實例有乙醇，而非質子性溶劑的非限制性實例為四氫呋喃(THF)。本發明亦提供一種方法，用來：

- (a)在質子性或非質子性溶劑中提供粗十字孢靈素的溶液；
- (b)用純的十字孢靈素播種該溶液；
- (c)讓此反應混合物和一醇系溶劑接觸形成一種沉澱物；以及
- (d)分離出產物，其係經純化的十字孢靈素。

原料經純化後，該物質可被轉換成N-苄醯基-十字孢靈素的結晶形II或非晶形的N-苄醯基-十字孢靈素。該物質可被轉換成N-苄醯基-十字孢靈素的結晶形II，此方法包括：

- (a)在一醇系溶劑中，像是乙醇中，讓十字孢靈素和苄酸酐反應；以及
- (b)用N-苄醯基-十字孢靈素的結晶形II播種該反應溶液，以製得產物；
- (c)分離從N-苄醯基-十字孢靈素結晶出的產物。

材料或可利用以下方式轉換成非晶形的N-苄醯基-十字孢靈素：

- (a)在一溶劑中，像是乙醇或THF中，讓十字孢靈素和苄

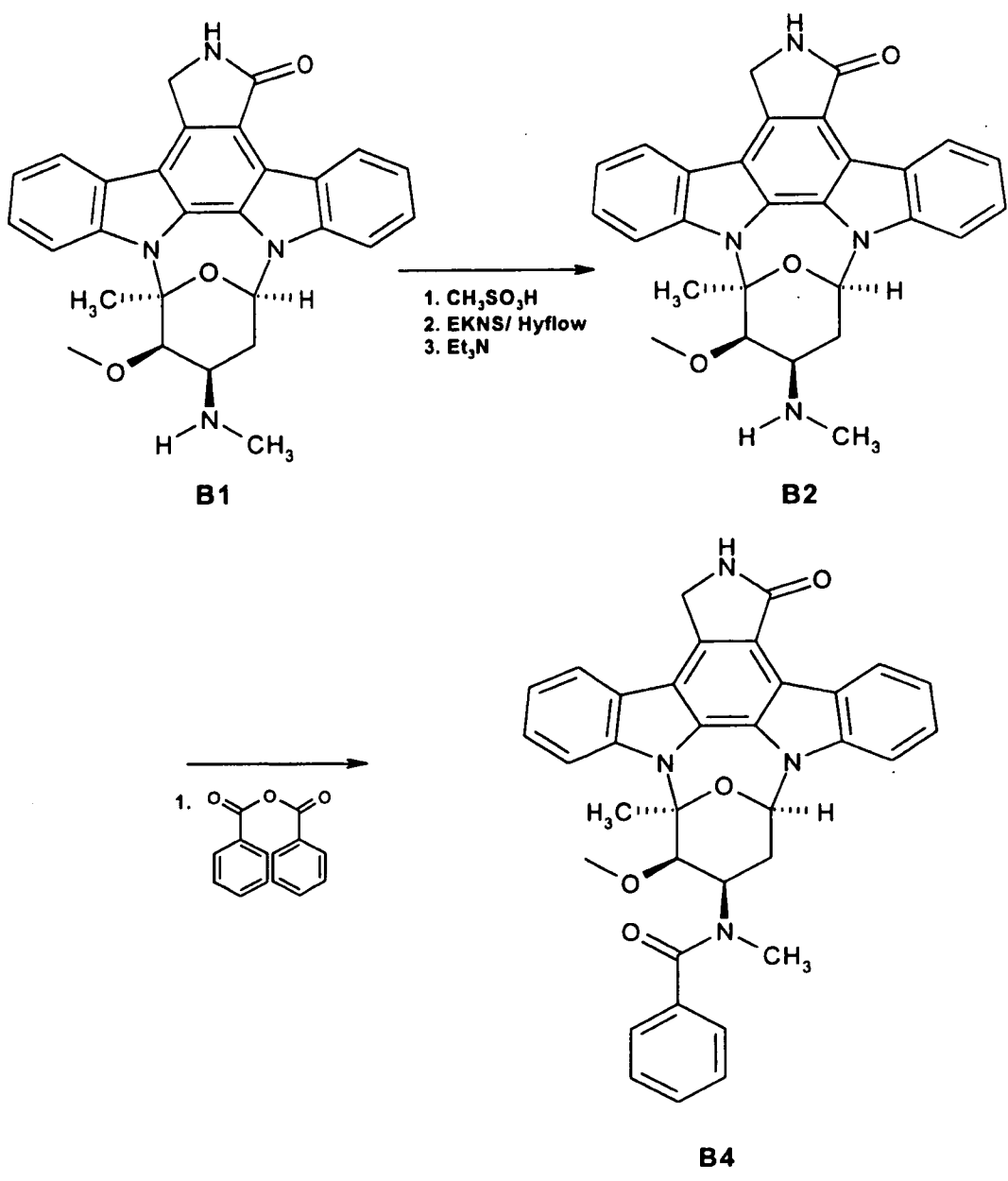
酸酐反應；以及

(b)用非晶形的N-苄醯基-十字孢靈素播種該反應，以製得產物；

(c)分離為非晶形N-苄醯基-十字孢靈素的產物。

產物或可進一步用溶劑清洗多次以製得基本上為非晶形的N-苄醯基-十字孢靈素。

噴霧乾燥的技術也可用來製備純粹為非晶形的N-苄醯基-十字孢靈素。



本發明也提供包含基本上為非晶形之N-苺醯基-十字孢靈素的組合物。本發明亦提供包含純粹為非晶形之N-苺醯基-十字孢靈素的組合物。

亦提供製備N-苺醯基-十字孢靈素之結晶形II的方法。該方法涉及：

- (a)在質子性或非質子性溶劑中提供N-苺醯基-十字孢靈素的溶液；
- (b)用N-苺醯基-十字孢靈素的結晶形II播種該溶液；
- (c)讓此懸浮液和一醇系溶劑接觸形成一種沉澱物；以及
- (d)分離出產物，其係N-苺醯基-十字孢靈素的結晶形II。

質子性或非質子性溶劑的非限制性實例列於下表中：

實例

苺醇

乙醇

二甲亞砜(DMSO)

二甲醯胺(DMF)

THF

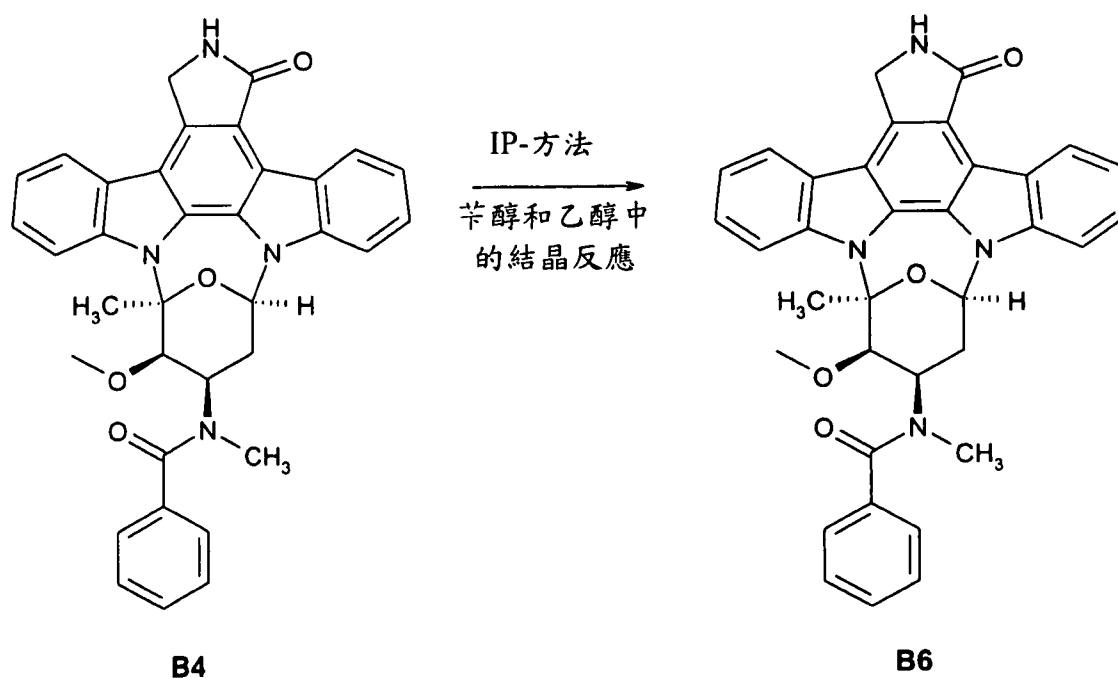
乙酸

聚乙二醇(PEG 200)

從上面所指明溶劑所得結晶形II之X-射線粉末繞射圖的譜峰強度為中到低，因為在晶格結構內存在不同的溶劑分

子其強度會有一些變化。

一具體實施例中，係將N-苄醯基-十字孢靈素溶解於苄醇中，透過添加N-苄醯基-十字孢靈素結晶形II的種晶而沉澱，並添加乙醇作為反溶劑，以及獲得N-苄醯基-十字孢靈素的結晶形II。該方法具有高的再現性，並且所得結晶產物有良好的過濾性質。B6中殘餘的溶劑量約為4.3重量/重量%的苄醇和0.5-1重量/重量%的乙醇。流程圖解如下：



上面有關各別結晶形的選擇性製備條件並非決定性的。例如其通常可以改變像是式(I)化合物相對溶劑和反溶劑重量比的參數。

也提供包含N-苄醯基-十字孢靈素的結晶形II或非晶形N-苄醯基-十字孢靈素和醫藥上可接受載體的醫藥組合物。除了活性化合物以外，該醫藥組合物另包括一或一種以上的醫藥上可接受載體，亦已知為一般缺乏藥學活性但具有

各種有用性質(例如可增加溶解度，殺菌力，生物可利用性和容易使醫藥組合物調配之特性)的賦形劑。這些載體為醫藥上可接受者，代表其等當攝取適量時對人類或動物是無害的並且和一既定配方中的其他成份是相容的。載體可以是固態，半固態或是液態，且可和大塊的化合物作調配，但最終仍為單元劑量形的配方，也就是物理上是分離的直到包含一特定量的活性成份，像是錠劑或膠囊。該醫藥組合物可包括除了本發明化合物以外，一或多種的活性醫藥化合物。

該醫藥組合物可以是懸浮液，溶液，藥液酉也，氣溶膠或固態的劑型。

該醫藥組合物可以是各種適合不同模式投藥的配方，包括(但不限於)吸入，口服，直腸投藥，非經腸投藥(包括皮下，皮內，肌內和靜脈內投藥)，可植入投藥和經皮投藥。一已知情況中，最適當的投藥途徑視所投藥對象的症狀，所希的治療期間，待治療疾病的種類和嚴重性，以及待使用的特殊配方而定。配方可以是散裝或為單位劑型者，並且對一已知配方而言可以業界熟知的方法製備。

單位劑型中所包括之活性成份的量視其中所含活性成份之配方的類型而定。醫藥組合物通常包括約0.1重量%至約99重量%的活性成份，對口服投藥而言較佳為約1重量%至約50重量%，而對非經腸投藥而言約0.2重量%至約20重量%。

適合口服投藥用的配方包括膠囊(硬式或軟式)，扁囊

劑，錠劑，糖漿，栓劑和藥片，每一種皆包含一已確定量的活性化合物；可為粉末或粒狀，水性或非水性液體中的溶液或懸浮液；或是水包油或油包水的乳液。此等配方可以任何製藥業的合適方法製備，包括將其和活性化合物與一種適當的載體或多種載體結合。每單位劑量固體配方中活性成份的量可如先前技藝中製備N-苄醯基-十字孢靈素所述。

本發明的另一層面係提供使用該等化合物和本發明之醫藥組合物的治療方法。本發明的化合物和組合物可將一用來治療和預防'330專利中所揭示疾病所用之有效量投予一對象。所謂的對象意指人類或動物，較佳為人類。本發明議計的動物包括任何可以本發明化合物作安全治療的動物。最顯著的是結晶形II和非晶形的N-苄醯基-十字孢靈素因蛋白活化酵素C (PKC)的抑制作用而具有高抗增殖和抗腫瘤的活性，其極適合用來治療癌症。再者，PKC的高選擇性和有效的抑制作用對病患具有優良的臨床效果，也就是延緩或壓制疾病的發展，是同樣可接受的攝生法。潛在的應用包括各種的固體腫瘤，較特定而言例如是乳癌，結腸癌，卵巢癌和血癌。此外，其他各種被PKC活性影響的徵兆可以這些組合物作有效的治療，包括抗多藥性(MDR)，目前使用的一般癌症化療法和發炎性疾病最主要的問題之一。

本發明特別係有關本文揭示用來治療該等疾病之一或用來製備其治療用的藥學試劑的結晶形II和非晶形的N-苄醯

基-十字孢靈素。

本發明亦係有關治療罹患該等疾病之溫血動物的方法，特別是腫瘤的疾病，其中係將某量(尤其是具有抗增殖和抗腫瘤功效的量)的結晶形II或非晶形的N-苄醯基-十字孢靈素(其可有效對抗有關的疾病)投予需要此一治療的溫血動物。再者，本發明係有關結晶形II或非晶形的N-苄醯基-十字孢靈素用於抑制上述PKC的用途，或用來製備可用以治療人類或動物體的醫藥組合物，特別是用來治療各種固體腫瘤，較特定而言例如是乳癌，結腸癌，卵巢癌和血癌。視人種，年齡，各別症狀，投藥模式和討論中的臨床徵候而定，將有效劑量(例如日劑量為約1-2500毫克，較佳為1-1000毫克，尤佳為5-500毫克)投予體重約70公斤的溫血動物。

本發明亦係有關包含一有效量(尤其是預防或治療該等疾病之一的有效量)之結晶形II或非晶形的式(I)N-苄醯基-十字孢靈素，連同醫藥上可接受載體的藥劑，此醫藥上可接受載體適合於局部；腸內，例如口服或直腸或非經腸的投藥並且可以是無機的或有機的和固體或液體的。包含活性成份連同稀釋劑(例如乳糖，葡萄糖，蔗糖，甘露糖醇，山梨糖醇，纖維素和/或甘油；和/或潤滑劑，例如矽石，滑石，硬脂酸或其鹽，典型為硬脂酸鎂或硬脂酸鈣；和/或PEG)的錠劑或明膠膠囊特別係用來供口服投藥用。錠劑可同樣包含黏合劑，例如矽鋁酸鎂，澱粉，通常是玉米，小麥或米澱粉，明膠，甲基纖維素，羧基甲基纖維素

鈉和/或聚乙烷基吡咯啉酮；以及如果真的想要的話，亦包括崩解劑，例如澱粉，瓊脂，海藻酸或其鹽，通常為海藻酸鈉；和/或起泡的混合物，或是吸附劑，著色劑，調味料和甜味劑。本發明具藥學活性的化合物可進一步以供非經腸投藥的製劑或浸泡溶液的型態使用。此等溶液較佳為等滲透壓的水溶液或懸浮液，這些可在使用前先行製備，例如對包含活性成份(不論是單獨或和載體(例如甘露糖醇)一起)的凍乾製劑而言。製藥物質可經消毒和/或可包含賦形劑，例如防腐劑，安定劑，溼潤劑和/或乳化劑；溶解劑；調節滲透壓的鹽；和/或緩衝液。本發明的藥學製劑(如果真的想要的話，其可包含其他具藥學活性的物質，像是抗生素)以本身已知的方式製備，例如透過傳統的混合，粒化，塗覆，溶解或凍乾方法，並包含約1-100%(尤其是約1%至約20%)的多種或單一活性物質。

本發明進一步藉參考下列詳細說明本發明之化合物和組合物的製備以及其等之用途的實例而定義。對熟悉此項技術者而言，材料和方法的許多改變可在不偏離本發明之目的和利益情況下得以實施是顯而易知的。後續的實例無意用來限制本發明之範圍為上文所定義的範圍或如以下之申請專利範圍所定義的範圍。

實例

實例1 利用甲烷磺酸和三乙胺之十字孢靈素B1變為十字孢靈素B2的純化方法

進料十字孢靈素B1和乙醇至一反應器中。加熱懸浮液至

約70℃。將甲烷磺酸加入該懸浮液中，並老化所得溶液。添加活化的木炭和Hyflo，並老化該混合物。過濾此懸浮液，並用乙醇清洗該濾器裝置和濾餅多次。將清澈經過濾的溶液移轉到另一反應器中，並冷卻至約60℃。緩緩將於乙醇中稀釋的三乙胺加入該反應混合物中。之後，冷卻此懸浮液至約20℃並予以老化。十字孢靈素B2以過濾的方式分離。用乙醇漂洗產物數次。

實例2 透過結晶純化粗的十字孢靈素B1到十字孢靈素B2

進料十字孢靈素B1和苺醇至一反應器中。加熱懸浮液至約85℃。將活化的木炭和Hyflo加入該溶液中，並再次老化該混合物。約90℃的溫度下過濾此懸浮液。用苺醇清洗該濾器裝置和濾餅多次。將清澈經過濾的溶液移轉到另一反應器中，並冷卻至約70℃。溶液以懸浮於乙醇中的十字孢靈素B2播種。之後，將乙醇加入此懸浮液中並老化此懸浮液，然後冷卻至約0℃。約0℃下再度老化該懸浮液至少2小時。十字孢靈素B2以過濾的方式分離。用乙醇漂洗產物數次。

實例3 苺基化十字孢靈素B2以製備基本上是非晶形的苺鹽基-十字孢靈素

進料含苺酸酐的十字孢靈素B1，乙醇和水至一反應器中。加熱該反應混合物至約70℃。過濾此溶液並用乙醇清洗該濾器裝置和濾餅多次。將經過濾的溶液移轉到另一反應器中，並冷卻至約60℃。緩緩地將水加入此溶液中。用非晶形的N-苺鹽基-十字孢靈素播種。老化此懸浮液，然

後冷卻至約20℃，然後再予以老化。N-苄醯基-十字孢靈素以過濾的方式分離。用純乙醇漂洗N-苄醯基-十字孢靈素溼的濾餅數次。然後將溼的濾餅再懸浮於乙醇中的濾器裝置中，約25℃下老化，然後冷卻至約0-5℃，然後再予以老化。重覆該方法步驟數次。N-苄醯基-十字孢靈素以過濾的方式分離。在外部溫度為約40℃以及真空度為約10-20毫巴的真空烘箱中乾燥此溼的濾餅約24小時，獲得產物：35-40克的乾濾餅：27克的理論減輕重量。產率：相對B1 100%為約82%的理論減輕值。

上述反應中的乙醇可以THF取代。

實例4 苄基化十字孢靈素B2以製備結晶形的N-苄醯基-十字孢靈素B4

進料含苄酸酐的十字孢靈素B2，純乙醇和水至一反應器中。加熱該反應混合物至約70℃並予以老化。反應結束之際，用懸浮於純乙醇中的N-苄醯基-十字孢靈素結晶形II播種該反應混合物。老化後，緩緩地將純的乙醇和水加入此懸浮液中。再度老化此懸浮液，然後在N-苄醯基-十字孢靈素以過濾方式分離之前冷卻至約0℃。用純的乙醇漂洗N-苄醯基-十字孢靈素溼的濾餅數次。然後置於外部溫度為60℃以及真空度為約5-30毫巴的真空烘箱中乾燥約16小時，獲得產物：39.70克，乾式濾餅：27.2克的理論減輕重量。產率：相對B1 100%約91.5%的理論減輕值。

實例5 利用苄基醇和乙醇製備結晶形II的N-苄醯基-十字孢靈素

進料粗的十字孢靈素和苜基醇至一反應器中。加熱該混合物至85℃，並接著老化此溶液。冷卻溶液至約70℃，然後用懸浮於純乙醇中之N-苜醯基-十字孢靈素B6純的結晶形II播種。之後，添加乙醇，並老化此懸浮液，然後在N-苜醯基-十字孢靈素結晶形II以過濾方式分離之前冷卻至約0℃。溼的濾餅用乙醇漂洗數次並乾燥之。

實例6 利用乙酸和乙醇製備結晶形II的N-苜醯基-十字孢靈素

進料粗的十字孢靈素和乙酸至一反應器中。加熱該混合物至約70℃，並接著老化此溶液。用懸浮於純乙醇中之N-苜醯基-十字孢靈素B6純的結晶形II播種此溶液。之後，添加乙醇至該懸浮液中，並老化此懸浮液，然後在N-苜醯基-十字孢靈素結晶形II以過濾方式分離之前冷卻至約20℃。溼的濾餅用乙醇漂洗數次並乾燥之。

實例7 利用PEG製備N-苜醯基-十字孢靈素的結晶形II的晶體

進料粗的N-苜醯基-十字孢靈素和PEG至一反應器中。加熱該混合物至約90℃，並接著老化此溶液。冷卻此溶液至約70℃，然後用懸浮於純乙醇中之N-苜醯基-十字孢靈素B6純的結晶形II播種。之後，緩緩添加比例為1：1的乙醇和水，並在冷卻至20℃以前老化此懸浮液。以過濾方式分離N-苜醯基-十字孢靈素的結晶形II。溼的濾餅用乙醇漂洗數次並乾燥之。

實例8 利用DMSO製備N-苜醯基-十字孢靈素的結晶形II

進料N-苄醯基-十字孢靈素和DMSO至一反應器中。加熱該混合物至約70℃，並接著老化此溶液，然後用懸浮於乙醇中之N-苄醯基-十字孢靈素B6純的結晶形II播種。之後，添加乙醇至懸浮液中，並在70℃下老化此懸浮液，然後冷卻至約20℃。以過濾方式分離N-苄醯基-十字孢靈素的結晶形II以前再度老化此懸浮液。產物用乙醇漂洗數次並乾燥之。

實例9 利用DMF製備N-苄醯基-十字孢靈素的結晶形II

進料N-苄醯基-十字孢靈素和DMF至一反應器中。加熱該混合物至約70℃，老化此溶液，然後用乙醇中之N-苄醯基-十字孢靈素B6純的結晶形II播種。之後，添加乙醇至懸浮液中，並在約70℃下老化此懸浮液，然後冷卻至約20℃。以過濾方式分離N-苄醯基-十字孢靈素的結晶形II以前再度老化此懸浮液。產物用乙醇漂洗數次並乾燥之。

實例10 利用DMF製備N-苄醯基-十字孢靈素的結晶形II

進料非晶形的N-苄醯基-十字孢靈素和THF至一反應器中。加熱該混合物至約65℃，老化此溶液，然後用THF中之N-苄醯基-十字孢靈素B6純的結晶形II播種。老化此懸浮液，然後冷卻至約20℃，並以過濾方式分離N-苄醯基-十字孢靈素的結晶形II以前再度老化此懸浮液。產物用THF漂洗數次並乾燥之。

實例11 利用乙醇製備N-苄醯基-十字孢靈素的結晶形II

進料非晶形的N-苄醯基-十字孢靈素和乙醇至一反應器中。加熱該混合物至約70℃，老化，然後用乙醇中之N-苄

鹽基-十字孢靈素 B6 的結晶形 II 播種。老化此懸浮液，冷卻至約 20°C，並以過濾方式分離 N-苄鹽基-十字孢靈素的結晶形 II 以前再度老化此懸浮液。產物用乙醇漂洗數次並乾燥之。

實例 12 噴霧乾燥實驗以獲得非晶形的 PKC412

將 10 克的 PKC412(結晶形 II)溶解於 160 克的二氯甲烷中以製備進料溶液。進料備妥後被原子化成液滴，有機溶劑透過加熱的氮於乾室中蒸發出來，加熱的氮會導致生成非晶形的 PKC412。入口溫度設定為 60°C，而出口溫度則設定為 40°C。噴霧乾燥後殘餘的溶劑量約為 1% 重量/重量。

實例 13 噴霧乾燥實驗以獲得非晶形的 PKC412

將 7 克的 PKC412(結晶形 II)溶解於約 400 克的 THF 中以製備進料溶液。進料備妥後被原子化成液滴，有機溶劑透過加熱的氮於乾室中蒸發出來，加熱的氮會導致生成非晶形的 PKC412。入口溫度設定為 110-120°C，而出口溫度則設定為 70-80°C。噴霧乾燥後殘餘的溶劑量約為 3% 重量/重量。真空下進一步乾燥 PKC412，獲得不含溶劑的材料。

實例 14 噴霧乾燥實驗以獲得非晶形的 PKC412

將 7 克的 PKC412(結晶形 II)溶解於約 350 克 70:30 重量/重量的乙醇/乙酸中以製備進料溶液。進料備妥後被原子化成液滴，有機溶劑透過加熱的氮於乾室中蒸發出來，加熱的氮會導致生成非晶形的 PKC412。入口溫度設定為 215°C，而出口溫度則設定為 120°C。噴霧乾燥後殘餘的溶劑量低於 0.5%。不需要作進一步的傳統乾燥處理。

實例 15 含 N-苄醯基-十字孢靈素的結晶形 II 的錠劑

含 100 毫克標題中所命名之活性物質的錠劑通常是依下列組成製備：

組合物含量	(毫克)
活性成份	100
結晶乳糖	240
Avicel	80
PVPPXL	20
一種高度分散的矽膠	2
硬脂酸鎂	5
總計	447

製備方法：活性物質和載體材料混合，並置於一壓錠機 (Korsch EKO，衝壓直徑為 10 毫米) 上加以壓縮

Avicel 是微晶纖維素 (FMC，費城，美國)

PVPPXL 是聚乙基聚吡咯啉酮，經交聯的 (巴地斯，德國)

Aerisol 是二氧化矽 (Degussa，德國)

實例 16 含 N-苄醯基-十字孢靈素的結晶形 II 的膠囊

含 100 毫克標題中所命名之化合物作為活性物質的膠囊通常是依下列組成製備：

組合物含量	(毫克)
活性成份	100
Avicel	200
PVPPXL	15
一種高度分散的矽膠	2
硬脂酸鎂	1.5
總計	318.5

膠囊藉混合該等組份並將混合物填充至硬式明膠膠囊 (尺寸 1) 中而製得。

【圖式簡單說明】

圖 1 顯示 N-苜醯基-十字孢靈素結晶形 II 的 X-射線粉末繞射圖譜。

圖 2 顯示 N-苜醯基-十字孢靈素結晶形 II 之特有的紅外線光譜。

圖 3 顯示 N-苜醯基-十字孢靈素純非晶形的 X-射線粉末繞射圖譜。

圖 4 顯示 N-苜醯基-十字孢靈素基本上為非晶形的 X-射線粉末繞射圖譜。

七、申請專利範圍：

103年4月15日修正本

公告本

1. 一種純化十字孢靈素之方法，包括：
 - (a)在醇溶劑中提供十字孢靈素的懸浮液；
 - (b)讓此懸浮液和甲烷磺酸接觸；
 - (c)再讓此溶液和三乙胺接觸；以及
 - (d)分離出產物。
2. 如請求項1之方法，進一步包含用該醇溶劑清洗此分離出的產物。
3. 如請求項1或2之方法，其中該醇溶劑為乙醇。

八、圖式：

公告本

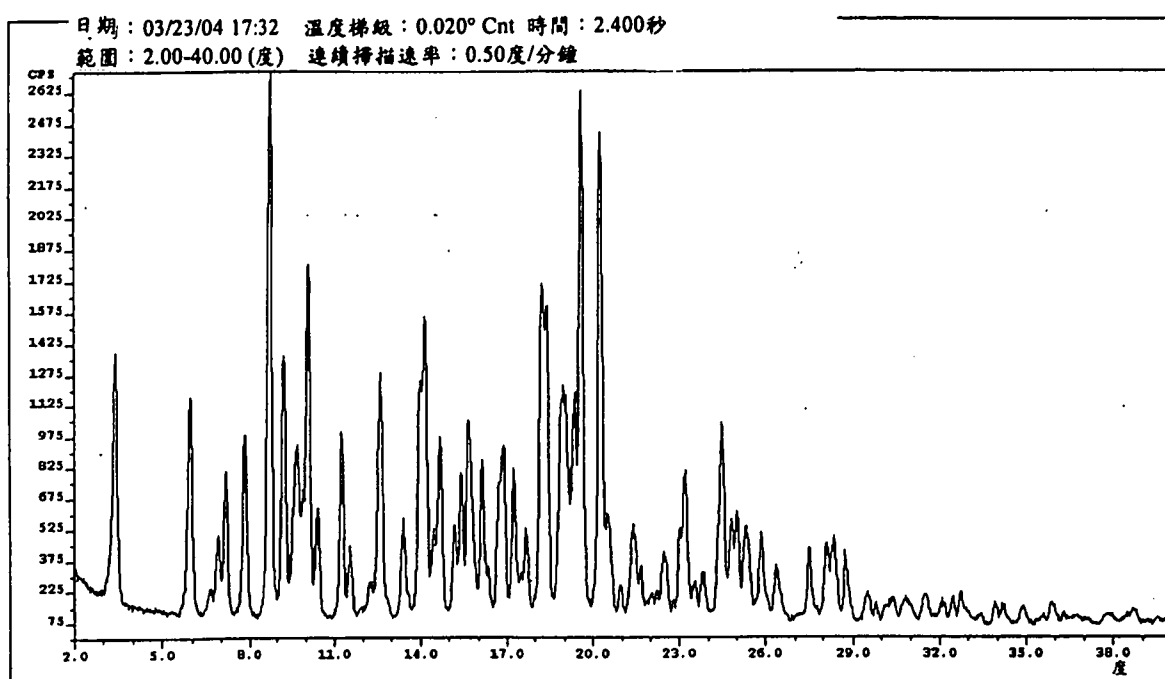


圖1

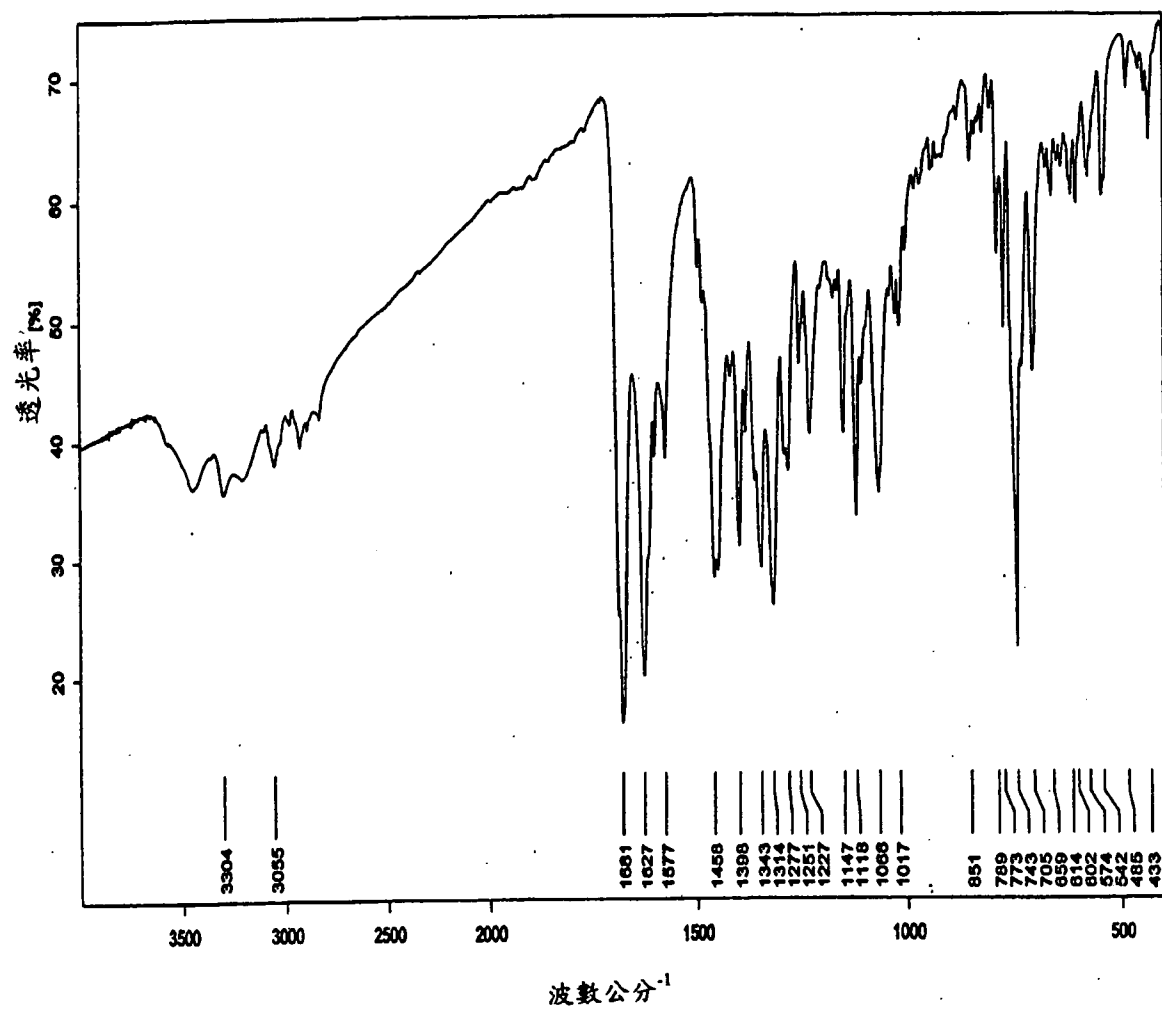


圖2

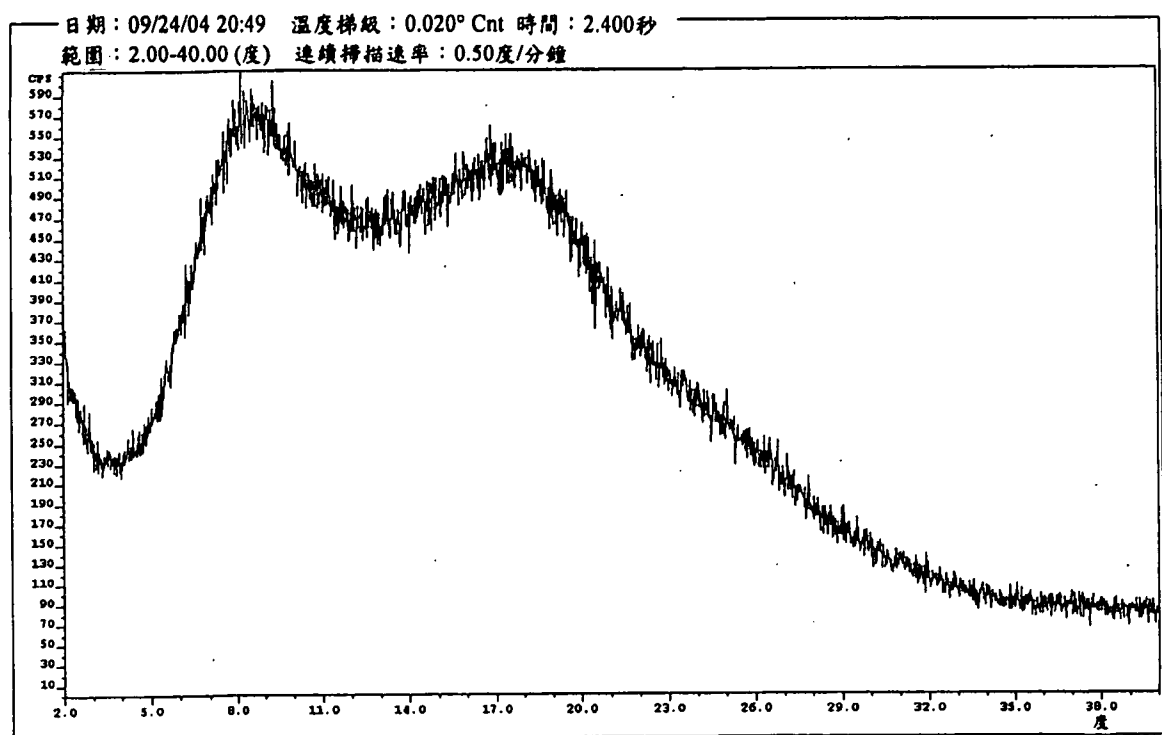


圖3

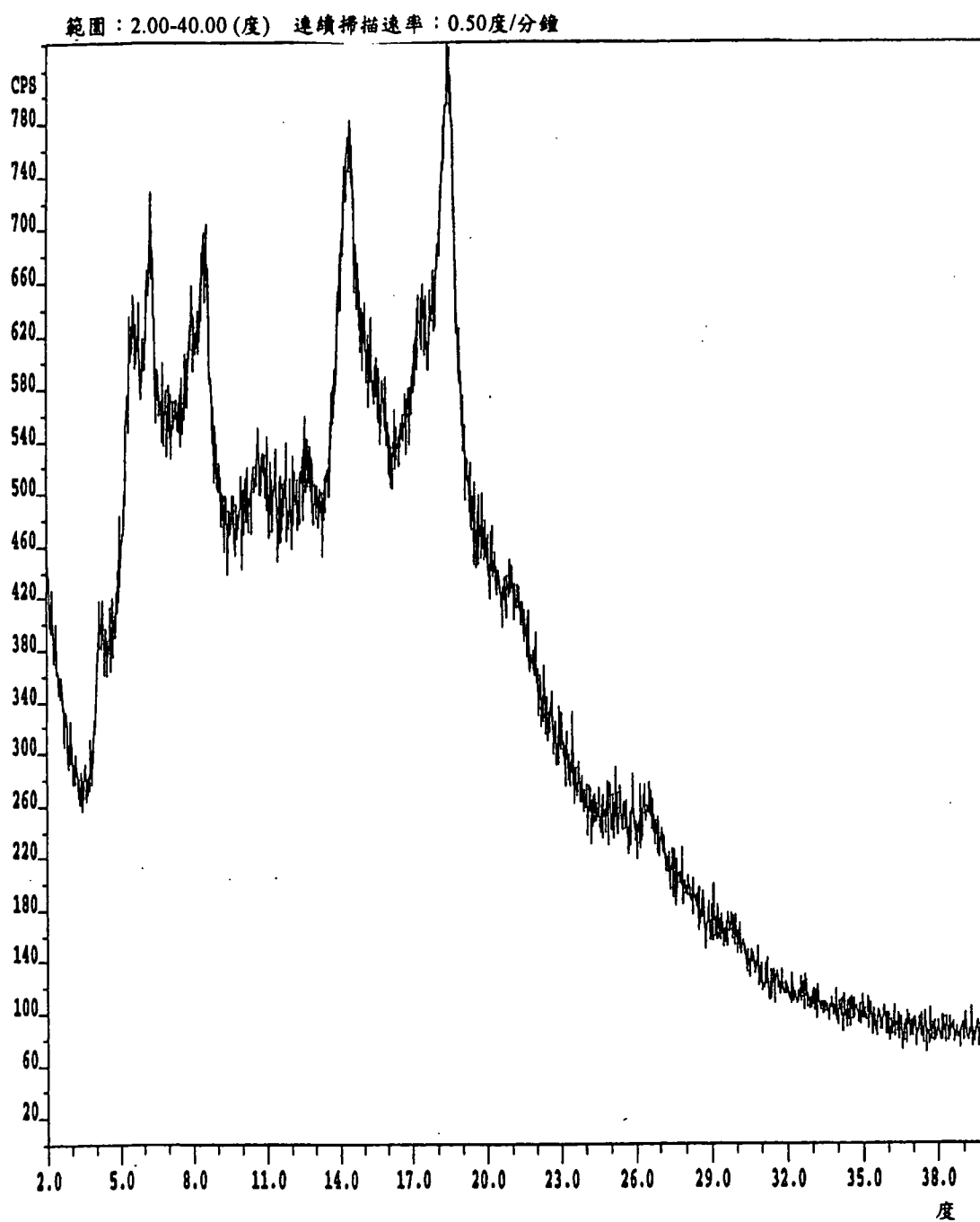


圖4