



(21)申請案號：109113591

(22)申請日：中華民國 109 (2020) 年 04 月 23 日

(51)Int. Cl. : C07D413/10 (2006.01)

C07C57/15 (2006.01)

A61K31/5377(2006.01)

A61K31/191 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2019/04/24 美國

62/837,858

(71)申請人：加拿大健康網路大學(加拿大) UNIVERSITY HEALTH NETWORK (CA)
加拿大

(72)發明人：李 詩韻 LI, SZE-WAN (CA)；布雷 馬克 R BRAY, MARK R. (CA)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：

TW 201609717A

審查人員：江盈盈

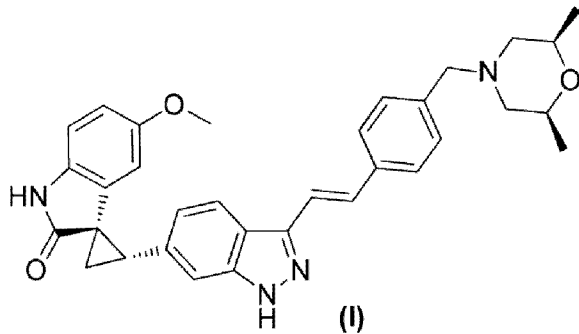
申請專利範圍項數：28 項 圖式數：3 共 39 頁

(54)名稱

PLK4 抑制劑之結晶型

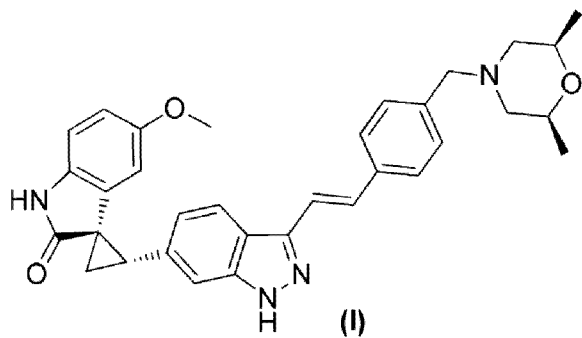
(57)摘要

本發明揭示由以下結構式表示之化合物(I)之反丁烯二酸鹽之結晶型 S4：



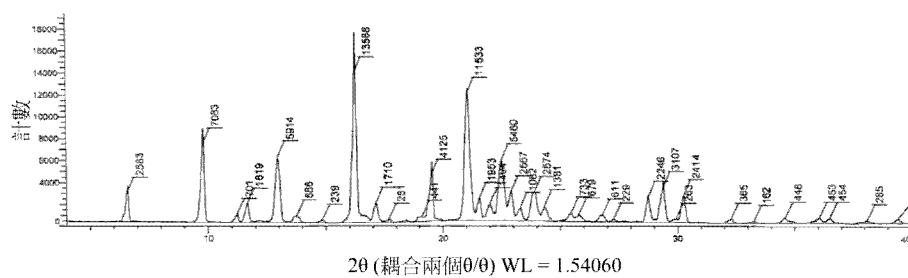
化合物(I)與反丁烯二酸之間的莫耳比為 1.0:1:0。結晶型 S4 係由 X 射線粉末繞射圖案表徵，該 X 射線粉末繞射圖案包含 2θ 在 6.6° 、 9.8° 、 16.3° 、 21.1° 、 28.7° 及 $30.2^\circ \pm 0.2$ 處之峰。

Disclosed is Crystal Form S4 of a fumarate salt of compound (I) represented by the following structural formula:



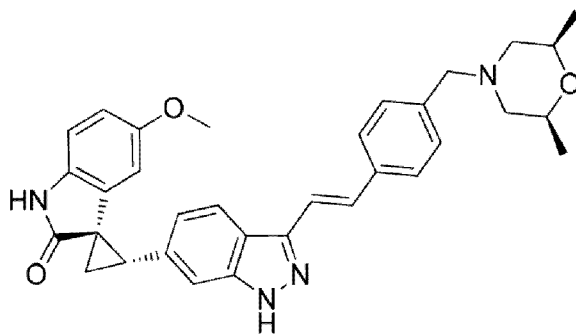
The molar ratio between compound (I) and fumaric acid is 1.0:1:0. Crystal Form S4, characterized by an X-ray powder diffraction pattern which comprises peaks at 6.6° , 9.8° , 16.3° , 21.1° , 28.7° , and $30.2^\circ \pm 0.2$ in 2θ .

指定代表圖：



【圖1】

特徵化學式：



化合物(I)



I862582

【發明摘要】

【中文發明名稱】

PLK4抑制劑之結晶型

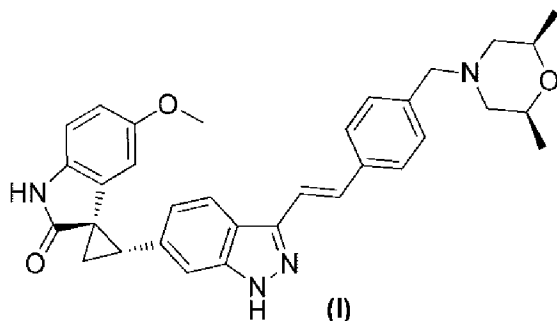
【英文發明名稱】

CRYSTAL FORM OF PLK4 INHIBITOR

【中文】

本發明揭示由以下結構式表示之化合物(I)之反丁烯二酸鹽之結晶型

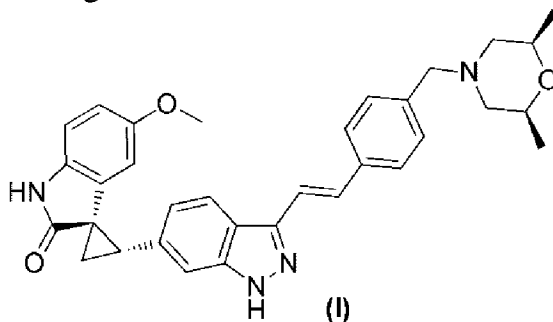
S4 :



化合物(I)與反丁烯二酸之間的莫耳比為1.0:1:0。結晶型S4係由X射線粉末繞射圖案表徵，該X射線粉末繞射圖案包含 2θ 在 6.6° 、 9.8° 、 16.3° 、 21.1° 、 28.7° 及 $30.2^\circ \pm 0.2$ 處之峰。

【英文】

Disclosed is Crystal Form S4 of a fumarate salt of compound (I) represented by the following structural formula:



The molar ratio between compound (I) and fumaric acid is 1.0:1:0.

Crystal Form S4, characterized by an X-ray powder diffraction pattern which comprises peaks at 6.6° , 9.8° , 16.3° , 21.1° , 28.7° , and $30.2^\circ \pm 0.2$ in 2θ .

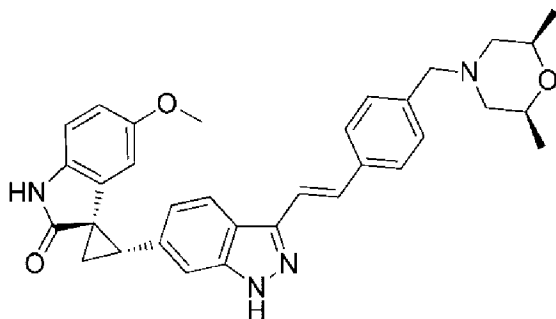
【指定代表圖】

圖1

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】



化合物(I)

【發明說明書】

【中文發明名稱】

PLK4抑制劑之結晶型

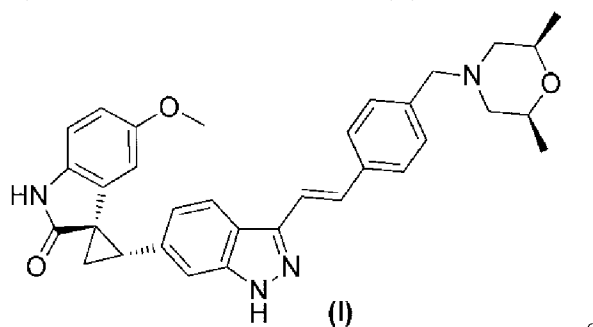
【英文發明名稱】

CRYSTAL FORM OF PLK4 INHIBITOR

【技術領域】

【先前技術】

【0001】 絲胺酸/蘇胺酸激酶之polo樣激酶(PLK)家族包含至少四個已知成員：PLK1、PLK2(亦稱為Snk)、PLK3(亦稱為Fnk或Prk)及PLK4(亦稱為Sak)。抑制PLK4之藥劑具有治療癌症之潛力。多種強效PLK4抑制劑揭示於美國專利第8,263,596號、第8,481,525號及第8,481,533號(其全部教示內容以引用之方式併入本文中)中。此等專利中所揭示之一種抑制劑之結構如下展示為化合物(I)：



【0002】 需要此化合物之鹽形式，其為結晶的且另外具有適合於製造規模生產之物理特性。亦需要醫藥調配物，其中此候選藥物為穩定的且有效遞送至患者。

【0003】 在此情形下，美國專利第9,884,855號揭示化合物(I)之1:1反丁烯二酸鹽之若干結晶型，包括型D，作為潛在抗癌候選藥物。美國專利第9,884,855號之全部教示內容以引用之方式併入本文中。「1:1」係指

反丁烯二酸與化合物(I)之間的莫耳比。

【發明內容】

【0004】 選擇型D用於規模放大之生產，因為如美國專利第9,884,855號中所揭示，其可以結晶狀態產生，具有低吸濕性，且係具有良好溶解性及有利藥物動力學特性之有效抗癌劑。然而，隨後發現大規模製造方法中型D之生產會導致不同結晶型之混合物(參見實例3)。

【0005】 現已發現一種稱為「S4」之新結晶型，其具有型D之有益特性(例如，具有低吸濕性及良好溶解性，且具有優良藥物動力學特性(參見實例6及7))。更重要的是，其克服與型D相關之問題。特定言之，型S4可以具有高純度之良好產率製備且可適合於規模放大(參見實例4及5)。

【0006】 因此，本發明提供一種化合物(I)之反丁烯二酸鹽，其中化合物(I)與反丁烯二酸之間的莫耳比為1:1，且該反丁烯二酸鹽包含(為)由X射線粉末繞射(XRPD)圖案表徵之結晶型S4，該XRPD圖案包含 2θ 在 6.6° 、 9.8° 、 16.3° 、 21.1° 、 28.7° 及 $30.2^\circ \pm 0.2$ 之峰。

【0007】 本發明亦提供一種醫藥組合物，其包含化合物(I)之1:1反丁烯二酸鹽之結晶型S4及醫藥學上可接受之載劑或稀釋劑。

【0008】 本發明亦提供一種製備化合物(I)之1:1反丁烯二酸鹽之結晶型S4的方法。該方法包含將反丁烯二酸及化合物(I)溶解於包含2-丁酮、水及乙醇之溶解溶劑中以形成結晶溶液，且隨後自結晶溶液沈澱結晶型S4，其中溶解溶劑中化合物(I)與反丁烯二酸之間的莫耳比為約1:1至約1:1.3；且化合物(I)之反丁烯二酸鹽中化合物(I)與反丁烯二酸之間的莫耳比為1:1。在一個態樣中，反丁烯二酸及化合物(I)之溶解在高溫下進行，且結晶型S4自結晶溶液之沈澱係藉助於冷卻及/或伴隨冷卻添加甲基環己

烷進行。

【0009】亦提供一種治療癌症之方法。該方法包含向患有癌症之個體投與有效量之化合物(I)之1:1反丁烯二酸鹽之型S4。

【0010】亦提供化合物(I)之反丁烯二酸鹽之結晶型S4的用途，其用於製造供治療癌症用之藥劑。

【0011】亦提供用於治療癌症之化合物(I)之反丁烯二酸鹽之結晶型S4。

【圖式簡單說明】

【0012】圖1描繪根據100 g製造之化合物(I)之1:1反丁烯二酸鹽之結晶型S4的X射線粉末繞射圖案(XRPD)。

圖2描繪根據實例5中之大規模生產之化合物(I)之1:1反丁烯二酸鹽之結晶型S4的X射線粉末繞射圖案(XRPD)。

圖3展示用型D及型S4給藥之後的劑量標準化暴露量。

【實施方式】

相關申請案之交叉參考

【0013】本申請案主張2019年4月24日申請之美國臨時申請案第62/837,858號之優先權。前述申請案之全部內容以引用之方式併入。

【0014】本發明提供化合物(I)之1:1反丁烯二酸鹽之新穎結晶型S4及相應醫藥組合物。本發明亦提供一種以可再生產及可擴充方式在優良產率及純度之情況下製備結晶型S4的新穎方法。另外，本發明提供一種治療癌症之方法。

【0015】

化合物(I)之1:1反丁烯二酸鹽之結晶型

在一些實施例中，至少特定重量百分比之化合物(I)之1:1反丁烯二酸鹽呈單晶型。特定重量百分比包括70%、72%、75%、77%、80%、82%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%、99.9%或70%-75%、75%-80%、80%-85%、85%-90%、90%-95%、95%-100%、70-80%、80-90%、90-100%之重量百分比範圍。例如，在一個實施例中，至少80重量%(例如至少90重量%或99重量%)之1:1化合物(I)反丁烯二酸鹽呈單晶型。應理解，此等值與範圍之間的所有值及範圍意欲由本發明涵蓋。

【0016】 如本文所用，「結晶」係指具有晶體結構之固體，其中個別分子具有高度均質之常規閉鎖(locked-in)化學組態。化合物(I)之結晶1:1反丁烯二酸鹽可為化合物(I)之1:1反丁烯二酸鹽之單晶型結晶或不同單晶型結晶之混合物。單晶型意謂化合物(I)之1:1反丁烯二酸鹽呈單晶或複數個晶體，其中各晶體具有相同結晶型。

【0017】 當特定重量百分比之化合物(I)之1:1反丁烯二酸鹽呈單晶型時，反丁烯二酸鹽之其餘部分為非晶型反丁烯二酸鹽及/或一或多種不包括單晶型之1:1化合物(I)反丁烯二酸鹽之其他結晶型的某一組合。當化合物(I)之結晶1:1反丁烯二酸鹽定義為指定百分比之化合物(I)之1:1反丁烯二酸鹽之一種特定結晶型時，其餘部分由不同於指定之一或多種特定形式的非晶型及/或結晶型構成。單晶型之實例包括1:1化合物(I)反丁烯二酸鹽之型S4，其由如本文所論述之一或多個特性表徵。

【0018】 在另一實施例中，小於30重量%、25重量%、20重量%、10重量%、9重量%、8重量%、7重量%、6重量%、5重量%、4重量%、3重量%、2重量%、1重量%、0.5重量%之化合物(I)之1:1反丁烯二酸鹽為

結晶型D。樣品中相對於型D之型S4的量可藉由製備一系列具有已知重量比之型S4及型D之混合物且獲得各種型之XRPD譜來評估。藉由選擇一或多個型S4及型D之特徵峰且使其在樣品XRPD中之相對強度與其在混合物XRPD中之相對強度相關來評估樣品中型S4與型D之相對量。結晶型D之特徵XRPD峰提供於美國專利第9,884,855號之表4中。

【0019】 化合物(I)之1:1反丁烯二酸鹽相對於其他立體異構體純度為至少60重量%、70重量%、80重量%、90重量%、99重量%或99.9重量%，亦即立體異構體之重量相對於所有立體異構體之重量的比率。

【0020】

化合物(I)結晶型S4之1:1反丁烯二酸鹽之製備

化合物(I)固體型之1:1反丁烯二酸鹽可例如藉由緩慢蒸發、緩慢冷卻及反溶劑沈澱來製備。本發明提供一種以可再生產及可擴充方式在經改良之產率及純度之情況下製備結晶型S4的新穎結晶程序。

【0021】 如本文所用，「反溶劑」係指一種溶劑，其中化合物(I)之1:1反丁烯二酸鹽具有低溶解性，使得反丁烯二酸鹽以細粉形式或結晶型自溶液中沈澱出。

【0022】 替代地，化合物(I)之1:1反丁烯二酸鹽可在添加或不添加晶種之情況下自適合溶劑再結晶。

【0023】 在一個實施例中，化合物(I)之1:1反丁烯二酸鹽之結晶型S4可藉由將反丁烯二酸及化合物(I)溶解於包含2-丁酮、水及乙醇之溶解溶劑中以形成結晶溶液，且隨後自結晶溶液沈澱S4結晶型來製備，其中溶解溶劑中化合物(I)與反丁烯二酸之間的莫耳比為約1:1至約1:1.3；且反丁烯二酸鹽中化合物(I)與反丁烯二酸之間的莫耳比為1:1。在此實施例之一

個態樣中，反丁烯二酸及化合物(I)之溶解在高溫下進行，且結晶型S4自結晶溶液之沈澱藉助於冷卻及/或伴隨冷卻添加甲基環己烷進行。

【0024】 在另一實施例中，化合物(I)之1:1反丁烯二酸鹽之結晶型S4藉由以下製備：(i) 在高溫下將化合物(I)溶解於2-丁酮與水之混合物中以形成化合物(I)溶液；(ii) 在高溫下將反丁烯二酸溶解於乙醇中以形成反丁烯二酸溶液；(iii) 在高溫下將該反丁烯二酸溶液添加至該化合物(I)溶液中以形成該結晶溶液；(iv) 視情況在高溫下將晶種添加至該結晶溶液中；及(v) 降低該結晶溶液之溫度以使該S4結晶型沈澱。在此實施例之一個態樣中，2-丁酮與水之間的體積比在80:20與98:2之間(例如90:10及98:2)，且2-丁酮/水與乙醇與甲基環己烷之體積比為6-7比4-5比11-22；該高溫在45°C與55°C之間；且低溫在20°C與30°C之間。在此實施例之另一態樣中，該方法進一步包含在低溫下將甲基環己烷添加至結晶溶液中以使S4結晶型沈澱。在一個特定態樣中，該溫在20°C與30°C之間。在另一特定態樣中，進一步降低結晶溶液之溫度以使S4結晶型沈澱。在更特定態樣中，該低溫進一步在0°C與10°C之間。

【0025】

化合物(I)單晶型S4之1:1反丁烯二酸鹽之特徵

在一個實施例中，型S4呈現獨特XRPD圖案，該XRPD圖案具有20對應於角峰位置的尖峰及平坦基線，其指示高度結晶材料(參見圖1)。XRPD圖案係由在40 V/30 mA下操作之銅輻射源($\text{CuK}\alpha$ ； $\lambda=1.54056 \text{ \AA}$)獲得。在一個特定實施例中，型S4為化合物(I)之1:1反丁烯二酸鹽之單晶型，其由包含6.6°、9.8°、16.3°、21.1°、28.7°及30.2°處之峰的X射線粉末繞射圖案表徵。在另一特定實施例中，型S4係由X射線粉末繞射圖案表徵，該

X射線粉末繞射圖案包含 6.6° 、 9.8° 、 16.3° 、 21.1° 、 28.7° 、 29.4° 及 30.2° 處之峰。在另一特定實施例中，型S4係由X射線粉末繞射圖案表徵，該X射線粉末繞射圖案包含 6.6° 、 9.8° 、 13.0° 、 16.3° 、 19.5° 、 21.1° 、 22.5° 、 28.7° 、 29.4° 及 30.2° 之峰。在又另一特定實施例中，型S4係由X射線粉末繞射圖案表徵，該X射線粉末繞射圖案包含 6.6° 、 9.8° 、 13.0° 、 16.3° 、 19.5° 、 21.1° 、 22.5° 、 22.9° 、 23.9° 、 28.7° 、 29.4° 及 30.2° 之峰。在又另一特定實施例中，型S4係由X射線粉末繞射圖案表徵，該X射線粉末繞射圖案包含 6.6° 、 9.8° 、 11.6° 、 13.0° 、 16.3° 、 17.1° 、 19.5° 、 21.1° 、 21.5° 、 22.0° 、 22.5° 、 22.9° 、 23.9° 、 24.3° 、 28.7° 、 29.4° 及 30.2° 之峰。

【0026】 在又另一特定實施例中，型S4係由實質上類似於圖1之X射線粉末繞射圖案表徵。

【0027】 如本文所用，當兩個繞射圖中之至少90%，諸如至少95%、至少98%或至少99%之信號為以 $2\theta(\pm 0.2)$ 形式相同時，X射線粉末繞射圖案「實質上類似於[特定]圖中之X射線粉末繞射圖案」。在判定「相似性」中，一般熟習此項技術者應理解，即使對於相同結晶型，XRPD繞射圖案中之強度及/或信號位置仍可存在變化。因此，彼等一般熟習此項技術者應理解XRPD繞射圖案中之信號最大值(以本文中所提及之 2θ 度($^\circ 2\theta$)形式)一般意謂報告值 ± 0.2 度 2θ 之報告值(如下文所論述之公認偏差)。

【0028】 結晶學技術中已熟知，對於任何給定結晶型，角峰位置可由於諸如溫度變化、樣品移位及內標存在或不存在之因素略微變化。在本發明中，角峰位置之變化性呈 $2\theta \pm 0.2$ 。另外，給定結晶型之相對峰強度可

由於用於XRPD分析之樣本製備中微晶尺寸及非隨機微晶定向之差異而變化。此項技術中已熟知，此變化將考慮以上因素而不妨礙明確鑑別結晶型。

【0029】

治療方法

作為絲胺酸/蘇胺酸蛋白激酶之polo家族之成員的PLK4已知與細胞有絲分裂進展有關。因此，此酶之小分子抑制劑可為潛在抗癌劑。

【0030】 本發明提供藉由向個體投與有效量之型S4來治療患有可藉由抑制PLK4改善之疾病之個體(諸如治療癌症或抑制腫瘤生長)的方法。因此，型S4藉由誘導腫瘤細胞之細胞凋亡或藉由抑制腫瘤細胞之增殖來抑制腫瘤生長。

【0031】 可藉由本發明方法治療的特定癌症包括肺癌、乳癌、結腸癌、腦癌、神經母細胞瘤、前列腺癌、黑素瘤、多形性神經膠母細胞瘤、卵巢癌、淋巴瘤、白血病、黑素瘤、肉瘤、伴腫瘤(paraneoplasia)、骨肉瘤、胚細胞瘤、神經膠質瘤及間皮瘤。在一個特定實施例中，癌症為肺癌、乳癌、結腸癌、神經母細胞瘤、前列腺癌、黑素瘤、多形性神經膠母細胞瘤、卵巢癌、淋巴瘤、白血病、骨肉瘤、胚細胞瘤、神經膠質瘤、纖維肉瘤、胃腸肉瘤、纖維組織細胞瘤、圓細胞肉瘤、滑膜肉瘤、子宮頸癌、肛門生殖器癌、頭頸癌及口咽癌。在一個特定實施例中，癌症為肺癌、結腸癌、腦癌、神經母細胞瘤、前列腺癌、黑素瘤、多形性神經膠母細胞瘤或卵巢癌。在另一特定實施例中，癌症為肺癌、乳癌、結腸癌、腦癌、神經母細胞瘤、前列腺癌、黑素瘤、多形性神經膠母細胞瘤或卵巢癌。在另一特定實施例中，癌症為肺癌、乳癌及結腸癌。在又另一特定實

施例中，癌症為乳癌。在又另一特定實施例中，癌症為基底次型乳癌或管腔B次型乳癌。在一個實施例中，基底次型乳癌為雌激素受體(estrogen receptor, ER)、HER2及孕酮受體(progesterone receptor, PR)陰性乳癌。在又另一特定實施例中，癌症為三陰性乳癌。術語「三陰性乳癌」係指在ASCO/CAP臨床實踐指南下對於雌激素、孕酮及HER2測試呈陰性之乳癌。在一些實施例中，三陰性乳癌係不可切除或轉移性的。在一特定實施例中，上述方法係用於治療患有胰臟癌之個體，其中該胰臟癌為腺癌。在另一特定實施例中，胰臟癌為低氧性的。在又另一特定實施例中，胰臟癌為非低氧性的。

【0032】 軟組織癌症亦可藉由所揭示之方法治療。「軟組織癌症 (soft tissue cancer)」為此項技術中公認之術語，其涵蓋來源於身體任何軟組織之腫瘤。此類軟組織連接、支撐或圍繞身體之各種結構及器官，包括但不限於平滑肌、骨骼肌、肌腱、纖維組織、脂肪組織、血液及淋巴管、血管周組織、神經、間葉細胞及滑膜組織。因此，軟組織癌症可為脂肪組織、肌肉組織、神經組織、關節組織、血管、淋巴管及纖維組織之癌症。軟組織癌症可為良性或惡性的。通常，惡性軟組織癌症被稱作肉瘤或軟組織肉瘤。存在多種類型之軟組織腫瘤，包括脂肪瘤、脂胚細胞瘤、鰓伏脂瘤、脂肪肉瘤、平滑肌瘤、平滑肌肉瘤、橫紋肌瘤、橫紋肌肉瘤、神經纖維瘤、神經鞘瘤(神經膜瘤)、神經瘤、惡性神經鞘瘤、神經纖維肉瘤、神經性肉瘤、節狀腱鞘炎、滑膜肉瘤、血管瘤、血管球瘤、血管外皮細胞瘤、血管內皮瘤、血管肉瘤、卡波西肉瘤(Kaposi sarcoma)、淋巴管瘤、纖維瘤、彈力纖維瘤、淺表性彈力纖維瘤、纖維組織細胞瘤、纖維肉瘤、纖維黏液瘤、隆凸性皮膚纖維肉瘤 (dermatofibrosarcoma

protuberans , DFSP) 、 惡 性 纖 維 組 織 細 胞 瘤 (malignant fibrous histiocytoma , MFH) 、 黏 液 瘤 、 顆 粒 細 胞 瘤 、 惡 性 間 質 瘤 、 肺 泡 軟 組 織 肉 瘤 、 上 皮 樣 肉 瘤 、 透 明 細 胞 肉 瘤 及 促 結 締 組 織 增 生 小 細 胞 瘤 。 在 一 特 定 實 施 例 中 ， 軟 組 織 癌 症 為 選 自 由 以 下 組 成 之 群 的 肉 瘤 ： 纖 維 肉 瘤 、 胃 腸 肉 瘤 、 平 滑 肌 肉 瘤 、 去 分 化 脂 肪 肉 瘤 、 多 形 性 脂 肪 肉 瘤 、 惡 性 纖 維 組 織 細 胞 瘤 、 圓 細 胞 肉 瘤 及 滑 膜 肉 瘤 。 術 語 「 有 效 量 」 意 謂 當 向 個 體 投 與 時 在 個 體 中 產 生 與 對 照 相 比 之 有 利 或 期 望 結 果 ， 包 括 臨 床 結 果 ， 例 如 抑 制 、 抑 止 或 減 輕 癌 症 (例 如 ， 由 臨 床 症 狀 或 癌 細 胞 之 量 判 定) 的 量 。

【0033】 如 本 文 所 用 ， 「 治 療 患 有 癌 症 之 個 體 」 包 括 部 分 或 實 質 上 實 現 以 下 之 一 或 多 者 ： 遏 制 癌 症 生 長 、 減 輕 癌 症 程 度 (例 如 減 小 腫 瘤 尺 寸) 、 抑 制 癌 症 之 生 長 率 、 改 善 或 改 良 與 癌 症 相 關 之 臨 床 症 狀 或 指 標 (諸 如 組 織 或 血 清 組 分) 或 延 長 個 體 之 壽 命 ； 及 減 小 癌 症 復 發 之 可 能 性 。

【0034】 如 本 文 所 用 ， 術 語 「 減 小 癌 症 復 發 之 可 能 性 」 意 謂 抑 制 或 延 遲 癌 症 在 緩 解 期 之 後 在 原 發 部 位 或 其 附 近 及 / 或 在 繼 發 部 位 復 發 。 其 亦 意 謂 經 由 本 文 所 描 述 之 治 療 ， 與 不 存 在 該 治 療 相 比 ， 癌 症 復 發 之 可 能 性 較 小 。

【0035】 如 本 文 所 用 ， 術 語 「 緩 解 」 係 指 癌 症 之 狀 態 ， 其 中 通 常 在 個 體 已 成 功 地 經 抗 癌 療 法 治 療 之 後 ， 與 癌 症 相 關 之 臨 床 症 狀 或 指 標 消 失 或 無 法 偵 測 到 。

【0036】 一 般 而 言 ， 本 發 明 化 合 物 之 有 效 量 可 視 各 種 因 素 而 變 化 ， 該 等 因 素 諸 如 給 定 藥 物 或 化 合 物 、 醫 藥 調 配 物 、 投 與 途 徑 、 疾 病 或 病 症 之 類 型 、 所 治 療 個 體 或 宿 主 之 身 分 及 類 似 者 ， 但 仍 然 可 由 熟 習 此 項 技 術 者 常 規 地 確 定 。 一 般 熟 習 此 項 技 術 者 藉 由 此 項 技 術 中 已 知 之 常 規 方 法 可 容 易 地

測定本發明之化合物的有效量。

【0037】 在一個實施例中，化合物(I)之1:1反丁烯二酸鹽之有效量在約0.01至約1000 mg/kg體重、替代地在約0.05至約500 mg/kg體重、替代地在約0.1至約100 mg/kg體重、替代地在約0.1至約15 mg/kg體重、替代地在約1至約5 mg/kg體重且在另一替代方案中在約2至約3 mg/kg體重範圍內。熟習此項技術者應瞭解，某些因素可能影響有效治療罹患癌症之個體所需之劑量，且此等因素包括但不限於疾病或病症之嚴重程度、先前治療、個體之一般健康狀況及/或年齡及存在之其他疾病。

【0038】 此外，用有效量之本發明之化合物(I)之反丁烯二酸鹽對個體的「治療」方案可由單次投藥組成，或替代地包含一系列投藥。例如，化合物(I)之1:1反丁烯二酸鹽可至少一週一次投與。然而，在另一實施例中，就給定治療而言，可約每週一次至每日一次向個體投與化合物。治療期之長度視多種因素而定，諸如疾病之嚴重程度、患者之年齡、本發明化合物之濃度及活性或其組合。亦應理解，用於治療或預防之化合物之有效劑量可隨著特定治療或預防方案之過程增加或減少。劑量變化可藉由此項技術中已知之標準診斷分析產生且變得顯而易見。在一些情況下，可能需要長期投與。

【0039】 「個體」為哺乳動物，較佳為人類，但亦可為需要獸醫治療之動物，例如伴侶動物(例如狗、貓及類似動物)、農畜(例如牛、羊、豬、馬及類似動物)及實驗室動物(例如大鼠、小鼠、天竺鼠及類似動物)。

【0040】 如彼等熟習此項技術者將理解，本發明之化合物視選擇之投與途徑而定可以多種形式投與患者。本發明之化合物可例如藉由經口、

非經腸、經頰、舌下、經鼻、經直腸、貼片、泵或經皮投與來投與且相應地調配醫藥組合物。非經腸投藥包括靜脈內、腹膜內、皮下、肌肉內、經上皮、經鼻、肺內、鞘內、經直腸及局部投藥模式。可藉由在所選時段內連續輸注來進行非經腸投藥。

【0041】

醫藥組合物及投藥方法

本文所揭示之化合物(I)結晶型S4之1:1反丁烯二酸鹽可適當調配成醫藥組合物以用於投與個體。在一個實施例中，本發明提供一種醫藥組合物，其包含如上文所描述之型S4及醫藥學上可接受之載劑或稀釋劑，其中至少80重量% (較佳90重量%、更佳重量99%)之鹽為結晶型S4。

【0042】 本發明教示內容之醫藥組合物視情況包括一或多種其對應的醫藥學上可接受之載劑及/或稀釋劑，諸如乳糖、澱粉、纖維素及右旋糖。亦可包括其他賦形劑，諸如調味劑；甜味劑；及防腐劑，諸如對羥苯甲酸甲酯、對羥苯甲酸乙酯、對羥苯甲酸丙酯及對羥苯甲酸丁酯。適合賦形劑之更完整清單可見於醫藥賦形劑之手冊(第5版, *Pharmaceutical Press* (2005))中。熟習此項技術者將知曉如何製備適合於各種類型之投藥途徑的調配物。用於選擇及製備適合調配物之習知程序及成分描述於例如 *Remington's Pharmaceutical Sciences*(2003-第20版)中及1999年出版之美國藥典：國家處方集(USP 24 NF19)中。載劑、稀釋劑及/或賦形劑在與醫藥組合物之其他成分相容且對其受體無害之層面上為「可接受的」。

【0043】 通常，對於經口治療性投藥，本發明教示內容之化合物可與賦形劑合併且以可攝取錠劑、經頰錠劑、糖衣錠、膠囊、酞劑、懸浮液、糖漿、粉片及類似物之形式使用。

【0044】通常，對於非經腸投藥，一般可適當地與諸如羥丙基纖維素之界面活性劑混合在水中來製備本發明教示內容之化合物的溶液。亦可在含或不含醇之情況下在甘油、液態聚乙二醇、DMSO及其混合物中及在油中製備分散液。在普通的儲存及使用條件下，此等製劑含有防腐劑以防止微生物生長。

【0045】通常，對於注射用途，本文所描述之化合物之無菌水溶液或分散液及無菌粉末適用於臨時製備無菌注射溶液或分散液。

【0046】對於經鼻投藥，本發明教示內容之化合物可調配為霧劑、滴劑、凝膠及粉末。霧劑調配物通常包含活性物質於生理上可接受之水性或非水性溶劑中之溶液或精調懸浮液，且通常以單劑量或多劑量的量以無菌形式存在於密封容器中，該容器可呈筒柱形式或再填充以供霧化裝置使用。替代地，密封容器可為單式分配裝置，諸如單劑量經鼻吸入器或霧劑分配器，其裝配有意欲在使用之後棄置之計量閥。當劑型包含霧劑分配器時，其將含有推進劑，其可為壓縮氣體(諸如壓縮空氣)或有機推進劑(諸如氟氯烴)。霧劑劑型亦可呈泵-霧化器之形式。

【0047】對於經頰或舌下投藥，本發明教示內容之化合物可與諸如糖、阿拉伯膠、黃蓍膠或明膠及甘油之載劑一起調配為錠劑、口含錠或片劑。

【0048】對於經直腸投藥，本文所描述之化合物可以含有習知栓劑基質(諸如可可脂)之栓劑形式調配。

【0049】藉由以下實例說明本發明，該等實例不意欲以任何方式為限制性的。

【0050】

實驗

縮寫

縮寫	溶劑	縮寫	溶劑
MeOH	甲醇	ACN	乙腈
EtOH	乙醇	MEK	丁酮
n-PrOH	1-丙醇	MCH	甲基環己烷
IPA	異丙醇	MTBE	甲基第三丁基醚
MIBK	4-甲基-2-戊酮	DMSO	二甲亞砜
EA	乙酸乙酯	THF	四氫呋喃
FA	反丁烯二酸	2Me-THF	2-甲基四氫呋喃
IPAc	乙酸異丙酯		

單位	
全名	縮寫
攝氏度	°C
度	°
當量	eq.
公克	g
小時	h
開爾文(Kelvin)	K
公升	L
毫克	mg
毫升	mL
分鐘	min
毫安	mA
千伏	kV
製程中控制(In-Process-Control)	IPC
相對濕度	RH
隨時間變化之質量變化	rpm
室溫	RT
秒	sec
體積	vol.
體積比	v/v
瓦特(Watt)	W
重量	wt.
重量百分比	wt. %

【0051】

分析條件

X射線粉末繞射(XRPD)：

在Panalytical CubiX-Pro X射線粉末繞射儀或Bruker D8 Advance XRP繞射儀上分析樣品。

【0052】 Panalytical條件：將樣品置放於矽歸零超微型樣品夾上。藉由在40 kV/30 mA下運作的X射線管用銅K- α X射線照射樣品。沿3°至45°之範圍以連續模式掃描樣品。

【0053】 Bruker D8 Advance XRP儀器參數：使用高功率Cu目標在40 kV/40 mA下運作。使用Lynxeye偵測器，其中PSD開口為2.1°。沿4°至40°之範圍(2 σ)掃描樣品，其中出現大部分有機結晶化合物之代表性峰。

【0054】

動態氣相吸附(DVS)：

藉由將約10 mg樣品轉移至DVS儀器中且隨後使用以下參數記錄相對於25°C下之大氣濕度的重量變化來進行吸濕性量測：

【0055】

總氣流(sccm)		-	200	
烘箱(°C)		-	25	
溶劑		-	水	
方法	預熱	-	N/A	
	乾燥	-	N/A	
	階段方法	模式	-	DMDT
		循環	-	RH 0%-90%-0% 或 50%-90%-50%
		階段步驟	-	10%
Dm/dt 標準		-	<0.002% 取樣率：1min	
最小持續時間	-	10min		
最大持續時間	-	360min		

【0056】

HPLC之純度：

藉由HPLC測定樣品之純度。HPLC操作參數列於如下：

管柱詳情	Agilent Eclipse plus C18 (150 * 4.6 mm , 3.5µm) PDS-HPLC-104		
管柱溫度	40°C		
移動相A	含0.05%TFA之水		
移動相B	含0.05% TFA之甲醇		
流率	1 mL/min		
梯度概況	時間 (min)	移動相A%	移動相B%
	0.00	70	30
	8.00	30	70
	9.00	10	90
	10.00	10	90
	11.00`	70	30
15.00	70	30	
偵測器波長	270 nm(對於濃度)，330 nm(對於分析及純度)		
注射體積	2 µL		
針洗滌溶劑	甲醇		
稀釋度	水:甲醇(50/50，v/v)		

【0057】

實例1：丙酮中之小規模結晶產生型D但在較大規模下不可再生產。

進行若干小規模丙酮中之結晶實驗，其中在50-60°C下將2 g規模之化合物(I)及反丁烯二酸溶解於丙酮中。在實驗1及實驗2中，混合化合物(I)與酸溶液，隨後蒸發以濃縮溶劑且在2-5小時內冷卻至0°C。型D自未伴隨接種之結晶及自伴隨接種之結晶成功地產生。兩個實驗均產生型D，其自伴隨接種及未伴隨接種之結晶在溶液中穩定至少17小時。在實驗3中，自程序省略溶劑之濃縮且無固體自溶液沈澱。自實驗推斷，溶劑之濃縮為產生型D所必需(表1)。

【0058】 隨後，將丙酮中之結晶程序規模放大至3.5 g，且將總濃縮時間延長至約10 h。在此實驗中，在濃縮3小時之後，型D轉化為型S4。

【0059】 嘗試在鹽形成之前濃縮反丁烯二酸溶液。在將反丁烯二酸溶解於丙酮中之後，將酸溶液濃縮至8體積，產生反丁烯二酸之懸浮液。隨後將化合物(I)溶解於丙酮(32體積)中且在55°C下以1%接種添加至酸性

懸浮液中且在55°C下保持一小時。將溶液冷卻至5°C且保持16至17小時。成功產生型D(表2)。然而，發現在轉化成型S4之前，型D懸浮液可保持在50°C下小於2.5小時。

【0060】由於在50-55°C下在丙酮中快速轉化成型S4，因此決定測定在50-55°C下減少保持時間之影響。因此，對於1公克及5公克規模之批次，將在50-55°C下之保持時間減少至10分鐘，其後歷經1.5小時將溫度冷卻至0°C且在該溫度下保持16-17小時。儘管以良好品質獲得型D，但產率分別降低至63%及65% (表3)。重複實驗，其中將溫度降低至25°C，持續24小時，隨後冷卻至5°C。此實驗仍產生呈良好品質之型D，然而，產率損失仍呈約12%。亦發現進一步冷卻至5°C不會幫助進一步減少損失(表4)。

【0061】為了試圖進一步增加結晶產率，在冷卻階段期間添加冷的反溶劑。選擇甲基第三丁基醚(MTBE)作為反溶劑，且使用1公克及5公克量之化合物(I)進行兩個實驗。在50°C及1%晶種下，將在丙酮(34體積)中之化合物(I)溶液與在丙酮(8體積)中之反丁烯二酸懸浮液組合，且保持0.5小時。此後繼而添加MTBE且經1.5小時冷卻至0°C。使用1公克樣品之結晶提供型D，但5公克批次產生D與S4之混合物。任一實驗均未得到令人滿意的產率(分別為64%及60%)(表5)。

【0062】隨後重複結晶程序，將化合物(I)與反丁烯二酸混合的溫度降低至25°C及35°C。獲得型D及S4之混合物(表6)。

表1.丙酮中之初步結晶實驗之概述

ID	程序	IPC			濕濾餅	乾濾餅
		XRPD			XRPD	XRPD
		在濃縮之後	漿料17h	漿料60h		
實驗1	接種2%，濃縮，冷卻至0°C，攪拌速度180 rpm	型D	型D	型D	型D	型D
實驗2	未接種，濃縮，冷卻至0°C，攪拌速度180 rpm	型D	型D	N/A	型D	型D
實驗3	接種2%，無濃縮，冷卻至0°C，攪拌速度180 rpm	無固體	無固體	無固體	無固體	無固體

表2.丙酮中之蒸發結晶之規模放大

程序	IPC (XRPD)			濕濾餅	乾濾餅
	IPC1	IPC2	IPC3	XRPD	XRPD
將游離鹼溶解於32 vol中； 溶解酸，隨後濃縮至8 vol； 在55°C下將游離鹼添加至酸中 添加1%晶種；	在55°C下保持1 h： 型D	冷卻至5°C 型D	在5°C下保持16至17 h： 型D	型D	型D

表3.在接種之後保持時間之減少

規模大小	程序	IPC (XRPD)		乾濾餅				ML損失	分離產率
		冷卻至0°C	在0°C下16-17h	XRPD	純度	分析	殘餘溶劑		
1 g規模	在50°C下保持10 min；經1.5 h冷卻至0°C	D	D	D	99.7%	98.0%	丙酮： 0.269% MTBE： 0.010%	~25%	~63%
5 g規模	在50°C下保持10 min；經1.5 h冷卻至0°C	D	D	D	99.3%	99.2%	丙酮： 0.37% MTBE： 0.04%	~33%	~65%

表4.藉由在25°C下之保持結晶產率之最佳化

規模大小	程序	IPC (XRPD)		乾濾餅				ML損失	固體之產率
		IPC1	IPC2	XRPD	純度	分析	殘餘溶劑		
4g規模	在25°C下保持24 h	在25°C下保持24 h： 型D	在5°C保持16 h： 型D	型D	99.7%	97.5%	丙酮 0.29% MTBE 0.02%	25°C:~12% 5°C:~12%	~82%

表5.在冷卻期間添加冷MTBE

規模大小	程序	乾濾餅				ML損失	固體之產率
		XRPD	純度	分析	殘餘溶劑		
1g規模	游離鹼溶液(34 vol)；反丁烯二酸懸浮液(8 vol)；添加1%晶種；在50°C下保持0.5 h；添加30 vol MTBE；經1.5 h冷卻至0°C	型D	99.7%	98.1%	丙酮 0.217% MTBE 0.026%	~27%	~64%
5g規模	游離鹼溶液(34 vol)；反丁烯二酸懸浮液(8 vol)；添加1%晶種；在50°C下保持0.5 h；添加30 vol MTBE；經1.5 h冷卻至0°C	型D + 型S4	99.3%	98.4%	丙酮 0.37% MTBE 0.06%	~40%	~60%

表6.在25°C及35°C下在丙酮中鹽之形成

游離鹼	反丁烯二酸	溫度	乾燥固體
			XRPD
5 vol	5 vol	25°C	型S4
5 vol	20 vol	25°C	型S4
34 vol	5 vol	25°C	型D + 型S4
15 vol	5 vol	35°C	型D + 型S4

【0063】

實例2：結晶品質視起始物質而定。

由以上實例1之結果，似乎在50°C下在丙酮中形成鹽為以合理產率提供型D之最有前景的程序。在所提出之程序中，首先在50°C下將化合物(I)丙酮溶液饋入至反丁烯二酸丙酮懸浮液中，產生過飽和丙酮溶液。隨後接種此過飽和溶液。在接種之後(在冷卻之前)保持系統不超過2小時；隨後

使系統冷卻至25°C，之後保持在25°C下隔夜。在過濾之後，用甲基第三丁基醚洗滌濾餅，且在50°C下於真空下乾燥。此程序可提供產率>60%之所需型D。為了驗證所提出之程序，按4公克(純度99.1%)及9公克(純度99.8%)規模進行若干實驗。4公克批次之實驗提供所需型D，但具有9公克規模之實驗產生型S4。由於兩個實驗之規模類似，因此可信結果可視起始物質之品質而定(表7)。

【0064】 為了研究起始物質之品質的影響，使用不同純度之起始物質進行若干實驗(表8)。在實驗4中，將較少純化合物(I)用於實驗。然而，在研究期間未發現明顯結晶。在實驗5中，將具有高純度之一批化合物(I)與若干批次之較低純物質混合且用作起始物質。在接種之後未觀測到結晶。保持時間在50°C下延長至3小時，但產生型D與S4之混合物。在實驗6中，使用典型純化合物(I)及來自化合物(I)製備之母液(來自化合物(I)合成步驟之母液)之混合物作為起始物質。產生型D且可維持相對較長時間。

【0065】 為了研究殘餘溶劑在化合物(I)中之影響，進行若干「摻加(spiking)」實驗(表9)。「所摻加」有機溶劑為用於合成步驟中之溶劑。另外，化合物(I)在一些批次中為非晶型。為了研究化合物(I)之多型現象是否可能影響鹽之多晶型物，進行以非晶型化合物(I)為起始物質之實驗。在實驗7中，將3% MeOH添加至系統中，且在保持在50°C下期間型D轉化成型S4。在實驗8中，將1%乙酸甲酯添加至系統中，且在保持在50°C下期間型D轉化成型S4。在實驗9中，非晶型化合物(I)用作起始物質，且在保持在50°C下期間型D轉化成型S4。

【0066】 總之，形成蒸發結晶程序以產生型D。然而，接著發現程序之成功高度視起始物質之純度及型而定。因此，具有略微不同的微量雜

質或純度水準之起始物質產生不同多晶型物。發現結晶之成功亦取決於結晶條件及結晶之規模的微量變化。然而，未確定控制型D或穩定型S4之形成的關鍵因素。

表7.在丙酮中所提出之程序之可重複性

規模大小	起始物質	程序	IPC (XRPD)			ML 損失	固體之 產率
			IPC1	IPC2	IPC3		
4g規模	純度：99.1%	所提出之 程序	在25°C下保 持2小時： 型D	在25°C下保 持18 h：型 D	在25°C下保 持24 h：型 D	~12%	~82%
9g規模	純度：99.8%	所提出之 程序	在50°C保持 0.5 h：型 D+型S4	在25°C下保 持16 h：主 要為S4	N/A	~10%	~87%

ML：母液。

表8.起始物質之影響

規模大小	起始物質	程序	IPC (XRPD)			ML 損失	固體之 產率
			IPC1	IPC2	IPC 3		
8g規模 實驗4	純度：98.5%	所提出之 程序	無明顯結晶				
3g規模 實驗5	純度： 98.02% (混合 批次)	在50°C保 持3 h	在50°C保持 1.5 h：型D+ 型S4			N/A	74%
3g規模 實驗6	純度： 98.28% (MeOH ML 添加)	所提出之 程序	在添加化合 物(I)之後： 型D	冷卻至25 °C：型D	在25°C下保 持16 h： 主要為型D	N/A	75%

表9.不同批次之起始物質

規模大小/實 驗ID	起始物質	程序	IPC (XRPD)			ML 損失	固體 之產 率
			在添加化合 物(I)之後	在50°C保持 0.5 h	在25°C下保 持18 h		
2.2g規模 實驗7	純度： 99.91%	添加2.2g MeOH	型D	型D+型S4	型S4	13%	87%
2.2g規模 實驗8	純度： 99.91%	添加1g乙 酸甲酯	型D	型D+型S4	型S4	6%	90%
3g規模 實驗9	無晶型	所提出之 程序	型D	型D+型S4	型S4	13%	84%

【0067】

實例3：意欲得到純型D之大規模製造方法產生型D與S4之1:1混合物。

在55-60°C下在攪拌下將1.05 kg化合物(I)溶解於5-10 kg丙酮中持續30 min以製備化合物(I)溶液。在60°C下將0.32 kg反丁烯二酸溶解於35 kg丙酮中之溶液緩慢添加至化合物(I)溶液中。濃縮所得混合物，隨後添加包含型D之3.5 g晶種。在60°C下攪拌混合物1-2 h。接著濃縮混合物且在2 h內冷卻至50°C。隨後，在50°C下將4 kg MTBE緩慢添加至混合物中且所得混合物在相同溫度下再攪拌1-2 h。混合物經20-25 h之時段緩慢冷卻至25°C。在冷卻製程結束時偵測多晶型轉變，產生多晶型D與S4之1:1混合物。隨後收集反丁烯二酸鹽，用3-4 kg MTBE洗滌兩次，過濾且在65-70°C下乾燥8-24 h。獲得1.02 kg多晶型D與S4之1:1混合物作為最終產物。

【0068】

實例4：1:1化合物(I)反丁烯二酸鹽結晶型S4之小規模製備。

MEK/水/EtOH/MCH溶劑系統中之新穎小規模結晶程序形成如下：在50°C下將0.282 g反丁烯二酸溶解於5 ml乙醇中以製造酸溶液。在50°C下將1.0 g化合物(I)溶解於7 ml 2-丁酮/水(95/5體積比)中以製備化合物(I)溶液。將20%酸溶液饋入至化合物(I)溶液中，將20 mg晶種添加至混合溶液中，且隨後逐滴添加其餘酸。將溫度保持在50°C下3小時，且隨後在2.5小時內冷卻至25°C且在25°C下再保持17小時。隨後，在2小時內添加22體積當量甲基環己烷。將溫度在30分鐘內冷卻至5°C且在5°C下再保持3小時。過濾樣品且在50°C下於真空下乾燥以獲得最終產物，其藉由XRPD確認為單晶型S4。此最終產物之XRPD圖案基本上與針對藉由使用基於相同程序之100 g化合物(I)製備之最終產物的展示於圖1中且列於表10中之彼

等XRPD圖案相同。由於其具有尖峰及平坦基線之獨特XRPD圖案，威信型S4為具有至少90%結晶純度之單晶型。

【0069】為改良產物產率，需要適當添加甲基環己烷作為反溶劑。特定言之，當2-丁酮/水(95/5)與乙醇與甲基環己烷之體積比為6-7比4-5比11-22時，可始終獲得產率高於90%之型S4 (表11)。此外，可微調反丁烯二酸與化合物(I)之間的莫耳比以改良產率，主要經由降低產物溶解性。當反丁烯二酸與化合物(I)之莫耳比變化1.1至1.5時，型S4之產率損失降低7%至3% (表12)。隨後發現1.3之莫耳比與1.5表現得同樣好，且因此應用於結晶程序。

【0070】根據各種加壓條件下之測試得出結晶程序非常穩健之結論，該等條件包括：反丁烯二酸溶液或化合物(I)溶液各在50°C下製備且保持延長時段(長達24小時)，快速添加(不超過半小時)反丁烯二酸或甲基環己基反溶劑，快速冷卻(表13)。甚至在此等加壓條件下，仍不斷地以極高純度獲得型S4；且產率雖然稍微降低但仍遠比針對型D自本發明(參見實例1-2)及美國專利第9,884,855號(參見實例6)中所揭示之程序獲得的彼等產率好。

表10.型S4之XRPD

2θ(°)	相對強度(%)
6.6	19.0
9.8	52.1
11.6	11.9
13.0	43.5
16.3	100.0
17.1	12.6
19.5	30.4
21.1	84.9
21.5	14.4
22.0	11.0
22.5	40.2
22.9	18.9
23.9	18.9

2θ角(°)	相對強度(%)
24.3	10.2
28.7	16.5
29.4	22.9
30.2	17.8

表11.MEK/水/EtOH(MCH)中之初步結晶

規模大小	溶劑系統	XRPD		乾濾餅				損失
		在固體沈澱 之後立刻	在分離 之前	分析	純度	KF	殘餘溶劑	
3g規模	MEK/水 (95v/5v):10 vol EtOH:4-5 vol	S4	S4	99.87%	99.88%	0.18%	MEK : 0.03% EtOH : ND	33%
3g規模	MEK/水 (95v/5v):6-7 vol EtOH:4-5 vol MCH:11 vol	S4	S4	98.56%	99.87%	0.33%	MEK : 0.055% EtOH : 0.035% MCH : 0.009%	8%
2g規模	MEK/水 (95v/5v):6-7 vol EtOH:4-5 vol MCH:22 vol	S4	S4	98.43%	99.86%	0.15%	0.07%EtOH 0.04%MEK 0.01%MCH	3%

表12.所添加之酸的量之影響

規模大小	莫耳比 反丁烯二酸 /化合物(I)	濕濾餅	乾濾餅					反丁烯二 酸分析	ML 損失
			分析	純度	KF	殘餘溶劑			
1g規模	1.1	型S4	99.01%	99.87%	0.14%	EtOH : 0.06% MEK : 0.05% MCH : 0.00%	17.82 %	~7 %	
1g規模	1.5	型S4	98.48%	99.85%	0.14%	EtOH : 0.05% MEK : 0.04% MCH : 0.00%	17.85 %	~3 %	

表13.應力測試

規模大小	程序	IPC (XRPD) 在添加 FA之後	濕濾 餅	乾濾餅				ML損 失	固體 之產 率
				分析	純度	KF	RS		
1g規模	在50°C下攪拌 FA EtOH溶液 24 h	型S4	型S4	97.28%	99.8%	0.06%	0.08%EtOH 0.05%MEK 0.01%MCH	~5%	86%
1g規模	快速添加FA； 快速冷卻至25 °C；在5°C下 保持72 h	N/A	型S4	N/A	99.8%	0.09%	0.12%EtOH 0.08%MEK 0.00%MCH	~4%	N/A
1g規模	MCH快速添 加；快速冷卻 至5°C	型S4	型S4	97.59%	99.9%	0.05%	0.07%EtOH 0.06%MEK 0.00%MCH	~4%	~82%
1g規模	化合物(I)溶液 (純度：99.6%) 在50°C下攪拌 20 h(純度： 99.0%)	型S4	型S4	98.74%	99.8%	0.07%	0.06%EtOH 0.04%MEK 0.01%MCH	~4%	~80%

【0071】

實例5：用於型S4之大規模製造方法

為了大規模製造型S4，在45-55°C下在攪拌下將17.0 kg化合物(I)溶解於90 kg 2-丁酮/水(95/5體積比)中1-4 h以形成化合物(I)溶液。在45-55°C下在攪拌下將4.3 kg反丁烯二酸溶解於74 kg EtOH中1-4 h以形成酸溶液。在45-55°C下將一部分酸溶液饋入至化合物(I)溶液中，且在45-55°C下攪拌0.5-4 h。將包含型S4之晶種添加至混合溶液中。在45-55°C下攪拌接種之混合物2-6 h，且隨後添加剩餘酸溶液。在45-55°C下攪拌所得混合物3-12 h，且隨後歷經5-12 h之時段冷卻至20-30°C。隨後，歷經6-8 h之時段緩慢添加284 kg甲基環己烷。在添加之後，在20-30°C下攪拌混合物3-12 h，隨後歷經3-12 h之時段冷卻至0-10°C，且在0-10°C下在攪拌下再保持6-8 h。隨後收集所需鹽，用16 kg MCH洗滌兩次，過濾，且在50°C

下乾燥8-24小時以獲得17.96 kg最終產物，其藉由XRPD確認為單晶型S4(參見圖2)。由於其具有尖峰及平坦基線之獨特XRPD圖案，咸信型S4為具有至少90%結晶純度之單晶型。

【0072】

實例6：吸濕性及溶解性測試

基於先前所描述之DVS量測值，型S4在0-80% RH之間展現低吸濕性，僅在80% RH下具有0.41%重量增加，略微低於在80% RH下具有0.56%重量增加之型D之吸濕性。

【0073】 執行多個測試以評估型S4相對於型D之溶解性特性。在pH 2下之固有溶解率展示型S4 (429.3 $\mu\text{g}/\text{cm}^2\text{-min}$)及型D (440.4 $\mu\text{g}/\text{cm}^2\text{-min}$)之類似結果。另外，在環境溫度下在各種生物相關介質中量測平衡溶解性。型S4展示在空腹狀態模擬胃液(FaSSGF)中之高平衡溶解性(2.52 mg/ml)及在空腹狀態模擬腸液(FaSSIF)中之低平衡溶解性(0.05 mg/ml)，類似於針對型D(分別為2.08及0.08 mg/ml)所觀測之彼等溶解性。

【0074】 根據FDA指南，原料藥在其經口劑型中之活體外溶解測試可經恰當設計以建立活體內-活體外相關性(IVIVC)，亦即劑型之活體外特性與活體內反應之間的相關性。藉由此指南，使用含有結晶型D及S4之反丁烯二酸鹽之兩個批料來製備錠劑，以評估對藥品效能之任何影響。在稱重之前單獨篩分反丁烯二酸鹽及賦形劑之兩個批料中之每一者。隨後將所需重量之各組分轉移至振盪混合器中且進行摻合。隨後使用單衝頭製錠機對兩個批料進行製錠。

【0075】 隨後使用適當經驗證之溶解測試方法評估此等錠劑之效能。結果展示兩個錠劑批料具有極類似溶解特徵：對於所有批次，在60

min下最終平均濃度達到94% (參見表14)。此等資料展示由結晶型S4製成之藥品展現相對於活體外溶解測試與型D之等效效能，推斷由FDA指南所推薦之生物等效性。

表14.用於呈其相應經口劑型之型S4及D之活體外溶解測試

多晶型			型D			型S4		
測試描述	說明							
溶解	報告平均值 結果	時間	最小	最大	平均	最小	最大	平均
		15	61%	64%	63%	74%	77%	76%
		30	81%	86%	83%	89%	91%	90%
		60	92%	98%	94%	93%	95%	94%

【0076】

實例7：藥物動力學分析。

在化合物(I)之臨床研發期間，根據當前良好製造規範(cGMP)法規，將各含有多晶型D或型S4之反丁烯二酸鹽之兩個批料用於製備錠劑。此等在以下部分中稱作型D及型S4錠劑。

【0077】

方法：

藥物投與、血液收集及血漿製備

患者在由加拿大衛生部(Health Canada)及投與藥物之醫院研究倫理委員會(Research Ethics Board of the Hospital)批准之臨床試驗中給藥。向八名患者投與型S4錠劑，六個48 mg劑量水準及兩個160 mg劑量水準。以在3-160 mg範圍內之劑量向64名患者投與型D錠劑。

【0078】 在給藥前及給藥之後2、4及6 h收集血液以供分析。簡言之，使用標準靜脈切開術程序，將大約6 mL血液收集至K₃EDTA血液收集管中且隨後倒置8-10次以混合。隨後在大約5°C下在1,000 g下離心樣品10-15 min。使用一次性吸液管移除血液之血漿部分，轉移至新套管，在

-70°C下冷凍且隨後在乾冰上運送以供分析。

【0079】

人類血漿分析

化合物(I)之量使用根據所有適用USFDA、OECD及MHLW法規及USFDA行業指導：生物分析方法驗證2001年5月驗證之方法在血漿中量測。簡言之，藉由液/液萃取製備含有化合物(I) (其中化合物(I) $^{13}\text{C}_6$ 作為內標及K3EDTA作為抗凝血劑)之人類血漿樣品。蒸發萃取溶劑之後，將樣品萃取物復水且使用Waters Atlantis dC18藉由逆相HPLC分析。移動相在設定用於電噴射陽性電離之Z-噴霧源/界面中使用經加熱之氮氣霧化。使用MS/MS偵測離子化化合物。將實驗樣品與使用參考標準物質構成之標準曲線樣品相比較以確定化合物濃度。使用「PK功能」中之Excel添加來測定藥物動力學參數。

【0080】

結果

為了比較在不同劑量下之給藥，將以 $\text{ng}\cdot\text{h}/\text{mL}$ 為單位之暴露量($\text{AUC}_{0-6\text{h}}$ 值)除以所投與之劑量(mg)。結果繪製於圖3中。在用型D錠劑給藥之後，平均劑量標準化暴露量為 $3.11\pm 2.19 \text{ ng}\cdot\text{h}/\text{mL}/\text{mg}$ 。在用型S4給藥之後的平均劑量標準化暴露量為 $5.99\pm 2.48 \text{ ng}\cdot\text{h}/\text{mL}/\text{mg}$ 。使用雙尾t測試計算之顯著性p值為0.0009。

【0081】

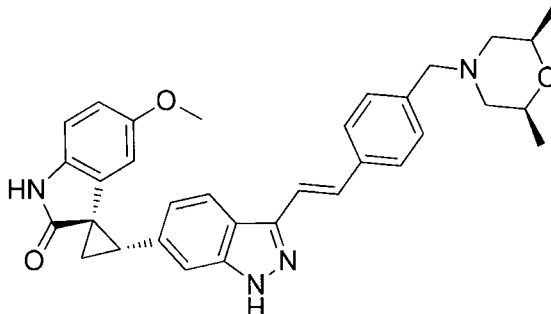
結論

用含有型S4之錠劑給藥使得患者中之暴露量比用含有型D之錠劑給藥更高。在所呈現之資料中，與型D錠劑相比，用型S4錠劑給藥之後的暴露量平均增加倍數為 $5.99/3.11=1.9$ 倍。

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種化合物(I)之反丁烯二酸鹽，其係由以下結構式表示：



化合物(I)，

其中化合物(I)與反丁烯二酸之間的莫耳比為1:1，且該反丁烯二酸鹽包含以一X射線粉末繞射圖案表徵之結晶型S4，該X射線粉末繞射圖案包含 2θ 在 6.6° 、 9.8° 、 16.3° 、 21.1° 、 28.7° 及 $30.2^\circ \pm 0.2$ 處之峰。

【請求項2】

如請求項1之反丁烯二酸鹽，其中該反丁烯二酸鹽包含以一X射線粉末繞射圖案表徵之結晶型S4，該X射線粉末繞射圖案包含 2θ 在 6.6° 、 9.8° 、 16.3° 、 21.1° 、 28.7° 、 29.4° 及 $30.2^\circ \pm 0.2$ 處之峰。

【請求項3】

如請求項1之反丁烯二酸鹽，其中該反丁烯二酸鹽包含以一X射線粉末繞射圖案表徵之結晶型S4，該X射線粉末繞射圖案包含 2θ 在 6.6° 、 9.8° 、 13.0° 、 16.3° 、 19.5° 、 21.1° 、 22.5° 、 28.7° 、 29.4° 及 $30.2^\circ \pm 0.2$ 處之峰。

【請求項4】

如請求項1之反丁烯二酸鹽，其中該反丁烯二酸鹽包含以一X射線粉末繞射圖案表徵之結晶型S4，該X射線粉末繞射圖案包含 2θ 在 6.6° 、

9.8°、13.0°、16.3°、19.5°、21.1°、22.5°、22.9°、23.9°、28.7°、29.4°
及 $30.2^\circ \pm 0.2$ 處之峰。

【請求項5】

如請求項1之反丁烯二酸鹽，其中該反丁烯二酸鹽包含以一X射線粉末繞射圖案表徵之結晶型S4，該X射線粉末繞射圖案包含 2θ 在6.6°、9.8°、11.6°、13.0°、16.3°、17.1°、19.5°、21.1°、21.5°、22.0°、22.5°、22.9°、23.9°、24.3°、28.7°、29.4°及 $30.2^\circ \pm 0.2$ 處之峰。

【請求項6】

如請求項1之反丁烯二酸鹽，其中該反丁烯二酸鹽包含結晶型S4，其以實質上類似於圖1之X射線粉末繞射圖案表徵。

【請求項7】

如請求項1至6中任一項之反丁烯二酸鹽，其中至少90重量%之該鹽係呈單晶型，型S4。

【請求項8】

如請求項1至6中任一項之反丁烯二酸鹽，其中至少99重量%之該鹽係呈單晶型，型S4。

【請求項9】

如請求項1至6中任一項之反丁烯二酸鹽，其中該反丁烯二酸鹽含有小於30重量%之結晶型D，該結晶型D以一X射線粉末繞射圖案表徵，該X射線粉末繞射圖案包含 2θ 在9.6°、12.8°、16.0°、16.9°、21.2°及 $22.0^\circ \pm 0.2$ 處之峰。

【請求項10】

如請求項1至6中任一項之反丁烯二酸鹽，其中該反丁烯二酸鹽含有

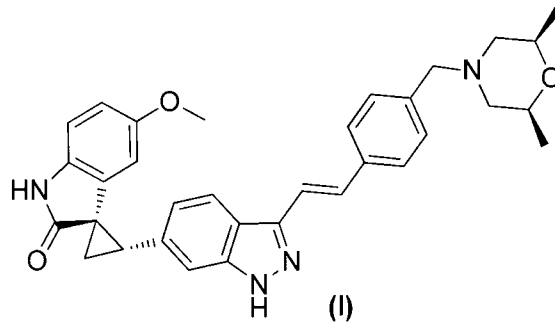
小於10重量%之結晶型D，該結晶型D以一X射線粉末繞射圖案表徵，該X射線粉末繞射圖案包含 2θ 在 9.6° 、 12.8° 、 16.0° 、 16.9° 、 21.2° 及 $22.0^\circ \pm 0.2$ 處之峰。

【請求項11】

一種醫藥組合物，其包含如請求項1至6中任一項之反丁烯二酸鹽及醫藥學上可接受之載劑或稀釋劑。

【請求項12】

一種製備如請求項1之化合物(I)之反丁烯二酸鹽之結晶型S4的方法：



其包含將反丁烯二酸及化合物(I)溶解於包含2-丁酮、水及乙醇之溶解劑中以形成結晶溶液，且隨後自該結晶溶液沈澱該結晶型S4，其中：

該溶解劑中之化合物(I)與反丁烯二酸之間的莫耳比為約1:1至約1:1.3；且該反丁烯二酸鹽中之化合物(I)與反丁烯二酸之間的莫耳比為1:1。

【請求項13】

如請求項12之方法，其包含在高溫下將反丁烯二酸及化合物(I)溶解於該溶解劑中，且該結晶型S4自結晶溶液之沈澱藉助於冷卻及/或伴隨冷卻添加甲基環己烷進行。

【請求項14】

如請求項12或13之方法，其包含以下步驟：

- (i) 在高溫下將化合物(I)溶解於2-丁酮與水之混合物中以形成化合物(I)溶液；
- (ii) 在高溫下將反丁烯二酸溶解於乙醇中以形成反丁烯二酸溶液；
- (iii) 在高溫下將該反丁烯二酸溶液添加至該化合物(I)溶液中以形成該結晶溶液；
- (iv) 視情況在高溫下將晶種添加至該結晶溶液中；及
- (v) 降低該結晶溶液之溫度以使該S4結晶型沈澱。

【請求項15】

如請求項14之方法，其中2-丁酮與水之間的體積比在80:20與98:2之間；該高溫在45°C與55°C之間；且該經降低之溫度在20°C與30°C之間。

【請求項16】

如請求項14之方法，其中2-丁酮與水之間的體積比在90:10與98:2之間；該高溫在45°C與55°C之間；且該經降低之溫度在20°C與30°C之間。

【請求項17】

如請求項14之方法，其進一步包含在經降低之溫度下將甲基環己烷添加至該結晶溶液中以使該S4結晶型沈澱。

【請求項18】

如請求項17之方法，其中2-丁酮與水之間的體積比在80:20與98:2之間；該高溫在45°C與55°C之間；且2-丁酮/水與乙醇與甲基環己烷之體積比為6-7比4-5比11-22。

【請求項19】

如請求項17之方法，其中進一步降低該結晶溶液之溫度以使該S4結晶型沈澱。

【請求項20】

如請求項17之方法，其中該經降低之溫度係在20°C與30°C之間。

【請求項21】

如請求項19之方法，其中該經進一步降低之溫度係在0°C與10°C之間。

【請求項22】

一種如請求項1至6中任一項之反丁烯二酸鹽或如請求項11之醫藥組合物於製備藥物之用途，該藥物係用於治療個體中之癌症。

【請求項23】

如請求項22之用途，其中該癌症係選自由以下組成之群：肺癌、乳癌、結腸癌、神經母細胞瘤、前列腺癌、黑素瘤、多形性神經膠母細胞瘤、卵巢癌、淋巴瘤、白血病、骨肉瘤、胚細胞瘤、神經膠質瘤、纖維肉瘤、胃腸肉瘤、纖維組織細胞瘤、圓細胞肉瘤、滑膜肉瘤、子宮頸癌、肛門生殖器癌、頭頸癌及口咽癌。

【請求項24】

如請求項22之用途，其中該癌症係選自由肺癌、乳癌及結腸癌組成之群。

【請求項25】

如請求項22之用途，其中該癌症為乳癌。

【請求項26】

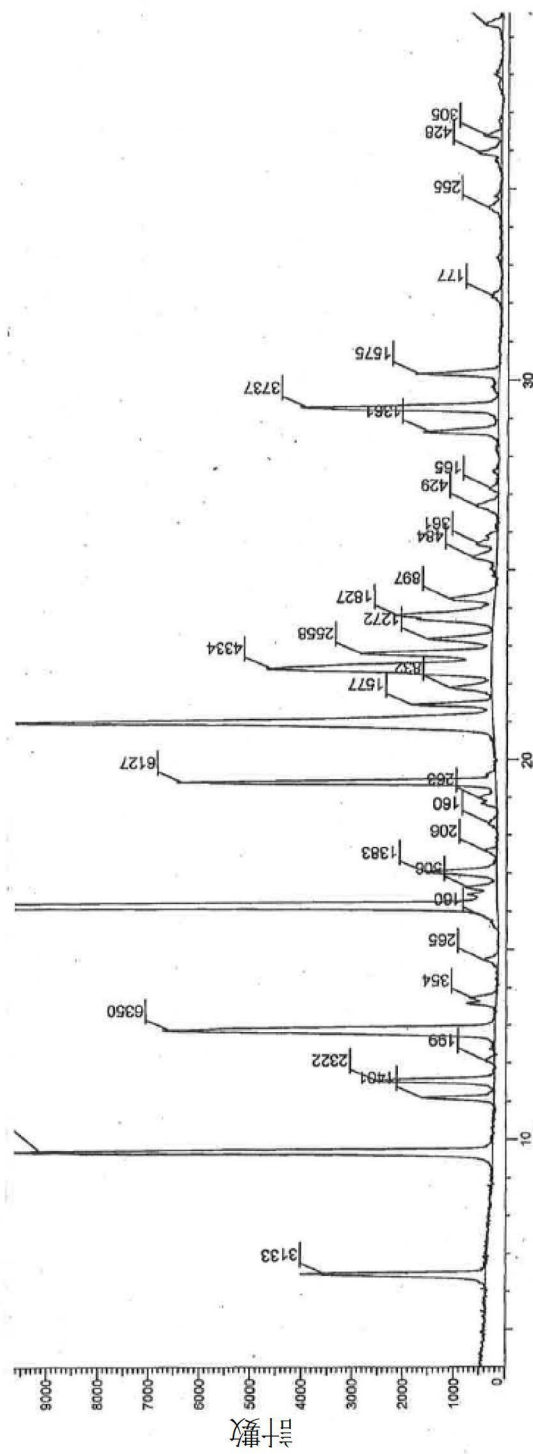
如請求項22之用途，其中該癌症為三陰性乳癌。

【請求項27】

如請求項26之用途，其中該三陰性乳癌係不可切除或轉移性的。

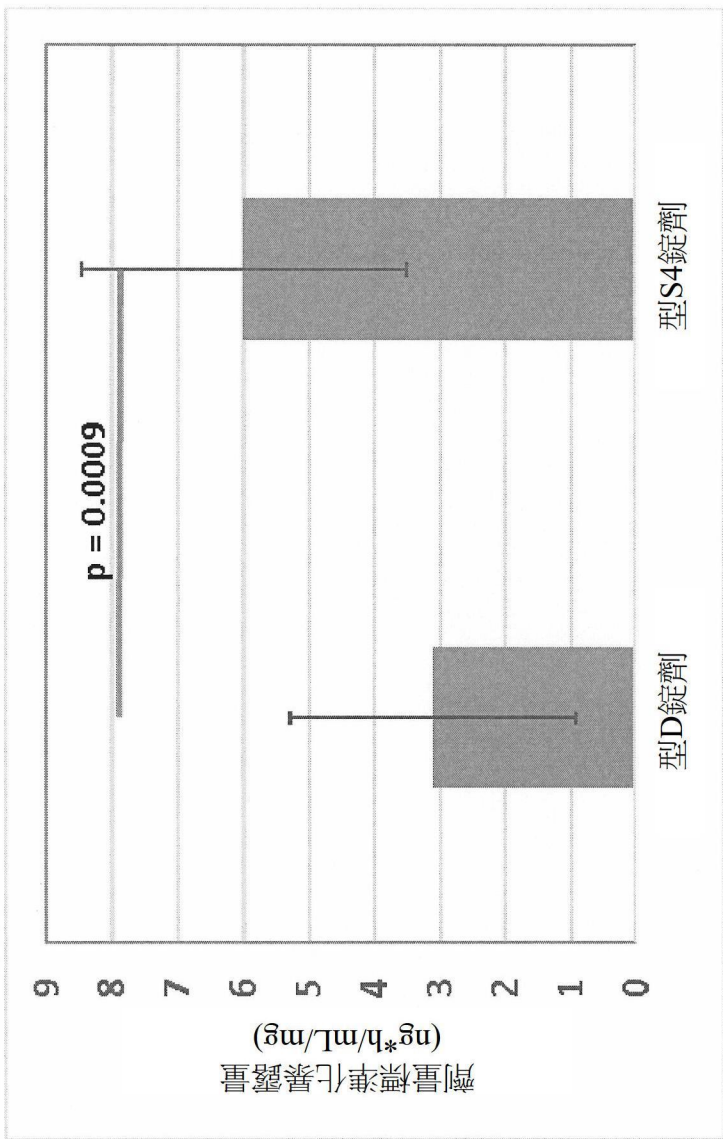
【請求項28】

一種如請求項1至6中任一項之反丁烯二酸鹽或如請求項11之醫藥組合物於製備藥物之用途，該藥物係用於治療個體中之胰臟癌。



2θ (耦合兩個θ) WL = 1.54060

【圖2】



【圖3】