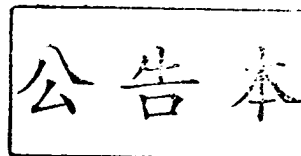


發明專利說明書



中文說明書替換本(96年8月)

(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：093106315

※ 申請日期：93.3.10.

※IPC 分類：C07C 323/59, 319/28
A61K 31/98

壹、發明名稱：(中文/英文)

S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物
結晶鹽

S-[2-[(1-IMINOETHYL)AMINO]ETHYL]-2-METHYL-L-CYSTEINE
MALEATE HYDROCHLORIDE CRYSTALLINE SALT

貳、申請人：(共 1 人)

姓名或名稱：(中文/英文)

美商法瑪西亞公司

PHARMACIA CORPORATION

代表人：(中文/英文)

葛洛渥 F 弗勒 二世

FULLER, GROVER F. JR.

住居所或營業所地址：(中文/英文)

美國密蘇里州崔斯特菲爾德市西崔斯特菲爾德公路700號

700 CHESTERFIELD PARKWAY WEST, CHESTERFIELD, MISSOURI

63017-1732, U.S.A.

國籍：(中文/英文)

美國 U.S.A.

參、發明人：(共 4 人)

姓 名：(中文/英文)

1.亞瑪德 席克

SHEIKH, AHMAD

2.莉莉 R 布拉斯壯

BROSTROM, LYLE R.

3.安 M 克茲黎斯基

CZYZEWSKI, ANN M.

4.瓦希德 黎拉

ZIA, VAHID

住居所地址：(中文/英文)

1-4.均美國密蘇里州崔斯特菲爾德市西崔斯特菲爾德公路700號

700 CHESTERFIELD PARKWAY WEST, CHESTERFIELD,
MISSOURI 63017-1732, U.S.A.

國 籍：(中文/英文)

1.巴基斯坦 PAKISTAN

2.-4.均美國 U.S.A.

肆、聲明事項：

☐ 本案係符合專利法第二十條第一項☐第一款但書或☐第二款但書規定之期間，其日期為： 年 月 日。

☒ 本案申請前已向下列國家（地區）申請專利：

1. 美國；2003年03月11日；60/453,496

2.

3.

4.

5.

☒ 主張國際優先權(專利法第二十四條)：

【格式請依：受理國家（地區）；申請日；申請案號數 順序註記】

1. 美國；2003年03月11日；60/453,496

2.

3.

4.

5.

☐ 主張國內優先權(專利法第二十五條之一)：

【格式請依：申請日；申請案號數 順序註記】

1.

2.

☐ 主張專利法第二十六條微生物：

☐ 國內微生物 【格式請依：寄存機構；日期；號碼 順序註記】

☐ 國外微生物 【格式請依：寄存國名；機構；日期；號碼 順序註記】

☐ 熟習該項技術者易於獲得，不須寄存。

玖、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

主張美國臨時申請案序號60/453,496之優先權，將其以引用方式併入本文中。

本發明包含一種可用於治療疾病之新穎化合物，特別地是一種S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸之新穎鹽，更特別地是一種新穎結晶S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物、其醫藥組合物、用於治療包括由氧化氮合成酶之誘發異構體造成氧化氮不適當表現等症狀。

S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸係描述於普遍頒予之美國專利第6,403,830號中並由其主張，將其以引用方式併入本文中。

【先前技術】

氧化氮(NO)是一種生物活性自由基氣體，其係藉由多種酵素氧化氮合成酶(NOS)異構體中任一種所製得。當1980年早期發現乙醯膽鹼所造成血管鬆弛係視血管內皮的存在性而定時，也初次發現後來被確定為NO之生理活性。現在已知源生自內皮，然後被稱為內皮源生舒張因子(EDRF)可中介此血管鬆弛之因子為NO，其係藉由一NOS異構體產生於血管內皮中。NO作為血管舒張劑的活性已知超過100年。而且，NO是源生自已知硝基血管舒張劑，包括亞硝酸戊酯及甘油三硝酸酯之活性物種。氧化氮也是一種可溶鳥苷酸酯環化酶(cGMP)之內源性刺激劑並因此刺激cGMP的

製造。當NOS係受N-單甲基精胺酸(L-NMMA)抑制時，完全阻止cGMP的形成。除了內皮依存性放鬆外，已知NO參與許多生物作用，包括吞噬細胞之細胞毒性及中樞神經系統中細胞間的交流。

EDRF確定為NO與發現NO係藉酵素NO合成酶由胺基酸L-精胺酸合成得到之生物化學途徑一致。至少有三種NO合成酶類型如下：

(i)組成Ca⁺⁺/鈣調素依存型酵素，位於腦，其釋放NO以回應受體或物理刺激；

(ii)Ca⁺⁺非依存型酵素，130 kD蛋白質，其在以內毒素及細胞激素活化血管平滑肌、巨噬細胞、內皮細胞及許多其他細胞後被誘發；及

(iii)組成Ca⁺⁺/鈣調素依存型酵素，位於內皮，其釋放NO以回應受體或物理刺激。

一旦表現，誘發型氧化氮合成酶(下文之"iNOS")長期持續產生NO。臨床研究顯示在許多慢性炎性疾病，如類風濕性及退化性關節炎(參見，如McInnes I. B.等人，*J. Exp. Med.* 184: 1519 (1996))、炎症性腸病(參見，如Lundberg J. O. N.等人，*Lancet* 344: 1673, (1994))及氣喘(參見，如Hamid, Q.等人，*Lancet* 342: 1510, (1993))中NO製造及iNOS表現是增加的，而且暗示iNOS在這些慢性炎性疾病中係作為主要病理因子。

因此，以iNOS抑制NO過度製造可能消炎。但是，因為由eNOS及nNOS製造NO係參與正常生理，因此希望針對

iNOS，精選任何用於治療炎症之NOS抑制劑，因此eNOS所產生的NO對血壓之正常生理調整及nNOS所產生的NO對非腎上腺素及非乙酰膽鹼神經元傳遞仍無影響。

包括所有醫藥化合物及組合物，藥物化合物之化學及物理安定性在藥品物質的商業發展上是重要的。此安定性包括在週遭條件下，特別是對水分及儲存條件下之安定性。在不同儲存條件下較高安定性是需要以預測商業產品壽命期間不同的可能儲存條件。安定的藥劑可避免使用特殊儲存條件以及頻繁更換存貨。藥物化合物在製造程序期間也必須是安定的，因為製造程序經常需要研磨藥物以獲得具有均一粒徑及表面積的藥物。不安定物質經常進行多形態改變。因此，任何提高安定性特點之藥物改良提供一優於較不安定物質之有意義的益處。

數種iNOS之抑制劑已描述過，如，例如普遍頒予之美國專利第6,403,830號中所描述及主張的S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸。但是，此化合物是一種非晶質固體。因此希望能提供一種結晶固體型態之iNOS抑制劑如S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸。

【發明內容】

本發明係關於一種新穎結晶鹽型態之S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸、醫藥組合物、四種機械上不同的新穎結晶程序設計以在製備該新穎鹽化合物期間訂作大部分物理性質、一種製備醫藥組合物之方法及利用該新穎混合結晶鹽化合物及組合物抑制或調整個體中氧化氮

合成的方法，其中該個體是需要此藉由服用一最好可抑制或調整氧化氮合成酶之誘發異構體而非氧化氮合成酶之組成異構體的化合物鹽抑制或調整的。本發明鹽化合物具有可用的氧化氮合成酶抑制活性並預期可用於治療或預防合成或過度合成氧化氮而形成促成部分之疾病或症狀。

化學計量上，此新穎鹽是兩分子S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸及一分子順丁烯二酸和一分子氮氧化物。

此新穎結晶混合鹽以部分或所有下列物理測量特徵化：元素分析(如藉燃燒分析)、熔點及熔融熱(示差掃描熱量法及熱重量分析)、折射率(偏振光顯微術)、x-射線粉末繞射圖案、拉曼光譜法及水分吸收(例如，DVS水分天平)。

本發明新穎鹽可用於治療疾病，包括軟骨退化，其係發生在特定症狀如關節炎。因此，在抑制L-精胺酸製造NO上具有優勢之症狀包括關節炎症狀如類風濕性關節炎、退化性關節炎、痛風性關節炎、年幼型關節炎、細菌性關節炎、脊椎關節炎、急性類風濕性關節炎、發炎性關節炎、神經性關節炎及化膿性關節炎。而且，NO誘發軟骨細胞呼吸機能降低可調整關節炎中，特別是退化性關節炎中基質損失及繼發軟骨礦物化。

其他本發明混合鹽可能有用的症狀包括慢性或炎症性腸病、心血管缺血、糖尿病、充血性心臟衰竭、心肌炎、動脈硬化、偏頭痛、青光眼、主動脈瘤、反流性食管炎、腹瀉、大腸激躁症、囊腫纖維化、肺氣腫、氣喘、支氣管擴

張、痛覺過敏、腦缺血、栓塞型中風、完全缺血(繼發心跳停止)、多發性硬化症及其他由NO調節之中樞神經系統障礙，例如帕金森氏(Parkinson)症及阿茲海默氏(Alzheimer)症。其他NO抑制作用可能有用的神經退化性障礙包括在如缺氧、血糖過低、癲癇等障礙及外部傷口(如脊髓及頭部外傷)中神經退化及/或神經壞死、高壓氧痙攣及毒性、癡呆症如初老年期癡呆症及AIDS相關癡呆症、薛登漢氏(Sydenham)舞蹈症、漢丁頓(Huntington)舞蹈症、肌萎縮性側索硬化症、柯爾薩克夫(Korsakoff)症、腦血管失調相關低能障礙、睡眠失調、精神分裂症、經前症候群(PMS)相關抑鬱症或其他症候群、焦慮症及敗血性休克。

本發明混合鹽也可用於氧化氮抑制作用在治療上也起重要作用之處，如疼痛，包括身源性(侵害性或神經性)、急性及慢性疼痛。本發明混合鹽可用於任何傳統服用普通NSAID或類鴉片止痛劑的情況。

另外，其他可以本發明混合鹽抑制NO製造進行治療之病症包括需長期鴉片止痛劑之病患的鴉片耐藥性及攝取苯并二氮呋之病患中的苯并二氮呋耐藥性及其他成癮行為，例如尼古丁及飲食失調症。本發明混合鹽也可用作抗菌劑。

其他本發明混合鹽可用於抑制L-精胺酸製造NO之症狀包括因種類繁多之試劑所誘發敗血性及中毒性休克相關全身性低血壓；利用細胞激素如TNF、IL-1及IL-2之療法及在移植療法中作為短期免疫抑制之佐藥。

本發明混合鹽也可用於治療眼部症狀(如高眼內壓症視

網膜葡萄膜炎)、全身性紅斑性狼瘡(SLE)、腎小球腎炎、血管再狹窄、病毒感染之炎症後遺症、急性呼吸窘迫症候群(ARDS)、氧化劑誘發肺損傷、如在癌症病患中之IL2療法、惡病質、如在移植療法中之免疫抑制、胃腸蠕動等障礙、曬傷、濕疹、牛皮癬、牙齦炎、胰腺炎、感染所造成胃腸道的損傷、囊腫纖維化、功能失調免疫系統之治療如器官移植療法中作為短期免疫抑制之佐藥、催生、大腸腺瘤增生症、控制腫瘤生長、化學療法、化學預防及支氣管炎。

本發明也關於治療病痛、氣喘及其他氣道病症、癌症、關節炎、眼部病變，包括視網膜病變及青光眼、發炎相關病症，包括大腸激躁症及其他氧化氮過度製造扮演一角色之病症的醫藥組合物，其包含治療上有效量之兩分子S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸及一分子順丁烯二酸和一分子氫氯化物之結晶型以及醫藥上可接受載劑、稀釋劑或媒劑。

除了對人類治療有用外，此型態對獸醫治療伴侶動物、另類動物及農場動物，包括哺乳類、齧齒目類及類似動物也有用。較偏好的動物包括馬、狗及貓。

【實施方式】

定義

如本文所用"治療"一詞係包括預防性、和緩治療或修復治療。

"有效量"一詞係指有助於治療之劑量。有效量可以單劑

量或一段時間分次劑量給藥。

"ACN"一詞係指乙腈。

"非晶質"一詞如應用在本文之S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸時係相當於一固體狀態，其中S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸分子係以隨意排列存在而且不形成可辨別晶格或晶室。令其進行X-射線粉末繞射時，非晶質S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸不會產生任何特徵結晶波峰。

"結晶型態"一詞如應用在本文之S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸時係相當於一固體狀態型態，其中S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸分子係排列形成可辨別晶格：(i)包含可辨別晶室及(ii)令其進行X-射線輻射時產生繞射波峰。

"S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸鹽I型"、"S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸I型"及"I型"等詞皆指S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸結晶鹽I型，如同在申請中之美國申請案序號60/453,796中完整描述的，將其全文以引用方式併入本文中。

"S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸鹽II型"、"S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸II型"及"II型"等詞皆指S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸結晶鹽II型，如同在申請中之美國申請案序號60/453,782中完整描述般，將其全文以

引用方式併入本文中。

"S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物"、"結晶 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物"及"混合鹽"等詞皆相當於結晶型態之 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物，如本文完整描述般，對於 0.5 莫耳順丁烯二酸及 0.5 莫耳 HCl，化學計量上具有 1 莫耳之 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸。

如本文所用"結晶"一詞相當於結晶及/或再結晶，視製備 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸起始物相關可應用環境而定。

如本文所用"API"一詞係指活性醫藥組成份。

如本文所用"bis"一詞係指 N,N'-亞甲基-雙-丙烯醯胺。

如本文所用"DI水"一詞係指去離子水。

如本文所用"DMF"一詞係指 N,N'-二甲基甲醯胺。

"D/W/A"一詞相當於 N,N'-二甲基甲醯胺 (DMF)、水及乙腈之三元溶劑系統。

如本文所用"S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸藥物物質"一詞係指使用此詞之上下文自身限定的 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸且可相當於未調配的 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸或以醫藥組合物組成份存在之 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸。

"DSC"一詞係指示差掃描熱量法。

" ΔH_{fus} "或" ΔH_{fus} "一詞係指物質之熔融焓並相當於1克物質在其溶化溫度下溶化所需能量(以仟焦耳(Kj)量得)。

"HPLC"一詞係指高壓液相色層分析法。

"IR"一詞係指紅外線。

"kN"一詞係指仟牛頓。

"kP"一詞係指仟朋特(pond)。

如本文所用" ρ "一詞相當於密度。

" ρ_b "一詞係指堆積密度。

" ρ_t "一詞係指捕集密度。

"CI"一詞係指如下式所定義之壓縮指數。

$$CI = 1 - \frac{\rho_b}{\rho_t}$$

"NMR"一詞係指核磁共振並可用於核磁共振光譜法。

"ml"一詞係指毫升。

"mg"一詞係指毫克。

"g"一詞係指克。

"kg"一詞係指仟克。

" μg "一詞係指微克。

" μl "一詞係指微升。

"min"一詞係指分鐘。

"MW"一詞係指分子量。

如本文所用"成核(作用)"一詞係指晶體在溶液中形成。

如本文所用"純度"一詞，除非另外限定，否則是指根據慣用HPLC檢驗結晶S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基

-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物之化學純度。

"PXRD"一詞係指粉末X-射線繞射。

"rpm"一詞係指每分鐘的轉數。

如本文所用"植晶"一詞係指將晶體加入結晶系統以達開啟或提高成核作用的目的或作為進一步結晶的受質。

"凝聚物"一詞一般相當於各個晶體隨意或規則堆積在晶室中，其在溫和能量操作如固體轉移期間是不易被摧毀的。

"SEM"一詞係指掃描電子顯微術。

"TGA"一詞係指熱重量分析法。

"Tm"一詞係指熔化溫度。

"兩性離子"或"ZW"一詞係指一個攜帶正及負電荷之分子。"游離兩性離子"一詞係指分子的淨電荷為零之兩性離子。除非另外指示，如本文所用"兩性離子"或"ZW"一詞係指S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸兩性離子。

S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物結晶鹽將可用於治療，尤其是個體發炎或用於治療其他氧化氮合成酶中介病症，如治療疼痛及頭痛之止痛劑或作為治療感冒之退燒藥。例如，S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物結晶鹽將可用於治療關節炎，包括但不限於類風濕性關節炎、脊椎關節病變、痛風性關節炎、退化性關節炎、全身性紅斑性狼瘡、幼年型關節炎、急性類風濕性關節炎、腸道性關節炎、神經性關節炎、乾癬性關節炎及化膿性關節

炎。S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物結晶鹽將提供抑制L-精胺酸製造NO優勢之症狀包括關節炎症狀。

S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物結晶鹽另可用於治療氣喘、支氣管炎、經期痙攣(如經痛)、早產、肌腱炎、滑囊炎、皮膚相症狀如牛皮癬、濕疹、燒傷、曬傷、皮膚炎、胰腺炎、肝炎及手術後發炎，包括眼科手術如白內障手術及屈光手術。S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物結晶鹽也可用於治療胃腸道症狀如炎症性腸病、克羅恩(Crohn)病、胃炎、大腸激躁症及潰瘍性結腸炎。

S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物結晶鹽可用於預防或治療癌症，如直腸癌及乳癌、肺癌、前列腺癌、膀胱癌、子宮頸癌及皮膚癌。本發明S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物結晶鹽可用於治療如血管疾病、偏頭痛、結節性動脈周圍炎、甲狀腺炎、再生障礙性貧血、霍奇金氏(Hodgkin)疾病、硬皮病、風濕熱、I型糖尿病、包括重症肌無力之神經肌肉接點疾病、包括多發性硬化症之白質疾病、結節病、腎病徵候群、白塞氏(Behcet)病、多發性肌炎、牙齦炎、腎炎、過敏反應、傷後發生腫脹、心肌缺血及類似疾病等之炎症及組織損傷。S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物結晶鹽也可用於治療眼部疾病，如青光眼、視網膜炎、視網膜病

變、葡萄膜炎、眼睛畏光及眼睛組織急性傷害相關發炎及疼痛。在本發明S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物結晶鹽的用途中，特別感興趣的是治療青光眼，特別是因氧化氮製造所引起之青光眼症狀，如氧化氮中介神經傷害。

S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物結晶鹽也可用於治療肺部發炎，如與病毒感染及囊腫性纖維化有關的。S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物結晶鹽也可用於治療特定中樞神經系統障礙，如包括阿茲海默氏(Alzheimer)症之皮質癡呆症及因中風、缺血及創傷所造成之中樞神經系統損傷。

S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物結晶鹽可用作消炎藥，如以治療關節炎並具有明顯較少有害副作用之附加優點。

S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物結晶鹽也可用於治療過敏性鼻炎、呼吸窘迫症候群、內毒素休克症候群及動脈硬化。

S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物結晶鹽也可用於治療疼痛，包括但不限於手術後疼痛、牙痛、肌肉疼痛及癌症所造成的疼痛。S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物結晶鹽也可用於預防失智症，如阿茲海默氏(Alzheimer)症。

除了對人類治療有用外，S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物結晶鹽也可用於包括哺乳類、齧齒目類及類似動物等伴侶動物、另類動物及農場動物之獸醫治療。較偏好的動物包括馬、狗及貓。

本發明S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物結晶鹽也可用於共同療法中以部分或完全取代其他慣用消炎療法，如與類固醇、NSAID、COX-2選擇性抑制劑、5-脂氧化酶抑制劑、LTB₄拮抗劑及LTA₄水解酶抑制劑一起。

其他本發明S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物結晶鹽提供抑制NO製造之優點的症狀包括心血管缺血、糖尿病(I或II型)、充血性心臟衰竭、心肌炎、動脈硬化、偏頭痛、青光眼、主動脈瘤、反流性食管炎、腹瀉、大腸激躁症、囊腫纖維化、肺氣腫、氣喘、支氣管擴張、痛覺過敏(觸摸痛)、腦缺血(局部缺血、栓塞型中風、完全缺血(例如，繼於心跳停止))、多發性硬化症及其他由NO中介之中樞神經系統失調，例如帕金森氏(Parkinson)症。其他NO抑制作用可能有用的神經退化性障礙包括在如缺氧、血糖過低、癲癇等障礙及在中樞神經系統(CNS)創傷(如如脊髓及頭部外傷)例子中、高壓氧痙攣及毒性、癡呆症如初老年期癡呆症及AIDS相關癡呆症、薛登漢氏(Sydenham)舞蹈症、漢丁頓(Huntington)舞蹈症、肌萎縮性側索硬化症、柯爾薩克夫(Korsakoff)症、腦血管失調相關低能障礙、睡眠失調、精神分裂症、抑鬱症、經

前症候群(PMS)相關抑鬱症或其他症候群、焦慮症及敗血性休克。

本發明 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物結晶鹽也可用於治療疼痛，包括身源性(侵害性或神經性)、急性及慢性疼痛。S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物結晶鹽可用於任何情況，包括傳統服用普通NSAID或類鴉片止痛劑之神經痛。

另外，其他可以本發明 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物結晶鹽作有利治療之病症或症狀包括治療或預防需長期鴉片止痛劑之病患的鴉片耐藥性及攝取苯并二氮平之病患中的苯并二氮平耐藥性和其他成癮行為，例如尼古丁成癮性、酒精中毒及飲食失調症。

本發明 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物結晶鹽也可用於治療或預防停藥症狀，例如治療或預防鴉片、酒或煙草成癮性之停藥症狀。

S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物結晶鹽也可用於預防與抗菌劑或抗病毒劑結合治療時之組織損傷。

本發明 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物結晶鹽也可用於抑制L-精胺酸製造NO，包括種類廣泛之試劑所誘發的敗血性及/或中毒性休克相關全身性低血壓；利用細胞激素如TNF、IL-1及IL-2之療

法及在移植療法中作為短期免疫抑制之佐藥。

本發明另關於本發明S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物結晶鹽在治療及預防贅瘤上的用途。可藉S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物結晶鹽及本發明方法治療或預防之贅瘤包括腦癌、骨癌、白血病、淋巴瘤、上皮細胞衍生贅瘤(上皮細胞癌)如基底細胞癌、腺癌、胃腸癌如唇癌、口腔癌、食管癌、小腸癌及胃癌、結腸癌、肝癌、膀胱癌、胰臟癌、卵巢癌、子宮頸癌、肺癌、乳癌及皮膚癌，如鱗狀細胞癌及基底細胞癌、前列腺癌、腎細胞癌及其他已知引起全身表層細胞變化之癌症。較佳地，欲治療之贅瘤係選自胃腸癌、肝癌、膀胱癌、胰臟癌、卵巢癌、前列腺癌、子宮頸癌、肺癌、乳癌及皮膚癌，如鱗狀細胞癌及基底細胞癌。本發明S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物結晶鹽II型及方法也可用於治療隨輻射療法發生之纖維化。本發明S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物結晶鹽及方法可用於治療具有腺瘤性息肉之個體，包括這些具有家族性腺體息肉(FAP)的個體。另外，本發明S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物結晶鹽及方法可用於預防個體形成息肉而冒FAP的危險。

本發明S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物結晶鹽與另一種抗癌藥物之結合治

療將產生加乘作用或藉降低治療效力所需治療劑量之副作用引發劑或藉直接降低副作用引發劑所造成之毒性副作用症狀而近一步降低化學療法相關毒性副作用。本發明S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物結晶鹽另可用作輻射療法之附屬物以降低副作用或提高效力。

本發明中，治療上與可本發明S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物結晶鹽組合之另一種試劑包括任何可抑制酵素環氧合酶-2("COX-2")之治療劑。最好此COX-2抑制劑抑制COX-2對酵素環氧合酶-1("COX-1")之選擇性。此COX-2抑制劑已知為"COX-2選擇性抑制劑"。可用於與本發明S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物結晶鹽醫療組合之COX-2選擇性抑制劑包括塞來昔布(celecoxib)、伐地考昔(valdecoxib)、德拉考昔(deracoxib)、依託考昔(etoricoxib)、羅菲考昔(rofecoxib)、ABT-963(2-(3,4-二氟苯基)-4-(3-羥基-3-甲基-1-丁氧基)-5-[4-(甲基磺醯基)苯基-3(2H)-噁嗪酮]；描述於PCT專利申請案WO 00/24719中)或美洛席康(meloxicam)。本發明S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物結晶鹽最好也可用於與COX-2選擇性抑制劑之前藥，例如帕瑞考席(parecoxib)治療組合。

另一種與本發明S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物結晶鹽結合使用之化學

治療藥物可選自，例如下列非綜合及非限定名單中：

α -二氟甲基鳥胺酸 (DFMO)、5-FU-纖維蛋白原、acanthifolic acid、胺基雙二唑、布瓊那 (brequinar) 鈉、卡莫氟 (carmofur)、Ciba-Geigy CGP-30694、環戊基胞嘧啶、阿糖胞苷磷酸酯硬脂酸酯、阿糖胞苷共軛物、Lilly DATHF、Merrel Dow DDFC、地扎胍寧 (dezaguanine)、二去氧胞苷、二去氧鳥嘌呤核苷、didox、Yoshitomi DMDC、去氧氟尿苷、Wellcome EHNA, Merck & Co. EX-015、法札拉濱 (fazarabine)、5-氟去氧尿苷、氟達拉賓 (fludarabine) 磷酸酯、5-氟嘧啶二酮、N-(2'-furanidyl)-5-氟嘧啶二酮、Daiichi FO-152、異丙基嗒吡、Lilly LY-188011、Lilly LY-264618、methobenzaprim、甲氮喋呤、Wellcome MZPES、norspermidine、NCI NSC-127716、NCI NSC-264880、NCI NSC-39661、NCI NSC-612567、Warner-Lambert PALA、噴司他丁 (pentostatin)、吡曲克辛 (piritrexim)、普卡黴素 (plicamycin)、Asahi 化學 PL-AC、Takeda TAC-788、硫鳥嘌呤、tiazofurin、Erbamont TIF、三甲曲沙 (trimetrexate)、酪胺酸激酶抑制劑、酪胺酸蛋白質激酶抑制劑、Taiho UFT、uricytin、Shionogi 254-S、醛磷醯胺類比物、六甲蜜胺 (altretamine)、阿那昔酮 (anaxirone)、Boehringer Mannheim BBR-2207、bestrabucil、布度鈦 (budotitane)、Wakunaga CA-102、卡鉑 (carboplatin)、卡莫司汀 (carmustine)、Chinoïn-139、Chinoïn-153、苯丁酸氮芥 (chlorambucil)、順鉑 (cisplatin)、環磷醯胺、美國 Cyanamid CL-286558、Sanofi CY-233、cyplatate、Degussa

D-19-384、Sumimoto DACHP(My₂)、二苯基螺莫司汀(spiromustine)、二鉑細胞增長抑制劑、Erba遠端黴素(distamycin)衍生物、Chugai DWA-2114R、ITI E09、依莫司汀(elmustine)、Erbamont FCE-24517、雌莫司汀(estramustine)磷酸鈉、福莫司汀(fotemustine)、Unimed G-6-M、Chinoïn GYKI-17230、hepsul-fam、異環磷醯胺(ifosfamide)、異丙鉑(iproplatin)、洛莫司汀(lomustine)、馬磷醯胺(mafosfamide)、二溴衛矛醇(mitolactol)、Nippon Kayaku NK-121、NCI NSC-264395、NCI NSC-342215、奧沙利鉑(oxaliplatin)、Upjohn PCNU、潑尼莫司汀(prednimustine)、Proter PTT-119、雷莫司汀(ranimustine)、司莫司汀(semustine)、SmithKline SK&F-101772、Yakult Honsha SN-22、螺莫司汀(spiromustine)、Tanabe Seiyaku TA-077、牛磺莫司汀(tauromustine)、替莫唑胺(temozolomide)、替囉昔隆(teroxirone)、四鉑(tetraplatin)、trimelamol、Taiho 4181-A、阿克拉黴素(aclarubicin)、放線菌素D(actinomycin D)、actinoplanone、Erbamont ADR-456、aerophysinin衍生物、Ajinomoto AN-201-II、Ajinomoto AN-3、Nippon Soda茴香素(anisomycin)、鎔環黴素(anthracycline)、azinomycin-A、bisucaberin、Bristol-Myers BL-6859、Bristol-Myers BMY-25067、Bristol-Myers BMY-25551、Bristol-Myers BMY-26605、Bristol-Myers BMY-27557、Bristol-Myers BMY-28438、博萊黴素(bleomycin)硫酸鹽、珊瑚蟲素-1(bryostatin-1)、Taiho C-1027、calicheomycin、chromoximycin、

更生黴素(dactinomycin)、柔紅黴素(daunorubicin)、Kyowa Hakko DC-102、Kyowa Hakko DC-79、Kyowa Hakko DC-88A、Kyowa Hakko DC89-A1、Kyowa Hakko DC92-B、ditrisarubicin B、Shiongi DOB-41、阿黴素(doxorubicin)、阿黴素-纖維蛋白原、elsamicin-A、表阿黴素(epirubicin)、erbstatin、依索比星(esorubicin)、esperamicin-A1、esperamicin-A1b、Erbamont FCE-21954、Fujisawa FK-973、磷曲星(fostriecin)、Fujisawa FR-900482、glidobactin、gregatin-A、grincamycin、除草黴素(herbimycin)、伊達比星(idarubicin)、illudins、kazusamycin、kesarirhodins、Kyowa Hakko KM-5539、Kirin Brewery KRN-8602、Kyowa Hakko KT-5432、Kyowa Hakko KT-5594、Kyowa Hakko KT-6149、美國Cyanamid LL-D49194、Meiji Seika ME 2303、美諾立爾(menogaril)、絲裂黴素(mitomycin)、米托蒽醌(mitoxantrone)、SmithKline M-TAG、neoenactin、Nippon Kayaku NK-313、Nippon Kayaku NKT-01、SRI-國際NSC-357704、oxalysine、oxaunomycin、丙胺博萊黴素(peplomycin)、pilatin、吡柔比星(pirarubicin)、porothramycin、pyrindamycin A、Tobishi RA-I、雷帕黴素(rapamycin)、rhizoxin、rodorubicin、sibanomic、siwenmycin、Sumitomo SM-5887、Snow Brand SN-706、Snow Brand SN-07、sorangicin-A、稀疏黴素(sparsomycin)、SS醫藥SS-21020、SS醫藥SS-7313B、SS醫藥SS-9816B、steffimycin B、Taiho 4181-2、talisomycin、Takeda TAN-868A、terpentecin、

thrazine、tricrozarin A、Upjohn U-73975、Kyowa Hakko UCN-10028A、Fujisawa WF-3405、Yoshitomi Y-25024 佐柔比星(zorubicin)、 α -胡蘿蔔素、 α -二氟甲基-精胺酸、阿維A酸(acitretin)、Biotec AD-5、Kyorin AHC-52、鴨腳木鹼(alstonine)、氯萘非特(amonafile)、amphethinile、安吖啶(amsacrine)、Angiostat、ankinomycin、antineoplaston A10、antineoplaston A2、antineoplaston A3、antineoplaston A5、antineoplaston AS2-1、Henkel APD、蚜腸黴素(aphidicolin)甘氨酸鹽、天冬醯胺酶、Avarol、baccharin、batracylin、benfluron、benzotript、Ipsen-Beaufour BIM-23015、比生群(bisantrene)、Bristo-Myers BMY-40481、Vestar Boron-10、bromofosfamide、Wellcome BW-502、Wellcome BW-773、卡醋胺(caracemide)、carmethizole 氫氯化物、Ajinomoto CDAF、氯磺胺鎂夢酮、Chemex CHX-2053、Chemex CHX-100、Warner-Lambert CI-921、Warner-Lambert CI-937、Warner-Lambert CI-941、Warner-Lambert CI-958、克蘭氟脲(clanfenur)、claviridenone、ICN化合物1259、ICN化合物4711、Contracan、Yakult Honsha CPT-11、crisnatol、curaderm、松胞菌素B、阿糖胞苷、cytocyten、Merz D-609、DABIS順丁烯二酸酯、達卡巴嗪(dacarbazine)、datelliptinium、膜海鞘素-B、二血卟啉醚、dihydrocortisone、地那林(dinaline)、遠端黴素(distamycin)、Toyo醫藥DM-341、Toyo醫藥DM-75、Daiichi Seiyaku DN-9693、elliprabin、依利醋銨(elliptinium acetate)、Tsumura EPMTTC、麥角胺

(ergotamine)、依託泊苷(etoposide)、依曲替酯(etretinate)、
 芬維A胺(fenretinide)、Fujisawa FR-57704、硝酸鎂、芫花
 瑞香素(genkwadaphnin)、Chugai GLA-43、Glaxo
 GR-63178、灰樹花多醣(grifolan) NMF-5N、十六基磷酸膽
 鹼、Green Cross HO-221、高三尖杉酯鹼(homoharringtonine)、
 羥基脲、BTDICRF-187、伊莫福新(ilmofosine)、異甾醯胺
 酸、異維A酸(isotretinoin)、Otsuka JI-36、Ramot K-477、
 Otsuka K-76COONa、Kureha 化學 K-AM、MECT 公司
 KI-8110、美國Cyanamid L-623、leukoregulin、氯尼達明
 (lonidamine)、Lundbeck LU-23-112、Lilly LY-186641、NCI
 (US) MAP、marycin、Merrel Dow MDL-27048、Medco
 MEDR-340、merbarone、部花青衍生物、甲基苯胺吡啶、
 分子基因MGI-136、minactivin、米托蒽胺(mitonafile)、米
 托蒽酮(mitoquidone)、mopidamol、motretinide、Zenyaku
 Kogyo MST-16、N-(視網醯基)胺基酸、Nisshin Flour Milling
 N-021、N-乙醯化-去氫丙胺酸、nafazatrom、Taisho
 NCU-190、諾考達唑(nocodazole)衍生物、Normosang、NCI
 NSC-145813、NCI NSC-361456、NCI NSC-604782、NCI
 NSC-95580、奧曲肽(octreotide)、Ono ONO-112、
 oquizanocine、Akzo Org-10172、pancratistatin、帕折普汀
 (pazelliptine)、Warner-Lambert PD-111707、Warner-Lambert
 PD-115934、Warner-Lambert PD-131141、Pierre Fabre
 PE-1001、ICRT肽D、吡囉蒽醌(piroxantrone)、聚血卟啉、
 polypreic acid、Efamol 卟啉、probimane、丙卡巴

(procarbazine)、二丙谷醯胺、Invitron蛋白酶連接抑制素I、Tobishi RA-700、雷佐生(razoxane)、Sapporo Breweries RBS、抑制素(restrictin)-P、retelliptine、視網酸、Rhone-Poulenc RP-49532、Rhone-Poulenc RP-56976、SmithKline SK&F-104864、Sumitomo SM-108、Kuraray SMANCS、SeaPharm SP-10094、spatol、螺環丙烷衍生物、鍺螺胺(spirogermanium)、Unimed、SS醫藥SS-554、strypoldinone、Stypoldione、Suntory SUN 0237、Suntory SUN 2071、超氧化物歧化酶、Toyama T-506、Toyama T-680、紫杉醇(taxol)、Teijin TEI-0303、替尼泊苷(teniposide)、thaliblastine、Eastman Kodak TJB-29、三烯生育酚、Topostin、Teijin TT-82、Kyowa Hakko UCN-01、Kyowa Hakko UCN-1028、烏克蘭、Eastman Kodak USB-006、硫酸長春鹼、長春新鹼、硫酸長春地辛、vinestramide、長春瑞賓(vinorelbine)、長春曲醇(vintriptol)、長春利定(vinzolidine)、睡茄素(withanolide)、Yamanouchi YM-534、uroguanylin、combretastatin、dolastatin、伊達比星(idarubicin)、表阿黴素、雌莫司汀(estramustine)、環磷醯胺、9-胺基-2-(S)-喜樹鹼、托泊替康(topotecan)、伊立替康(irinotecan)(Camptosar)、依西美坦(exemestane)、達必佳(decapeptyl)(曲普瑞林(triptorelin))或 Ω -3脂肪酸。

可與本發明S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱氨酸順丁烯二酸氫氯化物結晶鹽II型用於組合療法之抗放射劑實例包括AD-5、adchnon、阿米福汀(amifostine)類比

物、解毒劑、二-2-羥乙基磺酸鈉、1-102、MM-159、N-乙醯化-去氫丙胺酸、TGF- Genentech、tiprotimod、阿米福汀(amifostine)、WR-151327、FUT-187、酮洛芬(ketoprofen)滲透皮膚、那別敏(nabumetone)、超氧化物歧化酶(Chiron)及超氧化物歧化酶Enzon。

本發明S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物結晶鹽也可用於治療或預防血管新生相關病症或症狀，例如腫瘤生長、轉移、黃斑病變及血管硬化。

在另一個具體實施例中，本發明也提供用於治療或預防眼部病症或症狀如青光眼之治療組合物。例如，本發明S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物結晶鹽最好與可降低患有青光眼之病患眼內壓的藥物用於治療組合中。此降眼內壓的藥物包括但不限於拉坦前列腺素(latanoprost)、區佛前列胺(travoprost)、比馬前列胺(bimatoprost)或unoprostone。本發明S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物結晶鹽加上降眼內壓藥物之治療組合將是有用，因為相信其各可藉進行不同機制達到其作用。

在本發明另一個組合中，本發明S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物結晶鹽可與降血脂或降膽固醇藥物，如benzothiepine或苯并雙唑平降血脂藥物用於治療組合中，可用於本發明治療組合之benzothiepine降血脂藥物實例可在美國專利第5,994,391號

中找到，將其以引用方式併入本文中。某些苯并雙唑平降血脂藥物係描述於WO 93/16055中。另外，可與本發明化合物組合之降血脂或降膽固醇藥物可為HMG Co-A還原酶抑制劑。可用於本發明治療組合之HMG Co-A還原酶抑制劑實例包括各個benfluorex、氟伐他汀(fluvastatin)、洛伐他汀(lovastatin)、普伐他汀(provastatin)、辛伐他汀(simvastatin)、阿妥伐他汀(atorvastatin)、西立伐他汀(cerivastatin)、柏伐他汀(bervastatin)、ZD-9720(描述於PCT專利申請案WO 97/06802中)、ZD-4522(鈣鹽之CAS編號147098-20-2；鈉鹽之CAS編號147098-18-8；描述於歐洲專利EP 521471中)、BMS 180431(CAS編號129829-03-4)或NK-104(CAS編號141750-63-2)。本發明S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物結晶鹽加上降血脂或降膽固醇藥物之治療組合將對，例如降低血管中動脈粥狀硬化病灶形成的風險是有用的。例如，動脈粥狀硬化病灶經常起始於血管中發炎位置處。降血脂或降膽固醇藥物確立可藉降低血液中的脂質含量以降低動脈粥狀硬化病灶形成的風險。不將本發明限定在單一作用機制，咸信一方面本發明組合物之S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物結晶鹽將一起致力於提供動脈粥狀硬化病灶之較佳控制，例如藉由降低血管發炎以及降低血脂含量。

在另一個具體實施例中，本發明S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物結晶鹽可與

其他用於治療中樞神經症狀或病症如偏頭痛之化合物或療法結合使用。例如，本發明S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物結晶鹽可與咖啡因、5-HT-1B/1D協同劑(例如，曲普坦(triptan)如舒馬曲坦(sumatriptan)、諾拉替坦(naratriptan)、佐米曲普坦(Zolmitriptan)、利扎曲坦(rizatriptan)、阿莫曲坦(almotriptan)或夫囉曲坦(frovatriptan))、多巴胺(dopamine) D4拮抗劑(如sonopiprazole)、阿斯匹靈、乙醯基氨基苯、布洛芬(ibuprofen)、吲哚美辛(indomethacin)、普生(naproxen)鈉、異美汀(isometheptene)、二氯醛安替比林(dichloralphenazone)、布他比妥(butalbital)、類鹼麥角(如麥角胺、二氫麥角胺、溴隱亭(bromocriptine)、麥角新鹼(ergonovine)或甲基麥角新鹼)、三環抗抑鬱劑(如阿米替林(amitriptyline)或去甲替啉(nortriptyline))、血清拮抗劑(如美西索價(methysergide)或賽庚啉(Cyproheptadine))、 β -產交感素拮抗劑(如普萘洛爾(propranolol)、第莫洛(timolol)、阿替洛爾(atenolol)、納多洛爾(nadolol)或美托洛爾(metoprolol))或單胺氧化酶抑制劑(如苯乙肼或異卡波肼)用於治療組合中。

另一個具體實施例提供一種本發明S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物結晶鹽與類鴉片化合物之治療組合。可用於此組合之類鴉片化合物無限制地包括嗎啡、美沙冬(methadone)、二氫嗎啡酮、羥二氫嗎啡酮、左旋嗎啡(levorphanol)、列巴歐仿(levallorphan)、可待因、二氫可待因、二氫羥基可待因酮、

潘他唑新 (pentazocine)、氫可酮 (hydrocodone)、羥可酮 (oxycodone)、nalmefene、愛托啡因 (etorphine)、左旋嗎汎 (levorphanol)、吩坦尼 (fentanyl)、蘇芬坦尼 (sufentanil)、DAMGO、butorphanol、丁基原啡因 (buprenorphine)、納洛松 (naloxone)、那曲酮 (naltrexone)、CTOP、二原啡因 (diprenorphine)、 β -funaltrexamine、naloxonazine、納洛芬 (nalorphine)、潘他唑新 (pentazocine)、納布芬 (nalbuphine)、納洛松 (naloxone)、苯甲鹽基、bremazocine、乙基酮 cyclazocine、U50,488、U69,593、spiradoline、norbinaltorphimine、naltrindole、DPDPE、[D-1a²,glu⁴] deltorphin、DSLET、因卡啡林 (metenkephalin)、leuenkaphalin、 β -安多芬 (endorphin)、dynorphin A、dynorphin B 及 α -紐安多芬 (neoendorphin)。本發明 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物結晶鹽與類鴉片化合物之組合的優點為本發明 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物結晶鹽可降低類鴉片化合物的劑量，因此降低類鴉片副作用，如類鴉片成癮性之風險或嚴重性。

另一個具體實施例提供四種用於製備本發明 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物結晶鹽之不同機制的新穎結晶程序設計，其中本發明結晶鹽具有特製散裝粉末特徵以容易製備包含 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物結晶鹽及醫藥上可接受載劑之醫藥組合物。

說明性實例

製造 *S*-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸二氫氯化物之方法是已知且描述於普遍頒予之美國專利第 6,403,830 號中，將其以引用方式併入本文中。*S*-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸游離兩性離子係描述於同在申請中之美國專利申請案序號 60/453,798，將其以引用方式併入本文中。結晶 *S*-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸鹽 I 型係描述於同在申請中之美國專利申請案序號 60/453,796，將其以引用方式併入本文中。結晶 *S*-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸鹽 II 型係描述於同在申請中之美國專利申請案序號 60/453,782，將其以引用方式併入本文中。

S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸二氫氯化物之特徵化

以偏振光顯微術分析時，*S*-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸二氫氯化物晶體是具有正向拉長之雙折射。*S*-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸二氫氯化物結晶鹽的水性溶解度係超過 150 毫克/毫升。

圖 1 是兩種樣品(實例 9 及 20)之 *S*-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸二氫氯化物的粉末 x-射線圖案。兩個繞射圖案幫助建立有用的特徵波峰以特徵化結晶 *S*-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸二氫氯化物。

圖 2 是結晶 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物樣品之示差掃描熱量法研究圖。其在 197.30°C 下顯示結合焓為 134.92 焦耳/克⁻¹之單一熔化/分解熱事件。因為此單一熱事件是結晶 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物中順丁烯二酸熱降解與殘留結晶固體熔化之混合，波峰溫度及焓可隨分析條件如樣品規模、加熱速率及樣品製備方法而變。圖 3 是結晶 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物樣品之熱重量(TGA)圖。TGA 顯示在 40-180°C 範圍重量損失係近 1%。

圖 4 是結晶 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物之水分吸收研究圖。在 25°C 下結晶 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物之水分吸收藉由 DVS 水分天平測量顯示在 0 與 70% 相對溼度(R.H.)間吸收水分近 1.5%。在 70 與 9% R.H. 之間，固體另外吸收 58% 水分。推測在 90% R.H. 下，結晶結構被摧毀，產生高度吸濕的非晶質固體。在去吸收循環期間(從 90 至 30% R.H.)，這些固體轉變成結晶 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸鹽 II 型與含有過量氯化氫之非晶質兩性離子的混合物。接著去吸收及再吸收行為與結晶 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸鹽 II 型非常類似。實驗結束時，固體的粉末 x-射線分析確定 II 型結晶 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸與非晶質固體兩者的

存在性。

圖 5 顯示實例 20 所製結晶 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物的拉曼 (Raman) 光譜。簡言之，拉曼光譜是分子或錯合物系統的振動特性。其來源係落在分子與光子間之非彈性碰撞，其中光子是構成光束之光粒子。分子與光子間的碰撞導致能量交換並造成能量及光子波長改變。因此，拉曼光譜是一組非常窄的光譜線，其係以入射光照射時由目標分子放出的。各光譜線的寬度係強烈地受到入射光的光譜寬度影響，因此使用牢固的單色光源，如雷射。各拉曼線的波長係表示成離入射光之波數位移，其是拉曼線之逆波長與入射光間的差異。拉曼線之波數位移，而非絕對波長，對分子中特定原子基而言是獨特的。拉曼光譜測量分子的振動狀態，其係由其分子結構決定。

S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物之特徵化

將在此所提混合鹽結晶之不同實例選擇編制在三個主要小節中。第 1 小節，實例 1-6 代表無法製造多晶形上純結晶 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物之實驗說明。這些實驗大部分獲得具有 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸鹽 I 型之混合物。在此小節最後也包含無法獲得多晶形上純結晶 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物之原因的簡短討論。

混合物鹽之外部晶體形狀定義下兩個主要小節。此特定產物屬性係源自不同基本結晶機制並對接下來包含S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物與醫藥上可接受載劑之醫藥組合物的發展有重大關聯。為達本發明目的，自此兩種不同形狀係相當於整體外觀上通常，但不必要，是非球形的"隨意堆積凝聚物"及整體外觀上通常，但不必要，是球形的"規則堆積凝聚物"。一般，與構成隨意堆積凝聚物之初晶相比，構成規則堆積凝聚物之初晶具有較小縱橫比。為達本發明目的，縱橫比係定義為長邊對短邊之比例。

首先，討論關於"隨意堆積凝聚物"之結晶的實例，實例7-19。接著討論關於形成此特定晶體形狀之基本結晶機制。為達本發明目的，也包含"相分離"之詳細定義。

最後，概述多種"規則堆積凝聚物"進行不同程序變體之實驗說明，實例20-30。

原料定義：

在此所提所有實例中所用之兩性離子：S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸係以非晶質冷凍乾燥固體或溶於DMF之溶液型態獲得。

自此固體S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸係相當於非晶質冷凍乾燥S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸。在大部分例子中，非晶質冷凍乾燥S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸包含一些氯化氫(HCl)。HCl對S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-

甲基-L-半胱胺酸之莫耳當量將列在S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物之結晶中所用各特定批次之非晶質冷凍乾燥S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸的實例中。

第一種DMF/S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸儲備溶液具有下列近似組成：S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸11.7%重量/重量；水0.2%重量/重量；順丁烯二酸12.4%重量/重量及氯化物1.0%。預期此溶液各組成之變異性為10%。對於每當量S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸，上述順丁烯二酸與氯化物在溶液中之濃度分別代表近2.0及0.5莫耳當量。此溶液自此相當於S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸之第一種DMF溶液。

另一種S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸溶於DMF之儲備溶液具有下列近似組成：S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸11.7%重量/重量；水2.83%重量/重量；順丁烯二酸14.88%重量/重量及氯化物1.0%。對於每當量S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸，上述順丁烯二酸及氯化物在溶液中之濃度分別代表近2.2及0.5莫耳當量。此溶液自此相當於S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸之第二種DMF溶液。

關於多晶形純度失敗實驗之實例

6種不同實驗產生結晶S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物與結晶S-[2-[(1-亞胺

乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸鹽的混合物I型。少量後者可容易地藉DSC分析偵測得到。

實例 1

在實例1中，將614毫克含有0.25當量HCl之非晶質冷凍乾燥S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸(含有近10%水)、648毫克順丁烯二酸、988毫克DI水及2460.7毫克DMF加入25毫升裝有磁石攪拌器之閃爍計數瓶中。攪拌懸浮液以影響澄清溶液。以50分鐘及1.0毫升之分量緩慢地將16毫升乙腈分次加入溶液中。裝料完成後，混濁完全沈積。此瓶在室溫下攪拌17小時，然後以40分鐘將其加熱至60°C。在此溫度下攪拌40小時，然後加入2毫升乙腈。另外在60°C下攪拌此泥漿1小時，然後在1小時內冷卻至25°C並攪拌4小時。將泥漿卸在細玻璃燒結玻璃漏斗上。以2毫升乙腈清洗濾餅並風乾半小時。將固體放在真空烘箱中55°C及28英吋汞柱下24小時。產物之PXRD分析無顯示任何可觀量之S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸鹽I型與S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物混合，但是DSC分析指示產物中存有部分S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸鹽I型。

實例 2

實例2包括將201毫克含有0.25當量HCl之非晶質冷凍乾燥S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸(含有近10%水)、209毫克順丁烯二酸及1120毫克DMF加入12毫升

裝有磁石攪拌器之小瓶子中。攪拌懸浮液以影響澄清溶液。以50分鐘內及1.0毫升之分量緩慢地將5毫升乙腈分次加入溶液中。混濁未完全沈積，不過加入7毫克I型S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸鹽作為晶種。在室溫下攪拌該瓶6小時，然後以40分鐘將其加熱至60°C。在此溫度下攪拌40小時。將泥漿卸在細玻璃燒結玻璃漏斗上。以2毫升乙腈清洗濾餅並風乾半小時。將固體放在真空烘箱中55°C及28英吋汞柱下24小時。產物的PXRD分析無顯示任何可觀量之S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸鹽I型與S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物混合，但是DSC分析指示產物中存有S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸鹽I型。

實例3

實例3的目的係測定以I型S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸鹽植晶對實例2之多晶形不純產物是否有貢獻。將203毫克含有0.25當量HCl之非晶質冷凍乾燥S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸(含有近10%水)、208毫克順丁烯二酸及1137毫克DMF加入12毫升裝有磁石攪拌器之小瓶子中。攪拌懸浮液以影響澄清溶液。以50分鐘內及1.0毫升之分量緩慢地將4毫升乙腈分次加入溶液中。完成低量乙腈裝料後，混濁完全沈積下來。在室溫下攪拌該瓶6小時，然後以40分鐘將其加熱至60°C。在此溫度下攪拌40小時，然後冷卻至室溫。

將泥漿卸在細玻璃燒結玻璃漏斗上。以2毫升乙腈清洗濾餅並風乾半小時。將固體放在真空烘箱中55℃及28英吋汞柱下24小時。產物的PXRD分析無顯示任何可觀量之S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸鹽I型與S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物混合，但是DSC分析指示產物中存有S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸鹽I型。

實例4

實例4的目的係研究在低於周遭溫度下之結晶行為。將201毫克含有0.25當量HCl之非晶質冷凍乾燥S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸(含有近10%水)、209毫克順丁烯二酸及1141毫克DMF加入12毫升裝有磁石攪拌器之小瓶子中。攪拌懸浮液以影響澄清溶液。以50分鐘及1.0毫升之分量緩慢地將4毫升乙腈分次加入溶液中。在完成裝料後，混濁完全沈積下來。將小瓶子冷卻至-5℃並攪拌24小時。溶液轉變成非常濃稠的"凝膠狀"晶質固體泥漿。將4毫升乙腈加入泥漿中以稀釋之。然後加熱回到25℃並攪拌4小時。將泥漿卸在細玻璃燒結玻璃漏斗上。以2毫升乙腈清洗濾餅並風乾半小時。將固體放在真空烘箱中40℃及28英吋汞柱下24小時。產物的PXRD分析無顯示任何可觀量之S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸鹽I型與S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物混合，但是DSC分析指示

產物中存在S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸鹽I型。

實例 5

在實例5中，系統的順丁烯二酸含量係降低25%。其包括加入304毫克含有0.25當量HCl之非晶質冷凍乾燥S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸(含有近10%水)、241毫克順丁烯二酸及1659毫克DMF至12毫升裝有磁石攪拌器之小瓶子中。攪拌懸浮液以影響澄清溶液。以50分鐘及1.0毫升之分量緩慢地將4毫升乙腈分次加入溶液中。完成乙腈裝料後，系統的混濁在瓶底轉成固體黏稠物質。在40分鐘內將小瓶子加熱至60°C。在60°C下2.5小時內，瓶中見到固體。但是，其似乎黏在瓶壁上，因此以刮勺將其刮除並懸浮回溶液中。在此溫度下攪拌泥漿19小時，然後將其卸在細玻璃燒結玻璃漏斗上。濾餅非常濕。使其再度懸浮於2毫升乙腈中，然後清洗之。風乾濾餅半小時。然後在開放結晶盤中風乾固體2小時。產物的PXRD分析顯示可觀量之S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸鹽I型與S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物混合。DSC分析確認PXRD的結果。

實例 6

實例6的目的係在類似實例5這些用量下利用改良乙腈之添加方式增加產率。其包括將301毫克含有0.25當量HCl之非晶質冷凍乾燥S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-

半胱胺酸(含有近10%水)、241毫克順丁烯二酸及1660毫克DMF加入12毫升裝有磁石攪拌器之小瓶子中。攪拌懸浮液以影響澄清溶液。以50分鐘及1.0毫升之分量緩慢地將3毫升乙腈分次加入溶液中。完成乙腈裝料後，系統之混濁沈積下來並在30分鐘內見到晶體。在室溫下攪拌泥漿3小時，然後加入1毫升乙腈。另外在室溫下持續攪拌19小時。將泥漿卸在細玻璃燒結玻璃漏斗上。以2毫升乙腈清洗濾餅並風乾半小時。然後固體在開放結晶盤中風乾2小時。產物的PXRD分析無顯示任何可觀量之S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸鹽I型與S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物混合，但是DSC分析指示產物中存有S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸鹽I型。

實例1-6之討論

在上列許多實驗階段期間所吸取之中間固體樣品的熱分析指示S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸鹽I型在冷卻過程中或在上述任何固定溫度下延長停留時期間結晶。這意味S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸鹽I型在結晶後期二次成核。不希望受任何理論所限制，相信這可解釋為在停留期期間，系統經由結晶S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物的形成完全消耗掉HCl。但是系統中仍有0.5當量S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸及1.75當量之順丁烯二酸，其濃度可

能高於S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸鹽I型之溶解度。當系統試圖進一步經由冷卻、添加反溶劑、停留時間或降低順丁烯二酸含量去飽和時，S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸鹽I型之超飽和度係在所有S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物晶體所提供之非均一表面的存在下經由其結晶消耗殆盡。

總而言之，對於在HCl不足的條件下所進行的實驗，任何嘗試藉由反溶劑的添加、冷卻或降低順丁烯二酸含量以增加任何階段下系統之超飽和度可能造成對產物之多晶質純度失去控制。在呈現此氫氯化物不足狀態之DMF/乙腈系統中，預期可獲得含有S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸鹽I型之混合物。

隨意堆積凝聚物之實例

相對於S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸，實例7、8及9具有化學計量之HCl以結晶S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物。實例7及8代表在低水及乙腈量下所完成之實驗。實例9是在標準水含量及乙腈用量下進行之實驗。

進行實例10至19中所記錄之實驗以證明S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物可在相對於S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸之範圍寬廣的HCl當量值下結晶及分離。

實例10、11、12及13皆在26%相對於S-[2-[(1-亞胺乙基)

胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸之所需HCl量下進行以結晶S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物。實例13包括直接沈澱S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物，而實例10至12包括S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸鹽I型或II型之沈澱，接著經由加熱及/或在所選溫度下延長停留期，溶液中介相轉變成結晶S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物。

實例14、15及16皆在50%相對於S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸之所需HCl量下進行以結晶S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物。實例14及15包括直接沈澱S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物，而實例14包括S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸鹽I型或II型之沈澱，接著經由加熱及/或在所選溫度下延長停留期，溶液中介相轉變成結晶S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物。

實例17、18及19係在高於這些化學計量考量所需之HCl值下進行以將S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸轉變成結晶S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物。

實例7

在 126.1 克 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸之第一種 DMF 溶液中，加入 1.46 克去離子水以使 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸之第一種 DMF 溶液的水含量變成 1.63%。將 125.5 克此溶液裝入 500 毫升套管式反應器中並設定以 354 rpm 的速度攪拌。在 2 小時內經由泵浦 1.4 毫升/分鐘的速率將總量為 126.58 克的乙腈加入反應器中。晶體在添加期間形成。攪拌系統共 53 小時，然後將泥漿卸在及過濾在細玻璃燒結玻璃漏斗上。過濾速度非常快。以 83 毫升乙腈清洗濾餅並風乾 24 小時。稱重得到 13.48 克。

實例 8

在 7.5 克 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸之第一種 DMF 溶液中，加入 109 微升去離子水以使 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸之第一種 DMF 溶液的水含量變成 1.63%。將此溶液裝入 25 毫升裝有磁球之圓底燒瓶中。在 54 分鐘內以 0.5 毫升/3 分鐘的速率將總量為 7.85 克的乙腈加入其中。系統共攪拌 72 小時，然後將泥漿卸在及過濾在 15 毫升細玻璃燒結玻璃漏斗上。

過濾速度慢。以 4 毫升乙腈清洗濾餅並風乾 24 小時。部分固體結晶在圓底燒瓶壁上。分別分離之。所有分離固體之質量平衡指示壁上固體代表全部產物之 65%。獲自泥漿及瓶壁之固體的 SEM 顯微照片確認此實驗產生一"隨意堆積凝聚物"形狀的結晶 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物。

實例 9

實例 9 是以不含任何 HCl 之非晶質冷凍乾燥 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸(含有近 10% 水)完成。此程序包括將 565 毫克非晶質冷凍乾燥 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸(含有近 10% 水)、599 毫克順丁烯二酸、105 毫克 37% 濃 HCl(水性)及 2969 毫克 DMF 加入 12 毫升裝有磁石攪拌器之小瓶子中。攪拌懸浮液以影響澄清溶液。以 25 分鐘及 0.5 毫升之分量緩慢地將 7.5 毫升乙腈分次加入溶液中。添加乙腈期間產生相當數量的結晶。將此瓶在室溫下攪拌 24 小時，然後過濾在細玻璃燒結玻璃漏斗上。以 4 毫升乙腈清洗濾餅並風乾半小時。將固體放在真空烘箱中 55℃ 及 28 英吋汞柱下 24 小時。

圖 6 顯示產物的顯微照片。固體似乎係由非常小，或許次微米初晶所製成的隨意堆積凝聚物。此實驗之烘乾固體的所有分析數據皆確認其身分為結晶 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物。如更完整描述於下，圖 1 顯示由此實例所獲得之結晶 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物的粉末 X-射線繞射圖案(上圖)。圖 7 顯示此實例產物之隨意堆積凝聚物的 SEM 照片。

實例 10

在實例 10 中，將 301 毫克含有 0.13 當量 HCl 之非晶質冷凍乾燥 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸(含有近 10% 水)、317 毫克順丁烯二酸、1239 毫克 DMF 及 457 毫

克DI水加入12毫升裝有磁石攪拌器之小瓶子中。攪拌懸浮液以影響澄清溶液。以0.5毫升分量緩慢地將8毫升乙腈分次加入其中。系統在室溫下攪拌24小時以結晶出來。然後將瓶子溫度增加至55°C並令其在此溫度下停留48小時。就在加熱前及在高溫度下48小時後之泥漿樣品的顯微照片確認相轉變成結晶S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物已發生。將55°C之泥漿快速過濾在30毫升細玻璃燒結玻璃漏斗上並以1毫升乙腈清洗濾餅。固體風乾約2小時。產物的分析數據確認其是S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物。質子NMR指示產物可能具有每莫耳S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物約0.06莫耳之陷滯DMF。

實例 11

在實例11中，將313毫克含有0.13當量HCl之非晶質冷凍乾燥S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸(含有近10%水)、313毫克順丁烯二酸、1247毫克DMF及453毫克DI水加入12毫升裝有磁石攪拌器之小瓶子中。攪拌懸浮液以影響澄清溶液。以1.0毫升之分量緩慢地分次加入8毫升乙腈。隨著7.5毫升乙腈的添加，似乎已發生結晶。但是，完成裝料8毫升並在室溫下攪拌泥漿24小時以去飽和。然後將瓶子溫度增加至56°C並令其停留在此溫度下24小時。就在加熱之前及高溫度下24小時後之泥漿樣品的顯微照片確認相轉變至結晶S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-

半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物已發生。將56°C之泥漿快速地過濾在30毫升細玻璃燒結玻璃漏斗上並以1毫升乙腈清洗濾餅。風乾固體約2小時。產物之分析數據確認其是S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物。質子NMR指示產物無陷滯任何DMF。

實例 12

完成實例12以決定S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物是否可直接藉由高溫度下結晶程序之開啟成核及是否可避免熱泥漿之過濾。將302毫克含有0.13當量HCl之非晶質冷凍乾燥S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸(含有近10%水)、321毫克順丁烯二酸、1223毫克DMF及453毫克水加入12毫升裝有磁石攪拌器之小瓶子中。將懸浮液加熱至60°C並攪拌之以影響澄清溶液。在60°C下以1毫升分量緩慢地將8毫升乙腈分次加入溶液中。添加程序期間無見到任何結晶，但完成乙腈裝料20分鐘內形成晶體。泥漿在60°C下攪拌25小時。加入2毫升乙腈以降低系統之水活性。另外在60°C下攪拌泥漿20小時，然後令其自然冷卻至室溫並在過濾於細玻璃燒結玻璃漏斗上前攪拌2小時。以2毫升乙腈清洗濾餅並風乾20分鐘。產物之分析數據確認其是結晶S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物。

實例 13

實例13係在DMF/乙腈中進行以簡化溶劑系統。此程序包括將202毫克0.13當量含有HCl之非晶質冷凍乾燥S-[2-[(1-

亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸(含有近10%水)、213毫克順丁烯二酸及1139毫克DMF加入12毫升裝有磁石攪拌器之小瓶子中。將懸浮液加熱至60°C並攪拌之以影響澄清溶液。在60°C下以20分鐘及1毫升之分量緩慢地將4毫升乙腈分次加入溶液中。在完成乙腈裝料20分鐘內，見到晶體。泥漿在60°C下攪拌24小時，然後在45分鐘內冷卻至25°C。其在25°C下攪拌2小時，然後過濾在細玻璃燒結玻璃漏斗上。以1毫升乙腈清洗濾餅並風乾約20分鐘。然後固體在真空烘箱中40°C及28英吋汞柱真空下乾燥24小時。但是，固體在烘乾前之質子NMR分析指示固體中無陷滯任何DMF。因此，烘乾是不必要的。此實驗之風乾和真空乾燥固體的所有分析數據皆確認此固體是結晶S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物。

實例 14

在實例 14 中，將311毫克含有0.25當量HCl之非晶質冷凍乾燥S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸(含有近10%水)、321毫克順丁烯二酸、1231毫克DMF及451毫克DI水加入12毫升裝有磁石攪拌器之小瓶子中。攪拌懸浮液以影響澄清溶液。以0.5毫升之分量緩慢地將8毫升乙腈分次加入其中。在室溫下攪拌24小時以去飽和。然後將瓶子溫度增加至57°C並另外持續攪拌24小時。將57°C之泥漿快速過濾在30毫升細玻璃燒結玻璃漏斗上並以1毫升乙腈清洗濾餅。風乾固體約30分鐘，然後將其放在真空烘箱中40°C及28英吋汞柱真空下24小時。產物之分析數據確認其

為結晶 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物。質子NMR指示風乾或真空乾燥固體中皆無陷滯DMF。

實例 15

實例 15是在DMF/乙腈中進行以簡化溶劑系統。此程序包括將608毫克含有0.25當量HCl之非晶質冷凍乾燥S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸(含有近10%水)、648毫克順丁烯二酸及3320毫克DMF加入25毫升裝有磁石攪拌器之小瓶子中。攪拌懸浮液以影響澄清溶液。以20分鐘及2毫升之分量緩慢地將10毫升乙腈分次加入溶液中。在完成乙腈裝料20分鐘內見到晶體，並在4小時內見到大量沈澱。攪拌泥漿19小時，然後吸取固體樣品以進行程序內檢查。樣品之熱分析指示其可能包含一些I型之S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸鹽。因此將泥漿加熱至50°C以選擇性地溶解S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸鹽I型。達50°C後30分鐘所吸取之固體樣品指示S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸鹽I型已完全自所需固體中消除。達較高溫度後2小時，在50°C下將4毫升乙腈加入泥漿中。另外將泥漿保留在50°C下1小時，然後在5.5小時內利用線性溫度變化速率冷卻至0°C。在0°C下攪拌40小時，然後將其過濾在細玻璃燒結玻璃漏斗上。過濾速度非常慢。以4毫升乙腈清洗濾餅並風乾約1小時。稱得風乾濾餅的重量為198毫克。但是，無法反映出程序之真實產率，因為在

此實驗期間吸取5個各高達30毫克之程序內固體樣品。此風乾樣品之質子NMR指示固體中具有0.035莫耳當量之DMF。在冷卻至0°C之前及保留在此溫度下19小時後，母液的濃度分析指示此操作無法再幫助系統去飽和。但是，這可能是因為HCl完全消耗掉，即使在系統冷卻之前。產物之分析數據確認其為結晶S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物。

實例 16

完成實例16以最佳化乙腈體積，評估降低順丁烯二酸鹽用量25%(以改善產率)並降低和合理化停留時間。將304毫克含有0.25當量HCl之非晶質冷凍乾燥S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸(含有近10%水)、240毫克順丁烯二酸及1662毫克DMF加入15毫升裝有磁石攪拌器之閃爍計數瓶中。攪拌懸浮液以影響澄清溶液。以20分鐘及0.5毫升之分量緩慢地將3毫升乙腈分次加入溶液中。在乙腈裝料之2小時內，見到晶體。攪拌該計數瓶22小時，然後過濾在細玻璃燒結玻璃漏斗上。以2毫升乙腈清洗濾餅並風乾約半小時。將固體放在真空烘箱中55°C及28英吋汞柱下24小時。已烘乾固體之質子NMR指示固體中具有0.03莫耳當量之DMF。濾液之濃度分析指示此配方的莫耳產率係達50%。但是，由於HCl完全耗盡，這仍可能更低。產物之分析數據確認其為結晶S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物。

實例 17

實例 17 的目的是研究 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物在 0.63 莫耳當量 HCl(過量 0.13 莫耳)下之結晶。將 220 毫克 0.13 當量含有 HCl 之非晶質冷凍乾燥 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸(含有近 10% 水)、232 毫克順丁烯二酸、31.95 毫克 37% 濃 HCl(水性)及 1164 毫克 DMF 加入 12 毫升裝有磁石攪拌器之小瓶子中。攪拌懸浮液以影響澄清溶液。以 25 分鐘及 0.5 毫升之分量緩慢地將 3.0 毫升乙腈分次加入溶液中。完成裝料後，混濁完全沈積下來，但是，在瓶壁上可見到一些油狀殘留物。此瓶在室溫下攪拌 17 小時，然後過濾在細玻璃燒結玻璃漏斗上。以 2 毫升乙腈清洗濾餅並風乾約半小時。非常緊密地擠壓濾餅且不易將其自漏斗中移開。將固體放在真空烘箱中 55℃ 及 28 英吋汞柱下 24 小時。濾液分析指示莫耳產率為近 75%。產物之分析數據確認其為結晶 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物。

實例 18

實例 18 係在每莫耳 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸中 0.63 莫耳當量之 HCl(過量 0.13 莫耳)及 1 莫耳丁醇下進行。因為丁醇可能是進料 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸中之潛在不純物，故研究丁醇之摻加。將 210 毫克含有 0.13 當量 HCl 之非晶質冷凍乾燥 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸(含有近 10% 水)、232 毫克順丁烯二酸、72 毫克丁醇、36.0 毫克 37%

濃 HCl(水性)及 1186 毫克 DMF 加入 12 毫升裝有磁石攪拌器之小瓶子中。攪拌懸浮液以影響澄清溶液。在 25 分鐘內以 0.5 毫升緩慢地將 3.0 毫升乙腈分次加入溶液中。此瓶在室溫下攪拌 17 小時，然後過濾在細玻璃燒結玻璃漏斗上。以 2 毫升乙腈清洗濾餅並風乾約半小時。將固體放在真空烘箱中 55°C 及 28 英吋汞柱下 24 小時。濾液分析指示莫耳產率係近 60%。此實驗產物之分析數據確認結晶 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物的形成並指示丁醇的存在性對結晶品質不造成任何不利影響。但是，程序產率較低。

實例 19

實例 19 係在 0.88 莫耳當量之 HCl(過量 0.33 莫耳)下進行。將 221 毫克 0.13 當量含有 HCl 之非晶質冷凍乾燥 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸(含有近 10% 水)、233 毫克順丁烯二酸、54.0 毫克 37% 濃 HCl(水性)及 1196 毫克 DMF 加入 12 毫升裝有磁石攪拌器之小瓶子中。攪拌懸浮液以影響澄清溶液。在 25 分鐘內以 0.5 毫升緩慢地將 0.5 毫升乙腈分次加入溶液中。完成裝料後混濁完全沈積下來，但是，在瓶壁上可見到一些油狀殘留物。此瓶在室溫下攪拌 17 小時，然後過濾在細玻璃燒結玻璃漏斗上。以 2 毫升乙腈清洗濾餅並風乾約半小時。非常緊密地擠壓濾餅且不易將其自漏斗中移開。將固體放在真空烘箱中 55°C 及 28 英吋汞柱下 24 小時。

濾液分析指示莫耳產率係近 58%，其明顯低於 HCl 濃度接

近化學計量之實驗中見的75%。因此系統中HCl過量與不足似乎皆導致產率降低。此實驗產物之分析數據確認結晶S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物的形成。

隨意堆積凝聚物實例之討論

雖然實例10至19說明S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物可在代表HCl相對於S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸嚴重不足或過量的條件下結晶，所有這些實例皆代表S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物之次佳結晶條件。因此，此討論將限於以實例7至9作最佳詮釋之S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物的較佳結晶程序。

實例7與8只有提供給系統之攪拌性質上的差異。前者係使用架空馬達連接至一軸及不與任何結晶瓶表面接觸之"半月形"葉片，而後者使用一與結晶瓶底部表面接觸之磁球。此磁球係利用磁板攪拌。研究這些實例中之此變數以證明實例8所獲得之隨意凝聚形狀不因磁球的使用而混亂，其顯示在延長保留期後規則堆積凝聚物轉變成隨意堆積凝聚物之傾向(參見實例26)。對於每莫耳S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸，兩實例皆使用2.0莫耳當量之順丁烯二酸及0.5莫耳當量之HCl(水性)。系統之水含量係保持在1.63%(添加乙腈前所量得)，而在重量/重量的基準上，乙腈對DMF之比例為1.4。在實例9中，系統的水含

量在添加乙腈前為2.3%，而在重量/重量基準上，乙腈對DMF之比例是1.98。S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸及S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物皆極易溶於水中，因此實例9中過量水之使用使乙腈對DMF之比例增加至1.98，而在乙腈添加期間無更大量的結晶。

這三個實驗的特徵為：a)在乙腈添加期間，S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物之快速成核及明顯結晶造成系統快速去飽和；b)加速最快生長晶面之生長造成較大縱橫比；及c)乙腈裝料期間或完成裝料後無持續性相分離之視覺或其他指示。詳細定義、討論及相分離的重要性將延至下一小節討論QESD結晶技術中。為達此討論目的，足謂這三個實例中，缺乏相分離對所見到之快速結晶也有貢獻。

在無相分離的存在下，若大部分去飽和係經由成核由溶液發生，快速結晶導致極小針狀結晶之形成，但若大部分去飽和係經由晶體沿長晶體方向快速增長發生，則導致稍微拉長之針狀結晶。任一種情況可能經由過濾期間濾餅之擠壓，或若提供高速攪拌(例如實例7中大於350之轉速)，甚至在結晶瓶中產生隨意堆積凝聚物。

相分離之詳細定義

為達本發明目的，相分離係定義為任何包含超過一液相及/或非結晶固相之結晶系統狀態。這些非結晶固體可比擬成視覺可見濃稠物質，其通常，但不必完全是非晶質的，

而第二液相可比擬成視覺及/或顯微鏡可見之乳液、視覺及/或顯微鏡不可見之乳液(例如由於採樣不當)、表面上視覺及/或顯微鏡可見的"油狀層"及表面上視覺及/或顯微鏡不可見的"油狀層"(例如由於缺乏厚度),其中該表面係包括結晶瓶內的結晶。

相分離似乎是一種結晶系統中S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸之"似乳化劑"性質的表現,其中該結晶系統包含DMF、乙腈、水、順丁烯二酸及HCl。其發生在製備S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物之前或期間,於既定DMF-乙腈組合物的溶液中特定水含量、順丁烯二酸及HCl強度下達到特定濃度之S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸時。除了如攪拌強度、可能表面及乙腈添加速率等變數之外,相分離的程度係強烈地隨所有這些固有程序參數而變。

由定義,發生二元相分離時,形成具有不同組成之兩相。對於S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸/順丁烯二酸/HCl/水/DMF/乙腈系統,視覺或顯微鏡可見典型乳液係由相分離程序產生時,連續相變成具有較高乙腈百分比及S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸濃度比原單相溶液低的稀薄相。相反地,非連續分散相變成具有較低乙腈百分比及S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸濃度比連續稀薄相或原單相溶液高之濃稠相。相分離程序代替產生視覺或顯微鏡可見"油狀層"時,不易完整分析兩相。但是,連續相之分析真得顯示較

高乙腈百分比及濃度比原單相溶液低之S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸。事實上，這些相特徵可用作分析試驗以決定安定相分離系統之形成起始點，特別是在典型乳液或可見"油狀層"不易以視覺及/或顯微鏡方式偵測得到的條件下。

理論結晶方法

雖然理論在本發明中不扮演任何角色，但描述下列機制使熟諳此技者可更了解本發明方法。

QESD為主之結晶作用

在QESD為主之結晶程序中所用的二元溶劑混合物係以溶劑與反溶劑間之不利作用(去混合)為特徵。典型溶劑組合包括水-丙酮、水-乙腈、乙醇-環己烷及水-乙酸乙酯。

溶劑傾向對溶質具有非常高的溶解度，而反溶劑經常以可忽略溶質之溶解度為特徵。已提過溶質在溶劑中的溶解度可如1.92克/克般高。事實上，選擇具有高溶解度之溶劑以最大化溶質與溶劑間之作用強度。乳化劑(介面活性劑)通常係溶於反溶劑中以幫助乳化程序。反溶劑對溶劑之比例可如50比1般高。

此程序可由溶質溶於溶劑中及以受控速率將此溶液加入反溶劑與乳化劑之溶液中開始。在溶劑與反溶劑之間經常也保持一溫度差，其中後者係於較低溫度下。添加溶劑溶液之後，產生一安定乳液，其中溶劑溶液是分散相，而反溶劑溶液是連續相。超飽和度係經由熱傳(溫度差)及更重要的質傳(溶劑與反溶劑逆擴散流出及流入分散相液滴)產

生。分散相係經由分散相之結晶去飽和。在收獲點，只有一個液體相係經由已描述過之逆擴散質傳程序形成。

在 QESD 結晶程序中，由於溫和超飽和度係藉經常，但非總是利用程序早期期間溶劑與反溶劑溶液間所維持之溫度差產生，因此只有一部分溶質沈澱出來。換言之，溫度差所造成之初超飽和度只是適中(文獻中所提之最大初超飽和度為~40%)，即使當反溶劑與溶劑開始逆擴散時，超飽和度產生速率是緩慢的，因為緩慢移越液滴邊界。因此，此程序係操作在相當溫和的剩餘超飽和度下一段極長時間並因此特徵在於緩慢的整體去飽和度速率。另一個此程序之共通特點為當溶質在富含反溶劑相中的溶解度經由溶劑自分散相擴散而增加時，溶質在連續相中的濃度事實上增加，儘管只有些微增加。

高超飽和誘發 LLPS 為主之結晶作用

有愈來愈多的證據顯露超飽和溶液，特別是這些蛋白質、似蛋白質分子及製造膠體溶液之系統可進行另一個超飽和誘發分離成兩個不同組成之次安定"非平衡"液相。粗略檢視相分離或去混合之起始點類似典型結晶程序之濁點，但是，如顯微術等技術容易地指出混濁不是由於晶質固體的形成。去混合程序本質上產生一極超飽和相與較低超飽和或甚至欠飽和相共存。結晶最初在較高超飽和度相開始，對特定條件，此較高超飽和度相係類似乳液或前節所述類型之準乳液中的典型分散相。對於以高超飽和度誘發 LLPS 為主的程序也已提過類似這些圖 8 所示之凝聚物狀

形態。

呈現LLPS型行為之二元及單一溶劑系統是已知的。在所有例子中，溶質在所選溶劑系統中的溶解度是適中的(最大值不超過200毫克/克)，其與QESD型設計中所用之溶劑溶液成強烈對比。

文獻之重要部分係建立在超飽和度條件下呈現LLPS之系統的溶液性質上。除了典型轉變如低於液相線之固化外，相圖也呈現一非典型液-液相分離，也相當於凝聚，其中次安定溶液形成兩個具有不平等溶質濃度之分立非平衡液相。溶質之漸增超飽和溶液係藉持續從液相線垂直向下移動產生時，該圖中共存曲線係代表共存在之富含溶質與貧溶質液相的濃度。

建立共存曲線之實驗技術包括兩種非常簡單的程序：濁點及溫度驟冷方法。簡言之，前者係測定各固定溶質濃度之混濁化溫度，而後者係將超飽和度溶液冷卻至一低於相分離溫度之固定溫度，然後分析兩共存相的濃度。對於二元系統(溶質及單一溶劑)，共存區線上之最大溫度係稱為相分離之臨界溫度，而且對應濃度係稱為臨界濃度。

臨界濃度在建立兩相之"形態"上扮演關鍵角色。在濃度低於臨界濃度的系統中，可觀察到包含富含溶質相之球形、均一尺寸液滴的成核作用及生長。在濃度高於臨界濃度的系統中，也經常見到球形、均一尺寸液滴之成核作用及生長。但是，在此例中，這些液滴包含貧溶質相。在極端例子中，當溫度降低至液相線以下時，也見到膠化以取

代相分離。當含此凝膠相(通常非晶質固體)之系統冷卻至低於共存曲線之溫度時，經常可見到結晶部分。在濃度極接近臨界濃度的系統中，出現兩個互連部分。

對於含有溶質、溶劑及反溶劑之三元系統，共存表面(參見圖10)代表在濃度為 c_2 之固定量反溶劑下LLPS溫度隨溶質 c_1 而變。在固定溫度下，系統之LLPS性質可以一等溫共存曲線(參見圖11)描述，其提供固定量之反溶劑在以不同溶質濃度之溶液開始所產生之兩共存相I與II中的濃度 $(c_1, c_2)^I$ 及 $(c_1, c_2)^{II}$ 。兩相的分配可以連接點I及點II之結線作最佳描述，其中這點I及點II係位於固定溫度下所劃之共存曲線上(參見圖11)。對於三元系統，臨界點 $(c_1, c_2)^c$ 係定義為共存圖上可滿足 $(c_1, c_2)^I$ 等於 $(c_1, c_2)^{II}$ 條件之點。隨溫度而變之此點位置係描述成共存表面上之臨界線。如圖10所示，將固定量之反溶劑或沈澱劑(如聚乙二醇)加入溶質-溶劑溶液之淨作用係整個共存曲線向上朝液相線上偏移(其本身可能向上移動，但未達與共存曲線向上移動相同之程度)，除了曲線本身的外形對稱性上有些扭曲外。後者為兩相組成及其比率所造成的結果。

當更多沈澱劑或更強沈澱劑被導入溶質溶劑溶液中時，此偏移變得更明顯且曲線更不對稱。這些偏移的淨作用是液相線與共存曲線間之間隙隨LLPS溫度增加而降低，因此LLPS係發生在極低超飽和度下。由於不對稱而移至較低溶質濃度的臨界點暗示相分離液相的形態。

在臨界溫度下LLPS溫度隨反溶劑濃度而變之斜率、臨界

溫度及反溶劑的濃度實際上可藉參考文獻15所發展之數學模型用於計算無反溶劑存在下之LLPS溫度。在達到LLPS溫度或超飽和度之前，當溶質溶劑系統之LLPS由於系統冷凍或溶質結晶而無法達到時，這是極吸引人的。此外，圖11中結線的斜率係與溶質溶解度因既定濃度之反溶劑或沈澱劑的存在性而降低的分率成比例。換言之，結線的斜率特徵化溶質沈澱劑如反溶劑之有效性。因此，此資料可用於預測反溶劑存在下之液相線。

類似主要溶質，次要溶質(如結構相關不純物)的作用通常限制在共存曲線沿著二元系統之溫度軸垂直位移(通常朝下，即LLPS溫度之降低)¹⁸。在這些位移期間，曲線保持其形狀，不像在沈澱劑或反溶劑存在下所遭遇到的情況。但是，若次要溶質或不純物不類似主要溶質，然後除了沿溫度軸垂直位移(通常朝下)外，共存曲線的形狀也被扭曲。隨著臨界點偏移至較高主要溶質濃度使曲線逐漸變得不對稱，但同時最大LLPS溫度偏移至較低主要溶質濃度。次要溶質之淨作用似乎是需要更超飽和度以觀察包含次要溶質相如不純物之三元系統中的LLPS。

在LLPS為主設計之上下文中，溶質物種間的相異性可藉確定二元系統中各物種之臨界點差異做最佳描述，其中該二元系統包含該溶質及所有研究物種常用的溶劑。因不相似次要溶質如不純物的存性所造成共存曲線之不對稱性也具有在LLPS所得兩液相之相對比率及形態的結果。

循環通過LLPS表面可明顯降低誘發時間以在高於LLPS

溫度($>2.0^{\circ}\text{C}$)也可成核。曾報導在高於LLPS溫度 $1-1.5^{\circ}\text{C}$ 之溫度下成核速率增加超過六倍。對此成核速率明顯增加曾假定兩個原因。第一個是 ΔG_{nuc} 降低，因為在LLPS溫度下系統接近雙節結正上方之旋節。在旋節區中，密度波動係高於附近任何其他點，這因此導致 ΔG_{nuc} 降低。此外，因為 ΔG_{nuc} 降低，製造安定預成核簇所需之分子數目明顯降低。第二個是接近LLPS溫度時，類似以高溶質濃度液體弄濕晶核表面的現象也可提高成核速率。當系統進入LLPS模式時，成核速率降回傳統成核速率表示式所預測的。此速率可以部分準確度利用適當傳統成核方法由富含溶質及貧溶質相中各超飽和度估計得到。

在LLPS表面下經由結晶所獲得之晶體形態似乎與相對於臨界點之起始單相溶質濃度有關。這因此與富含溶質及貧溶質液相在臨界點任一側之實際"形態"有關。如早先所述般，在濃度低於臨界濃度之系統中，觀察到包含富含溶質相之球形、均一尺寸液滴的成核及生長。結晶作用係在高超飽和富含溶質液滴中經由液滴核心之多次成核開始，因此將其轉換成多晶形固相。新晶體係從多晶質核放射狀地朝外形成及生長並消耗液滴中的剩餘溶質以及貧溶質相中的溶質，因為貧溶質連續相之低超飽和度使其本身通常無法沈澱。

在濃度大於臨界濃度之系統中，經常可見到球形、均一尺寸液滴之成核及生長。但是，在此例中，液滴包含貧溶質相。這些系統係獲得具有極小主要粒子之不規則多晶質

固體。但是，若濃度明顯高於臨界濃度，即使在達到LLPS溫度之前，也可見到膠化(由於非晶質固體的形成)。當此系統處於LLPS曲線下方時，結體形成於凝膠基質中。但是，含凝膠相之系統轉變成完全結晶物質的速率明顯低於代替包含高濃度液滴之對應系統。凝膠相中緩慢轉變的原因係與移動性因凝膠之形成而受阻的事實有關，其因此抑制晶體成核速率。

總言之，操作在共存在曲線下方及臨界點左側之LLPS為主的結晶程序可產生類似這些結晶S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物所見到的形態(參見圖8)。在此方法中，富含溶質分散相中之超飽和度通常非常高。而且，貧溶質連續相中溶質濃度的分析顯示隨整體系統結晶出來而持續降低。在結論、基本觀察及數據中，所有結晶程序特徵化數據及所見結晶形態係與LLPS為主之結晶程序的一般特點相符，其中此LLPS為主之結晶程序係操作在共存在曲線正下方及臨界點左側。因此，此概念設計係被提出作為描述S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物結晶成規則堆積球形凝聚物之模型。

三種S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物製造規則堆積凝聚物之結晶程序的設計皆採用實例7至9所提以隨意堆積凝聚物為起始點之程序。主要改良包括順丁烯二酸用量、水含量及乙腈對DMF之比例上的改變。以重量/重量為基準，乙腈對DMF之比例

係從 1.4 或 1.8 降低至所需值以在 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物晶體沈澱之前或初期期間達到相分離。順丁烯二酸相對於 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸之莫耳當量係從 2.0 至少增加至 2.2，而且以重量為基準，在添加乙腈之前，系統的水含量至少為 2.83%。順丁烯二酸及水之量的增加提高 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸在溶劑溶液中的溶解度，並因此幫助確認 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸在既定 DMF-乙腈組合溶液中特定水含量、順丁烯二酸及 HCl 強度下的濃度不降低至相分離所需特定值以下，其中該相分離係以視覺或顯微鏡上之乳液或視覺或顯微鏡可見或甚至不可見之表面"油狀層"呈現的，而該表面係包括這些由添加反溶劑期間可能形成之少量結晶所提供的。所有三種設計皆包括添加反溶劑溶液至溶劑溶液中並以相當溫和的攪拌度完成。

在 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物之外部植晶結晶程序中，反溶劑溶液(乙腈)係以受控方式加入溶劑溶液中(可以先前所定義之 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸之第二種 DMF 溶液作最佳描述)，使總添加時間最好超過約 30 分鐘，較佳係約 90 分鐘。反溶劑溶液之添加可連續，例如利用特定添加速率之泵浦，或最好間歇地在特定時間區間加入總反溶劑溶液體積之一小分量。當連續分量添加間之時間是長得足以確定大部分在小分量添加後立刻形成之混濁

(不安定相分離之表現)具有適當時間沈積下來時，這些時間區間是最佳的。加入反溶劑溶液直到每次小分量添加所造成之混濁不完全沈積下來或沈積下來但只見留下極細油狀層在如攪拌軸、攪拌葉片、反應器壁或結晶瓶中的擋板等之表面上。此時將極小量的種晶加入系統中。種晶最好是S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物之極小晶體，如這些實例7至9所製得的。以S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸溶於溶劑溶液之原物質重量為基準，為達成功外部植晶結晶程序的目的，所需的這些種晶通常不超過1%。種晶係作為本身以乳液或油狀層型態成呈現之非連續相的受質。此程序經常非常慢而且在系統完全去飽和之前，需超過48小時。但是，此程序可，例如藉增加植晶量加速。由此類型之外部植晶結晶方法所獲得之規則堆積凝聚物經常是球體形，而且尺寸上極類似。

種晶也可在反溶劑溶液添加期間就地製造。然後這些晶體可作為相分離後本身呈現乳液或油狀層之非連續相的受質。在溶劑與反溶劑之混合物中相分離前，例如可藉稍微降低溶劑溶液中的水含量或稍微降低順丁烯二酸用量，或較佳係藉改變超飽和產生速率，同時其餘皆保持與外部植晶結晶程序相同以促進種晶之成核作用。後者，例如可藉改變反溶劑溶液之添加速率達到。改良溶劑及反溶劑溶液之熱歷史也可用於改變結晶作用之動力學，而不需改變整個系統組成。就地植晶結晶的主要優點是源自不需由外部

加入種晶而且其添加不須如外部植晶結晶程序例子般很緊密地與可見相分離連接的事實。由系統之去飽和度係經由種晶的形成所造成的事實所延伸增加的複雜性必須控制在低得足以確定S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸在既定組成之溶劑與反溶劑溶液混合物中的剩餘濃度不低於相分離所需量的程度，其中該相分離係以視覺或顯微鏡上之乳液或視覺或顯微鏡可見或甚至不可見的表面"油狀層"呈現。此外，就地植晶結晶作用之最佳設計最好是就地種晶具有小粒徑或低縱橫比。這幫助確定規則堆積凝聚物的最終形狀，其某定程度上就像受質種晶的形狀類似利用小晶體作為種晶之外部植晶結晶程序中所獲得的。在更實際層面上，此對小粒徑或短低縱橫比就地種晶的偏好必須先前所提低程度之去飽和度係經由主要晶體成核程序達到，相對於較少晶核經結晶生長成大尺寸。後者可能導致大型針狀種晶的形成，其在以非連續相覆蓋並接著進行逆擴散受控結晶以形成規則堆積凝聚物可能導致相較於球形更拉長的整體形狀。但是，主要經由大量小晶體之成核作用造成低程度去飽和對S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物結晶而言是困難的。因此，整體形狀可能不類似S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物之就地植晶結晶程序所獲得知球形。視去飽和的程度及所造成受質表面而定，就地植晶結晶程序之整體結晶時間可能明顯比外部植晶QESD結晶程序短。因為就地植晶及外部植晶結晶程

序皆提供足夠晶體作為非連續相覆蓋表面，S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物如污垢般經由黏於結晶瓶瓶壁及其他表面上之非連續相的固化作用結晶在該表面上之可能性可因降低可覆蓋這些非結晶表面之非連續相的比率而明顯降低。

最後將S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物晶體結晶成規則堆積凝聚物之設計方法係在相分離之前，期間或之後消除結晶受質(晶種)。除了確認混合溶劑與反溶劑溶液期間無結晶發生外，產生顯微鏡或最好是視覺可見的乳液。即使在達到乳化狀態之前見到油狀層，這也必須發生。獲得S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物系統之視覺可見乳液的最簡單方法是進一步增加乙腈對DMF之比例。已證實在上述外部植晶或就地植晶結晶程序中使用超過110%(以重量計)之乙腈量可適當地獲得視覺可見乳液。但是，此狀態經常伴隨油狀層在結晶瓶壁及其他外部表面如攪拌軸、葉片及檔板(若存在)上。雖然在48小時後由此結晶程序之泥漿可獲得整體外形呈球形之規則堆積凝聚物，但是結晶瓶壁上的油狀層通常如類似隨意堆積凝聚物之污垢般結晶於瓶壁上。若不小心自結晶瓶中吸出泥漿，將可在產務中見到隨意堆積及規則堆積凝聚物。在其他變數中，污染的程度似乎與產生視覺可見乳液之乙腈額外用量有關。

總言之，三種結晶設計方法皆可製造規則堆積凝聚物。

差異係落在凝聚物的品質以及操作性及控制性的容易度。基於這三種因素，較佳係外部植晶結晶方法。接下來說明所有三種方法之實例。

規則堆積凝聚物之實例

實例 20、21 及 22 代表前一節所描述之外部植晶結晶系統，而實例 23 及 24 代表就地植晶結晶系統，實例 25 說明無植晶結晶程序。實例 26 說明規則堆積凝聚物可能在特定攪拌條件下被摧毀。在此操作後，固體具有許多隨意堆積凝聚物之特性特徵。

實例 20

在實例 20 中，將 54 克非晶質冷凍乾燥 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸(含有近 10% 水)、57.5 毫克順丁烯二酸、287 毫克 DMF 及 10.1 毫克 37% 濃 HCl(水性)加入 1.2 公升套管式反應器中。不管在溶劑系統有良好溶解度，S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸在 350rpm 下攪拌後轉變成濃稠黏物質並需要 1 小時溶解。以 45 分鐘及 20 毫升之分量將 750 毫升乙腈分次加入澄清溶液中。隨著 710 毫升的加入，溶液變混濁並持續此狀態；但仍完成乙腈裝料。完成裝料後 1 小時，大部分混濁沈積下來，但是油狀殘留物已形成於反應器壁上。將 1 克 37% 濃 HCl(水性)加入反應器中以幫助溶解油狀物。此添加在降低油融化程度上是不成功的，因此將 27.2 克 DMF 加入反應器中以增加系統的溶解度。在第二次添加 DMF 之 15 分鐘內，幾乎所有壁上油狀物再度溶解。以 350 rpm 隔夜攪拌溶液。在此停

留期期間，其無結晶，因此利用400毫克種晶(換言之，結晶S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物)以誘發成核作用。另外攪拌此系統48小時，然後將泥漿以30毫升分次卸在細玻璃燒結玻璃漏斗上。

過濾速度非常快。以100毫升乙腈清洗濾餅並風乾1小時。稱得重量為46.64克。將固體放在真空烘箱中50℃及28英吋汞柱真空下烘24小時。稱得烘乾固體的重量為42.96克。

這代表近89重量%及65莫耳%回收率。濾液之兩性離子及HCl的濃度分析幫助完成質量平衡並證實整個結晶過程中，HCl是化學計量。圖8顯示產物之多個SEM照片。實例8完全證明此實驗產生幾乎單分散之球狀規則堆積凝聚物族群。圖1顯示此實例所製得固體與先前所提隨意堆積凝聚物的PXRD比較。上方x-射線繞射圖案係獲自實例9，而下方x-射線繞射圖案係獲自實例20。兩固體間之形狀差異似乎對波峰形狀或強度無任何意義。表1概述此實例產物之分析數據。圖5顯示由實例20樣品所獲得之結晶S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸鹽的拉曼光譜圖。

實例 21

實例21的目的是合理化DMF與HCl的添加程序步驟並確定程序初期溶解S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸之較佳混合條件。

將45.78克順丁烯二酸、251毫克DMF及8.82毫克37%濃

HCl(水性)加入1.2公升套管式反應器中。以350 rpm攪拌系統以影響澄清溶液。然後將43.3克非晶質冷凍乾燥S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸(含有近10%水)加入反應器中並在50 rpm下攪拌2小時以完全溶解所有固體。將攪拌速度增回至275 rpm並以90分鐘及15毫升之分量將612毫升乙腈分次加入溶液中。在完成乙腈裝料後，溶液幾乎保持澄清。將429毫克種晶(換言之，結晶S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物)加入溶液中並攪拌45小時。將泥漿以200毫升分次卸在350毫升細玻璃燒結玻璃漏斗上。

過濾速度非常快。以60毫升乙腈清洗濾餅並風乾1.5小時。稱得重量為36.50克。將固體放在真空烘箱中50°C及28英吋汞柱真空下烘24小時。稱得烘乾固體的重量為36.42克。這代表近94重量%及70莫耳%之回收率。濾液之兩性離子及HCl的濃度分析幫助完成質量平衡並證實整個結晶過程中，HCl是化學計量。結晶之整體形狀係與實例20中所見相同。表1概述此實例產物之分析數據。

實例22

實例22的目的是建立系統在規則堆積凝聚物形成期間可忍受而不失去控制之HCl當量上限。相對於典型0.5莫耳當量，此系統之總HCl含量係近0.73莫耳當量。

將55.97克順丁烯二酸、307毫克DMF及10.78毫克37%濃HCl(水性)加入1.2公升套管式反應器中。以275 rpm攪拌系統以影響澄清溶液。然後將攪拌速度降低至50 rpm，然後

將 52.2 克含有 0.23 當量 HCl 之非晶質冷凍乾燥 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸(含有近 10% 水)加入反應器中。所有 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸在 20 分鐘內溶解並將攪拌速度增回 275 rpm。在 750 毫升欲添加之乙腈中，在溶液由混濁轉變至混濁不容易沈積下來之點以前，以 90 分鐘 20 毫升之分量分次加入 695 毫升乙腈。攪拌 1 小時後，混濁度降低，但棕色油狀殘留物形成於反應器底部。將 10.2 克 DMF 加入反應器中以溶解油狀殘留物，然後以 533 毫克種晶(換言之，結晶 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物)植入晶體於系統中。攪拌 24 小時。在此，發生顯著沈澱。將原裝料剩餘之 55 毫升乙腈加上 30 毫升加入反應器中以補償額外的 DMF 並另外攪拌 20 小時。發現此程序階段的母液濃度比在 0.5 當量 HCl 下一般大規模結晶之值高 45%。將 70 毫升乙腈加入泥漿中並另外攪拌 4 小時。然後將泥漿以 200 毫升分次卸在 350 毫升細玻璃燒結玻璃漏斗上。過濾速度非常快。以 80 毫升乙腈清洗濾餅並風乾 1.5 小時。稱得重量為 38.10 克。將固體放在真空烘箱中 50°C 及 28 英吋汞柱真空下烘 24 小時。稱得烘乾固體的重量為 36.75 克。這代表近 78 重量% 及 56 莫耳% 之回收率。在第三次添加乙腈之前及其後 4 小時之母液樣品的濃度分析指示溶液中 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸的濃度淨降低 15%。濾液之氯化物離子分析幫助證明開始時 HCl 的當量是 0.73 並以 0.23 當量伴隨 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸。

結晶之整體形狀似乎類似於先前實驗中所見的，但是粉末的堆積密度似乎稍微偏低。表1概述此實例產物之分析數據。

表1實例20-22之固態特徵數據

實例	C	H	N	S	Cl	Tm	ΔH_{fus}	DMF NMR	順丁烯二 酸NMR
理論	40.64	6.65	14.22	10.85	6.00	無法取得	無法取得	0.000	0.500
20	40.29	6.53	14.03	10.79	6.06	193.91	140.18	0.019	0.525
21	40.41	6.77	14.31	10.86	6.11	199.17	無法取得	0.027	0.490
22	40.42	6.87	14.26	10.77	6.19	199.50	130.48	無法取得	無法取得

實例 23

實例23的主要目的是了解並建立形成就地晶種以用作規則堆積凝聚物之受質並降低總結晶時間之適當主要結晶條件。乙腈為實例19及20所用量增加10%，而且完成乙腈裝料後無進行任何植晶動作。

將15.00克S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸之第一種DMF溶液、233.3克順丁烯二酸及413微升去離子水加入50毫升錐形瓶中並在加入50毫升套管式反應器之前，攪拌之以影響澄清溶液。以153 rpm攪拌反應器。以39分鐘及1.3毫升之分量將18.2毫升乙腈(取自27.7毫升之總量)分次加入溶液中。隨此乙腈量的加入，在反應器中見到針狀結晶(由偏振光顯微術證實形狀及結晶性)。以3分鐘及1.5毫升之分量分次加入剩餘9.5毫升乙腈。加入27.7毫升乙腈後6分鐘，另外加入2.77毫升乙腈(此代表實例19及20用量

之額外10%)。將攪拌速度增加至254 rpm約2小時，然後降低回到150 rpm。攪拌此系統共24小時，然後將泥漿卸在30毫升細玻璃燒結玻璃漏斗上。

過濾速度快。以6毫升乙腈清洗濾餅2次並風乾1.5小時。稱得固體重量為1.05克。以掃描電子顯微術分析時，此結晶具有大部分規則堆積凝聚物之主要特性，但相對於實例20、21及22中所見之球形，其整體形狀似乎是圓柱形(圖9)。此差異係歸因於做為受質晶體之種晶形狀，對於此例是針狀的。

實例 24

實例 24 的主要目的是在50公升反應器中大規模完成實例 23。

將9.5公斤S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸溶液之第二種DMF溶液加入50公升套管式反應器中。在125 rpm下攪拌反應器。以36分鐘及以840毫升之分量將11.04公升乙腈(取自18.45公升之總量)分次加入溶液中。在此乙腈量添加期間，在反應器中見到針狀結晶(由偏振光顯微術證實形狀及結晶性)。以9分鐘及1.65公升之分量分次加入4.97公升乙腈並在自原乙腈裝料開始48分鐘後加入剩餘2.42公升。攪拌此系統共6小時，然後將泥漿卸在過濾器上。

過濾速度快，只需8分鐘。以2.0公斤乙腈清洗濾餅2次並風乾24小時。稱得固體重量為1.08公斤。以掃描電子顯微術分析時，此晶體具有大部分規則堆積凝聚物之主要特性，但整體形狀似乎類似於實例23所獲得的且不像實例

20、21及22中所見到的球形。此差異係歸因於受質晶體的形狀，對於此例其是針狀的。

實例 25

實例 25 的主要目的增加乙腈量 20%，基於實例 20 及 21 之用量並研究消除相分離之前、期間或之後馬上以 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物進行外部或就地植晶的可能性。將 25.01 克 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸溶液之第一種 DMF 溶液及 687 毫克去離子水加入 125 毫升套管式反應器中。將 346 毫升順丁烯二酸加入反應器中並在 173 rpm 下攪拌系統以影響澄清溶液。以 60 分鐘及 3 毫升之分量將 56 毫升乙腈分次加入溶液中。隨加入最後一份乙腈，溶液變得非常混濁，但是大部分混濁在 15 分鐘內沈積下來，於反應器壁上留下薄油層。將反應器加熱至 55°C (套管溫度) 以決定油狀層是否可溶解。此操作不成功並將反應器冷卻回到室溫。攪拌系統 48 小時，然後將泥漿卸在 150 毫升細玻璃燒結玻璃漏斗上。

過濾速度快。以 10 毫升乙腈清洗濾餅並風乾 1.5 小時。稱得固體重量為 1.57 克且以掃描電子顯微術分析時具有所有規則堆積凝聚物之主要特性。

見到部分固體抹在反應器壁上。藉於 25 毫升乙腈中混成泥漿，然後過濾在 150 毫升細玻璃燒結玻璃漏斗上以除去此污垢。風乾此固體 1 小時並量得其重為 1.01 克。這些固體具有類似這些隨意堆積凝聚物的整體形狀。

實例 26

實例 26 的目的是決定若規則堆積凝聚物可被轉變成小晶體，然後將其被壓縮成隨意堆積凝聚物。

將 200 毫克實例 20 製成之 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物晶體的規則堆積凝聚物加入一 8 毫升小瓶子中。將 3.95 克實例 23 之濾液及磁球加入該瓶中並經由磁板以最大速度攪拌所得泥漿 4 天。每天吸取泥漿樣品以利用顯微術檢查規則堆積凝聚物是否在攪拌磁球與瓶底間極窄間縫中被碾碎。

顯微術分析指示完成研磨規則堆積凝聚物至少需要 72 小時(或 3 天)。過濾後，將這些碎晶體壓縮成隨意堆積凝聚物。

替代溶劑系統

實例 27： 甲醇/丙酮結晶作用

甲醇是少數 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物晶體呈現適中溶解度(6.2 重量%)之有機溶劑之一。而且，過量順丁烯二酸的存在性大幅增加溶解度。發現在 1.5 當量過量順丁烯二酸的存在下以每克 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物如 4 克甲醇般少的量可容易地溶解 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物晶體。只對所說明的 DMF/乙腈程序作少量調整，可發展並以 1 公升規模說明描述於下之甲醇/丙酮結晶程序。

將順丁烯二酸(23.57 克-1.5 當量)加入 500 毫升圓底燒瓶中。加入甲醇(160 克-4 克/克)並攪拌燒瓶以形成澄清溶液。

然後將 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物(40.00克)裝入圓底燒瓶中並溶解以形成澄清溶液。將此溶液裝入1公升操作在室溫下之套管式反應器中。攪拌係設在225 rpm。

稱量出丙酮(544克-17毫升/克)並將蠕動泵浦校正成運送近9毫升/分鐘。以15分鐘加入丙酮，溶液轉變成輕微模糊，但增加攪拌後變澄清。在1小時20分鐘添加後(44.68克丙酮仍未加)，結晶混合物明顯混濁。停止加入丙酮並加入400毫克晶種。將攪拌速度設在240 rpm並隔夜攪拌。在17小時後，結晶混合物是濃稠泥漿。過濾固體並以丙酮清洗2次並在過濾器上乾燥。產率為74.8%。

實例 28：1-丁醇/丙酮結晶作用

1-丁醇係被選作最佳溶劑以探討利用高沸點溶劑之可能性，其中該高沸點溶劑可容易地與上游水性色層分析法純化步驟之水交換。雖然 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物在1-丁醇中無呈現高溶解度(0.05重量%)，但過量順丁烯二酸的添加可大幅增加其溶解度。此程序設計再度被設計成非常類似DMF/乙腈程序。下列係以1公升規格進行初程序之描述。

將 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸(38克)、DI水(200毫升)、1-丁醇(500毫升)及順丁烯二酸(29.46克-1.5當量)加入1公升套管式反應器中。攪拌混合物以形成澄清溶液。在真空(135托)及53-67°C之溫度下將溶液蒸餾至200毫升。加入1-丁醇(250毫升)並在135托及70°C下持續蒸

餾直到體積降低至200毫升。將溫度調整至50℃。裝入DI水(2.5毫升)及1-丁醇(475毫升)。加入S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物晶種(1.5克)並以1-丁醇(25毫升)將其洗入反應器中。以3小時經由注射泵浦將丙酮(300毫升)加入結晶混合物中。在丙酮添加完成後1小時，以10小時將結晶混合物冷卻至10℃。在丙酮添加完成後14小時，過濾結晶混合物。極容易地過濾結晶混合物且不見濾餅破裂。將丙酮洗液(300毫升)裝入反應器中並洗入濾餅上。固體在真空烘箱中50℃、24英吋汞柱下隔夜乾燥。產物質量為40.45克，代表產率為78%。

DSC分析顯示兩種產物之固態型態皆為結晶S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物。各產物在真空中50℃下隔夜乾燥後之溶劑含量係表示於表2中。

表2：殘留溶劑含量

實例編號	甲醇	丁醇	丙酮
27 (甲醇/丙酮)	0.64%	無法獲得	1.37%
28 (丁醇/丙酮)	無法獲得	0.39%	1.10%

較佳係1-丁醇/丙酮系統，因為兩者皆為第III類溶劑。

前一個步驟是在水性溶液中最容易完成之SMB色層分析法純化。從水至1-丁醇之溶劑交換可容易達到，但不可能自甲醇系統中將水完全除去。這也是1-丁醇/丙酮系統優於甲醇/丙酮系統之處。

程序發展

類似於DMF/乙腈結晶作用，1-丁醇/丙酮結晶作用具有數項影響結晶作用之參數。原始參數包括：1)溫度，2)氫氯酸含量，3)順丁烯二酸含量，4)水含量，5)混合物負荷量及6)丙酮含量。外部參數包括：1)植晶，2)反應器幾何，3)丙酮添加程序步驟及4)混合。將這些參數更詳細地各討論於下。

原始參數

1.溫度

實例 29

將順丁烯二酸(0.59克-1.5當量)量出放入50毫升圓底燒瓶中。加入1-丁醇(8克)並攪拌混合物以形成一澄清溶液。裝入S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物(1.00克)及水(1000微升)並攪拌混合物以形成澄清無色溶液。在50℃下旋轉蒸發溶液。裝入1-丁醇(6克)並持續旋轉蒸發。加入1-丁醇(8克)以製造可流動溶液。裝入1-丁醇(2.89克)及水(130微升)使溶液處於下列所需初狀態：0.5當量HCl、2.0當量順丁烯二酸、14體積份數1-丁醇/公斤S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物，KF=1.5%。逐滴加入丙酮(6毫升)。裝入丙酮期間不見成核作用。加入S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物晶種(10毫克)，接著加入丙酮(0.5毫升)。在室溫下攪拌結晶混合物並在數小時後形成濃稠泥漿。結晶出現極類似DMF/乙腈結晶作用之行為方式。將泥漿濾在15毫升細玻璃燒結玻璃漏斗

上。以15毫升丙酮清洗濾餅2次並抽乾。

微分析、DSC及PXRD顯示該固體是結晶S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物。微分析及DSC數據係概述於表3中。

表3：等溫室溫結晶數據

實例	描述	微分析				DSC	
		C	H	N	Cl	溫度(°C)	焓
29	室溫	40.46	13.90	6.81	5.85	200.15	148.1 焦耳/克
	理論	40.64	40.22	6.65	6.00		

1-丁醇/丙酮結晶作用在室溫下進行如預期般在裝入晶種之前無成核作用發生。產物是結晶S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物。

2. 氫氯酸

HCl在結晶行為上扮演一角色。希望系統中具有化學計量(0.5當量)之HCl。當HCl變成限量試劑，低於此目標量可能造成較低產率或造成S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物與1：1順丁烯二酸鹽(S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸鹽，II型)之混合物。系統中過量的HCl可能因溶解度增加而造成較低產量及具有較差物理性質之固體。

3. 順丁烯二酸鹽

實例30

基於利用DMF/乙腈結晶作用所完成的研究，已知需要過

量的順丁烯二酸，初實驗之目標量為2.0當量。今含1.75當量順丁烯二酸之結晶混合物處於下列初狀態：0.5當量HCl、1.75當量順丁烯二酸、14體積分數之1-BuOH/克S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物，1.5% KF。

此溶液隔夜冷卻儲存後，見到固體沈澱出來。因此，顯然只具有1.75當量順丁烯二酸造成容易沈澱出來之不安定超飽和溶液。

分別以2.0、2.25及2.50當量順丁烯二酸進行三種平行結晶實驗(實例30A、30B及30C)以評估其對結晶的作用。將順丁烯二酸(1.78克-1.5當量)裝入100毫升圓底燒瓶中。加入1-丁醇(34.0克-14體積分數)並攪拌至溶解。將S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物(3.00克)加入溶液中。加入水(3200微升)並攪拌混合物以形成澄清溶液。在真空中55°C下旋轉蒸發溶液。將1-丁醇(24克)裝回混合物中並持續旋轉蒸發直到KF為1.00%。加入丁醇(23.29克)及水(0.434克)使溶液變成14體積分數1-丁醇/S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物且KF為1.5%。將溶液分成3份(各12.9克)並標為"A"、"B"及"C"。將98毫克順丁烯二酸(0.25當量)加入燒瓶B中，將197毫克順丁烯二酸(0.5當量)加入燒瓶C中並各攪拌形成澄清溶液。

以35分鐘及1毫升的分量將丙酮(6毫升)分次逐滴加入各燒瓶中。在丙酮裝料期間觀察各實驗成核，具低順丁烯二

酸含量(2.0當量)見到最多固體，而具最高順丁烯二酸含量(2.5當量)見到最少固體。結束丙酮添加時，將10毫克晶種加入各燒瓶中並將實驗保存在室溫下超過一周。各實驗在15毫升細玻璃燒結玻璃漏斗上過濾並以15毫升丙酮清洗濾餅2次。在過濾器上抽乾濾餅。

各實驗之分離固體的微分析及DSC數據係概述於表3中。在所有三個實驗中，微分析數據符合這些理論對S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物所預期的。所有批次的DSC結果也顯示近200℃，相當於S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物之熔點處之大量放熱事件。在實例30A中，54℃有一極小熱事件，其可能相當於少量S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸鹽II型。在此特定實例，這極有可能是因為可觀量未受控制之成核發生丙酮裝料期間。因為成核作用發生在丙酮裝料期間，即使在2.50當量順丁烯二酸存在下，儘管其程度較低，顯然丙酮添加速率太快。因此在只有2.0當量順丁烯二酸的存在下形成少量S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸鹽II型不可能直接因為低順丁烯二酸用量，而可能是因較低丙酮添加速率而避免。

表4：微分析及DSC數據-不同順丁烯二酸

實例	描述	微分析				DSC	
		C	H	N	Cl	溫度(℃)	焓
30A	2.0當量順	40.27	13.95	6.64	5.93	54.28	7.3

	丁烯二酸					199.52	焦耳/克 156.9 焦耳/克
30B	2.25當量順 丁烯二酸	40.50	13.98	6.70	5.91	201.11	148.4 焦耳/克
30C	2.50當量順 丁烯二酸	40.47	13.91	6.61	5.84	199.75	159.4 焦耳/克
	理論	40.64	40.22	6.65	6.00		

概述於表5之各實驗母液的分析顯示如預期S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸的濃度係隨順丁烯二酸的增加而增加。因此預期結晶系統中較低順丁烯二酸將增加產率。

表5：母液分析

實例	描述	重量%S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸
30A	2.0當量順丁烯二酸	0.84%
30B	2.25當量順丁烯二酸	0.90%
30C	2.50當量順丁烯二酸	1.09%

基於此實驗，範圍在2.0-2.5之順丁烯二酸含量將造成S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物的形成，條件為丙酮的添加速率在裝料期間不會造成顯著成核作用。如1.75當量般低之順丁烯二酸可能造成容易在延長保留期事件中破裂之不安定超飽和溶

液。因此，結晶系統中目標順丁烯二酸範圍最好為2.0至2.25當量。

4.水含量

在25℃下水量為或低於4%時，S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物是安定型態。高於4%，見到S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物與S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸鹽II型之混合物。因此，對於結晶S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物的形成，系統的目標水含量最好低於4%。

5.化合物負荷量

操作在14體積份數之1-丁醇下似乎造成最受控制的結晶作用，增加體積對產率無顯現有利影響。因此，每克S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物最好利用14體積份數之1-丁醇。

6.丙酮量

一般，每克S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物係使用6體積份數之丙酮。結束此添加時，隨各滴丙酮的添加，可見到白色固體自溶液爆發出來。固體特徵消失，但加入完整6份體積後，溶液經常輕微混濁。這些觀察建議系統在此點是高度超飽和的，而且加入明顯超過6體積份數之丙酮可能造成過度強調相分離。或者，加入明顯較少之丙酮可能無法使系統達到相分

離。這可能損害球形凝聚物的形態並且對產率有負面影響。

外部參數

1. 植晶

簡言之，相分離時晶種的添加可幫助控制結晶作用。相分離時具有固體存在於分散液中提供一分散相可藉此沈積並結晶成凝聚物之基質。經由受控晶種的添加對分散液之成核作用控制受質的尺寸及形狀對控制凝聚物的整體形狀也是重要的。整個程序發展過程中，1-丁醇/丙酮系統中所加的晶種量係佔批次物中總S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物之1-3%。見到結晶行為無明顯差異。

在所用初1-丁醇/丙酮程序中，晶種(3%)係在加入丙酮前裝入。為了確定單分散粒徑分布，裝入晶種的時間最好儘可能接近相分離的時間。在開始加入丙酮之前裝入晶種可能在裝料期間不同時間引發成核作用，造成多模式分布。

1-丁醇/丙酮結晶作用的實驗步驟最好類似DMF/乙腈結晶作用中所用的。裝入大量溶劑(~90%)後，裝入近剩餘10%之一半量的晶種泥漿。剩餘溶劑將用作晶種容器及裝料線的清洗液。

2. 反應器特徵

基於利用DMF/乙腈系統的經驗，反應器的幾何也可能影響結晶的成效，大部分與產率有關。不偏好在具有大縱橫比及大表面對體積比之結晶器中，如在小圓柱瓶中完成結晶。相分離時，分散相可能沈積在器壁上而非種晶上。在

極端例子中，在窄小玻璃瓶中無植晶地進行小規模結晶作用造成整個結晶在器壁上而且事實上無固體在分散液中。因為1-丁醇/丙酮結晶作用也是一種相分離系統，預期最佳反應器是具有小縱橫比及小表面對體積比。

3. 丙酮添加

丙酮的添加程序步驟可由如35分鐘般短變化至如3小時45分鐘般長。如4.1.3節中所提般，丙酮的添加太快可能造成分散液中黏稠固體過早成核，其可能在最終產物中產生鹽之混合物。以3小時45分鐘裝入丙酮事實上顯示無任何優於2小時或1小時裝料時間之處。結束添加時，所有例子的溶液皆混濁而且所有結晶作用係如預期般進行，形成高品質S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物。因此，雖然裝入丙酮太快可能造成較短誘發時間及丙酮添加期間固體過早成核，但對最大添加時間顯然無明顯限制。目標添加時間以2小時為佳，因為其位於所發現可接受範圍中間。

4. 混合

關於液-液巷分離結晶作用，混合是一項重要參數。攪拌應充分使所形成的緊密凝聚物不會沈積在攪拌器下面"死區"中。規模大時，令氮氣溫和向上吹過底閥以最小化死區是有用的。

球形凝聚物明顯相當強壯而且不易在延長攪拌期中破裂，而且凝聚物在攪拌11天後呈現完好無缺。

在將色層分析法併入S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲

基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物之合成方法的事件中，建議在進行最終結晶作用之前，先明確特徵化色層分析產物。在色層分析法的準備工作中，將S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物粗產物溶於含有些微過量(~0.2當量)之順丁烯二酸的水中。已純化水溶液是最終1-丁醇/丙酮結晶作用的起始物。

建議已純化水性溶液在用於1-丁醇/丙酮結晶作用之前先明確特徵化其濃度、順丁烯二酸含量以及HCl含量等項。HCl部分是否會在色層分析法中被除去仍未知。在先前研究中，氯化物離子濃度可藉離子色層分析法量得。若氯化物的濃度明顯低於0.5當量(<0.45)，建議添加HCl至目標所需值。

色層分析法係僅以些微過量之順丁烯二酸進行。因此可將順丁烯二酸加入已純化溶液中以達到目標2.0當量。而且，應以酸加成物為基準精確量化S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸(游離鹼)的濃度。順丁烯二酸與S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸游離鹼的濃度已利用HPLC定量。

若從合成中移去色層分析法，溶劑交換以達到適當初狀態可利用1-丁醇做為主要溶解劑並加入剛好足夠的水量(~8%，以KF計)簡化以獲得一澄清無色溶液。然後僅短時間蒸餾此溶液以獲得低於1.5%之KF。

S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物晶體之球形規則堆積凝聚物的粉末特徵

研究實例20中所製得S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物晶體之規則堆積凝聚物以測定其粉末特徵，而這些特徵係與含有S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物及醫藥上可接受載劑之醫藥組合物的發展有關。測試前，令固體通過對應於177微米開口之80-網目篩網以打碎一些規則堆積凝聚物之非常大的鬆散凝聚物。所測試的性質包括粉末流動性特徵、粉末粒徑分布、粉末體積及捕集密度和粉末壓縮性及緊密度。

粉末流動係利用孔徑流動測試器進行評估，量得粉末可自由流過之最小開口。粉末流動測試係重複成功的通過6釐米孔徑開口。6釐米之粉末流動對S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物晶體之調配物發展而言是良好的。但是，成功的重複流過窄4-釐米開口係視如何將粉末導入測試器而定。算得17.8%之壓縮指數也指示這些S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物晶體之規則堆積凝聚物的流動特徵良好至普通。

粉末之粒徑分布係利用篩網分析量得。平均粒徑分布係利用幾何平均方法算得。粒徑分布數據係表示於圖12中。這些規則堆積凝聚物呈現134微米(自此相當於 μm)之平均粒徑。只有1.63%的物質係被視為細微的，小於75微米，而超過90%係在105-250微米內。超過75%的物質係在105-150微米。規則堆積凝聚物之粉末粒徑分布的緊密範圍係在100

與200微米之間，極希望將其用於發展含有S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物及醫藥上可接受載劑之醫藥組合物。

堆積粉末密度係以50毫升量筒內的物質質量進行評估。捕集粉末密度係在平衡點處計算得到，於此點追加捕集不改變粉末體積。規則堆積凝聚物呈現0.41克/毫升之堆積粉末密度及0.50克/毫升之捕集粉末密度。

評估直接壓縮粉末而無任何賦形劑。以重量表示100毫克之緊密度係利用8/32英吋(6.35釐米)圓凹面工具加工製造。在不同壓縮力下壓縮錠劑並評估其強度、厚度及崩解。S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物晶體之規則堆積凝聚物的直接壓縮曲線係表示於圖13中。無使用賦形劑之S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物晶體的規則堆積凝聚物係呈現良好壓縮曲線。如11-kP般硬之相當強的小錠劑(8/32英吋)可能具有介於900與1000公斤之壓縮力。錠劑強度達到介於900與1000公斤壓縮力之視最大值。在壓縮實驗期間觀察到對打孔及壓模壁的黏性小。但是，黏附係視為小問題並可容易地藉利用適當潤滑劑解決。錠劑厚度隨壓縮力而變之作用係表示於圖14中。為了S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物晶體之規則堆積凝聚物的緊密度，也評估錠劑崩解時間。以介於500與600之壓縮力壓縮三種錠劑，對此物質相當於8kP錠劑硬度。所有錠劑呈現少於2分鐘並遠低於目標10分鐘之

快速崩解時間(參見圖15)。

總言之，S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物晶體之規則堆積凝聚物顯示對含有S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物及醫藥上可接受載劑之醫藥組合物，如錠劑的發展極理想的性質。

醫藥組合物

也包含在本發明內的是一種醫藥組合物，其包含結晶S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物結合一或多種無毒、醫藥上可接受載劑及/或稀釋劑及/或佐藥(共同相當於本文之"載劑"物質)，必要時及其他活性組成份。本發明結晶S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物可以任何適合途徑給藥，較佳係以適合此途徑之醫藥組合物型態及對目標治療有效的劑量。活性S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫化物及組合物可例如經由口、血管內、腹腔內、皮下、肌肉內或局部等方式給藥。

對於經口給藥，醫藥組合物可呈，例如錠劑、膠囊、懸浮液或液體型態。此醫藥組合物最好以包含特定量活性組成份的劑量單位型態製得。此劑量單位的實例是錠劑或膠囊。活性組成份也可藉注射液如一種，例如鹽水、葡萄糖或水可用作適合載劑之組合物方式給藥。

治療活性化合物之服用量及以本發明一或多種組合物治

療疾病症狀之劑量攝食法係視多種因素而定，包括個體之年紀、體重、性別及醫學狀態、疾病的嚴重性、給藥途徑及頻率和所用特定化合物，並因此可廣泛地變化。醫藥組合物可包含範圍在約0.1至2000毫克，較佳係範圍在約0.5至500毫克，最佳係介於約1與100毫克之活性組成份。每日劑量為約0.01至100毫克/公斤體重，較佳係介於約0.5與約20毫克/公斤體重，最佳係介於約0.1與約10毫克/公斤體重是適當的。此每日劑量可以每天1至4次劑量給藥。

結晶S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物也可藉經皮吸收裝置給藥。較佳局部給藥可利用儲藥槽及多孔隔膜型或固體基質種類之貼布達到。在任一例中。活性劑係連續地由儲藥槽或微膠囊穿過隔膜運送至活性劑可滲透黏著劑，其中該黏著劑係與皮膚或接受者之黏膜接觸。若活性劑係經由皮膚吸收，則給接受者服用受控及預定流量之活性劑。在微膠囊例子中，包膠劑也可作為隔膜。

本發明乳液之油相可由已知組成份以已知方式構成。雖然該相可只包含乳化劑，但其可包含至少一種乳化劑與脂肪或油或與脂肪和油之混合物。較佳地，也包含親水性乳化劑以及作為安定劑之親脂性乳化劑。最好也包含油及脂肪。乳化劑與或不與安定劑一起構成所謂乳化蠟，而且蠟與油及脂肪一起構成所謂乳化軟膏基底，其中此基底係形成乳霜調配物之油分散相。適合用於本發明調配物之乳化劑及乳化安定劑尤其包括Tween 60、Span 80、鯨蠟硬脂基

醇、肉豆蔻醇、單硬脂酸甘油酯及月桂基硫酸鈉。

選擇適合此調配物之油或脂肪係以達到所需化粧品性質為基礎，因為活性化合物在大部分油中的溶解度是非常低，其中該油係可用於醫藥乳液調配物中。因此，乳霜應最好是不油膩、不弄髒及可清洗產物，而且其具有適合稠度以避免自管子或其他容器中洩漏。可使用直鏈或分枝鏈、單或二元烷基酯如二-異己二酸酯、硬脂酸鯨蠟酯、椰子油脂肪酸之丙二醇二酯、肉豆蔻酸異丙酯、油酸癸酯、棕櫚酸異丙酯、硬脂酸丁酯、2-乙己基棕櫚酸酯或分枝鏈酯之摻合物。這些可單獨使用或組合使用，視所需性質而定。或者，可使用高熔點脂質如白色軟石蠟及/或液體石蠟或其他礦物油。

適合局部給眼睛藥的調配物也包括眼藥水，其中活性組成份係溶或懸浮於適合載劑中，特別是組成份用之水性溶劑。活性組成份在此調配物中的存在濃度最好是0-5至20%，較佳係0.5至10%，特別是約1.5%重量/重量。

為達治療目的，S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物一般係與一或多種適合所指給藥途徑之佐藥結合。若經口給藥，化合物可與乳糖、蔗糖、澱粉、烷酸之纖維素酯、纖維素烷基酯、滑石、硬脂酸、硬脂酸鎂、氧化鎂、磷酸及硫酸之鈉鹽及鈣鹽、明膠、阿拉伯樹膠、海藻酸鈉、聚乙炔基吡咯啉酮及/或聚乙炔醇等摻混，然後製錠或包膠以方便服用。此膠囊或錠劑可包含如以活性化合物溶於羥基丙甲基纖維素之分散液提供之

控制釋放調配物。非經腸給藥之調配物可呈水性或非水性等張無菌注射溶液或懸浮液型態。這些溶液及懸浮液可由無菌粉末或顆粒製得，其中這些粉末或顆粒具有一或多種用於口服調配物所提之載劑或稀釋劑。結晶 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物可溶於水、聚乙二醇、丙二醇、乙醇、玉米油、棉籽油、花生油、芝麻油、苯甲基醇、氯化鈉及/或多種緩衝液。其他佐藥及給藥模式為醫藥技術者廣泛熟知的。

如此描述本發明，顯然可以許多方式改變該等物。此變體不被視為脫離本發明精神及範圍，而且希望如熟諳此技者清楚明白之所有此變體及同等物係包含在下列申請專利範圍內。

【圖式簡單說明】

圖 1 顯示實例 9(上圖)及實例 20(下圖)所獲得之結晶 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物的粉末 X-射線繞射圖案；

圖 2 是結晶 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物樣品(實例 11)之示差掃描熱量研究圖；

圖 3 是結晶 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物樣品(實例 11)之熱重量圖；

圖 4 是結晶 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物樣品(實例 10)之水分吸收研究圖；

圖 5 顯示由實例 20 之樣品所獲得結晶 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺

基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物的拉曼(Raman)光譜；

圖 6 是實例 9 之結晶 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物的顯微照片；

圖 7 是兩個由實例 9 所獲得之結晶 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物之隨意堆積凝聚物的 SEM 照片；圖 7A 顯示該凝聚物之一般不規則形狀，而圖 7B 顯示該凝聚物內晶體隨意堆積；

圖 8 顯示多個經由植晶 QESD 結晶程序所製得及由實例 20 所獲得之結晶 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物之規則堆積凝聚物的 SEM 照片；

圖 9 顯示兩個經由就地植晶 QESD 結晶程序所製得及由實例 23 所獲得之結晶 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物之規則堆積凝聚物的 SEM 照片；圖 9A 顯示一般圓柱狀，而圖 9B 顯示一般規則晶體；

圖 10 是三元系統之概念 x-T 圖，其中此系統呈現固定反溶劑量之 LLPS 行為；

圖 11 是顯示三元系統在固定溫度下之共存表面的圖表；

圖 12 顯示 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物之規則堆積凝聚物的粒徑分布圖；

圖 13 是錠劑硬度隨壓縮力而變之曲線；

圖 14 是錠劑硬度隨壓縮力而變之曲線；及

圖 15 是錠劑崩解時間之圖形表示。

伍、中文發明摘要：

本案揭示一種 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸之新穎混合鹽。此新穎混合鹽，S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物可被製成如一般規則堆積凝聚物般排列之晶體，其在製造醫藥組合物上是特別有用的。本案也描述此類醫藥組合物以及製造結晶 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物之方法和利用 S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸順丁烯二酸氫氯化物以治療由氧化氮合成酶之誘發異構體造成氧化氮過度表現之症狀的方法。

陸、英文發明摘要：

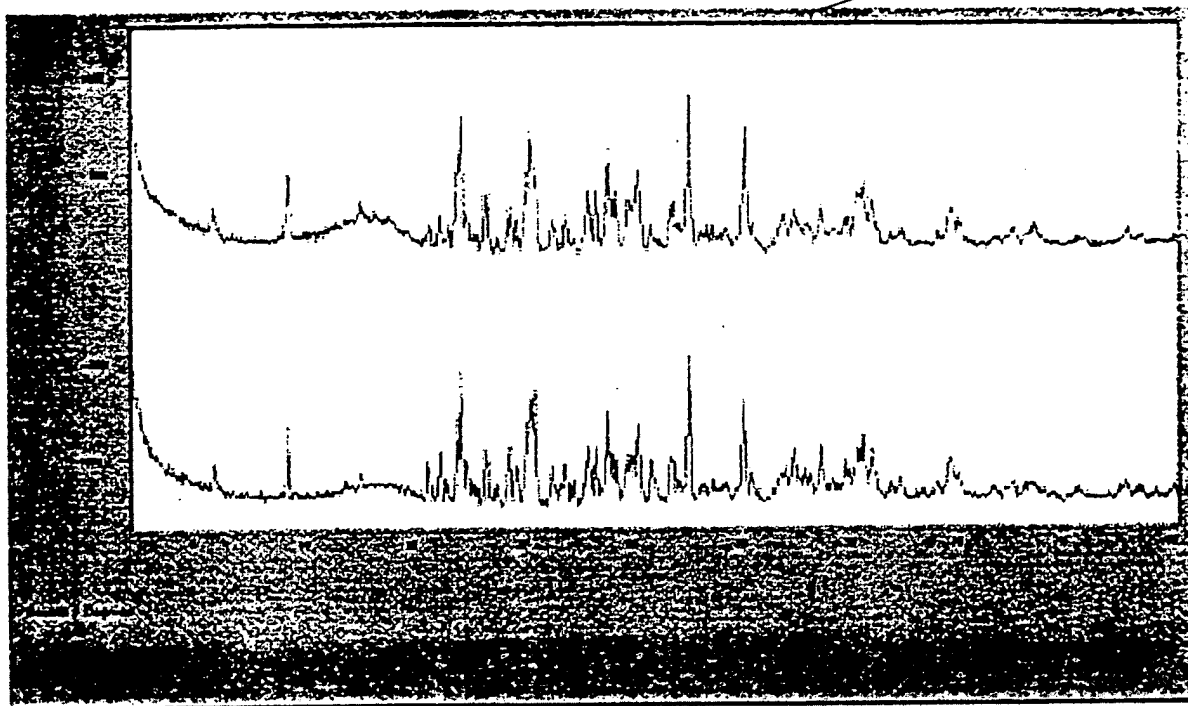
A novel mixed salt of S-[2-[(1-Iminoethyl)amino]ethyl]-2-methyl-L-cysteine is disclosed. The novel mixed salt, S-[2-[(1-Iminoethyl)amino]ethyl]-2-methyl-L-cysteine maleate hydrochloride, may be produced to form crystals that may be arranged as generally orderly packed agglomerates, which are particularly useful in making pharmaceutical compositions. Such pharmaceutical compositions are also described, as well as methods to make crystalline S-[2-[(1-Iminoethyl)amino]ethyl]-2-methyl-L-cysteine maleate hydrochloride, and methods of treating conditions characterized by an overexpression on nitric oxide from the inducible isoform of nitric oxide synthase using the S-[2-[(1-Iminoethyl)amino]ethyl]-2-methyl-L-cysteine maleate hydrochloride.

第 1 頁 共 1 頁
98 年 8 月 18 日修(更)正本

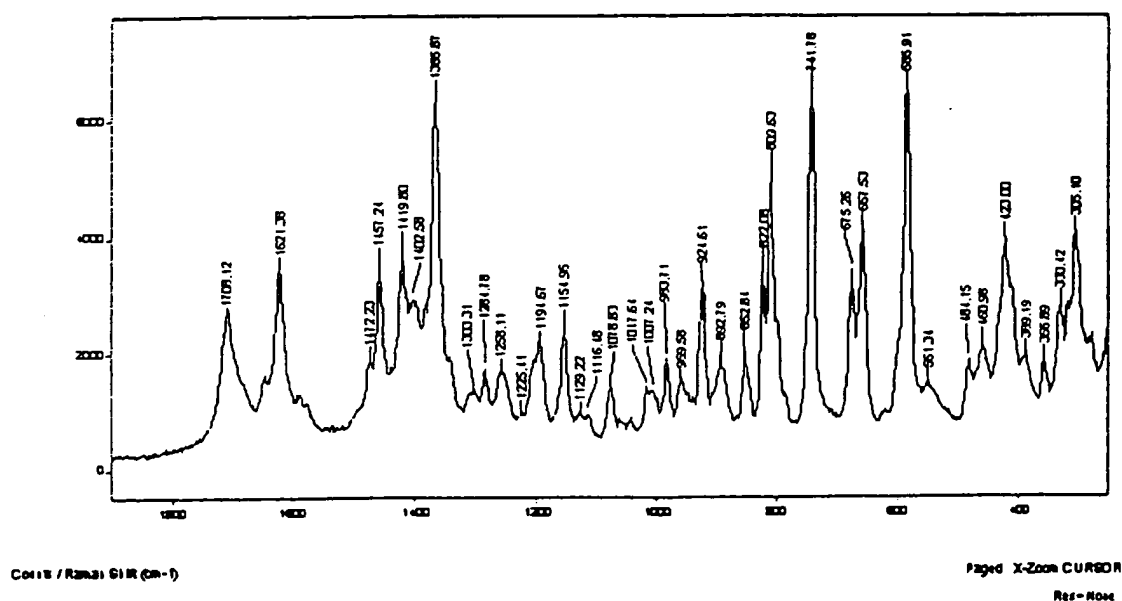
公 告 本

拾、申請專利範圍：

1. 一種兩分子S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸及一分子順丁烯二酸和一分子氫氯化物之結晶型，其可以下列至少一項為特徵：實質上如下圖所示之x-射線粉末圖案：



在約40℃至約180℃之溫度範圍的重量損失約1%；實質上如下列圖案所示之拉曼(Raman)光譜：



及實實上如下所示之元素分析：

C	H	N	S	Cl	Tm	ΔH_{fus}	DMF NMR	順丁烯二酸 NMR
40.64	6.65	14.22	10.85	6.00	無法取得	無法取得	0.000	0.500
40.29	6.53	14.03	10.79	6.06	193.91	140.18	0.019	0.525
40.41	6.77	14.31	10.86	6.11	199.17	無法取得	0.027	0.490
40.42	6.87	14.26	10.77	6.19	199.50	130.48	無法取得	無法取得

- 如申請專利範圍第1項之兩分子S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸及一分子順丁烯二酸和一分子氫氯化物之結晶型，其中許多晶體是群聚成凝聚物。
- 如申請專利範圍第2項之兩分子S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸及一分子順丁烯二酸和一分子氫氯化物之結晶型，其中該許多晶體係群聚成一般規則堆積凝聚物。
- 如申請專利範圍第1項之兩分子S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸及一分子順丁烯二酸和一分子

氫氯化物之結晶型，其係用於治療或預防合成或過度合成氧化氮而形成促成部分之疾病或症狀。

5. 一種具有氧化氮合成酶抑制活性之醫藥組合物，其包含申請專利範圍第1項兩分子S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸及一分子順丁烯二酸和一分子氫氯化物之結晶型及醫藥上可接受載劑。
6. 一種利用一結晶程序製造如申請專利範圍第3項之兩分子S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸及一分子順丁烯二酸和一分子氫氯化物之結晶型之一般規則堆積凝聚物之方法，其利用一結晶步驟，包括將反溶劑加入溶解兩分子S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸及一分子順丁烯二酸和一分子氫氯化物之溶劑溶液中，因此形成一包含兩相之系統並沈澱兩分子S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸及一分子順丁烯二酸和一分子氫氯化物之結晶型之一般規則堆積凝聚物。
7. 如申請專利範圍第6項之方法，其中將反溶劑溶液加入溶解兩分子S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸及一分子順丁烯二酸和一分子氫氯化物之溶劑溶液中，接著將種晶加入系統中。
8. 如申請專利範圍第6項之方法，其中該反溶劑包含丙酮。
9. 如申請專利範圍第6項之方法，其中該溶劑溶液包含1-丁醇及兩分子S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸及一分子順丁烯二酸和一分子氫氯化物。

10. 如申請專利範圍第6項之方法，其中該反溶劑包含乙腈，而該溶劑溶液包含 *N,N*-二甲基甲醛及兩分子 *S*-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-*L*-半胱胺酸及一分子順丁烯二酸和一分子氫氯化物。
11. 如申請專利範圍第6項之方法，其中該反溶劑包含丙酮，而該溶劑溶液包含 1-丁醇及兩分子 *S*-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-*L*-半胱胺酸及一分子順丁烯二酸和一分子氫氯化物。
12. 如申請專利範圍第7項之方法，其中在系統中導入不低於約 1 重量%之總兩分子 *S*-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-*L*-半胱胺酸及一分子順丁烯二酸和一分子氫氯化物以作為所加種晶。
13. 如申請專利範圍第6項之方法，其中在一反應容器中將足夠量之反溶劑加入包含兩分子 *S*-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-*L*-半胱胺酸及一分子順丁烯二酸和一分子氫氯化物之溶劑溶液中以形成一反應系統，直到下列情況之一明顯可見：a)混濁或b)油狀層於該反應容器表面上，並將種晶加入該系統中。
14. 如申請專利範圍第7項之方法，其中該種晶係就地藉由下列至少一種方式所產生的：降低溶劑溶液之水含量；降低順丁烯二酸之用量；和改變超飽和產生速率。
15. 如申請專利範圍第6項之方法，其中該系統無添加種晶，而且加入系統之反溶劑比例超過溶解兩分子 *S*-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-*L*-半胱胺酸及一分子順丁烯

二酸和一分子氫氯化物之溶劑溶液的比率約110重量%，其中該重量百分比為系統中所用反溶劑對溶劑之1比例，其中加入種晶以沈澱兩分子S-[2-[(1-亞胺乙基)胺基]乙基]-2-甲基-L-半胱胺酸及一分子順丁烯二酸和一分子氫氯化物之一般規則堆積凝聚物。

公告本

拾壹、圖式：

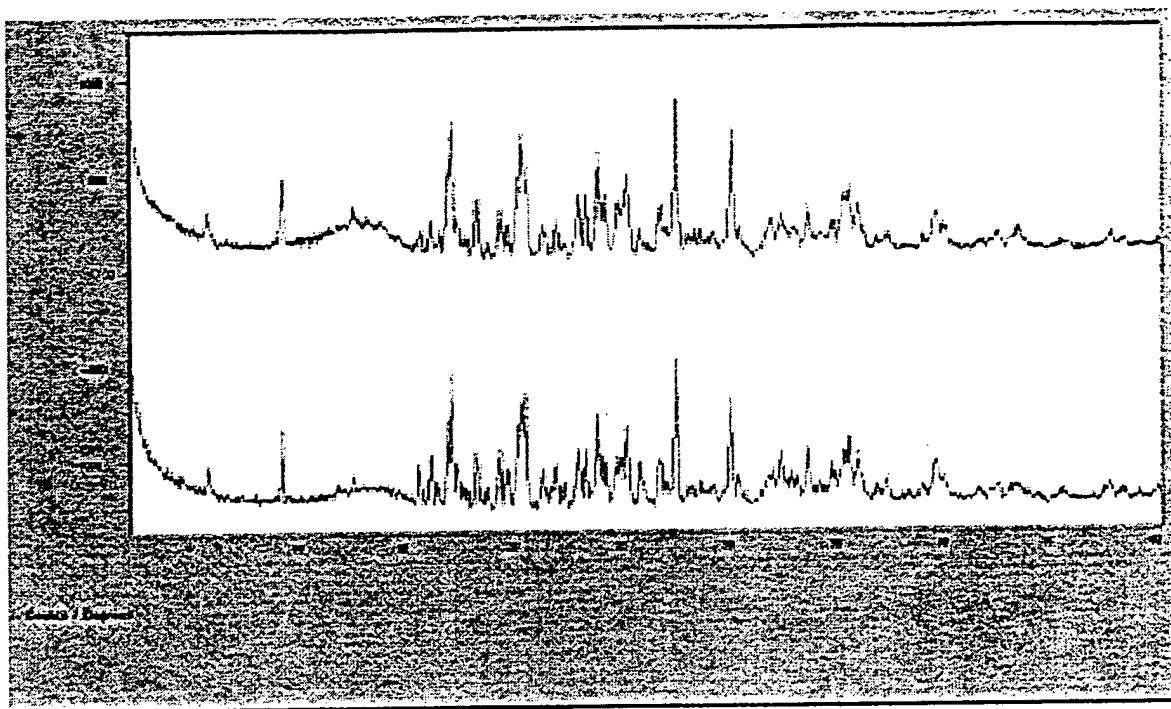


圖 1

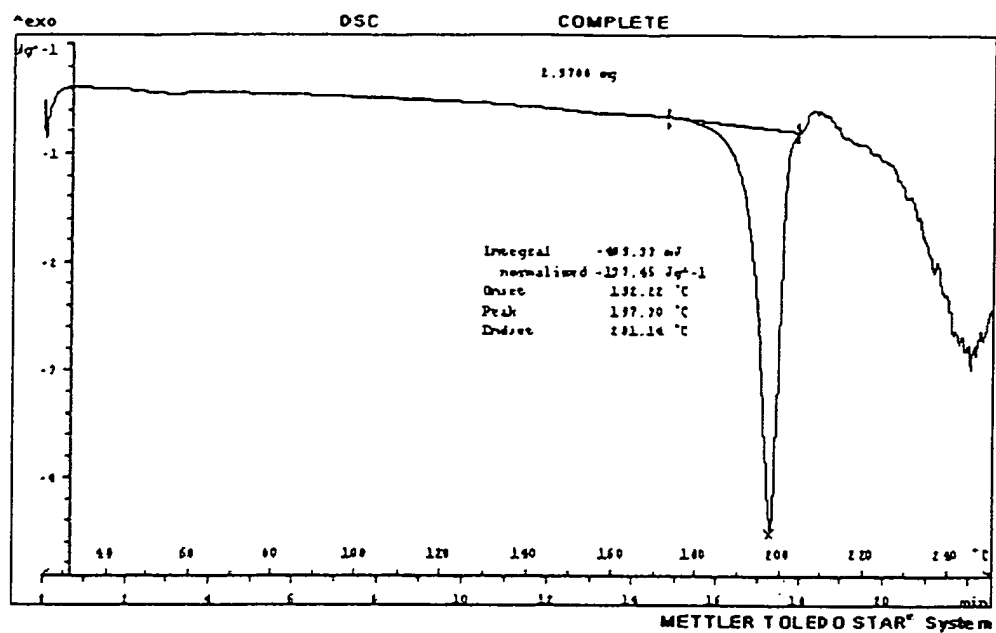


圖 2

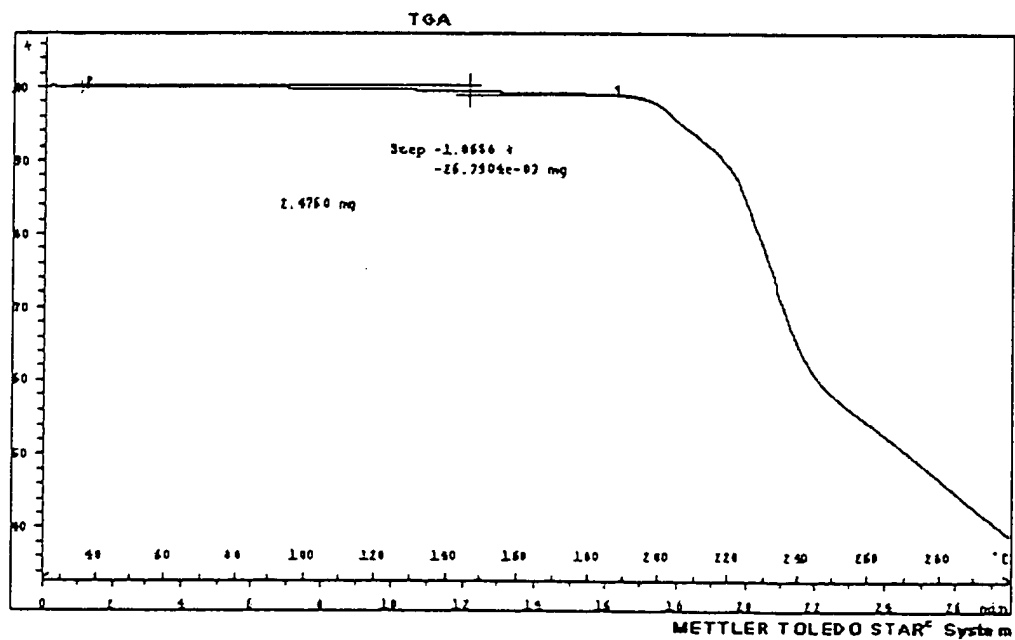


圖 3

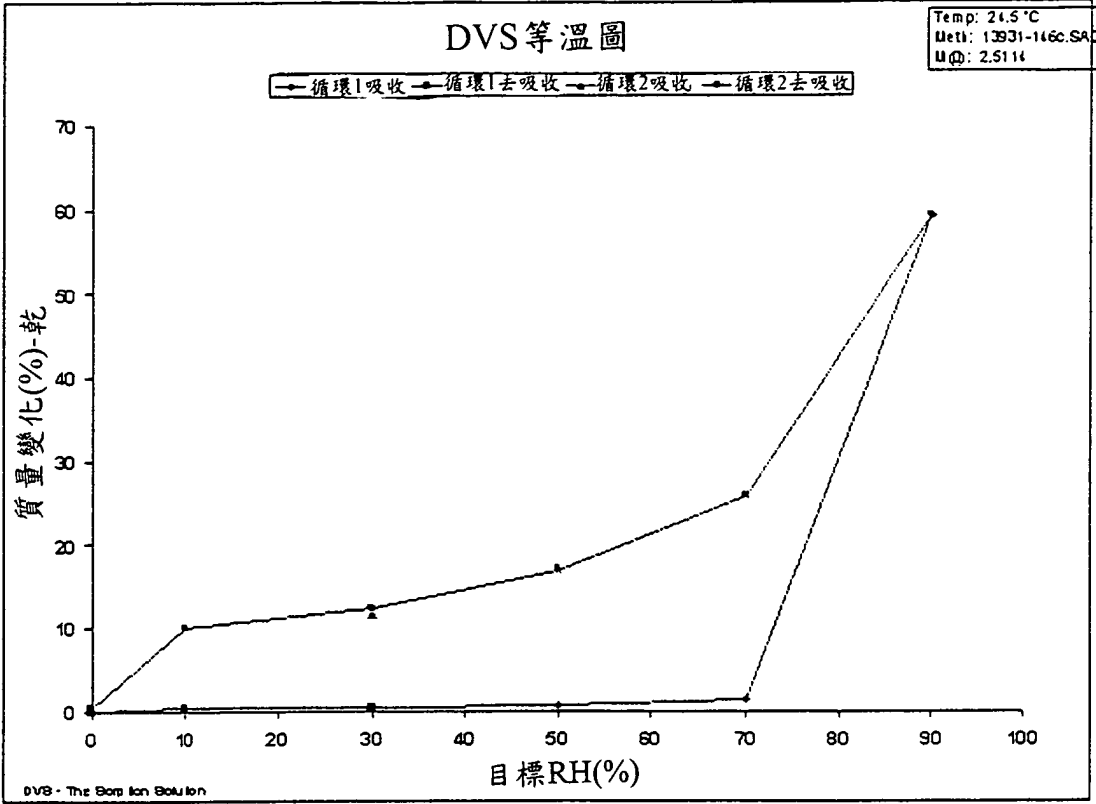


圖 4

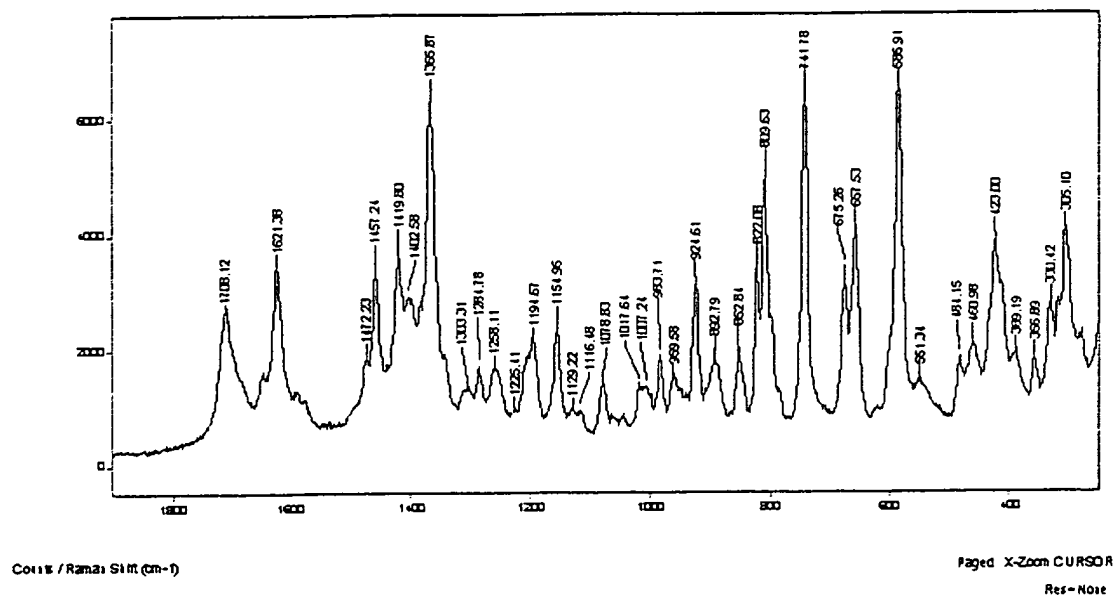


圖 5

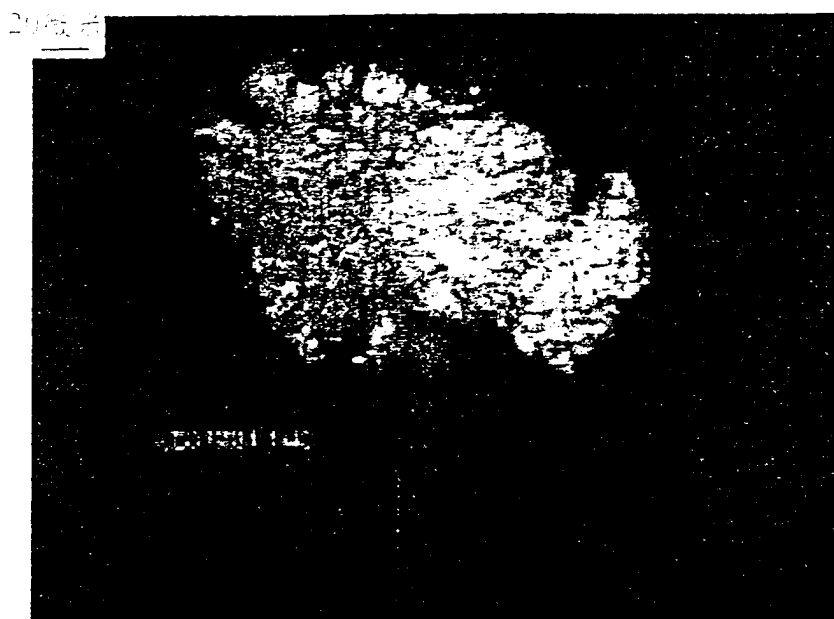


圖 6

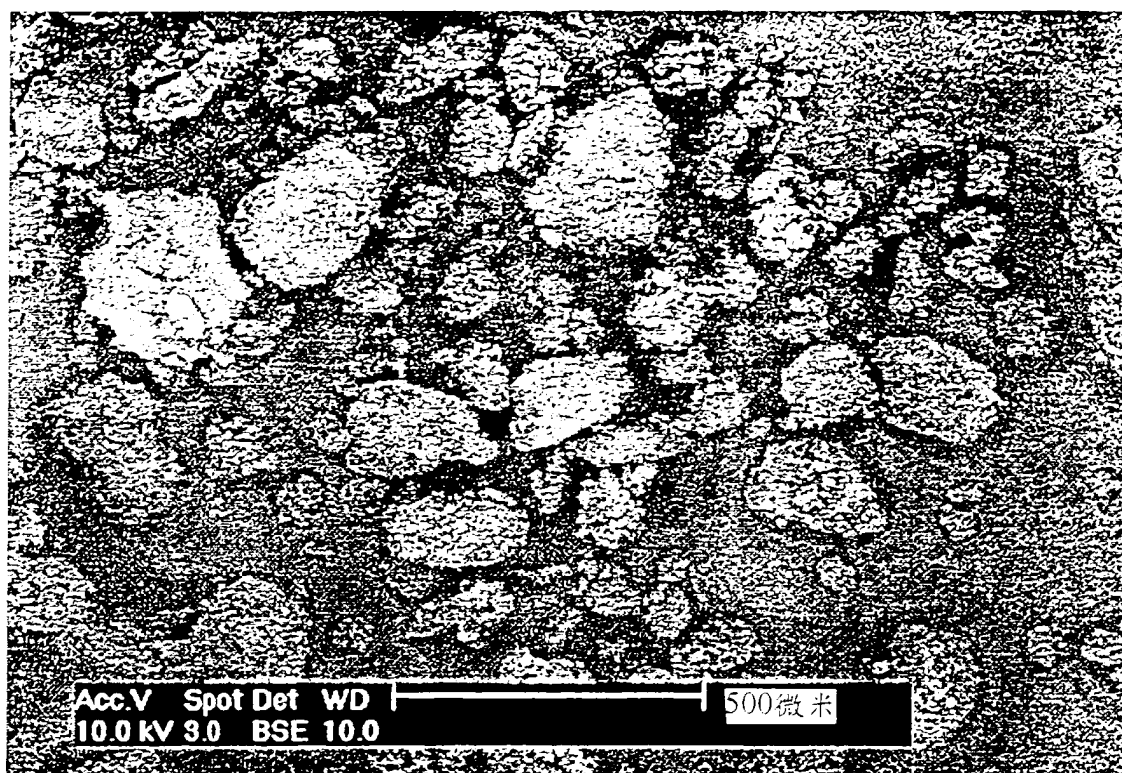


圖 7A

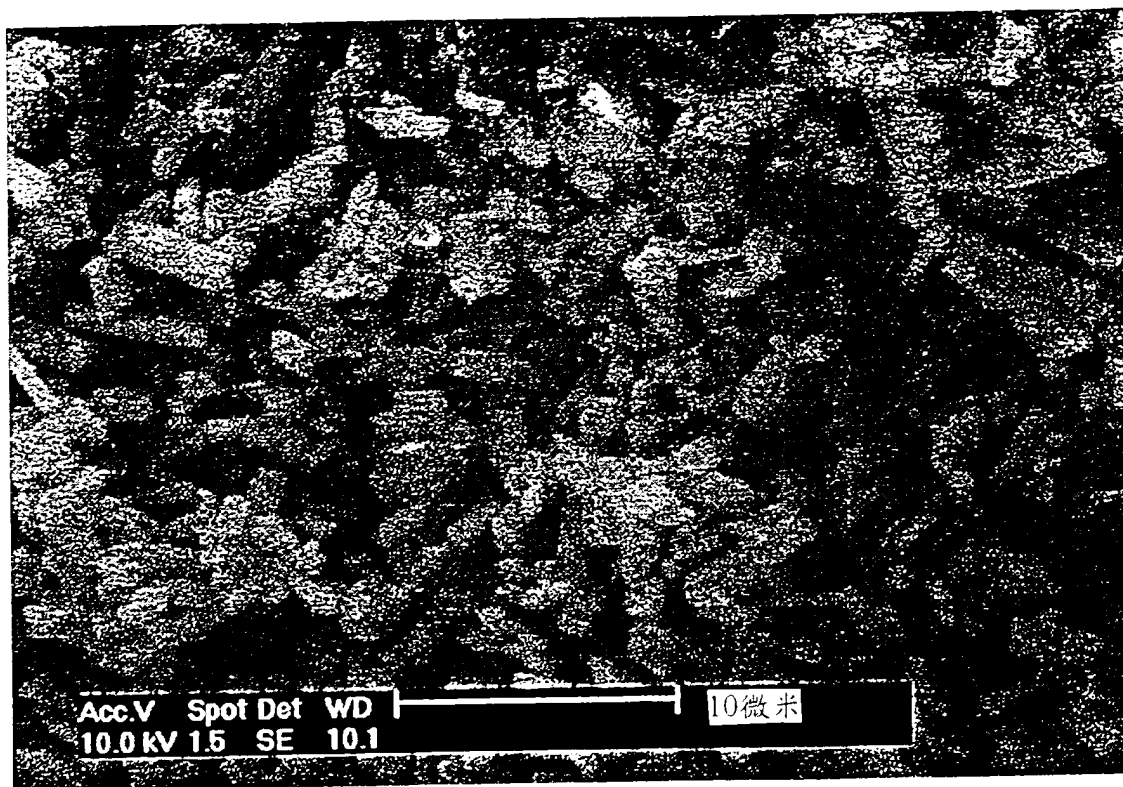


圖 7B

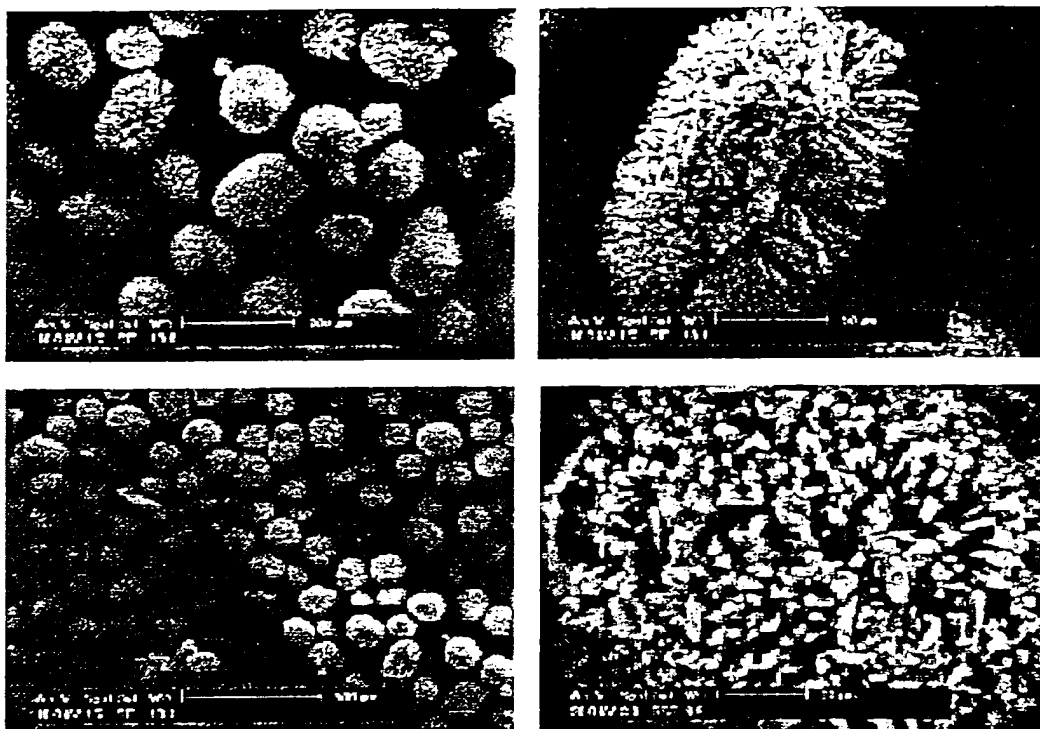


圖 8

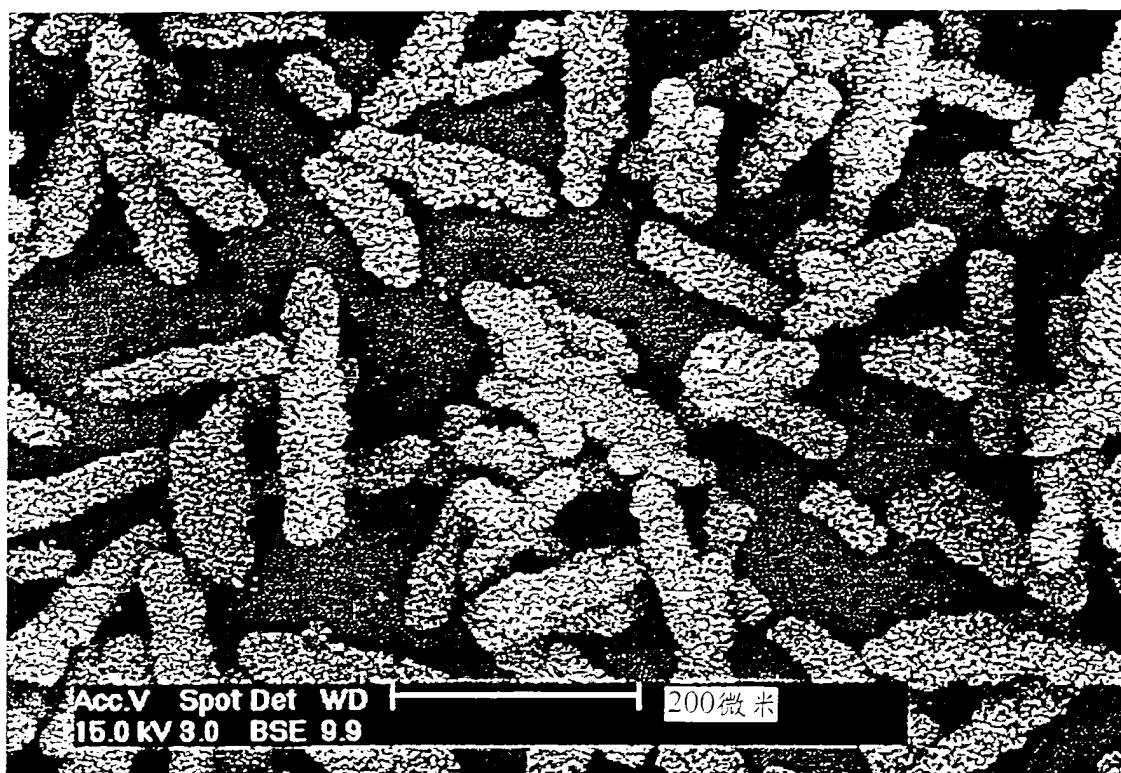


圖 9 A

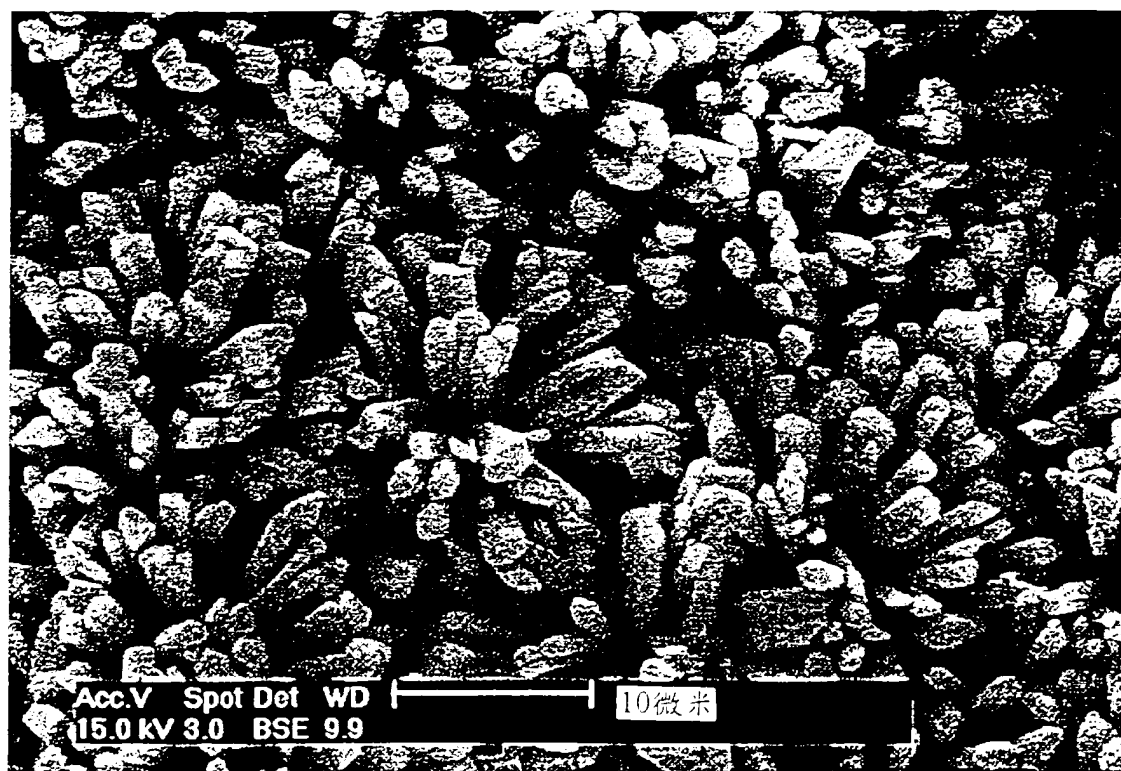


圖 9 B

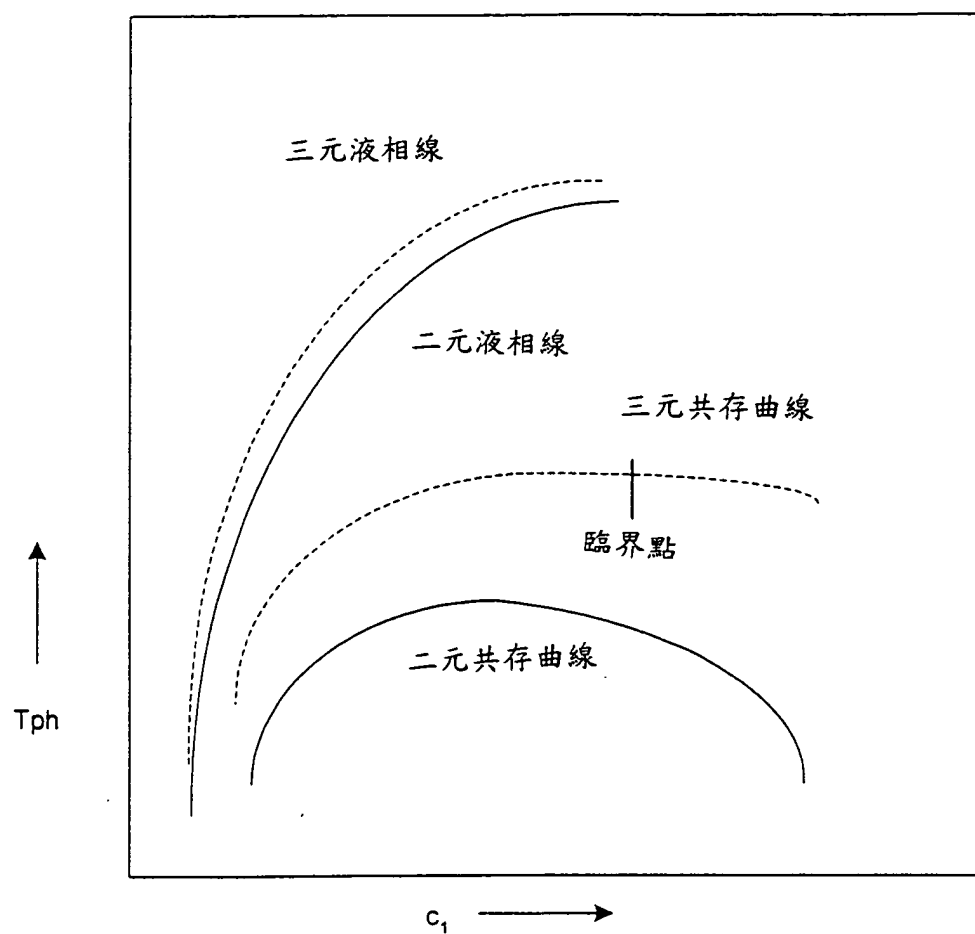


圖 10

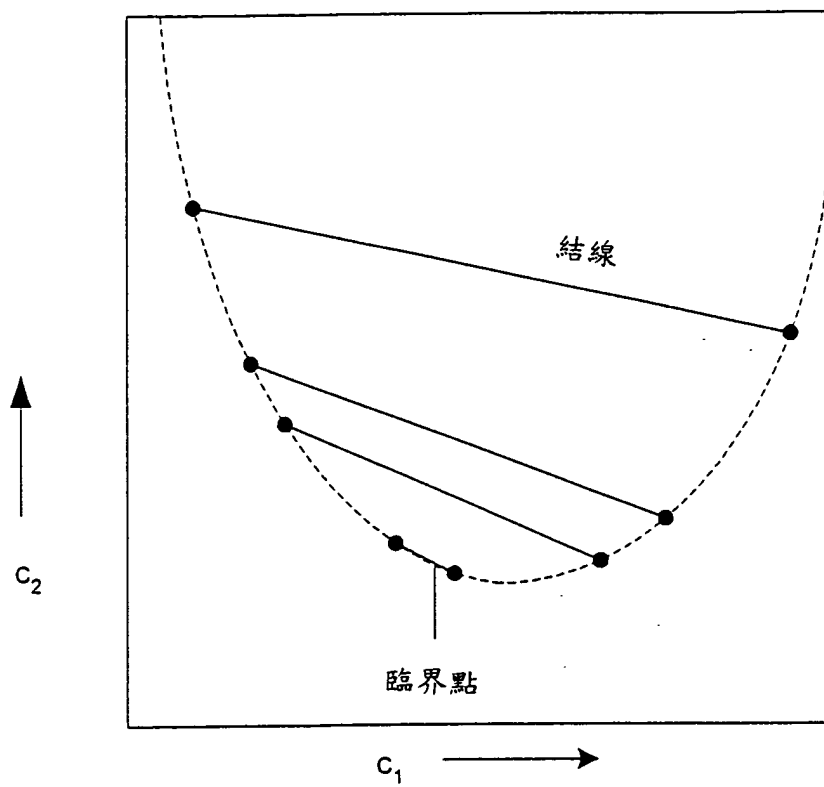


圖 11

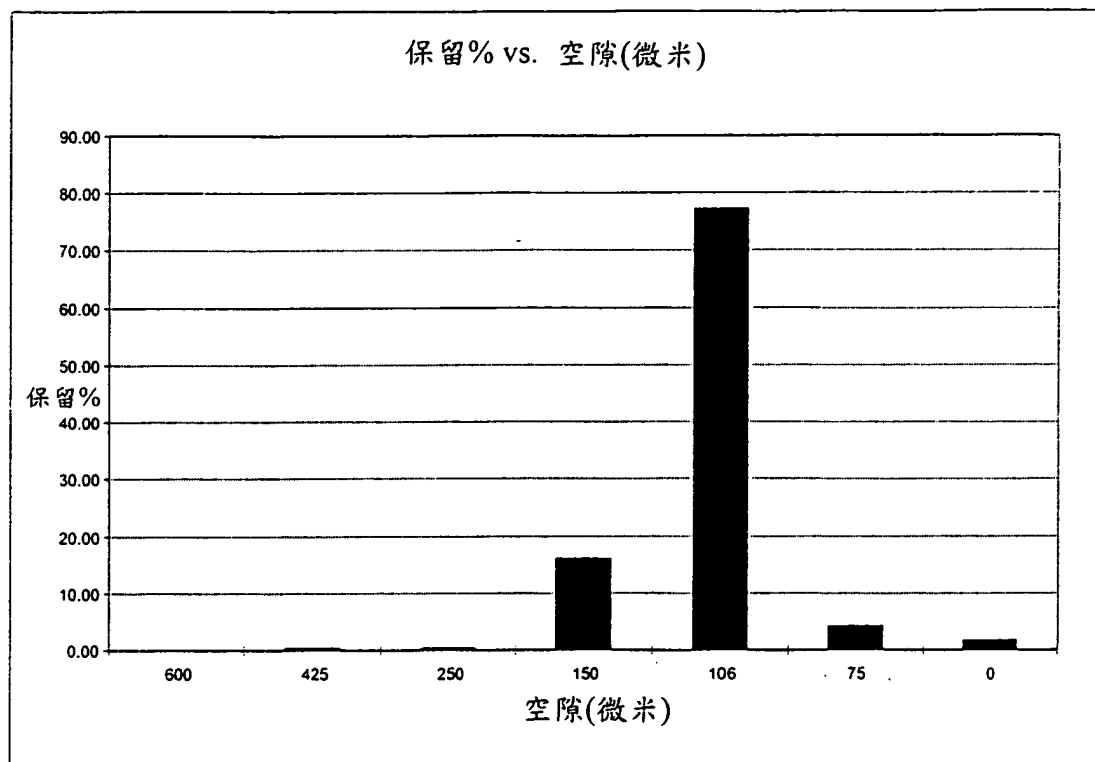


圖 12

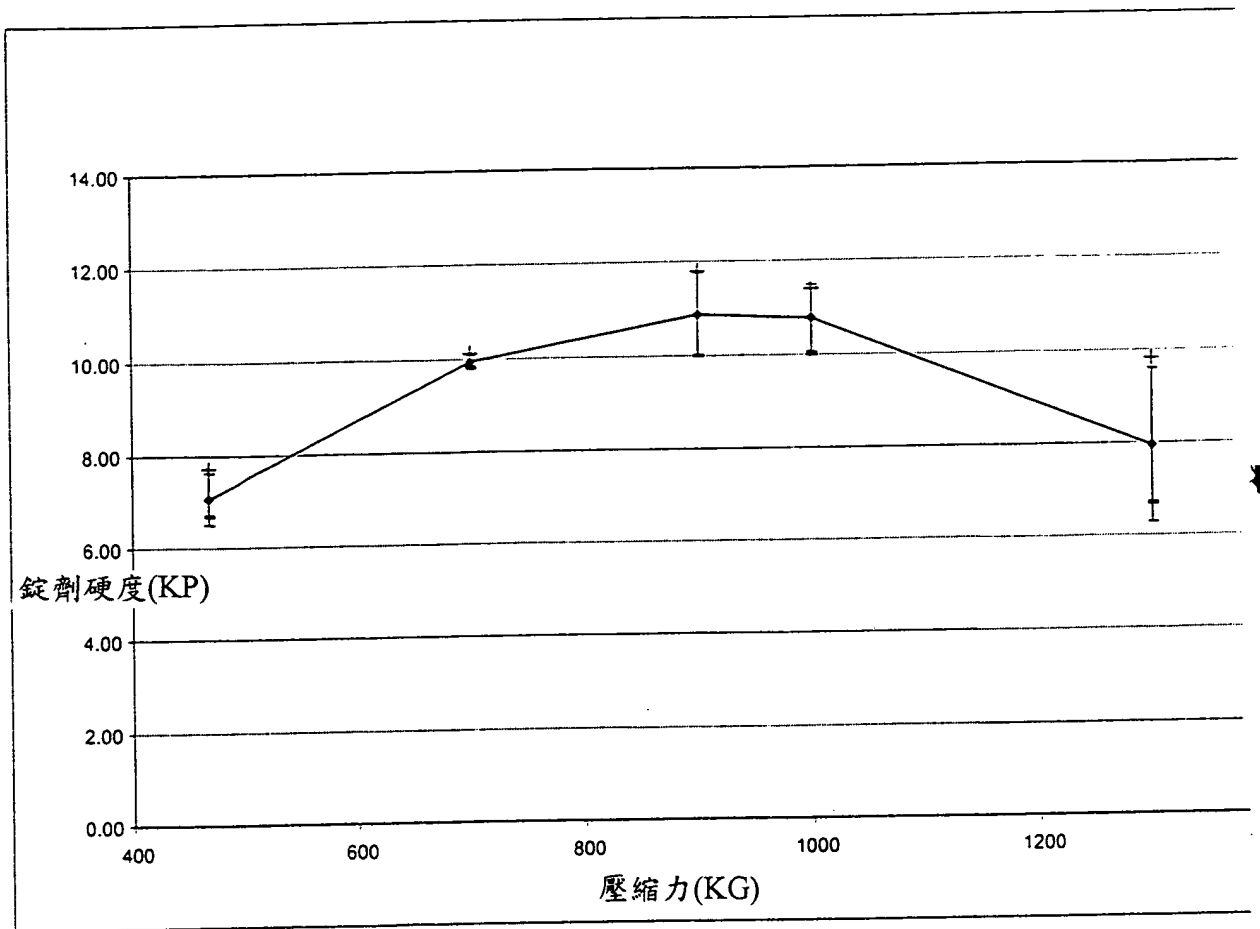


圖 13

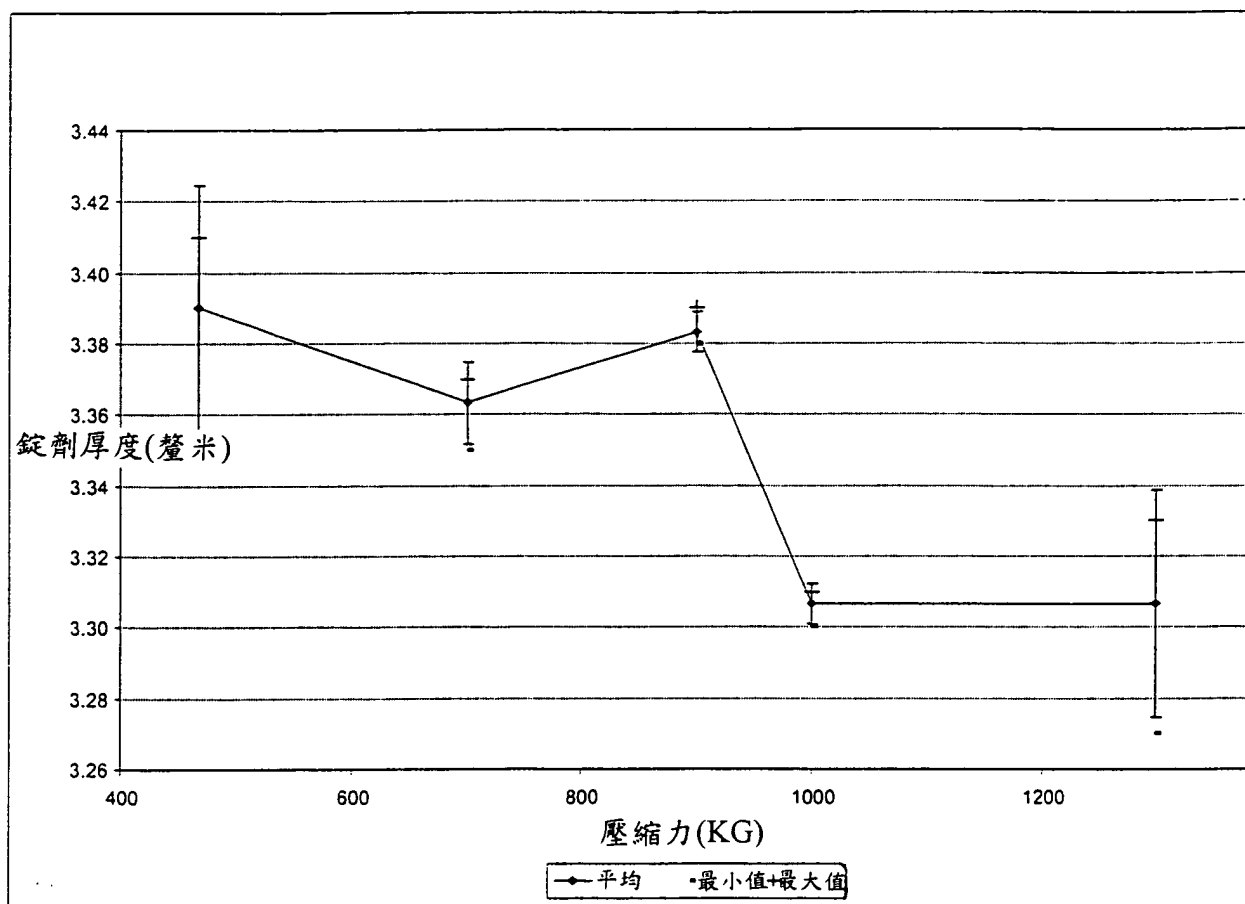


圖 14

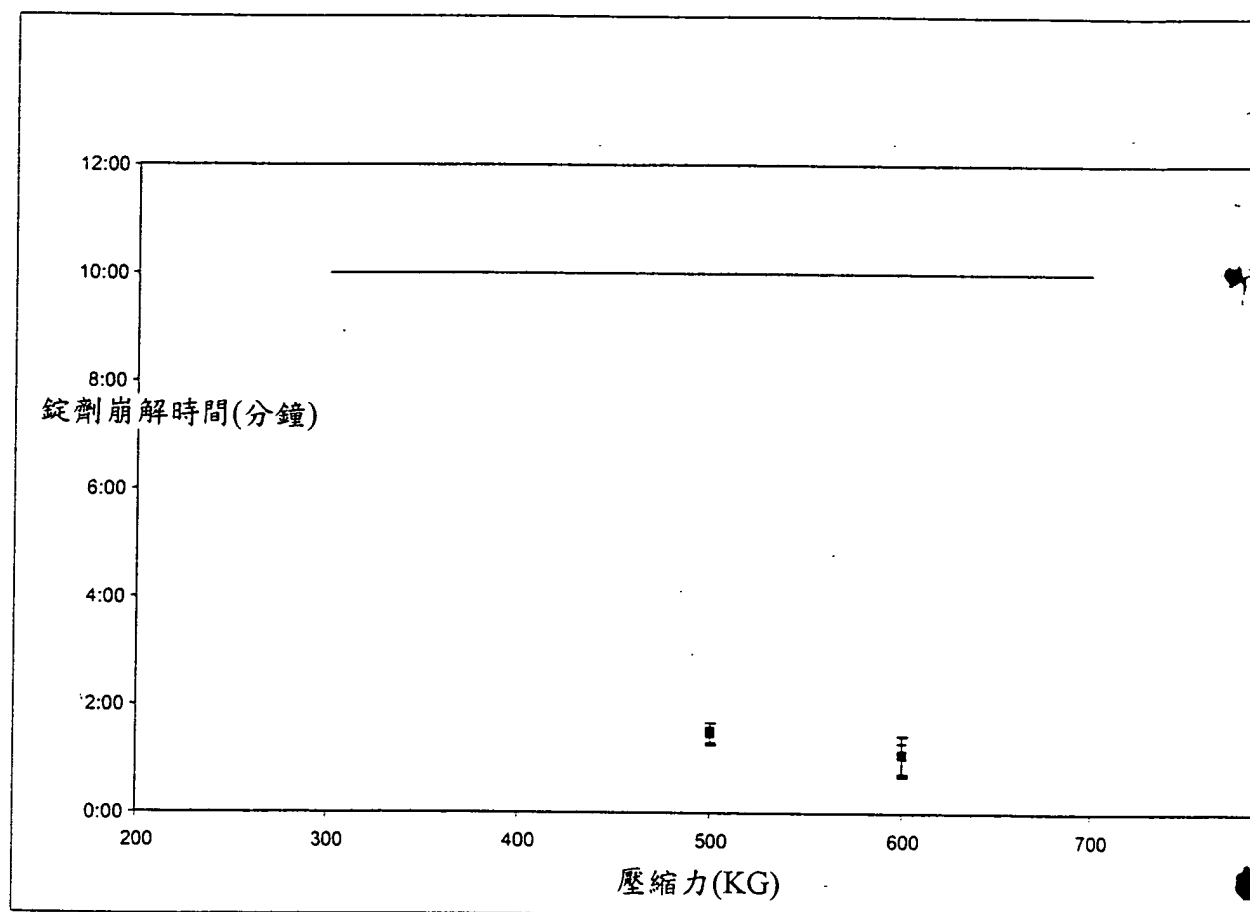


圖 15

柒、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第 (1) 圖。

(二)本代表圖之元件代表符號簡單說明：

(無元件代表符號)

捌、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

(無)