



(21)申請案號：112144420 (22)申請日：中華民國 98 (2009) 年 05 月 25 日

(51)Int. Cl. : C07C237/26 (2006.01) A61K31/65 (2006.01)
A61P31/04 (2006.01) A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2008/05/23 美國 61/128,712

(71)申請人：美商 P R T K S P V 2 公司 (美國) PRTK SPV2 LLC (US)
美國

(72)發明人：維托威克 雷蒙 CVETOVICH, RAYMOND (US)；華克霍 泰德斯 WARCHOL, TADEUSZ (US)

(74)代理人：林志剛

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：1 項 圖式數：10 共 84 頁

(54)名稱
四環素化合物之甲苯磺酸鹽及同素異形體

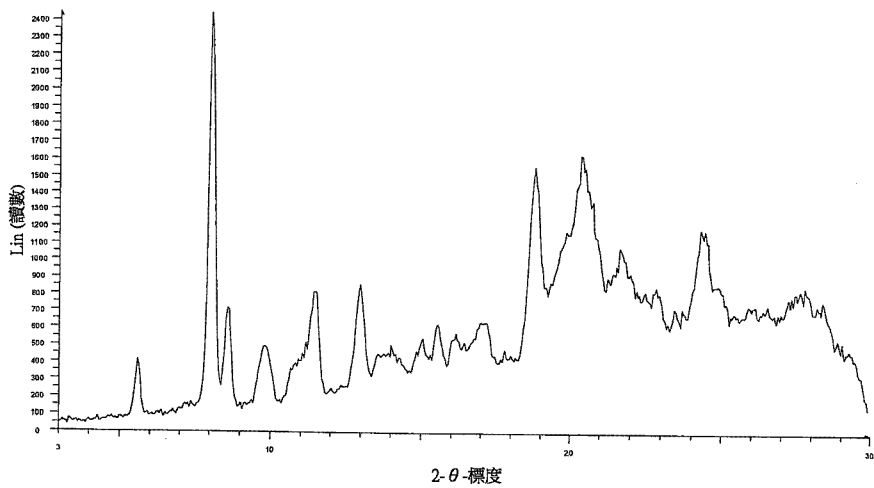
(57)摘要

本發明提出可用於治療對四環素化合物有反應狀態之化合物的結晶形，包括其鹽類與同素異形體。該結晶化合物可用於治療或預防諸如細菌感染與腫瘤之狀態與病症，以及四環素化合物一般之習知應用。

Crystalline forms, including salts and polymorphs, of a compound useful in the treatment of tetracycline compound-responsive states are provided herein. The crystalline compounds are useful for the treatment or prevention of conditions and disorders such as bacterial infections and neoplasms, as well as other known applications for tetracycline compounds in general.

指定代表圖：

圖 1



【發明摘要】

【中文發明名稱】

四環素化合物之甲苯磺酸鹽及同素異形體

【英文發明名稱】

TOSYLATE SALTS AND POLYMORPHS OF A TETRACYCLINE
COMPOUND

【中文】

本發明提出可用於治療對四環素化合物有反應狀態之化合物的結晶形，包括其鹽類與同素異形體。該結晶化合物可用於治療或預防諸如細菌感染與腫瘤之狀態與病症，以及四環素化合物一般之習知應用。

【英文】

Crystalline forms, including salts and polymorphs, of a compound useful in the treatment of tetracycline compound-responsive states are provided herein. The crystalline compounds are useful for the treatment or prevention of conditions and disorders such as bacterial infections and neoplasms, as well as other known applications for tetracycline compounds in general.

【代表圖】

【本案指定代表圖】圖 1

【本代表圖之符號簡單說明】：無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

四環素化合物之甲苯磺酸鹽及同素異形體

【英文發明名稱】

TOSYLATE SALTS AND POLYMORPHS OF A TETRACYCLINE
COMPOUND

【技術領域】

本發明關於可用於治療對四環素化合物有反應狀態之化合物的結晶形，包括其鹽類與同素異形體。該結晶化合物可用於治療或預防諸如細菌感染與腫瘤之狀態與病症，以及四環素化合物一般之習知應用。

相關申請案

本申請案主張在 35 USC. 119(e)下有關於 2008/5/23 提出之待審美國臨時申請案第 61/128,712 號的優先權，該案完整內容併入本文中。

【先前技術】

四環素抗生素的發展係將全世界許多處收集而來的土壤樣本系統性篩選以證明可以製造殺菌及/或抑菌組成物之微生物的直接結果。此等新穎化合物的第一者係在 1948 年以氯四環素之名提出。兩年後，氧四環素問世。

此等化合物的化學結構之說明確認彼等之相似性並對於 1952 年此群組之第三個成員—四環素—的製造提供分析基礎。無環附接之甲基存在於早期四環素中的四環素化合物新家族係於 1957 年製出，且在 1967 年可公開取得；而美諾四環素係在 1972 年時才被使用。

近年來，研究工作已集中在發展在不同治療條件與投藥途徑下有效之新穎四環素抗生素組成物。亦已研究新穎四環素類似物，彼等可以證實與最初引進之四環素化合物同等或更有效。實例包括美國專利第 2,980,584；2,990,331；3,062,717；3,165,531；3,454,697；3,557,280；3,674,859；3,957,980；4,018,889；4,024,272；與 4,126,680 號。此等專利專利係藥學活性四環素與類似物組成物範圍的代表。

就歷史上來說，在最初發展與採用四環素後不久即發現其對立克次體、一些革蘭氏陽性菌與革蘭氏陰性菌具有高度藥理有效性；且該等藥劑可用於治療性病性淋巴肉芽腫（*lymphogranuloma venereum*）、包涵體結膜炎與鸚鵡病。因此，四環素變成習知之「廣效性」抗生素。隨著隨後確立其試管內抗微生物活性、實驗感染之效用，及藥理性質，四環素成為迅速廣泛用於治療目的之一類藥劑。然而，在重大與輕微疾病與病害二方面廣泛使用四環素直接導致即使在共生與致病性二者之高度敏感細菌種（例如肺炎雙球菌與沙門氏桿菌）當中亦出現對於此等抗生素的抗藥性。抗四環素微生物增加已造成四環素與四環素類似物

組成物作為抗生素選擇的用途全面減少。

每一種藥學化合物均具有最適治療血中濃度與致死濃度。該化合物的生物利用率決定為獲得理想血中濃度必要之在藥物調配物中的劑量濃度。若該藥物可結晶為二或更多種生物利用率不同之同素異形體，該最適劑量將視存在該調配物中之同素異形體而定。某些藥物顯示其在治療與致死濃度之間僅有狹窄邊限。例如，棕櫚酸氯黴素（Chloramphenicol-3-palmitate；CAPP）係習知結晶成至少三種同素異形體形式與一種非晶形的廣效性抗生素。最安定之形式 A 係在市面銷售。該同素異形體與另一形式 B 之間的生物活性差異為 8 倍，因此若因處理及/或貯存期間之變更而不知情地作為形式 B 投藥，則會產生該化合物致死藥劑過量的可能性。因此，管理機構（諸如美國食品暨藥物管理局）已開始對於固體劑型的活性組份之同素異形體含量嚴加控制。通常，就以同素異形體形式存在之藥物而言，若有純淨、熱力學較佳之同素異形體以外之任何一者在市面銷售，管理機構可能需要逐批監控。如此，就醫藥與商業因素兩方面而言，重要的是製造並銷售熱力學最安定同素異形體且實質上無其他動力學傾向同素異形體的純藥物。

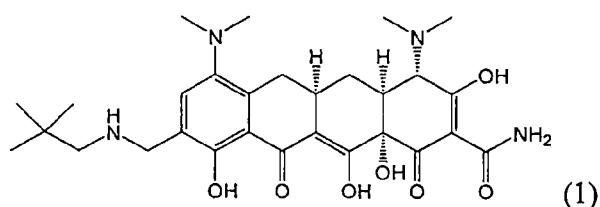
例如，化合物之鹽形式與該自由化合物或鹽的同素異形體形式在藥學技術中已知會影響例如該化合物的溶解性、溶解速率、生物利用率、化學與物理安定性、流動性、破裂性與壓縮性，以及以該化合物為底質之藥物產品

的安全性與功效（詳見例如 Knapman, Modern Drug Discovery, 2000, 3 (2) : 53）。

因此，具有最適物理與化學性質之某一化合物的鹽形式或游離鹼之辨識將促進四環素化合物作為藥物的發展。此種物理與化學性質之最有用者包括：容易且可再現地製備、結晶性、不吸濕性、水性溶解性、對可見光與紫外線之安定性、在溫度與濕度之加速安定性條件下變質之速率低、在同質異構形式間之同質異構化的速率低，以及對人類長期投藥的安全性。

【發明內容】

在一具體實例中，本發明至少部分關於以下胺基烷基四環素化合物（化合物 1）之安定固態形式，諸如結晶形：



（4S,4AS,5AR,12AS）-4-7-雙（二甲基胺基）-9-〔〔（2,2-二甲基丙基）胺基〕甲基〕-3,10,12,12A-四羥基-1,11-二氧-1,4,4A,5,5A,6,11,12A-八氫稠四苯-2-羧醯胺（9-（2,2-二甲基-丙基-胺基甲基）美諾四環素）。

在另一具體實例中，本發明至少部分關於化合物 1 之 HCl 鹽。在另一具體實例中，本發明至少部分關於化合物 1 之甲苯磺酸鹽（對甲苯磺酸鹽）。在另一具體實例中，本發明至少部分關於化合物 1 之甲磺酸鹽。

在另一具體實例中，本發明至少部分關於化合物 1 之安定結晶形。

在另一具體實例中，本發明至少部分關於化合物 1 的鹽之安定結晶形。例如，一種鹽之安定結晶形係化合物 1 之甲苯磺酸鹽、HCl 或甲磺酸鹽的安定結晶形。

在另一具體實例中，本發明至少部分關於化合物 1 之同素異形體。

在另一具體實例中，本發明至少部分關於化合物 1 的鹽之同素異形體。

例如，本發明有關化合物 1 的甲苯磺酸鹽之同素異形體。本發明部分有關化合物 1 之形式 1 同素異形體。本發明部分有關化合物 1 之形式 2 同素異形體。本發明部分有關化合物 1 之形式 3 同素異形體。

例如，化合物 1 之甲苯磺酸鹽的形式 1 同素異形體之使用 Cu K α 輻射的 X 射線粉末繞射尖峰在約 8.06、13.02 與 18.83 °2 θ 。在某些具體實例中，化合物 1 之甲苯磺酸鹽的形式 1 同素異形體之使用 Cu K α 輻射的 X 射線粉末繞射尖峰在約 8.06、11.41、13.02、18.83、20.54 與 24.53 °2 θ 。在某些具體實例中，化合物 1 之甲苯磺酸鹽的形式 1 同素異形體之使用 Cu K α 輻射的 X 射線粉末繞射尖峰在約 5.60、8.06、8.57、11.41、13.02、15.58、18.83、20.54 與 24.53 °2 θ 。

例如，化合物 1 之甲苯磺酸鹽的形式 1 同素異形體在約 0°C 至約 70°C 的範圍內之溫度下呈安定。在某些具體實

例中，化合物 1 之甲苯磺酸鹽的形式 1 同素異形體在約 5 °C 至約 50 °C 的範圍內之溫度下呈安定。在某些具體實例中，化合物 1 之甲苯磺酸鹽的形式 1 同素異形體在約 20 °C 至約 30 °C 的範圍內之溫度下呈安定。

該化合物 1 之甲苯磺酸鹽的形式 1 同素異形體可藉從異丙醇結晶該化合物 1 之甲苯磺酸鹽而製得。

例如，化合物 1 之甲苯磺酸鹽的形式 2 同素異形體之使用 Cu K α 輻射的 X 射線粉末繞射尖峰在約 7.82、11.88、16.12 與 21.46 °2 θ 。

例如，化合物 1 之甲苯磺酸鹽的形式 3 同素異形體之使用 Cu K α 輻射的 X 射線粉末繞射尖峰在約 5.11、8.89、10.34、11.76 與 15.60 °2 θ 。

在另一具體實例中，本發明包括包含化合物 1 之結晶形與藥學上可接受之稀釋劑、賦形劑或載體的藥學組成物。

例如，本發明之藥學組成物包括包含化合物 1 之同素異形體與藥學上可接受之稀釋劑、賦形劑或載體的組成物。

在另一具體實例中，本發明之藥學組成物包括化合物 1 之鹽與藥學上可接受之稀釋劑、賦形劑或載體。例如，該鹽可為 HCl 鹽、甲苯磺酸鹽或甲磺酸鹽。

在另一具體實例中，本發明之藥學組成物包括化合物 1 之同素異形體與藥學上可接受之稀釋劑、賦形劑或載體。例如，該同素異形體可為化合物 1 之甲苯磺酸鹽、

HCl 鹽或甲磺酸鹽的同素異形體。

在某些具體實例中，該藥學組成物包含呈純的形式的化合物 1 之同素異形體或其鹽。

在另一具體實例中，本發明之藥學組成物包括化合物 1 之甲苯磺酸鹽的同素異形體與藥學上可接受之稀釋劑、賦形劑或載體。例如，該同素異形體可為化合物 1 之甲苯磺酸鹽的形式 1、形式 2 或形式 3 同素異形體。

在某些具體實例中，該藥學組成物包含呈純的形式之化合物 1 的甲苯磺酸鹽、HCl 鹽或甲磺酸鹽之同素異形體。

在本發明其他方面，化合物 1 之鹽比化合物 1 之游離鹼更安定。

在另一具體實例中，本發明包括一種用於製備化合物 1 之安定結晶形的方法。

在另一具體實例中，本發明包括一種用於製備化合物 1 的鹽之安定結晶形的方法。例如，該安定結晶可為化合物 1 之甲苯磺酸鹽、HCl 或甲磺酸鹽的結晶。

在另一具體實例中，本發明包括一種用於製備化合物 1 的鹽之同素異形體的方法。例如，該同素異形體可為化合物 1 之甲苯磺酸鹽、HCl 或甲磺酸鹽的同素異形體。

在另一具體實例中，本發明包括一種用於製備化合物 1 的甲苯磺酸鹽之同素異形體的方法。例如，該同素異形體可為化合物 1 之甲苯磺酸鹽的形式 1、形式 2 或形式 3 同素異形體。

在一具體實例中，本發明包括一種用於製備化合物 1 的甲苯磺酸鹽之形式 1 同素異形體的方法，其中該方法包括：混合化合物 1 與溶劑以製造漿體；及添加對甲苯磺酸。例如，該溶劑可為醇溶劑，諸如異丙醇。該對甲苯磺酸的提供量相對於化合物 1 之量為 25 至 75 重量%，例如相對於該化合物 1 之量為 25 至 50 重量%、30 至 40 重量%，或 33 重量%。例如，該對甲苯磺酸係以對甲苯磺酸一水合物之形式提供。

例如，該漿體在添加對甲苯磺酸之前係經加溫。

例如，該漿體在添加對甲苯磺酸之後加以攪拌。例如，該攪拌作用係在 20 至 25°C 之範圍的溫度下進行。例如，該攪拌作用係進行 10 至 24 小時。

例如，將該漿體乾燥。例如，該漿體之上澄液的水含量係在 0.2 至 1.0 mg/mL 之範圍，或在 0.4 至 0.8 mg/mL 之範圍。

在又一具體實例中，本發明包括一種用於製備化合物 1 之甲苯磺酸鹽的形式 1 同素異形體之方法，其中該方法包括：製備化合物 1 於溶劑或數種溶劑之組合中的溶液；及添加對甲苯磺酸於溶劑或數種溶劑之組合中的溶液。

例如，該溶劑係醇溶劑，諸如甲醇、乙醇或異丙醇。例如，該數種溶劑之組合包括醇溶劑。例如，該數種溶劑之組合另外包括第二醇溶劑。例如，該數種溶劑之組合包括乙醇與異丙醇。例如，該數種溶劑之組合另外包括反溶劑，諸如酮、醚與酯。例如，該醚包括但不侷限於甲基第

三丁醚。例如，該數種溶劑之組合包括醇溶劑與反溶劑。例如，該數種溶劑之組合包括甲醇與甲基第三丁醚。

例如，對甲苯磺酸的提供量相對於化合物 1 之量為 25 至 75 重量%、30 至 50 重量%、35 至 45 重量%，或 40 重量%。例如，對甲苯磺酸係以對甲苯磺酸一水合物之形式提供。

例如，該溶液係在 0 至 60°C 之範圍的溫度下、在 15 至 45°C 範圍之溫度下，或在 20 至 25°C 範圍之溫度下製備。

例如，製備該溶液之後對彼加溫。例如，該溶液係維持在 20 至 50°C 之範圍的溫度，或在約 45°C。

例如，該方法另外包含添加化合物 1 之一甲苯磺酸鹽的晶種以製造漿體。可將該漿體攪拌 10 至 24 小時，或約 22 小時。可在 15 至 45°C 之範圍的溫度或約 20°C 下攪拌該漿體。可將該漿體乾燥。例如，該漿體的水含量在 1 至 10 重量%之範圍，或 2 至 6 重量%之範圍，或約 3 重量%。

在另一具體實例中，本發明包括一種用於製備化合物 1 之甲苯磺酸鹽的形式 1 同素異形體的方法，其中該方法包括：將化合物 1 之游離鹼溶解於第一溶劑或數種溶劑之組合中以形成第一溶液；將對甲苯磺酸溶解於第二溶劑或數種溶劑之組合以形成第二溶液；以及組合該第一與第二溶液以形成第三溶液。

在一具體實例中，該第一與第二溶劑或數種溶劑之組

合可為相同或不同。在另一具體實例中，該溶劑可為醇溶劑，諸如甲醇、乙醇與異丙醇。在另一具體實例中，該數種溶劑之組合係兩種醇溶劑之組合，該等醇溶劑包括但不侷限於乙醇與異丙醇。在一較佳實例中，乙醇與異丙醇的體積比為 2 比 1。在又一具體實例中，該數種溶劑之組合係包括但不侷限於醇溶劑與反溶劑（例如酮、醚、酯等）之組合。例如，該數種溶劑之組合係包括但不侷限於甲醇與甲基第三丁醚之組合。在一較佳實例中，甲醇與甲基第三丁醚之體積比為 1 比 1.2。

在另一具體實例中，該方法另包含將化合物 1 之形式 1 同素異形體甲苯磺酸鹽添加至該第三溶液以形成第四溶液。例如，該形式 1 甲苯磺酸鹽為晶種。在某些具體實例中，該第四溶液於攪拌時形成漿體。該漿體可以溶劑或數種溶劑之組合加以清洗，該溶劑或數種溶劑之組合可與該第一溶劑或數種溶劑之組合或是第二溶劑或數種溶劑之組合相同或不同。可將該漿體乾燥。

在另一具體實例中，本發明有關一種包含化合物 1 之純組成物，其中該組成物純度為約 90-100%，較佳為 95-100%，更佳為 98-100%（重量計）或 99-100%（重量計）；例如存在低於約 10%、低於約 5%、低於約 2%或低於約 1%之雜質。此等雜質包括例如降解產物、經氧化產物、表異構物、溶劑及/或其他不當雜質。

在又一具體實例中，本發明包括一種用於治療一受試對象中對四環素化合物有反應狀態之方法，其係藉由對該

受試對象投以有效量之化合物 1 的結晶形而進行。例如，該受試對象係人類受試對象。

在又一具體實例中，本發明包括一種用於治療受試者對四環素化合物有反應狀態之方法，其係藉由對該受試對象投以有效量之化合物 1 的安定鹽而進行。例如，該安定鹽係化合物 1 之甲苯磺酸鹽、HCl 或甲磺酸鹽。

在又一具體實例中，本發明包括一種用於治療一受試對象中對四環素化合物有反應狀態之方法，其係藉由對該受試對象投以有效量之化合物 1 的同素異形體而進行。

在又一具體實例中，本發明包括一種用於治療一受試對象中對四環素化合物有反應狀態之方法，其係藉由對該受試對象投以有效量之化合物 1 之鹽的同素異形體而進行。例如，該同素異形體可為化合物 1 之甲苯磺酸鹽、HCl 或甲磺酸鹽的同素異形體。

在又一具體實例中，本發明包括一種用於治療一受試對象中對四環素化合物有反應狀態之方法，其係藉由對該受試對象投以有效量之化合物 1 之甲苯磺酸鹽的同素異形體而進行。例如，該甲苯磺酸鹽的同素異形體可為化合物 1 之甲苯磺酸鹽的形式 1、形式 2 或形式 3 同素異形體。

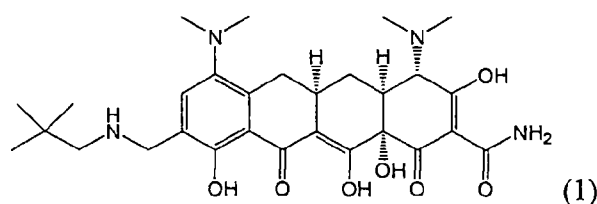
例如，對四環素化合物有反應狀態係細菌感染。該細菌感染可與革蘭氏陽性菌或革蘭氏陰性菌相關。在某些具體實例中，細菌感染係與大腸桿菌、金黃色葡萄球菌或糞腸球菌相關。

在某些具體實例中，該細菌感染對其他四環素抗生素

具有抗藥性，該等四環素抗生素包括但不侷限於四環素、美諾四環素、去氧羥四環素、去甲去氧四環素、氯四環素、脫甲氯四環素、氧四環素、螯黴素、吡甲四環素、賴甲四環素、甲烯土黴素、羥哌四環素、羥甲金黴素、羥哌四環素、甲氯四環素（mepylcycline）、甲葡四環素（meglucycline）、胍甲四環素、苳青四環素與乙莫環素（etamocycline）。

發明詳細說明

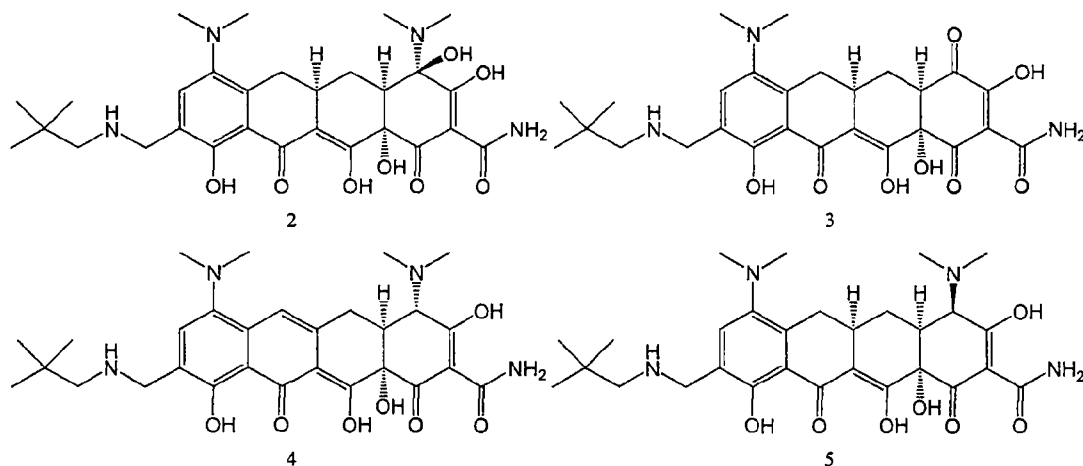
長久以來已習知四環素型抗生素化合物呈固相游離鹼形式時具有有限安定性。此種非結晶四環素類似物化合物之一（4S,4AS,5AR,12AS）-4-7-雙（二甲基胺基）-9-〔〔（2,2-二甲基丙基）胺基〕甲基〕-3,10,12,12A-四羥基-1,11-二氧-1,4,4A,5,5A,6,11,12A-八氫稠四苯-2-羧醯胺（化合物 1；MW = 556.66，MF = C₂₉H₄₀N₄O₇）在呈固相且曝露於空氣、光線及/或濕氣時具有有限安定性。



（4S,4AS,5AR,12AS）-4-7-雙（二甲基胺基）-9-〔〔（2,2-二甲基丙基）胺基〕甲基〕-3,10,12,12A-四羥基-1,11-二氧-1,4,4A,5,5A,6,11,12A-八氫稠四苯-2-羧醯胺。

更明確地說，化合物 1 係在高於 0°C 之溫度下與當曝

露於空氣時不安定的黃色非晶固體。化合物 1 必須貯存在低於 0°C 之溫度下，且該固相少曝露於空氣、光線與濕氣。在該等少曝露條件之外，化合物 1 降解而產生包括空氣降解產物 2、3 與 4 以及 4-表異構物 5 之降解產物。



在本揭示之前，尚未有化合物 1 之安定結晶形或安定結晶酸鹽為人所知。

本發明有關結晶化合物 1、化合物 1 之鹽形式、化合物 1 之同素異形體形式或化合物 1 之鹽的同素異形體形式；包含化合物 1 之該結晶形、鹽形式或同素異形體形式或鹽之同素異形體形式的藥學組成物；製造化合物 1 之該結晶形、鹽形式、或同素異形體形式或是鹽之同素異形體形式的方法；以及彼等用於治療對四環素有反應狀態的方法。

1. 固體形式化合物

化合物 1 為四環素化合物。術語「四環素化合物」包括許多具有與四環素相似環結構的化合物。四環素化合物

之實例包括：四環素、氯四環素、氧四環素、脫甲氯四環素、甲烯土黴素、去甲去氧四環素、去氧羥四環素與美諾四環素。

化合物 1 之游離鹼與特定藥學上可接受之鹽係描述於美國專利申請案序號第 10/786,881 號，相當於美國專利公告第 2005/0026876 A1 號。其中未教示或提及化合物 1 之結晶形，或根據上述性質清單判斷所描述鹽形式之任何一者係優於其他者。

因此，本發明提出對於經改良四環素化合物之需求與為求製造與生物利用率的四環素化合物經改良固態形式之需求。

該四環素化合物（化合物 1）的固態形式可為結晶形。該化合物之結晶形可為游離鹼。亦可形成該游離鹼化合物的不同鹽之結晶形。可用以將該游離鹼轉化成鹽的酸之實例包括但不侷限於 HCl、對甲苯磺酸、三氟乙酸、甲磺酸、苯磺酸與乙酸。

藉由令該鹽與鹼或酸接觸並以習用方式分離該母化合物可以還原該化合物之中性形。如上述，該化合物之母型與各種鹽形成的特定物理性質方面可以不同，諸如在極性溶劑中之溶解性。

如本文所述，已發展可藉以產生化合物 1 之不同結晶形的方法。更明確地說，本發明人已顯示所得之結晶形主要取決於該方法中所使用之溶劑性質。就本說明目的而言，術語「結晶形」無差別地指同素異形體形式或非非晶

形。「同素異形體形式」係指只包括溶質的分子且具有特性結晶特徵的有組織結構。

術語「同素異形體」與「同素異形體形式」以及本文中相關術語係指相同分子之結晶形，而不同同素異形體可能具有不同物理性質，諸如例如由於該晶格中分子的排列或構形造成的熔融溫度、熔化熱、溶解性、溶解速率及/或振動光譜。由同素異形體所展現之物理性質差異影響藥學參數，諸如貯存安定性、壓縮性與密度（在調配與產物製造方面極為重要）以及溶解速率（生物利用率方面之重要因素）。安定性差異亦可由化學反應性（例如差別氧化作用，如此當由一種同素異形體時劑量形式組成時比由另一種同素異形體組成時更迅速變色）或機械性質（例如，以動力學傾向同素異形體貯存之錠劑碎粒轉化成熱力學更安定之同素異形體）或此二者（一種同素異形體之錠劑在高濕度時更容易崩解）之改變而造成。在極端實例中，由於溶解性/溶解差異之故，某些同素異形體轉變會導致缺乏效力，或在另一極端則造成毒性。此外，該結晶之物理性質對於製造而言可能相當重要，例如一種同素異形體可能更有可能形成溶劑合物或可能難以過濾並清洗至無雜質（即，同素異形體之間的粒子形狀與大小分布可能不同）。

分子之同素異形體可藉由本技術中習知之許多方法製得。此等方法包括但不侷限於熔融再結晶、熔融冷卻、溶劑再結晶、去溶劑化、迅速蒸發、迅速冷卻、緩慢冷卻、

蒸氣擴散與昇華。

用於描述同素異形體特徵之技術包括但不侷限於微差掃描熱量測定法（DSC）、X 射線粉末繞射測定法（XRPD）、單晶 X 射線繞射測定法、振動光譜學（例如 IR 與 Raman 光譜學）、固態 NMR、高溫載台光學顯微術、掃描電子顯微術（SEM）、電子結晶學與定量分析、粒子大小分析（PSA）、表面積分析、溶解性研究與溶解研究。

本文所使用之術語「溶劑合物」係指含有溶劑之物質的結晶形。術語「水合物」係指該溶劑為水之溶劑合物。

經去溶劑化之溶劑合物係僅能藉由從溶劑合物去除該溶劑而製得之物質的結晶形。

本文所使用之術語「非晶形」係指一種物質之非結晶形。

如本文所使用，術語「純」意指約 90-100%，較佳為 95-100%，更佳為 98-100%（重量計）或 99-100%（重量計）純度之化合物；例如存在低於約 10%、低於約 5%、低於約 2%或低於約 1%之雜質。此等雜質包括例如降解產物、經氧化產物、表異構物、溶劑及/或其他不當雜質。

如本文所使用，當在濕度、曝光與高於 0℃ 之溫度的恆定條件之下為時 4 週期間未觀察到大量降解產物時，化合物具有「安定」性。當降解雜質出現或既有雜質之面積百分比開始增加時，化合物不會被視為在特定條件下具有安定性。與時間密切相關之降解增加量對於判定化合物安

定性而言相當重要。

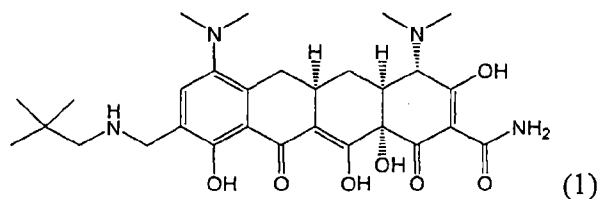
本文所列之所有範圍意欲包括該範圍之指定端點以及所有包括在內之值與範圍，包括未明確陳述者。

本發明有關化合物 1 之結晶形、鹽形式與同素異形體；只包含該等結晶形、鹽與同素異形體或結合其他活性成份之組成物；製備該結晶、鹽與同素異形體的方法；以及彼等用於調整易於感受四環素化合物狀態之方法。雖然不希望受到任何操作理論限制，但該等結晶形、鹽與同素異形體之貯存安定性、壓縮性、密度或溶解性質有益於該四環素化合物之製造、調配與生物利用率。

本發明較佳之鹽與同素異形體係具有適於臨床與治療劑量形式之物理性質（例如安定性、溶解性、吸濕性與溶解速率）為特徵者。較佳之本發明同素異形體係具有適於製造固態劑量形式之物理性質（例如結晶形態、壓縮性與硬度）為特徵者。此等性質可使用諸如本文所述與本技術中習知之 X 射線繞射、顯微術、IR 光譜學、熱分析與吸濕性分析而測定。

1.1 化合物 1 之鹽

在一方面，本發明提供化合物 1 之特定藥學上可接受之鹽的結晶形。本發明此方面提供以下化合物 1 之 HCl、甲磺酸鹽與甲苯磺酸鹽的結晶形：



(4S,4AS,5AR,12AS) -4-7-雙(二甲基胺基)-9-{[(2,2-二甲基丙基)胺基]甲基}-3,10,12,12A-四羥基-1,11-二氧-1,4,4A,5,5A,6,11,12A-八氫稠四苯-2-羧醯胺。

本發明之各種鹽可由化合物 1 之製備而製造。化合物 1 可根據對於熟悉本技術之人士而言很明顯的任何方法合成或製得。在較佳具體實例中，化合物 1 係根據下列實例中詳細說明之方法製備。詳見例如美國專利公告第 2005/0026876 A1 號，該案內容係以提及的方式併入本文中。

或者，化合物 1 可藉由分離化合物 1 之特定鹽並使用適當鹼處理而將此種化合物 1 之鹽轉化成中性形式。例如，化合物 1 可藉由過濾而分離化合物 1 之鹽酸鹽，然後以在乙酸乙酯中之一價碳酸鈉或其他適用之鹼處理將彼轉化成中性形式而製備。

以任何方法製備之化合物 1 可與適當之酸接觸以產生本發明之鹽形式，其中該酸係純淨（即無摻雜或稀釋）或於一或多種惰性溶劑中。例如，化合物 1 可與對甲苯磺酸接觸以產生本發明之甲苯磺酸鹽形式。

安定性研究係針對游離鹼化合物 1 與化合物 1 之非晶二鹽酸鹽進行。該鹽係將該化合物溶解於水溶液中、將該溶液之 pH 調整至約 4.2，然後冷凍乾燥而形成。該游離鹼於 40°C 下在短於 1 個月內降解，而於 4°C 下在約 3 個月

降解。反之，化合物 1 之二鹽酸鹽於 40°C 下維持安定 6 個月，且在室溫（25°C）下維持安定 2 年。

如以下實例詳細顯示，化合物 1 之甲苯磺酸鹽與其同素異形體顯示出期望的性質。

1.2 化合物 1 之同素異形體

本發明亦提出化合物 1 之同素異形體。在特定具體實例中，本發明之同素異形體係化合物 1 之甲苯磺酸鹽的同素異形體。

本發明之各種同素異形體可由化合物 1 之製備而製造。可將固態化合物 1 溶解，然後從下述溶劑混合物結晶，以產生本發明之同素異形體形式。本發明特定具體實例中，可將化合物 1 之甲苯磺酸鹽溶解，然後從下述溶劑混合物結晶，以產生本發明之特定同素異形體形式。本發明某些具體實例中，可將化合物 1 之游離鹼溶解，然後添加酸以形成化合物 1 之結晶鹽。

在一具體實例中，本發明提供化合物 1 之甲苯磺酸鹽的同素異形體。

在另一具體實例中，本發明提供化合物 1 之甲苯磺酸鹽的形式 1 同素異形體，其 X 射線粉末繞射圖案與圖 8 相似，該繞射圖案的特徵均示於表 1。例如，本發明之特定形式 1 同素異形體之使用 Cu K α 輻射的 X 射線粉末繞射圖案尖峰在 5.60、8.06、8.57、11.41、13.02、15.58、18.83、20.54 與 24.53 °2 θ 。例如，本發明之特定形式 1 同素異形體之使用

Cu K α 輻射的 X 射線粉末繞射圖案尖峰在 8.06、11.41、13.02、18.83、20.54 與 24.53 °2 θ 。例如，本發明之特定形式 1 同素異形體之 X 射線粉末繞射圖案尖峰在 8.06、13.02、18.83 與 24.53 °2 θ 。例如，本發明之特定形式 1 同素異形體之 X 射線粉末繞射圖案尖峰在 8.06 與 18.83 °2 θ 。

表 1

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

在另一具體實例中，本發明提供化合物 1 之甲苯磺酸鹽的形式 2。在一具體實例中，化合物 1 之甲苯磺酸鹽的形式 2 同素異形體的 X 射線粉末繞射圖案與圖 9 相似，該繞射圖案的特徵均示於表 2。例如，本發明之特定形式 2 同素異形體之使用 Cu K α 輻射的 X 射線粉末繞射圖案尖峰在 7.82、11.88、12.68、16.12、18.63、21.46 與 23.74 ° 2 θ 。例如，本發明之特定形式 2 同素異形體之 X 射線粉末繞射圖案尖峰在 7.82、11.88、16.12 與 21.46 ° 2 θ 。例如，本發明之特定形式 2 同素異形體之 X 射線粉末繞射圖案尖峰在 11.88 與 16.12 ° 2 θ 。

表 2

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

在又一具體實例中，本發明提供化合物 1 之形式 3。

在另一具體實例中，化合物 1 之甲苯磺酸鹽的形式 3 同素

異形體的 X 射線粉末繞射圖案與圖 10 相似，該繞射圖案的特徵均示於表 3。例如，本發明之特定形式 3 同素異形體之使用 Cu K α 輻射的 X 射線粉末繞射圖案尖峰在 5.11、8.89、10.34、11.76、13.70、14.81 與 15.60 °2 θ 。例如，本發明之特定形式 3 同素異形體之主要 X 射線粉末繞射圖案尖峰在 5.11、8.89、10.34、11.76 與 15.60 °2 θ 。例如，本發明之特定形式 3 同素異形體之主要 X 射線粉末繞射圖案尖峰在 5.11 與 15.60 °2 θ 。

表 3

角度 (2-θ°)	d 值 (埃)	強度 (讀數)	強度 (%)
5.11	17.29	1184	66.4
8.89	9.95	475	26.6
10.34	8.56	431	24.2
11.76	7.53	404	22.7
13.70	6.46	524	29.4
14.81	5.98	552	31
15.60	5.68	1783	100
17.23	5.15	661	37.1
17.93	4.95	1014	56.9
18.35	4.83	832	46.6
18.74	4.74	914	51.3
19.00	4.67	874	49
20.15	4.41	889	49.9
20.36	4.36	913	51.2
20.65	4.30	940	52.7
21.65	4.10	681	38.2
22.59	3.94	923	51.8
23.25	3.83	1206	67.7
23.71	3.75	872	48.9
24.94	3.57	718	40.3
25.43	3.50	551	30.9
26.12	3.41	745	41.8
26.64	3.35	709	39.8
27.15	3.28	689	38.7
27.55	3.24	754	42.3

化合物 1 之甲苯磺酸鹽結晶成極小不規則粒子，其大小通常為 5-8 微米。圖 1 描述化合物 1 之甲苯磺酸鹽之結晶固體的 X 射線粉末繞射 (XRPD)。顯示此化合物在 190℃ 下熔融，然後分解。

對化合物 1 或其甲苯磺酸鹽進行重力蒸氣吸附作用。測得化合物 1 之每 1 分子有 2.5 個水分子。進行 XRPD 以比較該起始劑材料 (E00285) 與該脫水材料。資料顯示形式無改變。

2. 合成化合物 1

在 40 mL 燒瓶中混合二鹽酸 9-(胺基甲基)-美諾四環素 (200 mg, 1 當量)、DMF 與三甲基乙醛 (45 μ l, 1 當量) 並加以攪拌。然後添加三乙胺 (150 μ L, 3 當量)。在室溫下攪拌數分鐘之後, 添加 $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (175 mg, 2 當量) 與 InCl_3 (9 mg, 0.1 當量)。在一小時之後, 該反應為清澈紅色。液體層析術顯示該反應為單一產物。以甲醇停止該反應, 去除溶劑, 並使用柱式層析術純化該產物。

純化作用

化合物 1 係藉由層析術純化, 其係將該化合物的水性低 pH 溶液注入極性有機溶劑梯度之 HPLC, 並結合該產物部分, 以使得該化合物經純化。適用酸性流動相之選擇加強處理安定性與選擇性。經由 pH 控制或酸之選擇, 有機與無機酸流動相可以分離包括表異構物雜質與緊接洗出副產物之副產物。酸性流動相亦避免該化合物氧化降解。

例如, 低 pH 溶液的 pH 為約 2-3。使用之溶液實例包括包括甲磺酸之 0.1% 水溶液與三氟乙酸之 0.1% 水溶液。

在特定具體實例中，使用 94%水溶液與 6%乙腈或其他極性有機溶液的均等梯度以從表異構副產物與緊接洗出之副產物純化該化合物。

形成之含水產物部分可混合並可使用鹼（例如 NaOH）將 pH 調整至約 4.0-4.5。該化合物之疏水性雜質與氧化降解物可藉由使用非極性有機溶劑（例如，CH₂Cl₂）清洗該水溶液而去除。丟棄該等有機層，並結合並保留該等水性層。

應注意該等有機溶劑（諸如二氯甲烷）可用以從該化合物之酸性水溶液選擇性移除後期洗出之疏水性雜質，諸如 4-羰基副產物與其他氧化降解物。

然後，可將該結合之水性層的 pH 調整至中性 pH，例如約 7.5 至約 8.5。可藉由添加鹼（諸如 NaOH）調整該 pH。然後以非極性有機溶劑（諸如二氯甲烷）清洗該中性溶液。應注意的是，選擇性 pH 調整至中性 pH 範圍亦使得該化合物被萃取至該有機溶劑，但令不要之 β -表異構物與副產物保留在該水相。

此外，亦可添加抗氧化劑至本文所述之化合物的水溶液。可提供該等抗氧化劑以避免該化合物氧化降解。可使用之抗氧化劑（諸如亞硫酸銨或亞硫酸氫銨）以 pH 相依方式與該等化合物相互作用。

應注意使用亞硫酸銨之方法通常不應與氫氧化鈉或強鹼併用。

3. 化合物 1 之同素異形體形式的製備方法

本發明亦有關製備結晶化合物 1 之同素異形體形式的方法。

在一具體實例中，化合物 1 之甲苯磺酸鹽的形式 1 可以任何基於本文教示且對熟悉本技術之人士而言顯而易見的製造形式 1 之方法而製造。在特定具體實例中，形式 1 可從化合物 1 之非晶甲苯磺酸鹽在異丙醇、丙酮、乙酸乙酯、甲基戊酮、甲苯或乙腈溶液中成熟而形成。形式 1 亦可從在異丙醇中漿體化之非晶甲苯磺酸鹽的再結晶而製得。形式 1 亦可藉由將游離鹼溶解於適當溶劑或數種溶劑之組合（諸如兩種醇或醇與反溶劑（諸如酮、醚、酯等））而獲得。添加該酸之後，該鹽可緩慢結晶成正確形式。

可以選擇雜質與化合物 1 之游離鹼可溶解於其中而化合物 1 之安定結晶鹽（例如，可藉由沉澱而形成之結晶漿體）不溶於其中之溶劑系統。

在另一具體實例中，化合物 1 之甲苯磺酸鹽的形式 2 可以任何基於本文教示且對熟悉本技術之人士而言顯而易見的製造形式 2 之方法而製造。在特定具體實例中，形式 2 可從化合物 1 之非晶甲苯磺酸鹽在二氯甲烷中成熟而形成。

在另一具體實例中，化合物 1 之甲苯磺酸鹽的形式 3 可以任何基於本文教示且對熟悉本技術之人士而言顯而易見的製造形式 3 之方法而製造。在特定具體實例中，形式

3 可從化合物 1 之非晶甲苯磺酸鹽在甲基乙基酮、乙酸乙酯或甲基戊酮中成熟而形成。形式 3 亦可從形式 1 於甲基戊酮中成熟而製得。

在另一具體實例中，上述化合物 1 之甲苯磺酸鹽的同素異形體形式可藉由包括混合化合物 1 與溶劑以產生漿體以及添加對甲苯磺酸之步驟的方法而製造。

可使用任何適用溶劑以產生該漿體。可用於具體實例之溶劑包括醇溶劑，諸如異丙醇。可使用任何適用之溶劑組合以產生結晶出鹽的溶液。可用於具體實例之溶劑組合包括但不侷限於甲醇與甲基第三丁醚或是乙醇與異丙醇。

例如，化合物 1 在溶劑或數種溶劑之組合中之漿體可在約 0°C 至約 60°C，諸如約 15°C 至約 45°C，或約 20°C 至約 25°C 之溫度下製造。在製造後，該漿體可隨意地經加溫及/或維持在約 15°C 至約 60°C，諸如約 20°C 至約 50°C，或約 45°C 之溫度。

該漿體產生之後，可添加足以製造化合物 1 之對甲苯磺酸鹽之量的對甲苯磺酸。在一具體實例中，相對於化合物 1 之量，該對甲苯磺酸之提供量為約 25 至約 75 重量%、約 25 至約 50 重量%、約 30 至約 40 重量%，或約 33 重量%。該對甲苯磺酸可以對甲苯磺酸一水合物形式添加。

化合物 1 之甲苯磺酸鹽的同素異形體形式可由溶液方法形成。例如，化合物 1 之溶液可在約 0°C 至約 60°C，諸如約 15°C 至約 45°C，或約 20°C 至約 25°C 之溫度下製造。

在製造後，該溶液可隨意地經加溫及/或維持在約 15°C 至約 60°C，諸如約 20°C 至約 50°C，或約 45°C 之溫度。

該溶液產生之後，可添加足以製造化合物 1 之對甲苯磺酸鹽之量的對甲苯磺酸。在一具體實例中，相對於化合物 1 之量，該對甲苯磺酸之提供量為約 25 至約 75 重量%、約 30 至約 50 重量%、約 35 至約 45 重量%，或約 40 重量%。該對甲苯磺酸可以對甲苯磺酸一水合物形式添加。

在一具體實例中，可對用以對該溶液加晶種之形式 1 同素異形體添加在溶液中之對甲苯磺酸。可使用任何適用溶劑以形成該對甲苯磺酸溶液。適用之溶劑包括醇溶劑，諸如異丙醇，或是溶劑組合，諸如甲醇與甲基第三丁醚。在較佳具體實例中，甲醇對甲基第三丁醚之體積比為 1：1.2。適用之溶劑包括二或更多種醇溶劑之組合，諸如乙醇與異丙醇之組合。在較佳具體實例中，乙醇對異丙醇之體積比為 2：1。在特定具體實例中，該對甲苯磺酸溶液包括用以產生化合物 1 之漿體或溶液的相同溶劑。

添加在適當溶劑中之對甲苯磺酸之後，形成化合物之甲苯磺酸鹽的形式 1 同素異形體之漿體。在添加該對甲苯磺酸之後，可將該漿體之上澄液的水含量調整至適當水準。通常，該漿體上澄液的水含量可在約 0.2 至約 1.0 mg/mL 之範圍，諸如約 0.4 至約 0.8 mg/mL，例如約 0.6 mg/mL、約 0.54 mg/mL 等。

在添加該對甲苯磺酸之後，該漿體或該溶液可加以攪

拌以製造結晶漿體。攪拌作用可進行 48 小時以上。不過，攪拌作用通常進行約 5 至約 36 小時期間，諸如約 10 至約 24 小時或是約 18 小時。

攪拌作用可在適於製造該結晶漿體的任何溫度下進行。例如，該漿體可在約 0°C 至約 60°C，諸如約 15°C 至約 45°C，或約 20°C 至約 25°C 之溫度下加以攪拌。

結晶形成之後，可將該結晶漿體過濾以去除該上澄液，並以任何適當溶劑清洗該等結晶。在具體實例中，該等結晶可經清洗一至四次，且該溶劑可為適於製備該結晶漿體的任何溶劑。特別是，用以清洗該等結晶之溶劑可為用於形成該原始漿體或溶液或是該對甲苯磺酸溶液相同之一或多種溶劑。

然後藉由任何適用方法將所製造之該等結晶乾燥以去除過量溶劑。例如，乾燥作用可藉由一或多種方法完成，該等方法包括但不侷限於在約 0°C 至約 60°C 之範圍的升高溫度，諸如約 15°C 至約 45°C；在該等結晶上吹乾燥氮氣；以及在該等結晶上吹調濕之氮氣。

進行成熟研究，其中將化合物 1 之甲苯磺酸鹽的樣本在不同溶劑中漿體化、過濾，並藉由 XRPD 分析該潮濕固體。觀察化合物 1 之甲苯磺酸鹽的三種同素異形體形式。圖 2 提供化合物 1 之起始材料（E00285）、形式 1 甲苯磺酸鹽、形式 2 甲苯磺酸鹽、形式 3 甲苯磺酸鹽與非晶形之 XRPD 光譜。

表 4 列出成熟實驗所使用之溶劑。

實驗編號	溶劑	形式	說明
1	水	形式 1	黑色
2	硝甲烷	非晶形	黑色
3	甲氧苯	形式 2	
4	2-丙醇	形式 1	
5	甲基乙基酮	形式 3	
6	丙酮	形式 1	黑色
7	乙酸乙酯	形式 1	
8	二 烷	非晶形	
9	乙腈	形式 1	黑色
10	甲苯	形式 1	
11	DCM	形式 2	黑色
12	氯仿	非晶形	黑色
13	TBME	非晶形	
14	乙酸異丙酯	形式 2	
15	NMP	已溶解	黑色
16	4-甲基-2-戊酮	形式 3	
17	THE	膠狀	黑色
18	10% EtOAc/環己烷	非晶形	
19	10%水/EtOH	非晶形	黑色
20	10%水/THF	非晶形	黑色
21	10%水/ACN	非晶形	黑色
22	10%水/2-丙醇	非晶形	黑色
23	10%水/丙酮	非晶形	黑色
24	10%水/二 烷	非晶形	黑色

在另一具體實例中，該成熟實驗係於各種不同乾燥溶劑中重複進行，如表 5 所示。

表 5

實驗	溶劑	初始 體積	於 18 小時後 所添加體積	於 24 小時後之 XRPD	於 48 小時後之 XRPD	於 96 小時後之 XRPD	顏色
1	甲氧苯	8	2	非晶形	非晶形	非晶形	黃色
2	2-丙醇	4		形式 1	形式 1	形式 1	黑色
3	甲基乙基酮	4	3	形式 3	形式 3	形式 3	棕色
4	乙酸乙酯	8	2	形式 3	形式 3	形式 3	黃色
5	DCM	3	3	形式 2	形式 2	形式 2	黃色
6	乙酸異丙酯	8	4	非晶形	非晶形	非晶形	黃色
7	4-甲基-2-戊酮	8	2	形式 1	形式 3	形式 3	黃色

已測得乾燥乙酸乙酯產生形式 3 甲苯磺酸鹽，與在 4-甲基 2-戊酮中的成熟作用產生形式 1 甲苯磺酸鹽，然後其於培育期間變成形式 3 甲苯磺酸鹽。

對化合物 1 之形式 1 甲苯磺酸鹽進行在各種溫度下於各種溶劑中的溶解研究。對於不可溶化合物、該溶液冷卻至 5℃ 後之沉澱物，以及一夜蒸發後之該沉澱物進行 XRPD 研究。此等資料係示於表 6。

表 6

實驗編號	溶劑	5 vol	10 vol	15 vol	25 vol	40 vol	60 vol	80 vol	100 vol	濾液	冷卻 5°C	不可溶部分之 XRPD	冷卻後的沉澱物之 XRPD	一夜蒸發後的沉澱物之 XRPD
	溫度	25°C	50°C	50°C	50°C	50°C	50°C	60°C	70°C	熱				
1	水	i	i				可溶解				無沉澱*			
2	硝甲烷	i	i	i	i	i	i		可溶解		無沉澱			非晶形
3	甲氧苯	i	i	i	i	i	i	i		可溶解	無沉澱			
4	2-丙醇	i	i	i	i	i	i		可溶解					非晶形
5	甲基乙基酮	i	i	i	i	i	i	i	i	不可溶		形式 1		
6	丙酮	i	i	i	i	i	i	i	i	可溶解		形式 1	非晶形	
7	乙酸乙酯	i	i	i	i	i	i	i	i	不可溶		形式 1		
8	二 烷	i	i	i	i	i	i	i	i	可溶解		形式 1		
9	乙腈	i	i	i	i	i	i	i	i	可溶解	無沉澱			
10	甲苯	i	i	i	i	i	i	i	i	不可溶		形式 1		
11	DCM	i					可溶解				固體，無濾液待蒸發			非晶形
12	氯仿	i	i				可溶解				固體，無濾液待蒸發			非晶形
13	TBME	i	i	i	i	i	i	i	i	不可溶	無沉澱			
14	乙酸異丙酯	i	i	i	i	i	i	i	i	可溶解		形式 1		
15	NMP	3 vol					可溶解				油狀*			
16	4-甲基-2-戊酮	i	i	i	i	i	i	i	i	不可溶		形式 1		
17	THE	i	i	i	i	i	i	i	i	可溶解				
18	10% EtOAc/環己烷	i	i	i	i	i	i	i	i	可溶解		形式 1		
19	10%水/EtOH	i					可溶解				沉澱作用*		非晶形	
20	10%水/THF	i	i				可溶解							
21	10%水/ACN	i					可溶解						非晶形	
22	10%水/2-丙醇	i	i				可溶解							
23	10%水/丙酮	i					可溶解				沉澱作用*			
24	10%水/二 烷	i	可溶解										非晶形	

*棕色溶液
i : 不可溶

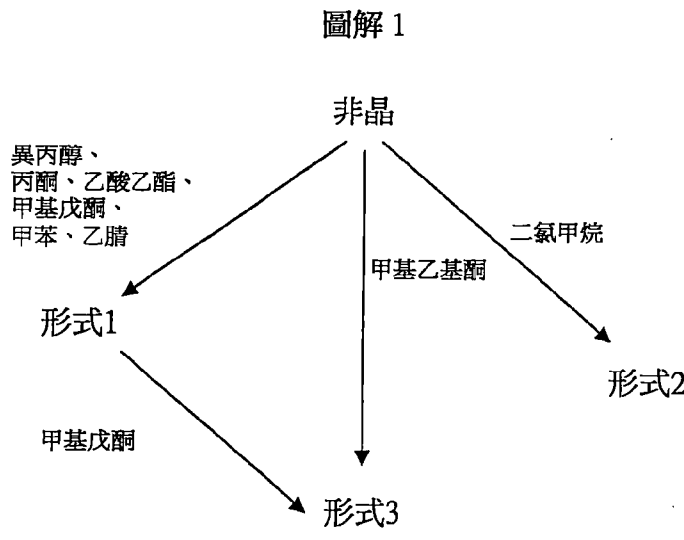
如表 6 所示，化合物 1 之形式 1 甲苯磺酸鹽溶解性不高，且沉澱作用產生非晶材料。

化合物 1 之非晶材料的再結晶作用係在各種溶劑中進行。只有在 2-丙醇（異丙醇，IPA）中之再結晶作用產生形式 1 甲苯磺酸鹽，如表 7 所示。圖 3 比較參考化合物 1（E00285）與從 IPA 再結晶之形式 1 甲苯磺酸鹽的 XRPD 光譜。

表 7

實驗編號	溶劑	體積	於 50℃ 下	固體之沉澱物的 XRPD
1	硝甲烷	24	可溶解	
2	甲氧苯	200	不可溶	非晶形
3	2-丙醇	60	可溶解	形式 1
4	甲基乙基酮	100	可溶解	非晶形
5	丙酮	80	可溶解	非晶形
6	乙酸乙酯	200	不可溶	非晶形
7	二 烷	120	可溶解	非晶形
8	乙腈	80	可溶解	
9	甲苯	200	不可溶	非晶形
10	二氯甲烷	5	可溶解	非晶形
11	氯仿	5	可溶解	非晶形
12	TBME	200	不可溶	非晶形
13	乙酸異丙酯	200	不可溶	非晶形
14	4-甲基-2-戊酮	200	不可溶	非晶形
15	THE	100	可溶解	非晶形
16	10% EtOAc/環己烷	200	不可溶	非晶形

化合物 1 的甲苯磺酸鹽之同素異形現象之彙總係示於圖解 1 中：



於再結晶之後，形式 1、形式 2 與形式 3 甲苯磺酸鹽的樣本係在真空中乾燥一夜，並藉由 XRPD 分析，如圖 4 所示。乾燥後形式沒有改變。

在化合物 1 之形式 2 與形式 3 甲苯磺酸鹽上進行不同溫度 XRPD。分別見圖 5 與圖 6。

分析化合物 1 之同素異形體形式的相對安定性。例如，對形式 1 甲苯磺酸鹽進行在 IPA 或甲基戊酮中 24 小時之成熟實驗，以形式 2 或形式 3 甲苯磺酸鹽為晶種。在此實驗期間，沒有形式 1 變成形式 2 或形式 3 之改變。分析在 0℃、25℃、40℃ 與 60℃ 下於 IPA 中 18 小時之形式 1 與形式 3 之 50：50 混合物的漿體，如圖 7 所示。沒有形式 1 變成形式 3 之改變。

再結晶實驗顯示形式 1 甲苯磺酸鹽可藉由在 IPA 中漿體化而從非晶甲苯磺酸鹽可再現地製得。化合物 1 之形式 1 亦可藉由添加對甲苯磺酸可再現地製得。形式 1 之高解析度 XRPD 掃描係示於圖 8，且該繞射圖案特徵係顯示於表 1。

4. 包含本發明化合物、鹽、結晶形或其同素異形體之藥學組成物

在另一具體實例中，本發明有關包含本發明四環素化合物（例如以本發明方法合成或純化）或其藥學上可接受之鹽、藥物前體或酯的藥學組成物。該藥學組成物可包含藥學上可接受之載體。

本文所使用之術語「組成物」意欲包括包含該等指定成份（若有表示指定量，且為指定量）的產物，以及指定量之從該等指定成份之組合直接或間接形成的任何產物。

「藥學上可接受」意指該稀釋劑、賦形劑或載體必須與該調配物的其他成份相容，且對其接受者無害。

如上述，本化合物之特定具體實例可含有鹼性官能基，諸如胺基或烷基烷基，因此可與藥學上可接受之酸形成藥學上可接受之鹽。「藥學上可接受之鹽」在本技術已經認可且其包括本發明化合物之比較無毒性的無機與有機酸加成鹽。此等鹽可於本發明化合物之最終分離與純化作用期間在原位製備，或藉由分別反應呈游離鹼形式之本發明經純化化合物與適用有機或無機酸並分離所形成的鹽而製備。代表性鹽包括氫溴化物、鹽酸化物、硫酸鹽、硫酸氫鹽、磷酸鹽、硝酸鹽、乙酸鹽、戊酸鹽、油酸鹽、棕櫚酸鹽、硬脂酸鹽、月桂酸鹽、苯甲酸鹽、乳酸鹽、磷酸鹽、甲苯磺酸鹽、檸檬酸鹽、順丁烯二酸鹽、反丁烯二酸鹽、琥珀酸鹽、酒石酸鹽、萘二甲酸鹽、甲磺酸鹽、葡萄糖庚酸鹽、乳糖酸鹽與月桂基磺酸鹽等。（詳見，例如

Berge 等人 (1977) 之 "Pharmaceutical Salts", J. Farm. SCI. 66: 1-19)。

在其他實例中，本發明之化合物可含有一或多種酸性官能基，因此可以與藥學上可接受之鹼形成藥學上可接受之鹽。此等實例中之術語「藥學上可接受之鹽」包括本發明化合物之比較無毒性的無機與有機鹼加成鹽。此等鹽同樣可於該等化合物之最終分離與純化作用期間在原位製備，或藉由分別反應呈游離酸形式之該經純化化合物與適用之鹼（諸如藥學上可接受之金屬陽離子的氫氧化物、碳酸鹽或碳酸氫鹽）、與氨或與藥學上可接受之有機一級胺、二級胺或三級胺而製備。代表性鹼金屬鹽或鹼土金屬鹽包括鋰鹽、鈉鹽、鉀鹽、鈣鹽、鎂鹽與鋁鹽等。可用於形成鹼加成鹽之代表性有機胺類包括乙胺、二乙胺、乙二胺、乙醇胺、二乙醇胺、哌嗪等。

術語「藥學上可接受之酯」係指本發明化合物之比較無毒性經酯化產物。此等酯可於該等化合物之最終分離與純化作用期間在原位製備，或藉由分別反應該經純化化合物的游離酸形式或羥基與適用酯化劑而製備。羧酸類可在觸媒之存在下經由醇之處理而轉化成酯類。羥基可經由酯化劑（諸如烷醯基鹵）之處理而轉化成酯類。該術語亦包括可在生理條件下變成溶劑合物之低碳烴類，例如烷酯類、甲酯、乙酯與丙酯。（詳見例如前文之 Berge 等人文獻）。

本發明亦有關以本發明方法合成及/或純化之四環素

化合物，及其藥學上可接受之鹽。

「藥學上可接受之載體」一辭在本技術已經認可且包括適於將本發明化合物投予哺乳動物的藥學上可接受之材料、組成物或賦形劑。該載體包括液態或固態填料、稀釋劑、賦形劑、溶劑或膠囊材料，其牽涉到將主題藥劑從一個器官或身體一部分攜帶或輸送至另一器官或身體的另一部分。各種載體必須是在可與該調配物其他成份相容且不傷病患之意義上「可接受」者。作為藥學上可接受之載體的某些實例包括：糖類，諸如乳糖、葡萄糖與蔗糖；澱粉類，諸如玉米澱粉與馬鈴薯澱粉；纖維素與其衍生物，諸如羧甲基纖維素鈉、乙基纖維素與乙酸纖維素；粉末狀黃蓍樹膠；麥芽；明膠；滑石；賦形劑，諸如可可脂與栓劑蠟；油類，諸如花生油、棉籽油、紅花子油、芝麻油、橄欖油、玉米油與大豆油；二醇類，諸如丙二醇；多元醇類，諸如甘油、山梨醇、甘露醇與聚乙二醇；酯類，諸如油酸乙酯與月桂酸乙酯；瓊脂；緩衝劑，諸如氫氧化鎂與氫氧化鋁；褐藻酸；無熱原質水；等滲壓鹽水；林格氏溶液；乙醇；磷酸鹽緩衝溶液；以及其他用於藥學調配物中無毒性可相同物質。

濕潤劑、乳化劑與潤滑劑（諸如月桂基硫酸鈉與硬脂酸鎂）以及著色劑、脫模劑、塗覆劑、甜味劑、調味與加香劑、防腐劑與抗氧化劑亦可存在該等組成物中。

藥學上可接受之抗氧化劑實例包括：水溶性抗氧化劑，諸如抗壞血酸、鹽酸半胱胺酸、硫酸氫鈉、偏亞硫酸

氫鈉、亞硫酸氫鈉等；油溶性抗氧化劑，諸如棕櫚酸抗壞血酸酯、丁基羥基甲氧苯（BHA）、二丁基羥基甲苯（BHT）、卵磷脂、五倍子酸丙酯、 α -生育酚等；以及金屬螯合劑，諸如檸檬酸、乙二胺四乙酸（EDTA）、山梨醇、酒石酸、磷酸等。

本發明之調配物包括適於口服、鼻腔、局部、經皮、經頰、舌下、直腸、陰道及/或非經腸投藥者。該調配物可便利地以單位劑量形式存在，且可以藥學技術中任何為人熟知之方法製備。可與載體材料結合以製造單一劑量形式的活性成份之量通常為產生療效之該化合物量。通常，每 100% 中，該量為約 1% 至約 99% 活性成份，較佳為約 5% 至約 70%，最佳為約 10% 至約 30%。

製備此等調配物或組成物之方法包括結合本發明化合物與載體，及隨意地一或多種輔助成份。通常，該調配物係藉由均勻且緊密結合本發明化合物與液態載體或細碎的固態載體或此二者，然後視需要令該產物成形而製備。

適於口服投藥之本發明調配物可為膠囊、扁囊劑、丸劑、錠劑（使用經調味主藥，通常為蔗糖與阿拉伯樹膠或黃耆樹膠）、粉劑、小顆粒，或為在水性或非水性液體中之溶液或懸浮液，或為水包油型或油包水型液態乳液，或為酏劑或糖漿，或為軟錠劑（使用惰性基質，諸如明膠與甘油，或蔗糖與阿拉伯樹膠）及/或為漱口水等形式，各含有預定量之本發明化合物作為活性成份。本發明之化合物亦可以球劑、舐劑或糊劑投藥。

在本發明之口服投藥的固態劑量形式（膠囊、錠劑、丸劑、糖衣錠、粉劑、小顆粒等）中，該活性成份係與一或多種藥學上可接受之載體混合，該等載體係諸如檸檬酸鈉或磷酸二鈣及/或下列任一者：填料或增量劑，諸如澱粉、乳糖、蔗糖、葡萄糖、甘露醇及/或矽酸；黏合劑，諸如羧甲基纖維素、褐藻酸酯、明膠、聚乙烯四氫吡咯酮、蔗糖及/或阿拉伯樹膠；保濕劑，諸如甘油；崩解劑，諸如瓊脂、碳酸鈣、馬鈴薯或樹薯澱粉、褐藻酸、特定矽酸鹽，與碳酸鈉；溶液滯凝劑，諸如石蠟；吸收促進劑，諸如四級銨化合物；濕潤劑，諸如鯨蠟醇與一硬脂酸甘油酯；吸收劑，諸如高嶺土與膨土；潤滑劑，諸如滑石、硬脂酸鈣、硬脂酸鎂、固態聚乙二醇、月桂基硫酸鈉與其混合物，以及著色劑。在膠囊、錠劑與丸劑情況下，該藥學組成物亦可包含緩衝劑。相似類型之固態組成物亦可作為使用賦形劑（諸如乳糖（lactose）或乳糖（milk sugar）以及高分子量聚乙二醇等）之軟與硬填充明膠膠囊的填料。

錠劑可藉由隨意地與一或多種輔助成份壓縮或模製而製得。壓縮錠劑可使用黏合劑（例如明膠或羥丙基甲基纖維素）、潤滑劑、惰性稀釋劑、防腐劑、崩解劑（例如澱粉羥乙酸鈉或交聯羧甲基纖維素鈉）、表面活性或分散劑。模製錠劑可藉由在適用機器中模製以惰性液態稀釋劑濕潤之粉末狀化合物的混合物而製得。

該等錠劑與本發明藥學組成物之其他固態劑量形式

(諸如糖衣錠、膠囊、丸劑與小顆粒) 可隨意地劃痕或製備塗層與外殼，諸如腸溶塗層與製藥技術中廣為人知之其他塗層。彼等亦可使用例如不同比例以提供所需之釋放曲線之羥丙基甲基纖維素、其他聚合物基質、脂質體及/或微球體加以調配，以便提供緩慢或受控制釋放其中之活性成份。彼等可藉由例如經由保留細菌之過濾器過濾、或藉由混入呈可溶解在滅菌水中之滅菌固態組成物形式的滅菌劑，或某些其他在使用前可注入之滅菌介質而滅菌。此等組成物亦可隨意地含有乳濁劑，且可為僅在或較佳係在腸胃特定部分中隨意地以延緩方式釋放該(等)活性成份。可使用之包埋組成物實例包括聚合物質與蠟。該活性成份亦可呈微膠囊化形式，若情況適當，具有一或多種上述賦形劑。

本發明化合物之口服投藥用液態劑量形式包括藥學上可接受之乳液、微乳液、溶液、懸浮液、糖漿與酏劑。除了活性成份之外，該液態劑量形式可含有本技術中常用之惰性稀釋劑，諸如水或其他溶劑、助溶劑與乳化劑，諸如乙醇、異丙醇、碳酸乙酯、乙酸乙酯、苯甲醇、苯甲酸苯甲酯、丙二醇、1,3-丁二醇、油類(特別是棉籽油、花生油、玉米油、胚芽油、橄欖油、蓖麻油與芝麻油)、甘油、四氫呋喃醇、聚乙二醇與山梨醇酐之脂肪酸酯，以及其混合物。

除了惰性稀釋劑之外，該口服組成物亦可包括佐劑，諸如濕潤劑、乳化與懸浮劑、甜味劑、調味劑、著色劑、

香料與防腐劑。

除了該等活性化合物之外，懸浮液可含有懸浮劑，例如乙氧基化異硬脂醇、聚氧乙烯山梨醇與山梨醇酐酯、微結晶纖維素、偏氫氧化鋁、膨土、瓊脂與黃蓍樹膠，及其混合物。

供直腸或陰道投藥之本發明藥學組成物的調配物可呈栓劑狀，其可藉由混合一或多種本發明之化合物與一或多種適用之非刺激性賦形劑或載體而製備，該等賦形劑或載體包含例如可可脂、聚乙二醇、栓劑蠟或水楊酸酯，且其在室溫下呈固態但在體溫下呈液態，因此會在直腸或陰道腔中熔融並釋放該活性化合物。

適用於陰道投藥之本發明調配物亦包括含有如本技術中習知適當之載體的陰道栓劑、棉塞、乳霜、凝膠、糊劑、泡沫或噴霧調配物。

本發明化合物之局部或經皮投藥的劑量形式包括粉劑、噴霧、油膏、糊劑、乳霜、洗劑、凝膠、溶液、貼布與吸入劑。該活性化合物可在滅菌條件下與藥學上可接受之載體，及與任何可能需要之防腐劑、緩衝劑或推進劑混合。

除了本發明活性化合物之外，該油膏、糊劑、乳霜與凝膠可含有賦形劑，諸如動物與植物脂肪、油、蠟、石蠟、澱粉、黃蓍樹膠、纖維素衍生物、聚乙二醇、聚矽氧、膨土、矽酸、滑石與氧化鋅，或其混合物。

除了本發明化合物之外，粉劑與噴霧可含有賦形劑，

諸如乳糖、滑石、矽酸、氫氧化鋁、矽酸鈣與聚醯胺粉末，或此等物質混合物。噴霧可額外含有慣用推進劑，諸如氟氯烴類與揮發性未經取代烴類，諸如丁烷與丙烷。

經皮貼片具有提供受控制輸送本發明化合物至身體的附加優點。此種劑量形式可藉由將該化合物溶解或分散於適當介質中而製得。亦可使用吸收加強劑以提高該化合物穿過皮膚的通量。此種通量率可藉由提供速率控制薄膜或將該活性化合物分散在聚合物基質或凝膠中而加以控制。

眼科調配物、眼用油膏、粉劑、溶液等亦被視為在本發明範圍內。

適於非經腸投藥之本發明藥學組成物包含一或多種本發明化合物與一或多種藥學上可接受之滅菌等滲壓水性或非水性溶液、分散液、懸浮液或乳液，或可在使用前才重新組成滅菌注射溶液或分散劑的滅菌粉末，其可含有抗氧化劑、緩衝劑、抑菌劑、可使該調配物與計劃中之受試對象的血液等滲壓之溶質，或懸浮劑或增稠劑。

可用於本發明藥學組成物之適用水性與非水性載體實例包括水、乙醇、多元醇（諸如甘油、丙二醇、聚乙二醇等）與其適用混合物、植物油（諸如橄欖油）與可注射有機酯（諸如油酸乙酯）。適當流性可藉由例如使用塗覆材料（諸如卵磷脂）、在分散液情況下藉由維持所需之粒子大小，以及藉由使用界面活性劑而加以維持。

此等組成物亦可含有佐劑，諸如防腐劑、濕潤劑、乳化劑與分散劑。藉由包括各種抗菌與抗黴菌劑（例如對烴

苯甲酸酯、氯丁醇、酚山梨酸等）而確保避免微生物之作用。亦可能需要將等滲壓劑，諸如糖、氯化鈉等包括入該組成物。此外，可藉由包括延緩吸收之藥劑（諸如一硬脂酸鋁與明膠）而使注射藥學形式具有長期吸收性。

在某些實例中，為了延長藥物之效果，需要減緩從皮下或肌內注射之藥物的吸收。此可以藉由使用具有不良水溶性之結晶或非晶材料的液態懸浮液而達成。然後，該藥物的吸收速率係視其溶解速率而定，因此可視結晶大小與結晶形而定。或者，非經腸投藥之藥物形式的延緩吸收可藉由將該藥物溶解或懸浮在油性賦形劑中而達成。

注射貯存形式（**injectable depot form**）可藉由將本主題化合物之微膠囊基質形成於可生物降解聚合物（諸如聚丙交酯-聚乙交酯）中而製得。藥物釋放速率可視藥物對聚合物之比率以及所使用之特定聚合物的性質而加以控制。其他可生物降解聚合物的實例包括聚（原酸酯）與聚（酐）。貯存注射調配物亦可藉由將該藥物裹於與體組織可相容之脂質體或微乳液中而製備。

本發明之製劑可口服、非經腸、局部或直腸給藥。彼等可以適於每一種投藥途徑的形式給藥。例如，彼等可以錠劑或膠囊形式投藥。例如，彼等係藉由注射劑、注入劑、吸入劑、洗劑、油膏、栓劑等投藥。以口服投藥為佳。

本文所使用之「非經腸投藥」與「非經腸地投藥」用語意指經腸與局部投藥以外之投藥模式，通常係藉由注射

投藥，包括但不侷限於靜脈內、肌內、動脈內、椎管內、囊內、眶內、心內、皮內、腹膜內、經氣管、皮下、表皮下、關節內、囊下、蜘蛛膜下、脊椎內與胸骨內注射與灌注。

本文所使用之「系統性投藥」、「系統性地投藥」、「周邊投藥」與「周邊地投藥」等辭意指化合物、藥物或其他材料之投藥係直接投至中樞神經系統以外，以使得其進入病患的系統，因而進入代謝與其他歷程，例如，皮下投藥。

可藉由任何適用投藥途徑將此等化合物投藥予人類與其他動物以供治療，該等投藥途徑包括口服、鼻腔（諸如藉由例如噴霧）、直腸、陰道內、非經腸、腦內與局部（諸如藉由粉劑、油膏或滴劑，包括經頰與舌下）投藥。

不論所選用投藥途徑為何，本發明之化合物（其可以適用水合形式使用）及/或本發明之藥學組成物係藉由熟悉本技術之人士習知的慣用方法調配成藥學上可接受之劑量形式。

術語「治療有效量」係指會引出研究人員、獸醫、醫生或其他臨床醫生所尋求的組織、系統、動物或人類之生物或醫療反應，或是足以某種程度地避免治療中疾病之症狀進展或緩和該等症狀之受試對象鹽或同素異形體的量。

本發明藥學組成物中之活性成份的實際劑量水準可改變，以便獲得對病患無毒性之有效獲致特定病患所需之治療反應的活性成份之量、組成物，與投藥模式。

該選用劑量水準會視各式因素而定，該等因素包括本發明所使用之特定化合物或其酯、鹽或醯胺的活性、投藥途徑、投藥時間、所使用之特定化合物的排泄速率、治療持續時間、與所使用特定化合物併用之其他藥物、化合物及/或材料、接受治療之病患之年齡、性別、體重、狀態、一般健康、與先前病史等醫藥技術中為人熟知的因素。

具有本技術中一般技能之醫生或獸醫可迅速判定並指示所需藥學組成物的有效量。例如，該醫生或獸醫可以低於獲得所需治療效果所需之水準作為該藥學組成物中所使用之本發明化合物劑量開始，並逐漸提高該劑量直到獲致所需效果為止。

通常，適用之本發明化合物的每日劑量係該化合物產生治療效果之最低有效劑量的量。此種有效劑量通常視上述因素而定。通常，為求止痛效果而使用時，對病患而言本發明化合物之靜脈內與皮下劑量為每日每公斤體重使用約 0.0001 至約 100 mg，更佳為每日每公斤使用約 0.01 至約 50 mg，更佳為每日每公斤使用約 0.1 至約 10 mg。例如，在某些具體實例中，該等劑量係介於每日每公斤使用 0.5 至 4.0 mg。視需要，該活性化合物的有效每日劑量可在當天、該週或其他適用時間期間分成一、二、三、四、五、六或更多個子劑量分開投藥，隨意地以單位劑量形式進行。

雖然本發明化合物可能單獨投藥，但較佳係作為藥學

組成物地投藥該化合物。

5. 使用本發明四環素化合物之方法

本發明亦有關治療該受試對象之對四環素化合物有反應狀態的方法，其係藉由對受試對象投藥有效量之包含本發明化合物 1 或其藥學上可接受之鹽，因而治療該狀態。

本文所使用之術語「治療」係指緩和或結束疾病或病症（例如對四環素化合物有反應狀態）及/或其伴隨症狀的方法。本文所使用之術語「預防」係指阻止受試對象得到疾病或病症的方法。本文所使用之「受試對象」包括哺乳動物。該哺乳類可為例如任何哺乳動物，例如人類、靈長類動物、小鼠、大鼠、狗、貓、乳牛、馬、山羊、駱駝、綿羊或豬。較佳地，該哺乳動物係人類。

「對四環素化合物有反應狀態」或「對四環素有反應狀態」用語包括可藉由投予本發明四環素化合物而治療、預防或者改善之狀態。對四環素化合物有反應狀態包括細菌、病毒與黴菌染感（包括對於其他四環素化合物有抗藥性者）、癌（例如，攝護腺癌、乳癌、結腸癌、肺癌、黑色素瘤、淋巴瘤與以不當細胞增殖為特徵之其他病症，其包括但不侷限於美國專利 6,100,248 中所述者）、關節炎、骨質疏鬆症、糖尿病與已發現四環素化合物係有效的其他狀態（詳見例如美國專利第 5,789,395；5,834,450；6,277,061 與 5,532,227 號，該等專利各者係以提及的方式併入本文中）。本發明之化合物可用以預防或控制重要哺

乳動物與家畜疾病，諸如下痢、尿道感染、皮膚與皮膚構造感染、耳、鼻與喉嚨感染、傷口感染、乳房炎等。此外，亦包括使用本發明之四環素化合物治療腫瘤的方法（van der Bozert 等人，Cancer Res., 1998, 48：6686-6690）。在一具體實例中，該對四環素化合物有反應狀態並非細菌感染。在另一具體實例中，本發明之四環素化合物基本上為非抗菌性。例如，本發明之非抗菌性四環素化合物可具有大於約 4 $\mu\text{g/ml}$ 之 MIC 值，其係以本技術中習知之檢定測量。

對四環素化合物有反應狀態亦包括發炎過程相關狀態（IPAS）。術語「發炎過程相關狀態」包括有關或某一區域中存在異常量之發炎或發炎因子（例如母質金屬蛋白酶（MMP）、氧化氮（NO）、TNF、介白素、血漿蛋白、細胞防禦系統、細胞介素、脂質代謝物、蛋白酶、毒性基、黏著分子等）之狀態。該發炎過程係活組織對於損傷的反應。發炎的成因可能肇因於身損傷、化學物質、微生物、組織壞死、癌或其他因素。急性發炎僅短暫持續數天。不過，若其持續較久，則可被稱為慢性發炎。

IPAS 包括發炎病症。發炎病症的特徵通常為發熱、發紅、腫脹、疼痛或喪失功能。發炎病症的成因實例包括但不侷限於微生物感染（例如細菌性與黴菌性感染）、物理因素（例如灼傷、輻射與創傷）、化學因素（例如，毒素與腐蝕性物質）、組織壞死與各種類型之免疫反應。在另一具體實例中，IPAS 包括美國專利第 5,929,055 與

5,532,227 號中所述之病症，該等專利全文係以提及的方式併入本文中。

發炎病症之實例包括但不侷限於骨關節炎、風濕性關節炎、急性與慢性感染（細菌性與黴菌性感染，包括白喉與百日咳）、急性與慢性支氣管炎、竇炎、上呼吸道感染（普通感冒等）、急性與慢性腸胃炎與結腸炎、急性與慢性膀胱炎與尿道炎、急性與慢性皮膚炎、急性與慢性結膜炎、急性與慢性漿膜炎（心包炎、腹膜炎、滑膜炎、胸膜炎與腱炎）、尿毒症性心包炎、急性與慢性膽囊炎、急性與慢性陰道炎、急性與慢性葡萄膜炎、藥物反應、昆蟲叮咬、灼傷（熱灼傷、化學性灼傷與電灼傷）以及曬傷。

在一具體實例中，術語「發炎過程相關狀態」包括 NO 相關狀態。術語「NO 相關狀態」包括涉及氧化氮（NO）或誘發性氧化氮合成酶（iNOS）或與彼等相關之狀態。NO 相關狀態包括特徵為異常量之 NO 及/或 iNOS 的狀態。較佳地，該 NO 相關狀態可藉由投予本發明四環素化合物而治療。美國專利第 6,231,894；6,015,804；5,919,774 與 5,789,395 號中所述之病症、疾病與狀態亦包括為 NO 相關狀態。此等專利各者之完整內容係以提及的方式併入本文中。

NO 相關狀態之其他實例包括但不侷限於瘧疾、衰老、糖尿病、血管中風、神經變性病症（阿滋海默氏症、漢廷頓氏舞蹈症與帕金森氏症）、心臟病（梗塞後之再灌注相關損傷）、幼年糖尿病、發炎病症、骨關節炎、風濕

性關節炎、急性、復發與慢性感染（細菌性、病毒性與黴菌性）、急性與慢性支氣管炎、竇炎，及呼吸感染（普通感冒等）、急性與慢性腸胃炎與結腸炎、急性與慢性膀胱炎與尿道炎、急性與慢性皮膚炎、急性與慢性結膜炎、急性與慢性漿膜炎（心包炎、腹膜炎、滑膜炎、胸膜炎與腱炎）、尿毒症性心包炎、急性與慢性膽囊炎、囊腫纖維化、急性與慢性陰道炎、急性與慢性葡萄膜炎、藥物反應、昆蟲叮咬、灼傷（熱灼傷、化學性灼傷與電灼傷）以及曬傷。

在一具體實例中，術語「發炎過程相關狀態」亦包括基質金屬蛋白酶相關狀態（MMPAS）。MMPAS 包括特徵為異常量之 MMP 或 MMP 活性的狀態。此等亦包括為可使用本發明化合物治療之對四環素化合物有反應狀態。

基質金屬蛋白酶相關狀態（MMPAS）之實例包括但不侷限於動脈硬化、角膜潰瘍、肺氣腫、骨關節炎、多發性硬化症（Liedtke 等人，*Ann. Neurol.* 1998, 44：35-46；Chandler 等人，*J. Neuroimmunol.* 1997, 72：155-71）、骨肉瘤、骨髓炎、支氣管擴張、慢性阻塞性肺病、皮膚病與眼疾、牙周病、骨質疏鬆症、風濕性關節炎、潰瘍性結腸、發炎疾病、腫瘤生長與侵犯（Stetler-Stevenson 等人，*Annu. Rev. Cell Biol.* 1993, 9：541-73；Tryggvason 等人，*Biochim. Biophys. Acta* 1987, 907：191-217；Li 等人，*Mol. Carcinog.* 1998, 22：84-89）、轉移、急性肺部損傷、中風、局部缺血、糖尿病、主動脈或血管瘤、皮膚

組織傷口、乾眼症、骨與軟骨退化（Greenwald 等人，Bone 1998, 22：33-38；Ryan 等人，Curr. Op. Rheumatol. 1996, 8：238-247）。其他 MMPAS 包括美國專利第 5,459,135；5,321,017；5,308,839；5,258,371；4,935,412；4,704,383；4,666,897 號與 RE 34,656 所述者，該等專利全文係以提及的方式併入本文中。

在另一具體實例中，對四環素化合物有反應狀態為癌。本發明之四環素化合物可以治療的癌之實例包括所有固態腫瘤，即，惡性腫瘤，例如腺癌與肉瘤。腺癌係從腺性組織衍生或是腫瘤細胞形成可識別腺性構造的惡性腫瘤。肉瘤廣義地包括細胞埋在如胚期結締組織之原纖維或均質物質中的腫瘤。可使用本發明化合物治療之惡性腫瘤實例包括但不侷限於攝護腺、乳房、卵巢、睪丸、肺部、結腸與乳房之惡性腫瘤。本發明方法不限於治療此等腫瘤種類，亦可擴大到從任何器官系統衍生之任何固態腫瘤。可治療之癌實例包括但不侷限於結腸癌、膀胱癌、乳癌、黑色素瘤、卵巢惡性腫瘤、攝護腺惡性腫瘤、肺癌以及各種其他癌。本發明之方法亦造成抑制腺癌（諸如例如攝護腺、乳房、腎臟、卵巢、睪丸與結腸之腺癌）的癌生長。

在一具體實例中，本發明有關治療罹患癌之受試對象的方法，其係藉由投予有效量之經取代四環素化合物以使得發生抑制癌細胞生長，即，細胞增殖、侵犯性、轉移或腫瘤發病減少、變慢或停止。該抑制可由抑制發炎過程、抑低調節發炎過程、某些其他機制或數種機制之組合而引

起。或者，該四環素化合物可用於預防癌復發，例如，以在手術切除或放射治療之後治療殘留癌。本發明可用之四環素化合物尤其有利之處係其他癌治療方式相較之下其實質上無毒性。在另一具體實例中，本發明之化合物係與標準癌治療（諸如但不侷限於化學治療）合併投藥。

對四環素有反應狀態之實例亦包括神經性疾病，其包括神經精神疾病與神經變性病二者，但不侷限於阿滋海默氏症、與阿滋海默氏症相關之癡呆，諸如皮克氏症、帕金森氏症與其他擴散性路易體症、老年癡呆、漢廷頓氏舞蹈症、妥瑞氏症、多發性硬化症、肌萎縮性側索硬化（ALS）、進行性核上眼神經麻痺症、癲癇與庫賈氏病、自律神經功能失調，諸如高血壓與睡眠障礙、神經精神疾病（憂鬱、精神分裂症、感情分裂性精神病、柯薩可夫精神病（Korsakoff's psychosis）、躁症、焦慮症、恐懼症等）、學習或記憶障礙（健忘症或年齡相關記憶喪失、注意力缺失等）、低落性情感症、重度憂鬱症、強迫行為疾病、精神作用物質濫用、焦慮、恐懼症、恐慌症，以及雙極性情感異常（嚴重雙極性情感（心情）異常（BP-1）、雙極性情感神經性疾病，例如偏頭痛與肥胖症等）。其他神經性疾病包括例如 American Psychiatric Association's Diagnostic and Statistical manual of Mental Disorders（DSM）中所列者，該文獻最新版本全文係以提及的方式併入本文中。

在另一具體實例中，該對四環素化合物有反應狀態為

糖尿病，例如幼年糖尿病、糖尿病、第 I 型糖尿病或第 II 型糖尿病。在另一具體實例中，蛋白質糖化作用不受本發明四環素化合物之投藥影響。在另一具體實例中，本發明之四環素化合物係與標準糖尿病療法併用，該等糖尿病療法係諸如但不侷限於胰島素療法。

在另一具體實例中，該對四環素化合物有反應狀態為骨質疾病。骨質疾病包括受試對象骨頭有病症及/或處於骨之形成、修復或改造較為有利的狀態。例如，骨質疾病包括骨質疏鬆症（例如，骨強度與密度降低）、骨折、與外科方法材料之骨形成（例如臉部重建）、成骨不全（脆骨症）、低磷酸酶症、佩吉特氏病、纖維性發育不良、骨石化病、骨髓瘤骨病，與骨中鈣耗乏，諸如與原發性副甲狀腺機能亢進症相關者。骨質疾病包括骨之形成、修復或改造對於受試對象較有利之所有狀態，以及與受試對象之可以本發明四環素化合物治療的骨或骨骼系統相關之所有病症。在另一具體實例中，骨質疾病包括美國專利第 5,459,135 ； 5,231,017 ； 5,998,390 ； 5,770,588 ； RE 34,656 ； 5,308,839 ； 4,925,833 ； 3,304,227 與 4,666,897 號中所述者，該等專利各者之全文係以提及的方式併入本文中。

在另一具體實例中，對四環素化合物有反應狀態為急性肺部損傷。急性肺部損傷包括成人呼吸窘迫症候群（ARDS）、泵唧後症候群（PPS）與創傷。創傷包括由外來因素或事件所導致之活組織的任何損傷。創傷實例包

括但不侷限於壓挫傷、與硬表面接觸，或割傷或對肺部之其他損傷。

本發明亦有關藉由投予本發明經取代四環素化合物治療急性肺部損傷的方法。

本發明對四環素有反應狀態亦包括慢性肺病。本發明有關藉由投予四環素化合物（諸如本文所述者）治療慢性肺病的方法。該方法包括對一受試對象投予有效量之經取代四環素化合物，以治療該慢性肺病。慢性肺病之實例包括但不侷限於氣喘、囊腫纖維化與肺氣腫。在另一具體實例中，本發明之四環素化合物係用以治療急性及/或慢性肺病，諸如美國專利第 5,977,091；6,043,231；5,523,297；與 5,773,430 號所述者，該等專利各者全文係以提及的方式併入本文中。

在又一具體實例中，該對四環素化合物有反應狀態為局部缺血、中風或缺血性中風。本發明亦有關投予有效量之本發明經取代四環素化合物治療局部缺血、中風或缺血性中風的方法。在另一具體實例中，本發明之四環素化合物係用以治療諸如美國專利第 6,231,894；5,773,430；5,919,775 與 5,789,395 號中所述之疾病；該等專利係以提及的方式併入本文中。

在另一具體實例中，該對四環素化合物有反應狀態為皮膚傷口。本發明至少部分亦有關改善上皮組織（例如皮膚、黏膜等）對於急性外傷（例如割傷、灼傷、刮傷等）之癒合反應的方法。本方法可包括使用本發明四環素化合

物（其可具有或可不具抗菌活性）改善上皮組織癒合急性傷口之能力。該方法可提高該癒合中組織的膠原累積速率。該方法亦可藉由降低 MMP 之膠原分解及/或明膠分解活性而降低該上皮組織中之蛋白分解活性。在另一具體實例中，將本發明之四環素化合物投於皮膚表面（例如，局部投藥）。在另一具體實例中，本發明四環素化合物係用以治療皮膚傷口與例如美國專利第 5,827,840 ； 4,704,383 ； 4,935,412 ； 5,258,371 ； 5,308,839 ； 5,459,135 ； 5,532,227 與 6,015,804 號中所述之其他此等病症，該等專利各者全文係以提及的方式併入本文中。

在又一具體實例中，該對四環素化合物有反應狀態係受試對象之血管組織中的主動脈或血管瘤（該受試對象係例如具有主動脈或血管瘤或者有此風險等）。該四環素化合物可有效縮減血管瘤大小，或者可在血管瘤發作之前對該受試對象投以四環素化合物以預防該瘤。在一具體實例中，該血管組織為動脈，例如主動脈，例如腹主動脈。在另一具體實例中，本發明之四環素化合物係用以治療美國專利第 6,043,225 與 5,834,449 號中所述之病症，該等專利全文係以提及的方式併入本文中。

細菌感染可由廣泛各式革蘭氏陽性菌與革蘭氏陰性菌所造成。本發明之化合物可作為用於對其他四環素化合物具有抗藥性之微生物的抗生素。本發明之四環素化合物的抗微生物活性可使用 Waitz, J.A., National Commission for Clinical Laboratory Standards, Document M7-A2, 第

10 卷，第 8 號，第 13-20 頁，第 2 版，Villanova，PA（1990）中所述之試管內標準稀膠法測定。

該四環素化合物亦可用以治療習慣上以四環素化合物治療之感染，諸如例如立克次體感染、一些革蘭氏陽性菌與革蘭氏陰性菌感染、性病性淋巴肉芽腫（*lymphogranuloma venereum*）、包涵體結膜炎與鸚鵡病。該四環素化合物可用於治療例如克留氏肺炎桿菌、沙門氏桿菌、希氏腸球菌（*E. hirae*）、鮑曼氏不動桿菌（*A. baumannii*）、牛卡他菌（*B. catarrhalis*）、流行性感、冒嗜血桿菌、綠膿桿菌、屎腸球菌（*E. faecium*）、大腸桿菌、金黃色葡萄球菌或糞腸球菌（*E. faecalis*）之感染。在一具體實例中，該四環素化合物係用以治療對於其他四環素抗生素化合物具有抗藥性之細菌感染。本發明之四環素化合物可與藥學上可接受之載體合併投藥。

與其他治療藥劑或治療「合併」之用語包括該四環素化合物（例如抑制劑）與其他治療藥劑或治療聯合投藥、先投以該四環素化合物然後投以該其他治療藥劑或治療，以及先投以該其他治療藥劑或治療然後投以該四環素化合物。該其他治療藥劑可為本技術中習知用以治療、預防或減少疾病或病症之症狀（諸如 IPAS）的任何藥劑。此外，該其他治療藥劑可為與四環素化合物之投藥合併投藥時有益於病患的任何藥劑。在一具體實例中，藉由本發明方法治療之疾病（諸如癌）包括美國專利第 6,100,248；5,843,925；5,837,696 與 5,668,122 號中所述者，該等專利

全文係以提及的方式併入本文中。

該化合物之「有效量」用語係治療或預防對四環素化合物有反應狀態所必要或足夠之量。該有效量可視諸如受試對象大小與體重、疾病類型或特定四環素化合物等因素而改變。此外，四環素化合物之選用能影響構成「有效量」之因素。熟悉本技術之人士能研究上述因素並在無不當實驗下決定該四環素化合物之有效量。

在本發明之治療方法中，可將本發明之一或多種四環素化合物投予受試對象，或者更常見情況係本發明之化合物係作為藥學組成物之一部分而以與習用賦形劑之混合物投藥，該等習用賦形劑即適於非經腸、口服或其他所需之投藥的藥學上可接受之有機或無機載體物質，且其不會與該活性化合物有害地反應且不會不利於其接受者。

以下列實施例進一步說明本發明，該等實施例不應視為進一步限制。

【圖式簡單說明】

圖 1 提供包含結晶化合物 1 之樣本在 25°C 下的 X 射線粉末繞射圖案；

圖 2 提供化合物 1 之起始材料（E00285）、形式 1 甲苯磺酸鹽、形式 2 甲苯磺酸鹽、形式 3 甲苯磺酸鹽與非晶甲苯磺酸鹽形式在 25°C 下的 X 射線粉末繞射圖案；

圖 3 提供結晶化合物 1（E00285）與包含形式 1 甲苯磺酸鹽的樣本（其係從在 IPA 中再結晶化合物 1 之非晶甲

苯磺酸鹽而製得) 在 25°C 下的 X 射線粉末繞射圖案之比較；

圖 4 提供包含在真空中乾燥一夜的形式 1 甲苯磺酸鹽、形式 2 甲苯磺酸鹽與形式 3 甲苯磺酸鹽之樣本在 25°C 下的 X 射線粉末繞射圖案之比較；

圖 5 提供包含形式 2 甲苯磺酸鹽之樣本的不同溫度之 X 射線粉末繞射分析；

圖 6 提供包含形式 3 甲苯磺酸鹽之樣本的不同溫度之 X 射線粉末繞射分析；

圖 7 提供包含形式 1 甲苯磺酸鹽與形式 3 甲苯磺酸鹽之 50 : 50 混合物於 IPA 中的漿體之樣本的不同溫度 X 射線粉末繞射分析；

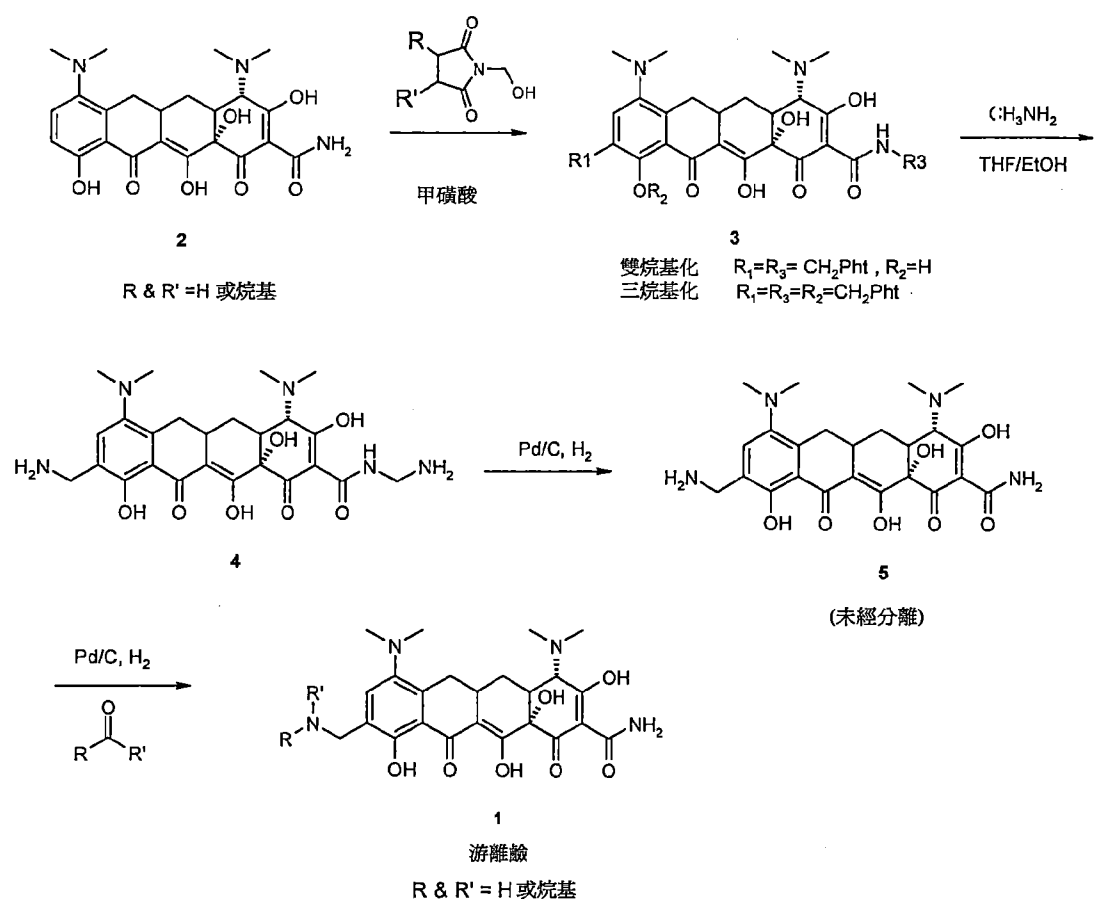
圖 8 提供包含化合物 1 之形式 1 甲苯磺酸鹽之樣本的高解析度 X 射線粉末繞射圖案；

圖 9 提供包含化合物 1 之形式 2 甲苯磺酸鹽 (HPLC 純度為 93.2%) 之樣本的高解析度 X 射線粉末繞射圖案；

圖 10 提供包含化合物 1 之形式 3 甲苯磺酸鹽 (HPLC 純度為 96.7%) 之樣本的高解析度 X 射線粉末繞射圖案。

【實施方式】

實施例 1：9-烷基胺基甲基美諾四環素之合成



圖解 2

將鹽酸美諾四環素（化合物 2）溶解在具有甲磺酸酐或類似水清除劑酸（諸如三氟甲磺酸）的甲磺酸或鹽酸中。將 N-羥甲基鄰苯二甲醯亞胺加入該反應混合物。在 20-35℃ 下攪拌該混合物直到反應完成為止。將該酸溶液添加至冰/水混合物，可迅速沉澱、過濾與收集三氟甲磺酸鹽。將該固體再溶解於丙酮中，並以鹼調整成中性 pH。藉由添加水將該產物沉澱。若存在該三氟甲磺酸作為清除劑，可在無中和作用下沉澱該產物。分離該產物作為雙烷基與三烷基化產物之混合物。此反應之分離材料中所需之雙烷基化產物比率高（90%）。

將該固體懸浮於 EtOH 或 MeOH。藉由使用甲胺進行

胺解。鄰苯二甲醯胺副產物於反應進行時沉澱，並藉由過濾作用將之去除。該淡黃色固態產物係藉由添加為反應混合物約 1.5 體積之甲基第三丁醚而沉澱析出，並經由將許多小雜質與甲胺試劑留在該溶液中的簡單過濾加以收集。該化合物之進一步純化作用係經由使用低碳脂族醇（諸如甲醇）再次漿體化進行。

將作為游離鹼之化合物 4 轉移至填充甲醇與醛的氫化容器。填充鈍化之 Pd/C 觸媒，並以氫氣加壓該容器。在約 30 Psi 之氫氣壓力下氫化該反應混合物約 24 小時。當化合物 4 變成化合物 1 之轉化作用完成時，過濾該溶液並清洗通過矽藻土（Celite）墊。此時，該反應混合物含有極低 β C-4 表異構物，約 3-7%。

如下整理產物（1）以選擇性分離該產物與其雜質。以濃縮 HCl 將該溶液之 pH 調整至約 4.5，並以二氯甲烷萃取該溶液。以二氯甲烷萃取該水性層以選擇性回收較佳之表異構物產物（例如 α 表異構物）。混合該等二氯甲烷並將之濃縮，並添加 2 L 之正庚烷以沉澱該產物。藉由使用或不使用甲基第三丁醚溶解該粗製產物重複該整理製程而獲得進一步純化作用。

實施例 2：化合物 1 之純化作用

將粗製 9-（2',2'-二甲基丙基胺基甲基）美諾四環素游離鹼（40 g）溶解於 150 mL 之緩衝劑 A（0.1% 之甲磺酸-MSA 水溶液），並以 MSA 將 pH 調整為 2-3。

將該溶液過濾並注入一 HPLC，並且以 94%緩衝劑 A 與 6%乙腈之均等梯度洗出該產物。當偵測到該產物尖峰時，開始該產物分份收集。分析每一份，並對早期產物部分使用主峰大於 80% AUC 之可接受標準。當混合數部分時，將合併部分之雜質水準與較對濃度計入符合最終產物規格之選擇標準的因素。在該等產物部分中添加與所收集部分的原始體積之 10%均等的 10%亞硫酸鈉水溶液。

下列實施例代表單一注射劑之輸出物。亦可混合並整理多注射劑之輸出物。收集 3.5 L 之產物部分（包括亞硫酸鈉）體積，並使用氫氧化鈉溶液將 pH 調整至 4.0-4.5。以 2 L 二氯甲烷清洗該水溶液，並分離與丟棄該有機層。

使用氫氧化鈉將該水性層之 pH 調整至 7.5-8.5，並以 2.4 L 之二氯甲烷萃取該產物四次。在每次萃取之前，以氫氧化鈉或 MSA 將該 pH 再調整至 7.5-8.5。

將該四層二氯甲烷層混合並濃縮至約 200 mL，然後將之緩慢（在約 10 分鐘期間）添加至劇烈攪拌之正庚烷（2.5 L）。在室溫下將該懸浮液攪拌 10 分鐘，並以正庚烷 1.5 L 緩慢（在約 5 分鐘期間）稀釋。將該漿體冷卻至 0-5℃並攪拌 1-2 小時。過濾該懸浮之固體，並以 3 x 150 mL 份之正庚烷清洗。於真空 40℃下乾燥該產物至少 24 小時，直到達到恆重且所有殘留溶劑係在規格內為止。分離出呈黃色固體的約 13.6 g 之 9-（2',2'-二甲基丙基胺基甲基）美諾四環素游離鹼。

實施例 3：化合物 1 的結晶 HCl 鹽之製備

將化合物 1 (13 g) 溶解在丙酮 (300 mL) 中，過濾並以丙酮額外清洗該過濾器。將該混合濾液與洗滌液冷卻至 5°C。在劇烈攪拌下，於該混合濾液與洗滌液中緩慢加入濃縮 HCl (3.9 mL) 在丙酮 (79 mL) 中之溶液。在冰浴中攪拌所形成的漿體 15 分鐘，並過濾之。

以冷丙酮與戊烷清洗第一批固體，並在真空中乾燥 48 小時，製出 13.7 g 之黃色非晶固體。以鋁箔覆蓋該裝有飽和濾液之燒瓶並放置 2 週，於此期間觀察單晶之生長。藉由過濾作用收集結晶，並以己烷清洗。

實施例 4：化合物 1 的結晶甲磺酸鹽之製備

在惰性氮氣氛下，在一 25 mL 之 3 頸燒瓶中填充 3 mL 之異丙醇 (IPA)。藉由將 225 mg 之化合物 1 的非晶游離鹼添加至該燒瓶而製備漿體。將該漿體加溫至 45°C 之溫度。然後將甲磺酸水合物 (98.0 mg) 加至該漿體。該漿體係於 45°C 下攪拌 1 小時，然後冷卻至 22°C 以製造濃稠結晶漿體。過濾該漿體，並以 IPA 清洗 (2 x 1 mL)。藉由在 55°C 下乾燥 2 小時以上而從該結晶餅去除過量的 IPA，以達到恆重。分離化合物 1 之結晶甲磺酸鹽 (180 mg)。測得該結晶甲磺酸鹽在 5°C 下不安定。

實施例 5：化合物 1 的結晶甲苯磺酸鹽之製備 (使用漿體法)

在惰性氮氣氛下，在一 5 L 之 3 頸燒瓶中填充 2.0 L 之異丙醇（IPA）。藉由將 289 g 之化合物 1 的非晶游離鹼添加至該燒瓶而製備漿體。然後將該對甲苯磺酸水合物（97.0 g）於 IPA（400 mL）中之溶液添加至該漿體。藉由水（9 mL）之添加將該漿體上澄液的水含量調整至 0.6 g/L，並在 20-25°C 下攪拌該漿體 18 小時以製造濃稠結晶漿體。過濾該漿體，並以 IPA 清洗（2 x 500 mL）。藉由將乾燥氮氣吹過該結晶餅歷時 24 小時而從該餅去除過量的 IPA。因該固體含有 3 重量%之 IPA，可藉由在相對濕度 70-75% 下將調濕之氮氣吹過該餅歷時 24 小時而進一步乾燥該餅。該餅保有 0.9 重量%之 IPA，其未因本方法進一步減少。然後藉由將乾燥氮氣吹過該結晶餅歷時 24 小時而從該餅去除過量的水。分離呈橙色粉末（337 g）之化合物 1 的甲苯磺酸鹽。該分離之化合物 1 甲苯磺酸鹽為只有一種觀察形式的結晶：非化學計量半水合物，此係藉由 X 射線粉末繞射（XPRD）與熱重量（TG）分析測得。

圖解 4

在惰性氮氣氛下，在一 5 L 之 3 頸燒瓶中填充 2.0 L 之異丙醇（IPA）。藉由將 289 g 之化合物 1 的非晶游離鹼添加至該燒瓶而製備漿體。然後將該對甲苯磺酸水合物（97.0 g）於 IPA（400 mL）中之溶液添加至該漿體。藉由水（9 mL）之添加將該漿體上澄液的水含量調整至 0.6 g/L，並在 20-25°C 下攪拌該漿體 18 小時以製造濃稠結晶

漿體。過濾該漿體，並以 IPA 清洗（2 x 500 mL）。藉由在 45-65°C 下乾燥 2 小時以上而從該結晶餅去除過量的 IPA，以達到恆重。分離化合物 1 之結晶（337 g）。

實施例 6：化合物 1 的結晶甲苯磺酸鹽之製備（使用溶液法）

在惰性氮氣氛下，在一 5 L 之 3 頸燒瓶中填充 1.7 L 之甲醇與 1.7 L 之甲基第三丁醚。在攪拌下將對甲苯磺酸一水合物（209g）與該化合物 1 之非晶游離鹼（556g）加入該燒瓶，獲得澄澈溶液。添加晶種量（3 g）之該化合物 1 的一甲苯磺酸鹽以開始結晶作用，並加入額外量之甲醇（0.1 L）與甲基第三丁醚（0.5 L）。在約 20°C 下攪拌所得之漿體約 22 小時，以製造濃稠結晶漿體。將該漿體過濾並以 1.1 L 甲醇與 1.3 L 之甲基第三丁醚清洗，接著以甲基第三丁醚（2 x 2.4 L）清洗。分離呈橙色粉末之化合物 1 的甲苯磺酸鹽。藉由將乾燥氮氣吹過該結晶餅歷時 24 小時而從該餅去除過量的溶劑。然後於真空在約 30°C 下乾燥該餅，直到該固體含有約 6 重量%之溶劑為止。於真空在約 45°C 下進一步乾燥該餅，直到該固體含有少於 3 重量%之溶劑為止。該分離之化合物 1 甲苯磺酸鹽為結晶，以 X 射線粉末繞射（XPRD）測定其具有觀察形式 1。

實施例 7：化合物 1 之甲苯磺酸鹽的特徵

該分離之化合物 1 的甲苯磺酸鹽之 XRPD 圖案包括在 5.6、8.0、8.6、11.4、13.0、15.5、18.8、20.4 與 24.5 度之 2θ 值。

在氮氣流下以 10°C /分鐘之加熱速率對該結晶甲苯磺酸鹽進行熱重量 (TG) 分析。觀察高達 81.3°C 的重量損失為 3.9%，此係由於水流失所致。

於乾燥時，求得該化合物 1 之結晶甲苯磺酸鹽中的水含量為 0.5%。在室溫下放置 24 小時之後，該值提高至 5%。相對於非晶化合物 1，化合物 1 之結晶甲苯磺酸鹽在室溫下可呈安定數週與數月之久，水含量維持在大約 5%。

亦在氮氣流下以 10°C /分鐘之加熱速率在一開口皿中對該主題結晶甲苯磺酸鹽進行微差掃描熱量測定法 (DSC)。該 DSC 曲線的特徵係吸熱，其外推開始溫度為 35.3°C ，尖峰溫度為 52.0°C ，且焓為 17.6 J/g ；第二吸熱的外推開始溫度為 158.2°C ，尖峰溫度為 167.7°C 且焓為 2.1 J/g ；而第三吸熱之外推開始溫度為 194.7°C ，尖峰溫度為 201.1°C 且焓為 2.5 J/g 。

主題結晶甲苯磺酸鹽的吸濕性係使用對稱蒸氣吸附分析器測定，並以作為相對濕度百分比 (%RH) 之函數增加的重量%記錄，該相對濕度係從 5%至 95%至 1%，在 25.0°C 下以 5%為間隔。觀察到在 95%RH 下之最大增重為 12 重量%，解吸時稍微滯後，且觀察到因 IPA 所致之失重 2 重量%。

測得該結晶甲苯磺酸鹽具有下表 8 所彙總的溶解性。該等溶解性係藉由在周圍溫度下混合過量固體與溶劑 2 小時，然後過濾該上澄液而測得。該上澄液濃度係藉由高效液體層析術（HPLC）測定。56.8 mg 該主題結晶甲苯磺酸鹽於 0.5 mL 水中以及 122.1 mg 該主題結晶甲苯磺酸鹽於 1.0 mL 水中平衡形成澈溶液。測得 122.1 mg 該主題結晶甲苯磺酸鹽於 1.0 mL 水中之 pH 為 5.70。

表 8

溶劑	溶解性 (mg/mL)
水	>100
乙腈	5.9
甲醇	86.1
IPA	5.8

實施例 8：化合物 1 之 XRPD

X 射線粉末繞射圖案係在使用 Cu K α 輻射（40kV，40mA）， θ - θ 測角計、V20 之發散度與接收狹縫、石墨副單色儀與閃爍計數器之 Siemens D5000 繞射儀上收集。該儀器係使用經認證 Corundum 標準（NIST 1976）檢查性能。用於資料收集的軟體係 Diffrac Plus XRD Commander v2.3.1，且使用 Diffrac Plus EVA v 11,0.0.2 或 v 13.0.0.2 分析與呈現該資料。

將粉劑樣本製成使用之平板試樣。將約 35 mg 該樣本輕柔地裝入切入經拋光零背景（510）矽晶圓中之孔隙。於分析期間以該樣本自有之平面旋轉。資料收集細節為：

角度範圍：2 至 $42^{\circ}2\theta$

步幅： $0.05^{\circ}2\theta$

收集時間：4 s/步。

高解析度 X 射線粉末繞射圖案係於使用 Cu $K\alpha$ 輻射（40 kV，40 mA）、自動化 XYZ 級、用於自動樣本定位之雷射視頻顯微鏡與 HiStar 2 維區偵測器的 Bruker AXS C2 GADDS 繞射儀上收集。X 射線光學系統係由與 0.3 mm 之針孔準直器耦合之單一 Göbel 多層鏡所組成。

該束發散度（即 X 射線束在樣本上之有效大小）為大約 4 mm。一 θ - θ 連續掃描模式係使用提供 3.2° - 29.7° 之有效 2θ 範圍的 20 cm 之樣本-偵測器距離。通常，該樣本會曝露於 X 射線束 120 秒。用於資料收集之軟體為供 WNT 4.1.16 用之 GADDS，且該資料係使用 Diffrac Plus EVA v 9.0.0.2 或 v 13.0.0.2 分析與呈現。

實施例 9：溫度與濕氣安定性研究

在化合物 1 之甲苯磺酸鹽與甲磺酸鹽上進行安定性研究，其係藉由監測當每種鹽曝露於各種不同溫度及/或濕度條件時在高效液相層析術（HPLC）雜質曲線中的改變而進行。將每一樣本置於封閉容器中，並曝露於三種受控制環境：冷藏（ 5°C ）、 20°C 且 60% 相對濕度，以及 40°C 且 75% 相對濕度。2 週後，測得該結晶甲苯磺酸鹽為最安定的化合物 1 之結晶形。繼續該結晶甲苯磺酸鹽的安定性研究。

藉由下列逆相 HPLC 雜質曲線法分析樣本，其時間點係甲苯磺酸鹽（表 8）為 0、1、2 與 4 週（表 9）以及 3 個月（表 10）；而甲磺酸鹽（表 11）為 0、1 與 2 週。

逆相 HPLC 分析係使用 SYMMETRY SHIELD RP18 柱（4.6 x 250 mm，5 μ m 粒子大小）進行，惟使用類似或相等柱之分析可預期產生類似結果。流動相組份為在 pH 3.3 水（A）與乙腈（B）中之 0.01 M 乙酸銨。該流動相組成物的梯度為在 5 分鐘內從 6%提高至 15%B，在 15%B 保持 15 分鐘，在 10 分鐘內從 15%提高至 50%B，然後在 2 分鐘內從 60%提高至 90%，然後將該系統在 6%B 再平衡 4 分鐘。流率為 1.0 mL/分鐘，該注射體積為 10.0 μ L。柱溫度維持在 30°C。藉由在 280 nm 之紫外線（UV）偵測。化合物 1 之滯留時間大約 15.7 分鐘。該樣本溶液係在流動相 A 中製備成最終濃度為 2.0 mg/mL。

表 9

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

*RH 表示相對濕度
**總雜質包括特定批次中之所有雜質
***RRT 1.26 表示β-表異構物

表 10

時間點	20°C & 60% RH*				40°C & 75% RH			
	β-表異 構物 RRT=1.26	4-酮 化合物 RRT=1.57	M-2 雜質 RRT=0.84	總雜質**	β-表異 構物 RRT=1.26	4-酮 化合物 RRT=1.57	M-2 雜質 RRT=0.84	總雜質
0 個月	1.76%	0.05%	-	2.12%	1.76%	0.05%	-	2.12%
3 個月	1.74%	0.10%	0.18%	2.86%	1.66%	0.14%	0.31%	3.12%

*RH 表示相對濕度
**總雜質包括特定批次中之所有雜質

表 11

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

上述資料證實化合物 1 之甲苯磺酸鹽於冷藏及/或在 20°C & 60% RH 條件下貯存至少 4 週時呈安定。化合物 1 之甲苯磺酸鹽在 0°C 至 70°C 範圍內，或在 5°C 至 50°C 範圍，或在 20°C 至 30°C 範圍之溫度下呈安定。

實施例 10：耐光性研究

耐光性研究係在化合物 1 之甲苯磺酸鹽上進行。在透明玻璃培養皿中製備兩個樣本。將一個樣本包裹在鋁箔中以作為對照組樣本。將兩個樣本置於 ES 2000 Environmental Light 10 Chamber 中並曝於 12 千勒克司冷白螢光燈下總計 47 小時。然後藉由 HPLC 雜質曲線法分析樣本，結果係彙總於表 12。

表 12

樣本	RRT 0.52 (%)	RRT 0.0.64 (%)	RRT 0.77 (%)	RRT 0.83 (%)	RRT 0.93 (%)	RRT 1.19 (%)	RRT 1.26 (%)	RRT 1.77 (%)	化合物 1 (%)
對照組	0.06	ND	0.08	ND	0.12	0.26	1.2	0.16	98.2
曝光組	0.06	ND	0.09	ND	0.13	0.26	1.1	0.16	98.2

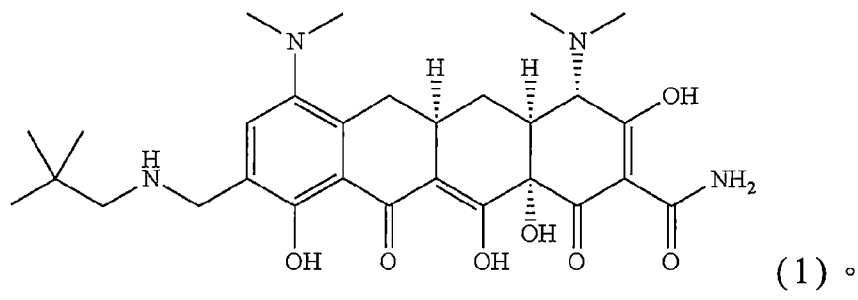
同等物

熟悉本技術之人士將會公認或使用不超過例行實驗即可以確定與本文所述特定具體實例及方法的同等物。此等同等物意欲包括在下列申請專利範圍內。

本文所引用之所有專利、專利申請案與文獻參考係以提及的方式明確地併入本文中。

【發明申請專利範圍】

【請求項1】一種化合物1之結晶形：



【發明圖式】

圖1

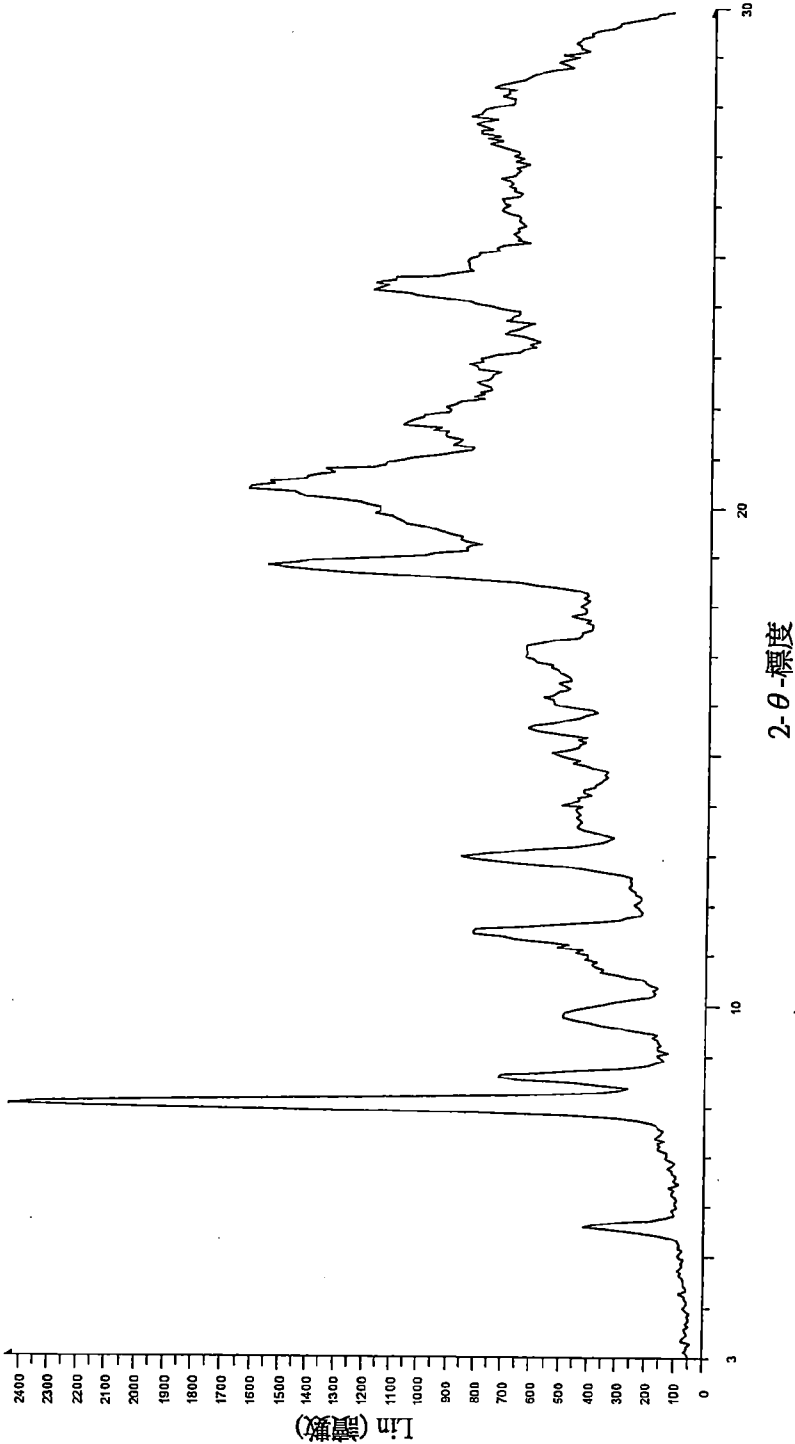


圖2

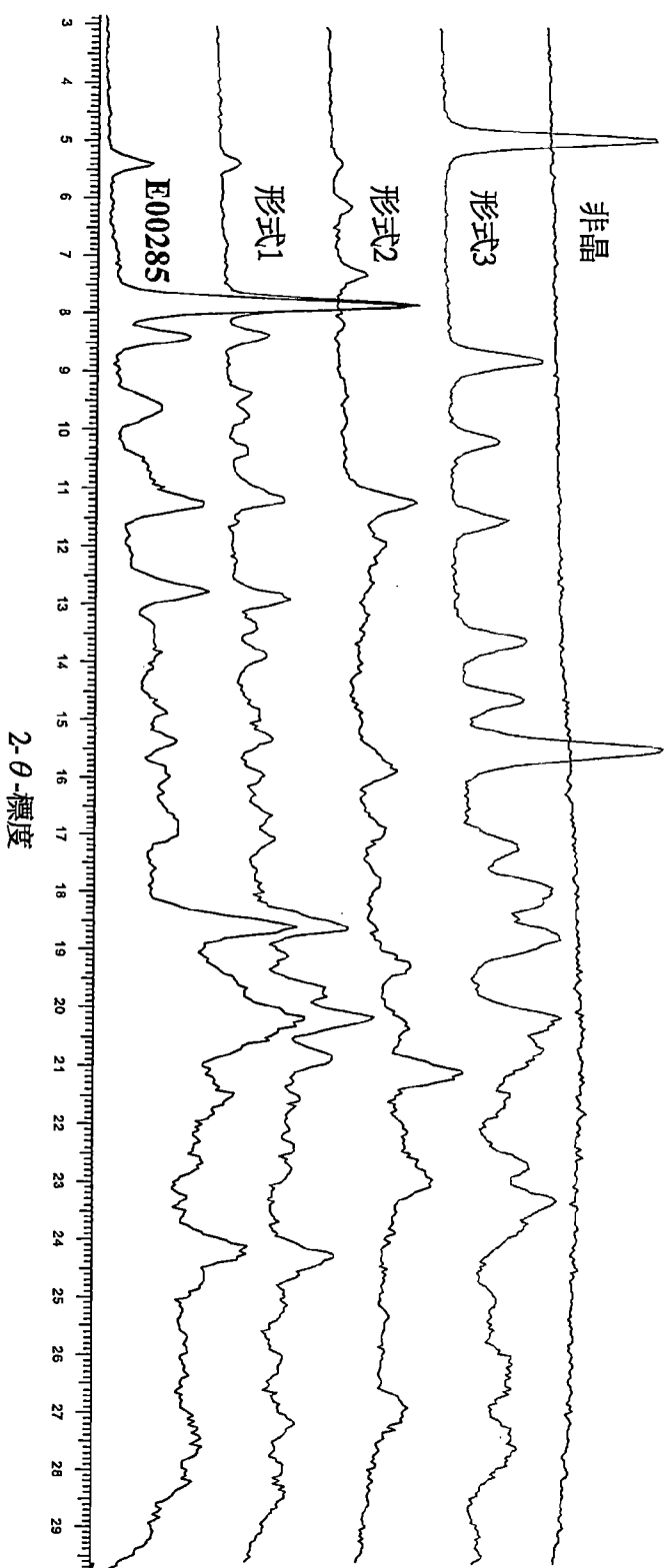


圖 3

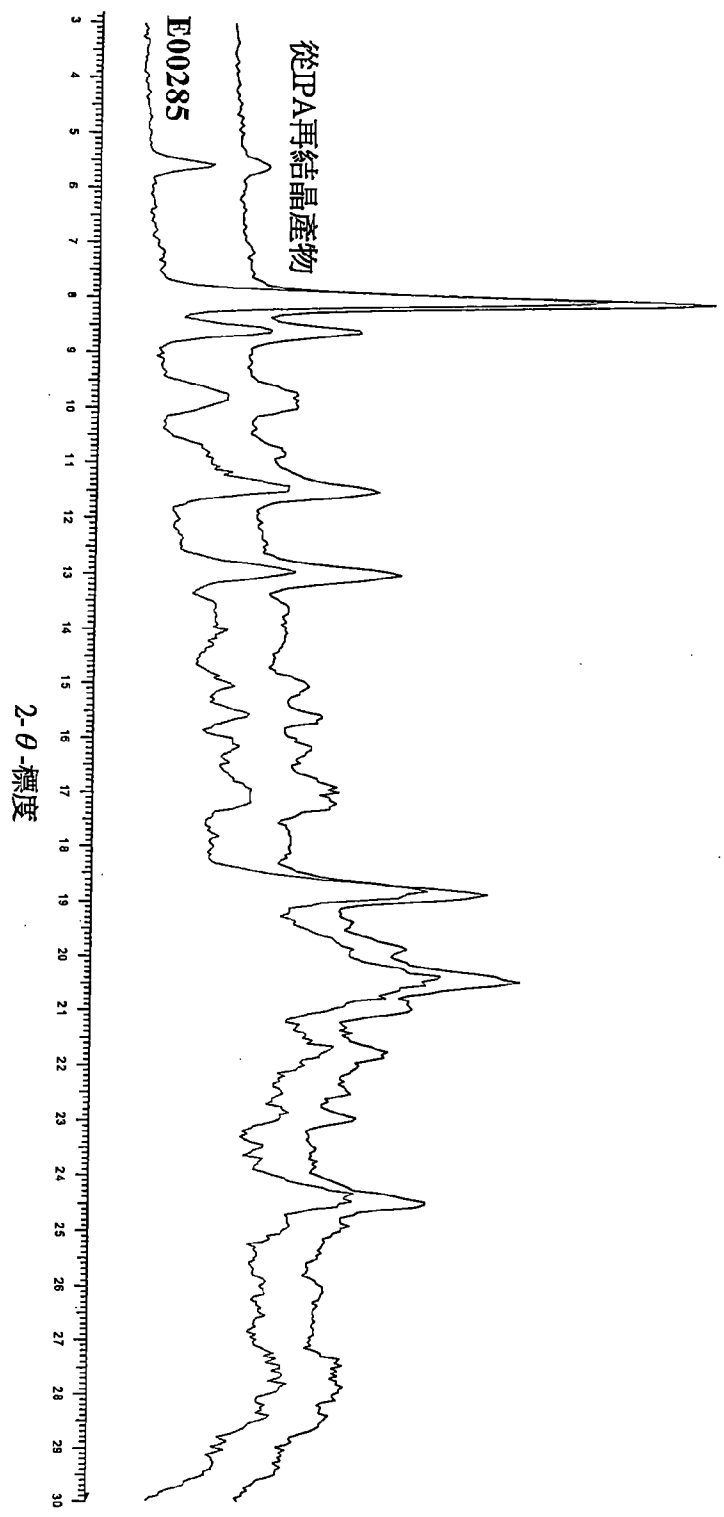


圖 4

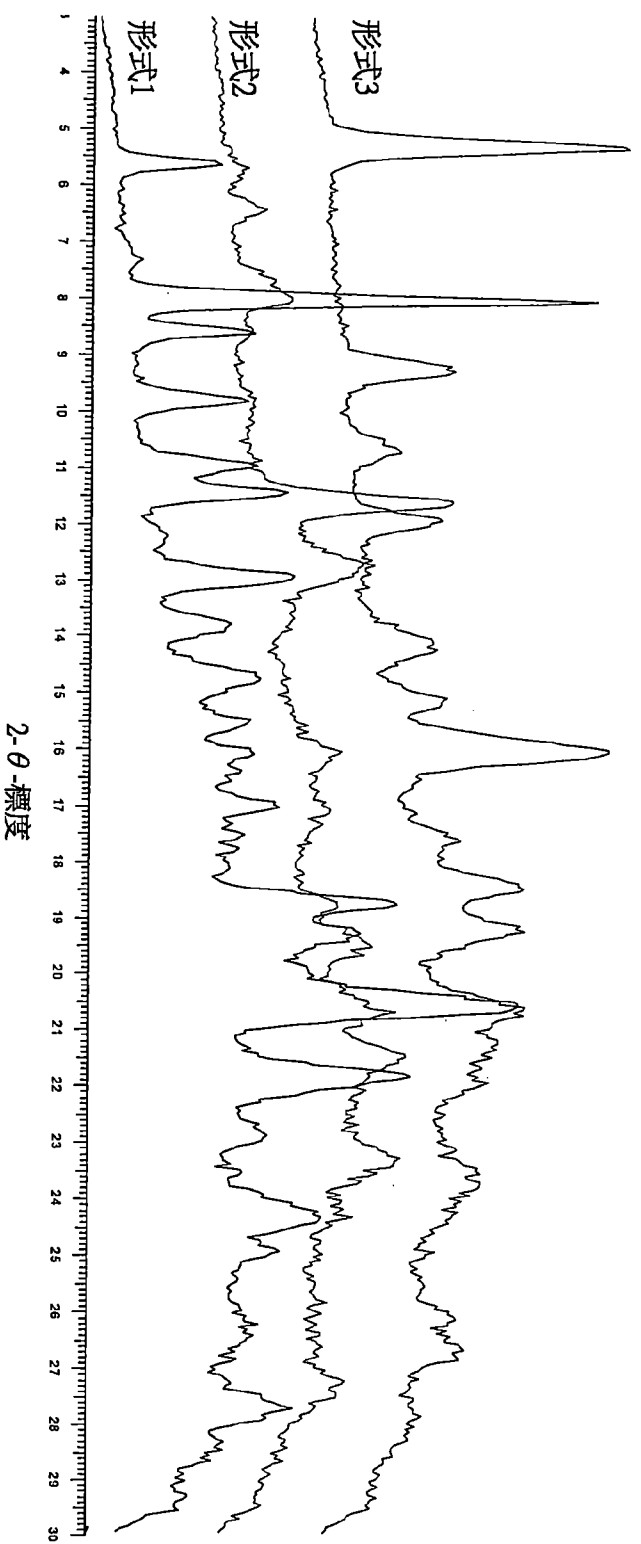


圖5

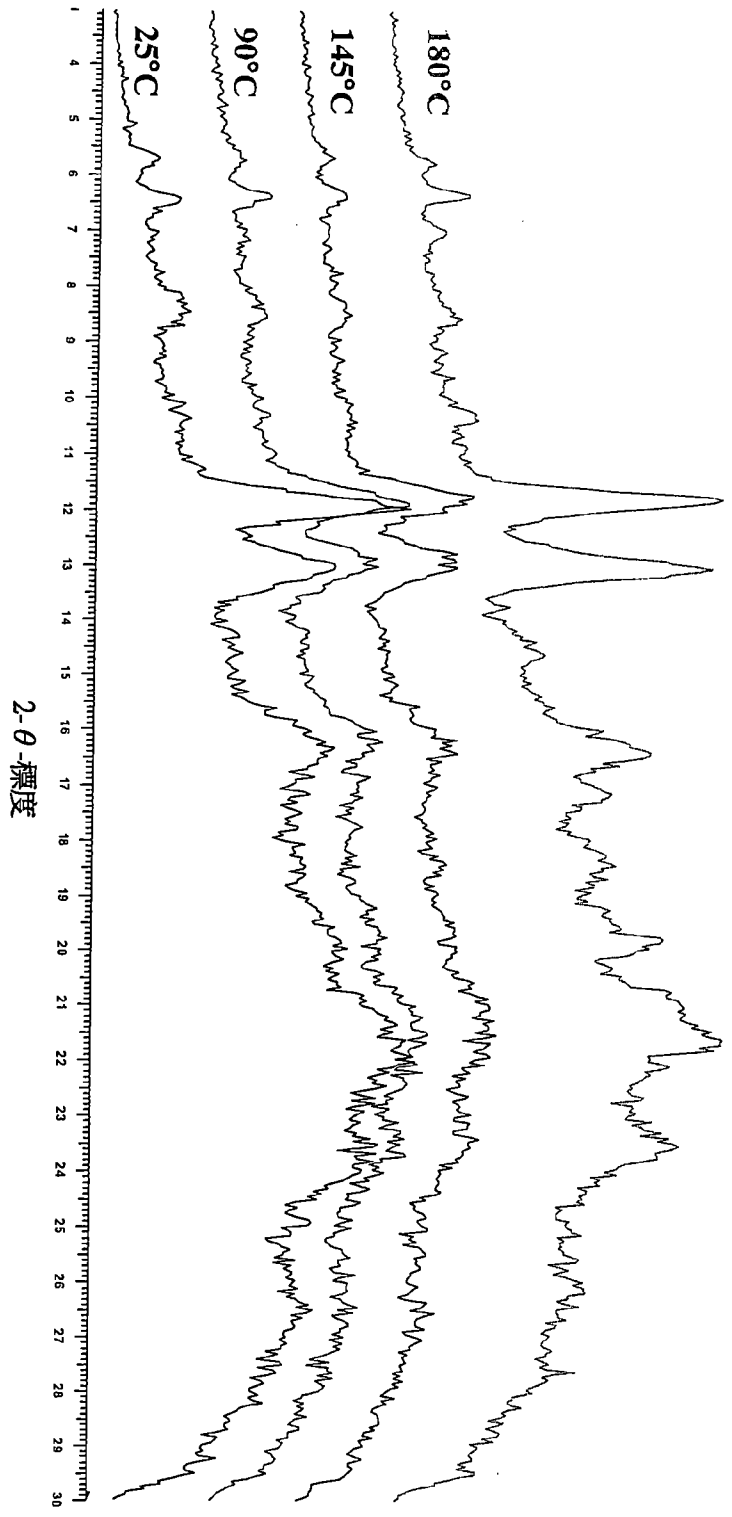


圖 6

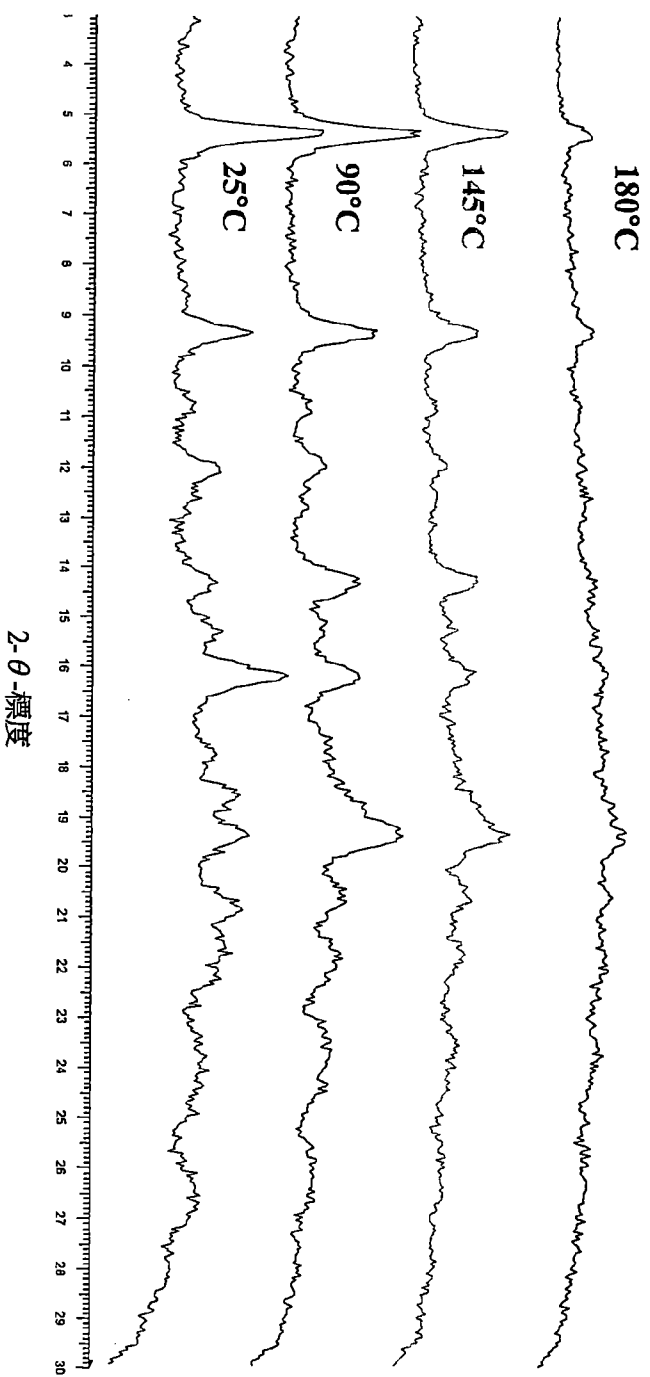
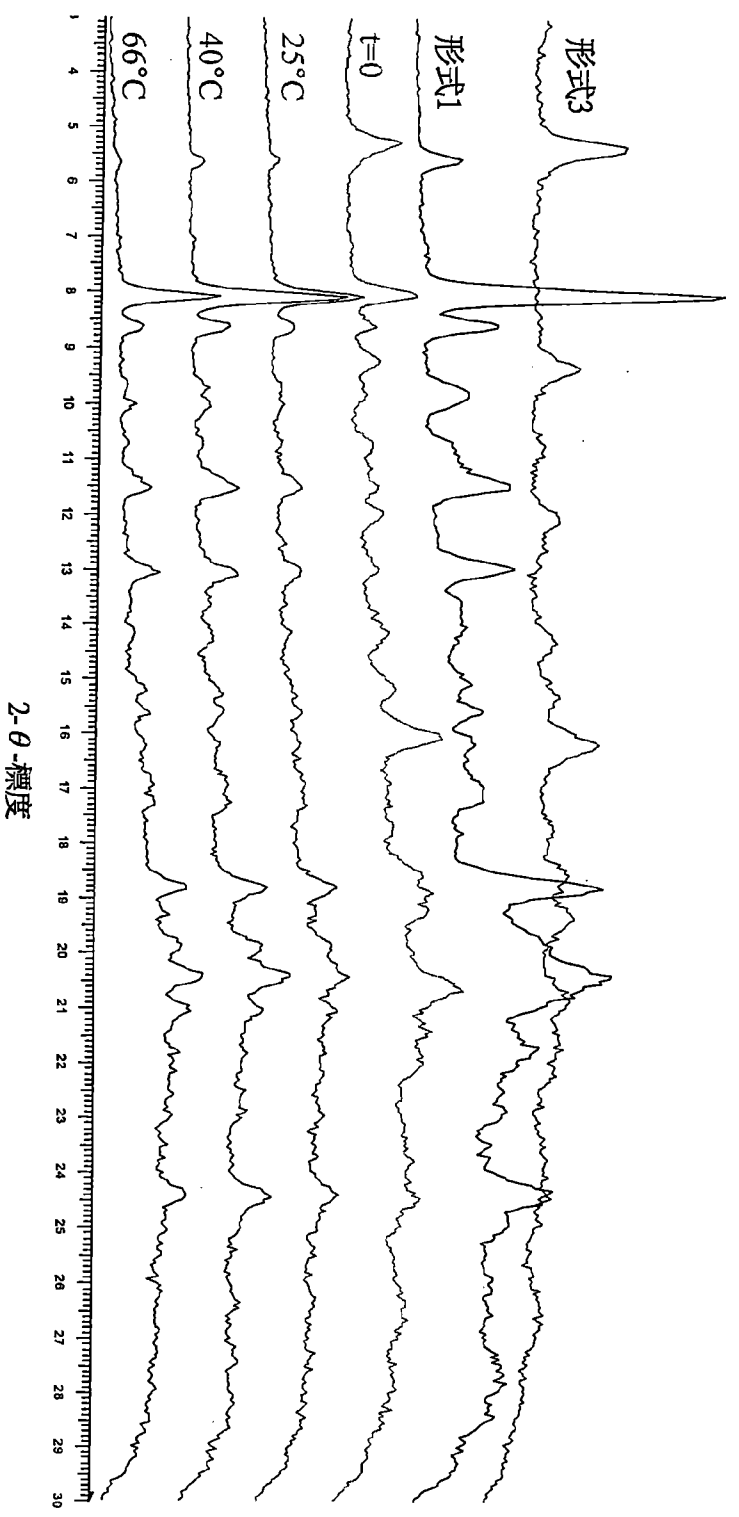
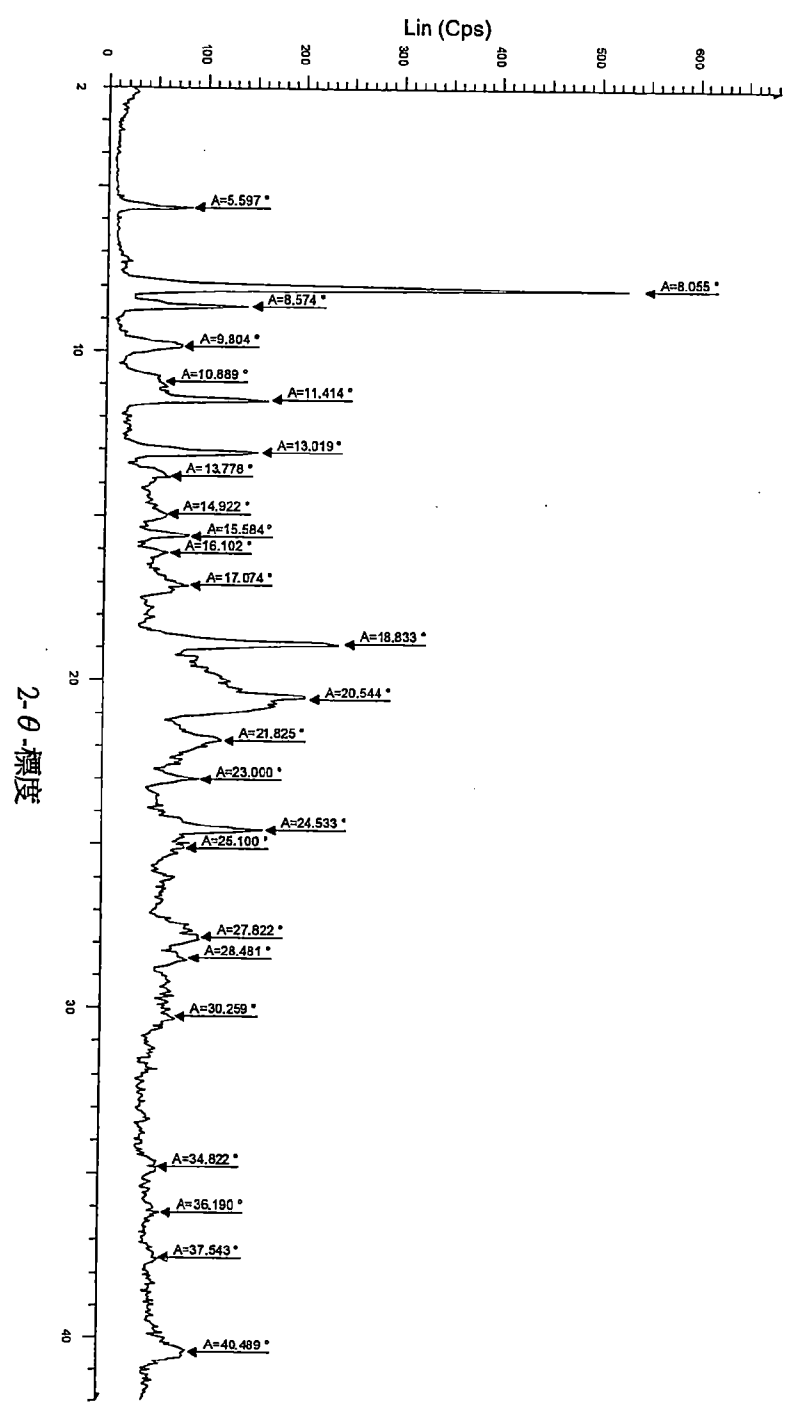


圖 7





8

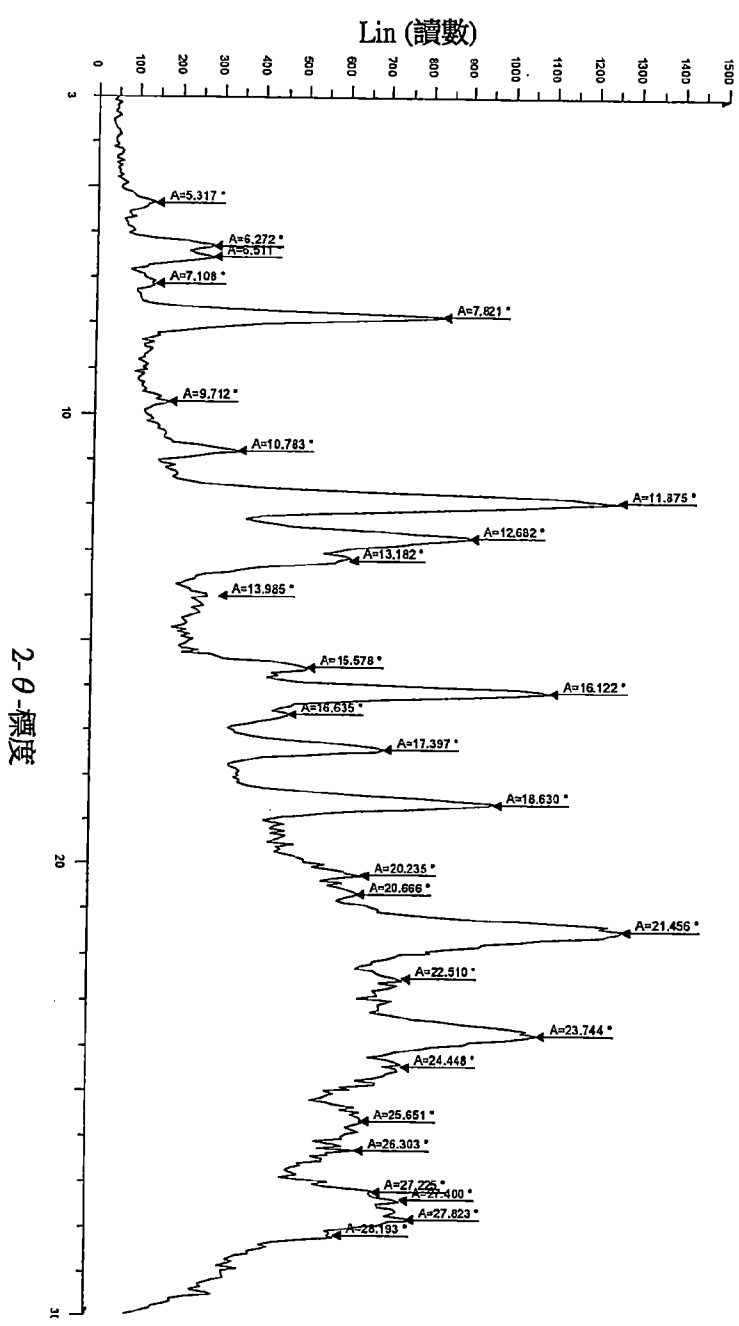


圖 9

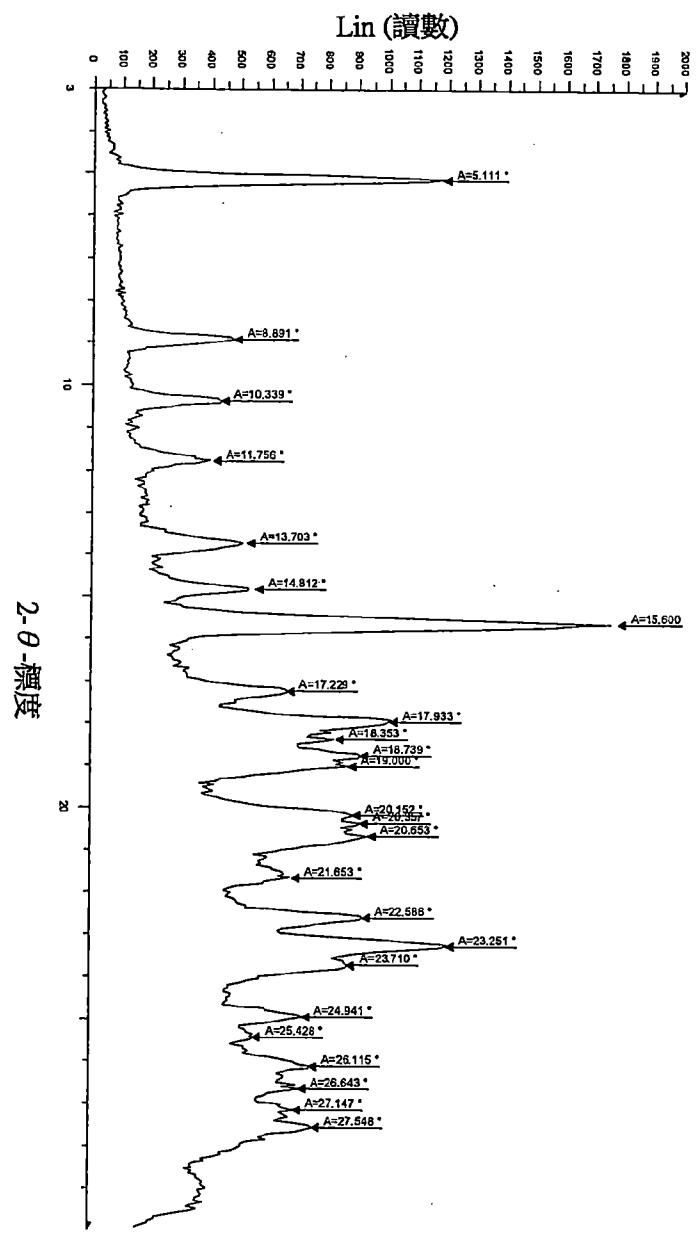


圖 10