

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200680029718.7

[51] Int. Cl.

C07C 49/653 (2006.01)

A23L 1/275 (2006.01)

[43] 公开日 2008年8月13日

[11] 公开号 CN 101243032A

[22] 申请日 2006.8.15

[21] 申请号 200680029718.7

[30] 优先权

[32] 2005.8.15 [33] EP [31] 05017709.6

[86] 国际申请 PCT/EP2006/008047 2006.8.15

[87] 国际公布 WO2007/020057 英 2007.2.22

[85] 进入国家阶段日期 2008.2.14

[71] 申请人 法雷斯药品研究公司

地址 荷属安的列斯群岛库拉索

[72] 发明人 M·L·S·莱格

P·范胡格弗斯特 S·莱格

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 张轶东 韦欣华

权利要求书7页 说明书28页 附图3页

[54] 发明名称

虾青素的晶型

[57] 摘要

本发明描述了以前未公开的虾青素的特定晶型的混合物和被称为晶型 I 和 II 的单独晶型以及所述晶型的制备方法。还公开了制备用于生命科学工业中包含所述新虾青素晶型的营养剂型的方法。

1. 一种基本上由虾青素的晶型组成的混合物，其包含

a) 晶型 I，其特征在于至少如下之一

i) X-射线衍射图，其包含如下以  $10^{-10}$  米表示的晶格面间距 d:  $8.0 \pm 0.1$ 、 $6.5 \pm 0.05$ 、 $6.3 \pm 0.05$ 、 $6.1 \pm 0.05$ 、 $5.96 \pm 0.05$ 、 $5.58 \pm 0.05$ 、 $5.43 \pm 0.05$ 、 $4.87 \pm 0.05$ 、 $4.32 \pm 0.05$ 、 $4.24 \pm 0.05$ 、 $4.21 \pm 0.05$ 、 $4.07 \pm 0.05$ 、 $4.03 \pm 0.05$ 、 $3.58 \pm 0.05$ 、 $3.50 \pm 0.05$ ，

ii) 拉曼光谱，其包含在如下位置处的峰： $372 \pm 2$ 、 $346 \pm 2$ 、 $333 \pm 2$ 、 $312 \pm 2$ 、 $289 \pm 2$ 、 $234 \pm 2$ 、 $193 \pm 2$ 、 $178 \pm 2$ 、 $133 \pm 2$ 、 $82 \pm 2 \text{ cm}^{-1}$ ；以及，任选地，至少如下之一

iii) 显示在  $212\text{-}222^\circ\text{C}$  处发生相转变的 DSC 扫描；和

iv) 在  $20^\circ\text{C}\text{-}25^\circ\text{C}$  时在二氯甲烷中的溶解度分布为 35-45 克/升；和

b) 晶型 II，其特征在于至少如下之一

i) X-射线衍射图，其包含如下以  $10^{-10}$  米表示的晶格面间距 d:  $7.2 \pm 0.1$ 、 $6.6 \pm 0.05$ 、 $6.5 \pm 0.05$ 、 $5.48 \pm 0.05$ 、 $5.34 \pm 0.05$ 、 $5.27 \pm 0.05$ 、 $4.49 \pm 0.05$ 、 $4.38 \pm 0.05$ 、 $4.12 \pm 0.05$ 、 $3.89 \pm 0.05$ 、 $3.61 \pm 0.05$ 、 $3.56 \pm 0.05$ 、 $3.34 \pm 0.05$ 、 $3.32 \pm 0.05$ 、 $3.22 \pm 0.05$ ，和

ii) 拉曼光谱，其包含在如下位置处的峰： $376 \pm 2$ 、 $337 \pm 2$ 、 $314 \pm 2$ 、 $304 \pm 2$ 、 $289 \pm 2$ 、 $206 \pm 2$ 、 $180 \pm 2$ 、 $137 \pm 2$ 、 $107 \pm 2$ 、 $93 \pm 2 \text{ cm}^{-1}$ ；以及，任选地，至少如下之一

iii) 显示在  $225\text{-}240^\circ\text{C}$  处发生相转变的 DSC 扫描；和

iv) 在  $20^\circ\text{C}\text{-}25^\circ\text{C}$  时在二氯甲烷中的溶解度分布为 10-30 克/升。

2. 根据权利要求 1 的混合物，其基本上由 99.9% 到 0.1% 重量的被称为晶型 I 的虾青素结晶形式和 0.1% 到 99.9% 重量的被称为晶型 II 的虾青素结晶形式所组成。

3. 根据权利要求 1 的混合物，其基本上由 95% 到 5% 重量的被称为晶型 I 的虾青素结晶形式和 5% 到 95% 重量的被称为晶型 II 的虾青素结晶形式所组成。

4. 根据权利要求 1 的混合物，其基本上由 10% 到 90% 重量的被称为晶型 I 的虾青素结晶形式和 90% 到 10% 重量的被称为晶型 II 的虾青素结晶形式所组成。

5. 根据权利要求 1 的混合物，其基本上由 20% 到 80% 重量的被称

为晶型 I 的虾青素结晶形式和 80% 到 20% 重量的被称为晶型 II 的虾青素结晶形式所组成。

6. 一种组合物, 其包含特征在于至少如下之一的被称为晶型 I 的虾青素结晶形式

i) X-射线衍射图, 其包含如下以  $10^{-10}$  米表示的晶格面间距 d:  $8.0 \pm 0.1$ 、 $6.5 \pm 0.05$ 、 $6.3 \pm 0.05$ 、 $6.1 \pm 0.05$ 、 $5.96 \pm 0.05$ 、 $5.58 \pm 0.05$ 、 $5.43 \pm 0.05$ 、 $4.87 \pm 0.05$ 、 $4.32 \pm 0.05$ 、 $4.24 \pm 0.05$ 、 $4.21 \pm 0.05$ 、 $4.07 \pm 0.05$ 、 $4.03 \pm 0.05$ 、 $3.58 \pm 0.05$ 、 $3.50 \pm 0.05$ ,

ii) 拉曼光谱, 其包含在如下位置处的峰:  $372 \pm 2$ 、 $346 \pm 2$ 、 $333 \pm 2$ 、 $312 \pm 2$ 、 $289 \pm 2$ 、 $234 \pm 2$ 、 $193 \pm 2$ 、 $178 \pm 2$ 、 $133 \pm 2$ 、 $82 \pm 2 \text{cm}^{-1}$ ; 以及, 任选地, 至少如下之一

iii) 显示在  $212\text{-}222^\circ\text{C}$  处发生相转变的 DSC 扫描; 和

iv) 在  $20^\circ\text{C}$ - $25^\circ\text{C}$  时在二氯甲烷中的溶解度分布为 35-45 克/升。

7. 一种组合物, 其包含特征在于至少如下之一的被称为晶型 II 的虾青素结晶形式

i) X-射线衍射图, 其包含如下以  $10^{-10}$  米表示的晶格面间距 d:  $7.2 \pm 0.1$ 、 $6.6 \pm 0.05$ 、 $6.5 \pm 0.05$ 、 $5.48 \pm 0.05$ 、 $5.34 \pm 0.05$ 、 $5.27 \pm 0.05$ 、 $4.49 \pm 0.05$ 、 $4.38 \pm 0.05$ 、 $4.12 \pm 0.05$ 、 $3.89 \pm 0.05$ 、 $3.61 \pm 0.05$ 、 $3.56 \pm 0.05$ 、 $3.34 \pm 0.05$ 、 $3.32 \pm 0.05$ 、 $3.22 \pm 0.05$ , 和

ii) 拉曼光谱, 其包含在如下位置处的峰:  $376 \pm 2$ 、 $337 \pm 2$ 、 $314 \pm 2$ 、 $304 \pm 2$ 、 $289 \pm 2$ 、 $206 \pm 2$ 、 $180 \pm 2$ 、 $137 \pm 2$ 、 $107 \pm 2$ 、 $93 \pm 2 \text{cm}^{-1}$ ; 以及, 任选地, 至少如下之一

iii) 显示在  $225\text{-}240^\circ\text{C}$  处发生相转变的 DSC 扫描; 和

iv) 在  $20^\circ\text{C}$ - $25^\circ\text{C}$  时在二氯甲烷中的溶解度分布为 10-30 克/升。

8. 一种被称为晶型 I 的虾青素结晶形式, 其特征在于至少如下之一

i) X-射线衍射图, 其包含如下以  $10^{-10}$  米表示的晶格面间距 d:  $8.0 \pm 0.1$ 、 $6.5 \pm 0.05$ 、 $6.3 \pm 0.05$ 、 $6.1 \pm 0.05$ 、 $5.96 \pm 0.05$ 、 $5.58 \pm 0.05$ 、 $5.43 \pm 0.05$ 、 $4.87 \pm 0.05$ 、 $4.32 \pm 0.05$ 、 $4.24 \pm 0.05$ 、 $4.21 \pm 0.05$ 、 $4.07 \pm 0.05$ 、 $4.03 \pm 0.05$ 、 $3.58 \pm 0.05$ 、 $3.50 \pm 0.05$ ,

ii) 拉曼光谱, 其包含在如下位置处的峰:  $372 \pm 2$ 、 $346 \pm 2$ 、 $333 \pm 2$ 、 $312 \pm 2$ 、 $289 \pm 2$ 、 $234 \pm 2$ 、 $193 \pm 2$ 、 $178 \pm 2$ 、 $133 \pm 2$ 、 $82 \pm 2 \text{cm}^{-1}$ ; 以及, 任选地, 至少如下之一

iii) 显示在 212-222°C 处发生相转变的 DSC 扫描; 和

iv) 在 20°C-25°C 时在二氯甲烷中的溶解度分布为 35-45 克/升。

9. 一种被称为晶型 I 的虾青素结晶形式, 其提供了与图 1 中给出的 X-射线粉末衍射图谱基本上一致的 X-射线粉末衍射图。

10. 一种被称为晶型 I 的虾青素结晶形式, 其提供了与图 2 中给出的拉曼光谱基本上一致的拉曼光谱。

11. 根据权利要求 8 的被称为晶型 I 的虾青素结晶形式, 其包含全-反式-虾青素和至少约 13 摩尔%的至少一种类胡萝卜素化合物。

12. 根据权利要求 8 的被称为晶型 I 的虾青素结晶形式, 其包含全-反式-虾青素和至少 13 摩尔%的至少一种类胡萝卜素化合物, 所述类胡萝卜素化合物选自 9-顺式-虾青素、13-顺式虾青素、15-顺式-虾青素、虾红素、半-虾红素和 C-25 醛。

13. 一种被称为晶型 II 的虾青素结晶形式, 其特征在于至少如下之一

i) X-射线衍射图, 其包含如下以  $10^{-10}$  米表示的晶格面间距 d:  $7.2 \pm 0.1$ 、 $6.6 \pm 0.05$ 、 $6.5 \pm 0.05$ 、 $5.48 \pm 0.05$ 、 $5.34 \pm 0.05$ 、 $5.27 \pm 0.05$ 、 $4.49 \pm 0.05$ 、 $4.38 \pm 0.05$ 、 $4.12 \pm 0.05$ 、 $3.89 \pm 0.05$ 、 $3.61 \pm 0.05$ 、 $3.56 \pm 0.05$ 、 $3.34 \pm 0.05$ 、 $3.32 \pm 0.05$ 、 $3.22 \pm 0.05$ , 和

ii) 拉曼光谱, 其包含在如下位置处的峰:  $376 \pm 2$ 、 $337 \pm 2$ 、 $314 \pm 2$ 、 $304 \pm 2$ 、 $289 \pm 2$ 、 $206 \pm 2$ 、 $180 \pm 2$ 、 $137 \pm 2$ 、 $107 \pm 2$ 、 $93 \pm 2 \text{ cm}^{-1}$ ; 以及, 任选地, 至少如下之一

iii) 显示在 225-240°C 处发生相转变的 DSC 扫描; 和

iv) 在 20°C-25°C 时在二氯甲烷中的溶解度分布为 10-30 克/升。

14. 一种被称为晶型 II 的虾青素结晶形式, 其提供了与图 3 中给出的 X-射线粉末衍射图谱基本上一致的 X-射线粉末衍射图。

15. 一种被称为晶型 II 的虾青素结晶形式, 其提供了与图 4 中给出的拉曼光谱基本上一致的拉曼光谱。

16. 根据权利要求 13 的被称为晶型 II 的虾青素结晶形式, 其包含全-反式-虾青素和最多 7 摩尔%的至少一种类胡萝卜素化合物。

17. 根据权利要求 13 的被称为晶型 II 的虾青素结晶形式, 其包含全-反式-虾青素和最多 7 摩尔%的至少一种类胡萝卜素化合物, 所述类胡萝卜素化合物选自 9-顺式-虾青素、13-顺式虾青素、15-顺式-虾青素、

虾红素、半-虾红素和 C-25 醛。

18. 根据权利要求 13 的被称为晶型 II 的虾青素结晶形式，其中所述虾青素满足表 1 中所示的在 US-FDA 的 21 CFR 73.35 中所规定的如下规范：

表 1

质量标准	规范
物理状态	固体
在氯仿中的 0.05% 溶液	完全的透明的
最大吸收波长	484-493 纳米 (在氯仿中的溶液)
燃烧时的残余物	不超过 0.1%
除虾青素以外的总类胡萝卜素含量	不超过 4%
铅	不超过 5 ppm
砷	不超过 2 ppm
汞	不超过 1 ppm
重金属	不超过 10 ppm
分析	最小 96 %

19. 一种用于生命科学工业中的虾青素给药形式，其包含根据权利要求 1 所述的虾青素晶型 I 或 II 或其混合物。

20. 一种用于鱼饲料中的虾青素给药形式，其包含根据权利要求 1 所述的虾青素晶型 I 或 II 或其混合物，其中虾青素的含量低于 20% 重量。

21. 一种用于鱼饲料中的虾青素给药形式，其包含根据权利要求 1 所述的虾青素晶型 I 或 II 或其混合物，其中所述给药形式包含食用油。

22. 一种制备根据权利要求 1 所述的被称为晶型 I 和晶型 II 的虾青素结晶形式混合物的方法，所述混合物包含至少 5% w/w 的晶型 I 或晶型 II，所述方法包含如下步骤：

i) 将包含全-反式-虾青素和 7 摩尔%到 17 摩尔%至少一种类胡萝卜素化合物的虾青素混合物，在直到所述溶剂沸点的温度下溶解于对虾青素的溶解度为至少 1 毫克/毫升的溶剂中，所述类胡萝卜素化合物选自 9-顺式-虾青素、13-顺式虾青素、15-顺式-虾青素、虾红素、半-虾红素和 C-25 醛中的至少一种，并且进一步的步骤选自 iia) 加入一种反溶剂，

iib) 通过蒸发, 任选地同时通过用反溶剂对溶剂进行交换而除去溶剂, iic) 冷却有机溶剂溶液, 该有机溶剂溶液任选地具有包含晶型 I 或 II 或其混合物的成核剂或晶种, 和 iii) 收集、用反溶剂洗涤并干燥晶体。

23. 一种制备根据权利要求 8 所述的被称为晶型 I 的虾青素结晶形式的方法, 其包含如下步骤:

i) 将包含全-反式-虾青素和至少 13 摩尔%的至少一种类胡萝卜素化合物的虾青素混合物, 在直到所述溶剂沸点的温度下溶解于对虾青素的溶解度为至少 1 毫克/毫升的溶剂中, 所述类胡萝卜素化合物选自 9-顺式-虾青素、13-顺式虾青素、15-顺式-虾青素、虾红素、半-虾红素和 C-25 醛中的至少一种, 并且进一步的步骤选自 iia) 加入一种反溶剂, iib) 通过蒸发, 任选地同时通过用反溶剂对溶剂进行交换而除去溶剂, iic) 冷却有机溶剂溶液, 该有机溶剂溶液任选地具有包含晶型 I 的成核剂或晶种, 和 iii) 收集、用反溶剂洗涤并干燥晶体。

24. 一种制备根据权利要求 8 所述的被称为晶型 I 的虾青素结晶形式的方法, 其包含如下步骤:

i) 将包含全-反式-虾青素和至少 13 摩尔%的至少一种类胡萝卜素化合物的虾青素混合物, 在直到所述溶剂沸点的温度下溶解于溶剂中, 所述类胡萝卜素化合物选自 9-顺式-虾青素、13-顺式虾青素、15-顺式-虾青素、虾红素、半-虾红素和 C-25 醛中的至少一种, 所述溶剂选自二氯甲烷、三氯乙烷、氯仿、二甲氧基甲烷、二乙氧基乙烷、二氧杂环戊烷、THF、NMP、N-乙基吡咯烷酮、甲苯、吡啶和二硫化碳, 并且进一步的步骤选自 iia) 加入一种反溶剂, 其选自甲醇、乙醇、正丙醇、异丙醇、正丁醇、叔丁醇和水, iib) 通过蒸发, 任选地同时通过用反溶剂对溶剂进行交换而除去溶剂, iic) 冷却有机溶剂溶液, 该有机溶剂溶液中任选地加入了包含晶型 I 的成核剂或晶种, 和 iii) 收集、用反溶剂洗涤并干燥晶体。

25. 一种制备根据权利要求 13 的被称为晶型 II 的虾青素结晶形式的方法, 其包含如下步骤:

i) 将包含全-反式-虾青素和最多 7 摩尔%的至少一种类胡萝卜素化合物的虾青素混合物, 在直到所述溶剂沸点的温度下溶解于对虾青素的溶解度为至少 1 毫克/毫升的溶剂中, 所述类胡萝卜素化合物选自 9-顺式-虾青素、13-顺式虾青素、15-顺式-虾青素、虾红素、半-虾红素和 C-25

醛中的至少一种，并且进一步的步骤选自 iia) 加入一种反溶剂，iib) 通过蒸发，任选地同时通过用反溶剂对溶剂进行交换而除去溶剂，iic) 冷却有机溶剂溶液，该有机溶剂溶液中任选地加入了包含晶型 I 的成核剂或晶种，和 iii) 收集、用反溶剂洗涤并干燥晶体。

26. 一种制备根据权利要求 13 的被称为晶型 II 的虾青素结晶形式的方法，其包含如下步骤：

i) 将包含全-反式-虾青素和最多 7 摩尔%的至少一种类胡萝卜素化合物的虾青素溶解于溶剂中，所述类胡萝卜素化合物选自 9-顺式-虾青素、13-顺式虾青素、15-顺式-虾青素、虾红素、半-虾红素和 C-25 醛中的至少一种，所述溶剂选自二氯甲烷、三氯乙烷、氯仿、二甲氧基甲烷、二乙氧基乙烷、二氧杂环戊烷、THF、NMP、N-乙基吡咯烷酮、甲苯、吡啶和二硫化碳，并且进一步的步骤选自 iia) 加入一种反溶剂，iib) 通过蒸发，任选地同时通过用反溶剂对溶剂进行交换而除去溶剂，iic) 冷却有机溶剂溶液，该有机溶剂溶液中任选地加入了包含晶型 II 的成核剂或晶种，和 iii) 收集、用反溶剂洗涤并干燥晶体。

27. 一种制备被称为晶型 I 或晶型 I 和晶型 II 混合物的虾青素结晶形式的方法，其包含由如下步骤组成的结晶工序，i) 将包含全-反式-虾青素和最多 7 摩尔%的至少一种类胡萝卜素化合物的虾青素溶解于溶剂中，所述类胡萝卜素化合物选自 9-顺式-虾青素、13-顺式虾青素、15-顺式-虾青素、虾红素、半-虾红素和 C-25 醛中的至少一种，所述溶剂选自二氯甲烷、三氯乙烷、氯仿、二甲氧基甲烷、二乙氧基乙烷、二氧杂环戊烷、THF、NMP、N-乙基吡咯烷酮、甲苯、吡啶和二硫化碳，ii) 对所述溶剂进行至少一种选自热、光、氧化剂的处理，并且进一步的步骤选自 iiia) 加入一种反溶剂，iiib) 通过蒸发，任选地同时通过用反溶剂对溶剂进行交换而除去溶剂，iiic) 冷却有机溶剂溶液，该有机溶剂溶液中加入或不加入了成核剂或晶种，和 iv) 收集、用反溶剂洗涤并干燥晶体。

28. 一种方法，其进一步包含将根据权利要求 1 所述的晶型 I 和 II 或其混合物加工成营养品剂型。

29. 一种制备权利要求 6 中组合物的方法，其包括向晶型 I 中加入赋形剂。

30. 一种制备权利要求 7 中组合物的方法，其包括向晶型 II 中加入

赋形剂。

31. 一种制备用于鱼饲料以及生命科学工业中的虾青素给药形式的方法，其中将根据权利要求1所述的虾青素晶型I或II或其混合物溶于有机溶剂或油或其混合物中，然后进一步将其加工成所述给药形式。

32. 一种制备用于生命科学工业中的虾青素给药形式的方法，其中将根据权利要求1所述的虾青素晶型I或II或其混合物溶于有机溶剂或油或其混合物中，然后进一步将其加工成包含亲脂性分散剂的所述给药形式。

33. 一种制备用于生命科学工业中的虾青素给药形式的方法，其中将根据权利要求1所述的虾青素晶型I或II或其混合物溶于有机溶剂或油或其混合物中，然后进一步将其加工成包含亲水性分散剂的所述给药形式。

34. 一种制备包含虾青素的油性组合物的方法，所述方法包括将根据权利要求1所述的晶型I或晶型II或其混合物在100℃到230℃之间的温度下直接溶于食用油和/或鱼油，从而将其直接引入鱼饲料粒以及其它应用中。

## 虾青素的晶型

本发明涉及包含虾青素的晶型以及相关的加工、组合物和方法。

输送一种着色剂例如具有良好口服生物利用度的虾青素用于改善鲑鱼中等离子体的摄入和肉质的沉积，是鱼饲料生产者和鱼类养殖者特别关心的。由于在生理学环境中较差的溶解性，采用鱼饲料粒以及其它营养剂型中的虾青素晶体进行给药，不能对所述着色剂产生充分的口服吸收。为了使着色剂更具生物利用度，已经开发出了几种用于制备颗粒虾青素组合物的方法，所述颗粒虾青素组合物被分散在水中从而制备成饲料粒。所述分散组合物是通过将结晶虾青素在高压和高温下溶解在溶剂（US 6,863,914 和 US 6,406,735）或油（US 5,364,563）中，紧接着将该有机溶液分散在含水的水状胶体中而制备。可替代地，将类胡萝卜素融化在含水的赋形剂基质中并在压力下不使用溶剂或油而进行乳化（US 6,093,348）。所有的方法都需要进一步的处理从而由水分散体制备粉末制剂。没有一个公开物使用它们通过 X-射线衍射和拉曼光谱公开的晶体结构描述虾青素结晶的类型。尽管制备虾青素组合物需要复杂的条件，但是还有一些人努力致力于使所述方法更具生产友好性。减少能量和溶剂消耗的一个途径是使用具有有利的溶解性、融化或稳定性特征的不同虾青素晶型，从而允许使用更加温和的加工条件。令人惊奇的是，公开物对虾青素的具体晶型和它们用于制备虾青素组合物的潜在效用都特别沉默。不同的晶型可以影响体内的溶解速率，并且允许油性给药媒介中更高的（过饱和的）类胡萝卜素浓度，这样可以提供更高的口服吸收和生物利用度。

US 6,827,941 描述了虾青素的无定形集合，其是由丙酮中稀释的虾青素溶液（50 毫克/升）通过用 7/3（v/v）的水/丙酮进行 20 次稀释而制备的。它没有涉及具体晶型的形成。US 5,654,488 描述了在反应混合物中使用 Wittig 方法合成和结晶反式-虾青素，但是没有指出晶体的结构或者所获得的结构。

本发明涉及新的以前未公开晶型的混合物以及制备所述晶型的方法，所述混合物包含这里被命名为晶型 I 和晶型 II 的虾青素。此外，本发明描述了晶型 I 和晶型 II 及其混合物，所述混合物包含指定量的全-

反式-虾青素和不同量的(其它)类胡萝卜素(carotenoidal)化合物。其进一步覆盖了包含晶型 I 或晶型 II 或其混合物的给药形式,以及溶解或悬浮在油或有机溶剂中的晶型 I 或晶型 II 或其混合物的用途。该溶液或分散体可以用来制备包含亲水或亲油分散剂载体中的虾青素的固体组合物,或者可以用来制备虾青素的物理形式。

在本发明中使用了如下定义:

“虾青素”包含全-反式-虾青素(3,3'-二羟基- $\beta,\beta$ -胡萝卜素-4,4'-二酮)以及不超过 25% 重量的其它类胡萝卜素化合物(包括虾青素的顺式异构体)。

“类胡萝卜素(carotenoidal)化合物”包括虾青素代谢物、合成或天然的虾青素衍生物例如醚化的或酯化的、氧化或氢化产物以及顺式异构体。该术语包括在虾青素合成和结晶期间或者在虾青素从天然来源提取加工期间获得的副产物。与类胡萝卜素化合物相关的一般虾青素是,例如 9-顺式-虾青素、13-顺式-虾青素、15-顺式-虾青素、虾红素、半-虾红素和 C-25 醛(全-反式-3-羟基-4-氧代-12'-脱辅- $\beta$ -胡萝卜素-12'-醛,其 CAS 号为 72523-68-3)。该术语明确地排除了全-反式-虾青素。该术语覆盖了 US-FDA 对虾青素的规范中的“除虾青素以外的所有类胡萝卜素”的条件,其被描述在 21 CFR 73.35 中。

“摩尔%”表示晶型相对于所含类胡萝卜素总摩尔的纯度,所含类胡萝卜素的总摩尔是全-反式-虾青素和类胡萝卜素化合物的总和。

与以图形方式提供的 X-射线粉末衍射或拉曼光谱“基本上一致”,即任意谱图都显示相同的峰和最小值顺序,显示在相同波数(拉曼)以及  $\theta$  和  $d$  晶格间隔位置(X-射线)处,在 $\pm 5\%$ 的标准偏差范围内,所述峰和最小值的强度的相同比值与分别示于图 1 和图 2 中的虾青素晶型 I 的特征 X-射线和拉曼光谱或者分别示于图 3 和图 4 中的晶型 II 的 X-射线和拉曼光谱一致。

“约”是指在制备晶型 I 或晶型 II 或其混合物的方案中,或者在所述晶型中,在类胡萝卜素化合物的摩尔%界限两边具有 20% 的标准偏差。

“亲脂性分散剂”是在室温下水溶性低于或等于 5 毫克/毫升的固体物质,其具有将虾青素分子或胶态分散体或集合包埋入固体组合物中的特性。

“亲水性分散剂”是在室温下水溶性高于或等于 5 毫克/毫升的固体物质，其具有充当润湿剂从而在水相中提高虾青素悬浮的特性。该定义还指油/水乳化剂、聚合物和水状胶体。

“固体组合物”意思是将虾青素分配在固体基质中，所述固体基质是通过将类胡萝卜素和亲脂性或亲水性分散剂一起溶于互溶溶剂或溶剂混合物中，接着除去溶剂或溶剂混合物而制备的。

“水溶性溶剂”意思是可以以任何比例与水混合而不出现相分离的溶剂，例如乙醇。

“水不溶性溶剂”意思是在不发生相分离的情况下仅能部分地与水混合的溶剂。

“反溶剂”是可与溶剂混溶的结晶液体，全-反式-虾青素和类胡萝卜素化合物都可以溶解在其中，但是在导致具体晶型结晶的温度下具有较低的溶解能力或者几乎不具有溶剂特性（对于虾青素来说）。所述定义包括水。根据定义，虾青素在室温或更低温度的反溶剂中具有小于 1 毫克/毫升的溶解性，例如甲醇。

“生命科学工业”包括食品、饲料、药物、水产养殖、化妆品、营养品、兽医工业。

本发明属于包含天然或合成虾青素的“晶型”和“着色剂组合物”领域。

本发明描述了以下实施方式：

一种基本上由虾青素晶型组成的混合物，其包含

a) 晶型 I，其特征在于至少如下之一

i) X-射线衍射图，其包含如下以  $10^{-10}$  米表示的晶格面间距 d:  $8.0 \pm 0.1$ 、 $6.5 \pm 0.05$ 、 $6.3 \pm 0.05$ 、 $6.1 \pm 0.05$ 、 $5.96 \pm 0.05$ 、 $5.58 \pm 0.05$ 、 $5.43 \pm 0.05$ 、 $4.87 \pm 0.05$ 、 $4.32 \pm 0.05$ 、 $4.24 \pm 0.05$ 、 $4.21 \pm 0.05$ 、 $4.07 \pm 0.05$ 、 $4.03 \pm 0.05$ 、 $3.58 \pm 0.05$ 、 $3.50 \pm 0.05$ ，

ii) 拉曼光谱，其包含在如下位置处的峰： $372 \pm 2$ 、 $346 \pm 2$ 、 $333 \pm 2$ 、 $312 \pm 2$ 、 $289 \pm 2$ 、 $234 \pm 2$ 、 $193 \pm 2$ 、 $178 \pm 2$ 、 $133 \pm 2$ 、 $82 \pm 2 \text{ cm}^{-1}$ ；以及，任选地，至少如下之一

iii) 显示在  $212\text{-}222^\circ\text{C}$  处发生相转变的 DSC 扫描；和

iv) 在  $20^\circ\text{C}$ - $25^\circ\text{C}$  时在二氯甲烷中的溶解度分布为 35-45 克/升；和

b) 晶型 II，其特征在于至少如下之一

i) X-射线衍射图, 其包含如下以  $10^{-10}$  米表示的晶格面间距  $d$ :  $7.2 \pm 0.1$ 、 $6.6 \pm 0.05$ 、 $6.5 \pm 0.05$ 、 $5.48 \pm 0.05$ 、 $5.34 \pm 0.05$ 、 $5.27 \pm 0.05$ 、 $4.49 \pm 0.05$ 、 $4.38 \pm 0.05$ 、 $4.12 \pm 0.05$ 、 $3.89 \pm 0.05$ 、 $3.61 \pm 0.05$ 、 $3.56 \pm 0.05$ 、 $3.34 \pm 0.05$ 、 $3.32 \pm 0.05$ 、 $3.22 \pm 0.05$ , 和

ii) 拉曼光谱, 其包含在如下位置处的峰:  $376 \pm 2$ 、 $337 \pm 2$ 、 $314 \pm 2$ 、 $304 \pm 2$ 、 $289 \pm 2$ 、 $206 \pm 2$ 、 $180 \pm 2$ 、 $137 \pm 2$ 、 $107 \pm 2$ 、 $93 \pm 2 \text{cm}^{-1}$ ; 以及, 任选地, 至少如下之一

iii) 显示在  $225\text{-}240^\circ\text{C}$  处发生相转变的 DSC 扫描; 和

iv) 在  $20^\circ\text{C}$ - $25^\circ\text{C}$  时在二氯甲烷中的溶解度分布为 10-30 克/升。

优选的实施方式涉及一种混合物, 其基本上由 20% 到 80% 重量的被称为晶型 I 的虾青素结晶形式和 80% 到 20% 重量的被称为晶型 II 的虾青素结晶形式所组成。

优选的实施方式涉及一种混合物, 其基本上由 10% 到 90% 重量的被称为晶型 I 的虾青素结晶形式和 90% 到 10% 重量的被称为晶型 II 的虾青素结晶形式所组成。

优选的实施方式涉及一种混合物, 其基本上由 95% 到 5% 重量的被称为晶型 I 的虾青素结晶形式和 5% 到 95% 重量的被称为晶型 II 的虾青素结晶形式所组成。

优选的实施方式涉及一种混合物, 其基本上由 99.9% 到 0.1% 重量的被称为晶型 I 的虾青素结晶形式和 0.1% 到 99.9% 重量的被称为晶型 II 的虾青素结晶形式所组成。

进一步优选的实施方式涉及一种组合物, 其包含特征在于至少如下之一的被称为晶型 I 的虾青素结晶形式

i) X-射线衍射图, 其包含如下以  $10^{-10}$  米表示的晶格面间距  $d$ :  $8.0 \pm 0.1$ 、 $6.5 \pm 0.05$ 、 $6.3 \pm 0.05$ 、 $6.1 \pm 0.05$ 、 $5.96 \pm 0.05$ 、 $5.58 \pm 0.05$ 、 $5.43 \pm 0.05$ 、 $4.87 \pm 0.05$ 、 $4.32 \pm 0.05$ 、 $4.24 \pm 0.05$ 、 $4.21 \pm 0.05$ 、 $4.07 \pm 0.05$ 、 $4.03 \pm 0.05$ 、 $3.58 \pm 0.05$ 、 $3.50 \pm 0.05$ ,

ii) 拉曼光谱, 其包含在如下位置处的峰:  $372 \pm 2$ 、 $346 \pm 2$ 、 $333 \pm 2$ 、 $312 \pm 2$ 、 $289 \pm 2$ 、 $234 \pm 2$ 、 $193 \pm 2$ 、 $178 \pm 2$ 、 $133 \pm 2$ 、 $82 \pm 2 \text{cm}^{-1}$ ; 以及, 任选地, 至少如下之一

iii) 显示在  $212\text{-}222^\circ\text{C}$  发生相转变的 DSC 扫描; 和

iv) 在  $20^\circ\text{C}$ - $25^\circ\text{C}$  时在二氯甲烷中的溶解度分布为 35-45 克/升。

另一个优选的实施方式涉及一种组合物，其包含特征在于至少如下之一的被称为晶型 II 的虾青素结晶形式

i) X-射线衍射图，其包含如下以  $10^{-10}$  米表示的晶格面间距 d:  $7.2 \pm 0.1$ 、 $6.6 \pm 0.05$ 、 $6.5 \pm 0.05$ 、 $5.48 \pm 0.05$ 、 $5.34 \pm 0.05$ 、 $5.27 \pm 0.05$ 、 $4.49 \pm 0.05$ 、 $4.38 \pm 0.05$ 、 $4.12 \pm 0.05$ 、 $3.89 \pm 0.05$ 、 $3.61 \pm 0.05$ 、 $3.56 \pm 0.05$ 、 $3.34 \pm 0.05$ 、 $3.32 \pm 0.05$ 、 $3.22 \pm 0.05$ ，和

ii) 拉曼光谱，其包含在如下位置处的峰:  $376 \pm 2$ 、 $337 \pm 2$ 、 $314 \pm 2$ 、 $304 \pm 2$ 、 $289 \pm 2$ 、 $206 \pm 2$ 、 $180 \pm 2$ 、 $137 \pm 2$ 、 $107 \pm 2$ 、 $93 \pm 2 \text{cm}^{-1}$ ；以及，任选地，至少如下之一

iii) 显示在  $225\text{-}240^\circ\text{C}$  处发生相转变的 DSC 扫描；和

iv) 在  $20^\circ\text{C}\text{-}25^\circ\text{C}$  时在二氯甲烷中的溶解度分布为 10-30 克/升。

本发明另外的内容是一种制备上述组合物的方法，其包括将赋形剂加入到晶型 I 中，和一种方法，其包括将赋形剂加入到晶型 II 中。

特别优选的实施方式涉及被称为晶型 I 的虾青素结晶形式，其特征在于至少如下之一

i) X-射线衍射图，其包含如下以  $10^{-10}$  米表示的晶格面间距 d:  $8.0 \pm 0.1$ 、 $6.5 \pm 0.05$ 、 $6.3 \pm 0.05$ 、 $6.1 \pm 0.05$ 、 $5.96 \pm 0.05$ 、 $5.58 \pm 0.05$ 、 $5.43 \pm 0.05$ 、 $4.87 \pm 0.05$ 、 $4.32 \pm 0.05$ 、 $4.24 \pm 0.05$ 、 $4.21 \pm 0.05$ 、 $4.07 \pm 0.05$ 、 $4.03 \pm 0.05$ 、 $3.58 \pm 0.05$ 、 $3.50 \pm 0.05$ ，

ii) 拉曼光谱，其包含在如下位置处的峰:  $372 \pm 2$ 、 $346 \pm 2$ 、 $333 \pm 2$ 、 $312 \pm 2$ 、 $289 \pm 2$ 、 $234 \pm 2$ 、 $193 \pm 2$ 、 $178 \pm 2$ 、 $133 \pm 2$ 、 $82 \pm 2 \text{cm}^{-1}$ ；以及，任选地，至少如下之一

iii) 显示在  $212\text{-}222^\circ\text{C}$  处发生相转变的 DSC 扫描；和

iv) 在  $20^\circ\text{C}\text{-}25^\circ\text{C}$  时在二氯甲烷中的溶解度分布为 35-45 克/升。

特别优选的实施方式涉及被称为晶型 I 的虾青素结晶形式，其提供了与图 1 中给出的 X-射线粉末衍射图谱基本上一致的 X-射线粉末衍射图。

特别优选的实施方式涉及被称为晶型 I 的虾青素结晶形式，其提供了与图 2 中给出的拉曼光谱基本上一致的拉曼光谱。

进一步优选的实施方式涉及被称为晶型 I 的虾青素结晶形式，其特征在于至少如下之一

i) X-射线衍射图，其包含如下以  $10^{-10}$  米表示的晶格面间距 d:  $8.0$

$\pm 0.1$ 、 $6.5 \pm 0.05$ 、 $6.3 \pm 0.05$ 、 $6.1 \pm 0.05$ 、 $5.96 \pm 0.05$ 、 $5.58 \pm 0.05$ 、 $5.43 \pm 0.05$ 、 $4.87 \pm 0.05$ 、 $4.32 \pm 0.05$ 、 $4.24 \pm 0.05$ 、 $4.21 \pm 0.05$ 、 $4.07 \pm 0.05$ 、 $4.03 \pm 0.05$ 、 $3.58 \pm 0.05$ 、 $3.50 \pm 0.05$ ,

ii) 拉曼光谱, 其包含如下位置的峰:  $372 \pm 2$ 、 $346 \pm 2$ 、 $333 \pm 2$ 、 $312 \pm 2$ 、 $289 \pm 2$ 、 $234 \pm 2$ 、 $193 \pm 2$ 、 $178 \pm 2$ 、 $133 \pm 2$ 、 $82 \pm 2 \text{cm}^{-1}$ ; 以及, 任选地, 至少如下之一

iii) 显示在  $212\text{-}222^\circ\text{C}$  处发生相转变的 DSC 扫描; 和

iv) 在  $20^\circ\text{C}$ - $25^\circ\text{C}$  时在二氯甲烷中的溶解度分布为 35-45 克/升,

并且包含全-反式-虾青素和至少约 13 摩尔%的至少一种类胡萝卜素化合物。

进一步优选的实施方式涉及被称为晶型 I 的虾青素结晶形式, 其特征在于至少如下之一

i) X-射线衍射图, 其包含如下以  $10^{-10}$  米表示的晶格面间距  $d$ :  $8.0 \pm 0.1$ 、 $6.5 \pm 0.05$ 、 $6.3 \pm 0.05$ 、 $6.1 \pm 0.05$ 、 $5.96 \pm 0.05$ 、 $5.58 \pm 0.05$ 、 $5.43 \pm 0.05$ 、 $4.87 \pm 0.05$ 、 $4.32 \pm 0.05$ 、 $4.24 \pm 0.05$ 、 $4.21 \pm 0.05$ 、 $4.07 \pm 0.05$ 、 $4.03 \pm 0.05$ 、 $3.58 \pm 0.05$ 、 $3.50 \pm 0.05$ ,

ii) 拉曼光谱, 其包含在如下位置处的峰:  $372 \pm 2$ 、 $346 \pm 2$ 、 $333 \pm 2$ 、 $312 \pm 2$ 、 $289 \pm 2$ 、 $234 \pm 2$ 、 $193 \pm 2$ 、 $178 \pm 2$ 、 $133 \pm 2$ 、 $82 \pm 2 \text{cm}^{-1}$ ; 以及, 任选地, 至少如下之一

iii) 显示在  $212\text{-}222^\circ\text{C}$  处发生相转变的 DSC 扫描; 和

iv) 在  $20^\circ\text{C}$ - $25^\circ\text{C}$  时在二氯甲烷中的溶解度分布为 35-45 克/升,

并且包含全-反式-虾青素和至少约 13 摩尔%的至少一种类胡萝卜素化合物, 所述类胡萝卜素化合物选自 9-顺式-虾青素、13-顺式虾青素、15-顺式-虾青素、虾红素、半-虾红素和 C-25 醛。

另一个特别优选的实施方式涉及被称为晶型 II 的虾青素结晶形式, 其特征在于至少如下之一

i) X-射线衍射图, 其包含如下以  $10^{-10}$  米表示的晶格面间距  $d$ :  $7.2 \pm 0.1$ 、 $6.6 \pm 0.05$ 、 $6.5 \pm 0.05$ 、 $5.48 \pm 0.05$ 、 $5.34 \pm 0.05$ 、 $5.27 \pm 0.05$ 、 $4.49 \pm 0.05$ 、 $4.38 \pm 0.05$ 、 $4.12 \pm 0.05$ 、 $3.89 \pm 0.05$ 、 $3.61 \pm 0.05$ 、 $3.56 \pm 0.05$ 、 $3.34 \pm 0.05$ 、 $3.32 \pm 0.05$ 、 $3.22 \pm 0.05$ , 和

ii) 拉曼光谱, 其包含在如下位置处的峰:  $376 \pm 2$ 、 $337 \pm 2$ 、 $314 \pm 2$ 、 $304 \pm 2$ 、 $289 \pm 2$ 、 $206 \pm 2$ 、 $180 \pm 2$ 、 $137 \pm 2$ 、 $107 \pm 2$ 、 $93 \pm 2 \text{cm}^{-1}$ ;

以及, 任选地, 至少如下之一

iii) 显示在 225-240°C 处发生相转变的 DSC 扫描; 和

iv) 在 20°C-25°C 时在二氯甲烷中的溶解度分布为 10-30 克/升。

特别优选的实施方式涉及被称为晶型 II 的虾青素结晶形式, 其提供了与图 3 中给出的 X-射线粉末衍射图谱基本上一致的 X-射线粉末衍射图。

特别优选的实施方式涉及被称为晶型 II 的虾青素结晶形式, 其提供了与图 4 中给出的拉曼光谱基本上一致的拉曼光谱。

另一个优选的实施方式涉及被称为晶型 II 的虾青素结晶形式, 其特征在于至少如下之一

i) X-射线衍射图, 其包含如下以  $10^{-10}$  米表示的晶格面间距  $d$ :  $7.2 \pm 0.1$ 、 $6.6 \pm 0.05$ 、 $6.5 \pm 0.05$ 、 $5.48 \pm 0.05$ 、 $5.34 \pm 0.05$ 、 $5.27 \pm 0.05$ 、 $4.49 \pm 0.05$ 、 $4.38 \pm 0.05$ 、 $4.12 \pm 0.05$ 、 $3.89 \pm 0.05$ 、 $3.61 \pm 0.05$ 、 $3.56 \pm 0.05$ 、 $3.34 \pm 0.05$ 、 $3.32 \pm 0.05$ 、 $3.22 \pm 0.05$ , 和

ii) 拉曼光谱, 其包含在如下位置处的峰:  $376 \pm 2$ 、 $337 \pm 2$ 、 $314 \pm 2$ 、 $304 \pm 2$ 、 $289 \pm 2$ 、 $206 \pm 2$ 、 $180 \pm 2$ 、 $137 \pm 2$ 、 $107 \pm 2$ 、 $93 \pm 2 \text{ cm}^{-1}$ ; 以及, 任选地, 至少如下之一

iii) 显示在 225-240°C 处发生相转变的 DSC 扫描; 和

iv) 在 20°C-25°C 时在二氯甲烷中的溶解度分布为 10-30 克/升,

并且包含全-反式-虾青素和最多约 7 摩尔%的至少一种类胡萝卜素化合物。

另一个特别优选的实施方式涉及被称为晶型 II 的虾青素结晶形式, 其特征在于至少如下之一

i) X-射线衍射图, 其包含如下以  $10^{-10}$  米表示的晶格面间距  $d$ :  $7.2 \pm 0.1$ 、 $6.6 \pm 0.05$ 、 $6.5 \pm 0.05$ 、 $5.48 \pm 0.05$ 、 $5.34 \pm 0.05$ 、 $5.27 \pm 0.05$ 、 $4.49 \pm 0.05$ 、 $4.38 \pm 0.05$ 、 $4.12 \pm 0.05$ 、 $3.89 \pm 0.05$ 、 $3.61 \pm 0.05$ 、 $3.56 \pm 0.05$ 、 $3.34 \pm 0.05$ 、 $3.32 \pm 0.05$ 、 $3.22 \pm 0.05$ , 和

ii) 拉曼光谱, 其包含在如下位置处的峰:  $376 \pm 2$ 、 $337 \pm 2$ 、 $314 \pm 2$ 、 $304 \pm 2$ 、 $289 \pm 2$ 、 $206 \pm 2$ 、 $180 \pm 2$ 、 $137 \pm 2$ 、 $107 \pm 2$ 、 $93 \pm 2 \text{ cm}^{-1}$ ; 以及, 任选地, 至少如下之一

iii) 显示在 225-240°C 处发生相转变的 DSC 扫描; 和

iv) 在 20°C-25°C 时在二氯甲烷中的溶解度分布为 10-30 克/升,

并且包含全-反式-虾青素和最多约 7 摩尔%的至少一种类胡萝卜素化合物，所述类胡萝卜素化合物选自 9-顺式-虾青素、13-顺式虾青素、15-顺式-虾青素、虾红素、半-虾红素和 C-25 醛中的至少一种。

另一个特别优选的实施方式涉及被称为晶型 II 的虾青素结晶形式，其特征在于至少如下之一

i) X-射线衍射图，其包含如下以  $10^{-10}$  米表示的晶格面间距 d:  $7.2 \pm 0.1$ 、 $6.6 \pm 0.05$ 、 $6.5 \pm 0.05$ 、 $5.48 \pm 0.05$ 、 $5.34 \pm 0.05$ 、 $5.27 \pm 0.05$ 、 $4.49 \pm 0.05$ 、 $4.38 \pm 0.05$ 、 $4.12 \pm 0.05$ 、 $3.89 \pm 0.05$ 、 $3.61 \pm 0.05$ 、 $3.56 \pm 0.05$ 、 $3.34 \pm 0.05$ 、 $3.32 \pm 0.05$ 、 $3.22 \pm 0.05$ ，和

ii) 拉曼光谱，其包含在如下位置处的峰:  $376 \pm 2$ 、 $337 \pm 2$ 、 $314 \pm 2$ 、 $304 \pm 2$ 、 $289 \pm 2$ 、 $206 \pm 2$ 、 $180 \pm 2$ 、 $137 \pm 2$ 、 $107 \pm 2$ 、 $93 \pm 2 \text{ cm}^{-1}$ ；以及，任选地，至少如下之一

iii) 显示在  $225\text{-}240^\circ\text{C}$  处发生相转变的 DSC 扫描；和

iv) 在  $20^\circ\text{C}$ - $25^\circ\text{C}$  时在二氯甲烷中的溶解度分布为 10-30 克/升，

其中所述虾青素满足表 1 中所示的如在 US-FDA 的 21 CFR 73.35 中所规定的如下规范：

表 1

质量标准	规范
物理状态	固体
氯仿中 0.05% 的溶液	澄清透明
最大吸收波长	484-493 纳米 (氯仿溶液)
燃烧残余	不超过 0.1%
除虾青素以外的总类胡萝卜素含量	不超过 4%
铅	不超过 5 ppm
砷	不超过 2 ppm
汞	不超过 1 ppm
重金属	不超过 10 ppm
分析 (Assay)	最小 96 %

进一步的实施方式涉及制备被称为晶型 I 和晶型 II 的虾青素结晶形式混合物的方法，所述混合物包含至少 5% w/w 的晶型 I 或晶型 II，所

述方法包含如下步骤:

i) 将包含全-反式-虾青素和约 7 摩尔%到约 17 摩尔%至少一种类胡萝卜素化合物的虾青素混合物,在直到所述溶剂沸点的温度下溶解于对虾青素的溶解度为至少 1 毫克/毫升的溶剂中,所述类胡萝卜素化合物选自 9-顺式-虾青素、13-顺式虾青素、15-顺式-虾青素、虾红素、半-虾红素和 C-25 醛中的至少一种,并且进一步的步骤选自 iia) 加入一种反溶剂, iib) 通过蒸发,任选地同时通过用反溶剂对溶剂进行交换而除去溶剂, iic) 冷却有机溶剂溶液,该有机溶剂溶液任选地具有包含晶型 I 或 II 或其混合物的成核剂或晶种,和 iii) 收集、用反溶剂洗涤并干燥晶体。

进一步的实施方式涉及制备被称为晶型 I 的虾青素结晶形式的方法,其包含如下步骤:

i) 将包含全-反式-虾青素和至少约 13 摩尔%的至少一种类胡萝卜素化合物的虾青素混合物,在直到所述溶剂沸点的温度下溶解于对虾青素的溶解度为至少 1 毫克/毫升的溶剂中,所述类胡萝卜素化合物选自 9-顺式-虾青素、13-顺式虾青素、15-顺式-虾青素、虾红素、半-虾红素和 C-25 醛中的至少一种,并且进一步的步骤选自 iia) 加入一种反溶剂, iib) 通过蒸发,任选地同时通过用反溶剂对溶剂进行交换而除去溶剂, iic) 冷却有机溶剂溶液,该有机溶剂溶液任选地具有包含晶型 I 的成核剂或晶种,和 iii) 收集、用反溶剂洗涤并干燥晶体。

进一步的实施方式涉及制备被称为晶型 I 的虾青素结晶形式的方法,其包含如下步骤:

i) 将包含全-反式-虾青素和至少约 13 摩尔%的至少一种类胡萝卜素化合物的虾青素混合物,在直到所述溶剂沸点的温度下溶解于溶剂中,所述类胡萝卜素化合物选自 9-顺式-虾青素、13-顺式虾青素、15-顺式-虾青素、虾红素、半-虾红素和 C-25 醛中的至少一种,所述溶剂选自二氯甲烷、三氯乙烷、氯仿、二甲氧基甲烷、二乙氧基乙烷、二氧杂环戊烷、THF、NMP、N-乙基吡咯烷酮、甲苯、吡啶和二硫化碳,并且进一步的步骤选自 iia) 加入一种反溶剂,其选自甲醇、乙醇、正丙醇、异丙醇、正丁醇、叔丁醇和水, iib) 通过蒸发,任选地同时通过用反溶剂对溶剂进行交换而除去溶剂, iic) 冷却有机溶剂溶液,该有机溶剂溶液任选地加入包含晶型 I 的成核剂或晶种,和 iii) 收集、用反溶剂洗涤并

干燥晶体。

进一步的实施方式涉及制备被称为晶型 II 的虾青素结晶形式的方法，其包含如下步骤：

i) 将包含全-反式-虾青素和基本上最多约 7 摩尔 % 的至少一种类胡萝卜素化合物的虾青素混合物，在直到所述溶剂沸点的温度下溶解于对虾青素的溶解度为至少 1 毫克/毫升的溶剂中，所述类胡萝卜素化合物选自 9-顺式-虾青素、13-顺式虾青素、15-顺式-虾青素、虾红素，半-虾红素和 C-25 醛中的至少一种，并且进一步的步骤选自 iia) 加入一种反溶剂，iib) 通过蒸发，任选地同时通过用反溶剂对溶剂进行交换，而除去溶剂，iic) 冷却有机溶剂溶液，该有机溶剂溶液任选地加入包含晶型 I 的成核剂或晶种，和 iii) 收集、用反溶剂洗涤并干燥晶体。

进一步的实施方式涉及制备被称为晶型 II 的虾青素结晶形式的方法，其包含如下步骤：

i) 将包含全-反式-虾青素和基本上最多约 7 摩尔 % 的至少一种类胡萝卜素化合物的虾青素溶解于溶剂中，所述类胡萝卜素化合物选自 9-顺式-虾青素、13-顺式虾青素、15-顺式-虾青素、虾红素、半-虾红素和 C-25 醛中的至少一种，所述溶剂选自二氯甲烷、三氯乙烷、氯仿、二甲氧基甲烷、二乙氧基乙烷、二氧杂环戊烷、THF、NMP、N-乙基吡咯烷酮、甲苯、吡啶和二硫化碳，并且进一步的步骤选自 iia) 加入一种反溶剂，iib) 通过蒸发，任选地同时通过用反溶剂对溶剂进行交换而除去溶剂，iic) 冷却有机溶剂溶液，该有机溶剂溶液任选地加入包含晶型 II 的成核剂或晶种，和 iii) 收集、用反溶剂洗涤并干燥晶体。

进一步的实施方式涉及制备被称为晶型 I 或晶型 I 和晶型 II 混合物的虾青素结晶形式的方法，其包含由如下步骤组成的结晶工序，i) 将包含全-反式-虾青素和最多约 7 摩尔 % 的至少一种类胡萝卜素化合物的虾青素溶解于溶剂中，所述类胡萝卜素化合物选自 9-顺式-虾青素、13-顺式虾青素、15-顺式-虾青素、虾红素、半-虾红素和 C-25 醛中的至少一种，所述溶剂选自二氯甲烷、三氯乙烷、氯仿、二甲氧基甲烷、二乙氧基乙烷、二氧杂环戊烷、THF、NMP、N-乙基吡咯烷酮、甲苯、吡啶和二硫化碳，ii) 对所述溶剂进行至少一种选自热、光、氧化剂的处理，并且进一步的步骤选自 iiia) 加入一种反溶剂，iiib) 通过蒸发，任选地同时通过用反溶剂对溶剂进行交换而除去溶剂，iiic) 冷却有机溶剂溶液，

该有机溶剂溶液中加入或不加入成核剂或晶种，和 iv) 收集、用反溶剂洗涤并干燥晶体。

本发明优选的实施方式涉及进一步包含将上述定义的晶型 I 和 II 或混合物加工成营养剂型的方法。

另一个实施方式是用于生命科学工业中的给药形式，其包含虾青素、晶型 I 或 II 或其混合物。

另一个实施方式是用于鱼饲料工业中的给药形式，其包含虾青素、虾青素晶型 I 或 II 或其混合物，其中虾青素的含量低于 20% 重量。

另一个实施方式是用于制备鱼饲料以及用于生命科学工业中的给药形式，其包含虾青素晶型 I 或 II 或其混合物的悬浮液。

另一个实施方式是制备用于鱼饲料以及生命科学工业中包含虾青素的给药形式的方法，其中将虾青素晶型 I 或 II 或其混合物溶于有机溶剂或油或其混合物中，然后进一步将其加工成所述给药形式。

另一个实施方式是制备用于生命科学工业中包含虾青素的给药形式的方法，其中将虾青素晶型 I 或 II 或其混合物溶于有机溶剂或油或其混合物中，然后进一步将其加工成包含亲脂性分散剂的所述给药形式。

另一个实施方式是制备用于生命科学工业中包含虾青素的给药形式的方法，其中将虾青素晶型 I 或 II 或其混合物溶于有机溶剂或油或其混合物中，然后进一步将其加工成包含亲水性分散剂的所述给药形式。

另一个实施方式是制备包含虾青素的油性组合物的方法，所述方法包括将晶型 I 或晶型 II 或其混合物在 100°C 到 230°C 之间的温度下直接溶于食用油和/或鱼油中，从而将其直接引入到鱼饲料粒以及其它应用中。

附图简述：

图 1 表示虾青素晶型 I 的 X-射线衍射图。

图 2 表示虾青素晶型 I 的拉曼光谱。

图 3 表示虾青素晶型 II 的 X-射线衍射图。

图 4 表示虾青素晶型 II 的拉曼光谱。

图 5 表示包含虾青素晶型 I 和晶型 II 混合物的拉曼光谱，以及与其对照的根据虾青素晶型 I 和晶型 II 单独光谱计算得出的光谱。

附图和实施例的详细描述:

类胡萝卜素是一类由八个类异戊二烯单元组成的烃(胡萝卜素)以及它们的氧化衍生物(叶黄素)。类胡萝卜素种类的化合物分为两个主要的组:胡萝卜素和叶黄素。胡萝卜素是纯的多烯烃,例如 $\beta$ 胡萝卜素和番茄红色,而与胡萝卜素相反的是,叶黄素另外还含有官能片段例如羟基、环氧基和氧代基团。叶黄素组的典型代表是斑螯黄(canthaxanthin)、玉米黄素和虾青素。

虾青素是 3,3'-二羟基- $\beta,\beta$ -胡萝卜素-4,4'-二酮。合成虾青素的 CAS 号是 7542-45-2 并且其是非对映异构体(3S, 3'S)、(3R, 3'S)和(3R, 3'R) 1:2:1 的混合物。从天然来源分离的虾青素的 CAS 号是 472-61-7。虾青素是一种颜料,其发现在许多甲壳纲(Crustaceae)例如通常的龙虾(*Homarus gammarus*)中,发现在鲑鱼(*Salmo salar*)中,发现在火烈鸟的羽毛中(例如, *Phoenicopterus ruber*)。虾青素主要用作各种动物,尤其是鲑鱼、鳟鱼、虾、真鲷、观赏鱼和家禽的饲料成分。最近,天然虾青素还被用作食品、营养品或化妆品具有抗氧化特性的添加剂。

虾青素可以通过发酵获得(Biotechnol. Letters 10 (1988) 609-614), 或者从 WO-A89/1997 和 EP329754 中公开的微藻中获得。WO-A86/6082 描述了由天然来源中分离虾青素的方法,其是从甲壳动物的壳中通过萃取而进行的。US2004253664 描述了使用真核微生物进行的类胡萝卜素、叶黄素和脱辅类胡萝卜素的制备。萃取天然虾青素的替代来源是 Aquasta<sup>TM</sup>, 其是通过将专有植株的酵母红发夫酵母发酵而制备的产品。获得虾青素的进一步方法是利用化学合成,例如 US 5,654,488 中所述的。

使用少量(通常约 50 $\mu$ l-1000 $\mu$ l 的虾青素有机溶剂溶液)虾青素结晶形式进行的扫描是在试管或孔板皿(well plate cups)中进行的,通过加入反溶剂或者通过蒸发而使试管/皿中的虾青素结晶,通过测量它们的特征拉曼光谱、X-射线粉末衍射图以及其它物理参数来确定晶体的结构。使用少量基本上包含多种水平的不同类胡萝卜素化合物的虾青素进行受控制的结晶,出乎意料地产生两种分别形成或者在混合物中一起形成的不同虾青素晶型。通过将所测定的拉曼光谱与两种晶型在几个已知重量比的“最佳配比”下的平均单独光谱进行比较,从而确定晶型混合物中单独晶型的含量。两种单独晶型在混合物中的存在是在“最佳配比”的特征拉曼光谱中反映出来的,其中除了单独晶型 I 和晶型 II 的光谱峰

以外，没有观察到另外的特征峰。考察与工业中使用极性、非极性、质子惰性和质子性溶剂进行的溶剂除去和晶体回收相关的因素，其涉及对虾青素的毒性（例如溶剂残留）、溶解性以及稳定性。它们意外地显示虾青素晶型 I 或 II 的形成是独立于所使用的溶剂或结晶方法的，但其实质上取决于类胡萝卜素化合物的存在和浓度。出乎意料的是，虾青素可以以两种不同的晶型存在并且作为两种晶型的混合物出现，这取决于制备晶体的条件。这些内容清楚地表明两种工业应用的晶型以及两种晶型的混合物可以在控制的条件下从虾青素的溶液中制备。

制备用于鱼饲料和营养品应用以及生命科学工业中其它分支的虾青素组合物的已知技术，没有披露制备特定晶型以及特别是两种晶型混合物的可能性，所述特定晶型以及两种晶型混合物明显的特征在于 X-射线粉末衍射图和拉曼光谱，以及至少一种其它物理参数例如熔点、在有机溶剂中的溶解度、DSC 扫描。晶型在有机溶剂和油中具有不同的溶解度，这使得加工和配制虾青素组合物时有了更宽泛的选择。而且，在口服给药之后，晶型可以影响体内的溶解速率并且允许在油性给药媒介中更高的（过饱和的）浓度，这可以提供更高的吸收和生物利用度。

虾青素晶型的 X-射线衍射图是使用 Bruker D8 改进型记录的。D 值是由在  $1.5406 \times 10^{-10}$  米波长下的  $2\theta$  值计算得到的。Bruker 使用软件，EVA 10.0 版消除了 Cu  $K\alpha$  2 辐射。拉曼光谱是使用具有 1064 纳米激光激发波长的 Bruker FT-分光计 Bruker RFS 100/S 记录的。DSC 测量是用 DSC 7 型 Perkin Elmer 差示量热器进行的。

晶型 I 具有不规则形状和红色/红褐色外观的晶体惯态，并且相对于晶型 II 具有更低的熔点，在有机溶剂或油中具有更高的溶解度和溶解速率。晶型 I 的特征在于其分别在图 1 和 2 中给出的 X-射线粉末衍射和拉曼光谱。表 2 提供了晶型 I 的特征 X-射线粉末衍射。峰位置通过  $2-\theta$  角和相应的 d 值给出。这些位置的标准偏差可以为  $\pm 5\%$  或更小。峰强度通过它们的 Cps 值和相对于最大值的相对强度而给出。当相对强度  $< 5\%$  时，该峰被称为“vw”，即“非常弱”。相应地 5-15% 被称为“w”（弱）；15-30% 被称作“m”（中等）；30-70% 为“s”（强）而  $> 70\%$  被称为“vs”（非常强）。

表 2

2- $\theta$ °角	D 值 $10^{-10}$ 米	定性的 相对强度	强度 Cps	强度 %
7.02	12.6	vw	5.7	3.9
11.02	8.0	s	49.7	34.2
11.71	7.6	w	20.6	14.2
12.36	7.2	w	8.41	5.8
13.70	6.5	s	74.5	51.2
14.09	6.3	s	72.8	50.1
14.44	6.1	m	35.3	24.3
14.86	5.96	s	75.9	52.2
15.88	5.58	s	84.5	58.2
16.31	5.43	vs	145	100
18.21	4.87	vs	127	87.5
18.70	4.74	w	21.7	14.9
20.53	4.32	s	90.1	62
20.94	4.24	s	44.8	30.8
21.09	4.21	s	44.9	30.9
21.84	4.07	m	32.2	22.1
22.05	4.03	s	43.6	30
23.54	3.78	w	12.3	8.5
24.82	3.58	m	24.5	16.9
25.40	3.50	m	28	19.2
26.22	3.40	w	10.9	7.5
27.67	3.22	w	8.75	6
28.79	3.10	vw	6.92	4.8
31.96	2.80	vw	6.61	4.6

表 3 提供了晶型 I 的特征拉曼光谱。峰位置通过以  $\text{cm}^{-1}$  表示的波数给出。这些位置的标准偏差可以为  $\pm 5\%$  或更小。峰强度通过它们的拉曼强度值以及相对于最大值的相对强度给出。当相对强度  $< 5\%$  时, 该峰被称为“vw”, 即“非常弱”; 相应地 5-15% 被称为“w” (弱); 15-30

%被称作“m”（中等）；30-70%为“s”（强）而>70%被称为“vs”（非常强）。

表 3

波数 cm <sup>-1</sup>	定性的 相对强度	拉曼发射 强度	强度 (%)
372.8	s	0.179	35.8
347.7	m	0.122	24.4
333.3	m	0.138	27.6
312.1	s	0.184	36.8
289.9	s	0.231	46.3
234.9	m	0.130	26.1
194.4	s	0.311	62.3
178.1	s	0.326	65.3
132.8	vs	0.499	100
81.6	m	0.101	20.2

晶型 I 在干燥形式下是稳定的。该晶体相对于晶型 II 可以显示出期望的特性，例如在有机溶剂和油中具有提高的溶解性。

晶型 II 具有晶体锋/片样的惯态以及蓝/紫色外观，相对于晶型 I 具有更高的熔点，在油和有机溶剂中具有更低的溶解度。晶型 II 的特征在于其分别在图 3 和 4 中给出的 X-射线粉末衍射和拉曼光谱。在表 4 中提供了晶型 II 的一般 X-射线粉末衍射。峰位置通过 2- $\theta$  角和相应的 d 值给出。这些位置的标准偏差可以为  $\pm 5\%$  或更小。峰强度通过它们的 Cps 值和相对于最大值的相对强度而给出。当相对强度  $< 5\%$  时，该峰被称为“vw”，即“非常弱”；相应地 5-15% 被称为“w”（弱）；15-30% 被称作“m”（中等）；30-70% 为“s”（强）而  $> 70\%$  被称为“vs”（非常强）。

表 4

2- $\theta$ °角	D 值 10 <sup>-10</sup> 米	定性的 相对强度	强度 Cps	强度 %
8.37	10.6	w	12.1	5
9.82	9.0	vw	9.0	3.7
10.26	8.6	w	18.6	7.7
12.32	7.2	m	66.1	27.3
13.49	6.6	s	118.0	48.8
13.69	6.5	s	129.0	53.1
16.15	5.48	s	77.8	32.1
16.58	5.34	s	99.2	40.9
16.81	5.27	m	41.9	17.3
18.82	4.71	w	36.0	14.8
19.76	4.49	m	38.0	15.7
20.27	4.38	vs	242.0	100
20.62	4.30	w	23.1	9.5
21.53	4.12	s	82.7	34.1
22.10	4.02	w	22.0	9.1
22.86	3.89	m	51.9	21.4
23.54	3.78	w	21.3	8.8
23.83	3.73	w	17.1	7.1
24.63	3.61	m	55.3	22.8
25.00	3.56	s	148.0	61.3
25.53	3.49	w	31.8	13.1
25.87	3.44	w	21.5	8.9
26.64	3.34	m	41.4	17.1
26.80	3.32	m	48.7	20.1
27.65	3.22	s	75.8	31.3
29.24	3.05	w	12.8	5.3
29.92	2.98	w	14.8	6.1
31.79	2.81	w	20.3	8.4
32.38	2.76	w	27.9	11.5

32.58	2.75	w	25.3	10.4
34.88	2.57	w	30.9	12.8

在表 5 中提供了晶型 II 的一般拉曼光谱。峰位置通过以  $\text{cm}^{-1}$  表示的波数给出。这些位置的标准偏差可以为  $\pm 5\%$  或更小。峰强度通过它们的拉曼强度值以及相对于最大值的相对强度给出。当相对强度  $< 5\%$  时, 该峰被称为“vw”, 即“非常弱”; 相应地 5-15% 被称为“w” (弱); 15-30% 被称作“m” (中等); 30-70% 为“s” (强) 而  $> 70\%$  被称为“vs” (非常强)。

表 5

波数 $\text{cm}^{-1}$	定性的 相对强度	拉曼发射 强度	强度 (%)
376.7	s	0.267	65.9
338.1	m	0.110	27.1
314.0	s	0.151	37.2
306.0	s	0.214	52.8
290.9	s	0.230	56.8
207.0	vs	0.405	100
180.0	s	0.249	61.
138.6	s	0.361	89.1
107.7	s	0.279	68.9
93.3	s	0.238	58.7

图 5 描绘了包含晶型 I 和晶型 II 的 0.55:0.45 重量比混合物的拉曼光谱。

为了制备期望的晶型或两种晶型的混合物, 可以将包含至少 93% 重量的全-反式-虾青素的虾青素溶于适当的溶剂中, 并且用作起始原料。可以加入适当量的至少一种类胡萝卜素化合物。可替代地, 可以通过控制条件例如温度和溶液的氧化在结晶之前和/或期间现场形成类胡萝卜素化合物。例如, 可以在将虾青素溶解在高沸点溶剂期间或之后现场形成类胡萝卜素化合物, 所述高沸点溶剂例如是甲苯、食用油和烷醇。可

以将包含期望晶型的晶种加入到结晶介质中以加速结晶并且增加期望晶型的产率。

可替代地，期望的晶型或晶型 I 和晶型 II 的混合物可以通过控制虾青素生产、萃取或纯化步骤的方法而被制备，其中最终的结晶溶液包含足够量的至少一种类胡萝卜素化合物（复数），其基本上是在形成本说明书所描述的晶型 I、晶型 II 或晶型 I 和晶型 II 物理混合物的期望范围内。晶型 I 或晶型 I 和晶型 II 的混合物还可以在具有高纯度虾青素（即，大于 95%）的溶液中制备，然后用例如热和/或光处理该溶液，以形成足够量的类胡萝卜素化合物，从而在最终的结晶之后基本上获得晶型 I 或晶型 I 和晶型 II 的混合物。

应当理解的是，上述结晶方法可以优选在制备晶型 I 或晶型 II 之一的合成之后进行。可替代地，它们也可以在虾青素晶体的纯化或萃取步骤（作为化学合成或从天然产物中分离虾青素化合物的部分）中进行，其中使用至少一个用于制备虾青素晶体的结晶步骤，或者利用溶剂的结晶或重结晶工序。

制备虾青素晶型或晶型混合物的起始溶液不需要含有精确量的类胡萝卜素化合物（在所期望的具体晶型范围内），只要在结晶开始时具有足够的浓度，晶型 I 或 II 的晶体或其混合物就会随之出现。将虾青素溶解在沸腾的溶剂中可以导致作为副产物的类胡萝卜素化合物充分地形成。而且通过选择最适当的洗涤溶剂、温度和条件，可以除去未缔合的类胡萝卜素化合物。向结晶溶液中加入包含晶型 I 或晶型 II 的晶种可以进一步加速期望晶型的形成并且提高产率。

为了制备期望的虾青素晶型 I 或 II 或其混合物，可以分别或优选作为混合物加入到全-反式-虾青素中的适当类胡萝卜素化合物是合成的虾青素衍生物例如醚化的或酯化的、氧化或氢化产物、虾青素的顺式异构体。该术语包括在虾青素的合成和结晶期间或者在从天然来源萃取虾青素操作期间获得的副产物。类胡萝卜素化合物的形成可以是在次优条件下进行合成的结果，或者可以是在允许将类胡萝卜素化合物浓度控制在期望水平的条件下进行合成、萃取或结晶工序的结果。优选类胡萝卜素化合物的一种或混合物可以选自 9-顺式、13-顺式虾青素以及其它顺式虾青素衍生物（例如 15-顺式-虾青素）、虾红素（即  $\beta,\beta$ -胡萝卜素-3,3',4,4'-四酮，CAS 号为 514-76-1）、半-虾红素（3-羟基- $\beta,\beta$ -胡萝卜素-3',4,4'

三酮)和 C-25 醛(全-反式-3-羟基-4-氧代-12'-脱辅-β-胡萝卜素-12'-醛, CAS 号为 72523-68-3)。它们可以被单独或以任意组合使用。

有几种基于类似原理的结晶方法可以考虑被用来制备晶型 I、晶型 II 或包含晶型 I 和晶型 II 的混合物,其是从不同于类胡萝卜素化合物外观和浓度的溶液起始的。本领域技术人员可以确定适当的结晶方法,包括但不限于下述方法。通常,用来制备溶液的适当溶剂是,在结晶开始的温度下溶解至少 1 毫克/毫升,优选直到 10-50 毫克/毫升虾青素的溶剂。当使用反溶剂时,适当的反溶剂是在结晶的温度下溶解度小于 1 毫克/毫升的溶剂,并且其与溶解虾青素的溶剂是互溶的。

在控制的温度条件下由虾青素的非极性质子惰性有机溶液起始,结晶是通过从溶液中除去溶剂,任选地同时用可互溶的极性反溶剂进行交换而引起。优选的非极性质子惰性溶剂是二氯甲烷。代替的氯化非极性质子惰性溶剂是例如氯仿、三氯乙烷。适当的非氯化代替物是二甲氧基甲烷、二乙氧基乙烷和二氧杂环戊烷。优选极性反溶剂是甲醇或其它烷醇例如乙醇、正丙醇、异丙醇、正丁醇和叔丁醇。

包含晶型 I 或晶型 II 的晶体还可以通过从虾青素极性质子惰性或极性质子性溶剂的虾青素溶液中蒸发除去溶剂而获得。优选的是对虾青素具有高溶解度以及低沸点的溶剂。例如 THF 和吡啶。

引起结晶的另一个方法是冷却非极性质子惰性溶剂的(过)饱和溶液。优选的非极性质子惰性溶剂是二氯甲烷、甲苯或可替代的氯化非极性质子惰性溶剂。对虾青素具有高溶解度的极性溶剂例如四氢呋喃(THF)、N-甲基吡咯烷酮(NMP)、N-乙基吡咯烷酮(NEP)和吡啶可以被认为是优选的。期望晶型的结晶速率和产率可以通过向结晶溶液中加入纯晶型的晶种而增加。

包含晶型 I 或 II 的晶体还可以通过加入可互溶的极性反溶剂,将含有期望浓度的全-反式-虾青素和类胡萝卜素化合物在非极性质子惰性、极性质子惰性或极性质子性溶剂中的溶液稀释而获得。非极性质子惰性溶剂的例子是二氯甲烷、甲苯或代替的氯化溶剂。反溶剂是像甲醇一样的烷醇。适当的极性溶剂的例子是 THF、NMP 和吡啶。作为反溶剂,可以使用烷醇或者优选地使用水。

所产生的晶体通过本领域已知的过滤、自发沉降或离心方法进行收集,任选地用适当的(反)溶剂进行洗涤,优选用冷的烷醇(优选甲醇),

并且干燥, 优选在真空下。可以对所产生的晶体进行研磨从而获得进一步加工所期望的粒子大小。

使用上述方法, 氯化溶剂可以用二甲氧基甲烷、二乙氧基乙烷或二氧杂环戊烷代替。

随着结晶溶液中类胡萝卜素化合物的浓度从 0% 增加到最多约 7 摩尔% 并且剩余的类胡萝卜素为全-反式-虾青素时, 主要形成晶型 II, 而另一种晶型 I 的存在可能低于小于 5% 的可检测水平。在约 7% 摩尔类胡萝卜素化合物水平并且剩余的类胡萝卜素为全-反式-虾青素时, 在大量晶型 II 的存在下可能形成微量的晶型 I。当溶液中类胡萝卜素化合物(复数)的摩尔% 从约 7 摩尔% 增加到 17 摩尔% 并且总类胡萝卜素的剩余组分为全-反式-虾青素时, 获得了包含晶型 I 和晶型 II 的混合物, 其中晶型 I 与晶型 II 的比例随着类胡萝卜素化合物的增加而增加。在约 17 摩尔% 类胡萝卜素化合物水平并且总类胡萝卜素的剩余组分为全-反式-虾青素时, 在大量晶型 I 的存在下可能形成微量的晶型 II。超过约 17 摩尔% 的类胡萝卜素化合物(复数) 并且总类胡萝卜素的剩余组分为全-反式-虾青素时, 晶型 I 占优势并且晶型 II 的存在可能低于小于 5% 的可检测水平。但是, 晶型 I 和/或晶型 II 形成的程度取决于总的结晶条件。

根据结晶溶液中类胡萝卜素化合物的水平以及结晶的条件, 晶型 I 和 II 的混合物可以包含 0% 到 100% 的晶型 I 和 100% 到 0% 的晶型 II, 或者 0.1% 到 99.9% 的晶型 I 和 99.9% 到 0.1% 的晶型 II, 或者 5% 到 95% 的晶型 I 和 95% 到 5% 的晶型 II, 或者 10% 到 90% 的晶型 I 和 90% 到 10% 的晶型 II, 或者 20% 到 80% 的晶型 I 和 80% 到 20% 的晶型 II。

在优选的实施例中, 当类胡萝卜素化合物主要是顺式-虾青素时, 可以形成晶型 I 的晶体, 其包含至少约 17 摩尔% 的顺式虾青素(优选地, 9-顺式或 13-顺式或其混合物)。因此, 可能制备包含直到接近 100% 虾青素的虾青素晶型 I, 其具有在有机溶剂和油中有益的溶解性特征和较低的熔点。

起始溶液中类胡萝卜素化合物的含量可以高于或低于所产生的晶体, 这取决于所使用的结晶程序。当使用升高的温度时, 溶液中类胡萝卜素化合物的浓度和晶体将会增加, 而晶体的全-反式-虾青素含量会降低。当使用温和的温度条件和/或不同的结晶方法时, 类胡萝卜素化合物的水平可以低于晶体。同时, 晶体的全-反式-虾青素含量会增加。而且,

制备期望虾青素晶型的最后阶段所使用的洗涤步骤可以从虾青素晶体中除去未缔合的类胡萝卜素化合物。

从包含全-反式-虾青素和超过约 17 摩尔%类胡萝卜素化合物（复数）的溶液中制备的晶型 I，可以包含全-反式-虾青素以及优选至少约 13 摩尔%的至少一种类胡萝卜素化合物，所述类胡萝卜素化合物选自顺式-虾青素、半-虾红素、虾红素或 C-25 醛。更优选的是 9-顺式或 13-顺式-虾青素或者 15-顺式-虾青素中的一种或其混合物。当全部晶体都是晶型 I 并且虾青素包含全-反式-虾青素和仅有的 9-顺式或 13-顺式-虾青素时，根据水产养殖中采用的纯度定义（这里参考 Determination of stabilized astaxanthin in premixes and fish feeds- version 1.1, Roche Vitamins Ltd, J. Schierle, N. Faccin, V. Riegert），虾青素可能被认为是 100% 纯的。

从包含全-反式-虾青素和 0% 到最大约 7 摩尔%类胡萝卜素化合物浓度的溶液中制备的晶型 II，包含全-反式-虾青素以及小于约 7 摩尔%的至少一种优选类胡萝卜素化合物，所述类胡萝卜素化合物选自 9-顺式-虾青素、13-顺式-虾青素、15-顺式-虾青素、半-虾红素、虾红素或 C-25 醛。更优选的是 9-顺式或 13-顺式-虾青素中的一种或其混合物。本发明覆盖了符合 US-FDA 数据库 21CFR 73.35 中所描述要求的虾青素，其包含不超过 4% 的“除虾青素以外的总类胡萝卜素”，并且是晶型 II 形式的。为了消除疑虑，“除虾青素以外的总类胡萝卜素”在本发明中被定义为“类胡萝卜素化合物”。优选是符合 FDA 要求的虾青素，其中“除虾青素以外的总类胡萝卜素”由选自顺式-虾青素、虾红素、半-虾红素和 C-25 醛中至少一种的类胡萝卜素化合物组成。更优选的是符合 FDA 要求的虾青素，其中所述“除虾青素以外的总类胡萝卜素”由选自 9-顺式-虾青素、13-顺式-虾青素和 15-顺式-虾青素的类胡萝卜素化合物组成。

晶型可以包含以少量的允许量存在的其它化合物例如溶剂残余物、重金属和降解产物。

晶型 I、晶型 II 以及两种晶型的混合物适合于被掺入到适于对有机体给药的固体、半固体制剂中。固体形式的例子是片剂、颗粒、丸剂、胶囊、粉末等。半固体形式的例子是乳油、膏剂、凝胶、悬浮液和洗液。它们特别地包括晶型 I 或晶型 II 或晶型 I 和晶型 II 混合物在油性媒介中

的颗粒微粉悬浮液。优选地，晶体的平均大小在 1-5  $\mu\text{m}$  之间的范围内。

使用晶型 I 可以制备的优选给药形式是包含虾青素的油分散组合物，其制备方法被描述在 WO 03/102116 中。由这里所描述的 X-射线和拉曼光谱确定的晶型 I 或晶型 II 或其混合物，还可以用于制备包含虾青素的水分散组合物，其描述于 US 2,861,891、US 5,364,563 和 US 6,296,877 中。

制备包含虾青素的固体组合物和制剂的通常方法是，在适当赋形剂的存在下将晶型 I、晶型 II 或其混合物溶于有机、水溶性或水不溶性溶剂或其混合物中，接着通过 WO 03/102116 中描述的在水中稀释或蒸发工艺将溶剂除去。晶型 I 或 II 可以这样直接使用，以及通过施加能量而溶于虾青素的油性溶液中。

用于制备溶液以及用于将虾青素晶型 I 或 II 或其混合物加工成干燥的虾青素组合物的溶剂，可以是水溶性或水不溶性的。水溶性和不溶性溶剂的例子包括上述用来结晶晶型的溶剂的例子。通过施加热/压力，在结晶期间在常压和环境温度下使用的反溶剂可以被用作虾青素的溶剂（例如异丙醇/水）。

赋形剂的优选例子是分散剂、聚合物和合成天然树胶以及纤维素衍生物，其可以是亲水的或者亲脂的。

固体虾青素组合物包含 2.5 重量%到 25 重量%、优选 5 重量%到 15 重量%、更优选 7.5 重量%到 12.5 重量%之间的总虾青素。用于组合物中的分散剂的量优选在 50 重量%到 97.5 重量%之间。变化量的赋形剂可以被用作填充剂以组成所要求的重量。

适当的亲脂性分散剂是作为亲脂性聚合物被描述于 WO 03/102116 中的那些，其适于制备油溶性类胡萝卜素组合物，并且作为亲脂性涂敷材料用作营养品或药物的添加剂以修饰口服固体极性的药物释放。适当的分散剂可以特别地选自乙基纤维素、合成和天然树脂、松香和树胶。

适当的亲水性分散剂是作为水溶性分散剂被描述于 US 2861891、US 5364563 和 US 6296877 中的那些，其中还描述了适于制备水分散类胡萝卜素组合物的方法。亲水性分散剂包括但不限于低和高分子量组分的保护性胶体，例如，明胶、鱼胶、淀粉、糊精、植物蛋白、果胶、阿拉伯树胶、酪蛋白、酪蛋白酸酯或这些的混合物，含蛋白的保护性胶体，特别是非胶凝低分子量蛋白质水解物和高分子量胶凝明胶是优选的。这

些以及其它聚(乙烯基醇)、聚乙烯吡咯烷酮、甲基纤维素、羧甲基纤维素、羟丙基纤维素和藻酸盐也可以使用。低分子量保护性胶体组分的平均分子量优选为 10,000 到 50,000, 特别是 15,000 到 30,000, 而高分子量组分具有大于 60,000 的优选平均分子量。低分子量的保护性胶体组分的比例为 5 到 95% 重量, 优选 20 到 80% 重量, 尤其是 30 到 60% 重量。为了增加最终产物的机械稳定性, 便利的方法是将所述胶体与软化剂例如糖或糖醇混合, 例如, 描述于 US 6,296,877 中的蔗糖、葡萄糖、乳糖、转化糖、山梨糖醇、甘露糖醇或甘油。进一步的亲水性分散剂可以选自 MW 为 4000-6000 的 PEG(聚乙烷基乙二醇)、聚乙烯吡咯烷酮、聚乙烷基醇、交联的聚乙烯吡咯烷酮、聚乙烯吡咯烷酮-聚乙酸乙烯酯共聚物、羟丙基甲基纤维素(HMPC)、羟丙基纤维素(HPC)、羟丙基甲基纤维素邻苯二甲酸酯(HPMCP)、聚丙烯酸酯和聚甲基丙烯酸酯。

溶剂或溶剂混合物通过例如喷雾干燥、冷冻干燥、冷冻喷雾干燥、喷雾造粒或超临界流体膨胀除去。

所述晶型适于制备包含如 US 6,827,941 所述 J 或 H 虾青素聚集体的组合物, 所述聚集体是通过向过量的水中加入由虾青素晶型 I、晶型 II 或其混合物制备的有机溶剂溶液而沉淀得到的。

晶型 I 可以优选地被用于生产根据 US 6,093,348 的水分散组合物, 其中用适当的表面活性剂/水状胶体将类胡萝卜素分散并且在高温和高压下融化从而形成乳化液。

#### 实施例:

以下代表性实施例(1-7)举例说明了制备虾青素晶型 I 或晶型 II 或其定义的混合物的方法, 其是由不同极性的有机液体溶液起始的, 包含已知量的全-反式-虾青素和至少一种指定的类胡萝卜素化合物。实施例(7-9)举例说明了晶型 I 和/或晶型 II 或其定义的混合物可以这样被引入给药形式中的方法。实施例(10-13)举例说明了晶型 I 或晶型 II 或其定义的混合物可以被溶于溶剂以制备给药及营养组合物的方法。

为了制备期望的晶型, 从 Sigma(天然虾青素)和 Dr. Ehrenstorfer(合成虾青素, 分析级)处购买虾青素。通过 HPLC 测定化合物的纯度, 并且通过 X-射线衍射和拉曼光谱表征。超高纯度的虾青素还可以通过制备 HPLC 的方式由较低纯度的虾青素获得。

### 实施例 1

将 40 毫克虾青素 (97.2 摩尔 % 的全-反式-虾青素和 1.6 摩尔 % 的 9-顺式-虾青素和 1.2 摩尔 % 的 13-顺式-虾青素) 在 30℃ 下溶于 2 毫升二氯甲烷 (DCM) 中, 通过在真空下除去溶剂而加工成晶体。如图 4 所示的拉曼光谱显示了晶型 II 的存在。X-射线衍射图被显示在图 3 中。HPLC 分析晶体表明 99.2 摩尔 % 的全-反式-虾青素、0.4 摩尔 % 的 9-顺式-虾青素、0.4 摩尔 % 的 13-顺式-虾青素, 相当于约 0.8 摩尔 % 的类胡萝卜素化合物水平。

### 实施例 2

将 20 毫克分析级虾青素 (97.2 摩尔 % 的全-反式-虾青素和 1.6 摩尔 % 的 9-顺式-虾青素和 1.2 摩尔 % 的 13-顺式-虾青素) 溶于 1 毫升吡啶中并在 70℃ 下加热 30 分钟。加入 8.0 毫升冷水之后, 用水洗涤所产生的晶体, 如在图 2 中的光谱所示, 拉曼光谱显示了晶型 I 的存在。X-射线衍射图显示在图 1 中。HPLC 测定证实全-反式-虾青素和顺式-虾青素异构体的总量为 100 %。所述虾青素包含 78 摩尔 % 的全-反式-虾青素、3 摩尔 % 的 9-顺式-虾青素和 19 摩尔 % 的 13-顺式-虾青素。类胡萝卜素产物的水平为约 22 摩尔 %。类似地, 当将吡啶溶液在 80℃ 下加热 40 分钟时, 形成了 28 摩尔 % 的 13-顺式-虾青素, 通过特征 X-射线衍射图和拉曼光谱认定所产生的晶体为虾青素晶型 I。

### 实施例 3

将包含 97.2 摩尔 % 的全-反式-虾青素和 2.8 摩尔 % 的顺式-虾青素 (进一步包含 1.6 摩尔 % 的 9-顺式-虾青素和 1.2 摩尔 % 的 13-顺式-虾青素) 的 20 毫克虾青素在室温下溶于 1.0 毫升吡啶中 (溶液 1)。将实施例 2 中的 20 毫克虾青素在室温下溶于 1.0 毫升吡啶中 (溶液 2), 所述实施例 2 中的虾青素包含 72 摩尔 % 的全-反式-虾青素和 28 摩尔 % 的 13-顺式-虾青素。将两种溶液以几种比例混合并加入 0.6 毫升冷水, 通过过滤收集所形成的晶体, 用 2 毫升水洗涤, 干燥以后记录拉曼光谱。结果总结在表 6 中。

表 6

制备结晶溶液		结晶溶液中类胡萝卜素类化合物的水平 (摩尔%)	晶型	
溶液 1 的体积 ( $\mu\text{l}$ )	溶液 2 的体积 ( $\mu\text{l}$ )		I	II
200	0	3.0	0.0	1.0
200	5	3.61	0.0	1.0
200	10	4.19	0.0	1.0
200	20	5.27	0.43	0.57
200	50	8.00	0.55	0.45
200	100	11.33	0.7	0.3
200	200	15.50	1.0	0.0
60	200	22.23	1.0	0.0
20	200	25.77	1.0	0.0
0	200	28.00	1.0	0.0

实施例 3 清楚地显示, 通过使用极性质子性溶剂例如吡啶, 晶型 I 或 II 或其混合物的形成主要取决于溶液中类胡萝卜素化合物的水平。图 5 描绘了以 0.55:0.45 重量比包含晶型 I 和晶型 II 混合物的拉曼光谱。

代替地, 在加入反溶剂水之前, 类胡萝卜素化合物的浓度可以通过例如加入足够与全-反式-虾青素晶格缔合的已知量的类胡萝卜素化合物而控制, 和/或通过加热吡啶溶液从而导致如实施例 2 中显示的所述类胡萝卜素化合物的形成而现场产生。可替代地, 期望的晶型或混合物可以通过蒸发溶液、在使用或不使用晶种的情况下冷却晶型 I 或 II 的溶液而制备。

#### 实施例 4

将 35.66 毫克包含 97.2 摩尔%的全-反式-虾青素、1.6 摩尔%的 9-顺式-虾青素和 1.2 摩尔%的 13-顺式-虾青素的虾青素和 3.61 毫克包含虾红素的类胡萝卜素化合物溶于 24 毫升 DCM 中, 通过蒸馏除去 DCM, 同时用甲醇代替。收集所产生的晶体并且用冷甲醇洗涤以及真空干燥。拉曼光谱显示存在 6:4 比例的包含晶型 I 和晶型 II 的晶体 (将两种晶型的拉曼光谱以几个重量比例进行平均并且与所测量的光谱进行对照)。

晶体的 HPLC 分析显示 85.4 % w/w 的全-反式-虾青素、0.4 % w/w 的 9-顺式-虾青素、1.0 % w/w 的 13-顺式-虾青素、7.6 % w/w 的虾红素、1.9 % w/w 的半虾红素和 3.6 % w/w 的 C-25 醛，相当于类胡萝卜素化合物的水平为约 17 摩尔 %。

#### 实施例 5

将 40.3 毫克包含 80 % w/w 的全-反式-虾青素、2.7 % w/w 的 9-顺式-虾青素、2.7 % w/w 的 13-顺式-虾青素、0.8 % w/w 的虾红素、5.5 % w/w 的半虾红素和 8.7 % w/w 的 C-25 醛的虾青素溶于 24 毫升 DCM 中，并加热至沸腾。随着 DCM 通过蒸馏而被除去，滴加 40 毫升的 MeOH。过滤所产生的晶体，然后用 0°C 的 MeOH 洗涤并且在室温下真空干燥过夜。拉曼光谱显示存在晶形 I 的晶体。晶体的 HPLC 分析显示 87 % w/w 的全-反式-虾青素，1.3 % w/w 的 9-顺式-虾青素、1.5 % w/w 的 13-顺式-虾青素、0.9 % w/w 的虾红素、6.2 % w/w 的半虾红素和 2.8 % w/w 的 C-25 醛，相当于类胡萝卜素化合物的水平为约 16 摩尔 %。

#### 实施例 6

将 196.7 毫克包含 80 % w/w 的全-反式-虾青素、2.7 % w/w 的 9-顺式-虾青素、2.7 % w/w 的 13-顺式-虾青素、0.8 % w/w 的虾红素、5.5 % w/w 的半虾红素和 8.7 % w/w 的 C-25 醛的虾青素和 203.3 毫克包含 97.2 % w/w 的全-反式-虾青素、1.6 % w/w 的 9-顺式-虾青素和 1.2 % w/w 的 13-顺式-虾青素的虾青素溶于 24 毫升 DCM 中。通过蒸馏除去 DCM，同时如实施例 1 中所述用 40 毫升 MeOH 代替。拉曼光谱显示存在 7:3 比例的包含晶型 I 以及晶型 II 的晶体。晶体的 HPLC 分析显示 91 % w/w 的全-反式-虾青素和包含 0.9 % w/w 的 9-顺式-虾青素、0.5 % w/w 的 13-顺式-虾青素、0.4 % w/w 的虾红素、3.5 % w/w 的半虾红素和 3.5 % w/w 的 C-25 醛的类胡萝卜素化合物，相当于类胡萝卜素化合物的水平为约 12 摩尔 %。

#### 实施例 7

模拟在先的实施例，替换起始溶剂，可以使用如氯仿、三氯乙烷、二甲氧基甲烷、二乙氧基乙烷和二氧杂环戊烷、THF、NMP、NEP 和甲苯代替吡啶。根据包含全-反式-虾青素的结晶溶液（在结晶开始时）中

类胡萝卜素化合物的含量，可以从任选地加热的溶液中通过 i) 蒸发除去溶剂，任选地同时用可互溶的反溶剂代替，ii) 向溶液中加入可互溶的反溶剂或者 iii) 冷却（过饱和）溶液而获得晶型 I 或晶型 II 的结晶。随着结晶溶液中类胡萝卜素化合物的浓度从 0% 增加到最多约 7 摩尔% 并且总类胡萝卜素剩余组分是全-反式-虾青素时，主要形成晶型 II，存在的其它晶型 I 可能低于小于 5% 的可检测水平。在约 7 摩尔% 类胡萝卜素化合物水平并且总类胡萝卜素剩余组分是全-反式-虾青素时，在大量晶型 II 的存在下可能形成微量的晶型 I。当存在的类胡萝卜素化合物（复数）的摩尔% 从约 7 摩尔% 增加到约 17 摩尔% 并且总类胡萝卜素的剩余组分为全-反式-虾青素时，获得了包含晶型 I 和晶型 II 的混合物，其中晶型 I 与晶型 II 的比例增大了。在约 17 摩尔% 类胡萝卜素化合物水平并且总类胡萝卜素的剩余组分为全-反式-虾青素时，在大量晶型 I 的存在下可能形成微量的晶型 II。超过约 17 摩尔% 的类胡萝卜素化合物（复数）并且总类胡萝卜素的剩余组分为全-反式-虾青素时，晶型 I 占优势并且晶型 II 的存在可能低于小于 5% 的可检测水平。但是，晶型 I 和/或晶型 II 形成的程度取决于总的结晶条件。

#### 实施例 8

将 10 克虾青素晶型 I 或晶型 II 与 90 克大豆油混合。将晶体研磨，所产生的微粉悬浮液适于制备粉末制剂，或者可以使用包含乳化剂的过量油相或水相进行的快速加热程序接着进行冷却而直接溶解在油中。

#### 实施例 9

将 10 克虾青素晶型 I 或晶型 II 与 20 克淀粉混合物。将粉末进一步加工成适于胶囊填充和压片的可流动颗粒。

#### 实施例 10

在可加热的接收瓶中，将 4 克虾青素晶型 I 或晶型 II 和 1.54 克花生油在 30℃ 下悬浮在 28.8 克异丙醇/水（88/12，w/w）的 1.23 克乙氧基喹溶液中。在 170℃ 的混合温度下将该悬浮液与 58.7 克异丙醇/水（88/12，w/w）混合，停留时间为 0.2 秒。接着，使所产生的分子性分散的虾青素溶液立即进入进一步的混合室。在 45℃ 下向胶体分散形式的沉淀虾青

素中加入 11.34 克 pH 调节到 9 的含水明胶溶液和 8.4 克明胶 A (100 Bloom, M.W. = 94,000), 所述含水明胶溶液包含 4.2 克 Gelita Sol P (M.W. = 21,000) 和 9.2 克蔗糖。

#### 实施例 11

粉末组合物是通过将 1 克虾青素晶型 I 和 8 克乙基纤维素 N4 (道氏化学公司) 和 1 克  $\alpha$  生育酚溶于 90 克二氯甲烷 (Fluka) 中, 接着除去溶剂, 并使用喷雾造粒制备颗粒而制备的。

#### 实施例 12

粉末组合物是通过将 0.80 克虾青素晶型 II 和 8.4 克乙基纤维素 N4 (道氏化学公司) 和 0.80 克  $\alpha$  生育酚溶于 90 克二氯甲烷 (Fluka) 中, 接着除去溶剂, 并使用喷雾造粒制备颗粒而制备的。

#### 实施例 13

将 620 毫克虾青素 (晶型 II) 与 200 毫升 THF 在室温下混合并过滤。在 30 分钟内将 50 毫升该 THF 溶液滴加到 250 毫升水中。主要形成了虾青素集合的胶体沉淀, 其可以通过过滤而收集。

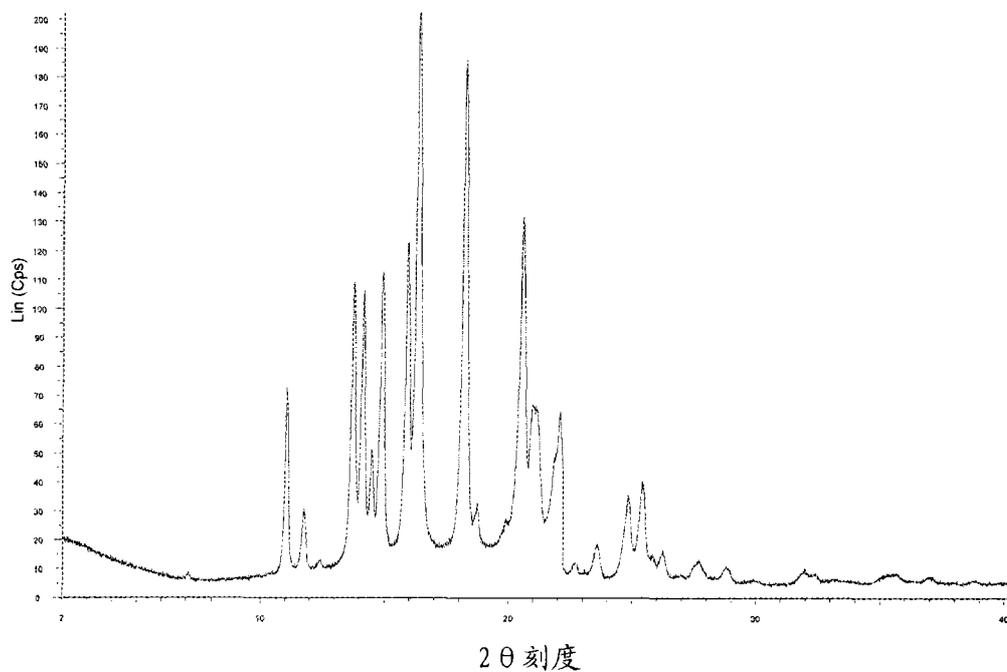


图 1

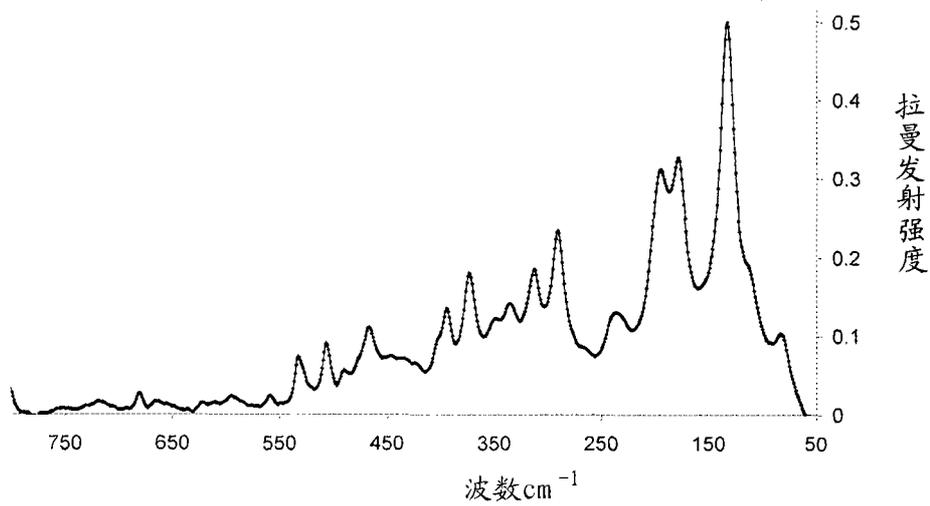


图 2

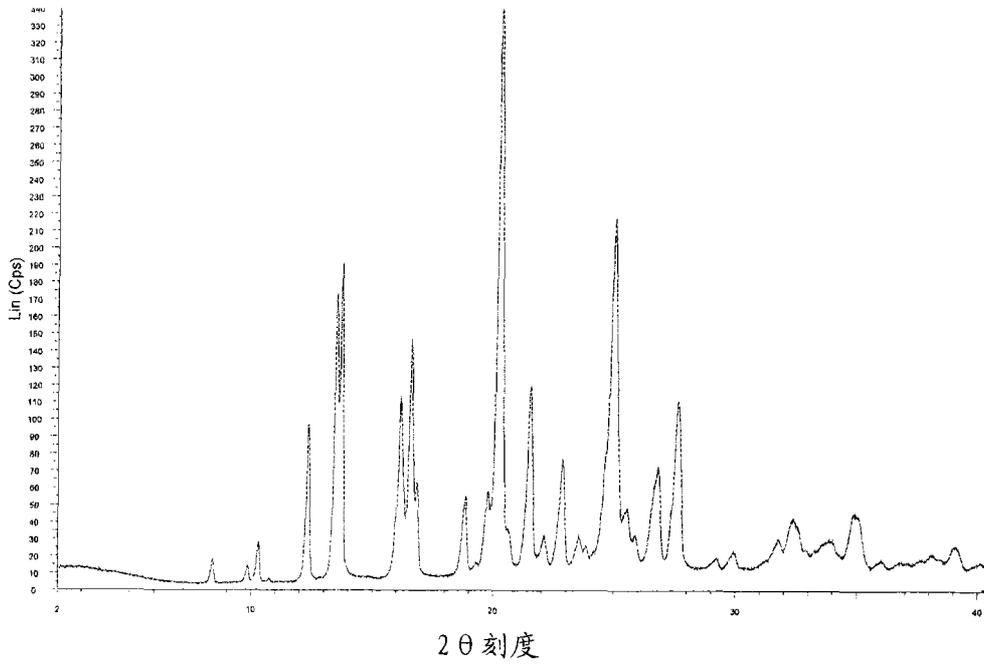


图 3

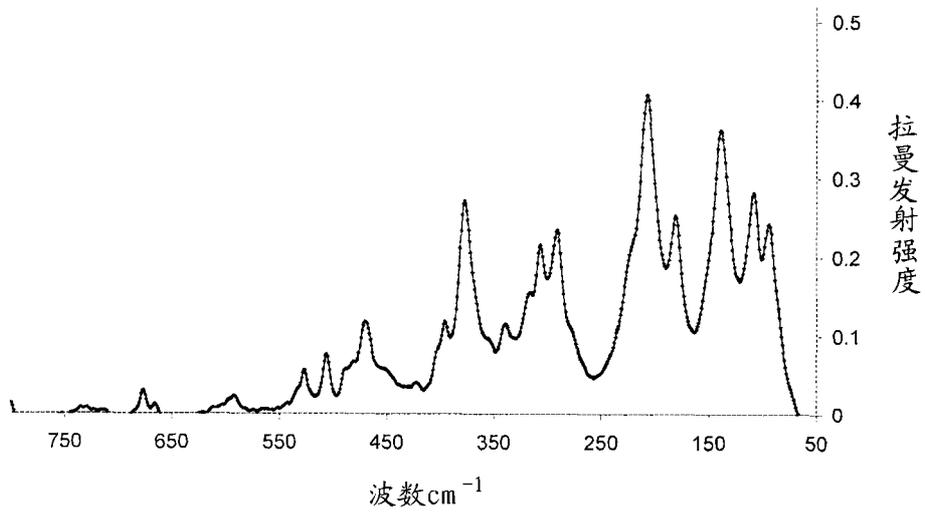
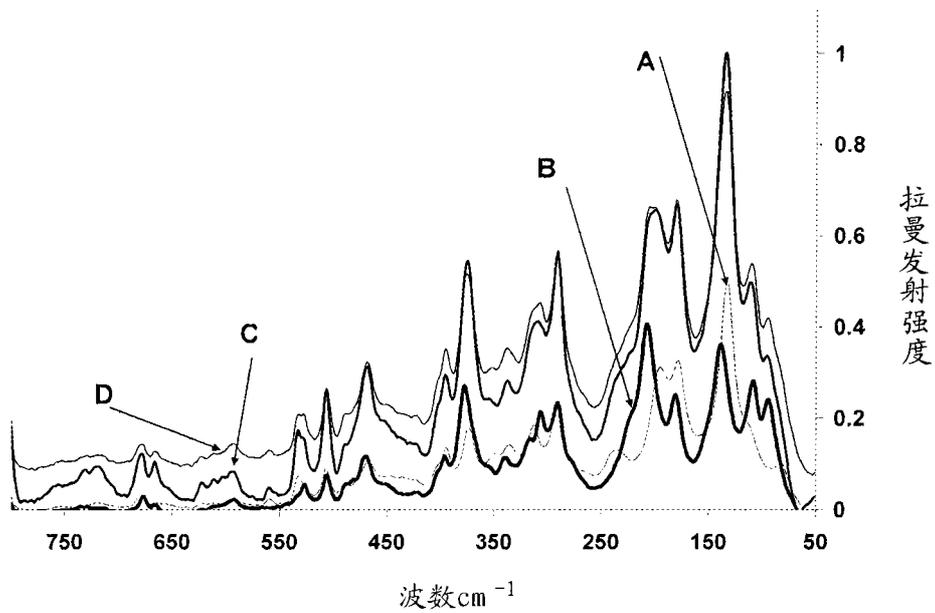


图 4



- A: 虾青素晶型I的光谱  
B: 虾青素晶型II的光谱  
C: 虾青素晶型I和晶型II混合物的测量光谱  
D: 0.55:0.45比例的虾青素晶型I和晶型II的混合物的计算光谱

图 5