



(12) SØKNAD

(19) NO

(21) 20161152

(13) A1

NORGE

(51) Int Cl.

C07D 498/22 (2006.01)

Patentstyret

(21)	Søknadsnr	20161152	(86)	Int.inng.dag og søknadsnr	2005.11.03 PCT/EP2005/011789
(22)	Inng.dag	2016.07.12	(85)	Videreføringsdag	2016.07.12
(24)	Løpedag	2005.11.03	(30)	Prioritet	2004.11.05, US, 60/625,343 2005.01.07, US, 60/642,131
(41)	Alm.tilgj	2007.05.30			
(62)	Avdelt fra	20072290, med inndato 2007.05.02			
(73)	Innehaver	Novartis AG, Lichtstrasse 35, CH-4056 BASEL, Sveits			
(72)	Oppfinner	Michael Mutz, Mozartstrasse 33, CH-79104 FREIBURG, Sveits Pascale Hoehn, 3, rue Albert Schweitzer, FR-68440 ESCHENTZWILLER, Frankrike Bernd Koch, 13, Rue du Raisin, FR-68220 BUSCHWILLER, Frankrike			
(74)	Fullmektig	Zacco Norway AS, Postboks 2003 Vika, 0125 OSLO, Norge			

(54)	Benevnelse	Organiske forbindelser
(57)	Sammendrag	

Oppfinnelsen vedrører en ny krystallinsk form II av *N*-benzoyl-staurosporin; sammensetninger som inneholder denne; fremgangsmåter for fremstilling derav; og anvendelse av krystallinsk form II av *N*-benzoyl-staurosporin i diagnostiske metoder eller terapeutisk behandling av varmblodige dyr, spesielt mennesker. Oppfinnelsen vedrører de amorfe formene av *N*-benzoyl-staurosporin; sammensetninger som inneholder disse; fremgangsmåter for fremstilling derav; og anvendelse av amorft *N*-benzoyl-staurosporin i diagnostiske metoder eller farmasøytisk behandling av varmblodige dyr, spesielt mennesker.

Oppfinnelsen vedrører en ny krystallinsk form II av *N*-benzoyl-staurosporin, fremgangsmåte for fremstilling av den krystallinske form II av *N*-benzoyl-staurosporin, sammensetninger som inneholder krystallinsk form II av *N*-benzoyl-staurosporin, og anvendelse av krystallinsk form II av *N*-benzoyl-staurosporin i diagnostiske metoder eller terapeutisk behandling av varmblodige dyr, spesielt mennesker.

Oppfinnelsen vedrører amorft *N*-benzoyl-staurosporin, fremgangsmåte for fremstilling av amorft *N*-benzoyl-staurosporin, sammensetninger som inneholder amorft *N*-benzoyl-staurosporin, og anvendelse av amorft *N*-benzoyl-staurosporin i diagnostiske metoder eller terapeutisk behandling av varmblodige dyr, spesielt mennesker.

Legemidlet *N*-benzoyl-staurosporin, er benyttet som et anti-tumormiddel. Generelt er fremstillingen av *N*-benzoyl-staurosporin kjent innenfor fagområdet. Det er imidlertid også kjent at forskjellige polymorfe former av det samme legemidlet kan ha vesentlige forskjeller ved visse farmasøytisk viktige egenskaper. Derfor er det et kontinuerlig behov for nye faste former av *N*-benzoyl-staurosporin og nye fremstillingsmetoder.

I henhold til et aspekt tilveiebringer oppfinnelsen en krystallinsk form II av *N*-benzoyl-staurosporin. Den krystallinske form II av *N*-benzoyl-staurosporin har fortrinnsvis et røntgendiffraksjonsmønster med en topp ved en refraksjonsvinkel 2θ på $8,7 \pm 0,2$ som vist i figur 1.

I henhold til ytterligere et annet aspekt tilveiebringer oppfinnelsen en sammensetning som inneholder *N*-benzoyl-staurosporin på en fast form, der minst 80 vekt-% av det faste *N*-benzoyl-staurosporin er dets krystallinske form II med et røntgendiffraksjonsmønster med en topp ved en refraksjonsvinkel 2θ på $8,7 \pm 0,2$ som vist i figur 1. Forskjellige utførelsesformer og varianter er tilveiebrakt.

I henhold til ytterligere annet aspekt tilveiebringer oppfinnelsen en farmasøytisk sammensetning som inkluderer krystallinsk form II av *N*-benzoyl-staurosporin og en farmasøytisk akseptabel bærer eller fortynningsmiddel. Den farmasøytiske sammensetningen er fortrinnsvis for oral administrering.

I henhold til ytterligere et annet aspekt vedrører også oppfinnelsen amorft *N*-benzoyl-staurosporin, fremgangsmåte for fremstilling av amorft *N*-benzoyl-staurosporin og sammensetninger som inneholder amorft *N*-benzoyl-staurosporin.

I henhold til et annet aspekt tilveiebringer oppfinnelsen en farmasøytisk sammensetning som inkluderer en profylaktisk eller terapeutisk effektiv mengde av amorft *N*-benzoyl-staurosporin og en eller flere farmasøytiske akseptable eksipienter. De farmasøytiske sammensetningene ifølge dette aspektet ifølge oppfinnelsen kan formuleres, for
5 eksempel for oral administrering.

I henhold til ytterligere et annet aspekt tilveiebringer oppfinnelsen fremgangsmåter for å rense staurosporin.

10 I henhold til ytterligere et annet aspekt tilveiebringer oppfinnelsen en fremgangsmåte for fremstilling av *N*-benzoyl-staurosporin ved å reagere staurosporin med benzosyreanhydrid. Denne fremgangsmåten omfatter å pøde reaksjonsløsningen til å frembringe enten amorft eller krystallinsk form II av *N*-benzoyl-staurosporin.

15 I henhold til ytterligere et annet aspekt tilveiebringer oppfinnelsen en fremgangsmåte for fremstilling av amorft *N*-benzoyl-staurosporin som innbefatter å spraytørke en løsning som inneholder *N*-benzoyl-staurosporin.

20 Farmasøytiske sammensetninger som inkluderer en profylaktisk eller terapeutisk effektiv mengde av amorft *N*-benzoyl-staurosporin fremstilt ved fremgangsmåten som er beskrevet, og en eller flere farmasøytiske akseptable eksipienter er også tilveiebrakt.

I henhold til ytterligere et annet aspekt tilveiebringer oppfinnelsen en fremgangsmåte for å fremstille krystallinsk form II av *N*-benzoyl-staurosporin, der fremgangsmåten
25 omfatter:

- (a) frembringe en løsning av *N*-benzoyl-staurosporin i enten et protisk eller et aprotisk løsningsmiddel;
- (b) å pøde med den krystallinske formen II av *N*-benzoyl-staurosporin og å kontakte reaksjonsblandingen med et alkoholløsningsmiddel for å danne et bunnfall; og
- 30 (c) å isolere bunnfallet, som er den krystallinske formen II av *N*-benzoyl-staurosporin.

Forskjellige utførelsesformer og varianter er tilveiebrakt.

Kort beskrivelse av tegningene

Fig. 1 viser røntgendiffraksjonsdiagram av krystallinsk form II av *N*-benzoyl-staurosporin.

Fig. 2 viser et karakteristisk innfrarødt spekter av krystallinsk form II av *N*-benzoyl-staurosporin.

Fig. 3 viser røntgenpulverdiffraksjonsdiagramet av en ren amorf form av *N*-benzoyl-staurosporin.

Fig. 4 viser røntgenpulverdiffraksjonsdiagrammet av en i det vesentlige amorf form av *N*-benzoyl-staurosporin.

10

Dersom ikke annet er definert har alle tekniske og vitenskapelige betegnelser som her er benyttet den samme betydningen som vanligvis forstås av en fagmann på området som tilhører denne oppfinnelsen. Selv om en hvilken som helst fremgangsmåte og materiale som ligner eller er ekvivalent med de som her er beskrevet kan benyttes i utførelsen eller testingen av den foreliggende oppfinnelsen, er foretrukne fremgangsmåter og materialer beskrevet.

15

I forbindelse med foreliggende oppfinnelse er de følgende betegnelsene definert nedenfor.

20

Den krystallinske forbindelsen som her er angitt som "krystallinsk form II" og heretter henvist til som krystallinsk form II av *N*-benzoyl-staurosporin. Det er karakterisert via røntgenpulverdiffraksjon, og/eller infrarød spektroskopi. Det er videre beskrevet nedenfor.

25

"Farmasøytisk akseptabel" betyr at det er nyttig fremstilling av farmasøytiske sammensetninger som generelt er ikke-toksiske og ikke er biologisk uønskede og inkluderer det som er akseptabelt for veterinærbruk og/eller human farmasøytisk bruk.

30

"Anti-løsningsmiddel" er et løsningsmiddel som når det tilsettes til en eksisterende løsning av en substans, reduserer løseligheten av substansen.

Betegnelsen "sammensetning" inkluderer, men er ikke begrenset til, et pulver, en løsning, en suspensjon, en gel, en salve, en emulsjon og/eller blandinger derav.

35

Betegnelsen sammensetning er ment som å omfatte et produkt som inneholder de spesifiserte ingrediensene i de spesifiserte mengdene, så vel som et hvilke som helst produkt, som direkte eller indirekte er et resultat fra kombinasjonen av de spesifiserte

ingrediensene i de spesifiserte mengdene. En "sammensetning" kan inneholde en enkel forbindelse eller en blanding av forbindelser. En "forbindelse" er en kjemisk substans som inkluderer molekyler av den samme kjemiske strukturen.

5 Betegnelsen "farmasøytisk sammensetning" er ment som å omfatte et produkt som innbefatter en aktiv ingrediens(er) farmasøytisk akseptable eksipienter som utgjør bæreren, så vel som et hvilket som helst produkt som direkte eller indirekte er et resultat av kombinasjonen, kompleksdannelse eller aggregering av en hvilket som helst to eller flere av ingrediensene, eller av dissosiasjon av et eller flere av ingrediensene, eller av
10 andre typer reaksjoner eller samhandlinger av en eller flere av ingrediensene. Følgelig omfatter de farmasøytiske sammensetningene ifølge den foreliggende oppfinnelsen en hvilken som helst sammensetning fremstilt ved å blande den aktive ingrediensen, ytterligere aktive ingrediens(er) og farmasøytisk akseptable eksipienter.

15 Betegnelsen "eksipient" betyr en komponent av et farmasøytisk produkt som ikke er den aktive ingrediensen, slik som fyllstoff, fortynningsmiddel og bærer. Eksipientene som er nyttige ved fremstilling av en farmasøytisk sammensetning er fortrinnsvis generelt sikre, ikke toksiske og verken biologisk eller på en annen måte uønskede, og er akseptable for veterinærbruk, så vel som human farmasøytisk bruk. "En farmasøytisk
20 akseptabel eksipient" slik den benyttes i beskrivelsen og kravene, inkluderer både en og flere enn en slik eksipient.

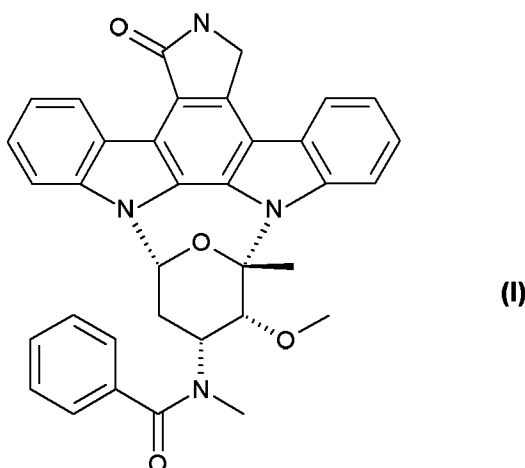
"Terapeutisk effektiv mengde" betyr den mengde av forbindelse som, når den administreres for behandling eller forebygging av en sykdom, er tilstrekkelig til å
25 bevirke slik behandling eller forebyggelse av sykdommen. Den "terapeutisk effektive mengden" vil variere avhengig av forbindelsen, sykdommen og dens alvorlighet og alderen, vekten, etc. til pasienten som skal behandles.

Når det henvises til en kjemisk reaksjon, benyttes betegnelsen "å behandle", "å
30 kontakte" og "reagere" her vekslende og henviser til tilsetning eller blanding av to eller flere reagenser under passende betingelser for å frembringe det angitte og/eller ønskede produktet. Det skal forstås at reaksjonen som tilveiebringer det angitte og/eller ønskede produktet ikke nødvendigvis er et direkte resultat av kombinasjonen av to reagenser som ble tilsatt, det vil si, det kan være et eller flere mellomprodukter som er fremstilt i
35 blandingen som til slutt fører til dannelsen av det angitte og/eller ønskede produktet.

Betegnelsen "i det vesentlige fri for" med henvisning til en sammensetning, slik den her er benyttet, betyr at substansformen som sammensetningen er fri for ikke kan detekteres ved fremgangsmåter som er kjente for en fagmann på området.

- 5 Betegnelsen "amorf" betyr et materiale som i det alt vesentlige er fritt for krystallinske urenheter, eller inneholder vesentlige mengder av krystallinske urenheter. Amorft materiale som inneholder vesentlige mengder av krystallinske materialer som urenheter henvises herved til som "*N*-benzoyl-staurosporin hovedsaklig amorft". Som illustrert i fig. 4 tar nærvær av krystallinske urenheter ikke hensyn til et godt haloformet mønster som er typisk for amorf form som er vesentlig fritt for krystallinsk materiale. Det
- 10 amorfe materiale som i det vesentlige er fritt for krystallinske former henvises herved til som "*N*-benzoyl-staurosporin bare amorft". Fig. 3 illustrerer et røntgendiffraktogram-mønster for denne formen, der haloformen til mønsteret illustrerer det vesentlige fraværet av krystallinsk struktur. Topper mangler i særdeleshet i områdene som er
- 15 karakteristiske for krystallinsk form. Eksemplene illustrerer videre fremgangsmåter for å oppnå både "*N*-benzoyl-staurosporin hovedsaklig amorft" og "*N*-benzoyl-staurosporin bare amorft".

- N*-benzoyl-staurosporin er kjent som (9 α ,10 β ,11 β ,13 α)-*N*-(2,3,10,11,12,13-
- 20 heksahydro-10-metoksy-9-metyl-1-*okso*-9,13,-epoksy-1*h*,9*H*-diindolo[1,2,3-*gh*:3',2',1'-1*m*]pyrrolo [3,4-*j*][1,7]benzodiazonin-11-yl)-*N*-metyl-benzamid) og har den følgende kjemiske strukturen:



25

US patentnr. 5.093.330 ('330-patentet), som her er innarbeidet i sin helhet ved referanse, krever en *N*-benzoyl-staurosporin. Oppfinnelsen vedrører spesielt en bestemt form som i det etterfølgende fortrinnsvis er henvist til som krystallinsk form II av et *N*-benzoyl-

staurosporinderivat av forbindelsen med formel (I), som beskrevet over, og de amorfe formene av *N*-benzoyl-staurosporin.

Forskjellige faste former av det samme legemidlet kan fremvise forskjellige egenskaper, inkludert karakteristiske trekk som har funksjonelle implikasjoner med hensyn til deres bruk som legemiddel som kan ha vesentlige forskjeller i slike farmasøytiske viktige egenskaper som oppløsningshastighet og biotilgjengelighet. På samme måte kan forskjellige polymorfer ha forskjellige bearbeidingssegenskaper, slik som hydrokopolisitet, flyteevne og lignede, som kunne påvirke deres egnethet som aktive legemidler for kommersiell fremstilling.

Røntgenpulverdiffraksjonsmønsteret ble målt på et Scintag INC X 1 ved å benytte Bragg-Brentano parafokuserende geometri. Røntgendiffraksjonsmønsteret som er viktig i fig. 1 er oppsummert i tabell 1.

15

Tabell 1. Pulverrøntgendiffraksjonstopper for form II krystallmodifikasjoner av *N*-benzoyl-staurosporin

2 θ (grader)	d-avstand (Å)	Relativ intensitet
3,4	26,1	middels
6,0	14,8	middels
7,8	11,3	middels
8,7	10,1	sterk
9,2	9,6	middels
9,7	9,1	middels
10,1	8,8	middels
10,4	8,5	lav
11,2	7,9	middels
12,6	7,0	middels
14,1	6,3	middels
15,7	5,7	middels
16,8	5,3	middels
18,2	4,9	middels
18,9	4,7	middels
19,3	4,6	middels
19,6	4,5	sterk
20,2	4,4	sterk
24,5	3,6	middels

Det bør huskes på at svake variasjoner i observerte 2θ vinkler eller avstandsverdier er forventet basert på det spesifikke diffraktometeret som benyttes, den som utfører analysen og prøvetilberedningsteknikken. Flere variasjoner forventes for de relative toppintensitetene. Identifikasjon av den eksakte krystallinske formen av en forbindelse
5 bør primært være basert på observerte 2θ vinkler med mindre viktighet tilskrevet relative toppintensiteter.

Noe feilmargin er tilstede i hver av 2θ -vinkelangivelsene som her er rapportert. Den
10 anviste feilmarginen hos en foretrukken variant, den krystallinske formen II av *N*-benzoyl-staurosporin, er tilnærmet $\pm 0,2$ for hver av toppangivelsene.

Den krystallinske formen II av *N*-benzoyl-staurosporin kan også karakteriseres ved infrarød spektroskopi. Den krystallinske form II fremviser et karakteristisk
15 absorpsjonsmønster ved infrarød (IR) spektroskopisk analyse som vist i fig. 2. IR-spektroskopisk analyse ble målt på et Bruker IFS-55. Den krystallinske form II av *N*-benzoyl-staurosporin har karakteristiske absorpsjoner, som kan atskilles fra de for andre polymorfer, ved omtrent 789, 773, 743, 704, 1066, 1026, 1458, 1398, 1383, 1602, 1577, 1497, 1627, 1680, 2934 og 3055 cm^{-1} ved IR-spektroskopisk analyse. Noe feilmargin er
20 tilstede ved hver av de karakteristiske absorpsjonene som her er rapportert. Den angitte feilmarginen til de karakteristiske absorpsjonene er tilnærmet 2 cm^{-1} i området fra 1900-800 cm^{-1} .

En eller flere fysikalske egenskaper og/eller spektroskopiske egenskaper kan være basis
25 for karakteriseringen av krystallet eller polymorfe former av *N*-benzoyl-staurosporin. Oppfinnelsen tilveiebringer også en sammensetning som inneholder fast *N*-benzoyl-staurosporin, som er minst 80%, basert på totalvekt av det faste *N*-benzoyl-staurosporin i sammensetningen, på dets krystallinske form II. Den foretrukne formen ifølge denne sammensetningen er fast *N*-benzoyl-staurosporinpulver som er egnet for bruk som aktiv
30 ingrediens ved formulering av farmasøytiske produkter. Resten av det faste *N*-benzoyl-staurosporin i sammensetningen, det vil si 20% eller mindre av den totale vekten av *N*-benzoyl-staurosporin, kan være for eksempel andre krystallinske former av *N*-benzoyl-staurosporin. Ved en spesifikk utførelsesform inneholder sammensetningen minst 90% av den krystallinske form II av *N*-benzoyl-staurosporin med hensyn til den totale vekten
35 av det faste *N*-benzoyl-staurosporin i sammensetningen. En annen spesifikk utførelsesform inneholder sammensetningen minst 95% av den krystallinske form II med hensyn til total vekt av det faste *N*-benzoyl-staurosporin i sammensetningen.

Ved et annet aspekt tilveiebringer oppfinnelsen også fremgangsmåter for å rense staurosporin. Mens oppfinnelsen ikke er begrenset til noen spesifikk teori, har oppfinnerne funnet at en fremgangsmåte omfatter:

- 5 (a) å tilveiebringe en suspensjon av staurosporin i et alkoholløsningsmiddel;
 - (b) å kontakte suspensjonen med metansulfonsyre for å oppnå en løsning;
 - (c) ytterligere å kontakte løsningen med trietylamin; og
 - (d) å isolere produktet.
- 10 Fremgangsmåten omfatter videre vasking av produktet i et protisk eller aprotisk løsningsmiddel. Et ikke-begrensende eksempel på et protisk løsningsmiddel er etanol og et ikke-begrensende eksempel på et aprotisk løsningsmiddel er tetrahydrofuran (THF).

Oppfinnelsen tilveiebringer også en fremgangsmåte for:

- 15 (a) å tilveiebringe en løsning av rå staurosporin i enten et protisk eller aprotisk løsningsmiddel
- (b) å pøde løsningen med rensed staurosporin;
- (c) å kontakte reaksjonsblandingen med et alkoholløsningsmiddel for å danne et bunnfall; og
- 20 (d) å isolere produktet som er det rensede staurosporin.

Etter at utgangsmaterialet er rensed, kan materialet omdannes til enten den krystallinske formen II eller amorft *N*-benzoyl-staurosporin. Materialet kan omdannes til den krystallinske formen II av *N*-benzoyl-staurosporin ved fremgangsmåten som omfatter:

- 25 (a) å reagere staurosporin i et alkoholløsningsmiddel, slik som metanol, med benzosyreanhydrid; og
- (b) å pøde reaksjonsløsningen med krystallinsk form II av *N*-benzoyl-staurosporin til å frembringe produktet
- (c) å isolere produktet som er krystallinsk form II av *N*-benzoyl-staurosporin.

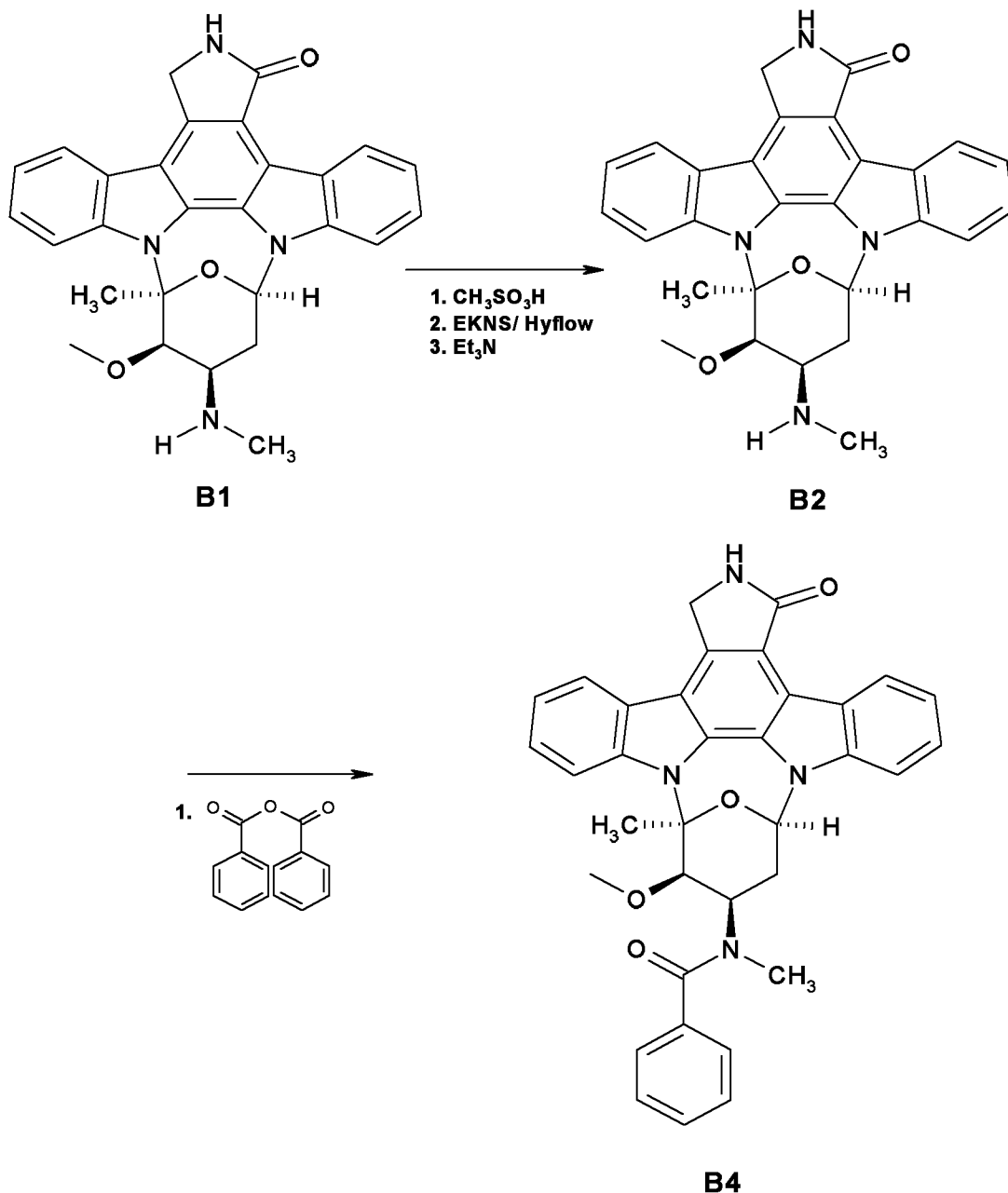
30

Materialet kan omdannes til amorft *N*-benzoyl-staurosporin ved:

- (a) å reagere staurosporin i et løsningsmiddel, slik som etanol eller THF, med benzosyreanhydrid; og
- (b) å pøde reaksjonen med amorft *N*-benzoyl-staurosporin til å frembringe produktet.
- 35 (c) å isolere produktet som er amorft *N*-benzoyl-staurosporin.

Produktet kan videre vaskes med løsningsmidlet flere ganger for å frembringe *N*-benzoyl-staurosporin hovedsakelig amorf.

5 Teknikken med spraytørking kan også benyttes for å fremstille *N*-benzoyl-staurosporin bare amorf.



Oppfinnelsen tilveiebringer også en sammensetning som inneholder *N*-benzoyl-staurosporin hovedsakelig amorf. Oppfinnelsen tilveiebringer også en sammensetning som inneholder *N*-benzoyl-staurosporin bare amorf.

10

En fremgangsmåte for fremstilling av krystallinsk form II av *N*-benzoyl-staurosporin tilveiebringes også. Fremgangsmåten omfatter:

- (a) å tilveiebringe en løsning av *N*-benzoyl-staurosporin i enten et protisk eller aprotisk løsningsmiddel;
 - 5 (b) å pøde løsningen med krystallinsk form II av *N*-benzoyl-staurosporin;
 - (c) å kontakte suspensjonen med et alkoholløsningsmiddel for å danne et bunnfall; og
 - (d) å isolere bunnfallet, som er en krystallinsk form av *N*-benzoyl-staurosporin.
- 10 Ikke-begrensede eksempler på de protiske og aprotiske løsningsmidlene er opplistet i tabellen nedenfor:

Eksempler

Benzylalkohol

Etanol

Dimetylsulfoksid (DMSO)

Dimetylformamid (DMF)

THF

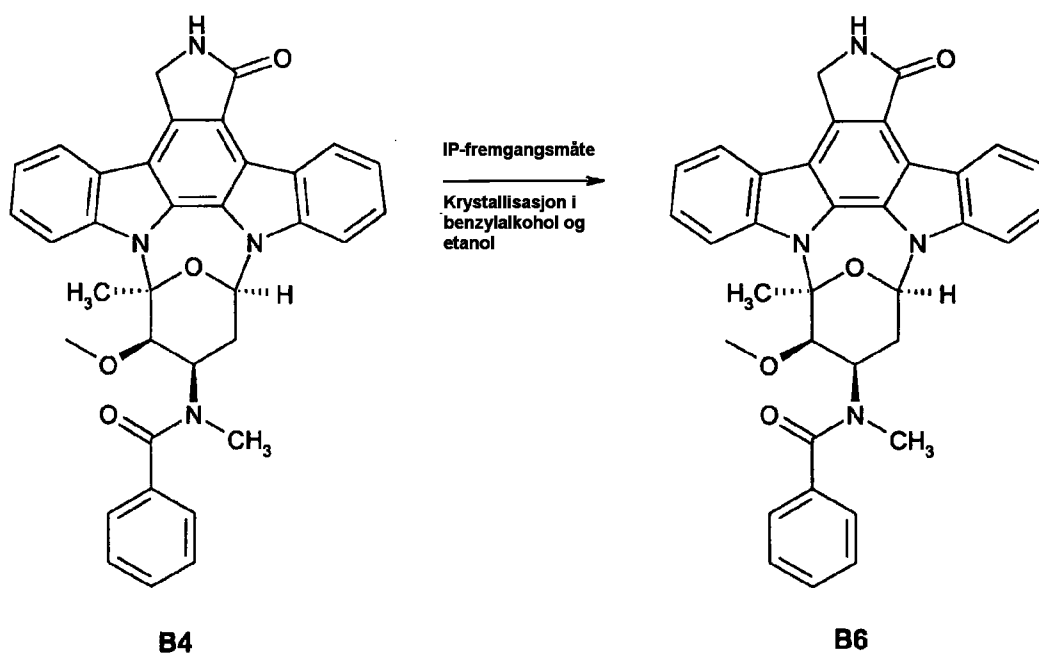
Eddiksyre

Polyetylenglykol (PEG 200)

15 Toppene i røntgenpulverdiffraktogrammet av krystallinsk form II som har middels til lav styrke oppnådd fra de ovenforidentifiserte løsningsmidlene kan vise noen variasjoner på grunn av nærværet av forskjellige løsningsmiddel molekyler inne i krystallgitterstrukturen.

20 Ved en utførelsesform oppløses *N*-benzoyl-staurosporin i benzylalkohol, utfelles ved tilsetning av podete krystaller av den krystallinske formen II av *N*-benzoyl-staurosporin og tilsetning av etanol som anti-løsningsmidlet, og krystallinsk form II av *N*-benzoyl-staurosporin oppnås. Denne prosessen er i høy grad reproducerbar og det oppnådde krystallinske produktet har god filtrering. Det gjenværende løsningsmiddelinnholdet i B6 er omtrent 4,3% vekt/vekt av benzylalkohol og 0,5-1% vekt/vekt av etanol.

25 Fremgangsmåten er vist skjematisk som:



De ovennevnte betingelsene ble den selektive fremstillingen av de individuelle krystallformene ikke avgjørende. Generelt er det for eksempel mulig å variere parametrene slik som vektforholdet av forbindelsene med formel (I) til løsningsmidlet og anti-løsningsmidlet.

Det er også tilveiebrakt farmasøytiske sammensetninger som inneholder en krystallinsk form II eller amorft *N*-benzoyl-staurosporin og en farmasøytisk akseptabel bærer. I tillegg til den aktive forbindelsen inkluderer den farmasøytiske sammensetningen en eller flere farmasøytisk akseptable bærere, også kjent som eksipienter, som vanligvis mangler farmasøytisk aktivitet, men har forskjellige nyttige egenskaper som for eksempel kan øke stabiliteten, steriliteten, biotilgjengeligheten og lette formuleringen av en farmasøytisk sammensetning. Disse bærerne er farmasøytisk akseptable, hvilket betyr at de ikke er skadelige for mennesker eller dyr når de tas passende og er forenlige med andre ingredienser i en gitt formulering. Bærerne kan være faste, halvfaste eller flytende, og kan formuleres med forbindelsen i stort volum, men til syvende og sist på formen av en enhetsdoseformulering, det vil si en fysisk atskilt enhet som inneholder en spesifikk mengde av aktiv ingrediens, slik som en tablett eller kapsel. De farmasøytiske sammensetningene kan inkludere, i tillegg til en forbindelse ifølge denne oppfinnelsen, en eller flere aktive farmasøytiske forbindelser.

De farmasøytiske sammensetningene kan være på formen av suspensjoner, løsninger, eliksirer, aerosoler eller faste doseringsformer.

De farmasøytiske sammensetningene er vurdert i forskjellige formuleringer egnet for forskjellige administreringsmåter, inkludert, men ikke begrenset til, inhalering, oral, rektal, parenteral (inkludert subkutan, intraderma, intramuskulær og intravenøs),
5 implanterbar og transdermal administrering. Den mest egnede administreringsruten ved et gitt tilfelle avhenger av varigheten av subjektets tilstand. Lengden på behandlingen som ønskes. Naturen og alvorligheten av tilstanden som skal behandles, og den bestemte formuleringen som skal benyttes. Formuleringene kan være i stort omfang eller på enhetsdoseringsform, og kan fremstilles ved fremgangsmåter som er velkjente
10 innenfor fagområdet for en gitt formulering.

Mengden av aktiv ingrediens som er inkludert i en enhetsdoseringsform avhenger av formuleringstypen hvori den aktive ingrediensen foreligger. En farmasøytisk sammensetning vil generelt inneholde omtrent 0,1 vekt-% til omtrent 99 vekt-% av den
15 aktive ingrediensen, fortrinnsvis omtrent 1 vekt-% til 50 vekt-% for oral administrering og omtrent 0,2 vekt-% til omtrent 20 vekt-% for parenteral administrering.

Formuleringer som er egnet for oral administrering inkluderer kapsler, (harde og myke) poser, sugetabletter, siruper, stikkpillere og tabletter, som hver inneholder en
20 forhåndsbestemt mengde av den aktive forbindelsen; som et pulver eller granuler, som en løsning eller en suspensjon i en vandig eller ikke-vandig væske; eller som en olje-i-vann eller vann-i-oljeemulsjon. Slike formuleringer kan fremstilles ved en hvilken som helst egnet metode innenfor farmasi som inkluderer trinnene ved å bringe den aktive forbindelsen og en egnet bærer eller bærere i forbindelse med hverandre. Mengden av
25 aktiv ingrediens pr enhetsdosering av faste formuleringer kan være som beskrevet innenfor den kjente teknikk for preparater av *N*-benzoyl-staurosporin.

Ved et annet aspekt tilveiebringer også oppfinnelsen fremgangsmåter for behandling ved å benytte forbindelsene og de farmasøytiske sammensetningene ifølge denne
30 oppfinnelsen. Forbindelsene og sammensetningene ifølge denne oppfinnelsen kan administreres til et subjekt i en mengde som er effektiv og benytte for behandling av forebyggelse av tilstander som er beskrevet i '330 patentet. Med subjekt menes et menneske eller et dyr, fortrinnsvis menneske. Dyr som vurderes ved denne oppfinnelsen inkluderer et hvert dyr som trykt kan behandles med forbindelser ifølge denne
35 oppfinnelsen. I særdeleshet viser den krystallinske formen II og amorft *N*-benzoyl-staurosporin høyt anti-proliferativ og anti-tumoraktivitet, som et resultat av proteinkinase C (PKC) inhibisjon, som kan være ekstremt nyttig ved kreftbehandling.

Videre kan deres svært selektive og potente inhibisjon av PKC føre til overlegne kliniske resultater for pasienten, det vil si forsinkelse eller undertrykking av sykdomsprogresjon, med ekvivalent tolererbare regimer. Potensielle applikasjoner inkluderer et mangfold av faste tumorer og mer spesifikt for eksempel brystkreft, tykktarmskreft, eggstokkreft og leukemi. I tillegg kan forskjellige andre indikasjoner som kan påvirkes av PKC aktivitet effektivt behandlet ved disse sammensetningene, inkludert multidrugresistens (MDR), en av hovedproblemene ved dagens benyttede kreftkjemoterapi og inflammatoriske sykdommer generelt.

- 10 Den foreliggende oppfinnelsen vedrører spesielt krystallinsk form II og amorft *N*-benzoyl-staurosporin som her er beskrevet for behandlingen av en av de nevnte sykdommene eller ved fremstilling av et farmakologisk middel for behandling derav.

Oppfinnelsen vedrører også en fremgangsmåte for behandling av varmblodige dyr som lider av de nevnte sykdommer, spesielt en tumorsykdom, der en mengde av det krystallinske form II eller amorfe *N*-benzoyl-staurosporin, som er effektivt mot den aktuelle sykdommen, spesielt en mengde med anti-proliferativ og spesielt tumorhemmende effektivitet, administreres til varmblodige dyr som har behov for slik behandling. Oppfinnelsen vedrører videre anvendelsen av den krystallinske form II eller amorft *N*-benzoyl-staurosporin for inhibisjon av det ovennevnte PKC, eller for fremstilling av farmasøytiske sammensetninger for anvendelse ved behandling av menneske- eller dyrekroppen, spesielt ved behandling av et mangfold av faste tumorer eller mer spesielt, for eksempel brystkreft, tykktarmskreft, eggstokkreft og leukemi. Avhengig av art, alder, individuelt tilstand, administreringsmåte og det aktuelle kliniske bilde, administreres effektive doser, for eksempel daglige doser på omtrent 1-2500 mg, fortrinnsvis 1-1000 mg, spesielt 5-500 mg, til varmblodige dyr på omtrent 70 kg kroppsvekt.

Oppfinnelsen vedrører også farmasøytiske preparater som inneholder en effektiv mengde, spesielt en effektiv mengde for forebyggelse eller behandling av en av de nevnte sykdommene, av den krystallinske form II eller amorft *N*-benzoyl-staurosporin med formel (I), sammen med farmasøytiske akseptable bærere som er egnet for topisk; enteral, for eksempel oral eller rektal; eller parenteral administrering og kan være uorganiske eller organiske og faste eller flytende. Spesielt benyttes tabletter eller gelatinkapsler som inneholder den aktive substansen sammen med fortynningsmidler, for eksempel laktose, dekstrose, sukrose, mannitol, sorbitol, cellulose og/eller glyserin; og/eller smøremidler, for eksempel silika, talkum, stearinsyre eller salter derav, typisk

magnesium- eller kalsiumstearat; og/eller PEG, for oral administrering. Tabletter kan på samme måte inneholde bindemidler, for eksempel magnesiumaluminiumsilikat, stivelses, typisk mais, hvete- eller risstivelse, gelatin, metylcellulose, natriumkarboksymetylcellulose og/eller polyvinylpyrrolidon; og, dersom det er

5 ønskelig, sprengmidler, for eksempel stivelses, agargummi, algininsyre og et salt derav, typiske natriumalginat; og/eller boblende blandinger, eller adsorbenter, fargestoffer, smaksstoffer og søtningmidler. De farmakologiske aktive forbindelsene ifølge den foreliggende oppfinnelsen kan videre benyttes på formen av preparater for parenteral administrering eller infusjonsløsninger. Slike løsninger er fortrinnsvis isotoniske

10 vandige løsninger eller suspensjoner, disse blir eventuelt fremstilt før bruk, for eksempel i tilfelle ved lyofiliserte preparater som inneholder den aktive substansen enten alene eller sammen med en bærer, for eksempel mannitol. Nye farmasøytiske substansene kan være steriliserte og/eller kan inneholde eksipienter, for eksempel konserveringsmidler, stabiliserende midler, fuktmidler og/eller emulgatorer; oppløsende

15 midler; salter for regulering av osmotisk trykk; og/eller buffere. De foreliggende farmasøytiske preparatene som, om ønskelig, kan inneholde ytterligere farmakologisk aktive substanser, slik som antibiotika, fremstilles på en måte som er kjent per se, for eksempel ved hjelp av konvensjonelle blande-, granulerings-, belegging-, oppløsning- eller lyofiliseringsfremgangsmåter, og inneholder fra omtrent 1-100%, spesielt fra

20 omtrent 1% til omtrent 20%, av den aktive substansen eller substansene.

Oppfinnelsen defineres videre med referanse til de følgende eksemplene som i detalj beskriver fremstillingen av forbindelsen og sammensetningene ifølge den foreliggende oppfinnelsen, så vel som deres nytte. Det vil være åpenbart for en fagmann på området

25 at mange modifikasjoner, både når det gjelder materialer og metoder, kan utøves uten å fjerne seg fra formålet og interessen ved denne oppfinnelsen. Eksemplene som følger er ikke ment som å begrense omfanget av oppfinnelsen som er definert over eller som krevet nedenfor.

30

EKSEMPLER

Eksempel 1 Rensing av staurosporin B1 til staurosporin B2 ved å benytte metansulfonsyre og trietylamin

En reaktor fylles med staurosporin B1 og etanol. Suspensjonen varmes til omtrent 70°C.

35 Metansulfonsyre tilsettes til suspensjonen og den oppnådde løsningen eldes. Aktivt kull og hyflo tilsettes og blandingen eldes. Suspensjonen filtreres og filterapparatet og filterkaken vaskes flere ganger med etanol. Den klare filtrerte løsningen overføres til en

annen reaktor og avkjøles til omtrent 60°C. Trietylamin fortynnet i etanol tilsettes langsomt til reaksjonsblandingen. Etterpå avkjøles suspensjonen til omtrent 20°C og eldes. Staurosporin B2 isoleres ved filtrering. Produktet skylles flere ganger med etanol.

5 **Eksempel 2** Rensing av rå staurosporin B1 til staurosporin B2 ved krystallisasjon

En reaktor fylles med staurosporin B1 og benzylalkohol. Suspensjonen varmes til omtrent 85°C og eldes. Aktivt kull og hyflo tilsettes til løsningen og blandingen eldes igjen. Suspensjonen filtreres ved omtrent 90°C. Filterapparatet og filterkaken vaskes flere ganger med benzylalkohol. Den klare filtrerte løsningen overføres til en annen reaktor og avkjøles til omtrent 70°C. Løsningen podes med staurosporin B2 som er suspendert i etanol. Etterpå tilsettes etanol til suspensjonen og suspensjonen eldes, deretter avkjøles den til omtrent 0°C. Suspensjonen eldes igjen i minst to timer ved omtrent 0°C. Staurosporin B2 isoleres ved filtrering. Produktet skylles flere ganger med etanol.

15

Eksempel 3 Benzylering av staurosporin B2 for å fremstille hovedsaklig amorf *N*-benzoyl-staurosporin

En reaktor fylles med staurosporin B2 med benzosyreanhydrid, etanol og vann. Reaksjonsblandingen varmes til omtrent 70°C og eldes. Løsningen filtreres og filterapparatet og filterkaken vaskes flere ganger med etanol. Den filtrerte løsningen overføres til en annen reaktor og avkjøles til omtrent 60°C. Vann tilsettes langsomt til løsningen. Løsningen podes med amorf *N*-benzoyl-staurosporin. Suspensjonen eldes, avkjøles så til omtrent 20°C og eldes igjen. *N*-benzoyl-staurosporin isoleres ved filtrering. Den våte kaken av *N*-benzoyl-staurosporin skylles flere ganger med absolutt etanol. Den våte kaken blir deretter resuspendert i filterapparatet i etanol, eldet ved omtrent 25°C og deretter avkjølt til omtrent 0-5°C og igjen eldet. Dette fremgangsmåtettrinnet kan gjentas flere ganger. *N*-benzoyl-staurosporin isoleres ved filtrering. Den våte kaken tørkes i en vakuuovn ved en ytre temperatur på omtrent 40°C og et vakuum på tilnærmet 10-20 mbar i omtrent 24 timer for å oppnå produkt: 35-40 g tørket kake: 27 g "theory quell". Utbytte: tilnærmet 82% av "theory quell" relatert til B1 100%.

Anvendelsen av etanol i den ovennevnte reaksjonen kan erstattes med THF.

35 **Eksempel 4** Benzylering av staurosporin B2 for å fremstille krystallinsk form II av *N*-benzoyl-staurosporin B4

En reaktor fylles med staurosporin B2 med benzosyreanhydrid, absolutt etanol og vann. Reaksjonsblandingen varmes til omtrent 70°C og eldes. Ved slutten av reaksjonstiden podes reaksjonsblandingen med krystallinsk form II av *N*-benzoyl-staurosporin suspendert i absolutt etanol. Etter elding tilsettes absolutt etanol og vann langsomt til suspensjon. Suspensjonen eldes igjen, avkjøles så til omtrent 0°C før krystallinsk form II av *N*-benzoyl-staurosporin isoleres ved filtrering. Den våte kaken av *N*-benzoyl-staurosporin skylles flere ganger med absolutt etanol og tørkes deretter i en vakuumnovn ved en ytre temperatur på 60°C og et vakuum på tilnærmet 5-30 mbar i omtrent 16 timer for å oppnå produktet: 39,70 g, tørket kake: 27,2 g "theory quell". Utbytte: tilnærmet 91,5% av "theory quell" relatert til B1 100%.

Eksempel 5 Fremstilling av krystallinsk form II av *N*-benzoyl-staurosporin ved å benytte benzylalkohol og etanol

En reaktor fylles med rå *N*-benzoyl-staurosporin og benzylalkohol. Blandingen varmes til 85°C og løsningen eldes deretter. Løsningen avkjøles til omtrent 70°C og podes deretter med rensset krystallinsk form II av *N*-benzoyl-staurosporin B6 suspendert i etanol. Etterpå tilsettes etanol og suspensjonen eldes, deretter avkjøles det til 0°C før krystallinsk form II av *N*-benzoyl-staurosporin isoleres ved filtrering. Den våte kaken skylles med etanol flere ganger og tørkes.

Eksempel 6 Fremstilling av krystallinsk form II av *N*-benzoyl-staurosporin ved å benytte eddiksyre og etanol

En reaktor fylles med rå *N*-benzoyl-staurosporin og eddiksyre. Blandingen varmes til omtrent 70°C og løsningen eldes deretter. Løsningen podes så med rensset krystallinsk form II av *N*-benzoyl-staurosporin B6 suspendert i etanol. Etterpå tilsettes etanol til suspensjonen og suspensjonen eldes, deretter avkjøles det til omtrent 20°C før krystallinsk form II av *N*-benzoyl-staurosporin isoleres ved filtrering. Den våte kaken skylles med etanol flere ganger og tørkes.

Eksempel 7 Fremstilling av krystallinsk form II – krystall av *N*-benzoyl-staurosporin ved å benytte PEG

En reaktor helles med rå *N*-benzoyl-staurosporin og PEG. Blandingen varmes til omtrent 90°C og løsningen blir deretter eldet. Løsningen avkjøles til omtrent 70°C og podes med rensset krystallinsk form II av *N*-benzoyl-staurosporin B6 suspendert i etanol. Etterpå tilsettes etanol/vann i et 1:1 forhold langsomt og suspensjonen eldes deretter før den avkjøles til 20°C. Den krystallinske formen II av *N*-benzoyl-staurosporin isoleres ved filtrering. Den våte kaken skylles med etanol flere ganger og tørkes.

Eksempel 8 Fremstilling av krystallinsk form II av *N*-benzoyl-staurosporin ved å benytte DMSO

En reaktor fylles med *N*-benzoyl-staurosporin og DMSO. Blandingen varmes til omtrent 70°C og løsningsen eldes deretter, og så podes den med rensset krystallinsk form II av *N*-benzoyl-staurosporin B6 suspendert i etanol. Etterpå tilsettes etanol til suspensjonen og suspensjonen eldes ved 70°C, og avkjøles så til omtrent 20°C. Suspensjonen eldes igjen før krystallinsk form II av *N*-benzoyl-staurosporin isoleres ved filtrering. Produktet skylles med etanol flere ganger og tørkes.

10

Eksempel 9 Fremstilling av krystallinsk form II av *N*-benzoyl-staurosporin ved å benytte DMF

En reaktor fylles med *N*-benzoyl-staurosporin og DMF. Blandingen varmes til omtrent 70°C, eldes og podes deretter med rensset, krystallinsk form II av *N*-benzoyl-staurosporin B8 i etanol. Etterpå tilsettes etanol til suspensjonen og suspensjonen eldes ved omtrent 70°C og avkjøles deretter til omtrent 20°C. Suspensjonen blir igjen eldet før krystallinsk form II av *N*-benzoyl-staurosporin isoleres ved filtrering. Produktet skylles med etanol flere ganger og tøkes.

Eksempel 10 Fremstilling av krystallinsk form II av *N*-benzoyl-staurosporin ved å benytte THF

En reaktor fylles med amorft *N*-benzoyl-staurosporin og THF. Blandingen varmes til omtrent 65°C, eldes og podes så med krystallinsk form II av *N*-benzoyl-staurosporin B6 i THF. Suspensjonen eldes, blir så avkjølt til omtrent 20°C og eldes igjen før krystallinsk form II av *N*-benzoyl-staurosporin isoleres ved filtrering. Produktet skylles flere ganger med THF og tørkes.

Eksempel 11 Fremstilling av krystallinsk form II av *N*-benzoyl-staurosporin ved å benytte etanol

En reaktor fylles med amorft *N*-benzoyl-staurosporin og etanol. Blandingen varmes til omtrent 70°C, eldes og podes så med krystallinsk form II av *N*-benzoyl-staurosporin B6 i etanol. Suspensjonen eldes, avkjøles så til omtrent 20°C og eldes igjen før krystallinsk form II av *N*-benzoyl-staurosporin isoleres ved filtrering. Produktet skylles flere ganger med etanol og tørkes.

35

Eksempel 12 Spraytørkeeksperiment for å oppnå amorft PKC412

Tilførselsløsningen er fremstilt ved å oppløse 10 g PKC412 (krystallinsk form II) i tilnærmet 160 g diklormetan. Tilførselsløsningen er klar til å atomiseres til små dråper hvorfra det organiske løsningsmidlet fordampes i tørkekammeret ved oppvarmet nitrogen hvilket resulterer i dannelsen av amorft PKC412. Innløpstemperaturen er satt til 60°C mens utløpstemperaturen er satt til 40°C. Det gjenværende løsningsmiddel innholdet etter spraytørking var tilnærmet 1% vekt/vekt. PKC412 tørkes videre under vakuum for å oppnå et løsningsmiddelfritt materiale.

Eksempel 13 Spraytørkeeksperiment for å oppnå amorft PKC412

Tilførselsløsningen ble fremstilt ved å oppløse 7 g PKC412 (krystallinsk form II) i tilnærmet 400 g THF. Tilførselsløsningen er klar til å atomiseres til små dråper hvorfra det organiske løsningsmidlet fordampes i tørkekammeret ved oppvarmet nitrogen hvilke resulterer i dannelsen av amorft PKC412. Innløpstemperaturen er satt til 110-120°C mens utløpstemperaturen er satt til 70-80°C. Det gjenværende løsningsmiddelinnholdet etter spraytørking er tilnærmet 3% vekt/vekt. PKC412 tørkes under vakuum for å oppnå et løsningsmiddelfritt materiale.

Eksempel 14 Spraytørkeeksperiment for å oppnå amorft PKC412

Tilførselsløsningen fremstilles ved å oppløse 7 g PKC412 (krystallinsk form II) i tilnærmet 350 g etanol/eddiksyre 70:30 vekt/vekt. Tilførselsløsningen er klar til å atomiseres til små dråper hvorfra det organiske løsningsmidlet fordampes i tørkekammeret ved oppvarmet nitrogen hvilke resulterer i dannelsen av amorft PKC412. Innløpstemperaturen er satt til 215°C mens utløpstemperaturen er satt til 120°C. Det gjenværende løsningsmiddelinnholdet etter spraytørking er under 0,5%. Ytterligere konvensjonell tørking er ikke nødvendig.

Eksempel 15 Tabletter med krystallinsk form II av *N*-benzoyl-staurosporin

Tabletter som inneholder 100 mg av den aktive substansen angitt i tittelen fremstilles vanligvis med den følgende sammensetningen:

Sammensetning	Mengde (mg)
Aktiv ingrediens	100
Krystallinsk laktose	240
Avicel	80
PVPPXL	20
Aerosil	2
Magnesiumstearat	5
Total	447

5

Fremstilling: Den aktive substansen blandes med bæreremateriale og sammenpresses på en tablettmaskin (Korsch EKO, stansediameter 10 mm).

Avicel er mikrokrystallinsk cellulose (FMC, Philadelphia, USA).

PVPPXL er polyvinylpyrrolidon, kryssbundet (BASF, Germany).

10 Aerosil er silikondioksid (Degussa, Germany).

Eksempel 16 Kapsler med krystallinsk form II av *N*-benzoyl-staurosporin

Kapsler som inneholder 100 mg av forbindelsen som er angitt i tittelen som aktiv substans fremstilles vanligvis med den følgende sammensetningen:

15

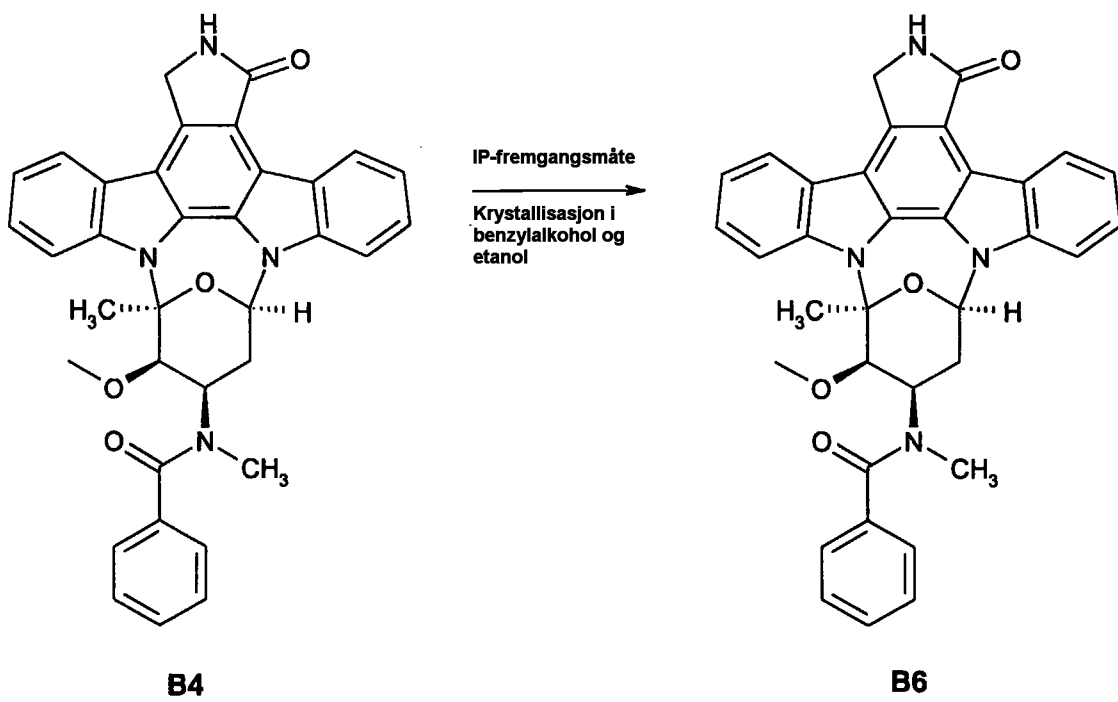
Sammensetning	Mengde (mg)
Aktiv ingrediens	100
Avicel	200
PVPPXL	15
Aerosil	2
Magnesiumstearat	1,5
Total	318,5

Kapslene fremstilles ved å blande komponentene og å fylle blandingen i harde gelatinkapsler, størrelse 1.

N y e p a t e n t k r a v

(som skal legges til grunn ved behandling av søknaden)

- 1.
- 5 Fremgangsmåte for rensing av staurosporin som omfatter:
 - (a) å tilveiebringe en løsning av staurosporin i et første løsningsmiddel;
 - (b) å pøde løsningen med rensset staurosporin i et andre løsningsmiddel; og
 - (c) å isolere produktet.
- 10 2.
Fremgangsmåte ifølge krav 1, der det første løsningsmidlet er valgt fra benzylalkohol, DMF, DMSO, eddiksyre eller PEG.
- 3.
- 15 Fremgangsmåte ifølge krav 1, der det andre løsningsmidlet er valgt fra etanol, THF eller en løsning av etanol i vann.



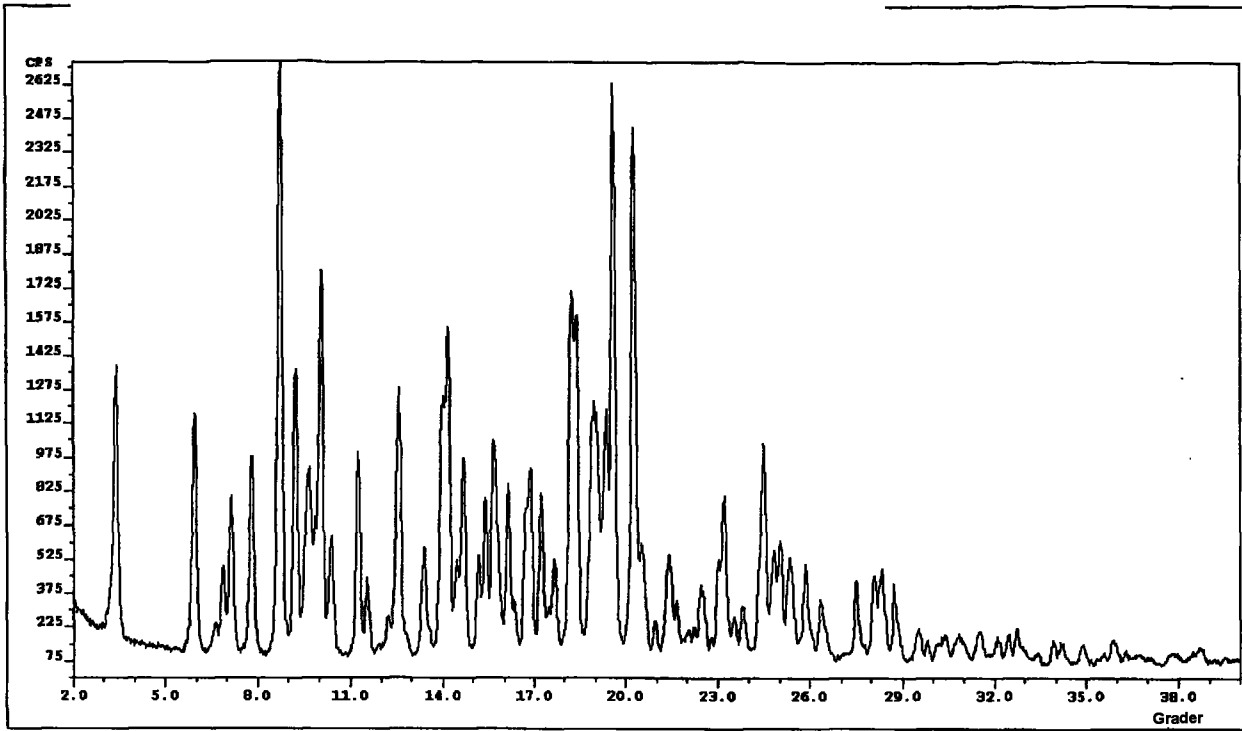


FIG. 1

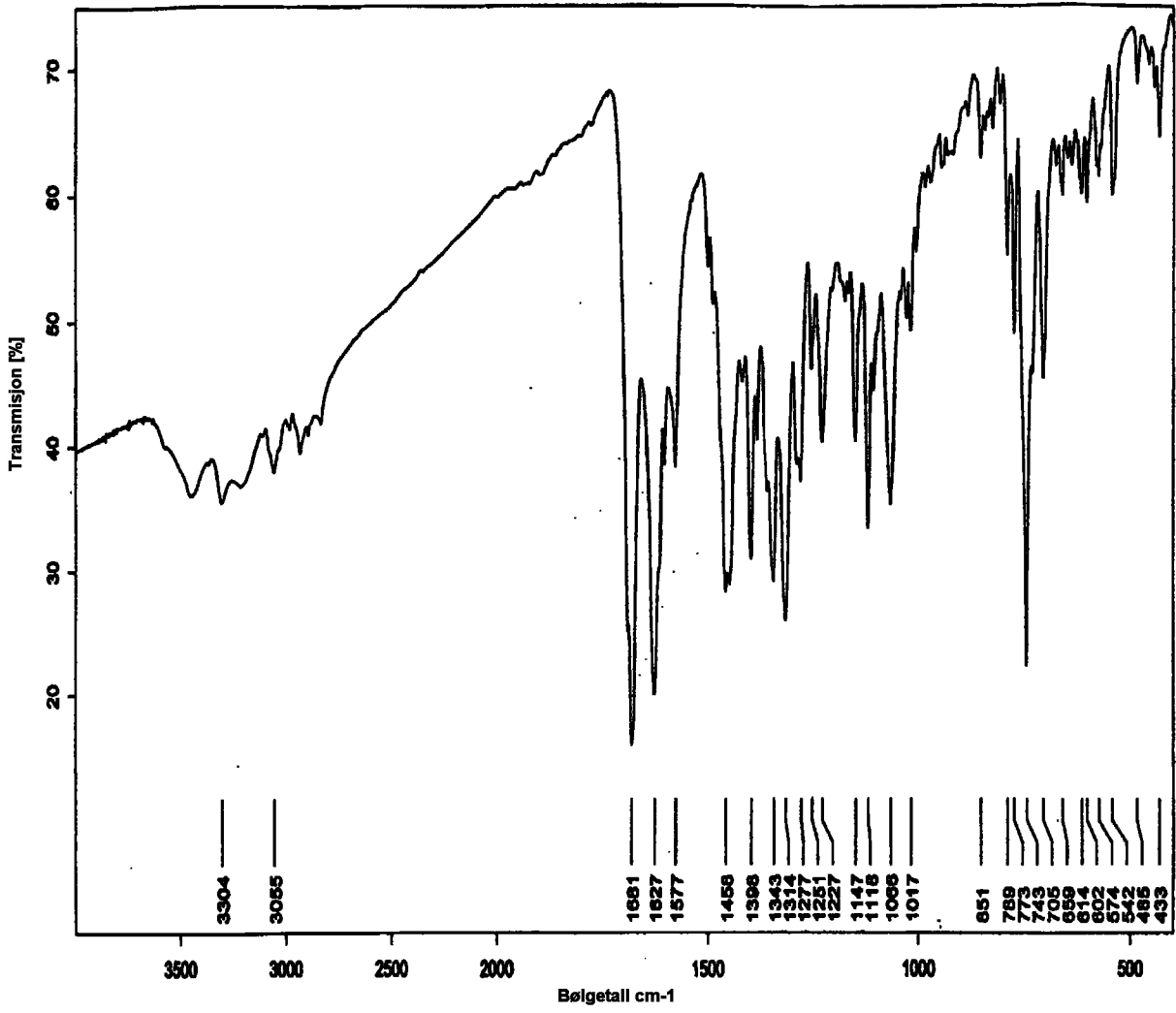


FIG. 2

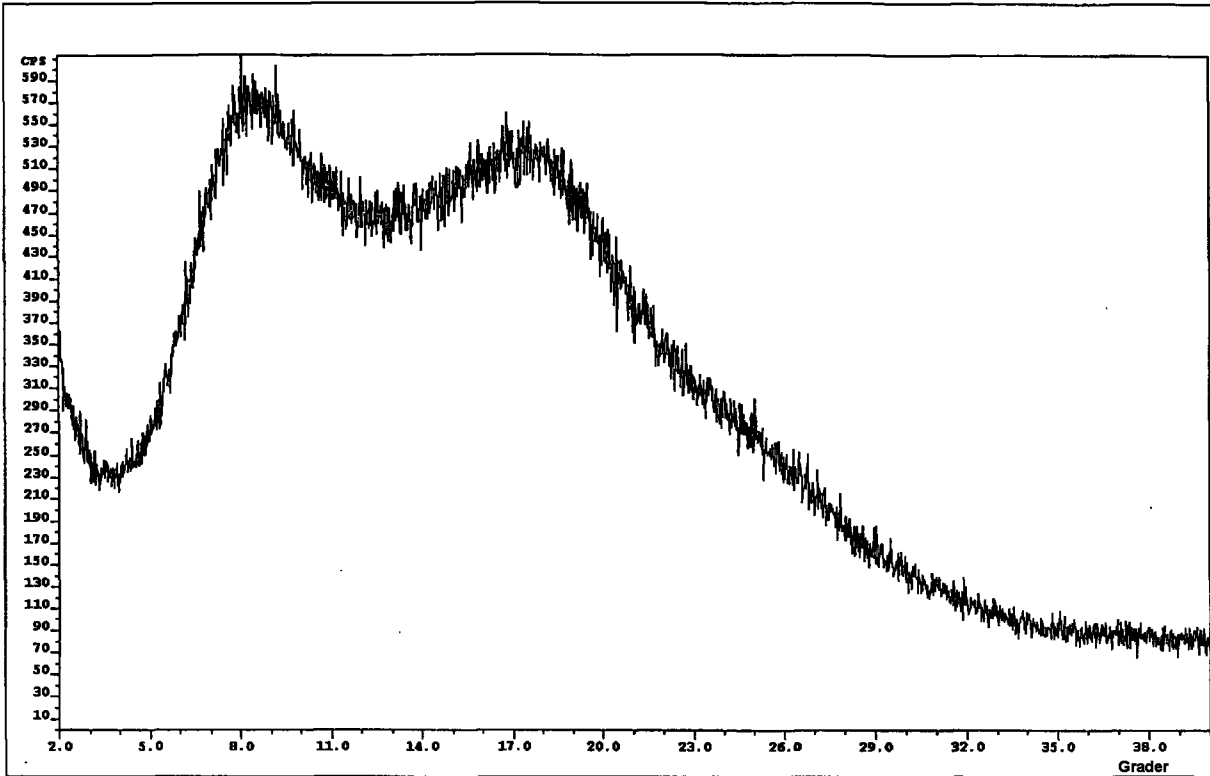


FIG. 3

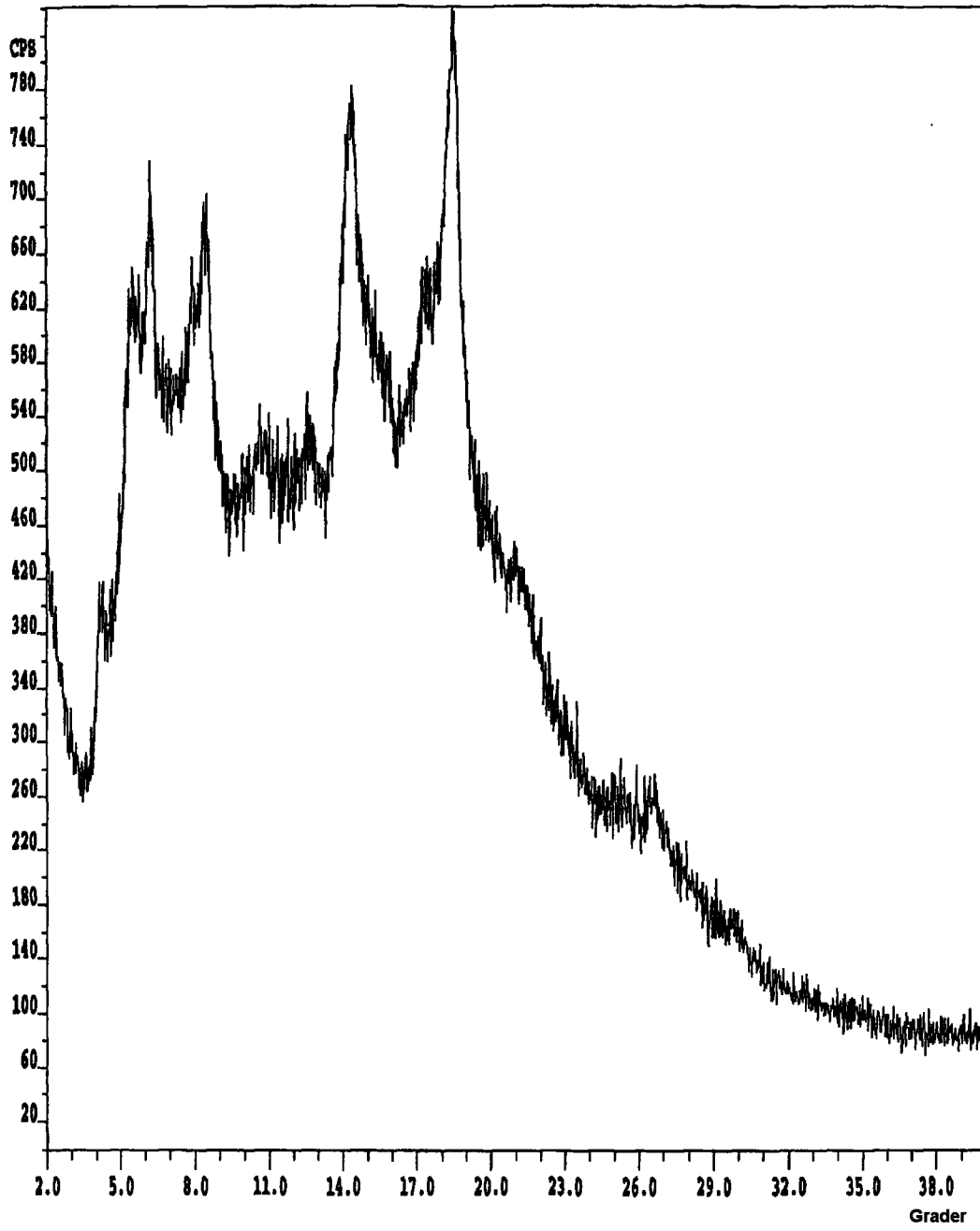


FIG. 4