



(21) 申请号 201911071898.0

A61P 31/10 (2006.01)

(22) 申请日 2019.11.05

(56) 对比文件

(65) 同一申请的已公布的文献号

CN 105287403 A, 2016.02.03

申请公布号 CN 112778369 A

CN 1142828 A, 1997.02.12

(43) 申请公布日 2021.05.11

审查员 梁清刚

(73) 专利权人 华创合成制药股份有限公司

地址 710015 陕西省西安市高新三路2号海

佳云顶商住楼30803室

(72) 发明人 杨成 张起愿

(74) 专利代理机构 北京华夏博通专利事务所

(普通合伙) 11264

专利代理师 刘俊

(51) Int. Cl.

C07F 9/6558 (2006.01)

A61K 31/675 (2006.01)

权利要求书1页 说明书16页 附图2页

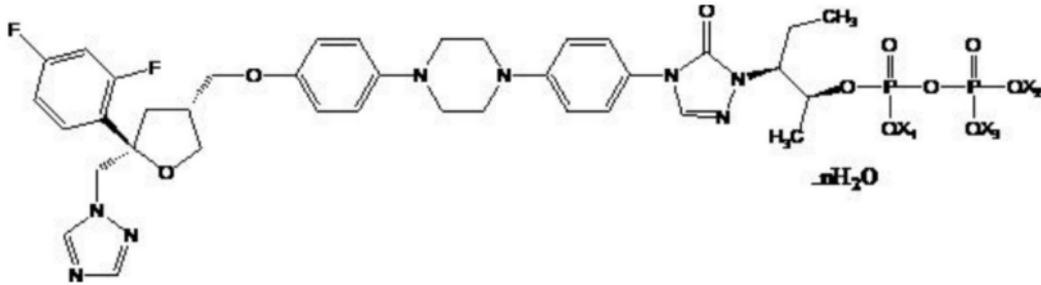
(54) 发明名称

一种三唑类衍生物及其制备方法和用途

(57) 摘要

本发明提供了一种如通式I所示的三唑类衍生物或其药学上可接受的盐、溶剂化合物、水合物、多晶型物、氘代物和异构体；本发明还提供了包含其的药物组合物以及药物组合物的用途。本发明提供的三唑类衍生物及其药物组合物可有效改善泊沙康唑水溶性问题，溶解度可大幅提高，具有优异的药代动力学性质，而且还具备优异的抗菌活性。

1. 一种式I所示的化合物,



其中:n为0-6;X1、X2代表氢、X3代表胆碱阳离子;或者X1、X3代表氢、X2代表胆碱阳离子;或者X2、X3代表氢、X1代表胆碱阳离子。

2. 权利要求1中所述的化合物在制备抗真菌感染的药物中的用途。

3. 根据权利要求2所述的用途,其特征在于,所述真菌感染是由念珠菌属或隐球菌属引起的感染。

4. 一种药物组合物,该药物组合物包含权利要求1中所述的化合物以及药学上可接受的辅料;所述药物组合物为片剂、栓剂、分散片、肠溶片、咀嚼片、口崩片、胶囊、糖衣剂、颗粒剂、干粉剂、口服溶液剂、小容量注射液、注射用冻干粉针或大输液;所述药学上可接受的辅料选自以下中的一种或多种:pH调节剂、稀释剂、崩解剂、悬浮剂、赋性剂、润滑剂、粘合剂、填充剂、矫味剂、甜味剂、抗氧化剂、防腐剂、包裹剂和色素。

一种三唑类衍生物及其制备方法和用途

技术领域

[0001] 本发明涉及一种三唑类衍生物及其制备方法和用途,更进一步涉及一种抗真菌感染的三唑类衍生物及其制备方法和用途。

背景技术

[0002] 真菌感染是临床上的常见病、多发病,感染可分为浅部真菌感染和深部真菌感染两类。浅部真菌感染是由癣菌侵犯皮肤、毛发、指(趾)甲等体表部位造成的,发病率高,危害性较小。深部真菌感染是由念珠菌、曲霉菌和隐球菌等真菌侵犯内脏器官及深部组织造成的,危害性大。

[0003] 近年来,随着免疫抑制患者的不断增加,深部真菌感染的发病率明显增加,真菌感染,尤其是深部真菌感染日益引起人们的广泛关注。但目前临床应用的抗真菌药物而言,存在副作用大、易产生耐药性等问题。临床上现有的抗真菌药物按其结构可分为有机酸类、多烯类、氮唑类、烯丙胺类等,其中氮唑类抗真菌药物是一类发展较快的全合成抗真菌化合物,目前已成为临床上治疗深部和浅部真菌感染的主要用药,自上个世纪中叶第一个唑类化合物抗真菌作用被报道以后,第一代三唑类药物氟康唑、伊曲康唑,第二代三唑类药物伏立康唑逐渐出现在抗真菌治疗领域中。

[0004] 泊沙康唑(posaconazole)是伊曲康唑的衍生物,其口服混悬剂于2005年首次在德国上市,2006年被FDA批准上市,在临床上对曲霉菌、念珠菌导致的系统性真菌感染以及口咽念珠菌病感染有较好的疗效,目前已在全球70多个国家、地区获批,并在美国、欧盟等40多个国家、地区上市。但口服混悬剂的吸收程度极易受到食物、胃肠功能等因素影响,导致个体间药代动力学参数差异较大,血药浓度值波动范围大,生物利用度较低等问题。且泊沙康唑是一种弱碱性、水溶性差的药物,不易于开发成注射剂型。而接受化疗或器官移植的一些免疫抑制患者存在恶心呕吐以及胃肠道不适等问题,导致口服给药困难,需要采用注射给药。

[0005] 为了解决泊沙康唑由于溶解度差不易于开发成注射制剂的问题,默沙东公司专利申请CN201180031488.9公开了取代 β -环糊精增溶的泊沙康唑静脉输注液制剂,通过采用取代 β -环糊精对泊沙康唑增溶,制备注射制剂。目前该注射剂已经在美国获准上市。该注射剂虽然解决了泊沙康唑不溶于水的缺陷,实现了对口服给药不便患者的用药,但由于添加了大量磺丁基醚 β -环糊精(SBE- β -CD)进行增溶,存在潜在的安全风险,且临床前毒理学研究显示,磺丁基醚- β -环糊精导致尿道上皮细胞空泡形成以及激活肝脏和肺内巨噬细胞。临床研究显示,磺丁基醚- β -环糊精(SBE- β -CD)需要通过肾脏代谢,大大增加了肾脏负担,而泊沙康唑注射剂的目标适应症患者为接受骨髓移植、化疗等的免疫抑制、真菌感染风险高的患者,该类患者中相当一部分人群存在肾功能损伤,特别是中度或重度肾功能不全的患者,肾小球滤过效率较低,SBE- β -CD在体内的大量蓄积,存在较高的安全风险。辅料磺丁基醚- β -环糊精的使用,大大限制了该药物的临床应用范围。

[0006] 目前可以检索到的泊沙康唑衍生物有泊沙康唑磷酸酯或其药用盐、泊沙康唑鎓

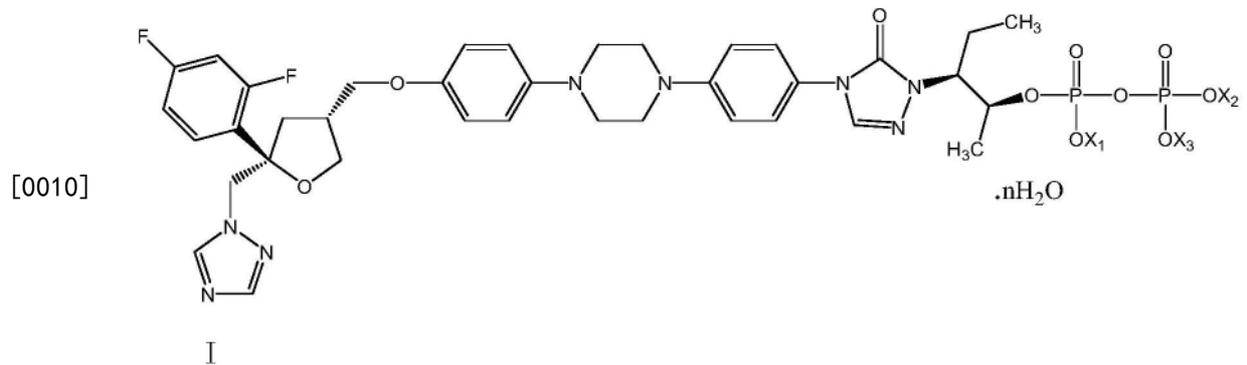
盐,此两种化合物均能增加其在水中溶解度,但本发明的化合物在水中的溶解度优于此两种化合物,并且本发明人惊奇的发现本发明的化合物在0.9%氯化钠注射液不会有浑浊产生;发明人意外的发现本发明的化合物药代动力学数据优于已公开的泊沙康唑前药相关化合物且在动物实验中具备更佳安全性表现。

发明内容

[0007] 为了克服现有技术的不足,本发明提供一种三唑类衍生物式I所示的化合物、所述化合物的制备方法、包含所述化合物的药物组合物以及所述化合物在制备抗真菌感染的药物中的用途。

[0008] 本发明的上述目的是通过以下技术方案来实现的。

[0009] 一方面,本发明提供一种式I所示的化合物;



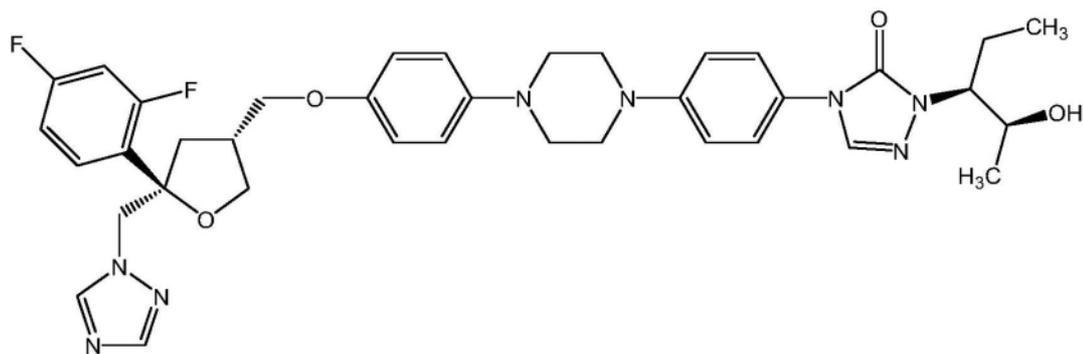
[0011] 其中:n为0~12,优选为0~8,更优选为0~6。

[0012] X1、X2、X3代表氢、碱金属、氨基酸、胆碱、葡甲胺。

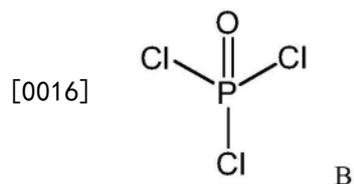
[0013] 本发明还提供上述化合物,或其立体异构体、水合物、氘代物、溶剂化物、晶型、代谢产物、药学上可接受的盐,在制备治疗真菌感染引起的疾病的药物的应用。

[0014] 另一方面,本发明提供上述式I所示的化合物的制备方法,所述制备方法包括:

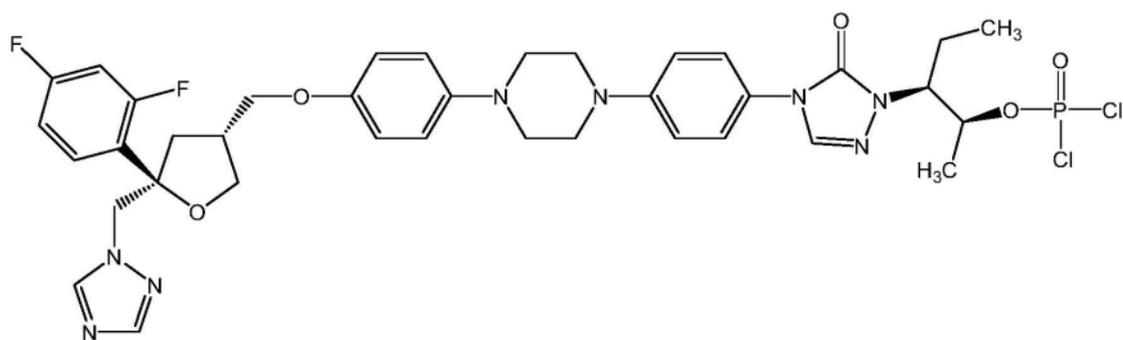
[0015] (a) 将式A所示的化合物与式B所示的化合物在惰性气体存在下、无溶剂或有机溶剂A中反应,形成式C所示的化合物;



A

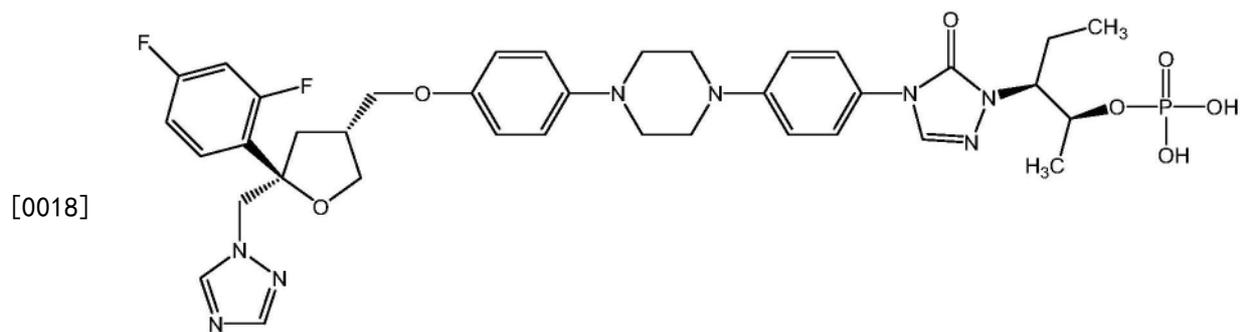


B



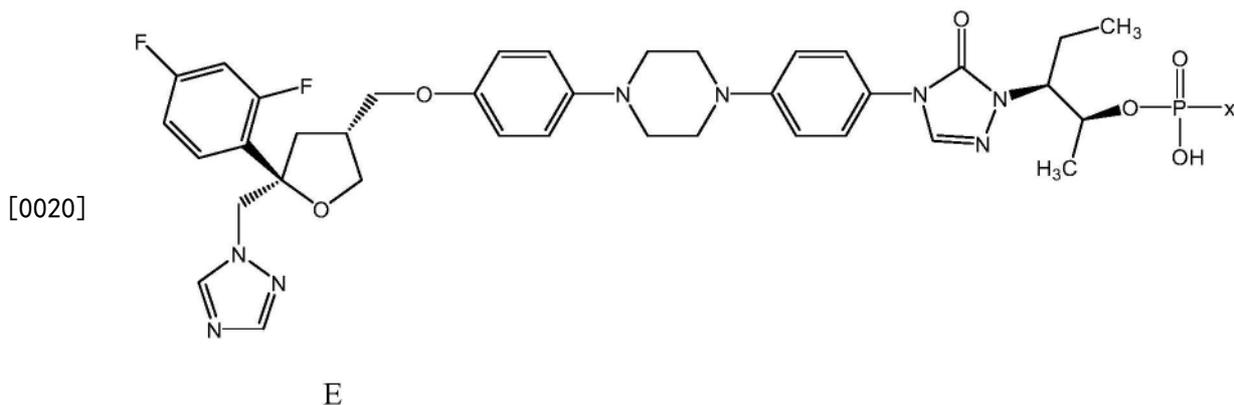
C

[0017] (b) 将步骤 (a) 形成的式C所示的化合物用溶剂B进行水解,以形成式D所示的化合物;



D

[0019] (c) 将步骤 (b) 得到的式D所示的化合物与缩合剂在溶剂C中反应,以形成式E所示的化合物;



[0021] (d) 将步骤 (c) 得到的式 E 所示的化合物与磷酸盐在溶剂 D 中加入催化剂反应以制备所述的式 I 所示的化合物；

[0022] 在上述制备方法中,在步骤 (a) 中,所述惰性气体选自氮气、氦气和氩气的一种或多种,优选为氮气或氩气。

[0023] 在上述制备方法中,在步骤 (a) 中,所述有机溶剂 A 选自芳香烃类、卤代烃类、腈类、酮类、醚类、三乙胺、二乙胺、吡啶、1-甲基咪唑、N,N'-二异丙基乙基胺和酯类中的一种或多种,优选为乙酸乙酯、乙腈、四氢呋喃、二氯甲烷、甲苯、丙酮、三乙胺、1-甲基咪唑、吡啶或氯仿。

[0024] 在上述制备方法中,在步骤 (b) 中,所述溶剂 B 选自水、碱性水溶液和有机溶剂水溶液中的一种或多种。所述碱性水溶液优选为氢氧化钠水溶液、氨水、氢氧化钾水溶液、碳酸氢钠水溶液或碳酸钠水溶液,所述有机溶剂水溶液选为二氯甲烷水溶液、乙腈水溶液、四氢呋喃水溶液或丙酮水溶液。

[0025] 在上述制备方法中,在步骤 (c) 中,所述溶剂 C 选自水、芳香烃类、卤代烃类、腈类、酮类、醇类、醚类、酯类、二甲基甲酰胺、二甲基乙酰胺中的一种或多种;优选选自水、乙醇、乙腈、丙酮、四氢呋喃、乙酸乙酯、二氯甲烷、甲苯和丁酮中的一种或多种。

[0026] 在上述制备方法中,在步骤 (c) 中,所述缩合剂选自 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳酰二亚胺盐酸盐、N,N'-羰基二咪唑、N,N'-二异丙基碳二亚胺、1,8-二氮杂双环[5.4.0]十一碳-7-烯、N,N'-二环己基碳酰亚胺、对甲基苯磺酰氯中的一种或多种。

[0027] 在上述制备方法中,在步骤 (c) 中,所述化合物 E 中 X 选自吗啉、咪唑、苯并咪、1-甲基咪唑。

[0028] 在上述制备方法中,在步骤 (d) 中,所述磷酸盐选自磷酸三乙胺盐、磷酸二氢钾、磷酸二氢铵、磷酸氢二钠、磷酸氢二钾、磷酸二氢钠、磷酸氢二铵、多聚磷酸、焦磷酸三乙胺盐中的一种或多种。

[0029] 在上述制备方法中,在步骤 (d) 中,所述催化剂选自三苯基膦、2,2'-二硫二吡啶、氯化锰、氯化锌、硫酸镁、氯化镁、氯化钙中的一种或几种。

[0030] 在上述制备方法中,在步骤 (a) 中,所述反应温度为 -10°C ~ 25°C ,优选为 -5°C ~ 10°C 。

[0031] 在上述制备方法中,在步骤 (b) 中,所述水解温度为 -20°C ~ 100°C ,优选为 0°C ~ 60°C 。

[0032] 在上述制备方法中,在步骤 (c) 中,所述反应温度为 -10°C ~ 40°C ,优选为 -5°C ~ 30°C 。

℃。

[0033] 在上述制备方法中,在步骤(d)中,所述反应温度为-10℃~40℃,优选为-5℃~30℃。

[0034] 在上述制备方法中,在步骤(a)中,所述式A所示的化合物与所述式B所示的化合物之间的摩尔比为1:1.0~20.0,优选为1:2.25~10.0。

[0035] 在上述制备方法中,在步骤(c)中,所述式D所示的化合物与缩合剂之间的摩尔比为1:1~10,优选为1:4。

[0036] 在上述制备方法中,在步骤(d)中,所述式E所示的化合物与磷酸盐之间的摩尔比为1:1~10,优选为1:2~4。

[0037] 在上述制备方法中,在步骤(d)中,所述式E所示的化合物与催化剂之间的摩尔比为1:1~10,优选为1:2~4。

[0038] 另一方面,本发明提供上述式I所示的化合物在制备抗真菌感染的三唑类衍生物;所述抗真菌感染的三唑类衍生物是由念珠菌属或隐球菌属引起的感染。

[0039] 再一方面,本发明还提供一种药物组合物,该药物组合物包含上述式I所示的化合物以及药学上可接受的辅料。

[0040] 优选地,所述药物组合物为片剂、栓剂、分散片、肠溶片、咀嚼片、口崩片、胶囊、糖衣剂、颗粒剂、干粉剂、口服溶液剂、注射用小针、注射用冻干粉针或大输液。

[0041] 优选地,所述药学上可接受的辅料选自以下中的一种或多种:pH调节剂、稀释剂、增溶剂、赋性剂、崩解剂、悬浮剂、润滑剂、粘合剂、填充剂、矫味剂、甜味剂、抗氧化剂、表面活性剂、防腐剂、包裹剂和色素。

[0042] 本发明化合物的使用剂量和使用方法取决于诸多因素,包括患者的年龄、体重、性别、健康状况、营养状况、化合物的活性强度、使用时间、代谢速率、病症的严重程度以及诊治医生的主观判断。优选的使用剂量介于2~1200mg/kg最好24小时的给药量为每公斤0.2~300mg,也可采用多次给药方式。

[0043] 与现有技术相比较,本发明至少具有以下有益效果如下:

[0044] 首先,本申请式I所示的化合物,临床应用刺激性小;药代动力学数据明显优于泊沙康唑磷酸酯;

[0045] 其次,本申请式I所示的化合物,制备成注射剂后能够与临床使用的稀释介质(5%葡萄糖注射液、0.9%氯化钠注射液)很好的互溶,不会产生乳光浑浊,相容性较好;而其他泊沙康唑磷酸酯单盐和泊沙康唑磷酸酯双盐与0.9%氯化钠注射液相溶性较差,溶解后产生乳光浑浊,不适合临床上的使用。

[0046] 第三,当本申请式I所示的三唑类衍生物被给药到体内时,其作为“前药”发挥作用,在碱性磷酸酶的存在下转化为具备生物活性的母体泊沙康唑。本申请式I所示的三唑类衍生物具有更优的水溶性,使得该前药适于口服、局部和胃肠外给药。

附图说明

[0047] 图1为血中泊沙康唑测得量。

[0048] 图2为血中化合物1单胆碱盐与对比化合物测得量。

[0049] 图3为尿中泊沙康唑测得量。

[0050] 图4为尿中化合物1单胆碱盐与对比化合物的测得量。

具体实施方式

[0051] 下面结合具体实施方式对本发明进行进一步的详细描述,给出的实施例仅为了阐明本发明,而不是为了限制本发明的范围。

[0052] 实施例1:泊沙康唑磷酸酯的制备

[0053] 称取泊沙康唑(10g, 14.27mmol)置于干燥的250mL的三颈烧瓶中,氮气保护下,加入二氯甲烷(100mL),降温至0-5℃,缓慢加入三氯氧磷(6.56g, 42.80mmol),约1min加完,以过程中HPLC判断反应是否完成。

[0054] 色谱条件:

[0055] 流动相:6.8g/L磷酸二氢钠用磷酸调pH为2.5:乙腈=60:40

[0056] 检测波长:220nm流速:1.0ml/min柱温:25℃

[0057] 样品浓度:1mg/ml稀释介质是50%乙腈

[0058] 将反应液滴加到0℃的150mL纯水中,控制水解温度0℃~5℃,搅拌3h,将有机相和水相移至分液漏斗中萃取,将固相用甲醇(150mL)溶解与萃取的有机相合并,然后向其中倒入200~300目的硅胶约25g,旋转蒸发仪,蒸干溶剂拌样,将蒸干的硅胶倒入至装有25cm的硅胶的柱子(直径4.5cm)里,目标产品开始从柱子上洗脱下来,旋转蒸发除去收集的溶剂,得到黄色固体,加入150mL水和50ml二氯甲烷,萃取,有机相用无水硫酸钠干燥,然后用旋转蒸发仪,蒸干得淡黄色固体7.4g,收率66.5%。

[0059] 实施例2:化合物1的制备

[0060] 取泊沙康唑磷酸酯10.0g置于干燥的250mL的三颈烧瓶中,加入乙腈100ml搅拌均匀,室温加入1-甲基咪唑10.5g,2,2'-二硫二吡啶14.1g、三苯基磷19.3g,室温反应1小时,缓慢加入三乙胺磷酸盐3.0g,反应过程中HPLC判断反应是否完成。

[0061] 色谱条件:

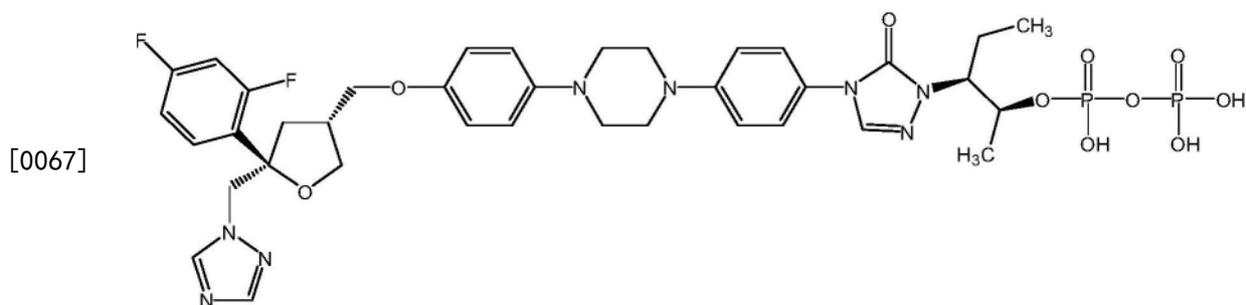
[0062] 流动相:6.8g/L磷酸二氢钾用磷酸调pH为3.0:乙腈=60:40

[0063] 检测波长:220nm流速:1.0ml/min柱温:25℃

[0064] 样品浓度:1mg/ml稀释介质是50%乙腈

[0065] 将反应液40℃减压蒸干,加入丙酮100ml,0℃析晶10小时过滤,干燥,得化合物113.3g。(水分0.22%)

[0066] 化合物1结构式如下:



[0068] 实施例3:化合物1的制备

[0069] 取泊沙康唑磷酸酯10.0g和三乙胺1.0g置于干燥的100mL的三颈烧瓶中,加入二氯

甲烷50ml搅拌均匀,室温加入N,N-羰基二咪唑搅拌反应2小时,缓慢加入三乙胺磷酸盐3.0g,氯化锰2.4g和硫酸镁3.0g,反应过程中HPLC判断反应是否完成。

[0070] 色谱条件:

[0071] 流动相:6.8g/L磷酸二氢钾用磷酸调pH为3.0:乙腈=60:40

[0072] 检测波长:220nm流速:1.0ml/min柱温:25℃

[0073] 样品浓度:1mg/ml稀释介质是50%乙腈

[0074] 将反应液40℃减压蒸干,加入50ml水搅拌溶解,用二氯甲烷(20ml×3)萃取水层,水层用盐酸调节pH至4.0,搅拌析晶,过滤,干燥,得化合物1 11.8g。

[0075] (水分0.42%)

[0076] 实施例4:化合物1五水合物的制备

[0077] 取化合物1 20g置250ml反应瓶中,加入20%甲醇水溶液160ml,50℃搅拌溶解,过滤,降温至0℃析晶12小时,过滤,40℃干燥至水分在9-10%范围内,得化合物1五水合物16.3g。(水分:9.56%)。

[0078] 实施例5:泊沙康唑磷酸酯单胆碱盐的制备

[0079] 取泊沙康唑磷酸酯20g置250ml反应瓶中,加入甲醇160ml,15.5g氢氧化胆碱甲醇溶液(0.2g/g),50℃搅拌溶解,过滤,降温至0℃析晶12小时,过滤,40℃干燥4小时,得泊沙康唑磷酸酯单胆碱盐18.2。(水分:8.92%)。

[0080] 实施例6:泊沙康唑磷酸酯双胆碱盐的制备

[0081] 取泊沙康唑磷酸酯20g置250ml反应瓶中,加入甲醇160ml,31g氢氧化胆碱甲醇溶液(0.2g/g),50℃搅拌溶解,过滤,降温至0℃析晶12小时,过滤,40℃干燥4小时,得泊沙康唑磷酸酯双胆碱盐20.1。(水分:9.4%)。

[0082] 实施例7:泊沙康唑磷酸酯单钠盐的制备

[0083] 取泊沙康唑磷酸酯20g置250ml反应瓶中,加入甲醇160ml,1.07g氢氧化钠,50℃搅拌溶解,过滤,降温至0℃析晶12小时,过滤,40℃干燥4小时,得泊沙康唑磷酸酯单钠盐14.97g。(水分:4.34%)。

[0084] 实施例8:泊沙康唑磷酸酯双钠盐的制备

[0085] 取泊沙康唑磷酸酯20g置250ml反应瓶中,加入甲醇160ml,2.14g氢氧化钠,50℃搅拌溶解,过滤,降温至0℃析晶12小时,过滤,40℃干燥4小时,得泊沙康唑磷酸酯双钠盐16.39g。(水分:5.35%)。

[0086] 实施例9:化合物1单胆碱盐的制备

[0087] 取化合物120g置250ml反应瓶中,加入甲醇160ml,14.1g氢氧化胆碱甲醇溶液(0.2g/g),50℃搅拌溶解,过滤,降温至0℃析晶12小时,过滤,40℃干燥4小时,得化合物1单胆碱盐19.70g。(水分:10.14%)。

[0088] 实施例9:化合物1双胆碱盐的制备

[0089] 取化合物1 20g置250ml反应瓶中,加入甲醇160ml,28.2g氢氧化胆碱甲醇溶液(0.2g/g),50℃搅拌溶解,过滤,降温至0℃析晶12小时,过滤,40℃干燥4小时,得化合物1双胆碱盐20.1g。(水分:10.54%)。

[0090] 实施例10:化合物1三胆碱盐的制备

[0091] 取化合物1 20g置250ml反应瓶中,加入甲醇160ml,42.3g氢氧化胆碱甲醇溶液

(0.2g/g), 50℃搅拌溶解, 过滤, 降温至0℃析晶12小时, 过滤, 40℃干燥4小时, 得化合物1三胆碱盐20.78g。(水分: 8.45%)。

[0092] 实施例11: 化合物1单钠盐的制备

[0093] 取化合物1 20g置250ml反应瓶中, 加入甲醇160ml, 0.97g氢氧化钠, 50℃搅拌溶解, 过滤, 降温至0℃析晶12小时, 过滤, 40℃干燥4小时, 得化合物1单钠盐19.62g。(水分: 10.87%)。

[0094] 实施例12: 化合物1酯双钠盐的制备

[0095] 取化合物1 20g置250ml反应瓶中, 加入甲醇160ml, 1.94g氢氧化钠, 50℃搅拌溶解, 过滤, 降温至0℃析晶12小时, 过滤, 40℃干燥4小时, 得化合物1双钠盐18.37g。(水分: 9.01%)。

[0096] 实施例13: 化合物1三钠盐的制备

[0097] 取化合物1 20g置250ml反应瓶中, 加入甲醇160ml, 2.91g氢氧化钠, 50℃搅拌溶解, 过滤, 降温至0℃析晶12小时, 过滤, 40℃干燥4小时, 得化合物1三钠盐18.92g。(水分: 11.12%)。

[0098] 实施例14: 化合物1二水合物的制备

[0099] 取化合物1 20g置250ml反应瓶中, 加入甲醇200ml, 50℃搅拌溶解, 过滤, 降温至0℃析晶12小时, 过滤, 40℃干燥至水分在4-4.5%范围内, 得化合物1二水合物19.3g。(水分: 4.04%)。

[0100] 实施例15: 化合物1三水合物的制备

[0101] 取化合物1 20g置250ml反应瓶中, 加入20%乙腈水溶液160ml, 50℃搅拌溶解, 过滤, 降温至0℃析晶12小时, 过滤, 40℃干燥至水分在6-6.5%范围内, 得化合物1三水合物17.8g。(水分: 6.10%)。

[0102] 实施例15: 片剂的制备

[0103] 处方:

| | | |
|--------|-----------|-----|
| [0104] | 化合物1单胆碱盐 | 50g |
| | 淀粉 | 20g |
| | 微晶纤维素 | 30g |
| | 5% 聚维酮K30 | 10g |
| | 硬脂酸镁 | 1g |

[0105] 制法: 取化合物1单胆碱盐粉碎过80目筛; 称取处方量的淀粉和处方量的化合物1单胆碱盐、微晶纤维素, 混匀。用5%聚维酮K30溶液将物料制软材, 用20目筛制粒, 于40~60℃干燥至颗粒中的水分为5%左右。过20目筛整粒, 加入处方量的硬脂酸镁, 终混, 测中间体含量, 定片重; 压片。

[0106] 实施例16: 颗粒剂的制备

[0107] 处方:

| | | |
|--------|----------|-----|
| [0108] | 化合物1双胆碱盐 | 50g |
| | 淀粉 | 20g |

| | | |
|--------|-----------|-----|
| [0109] | 三氯蔗糖 | 30g |
| | 5%聚维酮 K30 | 10g |

[0110] 制法:取化合物1双胆碱盐粉碎过80目筛;称取处方量的淀粉和处方量的化合物1双胆碱盐、三氯蔗糖,混匀。用5%聚维酮K30溶液将物料制软材,用20目筛制粒,于40~60℃干燥至颗粒中的水分为5%左右。过20目筛整粒,测中间体含量,装袋。

[0111] 实施例17:注射用化合物1的制备

[0112] 处方:

| | | |
|--------|-------|---------|
| [0113] | 化合物1 | 100g |
| | pH调节剂 | 4.0-9.0 |
| | 葡萄糖 | 30g |
| | 水 | 2000ml |

[0114] 制法:加入批量体积注射用水,称取处方量的化合物1、葡萄糖,搅拌使充分溶解后,用pH调节剂调节pH至4.0~9.0,0.22um微孔滤膜过滤,灌装;冷冻干燥,轧盖,包装。

[0115] 实施例18:注射用化合物1单胆碱盐的制备

[0116] 处方:

| | | |
|--------|----------|---------|
| [0117] | 化合物1单胆碱盐 | 100g |
| | pH调节剂 | 4.0-9.0 |
| | 右旋糖酐 | 20g |
| | 水 | 2000ml |

[0118] 制法:加入批量体积注射用水,称取处方量的化合物1单胆碱盐、右旋糖酐,搅拌使充分溶解后,用pH调节剂调节pH至4.0~9.0,0.22um微孔滤膜过滤,灌装;冷冻干燥,轧盖,包装。

[0119] 实验例1:溶解性研究

[0120] 分别测试本发明的化合物、泊沙康唑磷酸酯或其药用盐和泊沙康唑在水(25℃)中的溶解度,试验结果见下表所示。

[0121] 测试化合物的溶解度数据

| | | | | |
|--------|-------|---------|--------|-----------|
| [0122] | 化合物 | 溶解度 | 化合物 | 溶解度 |
| | 化合物 1 | 23mg/ml | 泊沙康唑单磷 | 小于 1mg/ml |

| | | 酸酯 | |
|--------|------------|----------|------------------------|
| [0123] | 化合物 1 单胆碱盐 | 152mg/ml | 泊沙康唑磷酸酯单胆碱盐 82mg/ml |
| | 化合物 1 双胆碱盐 | 150mg/ml | 泊沙康唑磷酸酯双胆碱盐 76mg/ml |
| | 化合物 1 三胆碱盐 | 180mg/ml | 泊沙康唑磷酸酯单钠盐 68mg/ml |
| | 化合物 1 单钠盐 | 132mg/ml | 泊沙康唑磷酸酯双钠盐 72mg/ml |
| | 化合物 1 双钠盐 | 140mg/ml | 泊沙康唑 小于 0.1mg/ml |
| | 化合物 1 三钠盐 | 148mg/ml | —— —— |

[0124] 从实验结果看：本发明的化合物溶解度较高，均高于泊沙康唑磷酸酯或其药用盐和泊沙康唑在水中的溶解度。同样的载药量，本发明化合物溶解度比泊沙康唑磷酸酯或其药用盐和泊沙康唑的溶解度好，因此，本发明的化合物更容易制备成非肠道给药制剂，且不用加入助溶剂来提高其水溶性。

[0125] 实验例2：复溶实验研究

[0126] 分别测试本发明的化合物与泊沙康唑磷酸酯药用盐（均以泊沙康唑计300mg）在0.9%氯化钠注射液（50-100ml）中的复溶情况。试验结果见下表所示。

[0127] 化合物在50ml0.9%氯化钠注射液中对比复溶结果

| 化合物 | 复溶结果 | | | |
|--------------------|------|------|------|------|
| | 1 小时 | 2 小时 | 4 小时 | 8 小时 |
| 化合物 1 | 无色澄清 | 无色澄清 | 无色澄清 | 无色澄清 |
| 化合物 1 三胆碱盐 | 无色澄清 | 无色澄清 | 无色澄清 | 无色澄清 |
| 化合物 1 三钠盐 | 无色澄清 | 无色澄清 | 无色澄清 | 无色澄清 |
| 化合物 1 单胆碱盐 | 无色澄清 | 无色澄清 | 无色澄清 | 无色澄清 |
| [0128] 泊沙康唑磷酸酯单胆碱盐 | 微浑浊 | 微浑浊 | 浑浊 | 有沉淀 |
| 化合物 1 双胆碱盐 | 无色澄清 | 无色澄清 | 无色澄清 | 无色澄清 |
| 泊沙康唑磷酸酯双胆碱盐 | 微浑浊 | 微浑浊 | 浑浊 | 有沉淀 |
| 化合物 1 单钠盐 | 无色澄清 | 无色澄清 | 无色澄清 | 无色澄清 |
| 泊沙康唑磷酸酯单钠盐 | 微浑浊 | 微浑浊 | 有沉淀 | 有沉淀 |
| 化合物 1 双钠盐 | 无色澄清 | 无色澄清 | 无色澄清 | 无色澄清 |
| 泊沙康唑磷酸酯双钠盐 | 微浑浊 | 微浑浊 | 有沉淀 | 有沉淀 |

[0129] 化合物在100ml0.9%氯化钠注射液中对比复溶结果

| 化合物 | 复溶结果 | | | |
|--------------------|------|------|------|------|
| | 1 小时 | 2 小时 | 4 小时 | 8 小时 |
| 化合物 1 | 无色澄清 | 无色澄清 | 无色澄清 | 无色澄清 |
| 化合物 1 三胆碱盐 | 无色澄清 | 无色澄清 | 无色澄清 | 无色澄清 |
| 化合物 1 三钠盐 | 无色澄清 | 无色澄清 | 无色澄清 | 无色澄清 |
| 化合物 1 单胆碱盐 | 无色澄清 | 无色澄清 | 无色澄清 | 无色澄清 |
| [0130] 泊沙康唑磷酸酯单胆碱盐 | 微浑浊 | 微浑浊 | 浑浊 | 有沉淀 |
| 化合物 1 双胆碱盐 | 无色澄清 | 无色澄清 | 无色澄清 | 无色澄清 |
| 泊沙康唑磷酸酯双胆碱盐 | 微浑浊 | 微浑浊 | 浑浊 | 有沉淀 |
| 化合物 1 单钠盐 | 无色澄清 | 无色澄清 | 无色澄清 | 无色澄清 |
| 泊沙康唑磷酸酯单钠盐 | 微浑浊 | 微浑浊 | 有沉淀 | 有沉淀 |
| 化合物 1 双钠盐 | 无色澄清 | 无色澄清 | 无色澄清 | 无色澄清 |
| 泊沙康唑磷酸酯双钠盐 | 微浑浊 | 微浑浊 | 有沉淀 | 有沉淀 |

[0131] 从实验结果看:本发明制备的化合物及其药用盐在0.9%氯化钠溶液中放置8小时依然无色澄清,但泊沙康唑磷酸酯单胆碱盐和双胆碱盐在放置1小时后有明显浑浊,放置8小时后有大量沉淀产生,此结果说明本发明的化合物能够很好的在0.9%氯化钠注射液中溶解,不会产生浑浊沉淀,有利临床应用,降低临床用药风险,安全系数跟高。

[0132] 实验例3:本发明化合物静脉给药对抗白色念珠菌阴道炎实验

[0133] 1. 实验材料

[0134] 1.1 实验仪器

[0135] 血细胞计数板、石蜡切片机、SPX-250B生化培养箱、超净化工作台、微量加样器、压力蒸汽灭菌器、光学显微镜、电子分析天平。

[0136] 1.2 实验试剂

[0137] 苯甲酸雌二醇注射液,聚乙二醇,沙堡葡萄糖琼脂固体培养基。

[0138] 1.3 实验动物

[0139] KM小鼠,体重18-22g,雌性,由江苏省实验动物中心提供。

[0140] 1.4 实验菌株

[0141] 标准菌株白色念珠菌购于美国菌种保藏中心,菌株编号为ATCC10231。

[0142] 2. 实验方法

[0143] 上述小鼠称重后随机分组:泊沙康唑组、受试化合物组和溶媒组,每组20只,其中由于泊沙康唑不溶于溶媒(生理盐水),因此试验中泊沙康唑组为市售泊沙康唑注射液(默沙东/先灵葆雅,3PAR80701,下同),即使用碘丁基醚- β -环糊精增溶。感染白色念珠菌前,各组动物连续6天皮下注射给予0.5ml苯甲酸雌二醇(2mg/ml),使其进入发情期,以后每2天注射1次持续至实验完毕。6天后,每只小鼠阴道注入20 μ l浓度为 3.5×10^6 CFU/ml的白色念珠菌

液,造成阴道感染模型。感染后第一天起,各组动物尾静脉给以相应药物20mg/kg(以泊沙康唑计算),给药体积0.1ml/kg,每天一次,连续5天,模型组给予等体积溶剂(生理盐水)。小鼠在感染后的第3、5日,用无菌棉签擦拭小鼠阴道,把棉签浸泡于0.9ml主理盐水中,按10倍递增将该菌液稀释成系列浓度,然后各取100u1各浓度菌液,接种于含0.5%(W/V)氯霉素的沙堡葡萄糖琼脂固体培养基上,观察白色念珠菌在阴道上的真菌载荷量。

[0144] 3. 实验结果

[0145] 白色念珠菌阴道炎(静脉给药):各组小鼠阴道真菌载荷量

| | 组别 | 剂量 (mg/kg) | 时间 (天) | |
|--------|-------------|------------|-----------|-----------|
| | | | 3 | 5 |
| [0146] | 溶媒组 | 20 | 4.08±0.36 | 4.48±0.52 |
| | 泊沙康唑 | 20 | 4.08±0.25 | 3.90±0.22 |
| | 化合物 1 单胆碱盐 | 20 | 4.01±0.27 | 3.81±0.24 |
| | 泊沙康唑磷酸酯单胆碱盐 | 20 | 4.11±0.30 | 3.93±0.41 |

[0147] 注:数据以20只小鼠的CFU值的对数的均值±标准差表示。

[0148] 从实验结果可以看出,静脉给药5天后,本发明的化合物组小鼠真菌载荷量较溶媒组显著降低,优于泊沙康唑组,取得了明显的疗效,且避免了使用β环糊精类辅料进行增溶带来的安全性风险。

[0149] 实施例4:本发明化合物灌胃给药对抗白色念珠菌阴道炎实验

[0150] 1、实验材料

[0151] 1.1实验仪器

[0152] 血细胞计数板、石蜡切片机、SPX-250B生化培养箱、超净化工作台、微量加样器、压力蒸汽灭菌器、光学显微镜、电子分析天平。

[0153] 1.2实验试剂

[0154] 苯甲酸雌二醇注射液、聚乙二醇、沙堡葡萄糖琼脂固体培养基。

[0155] 1.3实验动物

[0156] KM小鼠,体重18-22g,雌性,由江苏省实验动物中心提供。

[0157] 1.4实验菌株

[0158] 标准菌株白色念珠菌购于美国菌种保藏中心,菌株编号为ATCC10231。

[0159] 2. 实验方法

[0160] 上述小鼠称重后随机分组:泊沙康唑(CMC-Na)组、受试化合物组和溶媒组,每组20只。其中由于泊沙康唑不溶于溶媒(生理盐水),因此试验中泊沙康唑组为市售泊沙康唑注射液(默沙东/先灵葆雅,3PAR80701,下同),即使用碘丁基醚-β-环糊精增溶,其他受试药用生理盐水溶解,超声至澄清后用于给药。感染白色念珠菌前,各组动物连续6天皮下注射给予0.5ml苯甲酸雌二醇(2mg/ml),使其进入发情期,以后每2天注射1次持续至实验完毕。6天后,每只小鼠阴道注入20u1浓度为 3.5×10^6 CFU/ml的白色念珠菌液,造成阴道感染模型。感染后第一天起,各组动物灌胃给药相应药物20mg/kg(以泊沙康唑计算),给药体积0.1ml/kg,每天一次,连续15天,模型组给予等体积溶剂(生理盐水)。各组小鼠在感染后的第3、5、7、11及15日,用无菌棉签擦拭小鼠阴道,把棉签浸泡于0.9ml主理盐水中,按10倍递增将该菌液稀释成系列浓度,然后各取100u1各浓度菌液,接种于含0.50%(W/V)氯霉素的沙堡葡

葡萄糖琼脂固体培养基上,观察白色念珠菌在阴道上的真菌载荷量。

[0161] 3.实验结果

[0162] 白色念珠菌阴道炎(灌胃):各组小鼠阴道真菌载荷量

| 组别 | 剂量 (mg/kg) | 时间(天) | | | | |
|-------------|---------------|----------|----------|----------|----------|----------|
| | | 3 | 5 | 7 | 11 | 15 |
| 溶媒组 | 20 | 4.24±0.3 | 4.39±0.4 | 5.23±0.4 | 5.45±0.3 | 5.87±0.6 |
| [0163] 泊沙康唑 | 20 | 4.21±0.3 | 4.29±0.5 | 4.15±0.3 | 3.75±0.3 | 2.95±0.2 |
| 化合物1 单胆碱盐 | 20 | 4.14±0.2 | 4.13±0.3 | 4.02±0.3 | 3.53±0.5 | 2.32±0.3 |
| 泊沙康唑磷酸酯单胆碱盐 | 20 | 4.18±0.3 | 4.34±0.2 | 4.18±0.1 | 3.83±0.4 | 3.05±0.3 |

[0164] 从实验结果可以看出,用药15天后,采用生理盐水溶解的本发明的化合物组小鼠真菌载荷量较溶媒组显著降低,优于泊沙康唑组,取得了明显的疗效。实施例5:本发明化合物静脉给药对抗小鼠系统性真菌感染作用实验

[0165] 1.实验材料

[0166] 1.1实验仪器

[0167] Multiskan MK3型酶标检测仪、隔水式电热恒温培养箱、zo-F160全温振荡培养箱、MJX型智能霉菌培养箱、SW-CT-IF型超净化工作台、紫外分光光度计。

[0168] 1.2实验试剂

[0169] 二甲基亚砜,沙堡葡萄糖琼脂固体培养基(SDA)。

[0170] 1.3实验动物

[0171] ICR小鼠,体重18-22g,雄性,由湖北省实验动物中心提供。

[0172] 1.4实验菌株

[0173] 标准菌株白色念珠菌购于美国菌种保藏中心,菌株编号为ATCC10231。

[0174] 2.实验方法

[0175] 实验前,用接种圈从4℃保存的SDA(沙氏琼脂,下同)培养基上挑取白色念珠菌少量,接种至1ml YPD(Yeast Extract Peptone Dextrose Medium)培养液,于30℃,200rpm振荡培养,活化16h,使真菌处于指数生长期后期。用血细胞计数板计数,以RPMI1640(RoswellPark Memorial Institute 1640,下同)培养液调整菌液浓度至 $1 \times 10^3 \sim 5 \times 10^3$ CFU/ml。挑取SDA平板上的白念珠菌单克隆,接种至1ml YPD(Yeast Extract Peptone Dextrose Medium,下同)培养基中,35℃,200rpm培养16h至指数生长期后期,以1%接种到新鲜培养基中培养6h,1000rpm离心5min,用生理盐水洗涤三次至上清无色,以血球计数板计数,调整细胞浓度至 5×10^6 个/ml,尾静脉注射0.1ml/kg造成小鼠系统性真菌感染。小鼠随机分组,每组10只,分别为泊沙康唑组、受试化合物组和溶媒组,其中由于泊沙康唑不溶于溶媒(生理盐水),因此试验中泊沙康唑组为市售泊沙康唑注射液,即使用碘丁基醚-β-环糊精增溶。在小鼠系统性真菌感染模型建立2h后,各给药组分别尾静脉给药20mg/kg(以泊沙康唑计算),给药体积0.1ml/kg,模型组给以0.9%氯化钠溶液0.1ml/kg,每天一次,连续给药5天。观察小鼠死亡情况,记录存活时间。共观察7天。死亡小鼠全部用乙醇火烧处理。

[0176] 3.实验结果

[0177] 系统性真菌感染(静脉给药):给药后各组小鼠存活率(%)

| 组 | 剂量 (mg/kg) | 小鼠死亡情况 | | | | | 死亡数/总数 (只) | 存活率 (%) |
|------------------|---------------|--------|----|----|----|----|---------------|------------|
| | | 1D | 2D | 3D | 5D | 7D | | |
| 溶媒 | — | 1 | 4 | 4 | 1 | 0 | 10/10 | 0 |
| 泊沙康唑 | 20 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1/10 | 90 |
| [0179] 化合物1 单胆碱盐 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0/10 | 100 |
| 泊沙康唑磷酸酯单胆碱盐 | 20 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1/10 | 90 |

[0180] 从实验数据可以看出,本发明的化合物组小鼠存活率明显高于溶媒组,所列化合物第7天小鼠存活率优于泊沙康唑组,取得了较好的效果。

[0181] 实施例6:本发明化合物灌胃给药对抗小鼠系统性真菌感染作用实验

[0182] 1. 实验材料

[0183] 1.1 实验仪器

[0184] Multiskan MK3型酶标检测仪、隔水式电热恒温培养箱、zo-F160全温振荡培养箱、MJX型智能霉菌培养箱、SW-CT-IF型超净化工作台、紫外分光光度计。

[0185] 1.2 实验试剂

[0186] 二甲基亚砜,沙堡葡萄糖琼脂固体培养基(SDA)。

[0187] 1.3 实验动物

[0188] ICR小鼠,体重18-22g,雄性,由江苏省实验动物中心提供。

[0189] 1.4 实验菌株

[0190] 标准菌株白色念珠菌购于美国菌种保藏中心,菌株编号为ATCC10231。

[0191] 2. 实验方法

[0192] 实验前,用接种圈从4℃保存的SDA培养基上挑取白色念珠菌少量,接种至1mIYPD培养液,于30℃,200rpm振荡培养,活化16h,使真菌处于指数生长期后期。用血细胞计数板计数,以RPMI1640培养液调整菌液浓度至 $1 \times 10^3 \sim 5 \times 10^3$ CFU/ml。挑取SDA平板上的白念珠菌羊克隆,接种至1mIYPD培养基中,35℃,200rpm培养16h至指数生长期后期,以1%接种到新鲜培养基中培养6h,1000rpm离心5min,用生理盐水洗涤三次至上清无色,以血球计数板计数,调整细胞浓度至 5×10^6 个/ml,尾静脉注射0.1ml/kg造成小鼠系统性真菌感染。小鼠随机分组,每组10只,分别为泊沙康唑组、受试化合物组和溶媒组,试验中泊沙康唑组为市售泊沙康唑注射液,即使用碘丁基醚-β-环糊精增溶,其他受试药用生理盐水溶解,超声至澄清后用于给药。在小鼠系统性真菌感染模型建立2h后,各给药组分别灌胃给药20mg/kg(以泊沙康唑计算),给药体积0.1ml/kg,模型组给以0.9%/氯化钠溶液0.1ml/kg,每天一次,连续给药5天。观察小鼠死亡情况,记录存活时间。共观察7天,死亡小鼠全部用乙醇火烧处理。

[0193] 3. 实验结果

[0194] 系统性真菌感染(灌胃):给药后各组小鼠存活率(%)

| 组 | 剂量 (mg/kg) | 小鼠死亡情况 | | | | | 死亡数/总数 (只) | 存活率 (%) |
|-------------|---------------|--------|----|----|----|----|---------------|------------|
| | | 1D | 2D | 3D | 5D | 7D | | |
| 溶媒 | — | 2 | 3 | 5 | 0 | 0 | 10/10 | 0 |
| [0195] 泊沙康唑 | 20 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1/10 | 90 |
| 化合物1单胆碱盐 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0/10 | 100 |
| 泊沙康唑磷酸酯单胆碱盐 | 20 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1/10 | 90 |

[0196] 以实验结果可以看出,本发明的化合物小鼠存活率明显高于溶媒组,所列化合物第7天小鼠存活率优于泊沙康唑组,说明本发明化合物治疗真菌感染优于泊沙康唑。

[0197] 实施例7:体内药代动力学试验

[0198] 试验方法:实验动物为雄性比格犬,体重9.9-11.2kg,购自北京维利通华实验动物技术有限公司。基于比格犬体重随机分成3组,每组3只动物。各组的给药剂量为15mg/kg(以泊沙康唑计算)和途径见下表。

| [0199] 组 | 药物 | 剂量 (mg/kg) | 途径 | 数量 |
|----------|-------------|------------|----|----|
| 组1 | 泊沙康唑 | 15 | 静脉 | 3 |
| 组2 | 化合物1单胆碱盐 | 15 | 静脉 | 3 |
| 组3 | 泊沙康唑磷酸酯单胆碱盐 | 15 | 静脉 | 3 |

[0200] 在药代动力学试验前,将比格犬禁食12小时。然后按照上表中所示经静脉给药单个剂量的化合物。采取前腿静脉注射的方式在给药启定时收集血液2ml,其中对于经静脉给药的动物组,在给药后0、15分钟、30分钟、1小时、2小时、4小时、8小时和24小时收集血液;于2小时、4小时、8小时、12小时、24小时收集尿液。将血样收集于具有EDTA的样品管中,立即在4℃下以4000rpm离心血样5分钟,然后将血浆转移到另一个样品管中,储存于-20摄氏度下。

[0201] 检测各时间点取得的血样和尿样中由测试化合物转化形成的泊沙康唑的浓度,由此对样品进行药代动力学检验,采用的方法和仪器如下:

[0202] HPLC:Shimadzu

[0203] MS:AB API4000Q

[0204] 柱子:Phenomenex Luna 5um C18

[0205] 流动相:100%乙腈(3mM乙酸铵)和100%水(3mM乙酸铵)

[0206] 定量方法:内标法

[0207] 体内药代动力学试验结果如下:

[0208] 表血中泊沙康唑测得量单位:ng

| 组 | 时间 (h) | | | | | | | |
|-----------------|--------|------|-----|-----|-----|-----|----|----|
| | 0 | 0.25 | 0.5 | 1.0 | 2.0 | 4.0 | 8 | 24 |
| 泊沙康唑 | 169 | 98 | 60 | 53 | 49 | 43 | 40 | 35 |
| [0209] 化合物1单胆碱盐 | 13 | 86 | 161 | 103 | 90 | 85 | 87 | 80 |
| 泊沙康唑磷酸酯单胆碱盐 | 10 | 52 | 80 | 132 | 74 | 76 | 64 | 44 |

[0210] 表血中化合物1单胆碱盐与对比化合物测得量单位:ng

| 组 | 时间 (h) | | | | | | | |
|-------------|--------|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | 0 | 0.25 | 0.5 | 1.0 | 2.0 | 4.0 | 8 | 24 |
| [0211] 泊沙康唑 | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 化合物 1 单胆碱盐 | 50 | 35 | 9 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 泊沙康唑磷酸酯单胆碱盐 | 100 | 79 | 34 | 13 | 6 | 0 | 0 | 0 |

[0212] 表尿中泊沙康唑测得量单位:ng

| 组 | 时间 (h) | | | | |
|-------------|--------|---|---|----|----|
| | 2 | 4 | 8 | 12 | 24 |
| [0213] 泊沙康唑 | 4 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 化合物 1 单胆碱盐 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 泊沙康唑磷酸酯单胆碱盐 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |

[0214] 表尿中化合物1单胆碱盐与对比化合物的测得量单位:ng

| 组 | 时间 (h) | | | | |
|-------------|--------|-----|-----|-----|-----|
| | 2 | 4 | 8 | 12 | 24 |
| [0215] 泊沙康唑 | --- | --- | --- | --- | --- |
| 化合物 1 单胆碱盐 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 泊沙康唑磷酸酯单胆碱盐 | 4 | 1 | 0 | 0 | 0 |

[0216] 以实验结果可以看出,本发明的化合物达到稳态的血药浓度优于泊沙康唑和对比化合物,且本发明的化合物代谢速度快约半小时代谢成活性成分,数据表明本发明的化合物优于泊沙康唑和对比化合物。

[0217] 实施例8:本发明化合物对小鼠静脉给药的急性毒性测试

[0218] 为测试本发明化合物和对比化合物的急性毒性,进行下述实验。

[0219] 本发明化合物溶解到水中,对5只ICR小鼠给药(5周大,雄性,体重20克±2克的小鼠)。静脉给药以确定半数致死量(LD₅₀,mg/kg)。使用泊沙康唑作为对照。结果见下表所示。

| [0220] 化合物 | 半数致死量(LD ₅₀ ,mg/kg) |
|------------|--------------------------------|
| 泊沙康唑 | 22.5 |
| 化合物1 | 35 |
| 化合物1单胆碱盐 | 38 |
| 泊沙康唑磷酸酯单钠盐 | 30 |

[0221] 试验结果表明:本发明的化合物的LD50值远高于泊沙康唑,提示本发明的化合物安全性优于泊沙康唑。

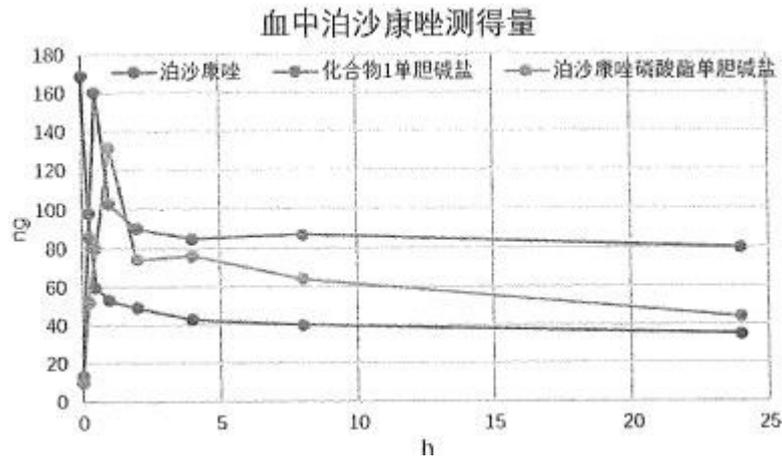


图1

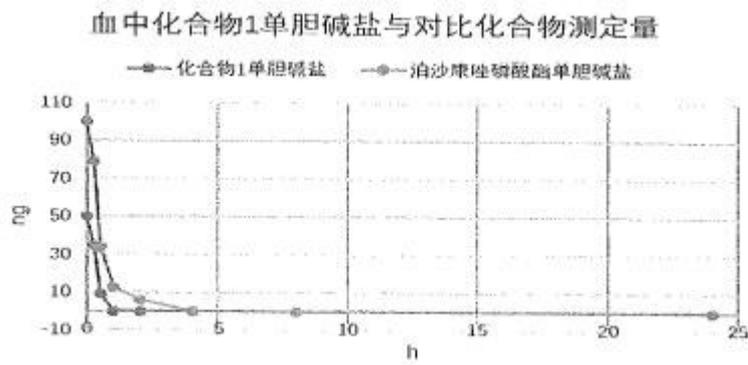


图2

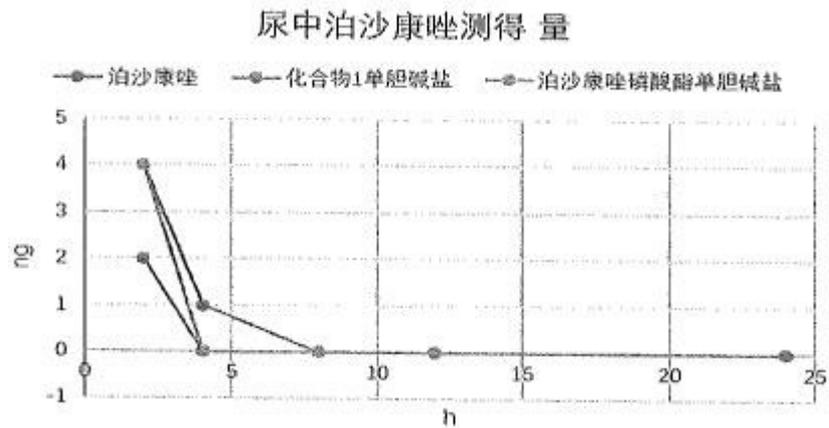


图3

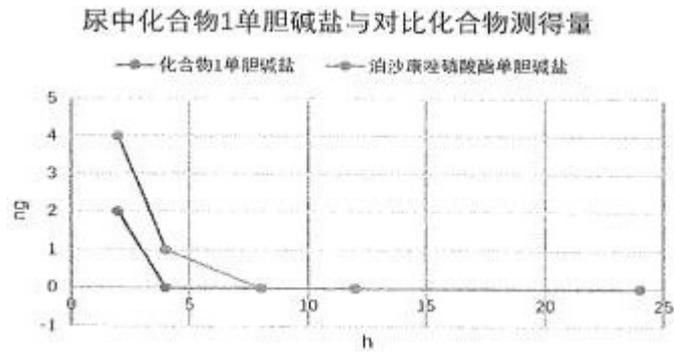


图4