



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 106397442 B

(45)授权公告日 2020.03.27

(21)申请号 201510459549.1

(22)申请日 2015.07.28

(65)同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 106397442 A

(43)申请公布日 2017.02.15

(73)专利权人 国药集团国瑞药业有限公司  
地址 232001 安徽省淮南市国庆西路28号  
专利权人 上海医药工业研究院

(72)发明人 张福利 吴立前 裘鹏程 焦慧荣  
蒋敏 陈梦柯 陈辉 柯彬 王磊

(74)专利代理机构 上海弼兴律师事务所 31283  
代理人 薛琦 余化鹏

(51)Int.Cl.  
C07D 473/34(2006.01)

(56)对比文件

WO 0078779 A2,2000.12.28,  
WO 2007092372 A1,2007.08.16,  
WO 2008143667 A1,2008.11.27,  
CN 101668768 B,2012.08.29,  
CN 102260311 A,2011.11.30,  
CN 104744540 A,2015.07.01,

审查员 赵贞贞

权利要求书2页 说明书6页 附图1页

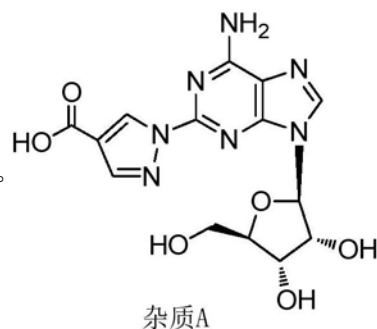
(54)发明名称

一种瑞加德松的纯化方法

(57)摘要

本发明公开了一种瑞加德松的纯化方法。该方法包括下列步骤：在碱水溶液的作用下，将含杂质A的瑞加德松粗品与极性有机溶剂混合，析晶，即可；其中，所述的瑞加德松粗品中杂质A的含量为0.1%~1.0%。本发明的纯化方法能够高效除去瑞加德松粗品中的杂质A，得到的瑞加德松产品中杂质A含量在0.10%以下，最低含量在0.04%以下，进一步提高瑞加德松产品的HPLC纯度，使最后得到瑞加德松产品的HPLC纯度在99.80%以上；产品质量好，完全符合ICH Q3a的

杂质限量标准。



杂质A

1. 一种瑞加德松的纯化方法,其特征在于,其包括下列步骤:在碱水溶液的作用下,将含杂质A的瑞加德松粗品与极性有机溶剂混合,析晶,即可;其中,所述的瑞加德松粗品中杂质A的含量为0.1%~1.0%;所述的碱水溶液的摩尔浓度为0.01mol/L~1mol/L;所述的瑞加德松粗品的HPLC纯度为98.0%~99.8%;

所述的纯化方法,其为下列任一方式:

方式一:将所述的瑞加德松粗品与极性有机溶剂混合后,在50℃~80℃的温度下,加入碱水溶液,析晶,即可;

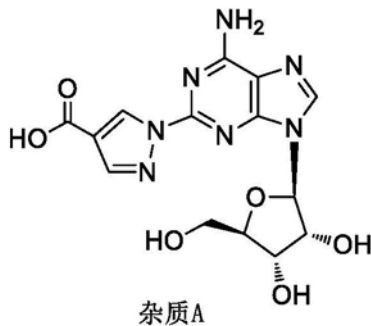
方式二:在50~80℃的温度下,将所述的瑞加德松粗品与溶剂混合,析晶,即可;所述的溶剂为极性有机溶剂与碱水溶液的混合溶液;

所述的极性有机溶剂包括质子性极性有机溶剂和/或非质子性极性有机溶剂;所述的碱水溶液中的碱为无机碱和/或有机碱;

所述的质子性极性有机溶剂为C<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>的醇类溶剂;所述的非质子性极性有机溶剂为酮类溶剂、亚砷类溶剂和酰胺类溶剂中的一种或多种;所述的无机碱为碱金属氢氧化物、碱土金属氢氧化物和碱金属的碳酸盐中的一种或多种;所述的有机碱为C<sub>1</sub>~C<sub>6</sub>的烷基胺;

方式一中,所述的极性有机溶剂与所述的瑞加德松粗品的体积质量为3~20mL/g;所述的摩尔浓度为0.01mol/L~1mol/L的碱水溶液与所述的瑞加德松的体积质量比为3~20mL/g;

方式二中,所述的溶剂为极性有机溶剂与碱水溶液的混合溶液,其中所述的极性有机溶剂与碱水溶液的体积比为1:1~10:1;所述的溶剂与所述的瑞加德松粗品的体积质量比为40mL/g~80mL/g;



2. 如权利要求1所述的纯化方法,其特征在于,所述的瑞加德松粗品中杂质A的含量为0.1%~0.5%。

3. 如权利要求1所述的纯化方法,其特征在于,所述的瑞加德松粗品的HPLC纯度为99.0%~99.8%。

4. 如权利要求3所述的纯化方法,其特征在于,所述的瑞加德松粗品的HPLC纯度为99.5%~99.7%。

5. 如权利要求1所述的纯化方法,其特征在于,方式一或方式二中,所述的析晶的方法为搅拌析晶;所述的析晶的时间为1~3h;和/或,所述的析晶的温度为10~30℃。

6. 如权利要求1所述的纯化方法,其特征在于,所述的C<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>的醇类溶剂为甲醇、乙醇、异丙醇和正丁醇中的一种或多种;当所述的C<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>的醇类溶剂为正丁醇时,所述的正丁醇与其他质子性极性有机溶剂和/或所述的非质子性极性有机溶剂混合使用;所述的其他质子

性极性有机溶剂为甲醇、乙醇和异丙醇中的一种或多种；所述的酮类溶剂为丙酮；所述的亚砷类溶剂为二甲亚砷；所述的酰胺类溶剂为N,N-二甲基甲酰胺和/或N,N-二甲基乙酰胺；所述的碱金属氢氧化物为氢氧化钠和/或氢氧化钾；所述的碱土金属氢氧化物为氢氧化钙；所述的碱金属的碳酸盐为碳酸钠和/或碳酸钾；和/或，所述的C<sub>1</sub>~C<sub>6</sub>的烷基胺为甲胺、二甲胺、二乙胺和三乙胺中的一种或多种。

7. 如权利要求1所述的纯化方法，其特征在于，方式一中，所述的加入的方式为滴加；和/或，所述的滴加的速度为控制反应体系温度在50~80℃之间。

8. 如权利要求1所述的纯化方法，其特征在于，方式一或方式二中，所述的析晶结束后，还进一步包括下列步骤：将析晶结束后的体系，过滤，依次用水和C<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>的醇类溶剂洗涤滤饼，干燥，即得瑞加德松产品。

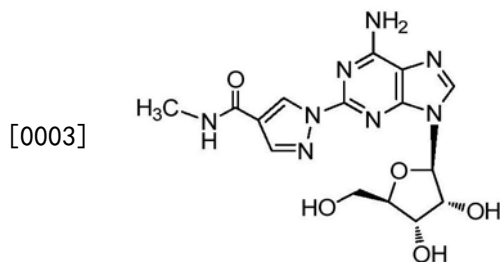
## 一种瑞加德松的纯化方法

## 技术领域

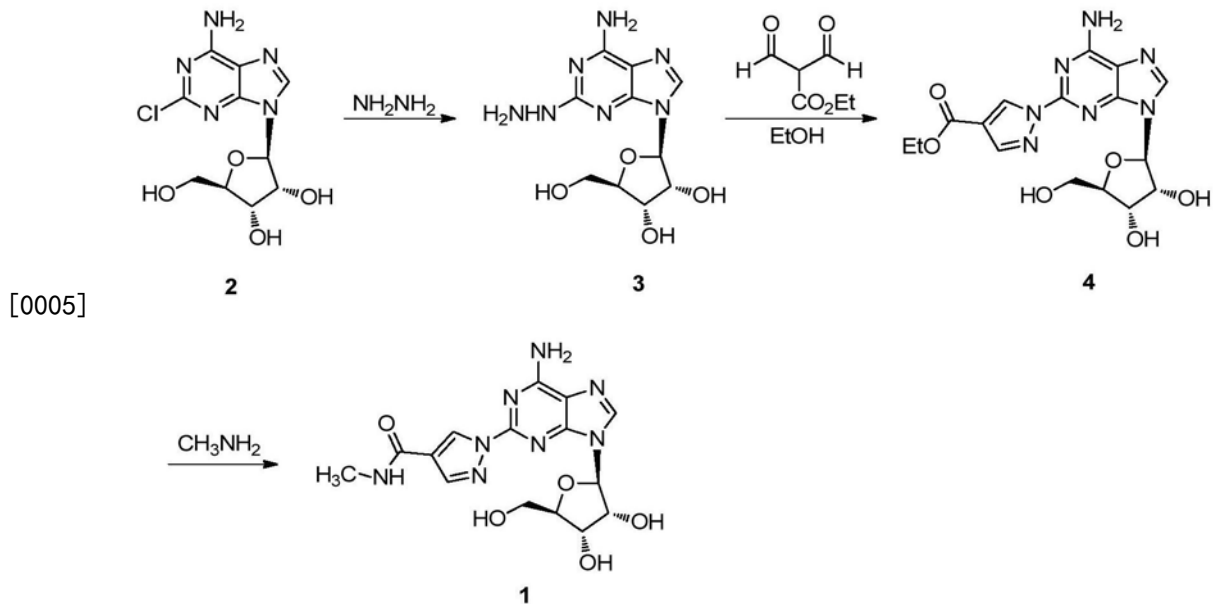
[0001] 本发明提供了一种瑞加德松的纯化方法。

## 背景技术

[0002] 瑞加德松,英文通用名Regadenoson,化学名1-(6-氨基-9-β-D-呋喃核糖基-9H-嘌呤-2-基)-N-甲基-1H-吡唑-4-甲酰胺,分子式 $C_{15}H_{18}N_8O_5$ ,分子量390.35,CAS登记号875148-45-1,是由美国CV Therapeutics和Astellas Pharma公司共同研发的腺苷 $A_{2A}$ 受体激动剂,通过激活腺苷 $A_{2A}$ 受体而使冠状动脉血管扩张,增加冠状动脉血流量以辅助诊断冠状动脉疾病,于2008年4月在美国上市,用于放射性核素心肌灌注显像,其结构如下所示:



[0004] 专利CN102260311A报道了瑞加德松的合成方法为:以2-氯腺苷2为起始原料,经水合肼取代制得2-肼基腺苷3,然后与2-甲酰基3-氧代丙酸乙酯缩合闭环得化合物4,化合物4经甲胺水溶液胺解得瑞加德松1,具体合成路线如下所示:



[0006] 该专利中还公开了一种瑞加德松的纯化方法,具体为:将瑞加德松粗品溶解于二甲亚砜中,向该溶液中加入纯水,过滤由此形成的浆状物,然后先后用水与乙醇洗涤滤饼,最后干燥得瑞加德松产品。

[0007] 专利CN101668768A中公开了一种瑞加德松的制备方法和纯化方法,其粗品的制备方法的合成路线见上述反应方程式,该专利中还公开了一种瑞加德松的纯化方法,具体为:

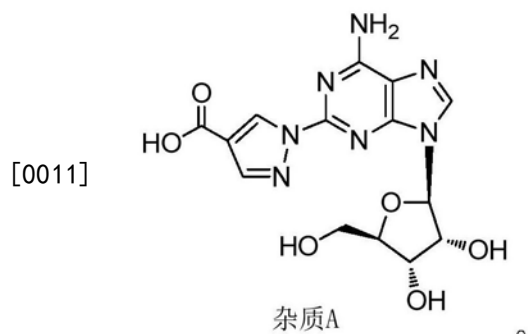
先将瑞加德松粗品溶解于二甲亚砜中,得一溶液,维持温度为78~88℃,向纯水中加入该溶液,由此形成浆料,过滤浆状物,然后先后用水与乙醇洗涤滤饼,最后干燥得瑞加德松产品。

[0008] 然而,本申请发明人重复了上述CN102260311A和CN101668768A合成方法以及纯化方法,发现制得的瑞加德松粗品中都含有一个杂质,其含量>0.1%,使最后制得的瑞加德松产品不符合ICH Q3a的杂质限量标准(注:该标准要求药物的单个杂质含量低于0.1%),不能满足药物质量要求。因此,本领域亟需一种瑞加德松的纯化方法,以解决上述技术难题。

### 发明内容

[0009] 本发明所要解决的技术问题是为了克服现有的主要杂质为杂质A的瑞加德松粗品的纯化方法得到的瑞加德松产品杂质A含量高,质量差,无法获得杂质A含量<0.1%,符合药物质量要求的瑞加德松产品等缺陷,而提供了一种瑞加德松的纯化方法。本发明的纯化方法能够高效除去瑞加德松粗品中的杂质A,得到的瑞加德松产品中杂质A含量在0.10%以下,最低含量在0.04%以下,进一步提高瑞加德松产品的HPLC纯度,使最后得到的瑞加德松产品的HPLC纯度在99.80%以上;产品质量好,完全符合ICH Q3a的杂质限量标准。

[0010] 发明人对上述CN102260311A和CN101668768A专利公开的方法中制得的瑞加德松产品中的杂质进行分离、纯化和结构鉴定,确认杂质结构式如下所示,命名为杂质A:



[0012] 经过发明人深入研究和分析,该杂质A产生的原因主要在于:在上述两种制备瑞加德松的方法中,化合物4在甲胺水溶液中胺解的同时发生了水解的副反应,从而产生了性质与瑞加德松产品性质极为相近的杂质A。

[0013] 发明人按照上述两种合成路线制备得到瑞加德松粗品HPLC纯度99.58%,杂质A含量0.35%;重复上述两种纯化方法,得到的瑞加德松产品的HPLC纯度为99.60%,杂质A含量0.33%;可见,以上两种纯化方法难以将杂质A除去。并且,上述两种合成方法制得的瑞加德松产品中的主要杂质为杂质A,而该杂质A的存在对瑞加德松产品的质量影响很大,故有效的控制和除去该杂质是得到符合药品质量要求的瑞加德松产品的关键。此外,该杂质的存在还可能引起严重副反应,因而,本领域迫切需要一种有效除去瑞加德松产品中的杂质A的方法,以解决上述技术难题。

[0014] 本发明主要是通过以下技术方案解决上述技术难题的。

[0015] 本发明提供了一种瑞加德松的纯化方法,其包括下列步骤:在碱水溶液的作用下,将含杂质A的瑞加德松粗品与极性有机溶剂混合,析晶,即可;其中,所述的瑞加德松粗品中杂质A的含量为0.1%~1.0%。

[0016] 所述的纯化方法中,所述的瑞加德松粗品的HPLC纯度可不作具体限定,只要所述

的瑞加德松粗品中的主要杂质为杂质A,即可,较佳地所述的瑞加德松粗品的HPLC纯度为98.0%~99.8%,更佳地为99.0%~99.8%,最佳地为99.5%~99.7%。所述的杂质A的含量较佳地为0.1%~0.5%。

[0017] 所述的纯化方法,较佳地,其为下列任一方式:

[0018] 方式一:将所述的瑞加德松粗品与极性有机溶剂混合后,在50℃~80℃(优选65℃~80℃)的温度下,加入碱水溶液,析晶,即可;

[0019] 方式二:在50~80℃(优选65℃~80℃)的温度下,将所述的瑞加德松粗品与溶剂混合,析晶,即可;所述的溶剂为极性有机溶剂与碱水溶液的混合溶液。

[0020] 本发明中,所述的极性有机溶剂较佳地包括质子性极性有机溶剂和/或非质子性极性有机溶剂。所述的质子性极性有机溶剂可为本领域常规的质子性极性有机溶剂,较佳地为C<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>的醇类溶剂。所述的C<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>的醇类溶剂较佳地为甲醇、乙醇、异丙醇和正丁醇中的一种或多种,更佳地为甲醇、乙醇和异丙醇中的一种或多种。当所述的C<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>的醇类溶剂为正丁醇时,一般需要与本发明其他质子性极性有机溶剂和/或所述的非质子性极性有机溶剂混合使用。所述的其他质子性极性有机溶剂较佳地为甲醇、乙醇和异丙醇中的一种或多种。所述的非质子性极性有机溶剂可为本领域常规的非质子性极性有机溶剂,较佳地为酮类溶剂、亚砷类溶剂和酰胺类溶剂中的一种或多种。所述的酮类溶剂较佳地为丙酮。所述的亚砷类溶剂较佳地为二甲亚砷。所述的酰胺类溶剂较佳地为N,N-二甲基甲酰胺和/或N,N-二甲基乙酰胺。

[0021] 本发明中,所述的碱水溶液中的碱较佳地为无机碱和/或有机碱。所述的无机碱可为本领域常规的无机碱,较佳地为碱金属氢氧化物、碱土金属氢氧化物和碱金属的碳酸盐中的一种或多种,更佳地为碱金属氢氧化物和/或碱金属的碳酸盐。所述的碱金属氢氧化物较佳地为氢氧化钠和/或氢氧化钾。所述的碱土金属氢氧化物较佳地为氢氧化钙。所述的碱金属的碳酸盐较佳地为碳酸钠和/或碳酸钾。所述的有机碱可为本领域常规的有机碱,较佳地为C<sub>1</sub>~C<sub>6</sub>的烷基胺。所述的C<sub>1</sub>~C<sub>6</sub>的烷基胺较佳地为甲胺、二甲胺、二乙胺和三乙胺中的一种或多种。所述的碱水溶液的摩尔浓度较佳地为0.01mol/L~1mol/L。

[0022] 方式一中,所述的极性有机溶剂与所述的瑞加德松粗品的体积质量比较佳地为3~20mL/g,更佳地为6~10mL/g。所述的摩尔浓度为0.01mol/L~1mol/L的碱水溶液与所述的瑞加德松的体积质量比较佳地为3~20mL/g,更佳地为3~15mL/g。所述的加入的方式较佳地为滴加。所述的滴加的速度较佳地控制反应体系温度在50~80℃(优选65℃~80℃)之间,一般为1mL/min~10mL/min。

[0023] 方式二中,所述的溶剂为极性有机溶剂与碱水溶液的混合溶液,其中,所述的极性有机溶剂与碱水溶液的体积比较佳地为1:1~10:1,更佳地为1:1~3:1。所述的溶剂与所述的瑞加德松粗品的体积质量比较佳地为40mL/g~80mL/g。

[0024] 方式一或方式二中,所述的析晶的方法较佳地为搅拌析晶。所述的析晶的时间较佳地为1~3h。所述的析晶的温度较佳地为室温(10~30℃)。

[0025] 方式一或方式二中,所述的析晶结束后,较佳地还可进一步包括下列步骤:将析晶结束后的体系,过滤,依次用水和C<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>的醇类溶剂洗涤滤饼,干燥,即得瑞加德松产品。其中,所述的C<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>的醇类溶剂较佳地为甲醇和/或乙醇。所述的水或所述的C<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>的醇类溶剂,与瑞加德松粗品的体积质量比较佳地为5mL/g~10mL/g。所述的干燥的方法可为本领域

常规的方法, 较佳地为真空干燥。所述的真空干燥的温度较佳地为45~55℃。

[0026] 本发明中, 所述的瑞加德松粗品可按照本领域常规的瑞加德松粗品的制备方法制得, 较佳地, 按照专利CN102260311或者专利CN101668768实施例2~4记载的方法制备得到, 其HPLC纯度一般在98%~99.8%之间; 杂质A的含量一般在0.1%~1.0%之间。

[0027] 在不违背本领域常识的基础上, 上述各优选条件, 可任意组合, 即得本发明各较佳实例。

[0028] 本发明所用试剂和原料均市售可得。

[0029] 本发明的积极进步效果在于:

[0030] 本发明的纯化方法能够高效除去瑞加德松粗品中的杂质A, 得到的瑞加德松产品中杂质A含量在0.10%以下, 最低含量在0.04%以下, 进一步提高瑞加德松产品的HPLC纯度, 使最后得到的瑞加德松产品的HPLC纯度在99.80%以上; 产品质量好, 完全符合ICH Q3a的杂质限量标准。

## 附图说明

[0031] 图1为实施例1中瑞加德松粗品的HPLC图谱。

[0032] 图2为实施例1纯化后的瑞加德松产品HPLC图谱。

## 具体实施方式

[0033] 下面通过实施例的方式进一步说明本发明, 但并不因此将本发明限制在所述的实施例范围之中。下列实施例中未注明具体条件的实验方法, 按照常规方法和条件, 或按照商品说明书选择。

[0034] 下述实施例中的瑞加德松粗品, 按照专利CN102260311或者专利CN101668768实施例2~4记载的方法制备得到, 其HPLC纯度98%~99.8%; 杂质A的含量为0.1%~1.0%。

[0035] 下述实施例中瑞加德松粗品和瑞加德松产品的HPLC测试的具体条件如下:

[0036] 采用Thermo UltiMate 3000高效液相色谱仪; 色谱柱Waters X-BridgeC18柱(4.6mm×150mm, 3.5μm); 流动相20mmol/L磷酸二氢钾溶液(pH 6.8) (A), 乙腈(B); 梯度洗脱(0→5min, A 95%; 5→20min, A 95%→85%; 20→30min, A 85%→40%; 30→38min, A 40%; 38→38.1min, A 40%→95%; 38.1→45min, A 95%); 检测波长245nm; 流速1.0ml/min; 柱温25℃

[0037] 实施例1

[0038] 取瑞加德松粗品(HPLC纯度99.58%, 杂质A含量0.35%) 1g, 加6mLDMSO溶解, 加热至约80℃, 滴加浓度为0.1mol/L的氢氧化钠水溶液9mL, 滴加过程逐渐析出白色固体, 滴加完毕自然冷却至室温, 再搅拌2h, 过滤, 依次用纯水10mL和乙醇10mL洗涤滤饼, 50℃真空干燥得瑞加德松产品0.97g。HPLC结果显示, 瑞加德松含量为99.89%, 杂质A含量为0.05%。

[0039] 实施例2

[0040] 取瑞加德松粗品(HPLC纯度98.0%, 杂质A含量1.0%) 1g, 加20mLDMSO溶解, 加热至约70℃, 滴加浓度为0.5mol/L的碳酸钾水溶液3mL, 滴加过程逐渐析出固体, 滴加完毕自然冷却至室温, 再搅拌3h, 过滤, 依次用纯水10mL和乙醇10mL洗涤滤饼, 55℃真空干燥得瑞加德松产品0.85g。HPLC结果显示, 瑞加德松含量为99.87%, 杂质A含量为0.03%。

[0041] 实施例3

[0042] 取瑞加德松粗品 (HPLC纯度99.50%, 杂质A含量0.45%) 1g, 加10mLDMF溶解, 加热至约70℃, 滴加浓度为0.1mol/L的碳酸钠水溶液6mL, 滴加过程逐渐析出固体, 滴加完毕自然冷却至室温, 再搅拌2h, 过滤, 依次用纯水10mL和乙醇10mL洗涤滤饼, 50℃真空干燥得瑞加德松产品0.95g。HPLC结果显示, 瑞加德松含量为99.89%, 杂质A含量为0.04%。

[0043] 实施例4

[0044] 取瑞加德松粗品 (HPLC纯度99.58%, 杂质A含量0.35%) 2g, 加0.01mol/L的氢氧化钾水溶液/甲醇混合溶剂80mL (体积比为10/1), 加热至约75℃固体完全溶解后自然冷却至室温, 再搅拌1h, 过滤, 依次用纯水10mL和乙醇10mL洗涤滤饼, 50℃真空干燥得瑞加德松产品1.86g。HPLC结果显示, 瑞加德松含量为99.88%, 杂质A含量为0.05%。

[0045] 实施例5

[0046] 取瑞加德松粗品 (HPLC纯度98.0%, 杂质A含量1.0%) 2g, 加1mol/L的二甲胺水溶液/正丁醇混合溶剂80mL (体积比为1/1), 加热至约50℃固体完全溶解后自然冷却至室温, 再搅拌2h, 过滤, 用纯水10mL和乙醇10mL洗涤滤饼, 45℃真空干燥得瑞加德松产品1.81g。HPLC结果显示, 瑞加德松含量为99.82%, 杂质A含量为0.09%。

[0047] 实施例6

[0048] 取瑞加德松粗品 (HPLC纯度99.80%, 杂质A含量0.16%) 0.8g, 加1mol/L的三乙胺水溶液/丙酮混合溶剂64mL (体积比为1/10), 加热至约68℃固体完全溶解后自然冷却至室温, 再搅拌1h, 过滤, 用纯水8mL和乙醇8mL洗涤滤饼, 50℃真空干燥得瑞加德松产品0.65g。HPLC结果显示, 瑞加德松含量为99.91%, 杂质A含量为0.06%。

[0049] 实施例7

[0050] 取瑞加德松粗品 (HPLC纯度98.0%, 杂质A含量1.0%) 1g, 加3mL N,N-二甲基乙酰胺, 加热至约68℃, 滴加浓度为0.01mol/L的氢氧化钙水溶液15mL, 滴加过程逐渐析出固体, 滴加完毕自然冷却至室温, 再搅拌3h, 过滤, 依次用纯水10mL和乙醇10mL洗涤滤饼, 50℃真空干燥得瑞加德松产品0.85g。HPLC结果显示, 瑞加德松含量为99.87%, 杂质A含量为0.04%。

[0051] 图1和表1所表示的为按照专利CN102260311A实施例2记载的方法制备得到的瑞加德松粗品的HPLC图谱及其保留时间、峰高、峰面积、相对面积等信息。其中1、2和3对应瑞加德松产品中各组分的保留时间、峰高、峰面积、相对面积等信息。1表示杂质A, 2表示瑞加德松, 3表示其他杂质。

[0052] 图2和表2所表示的为实施例1制得的瑞加德松产品的HPLC谱图的保留时间、峰高、峰面积、相对面积等信息。其中, 1、2和3对应瑞加德松产品中各组分的保留时间、峰高、峰面积、相对面积等信息。1表示杂质A, 2表示瑞加德松, 3表示其他杂质。

[0053] 表1



	保留时间	峰名称	峰高	峰面积	相对面积	样品量	类型
	min	n.a.	mAU	mAU*min	%	n.a.	
[0054]	1	/	2.073	0.632	0.35	/	BMB*
	2	/	1197.877	177.836	99.58	/	BMB*

[0055]	3	/	0.724.170	0.144	0.06	/	M*
	总和	/	1200.673	178.582	100.00	0.000	/

[0056] 表2

	保留时间	峰名称	峰高	峰面积	相对面积	样品量	类型
	min	n.a.	mAU	mAU*min	%	n.a.	
[0057]	1	/	0.391	0.125	0.05	/	BMB*
	2	/	1197.707	183.617	99.89	/	BMB*
	3	/	0.722	0.115	0.06	/	/
	总和	/	1363.458	183.857	100.00	0.000	/

[0058] 对比实施例1

[0059] 取瑞加德松粗品 (HPLC纯度99.58%, 杂质A含量0.35%) 1g, 加6mLDMSO溶解, 加热至约80℃, 滴加纯水9mL, 滴加过程逐渐析出白色固体, 滴加完毕自然冷却至室温, 再搅拌2h, 过滤, 依次用纯水10mL和乙醇10mL洗涤滤饼, 50℃真空干燥得瑞加德松产品0.97g。HPLC结果显示, 瑞加德松含量为99.62%, 杂质A含量为0.33%。

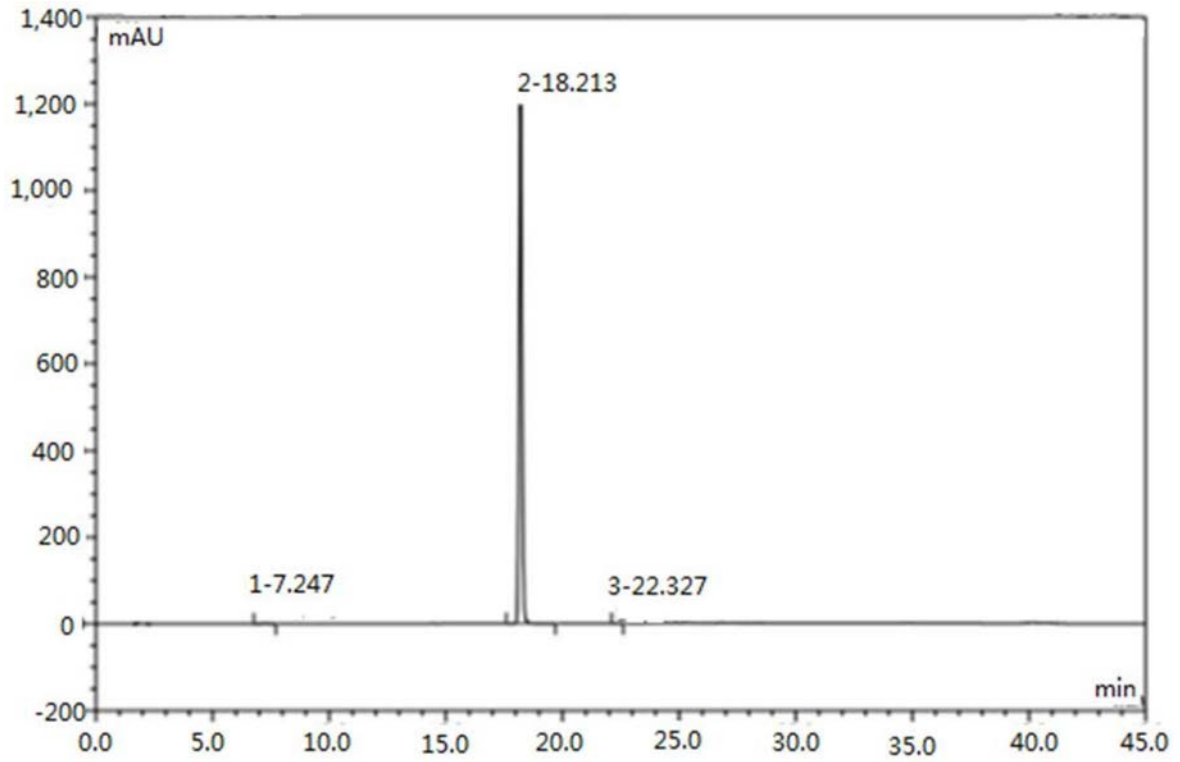


图1

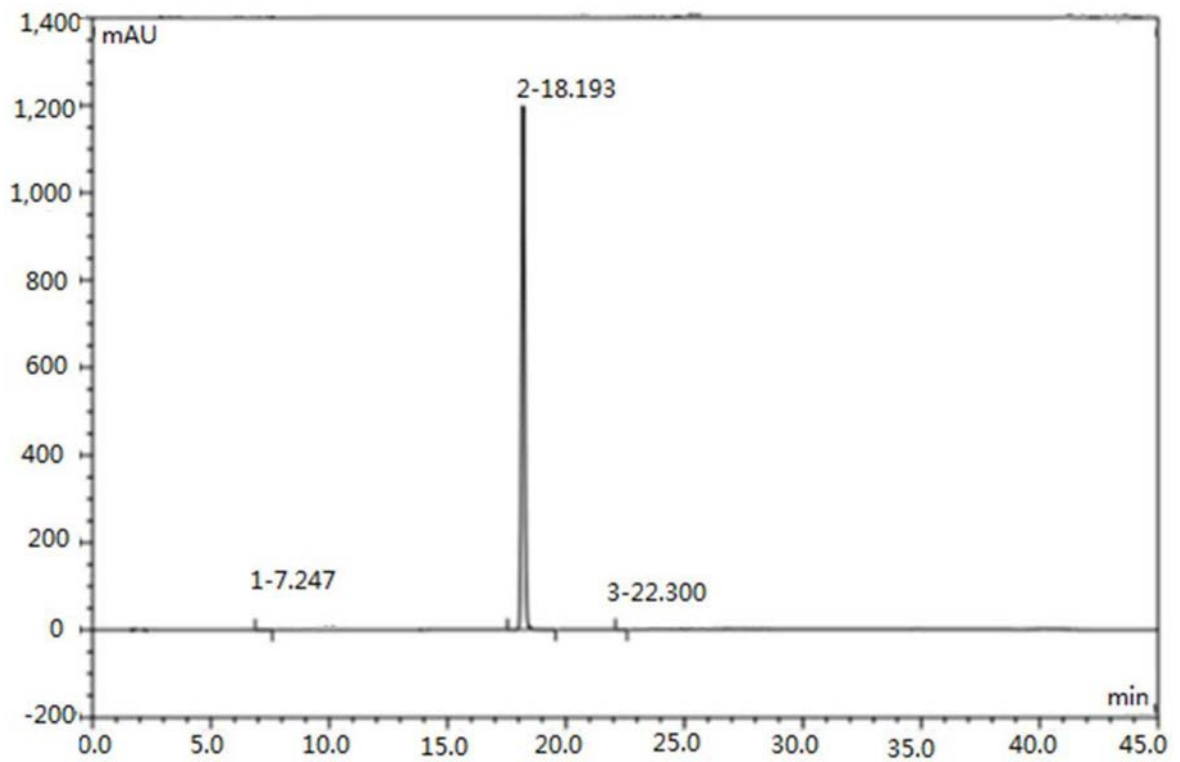


图2