



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104945364 A

(43) 申请公布日 2015. 09. 30

(21) 申请号 201510419782. 7

(22) 申请日 2015. 07. 16

(66) 本国优先权数据

201410472018. 1 2014. 09. 16 CN

(71) 申请人 北京盛诺基医药科技有限公司

地址 100086 北京市海淀区上地开拓路 5 号
A205

(72) 发明人 孟坤 张波 汤城 袁贤达

(51) Int. Cl.

C07D 311/30(2006. 01)

A61P 35/00(2006. 01)

A61P 7/06(2006. 01)

A61P 35/02(2006. 01)

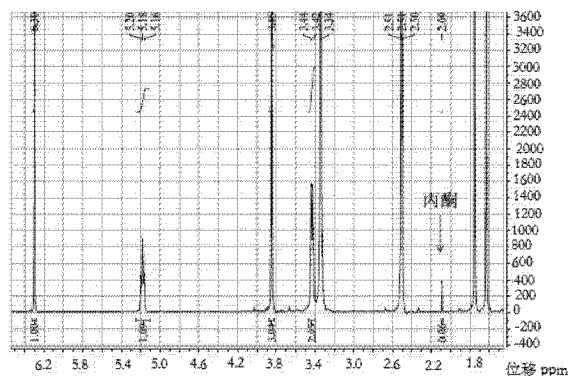
权利要求书1页 说明书5页 附图5页

(54) 发明名称

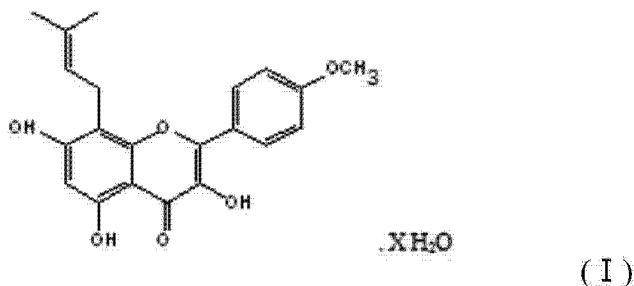
一种阿可拉定化合物以及该化合物的用途

(57) 摘要

本发明提供了一种阿可拉定化合物, 该化合物是阿可拉定的水合物, 结晶制备速度快, 结晶工艺简单, 结晶过程的收率可以达到 95%。因此, 为阿可拉定的进一步利用提供了广阔的前景。



1. 一种如下式 (I) 所示的阿可拉定化合物,



其特征在于, X 为 0.5 或 1。

2. 根据权利要求 1 所述的化合物, 当 $X = 0.5$ 时, 所述化合物为阿可拉定半水合物, 其晶型使用 Cu-K α 射线测量得到的 X 射线粉末衍射在 2θ 为 $4.9^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $5.9^\circ \pm 0.2^\circ$ 和 $25.3^\circ \pm 0.2^\circ$ 处出峰。

3. 根据权利要求 2 所述的化合物, 其特征在于, 该化合物的晶型还在 $9.2^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $9.9^\circ \pm 0.2^\circ$ 和 $12.4^\circ \pm 0.2^\circ$ 处出峰。

4. 根据权利要求 2 所述的化合物, 其特征在于, 该化合物的晶型还在 $15.4^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $16.6^\circ \pm 0.2^\circ$ 和 $22.7^\circ \pm 0.2^\circ$ 处出峰。

5. 根据权利要求 2 所述的化合物, 其特征在于, 该化合物的晶型还在 $18.2^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $18.8^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $20.1^\circ \pm 0.2^\circ$ 和 $21.3^\circ \pm 0.2^\circ$ 处出峰。

6. 根据权利要求 1 所述的化合物, 当 $X = 1$ 时, 所述化合物为阿可拉定一水合物, 其晶型使用 Cu-K α 射线测量得到的 X 射线粉末衍射在 2θ 为 $5.1^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $6.1^\circ \pm 0.2^\circ$ 和 $10.1^\circ \pm 0.2^\circ$ 处出峰。

7. 根据权利要求 6 所述的化合物, 该化合物的晶型还在 $7.8^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $9.4^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $12.6^\circ \pm 0.2^\circ$ 和 $16.8^\circ \pm 0.2^\circ$ 处出峰。

8. 根据权利要求 6 或 7 所述的化合物, 该化合物的晶型还在 $15.6^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $20.2^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $21.5^\circ \pm 0.2^\circ$ 和 $25.5^\circ \pm 0.2^\circ$ 处出峰。

9. 权利要求 1、2 和 6 所述的化合物在制备用于抗细胞异常增殖有关疾病的药物中的用途。

10. 根据权利要求 9 所述的用途, 其特征在于, 所述的细胞异常增殖有关的疾病为恶性肿瘤或再生性障碍性贫血, 优选地, 所述的恶性肿瘤包括乳腺癌、宫颈癌、卵巢癌、结肠癌、子宫内膜癌、肝癌、肺癌、骨髓癌、前列腺癌或胃癌。

一种阿可拉定化合物以及该化合物的用途

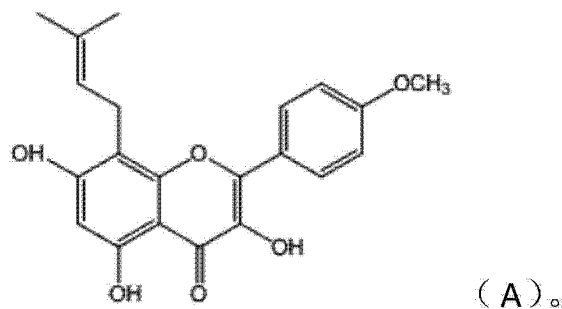
技术领域

[0001] 本发明涉及一种阿可拉定化合物、该化合物的用途,属于医药领域。

背景技术

[0002] 阿可拉定,又名淫羊藿素、淫羊藿苷元,是从中药材淫羊藿中提取分离得到的主要活性成分淫羊藿提取物经酶转化得到的新的有效单体,其结构式如下式(A)所示:

[0003]



[0004] 在《中国实验方剂学》2012年第18卷14期中公开了“淫羊藿素对雌激素依赖性乳腺癌MCF-7细胞作用的影响”,并且通过研究揭示了淫羊藿素与雌二醇联合作用具有抑制E2诱导的人乳腺癌MCF-7细胞的增殖作用。

[0005] 在《中国比较医学杂志》2011年第6期公开了“淫羊藿素体外抗淋巴瘤细胞增殖效应”的文章,并且该文章揭示了淫羊藿素对肿瘤细胞增殖的作用。

[0006] 在专利号为200710099025.1的中国专利中公开了淫羊藿素的制备方法,该方法通过 β -葡萄糖苷酶对淫羊藿苷进行酶解反应,酶解反应后通过丙酮-水进行重结晶得到淫羊藿素的纯品。

[0007] 在申请号为201410185323.2的中国专利申请中公开了一种阿可拉定化合物的晶型,该晶型是一种无溶剂晶型。

[0008] 然而本申请发明人通过多次试验发现,阿可拉定还存在着性质稳定的含水化合物,因此,为阿可拉定的进一步利用提供了广阔的前景。

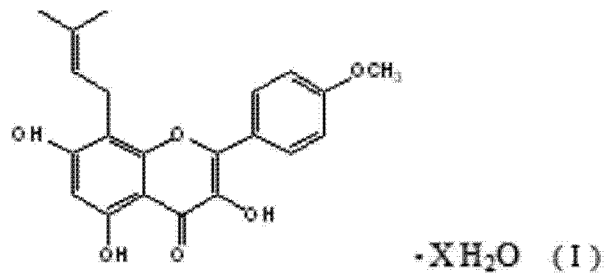
发明内容

[0009] 本发明的一个目的是提供一种阿可拉定化合物。

[0010] 本发明的另一个目的是提供本发明的阿可拉定化合物在制备用于治疗细胞异常增殖有关疾病的药物中的用途。

[0011] 本发明一方面提供了一种阿可拉定化合物,

[0012]



[0013] 其中, X 为 0.5 或 1。

[0014] 优选地, 当 $X = 0.5$ 时, 所述化合物为阿可拉定半水合物, 其晶型使用 Cu-K α 射线测量得到的 X 射线粉末衍射在 2θ 为 $4.9^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $5.9^\circ \pm 0.2^\circ$ 和 $25.3^\circ \pm 0.2^\circ$ 处出峰。

[0015] 优选地, 所述化合物的晶型还在 $9.2^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $9.9^\circ \pm 0.2^\circ$ 和 $12.4^\circ \pm 0.2^\circ$ 处出峰。

[0016] 优选地, 所述化合物的晶型还在 $15.4^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $16.6^\circ \pm 0.2^\circ$ 和 $22.7^\circ \pm 0.2^\circ$ 处出峰。

[0017] 优选地, 所述化合物的晶型还在 $18.2^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $18.8^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $20.1^\circ \pm 0.2^\circ$ 和 $21.3^\circ \pm 0.2^\circ$ 处出峰。

[0018] 优选地, 当 $X = 1$ 时, 所述化合物为阿可拉定一水合物, 其晶型使用 Cu-K α 射线测量得到的 X 射线粉末衍射在 2θ 为 $5.1^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $6.1^\circ \pm 0.2^\circ$ 和 $10.1^\circ \pm 0.2^\circ$ 处出峰。

[0019] 优选地, 该化合物的晶型还在 $7.8^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $9.4^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $12.6^\circ \pm 0.2^\circ$ 和 $16.8^\circ \pm 0.2^\circ$ 处出峰。

[0020] 优选地, 该化合物的晶型还在 $15.6^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $20.2^\circ \pm 0.2^\circ$ 、 $21.5^\circ \pm 0.2^\circ$ 和 $25.5^\circ \pm 0.2^\circ$ 处出峰。

[0021] 本发明再一方面还提供了本发明化合物在制备用于抗细胞异常增殖有关疾病的药物中的用途。

[0022] 优选地, 所述的细胞异常增殖有关的疾病为恶性肿瘤或再生性障碍性贫血。

[0023] 优选地, 所述的恶性肿瘤包括乳腺癌、宫颈癌、卵巢癌、结肠癌、子宫内膜癌、肝癌、肺癌、骨髓癌、前列腺癌或胃癌。

[0024] 本发明的有益效果在于: 本发明中的阿可拉定化合物是阿可拉定的水合物, 水合物晶型与无溶剂晶型相比, 本发明的水合物晶型制备速度快, 结晶过程仅需 10 分钟。而无溶剂晶型结晶速率慢, 一般需要 24 小时以上。因此, 无溶剂晶型化合物的生产效率远低于本发明的含水晶型化合物。

[0025] 本发明的水合物晶型制备过程操作更简单, 操作过程无需严格的温度控制。仅需在搅拌下, 将阿可拉定的丙酮溶液快速加入水中形成半水合物晶型; 或将水快速加入阿可拉定的丙酮溶液中形成一水合物晶型。而无溶剂晶型的制备过程中, 需要在加热回流下, 首先将阿可拉定溶解于丙酮和水的复合溶剂中, 然后严格控制冷却温度才能获得性状较好的晶型。

[0026] 此外, 阿可拉定水合物晶型在制备过程的收率为 90–95%, 而无溶剂晶型化合物制备过程的收率为 75–85%。在丙酮用量相同的条件下, 水合晶型在制备过程中, 纯化水的体积用量为丙酮的 4–20 倍; 而无溶剂晶型在制备过程中, 纯化水的体积用量为丙酮的 0.5–2 倍。在 40°C 条件下, 由于阿可拉定可以溶解在丙酮中, 不溶于水, 因此对于水和丙酮混合溶液组成的结晶母液而言, 水合晶型化合物在结晶母液的残留小于无溶剂晶型化合物。因此, 水合晶型的收率高于无溶剂晶型。

[0027] 本发明的阿可拉定水合物晶型与阿可拉定无水晶型一样，具有很好的保存稳定性。

[0028] 此外，本发明的阿可拉定水合晶型的光稳定性强于无水晶型的光稳定性，因此，使用阿可拉定含水晶型将减少光照对药品贮藏的影响，延长了药品的有效期。

附图说明

[0029] 图 1 表示实施例 1 方法制备的阿可拉定半水合物晶型的核磁共振谱图。

[0030] 图 2 表示实施例 1 方法制备的阿可拉定无水晶型的核磁共振谱图。

[0031] 图 3 表示实施例 1 方法制备的阿可拉定半水合物晶体的热重分析和示差扫描热分析曲线。

[0032] 图 4 表示实施例 1 阿可拉定半水合物晶体的 X 射线粉末衍射图谱。

[0033] 图 5 表示本发明阿可拉定一水合物晶体的热重分析曲线。

[0034] 图 6 表示本发明阿可拉定一水合物晶体的 X 射线粉末衍射图谱。

[0035] 图 7 表示阿可拉定无水晶型经光照 5 天后的 HPLC 图谱。

[0036] 图 8 表示阿可拉定的半水晶型经光照 5 天后的 HPLC 图谱。

[0037] 图 9 表示阿可拉定的一水合晶型经光照 5 天后的 HPLC 图谱。

具体实施方式

[0038] 除非另外说明，本文中的术语“阿可拉定半水合物”指的是由一分子阿可拉定和半分子水组成的含水化合物。

[0039] 除非另外说明，本文中的术语“阿可拉定一水合物”指的是由一分子阿可拉定和一分子水组成的含水化合物。

[0040] 除非另外说明，本文中的术语“无溶剂晶型”指的是阿可拉定化合物中不含有水或其它溶剂，通过化合物分子或原子特殊的晶格空间排列形成的特定晶型。

[0041] 除非另外说明，本文中的术语“细胞异常增殖”指的是细胞的生长、分化和凋亡偏离细胞正常的生长周期。

[0042] 除非另外说明，本文中的术语“抗细胞异常增殖有关的疾病”指的是治疗或预防与细胞异常增殖有关的疾病。

[0043] 除非另外说明，本文中的术语“热重分析”指的是在程序控制温度下测量待测样品的质量与温度变化之间关系的一种热分析技术。

[0044] 除非另外说明，本文中的术语“示差扫描热分析”指的是在温度变化的条件下，测量物相对于参比物在单位时间的能量差随温度变化的一种分析技术。

[0045] 实施例

[0046] 实施例 1

[0047] 商购淫羊藿提取物酶解法制备阿可拉定

[0048] 本实施例中的淫羊藿提取物购自陕西嘉禾植物化工有限公司，商品名称为“淫羊藿提取物”，其中含有质量分数为 90% 的淫羊藿苷。

[0049] 步骤一：酶解法制备阿可拉定

[0050] 将商购的 80g 淫羊藿提取物，其中含有质量分数为 90% 的淫羊藿苷，分散于浓度

为 1mol/L 的 pH5.2 的磷酸氢二钠-磷酸二氢钾缓冲液 2.0L 中,加入乙醇 0.6L、RAPIDASE 果胶酶 1400g,共计 1.4L 于 5L 反应器中。其中,“果胶酶”购自帝斯曼公司的商标为 RAPIDASE 的果胶酶,产品编号为 984。

[0051] 反应温度在 50℃ 的条件下进行酶解,具体的条件如表 1:

[0052] 表 1 酶解条件

[0053]

淫羊藿提取物 g	酶量 L	乙醇 L	缓冲液 L	反应温度
80	1.4	0.6	2.0	50℃

[0054] 通过 HPLC 检测,反应体系转化 70 小时,淫羊藿苷转化为阿可拉定,转化率达到 90%。由于得到的阿可拉定的纯度不够,需要进一步提纯。

[0055] 步骤二:阿可拉定半水合晶型的制备

[0056] 取步骤一得到的部分酶解产物进行纯化。取 10.0g 酶解产物、700mL 丙酮于 1L 烧杯中,温水浴中搅拌溶解。然后将阿可拉定的丙酮溶液快速加入到装有 4L 常温的纯化水的烧瓶中,剧烈搅拌 10min,此时析出大量黄色固体。待溶液降至室温后过滤,滤饼置于 25℃ 鼓风干燥箱中干燥 48 小时,得黄色粉末 9.2g,收率 92%。送样进行核磁共振分析 (^1H NMR),得到如图 1 所示的图谱;热重分析和示差扫描热分析 (TGA/DSC),得到如图 3 所示的图谱;粉末衍射分析 (XRPD) 如图 4 所示的图谱。

[0057] 通过图 1 和图 2 的比较,可以看出实施例 1 方法制备的阿可拉定半水合物晶型与图 2 阿可拉定无溶剂晶型的核磁共振谱图出峰位置没有改变。此外,在图 1 位移 2.1ppm 处出峰,该峰为丙酮的氢峰,由于样品中丙酮的质量含量为 0.2%,说明该样品中不含有丙酮溶剂。

[0058] 通过图 3 的热重分析图可见,样品加热至 80℃ 时失重为样品重量的 3.0%,示差扫描热分析图显示在起始温度为 60.3℃ 时出现脱溶剂吸热峰,在 253.6℃ 存在熔融吸热峰,熔化焓为 120.32J/g。通过示差扫描热分析和热重分析图结合 ^1H NMR 图显示,产品为一种水合晶型,通过计算,该水合晶型为阿可拉定的半水合物。

[0059] 图 4 表示阿可拉定半水合物晶型的 X 射线粉末衍射图谱,从该图上可以看到半水合物在 2θ 角为约 4.9°、约 5.9°、约 9.2°、约 9.9°、约 12.4°、约 15.4°、约 16.6°、约 18.2°、约 18.8°、约 20.1°、约 20.8°、约 21.3°、约 22.7°、约 25.3° 和约 26.4° 处出峰。

[0060] 实施例 2

[0061] 取步骤一得到的部分酶解产物进行纯化。取 10.0g 酶解产物、700mL 丙酮于 5.0L 烧瓶中,温水浴中搅拌溶解。然后在搅拌下快速加入 4L 纯化水,继续搅拌 10min。此时析出大量黄色固体,待溶液降至室温后过滤。滤饼置于 25℃ 鼓风干燥箱中干燥 48 小时,得黄色粉末 9.5g,收率 95%。滤饼置于 25℃ 鼓风干燥箱中干燥 48 小时。热重分析 (TGA),得到如图 5 所示的图谱;粉末衍射分析 (XRPD) 如图 6 所示的图谱。

[0062] 通过图 5 热重分析图显示样品加热至 80℃ 时失重为样品总重量的 4.6%。通过计算,得到本实施例的水合晶型为阿可拉定一水合物晶型。

[0063] 通过 X 射线粉末衍射可见,阿可拉定一水合物晶型在约 5.1°、约 6.1°、约 7.8°、约 9.4°、约 10.1°、约 12.6°、约 15.6°、约 16.8°、约 20.2°、约 21.5° 和约 25.5° 处出峰。

[0064] 对比例

[0065] 将实施例 1 步骤一制备得到的酶解产物 10g 进行离心,去上清,沉淀用 2L 丙酮溶解,过滤,再在滤液中加入约 1L 蒸馏水,75℃回流溶解,20℃放置析晶。结晶 24 小时后,过滤得到淡黄色晶体,60℃鼓风干燥 48 小时,直到晶体的重量不再发生变化,得到阿可拉定的无水晶型。无水晶型共 8.1 克,相对于酶解产品,收率为 81%。

[0066] 实施例 3

[0067] 阿可拉定水合晶型稳定性的评价

[0068] 取按照对比例方法制备得到的阿可拉定的无水晶型、按照实施例 1 方法制备得到的阿可拉定半水合晶型,和按照实施例 2 方法制备得到的阿可拉定一水合晶型产品各 0.2 克置于称量瓶中开口放置,于光照度为 4500±500 勒克斯光照箱放置 5 天,然后检测样品中有关物质含量,其高效液相图谱分别见图 7、图 8 和图 9 所示。

[0069] 结果评价:图 7 为无水晶型经光照 5 天后的 HPLC 图谱,其中保留时间为 7.6 分钟、保留时间为 8.6 分钟和保留时间为 9.3 分钟的杂质含量分别为 0.13%、0.21%和 0.76%。图 8 为阿可拉定半水合晶型经光照 5 天后的高效液相图谱,其中保留时间为 7.6 分钟、8.6 分钟和 9.3 分钟的杂质含量分别为未检出、0.05%和 0.59%。图 9 为阿可拉定水合晶型经光照 5 天后的高效液相图谱,其中保留时间为 7.6 分钟、8.8 分钟和 9.3 分钟的杂质含量分别为 0.03%、0.04%和 0.42%。从以上数据可知,阿可拉定半水合晶型和一水合晶型的光稳定性强于阿可拉定无水晶型。因此,使用阿可拉定含水晶型将减少光照对药品贮藏的影响,延长了药品的有效期。

[0070] 实施例 4

[0071] 分别检测阿可拉定一水合物晶型以及阿可拉定半水合物晶型对人子宫内膜癌细胞株 Hec1A(ATCC HTB-112™)、对肝癌 Huh-7 细胞株(购自于 Japanese Cancer Research Bank(JCRB), Tokyo, Japan)、对急性髓性白血病细胞 MV-4-11(ATCC CRL-9591™)、人乳腺癌细胞株 MDA-MB-231(ATCC HTB-26™)、胃癌细胞株 MGC-803(上海信然实业有限公司)、肺癌细胞株 H460(ATCC HTB177™)、结肠癌细胞株 LS 174T(ATCC CL-188™)、胰腺癌细胞株 PANC-1(ATCC CRL1469™)、前列腺癌细胞株 PC-3(ATCC CRL1435™)、宫颈癌细胞株 He1a(ATCC CCL2™)、卵巢癌细胞株 SKOV3(ATCC HTB-77™) 以及骨髓瘤细胞株 RPMI8226(上海信然实业有限公司)的抑制作用。检测方法与 201410185323.2 专利申请中公开的检测方法相同。

[0072] 与 201410185323.2 专利申请公开的阿可拉定无水合物晶型相比,检测结果表明没有无论是阿可拉定一水合物晶型还是阿可拉定半水合物晶型对肿瘤细胞的抑制率均与阿可拉定无水合物晶型相同,没有任何差异,因此可见结晶水不会影响阿可拉定对肿瘤细胞的抑制作用。

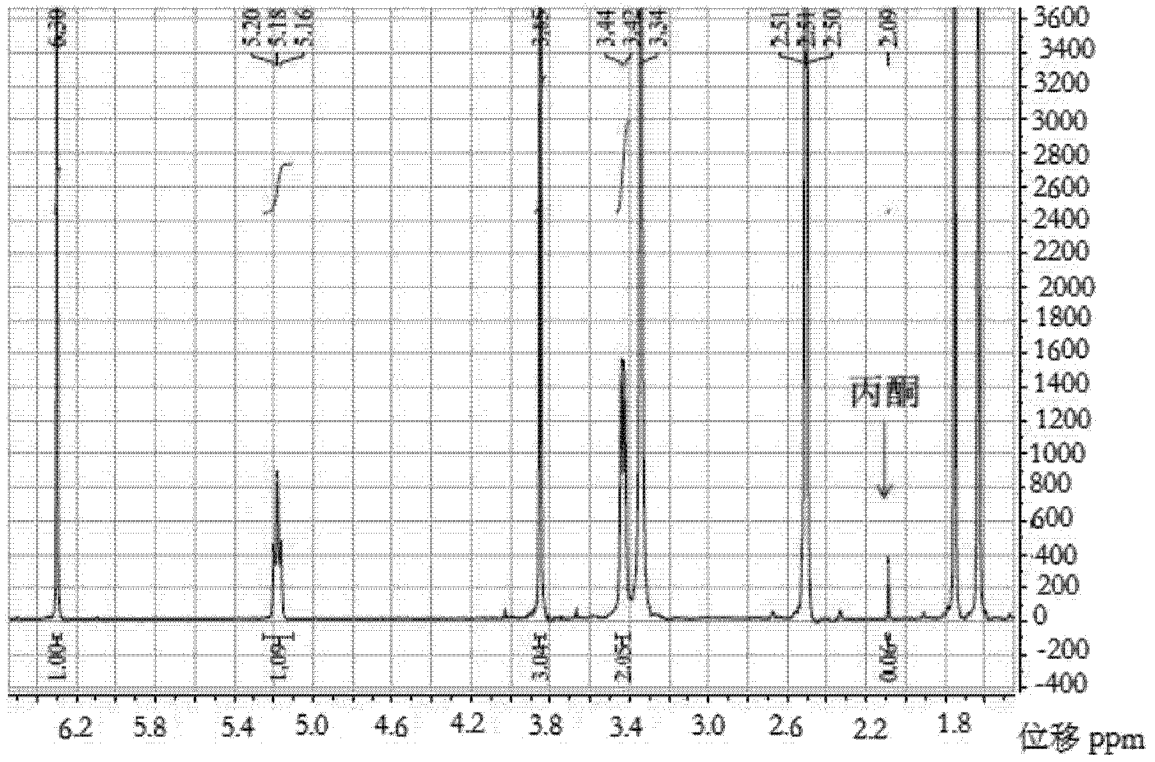


图 1

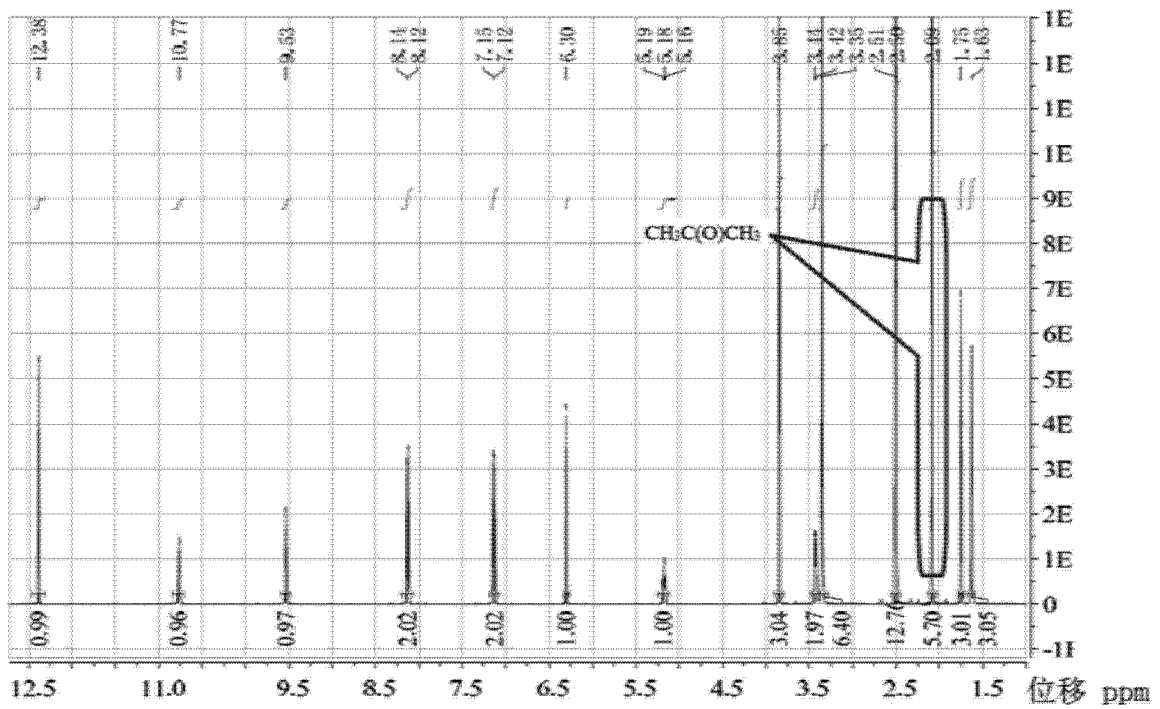


图 2

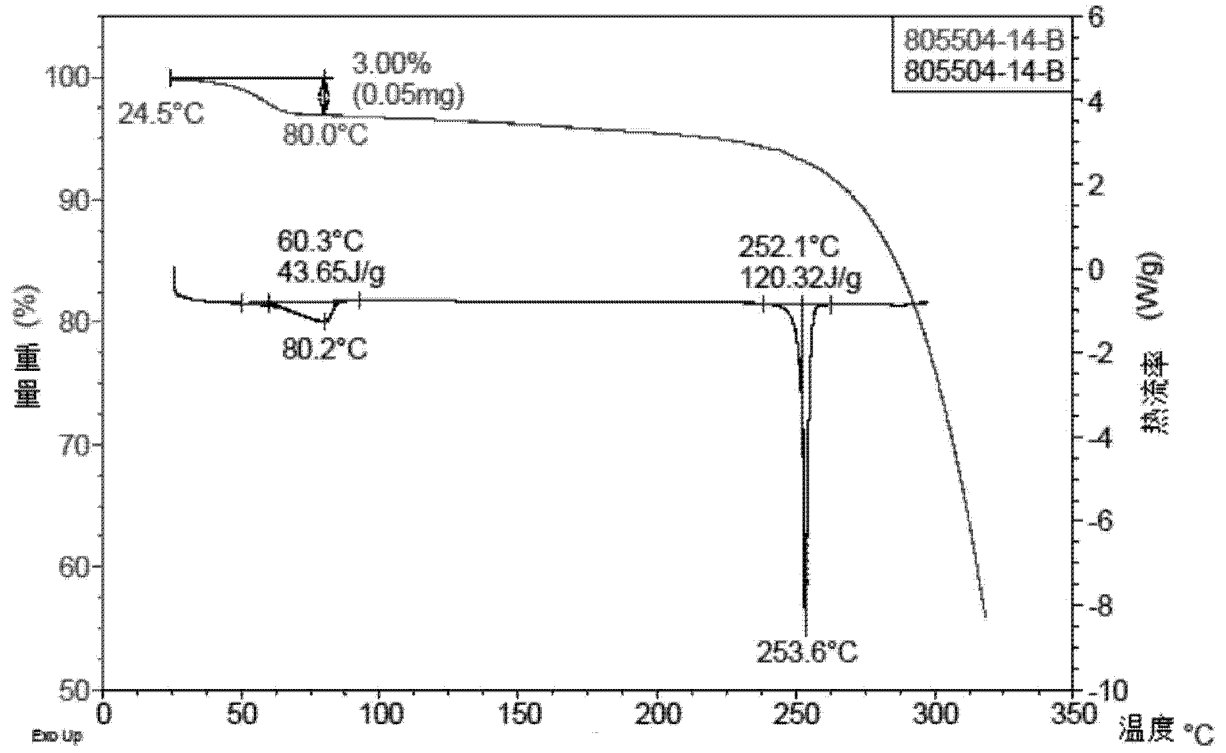


图 3

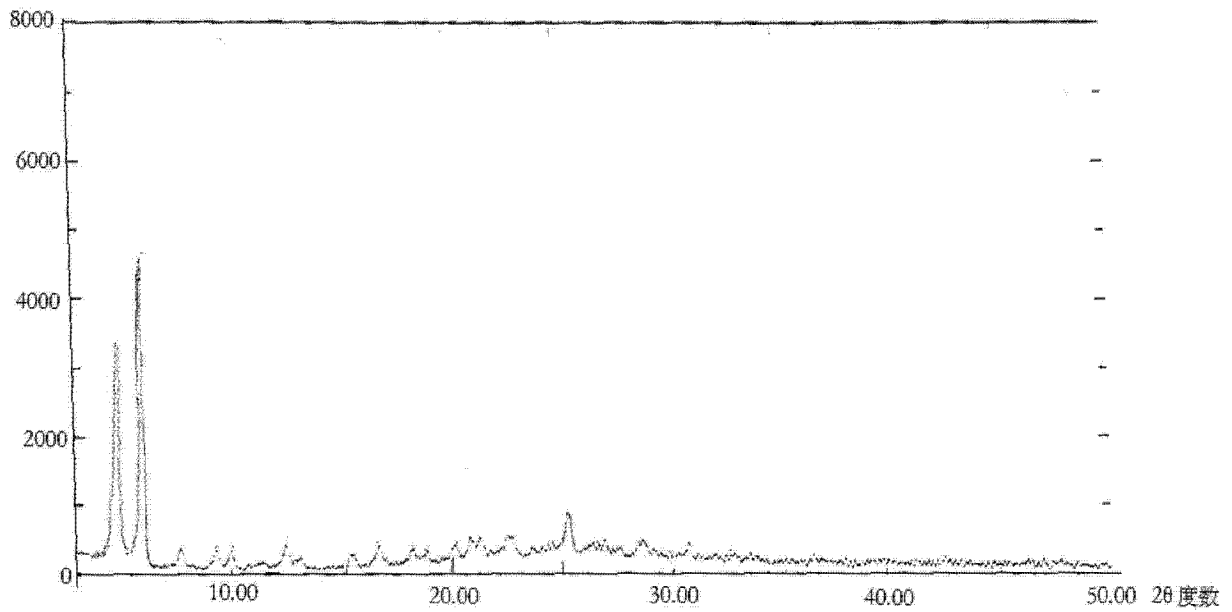


图 4

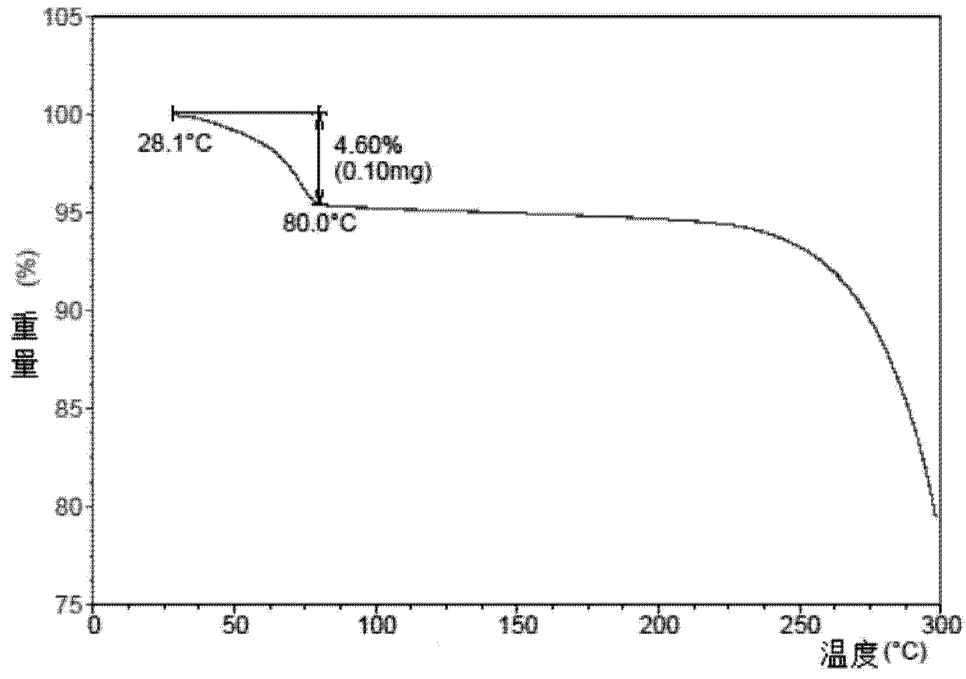


图 5

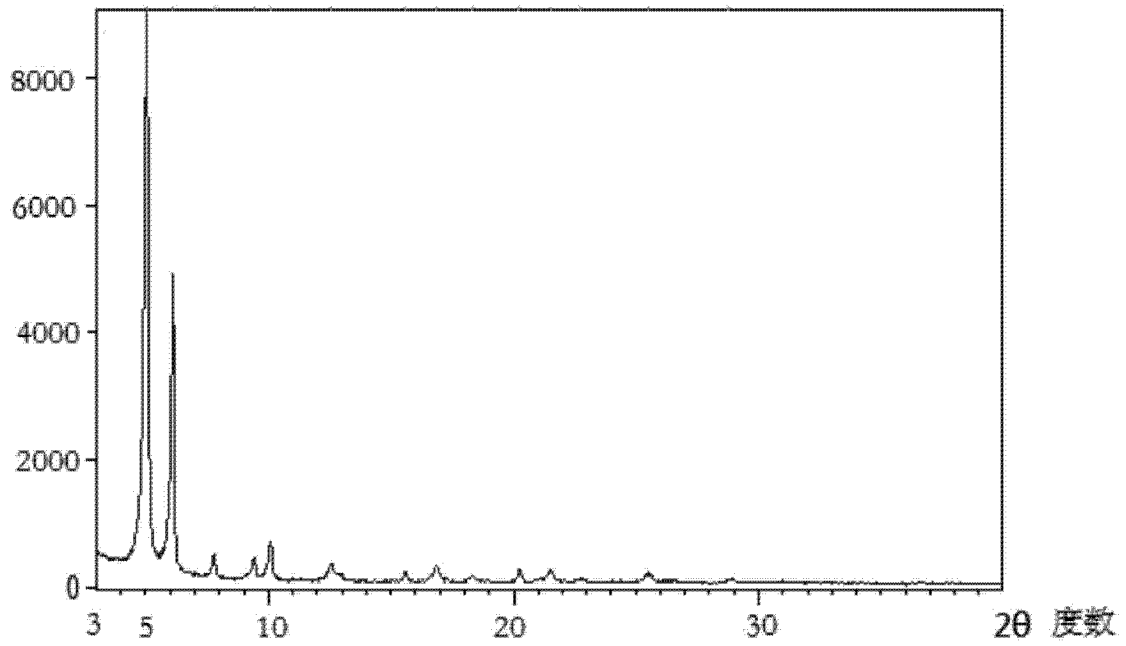


图 6

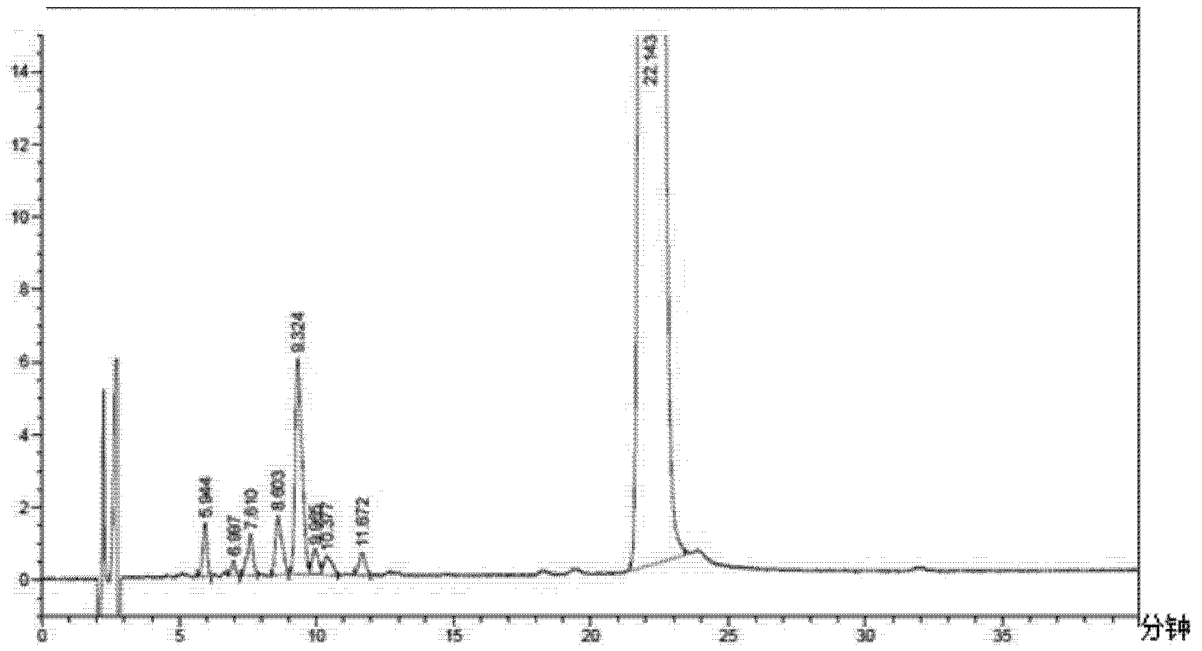


图 7

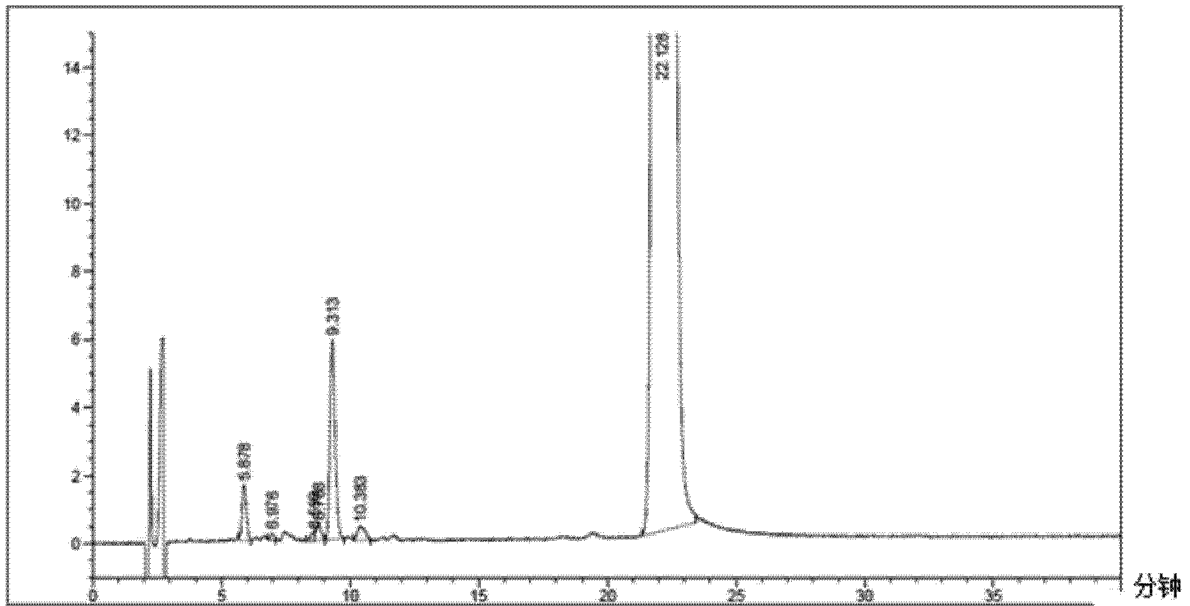


图 8

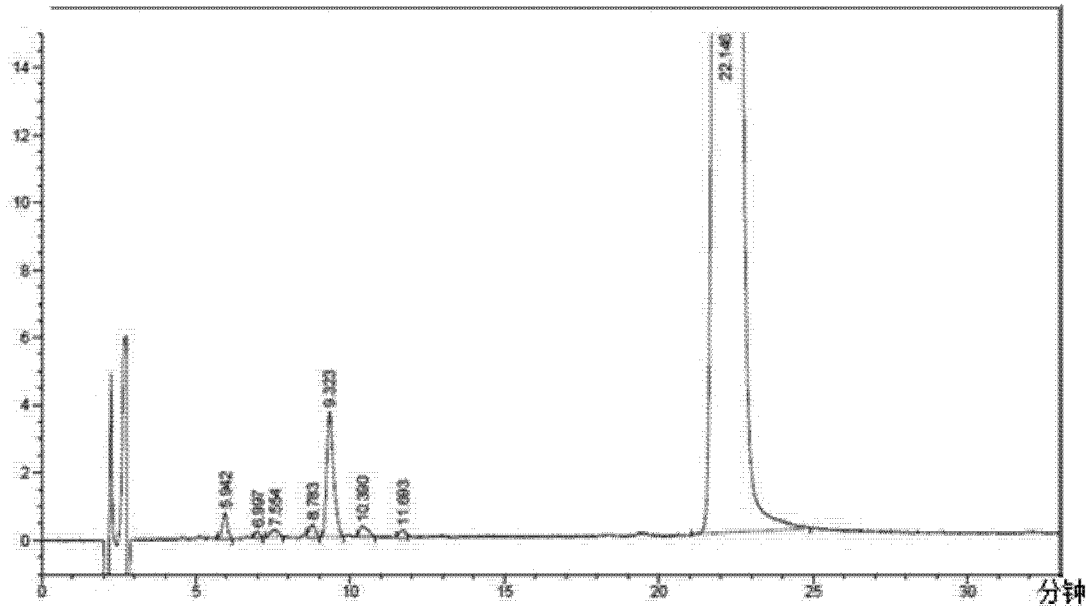


图 9