



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 105669749 B

(45)授权公告日 2018.03.30

(21)申请号 201610257085.0

A61P 31/18(2006.01)

(22)申请日 2014.08.14

G01N 30/02(2006.01)

(65)同一申请的已公布的文献号

审查员 王建芳

申请公布号 CN 105669749 A

(43)申请公布日 2016.06.15

(62)分案原申请数据

201410399934.7 2014.08.14

(73)专利权人 赫斯(西安)生物科技有限公司

地址 710065 陕西省西安市高新区锦业一路66号甲

(72)发明人 杨东元 夏桂民 韩洁

(51)Int.Cl.

C07F 9/60(2006.01)

C07D 215/48(2006.01)

A61K 31/675(2006.01)

权利要求书2页 说明书30页

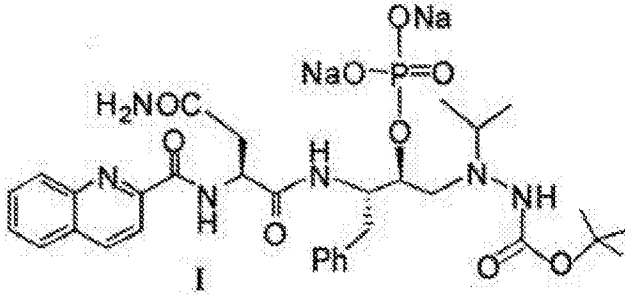
(54)发明名称

抗病毒药物及组合物

(57)摘要

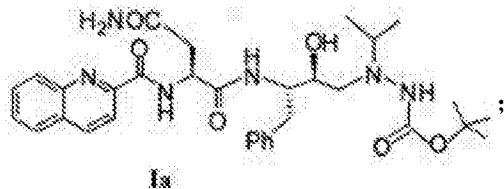
本发明涉及抗病毒药物及组合物,具体涉及抗人类免疫缺乏病毒(HIV)的药物及其药物组合物,特别是涉及一种可作为逆转录病毒蛋白酶抑制剂的药物,该逆转录病毒蛋白酶抑制剂具有式I所示的化学结构。

1. 制备以下式I化合物为活性成分的药用原料药的方法，

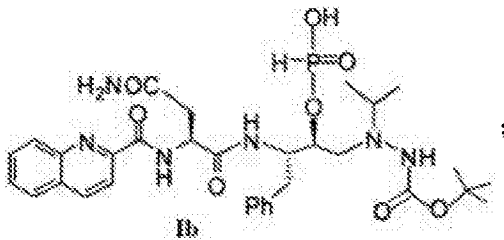


该方法包括以下步骤：

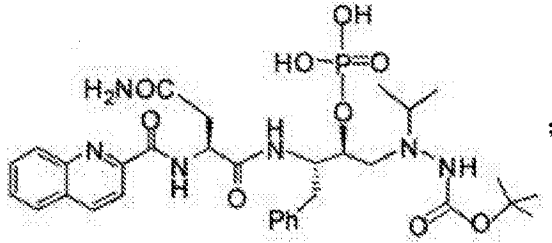
(1) 向N-喹啉酰基-L-天门冬氨酸、3-异丙基-3-[(2S,3S)-2-羟基-3-(苯基甲氧基羰基)氨基-4-苯基丁基]胍基甲酸叔丁酯、苯并三唑-1-基氧三(二甲基氨基)磷氟磷酸盐和1-羟基苯并三唑的无水二甲基甲酰胺的搅拌溶液中加入N,N-二异丙基乙胺，在室温下搅拌使反应完全，反应物用乙酸乙酯稀释，并用水、2%硫酸氢钾、5%碳酸氢钠和饱和氯化钠水溶液洗涤，经无水硫酸镁干燥，减压蒸发溶剂，用硅胶柱色谱以乙酸乙酯提纯，得到3-异丙基-3-[(2S,3S)-2-羟基-3-(N-喹啉酰基-L-天门冬酰基)氨基-4-苯基丁基]胍基甲酸叔丁酯，即式Ia化合物



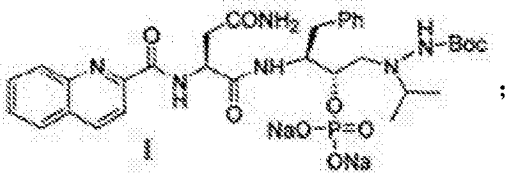
(2) 在室温、氮气氛下，使二环己基碳化二亚胺、3-异丙基-3-[(2S,3S)-2-羟基-3-(N-喹啉酰基-L-天门冬酰基)氨基-4-苯基丁基]胍基甲酸叔丁酯即式Ia化合物、无水亚磷酸在无水吡啶中混合，在60°C搅拌反应后，减压蒸发溶剂，以碳酸氢钠水溶液处理，于室温下激烈搅拌1小时，滤出沉淀物，以水洗涤，以浓盐酸酸化滤液至pH1.5；以乙酸乙酯萃取吸收产物，有机物经无水硫酸镁脱水，溶剂蒸发，得到3-异丙基-3-[(2S,3S)-2-次膦羧氧基-3-(N-喹啉酰基-L-天门冬酰基)氨基-4-苯基丁基]胍基甲酸叔丁酯，即式Ib化合物



(3) 使3-异丙基-3-[(2S,3S)-2-次膦羧氧基-3-(N-喹啉酰基-L-天门冬酰基)氨基-4-苯基丁基]胍基甲酸叔丁酯即式Ib化合物在六甲基二硅胺烷中的悬浮液于120±5°C下搅拌使反应混合物转呈均质化，添加双(三甲硅烷基)过氧化物，接着在上述温度下搅拌1小时；反应混合物冷却至室温后，真空蒸发至干；残余物溶于甲醇中，减压蒸发至干，再溶于0.1M碳酸氢钠水溶液中，所得混合物以浓盐酸酸化至pH1.5，经氯化钠饱和，以乙酸乙酯萃取；合并的有机相经无水硫酸镁脱水，蒸发至干，得到3-异丙基-3-[(2S,3S)-2-膦羧氧基-3-(N-喹啉酰基-L-天门冬酰基)氨基-4-苯基丁基]胍基甲酸叔丁酯



(4) 在室温下将3-异丙基-3-[(2S,3S)-2-膦羧氧基-3-(N-喹啉酰基-L-天门冬酰基)氨基-4-苯基丁基]胍基甲酸叔丁酯加至碳酸氢钠水溶液中,搅拌直至溶液变澄清;加异丙醇,搅拌混合物,过滤;所得滤液在55-60°C真空下蒸馏去除溶剂;使物料冷却至25-35°C,添加异丙醇,升温至55-60°C,真空蒸馏除溶剂,干燥,所得固体用异丙醇洗涤,再在70-75°C的真空下蒸发至干燥,即得式I所示二钠盐化合物为3-异丙基-3-[(2S,3S)-2-膦羧氧基-3-(N-喹啉酰基-L-天门冬酰基)氨基-4-苯基丁基]胍基甲酸叔丁酯二钠



(5) 纯化:使步骤(4)所得产物加至庚烷:乙酸乙酯=10:4的混合溶剂中,在70-75°C下搅拌1-3小时,冷却至室温,滤出固体析出物,用庚烷20ml分2次洗涤,再在60°C、真空下蒸发至干燥,即得;任选地根据需要重复本步骤(5)。

## 抗病毒药物及组合物

[0001] 本申请是2014年8月14日提交的中国专利申请号2014103999347的分案申请。

### 技术领域

[0002] 本发明涉及一种抗病毒药物及其药物组合物,具体涉及抗人类免疫缺乏病毒(HIV)的药物及其药物组合物,特别是涉及一种可作为逆转录病毒蛋白酶抑制剂的药物,该逆转录病毒蛋白酶抑制剂具有式I所示的化学结构。

### 背景技术

[0003] 人类免疫缺乏病毒(HIV)是一种导致AIDS及其相关病变的病原性反转录病毒。由于HIV的发现,对抗AIDS的抗病毒化学疗法的发展已成为积极研究重点。有关AIDS的分子目标的研究参见Mitsua等人的文献(Science,1990,pp.1533-154)。HIV蛋白酶(HIV PR)及天门冬酰胺基蛋白酶首先被克拉玛(Kramer)等人(Science 231,1580(1986))认为是AIDS疗法的可能目标。从此以后,即广泛地确认HIV PR抑制剂在治疗AIDS时作为有效制剂的潜在用途,有关HIV PR的医疗用途参见托马希里(Tomaselli)等人的文献(Chimica,Oggi,1991年5月,pp.6-27)及J.P.胡弗(Huff)等人的文献(J.Med.Chem.34,2341-2327(1991))。在传统模拟天门冬酰胺基蛋白酶的过渡状态中,羟基乙烯、二羟基乙烯、羟基乙胺和次磷酸电子等排物(Bostere)似乎和HIV PR具有最大亲合力。许多HIV PR的抑制剂已在不同细胞系统中,在毫微摩尔范围的浓度呈现抗病毒活性,且已说明在专利文献中。

[0004] HIV蛋白酶在病毒复制过程中的主要作用是将gag和gag-pol基因产物裂解成病毒成熟所需要的结构蛋白(基质、壳、核壳)和酶类(蛋白酶、整合酶、逆转录酶),从而进一步完善病毒结构。蛋白酶抑制剂(PI)就是阻止前体蛋白质裂解,导致无感染病毒颗粒的堆积。

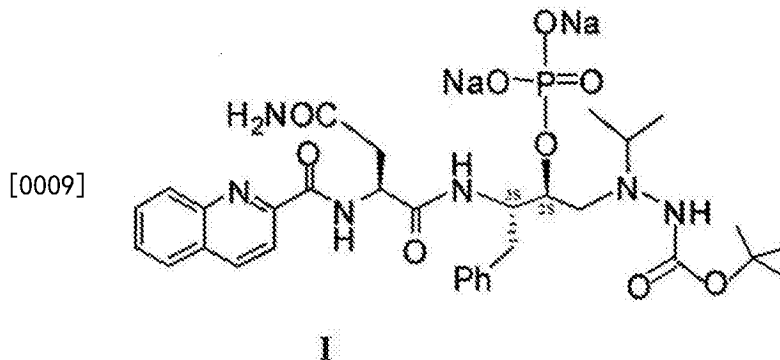
[0005] 药效构象研究表明,这类化合物的作用机制是主要以氢键的方式分别与蛋白酶的Asp 25,Cly 27和Asp 29残基相互作用,与蛋白酶活性基团中的氨基酸残基形成体相互作用,从而达到抑制蛋白酶活性的目的,进而阻遏了艾滋病病毒的复制,达到抗病毒作用。蛋白酶抑制剂可进入包括外周血在内的多种组织器官而发挥抗病毒作用,因而疗效深入而持久。

[0006] 目前,已在临床广泛应用的HIV蛋白酶抑制剂有:沙奎那韦(saquinavir)、茚地那韦(indinavir)、利托那韦(ritonavir)、奈非那韦(nelfinavir)、安普那韦(amprenavir)和洛匹那韦(lopinavir)。2003年又有atazanavir和fosamprenavir两个新的蛋白酶抑制剂通过了美国FDA的审批。由Bristol-Myers Squibb公司研发的atazanavir是一种每天只需服用一次的全新的蛋白酶抑制剂。它对胰岛素和脂肪代谢影响非常小,病人没有腹泻等副作用。能轻度增加胆红素水平,个别患者出现黄疸等,但病人很少因此而停止用药。

[0007] 这些蛋白酶抑制剂虽然能抑制HIV复制,但不能彻底消灭体内的病毒,也不能阻止体内耐药毒株的出现和传播。蛋白酶抑制剂PI应用后不仅体内病毒的数量明显下降,同时淋巴细胞中T辅助细胞-CD4细胞则有所增加。然后长期使用这些蛋白酶抑制剂产生明显的毒副作用和耐药性。脂代谢紊乱是多种副作用中最突出且最复杂的,临床表现为面部和外

周脂肪消耗,腹、背、胸部脂肪积聚。病人出现高甘油三酯血症和高胆固醇血症、乳酸和血糖升高、对胰岛素产生耐药性等。其次是耐药性,尤其是交叉耐药性是导致临床治疗失败的一个主要原因。研究表明,发生PI耐药的机制比NRIT和NNRTI更复杂,往往涉及多点基因突变。一般来说,蛋白酶底物结合区单一突变,可使病毒对药物的耐受性增加10倍。若蛋白酶S1亚区82位缬氨酸或84位异亮氨酸被取代,则耐受性可增至30倍,如果82与84位残基同时突变,可使药物治疗效果下降100倍。使高剂量PI会比使用低剂量PI延迟耐药性的产生,与核苷类药物的联合应用也能减少耐药性的产生。还有耐药性的产生也由于高的病毒复制速率,逆转录酶在逆转录过程中的出错和在蛋白酶抑制剂的选择性作用下的进化结果。另外PI其复杂的服用方法、心血管疾病高风险使它不适应于依从性差、糖尿病、心血管疾病的患者。

[0008] 已知以下式I化合物是一种有效的逆转录病毒蛋白酶抑制剂



[0010] 其分子式:  $C_{32}H_{41}N_6Na_2O_9P$ , 分子量730.66, 其典型的英文名可以称为: t-Butyl 3-isopropyl-3-[(2S,3S)-2-Phosphonoxy-3-(N-quinaldoyl-L-asparaginyl) amino-4-phenylbutylcarbazate Disodium, 典型的中文名可称为: 3-异丙基-3-[(2S,3S)-2-膦羧氧基-3-(N-喹啉酰基-L-天门冬酰基)氨基-4-苯基丁基胍基甲酸叔丁酯二钠, 或者典型的中文名可称为: 3-异丙基-3-[(2S,3S)-2-膦羧氧基-3-(N-喹啉酰基-L-天门冬酰基)氨基-4-苯基丁基胍基甲酸叔丁酯二钠。

[0011] 在式I化合物的结构式中,连接于苯基和异丙基之间的丁基的2位和3位碳均为手性碳。

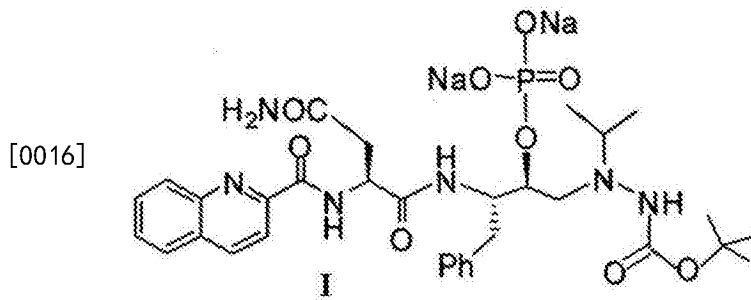
[0012] 尽管制药工作者在药品质量控制中有较强的能力在药品生产企业对原料药实现有效的控制;但是,当将原料药物制成制剂以后,进入流通领域,以及进入临床应用时,非生产企业人员(包括物流人员、医护人员、患者等)对制剂的内在的把控能力会大大减弱。

[0013] 因此,提供一种具有优良品质例如具有稳定药学特征的产品,特别是式I化合物的原料药或者由其制成的制剂,仍然是本领域技术人员令人期待的。

## 发明内容

[0014] 本发明的目的在于提供一种具有优良品质例如具有稳定药学特征的产品,特别是式I化合物的原料药或者由其制成的制剂。本发明人已经出人意料地发现,通过将式I化合物的原料药中的杂质Ib控制在一定范围以下时,该原料药与常规的药用辅料特别是糖类组合以制成药物制剂时,该种药物制剂具有优异的稳定性特别是杂质Ia的增长可以维持在非常低的范围内。本发明基于此发现而得以完成。

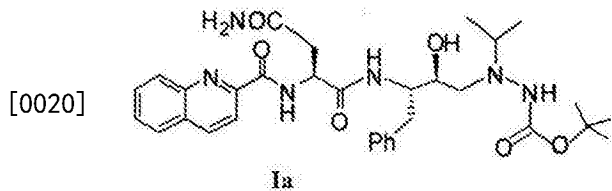
[0015] 为此,本发明第一方面提供了一种药用原料药,其活性成分为以下式I化合物:



[0017] 根据本发明第一方面任一实施方案的药用原料药,其中含有97%以上的式I化合物,例如含有97.5%以上的式I化合物,例如含有98%以上的式I化合物。

[0018] 根据本发明第一方面任一实施方案的药用原料药,其中含有97%~103%的式I化合物,例如含有97.5%~102.5%上的式I化合物,例如含有98%~102%的式I化合物。

[0019] 根据本发明第一方面任一实施方案的药用原料药,其中还含有(例如痕量的)作为杂质存在的以下式Ia化合物:



该式Ia化合物是式I化合物的未磷酸酯化的化合物,其分子式: $C_{32}H_{42}N_6O_6$ ,分子量606.72。而式I化合物的分子式: $C_{32}H_{41}N_6Na_2O_9P$ ,分子量730.66。

[0021] 在本发明中,式Ia化合物亦可称为杂质Ia或者可称为Ia或者可称为Ia杂质或者其它类似称谓。

[0022] 根据本发明第一方面任一实施方案的药用原料药,其中相对于式I化合物而言,式Ia化合物的含量小于2%,例如小于1.75%,例如小于1.5%,例如小于1.25%,例如小于1.0%,例如小于0.75%。

[0023] 根据本发明第一方面任一实施方案的药用原料药,其中相对于式I化合物而言,式Ia化合物的含量为0.002~2%,例如为0.002~1.75%,例如为0.002~1.5%,例如为0.002~1.25%,例如为0.002~1.0%,例如为0.002~0.75%。

[0024] 在本发明中,短语“对于式I化合物而言,式Ia化合物的含量”是指对于所涉及的物料中,式Ia化合物相对于式I化合物的量。例如对于某一物料中若其中包含100mg式I化合物,经测定其中还包含有0.5mg的式Ia化合物,则对于式I化合物而言,式Ia化合物的量为0.5%。对于其它杂质相对于式I化合物的量的类似表述亦有类似含义。上述“含量”亦可通过本发明【HPLC-A】法测定得到。

[0025] 根据本发明第一方面任一实施方案的药用原料药,其照本发明【HPLC-A】法测定,其中式Ia化合物峰面积与式I化合物峰面积的比小于2%,例如小于1.75%,例如小于1.5%,例如小于1.25%,例如小于1.0%,例如小于0.75%。

[0026] 根据本发明第一方面任一实施方案的药用原料药,其照本发明【HPLC-A】法测定,其中式Ia化合物峰面积与式I化合物峰面积的比为0.002~2%,例如为0.002~1.75%,例如为0.002~1.5%,例如为0.002~1.25%,例如为0.002~1.0%,例如为0.002~0.75%。

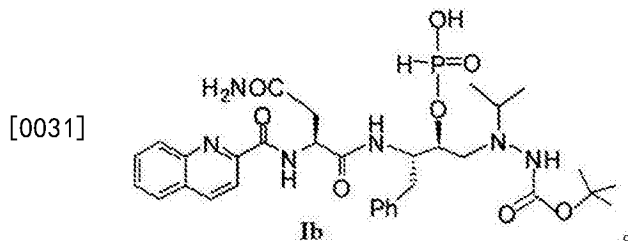
[0027] 根据本发明第一方面任一实施方案的药用原料药,其照本发明【HPLC-A】法测定,

其中式I化合物峰面积与式Ia化合物峰面积的比大于50,例如大于57,例如大于67,例如大于80,例如大于100,例如大于133。

[0028] 根据本发明第一方面任一实施方案的药用原料药,其照本发明【HPLC-A】法测定,其中式I化合物峰面积与式Ia化合物峰面积的比为50~50000,例如为57~50000,例如为67~50000,例如为80~50000,例如为100~50000,例如为133~50000。

[0029] 已经发现,式Ia化合物体内行为特征从药学角度讲远不及式I化合物甚至是不能接受的,因此在本发明第一方面的药用原料药中(以及本发明第二方面的药物组合物中)将式Ia化合物的量控制在一定量以下是有必要的。例如可以参考本领域一般对杂质的控制限度要求(通常为<1%,例如<0.75%)。

[0030] 根据本发明第一方面任一实施方案的药用原料药,其中还含有(例如痕量的)作为杂质存在的以下式Ib化合物:



该式Ib化合物是式Ia化合物的次磷酸酯。

[0032] 在本发明中,式Ib化合物亦可称为杂质Ib或者可称为Ib或者可称为Ib杂质或者其它类似称谓。

[0033] 根据本发明第一方面任一实施方案的药用原料药,其中相对于式I化合物而言,式Ib化合物的含量小于1%,例如小于0.75%,例如小于0.5%,例如小于0.4%,例如小于0.3%,例如小于0.25%。

[0034] 根据本发明第一方面任一实施方案的药用原料药,其中相对于式I化合物而言,式Ib化合物的含量为0.002~1%,例如为0.002~0.75%,例如为0.002~0.5%,例如为0.002~0.4%,例如为0.002~0.3%,例如为0.002~0.25%。

[0035] 根据本发明第一方面任一实施方案的药用原料药,其照本发明【HPLC-A】法测定,其中式Ib化合物峰面积与式I化合物峰面积的比小于1%,例如小于0.75%,例如小于0.5%,例如小于0.4%,例如小于0.3%,例如小于0.25%。

[0036] 根据本发明第一方面任一实施方案的药用原料药,其照本发明【HPLC-A】法测定,其中式Ib化合物峰面积与式I化合物峰面积的比为0.002~1%,例如为0.002~0.75%,例如为0.002~0.5%,例如为0.002~0.4%,例如为0.002~0.3%,例如为0.002~0.25%。

[0037] 根据本发明第一方面任一实施方案的药用原料药,其照本发明【HPLC-A】法测定,其中式I化合物峰面积与式Ib化合物峰面积的比大于100,例如大于133,例如大于200,例如大于250,例如大于333,例如大于400。

[0038] 根据本发明第一方面任一实施方案的药用原料药,其照本发明【HPLC-A】法测定,其中式I化合物峰面积与式Ib化合物峰面积的比为100~50000,例如为133~50000,例如为200~50000,例如为250~50000,例如为333~50000,例如为400~50000。

[0039] 已经发现,当含有一定量式Ib化合物的本发明第一方面药用原料药与作为某些常规药用辅料特别是糖类混合时,其中杂质式Ia化合物会随着物料的贮藏时间延长而出现与

式Ib化合物含量有关的增长趋势。即,当药用原料药与此类药用辅料混合时,该药用原料药中的式Ib化合物高达一定量以上时,式Ib化合物量越高则式Ia化合物增长越大;而将该药用原料药中的式Ib化合物控制在一定量以下时,在该药用原料药与上述药用辅料混合时其中式Ia化合物的增长不明显。这是完全出人意料的,并且具有显著的制药意义,因为作为一种药用原料药,特别是在将其制成口服给药的药用制剂时,糖类例如乳糖、甘露醇、山梨醇、蔗糖等对于制备此类口服给药制剂是极具价值的;而当该药用原料药中的式Ib化合物的量控制在一定量以下时,其所制成的口服制剂随着贮藏时间的延长,作为杂质的式Ia化合物不会明显地增长,这对于给临床提供一种安全性良好的制剂是极为有益的。但是当该药用原料药中的式Ib化合物的量较高是地,该药用原料药无法与上述辅料一起制备口服制剂,这将大大限制该药用原料药在制备制剂时辅料的选择范围,因为这类辅料是制剂学上廉价且好用的辅料。

[0040] 根据本发明,其中所述【HPLC-A】法是一种高效液相色谱法,其可用于同时测定各种物料(包括本发明的药用原料药以及由该药用原料药制成的药物组合物)中的式I化合物、式Ia化合物、式Ib化合物三者的含量。

[0041] 根据本发明,涉及的【HPLC-A】法具体如下:

[0042] (i) 色谱条件:

[0043] 照中国药典2010年版二部附录V D所载高效液相色谱法进行,

[0044] 色谱柱:固定相为十八烷基硅烷键合硅胶的色谱柱[该色谱柱是典型的C<sub>18</sub>色谱柱,其可以容易地从商业途径购得,例如Diamonsil C<sub>18</sub>柱、Phenomenex Gemini C<sub>18</sub>柱等,在本发明下文的具体试验中,如未另外说明,使用的是Diamonsil C<sub>18</sub>色谱柱,其规格可以为250×4.6mm,5μm],

[0045] 流速:1.0ml/min,

[0046] 流动相A:0.01mol/L磷酸二氢钾溶液(用氢氧化钾溶液调节pH至3.0),流动相B:乙腈,

[0047] 线性梯度洗脱程序:

[0048]

时间 (min)	流动相A (%)	流动相B (%)
0	80	20
20	20	80
30	20	80

[0049] 检测波长:237nm,

[0050] 柱温:25℃,

[0051] 进样量:20μl,

[0052] (ii) 配液

[0053] 供试液:取含式I化合物100mg的供试品[该供试品可以是式I化合物的药用原料药,则此时称样量约为100mg;该供试品还可以是使用式I化合物的药用原料药为原料配制成的药物组合物例如药物制剂,则此时称取的物料中包含式I化合物的量约为100mg],精密称定,置100ml量瓶中,加50%乙腈溶液溶解并稀释至刻度,摇匀,必要时过滤,即得,作为供试液(其中式I化合物浓度约1000μg/ml);



[0054] 对照溶液：精密吸取供试液1ml置100ml量瓶中，加50%乙腈溶液稀释至刻度，摇匀；精密量取该溶液10ml置100ml量瓶中，加50%乙腈溶液稀释至刻度，摇匀，即得，作为对照溶液（其中式I化合物浓度约1 $\mu$ g/ml）；

[0055] Ia溶液：取式Ia化合物10mg，精密称定，置100ml量瓶中，加50%乙腈溶液溶解并稀释至刻度，摇匀（在此称为Ia液，约100 $\mu$ g/ml）；精密量取该溶液10ml置100ml量瓶中，加50%乙腈溶液稀释至刻度，摇匀，即得，作为Ia溶液（其中式Ia化合物浓度约10 $\mu$ g/ml）；

[0056] Ib溶液：取式Ib化合物10mg，精密称定，置100ml量瓶中，加50%乙腈溶液溶解并稀释至刻度，摇匀（在此称为Ib液，约100 $\mu$ g/ml）；精密量取该溶液10ml置100ml量瓶中，加50%乙腈溶液稀释至刻度，摇匀，即得，作为Ib溶液（其中式Ib化合物浓度约10 $\mu$ g/ml）；

[0057] 系统适用性溶液：分别精密吸取供试液、100 $\mu$ g/ml的Ia液、100 $\mu$ g/ml的Ib液各1ml，置于同一个10ml的量瓶中，加50%乙腈溶液稀释至刻度，摇匀，即得（I 100 $\mu$ g/ml+Ia 10 $\mu$ g/ml+Ib 10 $\mu$ g/ml）；

[0058] (iii) 测定和结果计算：

[0059] 精密吸取供试液、对照溶液、Ia溶液、Ib溶液、系统适用性溶液各20 $\mu$ L分别注入液相色谱仪，分别记录色谱图；

[0060] 峰归属和保留时间：根据对照溶液、Ia溶液、Ib溶液三者所得色谱图确定式I化合物、式Ia化合物、式Ib化合物三者的保留时间，并据此确定系统适用性溶液色谱图中各峰的归属以及供试液中各色谱峰的归属（一般而言，在该系统适用性溶液所得色谱图中出峰顺序依次为式I化合物、式Ib化合物、式Ia化合物）；

[0061] 系统适用性试验：在系统适用性溶液测试所得的色谱图中，式I化合物与式Ib化合物峰之间的分离度至少为1.5；

[0062] 在供试液色谱图中，如果检测到式Ia化合物，则可用以下计算式计算该杂质Ia的含量：

$$[0063] \quad \text{杂质 Ia 含量(\%)} = \frac{\text{供试液色谱图中杂质 Ia 的峰面积}}{\text{对照溶液色谱图中主峰的峰面积} \times 1000} \times 100\%$$

[0064] 上述术语“杂质Ia含量(%)”其含义相当于本发明上文所述短语“相对于式I化合物而言，式Ia化合物的含量”。

[0065] 在供试液色谱图中，如果检测到式Ib化合物，则可用以下计算式计算该杂质Ib的含量：

$$[0066] \quad \text{杂质 Ib 含量(\%)} = \frac{\text{供试液色谱图中杂质 Ib 的峰面积}}{\text{对照溶液色谱图中主峰的峰面积} \times 1000} \times 100\%$$

[0067] 上述术语“杂质Ib含量(%)”其含义相当于本发明上文所述短语“相对于式I化合物而言，式Ib化合物的含量”。

[0068] 在供试液色谱图中，如果检测到式Ia化合物，则可用以下计算式计算式Ia化合物峰面积与式I化合物峰面积的比(%)：

$$[0069] \quad \text{式 Ia 化合物峰面积与式 I 化合物峰面积的比} = \frac{\text{供试液色谱图中杂质 Ia 的峰面积}}{\text{供试液色谱图中杂质 I 的峰面积}} \times 100\%$$

[0070] 在供试液色谱图中，如果检测到式Ib化合物，则可用以下计算式计算式Ib化合物

峰面积与式I化合物峰面积的比(%)：

$$[0071] \quad \text{式 Ib 化合物峰面积与式 I 化合物峰面积的比} = \frac{\text{供试液色谱图中杂质 Ib 的峰面积}}{\text{供试液色谱图中杂质 I 的峰面积}} \times 100\%$$

[0072] 或者,在本发明中,还可以用“式I化合物峰面积与式Ia化合物峰面积的比”和“式I化合物峰面积与式Ib化合物峰面积的比”表示式Ia化合物和式Ib化合物相对于式I化合物的量。

[0073] 在供试液色谱图中,如果检测到式Ia化合物,则可用以下计算式计算式Ia化合物峰面积与式I化合物峰面积的比:

$$[0074] \quad \text{式 I 化合物峰面积与式 Ia 化合物峰面积的比} = \frac{\text{供试液色谱图中杂质 I 的峰面积}}{\text{供试液色谱图中杂质 Ia 的峰面积}}$$

[0075] 在供试液色谱图中,如果检测到式Ib化合物,则可用以下计算式计算式Ib化合物峰面积与式I化合物峰面积的比:

$$[0076] \quad \text{式 I 化合物峰面积与式 Ib 化合物峰面积的比} = \frac{\text{供试液色谱图中杂质 I 的峰面积}}{\text{供试液色谱图中杂质 Ib 的峰面积}}$$

[0077] 另外,通过以上【HPLC-A】法,还可以通过配制相当浓度的式I化合物对照品(作为分析用对照品,例如其含量大于99.8%)溶液,通过外标法测定供试品中的式I化合物含量(绝对含量,即每克供试品中式I化合物的质量,%,w/w)。

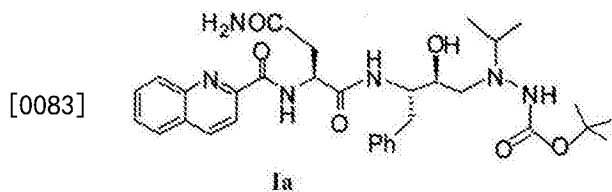
[0078] 上述【HPLC-A】法测试的“供试品”,这种物料既可以是式I化合物形式提供的药用原料药或其粗品,亦可以是它们为活性成分并添加有其它药用辅料配制而成的药物组合物,例如药物制剂,例如片剂等,不论是药用原料药还是粗品还是药物组合物,在供试液配制过程中称量供试品时将其折算成含式I化合物约100mg的量即可,杂质Ia和杂质Ib含量的计算不会因供试品称量准确性或者其它成分例如药用辅料的存在而受到影响。

[0079] 另外,鉴于分析方法是容易得到改进的,并且式Ia化合物、式Ib化合物是容易获得的。因此在本发明中描述各种物料例如药用原料药或其粗品或由其制备成的药物组合物中的式Ia化合物、式Ib化合物含量时,无需要限定其是否一定是照【HPLC-A】法测试得到的结果,特别是在描述供试品中杂质相对于式I化合物的含量时。

[0080] 进一步地,本发明第二方面提供了一种药物组合物,其是由本发明第二方面任一实施方案所述药用原料药和药用辅料一起制备得到的。

[0081] 根据本发明第二方面任一实施方案的药物组合物,其中式I化合物占该药物组合物总重量的10~90%,例如20~80%,例如30~70%。

[0082] 根据本发明第二方面任一实施方案的药物组合物,其中还含有(例如痕量的)作为杂质存在的以下式Ia化合物:



[0084] 根据本发明第二方面任一实施方案的药物组合物,其中相对于式I化合物而言,式Ia化合物的含量小于2%,例如小于1.75%,例如小于1.5%,例如小于1.25%,例如小于

1.0%，例如小于0.75%。

[0085] 根据本发明第二方面任一实施方案的药物组合物，其中相对于式I化合物而言，式Ia化合物的含量为0.002~2%，例如为0.002~1.75%，例如为0.002~1.5%，例如为0.002~1.25%，例如为0.002~1.0%，例如为0.002~0.75%。

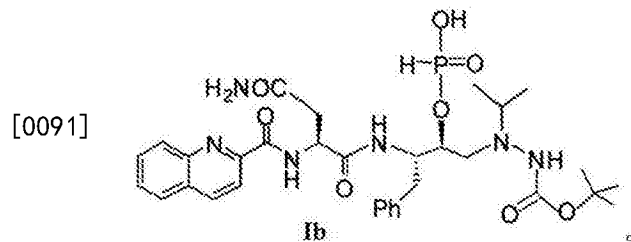
[0086] 根据本发明第二方面任一实施方案的药物组合物，其照本发明【HPLC-A】法测定，其中式Ia化合物峰面积与式I化合物峰面积的比小于2%，例如小于1.75%，例如小于1.5%，例如小于1.25%，例如小于1.0%，例如小于0.75%。

[0087] 根据本发明第二方面任一实施方案的药物组合物，其照本发明【HPLC-A】法测定，其中式Ia化合物峰面积与式I化合物峰面积的比为0.002~2%，例如为0.002~1.75%，例如为0.002~1.5%，例如为0.002~1.25%，例如为0.002~1.0%，例如为0.002~0.75%。

[0088] 根据本发明第二方面任一实施方案的药物组合物，其照本发明【HPLC-A】法测定，其中式I化合物峰面积与式Ia化合物峰面积的比大于50，例如大于57，例如大于67，例如大于80，例如大于100，例如大于133。

[0089] 根据本发明第二方面任一实施方案的药物组合物，其照本发明【HPLC-A】法测定，其中式I化合物峰面积与式Ia化合物峰面积的比为50~50000，例如为57~50000，例如为67~50000，例如为80~50000，例如为100~50000，例如为133~50000。

[0090] 根据本发明第二方面任一实施方案的药物组合物，其中还含有(例如痕量的)作为杂质存在的以下式Ib化合物：



[0092] 根据本发明第二方面任一实施方案的药物组合物，其中相对于式I化合物而言，式Ib化合物的含量小于1%，例如小于0.75%，例如小于0.5%，例如小于0.4%，例如小于0.3%，例如小于0.25%。

[0093] 根据本发明第二方面任一实施方案的药物组合物，其中相对于式I化合物而言，式Ib化合物的含量为0.002~1%，例如为0.002~0.75%，例如为0.002~0.5%，例如为0.002~0.4%，例如为0.002~0.3%，例如为0.002~0.25%。

[0094] 根据本发明第二方面任一实施方案的药物组合物，其照本发明【HPLC-A】法测定，其中式Ib化合物峰面积与式I化合物峰面积的比小于1%，例如小于0.75%，例如小于0.5%，例如小于0.4%，例如小于0.3%，例如小于0.25%。

[0095] 根据本发明第二方面任一实施方案的药物组合物，其照本发明【HPLC-A】法测定，其中式Ib化合物峰面积与式I化合物峰面积的比为0.002~1%，例如为0.002~0.75%，例如为0.002~0.5%，例如为0.002~0.4%，例如为0.002~0.3%，例如为0.002~0.25%。

[0096] 根据本发明第二方面任一实施方案的药物组合物，其照本发明【HPLC-A】法测定，其中式I化合物峰面积与式Ib化合物峰面积的比大于100，例如大于133，例如大于200，例如大于250，例如大于333，例如大于400。

[0097] 根据本发明第二方面任一实施方案的药物组合物，其照本发明【HPLC-A】法测定，

其中式I化合物峰面积与式Ib化合物峰面积的比为100~50000,例如为133~50000,例如为200~50000,例如为250~50000,例如为333~50000,例如为400~50000。

[0098] 根据本发明第二方面任一实施方案的药物组合物,其中所述的药用辅料包括选自下列的糖类:乳糖、甘露醇、山梨醇、蔗糖等。

[0099] 根据本发明第二方面任一实施方案的药物组合物,其是呈片剂、胶囊剂、或颗粒剂的形式。

[0100] 根据本发明第二方面任一实施方案的药物组合物,其是呈单位剂量的药物制剂形式。在一个实施方案中,所述药物制剂的每个单位剂量中包括1~1000mg的式I化合物,例如包括10~750mg的式I化合物,例如包括20~500mg的式I化合物。

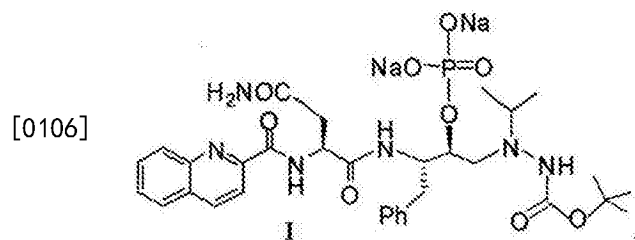
[0101] 根据本发明第二方面任一实施方案的药物组合物,其是呈片剂或胶囊剂的形式,其中还任选地包括药学常规的稀释剂(例如但不限于淀粉及其衍生物例如预胶化淀粉、改良淀粉,微晶纤维素等)、崩解剂(例如但不限于交联聚维酮、羧甲基淀粉钠等)、粘合剂(例如但不限于PVP、HPMC等)、润滑剂/助流剂(例如但不限于硬脂酸镁、滑石粉等)等。

[0102] 根据本发明第二方面任一实施方案的药物组合物,其在40℃条件下密封、避光放置5个月,测定并计算在此条件下处置5个月后某杂质相对于0月时的含量增加百分数,其中照【HPLC-A】测定,杂质Ia含量增加百分数低于200%,例如低于150%,例如低于100%,例如低于75%,例如低于50%。该试验方法在本发明中可简称为40℃-5月考察。所述的术语某杂质的含量增加百分数是照下式计算的:

$$[0103] \quad \text{某杂质含量增加百分数}(\%) = \frac{\text{该杂质 5 月含量} - \text{该杂质 0 月含量}}{\text{该杂质 0 月含量}} \times 100\%$$

[0104] 上述计算式可用于计算各种试样在经历40℃-5月处置前、后杂质Ia或杂质Ib增加的百分量,该值越接近于0表明该杂质增长量越小。

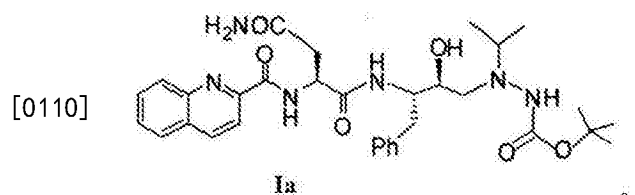
[0105] 进一步地,本发明第三方面提供了一种药物组合物,其中包括作为活性成分的如下式I化合物



[0107] 以及药用辅料。

[0108] 根据本发明第三方面任一实施方案的药物组合物,其中式I化合物占该药物组合物总重量的10~90%,例如20~80%,例如30~70%。

[0109] 根据本发明第三方面任一实施方案的药物组合物,其中还含有(例如痕量的)作为杂质存在的以下式Ia化合物:



[0111] 根据本发明第三方面任一实施方案的药物组合物,其中相对于式I化合物而言,式Ia化合物的含量小于2%,例如小于1.75%,例如小于1.5%,例如小于1.25%,例如小于1.0%,例如小于0.75%。

[0112] 根据本发明第三方面任一实施方案的药物组合物,其中相对于式I化合物而言,式Ia化合物的含量为0.002~2%,例如为0.002~1.75%,例如为0.002~1.5%,例如为0.002~1.25%,例如为0.002~1.0%,例如为0.002~0.75%。

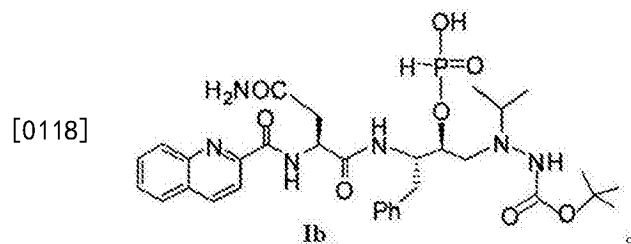
[0113] 根据本发明第三方面任一实施方案的药物组合物,其照本发明【HPLC-A】法测定,其中式Ia化合物峰面积与式I化合物峰面积的比小于2%,例如小于1.75%,例如小于1.5%,例如小于1.25%,例如小于1.0%,例如小于0.75%。

[0114] 根据本发明第三方面任一实施方案的药物组合物,其照本发明【HPLC-A】法测定,其中式Ia化合物峰面积与式I化合物峰面积的比为0.002~2%,例如为0.002~1.75%,例如为0.002~1.5%,例如为0.002~1.25%,例如为0.002~1.0%,例如为0.002~0.75%。

[0115] 根据本发明第三方面任一实施方案的药物组合物,其照本发明【HPLC-A】法测定,其中式I化合物峰面积与式Ia化合物峰面积的比大于50,例如大于57,例如大于67,例如大于80,例如大于100,例如大于133。

[0116] 根据本发明第三方面任一实施方案的药物组合物,其照本发明【HPLC-A】法测定,其中式I化合物峰面积与式Ia化合物峰面积的比为50~50000,例如为57~50000,例如为67~50000,例如为80~50000,例如为100~50000,例如为133~50000。

[0117] 根据本发明第三方面任一实施方案的药物组合物,其中还含有(例如痕量的)作为杂质存在的以下式Ib化合物:



[0119] 根据本发明第三方面任一实施方案的药物组合物,其中相对于式I化合物而言,式Ib化合物的含量小于1%,例如小于0.75%,例如小于0.5%,例如小于0.4%,例如小于0.3%,例如小于0.25%。

[0120] 根据本发明第三方面任一实施方案的药物组合物,其中相对于式I化合物而言,式Ib化合物的含量为0.002~1%,例如为0.002~0.75%,例如为0.002~0.5%,例如为0.002~0.4%,例如为0.002~0.3%,例如为0.002~0.25%。

[0121] 根据本发明第三方面任一实施方案的药物组合物,其照本发明【HPLC-A】法测定,其中式Ib化合物峰面积与式I化合物峰面积的比小于1%,例如小于0.75%,例如小于0.5%,例如小于0.4%,例如小于0.3%,例如小于0.25%。

[0122] 根据本发明第三方面任一实施方案的药物组合物,其照本发明【HPLC-A】法测定,其中式Ib化合物峰面积与式I化合物峰面积的比为0.002~1%,例如为0.002~0.75%,例如为0.002~0.5%,例如为0.002~0.4%,例如为0.002~0.3%,例如为0.002~0.25%。

[0123] 根据本发明第三方面任一实施方案的药物组合物,其照本发明【HPLC-A】法测定,其中式I化合物峰面积与式Ib化合物峰面积的比大于100,例如大于133,例如大于200,例如

大于250,例如大于333,例如大于400。

[0124] 根据本发明第三方面任一实施方案的药物组合物,其照本发明【HPLC-A】法测定,其中式I化合物峰面积与式Ib化合物峰面积的比为100~50000,例如为133~50000,例如为200~50000,例如为250~50000,例如为333~50000,例如为400~50000。

[0125] 根据本发明第三方面任一实施方案的药物组合物,其中所述的药用辅料包括选自下列的糖类:乳糖、甘露醇、山梨醇、蔗糖等。

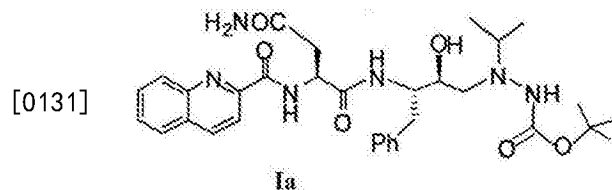
[0126] 根据本发明第三方面任一实施方案的药物组合物,其是呈片剂、胶囊剂、或颗粒剂的形式。

[0127] 根据本发明第三方面任一实施方案的药物组合物,其是呈单位剂量的药物制剂形式。在一个实施方案中,所述药物制剂的每个单位剂量中包括1~1000mg的式I化合物,例如包括10~750mg的式I化合物,例如包括20~500mg的式I化合物。

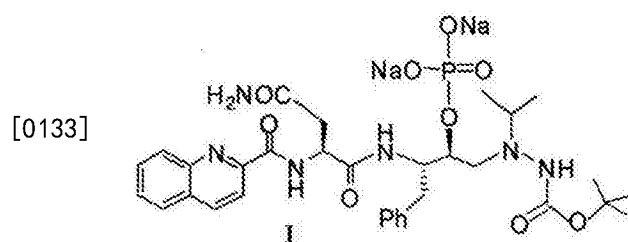
[0128] 根据本发明第三方面任一实施方案的药物组合物,其是呈片剂或胶囊剂的形式,其中还任选地包括药学常规的稀释剂(例如但不限于淀粉及其衍生物例如预胶化淀粉、改良淀粉,微晶纤维素等)、崩解剂(例如但不限于交联聚维酮、羧甲基淀粉钠等)、粘合剂(例如但不限于PVP、HPMC等)、润滑剂/助流剂(例如但不限于硬脂酸镁、滑石粉等)等。

[0129] 根据本发明第三方面任一实施方案的药物组合物,其在40℃条件下密封、避光放置5个月,测定并计算在此条件下处置5个月后某杂质相对于0月时的含量增加百分数,其中照【HPLC-A】测定,杂质Ia含量增加百分数低于200%,例如低于150%,例如低于100%,例如低于75%,例如低于50%。该试验方法在本发明中可简称为40℃-5月考察。

[0130] 本发明第四方面提供了如下式Ia化合物



[0132] 在制备用于检测以如下式I化合物为活性成分的药用原料药



[0134] 或者以该式I化合物为活性成分制成的(例如由该药用原料药制成的)药物组合物的对照品中的应用。

[0135] 根据本发明第四方面任一实施方案的应用,其中所述对照品照【HPLC-A】测定,式Ia化合物的色谱纯度大于95%,例如大于96%,例如大于97%,例如大于98%。

[0136] 根据本发明第四方面任一实施方案的应用,其用于监测所述药用原料药或药物组合物以确保该药用原料药或药物组合物中的式Ia化合物的含量相对于式I化合物而言小于2%,例如小于1.75%,例如小于1.5%,例如小于1.25%,例如小于1.0%,例如小于0.75%。

[0137] 根据本发明第四方面任一实施方案的应用,其用于监测所述药用原料药或药物组

合物以确保该药用原料药或药物组合物中的式Ia化合物的含量相对于式I化合物而言为0.002~2%，例如为0.002~1.75%，例如为0.002~1.5%，例如为0.002~1.25%，例如为0.002~1.0%，例如为0.002~0.75%。

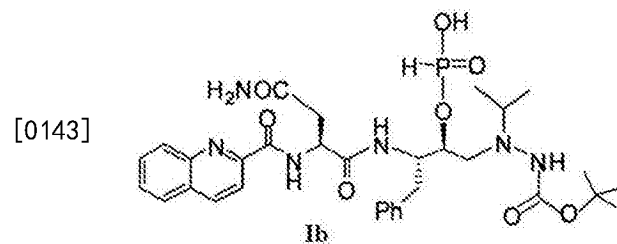
[0138] 根据本发明第四方面任一实施方案的应用，其用于监测所述药用原料药或药物组合物以确保该药用原料药或药物组合物照本发明【HPLC-A】法测定，其中式Ia化合物峰面积与式I化合物峰面积的比小于2%，例如小于1.75%，例如小于1.5%，例如小于1.25%，例如小于1.0%，例如小于0.75%。

[0139] 根据本发明第四方面任一实施方案的应用，其用于监测所述药用原料药或药物组合物以确保该药用原料药或药物组合物照本发明【HPLC-A】法测定，其中式Ia化合物峰面积与式I化合物峰面积的比为0.002~2%，例如为0.002~1.75%，例如为0.002~1.5%，例如为0.002~1.25%，例如为0.002~1.0%，例如为0.002~0.75%。

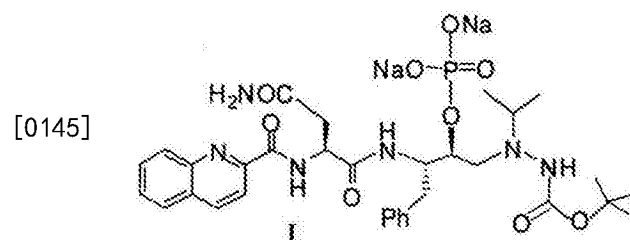
[0140] 根据本发明第四方面任一实施方案的应用，其用于监测所述药用原料药或药物组合物以确保该药用原料药或药物组合物照本发明【HPLC-A】法测定，其中式I化合物峰面积与式Ia化合物峰面积的比大于50，例如大于57，例如大于67，例如大于80，例如大于100，例如大于133。

[0141] 根据本发明第四方面任一实施方案的应用，其用于监测所述药用原料药或药物组合物以确保该药用原料药或药物组合物照本发明【HPLC-A】法测定，其中式I化合物峰面积与式Ia化合物峰面积的比为50~50000，例如为57~50000，例如为67~50000，例如为80~50000，例如为100~50000，例如为133~50000。

[0142] 本发明第五方面提供了如下式Ib化合物



[0144] 在制备用于检测以如下式I化合物为活性成分的药用原料药



[0146] 或者以该式I化合物为活性成分制成的（例如由该药用原料药制成的）药物组合物的对照品中的应用。

[0147] 根据本发明第五方面任一实施方案的应用，其中所述对照品照【HPLC-A】测定，式Ib化合物色谱纯度大于95%，例如大于96%，例如大于97%，例如大于98%。

[0148] 根据本发明第五方面任一实施方案的应用，其用于监测所述药用原料药或药物组合物以确保该药用原料药或药物组合物中的式Ib化合物的含量相对于式I化合物而言小于1%，例如小于0.75%，例如小于0.5%，例如小于0.4%，例如小于0.3%，例如小于0.25%。

[0149] 根据本发明第五方面任一实施方案的应用,其用于监测所述药用原料药或药物组合合物以确保该药用原料药或药物组合合物中的式Ib化合物的含量相对于式I化合物而言为0.002~1%,例如为0.002~0.75%,例如为0.002~0.5%,例如为0.002~0.4%,例如为0.002~0.3%,例如为0.002~0.25%。

[0150] 根据本发明第五方面任一实施方案的应用,其用于监测所述药用原料药或药物组合合物以确保该药用原料药或药物组合合物照本发明【HPLC-A】法测定,其中式Ib化合物峰面积与式I化合物峰面积的比小于1%,例如小于0.75%,例如小于0.5%,例如小于0.4%,例如小于0.3%,例如小于0.25%。

[0151] 根据本发明第五方面任一实施方案的应用,其用于监测所述药用原料药或药物组合合物以确保该药用原料药或药物组合合物照本发明【HPLC-A】法测定,其中式Ib化合物峰面积与式I化合物峰面积的比为0.002~1%,例如为0.002~0.75%,例如为0.002~0.5%,例如为0.002~0.4%,例如为0.002~0.3%,例如为0.002~0.25%。

[0152] 根据本发明第五方面任一实施方案的应用,其用于监测所述药用原料药或药物组合合物以确保该药用原料药或药物组合合物照本发明【HPLC-A】法测定,其中式I化合物峰面积与式Ib化合物峰面积的比大于100,例如大于133,例如大于200,例如大于250,例如大于333,例如大于400。

[0153] 根据本发明第五方面任一实施方案的应用,其用于监测所述药用原料药或药物组合合物以确保该药用原料药或药物组合合物照本发明【HPLC-A】法测定,其中式I化合物峰面积与式Ib化合物峰面积的比为100~50000,例如为133~50000,例如为200~50000,例如为250~50000,例如为333~50000,例如为400~50000。

[0154] 进一步地,本发明第六方面提供了控制药品质量的方法,所述的药品是以式I化合物为活性成分的药用原料药或者由该药用原料药制备成的药物组合合物,该方法包括使该药品中的杂质式Ib化合物控制在一定范围内,以使该药品在长期贮藏过程中杂质式Ia化合物呈现低的增长。

[0155] 根据本发明第六方面任一实施方案的方法,其中所述药品(即药用原料药或药物组合合物)中相对于式I化合物而言,式Ib化合物的含量小于1%,例如小于0.75%,例如小于0.5%,例如小于0.4%,例如小于0.3%,例如小于0.25%。

[0156] 根据本发明第六方面任一实施方案的方法,其中所述药品中相对于式I化合物而言,式Ib化合物的含量为0.002~1%,例如为0.002~0.75%,例如为0.002~0.5%,例如为0.002~0.4%,例如为0.002~0.3%,例如为0.002~0.25%。

[0157] 根据本发明第六方面任一实施方案的方法,其中所述药品照本发明【HPLC-A】法测定,其中式Ib化合物峰面积与式I化合物峰面积的比小于1%,例如小于0.75%,例如小于0.5%,例如小于0.4%,例如小于0.3%,例如小于0.25%。

[0158] 根据本发明第六方面任一实施方案的方法,其中所述药品照本发明【HPLC-A】法测定,其中式Ib化合物峰面积与式I化合物峰面积的比为0.002~1%,例如为0.002~0.75%,例如为0.002~0.5%,例如为0.002~0.4%,例如为0.002~0.3%,例如为0.002~0.25%。

[0159] 根据本发明第六方面任一实施方案的方法,其中所述药品照本发明【HPLC-A】法测定,其中式I化合物峰面积与式Ib化合物峰面积的比大于100,例如大于133,例如大于200,例如大于250,例如大于333,例如大于400。



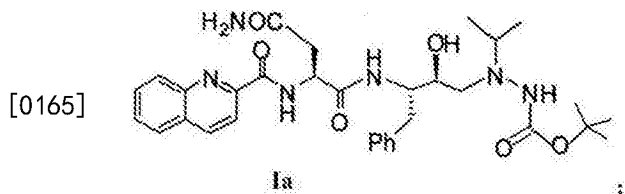
[0160] 根据本发明第六方面任一实施方案的方法,其中所述药品照本发明【HPLC-A】法测定,其中式I化合物峰面积与式Ib化合物峰面积的比为100~50000,例如为133~50000,例如为200~50000,例如为250~50000,例如为333~50000,例如为400~50000。

[0161] 根据本发明第六方面任一实施方案的方法,其中所述药品在40℃条件下密封、避光放置5个月,测定并计算在此条件下处置5个月后某杂质相对于0月时的含量增加百分数,其中照【HPLC-A】测定,杂质Ia含量增加百分数低于200%,例如低于150%,例如低于100%,例如低于75%,例如低于50%。

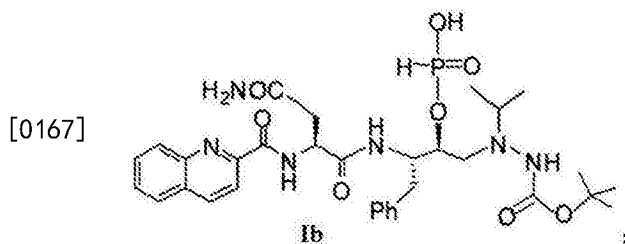
[0162] 根据本发明第六方面任一实施方案的方法,所述使该药品在长期贮藏过程中杂质式Ia化合物呈现低的增长是指所述药品在40℃条件下密封、避光放置5个月,测定并计算在此条件下处置5个月后某杂质相对于0月时的含量增加百分数,其中照【HPLC-A】测定,杂质Ia含量增加百分数低于200%,例如低于150%,例如低于100%,例如低于75%,例如低于50%。

[0163] 进一步地,本发明第七方面提供了制备本发明第一方面任一实施方案所述药用原料药的方法,该方法包括以下步骤:

[0164] (1) 向N-喹啉酰基-L-天门冬氨酸、3-异丙基-3-[(2S,3S)-2-羟基-3-(苯基甲氧基羰基)氨基-4-苯基丁基]胍基甲酸叔丁酯、苯并三唑-1-基氧三(二甲基氨基)磷氟磷酸盐和1-羟基苯并三唑的无水二甲基甲酰胺的搅拌溶液中加入N,N-二异丙基乙胺,在室温下搅拌使反应完全,反应物用乙酸乙酯稀释,并用水、2%硫酸氢钾、5%碳酸氢钠和饱和氯化钠水溶液洗涤,经无水硫酸镁干燥,减压蒸发溶剂,用硅胶柱色谱以乙酸乙酯提纯,得到3-异丙基-3-[(2S,3S)-2-羟基-3-(N-喹啉酰基-L-天门冬酰基)氨基-4-苯基丁基]胍基甲酸叔丁酯(即式Ia化合物)

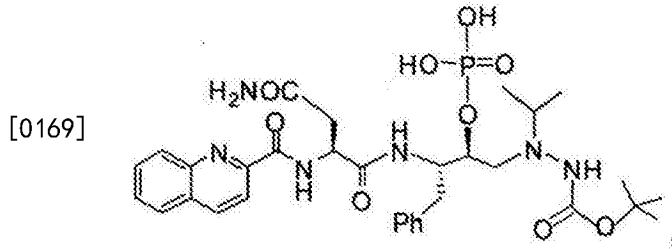


[0166] (2) 在室温、氮气氛下,使二环己基碳化二亚胺、3-异丙基-3-[(2S,3S)-2-羟基-3-(N-喹啉酰基-L-天门冬酰基)氨基-4-苯基丁基]胍基甲酸叔丁酯(即式Ia化合物)、无水亚磷酸在无水吡啶中混合,在60℃搅拌反应后,减压蒸发溶剂,以碳酸氢钠水溶液处理,于室温下激烈搅拌1小时,滤出沉淀物,以水洗涤,以浓盐酸酸化滤液至约pH1.5;以乙酸乙酯萃取吸收产物,有机物经无水硫酸镁脱水,溶剂蒸发,得到3-异丙基-3-[(2S,3S)-2-次膦羧氧基-3-(N-喹啉酰基-L-天门冬酰基)氨基-4-苯基丁基]胍基甲酸叔丁酯(即式Ib化合物)

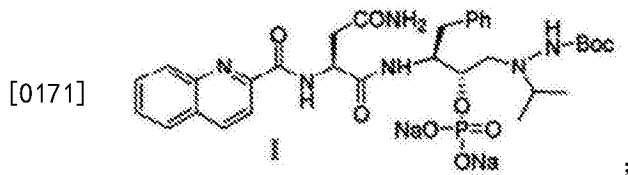


[0168] (3) 使3-异丙基-3-[(2S,3S)-2-次膦羧氧基-3-(N-喹啉酰基-L-天门冬酰基)氨基-4-苯基丁基]胍基甲酸叔丁酯(即式Ib化合物)在六甲基二硅胺烷中的悬浮液于120±5

℃下搅拌使反应混合物转呈均质化,添加双(三甲硅烷基)过氧化物,接着在上述温度下搅拌1小时;反应混合物冷却至室温后,真空蒸发至干;残余物溶于甲醇中,减压蒸发至干,再溶于0.1M碳酸氢钠水溶液中,所得混合物以浓盐酸酸化至约pH1.5,经氯化钠饱和,以乙酸乙酯萃取。合并的有机相经无水硫酸镁脱水,蒸发至干,得到3-异丙基-3-[(2S,3S)-2-膦羧氧基-3-(N-喹啉酰基-L-天门冬酰基)氨基-4-苯基丁基]胍基甲酸叔丁酯



[0170] (4) 在室温下将3-异丙基-3-[(2S,3S)-2-膦羧氧基-3-(N-喹啉酰基-L-天门冬酰基)氨基-4-苯基丁基]胍基甲酸叔丁酯加至碳酸氢钠水溶液中,搅拌直至溶液变澄清;加异丙醇,搅拌混合物,过滤;所得滤液在55-60℃真空下蒸馏去除溶剂;使物料冷却至25-35℃,添加异丙醇,升温至55-60℃,真空蒸馏除溶剂,干燥,所得固体用异丙醇洗涤,再在70-75℃的真空下蒸发至干燥,即得式I所示二钠盐化合物为3-异丙基-3-[(2S,3S)-2-膦羧氧基-3-(N-喹啉酰基-L-天门冬酰基)氨基-4-苯基丁基]胍基甲酸叔丁酯二钠



[0172] (5) 纯化:使步骤(4)所得产物加至庚烷:乙酸乙酯=10:2~5的混合溶剂中,在70-75℃下搅拌1-3小时,冷却至室温,滤出固体析出物,用庚烷20ml分2次洗涤,再在60℃、真空下蒸发至干燥,即得;任选地根据需要重复本步骤(5)。

[0173] 本发明任一方面或该任一方面的任一实施方案所具有的任一技术特征同样适用其它任一实施方案或其它任一方面的任一实施方案,只要它们不会相互矛盾,当然在相互之间适用时,必要的话可对相应特征作适当修饰。下面对本发明的各个方面和特点作进一步的描述。

[0174] 本发明所引述的所有文献,它们的全部内容通过引用并入本文,并且如果这些文献所表达的含义与本发明不一致时,以本发明的表述为准。此外,本发明使用的各种术语和短语具有本领域技术人员公知的一般含义,即便如此,本发明仍然希望在此对这些术语和短语作更详尽的说明和解释,提及的术语和短语如有与公知含义不一致的,以本发明所表述的含义为准。

[0175] 下面对本发明的各个方面作进一步描述。

[0176] 本发明一些实施方案提供的是以式I化合物为活性成分的药用原料药,该式I化合物是由式Ia化合物经磷酸化反应形成次磷酸酯,即形成式Ib化合物,式Ib化合物的次磷酸酯经氧化后进一步形成二钠盐,得到式I化合物。在制备过程中,杂质的引入是不可避免的,例如杂质式Ia化合物或式Ib化合物可能会引入到以式I化合物为活性成分的原料药中或者会引入到由该原料药制备成的药物制剂中。

[0177] 上述式Ia、式Ib作为杂质引入到式I化合物中,这对于将式I化合物作为药用原料药以及将其制成药物组合物例如药物制剂,是需要努力避免的。

[0178] 尽管化学家们在制备式I化合物时会努力将已知的和未知的杂质去除,但是在综合考虑成本效益关系的情况下,微量的杂质是难以避免的,而当这些微量杂质在可控(包括作为原料药时它们是可控的,还包括它们制成制剂时亦是可控的)状态下时,在药学领域通常还是勉强可以接受的。然而,令人遗憾的是,已经发现,在式I化合物中作为杂质的式Ib化合物高于一定量限度的时候,以此种式I化合物作为活性成分的原料药在与常规制剂辅料特别是某些糖类相配合而制成的药物组合物例如药物制剂时,随着时间的推移,该药物组合物中的式Ia化合物会出现显著的增长,而该式Ia化合物的生物学性质如其吸收性质是不能令人接受的。因此,在以式I化合物作为活性成分的原料药或者以其制成的药物组合物例如药物制剂中,将该杂质式Ib化合物控制在低于上述限度以下是极为有利的。

[0179] 目前已在临床广泛应用的HIV蛋白酶抑制剂有:沙奎那韦(saquinavir)、茚地那韦(indinavir)、利托那韦(ritonavir)、奈非那韦(nelfinavir)、安普那韦(amprenavir)和洛匹那韦(lopinavir),atazanavir和fosamprenavir。沙奎那韦(Saquinavir)是一种强效和高选择性蛋白酶的抑制剂,与其他核苷酸衍生物不同,不需经过代谢而直接起作用,半衰期:13·2h,脑脊液与血清浓度比为>90,本品对HIV-1和HIV-2均有作用,且对病毒蛋白酶有高度的专属性,对与人密切有关的天冬氨酸酶则没有作用,体外实验表明这是一种迄今为止新见到的最强的抗HIV病毒药物,本品通常耐受性好,会有腹泻、头痛、腹胀高脂血症,脂肪代谢障碍。利托那韦(ritonavir)是一种强效蛋白酶抑制剂,半衰期3~5h,与食物同服,可增强耐受性,为减少不良反应,建议逐渐加量,副作用、腹泻、疲乏,集中力减退,高脂血症。Amprenavir通过抑制病毒,编码的蛋白酶,导致处理gag和gag-pol无能,产生无功能病毒,适用于HIV-1和HIV-2感染,禁用于对其任何成分在临床上过敏的患者,副作用,恶心,腹泻,腹胀,皮疹。茚地那韦(Indinavir)是美国meck公司开发的另一种强效蛋白酶的抑制剂、有效对抗HIV-1,口服生物利用度好,对于以前未用拉米夫定或蛋白酶抑制剂治疗的HIV感染者,本品加齐多夫定和拉米夫定较仅用两种核苷类药物能更好地减缓疾病的进展和降低死亡率。Atazanavir(ATV)是目前唯一的每天只需服一次的蛋白酶抑制剂,现正出于III其临床试验阶段,其主要优点在于其强大的抗病毒效果,独有的耐药图谱,以及对脂肪代谢影响最小。

[0180] 目前临床上仍然期待有新的治疗HIV的方案。本发明提供的式I化合物是一种有效的抗HIV药物,其具有良好的口服生物利用度,适用于HIV感染的治疗并且对HIV-1和HIV-2均有作用。以给予人使用式I化合物时其典型的日用药剂量为50~500mg,例如50~250mg,例如50~200mg。

[0181] 特别地,本发明的以式I化合物为活性成分的药用原料药或由其制备得到的药物组合物具有优良的性质。

### 具体实施方式

[0182] 通过下面的实施例可以对本发明进行进一步的描述,然而,本发明的范围并不限于下述实施例。本领域的专业人员能够理解,在不背离本发明的精神和范围的前提下,可以对本发明进行各种变化和修饰。本发明对试验中所使用到的材料以及试验方法进行一般性

和/或具体的描述。虽然为实现本发明目的所使用的许多材料和操作方法是本领域公知的，但是本发明仍然在此作尽可能详细描述。

[0183] A、化合物制备实施例部分

[0184] 实施例1:制备3-异丙基-[(2R,3S)-2-羟基-3-(苯基甲氧基羰基)氨基-4-苯基丁基]胍基甲酸叔丁酯

[0185] 步骤A:制备3-异丙基胍基甲酸叔丁酯

[0186] 标题化合物可通过Dutta等人(J.C.S.Perkin/1975,1712-1720)的方法或下述方法来制备:在室温下,将13.2g(0.1mol)胍基甲酸叔丁酯和6g(0.103mol)丙酮及12.5g(0.1mol)无水硫酸镁的100ml二氯甲烷的混合物搅拌12小时,用过滤除去干燥剂后,滤液在减压下蒸发至于,由环己烷结晶后,得到16.9g(98%收率)相应的脞,其熔点为104-105℃。于温室下在氮气中,向2.04g(0.094mol)硼氢化锂的100ml无水四氢呋喃的悬浮液中加入12ml(0.094mol)三甲基氯硅烷,30分钟后,在室温下缓慢加入13.45g(0.078mol)脞,并继续搅拌2小时。然后,小心地加入50ml甲醇,并将该混合物在减压下蒸发至干,残余物在乙醚(150ml)和水(50ml)之间分配,有机相经无水硫酸镁干燥并过滤,干燥氯化氢通过滤液并用过滤除去形成的白色固体,用一部分新鲜乙醚洗涤,干燥得到(10.5g)标题化合物的盐酸盐。通过在己烷(150ml)和20%氢氧化钾水溶液之间的分配将其转化为其游离碱形式得到8.3g(61%)产物。

[0187] 步骤B:制备3-异丙基-[(2R,3S)-2-羟基-3-(苯基甲氧基羰基)氨基-4-苯基丁基]胍基甲酸叔丁酯

[0188] 在室温下,将在无水二甲基甲酰胺中的0.15g(0.41mmol)N-CBZ-L-苯基丙氨酸氯甲基酮和1ml饱和碘化钠溶液的混合物搅拌15分钟。向其中加入0.074g(0.47mmol)3-异丙基胍基甲酸叔丁酯,接着加入0.095g(1.13mmol)碳酸氢钠。在室温下搅拌6小时后,加入0.051g(1.3mmol)硼氢化钠并继续搅拌另外30分钟。该溶液用乙酸乙酯稀释至30ml,并用2%硫酸氢钾水溶液、水和饱和氯化钠水溶液洗涤,然后经无水硫酸镁干燥。在减压下蒸发溶剂,并用快速色谱(硅胶;己烷/乙酸乙酯20:5)提纯残余物,得到标题化合物,其熔点为118-119.5℃,收率为49%;R(A)=0.11;R(B)=0.47;

[0189] NMR(CDCl<sub>3</sub>) 1.0(m,6H,异丙基CH<sub>3</sub>);1.44(s,9H,叔丁基CH<sub>3</sub>);2.62(m,2H,丁基CH<sub>2</sub>-1);2.75-3.2(m,3H,丁基CH-3,CH<sub>2</sub>-4);3.47(m,1H,异丙基CH);3.89(m,1H,丁基CH-2);4.44(宽s,1H,OH);4.6(宽m,1H,NH);5.03(s,2H,甲氧基CH<sub>2</sub>);5.3(宽s,1H,胍基甲酸酯NH);7.23(m,10H,芳H)。

[0190] 实施例2:制备3-异丙基-3-[(2R,3S)-2-羟基-3-(N-喹啉酰基-L-缬氨酰基)氨基-4-苯基丁基]胍基甲酸叔丁酯

[0191] 步骤A:制备N-喹啉酰基-L-缬氨酸

[0192] 在室温下,将在1ml无水1,4-二氧六环中的0.62g(3.6mmol)喹啉酸和0.61g(3.76mmol)1,1'-羰基二咪唑的混合物搅拌30分钟。向其中加入0.43g(3.7mmol)L-缬氨酸和0.155g(3.7mmol)氢氧化锂的1ml水的溶液,所得混合物于室温下剧烈搅拌约4小时。该混合物用水稀释至10ml,冷却(冰水浴),然后用1N盐酸酸化至pH约3,并在4℃下将其放置2小时。用过滤除去形成的晶体,将其用5ml冷水洗涤3次并在高真空下经五氧化二磷干燥得到0.75g产物。收率=76%;熔点为134-136℃;

[0193] NMR (DMSO- $d_6$ ) 1.03 (d, 6H, Val CH<sub>3</sub>); 2.3 (m, 1H, Val CH- $\beta$ ); 3.35 (宽S, 1H, OH); 4.49 (q, 1H, Val CH- $\alpha$ ); 7.5-8.3 (m, 5H, 芳H); 8.5-8.76 (m, 2H, 芳H, NH)。

[0194] 步骤B: 制备3-异丙基-3-[(2R, 3S)-2-羟基-3-(苯基甲氧基羰基)氨基-4-苯基丁基]胍基甲酸叔丁酯

[0195] 在氮气氛下, 向0.113g (0.24mmol) 实施例1的产物的2ml 甲醇的冷却溶液中加入0.1g的10%钨/活性炭, 接着加入0.1g 硼氢化钠。使反应物升温至室温并搅拌1小时, 然后过滤除去催化剂, 并用一部分新鲜甲醇洗涤。合并的滤液用1ml 0.1N 盐酸水溶液处理并在减压下蒸发至于。残余物用5ml 0.1N 氢氧化钾处理, 该产物用30ml 乙醚溶解。有机相用饱和氯化钠水溶液洗涤, 经无水硫酸镁干燥并减压蒸发得到0.0797g (99% 收率) 步骤B产物, 该产物在没有进一步提纯情况下用于下一步骤。

[0196] 步骤C: 制备3-异丙基-3-[(2R, 3S)-2-羟基-3-(N-喹啉酰基-L-缬氨酰基)氨基-4-苯基丁基]胍基甲酸叔丁酯

[0197] 向在0.5ml 无水二甲基甲酰胺中的0.0643g (0.24mmol) 来自步骤A的酸、0.0797g (0.236mmol) 来自步骤B的胺和0.032g (0.24mmol) 1-羟基苯并三唑的混合物中加入0.071g (0.24mmol) 1-(3-二甲基氨基丙基)-3-乙基碳化二亚胺甲碘化物。于室温下搅拌一夜后, 混合物用乙酸乙酯稀释至30ml, 依次用水、5% 碳酸氢钠水溶液、2% 硫酸氢钾水溶液和饱和氯化钠溶液洗涤, 并经无水硫酸镁干燥。减压蒸发溶剂, 用柱色谱(硅胶, 己烷/乙酸乙酯3:2) 提纯残余物, 得到0.091g (65% 收率) 标题化合物, 其熔点为186-189°C; Rf (B) = 0.19; Rf (C) = 0.83; NMR (CDCl<sub>3</sub>) 1.0 (m, 12H, Val 和异丙基CH<sub>3</sub>); 1.71 (s, 9H, 叔丁基CH<sub>3</sub>); 2.3 (m, 1H, Val CH- $\beta$ ); 2.5-3.27 (m, 3H, 丁基CH-3, CH<sub>2</sub>); 3.5 (m, 1H, 异丙基CH); 4.31 (m, 2H, Val CH-2, OH); 5.43 (宽S, 1H, 胍基甲酸酯NH); 6.22 (宽d, 1H, 丁基NH); 6.7-8.73 (m, 12H, 芳H, NH)。

[0198] 实施例3: 制备3-异丙基-3-[(2R, 3S)-2-羟基-3-(N-喹啉酰基-L-天门冬酰基)氨基-4-苯基丁基]胍基甲酸叔丁酯

[0199] 步骤A: 制备N-喹啉酰基-L-天门冬氨酸

[0200] 当用天门冬氨酸代替实施例2的步骤A中的L-缬氨酸时, 用相同的方法得到标题化合物, 其熔点为200-203°C, 收率为85%。

[0201] NMR (DMSO- $d_6$ ) 3.0 (m, 2H, aSn CH<sub>2</sub>); 5.0 (m, 1H, aSn CH-2); 6.3 (宽S, 1H, OH); 6.55 (宽2, 1H, NH<sub>2</sub>); 7.3 (宽S, 1H, NH<sub>2</sub>); 7.55-8.6 (m, 6H, 芳H); 9.22 (d, 1H, NH)。

[0202] 步骤B: 制备3-异丙基-3-[(2R, 3S)-2-羟基-3-(N-喹啉酰基-L-天门冬酰基)氨基-4-苯基丁基]胍基甲酸叔丁酯

[0203] 向步骤A的产物(0.111g; 0.386mmol)、实施例2步骤B产物(0.13022g; 0.386mmol)、苯并三唑-1-基氧三(二甲基氨基)磷氟磷酸盐(0.205g; 0.46mmol) 和1-羟基苯并三唑(0.052g; 0.384mmol) 的1ml 无水二甲基甲酰胺的搅拌溶液中加入N,N-二异丙基乙胺(0.24ml, 1.38mmol)。于室温下搅拌12小时后, 反应物用乙酸乙酯稀释至30ml, 并用水、2% 硫酸氢钾、5% 碳酸氢钠和饱和氯化钠水溶液洗涤, 经无水硫酸镁干燥。减压蒸发溶剂, 用柱色谱(硅胶, 乙酸乙酯) 提纯残余物得到0.152g (65% 收率) 标题产物, 其熔点为109-114°C; Rf (C) = 0.36; Rf (D) = 0.37;

[0204] NMR (CDCl<sub>3</sub>) 1.0 (m, 6H, Val, 异丙基CH<sub>3</sub>); 1.42 (s, 9H, 叔丁基CH<sub>3</sub>); 2.5-3.1 (m, 7H, aSn CH<sub>2</sub>, 丁基CH<sub>2</sub>-1, -4, CH-3); 3.44 (m, 1H, 异丙基CH); 4.21 (m, 1H, 丁基CH-2); 4.55 (s, 1H,

OH); 4.94 (m, 1H, aSn CH-2); 5.4-6.2 (m, 3H, 酰胺); 6.7-8.4 (m, 11H, 芳H); 9.25 (m, 1H, NH)。

[0205] **实施例4: 制备2(R,S)-3(S)-1,2-环氧-3-苯基甲氧基羰基氨基-4-苯基丁烷**

[0206] 向6g (18mmol) N-CBZ-L-苯基丙氨酸氯甲基酮的30ml 50%甲醇的四氢呋喃的溶液中加入0.68g硼氢化钠,于室温下搅拌30分钟后,混合物小心地用1N盐酸酸化并在减压下蒸发至干。残余物用二氯甲烷稀释至50ml,用水和饱和氯化钠水溶液洗涤,并经无水硫酸镁干燥。蒸发得到6.02g (100%)的2(R,S)-3(S)-1-氯-2-羟基-3-苯基甲氧基羰基氨基-4-苯基丁烷,其为白色固体。将其溶于50ml异丙醇中,并于室温下加入9ml 2N氢氧化钾的甲醇溶液。于室温下搅拌1小时后,减压除去溶剂,残余物在50ml乙酸乙酯和20ml水之间分配。有机相用饱和氯化钠水溶液洗涤,经无水硫酸镁干燥并蒸发至干,正如由赤-NCH(3.74ppm; 72%) 和苏-NCH(4.2; 28%)的相对积分测定的那样,得到5.3g (99%收率)以2(S)立体异构体为主的标题化合物;

[0207] NMR(CDC1<sub>3</sub>) 2.42-3.17 (m, 5H, 丁烷CH<sub>2</sub>-1, -4, CH-2); 3.74 (m, 0.72H, 丁烷CH-3); 4.2 (m, 0.28H, 丁烷CH-3); 4.73 (宽m, 1H, NH); 5.08 (s, 2H, 甲氧基CH<sub>2</sub>); 7.3 (m, 10H, 芳H)。

[0208] **实施例5: 制备3-异丙基-3-[(2S,3S)-2-羟基-3-(苯基甲氧基羰基)氨基-4-苯基丁基]肼基甲酸叔丁酯**

[0209] **步骤A: 制备2(R)-3(S)-1,2-环氧-3-苯基甲氧基羰基氨基-4-苯基丁烷**

[0210] 在氮气氛围中,向6.02g (40mmol)碘化钠的50ml无水乙腈的搅拌溶液中加入2.6ml (22mmol)三甲基氯硅烷。搅拌10分钟后,加入6g (20.1mmol)主要为赤异构体的2(R,S)-3(S)-1,2-环氧-3-苯基甲氧基羰基氨基-4-苯基丁烷(实施例4),继续搅拌另外1小时。向该混合物中加入4g (61.2mmol)锌粉,接着加入6ml乙酸。所得混合物于室温下剧烈搅拌约5小时并过滤除去固体物质。滤液在真空中蒸发至干,残余物用乙醚稀释至75ml,用水和5N硫代硫酸钠水溶液洗涤并经无水硫酸镁干燥。在真空中蒸发并用硅胶色谱(己烷/乙酸乙酯4:1)提纯,得到5.1g (90%)的(S)-2-(苯基甲氧基羰基)氨基-1-苯基丁-3-烯;R<sub>f</sub>(A)=0.5;熔点=87-88°C(己烷);

[0211] NMR(CDC1<sub>3</sub>) 2.87 (d, 2H, buteneCH<sub>2</sub>-1); 4.77 (m, 2H, 丁烯CH<sub>2</sub>-4); 5.0 (m, 1H, NCH); 5.06 (s, 2H, 甲氧基CH<sub>2</sub>); 5.18 (宽d, 1H, NH); 5.55-6 (m, 1H, 丁烯CH-3); 7.19, 7.27 (m, s, 5H, 芳H)。

[0212] 该物质(2.23g; 7.93mmol)溶于25ml无水二氯甲烷中,并在+4°C下加入4.5g (22.1mmol)85%的3-氯过氧苯甲酸。所得混合物在上述温度下搅拌2天,然后用乙醚稀释至50ml,依次用0°C 10%亚硫酸钠水溶液、饱和碳酸氢钠水溶液和饱和氯化钠水溶液洗涤,并经硫酸镁干燥。蒸发溶剂后,粗产物用己烷/二氯甲烷的混合物结晶,得到2.1g (89%收率)主要为苏式立体化学结构的标题环氧化物;熔点=83-84°C;

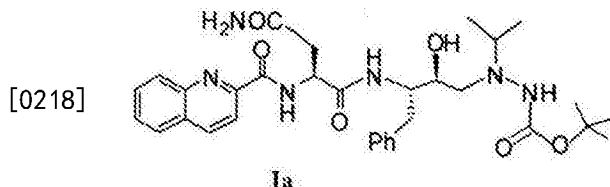
[0213] NMR(CDC1<sub>3</sub>) 2.47 (m, 5H, 丁烯CH<sub>2</sub>-1, 4, CH-2); 3.74 (m, 0.15H, NCH); 4.2 (m, 0.85H, NCH); 4.53 (宽d, 1H, NH); 5.03 (m, 2H, 甲氧基CH<sub>2</sub>); 7.3 (m, 10H, 芳H)。

[0214] **步骤B: 制备3-异丙基-3-[(2S,3S)-2-羟基-3-(苯基甲氧基羰基)氨基-4-苯基丁基]肼基甲酸叔丁酯**

[0215] 在氮气氛围中,2.03g (6.83mmol)步骤A的产物和1.2g (7.6mmol)3-异丙基肼基甲酸叔丁酯的8ml异丙醇的混合物于70±5°C下搅拌12小时。在真空中蒸发溶剂后,固体残余物用己烷重结晶,得到2.6g (80%收率)标题化合物,熔点为114-115°C;

[0216]  $R_f(A) = 0.2$ ;  $R_f(B) = 0.61$ ; NMR ( $CDCl_3$ ) 0.95 (m, 6H, 异丙基 $CH_3$ ); 1.42 (s, 9H, 叔丁基 $CH_3$ ); 2.44 (m, 2H, 丁基 $CH_2-1$ ); 2.94 (m, 3H, 丁基 $CH_2-4$ ,  $CH-3$ ); 3.33-3.93 (m, 2H, 异丙基 $CH$ , 丁基 $CH-2$ ); 4.4 (宽m, 1H, OH); 5.05 (s, 2H, 甲氧基 $CH_2$ ); 5.33 (宽m, 2H, NH); 7.18, 7.27 (m, s, 5H, 5H, 芳H)。

[0217] 实施例6: 制备3-异丙基-3-[(2S, 3S)-2-羟基-3-(N-喹啉酰基-L-天门冬酰基)氨基-4-苯基丁基]胍基甲酸叔丁酯(式Ia化合物)

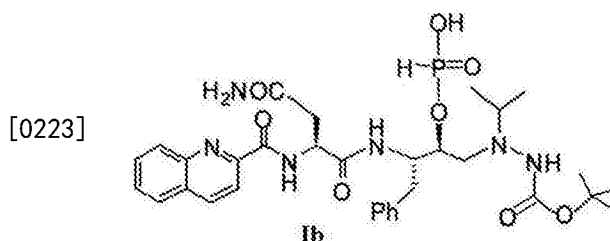


[0219] 本实施例的标题化合物亦称为3-异丙基-3-[(2S, 3S)-2-羟基-3-(N-喹啉酰基-L-天门冬酰基)氨基-4-苯基丁基]胍基甲酸叔丁酯。

[0220] 用实施例5的产物代替实施例3中使用的3-异丙基-3-[(2R, 3S)-2-羟基-3-(苯基甲氧基羰基)氨基-4-苯基丁基]胍基甲酸叔丁酯(即代替实施例3中所使用的实施例2步骤B的产物), 用与实施例3相同的方法可制备得到本实施例的标题化合物, 收率为66%; 熔点=203-204°C(氯仿); 【HPLC-A】色谱纯度98.1%;

[0221]  $R_f(C) = 0.36$ ;  $R_f(D) = 0.37$ ; NMR (5%  $CD_3OD$  in  $CDCl_3$ ); 1.0 (m, 6H, 异丙基 $CH_3$ ); 1.4 (s, 9H, 叔丁基 $CH_3$ ); 2.53 (d, 2H, 丁基 $CH_2-1$ ); 2.87 (m, 4H, asn  $CH_2$ , 丁基 $CH_2-4$ ); 3.13 (s, 6H,  $CD_3OH$ ); 3.42 (m, 2H, 异丙基 $CH$ , 丁基 $CH-3$ ); 4.0 (m, 1H, 丁基 $CH-2$ ); 4.89 (m, 1H, asn  $CH-\alpha$ ); 7.11 (m, 5H, 苯基); 7.41-8.47 (m, 6H, 喹哪啶酰基)。

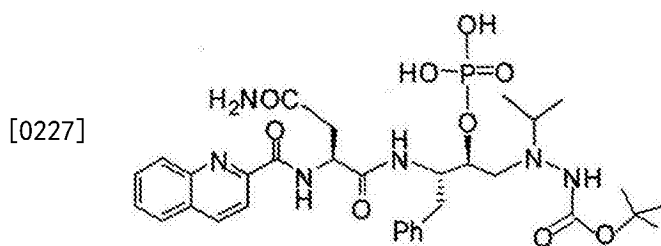
[0222] 实施例7: 制备3-异丙基-3-[(2S, 3S)-2-次膦酰氧基-3-(N-喹啉酰基-L-天门冬酰基)氨基-4-苯基丁基]胍基甲酸叔丁酯(式Ib化合物)



[0224] 在室温、氮气氛下, 搅拌添加0.28克(1.4毫摩尔)二环己基碳化二亚胺至含0.4克(0.67毫摩尔)3-异丙基-3-[(2S, 3S)-2-羟基-3-(N-喹啉酰基-L-天门冬酰基)氨基-4-苯基丁基]胍基甲酸叔丁酯(即式Ia化合物)与0.12克(1.47毫摩尔)无水亚磷酸混合物的1.5毫升无水吡啶中。于60°C搅拌2小时后, 减压蒸发溶剂, 以28毫升0.1M碳酸氢钠水溶液处理, 于室温下激烈搅拌1小时。滤出沉淀物, 以水洗涤, 以浓盐酸酸化滤液至 $pH \sim 1.5$ 。以乙酸乙酯(3x50毫升)萃取吸收产物, 有机物经无水硫酸镁脱水。溶剂蒸发, 产生0.42克(收率95%)标题产物的无色固体,  $R_f(B) = 0.62$ ; 【HPLC-A】色谱纯度98.2%;

[0225]  $^1H$ NMR ( $CDCl_3$ ); 1.08 (m, 6H, 异丙基 $CH_3$ ); 1.41 (s, 9H, 叔丁基 $CH_3$ ); 2.7-4.8 (m, 14H, asn  $CH_2$ , 丁基 $CH_2-1, 4$ ;  $CH-2, 3$ ; 异丙基 $CH$ ;  $P-OH \times 2H_2O$ ); 5.12 (m, 1H, asn  $CH$ ); 5.89 (s, 0.5H, PH); 6.2-8.5 (m, 15.5H, 芳香系, 酰胺NH, 0.5PH); 9.02 (m, 1H, asn NH);  $^{31}P$ NMR ( $CDCl_3$ ) 14.99 (J=636Hz)。

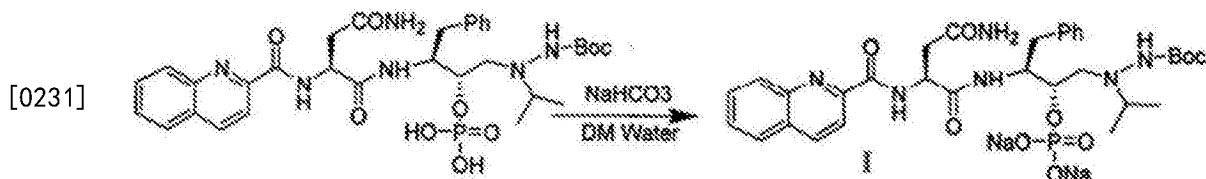
[0226] 实施例8:制备磷酸酯化合物3-异丙基-3-[(2S,3S)-2-膦羧氧基-3-(N-喹啉酰基-L-天门冬酰基)氨基-4-苯基丁基]胍基甲酸叔丁酯



[0228] 使含0.4克(0.6毫摩尔)式Ib化合物的2毫升六甲基二硅烷烷悬浮液于 $120 \pm 5^\circ\text{C}$ 下搅拌45分钟。此时反应混合物转呈均质化。添加0.3毫升双(三甲硅烷基)过氧化物(P.G.库森(Cookson)等人, *J. Organometal, Chem.*, 1975, 99, C31),接着在上述温度下搅拌1小时。反应混合物冷却至室温后,真空蒸发至干。残质溶于20毫升甲醇中,减压蒸发至干,再溶于12毫升0.1M碳酸氢钠水溶液中,所得混合物以浓盐酸酸化至 $\text{pH} \sim 1.5$ ,经氯化钠饱和,以乙酸乙酯(3x50毫升)萃取。合并的有机相经无水硫酸镁脱水,蒸发至干,产生0.39克(收率96%)标题化合物的无色固体; $R_f(B) = 0.07$ ;

[0229]  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ): 1.2 (m, 6H, 异丙基 $\text{CH}_3$ ); 1.4 (s, 9H, 叔丁基 $\text{CH}_3$ ); 2.8-4.2 (m, 8H, asn  $\text{CH}_2$ , 丁基 $\text{CH}_2$ -1, 4;  $\text{CH} = 3$ ; 异丙基 $\text{CH}$ ); 4.2-6.4 (m, 5H, asn  $\text{CH}$  丁基 $\text{CH}$ -2,  $\text{NH}$ ,  $\text{POH}$ ); 6.5-8.4 (m, 14H, 芳香系,  $\text{NH}$ , 8.78 (m, 2H,  $\text{NH}$ );  $^{31}\text{P NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) 9.6 (s).

[0230] 实施例9:制备式I化合物(二钠盐)



[0232] 操作:在室温下将碳酸氢钠2.2g(26mmol)在反应瓶中溶解于22ml去离子水中,将10g(14.5mmol)实施例8产物加至上述溶液中,搅拌2-3小时直至溶液变澄清;加异丙醇100ml,搅拌20-30min,过滤;所得滤液在 $55-60^\circ\text{C}$ 真空下蒸馏去除溶剂;使物料冷却至 $25-35^\circ\text{C}$ ,添加异丙醇50ml,升温至 $55-60^\circ\text{C}$ ,真空蒸馏除溶剂,干燥,所得固体用异丙醇50ml洗涤,再在 $70-75^\circ\text{C}$ 的真空下蒸发至干燥,即得式I所示二钠盐化合物,收率98%。【HPLC-A】色谱纯度97.2%,杂质Ia含量=0.82%,杂质Ib含量=0.68%。

[0233] 实施例91:制备式I化合物(二钠盐)

[0234] 将实施例9产物1g置于反应瓶中,添加庚烷/乙酸乙酯(10/3, v/v) 20ml,在 $70-75^\circ\text{C}$ 下搅拌3小时,冷却至室温,滤出固体析出物,用庚烷20ml分2次洗涤,再在 $60^\circ\text{C}$ 、真空下蒸发至干燥,即得式I所示二钠盐化合物,收率96%。【HPLC-A】色谱纯度99.3%,杂质Ia含量=0.26%,杂质Ib含量=0.23%(从0.68%降至0.23%,降低至34%)。

[0235] 实施例92:制备式I化合物(二钠盐)

[0236] 将实施例91产物1g置于反应瓶中,添加庚烷/乙酸乙酯(10/2, v/v) 20ml,在 $70-75^\circ\text{C}$ 下搅拌1小时,冷却至室温,滤出固体析出物,用庚烷20ml分2次洗涤,再在 $60^\circ\text{C}$ 、真空下蒸发至干燥,即得式I所示二钠盐化合物,收率95%。【HPLC-A】色谱纯度99.5%,杂质Ia含量=0.09%,杂质Ib含量=0.07%(降低至30%)。

[0237] 实施例93:制备式I化合物(二钠盐)



[0238] 将实施例92产物1g置于反应瓶中,添加庚烷/乙酸乙酯(10/5,v/v) 20ml,在70-75℃下搅拌2小时,冷却至室温,滤出固体析出物,用庚烷20ml分2次洗涤,再在60℃、真空下蒸发至干燥,即得式I所示二钠盐化合物,收率96%。【HPLC-A】色谱纯度99.6%,杂质Ia含量=0.025%,杂质Ib含量=0.019%(降低至27%)。

[0239] 实施例94:制备式I化合物(二钠盐)

[0240] 将实施例93产物1g置于反应瓶中,添加庚烷/乙酸乙酯(10/4,v/v) 20ml,在70-75℃下搅拌2.5小时,冷却至室温,滤出固体析出物,用庚烷20ml分2次洗涤,再在60℃、真空下蒸发至干燥,即得式I所示二钠盐化合物,收率94%。【HPLC-A】色谱纯度99.8%,杂质Ia含量=0.008%,杂质Ib含量=0.006%(降低至32%)。

[0241] 实施例95:制备式I化合物(二钠盐)

[0242] 将实施例94产物1g置于反应瓶中,添加庚烷/乙酸乙酯(10/3,v/v) 20ml,在70-75℃下搅拌2小时,冷却至室温,滤出固体析出物;用庚烷20ml分2次洗涤,再在60℃、真空下蒸发至干燥,即得式I所示二钠盐化合物,收率96%。【HPLC-A】色谱纯度99.8%,杂质Ia含量=0.002%,杂质Ib含量=0.002%(降低至33%)。

[0243] 根据以上实施例91~95的结果可见,使用庚烷/乙酸乙酯对产物进行处理时,可以使杂质Ia和杂质Ib的含量大大降低,每处理一次可使此类杂质分别降低至约25%~35%,即降低了约65%~75%。

[0244] 实施例97:制备式I化合物(二钠盐)

[0245] 将实施例9产物1g置于反应瓶中,添加庚烷20ml,在70-75℃下搅拌3小时,冷却至室温,滤出固体析出物,用庚烷20ml分2次洗涤,再在60℃、真空下蒸发至干燥,即得式I所示二钠盐化合物,收率97%。【HPLC-A】色谱纯度97.5%,杂质Ia含量=0.74%,杂质Ib含量=0.61%(两种杂质分别降低约10%)。

[0246] 另外,在参照实施例97的补充试验中,使用庚烷/乙酸乙酯=10/0.5、或10/1为溶剂处理时,两种杂质分别降低约9~11%。

[0247] 实施例98:制备式I化合物(二钠盐)

[0248] 将实施例9产物1g置于反应瓶中,添加乙酸乙酯20ml,在70-75℃下搅拌2小时,冷却至室温,滤出固体析出物,用庚烷20ml分2次洗涤,再在60℃、真空下蒸发至干燥,即得式I所示二钠盐化合物,收率97%。【HPLC-A】色谱纯度97.5%,杂质Ia含量=0.79%,杂质Ib含量=0.64%。

[0249] 另外,在参照实施例98的补充试验中,使用庚烷/乙酸乙酯=10/50、或10/20为溶剂处理时,两种杂质分别降低约7~10%。

[0250] 根据以上实施例97~98的结果可见,当使用庚烷、或者使用乙酸乙酯、或者使用此二者用量差异较大的混合溶剂处理时,不能有效地使杂质Ia和杂质Ib的含量得到明显降低,每处理一次仅可使此类杂质降低约10%。

[0251] 实施例99:制备式I化合物(二钠盐)

[0252] 将实施例8产物游离酸用2当量的0.2M碳酸氢钠溶液处理,转化成相应的二钠盐,所得溶液冷冻干燥,即得,收率99%。【HPLC-A】色谱纯度95.6%,杂质Ia含量=2.68%,杂质Ib含量=1.91%。

[0253] 实施例95所得式I化合物的表征:

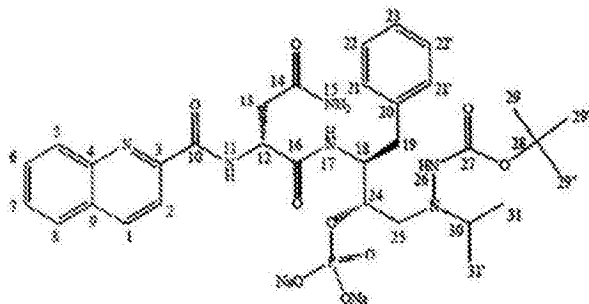
[0254] 红外数据如下表:

[0255]

波数 (cm <sup>-1</sup> )	归属
3231	N-H
3063	芳族C-H
2978	脂族C-H
1672	C=O
1528	酰胺II键
1250	P=O
1165,1101	C-N
976,775	芳族

[0256] NMR:500MHz,Varian Unity Inova FT-NMR仪,溶剂为CD<sub>3</sub>OD;<sup>1</sup>H和<sup>13</sup>C NMR化学位移以δ (ppm)表示,分别相对于内标物TMS (δ0.00)和CD<sub>3</sub>OD (δ49.00)计;在CD<sub>3</sub>OD <sup>1</sup>H NMR中未见有可交换质子;在30℃和70℃下在DMSO-d<sub>6</sub>中采集<sup>1</sup>H NMR数据,以观测可交换质子的共振;进行gDQCOSY和gHSQC试验以及TOCSY试验;样品的NMR归属显示如下:

[0257]



[0258]

位置	<sup>1</sup> H	δ(ppm)	J(Hz) <sup>2</sup>	gDQCOASY	<sup>13</sup> C	DEPT <sup>3</sup>	gHSQC	gHMBC
1	1H	8.47	d, 8.5	(2H, 8.20)	138.89	CH	(1H, 8.47)	-
2	1H	8.20	d, 8.5	(1H, 8.45)	119.66	CH	(2H, 8.20)	-
3	-	-	-	-	150.54	-	-	(1H, 8.47), (2H, 8.20)
4	-	-	-	-	130.79*	-	-	(2H, 8.20), (5H, 8.15)
5	1H	8.15	d, 8.5	(6H, 7.84), (7H, 7.69)	130.79*	CH	(5H, 8.15)	-
6	1H	7.84	dt, (8.5, 1.0)	(5H, 8.15), (7H, 7.69), (8H, 8.00)	131.51	CH	(6H, 7.84)	-
7	1H	7.69	dt, (8.5, 1.0)	(5H, 8.15), (6H, 7.84), (8H, 8.00)	129.38	CH	(7H, 7.69)	-
8	1H	8.00	d, 8.0	(6H, 7.84), (7H, 7.69)	129.03	CH	(8H, 8.00)	-
9	-	-	-	-	147.87	-	-	(1H, 8.47), (7H, 7.69), (8H, 8.00)
10	-	-	-	-	165.73	-	-	(1H, 8.47), (2H, 8.20), (12H, 5.00)
11	1H	5.00	t, 6.5	(13H, 2.80)	51.09	CH	(12H, 5.00)	-
12	2H	2.80	m	(12H, 5.00)	38.75	CH <sub>2</sub>	(13H, 2.80)	-
13	-	-	-	-	174.96	-	-	(12H, 5.00), (13H, 2.80)
14	-	-	-	-	172.12	-	-	(12H, 5.00), (13H, 2.80)
15	-	-	-	-	-	-	-	-
16	-	-	-	-	-	-	-	-
17	-	-	-	-	-	-	-	-
18	1H	4.38	br	(19H <sub>a</sub> , 2.93), (19H <sub>b</sub> , 3.03), (24H, 4.19)	34.50*	CH	(18H, 4.38)	-
19	H <sub>a</sub>	2.93	m	(19H <sub>a</sub> , 2.93), (18H, 4.38)	38.88	CH <sub>2</sub>	(19H <sub>a</sub> , 2.93)	-
	H <sub>b</sub>	3.03	m	(19H <sub>b</sub> , 3.03), (18H, 4.38)			(19H <sub>b</sub> , 3.03)	-
20	-	-	-	-	140.56	-	-	(19H <sub>a</sub> , 2.93), (19H <sub>b</sub> , 3.03), (22,22'H, 7.01)
21, 21'	2H	7.27	d, 7.5	(22,22'H, 7.01), (23H, 6.85)	130.75	CH	(21,21'H,7.27)	-
22, 22'	2H	7.01	t, 7.5	(21,21'H, 7.27), (23H, 6.85)	128.92	CH	(22,22'H,7.01)	-
23	1H	6.85	t, 7.0	(21,21'H, 7.27), (22,22'H, 7.01)	126.72	CH	(23H, 6.85)	-
24	1H	4.19	br	(18H, 4.38), (25H <sub>a</sub> , 2.77), (25H <sub>b</sub> , 3.08)	74.04	CH	(24H, 4.19)	-
25	H <sub>a</sub>	2.77	m	(24H, 4.19), (25H <sub>a</sub> , 2.77)	57.30*	CH <sub>2</sub>	(25H <sub>a</sub> , 2.77)	-
	H <sub>b</sub>	3.08	m	(24H, 4.19), (25H <sub>b</sub> , 2.77)			(25H <sub>b</sub> , 3.08)	-
26	-	-	-	-	159.00	-	-	-
27	-	-	-	-	80.39	-	-	(28,29',29''H, 1.43)
28, 29', 29''	3H	1.43	s	-	28.86	CH <sub>3</sub>	(29, 29' 29''H, 1.43)	-
29	1H	3.11	m	(31H, 1.10), (32H, 1.00)	57.30*	CH	(30H, 3.11)	-
30	1H	3.11	m	(31H, 1.10), (32H, 1.00)	57.30*	CH	(30H, 3.11)	-
31*	3H	1.10	d, 8.0	(30H, 3.11), (32H, 1.00)	19.00*	CH <sub>3</sub>	(31H, 1.10)	-
32*	3H	1.00	d, 7.0	(30H, 3.11), (31H, 1.10)	19.00*	CH <sub>3</sub>	(32H, 1.00)	-

[0259]

[0260]

注:1各位置是参照上面的结构式原子位置标注的,

[0261]

HR-MS研究使用Waters LCT premier XE仪进行,推导的分子式为

C<sub>32</sub>H<sub>41</sub>N<sub>6</sub>Na<sub>2</sub>O<sub>9</sub>P, 即C<sub>32</sub>H<sub>41</sub>N<sub>6</sub>O<sub>9</sub>P • 2Na, TOF数据见下表:

[0262]

极性	质量	式	误差 (ppm)	i-Fit	注释
(+ve)	687.2929	C <sub>32</sub> H <sub>44</sub> N <sub>6</sub> O <sub>9</sub> P	3.2	0.4	(碱+H) <sup>+</sup>
(-ve)	685.2770	C <sub>32</sub> H <sub>42</sub> N <sub>6</sub> O <sub>9</sub> P	2.8	0.2	(碱+H) <sup>-</sup>

[0263] B、试验例部分

[0264] 试验例1: 药物口服吸收的比较试验

[0265] 试药: 以实施例6所得式Ia化合物和实施例91所得式I化合物(二钠盐)两者为试药,

[0266] 动物、分组、及给药: 大鼠, 体重200~300g, 16只, 均分为两组(分别I组和Ia组), 每组8只, 两种药物每次给药剂量均为50 $\mu$ mol/kg体重。以研磨的方式使药物充分地溶解2% HPMC水溶液中, 以单次给药的方式灌胃给予试药, 分别于0小时(给药前)、给药后1小时、2小时、4小时、8小时、15小时取尾静脉血。

[0267] 测试样品的制备: 将用肝素钠抗凝的血液样品3000~5000r/min转速离心5~30min后, 取上层血浆转移至新空白EP管中; 加入内标苯甲酸溶液(0.1mg/ml) 10 $\mu$ l, 然后按血浆与沉淀试剂(乙腈-甲醇=3:2混合液并且添加2%甲酸)体积比为1:5沉淀蛋白, 沉淀时间3min, 涡旋混匀45s后, 在5 $^{\circ}$ C恒温条件下以10000r/min离心10min; 将上层液转移至新空白EP管中, 于30~50 $^{\circ}$ C氮气流吹干, 残留物用100 $\mu$ l 50%乙腈溶液溶解, 涡旋混匀30~60s后, 在0~10 $^{\circ}$ C恒温条件下以10000~12000r/min离心5~15min, 取上清液即为供试品溶液; 另用50%乙腈溶液制备适宜浓度的式Ia化合物标准溶液和式I化合物标准溶液。照本发明【HPLC-A】测定血浆中的式Ia化合物和式I化合物的浓度。

[0268] 从检测结果看, 两组动物均只能检测到式Ia化合物而检测不到式I化合物, 原因在于式I化合物被吸收后代谢成式Ia化合物, 因此各组均以式Ia化合物为计算目标。对于各组动物, 计算在每个时间点的血药浓度平均值, 并计算在0~15小时之间的血药浓度曲线下面积AUC, 以下式计算式Ia化合物组的相对AUC:

[0269] 
$$= [\text{式Ia化合物组AUC值} \div \text{式I化合物组AUC值}] \times 100$$

[0270] 该相对AUC越接近100%表明两种化合物的胃肠道吸收性能越接近, 如果该相对AUC小于100%则式Ia化合物的吸收比式I化合物的胃肠道吸收差, 如果该相对AUC大于100%则式Ia化合物的吸收比式I化合物的胃肠道吸收好。结果表明, 在上述大鼠进行的口服给药中, 式Ia化合物组的相对AUC仅为13.6%, 表明式Ia化合物的口服吸收远远低于式I化合物。在补充的试验中, 以家兔为动物(每个给药组6只动物)参照上述方法进行试验, 结果式Ia化合物组的相对AUC仅为9.3%。在补充的试验中, 以比格犬为动物(每个给药组3只动物)参照上述方法进行试验, 结果式Ia化合物组的相对AUC仅为11.2%。

[0271] 可见, 在以式I化合物为活性成分的药用原料药或者其制成的制剂中, 式I化合物转化成式Ia化合物对于维持药物的给药剂量是不利的。

[0272] 试验例2: 原料药的稳定性

[0273] 直接取本发明制备的相应物料, 或者使用一定量的式Ia化合物(实施例6产物)和/或式Ib化合物(实施例7产物)与式I化合物(实施例95产物)通过充分研磨混合组配得到的不同杂质含量的混合组配物。

[0274] 使这些物料用玻璃瓶密封, 再在40℃条件下密封、避光放置5个月, 用【HPLC-A】测定各样品并计算在此条件下处置5个月后某杂质相对于0月时的含量增加百分数, 以及式I化合物相对于0月时的残余百分数(即物料中5月时式I化合物的含量除以0月时式I化合物的含量再乘以100%所得百分数)。结果如下:

[0275]

No.	样品或组配物	初始组成*	40℃-5月结果		
			I 残余/%	Ia 增加/%	Ib 增加/%
1	实施例 9	纯度 97.2%, Ia=0.82%, Ib=0.68%	97.6	33	31
2	实施例 91	纯度 99.3%, Ia=0.26%, Ib=0.23%	98.1	35	25
3	实施例 92	纯度 99.5%, Ia=0.09%, Ib=0.07%	96.7	44	27
4	实施例 93	纯度 99.6%, Ia=0.025%, Ib=0.019%	97.4	37	41
5	实施例 94	纯度 99.8%, Ia=0.008%, Ib=0.006%	97.6	28	22
6	实施例 95	纯度 99.8%, Ia=0.002%, Ib=0.002%	98.1	36	34
7	实施例 97	纯度 97.5%, Ia=0.74%, Ib=0.61%	97.7	41	29
8	实施例 98	纯度 97.5%, Ia=0.79%, Ib=0.64%	96.4	45	41
9	实施例 99	纯度 95.6%, Ia=2.68%, Ib=1.91%	97.6	43	33
10	I+Ia 组配	纯度 99.8%, Ia=0.013%, Ib=0.002%	98.3	34	36
11	I+Ia 组配	纯度 99.8%, Ia=0.051%, Ib=0.002%	97.2	35	34
12	I+Ia 组配	纯度 99.7%, Ia=0.15%, Ib=0.002%	97.7	36	26
13	I+Ia 组配	纯度 99.5%, Ia=0.35%, Ib=0.002%	96.4	29	33
14	I+Ia 组配	纯度 99.2%, Ia=1.23%, Ib=0.002%	97.6	31	29
15	I+Ia 组配	纯度 98.1%, Ia=2.47%, Ib=0.002%	98.3	32	25
16	I+Ia 组配	纯度 95.4%, Ia=5.31%, Ib=0.001%	98.3	36	31
17	I+Ib 组配	纯度 99.8%, Ia=0.002%, Ib=0.015%	97.2	40	27
18	I+Ib 组配	纯度 99.8%, Ia=0.002%, Ib=0.065%	96.6	36	34
19	I+Ib 组配	纯度 99.7%, Ia=0.002%, Ib=0.18%	96.5	31	40
20	I+Ib 组配	纯度 99.3%, Ia=0.002%, Ib=0.42%	96.7	32	27

[0276]

21	I+Ib 组配	纯度 99.1%，Ia=0.002%，Ib=1.32%	97.4	37	26
22	I+Ib 组配	纯度 98.3%，Ia=0.002%，Ib=2.56%	98.5	34	33
23	I+Ib 组配	纯度 94.8%，Ia=0.001%，Ib=5.63%	98.5	37	31
24	I+Ia+Ib 组配	纯度 99.8%，Ia=0.013%，Ib=0.012%	96.6	34	36
25	I+Ia+Ib 组配	纯度 99.7%，Ia=0.043%，Ib=0.062%	98.5	38	34
26	I+Ia+Ib 组配	纯度 99.2%，Ia=0.33%，Ib=0.45%	97.2	41	40
27	I+Ia+Ib 组配	纯度 98.2%，Ia=1.05%，Ib=1.26%	97.3	32	26
28	I+Ia+Ib 组配	纯度 95.1%，Ia=2.51%，Ib=2.66%	96.8	28	34
29	I+Ia+Ib 组配	纯度 99.4%，Ia=0.73%，Ib=0.23%	97.1	35	29
30	I+Ia+Ib 组配	纯度 99.3%，Ia=0.97%，Ib=0.24%	97.4	31	32

[0277] 注：\*初始组成指物料中0月时用【HPLC-A】测定得到的该物料中各种化合物的含量，其中纯度是式I化合物的面积归一化法的纯度，式Ia化合物含量是照【HPLC-A】测定的相对于式I化合物的百分量，式Ib化合物含量是照【HPLC-A】测定的相对于式I化合物的百分量。

[0278] 从表中结果可见，本发明的药用原料药是稳定的，即使其中混杂有一定量的杂质Ia和/或杂质Ib。

[0279] 试验例3：原料药与糖的组合物的稳定性

[0280] 分别将试验例2中的30个样品或组配物与等量的糖(乳糖)充分研磨均匀，形成与糖的组合物。使这些组合物用玻璃瓶密封，再在40℃条件下密封、避光放置5个月，用【HPLC-A】测定各样品并计算在此条件下处置5个月后某杂质相对于0月时的含量增加百分数，以及式I化合物相对于0月时的残余百分数(即物料中5月时式I化合物的含量除以0月时式I化合物的含量再乘以100%所得百分数)。结果如下：

[0281]

No.	组合物使用的原料	初始组成	40°C-5 月结果		
			I 残余/%	Ia 增加/%	Ib 增加/%
1	实施例 9	Ia=0.82%, Ib=0.68%	93.8	173	41
2	实施例 91	Ia=0.26%, Ib=0.23%	97.6	44	29
3	实施例 92	Ia=0.09%, Ib=0.07%	96.5	34	36
4	实施例 93	Ia=0.025%, Ib=0.019%	97.0	34	40
5	实施例 94	Ia=0.008%, Ib=0.006%	96.6	35	37
6	实施例 95	Ia=0.002%, Ib=0.002%	96.7	26	35
7	实施例 97	Ia=0.74%, Ib=0.61%	92.7	154	59
8	实施例 98	Ia=0.79%, Ib=0.64%	93.1	168	51
9	实施例 99	Ia=2.68%, Ib=1.91%	87.6	312	63
10	I+Ia 组配	Ia=0.013%, Ib=0.002%	97.2	41	33
11	I+Ia 组配	Ia=0.051%, Ib=0.002%	97.0	36	42
12	I+Ia 组配	Ia=0.15%, Ib=0.002%	96.4	33	26

[0282]

13	I+Ia 组配	Ia=0.35%, Ib=0.002%	96.4	34	37
14	I+Ia 组配	Ia=1.23%, Ib=0.002%	96.0	28	39
15	I+Ia 组配	Ia=2.47%, Ib=0.002%	97.7	36	42
16	I+Ia 组配	Ia=5.31%, Ib=0.001%	98.1	32	28
17	I+Ib 组配	Ia=0.002%, Ib=0.015%	96.5	29	42
18	I+Ib 组配	Ia=0.002%, Ib=0.065%	97.2	34	38
19	I+Ib 组配	Ia=0.002%, Ib=0.18%	96.7	34	40
20	I+Ib 组配	Ia=0.002%, Ib=0.42%	97.1	35	28
21	I+Ib 组配	Ia=0.002%, Ib=1.32%	91.5	266	54
22	I+Ib 组配	Ia=0.002%, Ib=2.56%	<85	>500	66
23	I+Ib 组配	Ia=0.001%, Ib=5.63%	<85	>500	74
24	I+Ia+Ib 组配	Ia=0.013%, Ib=0.012%	96.6	38	33
25	I+Ia+Ib 组配	Ia=0.043%, Ib=0.062%	98.4	35	35
26	I+Ia+Ib 组配	Ia=0.33%, Ib=0.45%	96.7	48	39
27	I+Ia+Ib 组配	Ia=1.05%, Ib=1.26%	90.4	252	53
28	I+Ia+Ib 组配	Ia=2.51%, Ib=2.66%	<85	>500	61
29	I+Ia+Ib 组配	Ia=0.73%, Ib=0.23%	96.8	42	33
30	I+Ia+Ib 组配	Ia=0.97%, Ib=0.24%	96.3	39	38

[0283] 从以上结果可见,使用不同原料与糖制备成的组合物,其中杂质Ib含量显著影响组合物中杂质Ia的增长以及活性成分的下降,特别是当Ib含量>0.5%时,这种原料与糖所

得组合物在模拟长期留样的高温条件下处理后,其中的杂质Ia会显著增加,并且增加程度与Ib含量呈正相关,同样地活性成分的残余含量亦会相应地降低。然而完全无法解释的是,无论原料中杂质Ib含量是高还是低,其本身在长期贮藏过程中却并未呈现杂质Ia那样的显示增加。

[0284] 此外,照本试验例3的方法,不同的是将其中的乳糖用量改为原料药的0.2倍或20倍,亦进行上面的试验,结果显示不同原料药制成的组合物在“I残余/%”“Ia增加/%”、“Ib增加/%”三者方面均与上表结果基本一致,即乳糖量在活性成分的0.2~20倍范围内均会呈现上述结果。

[0285] 试验例31:原料药与糖的组合物稳定性

[0286] 参照试验例3的方法,不同的仅是将其中的乳糖替换为蔗糖。结果显示基本上与试验例3相同的结果,例如配制的No.21组合物I残余/%为91.8%、Ia增加/%为273%、Ib增加/%为61%;又例如配制的No.22组合物I残余/%为<85%、Ia增加/%为>500%、Ib增加/%为63%。

[0287] 试验例32:原料药与糖的组合物稳定性

[0288] 参照试验例3的方法,不同的仅是将其中的乳糖替换为甘露醇。结果显示基本上与试验例3相同的结果,例如配制的No.21组合物I残余/%为91.1%、Ia增加/%为253%、Ib增加/%为67%;又例如配制的No.22组合物I残余/%为<85%、Ia增加/%为>500%、Ib增加/%为65%。

[0289] 试验例33:原料药与糖的组合物稳定性

[0290] 参照试验例3的方法,不同的仅是将其中的乳糖替换为山梨醇。结果显示基本上与试验例3相同的结果,例如配制的No.21组合物I残余/%为91.4%、Ia增加/%为271%、Ib增加/%为63%;又例如配制的No.22组合物I残余/%为<85%、Ia增加/%为>500%、Ib增加/%为62%。

[0291] 以上结果表明,具有不同杂质Ib含量的药用原料药与药剂学上常用的糖类配合来制备药物制剂时,其中杂质Ia会因原料中杂质Ib含量的不同而呈现明显不同的增长量。尽管这种现象未在原料药本身中发现,然而当杂质Ib含量较高时将大大限制药用原料药在制备制剂时的辅料选择范围,因为上述的这些糖类是制剂学上常用、廉价、性能优越的药用辅料,不使用这些糖类而改用其它药用辅料时将可能引发其它广泛的问题例如成本、片剂性能、选择范围等。

[0292] 试验例4:原料药制备的药物组合物(片剂)的稳定性

[0293] 分别以试验例2中的30个样品或组配物为药用原料药,以下面的片剂配方制备片剂:药用原料药15mg、淀粉15mg、乳糖100mg、明胶1mg、硬脂酸镁1mg。制法:将明胶用水制成溶液作为粘合剂;将原料药、淀粉、乳糖充分混合均匀,用粘合剂制软材,制湿颗粒,干燥;将干颗粒与硬脂酸镁混合均匀,压片,每片含药用原料药15mg。使这些片剂用玻璃瓶密封,再在40℃条件下密封、避光放置5个月,用【HPLC-A】测定各样品并计算在此条件下处置5个月后某杂质相对于0月时的含量增加百分数,以及式I化合物相对于0月时的残余百分数。结果显示基本上与试验例3相同的结果,例如No.21片剂的I残余/%为91.8%、Ia增加/%为292%、Ib增加/%为65%;又例如No.22片剂的I残余/%为<85%、Ia增加/%为>500%、Ib增加/%为69%。



[0294] 产业适用性

[0295] 本发明提供了抗病毒药物及其药物组合物,其可作为逆转录病毒蛋白酶抑制剂的药物,该逆转录病毒蛋白酶抑制剂具有式I所示的化学结构。