

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200580021409.0

[51] Int. Cl.

C07D 401/12 (2006.01)

A61K 31/454 (2006.01)

A61P 7/02 (2006.01)

[43] 公开日 2007 年 6 月 20 日

[11] 公开号 CN 1984903A

[22] 申请日 2005.6.13

[21] 申请号 200580021409.0

[30] 优先权

[32] 2004.6.30 [33] US [31] 60/583,599

[86] 国际申请 PCT/US2005/020490 2005.6.13

[87] 国际公布 WO2006/011955 英 2006.2.2

[85] 进入国家阶段日期 2006.12.26

[71] 申请人 伊莱利利公司

地址 美国印第安纳州

[72] 发明人 J·K·布什

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 刘冬 李连涛

权利要求书 1 页 说明书 7 页 附图 1 页

[54] 发明名称

1-(吡啶-6-羧基-D-苯基甘氨酸基)-4-
-(1-甲基哌啶-4-基)哌嗪 D-酒石酸盐

[57] 摘要

1-(吡啶-6-羧基-D-苯基甘氨酸基)-4-
(1-甲基哌啶-4-基)哌嗪 D-酒石酸盐形成稳定的
晶体形式, 并且是丝氨酸蛋白酶-因子 Xa 的抑制
剂, 用于治疗心血管疾病。

1. 1-(吡啶-6-羧基-D-苯基甘氨酸基)-4-(1-甲基哌啶-4-基)哌嗪 D-酒石酸盐。
2. 1-(吡啶-6-羧基-D-苯基甘氨酸基)-4-(1-甲基哌啶-4-基)哌嗪 D-酒石酸盐的晶体形式。
3. 1-(吡啶-6-羧基-D-苯基甘氨酸基)-4-(1-甲基哌啶-4-基)哌嗪 D-酒石酸盐的晶体形式, 其 X-射线粉末衍射图在 $^{\circ}2\theta=11.5, 15.9, 17.4, 18.1, 18.5$ 和 21.9 有锐强峰。
4. 一种药用组合物, 所述组合物包含权利要求 1-3 中任一项的 D-酒石酸盐以及至少一种药学可接受的载体或赋形剂。
5. 权利要求 1-3 中任一项的 D-酒石酸盐, 其用于治疗。
6. 权利要求 1-3 中任一项的 D-酒石酸盐在制备治疗血栓形成疾病的药物中的用途。
7. 一种治疗人或非人动物体的血栓形成疾病的方法, 所述方法包括给予人或非人动物体有效量的权利要求 1 的 D-酒石酸盐。
8. 一种治疗人或非人动物体的血栓形成疾病的方法, 所述方法包括给予人或非人动物体有效量的权利要求 2 的 D-酒石酸盐。
9. 一种治疗人或非人动物体的血栓形成疾病的方法, 所述方法包括给予人或非人动物体有效量的权利要求 3 的 D-酒石酸盐。
10. 一种包含权利要求 1-3 中任一项的 D-酒石酸盐的药用组合物, 所述组合物用于治疗血栓形成疾病。

1-(吲哚-6-羧基-D-苯基甘氨酸基)-4-(1-甲基哌啶-4-基)哌嗪 D-酒石酸盐

本发明涉及丝氨酸蛋白酶—因子 Xa 的选择性抑制剂的化合物，其药用组合物及其治疗人或动物体的用途。

丝氨酸蛋白酶是一类蛋白裂解酶，其共同的催化机理的特征为对丝氨酸残基有特异性反应活性。丝氨酸蛋白酶的实例包括胰蛋白酶、类胰蛋白酶、胰凝乳蛋白酶、弹性蛋白酶、凝血酶、纤溶酶、血管舒缓素、补体 C1、顶体蛋白酶、溶酶体蛋白酶、茧酶、 α -裂解蛋白酶、蛋白酶 A、蛋白酶 B、丝氨酸羧肽酶 II、枯草杆菌蛋白酶、尿激酶、因子 VIIa、因子 IXa 和因子 Xa。对丝氨酸蛋白酶的研究在过去几十年里已经十分深入，丝氨酸蛋白酶抑制剂的治疗价值也广为人之。因此，例如，因子 Xa 抑制剂具有作为抗凝剂的治疗剂的价值，例如用于治疗 and 预防血栓形成疾病。由于因子 Xa 的作用的选择性，其用作抗凝剂十分理想。许多经临床证明的抗凝剂由于其对凝血级联作用的非特异性性质因而伴有副作用。

WO 00/76971 公布了化合物 1-(吲哚-6-羧基-D-苯基甘氨酸基)-4-(1-甲基哌啶-4-基)哌嗪是一种因子 Xa 的强效选择性抑制剂，具有非常理想的生物学性质。该化合物及其药学可接受盐因此可望用于预防或治疗血栓形成疾病，其中有静脉血栓形成、肺栓塞、动脉血栓形成、心肌局部缺血、心肌梗死和脑血栓形成，包括预防心房纤维性颤动突然发作。它们也可望有益于治疗溶栓治疗相关急性血管闭锁以及再狭窄，例如在透照冠状血管成形术后或冠状或外周动脉搭桥术后，以及在透析患者长时间保持血管通路开放中。

为将该候选化合物进一步开发为药物，则该化合物必须在具备理想的生物性质的同时还要具备适于将其制成药品的物理学性质。具体而言，该化合物应形成稳定、优选晶体形式的固体，以易于生产和配制。

已经证明特别难于形成稳定、晶体形式的 1-(吲哚-6-羧基-D-苯基甘氨酸基)-4-(1-甲基哌啶-4-基)哌嗪 D-酒石酸盐。

酰基)-4-(1-甲基哌啶-4-基)哌嗪。

形成结晶固体的 1-(吡啶-6-羧基-D-苯基甘氨酸酰基)-4-(1-甲基哌啶-4-基)哌嗪的盐在 WO 01/96323 的实施例 48a (盐酸盐)和 48b (富马酸氢盐) 中有公开。WO 02/100847 要求 WO 01/96323 的优先权, 指出盐酸盐的不利性质, 并公开了富马酸氢盐可以多于一种结晶形式存在, 每种形式都在申请中要求保护。富马酸氢盐的晶体的性质优于盐酸盐晶体。此外, 这方面的进一步试验表明需要性质进一步改善的盐。因此, WO 02/100847 公开的晶型 1 为细针状。该细针状形态有其制剂上的优点, 因为其形成簇晶并且总体密度低。此外, 还发现晶型 1 在极高的相对湿度下(80%以上)转化为不同的(更高)水合物, 并在水性悬浮液中转化成 WO 02/100847 中公开的晶型 2。WO 02/100847 中公开的晶型 2 有其缺点, 例如粒径太小, 导致极难于过滤。

因此, 需要形成结晶固体的 1-(吡啶-6-羧基-D-苯基甘氨酸酰基)-4-(1-甲基哌啶-4-基)哌嗪的盐形式, 该固体有所需的形态, 在水存在下及在极高相对湿度条件下(80%以上)稳定, 并且易于大规模制备。

现已发现一种新的盐形式的 1-(吡啶-6-羧基-D-苯基甘氨酸酰基)-4-(1-甲基哌啶-4-基)哌嗪可易于制备成稳定的结晶形式。

因此, 从一方面来看, 本发明提供 1-(吡啶-6-羧基-D-苯基甘氨酸酰基)-4-(1-甲基哌啶-4-基)哌嗪 D-酒石酸盐, 又称为 1-(吡啶-6-羧基-D-苯基甘氨酸酰基)-4-(1-甲基哌啶-4-基)哌嗪 D-酒石酸盐(1:1)。

可以理解该碱性化合物可以外消旋形式(D/L)或手性形式存在, 且优选的 D-异构体可单独或与 L-异构体以外消旋混合物形式给药。D 构型是指制备该化合物的原料的 D-苯基甘氨酸的构型。

根据本发明的另一方面, 本发明提供 1-(吡啶-6-羧基-D-苯基甘氨酸酰基)-4-(1-甲基哌啶-4-基)哌嗪 D-酒石酸盐的结晶形式。

发现结晶形式的盐在水中稳定、溶解度高并易于处理或加工。

现已发现 1-(吡啶-6-羧基-D-苯基甘氨酸酰基)-4-(1-甲基哌啶-4-基)哌嗪 D-酒石酸盐可从各种水-有机溶剂体系中结晶, 其中包括水/丙酮和水/(1-4C)

烷醇体系如水/乙醇、水/正丙醇和水/异丙醇。用水/丙酮可以得到特别高的产率，尤其是用体积比为约 15/85 的水/丙酮。简便地将 1-(吡啶-6-羧基-D-苯基甘氨酸基)-4-(1-甲基哌啶-4-基)哌嗪和一当量的 D-酒石酸溶于水，然后加入有机溶剂。加入少量预先制备的晶种可有助于引发结晶。

1-(吡啶-6-羧基-D-苯基甘氨酸基)-4-(1-甲基哌啶-4-基)哌嗪 D-酒石酸盐结晶成薄片状，其高度聚结并形成密度提高的流动粉末。

晶体酒石酸盐的热稳定性和溶剂化状态用 TA 同时 TG/DTA 单位根据差示量热/热重量分析鉴别。样品在开口铝锅中加热，热程 $25 \geq 300\text{ }^{\circ}\text{C}$ ， $10\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ，氮气流速 $150\text{ mL}/\text{min}$ 。温度用铂校正。重量校正用厂商提供的标准进行，并用去溶剂化酒石酸盐钠确证。发现 D-酒石酸盐晶体含约 5-6% 重量的溶剂(主要是水)，与二水合物晶体一致。当二水合物加热到约 $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ ，水分丧失。在约 $145\text{ }^{\circ}\text{C}$ ，剩余的无水固体融化。冷却后，融体形成无定型固体。

D-酒石酸盐晶体的水分吸附等温线可用真空微量天平确定，开始收集数据前用 $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 干燥。经过最初的干燥步骤，观察到最初 6% 的重量减少，与结晶水的去除一致。随相对湿度的提高，样品重新吸收水分，当相对湿度达到约 20% 时重新水化完成。一旦二水合物形成，其在室温下在 5-95% 的相对湿度下保持稳定。

在低和高的相对湿度下的稳定性对产品来说是理性的，因为产品的使用和销售环境非常广泛。

将晶体材料进行 X-射线粉末衍射分析。所得 X-射线粉末衍射图中发现锐强峰，在 $2\theta = 11.5, 15.9, 17.4, 18.1, 18.5$ 和 21.9 。在 $2\theta = 5.2$ 和 12.0 的峰也是该晶型的特征峰。峰的更详细的分析见下表 1。X-射线粉末衍射图示于图 1。

表 1

角度(2θ)	I/I ₀ (%)
5.2	22.8
11.5	75.8
12.0	53.4

12.5	14.8
13.7	61.1
15.6	38.3
15.9	100.0
16.2	32.8
17.0	37.1
17.4	92.7
18.1	94.1
18.5	86.2
18.8	14.8
21.1	35.2
21.4	43.3
21.7	55.7
21.9	73.7
22.2	42.2
22.6	18.2
23.1	45.2
23.6	66.7
24.3	45.8
24.9	26.8
26.4	33.2
26.6	21.3
27.7	20.7
30.6	11.5
31.1	16.8
31.5	18.9
32.6	18.4
34.6	10.6

X-射线粉末衍射(XRD)图用 Siemens D5000 X-射线粉末衍射仪测得, 该仪器配有 $\text{CuK}\alpha$ 源($\lambda = 1.54056 \text{ \AA}$)以及 Kevex 固态 $\text{Si}(\text{Li})$ 检测器, 操作电压和电流为 50 kV 和 40 mA。样品扫描角度 2θ 为 3° - 40° , 2θ 步移幅度为 0.02° , 扫描率为 9.0 秒/步, 发散和接收狭缝为 1mm, 检测器狭缝为 0.1mm。将干粉末压在低背景样品架上, 用载玻片使表面光滑。

X-射线粉末衍射分析领域技术人员容易理解所测的 $^\circ 2\theta$ (或相应的 d-间隔)的精确值会随所分析的具体样品以及使用的仪器和具体的分析程序而变化。误差值通常在 $\pm 0.1^\circ 2\theta$ 。

D-酒石酸盐晶体用固态 ^{13}C 核磁共振(NMR)光谱仪测定。固态 ^{13}C 化学位移反应晶体中分子结构和分子的电子环境。该晶体的光谱包括药物阳离子和酒石酸盐阳离子的各相同性峰,其化学位移为: 25.3, 26.2, 42.6, 45.8, 46.2, 47.1, 48.3, 50.3, 52.1, 54.0, 55.5, 57.1, 61.8, 73.4, 74.2, 76.4, 101.5, 102.2, 112.9, 114.9, 117.3, 118.2, 119.6, 121.1, 125.6, 126.2, 127.4, 128.5, 129.5, 130.6, 132.2, 136.7, 139.5, 167.6, 169.0, 170.4, 174.9, 175.8, 178.6 和 179.2 ppm。

^{13}C 交叉极化/磁角自旋(Cross polarization / magic angle spinning)(CP/MAS) NMR (固态 NMR 或 SSNMR)光谱用 Varian Unity Inova 400 MHz NMR 光谱仪测得,操作时碳频率为 100.573 MHz,该仪器配有完全固体附件以及化学磁(Chemagnetics)4.0 mm T3 探针。使用在 62 kHz 的 Ramped-振幅交叉极化(RAMP-CP)和在 70 kHz 的 TPPM 去偶。获得参数如下: 90° 质子 r.f. 脉冲宽度 4.0 μs , 接触时间 3.0 ms, 脉冲重复时间 10 s, MAS 频率 10.0 kHz, 光谱宽度 50 kHz, 取数时间 50 ms。化学位移通过样品置换参考六甲基苯的甲基 ($\delta = 17.3$ ppm)。

D-酒石酸盐晶体在水中以及在 0.01 M HCl 中的平衡溶解度于 25°C 检测,发现其分别为 ≥ 126 mg/mL 和 ≥ 125 mg/mL (按游离碱计)。

因此还发现 D-酒石酸盐提供的晶体材料稳定,具有极佳的加工性质且水溶性高。

可以理解本发明 D-酒石酸盐可以溶剂化物如二水合物的形式分离,且所有这类溶剂因此包括在本发明中。可以领会非生理学可接受溶剂决不可以用于药品的制备,例如在纯化步骤中。

本发明 D-酒石酸盐可通过任何常规途径给药,如给入胃肠道(如直肠或口腔)、鼻、肺、肌肉系统或脉管系统或透皮给予。D-酒石酸盐可以多种形式给药,如片剂、散剂、胶囊剂、溶液剂、分散剂、混悬剂、糖浆剂、喷雾剂、栓剂、凝胶剂、乳剂、贴剂等。这类组合物可含有药物制剂中常用的成分,如稀释剂、载体、pH 调节剂、甜味剂、膨胀剂和其它活性剂。优选的注射或输注组合物是无菌的合适的溶液或混悬液形式。这类组合物

构成本发明的进一步方面。

根据本发明的另一方面，提供了包含本发明 D-酒石酸盐的药用组合物，以及至少一种药学可接受载体或赋形剂。该药用组合物还任选包含至少一种另外的抗凝血形成和/或溶栓药物。该化合物可有益于与不同作用模式的抗凝剂或与溶栓药物形成联合治疗的一部分。

根据本发明的另一方面，提供了本发明 D-酒石酸盐在制备治疗(即治疗或预防)人或非人动物体(例如敏感物种的不如动物体)的相应于所述抑制剂的疾病(如上所述的血栓形成疾病)的用途。

根据本发明的另一方面，提供了本发明 D-酒石酸盐治疗(即治疗或预防)人或非人动物体(例如敏感物种的不如动物体)的相应于因子 Xa 抑制剂的疾病(如上所述的血栓形成疾病)的方法，所述方法包括给予其有效量的本发明的 D-酒石酸盐。

本发明化合物的剂量将取决于待治疗的疾病的性质和严重程度、给药途径和患者的种类。但是一般而言，给药量在 0.01-100 $\mu\text{mol/kg}$ 体重。

所用本文参考的出版物通过引用结合至本文中。

通过参考以下非限制性实施例对本发明做进一步描述。

试验

1-(吲哚-6-羧基-D-苯基甘氨酸基)-4-(1-甲基哌啶-4-基)哌嗪可根据如 WO 01/96323 所述方法得到。

实施例 1

1-(吲哚-6-羧基-D-苯基甘氨酸基)-4-(1-甲基哌啶-4-基)哌嗪 D-酒石酸盐二水合物的制备

1-(吲哚-6-羧基-D-苯基甘氨酸基)-4-(1-甲基哌啶-4-基)哌嗪 (50 mg) 和 D-酒石酸(0.5 摩尔当量，约 8.3 mg)轻微加热，使其溶于无水乙醇(1 mL)。冷却后，观察到细小固体/浑浊。滴加几滴水，室温搅拌该澄清溶液。4 天后，真空抽滤分离形成的沉淀得到题述产物(典型的，30mg)的白色粉末。

或者，1-(吲哚-6-羧基-D-苯基甘氨酸基)-4-(1-甲基哌啶-4-基)哌嗪

(200 mg)和 D-酒石酸(一摩尔当量, 65 mg)室温溶于水(2 mL)。重力过滤除去溶液中的一些浑浊。向澄清溶液中加入异丙醇(8 mL)至浑浊持续不退。15-20 分钟后, 观察到粘性固体, 随后形成白色浆状物。浆状物变稠后, 添加异丙醇 (2 mL); 并室温保持浆状物过夜。真空抽滤分离该固体沉淀并用异丙醇洗涤, 随后在对流干燥箱中 70 °C 干燥 1 h 得到标题产物(典型的产量, 190 mg)。

实施例 2

1-(吲哚-6-羧基-D-苯基甘氨酸基)-4-(1-甲基哌啶-4-基)哌嗪 D-酒石酸盐二水合物的制备

向 1-(吲哚-6-羧基-D-苯基甘氨酸基)-4-(1-甲基哌啶-4-基)哌嗪 (46.0 g, 0.1 mol)和 D-酒石酸(15.0 g, 0.1 mol, Aldrich 99%对映体过量)中加入水(230 mL)和丙酮 (800 mL)。混合物室温搅拌 15 分钟, 其间该原料溶解得到澄清溶液。向该溶液中一次性加入 1-(吲哚-6-羧基-D-苯基甘氨酸基)-4-(1-甲基哌啶-4-基)哌嗪 D-酒石酸盐二水合物晶种(100 mg)。向该浆状物中以极低速度(60-100 mL/h)加入第二部分抗溶剂丙酮 (800 mL)。加入完成后, 将该混悬液室温搅拌 4h, 然后在冰水浴中冷至 5 °C 再保持 2 h。

收集晶体并用冷丙酮(100 mL)洗涤。40 °C 真空干燥(约 15 mm, 2 kPa)该晶体 24 h 得到标题盐(55.7 g, 86.8%)。或者, 可用氮气吹干该晶体以避免除去产物中的水合水。

图 1

