

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2015 年 12 月 3 日 (03.12.2015)



(10) 国际公布号
WO 2015/180549 A1

- (51) 国际专利分类号:
C07D 493/08 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
A61K 31/352 (2006.01) A61P 35/02 (2006.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2015/077620
- (22) 国际申请日: 2015 年 4 月 28 日 (28.04.2015)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (30) 优先权:
201410240920.0 2014 年 5 月 30 日 (30.05.2014) CN
- (71) 申请人: 江苏恒瑞医药股份有限公司 (JIANGSU HENGRUI MEDICINE CO., LTD.) [CN/CN]; 中国江苏省连云港市经济技术开发区昆仑山路 7 号, Jiangsu 222047 (CN)。
- (72) 发明人: 孙飘扬 (SUN, Piaoyang); 中国江苏省连云港市经济技术开发区昆仑山路 7 号, Jiangsu 222047 (CN)。武乖利 (WU, Guaili); 中国江苏省连云港市经济技术开发区昆仑山路 7 号, Jiangsu 222047 (CN)。邱振均 (QIU, Zhenjun); 中国江苏省连云港市经济技术开发区昆仑山路 7 号, Jiangsu 222047 (CN)。陈永江 (CHEN, Yongjiang); 中国江苏省连云港市经济技术开发区昆仑山路 7 号, Jiangsu 222047 (CN)。沈灵佳 (SHEN, Lingjia); 中国江苏省连云港市经济技术开发区昆仑山路 7 号, Jiangsu 222047 (CN)。

(74) 代理人: 北京戈程知识产权代理有限公司 (GE CHENG & CO., LTD.); 中国北京市东城区东长安街 1 号东方广场东三办公楼 19 层, Beijing 100738 (CN)。

(81) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

— 包括国际检索报告 (条约第 21 条(3))。

(54) Title: I-TYPE CRYSTAL OF L-ALANINE-(14-ORIDONIN) ESTER TRIFLUOROACETATE AND PREPARATION METHOD THEREFOR

(54) 发明名称: L-丙氨酸-(14-冬凌草甲素) 酯三氟乙酸盐的 I 型结晶及制备方法

(57) Abstract: The present invention relates to an I-type crystal of L-alanine-(14-oridonin) ester trifluoroacetate and a preparation method therefor. The preparation method comprises crystallizing a L-alanine-(14-oridonin) ester trifluoroacetate solid in any crystal form or amorphous form in a single organic solvent or a mixed organic solvent thereof to obtain the I-type crystal of the L-alanine-(14-oridonin) ester trifluoroacetate. The I-type crystal of the L-alanine-(14-oridonin) ester trifluoroacetate obtained in the present invention has a good crystal form stability and chemical stability, and uses a crystallization solvent which has a low toxicity and low residue, and can be better used in clinical treatments.

(57) 摘要: 本发明涉及 L-丙氨酸-(14-冬凌草甲素) 酯三氟乙酸盐的 I 型结晶及制备方法。所述制备方法包括将任意晶型或无定型的 L-丙氨酸-(14-冬凌草甲素) 酯三氟乙酸盐固体在单一的有机溶剂或者他们的混合有机溶剂中结晶得到 L-丙氨酸-(14-冬凌草甲素) 酯三氟乙酸盐 I 型结晶。本发明所得 L-丙氨酸-(14-冬凌草甲素) 酯三氟乙酸盐 I 型结晶具备良好的晶型稳定性和化学稳定性, 并且所用结晶溶剂低毒低残留, 可更好地用于临床治疗。



WO 2015/180549 A1

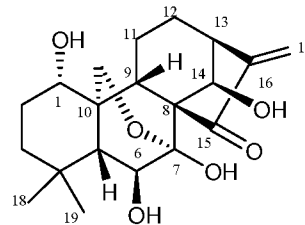
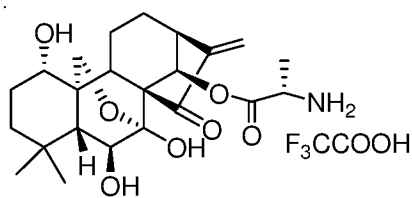
L-丙氨酸-(14-冬凌草甲素)酯三氟乙酸盐的 I 型结晶及制备方法

技术领域

- 5 本发明涉及 L-丙氨酸-(14-冬凌草甲素)酯三氟乙酸盐的 I 型结晶及其制备方法和用途。

背景技术

式 (I) 化合物为 L-丙氨酸-(14-冬凌草甲素)酯三氟乙酸盐，它是



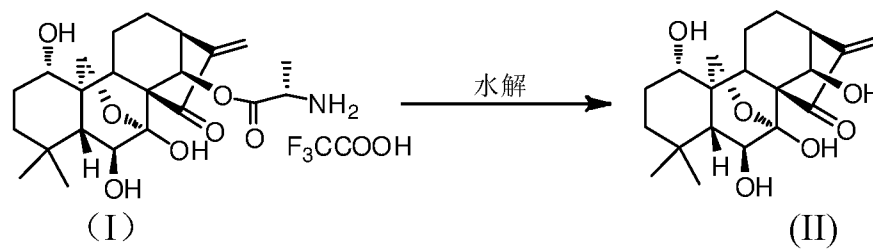
式 (I)

冬凌草甲素 (Oridonin)

- 以冬凌草甲素为母核，经过改造修饰后，所得到的冬凌草甲素酯衍生物；冬凌草甲素 (Oridonin)，是从冬凌草中提取出来的一种贝壳杉烯二萜类天然有机化合物，占冬凌草有效成分的 90% 以上，是抗肿瘤的主要活性成分。

- 但是冬凌草甲素口服生物利用度不足 5%，不能达到有效的血药浓度；同时，冬凌草甲素几乎不溶于水，采用静脉给药较为困难。因此对其结构进行修饰改造，改善其水溶性和活性，将其开发成为新的抗肿瘤药物，是目前冬凌草甲素研究的重要方向。经过资料调研及实验研究，发现冬凌草甲素的 14-位羟基与 L-丙氨酸酯化后，产物不仅水溶性良好，而且在大鼠和犬体内的转化率分别可达 94.1 % 和 128 %。经药理毒理实验验证，该化合物不仅具有与冬凌草甲素相似的活性，而且在体外血浆及体内都能迅速转化为冬凌草甲素，发挥出冬凌草甲素的药效活性；毒性研究结果显示本品毒性较小，无遗传毒性的担忧；此外，本品克服了因使用非水刺激性溶媒造成静脉炎和特殊制剂引起过敏的副作用，家兔血管刺激性试验显示本品对血管无刺激性，豚鼠

全身过敏试验也未见过敏现象，有效解决了冬凌草甲素成药的上述问题。



考虑到冬凌草甲素衍生物的高活性及不稳定性的问题，我们进一步的研究了L-丙氨酸-(14-冬凌草甲素)酯三氟乙酸盐的晶型以及制备方法。本领域技术人员知道，药用的活性成分的晶型结构往往影响到该药物的化学稳定性，结晶条件及储存条件的不同有可能导致化合物的晶型结构的变化，有时还会伴随着产生其他形态的晶型。一般来说，无定型的药物产品没有规则的晶型结构，往往具有其它缺陷，比如产物稳定性较差，析晶较细，过滤较难，易结块，流动性差等。因此，改善上述产物的各方面性质是很有必要的，我们需要深入研究找到晶型纯度较高并且具备良好化学稳定的新晶型。

发明内容

本发明的目的是提供一种 L-丙氨酸-(14-冬凌草甲素)酯三氟乙酸盐的稳定晶型以及制备该晶型的方法。

我们考察了 L-丙氨酸-(14-冬凌草甲素)酯三氟乙酸盐在不同结晶条件下得到的一系列结晶产物，对所得结晶产物进行了 X-衍射及 DSC 检测，发现 L-丙氨酸-(14-冬凌草甲素)酯三氟乙酸盐在常规的结晶条件下，可以得到一种稳定性良好的晶型，我们称其为 I 型结晶。本申请中的 I 型结晶的 DSC 图谱显示在 234℃ 附近有熔融吸热峰，X-射线粉末衍射图谱如图 1 所示，使用 Cu-Kα 辐射，以 2θ 角度和晶面间距 (d 值) 表示的 X-射线粉末衍射图谱，其中在 6.85 (12.89), 8.09 (10.92), 11.30 (7.82), 13.71 (6.45), 14.08 (6.29), 14.35 (6.17), 16.40 (5.40), 17.41 (5.09), 18.19 (4.87), 18.44 (4.81), 20.12 (4.41), 21.17 (4.19), 23.38 (3.80), 23.88 (3.72), 24.42 (3.64), 24.84 (3.58), 25.72 (3.46), 26.46 (3.37), 27.22 (3.27), 28.40 (3.14), 29.38 (3.04), 31.26 (2.86)

和 31.79 (2.81) 有特征峰。

本发明制备 I 型结晶的方法中,可作为原料使用的存在形态没有特别限定,可以使用任意晶型或无定型固体,本发明的 L-丙氨酸-(14-冬凌草甲素)酯三氟乙酸盐 I 型结晶的制备方法为:

- 5 在用某些低级有机溶剂,优选含碳原子数小、同时能够挥发并可用作结晶溶剂的醇类、酮类、酯类、卤代烃等极性有机溶剂,或它们的混合溶液;更优选为丙酮、乙酸乙酯、甲醇、乙醇、异丙醇、异丙醚或它们的混合物作为 L-丙氨酸-(14-冬凌草甲素)酯与三氟乙酸盐的重结晶溶剂。析晶时可以用单一溶剂,也可以用选自以上有机溶剂的混合溶剂。

具体的,本发明提供的制备 L-丙氨酸-(14-冬凌草甲素)酯三氟乙酸盐 I 型结晶的方法包括以下步骤:

- (1) 将 N-Boc-L-丙氨酸-(14-冬凌草甲素)酯与三氟乙酸,或者将 L-丙氨酸-(14-冬凌草甲素)酯三氟乙酸盐固体溶解于适量的有机溶剂
15 中,搅拌析晶;或者加入反溶剂,搅拌析晶;

(2) 过滤、洗涤、干燥;

- 其中,所述的有机溶剂选自碳原子数小于等于 3 的醇类、卤代烃、酮类、酯类中的一种或几种,或者为选自碳原子数小于等于 3 的醇类、卤代烃、酮类、酯类中的任意一种或几种与碳原子数小于等于 3 的醚
20 类的混合溶剂。

在本发明优选的实施方案中,所述的有机溶剂选自碳原子数小于等于 3 的酮类、醇类、酯类的一种或几种,或者为选自酮类、醇类、酯类中的任意一种或几种与醚类的混合溶剂。

进一步地,最优选的单一溶剂为乙酸乙酯。

- 25 在本发明的一个实施方案中,优选的混合有机溶剂为丙酮/异丙醚,二者比例没有特别限制,在本发明优选的实施方案中,二者体积比为 1:2。

- 重结晶的方法没有特别限定,可以用通常的重结晶操作方法进行。例如,可以将原料 L-丙氨酸-(14-冬凌草甲素)酯三氟乙酸盐在有机溶剂
30 中搅拌溶解后,常温搅拌析晶,结晶完成后,经过滤干燥,即可得到所需要的结晶。所滤取的结晶体通常在减压下,常温条件下进行真空

干燥，就能达到去除重结晶溶剂的效果。

通过差示扫描热分析（DSC）、X—衍射图谱测定，对得到的 L-丙氨酸-(14-冬凌草甲素)酯三氟乙酸盐结晶体进行了晶型研究，同时对所得结晶的溶剂残留进行了检测。

- 5 按照本发明的方法制备的 L-丙氨酸-(14-冬凌草甲素)酯三氟乙酸盐结晶不含有或仅含有较低含量的残留溶剂，符合国家药典规定的有关医药产品残留溶剂的限量要求，因而本发明的结晶可以较好地作为医药活性成分使用。

- 10 经研究表明，本发明制备 L-丙氨酸-(14-冬凌草甲素)酯三氟乙酸盐 I 型结晶在研磨、压力和受热等条件下，晶型稳定性良好，能够满足生产运输储存的药用要求，生产工艺稳定可重复可控，能够适应于工业化生产。

附图说明

- 15 图 1 为 L-丙氨酸-(14-冬凌草甲素)酯三氟乙酸盐的 I 型结晶的 X-射线粉末衍射图谱。

图 2 为 L-丙氨酸-(14-冬凌草甲素)酯三氟乙酸盐的 I 型结晶的 DSC 图谱。

- 20 图 3 为 L-丙氨酸-(14-冬凌草甲素)酯三氟乙酸盐的无定型固体的 X-射线粉末衍射图谱。

图 4 为 L-丙氨酸-(14-冬凌草甲素)酯三氟乙酸盐的无定型固体的 DSC 图谱。

具体实施方式

- 25 以下将结合实施例更详细地解释本发明，本发明的实施例仅用于说明本发明的技术方案，并非限定本发明的实质和范围。

实验所用的测试仪器

1、DSC 谱

仪器型号：Mettler Toledo DSC 1 Stare System

- 30 吹扫气：氮气

升温速率：10.0°C/min

温度范围：40-250℃

2、X-射线衍射谱

仪器型号： Bruker D8 Focus X-射线粉末衍射仪

射线：单色 Cu-K α 射线 ($\lambda=1.5406 \text{ \AA}$)

5 扫描方式： $\theta/2\theta$ ，扫描范围：2—40°

电压：40KV，电流：40mA。

实施例 1：L-丙氨酸-(14-冬凌草甲素)酯三氟乙酸盐的制备

步骤 1：N-Boc-L-丙氨酸-(14-冬凌草甲素)酯的制备

10 150g (0.41mol) 冬凌草甲素(II)，195g (1.04mol) Boc-L-Ala 悬浮于 1.35kg 二氯甲烷中，冰浴冷却至 0~5℃，加入 213g (1.04 mol) DCC，搅拌 0.5h 后撤去冰浴，室温搅拌 5h，TLC 确认原料反应完全(二氯甲烷：甲醇 = 10:1，原料 $R_f = 0.4$ ，产物 $R_f = 0.6$)。反应液冷却至 0℃静置 2h，过滤，滤饼用二氯甲烷洗 (300g $\times$ 3)，合并有机层，浓缩
15 得白色固体。快速硅胶柱层析 (二氯甲烷：甲醇=100:1~60: 1; v/v)，收集产物组分，减压浓缩至干得白色固体粉末约 140~165g。将上述白色粉末加 600g 异丙醚，搅拌打浆洗涤 2h，过滤，滤饼用异丙醚洗涤 (60g)，于 25℃下鼓风干燥 4h，得白色粉末 110~137g，收率 50~62%。
(HPLC>98%) $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3): 6.12(m, 2H), 5.90(s, 1H),
20 5.49 (s, 1H) , 5.10-5.08 (d, 1H) , 4.30-4.19 (m, 3H) , 4.06-4.04 (q, 1H) , 3.74-3.70 (m, 1H) , 3.49-3.44 (m, 1H) , 3.12-3.10 (d, 1H) , 2.60-2.57(m, 1H), 2.25-2.20(m, 1H), 1.95-1.91(dd, 1H), 1.78-1.73(m , 1H), 1.69-1.53 (m, 4H) , 1.47-1.38 (m, 10H) , 1.31-1.29 (d, 3H) , 1.25-1.23 (m, 2H) , 1.09-1.08(m, 6H). $^{13}\text{C-NMR}$ (100MHz, CDCl_3): 206.2, 171.7, 155.0, 149.9,
25 120.1, 96.1, 79.9, 76.2, 74.5, 73.4, 68.3, 63.4, 62.0, 59.5, 54.7, 49.6, 41.3, 41.3, 38.7, 33.7, 32.6, 30.5, 29.9, 28.2, 22.8, 21.7, 19.9, 18.1.

步骤 2：L-丙氨酸-(14-冬凌草甲素)酯三氟乙酸盐的制备

120g (0.224mol) HAO472-01 溶于 600g 二氯甲烷中，冷却至 0
30 ℃。在 0~5℃下缓慢滴加 2.5kg 三氟乙酸/二氯甲烷 (1:1; w/w) 混合溶液，于 20min 内滴加完毕。0~5℃下搅拌 30min，TLC 确认反应完全

(二氯甲烷: 甲醇 = 10:1, 原料 $R_f=0.6$, 产物 $R_f=0.3$), 将反应液减压浓缩得到淡黄色至浅红色油状物。加入 7.2 kg 异丙醚搅拌处理, 析出大量淡黄色固体, 搅拌 1h 后过滤, 滤饼用异丙醚 (145g $\times$ 3) 洗涤。真空干燥箱中干燥, 得类白色或淡黄色固体 105~116g, 收率 85~94%。

5 (HPLC>98%) $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, MeOD): 6.16(s, 1H), 6.10(s, 1H), 5.63 (s, 1H), 4.28-4.31 (d, 1H), 4.05-4.07 (d, 1H), 3.92-3.97 (q, 1H), 3.67-3.69 (d, 1H), 3.45-3.49 (dd, 1H), 3.13-3.15 (d, 1H), 2.58-2.66(m, 1H), 2.21-2.26(m, 1H), 1.97-2.02(dd, 1H), 1.81-1.88(m, 1H), 1.57-1.69 (m, H), 1.42-1.47 (m, 4H), 1.31-1.36 (dd, 1H), 1.28-1.29 (d, 1H),
10 1.12 (s, 3H), 1.08 (s, 3H). $^{13}\text{C-NMR}$ (100MHz, MeOD):208.08, 169.75, 163.51, 163.17, 162.82, 162.49, 151.87, 120.75, 122.60, 119.69, 116.77, 113.86, 97.29, 77.35, 75.98, 73.75, 64.63, 63.71, 60.76, 56.24, 50.21, 43.06, 42.46, 39.77, 34.59, 33.23, 31.74, 30.46, 22.15, 21.13, 15.68. ESI/MS: $[\text{M}+\text{H}] = 436.2328$.

15

实施例 2: 测定实施例 1 样品的晶型

实施例 1 中制得的固体样品 X-射线粉末衍射图谱见图 3, 显示无晶型特征吸收峰, DSC 图谱见 4, 在 300℃以下未见熔融特征吸收峰, 据此确定产物为无定型固体。

20

实施例 3

称取 500mg L-丙氨酸-(14-冬凌草甲素)酯三氟乙酸盐无定形固体于 25ml 圆底烧瓶中, 加入丙酮 5ml, 搅拌溶解, 常温下缓慢加入异丙醚 10ml, 搅拌析晶 2.5 小时, 抽滤, 滤饼用少量丙酮/异丙醚 (V/V=1/2)
25 混合溶剂洗涤后干燥, 得白色固体 370mg, 收率 74.0%。该结晶样品的 X-射线粉末衍射图谱见图 1。该结晶在约 6.85 (12.89), 8.09 (10.92), 11.30 (7.82), 13.71 (6.45), 14.08 (6.29), 14.35 (6.17), 16.40 (5.40), 17.41 (5.09), 18.19 (4.87), 18.44 (4.81), 20.12 (4.41), 21.17 (4.19), 23.38 (3.80), 23.88 (3.72), 24.42 (3.64), 24.84 (3.58), 25.72 (3.46),
30 26.46 (3.37), 27.22 (3.27), 28.40 (3.14), 29.38 (3.04), 31.26 (2.86) 和 31.79(2.81)处有特征峰。DSC 图谱见图 2, 有尖锐熔融吸热峰 232.59℃, 将此晶型定义为 I 晶型。

实施例 4

取 500mg N-Boc-L-丙氨酸-(14-冬凌草甲素)酯溶于 1.5ml 二氯甲烷中，冰水浴冷却至 0℃。在低于 5℃下缓慢滴加 8ml 三氟乙酸/二氯甲烷
5 (1:1) 混合溶液，于 15min 内滴加完毕。冰水浴下搅拌，TLC 检测反应完全。向反应液中缓慢加入异丙醚 20ml。室温搅拌 24 小时后，过滤，滤饼用异丙醚洗涤 (8ml×3)，真空干燥得类白色固体 372mg，收率 72.5%。该结晶样品的 X-射线粉末衍射和 DSC 图谱经研究比对，确定产物为 I 晶型。

10

实施例 5

称取 500mg L-丙氨酸-(14-冬凌草甲素)酯三氟乙酸盐无定形固体于 25ml 圆底烧瓶中，加入丙酮 5ml，搅拌溶解，常温下搅拌析晶 18 小时，抽滤，滤饼用少量丙酮洗涤后干燥，得白色固体 300mg，收率
15 60.0%。该结晶样品的 X-射线粉末衍射和 DSC 图谱经研究比对，确定产物为 I 晶型。

实施例 6

称取 500mg L-丙氨酸-(14-冬凌草甲素)酯三氟乙酸盐无定形固体于
20 25ml 圆底烧瓶中，加入乙酸乙酯 4.5ml，搅拌溶解，常温下搅拌析晶 4 小时，抽滤，滤饼用少量乙酸乙酯洗涤后干燥，得白色固体 341mg，收率 68.2%。该结晶样品的 X-射线衍射和 DSC 谱图经研究比对，确定产物为 I 晶型。

实施例 7

将实施例 3 所得的 I 型结晶产物和实施例 1 所得的无定型的 L-丙氨酸-(14-冬凌草甲素)酯三氟乙酸盐样品分别敞口平摊放置，考察在光照 (4500Lux)，加热(60℃)，高湿(RH90%)条件下样品的稳定性，考察取样时间为 5 天和 10 天，HPLC 检测纯度见表 1。

30

表 1、L-丙氨酸-(14-冬凌草甲素)酯三氟乙酸盐 I 型结晶和无定型样品的稳定性比较

批号	时间(天)	光照	60 °C	RH90%
I 型结晶 S0903120323	0	99.32%	99.32%	99.32%
	5	99.33%	99.05%	99.30%
	10	98.95%	98.80%	99.27%
无定型 20120717	0	99.30%	99.30%	99.30%
	5	98.48%	96.25%	94.65%
	10	98.43%	96.20%	94.27%

稳定性考察结果表明，L-丙氨酸-(14-冬凌草甲素)酯三氟乙酸盐 I 型结晶和无定型样品在敞口放置的条件下，在光照、高温和高湿条件下的稳定性比较发现，光照对两者的影响不大，但是在高温、高湿的条件下，I 型结晶的稳定性显著好于无定型样品。

实施例 8

10 将按实施例 1 方法制得的 L-丙氨酸-(14-冬凌草甲素)酯三氟乙酸盐 I 型结晶进行研磨、压力和受热等特殊稳定性研究，结果表明晶型稳定，详细的实验数据参见下表 2：

表 2、HAO472 I 晶型特殊稳定性研究

批号	处理方法	实验过程	晶型	DSC 峰值
实验 7.1 S0903120323G	研磨处理 10min	取 HAO472 I 晶型样品 1g，在氮气保护下，在研钵中研磨 10min。	I 晶型	DSC 峰值 234.45℃
实验 7.2 S0903120323H	60℃加热 处理 3h	取 HAO472 I 晶型样品 1g，平铺，在 60℃加热 3h。	I 晶型	DSC 峰值 234.35℃
实验 7.3 S0903120323P	压片处理	用 HAO472 I 晶型样品压制成片。	I 晶型	DSC 峰值 234.52℃

权利要求书:

1、一种 L-丙氨酸-(14-冬凌草甲素)酯三氟乙酸盐的 I 型结晶，其特征在于使用 Cu-K α 辐射，得到以 2 θ 角度和晶面间距表示的 X-射线粉末衍射图谱，所述结晶具有如图 1 所示的 X-射线粉末衍射图谱，其中在约 6.85 (12.89)，8.09 (10.92)，11.30 (7.82)，13.71 (6.45)，14.08 (6.29)，14.35 (6.17)，16.40 (5.40)，17.41 (5.09)，18.19 (4.87)，18.44 (4.81)，20.12 (4.41)，21.17 (4.19)，23.38 (3.80)，23.88 (3.72)，24.42 (3.64)，24.84 (3.58)，25.72 (3.46)，26.46 (3.37)，27.22 (3.27)，28.40 (3.14)，29.38 (3.04)，31.26 (2.86) 和 31.79 (2.81) 有特征峰。

2、一种制备如权利要求 1 所述的 L-丙氨酸-(14-冬凌草甲素)酯三氟乙酸盐的 I 型结晶的方法，所述方法包括下述步骤：

1) 将任意晶型或无定型的 N-Boc-L-丙氨酸-(14-冬凌草甲素)酯与三氟乙酸，或者任意晶型或无定型的 L-丙氨酸-(14-冬凌草甲素)酯三氟乙酸盐固体常温溶解于有机溶剂中，搅拌析晶，或加入反溶剂后，搅拌析晶，所述有机溶剂选自碳原子数小于等于 3 的醇类、卤代烃、酮类、酯类中的一种或几种，或者为选自碳原子数小于等于 3 的醇类、卤代烃、酮类、酯类中的任意一种或几种与碳原子数小于等于 3 的醚类的混合溶剂；优选所述的有机溶剂选自酮类、醇类、酯类的一种或几种，或者为选自酮类、醇类、酯类中的任意一种或几种与醚类的混合溶剂；

2) 过滤结晶并洗涤，干燥。

3、根据权利要求 2 所述的方法，其特征在于在步骤 1) 中所述的有机溶剂为丙酮、乙酸乙酯、二氯甲烷/乙醚、丙酮/异丙醚、二氯甲烷/异丙醚、乙醇/异丙醚、异丙醇/异丙醚、甲醇/异丙醚。

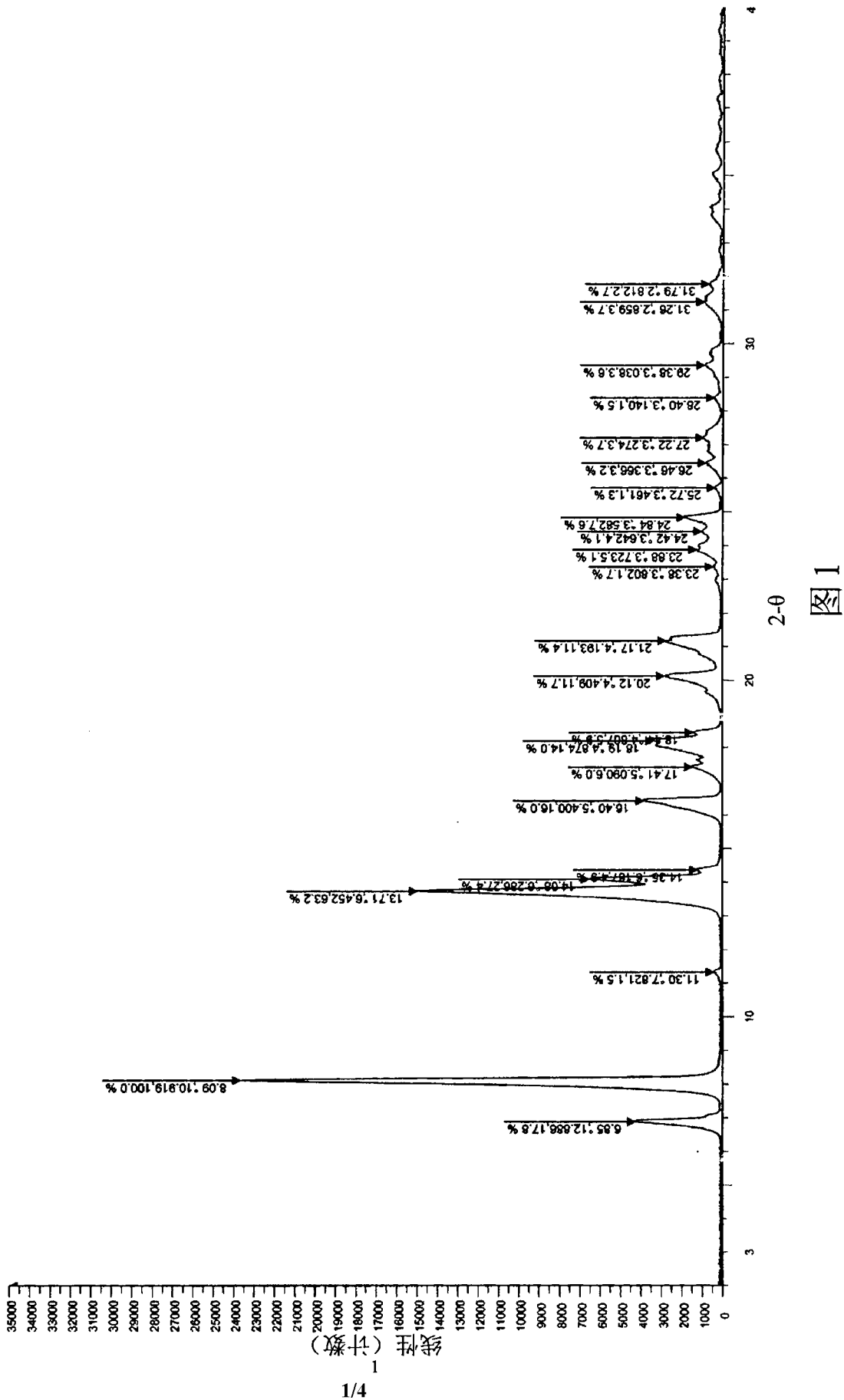
4、根据权利要求 3 所述的方法，其步骤 1) 中所述的有机溶剂为丙酮/异丙醚。

5、一种药物组合物，其含有如权利要求 1 所述的 L-丙氨酸-(14-冬凌草甲素)酯三氟乙酸盐的 I 型结晶以及药学上可接受的载体。

6、根据权利要求 1 所述的 L-丙氨酸-(14-草甲素)酯三氟乙酸盐的 I 型结晶或权利要求 5 所述的药物组合物在制备治疗白血病药物中的用途；其中所述的白血病基因靶点为急性髓系 AML1-ETO 融合基因。

5

7、根据权利要求 1 所述的 L-丙氨酸-(14-草甲素)酯三氟乙酸盐的 I 型结晶或权利要求 5 所述的药物组合物在制备治疗癌症的药物中的用途，其中所述癌症是食道癌、胃癌、原发性肝癌、胰腺癌、贲门癌、大肠癌、膀胱癌、乳腺癌以及急性髓系白血病。



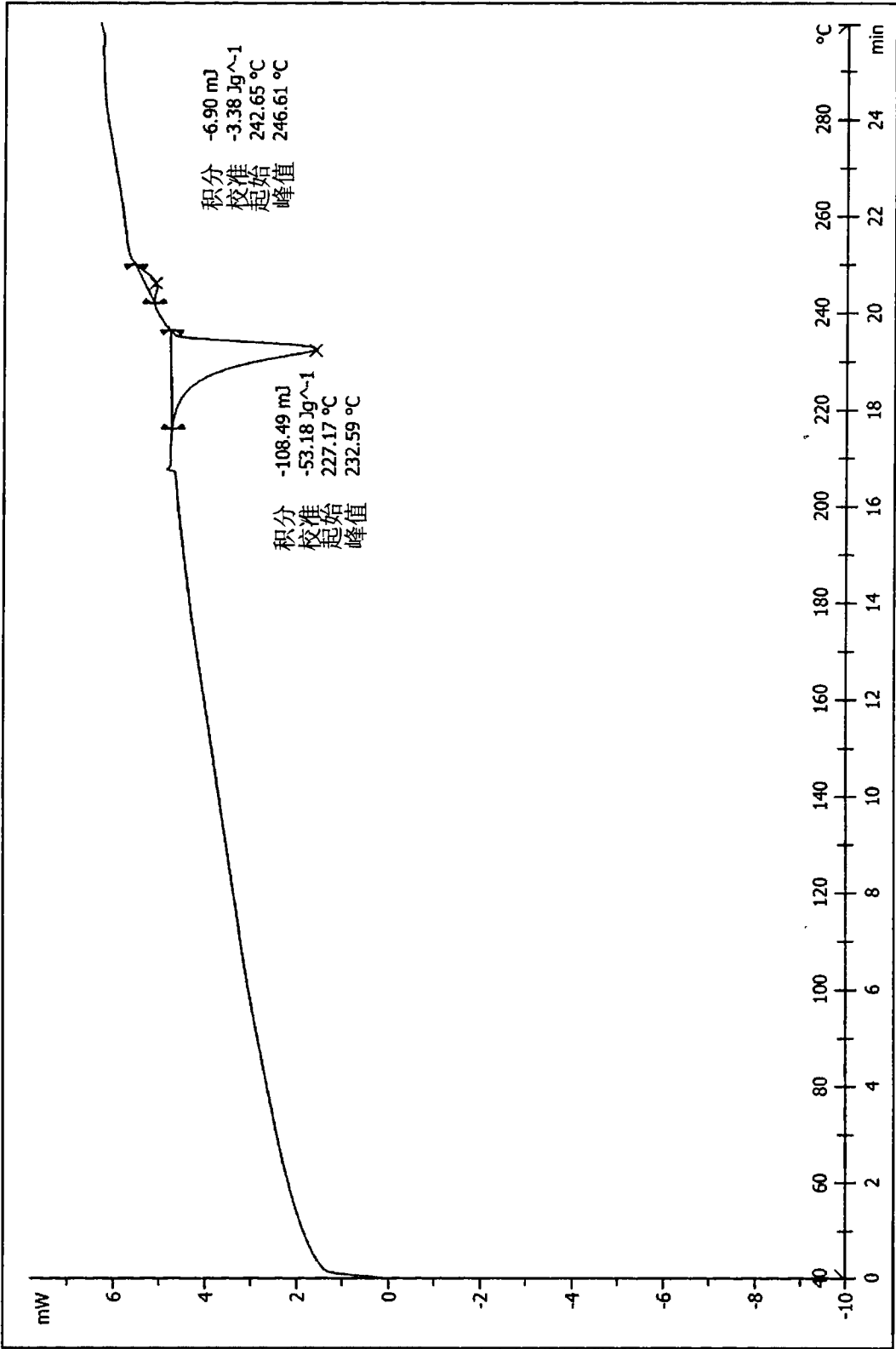


图 2

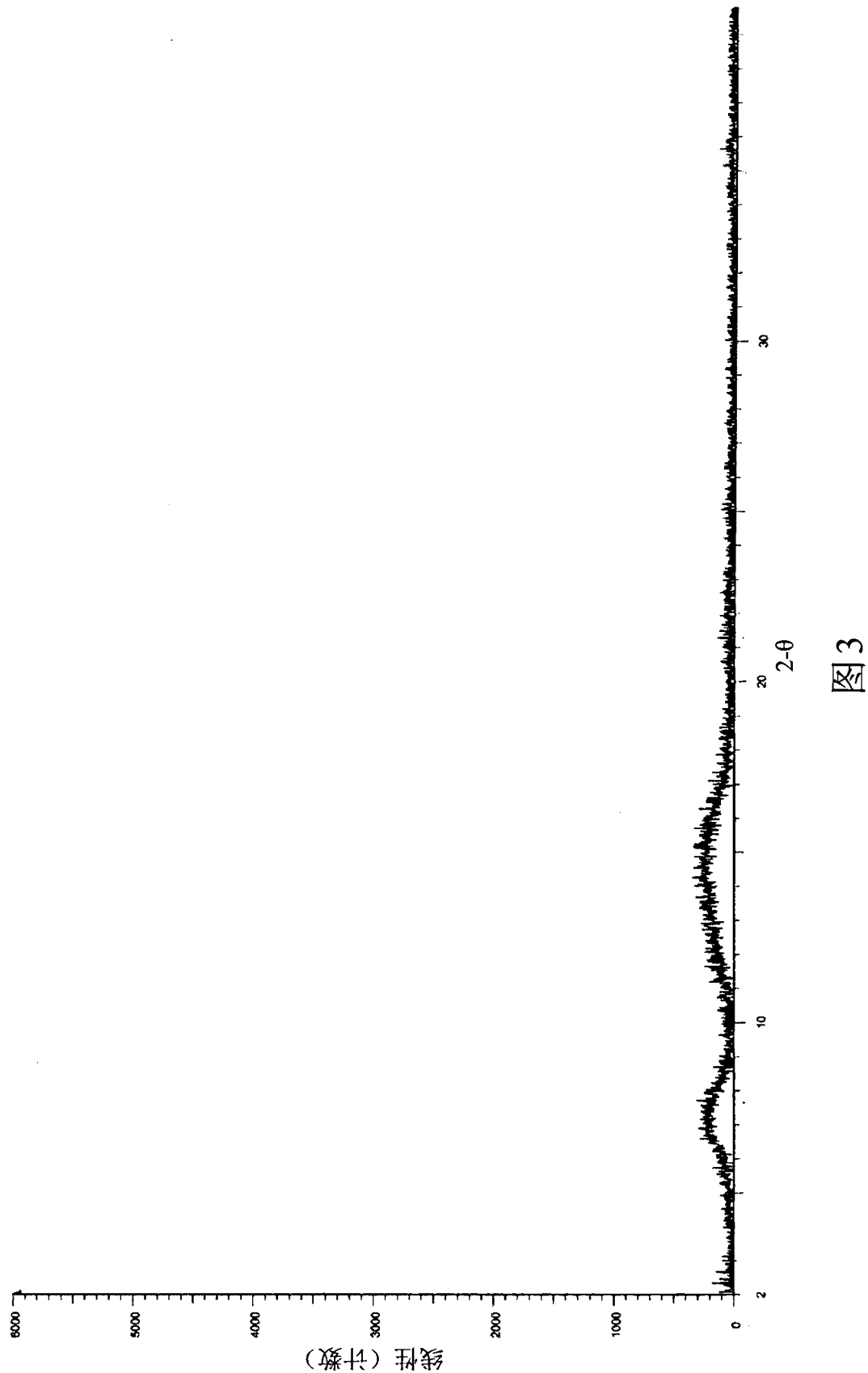


图 3

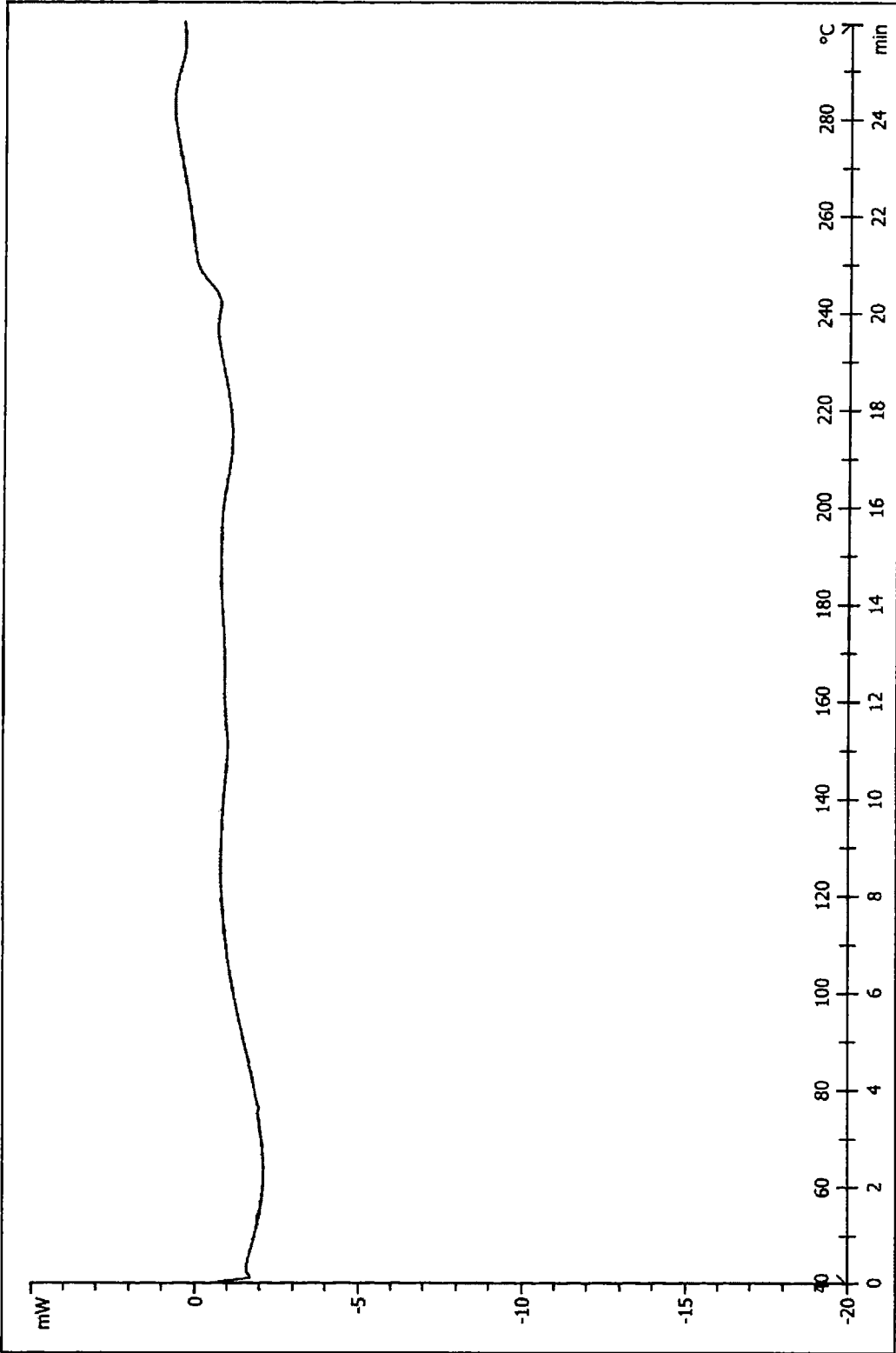


图 4

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2015/077620

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07D 493/08 (2006.01) i; A61K 31/352 (2006.01) i; A61P 35/00 (2006.01) i; A61P 35/02 (2006.01) i
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC: C07D 493/-; A61K 31/352

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

Databases: WPI, EPODOC, CNABS, CNKI, REG, CAPLUS

Search terms: trifluoroacetic acid, powder diffraction, oridonin, alanine, trifluoroacetate, crystal, derivative, 1624613-33-7, 1624613-32-6

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	CN 104017000 A (JIANGSU HENGRUI MEDICINE CO., LTD.), 03 September 2014 (03.09.2014), see the whole document, especially claim 1	1-7
A	CN 101139350 A (CHINA PHARMACEUTICAL UNIVERSITY), 12 March 2008 (12.03.2008), see the whole document	1-7
A	CN 103467474 A (CHINA PHARMACEUTICAL UNIVERSITY), 25 December 2013 (25.12.2013), see the whole document	1-7
A	WO 2013107429 A1 (HANGZHOU BENSHENG PHARMACEUTICAL CO LTD), 25 July 2013 (25.07.2013), see the whole document	1-7

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date	“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	“&” document member of the same patent family
“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search 22 July 2015 (22.07.2015)	Date of mailing of the international search report 05 August 2015 (05.08.2015)
Name and mailing address of the ISA/CN: State Intellectual Property Office of the P. R. China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing 100088, China Facsimile No.: (86-10) 62019451	Authorized officer FU, Wei Telephone No.: (86-10) 62086335

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2015/077620

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN 104017000 A	03 September 2014	None	
CN 101139350 A	12 March 2008	CN 101139350 B	02 June 2010
CN 103467474 A	25 December 2013	None	
WO 2013107429 A1	25 July 2013	JP 2015504076 A	05 February 2015
		EP 2805955 A1	26 November 2014
		EP 2805955 A4	10 June 2015
		US 2014364490 A1	11 December 2014

A. 主题的分类		
C07D 493/08(2006.01)i; A61K 31/352(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i; A61P 35/02(2006.01)i		
按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类		
B. 检索领域		
检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)		
C07D 493/-; A61K 31/352		
包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献		
在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))		
数据库: WPI, EPODOC, CNABS, CNKI, REG, CAPLUS 检索词: 冬凌草甲素, 三氟乙酸, 丙氨酸, 粉末衍射, 衍生物, 晶体, oridonin, alanine, trifluoroacetate, crystal, derivative, 1624613-33-7, 1624613-32-6,		
C. 相关文件		
类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
PA	CN 104017000 A (江苏恒瑞医药股份有限公司) 2014年 9月 3日 (2014 - 09 - 03) 参见全文, 特别是权利要求1	1-7
A	CN 101139350 A (中国药科大学) 2008年 3月 12日 (2008 - 03 - 12) 参见全文	1-7
A	CN 103467474 A (中国药科大学) 2013年 12月 25日 (2013 - 12 - 25) 参见全文	1-7
A	WO 2013107429 A1 (HANGZHOU BENSHENG PHARMACEUTICAL CO LTD) 2013年 7月 25日 (2013 - 07 - 25) 参见全文	1-7
☐ 其余文件在C栏的续页中列出。 ☒ 见同族专利附件。		
* 引用文件的具体类型: “A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 “E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 “L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的) “O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 “P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件 “T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 “X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 “Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 “&” 同族专利的文件		
国际检索实际完成的日期		国际检索报告邮寄日期
2015年 7月 22日		2015年 8月 5日
ISA/CN的名称和邮寄地址		受权官员
中华人民共和国国家知识产权局(ISA/CN) 北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088 中国		付伟
传真号 (86-10)62019451		电话号码 (86-10)62086335

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2015/077620

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	104017000	A	2014年 9月 3日	无			
CN	101139350	A	2008年 3月 12日	CN	101139350	B	2010年 6月 2日
CN	103467474	A	2013年 12月 25日	无			
WO	2013107429	A1	2013年 7月 25日	JP	2015504076	A	2015年 2月 5日
				EP	2805955	A1	2014年 11月 26日
				EP	2805955	A4	2015年 6月 10日
				US	2014364490	A1	2014年 12月 11日