



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102656166 A

(43) 申请公布日 2012. 09. 05

(21) 申请号 201080044725. 0

(22) 申请日 2010. 08. 05

(30) 优先权数据

61/231, 860 2009. 08. 06 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2012. 04. 01

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2010/044568 2010. 08. 05

(87) PCT申请的公布数据

W02011/017533 EN 2011. 02. 10

(71) 申请人 生命医药公司

地址 美国宾夕法尼亚州

(72) 发明人 D·A·克莱尔蒙 R·D·辛普森

贾兰齐

(74) 专利代理机构 北京市金杜律师事务所

11256

代理人 陈文平

(51) Int. Cl.

C07D 405/12 (2006. 01)

A61K 315/453 (2006. 01)

A61P 9/00 (2006. 01)

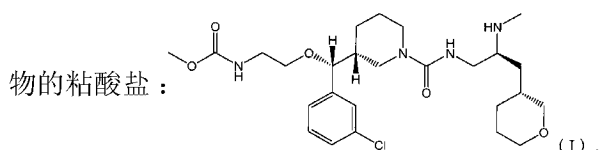
权利要求书 4 页 说明书 22 页 附图 14 页

(54) 发明名称

甲 基 2 - ((R) - (3 - 氯 苯 基)
((R) - L - ((S) - 2 - (甲 基 氨 基) - 3 - ((R) - 四
氢 - 2H - 吡喃 - 3 - 基) 丙基氨甲酰基) 的结晶盐

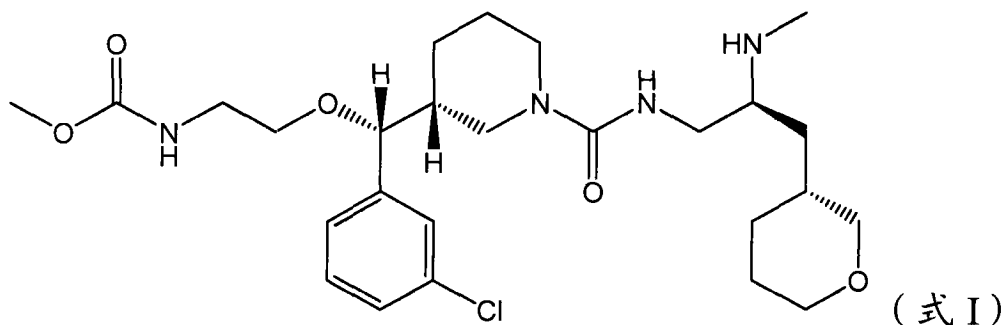
(57) 摘要

本发明公开了由以下结构式 (I) 表示的化合



具体地, 由结构式 (I) 表示的化合物的单晶粘酸盐通过各种性质和物理测定表征。本发明也描述制备所述粘酸盐的方法、使用所述盐来拮抗一种或多种天冬氨酸蛋白酶的方法, 以及用所述盐治疗多种天冬氨酸蛋白酶介导的疾病的方法。

1. 由以下结构式表示的化合物的粘酸盐的结晶形式：



其中所述结晶形式选自 B 型、C 型、D 型或其组合。

2. 如权利要求 1 所述的结晶形式,其中所述盐是半粘酸盐。
3. 如权利要求 2 所述的结晶形式,其中至少 50% 重量的结晶形式是单晶形式。
4. 如权利要求 2 所述的结晶形式,其中至少 90% 重量的结晶形式是单晶形式。
5. 如权利要求 3 或 4 所述的结晶形式,其中所述单晶形式是 B 型。
6. 如权利要求 3 或 4 所述的结晶形式,其中所述单晶形式是 C 型。
7. 如权利要求 3 或 4 所述的结晶形式,其中所述单晶形式是 D 型。
8. 如权利要求 3 或 4 所述的结晶形式,其中所述单晶形式由选自 7.61° 、 16.38° 、 17.08° 、 19.16° 和 20.12° 的 2θ 角的至少三个主要的 x-射线粉末衍射峰表征。
9. 如权利要求 3 或 4 所述的结晶形式,其中所述单晶形式由 2θ 角 7.61° 、 16.38° 、 17.08° 、 19.16° 和 20.12° 处的主要的 x-射线粉末衍射峰表征。
10. 如权利要求 3 或 4 所述的结晶形式,其中所述单晶形式由 3.79° 、 5.15° 、 6.76° 、 7.61° 、 8.83° 、 10.32° 、 11.41° 、 11.94° 、 12.47° 、 13.58° 、 15.22° 、 16.38° 、 17.08° 、 19.16° 和 20.12° 的 2θ 角处的 x-射线粉末衍射峰表征。
11. 如权利要求 3 或 4 所述的结晶形式,其中所述单晶形式由基本上与图 1 或图 2 或其组合一致的 x-射线粉末衍射图表征。
12. 如权利要求 3 或 4 所述的结晶形式,其中所述单晶形式由选自 3.48° 、 5.73° 、 17.14° 、 17.94° 、 18.46° 、 18.81° 、 19.23° 、 19.48° 、 21.30° 、 21.78° 、 22.12° 和 22.73° 的 2θ 角处的至少五个主要的 x-射线粉末衍射峰表征。
13. 如权利要求 3 或 4 所述的结晶形式,其中所述单晶形式由选自 3.48° 、 5.73° 、 17.14° 、 17.94° 、 18.46° 、 18.81° 、 19.23° 、 19.48° 、 21.30° 、 21.78° 、 22.12° 和 22.73° 的 2θ 角处的至少十个主要的 x-射线粉末衍射峰表征。
14. 如权利要求 3 或 4 所述的结晶形式,其中所述单晶形式由选自 3.48° 、 5.73° 、 17.14° 、 17.94° 、 18.46° 、 18.81° 、 19.23° 、 19.48° 、 21.30° 、 21.78° 、 22.12° 和 22.73° 的 2θ 角处的主要的 x-射线粉末衍射峰表征。
15. 如权利要求 3 或 4 所述的结晶形式,其中所述单晶形式由 2θ 角 3.48° 、 4.48° 、 5.73° 、 6.27° 、 7.10° 、 7.76° 、 8.59° 、 9.21° 、 9.64° 、 11.63° 、 12.49° 、 15.18° 、 15.67° 、 16.37° 、 17.14° 、 17.94° 、 18.46° 、 18.81° 、 19.23° 、 19.48° 、 21.30° 、 21.78° 、 22.12° 、 22.73° 、 24.25° 、 25.22° 、 27.19° 和 29.67° 处的 x-射线粉末衍射峰表征。
16. 如权利要求 3 或 4 所述的结晶形式,其中所述单晶形式由基本上与图 3 一致的 x-射

线粉末衍射图表征。

17. 如权利要求 3 或 4 所述的结晶形式,其中所述单晶形式由选自 6.57° 、 7.65° 、 12.27° 、 14.75° 、 16.96° 、 17.42° 、 19.25° 、 19.98° 和 20.77° 的 2θ 角处的至少四个主要的 x-射线粉末衍射峰表征。

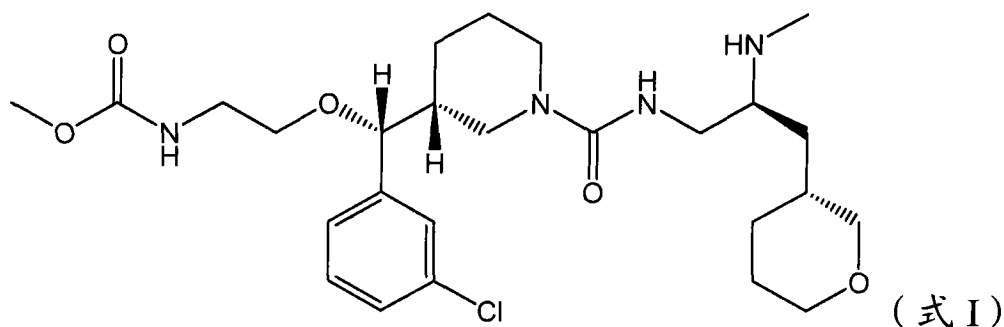
18. 如权利要求 3 或 4 所述的结晶形式,其中所述单晶形式由选自 6.57° 、 7.65° 、 12.27° 、 14.75° 、 16.96° 、 17.42° 、 19.25° 、 19.98° 和 20.77° 的 2θ 角处的至少七个主要的 x-射线粉末衍射峰表征。

19. 如权利要求 3 或 4 所述的结晶形式,其中所述单晶形式由 2θ 角 6.57° 、 7.65° 、 12.27° 、 14.75° 、 16.96° 、 17.42° 、 19.25° 、 19.98° 和 20.77° 处的主要的 x-射线粉末衍射峰表征。

20. 如权利要求 3 或 4 所述的结晶形式,其中所述单晶形式由选自 2.96° 、 4.27° 、 5.17° 、 5.90° 、 6.57° 、 7.25° 、 7.65° 、 8.95° 、 9.78° 、 10.52° 、 11.50° 、 12.27° 、 12.97° 、 13.38° 、 14.05° 、 14.75° 、 15.50° 、 16.32° 、 16.96° 、 17.42° 、 18.39° 、 19.25° 、 19.98° 、 20.77° 、 22.22° 、 22.91° 、 23.89° 、 24.58° 、 26.70° 和 28.51° 的 2θ 角处的 x-射线粉末衍射峰表征。

21. 如权利要求 3 或 4 所述的结晶形式,其中所述单晶形式由基本上与图 4 一致的 x-射线粉末衍射图表征。

22. 药物组合物,含有由以下结构式表示的化合物的粘酸盐的结晶形式和药学可接受的载体或稀释剂:



其中所述结晶形式选自 B 型、C 型、D 型或其组合。

23. 如权利要求 22 所述的药物组合物,其中所述盐是半粘酸盐。

24. 如权利要求 23 所述的药物组合物,其中至少 50% 重量的结晶形式是单晶形式。

25. 如权利要求 23 所述的药物组合物,其中至少 90% 重量的结晶形式是单晶形式。

26. 如权利要求 24 或 25 所述的药物组合物,其中所述单晶形式是 B 型。

27. 如权利要求 24 或 25 所述的药物组合物,其中所述单晶形式是 C 型。

28. 如权利要求 24 或 25 所述的药物组合物,其中所述单晶形式是 D 型。

29. 如权利要求 24 或 25 所述的药物组合物,其中所述单晶形式由选自 7.61° 、 16.38° 、 17.08° 、 19.16° 和 20.12° 的 2θ 角处的至少三个主要的 x-射线粉末衍射峰表征。

30. 如权利要求 24 或 25 所述的药物组合物,其中所述单晶形式由 2θ 角 7.61° 、 16.38° 、 17.08° 、 19.16° 和 20.12° 处的主要的 x-射线粉末衍射峰表征。

31. 如权利要求 24 或 25 所述的药物组合物,其中所述单晶形式由 3.79° 、 5.15° 、

6.76°、7.61°、8.83°、10.32°、11.41°、11.94°、12.47°、13.58°、15.22°、16.38°、17.08°、19.16°和20.12°的 2θ 角处的x-射线粉末衍射峰表征。

32. 如权利要求24或25所述的药物组合物,其中所述单晶形式由基本上与图1或图2或其组合一致的x-射线粉末衍射图表征。

33. 如权利要求24或25所述的药物组合物,其中所述单晶形式由选自3.48°、5.73°、17.14°、17.94°、18.46°、18.81°、19.23°、19.48°、21.30°、21.78°、22.12°和22.73°的 2θ 角处的至少五个主要的x-射线粉末衍射峰表征。

34. 如权利要求24或25所述的药物组合物,其中所述单晶形式由选自3.48°、5.73°、17.14°、17.94°、18.46°、18.81°、19.23°、19.48°、21.30°、21.78°、22.12°和22.73°的 2θ 角处的至少十个主要的x-射线粉末衍射峰表征。

35. 如权利要求24或25所述的药物组合物,其中所述单晶形式由 2θ 角3.48°、5.73°、17.14°、17.94°、18.46°、18.81°、19.23°、19.48°、21.30°、21.78°、22.12°和22.73°处的主要的x-射线粉末衍射峰表征。

36. 如权利要求24或25所述的药物组合物,其中所述单晶形式由 2θ 角3.48°、4.48°、5.73°、6.27°、7.10°、7.76°、8.59°、9.21°、9.64°、11.63°、12.49°、15.18°、15.67°、16.37°、17.14°、17.94°、18.46°、18.81°、19.23°、19.48°、21.30°、21.78°、22.12°、22.73°、24.25°、25.22°、27.19°和29.67°处的x-射线粉末衍射峰表征。

37. 如权利要求24或25所述的药物组合物,其中所述单晶形式由基本上与图3一致的x-射线粉末衍射图表征。

38. 如权利要求24或25所述的药物组合物,其中所述单晶形式由选自6.57°、7.65°、12.27°、14.75°、16.96°、17.42°、19.25°、19.98°和20.77°的 2θ 角处的至少四个主要的x-射线粉末衍射峰表征。

39. 如权利要求24或25所述的药物组合物,其中所述单晶形式由选自6.57°、7.65°、12.27°、14.75°、16.96°、17.42°、19.25°、19.98°和20.77°的 2θ 角处的至少七个主要的x-射线粉末衍射峰表征。

40. 如权利要求24或25所述的药物组合物,其中所述单晶形式由选自 2θ 角6.57°、7.65°、12.27°、14.75°、16.96°、17.42°、19.25°、19.98°和20.77°处的主要的x-射线粉末衍射峰表征。

41. 如权利要求24或25所述的药物组合物,其中所述单晶形式由选自2.96°、4.27°、5.17°、5.90°、6.57°、7.25°、7.65°、8.95°、9.78°、10.52°、11.50°、12.27°、12.97°、13.38°、14.05°、14.75°、15.50°、16.32°、16.96°、17.42°、18.39°、19.25°、19.98°、20.77°、22.22°、22.91°、23.89°、24.58°、26.70°和28.51°的 2θ 角处的x-射线粉末衍射峰表征。

42. 如权利要求24或25所述的药物组合物,其中所述单晶形式由基本上与图4一致的x-射线粉末衍射图表征。

43. 如权利要求22-42中任一项所述的药物组合物,还包括 α -阻断剂、 β -阻断剂、钙通道阻断剂、利尿剂、排钠利尿剂、促盐排泄药、中枢作用的抗高血压药、血管紧张肽转化酶抑制剂、双重血管紧张肽转化酶和中性肽链内切酶抑制剂、血管紧张肽-受体阻断剂、双重

血管紧张肽-受体阻断剂和内皮素受体拮抗剂、醛固酮合酶抑制剂、醛固酮-受体拮抗剂或内皮素受体拮抗剂。

44. 在需要其的受试者中拮抗一种或多种天冬氨酸蛋白酶的方法,包括将有效量的权利要求 1-21 任一项所述的结晶形式施用于所述受试者。

45. 如权利要求 44 的方法,其中所述天冬氨酸蛋白酶是肾素。

46. 治疗受试者的天冬氨酸蛋白酶介导的疾病的方法,包括将有效量的权利要求 1-21 中任一项所述的结晶形式施用于所述受试者。

47. 如权利要求 46 的方法,其中所述疾病是高血压、充血性心力衰竭、心脏肥大、心脏纤维化、梗死后心肌病、肾病、血管病和神经病、冠状血管病、术后高血压、血管成形术后的再狭窄、升高的眼内压、青光眼、异常脉管生长、醛固酮过多症、焦虑状态或认知障碍。

48. 如权利要求 46 的方法,还包括施用选自下组的一种或多种其他试剂: α -阻断剂、 β -阻断剂、钙通道阻断剂、利尿剂、血管紧张肽转化酶抑制剂、双重血管紧张肽转化酶和中性肽链内切酶抑制剂、血管紧张肽-受体阻断剂、双重血管紧张肽-受体阻断剂和内皮素受体拮抗剂、醛固酮合酶抑制剂、醛固酮-受体拮抗剂和内皮素受体拮抗剂。

甲基 2-((R)-(3-氯苯基))((R)-L-((S)-2-(甲基氨基)-3-((R)-四氢-2H-吡喃-3-基)丙基氨甲酰基)的结晶盐

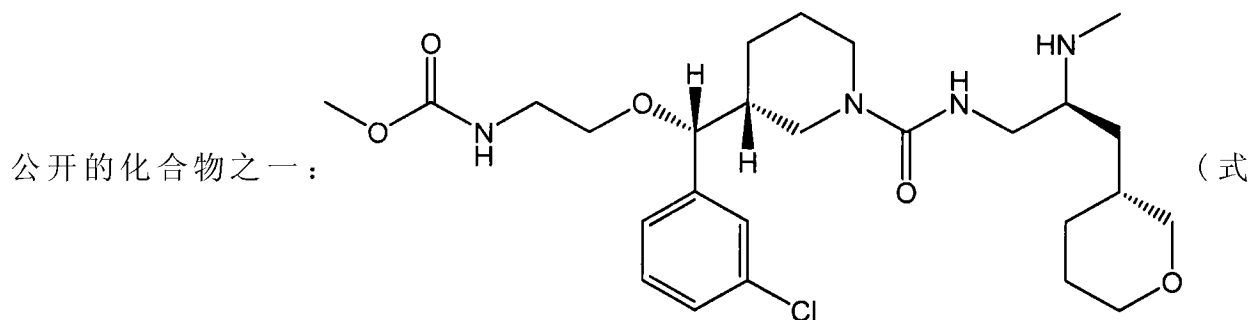
[0001] 相关申请

[0002] 本申请要求 2009 年 8 月 6 日递交的美国临时申请 No. 61/231, 860 的权益。

[0003] 上述申请的全部教导以引用方式合并于此。

背景技术

[0004] 国际公布 WO 2008/036247 描述了一系列化合物,其显示具有拮抗天冬氨酸蛋白酶、特别是肾素的抑制活性,且其显示为可用于治疗天冬氨酸蛋白酶介导的疾病。结构由式 I 表示的 2-((R)-(3-氯苯基))((R)-1-((S)-2-(甲基氨基)-3-((R)-四氢-2H-吡喃-3-基)丙基氨甲酰基)哌啶-3-基)甲氧基)乙基氨基甲酸甲酯是 WO 2008/036247



I)。WO2008/036247 还公开了由结构式 (I) 表示的化合物的双羟萘酸盐 (2 : 1) (pamoate salt),并描述了为分离目的而不为结晶而使用三氟乙酸盐。

[0005] 尽管由结构式 (I) 表示的化合物的 2 : 1 双羟萘酸盐以良好产率获得,且其是高度结晶的,但未实现所需的生物利用度和水溶性。

[0006] 存在着对由结构式 (I) 表示的化合物的盐形式的需要,其是结晶的、具有良好的水溶性、良好的体内经口生物利用度,且具有适应大规模制备的物理性质。

[0007] 发明简述

[0008] 已经发现,可在特定条件下形成由结构式 (I) 表示的化合物的粘酸盐 (以下称为“式 (I) 粘酸盐”),来提供某些充分非吸湿性的结晶形式,特别是单晶形式 B 型、C 型和 D 型。已经发现当式 (I) 粘酸盐的这些结晶形式与式 (I) 的其他盐相比,甚至与式 (I) 粘酸盐的其他结晶形式、特别是 A 型和 E 型相比时,其具有有利的性质。用于试图制备由式 (I) 表示的化合物的所需盐形式的其他酸包括:盐酸、硫酸、磷酸、乙酸、己二酸、L-天冬氨酸、苯甲酸、樟脑酸、柠檬酸、富马酸、龙胆酸、L-谷氨酸、戊二酸、羟基乙酸、马尿酸、1-羟基-2-萘甲酸、α-酮戊二酸、乳糖酸、马来酸、D-苹果酸、L-苹果酸、丙二酸、DL-扁桃酸、1,5-萘二磺酸、烟酸、乳酸、丙酸、L-焦谷氨酸、琥珀酸和 D-和 L-酒石酸。然而,已经发现这些酸中的任何一种用于制备式 (I) 化合物的盐形式的用途具有涉及以下一种或多种缺点:(i) 在所使用条件下不能提供结晶盐,(ii) 在所使用条件下不能提供足够量和/或产率的结晶来确保进一步考虑,(iii) 不能提供充分非吸湿性盐,和 (iv) 不能提供具有足够的生物利用

度的酸性盐。而且,优选所述酸是公认为安全的 (GRAS)。更优选所述酸属于 FDA I 级。

[0009] 除了是充分非吸湿性的之外,式 (I) 粘酸盐的某些结晶形式,特别是单晶形式 B 型、C 型和 D 型具有良好的水溶性和良好的体内经口生物利用度。这些是用于大规模制备的有利性质,使得式 (I) 粘酸盐成为有吸引力的药物候选。

[0010] 本发明的一个实施方式是由结构式 (I) 表示的化合物的粘酸盐的结晶形式,其中所述结晶形式选自 B 型、C 型、D 型或其组合。

[0011] 本发明的相关实施方式是由式 (I) 表示的化合物的粘酸盐。如上所述,由式 (I) 表示的化合物的粘酸盐在本发明中称为“式 (I) 粘酸盐”。由式 (I) 表示的化合物在本发明中称为“式 (I) 游离碱”。

[0012] 本发明的另一个实施方式是含有药学可接受的载体或稀释剂和式 (I) 粘酸盐的药物组合物。

[0013] 本发明的另一个实施方式是在需要其的受试者中拮抗一种或多种天冬氨酸蛋白酶的方法,包括将有效量的式 (I) 粘酸盐施用于所述受试者。

[0014] 本发明的另一个实施方式是治疗受试者的天冬氨酸蛋白酶介导的疾病的方法,包括将有效量的式 (I) 粘酸盐施用于所述受试者。

附图说明

[0015] 图 1 显示如实施例 3 所述制备的式 (I) 粘酸盐 -B 型的 X-射线粉末衍射图。

[0016] 图 2 显示式如实施例 4 所述制备的 (I) 粘酸盐 -B 型的 X-射线粉末衍射图。

[0017] 图 3 显示如实施例 5 所述制备的式 (I) 粘酸盐 -C 型的 X-射线粉末衍射图。

[0018] 图 4 显示如实施例 6 所述制备的式 (I) 粘酸盐 -D 型的 X-射线粉末衍射图。

[0019] 图 5 显示式 (I) 粘酸盐 -B 型的 X-射线粉末衍射图。处理数据以从图 1 所示衍射图中去除无定形背底。

[0020] 图 6 显示式 (I) 粘酸盐 -B 型的 X-射线粉末衍射图。处理数据以从图 2 所示衍射图中去除无定形背底。

[0021] 图 7 显示式 (I) 粘酸盐 -C 型的 X-射线粉末衍射图。处理数据以从图 3 所示衍射图中去除无定形背底。

[0022] 图 8 显示式 (I) 粘酸盐 -D 型的 X-射线粉末衍射图。处理数据以从图 4 所示衍射图中去除无定形背底。

[0023] 图 9 显示式 (I) 粘酸盐 -B 型 (实施例 3) 的差示扫描量热法曲线。

[0024] 图 10 显示式 (I) 粘酸盐 -C 型 (实施例 5) 的差示扫描量热法曲线。

[0025] 图 11 显示式 (I) 粘酸盐 -D 型 (实施例 6) 的差示扫描量热法曲线。

[0026] 图 12 显示式 (I) 粘酸盐 -B 型 (实施例 3) 的热重分析曲线。

[0027] 图 13 显示式 (I) 粘酸盐 -C 型 (实施例 5) 的热重分析曲线。

[0028] 图 14 显示式 (I) 粘酸盐 -D 型 (实施例 6) 的热重分析曲线。

[0029] 发明详述

[0030] 本发明提供式 (I) 粘酸盐的独特的结晶形式和含有本发明描述的式 (I) 粘酸盐的结晶形式的式 (I) 粘酸盐的新的药物组合物。本发明还提供在需要其的受试者中拮抗一种或多种天冬氨酸蛋白酶的方法,包括将有效量的含有本发明描述的式 (I) 粘酸盐的结晶形

式的式(I)粘酸盐施用于所述受试者。本发明还提供治疗受试者的天冬氨酸蛋白酶介导的疾病的方法,包括将有效量的含有本发明描述的式(I)粘酸盐的结晶形式的式(I)粘酸盐施用于所述受试者。此外,本发明提供制备式(I)粘酸盐的特定结晶形式的方法。

[0031] 本发明的一个实施方式是式(I)粘酸盐。

[0032] 更具体的实施方式是式(I)粘酸盐的结晶形式。

[0033] 另一个更具体的实施方式是式(I)粘酸盐的结晶形式,其中所述结晶形式选自B型、C型、D型或其组合。

[0034] 在另一个更具体的实施方式中,式(I)粘酸盐是半粘酸盐。

[0035] 在本发明的另一个具体实施方式中,至少特定重量百分比的式(I)粘酸盐是结晶。特定重量百分比包括50%、70%、72%、75%、77%、80%、82%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%、99.9%、50%到100%之间的百分比、或70%到100%之间的百分比。

[0036] 在本发明的另一个具体实施方式中,至少特定重量百分比的式(I)粘酸盐的结晶形式是式(I)粘酸盐的单晶形式。特定重量百分比包括50%、70%、72%、75%、77%、80%、82%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%、99.9%、50%到100%之间的百分比、或70%到100%之间的百分比。

[0037] 本发明的另一个实施方式涉及式(I)粘酸盐的结晶形式,其提供基本上与图1和/或图2一致的X-射线粉末衍射图。

[0038] 本发明的另一个实施方式涉及式(I)粘酸盐的结晶形式,其提供基本上与图3一致的X-射线粉末衍射图。

[0039] 本发明的另一个实施方式涉及式(I)粘酸盐的结晶形式,其提供基本上与图4一致的X-射线粉末衍射图。

[0040] 本发明的另一个实施方式涉及式(I)粘酸盐的结晶形式,其提供基本上与图5和/或图6一致的经处理的X-射线粉末衍射图。

[0041] 本发明的另一个实施方式涉及式(I)粘酸盐的结晶形式,其提供基本上与图7一致的经处理的X-射线粉末衍射图。

[0042] 本发明的另一个实施方式涉及式(I)粘酸盐的结晶形式,其提供基本上与图8一致的经处理的X-射线粉末衍射图。

[0043] 本发明的另一个实施方式涉及式(I)粘酸盐的结晶形式,其提供基本上与图1和/或图2一致的X-射线粉末衍射图,和基本上与图5和/或图6一致的经处理的X-射线粉末衍射图。

[0044] 本发明的另一个实施方式涉及式(I)粘酸盐的结晶形式,其提供基本上与图3一致的X-射线粉末衍射图,和基本上与图7一致的经处理的X-射线粉末衍射图。

[0045] 本发明的另一个实施方式涉及式(I)粘酸盐的结晶形式,其提供基本上与图4一致的X-射线粉末衍射图,和基本上与图8一致的经处理的X-射线粉末衍射图。

[0046] 本发明的另一个实施方式涉及式(I)粘酸盐的结晶形式,其提供基本上与图9一致的差示扫描量热法曲线,和/或基本上与图12一致的热重分析曲线。

[0047] 本发明的另一个实施方式涉及式(I)粘酸盐的结晶形式,其提供基本上与图10一致的差示扫描量热法曲线,和/或基本上与图13一致的热重分析曲线。

[0048] 本发明的另一个实施方式涉及式 (I) 粘酸盐的结晶形式,其提供基本上与图 11 一致的差示扫描量热法曲线,和 / 或基本上与图 14 一致的热重分析曲线。

[0049] 本发明的另一个实施方式是式 (I) 粘酸盐,其中所述盐为单晶形式 B 型、C 型或 D 型。

[0050] 本发明的另一个实施方式是式 (I) 粘酸盐,其中所述盐包含一个或多个单晶形式 B 型、C 型和 D 型,以及任选的无定形的式 (I) 粘酸盐。

[0051] 在本发明的具体实施方式中,至少可检测的重量百分比的式 (I) 粘酸盐是式 (I) 粘酸盐的单晶形式。“可检测的百分比”是指样品具有这样的单晶形式盐的重量百分比,其允许使用例如如实施例 7 所述的 XRPD 分析检测单晶形式。

[0052] 本发明的其他实施方式用于制备式 (I) 粘酸盐的结晶形式的方法,包括 (a) 形成包含式 (I) 游离碱和适当的溶剂例如乙腈的溶液, (b) 由 (a) 溶液与粘酸和水形成溶液, (c) 降低溶液 (b) 的含水量,例如,通过用适当的溶剂例如乙腈共沸蒸馏来形成残余物, (d) 将所述残余物溶于适当的溶剂例如乙腈中, (e) 加热, (f) 冷却, (g) 过滤, (h) 用适当的溶剂洗涤,和 (i) 干燥。

[0053] 另一个实施方式是由以下方法制备的式 (I) 粘酸盐的结晶形式,包括 (a) 形成包含式 (I) 游离碱和适当的溶剂例如乙腈的溶液, (b) 由 (a) 溶液与粘酸和水形成溶液, (c) 降低溶液 (b) 的含水量,例如,通过用适当的溶剂例如乙腈共沸蒸馏来形成残余物, (d) 将所述残余物溶于适当的溶剂例如乙腈中, (e) 加热, (f) 冷却, (g) 过滤, (h) 用适当的溶剂洗涤,和 (i) 干燥。

[0054] 本发明的其他实施方式用于制备式 (I) 粘酸盐的结晶形式的方法,包括 (a) 回流粘酸、适当的溶剂例如乙腈和式 (I) 游离碱的浆料,形成混合物, (b) 趁热过滤所述混合物 (c), (e) 加热并搅拌, (f) 冷却, (g) 过滤,和 (h) 真空下去除溶剂例如乙腈。

[0055] 另一个实施方式是由以下方法制备的式 (I) 粘酸盐的结晶形式,包括 (a) 回流粘酸、适当的溶剂例如乙腈和式 (I) 游离碱的浆料,形成混合物, (b) 趁热过滤所述混合物 (c), (e) 加热并搅拌, (f) 冷却, (g) 过滤,和 (h) 真空下去除溶剂例如乙腈。

[0056] 本发明的其他实施方式用于制备式 (I) 粘酸盐的结晶形式的方法,包括 (a) 加热粘酸、适当的溶剂例如去离子水和式 (I) 游离碱的浆料,形成溶液, (b) 冷却并过滤所述溶液形成滤液, (c) 例如使用旋转蒸发器从滤液去除溶剂,形成残余物, (d) 将所述残余物溶于适当的溶剂,例如丙酮或甲基乙基酮, (e) 去除 (d) 的溶剂, (f) 将残余物溶于适当的溶剂,例如丙酮或甲基乙基酮,以形成溶液, (g) 回流 (f) 的溶液, (i) 冷却, (j) 过滤以收集结晶, (k) 用适当的溶剂例如乙酸乙酯洗涤,和 (l) 优选在真空下干燥所述结晶。

[0057] 另一个实施方式是由以下方法制备的式 (I) 粘酸盐的结晶形式,包括 (a) 加热粘酸、适当的溶剂例如去离子水和式 (I) 游离碱的浆料,形成溶液, (b) 冷却并过滤所述溶液形成滤液, (c) 例如使用旋转蒸发器从滤液去除溶剂,形成残余物, (d) 将所述残余物溶于适当的溶剂,例如丙酮或甲基乙基酮, (e) 去除 (d) 的溶剂, (f) 将残余物溶于适当的溶剂,例如丙酮或甲基乙基酮,形成溶液, (g) 回流 (f) 的溶液, (i) 冷却, (j) 过滤以收集结晶, (k) 用适当的溶剂例如乙酸乙酯洗涤,和 (l) 优选在真空下干燥所述结晶。

[0058] 如本发明所使用,“结晶”是指具有晶体结构的固体,其中个体分子具有高度均匀的规则锁定 (locked-in) 化学结构。式 (I) 粘酸盐的结晶形式可以是式 (I) 粘酸盐的单晶

形式的结晶,或不同的单晶形式的结晶混合物。单晶形式是指式(I)粘酸盐为单个结晶或其中各结晶具有相同结晶形式的多个结晶。

[0059] 当特定重量百分比的式(I)粘酸盐是单晶形式时,式(I)粘酸盐的其余部分由除给予特定重量百分比的单晶形式以外的式(I)粘酸盐的一种或多种其他结晶形式提供。单晶形式的实例包括式(I)粘酸盐的B型、式(I)粘酸盐的C型和式(I)粘酸盐的D型,各自以如本发明所讨论的一种或多种性质来表征。

[0060] 因为粘酸有两个羧酸基团,其可用由式(I)表示的化合物与粘酸盐(粘酸的共轭碱)的不同摩尔比形成盐。例如,其中粘酸盐与式(I)为约一比一摩尔比的盐是式(I)粘酸盐(1粘酸盐:1式(I));其中粘酸盐与式(I)为约一比二摩尔比的盐是式(I)半粘酸盐(1粘酸盐:2式(I))。

[0061] 在本发明的一些实施方式中,式(I)粘酸盐可以是溶剂合物,例如水合物。术语“溶剂合物”是指结晶期间溶剂分子结合入晶格的结晶形式。溶剂合物可以包括水或非水溶剂,例如乙醇、二甲亚砜、乙酸、乙醇胺、乙腈、丙酮、四氢呋喃和乙酸乙酯。其中水是结合入晶格的溶剂分子的溶剂合物通常称为“水合物”。水合物包括化学计量的水合物(例如一水合物),以及含有可变量的水的组合物(例如半水合物)。

[0062] 本领域技术人员已知并了解,所用仪器、湿度、温度、粉晶定位和涉及获得X-射线粉末衍射(XRPD)图的其他参数可引起衍射图中的线的外观、强度和位置的一些变化。与本发明提供的一个或多个附图(分别显示经处理或未经处理的XRPD图)“基本上一致”的X-射线粉末衍射图(经处理或未经处理)是本领域技术人员认为代表与提供本发明提供的一个或多个附图的XRPD图所提供的式(I)粘酸盐具有相同单晶形式的式(I)粘酸盐的XRPD图。例如,本发明提供的图1和图2的XRPD图是基本上一致的,因为它们都代表包括式(I)粘酸盐的单晶形式B型的式(I)粘酸盐,即使它们(1)显示不同的背底(不被理论束缚,据信这主要由但不完全由无定形形式的不同重量百分比引起),(2)显示 2θ 角不同(例如,明显峰在 19.28° 处(见表1),较之相应的明显峰在 19.16° 处(见表2))以及相对强度不同(例如, 7.62° 处的明显峰的相对强度为66%(见表1),较之 7.61° 处的相应明显峰的相对强度为49%(见表2))的相应的明显线/峰(见实施例7中的表1和2),和(3)在一个XRPD图中包含明显峰,其在其他图中不可辨别。因此,基本上一致的XRPD图可以与一个附图相同,或更可能其可以略微不同于一个或多个附图。这种XRPD图不一定显示本发明呈现的衍射图的每条线,和/或可以显示所述线的外观、强度或位移的轻微变化,其由涉及获得数据的条件差异引起,或由无定形盐的重量百分比的存在或差异引起。通过比较其XRPD图,本领域技术人员能够确定结晶化合物样品是否具有和本发明公开的形式相同的形式,或不同的形式。例如,本领域技术人员可以用专业知识和本领域常识对比式(I)粘酸盐样品的XRPD图和图1,容易地确定样品的XRPD图是否和式(I)粘酸盐的B型的XRPD图基本上一致。如果XRPD图和图1基本上一致,所述样品形式可容易并准确地被鉴别为具有和式(I)粘酸盐的B型相同的形式。类似地,本领域技术人员能够确定由XRPD图获得的给定的衍射角(用 2θ 表示)是否处于与本发明呈现的值几乎相同的位置。应理解本发明指定的任何 2θ 角(除实施例部分或附图中给出的 2θ 角之外)是指指定值 $\pm 0.2^\circ$ 。例如,如果所述实施方式或权利要求指定 2θ 角为 6.57° ,应理解是指 $6.57^\circ \pm 0.2^\circ$,即 2θ 角为 6.37° 到 6.77° 。

[0063] 至于差示扫描量热法 (DSC) 曲线或热重分析 (TGA) 曲线, 与本发明提供的附图 (分别显示为 DSC 曲线或 TGA 曲线) “基本上一致”是本领域技术人员认为代表与提供本发明提供的附图的 DCS 曲线或 TGA 曲线所提供的式 (I) 粘酸盐具有相同单晶形式的式 (I) 粘酸盐的 DSC 曲线或 TGA 曲线。

[0064] 如本发明所使用, “主要 x- 射线粉末衍射峰”是指 x- 射线粉末衍射图 (或衍射图) 中相对强度大于 40% 的峰。相对强度可计算为目标峰的峰强度与被认为最高达 35° 的峰的最大峰的峰强度之比。峰强度由经处理的 x- 射线粉末衍射图中的相应峰确定, 所述经处理的 x- 射线粉末衍射图通过从 x- 射线粉末衍射图中去除背底强度 (通常应归于式 (I) 粘酸盐的无定形形式的强度贡献) 而获得。

[0065] 如本发明所使用, 受试者是哺乳动物, 优选人患者, 但也可以是兽医治疗的动物, 例如伴侣动物 (例如狗、猫等)、家畜 (例如母牛、羊、猪、马等) 或实验动物 (例如大鼠、小鼠、豚鼠等)。受试者和患者可互换使用。

[0066] 需要治疗的受试者是患有受益于拮抗一种或多种天冬氨酸蛋白酶的病症或疾病的受试者。

[0067] “有效量”是指有效抑制或减轻接受治疗的受试者的现有症状发展的量, 具有最小的不可接受的副作用。有效量的确定在本领域技术人员的能力范围内, 特别是考虑到本发明提供的详细公开。这种化合物的毒性和治疗效力可通过在细胞培养物或实验动物中的标准药物程序来确定, 例如, 确定 LD_{50} (50% 群体死亡的剂量) 和 ED_{50} (提供 50% 的最大反应和 / 或在 50% 群体中治疗有效的剂量)。取决于所用剂型和所用施用途径, 所述剂量可以在该范围内变化。准确的制剂、施用途径和剂量由个体医师考虑患者病症来选择。可以单独调节剂量和时间间隔来提供足以维持所需治疗效果的活性化合物的血浆水平。除患者病症和施用方式之外, 施用剂量将取决于患者症状的严重程度以及患者的年龄和体重。通常, 本发明药物组合物被施用一段足够的时间, 从而实现所需的治疗效果。剂量可以为每天 0.01 到 500mg/kg 体重。在一个实施方式中, 剂量范围是 0.1-5.0mg/kg/ 天。本发明化合物可以连续施用或以特定时间间隔施用。例如, 本发明化合物可每天施用 1、2、3 或 4 次, 例如, 一天一次或一天两次制剂。可使用可商购试验来确定最佳剂量范围和 / 或施用时间表。

[0068] 在一个实施方式中, 本发明方法是单一疗法, 其中本发明药物组合物单独施用。因此, 在该实施方式中, 式 (I) 粘酸盐是药物组合物中的唯一药物活性成分。

[0069] 在另一个实施方式中, 本发明方法是和用于治疗预期疾病或指征的本领域已知的其他治疗活性药物一起使用的共疗法。式 (I) 粘酸盐可在一种或多种其他治疗剂之前、之后施用或与其同时施用。在一些实施方式中, 本发明化合物和其他治疗剂可以作为单独制剂或作为联合制剂同时共施用 (例如并行施用)。或者, 所述试剂可在由本领域临床医生决定的适当的时间范围内 (例如, 足以允许叠加治疗的药用效果的时间) 作为单独组合物连续施用。式 (I) 粘酸盐和一种或多种其他治疗剂可以以单剂量或多剂量、以一定顺序和按照适于实现所需治疗效果的时间表施用。

[0070] 式 (I) 粘酸盐用于改善或治疗紊乱或疾病, 其中降低天冬氨酸蛋白酶产物的水平能有效治疗疾病状态或有效治疗其中感染剂取决于天冬氨酸蛋白酶活性的感染。在高血压中, 存在升高水平的血管紧张肽 I——血管紧张素原的肾素催化裂解的产物。因此, 式 (I) 粘酸盐可用于治疗高血压; 心力衰竭, 例如 (急性和慢性) 充血性心力衰竭; 左心室机

能障碍；心脏肥大；心脏纤维化；心肌病（例如糖尿病性的心脏肌病和梗死后心脏肌病）；室上性和室性心律失常；心房纤维性颤动；心房扑动；有害的脉管重塑；心肌梗死及其后遗症；动脉粥样硬化；绞痛（不管是非稳定或稳定的）；肾衰竭病症，例如糖尿病性肾病；肾小球性肾炎；肾纤维化；硬皮病；肾小球硬化；微血管并发症，例如，糖尿病性视网膜病；肾血管性高血压；血管病；神经病；由糖尿病引起的并发症，包括肾病、血管病、视网膜病和神经病；冠状血管疾病；蛋白尿；蛋白尿；术后高血压；代谢综合症；肥胖病；血管成形术后的再狭窄；眼病和相关异常，包括眼内压升高、青光眼、视网膜病、异常脉管生长和重塑；血管生成相关紊乱，例如新生血管性年龄相关的黄斑变性；醛固酮过多症；焦虑状态；以及认知障碍（Fisher N. D. ;Hollenberg N. K. Expert Opin. Investig. Drugs. 2001,10,417-26）。

[0071] 升高水平的 β -淀粉样蛋白、良好表征的天冬氨酸蛋白酶 β -分泌酶 (BACE) 活性在淀粉样蛋白前体蛋白上的活性产物通常被认为是阿尔茨海默病患者脑中淀粉样蛋白血小板的发生和进展的原因。白色念珠菌分泌的天冬氨酸蛋白酶与其病原性毒性有关 (Naglik, J. R. ;Challacombe, S. J. ;Hube, B. Microbiology and Molecular Biology Reviews 2003,67,400-428)。病毒 HIV 和 HTLV 依赖其各自的天冬氨酸蛋白酶使病毒成熟。恶性疟原虫使用半胱氨酸蛋白酶 (plasmeprins) I 和 II 来降解血色素。

[0072] 本发明包括用于治疗或改善需要治疗的受试者中的天冬氨酸蛋白酶介导的疾病的治疗方法，包括将有效量的本发明盐施用于需要治疗的受试者。

[0073] “天冬氨酸蛋白酶介导的紊乱或疾病”包括与天冬氨酸蛋白酶的增加表达或过表达有关的紊乱或疾病，和伴随这种疾病同时发生的病症。

[0074] 施用方法包括在治疗期间以不同次数施用有效量的本发明的盐或组合物，或以联合形式同时施用。本发明方法包括所有已知的治疗方案。

[0075] 本发明的一个实施方式包括以和用于治疗高血压的一种或多种其他试剂一起施用的联合疗法施用本发明的粘酸盐（参见 USP 5,821,232、USP 6,716,875、USP 5,663,188、Fossa, A. A. ;DePasquale, M. J. ;Ringer, L. J. ;Winslow, R. L. “Synergistic effect on reduction in blood pressure with coadministration of a renin inhibitor or an angiotensin-converting enzyme inhibitor with an angiotensin II receptor antagonist” Drug Development Research 1994,33(4),422-8,上述论文和专利以引用方式合并于此），所述其他试剂包括 α -阻断剂、 β -阻断剂、钙通道阻断剂、利尿剂、排钠利尿剂、促盐排泄药 (saluretic)、中枢作用的抗高血压药、血管紧张肽转化酶 (ACE) 抑制剂、双重 ACE 和中性肽链内切酶 (NEP) 抑制剂、血管紧张肽-受体阻断剂、醛固酮合酶抑制剂、醛固酮-受体拮抗剂或内皮素受体拮抗剂。

[0076] α -阻断剂包括多沙唑啉、哌唑啉、坦洛新和特拉唑啉。

[0077] 用于联合治疗的 β -阻断剂选自阿替洛尔、比索洛尔、美托洛尔、醋丁洛尔 (acetutolol)、艾司洛尔、塞利洛尔、噻利洛尔 (taliprolol)、醋丁洛尔 (acebutolol)、氧烯洛尔、吲哚洛尔、普萘洛尔、布洛洛尔、喷布洛尔、甲吲洛尔、卡替洛尔、纳多洛尔、卡维洛尔及其药学可接受的盐。

[0078] 钙通道阻断剂包括二氢吡啶 (DHP) 与非 DHP。优选的 DHP 选自：氨氯地平、非洛地平、ryosidine、伊拉地平、拉西地平、尼卡地平、硝苯地平、尼古地平、尼鲁地平、尼莫地平、尼索地平、尼群地平、尼伐地平及其药学可接受的盐。非 DHP 选自：氟苯桂嗪、普尼拉明、

地尔硫硫、芬地林、加洛帕米、米贝地尔、阿尼帕米、替阿帕米和维拉帕米及其药学可接受的盐。

[0079] 利尿药例如是噻嗪衍生物,选自:阿米洛利、氯噻嗪、双氢氯噻嗪、甲基氯噻嗪和 chlorothalidon。

[0080] 中枢作用的抗高血压药包括氯压定、胍那苄、胍法新和甲基多巴。

[0081] ACE 抑制剂包括阿拉普利、苯那普利、苯那普利拉、卡托普利、西罗普利、西拉普利、地拉普利、依那普利、依那普利拉、福辛普利、赖诺普利、莫西普利、moveltopril、培哌普利、喹那普利、喹那普利拉、雷米普利、雷米普利拉、螺普利、替莫普利、群多普利和佐芬普利。优选的 ACE 抑制剂是苯那普利、依那普利、赖诺普利和雷米普利。

[0082] 双重 ACE/NEP 抑制剂例如是奥马曲拉、法西多曲和法西多曲拉。

[0083] 优选的 ARB 包括坎地沙坦、依普罗沙坦、厄贝沙坦、氯沙坦、奥美沙坦、他索沙坦、替米沙坦和缬沙坦。

[0084] 优选的醛固酮合酶抑制剂是阿那曲唑、法倔唑和依西美坦。

[0085] 优选的醛固酮 - 受体拮抗剂是安体舒通和依普利酮。

[0086] 优选的内皮素 (endothelin) 拮抗剂例如是波生坦、恩拉生坦、阿曲生坦、达芦生坦、西他塞坦及其药学可接受的盐。

[0087] 本发明的一个实施方式包括将本发明式 (I) 粘酸盐或含有式 (I) 粘酸盐的药物组合物和一种或多种用于治疗的其他试剂以联合疗法施用,所述其他试剂包括 AIDS 逆转录酶抑制剂、非核苷逆转录酶抑制剂、其他 HIV 蛋白酶抑制剂、HIV 整合酶抑制剂、进入抑制剂 (包括附着、共 - 受体和融合抑制剂)、反义药物和免疫刺激剂。

[0088] 优选的逆转录酶抑制剂是齐多夫定、去羟肌苷、扎西他滨、司他夫定、拉米夫定、阿巴卡韦、泰诺福韦和恩曲他滨。

[0089] 优选的非核苷逆转录酶抑制剂是奈韦拉平、地拉韦定和依非韦伦。

[0090] 优选的 HIV 蛋白酶抑制剂是沙奎那韦、利托那韦、茚地那韦、奈非那韦、安普那韦、洛匹那韦、阿扎那韦和福沙那韦。

[0091] 优选的 HIV 整合酶抑制剂是 L-870、810 和 S-1360。

[0092] 进入抑制剂包括与 CD4 受体、CCR5 受体或 CXCR4 受体结合的化合物。进入抑制剂的具体实例包括恩夫韦地 (gp41 的 HR2 域的模拟肽 (peptidomimetic)) 和西夫韦肽。

[0093] 优选的附着和融合抑制剂是恩夫韦地。

[0094] 本发明的一个实施方式包括将本发明式 (I) 粘酸盐或含有式 (I) 粘酸盐的药物组合物和一种或多种用于治疗阿尔茨海默病的其他试剂以联合疗法施用,所述其他试剂包括他克林、多奈哌齐、卡巴拉汀、加兰他敏和美金刚。

[0095] 本发明的一个实施方式包括将本发明式 (I) 粘酸盐或含有式 (I) 粘酸盐的药物组合物和一种或多种用于治疗疟疾的其他试剂以联合疗法施用,所述其他试剂包括青蒿素、氯奎、卤泛群、羟氯奎、甲氟喹、伯氨喹啉、乙胺嘧啶、奎宁、磺胺多辛。

[0096] 联合疗法包括共施用本发明式 (I) 粘酸盐和所述其他试剂,连续施用本发明式 (I) 粘酸盐和所述其他试剂,施用包含本发明式 (I) 粘酸盐和所述其他试剂的组合物,或同时施用包含本发明式 (I) 粘酸盐和所述其他试剂的单独的组合物。

[0097] 本发明式 (I) 粘酸盐也可以经由延缓释放组合物施用,其中所述组合物包括本发

明式 (I) 粘酸盐和可生物降解的缓慢释放载体 (例如聚合物载体) 或药学可接受的不可生物降解的缓慢释放载体 (例如离子交换载体)。

[0098] 可生物降解和不可生物降解的延缓释放载体是本领域技术人员所熟知的。可生物降解载体用于形成保持药物物质 (即本发明式 (I) 粘酸盐) 的颗粒或基质, 且其缓慢降解 / 溶解在适当的环境 (例如水性、酸性、碱性的等) 中, 从而释放药物物质。这种颗粒降解 / 溶解在体液中从而在其中释放药物物质 (即本发明式 (I) 粘酸盐)。所述颗粒优选是纳米颗粒 (例如, 直径为约 1 到 500nm, 优选直径为约 50-200nm, 最优选直径为约 100nm)。在制备缓慢释放组合物的方法中, 首先将缓慢释放载体和本发明式 (I) 粘酸盐溶解或分散在有机溶剂中。将所得混合物加入含有任选的表面活性剂的水溶液中来生成乳剂。然后从乳剂中蒸发有机溶剂来提供含有缓慢释放载体和本发明式 (I) 粘酸盐的颗粒的胶体悬浮液。

[0099] 本发明式 (I) 粘酸盐可以被配制成以液体形式经口或经注射施用, 例如水溶液; 适当调味的糖浆; 水性或油性悬浮液; 用食用油调味的乳剂, 所述食用油例如棉籽油、芝麻油、椰子油或花生油等; 或配制在酞剂或类似的药物载体中。用于水性悬浮液的适当的分散剂或悬浮剂包括合成胶和天然胶, 例如黄芪胶、阿拉伯胶、藻酸盐、右旋糖酐、羧甲基纤维素钠、甲纤维素、聚乙烯吡咯烷酮和凝胶。适当调味的悬浮剂或分散剂中的液体形式也可以包括合成胶和天然胶。对于肠胃外施用, 需要灭菌悬浮液和溶液。当需要静脉内施用时, 使用通常包含适当的防腐剂的等渗制剂。

[0100] 本发明式 (I) 粘酸盐也可经由注射胃肠外施用。胃肠外制剂可由溶解在适当的惰性液体载体中或与适当的惰性液体载体混合的药物物质 (即本发明式 (I) 粘酸盐) 组成。可接受的液体载体通常包含水性溶剂和有助于溶解性或保存的其他任选成分。这种水性溶剂包括无菌水、林格溶液或等渗盐水溶液。其他任选成分包括植物油 (例如花生油、棉籽油和芝麻油)、和有机溶剂 (例如丙酮缩甘油、甘油和甲酰)。灭菌的非挥发性油可用作溶剂或悬浮剂。通过将药物物质 (即本发明式 (I) 粘酸盐) 溶解或悬浮在液体载体中来制备胃肠外制剂, 其中最终剂量单位包含 0.005 到 10% 重量的药物物质 (即本发明式 (I) 粘酸盐)。其他的添加剂包括防腐剂、等渗剂、增溶剂、稳定剂和止痛剂。也可以制备可注射的悬浮液, 在这种情况下可使用适当的液体载体、悬浮剂等。

[0101] 本发明式 (I) 粘酸盐可通过使用适当的经鼻载体而经鼻施用。

[0102] 本发明式 (I) 粘酸盐也可通过使用适当的局部透皮载体或透皮贴剂而局部施用。

[0103] 对于眼睛施用, 包含本发明式 (I) 粘酸盐的药物组合物优选为眼用组合物形式。所述眼用组合物优选被配制成滴眼剂并装在适当的容器中以便于施用到眼睛, 例如, 装有适当的吸液管的滴剂。优选地, 所述组合物是灭菌的和使用纯化水成为水基的。除本发明式 (I) 粘酸盐之外, 眼用组合物可以包含以下一种或多种试剂: a) 表面活性剂, 例如聚氧乙烯脂肪酸酯; b) 增稠剂, 例如纤维素、纤维素衍生物、聚羧乙烯、聚乙烯聚合物和聚乙烯吡咯烷酮, 通常其浓度 n 为约 0.05 到约 5.0% (重量 / 体积); c) (作为替代物, 或除了将组合物贮存在包含氮和任选包含游离氧吸收剂例如 Fe 的容器中之外的), 抗氧化剂, 例如丁基化羟基茴香醚、抗坏血酸、硫代硫酸钠或丁基化羟基甲苯, 其浓度为约 0.00005 到约 0.1% (重量 / 体积); d) 乙醇, 浓度为约 0.01 到 0.5% (重量 / 体积); 和 e) 其他赋形剂, 例如等渗剂、缓冲剂、防腐剂和 / 或 pH 控制剂。理想地, 眼用组合物的 pH 为 4 到 8。

[0104] 本发明包括采用本发明式 (I) 粘酸盐在制备用于治疗或改善需要其的受试者中

的天冬氨酸蛋白酶介导的慢性紊乱或疾病或感染的组合物中的用途,其中所述组合物包含一种或多种本发明式(I)粘酸盐和任选的药物可接受的载体的混合物。

[0105] 本发明还包括本发明式(I)粘酸盐作为活性治疗物质的用途,特别是用于治疗天冬氨酸蛋白酶介导的疾病的用途。尤其是,本发明包括采用本发明式(I)粘酸盐用来治疗高血压、充血性心力衰竭、心脏肥大、心脏纤维化、梗死后心肌病、肾病、血管病和神经病、冠状血管病、术后高血压、血管成形术后的再狭窄、升高的眼内压、青光眼、异常脉管生长、醛固酮过多症、焦虑状态或认知障碍的用途。

[0106] 另一方面,本发明包括采用本发明式(I)粘酸盐在制备用于治疗上述疾病的药物中的用途。

[0107] “药学可接受的载体”是指用于本发明式(I)粘酸盐的制剂的足够纯和足够优质的一种或多种化合物和/或组合物,当适当地施用于人时,其不产生不良反应,且其用作药物物质(即本发明式(I)粘酸盐)的载体。

[0108] 本发明还包括制备所述组合物的方法,包括混合一种或多种本发明式(I)粘酸盐和任选的药学可接受的载体;以及本发明包括由所述方法获得的组合物,所述方法包括常规药学技术。例如,本发明式(I)粘酸盐可在制剂之前纳米研磨化。本发明式(I)粘酸盐也可通过本领域已知的研磨、微粒化或其他粒径减小法来制备。这些方法包括但不限于美国专利 Nos. 4,826,689、5,145,684、5,298,262、5,302,401、5,336,507、5,340,564、5,346,702、5,352,459、5,354,560、5,384,124、5,429,824、5,503,723、5,510,118、5,518,187、5,518,738、5,534,270、5,536,508、5,552,160、5,560,931、5,560,932、5,565,188、5,569,448、5,571,536、5,573,783、5,580,579、5,585,108、5,587,143、5,591,456、5,622,938、5,662,883、5,665,331、5,718,919、5,747,001、PCT 申请 WO 93/25190、WO 96/24336 和 WO 98/35666 描述的那些,各自以引用方式合并于此。本发明药物组合物可使用本领域技术人员已知的技术和方法制备。本领域常用的一些方法描述在 Remington's Pharmaceutical Sciences(Mack Publishing Company) 中,其全部教导以引用方式合并于此。

[0109] 本发明组合物包括经由眼、口、鼻、透皮、局部或局部闭塞、静脉内(推注和输注)和注射(腹内、皮下、肌内、瘤内或胃肠外)。所述组合物可以是剂量单位形式,例如片剂、丸剂、胶囊、粉末、颗粒、脂质体、离子交换树脂、灭菌眼用溶液或眼用递送装置(例如有助于立即释放、延时释放或持续释放的隐形眼镜等)、胃肠外溶液或悬浮液、计量气雾剂或液体喷射剂、滴剂、安瓿、自动注射器装置或栓剂;用于经眼、口、鼻、舌下、胃肠外、或直肠或经由吸入或吹入施用。

[0110] 适用于经口施用的本发明组合物包括固体形式,例如丸剂、片剂、锭剂、胶囊(各自包括立即释放、延时释放和持续释放制剂)、颗粒和粉末;和液体形式,例如溶液、糖浆、酏剂、乳剂和悬浮液。用于经眼施用的形式包括无菌溶液或眼用递送装置。用于肠胃外施用的形式包括无菌溶液、乳剂和悬浮液。

[0111] 包含本发明组合物的剂型包含提供治疗和/或预防效果所必需的有效量的药物物质(即本发明式(I)粘酸盐)。所述组合物可包含约 5000mg 到约 0.5mg(优选约 1000mg 到约 0.5mg)的本发明式(I)粘酸盐,且可构成适于所选施用方式的任何形式。本发明组合物可以以适于每周一次或每月一次施用的形式施用。也可使用每日施用或周期后给药,其

中所述组合物每天施用约 1 到约 5 次。

[0112] 对于经口施用,所述组合物优选为含有例如 1000 到 0.5 毫克的药物物质(即本发明式(I)粘酸盐),更具体地含有 500mg 到 5mg 的片剂或胶囊形式。取决于与待治疗的特定患者有关的因素(例如年龄、体重、饮食和施用时间)、待治疗病症的严重程度、所使用化合物、施用方式和制剂强度而改变剂量。

[0113] 口服组合物优选配制成均匀组合物,其中所述药物物质(即本发明式(I)粘酸盐)均匀地分散在整个混合物中,其可容易地再分成包含等量的本发明式(I)粘酸盐的剂量单位。优选地,通过混合本发明式(I)粘酸盐和一种或多种任选存在的药物载体(例如淀粉、糖、稀释剂、成粒剂、润滑剂、助流剂、粘合剂和崩解剂)、一种或多种任选存在的惰性药物赋形剂(例如水、二醇类、油、醇类、调味剂、防腐剂、着色剂和糖浆)、一种或多种任选存在的常规片剂组分(例如玉米淀粉、乳糖、蔗糖、山梨醇、滑石、硬脂酸、硬脂酸镁、磷酸二钙和各种胶的任何一种)和任选的稀释剂(例如水)来制备所述组合物。

[0114] 粘合剂包括淀粉、凝胶、天然糖(例如葡萄糖和 β -乳糖)、玉米甜味剂以及天然胶和合成胶(例如阿拉伯胶和黄芪胶)。崩解剂包括淀粉、甲基纤维素、琼脂和膨润土。

[0115] 片剂和胶囊代表有利的经口剂量单位形式。可以使用标准技术为片剂糖包衣或薄膜包衣。也可以将片剂包衣或以其他方式复合来提供延长、控制释放的治疗效果。剂型可以包含内部剂量和外部剂量组分,其中所述外部组分为包裹内部组分的包封形式。两种组分还可通过不在胃中崩解并使得内部组分完整地进入十二指肠的层(例如肠溶层)或延迟或持续释放的层分开。可以使用各种肠溶和非肠溶层或包衣材料(例如聚合酸、虫胶、乙酰基醇和醋酸纤维素或其组合)。

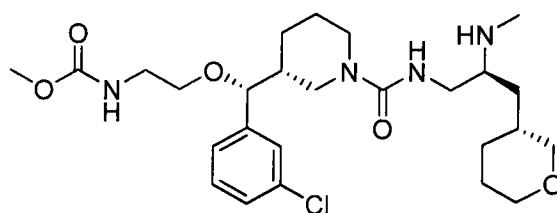
[0116] 不需要进一步的细节,据信使用前面的描述,本领域技术人员可以完全使用本发明。因此,仅作为说明性而非以任何方式限制本发明范围的方式解释以下实施例。

具体实施方式

[0117] 实施例 1

[0118] 由其 TFA 盐制备 2-((R)-(3-氯苯基))((R)-1-((S)-2-(甲基氨基)-3-((R)-四氢-2H-吡喃-3-基)丙基氨基甲酰基)哌啶-3-基)甲氧基)乙基氨基甲酸甲酯

[0119]



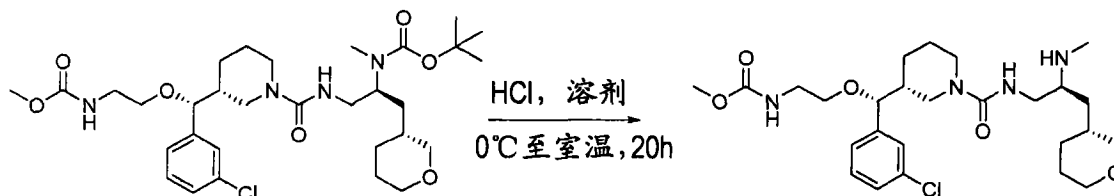
[0120] 连续用 1N 氢氧化钠水溶液、水和盐水洗涤 {2-[(R)-(3-氯苯基)]{(3R)-1-[(S)-2-(甲基-氨基)-3-[(3R)-四氢-2H-吡喃-3-基]丙基]氨基)羰基]-3-哌啶基}甲基)氧]乙基}氨基甲酸甲酯的三氟乙酸盐(WO2008/036247 中制备)(10.0g, 15.65mmol) 在 200mL 二氯甲烷中的溶液。用 Na_2SO_4 干燥有机部分并在真空中浓缩,形成灰白色泡沫状的标题化合物(7.50g, 91%)。 ^1H NMR(CD_3OD , 400MHz) δ ppm 7.38-7.31(m, 3H), 7.24(m, 1H), 4.23(dd, $J = 13.1, 3.6\text{Hz}$, 1H), 4.03(d, $J = 8.8\text{Hz}$, 1H), 3.84(m, 3H), 3.64(s, 3H), 3.42(ddd, $J_a = 5.8\text{Hz}$, $J_b = 7.8\text{Hz}$, $J_c = 11.1\text{Hz}$, 1H),

3.24-3.30 (m, 5H), 3.16 (dd, $J_a = 6.3\text{Hz}$, $J_b = 13.9\text{Hz}$, 1H), 3.10 (dd, $J_a = 10\text{Hz}$, $J_b = 11\text{Hz}$, 1H), 2.88 (m, 2H), 2.66 (m, 1H), 2.42 (s, 3H), 1.97 (m, 1H), 1.75 (m, 2H), 1.65-1.61 (m, 3H), 1.40-1.09 (m, 6H); MS (m/z) 525.3 ($M+H^+$)。

[0121] 实施例 2

[0122] 制备 2-((R)-(3-氯苯基)((R)-1-((S)-2-(甲基氨基)-3-((R)-四氢-2H-吡喃-3-基)丙基氨甲酰基)哌啶-3-基)甲氧基)乙基氨基甲酸甲酯 HCl 盐

[0123]

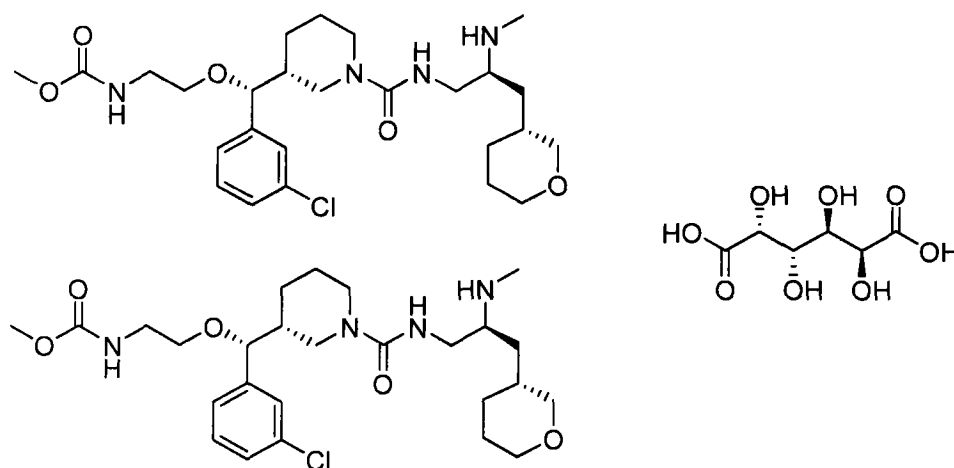


[0124] 将 6.15Kg 的 2-((R)-(3-氯苯基)((R)-1-((S)-2-(N-叔丁氧基羰基-N-甲基氨基)-3-((R)-四氢-2H-吡喃-3-基)丙基氨甲酰基)哌啶-3-基)甲氧基)乙基氨基甲酸甲酯溶解在 33L 的 1,4-二噁烷中,并将混合物冷却到 11°C。在 23 分钟内向该溶液中添加 14L 的二噁烷中的 4.0M HCl。将该混合物加热至 20°C 并在该温度下搅拌 9h。该时间后 HPLC 分析显示 99% 转化为脱保护的胺产物。真空下去除易挥发物质,产生粘性焦油状的 2-((R)-(3-氯苯基)((R)-1-((S)-2-(甲基氨基)-3-((R)-四氢-2H-吡喃-3-基)丙基氨甲酰基)哌啶-3-基)甲氧基)乙基氨基甲酸甲酯的 HCl 盐。 ^1H NMR 分析显示该物质 (6.86Kg) 包含约 0.2 当量的二噁烷。

[0125] 实施例 3

[0126] 制备 2-((R)-(3-氯苯基)((R)-1-((S)-2-(甲基氨基)-3-((R)-四氢-2H-吡喃-3-基)丙基氨甲酰基)哌啶-3-基)甲氧基)乙基氨基甲酸甲酯的粘酸盐 (B 型)

[0127]



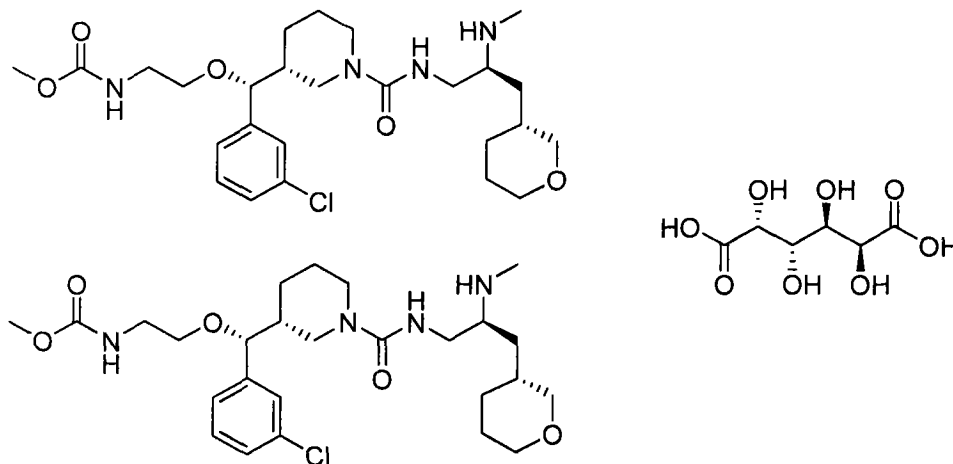
[0128] 将 562mg (1.0mmol) 的如实施例 2 所述制备的 2-((R)-(3-氯苯基)((R)-1-((S)-2-(甲基氨基)-3-((R)-四氢-2H-吡喃-3-基)丙基氨甲酰基)哌啶-3-基)甲氧基)乙基氨基甲酸甲酯的盐酸盐溶解在 10mL 乙酸乙酯中。将混合物用 2N 的 NaOH 水溶液提取两次。用硫酸钠干燥有机层并去除溶剂。将残渣溶于水中,并添加粘酸 (105mg, 0.500mmol, 0.5 当量)。在 45°C 下搅拌混合物 30min, 获得透明溶液。将所述溶液冷却到环境温度,并通过一张 Whatman- 滤纸过滤。通过用乙腈 (3X5mL 乙腈, 温度水浴 70°C, 压力下

调至 60mbar) 共沸蒸馏去除水。将残渣溶解在乙腈 (4.5mL) 中, 并加热至 80℃, 产物在其上沉淀。30min, 后将油浴设置为 35℃, 并在该温度下搅拌反应混合物 1h。将混合物冷却至 RT 并贮存过夜。通过过滤收集产物。用乙腈 (3mL) 冲洗烧瓶并在过滤器上干燥产物 45min。获得 454mg (72% 产率) 式 (I) 半粘酸盐。由 XRPD 显示产物具有 B 型, 含有一些无定形含量 (参见图 1)。

[0129] 实施例 4

[0130] 制备 2-((R)-(3-氯苯基)((R)-1-((S)-2-(甲基氨基)-3-((R)-四氢-2H-吡喃-3-基)丙基氨甲酰基)哌啶-3-基)甲氧基)乙基氨基甲酸甲酯的粘酸盐 (B 型)

[0131]

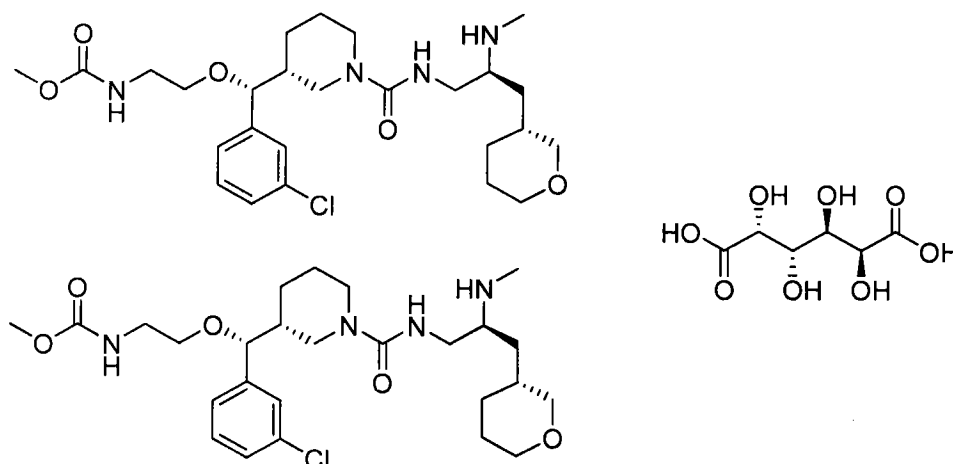


[0132] 通过用以 NaHCO_3 水溶液饱和的 EtOAc 溶液处理实施例 2 所述制备的 2-((R)-(3-氯苯基)((R)-1-((S)-2-(甲基氨基)-3-((R)-四氢-2H-吡喃-3-基)丙基氨甲酰基)哌啶-3-基)甲氧基)乙基氨基甲酸甲酯的 HCl 盐 (5.35Kg), 将其转化为游离碱。浓缩 EtOAc 溶液, 将残渣再溶解在 42L 乙腈中并转移到加液漏斗中。在分离反应器中, 将粘酸 (1Kg) 悬浮在 66L 水中。将式 (I) 游离碱的乙腈溶液加入该白色悬浮液中。将反应器加热到 40℃, 形成溶液。50min 后, 大部分固体溶解, 将内容物转移到桶中。清洗反应器并用乙腈冲洗。经由串联过滤器 (inline filter) 将桶中的内容物转移到反应器中。通过用乙腈共沸蒸馏将含水量降低到 < 2%。将残渣溶于 25L 乙腈中, 将混合物加热至回流 (套内温度 90℃) 以形成透明溶液。在 5h 内将混合物冷却到 20℃, 然后在 3h 内冷却到 3.5℃。生成稠的悬浮液。通过在带有聚四氟乙烯过滤器布的 50L Nutsch 上过滤来分离所述悬浮液。母液用于冲洗来自反应器的结晶。在真空中去除残余溶剂直到残余乙腈含量小于 0.01%。生成 3.4Kg 的 B 型的式 (I) 半粘酸盐。相应的 XRPD 图显示于图 2。产物熔点是 132-136℃。

[0133] 实施例 5

[0134] 制备 2 : 1 的 2-((R)-(3-氯苯基)((R)-1-((S)-2-(甲基氨基)-3-((R)-四氢-2H-吡喃-3-基)丙基氨甲酰基)哌啶-3-基)甲氧基)乙基氨基甲酸甲酯 / 粘酸盐 (C 型)

[0135]

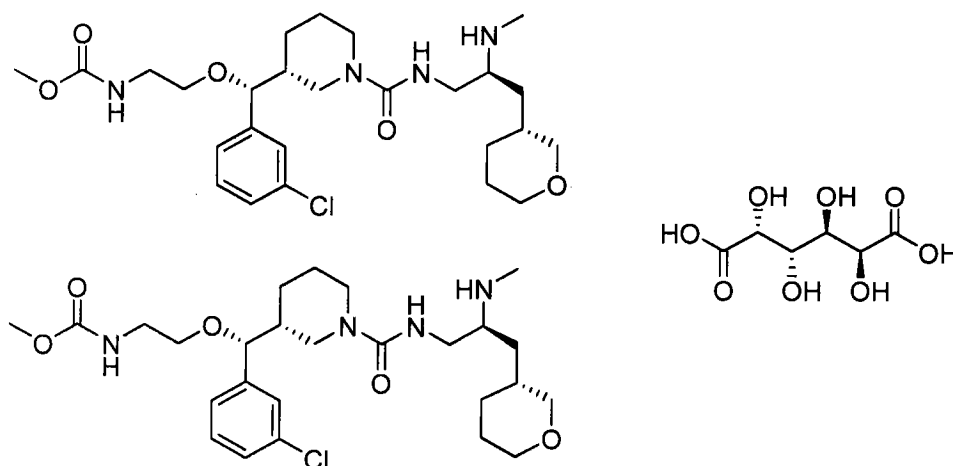


[0136] 向配备有 3/4x3/8" 蛋形搅拌棒和带有氮进口的回流冷凝器的 100mL 圆底烧瓶中装入 353mg (1.68mmol) 粘酸 (Aldrich, 原始样品) 和 30mL 的 CH_3CN (Aldrich, HPLC 级, 无水), 将所得浆料以 374rpm 的搅拌速率加热至回流 (浴温 = 83°C)。在独立烧瓶中, 在 7mL 乙腈 (相同来源) 中制备 2-((R)-(3-氯苯基))((R)-1-((S)-2-(甲基氨基)-3-((R)-四氢-2H-吡喃-3-基)丙基氨甲酰基)哌啶-3-基)甲氧基)乙基氨基甲酸甲酯溶液 (如实施例 1 所述制备), 并将所述溶液添加到粘酸的回流浆料中。将含有 2-((R)-(3-氯苯基))((R)-1-((S)-2-(甲基氨基)-3-((R)-四氢-2H-吡喃-3-基)丙基氨甲酰基)哌啶-3-基)甲氧基)乙基氨基甲酸甲酯的烧瓶用 3mL 的乙腈冲洗, 并将冲洗液加入反应烧瓶中。将混合物加热至回流 2h, 该时间期间大部分粘酸溶解。溶液趁热快速过滤通过配备有 Chromafil 0-20/15MS PTFE 过滤器的注射器, 进入干净的配备有上面描述的相同设备的 100mL 烧瓶中。在 635rpm 的搅拌速率下, 将所得的透明、无色溶液在油浴中加热至 80°C 。30min 后, 关掉油浴热源, 并将混合物冷却到环境温度。30min 后浴温为 47°C , 在反应烧瓶中观察到一些小束状固体。使得混合物达到 22°C 并静置过夜。该时间后观察到大量白色固体。将固体集中在瓷坩埚过滤器所含的一张 Whatman No. 1 滤纸上。用约 10mL 乙腈 (相同来源) 冲洗反应烧瓶, 并用抹刀轻轻搅拌滤过的固体。这些固体 (1121mg, 53% 产率) 的 ^1H NMR 与包含约 1/3 当量乙腈的 2 : 1 的 2-((R)-(3-氯苯基))((R)-1-((S)-2-(甲基氨基)-3-((R)-四氢-2H-吡喃-3-基)丙基氨甲酰基)哌啶-3-基)甲氧基)乙基氨基甲酸甲酯 / 粘酸盐一致。已经通过实验发现, 可通过在真空中在 45°C 加热或通过在环境温度下长时间 ($> 24\text{h}$) 暴露于真空中来去除乙腈。所得式 (I) 半粘酸盐 (C 型) 产物的 XRPD 图显示于图 3。

[0137] 实施例 6

[0138] 制备 2 : 1 的 2-((R)-(3-氯苯基))((R)-1-((S)-2-(甲基氨基)-3-((R)-四氢-2H-吡喃-3-基)丙基氨甲酰基)哌啶-3-基)甲氧基)乙基氨基甲酸甲酯 / 粘酸盐 (D 型)

[0139]



[0140] 向 50mL 烧瓶中装入 105mg (0.50mmol, 0.5 当量) 的粘酸、524mg (1.0mmol, 1.0 当量) 的如实施例 1 所述制备的 2-((R)-(3-氯苯基)((R)-1-((S)-2-(甲基氨基)-3-((R)-四氢-2H-吡喃-3-基)丙基氨基甲酰基)哌啶-3-基)甲氧基)乙基氨基甲酸甲酯和 10mL 的去离子水。将所得浆料加热至 50℃。在 50℃ 搅拌 1h 后生成透明溶液。冷却该溶液并过滤通过 Chromafil 0-20/15MS PTFE 针筒式过滤器, 进入干净的 50mL 烧瓶中。使用旋转蒸发器蒸发该透明溶液。将丙酮 (10mL, HPLC 级, 无水) 加入所得无色残渣中, 并再次去除溶剂。再次将 10mL 丙酮加入残渣中, 将混合物加热至回流 (浴温 = 67℃)。残渣经加热而溶解, 并生成透明溶液。回流 30min 后形成一些白色固体, 浴温降低到 25℃。加入乙酸乙酯 (10mL, HPLC 级, 无水), 将混合物在 25℃ 搅拌 1h。将结晶集中在瓷坩埚过滤器所含的一张滤纸 (Whatman No. 1) 上。额外的用乙酸乙酯洗涤并风干约 30min, 然后在真空中干燥 17h。¹H NMR (DMSO-d₆, 35℃) 显示其中不含过量粘酸的 2 : 1 盐。该白色结晶的熔点为 133-136℃。所得式 (I) 的半粘酸盐 (D 型) 产物的 XRPD 图显示于图 4。

[0141] 甲基乙基酮可用于替换丙酮。

[0142] 实施例 7

[0143] X-射线粉末衍射 (XRPD) 测定

[0144] 使用如下描述的样品、测定条件和数据评估, 制备测定实施例 3-6 中制备的式 (I) 粘酸盐的结晶形式的 XRPD 图。

[0145] 样品制备

[0146] 通常在除了施加轻微压力以得到平面外无任何特殊处理的情况下制备样品。用 1mm 深且容纳约 70mg 样品的单晶硅样品容器记录实施例 4 的盐。用 0.1mm 深且容纳 5-20mg 样品的单晶硅样品容器记录所有其它测定 (即实施例 3、5 和 6 的样品)。

[0147] 测定条件:

[0148] -Bruker D8, 具有 Bragg-Brentano 结构的反射几何形状

[0149] -CopperK_α 辐射, 40kV/40mA

[0150] -可变的发散狭缝

[0151] -Ni 过滤器用于衍射束

[0152] -LynxEye 检测器, 具有 3° 窗

[0153] -步长: 0.02° 2θ, 时间步长: 37s

[0154] -测定期间样品以 0.5rps 转动。

[0155] - 在室温 (20℃ 到 25℃) 下进行测定

[0156] 数据评估:

[0157] - 用 Bruker EVA 软件, 14,0,0,0 版本进行 d 值分析。

[0158] - 用软件去除 Cu K_{α2}。

[0159] - 用软件去除无定形背底, 由此获得经处理衍射图。

[0160] - 仅列出高达 35° 2θ 的明显线。

[0161] - 相对峰强度按如下进行分类: 很弱 (< 5%)、弱 (≥ 5% 但 < 15%)、中等 (≥ 15% 但 < 50%)、强 (≥ 50% 但 < 90%) 以及很强 (≥ 90%)。

[0162] 表 1: 实施例 3 的式 (I) 粘酸盐的明显的 XRPD 峰

角	d 值	强度	相对强度
2-θ°	埃	Cps	%
3.79	23.3	m	16
5.14	17.2	m	40
6.79	13.0	m	38
7.62	11.6	s	66
8.85	10.0	w	8
10.35	8.5	m	17
11.45	7.7	w	12
11.99	7.4	m	39
12.55	7.0	m	15
13.63	6.5	m	18
15.26	5.80	m	21
16.44	5.39	s	63
17.15	5.17	s	53
19.28	4.60	m	44
20.23	4.39	vs	100
22.98	3.87	m	29
24.07	3.70	m	18

[0164] 相应衍射图显示于图 1 且相应经处理的衍射图显示于图 5。

[0165] 表 2: 实施例 4 的式 (I) 粘酸盐的明显的 XRPD 峰

	角	d 值	强度	相对强度
	2- θ°	埃	Cps	%
[0166]	3.79	23.3	vw	4
	5.15	17.2	m	22
	6.52	13.6	w	8
	6.76	13.1	m	29
	7.61	11.6	m	49
	8.83	10.0	w	10
	10.32	8.6	w	12
	11.41	7.7	w	10
	11.94	7.4	m	35
	12.47	7.1	m	15
	13.58	6.5	m	16
	14.28	6.2	w	6
	15.22	5.82	m	24
	16.38	5.41	s	71
	17.08	5.19	s	61
	17.65	5.02	w	11
	18.56	4.78	w	15
	19.16	4.63	m	42
	20.12	4.41	vs	100
	21.40	4.15	m	24
	22.88	3.88	m	36
	24.00	3.71	m	23
	25.28	3.52	w	10
	26.07	3.42	w	9
	30.69	2.91	w	7

[0167] 相应衍射图显示于图 2 且相应经处理的衍射图显示于图 6。

[0168] 表 3 : 实施例 5 的式 (I) 粘酸盐的明显的 XRPD 峰

[0169]

角 2- θ°	d 值 埃	强度 Cps	相对强度 %
3.48	25.4	vs	100
4.48	19.7	m	25
5.73	15.4	m	46
6.27	14.1	m	20
7.10	12.4	m	23
7.76	11.4	m	39
8.59	10.3	w	7
9.21	9.6	w	11
9.64	9.2	m	15
11.63	7.6	m	27
12.49	7.1	m	15
12.74	6.9	w	14
15.18	5.83	m	30
15.67	5.65	m	32
16.37	5.41	m	25
17.14	5.17	s	57
17.94	4.94	m	47
18.46	4.80	s	73
18.81	4.71	s	70
19.23	4.61	s	76
19.48	4.55	s	75
21.30	4.17	s	78
21.78	4.08	s	66
22.12	4.02	s	55
22.73	3.91	s	81

[0170]	24.25	3.67	m	24
	25.22	3.53	m	28
	27.19	3.28	m	23
	29.67	3.01	m	21

[0171] 相应衍射图显示于图 3 且相应经处理的衍射图显示于图 7。

[0172] 表 4 : 实施例 6 的式 (I) 粘酸盐的明显的 XRPD 峰

	角	d 值	强度	相对强度
	2-θ°	埃	Cps	%
[0173]	2.96	29.8	m	18
	4.27	20.7	m	31
	5.17	17.1	m	36
	5.90	15.0	m	21
	6.57	13.4	vs	100
	7.25	12.2	m	31
	7.65	11.5	s	61
	8.95	9.9	w	10
	9.78	9.0	w	13
	10.52	8.4	w	12
	11.50	7.7	m	15
	12.27	7.2	m	43
	12.97	6.8	m	21
	13.38	6.6	w	12
	14.05	6.3	w	10
	14.75	6.0	m	41
	15.50	5.71	m	40
	16.32	5.43	m	30
	16.96	5.23	s	54
	17.42	5.09	m	41
	18.39	4.82	m	37

	19.25	4.61	s	87
	19.98	4.44	m	47
	20.77	4.27	s	77
	22.22	4.00	m	37
[0174]	22.91	3.88	m	29
	23.89	3.72	m	40
	24.58	3.62	m	24
	26.70	3.34	m	17
	28.51	3.13	w	13

[0175] 相应衍射图显示于图 4 且相应经处理的衍射图显示于图 8。

[0176] 实施例 8

[0177] 差示扫描量热 (DSC) 测定

[0178] 用 TA 仪器差示扫描量热计 Q2000 进行 DSC。将实施例 3、5 和 6 的式 (I) 粘酸盐样品放置在铝 DSC 盘中并准确记录重量。在氮气吹洗下使样品单元以 10°C /min 的速度从 25°C 加热至 250°C。铟金属用作校准标准。

[0179] 实施例 3、5 和 6 的样品的 DSC 曲线分别显示于图 9、10 和 11 中。

[0180] 实施例 9

[0181] 热重分析 (TGA)

[0182] 用 TA 仪器 Q5000IR 热重分析仪进行 TGA。将实施例 3、5 和 6 的式 (I) 粘酸盐样品放置在铝样品盘中并插入 TG 熔炉中。在氮气下使熔炉以 10°C /min 的速度从 37°C 加热至 350°C。镍和 Alumel™ 用作校准标准。

[0183] 实施例 3、5 和 6 的样品的 TGA 曲线分别显示于图 12、13 和 14 中。

[0184] 实施例 10

[0185] 药代动力学

[0186] 在无菌盐水中的 1% DMSO 中制备 IV 制剂。除非另外指出, 在水中在 0.5% 甲基纤维素中制备 PO 制剂。施用化合物后, 给药 24 小时后, 用 K₂EDTA 作为抗凝血剂从各动物中获得血浆样品。血浆样品用含有内标 (ritanserine) 的两倍体积的乙腈处理。样品在 25°C 下以 4000rpm 的速度离心 10 分钟。用 LC/MS/MS 分析 10 微升上清液。制备各物种的标准曲线, 其范围为 1.0 到 500ng/mL。使用梯度流动相通过反相 HPLC 分离式 (I) 化合物和内标, 并通过 +APCI 监控 m/z 525 → 327 (式 (I) 化合物) 和 m/z 478 → 193 (ritanserine) 的转变来检测。

[0187]

盐形式	剂量 (盐)	载体 ^a	物种	C _{max} (ng/mL)	AUC _{0-t} (ng•h/mL)	DNAUC _{0-t} (ng•h/mL)
富马酸盐 ^b	10 mg/kg	水中的 0.5% 甲基纤维素	大鼠	156	477	48
富马酸盐 ^b	1 mg/kg	水中的 2% DMSO	狗	286	458	458
富马酸盐 ^b	2 mg/kg	水中的 0.5% 甲基纤维素	猴	145	381	191
酒石酸盐 c, g	2 mg/kg	水中的 0.5% 甲基纤维素	狗	438	1205	602
酒石酸盐 c, g	3 mg/kg	水中的 0.5% 甲基纤维素	猴	202	849	283
双羟萘酸 盐 ^{c, d}	8 mg/kg	水中的 0.5% 甲基纤维素	大鼠	BQL ^e	BQL ^e	BQL ^e
双羟萘酸 盐 ^c	8 mg/kg	PEG-400	大鼠	BQL ^e	BQL ^e	BQL ^e
粘酸盐 ^{c, f}	10 mg/kg	水中的 0.5% 甲基纤维素	大鼠	238	681	68
粘酸盐 ^{c, f}	2 mg/kg	水中的 0.5% 甲基纤维素	狗	294	895	447
粘酸盐 ^{c, f}	3 mg/kg	水中的 0.5% 甲基纤维素	猴	266	807	269

[0188] ^a 所有化合物经口施用；^b 无定形冻干固体；^c 结晶物质；^d 不溶于载体；施用前超声处理；^e BQL = 低于定量极限；^f B 型；^g 以低收率、差的物理性质获得。

[0189] 式 (I) 双羟萘酸盐如 WO 2008/036247 所述制备，显示在大鼠中没有可以计量的体内生物利用度。相反，发现式 (I) 粘酸盐 (B 型) 在大鼠、狗和猴中具有良好的体内生物利用度。

[0190] 实施例 11

[0191] 已经发现式 (I) 双羟萘酸盐在 37°C 时的水溶性为 0.125mg/mL。

[0192] 已经发现式 (I) 粘酸盐的结晶形式、尤其是 B 型、C 型和 D 型具有良好的水溶性，例如，已经发现结晶形式 B 型的水溶性为 65±5mg/mL。此外，发现上述结晶形式是充分非吸

湿性的。

[0193] 实施例 12

[0194] 制备 2-((R)-(3-氯苯基)((R)-1-((S)-2-(甲基氨基)-3-((R)-四氢-2H-吡喃-3-基)丙基氨甲酰基)哌啶-3-基)甲氧基)乙基氨基甲酸甲酯富马酸盐

[0195] 用 1M NaOH 水溶液 (3×30mL)、H₂O (3×30mL) 和盐水先后洗涤 2-((R)-(3-氯苯基)((R)-1-((S)-2-(甲基氨基)-3-((R)-四氢-2H-吡喃-3-基)丙基氨甲酰基)哌啶-3-基)甲氧基)乙基氨基甲酸甲酯 TFA 盐的乙酸乙酯 (100mL) 溶液 (389mg, 0.625mmol) (由 WO 2008/036247 制备), 并用无水 Na₂SO₄ 干燥。过滤后, 减压去除溶剂, 得到 287mg 白色泡沫状游离胺 (产率 88%)。将富马酸 (63mg, 0.543mmol) 加入游离胺中, 并将混合物溶于 EtOH (5mL), 形成透明溶液。减压下去除有机溶剂。向残渣中添加去离子水 (15mL) 来溶解富马酸盐。将所得透明溶液在带涡流的干冰 / 丙酮浴中冷却直到冷冻。烧瓶与冻干器连接并冻干过夜, 得到 2-((R)-(3-氯苯基)((R)-1-((S)-2-(甲基氨基)-3-((R)-四氢-2H-吡喃-3-基)丙基氨甲酰基)哌啶-3-基)甲氧基)乙基氨基甲酸甲酯富马酸盐 316mg。MS M/Z (ESI): 525 (M+H)⁺; ¹H NMR (400MHz, CD₃OD) δ (ppm): 7.37-7.30 (m, 3H), 7.20 (d, J = 7.2Hz, 1H), 6.71 (s, 2H), 4.22 (br d, J = 13.2Hz, 1H), 4.03 (d, J = 8.8Hz, 1H), 3.87-3.78 (m, 3H), 3.63 (s, 3H), 3.58 (m, 1H), 3.44 (td, J = 10.4, 3.6Hz, 1H), 3.37-3.23 (m, 4H), 3.16 (t, J = 10.4Hz, 1H), 2.95-2.86 (m, 2H), 2.75 (s, 3H), 1.99 (m, 1H), 1.80-1.75 (m, 2H), 1.70-1.61 (m, 3H), 1.53-1.48 (m, 2H), 1.37-1.25 (m, 3H), 1.67 (m, 1H)。

[0196] 尽管本发明特别用其实施方式来显示并描述, 本领域技术人员应理解在不离开由附加的权利要求包括的本发明范围的前提下, 可进行形式和细节的多种改变。

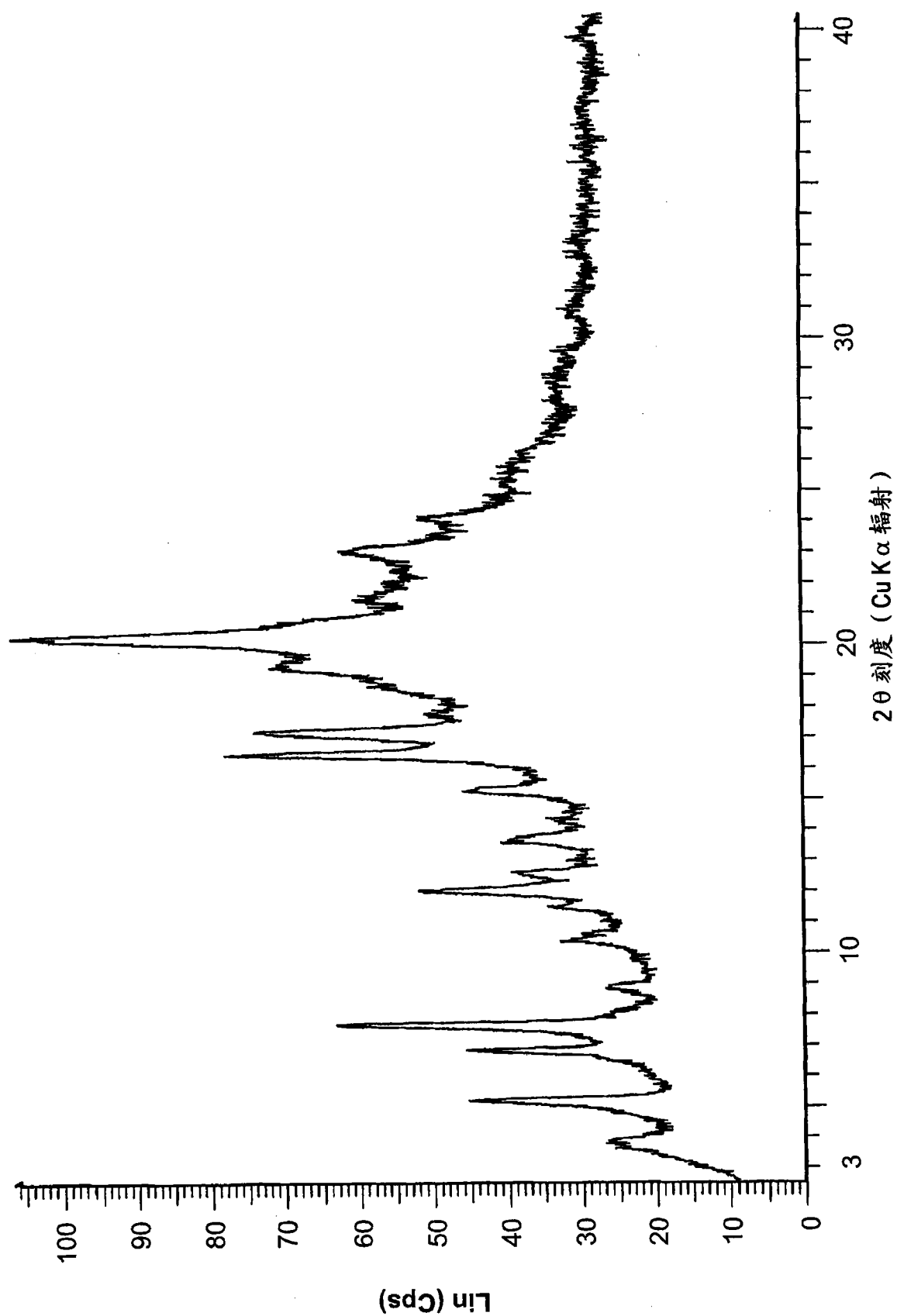


图 1

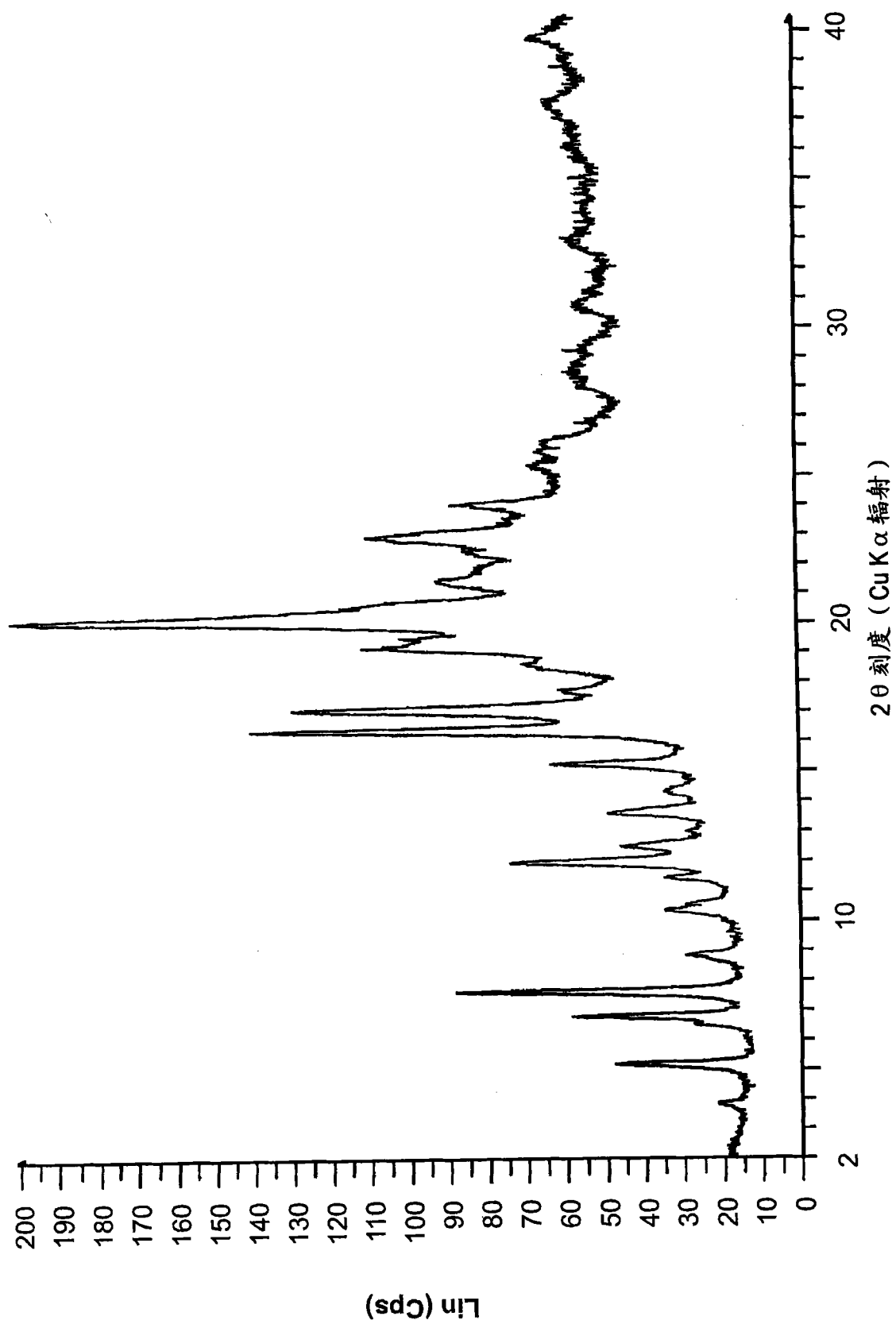


图 2

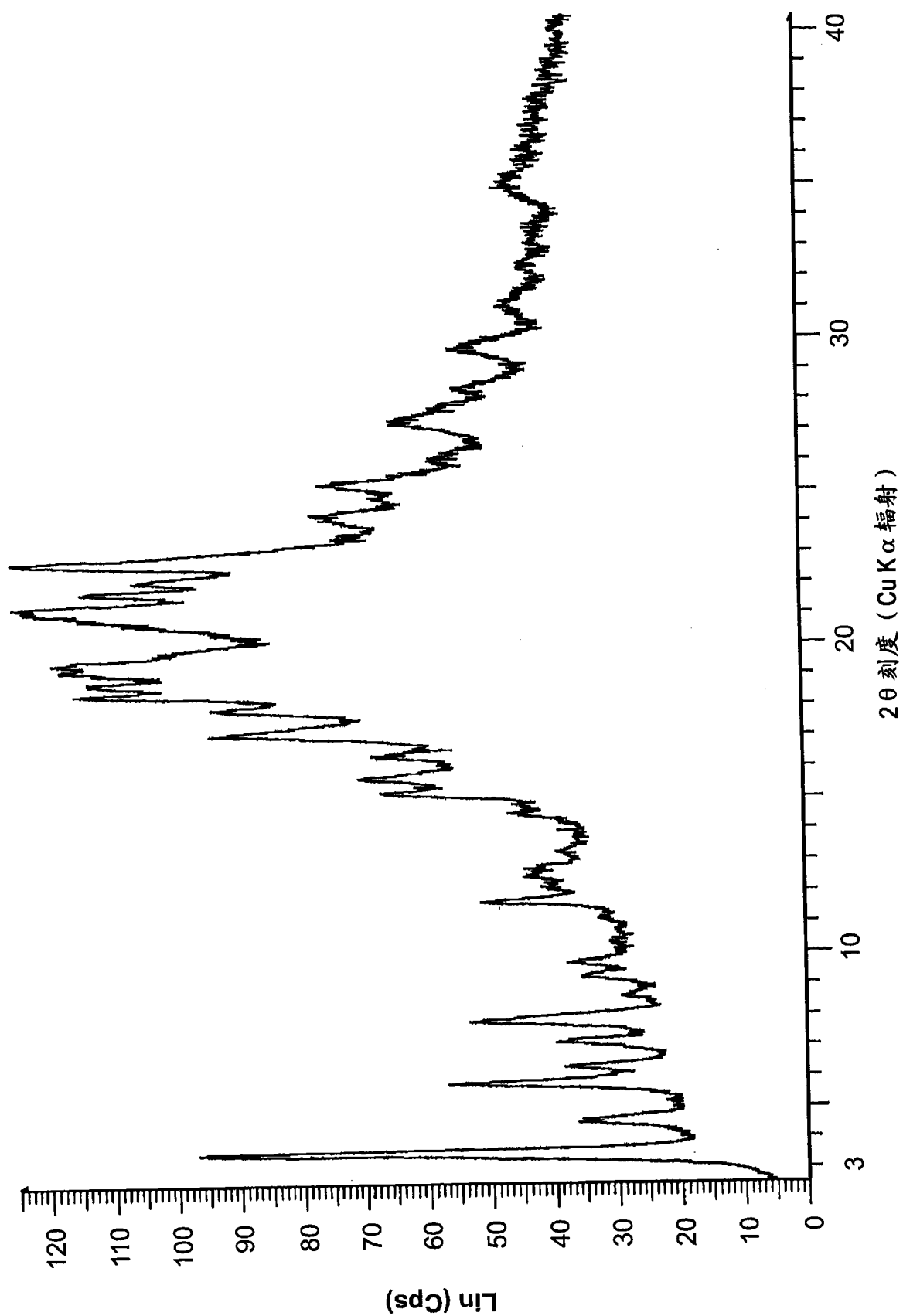


图 3

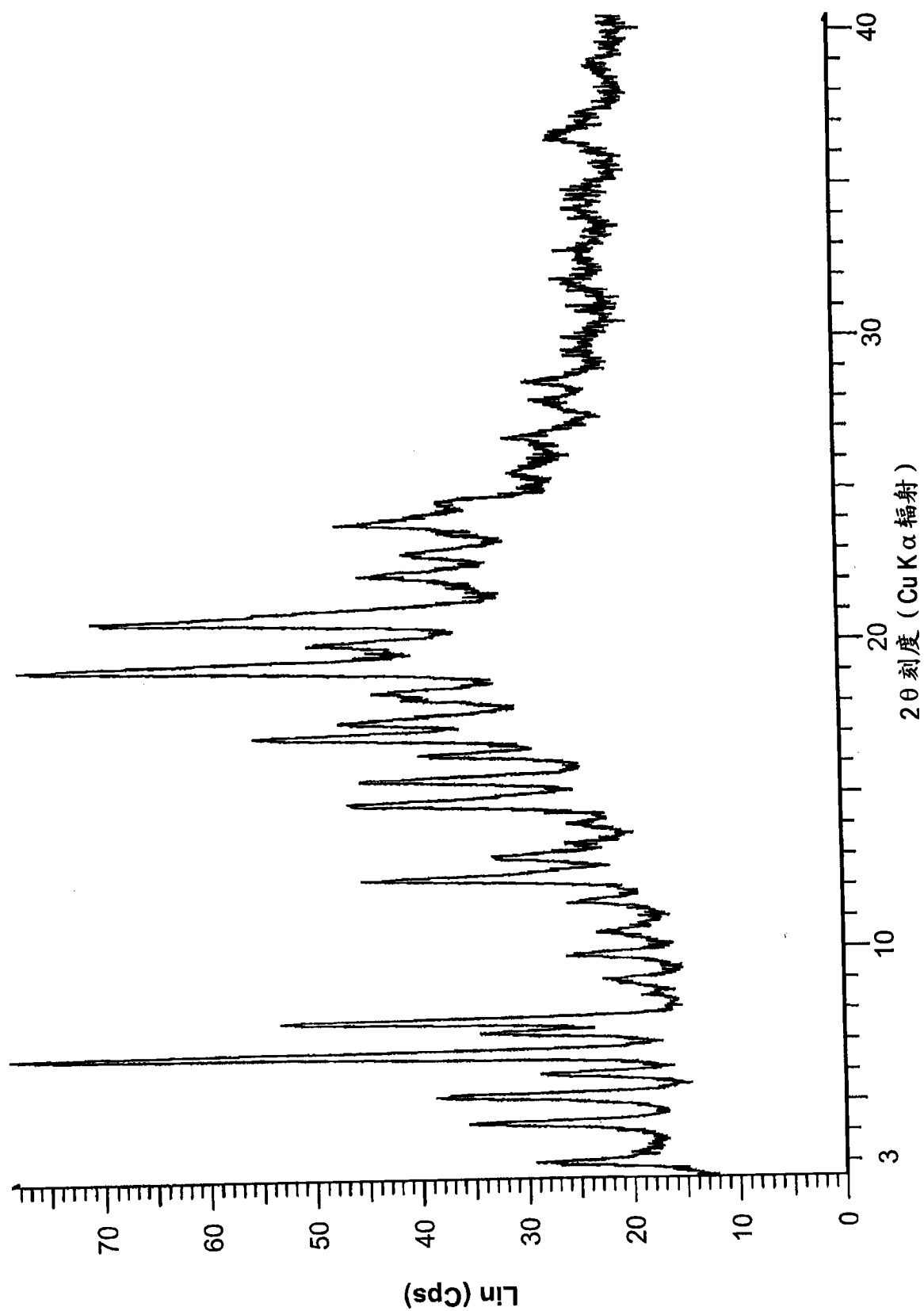


图 4

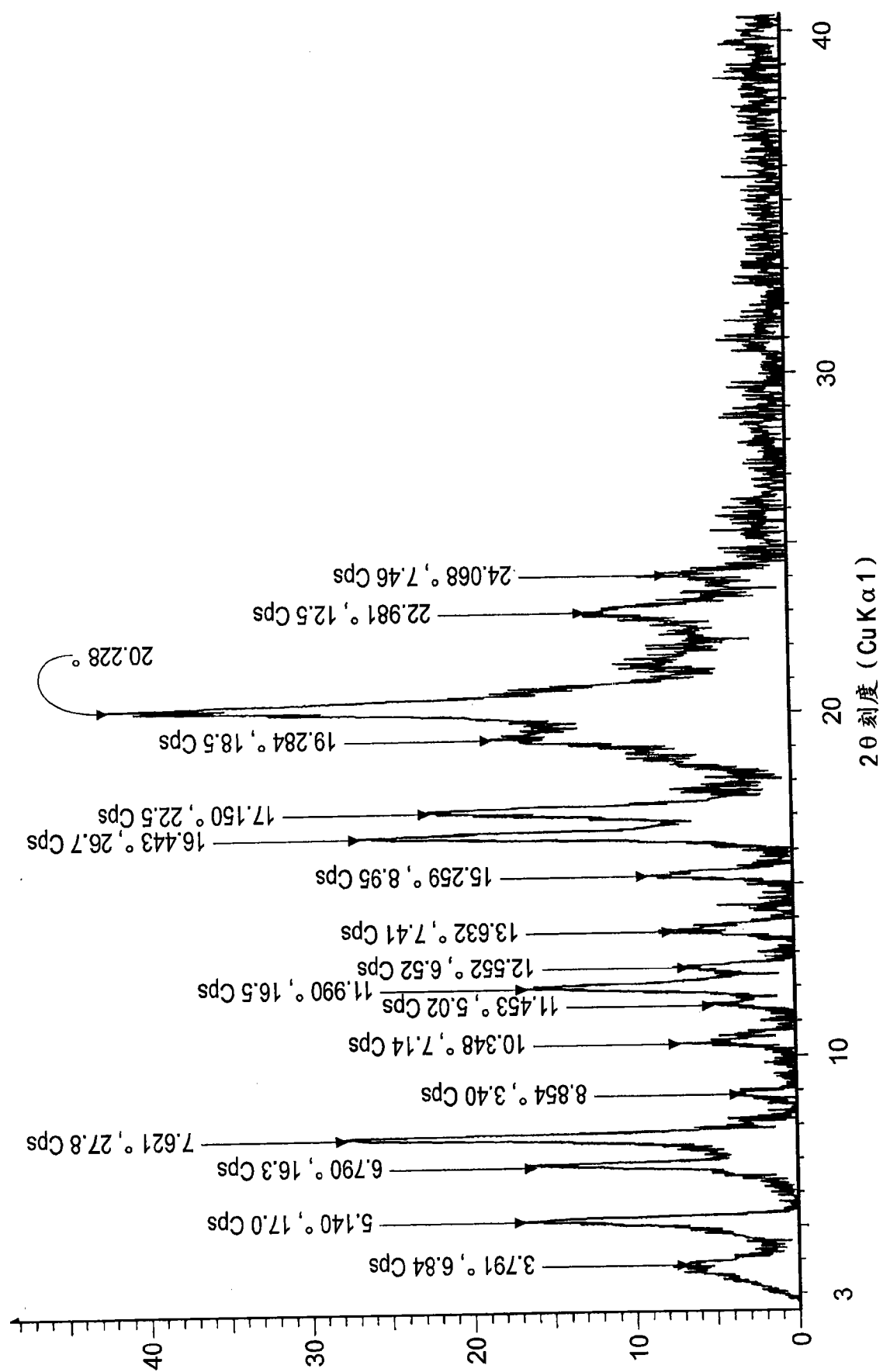


图 5

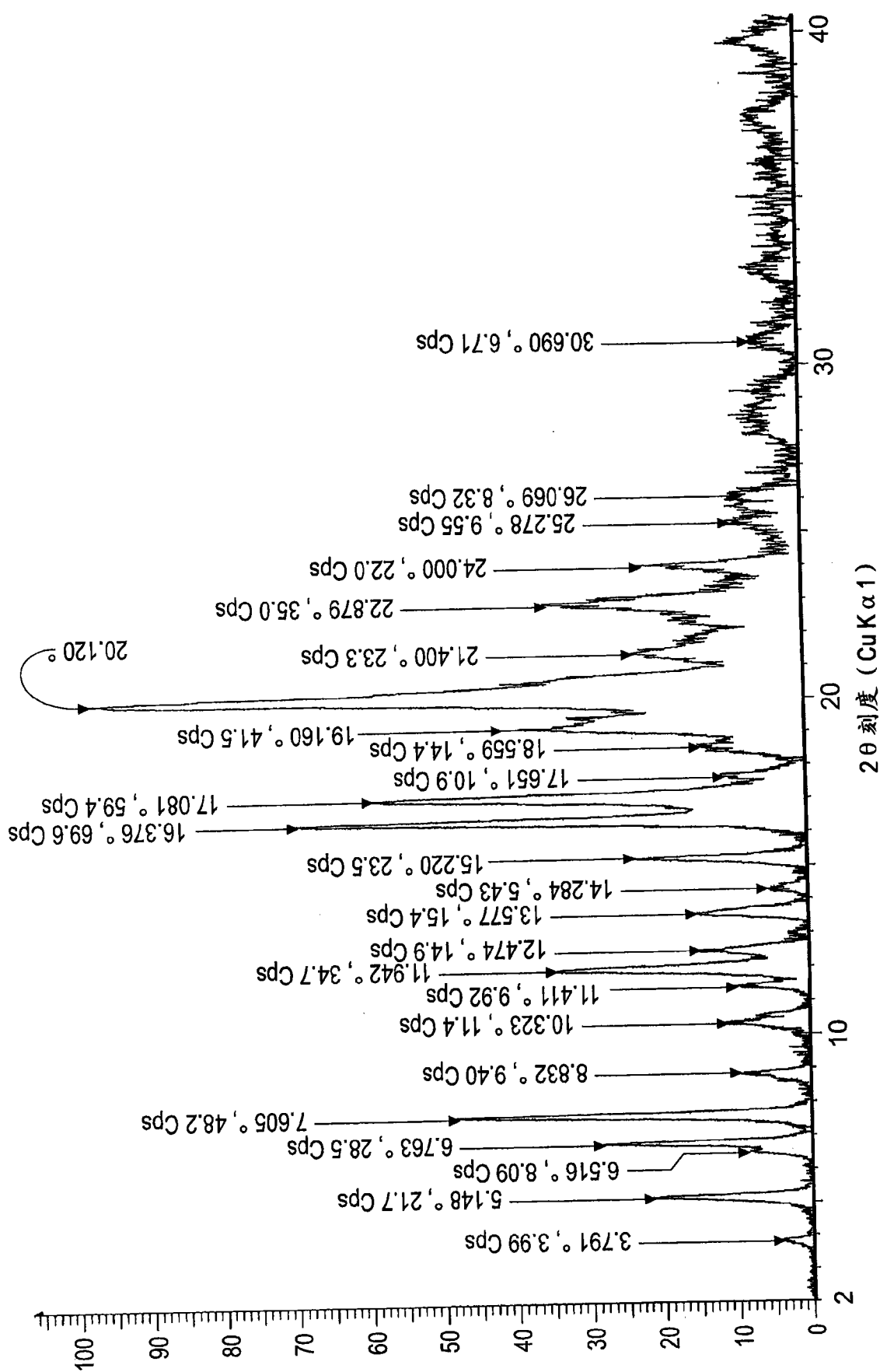


图 9

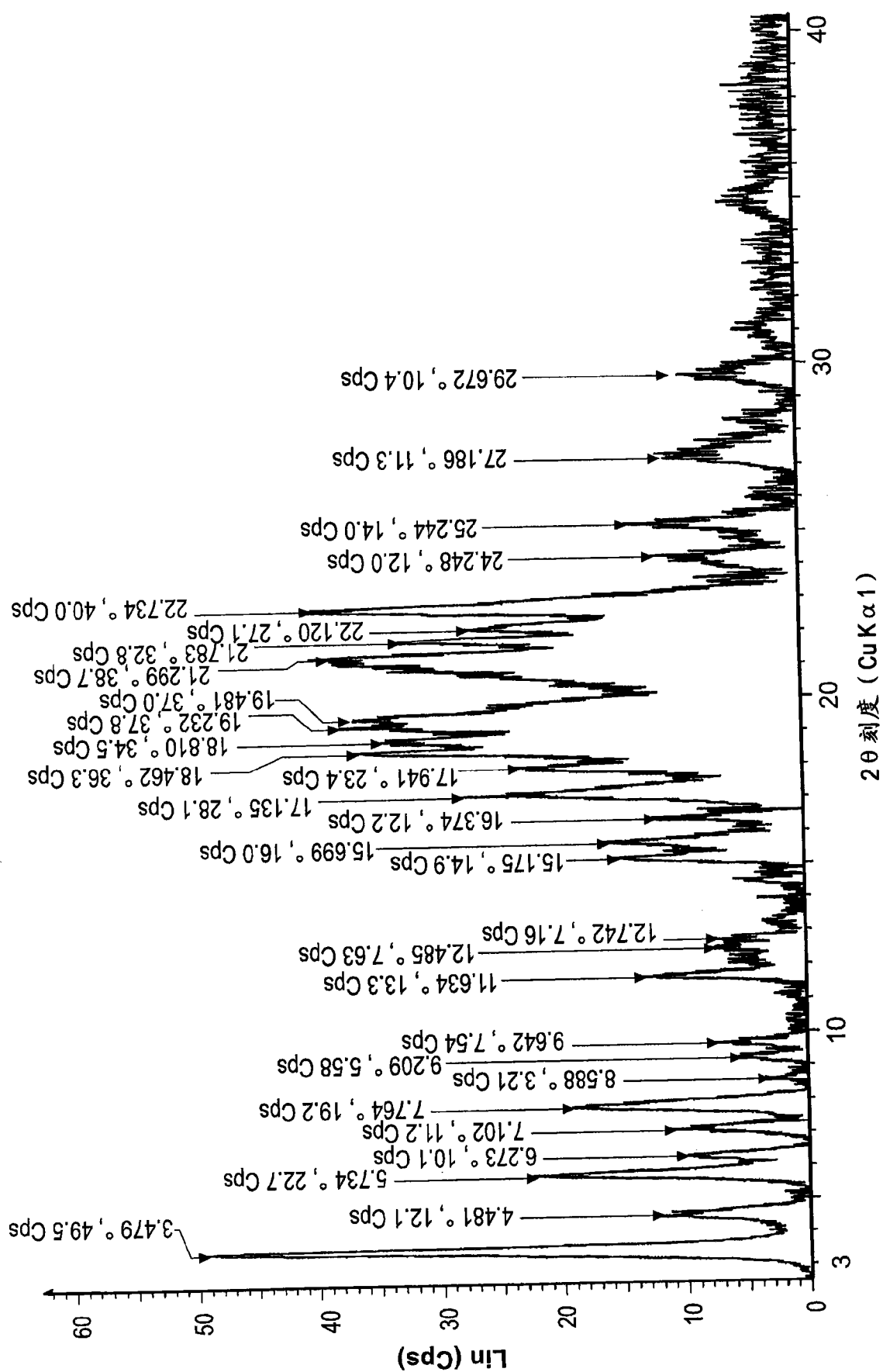


图 7

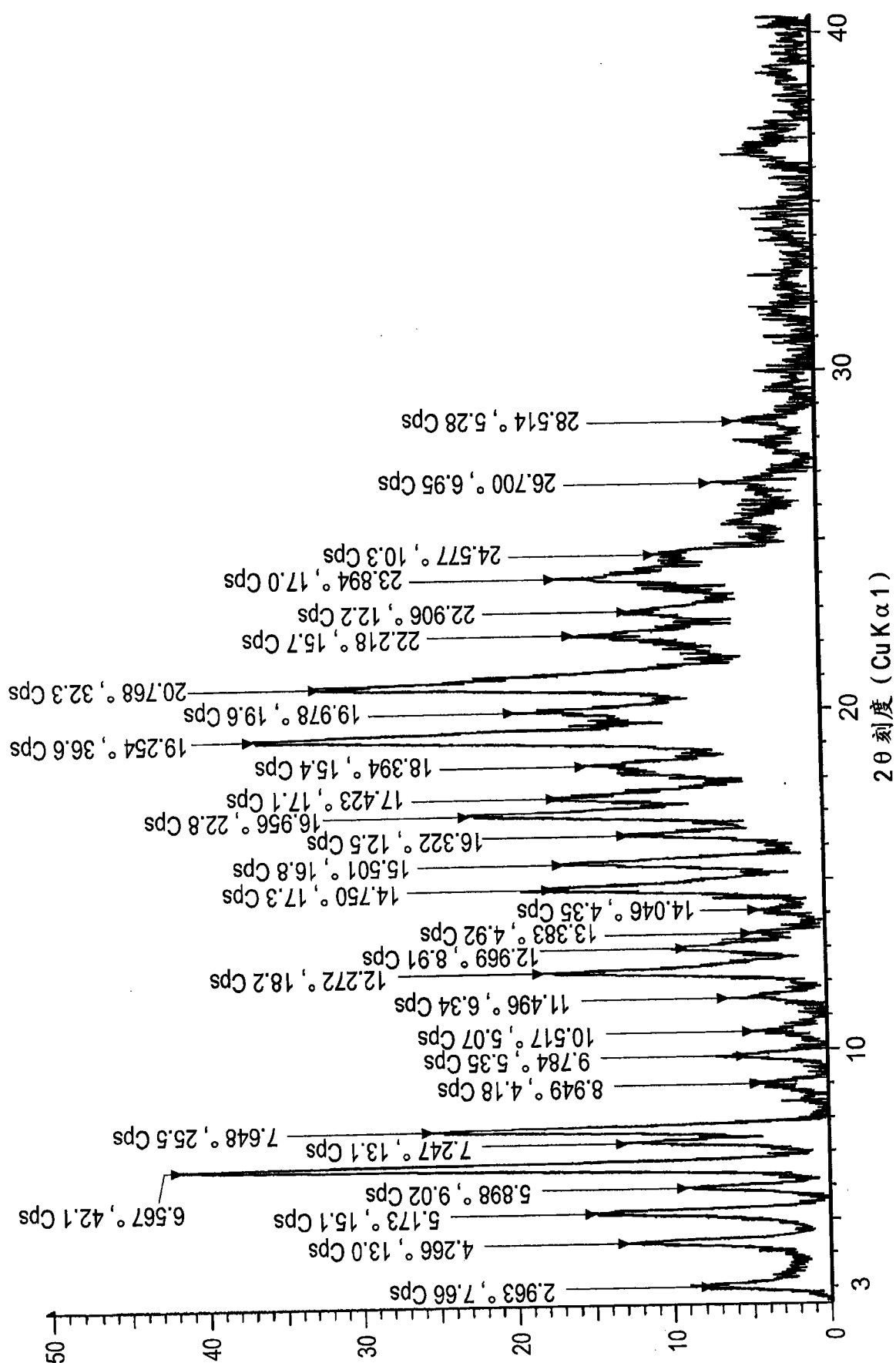


图 8

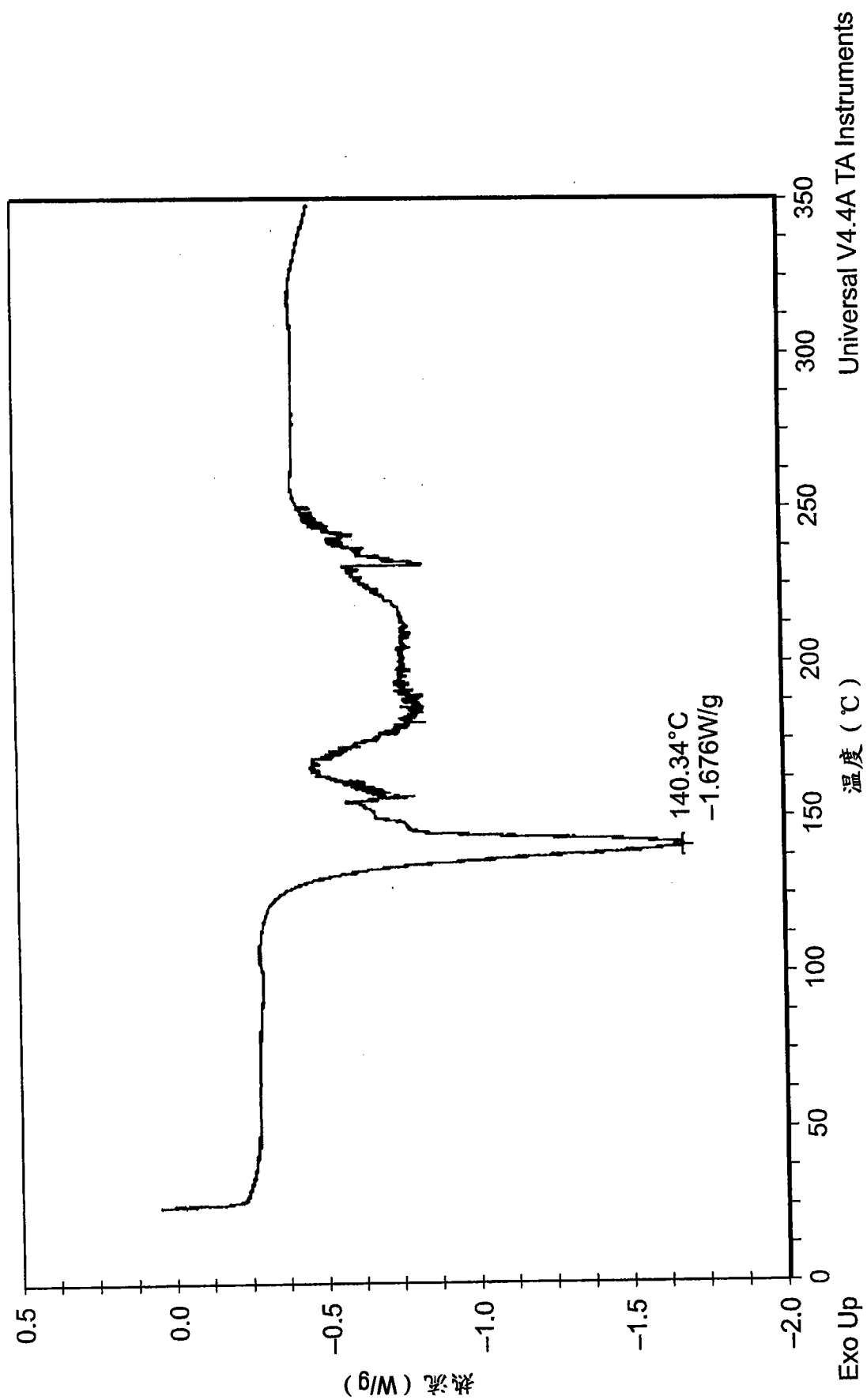


图 9

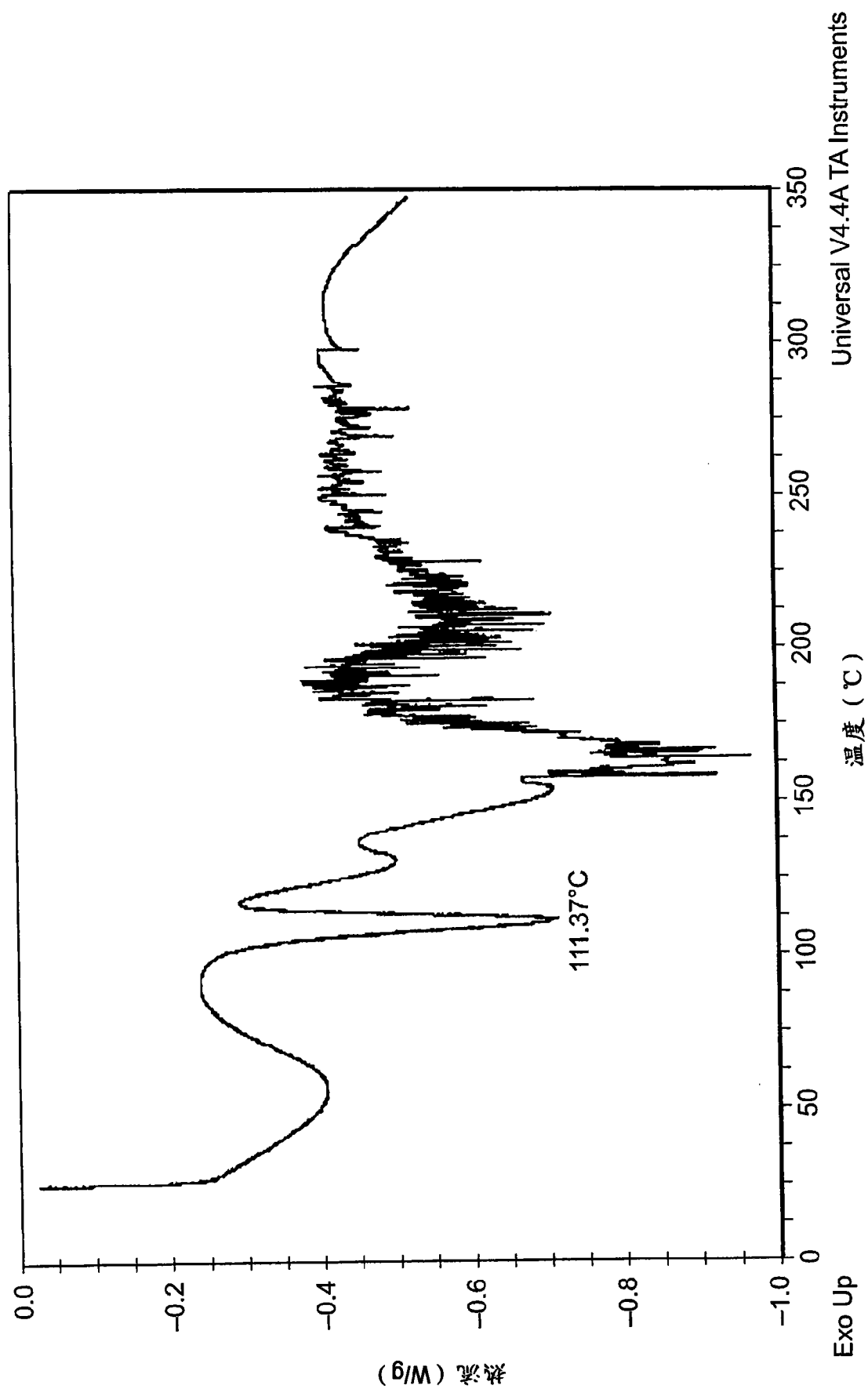


图 10

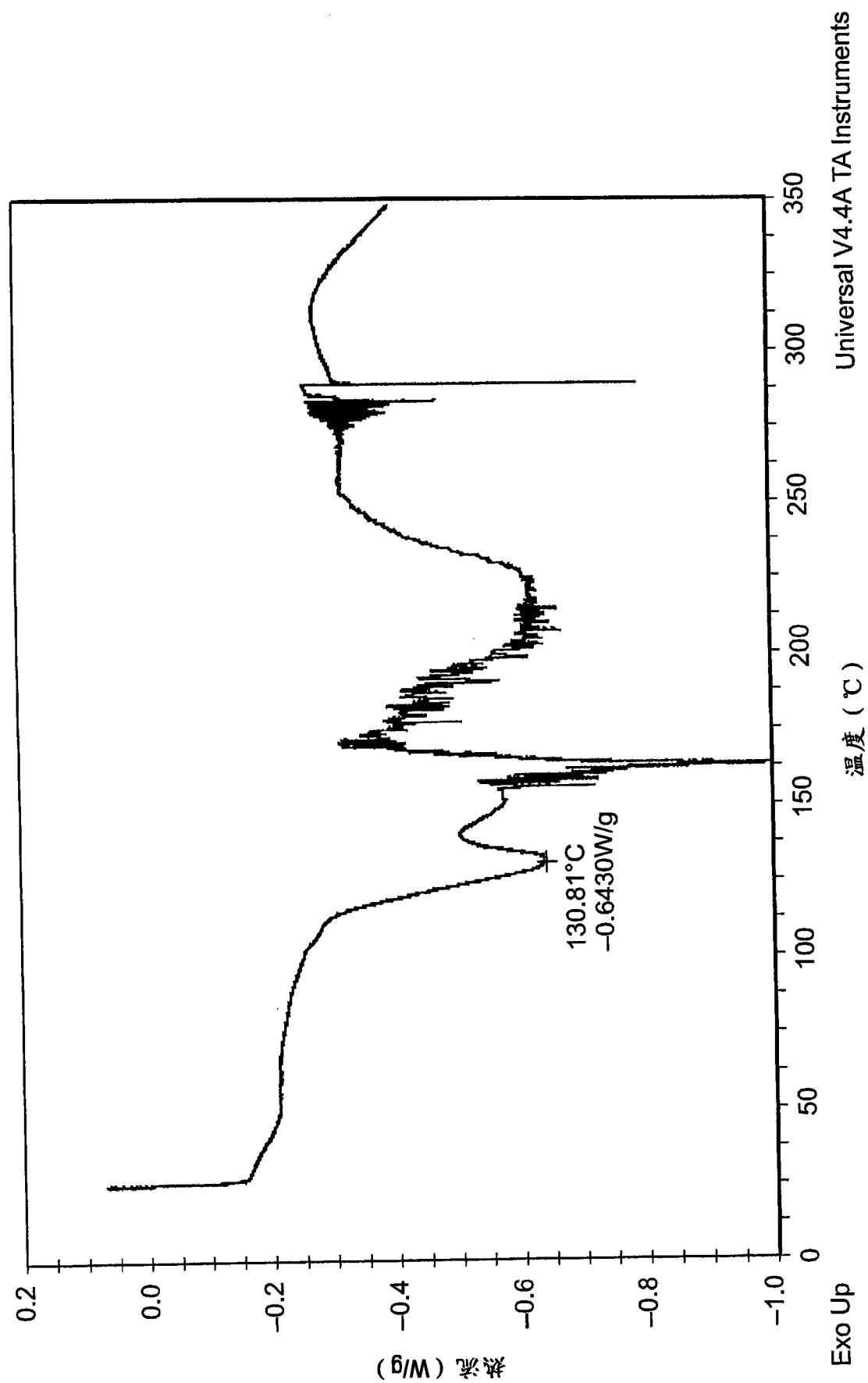


图 11

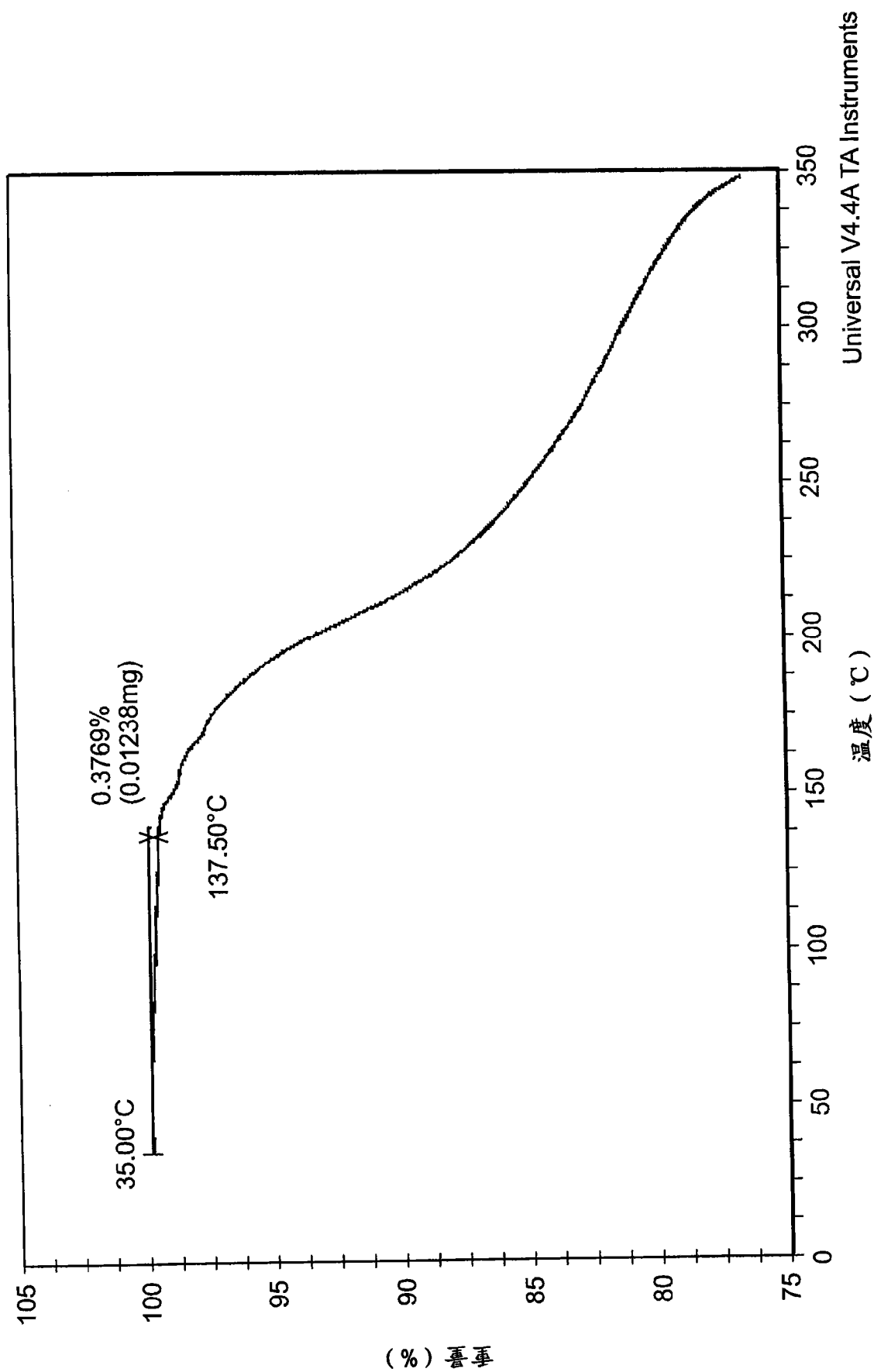


图 12

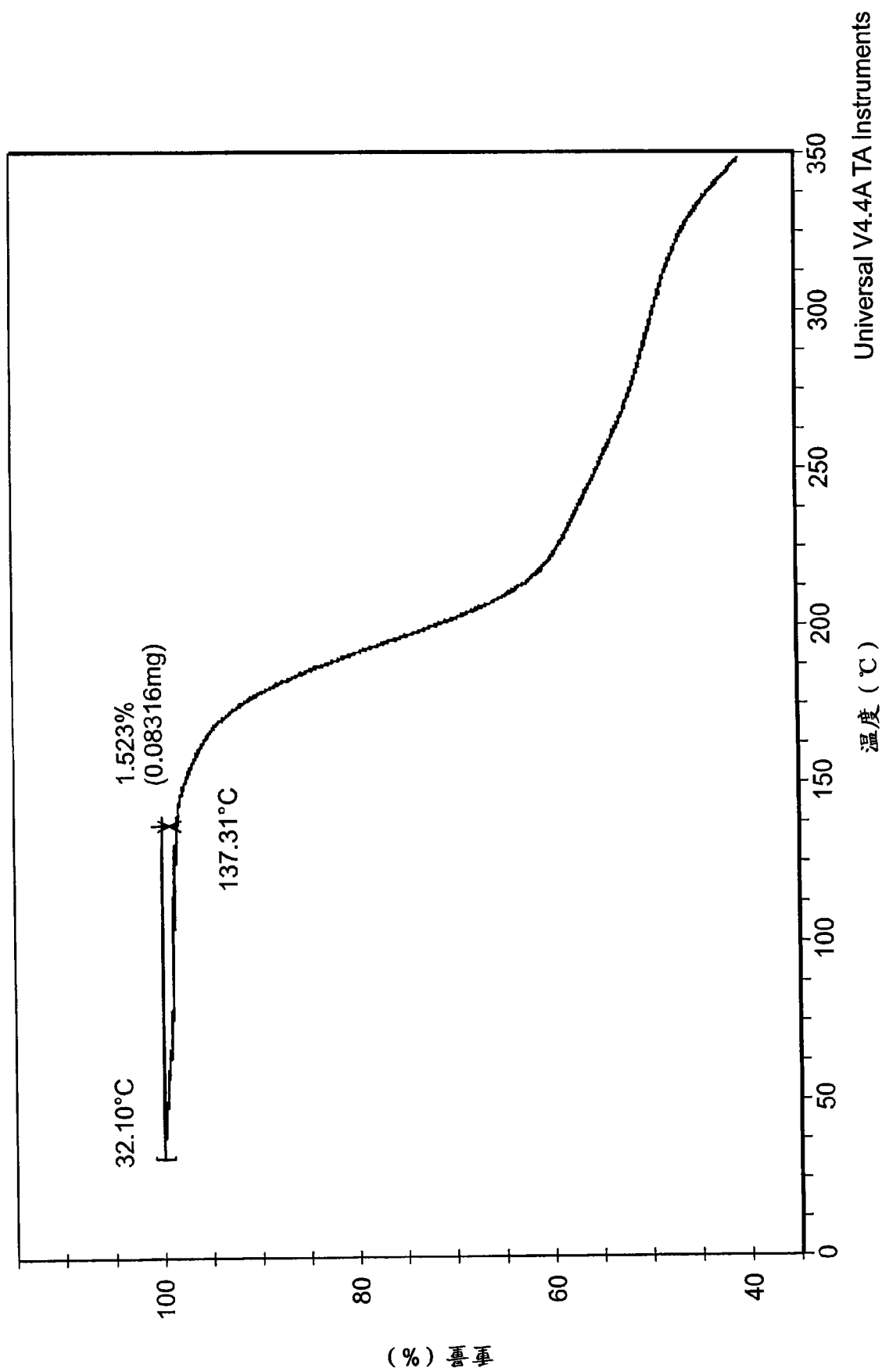


图 13

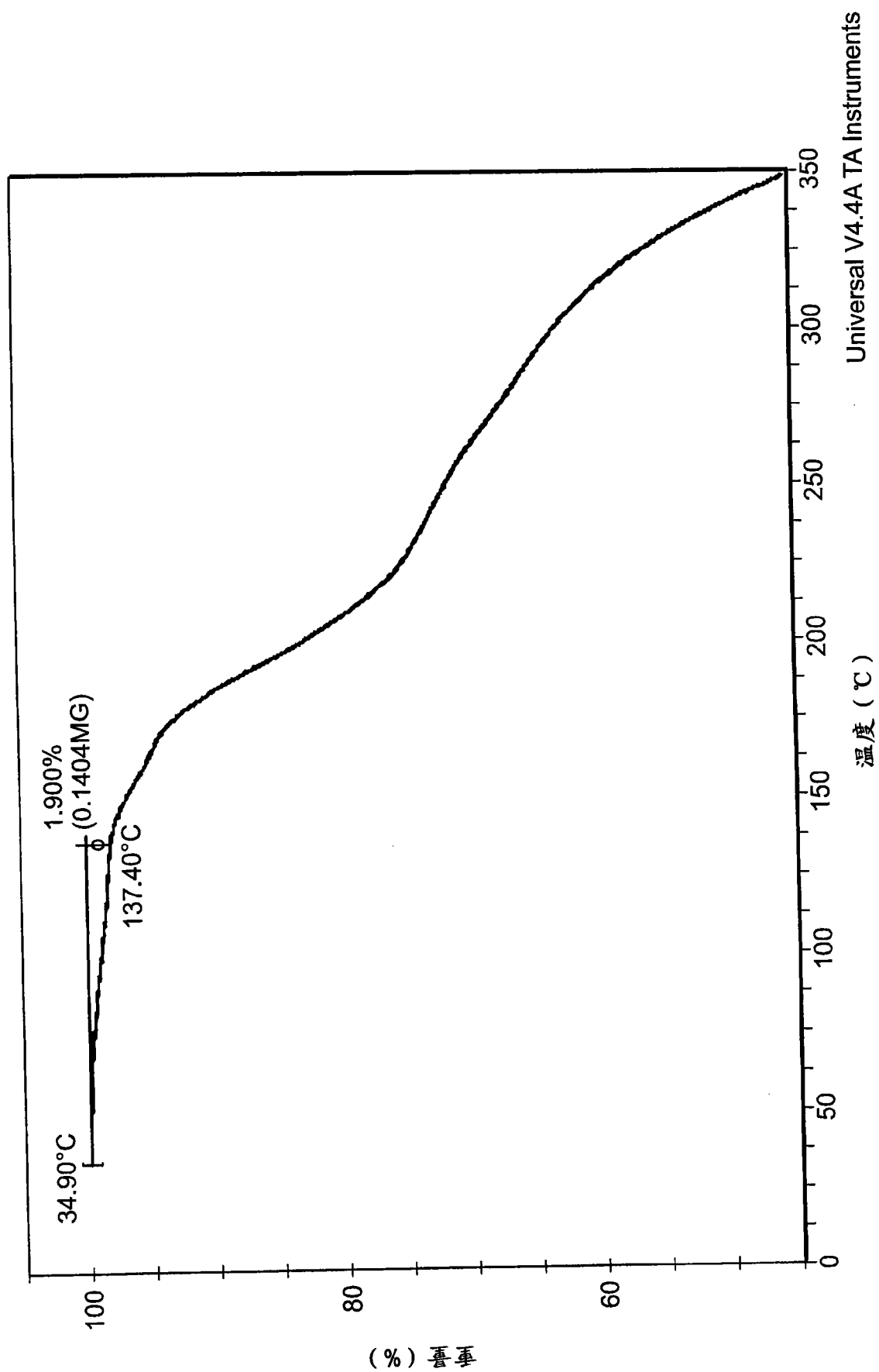


图 14