



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102985090 B

(45) 授权公告日 2014. 11. 26

(21) 申请号 201180034077. 5

(22) 申请日 2011. 07. 08

(30) 优先权数据

61/399, 264 2010. 07. 09 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2013. 01. 09

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2011/043391 2011. 07. 08

(87) PCT国际申请的公布数据

W02012/006544 EN 2012. 01. 12

(73) 专利权人 泰华制药工业有限公司

地址 以色列佩塔迪克瓦

(72) 发明人 U · T · 福瑞斯泰迪特

(74) 专利代理机构 上海天翔知识产权代理有限公司

公司 31224

代理人 刘粉宝

(51) Int. Cl.

A61K 31/497(2006. 01)

(56) 对比文件

Karl Janssomy 等. Synthesis

and Reactivity of Laquinimod, a
Quinoline-3-carboxamide: Intramolecular
Transfer of the Enol Proton to a Nitrogen
Atom as a Plausible Mechanism for Ketene
Formation.《J. Org. Chem.》. 2006, 第 71 卷 (第
4 期), 1658-1667.

审查员 葛嘉

权利要求书1页 说明书9页 附图3页

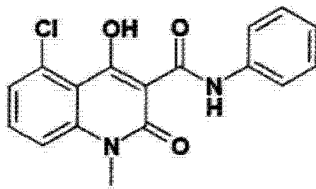
(54) 发明名称

5- 氯 -4- 羟基 -1- 甲基 -2- 氧代 -N- 苯
基 -1, 2- 二氢喹啉 -3- 甲酰胺、其盐和用途

(57) 摘要

本发明提供 5- 氯 -4- 羟基 -1- 甲基 -2- 氧
代 -N- 苯基 -1, 2- 二氢喹啉 -3- 甲酰胺、其盐和用
途。

1. 一种医药组合物,其包含以下的混合物:
 - a) 拉喹莫德(laquinimod)或其医药学上可接受的盐;
 - b) 至少一种医药学上可接受的载体;以及
 - c) 具有以下结构的化合物:



其以按所述化合物和拉喹莫德的组合重量计小于 0.1% 的量存在。

2. 根据权利要求 1 所述的医药组合物,其中所述化合物以按所述化合物和拉喹莫德的组合重量计小于 3ppm 的量存在。

3. 如权利要求 2 所述的医药组合物,其中所述化合物以按所述化合物和拉喹莫德的组合重量计小于 2ppm 的量存在。

4. 根据权利要求 1 到 3 中任一权利要求所述的医药组合物,其呈片剂形式。

5. 一种制备根据权利要求 1 到 4 中任一权利要求所述的医药组合物的工艺,所述工艺包含:

- a) 获得一批拉喹莫德或其医药学上可接受的盐;
- b) 利用装置测定存在于所述批次的拉喹莫德或其医药学上可接受的盐中的 5-氯-4-羟基-1-甲基-2-氧代-N-苯基-1,2-二氢喹啉-3-甲酰胺的总量;以及
- c) 仅在所述批次经测定具有按重量计小于 0.10% 的 5-氯-4-羟基-1-甲基-2-氧代-N-苯基-1,2-二氢喹啉-3-甲酰胺时,才使用所述批次制备所述医药组合物。

5- 氯 -4- 羟基 -1- 甲基 -2- 氧代 -N- 苯基 -1, 2- 二氢喹啉 -3- 甲酰胺、其盐和用途

[0001] 本申请案主张 2010 年 7 月 9 日申请的美国临时申请案第 61/399, 264 号的优先权, 所述申请案的内容以引用的方式并入本文中。

[0002] 在本申请案的全篇中, 参考了各种公开案、已公开的专利申请案和专利。这些文件的公开内容在此以全文引用的方式并入本申请案中, 以便更充分地描述与本发明有关的现有技术。

背景技术

[0003] 拉喹莫德(Laquinimod)是一种已在急性实验性自身免疫性脑脊髓炎(aEAE)模型中展示有效的化合物(美国专利第 6, 077, 851 号)。其化学名是 N- 乙基 -N- 苯基 -1, 2- 二氢 -4- 羟基 -5- 氯 -1- 甲基 -2- 氧代喹啉 -3- 甲酰胺, 并且其化学登记号是 248281-84-7。拉喹莫德的合成工艺和其钠盐的制备公开于美国专利第 6, 077, 851 号中。拉喹莫德的另一合成工艺公开于美国专利第 6, 875, 869 号中。

[0004] 包含拉喹莫德钠的医药组合物公开于 PCT 国际申请公开案第 W02005/074899 号中。

[0005] 拉喹莫德钠是一种具有高口服生物可用性的新颖合成化合物, 已提出将其作为口服调配物用于治疗多发性硬化症(MS)。(波尔曼 C (Polman, C) 等人, (2005) “用拉喹莫德治疗减少复发性 MS 中活动性 MRI 病变的发生(Treatment with laquinimod reduces development of active MRI lesions in relapsing MS)”, 神经病学(Neurology). 64:987-991; 桑德伯格 - 沃尔海姆 M (Sandberg-Wollheim M) 等人 (2005) “患者中使用高剂量口服拉喹莫德的 48 周开放安全性研究(48-week open safety study with high-dose oral laquinimod in patients)” 多发性硬化症(MultScler). 11:S154) 研究还展示拉喹莫德可减少复发性 MS 中活动性 MRI 病变的发生。(波尔曼 C 等人, (2005) “用拉喹莫德治疗减少复发性 MS 中活动性 MRI 病变的发生”, 神经病学. 64:987-991)。

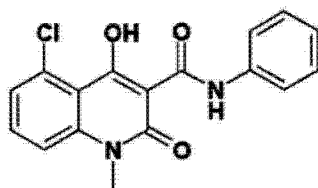
[0006] 为了将拉喹莫德制备成制药药物产品, 需要将本文所公开的杂质考虑在内的工艺。

发明内容

[0007] 在拉喹莫德制备中已鉴别出不合需要的杂质。

[0008] 本发明提供一种组合物, 其包含具有以下结构的化合物:

[0009]



[0010] 所述化合物的量按组合物的组合重量计是大于 3ppm 到小于 90wt%; 以及载体。

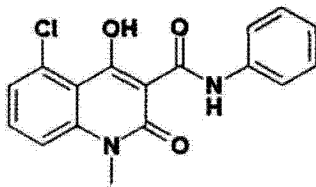
[0011] 本发明还提供一种医药组合物,其包含以下的混合物:

[0012] a) 拉喹莫德或其医药学上可接受的盐;

[0013] b) 至少一种医药学上可接受的载体;以及

[0014] c) 具有以下结构的化合物:

[0015]



[0016] 其以按所述化合物和拉喹莫德的组合重量计小于 0.1% 的量存在。

[0017] 本发明另外提供一种制备本文所述的医药组合物的工艺,所述工艺包含:

[0018] a) 获得一批拉喹莫德或其医药学上可接受的盐;

[0019] b) 利用装置测定存在于所述批次的拉喹莫德或其医药学上可接受的盐中的 5-氯-4-羟基-1-甲基-2-氧代-N-苯基-1,2-二氢喹啉-3-甲酰胺的总量;以及

[0020] c) 仅在所述批次经测定具有按重量计小于 0.10% 的 5-氯-4-羟基-1-甲基-2-氧代-N-苯基-1,2-二氢喹啉-3-甲酰胺时,才使用所述批次制备医药组合物。

[0021] 本发明还另外提供一种制造经验证批次的医药组合物用于分发的工艺,所述医药组合物含有拉喹莫德或其医药学上可接受的盐和至少一种医药学上可接受的载体,所述工艺包含:

[0022] a) 获得一批医药组合物;

[0023] b) 利用装置测定所述批次的样品中 5-氯-4-羟基-1-甲基-2-氧代-N-苯基-1,2-二氢喹啉-3-甲酰胺的总量;以及

[0024] c) 仅在所述批次的样品经测定含有,按重量计,相对于拉喹莫德和 5-氯-4-羟基-1-甲基-2-氧代-N-苯基-1,2-二氢喹啉-3-甲酰胺的组合重量小于 0.1% 的 5-氯-4-羟基-1-甲基-2-氧代-N-苯基-1,2-二氢喹啉-3-甲酰胺时,才验证所述批次用于分发。

[0025] 本发明还另外提供一种制造拉喹莫德或其医药学上可接受的盐的工艺,所述工艺包含:

[0026] a) 获得一批 N-乙基苯胺;

[0027] b) 利用装置测定所述批次的 N-乙基苯胺中苯胺的总量;以及

[0028] c) 仅在所述批次的 N-乙基苯胺经测定具有按重量计小于 0.5% 苯胺时,才使用所述批次的 N-乙基苯胺制备拉喹莫德或其医药学上可接受的盐。

[0029] 本发明还另外提供一种制造拉喹莫德或其医药学上可接受的盐的工艺,所述工艺包含:

[0030] a) 获得一批 N-乙基苯胺;

[0031] b) 通过从所述批次的 N-乙基苯胺分离苯胺来纯化所述批次的 N-乙基苯胺;以及

[0032] c) 使用来自步骤 b) 的经纯化批次的 N-乙基苯胺制备拉喹莫德或其医药学上可接受的盐。

[0033] 本发明还另外提供一种制造拉喹莫德或其医药学上可接受的盐的工艺,所述工艺

包含：

[0034] a) 获得一批含有按重量计小于 0.5% 苯胺的 N- 乙基苯胺；以及

[0035] b) 使用所述批次的 N- 乙基苯胺制备拉喹莫德或其医药学上可接受的盐。

[0036] 本发明还另外提供一种制备 5- 氯 -4- 羟基 -1- 甲基 -2- 氧代 -N- 苯基 -1, 2- 二氢喹啉 -3- 甲酰胺的工艺, 所述工艺包含：

[0037] a) 使 5- 氯 -1, 2- 二氢 -4- 羟基 -1- 甲基 -2- 氧代 - 喹啉 -3- 甲酸甲酯与苯胺在适合的条件下反应；以及

[0038] b) 从所述反应获得 5- 氯 -4- 羟基 -1- 甲基 -2- 氧代 -N- 苯基 -1, 2- 二氢喹啉 -3- 甲酰胺。

附图说明

[0039] 图 1 是使用 HPLC 分析条件 1 的含有 DELAQ 杂质的拉喹莫德样品的 HPLC 色谱图。

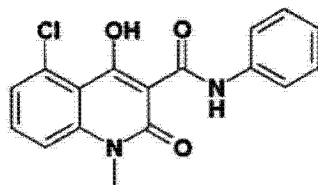
[0040] 图 2 是使用 HPLC 分析条件 2 的含有 DELAQ 杂质的拉喹莫德样品的 HPLC 色谱图。

[0041] 图 3 是含有苯胺杂质的 N- 乙基苯胺 (NEA) 样品的 HPLC 色谱图。

具体实施方式

[0042] 本发明提供一种组合物, 其包含具有以下结构的化合物：

[0043]



[0044] 所述化合物的量按组合物的组合重量计是大于 3ppm 到小于 90wt%；以及载体。

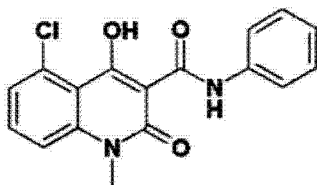
[0045] 本发明还提供一种医药组合物, 其包含以下的混合物：

[0046] a) 拉喹莫德或其医药学上可接受的盐；

[0047] b) 至少一种医药学上可接受的载体；以及

[0048] c) 具有以下结构的化合物：

[0049]



[0050] 其以按所述化合物和拉喹莫德的组合重量计小于 0.1% 的量存在。

[0051] 在医药组合物的一个实施例中, 所述化合物以按化合物和拉喹莫德的组合重量计小于 3ppm 或小于 2ppm 的量存在。

[0052] 在医药组合物的另一实施例中, 所述医药组合物呈片剂形式。

[0053] 本发明另外提供一种制备本文所述的医药组合物的工艺, 所述工艺包含：

[0054] a) 获得一批拉喹莫德或其医药学上可接受的盐；

[0055] b) 利用装置测定存在于所述批次的拉喹莫德或其医药学上可接受的盐中的

5-氯-4-羟基-1-甲基-2-氧代-N-苯基-1,2-二氢喹啉-3-甲酰胺的总量;以及

[0056] c)仅在所述批次经测定具有按重量计小于0.10%的5-氯-4-羟基-1-甲基-2-氧代-N-苯基-1,2-二氢喹啉-3-甲酰胺时,才使用所述批次制备医药组合物。

[0057] 本发明还另外提供一种制造经验证批次的医药组合物用于分发的工艺,所述医药组合物含有拉喹莫德或其医药学上可接受的盐和至少一种医药学上可接受的载体,所述工艺包含:

[0058] a)获得一批医药组合物;

[0059] b)利用装置测定所述批次的样品中5-氯-4-羟基-1-甲基-2-氧代-N-苯基-1,2-二氢喹啉-3-甲酰胺的总量;以及

[0060] c)仅在所述批次的样品经测定含有,按重量计,相对于拉喹莫德和5-氯-4-羟基-1-甲基-2-氧代-N-苯基-1,2-二氢喹啉-3-甲酰胺的组合重量小于0.1%的5-氯-4-羟基-1-甲基-2-氧代-N-苯基-1,2-二氢喹啉-3-甲酰胺时,才验证所述批次用于分发。

[0061] 本发明还另外提供一种制造拉喹莫德或其医药学上可接受的盐的工艺,所述工艺包含:

[0062] a)获得一批N-乙基苯胺;

[0063] b)利用装置测定所述批次的N-乙基苯胺中苯胺的总量;以及

[0064] c)仅在所述批次的N-乙基苯胺经测定具有按重量计小于0.5%苯胺时,才使用所述批次的N-乙基苯胺制备拉喹莫德或其医药学上可接受的盐。

[0065] 本发明还另外提供一种制造拉喹莫德或其医药学上可接受的盐的工艺,所述工艺包含:

[0066] a)获得一批N-乙基苯胺;

[0067] b)通过从所述批次的N-乙基苯胺分离苯胺来纯化所述批次的N-乙基苯胺;以及

[0068] c)使用来自步骤b)的经纯化批次的N-乙基苯胺制备拉喹莫德或其医药学上可接受的盐。

[0069] 本发明还另外提供一种制造拉喹莫德或其医药学上可接受的盐的工艺,所述工艺包含:

[0070] a)获得一批含有按重量计小于0.5%苯胺的N-乙基苯胺;以及

[0071] b)使用所述批次的N-乙基苯胺制备拉喹莫德或其医药学上可接受的盐。

[0072] 本发明还另外提供一种制备5-氯-4-羟基-1-甲基-2-氧代-N-苯基-1,2-二氢喹啉-3-甲酰胺的工艺,所述工艺包含:

[0073] a)使5-氯-1,2-二氢-4-羟基-1-甲基-2-氧代-喹啉-3-甲酸甲酯与苯胺在适合的条件下反应;以及

[0074] b)从所述反应获得5-氯-4-羟基-1-甲基-2-氧代-N-苯基-1,2-二氢喹啉-3-甲酰胺。

[0075] 在工艺的一个实施例中,所述反应步骤在庚烷与辛烷的混合物中进行。

[0076] 本文所公开的任何范围都意指所述范围内的所有百分之一、十分之一和整数单位量都作为本发明的一部分明确公开。因此,举例来说,0.01mg到50mg意指0.02mg、0.03mg……0.09mg;0.1mg、0.2mg……0.9mg;和1mg、2mg……49mg单位量作为本发明的实

施例包括在内。

[0077] 化合物特征是指化合物所展示的任何性质,例如通过 ^1H 核磁共振法、质谱法、红外、紫外或荧光分光光度法、气相色谱法、薄层色谱法、高效液相色谱法、元素分析、艾姆斯试验(Ames test)测定的峰或保留时间,可通过分析方法测定的溶解、稳定性和任何其它性质。一旦已知化合物的特征,信息即可用于例如筛选或测试样品中化合物的存在。

[0078] 如本文所用,“医药学上可接受的”载体或赋形剂是适于供人类和 / 或动物使用而无过度不良副作用(例如毒性、刺激和过敏反应)并且与合理的效益 / 风险比相称的载体或赋形剂。

[0079] 如本文所用,“原料药”是指药品中的活性成分,其在诊断、治愈、缓解、治疗或预防疾病中提供药理学活性或其它直接作用,或影响人类或动物身体的结构或任何功能。

[0080] 如本文所用,“药品”是指成品剂型,其含有原料药以及至少一种医药学上可接受的载体。

[0081] 如本文所用,“经分离的”化合物是按照确认的分离行为从粗反应混合物中分离的化合物。分离行为必然涉及使化合物与粗反应混合物的其它已知组分分离,其中允许粗反应混合物的某些杂质、未知副产物和剩余量的其它已知组分余留。纯化是确认的分离行为的一个实例。

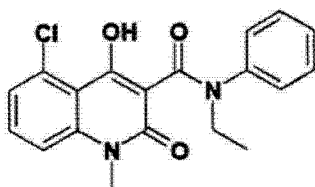
[0082] 如本文所用,“组合物”不同于“医药组合物”,并且在一天当中实质上是稳定且不变的。因此,应理解如本文所用的组合物存在于惰性环境中。如本文所用,“无”化学实体的组合物意指所述组合物含有(如果有的话)按照打算消除组合物中化学实体的存在的确认行为不能被避免的量的化学实体。

[0083] 如本文所用,“稳定性测试”是指在具体时间间隔和各种环境条件(例如温度和湿度)下进行的测试,以查看药品在其指定的储存寿命内降解与否或达到什么程度。测试的具体条件和时间能够促进药品在其储存寿命内预期遭遇的条件。举例来说,用于成品药物的稳定性测试的具体要求编纂于 21C.F.R § 211.166 中,其全部内容以引用的方式并入本文中。

[0084] 如本文所用,“约”在数值或范围的情形下意指所叙述或所主张的数值或范围的 $\pm 10\%$ 。

[0085] 拉喹莫德是具有以下化学结构的小分子:

[0086]



[0087] 拉喹莫德

[0088] 其是口服免疫调节剂,其已在各种实验性炎性 / 自身免疫性动物模型中展示治疗性作用,所述模型例如为实验性自身免疫性脑脊髓炎(EAE)、用于多发性硬化症(MS)的动物模型、用于炎性肠道疾病的葡聚糖硫酸钠(DSS)诱导的结肠炎、用于 I 型糖尿病(IDDM)的非肥胖糖尿病(NOD)小鼠、用于格林 - 巴利综合症(Guillain-Barre Syndrome)、全身性红斑狼疮症(SLE)、多发性硬化症、狼疮肾炎、狼疮关节炎、克罗恩氏病(Crohn's

Disease)和类风湿性关节炎的实验性自身免疫性神经炎(EAN)。拉喹莫德在这些模型中的治疗活性由多种机械作用引起,所述机械作用包括通过调节趋化因子介导的 T 细胞粘附而减少白细胞浸润到目标组织中、调节细胞因子平衡、使引起抗原呈递变化的 MHC II 类下调以及对树突状细胞亚群的作用。

[0089] 拉喹莫德的医药学上可接受的盐包括锂盐、钠盐、钾盐、镁盐、钙盐、锰盐、铜盐、锌盐、铝盐和铁盐。拉喹莫德的盐调配物和其制备工艺描述于例如美国专利申请公开案第 2005/0192315 号和 PCT 国际申请公开案第 W02005/074899 号中,所述公开案在此以引用的方式并入本申请案中。

[0090] 剂量单位可包含单一化合物或其化合物的混合物。剂量单位可经制备用于口服剂型,例如片剂、胶囊、丸剂、散剂和颗粒剂。

[0091] 拉喹莫德可与就预定投予形式来说适当选择并且与常规医药实践一致的适合的医药稀释剂、增量剂、赋形剂或载体(本文中统称为医药学上可接受的载体)混合投予。单位优选地呈适于口服投药的形式。拉喹莫德可单独投予,但通常与医药学上可接受的载体混合,并且以片剂或胶囊、脂质体的形式或以聚结粉末的形式共投予。适合的固体载体的实例包括乳糖、蔗糖、明胶和琼脂。胶囊或片剂可容易地调配,并且可被制成易于吞咽或咀嚼;其它固体形式包括颗粒和松散粉末。片剂可含有适合的粘合剂、润滑剂、崩解剂、着色剂、调味剂、流动诱导剂和熔融剂。举例来说,对于以片剂或胶囊的剂量单位形式口服投药,可将活性药物组分与口服无毒的医药学上可接受的惰性载体(例如乳糖、明胶、琼脂、淀粉、蔗糖、葡萄糖、甲基纤维素、磷酸二钙、硫酸钙、甘露糖醇、山梨糖醇、微晶纤维素等)组合。适合的粘合剂包括淀粉、明胶、天然糖(例如葡萄糖或 β -乳糖)、玉米淀粉、天然和合成胶(例如阿拉伯胶、黄蓍胶或海藻酸钠)、聚维酮(povidone)、羧甲基纤维素、聚乙二醇、蜡等。用于这些剂型的润滑剂包括油酸钠、硬脂酸钠、苯甲酸钠、乙酸钠、氯化钠、硬脂酸、硬脂富马酸钠、滑石等。崩解剂包括(但不限于)淀粉、甲基纤维素、琼脂、膨润土(bentonite)、三仙胶(xanthan gum)、交联羧甲基纤维素钠、羟基乙酸淀粉钠等。

[0092] 可用于调配本发明的口服剂型的技术、医药学上可接受的载体和赋形剂的具体实例描述于例如美国专利申请公开案第 2005/0192315 号、PCT 国际申请公开案第 W02005/074899 号、第 W02007/047863 号和第 W02007/146248 号中。

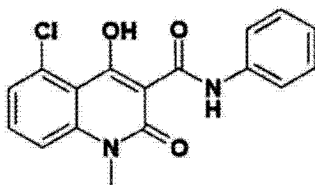
[0093] 用于制造适用于本发明的剂型的一般技术和组合物描述于以下参考文献中:7 现代制药学(7Modern Pharmaceuticals),第 9 章和第 10 章(班克(Banker)和罗德(Rhodes)编,1979);药物剂型:片剂(Pharmaceutical Dosage Forms:Tablets)(利伯曼(Lieberman)等人,1981);安斯艾尔(Ansel),药物剂型引言(Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms)第 2 版(1976);雷明顿氏制药科学(Remington's Pharmaceutical Sciences),第 17 版(宾夕法尼亚州伊斯顿的默克出版公司(Mack Publishing Company, Easton, Pa.), 1985);制药科学进展(Advances in Pharmaceutical Sciences)(戴维甘德顿(David Ganderton),崔佛琼斯(Trevor Jones)编,1992);制药科学进展第 7 卷(戴维甘德顿,崔佛琼斯,詹姆斯麦吉尼蒂(James McGinity)编,1995);用于药物剂型的水性聚合包衣(药物和制药科学)(Aqueous Polymeric Coatings for Pharmaceutical Dosage Forms (Drugs and the Pharmaceutical Sciences)),36 系列(詹姆斯麦吉尼蒂编,1989);药物微粒载体:治疗应用:药物和制药科学(Pharmaceutical Particulate Carriers:Therapeutic

Applications:Drugs and the Pharmaceutical Sciences), 第 61 卷(阿伦罗兰德(Alain Rolland)编, 1993);药物向胃肠道的递送 (Drug Delivery to the Gastrointestinal Tract) (生物科学中的埃利斯霍伍德丛书:制药技术系列(Ellis Horwood Books in the Biological Sciences. Series in Pharmaceutical Technology); J. G. 哈迪 (J. G. Hardy), S. S. 戴维斯 (S. S. Davis), 克莱夫 G. 威尔逊 (Clive G. Wilson) 编);现代制药学药物和制药科学 (Modern Pharmaceutics Drugs and the Pharmaceutical Sciences), 第 40 卷 (吉尔伯特 S. 班克 (Gilbert S. Banker), 克里斯多夫 T. 罗德斯 (Christopher T. Rhodes) 编)。这些参考文献在此以全文引用的方式并入本申请案中。

[0094] 作为杂质的 DELAQ

[0095] DELAQ(脱乙基拉喹莫德;5-氯-4-羟基-1-甲基-2-氧代-N-苯基-1,2-二氢喹啉-3-甲酰胺)具有以下化学结构,其是拉喹莫德合成的不合需要的合成副产物和拉喹莫德的潜在降解副产物。

[0096]



[0097] DELAQ的任何活性尚未充分表征。因此,通常需要使拉喹莫德原料药和含有拉喹莫德的最终药品中任何杂质(例如 DELAQ)的量降到最低。

[0098] 通过 HPLC 方法测试作为拉喹莫德钠原料药中杂质的 DELAQ,并且此杂质的规格以不超过 0.1% 提供。拉喹莫德钠的 GMP 原料药批次已经测试,并且已发现这些批次中 DELAQ 的水平低于 3ppm。

[0099] 已开发用于测定 DELAQ 浓度的数种分析和生物分析方法。当前用于各种基质中 DELAQ 分析的生物分析方法是基于 LC-MS,并且在低 pg/mL 血浆水平下具有灵敏性。

[0100] 通过参考后续实验细节将更好地理解本发明,但所属领域的技术人员将易于了解所详述的具体实验仅说明如更充分地描述于其后随附权利要求书中的本发明。

[0101] 实验细节:

[0102] 实例 1:制备 DELAQ

[0103] 由 5-氯-1,2-二氢-4-羟基-1-甲基-2-氧代-喹啉-3-甲酸甲酯合成 DELAQ

[0104] 5-氯-1,2-二氢-4-羟基-1-甲基-2-氧代-喹啉-3-甲酸甲酯的制备描述于美国专利第 7,560,557 号的实例 1 中,所述专利的全部内容以引用的方式并入本文中。

[0105] 将 5-氯-1,2-二氢-4-羟基-1-甲基-2-氧代-喹啉-3-甲酸甲酯(10.0g)、苯胺(1.5 当量)、庚烷(60ml)和辛烷(60ml)混合并加热。在 5 小时期间蒸馏出挥发物(主要是庚烷和形成的甲醇)。冷却到室温之后,过滤结晶悬浮液,并且用庚烷洗涤结晶并在真空中干燥,得到 DELAQ (10.4g,85% 产率,通过 HPLC 得出 >99% 纯度)。

[0106] 实例 2:分析作为拉喹莫德中杂质的 DELAQ

[0107] 当起始物质 N-乙基苯胺(NEA)含有苯胺作为杂质时,DELAQ 可在拉喹莫德的制造中作为杂质形成。因此,监测起始物质 N-乙基苯胺中苯胺的水平,并且仅在苯胺量低于 0.5% 时,才将 N-乙基苯胺用于制造拉喹莫德。

[0108] 如下表中所示,掺杂苯胺的起始物质 N- 乙基苯胺已在拉喹莫德钠粗产物中产生高水平的 DELAQ。

[0109]

掺杂状况	NEA 中苯胺的实际 (按重量计) %	LAQ-Na 粗产物中 DELAQ (按重量计) %	结晶的 LAQ-Na 中 DELAQ (按重量计) %
掺杂 0.54%苯胺和 1.08%二乙基苯胺	0.69	0.48	ND
掺杂 0.54%苯胺	0.69	0.66	ND

[0110] 在以下 HPLC 条件下分析起始物质 N- 乙基苯胺中苯胺的量。

[0111] 柱和装填 :Inertsil ODS-3V, 5 μ m, 4.6 $\times$ 250mm, GL Sciences

[0112] 保护柱 :Opti-Guard C18, 1mm

[0113] 检测 :UV 在 240nm 下

[0114] 流动速率 :1.5mL/min

[0115] 注射体积 :50 μ L

[0116] 柱温 :40 $^{\circ}$ C

[0117] 自动取样器温度 :5 $^{\circ}$ C

[0118] 流动相 :30% 溶液 A-70% 溶液 B (ACN 的总浓度是 55%)

[0119] 溶液 A :800mL 乙酸铵缓冲液 -200mLACN

[0120] 溶液 B :300mL 乙酸铵缓冲液 -700mLACN

[0121] 缓冲液 pH7.0 :在 2000mL 水中溶解 7.7g 乙酸铵,并且用氨水或冰乙酸调整到 pH7.0 $\pm$ 0.05

[0122] 稀释剂 A :乙腈 / 水 1:1

[0123] 稀释剂 B :流动相

[0124] 运行时间 :至少 35 分钟

[0125] 使用上述 HPLC 方法针对苯胺的存在分析 N- 乙基苯胺的样品。图 3 是展示在所述 HPLC 条件下 N- 乙基苯胺样品的分析结果的 HPLC 色谱图。如图 3 中所示,苯胺在使用上述 HPLC 方法的 3.003 分钟的保留时间下存在于 N- 乙基苯胺样品中。

[0126] 已监测作为拉喹莫德钠原料药中杂质的 DELAQ。仅在使用 HPLC 分析 DELAQ 杂质不超过 0.1% 时,才批准拉喹莫德钠原料药批次用于制备最终药品。

[0127] 用于分析拉喹莫德钠原料药中 DELAQ 杂质的 HPLC 方法是基于反相 HPLC,所述反相 HPLC 包含具有高亲油性和极低硅醇活性的反相柱、含有乙腈和乙酸铵缓冲水溶液的流动相以及 UV- 可见光检测器(在 240nm 的波长下运行)。已使用 HPLC 在以下条件下分析 DELAQ 杂质。

[0128] 条件 1:

[0129] 柱和装填 :Inertsil ODS-3V, 5 μ m, 4.6 $\times$ 250mm, GL Sciences

[0130] 保护柱 :Opti-Guard C18, 1mm

[0131] UV 检测 :240nm

[0132] 流动速率 :1.5mL/min

[0133] 注射体积 :50 μ L

[0134] 柱温 :40 $^{\circ}$ C

[0135] 自动取样器温度 :5 $^{\circ}$ C

[0136] 运行时间 :12 分钟

[0137] 流动相 :850mL ACN-150mL 乙酸铵缓冲液

[0138] 乙酸铵缓冲液 :在 2000mL 水中溶解 7.7g 乙酸铵,并且用氨水或冰乙酸调整到 pH7.0 $\pm$ 0.05。

[0139] 使用上述 HPLC 条件 1 针对 DELAQ 的存在分析拉喹莫德原料药的样品。图 1 是展示在所述 HPLC 条件下拉喹莫德原料药样品的分析结果的 HPLC 色谱图。如图 1 中所示,DELAQ 在 HPLC 条件 1 下在 6.042 分钟的保留时间下存在于拉喹莫德原料药样品中。

[0140] 条件 2:

[0141] 柱和装填 :Inertsil ODS-3V,5 μ m,4.6 $\times$ 250mm, GL Sciences

[0142] 保护柱 :Opti-Guard C18,1 $\times$ 10mm

[0143] 检测 :UV 在 240nm 下

[0144] 流动速率 :1.5mL/min

[0145] 注射体积 :50 μ L

[0146] 柱温 :40 $^{\circ}$ C

[0147] 自动取样器温度 :5 $^{\circ}$ C

[0148] 运行时间 :12 分钟

[0149] 流动相 :充分混合 750mL 乙腈和 250mL 乙酸铵缓冲液,使用前脱气

[0150] 乙酸铵缓冲液 :在 2000mL 水中溶解 7.7g 乙酸铵,并且用氨水或冰乙酸调整到 pH7.0 $\pm$ 0.05。

[0151] 还使用上述 HPLC 条件 2 针对 DELAQ 的存在分析拉喹莫德原料药的样品。图 2 是展示在所述 HPLC 条件下拉喹莫德原料药样品的分析结果的 HPLC 色谱图。如图 2 中所示,DELAQ 在 HPLC 条件 2 下在 10.144 分钟的保留时间下存在于拉喹莫德原料药样品中。

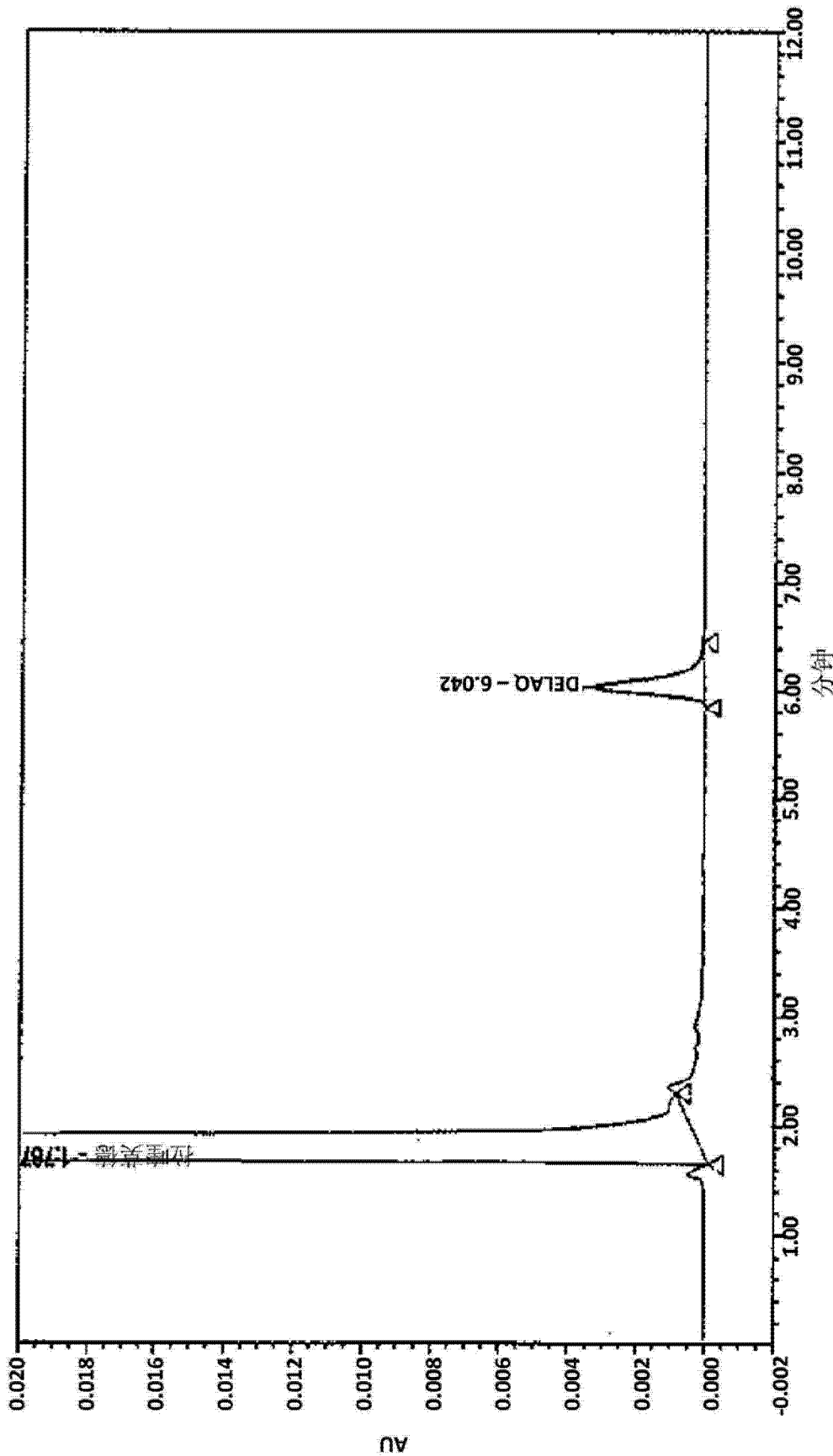


图 1

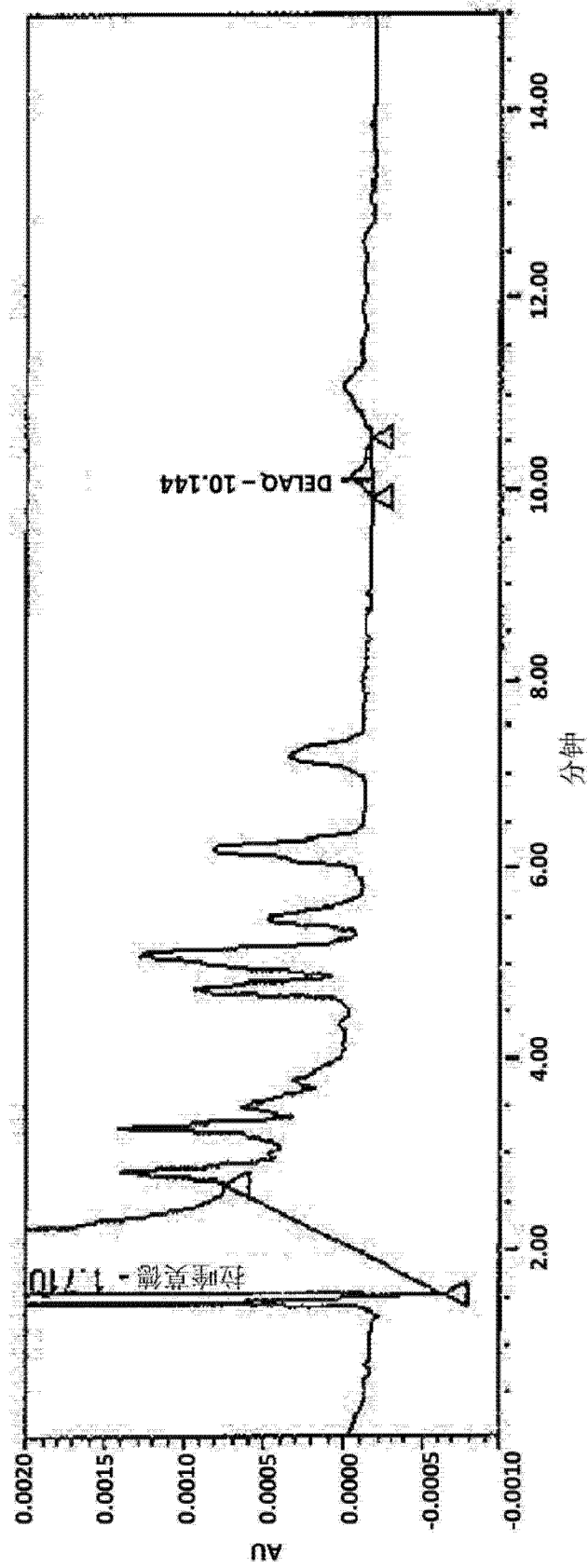


图 2

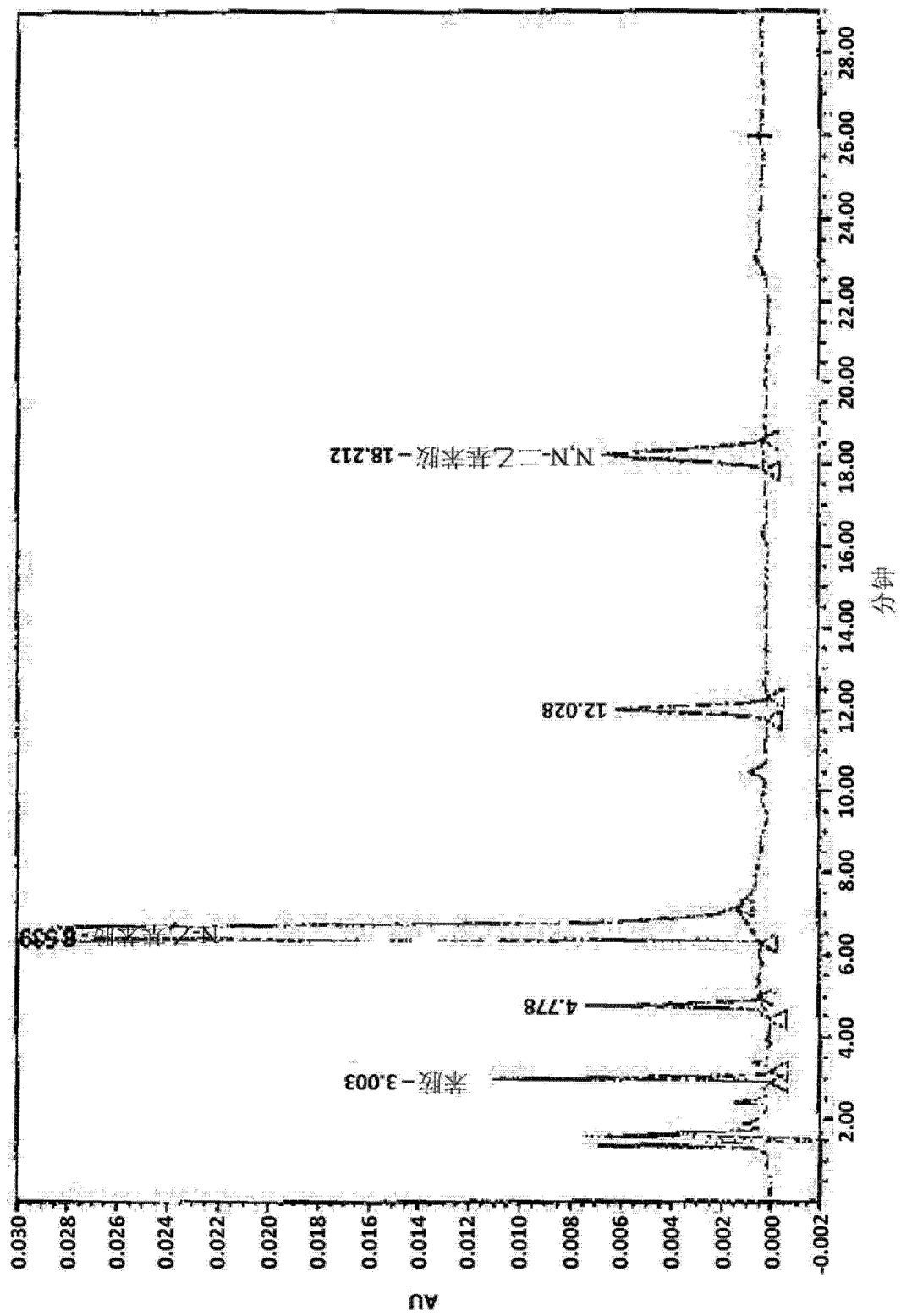


图 3