



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104693191 A

(43) 申请公布日 2015.06.10

(21) 申请号 201310666337.1

(22) 申请日 2013.12.09

(71) 申请人 天津药物研究院

地址 300193 天津市南开区鞍山西道 308 号

(72) 发明人 赵桂龙 王玉丽 谢亚非 刘钰强

韩书文 吴疆 刘鹏 徐为人

汤立达 邹美香

(51) Int. Cl.

C07D 409/10(2006.01)

C07D 207/16(2006.01)

A61K 31/381(2006.01)

A61P 3/10(2006.01)

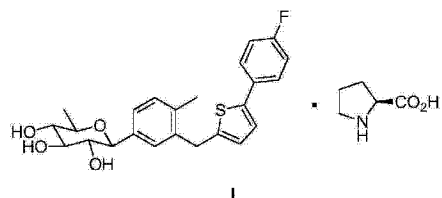
权利要求书2页 说明书10页 附图7页

(54) 发明名称

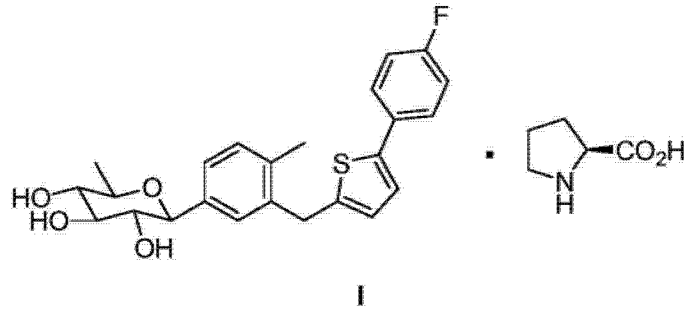
一种共结晶 I 及其制备方法和应用

(57) 摘要

本发明属于医药技术领域,公开了一种含有脱氧葡萄糖结构的苯基 C-葡萄糖苷衍生物和 L-脯氨酸的共结晶 I,具体涉及一种 4-(6-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-2-[5-(4-氟苯基)噻吩-2-甲基]-1-甲基苯和 L-脯氨酸的共结晶,以及该共结晶的制备方法和应用。该共结晶 X-射线衍射特征吸收峰(2θ)值为:5.08、6.12、9.70、10.56、15.44、16.48、18.44、19.00、19.34、19.90、21.50、22.52、23.14、24.28、26.62、27.60;2θ 测量误差为±0.2。该晶型具有外观状态稳定、能进一步提高该化合物的纯度、保存稳定等特点,具备直接供应原料药的特点。



1. 一种共结晶 I, 其特征在于: 该共结晶为 4-(6-脱氧- β -D-吡喃葡萄糖基)-2-[5-(4-氟苯基)噻吩-2-甲基]-1-甲基苯 (CD-6) 与 L-脯氨酸形成的共结晶, 该共结晶 X-射线衍射特征吸收峰 (2θ) 值为: 5.08、6.12、9.70、10.56、15.44、16.48、18.44、19.00、19.34、19.90、21.50、22.52、23.14、24.28、26.62、27.60; 2θ 测量误差为 ± 0.2 ;



2. 如权利要求 1 所述的共结晶 I, 其特征在于: 所述 X-射线粉末衍射具有下表所列的特征吸收:

| 2θ (°) | d(Å) | 2θ (°) | d(Å) |
|---------------|-------|---------------|------|
| 5.08 | 17.38 | 19.34 | 4.59 |
| 6.12 | 14.43 | 19.90 | 4.46 |
| 9.70 | 9.11 | 21.50 | 4.13 |
| 10.56 | 8.37 | 22.52 | 3.94 |
| 15.44 | 5.73 | 23.14 | 3.84 |
| 16.48 | 5.37 | 24.28 | 3.66 |
| 18.44 | 4.81 | 26.62 | 3.35 |
| 19.00 | 4.67 | 27.60 | 3.23 |

3. 如权利要求 1 或 2 所述的共结晶 I, 其特征在于: 所述共结晶 X-射线粉末衍射图如说明书附图 2 所示。

4. 如权利要求 1 或 2 所述的共结晶 I, 其特征在于: 其差热扫描图谱在 95°C 处具有放热峰, 在 136°C、166°C 和 191°C 处有吸热峰。

5. 一种制备权利要求 1-2 任一项所述的共结晶 I 的方法, 其特征在于: 将 L-脯氨酸和水溶于乙醇, 搅拌下加入化合物 CD-6 的乙醇溶液, 搅拌析晶, 抽滤、干燥, 即得到共结晶 I。

6. 一种药物组合物, 其特征在于: 包含权利要求 1-2 中任一项所述的共结晶 I 作为有效成分, 以及适当的载体或赋形剂。

7. 权利要求 6 所述的药物组合物, 其中, 所述的组合物为固体口服制剂、液体口服制剂或注射剂。

8. 权利要求 7 所述固体及液体口服制剂包括: 分散片、肠溶片、咀嚼片、口崩片、胶囊、颗粒剂、口服溶液剂, 所述注射剂制剂包括注射用水针、注射用冻干粉针、大输液、小输液。

-
9. 权利要求 1-2 任一项所述的共结晶 I 在制备治疗糖尿病药物方面的应用。

一种共结晶 I 及其制备方法和应用

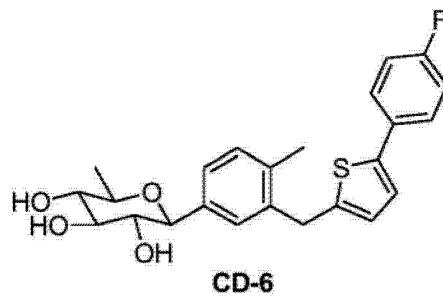
技术领域

[0001] 本发明属于医药技术领域,涉及一种含有脱氧葡萄糖结构的苯基 C- 葡萄糖苷衍生物和 L- 脯氨酸的共结晶,具体涉及一种 4-(6- 脱氧 - β -D- 吡喃葡萄糖基)-2-[5-(4- 氟苯基)噻吩-2- 甲基]-1- 甲基苯和 L- 脯氨酸的共结晶 I,以及该共结晶的制备方法和应用。

背景技术

[0002] 本发明人已就 4-(6- 脱氧 - β -D- 吡喃葡萄糖基)-2-[5-(4- 氟苯基)噻吩-2- 甲基]-1- 甲基苯(为描述方便,以下简称为 CD-6)作为 Na^+ - 葡萄糖共转运子 2(或称为 2 型钠葡萄糖共转运子,sodium-dependent glucose cotransporter2,缩写为 SGLT2)抑制剂提交了发明专利申请(CN201310213608.8)。该化合物可用于制备治疗糖尿病的药物组合物,其化学结构式如下:

[0003]



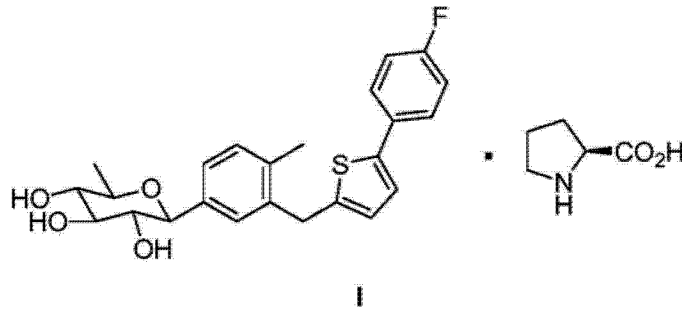
[0004] 在研究过程中,本发明人发现,制备上述化合物 CD-6 的最后步骤的后期是从溶液中通过蒸干溶剂而分离得到产品,其形态为介于白色泡沫和白色固体之间的一种固态物质,且该状态在各批次之间波动不定,难以保持恒定的外观状态,不适合直接作为原料药使用。同时,由于该化合物往往呈现出一定的泡沫特性,从而加大了进一步提纯的难度,给制备高纯度的原料药带来了一定困难。

发明内容

[0005] 因此,本发明的目的在于克服上述缺陷,提供了 CD-6 和 L- 脯氨酸的共结晶 I,该共结晶 I 具有稳定的外观状态,有助于进一步提高 CD-6 的纯度,并且提高了保存稳定性,可以稳定地供给制备原料药,并且还提供了该晶型的制备方法和应用。

[0006] 该共结晶 I 的化学结构式如下:

[0007]



[0008] 本发明提供了一种 4-(6-脱氧- β -D-吡喃葡萄糖基)-2-[5-(4-氟苯基)噻吩-2-甲基]-1-甲基苯 (CD-6) 和 L-脯氨酸的共结晶 I, 以 2θ 角度表示的 X-射线粉末衍射 (PXRD, Powder X-ray Diffraction) 在 5.08、6.12、9.70、10.56、15.44、16.48、18.44、19.00、19.34、19.90、21.50、22.52、23.14、24.28、26.62、27.60° 附近处具有衍射峰。

[0009] 根据本发明的共结晶 I, 其中, 其 X-射线粉末衍射在晶面间距 d 值为 17.38、14.43、9.11、8.37、5.73、5.37、4.81、4.67、4.59、4.46、4.13、3.94、3.84、3.66、3.35、3.23Å 的位置附近处具有衍射峰。优选地, 所述晶面间距 d 值与 2θ 角度之间可以具有如下对应关系, 如表 1 所示。

[0010] 表 1 晶面间距 d 值与 2θ 之间对应关系

[0011]

| 2θ (°) | d (Å) | 2θ (°) | d (Å) |
|---------------|---------|---------------|---------|
| 5.08 | 17.38 | 19.34 | 4.59 |
| 6.12 | 14.43 | 19.90 | 4.46 |
| 9.70 | 9.11 | 21.50 | 4.13 |
| 10.56 | 8.37 | 22.52 | 3.94 |
| 15.44 | 5.73 | 23.14 | 3.84 |
| 16.48 | 5.37 | 24.28 | 3.66 |
| 18.44 | 4.81 | 26.62 | 3.35 |
| 19.00 | 4.67 | 27.60 | 3.23 |

[0012] 根据本发明的共结晶 I, 其中, 其差热分析 (DTA, Differential Thermal Analysis) 图谱在 95°C 处具有放热峰, 在 136°C、166°C 和 191°C 处有吸热峰。

[0013] 根据本发明的共结晶 I, 其中, 其 X-射线粉末衍射图谱如附图 2 所示。

[0014] 本发明还提供了制备上述共结晶 I 的方法, 该方法包括: 将 L-脯氨酸和水溶于乙醇, 得到含有 L-脯氨酸的混合溶液, 然后在搅拌下向所述混合溶液加入 4-(6-脱氧- β -D-吡喃葡萄糖基)-2-[5-(4-氟苯基)噻吩-2-甲基]-1-甲基苯的乙醇溶液, 继续搅拌析晶, 抽滤收集结晶, 然后干燥, 得到共结晶 I。

[0015] 根据本发明的方法, 其中, 在所述含有 L-脯氨酸的混合溶液中, L-脯氨酸与水的质量体积比 (g/ml) 为 4:0 ~ 4, 优选为 4:3 ~ 3.5; L-脯氨酸与乙醇的质量体积比 (g/

ml) 为 4:30 ~ 60, 优选为 4:33 ~ 40; 优选地, 在所述 4-(6-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-2-[5-(4-氟苯基)噻吩-2-甲基]-1-甲基苯的乙醇溶液中, 4-(6-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-2-[5-(4-氟苯基)噻吩-2-甲基]-1-甲基苯与乙醇的质量体积比 (g/ml) 为 1:15 ~ 25, 优选为 1:20; 更优选地, 所述 4-(6-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-2-[5-(4-氟苯基)噻吩-2-甲基]-1-甲基苯与所述 L-脯氨酸的摩尔比 (/g) 为 1:0.8 ~ 2, 优选为 1:1.2。

[0016] 优选地, 上述操作均可在室温下进行, 例如在室温下搅拌析晶等。该室温例如为 25 ~ 35℃, 可以为 25 ~ 27℃, 可优选为 25℃。

[0017] 优选地, 使用真空油泵进行干燥操作, 干燥时间为 4 ~ 8 小时, 优选为 5 小时。

[0018] 本发明还提供了一种药物组合物, 所述药物组合物包含有效量的本发明的共结晶 I 和一种或多种药学上可接受的辅料。所述药学上可接受的辅料可以是保持药物剂型的基质或辅料, 通过根据不同的药剂来选用或组合物使用, 可选择性地包括载体、赋形剂、稀释剂、填充剂、粘合剂、崩解剂、润滑剂、助流剂、泡腾剂、矫味剂、防腐剂、包衣材料等。赋形剂包括例如微晶纤维素、乳糖、预胶化淀粉、淀粉、糊精、磷酸钙、蔗糖、右旋糖酐、甘露醇、山梨醇、葡萄糖、果糖、水、聚乙二醇、丙二醇、甘油、环糊精、环糊精衍生物中的一种或几种的组合物。填充剂包括例如乳糖、蔗糖、糊精、淀粉、预胶化淀粉、甘露醇、山梨醇、磷酸氢钙、硫酸钙、碳酸钙、微晶纤维素的一种或几种的组合物。粘合剂包括例如蔗糖、淀粉、聚维酮、羧甲基纤维素钠、羟丙甲纤维素、羟丙纤维素、甲基纤维素、聚乙二醇、药用乙醇、水的一种或几种的组合物。崩解剂包括例如淀粉、交联聚微酮、交联羧甲基纤维素钠、低取代羟丙基纤维素、羧甲基纤维素钠、泡腾崩解剂的一种或几种的组合物。

[0019] 根据本发明的药物组合物, 其中, 所述药物组合物可以为固体口服制剂、液体口服制剂或注射剂。优选地, 所述固体口服制剂包括分散片、肠溶片、咀嚼片、口崩片、胶囊或颗粒剂; 所述液体口服制剂包括口服溶液剂; 所述注射剂包括注射用水针、注射用冻干粉针、大输液或小输液。

[0020] 本发明还提供了本发明的共结晶 I 或按照本发明的方法制备的共结晶 I 在制备用于治疗糖尿病的药物组合物中的用途。本发明人已发现 CD-6 具有 SGLT2 酶的抑制作用, 可作为有效成分用于制备糖尿病方面的治疗药物。并且通过体外对人源化 SGLT2 的抑制和大鼠尿糖排泄模型验证证实, 本发明的 CD-6 和 L-脯氨酸的共结晶 I 具有较高的 SGLT2 酶抑制活性。

[0021] 本发明所述的 CD-6 的共结晶 I 在相当宽的剂量范围内是有效的。例如每天服用的剂量约在 1mg ~ 300mg/ 人范围内, 分为一次或数次给药。实际服用本发明所述的 CD-6 和 L-脯氨酸的共结晶 I 的剂量可由医生根据有关的情况来决定。这些情况包括: 被治疗者的身体状况、给药途径、年龄、体重、对药物的个体反应, 症状的严重程度等。

[0022] 与通过直接蒸干溶液等方式制得的介于泡沫状和正常固体之间的 CD-6 样品相比, 本发明所制备的 CD-6 和 L-脯氨酸的共结晶 I 在批次间具有良好的外观稳定性 (是白色固体, 而非具有一定程度的泡沫状特征) 和重现性, 并且纯度进一步提高。例如, 本发明人通过试验发现, 该共结晶 I 在连续制备 10 批的批次范围内, 其外观是稳定的, 均是正常的白色固体, 且经过 PXRD 和 DTA 分析每批均是稳定的共结晶 I。另外, 各批经过 HPLC 分析, 共结晶 I 的纯度为 99.50% ~ 99.60%, 均显著高于 CD-6 原料的纯度 99.04%, 且杂质个数比

原料少(原料有 7 个杂质,所有批次的共结晶 I 均稳定在 3 个杂质)。同时,各批次经 ^1H NMR 测试发现共结晶 I 中的 CD-6 与 L- 脯氨酸的摩尔比例均能稳定地保持为 1:1。

[0023] 此外,本发明的 CD-6 和 L- 脯氨酸的共结晶 I 还具有良好的保存稳定性。例如,本发明人通过实验验证,该共结晶 I 在为期两周的对光、热、水蒸气的稳定性实验中,其杂质没有明显增加,且共结晶 I 中的 CD-6 与 L- 脯氨酸的摩尔比例均能稳定地保持为 1:1,因而具有良好的贮存稳定性。

[0024] 基于上述特性,本发明的 CD-6 和 L- 脯氨酸的共结晶 I 能够作为 CD-6 原料药的稳定供给源,更适于工业化生产。

附图说明

[0025] 以下,结合附图来详细说明本发明的实施方案,其中:

[0026] 图 1 示出了实施例 1 中制得的共结晶 I 的差热分析 (DTA) 图谱;

[0027] 图 2 示出了实施例 1 中制得的共结晶 I 的 PXRD 图谱;

[0028] 图 3 示出了实施例 1 中制得的共结晶 I 的 ^1H NMR 图谱;

[0029] 图 4 示出了用于制备共结晶 I 的 L- 脯氨酸的差热分析 (DTA) 图谱;

[0030] 图 5 示出了用于制备共结晶 I 的 L- 脯氨酸的 PXRD 图谱。

[0031] 图 6 示出了用于制备共结晶 I 的 CD-6 原料的差热分析 (DTA) 图谱;

[0032] 图 7 示出了用于制备共结晶 I 的 CD-6 原料的 PXRD 图谱。

具体实施方式

[0033] 下面通过具体的实施例进一步说明本发明,但是,应当理解为,这些实施例仅仅是用于更详细具体地说明之用,而不应理解为用于以任何形式限制本发明。

[0034] 本部分对本发明试验中所使用到的材料以及试验方法进行一般性的描述。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。本领域技术人员清楚,在上下文中,如果未特别说明,本发明所用材料和操作方法是本领域公知的。

[0035] 结合以下实施例,本发明对共结晶 I 的测定条件如下:

[0036] X- 射线粉末衍射 (PXRD) 条件:

[0037] 仪器:日本理学 D/Max-2500 型 18kW

[0038] 衍射仪:多晶粉末衍射仪

[0039] 靶:Cu-K α 辐射, $\lambda=1.5405\text{\AA}$, $2\theta=3\sim 50^\circ$

[0040] 管压:40KV

[0041] 管流:100mA

[0042] 扫描速度:8 $^\circ$ /min

[0043] 晶体石墨单色器

[0044] DS/SS=1 $^\circ$

[0045] RS:0.3mm

[0046] 差热分析 (DTA) 条件:

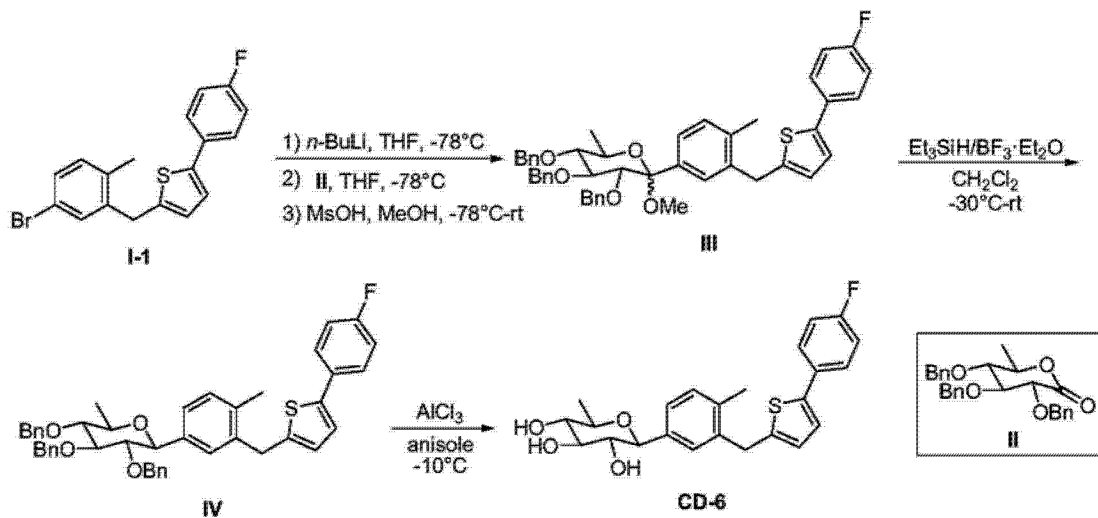
[0047] 仪器:日本理学 PTC-10A TG-DTA 分析仪

- [0048] 升温速率:10℃ /min
 [0049] 扫描温度范围:0 ~ 300℃
 [0050] 参比物:Al₂O₃
 [0051] 样品量:5.0mg 的待测共结晶 I
 [0052] 高效液相色谱(HPLC)条件:
 [0053] 色谱柱:C₁₈, 150mm×4.6mm, 5um
 [0054] 流动相:甲醇:水:乙酸=70:30:0.25
 [0055] 波长:230nm
 [0056] 流速:0.8ml/min
 [0057] 进样量:10uL
 [0058] 柱温:35℃
 [0059] 仪器:普析通用 L6 液相色谱仪
 [0060] 日立 L-7250 自动进样器
 [0061] 普析通用 LC Win 色谱工作站
 [0062] 核磁共振(NMR)条件:
 [0063] 仪器:Bruker 公司 AV400 型核磁共振仪
 [0064] 溶剂:DMSO-d₆

[0065] 实施例 1

[0066] 本实施例用于说明本发明 CD-6 和 L-脯氨酸的共结晶 I 及其制备过程。制备 CD-6 作为原料。可以参照以下反应路线:

[0067]



[0068] 具体制备过程可以为:

[0069] 一只 2L 的干燥圆底烧瓶中加入 36.1g (0.1mol) 化合物 I-1 和 600mL 干燥的 THF, 加入磁子, 氮气吹扫后用橡胶软塞封口。烧瓶置于液氮-乙醇体系中冷却至 -78℃, 启动电磁搅拌。慢慢用注射器滴加 62.5mL (0.1mmol) 1.6M 的正丁基锂, 滴加完毕后在该温度下继续搅拌半小时, 而后通过注射器慢慢滴加 43.3g (10mmol) II 溶于 200mL 干燥的 THF 制成的溶液。滴加完毕后, 反应混合物在该温度下继续搅拌 1 小时。在冰水浴冷却下, 通过滴液漏斗慢慢滴加 28.8g (0.3mol) 甲磺酸溶于 200mL 甲醇制成的溶液, 滴加完毕后室温下搅拌过

夜。反应混合物倾倒入 4000mL 冰水中,搅拌,用饱和 NaHCO_3 溶液调节 $\text{pH}=4-6$, 500mL \times 3 的二氯甲烷萃取。合并有机相,稀盐水洗涤,无水硫酸钠干燥,在旋转蒸发仪上蒸干,残余物即为 III 的粗品。该粗品不用纯化,直接用于下一步反应。

[0070] 上述制备的化合物 III 的粗品在 2L 的圆底烧瓶中溶于 500mL 干燥的二氯甲烷中,加入 23.3g (0.2mol) Et_3SiH ,在 -30°C 冷却下搅拌。通过滴液漏斗慢慢滴加 14.2g (0.1mol) 三氟化硼乙醚溶于 50mL 干燥的二氯甲烷制成的溶液。滴加完毕后,反应混合物在 -30°C 下继续搅拌 1 小时而后逐渐升温至室温,并在室温下继续搅拌 5 小时,TLC 显示反应完成。往反应化合物中小心加入 200mL 饱和碳酸氢钠溶液,继续搅拌半小时后倾倒入 2000mL 冰水中,搅拌,500mL \times 3 的二氯甲烷萃取。合并有机相,稀盐水洗涤,无水硫酸钠干燥,在旋转蒸发仪上蒸干,残余物柱层析纯化,得到 IV 的纯品,白色泡沫状固体, ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 400MHz), δ 7.26-7.37 (m, 14H), 7.13-7.20 (m, 4H), 6.93-6.98 (m, 5H), 6.63 (d, 1H, $J=3.6\text{Hz}$), 4.88-4.94 (m, 2H), 4.70 (d, 1H, $J=10.8\text{Hz}$), 4.37 (d, 1H, $J=10.4\text{Hz}$), 4.21 (d, 1H, $J=9.6\text{Hz}$), 4.16 (d, 1H, $J=12.0\text{Hz}$), 4.09 (d, 1H, $J=12.0\text{Hz}$), 3.90 (d, 1H, $J=10.4\text{Hz}$), 3.76 (t, 1H, $J=9.0\text{Hz}$), 3.53-3.60 (m, 2H), 3.32 (t, 1H, $J=9.0\text{Hz}$), 2.33 (s, 3H), 1.34 (d, 3H, $J=6.0\text{Hz}$)。

[0071] 34.9g (50mmol) 化合物 IV 溶于 200mL 干燥的苯甲醚中, -10°C 冷却下搅拌,慢慢加入 33.3g (0.25mol) 无水 AlCl_3 ,加完后慢慢升到室温,再搅拌 1 小时,TLC 显示反应完成。反应混合物稍冷后倾倒入 2000mL 冰水中,搅拌,500mL \times 3 的乙酸乙酯萃取。合并有机相,稀盐水洗涤,无水硫酸钠干燥,在旋转蒸发仪上蒸干,残余物经过短柱层析纯化后所得的白色固体,干燥即为 CD-6。该白色固体具有一定的泡沫性质。 ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 400MHz), δ 7.56-7.60 (m, 2H), 7.26 (d, 1H, $J=3.6\text{Hz}$), 7.17-7.21 (m, 3H), 7.10-7.12 (m, 2H), 6.78 (d, 1H, $J=3.6\text{Hz}$), 4.92 (d, 1H, $J=5.2\text{Hz}$), 4.86 (d, 1H, $J=4.0\text{Hz}$), 4.68 (d, 1H, $J=5.2\text{Hz}$), 4.14 (d, 1H, $J=16.0\text{Hz}$), 4.09 (d, 1H, $J=16.0\text{Hz}$), 3.96 (d, 1H, $J=9.2\text{Hz}$), 3.14-3.31 (m, 3H), 2.90-2.95 (m, 1H), 2.25 (s, 3H), 1.15 (d, 3H, $J=6.0\text{Hz}$); ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 100MHz), δ 162.54, 160.12, 143.57, 140.19, 138.23, 137.37, 134.85, 130.47, 129.64, 128.85, 126.94, 126.86, 126.31, 126.05, 123.34, 115.93, 115.72, 81.32, 78.16, 75.71, 75.59, 74.81, 33.35, 18.75, 18.23。上述具有一定泡沫性的 CD-6 从乙酸乙酯/石油醚中重结晶,得到一纯度进一步提升的样品,其 DTA 图谱如图 6 所示, PXRD 图谱如图 7 所示。

[0072] L-脯氨酸的 DTA 图谱和 PXRD 图谱分别如图 4、图 5 所示。

[0073] 取 1.00g (2.33mmol) 按照上述方法制得的化合物 CD-6,在微热下溶于 20mL 无水乙醇中,得到 CD-6 的乙醇溶液。另外,向 50mL 的圆底烧瓶中加入 0.32g (2.80mmol) L-脯氨酸、0.5mL 水和 5mL 无水乙醇,室温下搅拌,得到澄清的混合溶液。将上述 CD-6 的乙醇溶液在搅拌下慢慢加入到含有 L-脯氨酸的所述混合溶液中,得到澄清的溶液。将该溶液在室温下继续搅拌过夜。得到一白色晶浆状体系。抽滤收集结晶,并在真空油泵上 30°C 下干燥 5 小时,得到白色固体 0.83g。

[0074] 该白色固体产品(共结晶 I)的差热分析(DTA)图谱和 X-射线衍射(PXRD)图谱分别如图 1 和图 2 所示,其 ^1H NMR 图谱如图 3 所示,可确定本实施例制得的白色固体为本发明的 CD-6 和 L-脯氨酸的共结晶 I。

[0075] 实施例 2

[0076] 本实施例用于说明本发明 CD-6 和 L-脯氨酸的共结晶 I 及其制备过程。

[0077] 按照实施例 1 中相同的方法制备化合物 CD-6 作为原料。

[0078] 取 1.00g (2.33mmol) 按照上述方法制得的化合物 CD-6, 在微热下溶于 15mL 无水乙醇中, 得到 CD-6 的乙醇溶液。另外, 向 50mL 的圆底烧瓶中加入 0.54g (4.66mmol) L-脯氨酸、0.14mL 水和 4mL 无水乙醇, 室温下搅拌, 得到澄清的混合溶液。将上述 CD-6 的乙醇溶液在搅拌下慢慢加入到含有 L-脯氨酸的所述混合溶液中, 得到澄清的溶液。将该溶液在室温下继续搅拌过夜。得到一白色晶浆状体系。抽滤收集结晶, 并在真空油泵上 30℃ 下干燥 5 小时, 得到白色固体 0.86g。

[0079] 通过 DTA 和 PXRD 确定该白色固体为 CD-6 和 L-脯氨酸的共结晶 I。

[0080] 实施例 3

[0081] 本实施例用于说明本发明 CD-6 和 L-脯氨酸的共结晶 I 及其制备过程。

[0082] 取 1.00g (2.33mmol) 按照上述方法制得的化合物 CD-6, 在微热下溶于 25mL 无水乙醇中, 得到 CD-6 的乙醇溶液。另外, 向 50mL 的圆底烧瓶中加入 0.21g (1.86mmol) L-脯氨酸、0.21mL 水和 3.2mL 无水乙醇, 室温下搅拌, 得到澄清的混合溶液。将上述 CD-6 的乙醇溶液在搅拌下慢慢加入到含有 L-脯氨酸的所述混合溶液中, 得到澄清的溶液。将该溶液在室温下继续搅拌过夜。得到一白色晶浆状体系。抽滤收集结晶, 并在真空油泵上 30℃ 下干燥 5 小时, 得到白色固体 0.81g。

[0083] 通过 DTA 和 PXRD 确定该白色固体为 CD-6 和 L-脯氨酸的共结晶 I。

[0084] 实施例 4

[0085] 本实施例用于说明本发明 CD-6 和 L-脯氨酸的共结晶 I 及其制备过程。

[0086] 取 1.00g (2.33mmol) 按照上述方法制得的化合物 CD-6, 在微热下溶于 20mL 无水乙醇中, 得到 CD-6 的乙醇溶液。另外, 向 50mL 的圆底烧瓶中加入 0.32g (2.80mmol) L-脯氨酸和 5mL 无水乙醇, 室温下搅拌, 得到澄清的混合溶液。将上述 CD-6 的乙醇溶液在搅拌下慢慢加入到含有 L-脯氨酸的所述混合溶液中, 得到澄清的溶液。将该溶液在室温下继续搅拌过夜。得到一白色晶浆状体系。抽滤收集结晶, 并在真空油泵上 30℃ 下干燥 5 小时, 得到白色固体 0.82g。

[0087] 通过 DTA 和 PXRD 确定该白色固体为 CD-6 和 L-脯氨酸的共结晶 I。

[0088] 实施例 5

[0089] 本实施例用于说明含有本发明的 CD-6 和 L-脯氨酸的共结晶 I 的片剂的制备。

[0090]

| 处方 | 用量/片 |
|-------------|-------|
| 实施例 1 制得的样品 | 7 mg |
| 微晶纤维素 | 80 mg |
| 预胶化淀粉 | 70 mg |
| 聚乙烯吡咯烷酮 | 6 mg |
| 羧甲基淀粉钠盐 | 5 mg |
| 硬脂酸镁 | 2 mg |

[0091] 滑石粉 2 mg

[0092] 将实施例 1 制得的样品共结晶 I、预胶化淀粉和微晶纤维素过筛,以处方量充分混合,加入含有处方量聚乙烯吡咯烷酮的溶液,混合,制软材,过筛,制湿颗粒,于 40 ~ 50℃干燥;然后将羧甲基淀粉钠盐、硬脂酸镁和滑石粉预先过筛,以处方量加入到上述干燥后的颗粒中,压片,即得含有 CD-6 和 L- 脯氨酸的共结晶 I 的片剂。

[0093] 实施例 6

[0094] 按照文献(Meng, W. et al, J. Med. Chem. , 2008, 51, 1145-1149) 记载的方法测定实施例 1 制得的 CD-6 和 L- 脯氨酸的共结晶 I 对 SGLT2 和 SGLT1 抑制的 IC₅₀ 值。测定结果如下表 2 所示:

[0095] 表 2 CD-6 和 L- 脯氨酸的共结晶 I 对 SGLT2 和 SGLT1 抑制的 IC₅₀ 值

| [0096] | IC ₅₀ (hSGLT2, nM) | IC ₅₀ (hSGLT1, nM) | 选择性 IC ₅₀ (hSGLT1)/ IC ₅₀ (hSGLT2) |
|--------|-------------------------------|-------------------------------|--|
| | 4.2 | 934 | 222 |

[0097] 根据上表中 IC₅₀ 值的测定结果可知, CD-6 和 L- 脯氨酸的共结晶 I 为强选择性的 SGLT2 抑制剂。

[0098] 实施例 7

[0099] 采用 HPLC 测定实施例 1 制得的 CD-6 和 L- 脯氨酸的共结晶 I 的纯度,其纯度为 99.55%。而用于制备共结晶 I 的 CD-6 原料测得纯度为 99.04%。由此可知共结晶 I 的纯度明显提高,更适合用于药品的批量生产。

[0100] 实施例 8

[0101] 将实施例 1 制得的 CD-6 和 L- 脯氨酸的共结晶 I 与作为对比的 CD-6 原料进行影响因素试验,分别在光照(自然太阳光,平均约为 8000Lx)、高温(45℃)和高湿(30℃下的 30%相对湿度)的条件下放置两周(14天),与第 0 天比较外观、杂质个数及杂质量(以 HPLC 测定)。试验结果分别见表 3 ~ 5。

[0102] 表 3 光照稳定性试验数据

[0103]

[0104]

| 时间 (天) | 考察项目 | | | | |
|-----------|---------|---------|------|----------|--------|
| | 样品 | 外观 | 杂质个数 | 总杂质量 (%) | 晶型 |
| 0 | CD-6 原料 | 白色泡沫性固体 | 7 | 0.96 | - |
| | 共结晶 I | 白色结晶性粉末 | 3 | 0.45 | 图 2 所示 |
| 7 | CD-6 原料 | 白色泡沫性固体 | 7 | 0.96 | - |
| | 共结晶 I | 白色结晶性粉末 | 3 | 0.45 | 未改变 |
| 14 | CD-6 原料 | 白色泡沫性固体 | 7 | 0.97 | - |
| | 共结晶 I | 白色结晶性粉末 | 3 | 0.45 | 未改变 |

[0105] 表 4 高温稳定性试验数据

[0106]

| 时间 (天) | 考察项目 | | | | |
|-----------|---------|---------|------|----------|--------|
| | 样品 | 外观 | 杂质个数 | 总杂质量 (%) | 晶型 |
| 0 | CD-6 原料 | 白色泡沫性固体 | 7 | 0.96 | - |
| | 共结晶 I | 白色结晶性粉末 | 3 | 0.45 | 图 2 所示 |
| 7 | CD-6 原料 | 白色泡沫性固体 | 8 | 0.99 | - |
| | 共结晶 I | 白色结晶性粉末 | 3 | 0.46 | 未改变 |
| 14 | CD-6 原料 | 白色泡沫性固体 | 9 | 1.02 | - |
| | 共结晶 I | 白色结晶性粉末 | 3 | 0.46 | 未改变 |

[0107] 表 5 高湿稳定性试验数据

[0108]

| 时间 (天) | 考察项目 | | | | |
|-----------|---------|---------|------|----------|--------|
| | 样品 | 外观 | 杂质个数 | 总杂质量 (%) | 晶型 |
| 0 | CD-6 原料 | 白色泡沫性固体 | 7 | 0.96 | - |
| | 共结晶 I | 白色结晶性粉末 | 3 | 0.45 | 图 2 所示 |
| 7 | CD-6 原料 | 白色泡沫性固体 | 7 | 0.97 | - |
| | 共结晶 I | 白色结晶性粉末 | 3 | 0.45 | 未改变 |
| 14 | CD-6 原料 | 白色泡沫性固体 | 8 | 0.99 | - |
| | 共结晶 I | 白色结晶性粉末 | 3 | 0.45 | 未改变 |

[0109]

[0110] 由表 3 ~ 5 可知,在为期两周的光照、高温、高湿条件下的稳定性试验中,本发明共结晶 I 的外观未发生可见的变化,晶型保持稳定,同时通过 HPLC 测定,其杂质数和杂质总量也未明显增加,因而与 CD-6 原料相比,共结晶 I 具有更好的贮存稳定性,可以作为 CD-6 原料药的稳定来源。

[0111] 实施例 10

[0112] 通过大鼠尿糖排泄模型测定 CD-6 和 L- 脯氨酸的共结晶 I 对 SGLT2 的抑制能力。

[0113] 正常 SD 大鼠高脂高糖喂养一个月后,用链佐霉素小剂量多次腹腔注射造模(2 型糖尿病模型),测定造模前后血糖含量。造模成功后将造模大鼠按照 24 小时尿糖量和体重随机分组(8 只/组),分别为一组空白组(给予等体积 0.5%CMC 钠溶液)和待测化合物组(8mg/kg)。各组大鼠实验前禁食 16 小时。灌胃给予实验大鼠实施例 1 制得的 CD-6 和 L- 脯氨酸的共结晶 I。5h 后,再灌胃给予葡萄糖(2g/kg)。收集给药后 0 ~ 12h 时间段的尿液,用葡萄糖氧化酶法测定各时间段的尿糖值。实验测得共结晶 I 在该实验中能诱导产生 842mg 尿糖/200g 体重,说明共结晶 I 具有较强的尿糖排出能力。

[0114] 尽管本发明已进行了一定程度的描述,明显地,在不脱离本发明的精神和范围的条件下,可进行各个条件的适当变化。可以理解,本发明不限于所述实施方案,而归于权利要求的范围,其包括所述每个因素的等同替换。

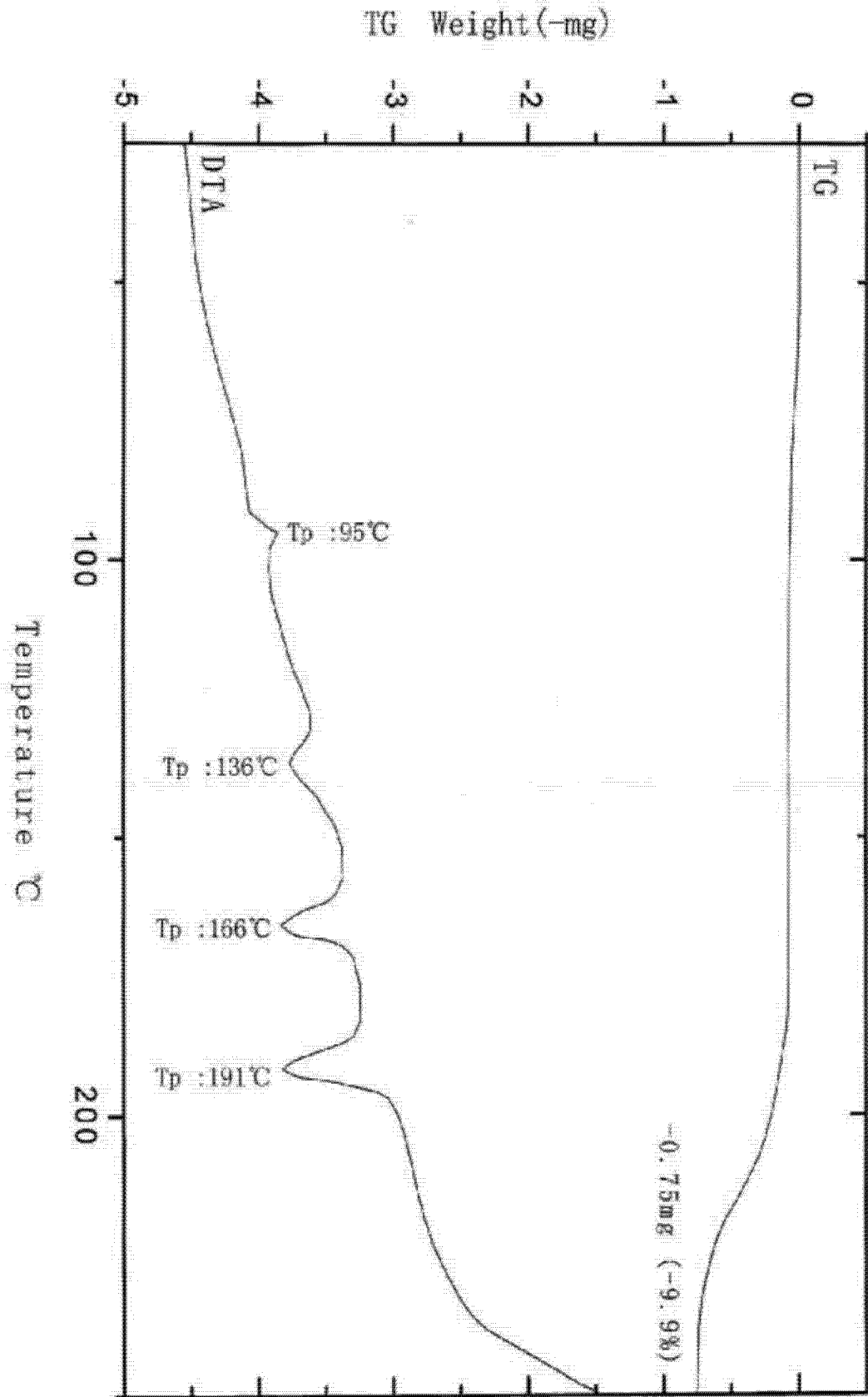


图 1

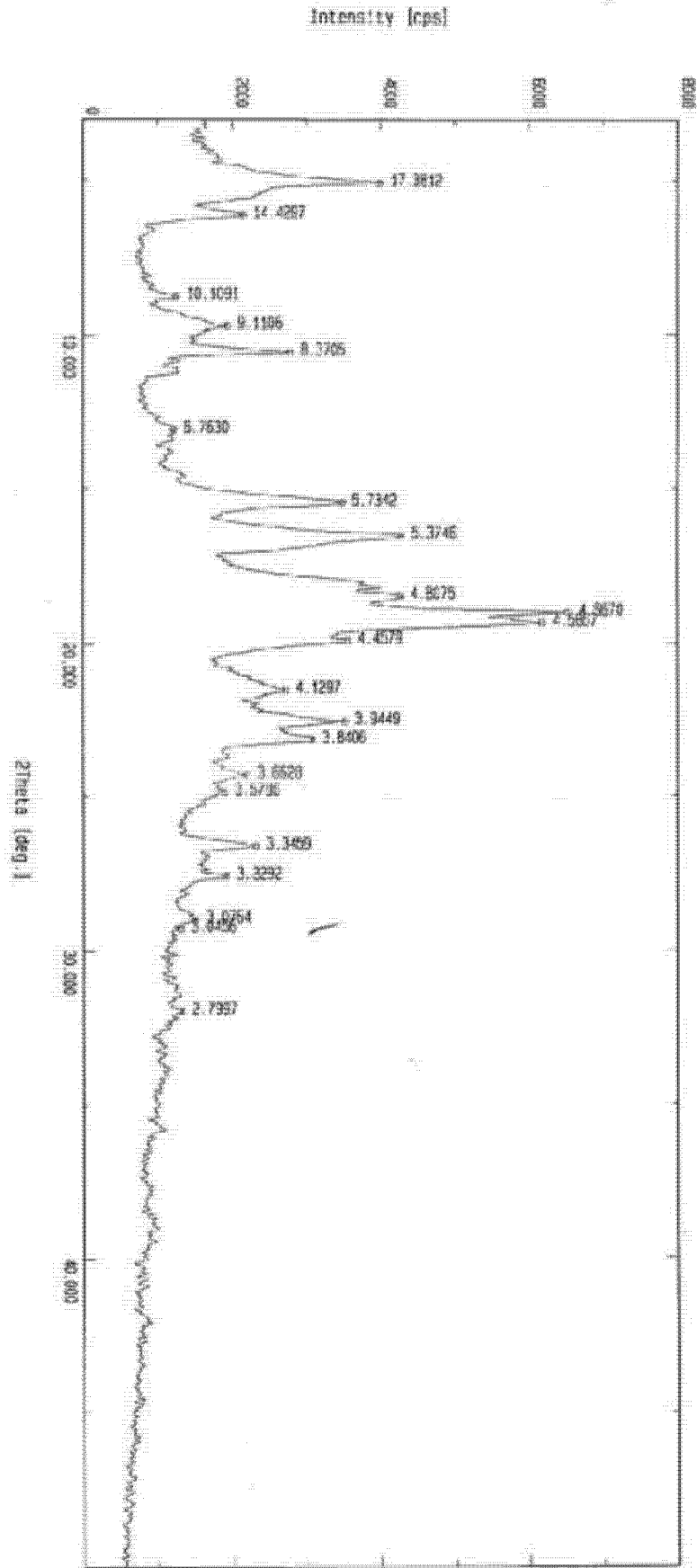


图 2

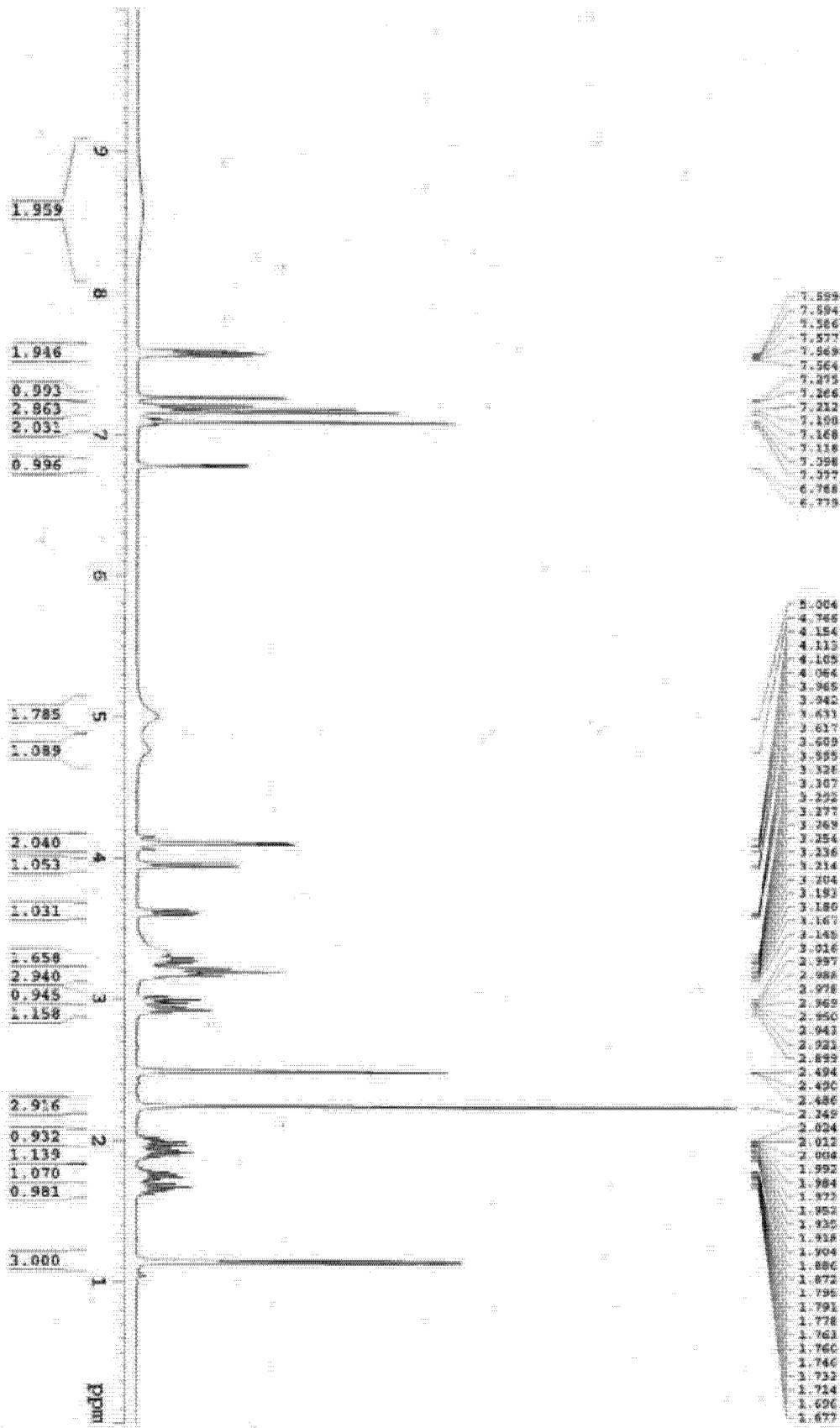


图 3

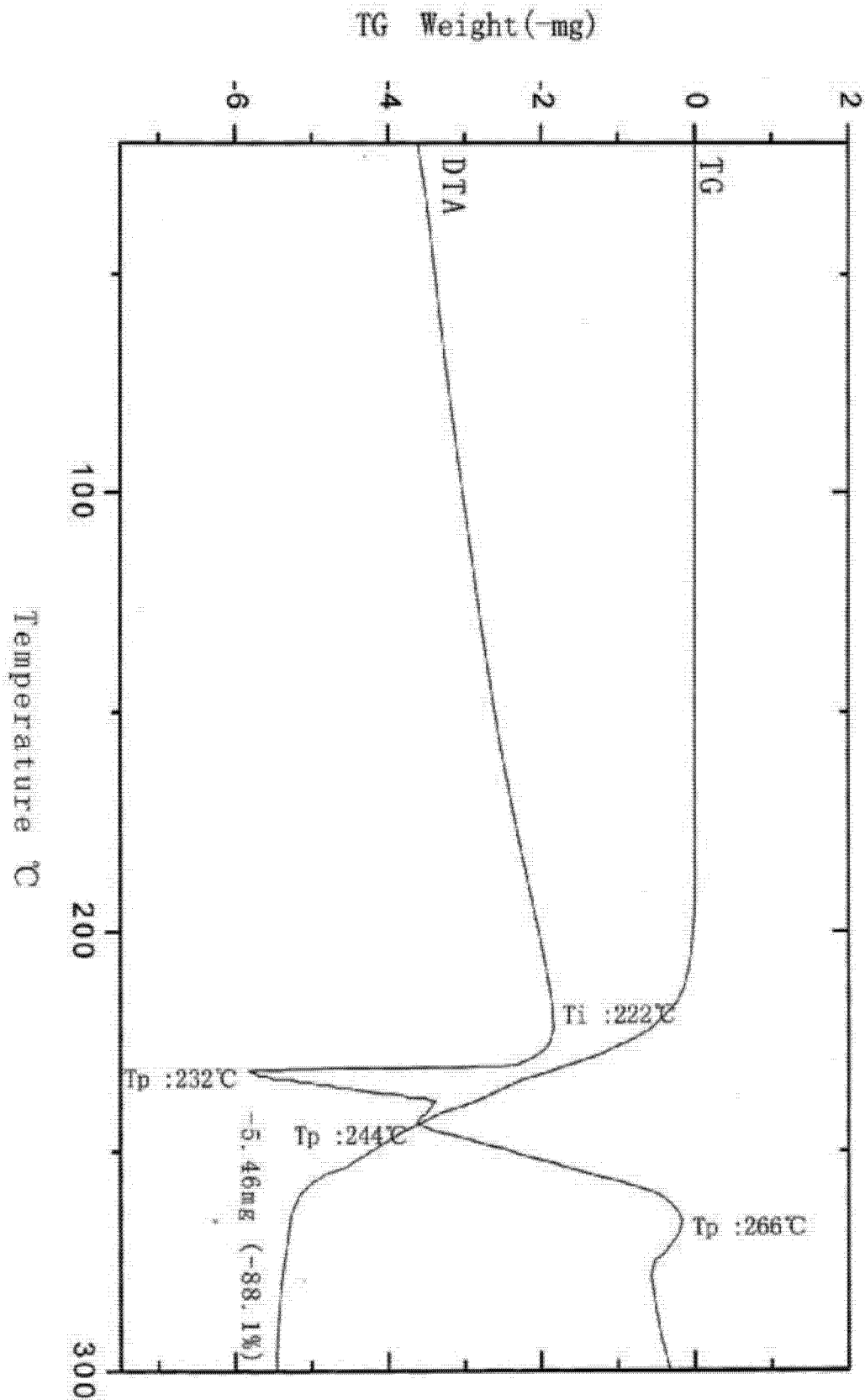


图 4

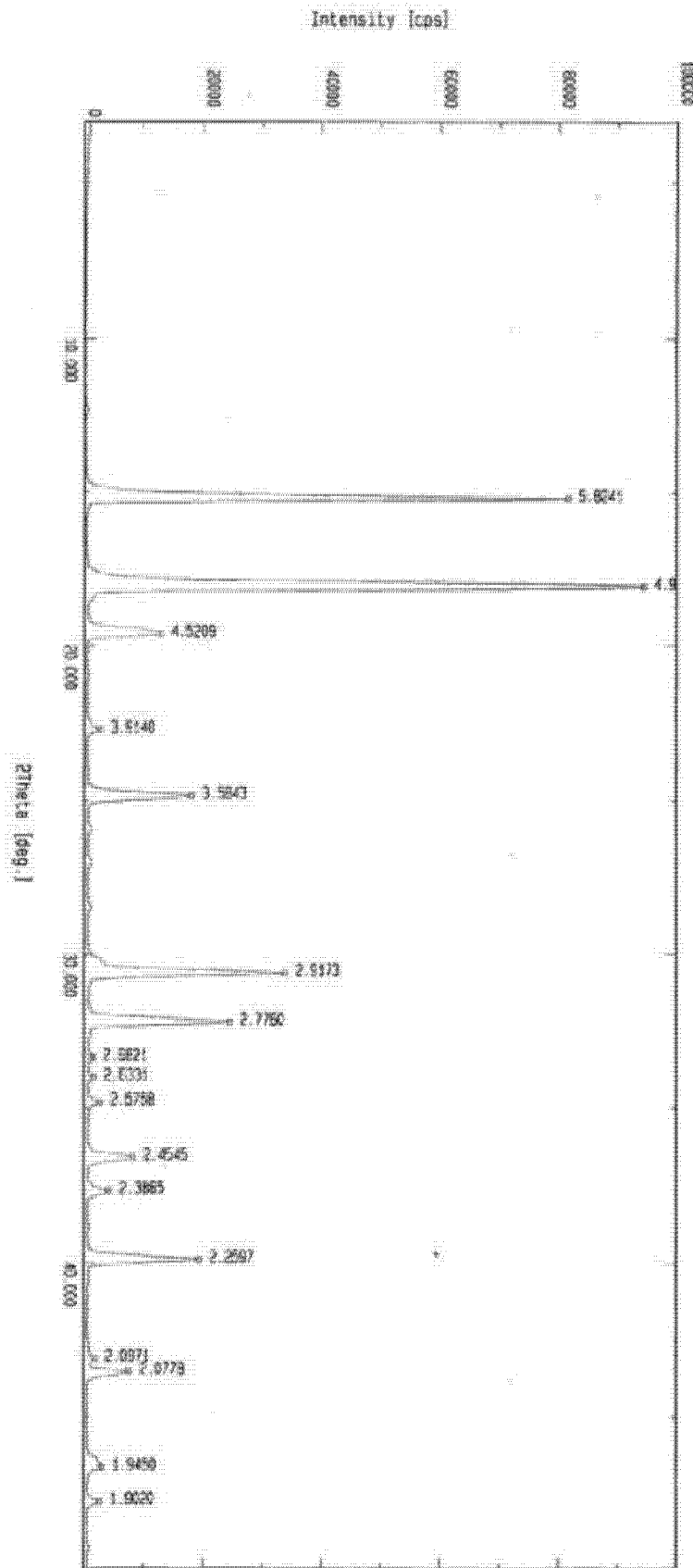


图 5

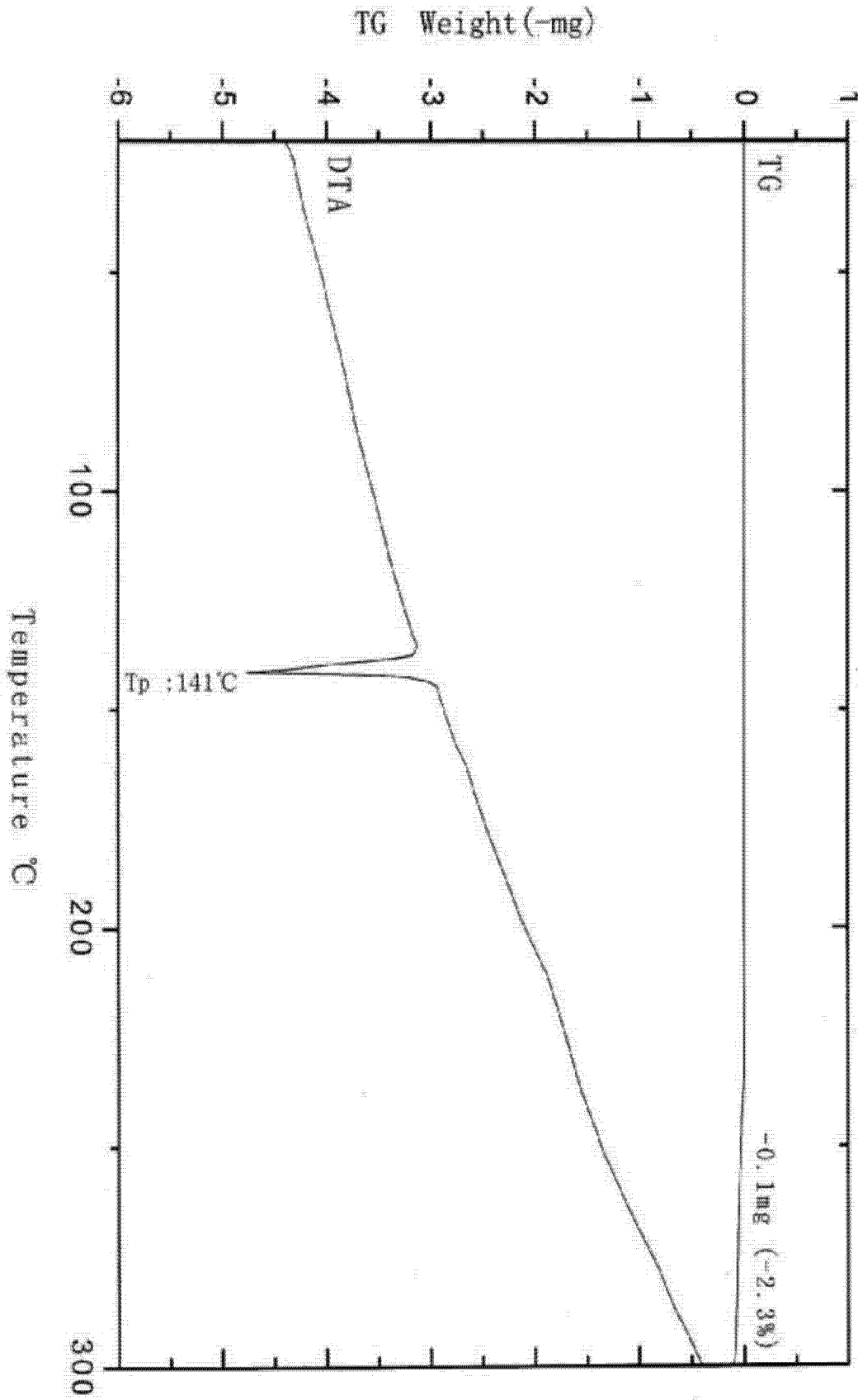


图 6

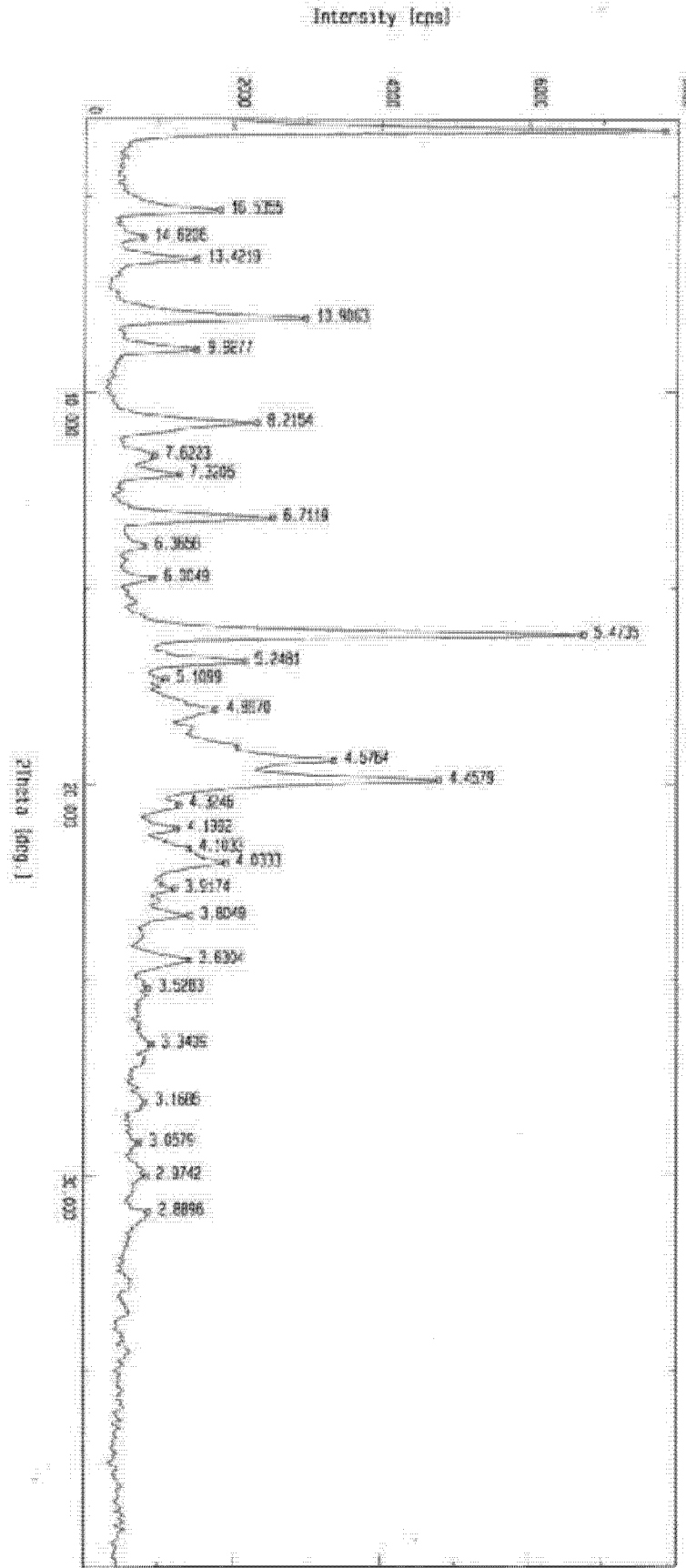


图 7