



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102100695 B

(45) 授权公告日 2012. 01. 11

(21) 申请号 201110006357. 7

A61P 9/08 (2006. 01)

(22) 申请日 2009. 11. 13

C07D 295/185 (2006. 01)

(66) 本国优先权数据

200910163103. 9 2009. 08. 17 CN

(56) 对比文件

CN 101260092 A, 2008. 09. 10, 说明书第 6-9 页.

(62) 分案原申请数据

200910180174. X 2009. 11. 13

CN 1631877 A, 2005. 06. 29, 全文.

CN 101204372 A, 2008. 06. 25, 全文.

(73) 专利权人 北京四环制药有限公司

CN 101376648 A, 2009. 03. 04, 表 1-2.

地址 101114 北京市通州区三间房机场院内
北京四环制药有限公司

审查员 王宏

(72) 发明人 车冯升 林善良 范扶民 霍彩霞

(51) Int. Cl.

A61K 31/496 (2006. 01)

A61K 9/08 (2006. 01)

A61P 9/00 (2006. 01)

权利要求书 1 页 说明书 20 页 附图 3 页

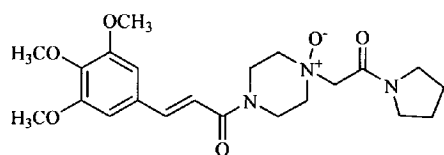
(54) 发明名称

一种安全性高的桂哌齐特药用组合物及其制备方法和其应用

(57) 摘要

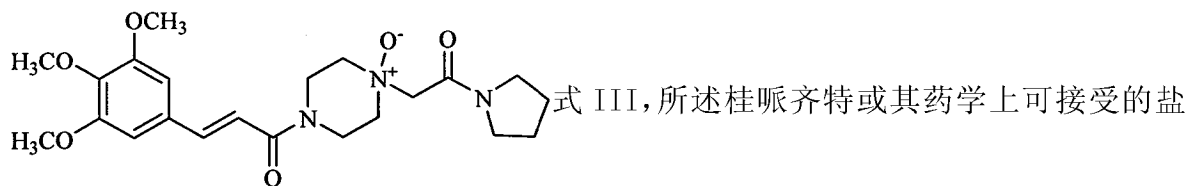
本发明涉及一种安全性高的药物组合物及其制备方法和其应用,所述药物组合物含有桂哌齐特或其药学上可接受的盐和含量不高于 0.5% 的式 III 所示结构化合物。本发明的桂哌齐特药物组合物及其制剂具有更好的安全性、有效性和稳定性,可有效降低或避免桂哌齐特所致的病人血象下降等不良反应。此外,本发明还分离、纯化和表征了新的桂哌齐特氮氧化物,并对其进行了充分研究,发现该化合物的毒性远大于桂哌齐特,并具有不同于桂哌齐特的杀虫活性,同时,研究发现桂哌齐特氮氧化物可引起动物的白细胞减少,甚至影响粒细胞的形成和分化,可能是桂哌齐特致病人血象下降等不良反应的主要原因。

CN 102100695 B



式 (III)

1. 一种安全性高的药物组合物,所述药物组合物含有桂哌齐特或其药学上可接受的盐和含量不高于 0.5% 的式 III 所示结构化合物,



与式 III 化合物之间的重量比不低于 500 : 1。

2. 根据权利要求 1 所述的药物组合物,所述式 III 化合物的含量不高于 0.4%。

3. 根据权利要求 2 所述的药物组合物,所述式 III 化合物的含量不高于 0.3%。

4. 根据权利要求 3 所述的药物组合物,所述式 III 化合物的含量不高于 0.2%。

5. 根据权利要求 1-4 任一项所述的药物组合物,所述药用组合物含有含量不低于 98% 的桂哌齐特或其药学上可接受的盐,含量不高于 0.20% 的桂哌齐特氮氧化物,含量不高于 1.0% 的桂哌齐特顺式异构体,余量为其他有关物质。

6. 根据权利要求 5 所述的药物组合物,所述的桂哌齐特药学上可接受的盐选自马来酸盐、甲磺酸盐、磺酸盐、硫酸盐、盐酸盐、氢溴酸盐、磷酸盐、硝酸盐、对甲苯磺酸盐、酒石酸盐、富马酸盐、柠檬酸盐、乙酸盐、甲酸盐、苯甲酸盐、肉桂酸盐、丁二酸盐、丙二酸盐、枸橼酸盐的任一种或其组合。

7. 一种制备权利要求 1-6 任一项所述药物组合物的方法,其特征在于,在避光,无氧的条件下,制备桂哌齐特的中间体、桂哌齐特或其药学上可接受的盐。

8. 一种安全性高的药物制剂,所述制剂由权利要求 1-6 任一项所述的药物组合物与药学上可接受的载体组成。

9. 一种制备桂哌齐特注射液的方法,其特征在于,在避光,无氧保护条件下,将权利要求 1-6 任一项所述的药物组合物与药学上可接受的注射液载体混合而成。

10. 权利要求 1-6 任一项所述的药物组合物或者权利要求 8 所述的药物制剂用于制备预防心脑血管疾病的药物中的应用。

一种安全性高的桂哌齐特药用组合物及其制备方法和其应用

[0001] 本申请是 2009 年 11 月 13 日提交的 CN200910180174.X 一种安全性高的桂哌齐特药用组合物及其制备方法和其应用的分案申请。

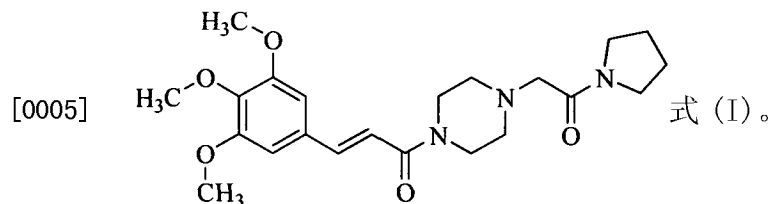
技术领域

[0002] 本发明属于心脑血管扩张药,具体涉及一种安全性高的桂哌齐特药用组合物及其制备方法和其应用。

背景技术

[0003] 心脑血管疾病与癌症一样,已经成为严重威胁人民健康的常见病和多发病。因此,制备和选择更加安全有效的心脑血管治疗药物已成为医药领域重要的研究课题。

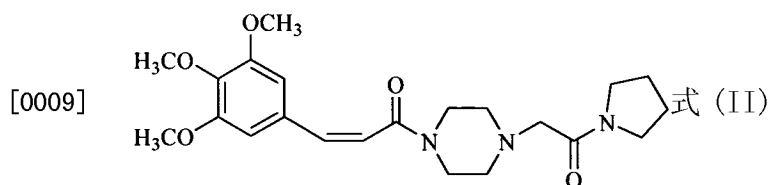
[0004] 桂哌齐特 (Cinepazide) 属心脑血管扩张药物,因其疗效确切,曾在世界各国广泛应用,其化学名称为 (E)-1-[4-[(3',4',5'-三甲氧基肉桂酰基)]-1-哌嗪} 乙酰吡咯啉,具有下述结构:



[0006] 桂哌齐特临床主要用于防治下述病症:①脑血管意外:脑动脉硬化、一过性脑缺血发作、脑血栓形成、脑栓塞、脑出血后遗症和脑外伤后遗症;②心血管疾病:冠心病,心绞痛,配合有关药物进行综合治疗心肌梗塞;③外周血管疾病:下肢动脉粥样硬化病、血栓闭塞性脉管炎、动脉炎、雷诺氏病等。

[0007] 尽管桂哌齐特药物自 1974 年起在法国上市以来,在治疗心、脑、外周血管疾病领域中发挥了突出的疗效,然而,由于该药的不良反应,即在临床上能够引起病人的白细胞减少,严重时,甚至引起病人的粒细胞缺乏,自 1986 年起,该药逐步退出了欧洲市场 (Agranulocytosis induced by cinepazide. Eur J Clin Pharmacol 1990, 38:387 ~ 388.)。虽然,我国还在生产和销售马来酸桂哌齐特,但均在其药品使用说明书中明确指出,该药有引起病人白细胞减少和粒细胞缺乏的危险,建议病人在使用桂哌齐特之前,首先检查血象,并建议白细胞异常患者或者有白细胞减少药物史的患者不宜使用。这样大大限制了桂哌齐特的临床使用范围,同时,也给患者带来安全隐患。

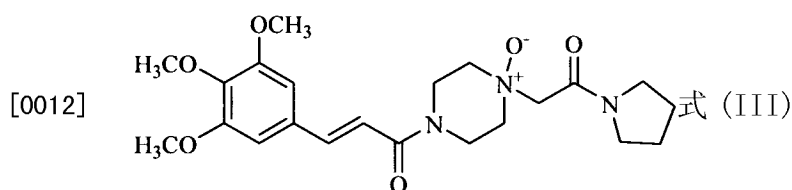
[0008] 为了降低或避免桂哌齐特的不良反应,国内外的研究学者作了很多研究工作,曾试图通过控制和提高桂哌齐特原料和制剂的质量来提高桂哌齐特类药物的有效性和安全性,例如,控制桂哌齐特的原料中桂哌齐特的含量不低于 98%,桂哌齐特顺式异构体 (结构如式 II 所示) 的含量不得超过 1%,其他有关物质的含量不超过 1%。



[0010] 不过,前述质量控制措施仍未有效降低或避免桂哌齐特所引起的病人血象下降。因此,深入研究桂哌齐特发生不良反应的原因,提高桂哌齐特的用药安全性和有效性,更好地发挥其临床疗效,避免或降低其不良反应或副反应,成为富有实践意义的研究课题。

发明内容

[0011] 为此,本发明进一步分离、纯化和表征了研究桂哌齐特相关物质的结构及其活性,得到惊人的发现,药理实验证实,桂哌齐特纯品不会引起动物的白细胞降低,引起白细胞降低或者影响粒细胞分化和形成的物质为式 III 所示结构的桂哌齐特氮氧化物。



[0013] 桂哌齐特(又称“桂哌齐特游离碱”)本身存在不稳定性,极易被氧化,其氮氧化物随着放置时间的延长而逐渐增加。因此,需要控制桂哌齐特中氮氧化物的量来提高其安全性。

[0014] 本发明的目的在于提供一种安全性高的药物组合物,所述药物组合物含有桂哌齐特或其药学上可接受的盐和含量不高于 0.5% 的式 III 所示结构化合物(又称“桂哌齐特氮氧化物”、“氮氧化物”或式 III 化合物)。

[0015] 进一步,所述药物组合物中桂哌齐特或其药学上可接受盐的含量不低于 90%,优选不低于 95%,更优选不低于 98%。

[0016] 进一步,式 (III) 所示结构化合物的含量不高于 0.4%,优选不高于 0.3%,更优选不高于 0.2%。

[0017] 进一步,桂哌齐特或其药学上可接受的盐与式 (III) 化合物之间的重量比不低于 200 : 1,优选不低于 300 : 1,更优选不低于 500 : 1。

[0018] 进一步,所述药用组合物含有含量不低于 98% 的桂哌齐特或其药学上可接受的盐、含量不高于 0.20% 的桂哌齐特氮氧化物、含量不高于 1.0% 的桂哌齐特顺式异构体,余量为其他有关物质。

[0019] 进一步,所述药用组合物中桂哌齐特顺式异构体的含量不高于 0.8%。

[0020] 进一步,所述的桂哌齐特药学上可接受的盐选自马来酸盐、甲磺酸盐、磺酸盐、硫酸盐、盐酸盐、氢溴酸盐、磷酸盐、硝酸盐、对甲苯磺酸盐、酒石酸盐、富马酸盐、柠檬酸盐、乙酸盐、甲酸盐、苯甲酸盐、肉桂酸盐、丁二酸盐、丙二酸盐的任一种或其组合。

[0021] 进一步,所述的式 III 化合物由下述方法制备得到,将桂哌齐特游离碱与过氧化物进行氧化反应得到。

[0022] 进一步,所述氧化反应是将桂哌齐特游离碱与过氧化物置于溶剂内发生的。

[0023] 进一步,所述溶剂选自卤代烷、质子性溶剂、非质子性极性溶剂的任一种或其组

合。

[0024] 进一步,所述的卤代烷选自二氯甲烷、三氯甲烷、1,1-二氯乙烷、1,2-二氯乙烷的任一种或其组合。

[0025] 进一步,所述的质子性溶剂为水和醇类,优选醇类选自甲醇、乙醇、异丙醇、正丙醇、正丁醇的任一种或其组合。

[0026] 进一步,所述的非质子性极性溶剂选自 DMF、DMSO、丙酮的任一种或其组合。

[0027] 进一步,所述的氧化反应在无溶剂条件下,将桂哌齐特游离碱与过氧化物通过研磨发生氧化反应。

[0028] 进一步,所述过氧化物选自过氧化氢、过氧乙酸、过氧苯甲酸、氯代过氧苯甲酸、过硫酸铵的任一种或其组合。

[0029] 进一步,本发明式 III 所示结构化合物的制备方法包括氧化反应产物的分离、纯化,优选所述纯化方法选自重结晶、制备型液相分离精制的任一种或其组合。

[0030] 进一步,本发明用于重结晶的溶剂为醇类,优选所述醇类选自甲醇、乙醇、异丙醇、正丙醇、正丁醇的任一种或其组合。

[0031] 进一步,所述的制备型液相分离精制条件为,流动相为甲醇-水、乙腈-水、甲醇-乙腈-水的任一种或其组合,进行等度或梯度洗脱,收集产品流份,蒸干或冷冻干燥,即得。

[0032] 采用本发明的分离、纯化方法,所得桂哌齐特氮氧化物的含量不低于 95%,优选不低于 98%,更优选不低于 99%。

[0033] 本发明的另一目的在于提供一种制备桂哌齐特组合物的方法,其特征在于,在避光,无氧的条件下,制备桂哌齐特的中间体、桂哌齐特或其药学上可接受的盐。

[0034] 为了清楚的表述本发明的内容,本发明对下列术语作如下界定:

[0035] 本发明所述的“无氧条件”为隔绝氧气或隔绝其它氧化剂的反应条件,所述的“无氧条件”选自氮气保护、惰性气体保护或者加入还原剂的任一种或其组合。

[0036] 本发明所述的“有关物质”是指除桂哌齐特之外的杂质,如桂哌齐特的顺式异构体、桂哌齐特氮氧化物、1-(3,4,5-三甲氧基肉桂酰基)哌嗪及桂哌齐特中含有的其他检测不到的物质,“其他有关物质”是指 1-(3,4,5-三甲氧基肉桂酰基)哌嗪及桂哌齐特中含有的其他检测不到的物质。

[0037] 除非另有说明,本发明所述的百分含量均为质量百分含量。

[0038] 本发明的桂哌齐特氮氧化物,可用作对照品用于控制桂哌齐特游离碱或其药学上可接受盐及其制剂的质量,并用于检测桂哌齐特游离碱或其药学上可接受盐及其制剂的有效期。因此,本发明的另一目的在于提供桂哌齐特氮氧化物用于制备桂哌齐特药物或其制剂的对照品中的应用。

[0039] 本发明的另一目的在于提供一种安全性高的药物制剂,所述制剂由本发明的药物组合物与药学上可接受的载体组成。

[0040] 本发明的药物制剂可为本领域熟知的各种剂型。适合于本发明的剂型选自口服制剂、外用制剂或注射剂,优选为口服制剂或注射剂,更优选为注射剂。所述口服制剂选自口服液、片剂、胶囊、颗粒剂、丸剂、散剂、糖浆剂、合剂、露剂、悬浮剂、乳剂或茶剂,优选所述悬浮剂选自干悬剂或悬浮液;所述片剂系指药物与适宜的辅料混匀压制而成的圆片状或异形

片状的固体制剂,可选自口服普通片、含片、舌下片、口腔贴片、咀嚼片、分散片、可溶片、泡腾片、缓释片、控释片或肠溶片等;所述胶囊剂选自硬胶囊(通称为胶囊)、软胶囊(胶丸)、缓释胶囊、控释胶囊或肠溶胶囊等;所述丸剂选自滴丸、糖丸、小丸等;所述颗粒剂选自可溶颗粒(通称为颗粒)、混悬颗粒、泡腾颗粒、肠溶颗粒、缓释颗粒、控释颗粒等;所述外用制剂选自凝胶剂、膏剂、搽剂、洗剂、涂抹剂,优选所述膏剂选自贴膏剂、凝膏剂或软膏剂;所述注射剂选自针剂(注射液)、输液、冻干粉针或无菌分装制剂,优选为注射液。可采用本领域熟知的制剂技术手段制备得到本发明的药物制剂。

[0041] 本发明所述的药学上可接受的载体为本领域熟知的用于制备所述制剂的常用赋形剂或辅料。口服制剂或外用制剂常用的赋形剂或辅料包括但不限于填充剂(稀释剂)、润滑剂(助流剂或抗粘着剂)、分散剂、湿润剂、粘合剂、调节剂、增溶剂、抗氧剂、抑菌剂、乳化剂等。粘合剂,例如糖浆、阿拉伯胶、明胶、山梨醇、黄芪胶、纤维素及其衍生物、明胶浆、淀粉浆、聚乙烯吡咯烷酮、PVP-K30、羟丙基纤维素、淀粉浆、甲基纤维素、胶化淀粉,优选纤维素衍生物为微晶纤维素、羧甲基纤维素钠、乙基纤维素或羟丙甲基纤维素;填充剂,例如乳糖、糖粉、糊精、淀粉及其衍生物、纤维素及其衍生物、无机钙盐、山梨醇、甘氨酸、硫酸钙二水物、微晶纤维素、预胶化淀粉、甘露醇,优选无机钙盐为硫酸钙、磷酸钙、磷酸氢钙或沉降碳酸钙;润滑剂,例如微粉硅胶、硬脂酸镁、滑石粉、氢氧化铝、硼酸、氢化植物油、聚乙二醇、十二烷基硫酸钠;崩解剂,例如淀粉或其衍生物、聚乙烯吡咯烷酮、微晶纤维素、干淀粉、交联聚维酮、交联羧甲基纤维素钠、羧甲基淀粉钠、低取代羟丙基纤维素,优选淀粉衍生物为羧甲基淀粉钠、淀粉乙醇酸钠、预胶化淀粉、改良淀粉、羟丙基淀粉、玉米淀粉;湿润剂,例如十二烷基硫酸钠、水或醇等。

[0042] 所述注射剂常用的赋形剂或辅料包括但不限于:抗氧剂,例如酚类如丁羟基茴香醚(BHA)、丁羟基甲苯(BHT)、去甲二氢愈创木酸(NDGA),含硫化合物如硫二丙酸、亚硫酸盐、亚硫酸氢盐、二硫代氨基甲酸盐,亚硫酸钠、亚硫酸氢钠、焦亚硫酸钠、硫代硫酸钠;有机酸/醇/酯类如抗坏血酸、枸橼酸、苹果酸、山梨醇、甘油、丙二醇、抗坏血酸棕榈酸酯,酯类如氢醌、羟基香豆素、维生素E,胺类如乙醇胺、豆磷脂、脑磷脂、植物磷脂或动物磷脂,无机酸或其盐、磷酸或其盐、亚磷酸或其盐;渗透压调节剂,例如氯化钠、葡萄糖、氯化钾、氯化镁、氯化钙、山梨醇、甘露醇等,优选为氯化钠或葡萄糖;抑菌剂,例如0.5%苯酚、0.3%甲酚、0.5%三氯叔丁醇;pH调节剂,例如盐酸、酒石酸、柠檬酸、氢氧化钾、氢氧化钠、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、醋酸、醋酸钠、乳酸、枸橼酸、枸橼酸钠、碳酸氢钠、碳酸钠任一种或其组合;乳化剂,例如聚山梨酯-80、没酸山梨坦、普罗尼克F-68、卵磷脂、豆磷脂;增溶剂,例如吐温-80、胆汁、甘油、丙二醇、卵磷脂、聚氧乙烯蓖麻油等;填充剂或赋形剂,例如乳糖、甘露醇、山梨醇、右旋糖酐等。

[0043] 所述注射剂选自注射液、注射用无菌粉末与注射用浓溶液,可用于肌肉注射、静脉注射、静脉滴注等。本发明注射剂的规格选自有1mL、2mL、5mL、10mL、20mL、50mL、100mL、200mL、250mL或500mL。

[0044] 另外,还可将活性成分与药学上可接受的缓控释载体按其制备要求加以混合,再按照本领域熟知的缓控释制剂的制备方法,如加入阻滞剂包衣或将活性成分微囊化后再制成微丸,如缓释微丸或控释微丸;所述的缓控释载体包括但不限于油脂性掺入剂、亲水胶体或包衣阻滞剂等,所述的油脂性掺入剂为单硬脂酸甘油酯、氢化蓖麻油、矿油、聚硅氧烷、

二甲基硅氧烷；所述的亲水胶体为羧甲基纤维素钠、羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素等纤维素衍生物，或 PVP、阿拉伯胶、西黄耆胶或卡波普等；所述的包衣阻滞剂为乙基纤维素 (EC)、羟丙基甲基纤维素 (HMPC)、聚乙烯吡咯烷酮 (PVP)、邻苯二甲酸醋酸纤维素 (CAP)、丙烯酸类树脂等。

[0045] 本发明的药物制剂可为单位制剂，以桂哌齐特计，含有 0.01g ~ 5g 的本发明药物组合物作为必需的活性成分，优选为 0.01 ~ 3g，更优选为 0.04g、0.08g、0.1g、0.16g、0.2g、0.25g、0.32g、0.4g、0.5g、0.75g、1g、1.25g、1.5g、1.75g、2g 或 2.5g。

[0046] 本发明的另一目的在于提供一种制备注射液的方法，其特征在于，在避光，无氧保护条件下，将本发明的药物组合物与药学上可接受的注射液载体混合而成。

[0047] 进一步，所述的药学上可接受的注射液载体选自抗氧化剂、抑菌剂、pH 调节剂的任一种或其组合。

[0048] 进一步，所述的抗氧化剂选自酚类如丁羟基茴香醚 (BHA)、丁羟基甲苯 (BHT)、去甲二氢愈创木酸 (NDGA)，含硫化合物如硫二丙酸、亚硫酸盐、亚硫酸氢盐、二硫代氨基甲酸盐，亚硫酸钠、亚硫酸氢钠、焦亚硫酸钠、硫代硫酸钠；有机酸/醇/酯类如抗坏血酸、枸橼酸、苹果酸、山梨醇、甘油、丙二醇、抗坏血酸棕榈酸酯，酯类如氢醌、羟基香豆素、维生素 E，胺类如乙醇胺、豆磷脂、脑磷脂、植物磷脂或动物磷脂，无机酸或其盐、磷酸或其盐、亚磷酸或其盐。

[0049] 进一步，所述的 pH 调节剂选自盐酸、酒石酸、柠檬酸、氢氧化钾、氢氧化钠、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、醋酸、醋酸钠、乳酸、枸橼酸、枸橼酸钠、碳酸氢钠、碳酸钠的任一种或其组合。

[0050] 进一步，所述的抑菌剂选自 0.5% 苯酚、0.3% 甲酚、0.5% 三氯叔丁醇的任一种或其组合。

[0051] 本发明的另一目的在于提供本发明所述的药物组合物或其药物制剂用于制备预防心脑血管疾病的药物中的应用。

[0052] 进一步，所述的心脑血管疾病选自脑血管意外、心血管疾病、外周血管疾病的任一种或其组合。

[0053] 进一步，所述的脑血管意外选自脑动脉硬化、一过性脑缺血发作、脑血栓形成、脑栓塞、脑出血后遗症、脑外伤后遗症的任一种或其组合。

[0054] 进一步，所述的心血管疾病选自冠心病、心绞痛、心肌梗塞的任一种或其组合。

[0055] 进一步，所述的外周血管疾病选自下肢动脉粥样硬化、血栓闭塞性脉管炎、动脉炎、雷诺氏病的任一种或其组合。

[0056] 与现有技术相比，本发明具有下述优点：

[0057] 1) 本发明分离、纯化和表征了新的桂哌齐特氮氧化物，并对该化合物的活性进行了充分研究，发现该化合物的毒性远大于桂哌齐特，并具有不同于桂哌齐特的杀虫活性，同时，发现桂哌齐特氮氧化物可引起动物的白细胞减少，甚至影响粒细胞的形成和分化，可能是桂哌齐特类药物导致病人血象下降等副反应或不良反应的主要原因。

[0058] 2) 本发明分离、纯化了桂哌齐特在存放过程中可能产生的相关物质，得到桂哌齐特的氮氧化物、1-(3,4,5-三甲氧基肉桂酰基)哌嗪、桂哌齐特的顺式异构体和其他相关物质，并通过比较实验研究这些相关物质的活性及其对白细胞数量、粒细胞形成和分化的影响，发现一定含量的桂哌齐特氮氧化物可引起动物的白细胞减少或粒细胞缺乏，是桂哌齐

特致病人血象下降等副反应或不良反应的主要原因,而 1-(3,4,5-三甲氧基肉桂酰基)哌嗪、桂哌齐特的顺式异构体和其他有关物质对动物血象几无影响。

[0059] 3) 本发明通过深入研究,惊人发现,桂哌齐特氮氧化物在其含量不高于 0.5%时,对动物白细胞数或粒细胞的形成和分化存在影响,但不显著;在其含量不高于 0.2%时,则对动物白细胞数或粒细胞的形成和分化没有影响。因此,本发明提供一种安全性高的桂哌齐特药物组合物,所述药物组合物含有桂哌齐特或其药学上可接受的盐和含量不高于 0.5%的式 III 化合物。

[0060] 4) 本发明通过深入研究,初步探讨了桂哌齐特致病人血象下降的原因,并得到了一种安全性高的桂哌齐特药物组合物,并通过有效控制桂哌齐特原料或其制剂中桂哌齐特氮氧化物的含量,以提高桂哌齐特产品及其制剂的安全性、有效性和稳定性。

[0061] 5) 本发明还提供了一种制备安全性高的桂哌齐特药物组合物的方法,即将制备桂哌齐特或其药学上可接受的盐及其制剂的各个环节控制在无氧条件下操作,以有效降低或减少桂哌齐特或其药学上可接受的盐及其制剂中的桂哌齐特氮氧化物的含量,从而提高其安全性、有效性和稳定性。

[0062] 6) 本发明还提供了多种桂哌齐特氮氧化物的制备方法,并将制备所得的桂哌齐特氮氧化合物作为对照品用于控制桂哌齐特药学上可接受的盐及其制剂中氮氧化合物的含量。

附图说明

[0063] 图 1 式 (III) 所示结构化合物的 HPLC 图;

[0064] 图 2 式 (III) 所示结构化合物的 ^1H -NMR 图;

[0065] 图 3 式 (III) 所示结构化合物的质谱图。

具体实施方式

[0066] 下面通过实施例对本发明作进一步说明。应该理解的是,本发明实施例仅仅是用于说明本发明,而不是对本发明的限制,在本发明的构思前提下对本发明的简单改进都属于本发明要求保护的范围。

[0067] 实施例 1 桂哌齐特氮氧化物的制备

[0068] 将 2 克桂哌齐特溶于 100ml 二氯甲烷中,加入过氧乙酸 10 克,搅拌,至反应完成,过滤,旋干滤液,用乙醇重结晶,然后冷冻干燥,即得 0.52g 桂哌齐特氮氧化物。HPLC 峰面积归一法,测得其含量不低于 98%。

[0069] ^1H NMR (300MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.615(d, 1H) 6.731(d, 1H) 6.610(s, 2H) 3.801(m, 1H)、4.012(m, 2H)、4.131(m, 1H) 4.674(d, 1H)、4.278(d, 1H) 3.907(s, 6H) 3.882(s, 3H) 3.251(d, 2H)、3.589(d, 2H) 3.504(t, 2H) 4.137(t, 2H) 1.914(m, 2H)、2.015(m, 2H)

[0070] 实施例 2 桂哌齐特氮氧化物的制备

[0071] 将 2 克桂哌齐特溶于 100ml 甲醇中,加入 5 克过氧苯甲酸,搅拌,至反应完成,过滤,旋干滤液,用制备型高效液相分离,流动相为甲醇-水,梯度洗脱,接收产品流份,即得 0.3g 桂哌齐特氮氧化物。HPLC 峰面积归一法,测得其含量不低于 99%。

[0072] ^1H NMR (600MHz, DMSO) δ (ppm): 7.492(d, 1H) 7.238(d, 1H) 7.060(s, 2H) 4.306(dd,

2H)、4.090(s, 2H)、3.913(m, 1H) 3.835(s, 6H)、3.723(m, 1H) 3.689(s, 3H) 3.641(m, 3H)、3.489(s, 1H) 3.311(t, 2H) 3.186(m, 2H) 1.853(m, 2H)、1.776(m, 2H)

[0073] 实施例 3 桂哌齐特氮氧化物的制备

[0074] 将 5 克马来酸桂哌齐特溶于 25ml 水中, 加入 25ml 浓度为 25% 的双氧水, 室温搅拌反应 5 天, 用制备型高效液相分离, 流动相为乙腈-水, 梯度洗脱, 接收产品流份, 即得 500mg 桂哌齐特氮氧化物。HPLC 峰面积归一法, 测得其含量不低于 99%。

[0075] MS(LC-MS) = 434.2(M+H⁺), 867.5(2M+H⁺)。

[0076] 实施例 4 桂哌齐特氮氧化物的制备

[0077] 将 2.5g 桂哌齐特与 2.5g 间氯过氧苯甲酸进行研磨, 研磨后用制备型高效液相分离, 流动相为甲醇-乙腈-水, 梯度洗脱, 接受产品流份, 即得 210mg 桂哌齐特氮氧化物。HPLC 峰面积归一法, 测得其含量不低于 99%。

[0078] MS(LC-MS) = 434.2(M+H⁺), 867.5(2M+H⁺)。

[0079] 实验例 5 桂哌齐特氮氧化物的毒性研究

[0080] 试验动物: SD 大鼠 100 只, 体重 200g±20g; 昆明种小白鼠 100 只, 体重 20g±2g。动物尾静脉注射给予桂哌齐特氮氧化物(下称“氮氧化物”), 给药体积为: 大鼠为 1.0ml/100g 体重, 小鼠为 0.1mL/10g 体重, 每天给药一次。给药后, 连续观察 2 周。

[0081] 观察指标:

[0082] (1) 注射药物后, 观察动物死亡时间及其死亡数量, 并计算 LD₅₀ 值;

[0083] (2) 给药后中毒症状和持续时间;

[0084] (3) 死亡动物立行解剖检查; 在观察结束时, 对存活动物进行解剖检查。

[0085] 表 1 桂哌齐特及其氮氧化物的 LD₅₀ 值

	化合物	LD ₅₀	
		SD 大鼠	小鼠
[0086]	桂哌齐特	1679mg/kg	724mg/kg
	桂哌齐特氮氧化物	18mg/kg	11mg/kg

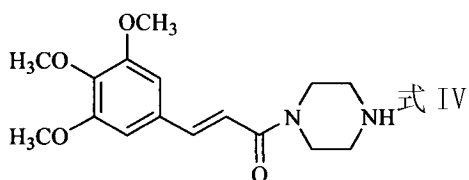
[0087] 由表 1 可以看出, 桂哌齐特在 SD 大鼠和小鼠中的 LD₅₀ 值约为桂哌齐特氮氧化物的 90 倍和 60 倍, 说明桂哌齐特氮氧化物的毒性远大于桂哌齐特, 由此推测, 桂哌齐特的不良反应可能与氮氧化物有关。

[0088] 实验例 6 桂哌齐特中相关物质对小鼠白细胞和粒细胞的影响

[0089] 雌性昆明种小白鼠 130 只, 体重 20±2 克, 适应饲养后, 随机分为溶剂对照组、桂哌齐特的高中低剂量组、桂哌齐特顺式异构体的高中低剂量组、桂哌齐特氮氧化物的高中低剂量组和相关物质 1-(3,4,5-三甲氧基肉桂酰基)哌嗪的高中低剂量组, 共 13 个组。

[0090] 受试药物: 纯度为 99.9% 的马来酸桂哌齐特, 白色无臭粉末; 纯度为 98.3% 的桂哌齐特顺式异构体, 类白色或淡黄色无臭结晶粉末; 纯度为 98.5% 的桂哌齐特氮氧化物, 类白色或微黄色结晶性粉末; 纯度为 98% 的 1-(3,4,5-三甲氧基肉桂酰基)哌嗪(结构如式 IV 所示), 淡黄色结晶性粉末, 其 ¹H NMR(400MHz, DMSO) δ: 7.457(d, 1H) 7.182(d, 1H) 7.044(s, 2H) 2.826(d, 4H) 3.819(s, 6H) 3.671(s, 3H) 3.722(m, 2H)、3.574(m, 2H) 8.275(s, 1H)。

[0091]



[0092] 给药方法：小鼠尾静脉注射给药，给药体积为 0.1ml/10g 体重，连续给药 4 周。给药前，受试药物经注射用水溶解，并按剂量要求稀释至所需浓度。

[0093] 剂量设计

[0094] 根据马来酸桂哌齐特的人用临床剂量（320mg/人/天），相当于桂哌齐特 250mg/人/天，设定桂哌齐特的高（312mg/kg，相当于人用剂量的 10 倍）、中（156mg/kg，相当于人用剂量的 5 倍）、低（78mg/kg，相当于人用剂量的 2.5 倍）给药剂量组。

[0095] 桂哌齐特顺式异构体的剂量设定同上。

[0096] 桂哌齐特氮氧化物和 1-(3,4,5-三甲氧基肉桂酰基)哌嗪给药的高剂量均为 32mg/kg，中剂量为 16mg/kg，低剂量为 8mg/kg。

[0097] 对照组给予等体积的生理盐水。

[0098] 观察指标

[0099] 血象检测：尾静脉取血 20 μl，以日产血象检测仪检测。各组小鼠在给药前、给药期间每周、给药结束一周各检测一次。结果见表 2 和表 3。

[0100] 表 2 桂哌齐特中相关物质对小鼠外周血白细胞的影响

[0101]

组别		检测时间					
		给药前	第一周	第二周	第三周	第四周	第五周
对照组		9.29±1.35	9.11±1.03	9.21±1.35	9.9607±1.04	11.99±1.08	9.16±1.78
桂哌齐特顺式异构体	低剂	7.45±1.07	7.66±1.29	10.29±3.16	11.63±1.56	9.76±1.69	7.02±1.47
	中剂	7.26±1.14	10.77±2.16	11.27±2.67	10.98±1.35	9.56±1.16	8.19±1.66
	高剂	7.53±1.88	12.08±1.66	10.65±1.15	9.68±2.18	9.63±2.36	8.66±1.98
桂哌齐特	低剂	9.48±2.41	12.69±2.50	10.30±3.07	13.44±3.19	11.55±2.82	11.54±2.50
	中剂	9.64±2.54	11.51±2.12	12.33±3.05	11.87±2.59	11.63±3.20	11.36±2.50
	高剂	10.10±1.23	11.40±3.44	9.83±2.86	13.26±3.72	10.57±2.85	11.64±2.84
桂哌齐特氮氧化物	低剂	9.51±2.36	7.06±3.03*	6.84±4.31*	6.31±4.21*	6.13±3.68*	5.27±3.95*
	中剂	9.60±2.52	6.91±2.98*	6.76±2.96*	6.44±3.51*	6.03±3.61*	5.13±3.84*
	高剂	9.64±2.21	6.72±2.96*	6.32±2.98*	6.03±3.26*	5.68±3.54*	5.02±3.46*
1-(3,4,5-三甲氧基肉桂酰基)哌嗪	低剂	9.40±2.45	10.69±2.52	10.30±3.07	10.44±3.12	11.51±2.52	10.51±2.61
	中剂	9.69±2.58	10.51±2.12	10.35±3.34	11.87±2.59	11.62±3.40	10.35±2.70
	高剂	10.21±1.04	11.40±3.44	9.93±2.87	11.22±3.75	10.54±2.84	10.64±2.74

[0102] *表示与对照组相比, $p < 0.05$

[0103] 由表 2 可见,与对照组相比,桂哌齐特组、桂哌齐特顺式异构体、1-(3,4,5-三甲氧基肉桂酰基)哌嗪组动物的白细胞数较稳定,均在正常范围之内,且各组小鼠的外周血白细胞数量无明显改变,而桂哌齐特氮氧化物各剂量组动物的白细胞数下降都较大,与对照组相比呈现显著性差异。说明桂哌齐特氮氧化物可致小鼠外周血的白细胞数减少,而桂哌齐特本身、桂哌齐特顺式异构体和 1-(3,4,5-三甲氧基肉桂酰基)哌嗪对小鼠外周血白细胞数没有影响。

[0104] 表 3 桂哌齐特中相关物质对小鼠粒细胞的影响

[0105]

组别	粒细胞：红细 胞	粒细胞系统（%）		
		原始+早幼	中幼+晚幼	带状+分叶
溶剂	2.01±0.85	2.40±1.14	15.60±9.26	22.30±2.66
桂哌齐特 顺式异构 体	低剂量	1.96±0.34	2.10±1.55	16.30±3.47
	中剂量	2.48±1.18	1.79±0.45	17.9±3.18
	高剂量	1.69±0.49	1.49±0.89	12.70±1.59
桂哌齐特	低剂量	1.76±0.34	2.70±1.60	16.90±3.81
	中剂量	2.44±1.14	1.70±0.45	17.3±3.17
	高剂量	1.68±0.48	1.40±0.82	12.70±1.79
桂哌齐特 氮氧化物	低剂量	0.95±0.42	1.01±0.32	5.70±0.79
	中剂量	0.91±0.32	0.88±0.41	4.68±0.22
	高剂量	0.81±0.45	0.61±0.42	4.68±0.88
1-(3,4,5- 三甲氧基 肉桂酰 基)哌嗪	低剂量	1.82±0.41	2.90±0.65	17.70±2.89
	中剂量	2.65±1.37	0.90±0.55	15.20±2.51
	高剂量	1.70±0.57	1.40±1.14	11.70±3.80

[0106] 由表 3 可见,与对照组相比,桂哌齐特组、桂哌齐特顺式异构体组、1-(3,4,5-三甲氧基肉桂酰基)哌嗪组小鼠的骨髓均呈增生活跃状态,粒细胞系统总的比例变化不大,而且粒系各不同分化阶段的组成比例亦未出现明显差异;而桂哌齐特氮氧化物组小鼠的骨髓均呈被抑制状态,而且粒系各不同分化阶段的组成比例亦出现明显差异。说明桂哌齐特氮氧化物可对小鼠粒细胞的生成和分化产生严重影响,而桂哌齐特本身、桂哌齐特顺式异构体和 1-(3,4,5-三甲氧基肉桂酰基)哌嗪不影响小鼠粒细胞的生成和分化。

[0107] 由于本发明研究未见 1-(3,4,5-三甲氧基肉桂酰基)哌嗪的毒副作用和相关活性,但为了控制和提高桂哌齐特产品或其制剂的质量,本发明将 1-(3,4,5-三甲氧基肉桂酰基)哌嗪作为“其他有关物质”进行限量控制。

[0108] 实验例 7 桂哌齐特及其组合物对小鼠白细胞和粒细胞的影响

[0109] 雌性昆明种小白鼠 80 只, 体重 20 ± 2 克, 适应饲养后, 随机分为溶剂对照组、桂哌齐特组、桂哌齐特与桂哌齐特氮氧化物组合物组, 共 8 组。

[0110] 受试药物: 纯度为 99.9% 的桂哌齐特, 白色无臭粉末; 桂哌齐特与桂哌齐特氮氧化物的重量比分别为 1 : 0.1%、1 : 0.2%、1 : 0.3%、1 : 0.4%、1 : 0.5% 和 1 : 0.6% 的组合物组 (下称“组合物”)。

[0111] 给药前, 受试药物经注射用水溶解, 并按剂量要求稀释至所需浓度。

[0112] 给药方法

[0113] 小鼠尾静脉注射给药, 给药体积为 0.1ml/10g 体重, 连续给药 4 周。

[0114] 剂量设计

[0115] 根据马来酸桂哌齐特的人用临床剂量 (320mg/人·天, 相当于桂哌齐特 250mg/人·天), 设定桂哌齐特在小鼠的给药剂量为 32mg/kg, 对照组给予等体积的生理盐水。

[0116] 观察指标

[0117] 血象检测: 尾静脉取血 $20 \mu\text{L}$, 以日产血象检测仪检测。各组小鼠在给药前、给药期间每周、给药结束一周各检测一次。结果见表 4 和表 5。

[0118] 表 4 桂哌齐特及其组合物对小鼠外周血白细胞的影响

[0119]

组别	检测时间						
	给药前	第一周	第二周	第三周	第四周	第五周	
对照组	9.17±3.23	9.32±1.87	9.50±1.95	9.96±2.04	11.20±1.20	9.33±2.68	
桂哌齐特	9.64±2.54	11.51±2.12	12.33±3.05	11.87±2.59	11.63±3.20	11.36±2.50	
1:0.1%	9.67±3.63	9.69±2.34	10.20±3.11	9.74±3.11	9.85±2.32	9.94±2.70	
1:0.2%	9.64±2.51	9.51±2.32	9.33±3.26	9.87±2.39	9.63±3.20	9.66±2.51	
组 合 物	1:0.3%	9.16±3.33	9.40±2.44	9.83±2.86	9.26±3.62	9.57±2.61	9.64±2.36
	1:0.4%	9.58±3.28	9.31±3.45	8.91±3.61	8.14±3.54*	8.03±3.61*	7.81±3.51*
	1:0.5%	9.25±3.06	8.98±3.21	8.51±3.03*	8.12±3.24*	8.06±3.41*	7.59±3.16*
	1:0.6%	9.55±2.50	8.26±3.51*	8.17±3.64*	8.10±3.84*	8.02±3.54*	7.44±3.46*

[0120] * 表示与对照组相比, $p < 0.05$

[0121] 由表 4 可见, 与对照组相比, 桂哌齐特组和对照组动物的白细胞数较稳定, 均在正常范围之内; 而组合物组在桂哌齐特氮氧化物含量 $\leq 0.20\%$ 时, 各组小鼠的外周血白细胞数量无明显改变, 而当桂哌齐特氮氧化物含量在 0.4% 剂量组时, 小鼠白细胞在给药后第三

周与对照组相比显著减少;当桂哌齐特氮氧化物的含量达到 0.5%时,小鼠白细胞在给药后第二周与对照组相比显著减少,当桂哌齐特氮氧化物的含量达到 0.6%时,小鼠白细胞在给药后第一周就显著减少,可见,随着组合物中桂哌齐特氮氧化物含量的增大,小鼠白细胞数目减少的程度越大,且白细胞减少的时间也提前。由于桂哌齐特的临床给药疗程为 7~14 天,而组合物的比例达到 1:0.5%时第二周出现白细胞下降的不良反应,可见氮氧化物含量不高于 0.5%时,是相对比较安全的。

[0122] 表 5 桂哌齐特及其组合物对小鼠骨髓涂片细胞分类计数结果的影响

[0123]

组别	粒细胞: 红细	粒细胞系统 (%)		
	胞	原始+早幼	中幼+晚幼	带状+分叶
对照组	2.01±0.85	2.40±1.14	15.60±9.26	22.30±2.66
桂哌齐特	2.65±1.37	0.90±0.55	15.20±2.51	29.10±2.04
1:0.1%	2.34±1.04	2.10±0.41	17.20±1.17	20.90±2.87
1:0.2%	2.02±0.41	1.95±0.65	16.60±2.72	20.40±3.56
1:0.3%	1.92±0.41	1.88±0.35	15.30±2.89	19.98±3.19
1:0.4%	1.34±0.32	0.83±0.31	8.34±1.22	12.43±3.30
1:0.5%	1.04±0.22	0.73±0.35	7.24±1.02	11.08±3.21
1:0.6%	0.82±0.45	0.65±0.41	4.76±0.88	10.52±2.76

[0124] 由表 5 可见,桂哌齐特组小鼠的骨髓均呈增生活跃状态,粒细胞系统总的比例变化不大,而且粒系各不同分化阶段的组成比例亦未出现明显差异;而组合物组表现不同,当组合物中桂哌齐特氮氧化物的含量≤0.20%时,各组小鼠的骨髓均呈增生活跃状态,粒细胞系统总的比例变化不大,而且粒系各不同分化阶段的组成比例亦未出现明显差异;当组合物中桂哌齐特氮氧化物的含量达到 0.3%、0.4%、0.5%和 0.6%,随着桂哌齐特氮氧化物含量的增大,小鼠的骨髓均呈被抑制状态越发加剧,而且粒系各不同分化阶段的组成比例亦出现的差异逐渐增大,说明桂哌齐特氮氧化物可以对粒细胞的生成和分化产生严重影响。因此,为了保证用药的安全性,桂哌齐特或其盐中桂哌齐特氮氧化物的含量不应高于 0.20%。

[0125] 实施例 8 桂哌齐特的制备(下称“组合物 1”)

[0126] 1) 避光,氮气保护的条件下,取 1000g 无水碳酸钾、1800g 无水哌嗪,加入到 4000ml 无水乙醇中,搅拌回流,加入 620g 氯乙酰吡咯啉于无水乙醇溶液中,加毕,搅拌反应 2.5 小时,静置,滤过,收集滤液,减压蒸出溶剂,加水适量,减压蒸馏,纯化产品,得 1-[(1-四氢吡咯羰基)甲基]哌嗪;

[0127] 2) 避光,氮气保护的条件下,将 800g 的 3,4,5-三甲氧基肉桂酰氯加入 4000ml 二氯甲烷中,搅拌溶解,再于 15-20℃下逐步加入 562g 的 1-[(1-四氢吡咯羰基)甲基]哌嗪,加毕,继续搅拌反应 4 小时;加入 2000ml 水充分振摇,静置,分出水层;有机层中加入 2000 毫升 5%稀盐酸溶液提取,集合酸、水溶液,慢慢滴加入 20%氢氧化钠,中和至 pH8-9,用 2000ml 二氯甲烷提取三次,集合二氯甲烷溶液,用 200ml 水洗涤二氯甲烷溶液 2 次,无水硫酸钠干燥,减压蒸出溶剂至干,得 1-[(1-四氢吡咯羰基)甲基]-4-(3,4,5-三甲氧基肉桂酰基)-哌嗪;

[0128] 3) 避光,氮气保护的条件下,取 200g 桂哌齐特,加入无水乙腈 4000ml,加热,使原料溶解后,回流 15min,室温冷却,放置 24h 以后,过滤,收集晶体,室温减压干燥 10h,得本发明的桂哌齐特组合物 1。

[0129] 实施例 9 桂哌齐特甲磺酸盐的制备(下称“组合物 2”)

[0130] 1) 避光,氮气保护的条件下,取实施例 1 中制得的桂哌齐特化合物 10g (24mmol),投入反应瓶中,加入 50ml 乙醇,搅拌溶解,然后在搅拌下滴加 2.9g 甲磺酸 (25mmol)/50ml 乙醇中,滴加完毕后静置 1h,反应液冷冻析晶,得到类白色甲磺酸桂哌齐特粗品;将粗品加入到 90ml 乙醇中,搅拌加热至回流,待固体全溶后溶液冷却析晶,得到桂哌齐特甲磺酸盐的白色结晶性粉末;

[0131] 2) 避光,氮气保护的条件下,取 20g 甲磺酸桂哌齐特,加入无水丙酮 30ml,加热回流,然后慢慢滴加甲醇,至固体刚好溶解后再回流 15min,室温冷却,放置 24h 以后,过滤,收集晶体,室温减压干燥 10h,即得本发明的桂哌齐特甲磺酸盐。

[0132] 实施例 10 桂哌齐特马来酸盐的制备(下称“组合物 3”)

[0133] 1) 避光,氮气保护的条件下,取参见实施例 1 中制备方法制得的桂哌齐特化合物 10g,投入反应瓶中,然后加入 50ml 乙醇,搅拌溶解后,然后在搅拌下滴加 5g 马来酸于 30ml 乙醇中,滴加完毕后静置 1h,然后将反应液冷冻析晶,得到类白色粗品。将粗品加入到 60ml 乙醇中,搅拌加热至回流,待固体全溶后溶液冷却析晶,得到微黄色桂哌齐特马来酸盐粉末。

[0134] 2) 避光,氮气保护的条件下,取 20g 马来酸桂哌齐特,加入无水丙酮 30ml,加热回流,然后慢慢滴加水,至固体刚好溶解后再回流 15min,室温冷却,放置 24h 以后,过滤,收集晶体,室温减压干燥 10h,得本发明的桂哌齐特马来酸盐。

[0135] 实施例 11 桂哌齐特磷酸盐的制备(下称“组合物 4”)

[0136] 1) 避光,氮气保护的条件下,取参见实施例 1 中制备方法制得的桂哌齐特化合物 15g (36mmol),投入反应瓶中,然后加入 50ml 乙醇,搅拌溶解后,然后在搅拌下滴加 4.2g 磷酸 (36mmol)/10ml 乙醇,滴加完毕后静置 1h,然后将反应液冷冻析晶,得到类白色粗品。将粗品加入到 60ml 乙醇中,搅拌加热至回流,待固体全溶后溶液冷却析晶,得到微黄色桂哌齐特磷酸盐粉末。

[0137] 2) 避光,氮气保护的条件下,取 20g 磷酸桂哌齐特,加入无水丙酮 30ml,加热回流,然后慢慢滴加水,至固体刚好溶解后再回流 15min,室温冷却,放置 24h 以后,过滤,收集晶体,室温减压干燥 10h,得本发明的桂哌齐特磷酸盐。

[0138] 实施例 12 桂哌齐特酒石酸盐的制备(下称“组合物 5”)

[0139] 1) 避光,氮气保护的条件下,取参见实施例 1 中制备方法制得的桂哌齐特化合物

10g (24mmol), 投入反应瓶中, 然后加入 50ml 乙醇, 搅拌溶解后, 然后在搅拌下滴加 3.8g 酒石酸 (25mmol)/50ml 乙醇溶液, 滴加完毕后静置 1h, 然后将反应液冷冻析晶, 得到类白色粗品。将粗品加入到 60ml 乙醇中, 搅拌加热至回流, 待固体全溶后溶液冷却析晶, 得到微黄色桂哌齐特酒石酸盐粉末。

[0140] 2) 避光, 氮气保护的条件下, 取 20g 酒石酸桂哌齐特, 加入无水丙酮 30ml, 加热回流, 然后慢慢滴加水, 至固体刚好溶解后再回流 15min, 室温冷却, 放置 24h 以后, 过滤, 收集晶体, 室温减压干燥 10h, 得桂哌齐特酒石酸盐。

[0141] 实施例 13 桂哌齐特硫酸盐的制备 (下称“组合物 6”)

[0142] 1) 避光, 氮气保护的条件下, 取参见实施例 1 中制备方法制得的桂哌齐特化合物 15g, 投入反应瓶中, 然后加入 50ml 乙醇, 搅拌溶解后, 然后在搅拌下滴加 3.8g 硫酸 (约 36mmol)/10ml 乙醇中, 滴加完毕后静置 1h, 然后将反应液冷冻析晶, 得到类白色粗品。将粗品加入到 60ml 乙醇中, 搅拌加热至回流, 待固体全溶后溶液冷却析晶, 得到微黄色桂哌齐特硫酸盐粉末。

[0143] 2) 避光, 氮气保护的条件下, 取 20g 硫酸桂哌齐特, 加入无水丙酮 30ml, 加热回流, 然后慢慢滴加水, 至固体刚好溶解后再回流 15min, 室温冷却, 放置 24h 以后, 过滤, 收集晶体, 室温减压干燥 10h, 得桂哌齐特硫酸盐。

[0144] 实施例 14 桂哌齐特丁二酸盐的制备 (下称“组合物 7”)

[0145] 1) 避光, 氮气保护的条件下, 取参见实施例 1 中制备方法制得的桂哌齐特化合物 10g (24mmol), 投入反应瓶中, 然后加入 50ml 乙醇, 搅拌溶解后, 然后在搅拌下滴加 2.9g 丁二酸 (25mmol)/30ml 乙醇, 滴加完毕后静置 1h, 然后将反应液冷冻析晶, 得到类白色粗品。将粗品加入到 60ml 乙醇中, 搅拌加热至回流, 待固体全溶后溶液冷却析晶, 得到微黄色桂哌齐特丁二酸盐粉末。

[0146] 2) 避光, 氮气保护的条件下, 取 20g 丁二酸桂哌齐特, 加入无水丙酮 30ml, 加热回流, 然后慢慢滴加水, 至固体刚好溶解后再回流 15min, 室温冷却, 放置 24h 以后, 过滤, 收集晶体, 室温减压干燥 10h, 得桂哌齐特丁二酸盐。

[0147] 实施例 15 本发明药物组合物的稳定性考察

[0148] 试验方法

[0149] 取本发明的药物组合物 1-7 和现有原料 (即不经本发明方法制得的桂哌齐特原料), 加流动相, 将其制成 0.5mg/ml 的供试品溶液; 再取部分供试品溶液稀释 100 倍, 作为对照溶液; 另取桂哌齐特氮氧化合物对照品适量, 加流动相, 将其稀释制成 5 μ g/ml 的对照品溶液; 进行高效液相检测, 结果见表 6。

[0150] 表 6 本发明药物组合物的稳定性考察

[0151]

贮存时间	组合物	氮氧化物(%)	顺式异构体(%)	其它相关物质 (%)
0 个月	现有原料	0.25	0.017	0.138
	组合物 1	0	0.018	0.086
	组合物 2	0	0.016	0.053
	组合物 3	0	0.033	0.073
	组合物 4	0	0	0.059
	组合物 5	0	0	0.047
	组合物 6	0	0.017	0.052
	组合物 7	0	0	0.063
1 个月	现有原料	0.28	0.025	0.390
	组合物 1	0	0.019	0.088
	组合物 2	0	0.042	0.091
	组合物 3	0	0.080	0.095
	组合物 4	0.014	0.019	0.107
	组合物 5	0.017	0.041	0.108
	组合物 6	0.013	0.022	0.082
	组合物 7	0.014	0.017	0.073
3 个月	现有原料	0.49	0.114	0.138
	组合物 1	0	0.021	0.091
	组合物 2	0	0.045	0.089
	组合物 3	0	0.085	0.098
	组合物 4	0.037	0.027	0.112
	组合物 5	0.035	0.052	0.184
	组合物 6	0.023	0.032	0.087

[0152]

贮存时间	组合物	氮氧化物(%)	顺式异构体(%)	其它相关物质 (%)
6 个月	组合物 7	0.021	0.026	0.095
	现有原料	0.52	0.034	0.306
	组合物 1	0.023	0.045	0.160
	组合物 2	0.031	0.056	0.167
	组合物 3	0.028	0.091	0.181
	组合物 4	0.034	0.035	0.190
	组合物 5	0.036	0.046	0.243
	组合物 6	0.045	0.053	0.158
	组合物 7	0.028	0.043	0.115
	现有原料	0.61	0.013	0.196
12 个月	组合物 1	0.035	0.137	0.191
	组合物 2	0.035	0.142	0.204
	组合物 3	0.062	0.129	0.309
	组合物 4	0.092	0.190	0.274
	组合物 5	0.088	0.154	0.250
	组合物 6	0.053	0.115	0.166
	组合物 7	0.044	0.132	0.204
	现有原料	0.67	0.033	0.256
	组合物 1	0.075	0.179	0.303
	组合物 2	0.067	0.262	0.315
24 个月	组合物 3	0.092	0.199	0.307
	组合物 4	0.122	0.290	0.287
	组合物 5	0.118	0.154	0.301
	组合物 6	0.113	0.165	0.278
	组合物 7	0.074	0.272	0.311

[0153] 由表 6 可见,本发明的药物组合物存放 24 个月,能将有关物质的含量控制在安全范围内,尤其是能将药物组合物中的桂哌齐特氮氧化物含量控制在 0.20%以内,以有效降低或避免桂哌齐特在临床所致的白细胞减少或者粒细胞缺乏等不良反应,实现安全用药。

[0154] 实施例 16 桂哌齐特氮氧化物的活性研究

[0155] 1、供试昆虫：3 龄前期粘虫幼虫，由西北农林科技大学无公害农药研究中心养虫室提供；

[0156] 2、供试品：取 5mg 本发明式 III 所示化合物，加入 5mL 水，配成 1mg/mL 的药液；对照品为水。

[0157] 3、生测方法：采用小叶蝶添加法

[0158] 在直径为 9 厘米的培养皿底部铺一层滤纸，并加水保湿。每皿挑取 10 头大小一致、较健壮的 3 龄前期粘虫幼虫。将玉米叶剪成 1×1 厘米的小叶蝶，于待测药液中浸 3 秒，晾干后喂试虫。以水为空白对照组。每处理 10 头，重复 3 次。于室温（25℃左右）下、湿度 65% -80%、光照时间为 12 小时 /12 小时的条件下饲养。48 小时后，喂以正常的叶蝶直至羽化。定期记录虫子的取食量、活口数、表现症状等，并根据下列公式计算试虫 24 小时、48 小时的拒食率及死亡率。

[0159] 拒食率（%）=（对照组平均取食量 - 处理组平均取食量）/（对照组平均取食量）*100%；

[0160] 最终死亡率（%）=（试虫死亡个数）/（试虫总个数）*100%；

[0161] 矫正死亡率（%）=（处理死亡率 - 对照死亡率）/（1- 对照死亡率）*100%

[0162] 结果见表 7。

[0163] 表 7 式 III 化合物对 3 龄粘虫的拒食毒杀效果

[0164]

供试药剂	24 小时			48 小时		
	拒食率 (%)	死亡率 (%)	矫正死亡率 (%)	拒食率 (%)	死亡率 (%)	矫正死亡率 (%)
对照组	-	6.67	-	-	7.21	-
式III化合物	67.93	61.74	59.01	93.57	92.71	92.14

[0165] 由表 7 可见，本发明的式 III 化合物具有较好的杀虫活性，可用于制备杀虫剂。

[0166] 实施例 17 本发明注射液的制备

[0167] 1、处方：

[0168] 处方 1

[0169]	组合物 2	62.5g（以桂哌齐特计）
	亚硫酸钠	1g
	Na ₂ HPO ₄	适量
	注射用水	2000ml
共制备		1000 支

[0170] 处方 2

	组合物 3	62.5g (以桂哌齐特计)
	枸橼酸	2.5g
[0171]	Na ₂ HPO ₄	适量
	注射用水	2000ml
	共制备	1000 支
[0172]	处方 3	
	组合物 2	125g (以桂哌齐特计)
	硫代硫酸钠	1.5g
[0173]	注射用水	5000ml
	Na ₂ HPO ₄	适量
	共制备	1000 支
[0174]	处方 4	
	组合物 2	250g (以桂哌齐特计)
	Na ₂ HPO ₄	适量
[0175]	维生素 E	3g
	注射用水	10000ml
	共制备	1000 支
[0176]	处方 5	
	组合物 3	250g (以桂哌齐特计)
	Na ₂ HPO ₄	适量
[0177]	维生素 E	4g
	注射用水	10000ml
	共制备	1000 支
[0178]	2、制备工艺	
[0179]	(1) 将生产用安瓿配液用容器具、仪器设备等进行清理、除菌、除热原；	
[0180]	(2) 按处方称取原料和辅料；	
[0181]	(3) 取抗氧剂加配液量 80% 的注射用水，搅拌溶解；	
[0182]	(4) 向溶液中加入组合物 2 或 3，搅拌溶解，加入配液量 0.05% 的针用活性炭，搅拌 15min，过滤，脱炭；	
[0183]	(5) 加入适量的 Na ₂ HPO ₄ ，调节溶液的 pH 值；	
[0184]	(6) 补加注射用水至全量，定容；	
[0185]	(7) 药液经过 0.22 μm 的微孔滤膜精滤，检查澄明度；	
[0186]	(8) 半成品检验；	
[0187]	(9) 将药液装于安瓿中；	

[0188] (10) 121℃灭菌 15min；

[0189] (11) 检漏,灯检；

[0190] (12) 包装入库,成品全检。

[0191] 表 8 本发明注射液的稳定性考察

[0192]

贮存时间	组合物	氮氧化物(%)	顺式异构体(%)	其它相关物质(%)
0 个月	处方 1	0	0.034	0.064
	处方 2	0	0.120	0.059
	处方 3	0	0.103	0.073
	处方 4	0	0.113	0.089
	处方 5	0	0.042	0.043
1 个月	处方 1	0	0.073	0.035
	处方 2	0.018	0.025	0.078
	处方 3	0.021	0.054	0.106
	处方 4	0.019	0.032	0.081
	处方 5	0.020	0.087	0.067
3 个月	处方 1	0	0.054	0.092
	处方 2	0	0.078	0.108
	处方 3	0	0.074	0.076
	处方 4	0.047	0.057	0.104

[0193]

贮存时间	组合物	氮氧化物(%)	顺式异构体(%)	其它相关物质(%)
6 个月	处方 5	0.037	0.072	0.112
	处方 1	0.038	0.114	0.146
	处方 2	0.039	0.115	0.153
	处方 3	0.037	0.106	0.175
	处方 4	0.048	0.073	0.146
12 个月	处方 5	0.034	0.143	0.336
	处方 1	0.037	0.237	0.249
	处方 2	0.046	0.212	0.225
	处方 3	0.067	0.229	0.231
	处方 4	0.098	0.210	0.244
24 个月	处方 5	0.083	0.244	0.270
	处方 1	0.095	0.219	0.343
	处方 2	0.068	0.242	0.325
	处方 3	0.132	0.299	0.347
	处方 4	0.152	0.298	0.387
	处方 5	0.148	0.174	0.331

[0194] 由表 8 可见,本发明的注射液存放 24 个月,可将有关物质的含量控制在安全范围内,尤其是能桂哌齐特氮氧化物含量控制在 0.20%以内,以有效降低或避免桂哌齐特在临床所致的白细胞减少或者粒细胞缺乏等不良反应,实现安全用药。

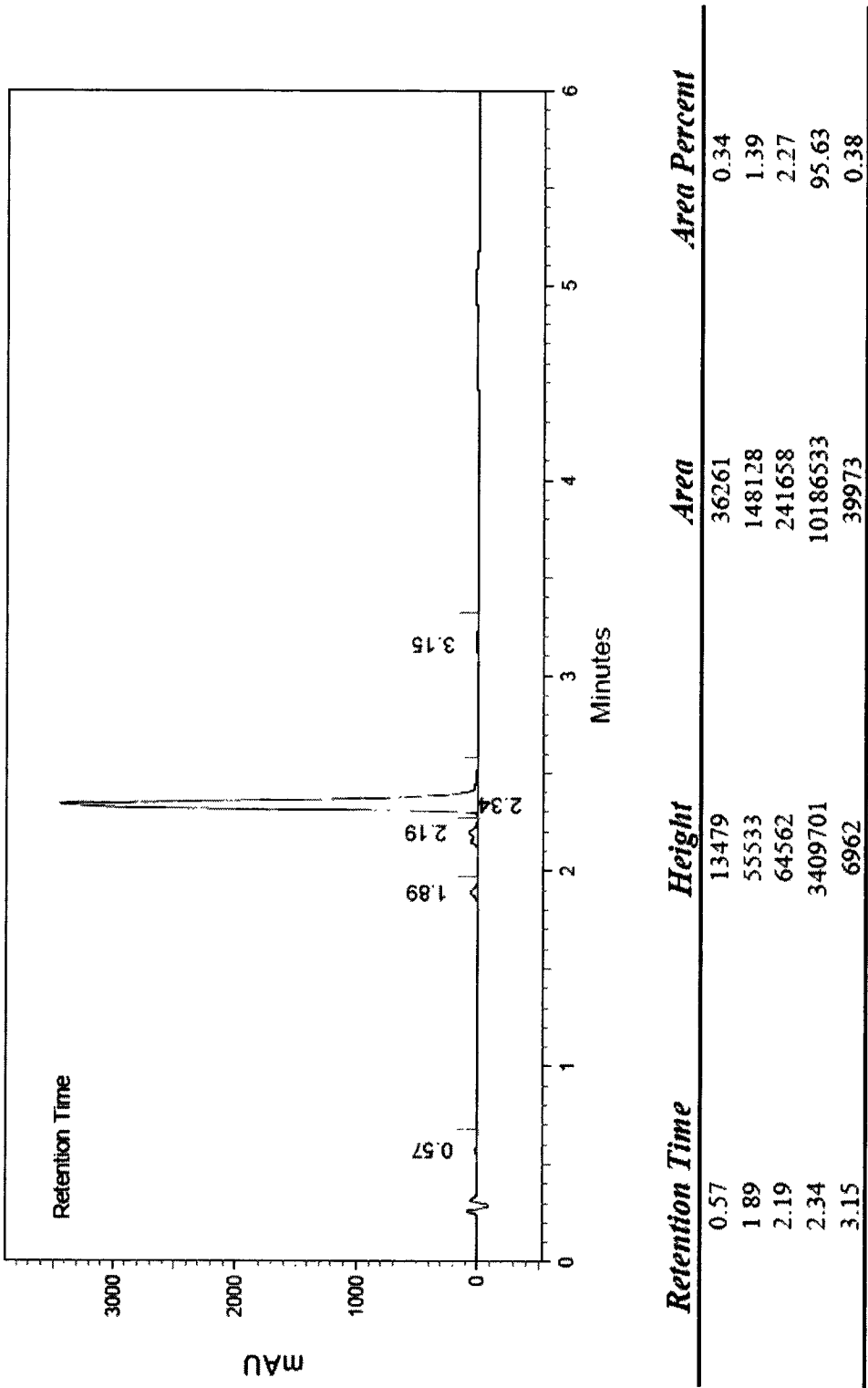


图 1

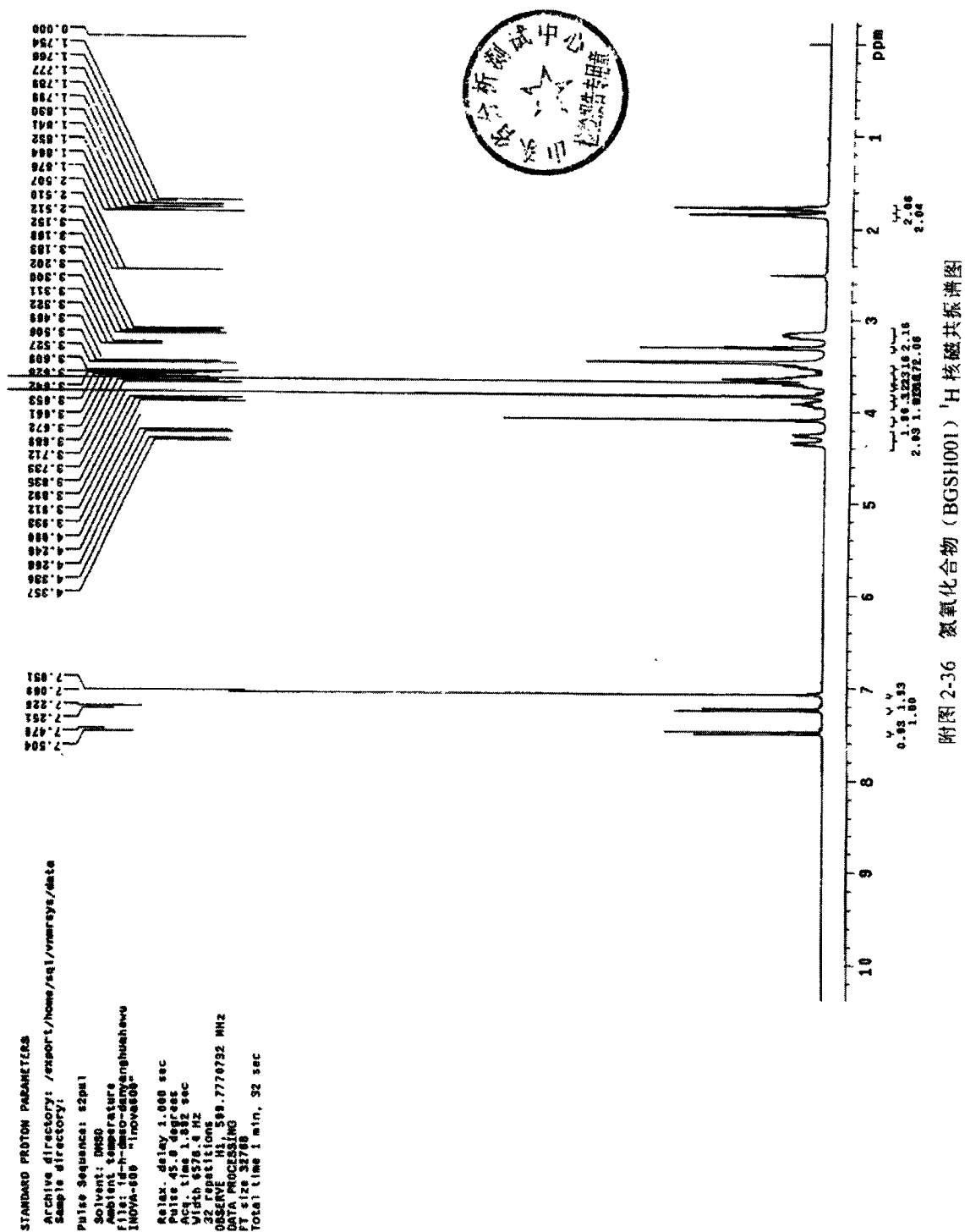
附图 2-36 羟基化合物 (BGSH001) ^1H 核磁共振谱图

图 2

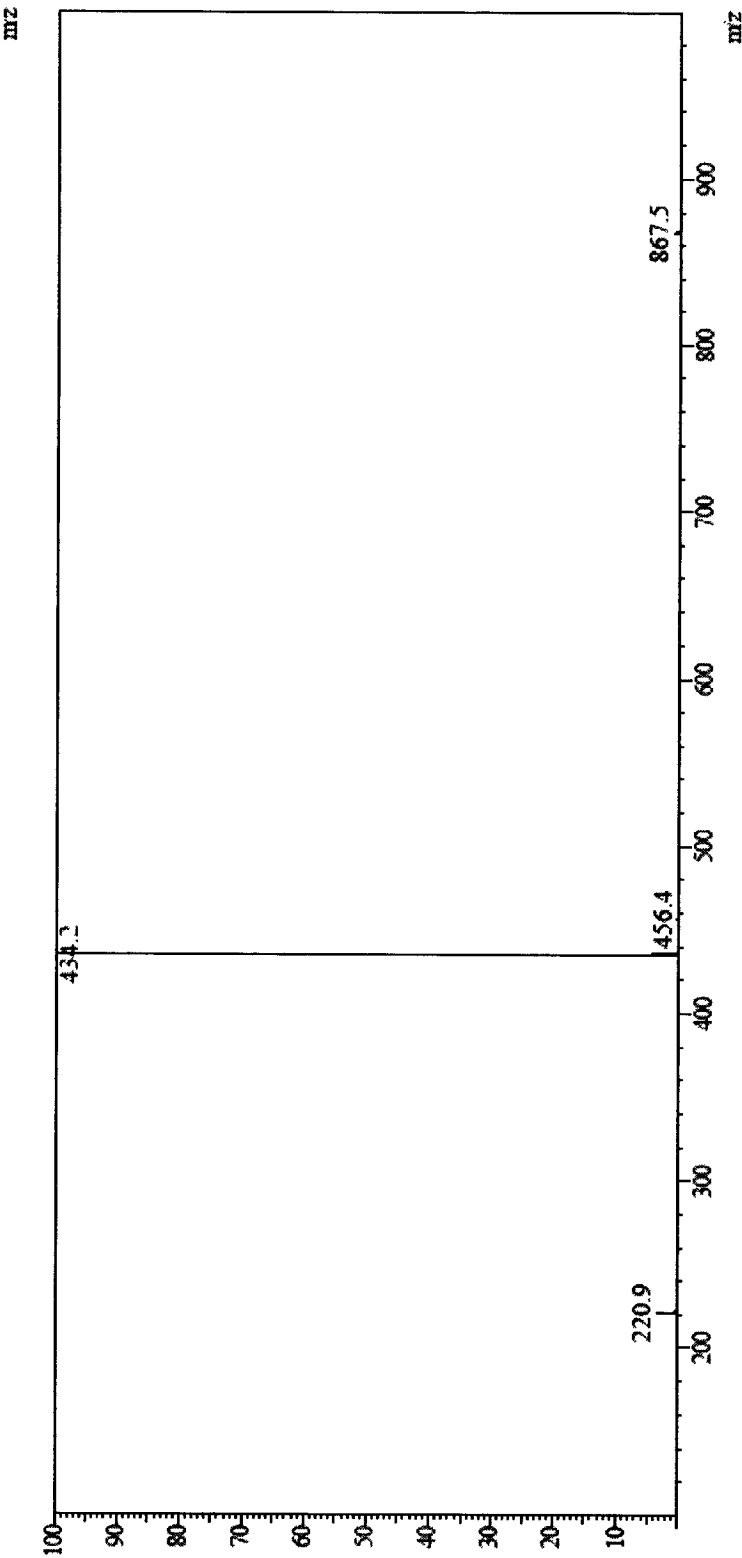


图 3