

胆固醇吸收抑制剂依折麦布中 2 种杂质的合成

岳磊¹, 王龙兴², 段成军², 马静洁^{1*} (1.延边大学, 吉林 延吉 133000; 2.吉林省博大伟业制药有限公司, 长春 130000)

摘要: 目的 合成依折麦布原料药中的 2 种主要杂质。方法 依折麦布(1)经氯代铬酸吡啶盐(PCC)氧化制得杂质 I; 以依折麦布中间体 1-(4-氟苯基)-3(R)-[3-(4-氟苯基)-羟丙基]-4(S)-[4-(4-苄氧基)-苯基]-氮杂环丁烷-2-酮(2)为原料经催化氢化反应制得杂质 II。结果 所得 2 种杂质结构经 ¹H-NMR、¹³C-NMR 和 ESI-MS 确证, 纯度经 HPLC 检测可达 98% 以上。结论 解决了依折麦布杂质的来源问题, 为依折麦布的质量控制提供了依据。

关键词: 依折麦布; 杂质; 合成

中图分类号: R914.5

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2015)04-0437-03

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2015.04.012

Synthesis of Two Impurities in Cholesterol Absorption Inhibitor Ezetimibe

YUE Lei¹, WANG Longxing², DUAN Chengjun², MA Jingjie^{1*} (1.Yanbian University, Yanji 133000, China; 2.Broadwell Pharmaceutical Co., Ltd., Changchun 130000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To synthesize two impurities(I and II) in ezetimibe. **METHODS** Impurity I was obtained from ezetimibe(1) by oxidation using pyridinium chlorochromate(PCC), impurity II was gained from intermediate 1-(4-fluorophenyl)-3(R)-[3-(4-fluorophenyl)-hydroxypropyl]-4(S)-[4-(4-benzyloxy)-phenyl]-azetidine-2-one(2) of ezetimibe by catalytic hydrogenation. **RESULTS** The structures of two impurities were verified by ¹H-NMR, ¹³C-NMR and ESI-MS. The purities were over 98% as determined by HPLC. **CONCLUSION** It solves the problem of impurities source and provides a basis for quality control of ezetimibe.

KEY WORDS: ezetimibe; impurity; synthesis

依折麦布是一种新型的选择性胆固醇吸收抑制剂, 在治疗动脉粥样硬化和进一步降低心血管疾病发病率中被广泛应用^[1]。根据 CFDA 的要求, 在申报原料药工业生产时, 中试规模原料药单一杂质须控制含量<0.1%, 而对于含量>0.1%的杂质需对其做结构鉴定。在依折麦布的合成过程中, 约有 5 个主要杂质产生, 其中 1-(4-氟苯基)-3(R)-[3-(4-氟苯基)-3-氧代丙基]-4(S)-[4-(4-羟苯基)-氮杂环丁烷-2-酮(I) 和 1-(4-氟苯基)-3(R)-[3-(4-氟苯基)-丙基]-4(S)-[4-(4-羟苯基)-氮杂环丁烷-2-酮(II)含量均>0.1%的限量, 为依折麦布的主要杂质。控制药品中杂质含量可有效的避免某些不良反应的发生, 提高药物使用的安全性。如今国际上通常采用杂质对照品验证分析的方法对杂质进行监控, 所以依折麦布 2 个杂质的合成可有效解决依折麦布杂质对照品的来源问题。

本实验根据文献制备选择性氧化剂 PCC^[2-3], 进一步常温氧化依折麦布原料(1), 一步制得杂质

I; 以中间体 1-(4-氟苯基)-3(R)-[3-(4-氟苯基)-羟丙基]-4(S)-[4-(4-苄氧基)-苯基]-氮杂环丁烷-2-酮(2)为原料, 以四氢呋喃为溶剂, 通过加压催化氢化^[4-5], 直接制得杂质 II。2 种杂质的合成路线见图 1 和图 2。

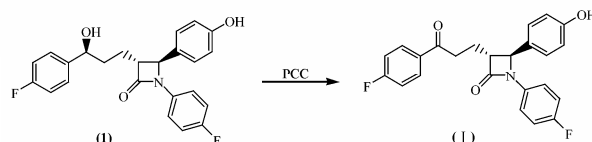


图 1 杂质 I 的合成路线

Fig. 1 The synthetic route of impurity I

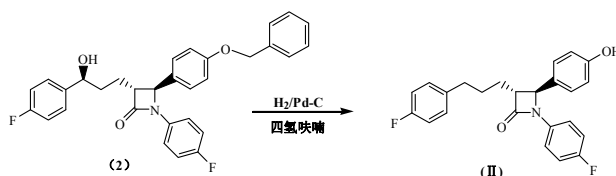


图 2 杂质 II 的合成路线

Fig. 2 The synthetic route of impurity II

基金项目: 吉林省科技发展计划项目(20140309008YY)

作者简介: 岳磊, 男, 硕士生 Tel: 15568828237 E-mail: 651929200@qq.com

*通信作者: 马静洁, 女, 博士, 教授 Tel: 15043339561

E-mail: jjma@ybu.edu.cn

1 仪器与试剂

LC-20A 高效液相色谱仪(日本岛津公司); Bruker-600 型核磁共振仪(瑞士 Bruker 公司); Q-TOF-MS6520 型质谱仪(美国 Agilent 公司); CJF-0.25 反应釜(大连通达反应釜厂); DFY-5L/30 低温恒温反应浴(巩义市予华仪器有限公司); YP1002N 精密电子天平(上海精密科学仪器有限公司); 硅胶粉(100~200 目, 青岛海洋化工厂分厂); 钯碳[Yurui(China) Chemical Co., LTD., 钯含量: 10%, 水分: 63.5%]; CrO_3 (国药集团化学试剂有限公司); 其他试剂均为市售分析纯或化学纯试剂。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: YMC-Pack ODS-2(4.6 mm×250 mm, 5 μm), 流速: 1.2 mL·min⁻¹, 进样体积: 15 μL , 柱温: 35 $^{\circ}\text{C}$, 流动相: 0.05 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钾水溶液-乙腈-四氢呋喃(65:25:10), 检测波长: 232 nm。

2.2 1-(4-氟苯基)-3(R)-[3-(4-氟苯基)-3-氧代丙基]-4(S)-(4-羟苯基)-氮杂环丁烷-2-酮(I)的合成

2.2.1 PCC 的制备 按文献方法^[6], 制备氯代铬酸吡啶盐(PCC), 获得橙色固体 36.5 g, 产率 85.2%。

2.2.2 杂质 I 的制备 于 30 mL 乙酸乙酯中加入 PCC 7.0 g, 微溶; 将 2.5 g 依折麦布溶于 30 mL 乙酸乙酯中, 缓慢滴加至反应液中, 滴毕加入适量硅胶粉, 室温反应 3 h。加入 300 mL 乙醚稀释, 过滤, 滤液用饱和食盐水洗涤 2 次, 有机层加入活性炭回流脱色, 滤除活性炭, 用无水硫酸钠干燥。滤除干燥剂, 减压蒸馏除去溶剂, 得黄色油状物, 经硅胶柱分离(石油醚: 乙酸乙酯=2:1), 减压除去溶剂, 得白色固体 1.8 g, mp: 468.0~469.0 $^{\circ}\text{C}$, 收率: 72.2%, HPLC 纯度: 99.2%。¹H-NMR(400 MHz, DMSO- d_6): 2.10~2.15(m, 2H), 3.15(t, 1H), 3.21~3.22(t, 2H), 4.91(s, 1H), 6.73~6.75(d, 2H), 7.14(t, 2H), 7.21~7.24(t, 4H), 7.34(t, 2H), 7.99~8.03(q, 2H), 9.50(s, 1H)。¹³C-NMR(101 MHz, DMSO- d_6) δ 197.69, 167.07, 166.23, 163.73, 159.22, 157.41, 156.84, 133.97, 133.22, 130.86, 130.77, 127.77, 127.49, 118.33, 118.25, 115.92, 115.81, 115.70, 115.59, 59.67, 58.91, 41.28, 35.12, 22.68。ESI-MS m/z : 430.1 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。

2.3 1-(4-氟苯基)-3(R)-[3-(4-氟苯基)-丙基]-4(S)-

(4-羟苯基)-氮杂环丁烷-2-酮(II)的合成

在 250 mL 高压反应釜中, 将 16.7 g 依折麦布中间体(2)溶于 85 mL 四氢呋喃中, 加入 1.25 g 钯碳, N_2 置换 2 次, 于 0.6 MPa 压力下加 H_2 反应 24 h, 反应毕, 滤除钯碳, 有机层减压蒸干, 并用 160 mL 乙酸乙酯溶解, 溶液用饱和食盐水洗涤 2 次, 加入无水硫酸钠干燥, 滤除干燥剂, 量读滤液体积, 并加入其 7 倍体积量的石油醚, 搅拌, 有大量固体产生, 静置, 过滤, 滤饼用适量石油醚洗涤, 干燥得白色固体 9.1 g, mp: 418.0~419.0 $^{\circ}\text{C}$, 收率: 69.1%, HPLC 纯度: 98.5%。¹H-NMR(400 MHz, DMSO- d_6): 1.70~1.71(t, 2H), 1.76~1.77(d, 2H), 2.56~2.58(t, 2H), 3.08~3.11(m, 1H), 3.34(s, 1H), 4.82(s, 1H), 6.74(s, 1H), 6.77(s, 1H), 7.05~7.10(m, 2H), 7.12~7.23(m, 8H)。¹³C-NMR(101 MHz, DMSO- d_6) δ 197.69, 167.07, 166.23, 163.73, 159.22, 157.41, 156.84, 133.97, 133.22, 130.86, 130.77, 127.77, 127.49, 118.33, 118.25, 115.92, 115.81, 115.70, 115.59, 59.67, 58.91, 41.28, 35.12, 22.68。ESI-MS m/z : 394.4 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

3 讨论

本实验合成了依折麦布的 2 个杂质, 并通过核磁共振氢谱、碳谱和质谱等方法对其结构进行了确证。并且纯度符合中国药品生物制品检定所规定杂质纯度>95%的标准, 因此合成的 2 种杂质的纯度能够满足依折麦布质量研究的需要, 可作为依折麦布质量控制的杂质对照品。本实验解决了科研院所、药厂研究生产过程中杂质对照品来源困难的问题。

1-(4-氟苯基)-3(R)-[3-(4-氟苯基)-3-氧代丙基]-4(S)-(4-羟苯基)-氮杂环丁烷-2-酮(I)为依折麦布氧化降解产物, 是依折麦布的一个重要杂质, 实验所使用的 PCC, 作为一种温和的氧化剂, 可选择性地将醇羟基氧化为酮, 而酚羟基并没有被氧化, 此类反应可在今后做进一步探讨。1-(4-氟苯基)-3(R)-[3-(4-氟苯基)-丙基]-4(S)-(4-羟苯基)-氮杂环丁烷-2-酮(II)是依折麦布生产工艺催化氢化过程中产生的杂质, 本实验方法重复了杂质产生的条件, 得到了满意的效果。此实验中, 用四氢呋喃做溶剂时原料溶解较好, 反应完全, 且不易产生 β -内酰胺环开环副产物。通氢压力和反应时间不足时, 反应不彻底, 故应适度增加压力和反应时间, 但氢气压力过大会增加实验的危险性,

反应时间过长又会导致 β -内酰胺环开环产物增加, 故应密切监测反应进行。本反应在高压条件下加入的催化剂钨碳不宜过量, 否则会导致大量开环产物生成, 而钨碳加入不足则反应不能进行, 故钨碳加入量应控制在 7.5%。

REFERENCES

- [1] HE P Y. Progress in clinical research for ezetimibe [J]. Adv Cardiovasc Dis(心血管病学进展), 2012(2): 168-171.
- [2] BAI Y H. Preparation of silicon gel-supported pyridinium chlorochromate and its use in oxidation of alcohols [J].

Zhejiang Chem Ind(浙江化工), 2007(4): 138-140.

- [3] COREY E J, WILLIAM SUGGS J. Pyridinium chlorochromate. An efficient reagent for oxidation of primary and secondary alcohols to carbonyl compounds [J]. Tetrahedron Lett, 1975, 16(31): 2647-2650.
- [4] YU Z P, LIU S, TAN X D, et al. Synthesis of ezetimibe [J]. Chin J Pharm(中国医药工业杂志), 2013(5): 424-428.
- [5] GAVALDA I E A, BOSCH L J, VADAL I F A, et al. Processes for preparing intermediate compounds useful for the preparation of ezetimibe: WO, 119106[P]. 2007-10-25.
- [6] BAI Y H. Preparation and application of supported PCC oxidants [J]. Appl Chem Ind(应用化工), 2006, 35(12): 939-940.

收稿日期: 2014-08-29

槐定碱阳离子脂质体的制备及体外抗肿瘤活性的研究

徐颖颖¹, 蔡鑫君¹, 倪坚军¹, 张琳¹, 曹佳薇¹, 盛振华² (1.浙江省中西医结合医院, 杭州 310003; 2.浙江中医药大学分析测试中心, 杭州 310053)

摘要: 目的 制备槐定碱阳离子脂质体, 并探讨其对肿瘤细胞的抑制作用。方法 采用主动载药法制备槐定碱阳离子脂质体, 并对其进行表征研究, 采用 MTS 方法考察槐定碱阳离子脂质体对 3 种肿瘤细胞的抑制作用。结果 制备得到的槐定碱阳离子脂质体呈类圆形, 表面光滑, 其平均粒径和聚分散指数分别为 242.2 nm 和 0.180, 表面电荷为 +32.5 mV, 其包封率和载药量分别为 88.62% 和 5.97%。槐定碱阳离子脂质体对 3 种肿瘤细胞的 IC₅₀ 值均明显高于槐定碱, 而空白阳离子脂质体对细胞并无明显的抑制作用。结论 采用阳离子脂质体作为槐定碱的载体有利于将药物透过细胞膜, 提高抗肿瘤作用, 值得进行深入的系统研究。

关键词: 槐定碱; 阳离子脂质体; MTS; 肿瘤抑制作用

中图分类号: R943

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2015)04-0439-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2015.04.013

Study on Preparation and *in Vitro* Antitumor Activity of Sophoridine Cationic Liposomes

XU Yingying¹, CAI Xinjun¹, NI Jianjun¹, ZHANG Lin¹, CAO Jiawei¹, SHENG Zhenhua² (1. Integrated Chinese and Western Medicine Hospital of Zhejiang Province, Hangzhou 310003, China; 2. Center of Forecasting and Analysis, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To prepare sophoridine cationic liposome, and study its inhibitory effect on tumor cells. **METHODS** Active-loading method was used to prepare sophoridine liposomes, their characterization were investigated, further, MTS method was used to evaluate the inhibitory effects of sophoridine cationic liposome on 3 tumor cells. **RESULTS** The sophoridine cationic liposomes which had been prepared were round with smooth surface, their average particle size, PDI, surface charge, encapsulation efficiency and drug loading amount was 242.2 nm, 0.180, +32.5 mV, 88.62% and 5.97% respectively. The IC₅₀ of sophoridine cationic liposome on 3 tumor cells were obviously lower than sophoridine, and the blank cationic liposomes had no obvious inhibitory effect to cells. **CONCLUSION** Using cationic liposome as carrier for Sophoridine makes the drugs through the cell membrane easier, and improves the anti-tumor effect, is worth in-depth research in future.

KEY WORDS: sophoridine; cationic liposome; MTS; inhibition effect of tumor

基金项目: 浙江省中医药科学研究基金计划项目(2012ZA101); 杭州市卫生科技计划重点项目(2013A43); 杭州市科技计划引导项目(社会发展)(20130733Q14)

作者简介: 徐颖颖, 女, 主任药师

Tel: (0571)56109870

E-mail: xuyingying208@163.com