

3 结论

本实验采用重结晶的方法制备得到了盐酸普拉克索 B 晶型, 并成功获得了在室温析晶制备 B 晶型的工艺, 与文献报道的 B 晶型的制备工艺相比, 无需高温析晶或高热条件下转晶。用现有方法制备得到的 B 晶型具有结晶性好、得率高等特点。通过 TG、DSC、PXRD、SXR D 等分析手段对 B 晶型的化学和晶体结构进行了表征研究。结果表明, B 晶型分子中不含溶剂, 属无水晶型。稳定性研究表明, B 晶型具有高温稳定性。热分析结果进一步证实了晶体结构的研究结果。

REFERENCES

- [1] LYU Y, DU G H. Polymorphic Drugs(晶型药物) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2009.
- [2] ZHANG X Y, LIU W. Transformation of polymorphism in the process of rubbing [J]. Shangdong Pharm Ind(山东医药工业), 2001, 20(1): 29-30.
- [3] WANG J, ZENG H Y, CHEN Y. Relationship of roxithromycin crystal types, dissolution rates and dissolution [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2013,

- 30(10): 1094-1097.
- [4] TAWASHI R. Aspirin: dissolution rates of two polymorphic forms [J]. Science, 1968, 160(823): 76.
- [5] ZOU Y G, LI Y S, BI X F. Different polymorphic forms of rfanidin [J]. Chin J Med Chem(中国药物化学杂志), 1992, 2(3): 68-72.
- [6] WANG L N, ZOU Y M, LIU L X. Pramipexole: a new choice of Parkinson's disease treatment [J]. Chin J Drug Appl Monitor(中国药物应用与监测), 2013, 10(1): 1-4
- [7] PARTINEN M, HIRVONEN K, JAMA L, et al. Efficacy and safety of pramipexole in idiopathic restless legs syndrome: A polysomnographic dose-finding study-The PRELUDE study [J]. Sleep Med, 2006, 7(5): 407-417.
- [8] YU K, HU T T, WANG J, et al. Clinical efficacy of pramipexole in the treatment of primary restless legs syndrome [J]. Chin J Pract Nervous Dis(中国实用神经疾病杂志), 2012, 15(10): 19-21.
- [9] ŁASZCZ M, TRZCIŃSKA K, KUBISZEWSKI M, et al. Stability studies and structural characterization of pramipexole [J]. J Pharm Biomed Anal, 2010, 53(4): 1033-1036.
- [10] PATEL D A, KUMAR R, DWIVEDI S D. Process for preparing (S)-pramipexole and its intermediates [P]. WO2008/041240A1, 2008.
- [11] KANWAR S, PATEL K, DEO K, et al. Process for the preparation of pramipexole and new anhydrous forms of its dihydrochloride [P]. WO2006/117614A1, 2006.

收稿日期: 2015-04-21

达比加群酯降解杂质的合成

李振中, 武铮, 宋波*, 刘沫毅(北京市口服固体制剂产业化工程技术研究中心, 华润赛科药业有限责任公司, 北京 101111)

摘要: 目的 为了更好的控制甲磺酸达比加群酯的质量, 合成达比加群酯的 5 个降解杂质。方法 以 *N*-[2-[[[(4-氨基苯基)氨基]甲基]-1 甲基-1H-5-苯并咪唑]羰基]-*N*-2-吡啶基- β -氨基丙酸乙酯为原料, 经过成脒反应、酰胺反应、水解反应制备了杂质 A~E。结果 所得产物经 $^1\text{H-NMR}$, LC-MS 和 $^{13}\text{C-NMR}$ 初步确证了结构, 收率 $\geq 65\%$ 。结论 该合成路线反应条件温和, 产品纯度高。

关键词: 甲磺酸达比加群酯; 降解杂质; 合成

中图分类号: R914.5

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2015)09-1090-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2015.09.015

Synthesis of the Degradation Impurities of Dabigatran Etxilate Mesylate

LI Zhenzhong, WU Zheng, SONG Bo*, LIU Moyi(Industrial Engineering Technology Research Center for Oral Solid Preparation of Beijing, China Resources Saike Pharmaceutical Co., Ltd., Beijing 101111, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To perform the quality control of dabigatran etexilate mesylate, five degradation impurities recorded in quality specifications are prepared. **METHODS** Five degradation impurities A-E were synthesized from *N*-[[2-[[[(4-cyanophenyl)amino]methyl]-1-methyl-1H-benzimidazol-5-yl]carbonyl]-*N*-2-pyridinyl- β -alanine ethyl ester, via amidine reaction, amidation reaction and hydrolytic reaction. **RESULTS** The structures of five degradation impurities were established

作者简介: 李振中, 男, 硕士, 工程师 Tel: (010)57532614
Tel: (010)57532558 E-mail: songbo_saike@163.com

E-mail: lizhenzhong221@163.com

*通信作者: 宋波, 男, 博士, 工程师

by $^1\text{H-NMR}$, LC-MS and $^{13}\text{C-NMR}$, with yield $\geq 65\%$. **CONCLUSION** The reaction condition is mild, and the purity is high. **KEY WORDS:** dabigatran etexilate mesylate; degradation of impurity; synthesis

甲磺酸达比加群酯, 化学名为 *N*-[[2-[[[4-[[[(己氧基)羰基]氨基]亚氨基]苯基]氨基]甲基]-1-甲基-1*H*-苯并咪唑-5-基]羰基]-*N*-2-吡啶基- β -氨基丙酸乙酯甲磺酸盐, 是由德国勃林格殷格翰公司研发的一种新型非肽类直接凝血酶抑制剂, 于 2008 年在欧盟获准用于全髌或全膝关节置换手术后静脉血栓的预防, 2010 年获得美国 FDA 批准上市, 用于减少非瓣膜性心房颤动患者脑卒中及全身血栓栓塞的预防^[1], 2013 年获我国食品药品监督管理局颁发的进口药品注册证。

原料药和制剂中的有关物质研究可以为工艺和质量控制提供参考依据, 因此需要制备出高纯度的有关物质以便进行质量研究^[2-4]。根据甲磺酸达比加群酯的结构特点和相关文献^[5-7], 以及进口注册标准中对有关物质的描述, 本研究确定了进口注册标准中的 5 个降解杂质 **A~E**, 并采用简便的方法合成了杂质 **A~E**, 并经过了 $^1\text{H-NMR}$ 和 LC-MS 确认结构, 结构见图 1。

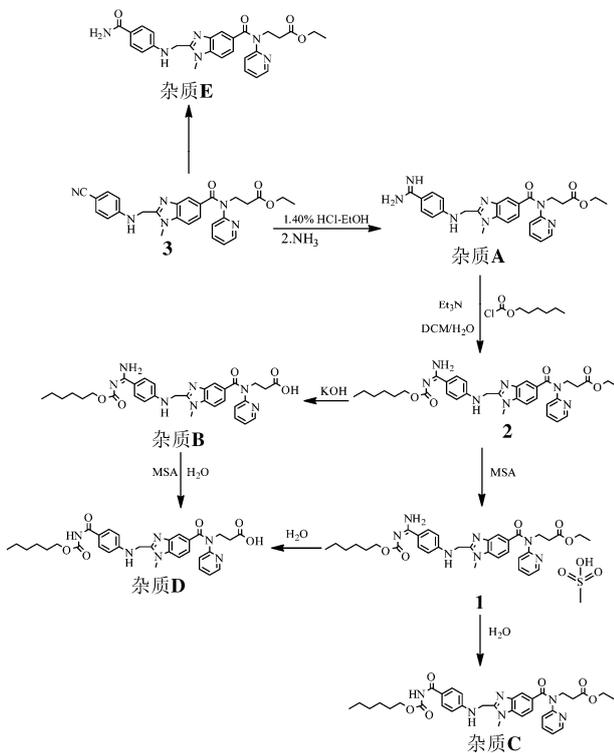


图 1 杂质 **A~E** 的合成路线
Fig. 1 Synthetic Routes of Impurities **A~E**

本研究以 *N*-[2-[[[4-[[[(己氧基)羰基]氨基]亚氨基]苯基]氨基]甲基]-1-甲基-1*H*-5-苯并咪唑]羰基]-*N*-2-吡啶基- β -氨基丙酸

乙酯(**3**)为原料, 通过醇解反应、氨解反应得到杂质 **A**, 收率 75.6%, 纯度 96.94%^[8]; 在文献^[5-7]中提到了杂质 **B~E** 的结构, 但未提供合成方法, 本研究以达比加群酯(**2**)为原料, 碱性条件下水解得到杂质 **B**, 经过柱层析得到纯品, 总收率 72.9%, 纯度 98.6%; 以甲磺酸达比加群酯(**1**)为原料, 通过高温水解得到杂质 **C**, 经过乙腈重结晶得到纯品, 收率 65.5%, 纯度 97.8%; 以杂质 **B** 为原料酸性水解得到杂质 **D**, 经乙腈重结晶得到纯品, 收率 72.3%, 纯度 96.3%; 以化合物 **3** 为原料在浓硫酸中水解得到杂质 **E**, 收率 89.2%, 纯度 98.2%(图 1)。

1 仪器和材料

MERCURY Plus-400 核磁共振仪(Varian 公司, TMS 为内标, 以氘代 DMSO 为溶剂); Agilent 1260 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司); 薄层色谱采用薄层色谱硅胶板(青岛海洋化工厂); Agilent 液质联用单四极杆质谱仪(美国 Agilent 公司)。

N-[2-[[[4-[[[(己氧基)羰基]氨基]亚氨基]苯基]氨基]甲基]-1-甲基-1*H*-5-苯并咪唑]羰基]-*N*-2-吡啶基- β -氨基丙酸乙酯(台州沃德凯化工原料有限公司); 甲磺酸(泰州苏宁化工有限公司)。氨水、乙醇、氢氧化钾、碳酸氢钠均由国药集团化学试剂有限公司生产。

2 方法与结果

2.1 分析条件

2.1.1 HPLC 色谱条件 Waters 高效液相色谱仪, HPLC 归一化法: 色谱柱 Phenomenex Gemini C₁₈ (4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相 A: 0.2% 醋酸铵溶液(取醋酸铵 2 g 加水 1 000 mL, 用冰醋酸调节 pH 至 4.4), B: 乙腈。梯度洗脱: 0~35 min, 10%→60% B; 35~50 min, 60% B; 50~50.1 min, 60%→10% B; 50.1~60 min, 10% B; 检测波长: 310 nm; 柱温: 40 $^{\circ}\text{C}$; 流速: 1.5 mL·min⁻¹; 进样量 5 μL 。

2.1.2 LC-MS 条件 液相条件: 色谱柱 Poroshell 120 EC- C₁₈ 键合硅胶柱(50 mm×4.6 mm, 2.7 μm); 流动相 A: 0.05% 甲酸/水, B: 0.05% 甲酸/甲醇。梯度洗脱: 0~0.5 min, 95% A; 0.5~2 min, 95%→5% A; 2~7 min, 5% A; 7~7.1 min, 5%→95% A; 7.1~12 min: 95% A; 柱温: 室温; 流速: 0.3 mL·min⁻¹; 检测波长: 246 nm; 进样量: 10 μL 。

质谱条件：电喷雾电离源(ESI⁺)；毛细管电压：3 kV；雾化气(N₂)温度：340 °C；雾化气流量：10 L·min⁻¹；源温 120 °C；锥孔电压 30 V。

2.2 杂质制备与结构鉴定

2.2.1 *N*-[[2-[[[4-脒基苯基]氨基]甲基]-1-甲基-1H-苯并咪唑-5-基]羰基]-*N*-2-吡啶基-β-氨基丙酸乙酯(A)的合成 将化合物 3(5 g, 0.01 mol)溶于 40%(质量分数)的 HCl-EtOH 溶液(50 mL)中，密闭保温 25~30 °C 搅拌 8 h，反应毕，减压蒸除溶剂及大部分氯化氢，向反应液中加入无水乙醇(50 mL)，在内温 0 °C 以下通入氨气至 pH 9~10，密闭保温 25~30 °C 搅拌 6 h，过滤，滤饼用 10 mL 10%碳酸氢钠溶液搅洗 30 min，过滤，滤饼 45 °C 减压干燥 10 h，得到 A(4.05 g, 收率 75.6%)，纯度：96.94%。¹H-NMR(400 MHz, DMSO-d₆) δ: 1.11(t, *J*=6.8 Hz, 3H, C-CH₃), 2.67(t, *J*=6.8 Hz, 2H, CH₂-CO), 3.78(s, 3H, N-CH₃), 3.96(t, *J*=6.8 Hz, 2H, N-CH₂-C-CO), 4.23(t, *J*=6.8 Hz, 2H, CO-O-CH₂), 4.65(d, *J*=5.2 Hz, 2H, phenylamine-CH₂), 6.88(t, *J*=15.6 Hz, 3H, Aromati), 7.10~7.16(m, 2H, Aromati), 7.39~7.57(m, 4H, Aromati), 7.69(d, *J*=8.4 Hz, 2H, Aromati), 8.77~8.96(m, 4H, amino)。ESI-MS(*m/z*): 500.56[M+H]⁺。

2.2.2 *N*-[[2-[[[4-[[[己氧基]羰基]氨基]亚氨基甲基]-苯基]氨基]-甲基]-1-甲基-1H-苯并咪唑-5-基]羰基]-*N*-2-吡啶基-β-氨基丙酸(B)的合成 将 2(6 g, 9.56 mmol)中加入无水乙醇(150 mL)和水(15 mL)的混合溶液，加入 KOH(0.64 g, 11.47 mmol)，40~45 °C 控温搅拌 5 h。反应结束后 40 °C 减压旋蒸除去乙醇，加入水(20 mL)。在冰水浴搅拌下用 1 mol·L⁻¹ 的盐酸(约 11 mL)调节 pH 5~6，抽滤，将滤饼 45 °C 鼓风干燥 4 h，得到杂质 B，经过柱层析(乙酸乙酯洗脱)得到纯品(4.2 g, 收率 72.9%)，纯度：98.6%。¹H-NMR(400 MHz, DMSO-d₆) δ: 0.86(t, *J*=6.8 Hz, 3H, C-CH₃), 1.25~1.61(m, 8H, C-C₄H₈-C), 2.63(t, *J*=7.6 Hz, 2H, CH₂-COO), 3.77(s, 3H, N-CH₃), 4.01(t, *J*=6.4 Hz, 2H, N-CH₂-C-CO), 4.19(t, *J*=7.2 Hz, 2H, CO-O-CH₂), 4.61(d, *J*=5.2 Hz, 2H, phenylamine-CH₂), 6.79(d, *J*=8.8 Hz, 2H, Aromati), 6.95(d, *J*=8.0 Hz, 1H, Aromati), 7.06~7.58(m, 7H, Aromati), 7.79(d, *J*=8.0 Hz, 1H, Aromati), 8.38~9.25(m, 3H, amino),

12.27(s, 1H, COOH)。ESI-MS(*m/z*): 600.68[M+H]⁺。

2.2.3 *N*-[[2-[[[4-[[[己氧基]羰基]氨基甲酰]苯基]氨基]甲基]-1-甲基-1H-苯并咪唑-5-基]羰基]-*N*-2-吡啶基-β-氨基丙酸乙酯(C)的合成 将化合物 1(2 g, 2.76 mmol)加入水(20 mL)中，加热至 80 °C，保温搅拌 24 h，过滤，滤饼 40 °C 鼓风干燥 6 h，得到杂质 C，将 C 加入到 10 mL 乙腈中，加热至全部溶解，冷却至室温搅拌 2 h，过滤，滤饼 40 °C 鼓风干燥 6 h，得到精制品(1.70 g, 收率 65.5%)，纯度：97.8%。¹H-NMR(400 MHz, DMSO-d₆) δ: 0.86(t, *J*=7.2 Hz, 3H, C-C-CH₃), 1.12(t, *J*=7.2 Hz, 3H, O-C-CH₃), 1.25~1.36(m, 8H, C-C₄H₈-C), 2.68(t, *J*=6.8 Hz, 2H, CH₂-COO), 3.76(s, 3H, N-CH₃), 3.97(m, *J*=7.2 Hz, 2H, N-CH₂-C-CO), 4.08(t, *J*=6.8 Hz, 2H, N-COO-CH₂-C), 4.23(t, *J*=7.2 Hz, 2H, C-COO-CH₂-C), 4.60(d, *J*=5.2 Hz, 2H, phenylamine-CH₂), 6.75(d, *J*=8.8 Hz, 2H, Aromati), 6.89(d, *J*=7.6 Hz, 1H, Aromati), 7.04~7.56(m, 7H, Aromati), 7.69(d, *J*=8.8 Hz, 1H, Aromati), 8.39(m, 1H, phenyl-NH-), 10.43(s, 1H, CO-NH-CO)。ESI-MS(*m/z*): 629.72[M+H]⁺。

2.2.4 *N*-[[2-[[[4-[[[己氧基]羰基]氨基]羰基]苯基]氨基]甲基]-1-甲基-1H-苯并咪唑-5-基]羰基]-*N*-2-吡啶基-β-氨基丙酸(D)的合成 将 B(0.5 g, 0.83 mmol)和甲基磺酸(0.08 g, 0.83 mmol)加入水(10 mL)中，加热至 80 °C，保温搅拌 24 h，在冰水浴搅拌下用饱和碳酸氢钠溶液(约 1.4 mL)调节 pH 6~7，过滤，滤饼加入到 2 mL 乙腈中，加热至溶解，关闭加热自然降温至室温，移至冰水浴搅拌 2 h，过滤，滤饼 40 °C 鼓风干燥 6 h 得到杂质 D(0.36 g, 收率 72.3%)，纯度：96.3%。¹H-NMR(400 MHz, DMSO-d₆) δ: 0.86(t, *J*=6.8 Hz, 3H, C-CH₃), 1.28~1.62(m, 8H, C-C₄H₈-C), 2.62(t, *J*=7.2 Hz, 2H, CH₂-COO), 3.77(s, 3H, N-CH₃), 4.08(t, *J*=6.8 Hz, 2H, N-CH₂-C-CO), 4.18(t, *J*=7.2 Hz, 2H, N-COO-CH₂-C), 4.62(s, 2H, phenylamine-CH₂), 6.75(d, *J*=8.8 Hz, 2H, Aromati), 6.96(d, *J*=8.4 Hz, 1H, Aromati), 7.10~7.57(m, 7H, Aromati), 7.69(d, *J*=8.8 Hz, 1H, Aromati), 8.38(m, 1H, phenyl-NH-), 10.45(s, 1H, CO-NH-CO), 12.25(s, 1H, COOH)。ESI-MS(*m/z*): 601.66[M+H]⁺。

2.2.5 *N*-[[2-[[[4-(氨基羰基)苯基]氨基]甲基]-1-甲

基-1H-苯并咪唑-5-基]羰基]-N-2-吡啶-氨基丙酸乙酯(E)的合成 将化合物 3(2 g, 4.14 mmol)加入浓硫酸(8 mL)中, 密闭保温 20~25 °C 搅拌 10 h, 向反应液中加入无水乙醇(50 mL), 将反应液置于冰水浴中降温至 0~5 °C, 在搅拌下逐滴加入 30%的氨水(约 15 mL), 调节 pH 8~9, 冰水浴下搅拌 10 min, 过滤, 滤饼用无水乙醇(20 mL)洗涤 2 次。滤液在 40 °C 水浴减压蒸除溶剂, 向剩余物中加入乙腈(10 mL), 搅拌析出白色固体, 过滤, 滤饼 40 °C 鼓风干燥 4 h, 得到杂质 E(1.85 g, 收率 89.2%), 纯度: 98.20%。¹H-NMR(400 MHz, DMSO-d₆) δ: 1.12(t, *J*=7.2 Hz, 3H, C-CH₃), 2.68(t, *J*=7.2 Hz, 3H, CH₂-CO), 3.76(s, 3H, N-CH₃), 3.98(q, *J*=7.2 Hz, 2H, N-CH₂-C-CO), 4.22(t, *J*=7.2 Hz, 2H, CO-O-CH₂), 4.55(d, *J*=5.4 Hz, 2H, phenylamine-CH₂), 6.78(d, *J*=8.2 Hz, 2H, Aromati), 6.97(d, *J*=8.1 Hz, 1H, Aromati), 7.05~7.59(m, 7H, Aromati), 7.81(d, *J*=7.8 Hz, 1H, Aromati), 8.38~8.76(m, 3H, amino)。ESI-MS(*m/z*): 501.54[M+H]⁺。

3 讨论

本试验通过简易的方法制备和分离出纯度>95%的杂质 A~E, 通过¹H-NMR 和 LC-MS 初步确证了其结构。本试验报道的杂质 A~E 合成路

线反应条件温和、操作简单、所得产品纯度高、总收率均≥65%、路线成熟、易于放大制备。通过对降解杂质 A~E 的研究, 可以对甲磺酸达比加群酯的原料药和制剂进行更好的质量控制。

REFERENCES

- [1] HUGHES B. First oral warfarin alternative approved in the US [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2010, 9(12): 903-906.
- [2] LIN Q, YANG W F, CHEN S. Improved determination method of related substances in Ebastine and Ebastine tablets [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药学), 2015, 32(4): 489-492.
- [3] WANG M, JIN C, LU P, et al. Identification of the related substances in tegafur with hyphenated techniques [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药学), 2015, 32(1): 62-66.
- [4] ZHANG L, YANG H L, WANG J M. Determination of the six residual organic solvents in ambrisentan by GC [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药学), 2014, 31(10): 1238-1241.
- [5] SERRA M J, DURAN L E, RAO L X. Dabigatran etexilate and related substances, processes and compositions, and use of the substances as reference standards and markers: WO, 2012152855 [P]. 2012-11-15.
- [6] SATYANARAYANA R M, NAGARAJU C, THIRUMALAI R S. Process for the preparation of benzimidazole derivatives and its salts: WO, 2012077136 [P]. 2012-06-14.
- [7] JAYARAMAN V, PATEL S, MISTRY S. Novel reference markers of dabigatran etexilate: WO, 2014024394A1 [P]. 2013-02-21.
- [8] FANG G, ZHENG Y Y, ZHANG X P, et al. Graphical synthetic routes of dabigatran etexilate [J]. *Chin J Pharm*(中国医药工业杂志), 2011, 42(9): 717-719.

收稿日期: 2015-02-13

延胡索乙素胃漂浮微球的体外漂浮及释药特征评价

王群星¹, 熊雪丰¹, 何三民², 石森林^{1*}(1.浙江中医药大学, 杭州 310053; 2.金华市中心医院, 浙江 金华 321000)

摘要: 目的 制备延胡索乙素(tetrahydropalmatine, THP)胃漂浮微球, 考察 THP 胃漂浮微球在不同条件下的体外漂浮性能与释药特征。方法 采用乳化溶剂挥发法制备 THP 胃漂浮微球, 模拟胃肠道环境, 通过直接观察法考察 THP 胃漂浮微球在 0.1 mol·L⁻¹ 盐酸溶液、pH 3.0 PBS、pH 4.5 醋酸缓冲液、pH 6.8 PBS 释放介质, 50, 100, 150 r·min⁻¹ 转速条件下的漂浮性能; 采用转篮法考察 THP 胃漂浮微球在上述释放条件下的体外释放特征; 以罗通定片为参比制剂, 比较两者在模拟胃酸环境的体外释放特征; 采用常见的动力学模型拟合延胡索乙素胃漂浮微球的释药曲线。结果 THP 胃漂浮微球在不同介质中均能立即起漂, 持漂 12 h, 漂浮率为 100%; 在 4 种释放介质中 12 h 累积释放度分别为(90.55±4.65)%, (81.48±5.92)%, (66.24±3.00)%, (51.93±2.35)%; 在 3 种转速下, 12 h 累积释放度分别为(84.26±3.22)%, (90.55±4.65)%, (94.70±2.15)%。在模拟胃酸环境(0.1 mol·L⁻¹ 盐酸溶液)下, 罗通定片 0.5 h 累积释放度为(78.31±11.01)%, 2 h 基本释放完全, 而 THP 胃漂浮微球 12 h 内释药速度平稳而缓慢, 无突释现象, 且释药完全。结论 该研究制备的 THP 胃漂浮微球体外漂浮性能较好, 具有较好的缓释效果, 其体外释放行为符合 Higuchi 方程。

基金项目: 浙江省中医药科技计划项目(2009CA103); 金华市科技计划项目(2008-3-031)

作者简介: 王群星, 女, 硕士生 Tel: 13588078345 E-mail: 13588078345@163.com *通信作者: 石森林, 男, 博士, 教授 Tel: (0571)86613756 E-mail: pjstone@163.com