

磷酸西格列汀制剂中有关物质的合成

陈仕云¹, 高永好², 何勇², 吴宗好², 杨士伟^{2*}

(1. 合肥学院 分析测试中心, 安徽 合肥 230601; 2. 合肥华方医药科技有限公司, 安徽 合肥 230088)

摘要: 西格列汀与富马酸二甲酯(或马来酸酐)经氮杂迈克尔加成反应(或胺化反应)制备了相应的西格列汀有关物质(I、II)。在 N₂ 保护, 25 °C 下, 西格列汀与富马酸二甲酯在 1,8-二氮杂环[5.4.0]十一烯-7 (DBU) 催化剂作用下搅拌 10 h, 经氢氧化锂碱化处理, 用乙酸乙酯-盐酸溶液调节 pH 后, 水相析晶体系分离提纯, 得到西格列汀的加合产物有关物质 I, HPLC 纯度大于 99%, 收率 76%。西格列汀与马来酸酐在 K₂CO₃ 催化作用下, 40 °C 搅拌 3 h, 经一步法胺解开环反应制备西格列汀有关物质 II, HPLC 纯度大于 99%, 收率 97%。该法路线短、能耗低、生产成本低、操作简单, 两种西格列汀有关物质收率好、纯度高, 适合工业化生产。

关键词: 西格列汀; 西格列汀有关物质; 氮杂迈克尔加成反应; 富马酸二甲酯; 马来酸酐; 精细化工中间体
中图分类号: TQ463 **文献标识码:** A **文章编号:** 1003-5214 (2020) 05-1071-05

Synthesis of sitagliptin related substances in sitagliptin phosphate tablets preparations

CHEN Shiyun¹, GAO Yonghao², HE Yong², WU Zonghao², YANG Shiwei^{2*}

(1. Analytical & Testing Center, Hefei University, Hefei 230601, Anhui, China; 2. Hefei Huafang Pharmaceutical Science & Technology Co., Ltd., Hefei 230088, Anhui, China)

Abstract: Sitagliptin related substances (I, II) were prepared by aza-Michael addition reaction (or amination reaction) between sitagliptin and dimethyl-maleate or maleic anhydride, respectively. Sitagliptin impurity I with 76% yield, 99% purity by HPLC was obtained using sitagliptin and dimethyl fumarate as raw materials, 1,8-diazabicyclo(5.4.0)undec-7-ene (DBU) as catalyst, stirring at 25 °C for 10 h under N₂ protection, followed by alkalinized by lithium hydroxide, separated, and purified by ethyl acetate-hydrochloric acid solution crystallization system. Sitagliptin impurity II with 97% yield, 99% purity by HPLC was prepared by one-step method using sitagliptin and maleic anhydride as raw materials, stirring at 40 °C for 3 h in the catalytic amount of K₂CO₃. The methods for the synthesis of sitagliptin impurities have the advantages of short route, low energy consumption, low production cost, and simple operation, give high yield and purity, which are suitable for industrial production.

Key words: sitagliptin; sitagliptin related substances; aza-Michael addition reaction; dimethyl fumarate; maleic anhydride; fine chemical intermediates

二肽基肽酶 IV (dipeptidylpeptidase IV, DPP-IV) 能快速有效地降解胰高血糖素样肽 (GLP-1), GLP-1 是胰岛素生成和分泌最有效的刺激剂之一, 因此, 抑制 DPP-IV 能增强内源性 GLP-1 的作用, 从而提高血液中胰岛素的含量, 进而降低并维持糖尿病患者的血糖水平^[1-2]。磷酸西格列汀 (Sitagliptin Phosphate)

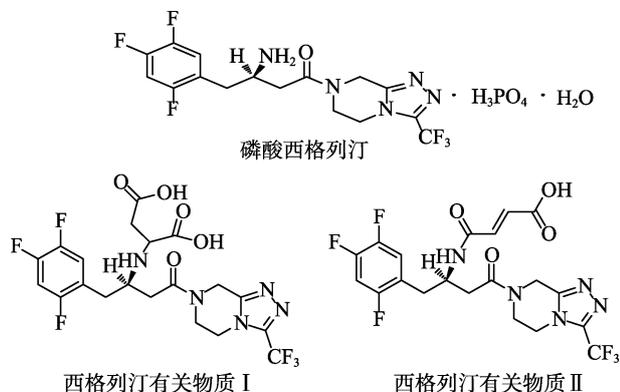
由默克公司开发和上市 (结构式如下), 为第一个二肽基肽酶-4 (DPP-4) 抑制剂^[3-4], 其优点是安全性好, 低血糖及体重增加的不良反应发生率低^[5-8]。该药于 2006 年 10 月 16 日在美国上市, 2007 年 3 月 30 日该药被美国 FDA 批准与二甲双胍联合治疗 2 型糖尿病^[9-10], 磷酸西格列汀在制成磷酸西格列汀片、西

收稿日期: 2019-12-04; 定用日期: 2020-01-20; DOI: 10.13550/j.jxhg.20191133

基金项目: 国家重大专项新药创制 (2017ZX09201003-006)

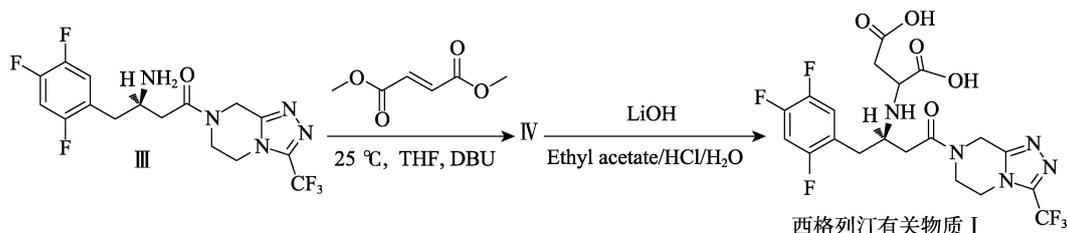
作者简介: 陈仕云 (1981-), 女, 实验师, E-mail: yun0145@163.com。联系人: 杨士伟 (1988-), 男, 助理研究员, 博士, E-mail: yangsw_pharm@163.com。

格列汀二甲双胍片^[11-13]的制剂过程中西格列汀与其中一种辅料硬脂酰富马酸钠会发生反应,在制剂和放置过程中磷酸西格列汀会降解,可能产生有关物质 I 和有关物质 II。



目前,有关物质 I 对照品因极性较大,合成和分离困难,导致市场上价格昂贵。欧洲药典和美国药典西格列汀片标准中均未收载有关物质 II,且国内外文献及专利的相应合成方法报道较少,对西格列汀有关物质 I 和 II 采用自身对照法,其定性定量的准确性欠佳,为了提高磷酸西格列汀片和西格列汀二甲双胍片的质量,降低临床用药的风险,需要对磷酸西格列汀片和西格列汀二甲双胍片中的有关物质进行研究和监控^[14-15]。

作者尝试通过 1,8-二氮杂环[5,4,0]十一烯-7



向 100 mL 反应瓶中依次加入西格列汀 2.00 g (5.0 mmol),四氢呋喃 20 mL 和富马酸二甲酯 1.40 g (10.0 mmol),室温搅拌 30 min,加入 DBU 1.60 g (10 mmol),反应液颜色逐渐变红,25 °C 搅拌反应 10 h。将反应液用 2 mol/L HCl 溶液 (50 mL) 洗去 DBU,用二氯甲烷萃取,合并有机层后用饱和食盐水洗两遍,无水硫酸钠干燥充分后,用旋转蒸发器除去溶剂,经过硅胶柱层析分离〔正己烷/乙酸乙酯梯度洗脱 (体积比 10 : 1 至 5 : 1)〕提纯可以得到白色固体中间体 IV。

在 50 mL 反应瓶中依次加入中间体 IV 1.00 g (2.0 mmol),氢氧化锂 0.14 g (3.2 mmol) 和 10 mL 四氢呋喃与水的混合溶液〔 $V(\text{THF}) : V(\text{H}_2\text{O}) = 4 : 1$ 〕,室温搅拌反应 1 h。反应液的 pH 为 8~9,向反

(DBU) 催化富马酸二甲酯对西格列汀的氮杂迈克尔加成反应方法来制备西格列汀加合物有关物质 I,旨在降低其合成成本;以马来酸酐与西格列汀胺解开环反应来制备西格列汀有关物质 II。高纯度西格列汀有关物质的合成对西格列汀药物有关物质研究中风险控制的相关问题将具有重要的意义。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

富马酸二甲酯 (质量分数 98.9%)、西格列汀 (质量分数 99.3%),合肥华方医药科技有限公司;DBU, AR, 安耐吉试剂有限公司;马来酸酐, AR, 麦克林试剂有限公司;二氯甲烷 (DCM)、四氢呋喃 (THF)、三乙胺 (TEA)、吡啶 (Py)、氢氧化钠 (NaOH)、氢氧化钾 (KOH)、氢氧化锂 (LiOH), AR, 国药集团化学试剂有限公司;乙酸乙酯-盐酸溶液, 自制。

Agilent1290 超高压液相色谱仪、AB4000 三重四级杆串联质谱仪 (ESI+源)、Nicolet 6700 傅里叶红外光谱仪,赛默飞世尔科技 (中国) 有限公司;AV III 400 MHz 型核磁共振波谱仪 (DMSO- d_6 为溶剂, TMS 为内标, 瑞士 Bruker 公司)。

1.2 方法

1.2.1 西格列汀有关物质 I 的合成

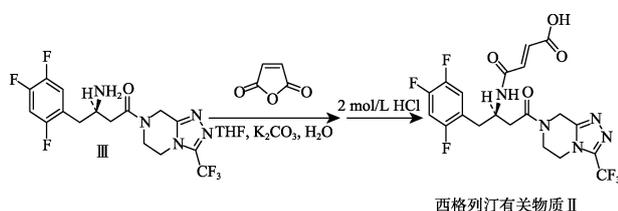
西格列汀有关物质 I 合成路线如下所示:

应液中加入 20 mL 二氯甲烷萃取,然后分出水相。用乙酸乙酯-盐酸溶液调节 pH 为 6~7,将水相分出,放置冰箱中 24 h,然后放置室温析晶,得到 0.92 g 白色片状固体,产率 76.0%,纯度大于 99%〔流动相: V 〔磷酸盐缓冲液 (0.01 mol/L KH_2PO_4 , 用磷酸调 pH 2.0)〕 : V (乙腈) = 85 : 15, $\lambda = 205$ nm, 温度 40 °C, 流速 1.0 mL/min, 色谱柱 YMCCN 150 mm×4.6 mm×5 μm 〕。¹HNMR (400 MHz, DMSO- d_6), δ : 14.39 (s, 1H), 8.91 (dd, $J = 8.6$ 、3.7 Hz, 1H), 7.52~7.35 (m, 2H), 6.35~6.11 (m, 2H), 4.98 (s, 1H), 4.95~4.77 (m, 1H), 4.43 (d, $J = 14.3$ Hz, 1H), 4.25 (q, $J = 6.4$ Hz, 1H), 4.08 (d, $J = 5.5$ Hz, 1H), 3.95 (p, $J = 6.1$ 、5.4 Hz, 2H), 2.94 (dt, $J = 13.3$ 、6.3 Hz, 1H), 2.77 (qd, $J = 15.7$ 、14.7、6.8 Hz, 4H); ESI-MS(m/z) : $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{F}_6\text{N}_5\text{O}_5$,

523.1, $[M-H]^- = 522.1$ 。

1.2.2 西格列汀有关物质 II 的合成

西格列汀有关物质 II 合成路线如下所示:



向 100 mL 反应瓶中加入西格列汀 2.00 g (5.0 mmol) 和马来酸酐 0.98 g (10.0 mmol), 加入四氢呋喃 20 mL, 室温搅拌至溶解完全, 反应混合物颜色逐渐变成橙红色, 继续搅拌 3~4 h。将无水 K_2CO_3 1.38 g (10 mmol) 加入到反应瓶中, 同时加入水 20 mL, 在 40 °C 下搅拌 3 h。待西格列汀反应完全后, 用 50 mL 二氯甲烷萃取两遍, 分出有机层。向水层缓慢滴加稀盐酸调节 pH 为 6~7, 用 100 mL 二氯甲烷萃取两遍, 分出有机层, 合并有机相并用饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥后减压浓缩得残留物, 用乙酸乙酯和正己烷重结晶, 得到 1.99 g 白色粉状固体, HPLC 纯度大于 99%, 收率 97%。 1H NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$), δ : 14.39 (s, 1H), 8.92 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 7.53~7.35 (m, 2H), 6.33~6.13 (m, 2H), 4.98 (s, 1H), 4.94~4.81 (m, 1H), 4.49~4.36 (m, 1H), 4.32~4.19 (m, 1H), 4.14~4.04 (m, 1H), 4.00~3.91 (m, 2H), 3.03~2.87 (m, 1H), 2.84~2.70 (m, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, $DMSO-d_6$), δ : 169.46, 166.02, 165.40, 157.60, 155.28, 151.43, 151.25, 147.39, 145.09, 143.23, 142.84, 133.15, 132.08, 122.62, 120.30, 119.83, 117.61, 106.10, 47.36, 32.52; ESI-MS (m/z): $C_{20}H_{17}F_6N_5O_4$, 505.1, $[M+H]^+ = 506.2$, $[M+Na]^+ = 528.1$ 。

2 结果与讨论

2.1 西格列汀加合物有关物质 I 合成反应条件的考察

2.1.1 添加剂、反应时间和温度对收率的影响

对西格列汀有关物质 I 的合成是采用富马酸二甲酯和西格列汀为原料, 在碱性条件下进行氮杂迈克尔加成反应制备而得, 通过筛选不同有机碱进行碱化处理, 包括 TEA、Py 和 DBU, 实验结果如表 1 所示。

在 0 °C 时, 3 种有机碱的添加所获得的氮杂迈克尔加成产物的收率均相差不大, 且产率不高 (表 1 序号 1~3)。当反应温度继续提高到 25 °C 时, 在 DBU 存在下, 反应时间 6 h, 氮杂迈克尔加成产物收率可达 68% (表 1 序号 6); 反应时间 10 h, 收率可提高到 82% (表 1 序号 7)。当温度继续升高, 反应

体系副产物较多, 氮杂迈克尔加成产物收率下降明显 (表 1 序号 8、9)。所以, 最终选反应温度为 25 °C, $n(\text{DBU})/n(\text{西格列汀})=2.0$, 反应时间 10 h, $n(\text{西格列汀}):n(\text{富马酸二甲酯})=1.0:2.0$ (表 1 序号 7)。

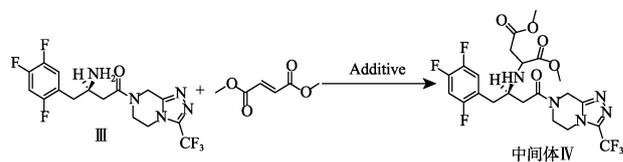


表 1 西格列汀加合物有关物质 I 合成条件的优化^①
Table 1 Optimization of the synthesis conditions of sitagliptin related substance I^①

序号	温度/°C	添加剂	反应时间/h	收率/% ^②
1	0	TEA	24	15
2	0	Py	24	13
3	0	DBU	24	19
4	25	TEA	6	25
5	25	Py	6	34
6	25	DBU	6	68
7	25	DBU	10	82
8	50	DBU	2	47
9	50	DBU	6	40

^① $n(\text{西格列汀}):n(\text{富马酸二甲酯}):n(\text{碱})=1.0:2.0:2.0$; ^②分离收率。

西格列汀和富马酸二甲酯通过迈克尔加成反应制备的中间体 IV 是最终产品西格列汀有关物质 I 酯水解前一步中间体, 是 1,4-加成产物, 由于西格列汀有关物质 I 是二羧酸化合物, 极性较大, 同时含有亚氨基官能团, 纯化难度大。为了减少中间体 IV 的二甲酯键水解后的副产物和简化纯化步骤, 在二甲酯水解前进行纯化对于得到纯度较高的水解产物西格列汀有关物质 I 二羧酸有很大帮助。所以, 本文将西格列汀有关物质 I 的合成方法分两步进行, 先通过迈克尔加成反应得到加成产物, 然后进行碱化酯水解反应。本文推断进行 1,4-加成的原因有以下几点: (1) 西格列汀在相对弱的有机碱 DBU 作用下形成氨基负离子, 亲核性较弱, 主要进行 1,4-加成; (2) 低温有利于 1,2-加成产物的生成, 选择 25 °C 的反应温度更有利于 1,4-加成产物的生成; (3) 羰基所连接的基团大小或者空间位阻大小也对加成的选择有很大影响, 基团越大或者空间位阻越大越容易发生 1,4-加成, 富马酸二甲酯属于 α,β -不饱和酮羧酸酯, 相对于 α,β -不饱和酮来说空间位阻较大, 更有利于发生 1,4-加成。作者推测的机理也与实验结果得到的产品是 1,4-加成产物相吻合。

2.1.2 西格列汀加合物有关物质 I 析晶的优化

筛选不同无机碱对氮杂迈克尔加成产物进行甲酯水解反应,再建立西格列汀加合物有关物质 I 的水相重结晶体系,25 °C 下对西格列汀加合物有关物质 I 析晶条件进行优化,结果如表 2 所示。选取 $n(\text{LiOH})/n(\text{IV})=1.6$ 、反应时间 1 h 作为水解的最优条件,利用水相-乙酸乙酯-盐酸体系作为析晶的最优条件,最终制备出西格列汀加合物有关物质 I,得到无色透明针状晶体,通过 HPLC 检测纯度大于 99.0%。

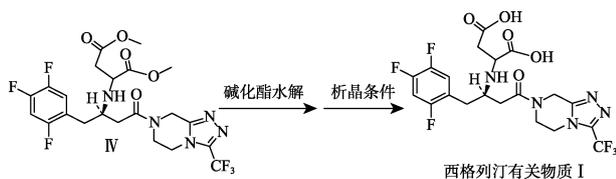


表 2 西格列汀加合物有关物质 I 析晶条件的优化
Table 2 Optimization of the crystallization conditions of sitagliptin related substance I

序号	温度/°C	添加剂	原料配比 ^①	反应时间/h	收率/%	纯度/% ^②
1	25	K ₂ CO ₃	2.0	12	15	33
2	25	KOH	2.0	5	8	25
3	25	NaOH	2.0	5	22	36
4	25	LiOH	2.0	5	49	58
5	25	LiOH	1.8	3	59	72
6	25	LiOH	1.6	1	76	> 99

① $n(\text{LiOH})/n(\text{IV})$; ②HPLC 检测纯度。

2.2 西格列汀有关物质 II 合成反应条件的考察

在无机碱存在条件下,西格列汀对马来酸酐的胺化开环反应过程如下所示,反应条件的优化如表 3 所示。反应温度 20 °C 时,由于 KOH 的碱性过强,使反应体系中副产物增多,当碱改成 LiOH 时,由于 LiOH 的碱性相对较弱,反应 12 h,只获得 56% 收率,而 K₂CO₃ 碱性适中,副产物较少,西格列汀原料未反应完全,最高可获得 77% 收率。由于提高温度对于马来酸酐的开环有促进作用,所以继续将温度提高到 40 °C,获得最优反应条件为:在 40 °C 下, $n(\text{K}_2\text{CO}_3)/n(\text{西格列汀})=2$,反应时间 3 h,经过酸化后处理,一步法直接合成西格列汀有关物质 II,最高可以获得 97% 收率。

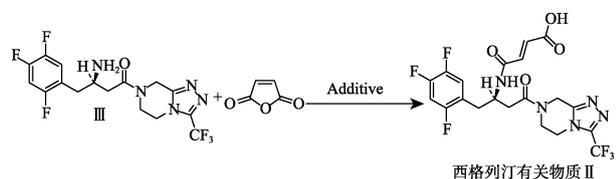


表 3 西格列汀有关物质 II 合成反应条件的优化

Table 3 Optimization of the synthesis conditions of sitagliptin related substance II

序号	温度/°C	添加剂	反应时间/h	收率/%
1	20	LiOH	12	56
2	20	NaOH	12	48
3	20	KOH	12	39
4	20	K ₂ CO ₃	12	77
5	25	K ₂ CO ₃	6	85
6	40	K ₂ CO ₃	3	97

注: $n(\text{添加剂})/n(\text{西格列汀})=2$ 。

3 结论

(1) 在常用无机碱或有机碱中,包括 DBU、Py、TEA、LiOH、NaOH、KOH、K₂CO₃ 等碱在内,对于西格列汀有关物质的合成过程中碱的使用情况进行对比发现,有机碱对于西格列汀有关物质 I 中间体合成起到很好的催化效果,低当量无机碱对西格列汀有关物质 I 中间体水解起到很好的催化效果,无机碱对西格列汀有关物质 II 合成起到很好的催化效果。

(2) 西格列汀有关物质 I 产生的原因推测为:在制剂过程中西格列汀与其中一种辅料硬脂酰富马酸钠中双键发生氮杂迈克尔加成,经水解得到西格列汀有关物质 I。西格列汀有关物质 II 产生的原因推测为:在制剂过程中西格列汀与其中一种辅料硬脂酰富马酸钠中酯键发生胺解反应,得到西格列汀有关物质 II。

(3) 西格列汀加合物有关物质 I 在水中溶解度较大,酸化步骤所需水量是水中成功析晶的关键步骤;酸化太强会形成盐酸盐更难使产品析晶,所以酸的用量也是关键因素,其他关键因素包括:水的用量、析晶温度、产物纯度以及有关物质 I 浓度。本文开发的水相-乙酸乙酯-盐酸的析晶体系解决了这些问题,在 pH=9、 $n(\text{LiOH})/n(\text{IV})=1.6$ 、室温下搅拌反应 1 h,酸化处理后,水中进行重结晶,西格列汀有关物质 I 收率最高可达到 76%,HPLC 纯度大于 99%。

参考文献:

- [1] LIANG Wenchang (梁文昌), REN Yuezhong (任跃忠). Research progress of dipeptidyl peptidase IV inhibitor in the treatment of diabetes[J]. Foreign Medicine: Endocrinology (国外医学: 内分泌学), 2004, 24(1): 58-60.
- [2] WILLIAMS K H, VIEIRA DE RIBERO A J, PRAKOSO E. et al. Circulating dipeptidyl peptidase-4 activity correlates with measures of hepatocyte apoptosis and fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease in type 2 diabetes mellitus and obesity: A dual cohort cross-sectional study[J]. Journal of Diabetes, 2015, 7(6): 809-819.

(下转第 1080 页)