

· 论 文 ·

替比培南酯有关物质的合成

郭 伟¹, 解春文¹, 王文笙¹, 郑德强², 何淑旺^{1*}(¹山东达因海洋生物制药股份有限公司, 威海 264300; ²山东省药学院, 济南 250101)

摘 要 为了完善与强化对替比培南酯原料药的质量控制, 建立替比培南酯原料药的质量标准, 从替比培南酯的合成路线入手, 分析并合成其中可能存在的 5 种有关物质: P1、P2、P6、P8、P9, 并经 ¹H NMR 和 MS 确证。纯度经 HPLC 确证在 95% 以上。合成的有关物质可以作为替比培南酯药物质量控制的杂质对照品, 该合成方法条件温和、原料易得、操作简单。

关键词 替比培南酯; 碳青霉烯类抗生素; 有关物质; 合成

中图分类号 R914 **文献标志码** A **文章编号** 1000-5048(2018)03-0286-05

doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20180305

引用本文 郭伟, 解春文, 王文笙, 等. 替比培南酯有关物质的合成[J]. 中国药科大学学报, 2018, 49(3): 286–290.

Cite this article as: GUO Wei, XIE Chunwen, WANG Wensheng, et al. Synthesis of related substances of tebipenem pivoxil[J]. J China Pharm Univ, 2018, 49(3): 286–290.

Synthesis of related substances of tebipenem pivoxil

GUO Wei¹, XIE Chunwen¹, WANG Wensheng¹, ZHENG Deqiang², HE Shuwang^{1*}¹Shandong Dyne Marine Biopharmaceutical Co., Ltd., Weihai 264300;²Institute of Pharmaceutical Sciences of Shandong Province, Jinan 250101, China

Abstract To enhance the quality control of tebipenem pivoxil and establish its quality criteria, the synthetic route of tebipenem pivoxil was analyzed and five related substances (P1, P2, P6, P8 and P9) were synthesized and characterized by ¹H NMR and MS. The purities of the related substances were over 95% via HPLC detection. The target compounds can be used as the reference of the related substances in the quality control of tebipenem pivoxil. The starting materials were cheap and easy to obtain; the reaction conditions were mild.

Key words tebipenem pivoxil; carbapenem antibiotics; related substances; synthesis

This study was supported by the Science and Technology Development Plans of Shandong Province(No. 2013GSF11832)

替比培南酯 (tebipenem pivoxil, **1**) 化学名为 (+)-(4*R*, 5*S*, 6*S*)-6-[(1*R*)-1-羟基乙基]-4-甲基-7-氧代-3-[[1-(2-噻唑啉-2-基)-3-氮杂环丁烷基]硫]-1-氮杂双环[3.2.0]庚-2-烯-2-甲酸(2,2-二甲基-1-氧代丙氧基)甲酯, 是世界上首个可以口服的碳青霉烯类抗生素^[1-2], 最早由美国辉瑞公司开发, 2002 年授权日本明治制药株式会社研制替比培南酯细粒剂, 并于 2009 年 4 月在日本上市销售^[3]。替比培南酯是替比培南的前药, 临床用于

儿科病人耳、鼻、喉与上呼吸道感染的治疗, 包括持续性中耳炎和细菌性肺炎等^[4]。

有关物质的研究是药物开发的重要组成部分, 不但可以为原料药和制剂的工艺质量控制提供依据, 而且有利于提高产品质量标准的可靠性。替比培南酯原料药的合成已见文献报道, 以(4*R*, 5*S*, 6*S*)-3-(二苯氧基)磷酰氧基)-6-[(1*R*)-1-羟基乙基]-4-甲基-7-氧代-1-氮杂双环[3.2.0]庚-2-烯-2-羧酸对硝基苄酯(MAP)与 3-巯基-1-(1,3-噻唑啉-

收稿日期 2018-03-08 *通信作者 Tel:0631-7606282 E-mail:heshuwang@dynemed.com

基金项目 山东省科学技术发展计划资助项目(No. 2013GSF11832)

2-基)氮杂环丁烷盐酸盐(**2**)为起始原料,经取代、水解及酯化反应得目标化合物替比培南酯^[2-3,5](图1),但目前尚未见有关替比培南酯原料药质量标准研究的文献报道。为加强替比培南酯的质量控制,建立替比培南酯原料药质量标准,本研究根

据《化学药物杂质研究的技术指导原则》,参考相关文献报道^[6-7]并结合替比培南酯的合成工艺路线,分析出替比培南酯原料药中可能存在的5种有关物质 P1、P2、P6、P8、P9,对其进行合成和结构表征。

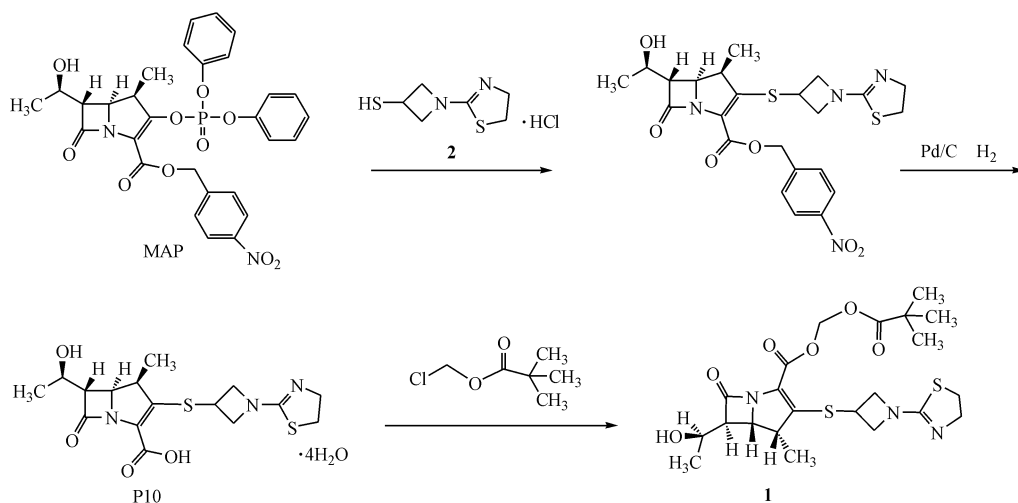


Figure 1 Synthetic route of tebipenem pivoxil (**1**)

1 杂质来源、路线设计

有关物质 P1 是替比培南酯在稳定性考察过程中产生的主要热降解产物^[6]。替比培南酯结构中 C-S 键不稳定,分解进而氧化形成二硫键有关物质 P1。本研究以化合物 **2** 为原料,甲醇为溶剂,经过碘在室温下氧化 0.5 h 合成有关物质 P1,此反应操作简单,副产物少,总收率为 81%,经柱色谱纯化后纯度达到 99.1% (图 2)。

有关物质 P2 是替比培南酯在合成过程中以及稳定性考察过程中由 β -内酰胺水解开环产生,本

研究以替比培南酯为原料,四氢呋喃为溶剂,经盐酸室温水解 3 h 开环制得到有关物质 P2。此反应条件温和,副产物少,总收率为 61%,纯度达到 98.4% (图 3)。

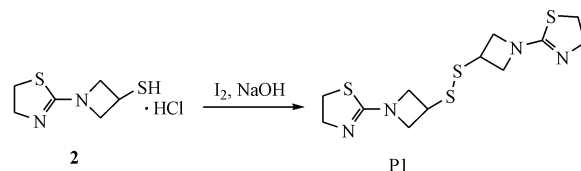


Figure 2 Synthesis of related substance P1 of tebipenem pivoxil

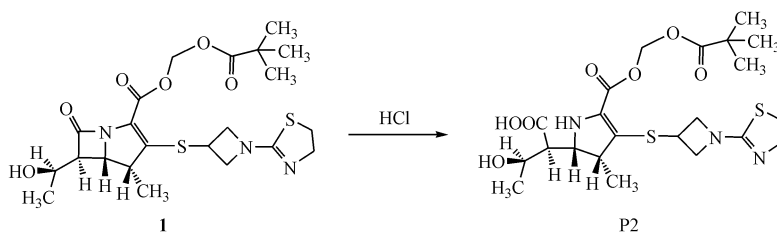


Figure 3 Synthesis of related substance P2 of tebipenem pivoxil

有关物质 P6 是替比培南酯在合成过程中以及稳定性考察过程中降解产生^[6]。替比培南酯碱性条件下降解出甲醛,甲醛再与替比培南酯的 β -内酰胺开环产物脱水合环生成有关物质 P6。本研究以替

比培南酯为原料,四氢呋喃为溶剂,在碱性条件下室温反应 3 h 得到有关物质 P6。此反应条件温和,副产物少,总收率为 53%,纯度达到 98.7% (图 4)。

有关物质 P10 是替比培南酯在合成中的关键

中间体替比培南, 在生产过程中可以直接获得。有关物质 P9 是 P10 合成过程中 β -内酰胺水解开环产物, 后续会引入替比培南酯中。本研究用有关物

质 P10 替比培南, 以水为溶剂, 经盐酸室温水解 5 h 合成杂质 P9, 此反应条件温和, 总收率为 60%, 纯度达到 98.1% (图 5)。

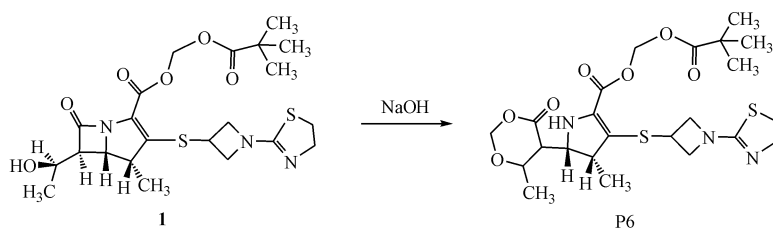


Figure 4 Synthesis of related substance P6 of tebipenem pivoxil

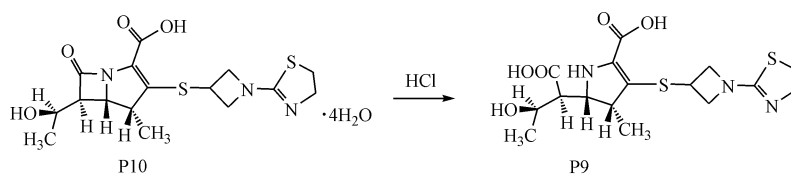


Figure 5 Synthesis of related substance P9 of tebipenem pivoxil

有关物质 P8 是替比培南酯在合成过程中以及稳定性考察过程中产生聚合物杂质。本研究先用杂质 P9 与特戊酸氯甲酯, 以二甲亚砜为溶

剂, $-10 \sim -20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下反应 1 h, 再与替比培南 P10 酯化制得聚合物杂质 P8, 总收率为 41%, 纯度达到 95.2% (图 6)。

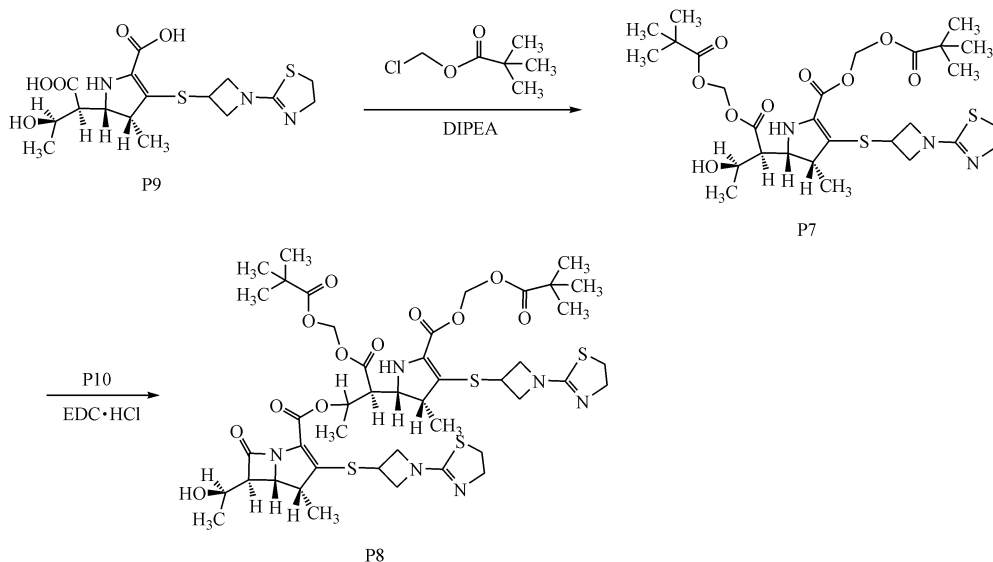


Figure 6 Synthesis of related substance P8 of tebipenem pivoxil

2 材料

所用仪器 Agilent 1260 高效液相色谱仪; Agilent 1200 RRLC-6520 Accurate-Mass Q-TOF 型质谱仪; ^1H NMR 用 Bruker Avance III 400 MHz 核磁共振仪测定。试剂均为市售分析纯产品, 除特别说明

外, 不经处理直接使用。

3 化学合成

3.1 有关物质 P1 的合成

向 250 mL 三口烧瓶中加入化合物 2 (8.43 g, 40 mmol)、甲醇 100 mL, 滴加含碘 (1 g/10 mL) 的乙

醇溶液 70 mL 至体系颜色为黄色,室温反应 0.5 h,滴加饱和亚硫酸钠溶液 10 mL 至黄色消失。减压浓缩,残留物加水 100 mL,加 1 mol/L 氢氧化钠调 pH 至 9,用乙酸乙酯(50 mL × 2)萃取,合并有机相,干燥后过滤,滤液减压浓缩,残余物经柱色谱纯化,得到白色固体(P1, 5.6 g, 81%),纯度 99.1% [HPLC 条件:色谱柱为 Waters XBridge C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm);流动相为 0.05 mol/L 磷酸二氢钠溶液(含 0.5% 的三乙胺,用磷酸调节 pH 至 3.0)-乙腈(97:3);流速为 1.0 mL/min;柱温 40 °C;检测波长 215 nm]。ESI-MS (*m/z*): 347.6 [M + H]⁺; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ: 4.32 ~ 4.38 [4H, m, 2 × N(CH₂)₂], 4.25 ~ 4.30 (2H, m, 2 × SCH), 3.88 ~ 3.91 [4H, m, 2 × N(CH₂)₂], 3.76 (2H, t, *J* = 7.1 Hz, NCH₂), 3.73 (2H, t, *J* = 7.1 Hz, NCH₂), 3.33 (2H, t, *J* = 7.1 Hz, SCH₂), 3.30 (2H, t, *J* = 7.1 Hz, SCH₂)。

3.2 有关物质 P2 的合成

将替比培南酯(6 g, 12.1 mmol)、四氢呋喃 60 mL、1 mol/L 盐酸 30 mL 加入 250 mL 三口烧瓶中,室温反应 3 h, TLC [展开剂:二氯甲烷-甲醇(4:1)]显示反应完全。加碳酸氢钠固体中和盐酸后,过滤,滤液减压浓缩,残留物加入水 50 mL,用乙酸乙酯(50 mL × 2)萃取,合并有机层,有机层用水(50 mL × 2)洗涤,干燥,浓缩,过滤,加入丙酮 50 mL 打浆洗涤,过滤,经乙腈重结晶,得到类白色固体(P2, 3.8 g, 61%),纯度 98.4% [HPLC 条件:色谱柱为 Waters XBridge C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm);流动相 A 为 0.025 mol/L 磷酸二氢钠溶液(用 1 mol/L 氢氧化钠溶液调 pH 至 6.0)-乙腈(97:3),流动相 B 为 0.025 mol/L 磷酸二氢钠溶液(用 1 mol/L 氢氧化钠溶液调 pH 至 6.0)-乙腈(40:60),梯度洗脱(0→5 min: A 100%→85%; 5→15 min: A 85%→75%; 15→30 min: A 75%→35%; 30→60 min: A 35%→0);流速为 1.0 mL/min;检测波长为 220 nm;柱温为 40 °C]。[α]_D²⁰ = +10.5°(0.02 g/mL, CH₃OH); ESI-MS (*m/z*): 516.2 [M + H]⁺; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ: 11.10 (1H, s, -COOH), 7.46 (1H, s, NH), 5.81 (2H, s, CO₂CH₂), 5.09 (1H, s, -OH), 4.27 ~ 4.33 (1H, m, SCH), 4.35 ~ 4.37 [2H, m, N(CH₂)₂], 4.18 (1H, dd, *J* = 10.3 Hz, 7.0 Hz, NHCH), 3.96 (1H, dd, *J* = 10.3 Hz, 7.0 Hz,

CHCOOH), 3.88 (2H, t, *J* = 7.1 Hz, NCH₂), 3.74 ~ 3.78 [2H, m, N(CH₂)₂], 3.35 (2H, t, *J* = 7.1 Hz, SCH₂), 3.31 (1H, d, *J* = 7.0 Hz, CHCH₃), 3.25 (1H, dd, *J* = 7.0 Hz, 6.8 Hz, HOCHCH₃), 1.15 [9H, s, C(CH₃)₃], 1.13 (3H, d, *J* = 6.8 Hz, HOCHCH₃), 1.09 (3H, d, *J* = 6.8 Hz, CHCH₃)。

3.3 有关物质 P6 的合成

将替比培南酯(4.98 g, 10 mmol)、四氢呋喃 50 mL、1 mol/L 氢氧化钠溶液 30 mL 加入 250 mL 三口烧瓶中,抽真空氮气置换 3 次,密闭室温反应 3 h。加碳酸氢钠固体中和后,过滤,滤液减压浓缩,残余物经柱色谱纯化,得到白色固体(P2, 2.8 g, 53%),纯度 98.7% [HPLC 条件:同 P2]。[α]_D²⁰ = +21.7°(0.02 g/mL, CH₃OH); ESI-MS (*m/z*): 528.2 [M + H]⁺; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ: 7.44 (1H, s, NH), 5.80 (2H, s, CO₂CH₂), 5.30 (2H, s, OCH₂O), 4.34 ~ 4.38 [2H, m, N(CH₂)₂], 4.29 ~ 4.32 (1H, m, SCH), 4.16 (1H, dd, *J* = 7.0 Hz, 7.0 Hz, NHCH), 3.91 (1H, dd, *J* = 7.0 Hz, 7.0 Hz, CO₂CH), 3.89 (2H, t, *J* = 7.1 Hz, NCH₂), 3.72 ~ 3.80 [2H, m, N(CH₂)₂], 3.34 (2H, t, *J* = 7.1 Hz, SCH₂), 3.29 (1H, d, *J* = 7.0 Hz, CHCH₃), 3.25 ~ 3.27 (1H, m, OCHCH₃), 1.17 [9H, s, 3 × C(CH₃)₃], 1.15 (3H, d, *J* = 6.8 Hz, OCHCH₃), 1.02 (3H, d, *J* = 6.8 Hz, CHCH₃)。

3.4 有关物质 P9 的合成

将替比培南(5 g, 11 mmol)、水 50 mL、6 mol/L 盐酸 15 mL 加入 250 mL 三口烧瓶中,室温反应 5 h, TLC (展开剂:甲醇)显示反应完全。加碳酸氢钠固体中和盐酸后,过滤,用乙酸乙酯(50 mL × 3)萃取,合并有机层,有机层用水(50 mL × 2)洗涤,干燥,减压浓缩,残余物经丙酮重结晶,得到类白色固体(P9, 2.4 g, 60%),纯度 98.1% [HPLC 条件:同 P2]。[α]_D²⁰ = +13.8°(0.02 g/mL, CH₃OH); ESI-MS (*m/z*): 402.1 [M + H]⁺; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ: 11.12 (1H, s, CHCOOH), 11.10 (1H, s, CCOOH), 7.42 (1H, s, NH), 5.03 (1H, s, CHO), 4.57 ~ 4.61 (1H, m, SCH), 4.35 ~ 4.38 [2H, m, N(CH₂)₂], 4.18 (1H, dd, *J* = 10.3 Hz, 7.0 Hz, NHCH), 3.96 (1H, dd, *J* = 10.3 Hz, 7.0 Hz, CHCOOH), 3.88 (2H, t, *J* = 7.1 Hz, NCH₂), 3.76 ~ 3.80 [2H, m, N(CH₂)₂], 3.35 (2H, t, *J* = 7.1 Hz,

SCH₂), 3.30 (1H, d, $J = 7.0$ Hz, CHCH₃), 3.25 (1H, dd, $J = 7.0$ Hz, 6.8 Hz, HOCHCH₃), 1.12 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, HOCHCH₃), 1.07 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, CHCH₃)。

3.5 有关物质 P8 的制备

向 250 mL 三口烧瓶中加入有关物质 P9 (4.01 g, 10 mmol)、特戊酸氯甲酯 (4.50 g, 30 mmol)、*N,N*-二异丙基乙胺 (DIPEA) (7.76 g, 60 mmol)、二甲亚砜 50 mL, $-10 \sim -20$ °C 下反应 1 h, TLC [展开剂: 二氯甲烷-甲醇 (10:1)] 显示反应完全。加入水 50 mL, 用乙酸乙酯 (50 mL \times 3) 萃取, 合并有机层, 有机层用水 (50 mL \times 3) 洗涤, 干燥, 减压浓缩, 得到淡黄色固体 (P7, 5.2 g, 82%), 纯度 91.5% (HPLC 条件: 同 P2)。ESI-MS (m/z): 630.5 [M + H]⁺。

向 250 mL 三口烧瓶中加入 P7 (5 g, 7.9 mmol)、替比培南 (3.60 g, 7.9 mmol)、1-乙基-(3-二甲基氨基丙基) 碳酰二亚胺盐酸盐 (EDC·HCl) (2.83 g, 10.3 mmol)、二氯甲烷 50 mL, $0 \sim -5$ °C 下反应 24 h, TLC [展开剂: 二氯甲烷-甲醇 (10:1)] 显示反应完全。减压浓缩, 残留物加水 50 mL, 用乙酸乙酯 (50 mL \times 2) 萃取, 合并有机相, 干燥后过滤, 滤液减压浓缩, 残余物经柱色谱纯化, 得到类白色固体 (P8, 3.2 g, 41%), 纯度 95.2% (HPLC 条件: 同 P2)。[α]_D²⁰ = -40.5° (0.02 g/mL, CH₃OH); ESI-MS (m/z): 996.1 [M + H]⁺。¹H NMR (DMSO, 400 MHz) δ : 7.41 (1H, s, NH), 5.65 ~ 5.90 (4H, m, $2 \times$ CO₂CH₂), 5.05 (1H, s, -OH), 4.51 (1H, m, CO₂CHCH₃), 4.30 ~ 4.34 (2H, m, $2 \times$ SCH), 4.35 ~ 4.41 [4H, m, $2 \times$ N(CH₂)₂], 4.15 ~ 4.20 (2H, m, $2 \times$ NHCH), 3.95 ~ 3.99 (2H, m, COCH, CO₂CH), 3.83 ~ 3.91 (4H, m, $2 \times$ NCH₂), 3.76 ~ 3.80 [4H, m, $2 \times$ N(CH₂)₂], 3.35 ~ 3.46 (4H, m, $2 \times$ SCH₂), 3.30 ~

3.41 (2H, m, $2 \times$ CHCH₃), 3.25 ~ 3.28 (1H, m, HOCHCH₃), 1.35 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, CO₂CHCH₃), 1.16 [18H, s, $2 \times$ C(CH₃)₃], 1.14 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, HOCHCH₃), 1.05 ~ 1.09 (6H, m, $2 \times$ CHCH₃)。

4 结 论

本研究成功合成了 5 个替比培南酯的有关物质, 为替比培南酯原料药质量控制提供依据和参考, 这些有关物质的合成收率均在 40% 以上, 纯度均在 95% 以上。合成有关物质的工艺反应条件温和、原料易得、操作简单。

参 考 文 献

- [1] Kumagai T, Tamai S, Abe T, *et al.* Current status of oral carbapenem development[J]. *J Curr Med Chem*, 2001, **1**(1): 1–14.
- [2] Peng DM, Li YX, Liu YF, *et al.* Study on the synthesis of tebipenem pivoxil[J]. *Chin J Antibio* (中国抗生素杂志), 2013, **38**(1): 41–58.
- [3] Shi Y, Zhang YR, Zhou FG, *et al.* Improved synthesis of tebipenem pivoxil[J]. *Chin J Med Chem* (中国药物化学杂志), 2011, **21**(5): 383–385.
- [4] Hu YJ, Chen DK, Tao FR, *et al.* *In vitro* activities of tebipenem pivoxil against clinical isolates[J]. *Chin J Clin Pharmacol* (中国临床药理学杂志), 2012, **28**(12): 950–954.
- [5] Zhai X, Sui Q, Shi HL. Graphical synthetic routes of tebipenem pivoxil[J]. *Chin J Pharm* (中国医药工业杂志), 2012, **43**(6): 503–506.
- [6] Mizera M, Talaczyńska A, Zalewski P, *et al.* Prediction of HPLC retention times of tebipenem pivoxil and its degradation products in solid state by applying adaptive artificial neural network with recursive features elimination [J]. *Talanta*, 2015, **137**: 174–181.
- [7] Cielecka-Piontek J, Zalewski P, Barszcz B, *et al.* Stress degradation studies of tebipenem and a validated stability-indicating LC method[J]. *Chromatographia*, 2013, **76**(7/8): 381–386.