西司他丁钠 3 个有关物质的合成

郭 珩[1]，赖丽红[1]，裘鹏程[1]，柳应贵[2*]，张福利[1*]
（1. 中国医药工业研究总院有限公司上海医药工业研究院有限公司，上海 201203；2. 国药集团国瑞药业有限公司，安徽淮南 232008）

摘要：为了对西司他丁钠（**1**）进行质量控制，合成了 EP 11.0 中收载的有关物质 B、C 和 G，即（*Z*）-7-[[(2*R*)-2- 羧基 -2-[[(1*RS*)-1- 甲基 -3- 氧代丁基] 氨基] 乙基] 硫烷基]-2-[[[(1*S*)-2,2- 二甲基环丙基] 羰基] 氨基] 庚 -2- 烯酸、（*Z*）-7-[[(2*R*)-2- 羧基 -2-[(1,1- 二甲基 -3- 氧代丁基) 氨基] 乙基] 硫烷基]-2-[[[(1*S*)-2,2- 二甲基环丙基] 羰基] 氨基] 庚 -2- 烯酸和（*E*）-(2*RS*)-7-[[(2*R*)-2- 氨基 -2- 羧基乙基] 硫烷基]-2-[[[(1*S*)-2,2- 二甲基环丙基] 羰基] 氨基] 庚 -3- 烯酸。以 **1** 为起始原料，分别与（*E*）-3- 戊烯 -2- 酮（**2**）或 4- 甲基 -3- 烯 -2- 戊酮（**3**）经 Michael 加成反应，再经制备色谱分离、纯化得有关物质 B 和 C。用 7- 氯 -2- 氧代庚酸乙酯（**4**）和氨基甲酸苄酯经缩合反应，得到（*Z*）-7- 氯 -2-[[(苄氧基) 羰基] 氨基] 庚 -2- 烯酸乙酯（**5**）；**5** 在 2,2,6,6- 四甲基哌啶锂条件下双键迁移得（*E*）-7- 氯 -2-[[(苄氧基) 羰基] 氨基] 庚 -3- 烯酸乙酯（**6**）；**6** 经三甲基碘硅烷（TMSI）脱除苄氧基羰基（Cbz），随后与（*S*）-2,2- 二甲基环丙基甲酸（**8**）反应得（*E*）-7- 氯 -2-[[(*S*)-2,2- 二甲基环丙烷]- 甲酰胺基] 庚 -3- 烯酸乙酯（**9**）；**9** 再与 L- 半胱氨酸（**10**）反应，经制备色谱分离、纯化得有关物质 G。3 个有关物质均经 MS、^{1}H NMR 和 ^{13}C NMR 确证。

关键词：西司他丁钠；合成；有关物质；质量控制
中图分类号：TQ460.6；R978.1^{+}1　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1001-8255(2024)10-1365-05
引用：郭 珩，赖丽红，裘鹏程，等. 西司他丁钠 3 个有关物质的合成 [J]. 中国医药工业杂志，2024, 55(10): 1365-1369.
DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2024.10.008

Synthesis of Three Related Substances of Cilastatin Sodium

GUO Heng[1], LAI Lihong[1], QIU Pengcheng[1], LIU Yinggui[2*], ZHANG Fuli[1*]
(*1. Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry Co., Ltd., China State Institute of Pharmaceutical Industry Co., Ltd., Shanghai 201203; 2. China National Medicines Guorui Pharmaceutical Co., Ltd., Huainan 232008*)

ABSTRACT: In order to control the quality of cilastatin sodium (**1**), the synthesis of the related substances B, C and G involved in the EP 11.0, named (*Z*)-7-[[(2*R*)-2-carboxy-2-[[(1*RS*)-1-methyl-3-oxobutyl]amino]ethyl]-sulfanyl]-2-[[[(1*S*)-2,2-dimethylcyclopropyl]carbonyl]amino]hept-2-enoic acid, (*Z*)-7-[[(2*R*)-2-carboxy-2-[(1,1-dimethyl-3-oxobutyl)amino]ethyl]sulfanyl]-2-[[[(1*S*)-2,2-dimethylcyclopropyl]carbonyl]amino]hept-2-enoic acid and (*E*)-(2*RS*)-7-[[(2*R*)-2-amino-2-carboxyethyl]sulfanyl]-2-[[[(1*S*)-2,2-dimethylcyclopropyl]carbonyl]amino]hept-3-enoic acid, were reported in this study. Compound **1** was reacted with (*E*)-3-penten-2-one (**2**) or 4-methyl-pent-3-ene-2-one (**3**) via Michael addition, respectively, and purified by preparative chromatography to obtain related substances B and C. Ethyl (*Z*)-7-chloro-2-[[(benzyloxy)carbonyl]amino]hept-2-enoate (**5**) was synthesized through condensation of ethyl-7-chloro-2-oxohept-2-enoate (**4**) and benzyl carbamate. The double bond of **5** was migrated by 2,2,6,6-tetramethylpiperidine lithium (LiTMP) to generate ethyl (*E*)-7-chloro-2-[[(benzyloxy)carbonyl]amino]hept-3-enoate (**6**). After deprotection of **6**, followed by reaction with (*S*)-2,2-dimethylcyclopropane carboxylic acid (**8**) to obtain ethyl (*E*)-7-chloro-2-(*S*)-2,2-dimethylcyclopropane carboxamido)hept-3-enoate (**9**). Related substance G was obtained via the reaction of **9** and L-cysteine (**10**) and the preparative chromatography. The structures of the three target products were confirmed by MS, ^{1}H NMR and ^{13}C NMR.

Key Words: cilastatin sodium; synthesis; related substance; quality control

西司他丁钠（cilastatin sodium，**1**），化学名为（*Z*）-7-[[（2*R*）-2- 氨基 -2- 羧基乙基] 硫烷基]-2-[[[（1*S*）-2,2- 二甲基环丙基] 羰基] 氨基] 庚 -2- 烯酸钠盐，是碳青霉烯类药物亚胺培南（imipenem）的增效剂，可通过抑制脱氢二肽酶而减少亚胺培南水解，从而提高后者血浆浓度，增强疗效。**1** 由默沙东公司研发，于 1987 年经 FDA 批准上市，于 1994 年在中国获批上市。临床上常用亚胺培南和 **1** 的复方制剂，治疗敏感菌所致的各种感染，在控制耐药菌感染以及免疫缺陷患者感染的治疗中发挥了重要作用 [1—4]。

EP 11.0 收录了 **1** 的 8 个有关物质（A ～ H）。除了有关物质 D 是市售试剂外，其余 7 个有关物质的合成均鲜有报道 [5—6]。本研究设计、合成了有关物质 B、C 和 G，期望对 **1** 的质量控制提供一定的参考。

有关物质 B，化学名为（*Z*）-7-[[（2*R*）-2- 羧基 -2-[[（1*RS*）-1- 甲基 -3- 氧代丁基] 氨基] 乙基]- 硫烷基]-2-[[[（1*S*）-2,2- 二甲基环丙基] 羰基] 氨基]- 庚 -2- 烯酸。推测是 **1** 合成过程中的丙酮和乙醇反应生成（*E*）-3- 戊烯 -2- 酮（**2**）后，与 **1** 的氨基发生 Michael 加成得到。有关物质 C，化学名为（*Z*）-7-[[（2*R*）-2- 羧基 -2-[（1,1- 二甲基 -3- 氧代丁基）氨基]- 乙基] 硫烷基]-2-[[[（1*S*）-2,2- 二甲基环丙基] 羰基]- 氨基] 庚 -2- 烯酸。推测是 **1** 合成过程中的丙酮自身缩合生成 4- 甲基 -3- 烯 -2- 戊酮（**3**）后，与 **1** 中的氨基发生 Michael 加成得到。有关物质 G，化学名为（*E*）-（2*RS*）-7-[[（2*R*）-2- 氨基 -2- 羧基乙基] 硫烷基]-2-[[[（1*S*）-2,2- 二甲基环丙基] 羰基] 氨基] 庚 -3- 烯酸，是 **1** 中的双键发生迁移产生，推测与 pH 值、光照或温度有关（图 1）。上述 3 个有关物质的合成均未见文献报道。

本研究根据有关物质 B 和 C 的可能来源，设计其合成路线。

有关物质 B 的合成，以 **1** 为起始原料，在 2 倍当量的碳酸钾作用下与 **2** 发生 Michael 加成，再经制备型色谱纯化，即可制得一对非对映异构体的有关物质 B。总收率 43.0%，纯度 96.4%。

有关物质 C 的合成，王珂等 [6] 报道了用制备型色谱直接从 **1** 中分离。由于有关物质 C 在 **1** 的中含量极低，需多次分离，成本较高。考虑到有关物质 C 的结构与有关物质 B 类似，因此以 **1** 为起始原料，优化碳酸钾用量为 0.3 倍当量，与 **3** 经 Michael 加成，反应液再经制备型色谱纯化，得有关物质 C。总收率 24%，纯度 97.8%。

有关物质 G 的合成，曾尝试用加热、光照等方式处理 **1**，但生成量极少，难以富集。本研究参考文献 [7—10]，设计如图 2 所示的路线。

以 7- 氯 -2- 氧代庚酸乙酯（**4**）为起始物，与氨基甲酸苄酯（NH_2-Cbz）经缩合反应，得到（*Z*）-7- 氯 -2-[[（苄氧基）羰基] 氨基] 庚 -2- 烯酸乙酯（**5**）；**5** 在 2,2,6,6- 四甲基哌啶锂（2,2,6,6-tetramethylpiperidine lithium，LiTMP）条件下双键迁移得（*E*）-7- 氯 -2-[[（苄氧基）羰基] 氨基] 庚 -3- 烯酸乙酯（**6**）；**6** 经三甲基碘硅烷（trimethyliodosilane，TMSI）脱除苄氧基羰基（Cbz）得到 **7**；随后，**7** 与（*S*）-2,2- 二甲基环丙基甲酸（**8**）经酰胺化反应得到（*E*）-7- 氯 -2-[[（*S*）-2,2- 二甲基环丙烷] 甲酰胺基] 庚 -3- 烯酸乙酯（**9**），**9** 再与 L- 半胱氨酸（**10**）经取代反应后，反应液经制备型色谱分离、纯化得有关物质 G，是一对非对映异构体。总收率 27.8%，纯度 97.2%（非对映异构体合并计算）。

实验部分

（*Z*）-7-[[（2*R*）-2- 羧基 -2-[[（1*RS*）-1- 甲基 -3- 氧代丁基] 氨基] 乙基] 硫烷基]-2-[[[（1*S*）-2,2- 二甲基环丙基] 羰基] 氨基] 庚 -2- 烯酸（有关物质 B）

将 **1**（3.80 g，10.0 mmol，浙江海正药业股份有限公司）和水（30 mL）加至 100 mL 反应瓶中，溶清，再加入 **2**（1.26 g，15.0 mmol，上海泰坦科技

收稿日期：2024-04-22

作者简介：郭　珩（1985—），男，博士研究生，专业方向：药物合成工艺。

通信作者：柳应贵（1972—），男，副主任药师，从事药物质量研究和生产管理的研究。

E-mail：lygui_01@163.com

张福利（1968—），男，研究员，博士生导师，从事药物合成工艺优化和产业化的研究。

E-mail：zhangfulisipi@126.com

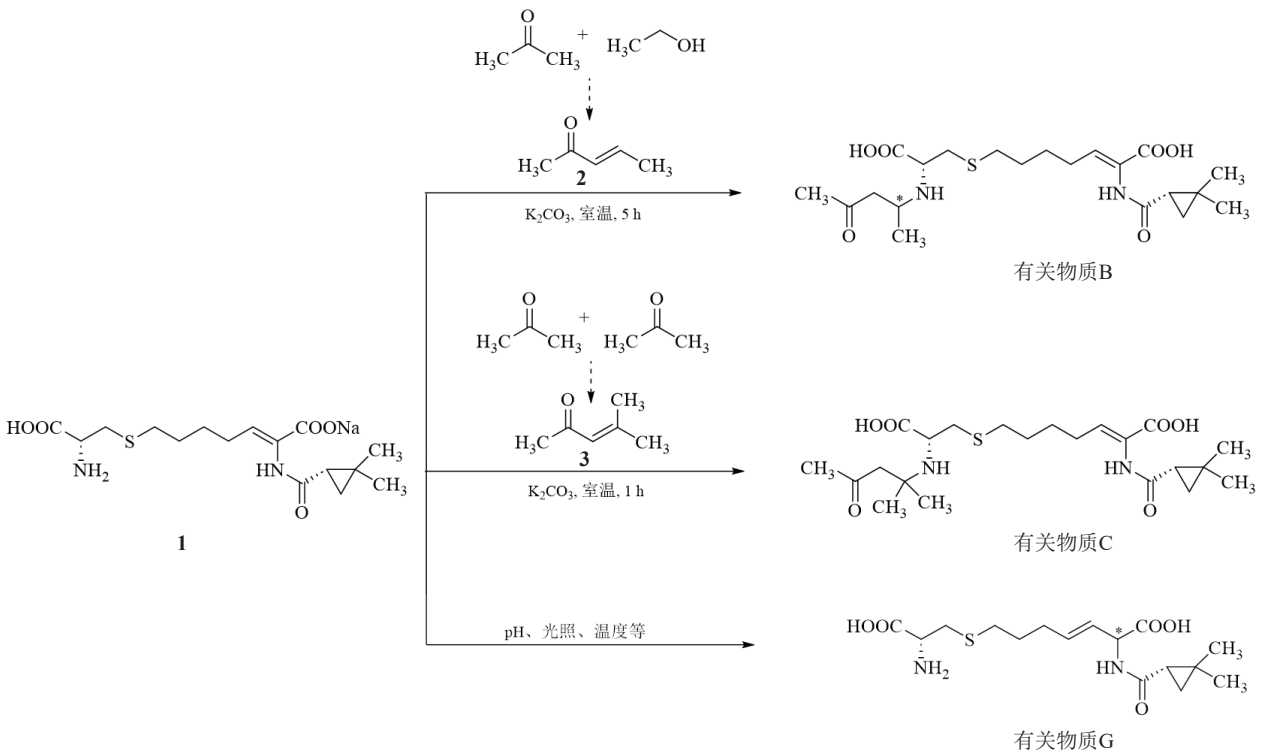


图 1 有关物质 B、C 和 G 的可能来源

Fig.1 The Possible Sources of Related Substances B, C and G

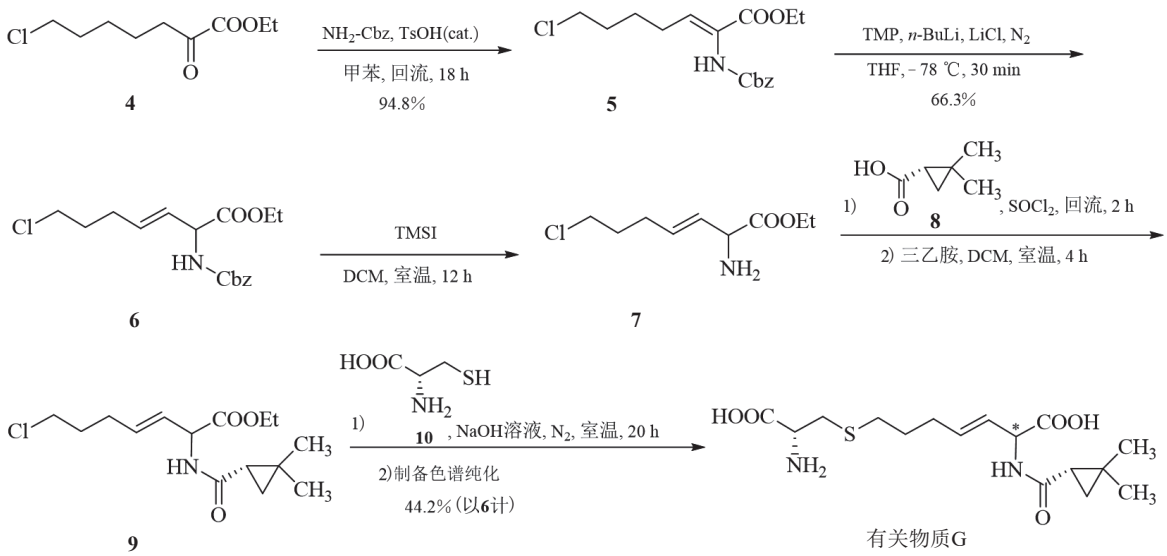


图 2 有关物质 G 的合成路线

Fig.2 Synthetic Route of Related Substance G

股份有限公司）和碳酸钾（2.76 g，20.0 mmol），室温搅拌 5 h，反应液经制备型色谱［色谱柱 Waters X-Bridge C_{18} 柱（19 mm×150 mm，5 μm）；流动相 A 为 0.1% TFA 水溶液，B 为乙腈，梯度洗脱（0—0.2 min，A 90%；0.2—8 min，A 90%—65%；8—8.5 min，A 65%—5%；8.5—10 min，A 5%；10—

10.3 min，A 5%—90%；10.3—13 min，A 90%）］分离、纯化，得白色固体有关物质B（1.90 g，43.0%）。mp 114.1～114.9 ℃。纯度96.4%［HPLC归一化法：色谱柱YMC ODS AQ C_{18}柱（4.6 mm×250 mm，5 μm）；流动相A为0.01 mol/L磷酸二氢钠溶液，B为50%流动相A的乙腈溶液，梯度洗脱（0—3 min，A 100%；3—28 min，A 100%—90%；28—38 min，A 90%；38—63 min，A 90%—50%；63—78 min，A 50%—30%；78—88 min，A 30%）；柱温50 ℃；检测波长210 nm；流速2.0 mL/min。与**1**的相对保留时间为1.16］。^{1}H NMR（400 MHz, D_2O）δ: 6.85（t, *J*=7.6 Hz, 1H）, 4.31（t, *J*=5.5 Hz, 1H）, 3.81～3.83（m, 1H）, 3.15～3.19（m, 2H）, 3.08～3.09（m, 2H）, 2.60（t, *J*=7.0 Hz, 2H）, 2.24（d, *J*=26.4 Hz, 4H）, 2.19（d, *J*=7.4 Hz, 2H）, 1.52～1.68（m, 5H）, 1.37（dd, *J*=6.7、2.9 Hz, 3H）, 1.17（s, 3H）, 1.11（s, 3H）, 1.01（t, *J*=5.1 Hz, 1H）, 0.88（dd, *J*=7.8、4.6 Hz, 1H）；^{13}C NMR（100 MHz, D_2O）δ: 210.92, 174.42, 167.44, 161.75, 142.14, 125.72, 31.15, 29.35, 27.98, 26.81, 25.92, 25.63, 22.11, 19.32, 18.25, 15.55；HR-MS（*m*/*z*）: 443.220 8［M+H］$^+$。

（*Z*）-7-［［（2*R*）-2-羧基-2-［（1,1-二甲基-3-氧代丁基）氨基］乙基］硫烷基］-2-［［［（1*S*）-2,2-二甲基环丙基］羰基］氨基］庚-2-烯酸（有关物质C）

将**1**（7.60 g，20.0 mmol）和水（60 mL）加至100 mL反应瓶中，溶清，再加入**3**（2.94 g，30.0 mmol，上海泰坦科技股份有限公司）和碳酸钾（0.83 g，6.0 mmol），室温搅拌1 h，反应液经制备型色谱（条件同有关物质B）分离、纯化，得到白色固体有关物质C（1.70 g，18.6%）。mp 60.3～61.1 ℃。纯度97.8%（HPLC归一化法，条件同有关物质B；与**1**的相对保留时间为1.22）。^{1}H NMR（400 MHz, D_2O）δ: 6.75（t, *J*=7.6 Hz, 1H）, 3.77（t, *J*=8.2、4.1 Hz, 1H）, 2.96～3.19（dd, 2H）, 2.89（dd, *J*=14.9、8.3 Hz, 1H）, 2.54（t, *J*=7.0 Hz, 2H）, 2.20（s, 3H）, 2.13（d, *J*=7.2 Hz, 2H）, 1.61（dd, *J*=7.9、5.6 Hz, 3H）, 1.42（m, 2H）, 1.33（s, 3H）, 1.27（s, 3H）, 1.11（s, 3H）, 1.05（s, 3H）, 0.94（t, *J*=5.1 Hz, 1H）, 0.82（dd, *J*=7.9、4.6 Hz, 1H）；^{13}C NMR（100 MHz, D_2O）δ: 212.78, 174.17, 172.11, 167.72, 141.27, 125.97, 58.66, 55.65, 48.75, 32.34, 30.49, 30.07, 27.86, 27.55, 26.57, 25.81, 25.43, 22.50, 21.79, 18.96, 18.09；HR-MS（*m*/*z*）: 457.238 0［M+H］$^+$。

（*E*）-（2*RS*）-7-［［（2*R*）-2-氨基-2-羧基乙基］硫烷基］-2-［［［（1*S*）-2,2-二甲基环丙基］羰基］氨基］-庚-3-烯酸（有关物质G）

将**4**（5.66 g，27.4 mmol，上海迈瑞尔生化科技有限公司）、NH_2-Cb_2（4.55 g，30.1 mmol，上海毕得医药科技有限公司）和对甲苯磺酸（0.10 g）加至100 mL反应瓶中，加入甲苯（60 mL），加热至110 ℃，回流反应18 h，用分水器除水，再用饱和碳酸氢钠溶液（20 mL）洗涤，经无水硫酸钠干燥后，过滤，滤液减压蒸除溶剂，剩余物经柱色谱［洗脱剂：乙酸乙酯和石油醚（体积比1∶5）］分离、纯化，得淡黄色油状液体**5**（8.83 g，94.8%）。ESI-MS（*m*/*z*）: 340.12［M+H］$^+$。

将无水氯化锂（2.55 g，60.0 mmol，上海泰坦科技股份有限公司）、2,2,6,6-四甲基哌啶（4.38 g，31.0 mmol，上海毕得医药科技有限公司）和THF（60 mL）加至250 mL三颈瓶中，氮气保护下降至－78 ℃，加入2.5 mol/L正丁基锂的THF溶液（12 mL），升至0 ℃后继续搅拌20 min，再重新冷却至－78 ℃，滴加含**5**（3.40 g，10.0 mmol）的THF溶液（80 mL）。滴毕，控温于－78 ℃继续搅拌反应30 min。向反应液中快速加入饱和氯化铵溶液（50 mL），升至室温搅拌10 min后，反应液用乙酸乙酯（50 mL×3）萃取，有机相经无水硫酸钠干燥后，过滤，滤液减压蒸除溶剂，剩余物经柱色谱（条件同上段）分离纯化，得淡黄色油状液体**6**（2.25 g，66.3%）。ESI-MS（*m*/*z*）: 340.12［M+H］$^+$。

将**6**（2.00 g，5.9 mmol）加至50 mL反应瓶中，加入DCM（20 mL），冰浴下滴加TMSI（3.54 g，17.7 mmol，上海毕得医药科技有限公司），滴毕，室温搅拌反应12 h。反应液减压蒸除溶剂，向剩余物中加1 mol/L盐酸（40 mL）和甲基叔丁基醚（30 mL），静置分层，水相用饱和碳酸氢钠溶液

调至 pH 10，用甲基叔丁基醚 (20 mL×3) 萃取，有机相经无水硫酸钠干燥后，过滤，滤液减压浓缩至干，得褐色油状物 **7**(1.20 g)。ESI-MS(*m*/*z*): 206.10[M+H]$^+$。加入 DCM(20 mL) 溶解后，直接用于下一步反应。

将 **8**(0.80 g，7.0 mmol，上海毕得医药科技有限公司) 加至 25 mL 反应瓶中，加入氯化亚砜 (5 mL)，加热至 78 ℃，回流反应 2 h。反应液减压蒸除溶剂，剩余物中加入 DCM(10 mL) 溶解，转移至如上述含 **7** 的 DCM 溶液中，再加入三乙胺 (1.18 g，11.7 mmol)，室温反应 4 h。反应液依次用 1 mol/L 盐酸 (10 mL)、饱和碳酸氢钠溶液 (10 mL) 和饱和氯化钠溶液 (10 mL) 洗涤，经无水硫酸钠干燥后，过滤，滤液减压浓缩至干，得褐色油状物 **9** 粗品 (1.52 g)。直接用于下一步反应。ESI-MS(*m*/*z*): 302.15[M+H]$^+$

将 **9** 粗品、1 mol/L 氢氧化钠溶液 (10 mL) 和 **10**(1.22 g，10.1 mmol，上海毕得医药科技有限公司) 加至 25 mL 反应瓶中，氮气保护下室温反应 20 h，用 6 mol/L 浓盐酸调至 pH 8，反应液经制备型色谱 (条件同有关物质 B) 分离、纯化，得白色固体有关物质 G(0.80 g，44.2%)。mp 161.9 ～ 163.8 ℃。纯度 97.2 % (HPLC 归一化法，条件同有关物质 B；与 **1** 的相对保留时间为 1.02 和 1.04)。^{1}H NMR(400 MHz, DMSO)δ: 5.82(q, 1H), 5.63(q, 1H), 5.53(m, *J*=15.5、6.6 Hz, 1H), 4.72(t, *J*=6.7 Hz, 1H), 2.94(m, 2H), 2.58(m, 2H), 2.08(q, 2H), 1.57 ～ 1.61(m, 2H), 1.54 ～ 1.56(q, 1H), 1.08(s, 3H), 1.02(s, 3H), 0.84(m, 1H), 0.62(dd, *J*=8.0、3.7 Hz, 1H)；^{13}C NMR(100 MHz, DMSO)δ: 172.32, 170.45, 169.60, 132.29, 125.65, 54.50, 52.25, 31.62, 30.58, 30.44, 28.19, 27.28, 26.81, 20.69, 19.53, 18.51；HR-MS(*m*/*z*): 359.163 8[M+H]$^+$。

参考文献：

[1] GRAHAM D W, ASHTON W T, BARASH L, *et al*. Inhibition of the mammalian beta-lactamase renal dipeptidase (dehydropeptidase-I) by (*Z*)-2-(acylamino)-3-substituted-propenoic acids [J]. *J Med Chem*, 1987, **18**(6): 1074-1090.

[2] 张建民, 冯玲玲, 李 勇, 等. 抗菌药物增效剂 [J]. 中国药师, 2003, **6**(3): 172-173.

[3] 宋 磊, 杨 恂. 亚胺培南西司他丁药物研究的进展 [J]. 中国医学创新, 2013, **10**(23): 151-153.

[4] WOODHAMS R, NISHIMAKI H, OGASAWARA G, *et al*. Imipenem/cilastatin sodium (IPM/CS) as an embolic agent for transcatheter arterial embolization: a preliminary clinical study of gastrointestinal bleeding from neoplasms [J]. *Springerplus*, 2013, **2**: 344.

[5] 李承明, 郭 珩, 杨丽娜, 等. 西司他丁钠有关物质的合成 [J]. 中国医药工业杂志, 2021, **52**(6): 786-789.

[6] 王 珂, 陈圳平, 陈倩倩, 等. 一种西司他丁钠杂质 C 的制备方法: 中国, 111562333A [P]. 2020-08-21.

[7] ALEXANDER P A, MARSDEN S P, SUBTIL D M, *et al*. Deconjugation of dehydroamino acids: stereoselective synthesis of racemic (*E*)-vinylglycines [J]. *Org Lett*, 2005, **7**(24): 5433-5436.

[8] 石晓华, 王海峰, 陈新志, 等. 西司他丁合成新工艺 [J]. 河北化工, 2007, (12): 44-46.

[9] 徐晓莉, 王海山. 西司他丁的合成 [J]. 中国医药工业杂志, 1994, **25**(2): 51-54.

[10] 陈 扬. 西司他丁钠及其 *E* 构型异构体的合成 [D]. 上海: 上海医药工业研究院硕士学位论文, 2006.