

· 实验研究 ·

4-(6-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-1-甲氧基-2-[(反式-4-正丙基环己基)甲基]苯的合成及其晶型研究

汪文锦^{1,2}, 谢亚非², 刘钰强², 魏鹏^{2,3}, 高志刚^{2,3}, 汤立达^{1,2}, 徐为人^{1,2*}, 赵桂龙^{2,3*}

1. 天津医科大学 药学院, 天津 300070

2. 天津药物研究院 天津市药物设计与发现重点实验室, 天津 300193

3. 齐鲁工业大学 化学与制药工程学院, 山东 济南 250353

摘要: 目的 寻找一条合成目标化合物 4-(6-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-1-甲氧基-2-[(反式-4-正丙基环己基)甲基]苯的简易路线, 并研究其晶型。方法 利用苯基溴化物片段和 6-脱氧葡萄糖酸内酯片段作为起始原料合成目标化合物; 采用有机混合溶剂和含水混合溶剂结晶的方式制备目标化合物的晶型, 采用粉末 X 射线衍射分析和热重-差热分析技术对其进行表征, 并对其进行了初步稳定性研究。结果 目标化合物的总收率为 74%, 通过上述制备方法获得了同一种晶型, 该晶型对光、热和湿均是稳定的。结论 设计了一条合成目标化合物的简易路线, 该路线操作简便、路线短、收率高, 并制备了一种具有良好稳定性的目标化合物的晶型。

关键词: 4-(6-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-1-甲氧基-2-[(反式-4-正丙基环己基)甲基]苯; 苯基溴化物; 6-脱氧葡萄糖酸内酯; 晶型

中图分类号: R914.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2014)01-0001-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2014.01.001

Synthesis of 4-(6-deoxy-β-D-glucopyranosyl)-1-methosyl-2-[(trans-4-n-propylcyclohexyl)methyl] benzene and its polymorphic characteristics

WANG Wen-jin^{1,2}, XIE Ya-fei², LIU Yu-qiang², WEI Peng^{2,3}, GAO Zhi-gang^{2,3}, TANG Li-da^{1,2}, XU Wei-ren^{1,2}, ZHAO Gui-long^{2,3}

1. School of Pharmacy, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China

2. Tianjin Key Laboratory of Molecular Design and Drug Discovery, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

3. School of Chemical and Pharmaceutical Engineering, Qilu University of Technology, Jinan 250353, China

Abstract: Objective To search for a facile synthetic route for synthesis of target compound 4-(6-deoxy-β-D-glucopyranosyl)-1-methosyl-2-[(trans-4-n-propylcyclohexyl)methyl] benzene and to study its polymorphic characteristics. **Methods** A phenyl bromide fragment and 6-deoxygluconolactone fragment were used as starting materials to synthesize the target compound. Polymorph of target compound was prepared from organic mixed solvents and aqueous mixed solvents. and was characterized by powder X ray diffraction (PXRD), and thermogravimetric analysis coupled with differential thermal analysis (TG-DTA), and the preliminary stability properties of the polymorph was also studied. **Results** The total yield of target compound was 74%. The same polymorph of the target compound was obtained by the above methods, and was stable to light, heat, and moisture. **Conclusion** A facile synthetic route for synthesis of target compound is developed, which has the advantages of simple operating procedure, easy post-processing and high yield, and a stable polymorph of target compound is obtained.

Key words: 4-(6-deoxy-β-D-glucopyranosyl)-1-methosyl-2-[(trans-4-n-propylcyclohexyl)methyl] benzene; phenyl bromide; 6-deoxygluconolactone; polymorph

收稿日期: 2013-11-20

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (21302141); 天津市科技计划项目 (10ZCKFSH01300)

作者简介: 汪文锦 (1989—), 男, 甘肃兰州人, 硕士研究生。E-mail: wangwenjins@163.com

*通信作者 徐为人, 研究员。Tel: (022)23006862 E-mail: xuwr@tjipr.com

赵桂龙, 副研究员。Tel: (022)23006869 E-mail: zhao_guilong@126.com

钠-葡萄糖协同转运蛋白 2 (sodium-dependent glucose transporter 2, SGLT2) 抑制剂是近年来发现的具有全新作用机制的降血糖药物^[1-3]。SGLT2 抑制剂能够抑制肾近端小管上皮细胞膜上的 SGLT2 对原尿中葡萄糖的重吸收, 增加尿糖的排出, 进而达到降低血糖的目的。SGLT2 抑制剂具有不依赖胰岛素发挥作用和较低的低血糖风险等特点, 是目前最有前景的 2 型糖尿病治疗药物之一。

本课题组在前期工作中对一类结构新颖的含有反式环己烷结构的 C-葡萄糖苷研究发现了化合物

4-(β-D-吡喃葡萄糖基)-1-甲氧基-2-[(反式-4-正丙基环己基)甲基]苯具有较强的降血糖作用^[4-5], 对其中葡萄糖片段中的 6-OH 继续改造发现了作用更强的目标化合物 4-(6-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖基)-1-甲氧基-2-[(反式-4-正丙基环己基)甲基]苯^[5]。目标化合物在药物发现阶段是由化合物 4-(β-D-吡喃葡萄糖基)-1-甲氧基-2-[(反式-4-正丙基环己基)甲基]苯作为起始原料, 合成路线见图 1, 路线较长, 且原料本身的合成就比较复杂, 因此该路线不能满足中试以上级别的生产需要。

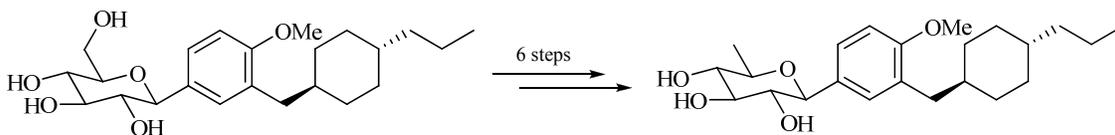


图 1 目标化合物原来的合成路线

Fig. 1 Quondam synthetic route of target compound

在前期工作^[6]的基础上, 本课题组发现了一条新的合成目标化合物 5 的路线, 见图 2。该路线操作简便、路线短、收率高, 符合进一步开发目标化合物 5 的需要。同时采用有机混合溶剂和含水混合

溶剂结晶的方式制备了目标化合物 5 的晶型, 粉末 X 射线衍射分析 (PXRD) 和热重-差热分析 (TG-DTA) 技术对其进行表征, 并对其进行了初步稳定性研究, 发现了一种稳定的晶型。

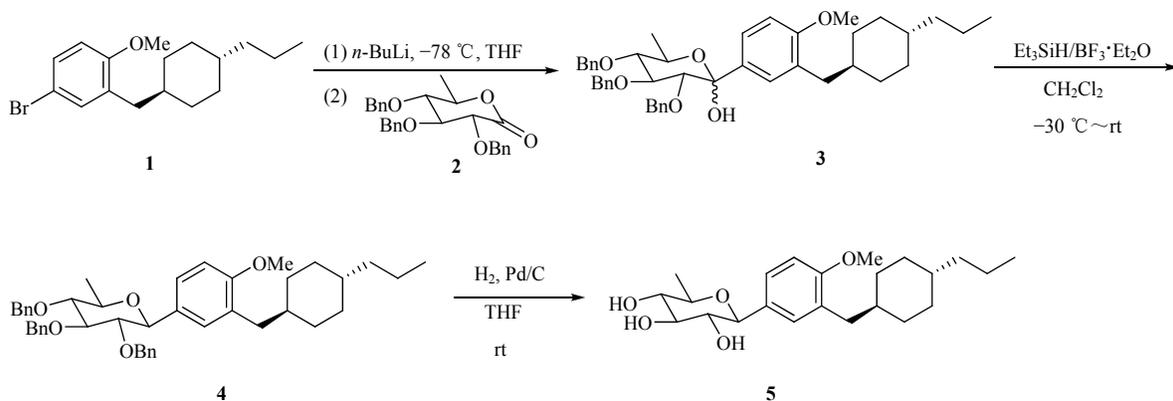


图 2 目标化合物的合成路线

Fig. 2 Synthetic route of target compound

1 仪器与试剂

RY-2 熔点仪 (天津天光光学仪器有限公司); Bruker AV 400 型核磁共振仪 (瑞士 Bruker 公司); D/max-2550 粉末 X 射线衍射仪、PTC-10A 热重-差热分析仪 (Rigaku 公司)。

4-溴-2-[(反式-4-正丙基环己基)甲基]苯甲醚(1) (质量分数 99.12%)、2,3,4-三-O-苄基-6-脱氧-D-吡喃葡萄糖酸内酯(2) (质量分数 99.66%) 均由本实验室制得^[4, 6]; 干燥的 THF 和甲苯是以二苯甲酮作

指示剂从金属钠中蒸馏制得、CH₂Cl₂ 从 CaH₂ 中蒸馏获得。

2 方法与结果

2.1 合成工艺

2.1.1 4-(2,3,4-三-O-苄基-6-脱氧-1-羟基-α/β-D-吡喃葡萄糖基)-1-甲氧基-2-[(反式-4-正丙基环己基)甲基]苯(3)的制备 在 500 mL 干燥圆底烧瓶中加入化合物 1 (16.26 g, 50 mmol)、干燥的 THF 120 mL 和干燥的甲苯 30 mL, 氮气吹扫后用橡胶塞封口。

将其置于盛有液氮/乙醇的杜瓦瓶中冷却至 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。搅拌下,用注射器向圆底烧瓶中缓慢滴加 1.6 mol/L $n\text{-BuLi}$ (31.25 mL , 50 mmol)的正己烷溶液,滴加完毕后在该温度下继续搅拌 1 h 。再用注射器向其中滴加化合物 2 (21.63 g , 50 mmol)溶于 80 mL 干燥甲苯制成的溶液,滴加完毕后在该温度下继续搅拌 1 h ,然后缓慢升至室温。搅拌下将反应混合物小心地倒入 500 mL 冰水中,用稀盐酸调节 pH 为 5 , CH_2Cl_2 ($100\text{ mL}\times 3$)萃取,合并有机相,并用 100 mL 食盐水洗涤,无水 Na_2SO_4 干燥。旋蒸溶剂后得黄色油状物,即为化合物 3 粗品,不用纯化,直接用于下一步反应。

2.1.2 4-(2,3,4-三-*O*-苄基-6-脱氧- β -*D*-吡喃葡萄糖基)-1-甲氧基-2-[(反式-4-正丙基环己基)甲基]苯 (4)的制备 在 500 mL 干燥圆底烧瓶中加入上述制备的化合物 3 、 Et_3SiH (11.63 g , 100 mmol)、干燥的 CH_2Cl_2 200 mL ,在 $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冷却下搅拌。用恒压滴液漏斗向体系中慢慢滴加 $\text{BF}_3\cdot\text{Et}_2\text{O}$ (7.10 g , 50 mmol),滴加完毕后,在该温度下继续搅拌 30 min ,然后缓慢升至室温,继续搅拌过夜。TLC显示反应完成后,向反应混合物中慢慢加入 100 mL 饱和 NaHCO_3 溶液,室温下继续搅拌 30 min 。将所得混合物倒入 500 mL 冰水中, CH_2Cl_2 ($100\text{ mL}\times 3$)萃取,合并有机相,并用 100 mL 食盐水洗涤,无水 Na_2SO_4 干燥。旋蒸溶剂得到的残余物经硅胶柱色谱分离,醋酸乙酯-石油醚($1:10$)洗脱纯化得到白色固体 4 (27.51 g ,从化合物 1 开始,合并收率 83%)。mp $105\sim 106.5\text{ }^{\circ}\text{C}$; HR-ESI-MS m/z : 663.4041 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz , CDCl_3) δ : $7.13\sim 7.34$ (15H , m), $6.91\sim 6.93$ (2H , m), 6.81 (1H , d, $J=8.4\text{ Hz}$), $4.84\sim 4.93$ (m, 3H), 4.69 (1H , d, $J=10.8\text{ Hz}$), 4.33 (1H , d, $J=10.4\text{ Hz}$), 4.14 (1H , d, $J=9.2\text{ Hz}$), 3.82 (1H , d, $J=10.4\text{ Hz}$), 3.79 (3H , s), 3.74 (1H , t, $J=9.2\text{ Hz}$), $3.49\sim 3.53$ (2H , m), 3.30 (1H , t, $J=9.2\text{ Hz}$), 2.56 (1H , dd, $J=6.8$ 、 12.8 Hz), 2.38 (1H , dd, $J=3.4$ 、 13.0 Hz), $1.62\sim 1.64$ (4H , m), 1.32 (3H , d, $J=6.0\text{ Hz}$), $1.21\sim 1.28$ (3H , m), $1.07\sim 1.13$ (3H , m), $0.87\sim 0.97$ (2H , m), 0.83 (3H , t, $J=7.4\text{ Hz}$), $0.72\sim 0.77$ (2H , m); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz , CDCl_3) δ : 157.78 , 138.76 , 138.30 , 137.96 , 130.86 , 130.34 , 129.92 , 128.44 , 128.40 , 128.17 , 128.05 , 128.03 , 127.81 , 127.78 , 127.57 , 127.54 , 126.03 , 110.28 , 86.55 , 84.83 , 84.19 , 81.45 , 75.64 , 75.38 , 74.77 , 55.47 , 39.75 , 38.57 ,

37.89 , 37.44 , 33.31 , 33.20 , 20.00 , 18.37 , 14.38 。

2.1.3 4-(6-脱氧- β -*D*-吡喃葡萄糖基)-1-甲氧基-2-[(反式-4-正丙基环己基)甲基]苯 (5)的合成 在 250 mL 干燥圆底烧瓶中加入化合物 4 (26.52 g 、 40 mmol),用 THF 150 mL 溶解,再加入 10% Pd/C 1.00 g 。在室温常压下进行氢解实验,反应混合物在室温下搅拌过夜。TLC显示反应完成后,反应混合物抽滤除去催化剂,旋蒸溶剂后得到的具有一定泡沫特性的白色固体经过硅胶柱色谱分离,醋酸乙酯-石油醚($1:2$)洗脱纯化得到具有泡沫特性的固体 5 (13.97 g ,收率 89%)。mp $145.5\sim 146.5\text{ }^{\circ}\text{C}$; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz , CDCl_3) δ : 7.07 (1H , dd, $J=2.0$ 、 8.4 Hz), 6.97 (1H , d, $J=2.0\text{ Hz}$), 6.84 (1H , d, $J=8.4\text{ Hz}$), 4.91 (1H , d, $J=5.2\text{ Hz}$), 4.84 (1H , d, $J=4.4\text{ Hz}$), 4.62 (1H , d, $J=5.6\text{ Hz}$), 3.91 (1H , d, $J=8.8\text{ Hz}$), 3.73 (3H , s), $3.12\sim 3.28$ (3H , m), $2.89\sim 2.94$ (1H , m), 2.44 (1H , dd, $J=6.8$ 、 13.2 Hz), 2.35 (1H , dd, $J=7.0$ 、 13.0 Hz), $1.59\sim 1.67$ (4H , m), $1.37\sim 1.39$ (1H , m), $1.21\sim 1.30$ (3H , m), $1.07\sim 1.15$ (5H , m), $0.72\sim 0.97$ (7H , m)。以上数据与本实验室前期工作一致^[4]。

本合成工艺的总收率为 74% ,目标产物的质量分数为 99.64% 。

2.2 晶型研究

2.2.1 晶型的制备

(1) 在有机溶剂系统中制备 将 1.00 g 目标化合物于 $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 溶于 7 mL 酯类溶剂(良性溶剂),搅拌,再缓慢加入 7 mL 烷类或醚类溶剂(不良溶剂),然后让体系自然冷却析晶,并在室温下搅拌过夜。抽滤收集固体,室温下真空干燥得白色结晶性固体。

(2) 在含水溶剂系统中制备 将 1.00 g 目标化合物于 $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 溶于 7 mL 一种与水互溶的溶剂(良性溶剂),搅拌,再缓慢加入 7 mL 水(不良溶剂),然后让体系自然冷却析晶,并在室温下搅拌过夜。抽滤收集固体,室温下真空干燥,得白色结晶性固体。

目标化合物晶型研究中所用溶剂组合见表1。

2.2.2 晶型的表征

(1) 粉末X射线衍射分析(PXRD) $\text{Cu K}\alpha$ 辐射,石墨单色器,管压 40 kV ,管流 150 mA , 2θ 扫描范围 $3\sim 40^{\circ}$,扫描速率 $8^{\circ}/\text{min}$,步长 0.02° ,发散狭缝 1° ,接收狭缝 0.15 mm ,散射狭缝 1° 。有机混合溶剂和含水混合溶剂结晶方式制备的目标化合物晶型的PXRD图谱见图3,数据见表2。

表 1 目标化合物晶型的溶剂组合

Table 1 Solvent systems of polymorph of target compound

序号	良性溶剂	不良溶剂	序号	良性溶剂	不良溶剂
1	醋酸乙酯	乙醚	9	乙酸正丙酯	正己烷
2	醋酸乙酯	石油醚	10	乙酸异丁酯	异丙醚
3	醋酸乙酯	正己烷	11	乙酸正丁酯	异丙醚
4	醋酸乙酯	环己烷	12	乙酸正丙酯	异丙醚
5	醋酸乙酯	异丙醚	13	甲醇	水
6	醋酸乙酯	甲基叔丁基醚	14	乙醇	水
7	乙酸正丁酯	正己烷	15	乙酸	水
8	乙酸异丁酯	正己烷	16	丙酮	水

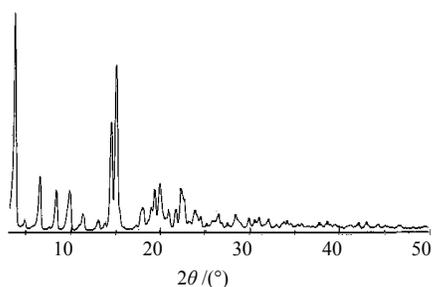


图 3 目标化合物的粉末 X 射线衍射分析图谱

Fig. 3 PXRD pattern of polymorph of target compound

表 2 目标化合物的粉末 X 射线衍射分析数据

Table 2 PXRD data of polymorph of target compound

2θ/(°)	d/nm	I/I ₀	2θ/(°)	d/nm	I/I ₀
3.80	2.323	100	18.06	0.491	11
6.54	1.350	26	18.96	0.468	12
8.34	1.059	20	19.38	0.458	20
9.88	0.895	19	19.94	0.445	23
11.34	0.780	9	20.92	0.424	10
14.52	0.610	51	21.72	0.409	10
15.08	0.587	77	22.28	.399	20

结果表明所有溶剂系统中获得晶型的粉末 X 射线衍射图谱完全一致,说明化合物 5 的该晶型在各种溶剂系统中广泛存在,可能是最稳定的一种晶型。

(2) 热重 - 差热分析 (TG-DTA) 参比物为 Al₂O₃, 升温范围为室温~300 °C, 升温速率为 10 °C/min。TG-DTA 图谱见图 4。

结果表明化合物 5 在 146 °C 熔点处有一尖锐熔融吸热峰,在熔融前后均无转晶或者热分解现象。进一步表明在室温~250 °C 无明显热分解现象。因

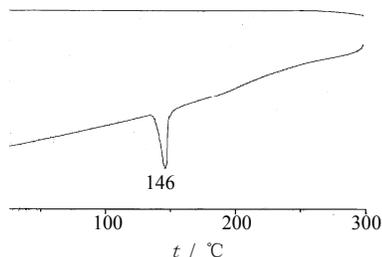


图 4 目标化合物的热重-差热分析图谱

Fig. 4 TG-DTA curve of polymorph of target compound

此,化合物 5 的该晶型比较稳定,适合作为原料药成药形式。

2.2.3 初步稳定性实验 同时也考察了目标化合物晶型的初步稳定性,以 PXRD 作为测试手段,进行了为期 15 d 的对光、热和湿的初步稳定性实验,观察放置过程中晶型是否发生改变,结果见表 3。

表 3 目标化合物晶型的稳定性实验结果

Table 3 Stability of polymorph of target compound

光强/lx	温度/°C	相对湿度/%	结果
4 500	25	25	稳定
0	45	10	稳定
1 000	20	90	稳定

3 讨论

3.1 合成工艺

原料 1 和 2 均根据本实验室以前的方法制得的。化合物 1 在低温 (-78 °C) 下用 *n*-BuLi 处理,发生 Li-Br 交换,得到相应的芳基锂,后者与加入的葡萄糖酸内酯 2 发生加成反应,得到加成产物 3。化合物 3 为 α/β 异构体的混合物,无需分离和纯化,

可直接用于下一步反应。化合物 **3** 在低温 ($-30\text{ }^{\circ}\text{C}$) $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ 催化下用 Et_3SiH 还原, 立体选择性地得到 β -异构体 **4**。化合物 **4** 在 Pd/C 催化下氢解脱去所有苄基保护基得到目标产物 **5**, 总收率为 74%。本路线具有操作简便、路线短、收率高的优点。

需要指出的是, 在最初的尝试中本课题组利用

了前期发现的一种脱苄基保护基的方法 ($\text{AlCl}_3/\text{苯甲醚}$)^[6], 但是实验证实该试剂在此处并不合适, 因为反应产生了大量副产物, 见图 6。根据初步的 $^1\text{H-NMR}$ 推断失败的原因可能为被 AlCl_3 切断所得到的苄基正离子作为 Friedel-Crafts 烷基化试剂进攻分子自身的富电子苯环从而产生了大量副产物。

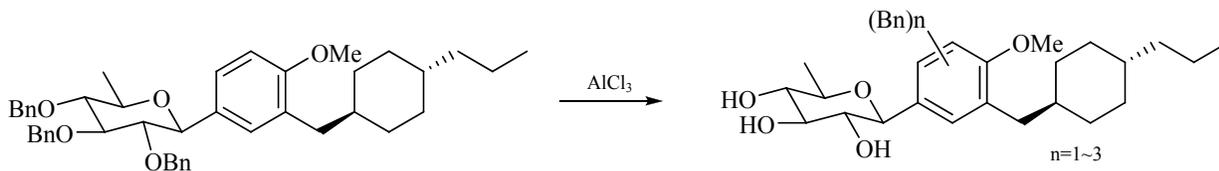


图 6 副产物的生成路线

Fig. 6 Synthetic route of by-products

3.2 晶型研究

目标化合物晶型研究中所用溶剂主要分为两个类别, 即酯-烷烃/醚体系和水体系。经过粉末 X 射线衍射分析发现在所有溶剂体系中制备的目标化合物均为同一晶型。热重-差热分析发现该晶型的熔点为 $146\text{ }^{\circ}\text{C}$, 与该化合物用熔点仪测得的熔点数值 $145.5\sim 146.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 一致。

晶型的初步稳定性实验表明目标化合物的晶型对光、热和高湿均是稳定的, 在实验前后并无变化。因此目标化合物的晶型具有良好的稳定性, 适合作为原料药成药形式。

本课题组也研究了目标化合物与 20 种天然的 L-氨基酸形成共结晶的可能性^[7], 但是均没有发现目标化合物能与它们能形成稳定的共结晶。

参考文献

[1] Washburn W N. Development of the renal glucose reabsorption inhibitors: a new mechanism for the pharmacotherapy of diabetes mellitus type 2 [J]. *J Med Chem*, 2009, 52(7): 1785-1794.

- [2] Hardman T C, Dubrey S W. Development and potential role of type-2 sodium-glucose transporter inhibitors for management of type 2 diabetes [J]. *Diabetes Ther*, 2011, 2(3): 133-145.
- [3] 王小彦, 王玉丽, 徐为人. 近几年治疗糖尿病热点靶点的研究进展 [J]. *药物评价研究*, 2012, 35(1): 42-45.
- [4] 邵华, 高云龙, 楼袁媛, 等. 含反式环己烷结构的 C-葡萄糖苷类 SGLT2 抑制剂的设计、合成与降血糖活性研究 [J]. *有机化学*, 2011, 31(6): 836-842.
- [5] 赵文静, 于秀玲, 邵华, 等. 含反式环己烷结构的 C-葡萄糖苷类 SGLT2 抑制剂的合成及其降血糖活性 II [J]. *合成化学*, 2012, 20(5): 527-536.
- [6] Zhang S, Wang Y L, Wei Q C, *et al.* Design, synthesis and biological activity of cyclohexane-bearing C-glucoside derivatives as SGLT2 inhibitors [J]. *Chin Chem Lett*, 2013, 24(5), 429-432.
- [7] Shi Y H, Xu H Q, Liu B N, *et al.* A facile synthesis of 6-deoxydapagliflozin [J]. *Monatsh Chem*, 2013, 144(12): 1903-1910.
- [8] 刘冰妮, 徐华强, 张铃钰, 等. Tianagliflozin 与 L-脯氨酸的共结晶研究 [J]. *现代药物与临床*, 2013, 28(6): 838-841.