

卡巴他赛的单晶培养和结构确证

谢寅省, 高红云, 刘 实

北京美迪康信医药科技有限公司, 北京 100012

摘 要: **目的** 培养卡巴他赛的单晶, 进行结构确证。**方法** 选择适宜的单晶培养用溶剂体系和培养条件。对卡巴他赛单晶进行 X-射线单晶衍射实验, 并进行结构鉴定。**结果** 醋酸乙酯-正己烷体系 7 d 挥发得到卡巴他赛无色透明柱状结晶。根据原子坐标、等价温度因子、键长、扭转角数据确定卡巴他赛不对称单位化学计量式为 $C_{49}H_{65}NO_{16}$, 相对分子质量为 924.02, 晶体密度为 1.273 mg/m^3 。得到卡巴他赛立体结构, 证明该晶胞属于单斜晶系, 空间群为 $P2_1$ 。**结论** 采用 X-射线单晶衍射检测卡巴他赛单晶确证了其空间结构, 提示合成的卡巴他赛结构正确。

关键词: 卡巴他赛; 单晶培养; X-射线单晶衍射; 结构确证

中图分类号: R914 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2016)12-1879-04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2016.12.002

Single crystal culture and structure confirmation of cabazitaxel

XIE Yin-sheng, GAO Hong-yun, LIU Shi

Beijing Medconxin Pharmaceutical Technology Limited Company, Beijing 100012, China

Abstract: **Objective** To cultivate single crystal of cabazitaxel, and to establish the structure of cabazitaxel. **Methods** To selected the best condition by inspecting the different solvent. Suitable solvent and culture conditions were selected to cultivate single crystal. Single crystal of cabazitaxel was studied by X-ray diffraction, and the structure of cabazitaxel was identified. **Results** Cabazitaxel colorless transparent columnar crystal was obtained in ethyl acetate - hexane solvent system after volatilization for 7 d. According to data of atomic coordinates, equivalent temperature factor, bond distance, and torsion angles, asymmetric unit stoichiometric of cabazitaxel was established as $C_{49}H_{65}NO_{16}$, relative molecular mass were 924.02, and crystal density were 1.273 mg/m^3 . Stereostructure of cabazitaxel was obtained, and the crystal was proved to monoclinic system, and space group was $P2_1$. **Conclusion** The single crystal size of cabazitaxel is obtained and proved right for X-ray analysis which suggests the structure of cabazitaxel is correct.

Key words: cabazitaxel; single crystal culture; X-ray single crystal diffraction; structure confirmation

卡巴他赛的化学名(2 α ,5 β ,7 β ,10 β ,13 α)-4-乙酰氧基-13-({(2R,3S)-3-[(叔丁氧羰基)氨基]-2-羟基-3-苯基丙酰基}氧基)-1-羟基-7,10-二甲氧基-9-氧代-5,20-环氧紫杉烷-11-烯-2-基苯甲酸酯, 化学结构见图 1, 是法国赛诺菲-安万特公司开发的新一代微管抑制剂抗肿瘤药, 美国 FDA 在 2010 年 6 月 17 日批准上市。该药与泼尼松联用治疗既往用含多烯紫杉醇治疗方案的转移性激素难治前列腺癌患者。大规模 III 期癌症试验显示, 接受多烯紫杉醇为基础的化疗、且疾病进展的去势治疗失败转移性前列腺癌男性患者, 用卡巴他赛治疗可显著延长总生存期, 使死亡

风险降低了 30%。其作用机制同紫杉醇、多西他赛一样, 是加强微管蛋白聚合作用和抑制微管解聚作用, 导致形成稳定的非功能性微管束, 因而破坏肿瘤细胞的有丝分裂。与其他紫杉醇类药物相比, 该药发生药物耐受性的几率低, 可用于治疗多药耐药性肿瘤, 此外该药可透过血脑屏障^[1]。卡巴他赛是一种类白色结晶性粉末, 存在多晶型现象, 文献也报道了卡巴他赛的固态形式^[2-5]。本公司合成了该原料药, 完成了工艺稳定性工作, 已经达到中试规模, 并且完成了卡巴他赛的质量研究工作。虽然通过红外吸收光谱、紫外吸收光谱、核磁共振、元素分析、

收稿日期: 2016-10-08

作者简介: 谢寅省 (1978—), 男, 山东菏泽人, 工程师, 毕业于沈阳药科大学制药工程学院, 主要从事药物合成工作。

Tel: (010)84917791 E-mail: wellyyy@qq.com

质谱、X-射线粉末衍射和热分析等手段对其结构进行了确证,但是无法确证其立体构型。由于目前无法通过商业化获得卡巴他赛对照品,故本实验培养了卡巴他赛的单晶,并进行了X-射线单晶衍射测试,确证了其立体构型。

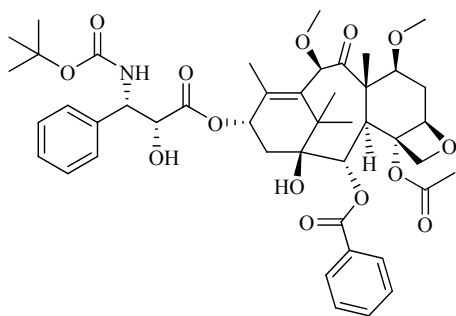


图1 卡巴他赛的化学结构

Fig. 1 Chemical structure of cabazitaxel

1 仪器与试剂

Rigaku MM-007 Saturn 70 单晶衍射仪; Rigaku Saturn 70 CCD 面探测器。卡巴他赛由本公司自制,质量分数为 99.73%, 产品批号 140312; 所用试剂均为分析纯, 来源为北京化工厂。

2 方法与结果

2.1 单晶的培养

根据卡巴他赛的理化性质, 分别选取丙酮-正己烷、醋酸乙酯-正己烷、乙醇-正己烷、二氯甲烷-正己烷作为单晶培养用溶剂。称取卡巴他赛 20 mg, 用丙酮 6 mL 溶解, 再加入 2 mL 正己烷, 制成稀溶液。其他溶剂体系均按上述方法配制。将上述各溶液在室温条件下缓慢挥发, 比较不同溶剂体系中单晶培养的结果。二氯甲烷-正己烷体系 4 d 即挥发完全, 所得结晶为絮状物; 丙酮-正己烷体系 5 d 挥发完毕, 所得结晶为细针状物; 乙醇-正己烷体系 6 d 挥发完毕, 所得结晶为细针状物; 醋酸乙酯-正己烷体系 7 d 挥发完毕, 所得结晶为无色透明柱状结晶, 可用于X-射线单晶衍射检测。故最佳的单晶培养溶剂体系是醋酸乙酯-正己烷。

2.2 衍射实验

衍射所用的晶体呈无色透明柱状, 晶体大小为 0.26 mm×0.20 mm×0.18 mm, 属于单斜晶系, 空间群为 $P2_1$, 晶胞参数: $a=1.1917$ nm, $b=1.7336$ nm, $c=1.2709$ nm, $\alpha=90^\circ$, $\beta=113.353^\circ$, $\gamma=90^\circ$, 晶胞体积 $V=2.4107$ nm³, 晶胞内分子数 $Z=2$, 单位晶格的独立区域中有 1 个分子。用 Rigaku Saturn

70 CCD 面探测器收集衍射强度数据, Mo $K\alpha$ 辐射, 人工多层膜聚焦镜, 准直管 $\varphi=0.30$ mm, 晶体与 CCD 距离为 45 mm, 管压 50 kV, 管流 16 mA, ω 扫描, 最大 2θ 角为 60° , 扫描范围为 $0\sim180^\circ$, 回摆角度为 1° , 间隔为 1° , 扫描速度为 3 s/ $^\circ$, 每个画面扫描 1 次, 共计摄取 540 幅图像, 总衍射点为 32 142 个, 独立衍射点为 12 358 个 ($R_{int}=0.0958$), 可观察点 ($F2\geq 2\sigma F2$) 为 7 128 个, 数据完整度为 97.2%。

2.3 结构鉴定

在微机上用直接法 (shelxs-97) 解析晶体结构, 从 E 图上获得全部 66 个非氢原子位置, 使用最小二乘法修正结构参数和判别原子种类, 使用几何计算法和差值 Fourier 法获得全部氢原子位置, 结构可靠因子 $S=0.982$, 在标准范围 0.95~1.05。最终确定不对称单位化学计量式为 $C_{49}H_{65}NO_{16}$, 计算单个分子的相对分子质量为 924.02, 计算晶体密度为 1.273 mg/m³。同时证明该晶胞属于单斜晶系, 空间群为 $P2_1$ 。卡巴他赛的立体结构见图 2。原子坐标和等价温度因子数据见表 1, 部分键长数据见表 2, 部分扭转角数据见表 3。

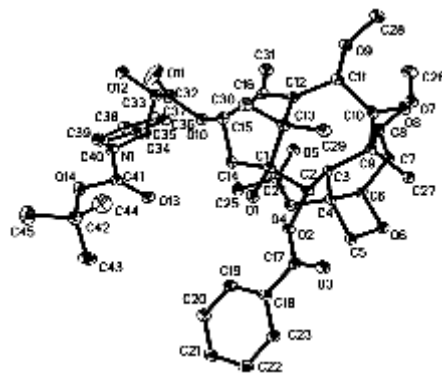


图2 卡巴他赛的立体结构

Fig. 2 Stereostructure of cabazitaxel

3 讨论

采用醋酸乙酯-正己烷溶剂体系的缓慢挥发溶剂法, 在室温条件下培养得到了卡巴他赛的醋酸乙酯合物单晶。实验中应选用挥发性适中的溶剂或混合溶剂, 避免溶剂过快挥发析出结晶。

结构鉴定表明, 该晶胞属于单斜晶系, 空间群为 $P2_1$, 晶胞参数: $a=1.1917$ nm, $b=1.7336$ nm, $c=1.2709$ nm, $\alpha=90^\circ$, $\beta=113.353^\circ$, $\gamma=90^\circ$, 晶胞体积 $V=2.4107$ nm³, 晶胞内分子数 $Z=2$, 单位晶格的独立区域中有 1 个分子。

表1 原子坐标和等价温度因子

Table 1 Atomic coordinates and equivalent temperature factor

原子	x/nm	y/nm	z/nm	U (eq)	原子	x/nm	y/nm	z/nm	U (eq)
O1	5 019(2)	6 302(1)	5 799(2)	23(1)	C17	2 951(3)	6 599(2)	3 679(2)	22(1)
O2	3 496(2)	7 251(1)	4 257(2)	20(1)	C18	1 745(2)	6 484(2)	3 740(2)	23(1)
O3	3 398(2)	6 194(1)	3 175(2)	29(1)	C19	1 417(3)	6 866(2)	4 544(3)	27(1)
O4	3 056(2)	8 775(1)	4 260(2)	22(1)	C20	293(3)	6 712(2)	4 599(3)	29(1)
O5	4 253(2)	9 812(1)	5 023(2)	26(1)	C21	-500(3)	6 180(2)	3 843(3)	32(1)
O6	2 967(2)	8 873(1)	1 714(2)	26(1)	C22	-175(3)	5 804(2)	3 043(3)	31(1)
O7	7 065(2)	9 432(1)	3 384(2)	25(1)	C23	940(3)	5 948(2)	2 985(3)	27(1)
O8	7 804(2)	7 775(1)	3 892(2)	26(1)	C24	3 407(2)	9 396(2)	4 963(2)	23(1)
O9	9 122(2)	8 045(1)	6 130(2)	25(1)	C25	2 620(3)	9 487(2)	5 621(3)	30(1)
O10	5 378(2)	8 635(1)	7 879(2)	23(1)	C26	7 581(3)	10 179(2)	3 800(3)	36(1)
O11	6 636(3)	8 378(1)	9 726(2)	55(1)	C27	5 515(3)	8 011(2)	2 470(2)	22(1)
O12	5 732(2)	9 557(1)	10 529(2)	29(1)	C28	9 930(3)	8 551(2)	5 873(3)	31(1)
O13	2 758(2)	8 031(1)	7 770(2)	29(1)	C29	7 298(3)	6 614(2)	5 411(3)	25(1)
O14	2 838(2)	7 598(1)	9 511(2)	30(1)	C30	7 490(3)	6 677(2)	7 388(3)	27(1)
O15	8 469(3)	9 610(2)	1 191(3)	64(1)	C31	7 108(3)	9 252(2)	7 233(3)	28(1)
O16	9 783(2)	8 774(1)	971(2)	41(1)	C32	5 819(3)	8 751(2)	9 017(2)	29(1)
N1	3 531(2)	8 755(1)	9 400(2)	29(1)	C33	5 271(3)	9 466(2)	9 325(2)	26(1)
C1	5 441(2)	7 084(2)	5 779(2)	20(1)	C34	3 875(3)	9 415(2)	8 886(2)	26(1)
C2	4 786(2)	7 366(2)	4 512(2)	21(1)	C35	3 324(3)	10 169(2)	9 098(2)	24(1)
C3	4 960(2)	8 232(2)	4 240(2)	18(1)	C36	3 505(3)	10 855(2)	8 595(3)	30(1)
C4	3 713(2)	8 619(2)	3 524(2)	20(1)	C37	3 017(3)	11 546(2)	8 783(3)	35(1)
C5	2 826(3)	8 240(2)	2 425(2)	24(1)	C38	2 367(3)	11 573(2)	9 462(3)	35(1)
C6	3 682(2)	9 328(2)	2 749(2)	22(1)	C39	2 170(3)	10 891(2)	9 947(3)	32(1)
C7	4 870(2)	9 649(2)	2 737(2)	22(1)	C40	2 641(3)	10 198(2)	9 756(3)	30(1)
C8	6 006(2)	9 273(2)	3 624(2)	21(1)	C41	3 022(3)	8 115(2)	8 793(2)	23(1)
C9	5 897(2)	8 374(2)	3 674(2)	20(1)	C42	2 520(3)	6 781(2)	9 134(3)	33(1)
C10	7 238(2)	8 099(2)	4 376(2)	22(1)	C43	1 254(3)	6 748(2)	8 180(3)	47(1)
C11	7 888(2)	8 294(2)	5 664(2)	21(1)	C44	3 499(4)	6 451(2)	8 784(3)	48(1)
C12	7 220(2)	7 952(2)	6 350(2)	21(1)	C45	2 553(4)	6 412(2)	10 224(3)	54(1)
C13	6 868(3)	7 090(2)	6 221(2)	22(1)	C46	9 078(3)	9 029(2)	1 488(3)	41(1)
C14	4 994(3)	7 541(2)	6 596(2)	22(1)	C47	9 101(4)	8 502(2)	2 423(4)	56(1)
C15	5 986(2)	8 032(2)	7 486(2)	22(1)	C48	9 894(3)	9 244(2)	74(3)	47(1)
C16	6 832(2)	8 401(2)	7 002(2)	21(1)	C49	10 170(4)	8 721(3)	-730(3)	57(1)

表2 部分键长数据

Table 2 Data of partial bond distance

原子键	键长/nm	原子键	键长/nm	原子键	键长/nm	原子键	键长/nm
O1-C1	1.449(3)	O2-C17	1.363(3)	C7-C8	1.523(4)	C21-C22	1.386(4)
O2-C17	1.363(3)	O13-C41	1.218(3)	C8-C9	1.566(4)	C22-C23	1.383(4)
O2-C2	1.454(3)	O14-C41	1.358(3)	C9-C27	1.547(4)	C24-C25	1.493(4)
O3-C17	1.209(3)	O14-C42	1.493(3)	C9-C10	1.565(4)	C32-C33	1.524(4)
O4-C24	1.355(3)	O15-C46	1.210(4)	C10-C11	1.547(4)	C33-C34	1.533(4)
O4-C4	1.463(3)	O16-C46	1.332(4)	C11-C12	1.515(4)	C34-C35	1.534(4)
O5-C24	1.218(3)	O16-C48	1.449(4)	C12-C16	1.345(4)	C35-C40	1.381(4)
O6-C5	1.472(3)	N1-C41	1.352(4)	C12-C13	1.543(4)	C35-C36	1.406(4)
O6-C6	1.481(3)	N1-C34	1.454(4)	C13-C30	1.546(4)	C36-C37	1.393(4)
O7-C8	1.438(3)	C1-C14	1.559(4)	C13-C29	1.555(4)	C37-C38	1.369(4)
O7-C26	1.441(3)	C1-C2	1.563(4)	C14-C15	1.531(4)	C38-C39	1.395(4)
O8-C10	1.215(3)	C1-C13	1.565(4)	C15-C16	1.515(4)	C39-C40	1.388(4)
O9-C11	1.418(3)	C2-C3	1.572(4)	C16-C31	1.514(4)	C42-C45	1.513(5)
O9-C28	1.433(3)	C3-C4	1.554(4)	C17-C18	1.482(4)	C42-C44	1.516(5)
O10-C32	1.343(3)	C3-C9	1.570(4)	C18-C19	1.397(4)	C42-C43	1.516(5)
O10-C15	1.468(3)	C4-C5	1.525(4)	C18-C23	1.404(4)	C46-C47	1.491(5)
O11-C32	1.217(4)	C4-C6	1.567(4)	C19-C20	1.394(4)	C48-C49	1.497(5)
O12-C33	1.414(3)	C6-C7	1.527(4)	C20-C21	1.395(4)		

表3 部分扭转角数据

Table 3 Data of partial torsion angles

原子角	扭转角/(°)	原子角	扭转角/(°)	原子角	扭转角/(°)
C17-O2-C2	118.0(2)	C10-C9-C8	104.1(2)	C23-C22-C21	120.5(3)
C24-O4-C4	117.7(2)	C27-C9-C3	113.9(2)	C22-C23-C18	119.6(3)
C5-O6-C6	90.93(18)	C10-C9-C3	116.2(2)	O5-C24-O4	122.9(2)
C8-O7-C26	112.2(2)	C8-C9-C3	105.1(2)	O5-C24-C25	126.3(3)
C11-O9-C28	113.4(2)	O8-C10-C11	119.5(2)	O4-C24-C25	110.8(2)
C32-O10-C15	115.9(2)	O8-C10-C9	119.9(2)	O11-C32-O10	125.1(3)
C41-O14-C42	119.9(2)	C11-C10-C9	120.4(2)	O11-C32-C33	122.7(3)
C46-O16-C48	118.2(3)	O9-C11-C12	109.5(2)	O10-C32-C33	112.0(2)
C41-N1-C34	122.2(2)	O9-C11-C10	112.1(2)	O12-C33-C32	110.3(2)
O1-C1-C14	104.5(2)	C12-C11-C10	111.5(2)	O12-C33-C34	107.5(2)
O1-C1-C2	106.0(2)	C16-C12-C11	120.9(2)	C32-C33-C34	111.9(2)
C14-C1-C2	111.3(2)	C16-C12-C13	118.7(2)	N1-C34-C33	109.9(2)
O1-C1-C13	109.6(2)	C11-C12-C13	120.1(2)	N1-C34-C35	112.1(2)
C14-C1-C13	111.5(2)	C12-C13-C30	109.9(2)	C33-C34-C35	111.4(2)
C2-C1-C13	113.3(2)	C12-C13-C29	115.9(2)	C40-C35-C36	118.5(3)
O2-C2-C1	103.9(2)	C30-C13-C29	103.3(2)	C40-C35-C34	122.2(3)
O2-C2-C3	107.6(2)	C12-C13-C1	104.8(2)	C36-C35-C34	119.2(3)
C1-C2-C3	118.0(2)	C30-C13-C1	112.4(2)	C37-C36-C35	120.0(3)
C4-C3-C9	110.6(2)	C29-C13-C1	110.8(2)	C38-C37-C36	121.1(3)
C4-C3-C2	111.3(2)	C15-C14-C1	114.0(2)	C37-C38-C39	119.1(3)
C9-C3-C2	115.5(2)	O10-C15-C16	109.7(2)	C40-C39-C38	120.3(3)
O4-C4-C5	108.2(2)	O10-C15-C14	107.8(2)	C35-C40-C39	120.9(3)
O4-C4-C3	109.6(2)	C16-C15-C14	112.2(2)	O13-C41-N1	125.0(3)
C5-C4-C3	120.3(2)	C12-C16-C31	125.6(3)	O13-C41-O14	126.6(3)
O4-C4-C6	111.8(2)	C12-C16-C15	116.9(2)	N1-C41-O14	108.3(2)
C5-C4-C6	85.8(2)	C31-C16-C15	117.4(2)	O14-C42-C45	101.3(2)
C3-C4-C6	119.1(2)	O3-C17-O2	123.4(3)	O14-C42-C44	109.0(3)
O6-C5-C4	92.1(2)	O3-C17-C18	126.1(3)	C45-C42-C44	111.4(3)
O6-C6-C7	113.2(2)	O2-C17-C18	110.4(2)	O14-C42-C43	109.8(3)
O6-C6-C4	90.10(19)	C19-C18-C23	119.9(3)	C45-C42-C43	111.9(3)
C7-C6-C4	120.1(2)	C19-C18-C17	122.1(3)	C44-C42-C43	112.9(3)
C8-C7-C6	113.1(2)	C23-C18-C17	117.9(2)	O15-C46-O16	122.7(3)
O7-C8-C7	111.0(2)	C20-C19-C18	119.9(3)	O15-C46-C47	125.3(3)
O7-C8-C9	107.1(2)	C19-C20-C21	119.6(3)	O16-C46-C47	111.9(3)
C7-C8-C9	113.1(2)	C22-C21-C20	120.4(3)	O16-C48-C49	108.0(3)

结果表明,卡巴他赛为三环二萜类化合物,该化合物分子骨架由从红豆杉中提取的紫杉醇前体10-脱乙酰基巴卡丁III经双甲基化后与羧酸缩合而成,其中卡巴他赛母体上的立体构型与已知的紫杉醇母体上的立体构型一致,卡巴他赛侧链上的立体构型为 $\alpha R, \beta S$ 。卡巴他赛晶体中包含一分子醋酸乙酯。晶态下分子以弱氢键作用力和范德华力维系其在空间的稳定排列。

参考文献

[1] Jordan M A, Wilson L. Microtubules as a target for

anticancer drugs [J]. *Nat Rev Cancer*, 2004, 4(4): 253-265.

- [2] E 迪迪埃, M-A 佩林. 二甲氧基多西他赛丙酮化合物及其制备方法 [P]. 中国: 200480026128.X, 2004-09-16.
- [3] 吕 扬, 杜冠华, 徐 薇, 等. 一种卡巴他赛吡啶化合物结晶形式 [P]. 中国: 201310313587.7, 2013-07-24.
- [4] O 斯莫, P 维拉斯皮尔, T 霍拉斯, 等. 卡巴他赛的固态形式及其制备方法 [P]. 中国: 201280028715.7, 2012-04-11.
- [5] 赵 俊, 王孝雯, 刘文杰, 等. 卡巴他赛多晶型形式及其制备方法 [P]. 中国: 201210535297.2, 2012-12-12.