

· 实验研究 ·

molidustat 的合成工艺研究

魏会强¹, 刘洋², 于江³, 尚海花¹, 樊赛军¹, 李祎亮^{1*}

1. 中国医学科学院 北京协和医学院 放射医学研究所 天津市放射医学与分子核医学重点实验室, 天津 300192

2. 武警总医院 药剂科, 北京 100039

3. 天津医科大学, 天津 300070

摘要: 目的 对 molidustat 的合成工艺进行研究。方法 以 4,6-二氯嘧啶为原料, 先后引入吗啉、胍取代基, 制备获得中间体 4-(6-胍基嘧啶-4-基)吗啉 (2); 1H-1,2,3-三氮唑和溴乙酸乙酯为原料, 经烃基化、缩合反应, 制备获得中间体(Z/E)-3-(二甲基氨基)-2-(1H-1,2,3-三氮唑-1-基)丙烯酸乙酯 (4)。中间体 2 和 4 在三氟乙酸的催化下, 经环合反应制备得到 molidustat (5), 然后经成盐反应得到其钠盐 (6)。结果 合成了目标化合物 molidustat 及其钠盐, 并利用 ¹H-NMR、MS 确证了结构。此路线的总收率为 31.5%。结论 该合成工艺步骤短, 操作简单, 可适应未来工业化放大生产, 具有良好的应用前景。

关键词: molidustat; 肾性贫血; 有机合成

中图分类号: R914

文献标志码: A

文章编号: 1674-5515(2016)04-0411-04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2016.04.001

Synthetic technology of molidustat

WEI Hui-qiang¹, LIU Yang², YU Jiang³, SHANG Hai-hua¹, FAN Sai-jun¹, LI Yi-liang¹

1. Tianjin Key Laboratory of Radiation Medicine and Molecular Nuclear Medicine, Institute of Radiation Medicine, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Tianjin 300192, China

2. Department of Pharmacy, General Hospital of Armed Police Forces, Beijing 100039, China

3. Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China

Abstract: Objective To study the synthetic technology of molidustat. **Methods** 4,6-Dichloro pyrimidine was used as starting material to synthesize intermediate 4-(6-hydrazine pyrimidine-4-yl)morpholine (2) by introducing morpholine and hydrazine group successively. 1H-1,2,3-Triazole and ethyl bromoacetate were used as starting materials to synthesize intermediate (Z/E)-3-(dimethyl amine)-2-(1H-1,2,3-triazole-1-yl)ethyl acrylate (4) by hydrocarbylation and condensation reactions. Molidustat (5) was synthesized by cyclization reaction with intermediates 2 and 4, and sodium of molidustat (6) was synthesized by saltforming reaction. **Results** The target compound and its sodium were synthesized and characterized by ¹H-NMR and MS. The total yield of this synthetic route was 31.5%. **Conclusion** The synthetic process with simple operation and simplified method is applicable to pilot manufacture, and has a good application prospect.

Key words: molidustat; renal anemia; organic synthesis

肾性贫血是指各种因素造成肾脏促红细胞生成素产生不足或尿毒症血浆中一些毒素物质干扰红细胞的生成和代谢而导致的贫血, 是慢性肾脏病的常见并发症^[1-2], 糖尿病、高血压及其他许多疾病如不

及时治疗均可导致慢性肾脏病^[3]。近年来, 我国慢性肾脏病的患病率逐年增高, 100~200 万是终末期肾病患者, 需要接受透析或肾移植治疗, 其中 98.2% 的透析患者合并贫血, 52.1% 的非透析患者合并贫

收稿日期: 2015-11-26

基金项目: 中国医学科学院放射医学研究所发展基金资助项目 (1537); 协和青年基金资助项目 (3332015102)

作者简介: 魏会强 (1988—), 男, 河北石家庄人, 硕士, 从事抗肿瘤药物的设计、合成及工艺研究。E-mail: 13821586722@163.com

*通信作者 李祎亮 Tel: (022)85682077 E-mail: liyiliang75@163.com

血^[4], 已严重影响公众的健康。

临床上肾性贫血常用药物为注射用重组人促红细胞生成素^[5], 该类物质静脉或皮下给药, 运输和保存均为冷藏, 且需使用左卡尼汀等药物辅助治疗, 疗效和安全性有很大的局限性^[6]。molidustat 是德国拜耳公司研发的新型口服肾性贫血治疗药, 本品通过选择性抑制乏氧诱导因子脯氨酰羟化酶活性, 增加内源性促红细胞生成素的生成^[7-8]。目前已完成 II 期临床实验, 有望进入 III 期临床。2014 年, 该药品钠盐包衣片制剂已在中国注册。在相关文献报道中, molidustat 的合成均以 4,6-二氯嘧啶和 1H-1,2,3-三氮唑为原料合成, 但产率较低, 探索和开发适合

本品工业化制备的工艺技术, 将有助于本品在国内早日开展研究, 造福广大患者, 具有重要的经济价值和社会价值。

molidustat 的合成分为两部分: 以 4,6-二氯嘧啶为原料, 先后引入吗啉、肼取代基, 制备获得中间体 4-(6-肼基嘧啶-4-基)吗啉 (2); 1H-1,2,3-三氮唑和溴乙酸乙酯为原料, 经烷基化、缩合反应, 制备获得中间体(Z/E)-3-(二甲基氨基)-2-(1H-1,2,3-三氮唑-1-基)丙烯酸乙酯 (4)。中间体 2 和 4 在三氟乙酸的催化下, 经环合、成盐反应制备获得 molidustat 的钠盐 (6), 总收率为 31.5% (以 4,6-二氯嘧啶计)。合成路线见图 1。

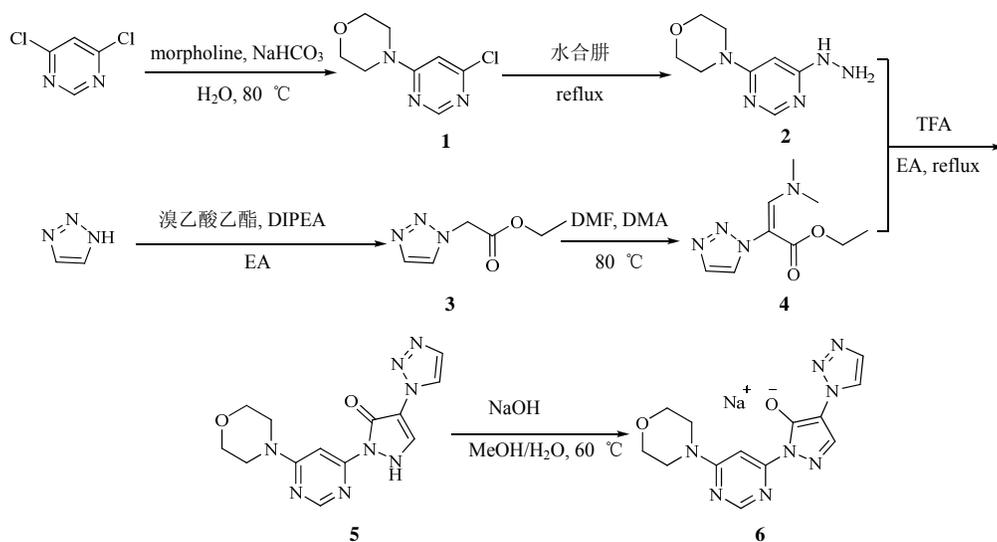


图 1 molidustat 的合成路线

Fig. 1 Synthetic route of molidustat

1 仪器与试剂

Bruker AV 400 MHz 型核磁共振仪(瑞士 Bruker 公司); Agilent 1200 HPLC-6310 型液相色谱质谱联用仪(美国安捷伦公司); X-5 显微熔点测定仪(北京泰克仪器有限公司)。

4,6-二氯嘧啶(质量分数 $\geq 99.5\%$, 浙江省衢州市瑞尔丰化工有限公司); 1H-1,2,3-三氮唑(质量分数 $\geq 99.0\%$, 浙江省普康化工有限公司); GF254 型薄层层析硅胶板(青岛海洋化工厂); 其他试剂均为市售分析纯, 未经进一步纯化处理。

2 方法与结果

2.1 4-(6-氯嘧啶-4-基)吗啉 (1) 的合成

将 4,6-二氯嘧啶 (50 g, 0.34 mol) 和碳酸氢钠 (33.84 g, 0.40 mol) 置于 1 L 三口瓶中, 加入 400 mL 乙醇中, 温度保持在 25 °C, 搅拌下滴加 35.08 g 吗

啉, 滴毕, 反应约 0.5 h 后停止加热, 冷却至室温, 滤过, 滤饼水洗两遍, 50 °C 真空干燥 2 h, 得白色固体粉末 62.20 g, 产率 91.6%。mp 150.3~151.1 °C。ESI-MS m/z 200.9 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 3.62 (m, 8H, morpholine-H), 6.95 (s, 1H, pyrimidine-H), 8.34 (s, 1H, pyrimidine-H)。

2.2 4-(6-肼基嘧啶-4-基)吗啉 (2) 的合成

将化合物 1 (60 g, 0.30 mol) 和 200 mL 水合肼溶液 (80%) 加入于 500 mL 圆底烧瓶中, 磁力搅拌, 升温至回流。反应液澄清后继续反应 0.5 h, 冷却至室温, 析出大量针状晶体, 滤过, 滤饼用水、石油醚分别洗一遍, 50 °C 真空干燥, 得无色针状晶体 51.41 g, 产率 87.8%。mp 164.3~165.7 °C。ESI-MS m/z 196.6 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 3.42 (t, $J=5.0$ Hz, 4H, morpholine-H),

3.63 (t, $J=5.0$ Hz, 4H, morpholine-H), 4.15 (s, 2H, NH₂), 5.91 (s, 1H, NH), 7.72 (s, 1H, pyrimidine-H), 7.94 (s, 1H, pyrimidine-H)。

2.3 1*H*-1,2,3-三氮唑-1-基乙酸乙酯 (3) 的合成

将 1*H*-1,2,3-三氮唑 (50 g, 0.724 mol) 和 *N,N*-二异丙基乙胺 (93.57 g, 0.724 mol) 置于 500 mL 圆底烧瓶中, 加入 150 mL 醋酸乙酯, 在冰浴下搅拌 0.5 h; 将溴乙酸乙酯 (114.90 g, 0.688 mol) 溶于 100 mL 醋酸乙酯中, 缓慢滴加入体系。滴加完毕后撤除冰浴, 室温搅拌过夜。滤过, 滤饼用醋酸乙酯洗两遍, 滤液用蒸馏水 (250 mL×2) 和饱和氯化钠水溶液 (250 mL×1) 洗涤, 有机层用无水硫酸钠干燥, 滤过, 减压蒸干溶剂得淡黄色液体 71.73 g, 产率 67.2%。ESI-MS m/z 156.4 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 1.16 (t, $J=7.5$ Hz, 3H, CH₂CH₃), 4.08 (q, $J=7.6$ Hz, 2H, CH₂CH₃), 5.47 (s, 2H, CH₂CO), 7.77 (s, 1H, triazole-H), 8.13 (s, 1H, triazole-H)。

2.4 (*Z/E*)-3-(二甲基氨基)-2-(1*H*-1,2,3-三氮唑-1-基)丙烯酸乙酯 (4) 的合成

将化合物 3 (16.5 g, 106.3 mmol) 置于 100 mL 圆底烧瓶中, 加入 15 mL *N,N*-二甲基甲酰胺二甲缩醛, 60 °C 下反应 1 h, 减压蒸干溶剂, 残余物用 50 mL 水和 50 mL CH₂Cl₂ 萃取, 水层再用 CH₂Cl₂ 洗两遍, 合并有机层, 无水硫酸钠干燥。将有机层浓缩至原体积的 1/4 (约 20 mL), 搅拌下将 80 mL 甲基叔丁基醚滴加入浓缩液中, 搅拌 1 h, 滤过, 干燥后得土黄色固体, 即化合物 4 的粗品 14.56 g。将粗品用丙酮重结晶, 得淡黄色晶体 9.90 g, 产率 44.3%。mp 132.5~133.4 °C; ESI-MS m/z 197.5 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 1.12 (t, $J=7.5$ Hz, 3H, CH₂CH₃), 2.07 (brs, 3H, NCH₃), 3.09 (brs, 3H, NCH₃), 4.03 (q, $J=7.5$ Hz, 2H, CH₂CH₃), 7.66 (s, 1H, C=CH), 7.78 (s, 1H, triazole-H), 8.10 (s, 1H, triazole-H)。

2.5 2-[6-(吗啉-4-基)嘧啶-4-基]-4-(1*H*-1,2,3-三唑-1-基)-1,2-二氢-3*H*-吡唑-3-酮 (5, molidustat) 的合成

将化合物 2 (3 g, 15.37 mmol) 和化合物 4 (3.02 g, 15.37 mmol) 置于 50 mL 圆底烧瓶中, 加入 25 mL 醋酸乙酯和三氟乙酸 (0.88 g, 7.69 mmol), 加热至回流, CH₂Cl₂-MeOH (10:1) 为展开剂, TLC 监测反应。待原料消耗完全后停止加热, 冷却至室温。滤过, 滤液浓缩, 加入 50 mL 10% 乙酸水溶液, 50 °C

下继续搅拌 1 h, 冷却至室温, 滤过, 干燥得到淡黄色粉末 2.25 g, 产率 46.6%。mp 235.3~236.9 °C; ESI-MS m/z 313.6 [M-H]⁻; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 3.70 (s, 9H, morpholine-H、NH), 7.40 (s, 1H), 7.86 (s, 1H), 8.27 (s, 1H), 8.37 (s, 1H), 8.53 (s, 1H)。

2.6 2-[6-(吗啉-4-基)嘧啶-4-基]-4-(1*H*-1,2,3-三唑-1-基)-1*H*-吡唑-5-醇钠 (6) 的合成

将 molidustat (2.20 g, 7.00 mmol) 加入 50 mL 圆底烧瓶中, 依次加入 9 mL 甲醇、1 mL 蒸馏水和 0.72 g 三乙胺, 60 °C 加热, 体系呈淡黄色澄清。缓慢滴加 3% 氢氧化钠-甲醇水溶液 (90:10), 滴毕搅拌反应 1 h。将反应液冷却至室温, 滤过, 滤饼依次用甲醇和水洗 1 遍, 干燥后得到白色粉末 1.98 g, 产率 84.1%。ESI-MS m/z 313.6 M⁻; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 3.54 (m, 4H, morpholine-H), 3.67 (m, 4H, morpholine-H), 7.71 (s, 2H), 7.84 (s, 1H), 8.35 (s, 1H), 8.40 (s, 1H)。

本课题组以 4,6-二氯嘧啶和 1*H*-1,2,3-三氮唑为原料成功合成了 molidustat, 总收率为 31.5% (以 4,6-二氯嘧啶计)。

3 讨论

3.1 中间体 1 和 2 的合成

中间体 1 合成的相关文献^[10]报道了类似化合物合成的反应溶剂多为水、*N,N*-二甲基甲酰胺等。*N,N*-二甲基甲酰胺沸点较高, 蒸除较为困难; 水为反应溶剂, 产物会从反应体系中析出, 且有相当一部分产物仍留在反应液中, 需要对不溶物和反应液分别处理, 后处理上均较为繁琐。为此本课题组选择无水乙醇为溶剂, 控制吗啉滴加速率, 可保证产物为单取代的中间体 1; 化合物 1 在乙醇中溶解性小, 后处理仅需滤过就可得到高产率的中间体 1。

文献报道^[9]中间体 2 由原料 4,6-二氯嘧啶先引入胍基, 再引入吗啉基, 采用“一锅法”制备获得。本课题组在合成过程中发现, 水合胍亲核取代活性较强, 易产生较多的副产物 4,6-二胍基嘧啶, “一锅法”的反应条件下不易控制原料完全转化为目标中间体。因此, 本实验改变投料顺序, 先引入亲核活性稍弱的吗啉基团, 再引入胍基, 将原来的“一锅法”改为分步合成, 更利于中间体的质控。

水合胍既是一种活性良好的亲核试剂, 又是一种优良的反应溶剂。在化合物 2 的合成中, 选择水合胍为溶剂, 反应速率很快, 冷却静置可析出晶体,

一次性完成反应和重结晶两个过程,极大地减少了反应时间和纯化处理过程。

3.2 中间体 4 的合成

本课题组合成了中间体 4 及其类似物(*Z/E*)-3-(二甲基氨基)-2-(1*H*-1,2,3-三氮唑-1-基)丙烯酸甲酯,该类化合物可以由溴乙酸乙酯和 *N,N*-二甲基甲酰胺二乙缩醛经类似反应制备得到。两种中间体均可以由中间体 3 经环合反应生成,反应产率相当。化合物 4 在甲基叔丁基甲酮中更易固化,便于从反应体系中分离,选择丙酮重结晶,可得到纯度较高的晶体颗粒。

该合成方法步骤短,操作简单、易行,可适应未来工业化放大生产,具有良好的应用前景。

参考文献

- [1] Robinson B E. Epidemiology of chronic kidney disease and anemia [J]. *J Am Med Dir Assoc*, 2006, 7(9Suppl): S3-S6.
- [2] Dmitrieva O, de Lusignan S, Macdougall I C, et al. Association of anaemia in primary care patients with chronic kidney disease: cross sectional study of quality improvement in chronic kidney disease (QICKD) trial data [J]. *BMC Nephrol*, 2013, 14: 24-33.
- [3] 林凤茹. 慢性病贫血和肾性贫血 [J]. *中国实用内科杂志*, 2009, 27(7): 607-610.
- [4] 中国医师协会肾内科医师分会. 肾性贫血诊断与治疗中国专家共识(2014 修订版) [J]. *中华肾脏病杂志*, 2014, 30(9): 712-715.
- [5] 程 卫, 李钟声. 促红细胞生成素治疗肾性贫血的进展 [J]. *透析与人工器官*, 2008, 19(3): 19-22.
- [6] 陈 楠. 促红细胞生成素治疗的不良反应 [J]. *肾脏病与透析肾移植杂志*, 2006, 15(4): 346-347.
- [7] Rabinowitz M H. Inhibition of hypoxia-inducible factor prolyl hydroxylase domain oxygen sensors: tricking the body into mounting orchestrated survival and repair responses [J]. *J Med Chem*, 2013, 56(23): 9369-9402.
- [8] H-C.米利策尔, J.格里斯, S.克普. 取代的 1*H*-吡唑-5-酚钠 [P]. 中国: 104650047, 2015-05-27.
- [9] H-C.米利策尔, J.埃格特. 制备三氮唑化合物的方法 [P]. 中国: 104411704, 2015-03-11.
- [10] M.G.胡默索恩, S.戈梅茨, K.A.梅尼尔, 等. 作为 m-TOR 抑制剂的胍基甲基、亚胍基甲基和 5 元杂环化合物及其用作抗肿瘤剂的应用 [P]. 中国: 101128440, 2008-02-20.