

## • 实验研究 •

### 3,6-双羧甲基-4-氨基-6H-噻吩并[2,3-B]吡咯-2-羧酸的合成研究

闫少杰<sup>1</sup>, 周邦昌<sup>2</sup>, 李树军<sup>1</sup>, 黄汉忠<sup>1\*</sup>, 王平保<sup>1\*</sup>

1. 天津药物研究院 化学制药部, 天津 300193

2. 河南大学 药学院, 河南 开封 475000

**摘要:** 目的 设计并合成 3,6-双羧甲基-4-氨基-6H-噻吩并[2,3-B]吡咯-2-羧酸。方法 以柠檬酸为起始原料, 经氧化酯化、Gewald 反应、氮取代、环合、水解、脱羧反应制备得到目标化合物。结果 合成了目标化合物, 并利用质谱和核磁数据确证了结构; HPLC 归一化法测得质量分数为 96.98%。目标化合物的总收率为 2.7%。结论 3,6-双羧甲基-4-氨基-6H-噻吩并[2,3-B]吡咯-2-羧酸的合成为雷奈酸锶中杂质的研究提供了方便。

**关键词:** 3,6-双羧甲基-4-氨基-6H-噻吩并[2,3-B]吡咯-2-羧酸; 雷奈酸锶; 柠檬酸; 杂质; 化学合成

中图分类号: R914 文献标志码: A 文章编号: 1674 - 5515(2015)03 - 0233 - 04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2015.03.001

### Synthesis of 3,6-bis(carboxymethyl)-4-amino-6H-thieno[2,3-b] pyrrole-2-carboxylic acid

YAN Shao-jie<sup>1</sup>, ZHOU Bang-chang<sup>2</sup>, LI Shu-jun<sup>1</sup>, HUANG Han-zhong<sup>1</sup>, WANG Ping-bao<sup>1</sup>

1. Centre for Chemical Pharmaceutical Research, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

2. School of Pharmacy, Henan University, Kaifeng 475000, China

**Abstract: Objective** To design and synthesize 3,6-bis(carboxymethyl)-4-amino-6H-thieno[2,3-b] pyrrole-2-carboxylic acid. **Methods** Citric acid was used as starting material to synthesize the target compound by oxidation, esterification, Gewald reaction, *N*-substituted, cyclization, hydrolysis, and decarboxylic reactions. **Results** The target compound was synthesized and characterized by MS and NMR data. And the purity detected by HPLC was 96.98%. The total recovery of the synthetic route was 2.7%. **Conclusion** The synthesis of 3,6-bis(carboxymethyl)-4-amino-6H-thieno[2,3-b]pyrrole-2-carboxylic acid provides convenience for the study of impurities in strontium ranelate.

**Key words:** 3,6-bis(carboxymethyl)-4-amino-6H-thieno[2,3-b]pyrrole-2-carboxylic acid; strontium ranelate; citric acid; impurity; chemical synthesis

雷奈酸锶化学名为 5-[二(羧甲基)氨基]-2-羧基-4-氨基-3-噻吩乙酸二锶盐, 由法国施维雅公司研制开发, 2004 年 11 月在爱尔兰上市, 用于骨质疏松症的治疗和预防。雷奈酸锶是首个上市的具有“双重作用”的药物<sup>[1]</sup>, 不仅可刺激成骨细胞的形成, 还可抑制破骨细胞的吸收作用, 有很好的临床应用前景<sup>[2-3]</sup>。国内有单位正在研制该药物, 但未见上市。

在雷奈酸锶产品的 LC-MS 图谱中, 发现一主

要杂质峰, 保留时间为 9.912 min, 其分子离子峰为 299, 结合其合成路线推测其结构可能是 3,6-双羧甲基-4-氨基-6H-噻吩并[2,3-B]吡咯-2-羧酸。参照本课题组先前的研究<sup>[4]</sup>, 为控制杂质风险, 建立雷奈酸锶分析方法, 制定杂质限度, 提高产品质量标准, 本实验设计了该杂质的合成路线, 以柠檬酸为起始原料, 经氧化酯化、Gewald 反应、氮取代、环合、水解、脱羧反应制备该杂质。其合成路线见图 1。

收稿日期: 2015-01-11

作者简介: 闫少杰(1983—), 男, 河北邢台人, 助理研究员, 硕士, 主要从事化学药物开发及工艺研究。Tel: (022)23003212 E-mail: yansj@tjipr.com

\*通信作者 黄汉忠, 研究员。E-mail: huanghz@tjipr.com

王平保, 研究员。E-mail: wangpb@tjipr.com

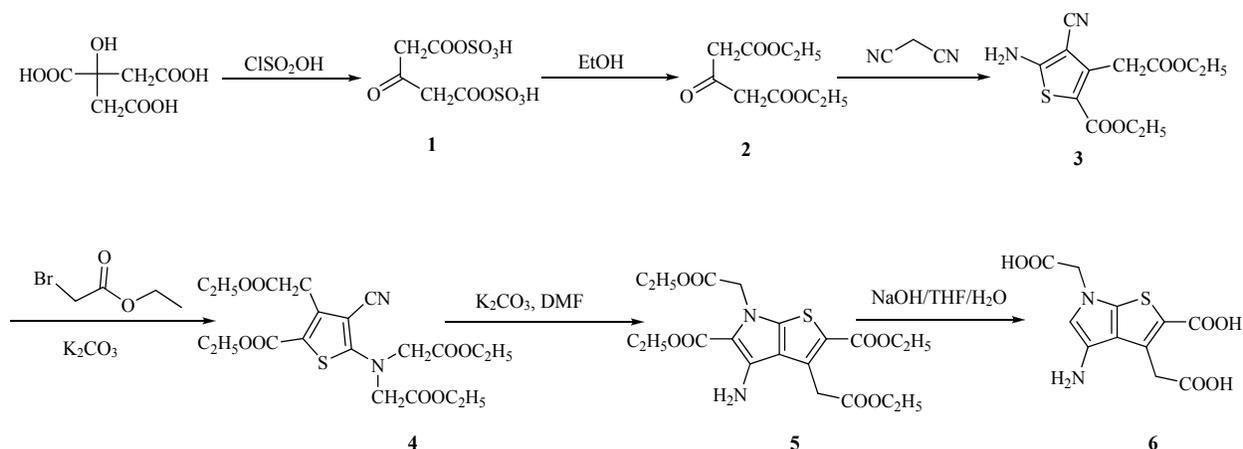


图1 目标化合物的合成路线

Fig. 1 Synthetic route of target compound

## 1 仪器与试剂

HP 1200 高效液相色谱仪 (美国安捷伦公司); 6520 型 Accurate-Mass-Q-TOF/MS 质谱仪 (美国安捷伦科技公司); Thermo Fishier LCQ Advantage Max 离子阱液质联用仪 (美国赛默飞世尔科技有限公司); Bruker 400 MHz 核磁共振仪 (德国 Bruker 公司); 柠檬酸 (批号 GB9855-88, 天津市福晨化学试剂厂); 其他所用试剂均为分析纯。

## 2 合成步骤

### 2.1 3-酮-1,5-二乙酸戊酯 (2) 的合成<sup>[5]</sup>

室温条件下, 向配有球形冷凝管、温度计、恒压滴液漏斗、机械搅拌的 5 L 四口瓶中加入 2 L 二氯甲烷, 缓慢加入氯磺酸 (384 g, 3.3 mol), 然后分次加入柠檬酸 (170 g, 0.88 mol), 搅拌, 回流下反应 8 h 后, 反应液冰盐浴冷却至 3~5 ℃。

控温不超过 5 ℃ 下滴加无水乙醇 (442 g, 9.59 mol), 滴毕, 5 ℃ 反应 1 h。酯化反应完成后, 向反应器中加入水 1 020 mL, 反应液搅拌 10 min, 静置分层, 分液, 水层用二氯甲烷 (250 mL) 提取 1 次, 合并有机层, 以饱和碳酸氢钠水溶液洗 (150 mL × 1), 水洗 (340 mL × 1), 分液, 有机层中加入无水硫酸钠, 干燥, 过夜。滤过, 滤液蒸干, 得浅棕色油状物 156.4 g, 收率为 88%。ESI-MS  $m/z$ : 203.0  $[M+H]^+$ 。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 1.201~1.378 (6H, t, CH<sub>3</sub> × 2), 3.611 (4H, s, COCH<sub>2</sub>CO × 2), 4.072~4.317 (4H, q, OCH<sub>2</sub> × 2)。

### 2.2 2-氨基-3-氰基-5-乙氧羰基噻吩-4-醋酸乙酯 (3) 的合成<sup>[6]</sup>

室温条件下, 向配有球形冷凝管、温度计、恒

压滴液漏斗、机械搅拌的 500 mL 四口瓶中, 加入化合物 2 (156.4 g, 0.77 mol), 冰浴降温至 10 ℃ 以下, 滴加三乙胺 (18 g, 0.18 mol), 滴毕, 依次加入丙二腈 (16.7 g, 0.25 mol) 及无水乙醇 (70 g, 1.5 mol), 控温 10 ℃ 以下, 加入升华硫 (26.9 g, 0.84 mol), 加热至 50 ℃, 反应 3 h, 反应结束。将反应液倾倒入 2 L 水中, 搅拌 2 h, 析出固体, 滤过, 滤饼 80~90 ℃ 鼓风干燥 5 h, 得浅棕色固体 181.2 g, 收率为 73%。mp 138~139 ℃。ESI-MS  $m/z$ : 283.0  $[M+H]^+$ 。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 1.246~1.308 (6H, m, CH<sub>3</sub> × 2), 3.984 (2H, s, CH<sub>2</sub>), 4.151~4.266 (4H, m, OCH<sub>2</sub> × 2), 5.388 (2H, s, NH<sub>2</sub>)。

### 2.3 2-[N,N-二(羧甲基)氨基]-3-氰基-4-羧甲基噻吩-5-羧酸四乙酯 (4) 的合成<sup>[7]</sup>

室温条件下, 向配有球形冷凝管、温度计、恒压滴液漏斗、机械搅拌的 2 L 四口瓶中加入化合物 3 (135 g, 0.48 mol)、无水碳酸钾 (130 g, 0.95 mol)、丙酮 940 mL 和溴醋酸乙酯 (175.5 g, 1.05 mol), 搅拌回流反应 3 h。反应结束, 冷却至室温, 滤过, 滤饼用丙酮淋洗 4 次, 滤干, 滤液浓缩至无液体蒸出, 加入石油醚 300 mL, 浸泡过夜。次日, 滤过, 滤饼用石油醚淋洗 2 次, 滤干, 滤饼 40~50 ℃ 鼓风干燥 2 h, 得桔黄色固体粗品 194 g, 收率为 89%。

粗品以 6 倍量石油醚精制, 活性炭脱色, 得浅黄色固体 176.5 g, 收率为 81%。mp 105~109 ℃, 归一法测定质量分数为 99%。ESI-MS  $m/z$ : 455.1  $[M+H]^+$ 。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 1.219~1.298 (12H, m, CH<sub>3</sub> × 4), 3.994 (2H, s, OCH<sub>2</sub>), 4.122~4.175 (2H, q, CH<sub>2</sub>), 4.205~4.268 (6H,

m, CH<sub>2</sub>×3), 4.325 (4H, s, NCH<sub>2</sub>×2)。

### 2.4 3,6-双[(乙氧羰基)甲基]-4-氨基-6H-噻吩并[2,3-B]吡咯-2,5-二羧酸二乙酯 (5) 的合成<sup>[8]</sup>

室温条件下, 向配有球形冷凝管、温度计、氮气保护的 250 mL 四口瓶中, 加入碳酸钾 (45.6 g, 0.34 mol) 和 DMF 100 mL, 磁力搅拌, 加入化合物 4 (100 g, 0.22 mol), 升温至 150 °C 反应 4.5 h。减压蒸除溶剂, 得棕色膏状物。

向膏状物中加入水 2 000 mL, 机械搅拌, 出现固体。滤过, 得浅棕色固体。将固体溶于 1 L 二氯甲烷中, 水洗 (500 mL×3), 分液, 有机层中加入活性炭 (8 g) 和柱色谱硅胶 (200~300 目) 50 g, 机械搅拌 10 min, 滤过, 滤液用无水硫酸镁干燥。滤过, 滤液蒸干, 得黄色固体 16.2 g, 收率为 16%。mp 195 °C, 归一法测定其质量分数为 99%。ESI-MS *m/z*: 455.1 [M+H]<sup>+</sup>。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 1.164~1.207 (6H, m, CH<sub>3</sub>×2), 1.224~1.267 (6H, m, CH<sub>3</sub>×2), 4.057~4.237 (8H, m, CH<sub>2</sub>×4), 4.273 (2H, s, CH<sub>2</sub>), 4.963 (2H, s, CH<sub>2</sub>), 5.860 (2H, s, NH<sub>2</sub>)。

### 2.5 3,6-双羧甲基-4-氨基-6H-噻吩并[2,3-B]吡咯-2-羧酸 (6) 的合成

室温条件下, 向配有球形冷凝管、温度计的 250

mL 四口瓶中, 加入 THF 50 mL、化合物 5 (3 g, 6.6 mmol) 和氢氧化钠 (1.32 g, 33 mmol), 磁力搅拌, 溶解后加入水 50 mL, 加热回流 2 h。TLC 检测反应完全, 旋蒸除去四氢呋喃, 水层用浓盐酸调节 pH 值至 1~2, 有固体析出, 滤过, 得褐色固体 0.65 g, 收率为 33.0%。mp > 220 °C。归一法测定其质量分数为 96.98%。目标化合物的总收率为 2.7%。分子式为 C<sub>11</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>S, ESI-MS *m/z*: 299.0 [M+H]<sup>+</sup>。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 4.114 (2H, s, CH<sub>2</sub>), 4.651 (2H, s, CH<sub>2</sub>), 6.459 (1H, s, CH)。<sup>13</sup>C-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 34.300, 49.954, 115.417, 121.197, 123.716, 125.603, 133.620, 135.470, 165.255, 170.040, 172.182。

色谱条件: Nucleosil C<sub>8</sub> 色谱柱 (150 mm×4.6 mm, 5 μm); 进样量为 20 μL, 体积流量为 1.0 mL/min; 柱温为 30 °C, 波长为 240 nm, 流动相为水 (磷酸调 pH 值至 2) - 甲醇 - 四氢呋喃 (9:4:5)。

在上述色谱条件下, 化合物 6 的保留时间为 9.912 min, 雷奈酸锶产品中杂质的保留时间为 9.919 min, 将化合物 6 加入到雷奈酸锶中进行高效液相色谱 (HPLC) 分析, 结果显示其对应的杂质峰明显增加, 即可确定化合物 6 即为雷奈酸锶中主要杂质之一。见图 2。

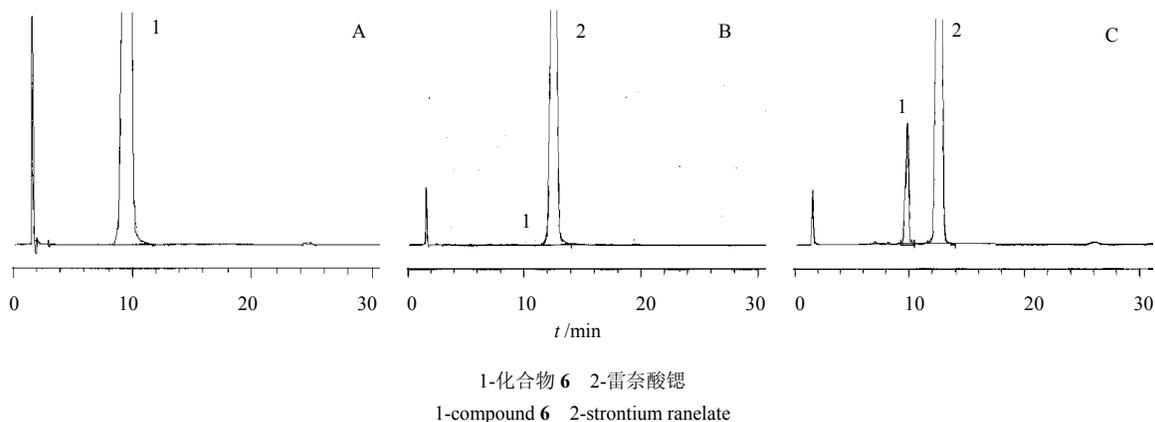


图 2 化合物 6 (A)、雷奈酸锶 (B) 和化合物 6+雷奈酸锶混合物 (C) 的 HPLC 图谱  
Fig. 2 HPLC of compound 6 (A), strontium ranelate (B), and compound 6 + strontium ranelate (C)

### 3 讨论

本课题组对雷奈酸锶进行了合成研究, 并且得到了适合工业化生产的工艺路线。在雷奈酸锶粗品的杂质研究中, 发现 LC-MS 中雷奈酸锶主峰前有一分子离子峰为 299 的杂质峰, 根据雷奈酸锶的结构筛选, 推测此杂质最有可能为 3,6-双羧甲基-4-氨基-6H-噻吩并[2,3-B]吡咯-2-羧酸, 遂设计上述路线,

通过合成化合物 6, 确定了雷奈酸锶中对应杂质的结构。雷奈酸锶合成中四酯水解时, 温度过高会导致合环杂质的增加, 进而增加该杂质在成品中的含量。因此生产过程中严格控制反应温度, 可避免该杂质的过度产生, 这对保证产品质量至关重要。

#### 参考文献

[1] 黄汉忠, 常淑梅, 李树军. 雷奈酸锶研究现状 [J]. 天

- 津药学, 2006, 18(4): 65-68.
- [2] Alkins G J, Welldon K J, Halbout P, *et al.* Strontium ranelate treatment of human primary osteoblasts promotes an osteocyte-like phenotype while eliciting an osteoprotegerin response [J]. *Osteoporos Int*, 2009, 20(4): 653-664.
- [3] Fonseca J E, Brandi M L. Mechanism of action of strontium ranelate: what are the facts [J]. *Clin Cases Minerl Bone Metabol*, 2010, 71(1): 17-18.
- [4] 周邦昌, 闫少杰, 李树军, 等. 4-(2',3'-二氯苯基)-1,4-二氢-2,6-二甲基-3-吡啶甲酸甲酯的合成 [J]. *现代药物与临床*, 2014, 29(7): 708-710.
- [5] Periasamy M P. Process for synthesis of keto acids or esters [P]. UK: GB2033391A, 1980-05-21.
- [6] Sabnis R W, Rangnekar D W. Synthesis of 2-azo-3-cyano-5-carbomethoxy thiophene derivatives and their application on polyester fibres [J]. *J Chem Tech Biotechnol*, 1990, 47(1): 39-46.
- [7] Wierzbicki M, Cagniant D, Cagniant P. Reactivite des amino-2 thiophenes. Application a la synthese de quelques thieno[2,3-b]pyrroles [J]. *Bull Soc Chim (France)*, 1975: 1786-1792.
- [8] Wei H T, Cai J, Sun M, *et al.* Synthesis of substituted Thieno [2,3-b]pyrroles [J]. *Heteroatom Chem*, 2007, 38(34): 236-238.