

• 实验研究 •

罗氟司特中 3,5-二氯-4-氨基吡啶引入两个杂质的合成研究

梁兴运¹, 高立国², 穆 帅², 韩学文², 范巧云², 张晓军^{2*}, 王平保^{2*}

1. 河南大学 药学院, 河南 开封 475000

2. 天津药物研究院 化学制药部, 天津 300193

摘要: **目的** 设计并合成罗氟司特中 3,5-二氯-4-氨基吡啶引入的两个杂质 3-(环丙甲氧基)-*N*-(3-氯-5-溴-4-吡啶基)-4-(二氟甲氧基)苯甲酰胺和 3-(环丙甲氧基)-*N*-(3-氯-4-吡啶基)-4-(二氟甲氧基)苯甲酰胺。**方法** 以 4-二氟甲氧基-3-羟基苯甲醛为起始原料经过亲核取代、氧化、酰氯化和酰胺化合成了目标化合物。**结果** 合成了目标化合物, 并利用 ¹H-NMR、¹³C-NMR 和 MS 确证了结构; HPLC 归一化法测得样品质量分数分别为 98.8%、99.8%。并证明这两个杂质存在于罗氟司特中。**结论** 这两种杂质的合成成为罗氟司特中杂质的研究提供了依据。

关键词: 罗氟司特; 3,5-二氯-4-氨基吡啶; 3-(环丙甲氧基)-*N*-(3-氯-5-溴-4-吡啶基)-4-(二氟甲氧基)苯甲酰胺; 3-(环丙甲氧基)-*N*-(3-氯-4-吡啶基)-4-(二氟甲氧基)苯甲酰胺; 杂质; 化学合成

中图分类号: R914.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2015)05-0483-04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2015.05.002

Synthesis of impurities introduced by 4-amine-3,5-dichloropyridine in roflumilast

LIANG Xing-yun¹, GAO Li-guo², MU Shuai², HAN Xue-wen², FAN Qiao-yun², ZHANG Xiao-jun², WANG Ping-bao²

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

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

Abstract: Objective To design and synthesize impurities introduced by 4-amine-3,5-dichloropyridine in roflumilast: 3-(cyclopropylmethoxyl)-*N*-(3-chloro-5-bromo-4-pyridyl)-4-(difluoromethoxyl)benzamide and 3-(cyclopropylmethoxyl)-*N*-(3-chloro-4-pyridyl)-4-(difluoromethoxyl)benzamide. **Methods** 4-Difluoromethoxyl-3-hydroxybenzaldehyde was used as starting material to synthesize the target compound by nucleophilic substitution, oxidation, acylation and amidation reactions. **Results** The target compounds were synthesized and characterized by ¹H-NMR, ¹³C-NMR and MS. And the purities detected by HPLC were 98.8% and 99.8%. The two impurities were proved to exist in roflumilast. **Conclusion** The synthesis of two impurities provides reference for the study of impurities in roflumilast.

Key words: roflumilast; 4-amine-3,5-dichloropyridine; 3-(cyclopropylmethoxyl)-*N*-(3-chloro-5-bromo-4-pyridyl)-4-(difluoromethoxyl)benzamide; 3-(cyclopropylmethoxyl)-*N*-(3-chloro-4-pyridyl)-4-(difluoromethoxyl)benzamide; impurities; chemical synthesis

罗氟司特为选择性磷酸二酯酶-4 (PDE-4) 的抑制剂, 是治疗慢性阻塞性肺疾病 (COPD) 的新型药物^[1-3], 由 Altana Pharma 公司在 1993 年研发并在 2010 年 7 月 6 日和 2011 年 3 月 1 日分别由欧洲药监局 (EMA) 和美国食品药品监督管理局 (FDA) 批准用于治疗伴支气管炎的严重 COPD 患者的咳嗽

及黏液过多症状。罗氟司特不用于治疗原发肺气肿等其他型的 COPD^[4-6]。

根据罗氟司特合成过程中起始原料 3,5-二氯-4-氨基吡啶的合成工艺^[6]推测, 反应过程中, 由于氯化不完全, 会引入 3-氯-4-氨基吡啶; 在氯化过程中, 氯化试剂中可能会有相应的溴化物, 从而引入 3-氯-

收稿日期: 2015-03-20

作者简介: 梁兴运 (1988—), 男, 河南新乡人, 硕士研究生, 从事心血管药物的设计、合成与构效关系研究。E-mail: liangxingyuncool@163.com

*通信作者 张晓军, 副研究员。E-mail: zhangxj@tjipr.com

王平保, 研究员。E-mail: wangpb@tjipr.com

5-溴-4-氨基吡啶。通过 HPLC 研究证实该起始原料中确实含有 3-氯-5-溴-4-氨基吡啶和 3-氯-4-氨基吡啶这两种杂质。起始物中杂质可参与后续反应生成 3-(环丙甲氧基)-*N*-(3-氯-5-溴-4-吡啶基)-4-(二氟甲氧基)苯甲酰胺 (4) 和 3-(环丙甲氧基)-*N*-(3-氯-4-吡啶基)-4-(二氟甲氧基)苯甲酰胺 (5)。因此, 化合物 4 和 5 是罗氟司特中可能存在的杂质, 影响药物

质量。通过一定的方法制备得到这两种杂质对建立和完善罗氟司特分析方法、制定已知杂质限度、提高质量标准具有重要意义。因此, 本研究以 4-二氟甲氧基-3-羟基苯甲醛为起始原料经过亲核取代、氧化、酰氯化、酰胺化反应制备得到目标化合物 4 和 5^[7-11], 并通过 ¹H-NMR、¹³C-NMR 和 MS 确证结构, 建立了适宜的液相分析方法。合成路线见图 1。

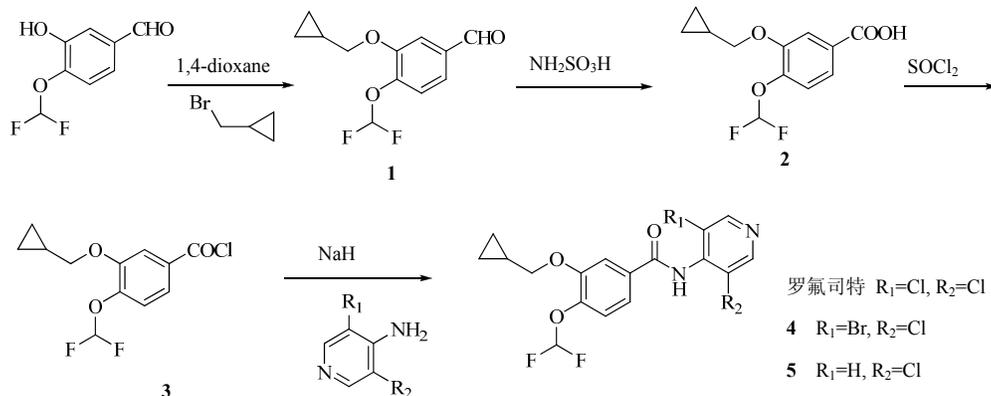


图 1 目标化合物的合成路线

Fig. 1 Synthetic route of target compounds

1 仪器与试剂

HP1200 高效液相色谱仪、6520 型 Accurate-Mass-Q-TOF/MS 质谱仪 (美国安捷伦科技公司); Bruker 400 MHz 核磁共振仪 (德国 Bruker 公司); 4-二氟甲氧基-3-羟基苯甲醛 (质量分数 >98.0%, 北京依特能化学科技有限责任公司); 其他所用试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 3-(环丙甲氧基)-4-(二氟甲氧基)苯甲醛 (1) 的合成^[7]

在 100 mL 四口瓶中加入 4-二氟甲氧基-3-羟基苯甲醛 (4.8 g, 0.025 mol)、1,4-二氧六环 60 mL、无水碳酸钾 (14.4 g, 0.104 mol), 冰水冷却, 内温在低于 10 °C, 充氮气保护, 一次性加入环丙甲基溴 (5.2 mL, 0.052 mol), 回流反应, 反应 8 h。石油醚-醋酸乙酯 (3:1) 为展开剂, TLC 检测反应完全, 停止反应。减压蒸干溶剂, 加入二氯甲烷 50 mL 和 10% 氢氧化钠水溶液 30 mL。分出有机层, 水相用二氯甲烷 (20 mL×2) 提取, 合并有机层, 用水 (20 mL×3) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 滤过, 蒸干二氯甲烷, 得到棕红色油状液体 (8.6 g), 收率为 100%, 质量分数为 98.1%。HR-ESI-MS *m/z*:

243.090 2 [M+H]⁺。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 0.36~0.37 (m, 2H), 0.55~0.60 (m, 2H), 1.23~1.27 (m, 1H), 3.97 (d, *J*=6.8 Hz, 2H), 7.26 (t, *J*=73.6 Hz, 1H), 7.38 (d, *J*=8.0 Hz, 1H), 7.54~7.57 (m, 2H), 9.93 (s, 1H)。¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 3.41, 10.65, 74.42, 114.71, 114.77, 117.33, 117.56, 120.32, 123.24, 131.88, 149.52, 151.57, 188.12。

2.2 3-(环丙甲氧基)-4-(二氟甲氧基)苯甲酸 (2) 的合成^[8-11]

在 100 mL 四口瓶中依次加入化合物 1 (7.2 g, 0.030 mol)、乙酸 24.8 mL、氨基磺酸 (5.4 g, 0.056 mol), 冷却至 10~20 °C, 备用。加入亚氯酸钠 (3.28 g, 0.0036 mol) 溶于 17 mL 水中, 使之全溶, 然后滴加到备用的化合物 1 混合溶液中, 滴加过程控制体系温度不高于 30 °C, 滴加完毕, 升高温度至 35 °C, 搅拌 1 h, 加入水 40 mL, 搅拌 5 min, 继续加入水 100 mL, 搅拌 1 h。加水后反应体系即有固体析出, 滤过, 少量水洗涤, 得到白色固体 (5.4 g), 收率为 92.8%, 质量分数为 98.7%。HR-ESI-MS *m/z*: 259.075 9 [M+H]⁺。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 0.35~0.37 (m, 2H), 0.54~0.58 (m, 2H), 1.19~1.25 (m, 1H),

3.93 (d, $J=6.8$ Hz, 2H), 7.19 (t, $J=74.1$ Hz, 1H), 7.25 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 7.54~7.56 (m, 2H), 13.04 (s, 1H)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, acetone- d_6) δ : 3.43, 10.66, 74.44, 114.73, 114.73, 117.33, 117.55, 120.34, 123.26, 131.89, 149.53, 151.58, 188.13。

2.3 3-(环丙甲氧基)-4-(二氟甲氧基)苯甲酰氯 (3) 的合成

在 50 mL 单口瓶中, 依次加入化合物 2 (2.5 g, 0.01 mol)、二氯亚砷 6 mL、DMF 0.15 g, 加热至 80 °C, 保持 30 min, 继续升高温度至 90 °C, 反应 0.7 h, 冷却, 60 °C 下减压蒸干溶剂, 得到化合物 3 粗品。不经处理, 直接加入四氢呋喃 10 mL 得到溶液备用。

2.4 3-(环丙甲氧基)-*N*-(3-氯-5-溴-4-吡啶基)-4-(二氟甲氧基)苯甲酰胺 (4) 的合成^[8-11]

在 250 mL 四口瓶中, 依次加入 3-氯-5-溴-4-氨基吡啶 (2.4 g, 0.015 mol)、四氢呋喃 15 mL, 搅拌溶清。分批加入 60% 氢化钠 (1.4 g, 0.034 mol), 控制内温不得高于 20 °C, 加毕, 保持此温度再滴加化合物 3 的四氢呋喃溶液, 约 30 min 滴完。升高温度至 25~30 °C, 搅拌 2 h, 停止反应。冷却至 0 °C, 加入 2 mol/L 盐酸溶液约 25 mL, 调节 pH 值至 3.5 左右, 加入醋酸乙酯 (50 mL×3) 提取, 分出有机相, 依次用 5% 碳酸氢钠水溶液 (50 mL×2) 和水 (100 mL×2) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 滤过, 蒸除溶剂, 得到白色的固体 (3.9 g), 收率为 88%, 质量分数为 98.8%。HR-ESI-MS m/z : 448.990 3 [$\text{M}+\text{H}$]⁺。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, acetone- d_6) δ : 0.48~0.53 (m, 2H), 0.66~0.70 (m, 2H), 1.32~1.41 (m, 1H), 4.08 (d, $J=6.8$ Hz, 2H), 7.10 (t, $J=11.4$ Hz, 1H), 7.39 (d, 1H), 7.76 (dd, $J=8.4, 2$ Hz, 1H), 7.79 (d, $J=74.8$ Hz, 1H), 8.70 (s, 1H),

8.80 (s, 1H), 9.72 (s, 1H)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, acetone- d_6) δ : 3.43, 10.71, 74.49, 114.71, 114.87, 117.43, 119.99, 121.55, 122.24, 122.32, 131.92, 132.22, 143.30, 144.40, 149.65, 151.37, 164.65。

2.5 3-(环丙甲氧基)-*N*-(3-氯-4-吡啶基)-4-(二氟甲氧基)苯甲酰胺 (5) 的合成^[8-11]

在 250 mL 四口瓶中, 依次加入 3-氯-4-氨基吡啶 (1.9 g, 0.015 mol), 四氢呋喃 15 mL, 分批加入 60% 氢化钠 (1.4 g, 0.034 mol), 按照化合物 4 的合成方法得到白色的固体 (3.1 g), 收率为 86%, 质量分数为 99.8%。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, acetone- d_6) δ : 0.48~0.53 (m, 2H), 0.68~0.78 (m, 2H), 1.37~1.50 (m, 1H), 4.10 (d, $J=4.8$ Hz, 2H), 7.10 (t, $J=11.4$ Hz, 1H), 7.38 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 7.68 (dd, $J=8.4, 2$ Hz, 1H), 7.74 (d, $J=2.0$ Hz, 1H), 8.37 (d, $J=5.4$ Hz, 1H), 8.52 (d, $J=5.6$ Hz, 1H), 8.62 (s, 1H), 9.14 (s, 1H)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, acetone- d_6) δ : 3.46, 10.69, 74.50, 114.66, 116.65, 117.34, 114.77, 122.01, 119.91, 121.05, 122.15, 132.92, 142.65, 144.52, 149.73, 150.17, 151.35, 165.56。

2.6 专属性研究

色谱条件: Inertsil NH₂ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为正己烷-无水甲醇 (80:20); 体积流量为 1.0 mL/min; 柱温为 30 °C。

在上述色谱条件下, 化合物 4 的保留时间为 22.754 min, 化合物 5 的保留时间为 27.918 min, 这两种杂质 (化合物 4 和 5) 与罗氟司特 (39.382 min) 具有良好的分离度。用该液相条件对罗氟司特产品进行分析, 发现成品中含有这两种杂质, 并通过加样法验证了本实验合成的两个杂质即为这两个杂质, 见图 2。

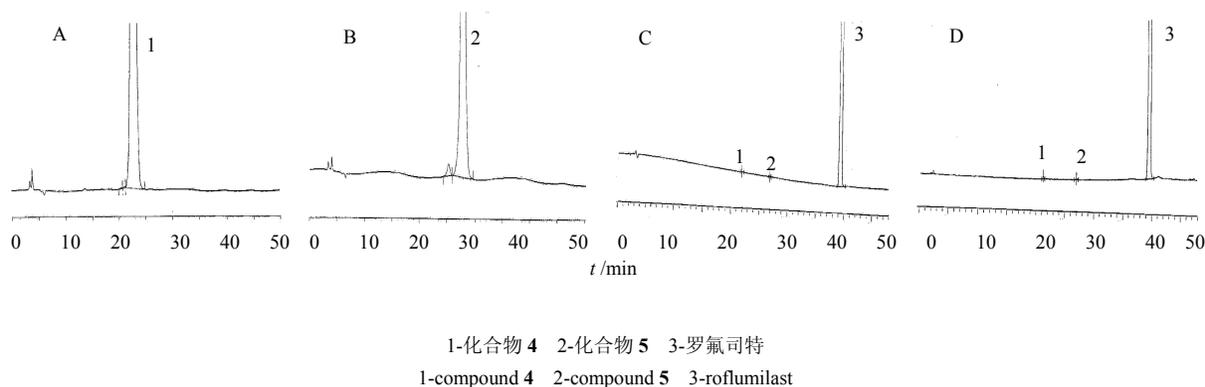


图 2 化合物 4 (A)、化合物 5 (B)、罗氟司特 (C) 和化合物 4、5+罗氟司特混合物 (D) 的 HPLC 图谱

Fig. 2 HPLC chromatograms of compound 4 (A), compound 5 (B), roflumilast (C), and compounds 4, 5 + roflumilast (D)

3 讨论

起始原料 3,5-二氯-4-氨基吡啶中含有 3-氯-5-溴-4-氨基吡啶和 3-氯-4-氨基吡啶两种杂质,它们会参与后续反应并产生相应杂质 4 和 5。本文参照罗氟司特的合成方法,制备得到了化合物 4 和 5,并通过 $^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$ 和 MS 确证结构。这两种杂质与罗氟司特结构类似,通过反相 HPLC 的方法无法进行有效分离。因此课题组建立了正相 HPLC 方法并进行了专属性研究。这两种杂质的合成对制定起始物和罗氟司特的质量标准具有重要的意义。

参考文献

- [1] Rabe K F. Roflumilast for the treatment of chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Expert Rev Respir Med*, 2010, 4 (5): 543-555.
- [2] Poole P, Black P N, Cates C J. Mucolytic agents for chronic bronchitis or chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2012, 8: CD001287.
- [3] 余茜, 闫少杰, 黄汉忠, 等. 慢性阻塞性肺病的新药研发进展 [J]. *现代药物与临床*, 2011, 26(5): 333-338.
- [4] Reid D J, Pham N T. Emerging therapeutic options for the management of COPD [J]. *Clin Med Insights Circ Respir Pulm Med*, 2013, 7: 7-15.
- [5] Tashkin D P, Varghese S T. Combined treatment with formoterol and tiotropium is more efficacious than treatment with tiotropium alone in patients with chronic obstructive pulmonary disease, regardless of smoking status, inhaled corticosteroid use, baseline severity, or gender [J]. *Pulm Pharmacol Ther*, 2011, 24(1): 147-152.
- [6] Cook D C, Jones R H, Kabir H, et al. Process development of the PDE IV inhibitor 3-(cyclopentyloxy)-N-(3,5-dichloropyrid-4-yl)-4-methoxybenzamide [J]. *Org Proc Res Dev*, 1998, 2(3): 157-168.
- [7] Zhou Y, Wang X, Zeng X, et al. Positive benefits of theophylline in a randomized, double-blind, parallel-group, placebo-controlled study of low-dose, slow-release theophylline in the treatment of COPD for 1 year [J]. *Respirology*, 2006, 11(5): 603-610.
- [8] 钟永刚, 陈国华, 李昂, 等. 罗氟司特的合成 [J]. *中国医药工业杂志*, 2011, 42(12): 884-886.
- [9] Lin Y, Huang P J, Liu S, et al. A convenient method for the synthesis of roflumilast [J]. *Res Chem Intermediat*, 2013, 39(5): 2107-2113.
- [10] 林艳, 刘帅, 陈立功, 等. 罗氟司特的合成方法研究进展 [J]. *化学通报*, 2014, 77(4): 319-323.
- [11] 杨展雄, 孙焕亮, 蔡开明. 罗氟司特的合成路线图解 [J]. *华西药学杂志*, 2014, 29(2): 222-223.