

## · 实验研究 ·

## 溴甲纳曲酮中 3 个降解杂质的合成研究

张晓军<sup>1,2</sup>, 王 潇<sup>3</sup>, 高立国<sup>2</sup>, 韩学文<sup>2</sup>, 范巧云<sup>2</sup>, 穆 帅<sup>2</sup>, 王松青<sup>1\*</sup>

1. 天津大学 药物科学与技术学院, 天津 300072

2. 天津药物研究院 化学制药部, 天津 300193

3. 哈尔滨工业大学 应用化学系, 黑龙江 哈尔滨 150001

**摘要:** 目的 设计并合成了溴甲纳曲酮在光照、氧化及碱性条件下的 3 个降解产物。方法 以盐酸纳曲酮为起始原料分别经过 500 W 紫外灯照射、过氧叔丁醇的三羟甲基氨基甲烷溶液的氧化, 氢氧化钠的霍夫曼降解反应得到 3 个结构不同的降解产物。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; 目标化合物 1~3 的质量分数分别为 99.77%、94.18%、99.51%, 收率分别为 35.5%、40.0%、25.1%。结论 3 个降解杂质的合成与分离为溴甲纳曲酮的杂质研究奠定了物质基础。

**关键词:** 溴甲纳曲酮; 氧化; 霍夫曼降解; 基因毒性杂质

中图分类号: R914 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2015)08-0909-04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2015.08.001

## Synthesis of three degraded products of methylnaltrexone bromide

ZHANG Xiao-jun<sup>1,2</sup>, WANG Xiao<sup>3</sup>, GAO Li-guo<sup>2</sup>, HAN Xue-wen<sup>2</sup>, FAN Qiao-yun<sup>2</sup>, MU Shuai<sup>2</sup>, WANG Song-qing<sup>1</sup>

1. School of Pharmaceutical Science and Technology, Tianjin University, Tianjin 300072, China

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

3. Department of Applied Chemistry, Harbin Institute of Technology, Harbin 150001, China

**Abstract: Objective** To design and synthesize three degradation products of methylnaltrexone bromide under light, oxidation, and alkaline conditions. **Methods** Methylnaltrexone bromide was used as raw material to synthesize the three different structure compounds by lighting under 500 W ultraviolet light, oxidation with t-butylhydroperoxide in TRIS solution, Hoffmann degradation with sodium hydroxide. **Results** The target compounds were synthesized and characterized by MS and NMR data. And the purity detected were 99.77%, 94.18%, and 99.51%, respectively. The yields of three target compounds were 35.5%, 40.0%, and 25.1%. **Conclusion** The synthesis and separation of three degraded products of methylnaltrexone bromide lay the material base for the study of impurities in methylnaltrexone bromide.

**Key words:** methylnaltrexone bromide; oxidation; Hoffman degradation; genotoxic impurities

溴甲纳曲酮皮下注射剂是由美国惠氏制药和 Progenics Pharmaceuticals 公司联合研究开发, 于 2008 年在加拿大、美国和欧盟上市的外周  $\mu$  阿片受体拮抗剂, 可用于接受姑息疗法的晚期重症患者因阿片所致的便秘而使用轻泻药又无效的情况<sup>[1]</sup>。溴甲纳曲酮在纳曲酮结构上引入甲基形成季铵盐, 因此不易透过血脑屏障, 避免了阿片类药物作用于中枢

神经系统影响止痛效果。另外溴甲纳曲酮还可以阻止阿片类药物进入平滑肌细胞, 干扰正常的肠道功能<sup>[2-4]</sup>。因此溴甲纳曲酮对于提高晚期患者的生活质量减轻患者病痛具有重要意义。

对溴甲纳曲酮注射液进行破坏性试验发现在光照、过氧化氢及氢氧化钠条件下, 溴甲纳曲酮结构被破坏并产生杂质, 通过查阅文献推测, 在光照及

收稿日期: 2015-04-27

作者简介: 张晓军 (1973—), 男, 从事心血管药物、精麻药物的设计、合成与构效关系研究。E-mail: zhangxj@tjipr.com

\*通信作者 王松青, 教授。E-mail: wangsq57@sina.com

氧化条件下溴甲纳曲酮结构中五元含氧环结构被破坏产生单个羟基及两个羟基的结构并且这两个杂质具有潜在的基因毒性<sup>[5]</sup>。另外根据溴甲纳曲酮的结构推测在氢氧化钠存在条件下溴甲纳曲酮可能发生了霍夫曼降解,得到 13、14 位碳原子间含有双键的结构。由于基因毒性杂质对人体伤害巨大,溴甲纳曲酮注射液在生产过程中,注射液的 pH 值对产生霍夫曼降解产物具有至关重要的作用,因此合成这 3 个降解产物并确定其结构,对溴甲纳曲酮注射液的储存、运输、保证成品质量具有十分重要的意义。本实验以溴甲纳曲酮为起始原料<sup>[6]</sup>,通过紫外灯照射得到化合物 1,过氧叔丁醇的三羟甲基氨基甲烷 (TRIS) 溶液的氧化得到化合物 2,霍夫曼降解得到化合物 3,并利用质谱和核磁数据确证了结构。目标化合物 1~3 的合成路线见图 1。

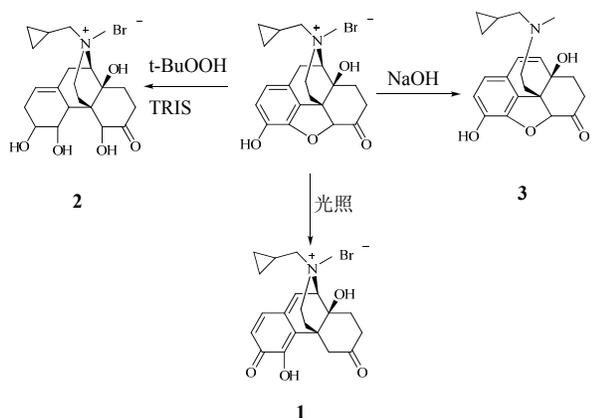


图 1 目标化合物的合成路线

Fig. 1 Synthesis route of target compounds

## 1 仪器与试剂

Agilent 1200 高效液相色谱仪; Agilent 6520 型 Accurate-Mass-Q-TOF/MS 质谱仪; Bruker 400 MHz 核磁共振仪 (德国 Bruker 公司); 自制溴甲纳曲酮 (质量分数 > 99.0%); 三羟甲基氨基甲烷 (质量分数 > 99.5%, 天津市光复精细化工研究所); 溴离子交换树脂 (南开大学化工厂 717 型阴离子交换树脂, 经氢氧化钠水溶液洗涤、水洗至中性; 氢溴酸水溶液洗涤、水洗至中性, 即得)

## 2 方法与结果

### 2.1 化合物 1 的合成<sup>[7]</sup>

取溴甲纳曲酮 2.0 g 溶于 100 mL 水中, 置于通风橱中, 安装 500 W 紫外灯。打开紫外灯照射 48 h。关闭紫外灯, 烧杯中溶液体系由无色变为红褐色, HPLC 检测显示产生新的物质, 且新物质占比为

55.28%, 继续照射 10 h, 直至比例不再变化。去除体系, 冷冻干燥溶液浓缩至 15 mL。通过制备液相色谱分离, 分离的物质使用溴离子交换树脂进行离子交换, 得到的溶液冷冻干燥得到棕红色固体 0.71 g, 收率为 35.5%, 质量分数为 99.77%。ESI-MS  $m/z$ : 356.0。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 0.37 (m, 1H, CHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 0.55 (m, 1H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH), 0.69 (m, 1H, CHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 0.74 (m, 1H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH), 1.31 (m, 1H, CH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 1.73 (d,  $J=12.8$  Hz, 1H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.88 (m, 2H, OHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.98 (m, 1H, COCH<sub>2</sub>), 2.42 (t,  $J=12.4$  Hz, 1H, CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 2.59 (d,  $J=14.0$  Hz, 1H, CCH<sub>2</sub>CO), 2.61 (m, 1H, COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 2.84 (dd,  $J=13.2$  Hz, 1H, NCH<sub>2</sub>CH), 3.01 (m, 1H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.27 (m, 1H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.46 (dd,  $J=13.2$  Hz, 1H, NCH<sub>2</sub>CH), 3.57 (d,  $J=14.0$  Hz, 1H, CCH<sub>2</sub>CO), 3.58 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>), 4.43 (d,  $J=6.8$  Hz, 1H, CCHN), 6.41 (s, 1H, OH-14), 6.48 (d,  $J=9.6$  Hz, 1H, CHCO), 6.71 (d,  $J=6.8$  Hz, 1H, CHCHN), 7.40 (d,  $J=9.6$  Hz, 1H, C=CHCH), 10.06 (s, 1H, OH-4)。

### 2.2 化合物 2 的合成<sup>[8]</sup>

精密配制 pH 8.0 (使用 0.1 mol/L 稀盐酸调节) 的三羟甲基氨基甲烷溶液 100 mL, 静置备用。取上述三羟甲基氨基甲烷溶液 25 mL 加入到三口瓶中, 加入 2.0 g 溴甲纳曲酮, 搅拌溶解, 加入 70% 过氧叔丁醇 6.4 mL, 室温反应, 体系由无色逐渐变浅黄色再变为红褐色。反应 69 h 后 HPLC 检测显示反应体系中含有新化合物 89.29%, 继续反应 5 h, 反应体系各物质浓度不再变化。停止反应, 慢慢加入三氟乙酸 0.1 mL (注射器加入), 体系用 100、80 mL 二氯甲烷洗涤两次。冷冻干燥至 10 mL, 使用高压制备柱分离, 分离的物质使用溴离子交换树脂进行离子交换, 得到的溶液冷冻干燥得到棕红色固体 0.52 g, 收率为 25.1%, 质量分数为 94.18%。ESI-MS  $m/z$ : 356.0。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 0.41 (m, 1H, CHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 0.55 (m, 1H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH), 0.71 (m, 2H, CHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 0.76 (m, 1H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH), 1.34 (m, 1H, CH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 1.95 (m, 3H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>COH, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 2.14 (m, 1H, COCH<sub>2</sub>), 2.44 (m, 1H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 2.67 (m, 1H, COCH<sub>2</sub>), 2.85 (dd,  $J=13.2$  Hz, 1H, NCH<sub>2</sub>CH), 3.01 (m, 1H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.27 (m, 1H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.50

(dd,  $J=13.2$  Hz, 1H, NCH<sub>2</sub>CH), 3.73 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>), 4.39 (d,  $J=6.8$  Hz, 1H, NCH), 5.03 (s, 1H, CCHOHNCO), 6.34 (d,  $J=9.6$  Hz, 1H, CH=CHCO), 6.54 (d,  $J=7.2$  Hz, 1H, CCHC), 6.68 (s, 1H, OH-14), 7.30 (d,  $J=9.6$  Hz, 1H, CH=CHCO)。

### 2.3 化合物 3 的合成<sup>[9]</sup>

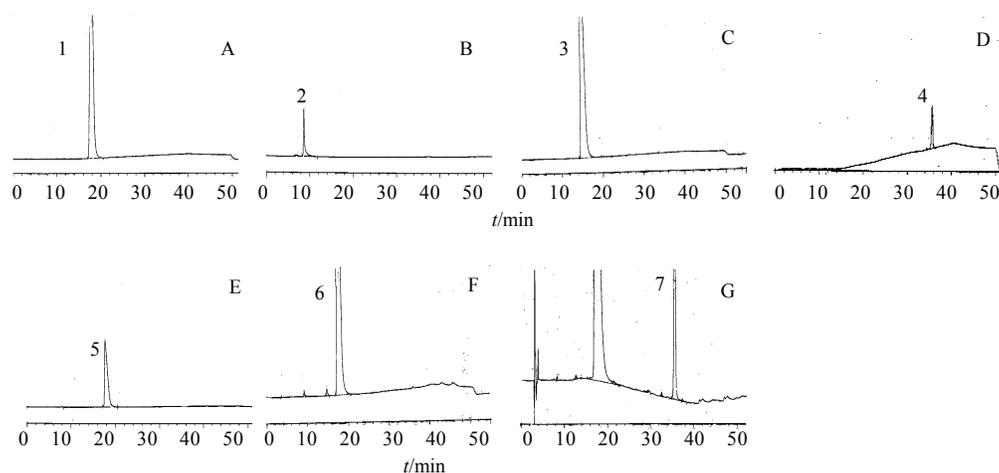
取溴甲纳曲酮 2.0 g, 加入到三口瓶中, 取 0.5 mol/L 氢氧化钠溶液 100 mL 加入到三口瓶, 室温下搅拌, 通氮气 5 min, 加入已预热到 80 °C 的油浴锅中, 反应 9 h。冷却, 低温下用 1 mol/L 盐酸溶液调节 pH 值至 7.0, 加入二氯甲烷 (50 mL×3) 提取, 饱和氯化钠水溶液洗涤, 无水硫酸镁干燥, 蒸干, 柱色谱分离, 二氯甲烷-甲醇 (20:1) 洗脱, 得到白色固体 0.8 g, 收率为 40.0%, 质量分数为 99.51%。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 0.13 (t,  $J=7.2$  Hz, 2H, CHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 0.52 (d,  $J=8.0$  Hz, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH), 0.87 (m, 1H, CH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 1.62 (t,  $J=15.4$  Hz, 1H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>COH), 1.93 (m, 1H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.97 (m, 1H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 2.06 (d,  $J=14.0$  Hz, 1H, NCH<sub>2</sub>CH), 2.16 (d,  $J=13.6$  Hz, 1H, NCH<sub>2</sub>CH), 2.32 (m, 1H, COCH<sub>2</sub>), 2.39 (m, 4H, COCH<sub>2</sub>, NCH<sub>3</sub>), 2.46 (m, 1H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 2.54 (m, 1H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 2.95 (t,  $J=16.0$  Hz,

1H, COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 4.90 (s, 1H, COCH), 5.26 (s, 1H, OH-14), 5.69 (d,  $J=9.2$  Hz, 1H, COHCH=), 6.26 (d,  $J=9.2$  Hz, 1H, =CHCH=), 6.54 (d,  $J=8.0$  Hz, 1H, CHCHCOH), 6.67 (d,  $J=8.0$  Hz, 1H, CHCHCOH), 7.79 (s, 1H, OH-3)。<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 3.81, 4.19, 7.84, 32.33, 34.10, 34.92, 41.13, 52.40, 56.39, 61.69, 73.93, 91.42, 117.60, 118.92, 121.59, 123.55, 129.45, 137.49, 141.73, 143.78, 209.43。

### 2.4 HPLC 色谱条件

色谱条件: Boston Breeze AQ C<sub>18</sub> 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5  $\mu$ m); 流动相: 0.1% 三氟乙酸 (A) - 甲醇 (B), 梯度洗脱, 0~10 min, 85% A, 10~35 min, 85% A→60% A, 35~45 min, 60% A→85% A, 45~55 min, 85% A; 柱温: 40 °C; 体积流量: 1.0 mL/min; 检测波长: 280 nm。

在上述液相色谱条件下, 溴甲纳曲酮和化合物 1、2、3 的保留时间分别为 17.429、8.39、14.724、35.67 min, 本试验对破坏后的样品及合成的降解杂质在同样条件下进行了液相色谱测试, 通过对光降解、氧化降解及碱破坏后杂质峰的相对保留时间的对比认为破坏后样品中出现的杂质峰与合成的杂质的相对保留时间分别一致, 因此可以证明合成的杂质即为破坏后产生的杂质。见图 2。



1-溴甲纳曲酮 2, 5-化合物 1 3, 6-化合物 2 4, 7-化合物 3  
1- methylnaltrexone bromide 2, 5-compound 1 3, 6-compound 2 4, 7-compound 3

图 2 溴甲纳曲酮 (A)、化合物 1 (B)、化合物 2 (C)、化合物 3 (D)、光照 (E)、氧化 (F)、碱破坏 (G) 溴甲纳曲酮的 HPLC 色谱图

Fig. 2 HPLC chromatograms of methylnaltrexone bromide (A), compound 1 (B), compound 2 (C), compound 3 (D), methylnaltrexone bromide under light (E), oxidation (F), and alkaline (G) conditions

### 3 结果与讨论

对溴甲纳曲酮进行光照、氧化剂氧化、碱破坏后发现溴甲纳曲酮样品中均出现了较大的杂质,通过查阅文献,确认光照及氧化后的杂质具有潜在的基因毒性,碱性条件下产生的杂质未见报道。文献中对光照产物及氧化产物的合成或分离方法报道的过程较为复杂,本论文在文献的基础上对光照及氧化杂质的制备、合成及分离方法进行了改进,提高了收率,优化了分离方法,使分离方法更简单,产品纯度更高。另外本研究还对文献未报道的碱性降解杂质进行了合成及结构确认,确认了溴甲纳曲酮注射液在碱性条件下破坏产生的杂质即为化合物**3**。

#### 参考文献

- [1] U.S. FDA approves relistor for opioid-induced constipation; Drug will help reduce effects of drugs like morphine on bowel function [EB/OL]. (2008-04-24). <http://www.fda.gov/ewsEvents/newsroom/PressAnnouncements/2008/ucm116885.htm>.
- [2] Liu Z, Tang L, Zou P, *et al.* Synthesis and biological evaluation of allylated and prenylated mono-carbonyl analogs of curcumin as anti-inflammatory agents [J]. *Eur J Med Chem*, 2014, 74: 671-682.
- [3] Finlay B B, McFadden G. Anti-immunology: evasion of the host immune system by bacterial and viral pathogens [J]. *Cell*, 2006, 124(4): 767-782.
- [4] Chen T Y, Rosow C E, Serradel N, *et al.* Methylnaltrexone bromide: opioid receptor antagonist treatment of constipation treatment of postoperative ileus [J]. *Drug future*, 2007, 32(9): 771-775.
- [5] 赛诺菲 - 安万特. 制备 *N*-烷基纳曲酮卤化物的方法 [P]. 中国: 102225939A, 2009-08-26.
- [6] Peter W X, Cantrell G L, Halvachs R E, *et al.* Halvach process for the preparation of quaternary *n*-alkyl morphinan alkaloid salts [P]. WO: 2004043964, 2014-03-11.
- [7] Nataliya B, Donato G J, Fabian S R, *et al.* Peripheral opioid receptor antagonists and uses thereof [P]. WO: 20102676881, 2013-04-16.
- [8] Hudlicky T, Carroll R, Leisch H, *et al.* Processes for the preparation of morphinane and morphinone compounds [P]. WO: 2010121369, 2010-10-28.
- [9] 杨琼瑶, 李 赟. 溴甲纳曲酮有关物质的 HPLC-MS 分析 [J]. *药学与临床研究*, 2011, 19(4): 373-376.