

• 实验研究 •

脱氢环氧甲基醌霉素的合成工艺改进研究

汪岩峰, 余卫麟, 胡克余, 邓双炳, 马俊*
深圳万和制药有限公司, 广东 深圳 518057

摘要: 目的 对脱氢环氧甲基醌霉素 (DHMEQ) 的合成工艺进行改进研究。方法 以阿司匹林和 2,5-二甲氧基苯胺为起始原料, 经缩合、碘苯二乙酯氧化、过氧化氢环氧化、酸催化脱缩酮保护、NaBH₄ 还原成目标化合物, 关键的环氧化步骤采用 HPLC 监控并通过调整反应条件进行工艺优化。结果 剔除了柱色谱步骤, 优化后制得的目标化合物质量分数为 99.4%, 工艺总收率为 30.0%。结论 DHMEQ 的合成工艺改进后操作简便, 产品质量可控, 适合工业化生产。

关键词: 脱氢环氧甲基醌霉素; NF-κB 抑制剂; 合成工艺; 工业化生产

中图分类号: R914 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2017)04-0553-04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2017.04.001

Improvement of method for synthesis of dehydroxymethylepoxyquinomicin

WANG Yan-feng, YU Wei-lin, HU Ke-yu, DENG Shuang-bing, MA Jun
Shenzhen Wanhe Pharmaceutical Co., Ltd., Shenzhen 518057, China

Abstract: Objective To study the improved method for synthesis of dehydroxymethylepoxyquinomicin (DHMEQ). **Methods** Aspirin and 2,5-dimethoxyaniline were used as starting materials to synthesize the target compound by condensation, oxidation with (diacetoxyiodo)benzene, epoxidation with hydrogen peroxide, deketalization by acid catalysis, and NaBH₄ reduction. The key process was the epoxidation reaction that was monitored by HPLC, and reaction condition was adjusted to optimize the synthetic process. **Results** The process of column chromatography could be eliminated. After optimization, the purity of target compound was 99.4%, and the total recovery of the synthetic route was 30.0%. **Conclusion** After optimization, the synthetic process of DHMEQ has the advantage of simple operation, and the product quality can be controlled. Therefore, the improved method for synthesis of DHMEQ is suitable for industrial production of drugs.

Key words: dehydroxymethylepoxyquinomicin; NF-κB inhibitor; synthetic process; industrial production

脱氢环氧甲基醌霉素 (DHMEQ), 化学名 2-Hydroxy-N-(2-hydroxy-5-oxo-7-oxa-bicyclo-[4.1.0]hept-3-en-3-yl)benzamide, 是由抗生素结构改造合成的一种新型小分子 NF-κB 抑制剂, 经鉴定特异性抑制 NF-κB 移位入核^[1], 其以 1:1 的化学计量比共价修饰 p65 和其他 Rel 同源蛋白中的特定半胱氨酸残基^[2]。DHMEQ 被证明对包括实体瘤、血液恶性肿瘤、关节炎、肠缺血和动脉粥样硬化在内的癌症和炎症具

有广谱效力^[3-5]。

竹内富雄等^[6]以阿司匹林为原料合成 DHMEQ, 总收率为 9.0%, 本研究组重复了该专利方法, 总收率为 9.8%, 但工艺过程需要柱色谱分离, 且最终产品 DHMEQ 的质量分数只有 90%, 无法满足药用要求。Suzuki 等^[7]用类似的路线, 操作更为复杂且每一步都要进行柱色谱分离或制备薄层色谱分离, 虽然总收率为 30.7%, 但不具备放大可行性。

收稿日期: 2016-12-05

基金项目: 国家科技重大专项 (2012ZX09103101-004); 广东省战略性新兴产业核心技术攻关项目 (2012A080800010); 深圳市技术研究开发计划 (三大产业) 项目 (JSA201105090126A)

作者简介: 汪岩峰 (1965—), 男, 江西婺源人, 硕士, 研究方向为药物化学。E-mail: wangyanfeng@wanhe-phar.com

*通信作者 马俊, 男, 博士, 研究方向为药物化学。Tel: (0755)86158262 E-mail: majun@wanhe-phar.com

本研究对 DHMEQ 的合成工艺进行了改进, 以阿司匹林为原料经酰氯活化后与 2,5-二甲氧基苯胺缩合, 用碘苯二乙酯氧化、过氧化氢环氧化、酸催化脱缩酮保护, 再用 NaBH_4 还原成目标化合物, 且经 MS、 $^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$ 进行了结构确证。关

键的环氧化步骤采用 HPLC 监控反应进程, 并通过调整反应条件和优化后处理步骤剔除了柱色谱操作, 总收率达到 30.0%, DHMEQ 粗品质量分数达到了 94.6%, 进一步精制后在 99% 以上, 符合药用要求。合成路线见图 1。

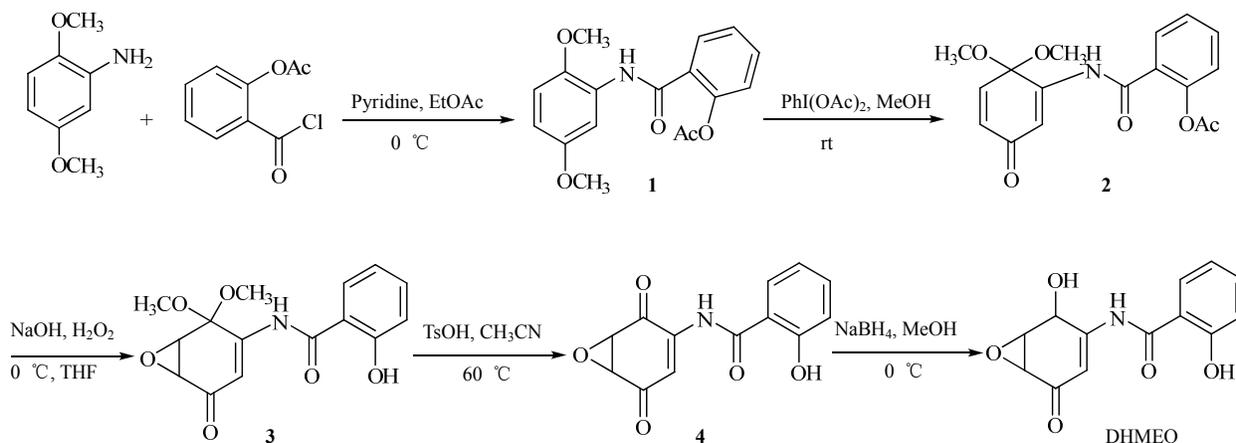


图 1 DHMEQ 的合成路线

Fig. 1 Synthetic route of DHMEQ

1 仪器与试剂

Bruker Av 400 MHz 或 600 MHz 核磁共振波谱仪; Bruker Maxis impact 质谱仪; Waters e2695/2998 高效液相色谱仪。

阿司匹林由山东新华制药股份有限公司提供, 质量分数为 99.5%; 2,5-二甲氧基苯胺由上海宇亨医药科技中心提供, 质量分数为 97%; 碘苯二乙酯由百灵威试剂, 质量分数为 98%; 其余均为常用市售试剂。

2 方法与结果

2.1 N-(2-乙酰氧基苯甲酰基)-2,5-二甲氧基苯胺 (1) 的合成

乙酰水杨酰氯醋酸乙酯溶液的合成: 向 100 mL 四口烧瓶中加入阿司匹林 (20.00 g, 0.110 mol) 和二氯亚砷 (11.0 mL, 0.160 mol), 装配温度计和冷凝管 (冷凝管口接烧碱池), 搅拌下滴加 2 滴吡啶, 逐步升温至 70 °C, 待吸收池不冒泡时停止反应, 并改成减压蒸馏, 蒸除过量的二氯亚砷。降温, 加入 35 mL 醋酸乙酯备用。

向 500 mL 烧瓶中加入 2,5-二甲氧基苯胺 (18.50 g, 0.120 mol) 和 100 mL 醋酸乙酯、35 mL 吡啶, 搅拌使溶解, 冷却到 0 °C, 滴加上述乙酰水杨酰氯

的醋酸乙酯溶液, 反应完成后加入 20 mL 水和 50 mL 醋酸乙酯。分出有机相, 依次用 100 mL 3 mol/L 盐酸、100 mL 水、100 mL 2% 碳酸氢钠、100 mL 饱和氯化钠水溶液洗涤, 硫酸钠干燥。减压浓缩得化合物 1 (32.00 g), 收率 91.5%, HPLC 归一化法测得质量分数为 95.6%。ESI-MS m/z : 338.1 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ : 2.36 (s, 3H, OCOCH_3), 3.82 (s, 3H, OCH_3), 3.87 (s, 3H, OCH_3), 6.62 (m, 1H, Ar-H), 6.83 (d, $J=9.0\text{Hz}$, 1H, Ar-H), 7.17 (d, $J=9.0\text{Hz}$, 1H, Ar-H), 7.37 (t, 1H, Ar-H), 7.52 (t, 1H, Ar-H), 7.99 (d, $J=7.8\text{Hz}$, 1H, Ar-H), 8.32 (s, 1H, Ar-H), 8.94 (s, 1H, NH), 上述数据与文献报道^[6-7]基本一致。

2.2 3-O-乙酰水杨酰胺基-4,4-二甲氧基-2,5-环己二烯酮 (2) 的合成

向 500 mL 烧瓶中加入化合物 1 (28.00 g, 0.089 mol) 和 280 mL 甲醇, 搅拌溶解, 逐步加入碘苯二乙酯 (37.20 g, 0.115 mol)。反应完成后减压浓缩, 加入 200 mL 醋酸乙酯, 5% 碳酸钠洗, 饱和氯化钠水溶液洗, 减压浓缩后加入 200 mL 石油醚搅拌, 滤过得化合物 2 (21.71 g), 收率 73.8%, 质量分数

93.2%。ESI-MS m/z : 354.1 $[M+Na]^+$ 。 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 2.46 (s, 3H, $OCOCH_3$), 3.30 (s, 6H, OCH_3), 6.48 (m, 1H, =CH), 6.60 (d, $J=10.2$ Hz, 1H, =CH), 7.20 (m, 1H, Ar-H), 7.38 (s, 1H, =CH), 7.56 (m, 2H, Ar-H), 8.05 (m, 1H, Ar-H), 8.87 (s, 1H, NH), 上述数据与文献报道^[6-7]基本一致。

2.3 5,6-环氧-4,4-二甲氧基-3-水杨酰胺基-2-环己烯酮 (3) 的合成

向 1 L 烧瓶中加入化合物 2 (20.00 g, 0.060 mol) 和 250 mL 四氢呋喃, 冷却到 0 °C, 滴加 2 mol/L 氢氧化钠水溶液 (150 mL, 0.300 mol) 和 30% 过氧化氢 (36.8 mL, 0.360 mol), HPLC 监控反应进程。反应完成后滴加 2 mol/L 盐酸调 pH 值至中性。加入 400 mL 醋酸乙酯和 100 mL 20% 亚硫酸钠水溶液, 搅拌, 分液, 有机相用 300 mL 饱和氯化钠水溶液洗涤, 硫酸钠干燥。减压浓缩, 得油状化合物 3 (16.92 g), 收率 91.8%。质量分数 69.6%。ESI-MS m/z : 304.1 $[M-H]^-$, 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 3.35 (s, 3H, OCH_3), 3.58 (dd, 1H, $J=4.1$ 、2.0 Hz, epoxy-H), 3.74 (s, 3H, OCH_3), 3.90 (d, 1H, $J=4.1$ Hz, epoxy-H), 6.94 (m, 1H, Ar-H), 7.04 (dd, 1H, $J=8.2$ 、1.2 Hz, Ar-H), 7.22 (d, 1H, $J=2.1$ Hz, Ar-H), 7.40 (d, 1H, $J=1.2$ Hz, C=CH), 7.48 (m, 1H, Ar-H), 8.70 (s, 1H, NH), 11.33 (s, 1H, Ar-OH), 上述数据与文献报道^[6-7]基本一致。

2.4 5,6-环氧-2-水杨酰胺基-2-环己烯-1,4-二酮 (4) 的合成

向 500 mL 烧瓶中加入化合物 3 (16.00 g, 0.037 mol)、160 mL 乙腈和 9.50 g 一水对甲苯磺酸, 60 °C 反应 1 h, 浓缩至约一半后倾入 2 000 mL 水中, 析出的固体滤过、水洗, 减压干燥得化合物 4 (8.90 g), 收率 94.1%, 质量分数 93.3%。ESI-MS m/z : 282.0 $[M+Na]^+$ 。 1H -NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 3.95 (dd, $J=3.6$ 、2.4 Hz, 1H, epoxy-H), 4.16 (d, $J=3.6$ Hz, 1H, epoxy-H), 7.01 (m, 2H, Ar-H), 7.43 (d, $J=2.4$ Hz, 1H, C=CH), 7.47 (m, 1H, Ar-H), 7.93 (m, 1H, Ar-H), 11.19 (s, 1H, NH), 12.02 (s, 1H, Ar-OH), 上述数据与文献报道^[6-7]基本一致。

2.5 DHMEQ 的合成

向 250 mL 烧瓶中加入化合物 4 (8.00 g, 0.031 mol) 和 80 mL 甲醇, 冷却到 0 °C, 逐步加入

硼氢化钠 (1.38 g, 0.036 mol), 反应完成后加入 2 mol/L 盐酸调至中性, 滤过, 甲醇洗涤, 减压干燥得 DHMEQ (5.95 g), 收率 73.8%, 质量分数 94.6%。元素分析 ($C_{13}H_{11}NO_5$): C (59.49), H (4.24), N (5.17); ESI-MS m/z : 260.3 $[M-H]^-$; 1H -NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 3.45 (dd, $J=4.2$ 、2.3 Hz, 1H, epoxy-H), 3.87 (dd, $J=4.2$ 、2.6 Hz, 1H, epoxy-H), 4.84 (d, $J=7.7$ Hz, 1H, C(OH)-H), 6.71 (d, $J=7.9$ Hz, 1H, C=CH), 6.97 (t, $J=7.3$ Hz, 1H, Ar-H), 7.01 (d, $J=8.2$ Hz, 1H, Ar-H), 7.04 (s, 1H, C-OH), 7.45 (td, $J=8.7$ 、1.7 Hz, 1H, Ar-H), 7.95 (dd, $J=7.9$ 、1.5 Hz, 1H, Ar-H), 11.08 (s, 1H, NH), 11.82 (s, 1H, Ar-OH); ^{13}C -NMR (100 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 52.9, 53.5, 64.4, 105.4, 117.0, 118.2, 119.9, 131.1, 134.3, 151.4, 156.2, 164.8, 194.0, 上述数据与文献报道^[6-7]基本一致。

本合成路线的总收率为 30.0%。DHMEQ 进一步用甲醇精制后质量分数为 99.4%。

3 讨论

合成化合物 1 步骤浓缩时温度不能高于 60 °C, 否则杂质迅速增加, 本课题组在前期研究^[8]中运用 HPLC 法对化合物 1 及其杂质进行了检测; 用碘苯二乙酯氧化化合物 1 合成化合物 2 时生成大量的副产物碘苯, 通过石油醚洗涤后, 滤过即可除去; 制备化合物 3 步骤的反应时间不能过长, HPLC 监控反应率达到 85% 左右即可停止反应, 否则产物 3 会进一步发生副反应, 不利于整体的收率和质量; 合成化合物 4 时用醋酸、盐酸和三氟乙酸替代对甲苯磺酸催化脱缩酮反应, 结果表明对甲苯磺酸和三氟乙酸最佳; 用三乙酰氧基硼氢化钠还原化合物 4 合成 DHMEQ 的效果无论收率还是质量分数都不如硼氢化钠, 反应完成后要立刻处理, 否则收率和质量分数会下降。

本课题组优化工艺后每步中间体均不用精制, 免去了柱色谱分离环节, 制备的 DHMEQ 经 MS、 1H -NMR、 ^{13}C -NMR 进行了结构确证, 建立了每步中间体的质量控制方法并进行了放大研究, 本合成路线的总收率为 30.0%, 质量分数为 99.4%。结果表明本方法操作简便, 产品质量可控, 适合工业化生产。

参考文献

- [1] Ariga A, Namekawa J, Matsumoto N, *et al.* Inhibition of TNF- α -induced nuclear translocation and activation of

- NF- κ B by dehydroxymethyl-epoxyquinomicin [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(27): 24625.
- [2] Yamamoto M, Horie R, Takeiri M, *et al.* Inactivation of NF- κ B components by covalent binding of (-)-dehydroxymethyl-epoxyquinomicin to specific cysteine residues [J]. *J Med Chem*, 2008, 51(18): 5780-5788.
- [3] Matsumoto N, Ariga A, To-e S, *et al.* Synthesis of NF- κ B activation inhibitors derived from epoxyquinomicin C [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2000, 10(9): 865
- [4] Umezawa K. Inhibition of tumor growth by NF- κ B inhibitors [J]. *Cancer Sci*, 2006, 97(10): 990-995.
- [5] Horie R, Watanabe T, Umezawa K. Blocking NF- κ B as a potential strategy to treat adult T-cell leukemia/lymphoma [J]. *Drug News Perspect*, 2006, 19(4): 201-209.
- [6] 竹内富雄, 梅泽一夫, 东江咲乃, 等. 水杨酸酰胺衍生物 [P]. 中国: 1368954A, 2002-09-11.
- [7] Suzuki Y, Sugiyama C, Ohno O, *et al.* Preparation and biological activities of optically active dehydroxymethyl-epoxyquinomicin, a novel NF- κ B inhibitor [J]. *Tetrahedron*, 2004, 60: 7061-7066.
- [8] 胡克余, 汪岩峰, 余卫麟, 等. HPLC 法检测脱氢环氧甲基醌霉素中间体 *N*-(2-乙酰氧基苯甲酰基)-2,5-二甲氧基苯胺及其杂质 [J]. 中国药房, 2016, 27(36): 5125-5127.