

## · 实验研究 ·

## 马来酸氟吡汀中杂质 D14461 及其氟吡汀二聚物的合成研究

张存彦<sup>1,2</sup>, 王路锋<sup>2</sup>, 刘畅<sup>2</sup>, 徐旭<sup>3</sup>

1. 天津大学 化工学院, 天津 300072
2. 天津红日药业股份有限公司, 天津 301700
3. 天津药物研究院, 天津 300193

**摘要:** **目的** 研究马来酸氟吡汀中杂质 D14461 及其氟吡汀二聚物的合成研究。**方法** 以对氟苄胺和 2-氨基-3-硝基-6-氯吡啶为起始原料, 通过亲核取代反应得到 2-氨基-3-硝基-6-对氟苄氨基吡啶 (ANFP), 随后经氢化还原, 光照聚合一锅法反应生成两个目标化合物, 经制备液相分离纯化得到纯品。**结果** 制备了马来酸氟吡汀中的杂质 D14461 及其氟吡汀二聚物, 利用 MS、<sup>1</sup>H-NMR 和 <sup>13</sup>C-NMR 确证了结构, 质量分数分别为 99.92%、99.95%, 并推测了其可能的生成机制。**结论** 杂质 D14461 和氟吡汀二聚物的合成和纯化为马来酸氟吡汀的杂质研究提供了理论依据。

**关键词:** 马来酸氟吡汀; 对氟苄胺; 2-氨基-3-硝基-6-氯吡啶; 杂质; D14461; 氟吡汀二聚物

**中图分类号:** R913 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2018)12-3087-05

**DOI:** 10.7501/j.issn.1674-5515.2018.12.001

## Synthesis of impurities D14461 and the polymer of flupirtine in flupirtine maleate

ZHANG Cun-yan<sup>1,2</sup>, WANG Lu-feng<sup>2</sup>, LIU Chang<sup>2</sup>, XU Xu<sup>3</sup>

1. School of Chemical Engineering and Technology, Tianjin University, Tianjin 300072, China
2. Tianjin Chasesun Pharmaceutical Co., Ltd, Tianjin 301700, China
3. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

**Abstract: Objective** To study the synthesis of impurities D14461 and the polymer of flupirtine. **Methods** 4-Fluorobenzylamine and 2-amino-6-chloro-3-nitropyridine were used as starting materials to synthesize 2-amino-3-nitro-6- p-fluorobenzylamino-pyridine (ANFP) by nucleophilic substitution reactions. The two target compounds were synthesized by hydrogenation reduction and photopolymerization in one-pot, and they were purified by preparative chromatography. **Results** The impurities D14461 and the polymer of flupirtine in flupirtine maleate were synthesized and characterized by MS, <sup>1</sup>H-NMR, and <sup>13</sup>C-NMR method. And the purity detected were 99.92% and 99.95%, respectively. Formation mechanism of impurities D14461 and the polymer of flupirtine were presumed. **Conclusion** The synthesis and purification of impurities D14461 and the polymer of flupirtine provide the theoretical basis for the study of impurities in flupirtine maleate.

**Key words:** flupirtine maleate; 4-fluorobenzylamine; 2-amino-6-chloro-3-nitropyridine; impurity; D14461; the polymer of flupirtine

马来酸氟吡汀化学名为 2-氨基-3-乙酰氨基-6-(p-氟苯氨基)-吡啶, 原研厂家为德国 AWD 制药股份有限公司, 于 1986 年在德国上市, 后在巴西和葡萄牙上市。我国于 2006 年 9 月批准马来酸氟吡汀胶囊进口。马来酸氟吡汀是一种选择性神经元钾通道开放剂, 为作用于中枢神经系统的非阿片类镇痛药,

不产生依赖性和耐受性。为保证产品质量, 需要对其生产过程中的有关物质进行进一步的研究, 推测杂质结构及其产生原因, 为进一步优化工艺, 控制产品质量提供保障<sup>[1-6]</sup>。马来酸氟吡汀为氨基吡啶类化合物, 对空气及光照比较敏感, 在合成及贮存过程中遇氧气及光照条件下容易变色。为研究并控制

收稿日期: 2018-09-15

作者简介: 张存彦, 男, 研究方向为药物合成工艺以及新药设计。E-mail: zhangcunyan1976@sina.com

该产品的质量，需要制备其有关物质作为对照品。本文采用氢化还原 2-氨基-3-硝基-6-对氟苄胺基吡

啉后酰化、成盐等步骤制备杂质 D14461 及其氟吡汀二聚物，合成路线见图 1。

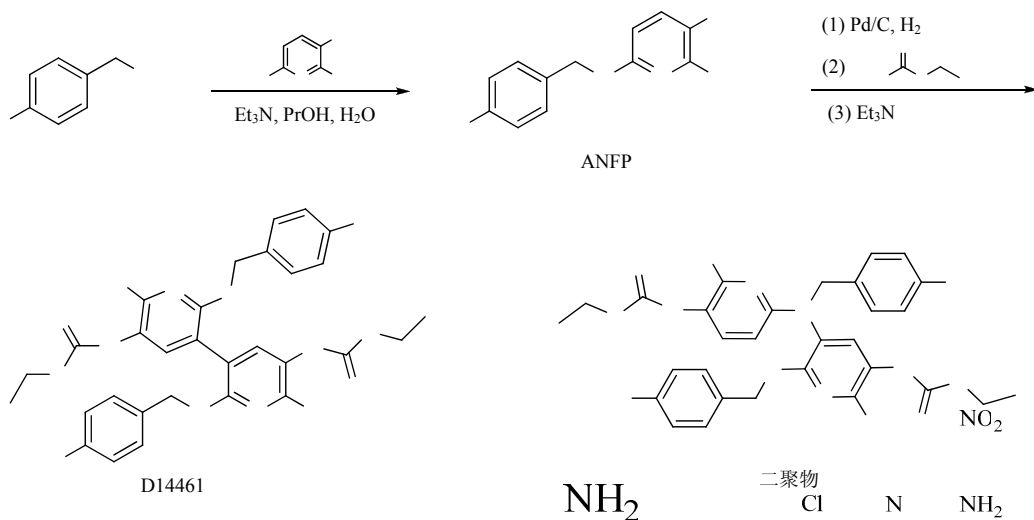


图 1 D14461 和氟吡汀二聚物的合成路线

Fig. 1 Synthetic route of D14461 and the polymer of flupirtine

## 1 仪器与试剂

### 1.1 仪器

Varian MercuryPlus 400 MHz 核磁共振仪; Agilent 6230 TOF 质谱仪; Agilent 1260 高效液相色谱仪; Thermo U3000 Agilent 1200 高效液相色谱仪; ECA 400 MHz 核磁共振仪; Waters 2545/2489/WFCIII 制备液相色谱仪。

### 1.2 试剂

2-氨基-3-硝基-6-氯吡啉，质量分数  $\geq 98\%$ ，由天津市维智精细化工有限公司提供; 对氟苄胺，质量分数  $\geq 95\%$ ，由北京嘉瑞时代科技有限公司提供; 钯碳 (5%) 由宝鸡市博通有色金属有限责任公司提供; 所用溶剂均来自于国药集团化学试剂有限公司，使用前未经进一步提纯。马来酸氟吡汀样品，自制，产品批号 120501; 马来酸氟吡汀对照品，Sigma 公司提供，产品批号 089K47043。

## 2 方法与结果

### 2.1 2-氨基-3-硝基-6-对氟苄胺基吡啉 (ANFP) 的合成<sup>[7]</sup>

向 250 mL 三口烧瓶中，加入正丙醇 (100 mL)，搅拌下依次加入三乙胺 (21 mL, 0.15 mol)、对氟苄胺 (12.5 g, 0.1 mol) 和 2-氨基-3-硝基-6-氯吡啉 (17.4 g, 0.1 mol); 加热至回流，二氯甲烷-甲醇 (15:1) 为展开剂，TLC 跟踪反应进度，反应完

后，将反应液滴加入 100 mL 纯化水中，静止析晶，滤过，干燥，得化合物 ANFP (25 g, 0.96 mol)，总收率 96%，mp 177.2~177.8 °C。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 8.38~7.964 (m, 4H, Py-H, NH<sub>2</sub>, NH), 7.415~7.38 (m, 2H, Ar-H), 7.185~7.143 (m, 2H, Ar-H), 6.018~5.995 (d, 1H, Py-H), 4.57~4.56 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 162.97, 160.8, 160.6, 156.2, 135.7, 135.7, 135.0, 130.2, 130.2, 118.0, 115.7, 115.5, 115.4, 102.8。HR-ESI-MS *m/z*: 263.0912 [M+H]<sup>+</sup>。

### 2.2 一锅法制备马来酸氟吡汀杂质<sup>[8-9]</sup>

将化合物 ANFP (20 g, 0.076 mol)，钯碳 (5%，2.5 g) 和甲醇 (100 mL) 加入氧化釜中。保持氧化釜内压力为 1.0~2.0 MPa，温度 55 °C。TLC 监控反应完毕后，二氯甲烷-甲醇 (10:1) 为展开剂，反应体系降温至 0 °C，滴加氯甲酸乙酯 (10.9 g, 0.1 mol)，二氯甲烷-甲醇 (15:1) 为展开剂，TLC 检测反应进度，反应完全后，保持温度不变，向反应体系中加入三乙胺 (15.2 g, 0.15 mol)，继续搅拌 30 min，滤过，滤液在光照下继续反应 24 h，减压浓缩，收集固体干燥即得。

### 2.3 马来酸氟吡汀杂质的分离纯化<sup>[10]</sup>

色谱条件: YMC-AQ 色谱柱 (250 mm × 20 mm, 10 μm); 流动相: 甲醇 (A) - [水 - 0.01% 三氟乙

F

+

酸水溶液 - 12 mmol/L 醋酸铵] (B), 梯度洗脱: 0~20 min, 7%→28%A, 20~25 min, 28%→7%A; 体积流量: 30 mL/min; 柱温: 40 °C; 检测进样量: 3 mL; 波长: 254 nm。

将氟吡汀杂质粗品配制成甲醇溶液 (0.1 g/mL), 在上述色谱条件下进行分离纯化, 将收集到的样品进行减压浓缩至干, 得马来酸氟吡汀杂质 D14461 (526 mg) 和氟吡汀二聚物 (446 mg)。

D14461: 质量分数为 99.92%。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 8.31 (s, 2H, NH), 7.31 (m, 4H, ArCH), 7.01 (m, 4H, ArCH), 6.95 (s, 2H, PyCH), 5.34 (s, 4H, NH<sub>2</sub>), 5.28 (q, 2H, NH), 4.41 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.04 (q, 2H, CH<sub>2</sub>), 1.21 (t, 6H, CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 162.2, 160.6, 155.4, 152.5, 152.3, 138.0, 137.0, 129.9, 129.8, 115.1, 115.0, 107.9, 105.3, 60.5, 44.1, 15.1。HR-ESI-MS *m/z*: 607.259 0 [M+H]<sup>+</sup>。

氟吡汀二聚物: 质量分数为 99.95%。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 8.24 (s, 1H, NH), 7.36 (m, 2H, ArCH), 7.29 (m, 2H, ArCH), 7.16 (s, 1H, ArCH), 7.12 (d, 1H, PyCH), 7.11 (m, 2H, ArCH), 7.02 (m, 2H, ArCH), 6.69 (t, 1H, NH), 5.71 (d, 1H, PyCH), 5.30 (s, 4H, NH<sub>2</sub>), 4.48 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.37 (d, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.04 (m, 4H, CH<sub>2</sub>), 1.20 (t, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.11 (t, 3H, CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 162.6, 160.2, 156.7, 155.4, 155.3, 154.4, 151.9, 151.0, 137.9,

137.6, 137.5, 134.2, 129.7, 129.6, 129.5, 129.4, 137.7, 115.4, 115.2, 115.0, 114.9, 113.0, 106.7, 96.6, 61.8, 60.5, 44.0, 43.5, 15.0, 14.9。HR-ESI-MS *m/z*: 607.258 7 [M+H]<sup>+</sup>。

## 2.4 杂质的验证

**2.4.1 色谱条件** Agilent Eclipse XDB-C<sub>18</sub> 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 以乙腈(A) - 0.02 mol/L 磷酸二氢铵溶液(B)为流动相, 梯度洗脱, 0~18 min, 30%A, 18~50 min, 30%→70%A, 50~60 min, 70%→30%A; 柱温 25 °C; 体积流量 1.0 mL/min; 检测波长 248 nm。

**2.4.2 溶液的制备** 取马来酸氟吡汀对照品适量, 用初始流动相制成 0.15 mg/mL 的溶液, 作为马来酸氟吡汀对照品溶液; 取杂质 D14461、氟吡汀二聚物各 9 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加甲醇适量, 微热使溶解, 放冷, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 作为混合杂质对照品溶液; 精密称取马来酸氟吡汀粗品约 15 mg, 置 10 mL 量瓶中, 加流动相适量, 超声 10 min, 放至室温, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取滤液作为马来酸氟吡汀粗品溶液; 精密称取马来酸氟吡汀约 15 mg、杂质 D14461 和氟吡汀二聚物各 9 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加流动相适量, 超声 10 min, 放至室温, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取滤液作为马来酸氟吡汀杂质混合溶液; 精密量取马来酸氟吡汀对照品溶液、混合杂质对照品马来酸氟吡汀粗品溶液和马来酸氟吡汀杂质混合溶液各 20 μL 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 见图 2。

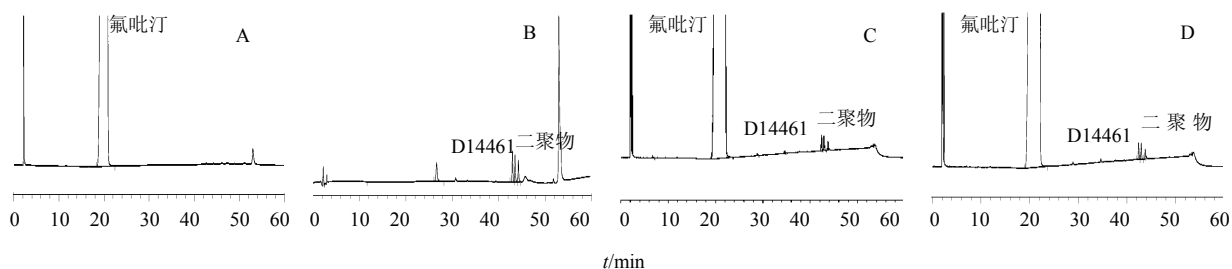


图 2 马来酸氟吡汀对照品溶液 (A)、混合杂质对照品溶液 (B)、马来酸氟吡汀粗品溶液 (C) 和马来酸氟吡汀杂质混合溶液 (D) 的 HPLC 色谱图

Fig. 2 HPLC chromatograms of fluopyridine maleate reference solution (A), mix impurity reference solution (B), fluopyridine maleate crude solution (C), and fluopyridine maleate impurity mixture solution (D)

**2.4.3 杂质的验证** 如图 2 所示, 杂质 D14461 及其氟吡汀二聚物的相对保留时间分别为 1.79、1.81; 马来酸氟吡汀杂质供试品溶液中分离得到的

D14461 及其氟吡汀二聚物与混合杂质对照品溶液中的杂质出峰时间一致。说明在分离制备过程中, 杂质未发生变化, 该方法适合这两个杂质的制备。

且将杂质 D14461 及其氟吡汀二聚物化合物加入到马来酸氟吡汀粗品溶液中进行高效液相色谱分析, 结果显示对应的杂质峰都明显增加, 即可确定杂质 D14461 及其氟吡汀二聚物即为马来酸氟吡汀粗品中的两个主要杂质。

2.4.4 杂质 D14461 及其氟吡汀二聚物产生的机制

推测 氟吡汀经电子转移生成化合物 a, 化合物 a 在光照和氧化的作用下得到自由基中间体 b, 两分子的中间体 b 通过自由基聚合即可得到 D14461; 化合物 b 经过进一步的光照和氧化的作用后会得到碳正离子化合物 c, 化合物 c 与一分子氟吡汀聚合得到氟吡汀二聚物杂质。见图 3。

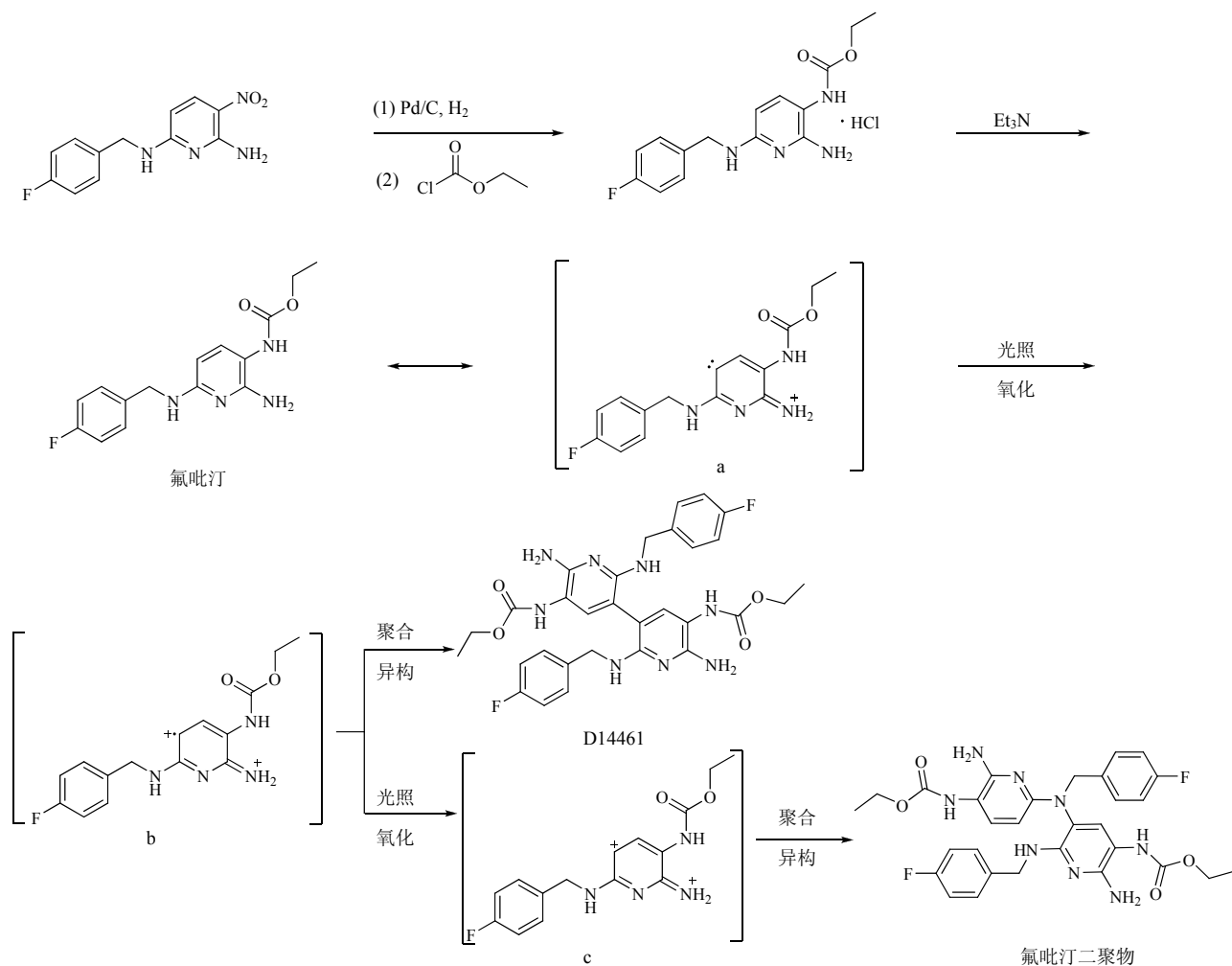


图 3 杂质 D14461 及其氟吡汀二聚物产生的机制

Fig. 3 Formation mechanism of impurities D14461 and the polymer of flupirtine

3 讨论

根据马来酸氟吡汀的结构特征和合成工艺, 本研究制备了 2 个有关物质: D14461 及氟吡汀二聚物, 并进行了结构确证。其中 D14461 为马来酸氟吡汀的主要杂质, 林子琦等<sup>[11]</sup>列出了一种 D14461 的合成方法, 该方法使用全合成的方法制备杂质, 步骤多, 反应比较繁琐, 陈小华<sup>[12]</sup>列出了用氧化剂催化制备杂质 D14461 的方法。

本文对马来酸氟吡汀的杂质 D14461 及氟吡汀二聚物采用合成的方法制备出粗品, 然后采用制备液相分离出纯品, 并对分离得到的杂质样品与马来酸氟吡汀的样品、混合杂质对照品溶液和马来酸氟吡汀的粗品进行了对比, 结果判定该杂质保留时间与粗品的杂质峰的保留时间一致, 初步推断该方法得到的杂质为目标样品 (D14461 和氟吡汀二聚物), 该方法适合杂质的分离制备。分析合成工艺得出该杂

质的原因,可能因为在马来酸氟吡汀后处理过程中见光诱导杂质的产生及增长。因此,氢化反应后处理时必须严格避免反应液发生光降解副反应,以减少该杂质的产生。

#### 参考文献

- [1] von Bebenburg W, Bickel E, Saus A. Synthesis of  $^{14}\text{C}$ -flupirtine maleate [J]. *Arzneimittelforschung*, 1981, 35(1): 28-29.
- [2] Choi Y M, Kucharczyk N, Sofia R D. A nine-step synthesis of  $^{14}\text{C}$ flupirtine maleate labeled in the pyridine ring [J]. *J Labelled Compd Rad*, 2010, 24(1): 1-14.
- [3] Seydel J K, Schaper K J, Coats E A, et al. Synthesis and quantitative structure-activity relationships of anticonvulsant 2,3,6-triaminopyridines [J]. *J Med Chem*, 1994, 37(19): 3016-3022.
- [4] Orth W, Engel J. Process for the preparation of 2-amino-3-nitro-6-(4-fluorobenzylamino)pyridine and 2-amino-3-carbomethoxyamino-6-(4-fluorobenzylamino)pyridine [P]. DE: 3608762, 1986-10-02.
- [5] Stefan S, Walter K, Richard M. 2,3-dihydrospiro[1H-4-and 5-azabenzimidazole-2,1'-cyclohexane]: reactions with nucleophiles [J]. *Helv Chim Acta*, 1994, 77(8): 2175-2190.
- [6] European Medicines Agency. List of flupirtine-containing medicinal products in the EU [OL]. [2014-05-05]. [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Medicines\\_under\\_additional\\_monitoring/2014/02/WC500162060.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Medicines_under_additional_monitoring/2014/02/WC500162060.pdf).
- [7] Kurt T, Walter v B F. Certain substituted benzyl pyridyl methyl derivatives of 2-, 3- or 4- pyridyl carbamates [P]. US: 3513171A, 1970-05-19.
- [8] 杨尚彦, 温利民, 曹德峰. 马来酸氟吡汀的一锅法合成 [J]. *海峡药学*, 2016, 28(1): 211-212.
- [9] 董凯. 马来酸氟吡汀的合成工艺改进研究 [J]. *现代药物与临床*, 2017, 32(9): 1605-1608.
- [10] Zhuang T, Wang G, Cui X, et al. Isolation and structure characterization of two novel degradation products in flupirtine maleate f by prep-HPLC, LC-MS/Q-TOF and 2D-NMR [J]. *Chromatographia*, 2016, 79(15/16): 1041-1047.
- [11] 林子琦, 阎君, 白冰, 等. 一种氟吡汀二聚物的合成方法 [P]. CN: 104974087A, 2015-10-14.
- [12] 陈小花. 一种氟吡汀偶联物及其制备方法和用途 [P]. CN: 102850265B, 2015-11-25.