

4-羟基-2-(1*H*-吡唑-1-基)嘧啶-5-甲酸的合成工艺改进研究

郭慧敏^{1#}, 高 骏^{2,3#}, 段玉清³, 毕常芬³, 王绍杰^{2*}, 李祎亮^{3*}

1. 天津技术产权交易所有限公司, 天津 300203

2. 沈阳药科大学, 辽宁 本溪 117004

3. 中国医学科学院 北京协和医学院 放射医学研究所, 天津 300192

摘要: 目的 对 4-羟基-2-(1*H*-吡唑-1-基)嘧啶-5-甲酸的合成工艺条件进行优化。方法 以 1-脒基吡唑盐酸盐和乙氧基甲叉基丙二酸二乙酯为起始原料, 在三乙胺催化下环合得到中间体 4-羟基-2-(1*H*-吡唑-1-基)嘧啶-5-甲酸乙酯, 再经过氢氧化锂在四氢呋喃-水混合溶剂中水解得到目标化合物。结果 合成了目标化合物, 经 MS、¹H-NMR 确证了结构, 质量分数为 99.5%, 本合成工艺的总收率为 87%。结论 该合成工艺具有操作简单、反应条件温和、成本低、产率和纯度较高等优点, 适合工业化生产。

关键词: 脯氨酰羟化酶抑制剂; 4-羟基-2-(1*H*-吡唑-1-基)嘧啶-5-甲酸; 合成工艺

中图分类号: R913 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2018)12-3092-04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2018.12.002

Improvement of synthetic process of 4-hydroxy-2-(1*H*-pyrazol-1-yl)pyrimidine-5-carboxylic acid

GUO Hui-min¹, GAO Jun^{2,3}, DUAN Yu-qing³, BI Chang-fen³, WANG Shao-jie², LI Yi-liang³

1. Tianjin Technology Property Rights Exchange Co., Ltd, Tianjin 300203, China

2. Shenyang Pharmaceutical University, Benxi 117004, China

3. Institute of Radiation Medicine, Chinese Academy of Medical Science & Peking Union Medical College, Tianjin 300192, China

Abstract: Objective To optimize the synthetic process of 4-hydroxy-2-(1*H*-pyrazol-1-yl)-pyrimidine-5-carboxylic acid. **Methods** 1-Amidinopyrazole hydrochloride and diethylethoxymethylenemalonate were used as starting materials to obtain the intermediate ethyl 4-hydroxy-2-(1*H*-pyrazol-1-yl)pyrimidine-5-carboxylate through cyclization catalyzed by triethylamine. The title compound was obtained via hydrolysis by lithium hydroxide in mixed solvent of water and tetrahydrofuran. **Results** The target compound was synthesized and characterized by MS and ¹H-NMR. And the purity was 99.5%, and the total yield of this route was 87%. **Conclusion** The synthetic process has the advantages of simple operations, mild reaction conditions, low cost, high yield and purity, and is more suitable for industrial production.

Key words: prolyl hydroxylase inhibitor; 4-hydroxy-2-(1*H*-pyrazol-1-yl)pyrimidine-5-carboxylic acid; synthetic process

4-羟基-2-(1*H*-吡唑-1-基)嘧啶-5-甲酸是合成小分子脯氨酰羟化酶 (PHD) 选择性抑制剂的关键中间体。文献数据显示该类结构的 PHD 抑制剂具有抑制作用显著、半衰期适中、口服生物利用度优良

等优点^[1-4], 已成为当前第 3 代 PHD 抑制剂研发的关键药效团母核片段结构。已有文献报道本品的合成以 1-脒基吡唑盐酸盐、乙氧基甲叉丙二酸二乙酯 (EMME) 为起始原料^[5], 在强碱条件下经环合、水解

收稿日期: 2018-11-02

基金项目: 天津市自然科学基金青年项目 (18JCQNJC09500); 中国医学科学院医学与健康科技创新工程项目 (2016-I2M-3-022); 中央高校基本业务费项 (3332018117)

作者简介: 郭慧敏 (1988—), 女, 河北张家口人, 硕士, 主管药师, 从事生物医药类项目验收及成果转化研究。E-mail: guohuimin2011@126.com

高 骏 (1991—), 男, 河北沧州人, 博士在读, 从事辐射防护药研究。E-mail: gaojun_68@163.com

*通信作者 王绍杰 E-mail: sjwang_99@163.com

李祎亮 E-mail: liyiliang75@163.com

#并列第一作者

两步反应获得目标化合物，总收率约 54%。原文献方法得到的工艺产品收率低、纯度不理想，且操作条件繁琐。本研究重点对本品的关键影响因素、工艺条件进行考察和优化。

1 主要仪器与试剂

JJ500 型电子天平（常熟市双杰测试仪器厂）；B-540 熔点仪（瑞士布奇公司）；DF-101s 集热式恒温加热磁力搅拌器（巩义市予华仪器有限责任公司）；AV400 型核磁共振仪（Bruker 公司）；岛津 SPD-M20A 高效液相色谱仪（日本岛津公司）；Platisil ODS 色谱柱（150 mm×4.6 mm，5 μm，北京迪科马科技有限公司）；EMME、1-脒基吡啶盐酸盐、三乙胺（TEA）、氢氧化钠、甲醇钠（天津希恩思生化科技有限公司）；乙醇、四氢呋喃（天津市化学试剂六厂）。

2 方法与结果

2.1 4-羟基-2-(1H-吡啶-1-基)嘧啶-5-甲酸乙酯 (1) 的制备

向 2 000 mL 茄形瓶中加入 1-脒基吡啶盐酸盐（100.0 g，0.68 mol）、三乙胺（207.1 g，2.04 mol）、无水乙醇 500 mL，室温搅拌 30 min，加入 EMME（147.5 g，0.68 mol），升温至回流，搅拌 3 h。石油醚 - 醋酸乙酯（2：1）为展开剂，TLC 监测反应结束，降温至室温，减压蒸除约一半的乙醇。向反应液中补加水 500 mL，加入醋酸乙酯（150 mL×2）萃取，弃去有机相，水层滴加 1 mol/L 稀盐酸调 pH

值至 3~4，析出大量白色固体，搅拌 30 min，抽滤，干燥，得白色固体 141.1 g，收率 88.3%。mp 162.8~163.8 °C；ESI-MS m/z : 235.082 2 [M+H]⁺。¹H-NMR（400 MHz，CDCl₃）δ: 13.39（s，1H，OH），8.91（s，1H，pyrimidine-H），8.54（d， $J=3.6$ Hz，2H，pyrazole-H），7.84（dd， $J=2.0、1.2$ Hz，1H，pyrazole-H），6.68（dd， $J=3.6、2.0$ Hz，1H，pyrazole-H），4.46（q， $J=7.2$ Hz，2H，CH₂），1.28（t， $J=7.2$ Hz，3H，CH₃）。质量分数为 99.7%。

2.2 4-羟基-2-(1H-吡啶-1-基)嘧啶-5-甲酸的制备

向 2 000 mL 茄形瓶中加入四氢呋喃 700 mL、水 700 mL、单水氢氧化锂（89.6 g，2.13 mol），慢慢加入中间体 1（100 g，0.42 mol），室温搅拌 3.0 h。二氯甲烷 - 甲醇（5：1）为展开剂，TLC 监测反应结束，减压蒸除大部分四氢呋喃，加入醋酸乙酯（200 mL×2）萃取，弃去有机相，水层滴加 1 mol/L 稀盐酸调节 pH 值至 3~4，析出大量白色固体，搅拌 30 min，抽滤，干燥，得白色固体 87.9 g，收率 99.9%。mp 250.1~250.9 °C。ESI-MS m/z : 205.4 [M-H]⁻。¹H-NMR（400 MHz，DMSO-*d*₆）δ: 11.62（brs，1H，COOH），8.65（d， $J=2.8$ Hz，1H，pyrazole-H），8.50（d， $J=1.0$ Hz，1H，pyrazole-H），8.07（s，1H，pyrimidine-H），6.73（dd， $J=2.8、1.6$ Hz，1H，pyrazole-H）。质量分数为 99.5%。

本合成工艺的总收率为 87%，4-羟基-2-(1H-吡啶-1-基)嘧啶-5-甲酸的合成路线见图 1。

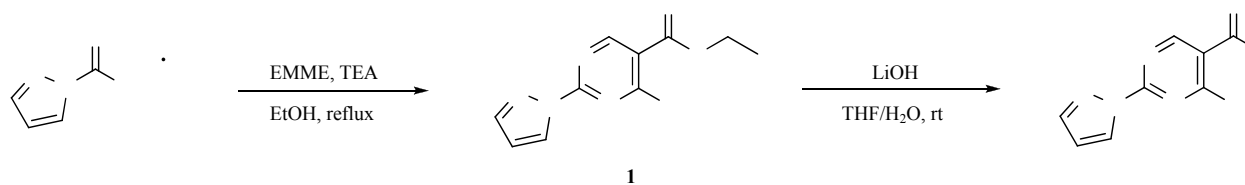


图 1 4-羟基-2-(1H-吡啶-1-基)嘧啶-5-甲酸的合成路线

Fig. 1 Synthetic route of 4-hydroxy-2-(1H-pyrazol-1-yl) pyrimidine-5-carboxylic acid

3 讨论

本合成工艺以 1-脒基吡啶盐酸盐、EMME 为起始原料，在三乙胺催化下环合得到中间体 4-羟基-2-(1H-吡啶-1-基)嘧啶-5-甲酸乙酯，再经过氢氧化锂在四氢呋喃 - 水混合溶剂中水解得到目标化合物。

3.1 环合反应碱催化剂的选择

采用文献方法以 1-脒基吡啶盐酸盐和 EMME 为起始原料，在乙醇钠作用下经环合反应得到中间

体 1，产率仅为 47%，且产物为淡黄色固体，纯度较低。分析认为强碱作用下，EMME 会发生自身缩合，从而导致反应收率降低、产物纯度降低。三乙胺（TEA）、*N,N*-二异丙基乙胺（DIPEA）为弱性有机碱，该类碱催化剂不会影响副产物产生。参考文献方法，以收率、纯度为指标，考察了不同强度的碱、物料配比对第 1 步环合反应的影响，不同类型的碱催化剂对环合反应结果的影响结果见表 1。

表 1 不同类型的碱催化剂对环合反应结果的影响

Table 1 Effects of different basic catalysts on yields and purity in cyclization reaction

编号	碱	投料物质的量	收率/%	质量分数/%
1	NaOEt	2.0	60.1	78.5
2	NaOMe	2.0	59.7	77.4
3	NaOH	2.0	55.3	64.8
4	DIPEA	2.0	79.8	99.3
5	TEA	2.0	80.2	99.7
6	DBU	2.0	48.1	99.3
7	TEA	1.5	77.4	99.6
8	TEA	2.0	79.5	99.7
9	TEA	3.0	88.3	99.7
10	TEA	4.0	85.6	99.6
11	TEA	5.0	79.8	99.3

实验结果显示,不同类型的碱对反应收率影响显著,其中 TEA、DIPEA 可显著提高反应收率、且产品纯度更为优良;TEA 投料配比的改变,对产品质量的影响无明显差异,但对收率的提高有一定的影响,优选配比为 1:3 时,收率较高,产品质量分数优良。

3.2 水解反应碱和溶剂的选择

采用文献方法对中间体 **1** 进行水解反应发现,使用氢氧化钠水溶液-乙醇混合体系为溶剂时,反应存在生成的黏稠物挂在容器壁上的现象,反应不充分,且有明显杂质生成。在本工艺中,以反应液黏度、收率、质量分数为指标,主要考察了氢氧化钠、氢氧化钾和氢氧化锂等无机碱以及乙醇、四氢呋喃和二甲氧六环与水混合溶剂两个因素对实验结果的影响。见表 2、3。

表 2 不同因素对水解反应结果黏度、收率、纯度的影响

Table 2 Effects of different factors on viscosity, yields and purity in hydrolysis reaction

编号	碱	溶剂 (2:1)	黏稠	收率/%	质量分数/%
1	KOH	EtOH - H ₂ O	是	92.9	98.2
2	KOH	Dioxane - H ₂ O	是	92.8	97.3
3	KOH	THF - H ₂ O	是	92.5	98.2
4	LiOH	EtOH - H ₂ O	否	93.6	99.2
5	LiOH	THF - H ₂ O	否	96.6	99.6
6	NaOH	THF - H ₂ O	是	91.8	97.2

表 3 溶剂对比对水解反应的考察

Table 3 Effects of different solvent composition on yields and purity in hydrolysis reaction

编号	THF - H ₂ O	黏稠	反应时间/h	收率/%	质量分数/%
1	0.3 : 1	否	7	89.3	98.2
2	0.5 : 1	否	4	89.6	99.1
3	1 : 1	否	2	99.9	99.7
4	2 : 1	否	6	96.9	99.6
5	3 : 1	是	9	95.7	99.6
6	5 : 1	是	11	81.6	98.9

实验结果显示,反应溶液黏稠度对产物的产率和纯度影响明显。当使用四氢呋喃和水作为反应溶剂时,反应液搅拌均匀;四氢呋喃比例的改变对反应的黏稠度影响明显,四氢呋喃用量减少,块状不溶物增加,搅拌不均匀,四氢呋喃用量减少,反应液黏度增加,当四氢呋喃和水为 1:1 时,反应中混悬物颗粒大小适中,反应体系搅拌均匀,且反应时间最短,产物纯度较高。碱的改变对反应黏稠度的改变影响同样显著,优选氢氧化锂、四氢呋喃-水作为反应溶剂,反应液搅拌均匀、产品收率高、纯度优良;而使用氢氧化钠或氢氧化钾时,体系容易变黏稠。

经过上述合成工艺优化,环合反应步骤优选的碱为三乙胺,水解反应步骤优选的碱为氢氧化锂、溶剂为四氢呋喃-水混合反应溶剂,溶剂比为 1:1,整个制备工艺合成总收率 87%,产品质量分数达到 99.5%。

经过对环合反应、水解反应的工艺条件的考察,本课题组在未增加成本的条件下,最终建立操作简便的嘧啶环类化合物的合成工艺,其操作简单、反应条件温和、纯度良好,可适合未来工业化制备的合成工艺,为开展该类衍生物为基础的新型 PHD 抑制剂开发奠定了坚实的研究基础。

参考文献

- [1] Semenza G L, Wang G L. A nuclear factor induced by hypoxia via de novo protein synthesis binds to the human erythropoietin gene enhancer at a site required for transcriptional activation [J]. *Mol Cell Biol*, 1992, 12(12): 5447-5454.
- [2] Tian Y M, Mole D R, Ratcliffe P J, et al. Characterization of different isoforms of the HIF prolyl hydroxylase PHD1 generated by alternative initiation [J]. *Biochem J*, 2006,

- 397(1): 179-186.
- [3] 张馨文, 刘雯玥, 肖桂芝, 等. 低氧诱导因子脯氨酰羟化酶抑制剂 roxadustat [J]. 现代药物与临床, 2016, 31(4): 551-556.
- [4] Debenham J S, Madsenduggan C B, Clements M J, *et al.* Discovery of *N*-[bis(4-methoxyphenyl)methyl]-4-hydroxy-2-(pyridazin-3-yl)pyrimidine-5-carboxamide (MK-8617) an orally active pan-inhibitor of hypoxia-inducible factor prolyl hydroxylase 1-3 (HIF PHD1-3) for the treatment of anemia [J]. *J Med Chem*, 2016, 59(24): 11039-11049.
- [5] Zhou C, Zou W, Hua Y, *et al.* Substituted pyrimidines [P]. WO: 2011133444 A1, 2011-10-27.