

盐酸兰地洛尔的合成工艺研究^Δ

汪程远^{1*}, 王元忠², 谭月晗², 张 燕²(1.重庆工商大学/催化与功能有机分子重庆市重点实验室/天然药物重庆高校市级重点实验室, 重庆 400067; 2.重庆利莫里亚生物科技有限公司, 重庆 400060)

中图分类号 R943;R914.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)13-1773-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.13.13

摘要 目的:合成高纯度的盐酸兰地洛尔。方法:以乙二胺为原料,经二碳酸二叔丁酯单边保护得2-氨基-叔丁氧基甲酰胺(化合物3),与吗啡啉与*N,N'*-羰基二咪唑为原料制成的*N,N'*-羰基吗啡啉咪唑(化合物6)反应,脱保护、成盐、游离得*N*-(2-氨基)吗啡甲酰胺(化合物9),再与3-[4-(2*S*,3-环氧丙氧基)苯基]丙酸(2,2-二甲基-1,3-二氧戊烷-4*S*)甲基酯(化合物10)开环等得到兰地洛尔,最后成盐得到最终产物。用高效液相色谱法监控反应,并对最终产物进行核磁共振(¹H-NMR)和质谱(MS)表征。以兰地洛尔的纯度为指标对化合物9与化合物10的物质的量投料比、反应温度、反应时间进行筛选,以盐酸兰地洛尔的纯度和收率为指标对成盐方式进行筛选。结果:结构表征确定最终产物为目标化合物盐酸兰地洛尔,总收率40%,色谱纯度为99.86%;优化后条件为化合物9与化合物10的物质的量投料比2.0:1.0、反应温度50℃、反应时间3h,所得兰地洛尔的纯度为95%;成盐方式为氨解后直接用氯化铵成盐,成盐纯度为98.2%,成盐收率为90%。结论:成功合成盐酸兰地洛尔,且合成条件较温和、收率较高、操作简便,适合工业化生产。

关键词 盐酸兰地洛尔;合成;工艺;成盐方式

Study on the Synthesis Process of Landiolol Hydrochloride

WANG Cheng-yuan¹, WANG Yuan-zhong², TAN Yue-han², ZHANG Yan²(1.Chongqing Technology and Business University/Chongqing Key Laboratory of Catalysis and Function of Organic Molecules/Chongqing Municipal College Key Laboratory of Natural Medicine, Chongqing 400067, China; 2.Chongqing Lemuria Biotechnology Co., Ltd., Chongqing 400060, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To synthesize the landiolol hydrochloride with high purity. METHODS: With the raw material of ethylenediamine, 2-aminoethyl-tert-butoxy-carboxamide (compound 3) obtained from di-tert-butyl-sided protection was reacted with *N,N'*-carbonyl morpholino imidazole (compound 6) prepared by morpholine and *N,N'*-carbonyldiimidazole. *N*-(2-aminoethyl) morpholine carboxamide (compound 9) was obtained by deprotection, salt formation and dissociation and then it was open-looped with 3-[4-(2*S*,3-epoxypropoxy)phenyl]propionic acid (2,2-dimethyl-1,3-dioxolane-4*S*)methyl ester (compound 10) to obtain landiolol and obtained the final product by salt formation. HPLC was conducted to monitor the reactions and the final products were characterized by nuclear magnetic resonance (¹H-NMR) and mass spectrometry (MS). With the index of the purity of landiolol, the molar inputting ratio, reaction temperature and reaction time of compound 9 and compound 10 were screened; with the index of the purity and yield rate of landiolol hydrochloride, the salt formation way was screened. RESULTS: The final products were landiolol hydrochloride. The total yield was 40% and chromatographic purity was 99.86%. After optimization, the molar inputting ratio of compound 9 and compound 10 was 2.0:1.0 with the reaction temperature of 50℃ and reaction time of 3h, the purity was 95%. The salt formation way was with ammonium chloride after ammonolysis with the salt purity of 98.2%, and salt yield rate of 90%. CONCLUSIONS: Landiolol hydrochloride is successfully synthesized. The synthesis conditions are mild with higher yield rate and simple operation. It is suitable for the industrial production.

KEYWORDS Hydrochloride landiolol; Synthesis; Process; Salt formation way

盐酸兰地洛尔(Landiolol hydrochloride, 化合物1),由日本小野药品工业株式会社(Ono)研发,2002年9月首次在日本上市。本研究参考文献[1]对乙二胺(化合物2)用二碳酸二叔丁酯单边保护后得到2-氨基-叔丁氧基甲酰胺(化合物3);参考文献[2-4],用*N,N'*-羰基二咪唑(化合物4)和吗啡啉(化合物5)生成*N,N'*-羰基吗啡啉咪唑(化合物6)再与化合物3反应生成*N*-(2-叔丁氧羰氨基)吗啡甲酰胺(化合物7),用三氟乙酸脱保护,再与草酸成盐,生成*N*-(2-氨基)吗啡甲酰胺草酸盐

(化合物8),游离后得到*N*-(2-氨基)吗啡甲酰胺(化合物9);再参考文献[5-6],用化合物9和3-[4-(2*S*,3-环氧丙氧基)苯基]丙酸(2,2-二甲基-1,3-二氧戊烷-4*S*)甲基酯(化合物10)氨解开环得到兰地洛尔(化合物11),成盐后得到化合物1,其总收率为40%。其中,笔者合成化合物9时将毒性大的氯仿改为毒性小的二氯甲烷,用成盐的方式纯化后不再需要柱层析提纯,合成化合物11时反应由15h缩短至3h,化合物1的收率由文献[6]的68%提高至90%左右。这一工艺无需柱层析提纯,降低了成本,适合工业化生产。由化合物11到化合物1的氯化铵成盐方式为笔者原创,此方法为一种温和的成盐方法,是制备高纯度盐酸兰地洛尔的关键环节。化合物1经一次重结晶

Δ 基金项目:重庆高校创新团队建设计划项目(No.KJTD201314)

* 副研究员,博士。研究方向:中药新药开发。E-mail: chuyuanwang@163.com

后其色谱纯度达99.86%，收率为90%。盐酸兰地洛尔的合成路线见图1。

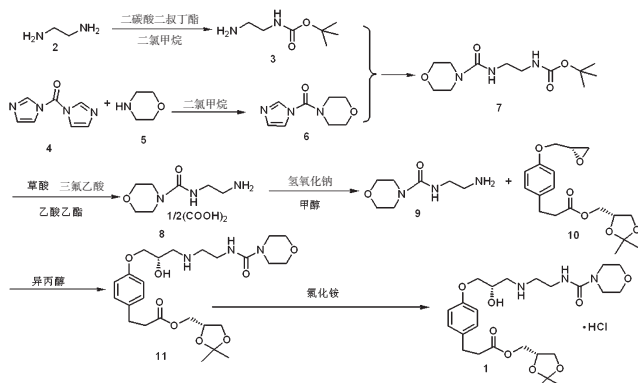


图1 盐酸兰地洛尔的合成路线图

Fig 1 Synthesis pathway of landiolol hydrochloride

1 材料

1.1 仪器

ME104型电子天平、pH计(瑞士梅特勒-托利多公司);WRS-3型数字熔点仪、旋转蒸发器(上海精科物理光学仪器厂);电动搅拌设备(上海申顺生物科技有限公司);循环水式真空泵(巩义市予华仪器有限公司);磁力搅拌器(上海隆拓仪器设备有限公司);紫外灯(上海科技实业有限公司);LC-20AT型高效液相色谱仪(HPLC)、LCMS-2020型质谱(MS)仪(日本岛津公司);Agilent600MHz DD2型核磁共振(¹H-NMR)仪[安捷伦科技(中国)有限公司];电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司)。

1.2 药品与试剂

化合物10(重庆人本药物研究院,批号:20110412,纯度:98%);化合物2、化合物4、化合物5、二碳酸二叔丁酯、三氟乙酸(阿拉丁试剂公司,均为分析纯);四氢呋喃(成都市科龙化工试剂厂,分析纯);其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 化合物3的合成

在装有搅拌器、温度计的1 000 ml三颈瓶中加入化合物2(29.4 g, 0.49 mol)和二氯甲烷(500 ml),搅拌下冷却至-5℃,开始滴加二碳酸二叔丁酯(4.27 g, 0.025 mol)的二氯甲烷(250 ml)溶液,滴加过程中温度控制在15℃以下,约4 h加完,然后室温搅拌16 h。有机层用水(300 ml×3)洗涤后以无水硫酸钠干燥,减压蒸去二氯甲烷,得白色油状物,经MS证实为化合物3(7.46 g, 收率95%)(收率100%^[1]),直接用于下步反应。

2.2 化合物6的合成

500 ml三颈瓶中加入化合物4(20 g, 0.12 mol)和二氯甲烷(200 ml),搅拌下滴加化合物5(10.7 g, 0.12 mol)的二氯甲烷(50 ml)溶液,约1 h加完,然后搅拌6 h。用水(100 ml×1)洗涤二氯甲烷层,分液后水层再用二氯甲烷(60 ml×3)洗涤,合并有机层,用无水硫酸镁干燥,减压蒸去二氯甲烷,得白色固体化合物6(20.1 g, 收率90%)(收率90%,熔点83~84℃^[2]),直接用于下步反应。

2.3 化合物7的合成

在250 ml三颈瓶中加入二氯甲烷(100 ml),搅拌下加入化合物3(7.85 g, 0.049 mol)使溶解,搅拌下滴加化合物6(8.8 g, 0.049 mol)的二氯甲烷(50 ml, 0.78 mol)溶液,约1 h加完,升温

至回流反应36 h。用稀盐酸水溶液(100 ml×3)洗涤,有机层用无水硫酸镁干燥,减压蒸去二氯甲烷,得油状物,经MS证实为化合物7(11.3 g, 收率85%)(收率84%^[3]),直接用于下步反应。

2.4 化合物8的合成

在250 ml三颈瓶中加入化合物7(11.3 g, 0.041 mol)和乙酸乙酯(100 ml),升温至回流,搅拌下加入草酸(7.5 g, 0.083 mol),加入催化量的三氟乙酸,回流反应2 h。趁热滤过,得白色固体化合物8(5.7 g, 收率80%,熔点83℃)(收率71%,熔点81~85℃^[5]),直接用于下步反应。

2.5 化合物9的合成

在装有搅拌器的100 ml单颈瓶中加入化合物8(5.7 g, 0.026 mol)和甲醇(50 ml),搅拌下加入氢氧化钠固体(4 g, 0.1 mol),室温搅拌5 h。过滤,减压挥干甲醇后再用二氯甲烷溶解,过滤,滤液旋干得浅黄色油状物,经MS证实为化合物9(4 g, 收率87%)(收率68.7%^[6]),直接用于下步反应。

2.6 化合物1的合成

在装有搅拌器的15 ml三颈瓶中加入化合物9(1.4 g, 0.008 mol)和异丙醇(5 ml),升温至50℃,搅拌下滴加化合物10(1.5 g, 0.004 mol),高效液相色谱法监控反应3 h。40℃减压挥干异丙醇后再用水(5 ml)复溶,水层用乙酸乙酯(10 ml×3)萃取,合并乙酸乙酯层。乙酸乙酯层用饱和氯化铵溶液(10 ml×3)在室温(25℃)下洗涤,无水硫酸钠干燥,40℃旋干得白色固体(2.02 g, 收率80%,熔点:125℃)(收率68%,熔点125.4℃^[6])。10 ml圆底烧瓶中加入该合成的白色固体(2.02 g)和乙酸乙酯(3 ml),加热至回流3 min后冷却至室温,滤过得最终产物(1.61 g, 收率80%, HPLC归一化法^[7-9]纯度99.86%)。

2.7 结构表征

采用MS对化合物3、化合物7、化合物9进行结构认证,电喷雾(ESI)-MS(*m/z*)为161[M+H]⁺、274[M+H]⁺、174[M+H]⁺。采用核磁共振(¹H-NMR)和质谱(MS)对所合成的最终产物进行结构表征。表征结果显示,ESI-MS(*m/z*):510[M+H]⁺; ¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃), δ: 1.27[s, 3H, CH₃(β)], 1.32[s, 3H, CH₃(α)], 2.61(d, *J*=7.4 Hz, 2H, CH₂COO), 2.80(1H, dd, *J*=7.4 Hz, CHNH), 2.82(2H, t, *J*=6 Hz, NHCH₂), 3.33[4H, t, *J*=5 Hz, (CH₂)O], 3.37(2H, q, *J*=6 Hz, CH₂NHCO), 3.66[4H, t, *J*=5 Hz, (CH₂)₂O], 3.68[1H, dd, *J*=9.6 Hz, CH(α)—O], 3.94(1H, dd, *J*=9.6 Hz, PhOCH), 3.96(1H, dd, *J*=9.4 Hz, PhO—CH), 4.03[1H, dd, *J*=9.6 Hz, CH(β)—O], 4.06(1H, m, CH—OH), 4.08(1H, dd, *J*=11.6 Hz, COOCH), 4.15(1H, dd, *J*=11.5 Hz, COOCH), 4.21(1H, q, *J*=9 Hz, COOCH₂CH—O—), 6.85(2H, d, *J*=9 Hz, Ph), 7.14(2H, d, *J*=9 Hz, Ph)。以上结果表明最终产物为目标化合物1^[4-6]。

2.8 反应条件的优化

2.8.1 化合物11的合成优化 从化合物2到化合物9的合成反应容易进行,收率较高,然而化合物11的合成会产生大量的杂质。笔者通过HPLC法监控反应,以化合物11的纯度为主要监控对象,以化合物9与化合物10的物质的量投料比分别为1.0:1.0、1.5:1.0、2.0:1.0、2.5:1.0时,考察化合物11的合成纯度变化,结果化合物9和化合物10的物质的量投料比为2.0:1.0时,化合物11的纯度最高(95%),见表1。

由于该合成反应中氨解开环反应为吸热反应,故以反应温度分别为30、50、60、70℃时,考察化合物11的合成纯度变

化,结果当反应温度越高时,反应越迅速;但温度太高,又会生产未知的杂质。通过比较发现,反应温度为50℃时,化合物11的合成纯度最高(95%),见表2。

表1 不同物质的量投料比下兰地洛尔的合成纯度变化(n=4)

Tab 1 Changes of the synthesis purity of landiolol under different molar inputting ratios(n=4)

化合物9/化合物10 物质的量投料比	反应温 度,℃	反应时 间, h	化合物11的纯度(归一 化法),%
1.0:1.0	50	3	65
1.5:1.0	50	3	90
2.0:1.0	50	3	95
2.5:1.0	50	3	94

表2 不同反应温度下兰地洛尔的合成纯度变化(n=4)

Tab 2 Changes of the synthesis purity of landiolol under different reaction temperatures(n=4)

化合物9/化合物10 物质的量投料比	反应温 度,℃	反应时 间, h	化合物11的纯度(归一 化法),%
2.0:1.0	30	3	25
2.0:1.0	50	3	95
2.0:1.0	60	3	90
2.0:1.0	70	3	80

以反应时间分别为2、2.5、3、3.5 h时,考察化合物11的合成纯度变化,结果当反应时间为3 h时,化合物11的合成纯度可以达到98%。因此确定的最终反应条件为:化合物9与化合物10物质的量投料比为2.0:1.0,反应温度为50℃,反应时间为3 h,见表3。

表3 不同反应时间下兰地洛尔的合成纯度变化(n=4)

Tab 3 Changes of the synthesis purity of landiolol under different reaction time(n=4)

化合物9/化合物10 物质的量投料比	反应温 度,℃	反应时 间, h	化合物11的纯度(归一 化法),%
2.0:1.0	50	2	65
2.0:1.0	50	2.5	76
2.0:1.0	50	3	98
2.0:1.0	50	3.5	95

2.8.2 成盐方式 从化合物11到化合物1为本工艺的难点,化合物11的纯度通过化学反应已经提高到了95%。通过大量的研究发现,成盐方法对化合物1的质量影响极大,结果表明,最好的成盐方式为用饱和氯化铵溶液在25℃下洗涤化合物11的乙酸乙酯溶液,按此种方法成盐(收率90%)后只需一次重结晶,产品的纯度即可达到99.86%,见表4。

表4 不同成盐方式对盐酸兰地洛尔纯度和收率的影响

Tab 4 Effect of different salt formation ways on the purity and yield rate of landiolol

溶剂	反应温 度,℃	产物纯 度, %	收率, %	反应方式
四氢呋喃	0	85	18	向溶剂中通入HCl(氯化氢)
四氢呋喃	-40	88	25	同上
四氢呋喃	-78	90	45	同上
乙酸乙酯	0	95	60	用稀盐酸溶液调其pH至4.5
乙酸乙酯	25	98.2	90	乙酸乙酯中用氯化铵洗涤

3 讨论

关于化合物11的合成,文献[9]以化合物4和化合物5为原料先制得化合物6,再与化合物2生成化合物9,化合物9再与

化合物10反应生成化合物11。合成化合物9和化合物11时必须用柱层析提纯,反应时间较长,总收率为44.2%,产物需经过柱层析除掉反应产生的工艺杂质,不利于工业化大生产。日本专利^[10]和欧洲专利^[11]报道的合成路线与上述路线基本一致,专利中报道了化合物1的成盐方式:在甲醇中先将化合物11转化为草酸盐,然后再转盐成盐酸盐。这样不仅操作烦琐,而且不可避免地会产生酯交换和水解的杂质。

化合物11的合成中,反应为吸热反应,需要注意的是对温度和反应时间的控制,以避免极性更小或更大的杂质出现。最后笔者独创的成盐方式解决了其他方式不可避免地引入杂质的问题,为生产符合仿制药申报要求的药品提供了一种可行的工艺方法。

综上所述,本研究成功合成了化合物1,反应条件较为温和,收率高,操作简便,整个合成步骤中皆未使用柱层析的方式纯化产物;另运用本合成路线连续生产5批高纯度小试样品,结果表明工艺稳定,比较适合工业化大生产。

参考文献

- [1] Muller D, Zeltser I, Bitan G, *et al.* Building units for n-backbone cyclic peptides.3.synthesis of protected n(α)-(ω-aminoalkyl) amino acids and n(α)-(ω-carboxyalkyl) amino acids[J]. *J Org Chem*, 1997, 62(2): 411.
- [2] Grzyb JA, Shen M, Yoshina-Ishii C, *et al.* Carbamoylimidazolium and thiocarbamoylimidazolium salts: novel reagents for the synthesis of ureas, thioureas, carbamates, thiocarbamates and amides[J]. *Chem Inform*, 2005, doi:10.1002/chin.200545076.
- [3] Radeke HS, Purohit A, Harris TD, *et al.* Synthesis and cardiac imaging of 18F-ligands selective for β1-adrenoreceptors[J]. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, 2011, 2(9): 650.
- [4] Sadahoiko I, Minori K. *Novel esters of phenylalkanoic acid*: US, 5013734[P]. 1991-05-07.
- [5] 马润宇,熊毅,乔仁忠,等.一种盐酸兰地洛尔的合成方法:中国,200710063716[P]. 2007-08-08.
- [6] 严洁.一种盐酸兰地洛尔的新的制备方法:中国,200810154637[P]. 2010-07-07.
- [7] 王晓琳,邓祥林,肖玉梅,等.一种检测盐酸兰地洛尔光学异构体的方法,中国:201110044105[P]. 2011-09-14.
- [8] 胡杨. HPLC法分析分离盐酸兰地洛尔及其中间体的方法:中国,200710064573[P]. 2008-09-24.
- [9] Iguchi S, Iwamura H, Nishizaki M, *et al.* Development of a highly cardioselective ultra short-acting β-locker, ONO-1101[J]. *Chem Pharm Bull: Tokyo*, 1992, 40(6): 1462.
- [10] 井口庸一,若塚弘久.一种盐酸兰地洛尔及其中间体的制备方法:JP, 05306281[P]. 1993-11-19.
- [11] Masanori K. *Novel esters of phenylalkanoic acid*: EP, 0397031[P]. 1990-07-20.

(收稿日期:2014-06-30 修回日期:2014-07-08)

(编辑:邹丽娟)