

利福布汀的合成工艺改进

叶祥^{1,2*}, 周晶^{1,3}, 何菱¹, 齐庆蓉^{1#} (1. 四川大学华西药学院, 成都 610041; 2. 四川省基本药物集中采购服务中心, 成都 610041; 3. 四川省食品药品安全监测及评审认证中心, 成都 610017)

中图分类号 R914.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)41-3875-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.41.12

摘要 目的: 探索利福布汀的最佳合成工艺。方法: 以利福霉素S为起始原料, 经溴代、硝基化、还原、亚氨基化, 最后与侧链环合得到利福布汀; 并对合成3-氨基利福霉素S的反应溶剂二氯甲烷的前处理方法(未处理、常压蒸馏、氯化钙干燥、分子筛干燥、氢氧化钾干燥)、合成3-氨基-4-亚氨基利福霉素S的反应温度(25~30、20~25、15~20、10~15℃)以及侧链N-异丁基哌啶酮的制备工艺进行改进。结果: 利福布汀的收率为16.44%, 高效液相色谱法检测纯度为99.17%。二氯甲烷的前处理选用氢氧化钾进行干燥; 合成3-氨基-4-亚氨基利福霉素S反应温度控制为15~20℃; 侧链N-异丁基哌啶酮合成改为以异丁胺和丙烯酸乙酯为原料, 其收率为85.2%、气相色谱法检测纯度为98.5%。结论: 该改进工艺合成收率和纯度较高, 原料易得、反应条件温和、操作简单。

关键词 利福布汀; 合成; 改进; 溶剂前处理; 反应温度; 工艺

Improvement on the Synthesis Technology of Rifabutin

YE Xiang^{1,2}, ZHOU Jing^{1,3}, HE Ling¹, QI Qing-rong¹ (1. West China School of Pharmacy, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. Procurement Service Center for Essential Medicine of Sichuan Province, Chengdu 610041, China; 3. Sichuan Food and Drug Safety Monitoring & Review and Certification Center, Chengdu 610017, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To explore the optimal synthesis technology of rifabutin. METHODS: Using rifampicin S as starting material, rifabutin was synthesized according to bromination, nitration, reduction, imino, and cyclization with the side chain. The following aspects were all improved, involving pretreatment method of dichloromethane as synthesis solvent of 3-amino-4-imino rifampicin S (untreated, air distillation, calcium hydride drying, molecular sieve drying, potassium hydrate drying), synthesis temperature of 3-amino-4-imino rifampicin S (25-30 °C, 20-25 °C, 15-20 °C and 10-15 °C) and the preparation technology of side chain N-isobutyl piperidone. RESULTS: The yield of rifabutin was 16.44%, and the purity determined by HPLC chromatograms was 99.17%. The potassium hydrate drying was chosen as pretreatment method of dichloromethane. The reaction temperatures of 3-amino-4-imino rifampicin S were controlled at 15-20 °C. The yield of the side chain was 85.2% by using isobutylamine and ethyl acrylate as raw material. The purity of side chain was 98.5% determined by gas chromatography. CONCLUSIONS: The improved technology shows high yield and purity, and raw material is easy to obtain, reaction condition is mild and easy in operation.

KEYWORDS Rifabutin; Synthesis; Improvement; Solvent pretreatment; Reaction temperature; Technology

结核病是由结核杆菌感染引起的慢性传染病, 耐多药肺结核对个人、家庭和社会的危害极大^[1]。利福布汀能干扰结核杆菌的脱氧核糖核酸(DNA)和核糖核酸(RNA)合成, 对大多数革兰阳性和阴性菌均有抗菌活性, 特别是对结核分枝杆菌和胞内分枝杆菌; 对非典型分枝杆菌鸟分枝杆菌-胞内分枝杆菌复合体(MAC)的抗菌活性超过利福平; 利福平耐药性分枝杆菌对利福布汀无完全交叉耐药性, 30%以上菌株对利福布汀仍然敏感。利福布汀在药效学和药动学特点上均显著优于利福平^[2-4]。利福布汀与许多抗菌药包括抗结核药联用具有协同和促进作用, 是目前重要的抗结核药物之一。文献^[5-9]报道, 利福布汀的合成路线只有1条, 均以利福霉素S为起始原料, 经溴代、硝基化、还原、亚氨基化, 最后与侧链环合得利福布

汀。笔者对文献报道的工艺线路进行重现时发现, 产品收率未达到报道的收率, 而且产品纯度不高。经研究发现可能是反应溶剂在未经相关前处理、反应温度设定不佳等条件下易导致反应收率低、杂质多, 故本文针对反应溶剂的前处理、反应温度以及侧链N-异丁基哌啶酮的制备工艺进行了研究改进。改进后利福布汀的合成路线见图1, 侧链N-异丁基哌啶酮的合成路线见图2。

1 材料

1.1 仪器

1260型高效液相色谱(HPLC)仪、1946B ESI-MS型质谱仪(美国Agilent公司); INOVA-400核磁共振波谱仪(美国Varian公司)。

1.2 药品与试剂

利福霉素S(台州市中荣化工有限公司, 批号: 120613, 纯度: 99.22%); 异丁胺、丙烯酸乙酯(成都长征化学试剂公司, 批号: 201203152、201110037, 纯度: 99.5%、99%); 4-哌啶酮盐酸

* 硕士研究生。研究方向: 药物化学。电话: 028-86131165。E-mail: smyx123@163.com

通信作者: 讲师, 博士。研究方向: 药物化学。电话: 028-85502157。E-mail: qiqinrong@scu.edu.cn

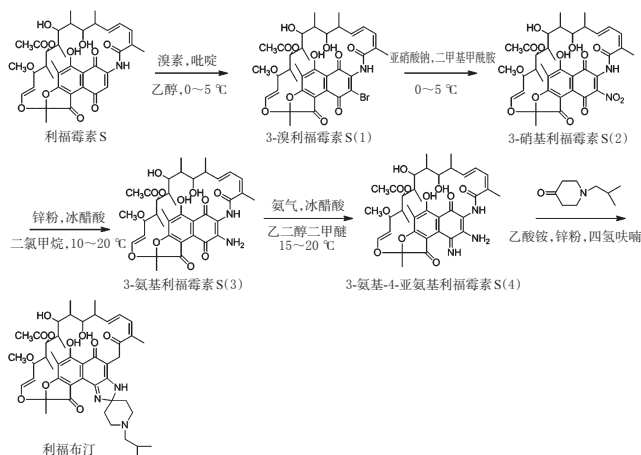


图1 利福布汀的合成路线

Fig 1 The synthetic route of rifabutin

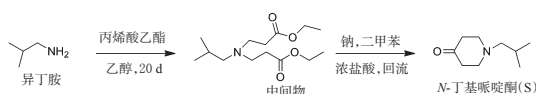


图2 侧链N-丁基哌啶酮的合成路线

Fig 2 The synthetic route of the side chain *N*-butyl piperidone

盐(常州尚科医药化工材料有限公司,批号:20120829,纯度:99.30%);异丁基溴(盐城市云峰化工有限公司,批号:20120157,纯度:98.85%);其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 检测方法

2.1.1 薄层层析(TLC)法。3-溴利福霉素S(化合物1)和3-硝基利福霉素S(化合物2)的展开剂为苯-乙酸乙酯-甲醇(20:8:7),其余的展开剂为二氯甲烷-甲醇(9:1);薄层板为硅胶GF254化学纯。

2.1.2 高效液相色谱法。色谱柱为Lichro-spher100(RP-8, 5.0 μm ×250 mm);流动相为乙腈-甲醇-0.04 mol/L磷酸二氢钾(54:10:36, *V/V*),流速为1 ml/min;柱温为40 $^{\circ}\text{C}$;进样量为5.0 μl ;检测波长为254 nm;内标为硝基苯酚。

2.2 化合物1的制备

将利福霉素S 40.00 g(0.057 5 mol)加入到700 ml 95%乙醇中,加热回流,待溶解完全,冷却至0 $^{\circ}\text{C}$ 以下,备用。另将吡啶12.6 ml(0.156 6 mol)加入到87 ml无水乙醇中,冷却至0 $^{\circ}\text{C}$ 以下,慢慢滴加溴素4.4 ml(0.169 6 mol),控制反应温度5 $^{\circ}\text{C}$ 以下,滴加完后加入到上述备用液中,于0~5 $^{\circ}\text{C}$ 反应1 h(TLC法检测反应完全)。反应液用二氯甲烷萃取,水洗洗涤萃取液、无水硫酸钠干燥、浓缩至干,得化合物1粗品。

2.3 化合物2的制备

向化合物1粗品中加入90 ml二甲基甲酰胺(DMF),溶解后冷却至0 $^{\circ}\text{C}$ 以下,滴加含亚硝酸钠4.44 g(0.064 3 mol)的180 ml的DMF溶液,滴完后于0~5 $^{\circ}\text{C}$ 反应2 h(TLC法检测反应完全)。将反应液倾入5~10 $^{\circ}\text{C}$ 的580 ml 2%醋酸溶液中,再补加2 000 ml水,搅拌析晶2 h,滤过,水洗滤饼,固体于40 $^{\circ}\text{C}$ 干燥12 h得化合物2粗品23.75 g。将该粗品用190 ml无水乙醇精制,干燥得化合物2精品20.00 g,HPLC法检测纯度:98.71%,两步收率:46.94%。

2.4 3-氨基利福霉素S(化合物3)的制备

将化合物2精品20.00 g(0.027 mol)溶于400 ml二氯甲烷中,在搅拌下加入锌粉11.55 g(0.177 7 mol)。控制反应液温度10~20 $^{\circ}\text{C}$,滴加冰醋酸28.1 ml(0.491 8 mol),然后在室温下反应4 h(TLC法检测反应完全),滤过,少量二氯甲烷洗涤滤饼。滤液中加入活性二氧化锰12.80 g(0.147 1 mol),室温搅拌反应3 h,滤过,滤液经洗涤、干燥、浓缩后得22.40 g黏稠液体,即化合物3,直接用于下一步反应。

2.5 3-氨基-4-亚氨基利福霉素S(化合物4)的制备

将化合物3黏稠液体22.40 g用80 ml乙二醇二甲醚溶解,加入冰醋酸0.9 ml,缓慢通入氨气,于15~20 $^{\circ}\text{C}$ 反应24 h(TLC法检测反应完全),滤过,少量乙二醇二甲醚洗涤滤饼。滤液减压浓缩至干,再加入70 ml乙二醇单甲醚,冷却搅拌析晶12 h,滤过,干燥得化合物4 11.00 g[两步收率:57.46%;HPLC法检测纯度:98.93%;熔点(mp)>250 $^{\circ}\text{C}$ (分解);文献^[8]报道该步收率:54.4%]。

同时,笔者按照参考文献^[8]的方法进行了验证试验,具体如下:将化合物3 15 g溶于100 ml无水四氢呋喃,室温下通入氨气,搅拌反应34 h,向反应液中加入200 ml二氯甲烷,再分别用100 ml 2%稀醋酸溶液和100 ml水洗,有机层用无水硫酸钠干燥,滤过,滤液减压浓缩干,用50 ml乙二醇单甲醚结晶得到化合物4 7.4 g(收率:53.7%)。所得化合物收率和文献报道一致,mp>250 $^{\circ}\text{C}$ (分解),HPLC法检测纯度:98.18%。

2.6 利福布汀的制备

将11.00 g(0.015 5 mol)化合物4溶于55 ml四氢呋喃中,再加入2.8 ml(0.016 3 mol)*N*-异丁基哌啶酮、0.55 g(0.008 5 mol)乙酸铵和0.55 g(0.007 1 mol)锌粉,控制反应液温度在30 $^{\circ}\text{C}$ 左右,搅拌反应1.5 h(TLC法检测反应完全),滤过。滤液中加入110 ml 2%醋酸水溶液,搅拌均匀后加入50 ml二氯甲烷,萃取,水层再用35 ml二氯甲烷萃取1次,合并二氯甲烷,分别用70 ml的2%醋酸水溶液、70 ml水、70 ml 5%碳酸氢钠水溶液和70 ml 2%碳酸氢钠水溶液洗涤。有机层干燥、浓缩至干,加入350 ml石油醚(60-90系列),加热回流30 min,趁热滤过。滤液减压浓缩至剩余少量液体(约35 ml)时停止,室温放置12 h以上,滤过,60 $^{\circ}\text{C}$ 减压干燥得到利福布汀8.00 g[紫红色固体,收率:60.94%,HPLC法检测纯度:99.17%;mp>250 $^{\circ}\text{C}$ (分解);文献^[8]报道收率:44.2%]。高分辨质谱(HRMS):通过 m/z 计算得分子式: $\text{C}_{47}\text{H}_{63}\text{N}_3\text{O}_{11}$;分子质量:847.4575(加氢峰)、847.465 0(实验值)。

同时,笔者按照文献^[8]的方法进行了验证,具体如下:将2 g(0.002 8 mol)的化合物4加入到10 ml的四氢呋喃中,搅拌下加入0.15 g(0.002 3 mol)锌粉、0.15 g(0.001 9 mol)乙酸铵和1.4 g(0.008 1 mol)*N*-异丁基哌啶酮,室温下搅拌反应24 h。反应完毕,加入125 ml水和150 ml二氯甲烷,萃取。有机层再用25 ml 2%碳酸氢钠溶液洗涤,有机层无水硫酸钠干燥,滤过,滤液减压浓缩至干,70 ml石油醚结晶,干燥得到利福布汀1.04 g[收率:43.6%,HPLC法检测纯度:98.91%,mp>250 $^{\circ}\text{C}$ (分解)],所得化合物收率和文献报道基本一致。

2.7 *N*-异丁基哌啶酮的制备

将29.80 g(0.407 4 mol)异丁胺加入64 ml乙醇中,冷却至10 $^{\circ}\text{C}$ 左右,滴加103.40 g(1.032 8 mol)丙烯酸乙酯,于20~25 $^{\circ}\text{C}$ 放置20 d(TLC法检测反应完全),减压浓缩除去溶剂,残余物溶于80 ml二甲苯中用于下一步反应。将8.90 g(0.384 0

mol)钠加入310 ml二甲苯中,氮气保护下加热至110 ℃,缓慢滴加上步所得二甲苯溶液,滴毕,回流3 h。冰浴冷却,反应液用水100 ml×2萃取,合并水相。于水相中加入96 ml浓盐酸,加热回流7 h,再用40%氢氧化钠水溶液调节pH至8。分别用240、160 ml二氯甲烷萃取,合并二氯甲烷层,干燥,减压除去溶剂,残余物减压蒸馏得到*N*-异丁基哌啶酮52.40 g。收率:85.2%,气相色谱法检测纯度:98.5%,文献^[9-10]报道收率:54.4%。

同时,笔者按照文献^[9-10]的方法进行了验证,将4-哌啶酮盐酸盐3.07 g(0.02 mol)、异丁基溴3.01 g(0.022 mol)和碳酸钾7.52 g(0.04 mol)加入到50 ml乙腈中,室温搅拌24 h(TLC法检测反应完全)。反应液减压浓缩干,向残留物中加入50 ml水,再用35 ml×3乙酸乙酯萃取,合并乙酸乙酯,无水硫酸钠干燥,减压除去溶剂,残余物减压蒸馏得到*N*-异丁基哌啶酮1.65 g。收率:52.6%,气相色谱法检测纯度:98.41%,所得化合物收率与文献报道基本一致。

3 改进

3.1 化合物3反应溶剂的前处理

在重复文献工艺制备利福布汀时,笔者发现化合物3的质量直接影响终产物利福布汀的纯度,可使其产生超过1%的单一最大杂质。故本文设计将化合物3的反应溶剂二氯甲烷进行了前处理,在其他反应条件不变的情况下,再监测不同前处理方法对反应结果的影响。结果发现,对二氯甲烷未进行任何处理的情况下,最终制得的利福布汀含量低、杂质多;而将二氯甲烷分别进行常压蒸馏、氯化钙干燥、分子筛干燥和氢氧化钾干燥处理后,所得利福布汀含量均在99%左右,单一最大杂质由1%以上降低到0.3%以下,具体结果见表1。

表1 3-氨基利福霉素S的反应溶剂二氯甲烷前处理方法对利福布汀含量和杂质的影响(%)

Tab 1 Effects of pretreatment method of dichloromethane as synthesis solvent of 3-amino-4-imino rifamycin S on the content and impurity of rifabutin (%)

溶剂	前处理	利福布汀				平均单一最大杂质
		试验1	试验2	试验3	平均含量	
二氯甲烷		97.61	97.93	97.29	97.61	1.05
二氯甲烷	常压蒸馏	99.25	99.01	98.56	98.94	0.24
二氯甲烷	氯化钙干燥	99.17	98.92	99.15	99.08	0.19
二氯甲烷	分子筛干燥	98.94	99.24	99.21	99.13	0.25
二氯甲烷	氢氧化钾干燥	99.03	99.31	99.17	99.17	0.23

由表1可见,化合物3的反应体系应无水,所以用于此步反应的溶剂应进行脱水处理。考虑到工业化生产和成本因素,选择用固体氢氧化钾作干燥剂进行二氯甲烷的前处理。

3.2 合成化合物4的反应温度

在制备化合物4时,通过将反应温度控制在25~30、20~25、15~20、10~15 ℃,监测反应温度对反应和杂质的影响。结果显示,反应温度在20 ℃以上时,从TLC板上可以看出原料反应完全,但是杂质明显随温度升高而增加;在15~20 ℃时,反应完全,而且在TLC法检测未见杂质;在15 ℃以下时,反应24 h发现原料明显未反应完全,即使延长反应时间,仍反应不完全,但杂质开始明显增加。由此可见,将反应温度控制在15~20 ℃、反应24 h的条件最佳,具体结果见表2。

3.3 侧链*N*-异丁基哌啶酮的制备工艺

在化合物4制备成利福布汀时,本文对文献^[9]的工艺进行改进,使得产品收率由44.2%提高到60.94%。而在侧链*N*-异丁基哌啶酮的合成中,文献^[9-10]报道的路线是通过4-哌啶酮盐

表2 反应温度对3-氨基-4-亚氨基利福霉素S合成含量的影响

Tab 2 Effects of reaction temperature on the content of 3-amino-4-imino rifamycin S

反应温度/℃	时间/h	平均收率/%	3-氨基-4-亚氨基利福霉素S			
			试验1/%	试验2/%	试验3/%	平均含量/%
25~30	24	53.8	96.30	95.15	94.21	95.22
20~25	24	55.89	96.73	96.98	97.78	97.16
15~20	24	57.46	98.62	99.05	98.88	98.85
10~15	24	65.82	89.50	89.71	89.98	89.73

酸盐和溴代烷经取代反应得到,虽然原料4-哌啶酮盐酸盐简单易得,但反应收率仅有54.4%。本文侧链工艺采用异丁胺和丙烯酸乙酯为起始原料,反应条件较文献报道的温和简单,收率为85.2%,远高于文献报道。且本文所用原料异丁胺和丙烯酸乙酯较文献中的主要原料便宜,可使侧链的工业化生产成本控制在100元/kg以下。所以从原料成本和收率比较,本文工艺明显优于文献报道工艺。

4 讨论

综上所述,本文以利福霉素S为起始原料,经溴代、硝基化、还原、亚氨基化,最后与侧链环合得到利福布汀,总收率为16.44%。而且发现了为控制杂质需在制备化合物1时对溶剂进行无水处理这一关键技术,并确定了制备化合物4的最佳反应温度为15~20 ℃,在大大提高产品收率的同时,降低了反应过程中杂质的产生。侧链*N*-异丁基哌啶酮的合成收率也明显高于文献报道。故本文中利福布汀的改进工艺原料易得、反应条件温和、操作简单、收率高、成本低,适合规模化生产;所得产品纯度在99%以上,可达药用要求。

参考文献

- [1] 谢惠安,阳国太,林善祥,等.现代结核病学[M].北京:人民卫生出版社,2001:510-544.
- [2] 钟静,黄平,麦洁儿.新型抗结核病药物[J].中国热带医学,2005,5(2):399.
- [3] 于守汎.利福布汀的药效学和药物动力学特点[J].国外医药抗生素分册,2000,21(6):262.
- [4] 刁琳鉴.利福布汀用于耐药药肺结核病临床效果观察[J].医学信息:中旬刊,2011(5):1 968.
- [5] Egidio M, Lauretta M. Process for the preparation of rifamycin s derivatives: GB,009744 [P].1979-06-20.
- [6] Leonardo M, Vittorio R, Carmine P. Rifamycin compounds: US,4017481[P].1977-04-12.
- [7] Glabski T, Zukowski E, Szycka Z, et al. Preparation of spiroperidyl rifamycin antibiotics: PL, 168053[P].1995-12-30.
- [8] Shin YC, Wang KJ. Process for preparing rifamycin derivatives: KR,137810[P].1998-02-12.
- [9] Iwakubo M, Takami A, Okada Y, et al. Design and synthesis of rho kinase inhibitors: III [J]. Bioorg Med Chem, 2007,15(2):1 022.
- [10] Yoo KH, Choi HS, Kim DC, et al. Synthesis of heteroaryl piperazines and heteroaryl biperidines with a restricted side chain and their affinities for 5-HT_{1A} receptor[J]. Arch Pharm: Weinheim, 2003, 336(4/5): 208.

(收稿日期:2013-12-23 修回日期:2014-05-06)