

文章编号:1674-2869(2014)010-0013-04

磷酸奥司他韦中相关杂质的合成

吴丕业¹, 赖小燕², 汤清华², 戴 鹏², 查高峰^{2*}

1. 武汉工程大学材料科学与工程学院, 湖北 武汉 430200;

2 武汉理工大学化学化工与生命科学学院, 湖北武汉 430070

摘 要:磷酸奥司他韦作为选择性的流感病毒神经氨酸酶抑制剂, 是治疗禽流感最有效的药物. 美国药典 38 版收录了磷酸奥司他韦中的两个杂质. 杂质 (3R,4R,5S)-3-(1-乙基丙氧基)-4-乙酰胺-5-氨基-1-环己烯-1-羧酸(A)是原料药在精制和存储过程中发生微量水解产生的. 对合成条件进行了优化, 采用了常规分离手段得到了杂质 A, 合成收率达到 86.6%. 杂质 3-羟基-4-乙酰胺基-苯甲酸乙酯(B)是美国药典 38 版所载磷酸奥司他韦中的另一个杂质, 目前没有合成方面的报道. 设计了杂质 B 的合成路线, 以 3-羟基-4-氨基苯甲酸为原料, 用乙酸酐作为酰化试剂对原料进行乙酰化, 然后加入氢氧化钠和盐酸, 调节 pH, 发生水解, 最后用溴乙烷作为烷基化剂得到了目标产物, 合成收率达到 52.1%. 整条合成路线操作简单、反应条件温和、没有环境污染, 对磷酸奥司他韦的生产检验和贮存均具有现实意义.

关键词:磷酸奥司他韦; 杂质合成; 结构表征

中图分类号: TQ460.6

文献标识码: A

doi:10.3969/j.issn.1674-2869.2014.010.003

0 引 言

磷酸奥司他韦 (Oseltamivir, phosphate) 化学名为 (3R,4R,5S)-3-(1-乙基丙氧基)-4-乙酰胺-5-氨基-1-环己烯-1-羧酸乙酯磷酸盐(1), 由瑞士罗

氏制药公司研制, 在临床上用于预防和治疗甲型和乙型流感的选择性神经氨酸酶抑制剂, 是治疗禽流感最为有效的药物^[1-4]. 美国药典 38 版提出了 1 中的 2 个有关物质 A、B (图 1) 并对其进行了限度控制.

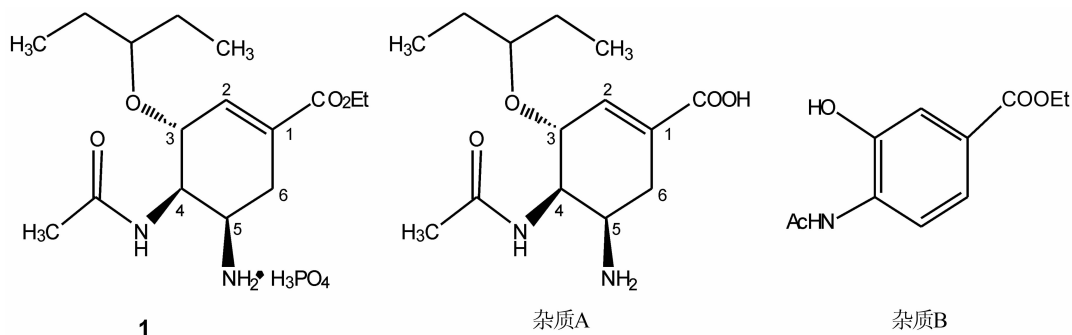


图 1 1 和杂质 A、B 结构式

Fig. 1 The formula of 1 and impurities A and B

其中有关物质 A 是 1 的水解物, 化学名为 (3R,4R,5S)-3-(1-乙基丙氧基)-4-乙酰胺-5-氨基-1-环己烯-1-羧酸, 已有多种合成方法被报道. 其中, 根据 Fujiko Konno^[5] 等人所采用的方法, 尝试在 100 °C 下进行水解反应, 发现原料大量分解, 不利于产品纯度及产率优化. 而根据 Bischofberger^[6] 的方法, 利用四氢呋喃作溶剂, 在室温下进行反应, 能得到需要的反应物, 但其使用制备液相法进行分离纯化, 无法获得较大量的样品, 也不利于大规模推广应用. 因此对其优化后处理工艺进行

了监控, 使用常规分离手段得到了高纯度的杂质 A, 合成收率为 86.6% (图 2).

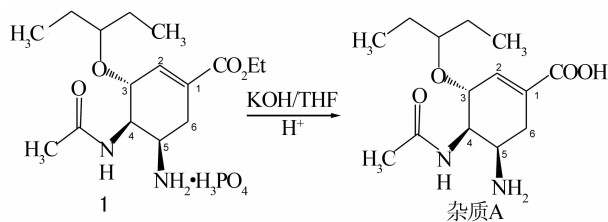


图 2 杂质 A 的合成路线

Fig. 2 The synthetic route of the impurity A

收稿日期: 2014-09-17

作者简介: 吴丕业 (1987-), 男, 湖北孝感人, 硕士. 研究方向: 不对称合成和药物工艺. * 通信联系人

有关物质 B 是美国药典 38 版所载磷酸奥司他韦中的另一个杂质,化学名为 3-羟基-4-乙酰氨基苯甲酸乙酯,为非叠氮合成工艺合成磷酸奥司他韦时产生的工艺杂质,目前没有相关的合成报道.因此制备高纯度的杂质 B,对于该品种的生产、贮存和检验均具有现实意义.实验^[7-9]设计了杂质 B 的合成路线:以 3-羟基-4-氨基-苯甲酸为原料,在醋酸钠和盐酸存在下经乙酸酐双乙酰化反应得到 3-乙酰氧基-4-乙酰胺基-苯甲酸 **2**,再在碱性条件下选择性水解得到 3-羟基-4-乙酰胺基-苯甲酸 **3**,**3** 在碳酸氢钠催化下与溴乙烷进行乙酯化得到杂质 B,总收率为 52.1% (图 3).

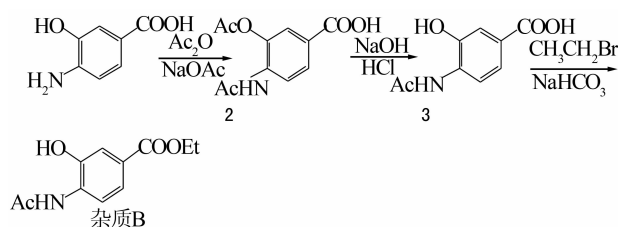


图 3 杂质 B 的合成路线

Fig. 3 The synthetic route of the impurity B

1 实验部分

1.1 分析仪器与试剂

Avance HD III 500NMR 核磁共振仪(瑞士 Bruker 公司, TMS 为内标);质谱仪(Thermo-LTQXL);磷酸奥司他韦((3R,4R,5S)-3-(1-乙基丙氧基)-4-乙酰胺-5-氨基-1-环己烯-1-羧酸乙酯磷酸盐)来自宜昌长江药业有限公司,纯度为 99.9%;3-羟基-4-氨基-苯甲酸购自 aladdin 试剂,纯度 98.0%;氢型 732 阳离子交换树脂(国药试剂);氢氧化钠、氢氧化钾、盐酸、碳酸氢钠、四氢呋喃、N,N-二甲基甲酰胺、乙酸乙酯、甲醇、醋酸钠、乙酸酐、溴乙烷等均为分析纯.

1.2 磷酸奥司他韦杂质 A 的合成

向 100 mL 反应瓶中投入磷酸奥司他韦(1.00 g)、乙酸乙酯(20 mL)、水(10 mL),室温下搅拌,滴加 1 mol/L 的碳酸钠溶液,待水层 pH 值至 7~8 时,停止滴加,分层,水层使用乙酸乙酯萃取 2 次(每次 20 mL),合并有机层,用蒸馏水(5 mL)搅拌洗涤 1 次,有机层加入无水硫酸钠干燥 8 h,浓缩得白色固体.向浓缩物中加入四氢呋喃(40 mL)、1 mol/L 氢氧化钾溶液 3.6 mL,控温 15~20 °C 下搅拌反应 2 h,TLC 监测反应结束后,加入氢型 732 阳离子交换树脂约 0.9 g,搅拌 10 min 后,检测 pH 值应为 5~6,滤去树脂,并使用少量四氢呋喃淋洗,合并洗滤液浓缩至干,加入石油醚降温至 0~5 °C

搅拌结晶 2 h,过滤,减压干燥得白色固体 0.60 g (收率 86.6%).¹H-NMR (500 MHz, DMSO) δ 6.37 (s, 1H, 2-CH), 4.11 (d, 1H, 3-CH), 3.69 (dd, $J = 19.8, 9.1$ Hz, 1H, 4-CH), 3.40~3.28 (m, 1H, 6-CH), 3.15 (dd, $J = 16.2, 10.8$ Hz, 1H, 6-CH), 2.84~2.73 (m, 1H, 5-CH), 2.26~2.15 (m, 1H, 1'-CH), 1.84 (s, 3H, CO-CH₃), 1.50~1.27 (m, 4H, —CH₂—, —CH₂—), 0.83 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H, —CH₃), 0.78 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H, —CH₃). MS(ESI): m/z 286.1 (M+1).

1.3 磷酸奥司他韦杂质 B 的合成

1.3.1 3-乙酰氧基-4-乙酰氨基-苯甲酸(2)的合成

向 100 mL 单口瓶中,加入 2 mol/L 盐酸 20 mL,再加入醋酸钠 10.0 g 搅拌下使之溶解,降温至 0~5 °C,加入 3-羟基-4-氨基苯甲酸 1.0 g,缓慢滴加乙酸酐 10 mL,滴毕,保持 0~5 °C 下搅拌 30 min,升温至 15~25 °C 下反应 6 h,逐步析出大量棕色沉淀,TLC 监测反应结束后,降温至 0~5 °C 结晶 1 h,过滤,水洗,减压干燥得淡棕色固体 1.09 g,产率 70.4%.¹H-NMR (500 MHz, DMSO) δ 8.16 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H, 5-H), 7.78 (dd, $J = 8.6, 1.6$ Hz, 1H, 6-H), 7.68 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H, 2-H), 2.34 (s, 3H, CH₃COO—), 2.13 (s, 3H, CH₃CON—).

1.3.2 3-羟基-4-乙酰氨基-苯甲酸(3)的合成

在 100 mL 的单口瓶中,加入 30 mL 水,再加入 0.12 g 氢氧化钠,溶解后加入 3-乙酰氧基-4-乙酰氨基苯甲酸 0.6 g,控温 15~20 °C 搅拌反应 30 min,TLC 监测反应结束后,用 1 mol/L 盐酸调节 pH 值为 2,有大量固体析出,降温至 0~5 °C 结晶 1 h,过滤,水洗,减压干燥得淡棕色固体 0.44 g,产率 89.1%.¹H-NMR (500 MHz, DMSO) δ 8.05 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, 5-H), 7.44 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H, 2-H), 7.38 (dd, $J = 8.4, 1.6$ Hz, 1H, 6-H), 2.14 (s, 3H, CH₃CON—).

1.3.3 3-羟基-4-乙酰氨基苯甲酸乙酯(杂质 B)的合成

在 25 mL 单口瓶中,加入 0.2 g 3-羟基-4-乙酰氨基苯甲酸、1 mL DMF、0.1 g 碳酸氢钠,在室温下搅拌 20 min,再向反应中加入溴乙烷 0.17 g,升温至 45~50 °C 反应 12 h,TLC 监测反应结束后,降温至室温,加入 20 mL 水,加入乙酸乙酯萃取 2 次(每次 20 mL),合并有机层水洗 1 次,再加入水 10 mL,搅拌下用 1 mol/L 的 NaOH 溶液调 pH=8~9,分层,弃去有机层,水层加 1 mol/L 盐酸调节 pH=5~6,有大量固体析出,过滤,水洗,减压干燥得淡棕色固体 0.21 g,产率 83.0%.¹H-NMR (500 MHz, DMSO) δ 8.09 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, 5-H), 7.46 (d, $J = 1.7$ Hz, 1H, 2-H), 7.40 (dd, $J = 8.4, 1.6$ Hz, 1H, 6-

H). 4. 27 (q, J = 7. 1 Hz, 2H, —OCH₂), 2. 14 (s, 3H, —CH₃CON—), 1. 30 (t, J = 7. 1 Hz, 3H, —CH₂CH₃). MS(ESI): m/z 224. 1 (M+1).

2 结 语

杂质的存在在药品中是不可避免的,而且对于杂质的控制是药品安全保证的关键,因此对于一种药品进行杂质研究是一项重要的工作。

本研究对杂质 A 的合成工艺进行了改进,改进后工艺操作简单,高收率的得到了杂质 A,验证了杂质 A 的产生机理,提示生产企业在贮存磷酸奥司他韦过程中保持干燥,其结果经¹H-NMR 确证其结构。

杂质 B 经 Scifinder 检索目前没有其合成方法,本实验探索性的合成了杂质 B,并对其进行了条件优化,整条路线的总收率为 52. 1%,虽然总的收率不高,但是三步操作较为简单,成本较低,没有引起环境污染,首次对该化合物进行了合成研究,并经¹H-NMR 确证其结构,对于企业在生产磷酸奥司他韦的过程中对杂质进行控制有重要意义。

致 谢

感谢武汉理工大学化学化工与生命科学学院对本实验的帮助。

参考文献:

- [1] HAYDEN F G, TREANOR J J, FRITZ R S. Use of the oral neuraminidase inhibitor oseltamivir in experimental human influenza randomized controlled trials for prevention and treatment[J]. JAMA, 1999, 282: 1240-1246.
- [2] TREANOR J J, HAYDEN F G, VROOMAN P S.

Efficacy and safety of the oral neuraminidase inhibitor Oseltamivir in treating acute influenza[J]. JAMA, 2000, 283: 1016-1024.

- [3] 王孟昭,孙武装,王亚梅,等. 磷酸奥司他韦治疗流行性感冒的临床疗效和安全性研究[J]. 中华传染病杂志, 2003, 21: 114-117.
- WANG Meng-zhao, SUN Wu-zhuang, WANG Ya-mei, et al. Clinical efficacy and safety study on Oseltamivir phosphate for influenza[J]. Chinese Journal of Infectious Diseases, 2003, 21: 114-117.
- [4] 陈晓红,祝亚非,关山越,等. 抗流感药物奥司他韦的结构确证[J]. 广州化工, 2006(6): 34-35.
- CHEN Xiao-hong, ZHU Ya-fei, GUAN Shan-yue, et al. The structure confirmation of the anti flu drug - Oseltamivir [J]. Guangzhou Chemical Industry, 2006(6): 34-35.
- [5] FUJIKO K, TAKUYA A, ZHANG M R. Radio-syntheses of two positron emission tomography probes: [11C] Oseltamivir and its active metabolite [11C] Ro 64-0802 [J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2008, 18: 1260-1263.
- [6] BISCHOFBERGER, NORBERT W. Compounds containing six-membered rings processes for their preparation and their use as medicaments; WO, 9914185[P]. 1999-03-25.
- [7] LUO M, KONISHI W J. Inhibitors of influenza virus neuraminidase and methods of making and using the same; WO, 5453533[P]. 1995-10-26.
- [8] LUO M, BIRMINGHAM A. Methods of inhibition bacterial sialidase; US, 5985859[P]. 1999-06-07.
- [9] GUO W, LI J F, FAN N J, et al. A simple and effective method for chemisetiowe esterification of phenolicacids [J]. Synthetic Communications, 2005, 35: 145-152.

Synthesis of related impurities in Oseltamivir phosphate

WU Pi-ye¹, LAI Xiao-yan², TANG Qing-hua², DAI Peng², ZHA Gao-feng²

1. Materials Science and Engineering, Wuhan Institute of Technology Wuhan 430200, China;

2. School of Chemistry, Chemical Engineering and Life Science, Wuhan University of Technology, Wuhan 430070, China

Abstract: Oseltamivir phosphate as a potent selective neuraminidase inhibitor is the most effective treatment of avian influenza now. There are two related substances of Oseltamivir phosphate recorded in USP38. Impurity (3R, 4R, 5S)-4-acetamido-5-amino-3-(1-ethylpropoxy)-1-cyclohexene-1-carboxylic acid(A) is produced during the refining and storage of the raw material medicine. We optimized the synthesis process of A and got it with a 86.6% yield by conventional separation methods. Impurity 4-Acetylamino-3-hydroxybenzoic acid ethyl ester(B) is the other related substance recorded, and there is no report about synthetic route of it so far. After exploring the references related to B, we proposed a synthesis process, using 3-hydroxy-4-amino benzoic acid as raw material and acetic anhydride as acylation reagent, then adding sodium hydroxide and hydrochloric acid to regulate pH, sequently hydrolysis occurring. Finally we got B with a 52.1% yield by bromoethane as alkylating agent. The entire synthetic route has the advantages of simple operation, mild reaction condition and no environmental pollution, which has practical significance for the production, inspection and storage of Oseltamivir phosphate.

Key words: Oseltamivir phosphate; impurity synthesis; structure identification

本文编辑:张 瑞