doi:10.3969/j.issn.1006－4931.2021.21.009

安立生坦杂质Ⅰ的合成*

陈加飞,黄丽华△,李 晶

(重庆市巴南区人民医院药剂科,重庆 401320)

摘要:目的 合成杂质(*S*)－2－[(4－羟甲基－6－甲基嘧啶－2－基)氧基]－3－甲氧基－3,3－二苯基丙酸(化合物Ⅰ),并对安立生坦进行质量控制。**方法** 以2,4－二氧代戊酸乙酯和*S*－甲基异硫脲硫酸盐为原料药,经环化、还原、羟基保护、氧化得到2－甲磺酰基－4－(叔丁基－二甲基－硅烷基氧基)－6－甲基－嘧啶,再与(*S*)－2－羟基－3－甲氧基－3,3－二苯基丙酸甲酯反应,合成目标化合物(化合物Ⅰ)。采用MS,^{1}H－NMR,^{13}C－NMR进行结构确证。**结果** MS,^{1}H－NMR,^{13}C－NMR证实目标化合物为(*S*)－2－[(4－羟甲基－6－甲基嘧啶－2－基)氧基]－3－甲氧基－3,3－二苯基丙酸。**结论** 合成的安立生坦杂质(化合物Ⅰ)可作为对照品,用于建立安立生坦原料药的质量标准和有关物质分析。

关键词:肺动脉高压;安立生坦;杂质;合成

中图分类号:R943 **文献标志码:A** **文章编号:1006－4931(2021)21－0026－03**

Synthesis of Impurity Ⅰ of Anlisentan

CHEN Jiafei, HUANG Lihua, LI Jing

(*Department of Pharmacy, People's Hospital of Chongqing Banan District, Chongqing, China 401320*)

Abstract: Objective To synthetsize the impurity (*S*)－2－[(4－hydroxymethyl－6－methylpyrimidin－2－yl)oxy]－3－methoxy－3,3－diphenylpropanoic acid(compound Ⅰ) and to control the quality of Anlisentan. **Methods** The 2－methyl sulfonyl－4－(tertiary butyl－dimethyl－silankyloxy)－6－methyl－pyrimidine was synthesized by cyclization, reduction, hydroxyl protection and oxidation with ethyl 2,4－dioxopentanoate and *S*－methylisothiourea sulfate as the active pharmaceutical ingredients(API), and then reacted with methyl (*S*)－2－hydroxy－3－methoxy－3,3－diphenylpropionate to synthesize the target compound (compound Ⅰ). The structure was confirmed by MS, ^{1}H－NMR, ^{13}C－NMR. **Results** MS, ^{1}H－NMR and ^{13}C－NMR confirmed that the target compound was (*S*)－2－[(4－hydroxymethyl－6－methylpyrimidin－2－yl)oxy]－3－methoxy－3,3－diphenylpropanoic acid. **Conclusion** The synthetic Anlisentan impurity (compound Ⅰ) can be used for the establishment of quality standards of Anlisentan API and the analysis of the related substances.

Key words: pulmonary hypertension; Anlisentan; impurity; synthesis

肺动脉高压(PAH)是慢性阻塞性肺疾病(COPD)的并发症[1],其特征是血管增生和小肺动脉重塑,导致肺血管阻力逐渐增加,并最终导致心室衰竭和死亡,未经治疗的患者平均生存期为2.8年[2－3]。安立生坦化学名为(＋)－(2*S*)－2－[(4,6－二甲基嘧啶－2－基)氧基]－3－甲氧基－3,3－二苯基丙酸,是由美国雅培公司研发的用于治疗PAH的选择性内皮素受体A(ERA)拮抗剂,能抑制内皮素在PAH发病机制中的作用,有效降低PAH发生率[4－5]。2007年6月由美国食品药物管理局(FDA)批准上市,商品名为Letaris,用于口服治疗PAH。杂质合成及控制贯穿于药品研发和生产的整个过程[6－7]。蒋清伟等[8]采用高效液相色谱(HPLC)法测定安立生坦强制降解有关物质A,B,C,D,E,F。陈立云等[9]采用HPLC法测定安立生坦中对映异构体杂质。吴国顺等[10]报道了安立生坦的异构体杂质。刘志友等[11]报道了安立生坦的4,6－二甲基－2－(2,2－二苯基－乙烯

*基金项目:重庆市卫生计生委中医药科技项目[ZY201703064]。

第一作者:陈加飞,男,硕士,主管药师,助理工程师,研究方向为药理学和药物化学,(电子信箱)16764230@qq.com。

△通信作者:黄丽华,女,硕士,主管药师,助理工程师,研究方向为药物分析和药物化学,(电子信箱)283509521@qq.com。

[5] 梁健华,林 平,邢 颖,等. 某院20 353例次药物咨询情况的统计与分析[J]. 中国药房,2017,28(17):2425－2428.

[6] 吴丽芳,卓双塔,林 涛,等. 984例住院不合理用药医嘱帕累托图分析[J]. 中国医院药学杂志,2016,36(9):737－740.

[7] 钱 鑫,张贵春,谢 娟. 我院门诊药物咨询工作回顾性分析[J]. 药品评价,2016,13(6):54－57.

[8] 马凤仪,付 欣. 北京安贞医院2010年度用药咨询记录分析[J]. 中国新药杂志,2011,20(12):1145－1148.

[9] 房 静,张 媛,侯芳菲,等. 时辰药理学研究进展[J]. 天津药学,2018,30(3):70－74.

[10] 沈 斌. 时辰药理学与临床合理用药[J]. 安徽医药,2006,10(9):704－705.

[11] 张伟霞,许倍铭,陈禾凤,等. 从医院门诊药物咨询现状看咨询药师的培养[J]. 中国医院药学杂志,2017,37(13):1217－1220.

[12] 谢乃集,邓小凡,邱星安. 门诊药房开展药物咨询服务的实践与体会[J]. 中国当代医药,2012,19(29):154－156.

(收稿日期:2021－01－06;修回日期:2021－04－17)

氧基）嘧啶杂质。陈保来等[12]报道了安立生坦杂质 Z1，Z2，Z3，Z4，DP1。陈雷霖等[13]采用液相色谱－质谱联用法鉴定安立生坦中 10 个有关物质。王博等[14]采用 HPLC 法测定了安立生坦片中 7 个杂质。但均未报道安立生坦的氧化杂质（*S*）－2－[（4－羟甲基－6－甲基嘧啶－2－基）氧基]－3－甲氧基－3，3－二苯基丙酸，且无该杂质的市售对照品。因此，建立安立生坦原料药及其制剂的质量标准具有重要意义。本研究中以 2，4－二氧代戊酸乙酯和 *S*－甲基异硫脲硫酸盐为原料药，经环化、还原、羟基保护、氧化得到 2－甲磺酰基－4－（叔丁基－二甲基－硅烷基氧基）－6－甲基－嘧啶（化合物Ⅵ），再与（*S*）－2－羟基－3－甲氧基－3，3－二苯基丙酸甲酯合成目标化合物 Ⅰ。现报道如下。

1 仪器与试药

1.1 仪器

BRUKER AVANCE Ⅲ HD 400 型核磁共振仪，BRUKER APEX Ⅳ FTMS 型质谱仪（德国布鲁克公司）；大龙 MS－H－Pro$^+$型加热磁力搅拌器（北京大龙公司）。

1.2 试药

S－甲基异硫脲硫酸盐（批号为 C12025028），2，4－二氧代戊酸乙酯（批号为 C12043031），硼氢化钠（$NaBH_4$，批号为 C12028063），叔丁基二甲基氯硅烷（TBSCl，批号为 C12035137），4－二甲氨基吡啶（DMAP，批号为 C12020132），间氯过氧苯甲酸（mCPBA，批号为 C12020138），均为分析纯，购于上海麦克林生化科技有限公司；乙醇（批号为 2020030201），二氯甲烷（DCM，批号为 2020012802），碳酸钾（K_2CO_3，批号为 2020011301），二甲基甲酰胺（DMF，批号为 2020011801），氢氧化钠（批号为 2020012201），乙腈（ACN，批号为 2020012501），盐酸（批号为 2020012201），石油醚（批号为 2020011701），乙酸乙酯（批号为 2020012501），氯化铵（NH_4Cl，批号为 2020030201），无水硫酸钠（批号为 2020010801），均为分析纯，购于成都市科隆化学品有限公司；（*S*）－2－羟基－3－甲氧基－3，3－二苯基丙酸甲酯（武汉欣欣佳丽生物科技有限公司，批号为 2019121301，分析纯）；柱层析硅胶（青岛硕远硅胶科技有限公司，200～300 目）。

2 方法与结果

2.1 化合物Ⅵ的合成

合成路线见图 1。将 2，4－二氧代戊酸乙酯（15.8 g，0.10 mol）和 *S*－甲基异硫脲硫酸盐（18.8 g，0.20 mol）溶于乙醇（200 mL），控温 70 ℃，搅拌，过夜。反应结束后，浓缩至干，再经硅胶柱层析分离纯化[石油醚－乙酸乙酯（10∶1，*V*/*V*）]，得类白色针状固体Ⅲ（13.3 g，62.7%）。将化合物Ⅱ（13.3 g，0.063 mol）溶于乙醇（200 mL），冰浴下分批加入 $NaBH_4$（1.8 g，0.048 mol），加毕于室温下搅拌，过夜。反应完毕，向反应液中加入饱和 NH_4Cl 溶液 50 mL，淬灭反应，旋干。依次用水（50 mL）和 DCM（50 mL×3）萃取，经无水硫酸钠干燥后抽滤，滤液减压蒸出溶剂，得油状物Ⅳ（7.8 g，72.7%）。将化合物Ⅳ（7.8 g，0.046 mol）和 DMAP（11.2 g，0.092 mol）加入 DCM（200 mL），搅拌，溶解后慢慢滴入 TBSCl（16.0 g，0.11 mol），滴毕，升温至 45 ℃，反应 3 h。反应完全后，加水（100 mL）淬灭，用乙酸乙酯（100 mL×2）萃取，合并有机相，经无水硫酸钠干燥，抽滤，滤液减压蒸出溶剂，所得剩余物经硅胶柱层析石油醚－乙酸乙酯（75∶1，*V*/*V*）分离纯化，得固体化合物Ⅴ（12.0 g，91.7%）。将化合物Ⅴ（12.0 g，0.042 mol）溶于 200 mL DCM 中，慢慢加入 mCPBA（15.8 g，0.092 mol），室温搅拌，过夜。反应完全后，向反应液中加水 50 mL，搅拌 30 min，用饱和的 K_2CO_3 溶液调 pH 至 7，经乙酸乙酯（100 mL×3）萃取，无水硫酸钠干燥，抽滤，滤液减压蒸出溶剂，所得剩余物经硅胶柱层析石油醚－乙酸乙酯（6∶1，*V*/*V*）分离纯化，得固体化合物Ⅵ（12.0 g，90.3%）。

2.2 化合物Ⅰ的合成

合成路线见图 2。将化合物Ⅶ（4.0 g，14.0 mmol）、化合物Ⅵ（4.2 g，13.3 mmol）和 K_2CO_3（1.9 g，13.7 mmol）加入 DMF（50 mL）中，搅拌，升温至 90 ℃，过夜。反应完毕，倾入冰水（100 mL）中，乙酸乙酯（200 mL×2）萃取，有

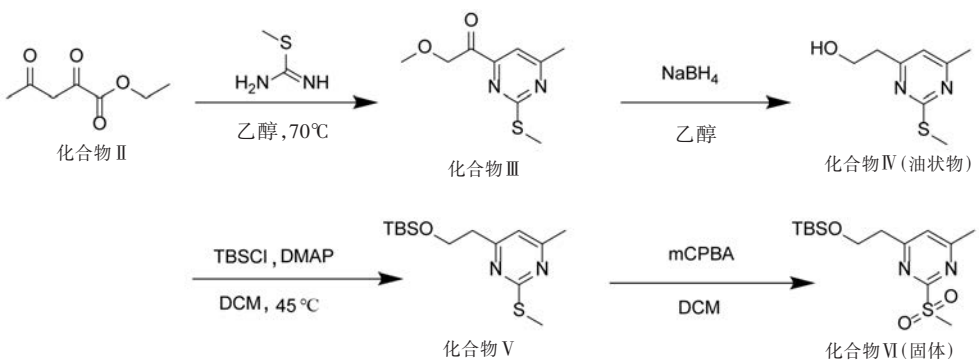


图 1 2－甲磺酰基－4－（叔丁基－二甲基－硅烷基氧基）－6－甲基－嘧啶（化合物Ⅵ）合成路线

Fig. 1 The synthetic process of 2－methyl sulfonyl－4－（tertiary butyl－dimethyl－silankyloxy）－6－methyl－pyrimidine（compound Ⅵ）

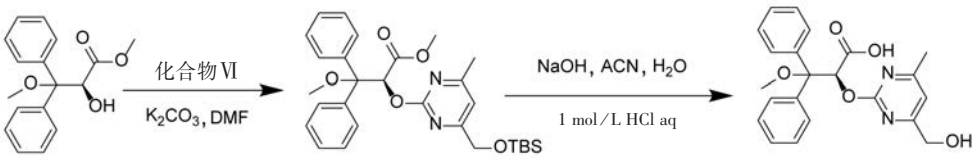


图 2 （*S*）-2-[(4-羟甲基-6-甲基嘧啶-2-基)氧基]-3-甲氧基-3,3-二苯基丙酸(化合物Ⅰ)合成路线

Fig. 2 The synthetic process of the impurity (*S*)-2-[(4-hydroxymethyl-6-methylpyrimidin-2-yl) oxy]-3-methoxy-3, 3-diphenylpropanoic acid (compound Ⅰ)

机相用饱和食盐水(50 mL)洗涤,无水硫酸钠干燥,浓缩后经硅胶柱层析[石油醚-乙酸乙酯(20∶1, *V*/*V*)]分离纯化,得白色固体化合物Ⅷ(5 g,71.9%)。将化合物Ⅷ(5 g,9.6 mmol)溶于 ACN(30 mL)和水(10 mL)中,加入 NaOH(0.5 g,12.5 mmol),室温下搅拌,过夜。反应完毕,将反应液转移至冰浴下,搅拌下滴加 1 mol/L 盐酸调 pH 至 1,滴毕后室温下搅拌 1 h,减压蒸出溶剂,所得剩余物经硅胶柱层析[石油醚-乙酸乙酯(5∶1, *V*/*V*)]分离纯化,得固体化合物Ⅰ(1.4 g,37.0%)。

2.3 结构确证

以 2,4-二氧代戊酸乙酯和 *S*-甲基异硫脲硫酸盐为初始原料药,经环化、还原、羟基保护、氧化得到中间体化合物Ⅵ,再与(*S*)-2-羟基-3-甲氧基-3,3-二苯基丙酸甲酯合成目标化合物Ⅰ(化学纯度为 99.1%,色谱图见图 3),并经 MS,^{1}H-NMR,^{13}C-NMR 进行结构确证。^{1}H-NMR(DMSO-d_6,400 MHz),δ:12.57(*s*, 1H, COOH),7.19-7.35(*m*, 10H, ArH),7.13(*s*, 1H, PyH),6.14(*s*, 1H, CH),5.59(*s*, 1H, OH),4.44(*t*, 2H, $PyCH_2OH$),3.38(*s*, 3H, OCH_3),2.40(*s*, 3H, CH_3);^{13}C-NMR($CDCl_3$, 100 MHz),δ:173.47, 169.80, 168.99, 162.80, 142.59, 141.38, 127.77, 127.68, 127.16, 126.96, 111.17, 83.10, 77.64, 63.15, 53.01, 23.68;ESI-MS, *m*/*z*:393.25[M-1]$^-$。

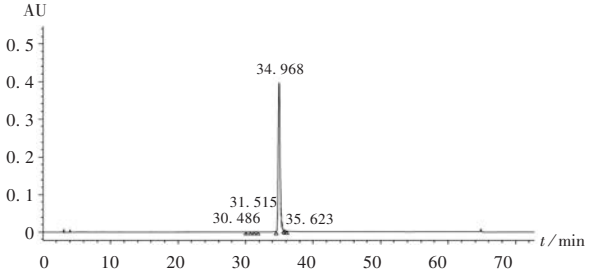


图 3 化合物Ⅰ高效液相色谱图

Fig. 3 HPLC chromatograms of compound Ⅰ

3 讨论

曾考察还原剂 $NaBH_4$,将化合物Ⅲ还原为化合物Ⅳ,加热、加速反应时产生氢气,存在一定安全隐患,故采取在室温温和条件下延长反应时间。化合物Ⅴ被氧化为化合物Ⅵ为该合成路线的关键点,常用氧化剂或氧化剂组合有 mCPBA、过硫酸氢钾、过氧化氢和钼酸铵组合等。由于化合物Ⅴ脂溶性较好,水溶性较差,为了使反应体系为均相体系而有利于反应进行,选择了脂溶性相对较好的 mCPBA 为氧化剂,成功制备了化合物Ⅵ。

虽然合成路线较长,但原料药与试剂均易得,中间体基本为固体,易于控制和分离纯化,利于合成杂质。合成的安立生坦杂质Ⅰ纯度高,可作为对照品用于建立安立生坦原料药的质量标准和有关物质分析。

参考文献

[1] 郑俊敏,余雄杰,连姝文,等. 安立生坦联合他达拉非治疗肺动脉高压的有效性和安全性研究[J]. 中国医药科学,2019,9(20):7-12.
[2] LI XQ, LI YJ, WANG Y, et al. Ambrisentan may improve exercise tolerance and cardiac function in patients with pulmonary hypertension[J]. Clinical Therapeutics, 2015, 37(6): 1270-1279.
[3] LI J, TIAN L. Improved synthesis process of ambrisentan and darusentan[J]. Chem Eng Trans, 2015, 46: 43-48.
[4] 张青扬,吕久安,胡海宇. 安立生坦的合成研究[J]. 中国药科大学学报,2017,48(3):293-296.
[5] 李小刚. 安立生坦合成工艺研究[D]. 天津:天津医科大学,2014.
[6] 康建磊. 浅谈化学合成原料药的杂质谱分析[J]. 中国医药工业杂志,2016,47(8):1093-1096.
[7] 谢沐风. 再谈仿制药研发中杂质研究思路之我见[J]. 中国医药工业杂志,2015,46(5):538-546.
[8] 蒋清伟,张印广,张 颖,等. HPLC 法测定安立生坦片中有关物质[J]. 药物分析杂志,2016,36(5):895-901.
[9] 陈立云,张晓峰,曾玉玲,等. 高效液相色谱法测定安立生坦中对映异构体[J]. 药物分析杂志,2015,35(8):1471-1473.
[10] 吴国顺,王 博,张海枝,等. HPLC 法测定安立生坦中 *R* 异构体[J]. 药物评价研究,2015,38(2):185-188.
[11] 刘志友,叶俊杰,孟 红,等. 4,6-二甲基-2-(2,2-二苯基-乙烯氧基)嘧啶的合成工艺研究[J]. 现代药物与临床,2016,31(12):1877-1878.
[12] 陈保来,李家春,仲 艳,等. HPLC 法测定安立生坦原料药中有关物质[J]. 现代药物与临床,2015,30(2):149-152.
[13] 陈雷霖,宋 敏,张 戈,等. 液-质联用技术鉴定安立生坦有关物质[J]. 中国药科大学学报,2016,47(1):58-65.
[14] 王 博,李洪起,连潇嫣,等. 高效液相色谱法测定安立生坦片的有关物质[J]. 中国药学杂志,2015,50(6):541-544.

(收稿日期:2020-12-15;修回日期:2021-05-27)