

依达拉奉有关物质的合成

王圣利, 益 兵, 李昌盛, 牛明浩, 王哲烽*
(中国医药工业研究总院上海医药工业研究院, 上海 201203)

摘要: 本文合成了依达拉奉的 5 个有关物质——4,4'-双(3-甲基-1-苯基-2-吡唑啉-5-酮)、3-甲基-1-苯基-4,4'-双(3-甲基-1-苯基-5-羟基吡唑-4-基)-2-吡唑啉-5-酮、2-(3-甲基-1-苯基-2-吡唑啉-5-氧代-4-基)-2-磺酰基丙酸、2-(3-甲基-1-苯基-2-吡唑啉-5-氧代-4-基)-2-丙磺酸和 1-甲基-1-(3-甲基-1-苯基-2-吡唑啉-5-氧代-4-基)-2-羟基乙磺酸, 并经 MS 和 ^1H NMR 确证其结构, 它们可作为依达拉奉原料药及制剂质量研究的参照物。

关键词: 依达拉奉; 质量控制; 有关物质

中图分类号: R972⁺.9; R914.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-8255(2018)05-0595-05

DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2018.05.008

依达拉奉(edaravone, **1**), 化学名为 3-甲基-1-苯基-2-吡唑啉-5-酮, 由日本三菱田边制药公司研发, 于 2001 年 6 月在日本上市, 商品名 RADICUT^[1], 目前国内已有多家仿制药上市。本品用于治疗脑梗死急性期相关神经症状; 2015 年 6 月日本批准新增适应证肌萎缩侧索硬化症(ALS); 2017 年 5 月美国批准用于治疗 ALS, 商品名为 RADICAVA^[2]。

1 的制备方法如图 1 所示, 由苯肼(**2**)、乙酰乙酸乙酯(**3**) 在无水乙醇中回流制得^[3]。在 **1** 的制备及存储过程中, 可能生成二聚物 4,4'-双(3-甲基-1-苯基-2-吡唑啉-5-酮)(**4**), 该二聚物可继续与 **1** 反应生成三聚物 3-甲基-1-苯基-4,4'-双(3-甲基-1-苯基-5-羟基吡唑-4-基)-2-吡唑啉-5-酮(**5**)。

该药国内上市剂型主要为 30 mg 规格的注射剂, 剂型组成通常包含亚硫酸氢钠、L-半胱氨酸盐酸盐水合物、氯化钠、氢氧化钠、磷酸, 为无色透明水溶液, 溶液 pH 3.0 ~ 4.5^[4-5]。在该注射液的制备及存储过程中可能发生 **1** 的降解, 2015 年中国药

典中规定的有关物质为 **2** 和 **4**。日本厚生省公开的该药物说明书中提到, **1** 的注射液在常温存储 6 个月即有 0.1% ~ 0.2% 的 2-(3-甲基-1-苯基-2-吡唑啉-5-氧代-4-基)-2-磺酰基丙酸(**6**) 及 0.03% 的 **2** 生成。在加速试验中有 **4** 和 2-(3-甲基-1-苯基-2-吡唑啉-5-氧代-4-基)-2-丙磺酸(**7**) 生成。1-甲基-1-(3-甲基-1-苯基-2-吡唑啉-5-氧代-4-基)-2-羟基乙磺酸(**8**) 为据此推断在该药物制剂及存储过程中可能产生的杂质。

本文研究了杂质 **4**、**5**、**6**、**7** 及 **8** 的合成(图 2)。有文献报道采用 3-甲基-1-苯基-4-溴-2-吡唑啉-5-酮(**9**) 与 **1** 在乙醇中以乙酸钠为缚酸剂可得到 **4** 和 **5**^[6]。由于 **5** 难以重结晶, 为了得到高纯度的 **5**, 本文采用 3-甲基-1-苯基-4,4'-二溴-2-吡唑啉-5-酮(**10**) 与 **1** 反应可方便地制得高纯度的 **5**, 该方法未见文献报道。**6** 的制备方法文献报道较为繁琐^[7], 本研究直接采用 **1** 及丙酮酸钠在甲醇/水混合溶剂中与亚硫酸氢钠反应制得 **6** 的钠盐, 再经酸化得 **6**; 简化了操作, 提高了纯度, 该方法未见文献报道。**7** 和 **8** 的制备参照文献采用 **1** 分别与丙酮和 1-羟基丙酮在亚硫酸氢钠的水溶液中回流反应制得相应的钠盐^[8], 本研究在此基础上利用盐酸调节 pH 得到相应的酸。

实验部分

3-甲基-1-苯基-4-溴-2-吡唑啉-5-酮(**9**)

将 **1** [阿法埃莎(天津)化学有限公司, 98%,

收稿日期: 2018-01-03

作者简介: 王圣利(1987—), 男, 硕士研究生, 专业方向: 药物化学。

Tel: 13501914676

E-mail: 1040723395@qq.com

通信联系人: 王哲烽(1975—), 男, 研究员, 主要从事新药及仿制药研究开发。

Tel: 13817967213

E-mail: wangzhefeng168@163.com

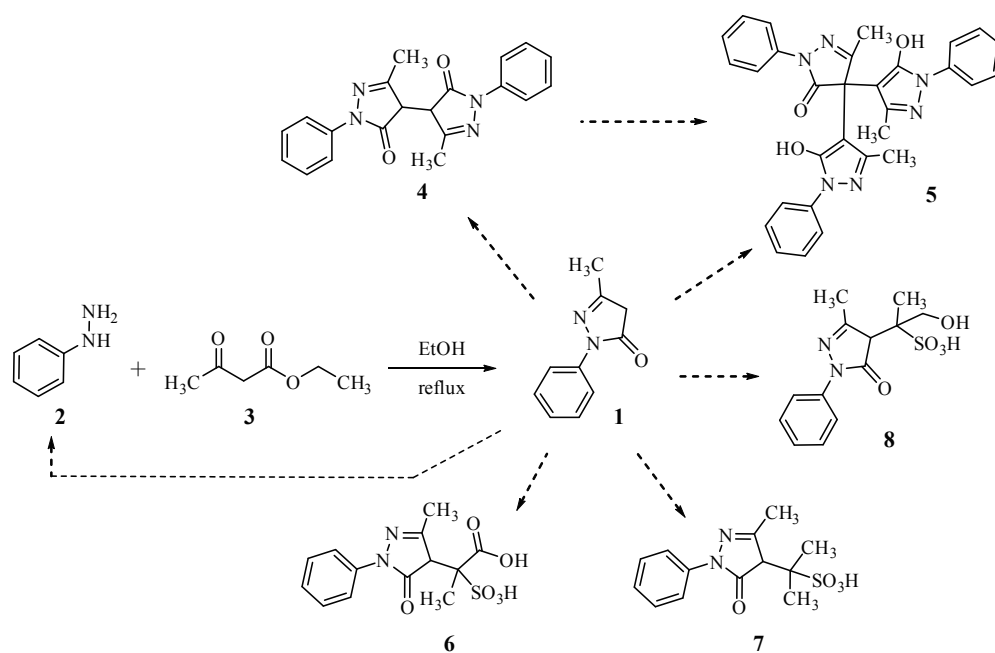


图 1 1 有关物质分析
Fig.1 Related Substances of 1

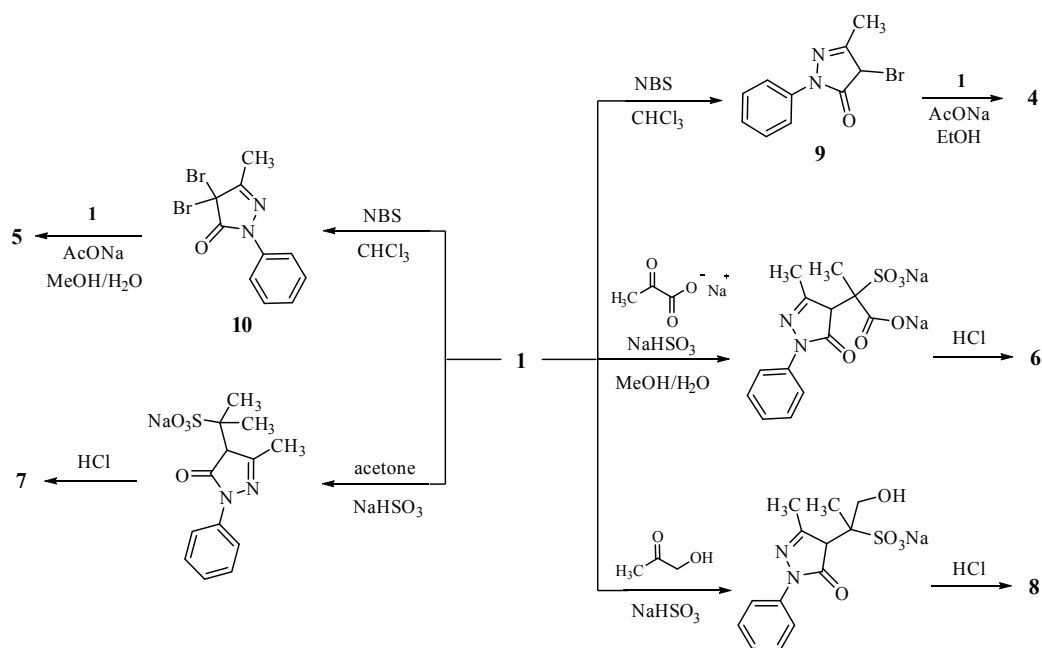


图 2 有关物质的合成路线
Fig.2 Sythetic Routes of the Related Substances

1.0 g, 5.7 mmol] 溶于氯仿 (6 ml) 中, 冰水浴冷却至 0 °C; 分三批加入 *N*-溴代琥珀酰亚胺 (NBS, 1.0 g, 5.7 mmol), 控制温度 0 ~ 5 °C, 0.5 h 加完。加毕, 冰水浴条件下搅拌反应 1 h。有白色固体生成, 过滤, 滤饼用二氯甲烷 (6 ml×2) 洗涤, 再用水 (6 ml) 打浆; 过滤, 30 °C 减压干燥 1 h 后得白色固体 **9** (1.20 g, 83.3%)。mp 122 °C (文献^[9]: 124 ~ 127 °C)。

3-甲基-1-苯基-4,4-二溴-2-吡啶啉-5-酮 (**10**)

将 **1** (2.0 g, 11.4 mmol) 溶于氯仿 (6 ml) 中, 冰水浴冷却至 0 °C, 分三批加入 NBS (4.0 g, 22.8 mmol), 控制温度 0 ~ 5 °C, 0.5 h 加完。加毕, 室温搅拌反应 1 h。加入水 (约 10 ml), 分液; 将有机相浓缩至干得淡黄色固体 **10** (3.3 g, 86.6%)。mp 80 °C (文献^[10]: 80 ~ 82 °C)。

4,4'-双(3-甲基-1-苯基-2-吡啶啉-5-酮) (**4**)

将化合物 **9** (0.5 g, 0.2 mmol)、乙酸钠 (0.18 g, 0.3 mmol)、**1** (0.34 g, 0.2 mmol) 加至 75% 乙醇 (3 ml) 中, 氮气保护条件下, 加热至回流反应 1 h。反应液颜色加深为棕黄色后有白色固体析出。冷却至室温, 过滤; 滤饼用少量 75% 乙醇洗涤, 35 °C 减压干燥 1 h 得 **4** 粗品 (0.1 g), 纯度 89.9% [HPLC 归一化法: 色谱柱 Inertsil ODS-3 柱 (4.6 mm×150 mm, 5 μm); 流动相 甲醇: pH 3.5 磷酸二氢铵缓冲液 (50 : 50); 检测波长 254 nm; 柱温 25 °C; 流速 1.0 ml/min]。该粗品用乙醇 (0.5 ml) 回流, 打浆精制得类白色固体 **4** (0.07 g, 10.2%), 纯度 99.6% (HPLC 归一化法: 条件同上。相对 **1** 的保留时间 1.80)。mp 350 °C (dec.) (文献^[6]: 320 °C)。MS (*m/z*): 347 [*M*+*H*]⁺。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 11.42 (br s, 2H), 7.78 (d, *J*=8.0 Hz, 4H), 7.47 (t, *J*=8.0 Hz, 4H), 7.24 (t, *J*=8.0 Hz, 2H), 2.17 (s, 6H)。

滤液中加入水 (2 ml), 室温搅拌析晶过夜, 过滤得 **5** (0.2 g, 29.4%), 纯度 96.5% (HPLC 归一化法: 条件同上, 相对 **1** 的保留时间 5.93, 与下述制得的 **5** 相同)。

3-甲基-1-苯基-4,4-双(3-甲基-1-苯基-5-羟基吡啶-4-基)-2-吡啶啉-5-酮 (**5**)

将化合物 **10** (3.0 g, 9.0 mmol)、乙酸钠 (1.4 g,

22.5 mmol) 和 **1** (3.14 g, 18 mmol) 加至甲醇: 水 (1 : 1, 30 ml) 的混合液中, 加热至回流搅拌反应 2 h。有类白色固体生成, 冷却至室温后过滤, 滤饼用甲醇 (5 ml×2) 淋洗, 于 40 °C 减压干燥 1 h 得类白色固体 **5** (2.9 g, 62%), 纯度 99.6% (HPLC 归一化法: 条件同 **4**, 相对 **1** 的保留时间 5.93)。mp 218 ~ 220 °C (dec.) (文献^[11]: 212 ~ 214 °C)。MS (*m/z*): 518 [*M*+*H*]⁺。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 11.48 (br s, 2H), 7.89 (d, *J*=8.0 Hz, 2H), 7.71 (d, *J*=8.0 Hz, 4H), 7.41 ~ 7.47 (m, 6H), 7.17 ~ 7.25 (m, 3H), 2.15 (s, 9H)。

2-(3-甲基-1-苯基-2-吡啶啉-5-氧代-4-基)-2-磺酰基丙酸 (**6**)

将丙酮酸 (25 g, 284 mmol) 加至甲醇 (100 ml) 中, 置冰水浴搅拌反应 10 min; 缓慢滴入 2.8 mol/L 氢氧化钠溶液 (101 ml, 284 mmol), 滴毕, 加入亚硫酸氢钠 (30 g, 288 mmol) 和 **1** (10 g, 57 mmol), 加热至回流搅拌反应 3 h。反应液为金黄色澄清溶液。冷却至室温, 将反应液浓缩至干。加入水 (50 ml) 溶解, 并用浓盐酸 (约 5 ml) 调至 pH 2 ~ 3, 室温搅拌析晶。过滤, 得类白色固体 **6** (6.5 g, 35%), 纯度 98.7% (HPLC 归一化法: 条件同 **4**, 相对 **1** 的保留时间 0.53)。mp 158 ~ 160 °C (dec.) (文献^[7]: 158 °C)。MS (*m/z*): 327 [*M*+*H*]⁺, 349 [*M*+*Na*]⁺。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 7.86 (d, *J*=8.0 Hz, 2H), 7.34 (dd, *J*=7.2、7.6 Hz, 2H), 7.09 (dd, *J*=6.8、7.2 Hz, 1H), 2.20 (s, 3H), 1.75 (s, 3H)。

2-(3-甲基-1-苯基-2-吡啶啉-5-氧代-4-基)-2-丙磺酸 (**7**)

将亚硫酸氢钠 (30 g, 288 mmol) 溶于水 (100 ml) 中, 加入丙酮 (200 ml) 和 **1** (10 g, 57 mmol), 加热至回流搅拌反应 3 h。反应液为金黄色澄清溶液。冷却至室温, 用乙酸乙酯 (40 ml×2) 洗涤反应液, 将水层减压浓缩至干后所得剩余物用甲醇 (约 100 ml) 打浆约 1 h, 过滤; 将滤液浓缩至干后用水 (约 50 ml) 溶解, 再用浓盐酸 (约 3 ml) 调至 pH 2 ~ 3; 室温搅拌析晶, 过滤得粗品; 该粗品用甲醇 (约 10 ml) 打浆后于 40 °C 减压干燥 1 h 得类白色粉末状

固体 **7** (13.7 g, 81.2%), 纯度 99.8% (HPLC 归一化法: 条件同 **4**, 相对 **1** 的保留时间 1.10)。mp 175 °C (dec.)。MS (m/z): 297 $[M+H]^+$ 。 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.87 (br s, 2H), 7.67 (dd, $J=1.2$ 、8.4 Hz, 2H), 7.56 (ddd, $J=1.6$ 、7.2、8.4 Hz, 2H), 7.45 (dd, $J=7.2$ 、7.6 Hz, 1H), 2.40 (s, 3H), 1.61 (s, 6H)。

1- 甲基 -1- (3- 甲基 -1- 苯基 -2- 吡唑啉 -5- 氧代 -4- 基) -2- 羟基乙磺酸 (**8**)

将亚硫酸氢钠 (30 g, 288 mmol) 溶于水 (100 ml) 中, 加入 1- 羟基丙酮 (200 ml) 和 **1** (10 g, 57 mmol), 加热至回流搅拌反应 3 h。反应液为金黄色澄清溶液。冷却至室温, 用乙酸乙酯 (40 ml \times 2) 洗涤反应液, 将水层浓缩至干后所得剩余物, 用甲醇 (约 100 ml) 打浆约 1 h, 过滤。将滤液浓缩至干后用水 (约 50 ml) 溶解, 并用浓盐酸 (约 3 ml) 调至 pH 2 ~ 3; 室温搅拌析晶, 过滤得粗品; 该粗品用甲醇 (约 10 ml) 打浆后, 于 40 °C 减压干燥 1 h, 得白色粉末状固体 **8** (10.6 g, 59.5%), 纯度 99.7% (HPLC 归一化法: 条件同 **4**, 相对 **1** 的保留时间 0.62)。mp 158 ~ 160 °C (dec.); MS (m/z): 313 $[M+H]^+$ 、335 $[M+Na]^+$; 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.66 (d, $J=8.0$ Hz, 2H), 7.57 (dd, $J=7.2$ 、8.4 Hz, 2H), 7.46 (t, $J=7.2$ Hz, 1H), 7.24 (br s, 3H), 3.93 (d, $J=11.2$ Hz, 1H), 3.68 (d, $J=11.2$ Hz, 1H), 2.40 (s, 3H), 1.64 (s, 3H)。

参考文献:

- [1] 顾学兰. 依达拉奉的临床研究及进展[J]. 世界临床药物, 2004, **25** (11): 696-698.
- [2] Rothstein JD. Edaravone: A new drug approved for ALS [J]. *Cell*, 2017, **171** (4): 725.
- [3] 应明华, 胡卫红. 依达拉奉的合成[J]. 山东医药工业, 2002, **21** (6): 3.
- [4] 方国民, 任 军. 依达拉奉注射液的制备工艺研究[J]. 中国药业, 2003, **12** (7): 45-46.
- [5] 刘伟芬, 李禄辉, 陈运来, 等. 依达拉奉氯化钠注射液处方及工艺研究[J]. 河南大学学报 (医学版), 2015, **34** (3): 175-176.
- [6] Nayak A, Mittra AS. 4,4'-Bis-5-pyrazolones and their 4,4'-unsaturated products for possible use as fungicides [J]. *J Indian Chem Soc*, 1980, **57** (6): 643-645.
- [7] 文佳军, 张剑锋, 黄 锋. 一种依达拉奉衍生物的合成方法: 中国, 102336710 [P]. 2012-02-01.
- [8] 刘兆刚, 王致轩, 丛 欣, 等. 磺酸类有机化合物的一步合成方法: 中国, 102140080 [P]. 2011-08-03.
- [9] Akbarzadeh A, Soleymani R, Taheri M, *et al.* Synthesis new and novel aryl thiazole derivatives compounds [J]. *Orient J Chem*, 2012, **28** (1): 153-164.
- [10] Huang YY, Lin HC, Cheng KM, *et al.* Efficient di-bromination of 5-pyrazolones and 5-hydroxypyrazoles by *N*-bromobenzamide [J]. *Tetrahedron*, 2009, **65** (46): 9592-9597.
- [11] Kucybala Z, Gaca J. Investigations on the reaction of pyrazolone azomethine dyes with 2-pyrazoli-5-one-derivatives [J]. *Adv Synth Catal*, 1988, **330** (3): 435-439.

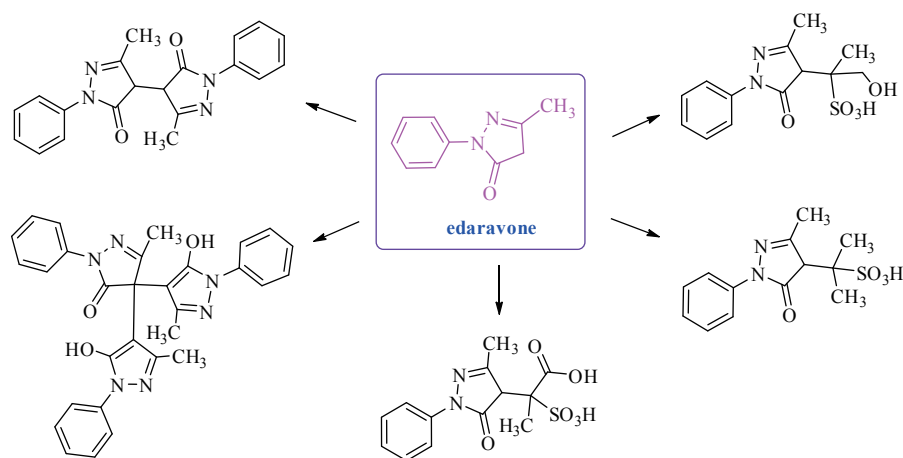
Synthesis of the Related Substances of Edaravone

WANG Shengli, YI Bing, LI Changsheng, NIU Minghao, WANG Zhefeng*

(Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry, China State Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 201203)

ABSTRACT: In order to control the quality of the bulk drug and preparation of edaravone, five related substances of edaravone: 4,4'-bis (3-methyl-1-phenyl-2-pyrazolin-5-one), 3-methyl-1-phenyl-4,4-bis [3-methyl-1-phenyl-5- (hydroxyl) -pyrazol-4-yl]-2-pyrazolin-5-one, 2- (3-methyl-1-phenyl-2-pyrazolin-5-oxo-4-yl) -2-sulfopropanoic acid, 2- (3-methyl-1-phenyl-2-pyrazolin-5-oxo-4-yl) -2-propanesulfonic acid, and 1-methyl-1- (3-methyl-1-phenyl-2-pyrazolin-5-oxo-4-yl) -2- (hydroxyl) ethanesulfonic acid were prepared and their structures were confirmed by ^1H NMR and MS.

Key Words: edaravone; quality control; related substance



In order to control the quality of the bulk drug and preparation of edaravone, five related substances of edaravone were prepared and their structures were confirmed.