

罗氟司特 *N*-氧化物的合成与晶型研究

向左娟, 孙宏斌*

(中国药科大学新药研究中心, 南京 210009)

摘要 对罗氟司特在体内的活性代谢物罗氟司特 *N*-氧化物的合成进行了工艺改进, 总收率为 19%。通过 X 线粉末衍射、红外光谱、差示扫描量热分析及元素分析等方法确定了罗氟司特 *N*-氧化物的晶型物 I 和晶型物 II, 并测定了一水合物晶型物 II 的 X 线单晶衍射结构。

关键词 罗氟司特; 罗氟司特 *N*-氧化物; 合成; 多晶型

中图分类号 R914.5 **文献标识码** A **文章编号** 1000-5048(2012)06-0492-05

Synthesis and polymorphic study of roflumilast *N*-oxide

XIANG Zuo-juan, SUN Hong-bin*

Center for Drug Discovery, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

Abstract This paper describes a practical process for the preparation of an active metabolite of roflumilast, with an overall yield of 19%. The polymorphic substances of roflumilast *N*-oxide were characterized by means of X-ray powder diffraction, IR, DSC, TGA and elemental analysis. Roflumilast *N*-oxide was found to exist in two crystal forms, form I and monohydrate form II. Monohydrate crystal form II was further indentified by single-crystal X-ray structure analysis.

Key words roflumilast; roflumilast *N*-oxide; synthesis; polymorphism

罗氟司特(商品名 Daliresp), 化学名为 3-(环丙基甲氧基)-*N*-(3,5-二氯吡啶-4-基)-4-(二氟甲氧基)苯甲酰胺(**1**), 是第 1 个用于治疗慢性阻塞性肺病(COPD)的磷酸二酯酶 4(PDE4)抑制剂, 为瑞士奈科明公司旗下产品, 2010 年经欧盟批准上市用于 COPD 的治疗, 2011 年 2 月 28 日经 FDA 批准在美国上市。本品口服后迅速被细胞色素 P450(CYP)3A4 和 1A2 转化为其活性代谢物罗氟司特 *N*-氧化物(**2**), 此活性代谢物与原药有着相似的活性和选择性, 并发挥着罗氟司特在体内 90% 的 PDE4 抑制活性^[1-5]。最新的药理实验表明, 罗氟司特 *N*-氧化物可直接抑制细胞增生、肌成纤维细胞转移、细胞外基质形成及炎症反应^[6], 并抑制由香烟提取物诱发的支气管纤毛柱状上皮细胞纤毛摆动频率(CBF)降低及纤毛数量降低^[7]。此外, 罗氟司特 *N*-氧化物较罗氟司特在减小呕吐(PDE4 抑制剂典型的不良反应)及精神不良反应方面更

具优势^[8]。因此, 罗氟司特 *N*-氧化物可以成为 COPD 和哮喘的候选药物。

罗氟司特 *N*-氧化物的合成是对 3,4-二羟基苯甲醛进行 2 步烷基化、氧化、与 3,5-二氯-4-氨基吡啶缩合得到罗氟司特, 再经过氧化得到目标化合物^[8-9]。为了降低成本, 本文采用价廉易得的香草醛作为起始原料, 此外, 文献中最后一步所用过氧酸为单过氧邻苯二甲酸镁, 使氧化产率偏低且氧化剂来源较为困难, 本研究采用常见的间氯过氧苯甲酸作为氧化剂得到了很好的收率。罗氟司特 *N*-氧化物由于结构特征容易吸潮, 为了探究其稳定性, 本研究通过重结晶制备了其一水合物的晶型物 II。对于有多晶型的化合物而言, 不同的多晶型由于具有不同的理化性质可能会影响制剂的稳定性、溶解度和生物利用度, 因而晶型研究是探究化合物成药性的一项必要内容, 罗氟司特仅具有一种晶型, 而罗氟司特 *N*-氧化物的晶型研究仅在本研究

撰写期间有一篇专利报道^[10],对罗氟司特 *N*-氧化物的晶型研究有助于探究其成药潜力。

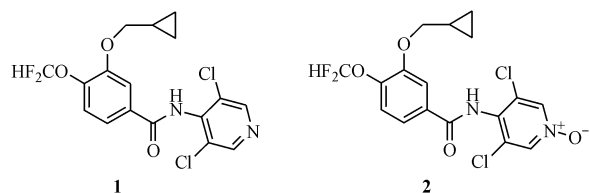
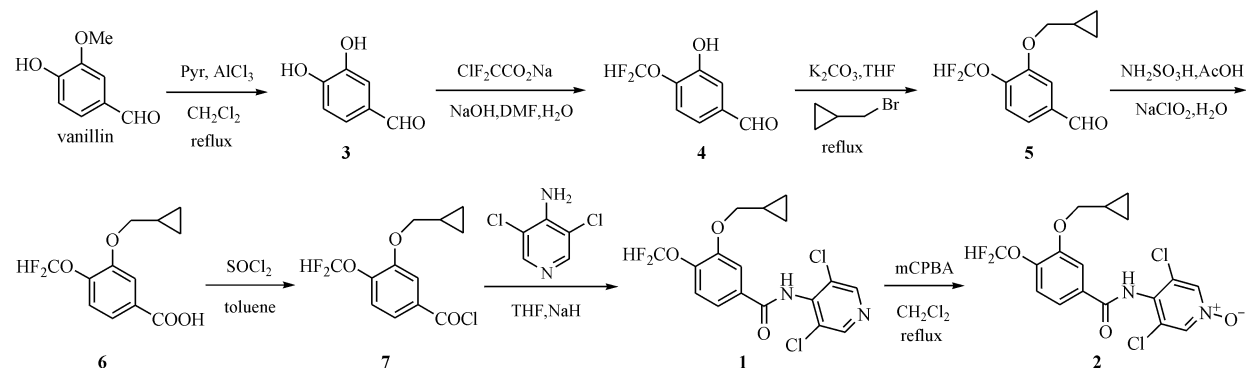


Figure 1 Structures of roflumilast (**1**) and roflumilast *N*-oxide (**2**)



Scheme 1 Synthetic route to roflumilast (**1**) and roflumilast *N*-oxide (**2**)

2 实验部分

2.1 仪器和试剂

RY-1 型天津市分析仪器厂熔点仪,温度计未校正。红外光谱以 KBr 压片,经 Shimadzu FTIR-8400S 型红外光谱仪记录。磁共振谱以 TMS 为内标,用 Bruker AV-300 型磁共振仪测定。质谱用 Agilent 1100 LC-MS 或 Q-TOF micro 四级杆飞行时间串联质谱仪测定。差示热分析用 NETZSCH DSC 204 测定,热重分析用 NETZSCH TG 209 测定。X 射线粉末衍射用 D8 Advance X 射线粉末衍射仪测定。元素分析用 Elementar Vario EL III 测定。柱色谱用硅胶(200~300 目)及高效薄层板均为青岛海洋化工厂产品。所用石油醚沸程为 60~90 ℃,其余溶剂或试剂均为市售分析纯或化学纯产品,除特别说明外,未经处理直接使用。

2.2 合成实验

3,4-二羟基苯甲醛(3) 将香草醛(200 g, 1.33 mol)、三氯化铝(386 g, 2.93 mol)溶解于二氯甲烷 2 L 中,冰浴下缓慢滴加吡啶溶液(932 mL, 11.7 mol),升温至 45 ℃ 反应 20 h。将反应液倒入冰水混合物中,用 6 mol/L 盐酸调节 pH 到 3,乙酸乙

1 合成路线

酯萃取,分液,有机相以无水硫酸钠干燥,蒸干溶剂,得到黄色固体(**3**)(170 g, 92%); mp: 153~155 ℃ (文献收率: 87%, mp: 153~154 ℃); ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ: 10.07 (1H, br. s, OH), 9.70 (1H, s, CHO), 9.53 (1H, br. s, OH), 7.27 (1H, dd, *J* = 9 Hz and *J* = 0.9 Hz, Ar-H), 6.91 (1H, d, *J* = 0.9 Hz, Ar-H), 6.65 (1H, d, *J* = 9 Hz, Ar-H); ESI-MS *m/z*: 137.0 [*M* - 1]⁻。

3-羟基-4-二氟甲氧基-苯甲醛(4) 将化合物 **3** (20 g, 0.14 mol)、氯二氟乙酸钠(22.1 g, 0.14 mol)、氢氧化钠(5.8 g, 0.14 mol)溶解于 DMF(200 mL)与水(2.8 mL)的混合溶液中,升温到 125 ℃ 反应 1 h。减压蒸出 DMF,用 3 mol/L 盐酸淬灭反应,加入水 200 mL 稀释,乙酸乙酯萃取,分液,有机相以无水硫酸钠干燥,蒸干溶剂,得到棕黑色油状物,经硅胶柱色谱(石油醚-乙酸乙酯, 20:1)得白色固体(**4**)(12.35 g, 45%) (文献收率: 32%); mp: 84~86 ℃; ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ: 9.92 (1H, s, CHO), 7.54 (1H, d, *J* = 1.83 Hz, Ar-H), 7.45 (1H, dd, *J* = 1.83 Hz and *J* = 8.22 Hz, Ar-H), 7.27 (1H, d, *J* = 6.75 Hz, Ar-H), 6.65 (1H, t, *J* = 72.6 Hz, OCF₂H), 5.90 (1H, br. s, OH); ESI-MS *m/z*: 187.1 [*M* - 1]⁻。

3-环丙甲氧基-4-二氟甲氧基-苯甲醛(**5**) 将化合物 **4** (6.85 g, 36.4 mmol) 溶解于四氢呋喃 (72 mL) 中, 加入碳酸钾 (10 g, 72.5 mmol), 冰浴下滴加溴甲基环丙烷 (10.82 g, 80.1 mmol) 的四氢呋喃 (36 mL) 溶液。升温到 75 °C 反应 7 h, 补加溴代环丙烷 4 mL, 继续升温到 75 °C 反应 10 h。减压蒸除溶剂, 向残留物中加入 2 mol/L 氢氧化钠溶液 100 mL, 乙酸乙酯萃取, 分液, 有机相以无水硫酸钠干燥, 蒸干溶剂, 得到橙红色油状物, 经硅胶柱色谱 (石油醚-乙酸乙酯, 50:1) 得无色油状物 (**5**) (7.1 g, 80%) (文献收率: 98%) ; ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 9.92 (1H, s, CHO), 7.45 (2H, m, Ar-H), 7.43 (1H, m, Ar-H), 6.50 (1H, t, $J = 72.6$ Hz, OCF_2H), 3.95 (2H, d, $J = 6.96$ Hz, OCH_2CH), 1.30 (1H, m, $\text{CH}(\text{CH}_2)_2$), 0.67 (2H, m, $\text{CH}(\text{CH}_2)_2$), 0.38 (2H, m, $\text{CH}(\text{CH}_2)_2$)。

3-环丙甲氧基-4-二氟甲氧基-苯甲酸(**6**) 将化合物 **5** (22.5 g, 92.9 mmol) 溶解于冰醋酸 (29 mL) 中, 加入氨基磺酸 (18 g, 185.4 mmol), 冰浴下滴加亚氯酸钠 (16.8 g, 185.8 mmol) 的水 (23.5 mL) 溶液, 反应 0.5 h。加入水 150 mL, 抽滤, 滤饼依次用饱和硫代硫酸钠溶液和水洗, 烘干后得到白色固体 (**6**, 22.9 g, 95%) (文献收率: 92%) ; mp: 114 ~ 116 °C ; ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 7.73 (1H, dd, $J = 1.83$ Hz and $J = 8.43$ Hz, Ar-H), 7.68 (1H, d, $J = 1.80$ Hz, Ar-H), 7.24 (1H, d, $J = 8.22$ Hz, Ar-H), 6.75 (1H, t, $J = 74.8$ Hz, OCF_2H), 3.95 (2H, d, $J = 6.93$ Hz, OCH_2CH), 1.30 (1H, m, $\text{CH}(\text{CH}_2)_2$), 0.69 (2H, m, $\text{CH}(\text{CH}_2)_2$), 0.38 (2H, m, $\text{CH}(\text{CH}_2)_2$) ; ESI-MS m/z : 257.0 $[\text{M} - 1]^-$ 。

3-(环丙基甲氧基)-*N*-(3,5-二氯吡啶-4-基)-4-(二氟甲氧基)苯甲酰胺(**1**) 将化合物 **6** (46 g, 0.18 mol) 溶解于无水甲苯 (446 mL) 中, 加入二氯亚砷 (151.8 g, 1.27 mol), 升温到 120 °C 反应 2 h, 将溶剂旋干, 所得固体 3-环丙甲氧基-4-二氟甲氧基-苯甲酰氯(**7**) 溶解于无水四氢呋喃 (225 mL)。将钠氢 (17.48 g, 0.43 mol) 悬浮于无水四氢呋喃 225 mL 中, 分批加入 3,5-二氯-4-氨基吡啶 (35 g, 0.21 mol), 有气泡产生, 缓慢滴加化合物 **7** 的无水四氢呋喃溶液, 有气泡产生, 室温反应过夜。用 3 mol/L 盐酸调节反应混合物 pH 到 4, 分离四氢呋

喃层, 水层用乙酸乙酯萃取, 合并有机层, 有机层依次用水、饱和碳酸氢钠溶液和饱和氯化钠溶液洗, 无水硫酸钠干燥, 蒸干溶剂, 得到黄色固体, 经异丙醇重结晶, 得到淡黄色固体 (**1**) (47.6 g, 66%) ; mp: 160 ~ 161 °C (文献收率: 75%, mp: 157 ~ 157.5 °C) ; ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 8.55 (2H, s, CClCHN), 7.83 (1H, br. s, CONHC), 7.58 (1H, m, Ar-H), 7.47 (1H, m, Ar-H), 7.27 (1H, m, Ar-H), 6.74 (1H, t, $J = 74.8$ Hz, OCF_2H), 3.95 (2H, d, $J = 6.96$ Hz, OCH_2CH), 1.31 (1H, m, $\text{CH}(\text{CH}_2)_2$), 0.68 (2H, m, $\text{CH}(\text{CH}_2)_2$), 0.37 (2H, m, $\text{CH}(\text{CH}_2)_2$) ; ESI-MS m/z : 403.1 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 。

3-(环丙基甲氧基)-*N*-(3,5-二氯吡啶-1-氧-4-基)-4-(二氟甲氧基)苯甲酰胺(**2**) 将化合物 **1** (42.4 g, 0.11 mol) 溶解于二氯甲烷 (424 mL) 中, 分批加入间氯过氧苯甲酸 (63.6 g, 0.31 mol), 升温到 45 °C 反应 8 h。向反应体系中加入饱和亚硫酸钠溶液淬灭反应, 用淀粉碘化钾试纸检测至无氧化性, 分离二氯甲烷层, 水层用乙酸乙酯萃取, 合并有机层, 有机层依次用饱和碳酸氢钠溶液和饱和氯化钠溶液洗, 无水硫酸钠干燥, 蒸干溶剂, 得到黄色固体, 经硅胶柱色谱 (二氯甲烷-甲醇, 80:1) 得白色固体 (**2**) (39.6 g, 90%) ; mp: 179 ~ 180 °C ; ^1H NMR (acetone- d_6 , 300 MHz) δ : 9.59 (1H, br. s, CONHC), 8.41 (2H, s, CClCHN), 7.75 (1H, s, Ar-H), 7.70 (1H, m, Ar-H), 7.35 (1H, m, Ar-H), 7.06 (1H, t, $J = 75.0$ Hz, OCF_2H), 4.03 (2H, d, $J = 10.2$ Hz, OCH_2CH), 1.33 (1H, m, $\text{CH}(\text{CH}_2)_2$), 0.63 (2H, m, $\text{CH}(\text{CH}_2)_2$), 0.43 (2H, m, $\text{CH}(\text{CH}_2)_2$) ; ESI-MS m/z : 419.1 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 。

2.3 罗氟司特 *N*-氧化物两种晶型的制备

在浴温 30 ~ 85 °C 搅拌下, 分别用二氯甲烷、甲醇、乙醇、乙酸乙酯、四氢呋喃和乙腈等有机溶剂溶解罗氟司特 *N*-氧化物, 冷却至 20 °C 下静置, 有白色固体析出, 抽滤, 将得到的固体于 40 °C 减压下干燥, 得到罗氟司特 *N*-氧化物的晶型物 I。晶型物 I 也可由晶型物 II 经高温 (如 80 °C) 脱水制备。

在浴温 30 ~ 85 °C 搅拌下, 分别用甲醇、乙醇、丙酮和四氢呋喃等有机溶剂与水的混合溶剂 (有机溶剂与水的比例范围在 6:5 ~ 1:19) 溶解罗氟司特 *N*-氧化物, 冷却至 20 °C 下静置, 有白色固体析出, 抽滤, 将得到的固体于 40 °C 减压下干燥, 得到

罗氟司特 *N*-氧化物的晶型物 II。

2.4 晶型物 I 和晶型物 II 的鉴定

2.4.1 粉末 X 线衍射分析 结果表明,两种结晶

的衍射角(2θ)和面间距(d)不同,表明为两种不同的晶型。测定数据见表 1。

Table 1 XRPD results of crystal forms I and II of roflumilast *N*-oxide

Crystal form I					Crystal form II			
No.	Angle	d value	Intensity	Intensity/%	Angle	d value	Intensity	Intensity/%
1	5.914	14.933	1 484	100	5.137	17.190	5 824	100
2	6.942	12.724	390	26.3	5.420	16.292	358	6.1
3	11.809	7.488	160	10.8	10.224	8.654	1 484	25.5
4	13.415	6.595	627	42.3	12.791	6.915	118	2.0
5	13.923	6.355	304	20.5	13.217	6.694	446	7.7
6	17.774	4.986	457	30.8	15.417	5.743	160	2.7
7	18.705	4.740	182	12.3	15.961	5.548	77.1	1.3
8	19.329	4.588	139	9.4	17.452	5.077	101	1.7
9	21.569	4.177	328	22.1	19.361	4.581	173	3.0
10	23.053	3.855	323	21.8	20.538	4.321	169	2.9
11	23.489	3.784	108	7.3	21.473	4.135	577	9.9
12	24.387	3.647	417	28.1	22.051	4.028	371	6.4
13	25.035	3.554	483	32.6	23.201	3.831	232	4.0

2.4.2 红外光谱分析 物质晶型不同会导致分子间氢键和范德华力作用方式和作用强度不同,如图 2 所示,罗氟司特 *N*-氧化物的两种晶型的红外光谱有细微差别。

吸热峰为 181.9 ℃,表明其不含结晶水或者结晶溶剂。晶型物 II 有 3 个吸热峰,分别为 82.6 ℃、103.0 ℃和 182.8 ℃。TGA 测定结果:晶型物 I 在熔融前基本不失重,表明晶型物 I 不含结晶水或结晶溶剂。晶型物 II 在 100 ℃左右失重 3.42%。

DSC 和 TGA 均提示晶型物 II 可能具有结晶水或结晶溶剂。

2.4.4 元素分析 罗氟司特 *N*-氧化物的分子式为 C₁₇H₁₄Cl₂F₂N₂O₄,元素分析的测定结果显示,对晶型物 I :N=6.36%,C=48.80%,H=3.85%,与罗氟司特 *N*-氧化物的理论值相符;而对晶型物 II :N=6.19%,C=46.58%,H=3.89%,表明可能含有一个结晶水。

2.4.5 晶型物 II 的 X 线单晶衍射分析 DSC、TGA 及元素分析均表明晶型物 II 可能含有结晶水或结晶溶剂,尤其是结晶水的可能性很大,X 线单晶衍射的结果确证了晶型物 II 中罗氟司特 *N*-氧化物与结晶水的比例为 1:1,排除了其他结晶溶剂的可能性,并验证了晶型物 II 的晶体结构。X 线单晶衍射图如图 3 所示,晶胞参数为:晶胞大小 a=17.628 Å,b=7.666 Å,c=14.125 Å,体积=1 909 Å³,空间群为 P21/C,分子/晶胞=4,密度=1.46 g/cm³。

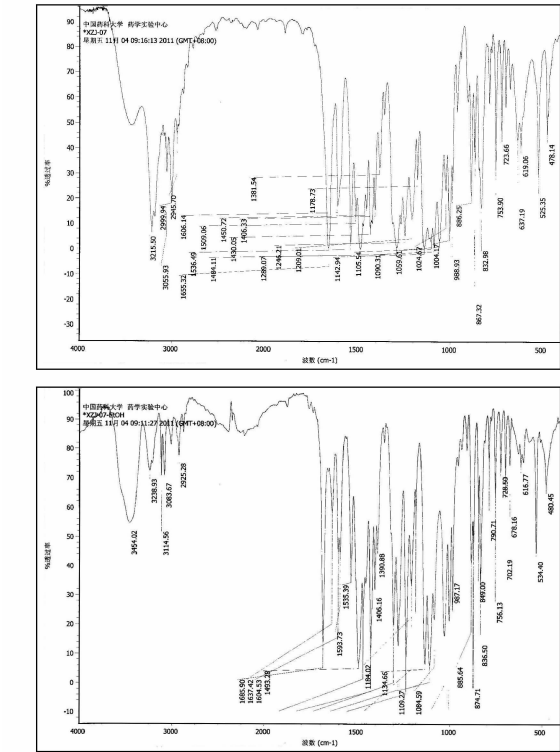


Figure 2 IR spectra of crystal forms I and II of roflumilast *N*-oxide

2.4.3 差示扫描量热分析(DSC)及热重分析(TGA) DSC 测定结果表明,晶型物 I 只有一个

3 结果与讨论 本研究采用廉价易得的香草醛经醚解脱甲基、

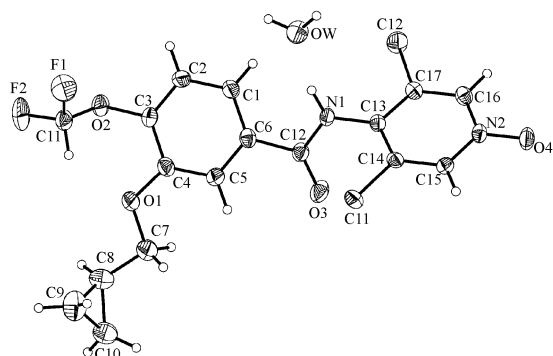


Figure 3 X-ray structure of crystal form II of roflumilast *N*-oxide

2步烷基化、氧化、与3,5-二氯-4-氨基吡啶缩合得到罗氟司特(1),总收率为21%,文献以3,4-二羧基苯甲醛为起始原料,总收率为22%,化合物(1)经间氯过氧苯甲酸氧化顺利得到了罗氟司特 *N*-氧化物(2),本步收率为90%,相比文献中用单过氧邻苯二甲酸镁氧化收率为63%有了很大提高。本研究所用方法使罗氟司特 *N*-氧化物的合成成本降低、产率增高且操作简单。

用有机溶剂对化合物2进行重结晶制备了罗氟司特 *N*-氧化物的晶型物I。当用有机溶剂与水的混合溶剂对2进行重结晶时,则得到了罗氟司特 *N*-氧化物一水合物的晶型物II。两种晶型经粉末X线衍射分析、红外光谱分析、差示扫描热量分析、热重分析和元素分析鉴定为两种不同的晶型,并通过X线单晶衍射证实了晶型物II中含一分子结晶水。晶型物II经脱水可生成晶型物I,但由于罗氟司特 *N*-氧化物具有吸潮的性质,不排除常规条件下晶型物II的稳定性较晶型物I好,对两种晶型稳定性、溶解度、生物利用度等方面的研究工作有待进一步深入进行。

参考文献

- [1] Rabe KF. Update on roflumilast, a phosphodiesterase 4 inhibitor for the treatment of chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Br J Pharmacol*, 2011, **163**(1): 53–67.
- [2] Bundschuh DS, Eltze M, Barsig J, et al. *In vivo* Efficacy in airway disease models of roflumilast, a novel orally active PDE4 inhibitor[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2001, **297**(1): 280–290.
- [3] Hatzelmann A, Schudt C. Anti-inflammatory and immunomodulatory potential of the novel PDE4 inhibitor roflumilast *in vitro*[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2001, **297**(1): 267–279.
- [4] Lahu G, Nassr N, Herzog R, et al. Effect of steady-state enoxacin on single-dose pharmacokinetics of roflumilast and roflumilast *N*-oxide[J]. *J Clin Pharmacol*, 2011, **51**(4): 586–593.
- [5] Bethke TD, Bohmer GM, Hermann R, et al. Dose-proportional intraindividual single- and repeated-dose pharmacokinetics of roflumilast, an oral, once-daily phosphodiesterase 4 inhibitor[J]. *J Clin Pharmacol*, 2007, **47**(1): 26–36.
- [6] Sabatini F, Petecchia L, Boero S, et al. A phosphodiesterase 4 inhibitor, roflumilast *N*-oxide, inhibits human lung fibroblast functions *in vitro*[J]. *Pulm Pharmacol Ther*, 2010, **23**(4): 283–291.
- [7] Milara J, Armengot M, Bañuls P, et al. Roflumilast *N*-oxide, a PDE4 inhibitor improves cilia motility and ciliated human bronchial epithelial cells compromised by cigarette smoke *in vitro*[J]. *Br J Pharmacol*, 2012, **166**(18): 2243–2262.
- [8] Richard F, Yves D, Yves G, et al. Fluoroalkoxy-substituted benzamide dichloropyridinyl *N*-oxide PDE4 inhibitor: WO, 200190076[P]. 2001-11-29[2012-03-05].
- [9] Dieter F, Armin H, Christian S, et al. Fluoroalkoxy-substituted benzamides and their use as cyclic nucleotide phosphodiesterase inhibitors: WO, 199501338[P]. 1995-01-12[2012-03-05].
- [10] Wolfgang A, Jochen C. Hydrated form of anti-inflammatory roflumilast-*N*-oxide: WO, 2011163469[P]. 2011-12-29[2012-03-05].
- [11] Lange RG. Cleavage of alkyl *O*-hydroxyphenyl ethers[J]. *J Org Chem*, 1962, **27**(6): 2037–2039.