

· 研究简报 ·

拉罗替尼的合成工艺优化

郝林林¹, 蔡志强^{1*}, 李 帅^{2*}

(1. 沈阳工业大学 石油化工学院 辽宁省芳烃下游精细化工专业技术创新中心, 辽宁 辽阳 111003;

2. 山东省药学院, 化学药物重点实验室, 山东 济南 250101)

摘要: 以(*R*)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯烷和5-氯-3-硝基吡唑并[1,5-*a*]嘧啶为起始原料,经胺化,还原,再与氯甲酸苯酯酰化,最后与(*S*)-3-羟基吡咯烷反应成盐后得到拉罗替尼,总收率为73.34%。其结构经¹H NMR、IR及ESI-MS确证,并探讨了中间体和目标化合物合成工艺的影响因素。

关键词: 拉罗替尼; 抗肿瘤; 工艺优化; 吡唑并嘧啶; 合成

中图分类号: O621.25

文献标志码: A

DOI: 10.15952/j.cnki.cjsc.1005-1511.21036

Synthesis Process Optimization of Larotrectinib

HAO Lin-lin¹, CAI Zhi-qiang^{1*}, Li Shuai^{2*}

(1. Liaoning Province Professional and Technical Innovation Center for Fine Chemical Engineering of Aromatics Downstream, School of Petrochemical Engineering, Shenyang University of Technology,

Liaoyang 111003, China; 2. Key Laboratory for Chemical Drug Research of Shandong Province, Institute of Pharmaceutical Sciences of Shandong Province, Jinan 250101, China)

Abstract: (*R*)-2-(2,5-difluorophenyl) pyrrolidine and 5-chloro-3-nitropyrrolo[1,5-*a*] pyrimidine were used as starting materials to synthesis larotrectinib by amination, reduction, acylation with phenyl chloroformate, and finally reaction with (*S*)-3-hydroxy pyrrolidine, the total yield was 73.34%. The structure was characterized by ¹H NMR, IR and ESI-MS. Meanwhile, the factors affecting on the synthesis process of the intermediate and target compounds were discussed.

Keywords: Larotrectinib; antitumor; process optimization; pyrazolopyrimidine; synthesis

拉罗替尼(larotrectinib)是一种新型口服小分子、高选择性、广谱的原肌球蛋白受体激酶(Trk)抑制剂,用于儿童和成人患者携带神经生长因子受体酪氨酸激酶受体(NTRK)基因融合的治疗^[1],包括先天性中胚层肾癌^[2]、分泌型乳腺癌^[3-4]、婴儿纤维肉瘤^[5-7]、结肠癌等^[8]。最初由Array BioPharma开发,2013年授权给Loxo Oncology公司研发^[9]。拉罗替尼主要通过与细胞内TRKA、TRKB和TRKC的ATP位点竞争性结合,

阻断表皮生长因子受体的下游信号通路,进而抑制癌细胞的增殖和转移,从而起到治疗肿瘤的效果^[10]。与传统的治疗药物相比,拉罗替尼具有安全性和耐受性较好等优势^[11],是首个全球范围内获批上市的针对NTRK基因融合晚期实体瘤的小分子药物。

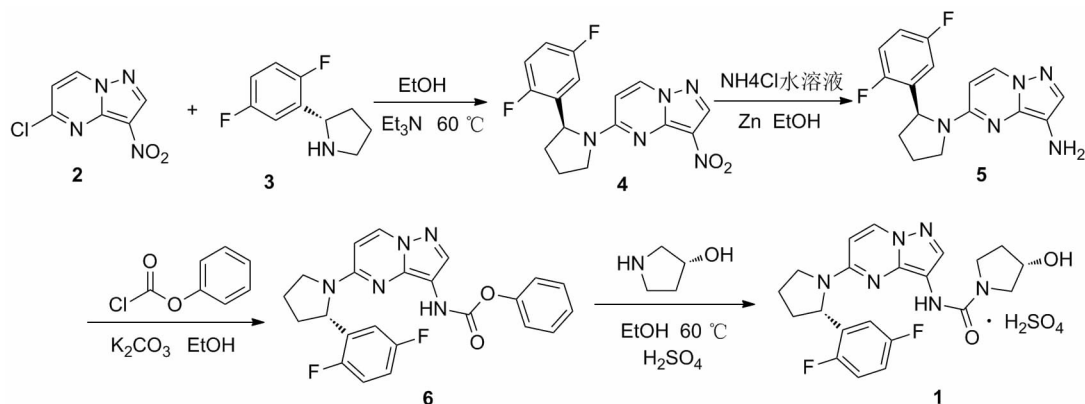
目前,拉罗替尼的合成路线主要有以下3种:第一种^[12]报道的合成路线中,以吡咯烷-1-羧酸叔丁酯为原料,经取代、硝化、还原,再与(*S*)-3-羟基

收稿日期: 2021-02-05; 修订日期: 2021-03-05

基金项目: 辽宁省自然科学基金资助项目(20180550016); 辽宁省教育厅科学研究项目(LJGD2020015)

第一作者简介: 郝林林(1995-),女,汉族,河南周口人,硕士研究生,主要从事新药设计与合成研究。

通信联系人: 蔡志强,博士,副教授, E-mail: kahongzqc@163.com; 李帅,高级工程师, E-mail: czq0601@126.com



Scheme 1

吡咯烷反应得到拉罗替尼,该路线总收率仅为18%,合成中用到了昂贵的(-)-金雀花碱、醋酸钨等试剂,合成成本较高,且工艺需要低温,对设备要求高、能耗大,不适合工业生产。第二种^[13]以2,5-二氟苯甲醛和(*R*)-叔丁基亚磺酰胺为原料,经过9步反应得拉罗替尼。收率为46%,该路线合成步骤较长,副产物多,操作繁琐且原料较难获得,工业化成本高。第三种^[14]以5-氯-3-硝基吡唑并[1,5-*a*]嘧啶为原料,经还原、酰化、亲核取代反应得到拉罗替尼。此路线反应步骤较少,总收率为69%。该路线还原过程采用锌粉-盐酸还原体系,使用强酸不仅加大了对设备的腐蚀,而且对环境也造成了污染,不适合大规模生产。总之,以上3种合成方法均存在一定不足,因此拉罗替尼的合成工艺需要进一步的改进。

本文在查阅文献的基础上^[12-16],以5-氯-3-硝基吡唑并[1,5-*a*]嘧啶(**2**)和(*R*)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯烷(**3**)为起始原料,经胺化、还原、再与氯甲酸苯酯酰化、最后与(*S*)-3-羟基吡咯烷反应成盐后得到拉罗替尼(Scheme 1)。该合成路线反应步骤少,条件温和,成本低,收率高于现有文献报道(总收率73.34%),其结构经¹H NMR、IR及ESI-MS进行表征。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

SGWX-4型显微熔点仪;Bruker ARX-400 HMz型核磁共振仪(CDCl₃为溶剂,TMS为内标);Perkin-Elmer Spectrum-FTIR型红外光谱仪(KBr压片);Agilent1100型四极杆液质联用仪。

所用试剂均为分析纯。

1.2 合成

(1) **4**的合成

依次称取**2**(1.0 g, 5.1 mmol)和**3**(1.0 g, 5.5 mmol)溶于20 mL乙醇中,加入三乙胺(1.82 g, 18.2 mmol)。氮气保护下,加热至60 °C,反应2 h(TLC监测)。反应完毕,加入10 mL去离子水。室温搅拌3 h,抽滤,滤饼用去离子水(3 × 3 mL)洗涤,干燥后得淡黄色固体**4** 1.61 g,收率92.49%;¹H NMR(400 MHz, CDCl₃) δ: 8.41(s, 1H), 8.17 ~ 8.15(d, 1H), 7.10 ~ 6.98(m, 2H), 6.86 ~ 6.74(m, 1H), 5.24 ~ 5.22(m, 1H), 4.22 ~ 4.10(m, 2H), 2.62 ~ 2.58(m, 1H), 2.14 ~ 2.11(m, 4H); ESI-MS *m/z*: 346.3 {[M + H]⁺}。

(2) **5**的合成

称取**4**(1.69 g, 4.9 mmol)溶于20 mL乙醇溶剂中,加入氯化铵饱和溶液6 mL,锌粉(2.0 g, 31.3 mmol)。氮气保护下,室温搅拌3 h(TLC监测)。反应完毕,抽滤,滤饼用二氯甲烷(3 × 3 mL)洗涤后,有机相再用饱和氯化钠溶液(2 × 15 mL)洗涤,无水硫酸镁干燥,过滤,减压除去溶剂得黄色固体**5** 1.44 g,收率93.70%,不需纯化直接用于下步反应。

(3) **6**的合成

氮气保护下,于5 °C下将**5**(1.69 g, 4.9 mmol)与碳酸钾水溶液(1.39 g, 10.1 mmol)溶于20 mL乙醇溶剂中,加入氯甲酸苯酯(0.834 g, 5.3 mmol),室温反应2 h(TLC监测)。反应完毕,萃取,无水硫酸镁干燥,过滤,减压除去溶剂得褐色泡状固体**6** 2.12 g,收率90.80%;¹H NMR(400 MHz, CDCl₃) δ: 8.16 ~ 8.15(m, 2H), 7.10 ~ 7.06(m, 4H), 6.96 ~ 6.93(m, 2H),

6.75 ~ 6.74 (m, 2H), 5.98 ~ 5.96 (m, 1H), 5.36 ~ 5.35 (m, 1H), 3.99 ~ 3.98 (m, 1H), 3.82 ~ 3.80 (m, 1H), 2.52 ~ 2.50 (m, 1H), 2.12 ~ 2.10 (m, 3H), 1.72 ~ 1.71 (m, 1H); ESI-MS m/z : 436.7 $\{[M+H]^+\}$ 。

(4) 拉罗替尼(1)的合成

称取 **6** (2.12 g, 4.9 mmol) 溶于 20 mL 乙醇中, 加入吡咯醇 (0.132 g, 1.5 mmol)。氮气保护下, 加热至 60 °C, 反应 2.5 h (TLC 监测)。反应完毕, 自然冷却至室温, 加入浓硫酸 (0.135 g, 1.4 mmol), 室温搅拌 3 h (TLC 监测)。在 0 °C 下, 加入 10 mL 正庚烷, 并在此温度下继续搅拌 11 h, 有大量 (粉红色固体) 固体产生。抽滤, 滤饼用 (3 × 3 mL) 混合溶液 (乙醇与正庚烷 = 1/1, V/V) 洗涤, 干燥后得拉罗替尼 (**1**) 1.95 g, 收率 93.20%, m. p. 217.5 ~ 219.3 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.24 (s, 1H), 8.11 (s, 1H), 7.27 ~ 6.72 (s, 3H), 5.92 (s, 1H), 5.30 (s, 1H), 4.50 (s, 1H), 3.88 ~ 3.57 (m, 6H), 3.54 (s, 1H), 2.48 ~ 2.46 (s, 3H), 2.10 ~ 2.00 (m, 4H); IR ν : 3293.02, 2972.45, 2874.10, 2348.77, 2289.31, 2114.64, 1645.52, 1605.55, 1487.16, 1443.96, 1387.97, 1180.61, 1103.53, 779.64, 612.88 cm^{-1} ; ESI-MS m/z : 429.4 $\{[M+H]^+\}$ 。

2 结果与讨论

2.1 **4**的合成

在 **4** 的合成过程中, 文献^[12]采用 *N,N*-二异丙基乙胺作为缚酸剂, 反应时间较长, 后处理不便, 且价格较贵, 生产成本较高。本文在此基础上进行了优化和改进, 采用三乙胺作为缚酸剂, 与文献的 *N,N*-二异丙基乙胺相比, 三乙胺价格便宜, 后处理简单, 收率较高。本文选择不同的缚酸剂对中间体 **4** 收率的影响进行了考察, 当选择氢氧化钠或氢氧化钾时, 虽然收率较高, 但杂质较多, 产品质量较低; 当采用吡啶作为缚酸剂时, 毒性较大, 且产率低。因此最终本文选用三乙胺作为缚酸剂, 收率 92.49%。

2.2 **5**的合成

在 **5** 的合成过程中, 文献^[13]采用锌粉-盐酸还原体系, 本文在此基础上进行了优化和改进。采用的锌粉-氯化铵还原体系, 与文献的锌粉-盐

酸还原体系相比, 避免了强酸的使用, 降低了对设备的腐蚀, 减少了生产成本和对环境的污染。为提高 **5** 的收率, 对 Zn 粉的用量进行了考察, Zn 粉的最佳用量为原料的 4 eq.。

2.3 **6**的合成

在 **6** 的合成过程中, 为提高 **6** 的收率, 通过控制氯甲酸苯酯的加入量, 考察原料 **5** 与氯甲酸苯酯的摩尔比对中间体 **6** 收率的影响。随着氯甲酸苯酯所占比例的增加, **6** 的收率呈先增加后下降趋势。但当原料 **5** 与氯甲酸苯酯的摩尔比为 1/2 时, **6** 的收率不再增加。推测可能的原因是随着氯甲酸苯酯用量的增加, 开始呈 **5** 反应完全的趋势, 但后来反应液中未反应的氯甲酸苯酯的量越多, 导致副产物增多, **6** 的收率呈下降趋势。因此, 原料 **5** 与氯甲酸苯酯的最佳摩尔比为 1/1.5 时, **6** 的收率最高为 90.80%。

2.4 **1**的合成

(1) 反应温度对 **1** 收率的影响

随着反应温度的升高, **1** 的收率呈现出先增加后下降的趋势。在反应温度为 60 °C 时, **1** 的收率最高 (93.20%)。推测可能由于在反应温度低于 60 °C 时, 原料并未充分溶解, 导致反应收率不高。在反应温度高于 60 °C 时, 温度升高, 导致副产物增多, **1** 的收率呈下降趋势。因此反应最佳温度为 60 °C。

(2) 反应溶剂对 **1** 收率的影响

以 DMF 和 DMSO 为溶剂时, 收率较高, 但工业生产中 DMF 和 DMSO 沸点较高, 不易回收, 且对环境污染大, 不宜选用。以 THF 为溶剂时, 反应时间长, 收率较低。以 DCM 为溶剂时, 由于反应温度较低, 原料在 DCM 中的溶解性较差, 收率也比较低。本文选用 EtOH 为溶剂, 原料溶解性相对较好, 反应比较完全, 溶剂易回收, 收率为 92.90%。

3 结论

以 (*R*)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯烷和 5-氯-3-硝基吡啶并[1,5-*a*]嘧啶为起始原料, 经胺化、还原、再与氯甲酸苯酯酰化、最后与 (*S*)-3-羟基吡咯烷反应成盐后得到拉罗替尼。对影响其收率的关键步骤, 即胺化缚酸剂的选择、硝基还原体系的选择与 Zn 粉的用量的考察、原料 **5** 与氯甲酸苯酯的

摩尔比及最终产品反应溶剂与反应温度进行了优化,得到了最佳工艺条件如下:合成中间体 **4** 的缚酸剂为三乙胺;合成中间体 **5** 的最佳 Zn 粉用量为原料的 4 eq.;合成中间体 **6** 的原料 **5** 与氯甲酸苯酯的最佳摩尔比为 1/1.5;在合成拉罗替尼 **1** 的合成过程中,选择 EtOH 为溶剂,最佳反应温度为 60 ℃。

参考文献

- [1] SCOTT L J. Larotrectinib: First global approval [J]. *Drugs*, 2019, **79**(2): 201–206.
- [2] LAETSCH T W, NAGASUBRAMANIAN R, CASANOVA M. Targeting NTRK fusions for the treatment of congenital mesoblastic nephroma [J]. *Pediatric Blood Cancer*, 2018, **65**(1): e26593.
- [3] SHUKLA N, ROBERTS S S, BAKI M O, *et al.* Successful targeted therapy of refractory pediatric ETV6-NTRK3 fusion-positive secretory breast carcinoma [J]. *JCO Precis Oncol*, 2017, **1**: 1–8.
- [4] LANDMAN Y, ILOUZE M, WINE S, *et al.* Rapid response to larotrectinib (LOXO-101) in an adult chemotherapy-naïve patient with advanced triple-negative secretory breast cancer expressing an ETV6-NTRK3 fusion [J]. *Clinical Breast Cancer*, 2017, **18**(3): 267–270.
- [5] DAVIS J L, LOCKWOOD C M, ALBERT C M, *et al.* Infantile NTRK-associated mesenchymal tumors [J]. *Pediatric and Developmental Pathology*, 2018, **21**(1): 68–78.
- [6] NAGASUBRAMANIAN R, WEI J L, GORDON P, *et al.* Infantile fibrosarcoma with NTRK3-ETV6 fusion successfully treated with the tropomyosin-related kinase inhibitor LOXO-101 [J]. *Pediatric Blood Cancer*, 2016, **63**(8): 1468–1470.
- [7] 徐舸,刘英琦,常人丽,等. 溶剂热法制备 MOF-5 和 Zn-BTC 及其催化合成查尔酮 [J]. *沈阳工业大学学报*, 2019, **41**(06): 627–631.
- (XU G, LIU Y Q, CHANG R L, *et al.* Preparation of MOF-5 and Zn-BTC with solvothermal method and their catalytic synthesis of chalcone [J]. *Journal of Shenyang University of Technology*, 2019, **41**(06): 627–631.)
- [8] ZOU M, JIN B, LIU Y R, *et al.* Synthesis and biological evaluation of some novel thiophene-bearing quinazoline derivatives as EGFR inhibitors [J]. *Letters in Drug Design & Discovery*, 2019, **16**(2): 102–110.
- [9] RICCIUTI B, BRAMBILLA M, METRO G, *et al.* Targeting NTRK fusion in non-small cell lung cancer: Rationale and clinical evidence [J]. *Medical Oncology*, 2017, **34**(6): 105.
- [10] BERGER S, MARTENS U M, BOCHUM S. Larotrectinib (LOXO-101) [J]. *Small Molecules in Oncology*, 2018, **211**: 141–151.
- [11] DRILON A, LAETSCH T W, KUMMAR S, *et al.* Efficacy of larotrectinib in TRK fusion-positive cancers in adults and children [J]. *The New England Journal of Medicine*, 2018, **378**(8): 731–739.
- [12] HAAS J, ANDREWSS W, JIANG Y, *et al.* Substituted pyrazolo [1,5-*a*] pyrimidine compounds as TRK kinase inhibitors: US 8513263 [P]. 2011.
- [13] 邱献华,王美军,张美慧,等. 拉罗替尼合成路线图解 [J]. *中国药物化学杂志*, 2019, **29**(4): 325–328.
- (QIU X H, WANG M J, ZHANG M H, *et al.* Graphical synthetic routes of larotrectinib [J]. *Chinese Journal of Medicinal Chemistry*, 2019, **29**(4): 325–328.)
- [14] 吉民,刘海东,宗玺,等. 一种 Larotrectinib 的制备方法及其中间体: CN 107987082A [P]. 2018.
- (JI M, LIU H D, ZONG X, *et al.* The invention discloses a preparation method of Larotrectinib and an intermediate: CN 107987082A [P]. 2018.)
- [15] 金正盛,方舒慧,赵蓉,等. 新型 4-取代苯胺喹唑啉衍生物的合成与抗肿瘤活性研究 [J]. *合成化学*, 2018, **26**(06): 389–393.
- (JIN Z S, FANG S H, ZHAO Y, *et al.* Study on synthesis and antitumor activities of novel 4-substituted anilinoquinazoline derivatives [J]. *Chinese Journal of Synthetic Chemistry*, 2018, **26**(06): 389–393.)
- [16] 晏燕,王超,周莉,等. 盐酸厄洛替尼的合成 [J]. *合成化学*, 2013, **21**(04): 505–507.
- (YAN Y, WANG C, ZHOU L, *et al.* Synthesis of erlotinib hydrochloride [J]. *Chinese Journal of Synthetic Chemistry*, 2013, **21**(04): 505–507.)