西诺氨酯的新生产工艺

余增辉，王　辉，卢天宇，杨相平，许向阳*

（江苏恩华药业股份有限公司，江苏省中枢神经药物研究重点实验室，江苏徐州 221116）

摘要：对西诺氨酯（**1**）的合成工艺进行了改进。以邻氯苯乙酮（**7**）为原料，经*N*-溴代丁二酰亚胺溴代得2-溴-2'-氯苯乙酮（**2**），**2**与1*H*-四唑缩合得1-（2-氯苯基）-2-（2*H*-四唑-2-基）乙烷-1-酮（**8**）；**8**经酮还原酶不对称还原得（*R*）-1-（2-氯苯基）-2-（2*H*-四唑-2-基）乙醇（**5**）；**5**与*N*,*N*-羰基二咪唑、浓氨水反应，得目标产物**1**。纯度99.9%，*ee*值99.9%。优化后的路线采用自研酮还原酶合成单一构型的**5**，生产成本较低，还原选择性高，无需拆分，符合绿色化学原则。

关键词：西诺氨酯；抗癫痫药；绿色化学；还原反应；酮还原酶；酶催化

中图分类号：TQ460.6；R971+.6　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1001-8255(2025)04-0457-06

引用：余增辉, 王　辉, 卢天宇, 等. 西诺氨酯的新生产工艺[J]. 中国医药工业杂志, 2025, 56(4): 457-462. DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2025.04.005

New Preparation Process of Cenobamate

YU Zenghui, WANG Hui, LU Tianyu, YANG Xiangping, XU Xiangyang*

(*Jiangsu Key Lab. of Central Nervous System Drug Research and Development, Jiangsu Nhwa Pharma. Corp., Xuzhou 221116*)

ABSTRACT: The synthetic process of cenobamate (**1**) had been improved in this paper. Using 1-(2-chlorophenyl)-ethan-1-one (**7**) as raw material, 2-bromo-1-(2-chlorophenyl) ethan-1-one (**2**) was prepared with *N*-bromosuccinimide. Then, 1-(2-chlorophenyl)-2-(2*H*-tetrazol-2-yl) ethane-1-one (**8**) was prepared by condensation of **2** and 1*H*-tetrazole. After ketoreductase reduction of compound **8**, (*R*)-1-(2-chlorophenyl)-2-(2*H*-tetrazol-2-yl) ethane-1-ol (**5**) was generated. Compound **5** reacted with *N*,*N*-carbonyldiimidazole and concentrated ammonium hydroxide to prepare the target compound **1**, with the purity of 99.9% and the *ee* value of 99.9% . This optimized synthetic route used self-developed ketoreductase to synthesize the single configuration of **5**, which had low production cost, high reduction selectivity, and no need for resolution, conforming to the principles of green chemistry.

Key Words: cenobamate; antiepileptics; green chemistry; reduction reaction; ketoreductase; enzymatic catalysis

西诺氨酯（cenobamate，**1**，图1），化学名为[(1*R*)-1-(2-氯苯基)-2-(2*H*-四唑-2-基）乙基]氨基甲酸酯。**1**由韩国SK生物制药（SK Biopharmaceuticals）公司研发，于2019年11月经FDA批准上市，商品名为Xcopri®。**1**作为一种钠离子通道阻断剂[γ-氨基丁酸（γ-aminobutyric acid，GABAA）离子通道的正变构调节剂]，可抑制电压门控钠电流，减少重复性神经元放电，临床上主要用于治疗成年患者的部分性癫痫发作，为治疗局灶性癫痫发作成人患者提供了一种新选择[1]，具有广阔的市场前景。

1的结构中含有1个手性中心，合成工艺较为复杂，成本较高。因此，采用酶法对**1**的生产工艺进行优化，具有重要意义。目前，**1**的合成路线主要有以下2种。

路线一[2]：以2-溴-2'-氯苯乙酮（**2**）为原料，经过羰基还原酶不对称还原得（*R*）-2-溴-1-(2-氯苯

收稿日期：2024-09-25

作者简介：余增辉（1985—），男，本科，从事仿制药工艺研究与开发的研究。

通信作者：许向阳（1971—），男，研究员，从事中枢神经系统药物的研究。

E-mail：xuxiangyang@nhwa-group.com

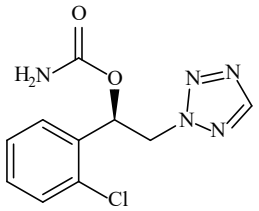


图 1　1 的化学结构

Fig.1　Chemical Structure of **1**

基）乙醇（**3**），**3** 与氢氧化钠经闭环反应得（*R*）-2-（2-氯苯基）环氧乙烷（**4**），**4** 与 1*H*- 四唑和碳酸锂的混合溶液经取代反应，得（*R*）-1-（2- 氯苯基）-2-（2*H*- 四唑 -2- 基）乙醇（**5**），**5** 与氯磺酰异氰酸酯经缩合反应得目标产物 **1**。光学纯度 *ee* 值大于 98%。

该路线为原研化合物专利路线，第 3 步取代开环需要较高的温度（100 ～ 120 ℃），1*H*- 四唑在高温下会部分分解，有一定的安全隐患。此外，1*H*- 四唑的 1 位和 2 位均可发生取代反应，分别生成（*R*）-1-（2- 氯苯基）-2-（1*H*- 四唑 -1- 基）乙烷 -1- 醇（**6**）和化合物 **5**，具体如图 3 所示，需经柱色谱分离。

路线二[3]：原研公司的工艺专利。以邻氯苯乙酮（**7**）为原料，与液溴经溴代反应得 **2**，**2** 与 1*H*- 四唑经缩合反应得 1-（2- 氯苯基）-2-（2*H*- 四唑 -2- 基）-乙烷 -1- 酮（**8**），**8** 经酶液不对称还原得 **5**，**5** 与氯磺酰异氰酸酯经缩合反应，得目标产物 **1**（图 4）。总收率 27.14%（以 **7** 计），光学纯度 *ee* 值为 99.9%。

该路线涉及液溴，毒性较大，且对生产设备腐蚀性较强；另外，工业级液溴为坛装，运输以及生产操作极不方便。此外，氯磺酰异氰酸酯有挥发性，经皮吸收毒性较强，因此该路线较难实现规模化生产。

2020 年，韩国爱思开生物制药公司在中国专利（CN 114901647 B）[4] 中对中间体 **8** 的制备和纯化进行了优化。该专利采用四唑钾盐与 **7** 反应，并用乙酸异丙酯等酯类溶剂代替乙腈为缩合溶剂，将中间体 **8** 的含量（液相含量，面积归一化法）从 40%提高至 58%～ 63%。此外，异构体 1-（2- 氯苯基）-2-（1*H*- 四唑 -1- 基）乙 -1- 酮（**9**，图 5）在高温、高压下水解为 5-（2- 氯苯基）呋喃 -2- 胺（**10**），**10** 与稀盐酸成盐后可水洗去除，从而得到纯度≥ 99%的中间体 **8**。该专利的优点是解决了副产物 **9** 在反应中不易彻底清除的问题，提高了 **1** 的纯度。高温、高压是需要重点监管的反应，需配备经额外设计而达到安全要求的设备，且获得生产许可较困难（必须

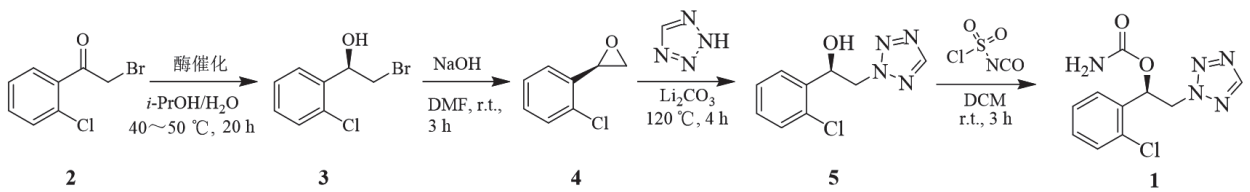


图 2　1 的合成路线一

Fig.2　Route One for the Synthesis of **1**

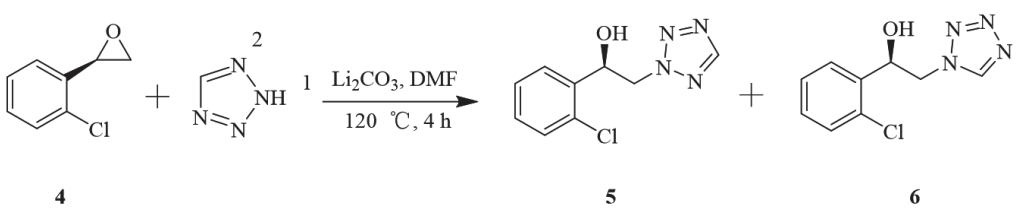


图 3　5 及其同分异构体 6

Fig.3　Compound **5** and Its Isomeride **6**

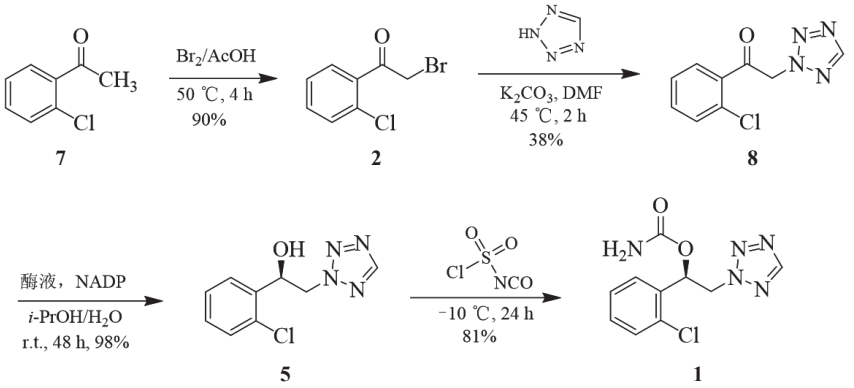


图 4　1 的合成路线二

Fig.4　Route Two for the Synthesis of **1**

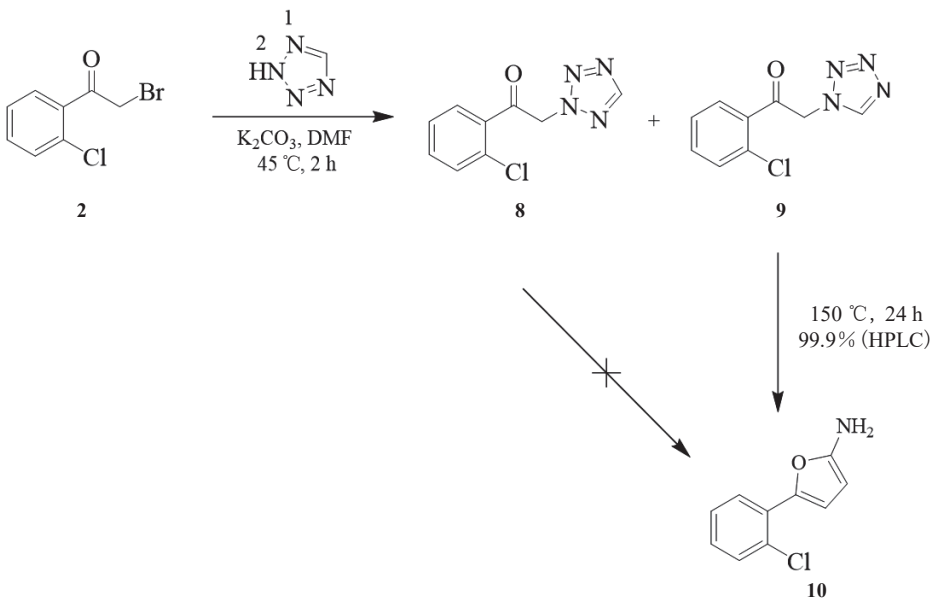


图 5　异构体 9 的清除

Fig.5　Removal of Isomer **9**

具有全自动化的生产设备），因此该专利虽获得授权，却较难投入实际使用。黄家欣等 [5] 同样采用液溴和氯磺酸异氰酸酯制备 **1**，总收率 38%，纯度 99.9%，但 *ee* 值仅 99.54%。该报道中对 **8** 的制备采用了与中国专利 (CN 114901647 B) [4] 中相同的处理方案。

本研究在路线二的基础上，对 **1** 的合成工艺进行优化，优化后的工艺可满足企业的间歇式生产模式，具体如图 6 所示。

优化后的工艺以 **7** 为原料，与 *N*- 溴代丁二酰亚胺经溴代反应得 **2**，**2** 与 1*H*- 四唑经取代反应得 **8**，**8** 经酮还原酶（自制）还原得 **5**，**5** 与 *N*,*N*- 羰基二咪唑（*N*,*N*-Carbonyldiimidazole, CDI）、25 % 浓氨水经缩合反应，得目标产物 **1**（图 6）。总收率 26.17%（以 **7** 计），纯度大于 99.9%，光学纯度 100%。该工艺在中试车间进行多批试产（原料 **7** 投料量达到每批 200 kg），产品质量稳定，每批生产周期为 8 ～ 10 d。

优化后的路线有以下 4 点优势。

①中间体 **2** 具有强烈的催泪性，因此对溴代反应进行了优化。采用“一锅法”制备化合物 **8**，无需分离，具有较好的生产安全性。

②中间体 **8** 的后处理采用异丙醚进行固液萃取。对常用的乙酸乙酯 / 正庚烷体系、甲基叔丁基醚、

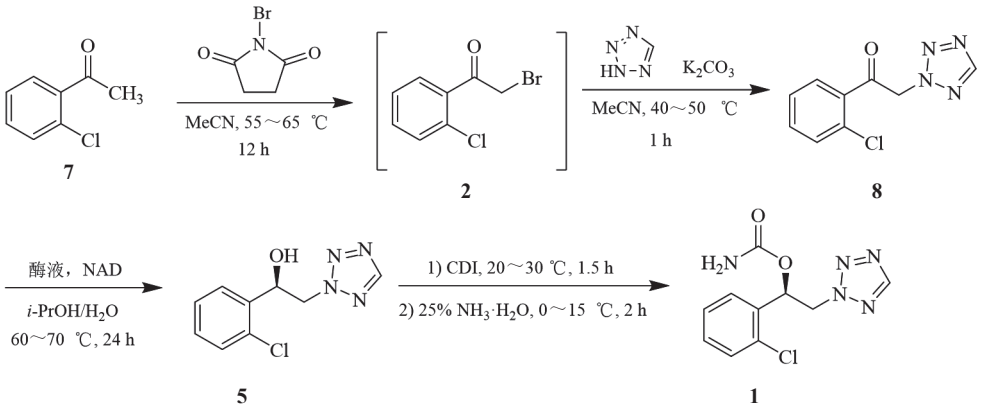


图 6　1 的优化合成路线

Fig.6　Improved Synthetic Route of **1**

二氯甲烷 / 正己烷体系、2- 甲基四氢呋喃、异丙醚、乙醚等进行筛选，观察到异丙醚对中间体 **8** 有较高的溶解度，而对副产物异构体 **9** 的溶解度较低。中间体 **8** 先经异丙醚萃取，再经异丙醇精制，可使其纯度大于 99.9%，副反应产物异构体 **9** 的含量小于 0.1%，且避免高温、高压反应，即可分离去除异构体 **9**。

③由 **8** 制备 **5** 时，采用自研、自产的酮还原酶。该酮还原酶由重组大肠埃希菌发酵、超声破壁所得，然后投入反应釜，保证了酶的高活性，反应转化率大于 99%，**5** 的光学纯度达 99.9%。曾对酮还原酶用量、反应温度、容积比例、金属离子等工艺参数进行优化，结果显示将底物 (**8**) 浓度优化至 111.1 g/L，可提升生产效率。

④由 **5** 制备 **1** 时，避免使用毒性较强的氯磺酰异氰酸酯，而是采用 CDI 和 25%浓氨水上氨基甲酸酯基团，操作简单、安全，满足 GMP 生产要求。

实验部分

1-(2-氯苯基)-2-(2*H*-四唑-2-基)乙烷-1-酮 (8)

将乙腈 (4.0 kg) 加至 20 L 反应釜中，开启搅拌，再加入 **7**(2.0 kg，12.94 mol，上海毕得医药科技股份有限公司)、*N*- 溴代丁二酰亚胺 (2.52 kg，14.16 mol，南京苏如化工有限公司)、对甲苯磺酸一水合物 (0.2 kg，1.16 mol，上海麦克林生化科技有限公司)，升至 55 ～ 65 ℃反应 12 h。反应液冷却至室温，静置 2 h 后，将上清液抽至 50 L 反应釜中，加入乙腈 (6.0 kg)、碳酸钾 (2.0 kg，14.47 mol)、1*H*- 四唑 (1.0 kg，14.28 mol，河北凯诺中星科技有限公司)，于 40 ～ 50 ℃搅拌反应 1 h。加入水 (12.0 kg) 和乙酸乙酯 (12.0 kg)，静置分层。有机相用 15%氯化铵溶液 (8 kg) 洗涤。有机相减压浓缩除去乙酸乙酯，降温至 45 ℃以下，加入异丙醚 (10 kg)，于 40 ～ 45 ℃搅拌 2 h 后静置，上清液转移、暂存。

反应釜内加入异丙醚 (10.0 kg)，于 40 ～ 45 ℃搅拌 2 h。压滤，滤液和上述所得的提取液合并后，减压浓缩，再加入异丙醇 (7.0 kg)，升至 50 ～ 60 ℃，溶清，降至 0 ～ 10 ℃析晶 1 h，抽滤。湿品于 55 ～ 60 ℃减压干燥，得白色晶状固体 **8**(1 065.10 g，36.9%)。mp 96.7 ～ 98.3 ℃。纯度 99.94%［HPLC 归一化法：色谱柱 Shim-Pack Scepter HD-C_{18} 柱 (4.6 mm×150 mm，3 μm)；流动相 A 为 0.01 mol/L 磷酸氢二钾溶液 (称取 1.74 g 磷酸氢二钾，加水至 1 000 mL，用磷酸调至 pH 9.8；下同) 和乙腈 (体积比 75 ∶ 25) 的混合溶液，B 为 0.01 mol/L 磷酸氢二钾溶液和乙腈 (体积比 40 ∶ 60) 的混合溶液，梯度洗脱 (0—5 min，A 100%；5—35 min，A 100%—0；35—45 min，A 0；45—45.1 min，A 0—100%；45.1—60 min，A 100%)；柱温 35 ℃；检测波长 245 nm；流速 1.0 min/mL；进样量 10 μL。**8** 的保留时间为 17.9 min］。^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 8.63 (s, 1H), 7.75 (d, *J*=3.5 Hz, 1H), 7.41 ～ 7.50

(m, 3H), 6.18(s, 2H)；^{13}C NMR(100 MHz, DMSO-d_6)δ: 191.6, 153.7, 134.2, 131.3, 130.8, 130.6, 127.7, 127.8, 60.6；ESI-MS(*m*/*z*): 229.914 3 $[M+H]^+$。

(*R*)-1-(2-氯苯基)-2-(2*H*-四唑-2-基)乙醇(5)

重组表达载体-KRED的构建、表达和鉴定方法如下。设计KRED的基因，合成得到含有KRED基因的质粒。用限制性内切酶将含有KRED基因的质粒载体和表达载体进行双酶切，酶切产物进行琼脂糖凝胶电泳分析，采用凝胶回收试剂盒回收目的基因序列和表达载体。用T4 DNA连接酶连接目的基因和表达载体。将连接产物转化DH5α，用测序引物对重组表达载体-KRED进行PCR扩增，采用琼脂糖电泳和一代测序技术对重组表达载体-KRED进行鉴定。将重组表达载体-KRED转化入大肠埃希菌，培养后挑取单克隆菌落，经PCR验证后接种于含50 μg/mL氨苄青霉素LB液体培养基中，诱导表达20 h。培养结束后，离心(10 000×*g*)15 min收集湿菌体(10.0 g)，加入PBS(100 mL，pH 8.0)，菌体用400 W超声破碎机超声10 min(超声5 s，间歇5 s)，超声破碎产物即为酮还原酶粗酶液(100 mL)，备用。

将**8**(640.0 g，2.87 mol)、去离子水(5.12 kg)、磷酸氢二钾(384.0 g，2.20 mol)、磷酸二氢钾(25.0 g，0.18 mol)、无水氯化镁(6.4 g，0.067 mol)、异丙醇(640 g)和β-烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(6.4 g，简称“辅酶NAD”，上海尚科生物医药有限公司)加至20 L反应釜中，加入上述所得的酮还原酶粗酶液，升至60～70 ℃反应24 h后，加入乙酸乙酯(6.4 kg)，搅拌30 min，静置分层。有机相用15%氯化铵溶液(2 000 mL)洗涤，经无水硫酸钠(640.0 g)干燥后过滤，滤液减压浓缩，加入正庚烷(1.6 kg)，降至0～10 ℃析晶1 h。抽滤，滤饼用正庚烷(640 g)淋洗，于35～40 ℃鼓风干燥至恒重，得类白色粉末状固体**5**(570.0 g，88.2%)。mp 66.6～68.1 ℃。纯度99.32%[HPLC归一化法：色谱柱ACE Excel 3 C_{18}-PFP柱(4.6 mm×150 mm，3 μm)；流动相A为0.01 mol/L磷酸二氢铵溶液(称取1.15 g磷酸二氢铵，加水至1 000 mL，用25%浓氨水调至pH 6.4；下同)和乙腈(体积比77∶23)的混合溶液，B为0.01 mol/L磷酸二氢铵溶液和乙腈(体积比50∶50)的混合溶液，梯度洗脱(0—5 min，A 100%；5—20 min，A 100%—0；20—30 min，A 0；30—31 min，A 0—100%；31—40 min，A 100%)；柱温35 ℃；检测波长215 nm；流速1.0 min/mL；进样量10 μL。**5**的保留时间为12.2 min]。*ee*值99.9%[HPLC归一化法：色谱柱Lux® 5 μm Amylose-1柱(4.6 mm×250 mm，5 μm)；流动相甲醇和水(体积比80∶20)，等度洗脱；柱温35 ℃；检测波长215 nm；流速1.0 min/mL；进样量10 μL。**5**的保留时间为17.8 min，**5**的*S*型手性异构体的保留时间为11.1 min]。^{1}H NMR(400 MHz, DMSO-d_6)δ: 8.56(s，1H), 7.67(dd, *J*=13.8、6.8 Hz, 1H), 7.31～7.46(m, 3H), 5.75(d, *J*=8.6 Hz, 1H), 4.93～5.08(m, 1H), 4.82(dd, *J*=9.0、2.4 Hz, 1H), 3.45(s, 1H)；^{13}C NMR(100 MHz, DMSO-d_6)δ: 152.3, 136.4, 131.1, 129.8, 129.4, 127.1, 126.6, 68.6, 57.4；ESI-MS(*m*/*z*): 224.958 3 $[M+H]^+$。

西诺氨酯(1)

将THF(2.52 kg)加至20 L反应釜中，搅拌下加入CDI(560.0 g，3.45 mol，安徽德信佳生物医药有限公司)，再分批加入化合物**5**(560.0 g，2.49 mol)，于20～30 ℃搅拌反应90 min后，降至0～5 ℃，滴加25%浓氨水(445.0 g，12.71 mol)，控制釜内温度不超过15 ℃。滴毕，于0～15 ℃保温搅拌反应2 h。釜中抽入乙酸乙酯(4.48 kg)，静置分层，有机相用饱和氯化铵溶液(2 L×2)洗涤，经无水硫酸钠(560 g)干燥30 min后过滤，滤液减压浓缩，加入异丙醇(560.0 g)后减压浓缩。釜中抽入异丙醇(2.2 kg)和正庚烷(3.8 kg)，加热至65～75 ℃溶清后，趁热过滤，滤液转移至另一洁净的20 L反应釜中。降至0～10 ℃，保温析晶2 h，抽滤，滤饼用正庚烷(535.0 g)泡洗，湿品于45～55 ℃鼓风干燥至恒重，得白色晶状固体**1**(536.5 g，80.4%)。mp 98.5～101.3 ℃(文献[6]：96.8～98.3 ℃)。纯度99.98%[HPLC归一化法：色谱柱Poroshell 120 EC-C_{18}柱(4.6 mm×150 mm，2.7 μm)；

流动相 A为0.01 mol/L磷酸二氢钾溶液（称取1.36 g磷酸二氢钾，加水至1 000 mL，用磷酸调至pH 3.5；下同）和甲醇（体积比65∶35）的混合溶液，B为0.01 mol/L磷酸二氢钾溶液和乙腈（体积比50∶50）的混合溶液，梯度洗脱（0—20 min，A 100%；20—25 min，A 100%—0；25—50 min，A 0；50—50.01 min，A 0—100%；50.01—70 min，A 100%）；柱温35 ℃；检测波长215 nm；流速0.6 min/mL；进样量10 μL。**1**的保留时间为16.3 min］。^{1}H NMR（400 MHz, DMSO-d_6）δ: 8.53（s, 1H）, 7.40 ～ 7.45（m, 1H）, 7.19 ～ 7.35（m, 3H）, 6.55（dd, J=14.4、6.0 Hz, 1H）, 4.99 ～ 5.08（m, 2H）, 4.67 ～ 4.95（m, 2H）；^{13}C NMR（100 MHz, DMSO-d_6）δ: 153.8, 152.7, 133.2, 131.3, 129.7, 129.6, 126.8, 126.5, 70.4, 55.1；ESI-MS（m/z）: 267. 941 6［M+H］$^{+}$。

参考文献：

［1］ 爱思开生物制药株式会社. 制备氨基甲酸（*R*）-1- 芳基 -2- 四唑基 - 乙酯的方法：中国，102574821B［P］. 2015-03-18.

［2］ 爱思开生物制药株式会社. 神经治疗吡咯化合物：中国，101228138B［P］. 2012-11-21.

［3］ 爱思开生物制药株式会社. 制备氨基甲酸（*R*）-1- 芳基 -2- 四唑基 - 乙酯的方法：中国，102803233B［P］. 2017-03-01.

［4］ 爱思开生物制药株式会社. 具有改进的选择性的制备芳基 2- 四唑 -2- 基酮的方法：中国，114901647B［P］. 2024-04-02.

［5］ 黄家欣，王宏毅，吴泽农，等. Cenobamate 的合成工艺研究［J］. 中国药物化学杂志，2021, **31**(6)：419-421.

［6］ Center for Drug Evaluation and Research. Application number: 212839Orig1s000 other review(s)［EB/OL］.（2019-11-20）［2024-09-25］. https://www. accessdata. fda. gov/drugsatfda_docs/nda/2019/212839Orig1s000OtherR. pdf.

