二棕榈酰磷脂酰胆碱（DPPC）的合成工艺改进

吴新宇，刘毓彬，闫 闵，林快乐*，周伟澄

（中国医药工业研究总院上海医药工业研究院，先导物成药性研究全国重点实验室，上海 201203）

摘要：1,2- 二棕榈酰 -sn- 甘油 -3- 磷脂酰胆碱（DPPC，**1**）不仅可作为药用辅料，还可作为外源性肺表面活性剂，治疗新生儿呼吸窘迫综合征（NRDS）。甘油磷脂酰胆碱（GPC，**2**）在 DCM 中，在 4- 二甲氨基吡啶（DMAP）和二环已基碳二亚胺（DCC）的作用下，与棕榈酸（PA，**3**）反应得 DPPC。但发现产生了某一杂质，严重影响产物的纯化。分离、纯化后经 MS 和 ^{1}H NMR 确证，该杂质为 1,1'- 亚甲基双（4- 二甲氨基吡啶鎓）双氯化物。把反应溶剂改为乙腈，并将 DMAP 投料时物质的量比例从 3 降低至 1，目标产物 **1** 的收率由 33.20%提升至 49.18%，纯度 99.92%。

关键词：1,2- 二棕榈酰 -sn- 甘油 -3- 磷脂酰胆碱；4- 二甲氨基吡啶；合成；杂质

中图分类号：TQ460.6；Q545$^+$.1 **文献标志码**：A **文章编号**：1001-8255(2024)08-1085-04

引用：吴新宇 , 刘毓彬 , 闫 闵 , 等．二棕榈酰磷脂酰胆碱（DPPC）的合成工艺改进［J］．中国医药工业杂志 , 2024, 55(8): 1085-1088．DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2024.08.006

Improved Synthesis Process of Dipalmitoylphosphatidylcholine (DPPC)

WU Xinyu, LIU Yubin, YAN Hong, LIN Kuaile*, ZHOU Weicheng

(*National Key Lab. of Lead Druggability Research, Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry, China State Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 201203*)

ABSTRACT: 1,2-Dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphorylcholine (DPPC, **1**) can be used not only as a pharmaceutical excipient, but also as an exogenous lung surfactant for the treatment of neonatal respiratory distress syndrome (NRDS). Glycerophosphatidylcholine (GPC, **2**) reacted with palmitic acid (PA, **3**) in the presence of 4-dimethylaminopyridine (DMAP) and dicyclohexylcarbodiimide (DCC) in DCM to yield **1**. But it was found that an impurity was produced, which seriously affected the purification of the product. After isolation and purification, the impurity was confirmed by MS and ^{1}H NMR to be 1,1'-methylene-*bis* (4-dimethylaminopyridinium) dichloride. Through replacing reaction solvent to acetonitrile and reducing the feeding molar ratio of DMAP from 3 to 1, the yield of the target product **1** was increased from 33.20% to 49.18% with purity of 99.92% .

Key Words: 1,2-dipalmitoyl-sn-glycerol-3-phosphorylcholine; 4-dimethylaminopyridine; synthesis; impurity

二棕榈酰磷脂酰胆碱（dipalmitoylphosphatidylcholine，DPPC，**1**），即 1,2- 二棕榈酰 -sn- 甘油 -3- 磷脂酰胆碱（1,2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphorylcholine），不仅可作为脂质体的药用辅料，还可作为肺表面活性剂治疗新生儿呼吸窘迫综合征（neonatal respiratory distress syndrome，NRDS）[1]。**1** 由葛兰素史克公司最先研发，目前上市产品有 2 个：①棕榈胆磷（Exosurf）是一种合成肺表面活性剂，由 DPPC、十六烷醇和四丁酚醛组成，于 1990 年经 FDA 批准上市，主要用于治疗 NRDS[2]；②芦西纳坦（Surfaxin）由 DPPC、1- 棕榈酰 -2- 油酰 -sn- 甘油 -3- 磷脂酰甘油（1-palmitoyl-2-oleoyl-sn-glycero-3-phosphoglycerol，POPG）、西那普肽组成，于 2012 年经 FDA 批准上市，主要用于治疗 NRDS 和急性呼吸窘迫综合征（acute

收稿日期：2024-05-06

作者简介：吴新宇（1998—），女，硕士研究生，专业方向：药物化学。

通信作者：林快乐（1985—），男，研究员，硕士生导师，从事药物化学的研究。

E-mail：lklsipi@163.com

respiratory distress syndrome，ARDS)[3]。

目前关于 **1** 的合成文献报道较少，主要分为 2 条路线，如图 1 所示。

路线一[4—5]：以 D- 甘露醇（**4**）为起始物，“一锅法”经丙叉基保护，得到 1,2,5,6- 二邻异亚丙基 -D- 甘露醇（**5**），**5** 经氧化还原得到甘油醇缩丙酮（**6**），**6** 再经苄基保护、脱丙叉保护得到 O^3- 苄基甘油（**7**），**7** 与棕榈酰氯反应，最后经苄基脱保护，得到 1,2- 二棕榈酰甘油二酯（**9**），收率 49.3%（以 **4** 计）。**9** 与磷酸化试剂 2- 氯 -1,3,2- 二氧磷杂环戊烷 -2- 氧化物反应得 **10**，**10** 与三甲胺反应得到目标产物 **1**。收率 56%（以 **9** 计）。该路线反应步骤较长，工艺较为复杂，成本高。

路线二[6]：中国专利 CN 111057099 报道，以甘油磷脂酰胆碱（**2**）与棕榈酸（**3**）在 4- 二甲氨基吡啶（4-dimethylaminopyridine，DMAP）和二环己基碳二亚胺（dicyclohexylcarbodiimide，DCC）的作用下，得到目标产物 **1**，收率 30.1%。该路线步骤少，不涉及羟基选择性问题。

由于 **2** 已有市售，且价格低廉，因此本研究以专利[6]为参考，反应物料 **2**、**3**、DMAP、DCC 的物质的量比例设置为 1 ∶ 4.03 ∶ 3.37 ∶ 4.03，进行合成。但多次试验未得到目标产物 **1**。HPLC 检测发现大量 **2** 剩余，产物含量仅约 20%（专利[6]：62.5%）。对反应物料物质的量比例、反应时间等因素进行优化，最终确定当 **2**、**3**、DMAP、DCC 的物质的量比例为 1 ∶ 3 ∶ 3 ∶ 2，反应温度为 40 ℃，反应时间为 16 h 时，主峰含量最高，为 39.79%。纯化后收率为 33.2%。但 DMAP 用量较大，远超过理论用量，也给后续的纯化造成较大压力。在反应和纯化过程中进行 TLC、HPLC 监测时发现，反应过程中产生 1 个极性较大的杂质，且一直伴随产物

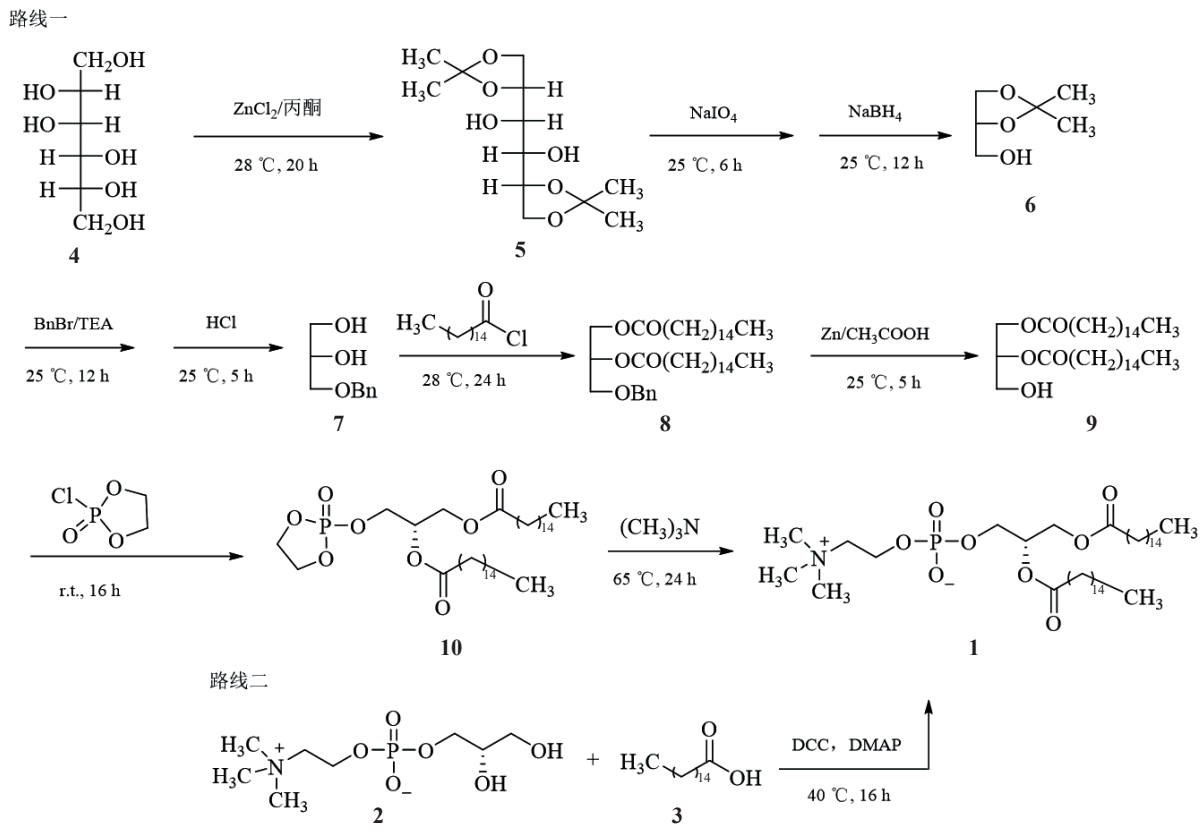


图 1　1 的文献合成路线

Fig.1　Synthesis Routes of **1** in the Literature

至后续纯化过程，该杂质与 **1** 同样水溶性较大，因此用结晶等纯化方法均不能有效去除。

通过柱色谱分离、纯化该杂质，^{1}H NMR 和 MS 检测结果显示，其氢谱信号与 DMAP 类似，仅多了 1 个化学位移为 6.31 的 H。质谱显示其相对分子质量应为 258，质荷比为 2，推测为 2 个季铵盐结构。结合核磁信号，该杂质应为 2 分子 DMAP 偶联的产物，结构对称，且多 1 个亚甲基。因此，推测其为 1,1'- 亚甲基双（4- 二甲氨基吡啶鎓）双氯化物（**11**，图 2）。该杂质的结构说明，其产生与 **3**、DCC 无关。RUDINE 等 [7] 发现，DMAP 在 DCM 中反应 60 d 后可得 **11**，并确证了其结构。该文献也佐证了本研究的结论。

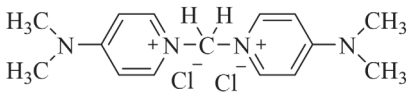


图 2 杂质 11 的化学结构

Fig.2 Chemical Structure of **11**

由于杂质 **11** 是由 2 分子 DMAP 和反应溶剂 DCM 反应生成，因此考察不同反应溶剂：氯仿、1,2- 二氯乙烷、二噁烷、甲苯、乙腈、乙酸乙酯、THF、2- 甲基四氢呋喃。反应液经 HPLC 检测，发现仅当反应溶剂为二噁烷、乙腈、乙酸乙酯时，可以发生 GPC 酯化反应生成 **1**，但不产生杂质 **11**，**1** 含量分别为 1.25%、40.94%、2.60%。（注：**2**、**3**、DMAP 和 DCC 物质的量比例为 1 ∶ 3 ∶ 3 ∶ 2。）

因此，优选乙腈作为反应溶剂，进一步优化反应物料比例。结果表明 **2**、**3**、DMAP 和 DCC 投料比为 1 ∶ 3 ∶ 1 ∶ 2，在乙腈中于 40 ℃反应 16 h 后，反应液中加入正己烷在 40 ℃下打浆，过滤除去剩余的 **3** 和 DMAP，滤饼用阴阳离子混合树脂纯化，可得到目标产物 **1**。收率 49.18%，纯度 99.92%。

在合成目标产物 **1** 的过程中，发现了 1 个极性较大且难以纯化的杂质，经过分离、纯化，确证此杂质是由 2 分子 DMAP 与 DCM 反应生成。优化反应溶剂，发现在乙腈中反应时不产生该杂质且主峰含量高；优化反应物投料比，将 DMAP 的物质的量比例由 3 降低至 1，**1** 的收率由 33.20%提升至 49.18%。

实验部分

1,2- 二棕榈酰 -sn- 甘油 -3- 磷脂酰胆碱（1）

室温下，将 **2**（15.000 g，58.32 mmol，上海麦克林生化科技股份有限公司）、**3**（44.860 g，174.95 mmol，上海泰坦科技股份有限公司）、DMAP（7.124 g，58.32 mmol，上海麦克林生化科技股份有限公司）和乙腈（700 mL）加至 1 000 mL 三口烧瓶中，加热至 40 ℃，搅拌 20 min 后加入 DCC（24.065 g，116.63 mmol，上海泰坦科技股份有限公司），搅拌反应 16 h，TLC［展开剂：三氯甲烷、甲醇和水（体积比 65 ∶ 18 ∶ 2）］跟踪反应。反应液自然冷却至室温后，过滤，滤饼用乙腈（100 mL×3）洗涤，于 40 ℃减压干燥 3 h 后，滤饼中加入正己烷（500 mL），于 40 ℃打浆 1 h，过滤，所得滤饼（30.462 g）经 UP6150 阴阳离子交换树脂柱［上海安澜德生物科技有限公司，THF 和异丙醇（4 ∶ 1）等度洗脱］纯化，洗脱液减压浓缩，得白色固体（21.054 g，49.18%），即目标产物 **1**。mp 229.0 ～ 229.5 ℃。纯度 99.92%［HPLC 归一化法：色谱柱 Welch Ultimate XB-C_8 柱（4.6 mm×250 mm，5 μm）；流动相 A 为水、甲醇、乙酸和三乙胺（体积比 65 ∶ 35 ∶ 1 ∶ 0.08），B 为甲醇和异丙醇（体积比 85 ∶ 15），梯度洗脱（0—8 min，A 30%—70%；8—34 min，A 10%—90%；34—45 min，A 0—100%；45—50 min，A 30%—70%）；蒸发光散射检测器 Agilent 1290 型；柱温 30 ℃；流速 1 mL/min］。^{1}H NMR（600 MHz, $CDCl_3$）δ: 5.16 ～ 5.23（m, 1H），4.38（dd, *J*=12.1、2.9 Hz, 1H），4.32（s, 2H），4.12（dd, *J*=12.1、7.3 Hz, 1H），3.90 ～ 4.00（m, 2H），3.80（d, *J*=4.5 Hz, 2H），3.34（s, 9H），2.28（dt, *J*=14.8、7.7 Hz, 4H），1.53 ～ 1.62（m, 4H），1.20 ～ 1.34（m, 47H），0.88（t, *J*=7.0 Hz, 6H）；MS（*m*/*z*）: 733.56［M+H］$^+$。

1,1'- 亚甲基双（4- 二甲氨基吡啶鎓）双氯化物（11）

室温下，将 **2**（15.000 g，58.32 mmol）、**3**（44.860 g，174.95 mmol）、DMAP（21.373 g，174.95mmol）

和 DCM(700 mL) 加至 1 000 mL 三口烧瓶中，加热至 40 ℃，搅拌 20 min 后加 DCC(24.065 g，116.63 mmol)，搅拌反应 16 h，TLC(条件同化合物 **1**) 跟踪反应。反应液自然冷却至室温后，过滤，滤饼用 DCM(100 mL×3) 洗涤，于 40 ℃减压干燥 3 h 后，用正己烷 (500 mL) 在 40 ℃下打浆 1 h 后，过滤。取滤饼 (2.000 g) 经中性氧化铝柱分离，DCM 和甲醇混合溶剂洗脱，得白色固体 **11**(0.407 g)。mp 294.0 ～ 294.5 ℃ (文献[7]：295 ℃)。纯度 97.67% (HPLC 条件同化合物 **1**)。^{1}H NMR(400 MHz, D_2O) δ: 8.07 ～ 8.15(m, 4H), 6.85 ～ 6.93(m, 4H), 6.22(s, 2H), 3.18(s, 12H)。MS(*m*/*z*): 129.09[M]$^{2+}$。

参考文献：

[1] RUBARTH L B, QUINN J. Respiratory development and respiratory distress syndrome [J]. *Neonatal Netw*, 2015, **34**(4): 231-238.

[2] THOMASSEN M J, ANTAL J M, CONNORS M J, *et al*. Characterization of Exosurf (surfactant)-mediated suppression of stimulated human alveolar macrophage cytokine responses [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 1994, **10**(4): 399-404.

[3] ROMERO E J, MOYA F R, TUVIM M J, *et al*. Interaction of an artificial surfactant in human pulmonary epithelial cells [J]. *Pediatr Pulmonol*, 2005, **39**(2): 167-177.

[4] 于荣华, 刘艳玲, 乔　浩, 等. 相转移催化 D-甘露醇合成 1,2-甘油二酯 [J]. 现代化工, 2013, **33**(1): 73-75.

[5] ROODSARI F S, WU D, PUM G S, *et al*. A new approach to the stereospecific synthesis of phospholipids. The use of L-glyceric acid for the preparation of diacylglycerols, phosphatidylcholines, and related derivatives [J]. *J Org Chem*, 1999, **64**(21): 7727-7737.

[6] 郭　辉. 一种二棕榈酰基磷脂酰胆碱的制备方法：中国, 111057099A [P]. 2020-04-24.

[7] RUDINE A B, WALTER M G, WAMSER C C. Reaction of dichloromethane with pyridine derivatives under ambient conditions [J]. *J Org Chem*, 2010, **75**(12): 4292-4295.

广告索引

封二：上海现代药物制剂工程研究中心有限公司

封三：鲁南厚普制药有限公司

封底：中国医药工业信息中心

1092、**1142**、**1162 页**：公益广告