阿普唑仑杂质的合成

余增辉[1,2]，王　辉[1,2]，黄思瑜[1,2]，杨相平[1,2]，许向阳[1,2]*

（1. 江苏恩华药业股份有限公司，江苏徐州 221116；2. 江苏省中枢神经药物研究重点实验室，江苏徐州 221116）

摘要：制备了阿普唑仑（**1**）的 3 个杂质（杂质 D、H 和 J），虽在 EP 10.0 版中收录，但合成路线为首次报道。另外，在 **1** 原料药的稳定性研究中，发现并制备了新的杂质 Q，通过高分辨质谱和核磁共振光谱确定其为［5- 氯 -2-［3-［［［（7- 氯 -5- 羟基 -5- 苯基 -4,5- 二氢 -［1,2,4］三唑［4,3-*a*］喹啉 -1- 基）甲基］氨基］甲基］-5- 甲基 -4*H*-1,2,4- 三唑 -4- 基］苯基］（苯基）甲酮。合成上述 4 个杂质，对 **1** 原料药和制剂的质量研究具有重要意义。

关键词：阿普唑仑；有关物质；合成

中图分类号：R749；TQ460.6　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1001-8255（2024）09-1210-05

引 用：余增辉，王　辉，黄思瑜，等. 阿普唑仑杂质的合成［J］. 中国医药工业杂志，2024, 55（9）：1210-1214.

DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2024.09.006

Synthesis of the Impurities of Alprazolam

YU Zenghui[1,2], WANG Hui[1,2], HUANG Siyu[1,2], YANG Xiangping[1,2], XU Xiangyang[1,2]*

（*1. Jiangsu Nhwa Pharma. Corp., Xuzhou 221116; 2. Jiangsu Key Lab. of Central Nervous System Drug Research and Development, Xuzhou 221116*）

ABSTRACT: This study prepared three impurities of alprazolam（**1**）namely impurities D, H, and J, which were recorded in the EP10.0, but their synthetic routes had not been reported in the literature. Additionally, during the stability study of **1** bulk drug, a new impurity Q was discovered. Its chemical structure was determined as［5-chloro-2-［3-［［［（7-chloro-5-hydroxy-5-phenyl-4,5-dihydro-［1,2,4］triazolo［4,3-*a*］quinolin-1-yl）methyl］amino］methyl］-5-methyl-4*H*-1,2,4-triazol-4-yl］phenyl］（phenyl）methanone through high-resolution mass spectrometry and nuclear magnetic resonance spectroscopy. The successful preparation of these four impurities is of great significance for the quality research of **1** bulk drug and its formulations.

Key Words: alprazolam; related substance; synthesis

阿普唑仑（alprazolam，**1**），化学名为 1- 甲基 -6- 苯基 -8- 氯 -4*H*-（1,2,4- 三唑）并［4,3-*a*］［1,4］-苯并二氮杂䓬，为苯二氮杂䓬类催眠镇静药、抗焦虑药。最初由 Upjohn 公司（现辉瑞子公司）研发，于 1981 年经美国批准上市，临床上主要治疗忧郁、失眠等[1]。

目前，**1** 的合成较为成熟[2—4]，原研专利 US 04000151[5] 中已公开了具体合成路线，如图 1 所示。以［5- 氯 -2-（3- 甲基 -4*H*-1,2,4- 三唑 -4- 基）苯基］（苯基）甲酮（**2**）和多聚甲醛为起始原料，在二甲苯中，经回流反应得到［5- 氯 -2-［3-（羟甲基）-5- 甲基 -4*H*-1,2,4- 三唑 -4- 基］苯基］（苯基）甲酮（**3**）；**3** 在氯化亚砜为溶剂条件下，经氯代反应，得到［5- 氯 -2-［3-（氯甲基）-5- 甲基 -4*H*-1,2,4- 三唑 -4- 基］苯基］-（苯基）甲酮（**4**）；**4** 在 THF 溶液中，与 25％浓氨水经取代、环合反应，后处理时经盐水洗涤、无水硫酸钠干燥、过滤，最后经乙酸乙酯重结晶得到 **1**。

收稿日期：2024-06-05

作者简介：余增辉（1985—），男，工程师，从事仿制药工艺与开发的研究。

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

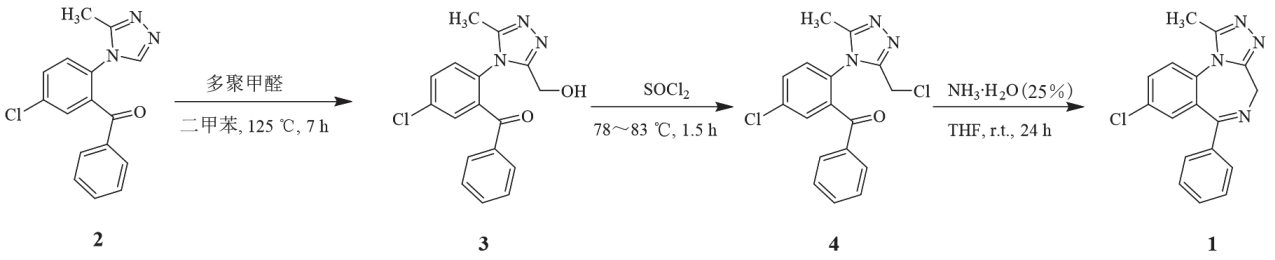


图 1　1 的合成路线

Fig.1　Synthetic Route of **1**

总收率 5.5%（以 **2** 计）。

其中，**2**、**3** 和 **4** 作为关键中间体，在 **1** 原料药中有较高的残留风险，均被收录在 EP 10.0 版中，其合成方法均有文献[5—7]报道。此外，EP 10.0 版中还收录了杂质 D、H 和 J，目前尚无文献报道其合成方法。

本研究以 7- 氯 -5- 苯基 -1,3- 二氢 -2*H*- 苯并 [*e*]- [1,4] 二氮杂䓬 -2- 硫酮 (**5**) 为原料，与水合肼经肼解反应，得到 (*Z*)-7- 氯 -2- 亚肼基 -5- 苯基 -2,3- 二氢 -1*H*- 苯并 [*e*][1,4] 二氮䓬 (**6**)；**6** 与丙烯酰氯经酰化反应，得到 (*Z*)-*N*'-(7- 氯 -5- 苯基 -1,3- 二氢 -2*H*- 苯并 [*e*][1,4] 二氮杂䓬 -2- 亚基）丙烯酰肼 (**7**)；**7** 在正丁醇中回流，经闭环得到杂质 D。本路线（图 2）总收率 12.14%（以 **5** 计），纯度 98.78%。

猜测杂质 H 是因为 **1** 结构中的七元环在酸性条件不稳定，经开环、与 **4** 缩合而成。本研究以 **1** 为原料，在 6 mol/L 盐酸条件下开环，得到 [2-[3-（氨甲基）-5- 甲基 -4*H*-1,2,4- 三唑 -4- 基]-5- 氯苯基]（苯基）甲酮 (**8**)；化合物 **8** 与 **4** 在 *N*,*N*- 二异丙基乙胺条件下，经烷基化得到杂质 H。本路线（图 3）总收率 8.3%（以 **1** 计），纯度 96.77%。

在制备杂质 H 时发现 **8** 不稳定，后处理在氨水碱性条件下极易环合，重新生成 **1**。尝试分别用无机碱和有机碱调至 pH 8 ～ 10，最终发现用 25% 氨水进行调节可以制备出 **8**，推测是 **8** 在氨水条件下，结构中的羰基与氨反应生成亚胺，抑制了分子内环合。

在 **1** 的酸破坏性试验（酸破坏试验条件：取 **1** 样品 10 mg，加入 1 mol/L 盐酸 1 mL，于 25 ℃放置 24 h）中检出一未知杂质。经液相色谱质谱联用仪（以下简称“液质”）分析，分子离子峰 ESI-MS (*m*/*z*) 为 619.157 3 $[M+H]^+$。对照 EP 10.0 版中收录的杂质谱，推测其为杂质 J(7,11- 二氯 -3,15- 二甲基 -8b,9a- 二苯基 -8b,19a- 二氢 -9a*H*,18*H*- 苯并 [5',6']- [1,2,4] 三唑并 [3",4":3',4'][1,4] 二氮杂 [7',1':2,3] 噁唑并 [4,5-*c*][1,2,4] 三唑并 [4,3-*a*] 喹啉）。本研究以杂质 H 为原料，在对甲苯磺酸一水合物催化下，在甲苯溶液中加热至回流；经高效液相色谱对比发现，所得产物的色谱峰与酸破坏杂质峰重合，提纯后经结构确证，证实为杂质 J。本反应（图 4）总收率 58.3%（以杂质 H 计），纯度 99.05%。

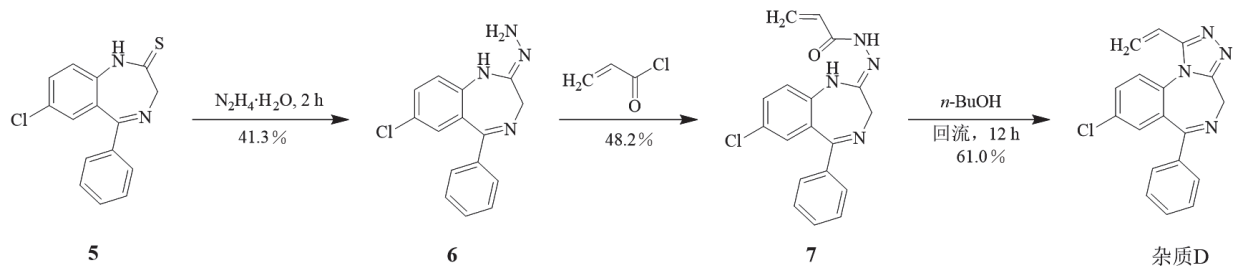


图 2　杂质 D 的合成路线

Fig.2　Synthetic Route of Impurity D

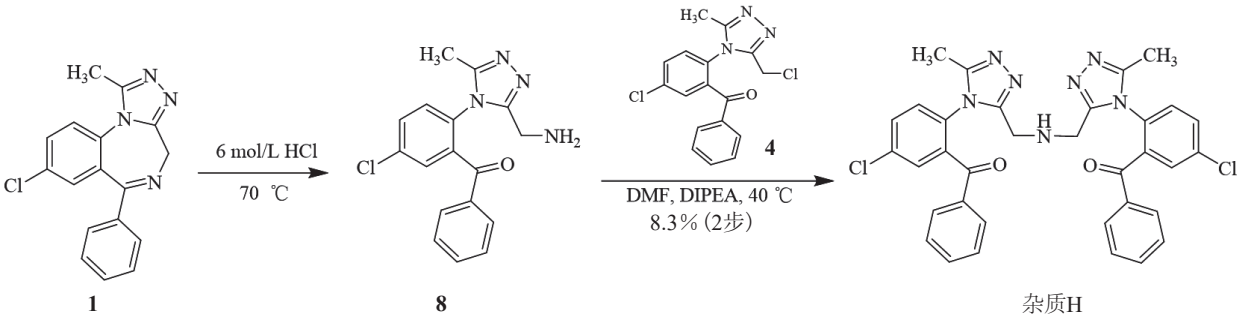


图 3　杂质 H 的合成路线

Fig.3　Synthetic Route of Impurity H

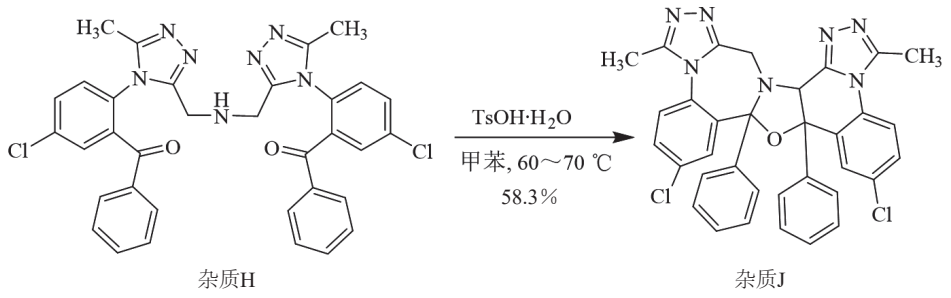


图 4　杂质 J 的合成路线

Fig.4　Synthetic Route of Impurity J

在 **1** 的碱破坏试验中（碱破坏试验条件：取 **1** 样品 10 mg，加入 1 mol/L 氢氧化钠溶液 1 mL，25 ℃放置 24 h）检出一未知杂质。经液质分析，其分子离子峰 ESI-MS（*m/z*）为 637.167 6[M+H]$^+$，对照 EP 10.0 版中的杂质谱，并未发现符合该相对分子质量的杂质。本研究以杂质 H 为原料，在六甲基二硅基胺基锂（LiHMDS）碱性条件下，经闭环得杂质 Q。经氢谱、碳谱确证其结构为［5- 氯 -2-［3-［［［（7- 氯 -5- 羟基 -5- 苯基 -4,5- 二氢 -［1,2,4］三唑［4,3-*a*］喹啉 -1- 基）甲基］氨基］甲基］-5- 甲基 -4*H*-1,2,4- 三唑 -4- 基］苯基］（苯基）甲酮。本反应（图 5）收率 48.0%，纯度 99.48%。

实验部分

8- 氯 -6- 苯基 -1- 乙烯基 -4*H*- 苯并［*f*］［1,2,4］三唑［4,3-*a*］［1,4］二氮䓬（杂质 D）

将水合肼（120.0 g，2.40 mol，上海凌峰化学试

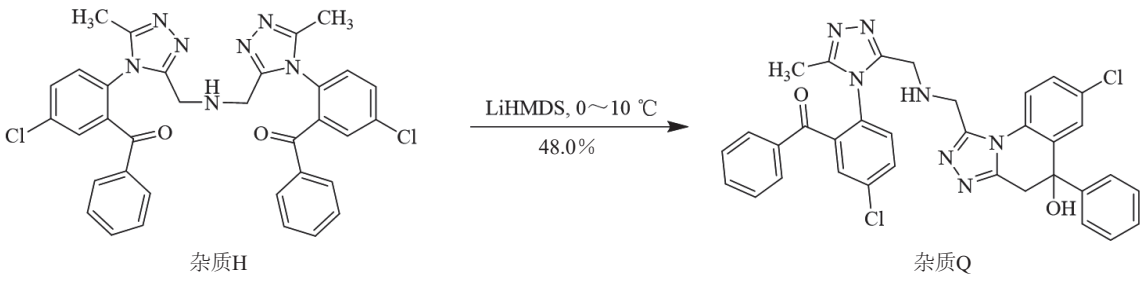


图 5　杂质 Q 的合成路线

Fig.5　Synthetic Route of Impurity Q

剂有限公司）和甲醇（300 mL）加至 1 000 mL 反应瓶中，分批缓慢加入 **5**（30.0 g，0.105 mol，上海麦克林生化科技股份有限公司），室温下搅拌反应 2 h，TLC［展开剂：正庚烷和乙酸乙酯（体积比 3 ∶ 1）］跟踪反应。反应液中加入水（200 mL）和二氯甲烷（200 mL），搅拌后静置分层，有机相减压浓缩，再加入乙酸乙酯（80 mL），室温打浆 1 h，抽滤，于 40 ℃鼓风干燥 10 h 后，得黄色粉末状固体 **6**（12.31 g，41.3%）。直接用于下步反应。

将 **6**（10.0 g，0.035 mol）、吡啶（20.0 g，0.253 mol，上海凌峰化学试剂有限公司）和 THF（50 mL）加至 250 mL 反应瓶中，搅拌 10 min 后，再缓慢滴加含丙烯酰氯（3.5 g，0.039 mol，江苏艾康生物医药研发有限公司）的 THF（15 mL）溶液，室温反应 12 h。反应液低温浓缩（水浴温度控制不超过 35℃，防止烯烃聚合），剩余物经柱色谱［洗脱液：乙酸乙脂和正庚烷（体积比 1 ∶ 4 ～ 1 ∶ 1）］分离纯化，得土黄色固体 **7**（5.73 g，48.2%）。

将 **7**（5.0 g，0.015 mol）和正丁醇（40 mL）加至 250 mL 反应瓶中，油浴（140 ℃）下反应 12 h。反应液减压蒸除溶剂，剩余物中加入乙酸乙酯（50 mL），取 200 ～ 300 目（48 ～ 75 μm）硅胶（15 g），干法拌样，并加入 1%对苯二酚阻聚剂（50 mg，上海阿拉丁生化科技股份有限公司），经柱色谱［洗脱液：乙酸乙酯和正庚烷（体积比 1 ∶ 4 至 1 ∶ 1），梯度洗脱］分离、纯化，得淡黄色固体杂质 D（2.89 g，61.0%）。mp 164.5 ～ 168.3 ℃。纯度 98.78 %［HPLC 归一化法：色谱柱 Welch Ultimate® AQ C_{18} 柱（4.6 mm×250 mm，5 μm），流动相 A 为甲醇和乙酸铵缓冲液（取乙酸铵 0.77 g，加水 1 000 mL 振摇使溶解，用冰乙酸调至 pH 4.7）（体积比 20 ∶ 80），B 为甲醇、乙腈和乙酸铵缓冲液（体积比 50 ∶ 40 ∶ 5），梯度洗脱（0—20 min，A 65 %；20—40 min，A 65%—10%；40—50 min，A 10%；50—60 min，A 65 %）；检测波长 254 nm；柱温 35 ℃；流速 1.0 mL/min；进样量 20 μL。与 **1** 的相对保留时间为 1.36］。^{1}H NMR（400 MHz, DMSO-d_6）δ: 7.82（d, 1H），7.68（d, 1H），7.53 ～ 7.55（m, 3H），7.43 ～ 7.46（m, 3H），6.83（dd, *J*=15.4、11.2 Hz, 1H），6.43（d, *J*=3.5 Hz, 1H），5.84（d, *J*=11.4 Hz, 1H），5.33（d, *J*=11.4 Hz, 1H），4.30（d, *J*=2.8 Hz,1H）；ESI-MS（*m*/*z*）: 321.082 9［M+H］$^+$。

双［［4-（2- 苯甲酰基 -4- 氯苯基）-5- 甲基 -4*H*-1,2,4- 三唑 -3- 基］甲基］胺（杂质 H）

将 **1**（100.2 g，0.325 mol，天方药业有限公司）和 6 mol/L 盐酸（1 000 mL）在室温下搅拌至溶清，加热至 70 ℃反应 6 h 后，将反应液降至室温，滴至 25%浓氨水（550 mL）中（此过程放热，需加冰降温）；滴毕，用二氯甲烷（2 000 mL）萃取，静置分层，有机相经无水硫酸钠干燥、过滤，滤液减压浓缩至约 400 mL，加 *N*,*N*- 二异丙基乙胺（22.4 g，0.173 mol，上海凌峰化学试剂有限公司）和 DMF（500 mL），室温下搅拌 10 min，加入 **4**（参考文献[5]自制，30.0 g，0.087 mol），升至 40 ℃反应 12 h。反应液中加入水（1 500 mL）和乙酸乙酯（1 500 mL），搅拌后静置分层，水相用乙酸乙酯（800 mL×2）萃取，有机相合并后经饱和氯化钠水溶液（1 000 mL）洗涤、无水硫酸钠干燥、过滤、减压浓缩，剩余物经柱色谱［洗脱液：乙酸乙酯和正庚烷（体积比 1 ∶ 2）］分离、纯化，得淡黄色固体杂质 H（17.12 g，8.3%）。mp 192.4 ～ 194.8 ℃。纯度 96.77%［HPLC 归一化法，条件同杂质 D。杂质 H 出现双峰，与 **1** 的相对保留时间为 2.36、2.50］。^{1}H NMR（400 MHz, DMSO-d_6）δ: 7.80 ～ 7.82（m, 2H），7.69 ～ 7.71（m, 2H），7.61 ～ 7.63（m, 8H），7.46 ～ 7.49（m, 4H），5.66（s, 1H），3.37 ～ 3.40（m, 4H），2.04（s, 6H）；ESI-MS（*m*/*z*）: 636.160 3［M+H］$^+$。

7,11- 二氯 -3,15- 二甲基 -8b,9a- 二苯基 -8b,19a- 二氢 -9a*H*,18*H*- 苯并［5',6'］［1,2,4］三唑并［3'',4'':3',4'］［1,4］二氮杂［7',1':2,3］噁唑并［4,5-*c*］-［1,2,4］三唑并［4,3-*a*］喹啉（杂质 J）

将杂质 H（3.0 g，4.71 mmol）、对甲苯磺酸一水合物（0.6 g，3.48 mmol，上海麦克林生化科技有限公司）和甲苯（75 mL）依次加至 250 mL 反应瓶中，升至 140 ℃回流反应 8 h。反应液减压蒸除溶剂，加入甲醇（60 mL）后于 70 ℃回流搅拌 30 min，冰

水浴降温至 0 ～ 5 ℃继续搅拌 20 min，有白色固体析出，抽滤，滤饼用甲醇（15 mL）淋洗，于 40 ℃减压干燥后得类白色固体杂质 J（1.70 g，58.3％）。纯度 99.05％［HPLC 归一化法，条件同杂质 D。与 **1** 的相对保留时间为 2.54］。^{1}H NMR（400 MHz, DMSO-d_6）δ: 7.98（d, *J*=6.0 Hz, 1H）, 7.66（dd, *J*=9.0、2.4 Hz, 1H）, 7.53 ～ 7.55（m, 1H）, 7.49 ～ 7.51（m, 1H）, 7.38（d, *J*=1.8 Hz, 1H）, 7.32（t, *J*=7.2 Hz, 1H）, 7.23（t, *J*=8.4 Hz, 2H）, 7.16（t, *J*=7.2 Hz, 1H）, 7.09（d, *J*=7.8 Hz, 2H）, 7.04（t, *J*=7.8 Hz, 2H）, 6.92（d, *J*=2.4 Hz, 1H）, 6.85（d, *J*=7.2 Hz, 2H）, 5.45（s, 1H）, 5.00（d, *J*=13.8 Hz, 1H）, 4.43（d, *J*=13.2 Hz, 1H）, 2.88（s, 3H）, 1.85（s, 3H）；ESI-MS（*m*/*z*）: 618.157 3［M+H］$^+$。

［**5-** 氯 **-2-**［**3-**［［［（**7-** 氯 **-5-** 羟基 **-5-** 苯基 **-4**,**5-** 二氢 **-**［**1**,**2**,**4**］三唑［**4**,**3-*a***］喹啉 **-1-** 基）甲基］氨基］**-** 甲基］**-5-** 甲基 **-4*H*-1**,**2**,**4-** 三唑 **-4-** 基］苯基］（苯基）**-** 甲酮（杂质 Q）

氮气保护下，将杂质 H（2.0 g，3.14 mmol）和 THF（50 mL）加至 250 mL 反应瓶中，用冰水浴控温于 0 ～ 10 ℃，通过注射器加 1 mol/L 六甲基二硅基胺基锂的 THF 溶液（30 mL，上海毕得医药科技股份有限公司），加毕反应 20 h，加 10％氯化铵溶液（30 mL）淬灭反应，静置分层，有机相经无水硫酸钠干燥后过滤，滤液减压浓缩至干，得黄色固体（3.14 g），用乙酸乙酯（30 mL）溶解，加入硅胶（10 g，48 ～ 75 μm，青岛海洋化工有限公司）制砂，经柱色谱［洗脱液：正庚烷和乙酸乙酯（体积比 5 ∶ 1 至 1 ∶ 1），梯度洗脱］分离、纯化，得类白色固体杂质 Q（0.96 g，48.0％）。纯度 99.48％［HPLC 归一化法，条件同杂质 D。与 **1** 的相对保留时间为 2.22］。^{1}H NMR（400 MHz, DMSO-d_6）δ: 7.84（d, *J*=8.4 Hz, 1H）, 7.75（d, *J*=2.4 Hz, 1H）, 7.63 ～ 7.67（m, 1H）, 7.51 ～ 7.53（m, 2H）, 7.47 ～ 7.49（m, 1H）, 7.42（dd, *J*=9.0、 2.4 Hz, 1H）, 7.32 ～ 7.35（m, 1H）, 7.27 ～ 7.29（m, 2H）, 7.22（d, *J*=2.4 Hz, 1H）, 3.96（dd, *J*=14.4、6.0 Hz, 1H）, 3.86（dd, *J*=13.8、6.8 Hz, 1H）, 3.63 ～ 3.65（m, 1H）, 3.59 ～ 3.61（m, 1H）, 3.52（dd, *J*=14.4、6.6 Hz, 1H）, 3.32（d, *J*=15 Hz, 1H）, 2.09（s, 3H）；ESI-MS（*m*/*z*）: 636.167 6［M+H］$^+$。

参考文献：

[1] DANZON P M, NICHOLSON S．The Oxford handbook of the economics of the biopharmaceutical industry［M］．Oxford: Oxford University Press, 2012: 556-557.

[2] 姚新建，李占灵．阿普唑仑的化学合成［J］．郑州大学学报（医学版），2008,（4）: 791-793.

[3] 祁铁流，顾　云，薛　安．阿普唑仑合成方法的改进［J］．南京军医学院学报，2001,（3）: 180.

[4] 石艳彩，王心久．阿普唑仑合成时降低杂质含量的研究［J］．许昌学院学报，2014, **33**（5）: 82-85.

[5] HESTER J B Jr．Triazolyl benzophenone compounds: US, 04000151A［P］．1976-12-28.

[6] Takeda Chemical Industries, Ltd．Heterocyclic compounds: US, 4013763A［P］．1977-03-22.

[7] CABRERA C G, WAISBAUM R G, NUDELMAN N．Kinetic and mechanistic studies on the hydrolysis and photodegradation of diazepam and alprazolam［J］．*J Phys Org Chem*, 2005, **18**（2）: 156-161.