

托法替布连续流合成工艺研究

曾伟强^{1*}, 杜文乐¹, 高玉贺^{1,2}, 廖正华¹, 李昌亮², 宋婉晴¹

(1. 湖南天地恒一医药化学有限公司, 湖南 浏阳 410300;

2. 湖南省药品检验检测研究院 国家药品监督管理局药用辅料工程技术研究重点实验室, 湖南 长沙 410001)

摘 要:目的 结合托法替布原料药合成工艺特性, 设计一条适合各反应步骤的多步连续流合成工艺。方法 分别采用多级连续流动态混合反应器、固定床催化反应器、微通道连续流反应器对托法替布工艺中各步反应进行连续流合成研究, 并对产品纯度、收率、反应时间等指标进行考察。**结果与结论** 与间歇釜式反应相比, 采用多步连续流工艺能更高效率、高纯度、低成本的制备托法替布, 并解决了间歇釜式反应存在的安全隐患及环境污染问题, 通过对连续流设备合理的设计匹配, 可解决不同反应兼容性的问题, 进一步拓展了连续流技术的应用前景。

关键词:托法替布; 连续流合成; 动态混合; 固定床催化; 微通道反应

中图分类号:R914

文献标志码:A

托法替布 (tofacitinib) 是由美国辉瑞公司开发的一种治疗类风湿性关节炎的小分子化学药, 化学名称为 (3*R*, 4*R*)-4-甲基-3-(甲基-7*H*-吡咯并 [2,3-*d*] 嘧啶-4-基氨基)- β -氧代-1-哌啶丙腈^[1], 托法替布的合成方法已有诸多文献报道^[2-4], 综合已公开的文献, 主流的合成工艺以 2,4-二氯-7*H*-吡咯 [2,3-*d*] 嘧啶 (TFTB-1) 或 4-氯-7-对甲苯

磺酰基-7*H*-吡咯 [2,3-*d*] 嘧啶 (TFTB-1a) 与 (3*R*, 4*R*)-*N*,4-二甲基-1-(苯基甲基)-3-哌啶胺 (TFTB-2) 为原料, 在碱性条件下发生亲电取代反应, 生成化合物 TFTB-3 或 TFTB-3a, 再经催化加氢反应脱除保护基团得到中间体 TFTB-4, 中间体 TFTB-4 与氰基乙酸反应得到托法替布, 反应路线如图 1 所示。

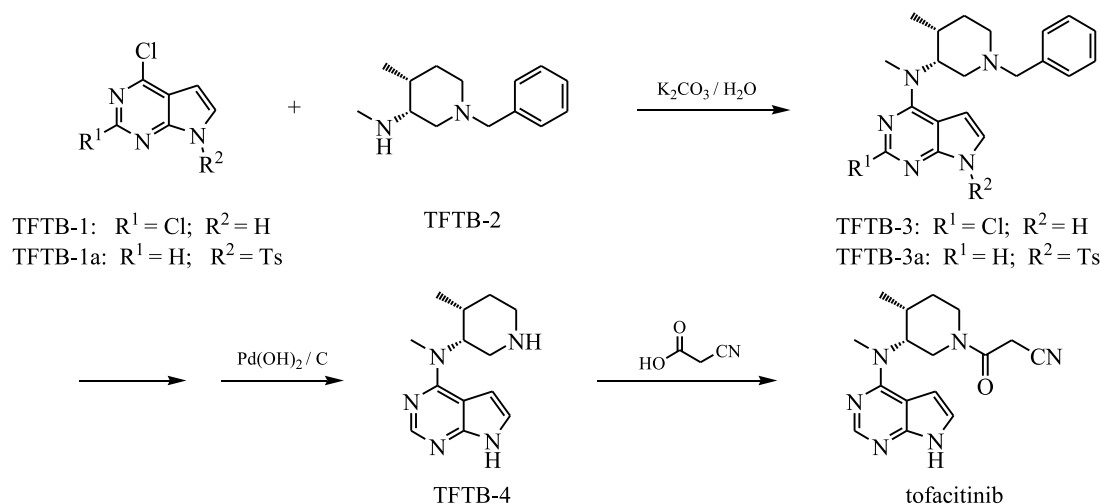


Figure 1 The mainstream synthetic route to tofacitinib

该合成路线原料易得, 反应转化率高, 适用于工业化生产, 但传统生产工艺采用间歇式反应釜

进行生产, 生产周期长, 能耗高, 产生的废液量大, 同时路线中加氢工艺存在较大的安全隐患。流动

收稿日期: 2024-11-20

基金项目: 湖南省自然科学基金科药联合基金项目 (2022JJ80029)

作者简介: * 通信作者: 曾伟强 (1988-), 男 (汉族), 湖南娄底人, 工程师, 主要从事原料药工艺开发研究工作, E-mail: zengwq@hinye.com。

化学即持续工艺或连续流化学,是近年药物合成领域研究的热点^[5-6],其通过泵输送物料并以连续流动的模式进行化学反应^[7]。相比传统釜式反应,流动化学通常更加高效、安全、环保,在药物合成方面,流动化学技术作为原料药分子合成的工具已有较多应用,目前已有大量文献报道利用连续流反应进行药物合成^[8-12]。但传统的连续流反应存在较多的局限性,对于非均相反应体系,尤其是固-液反应,反应效果差且反应通道易堵塞,对于反应速率慢的反应通常也不适用。Gasparini 等^[13]将动态混合的管式反应器应用于酶催化反应,有效提高了固体酶的分散效果并解决了管道堵塞问题。托法替布原料药合成工艺中涉及固-液非均相且反应速率慢的反应,同时还存在气-液-固三相反应,工艺过程因混合效果不佳或参数控制不精准易产生多种杂质^[14],因此实现连续流反应需解决两个方面的问题:一是化学合成方面,需解决反应转化率低及反应速率慢的问题,形成适合连续流生产的基础条件;二是微反应技术方面,需解决连续流固液分散困难造成管道堵塞的问题。

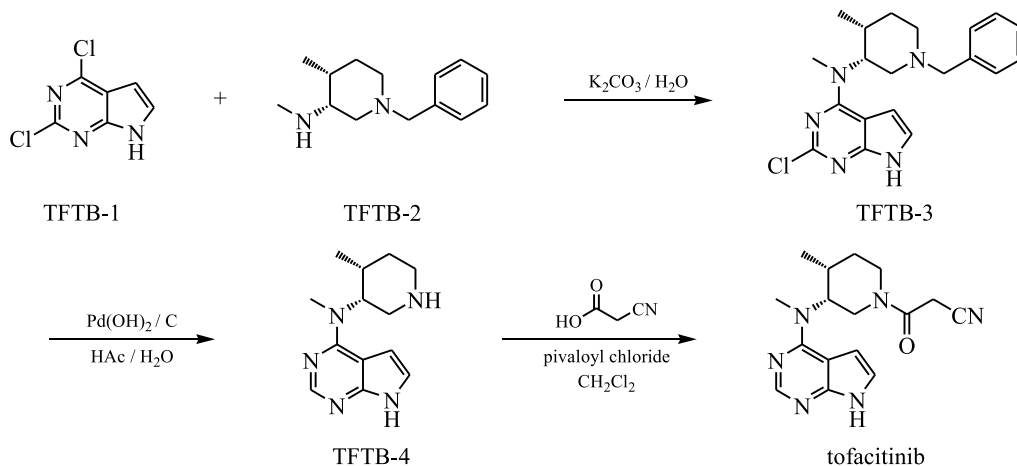


Figure 2 Proposed synthetic route to tofacitinib

2 连续流工艺设计

合成中间体 TFTB-3 的反应速率较慢,反应体系为固-液非均相体系,采用微通道反应器或管式反应器混合效果不好且易造成堵塞。本文作者根据该步反应特性,采用 ACR 连续反应系统进行反应,该反应系统具有多级动态混合反应器,每一个反应腔室内都有高剪切力的搅拌器,物料体系流经腔室后,可通过搅拌器进一步分散达到最佳混合效果,同时避免管路堵塞。具体实施方案为:

为应对托法替布原料药生产中传统釜式反应所带来的安全风险与环保压力,亟需开发一套适配其工艺中各反应特性的多步连续流合成工艺,从而有效提高生产效率、降低综合成本,同时通过减少废弃物排放与提高过程控制水平,进一步推动制药生产向绿色化、智能化方向转型升级。

1 合成路线选择与设计

托法替布的合成工艺参考原研专利^[2]报道的路线,以 2,4-二氯-7H-吡咯[2,3-d]嘧啶(TFTB-1)和(3R,4R)-N,4-二甲基-1-(苯基甲基)-3-哌啶胺(TFTB-2)为起始原料,以水为反应溶剂,在碱的作用下经亲电取代反应生成中间体 TFTB-3, TFTB-3 经氢氧化钯/炭催化加氢还原得到中间体 TFTB-4, TFTB-4 与经酰氯活化的氰基乙酸反应,得到托法替布,具体合成路线见图 2。该工艺路线所使用的溶试剂安全环保,反应速率较快,转化率高,为连续流工艺实施提供可行性,在连续流工艺研究前已通过间歇釜式反应对工艺参数完成初步优化验证。

原料 TFTB-1、TFTB-2、碳酸钾和水混合后,经泵打入多级动态混合反应器,在高温下完成反应后,流出液经过滤分离得到中间体 TFTB-3(图 3)。

中间体 TFTB-4 的合成成为催化加氢反应,属于气-液-固三相反应,适宜采用固定床式连续化反应,相对于间歇釜式反应,固定床式反应更加安全和高效,同时也可减少原料与催化剂接触时间,延长催化剂使用寿命,降低催化剂用量,可持续获得高纯度产品。

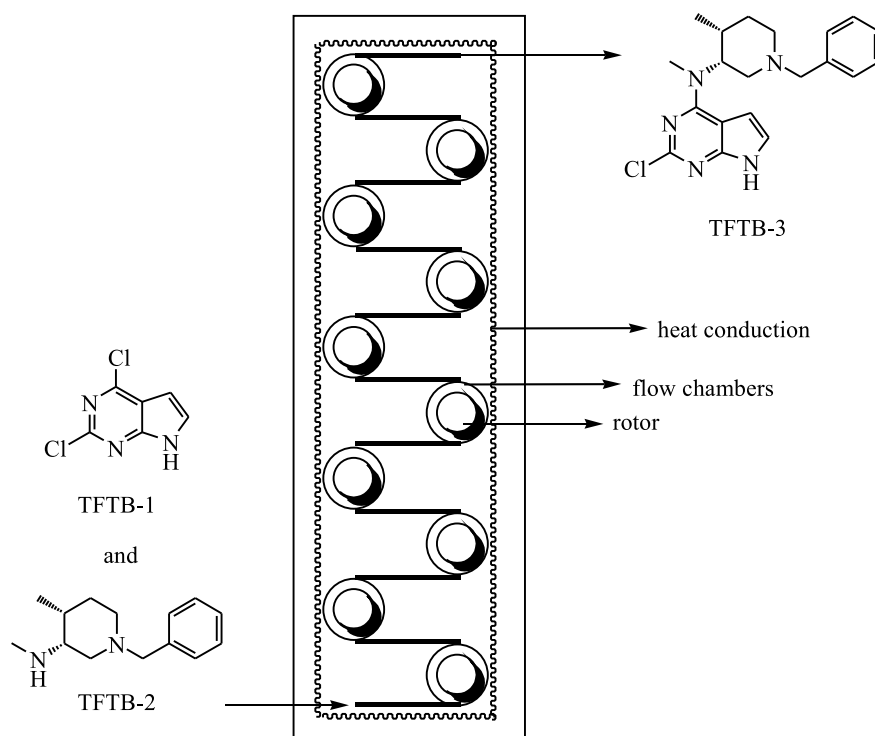


Figure 3 Schematic diagram of dynamic mixing reactor for the preparation of TFTB-3

本文作者在对高压釜反应的各项工艺参数进行优化的基础上,设计了采用固定床连续流反应制备 TFTB-4 的方案,即将原料 TFTB-3 溶于溶剂中置于原料配制罐(2)内,催化剂置于固定床反应器(4)内,原料 TFTB-3 溶液通过计量泵(7)和气液混合器(3)流入固定床反应器(4),气液混合器(3)还设置有氢气入口,其与氢气储罐(1)相连接,体系在固定床反应器(4)内完成催化加氢后,

经气液分离器(5)进行气液分离,流出液体经 HPLC 监控合格后,收集至产品接收罐(6),经浓缩、萃取、析晶后得到中间体 TFTB-4。该连续反应过程中存在的主要杂质是未反应完全的中间产物杂质 A,因此对反应的监控以杂质 A 的含量作为主要判断标准。固定床催化制备 TFTB-4 流程及固定床式连续化反应系统示意图分别见图 4、图 5。

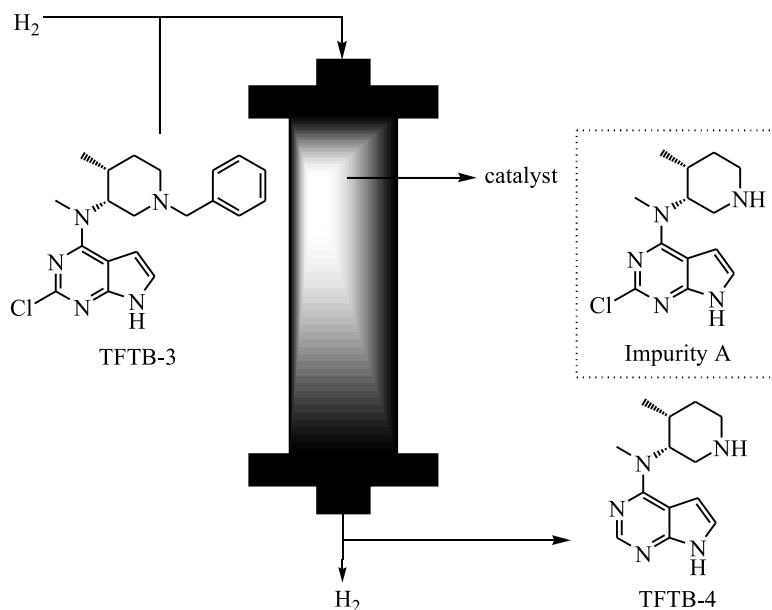


Figure 4 Flowchart for manufacture of TFTB-4 using fixed bed reaction

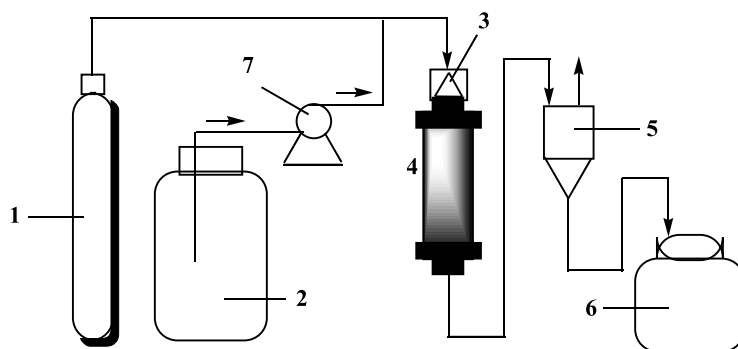


Figure 5 Schematic diagram of fixed bed continuous reaction system

第三步托法替布的合成采用上一步制备得到的 TFTB-4 与经酰氯活化的氰基乙酸反应得到,该步反应速度快、转化率高、副产物少,但要求严格无水。因此,本文作者采用碳化硅微通道反应器搭配高压恒流四氟柱塞泵合成托法替布,该系统物料流速和温度控制精准,可耐强酸腐蚀。反应分两个步骤,首先是氰基乙酸与经盘管冷却的

特戊酰氯分别经高压恒流四氟柱塞泵注入微通道反应器 1,在微通道反应器 1 内完成第一步酸酐的制备,流出反应液直接与微通道反应器 2 相连,在微通道反应器 2 内与注入的底物 TFTB-4 进行汇合反应,收集流出液,经碱淬灭后,萃取分液、浓缩、析晶得到托法替布,微通道反应流程示意图见图 6。

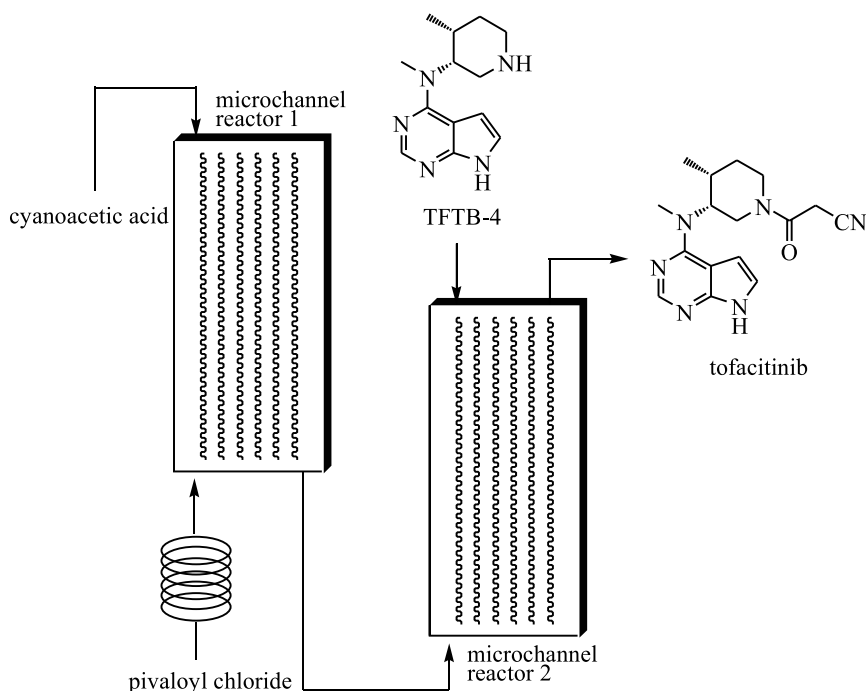


Figure 6 Schematic diagram of microchannel reactor for the preparation of tofacitinib

3 实验部分

3.1 仪器与试剂

ACR 连续反应系统(英国 AM Technology 公司);H-FLOW-S10 全自动加氢反应仪(欧世盛(北京)科技有限公司);CS2 碳化硅微通道反应

器(山东豪迈机械制造有限公司);DP-C50 高压恒流四氟柱塞泵(欧世盛(北京)科技有限公司);高效液相色谱仪 ACQUITY ARC(美国沃特世公司);分析天平 ES225SM-DR(精度 0.01 mg,瑞士普利赛斯公司)。所用试剂均为市售分析纯或化学纯。

3.2 采用动态混合反应器 ACR 连续反应系统合成 TFTB-3

在反应瓶中依次加入 980 mL 水、57.8 g (0.42 mol) 碳酸钾、76.4 g (0.26 mol) TFTB-2、49.0 g (0.26 mol) TFTB-1, 混合均匀, 经柱塞泵注入连续流动态混合反应器 ACR 连续反应系统, 等效反应腔串联级数为 10 级, 设置流速为 $1.6 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 反应体系在反应器中停留时间约为 31 min, 将反应器系统温度升至 100°C , 反应物经管式反应器流出冷却后直接过滤, 干燥, 得到 89.9 g 类白色粉末 (TFTB-3, 未结块), 收率 93.2%。随机选取该批次的十份样品分别进行

HPLC 纯度检测, 测试结果为 97.51 ~ 98.21%, 平均纯度 97.95%, 原料 TFTB-1 平均残留量为 110.33%。MS (ESI) m/z : 370.0 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 。 ^1H -NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 11.85 (br s, 1H), 7.32 ~ 7.24 (m, 5H), 7.16 (s, 1H), 6.61 (s, 1H), 3.52 (br s, 2H), 3.49 (d, $J = 8.0 \text{ Hz}$, 3H), 3.44 ~ 3.40 (m, 2H), 2.79 ~ 2.65 (m, 2H), 2.25 (s, 1H), 2.11 (s, 1H), 1.61 (s, 2H), 0.89 (d, $J = 4.4 \text{ Hz}$, 3H)。

采用动态混合反应器制备中间体 TFTB-3, 与釜式反应相比, 在反应时间、产品纯度、收率和产品性状等方面的对比结果如表 1 所示。

Table 1 Comparison of TFTB-3 prepared by continuous flow reaction and batch reaction

Experiment	Reaction time	Purity/%	Yield/%	Description
Continuous flow reaction	31 min	97.9	93.2	Uniform powder
Batch reaction	10 h	93.4	90.4	Blocky solid

3.3 采用固定床反应器合成 TFTB-4

将 79.6 g (0.22 mol) TFTB-3 和 636 mL 乙酸、159 mL 水混合配置成溶液, 在固定床反应器中加入 4.3 g $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$ 催化剂 (采用颗粒 D90 约 0.2 mm 的催化剂, $\text{Pd}(\text{OH})_2$ 负载量为 20%), 连接各系统模块, 检查无气体泄漏, 将系统升温至 90°C , 对系统连续通入氢气, 氢气压力设置为 0.5 MPa, 用计量泵连续输入 TFTB-3 的乙酸水溶液, 输入量设置为 $5 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 氢气输入量设置为 $200 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 使氢气和 TFTB-3 的乙酸水溶液的气液混合液连续通过 $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$ 催化剂床层进行氢解反应, 收集反应液, 减压浓缩, 加入 750 mL 二氯甲烷和 602 mL 水, 用 131.3 g 浓氨水调节体系 pH 值为 9.0 ~ 10.0, 萃取, 水相用

700 mL 二氯甲烷再次萃取, 合并有机相, 减压浓缩, 得到 53.5 g 白色固体 (TFTB-4), 收率 92.6%。随机选取一样品进行 HPLC 检测, 纯度为 98.51%。MS (ESI) m/z : 246.2 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 。 ^1H -NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 11.60 (br s, 1H), 8.10 (s, 1H), 7.12 (d, $J = 3.2 \text{ Hz}$, 1H), 6.54 (d, $J = 3.2 \text{ Hz}$, 1H), 4.81 (s, 1H), 3.33 (s, 3H), 3.16 ~ 3.11 (m, 2H), 2.86 ~ 2.76 (m, 2H), 2.65 ~ 2.63 (m, 1H), 2.51 (s, 1H), 1.76 ~ 1.46 (m, 2H), 0.97 (d, $J = 7.2 \text{ Hz}$, 3H)。

按照上述方法, 分别考察了催化剂粒度、氢气压力以及反应时间对反应效果的影响, 具体结果见表 2 ~ 4。

Table 2 HPLC sampling results of different catalyst particle sizes reacting for 1-hour

Sampling time/h	HPLC analysis		Catalyst particle size/mm
	Purity (TFTB-4)/%	Impurity A content/%	
(Group A) 1	96.50	0.07	0.2
(Group B) 1	16.40	17.49	1
(Group C) 1	1.93	7.11	2

Table 3 HPLC sampling results of 1-hour reaction under different hydrogen pressures

Sampling time/h	HPLC analysis		Hydrogen pressure/MPa
	Purity (TFTB-4)/%	Impurity A content/%	
(Group A) 1	96.50	0.07	0.5
(Group B) 1	96.48	0.08	1.0
(Group C) 1	96.51	0.07	1.5

Table 4 HPLC Sampling results for different reaction times

Sampling time/h	HPLC analysis	
	Purity(TFTB-4)/%	Impurity A content/%
1	97.97	0.04
2	97.85	0.05
3	97.78	0.07
4	97.67	0.09
5	97.54	0.13
6	97.40	0.15
7	97.35	0.18
8	97.33	0.23
9	97.27	0.24
10	97.12	0.29
24	96.55	0.58
36	96.21	0.74

由表2可知,在相同温度、压力、底物浓度和体积空速下,随催化剂负载炭颗粒增大,相对比表面积减小,原料转化率逐渐降低,因此优选催化剂粒径为0.1~0.3 mm。由表3可知,在相同温度、催化剂、底物浓度和体积空速下,氢气压力0.5 MPa至1.5 MPa,原料转化率和杂质无显著差异,因此优选氢气压力为0.5 MPa。由表4可知,在90℃、氢气压力0.5 MPa条件下,催化剂能稳定运行,反应36 h催化剂活性仍未明显降低。

3.4 采用微通道反应器制备托法替布

在反应瓶中依次加入380 mL二氯甲烷、34.8 g(0.41 mol)氰基乙酸和41.5 g(0.41 mol)三乙胺,搅拌溶解,经高压恒流四氟柱塞泵注入碳化硅微通道反应器1,设置流速10 mL·min⁻¹,将反应器系统温度设置为0~5℃,再将46.2 g(0.38 mol)特戊酰氯经高压恒流四氟柱塞泵注入连接预冷盘管的反应器1,设置流速为1.1 mL·min⁻¹,与氰基乙酸溶液在反应器中汇合,反应体系在反应器中停留时间约为2 min。流出反应液接入碳化硅反应器2,设置反应器2的系统温度为0~5℃。将255 mL二氯甲烷和

33.5 g(0.14 mol)中间体TFTB-4加入烧瓶搅拌溶解,经高压恒流四氟柱塞泵注入碳化硅微通道反应器2,设置流速为6.1 mL·min⁻¹,与反应器1制备的反应溶液汇合,反应体系在反应器中停留时间约为6.5 min。收集反应器2流出的反应液,加入510 mL浓度为1 mol·L⁻¹的氢氧化钠溶液,搅拌、分液,有机相用水洗涤后减压浓缩,加入195 mL甲醇和330 mL水,搅拌析出固体,过滤,得到39.6 g托法替布粗品,经甲醇-乙酸乙酯混合溶剂精制后得到类白色固体(托法替布)36.1 g,收率84.6%,HPLC检测纯度99.61%,MS(ESI)*m/z*: 313.1 [M+H]⁺。¹H-NMR(400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 11.65(br s, 1H), 8.11(s, 1H), 7.14(s, 1H), 6.56(s, 1H), 4.86(s, 1H), 4.15~4.02(m, 2H), 3.74~3.63(m, 2H), 3.41(d, *J*=5.2 Hz, 2H), 3.26(s, 3H), 2.38(s, 1H), 1.84~1.56(m, 2H), 1.00(d, *J*=7.2 Hz, 3H)。

采用连续流方案制备托法替布,与同等原料及工艺参数的釜式反应方案相比,在反应时间、产品纯度、收率等方面均表现出不同程度的优势,具体结果见表5。

Table 5 Comparison of tofacitinib prepared by continuous flow reaction and batch reaction

Experiment	Reaction time/min	Purity/%	Yield/%
Continuous flow reaction	8.5(2.0+6.5)	99.61	84.6
Batch reaction	120(60+60)	98.85	81.2

3.5 HPLC 分析方法

样品纯度检测按照高效液相色谱法测定(以面积归一化法计算纯度)。具体检测条件如下:

供试品溶液配制:取样品约10 mg,精密称

定,置于25 mL量瓶中,加入5 mL乙腈溶解后用稀释剂稀释至刻度,摇匀。

色谱条件:以十八烷基硅烷键合硅胶(OSA-KA SODA CAPCELL MG C₁₈, 4.6 mm×250 mm,

5 μm 或性能相当)为填充剂;以 $0.025\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的磷酸二氢钾溶液(用磷酸调 pH 值至 3.65)为流动相 A,乙腈为流动相 B,按表 6 条件进行梯度洗脱;流速为 $1.0\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$,检测波长 211 nm,柱温为 $30\text{ }^{\circ}\text{C}$;以乙腈-磷酸二氢钾($c = 0.025\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, pH = 3.65)溶液(体积比 15:85)为稀释剂。

Table 6 Gradient elution

t/min	Mobile phase A/%	Mobile phase B/%
0	85	15
10	77	23
13	77	23
40	60	40
45	60	40
48	85	15
55	85	15

4 结论

本文作者在对间歇釜式反应工艺进行参数优化的基础上,设计并验证了一条适合托法替布的多步连续流合成工艺,通过合理的组合设计,解决了连续流工艺普遍存在的兼容性难题。研究表明,采用动态混合反应器制备中间体 TFTB-3,与釜式反应方案相比,在反应时间、产品纯度、收率和产品性状方面均有明显优势;采用固定床反应器制备中间体 TFTB-4,相比于间歇釜式反应,生产更加安全和高效,同时减少了底物 TFTB-3 与催化剂接触时间,延长了催化剂使用寿命,能持续获得高纯度产品;采用两个串联的微通道反应器制备托法替布,与间歇釜式反应相比,制备效率更高,对反应温度、水分等关键影响因素的控制更加精准,产品质量更加稳定。然而,对于大规模生产,仍需结合具体设备性能进行工艺验证,重点考察系统的传质与传热效率,并与小试设备进行对比评估。此外,还应进一步探究反应器的合理组合方式,以期实现工艺的智能自动化控制。

参考文献:

[1] TODD A B, MARK E F, MICHAEL J M. Pyrrolo [2,3-*d*] pyrimidine compounds: US, 12549526 [P]. 2010-11-30.

[2] SALLY G R, JOEL M H, TERESA M M, et al. Pyrrolo [2,3-*d*] pyrimidine derivatives; their intermediates and synthesis: US, 11996899 [P]. 2012-07-31.

[3] MAEK E F, ZHENG J L. Novel crystalline compound: US, 10310078 [P]. 2003-07-10.

[4] JIANG Y, GUO C. Improved synthetic process of tofacitib citrate [J]. Chin J Med Chem (中国药物化学杂志), 2023, 33(11): 836-839.

[5] LIU Q, ZHANG Z, SHAO X Z, et al. Study progress of continuous flow technology in drug molecular synthesis [J]. Anhui Chemical Industry (安徽化工), 2020, 46(5): 11-19.

[6] ZHAO D B. Updated applications of flow chemistry in pharmaceutical synthesis [J]. Chin J Org Chem (中国有机化学), 2013, 33(2): 389-405.

[7] MCQUADE D T, SEEBERGER P H. Applying flow chemistry: methods, materials, and multistep synthesis [J]. J Org Chem, 2013, 78(13): 6384-6389.

[8] HARSANY A, CONTE A, PICHON L, et al. One-step continuous flow synthesis of antifungal WHO essential medicine flucytosine using fluorine [J]. Org Process Res Dev, 2017, 21(2): 273-276.

[9] GILMORE K, KOPETZK D, LEE J W, et al. Continuous synthesis of artemisinin-derived medicines [J]. Chem Commun, 2014, 50(84): 12652-12655.

[10] GROSS U, KOOS P, O'BRIEN M, et al. A general continuous flow method for palladium catalysed carbonylation reactions using single and multiple tube-in-tube gas-liquid microreactors [J]. Eur J Org Chem, 2014, 2014(29): 6418-6430.

[11] PELLEGATTI L, SEDELMEIER J. Synthesis of vildagliptin utilizing continuous flow and batch technologies [J]. Org Process Res Dev, 2015, 19(4): 551-554.

[12] CLOUDIUS R S, PAUL W. Continuous-flow synthesis of (−)-oseltamivir phosphate (tamiflu) [J]. Synlett, 2020, 31(19): 1925-1929.

[13] GASPARINI G, ARCHER I, JONES E, et al. Scaling up biocatalysis reactions in flow reactors [J]. Org Process Res Dev, 2012, 16(5): 1013-1016.

[14] GAO C, CUI Y, XU M, et al. Synthesis of the related substances of tofacitinib citrate [J]. Chin J Med Chem (中国药物化学杂志), 2024, 34(2): 105-109.

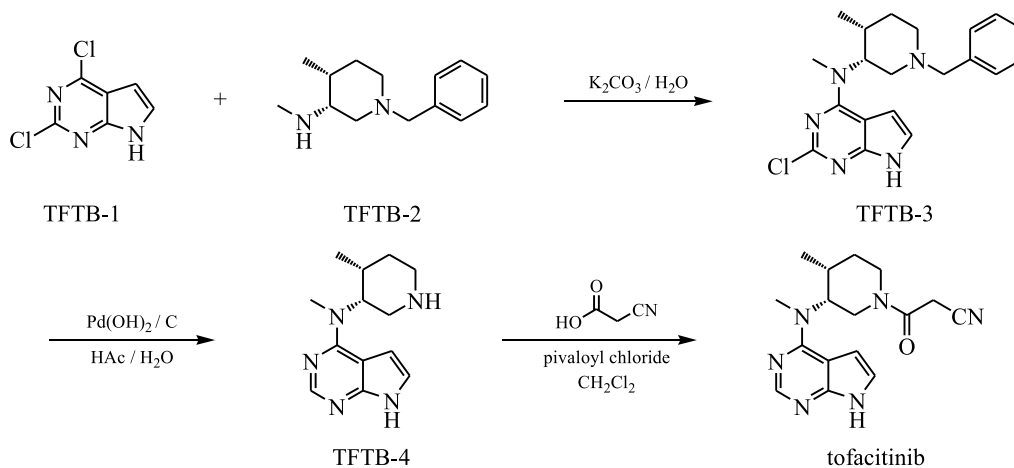
Research on the continuous flow synthesis process of tofacitinib

ZENG Weiqiang^{1*}, DU Wenle¹, GAO Yuhe^{1,2}, LIAO Zhenghua¹,
LI Changliang², SONG wanqing¹

(1. Hunan Hinye Pharmaceutical & Chemical Co., Ltd., Liuyang 410300, China;

2. Hunan Institute for Drug Control, Pharmaceutical Excipients and Engineering Technology Center of
National Medical Products Administration, Changsha 410001, China)

Abstract: A tailored multi-step continuous flow synthesis process, suitable for each reaction step, has been designed based on the specific characteristics of the active pharmaceutical ingredient (API) synthesis process of tofacitinib. Multiple stage continuous flow dynamic mixing reactors, fixed bed catalytic reactors, and microchannel continuous flow reactors are used to comprehensively explore the continuous flow synthesis of each reaction step within the tofacitinib production process. The product purity, yield, reaction time, and other indicators were investigated. Compared with the batch process, the multi-step continuous flow process for producing tofacitinib offers heightened efficiency, higher purity, lower cost, and better environmental friendliness. Rational design and matching of continuous flow devices address compatibility issues between different reactions, thereby expanding the application prospects of this technology.



Key words: tofacitinib; continuous flow synthesis; dynamic mixing; fixed bed catalysis; microchannel reaction