1-羟基异喹啉及羟基 Fasudil 的合成

陈美珠^a 刘 帅^a 王欣然^a 罗 浩^a 陈立功^a 王东华^{*b}^(a) 天津大学化工学院精细化工系 天津 300072)^(b) 天津大学药物科学与技术学院 天津 300072)

摘要 首先以异喹啉为原料, 经氧化生成氮氧化物后与苯甲酰氯和水作用, 得到 1-羟基异喹啉, 收率为 73.3%。以 Fasudil 为原料, 经氨基保护、氧化, 在相转移催化剂的存在下, 于二氯甲烷和水的两相体系中与苯甲酰氯和水作用, 合成羟基 Fasudil, HPLC 纯度大于 99%, 总收率为 46.8%, 从而建立了一条条件温和、操作简便的羟基 Fasudil 的合成工艺路线。

关键词 1-羟基异喹啉; 氮氧化物; Fasudil; 羟基 Fasudil

Synthesis of 1-Isoquinolinol and Hydroxyfasudil

Chen, Meizhu^a Liu, Shuai^a Wang, Xinran^a Luo, Hao^aChen, Ligong^a Wang, Donghua^{*b}^(a) Institute of Chemical Engineering and Technology, Tianjin University, Tianjin 300072)^(b) School of Pharmaceutical Science and Technology, Tianjin University, Tianjin 300072)

Abstract 1-Isoquinolinol was synthesized from isoquinoline via oxidation, reaction with benzoyl chloride and water in yield of 73.3%. According to this process, a method for the synthesis of hydroxyfasudil [1-(1-hydroxy-5-isoquinolinesulfonyl)-homopiperazine] from fasudil [hexahydro-1-(5-isoquinoline-sulfonyl)-1*H*-1,4-diazepine] was established in this paper. The process undergoes effectively through protection for amino, oxidation, reaction with water in a water/dichloromethane biphasic system in the presence of phase transfer catalyst and benzoyl chloride and then deprotection. The objective product was finally obtained in yield of 46.8% with a purity more than 99% (HPLC). It is virtually a practical process with mild reaction conditions and simple operation.

Keywords 1-isoquinolinol; nitrogen oxide; fasudil; hydroxyfasudil

Fasudil (HA-1077)^[1] 又名六氢-1-(5-磺酰基异喹啉)-1(*H*)-1,4-二氮杂草酸盐, 是目前唯一上市的 Rho 激酶抑制剂^[2]。羟基 Fasudil (HA-1100) 又名 1-(1-羟基-5-磺酰基异喹啉)高哌嗪, 是 Fasudil 的主要体内代谢产物, 它的活性比母药 Fasudil 强, 已经成为体外研究 Rho 激酶抑制剂的常用工具药^[3,4], 也是进一步合成 Fasudil 衍生物的先导化合物。目前尚未有合成羟基 Fasudil 的具体报道。因此对羟基 Fasudil 的合成进行研究具有重要意义。

异喹啉及其衍生物是一类重要的生物碱, 具有重要的生理活性, 广泛应用于医药、农药等领域^[5,6]。其中 Fasudil 及羟基 Fasudil 就是一类重要的异喹啉衍生物。我们利用结构相对简单并且廉价的异喹啉设计合成 1-羟基异喹啉, 以期合成羟基 Fasudil 提供依据。1983

年, Harjit 等^[7]曾提出将异喹啉与 PCl₅ (或 PCl₅ 及二甲苯) 在 240~260 °C 下反应 25 h 生成 1-氯异喹啉, 后经 6 h 水解生成产物。该反应条件较为苛刻, 反应时间长, 收率不高(为 55%)。1992 年, Alan 等^[8]在研究氮杂环化合物的高温水相反应时发现, 将异喹啉在 350 °C 下反应 3 d 可生成少量(最高约为 2.5%) 1-羟基异喹啉。该反应虽为绿色反应, 但反应时间长且收率极低。1990 年, Haya-shida 等^[9]提出了合成烷氧基喹啉的反应机理(Scheme 1) 并高选择性的合成了 1-烷氧基异喹啉。

Scheme 1 所示机理给予我们很大启发, 我们将其运用到异喹啉结构中。2006 年 Daniel 等^[10]在研究新型核苷酸三磷酸盐的中间步骤中也提过类似的合成方法。由此, 我们设计了 1-羟基异喹啉的合成路线, 如 Scheme 2 所示。即以异喹啉为原料, 合成异喹啉的氮氧化物^[11],

* E-mail: wdh022@tju.edu.cn

Received May 25, 2011; revised August 29, 2011; accepted October 21, 2011.

Scheme 1

再由异喹啉氮氧化物合成 1-羟基异喹啉, 并运用该方法合成羟基 Fasudil. 该方法相较前面所述的方法具有条件温和, 操作简便, 反应快等优点. 其中 Fasudil 按专利文献获得, 具体合成方法如 Scheme 3 所示^[12,13].

Scheme 2

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

质谱: 型号 LCQ Advantage MAX; 核磁: BRUKER AV400 或 VARIAN INOVA 500MHz 型, TMS 内标, CDCl₃ 或 DMSO-*d*₆; 高效液相色谱: 型号 Agilent 1100 Series; 熔点仪: 型号 YRT-3. 异喹啉(购自南京沐客化学信息有限公司)、高哌嗪(购自烟台北洋精细化工有限公司)、间氯过氧苯甲酸(购自南京天尊泽众化学有限公司)、二碳酸二叔丁酯(购自洪泽新星医药原料有限公司)、苯甲酰氯(购自天津大学科威公司), 其他化学品均为市售分析纯试剂, 未经处理直接使用. 本文提到的收率均为分离收率.

1.2 1-羟基异喹啉(4)的合成

将异喹啉(2.00 g, 15.5 mmol)溶于 CH₂Cl₂ (20 mL)中, 于冰浴搅拌下缓慢向其中滴加含有间氯过氧苯甲酸(4.00 g, 23.3 mmol)的 CH₂Cl₂ (30 mL)溶液, 滴毕后于室温下反应 4 h. 反应液用 5% 的连二亚硫酸钠水溶液洗至淀粉碘化钾试纸不变蓝. 取有机相, 饱和食盐水洗(20 mL×3), 无水硫酸镁干燥, 真空浓缩, 柱层析(乙酸乙

Scheme 3

酯)分离得 2.21 g 黄色粘稠液, 收率 98.35%.

取上述黄色粘稠液(1.00 g, 6.9 mmol)溶于 CH₂Cl₂ (20 mL)中, 向其中加入溶有四丁基溴化铵(0.40 g, 1.2 mmol)和乙酸钠(1.70 g, 20.7 mmol)的水(20 mL)溶液, 溶液分层. 搅拌至溶液乳浊, 于室温下缓慢滴入苯甲酰氯(1.87 g, 13.8 mmol), 滴毕后反应 1 h. 分离取有机相, 水相用 CH₂Cl₂ (40 mL×3)萃取, 合并有机相, 无水硫酸镁干燥, 过滤, 浓缩, 柱层析[V(乙酸乙酯): V(石油醚)=1:5]分离得到 0.75 g 白色固体粉末 4, 收率 74.49%. m.p. 201~206 °C; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 6.54 (d, *J*=15 Hz, 1H, ArH), 7.09 (d, *J*=30 Hz, 1H, ArH), 7.50~7.52 (m, 1H, ArH), 7.53~7.58 (m, 1H, ArH), 7.69 (d, *J*=15 Hz, 1H, ArH), 8.43 (d, *J*=5 Hz, 1H, ArH), 9.92 (s, 1H, OH).

1.3 5-异喹啉磺酸硫酸盐(5)的合成

将异喹啉(6.50 g, 50.4 mmol)溶于乙醇(100 mL), 在机械搅拌下, 于 0~5 °C 缓慢向其中滴加 98% 的浓硫酸(5.50 g, 55.0 mmol), 逐渐析出白色晶体. 过滤, 滤饼用乙醇洗涤, 真空常温干燥, 得 11.50 g 白色粉末^[14], 收率为 96.6%.

机械搅拌下, 分 3 次将 50% 的发烟硫酸(36.40 g)缓慢滴加到上述粉末中, 每次于 100 °C 反应 6 h. 液相色谱监测[V(甲醇): V(缓冲盐)=4:1]反应完毕. 将反应液趁热缓慢滴加入 0 °C 乙醇(150 mL)中, 析出晶体, 于冰箱冷藏过夜, 过滤, 滤饼用冰乙醇洗涤(100 mL×2), 真空干燥, 得 9.80 g 白色粉末 5, 收率 63.8%, HPLC 纯度

>99.0%. m.p. >250 °C; ^1H NMR (500 MHz, D_2O) δ : 7.78~7.82 (m, 1H, ArH), 8.32 (d, $J=10$ Hz, 1H, ArH), 8.42~8.46 (m, 2H, ArH), 8.76 (d, $J=10$ Hz, 1H, ArH), 9.50 (s, 1H, ArH).

1.4 Fasudil (6)的合成

将化合物 **5** (10.00 g, 32.6 mmol)溶于氯化亚砷(75.0 g, 630 mmol)中, 同时滴加 N,N -二甲基甲酰胺(10 mL), 机械搅拌, 于 60 °C 反应 5 h. 蒸馏除去多余的氯化亚砷后加入 CH_2Cl_2 (200 mL), 析出大量晶体, 过滤, 滤饼用 CH_2Cl_2 洗涤, 真空常温干燥, 得 9.60 g 白色粉末, 收率为 90.50%.

将上述白色粉末(4.50 g, 14.0 mmol)加入冰水(25 mL)中, 搅拌下用饱和碳酸氢钠溶液调节 pH 值为 5~6, CH_2Cl_2 萃取(50 mL $\times$ 2), 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液浓缩至 50 mL 备用.

将高哌嗪(4.00 g, 40.0 mmol)溶于 CH_2Cl_2 (50 mL), 于 0~5 °C 向其中滴加上述所得溶液, 加毕室温反应 2 h. 向反应液中加入 10%氢氧化钠溶液, 调节 pH 值至 10, 分出有机相, 浓缩, 得 4.50 g 浅黄色油状物 **6**, 收率为 77.20%, HPLC 纯度 >99%. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 1.81~1.86 (m, 2H, CH_2), 2.05 (s, 1H, NH), 2.93~2.99 (m, 4H, 2CH_2), 3.43~3.50 (m, 4H, 2CH_2), 7.67~7.70 (m, 1H, ArH), 8.18 (d, $J=10$ Hz, 1H, ArH), 8.34 (d, $J=5$ Hz, 1H, ArH), 8.44 (d, $J=10$ Hz, 1H, ArH), 8.68 (d, $J=10$ Hz, 1H, ArH), 9.34 (s, 1H, ArH); ^{13}C NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 31.361, 47.635, 47.906, 50.477, 51.336, 117.820, 126.098, 129.413, 131.809, 133.041, 133.553, 134.827, 145.260, 153.458.

1.5 Boc-Fasudil 氮氧化物(8)的合成

将化合物 **6** 的盐酸盐(5.00 g, 13.7 mmol)溶于水(50 mL)中, 向其中加入溶有无水碳酸钠(2.62 g, 24.7 mmol)的水(25 mL)溶液, 中和毕用 CH_2Cl_2 萃取(50 mL $\times$ 3), 合并有机相, 无水硫酸镁干燥, 减压浓缩后, 和三乙胺(1.39 g, 13.7 mmol)溶于 CH_2Cl_2 (50 mL)中. 再于冰浴下, 向其中滴加溶有二碳酸二叔丁酯(4.49 g, 20.6 mmol)的 CH_2Cl_2 (15 mL)溶液, 室温反应 1.5 h, 减压浓缩, 柱层析 [V (石油醚): V (乙酸乙酯)=3:1]分离得 5.25 g 黄色粘稠液, 收率为 97.51%.

将上述黄色粘稠液(5.25 g, 13.4 mmol)溶于 CH_2Cl_2 (35 mL)中, 于冰浴搅拌下缓慢向其中加入间氯过氧苯甲酸(2.50 g, 14.5 mmol), 滴毕后于室温下反应 1 h. 反应液用 5%的连二亚硫酸钠水溶液洗至使湿润的淀粉碘化钾试纸不变蓝. CH_2Cl_2 (50 mL $\times$ 3)萃取, 合并有机相, 无水硫酸镁干燥, 浓缩, 柱层析(乙酸乙酯)分离得 4.49 g 橙黄色粘稠液 **8**, 收率 82.17%. ^1H NMR (500 MHz,

CDCl_3) δ : 1.43 (s, 9H, 3CH_3), 1.94~1.98 (m, 2H, CH_2), 3.35~3.43 (m, 4H, 2CH_2), 3.49~3.58 (m, 4H, 2CH_2), 7.68 (d, $J=15$ Hz, 1H, ArH), 7.91 (d, $J=10$ Hz, 1H, ArH), 8.05~8.10 (m, 1H, ArH), 8.26 (d, $J=5$ Hz, 1H, ArH), 8.53 (d, $J=10$ Hz, 1H, ArH), 8.84 (s, 1H, ArH).

1.6 羟基 Fasudil (10)的合成

取化合物 **8** (4.49 g, 11.0 mmol)溶于 CH_2Cl_2 (50 mL)中, 向其中加入溶有四甲基溴化铵(1.00 g, 3.1 mmol)和乙酸钠(2.71 g, 33.0 mmol)的水(25 mL)溶液, 溶液分层. 搅拌至溶液浑浊, 于室温下缓慢滴加入苯甲酰氯(3.10 g, 22.0 mmol). 滴毕后反应 1 h. 分离有机相, 无水硫酸镁干燥, 减压除去 CH_2Cl_2 , 加入乙酸乙酯(35 mL), 结晶析出 3.13 g 白色固体 **9**, 收率 70%. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 1.44 (s, 9H, 3CH_3), 1.94~1.96 (m, 2H, CH_2), 3.35~3.43 (m, 4H, 2CH_2), 3.44~3.58 (m, 4H, 2CH_2), 7.28 (d, $J=20$ Hz, 1H, ArH), 7.36 (d, $J=10$ Hz, 1H, ArH), 7.58 (d, $J=15$ Hz, 1H, ArH), 8.22~8.27 (m, 1H, ArH), 8.68 (d, $J=5$ Hz, 1H, ArH), 11.24 (s, 1H, OH).

取化合物 **9** (1.00 g, 2.45 mmol)溶于 CH_2Cl_2 (35 mL)中, 于冰浴下向其中滴加入三氟乙酸(2.79 g, 24.5 mmol), 滴毕后于室温下搅拌反应 3 h. 反应液于 80 °C 下常压蒸除溶剂及部分三氟乙酸, 得棕色粘稠液体, 加入少量水, 用饱和 NaHCO_3 溶液调节 pH 值至中性, 产生絮状沉淀, 将沉淀过滤, 真空常温干燥, 得 0.63 g 乳白色固体粉末 **10**, 收率 83.5%. m.p. 214~220 °C; ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 1.62~1.67 (m, 2H, CH_2), 2.70~2.77 (m, 4H, 2CH_2), 3.30~3.44 (m, 4H, 2CH_2), 7.09 (d, $J=10$ Hz, 1H, ArH), 7.37 (d, $J=5$ Hz, 1H, ArH), 7.58~7.61 (m, 1H, ArH), 8.16 (d, $J=10$ Hz, 1H, ArH), 8.46 (d, $J=5$ Hz, 1H, ArH), 11.62 (s, 1H, OH); ^{13}C NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 31.133, 47.415, 47.777, 50.272, 51.424, 101.749, 126.301, 128.532, 131.992, 132.538, 133.679, 134.892, 135.338, 161.771.

2 结果与讨论

依据 Scheme 2 所提的反应机理并参考 Mitsuo Hayashida 和 Daniel Brookings 提出的反应条件, 运用最初设计的路线尝试了对 1-羟基异喹啉的合成, 即以异喹啉为原料, 经间氯过氧苯甲酸氧化得到异喹啉氮氧化物, 将异喹啉氮氧化物同苯甲酰氯及氢氧化钠和水作用, 成功合成了 1-羟基异喹啉, 但收率并不理想.

为将该方法有效地应用于羟基 Fasudil, 首先应提高 1-羟基异喹啉的合成收率, 由此我们对设计的路线进行了最优条件的探索. 根据提出的机理, 影响反应的主要因素有反应物的溶解度, 酰化试剂的反应活性, 体系

的碱性强度. 针对这些影响因素, 我们做了条件优化实验, 具体结果如下:

化合物 **1** 可微溶于水, 在水相中直接反应可取得较好的效果(收率 52.97%). 而 Boc 保护的 Fasudil 氮氧化物(化合物 **8**)不溶于水, 在纯水相中反应不易进行, 由此我们加入相转移催化剂四丁基溴化铵, 结果显示反应收率得到明显提高. 具体结果如表 1 所示.

表 1 相转移催化剂对 1-羟基异喹啉收率的影响^a

Table 1 Effect of phase transfer catalyst on the yield of 1-isoquinolinol

相转移催化剂	反应时间/h	收率/%
有 ^b	1	74.49
无 ^c	1	52.97

^a 两反应中碱性试剂均为乙酸钠, 酰氯试剂为苯甲酰氯; ^b 水与二氯甲烷的两相反应, 相转移催化剂为四丁基溴化铵; ^c 水相反应(微溶).

由于该反应中存在水相, 且在室温下进行, 若酰氯过于活泼, 则可发生水解副反应, 若过于惰性, 则会使中间产物 **2** 较难形成而阻碍反应的进行. 因此分别以氯乙酸乙酯、对甲基苯磺酰氯及苯甲酰氯作为酰氯试剂^[3]进行考察, 反应结果如表 2 所示, 当以苯甲酰氯作为反应试剂时收率最佳.

表 2 酰氯试剂对 1-羟基异喹啉收率的影响^a

Table 2 Effect of carbonyl chlorides reagents on the yield of 1-isoquinolinol

酰氯试剂	反应时间/h	收率/%
PhCOCl	1	74.49
ClCOOEt	1	0
TsCl	1	dt. ^b

^a 所有反应均为水与二氯甲烷的两相反应, 相转移催化剂为四丁基溴化铵, 碱性试剂为乙酸钠; ^b dt.: 表示可检测到产物, 但未能分离.

根据 Scheme 2 所提机理, 碱性条件下有利于羟基负离子的形成, 从而利于反应的进行, 但若碱性过强, 则加速酰氯的水解而阻碍反应进行. 因此分别对乙酸钠、碳酸钠、氢氧化钠作为碱对上述反应进行研究, 结果如表 3 所示, 当以乙酸钠作为碱性试剂时收率最高.

根据上述研究结果, 最终获得了合成 1-羟基异喹啉的最优合成路线如 Scheme 4 所示. 总收率为 73.3%.

Scheme 4

表 3 碱性试剂对 1-羟基异喹啉收率的影响^a

Table 3 Effect of alkaline reagents on the yield of 1-isoquinolinol

碱性试剂	反应时间/h	收率/%
无	1	41.71
CH ₃ COONa	1	74.49
Na ₂ CO ₃	1	49.66
NaOH	1	15.89

^a 所有反应均为水与二氯甲烷的两相反应, 相转移催化剂为四丁基溴化铵, 酰氯试剂为苯甲酰氯.

Scheme 5

将上述 1-羟基异喹啉的合成路线运用于羟基 Fasudil 的合成如 Scheme 5 所示. 即以 Fasudil 为原料, 经氨基保护、氧化, 在相转移催化剂的存在下, 于二氯甲烷和水的两相体系中与水和苯甲酰氯作用, 最终成功地合成了羟基 Fasudil, 总收率为 46.8%.

4 结论

本文提出了 1-羟基异喹啉的合成路线如 Scheme 4 所示, 该路线相较其他反应线路条件温和、操作简便、总收率较高, 为 73.3%. 成功地将该路线应用于羟基 Fasudil 的合成, 从而建立了羟基 Fasudil 的合成工艺路线: 即以 Fasudil 为原料, 经氨基保护、氧化, 在相转移催化剂的存在下, 于二氯甲烷和水的两相体系在碱性条件下与苯甲酰氯和水作用, 以 46.8% 的总收率成功地合成了羟基 Fasudil, HPLC 分析纯度大于 99%.

References

- [1] Satoh, S.; Suzuki, Y.; Harada, T.; Ikegaki, I.; Asano, T.; Shibuya, M.; Sugita, K.; Hidaka, H. *Eur. J. Pharmacol.* **1992**, *220*, 243.
- [2] Masayuki, I.; Atusuya, T.; Yuji, O.; Takehisa, K.; Yoshimichi, T.; Hiroshi, O.; Motoko, S.; Terumi, S.; Kayoko, F.; Hiroshi, I. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 350.
- [3] Dedmer, S.; Reinoud, G.; Johan, Z.; Andrew, J. H.; Herman, M. *Eur. J. Pharmacol.* **2008**, *585*, 398.
- [4] Duan, W.-G.; Yuan, S.-T.; Liao, H.; Yan, M.; Zhang, L.-Y. *Acta Pharmacol. Sin.* **2007**, *42*, 1013 (in Chinese).
(段为钢, 袁胜涛, 廖红, 严明, 张陆勇, 药学报, **2007**, *42*, 1013.)
- [5] Chen, G.-Y.; Lu, S.-M.; Zhou, Y.-G. *Chin. J. Org. Chem.* **2006**, *26*, 1548 (in Chinese).
(陈英国, 卢胜梅, 周永贵, 有机化学, **2006**, *26*, 1548.)
- [6] Frisch, K.; Landa, A.; Saaby, S.; Jørgensen, K. A. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2005**, *44*, 6058.
- [7] Harjit, S.; Sunil, K. A.; Nageshwar, M. *Synth. Commun.* **1983**, 791.
- [8] Alan, R. K.; Andrzej, R. L. *Energy Fuels* **1992**, *6*, 439.
- [9] Hayashida, M.; Honda, H.; Hamana, M. *Heterocycles* **1990**, *31*, 1325.
- [10] Daniel, B.; Richard, J. D.; Jeremy, D.; Frances, C. A. G.; Steve, L.; Stephen, R. M.; Ray, O.; Verity, S.; Joanne, W. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 562.
- [11] Zhou, L.-S.; Feng, Y.-Q.; Zhang, W.; Qu, H.-M. *Chem. Propellants Polym. Mater.* **1999**, *28* (in Chinese).
(周立山, 冯亚青, 张伟, 曲红梅, 化学推进剂与高分子材料, **1999**, *28*.)
- [12] Hiromu, K.; Masaru, O. *WO 9702260*, **1997** [*Chem. Abstr.* **1997**, *126*, 157526].
- [13] Huang, Z.-H. *CN 101092413*, **2007** [*Chem. Abstr.* **2008**, *148*, 151915].
- [14] Han, M.-L. *M.S. Thesis*, Tianjian University, Tianjin, **2009** (in Chinese).
(韩美玲, 硕士论文, 天津大学, 天津, **2009**.)

(Qin, X.; Fan, Y.)