

УДК 66.091.2

СИНТЕЗ БЕНДАМУСТИНА ГИДРОХЛОРИДА В ПРОТОЧНОМ МИКРОРЕАКТОРЕ

А. Молдавский^{1,2*}, А.М. Юраков^{1,2}, М.Б. Супургибеков¹, П.И. Елагин¹,
Б.Ю. Лалаев², И.А. Фридман²

Резюме. Исследована возможность и перспективы проведения стадии хлорирования в схеме синтеза бендамустина гидрохлорида. Показаны преимущества и перспективы ведения процесса в проточном микрореакторе. Подобраны условия ведения процесса в проточном микрореакторе, при которых реакция хлорирования идёт с меньшим содержанием побочных продуктов и более высоким выходом.

Ключевые слова: проточный микрореактор, хлорирование, бендамустина гидрохлорид.

SYNTHESIS OF BENDAMUSTINE HYDROCHLORIDE IN FLOW MICROREACTOR

A. Moldavsky^{1,2*}, A.M. Yurakov^{1,2}, M.B. Supurghibekov¹, P.I. Elagin¹, B.Yu. Lalaev², I.A. Fridman²

Abstract. The possibility and prospects of carrying out the chlorination step in the scheme for the synthesis of bendamustine hydrochloride were investigated. The advantages and prospects of the process in the flow microreactor are shown. The conditions for conducting the process in the flow microreactor under which the chlorination reaction proceeds with a lower content of by-products and a higher yield are chosen.

Keywords: flow microreactor, sulfochlorination, bendamustine hydrochloride.

1 – ЗАО «Биокад», 198515, Россия, г. Санкт-Петербург, пос. Стрельна, ул. Фронтная, д. 3

2 – ФГОУ ВО «Санкт-Петербургская химико-фармацевтическая академия» Минздрава России (ФГОУ ВО СПбХФА Минздрава России), 197376, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова, д. 14, лит. А

1 – CJSC Biocad, 3, Frontovaya str., pos. Strelina, St. Petersburg, 198515, Russia

2 – St. Petersburg Chemical-Pharmaceutical Academy of the Ministry of Healthcare of Russia, 14 A, Prof. Popova str., St. Petersburg, 197376, Russia

* адресат для переписки:

E-mail: moldavsky@biocad.ru

Тел.: 8 (812) 380 49 33, доб. 378

ВВЕДЕНИЕ

Онкологические заболевания являются одной из основных причин смертности в мире. По данным Всемирной организации здравоохранения, за 2015 год от онкологических заболеваний в мире умерло 8,8 млн человек. По прогнозам, за ближайшие 20 лет число заболевших может увеличиться на 70% [1].

В связи с такой неутешительной динамикой в фармацевтической отрасли особо остро стоит вопрос разработки доступных и эффективных подходов к своевременному производству препаратов для лечения онкологических заболеваний.

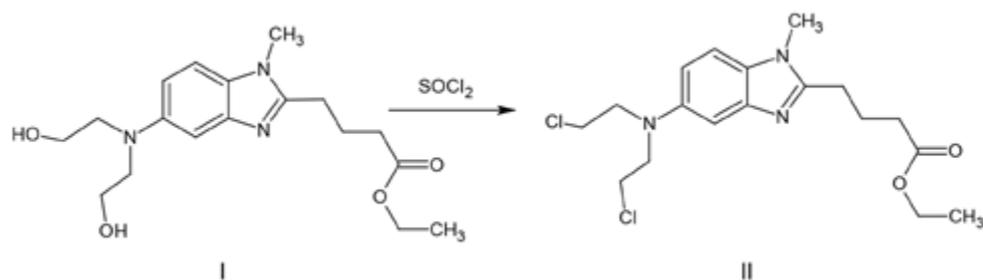
Одним из основных цитостатических противоопухолевых препаратов алкилирующего типа действия является бендамустин – производное бис(2-хлорэтил)амин. Впервые препарат был получен в Германской Демократической Республике в 1963 году. Его синтез был описан в патенте [2] В. Ожеговски и Д. Кребса, одной из ключевых стадий которого является стадия получения хлорпроизводного II (этилового эфира 4-[5-[бис(2-

хлорэтил)амино]-1-метилбензимидазол-2-ил] бутановой кислоты) из молекулы диола I (этилового эфира 4-[5-[бис(2-гидроксиэтил)амино]-1-метилбензимидазол-2-ил]бутановой кислоты) (рисунок 1).

В оригинальной статье стадию хлорирования диола авторы проводят в среде хлороформа восьмикратным избытком тионила хлорида. Реакционную массу перемешивают в течение часа при охлаждении на бане со льдом, затем выдерживают при комнатной температуре в течение трёх часов, при этом выход целевого продукта достигает 38,5%.

В последующих публикациях описывается возможность ведения данного процесса с помощью применения в качестве хлорирующих агентов хлорокси фосфора, хлористого сульфурита, хлорида фосфора (V) [3], а также тионила хлорида, но в других условиях.

Изменение и оптимизация условий ведения реакции позволили повысить выход и уменьшить расход реактивов. Однако во всех методиках избыток хлорирующих агентов превышает 2 эк-


Рисунок 1. Стадия хлорирования

вивалента диола, при этом реакцию проводят в течение достаточно длительного времени, которое может достигать 16 ч, как описано в патенте US 8987469 [6], а максимальный выход по стадии достигает не более 85%, за исключением методики, описанной в патенте US 8481751 [4].

Достаточно высокий выход даёт применение в качестве хлорирующего агента оксалилхлорида [8]. Выход достигает 93% при избытке в 1,3–1,6 эквивалентов. Реакцию ведут в диметилформамиде в течение 14 ч [4].

Использование больших избытков активных хлорирующих реагентов, длительность ведения реакции, значительное количество побочных продуктов, выделение кислых газов в результате реакции затрудняют возможность масштабирования данной стадии. Большинство авторов говорят о небольших нагрузках, не пригодных для промышленной наработки субстанции, которые ограничиваются объёмами порядка 1–3 л.

Ранее в компании «Биокад» проводились собственные исследования по оптимизации этой стадии и была отработана методика хлорирования диола в дихлорметане с добавлением в качестве катализатора 0,5 эквивалента пиридина. Реакция протекает через образование полупродукта хлорирования (II а) (рисунок 2).

В данной методике 200,0 г (0,582 моль) диола и 23,0 г (0,291 моль, 0,5 eq) пиридина растворяют в 800 мл дихлорметана. Перемешивают при нагревании до полного растворения. Раствор диола прикапывается к раствору тионилхлорида (152,4 г, 1,281 моль, 1,1 eq) в 400 мл дихлорметана, заранее охлаждённого до 0 °С. Реакцию ведут в течение 3 ч при температуре 37,5 °С.

Выход целевого продукта составляет порядка 90%. Однако он не всегда пригоден для дальнейшего использования в производстве без дополнительной

очистки. В большинстве случаев целевой продукт содержит слишком большое количество трудноотделимых примесей и отправляется на стадию перекристаллизации, в результате которой также теряется и часть полупродукта.

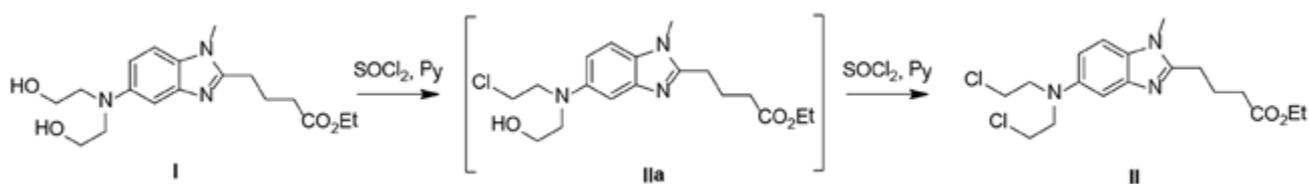
Нами впервые была проведена реакция хлорирования диола (I) в проточном микрореакторе тионилхлоридом. Основываясь на отработанной методике для ёмкостного реактора, на первом этапе основной целью было ускорение реакции, снижение количества трудноотделимых примесей и повышение выхода. Достижение поставленных целей на оборудовании данного типа может быть реализовано за счёт возможности ведения процесса в условиях, которые практически не достижимы на ёмкостном оборудовании.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В данном исследовании использовались следующие реактивы:

	Формула	CAS	Mw	Производитель
Исходный материал HO-Bend-Et	C ₁₈ H ₂₇ N ₃ O ₄	3543-74-6	343,43	Scientia Pharma
Тионилхлорид (SOCl ₂)	SOCl ₂	7719-09-7	118,97	Acros, pure 99,5%
Пиридин (Py)	C ₅ H ₅ N	110-86-1	79,10	Abcr
Триэтиламин (TEA)	C ₆ H ₁₅ N	121-44-8	101,19	
Дихлорметан (DCM)	CH ₂ Cl ₂	75-09-2		Acros

Исследования проводились на реакторной системе производства фирмы Corning. Реакционная зона включает 5 микроструктурированных пластин из кварцевого стекла, каждая объёмом 8,2–9 мл. Ей предшествует плата подготовки реактива, в которой раствор нагревается до заданной необходимой температуры. После неё следуют платы для охлаждения реакцион-


Рисунок 2. Химическая схема реакции хлорирования

ной массы. Общий объём системы составляет 126 мл. Пластины соединены последовательно. Пластины для выдержки чередуются с пластинами для перемешивания реакционной массы. Реактор снабжён двумя шестерёнчатыми насосами HNP 15588, способными выдерживать перепады давления до 60 бар, с массовым расходомером и регулятором Bronkhorst. Ротор насоса выполнен из оксида циркония, остальные детали – из сплава C22. Насосы приводятся в движение бесщёточными двигателями повышенной динамической точности.

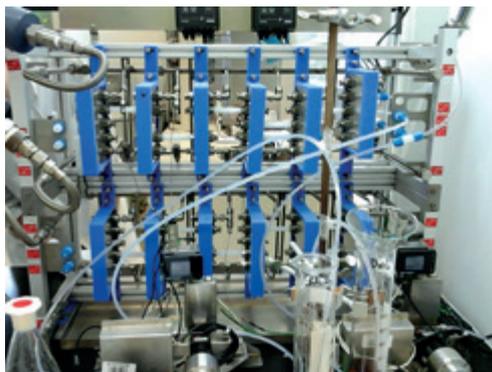


Фото 1. Проточный микрореактор. Общий вид установки



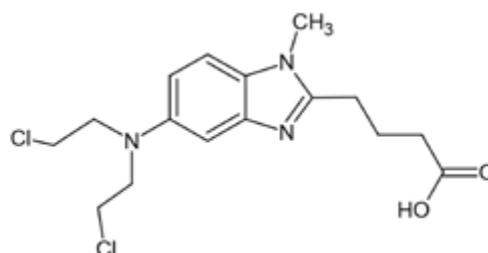
Фото 2. Дозирующие насосы

Анализ состава реакционной массы проводился методом ВЭЖХ. Также в качестве экспресс-метода была использована тонкослойная хроматография в системе этилацетат – метанол (9:1). Результаты ТСХ помогли вносить коррективы в ведение экспериментов «на месте».

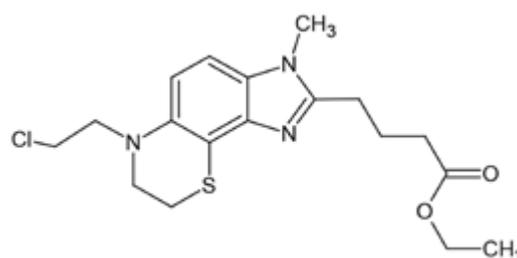
РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Основными трудноотделимыми примесями в нашем процессе являются вещества, близкие по строению к целевому продукту, которые являются продуктами гидролиза, а также циклизации:

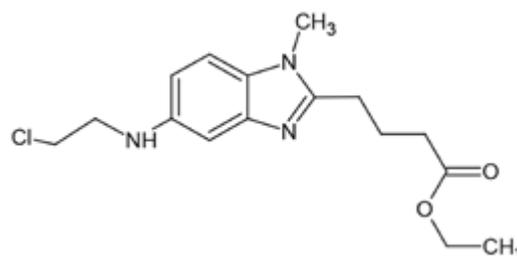
Примесь А



Примесь В



Примесь С



Содержание примеси В определяет пригодность продукта реакции хлорирования для использования его в производстве на следующих стадиях. Содержание примеси не должно превышать 0,4%. При превышении нормы необходимо проводить очистку по методике, разработанной в отделе синтеза АО «Биокад», описанной ниже. Из реакционной массы выделяют эфир: реакционную массу охлаждают до 10 °С, затем прибавляют раствор триэтиламина в гексане. При этом наблюдается выпадение осадка, реакционная масса сильно густеет. Смесь нагревают до 20 °С, фильтруют на фильтре Шота, промывают 4 раза этилацетатом. Осадок сушат на воздухе. Маточный раствор упаривают в вакууме при 45 °С.

Маслообразный остаток черного цвета растворяют в этилацетате, прибавляют силикагель 63/200 и перемешивают при комнатной температуре в атмосфере азота в течение 30 мин. Фильтруют на фильтре Шота, промывают 4 раза этилацетатом. Растворитель упаривают в вакууме при 45 °С. К остатку прибавляют гексан и перемешивают на магнитной мешалке до выпадения осадка, затем снова упаривают в вакууме при 45 °С.

К полученному сырому полупродукту в реакторе прибавляют смесь гексан – этилацетат в соотношении 3 к 2 и барботируют азотом без перемешивания в течение 30 мин, после нагревают до 65 °С до полного растворения осадка. Охлаждают до 20 °С в течение 3 ч. Осадок фильтруют на фильтре Шота, промывают смесью гексан – этилацетат в соотношении 3 к 1, сушат в вакууме до постоянной массы. Маточный раствор упаривают

Результаты процесса в емкостном реакторе представлены в таблице 1.

Таблица 1.

Состав реакционной массы. Опыты в емкостном реакторе

№	Полупродукт, %	Примесь А, %	Примесь В, %	Примесь С, %	Продукт, %
1	0,46	0	1,50	0,40	89,70
2	1,27	0	1,06	1,12	83,52

Из таблицы видно, что предел содержания примеси В превышает более чем в 2,5 раза. Также присутствует полупродукт реакции, что говорит о недостаточной глубине протекания реакции в емкостном оборудовании.

Нами было решено провести несколько серий экспериментов в проточном реакторе, которые показали бы перспективность переноса стадии хлорирования в проточный реактор. Первые две серии экспериментов были установочными. Для начала мы спрогнозировали варианты условий, в которых реакция могла бы пойти наиболее оптимально, с учётом режима движения, времени пребывания реакционной массы в реакторе, температуры и давления.

Для реакции были приготовлены растворы реактивов (таблицы 2).

Результаты экспериментов показали, что наиболее эффективными являются параметры, описываемые последней серией экспериментов (таблица 3). Это температура порядка 100–120 °С, давление в пределах 10–15 бар и скорость потока 40 мл/мин.

Эти результаты стали основой для следующей серии экспериментов, направленной на уточнение подобранных параметров реакции. Было также решено

проверить влияние избытка тионила хлорида на выход и чистоту продукта.

Таблица 3.

Результаты первых двух серий экспериментов

№	Полупродукт, %	Примесь А, %	Примесь В, %	Примесь С, %	Продукт, %	Параметры процесса			Избыток SOCl ₂ , eq
						Т, °С	Объёмный расход, мл/мин.	Р, бар	
1.1	13,27	0,23	7,78	1,02	66,83	80	30	2	1,1
1.2	19,10	1,16	0,00	2,74	61,60	80	60	10	1,1
1.3	47,17	0,00	0,00	0,00	45,09	120	60	10	1,1
1.4	39,62	0,22	1,51	0,00	48,00	120	30	11	1,1
1.5	27,21	0,34	0,00	0,00	52,93	145	30	16	1,1
2.1	21,08	0,36	1,02	0,00	53,58	80	40	3	1,1
2.2	23,74	0,74	1,11	0,00	50,7	100	80	10	1,1
2.3	14,74	0,00	0,18	0,00	79,88	120	40	10	1,1
2.4	12,79	0,00	0,31	0,00	82,81	120	40	10	1,1
2.5	14,93	0,00	0,27	0,00	80,33	120	80	13	1,1

Варьирование избытка одного реагента в проточных реакторах возможно за счёт регулирования скоростей потока. Так, например, устанавливая различные скорости на насосах, можно добиваться довольно широкого диапазона избытков реактива при использовании одних и тех же растворов с постоянными концентрациями. При этом суммарный расход на выходе из реактора оставили постоянным – 40 мл/мин. При проведении серии экспериментов в качестве экспресс-метода анализа реакционной массы использовали тонкослойную хроматографию в системе этилацетат – метанол (9:1).

В третьей серии экспериментов суммарный расход реакционной массы поддерживался постоянным, а избыток тионилхлорида обеспечивался изменением соотношения скоростей насосов, подающих 1-й и 2-й растворы.

Как видно из таблицы 5, наиболее оптимальными оказались условия, подобранные в экспериментах 3.4 и 3.5. Повышение избытка тионилхлорида смещает ход реакции в сторону побочных продуктов, а повышение температуры и давления приводит к увеличению конверсии.

Таблица 2.

Состав растворов реактивов

Опыт 1	Name	Manufacture	Vol, мл	m, г	mol	eq
Раствор 1.	Starting material HO-Bend-Et	Scientia Pharma	2500	161	0,4685	0,5
	Py	Abcr		18,53	0,2343	
Раствор 2.	SOCl ₂	Acros, pure 99,5%	1250	122,6	1,031	1,1(2,2)
Опыт 2	Name	Manufacture	Vol (DCM*), мл	m, г	mol	eq
Раствор 1.	Starting material HO-Bend-Et	Scientia Pharma	1250	131	0,3814	0,5
	Py	Abcr		15,09	0,1907	
Раствор 2.	SOCl ₂	Acros, pure 99,5%	1250	99,83	0,839	1,1(2,2)

Таблица 4.

Растворы для третьей серии экспериментов

Опыт 3	Name	Manufacture	Vol (DCM*), мл	г, г	mol	eq
Раствор 1.	Starting material HO-Bend-Et	Scientia Pharma	1250	131	0,3814	
	Py	Abcr		15,09	0,1907	0,5
Раствор 2.	SOCl ₂	Acros, pure 99,5%	1250	99,83	0,839	1,1(2,2)

Таблица 5.

Результаты уточняющего эксперимента.
Выходы по реакции

№	Полупродукт, %	Примесь А, %	Примесь В, %	Примесь С, %	Продукт, %	Параметры процесса			Избыток SOCl ₂ , eq
						Т, °С	Объёмный расход, мл/мин.	Р, бар	
3.1	7,80	0,00	0,37	0,00	88,85	100	40	10	1,1
3.2	0,94	0,00	3,51	0,00	91,42	100	40	11	1,375
3.3	0,00	0,00	7,64	0,34	84,91	100	40	11	1,65
3.4	4,93	0,00	0,00	0,00	92,99	120	40	15	1,1
3.5	0,00	0,00	1,34	0,00	92,29	120	40	15	1,375
3.6	0,00	0,00	6,44	0,00	85,48	120	40	13	1,65

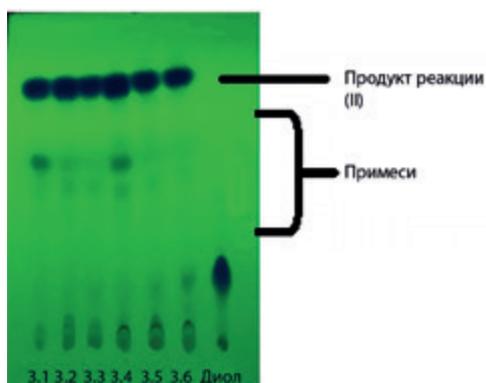


Фото 3. Результаты ТСХ в третьей серии экспериментов

Оптимальное значение объёмного расхода оказалось равным 40 мл/мин. Снижение скорости потока влечёт за собой снижение конверсии, так как падает турбулентность потока, за счёт которой происходит перемешивание реагентов. Повышение скорости потока приводит к уменьшению времени пребывания, что влечёт за собой недостаточную глубину протекания реакции. Об этом свидетельствует высокое содержание полупродукта реакции.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На данном этапе применение проточного реактора в процессе хлорирования показало целый ряд преимуществ данного типа оборудования перед классическими емкостными реакторами.

В первую очередь мы говорим об интенсификации и повышении безопасности сложного, довольно «грязно» протекающего процесса. В случае ведения процесса в наиболее оптимальных параметрах мы имеем увеличение конверсии по целевому продукту порядка 5%. При этом вполне реальными являются перспективы получения конечного продукта хлорирования с уровнем трудноотделимой примеси В ниже критического предела в 0,4% без дополнительной очистки силикагелем.

Что касается интенсификации, то уже сейчас можно говорить об увеличении производительности процесса более чем в 3 раза по сравнению с емкостными реакторами.

В дальнейшем можно говорить о повышении конверсии и чистоты конечного продукта стадии за счёт уточнения условий ведения реакции. Также на данном этапе мы видим перспективы проведения всех стадий синтеза бендамустина в одном проточном реакторе. Использование непрерывной технологии производства предполагает такую возможность. Для этого необходимо лишь в плату смешения, стоящую после основной реакционной зоны, обеспечить ввод реагентов, участвующих в реакциях на следующих стадиях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Рак. Информационный бюллетень. Февраль 2017 г. // Центр СМИ Всемирной организации здравоохранения. URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/ru/> (дата обращения 05.10.2017).
2. W. Ozegowski, D. Krebs. ω-[Bis-(β-chloroethyl)-amino-benzimidazolyl-(2)]-propion-bzw. Buttersauren als potentielle Cytostatika // J Prakt Chem. 1963. 20. P. 178–186.
3. Patent WO2013/046223 A1. An improved process for the preparation of bendamustine hydrochloride / B.B. Mishra, N. Shambhubhai Kachhadia, V.S. Tomar, S. Lahiri. – 04.04.2013.
4. Патент US 8481751 B2. 09.07.2013. Process for the production of bendamustine alkyl ester, bendamustine, and derivatives thereof / K. Groh, H. Rauter, D. Born. – 09.07.2013.
5. Patent US 20140121384 A1. Process for bendamustine hydrochloride / B.P. Reddy, K.R. Reedy, D.M. Reddy, B.V. Krishna. – 01.05.2014.
6. Patent US 8987469 B2. Process for the preparation of bendamustine / M. Frey, D.-D. Walther. – 24.03.2015.
7. Patent EP2834215 A1. Process for making bendamustine / P. Bartos, P. Benovsky, J. Barth. – 11.02.2015.
8. Патент RU 2505533 C2. Method of Obtaining Alkyl Ester Of Bendmustine, Bendamustine, And Its Derivatives / G. Kaj, R. Khol Ger, B. Dirk. – 27.01.2014.