

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.
C07D 209/20 (2006.01)



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200810144968.6

[43] 公开日 2010年2月24日

[11] 公开号 CN 101654426A

[22] 申请日 2008.8.18

[21] 申请号 200810144968.6

[71] 申请人 中国人民解放军军事医学科学院毒物
药物研究所

地址 100850 北京市海淀区太平路 27 号

[72] 发明人 刘克良 韩 寒 梁远军 许笑宇

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利
商标事务所
代理人 袁志明

权利要求书 3 页 说明书 10 页

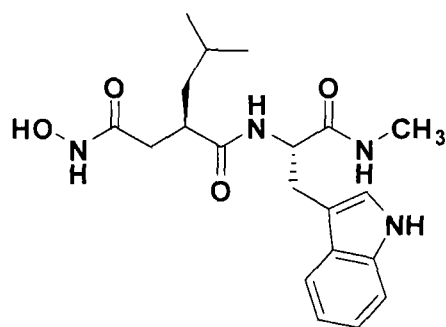
[54] 发明名称

制备伊洛马司他的方法

[57] 摘要

本发明涉及一种制备伊洛马司他的新方法。该方法包括：将色氨酸甲酯盐酸盐与甲胺反应，制备色氨酸甲胺；将色氨酸甲胺与丁二酸单叔丁酯衍生物经缩合反应，制备式(IV)中间体；将式(IV)中间体脱除叔丁酯，得到下式(V)中间体；将式(V)的中间体与游离羟胺经缩合反应，得到伊洛马司他。本发明的方法工艺简单、成本降低。

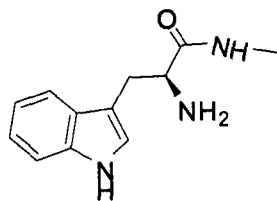
1、制备下式(I)的伊洛马司他的方法，



(I)

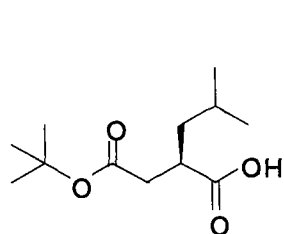
该方法包括：

(a) 将色氨酸甲酯盐酸盐与甲胺反应，制备式(II)的色氨酸甲胺；

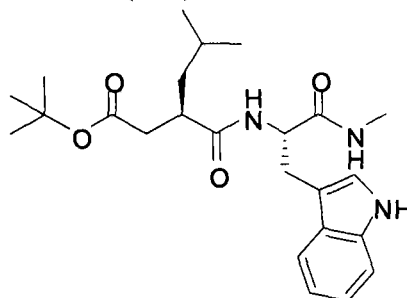


(II)

(b) 在缩合剂的存在下，将式(II)的色氨酸甲胺与下式(III)的丁二酸单叔丁酯衍生物经缩合反应，制备下式(IV)的中间体；

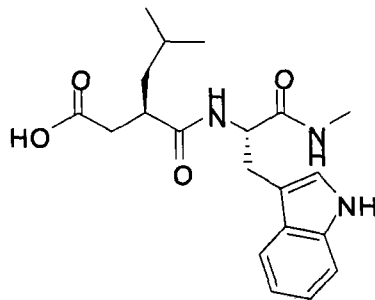


(III)



(IV)

(c) 将式(IV)的中间体脱除叔丁酯，得到下式(V)的中间体；



(V)

(d) 将式(V)的中间体与游离羟胺经缩合反应,得到式(I)的伊洛马司他; 以及, 任选地

(e) 将所得的式(I)的伊洛马司他通过重结晶方法进行精制。

2、根据权利要求 1 所述的方法, 其特征在于: 步骤(b)中使用 DMTMM 或 EDC/HOBT/DMAP 作为缩合剂。

3、根据权利要求 1 所述的方法, 其特征在于: 在步骤(c)中, 使用 $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 和 NaI, 并在乙腈中回流脱除叔丁酯。

4、根据权利要求 1 所述的方法, 其中包括在步骤(c)和(d)之间采用以下操作对式(V)的中间体进行纯化: 将式(V)的中间体溶解于氢氧化钾水溶液中, 用有机溶剂洗涤水相后, 用稀盐酸调水相 pH 值, 再用有机溶剂萃取水相, 从有机相分离得到式(V)的中间体。

5、根据权利要求 1 所述的方法, 其特征在于: 在步骤(d)中, 使用混合酸酐法活化式(V)中间体的羧基, 再与游离羟胺的甲醇溶液反应, 得到式(I)的伊洛马司他。

6、根据权利要求 5 所述的方法, 所述混合酸酐法所用的试剂选自氯甲酸异丁酯和氯甲酸乙酯; 所述游离羟胺的甲醇溶液是由盐酸羟胺的甲醇溶液与氢氧化钾的甲醇溶液在低温下混合制得的。

7、根据权利要求 6 所述的方法, 其特征在于: 所得的游离羟胺的甲醇溶液未经滤除其中的氯化钾沉淀而直接用于反应。

8、根据权利要求 5 所述的方法, 在反应结束后, 向反应物中加入乙酸乙酯和水, 使式(I)的伊洛马司他在乙酸乙酯中缓慢析出。

9、根据权利要求 1 所述的方法，其还包括使用如下步骤对步骤(d)所得式(I)的伊洛马司他进行纯化：将式(I)的伊洛马司他溶解于氢氧化钾水溶液中，用乙酸乙酯洗涤水相，然后用稀盐酸调水相，析出沉淀，过滤沉淀物，用水洗涤，干燥。

10、根据权利要求 1 所述的方法，所述重结晶是依次使用甲醇/水混合溶剂、乙酸/乙酸乙酯混合溶剂进行的。

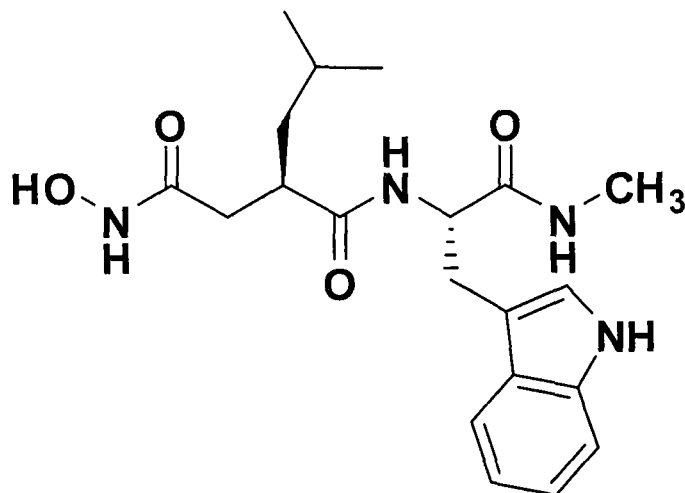
制备伊洛马司他的方法

技术领域

本发明涉及一种制备伊洛马司他的新方法。

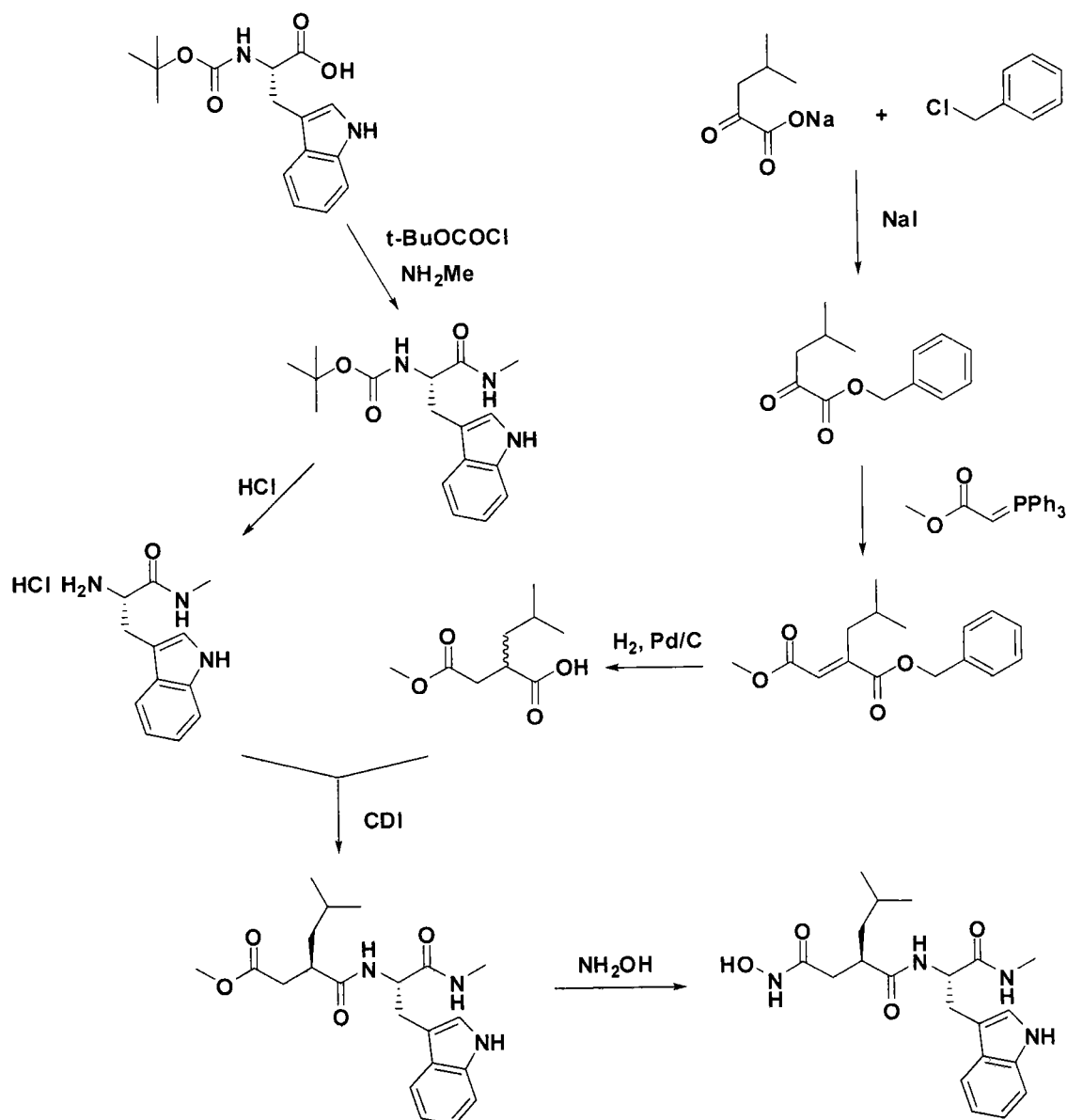
背景技术

伊洛马司他(英文名: Ilomastat, 化学名: N-[(2R)-2-(羟胺羰甲基)-4-甲基戊羰基]-L-色氨酸甲胺), 是一种广谱、强效的基质金属蛋白酶抑制剂, 其对基质金属蛋白酶家族的多个成员均有很强的抑制作用。伊洛马司他的化学结构式如下:



20世纪90年代,美国 Glycomed 公司首先以治疗角膜溃疡为适应症对其进行研发, 临床试验表明, 伊洛马司他对碱致角膜损伤有很好的治疗作用。近年来, 又发现伊洛马司它具有减缓和改善面部皱纹以及防治近视眼的作用。

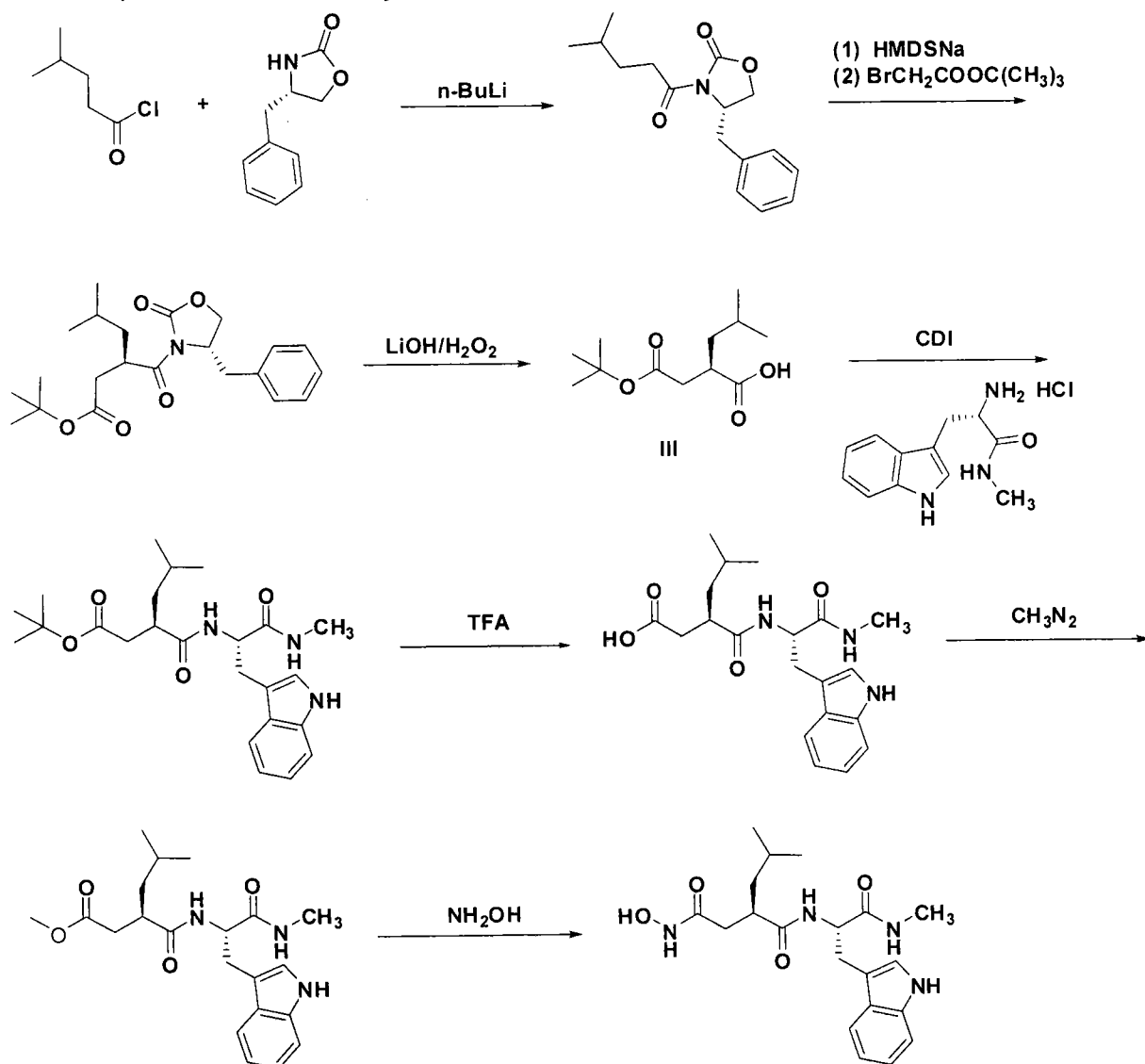
WO 9209563 公开了一种如以下方案所示的制备伊洛马司他的方法:



WO 9209563 中公开的该方法首先制得中间体色氨酸甲胺盐酸盐，此化合物极易吸潮，保存条件苛刻，不利于下步反应时的投料称重，另外，此方法制得的关键中间体丁二酸单甲酯衍生物为外消旋体，与色氨酸甲胺盐酸盐缩合后得到是一对非对映异构体的混合物，必须经过柱层析分离才能得到所需构型的中间体，不但操作繁琐，而且浪费原料(其中一个非对映异构体不可利用)。该方法使用乙酸乙酯对伊洛马司他进行重结晶，实验发现，伊洛马司他即使在热乙酸乙酯中的溶解度也很小，乙酸乙酯不适合作为重结晶溶剂。

另有文献(Levy DE, Lapierre FL, Liang WS 等人, *J. Med. Chem.*, 1998, 41(2): 199-223)公开了一种利用不对称反应合成伊洛马司他及其

类似物的方法，该方法参见以下方案：



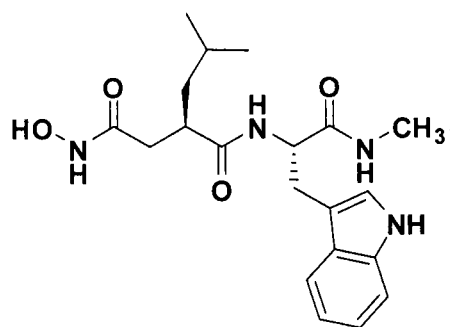
在上述 Levy DE 等公开的方法中，首先利用手性助剂立体选择性地获得丁二酸单叔丁酯衍生物，然后应用三氟乙酸脱除叔丁酯保护，再甲酯化，最后羟胺解得到伊洛马司他。实验发现：在利用三氟乙酸脱除叔丁酯时，可能是由于结构中含有吲哚基团，致使所得产物颜色较深，并且在后处理过程中，需要反复加溶剂蒸馏才能除净三氟乙酸，从而得到固态中间体，这样的操作非常繁琐。

因此，需要提供一种改进工艺以适合放大规模制备伊洛马司他的新方法。

发明内容

本发明的目的是提供一种改进并简化工艺、降低成本并且适合放大规模的制备伊洛马司他的新方法。

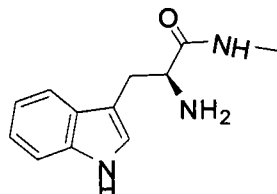
概括地说, 本发明提供了一种制备下式(I)的伊洛马司他的方法,



(I)

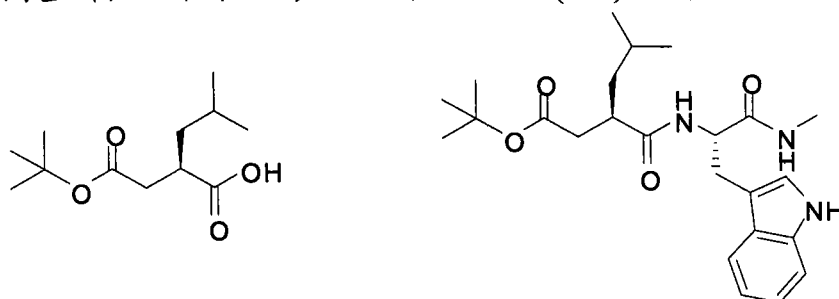
该方法包括:

(a) 将色氨酸甲酯盐酸盐与甲胺反应, 制备式(II)的色氨酰甲胺;



(II)

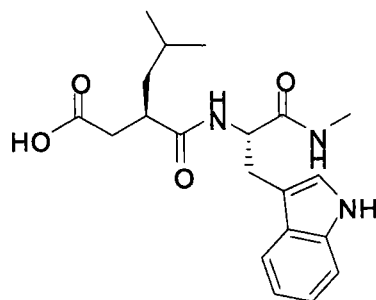
(b) 在缩合剂的存在下, 将式(II)的色氨酰甲胺与下式(III)的丁二酸单叔丁酯衍生物经缩合反应, 制备下式(IV)的中间体;



(III)

(IV)

(c) 将式(IV)的中间体脱除叔丁酯, 得到下式(V)的中间体;

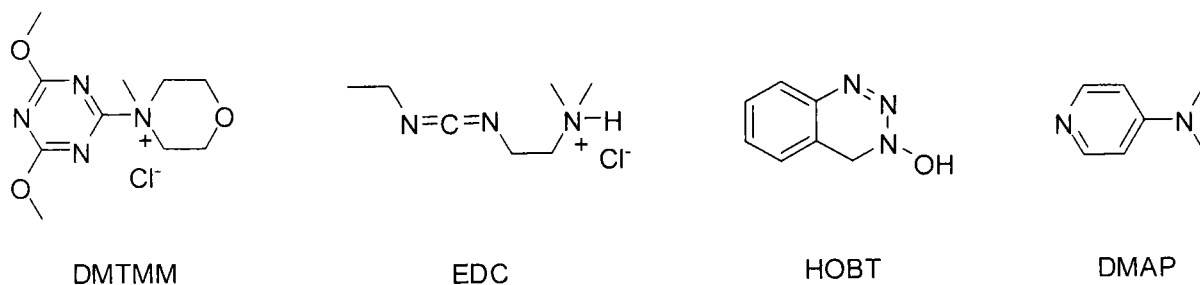


(V)

(d) 将式(V)的中间体与游离羟胺经缩合反应, 得到式(I)的伊洛马司他;
以及, 任选的

(e) 将所得的式(I)的伊洛马司他通过重结晶方法进行精制。

进一步地, 步骤(b)中使用 DMTMM 或 EDC/HOBT/DMAP 作为缩合剂。所得中间体(IV)的粗品不经纯化可直接用于下一反应步骤。其中四种试剂 DMTMM、EDC、HOBT 和 DMAP 可以从商业途径获得, 或者本领域技术人员可根据现有技术制得。四种试剂所对应的化学结构如下:



进一步地, 在步骤(c)中, 使用 $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 和 NaI , 并在乙腈中回流脱除叔丁酯。

进一步地, 在本发明的方法中, 其中包括在步骤(c)和(d)之间采用以下操作对式(V)的中间体进行纯化: 将式(V)的中间体溶解于氢氧化钾水溶液中, 用有机溶剂洗涤水相后, 用稀盐酸调水相 pH 值(优选地调节 pH 值至 3), 再用有机溶剂萃取水相, 从有机相分离得到式(V)的中间体。该式(V)的中间体可直接用于下一反应步骤

进一步地, 在步骤(d)中, 使用混合酸酐法活化式(V)中间体的羧基, 再与游离羟胺的甲醇溶液反应, 得到式(I)的伊洛马司他。

进一步地, 在本发明的方法中, 所述混合酸酐法所用的试剂选自氯甲酸异丁酯和氯甲酸乙酯; 所述游离羟胺的甲醇溶液是由盐酸羟胺的甲醇溶液与氢氧化钾的甲醇溶液在低温下混合制得的。

进一步地, 在本发明的方法中, 所得的游离羟胺的甲醇溶液未经滤除其中的氯化钾沉淀而直接用于反应。

进一步地, 在本发明的方法中, 在反应结束后, 向反应物中加入乙酸乙酯和水, 使式(I)的伊洛马司他在乙酸乙酯中缓慢析出。

进一步地, 在本发明的方法中, 其还包括使用如下步骤对步骤(d)所得式(I)的伊洛马司他进行纯化: 将式(I)的伊洛马司他溶解于氢氧化钾水溶液中, 用乙酸乙酯洗涤水相, 然后用稀盐酸调水相(优选地调节

pH 值至 3)，析出沉淀，过滤沉淀物，用水洗涤，干燥。

进一步地，在本发明的方法中，所述重结晶是依次使用甲醇/水混合溶剂、乙酸/乙酸乙酯混合溶剂进行的。

具体地说，本发明是通过以下方式实现的：利用不对称反应得到丁二酸单叔丁酯衍生物(III)，以此为原料进行伊洛马司他的合成。以色氨酸甲酯盐酸盐为原料，与甲胺胺解得到游离的中间体色氨酸甲胺(II)，该中间体(II)与原工艺中的色氨酸甲胺盐酸盐相比，具有不易潮解，方便保存和使用等的优点，并且省略了在缩合反应加入碱以中和盐酸盐的操作。

以中间体(II)和(III)为原料，采用 DMTMM 为缩合剂进行中间体(IV)的制备，该缩合剂成本低廉，易于除去，并且可在甲醇等质子性溶剂中使用，有利于增加中间体(II)的溶解度，提高缩合效率。得到的中间体(IV)可不经任何纯化直接用于下一反应步骤，简化了操作。

制备中间体(V)时，选用 $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}/\text{NaI}$ 作为叔丁酯的脱除试剂，该试剂条件温和，所得产物易于固化、颜色淡、纯度好，优于原工艺中使用的三氟乙酸。将中间体(V)溶解于等当量的氢氧化钾水溶液中，以有机溶剂如乙醚、氯仿、乙酸乙酯或苯等充分洗涤水相，稀盐酸调水相 $\text{pH}=3$ ，再以有机溶剂萃取水相，可进一步纯化产品，由此得到的中间体(V)可直接用于下一反应步骤。

以中间体(V)和游离羟胺的甲醇溶液为原料，采用混合酸酐法一步制得伊洛马司他粗品，纯度可以达到 94% 以上。游离羟胺的甲醇溶液由盐酸羟胺的甲醇溶液与氢氧化钾的甲醇溶液低温混合制得，无需过滤除去其中的氯化钾沉淀，可直接用于反应，简化了操作。可采用如下操作纯化目标物：将伊洛马司他溶于等当量的氢氧化钾水溶液，有机溶剂充分洗涤水相后以稀盐酸调水相 $\text{pH}=3$ ，析出沉淀，过滤，水洗压干。随后，可采用多次重结晶的方法对产品进行精制。

下面更详细地说明实施本发明的方法：

色氨酸甲酯盐酸盐加入 3~10 倍量的甲胺水溶液或醇溶液，在 0°C ~ 40°C 下密闭反应 5~24 小时，较好的是加入 5 倍量的甲胺水溶液，

在 25℃ 下密闭反应 12 小时，然后以二氯甲烷萃取，较好的是采用连续萃取方式，持续 5~6 小时，蒸发除去二氯甲烷，得到色氨酸甲胺中间体(II)。

中间体(II)、(III)与缩合剂 DMTMM 采用投料比 1: 1: 1.1~2 的比例，在甲醇中在 0℃~40℃ 下反应 2~18 小时，得到中间体(IV)，此中间体不必经纯化，可直接用于下一反应步骤。较好的缩合条件是投料比 1: 1: 1.2，甲醇加入量为 10mL/g(II)，在 25℃ 下反应约 12 小时。

将中间体(IV)加入到 $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 和 NaI 在 CH_3CN 中的混合物中，回流脱除叔丁酯，得到中间体(V)，较好的反应时间为 15~30 分钟。将所得(V)的粗品溶解于等当量的氢氧化钾水溶液中，以乙醚充分洗涤水相，稀盐酸调水相 $\text{pH}=3$ ，再以乙酸乙酯萃取水相，由此得到的中间体(V)可直接用于下一反应步骤。

将中间体(V)溶于乙醚或四氢呋喃，使用氯甲酸异丁酯或氯甲酸乙酯活化羧基，反应温度为 0℃ 至 -20℃，反应时间为 2~30 分钟。然后向该反应中加入游离羟胺的甲醇溶液，继续反应 1 小时。较好的反应条件是以四氢呋喃为溶剂，选用氯甲酸异丁酯在 -15℃ 下活化羧基 3~5 分钟。反应完毕后，加入水和乙酸乙酯，充分混合，分离有机层，静置，析出终产物伊洛马司他的粗品。将该粗品溶解于等当量的氢氧化钾水溶液中，用乙酸乙酯充分洗涤水相后，用稀盐酸调水相 $\text{pH}=3$ ，析出沉淀。滤出沉淀，用水洗涤，压干，再用甲醇/水=1: 1 以及乙酸: 乙酸乙酯=1: 1 混合溶剂依次对该产物进行重结晶，可以获得纯度为 98% 以上的终产物伊洛马司他。

与现有技术相比，本发明制备伊洛马司他的方法包括具有明显的优点，例如：以色氨酸甲酯盐酸盐的甲胺解直接制得色氨酸甲胺，该中间体化合物不易潮解，容易保存，便于使用；采用 DMTMM 为缩合剂制备中间体(IV)，缩合效率高，所得产物不经纯化可直接用于下一反应步骤；利用 $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}/\text{NaI}/\text{CH}_3\text{CN}$ 混合体系脱除叔丁酯制备中间体(V)，并采用碱溶解—有机溶剂洗涤—酸化—有机溶剂提取的方法对中间体(V)纯化，所得产品直接用于下一反应步骤；采用混合酸酐

法,以游离羟胺的甲醇溶液为氨解剂直接由中间体(V)制得终产物伊洛马司他,所用的羟胺甲醇溶液不必过滤除氯化钾。采用碱溶—有机溶剂洗涤—酸沉淀的方法对伊洛马司他纯化,同时采用多种溶剂体系对伊洛马司他进行重结晶精制。本发明的上述优点为伊洛马司他的大规模合成提供了新的有效途径。

具体实施方式

下面通过具体的制备实施例进一步说明本发明,但是,应当理解为,这些实施例仅仅是用于更详细具体地说明之用,而不应理解为用于以任何形式限制本发明。在本发明说明书中,如未特别说明,所用的试剂、原料、中间体、溶剂等均可以从商业途径获得或通过本领域技术人员已知的方法制备得到。

1、L-色氨酸甲胺(II)的制备

将 L-色氨酸甲酯盐酸盐(144.74g, 0.57mol)与甲胺水溶液(25~30%)430mL混合,在室温下密封搅拌7小时,使用二氯甲烷进行连续萃取5小时,分离,将获得的有机相用无水硫酸镁干燥,减压蒸除溶剂,得到淡黄色固体,在真下用 P₂O₅干燥后,得到 117.07g 的标题化合物,收率: 94.82%。

TLC 分析: R_f=0.32(氯仿: 甲醇: 氨水=10: 1: 0.5)。

2、4-叔丁氧基-2R-异丁基丁二酰-L-色氨酸甲胺(IV)的制备

将 2R-异丁基丁-1,4-二酸-4-叔丁酯(III)(64.27g, 0.28mol)溶于 600mL 无水甲醇中,再加入中间体(II)(60.82g, 0.28mol)。在室温下搅拌 10 分钟,然后加入 DMTMM(92.90g, 0.34mol),在室温下反应 12 小时,然后减压蒸除甲醇,加入乙酸乙酯,将有机相依次用 H₂O、稀 HCl、饱和 NaCl 溶液、饱和 NaHCO₃ 溶液、H₂O、饱和 NaCl 溶液洗涤,然后用无水 MgSO₄干燥,减压蒸除溶剂,得到黄色泡状固体,在真空下用 P₂O₅干燥后,得到 115.68g 标题化合物,其未经纯化即直接

用于下一反应步骤。

TLC 分析: $R_f=0.58$ [石油醚(60-90°C): 乙酸乙酯=1: 1]。

3、4-羟基-2R-异丁基丁二酰-L-色氨酸甲胺(V)的制备

将中间体(IV)(115.68g, 以 0.27mol 计)溶于 1300mL 乙腈中, 加入 $CeCl_3 \cdot 7H_2O$ (150.48g, 0.40mol)和无水 NaI (52.47g, 0.35mol), 将反应物回流, 用 TLC 监测反应, 约 15 分钟后反应完毕, 减压蒸馏, 除去乙腈, 加入乙酸乙酯和稀盐酸, 萃取, 分离, 得到有机相。然后将该有机相依次用 H_2O 、饱和 NaCl 溶液洗涤, 减压蒸馏, 除去乙酸乙酯。然后向残余物中加入 0.6M 的 NaOH 水溶液 500mL(0.3mol), 震荡, 直至澄清。将碱水层用乙醚($\times 3$)洗涤, 再在冰浴冷却下用稀盐酸调水相 pH=3-4, 用乙酸乙酯($\times 3$)萃取, 合并有机相。将合并的有机相用无水 $MgSO_4$ 干燥, 减压蒸馏, 除去溶剂, 得到金黄色泡状固体, 在真空下用 P_2O_5 干燥后, 得到 109.3g 的标题化合物, 其未经纯化即直接用于下一反应步骤。

TLC 分析: $R_f=0.15$ ($CHCl_3$: CH_3OH : $CH_3COOH=10$: 1: 0.5)。

4、N-[(2R)-2-(羟胺羧甲基)-4-甲基戊羧基]-L-色氨酸甲胺(伊洛马司他, I)的制备

(A) 在冰浴冷却下, 将 $NH_2OH \cdot HCl$ (26.9g, 0.40mol)在甲醇(270.0 mL)中的溶液与 KOH(22.6g, 0.40mol)在甲醇(107.6mL)中的溶液搅拌混合 10 分钟, 待用。

(B) 将步骤 3 所得的中间体(V) (109.3g, 以 0.27mol 计)溶于 800mL 无水四氢呋喃中, 冷却至 $-15^\circ C$, 搅拌下加入 N-甲基吗啉(NMM, 39.0mL, 0.35mol), 再缓慢滴加氯甲酸异丁酯(42.1mL, 0.32mol), 使温度不超过 $-10^\circ C$ 。添加完毕后, 维持在此低温下反应 5 分钟。向上述反应中加入步骤(A)中新鲜制备的 NH_2OH /甲醇溶液, 在冰浴中反应 30 分钟, 再在室温下反应 30 分钟。减压蒸馏, 除去溶剂, 再加入水和乙酸乙酯, 迅速震荡萃取, 相分离。将有机相在冰浴中冷却, 缓慢析出

固体，充分放置，过滤，收集固体，用水洗涤两次，再用乙醚洗涤一次，在真空下用 P_2O_5 干燥，得到 54.3g 粗品。另外，以相同操作从以上分离的水相中再得到 3.4g 粗品。合并两份粗品，共计 57.7g。将该粗品加入到等当量的氢氧化钾水溶液中，使其溶解，将碱水层用乙酸乙酯洗涤三次，再用稀盐酸调水层 pH=3，析出大量白色固体。将该固体过滤，用水洗涤，压干，再用甲醇/水(1: 1)重结晶，得无色短针状结晶 48.4g。然后用乙酸: 乙酸乙酯(1: 1)对该短针状结晶进行二次重结晶，得白色固体 24g 的标题化合物。

m.p. 190-191°C(分解)。

TLC 分析: $R_f=0.43$ ($CHCl_3$: $CH_3OH=10: 1$)。

比旋度 $[\alpha]_D=13.5^\circ$ ($c=1$, 甲醇)。

纯度 $\geq 98\%$ (HPLC 法)。

1H -NMR(DMSO- d_6) δ : 10.79(s, 1H), 10.42(s, 1H), 8.78(s, 1H), 8.01-7.99(d, 1H), 7.87-7.86(q, 1H), 7.56-7.54(d, 1H), 7.31-7.29(d, 1H), 7.11-6.94(m, 3H), 3.13-2.93(m, 2H), 2.66-2.63(m, 1H), 2.55-2.50(m, 3H), 2.09-1.90(m, 2H), 1.34-1.28(m, 2H), 0.99-0.96(m, 1H), 0.79-0.72(dd, 6H)。