

## (12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织  
国际局

(43) 国际公布日  
2017年2月23日 (23.02.2017)



(10) 国际公布号  
**WO 2017/028751 A1**

- (51) 国际专利分类号:  
C07F 5/02 (2006.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2016/094881
- (22) 国际申请日: 2016年8月12日 (12.08.2016)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (30) 优先权:  
201510498779.9 2015年8月14日 (14.08.2015) CN
- (71) 申请人: 南京中硼联康医疗科技有限公司 (NEUBORON MEDTECH LTD.) [CN/CN]; 中国江苏省南京江宁区龙眠大道568号6栋3楼刘伟伟, Jiangsu 211112 (CN)。
- (72) 发明人: 李世红 (LI, Shihong); 中国江苏省南京江宁区龙眠大道568号6栋3楼, Jiangsu 211112 (CN)。 何静 (HE, Jing); 中国江苏省南京江宁区龙眠大道568号6栋3楼, Jiangsu 211112 (CN)。 刘渊豪 (LIU, Yuanhao); 中国江苏省南京江宁区龙眠大道568号6栋3楼, Jiangsu 211112 (CN)。 王正 (WANG, Zheng); 中国江苏省南京江宁区龙眠大道568号6栋3楼, Jiangsu 211112 (CN)。

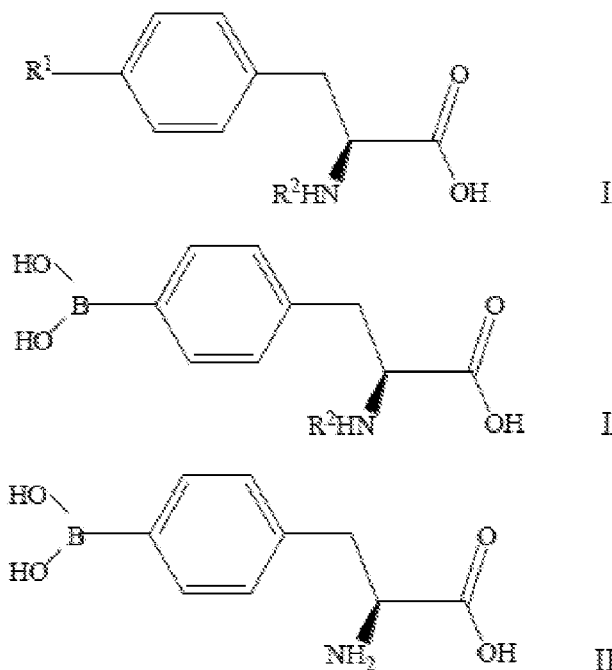
- (81) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。
- (84) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

### 本国际公布:

- 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

(54) Title: METHOD FOR PREPARING L-BPA

(54) 发明名称: L-BPA 的制备方法



(57) Abstract: Provided is a method for preparing L-BPA, which comprises the following steps: reacting (S)-4-halophenylalanine having a protected amine terminal, a boronizing agent, a Grignard reagent and bis(2-methylaminoethyl)ether to obtain a reaction mixture, wherein the reaction mixture comprises (S)-4-borono-L-phenylalanine having a protected amine terminal, the (S)-4-halophenylalanine having a protected amine terminal has a structure as shown by the following formula (I), the (S)-4-borono-L-phenylalanine having a protected amine terminal has a structure as shown by the following formula (II), and in formula I and formula II, R<sup>2</sup> is a protecting group; separating and obtaining the (S)-4-borono-L-phenylalanine having a protected amine terminal from the reaction mixture; and removing the protecting group of the (S)-4-borono-L-phenylalanine having a protected amine terminal so as to obtain the L-BPA, wherein the L-BPA has a structure as shown by the above formula (III).

(57) 摘要: 一种 L-BPA 的制备方法, 其包括如下步骤: 使胺端经保护的 (S)-4-卤基苯丙氨酸、硼化剂、格氏试剂及双(2-甲基氨基乙基)醚反应以获得反应混合物, 其中, 该反应混合物包含胺端经保护的 (S)-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸, 该胺端经保护的 (S)-4-卤基苯丙氨酸具有下列式 (I) 所示的结构, 该胺端经保护的 (S)-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸具有

下列式 (II) 所示的结构, 且在式 I 及式 II 中, R<sup>2</sup> 为保护基; 自该反应混合物中分离得到该胺端经保护的 (S)-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸; 去保护该胺端经保护的 (S)-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸的保护基以制得 L-BPA, 该 L-BPA 具有上列式 (III) 所示的结构。

## L-BPA 的制备方法

### 技术领域

本发明涉及一种用于硼中子捕获治疗的含硼药物的制备方法，尤其涉及一种 L-BPA 的制备方法。

### 背景技术

随着原子科学的发展，例如钴六十、直线加速器、电子射束等放射线治疗已成为癌症治疗的主要手段之一。然而传统光子或电子治疗受到放射线本身物理条件的限制，在杀死肿瘤细胞的同时，也会对射束途径上大量的正常组织造成伤害；另外由于肿瘤细胞对放射线敏感程度的不同，传统放射治疗对于较具抗辐射性的恶性肿瘤（如：多发性胶质母细胞瘤（glioblastoma multiforme）、黑色素细胞瘤（melanoma））的治疗成效往往不佳。

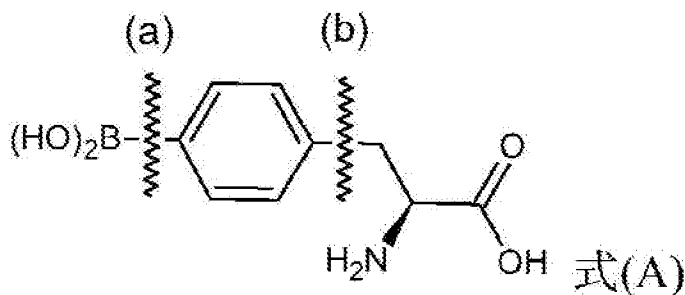
为了减少肿瘤周边正常组织的辐射伤害，化学治疗（chemotherapy）中的标靶治疗概念便被应用于放射线治疗中；而针对高抗辐射性的肿瘤细胞，目前也积极发展具有高相对生物效应（relative biological effectiveness, RBE）的辐射源，如质子治疗、重粒子治疗、中子捕获治疗等。其中，中子捕获治疗便是结合上述两种概念，如硼中子捕获治疗，借由含硼药物在肿瘤细胞的特异性集聚，配合精准的中子射束调控，提供比传统放射线更好的癌症治疗选择。

硼中子捕获治疗（Boron Neutron Capture Therapy, BNCT）是利用含硼（ $^{10}\text{B}$ ）药物对热中子具有高捕获截面的特性，借由  $^{10}\text{B}(\text{n}, \alpha)^7\text{Li}$  中子捕获及核分裂反应产生  $^4\text{He}$  和  $^7\text{Li}$  两个重荷电粒子。两荷电粒子的平均能量约为 2.33 MeV，具有高线性转移 (Linear Energy Transfer, LET)、短射程特征， $\alpha$  粒子的线性能量转移与射程分别为 150 keV/ $\mu\text{m}$ 、8  $\mu\text{m}$ ，而  $^7\text{Li}$  重荷粒子则为 175 keV/ $\mu\text{m}$ 、5  $\mu\text{m}$ ，两粒子的总射程约相当于一个细胞大小，因此对于生物体造成的辐射伤害能局限在细胞层级，当含硼药物选择性地聚集在肿瘤细胞中，搭配适当的中子射源，便能在不对正常组织造成太大伤害的前提下，达到局部杀死肿瘤细胞的目的。

因硼中子捕获治疗的成效取决于肿瘤细胞位置含硼药物浓度和热中子数量，故又被称为二元放射线癌症治疗（binary cancer therapy）；由此可知，除了中子源的开发，含硼药物的开发在硼中子捕获治疗的研究中占有重要角色。

4- $(^{10}\text{B})$ 二羟基硼基-L-苯丙氨酸（4- $(^{10}\text{B})$ borono-L-phenylalanine, L- $^{10}\text{BPA}$ ）为目前已能利用硼中子捕获治疗（boron neutron capture therapy, BNCT）治疗癌症的重要含硼药物。

因此，目前已发展各种 L-BPA 的合成方法。如下列式(A)所示，现有技术的 L-BPA 合成方法包括形成键结(a)与键结(b)二种方式：



其中,利用形成键结(a)合成L-BPA的方法为设法将含有二羟基硼基(dihydroxyboryl group 或borono group)的取代基引入苯丙氨酸的骨架中,由此在酰胺取代基的对位形成碳-硼键结而制得L-BPA。

J.Org.Chem.1998,63,8019揭示一种利用钯催化胺端经保护的(S)-4-碘基苯丙氨酸与二硼化合物(diboron compound)进行交叉偶合反应的方法,所述胺端经保护的(S)-4-碘基苯丙氨酸(例如(S)-N-叔丁氧羰基-4-碘基苯丙氨酸((S)-N-Boc-4-iodophenylalanine))与二硼化合物(例如双戊酰二硼(bis(pinacolato)diboron))经过交叉偶合反应后制得如(S)-N-叔丁氧羰基-4-戊酰硼基苯丙氨酸((S)-N-Boc-4-pinacolatoborono phenylalanine)的胺端经保护的(S)-4-硼醇酯基苯丙氨酸;之后,移除胺端上的保护基及硼醇端上的取代基,完成L-BPA的制备。

然而,由于所选用的富集<sup>10</sup>B的双戊酰二硼并非商业上可取得的化合物,故此方法需另外经过制备硼化剂的前处理,致使制程复杂性较高且所耗费的时间较长,而无法制备高产率的L-BPA。此外,胺端经保护的(S)-4-碘基苯丙氨酸的羧酸基团需通过取代基保护形成苄酯基(benzyl ester group)才能提升其制程产率至88%;然而,以此方式制备L-BPA还需额外的去保护羧酸基团的步骤,无形中更提高了L-BPA的制程复杂性。

据此,该篇文献所提供的方法不仅需涉及制备硼化剂的前处理,还需耗费较多的制程时间与合成步骤来完成保护与去保护羧酸基团等步骤,并不利于作为产业上合成L-BPA的主要方法。

另一方面,利用形成键结(b)合成L-BPA的方法为使氨基酸与含硼苄基片段(boron-containing benzyl fragment)或含硼苯甲醛片段(boron-containing benzaldehyde fragment)进行偶合反应,以合成L-BPA。Biosci.Biotech.Biochem.1996,60,683揭示一种L-BPA的对映选择性合成方法(enantioselective synthesis),其使硼酸的环醚类化合物(cyclic ethers of boronic acid)与L型缬氨酸的手性衍生物(chiral derivatives from L-valine)进行偶合反应,以制得L-BPA。然而,此方法需先由4-二羟基硼基苄溴化物(4-boronobenzylbromide)制成硼酸的环醚类化合物,再与L型缬氨酸的手性衍生物进行偶合反应,且在后段合成步骤中易使氨基酸发生不希望的消旋作用,致使该方法需再进行易降低产率的酶拆分步骤(enzymatic resolution step)才能获得具备一定光学纯度的L-BPA。

据此，该篇文献所提供的方法仍包含制备硼化剂的前处理与酶拆分的后处理等步骤，致使该方法所涉及的制程较为复杂且需耗费的时间较长，而无法制得高产率的L-BPA。

此外，目前已知含 $^{10}\text{B}$ 的L- $^{10}\text{BPA}$ （4- $(^{10}\text{B})$ borono-L-phenylalanine, 4- $(^{10}\text{B})$ 二羟基硼基-L-苯丙氨酸）为累积于肿瘤细胞中的关键因子，后续再利用热中子束照射累积于肿瘤细胞内的硼元素，以通过捕捉反应所产生的高能粒子杀死肿瘤细胞，从而达到治疗癌症的目的。因此， $^{10}\text{B}$ 能促使L- $^{10}\text{BPA}$ 通过硼中子捕获治疗成为治疗癌症的方法。

然而，自然界中存在的硼元素包含约19.9%的 $^{10}\text{B}$ 以及约80.1%的 $^{11}\text{B}$ 。因此，许多研究者仍积极发展能适用于合成L-BPA的方法，尤其是适用于合成富含 $^{10}\text{B}$ 的L-BPA的方法。

J.Org.Chem.1998,63,8019另外提供了一种合成 $^{10}\text{B}$ 化剂的方法，由于该方法涉及多重步骤，因此易于在制程中大幅降低该富含 $^{10}\text{B}$ 的材料的 $^{10}\text{B}$ 含量。因此，该篇文献所提供的方法并不适用于合成富含 $^{10}\text{B}$ 的L-BPA。

又如Biosci.Biotech.Biochem.1996,60,683所述，在未进行酶拆分步骤之前，该篇文献所提供的方法尚无法获得具备一定光学纯度的L-BPA；且该方法制备 $^{10}\text{B}$ 化剂时也涉及多重步骤，致使富 $^{10}\text{B}$ 材料在制程中发生转变。因此，该篇文献所提供的方法也不适用于合成富含 $^{10}\text{B}$ 的L-BPA。

再者，Bull.Chem.Soc.Jpn.2000,73,231揭示了一种利用钨催化4-碘基-L-苯丙氨酸与4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼戊环（俗名：频那醇硼烷（pinacolborane））进行偶合反应的方法。然而，该篇文献并未提及如何使用该方法制备富含 $^{10}\text{B}$ 的L-BPA，且4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧 $^{10}\text{B}$ 戊环并非商业上可取得的化合物，故该篇文献所提供的方法也不适用于合成富含 $^{10}\text{B}$ 的L-BPA。

此外，Synlett.1996,167揭示一种使碘基硼酸苯酯（iodophenylborate）与L型丝氨酸的锌衍生物（L-serine zinc derivatives）进行偶合反应的方法，该方法需先涉及制备碘基硼酸苯酯与制备L型丝氨酸的锌衍生物等步骤，致使所制得的L-BPA的产率较低。此外，由于此方法所选用的富含 $^{10}\text{B}$ 的三碘化 $^{10}\text{B}$ 及1,3-二苯基丙烷-1,3-二醇并非商业上可取得的化合物，故该篇文献所提供的方法仍不适用于合成富含 $^{10}\text{B}$ 的L-BPA。

## 发明内容

有鉴于现有技术面临制程时间过长、制程步骤繁琐及需预先制备硼化剂等缺点，本发明的一个方面在于提供一种不需经过繁复的纯化步骤且对环境友善的L-BPA

（4-borono-L-phenylalanine, 4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸）的制备方法，由此有效节省时间与成本，并且提高制程效率。据此，经由本发明的制备方法所制得的L-BPA还具备高化学纯度与高光学纯度等优点。

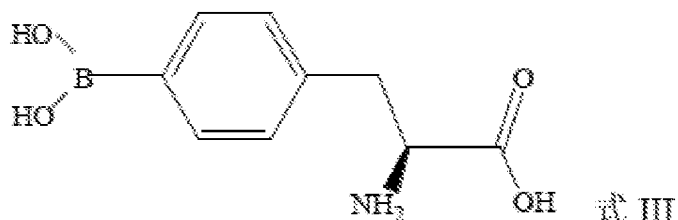
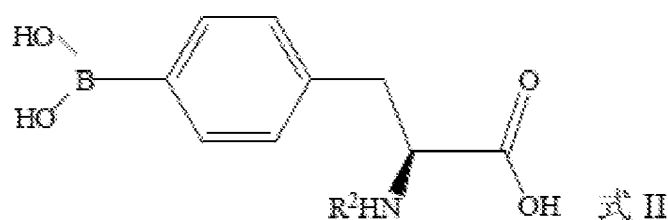
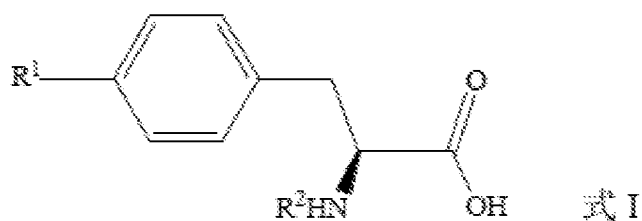
本发明的另一方面在于提供一种不需经过繁复的纯化步骤且对环境友善的L- $^{10}\text{BPA}$

(4-( $^{10}\text{B}$ )borono-L-phenylalanine, 4-( $^{10}\text{B}$ )二羟基硼基-L-苯丙氨酸)的制备方法, 由此有效节省时间与成本, 并且提高其制程效率。本发明实施例中的制备方法能有利于制备高化学纯度、高光学纯度及高同位素纯度的L- $^{10}\text{BPA}$ 。

本发明的第三方面在于提供一种适合制备L-BPA及L- $^{10}\text{BPA}$ 的方法, 其无需经过繁复的纯化步骤, 且同时具备节省时间与成本, 有效率、对环境友善与方便等优点。

为达成前述的各个方面, 本发明一种实施例中的L-BPA制备方法包含下列步骤:

使胺端经保护的(S)-4-卤基苯丙氨酸、硼化剂、格氏试剂及双(2-甲基氨基乙基)醚反应以获得反应混合物, 其中, 该反应混合物包含胺端经保护的(S)-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸, 该胺端经保护的(S)-4-卤基苯丙氨酸具有下列式 I 所示的结构, 该胺端经保护的(S)-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸具有下列式 II 所示的结构, 且在式 I 及式 II 中,  $\text{R}^2$  为保护基;



自该反应混合物中分离得到该胺端经保护的(S)-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸;

去保护该胺端经保护的(S)-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸的保护基以制得 L-BPA, 该 L-BPA 具有上列式 III 所示的结构。

本发明另一种实施例中的 L-BPA 制备方法包含下列步骤:

使胺端经保护的(S)-4-卤基苯丙氨酸、硼化剂及格氏试剂反应以获得反应混合物, 其中, 所述反应混合物包含胺端经保护的(S)-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸, 所述胺端经保护的(S)-4-卤基苯丙氨酸具有式 I 所示的结构, 所述胺端经保护的(S)-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸具有式 II 所示的结构, 且在式 I 及式 II 中,  $\text{R}^2$  为保护基;

自所述反应混合物中分离得到所述胺端经保护的(S)-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸;

去保护所述胺端经保护的(S)-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸的保护基以制得 L-BPA, 所述 L-BPA 具有式 III 所示的结构。

根据本发明, 所谓的“硼化剂”指经过使胺端经保护的(S)-4-卤基苯丙氨酸与硼化剂及格氏试剂(不论是否添加双(2-甲基氨基乙基)醚)反应的步骤之后, 任何能将该胺端经保护的(S)-4-卤基苯丙氨酸的 $R^1$ 取代基(即, 式I中所示的 $R^1$ )取代为含硼取代基(不限于二羟基硼基)的试剂。

根据本发明, 该硼化剂的硼元素可为任何形式的硼原子, 如 $^{11}$ 硼、 $^{10}$ 硼或其组合(如自然界中的硼元素:  $^{10}$ 硼占整体硼元素的含量约为19.9%)。本领域技术人员熟知的,  $^{10}$ 硼的含量也可以为其他含量, 如 $^{10}$ 硼的含量 $\geq 95\%$ , 本发明的一些实施例中, 并未限定 $^{10}$ 硼的含量。

作为一种优选地, 该硼化剂包括硼酸三烷酯(trialkyl borate), 但本领域技术人员熟知的, 在此并非用于限定该硼化剂的种类。该硼酸三烷酯包括: 硼酸三丁酯(tributyl borate)、硼酸三乙酯(triethyl borate)、硼酸三甲酯(trimethyl borate)、硼酸三异丙酯(triisopropyl borate)、硼酸三丙酯(tripropyl borate)、硼酸三叔丁酯(tri-tert-butyl borate)或任何适用的硼酸三烷酯。作为一种优选地, 该硼化剂为硼酸三丁酯。

上述技术方案揭示的制备方法具备诸多优点:

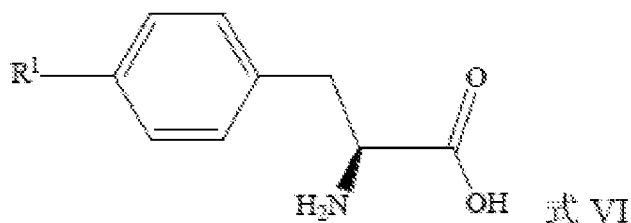
(1) 使胺端经保护的(S)-4-卤基苯丙氨酸、硼化剂及格氏试剂(不论是否添加双(2-甲基氨基乙基)醚)反应, 而无需预先保护胺端经保护的(S)-4-卤基苯丙氨酸的羧酸基团, 即可制得胺端经保护的(S)-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸。因此, 该制备方法在后段制程中也无需去保护羧酸基团的步骤, 明显地缩短了制备过程;

(2) 直接使用硼化剂参与反应, 而制备硼化剂的前处理制备过程简单容易即可实现;

(3) 具有制程简易的优点, 故经由此制备方法所制得的L-BPA能具备高化学纯度、高光学纯度及优异的总产率等优点。因此, 能提供多种节省时间、成本及高效率的制备方法;

(4) 制备硼化剂的一个原料为硼酸, 该原料具有易于取得且价格便宜等优点, 因此所制得的硼化剂也具有易于取得且价格便宜等优点。

对于原料(S)-4-卤基苯丙氨酸的处理步骤还包括:



将(S)-4-卤基苯丙氨酸的胺端加保护以制得该胺端经保护的(S)-4-卤基苯丙氨酸, 其中,

该(S)-4-卤基苯丙氨酸具有上列式VI所示的结构。

将该(S)-4-卤基苯丙氨酸的胺端加保护以制得所述胺端经保护的(S)-4-卤基苯丙氨酸的步骤还包括：

将该(S)-4-卤基苯丙氨酸、1,4-二氧六环、水、氢氧化钠及二碳酸二叔丁酯加入反应容器进行反应；

调整 PH 值至 $\leq 2$ ，优选地 PH 值为 2，由此使该胺端经保护的(S)-4-卤基苯丙氨酸结晶；使用第一萃取溶剂以分离得到该胺端经保护的(S)-4-卤基苯丙氨酸。

对于原料硼酸的处理步骤包括：在第一有机溶剂中，使硼酸、硫酸及正丁醇反应以制得所述硼酸三烷酯。

优选地，在由式I所示的胺端经保护的(S)-4-卤基苯丙氨酸中， $R^1$ 为碘基（iodide）或溴基（bromide）；更优选地，在由式I所示的胺端经保护的(S)-4-卤基苯丙氨酸中， $R^1$ 为碘基。

优选地，在由式I所示的胺端经保护的(S)-4-卤基苯丙氨酸及式II所示的胺端经保护的(S)-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸中，该保护基 $R^2$ 选自于下列群组中的一种：叔丁氧羰基（tert-butoxycarbonyl group, t-Boc或Boc）、三苯甲基（trityl group, Trt）、3,5-二甲氧苯异丙氧羰基（3,5-dimethoxyphenylisopropoxycarbonyl group, Ddz）、2-(4-联苯基)异丙氧羰基（2-(4-Biphenyl)isopropoxycarbonyl group, Bpoc）及2-硝苯基亚磺酰基（2-nitrophenylsulfonyl group, Nps）；更优选地，在由式I所示的胺端经保护的(S)-4-卤基苯丙氨酸及式II所示的胺端经保护的(S)-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸中，该保护基为叔丁氧羰基。

根据本发明，所谓的“格氏试剂”指经过使胺端经保护的(S)-4-卤基苯丙氨酸与硼化剂及格氏试剂（不论是否添加双(2-甲基氨基乙基)醚）反应的步骤之后，任何能将该胺端经保护的(S)-4-卤基苯丙氨酸的 $R^1$ 取代基（即，式I中所示的 $R^1$ ）取代为含硼取代基（不限于二羟基硼基）的试剂。优选地，格氏试剂为烷基氯化镁或烷基溴化镁或芳香基氯化镁或芳香基溴化镁。更优选地，格氏试剂为叔丁基氯化镁或环己基氯化镁或叔戊基氯化镁。

根据本发明，以叔丁基氯化镁或环己基氯化镁或叔戊基氯化镁作为该制备方法中的格氏试剂具有下列优点：

（1）在常温下（0-30℃，温度也可以更低一些，如到-10℃或者温度也可以更高一些，如到60℃）反应，反应条件容易实现，节省成本；

（2）直接参与反应，制备过程简易，产率高。

根据本发明，以叔丁氧羰基作为保护基具有下列优点：

（1）(S)-N-叔丁氧羰基-4-卤基苯丙氨酸（N-Boc-(S)-4-halophenylalanine）为固体，因此在制备过程中易于操作；

(2) 制备(S)-N叔丁氧羰基-4-卤基苯丙氨酸的一个原料为二碳酸二叔丁酯 ( $\text{Boc}_2\text{O}$ , di-*t*-butyl dicarbonate), 该原料具有易于取得且价格便宜等优点, 因此所制得的(S)-N-叔丁氧羰基-4-卤基苯丙氨酸也具有易于取得且价格便宜等优点; 以及

(3) (S)-N-叔丁氧羰基-4-二羟基硼基苯丙氨酸的叔丁氧羰基经去保护后, 该叔丁氧羰基被分解成二氧化碳及叔丁醇 (*tert*-butanol), 它们皆为低危险性的化学物质, 因此使用(S)-N-叔丁氧羰基-4-卤基苯丙氨酸制备L-BPA还具有安全性及低危险性的优点。

优选地, 在 $0^\circ\text{C}$ - $60^\circ\text{C}$ 的温度下, 使胺端经保护的(S)-4-卤基苯丙氨酸、硼化剂、格氏试剂及双(2-甲基氨基乙基)醚反应以获得反应混合物。

据此, 本发明在 $0^\circ\text{C}$ 以上的温度即可实现相关反应, 无需在低温环境下, 反应条件不苛刻, 对设备和人员的投入来说, 可以更加节省成本。

优选地, 自该反应混合物中分离得到所述胺端经保护的(S)-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸的步骤包括:

向该反应混合物中添加第二有机溶剂及酸性溶液, 调整 PH 值至 $\leq 5$ , 优选地, PH 值为 3, 并萃取得到有机相;

向该有机相中添加碱性溶液, 调整 PH 值至 7.1-14 之间, 优选地 PH 值为 12.1-12.6 之间; 使用第二萃取溶剂以分离得到该胺端经保护的(S)-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸。

据此, 本发明无需经过繁复的纯化步骤, 即可经由简易的制程方式, 自该反应混合物中成功分离得到该胺端经保护的(S)-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸。因此, 本发明的制备方法能免于产生大量的废弃溶剂与硅胶, 因而更具备对环境友善的优点。

优选地, 在 $30^\circ\text{C}$ - $60^\circ\text{C}$ 的温度下, 去保护所述胺端经保护的(S)-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸的保护基以制得4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸。

据此, 本发明无需经过繁复的纯化步骤, 仅经由简易的制程即可完成去保护胺端经保护的(S)-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸的保护基的步骤, 并且由此获得高化学纯度及高光学纯度的L-BPA。因此, 本发明的制备方法能避免产生大量的废弃溶剂与硅胶, 因而更具备对环境友善的优点。

优选地, 所述的硼化剂具有 $\geq 95\%$ 的 $^{10}\text{B}$ 纯度。

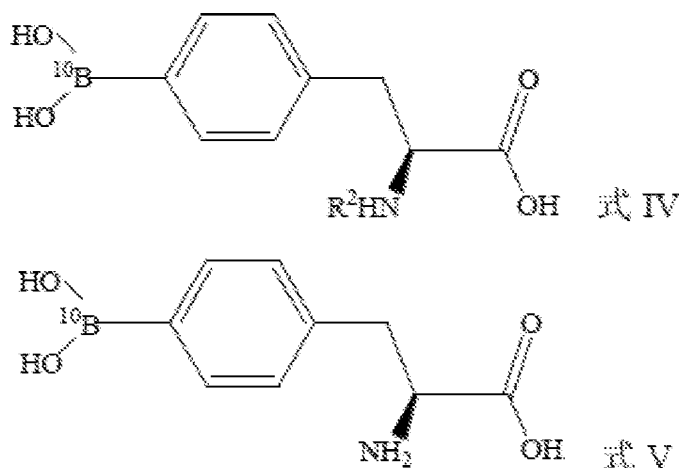
优选地, 该胺端经保护的(S)-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸为胺端经保护的(S)-4-( $^{10}\text{B}$ )二羟基硼基-L-苯丙氨酸。

优选地, 如式II所示的胺端经保护的(S)-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸为胺端经保护的(S)-4-( $^{10}\text{B}$ )二羟基硼基-L-苯丙氨酸 (N-protected(S)-4-( $^{10}\text{B}$ )boronophenylalanine)。

根据本发明, 该硼化剂包含 $^{10}\text{B}$ 硼酸三烷酯 (trialkyl $^{10}\text{B}$  borate) 或其它任何 $^{10}\text{B}$ 纯度为 $\geq 98\%$

适合的试剂。该 $^{10}\text{B}$ 硼酸三烷酯包括 $^{10}\text{B}$ 硼酸三丁酯 (tributyl borate,  $^{10}\text{B}(\text{OBu})_3$ )、 $^{10}\text{B}$ 硼酸三甲酯 (trimethyl borate,  $^{10}\text{B}(\text{OCH}_3)_3$ ) 或其它任何 $^{10}\text{B}$ 硼纯度为98%以上适用的硼酸三烷酯, 但本领域技术人员熟知的, 在此并非用于限定该硼化剂的种类。更优选地, 该具有 $\geq 98\%$ 的 $^{10}\text{B}$ 硼纯度的硼化剂为商业上可取得的试剂, 如 $^{10}\text{B}$ 硼酸三丁酯。

优选地,



该硼化剂具有 $\geq 95\%$ 的 $^{10}\text{B}$ 纯度, 且该胺端经保护的 (S)-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸为胺端经保护的(S)-4-( $^{10}\text{B}$ )二羟基硼基-L-苯丙氨酸, 该胺端经保护的(S)-4-( $^{10}\text{B}$ )二羟基硼基-L-苯丙氨酸具有上列式IV所示的结构, 该L-BPA为L- $^{10}\text{B}$ BPA, 该L- $^{10}\text{B}$ BPA具有上列式V所示的结构。

本发明的制备方法也无需复杂的制备硼化剂的前处理制程, 即可完成L- $^{10}\text{B}$ BPA的制作。此外, 由于本发明的制备方法具有制程短且较为简易等优点, 故经由此制备方法所制得的L- $^{10}\text{B}$ BPA能具备高化学纯度、高光学纯度、高同位素纯度及优异的总产率等优点, 且同时具备如前所述的无需繁复的纯化步骤、节省时间与成本, 高效率及对环境友善等优点。

根据本发明, 反应溶剂包括醚类溶剂或其它任何可适用的有机溶剂, 但并非仅限于此。本发明可选用的醚类溶剂包括四氢呋喃 (tetrahydrofuran)、2-甲基四氢呋喃

(2-methyltetrahydrofuran)、二乙醚 (diethyl ether) 或其它任何可适用的醚类溶剂。

根据本发明, 这些有机溶剂指能使反应物至少部分可溶于其中的有机材料, 这些有机溶剂例如但并非仅限于: 烷烃 (alkanes)、醚类溶剂 (ether-type solvents) 或其它任何适用的有机溶剂, 如甲苯 (toluene), 丙酮 (Acetone)。所述的烷烃包括: 己烷 (hexanes)、庚烷 (heptane)、环己烷 (cyclohexane)、戊烷 (pentane) 或其它任何适用的烷烃, 但本领域技术人员熟知的, 在此并非用于限定该有机溶剂的种类。该醚类溶剂包括: 甲基叔丁基醚 (MTBE)、四氢呋喃 (THF)、二乙醚、二乙氧基甲烷 (diethoxymethane)、二丁醚 (dibutyl ether)、2-甲基四氢呋喃 (2-MeTHF) 或其它任何适用的有机溶剂。优选地, 第一有机溶剂为甲苯, 第二有机溶剂为甲基叔丁基醚, 第三有机溶剂为丙酮。

根据本发明，该萃取溶剂指任何实质上与水不相溶或仅微溶于水的溶剂。该萃取溶剂包括：异丁醇(isobutyl alcohol)、甲苯(toluene)、正丁醇(n-butyl alcohol)、乙酸异丙酯(isopropyl acetate)、乙酸乙酯(ethyl acetate)或其它任何适用的萃取溶剂，但本领域技术人员熟知的，在此并非用于限定该萃取溶剂的种类。优选地，第一萃取溶剂为乙酸乙酯，第二萃取溶剂为正丁醇。

根据本发明，酸性溶液包括盐酸溶液(hydrochloric acid solution)或其它任何适用的酸性溶液，但本领域技术人员熟知的，在此并非用于限定该酸性溶液的种类。优选地，酸性溶液为37%的HCl。

根据本发明，碱性溶液包括氢氧化钠溶液或其它任何适用的碱性溶液，但本领域技术人员熟知的，在此并非用于限定该碱性溶液的种类。优选地，碱性溶液为氢氧化钠水溶液。

### 具体实施方式

本领域技术人员熟知的，L-BPA的制备方法与L-<sup>10</sup>BPA的制备方法基本相同，不同之处在于采用了<sup>10</sup>硼和<sup>11</sup>硼的含量不同的硼化剂为原料。制备L-BPA采用的硼化剂原料中的硼含量可以为自然界中存在的硼元素含量包含约19.9%的<sup>10</sup>硼以及约80.1%的<sup>11</sup>硼，也可以采用<sup>10</sup>硼含量≥95%的L-<sup>10</sup>BPA（即富集<sup>10</sup>硼元素的L-BPA通常称之为L-<sup>10</sup>BPA）。因此采用本发明实施例揭示的L-<sup>10</sup>BPA的制备方法也适用于L-BPA的制备方法，本发明的实施例1以采用<sup>10</sup>硼含量≥95%的硼化剂、双(2-甲基氨基乙基)醚和叔丁基氯化镁的格氏试剂为原料制备L-<sup>10</sup>BPA为例，<sup>10</sup>硼含量为其它比例的也可用同样的制备方法制备；本发明的实施例2揭示了采用普通<sup>10</sup>硼含量的硼化剂、双(2-甲基氨基乙基)醚和叔丁基氯化镁的格氏试剂为原料由(S)-N-叔丁氧羰基-4-碘基苯丙氨酸制备(S)-N-叔丁氧羰基-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸的步骤以及(S)-N-叔丁氧羰基-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸的胺端去保护以制备L-BPA的步骤；本发明的实施例3揭示了采用普通<sup>10</sup>硼含量的硼化剂、双(2-甲基氨基乙基)醚和叔丁基氯化镁的格氏试剂为原料由(S)-N-叔丁氧羰基-4-碘基苯丙氨酸制备(S)-N-叔丁氧羰基-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸的步骤；本发明的实施例4揭示了采用普通<sup>10</sup>硼含量的硼化剂、双(2-甲基氨基乙基)醚和环己基氯化镁的格氏试剂为原料由(S)-N-叔丁氧羰基-4-碘基苯丙氨酸制备(S)-N-叔丁氧羰基-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸的步骤；本发明的实施例5揭示了采用普通<sup>10</sup>硼含量的硼化剂、双(2-甲基氨基乙基)醚和叔戊基氯化镁的格氏试剂为原料由(S)-N-叔丁氧羰基-4-碘基苯丙氨酸制备(S)-N-叔丁氧羰基-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸的步骤；本发明的实施例6-7揭示了采用普通<sup>10</sup>硼含量的硼化剂和叔丁基氯化镁的格氏试剂为原料不添加双(2-甲基氨基乙基)醚由(S)-N-叔丁氧羰基-4-碘基苯丙氨酸制备(S)-N-叔丁氧羰基-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸的步骤。

本发明实施例2-7, 其制备L-BPA的前序步骤与实施例1中记载的除了<sup>10</sup>硼含量不同之外其余的基本相同, 因此在这些实施例当中这些步骤将不再赘述。本发明实施例3-7, 其制备L-BPA的胺端去保护的步骤与实施例2中记载的基本相同, 因此在这些实施例当中这些步骤将不再赘述。

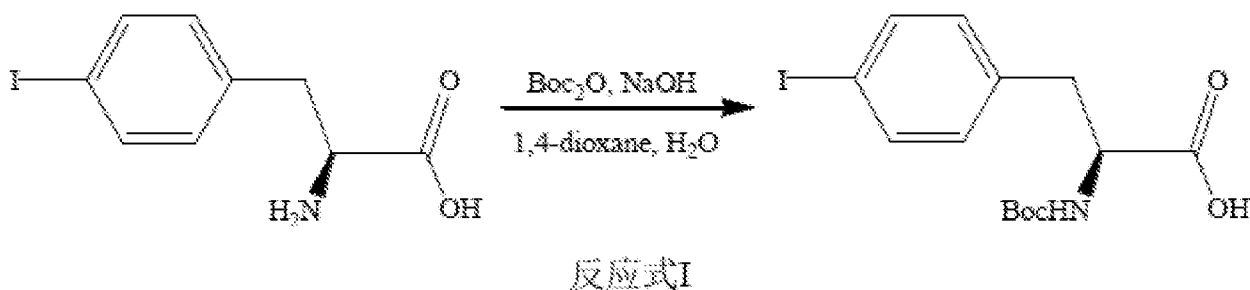
以下实施例, 以(S)-N-叔丁氧羰基-4-碘基苯丙氨酸作为胺端经保护的(S)-4-卤基苯丙氨酸的优选实施例, 并利用(S)-N-叔丁氧羰基-4-碘基苯丙氨酸制备L-BPA或L-<sup>10</sup>BPA, 由此说明本发明克服现有技术的技术缺陷的实施方式。本领域技术人员可经由本说明书的内容轻易地了解本发明所能达成的优点与功效, 并且在不背离本发明的精神下进行各种修饰与变更, 以实施或应用本发明的内容, 同时了解在此所列举的实施例并非用于限制本发明所主张的权利范围。

### 实施例1

在由(S)-N-叔丁氧羰基-4-碘基苯丙氨酸制备(S)-N-叔丁氧羰基-4-二羟基硼基苯丙氨酸之前, 有必要揭示一下以(S)-4-碘基苯丙氨酸为原料制备(S)-N-叔丁氧羰基-4-碘基苯丙氨酸的过程及以<sup>10</sup>硼酸制备<sup>10</sup>硼酸三丁酯的过程。

#### 一、由(S)-4-碘基苯丙氨酸制备(S)-N-叔丁氧羰基-4-碘基苯丙氨酸

请参阅下列反应式I, 其为(S)-4-碘基苯丙氨酸在1,4-二氧六环(1,4-dioxane)和水(H<sub>2</sub>O)的溶剂中与氢氧化钠(NaOH)及二碳酸二叔丁酯(Boc<sub>2</sub>O)反应, 以制得(S)-N-叔丁氧羰基-4-碘基苯丙氨酸的化学反应式。



在本制备过程中, 选择两个反应容器进行反应。

具体的操作过程如下:

1. 架设一个使用 3L 三口瓶子的反应。
2. 将(S)-4-碘-L-苯丙氨酸(200.00 g, 687.10 mmol, 1.00 eq) 加入到反应体系中。
3. 分别将 1,4-二氧六环(1.00 L) 和水(1.00 L) 加入反应体系中。
4. 将氢氧化钠(68.71 g, 1.72 mol, 2.50 eq)加入反应体系中, 溶液逐渐变澄清, 温度微微上升至 19°C。

5. 将体系降温至 0-10°C 时将二碳酸二叔丁酯(254.93 g, 1.17 mol, 268.35 mL, 1.70 eq)加入反应体系中, 将反应体系温度自然升高至 10~30°C 并在室温 (30°C 左右) 搅拌 8 小时。
6. 使用高效液相色谱法 (HPLC) 检测反应, 直至原料反应完毕。
7. 控制体系温度小于 40°C, 浓缩反应液中的 1,4-二氧六环。
8. 将反应体系降至室温 (25°C 左右), 加入 100mL 水, 用盐酸 (2M (即, 体积摩尔浓度 (molarity,M))) 调 pH 值至 1.8-2。
9. 用乙酸乙酯 (2L) 萃取三次。
10. 将有机相合并, 饱和食盐水 (1L) 洗两次。
11. 将有机相用硫酸钠 (200 g) 干燥, 旋干, 得到微黄色的固体粗品。
12. 继续用烘箱(40-45°C)干燥得到白色固体(S)-N-叔丁氧羰基-4-碘-L-苯丙氨酸(250.00 g, 626.28 mmol, 经 HPLC 分析, 产率 93.00%, 纯度 98%)。

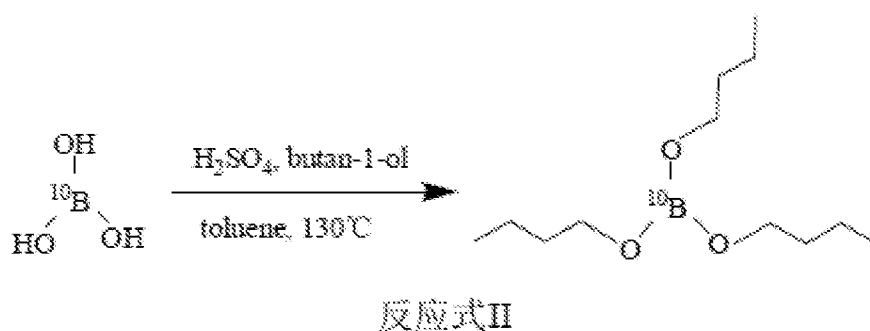
所制得的(S)-N-叔丁氧羰基-4-碘-L-苯丙氨酸经  $^1\text{H}$ 核磁共振光谱 ( $^1\text{H}$ NMR) 的分析结果如下所述:

$^1\text{H}$ NMR: (400 MHz DMSO- $d_6$ )

$\delta$  7.49 (d,  $J=7.8$  Hz, 2H), 6.88 (d,  $J=7.8$  Hz, 2H), 5.80 (d,  $J=5.9$  Hz, 1H), 3.68 (d,  $J=5.5$  Hz, 1H), 3.00 - 2.90 (m, 1H), 2.87 - 2.75 (m, 1H), 1.35 - 1.15 (m, 9H)。

二、由 $^{10}\text{B}$ 硼酸制备 $^{10}\text{B}$ 硼酸三丁酯

请参阅下列反应式II, 其为 $^{10}\text{B}$ 硼酸在正丁醇 (butan-1-ol) 及甲苯 (toluene) 的溶剂中与硫酸 ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) 反应, 以制得 $^{10}\text{B}$ 硼酸三丁酯 ( $^{10}\text{B}(\text{OBu})_3$ ) 的化学反应式。



具体的操作过程如下:

1. 搭建一个使用 3 L 三口瓶的反应装置 R1, 装置上配置分水器。
2. 在室温 (25°C 左右) 下将  $^{10}\text{B}$  硼酸(150.00 g, 2.46 mol, 1.00 eq) 加入反应 R1 中。
3. 在室温 (25°C 左右) 下将正丁醇(1.00 L) 加入反应 R1 中并搅拌, 硼酸大部分都不能溶解。
4. 在室温 (25°C 左右) 下将甲苯 (1.00 L) 加入反应 R1 中并搅拌。
5. 在室温 (25°C 左右) 下将浓硫酸 (4.82 g, 49.16 mmol, 2.62 mL, 0.02 eq) 滴加到反应中, 此时仍有大量的固体没有溶解。

6. 将反应体系升温至 130 °C，不断的将水分出，搅拌 3.5 小时，分出分水器中生成水（约 140 g），固体全部都溶解，溶液由无色变为棕色。
7. TLC(DCM:MeOH=5:1, R<sub>f</sub>=0.43, 溴甲酚绿显色)检测反应至完毕。
8. 常压蒸馏出大部分的甲苯。
9. 大部分的甲苯都分别蒸出后，体系的温度降至 20~30°C，将两个反应的反应液合并，更改装置进行蒸馏。
10. 油浴外温 108-110°C 水泵减压蒸馏，克氏温度计 45°C，将正丁醇蒸馏出来。
11. 油浴外温 108-110°C 油泵减压蒸馏，将残留的丁醇蒸馏除去。
12. 油浴外温 118-120°C 油泵减压蒸馏，克氏温度计 55°C，开始出产品。
13. 温度升高至 135-140°C 油泵减压蒸馏，将产品完全蒸馏出来。
14. 得到的产品为无色液体 <sup>10</sup> 硼酸三丁酯(830.00 g, 3.62 mol, 产率 73.58%)。

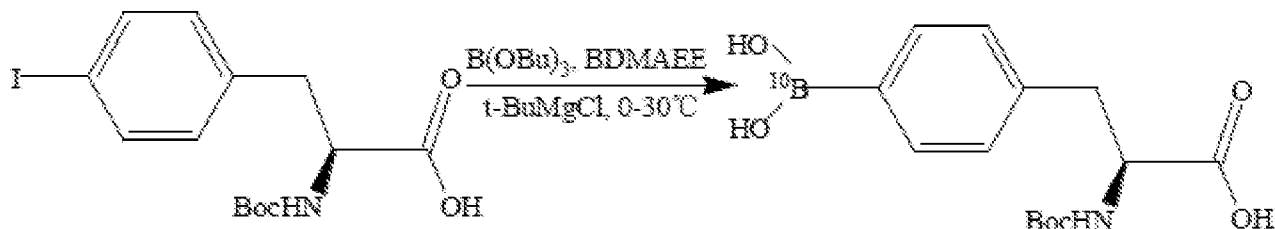
所制得的 <sup>10</sup> 硼酸三丁酯经 <sup>1</sup>H NMR 的分析结果如下所述：

<sup>1</sup>H NMR: (400 MHz CDCl<sub>3</sub>)

δ 3.82 - 3.68 (m, 6H), 1.57 - 1.42 (m, 6H), 1.34 (qd, J=7.4, 14.9 Hz, 6H), 0.95 - 0.80 (m, 9H)。

三、由(S)-N-叔丁氧羰基-4-碘基苯丙氨酸制备(S)-N-叔丁氧羰基-4-二羟基<sup>10</sup>硼基-L-苯丙氨酸

请参阅下列反应式III，其为 (S)-N-叔丁氧羰基-4-碘基苯丙氨酸与<sup>10</sup>硼酸三丁酯、叔丁基氯化镁(t-BuMgCl)及双(2-甲基氨基乙基)醚(BDMAEE)反应，以制得(S)-N-叔丁氧羰基-4-(<sup>10</sup>B)二羟基硼基-L-苯丙氨酸的化学反应式。



反应式III

在本制备过程中，选择两个反应容器进行反应。

具体的操作过程如下：

1. 架设一个使用 3L 三口瓶子的反应。
2. 室温（22°C 左右）将 <sup>10</sup> 硼酸三丁酯（187.60 g, 817.98 mmol, 3.20 eq）置于反应体系中。
3. 室温（22°C 左右）将氢化钠（20.45 g, 511.24 mmol, 纯度 60%, 2.00 eq）一次性加入反应体系中，此时反应液为悬浊液，在室温（22°C 左右）时搅拌 5 分钟。
4. 室温（22°C 左右）将双(2-甲基氨基乙基)醚(327.73 g, 2.04 mol, 8.00 eq)加入反应中。

5. 室温 (22°C 左右) 将 N-叔丁氧羰基-4-碘-L-苯丙氨酸(100.00 g, 255.62 mmol, 1.00eq)加入反应体系中, 大量的固体没有溶解。
6. 降低反应体系温度到 0-5°C, 将叔丁基氯化镁 (1.7 M, 1.20 L, 2.04mol, 8.00 eq)滴加到反应中, 控制温度在 0-10°C 之间, 滴加时间约为 1.5 小时。
7. 投料完毕后, 反应体系温度自然升高至室温 (20~30°C) 并在此温度下搅拌 12 小时。
8. 使用高效液相色谱法 (HPLC) 检测至原料剩余约 9.00%。
9. 降低反应体系温度至-5-0°C 时, 向其滴加 500mL 水淬灭。
10. 降低体系温度至 0-5°C, 向反应体系中加入甲基叔丁基醚(500mL)并用 37%HCl(约 500mL)调 pH 为 2.9-3.1 (用 pH 计), 在调 pH 过程中放热, 控制体系温度在 0 -15°C 之间。
11. 分液得到的水相用甲基叔丁基醚 (500mL)萃取一次, 得到的有机相合并, 得到有机相约 1.1 L。
12. 向得到的有机相里缓慢滴加氢氧化钠水溶液(1M, 400mL), 在滴加的过程中放热, 控制体系温度 0-15°C 之间。
13. 滴加完毕后体系 pH 值为 10 左右, 用氢氧化钠水溶液(4M)调 pH 至 12.10-12.6 之间。(用 pH 计测定)
14. 分液。
15. 将分液后得到的水相 1 用正丁醇(500ml)萃取一次, 得到水相 2。
16. 将两个反应容器中反应的水相 2 合并。
17. 用 37%HCl 调水相 pH 至 2.9-3.1, 搅拌约 40 分钟, 有大量固体析出。
18. 过滤得到白色固体, 并用二氯甲烷(50mL)淋洗一次。
19. 在 25°C 时, 将析出来的固体用二氯甲烷 (150mL) 打浆, 搅拌 10 分钟。
20. 过滤得到的白色固体(S)-N-叔丁氧羰基-4- (<sup>10</sup>B) 二羟基硼基-L-苯丙氨酸(75.00 g, 240.82 mmol, 经 HPLC 分析, 产率 47.11%, 纯度 99%) 。

所制得的(S)-N-叔丁氧羰基-4- (<sup>10</sup>B) 二羟基硼基-L-苯丙氨酸经 <sup>1</sup>HNMR 的分析结果如下所述:

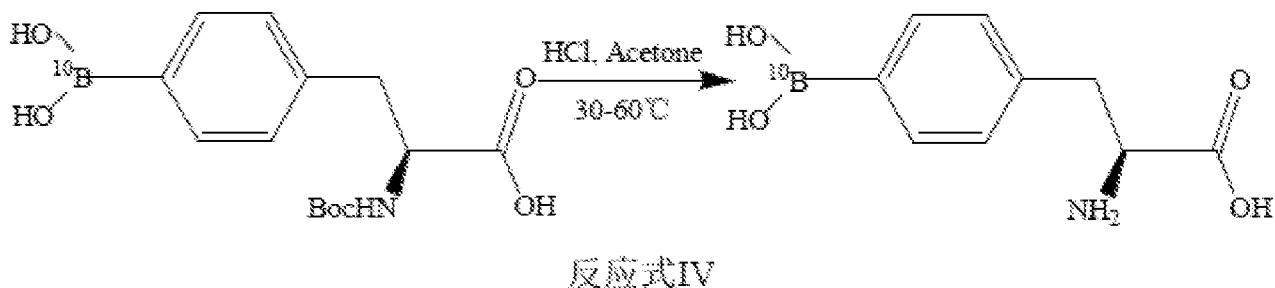
<sup>1</sup>HNMR: (400 MHz DMSO-d<sub>6</sub>)

δ12.55 (br. s., 1H), 7.91 (s, 2H), 7.66 (d, J=7.5 Hz, 2H), 7.17 (d, J=7.5 Hz, 2H), 4.08 - 4.01 (m, 1H), 3.61 - 3.53 (m, 1H), 2.98 (dd, J=4.2, 13.9 Hz, 1H), 2.79 (dd, J=10.4, 13.5 Hz, 1H), 1.79 - 1.67 (m, 1H), 1.35 - 1.17 (m, 9H)。

四、由 (S)-N-叔丁氧羰基-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸制备L-<sup>10</sup>BPA

请参阅下列反应式IV, 其为 (S)-N-叔丁氧羰基-4-(<sup>10</sup>B)二羟基硼基-L-苯丙氨酸的胺端去保

护的化学反应式，以制得L-<sup>10</sup>BPA。



具体的操作过程如下：

1. 架设一个使用 1L 的三口瓶的反应。
2. 室温（20-30°C）将(S)-N-叔丁氧羰基-4-（<sup>10</sup>B）二羟基硼基-L-苯丙氨酸(67.00 g, 217.31 mmol, 1.00 eq)加入反应体系中。
3. 室温（20-30°C）将水(23.75 mL) 和丙酮(Acetone, 420.00 mL)分别滴入反应瓶中，搅拌(S)-N-叔丁氧羰基-4-（<sup>10</sup>B）二羟基硼基-L-苯丙氨酸。
4. 室温（20-30°C）将浓盐酸（23.93 g, 656.28 mmol, 23.46 mL, 3.02 eq）滴入反应体系中，滴加完毕后将反应体系升温至 55-60°C 搅拌 4.5 小时。
5. HPLC 检测至原料反应完毕。
6. 控温 40°C 以下，将反应体系中丙酮进行浓缩。
7. 将浓缩后体系降温至 15°C 以下，用氢氧化钠溶液（4M）调体系 pH 至 1.5 左右（pH 计检测），搅拌 40 分钟后继续使用氢氧化钠溶液（4M）调节体系 pH 至 6.15~6.25，有大量的白色固体析出，过滤得到白色固体，并用丙酮（200mL）淋洗。
8. 得到白色固体 L-<sup>10</sup>BPA (36.00 g, 171.17 mmol, 经 HPLC 分析，产率 78.77%，纯度 99%)。

所制得的 L-<sup>10</sup>BPA 经 <sup>1</sup>H NMR 的分析结果如下所述：

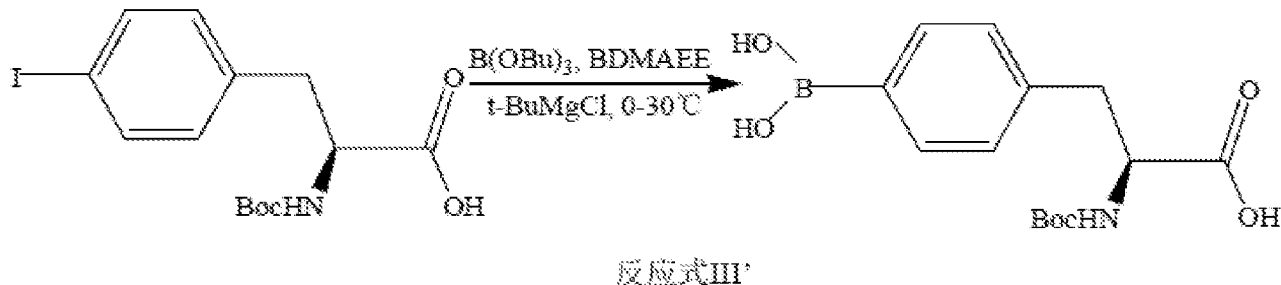
<sup>1</sup>H NMR: (400 MHz D<sub>2</sub>O, CF<sub>3</sub>COOH)

δ7.44 (d, J=7.9 Hz, 1H), 7.03 (d, J=7.9 Hz, 1H), 4.06 (dd, J=5.7, 7.5 Hz, 1H), 3.11 - 3.01 (m, 1H), 2.98 - 2.87 (m, 1H)。

## 实施例2

一、由(S)-N-叔丁氧羰基-4-碘基苯丙氨酸制备(S)-N-叔丁氧羰基-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸

请参阅反应式III'，其为 (S)-N-叔丁氧羰基-4-碘基苯丙氨酸与硼酸三丁酯、叔丁基氯化镁（t-BuMgCl）及双(2-甲基氨基乙基)醚（BDMAEE）反应，以制得(S)-N-叔丁氧羰基-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸的化学反应式。



具体的操作过程如下：

1. 用 100mL 三口瓶搭建一个反应装置。
2. 在温度为 20~30°C 时将硼酸三丁酯(5.65 g, 24.54 mmol, 3.20 eq) 置于 100 mL 反应瓶中。
3. 在温度为 20~30°C 时将氢化钠(613.50mg, 15.34 mmol, 2.00 eq) 加入 100 mL 反应瓶中。
4. 在温度为 20~30°C 时将双(2-甲基氨基乙基)醚(9.83 g, 61.35 mol, 8.00 eq) 加入 100 mL 反应瓶中。
5. 在温度为 20~30°C 时将(S)-N-叔丁氧羰基-4-碘基苯丙氨酸(3.00 g, 7.67 mmol, 1.00eq)加入 100 mL 反应瓶中。
6. 氮气保护下将反应体系温度降低到 0°C, 将叔丁基氯化镁(1.7 M 于四氢呋喃中, 36mL, 8.00 eq)滴加到反应中, 滴加时间约为 30 分钟, 控制温度在 0°C-10°C 之间。
7. 20~30°C 搅拌 16 小时。
8. HPLC 检测原料没有反应完毕, 原料剩余约 13%。
9. 在温度 0°C 时, 向反应中滴加 1.5 mL 水淬灭, 待完全淬灭后, 继续搅拌 10 分钟。
10. 降温至 0°C, 向反应中加入甲基叔丁基醚(15 mL)并用 37%HCl (约 15 mL) 调 pH 等于 3 (用 pH 计检测), 调 pH 过程中放热, 控制温度在 0 °C -15°C 之间。
11. 分液得到的水相用甲基叔丁基醚(15 mL)萃取一次, 两次有机相合并。
12. 向得到的有机相里滴加 NaOH 溶液(1M, 17 mL), 调 pH 至 12.10-12.6 之间, 此过程放热, 控制温度 0°C-15°C 之间。
13. 分液, 得到的水相用正丁醇 (15 ml) 萃取一次, 将大部分杂质萃取除去。
14. 分液得到的水相用 37%HCl 调 pH 至 3, 搅拌约 30 分钟, 有大量的白色固体析出。
15. 过滤得到白色固体, 并用二氯甲烷(15 mL)淋洗一次。
16. 在 25°C 时将析出来的固体用 8 mL 二氯甲烷打浆, 搅拌 10 分钟。
17. 过滤得到白色固体(S)-N-叔丁氧羰基-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸(1.80 g, 5.82 mmol, 经 HPLC 分析, 产率 75.92%, 纯度 100%)

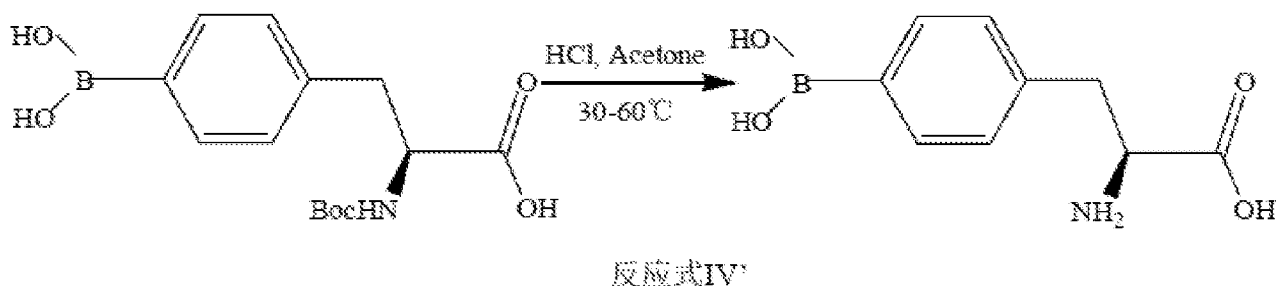
所制得的(S)-N-叔丁氧羰基-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸经  $^1\text{H}$ NMR 的分析结果如下所述：

$^1\text{H}$  NMR: (400 MHz DMSO- $d_6$ )

$\delta = 7.95$  (s, 2H), 7.69 (d,  $J=7.7$  Hz, 2H), 7.19 (d,  $J=7.7$  Hz, 2H), 7.07 (d,  $J=8.4$  Hz, 1H), 4.14 - 4.04 (m, 1H), 3.00 (br dd,  $J=4.4, 13.7$  Hz, 1H), 2.82 (br dd,  $J=10.5, 13.8$  Hz, 1H), 1.32 (s, 9H)。

## 二、由 (S)-N-叔丁氧羰基-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸制备L-BPA

请参阅下列反应式IV'，其为 (S)-N-叔丁氧羰基-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸的胺端去保护的化学反应式，以制得L-BPA。



具体的操作过程如下：

1. 用 100mL 三口瓶搭建一个反应装置。
2. 在温度为 20~30°C 时将(S)-N-叔丁氧羰基-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸(1.80 g, 5.82 mmol, 1.00 eq) 加入 100mL 三口瓶中。
3. 在温度为 20~30°C 时将水 (0.63 mL) 和丙酮(11.30 mL)分别加入反应瓶中。
4. 在温度为 20~30°C 时将 HCl ( 17.46 mmol, 1.46 mL, 3.00eq) 滴入反应中,滴加完毕后将反应升温至 60°C 搅拌 4 小时。
5. HPLC 检测表明已经反应完毕。
6. 在 40°C 时，反应液减压浓缩，将大部分丙酮旋出。
7. 降温至 0~15°C，用 NaOH 溶液 (4M) 调 pH 至 1.5，固体开始析出。
8. 继续调 pH 至 6.2，有大量的白色固体析出，搅拌 15 分钟。
9. 过滤得到白色固体并用丙酮 (6 mL) 淋洗，将固体转移旋干。
10. 得到白色固体 L-BPA (0.85 g, 4.07 mmol, 经 HPLC 分析，产率 70.18%，纯度 98%)。

所制得的 L-BPA 经  $^1\text{H}$ NMR 的分析结果如下所述：

$^1\text{H}$  NMR: (400 MHz  $\text{D}_2\text{O}$ )

$\delta = 7.62$  (d,  $J=7.5$  Hz, 2H), 7.22 (d,  $J=7.9$  Hz, 2H), 3.86 (dd,  $J=5.5, 7.5$  Hz, 1H), 3.20 - 3.13 (m, 1H), 3.05 - 2.97 (m, 1H)。

### 实施例3

由(S)-N-叔丁氧羰基-4-碘基苯丙氨酸制备(S)-N-叔丁氧羰基-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸  
请继续参阅反应式III'，具体的操作过程如下：

1. 用 1 L 三口瓶搭建一个反应装置。

2. 在 20~30°C 时将硼酸三丁酯(56.48 g, 245.40 mmol, 3.20 eq) 置于 1 L 反应瓶中。
3. 在 20~30°C 时将氢化钠 (6.13 g, 153.37 mmol, 2.00 eq) 加入 1 L 反应瓶中。
4. 在 20~30°C 时将双(2-甲基氨基乙基)醚(98.32 g, 613.50 mol, 8.00 eq) 加入 1 L 反应瓶中。
5. 在 20~30°C 时将(S)-N-叔丁氧羰基-4-碘基苯丙氨酸(30.00 g, 76.69 mmol, 1.00eq) 加入 1 L 反应瓶中。
6. 氮气保护下将反应体系温度降低到 0°C, 将叔丁基氯化镁(1.7 M 于四氢呋喃中, 360mL, 8.00 eq)滴加到反应中, 滴加时间约为 1 小时, 控制温度在 0°C-10°C 之间。
7. 20~30°C 搅拌 16 小时。
8. HPLC 检测原料没有反应完毕, 原料剩余约 8%。
9. 在温度 0°C 时, 向反应中滴加 15 mL 水淬灭, 待完全淬灭后, 继续搅拌 10 分钟。
10. 降温至 0°C, 向反应中加入甲基叔丁基醚(150mL)并用 37%HCl (约 160mL) 调 pH 等于 3 (用 pH 计检测), 调 pH 过程中放热, 控制温度在 0 °C -15°C 之间。
11. 分液得到的水相用甲基叔丁基醚(150mL)萃取一次, 两次有机相合并。
12. 向得到的有机相里滴加 NaOH 溶液(1M, 190mL), 调 pH 至 12.10-12.6 之间, 此过程放热, 控制温度 0°C-15°C 之间。
13. 分液, 得到的水相用正丁醇 (150ml) 萃取一次, 将大部分杂质萃取除去。
14. 分液得到的水相用 37%HCl 调 pH 至 3, 搅拌 30 分钟, 有大量的白色固体析出。
15. 过滤得到白色固体, 并用二氯甲烷(150mL)淋洗一次。
16. 在 25°C 时将析出来的固体用 80mL 二氯甲烷打浆, 搅拌 10 分钟。
17. 过滤得到白色固体(S)-N-叔丁氧羰基-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸(15.00 g, 48.52mmol, 经 HPLC 分析, 产率 63.27%, 纯度 100%)

所制得的(S)-N-叔丁氧羰基-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸经  $^1\text{H}$ NMR 的分析结果如下所述:

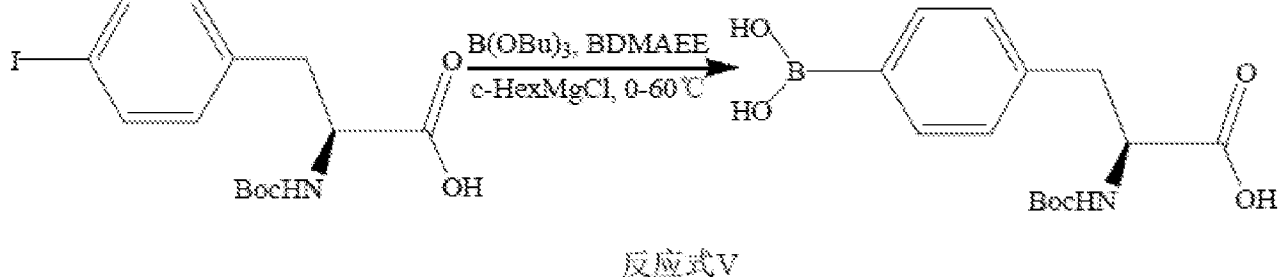
$^1\text{H}$  NMR: (400 MHz DMSO- $d_6$ )

$\delta$  = 7.97 (s, 2H), 7.68 (d,  $J$ =7.9 Hz, 2H), 7.23 - 7.16 (m, 2H), 7.08 (d,  $J$ =8.4 Hz, 1H), 4.12 - 4.04 (m, 1H), 3.00 (dd,  $J$ =4.4, 13.7 Hz, 1H), 2.81 (dd,  $J$ =10.4, 13.7 Hz, 1H), 1.34 - 1.23 (m, 9H)。

#### 实施例4

由(S)-N-叔丁氧羰基-4-碘基苯丙氨酸制备(S)-N-叔丁氧羰基-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸

请参阅下列反应式V, 其为(S)-N-叔丁氧羰基-4-碘基苯丙氨酸与硼酸三丁酯、环己基氯化镁 (c-HexMgCl) 及双(2-甲基氨基乙基)醚 (BDMAEE) 反应, 以制得(S)-N-叔丁氧羰基-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸的化学反应式。



具体的操作过程如下：

1. 用 100 mL 三口瓶搭建一个反应装置。
2. 在 20~30°C 时将硼酸三丁酯(2.82 g, 12.27 mmol, 3.20 eq) 置于 100 mL 反应瓶中。
3. 在 20~30°C 时将双(2-甲基氨基乙基)醚(4.92 g, 30.67 mol, 8.00 eq) 加入 100 mL 反应瓶中。
4. 在 20~30°C 时将(S)-N-叔丁氧羰基-4-碘-L-苯丙氨酸(1.50 g, 3.83 mmol, 1.00eq)加入 100 mL 反应瓶中。
5. 氮气保护下将反应体系温度降低到 0°C, 将环己基氯化镁(2 M 于乙醚中, 15mL, 8.00 eq)滴加到反应中, 滴加时间约为 20 分钟, 控制温度在 0°C-10°C 之间。
6. 20~30°C 搅拌 24 小时。
7. 升温至 60±5°C。
8. 60±5°C 搅拌 24 小时。
9. HPLC 检测原料没有反应完毕, 原料剩余约为 83%。
10. 在温度 0°C 时, 向反应中滴加 0.75mL 水淬灭, 待完全淬灭后, 继续搅拌 10 分钟。
11. 降温至 0°C, 向反应中加入甲基叔丁基醚(7.5 mL)并用 37%HCl (约 7.5 mL) 调 pH 等于 3 (用 pH 计检测), 调 pH 过程中放热, 控制温度在 0 °C -15°C 之间。
12. 分液得到的水相用甲基叔丁基醚(7.5 mL)萃取一次, 两次有机相合并。
12. 向得到的有机相里滴加 NaOH 溶液(1M, 8.5 mL), 调 pH 至 12.10-12.6 之间, 此过程放热, 控制温度 0°C-15°C 之间。
13. 分液, 得到的水相用正丁醇 (7.5 ml) 萃取一次, 将大部分杂质萃取除去。
14. 分液得到的水相用 37%HCl 调 pH 至 3, 搅拌约 30 分钟, 有白色固体析出。
15. 过滤得到白色固体, 并用二氯甲烷(7.5 mL)淋洗一次。
16. 在 25°C 时将析出来的固体用 4 mL 二氯甲烷打浆, 搅拌 10 分钟。
17. 过滤得到白色固体(S)-N-叔丁氧羰基-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸(0.2 g, 经 HPLC 分析, 产率 14.83%, 纯度 99%)

所制得的(S)-N-叔丁氧羰基-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸经 <sup>1</sup>H NMR 的分析结果如下所述：

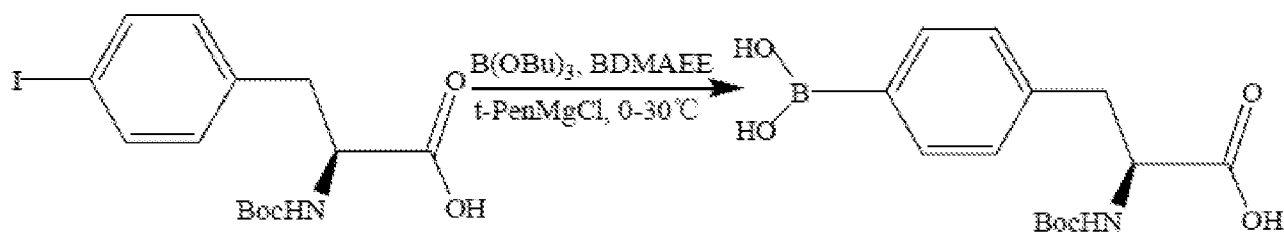
<sup>1</sup>H NMR: (400 MHz DMSO-d<sub>6</sub>)

$\delta = 7.96$  (s, 2H), 7.67 (d,  $J=7.9$  Hz, 2H), 7.21 (d,  $J=7.7$  Hz, 2H), 7.09 (d,  $J=8.4$  Hz, 1H), 4.12 - 4.04 (m, 1H), 3.00 (br dd,  $J=4.4, 13.7$  Hz, 1H), 2.83 (dd,  $J=10.4, 13.7$  Hz, 1H), 1.33 - 1.21 (m, 9H)。

### 实施例5

由(S)-N-叔丁氧羰基-4-碘基苯丙氨酸制备(S)-N-叔丁氧羰基-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸

请参阅下列反应式VI，其为 (S)-N-叔丁氧羰基-4-碘基苯丙氨酸与硼酸三丁酯、叔戊基氯化镁 ( $t\text{-PenMgCl}$ ) 及双(2-甲基氨基乙基)醚 (BDMAEE) 反应，以制得(S)-N-叔丁氧羰基-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸的化学反应式。



反应式VI

具体的操作过程如下：

1. 用 100mL 三口瓶搭建一个反应装置。
2. 在 20~30°C 时将硼酸三丁酯(2.82 g, 12.27 mmol, 3.20 eq) 置于 100 mL 反应瓶中。
3. 在 20~30°C 时将双(2-甲基氨基乙基)醚(4.92 g, 30.67 mmol, 8.00 eq) 加入 100 mL 反应瓶中。
4. 在 20~30°C 时将(S)-N-叔丁氧羰基-4-碘-L-苯丙氨酸(1.50 g, 3.83 mmol, 1.00eq) 分批加入 100 mL 反应瓶中。
5. 氮气保护下将反应体系温度降低到 0°C，将叔戊基氯化镁(1.0 M 于 2-MeTHF 中, 31mL, 8.00 eq) 滴加到反应中，滴加时间约为 20 分钟，控制温度在 0°C-10°C 之间。
6. 20~30°C 搅拌 24 小时。
7. 升温至 60±5°C
8. 60±5°C 搅拌 24 小时。
9. HPLC检测原料没有反应完毕，原料剩余约47%。
10. 在温度 0°C 时，向反应中滴加 0.75mL 水淬灭，待完全淬灭后，继续搅拌 10 分钟。
11. 降温至 0°C，向反应中加入甲基叔丁基醚(7.5 mL)并用 37%HCl (约 7.5 mL) 调 pH 等于 3 (用 pH 计检测)，调 pH 过程中放热，控制温度在 0 °C -15°C 之间。
12. 分液得到的水相用甲基叔丁基醚(7.5 mL)萃取一次，两次有机相合并。
12. 向得到的有机相里滴加 NaOH 溶液(1M, 8.5 mL)，调 pH 至 12.10-12.6 之间，此过程放热，控制温度 0°C-15°C 之间。
13. 分液，得到的水相用正丁醇 (7.5 ml) 萃取一次，将大部分杂质萃取除去。

- 14.分液得到的水相用 37%HCl 调 pH 至 3, 搅拌约 30 分钟, 有白色固体析出。
- 15.过滤得到白色固体, 并用二氯甲烷(7.5 mL)淋洗一次。
- 16.在 25°C 时将析出来的固体用 4 mL 二氯甲烷打浆, 搅拌 10 分钟。
- 17.过滤得到白色固体(S)-N-叔丁氧羰基-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸(0.5 g, 经HPLC分析, 产率 46.25%, 纯度98%)

所制得的(S)-N-叔丁氧羰基-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸经<sup>1</sup>HNMR的分析结果如下所述:

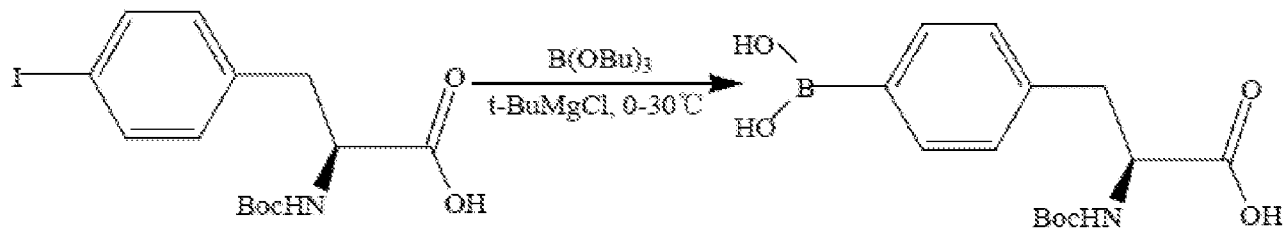
<sup>1</sup>H NMR: (400 MHz DMSO-d<sub>6</sub>)

δ = 7.98 (s, 2H), 7.70 (d, *J*=7.9 Hz, 2H), 7.23 (d, *J*=7.7 Hz, 2H), 7.10 (d, *J*=8.4 Hz, 1H), 4.13 - 4.04 (m, 1H), 3.00 (br dd, *J*=4.4, 13.7 Hz, 1H), 2.84 (dd, *J*=10.4, 13.7 Hz, 1H), 1.33 - 1.24 (m, 9H)。

#### 实施例6

由(S)-N-叔丁氧羰基-4-碘基苯丙氨酸制备(S)-N-叔丁氧羰基-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸

请参阅下列反应式VII, 其为(S)-N-叔丁氧羰基-4-碘基苯丙氨酸与硼酸三丁酯、叔丁基氯化镁 (t-BuMgCl) 反应, 以制得(S)-N-叔丁氧羰基-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸的化学反应式。



反应式VII

具体的操作过程如下:

- 1.用 250mL 三口瓶搭建一个反应装置。
- 2.在 20~30°C 时将硼酸三丁酯(17.65 g, 76.68 mmol, 3.00 eq) 置于 250 mL 反应瓶中。
- 3.在 20~30°C 时将氢化钠(1.02 g, 25.56 mmol, 1.00 eq) 加入 250 mL 反应瓶中。
- 4.在 20~30°C 时将(S)-N-叔丁氧羰基-4-碘-L-苯丙氨酸(10.00 g, 25.56 mmol, 1.00eq)加入 250 mL 反应瓶中。
- 5.氮气保护下将反应体系温度降低到 0°C, 将叔丁基氯化镁(1.7 M 于 THF 中, 120mL, 8.00 eq) 缓慢滴加到反应中, 滴加时间约为 30 分钟, 控制温度在 0°C-10°C 之间。
6. 20~30°C 搅拌 20 小时。
- 7.HPLC检测原料基本反应完毕, 原料仅剩余约0.7%。
- 8.在温度 0°C 时, 向反应中滴加 5mL 水淬灭, 待完全淬灭后, 继续搅拌 10 分钟。
- 9.降温至 0°C, 向反应中加入甲基叔丁基醚(50mL)并用 37%HCl (约 50 mL) 调 pH 等于 3 (用 pH 计检测), 调 pH 过程中放热, 控制温度在 0 °C -15°C 之间。

- 12.分液得到的水相用甲基叔丁基醚(50 mL)萃取一次，两次有机相合并。
- 12.向得到的有机相里滴加 NaOH 溶液(1M, 55mL)，调 pH 至 12.10-12.6 之间，此过程放热，控制温度 0°C-15°C 之间。
- 13.分液，得到的水相用正丁醇（50 mL）萃取一次，将大部分杂质萃取除去。
- 14.分液得到的水相用 37%HCl 调 pH 至 3，搅拌约 30 分钟，有白色固体析出。
- 15.过滤得到白色固体，并用二氯甲烷(50 mL)淋洗一次。
- 16.在 25°C 时将析出来的固体用 25 mL 二氯甲烷打浆，搅拌 10 分钟。
- 17.过滤得到白色固体(S)-N-叔丁氧羰基-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸(6.8 g, 经HPLC分析，产率 83.15%，纯度98%)

### 实施例7

请继续参阅反应式VII，具体的操作过程如下：

- 1.用 250mL 三口瓶搭建一个反应装置。
- 2.在 20~30°C 时将硼酸三丁酯(8.82 g, 38.34 mmol, 3.00 eq) 加入 250 mL 反应瓶中。
- 3.在 20~30°C 时将氢化钠(511.25 mg, 12.78 mmol, 1.00 eq) 加入 250 mL 反应瓶中。
- 4.在 20~30°C 时将(S)-N-叔丁氧羰基-4-碘-L-苯丙氨酸(5.00 g, 12.78 mmol, 1.00eq) 加入 250 mL 反应瓶中。
- 5.氮气保护下将反应体系温度降低到 0°C，将叔丁基氯化镁(1.7 M 于 THF 中, 60mL, 8.00 eq) 滴加到反应中，滴加时间约为 30 分钟，控制温度在 0°C-10°C 之间。
- 6.20~30°C 搅拌 22 小时。
- 7.HPLC 检测原料反应完毕。
- 8.在温度 0°C 时，向反应中滴加 2.5mL 水淬灭，待完全淬灭后，继续搅拌 10 分钟。
- 9.降温至 0°C，向反应中加入甲基叔丁基醚(25mL)并用 37%HCl（约 25 mL）调 pH 等于 3（用 pH 计检测），调 pH 过程中放热，控制温度在 0 °C -15°C 之间。
- 12.分液得到的水相用甲基叔丁基醚(25mL)萃取一次，两次有机相合并。
- 12.向得到的有机相里滴加 NaOH 溶液(1M, 30mL)，调 pH 至 12.10-12.6 之间，此过程放热，控制温度 0°C-15°C 之间。
- 13.分液，得到的水相用正丁醇（25ml）萃取一次，将大部分杂质萃取除去。
- 14.分液得到的水相用 37%HCl 调 pH 至 3，搅拌约 30 分钟，有白色固体析出。
- 15.过滤得到白色固体，并用二氯甲烷(25mL)淋洗一次。
- 16.在 25°C 时将析出来的固体用 15mL 二氯甲烷打浆，搅拌 10 分钟。

17.过滤得到白色固体(S)-N-叔丁氧羰基-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸(3.4 g, 经 HPLC 分析, 产率 85.26%, 纯度 98%)。

双(2-甲基氨基乙基)醚是 Mg 的络合剂, 可以降低反应中副反应的发生。实施例 6 和 7 不添加双(2-甲基氨基乙基)醚也能顺利的进行反应, 经分析, 实施例 6 的反应中掉碘杂质约 17%, 实施例 7 的反应中掉碘杂质约 28%。因此, 从侧面证明, 添加双(2-甲基氨基乙基)醚的反应可以保护反应减少掉碘。

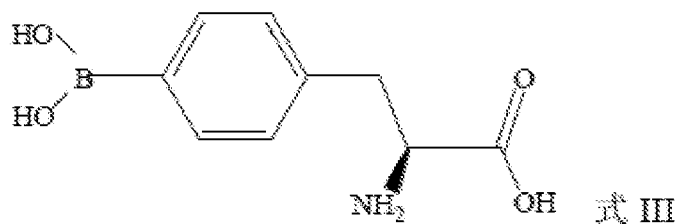
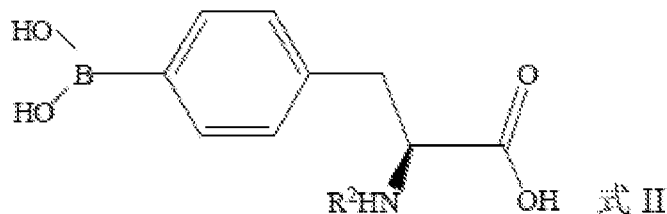
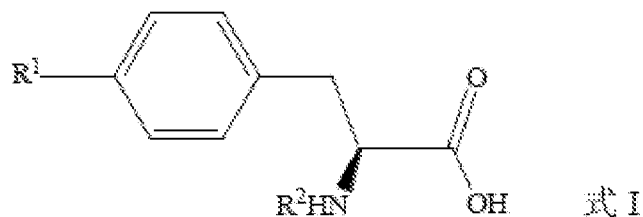
以上实施例中得到的 BPA 或  $^{10}\text{BPA}$  经手性 HPLC 分析, L 型对映异构体相对于 D 型对映异构体的比例为 100:0。

本发明揭示的用于中子捕获治疗的含硼的药物 L-BPA 并不局限于以上实施例所述的内容。上述实施例仅为了方便说明而举例而已, 本发明所主张的权利范围应以权利要求书所述为准。

## 权 利 要 求 书

## 1. 一种 L-BPA 的制备方法，其包括如下步骤：

使胺端经保护的(S)-4-卤基苯丙氨酸、硼化剂、格氏试剂及双(2-甲基氨基乙基)醚反应以获得反应混合物，其中，所述反应混合物包含胺端经保护的(S)-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸，所述胺端经保护的(S)-4-卤基苯丙氨酸具有下列式 I 所示的结构，所述胺端经保护的(S)-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸具有下列式 II 所示的结构，且在式 I 及式 II 中， $R^2$  为保护基；



自所述反应混合物中分离得到所述胺端经保护的(S)-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸；

去保护所述胺端经保护的(S)-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸的保护基以制得 L-BPA，所述 L-BPA 具有上列式 III 所示的结构。

2. 根据权利要求 1 所述的 L-BPA 的制备方法，其特征在于：式 I 中的  $R^1$  为碘基或溴基；式 I 及式 II 中的  $R^2$  选自于下列群组中的一种：叔丁氧羰基、三苯甲基、3,5-二甲氧苯异丙氧羰基、2-(4-联苯基)异丙氧羰基及 2-硝基苯基亚磺酰基；硼化剂为硼酸三烷酯；格氏试剂为烷基氯化镁或烷基溴化镁或芳香基氯化镁或芳香基溴化镁。

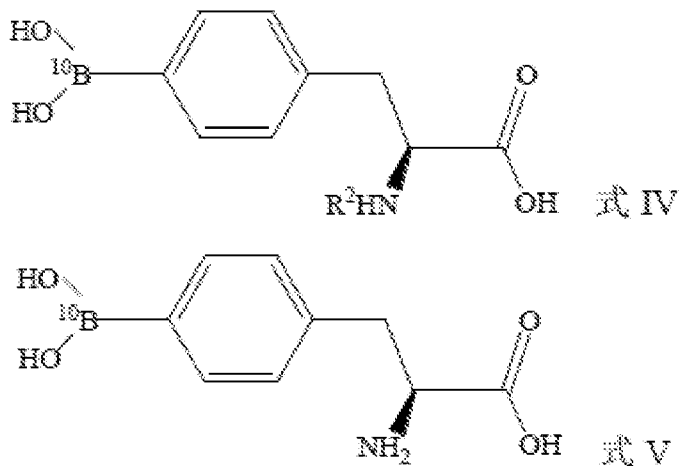
3. 根据权利要求 1 或 2 所述的 L-BPA 的制备方法，其特征在于：使胺端经保护的(S)-4-卤基苯丙氨酸、硼化剂、格氏试剂及双(2-甲基氨基乙基)醚反应以获得反应混合物的步骤包括：

在  $0^{\circ}\text{C}$ - $60^{\circ}\text{C}$  的温度下，使胺端经保护的(S)-4-卤基苯丙氨酸、硼化剂、格氏试剂及双(2-甲基氨基乙基)醚反应以获得反应混合物。

4. 根据权利要求 1 或 2 所述的 L-BPA 的制备方法，其特征在于：去保护所述胺端经保护的(S)-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸的保护基以制得 4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸的步骤包括：

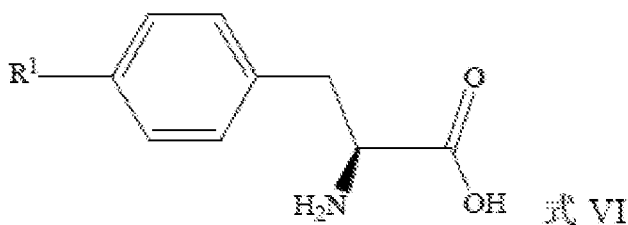
在 30°C-60°C 的温度下, 去保护所述胺端经保护的(S)-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸的保护基以制得 4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸。

5. 根据权利要求 1 或 2 所述的 L-BPA 的制备方法, 其特征在于:



所述硼化剂具有 $\geq 95\%$ 的  $^{10}\text{B}$  纯度, 且所述胺端经保护的 (S)-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸为胺端经保护的(S)-4-( $^{10}\text{B}$ )二羟基硼基-L-苯丙氨酸, 所述胺端经保护的(S)-4-( $^{10}\text{B}$ )二羟基硼基-L-苯丙氨酸具有上列式 IV 所示的结构, 所述 L-BPA 为 L- $^{10}\text{BPA}$ , 所述 L- $^{10}\text{BPA}$  具有上列式 V 所示的结构。

6. 根据权利要求 1 或 2 所述的 L-BPA 的制备方法, 其特征在于: 所述 L-BPA 的制备方法还包括如下步骤:



将(S)-4-卤基苯丙氨酸的胺端加保护以制得所述胺端经保护的(S)-4-卤基苯丙氨酸, 其中, 所述(S)-4-卤基苯丙氨酸具有上列式 VI 所示的结构。

7. 根据权利要求 6 所述的 L-BPA 的制备方法, 其特征在于: 将所述(S)-4-卤基苯丙氨酸的胺端加保护以制得所述胺端经保护的(S)-4-卤基苯丙氨酸的步骤包括:

将所述(S)-4-卤基苯丙氨酸、1,4-二氧六环、水、氢氧化钠及二碳酸二叔丁酯加入反应容器进行反应;

调整 PH 值至 $\leq 2$ , 由此使所述胺端经保护的(S)-4-卤基苯丙氨酸结晶;

使用第一萃取溶剂以分离得到所述胺端经保护的(S)-4-卤基苯丙氨酸。

8. 根据权利要求 2 所述的 L-BPA 的制备方法, 其特征在于: 所述 L-BPA 的制备方法还包括

如下步骤:

在第一有机溶剂中,使硼酸、硫酸及正丁醇反应以制得所述硼酸三烷酯。

9. 根据权利要求 1 或 2 所述的 L-BPA 的制备方法,其特征在于:自所述反应混合物中分离得到所述胺端经保护的(S)-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸的步骤包括:

向所述反应混合物中添加第二有机溶剂及酸性溶液,调整 PH 值至 $\leq 5$ ,并萃取得到有机相;

向所述有机相中添加碱性溶液,调整 PH 值至 7.1-14 之间;

使用第二萃取溶剂以分离得到所述胺端经保护的(S)-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸。

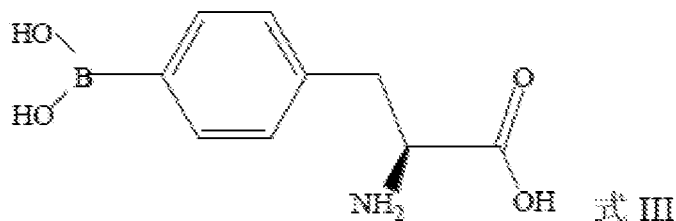
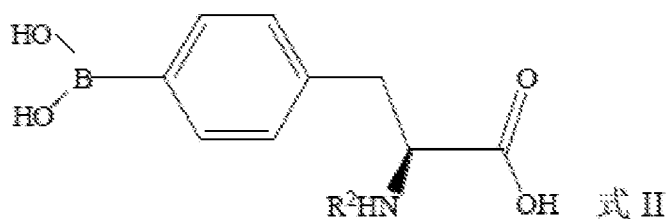
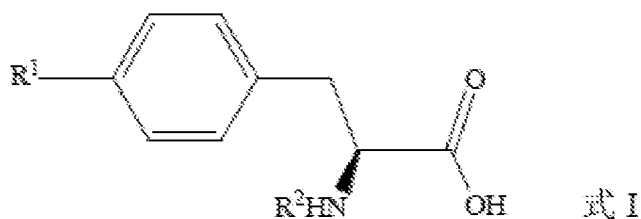
10. 根据权利要求 1 或 2 所述的 L-BPA 的制备方法,其特征在于:去保护所述胺端经保护的(S)-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸的保护基以制得 L-BPA 的步骤包括:

使所述胺端经保护的(S)-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸、水、酸性溶液及第三有机溶剂加入反应容器中;

调整 PH 值至 6.15-6.25,以制得所述 L-BPA。

11. 一种 L-BPA 的制备方法,其包括如下步骤:

使胺端经保护的(S)-4-卤基苯丙氨酸、硼化剂及格氏试剂反应以获得反应混合物,其中,所述反应混合物包含胺端经保护的(S)-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸,所述胺端经保护的(S)-4-卤基苯丙氨酸具有下列式 I 所示的结构,所述胺端经保护的(S)-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸具有下列式 II 所示的结构,且在式 I 及式 II 中, $R^2$  为保护基;



自所述反应混合物中分离得到所述胺端经保护的(S)-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸；

去保护所述胺端经保护的(S)-4-二羟基硼基-L-苯丙氨酸的保护基以制得 L-BPA，所述 L-BPA 具有上列式 III 所示的结构。

12. 根据权利要求 11 所述的 L-BPA 的制备方法，其特征在于：式 I 中的  $R^1$  为碘基或溴基；式 I 及式 II 中的  $R^2$  选自于下列群组中的一种：叔丁氧羰基、三苯甲基、3,5-二甲氧苯异丙氧羰基、2-(4-联苯基)异丙氧羰基及 2-硝基苯基亚磺酰基；硼化剂为硼酸三烷酯；格氏试剂为烷基氯化镁或烷基溴化镁或芳香基氯化镁或芳香基溴化镁。

13. 根据权利要求 11 或 12 所述的 L-BPA 的制备方法，其特征在于：使胺端经保护的(S)-4-卤基苯丙氨酸、硼化剂及格氏试剂反应以获得反应混合物的步骤包括：

在 0°C-30°C 的温度下，使胺端经保护的(S)-4-卤基苯丙氨酸、硼化剂及格氏试剂反应以获得反应混合物。

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

**PCT/CN2016/094881**

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07F 5/02 (2006.01) i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07F

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

WPI, EPODOC, REGISTRY, CAPLUS, CNKI, CNABS, ISI web of science: L-BPA, borono, phenylalanine, Grignard, magnesium, methylaminoethyl, BDMAEE, boracic acid, Grignard reagent, NEUBORON MEDTECH LTD., 76410-58-7

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                                                                                              | Relevant to claim No. |
|-----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| Y         | CN 104447823 A (TAIWAN BIOTECH CO., LTD.), 25 March 2015 (25.03.2015), description, paragraphs [0021]-[0035], [0038] and [0072]-[0075], and embodiments 1-2                                     | 1-13                  |
| Y         | CN 104447822 A (TAIWAN BIOTECH CO., LTD.), 25 March 2015 (25.03.2015), description, paragraphs [0008]-[0014], and embodiment 1                                                                  | 1-13                  |
| Y         | SIVAEV, I.B. et al.; "L-4-Boronophenylalanine (all around the one molecule)", ARKIVOC, no. iv, 31 December 2008 (31.12.2008), 47-61                                                             | 1-13                  |
| Y         | ZHAO, Xiaoya et al.; "Recent Progress of Grignard Reagent on its Synthesis, Activity Regulation and Selective Reactions", CHEMICAL REAGENTS, vol. 36, no. 6, 30 June 2014 (30.06.2014), 481-486 | 1-13                  |
| PX        | CN 104961756 A (SHANGHAI INSTITUTE OF TECHNOLOGY), 07 October 2015 (07.10.2015), description, paragraphs [0008]-[0026], and embodiments 1-3                                                     | 11-13                 |
| PY        | CN 104961756 A (SHANGHAI INSTITUTE OF TECHNOLOGY), 07 October 2015 (07.10.2015), description, paragraphs [0008]-[0026], and embodiments 1-3                                                     | 1-10                  |

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

|                                                                                                                                                                         |                                                                                                                                                                                                                                                  |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| * Special categories of cited documents:                                                                                                                                | "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention                                              |
| "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance                                                                | "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone                                                                     |
| "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date                                                                               | "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art |
| "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) | "&" document member of the same patent family                                                                                                                                                                                                    |
| "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means                                                                                            |                                                                                                                                                                                                                                                  |
| "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                  |

Date of the actual completion of the international search  
27 October 2016 (27.10.2016)

Date of mailing of the international search report  
**16 November 2016 (16.11.2016)**

Name and mailing address of the ISA/CN:  
State Intellectual Property Office of the P. R. China  
No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao  
Haidian District, Beijing 100088, China  
Facsimile No.: (86-10) 62019451

Authorized officer  
**ZHAO, Qiqi**  
Telephone No.: (86-10) **82246734**

International application No.  
**PCT/CN2016/094881**

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (July 2009)

## 国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2016/094881

## A. 主题的分类

C07F 5/02 (2006.01) i

按照国际专利分类 (IPC) 或者同时按照国家分类和 IPC 两种分类

## B. 检索领域

检索的最低限度文献 (标明分类系统和分类号)

C07F

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库 (数据库的名称, 和使用的检索词 (如使用))

WPI, EPODOC, REGISTRY, CAPLUS, CNKI, CNABS, ISI web of science, L-BPA, borono, phenylalanine, Grignard, magnesium, methylaminoethyl, BDMAEE, 硼酸, 苯丙氨酸, 格氏试剂, 镁, 甲基氨基乙基, 南京中硼联康医疗科技有限公司, 76410-58-7

## C. 相关文件

| 类 型* | 引用文件, 必要时, 指明相关段落                                                                                                                        | 相关的权利要求 |
|------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| Y    | CN 104447823 A (信东生技股份有限公司) 2015年 3月 25日 (2015 - 03 - 25)<br>说明书第[0021]-[0035]、[0038]、[0072]-[0075]段, 实施例1-2                             | 1-13    |
| Y    | CN 104447822 A (信东生技股份有限公司) 2015年 3月 25日 (2015 - 03 - 25)<br>说明书第[0008]-[0014]段, 实施例1                                                    | 1-13    |
| Y    | SIVAEEV, I. B. et al. "L-4-Boronophenylalanine (all around the one molecule)"<br>ARKIVOC, 第iv期, 2008年 12月 31日 (2008 - 12 - 31),<br>47-61 | 1-13    |
| Y    | 赵晓娅等. "格氏试剂的制备、活性调节及选择性反应的新进展"<br>化学试剂, 第36卷, 第6期, 2014年 6月 30日 (2014 - 06 - 30),<br>481-486                                             | 1-13    |
| PX   | CN 104961756 A (上海应用技术学院) 2015年 10月 7日 (2015 - 10 - 07)<br>说明书第[0008]-[0026]段, 实施例1-3                                                    | 11-13   |
| PY   | CN 104961756 A (上海应用技术学院) 2015年 10月 7日 (2015 - 10 - 07)<br>说明书第[0008]-[0026]段, 实施例1-3                                                    | 1-10    |

☐ 其余文件在C栏的续页中列出。☒ 见同族专利附件。

## \* 引用文件的具体类型:

“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件 (如具体说明的)

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件

“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性

“&amp;” 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期

2016年 10月 27日

国际检索报告邮寄日期

2016年 11月 16日

ISA/CN的名称和邮寄地址

中华人民共和国国家知识产权局 (ISA/CN)  
中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088

传真号 (86-10) 62019451

受权官员

赵奇奇

电话号码 (86-10) 82246734

国际检索报告  
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2016/094881

| 检索报告引用的专利文件 |           |   | 公布日<br>(年/月/日) | 同族专利 | 公布日<br>(年/月/日) |
|-------------|-----------|---|----------------|------|----------------|
| CN          | 104447823 | A | 2015年 3月 25日   | 无    |                |
| CN          | 104447822 | A | 2015年 3月 25日   | 无    |                |
| CN          | 104961756 | A | 2015年 10月 7日   | 无    |                |