



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 1761669 B

(45) 授权公告日 2010.05.26

(21) 申请号 200480007456.5

(22) 申请日 2004.01.27

(30) 优先权数据

10/369,984 2003.02.19 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2005.09.19

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2004/002068 2004.01.27

(87) PCT申请的公布数据

W02004/074294 EN 2004.09.02

(73) 专利权人 雷迪实验室(欧洲)有限公司

地址 英国东约克郡

(72) 发明人 E·D·道格斯

(74) 专利代理机构 北京戈程知识产权代理有限

公司 11314

代理人 程伟 鲍玲

(51) Int. Cl.

C07D 493/04 (2006.01)

C07D 493/14 (2006.01)

A61K 31/352 (2006.01)

A61P 31/12 (2006.01)

(56) 对比文件

US 6277879 A, 2001.08.21, 全文.

WO 0064903 A, 2000.11.02, 全文.

KUCHERENKO A ET AL. Novel Approach for
Synthesis.....TETRAHEDRON LETTERS36

31.1995, 36(31), 5475-5478.

审查员 李跃然

权利要求书 2 页 说明书 14 页

(54) 发明名称

反式-胡桐素酮中间体的制备方法

(57) 摘要

本发明的方法包括合成反式-胡桐素 A 酮中间体的工艺,该中间体用于外消旋反式-胡桐素 A 的合成。本发明进一步包括从胡桐素 A 和胡桐素 B 非对映体的混合物中除去外消旋胡桐素 B 非对映体的方法,通过结晶,从胡桐素 A 的合成的最后步骤中形成所述混合物。

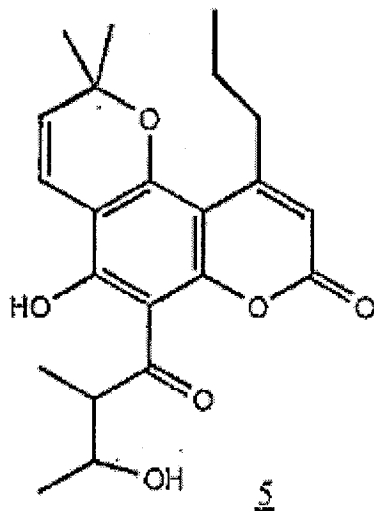
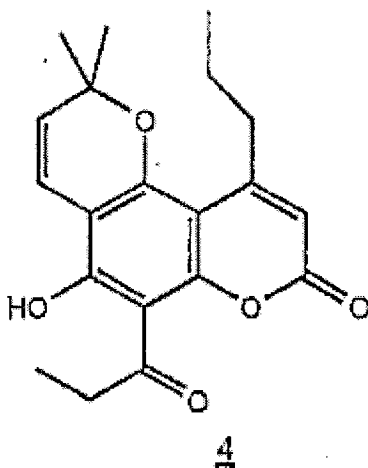
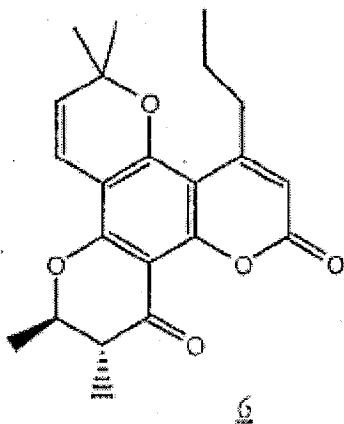
1. 一种合成具有通式 6 的反式 - 胡桐素 A 酮中间体的方法, 包括如下步骤:

1) 在二氯甲烷溶液中逐步地使具有通式 4 的苯并吡喃中间体与四氯化钛, 随后的二异丙基乙胺, 随后的乙醛进行反应;

2) 在四氢呋喃的存在下使步骤 (1) 中形成的具有通式 5 的羟醛中间体与脱水剂反应以形成顺式和反式胡桐素酮的混合物;

3) 在溶剂中使用三乙胺平衡顺式和反式环状酮以产生反式形式的沉淀物; 和

4) 通过过滤分离结晶酮;



2. 根据权利要求 1 所述的方法,其中所述脱水剂是二甲基甲酰胺二甲基乙缩醛。
3. 根据权利要求 1 所述的方法,其中步骤 3) 中的溶剂是叔戊醇。

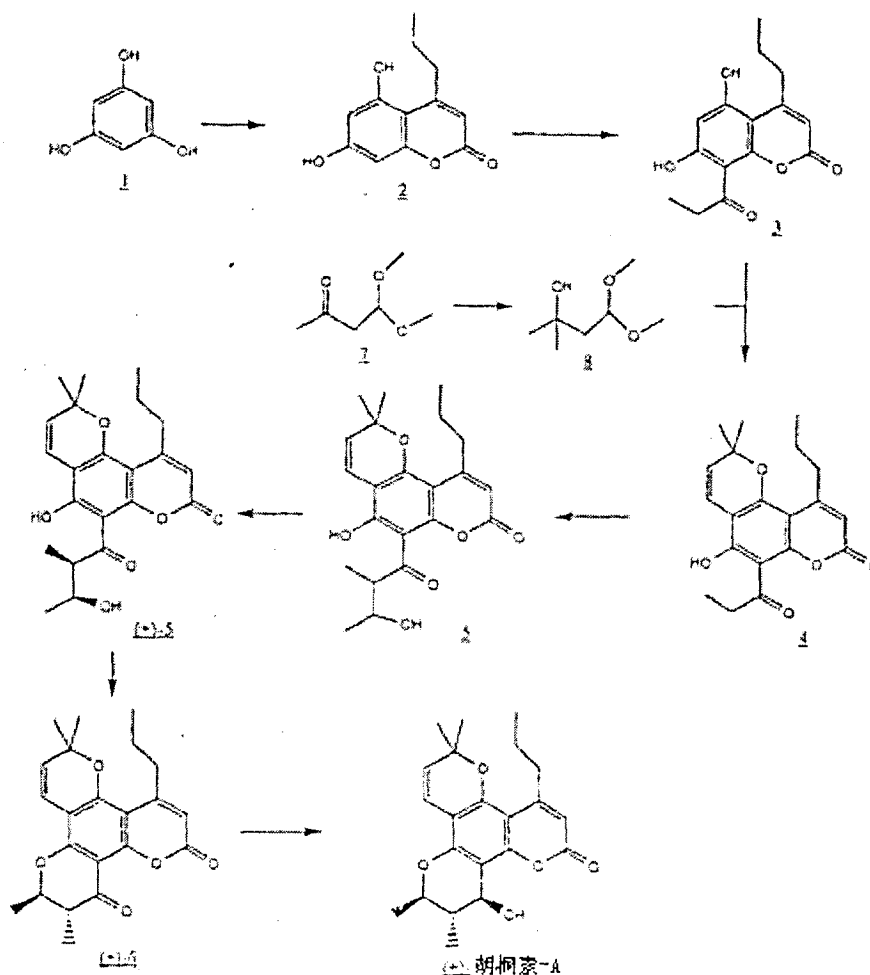
反式-胡桐素酮中间体的制备方法

[0001] 本发明涉及合成反式-胡桐素酮(trans-calanolide ketone)中间体的方法,以及将产物醇的两种非对映体彼此分离以得到外消旋胡桐素A的方法。

[0002] (+)-胡桐素 A 是用于治疗爱滋病的研究中的 HIV-1 特异性逆转录酶抑制剂, 见 Z. Q. Xu, M. T. Flavin, 和 D. Zembower ;U. S. 专利 6, 277, 879, 2001 年 8 月 21 日。(+) - 胡桐素 A 合成的现有技术在下图 1 中进行说明 :Z. Q. Xu, M. T. Flavin, 和 D. Zembower ; U. S. 专利 6, 277, 879, 2001 年 8 月 21 日, 和 W. A. Boulanger, M. T. Flavin, A. Kucherenko, A. K. Sheynkman ;U. S. 专利 5, 489, 697, 1996 年 2 月 6 日。M. T. Flavin 等人 ;J. Med. Chem. 39, 1303 (1996)。

[0003] 图 1. (+)-胡桐素 A 的合成。

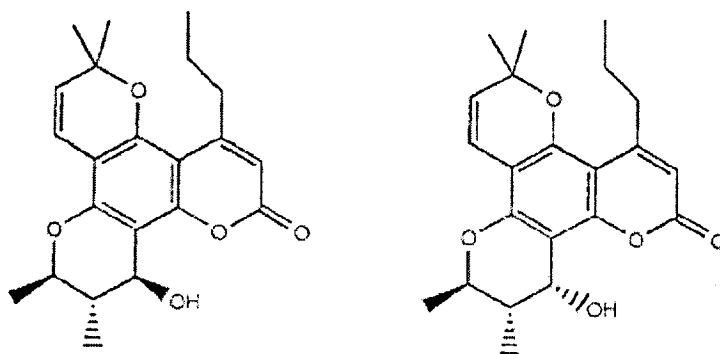
[0004]



[0005] 在此途径中,由耗时的酶催化动力学分解,使用等量脂酶 AK 与醋酸乙烯酯分解中间体 5。需要色谱分离来从所需的 (+)-5 中分离出 (-)-5 的乙酸酯。根据现有技术,由在 Mitsunobu 反应条件下,使用偶氮二羧酸二乙酯 (DEAD) 和三苯基膦对 (+)-5 进行处理而产生反式-胡桐素酮中间体 (+)-6。需要第二个更困难的色谱精制以从所需的反式-胡桐素酮中除去副产物肼基二羧酸二乙酯和三苯基膦氧化物。使用硼氢化钠与氯化铈对酮进行官能化至醇的还原以得到仍然包含得自 Mitsunobu 反应的副产物的粗制 (+)-胡桐素 A (Luche

条件, A. L. Gemal 和 J. L. Luche ;J. Am. Chem. Soc. 103, 5454 (1981))。Luche 还原的产物也包含非对映体 (+)- 胡桐素 B。由预备色谱精制粗制 (+)- 胡桐素 A 以除去 Mitsunobu 副产物和 (+)- 胡桐素 B, 来从苯并吡喃中间体 4 中得到 17% 的分离收率。

[0006]



[0007] (+)- 胡桐素 A (+)- 胡桐素 B

[0008] 先前使用由半预备手性 HPLC 从外消旋化合物中分离 (+)- 胡桐素 A 以提供少量的纯立体异构体, W. A. Boulanger, M. T. Flavin, A. Kucherenko, A. K. Sheynkman ; U. S. 专利 5, 489, 697, 1996 年 2 月 6 日 . M. T. Flavin 等人 ; J. Med. Chem. 39, 1303 (1996), 和 J. H. Cardellina II, H. R. Bokesch, T. C. McKee, M. R. Boyd ; Bioorg. Med. Chem. Lett. 5, 1011 (1995)。可以提出更大规模的分离来作为替代的制备方法以避免漫长的酶分解步骤。为此目的, 需要外消旋胡桐素 A 的实践性制备方法。

[0009] 本发明的方法包括合成反式 - 胡桐素 A 酮中间体的新型可大规模使用的方法。方法包括如下步骤 : 1) 在二氯甲烷溶液中逐步地使苯并吡喃中间体与四氯化钛, 随后的二异丙基乙胺, 随后的乙醛进行反应, 2) 将产物放入冷含水氯化铵进行骤冷, 3) 采用酸化水洗涤物洗涤有机相, 4) 用硫酸镁干燥有机相, 5) 过滤, 6) 蒸发溶剂, 7) 在四氢呋喃中用二甲基甲酰胺二甲基乙缩醛处理得到的羟醛中间体, 8) 用饱和盐水和水处理, 9) 除去水相和溶剂, 10) 用含有叔戊醇的三乙胺平衡, 和 11) 通过过滤除去结晶酮。本发明的方法消除了目前方法中要求的冗长的酶分解和困难的色谱精制步骤。

[0010] 根据本发明的合成方法, 可以由用二甲基甲酰胺二甲基乙缩醛 (DMFDMA) 进行的羟醛中间体的处理, 随后在叔戊醇中使用三乙胺的平衡来产生外消旋反式 - 胡桐素酮。从溶液中结晶出所需的反式 - 胡桐素酮且可以由过滤分离。中间体不要求用于此过程的分离, 并且不存在由现有技术方法产生的副产物。因此, 本发明的方法不要求任何色谱精制来除去副产物且得到相似的分离收率。

[0011] 本发明进一步包括从胡桐素 A 和胡桐素 B 非对映体混合物中除去外消旋胡桐素 B 非对映体的方法, 其中从胡桐素 A 合成的最后步骤中形成该混合物。方法包括如下步骤 : 1) 从甲苯中重复再结晶混合物中的胡桐素 B, 和 2) 浓缩混合母液和从含水 2- 丙醇中再结晶残余物以分离精制的外消旋胡桐素 A。

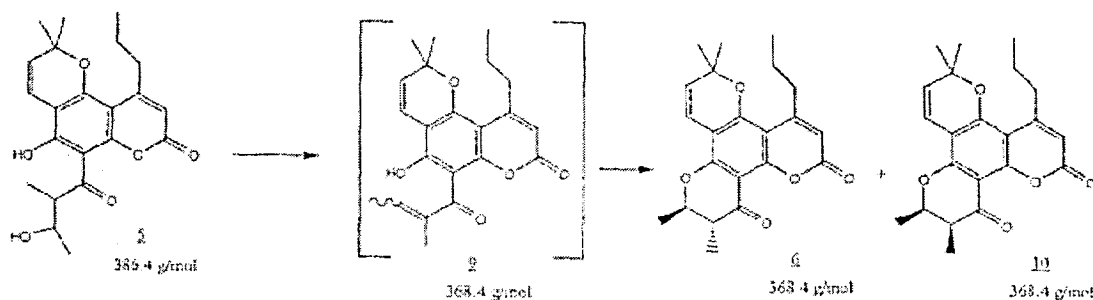
[0012] 本发明的方法包括合成反式 - 胡桐素 A 酮中间体的新型可大规模使用的方法, 该中间体用于外消旋反式 - 胡桐素 A 的合成。方法包括如下步骤 : 1) 在二氯甲烷溶液中逐步使苯并吡喃中间体与四氯化钛, 随后的二异丙基乙胺, 随后的乙醛进行反应, 2) 将产物放入冷含水氯化铵进行骤冷, 3) 用酸化水洗涤物洗涤有机相, 4) 用硫酸镁干燥有机相, 5) 过滤, 6) 蒸发溶剂, 7) 在四氢呋喃中用二甲基甲酰胺二甲基乙缩醛处理得到的羟醛中间体,

8) 用饱和盐水和水处理, 9) 除去水相和溶剂, 10) 用包含叔戊醇的三乙胺平衡, 和 11) 通过过滤除去结晶酮。本发明的方法消除了目前方法中要求的冗长的酶分解和困难的色谱精制步骤。

[0013] 现有技术说明了羟醛类型中间体的碱催化缩合可用于相似环结构的制备, T. Ishikawa, Y. Oku, K. I. Kotake, H. Ishii ; J. Org. Chem. 61, 6484 (1996)。然而, 氟化铯或三乙胺与羟醛缩合产物 5 的使用仅得到带有分解产物的部分转化。脱水剂的使用导致烯烃 9 的形成, 其随后环化以得到所需的环结构 (图 2)。

[0014] 图 2. 羟醛中间体的脱水和环化。

[0015]

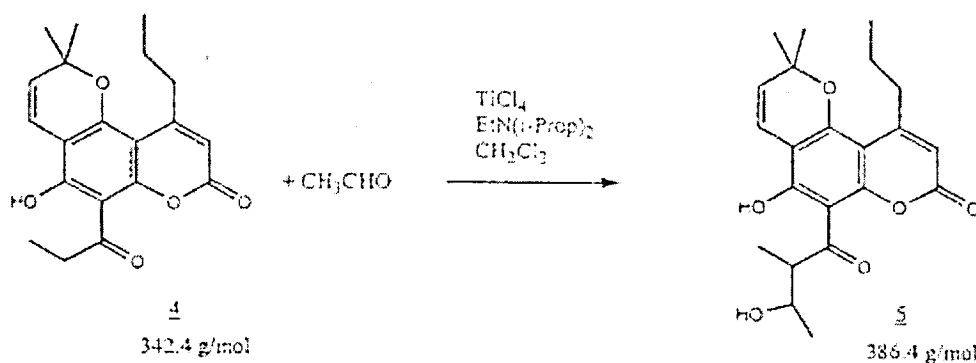


[0016] 根据本发明的合成方法, 可以由用二甲基甲酰胺二甲基乙缩醛 (DMFDMA) 处理羟醛中间体 5, 随后在叔戊醇中使用三乙胺进行平衡来产生外消旋反式-胡桐素酮 6。从溶液中结晶出所需的反式-胡桐素酮且可以将其经过过滤分离。所需的反式-胡桐素酮在如三乙胺和叔戊醇的溶剂中具有低的溶解度, 且由此从溶液结晶。另外, 还使在环化反应中形成的顺式-胡桐素酮异构体 10 对反式-胡桐素酮的平衡易于在碱性溶液中进行。拉动总体平衡以通过结晶从溶液中脱除此物质以生产所需的反式-胡桐素。在此方法中不存在由现有技术方法产生的副产物。因此, 本发明的方法不要求任何色谱精制以除去副产物, 而且得到相似的分离收率。

[0017] 在二氯甲烷中, 在四氯化钛和二异丙基乙胺存在下, 4 与乙醛羟醛缩合得到 5, 如下图 3 所示。由产物与四氯化钛的初始配合而介导 (mediate) 反应。四氯化钛或二异丙基乙胺单元比例的降低会导致更低的转化率。额外数量的四氯化钛, 二异丙基乙胺, 或乙醛不会使具有更低转化率的反应混合物达到完全。尽管转化率可为大约 90%, 但分离的收率仅为 47%, 其大概是由于先前观察到在处理 and 色谱精制期间重整初始材料的逆-羟醛反应。

[0018] 图 3. 用于得到 5 的 4 的羟醛缩合。

[0019]



[0020] 在 0-10℃ 的反应温度下,通过向 4 的二氯甲烷溶液中加入四氯化钛,随后的二异丙基乙胺,随后的乙醛进行反应。将反应混合物放入冷 (0-10℃) 含水氯化铵进行骤冷。使用二氯甲烷溶液的水洗涤液来除去残余四氯化钛 / 二异丙基乙胺络合物,但发现初始材料的水平也有所增加。然而,洗涤溶液的酸化会得到静置过夜稳定的混合物。在室温下通过蒸发脱除溶剂之前用硫酸镁干燥二氯甲烷相。

[0021] 反应转化率显示出对四氯化钛,二异丙基乙胺,和二氯甲烷的单独比例敏感,并且所需四氯化钛的数量会在 4 的批量之间变化。对 4 的六个不同批量 (SMA 到 SMF) 进行评估。表 1 中列出反应加载量,以及每次添加试剂期间所达到的最大温度。

[0022] 表 1. 羟醛反应条件和产物转化率。

[0023]

评估	S.M.	4 的加载量 g/g				Tmax℃			HPLC 面积%	
		CH ₂ Cl ₂	TiCl ₄	胺	CH ₃ CHO	TiCl ₄	胺	CH ₃ CHO	4	5
A	SMA	13.8	2.10	0.84	0.95	5	10	-	18	71
B	SMA	34.8	1.65	0.81	0.79	5	8	5	4.4	91.6
C	SMA	34.8	1.65	0.61	0.79	5	7	7	2.5	95.3
D	SMA	34.8	1.72	0.61	0.79	5	7	7	0.5	96.2
E	SMA	27.3	2.06	0.82	0.84	6	8	-	3.8	91.7
F	SMA	19.0	2.03	0.81	0.86	12	20	17	41	54
G	SMA	19.0	2.03	0.81	0.86	-13	-13	-8	26	59
H	SMB	19.0	2.03	0.81	0.86	-18	-13	-10	3.2	89.9
I	SMB	25.7	2.06	0.83	0.84	5	16	-	16	73
J	SMC	25.0	1.67	0.84	0.79	-7	6	3	0.7	96.6
K	SMD	25.0	2.00	1.00	0.79	-15	-5	-5	1.4	95.8
L	SME	25.0	2.00	1.00	0.79	0	4	14	2.8	93.8
M	SME	25.0	2.00	1.32	0.79	0	5	8	4.2	71
N	SMF	25.0	1.67	0.84	0.79	-7	-6	-3	17	77
O	SMF	25.0	1.67	0.84	0.79	0	6	6	14	83
P	SMF	25.0	2.00	1.00	0.79	2	13	6	2.3	92.7

[0024] 从此数据,更高的反应浓缩显示出对转化率有害 (评估 A)。25 的二氯甲烷单元比一致得到良好的结果。当 1.67 的四氯化钛单元比从 SMA 和 SMC 中得到 4 小于 5 的面积%时,有大约 15% 的初始材料从 SMF 中保留下来 (评估 N 和评估 O)。2 的更高四氯化钛单元比得到使用此材料的完全反应 (评估 P)。二异丙基乙胺单元比的增加得到其它杂质的更高水平 (评估 M)。更高的反应温度显示出会引起更低的转化率 (评估 F)。

[0025] 当用如二甲基甲酰胺二甲基乙缩醛 (DMDMA) 的脱水剂在 THF 中处理 5 时,5 会形成烯烃 9 (图 2)。在室温下搅拌过夜之后,9 环化成外消旋 6 和 10 的混合物。发现所需的反式酮 6 在三乙胺或叔戊醇中具有低的溶解度,以及容易在碱性溶液中进行 10 到 6 的平衡 (在平衡时大约 3/1 的 6/10 比例)。

[0026] 使用盐水洗涤 THF 反应混合物以最小化骤冷任何剩余 DMDMA 导致的分解。然后将 THF 换为三乙胺。加入少量叔戊醇以对反应混合物油在三乙胺中的溶解度有所帮助。通过在 40-45°C 下的三乙胺中搅拌含有 6 和 10 的反应混合物, 驱动 10 到 6 的平衡以从溶液中结晶 6。

[0027] 可以通过表 2 的数据看出反应的进展。从 4 的 95-98 面积%的材料开始, 通常在氯化铵骤冷之后发现到大约 90 面积%的羟醛产物 5。当在 DMDMA 加入之后几小时可检测到最小的 5 时, 得到最好的结果 (评估 Q)。在 20°C 下搅拌此反应混合物过夜得到 6 和 10 的大约 50/50 的混合物。在 0°C 下, 烯酮 9 的转化是不完全的 (评估 J)。在三乙胺中加热酮 6 和 10 的混合物过夜得到 6 的包含 60-80 面积%的淤浆。

[0028] 表 2. 用于得到 6 的反应中间体的 HPLC 分析。

[0029]

评价	样品		HPLC 面积%				
			<u>4</u>	<u>5</u>	<u>9</u>	<u>10</u>	<u>6</u>
Q	开始材料	SMC	98.1				
J		SMC	98.1				
N		SMF	94.8				
P		SMF	94.8				
L		SME	96.4				
K		SMD	98.6				
Q	羟醛, 骤冷的		1.5	95.8			
J			1.0	93.5			
N			20.4	74.0			
P			1.4	88.2			
L			3.1	93.3			
K			1.2	95.8			
Q	DMDMA	1hr, 10°C	6.0	2.6	54.9	2.9	19.2
J		过夜, 0°C			70.5	0.6	17.8
N		2h, 0-20°C	27.1	16.4	30.4		12.9
		过夜, 20°C		7.9	6.7	32.4	31.3
P		2h, 0-20°C	6.7	8.8	33.2	9.0	18.5
L		过夜, 20°C			4.95	34.2	41.5
K		过夜, 20°C			3.0	39.6	47.6
J	Et ₃ N	ca. 1hr			11.3	31.8	31.4
N						21.6	39.6

[0030]	P					13.5	51.1
	L					33.6	50.7
	K					25.2	59.3
	J	Et ₃ N	过夜, 40℃			6.6	65.1
	P					7.6	63.7
	L					9.6	79.4
	K					11.5	77.0

[0031] 在由真空过滤进行 6 的分离之前, 将反应混合物冷却至室温; 用少量能去除大部分颜色的叔戊醇洗涤滤饼。通常通过回流, 在乙醇中蒸煮或再结晶精制产物。分离的收率为 24-47%, 并总结于表 3。从具有得自羟醛反应的不完全转化的批次物中得到最低收率 (评估 N)。尽管羟醛反应产物包含大约 20% 的残余 4, 但将材料向前输送时, 随后的反应不会出现故障, 并且成功地从三乙胺反应混合物中结晶 6。

[0032] 表 3.6 的分离收率和 HPLC 分析。

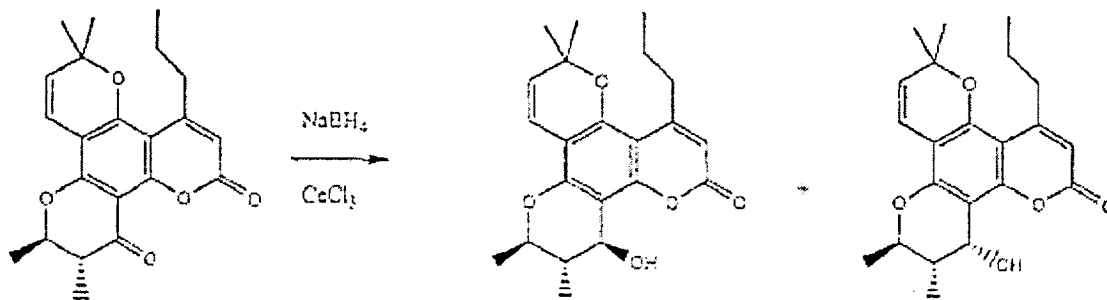
[0033]

评估	S.M.	HPLC 面积%		%收率
		6	14	
Q	SMC	98.2	1.4	46
J	SMC	97.4	2.0	46
K	SMD	97.2	2.2	45
L	SME	95.7	2.2	34
R	SME	97.6	1.1	47
N	SMF	97.7	0.41	24

[0034] 使用硼氢化钠在乙醇中进行 6 的还原得到胡桐素 A 和胡桐素 B 的混合物 (图 4)。在 -10 ~ -40℃ 下, 使用氯化铯 (Lucas 条件) 来得到相对于胡桐素 B 的 90% 胡桐素 A。在戊烷中, 使用带有 Daicel Chiralpak AD 柱的手性 HPLC 和 2.5% 甲醇来测定胡桐素异构体比例。采用此系统, 尽管偶而会观察到峰的分离, 但是通常将一种胡桐素 B 异构体与第一种胡桐素 A 异构体进行共同洗脱。通过对第二种, 总是分离的胡桐素 B 峰的面积百分比的增加来确定胡桐素 B 水平。

[0035] 图 4. 对胡桐素 A 的还原。

[0036]



[0037] (+, -)-6 (+, -)- 胡桐素 A (+, -)- 胡桐素 B

[0038] 本发明进一步包括胡桐素 A 和胡桐素 B 非对映体混合物中除去外消旋胡桐素 B 非对映体的方法,其中从胡桐素 A 合成的最后步骤中形成该混合物。方法包括如下步骤:1) 从甲苯中重复再结晶混合物中的胡桐素 B,和 2) 浓缩混合母液并从含水 2- 丙醇中再结晶残余物以分离精制外消旋胡桐素 A。

[0039] 现有技术使用色谱精制来从胡桐素 A 中分离胡桐素 B, Z. Q. Xu, M. T. Flavin, 和 D. Zembower ;U. S. 专利 6, 277, 879, 2001 年 8 月 21 日。然后,使用手性固定相的额外色谱分离来从所需 (+)- 胡桐素 A 中分离出 (-)- 胡桐素 A 是必须的。因此,需要两个色谱分离以从 Luche 还原的产物中分离出所需的 (+)- 胡桐素 A。典型地,大规模色谱分离要比通过结晶的分离更为冗长和不经济。

[0040] 通过消耗胡桐素 B 中的母液,根据本发明方法的分离固体的重复再结晶可以得到至多 50/50 的胡桐素 A 和胡桐素 B 的混合物。将被发现可减少分离固体中的胡桐素 B 水平但不会达到在单独分离方法中可使用的水平的含水 2- 丙醇用于从母液中分离精制的外消旋胡桐素 A。使用此方法从包含 10.6% 胡桐素 B 的进料中得到 98.2% 的纯外消旋胡桐素 A 的 66% 回收率。

[0041] 酮 6 在乙醇反应溶剂中具有低的溶解度,故反应混合物在整个还原反应期间保持为淤浆。甲苯的加入可得到酮的初始溶液,但反应在 -20°C 的反应温度下是不完全的;在几个小时内升至室温可以完全还原,及形成 15-20% 的胡桐素 B。在 -60 ~ -70°C 下,使用或不使用 THF 作为助溶剂的反应都是不完全的反应直到升至室温。在这些条件下胡桐素 B 的水平是大约 10%。

[0042] 在乙醇中使用粉状硼氢化钠的还原反应在 -20°C 下搅拌过夜之后是完全的。在使用丙酮的过量硼氢化物进行骤冷之后,将反应混合物倾入含水氯化铵并用甲苯对产物进行萃取。将溶液通过硫酸镁干燥,过滤,和除去溶剂以得到油。加入庚烷以得到固体。表 4 中显示出反应混合物的胡桐素 B 水平。

[0043] 可以使用各种溶剂从产物油中结晶出外消旋胡桐素 A。结果见表 4。使用如丙酮和甲乙酮的酮溶剂可使产物分解,如溶液颜色变深以及由 HPLC 分析观察到的杂质水平的增加予以证明。也可以在甲醇中观察到分解,其中在母液中发现杂质水平的增加。

[0044] 表 4. 外消旋胡桐素 A 的结晶。

[0045]

评估	溶剂	%胡桐素 B			收率
		反应混合物	分离的	母液	
S	甲醇	8.6	22.4	2.5	20%
T	甲苯	12.6	26.3	2.9	35%
U	MTBE	11.3	18.7		38%
	第二批		2.2	12.9	35%
V	庚烷	11.1	11.8	4.8	84%

[0046] 发现结晶会增加分离固体中的胡桐素 B 水平,且由此降低母液中的水平。第二批

MTBE 结晶母液提供包含 2.2% 的胡桐素 B 的外消旋胡桐素 A 的 35% 收率。庚烷会得到良好的回收率而对胡桐素 B 水平没有大的影响。

[0047] 发现从甲醇、甲苯、和甲基叔丁基醚中结晶出外消旋胡桐素 A 会增加胡桐素 B 在分离固体中的比例,因而降低母液中的比例。发现从甲苯中结晶出包含至少 10% 胡桐素 B 的外消旋胡桐素而具有增加数量,至多大约 50% 的胡桐素 B。通过 HPLC 分析在 $\lambda = 312\text{nm}$ 下确定得到的 A 对 B 的比例。另外,由质子光谱的积分测量非对映体比例;对于胡桐素 A 和胡桐素 B,在含醇碳上的氢峰分别在 3.92 和 4.25ppm。HPLC 和 NMR 分析显示出非对映体的相同比例,确定了胡桐素 A 和胡桐素 B 的摩尔比以及当量 UV 响应因子。将得自甲苯结晶的结果总结在表 5 中。

[0048] 表 5. 外消旋胡桐素 A 的甲苯结晶。

[0049]

评估	T℃	g Tol 每 g	HPLC 面积%						%收 率
			初始材料		分离的		母液		
			Cal A	Cal B	Cal A	Cal B	Cal A	Cal B	
T	23	1.3	87.40	12.60	73.70	26.30	97.10	2.90	35
W	25	3.7	79.80	19.70	54.80	43.60	86.50	13.20	14
X	25	7.2	91.20	8.80	94.26	5.74	90.24	9.72	10
Y	23	3.7	79.46	20.25	55.10	44.00	89.70	9.90	27
Z	-8	3.0	79.46	20.25	60.31	39.69	97.64	1.88	47
AA	1	3.0	87.67	12.32	74.75	25.25	95.44	3.93	31
BB	8	3.0	79.46	20.25	60.50	39.00	93.64	5.45	41
CC	1	4.0	60.50	39.00	48.00	51.62	89.98	9.94	62

[0050] 当通过降低分离温度或增加浓度,使母液中的胡桐素 B 水平下降到 2% 时,胡桐素 A 到分离固体的损失会增加。例如,比较试验评估 Y 和 Z,通过比评估 Z 中多分离出大约 20%,分离固体中胡桐素水平从 55.1% 增加到 60.3%,在母液中留下小于 2% 的胡桐素 B。当初始材料包含 8.8% 胡桐素 B (评估 X) 时,得到低回收率的在分离固体中消耗的胡桐素 B。

[0051] 根据加载和分离的数量和非对映体比例计算,表 6 的胡桐素 A 和 B 在甲苯结晶母液中的浓度并不随温度显著变化。随温度的降低,胡桐素 B 在溶液中的浓度从大约 2% 降至小于 0.5%。对于外消旋胡桐素 A 和非对映体混合物来说,在 24.5°C 下的溶解度分别是 13.3 和 3.3wt%,在 5°C 下的溶解度分别是 5.1 和 1.6wt%。纯的外消旋化合物具有大约四倍于混合物的溶解度。

[0052] 从甲苯中得到的分离固体的熔点会受到胡桐素 B 水平的影响 (表 6)。发现具有最高水平胡桐素 B 的材料具有最高的熔点。

[0053] 表 6. 从甲苯的外消旋胡桐素 A 和 B 混合物的熔点。

[0054]

评估	% Ca1A	% Ca1B	mp°C
CC	48.00	51.86	151-3
Y	55.12	43.97	145-6
AA	74.75	25.25	130-4
U	81.30	18.70	126-9
DD	90.97	5.54	103-5
EE	98.5	1.5	128-9

[0055] 还发现从含水 2- 丙醇中结晶外消旋胡桐素 A。与评估的其它溶剂不一样,将来自含水 2- 丙醇的固体会减少分离固体中的胡桐素 B 水平,而增加母液中的水平。

[0056] 从含水 2- 丙醇中得到的固体的显微镜测试显示出晶体形成为长,薄棒。由于其在 40°C 下真空干燥的同时会部分液化和固化,以形成硬化本体,所以最好在室温下干燥绒毛状白色湿饼。干燥样品的熔融范围为 113-117°C,且由卡尔费歇尔分析出包含 4.3wt% 水,建议材料可以形成水合物。1 : 1 摩尔的水合物包含 4.6wt% 水。

[0057] 测量含水 2- 丙醇中的外消旋胡桐素 A 在 20-50°C 的温度下的溶解度 (表 7)。在 50% 含水 2- 丙醇下,胡桐素 A 的溶解度平稳降低到小于 0.5wt%。在较低温度和较高水浓度下,发现低的溶解度会使得自含水 2- 丙醇的高回收率成为可能。

[0058] 表 7. 外消旋胡桐素 A 在含水 2- 丙醇中的溶解度。

[0059]

温度	[水]	[胡桐素 A]
23°C	5wt%	4.11wt%
23	10	2.84
23	15	2.07
31	15	3.34
41	15	5.78
51	15	10.3
23	20	1.78
23	25	1.21
31	25	1.80

温度	[水]	[胡桐素 A]
41	25	3.04
51	25	5.69
23	30	1.02
23	40	0.55
41	40	0.89
51	40	1.66
23	50	0.28

[0060] 在试图达到缓慢,选择性晶体生长中,通过降低温度和增加水浓度来缓慢达到过饱和点。然而,得到的选择性不足以形成单独通过此方法从胡桐素 A 中分离出胡桐素 B 的基础。胡桐素 B 浓度在母液中有所增加,而在分离的固体中仅观察到很小的降低。结果见表 8。

[0061] 表 8. 得自含水 2- 丙醇的结晶

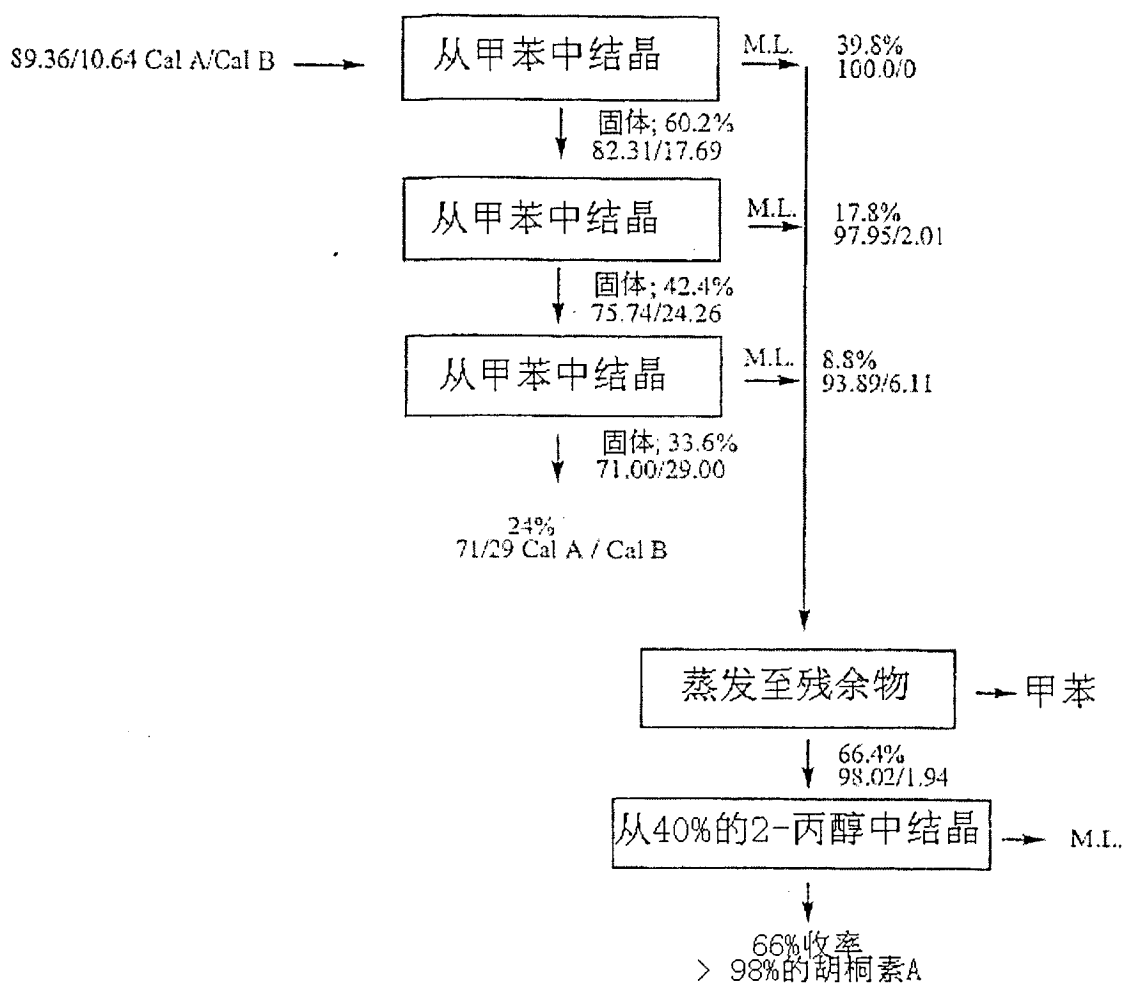
[0062]

评估	结晶条件	%Cal A/%Cal B			%收率
		起始材料	分离的	M.L	
KK	35℃下, 在 100min 内加入水到 30wt%。在 23℃下过滤	86.8/11.6	88.4/11.6	59.2/34.3	81
LL	在 0.1℃/cm 下将 15%含水物从 43℃冷却到 23℃	87.5/11.8	91.2/8.8	82.0/17.1	55
MM	50℃下, 在 4.8h 内加入水到 38wt%。在 50℃下过滤	87.5/11.8	90.8/9.2	76.6/20.5	67
PP	23℃下, 在 4.5h 内加入水到 15wt%。搅拌 3 天	87.5/11.8	91.3/8.7	78.7/20.2	71

[0063] 从胡桐素 B 中除去外消旋胡桐素 A 的总体分离方法描述于图 5 中。

[0064] 图 5. 由从甲苯的结晶的胡桐素 B 从胡桐素 A 的脱除。

[0065]



[0066] 将固体从甲苯中再结晶三次以得到包含 29% 胡桐素 B 的材料为结果。在图 5 中所包括的是以每个物流的胡桐素 A/ 胡桐素 B 比例来计算的, 每个级分的起始材料的总数量的百分比。母液中收集的数量对于每次再结晶下降两倍, 以及母液中的胡桐素 B 水平会随每次再结晶增加。甲苯中的分离固体的总回收率是 24%。

[0067] 从 40% 的含水 2- 丙醇中结晶含 1.94% 胡桐素 B 的混合母液以得到包含 1.77% 胡桐素 B 的外消旋胡桐素 A 的 65.6% 回收率。在至多 40℃ 下进行真空干燥以得到通过卡尔费歇尔分析而含 4.26wt% 水的固体。

[0068] 根据非对映体混合物的结晶特性, 发现在胡桐素 A 对胡桐素 B 比例至多为大约 1/1 的混合物中, 甲苯能有效除去为结晶固体的胡桐素 B。这会减少母液中的胡桐素 B 水平, 在一些情况下, 直到小于 1%。通过甲苯中的重复再结晶和母液的收集, 从包含 10.6% 胡桐素 B 的进料中得到 98.2% 纯外消旋胡桐素 A 的 66% 回收率。含水 2- 丙醇用于从母液分离精制的外消旋胡桐素 A, 发现该含水 2- 丙醇会减少分离固体中的胡桐素 B 水平但没到达单独分离方法可用的水平。

[0069] 对两步骤可大规模使用的方法进行研究以使用与初始过程相似的收率生产且不需要两次色谱精制外消旋胡桐素 A。不需要分离且由此不要求精制中间体羟醛产物。此方法也不要求 Mitsunobu 反应和因此会消除除去 Mitsunobu 副产物的色谱的需求。从酮的硼氢化物还原得到的外消旋胡桐素 A 的结晶会增加分离固体中的胡桐素 B 水平, 由此降低母液中的胡桐素 B 水平。

实施例

[0070] 从 Aldrich Chemical, Alfa, 或 Fisher Scientific 得到原材料和溶剂。使用 Thomas Hoover 毛细管熔点设备测量熔点, 且其是未校准的。在 $\lambda = 312\text{nm}$ 下, 通过将 2-10 μL 溶于流动相的样品注入到 25cmx4.6mmDiazem Phenyl II 柱上, 在 1mL/min 下采用 68% 乙腈, 32% 由磷酸将 pH 调节到 2.5-3.5 的水 (体系 A) 洗脱而进行 HPLC 分析。或者, 使用具有 1.5mL/min 流量的如下物质的 25cmx4.6mm Zorbax SB-Phenyl 柱: 70% 乙腈, 30% 水由磷酸调节 pH 到 2.5-3.5 的水 (体系 B)。两种体系的近似保留时间见表 9。

[0071] 表 9. 反相 HPLC 保留时间。

[0072]

化合物	R. T. min 体系 A	R. T min 体系 B
<u>4</u>	10.9	4.9
<u>5</u>	6.3	2.7
<u>6</u>	8.2	3.2
<u>9</u>	6.3	2.5
<u>10</u>	7.6	3.0
胡桐素 A	7.5	7.2
胡桐素 B		6.7

[0073] 在 $\lambda = 312\text{nm}$ 下, 通过将 10 μL 溶于流动相的样品注入到 25cmx4.6mm Daicel Chiralpak AD 柱上且在 1mL/min 下使用戊烷中的 2.5vol% 甲醇洗脱而进行手性 HPLC 分析。在这些条件下, 胡桐素 A 异构体在 17.7 和 20.6 分钟洗脱, 而胡桐素 B 异构体在 17.7 和 24.7 分钟洗脱 (近似的保留时间)。

[0074] 实施例 1

[0075] 酮 6 的制备

[0076] 在氮气下, 向 1-L 带夹套的底部排料反应器中加入 44.4g (0.130mol) 苯并吡喃 4 (以下称为起始材料 D 或“SMD”) 和 835mL 二氯甲烷。将夹套急冷到 $-15 \sim -20^\circ\text{C}$ 。在 -18°C 的内部温度下, 在 50 分钟内滴加 51mL (0.47mol) 四氯化钛; 在加入期间达到的最大温度是 -15°C 。在 1 小时内滴加二异丙基乙胺 (60mL, 0.34mol); 达到的最大温度是 -5°C 。在大约 10 分钟内以三个 15mL 部分加入 45mL (0.80mol) 乙醛之前, 将黑色溶液在大约 -17°C 下搅拌 30 分钟。在加入期间达到的最大温度是 -5°C 。将暗色溶液在 -17°C 下搅拌 1 小时。将

溶液加入到含有 180g 氯化铵的 600mL 水中。使用含有 11mL37% 盐酸的 140mL 水洗涤下层有机相。HPLC 分析发现 95.8 面积%的 5 和 1.4 面积%的 4。使用 44g 硫酸镁干燥暗色溶液和过滤溶液。使用旋转蒸发器在 25℃的浴温度下除去溶剂。加入 THF (70g), 和除去溶剂直至 91.3g 的残余油。在 1-L 圆底烧瓶中的 620gTHF 中溶解油, 和通过加入 45g (0.38mol) 二甲基甲酰胺二甲基乙缩醛来在冰浴中急冷溶液。在室温下搅拌过夜之后, HPLC 分析发现 3.0 面积%的 9、9.6 面积%的 10、和 47.6 面积%的 6。在冰浴中冷却混合物, 且加入 60mL 饱和盐水和 90mL 水。排出下层水相, 使用旋转蒸发器在 25℃的浴温度下从有机相中除去溶剂直至 107.8g 的残余物。使用 54g 三乙胺处理残余物, 且除去溶剂直至 99g 的残余物。将暗红色半固体残余物溶于含有 12g 叔戊醇的 130g 三乙胺, 并将混合物转移到 1-L 底部排料带夹套的反应器中。HPLC 分析发现 25.2 面积%的 10 和 59.3 面积%的 6。在将淤浆升温至 40℃和搅拌 8 小时之后, HPLC 分析发现 11.5 面积%的 10 和 77.0 面积%的 6。上层清液的 HPLC 分析发现 26.9 面积%的 10 和 55.8 面积%的 6。在将固体由真空过滤分离和使用 10g 叔戊醇洗涤之前, 将淤浆冷却到 20℃且搅拌 3 小时。分离固体的 HPLC 分析发现 93.2 面积%的 6 和 5.6 面积%的 10; 母液包含 19.4 面积%的 10 和 31.5 面积%的 6。将湿饼 (24.7g) 加入到具有 75.8g 乙醇 2B 的 250-mL 圆底烧瓶中, 并将淤浆升温至回流, 然后在冰浴中冷却。将固体由真空过滤分离并使用 10g 乙醇 2B 清洗以得到 22.51g 的 6 (95.9 面积%的 6, 3.4 面积%的 10)。乙醇母液包含 55.1 面积%的 10 和 33.1 面积%的 6。使用 78g 乙醇 2B 在回流下二次处理固体以提供 21.45g 的 6 (0.0582mol, 45% 收率, 97.2 面积%的 6, 2.2 面积%的 10)。乙醇母液包含 43.3 面积%的 10 和 48.6 面积%的 6。

[0077] 实施例 2

[0078] 外消旋胡桐素 A 的制备

[0079] 向具有顶部搅拌器和氮气鼓泡器的 1-L 底部排料反应器中加入 21.4g 通过以上制备的 6 (0.0578mol, 97.2 面积%的 6, 2.2 面积%的 10), 34.4g (0.092mol) 氯化铯七水合物, 和 206g 乙醇 2B。将淤浆冷却到 -18℃的内部温度, 并在大约 30 分钟内以三个大约相等的部分加入 3.38g (0.0893mol) 的粉状硼氢化钠。在加入期间达到的最大温度是 -16℃。在加入之后 30 分钟进行的 HPLC 分析发现 72.7 面积%胡桐素和 26.4 面积%的 6。在 -18℃下 4 小时之后, 水平分别是 96.5 和 2.3 面积%。将淤浆在相同的温度下搅拌过夜, 然后通过加入 10mL 丙酮进行骤冷。将反应混合物加入到含有 35g 氯化铵的 350mL 水中, 并用 350mL 甲苯萃取产物。手性 HPLC 分析发现 48.6 面积%胡桐素 A 和胡桐素 B (一个峰), 44.0 面积%胡桐素 A, 和 5.6 面积%胡桐素 B。用 20g 硫酸镁干燥甲苯溶液, 过滤混合物, 和由旋转蒸发除去溶剂以得到 22.89g 的黄色油。在室温下加入 60mL 甲基叔丁基醚 (MTBE) 得到淤浆。将淤浆在冰浴中急冷并将产物由真空过滤分离和使用 10mL MTBE 清洗以提供 8.27g (0.0222mol, 38% 收率) (+/-)- 胡桐素 A (反相 HPLC : 99.0 面积%; 手性 HPLC : 48.9 面积%胡桐素 A 和胡桐素 B (一个峰), 41.7 面积%胡桐素 A, 和 9.35 面积%胡桐素 B)。将母液浓缩至大约 1/2 体积以提供第二批的 7.54g (0.0202mol, 35% 收率) (+/-)- 胡桐素 A (反相 HPLC : 99.8 面积%; 手性 HPLC : 49.1 面积%胡桐素 A 和胡桐素 B (一个峰), 49.1 面积%胡桐素 A 和 1.1 面积%胡桐素 B)。最终母液残余物重 3.0g (反相 HPLC : 88.4 面积%胡桐素 A; 手性 HPLC : 33.7 面积%胡桐素 A 和胡桐素 B (一个峰), 28.0 面积%胡桐素 A, 和 4.2 面积%胡桐素 B)。

[0080] 实施例 3

[0081] 通过结晶从胡桐素 A 中除去胡桐素 B

[0082] 向具有顶部搅拌器的 1-L 底部排料的带夹套反应器中加入 49.4g 外消旋胡桐素 A (89.36 面积%胡桐素 A, 10.64 面积%胡桐素 B) 和 150g 甲苯。将混合物加热到 50℃ 以得到溶液, 然后在 0.1℃ /min 的速率下冷却到 -8℃ 且保持 5 小时。上层清液的 HPLC 分析发现 100 面积%胡桐素 A。将固体由真空过滤分离和使用 14g 甲苯清洗以得到 26.96g 湿饼 (82.31 面积%胡桐素 A, 17.69 面积%胡桐素 B)。将母液 (99.90 面积%胡桐素 A) 蒸发直至 20.8g 的残余物。将 26.96g 甲苯湿饼与 76g 甲苯一起加入到 1-L 反应器并加热到 50℃ 以得到溶液。将溶液在 1℃ /min 的速率下冷却到 25℃。在大约 33℃ 下开始结晶。将淤浆在 0.5℃ /min 下冷却到 -8℃ 并保持大约 1 小时。上层清液的 HPLC 分析发现 98.27 面积%胡桐素 A 和 1.69 面积%胡桐素 B。将固体由真空过滤分离并使用 7g 甲苯清洗以得到 22.81g 湿饼 (75.74 面积%胡桐素 A, 24.26 面积%胡桐素 B)。将母液 (97.95 面积%胡桐素 A, 2.01 面积%胡桐素 B) 与先前的母液混合和蒸发直至 32.1g 的残余物。将 22.81g 湿饼与 75g 甲苯一起加入 1-L 反应器中并加热到 50℃ 以得到溶液, 然后冷却到 25℃ 以得到淤浆。在 0.1℃ /min 的速率下冷却淤浆到 -9℃ 并保持 9 小时。上层清液的 HPLC 分析发现 95.84 面积%胡桐素 A 和 4.17 面积%胡桐素 B。将固体由真空过滤分离, 使用 7g 甲苯洗涤, 和在 40℃、真空下干燥以得到 11.96g (24wt% 回收率, 71.00 面积%胡桐素 A, 29.00 面积%胡桐素 B)。将母液 (93.89 面积%胡桐素 A, 6.11 面积%胡桐素 B) 与先前的母液混合并蒸发直至 39.0g 的残余物 (98.02 面积%胡桐素 A, 1.94 面积%胡桐素 B)。向具有顶部搅拌的 500-mL 圆底烧瓶中的此固体中加入 200g 的 2-丙醇, 并将混合物升温到 50℃ 以得到轻淤浆。在 30 分钟内滴加水 (130mL) 以得到白色淤浆。在冰浴中急冷淤浆并将固体由真空过滤收集, 使用 20g 的 60% 含水 2-丙醇洗涤, 且先在室温, 然后在 40℃ 下抽真空以得到 33.89g 外消旋胡桐素 A (通过卡尔费歇尔的 4.26wt% 水, 对于水含量校准的 65.6% 回收率, 98.23 面积%胡桐素 A, 1.77 面积%胡桐素 B, mp 113-7℃)。将母液和洗涤溶液 (91.00 面积%胡桐素 A, 6.58 面积%胡桐素 B) 蒸发以得到 1.5g 的残余物。