



(21)申请号 201711428819.8

(22)申请日 2017.12.26

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 108033902 A

(43)申请公布日 2018.05.15

(73)专利权人 深圳万乐药业有限公司

地址 518118 广东省深圳市坪山新区兰竹
东路国家生物医药产业基地万乐药业
大厦

(72)发明人 李昌希 张莉 罗灿洲 于玉根
阮美珍 孙鹏杰

(51)Int.Cl.

C07C 303/40(2006.01)

C07C 311/21(2006.01)

审查员 陆悠玲

权利要求书2页 说明书5页

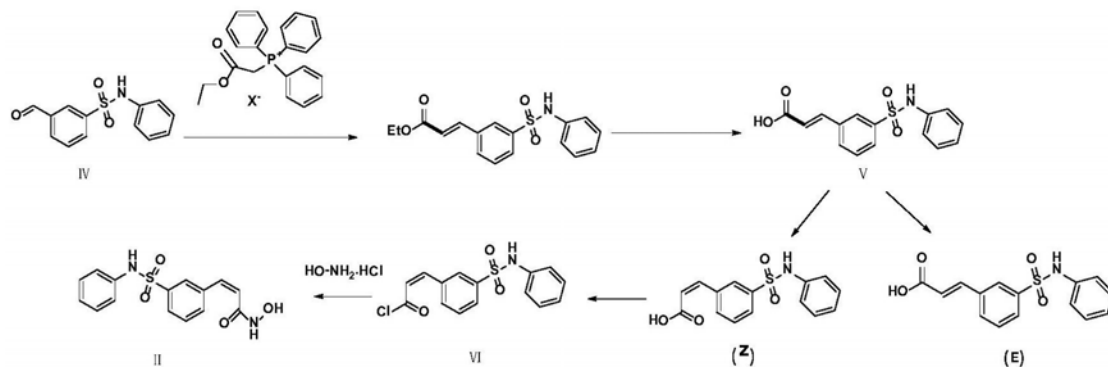
(54)发明名称

一种高纯度贝利司他顺式异构体的制备方法

(57)摘要

本发明提供了一种贝利司他顺式异构体的制备方法,该方法以3-苯基氨基磺酰基苯甲醛为起始原料,经Wittig缩合反应、水解后,对水解中间体产物进行拆分并分离纯化得到的顺式的水解中间体进行氯化、羟胺缩合反应得到化合物II粗品,经溶剂打浆纯化可得到纯度98%以上的贝利司他顺式异构体。该方法操作简便,收率较高,无需制备液相分离纯化,得到的贝利司他顺式异构体能够作为杂质对照品用于贝利司他有关物质的检查。

1. 一种贝利司他顺式异构体的制备方法,其特征在于,采用以下合成路线:



具体包含以下步骤:

步骤1): 化合物IV与Wittig试剂、碱试剂在极性质子溶剂中进行Wittig缩合反应,所述Wittig试剂可选自乙氧甲酰基甲基三苯基氯化膦、乙氧甲酰基甲基三苯基溴化膦或乙氧甲酰基甲基三苯基碘化膦,所述极性质子溶剂可选自甲醇、乙醇或异丙醇,所述碱试剂可选自甲醇钠、乙醇钠、叔丁醇钾,反应完毕后在反应液中加碱水解后得到化合物V,水解所用碱选自氢氧化锂,氢氧化钠,氢氧化钾;

步骤2): 对水解所得的化合物V用拆分试剂苯胺及拆分溶剂二氯甲烷拆分除去大部分E构型化合物V,然后用稀硫酸溶液解离,对所得固体采用重结晶方法纯化,得到Z构型化合物V;

其中,所述拆分试剂苯胺使用量与化合物V的摩尔比为1~2:1,稀硫酸浓度为5~15%,解离时间为3~6小时;

所述重结晶溶剂选择乙酸乙酯和石油醚的混合溶剂,当拆分所得产品的Z构型化合物V含量 $\geq 92\%$ 时,采用体积比为3:2的乙酸乙酯/石油醚混合溶剂重结晶;当拆分所得产品的Z构型化合物V含量 $< 92\%$ 且 $\geq 90\%$ 时,采用体积比为5:4的乙酸乙酯/石油醚混合溶剂重结晶至Z构型化合物V $\geq 92\%$,再用体积比为3:2的乙酸乙酯/石油醚混合溶剂重结晶;当产品中Z构型化合物V的含量 $< 90\%$ 且 $\geq 80\%$ 时,采用乙酸乙酯/石油醚体积比14:8进行重结晶使E构型的化合物V析出,而Z构型的化合物V留在溶液中,过滤后将滤液浓缩除去溶剂,再用体积比为3:2的乙酸乙酯/石油醚混合溶剂重结晶;

步骤3): 将Z构型化合物V先进行氯化反应得到化合物VI,再与盐酸羟胺在碱试剂存在下反应得到化合物II粗品;

步骤4): 将化合物II粗品用丙酮和石油醚混合溶剂打浆搅拌,过滤得到化合物II,所述丙酮、石油醚与化合物II粗品的体积重量比为4~7:6~10:1。

2. 根据权利要求1所述的制备方法,其特征在于步骤1)所述Wittig试剂为乙氧甲酰基甲基三苯基溴化膦,所述极性质子溶剂为甲醇,所述碱试剂为乙醇钠,水解所用的碱为氢氧化钠。

3. 根据权利要求1所述的制备方法,其特征在于步骤1)所述Wittig试剂与化合物IV的摩尔比为1~3:1,氢氧化钠与化合物IV的摩尔比为2~5:1。

4. 根据权利要求1所述的制备方法,其特征在于步骤2)所述拆分试剂苯胺使用量与化合物V的摩尔比1.5:1,稀硫酸浓度为10%,解离时间为4.5小时。

5. 根据权利要求1所述的制备方法,其特征在于所述步骤3)的氯化试剂选自草酰氯、氯

化亚砷或磺酰氯,所述碱试剂可选自碳酸氢钠、碳酸钠或碳酸钾。

6.根据权利要求1所述的制备方法,其特征在于步骤4)所述丙酮、石油醚与化合物Ⅱ粗品的体积重量比为6:8:1。

一种高纯度贝利司他顺式异构体的制备方法

技术领域

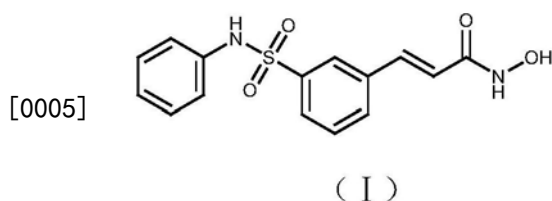
[0001] 本发明涉及药物化学领域,具体涉及的是抗肿瘤药物贝利司他顺式异构体的制备方法。

背景技术

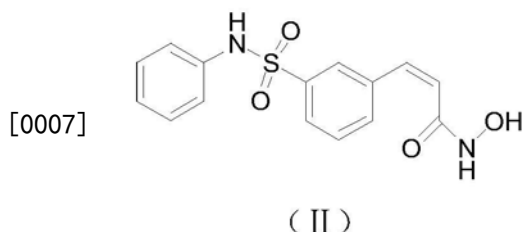
[0002] 贝利司他 (Belinostat, PXD101) 是由丹麦 Topotarget AS 公司开发的一种组蛋白脱乙酰基酶抑制剂 (HDACi)。组蛋白去乙酰化酶 (HDAC) 的过度表达或异常调控会使组蛋白过度去乙酰化,使染色质被重塑为抑制转录的构型,引起相应基因表达下降,导致癌变的产生,因此对 HDAC 的抑制作用被认为是具有发展前景的抗癌药物靶标。Belinostat 可以直接作用于基因异常表达这一环节,从而抑制和纠正肿瘤细胞过度增殖、异常分化,针对常见的耐药问题,还可以与其他作用机制的药物联合用药。Belinostat 能有效抑制结肠癌、肺癌、卵巢癌、骨髓瘤等实体瘤细胞的增殖,对白血病和淋巴瘤等血液系统的恶性肿瘤也有治疗作用。

[0003] 美国 FDA 于 2009 年 9 月指定 Belinostat 为孤儿药,列入快速审批通道,用于治疗复发或难治性外周 T 细胞淋巴瘤 (R/R PTCL), 欧盟于 2012 年 10 月也指定本品为孤儿药用于 PTCL。目前, Topotarget AS 及 Spectrum Pharmaceuticals 公司已完成 belinostat 治疗 PTCL 的 II 期临床试验,结果超过设计预期值。2013 年 12 月,原研公司向 FDA 提交 Belinostat 的 R/R PTCL 新药申请。2014 年 7 月 3 日, FDA 批准 Belinostat 用于治疗有外周 T 细胞淋巴瘤 (PTCL) 的患者,主要依据是研究表明,在接受了该药物治疗的患者中总缓解率达到了近 26%。

[0004] 贝利司他化学名为 (E)-N-羟基-3-(3-苯基氨基磺酰基苯基) 丙烯酰胺,其结构式如下:



[0006] 贝利司他存在一个不对称的双键结构,合成中可能会产生其顺式异构体,结构式如下:



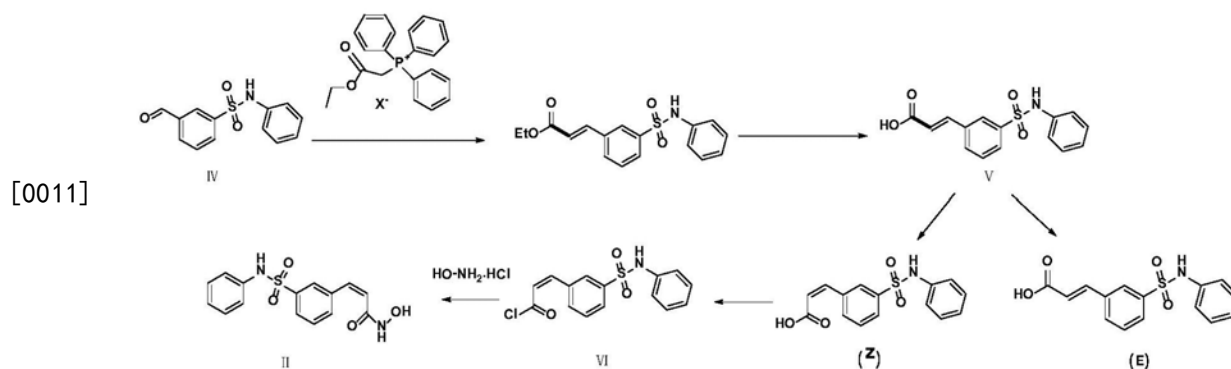
[0008] 贝利司他结构式为 E 型,其顺式异构体为 Z 型。为了严格控制药品质量,保证其临床用药的安全有效,在建立贝利司他有关物质的检查方法的同时,需要高纯度 (98% 以上) 的顺式异构体化合物 II 作为杂质对照。现有已报道的贝利司他的合成方法产生的顺式异构体

化合物Ⅱ极少,且该异构体与贝利司他采用传统纯化方法如重结晶和硅胶柱层析难以将其分开,因此制备得到纯度高符合杂质对照品要求的化合物Ⅱ异构体具有一定的难度。中国专利201510955815.X公开了一种贝利司他顺式异构体的制备方法,该方法经Wittig缩合反应、水解、氯化反应、羟胺缩合反应得到贝利司他和贝利司他顺式异构体混合物后,采用反相高效液相色谱法进行分离纯化,通过梯度洗脱得到纯度99%的贝利司他顺式异构体。该方法虽然能够得到高纯度的贝利司他顺式异构体,但收率太少,需使用价格昂贵的制备液相色谱仪器,制备成本太高。因此有必要对贝利司他顺式异构体的制备方法做进一步研究。

发明内容

[0009] 本发明提供了一种贝利司他顺式异构体的制备方法,该方法操作简便,收率较高,无需制备液相分离纯化,得到的贝利司他顺式异构体能够作为杂质对照品用于贝利司他有关物质的检查。

[0010] 本发明提供的一种贝利司他顺式异构体的制备方法,其特征在于,采用以下合成路线:



[0012] 具体包含以下步骤:

[0013] 步骤1): 化合物Ⅳ与Wittig试剂、碱试剂在极性质子溶剂中进行Wittig缩合反应, 所述Wittig试剂可选自乙氧甲酰基甲基三苯基氯化膦、乙氧甲酰基甲基三苯基溴化膦或乙氧甲酰基甲基三苯基碘化膦, 所述极性质子溶剂可选自甲醇、乙醇或异丙醇, 所述碱试剂可选自甲醇钠、乙醇钠、叔丁醇钾, 反应完毕后在反应液中加碱水解后得到化合物Ⅴ, 水解所用碱选自氢氧化锂, 氢氧化钠, 氢氧化钾;

[0014] 步骤2): 对水解所得的化合物Ⅴ用拆分试剂苯胺及拆分溶剂为二氯甲烷拆分除去大部分E构型化合物Ⅴ, 然后用稀硫酸溶液解离, 对所得固体采用重结晶方法纯化, 得到高纯度Z构型化合物Ⅴ, 所述重结晶溶剂选择乙酸乙酯和石油醚的混合溶剂;

[0015] 步骤3): 将Z构型化合物Ⅴ先进行氯化反应得到化合物Ⅵ, 再与盐酸羟胺在碱试剂存在下反应得到化合物Ⅱ粗品;

[0016] 步骤4): 将化合物Ⅱ粗品用石油醚和乙酸乙酯混合溶剂打浆搅拌, 过滤得到化合物Ⅱ。

[0017] 其中, 步骤1) 所述Wittig试剂优选乙氧甲酰基甲基三苯基溴化膦, 所述极性质子溶剂优选甲醇, 所述碱试剂优选乙醇钠, Wittig试剂与化合物Ⅳ的摩尔比为1~3:1, 优选1.5:1; 水解所用的碱优选氢氧化钠, 氢氧化钠与化合物Ⅳ的摩尔比为2~5:1, 优选3:1。

[0018] 步骤2) 所述拆分方法为将水解所得的化合物Ⅴ溶解于二氯甲烷中, 加入苯胺使E

构型的化合物V与苯胺结合形成固体过滤除去,滤液浓缩后,用稀硫酸将其中的Z构型化合物V进行解离反应,析出固体过滤得到Z构型化合物V粗品。若析出固体量少,可使用乙酸乙酯对滤液萃取,然后干燥,浓缩得到固体。

[0019] 步骤2)所述苯胺使用量与化合物V的摩尔比1~2:1,优选1.5:1。使用苯胺拆分时,化合物V成盐前和成盐后在液相上的保留时间是一致的,无法通过液相判断是否解离完全,因此拆分后解离产生Z构型化合物V固体的情况跟解离条件包括解离时间和解离所用的硫酸的量关系较大。发明人采用苯胺化合物V的摩尔比1.5:1,考察稀盐酸质量百分比浓度对及解离反应时间对化合物V (E/Z=73:27)拆分后Z构型化合物V产生情况的影响,具体情况见下表1及表2:

[0020]	稀硫酸浓度	反应时间	产物结果
	5%	4.5h	(E/Z)=10:90,收率14%
	10%	4.5h	(E/Z)=8:92,收率18%
	15%	4.5h	(E/Z)=9:91,收率17%
	20%	4.5h	(E/Z)=15:85,收率14%
	25%	4.5h	(E/Z)=18:82,收率11%

[0021] 表1

[0022]	稀硫酸浓度	解离反应时间	产物结果
	10%	1.5h	收率7% (E/Z)=10:90
	10%	3.0h	收率11% (E/Z)=9:91
	10%	4.5h	收率19% (E/Z)=10:92
	10%	6.0h	收率13%, (E/Z)=10:90
	10%	6.5h	收率12%, (E/Z)=15:85

[0023] 表2

[0024] 根据表1结果可知,稀硫酸浓度在5~15%时,Z构型化合物V的拆分收率和产物中E构型产物较少,而稀硫酸浓度高于15%,则出现产物中E构型化合物V增多的情况。根据表2结果可知,解离反应时间在3~6小时产物结果最优,4.5小时产物收率最高。小于3小时收率太低,解离时间大于6小时则出现E构型化合物V大幅增多的情况。考虑Z构型化合物V不稳定,有向E构型转化的趋势,稀硫酸的浓度和解离反应时间是影响该转化现象的关键因素,出现转化现象则无法析出Z构型化合物V固体,影响后续操作。

[0025] 步骤2)所述重结晶是对拆分得到的Z构型化合物V粗品进行纯化。发明人采用拆分后Z构型化合物V含量为92%以上的粗品进行重结晶溶剂的筛选考察,化合物V与重结晶溶剂的质量体积比在1:10~25,溶剂筛选结果见表3。

[0026]	纯化溶剂组合	溶剂体积比	纯化结果
	乙酸乙酯/石油醚	1:1	(E/Z)=6:94
	乙酸乙酯/石油醚	3:2	(E/Z)=2:98
	乙酸乙酯/石油醚	2:3	(E/Z)=4:96
	甲醇/异丙醚	1:2	无法析出
	丙酮/石油醚	1:1	(E/Z)=6:94

丙酮/石油醚	1:2	(E/Z) = 6:94
丙酮/石油醚	1:1	(E/Z) = 7:93
乙腈/石油醚	1:1	(E/Z) = 8:92

[0027] 表3

[0028] 从表3结果可知,当拆分所的产品Z构型化合物V含量为92%以上时,乙酸乙酯和石油醚混合溶剂对Z构型化合物V重结晶纯化效果好,其中当乙酸乙酯和石油醚体积比为3:2时,纯度提高最明显,得到的重结晶产品中Z构型化合物V的含量能达到98%。采用乙腈和石油醚的混合溶剂重结晶不能提高产品中Z构型化合物V的含量,采用含有甲醇的混合溶剂则无法析出结晶。

[0029] 而当拆分得到的粗品的Z构型化合物V的含量 $<92\%$ 且 $\geq 80\%$ 时,可采用乙酸乙酯和石油醚进行重结晶一次或两次,使Z构型化合物V含量达到98%以上。拆分后不同Z构型化合物V的含量的产品采用纯化溶剂的情况如下表:

化合物V (Z) 的含量	使用纯化溶剂比	析出的固体构型
Z构型含量90%	乙酸乙酯:石油醚=5:4	(E/Z) = 8:92大部分是Z构型
Z构型含量88%	乙酸乙酯:石油醚=7:4	(E/Z) = 95:5大部分是E构型
Z构型含量84%	乙酸乙酯:石油醚=7:4	(E/Z) = 93:7大部分是E构型
Z构型含量80%	乙酸乙酯:石油醚=7:4	(E/Z) = 92:8大部分是E构型

[0031] 表4

[0032] 当产品中Z构型化合物V的含量 $<92\%$ 且 $\geq 90\%$ 时,直接用乙酸乙酯/石油醚(3:2)重结晶纯化效果不明显,需用乙酸乙酯:石油醚(5:4)重结晶,才能使析出固体纯度提高至(E/Z) = 8:92;当产品中Z构型化合物V的含量 $<90\%$ 且 $\geq 80\%$ 时,采用乙酸乙酯/石油醚体积比7:4进行重结晶可使E构型的化合物V析出,而Z构型的化合物V留在溶液中,过滤后将滤液浓缩除去溶剂。上述两种情况操作完成后再用乙酸乙酯/石油醚(3:2)重结晶。通过以上操作,拆分得到的粗品的Z构型化合物V的含量 $\geq 80\%$ 且 $<92\%$ 时,也能够得到含量达到98%以上的Z构型化合物V。

[0033] 步骤3)所述氯化试剂选自草酰氯、氯化亚砷或磺酰氯,优选草酰氯,氯化试剂与Z构型化合物V的摩尔比2~5:1,优选3:1;碱试剂可选自碳酸氢钠、碳酸钠或碳酸钾,优选碳酸钾,碳酸钾与化合物VI的摩尔比为2~5:1,优选4:1;盐酸羟胺与化合物VI的摩尔比为5~20:1,优选10:1。步骤3)得到的化合物II粗品由于含有残留的乙酸乙酯而呈油状,可加入二氯甲烷搅拌均匀后用室温下减压旋蒸的方式除去全部溶剂使产物形成固态。

[0034] 步骤4)所述纯化方法为溶剂打浆的方法,使杂质溶解在溶剂中过滤除去,发明人采用丙酮和石油醚的组合溶剂能够得到纯度、形态符合要求的产品,所述丙酮、石油醚与化合物II粗品的体积重量比为4~7:6~10:1,优选6:8:1。可重复上述打浆操作至产品纯度合格。

[0035] 本发明提供了一种贝利司他顺式异构体的制备方法,该方法以3-苯基氨基磺酰基苯甲醛(化合物IV)为起始原料,经Wittig缩合反应、水解后,对水解中间体产物进行拆分并分离纯化得到的顺式的水解中间体进行氯化、羟胺缩合反应得到化合物II粗品,经溶剂打浆纯化可得到纯度98%以上的贝利司他顺式异构体(化合物II)。其中对水解中间体拆分过程中发现解离时稀硫酸的浓度和时间是影响拆分收率和产物中Z构型的含量的关键因素,

另外,重结晶溶剂的选择也是对得到98%以上Z构型水解中间体的重要条件。拆分并纯化得到98%以上Z构型水解中间体后合成得到的贝利司他顺式异构体仅需溶剂打浆即可得到符合杂质对照品纯度要求的贝利司他顺式异构体。因此本发明无需昂贵的纯化设备,收率较高且操作简便。

[0036] 下面结合具体实施方式的实施例对本发明做进一步说明。

具体实施方式

[0037] 实施例1化合物V粗品的制备

[0038] 磷酸基乙酸三乙酯(28.38g,0.1266mol)加入反应器中,加入甲醇180mL,搅拌溶解,冷至-5-0℃,加入乙醇钠(15.61g,0.1984mol),加毕,搅拌10-20分钟,滴加入化合物IV(30g,0.1202mol)和甲醇(120mL)的溶液,于室温下搅拌1-4小时,反应毕,加入1M氢氧化钠溶液348ml和甲醇60ml,与室温下搅拌过夜,反应完毕后加入乙酸乙酯90ml,水180ml,搅拌15分钟,分相,弃乙酸乙酯相,水相用10%盐酸酸化至pH2,与室温下搅拌1小时,过滤,水洗,干燥,得化合物V粗品41g,收率70.7%。

[0039] 实施例2化合物V的纯化

[0040] 将化合物V粗品41g和二氯甲烷820ml混合到一起搅拌,滴加苯胺19ml,搅拌过夜,次日将E构型化合物V的结合物固体过滤掉,将含有Z构型化合物V结合物的滤液浓缩除去溶剂,加入10%的稀硫酸解离,反应4.5h,用200ml乙酸乙酯萃取,无水硫酸镁干燥,浓缩除去溶剂,得到固体8.1g。

[0041] 将得到的固体(E/Z=8:92)8.1g进行重结晶,用96ml乙酸乙酯溶解,滴加64ml石油醚析晶,搅拌2h之后过滤,得到纯度98%的Z构型化合物V5.0g,收率62.5%。

[0042] 实施例3化合物II粗品的制备

[0043] 化合物V(5.0g,0.0162mol)加入反应器中,加入THF 50mL,搅拌溶解,于室温下加入草酰氯(4.2mL,0.0486mol),加入1滴DMF,室温下反应1小时,备用,另取一反应瓶加入盐酸羟胺(11.3g,0.162mol)、THF 100mL、碳酸钠水溶液(6.87g/50mL),该混合液于室温下搅拌10分钟,然后加入备用液,于室温下搅拌1小时,反应毕,于室温下加入乙酸乙酯50mL、2M盐酸50mL,搅拌5分钟,分相,弃水相,有机层用水洗,饱和盐水洗,干燥、过滤、浓缩得油状物,用二氯甲烷30ml洗涤两次,20℃减压浓缩之后得到化合物II粗品2.6g(E/Z=5/95),收率49.5%。

[0044] 实施例4化合物II的纯化

[0045] 将化合物II粗品2.6g用丙酮16ml/石油醚21ml混合溶剂打浆2小时,过滤,重复上述操作一次,得到纯度99.0%化合物III的Z构型化合物0.5g,收率25%。