



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 03805177.X

[43] 公开日 2005 年 7 月 13 日

[11] 公开号 CN 1639182A

[22] 申请日 2003.2.17 [21] 申请号 03805177.X
[30] 优先权
[32] 2002. 3. 4 [33] US [31] 60/361,284
[86] 国际申请 PCT/IB2003/000595 2003.2.17
[87] 国际公布 WO2003/074541 英 2003.9.12
[85] 进入国家阶段日期 2004.9.3
[71] 申请人 辉瑞大药厂
地址 美国纽约州
[72] 发明人 J·E·萨恩斯
J·K·斯里兰盖姆

[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 顾颂邈

权利要求书 2 页 说明书 9 页

[54] 发明名称 5'-脱氧-5'-氯腺苷和 5'-脱氧-
5'-甲硫基腺苷的合成方法

[57] 摘要

描述了就地制备氯代腺苷的方法，其中使腺苷在一种非水性溶剂中与亚硫酸氯和吡啶反应，生成反应溶液；将该非水性溶剂用一种低级醇置换，向该反应溶液加入一种碱；将所得氯代腺苷过滤、洗涤和干燥。另外，描述了使用就地制备的氯代腺苷合成甲硫基腺苷的两步方法。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

- 1、就地制备氯代腺苷的方法，基本上由下列步骤组成：
 - (a)使腺苷在一种非水性溶剂中与亚硫酸氯和吡啶反应，生成反应溶液；
 - (b)用一种低级醇置换所述溶剂，并向所述反应溶液加入一种碱；
 - 和
 - (c)过滤、洗涤和干燥所得氯代腺苷。
- 2、根据权利要求1的方法，其中氯代腺苷的产率大于约70%。
- 3、根据权利要求1的方法，其中氯代腺苷的产率大于约90%。
- 4、制备甲硫基腺苷的方法，该方法由下列步骤组成：
 - (1)借助一步法制备氯代腺苷，该一步法基本上由下列步骤组成：
 - (a)使腺苷在一种非水性溶剂中与亚硫酸氯和吡啶反应，生成反应溶液；
 - (b)用一种低级醇置换所述溶剂，并向所述反应溶液加入一种碱；
 - (c)过滤、洗涤和干燥所得氯代腺苷；和
 - (2)将氯代腺苷转化为甲硫基腺苷。
- 5、根据权利要求1或4的方法，其中该非水性溶剂是四氢呋喃、乙腈、吡啶或其组合。
- 6、根据权利要求5的方法，其中该非水性溶剂是乙腈。
- 7、根据权利要求1或4的方法，其中该碱是碱金属碳酸盐或碳酸氢盐、碱性盐或氢氧化铵。
- 8、根据权利要求1或4的方法，其中借助这样一种方法将氯代腺苷转化为甲硫基腺苷，该方法包含使氯代腺苷与碱金属的甲硫醇化物在二甲基甲酰胺中反应。
- 9、根据权利要求8的方法，其中该碱金属的甲硫醇化物是甲硫醇钠或甲硫醇钾。
- 10、根据权利要求8的方法，其中借助这样一种方法将氯代腺苷转化为甲硫基腺苷，该方法包含：

(a) 向氯代腺苷中加入二甲基甲酰胺和碱金属的甲硫醇化物，生成第二反应溶液；

(b) 向所述第二反应溶液加入盐水；

(c) 调节第二反应溶液的 pH 至约 6.8 至约 7.2，生成浆液，过滤所述浆液，生成残余物；

(d) 将所述残余物用水研制；和

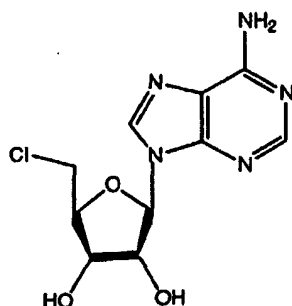
(e) 过滤和干燥所述残余物，得到甲硫基腺苷。

11、根据权利要求 10 的方法，其中该碱金属的甲硫醇化物是甲硫醇钠或甲硫醇钾。

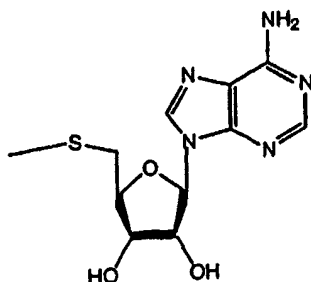
12、根据权利要求 11 的方法，其中该碱金属的甲硫醇化物是甲硫醇钠。

13、根据权利要求 4 或 10 任意一项的方法，其中甲硫基腺苷的产率大于约 80%。

14、由根据权利要求 1 的方法所制备的化合物



15、由根据权利要求 4 的方法所制备的化合物



5' -脱氧-5' -氯腺苷和 5' -脱氧-5' -甲硫基腺苷的合成方法

发明领域

本发明一般涉及腺苷衍生物的合成方法。确切而言，本发明涉及氯代腺苷和 5' -脱氧-5' -甲硫基腺苷（本文称之为“MTA”）的合成方法。

发明背景

MTA 已知也称维生素 L2，是生物甲基供体腺苷基甲硫氨酸的主要结构组分，它是在多种反应中由酶的裂解作用所生成的。MTA 是一种腺苷的衍生物，它促进乳汁的分泌，用在多种药学领域中。例如，MTA 是若干 S-腺苷基甲硫氨酸（本文称之为“SAM”）依赖性甲基化作用的抑制剂 (Law et al., Mol. Cell Biol., 12: 103-111, 1992)。MTA 也被报道是精胺与亚精胺合成的抑制剂 (Yamanaka et al., Cancer Res., 47: 1771-1774, 1987)。Vermeulen 等还公开了 MTA 作为甲基化作用抑制剂用于治疗非病毒性微生物感染 (U. S. 5, 872, 104)。MTA 还可以用作有助于修复结缔组织的 SAM 代谢产物类型 (U. S. 6, 271, 213 B1)。MTA 作为抗炎剂、解热剂、血小板抗聚集剂和睡眠诱导剂的治疗应用也是已知的，如美国专利 No. 4, 454, 122、4, 373, 122 和 4, 373, 097 所述。欧洲专利 No. 0387757 公开了采用 MTA 的组合物有利于患有斑秃的受治疗者的头发生长，欧洲专利 No. 0526866 公开了采用 MTA 的药物组合物制备物用于治疗局部缺血。另外，MTA 可以用作局部疾患的治疗剂，尤其是静脉曲张 (Tritapepe et al., Acta Therapeutica, 15: 299, 1989)。

有若干种方法可用于合成 MTA。例如，已经显示 MTA 是来自大肠杆菌的纯化酶制备物中的亚精胺生物合成产物。不过，不能在粗酶制备物中分离到 MTA，因为它被迅速代谢 (Tabor and Tabor, Pharmacol. Rev., 16: 245, 1964)。

若干美国专利也引用不同的合成方法用于生产 MTA。例如参见美国

专利 No. 4,454,122、4,373,097 和 4,948,783。

用在大多数生物化学研究中的 MTA 都是借助 SAM 的酸水解作用而得到的 (Arch. Biochem. Biophys., 75: 291, 1958; J. Biol. Chem. 233: 631, 1958)。不过, SAM 仅可在有限的数量上使用, 其成本是相当可观的。因此需要更经济的 MTA 合成方法。

用于生产 MTA 的两步合成法也是已知的。Kikugawa 等公开了用于生产 MTA 的两步合成法, 在含水氢氧化钠的存在下使氯代腺苷与烷基硫醇化剂反应 (Kikugawa et al., Journal of Medicinal Chemistry, Vol. 15, No. 4, 387-390, 1992)。不过, 由 Kikugawa 所报道的产率仅为 50-70% MTA。

Robins 等公开了用于生产 MTA 的合成方法, 在两步反应中经由中间体 5'-氯-5'-脱氧腺苷转化腺苷 (Robins, Morris and Wnuk, Stanislaw, Tetrahedron Letters, 29; 45, 5729-5732, 1988; 下称 "Robins I")。Robins I 公开了这样一种反应流程, 其中: (a) 使腺苷与亚硫酸氯和吡啶在乙腈中反应, 生成环状中间体, 然后与氨、甲醇和水反应, 得到 91% 氯代腺苷, (b) 向氯代腺苷加入 MeSH、氢氧化钠和二甲基甲酰胺 (DMF), 导致 MTA 的生成。不过, Robins I 没有公开进行合成的反应条件。

在随后的文章中, Robins 等公开了利用酰胺向 MTA 转化的三步法合成 MTA (Robins et al., Can. J. Chem., 69, 1468-1494, 1991; 下称 "Robins II")。由 Robins 所描述的三步法包括: (1) 将搅拌着的腺苷悬浮液用亚硫酸氯与吡啶的乙腈溶液在 0°C 下处理, 继之以温热至环境温度, 分离 5'-氯-5'-脱氧-2', 3'-O-亚磺酰基腺苷中间体的混合物; (2) 将所分离的中间体混合物用氨水的甲醇溶液在环境温度下处理, 以实现去保护, 得到氯代腺苷 (63%); 和 (3) 将氯代腺苷用亚硫酸氯的 DMF 溶液处理, 基于最初的原料而言, 仅得到 54% MTA。由 Robins II 所采用的制备氯代腺苷和 MTA 的方法是一种无效率的和昂贵的不连续方法。

因而, 提供更有效率的和经济的、高产率生产氯代腺苷和 MTA 的方法将是非常有益的。这些方法应当也能提供氯代腺苷和 MTA 的就地生产。

更经济的氯代腺苷合成方法也是需要的，因为氯代腺苷能够用于合成MTA和/或MTA类似物。

发明概述

本发明的一个方面涉及就地制备氯代腺苷的方法，该方法包括：

(a)使腺苷在一种非水性溶剂中与亚硫酸氯和吡啶反应，生成反应溶液；

(b)用一种低级醇置换该溶剂，向所述反应溶液加入一种碱；和

(c)过滤、洗涤和干燥所得氯代腺苷。

优选地，该非水性溶剂是四氢呋喃(THF)、乙腈或吡啶的任意一种或其组合，更优选为乙腈。

优选地，该低级醇是C₁-C₄醇的任意一种或其组合，更优选为甲醇。

优选地，该碱是碱金属碳酸盐和/或碳酸氢盐、碱性盐或氢氧化铵的任意一种或其组合，更优选为氢氧化铵。

优选地，反应溶液的pH在置换溶剂和加入碱之后约为8.8至9.8，更优选约为9。另外，优选地在置换溶剂和加入碱之后将反应溶液冷却至约0°C的温度。所得氯代腺苷的产率优选地大于约70%，更优选地大于约90%。

本发明的第二方面涉及制备MTA的两步反应过程。在该反应过程的第一步中，如上所述在一个步骤中制备氯代腺苷。在该反应过程的第二步中，将氯代腺苷转化为MTA。

在一种实施方式中，通过使氯代腺苷与碱金属的甲硫醇化物(alkali thiomethoxide)在二甲基甲酰胺中反应，将氯代腺苷转化为MTA。优选地，氯代腺苷是如下转化为MTA的：

(a)向氯代腺苷加入二甲基甲酰胺和碱金属的甲硫醇化物，生成第二反应溶液；

(b)向所述第二反应溶液加入盐水；

(c)调节第二反应溶液的pH至约6.8至约7.2，生成浆液，过滤，生成残余物；

(d)将残余物用水研制；和

(e) 过滤和干燥残余物，得到 MTA。

优选地，该碱金属的甲硫醇化物是甲硫醇钾或甲硫醇钠，更优选为甲硫醇钠。优选地，在过滤之前浆液的 pH 约为 7。

基于最初的原料而言，MTA 的产率优选地大于约 80%，更优选地大于约 85%。

本发明还涉及按照上述方法制备的氯代腺苷和 MTA。

因为在部分程度上腺苷向氯代腺苷的转化据信牵涉环状亚硫酸盐中间体向氯代腺苷的就地转化，所以本发明的方法比已知方法更有效率和经济地制备氯代腺苷和 MTA，导致更高的氯代腺苷和 MTA 产率。

本发明的其他方面、特征、实施方式和优点将因下列说明而显而易见，或者可以在实施或使用本发明中学习到。

发明的详细说明和优选的实施方式

本文所用的术语具有所定义的含义，另有指示除外。

本文所用的术语“包含”和“包括”表示开放式的、非限制性的含义。

短语“低级醇”意在表示低级烷基基团，也就是具有 1 至 4 个碳原子 (C_1 - C_4) 的烷基，其中至少一个氢原子被羟基 (-OH) 取代。短语“低级烷基”表示直链或支链烷基，在链中具有 1 至 4 个碳原子。示范性烷基包括甲基 (Me，也可以在结构上用 / 表示)、乙基 (Et)、正丙基、异丙基、丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基 (tBu) 等。

短语“非水性溶剂”表示基本上不含水分子的溶剂。一类普遍的非水性溶剂是有机溶剂。示范性非水性溶剂包括乙腈、吡啶、丙酮、二乙醚和四氢呋喃 (THF)。

术语“碱”表示与酸反应生成盐的化合物或者在水溶液中产生氢氧根离子的化合物。示范性碱包括碱金属碳酸盐和/或碳酸氢盐、碱性盐和氢氧化铵的任意一种或其组合。优选的碱包括但不限于氢氧化钾、氢氧化钠、氢氧化铵、碳酸钾和碳酸氢钠。

按照发明的一种实施方式，提供了就地合成氯代腺苷的方法。不受理论所限，据信氯代腺苷的合成经由环状亚硫酸盐中间体向氯代腺苷的

就地转化而进行。该方法包括使腺苷在非水性溶剂中的悬浮液与亚硫酰氯（优选约 3 当量）和吡啶（优选约 2 当量）反应。该反应优选地在约 -13°C 与约 -3°C 之间的温度下进行，更优选约 -8°C 。非水性溶剂可以是任意适合于该反应的非水性溶剂，优选为 THF、乙腈或吡啶的任意一种或其组合，更优选为乙腈。非水性溶剂优选地含量为约 4mL/g 。优选地将反应溶液温热至环境温度，例如约 15°C 至 25°C 的温度，同时搅拌，优选地达约 18 小时以上，更优选约 18 至 25 小时。

然后，停止搅拌，优选地使溶液的温度维持在环境温度，将非水性溶剂置换为低级醇。在一种实施方式中，非水性溶剂是这样被置换为低级醇的，向反应溶液加入水，除去非水性溶剂，再向溶液加入一种或多种低级醇。优选地，水的加入量约为 8mL/g 。优选地借助真空蒸馏作用除去非水性溶剂，温度为约 30°C 至约 40°C ，更优选为约 35°C 。加入到溶液中的低级醇优选地是 $\text{C}_1\text{-C}_4$ 醇的任意一种或其组合，更优选为甲醇。低级醇优选地加入量约为 3mL/g 至约 4mL/g ，更优选约为 3.5mL/g 。

然后，向反应溶液加入任意适合于该反应的碱，加入量优选约为 2mL/g 至约 2.5mL/g ，更优选为约 2.5mL/g 。碱优选地是碱金属碳酸盐和/或碳酸氢盐、碱性盐或氢氧化铵的任意一种或其组合，更优选为氢氧化铵。加入碱之后，优选地使溶液温度维持在约 35°C 至约 45°C ，更优选在约 35°C 至约 40°C 之间。所得溶液的 pH 优选为约 8.8 至约 9.8，更优选为约 9。将所得溶液搅拌，优选地达约 1 至约 2 小时，在此期间将溶液冷却至室温。

随后，从反应溶液中除去低级醇，优选地借助真空蒸馏作用，温度优选约为 30°C 至约 40°C ，更优选为约 35°C 。然后优选地将所得溶液冷却至约 -5°C 至约 5°C 的温度，更优选约 0°C ，达大约 1 小时，随后过滤。将所得氯代腺苷洗涤，优选地用适合的低级醇，例如冷的甲醇（优选 1mL/g ），干燥，温度优选为约 30°C 至约 45°C ，更优选为约 40°C ，优选达约 15 至约 25 小时，更优选约 18 小时。氯代腺苷产率优选地大于约 70%，更优选地大于约 90%。

在发明的另一种实施方式中，提供了制备 MTA 的方法，其中该方法

是一种两步法，能够在一个反应容器中进行。在第一步中，如上所述将腺苷转化为氯代腺苷。在第二步中，将氯代腺苷转化为 MTA。

在一种实施方式中，氯代腺苷向 MTA 的转化开始于使搅拌着的氯代腺苷的 DMF 悬浮液与碱金属的甲硫醇化物反应。DMF 优选地含量为约 5mL/g。碱金属的甲硫醇化物优选地是甲硫醇钠或甲硫醇钾的任意一种或其组合，更优选为甲硫醇钠。碱金属的甲硫醇化物优选地含量约为 2 至约 2.5 当量，更优选约为 2.2 当量。

将所得反应溶液搅拌，优选地达约 18 至约 25 小时，更优选地达约 18 小时，加入饱和盐水（优选约 15mL）。然后将溶液中和至约 6.8 至约 7.2 的 pH，优选地 pH 为约 7，导致浆液的生成。溶液可以这样被中和，例如加入浓 HCl 或任意其他适合的酸。然后将所得浆液冷却至约 -5°C 至约 5°C 的温度，优选约 0°C，搅拌约 1 至约 2 小时，优选约 1 小时，然后过滤。将所得残余物用水研制约 1 小时，过滤，干燥约 12 至约 22 小时，优选约 18 小时，温度为约 35°C 至约 45°C，优选为约 40°C，得到 MTA。基于最初的原料而言，MTA 的产率优选地大于约 80%，更优选地大于约 85%。

遍及本申请所采用的缩写具有下列含义，另有指示除外：

DMF：二甲基甲酰胺；MTA：甲硫基腺苷；SAM：S-腺苷基甲硫氨酸；THF：四氢呋喃；vol：体积。

实施例

材料和方法：

在下述方法中，除非另有指示，所有温度均为摄氏度(°C)，所有份数和百分比均按重量计，另有指示除外。

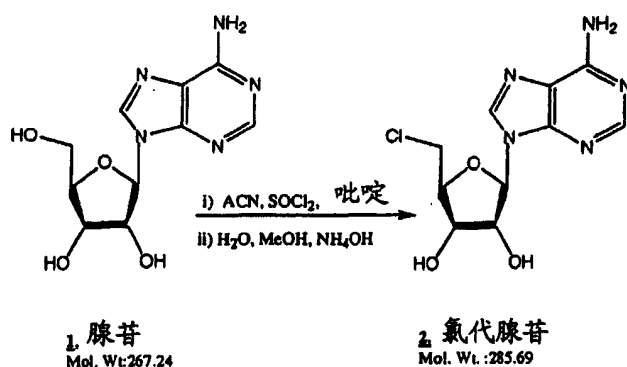
各种原料和其他试剂购自供应商，例如 Sigma-Aldrich Company。

质子磁共振(¹H NMR)光谱是用 Bruker DPX 300 或 General Electric QE-300 光谱计测定的，在 300 兆赫(MHz)的场强度下操作。化学漂移是按照从内部四甲基硅烷标准下移的百万分之份数(ppm)所报道的。作为替代选择，¹H NMR 光谱参照残留的质子溶剂信号如下：CHCl₃ = 7.26ppm；DMSO-d₆ = 2.49ppm。峰的多重性表示如下：s = 单峰；d = 双峰；dd =

双峰的双峰; ddd = 双峰的双峰的双峰; t = 三重峰; tt = 三重峰的重峰; q = 四重峰; br = 宽频共振; m = 多重峰。偶合常数以赫兹 (Hz) 数给出。红外吸收 (IR) 光谱是用 Perkin-Elmer 1600 系列 FTIR 光谱计获得的。元素微量分析是由 Atlantic Microlab Inc., Norcross, GA 进行的, 元素结果在理论值的 $\pm 0.4\%$ 内。快速柱色谱是用硅胶 60 (Merck Art 9385) 进行的。分析型薄层色谱 (TLC) 是用硅胶 60 F₂₅₄ (Merck Art 5719) 的预涂层板进行的。熔点 (mp) 是在 Mel-Temp 仪器上测定的, 并且是未校正的。所有反应都是在隔板密封的烧瓶中、在氩的稍微正压下进行的, 另有注解除外。所有商品试剂都是从它们各自的供应商处购得后直接使用的。

实施例 1

下列流程 1 阐述制备氯代腺苷 (化合物 2) 的优选方法。



流程 1

氯代腺苷的合成:

向装有机机械搅拌器和温度探头的 2 升 3 颈烧瓶中加入 400mL 乙腈, 继之以腺苷 (100g, 0.374mol)。搅拌所得浆液, 同时用冰/丙酮冷却至 -8°C 。然后历经 5 分钟向反应加入亚硫酰氯 (82mL, 1.124mol)。然后历经 40 分钟向反应滴加吡啶 (69.8mL, 0.749mol)。除去冰浴, 使温度上升至室温, 同时搅拌 18 小时。产物开始从溶液中沉淀出来。总计 18 小

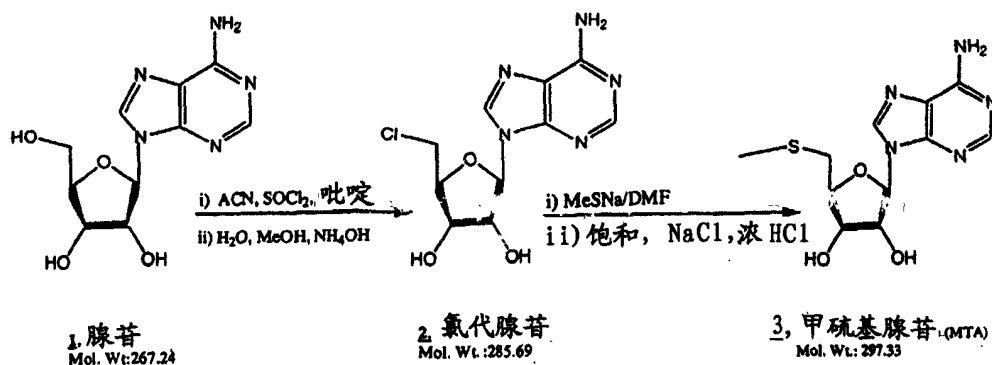
时后, 向反应滴加水(600mL)。借助 35°C 真空蒸馏除去乙腈。然后向反应加入甲醇(350mL)。将反应物剧烈搅拌, 滴加浓 NH_4OH (氢氧化铵)(225mL)。控制加入, 以维持温度低于 40°C。所得溶液的 pH 为 9。将所得溶液搅拌 1.5 小时, 使其冷却至室温。1.5 小时后, 借助 35°C 真空蒸馏除去 200mL 甲醇。将所得透明黄色溶液冷却至 0°C 达 1 小时, 然后过滤。将所得无色固体用冷甲醇(100mL)洗涤, 然后在 40°C 真空下干燥 18 小时。反应得到氯代腺苷, 为无色结晶性固体(98.9g, 92.7%)。 ^1H NMR 表明生成非常洁净的所需产物, 具有小的水吸收峰。

^1H NMR (DMSO- d_6): 8.35 (1H), 8.17 (1H), 7.32 (2H),

5.94 (d, $J = 5.7$ Hz, 1H), 5.61 (d, $J = 6$ Hz, 1H), 5.47 (d, $J = 5.1$ Hz, 1H), 4.76 (dd, $J = 5.7$ & 5.4 Hz, 1H), 4.23 (dd, $J = 5.1$ Hz & 3.9 Hz, 1H), 4.10 (m, 1H), 3.35 – 3.98 (m, 2H).

实施例 2

下列流程 2 阐述制备 MTA (化合物 3) 的优选方法。



流程 2

使用来自实施例 1 的氯代腺苷合成甲硫基腺苷:

向装有机械搅拌器和温度探头的 3 升 3 颈烧瓶中加入 DMF (486mL), 继之以氯代腺苷(97.16g, 0.341mol)。向所得浆液加入 NaSCH_3 (52.54g, 0.75mol), 然后用机械搅拌器搅拌 18 小时。向浆液加入饱和盐水(1500mL), 用浓 HCl (40mL) 调节 pH 至 7。在加入期间用 pH 探头监测 pH。将所得浆液冷却至 0°C, 用机械搅拌器搅拌 1 小时, 过滤。将无色

残余物用水(500mL)研制1小时,过滤,在40°C真空下干燥18小时。得到无色固体,经鉴别为甲硫基腺苷(94.44g,产率从氯代腺苷计为93.3%,从最初的原料计为86.5%)。所得MTA是99%纯的。

¹H NMR (DMSO-d₆): 8.36

(1H), 8.16 (1H), 7.30 (2H), 5.90 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 5.51 (d, J = 6 Hz, 1H), 5.33 (d, J = 5.1 Hz, 1H), 4.76 (dd, J = 6.0 & 5.4 Hz, 1H), 4.15 (dd, J = 4.8 Hz & 3.9 Hz, 1H), 4.04 (m, 1H), 2.75 – 2.91 (m, 2H), 和 2.52 (s, 3H).

本发明的实施一般采用完全在技术人员所知范围内的常规技术。这类技术在文献中有完整的解释。

本文引用的所有文章、书籍、专利、专利申请和专利公报都全文结合在此作为参考。尽管已经连同上述实施例和优选实施方式描述了发明,不过可以理解的是上述说明是示范性的和解释性的,意在阐述发明及其优选的实施方式。通过惯用的实验法,本领域普通技术人员将认识到显而易见的修改和变化,它们没有背离本发明的精神。因而,本发明意在不受上述说明所限定,而由下列权利要求和它们的等价方式所限定。