

文章编号: 1000-5862(2014)06-0635-04

# 骨髓增殖性肿瘤治疗药物 TG101348 的合成工艺研究

张义军<sup>1</sup>, 刘义稳<sup>1</sup>, 李德江<sup>2\*</sup>

(1. 三峡大学生物与制药学院 湖北 宜昌 443002;

2. 三峡大学材料与化工学院 湖北 宜昌 443002)

**摘要:** 研究了骨髓增殖性肿瘤治疗药物 TG101348 的合成工艺. 将 2,4-二羟基-5-甲基嘧啶与三氯氧磷、氨水发生氯化、取代反应生成 2-氯-4-氨基-5-甲基嘧啶(Ⅲ),而后Ⅲ与 *N*-叔丁基-3-溴苯磺酰胺(Ⅰ)发生 Buchwald 偶联反应得到 3-[(2-氯-5-甲基-4-嘧啶基)胺基]-*N*-(叔丁基)苯磺酰胺(Ⅳ),Ⅳ再与 CH<sub>3</sub>OH-HCl 反应得到 3-[(2-氯-5-甲基-4-嘧啶基)胺基]-*N*-(叔丁基)苯磺酰胺盐酸盐(Ⅴ),最后Ⅴ与 1-(4-氨基苯氧乙基)吡咯烷(Ⅵ)发生亲核取代反应得到 TG101348, HPLC 测得 TG101348 的纯度为 99.7%.

**关键词:** TG101348; 合成; 工艺研究

**中图分类号:** TQ 463.53

**文献标志码:** A

## 0 引言

骨髓增殖性肿瘤疾病是一类起源于多能造血干细胞,以骨髓中髓系细胞增生异常为特点的异质性疾病. 通常发病的表现形式包括慢性髓细胞白血病 (polycythemia vera)、原发性骨髓纤维化 (myelofibrosis)、血小板增多症 (essential thrombocythemia) 等. 过去 10 年国际上的研究表明,细胞内酪氨酸蛋白激酶 (PTK) 上的 JAK2V617F 基因突变引起信号传播途径 JAK-STAT 的过度活化,这是导致这类疾病发生的原因<sup>[1-5]</sup>. *N*-叔丁基-3-[5-甲基-2-[4-[2-(1-吡咯烷基)乙氧基]苯基]氨基]-4-氨基嘧啶]苯磺酰胺 (TG101348) 是由美国 Targe Gen 公司、哈佛医学院和明尼苏达的 Mayo 医务所等单位联合开发的 JAK2 蛋白激酶的选择性抑制剂,临床前的真性红细胞内和细胞外的实验显示,它可以选择性地抑制导致骨髓增生性疾病的 JAK2 基因的 V617F 和 MPLW515L 突变. 具有治疗真性红细胞增多症 (polycythemia vera, PV)、原发性血小板增多症 (essential thrombocythemia, ET)、原发性骨髓纤维化 (primary myelofibrosis, PMF) 等疾病的活性<sup>[6-11]</sup>. 目前 TG101348 的合成路线主要是美国 Targe Gen 公司申请的专利<sup>[12]</sup> WO2007/053452A1,该专利合成方法是利用化合物 2-氯-4-氨基-5-甲基嘧啶和 1-(4-氨基苯氧乙基)吡咯烷进行反应,再与化合物 *N*-叔丁基-3-

溴苯磺酰胺在金属钯的催化下进行偶联得到目标产物 TG101348. 该合成方法进行偶联反应需要价格昂贵的金属钯试剂和磷配体进行催化,且采用微波加热,因此不利于工业化生产.

通过对 TG101348 的合成研究,本课题组提出了以 2,4-二羟基-5-甲基嘧啶为原料制备 TG101348 的完整的中试合成方法,且对 TG101348 的合成作了如下改进: (i) 合成 1-(4-氨基苯氧乙基)吡咯烷 (中间体Ⅵ),不需分离、纯化,直接用于下一步反应; (ii) 合成 3-[(2-氯-5-甲基-4-嘧啶基)胺基]-*N*-(叔丁基)苯磺酰胺 (中间体Ⅳ),使用磷酸钾代替价格昂贵的碳酸铯,且钯催化剂的用量只为原专利的 3%; (iii) 通过改变偶联次序,将 Buchwald 偶联反应的收率提高了 23%,将关键中间体Ⅳ成盐活化成Ⅴ,Ⅴ与Ⅵ反应以 84.3% 的收率合成 TG101348. 合成路线见 Scheme 1.

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

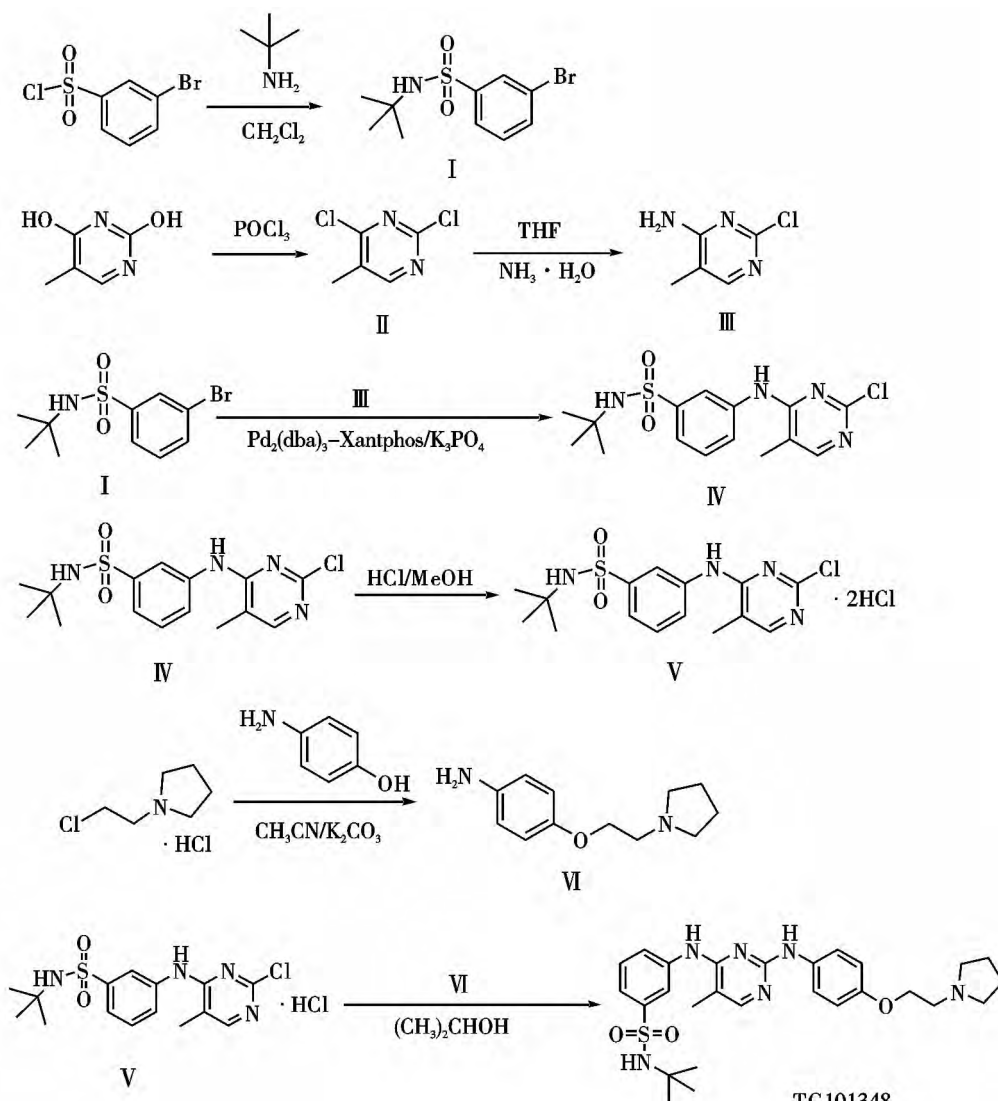
熔点测定采用 WRS-4A 型数字熔点仪 (上海索光光电技术有限公司),温度计未校正; <sup>1</sup>H NMR 测定采用 AVANCE III 400MHz 核磁共振波谱仪 (瑞士 Bruker 公司),TMS 为内标; MS 使用 AmozonSL + 1200 型 ESI-MS 电喷雾质谱仪测定.

收稿日期: 2014-06-15

基金项目: 国家自然科学基金 (31100080) 和湖北省自然科学基金 (2011CDB186) 资助项目.

通信作者: 李德江 (1964-),男,湖北郧县人,教授,主要从事精细化工和药物合成研究.

本实验所用原料均由上海恒岳化工科技有限公司提供,纯度为分析纯。



Scheme 1 合成路线

## 1.2 合成步骤

1.2.1 *N*-叔丁基-3-溴苯磺酰胺 (I) 的合成 将 3.140 g 叔丁胺 (43.000 mmol) 和 5.940 g 三乙胺 (58.600 mmol) 溶解在 20 mL 二氯甲烷中, 搅拌下缓慢加入装有 10.000 g (39.100 mmol) 3-溴苯磺酰氯 100 mL 的烧瓶中, 在室温下反应。反应完成后, 反应液经减压浓缩, 并加入 20 mL 质量分数为 15% 的 HCl 溶液及 25 mL 乙酸乙酯萃取有机相, 有机相依次用水、饱和盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥。滤除硫酸钠后, 减压浓缩有机液, 得到白色固体 *N*-叔丁基-3-溴苯磺酰胺 (I) 10.200 g, 收率 89.7%。熔点: 67 ~ 69 °C。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 7.979 (s, 1H), 7.84 ~ 7.81 (m, 2H), 7.697 (s, 1H), 7.545 (m, 1H), 1.106 (s, 9H)。ESI-MS (*m/z*): 291.7 (*M*<sup>+</sup> + H)。

1.2.2 2,4-二氯-5-甲基嘧啶 (II) 的合成 在 100 mL 的烧瓶中, 加入 5.000 g (3.960 mmol) 2,4-二

羟基-5-甲基嘧啶、30 mL 新蒸的三氯氧磷。搅拌, 回流反应 3.0 h, TLC 跟踪反应进程。反应完成后, 加入到 100 mL 冰水中。过滤, 滤液用乙酸乙酯萃取, 有机相经干燥、减压浓缩得化合物 II, 白色固体 4.000 g, 收率 65.2%。熔点: 25 ~ 27 °C。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 8.441 (s, 1H), 2.374 (s, 3H); ESI-MS (*m/z*): 162.9 (*M*<sup>+</sup> + H)。

1.2.3 2-氯-5-甲基-6-氨基嘧啶 (III) 的合成 在封管反应器中依次加入 5.000 g (30.670 mmol) 化合物 II、20 mL 四氢呋喃, 再加入 20 mL 质量分数为 25% 的氨水。封管后, 搅拌下加热到 60 °C, 并在该反应温度下反应 12.0 h。TLC 跟踪反应进程。反应完成后, 反应液冷却至室温, 减压浓缩得化合物 III, 白色固体, 4.000 g, 产率 91%。熔点: 246 ~ 248 °C。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 7.28 (s, 1H), 7.04 ~ 7.30 (brs, 2H), 1.94 (s, 3H)。ESI-MS (*m/z*): 144.0 (*M*<sup>+</sup> + H)。

1.2.4 3-[(2-氯-5-甲基-4-嘧啶基)氨基]-N-(叔丁基)苯磺酰胺(IV)的合成 在500 mL的烧瓶中,加入3.000 g(20.900 mmol)化合物Ⅲ、6.360 g(21.770 mmol)化合物Ⅰ、8.870 g(41.800 mmol)磷酸钾、210 mL二氧六环,在搅拌下,再滴加0.714 g(1.254 mmol)4,5-双二苯基膦-9,9-二甲基氧杂蒽(Xantphos)、0.573 g(0.627 mmol)Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub>[1,1'-双(二苯基膦)二茂铁]二氯化钯。在室温搅拌下,反应体系用氮气置换3次,逐渐升温至100℃,保温反应6.0 h。待LC-MS检测反应原料消失,将反应液自然冷却至室温,硅藻土过滤,滤饼用适量二氧六环洗涤2次,滤液浓缩,得粗品。将粗品分散于10 mL乙酸乙酯中,室温搅拌1.0 h后过滤,滤饼用少量乙酸乙酯洗涤2次,固体真空干燥,得化合物Ⅳ 6.150 g,收率90.3%,熔点216~218℃。<sup>1</sup>H NMR(400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 9.143(s, 1H), 7.889~8.111(m, 3H), 7.551~7.564(m, 3H), 2.199(s, 3H), 1.139(s, 9H); ESI-MS(*m/z*): 355.0(*M*<sup>+</sup> + H)。

1.2.5 3-[(2-氯-5-甲基-4-嘧啶基)氨基]-N-(叔丁基)苯磺酰胺盐酸盐(V)的合成 在100 mL的烧瓶中,加入2.300 g(6.480 mmol)化合物Ⅳ和40 mL甲醇,再缓慢滴入新制备的CH<sub>3</sub>OH-HCl溶液中,室温反应0.5 h,待固体完全溶解后减压浓缩蒸出溶剂,得化合物Ⅴ,黄色固体2.750 g,产率93.1%。

1.2.6 1-(4-氨基苯氧乙基)吡咯烷(VI)的合成 在100 mL的烧瓶中,加入1.500 g(13.750 mmol)对氨基苯酚、2.800 g(16.500 mmol)1-(2-氯乙基)四氢吡咯盐酸盐和30 mL乙腈,搅拌下加入4.560 g(33.000 mmol)K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>固体,于85℃下反应2.0 h,反应结束后,过滤,滤饼用10 mL二氯甲烷洗涤2次,合并有机相。用50 mL饱和氯化钠洗涤有机液,

有机相经干燥、浓缩得粗品。粗品经柱层析纯化(CH<sub>3</sub>COOCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>: MeOH = 7: 2)得化合物Ⅵ,棕色油状液体2.400 g,产率85.2%。<sup>1</sup>H NMR(400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 1.809~1.841(m, 4H), 2.661~2.675(d, 4H, *J* = 5.6 Hz), 2.888~2.917(t, 2H, *J* = 5.6 Hz), 3.437(s, 2H), 4.042~4.071(t, 2H, *J* = 5.6 Hz), 6.619~6.641(m, 2H), 6.733~6.762(m, 2H); ESI-MS(*m/z*): 207.3(*M*<sup>+</sup> + H)。

1.2.7 N-叔丁基-3-[5-甲基-2-[4-[2-(1-吡咯烷基)乙氧基]苯基]氨基]-4-氨基嘧啶]苯磺酰胺(TG101348)的合成 将1.000 g(2.330 mmol)化合物Ⅴ和0.485 g(2.330 mmol)化合物Ⅵ依次加入到10 mL的异丙醇中,封管,搅拌下逐渐升温至110℃,反应8.0 h。待LC-MS检测反应完全,让反应液自然冷却至室温,过滤,滤饼用少量异丙醇洗涤2次,得盐酸盐产物。将该固体溶解在10 mL水中,加入氨水调节pH值为7,析出大量白色固体,过滤,粗品用异丙醇重结晶,得TG101348 0.950 g,收率84.3%,熔点: 243~245℃。<sup>1</sup>H NMR(400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 6.954~7.951(m, 8H), 3.405~3.562(m, 10H), 3.099(s, 2H), 2.182(s, 3H), 1.903~2.012(m, 4H), 1.103(s, 9H); ESI-MS(*m/z*): 525.4(*M*<sup>+</sup> + H)。

## 2 结果和讨论

### 2.1 Buchwald 偶联反应条件的优化

化合物Ⅳ是合成TG101348的关键中间体,本文研究了催化剂、碱以及溶剂对中间体Ⅳ合成工艺的影响,结果如表1所示。

表1 不同的反应条件对中间体Ⅳ收率的影响

催化剂/配体	催化剂与中间体Ⅲ的摩尔比	配体与与中间体Ⅲ的摩尔比	碱	反应时间/h	溶剂	收率/%
Pd <sub>2</sub> (dba) <sub>3</sub> /Xantphos	0.25	0.50	CS <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	3	甲苯	94.1
Pd <sub>2</sub> (dba) <sub>3</sub> /Xantphos	0.10	0.20	CS <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	3	甲苯	93.9
Pd <sub>2</sub> (dba) <sub>3</sub> /Xantphos	0.03	0.06	CS <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	6	甲苯	93.1
Pd <sub>2</sub> (dba) <sub>3</sub> /Xantphos	0.03	0.06	K <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	12	甲苯	83.1
Pd <sub>2</sub> (dba) <sub>3</sub> /Xantphos	0.03	0.06	K <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	6	二氧六环	90.3
Pd <sub>2</sub> (dba) <sub>3</sub> /Xantphos	0.03	0.06	K <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	12	甲苯-DMF(5:1)	82.2

由表1可见,以Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub>为催化剂,Xantphos为配体,CS<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>为碱,甲苯作溶剂,中间体Ⅳ的收率达到94.1%。但从工业化角度考虑成本、收率等因素,本工艺采用Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub>、Xantphos作为催化剂和配体,磷酸钾为碱,二氧六环作为溶剂。

### 2.2 TG101348 合成条件优化

通过实验发现,化合物Ⅳ与化合物Ⅵ反应较慢,将化合物Ⅳ与CH<sub>3</sub>OH-HCl反应成盐活化生成Ⅴ后与化合物Ⅵ反应,可以加快反应速度,结果如表2所示。

表2 反应时间对 TG101348 的影响

溶剂	反应时间/h	产率/%
异丙醇	6.0	45.6
异丙醇	6.5	63.5
异丙醇	7.0	76.1
异丙醇	7.5	80.2
异丙醇	8.0	84.3
异丙醇	8.5	80.1

从表2可以看出,以异丙醇作溶剂,当反应8.0 h时收率最高。

### 3 结论

1) 中间体IV的合成: 使用磷酸钾代替碳酸铯, 钯催化剂的用量只为原专利的3% 降低了成本。

2) 通过改变偶联次序, 将 Buchwald 偶联反应的收率提高了23%, 将关键中间体IV成盐活化成V, V与VI反应以84.3%的收率合成了TG101348。

### 4 参考文献

- [1] Tefferi A. JAK inhibitors for myeloproliferative neoplasms: clarifying facts from myths [J]. Blood 2012, 119 (12): 2721-2730.
- [2] Anand S, Stedham F, Gudgin E, et al. Increased basal intracellular signaling patterns do not correlate with JAK2 genotype in human myeloproliferative neoplasms [J]. Blood 2011, 118(6): 1610-1621.
- [3] Well-Knecht K J, Ott G R, Cheng M, et al. 2,7-Disubstituted-pyrrolotriazine kinase inhibitors with an unusually high degree of reactive metabolite formation [J]. Chem Res Toxicol 2011, 24(11): 1994-2003.
- [4] Ramakrishnan V, Kimlinger T, Haug J, et al. TG101209, a novel JAK2 inhibitor, has significant in vitro activity in multiple myeloma and displays preferential cytotoxicity for CD451 myeloma cells [J]. American Journal of Hematology 2010, 85(9): 675-686.
- [5] Wang Y, Fiskus W, Chong D G, et al. Cotreatment with panobinostat and JAK2 inhibitor TG101209 attenuates JAK2V617F levels and signaling and exerts synergistic cytotoxic effects against human myeloproliferative neoplastic cells [J]. Blood 2009, 114: 5024-5033.
- [6] Pardanan A, Hood J, Lasho T, et al. TG101209, a small molecule JAK2-selective kinase inhibitor potently inhibits myeloproliferative disorder-associated JAK2V617F and MPLW515L/K mutations [J]. Leukemia 2007, 21(8): 1658-1668.
- [7] 李永双, 李德江. 双-三唑并[3,4-b]-[1,3,4]噻二唑类化合物的合成及抗癌活性研究 [J]. 江西师范大学学报: 自然科学版 2012, 36(3): 297-300.
- [8] 张冰玉, 金润铭. JAK2V617F 突变及 JAK2 激酶抑制剂对骨髓增殖性肿瘤的影响 [J]. 临床血液学杂志, 2014, 27(9): 817-820.
- [9] 秦伟, 梁爱斌, 傅建非. JAK2 及其抑制剂与骨髓增殖性肿瘤的研究进展 [J]. 临床血液学杂志 2010, 23(11): 698-701.
- [10] 谢叶香, 李金恒, 尹笃林. 胺作为配体在钯催化偶联反应中的应用 [J]. 有机化学 2006, 26(8): 1155-1163.
- [11] 张亮, 吴劫. 金属催化下芳基磺酸酯偶联反应的研究进展 [J]. 有机化学 2006, 26(3): 299-309.
- [12] Cao Jianguo, Hood J, Sou R, et al. Bi-aryl meta-pyrimidine inhibitors of kinases [P]. WO:2007/053452 A1 2007-05-10.

## The Study on a Process of the Synthesis Bone Marrow Hyperplastic Tumortreatment Medicine TG101348

ZHANG Yi-jun<sup>1</sup>, LIU Yi-wen<sup>1</sup>, LI De-jiang<sup>2\*</sup>

(1. College of Biology and Pharmacy, China Three Gorges University, Yichang Hubei 443002, China;

2. College of Materials and Chemical Engineering, China Three Gorges University, Yichang Hubei 443002, China)

**Abstract:** The synthetic technique of TG101348 for treating bone marrow hyperplastic tumor was studied. 2-chloro-4-amino-5-methyl-pyrimidine (III) was prepared by chlorination and substitution reaction of 2,4-dihydroxy-5-methylpyrimidinol, phosphorus oxychloride and ammonium hydroxide. III reacted with 3-bromo-N-tert-butyl benzenesulfonic amide (I) to give 3-[(2-chloro-5-methyl-4-pyrimidinyl) amino]-N-tert-butyl benzenesulfonic amide (IV) by Buchwald coupling reaction. IV reacted with CH<sub>3</sub>OH-HCl to afford 3-[(2-chloro-5-methyl-4-pyrimidinyl) amino]-N-tert-butyl benzenesulfonamide hydrochloride (V). TG101348 was synthesized by nucleophilic substitution reaction of the intermediate V and VI. HPLC purity is 99.7%.

**Key words:** TG101348; synthesis; technical study

(责任编辑: 刘显亮)