

55.6(OCH₃), 17.8(rha-6)。以上数据与文献[13]报导的基本一致, 由此可鉴定为金合欢素-7-O-β-D-芦丁糖苷(acacetin-7-O-β-D-rutinoside)。

4 结论

采用色谱技术分离纯化植物所得到的化学成分, 可以采用 UV, FTIR, EI-MS, ESI-MS, MS, ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 等波谱分析技术及理化性质鉴定其化学结构。从野菊花中分离得到的化合物主要有 10 个, 分别为香叶木素、木犀草素、木犀草素-7-O-β-D-葡萄糖苷、芹菜素、β-谷甾醇、山奈酚、大黄酚、蒙花苷、金合欢素、金合欢素-7-O-(6"-O-乙酰基)-β-D-葡萄糖苷和金合欢素-7-O-β-D-芦丁糖苷。其中, 金合欢素-7-O-(6"-O-乙酰基)-β-D-葡萄糖苷和金合欢素-7-O-β-D-芦丁糖苷首次从野菊花中分离得到。本实验的研究为更好地开发和利用野菊花植物资源提供了科学依据。

REFERENCES

- [1] Ch.P(2010)Vol I (中国药典 2010 年版. 一部) [S]. 2010: 295.
- [2] SHI L P, TIAN L L, YUAN J S, et al. The overview on the research of Flos Chrysanthemum [J]. Chin J Integr Med Cardio/Cerebrovasc Dis(中西医结合心脑血管病杂志), 2005, 3(5): 434-436.
- [3] YU D Q, XIE F Z. Studies on the chemical constituents of *Chrysanthemum indicum* L. [J]. Acta Pharm Sin(药学报), 1987, 22(11): 837-840.

- [4] FENG Z M, YAN Y D, JIANG J S, et al. Chemical constituents from flowers of *Chrysanthemum indicum* [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2010, 35(24): 3302-3305.
- [5] BI Y F, JIA L, SUN X L, et al. The chemical constituents of *Chrysanthemi indicis* L.(II) [J]. Chin Pharm J(中国药理学杂志), 2010, 45(13): 980-983.
- [6] SHEN Y X, QUAN L H, GUAN L, et al. Studies on the flavonoids from *Dendranthema lavandulifolium* [J]. Acta Pharm Sin(药学报), 1997, 32(6): 451-454.
- [7] BI Y F, PAN C X, WANG P J, et al. Studies on chemical constituents of Flos *Chrysanthemi Indici* [J]. Chin Pharm J(中国药理学杂志), 2009, 44(12): 894-897.
- [8] WANG J Y, CHEN D, LIANG L J, et al. Chemical constituents from flowers of *Chrysanthemum indicum* [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2010, 35(6): 718-721.
- [9] CHENG C G, LI D T, LIU X H, et al. Comparative study on trace elements in Flos *Chrysanthemi* and Flos *Chrysanthemi Indici* [J]. Spectrosc Spec Anal(光谱学与光谱分析), 2006, 26(1): 156-158.
- [10] DENG S B, JIAN X Y, REN Q S, et al. Chemical constituents from *Inula japonica* Thunb [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2011, 28(4): 330-334.
- [11] LI G C, WU J Y, LIU T. Chemical constituents of the root of *Uncaria macrophylla* [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2010, 27(13): 1193-1195.
- [12] XIE Y Y, YUAN D, TIAN H F, et al. Chemical constituents in the flowers of *Chrysanthemum morifolium* Ramat. [J]. Chin J Med Chem(中国药物化学杂志), 2009, 19(4): 276-279.
- [13] REN Y L, YANG J S, CHEN J M. Study on chemical constituents of *Saussurea tridactyla* III [J]. Chin Pharm J(中国药理学杂志), 2001, 36(1): 732-734.

收稿日期: 2012-04-13

马赛替尼合成工艺研究

杨照¹, 王志祥^{1*}, 方正², 鲍书馨², 郭凯²(1.中国药科大学药学院, 南京 210009; 2.南京工业大学药学院, 南京 210009)

摘要: 目的 改进抗肿瘤药马赛替尼(1)的合成工艺。方法 以 2-甲基-5-硝基苯胺为原料, 与硫氰酸铵和乙酰氯的反应产物发生加成反应得硫脲化合物 5, 5 与自制的 2-溴-1-(吡啶-3-基)乙酰氨基溴酸盐(2)环合成噻唑化合物 6, 6 还原后与自制的酰氯化合物 3 反应成酰胺得马赛替尼(1)。结果 总收率为 28.0%(以 2-甲基-5-硝基苯胺计), 各步关键中间体及目标物结构经 MS 和 ¹H NMR 确证。结论 改进后的方法简化了操作, 降低了成本, 适合于工业化生产。

关键词: 马赛替尼; 合成; 抗肿瘤

中图分类号: R916.41

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2013)01-0035-04

Study on the Synthesis of Masitinib

YANG Zhao¹, WANG Zhixiang^{1*}, FANG Zheng², BAO Shuxing², GUO Kai²(1.School of Pharmacy, China

基金项目: 国家 973 课题(2012CB721104)

作者简介: 杨照, 女, 硕士, 讲师 Tel: 18013895668 E-mail: yzcpu@163.com *通信作者: 王志祥, 男, 博士, 教授 Tel: (025)83271479 E-mail: haochiyo@126.com

ABSTRACT: OBJECTIVE To improve the synthesis process of the anticancer drug Masitinib. **METHODS** Masitinib(1) was synthesized using 2-methyl-5-nitroaniline as the starting material, via addition, cyclization with self-made compound 2, reduction, and amidation with acyl chloride compound 3. **RESULTS** The total yield was 28.0% basing on the raw material 2-methyl-5-nitroaniline and structures of the key intermediates and the target were confirmed by MS and ^1H NMR. **CONCLUSION** Compared with the literature method, the improved process has the advantages of low-cost, convenient operation and broad prospects for commercial scale-up.

KEY WORDS: masitinib; synthesis; antitumor

马赛替尼(Masitinib, **1**), 化学名为 4-[(4-甲基-1-哌嗪基)甲基]-*N*-{4-甲基-3-[4-(3-吡啶基)-2-噻唑基氨基]苯基}苯甲酰胺, 是一种口服有效的选择性多靶点酪氨酸激酶抑制剂, 它是在首个酪氨酸激酶抑制剂伊马替尼(Imatinib)结构基础上通过生物电子等排原理将嘧啶替换成噻唑得到的, 结构式见图 1^[1], 经结构优化后, 其对 PDGFR α ($\text{IC}_{50}=5 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)、PDGFR β ($\text{IC}_{50}=58 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)及 C-kit

($\text{IC}_{50}=0.1\sim 3 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)等多种受体酪氨酸激酶有较强抑制活性, 具有良好的口服生物利用度, 同时不作用于 Abl, 使心脏毒性降低。对胃肠道肿瘤, 肥大细胞增多症, 急性白血病, 黑色素瘤及其它肿瘤具有潜在治疗作用^[2-3], 目前正处于三期临床研究阶段。随着临床研究的深入, 有望扩展其肿瘤治疗范围^[4]。此外, 马赛替尼还可以用于治疗哮喘^[5]和风湿性关节炎^[6]。

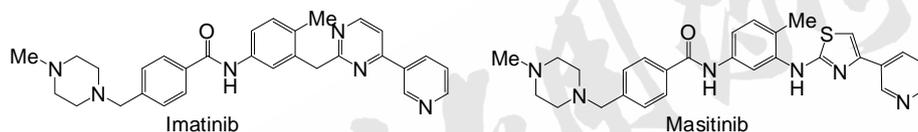


图 1 伊马替尼和马赛替尼的化学结构

Fig 1 Structures of Imatinib and Masitinib

文献^[7-8]报道的马赛替尼合成路线主要有 2 条: ①2-甲基-5-硝基苯胺和乙酰氯、硫氰酸铵合成 *N*-(2-甲基-5-硝基苯基氨基硫代甲酰)乙酰胺(**5**), 再与自制的 2-溴-1-(吡啶-3-基)乙酮氢溴酸盐(**2**)于碱性条件下成环, 经过 Raney Ni 催化氢化还原得 6-甲基-*N*-[4-(吡啶-3-基)噻唑-2-基]-1,3-苯二胺(**7**), 接着与自制的 4-(4-甲基哌嗪-1-基甲基)苯甲酰胺(**4**)游离后反应成酰胺得到马赛替尼(**1**)^[7]。最后成酰胺一步, 也报道了 3 种方法, 第一是将 **4** 游离后制备成甲酯后与 **7** 在三甲基铝存在下反应得 **1**, 但三甲基铝性质活泼, 较危险, 反应后处理比较繁琐, 且价格较贵; 第二是将 **4** 游离后制备成酰氯, 与 **7** 反应成酰胺; 第三是将 **4** 游离后直接与 **7** 在过量 2-氯-1-甲基吡啶碘盐存在下成酰胺, 但该步骤中使用的 2-氯-1-甲基吡啶碘盐价格较贵, 且需要硅胶柱纯化。②2,4-二氨基甲苯在 4 位氨基上选择性 BOC 保护后, 与硫氰酸铵与苯甲酰氯反应后, 碱性条件下脱去苯甲酰基经硅胶柱柱分离得 2 位氨基转化成硫脲的产物, 与 **2** 反应后经硅胶柱分离成噻唑化合物, 再脱去 BOC

保护基得 **7**, 与自制的 4-(4-甲基哌嗪-1-基甲基)苯甲酸甲酯反应, 硅胶柱纯化后得 **1**^[8]。该方法中多步需要柱分离纯化, 且合成中间体 4-(4-甲基哌嗪-1-基甲基)苯甲酸甲酯需要采用 4-乙酰基苯甲酸甲酯与 *N*-甲基哌嗪反应后, 经 NaBH_3CN 还原得到, 原料成本较高, 不适合工业化生产。本研究参照文献^[7], 对方法①进行了工艺改进, 合成路线见图 2。

1 仪器与试剂

质谱用 Agilent 1100 LC/MS 质谱仪测定, ^1H -NMR 用 Bruker AV-500 型核磁共振仪测定, 元素分析用 Elementa Vario EL III 型元素分析仪测定, 纯度用 Dionex P680 HPLC 测定仪测定, 熔点用 YRT-3 熔点测定仪(天津大学精密仪器厂)测定。

2 实验步骤

2.1 2-溴-1-(吡啶-3-基)乙酮氢溴酸盐(**2**)

3-乙酰吡啶(2.42 g, 20 mmol)中依次加入 40% 氢溴酸(15 mL)和溴素(1 mL, 20 mmol), 升温至 $60\text{ }^\circ\text{C}$, 反应 2 h, 冷却至 $10\text{ }^\circ\text{C}$ 以下, 过滤, 冷丙酮洗涤, 烘干, 得淡黄色固体, 粗品用甲醇/乙醚

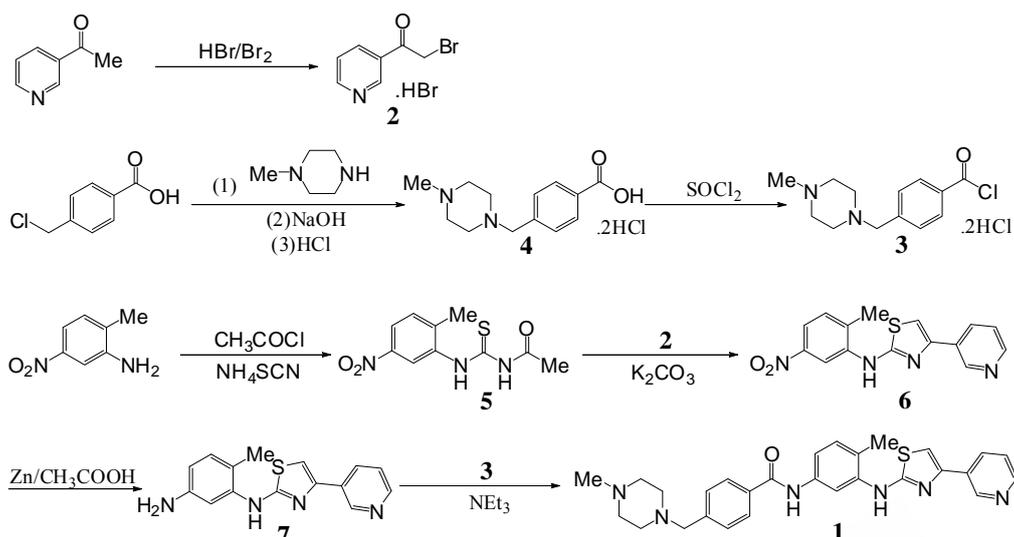


图2 马赛替尼的合成路线

Fig 2 Synthetic route of Masitinib

重结晶得白色粉末 4.2 g, 产率 75.0%(文献^[9]粗品产率 100%), 熔点为 192.2~193.8 °C。ESI-MS m/z : 232.0, 234.1[M-Br+MeOH]⁺。

2.2 4-(4-甲基哌嗪-1-基)甲基苯甲酸二盐酸盐(4)

氮气保护下, 将 4-氯甲基苯甲酸(8.5 g, 49.8 mmol)和 4-甲基哌嗪(22.5 g, 225 mmol)溶解于乙醇(100 mL)中, 加热回流 16 h, 冷至室温, 浓缩, 残留物中加入乙酸乙酯(100 mL), 用 3 mol·L⁻¹ NaOH 溶液(100 mL)洗涤, 水层用乙酸乙酯(50 mL)萃取, 合并有机层, 饱和食盐水(50 mL)洗涤, 有机层搅拌下加浓盐酸至 pH 为 1, 有白色固体析出, 过滤, 烘干得白色固体 14.4 g, 产率 94.1%, 熔点 >250 °C。ESI-MS m/z : 235.2[M-2HCl+H]⁺。

2.3 4-(4-甲基哌嗪-1-基)甲基苯甲酰氯二盐酸盐(3)

4(9.2 g, 30 mmol)的四氢呋喃(THF)(50 mL)悬浮液中, 加入二氯亚砷(2.8 mL, 39 mmol)及吡啶(1 滴), 加热回流 0.5 h, 浓缩, 得白色固体粉末 9.9 g, 无需纯化, 可直接投入下一步反应。

2.4 N-(2-甲基-5-硝基苯基)胺基硫代甲酰)乙酰胺(5)

硫氰酸铵(10 g, 0.13 mol)的丙酮(250 mL)溶液中, 室温下缓慢滴加乙酰氯(9 mL, 0.13 mol), 搅拌 15 min, 剧烈搅拌下分批加入 2-甲基-5-硝基苯胺(16.5 g, 0.11 mol), 室温反应 20 min, 抽滤, 丙酮洗涤, 烘干得白色固体 26.5 g, 产率 96.5%, 熔点为 203.8~204.2 °C(文献^[7]产率 84%, m.p. 205.0 °C)。ESI-MS m/z : 251.9[M-H]⁻; ¹H NMR (CDCl₃): δ=2.19(s, 3H, CH₃), 2.51(s, 3H, CH₃),

8.08~8.09(m, 1H, Ar-H), 8.65~8.68(m, 2H, Ar-H), 11.66 (s, 1H, NH), 12.37 (s, 1H, NH)。

2.5 N-(2-甲基-5-硝基苯基)-4-(吡啶-3-基)噻唑-2-胺(6)

K₂CO₃(4.2 g, 30 mmol)悬浮于甲醇(400 mL)中, 充分搅拌 10 min, 依次加入 5(10.0 g, 39 mmol)和 2(11.0 g, 39 mmol), 室温反应 1 h, 将反应液倒入水(400 mL)中, 搅拌 10 min, 抽滤, 水洗, 烘干得 9.3 g 黄色固体, 产率 76.3%, 熔点为 224.4~225.6 °C(文献^[7]95%, 熔点为 225.0 °C)。ESI-MS m/z : 313.2[M+H]⁺; ¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ=2.41(s, 3H, CH₃), 7.42~7.47(m, 2H, Ar-H), 7.53(s, 1H, thiazole-H), 7.72(d, 1H, *J*=8.0 Hz, Ar-H), 8.25(d, 1H, *J*=8.0 Hz, Ar-H), 8.50(d, 1H, *J*=4.5 Hz, Ar-H), 9.17~9.18(m, 1H, pyridine-H), 9.54~9.55(m, 1H, pyridine-H), 9.81(br, 1H, NH)。

2.6 6-甲基-N-[4-(吡啶-3-基)噻唑-2-基]-1,3-苯二胺(7)

6(1.5 g, 4.8 mmol)的甲醇(30 mL)溶液中, 加入乙酸(0.5 mL), 回流下分批加入锌粉(2 g, 30.6 mmol), 回流反应 3 h, 趁热抽滤, 甲醇(20 mL)洗涤, 浓缩滤液至约 10 mL, 析出大量固体, 抽滤, 烘干得白色粉末 0.94 g, 产率 69.3%, 熔点为 137.5~138.3 °C(文献^[7]熔点为 136.0 °C)。ESI-MS m/z : 283.2[M+H]⁺; ¹H NMR(DMSO-*d*₆): δ=2.15(s, 3H, CH₃), 4.93(s, 2H, NH₂), 6.30~6.31(m, 1H, Ar-H), 6.86~6.88(m, 1H, Ar-H), 7.09~7.11(m, 1H, Ar-H),

7.37(s, 1H, thiazole-H), 7.42~7.44(m, 1H, Ar-H), 8.20~8.22(m, 1H, Ar-H), 8.49~8.50(m, 1H, Ar-H), 9.08~9.10(m, 1H, Ar-H), 9.18(s, 1H, NH)。

2.7 马赛替尼(1)

7(8.5 g, 30 mmol)的二氯甲烷(250 mL)溶液中,加入三乙胺(18 mL, 125 mmol),于5~10 °C下慢慢滴加3(9.9 g, 30 mmol)的THF(50 mL)溶液,自然升至室温,继续反应5 h,反应液依次用水(100 mL)、10% NaOH溶液(50 mL×2)及饱和NaCl溶液(100 mL)洗涤,二氯甲烷层用无水硫酸钠干燥,过滤、浓缩,残留物中加入乙醇(100 mL),室温下搅拌0.5 h,继续在5 °C下搅拌0.5 h,过滤,乙醇洗涤,所得粗品溶解于DMSO(20 mL)中,于50 °C下经活性炭脱色0.5 h,趁热过滤,滤液中慢慢加入乙醇(200 mL),冷却至5 °C搅拌0.5 h,过滤,少量乙醇洗涤,40 °C真空干燥得白色固体8.2 g,产率54.8%(文献^[7]粗品产率65%~75%)。纯度99.6%[HPLC: 色谱柱 Kromasil C₁₈ 柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-0.1 mol·L⁻¹ 乙酸铵(65:35), 流速1 mL·min⁻¹, 检测波长252 nm, 柱温25 °C]; ESI-MS *m/z*: 499.4[M+H]⁺; ¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ=2.19(s, 3H, ArCH₃), 2.35(s, 3H, NCH₃), 2.51~2.56(m, 8H, piperazine-H), 3.56 (s, 2H, ArCH₂N), 6.90(s, 1H, thiazole-H), 7.24~7.30 (m, 2H, Ar-H), 7.37~7.40(m, 2H, Ar-H), 7.46~7.49 (m, 2H, Ar-H), 7.80~7.84(m, 2H, Ar-H), 8.01~8.03 (m, 1H, Ar-H), 8.17~8.24(m, 2H, Ar-H), 8.55(br, 1H, CONH), 9.12(s, 1H, pyridine-H); Anal. calcd for C₂₈H₃₀N₆OS(%): C 67.44, H 6.06, N 16.85; found: C 67.31, H 6.27, N 16.92。

3 讨论

制备酰氯3时,文献[7]采用二氯甲烷为溶剂,将4游离后与略过量的氯化亚砷反应,报道反应时间为1 h,但难以反应完全,延长反应时间至12 h后,也有原料未反应,若增加氯化亚砷投料量,有大量固体析出,使反应呈非均相而更难进行,因此改用THF为溶剂,不将4游离,直接与过量氯化亚砷回流反应,0.5 h即能反应完全,后处理

方便,且所得的酰氯盐酸盐3呈白色固体粉末,性质较稳定,可以于干燥条件下保存较长时间;制备5时,文献[7]是将原料2-甲基-5-硝基苯胺、硫氰酸铵和乙酰氯在丙酮溶液中混合反应,但按此方法几乎无法得到产品,改将硫氰酸铵和乙酰氯先在丙酮中充分搅匀,再慢慢加入原料2-甲基-5-硝基苯胺,产率可达到96.5%,高于文献报道的84%;文献[7]采用高压催化氢化方法合成7,为了避免加压氢化可能产生的危险,改用酸性条件下Zn粉还原,后处理简便,可中试放大;摸索出最终产品1的重结晶纯化方法,按文献[7]报道的采用乙醇打浆洗涤粗品难以达到药用要求,改用DMSO/乙醇的体系进行重结晶可以使最终产品纯度达到99.6%,单个杂质小于0.1%。改进后的工艺原料易得,操作简便,生产成本较低,易于中控,更适合工业化生产,总收率为28.0%。

REFERENCES

- [1] SIAVOSH M, STEFAN D, ANDREAS S, et al. Design of chimeric histone deacetylase and tyrosine kinase-inhibitors: a series of Imatinib hybrids as potent inhibitors of wild-type and mutant BCR-ABL, PDGF-R, and histone deacetylases [J]. *J Med Chem*, 2009, 52(8): 2265-2279.
- [2] TASTA U. KIT mutations in cancer and their treatment with protein kinase inhibitors [J]. *Drugs Fut*, 2008, 33(2): 161-174.
- [3] LENNARTSON J, JELACIC T, LINNEKIN D, et al. Normal and oncogenic forms of the receptor tyrosine kinase KIT [J]. *Stem Cells*, 2005, 23(1): 16-23.
- [4] ROSKOSKI R J. Signaling by KIT protein-tyrosine kinase - the stem cell factor receptor [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 337(1): 1-13.
- [5] HUMBERT M F, BLAY D, GARCIA G, et al. Masitinib, a c-KIT/PDGF receptor tyrosine kinase inhibitor, improves disease control in severe corticosteroid-dependent asthmatics [J]. *Allergy*, 2009, 64(8): 1194-1201.
- [6] JACQUES T, XAVIER M, PIERRE B, et al. Masitinib in the treatment of active rheumatoid arthritis: results of a multicentre, open-label, dose-ranging, phase 2a study [J]. *Arthritis Res Ther*, 2009, 11(3): R95.
- [7] MOUSSY A, REGINAULT P, BELLAMY F, et al. A process for preparing 2-aminothiazole compounds as kinase inhibitors: WO, 2008 038949 [P]. 2008-08-21.
- [8] MOUSSY A, KINET J P. Use of c-kit inhibitors for treating type II diabetes: WO, 2005 016323 [P]. 2005-02-24.
- [9] CIUFOLINI M, WERMUTH C, GIELTHEN B, et al. 2-(3-Aminoaryl)amino-4-aryl-thiazoles and their use as c-kit inhibitors: WO, 2004 014903 [P]. 2004-02-19.

收稿日期: 2012-04-05