



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 104540508 B

(45)授权公告日 2017.06.20

(21)申请号 201380042923.7

(72)发明人 戴冬成

(22)申请日 2013.08.14

(74)专利代理机构 中原信达知识产权代理有限
责任公司 11219

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 104540508 A

代理人 刘慧 杨青

(43)申请公布日 2015.04.22

(51)Int.Cl.

(30)优先权数据

A61K 31/4035(2006.01)

61/683,905 2012.08.16 US

A61K 31/7056(2006.01)

A61K 38/21(2006.01)

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2015.02.12

(56)对比文件

(86)PCT国际申请的申请数据

WO 2004112718 A2,2004.12.29,

PCT/US2013/054816 2013.08.14

WO 2011119698 A1,2011.09.29,

US 2011236434 A1,2011.09.29,

(87)PCT国际申请的公布数据

W02014/028545 EN 2014.02.20

审查员 刘鑫

(73)专利权人 西佳技术公司

地址 美国俄勒冈州

权利要求书2页 说明书16页

(54)发明名称

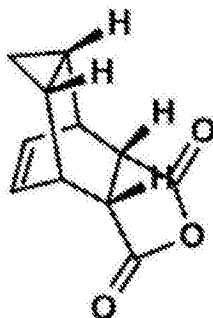
制备特考韦瑞的方法

(57)摘要

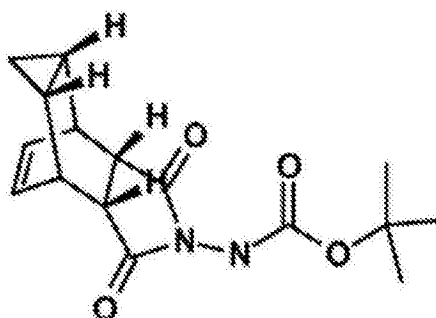
本发明公开了制备用于治疗或预防病毒感染以及与其相关的疾病,特别是由所述正痘病毒属引起的那些病毒感染和相关疾病的特考韦瑞的方法。

1. 一种用于生产N-[(3aR,4R,4aR,5aS,6S,6aS)-3,3a,4,4a,5,5a,6,6a-八氢-1,3-二氧代-4,6-亚乙烯基环丙并[f]异吲哚-2(1H)-基]-4-(三氟甲基)-苯甲酰胺的方法,所述方法包括:

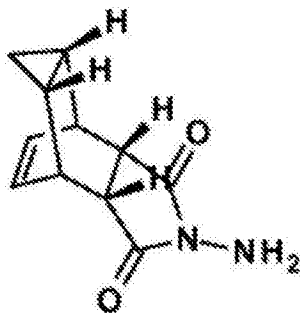
(a) 使下式的化合物3:



与肼基甲酸叔丁酯(化合物5)反应以形成下式的化合物6:



(b) 使化合物6与酸反应以形成下式的化合物7或其盐:



(c) 使化合物7与4-(三氟甲基)苯甲酰氯(化合物8)反应;以及

(d) 收集N-[(3aR,4R,4aR,5aS,6S,6aS)-3,3a,4,4a,5,5a,6,6a-八氢-1,3-二氧代-4,6-亚乙烯基环丙并[f]异吲哚-2(1H)-基]-4-(三氟甲基)-苯甲酰胺。

2. 根据权利要求1所述的方法,其中步骤(a)在高于室温的氮气气氛下进行。

3. 根据权利要求1所述的方法,其中步骤(b)中的所述酸为HCl。

4. 根据权利要求1所述的方法,其中在步骤(b)的所述反应之前将化合物6溶解于i-PrOAc中。

5. 根据权利要求1所述的方法,其中碱存在于步骤(c)的所述反应中,其中所述碱选自:吡啶、4-二甲基氨基吡啶、三乙胺和二异丙基乙胺。

6. 根据权利要求1所述的方法,其中步骤(c)在低于20℃的温度下进行。

7. 根据权利要求1所述的方法,其中在步骤(d)中收集的所述N-[(3aR,4R,4aR,5aS,6S,

6aS)-3,3a,4,4a,5,5a,6,6a-八氢-1,3-二氧代-4,6-亚乙烯基环丙并[f]异吲哚-2(1H)-基]-4-(三氟甲基)-苯甲酰胺通过柱色谱法进一步纯化。

制备特考韦瑞的方法

[0001] 相关申请的交叉引用:

[0002] 本申请要求2012年8月16日提交的美国临时专利申请No.61/683,905的权益,所述专利的公开内容据此通过引用全部并入。

发明领域

[0003] 本文描述了制备用于治疗或预防病毒感染以及与其相关的疾病,特别是由所述正痘病毒属引起的那些病毒感染和相关疾病的特考韦瑞的方法。特考韦瑞(ST-246[®] 的专有名称)的化学名称为N-[(3aR,4R,4aR,5aS,6S,6aS)-3,3a,4,4a,5,5a,6,6a-八氢-1,3-二氧代-4,6-亚乙烯基环丙并[f]异吡啶-2(1H)-基]-4-(三氟甲基)-苯甲酰胺。

[0004] 发明背景

[0005] 正痘病毒属(正痘病毒科(Orthopoxviridae))为痘病毒科家族和脊椎动物痘病毒亚科(Choropoxvirinae)亚家族的成员。该属由在人类和动物群体中引起重要疾病的许多病毒组成。正痘病毒属中的病毒包括牛痘、猴痘、牛痘(vicinia)和天花(痘症),它们都可感染人类。

[0006] 痘症(天花)病毒为特别重要的。最近对将天花病毒用作生物武器的关注已经强调了开发靶向正痘病毒属的小分子治疗剂的必要性。天花病毒(Variola virus)为高度可传染的并且在人体中引起导致高死亡率的严重疾病(Henderson等.(1999) JAMA. 281:2127-2137)。另外,存在天花病毒用作生物武器的先例。在法国人和印第安人战争期间(1754-1765),为了引发流行病,英国士兵给美国印第安人分发天花患者使用过的毛毯(Stern, E.W.和Stern,A.E.1945.The effect of smallpox on the destiny of the Amerindian.Boston)。所引起的爆发导致在一些印第安人部落中的死亡率为50%(Stern, E.W.和Stern,A.E.)。最近,苏维埃政府启动了一个项目,生产在雾化悬浮液中的强毒武器化形式的天花(Henderson,同上)。更关注的为观察到已经开发的痘病毒的重组形式在接种的动物中具有引发疾病的潜能(Jackson等.(2001) J.Virol.,75:1205-1210)。

[0007] 天花疫苗项目在1972年终止;因此,许多个体不再对天花感染免疫。即使接种过的个体可能也不再受到完全地保护,特别是对病毒的强毒株或重组株(Downie和McCarthy.(1958) J Hyg.56:479-487;Jackson,同上)。因此,如果天花病毒被有意地或意外地再引入人群,则死亡率将为高的。

[0008] 天花病毒天然经由雾化液滴传播至呼吸道粘膜,在那里的淋巴组织中的复制产生持续1-3天的无症状感染。病毒通过淋巴向皮肤散播,在那里的小的真皮血管中进行复制以及随后感染和使相邻表皮细胞发生溶胞,产生皮肤损伤(Moss,B.(1990) Poxviridae and Their Replication,2079-2111.于B.N.Fields和D.M.Knipe(编辑),Fields Virology.Raven Press,Ltd.,New York)。两种形式的疾病与天花病毒感染相关;重型天花,最常见的疾病形式,其产生30%的死亡率,和轻型天花,其流行率较低并且很少导致死亡(<1%)。死亡为散播的血管内凝血、低血压和心血管性虚脱的结果,其可通过天花的罕见出血性类型的凝血缺陷而加剧(Moss,同上)。

[0009] 最近猴痘病毒的爆发加强了对开发靶向正痘病毒属的病毒的小分子治疗剂的需求。猴痘在美国的出现表示新兴的感染。猴痘和天花在人类引起相似的疾病,然而,猴痘的死亡率较低(1%)。

[0010] 接种为目前用于防止正痘病毒疾病,特别是天花疾病的手段。使用牛痘病毒的减毒株开发了天花疫苗,其局部复制并在大于95%的接种的个体中提供对天花病毒的保护性免疫(Modlin (2001) MMWR (Morb Mort Wkly Rep) 50:1-25)。与接种相关的不良事件经常发生(1:5000)并且包括全身性牛痘以及牛痘从接种位点的无意转移。更严重的并发症诸如脑炎以1:300,000的比率出现,这经常为致命的(Modlin,同上)。不良事件的风险在免疫受损个体中甚至更加显著(Engler等.(2002) J Allergy Clin Immunol.110:357-365)。因此,接种对于患有AIDS或过敏性皮肤病的人为禁忌的(Engler等)。尽管保护性免疫持续多年,但响应于天花接种的抗体在接种后10至15年显著减少(Downie,同上)。另外,接种可能对正痘病毒的重组形式没有保护性。最近的研究示出表达IL-4的鼠痘病毒的重组形式引起接种的小鼠死亡(Jackson,同上)。考虑到与接种、免疫受损个体的禁忌症和不能抵御重组病毒菌株相关的副作用,需要用于治疗天花病毒感染的更好的预防法和/或新的治疗剂。

[0011] 已经将痘苗病毒免疫球蛋白(VIG)用于治疗接种后的并发症。VIG为来源于接受牛痘病毒疫苗的个体的血浆免疫球蛋白级分的等渗无菌溶液。其用于治疗牛痘性湿疹和一些形式的进行性痘苗。因为本产品限量可用并且难以获得,所以还未指示将其用于大规模天花爆发事件(Modlin,同上)。

[0012] 西多福韦([(S)-1-(3-羟基-2-磷酸基甲氧基丙基)胞嘧啶] [HBMP]) 被批准用于治疗AIDS患者中的CMV视网膜炎的核苷类似物。已经示出西多福韦具有体外对抗多个含DNA的病毒(包括腺病毒、疱疹病毒、嗜肝DNA病毒(hepadnaviruses)、多瘤病毒、乳头状瘤病毒和正痘病毒属)的活性(Bronson等.(1990) Adv. Exp. Med. Biol. 278:277-83; De Clercq等.(1987) Antiviral Res. 8:261-272; de Oliveira等.(1996) Antiviral Res. 31:165-172; Snoeck等.(2001) Clin Infect. Dis. 33:597-602)。也已经发现西多福韦抑制真正的天花病毒复制(Smee等.(2002) Antimicrob. Agents Chemother. 46:1329-1335)。

[0013] 然而,西多福韦施用与许多问题相关。西多福韦生物利用度差并且必须静脉内施用(Lalezari等.(1997) Ann. Intern. Med. 126:257-263)。另外,西多福韦在静脉内施用时产生剂量限制性肾毒性(Lalezari等)。另外,已经注意到多个病毒具有西多福韦抗性。通过在存在药物的情况下重复传代已经在实验室分离出西多福韦抗性的牛痘、猴痘、牛痘和骆驼痘病毒变体(Smee,同上)。西多福韦抗性表示使用该化合物治疗正痘病毒属复制的显著限制。因此,生物利用度差、需要静脉内施用以及抗性病毒的流行都强调了用于开发治疗正痘病毒属感染的额外疗法和替代疗法的需求。

[0014] 除了病毒聚合酶抑制剂诸如西多福韦之外,已经报道许多其它化合物抑制正痘病毒属复制(De Clercq.(2001) Clin Microbiol. Rev. 14:382-397)。历史上讲,已经将美替沙脞(原型氨硫脞)用于天花感染的预防性治疗(Bauer等.(1969) Am. J Epidemiol. 90:130-145)。然而,该化合物类别因为根除天花的通常不可接受的副作用诸如严重的恶心和呕吐,未获得许多关注。作用机理的研究表明美替沙脞干扰L基因的翻译(De Clercq (2001), 同上)。像西多福韦那样,美替沙脞为相对非特异性的抗病毒化合物并且可抑制许多其它病毒,包括腺病毒、小核糖核酸病毒、呼肠孤病毒、虫媒病毒和粘性病毒(Id.)。

[0015] 可能用于治疗痘病毒的另一类别的化合物由S-腺苷高半胱氨酸水解酶 (SAH) 的抑制剂表示。该酶负责S-腺苷高半胱氨酸向腺苷和高半胱氨酸的转化,这是病毒性mRNA的甲基化和成熟必需的步骤。已经示出该酶的抑制剂在体外和体内抑制痘苗病毒的功效 (De Clercq等. (1998) *Nucleosides Nucleotides*.17:625-634.)。结构上,迄今为止报道的所有活性抑制剂为核苷腺苷的类似物。许多为碳环衍生物,通过瓶菌素A (Neplanacin) A和3-去氮杂瓶菌素A (3-Deazaneplanacin A) 所例证。虽然这些化合物已经在动物模型中示出一些功效,但是像许多核苷类似物那样,它们遭受全身毒性和/或差的药代动力学性质 (Coulombe等 (1995) *Eur. J Drug Metab Pharmacokinet*.20:197-202; Obara等. (1996) *J Med. Chem.* 39:3847-3852)。这些化合物不可能经口施用,并且当前不清楚它们是否对天花感染有预防作用。鉴定SAH水解酶的非核苷抑制剂和其它化学易处理的天花病毒基因组靶标,它们具有口服生物利用度并具有期望的药代动力学 (PK) 和吸收、分布、代谢、分泌 (ADME) 性质,这将对经报道的核苷类似物的显著改进。总之,目前可得的抑制天花病毒复制的化合物通常为非特异性的并且遭受使用限制毒性和/或可疑的功效。

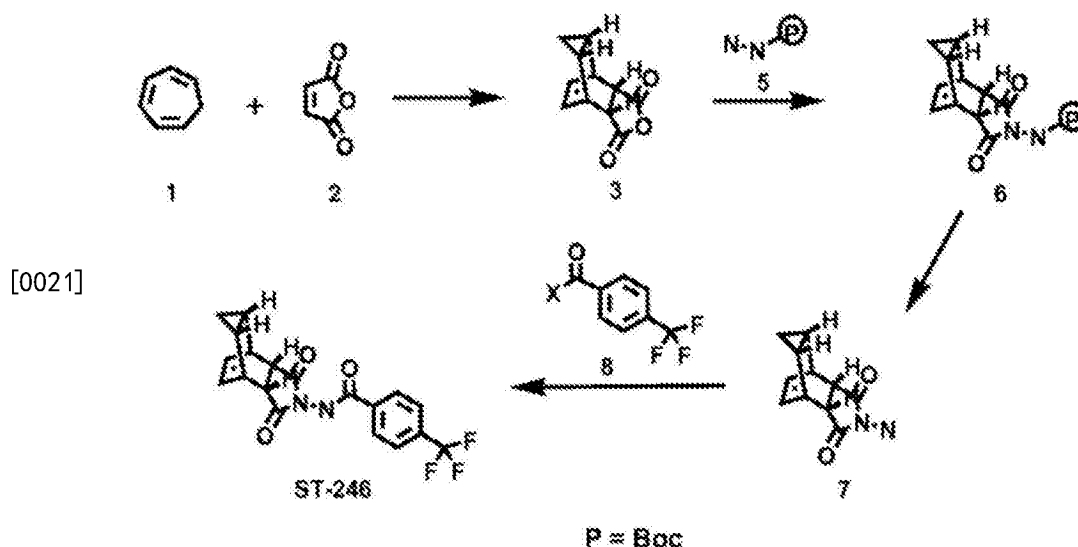
[0016] 在美国专利No. 6,433,016 (2002年8月13日) 和美国申请公布2002/0193443 A1 (2002年12月19日公布) 中,描述了一系列可用于正痘病毒属感染的亚氮二磺酰胺衍生物。

[0017] 明显需要由正痘病毒属感染引起的感染和疾病的新的疗法和预防法。

[0018] 共有的PCT申请W0 2004/112718 (2004年12月29日公布) 公开了二环、三环和四环的酰基酰肼衍生物和类似物以及含有它们的药物组合物用于治疗或预防病毒感染以及与其相关的疾病,特别是由正痘病毒属引起的那些病毒感染和相关疾病的用途。共有的美国专利申请2008/0004452 (2008年1月3日公布) 还公开了用于生产ST-246的方法。然而,当前方法遭遇非对映立体选择性 (内消旋对比外消旋)、某些步骤的低产量、遗传毒性化合物的使用以及非常吸水的酸酐和难于确保某些原料。因此,仍存在开发用于生产ST-246的更有效的方法的迫切需要。

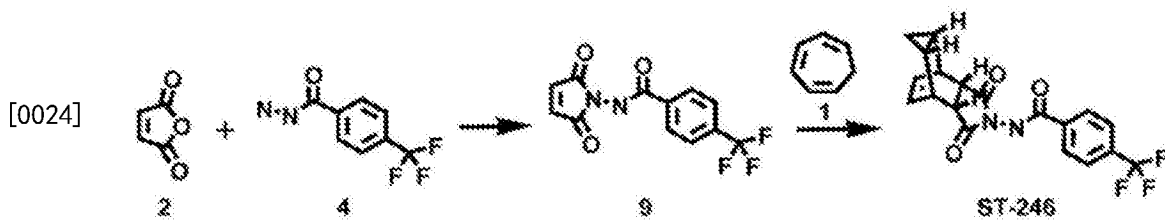
[0019] 发明概述

[0020] 本发明提供了方案1中概述的用于制备ST-246的方法



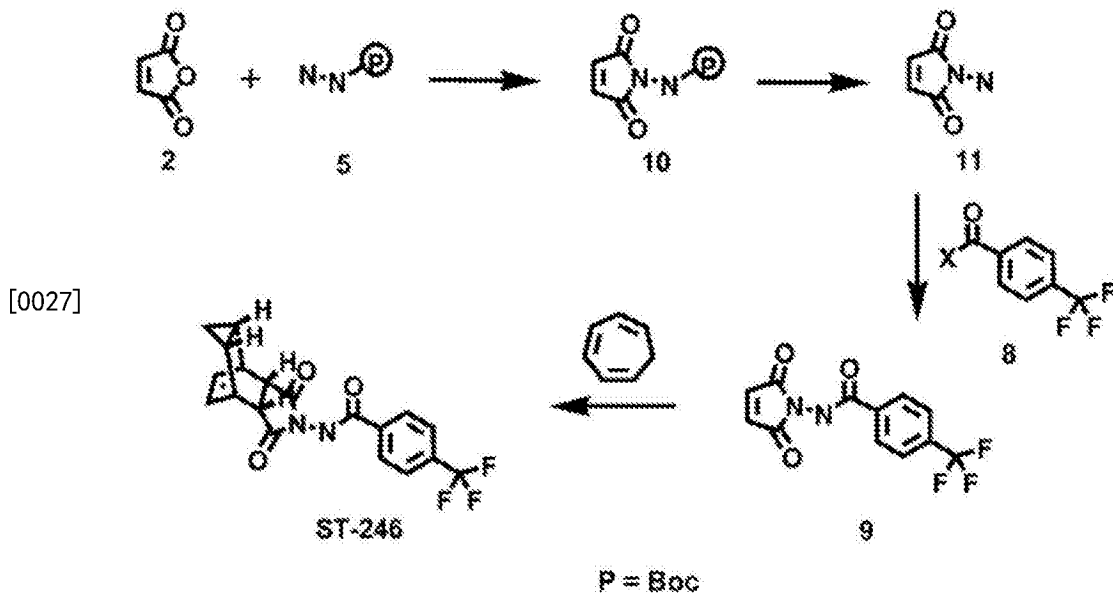
[0022] 方案1

[0023] 本发明还提供了方案2中概述的用于制备ST-246的方法



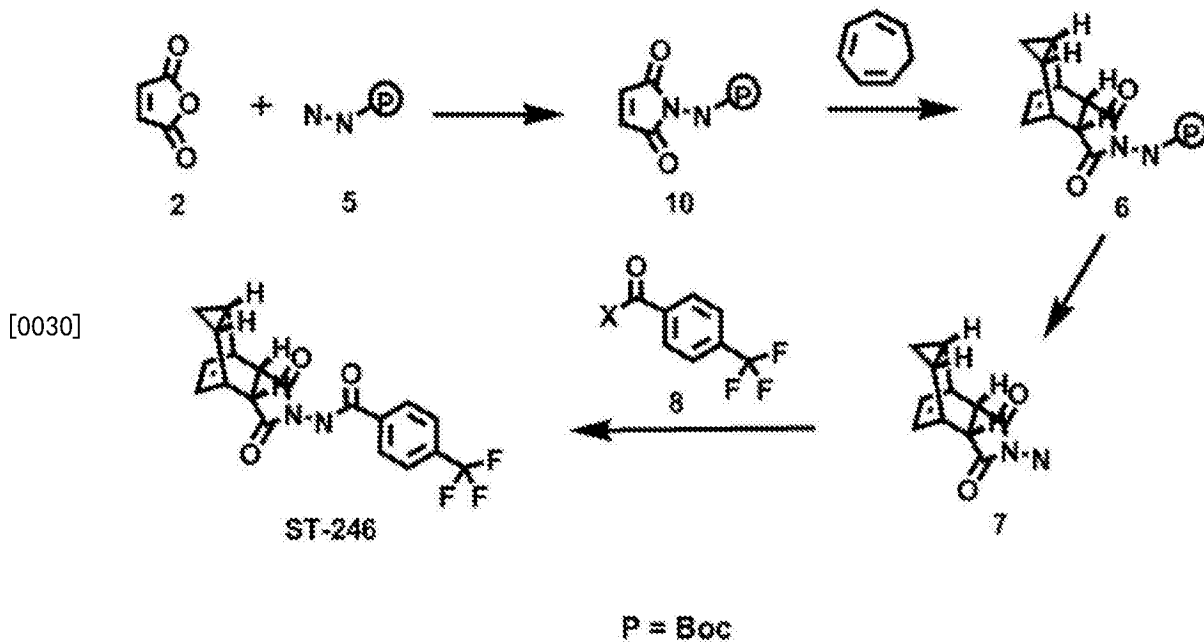
[0025] 方案2

[0026] 本发明还提供了方案3中概述的用于制备ST-246的方法



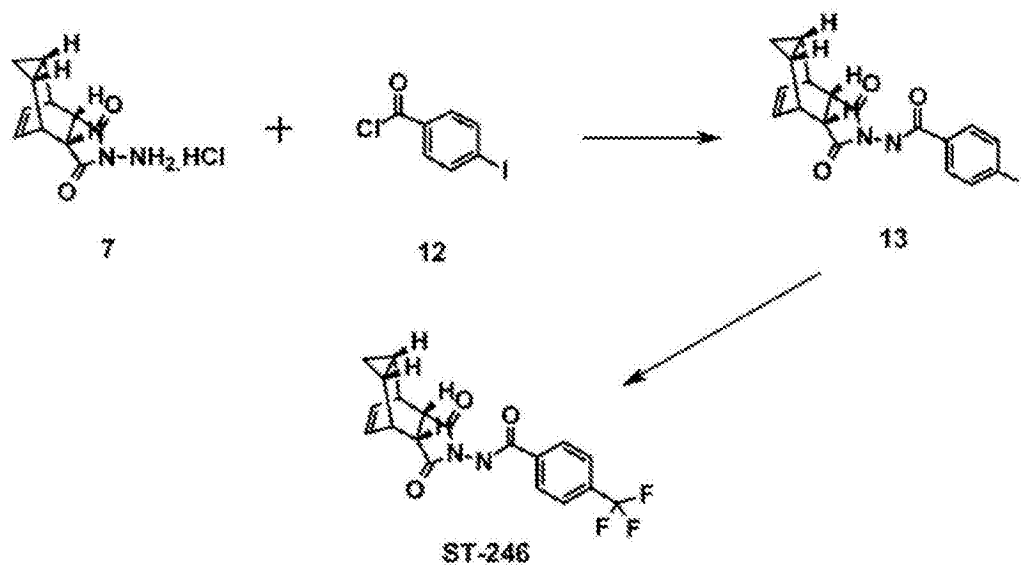
[0028] 方案3

[0029] 本发明还提供了方案4中概述的用于制备ST-246的方法



[0031] 方案4

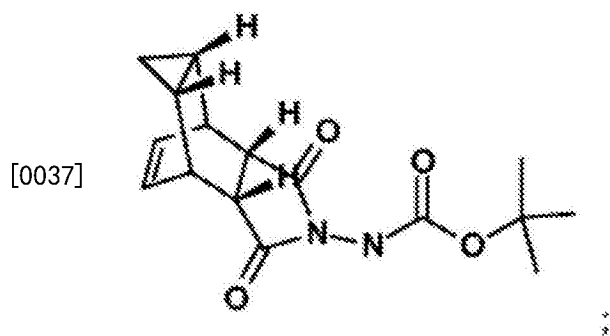
[0032] 本发明还提供了方案5中概述的用于制备ST-246的方法



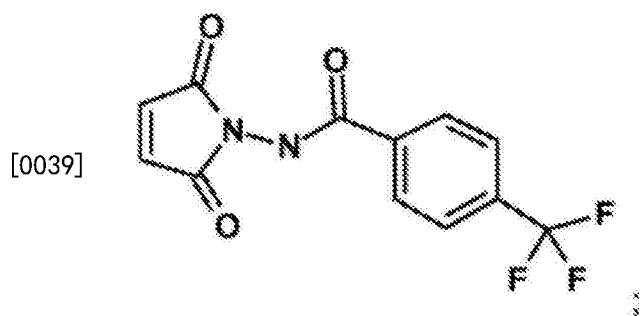
[0034] 方案5

[0035] 本发明还提供了可用于合成ST-246的以下化合物：

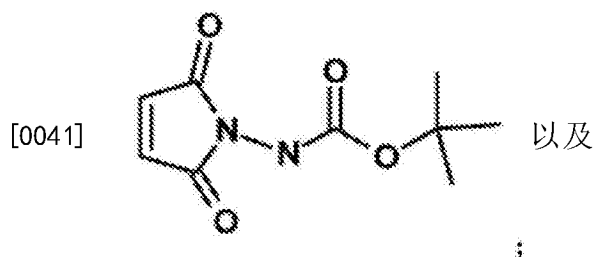
[0036] (a) 具有下式的化合物6：



[0038] (b) 具有下式的化合物9：

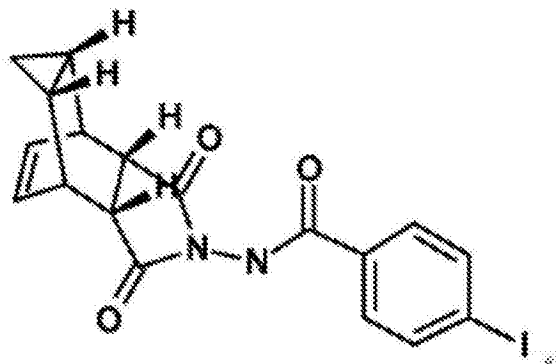


[0040] (c) 具有下式的化合物10：



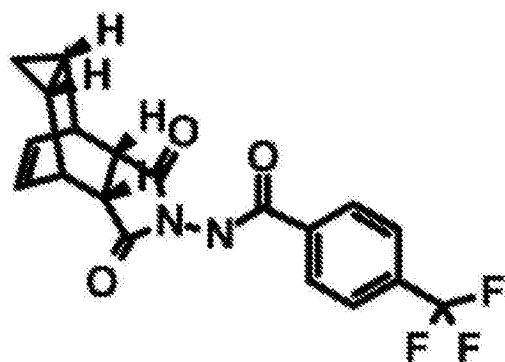
[0042] (d) 具有下式的化合物13：

[0043]

[0044] 发明详述

[0045] 本文描述用于生产ST-246的方法。ST-246的化学名称为N-[(3aR,4R,4aR,5aS,6S,6aS)-3,3a,4,4a,5,5a,6,6a-八氢-1,3-二氧化-4,6-亚乙烯基环丙并[f]异吡啶-2(1H)-基]-4-(三氟甲基)-苯甲酰胺并具有下式：

[0046]

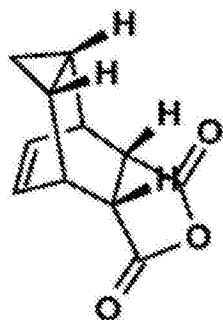


ST-246

[0047] 因此,已经发现ST-246可通过称为合成路线I的方法制备,所述方法包括:

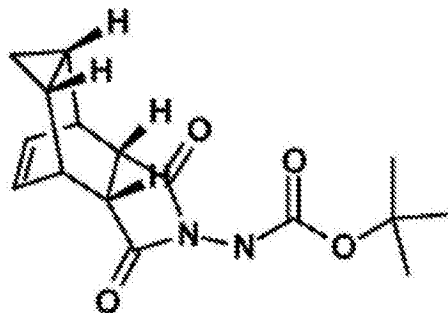
[0048] (a) 使下式的化合物3:

[0049]



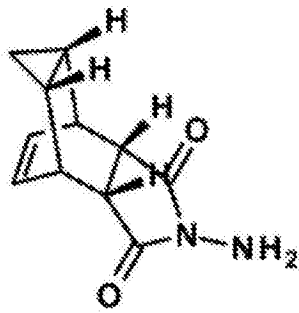
[0050] 与胍基甲酸叔丁酯(化合物5)反应以形成下式的化合物6:

[0051]



[0052] (b) 使化合物6与酸反应以形成下式的化合物7或其盐:

[0053]



[0054] (c) 使化合物7与4-(三氟甲基)苯甲酰氯(化合物8)反应;以及

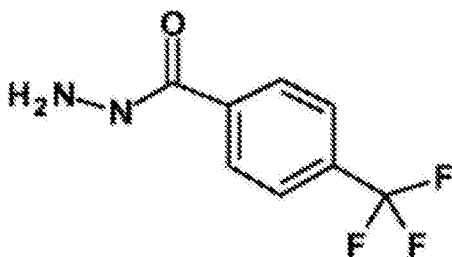
[0055] (d) 收集N-[(3aR,4R,4aR,5aS,6S,6aS)-3,3a,4,4a,5,5a,6,6a-八氢-1,3-二氧代-4,6-亚乙烯基环丙并[f]异吲哚-2(1H)-基]-4-(三氟甲基)-苯甲酰胺。

[0056] 对于合成路线I,步骤(b)中的酸优选为HCl。还优选地,在步骤(b)的反应之前,将化合物6溶解于i-PrOAc中。再次优选地,碱存在于步骤(c)的反应中,其中所述碱选自:吡啶、4-二甲基氨基吡啶、三乙胺和二异丙基乙胺。步骤(c)优选在低于约20℃的温度下进行。

[0057] 也已经发现ST-246可通过称为合成路线II的方法制备,所述方法包括:

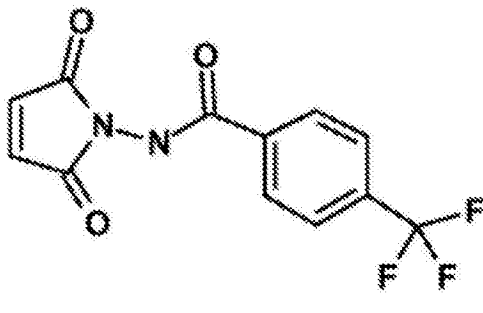
[0058] (a) 使下式的化合物4:

[0059]



[0060] 与马来酸酐(化合物2)反应以形成下式的化合物9:

[0061]



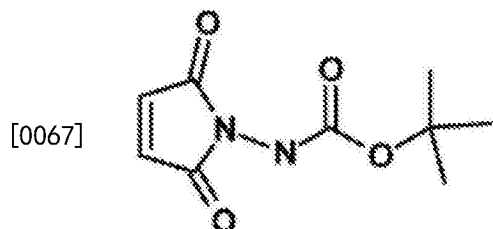
[0062] (b) 使化合物9与环庚三烯(化合物1)反应;以及

[0063] (c) 收集N-[(3aR,4R,4aR,5aS,6S,6aS)-3,3a,4,4a,5,5a,6,6a-八氢-1,3-二氧代-4,6-亚乙烯基环丙并[f]异吡啶-2(1H)-基]-4-(三氟甲基)-苯甲酰胺。

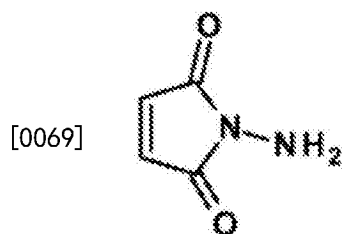
[0064] 对于合成路线II,步骤(a)优选在邻二甲苯和加热回流的反应物中进行。还优选地,步骤(b)在至少约75℃的温度下于甲苯中进行。

[0065] 还已经发现ST-246可通过称为合成路线III的方法制备,所述方法包括:

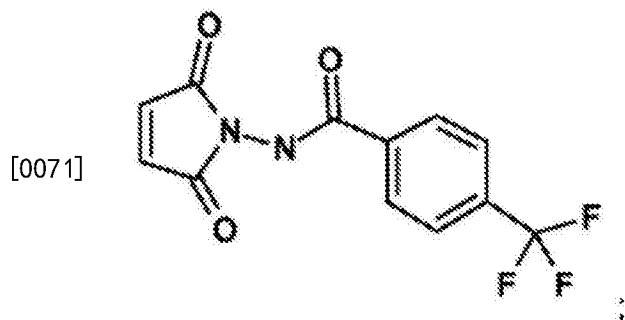
[0066] (a) 使马来酸酐(化合物2)和肼基甲酸叔丁酯(化合物5)反应以形成下式的化合物10:



[0068] (b) 使化合物10与酸反应以形成下式的化合物11或其盐:



[0070] (c) 使化合物11与4-(三氟甲基)苯甲酰卤(化合物8)反应以形成下式的化合物9:



[0072] (d) 使化合物9与环庚三烯(化合物1)反应;以及

[0073] (e) 收集N-[(3aR,4R,4aR,5aS,6S,6aS)-3,3a,4,4a,5,5a,6,6a-八氢-1,3-二氧代-4,6-亚乙烯基环丙并[f]异吡啶-2(1H)-基]-4-(三氟甲基)-苯甲酰胺。

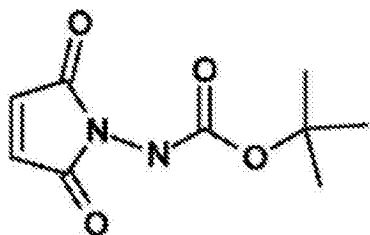
[0074] 对于合成路线III,步骤(a)优选在氮气气氛下于无水甲苯和加热回流的反应物中进行。还优选地,步骤(b)中的酸为HCl。还优选在步骤(b)的反应之前将化合物10溶解于i-PrOAc中。此外,碱优选地存在于步骤(c)的反应中,其中所述碱选自:吡啶、4-二甲基氨基吡啶、三乙胺和二异丙基乙胺。还优选地,4-(三氟甲基)苯甲酰卤为4-(三氟甲基)苯甲酰氯。步骤(c)优选在约10℃至约25℃的温度下进行并且步骤(d)在高于约110℃的温度下于氮气气氛中在甲苯中进行。

[0075] 还已经发现ST-246可通过称为合成路线IV的方法制备,所述方法包括:

[0076] (a) 使马来酸酐(化合物2)与肼基甲酸叔丁酯(化合物5)反应以形成下式的化合物

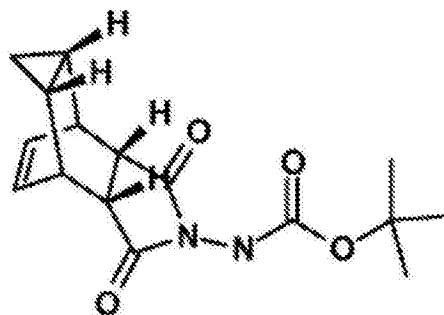
10:

[0077]



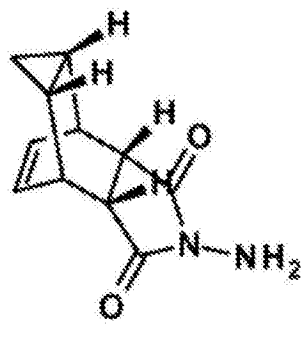
[0078] (b) 使化合物10与环庚三烯(化合物1)反应以形成下式的化合物6:

[0079]



[0080] (c) 使化合物6与酸反应以形成下式的化合物7或其盐:

[0081]



[0082] (d) 使化合物7与4-(三氟甲基)苯甲酰氯(化合物8)反应;以及

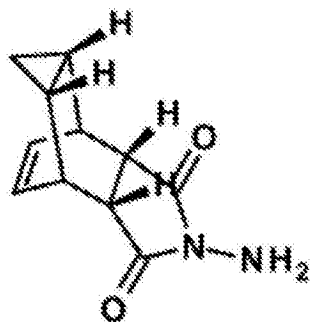
[0083] (e) 收集N-[(3aR,4R,4aR,5aS,6S,6aS)-3,3a,4,4a,5,5a,6,6a-八氢-1,3-二氧代-4,6-亚乙烯基环丙并[f]异吲哚-2(1H)-基]-4-(三氟甲基)-苯甲酰胺。

[0084] 对于合成路线IV,步骤(a)优选在氮气气氛下于无水甲苯和加热回流的反应物中进行。还优选地,步骤(b)在至少约75℃的温度下于氮气气氛中进行。步骤(c)中的酸优选为HCl。还优选在步骤(c)的反应之前将化合物6溶解于i-PrOAc中。还优选地,碱存在于步骤(d)的所述反应中,其中所述碱选自:吡啶、4-二甲基氨基吡啶、三乙胺和二异丙基乙胺。步骤(d)在低于约20℃的优选温度下进行。

[0085] 还已经发现ST-246可通过称为合成路线V的方法制备,所述方法包括:

[0086] (a) 使具有下式的化合物7:

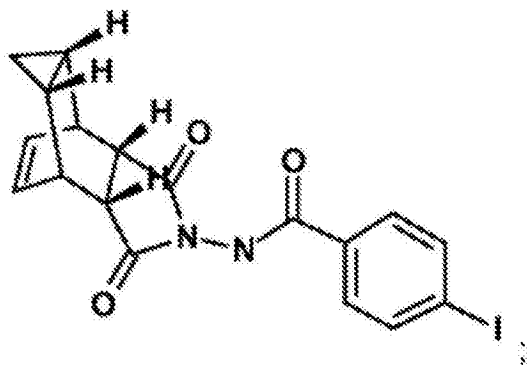
[0087]



[0088]

与4-碘苯甲酰氯(化合物12)反应以形成具有下式的化合物13:

[0089]



[0090]

(b) 使化合物13与2,2-二氟-2-(氟磺酰基)乙酸甲酯反应;以及

[0091]

(c) 收集N-[(3aR,4R,4aR,5aS,6S,6aS)-3,3a,4,4a,5,5a,6,6a-八氢-1,3-二氧代-4,6-亚乙烯基环丙并[f]异吲哚-2(1H)-基]-4-(三氟甲基)-苯甲酰胺。

[0092]

对于合成路线V,碱优选存在于步骤(a)的反应中,其中所述碱选自:吡啶、4-二甲基氨基吡啶、三乙胺和二异丙基乙胺。还优选地,步骤(a)在低于约20℃的温度下于氮气气氛中进行并且步骤(b)在存在二甲基甲酰胺、2,2-二氟-2-(氟磺酰基)乙酸甲酯和碘化亚铜(I)的情况下进行。

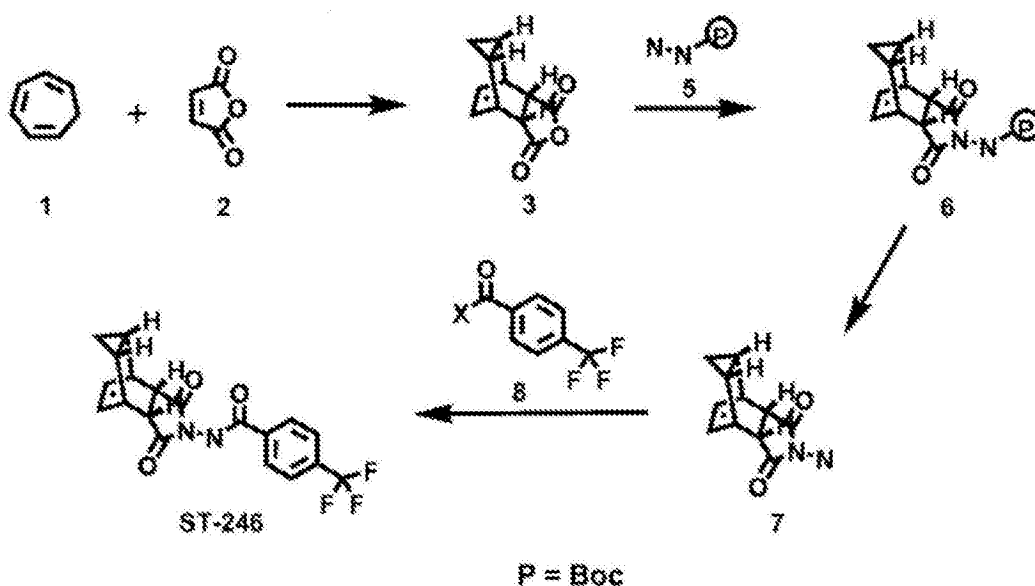
[0093]

任选地,在各个合成路线I-V步骤中收集的ST-246通过柱色谱法进一步纯化。

[0094]

实施例1:合成路线I:

[0095]



[0096]

方案1

[0097] 步骤A. 化合物6的合成 (P=Boc)

[0098] 向化合物3 (5.0g, 26.3mmol, 根据W004112718合成) 在EtOH (80ml, EMD, AX0441-3) 中的混合物加入肼基甲酸叔丁酯5 (3.65g, 27.6mmol, Aldrich, 98%)。将反应混合物在氮气气氛下加热回流保持4h。反应混合物的LC-MS分析示出剩余小于5%的化合物3。将反应混合物在减压下蒸发。将残余物从EtOAc-己烷中重结晶, 将固体过滤, 用己烷 (50mL) 洗涤并在真空下干燥以得到呈白色固体的化合物6 (3.1g, 39%产率)。将滤液浓缩并通过用含25% EtOAc的己烷洗脱的柱色谱法纯化以得到呈白色固体的另外的3.64g (46%产率) 的化合物6。总产量: 6.74g (84%产率)。在CDCl₃中的¹H NMR: δ6.30 (br s, 1H), 5.79 (t, 2H), 3.43 (s, 2H), 3.04 (s, 2H), 1.46 (s, 9H), 1.06-1.16 (m, 2H), 0.18-0.36 (m, 2H); 质谱: 327.2 (M+Na)⁺

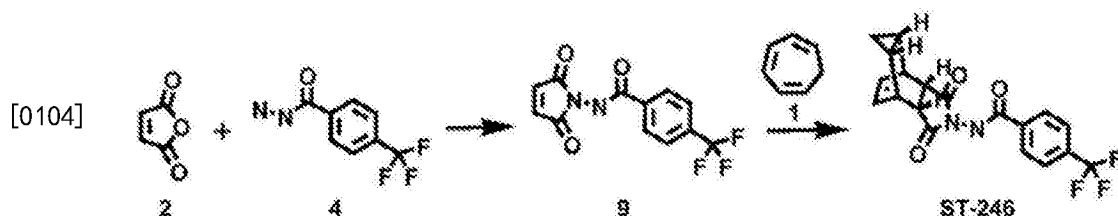
[0099] 步骤B. 化合物7的合成 (HCl盐)

[0100] 将化合物6 (3.6g, 11.83mmol) 溶解于i-PrOAc (65mL, Aldrich, 99.6%) 中。将含4M HCl的二噁烷 (10.4mL, 41.4mmol, Aldrich) 逐滴加入至温度保持低于20℃的上述溶液。将反应混合物在室温下于氮气气氛中过夜搅拌 (18h)。将所得固体过滤, 用i-PrOAc (15mL) 洗涤并在真空下干燥以得到呈白色固体的化合物7的HCl盐 (1.9g, 67%产率)。将滤液浓缩至其体积的1/3并在10-15℃搅拌30min。将固体过滤, 用最少体积的i-PrOAc洗涤并干燥以得到化合物7的另外的0.6g (21%产率)。总产量: 2.5g (88%产率)。在DMSO-d₆中的¹H NMR: δ6.72 (br s, 3H), 5.68 (m, 2H), 3.20 (s, 2H), 3.01 (s, 2H), 1.07-1.17 (m, 2H), 0.18-0.29 (m, 1H), -0.01-0.07 (m, 1H); 质谱: 205.1 (M+H)⁺

[0101] 步骤C. ST-246的合成

[0102] 向化合物7 (0.96g, 4mmol) 在无水二氯甲烷 (19mL) 中的混合物加入温度保持低于20℃的三乙胺 (1.17mL, 8.4mmol, Aldrich)。将所得溶液在15-20℃搅拌5分钟, 向其逐滴加入4-(三氟甲基) 苯甲酰氯8 (0.63mL, 4.2mmol, Aldrich, 97%) 并将反应混合物在室温搅拌过夜 (18h)。LC-MS和TLC分析示出ST-246的准确分子量和R_f值, 但是反应未完全。将另外的0.3mL (2mmol, 0.5当量) 4-(三氟甲基) 苯甲酰氯8在15-20℃加入至反应混合物。将反应然后在室温搅拌过夜 (19h)。LC-MS分析指示仍剩余大约5%的原料7。将反应停止并加入二氯甲烷 (30mL)。将有机相用水 (30mL)、饱和的NH₄Cl水溶液 (30mL)、水 (15mL) 和饱和的NaHCO₃水溶液 (30mL) 洗涤。将有机相分离, 经Na₂SO₄干燥、过滤并浓缩以得到粗产物。将粗产物通过用含30-50% EtOAc的己烷洗脱的柱色谱法纯化以得到呈灰白色固体的ST-246 (0.34g, 23%产率)。分析数据 (¹H NMR, LC-MS和通过共注射的HPLC) 与根据W004112718合成的ST-246的那些相匹配并为一致的。

[0103] 实施例2: 合成路线II:



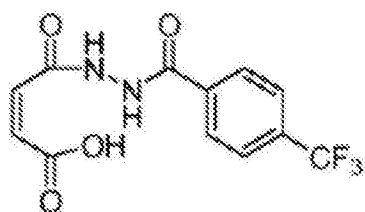
[0105] 方案2

[0106] 步骤A. 化合物9的合成

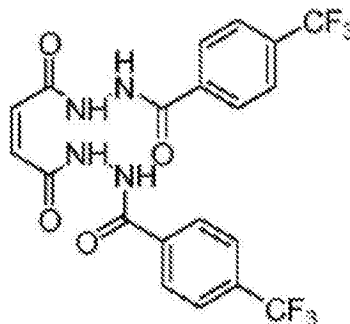
[0107] 将化合物4 (2.0g, 9.8mmol) 和马来酸酐2 (0.96g, 9.8mmol, Aldrich powder, 95%)

在邻二甲苯 (100mL, 无水Aldrich, 97%) 中的混合物使用迪安-斯脱克分水器 (Dean-Stark trap) 装置加热回流过夜。在18h之后, 在215nm处的LC-MS分析示出所需产物9 (86%)、未环化的产物 (2.6%) 和二聚体副产物 (11.6%)。

[0108]



未环化的产物 (MS = 303)



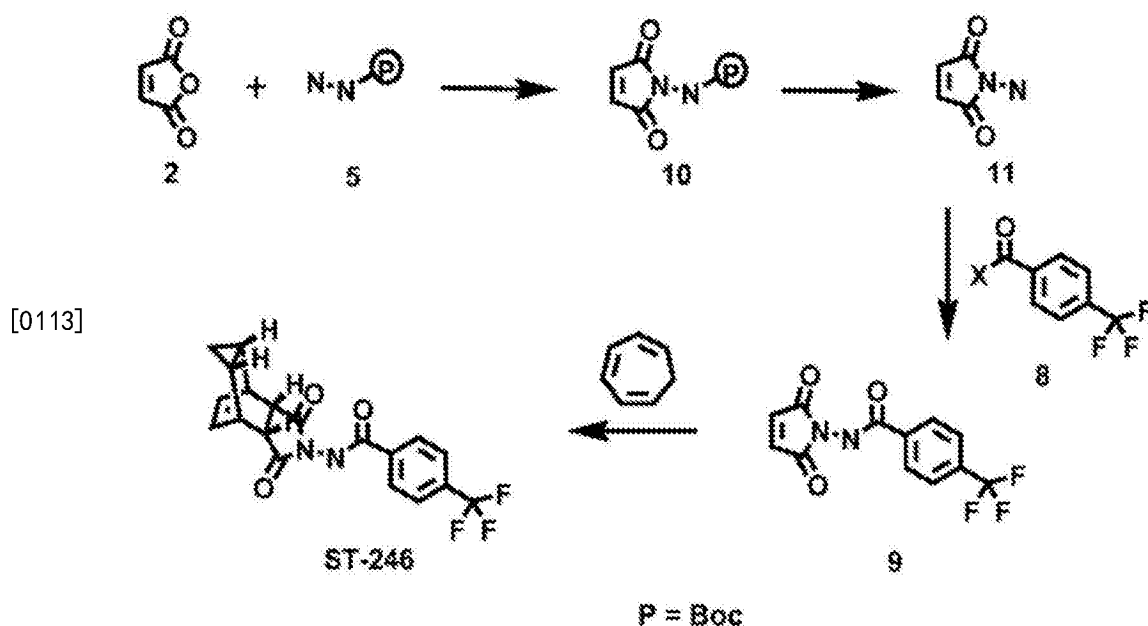
二聚体副产物 (MS = 489)

[0109] 将反应混合物冷却至45℃并在减压下蒸发。将残余物溶解于EtOAc (50mL) 并将不溶固体 (主要为未环化的产物) 通过过滤去除。将滤液浓缩并通过用含50%EtOAc的己烷洗脱的柱色谱法纯化以得到呈灰白色固体的化合物9 (1.5g, 54%产率)。在CDCl₃中的¹H NMR: δ 8.44 (s, 1H), 7.91 (d, 2H), 7.68 (d, 2H), 6.88 (s, 2H); 质谱: 285.1 (M+H)⁺

[0110] 步骤B.ST-246 (路线II) 的合成

[0111] 将化合物9 (0.97g, 3.4mmol) 和环庚三烯1 (0.51mL, 4.42mmol, 在使用之前蒸馏, Aldrich tech 90%) 在甲苯 (50mL, 无水Aldrich) 中的混合物在95℃下于氮气气氛中加热。在95℃1.5h之后, 在254nm处的LC-MS分析示出29%转化成所需产物 (内消旋: 外消旋 = 94:6)。将所得溶液在相同温度下继续加热过夜。在95℃18h之后, LC-MS分析指示75%转化, 其中内消旋: 外消旋比率为94:6。将反应温度增加至110℃并监控反应。在110℃加热保持7h之后, 254nm处的LC-MS分析示出96.4%转化成所需产物 (内消旋: 外消旋 = 94:6)。将挥发物通过在减压下蒸发去除并将残余物通过用含30%EtOAc的己烷洗脱的柱色谱法纯化以得到呈白色固体的ST-246 (0.29g, 22.6%产率, HPLC面积99.7%纯和100%内消旋异构体)。分析数据 (¹H NMR, LC-MS和通过共注射的HPLC) 与根据W004112718合成的ST-246的那些相匹配并是一致的。由柱色谱法回收另外的0.5g ST-246 (38.9%产率, 内消旋: 外消旋 = 97:3)。总产量: 0.84g (65.4%产率)。在CDCl₃中的ST-246外消旋异构体的¹H NMR: δ 8.62 (s, 1H), 7.92 (d, 2H), 7.68 (d, 2H), 5.96 (m, 2H), 3.43 (s, 2H), 2.88 (s, 2H), 1.17 (s, 2H), 0.24 (q, 1H), 0.13 (m, 1H); 质谱: 377.1 (M+H)⁺

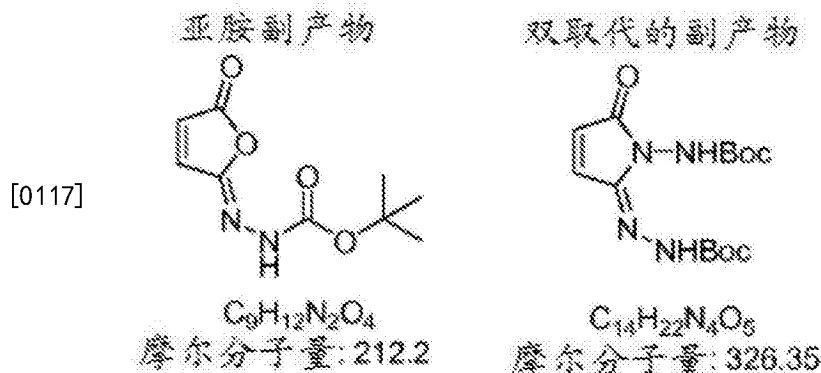
[0112] 实施例3: 合成路线III:



[0114] 方案3

[0115] 步骤A. 化合物10的合成

[0116] 在氮气气氛下使用迪安-斯脱克分水器装置将马来酸酐2 (15.2g, 155mmol, Aldrich粉末95%) 和肼基甲酸叔丁酯5 (20.5g, 155mmol, Aldrich, 98%) 在无水甲苯 (150mL, 无水Aldrich) 中的混合物加热回流。在回流2h之后, 未剩余原料2并在254nm处的LC-MS分析示出所需产物10 (占HPLC面积的20%)、亚胺副产物 (18%) 和双取代的副产物 (56%)。将反应混合物浓缩并通过用含25% EtOAc的己烷洗脱的柱色谱法纯化以得到呈白色固体的化合物10 (5.98g, 18% 产率, HPLC面积>99.5% 纯度)。DMSO-d₆中的¹H NMR: δ9.61 (s, 1H), 7.16 (s, 2H), 1.42 (s, 9H); 质谱: 235.1 (M+Na)⁺。



[0118] 步骤B. 化合物11的合成 (HCl盐)

[0119] 将化合物10 (3.82g, 18mmol) 溶解于i-PrOAc (57mL, Aldrich, 99.6%) 中。将含4M HCl的二噁烷 (15.8mL, 63mmol, Aldrich) 逐滴加入至温度保持低于20℃的上述溶液。将溶液在室温下于氮气气氛中搅拌过夜 (24h)。将所得固体过滤, 用i-PrOAc (10mL) 洗涤并在45℃下于真空中干燥1h以得到呈白色固体的化合物11的HCl盐 (2.39g, 89% 产率)。在CD₃OD中的¹H NMR: δ6.98 (s, 2H); 质谱: 113.0 (M+H)⁺

[0120] 步骤C. 化合物9的合成 (路线III)

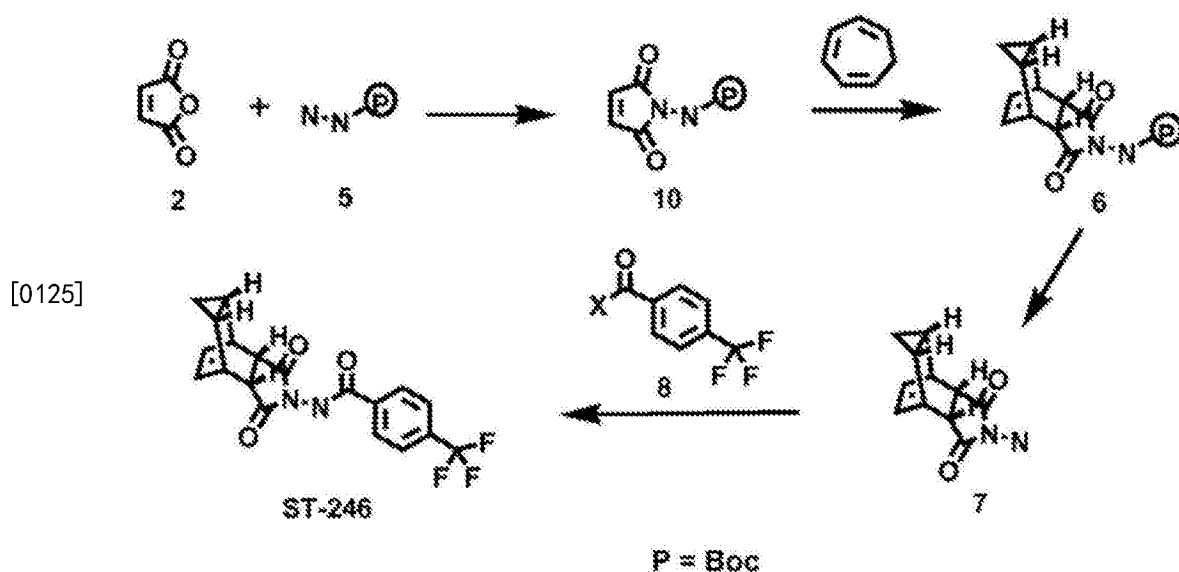
[0121] 向化合物11 (1.19g, 8mmol) 在无水二氯甲烷 (24mL) 中的混合物加入温度保持低于

20℃的二异丙基乙胺 (2.93mL, 16.8mmol, Aldrich重蒸馏级)。将所得溶液在15-20℃搅拌5分钟并向其逐滴加入4-(三氟甲基)苯甲酰氯8 (1.31mL, 8.8mmol, Aldrich, 97%)。将反应物在室温搅拌5h。LC-MS分析示出正确的MW, 但是反应未完全。在15-20℃下将另外的0.48mL (0.4当量) 的4-(三氟甲基)苯甲酰氯8加入至反应混合物并将反应混合物在室温搅拌过夜 (21h)。停止反应并加入二氯甲烷 (50mL)。将有机相用水 (50mL)、饱和NH₄Cl水溶液 (50mL)、水 (30mL) 和饱和NaHCO₃水溶液 (30mL) 洗涤。将有机相分离, 经Na₂SO₄干燥, 过滤并浓缩以得到粗产物。将粗产物通过用含30-35%EtOAc的己烷洗脱的柱色谱法纯化以得到呈浅粉色固体的化合物9 (0.8g, 35%产率)。分析数据 (¹H NMR和LC-MS) 与合成路线II中获得的化合物9的那些相一致。

[0122] 步骤D. ST-246的合成 (路线III)

[0123] 在110-115℃下于氮气气氛中将化合物9 (0.5g, 1.76mmol) 和环庚三烯1 (0.33mL, 3.17mmol, 在使用之前蒸馏, Aldrich tech 90%) 在甲苯 (10mL, Aldrich, 无水) 中的混合物加热。6h之后, 254nm处的LC-MS分析示出95%转化成所需产物 (内消旋: 外消旋 = 94:6)。将所得溶液在相同温度下加热过夜 (22h)。254nm处的LC-MS分析示出未剩余的原料9和所需产物 (内消旋: 外消旋 = 93:7)。将反应混合物浓缩并通过用含25-35%EtOAc的己烷洗脱的柱色谱法纯化以得到呈白色固体的ST-246 (0.39g, HPLC面积 >99.5%纯度, 其中内消旋: 外消旋的比率 = 99:1)。分析数据 (¹H NMR、LC-MS和通过共注射的HPLC) 与根据W004112718合成的ST-246的那些进行比较并发现为一致的。由柱色谱法回收另外0.18g的ST-246 (HPLC面积 >99.5%纯度, 内消旋: 外消旋 = 91:9)。总产量: 0.57g (86%产率)。

[0124] 实施例4: 合成路线IV:

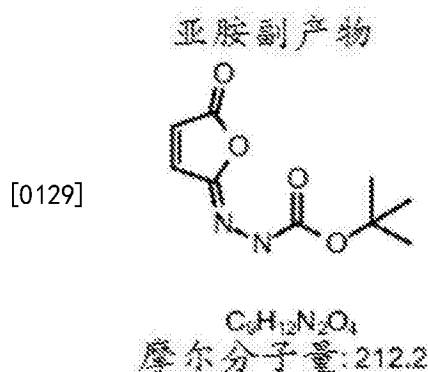


[0126] 方案4

[0127] 步骤A. 化合物10的合成

[0128] 在氮气气氛下使用迪安-斯脱克分水器装置将马来酸酐2 (3.4g, 34.67mmol, Aldrich粉末, 95%) 和肼基甲酸叔丁酯5 (4.6g, 34.67mmol, Aldrich, 98%) 在无水甲苯 (51mL, Aldrich) 中的混合物加热回流。在回流2.5h之后, 未剩余原料2并且在254nm处的LC-MS分析示出所需产物10 (19%HPLC面积)、亚胺副产物 (18%) 和另一副产物 (56%)。将反应混合物浓缩并用含30%EtOAc的己烷洗脱的柱色谱法纯化以得到呈白色固体的化合物10

(1.0g, 13.6%产率, HPLC面积>99%纯度)。分析数据 (^1H NMR和LC-MS) 与合成路线III中获得的化合物10的那些相一致。



[0130] 步骤B. 化合物6的合成

[0131] 在95℃下于氮气气氛中将化合物10 (4.4g, 20.74mmol) 和环庚三烯1 (3.22mL, 31.1mmol, 在使用之前蒸馏, Aldrich tech 90%) 在甲苯 (88mL, 20体积, Aldrich, 无水) 中的混合物加热。在95℃15h之后, LC-MS分析示出83%转化成所需产物。将反应混合物在105℃加热过夜。在95-105℃总计40h之后, 254nm处的LC-MS分析示出~99%转化成所需产物 (内消旋: 外消旋=93:7)。将反应混合物浓缩并将粗品通过用含25-50% EtOAc的己烷洗脱的柱色谱法纯化以得到呈白色固体的化合物6 (2.06g, 32.6%产率, HPLC面积99.9%纯度以及100%内消旋异构体)。 ^1H NMR和LC-MS与合成路线I中获得的化合物6的那些相一致。由柱色谱法回收另外4.0g化合物6 (63.4%产率, HPLC面积93%纯度, 其中内消旋: 外消旋比率=91:9)。总产量: 6.06g (96%产率)。

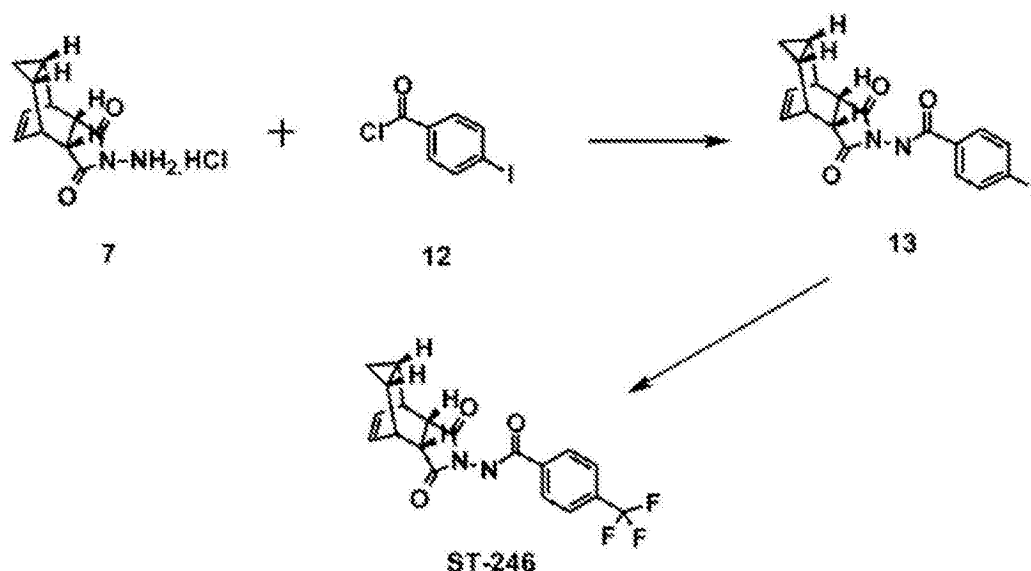
[0132] 步骤C. 化合物7的合成 (HCl盐)

[0133] 将化合物6 (2.05g, 6.74mmol) 溶解于i-PrOAc (26mL, Aldrich, 99.6%) 中。将含4M HCl的二噁烷 (5.9mL, 23.58mmol, Aldrich) 逐滴加入至温度保持低于20℃的上述溶液。将溶液在室温下于氮气气氛中搅拌过夜 (18h)。将所得固体过滤, 用i-PrOAc (5mL) 洗涤并在真空下干燥以获得呈白色固体的化合物7的HCl盐 (1.57g, 97%产率)。分析数据 (^1H NMR和LC-MS) 与合成路线I中的化合物7的那些相一致。

[0134] 步骤D. ST-246的合成 (路线IV)

[0135] 向化合物7 (0.84g, 3.5mmol) 在二氯甲烷 (13mL) 中的混合物加入温度保持低于20℃的二异丙基乙胺 (1.34mL, 7.7mmol) 并将所得溶液搅拌5-10分钟。将4-(三氟甲基) 苯甲酰氯8 (0.57mL, 3.85mmol, Aldrich, 97%) 加入至温度保持低于20℃的上述溶液。将反应混合物在室温搅拌2h。将另外0.2mL (0.4当量) 的4-(三氟甲基) 苯甲酰氯8加入至温度保持低于20℃的反应物。将反应物在室温搅拌过夜 (24h)。将反应混合物用二氯甲烷 (20mL) 稀释。将有机相用水 (20mL)、饱和 NH_4Cl 水溶液 (20mL)、水 (20mL) 和饱和 NaHCO_3 水溶液 (20mL) 洗涤。将有机相分离, 经 Na_2SO_4 干燥, 过滤并浓缩以得到粗产物。将粗产物通过用含30-35% EtOAc的己烷洗脱的柱色谱法纯化以得到呈白色固体的ST-246 (0.25g, 19%产率, HPLC面积>99.5%纯度)。分析数据 (^1H NMR和LC-MS) 与根据W004112718合成的ST-246的那些相一致。

[0136] 实施例5: 合成路线V:



[0137]

[0138] 方案5

[0139] 步骤A. 化合物13的合成

[0140] 向化合物7 (1.6g, 6.65mmol, 根据合成路线I合成) 在二氯甲烷 (80mL) 中的混合物加入温度保持低于20℃的三乙胺 (2.04mL, 14.63mmol) 并将所得溶液搅拌5-10分钟。在氮气气氛下将4-碘苯甲酰氯12 (1.95g, 7.31mmol, 1.1当量, Aldrich) 逐滴加入至温度保持低于20℃的上述溶液。将反应混合物在室温搅拌过夜。在17h和19h之后, 将另外的0.35g (0.2当量) 酰氯12加入至温度保持低于20℃的反应物。在24h之后, 加入另外的0.18g (0.1当量, 使用总计1.6当量) 酰氯12并将反应物在室温继续搅拌过夜 (总计43h)。215nm处的LC-MS分析示出43%的所需产物 (13) 和~5%的化合物7。将反应物用二氯甲烷 (100mL) 稀释。将有机相用饱和NH₄Cl水溶液 (100mL)、水 (100mL) 和饱和NaHCO₃水溶液 (100mL) 洗涤。将有机相分离, 经Na₂SO₄干燥, 过滤并浓缩以得到粗产物。将粗产物通过用含25-50% EtOAc的己烷洗脱的柱色谱法纯化以得到呈白色固体的化合物13 (1.63g, 57%产率, HPLC面积93%纯度)。在DMSO-d₆中的¹H NMR: δ 11.19和10.93 (积分比率为1.73:1的两个单峰, 总计1H, 两种旋转异构体的相同质子), 7.93 (d, 2H), 7.66 (d, 2H), 5.80 (s, 2H), 3.36 (s, 2H), 3.27 (s, 2H), 1.18 (s, 2H), 0.27 (q, 1H), 0.06 (s, 1H); 质谱: 435.0 (M+H)⁺

[0141] 步骤B. ST-246的合成 (路线V)

[0142] 将无水的DMF (6mL) 加入至化合物13 (0.2g, 0.46mmol)、2,2-二氟-2-(氟磺酰基) 乙酸甲酯 (0.44mL, 3.45mmol, Aldrich) 和碘化亚铜 (I) (90mg, 0.47mmol) 的混合物。将反应混合物在~90℃搅拌4h。254nm处的LC-MS分析指示未剩余的原料13并示出48% HPLC面积的ST-246。将反应混合物冷却至45℃并在减压下去除DMF。将残余物于EtOAc (30mL) 中浆化并将不溶的固体通过过滤去除。将滤液浓缩并通过用含25-35% EtOAc的己烷洗脱的柱色谱法纯化以得到呈灰白色固体的ST-246 (55mg, 32%产率, 95%纯度, 通过254nm处的HPLC)。分析数据 (¹H NMR和LC-MS) 与根据W004112718合成的ST-246的那些相一致。