



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102159285 B

(45) 授权公告日 2014. 05. 14

(21) 申请号 200980137118. 6

A61K 45/00 (2006. 01)

(22) 申请日 2009. 07. 17

A61P 31/14 (2006. 01)

(30) 优先权数据

61/135, 559 2008. 07. 22 US

(56) 对比文件

WO 2008/057209 A1, 2008. 05. 15, 第
146, 149, 150 页, 以及权利要求 1、18、20、21、22.

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2011. 03. 22

审查员 徐瑾

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2009/050915 2009. 07. 17

(87) PCT国际申请的公布数据

W02010/011566 EN 2010. 01. 28

(73) 专利权人 默沙东公司

地址 美国新泽西州

专利权人 P. 安杰莱蒂分子生物学研究所

(72) 发明人 S. 哈珀 V. 萨马 N. J. 利弗顿

J. A. 麦考利

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公

司 72001

代理人 万雪松 刘健

(51) Int. Cl.

C07K 5/08 (2006. 01)

A61K 38/06 (2006. 01)

权利要求书1页 说明书21页

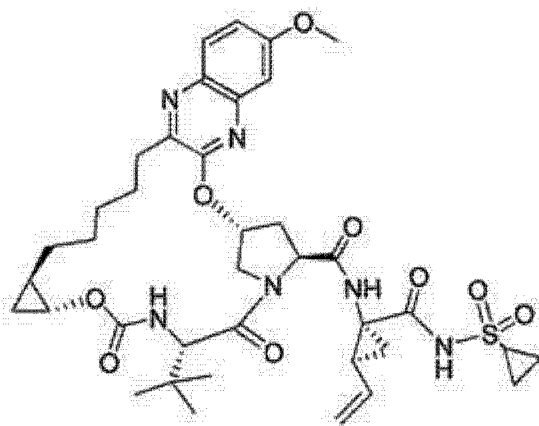
(54) 发明名称

作为 HCV NS3 蛋白酶抑制剂的大环喹啉啉化
合物

(57) 摘要

本发明涉及式(I)的大环化合物及其作为丙
型肝炎病毒(HCV) NS3 蛋白酶抑制剂和用于治疗
或预防 HCV 感染的用途。式(I)。

1. 式(I)的化合物或其可药用盐：



(I)。

2. 药物组合物,其包含有效量的权利要求 1 的化合物和可药用载体。
3. 权利要求 2 的药物组合物,其进一步包含选自 HCV 蛋白酶抑制剂和 HCV NS5B 聚合酶抑制剂的第二治疗剂。
4. 根据权利要求 1-3 任一项的化合物或组合物用于制备用于在需要其的对象中抑制 HCV NS3 蛋白酶活性的药物的用途。
5. 根据权利要求 1-3 任一项的化合物或组合物用于制备用于在需要其的对象中预防或治疗 HCV 感染的药物的用途。

作为 HCV NS3 蛋白酶抑制剂的大环喹啉化合物

发明领域

[0001] 本发明涉及可用作丙型肝炎病毒(HCV) NS3 蛋白酶抑制剂的大环化合物,这些化合物的合成和这些化合物用于治疗 HCV 感染和 / 或降低 HCV 感染的可能性或严重性的用途。

[0002] 发明背景

[0003] 丙型肝炎病毒(HCV)感染是在相当大量的感染个体中引起慢性肝脏疾病例如肝硬化和肝细胞癌的主要健康问题。HCV 感染的当前治疗包括单独使用或与核苷类似物利巴韦林联合使用的重组干扰素- α 的免疫治疗。

[0004] 几种病毒编码的酶是治疗干预的公认靶,包括金属蛋白酶(NS2-3)、丝氨酸蛋白酶(NS3)、解旋酶(NS3)和 RNA 依赖的 RNA 聚合酶(NS5B)。NS3 蛋白酶位于 NS3 蛋白质的 N- 末端结构域。NS4A 为 NS3 活性提供辅助因子。

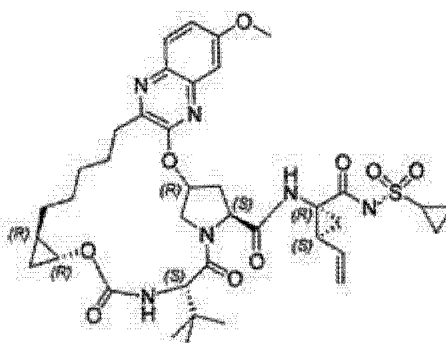
[0005] 已经在不同参考文献中论述了 HCV 感染的潜在治疗,包括 Balsano, *Mini Rev. Med. Chem.* 8(4):307-318, 2008, Rönn 等人, *Current Topics in Medicinal Chemistry* 8:533-562, 2008, Sheldon 等人, *Expert Opin. Investig. Drugs* 16(8):1171-1181, 2007 和 De Francesco 等人, *Antiviral Research* 58:1-16, 2003。

[0006] 发明概述

[0007] 本发明涉及式(I)的大环化合物及其可药用盐。该化合物及其盐是 HCV NS3 蛋白酶抑制剂。该化合物及其盐具有治疗和研究用途。

[0008] 因此,本发明的第一方面描述了式(I)的化合物或其可药用盐:

[0009]



[0010] (I)。

[0011] 本发明还包括含有本发明的化合物的药物组合物和制备此类药物组合物的方法。本发明进一步包括治疗或降低 HCV 感染的可能性或严重性的方法。

[0012] 在随后的说明书、实施例和所附权利要求中进一步描述或显而易见本发明的其它实施方案、方面和特征。

[0013] 发明详述

[0014] 本发明包括式(I)的化合物及其可药用盐。该化合物及其可药用盐可用于抑制 HCV NS3 蛋白酶、治疗 HCV 感染和 / 或降低 HCV 感染的可能性或严重性。预防用途包括,例如,

在怀疑曾通过如输血、体液交换、咬伤、意外针刺伤或术中接触患者血液之类的途径暴露于 HCV 下后的处理。

[0015] 作为药物组合物成分,该化合物和盐可以是主要的活性治疗剂。如果适当,该化合物可以与其它治疗剂,包括但不限于,其它 HCV 抗病毒剂、抗感染药、免疫调节剂、抗生素或疫苗结合。

[0016] NS3 抑制剂还可用于抗病毒化合物的筛选化验的准备和实施。例如,此类化合物可用于分离酶突变体,它们是更有力的抗病毒化合物的优异筛选工具。此外,这些化合物可用于建立或测定其它抗病毒剂与 HCV 蛋白酶的结合位点,例如通过竞争性抑制。

[0017] 如实施例 2 中进一步描述,将式(I)化合物与 WO 2008/057209 的实施例 110 和 118 的化合物进行比较,并具有若干优点。并非承认 WO 2008/057209 是要求保护的本发明的现有技术。

[0018] I. 组合物和方法

[0019] 不同实施方案包括下列:

[0020] (a) 药物组合物,其包含有效量的式(I)的化合物和可药用载体。

[0021] (b) (a) 的药物组合物,其进一步包含选自 HCV 抗病毒剂、免疫调节剂和抗感染剂的第二治疗剂。

[0022] (c) (b) 的药物组合物,其中 HCV 抗病毒剂是选自 HCV 蛋白酶抑制剂和 HCV NS5B 聚合酶抑制剂的抗病毒剂。

[0023] (d) 药物组合,其是 (i) 式(I)的化合物和 (ii) 选自 HCV 抗病毒剂、免疫调节剂和抗感染剂的第二治疗剂;其中式(I)的化合物和第二治疗剂各自以使该组合有效抑制 HCV NS3 蛋白酶或有效治疗 HCV 感染和 / 或降低 HCV 感染的可能性或严重性的量使用。

[0024] (e) (d) 的组合,其中 HCV 抗病毒剂是选自 HCV 蛋白酶抑制剂和 HCV NS5B 聚合酶抑制剂的抗病毒剂。

[0025] (f) 在需要其的对象中抑制 HCV NS3 蛋白酶的方法,其包括向该对象给药有效量的式(I)的化合物。

[0026] (g) 在需要其的对象中治疗 HCV 感染和 / 或降低 HCV 感染的可能性或严重性的方法,其包括向该对象给药有效量的式(I)的化合物。

[0027] (h) (g) 的方法,其中式(I)的化合物与有效量的至少一种选自 HCV 抗病毒剂、免疫调节剂和抗感染剂的第二治疗剂联合给药。

[0028] (i) (h) 的方法,其中 HCV 抗病毒剂是选自 HCV 蛋白酶抑制剂和 HCV NS5B 聚合酶抑制剂的抗病毒剂。

[0029] (j) 在需要其的对象中抑制 HCV NS3 蛋白酶的方法,其包括向该对象给药 (a)、(b) 或 (c) 的药物组合物或 (d) 或 (e) 的组合。

[0030] (k) 在需要其的对象中治疗 HCV 感染和 / 或降低 HCV 感染的可能性或严重性的方法,其包括向该对象给药 (a)、(b) 或 (c) 的药物组合物或 (d) 或 (e) 的组合。

[0031] (l) 式(I)的化合物,其用在药物中,用于预防或治疗 HCV 感染,或 (i) 用于 (a) 抑制 HCV NS3 蛋白酶或 (b) 治疗 HCV 感染和 / 或降低 HCV 感染的可能性或严重性, (ii) 用作 (a) 抑制 HCV NS3 蛋白酶或 (b) 治疗 HCV 感染和 / 或降低 HCV 感染的可能性或严重性的药物,或 (iii) 用于制备 (a) 抑制 HCV NS3 蛋白酶或 (b) 治疗 HCV 感染和 / 或降低 HCV 感染的

可能性或严重性的药物的用途。在这些用途中,本发明的化合物可任选与一种或多种选自 HCV 抗病毒剂、抗感染剂和免疫调节剂的第二治疗剂联合使用。

[0032] 在所有这些实施方案中,该化合物任选以可药用盐形式使用。

[0033] 本文所用的术语“或”是指备选项,如果适当,它们可以组合。因此,术语“或”包括分开的各个所列备选项以及它们的组合,只要该组合不是相互排斥的。

[0034] 提到的化合物还包括该化合物的稳定络合物,如稳定水合物。“稳定”化合物是可被制备和分离并且其结构和性质在足以将该化合物用于本文所述的用途(例如治疗性或预防性给药于对象)的时间内保持基本不变或可以被引起保持基本不变的化合物。

[0035] II. 给药和组合物

[0036] 术语“给药”及其变型(例如“给予”化合物)是指向需要治疗的个体提供该化合物或该化合物的前药。当本发明的化合物或其前药与一种或多种其它活性剂(例如可用于治疗 HCV 感染的抗病毒剂)联合提供时,“给药”及其变型各自理解为包括同时和相继提供该化合物或盐和其它药剂。

[0037] 本发明的化合物可以以可药用盐形式给药。术语“可药用盐”是指具有活性并且在生物学或其它方面不是不理想的(例如,对其接受者而言既无毒也在其它方面无害)的母体化合物的盐。合适的盐包含酸加成盐,其可例如通过将化合物溶液与可药用酸溶液,例如盐酸、硫酸、乙酸、三氟乙酸或苯甲酸混合形成。带有酸性部分的化合物可以与合适的可药用盐混合以提供,例如,碱金属盐(例如钠或钾盐)、碱土金属盐(例如钙或镁盐)和与合适的有机配体形成的盐,如季铵盐。而且,在酸(-COOH)或醇基存在的情况下,可以使用可药用酯改变该化合物的溶解性或水解特征。

[0038] 本文所用的术语“前药”意在包括在向其给药的个体体内通过酶、化学品或代谢过程的作用转化成活性药物形式或化合物的无活性药物形式或化合物。

[0039] 本文所用的术语“组合物”意在包括包含指定成分的产物以及通过合并指定成分而直接或间接产生的任何产物。

[0040] “可药用”是指该药物组合物的成分必须彼此相容并对其接受者无害。

[0041] 本文所用的术语“对象”(在本文中也称作“患者”)是指作为治疗、观察或实验目标的动物,优选哺乳动物,最优选人。

[0042] 术语“有效量”是指足以发挥治疗或预防作用的量。对 HCV 感染患者而言,有效量足以实现一个或多个下列作用:降低 HCV 复制能力,降低 HCV 负荷和提高病毒清除率。对未感染 HCV 的患者而言,有效量足以实现下列一项或多项:降低的 HCV 易感染性和降低的感染病毒建立慢性病持续感染的能力。

[0043] 为了抑制 HCV NS3 蛋白酶和治疗 HCV 感染和/或降低 HCV 感染症状的可能性或严重性,任选为盐形式的本发明的化合物可通过使活性剂与药物的作用位点接触的方式给药。它们可作为独立治疗剂或治疗剂的组合通过可与药物联合使用的常规方式给药。它们可独自给药,但通常与根据所选给药途径和标准药物实践选择的药物载体一起给药。

[0044] 化合物可例如以含有有效量化合物和常规无毒可药用载体、佐剂和赋形剂的药物组合物的单位剂量形式通过一种或多种下列途径给药:口服、肠胃外(包括皮下注射、静脉内、肌肉内、胸骨内注射或输液技术)、通过吸入(例如以喷雾形式)或直肠给药。适于口服的液体制剂(例如悬浮液、糖浆、酏剂等等)可根据本领域已知技术制备并可采用任何常用介

质,例如水、二醇、油、醇等等。适于口服的固体制剂(例如粉剂、丸剂、胶囊和片剂)可根据本领域已知技术制备并可采用固体赋形剂,如淀粉、糖、高岭土、润滑剂、粘合剂、崩解剂等等。肠胃外组合物可根据本领域已知技术制备并通常采用无菌水作为载体和任选采用其他成分,例如溶解助剂。注射液可根据本领域已知方法制备,其中载体包括盐溶液、葡萄糖溶液或含有盐水和葡萄糖的混合物的溶液。适用于制备本发明的药物组合物的方法和适用在所述组合物中的成分的进一步指导可见于 Remington's Pharmaceutical Sciences, 第20版(编者 A. R. Gennaro, Mack Publishing Co., 2000)。

[0045] 本发明的化合物可以以单剂量或分剂量在每天 0.001 至 1000 mg/kg 哺乳动物(例如人)体重的剂量范围内口服。一个剂量范围是以单剂量或分剂量每天口服 0.01 至 500 mg/kg 体重。另一剂量范围是以单剂量或分剂量每天口服 0.1 至 100 mg/kg 体重。用于口服时,该组合物可以以含有 1.0 至 500 毫克活性成分,特别是 1、5、10、15、20、25、50、75、100、150、200、250、300、400、500 和 750 mg 活性成分的片剂或胶囊形式提供,以便依症状调节给予所治疗的患者的剂量。用于任何特定患者的具体剂量水平和给药频率可变,并取决于各种因素,包括所用的具体化合物的活性、该化合物的代谢稳定性和作用时间长度、年龄、体重、一般健康、性别、饮食、给药模式和时间、排泄速率、药物组合、特定病症的严重性和经受治疗的宿主。

[0046] III. 联合治疗

[0047] 本文所述的喹喔啉大环化合物可用在涉及一种或多种附加治疗剂的联合治疗中。附加治疗剂包括也靶向 HCV、靶向不同致病剂的那些或增强免疫系统的那些。增强免疫系统的药剂包括通常增强免疫系统功能的那些和针对 HCV 产生特异性免疫响应的那些。靶向 HCV 的附加治疗剂包括靶向 NS3 的药剂和靶向其它 HCV 活性,如 NS5A 和 NS5B 的药剂,和靶向 HCV 复制中涉及的宿主细胞活性的药剂。

[0048] 在不同出版物中描述了不同 HCV 抑制剂。在 WO 06/119061、WO 7/015785、WO 7/016441、WO 07/148135、WO 08/051475、WO 08/051477、WO 08/051514、WO 08/057209 中描述了可用作 HCV 蛋白酶抑制剂的大环化合物。在国际专利申请公开 WO 98/22496、WO 98/46630、WO 99/07733、WO 99/07734、WO 99/38888、WO 99/50230、WO 99/64442、WO 00/09543、WO 00/59929、WO 02/48116、WO 02/48172、英国专利 No. GB 2 337 262 和美国专利 No. 6,323,180 中公开了附加的 HCV NS3 蛋白酶抑制剂。

[0049] 组合中可能存在的治疗剂的其它实例包括利巴韦林、levovirin、viramidine、胸腺素 α -1、干扰素- β 、干扰素- α 、PEG 化的干扰素- α (peg 干扰素- α)、干扰素- α 和利巴韦林的组合、peg 干扰素- α 和利巴韦林的组合、干扰素- α 和 levovirin 的组合以及 peg 干扰素- α 和 levovirin 的组合。干扰素- α 包括重组干扰素- α 2a (如可获自 Hoffmann-LaRoche, Nutley, NJ 的 Roferon 干扰素)、PEG 化的干扰素- α 2a (Pegasys)、干扰素- α 2b (如可获自 Schering Corp., Kenilworth, NJ 的 Intron-A 干扰素)、PEG 化的干扰素- α 2b (PegIntron)、重组复合干扰素(如干扰素 alphacon-1)和纯化的干扰素- α 产品。Amgen 的重组复合干扰素的商标名为 Infergen。Levovirin 是利巴韦林的 L-对映异构体,其已表现出与利巴韦林类似的免疫调节活性。Viramidine 代表 WO 01/60379 中公开的利巴韦林类似物。该组合的各个组分可以在治疗过程的不同时间分别给药或以分开的或单个的组合形式同时给药。

[0050] 利巴韦林、levovirin 和 viramidine 可通过抑制细胞内酶肌苷单磷酸脱氢酶 (IMPDH) 来调节鸟嘌呤核苷酸的细胞内汇集 (intracellular pools) 以发挥它们的抗 HCV 作用。IMPDH 是在鸟嘌呤核苷酸重新生物合成中对生物合成途径起限速作用的酶。利巴韦林在细胞内易于磷酸化, 单磷酸盐衍生物是 IMPDH 的抑制剂。因此, 抑制 IMPDH 代表可用于发现 HCV 复制抑制剂的另一靶。因此, 本发明化合物还可与 IMPDH 抑制剂, 如国际专利申请公开 WO 97/41211 和 WO 01/00622 中公开的 VX-497; 另一 IMPDH 抑制剂, 如 WO 00/25780 中公开的那种; 或霉酚酸酯 (mycophenolate mofetil) 联合给药。参见 A. C. Allison 和 E. M. Eugui, 44 (Suppl.) Agents Action 165 (1993)。

[0051] 为了治疗 HCV 感染, 本发明的化合物还可以与抗病毒剂金刚胺 (1-氨基金刚烷) 联合给药。关于该药剂的全面描述, 参见 J. Kirschbaum, 12 Anal. Profiles Drug Subs. 1-36 (1983)。

[0052] 为了治疗 HCV 感染, 本发明的化合物还可以与抗病毒剂聚合酶抑制剂 R7128 (Roche) 联合给药。

[0053] 本发明的化合物还可以与 R. E. Harry-O' Kuru 等人, 62 J. Org. Chem. 1754-59 (1997); M. S. Wolfe 等人, 36 Tet. Lett. 7611-14 (1995); 美国专利 No. 3,480,613; 和国际专利申请公开 WO 01/90121、WO 01/92282、WO 02/32920、WO 04/002999、WO 04/003000 和 WO 04/002422 (它们各自的内容全部经此引用并入本文) 中公开的抗病毒剂 2'-C-支链核糖核苷联合用于治疗 HCV 感染。此类 2'-C-支链核糖核苷包括, 但不限于, 2'-C-甲基-胞苷、2'-C-甲基-尿苷、2'-C-甲基-腺苷、2'-C-甲基-鸟苷和 9-(2'-C-甲基-β-D-呋喃核糖基)-2,6-二氨基嘌呤以及核糖 C-2'、C-3' 和 C-5' 羟基的相应氨基酸酯, 以及 5'-磷酸酯衍生物的相应的任选取代的环状 1,3-丙二醇酯。

[0054] 本发明的化合物还可以与其它具有抗-HCV 性质的核苷, 如国际专利申请公开 WO 02/51425、WO 01/79246、WO 02/32920、WO 02/48165 和 WO2005/003147 (包括 R1656, (2'R)-2'-脱氧-2'-氟-2'-C-甲基胞苷, 作为在第 77 页中的化合物 3-6 显示); WO 01/68663; WO 99/43691; WO 02/18404 和 WO2006/021341 和美国专利申请公开 US 2005/0038240 (包括 4'-叠氮核苷, 如 R1626, 4'-叠氮胞苷); 美国专利申请公开 US 2002/0019363、US 2003/0236216、US 2004/0006007 和 US 2004/0063658; 和国际专利申请公开 WO 02/100415、WO 03/026589、WO 03/026675、WO 03/093290、WO 04/011478、WO 04/013300 和 WO 04/028481 (它们各自的内容全部经此引用并入本文) 中公开的那些联合用于治疗 HCV 感染。

[0055] 为了治疗 HCV 感染, 本发明的化合物还可以与 HCV NS5B 聚合酶抑制剂联合给药。可用作联合治疗的此类 HCV NS5B 聚合酶抑制剂包括, 但不限于, 国际专利申请公开 WO 02/057287、WO 02/057425、WO 03/068244、WO 2004/000858、WO 04/003138 和 WO 2004/007512; 美国专利 No. 6,777,392 和美国专利申请公开 US2004/0067901 (它们各自的内容全部经此引用并入本文) 中公开的那些。其它这样的 HCV 聚合酶抑制剂包括, 但不限于, valopicitabine (NM-283; Idenix) 和 2'-F-2'-β-甲基胞苷 (也参见 WO 2005/003147)。

[0056] 在一个实施方案中, 可以与本发明的 HCV NS3 蛋白酶抑制剂联合使用的核苷 HCV NS5B 聚合酶抑制剂选自下列化合物: 4-氨基-7-(2'-C-甲基-β-D-阿糖呋喃基)-7H-吡咯并 [2,3-d] 嘧啶; 4-氨基-7-(2'-C-甲基-β-D-呋喃核糖基)-7H-吡咯并 [2,3-d] 嘧

啶;4-甲基氨基-7-(2-C-甲基-β-D-呋喃核糖基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶;4-二甲基氨基-7-(2-C-甲基-β-D-呋喃核糖基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶;4-环丙基氨基-7-(2-C-甲基-β-D-呋喃核糖基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶;4-氨基-7-(2-C-乙烯基-β-D-呋喃核糖基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶;4-氨基-7-(2-C-羟甲基-β-D-呋喃核糖基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶;4-氨基-7-(2-C-氟甲基-β-D-呋喃核糖基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶;4-氨基-5-甲基-7-(2-C-甲基-β-D-呋喃核糖基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶;4-氨基-7-(2-C-甲基-β-D-呋喃核糖基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-羧酸;4-氨基-5-溴-7-(2-C-甲基-β-D-呋喃核糖基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶;4-氨基-5-氯-7-(2-C-甲基-β-D-呋喃核糖基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶;4-氨基-5-氟-7-(2-C-甲基-β-D-呋喃核糖基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶;2,4-二氨基-7-(2-C-甲基-β-D-呋喃核糖基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶;2-氨基-7-(2-C-甲基-β-D-呋喃核糖基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶;2-氨基-4-环丙基氨基-7-(2-C-甲基-β-D-呋喃核糖基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶;2-氨基-7-(2-C-甲基-β-D-呋喃核糖基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4(3H)-酮;4-氨基-7-(2-C-乙基-β-D-呋喃核糖基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶;4-氨基-7-(2-C,2-O-二甲基-β-D-呋喃核糖基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶;7-(2-C-甲基-β-D-呋喃核糖基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4(3H)-酮;2-氨基-5-甲基-7-(2-C,2-O-二甲基-β-D-呋喃核糖基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4(3H)-酮;4-氨基-7-(3-脱氧-2-C-甲基-β-D-呋喃核糖基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶;4-氨基-7-(3-脱氧-2-C-甲基-β-D-阿糖呋喃基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶;4-氨基-2-氟-7-(2-C-甲基-β-D-呋喃核糖基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶;4-氨基-7-(3-C-甲基-β-D-呋喃核糖基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶;4-氨基-7-(3-C-甲基-β-D-呋喃木糖基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶;4-氨基-7-(2,4-二-C-甲基-β-D-呋喃核糖基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶;4-氨基-7-(3-脱氧-3-氟-2-C-甲基-β-D-呋喃核糖基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶;和相应的5'-三磷酸酯;或它们的可药用盐。

[0057] 本发明的化合物还可以与 HCV 聚合酶的非核苷抑制剂,如国际专利申请公开 WO 01/77091;WO 01/47883;WO 02/04425;WO 02/06246;WO 02/20497;WO 2005/016927 (特别是 JTK003) (它们各自的内容全部经此引用并入本文) 和 HCV-796 (Viropharma Inc.) 中公开的那些联合用于治疗 HCV 感染。

[0058] 在一个实施方案中,可以与本发明的 HCV NS3 蛋白酶抑制剂联合使用的非核苷 HCV NS5B 聚合酶抑制剂选自下列化合物:14-环己基-6-[2-(二甲基氨基)乙基]-7-氧代-5,6,7,8-四氢吡啶并[2,1-a][2,5]苯并二吡辛因(benzodiazocine)-11-羧酸;14-环己基-6-(2-吗啉-4-基乙基)-5,6,7,8-四氢吡啶并[2,1-a][2,5]苯并二吡辛因-11-羧酸;14-环己基-6-[2-(二甲基氨基)乙基]-3-甲氧基-5,6,7,8-四氢吡啶并[2,1-a][2,5]苯并二吡辛因-11-羧酸;14-环己基-3-甲氧基-6-甲基-5,6,7,8-四氢吡啶并[2,1-a][2,5]苯并二吡辛因-11-羧酸;({[(14-环己基-3-甲氧基-6-甲基-5,6,7,8-四氢吡啶并[2,1-a][2,5]苯并二吡辛因-11-基)羰基]氨基}磺酰基)乙酸甲酯;({[(14-环己基-3-甲氧基-6-甲基-5,6,7,8-四氢吡啶并[2,1-a][2,5]苯并二吡辛因-11-基)羰基]氨基}磺酰基)乙酸;14-环己基-N-[(二甲基氨基)磺酰基]-3-甲氧基-6-甲基-5,6,7,8-四氢吡啶并[2,1-a][2,5]苯并二吡辛因-11-甲

酰胺;3-氯-14-环己基-6-[2-(二甲基氨基)乙基]-7-氧代-5,6,7,8-四氢吡啶并[2,1-a][2,5]苯并二吡辛因-11-羧酸;双(三氟乙酸)*N'*-(11-羧基-14-环己基-7,8-二氢-6*H*-吡啶并[1,2-e][1,5]甲苯噁唑辛-7-基)-*N,N*-二甲基乙烷-1,2-二胺;14-环己基-7,8-二氢-6*H*-吡啶并[1,2-e][1,5]甲苯噁唑辛-11-羧酸;14-环己基-6-甲基-7-氧代-5,6,7,8-四氢吡啶并[2,1-a][2,5]苯并二吡辛因-11-羧酸;14-环己基-3-甲氧基-6-甲基-7-氧代-5,6,7,8-四氢吡啶并[2,1-a][2,5]苯并二吡辛因-11-羧酸;14-环己基-6-[2-(二甲基氨基)乙基]-3-甲氧基-7-氧代-5,6,7,8-四氢吡啶并[2,1-a][2,5]苯并二吡辛因-11-羧酸;14-环己基-6-[3-(二甲基氨基)丙基]-7-氧代-5,6,7,8-四氢吡啶并[2,1-a][2,5]苯并二吡辛因-11-羧酸;14-环己基-7-氧代-6-(2-哌啶-1-基乙基)-5,6,7,8-四氢吡啶并[2,1-a][2,5]苯并二吡辛因-11-羧酸;14-环己基-6-(2-吗啉-4-基乙基)-7-氧代-5,6,7,8-四氢吡啶并[2,1-a][2,5]苯并二吡辛因-11-羧酸;14-环己基-6-[2-(二乙基氨基)乙基]-7-氧代-5,6,7,8-四氢吡啶并[2,1-a][2,5]苯并二吡辛因-11-羧酸;14-环己基-6-(1-甲基哌啶-4-基)-7-氧代-5,6,7,8-四氢吡啶并[2,1-a][2,5]苯并二吡辛因-11-羧酸;14-环己基-*N*-[(二甲基氨基)磺酰基]-7-氧代-6-(2-哌啶-1-基乙基)-5,6,7,8-四氢吡啶并[2,1-a][2,5]苯并二吡辛因-11-甲酰胺;14-环己基-6-[2-(二甲基氨基)乙基]-*N*-[(二甲基氨基)磺酰基]-7-氧代-5,6,7,8-四氢吡啶并[2,1-a][2,5]苯并二吡辛因-11-甲酰胺;14-环戊基-6-[2-(二甲基氨基)乙基]-7-氧代-5,6,7,8-四氢吡啶并[2,1-a][2,5]苯并二吡辛因-11-羧酸;14-环己基-5,6,7,8-四氢吡啶并[2,1-a][2,5]苯并二吡辛因-11-羧酸;6-烯丙基-14-环己基-3-甲氧基-5,6,7,8-四氢吡啶并[2,1-a][2,5]苯并二吡辛因-11-羧酸;14-环戊基-6-[2-(二甲基氨基)乙基]-5,6,7,8-四氢吡啶并[2,1-a][2,5]苯并二吡辛因-11-羧酸;14-环己基-6-[2-(二甲基氨基)乙基]-5,6,7,8-四氢吡啶并[2,1-a][2,5]苯并二吡辛因-11-羧酸;13-环己基-5-甲基-4,5,6,7-四氢呋喃并[3',2':6,7][1,4]二吡辛因[1,8-a]吡啶-10-羧酸;15-环己基-6-[2-(二甲基氨基)乙基]-7-氧代-6,7,8,9-四氢-5*H*-吡啶并[2,1-a][2,6]benzodiazonine-12-羧酸;15-环己基-8-氧代-6,7,8,9-四氢-5*H*-吡啶并[2,1-a][2,5]benzodiazonine-12-羧酸;13-环己基-6-氧代-6,7-二氢-5*H*-吡啶并[1,2-d][1,4]苯并氮杂~~草~~-10-羧酸;及其可药用盐。

[0059] IV. 化合物评测

[0060] 可以使用本领域公知的技术评测本文所述的化合物的不同活性,例如抑制 HCV NS3 活性、HCV 复制子活性和 HCV 复制活性的能力(参见例如 Carrol 等人, *J. Biol. Chem.* 278:11979-11984, 2003)。

[0061] 一种这样的化验法是如下文和 Mao 等人, *Anal. Biochem.* 373:1-8, 2008 和国际专利申请公开 WO 2006/102087 中所述的 HCV NS3 蛋白酶时间分辨荧光(TRF)化验法。可以例如在含有 50 mM HEPES pH 7.5、150 mM NaCl、15% 甘油、0.15% TRiton X-100、10 mM DTT 和 0.1% PEG 8000 的 100 微升最终体积的化验缓冲液中进行 NS3 蛋白酶化验。NS3 和 NS4A 蛋白酶用 DMSO 中各种浓度的抑制剂预培育 30 分钟。通过加入 TRF 肽底物(最终浓度 100 nM),引发反应。在室温下 1 小时后用 100 微升 500 mM MES, pH 5.5 淬灭 NS3 介导的底物水解。使用 Victor V2 或 Fusion 荧光光度计(Perkin Elmer Life and Analytical Sciences),以在 340 nm 的激发和在 615 nm 的发射以及 400 μ s 延迟,检测产物荧光。选择

不同酶形式的测试浓度以产生 10-30 的信号 / 背景比 (S/B)。使用对数据的标准四参数拟合推导 IC_{50} 值。使用下式由 IC_{50} 值推导 K_i 值,

$$[0062] \quad IC_{50} = K_i (1 + [S] / K_M), \quad \text{Eqn (1)},$$

[0063] 其中 [S] 是该反应中底物肽的浓度, K_M 是米氏常数。参见 P. Gallinari 等人, 38 Biochem. 5620-32(1999); P. Gallinari 等人, 72 J. Virol. 6758-69 (1998); M. Taliani 等人, 240 Anal. Biochem. 60-67 (1996); Mao 等人, *Analytical Biochemistry* 373: 1-8, 2008。

[0064] V. 一般化合物制造

[0065] 本发明还包括制造式(I)的化合物的方法。根据下列反应流程图和实施例或其修改, 使用易得的原材料、试剂和常规合成程序, 可容易制备本发明的化合物。在这些反应中, 也可以利用本身为本领域普通技术人员已知的变体。本领域普通技术人员根据下列反应流程图和实施例容易看出制备本发明的化合物的其它方法。除非另行指明, 所有变量都如上定义。下列反应流程图和实施例仅用于举例说明本发明及其实践。

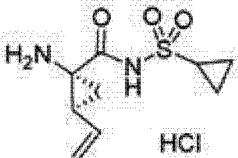
[0066] 烯烃复分解催化剂包括下列钨基物类: F. Miller 等人, 118 J. Am. Chem. Soc. 9606 (1996); G. Kingsbury 等人, 121 J. Am. Chem. Soc. 791 (1999); H. Scholl 等人, 1 Org. Lett. 953 (1999); 美国专利申请公开 US2002/0107138; K. Furstner 等人, 64 J. Org. Chem. 8275 (1999)。这些催化剂在闭环复分解中的用途是文献中公知的(例如 Trnka 和 Grubbs, 34 Acc. Chem. Res. 18 (2001))。

[0067] 下列实施例仅用于举例说明本发明及其实践。这些实施例不应被视为限制本发明的范围或精神。

[0068] 缩写表

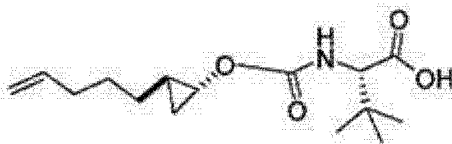
[0069]	DCM/CH ₂ Cl ₂	二氯甲烷
[0070]	DCE	1, 2- 二氯乙烷
[0071]	DIEA	二异丙基乙基胺
[0072]	DMF	二甲基甲酰胺
[0073]	DMSO	二甲亚砜
[0074]	Dppf	二苯基膦基二茂铁
[0075]	Et ₂ O	二乙醚
[0076]	EtOAc	乙酸乙酯
[0077]	HATU	<i>O</i> -(7- 氮杂苯并三唑 -1- 基) - <i>N,N,N'</i> - 四甲基六氟磷酸脲鎓
[0078]	HCl	盐酸
[0079]	TMSCl	氯三甲基硅烷
[0080]	TBAF	四丁基氟化铵
[0081]	DMAP	二甲基氨基吡啶
[0082]	MeCN	乙腈
[0083]	MeOH	甲醇
[0084]	Pd/C	碳载钯
[0085]	TBTU	<i>O</i> - 苯并三唑 -1- 基 - <i>N,N,N'</i> - 四甲基四氟硼酸脲鎓
[0086]	TFA	三氟乙酸

- [0087] THF 四氢呋喃
- [0088] 快速色谱法 使用 Biotage Horizon 使用硅胶筒和指定的流动相梯度提纯
- [0089] HPLC 使用酸化 MeCN 和 H₂O 梯度作为流动相的自动化质量或 UV 触发的高效液相色谱法
- [0090] MHz 兆赫
- [0091] 中间体合成
- [0092] 中间体 A

中间体#	结构	名称	Lit. 参考
[0093] AI		(1R,2S)-1-氨基-N-(环丙基磺酰基)-2-乙烯基环丙烷羧酰胺盐酸盐	Wang 等人, US 6,995,174

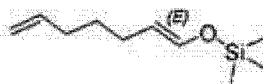
[0094] 中间体 B1 : 3-甲基-N-([[(1R,2R)-2-戊-4-烯-1-基环丙基]氧基]羰基)-L-缬氨酸

[0095]



[0096] 步骤 1 : [(1E)-庚-1,6-二烯-1-基氧基](三甲基)硅烷

[0097]



[0098] 在 -78°C 下用 Cu(I)Br·SMe₂ (0.05 当量) 和 HMPA (2.4 当量) 处理丁烯基溴化镁在 THF (1.4 当量) 中的溶液 (0.5M)。将该混合物搅拌 10 分钟, 随后经 1 小时加入丙烯醛 (1 当量) 和 TMSCl (2 当量) 在 THF 中的溶液 (1M) 以使内部温度保持低于 -68°C。所得混合物在 -78°C 下搅拌 2 小时, 随后用过量 Et₃N 处理和用己烷稀释。在达到室温后, 用小部分 H₂O 处理该混合物并经硅藻土过滤。该滤液用 H₂O 洗涤 10 次, 随后用盐水洗涤。将该有机层干燥并除去挥发物以产生残留物, 其在减压 (20 毫巴) 下蒸馏。在 80-86°C 下收集的馏分含有无色液体状的标题化合物 (58%)。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 6.19 (d, J = 11.6 Hz, 1H), 5.85-5.75 (m, 1H), 5.02-4.92 (m, 3H), 2.08-2.02 (m, 2H), 1.94-1.88 (m, 2H), 1.46-1.38 (m, 2H), 0.18 (s, 9H)。

[0099] 步骤 2 : 反式-2-戊-4-烯-1-基环丙醇

[0100]

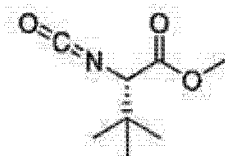


[0101] 用 Et₂Zn (1.2 当量) 在甲苯中的溶液 (15%) 处理前述化合物在己烷中的溶液 (0.45M) 并在冰浴中冷却所得溶液。逐滴加入二碘甲烷 (1.2 当量), 该溶液随后搅拌 1 小

时,再升温至 20℃。加入吡啶(6 当量),该浆料搅拌 15 分钟,随后倾倒入石油醚上。该混合物经硅藻土反复过滤,直至获得透明溶液。将该混合物在 100 毫巴浓缩,留下的溶液(其含有三甲基 {[(反式)-2-戊-4-烯-1-基环丙基] 氧基} 硅烷、甲苯和吡啶)用 THF 进一步稀释。将该混合物冷却至 0℃,随后用 TBAF (1.2 当量)在 THF 中的溶液(1M)逐滴处理。在 10 分钟后,使该混合物升温至 20℃,在进一步的 1 小时后倒入 H₂O 中。水相用 EtOAc 萃取,合并的有机萃取物用盐水洗涤,随后干燥。除去挥发物,提供残留物,其通过快速色谱法(洗脱剂 0-66% Et₂O/石油醚)提纯以提供无色液体状的标题化合物(71%)。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.85-5.75 (m, 1H), 5.00 (dd, *J* = 17.1, 1.6 Hz, 1H), 4.94 (br d, *J* = 10.4 Hz, 1H), 3.20 (表观 dt, *J* = 6.4, 2.5 Hz, 1H), 2.10-2.04 (m, 2H), 1.52-1.44 (m, 2H), 1.29-1.19 (m, 1H), 1.15-1.07 (m, 1H), 0.95-0.87 (m, 1H), 0.71-0.66 (m, 1H), 0.31 (表观 q, *J* = 6.0 Hz, 1H)。

[0102] 步骤 3:3-甲基-N-(氧代亚甲基)-L-缬氨酸甲酯

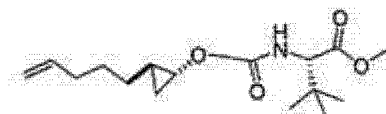
[0103]



[0104] 在冰浴中冷却和快速搅拌 3-甲基-L-缬氨酸甲酯在饱和 NaHCO₃ 和 CH₂Cl₂ 水溶液的 2:1 混合物中的溶液(0.39 M)。用三光气(0.45 当量)一次性处理该混合物,将所得混合物搅拌 0.5 小时。该反应用 CH₂Cl₂ 稀释并分离各层。水相用 CH₂Cl₂ 萃取,随后将合并的有机物用盐水洗涤并干燥。除去溶剂,得到清澈油状的标题化合物,其在真空(0.1 毫巴)下保持 12 小时,随后直接用于后继步骤。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 3.79 (s, 3H), 3.75 (s, 1H), 1.00 (s, 9H)。

[0105] 步骤 4:3-甲基-N-([(1R,2R)-2-戊-4-烯-1-基环丙基] 氧基) 羰基)-L-缬氨酸甲酯和 3-甲基-N-([(1S,2S)-2-戊-4-烯-1-基环丙基] 氧基) 羰基)-L-缬氨酸甲酯

[0106]



[0107] 用 3-甲基-N-(氧代亚甲基)-L-缬氨酸甲酯(1.1 当量)和随后 DMAP (1 当量)处理反式-2-戊-4-烯-1-基环丙醇在甲苯中的溶液(0.45M)。将所得混合物在回流下加热 12 小时,随后冷却至 20℃。加入 H₂O 和 EtOAc,分离有机层并用 1N HCl、盐水洗涤和干燥。除去挥发物,提供残留物,其通过快速色谱法(洗脱剂 0-30% Et₂O/石油醚)提纯两次。第一馏分含有油状的 3-甲基-N-([(1R,2R)-2-戊-4-烯-1-基环丙基] 氧基) 羰基)-L-缬氨酸甲酯(38%)。MS (ES⁺) *m/z* 298 (M+H)⁺。

[0108] 后一馏分含有油状的 3-甲基-N-([(1S,2S)-2-戊-4-烯-1-基环丙基] 氧基) 羰基)-L-缬氨酸甲酯(28%)。MS (ES⁺) *m/z* 298 (M+H)⁺。

[0109] 步骤 5:3-甲基-N-([(1R,2R)-2-戊-4-烯-1-基环丙基] 氧基) 羰基)-L-缬氨酸

[0110]

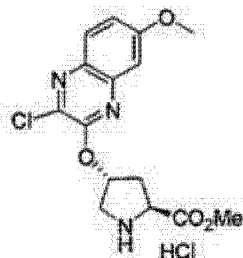


[0111] 用 $\text{LiOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (4 当量) 处理 3-甲基-N-((1*R*, 2*R*)-2-戊-4-烯-1-基环丙基]氧基}羰基)-L-缬氨酸甲酯在 $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ 的 2:1 混合物中的溶液 (0.1M), 随后在 60°C 下加热 4 小时。将该混合物冷却并浓缩至一半体积, 随后用 EtOAc 稀释和用 HCl 水溶液 (1N) 酸化。分离有机层并用盐水洗涤, 随后干燥。除去挥发物, 提供油状标题化合物 (98%)。MS (ES^+) m/z 284 ($\text{M}+\text{H}$)⁺。

[0112] 中间体 C

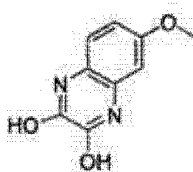
[0113] 中间体 C1 : (4*R*)-4-[(3-氯-6-甲氧基喹啉-2-基)氧基]-L-脯氨酸甲酯盐酸盐

[0114]



[0115] 步骤 1 : 6-甲氧基喹啉-2,3-二醇

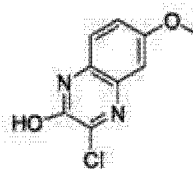
[0116]



[0117] 用 Et_3N (2 当量) 处理 4-甲氧基苯-1,2-二胺二盐酸盐在草酸二乙酯 (8 当量) 中的悬浮液, 随后在 150°C 下加热 2 小时。将该混合物冷却和过滤, 随后用 H_2O 和 EtOH 洗涤收集的固体。干燥残留物以产生标题化合物 (69%)。MS (ES^+) m/z 193 ($\text{M}+\text{H}$)⁺。

[0118] 步骤 2 : 3-氯-6-甲氧基喹啉-2-醇

[0119]

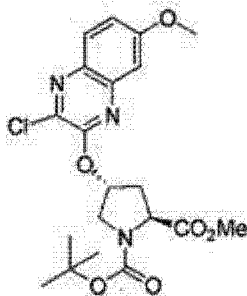


[0120] 用 SOCl_2 (1 当量) 处理 6-甲氧基喹啉-2,3-二醇在 DMF 中的溶液 (1.53M) 并在 110°C 下加热。在 1.5 小时后, 冷却反应混合物并倒入 HCl 水溶液 (1N) 中。过滤所得沉淀物并用 H_2O 和 Et_2O 洗涤。干燥固体作为与 6-甲氧基喹啉-2,3-二醇和 2,3-二氯-6-甲氧基喹啉的混合物主要含有标题化合物。该材料直接用于后继步骤。MS (ES^+) m/z 211

(M+H)⁺。

[0121] 步骤 3: (2S, 4R)-4-[(3-氯-7-甲氧基喹啉-2-基)氧基]吡咯烷-1, 2-二羧酸 1-叔丁基 2-甲酯

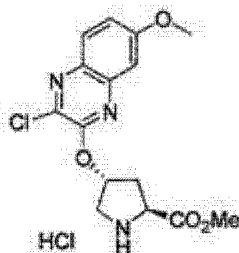
[0122]



[0123] 用 Cs₂CO₃ (1.5 当量) 和 (2S, 4S)-4-[(4-溴苯基)磺酰基]氧基}吡咯烷-1, 2-二羧酸 1-叔丁基 2-甲酯(1.1 当量)处理 3-氯-6-甲氧基喹啉-2-醇在 NMP 中的溶液(0.35M)。所得混合物在 50℃下搅拌 18 小时,随后加入另一份(0.1 当量)(2S, 4S)-4-[(4-溴苯基)磺酰基]氧基}吡咯烷-1, 2-二羧酸 1-叔丁基 2-甲酯。在搅拌 2 小时后,将该混合物冷却并用 H₂O 和 EtOAc 稀释。有机相用 HCl 水溶液(1N)、饱和 NaHCO₃ 水溶液和盐水洗涤。将干燥的有机相浓缩成残留物,其通过快速色谱法(0-60% EtOAc/石油醚)提纯以产生固体状的标题化合物(对两个步骤而言 35%)。MS (ES⁺) *m/z* 438 (M+H)⁺。

[0124] 步骤 4: (4R)-4-[(3-氯-7-甲氧基喹啉-2-基)氧基]-L-脯氨酸甲酯盐酸盐

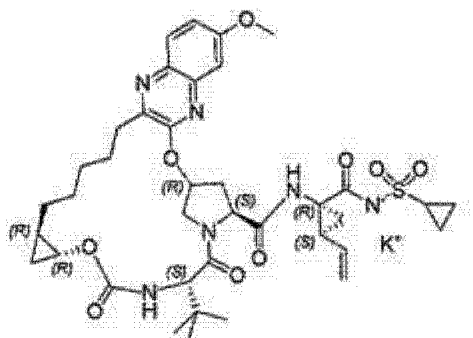
[0125]



[0126] 用 HCl 在二氧杂环己烷(5 当量)中的溶液(4M)处理 (2S, 4R)-4-[(3-氯-7-甲氧基喹啉-2-基)氧基]吡咯烷-1, 2-二羧酸 1-叔丁基 2-甲酯在 CH₂Cl₂ 中的溶液(0.62M)。该混合物在 20℃下搅拌 2 小时,随后用 HCl 在二氧杂环己烷(2 当量)中的溶液(4M)处理。在 5 小时后,判断反应完成,并减压浓缩该混合物。该残留物用 Et₂O 研制以产生固体状的标题化合物(95%)。MS (ES⁺) *m/z* 338 (M+H)⁺。

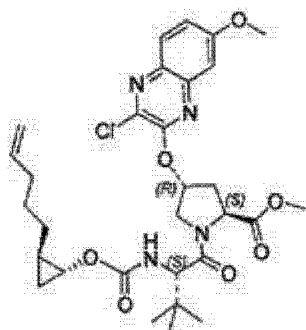
[0127] 实施例 1: [(1R, 2S)-1-({[(1aR, 5S, 8S, 10R, 22aR)-5-叔丁基-14-甲氧基-3, 6-二氧代-1, 1a, 3, 4, 5, 6, 9, 10, 18, 19, 20, 21, 22, 22a-十四氢-8H-7, 10-亚甲环丙[18, 19][1, 10, 3, 6]二氧杂二氮杂环十九基并(cyclononadecino)[11, 12-b]喹啉-8-基]羰基}氨基)-2-乙烯基环丙基]羰基}(环丙基磺酰基)氮烷化(azanide)钾

[0128]



[0129] 步骤 1 : 3-甲基-N-([[(1R, 2R)-2-戊-4-烯-1-基环丙基]氧基]羰基)-L-缬氨酸酯基-(4R)-4-[(3-氯-7-甲氧基喹啉-2-基)氧基]-L-脯氨酸甲酯

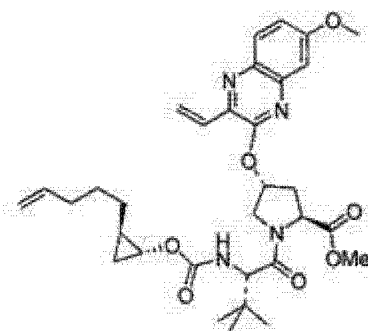
[0130]



[0131] 用 3-甲基-N-([[(1R, 2R)-2-戊-4-烯-1-基环丙基]氧基]羰基)-L-缬氨酸(1.1 当量)、DIEA (5 当量) 和 HATU (1.2 当量) 处理 (4R)-4-[(3-氯-7-甲氧基喹啉-2-基)氧基]-L-脯氨酸甲酯盐酸盐在 DMF 中的溶液(0.2M)。所得混合物在 20℃ 下搅拌 5 小时, 随后用 EtOAc 稀释。分离有机层并用 HCl 水溶液(1N)、饱和 NaHCO₃ 水溶液和盐水洗涤。将干燥的有机相减压浓缩以产生残留物, 其通过快速色谱法(洗脱剂 10-30% EtOAc/石油醚)提纯以提供油状的标题化合物(96%)。MS (ES⁺) *m/z* 604 (M+H)⁺。

[0132] 步骤 2 : 3-甲基-N-([[(1R, 2R)-2-戊-4-烯-1-基环丙基]氧基]羰基)-L-缬氨酸酯基-(4R)-4-[(7-甲氧基-3-乙烯基喹啉-2-基)氧基]-L-脯氨酸甲酯

[0133]

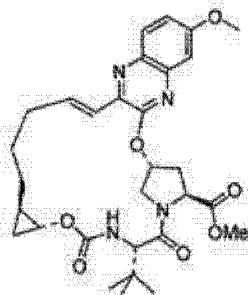


[0134] 用三氟(乙烯基)硼酸钾(1.5 当量)和三乙胺(1.5 当量)处理 3-甲基-N-([[(1R, 2R)-2-戊-4-烯-1-基环丙基]氧基]羰基)-L-缬氨酸酯基-(4R)-4-[(3-氯-7-甲氧基喹啉-2-基)氧基]-L-脯氨酸甲酯在 EtOH 中的溶液(0.1M)。将所得混合物脱气, 随后加入 PdCl₂(dppf)-CH₂Cl₂ 加合物(0.1 当量)。该混合物在

回流下加热 1 小时,随后冷却至室温并用 H₂O 和 EtOAc 稀释。分离有机相,用 H₂O 和盐水洗涤,随后干燥。除去挥发物,提供残留物,其通过快速色谱法(20-30% EtOAc/ 石油醚)提纯产生黄色泡沫状的标题化合物,其直接用于后继步骤。MS (ES⁺) m/z 595 (M+H)⁺。

[0135] 步骤 3 : (1aR, 5S, 8S, 10R, 18E, 22aR)-5-叔丁基-14-甲氧基-3,6-二氧代-1,1a,3,4,5,6,9,10,20,21,22,22a-十二氢-8H-7,10-亚甲环丙[18,19][1,10,3,6]二氧杂二氮杂环十九基并(cyclononadecino)[11,12-b]喹喔啉-8-羧酸甲酯

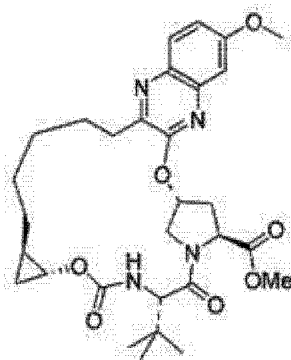
[0136]



[0137] 将 3-甲基-N-([[(1R,2R)-2-戊-4-烯-1-基环丙基]氧基]羰基)-L-缬氨酸酯基-(4R)-4-[(7-甲氧基-3-乙烯基喹喔啉-2-基)氧基]-L-脯氨酸甲酯在 DCE 中的溶液(0.02M)加热至 80℃,随后用 Zhan 1 催化剂(0.15 当量)处理。所得混合物在 80℃下搅拌 1 小时,随后冷却至室温并减压浓缩。残留物通过快速色谱法(20-50% EtOAc/ 石油醚)提纯以产生泡沫状的标题化合物(对 2 个步骤而言,25%)。MS (ES⁺) m/z 567 (M+H)⁺。

[0138] 步骤 4 : (1aR, 5S, 8S, 10R, 22aR)-5-叔丁基-14-甲氧基-3,6-二氧代-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-十四氢-8H-7,10-亚甲环丙[18,19][1,10,3,6]二氧杂二氮杂环十九基并(cyclononadecino)[11,12-b]喹喔啉-8-羧酸甲酯

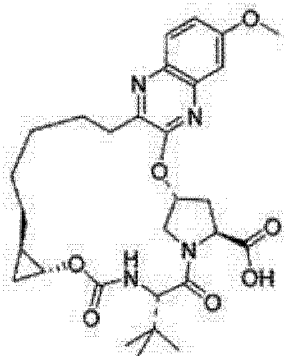
[0139]



[0140] 用 Pd/C (8% 重量) 处理 (1aR, 5S, 8S, 10R, 18E, 22aR)-5-叔丁基-14-甲氧基-3,6-二氧代-1,1a,3,4,5,6,9,10,20,21,22,22a-十二氢-8H-7,10-亚甲环丙[18,19][1,10,3,6]二氧杂二氮杂环十九基并(cyclononadecino)[11,12-b]喹喔啉-8-羧酸甲酯在 MeOH/ 二氧杂环己烷(1:1 比)中的溶液(0.05M)。所得混合物在氢气气氛下搅拌 4 小时。滤出催化剂,将滤液减压浓缩以产生固体状的标题化合物(98%)。MS (ES⁺) m/z 569 (M+H)⁺。

[0141] 步骤 5 : (1aR, 5S, 8S, 10R, 22aR)-5-叔丁基-14-甲氧基-3,6-二氧代-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-十四氢-8H-7,10-亚甲环丙[18,19][1,10,3,6]二氧杂二氮杂环十九基并(cyclononadecino)[11,12-b]喹喔啉-8-羧酸

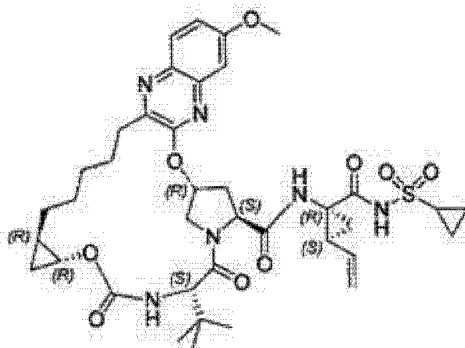
[0142]



[0143] 用 LiOH·H₂O (3 当量) 处理 (1aR, 5S, 8S, 10R, 22aR)-5-叔丁基-14-甲氧基-3,6-二氧代-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-十四氢-8H-7,10-亚甲环丙[18,19][1,10,3,6]二氧杂二氮杂环十九基并(cyclononadecino)[11,12-b]喹啉-8-羧酸甲酯在 H₂O/THF 的 1:1 混合物中的溶液 (0.1M)。所得混合物在 20℃ 下搅拌 18 小时,用 HCl 水溶液 (0.2M) 酸化和用 EtOAc 稀释。分离有机相,用 HCl 水溶液 (0.2M) 和盐水洗涤,随后干燥。除去挥发物,提供固体状的标题化合物 (98%)。MS (ES⁺) *m/z* 555 (M+H)⁺。

[0144] 步骤 6 : (1aR, 5S, 8S, 10R, 22aR)-5-叔丁基-N-((1R, 2S)-1-[(环丙基磺酰基)氨基]羰基)-2-乙烯基环丙基)-14-甲氧基-3,6-二氧代-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-十四氢-8H-7,10-亚甲环丙[18,19][1,10,3,6]二氧杂二氮杂环十九基并(cyclononadecino)[11,12-b]喹啉-8-甲酰胺

[0145]

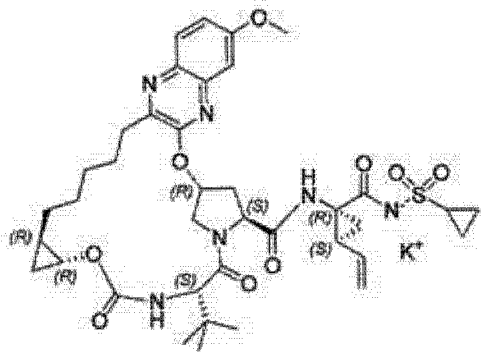


[0146] 用 (1R, 2S)-1-[(环丙基磺酰基)氨基]羰基)-2-乙烯基环丙烷氯化铵 (1.3 当量)、DIEA (3 当量)、DMAP (1.5 当量) 和 TBTU (1.45 当量) 处理 (1aR, 5S, 8S, 10R, 22aR)-5-叔丁基-14-甲氧基-3,6-二氧代-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-十四氢-8H-7,10-亚甲环丙[18,19][1,10,3,6]二氧杂二氮杂环十九基并(cyclononadecino)[11,12-b]喹啉-8-羧酸在 CH₂Cl₂ 中的溶液 (0.1M)。所得混合物在 20℃ 下搅拌 18 小时,随后用 EtOAc 稀释。该溶液用 HCl 水溶液 (0.2M)、饱和 NaHCO₃ 水溶液和盐水洗涤。将有机相干燥并浓缩产生残留物,其通过快速色谱法(洗脱剂 2.5% MeOH/CH₂Cl₂) 提纯以产生固体状的标题化合物 (89%)。¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 172.32, 170.63, 169.04, 159.86, 156.95, 154.74, 148.10, 140.41, 133.55 (2 个信号), 128.94, 118.21, 117.58, 105.89, 74.88, 59.75, 58.71, 55.68, 54.13, 54.01, 40.13, 34.49, 34.04, 33.76, 32.68, 30.71, 30.43, 28.55, 27.69, 27.28, 26.38, 21.98, 18.49, 10.67, 5.69,

5.46 ;MS (ES⁺) m/z 767 (M+H)⁺。

[0147] 步骤7: {[(1R,2S)-1-({[(1aR,5S,8S,10R,22aR)-5-叔丁基-14-甲氧基-3,6-二氧代-1,1a,3,4,5,6,9,10,18,19,20,21,22,22a-十四氢-8H-7,10-亚甲环丙[18,19][1,10,3,6]二氧杂二氮杂环十九基并(cyclononadecino)[11,12-b]喹啶啉-8-基]羰基}氨基)-2-乙烯基环丙基]羰基}(环丙基磺酰基)氮烷化(azanide)钾

[0148]



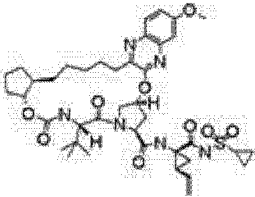
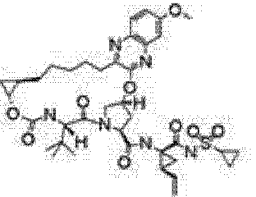
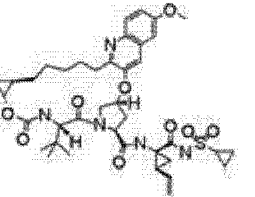
[0149] 将前述材料吸收在 EtOH 中,并将所得溶液(0.025 M)冷却至 0℃。加入叔-BuOK (1.5 当量)在 EtOH 中的溶液(0.02 M),导致形成沉淀物。该混合物在 20℃下搅拌 18 小时,随后过滤收集固体。该材料用 EtOH 洗涤,并干燥产生白色结晶固体状的标题化合物(93%)。MS (ES⁺) m/z 767 (M+H)⁺。

[0150] 实施例 2:不同化合物的比较

[0151] 将实施例 1 的化合物与 W0 2008/057209 的实施例 110 和 118 的化合物进行比较。结果显示在下表 1 和 2 中。如表和结果论述中所示,式(I)的化合物看起来与 W0 2008/057209 实施例 118 化合物和 W0 2008/057209 实施例 110 化合物相比具有若干有利性质。

[0152]

表 1

	WO 2008/057209 实施例 118	实施例 1	WO 2008/057209 实施例 110
结构			
NS 3/4A 抑制活性 ¹ (Ki)1b	< 0.016 nM	< 0.016 nM	< 0.016 nM
复制子活性 ² EC ₅₀ gt1b	3 nM	2 nM	5 nM
大鼠血浆 AUC @ 25mpk 口服 ³	38.5 μM.h	20.6 μM.h	5.8 μM.h
大鼠肝脏 浓度 @ 24h (25 mpk 口服) ³	18.4 μM	27.9 μM	8.5 μM
犬血浆 AUC @ 5mpk 口服 ³	10.9 μM.h	48.6 μM.h	1.0 μM.h
犬肝脏浓度 @ 24h (5mpk 口服) ³	不可得	120 μM	3.3 μM
体内共价蛋 白质结合 ⁴	大鼠@ 6h 血浆 = BLQ, 肝脏=30±3pmol/mg 蛋 白质	大鼠@ 6h 血浆 = LOQ, 肝脏 = LOQ	大鼠 @ 6h 血浆 = BLQ, 肝脏 = BLQ
物理性质 ⁵	钾盐在溶液中不歧化	钾盐在溶液中不歧化	钾盐在溶液中歧化成 结晶中性形式

[0153] Ki :抑制常数,提到 < 0.016 nM 是指观察到的活性小于 0.016 nM,通过该化验法没有测得小于 0.016 nM 的精确量 ;EC₅₀ :实现 50% 病毒复制抑制的有效浓度 ;gt :基因型 ; AUC :血浆浓度 / 时间曲线下的面积 ;LOQ :量化限 (3 pmol/mg) ;BLQ :低于量化限

[0154] 式(I)化合物与 WO 2008/057209 实施例 110 比较

[0155] 式(I)化合物相比于 WO 2008/057209 实施例 110 化合物的有利性质如下 :

[0156] 1) 物理性质(式(I)的化合物没有发生盐歧化) ;

[0157] 2) 在给药钾盐后大鼠体内的药物动力学状况 ;和

[0158] 3) 肝脏(靶器官)暴露

[0159] 与 WO 2008/057209 实施例 110 化合物相比,性质差异特别有利于式(I)化合物的配制和给药。式(I)化合物的盐歧化的缺乏能使 1.8 毫克 / 毫升实施例 1 的化合物的 K⁺ 盐形式溶解在水中。尽管 WO 2008/057209 实施例 110 化合物的 K⁺ 盐形式具有改进的水溶性 (9.7 毫克 / 毫升),但由此溶解的化合物歧化产生具有低水溶性 (<0.009 毫克 / 毫升) 的结晶两性离子形式。实施例 1 的化合物缺乏这种行为,从而在其配制为药用方面提供意外优

点并产生如表 1 中报道的改进的药物动力学性质(大鼠和犬的血浆 AUC 和肝脏暴露)。在临床前物种中的高的血浆和肝脏暴露有利于选择用于治疗患者的安全有效的剂量。

[0160] 式(I)化合物与 WO 2008/057209 实施例 118 比较

[0161] 所观察到的式(I)的化合物与 WO2008/057209 实施例 118 相比的优点是其对抗不同突变酶的耐药性状况。根据来自使用相关类别的抗病毒剂(例如 HIV 蛋白酶抑制剂)的临床研究以及来自使用 HCV NS3 蛋白酶抑制剂(例如 VX-950, telaprevir)的研究的数据,预计可能响应当前化合物的处理产生病毒耐药性。实施例 1 的化合物对已知赋予 HCV NS3 蛋白酶抑制剂耐药性的不同突变酶表现出改进的酶亲和力(K_i)。表 2 概括对不同突变酶的活性。因此,化合物 1 的优点可以是在给药于患者时对耐药病毒发展的提高的屏障。其还提供治疗由于发展耐药性而在其它疗法中失效的患者的潜在优点,因为化合物 1 可抑制这种耐药病毒。

[0162] 表 2 K_i 值¹ vs. 1b 突变酶 (nM)

[0163]

1bSHIFT	D168T	D168A	D168E	D168G	D168V	D168Y	D168Q
实施例 1	0.18	0.43	0.04	0.08	0.14	0.22	0.12
cmp118	0.78	0.86	0.12	0.45	0.65	1.5	0.42
1bSHIFT	A156S	A156T	A156V	R155K	R155Q	R155G	R155N
实施例 1	0.05	5.2	11	0.07	0.43	0.63	0.13
cmp118	0.10	3.4	15	0.08	1.9	2.3	0.56

[0164] ¹ 在酶化验法的相同流程中收集的对比数据

[0165] 式(I)化合物与 WO 2008/057209 实施例 110 化合物相比的其它预期有利性质包括下列:

[0166] 1) 低体内共价键合;和

[0167] 2) 高血浆和肝脏暴露

[0168] 式(I)化合物被认为具有极好的体内共价键合特性和药物动力学性质。基于实施例 1 化合物和 WO 2008/057209 实施例 118 化合物的观察到的体内共价键合和药物动力学性质,式(I)化合物具有明显更好的体内共价键合特性和药物动力学性质。

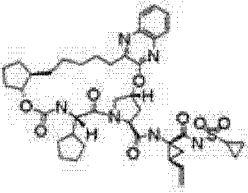
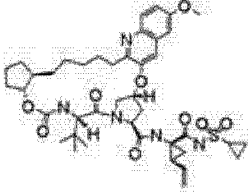
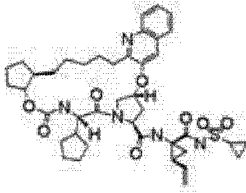
[0169] 共价键合到蛋白质上或形成随后共价键合到蛋白质上的代谢物的化合物可能在患者体内产生不利状况,如由抗体对药物-蛋白质共轭物的响应介导的免疫毒性和其它特异性毒性(参见 Chem. Res. Toxicol. 2004, 17, 3-16.)。

[0170] 实施例 1 的化合物在大鼠口服给药单剂 20 mg/kg 剂量后表现出不可检出的与血浆蛋白的结合。(参见表 1)。在类似条件下,WO 2008/057209 实施例 118 化合物表现出可检出的与大鼠肝脏蛋白的键合(参见表 1),因此可被认为是不如式(I)的化合物有利的给药于人类对象的化合物。

[0171] 表 3 提供对来自 WO 2008/057209 的相关化合物(其含有实施例 118 中掺入的(R,R)-反式-2-烷基环戊醇部分)观察到的另一些体内共价键合数据。

[0172]

表 3

	WO 2008/057209 实施例 108	WO 2008/057209 实施例 103	WO 2008/057209 实施例 96
结构			
体内共价蛋白结合 ⁴	大鼠@ 6h 血浆 = 15 pmol eq./mg 肝脏 = 38 pmol eq./mg	大鼠@ 6h 血浆 = 6 pmol eq./mg 肝脏 = 24 pmol eq./mg	大鼠@ 6h 血浆 = 6 pmol eq./mg 肝脏 = 63 pmol eq./mg

[0173] 在临床前物种中具有高的血浆和肝脏暴露有利于有效验证潜在药物候选物没有释放不想要的毒性。在动物体内具有高的肝脏和血浆暴露的化合物也比没有高的肝脏和血浆暴露的化合物更可能在人体内表现出相同性能。对此类化合物而言,可以用较低剂量实现人体中的所需有效暴露,这在成本和药物易制造性方面都有利,也可能降低不良影响的可能性。多种临床前物种中的靶器官暴露提供了该化合物在患者体内可实现高的靶器官暴露的理论基础,大鼠和犬体内的高的肝脏暴露允许置信评价临床前毒性。高的肝脏暴露尤其有利于 HCV,因为这是该药物的靶器官。

[0174] 实施例 1 的化合物具有极好的大鼠血浆和肝脏暴露。观察到的大鼠肝脏暴露水平大于 WO 2008/057209 化合物 118 和化合物 110(参见表 1)。基于这些结果和基于通过口服给药于大鼠(25 mpk)和犬(5 mpk)来测试来自 WO 2008/057209 的几种不同化合物,式(I)的化合物也预计具有大于 WO2008/057209 化合物 118 和化合物 110 的犬肝脏暴露。

[0175] 方法

[0176] NS 3/4A 抑制活性¹ (Ki):如上文的章节 IV 化合物评测和 Mao 等人, *Anal Biochem* 373:1-8, 2008 中所述测定 NS 3/4A 抑制活性。

[0177] 复制子活性² EC₅₀:使用 Carroll 等人, *J. Biol. Chem.* 278:11979 - 11984, 2003 和 Olsen 等人, *Anti Microb. Agents* 48:3944-3953, 2004 中描述的程序测定复制子活性。

[0178] 大鼠血浆 AUC @ 25mpk 口服³:将受试化合物溶解在适用于静脉给药的给药赋形剂(例如 20%:60%:20% DMSO:PEG400:水)中或适用于口服给药的给药赋形剂(例如 10% Polysorbate80: 90% 水或 100% PEG400)中。使用用于非啮齿动物的交叉研究设计向动物给药(n = 3)。在 2 分钟和 24 小时之间的时间点收集血浆样品,并通过 RP-HPLC 测定化合物含量。在大鼠死后和在犬麻醉后(在活组织检查前 0.5 小时)收集肝脏样品。使用本领域技术人员已知的技术将肝脏样品称重,匀浆并稀释,并通过 RP-HPLC 测定化合物含量。

[0179] 基于非隔室分析(例如使用 Watson®, WinNolin®)计算药物动力学参数。低于量化限(BLQ)的预剂量浓度被赋予 0 的值。对口服 AUC 评估而言,末期中第一 BLQ 值被赋予等于最低量化限的 1/2 的值,而末期中后来的值被赋予 0 的值。计算标准药物动力学参数 CL_p、V_{dss}、半衰期(仅对 IV 而言)、%F、C_{max}、T_{max}、AUC_{0-最后}、AUC_{0-无限}。使用在递增浓度下的线性梯形法和在递减浓度下的对数梯形法计算 AUC 值。

[0180] 体内共价结合⁴:受试化合物合适地用放射性同位素示踪(3H)并通过冷化合物与

蒸发的放射性示踪剂储液的合并制备含 25–75 mCi/ 大鼠(纯度 >98.5%)放射性的 20 mg/kg 剂量。将该混合物溶解在适合口服给药(见上文)的给药赋形剂中,随后经口给药于大鼠(每时间点 $n = 3$, 2h, 6h, 24h)。收集血浆和肝脏并在分析之前快速冷冻 / 储存在 -80°C 。

[0181] **血浆样品的计数**:将 200 微升等分试样置于 20 毫升闪烁管中。加入 500 微升 Solvable™并在摇振下在 55°C 下培养 1 小时。取出、冷却、接着添加 15 毫升闪烁合剂并计数。随后如下对肝蛋白所述处理血浆样品(200 微升等分试样)。

[0182] **组织匀浆化**:用 2 体积 100 mM 磷酸盐缓冲液(pH 7.4)稀释称重的肝脏样品并在冰上匀浆化。

[0183] **肝脏匀浆的计数**:将等分试样置于 20 毫升闪烁管中,用 1 毫升 Solvable™稀释并在摇振下在 55°C 下培养 1 小时。从培养器中取出冰冷却后,加入 15 毫升闪烁合剂,加入 30% H_2O_2 并计数放射性。

[0184] **蛋白质沉淀**:取 500 微升等分试样,加入 1:8 匀浆:乙腈(如果怀疑化合物在乙腈中具有低溶解度,则可以选择另一溶剂),涡旋并离心(3500 rcf, 历时 20 分钟)。抛弃上清液。

[0185] **蛋白质沉淀物再悬浮**:声处理(最低强度, < 5 sec)并涡旋直至丸片在 80% MeOH:20% 水中碎裂。

[0186] **蛋白质丸片的洗涤**:2–5 毫升 80:20 MeOH: 水。如果需要,取出 1.0 毫升上清液,加入 15 毫升闪烁合剂并计数。继续洗涤蛋白质丸片直至上清液中的放射性 < 200 DPM 或在相继洗液中 DPMs 不再降低大于 200。

[0187] **最终丸片的溶解**:1 毫升 1 N NaOH 或 Solvable™, 在 50°C 下培养整夜或直至完全溶解。

[0188] **最终丸片的计数**:1 毫升溶解的丸片, 15 毫升闪烁合剂(如果使用 Ultima Gold™以外的另一闪烁合剂,则丸片可能要求使用 1 N HCl 中和)并计数。

[0189] **最终丸片的蛋白质浓度**:使用 BSA 作为标样的 BCA 或 BIO-RAD 试剂盒。

[0190] **计数空白样品**:15 毫升闪烁合剂,一式两份。

[0191] **给药溶液的计数**:一式三份地计数已知体积的给药溶液。

[0192] **数据分析**:平均给药溶液的放射性计数(DPM)并以 $\mu\text{Ci}/\text{mol}$ 为单位计算该给药溶液的比活性。平均空白样品的放射性计数。从由各肝脏和血浆丸片获得的计数中减去平均的空白样品的计数。计算各肝脏和血浆丸片的每单位体积(L)的放射性量(μCi)。通过将如上获得的值($\mu\text{Ci}/\text{L}$)除以比活性($\mu\text{Ci}/\text{mol}$),计算各血浆和肝脏丸片中的放射性浓度。以 pmol/mg 蛋白质为单位计算共价键合到蛋白质上的放射性的量。

[0193] **计数空白样品**:15 毫升闪烁合剂,一式两份。

[0194] **给药溶液的计数**:一式三份地计数已知体积的给药溶液。

[0195] **物理性质⁵**:在玻璃小瓶中称入结晶受试化合物(钾盐, 大约 5 毫克),加入水或水性缓冲液(100 微升)。将所得浆料在室温下搅拌 24 小时。离心后,通过反相 HPLC 分析上清液并通过与校准曲线比较来测定平衡溶解度。将固体材料部分转移到 XRPD 板上,干燥,随后通过 X-射线粉末衍射法分析。将结晶 K^+ 盐、结晶两性离子(或酸性)和非晶形式的受试化合物的 XRPD 图与阳性对照物进行比较。由第二部分的固体材料获得盐形式的进一步测定,其溶解在 $\text{DMSO}-d_6$ 中后通过 400 MHz NMR (Bruker) 分析。将 ^1H -NMR 谱与上述阳性对照物

进行比较。

[0196] 本申请通篇中描述的任何参考文献无一被承认为要求保护的本发明的现有技术。

[0197] 其它实施方案再下列权利要求的范围内。尽管已经显示和描述了若干实施方案，但可以在不背离本发明的精神和范围的情况下作出各种修改。