



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 105008335 B

(45)授权公告日 2018.12.21

(21)申请号 201380059943.5

舒连鹤 王平

(22)申请日 2013.09.17

(74)专利代理机构 北京聿宏知识产权代理有限公司 11372

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 105008335 A

代理人 吴大建 刘华联

(43)申请公布日 2015.10.28

(51)Int.Cl.

(30)优先权数据

C07D 237/16(2006.01)

61/702,137 2012.09.17 US

A61K 31/50(2006.01)

61/790,432 2013.03.15 US

A61P 3/00(2006.01)

A61P 9/00(2006.01)

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2015.05.15

(56)对比文件

(86)PCT国际申请的申请数据

CN 101228135 A,2008.07.23,

PCT/US2013/060177 2013.09.17

CN 101801960 A,2010.08.11,

(87)PCT国际申请的公布数据

CN 101228135 A,2008.07.23,

W02014/043706 EN 2014.03.20

CN 101801960 A,2010.08.11,

CN 101014608 A,2007.08.08,

(73)专利权人 马德里加尔制药公司
地址 美国宾夕法尼亚州
专利权人 罗氏集团

Deirdre M.B.Hickey et al.Synthesis of Thyroid Hormone Analogues.Part 3.Iodonium Salt Approaches to SK&F L-94901.《J.CHEM.SOC.PERKIN TRANS.I》.1988,3103-3111.

审查员 唐建刚

(72)发明人 D·基思·海斯特

罗伯特·J·杜吉德 玛莎·凯利

安娜·察司诺夫 董刚

爱德温·L·克劳 丽贝卡·陶布

查尔斯·H·雷诺兹 崔德淳

权利要求书3页 说明书48页

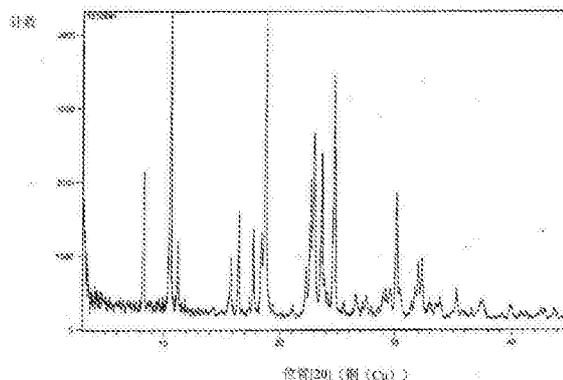
序列表3页 附图9页

(54)发明名称

合成甲状腺激素类似物及其多形体的方法

(57)摘要

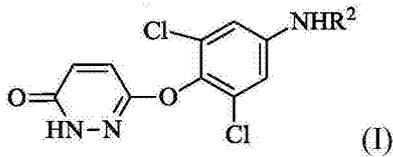
本发明公开了合成作为甲状腺激素类似物及其前药的吡嗪酮化合物的方法。根据本发明的优选的方法允许大规模制备具有高纯度的吡嗪酮化合物。在一些实施方式中,根据本发明的优选的方法还允许以高于之前用于制备这些化合物的方法的产率制备吡嗪酮化合物。本发明还公开了吡嗪酮化合物的形态。本发明进一步公开了用于治疗具有至少一种TRP突变的主体中抗甲状腺激素的方法。



CN 105008335 B

1. 一种合成方法,其包括:

(a) 使 R^1MgX 或 R^1Li 与通式(I)化合物:

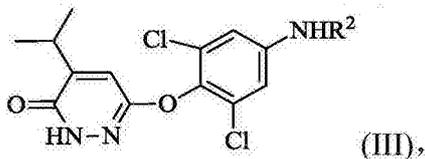


接触,以形成通式(II)化合物:



其中, R^1 是异丙基或异丙烯基, X 是卤素, R^2 是H或氨基保护基;以及

(b) 当 R^1 为异丙烯基时在碱的存在下,或当 R^1 是异丙基时在氧化剂存在下,将通式(II)化合物转变为通式(III)化合物:



其中所述氧化剂为溴。

2. 根据权利要求1所述的方法,其进一步包括:(c),如果存在的话,除去通式(III)化合物的氨基保护基 R^2 ,以形成6-(4-氨基-2,6-二氯苯氧基)-4-异丙基吡嗪-3(2H)-酮。

3. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,通过使 R^1MgX 与通式(I)化合物接触来实施步骤(a),其中 R^1 是异丙烯基, X 是Br。

4. 根据权利要求3所述的方法,其特征在于,在THF中实施步骤(a),THF与通式(I)化合物的体积重量比在7mL/g至15mL/g之间。

5. 根据权利要求3所述的方法,其特征在于,在路易斯酸存在下实施步骤(a)。

6. 根据权利要求5所述的方法,其特征在于,所述路易斯酸是卤化锂。

7. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,在步骤(b)中所述的碱是金属氢氧化物。

8. 根据权利要求7所述的方法,其特征在于,所述金属氢氧化物是氢氧化钾。

9. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,通过使 R^1MgX 与通式(I)化合物接触来实施步骤(a),其中 R^1 是异丙基, X 是Cl。

10. 根据权利要求9所述的方法,其特征在于,在THF中实施步骤(a),THF与通式(I)化合物的体积重量比在7mL/g至30mL/g之间。

11. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,在氧化剂存在下,并且在酸的存在下实施步骤(b)。

12. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于, R^2 是乙酰基或苯甲酰基。

13. 根据权利要求12所述的方法,其特征在于, R^2 是苯甲酰基。

14. 根据权利要求1所述的方法,其进一步包括通过使3,6-二氯吡嗪与2,6-二氯-4-氨基苯酚接触以形成3,5-二氯-4-((6-氯吡嗪-3-基)氧基)苯胺、水解3,5-二氯-4-((6-氯吡嗪-3-基)氧基)苯胺以及在水解之前或之后保护3,5-二氯-4-((6-氯吡嗪-3-基)氧基)苯胺

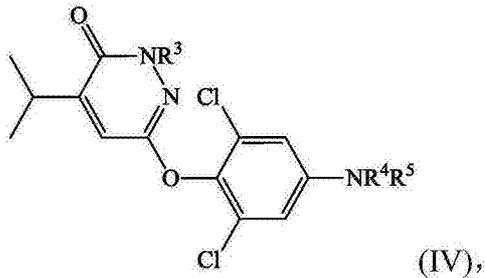
的氨基以形成通式 (I) 化合物来提供通式 (I) 化合物。

15. 根据权利要求14所述的方法,其进一步包括在步骤 (a) 之前、在酸性溶液中、在80至100°C的温度下纯化通式 (I) 化合物。

16. 根据权利要求14所述的方法,其特征在于,在极性非质子溶剂中、在碱的存在下、在60至120°C的反应温度下使3,6-二氯吡嗪与2,6-二氯-4-氨基苯酚进行接触。

17. 根据权利要求16所述的方法,其特征在于,所述极性非质子溶剂是二甲基乙酰胺,所述碱是 Cs_2CO_3 ,所述反应温度为65°C。

18. 根据权利要求2所述的方法,其进一步包括:(d) 将6-(4-氨基-2,6-二氯苯氧)-4-异丙基吡嗪-3(2H)-酮转化为通式 (IV) 化合物:



其中,

R^3 是H或 CH_2R_a , 其中 R_a 是羟基、O-连接的氨基酸、 $-\text{OP}(\text{O})(\text{OH})_2$ 或 $-\text{OC}(\text{O})-\text{R}_b$, R_b 为1至6个碳原子的烷基基团、烷氧基、在烷基基团上的酸取代基、环烷基、芳基或 $-(\text{CH}_2)_n-$ 杂芳基, n 为0或1;

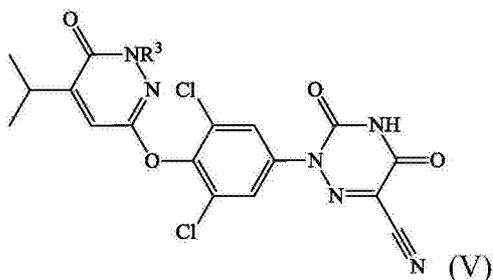
R^4 是H; 并且

R^5 是 CH_2COOH 、 $\text{C}(\text{O})\text{CO}_2\text{H}$ 或其酯或酰胺, 或者 R^4 和 R^5 一起为 $-\text{N}=\text{C}(\text{R}_c)-\text{C}(\text{O})-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-$; 其中 R_c 是H或氰基。

19. 根据权利要求18所述的方法,其特征在于,通式 (IV) 化合物是2-(3,5-二氯-4-((5-异丙基-6-氧代-1,6-二氢吡嗪-3-基)氧基)苯基)-3,5-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,2,4-三嗪-6-甲腈,并且通过使6-(4-氨基-2,6-二氯苯氧)-4-异丙基吡嗪-3(2H)酮与(2-氰基乙酰基)氨基甲酸乙酯和亚硝酸金属盐接触,然后在DMAC中用醋酸钾处理来实施步骤 (d)。

20. 根据权利要求19所述的方法,其进一步包括形成2-(3,5-二氯-4-((5-异丙基-6-氧代-1,6-二氢吡嗪-3-基)氧基)苯基)-3,5-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,2,4-三嗪-6-甲腈的形态,所述形态的特征为其X-射线粉末衍射谱图包括 2θ 为10.5、18.7、22.9、23.6和24.7度的峰。

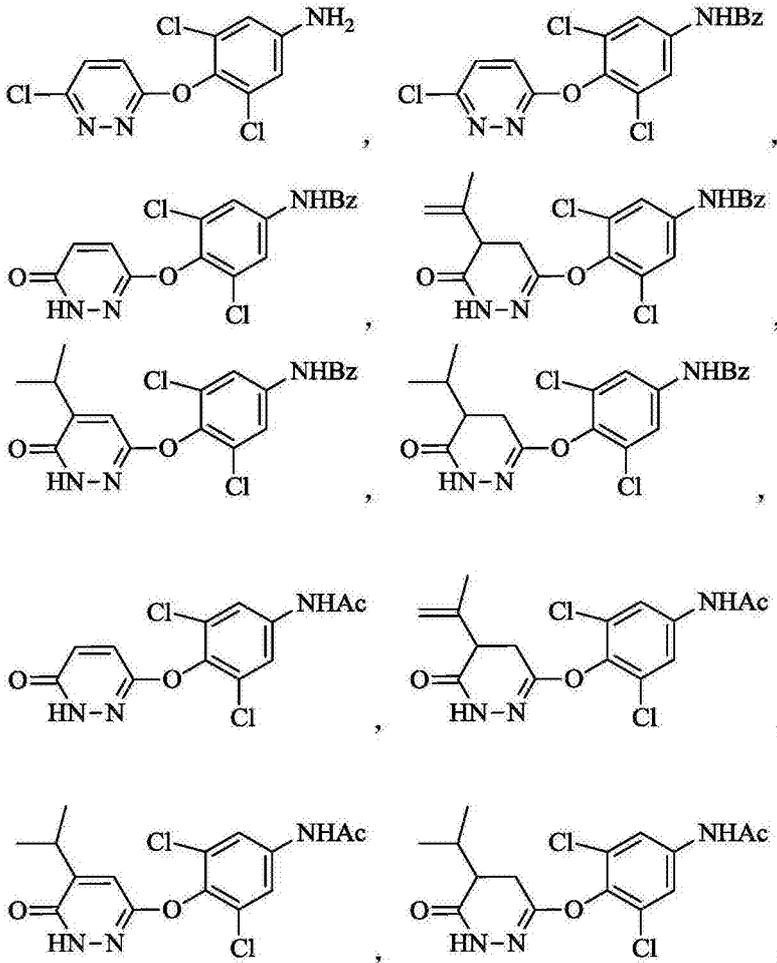
21. 根据权利要求18所述的方法,其特征在于,通式 (IV) 化合物具有通式 (V):



其中 R^3 是 CH_2R_a , 并且通过使6-(4-氨基-2,6-二氯苯氧)-4-异丙基吡嗪-3(2H)酮与(2-氰基乙酰基)氨基甲酸乙酯接触以形成化合物A,所述化合物A为2-(3,5-二氯-4-((5-异丙

基-6-氧代-1,6-二氢哒嗪-3-基)氧基)苯基)-3,5-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,2,4-三嗪-6-甲腈,以及在合适的条件下将化合物A转变为通式(V)化合物来实施步骤(d)。

22. 一种化合物,其选自:



及其盐。

23. 根据权利要求21所述的方法,其特征在于,6-(4-氨基-2,6-二氯苯氧)-4-异丙基哒嗪-3(2H)酮与(2-氰基乙酰基)氨基甲酸乙酯和金属硝酸盐接触,接着再在二甲基乙酰胺中用醋酸钾处理,以形成化合物A。

合成甲状腺激素类似物及其多形体的方法

[0001] 相关申请

[0002] 本申请要求2012年9月17日提交的美国临时申请61/702137和2013年3月15日提交的美国临时申请61/790432的优先权和权益,其全部内容通过引用并入本申请。

[0003] 通过引用并入序列列表

[0004] 创建2013年9月16日、大小为4KB的文本文件“41245-522001WO_ST25.txt”的全部内容通过引用并入本申请。

背景技术

[0005] 甲状腺激素对于正常的生长和发育以及维持代谢平衡至关重要(Paul M.Yen, *Physiological reviews*, Vol.81 (3):pp.1097-1126 (2001))。甲状腺激素的循环水平受到下丘脑/脑垂体/甲状腺(HPT)轴中的反馈机制的严格调节。导致甲状腺机能减退或甲状腺机能亢进的甲状腺机能障碍清楚地表明甲状腺激素对于心脏功能、体重、新陈代谢、代谢速率、体温、胆固醇、骨骼、肌肉和行为产生深远的影响。

[0006] 甲状腺激素的生物活性受甲状腺激素受体(TRs或THR_s)介导(M.A.Lazar, *Endocrine Reviews*, Vol.14:pp.348-399 (1993))。TRs属于被称为核受体的总科。TRs与充当配体诱导型转录因子的维甲酸受体形成异二聚体。TRs具有配体结合结构域、DNA结合结构域和氨基末端结构域,并通过与DNA反应元件以及与多种细胞核共激活子和共抑制物的相互作用来调节基因表达。甲状腺激素受体是由两个单独的基因 α 和 β 衍生的。通过特异的RNA加工,这些不同的基因产物产生它们各自受体的多种形式。主要的甲状腺受体异构型为 $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ 、 $\beta 1$ 和 $\beta 2$ 。甲状腺激素受体 $\alpha 1$ 、 $\beta 1$ 和 $\beta 2$ 结合甲状腺激素。已表明,甲状腺激素受体亚型对具体的生物反应的作用不同。近期的研究表明TR $\beta 1$ 在调节TRH(促甲状腺激素释放激素)和调节肝脏中的甲状腺激素行为方面发挥着重要作用。TR $\beta 2$ 在调节TSH(促甲状腺激素)方面发挥着重要作用(Abel et.al., *J.Clin.Invest.*, Vol 104:pp. 291-300 (1999))。TR $\beta 1$ 在调节心率方面发挥着重要作用(B.Gloss et.al.*Endocrinology*, Vol.142:pp.544-550 (2001);C.Johansson et.al.,*Am.J.Physiol.*, Vol.275:pp.R640-R646 (1998))。

[0007] 人们一直在为合成显示出增加的甲状腺激素受体 β 选择性和/或组织选择性作用的甲状腺激素类似物做出努力甲状腺激素甲状腺激素。这样的甲状腺激素模拟物可产生所需的体重、脂肪、胆固醇以及脂蛋白方面的降低,其降低了对下丘脑/脑垂体/甲状腺轴的心血管功能或正常功能的影响(参见,例如Joharapurkar et al., *J.Med.Chem.*, 2012, 55 (12), pp 5649-5675)。甲状腺激素类似物在保持甲状腺激素的有益效果的同时避免了甲状腺机能亢进症及甲状腺机能减退症的不良效果,对其进行的开发将为患有诸如肥胖、高血脂、高胆固醇血症、糖尿病的代谢性疾病和其他失调和疾病(例如脂肪肝和NASH、动脉硬化、心脑血管疾病、甲状腺功能减退、甲状腺癌、甲状腺疾病、甲状腺激素抵抗综合征和相关失调和疾病)的病人的治疗开辟新的路径。

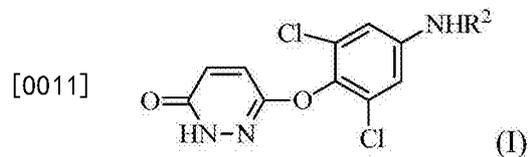
[0008] 本发明部分地提供合成甲状腺激素类似物例如吡嗪酮化合物及其前药的方法。合成甲状腺激素类似物及其前药的理想方法将例如提供高纯度和高产率的产品化合物。本发

明的目的是提供这些所需特征的一种或多种。

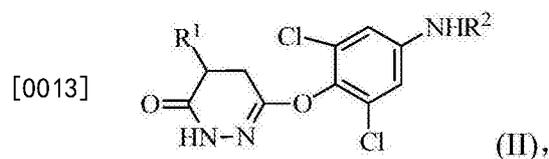
发明内容

[0009] 本发明提供了一种合成方法,其可用于制备6-(4-氨基-2,6-二氯苯氧)-4-异丙基吡嗪-3(2H)酮(“Int.7”),该化合物是对于用于制备作为甲状腺激素类似物的吡嗪酮化合物的有用的中间体,如下所示:

[0010] (a) 使 R^1MgX 或 R^1Li 与通式(I)化合物:

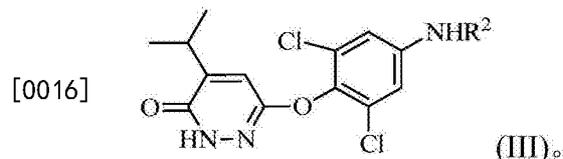


[0012] 接触,以形成通式(II)化合物:



[0014] 其中, R^1 是异丙基或异丙烯基, X 是卤素, R^2 是H或氨基保护基;以及

[0015] (b) 当 R^1 为异丙烯基时在碱存在下,或当 R^1 是异丙基时在氧化剂存在下,将通式(II)化合物转变为通式(III)化合物:



[0017] 在步骤(a)中,所述溶剂可以是非质子有机溶剂,例如THF、二乙醚、甲苯或二氧六环,反应温度可以是0-60℃、20-50℃、30-45℃或35-45℃,反应时间可以是10分钟至10小时、1-8小时或3-5小时,格林试剂(R^1MgX)的用量可以是通式(I)化合物的3-10当量或3-6当量。

[0018] 在步骤(b)中,所述碱用于使通式(II)化合物异构化。其可以是有机碱或无机碱。碱的例子包括,但不限于,三乙胺、吡啶、KOH、NaOH和碳酸盐。所述异构化也可以在其他条件下实现,例如用酸处理或在非质子溶剂中加热。

[0019] 同样,在步骤(b)中,所述氧化剂没有特别限制。例如,可以使用在醋酸或丙酸中的溴。

[0020] 氨基保护基的例子包括,但不限于,取代的烷基、酰基(例如苯甲酰基或乙酰基)和甲硅烷基。羟基和氨基保护基在T.W.Greene and P.G.M.Wuts,Protective Groups in Organic Synthesis,2d.Ed.,John Wiley and Sons(1991)中已被讨论。

[0021] 在一个具体实施方式中,通过使 R^1MgX 与通式(I)化合物接触来实施步骤(a),其中 R^1 是异丙烯基, X 是Br。在该反应中所使用的溶剂反应可以是THF,其与通式(I)化合物体积重量比在7至30(或7至15)之间。该步骤可在路易斯酸(例如卤化锂)存在下进行。

[0022] 在一个具体实施方式中,通过使 R^1MgX 与通式(I)化合物接触来实施步骤(a),其中 R^1 是异丙基, X 是Cl。在该反应中所使用的溶剂反应可以是THF,其与通式(I)化合物体积重

量比在7至30(或7至15)之间。该步骤可在路易斯酸(例如卤化锂)存在下进行。

[0023] 在一个具体实施方式中,在步骤(b)中的碱是金属氢氧化物(例如氢氧化钾)。

[0024] 在一个具体实施方式中,在步骤(b)中的氧化剂是溴,并且在酸存在下实施步骤(b)。

[0025] 在一个具体实施方式中,在通式(I)和通式(II)中的R²基团是乙酰基或苯甲酰基。在进一步的具体实施方式中,R²是苯甲酰基。

[0026] 在一个具体实施方式中,所述方法进一步包括通过以下步骤提供通式(I)化合物:使3,6-二氯吡嗪与2,6-二氯-4-氨基苯酚接触形成3,5-二氯-4-((6-氯吡嗪-3-基)氧基)苯胺、水解3,5-二氯-4-((6-氯吡嗪-3-基)氧基)苯胺和在水解之前或之后保护3,5-二氯-4-((6-氯吡嗪-3-基)氧基)苯胺的氨基以形成通式(I)化合物。在极性非质子溶剂中(例如二甲基乙酰胺(DMAC))、在碱(例如Cs₂CO₃)存在下、在60至120°C(例如约65°C)的反应温度下进行3,6-二氯吡嗪与2,6-二氯-4-氨基苯酚的接触。进一步地,可以包括纯化步骤。即,在步骤(a)之前,在酸溶液中在80至100°C的温度下纯化通式(I)化合物。

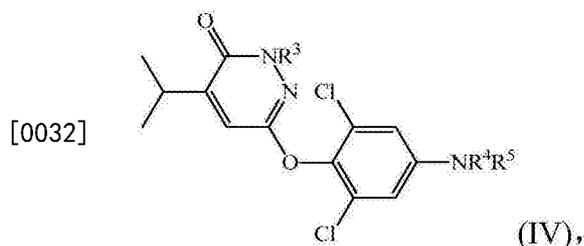
[0027] 在一个具体实施方式中,所述方法进一步包括步骤(c),如果存在,除去通式(III)化合物的氨基保护基R²以形成6-(4-氨基-2,6-二氯苯氧)-4-异丙基吡嗪-3(2H)酮。

[0028] 在一个具体实施方式中,通过本文所述方法制备的所述化合物(例如Int.7)的纯度大于85%,例如大于86%、大于90%、大于92.5%、大于95%、大于96%、大于97%、大于97.5%、大于98%、大于98.5%、大于99%、大于99.2%、大于99.5%或大于99.8%。

[0029] 在一个具体实施方式中,通过本文所述方法制备的化合物,即6-(4-氨基-2,6-二氯苯氧)-4-异丙基吡嗪-3(2H)酮,含有少于1.5%的6-(4-氨基-2,6-二氯苯氧)-5-异丙基吡嗪-3(2H)酮,例如少于1.0%的6-(4-氨基-2,6-二氯苯氧)-5-异丙基吡嗪-3(2H)酮或少于0.5%的6-(4-氨基-2,6-二氯苯氧)-5-异丙基吡嗪-3(2H)酮。

[0030] 在另一具体实施方式中,由上述方法制备的化合物不含6-(4-氨基-2,6-二氯苯氧)-5-异丙基吡嗪-3(2H)酮。

[0031] 本发明的合成方法可进一步包括以下步骤以合成作为甲状腺激素类似物及其前药的吡嗪酮化合物:(d)将6-(4-氨基-2,6-二氯苯氧)-4-异丙基吡嗪-3(2H)酮转化为通式(IV)化合物:



[0033] 其中,

[0034] R³是H或CH₂R_a,其中R_a是羟基、O-连接的氨基酸、-OP(O)(OH)₂或-OC(O)-R_b,R_b是低级烷基、烷氧基、烷基酸、环烷基、芳基、杂芳基或-(CH₂)_n-杂芳基,n为0或1;

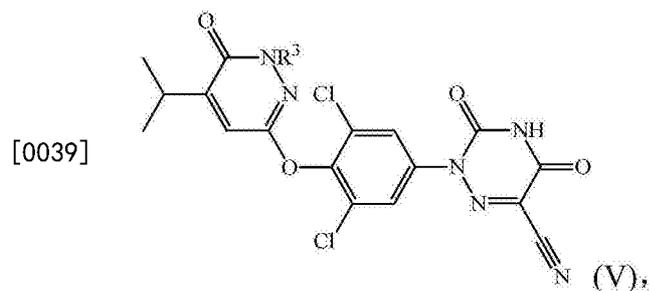
[0035] R⁴是H,R⁵是CH₂COOH、C(O)CO₂H或其酯或酰胺,或R⁴和R⁵一起为-N=C(R_c)-C(O)-NH-C(O)-;其中R_c是H或氰基。

[0036] 在一个具体实施方式中,通式(IV)化合物是2-(3,5-二氯-4-((5-异丙基-6-氧代-

1,6-二氢哒嗪-3-基)氧基)苯基)-3,5-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,2,4-三嗪-6-甲腈(“化合物A”),通过使6-(4-氨基-2,6-二氯苯氧)-4-异丙基哒嗪-3(2H)酮与(2-氰基乙酰基)氨基甲酸乙酯和亚硝酸金属盐接触,然后在DMAC中用醋酸钾处理来实施上述步骤。

[0037] 在一个具体实施方式中,所述方法进一步包括形成2-(3,5-二氯-4-((5-异丙基-6-氧代-1,6-二氢哒嗪-3-基)氧基)苯基)-3,5-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,2,4-三嗪-6-甲腈(“化合物A”(晶型I)的形态,该形态的特征是其X-射线粉末衍射谱图包括 2θ 为约10.5、18.7、22.9、23.6和24.7度的峰。

[0038] 在一个具体实施方式中,通式(IV)化合物是通式(V)



[0040] 其中 R^3 是 CH_2R_a ,步骤(d)为:使6-(4-氨基-2,6-二氯苯氧)-4-异丙基哒嗪-3(2H)酮与(2-氰基乙酰基)氨基甲酸乙酯接触,然后在DMAC中用醋酸钾处理以形成2-(3,5-二氯-4-((5-异丙基-6-氧代-1,6-二氢哒嗪-3-基)氧基)苯基)-3,5-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,2,4-三嗪-6-甲腈(“化合物A”)以及使化合物A以适当方式转化为通式(V)化合物,例如使用美国专利8076334中描述的工艺。

[0041] 在一个具体实施方式中,由本文所述方法制备的通式(IV)化合物,例如2-(3,5-二氯-4-((5-异丙基-6-氧代-1,6-二氢哒嗪-3-基)氧基)苯基)-3,5-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,2,4-三嗪-6-甲腈(“化合物A”),其纯度大于85%,例如大于86%、大于90%、大于92.5%、大于95%、大于96%、大于97%、大于97.5%、大于98%、大于98.5%、大于99%、大于99.2%、大于99.5%或大于99.8%。例如,杂质(即除了通式(IV)化合物以外,通过本文所述方法产生的组合物的任何成分,例如副产物、起始原料、溶剂残留、重金属等)含量小于15%、小于14%、小于10%、小于8%、小于5%、小于4%、小于3%、小于2%、小于1.5%、小于1%、小于0.8%、小于0.5%或小于0.2%。

[0042] 在一个具体实施方式中,通过本文所述方法制备的通式(IV)化合物是晶型I形式的化合物A,并具有大于85%的纯度,例如大于86%、大于90%、大于92.5%、大于95%、大于96%、大于97%、大于97.5%、大于98%、大于98.5%、大于99%、大于99.2%、大于99.5%或大于99.8%。例如,杂质(即除了化合物A以外,通过本文所述方法产生的组合物的任何成分,例如副产物、起始原料、溶剂残留、重金属等)含量小于15%、小于14%、小于10%、小于8%、小于5%、小于4%、小于3%、小于2%、小于1.5%、小于1%、小于0.8%、小于0.5%或小于0.2%。

[0043] 在一个具体实施方式中,通过本文所述方法制备的通式(IV)化合物是晶型I的化合物A,并且晶型I的纯度大于85%,例如大于86%、大于90%、大于92.5%、大于95%、大于96%、大于97%、大于97.5%、大于98%、大于98.5%、大于99%、大于99.2%、大于99.5%或大于99.8%。例如,杂质(即除了晶型I以外,通过本文描述的方法产生的组合物的任何成

分,例如副产物、起始原料、溶剂残留、重金属等)含量小于15%、小于14%、小于10%、小于8%、小于5%、小于4%、小于3%、小于2%、小于1.5%、小于1%、小于0.8%、小于0.5%或小于0.2%。

[0044] 在一个具体实施方式中,包括通式(IV)化合物(例如通过本文所描述的方法制备的化合物A)的组合物含有小于1.5%(例如小于1.0%,例如小于0.5%)的相应的 β -异丙基哒嗪-3(2H)酮结构异构体(例如2-(3,5-二氯-4-((4-异丙基-6-氧代-1,6-二氢哒嗪-3-基)氧基)苯基)-3,5-二氧化-2,3,4,5-四氢-1,2,4-三嗪-6-甲腈,化合物A的 β -异丙基哒嗪-3(2H)酮结构异构体)。

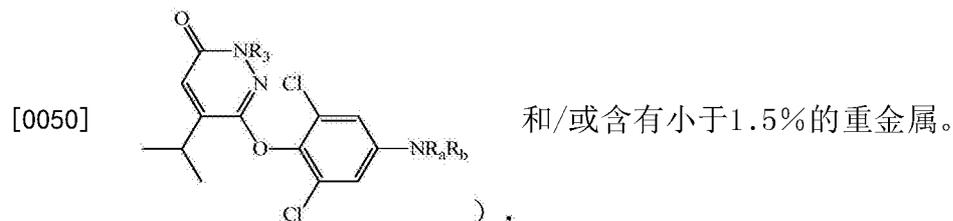
[0045] 在一个具体实施方式中,包括通式(IV)化合物(例如通过本文所描述的方法制备的化合物A)的组合物不含相应的 β -异丙基哒嗪-3(2H)酮结构异构体(例如2-(3,5-二氯-4-((4-异丙基-6-氧代-1,6-二氢哒嗪-3-基)氧基)苯基)-3,5-二氧化-2,3,4,5-四氢-1,2,4-三嗪-6-甲腈,化合物A的 β -异丙基哒嗪-3(2H)酮结构异构体)。

[0046] 在一个具体实施方式中,例如通过本文所描述的方法制备的化合物A含有小于1.5%(例如小于0.1%)的重金属,例如银。

[0047] 在一个具体实施方式中,包括通式(IV)化合物的组合物,例如通过本文所描述的方法制备的化合物A不含重金属,例如银、金或铂。

[0048] 本文所描述的合成方法包括相比以前的方法的优点,例如美国专利7452882中公开的那些。例如,2-(3,5-二氯-4-((5-异丙基-6-氧代-1,6-二氢哒嗪-3-基)氧基)苯基)-3,5-二氧化-2,3,4,5-四氢-1,2,4-三嗪-6-甲腈(“化合物A”)的总产率显著提高(例如>40%对根据美国专利7452882公开的方法制备时的~9%)。另外,该合成的区域选择性非常优异。进一步地,新方法提供更简便的工艺,例如容易过滤。最后,在本文所描述的用于化合物A的方法中没有使用重金属。相比之下,在美国专利7452882中描述的方法中使用了银,其需要用树脂进行恢复处理。

[0049] 在另一方面,本发明提供了一种组合物,其包括大于85%的通式(IV)化合物,小于1.5%的相应的 β -异丙基哒嗪-3(2H)酮结构异构体(即



[0051] 在一个具体实施方式中,通式(IV)化合物(例如化合物A)的纯度大于85%,例如大于86%、大于90%、大于92.5%、大于95%、大于96%、大于97%、大于97.5%、大于98%、大于98.5%、大于99%、大于99.2%、大于99.5%或大于99.8%。例如,杂质(即除了通式(IV)化合物以外,通过本文描述的方法产生的组合物的任何成分,例如副产物、起始原料、溶剂残留、重金属等)含量小于15%、小于14%、小于10%、小于8%、小于5%、小于4%、小于3%、小于2%、小于1.5%、小于1%、小于0.8%、小于0.5%或小于0.2%。

[0052] 在一个具体实施方式中,通式(IV)化合物是晶型I的化合物A,其纯度为大于85%,例如大于86%、大于90%、大于92.5%、大于95%、大于96%、大于97%、大于97.5%、大于98%、大于98.5%、大于99%、大于99.2%、大于99.5%或大于99.8%。例如,杂质(即除了化

合物A以外,通过本文描述的方法产生的包括化合物A的组合物的任何成分,例如副产物、起始原料、溶剂残留、重金属等)含量小于15%、小于14%、小于10%、小于8%、小于5%、小于4%、小于3%、小于2%、小于1.5%、小于1%、小于0.8%、小于0.5%或小于0.2%。

[0053] 在一个具体实施方式中,通式(IV)化合物是晶型I的化合物A,晶型I的纯度为大于85%,例如大于86%、大于90%、大于92.5%、大于95%、大于96%、大于97%、大于97.5%、大于98%、大于98.5%、大于99%、大于99.2%、大于99.5%或大于99.8%。例如,杂质(即除了晶型I以外,包括晶型I的组合物的任何成分,例如化合物A的其它形态,副产物、起始原料、溶剂残留、重金属等)含量小于15%、小于14%、小于10%、小于8%、小于5%、小于4%、小于3%、小于2%、小于1.5%、小于1%、小于0.8%、小于0.5%或小于0.2%。

[0054] 在一个具体实施方式中,通式(IV)化合物(例如化合物A)含有小于1.5%(例如小于1.0%,例如小于0.5%)的相应的 β -异丙基吡嗪-3(2H)酮结构异构体(例如2-(3,5-二氯-4-((4-异丙基-6-氧代-1,6-二氢吡嗪-3-基)氧基)苯基)-3,5-二氧化-2,3,4,5-四氢-1,2,4-三嗪-6-甲腈,化合物A的 β -异丙基吡嗪-3(2H)酮结构异构体)。

[0055] 在一个具体实施方式中,通式(IV)化合物(例如化合物A)不含相应的 β -异丙基吡嗪-3(2H)酮结构异构体(例如2-(3,5-二氯-4-((4-异丙基-6-氧代-1,6-二氢吡嗪-3-基)氧基)苯基)-3,5-二氧化-2,3,4,5-四氢-1,2,4-三嗪-6-甲腈,化合物A的 β -异丙基吡嗪-3(2H)酮结构异构体)。

[0056] 在一个具体实施方式中,通式(IV)化合物(例如化合物A)含有小于1.5%(例如小于1.0%,例如小于0.5%)的重金属,例如银、金或铂。

[0057] 在一个具体实施方式中,本文所描述的方法制备的通式(IV)化合物(例如化合物A)不含重金属,例如银。

[0058] 进一步地,本发明提供了一种2-(3,5-二氯-4-((5-异丙基-6-氧代-1,6-二氢吡嗪-3-基)氧基)苯基)-3,5-二氧化-2,3,4,5-四氢-1,2,4-三嗪-6-甲腈(“化合物A”) (晶型I)的形态,其特征是X-射线粉末衍射(“XRPD”)谱图包括 2θ 为约10.5、18.7、22.9、23.6和24.7度的峰。

[0059] 在一个具体实施方式中,晶型I的特征是其X射线粉末衍射谱图进一步包括 2θ 为约8.2、11.2、15.716.4、17.7、30.0和32.2度的峰。

[0060] 在一个具体实施方式中,晶型I的特征是其X-射线粉末衍射谱图包括 2θ 为约8.2、10.5、18.7、22.9、23.6和24.7度的峰。

[0061] 在一个具体实施方式中,晶型I的特征是其X-射线粉末衍射谱图包括 2θ 为约8.2、10.5、11.2、15.716.4、17.7、18.7、22.9、23.6和24.7度的峰。

[0062] 在一个具体实施方式中,晶型I的特征是其X-射线粉末衍射谱图包括 2θ 为约8.2、10.5、11.2、15.716.4、17.7、18.7、22.9、23.6、24.7、30.0和32.2度的峰。

[0063] 在另一个具体实施方式中,晶型I的特征是其X-射线粉末衍射谱图和图1所示的基本相同。

[0064] 在另一方面,本发明描述了一种制备晶型I的方法。所述方法包括使包含化合物A的样品(例如粗制或精制的化合物A)与有机溶剂混合,所述有机溶剂例如为醇(例如乙醇)、酮(例如甲基异丁基酮,即MIBK)或包含醇或酮的水溶液。例如,将所产生的包含起始化合物A和溶剂的混合物(例如浆液或悬浮液)在第一温度加热,然后冷却低于所述第一温度的第

二温度。优选地,所述有机溶剂使乙醇。进入形式转换的起始化合物A可以是溶剂化物,例如水合物(例如一水合物或二水合物)或有机溶剂(例如二甲基乙酰胺、乙醇或MIBK)的溶剂化物。作为选择,起始化合物A可以是溶剂化物(例如水合物)。

[0065] 在一个具体实施方式中,所述方法是通过将化合物A与有机溶剂加热至升高的温度(例如约60-110°C或约80°C)以形成浆液或悬浮液,随后冷却(例如冷却至约0-60°C、约40-60°C、约45-55°C或约室温的温度)以给出化合物A的晶型I来执行的。例如,所述有机溶剂是乙醇,包含化合物A的浆液可以被冷却至大于约40°C以得到晶型I。例如,所述有机溶剂是MIBK,包含化合物A的浆液可被冷却至室温以得到晶型I。

[0066] 在另一具体实施方式中,化合物A的乙醇悬浮液被加热至升高的温度(例如约80°C),然后冷却至温度不低于约40°C(例如约45-55°C),过滤(例如约45-55°C),用热(例如45-55°C)乙醇洗涤,然后在例如45-55°C干燥以得到化合物A的晶型I,其基本不含化合物A的任何溶剂化物(例如乙醇溶剂化物)。例如,制备的化合物A的晶型I具有<5%(例如<2%、<1%、<0.5%或<0.1%)的乙醇溶剂化物含量。

[0067] 在一个具体实施方式中,所述方法进一步包括将混合物冷却后,进行过滤。过滤步骤可以在约0°C至约60°C的温度下(例如约40-60°C、约45-55°C或约室温)进行以得到滤饼。

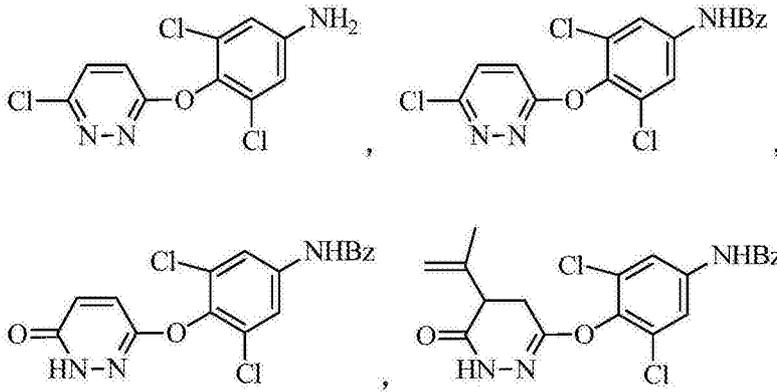
[0068] 在一个具体实施方式中,所述方法进一步包括,将混合物过滤后,洗涤滤饼。洗涤步骤可以是在约0°C至约60°C的温度下(例如约40-60°C、约45-55°C或在约室温)用有机溶剂(例如,醇(例如乙醇))进行,以得到洗涤后的滤饼。

[0069] 在一个具体实施方式中,所述方法进一步包括,洗涤滤饼后,干燥所述洗涤后的滤饼。干燥步骤可以是在约0°C至约60°C的温度下(例如约40-60°C、约45-55°C或在约室温)进行,以得到化合物A的晶型I。

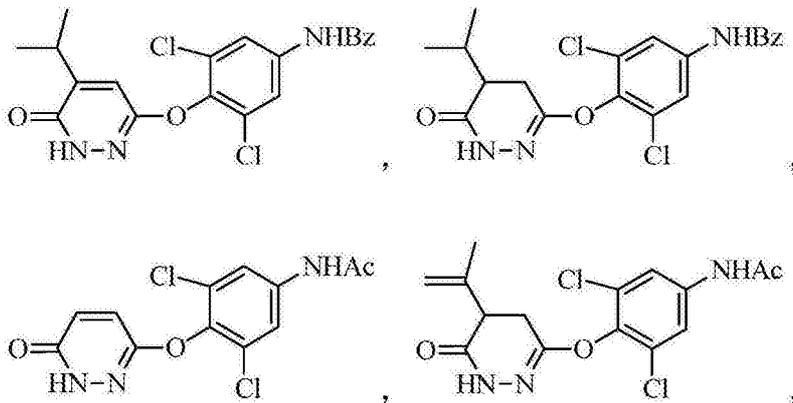
[0070] 在一个具体实施方式中,晶型I的纯度为大于91%,例如大于92.5%、大于95%、大于96%、大于97%或大于97.5%。

[0071] 在一个具体实施方式中,晶型I的纯度为大于98%,例如大于98.5%、大于99%、大于99.2%、大于99.5%或大于99.8%。

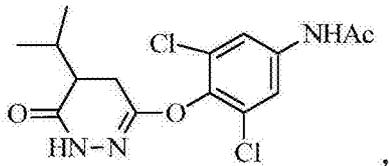
[0072] 在另一方面,本发明提供诸如



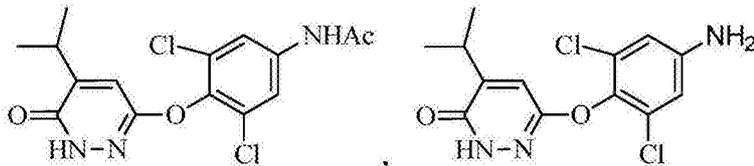
[0073]



[0074]



[0075]

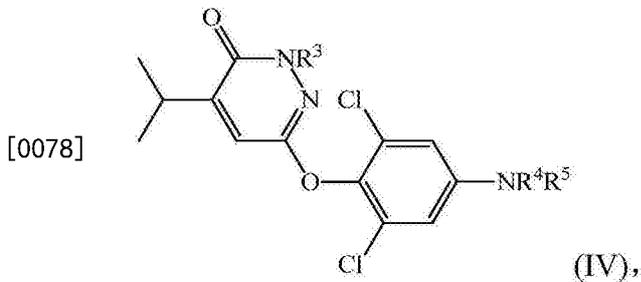


的化合物及其盐,例如在

合成6-(4-氨基-2,6-二氯苯氧)-4-异丙基咪嗪-3(2H)酮(“Int.7”)中有用的盐。

[0076] 本发明还提供了一种用于治疗有需要的主体甲状腺激素抵抗综合征(RTH)的方法。所述方法包括向具有至少一种TRβ突变的主体给予治疗有效量的通式(IV)化合物:

[0077] 其中,



[0079] R³是H或CH₂R_a,其中R_a是羟基、O-连接的氨基酸、-OP(O)(OH)₂或-OC(O)-R_b,R_b是低级烷基、烷氧基、烷基酸、环烷基、芳基、杂芳基或-(CH₂)_n-杂芳基,n为0或1;

[0080] R^4 是H, R^5 是 CH_2COOH 、 $\text{C}(\text{O})\text{CO}_2\text{H}$ 或其酯或酰胺, 或 R^4 和 R^5 一起为 $-\text{N}=\text{C}(\text{R}_c)-\text{C}(\text{O})-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-$; 其中 R_c 是H或氰基。

[0081] 甲状腺激素抵抗综合征(RTH)是特征为对甲状腺激素的可变的组织低敏性的综合征, 主要是由常染色体显色突变为 $\text{THR}\beta$ 引起的。参见Shi et al., *Biochemistry* 2005, 44, 4612-4626。

[0082] 在一个具体实施方式中, 用于上述方法的化合物是2-(3,5-二氯-4-((5-异丙基-6-氧代-1,6-二氢吡嗪-3-基)氧基)苯基)-3,5-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,2,4-三嗪-6-甲腈(“化合物A”), 例如晶型I的化合物A。

[0083] 在一个具体实施方式中, 待通过上述方法治疗的主体患有肥胖、高血脂、血胆固醇过多、糖尿病、非酒精性脂肪性肝炎、脂肪肝、骨病、甲状腺轴蚀变、动脉粥样硬化、心血管障碍、心跳过速、多动行为、甲状腺机能障碍、甲状腺肿大、注意缺陷多动障碍、学习障碍、智力迟钝、听力缺损、骨龄延迟、神经或精神疾病或甲状腺癌。

[0084] 在一个具体实施方式中, 所述 $\text{THR}\beta$ 突变选自: 苏氨酸(T)替代SEQ ID NO:1的234位氨基酸的野生型丙氨酸残基(A) (A234T); 谷氨酰胺(Q)替代SEQ ID NO:1的243位氨基酸的野生型精氨酸残基(R) (R243Q); 组氨酸(H)替代SEQ ID NO:1的316位氨基酸的野生型精氨酸残基(R) (R316H); 苏氨酸(T)替代SEQ ID NO:1的317位氨基酸的野生型丙氨酸残基(A) (A317T)。在另一具体实施方式中, 所述方法中所使用的化合物恢复突变的 $\text{THR}\beta$ 。

[0085] 在一个具体实施方式中, 通式(IV)化合物(例如化合物A)的纯度可由从本文所述的合适的溶剂重新浆化粗制化合物而获得。在另一具体实施方式中, 所述化合物不是溶剂化物(例如水合物)。

[0086] 在一个具体实施方式中, 通式(IV)化合物(例如化合物A)的纯度大于85%, 例如大于86%、大于90%、大于92.5%、大于95%、大于96%、大于97%、大于97.5%、大于98%、大于98.5%、大于99%、大于99.2%、大于99.5%或大于99.8%。

[0087] 在一个具体实施方式中, 通式(IV)化合物是晶型I的化合物A, 晶型I的纯度大于85%, 例如大于86%、大于90%、大于92.5%、大于95%、大于96%、大于97%、大于97.5%、大于98%、大于98.5%、大于99%、大于99.2%、大于99.5%或大于99.8%。

[0088] 在一个具体实施方式中, 通式(IV)化合物是晶型I的化合物A, 晶型I的纯度大于85%, 例如大于86%、大于90%、大于92.5%、大于95%、大于96%、大于97%、大于97.5%、大于98%、大于98.5%、大于99%、大于99.2%、大于99.5%或大于99.8%。

[0089] 在一个具体实施方式中, 通式(IV)化合物(例如化合物A)含有小于1.5% (例如小于1.0%, 例如小于0.5%)的相应的 β -异丙基吡嗪-3(2H)酮结构异构体(例如2-(3,5-二氯-4-((4-异丙基-6-氧代-1,6-二氢吡嗪-3-基)氧基)苯基)-3,5-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,2,4-三嗪-6-甲腈, 化合物A的 β -异丙基吡嗪-3(2H)酮结构异构体)。

[0090] 在一个具体实施方式中, 通式(IV)化合物(例如化合物A)不含相应的 β -异丙基吡嗪-3(2H)酮结构异构体(例如2-(3,5-二氯-4-((4-异丙基-6-氧代-1,6-二氢吡嗪-3-基)氧基)苯基)-3,5-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,2,4-三嗪-6-甲腈, 化合物A的 β -异丙基吡嗪-3(2H)酮结构异构体)。

[0091] 在一个具体实施方式中, 通式(IV)化合物(例如化合物A)含有小于1.5% (例如小于1.0%, 例如小于0.5%)的重金属, 例如银、金或铂。

[0092] 在一个具体实施方式中,所述主体是哺乳动物。在另一具体实施方式中,所述主体是人类。

[0093] 本发明还提供了一种用于确定主体对通式(IV)化合物或其药学上可接受的盐的响应能力的方法,所述方法包括:

[0094] (a) 提供来自主体的样本;和

[0095] (b) 检测甲状腺激素受体(“TR”)中的突变,其中突变的存在表明主体对所述化合物或其药学上可接受的盐有响应。

[0096] 在一个具体实施方式中,通式(IV)化合物是2-(3,5-二氯-4-((5-异丙基-6-氧代-1,6-二氢吡嗪-3-基)氧基)苯基)-3,5-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,2,4-三嗪-6-甲腈(“化合物A”)。

[0097] 在一个具体实施方式中,TR是TR β 。

[0098] 在一个具体实施方式中,由本发明的方法治疗的主体具有肥胖、高血脂、血胆固醇过多、糖尿病、非酒精性脂肪性肝炎、脂肪肝、骨病、甲状腺轴改变、动脉粥样硬化、心血管障碍、心跳过速、多动行为、甲状腺机能障碍、甲状腺肿大、注意缺陷多动障碍、学习障碍、智力迟钝、听力缺损、骨龄延迟、神经或精神疾病或甲状腺癌。

[0099] 在一个具体实施方式中,用于确定对通式(IV)化合物的响应能力的方法可与用于治疗甲状腺激素抵抗综合征的方法一起使用。也就是说,治疗之前,主体将被测试以确定对所述化合物的响应能力。

[0100] 按照如下详细说明、实施例以及权利要求书,本发明的其他特征和优点显而易见。

附图说明

[0101] 图1是2-(3,5-二氯-4-((5-异丙基-6-氧代-1,6-二氢吡嗪-3-基)氧基)苯基)-3,5-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,2,4-三嗪-6-甲腈(“化合物A”)晶型I的X-射线粉末衍射图(XRPD)。

[0102] 图2是化合物A晶型I的差示扫描量热(DSC)图。

[0103] 图3A和3B是分别显示THR β 中T3和化合物A晶型I的MacPymol模型图像。

[0104] 图4是显示在THR β 中叠加的T3和化合物A晶型I的MacPymol模型图像。

[0105] 图5A是显示T3和野生型THR β 之间的极性相互作用的MacPymol模型图像,其中T3与Arg320非常特定地相互作用。

[0106] 图5B是显示化合物A和野生型THR β 之间的极性相互作用的MacPymol模型图像,其中化合物A与Arg320和Arg316相互作用。

[0107] 图6是显示突变导致在配体结合域的极性区域的许多变化的MacPymol模型图像。

[0108] 图7A是显示T3和THR β 突变体:Ala234Thr、Arg243Gln、Arg316His、Ala317Thr之间的相互作用的MacPymol模型图像。

[0109] 图7B是显示化合物A和THR β 突变体:Ala234Thr、Arg243Gln、Arg316His、Ala317Thr之间的相互作用的MacPymol模型图像;表明,与T3相比,化合物A中的负电性的杂环能更好地调节突变。

[0110] 图8A和8B分别是T3和化合物A在Arg316His突变体中的MacPymol模型图像。由于Arg320的旋转远离突变体中的配体,所以T3-Arg320相互作用可能较差,而化合物A与

Arg320保持有利的相互作用,并且其所处位置很适合CN基团与突变的His316形成 π -阳离子相互作用。

[0111] 图9A和图9B分别是化合物A在WT THR β 和突变体Arg316His中的MacPymol模型图像。

[0112] 发明详述

[0113] 如在本说明书和所附权利要求中使用的,单数形式“一种”、“一个”和“该”包括具有多个所指物的实施例,除非该内容清楚地表示其他含义。因此,例如,提及的“反应物”不仅包括反应物,还包括两种或多种不同反应物的组合物或混合物,提及的“取代基”包括单个取代基和两个或多个取代基,等等。

[0114] 如在此所使用的,短语“例如”、“比如”、“如”或者“包括”意在引入进一步阐明更加一般的主题例子。这些例子为帮助理解本发明而被提供,并不意在以任何形式限制本发明。此外如在此所使用的,术语“可能”、“任选”、“任选地”或“可任选地”意思是随后描述的情况可能会或者可能不会发生,因此本说明书包括上述情形发生的例子以及其不发生的例子。例如,短语“任选存在”意思是对象可能存在或可能不存在,因此,说明书包括对象存在的例子以及对象不存在的例子。

[0115] 在描述和要求本发明时,将根据以下定义使用以下术语。

[0116] 如在此所使用的,简称“TR”或“THR”是指甲状腺激素受体。来自不同物种(例如人、鼠、鸡等)的TR核酸和多肽之前已经被描述了。参见,例如R.L.Wagner et al. (2001), *Molecular Endocrinology* 15 (3):398-410; J.Sap et al. (1986), *Nature* 324:635-640; C.Weinberger et al. (1986), *Nature* 324:641-646; and C.C.Tompson et al. (1986), *Science* 237:1610-1614;它们均通过引用作为整体并入本文。人类TR β 的氨基酸序列由例如Genbank Accession No.P10828.2提供,通过引用结合在本文中。

人类 TR β 配体结合域(残基 203-461)的氨基酸序列(SEQ ID NO: 1)

[0117]

```
ELQKSIGHKPEPTDEEWELIKTVTEAHVATNAQGSHWKQKRKFLPEDIGQAPIVNAPEGGKVDLE
AFSHFTKIITPAITRVVDFAKKLPMFCELPCEDQIIILLKGCCMEIMSLRAAVRYDPESETLTLNG
EMAVTRGQLKNGGLGVVSDAIFDLGMSLSSEFNLDDTEVALLQAVLLMSSDRPGLACVERIEKYQD
SFLLAFEHYINRYRKHVTHFWPKLLMKVTDLRMIGACHASRFLHMKVECPTELEFPPLFLEVFE
```

[0118] 在人类TR β 的234、243、316和317位的残基在SEQ ID NO:1下面加了下划线。编码上述氨基酸序列的人类TR β 核苷酸序列的部分是SEQ ID NO:2。人类TR β 的核苷酸序列由例如Genbank Accession No.NM_000461.4提供,通过引用结合在本文中。

编码人类 TR β 配体结合域的核酸序列(SEQ ID NO: 2)

[0119]

GAGCTGCAGAAGTCCATCGGGCACAAAGCCAGAGCCCACAGACGAGGAATGGGAGCTCATCAAAAC
 TGTACCCGAAGCCCATGTGGCGACCAACGCCCAAGGCAGCCACTGGAAGCAAAAACGGAAATTC
 TGCCAGAAGACATTGGACAAGCACCAATAGTCAATGCCCCAGAAGGTGGAAAGGTTGACTTGGAA
 GCCTTCAGCCATTTTACAAAAATCATCACACCAGCAATTACCAGAGTGGTGGATTTTGCCAAAAA
 GTTGCCATGTTTTGTGAGCTGCCATGTGAAGACCAGATCATCCTCCTCAAAGGCTGCTGCATGG
 AGATCATGTCCCTTCGCGCTGCTGTGCGCTATGACCCAGAAAAGTGAGACTTTAACCTTGAATGGG
 GAAATGGCAGTGACACGGGGCCAGCTGAAAAATGGGGGTCTTGGGGTGGTGTGACAGCCATCTT
 TGACCTGGGCATGTCTCTGTCTTCTTTCAACCTGGATGACACTGAAGTAGCCCTCCTTCAGGCCG
 TCCTGCTGATGTCTTCAGATCGCCCCGGGGCTTGCCTGTGTTGAGAGAATAGAAAAGTACCAAGAT
 AGTTTCCTGCTGGCCCTTGAACACTATATCAATTACCGAAAAACACCACGTGACACACTTTTGGCC

[0120]

AAAACCTCTGATGAAGGTGACAGATCTGCGGATGATAGGAGCCTGCCATGCCAGCCGCTTCCTGC
 ACATGAAGGTGGAATGCCCCACAGAACTCTTCCCCCTTTGTTCTTGGAAAGTGTTCGAGGATTAG

[0121] 如在此所使用的,短语“具有通式”或“具有结构”并不意在限制,而是与术语“包括”通常所使用的方式相同。这里所用的术语“独立选自”表明所叙述的元素,例如R基团等可以是相同或不同的。

[0122] 在此所使用的术语“烷基”是指通常但不是必然包含1至约24个碳原子的支链的或无支链的饱和的烃基基团(例如甲基、乙基、n-丙基、异丙基、n-丁基、异丁基、t-丁基、辛基、癸基等)以及环烷基基团(例如环戊基、环己基等)。通常,但不是必然,这里的烷基基团可包含1至约18个碳原子,并且这样的基团可包含1至约12个碳原子。术语“低级烷基”是指1至6个碳原子的烷基基团,例如,1、2、3、4、5或6个碳原子。“取代的烷基”是指一个或多个取代基取代的烷基,术语“含杂原子的烷基”和“杂烷基”是指其中至少一个碳原子被杂原子取代的烷基取代基,如下文进一步描述的。

[0123] 在此所使用的术语“烯基”是指直链的、支链的或环状的包含至少一个双键的2至约24个碳原子的烃基基团,例如乙烯基、n-丙烯基、异丙烯基、n-丁烯基、异丁烯基、辛烯基、癸烯基、四癸烯基、六癸烯基、二十烯基(eicosenyl)、二十四烯基等。通常,但不是必然,这里的烯基基团可包含2至约18个碳原子,例如可包含2至12个碳原子。术语“低级烯基”是指2至6个碳原子的烯基基团。术语“取代的烯基”是指被一个或多个取代基取代的烯基,术语“含杂原子的烯基”和“杂烯基”是指是指被一个或多个取代基取代的烯基,其中至少一个碳原子被杂原子取代的,例如N、P、O或S。

[0124] 在此所使用的术语“炔基”是指直链或支链的包含至少一个叁键的2至24个碳原子的烃基基团,例如乙炔基、n-丙炔基等。通常,但不是必然,这里的炔基基团可包含2至约18个碳原子,并且这样的基团可进一步包含2至12个碳原子。术语“低级炔基”意指2至6个碳原子的炔基基团。术语“取代的炔基”是指被一个或多个取代基取代的炔基,术语“含杂原子的炔基”和“杂炔基”是指其中至少一个碳原子被杂原子取代的炔基。

[0125] 在此所使用的术语“烷氧基”意指通过单个末端醚连接的烷基基团；即“烷氧基”基团可表示为其中烷基如上定义的-O-烷基。“低级烷氧基”基团是指包含1至6个碳原子的烷氧基基团，包括，例如，甲氧基、乙氧基、n-丙氧基、异丙氧基、叔丁氧基等等。这里确定为“C₁-C₆烷氧基”或“低级烷氧基”的取代基，例如，可以包含1至3个碳原子，作为又一实施例，这类取代基可包含1或2个碳原子（即甲氧基和乙氧基）。

[0126] 术语“烷基酸”是指在烷基基团上的酸取代基，例如-(CH₂)_oCOOH，其中o是1至6的整数。烷基基团可以是直链的或支链的。

[0127] 在此所使用的术语“芳基”，除非另有说明，是指芳香取代基，所述芳香取代基通常但不是必然包含5至30个碳原子和包含单芳环或稠合的、直接连接或间接连接（以便不同的芳环键与共同的基团例如亚甲基或亚乙基部分键连）的多个芳环。芳基基团可包含例如5至20个碳原子，作为又一失例，芳基基团可包含5至12个碳原子。例如，芳基基团可包含一个芳环或两个稠合或连接的芳环，例如苯基、萘基、联苯基、联苯醚、联苯胺、苯甲酮等。“取代的芳基”是指被一个或多个取代基基团取代的芳基部分，术语“包含杂原子的芳基”和“杂芳基”是指芳基取代基，其中至少一个碳原子被杂原子取代，这些将在下文进一步描述。如果没有特别表明，术语“芳基”包括未取代的、取代的和/或具有含杂原子芳香取代基的环。

[0128] 术语“芳烷基”是指含有芳基取代基的烷基基团，术语“烷芳基”是指含有烷基取代基的芳基基团，其特点是“烷基”和“芳基”如上定义。通常，这里的芳烷基和烷芳基基团包含6至30个碳原子。芳烷基和烷芳基基团可以，例如，包含6至20个碳原子，作为又一实施例，这样的基团可包含6至12个碳原子。

[0129] 本文所使用的术语“氨基”是指基团-NZ¹Z²，其特征是，Z¹和Z²是氢或非氢取代基，非氢取代基包括，例如，烷基、芳基、烯基、芳烷基以及取代的和/或其含杂原子的变体。

[0130] 术语“卤代”和“卤素”从传统意义上是指氯、溴、氟或碘取代基。

[0131] 在“含杂原子的烷基基团”（也称作“杂烷基”基团）或“含杂原子的芳基基团”（也称作“杂芳基”基团）中，术语“含杂原子的”是指其中一个或多个碳原子被碳原子以外的其他原子取代的分子、连接或取代基，所述其他原子例如为氮、氧、硫、磷或硅，通常是氮、氧或硫。类似地，术语“杂烷基”是指包含杂原子的烷基取代基，术语“杂环”或“杂环的”是指含杂原子的环部分，术语“杂芳基”和“杂芳基的”分别指含杂原子的“芳基”和“芳基的”取代基等。杂烷基基团的例子包括烷氧基芳基、烷基磺酰基取代的烷基、N-烷基化氨基烷基等。杂芳基取代基的示例包括吡咯基、吡咯烷基、吡啶基、喹啉基、吲哚基、咪唑基、呋喃基、噻吩基、1,2,4-三唑基、四唑基等，含杂原子的脂环基的示例为吡咯烷基、哌啶基、哌嗪基、吗啉基、四氢呋喃基等等。

[0132] “烃基”是指单价的烃基基团，所述烃基基团包含1至约30个碳原子，包括1至约24个碳原子，进一步包括1至约18个碳原子，进一步包括约1至12个碳原子，包括直链的、支链的、环状的、饱和的和饱和和不饱和的种类，例如烷基基团、烯基基团、芳基基团等。“取代的烃基”是指一个或多个取代基取代的烃基，术语“含杂原子的烃基”是指其中至少一个碳原子被杂原子取代的烃基。

[0133] 术语“O-连接的氨基酸”是指天然产生的或合成的、通过氨基酸的羧基基团的氧、优选通过氨基酸的羧基基团的羧基端连接到分子上的任何氨基酸。

[0134] 如在此所使用的，术语“保护基”意思是在多官能的化合物中，特定的官能部分，例

如O、S或N,暂时被封住,以便可以选择性地其他反应位点进行反应。在优选的实施例中,保护基以高产率选择性地反应以给出对预计反应稳定的被保护的底物;保护基必须通过容易得到的、优选不进攻其他官能团的无毒试剂以高产率选择性地去除;保护基形成容易分离的衍生物(更优选不产生新的立体中心);保护基具有最小的额外功能以避免另外的反应位点。如在此所述的,可以利用氧、硫、氮和碳的保护基。例如,在某些具体实施例中,可以利用某些示例性的氧保护基。这些氧保护基包括,但不限于甲基醚、取代的甲基醚(例如MOM(甲氧基甲基醚)、MTM(甲基硫甲基醚)、BOM(苄氧基甲基醚)以及PMBM(p-甲氧基苄氧基甲基醚)、取代的乙醚、取代的苄醚、硅醚(例如TMS(三甲基硅基醚)、TES(三乙基硅基醚)、TIPS(三异丙基硅基醚)、TBDMS(叔丁基二甲基硅基醚)、三苄基硅基醚和TBDPS(叔丁基二苯基硅基醚)、酯(例如甲酸酯、乙酸酯、苄酯(Bz)、三氟乙酸酯和二氯乙酸酯)、碳酸酯、环缩醛和酮。在某些其他示例性的实施例中,利用了氮保护基。氮保护基以及保护和保护方法在本领域是公知的。氮保护基包括,但不限于,氨基甲酸酯(包括甲基、乙基和取代的乙基氨基甲酸酯(例如Troc)、酰胺、环状亚胺衍生物、N-烷基和N-芳胺、亚胺衍生物和烯胺衍生物。在其他一些实施例中,某些示例性的硫保护基可被利用。硫保护基包括,但不限于氧保护基所描述的那些以及脂肪族羧酸(例如丙烯酸)、马来酰亚胺、乙烯基磺酰基以及任选取代的马来酸。本文还详细讨论了某些其他示例性的保护基,然而,应该理解,本发明并不限于这些保护基;而是,使用上述标准可以容易地识别许多额外的等效保护基并将其用在本发明中。此外,在“Protective groups in Organic Synthesis”Third Ed.Greene,T.W.and Wuts,P.G.,Eds.,John Wiley&Sons,New York:1999中描述了各种保护基,其全部内容通过引用结合在本文中。

[0135] 在“取代的烃基”、“取代的烷基”、“取代的芳基”等等中的“取代的”,如一些前述的定义,是指在烃基、烷基、芳基或其他部分中与碳(或其他)原子键连的至少一个氢原子被一个或多个非氢取代基取代。这样的取代基的例子包括但不限于官能团和烃基部分C₁-C₂₄烷基(包括C₁-C₁₈烷基,进一步包括C₁-C₁₂烷基,进一步包括C₁-C₆烷基)、C₂-C₂₄烯基(包括C₂-C₁₈烯基,进一步包括C₂-C₁₂烯基,进一步包括C₂-C₆烯基)、C₂-C₂₄炔基(包括C₂-C₁₈炔基,进一步包括C₂-C₁₂炔基,进一步包括C₂-C₆炔基)、C₅-C₃₀芳基(包括C₅-C₂₀芳基,进一步包括C₅-C₁₂芳基)、C₆-C₃₀芳烷基(包括C₆-C₂₀芳烷基,进一步包括C₆-C₁₂芳烷基)。

[0136] 如在上述的一些定义中所述的,“官能团”是指包括一个或多个非烃功能的非氢基团。官能团的例子包括而限于:卤素、羟基、巯基、C₁-C₂₄烷氧基、C₂-C₂₄烯氧基、C₂-C₂₄炔氧基、C₅-C₂₀芳氧基、酰基(包括C₂-C₂₄烷基羰基(-CO-烷基)和C₆-C₂₀芳基羰基(-CO-芳基))、酰氧基(-O-酰基)、C₂-C₂₄烷氧基羰基(-CO-O-烷基)、C₆-C₂₀芳基氧基羰基(-CO-O-芳基)、其中X为卤素的卤代羰基(-CO-X)、C₂-C₂₄烷基碳酸酯(-O-CO-O-烷基)、C₆-C₂₀芳基碳酸酯(-O-CO-O-芳基)、羧基(-COOH)、碳酸盐(-COO⁻)、氨基甲酰基(-CO-NH₂)、单取代的C₁-C₂₄烷基氨基甲酰基(-CO-NH(C₁-C₂₄烷基))、二取代的烷基氨基甲酰基(-CO-N(C₁-C₂₄烷基)₂)、单取代的芳基氨基甲酰基(-CO-NH-芳基)、氨基硫代甲酰基(-CS-NH₂)、脲基(-NH-CO-NH₂)、氰基(-C≡N)、异氰基(-N⁺≡C⁻)、氰酰基(-O-C≡N)、异氰酰基(-O-N⁺≡C⁻)、异硫氰酰基(-S-C≡N)、叠氨基(-N=N⁺=N⁻)、甲酰基(-CO-H)、硫代甲酰基(-CS-H)、氨基(-NH₂)、单和双-(C₁-C₂₄烷基)-取代的氨基、单和双-(C₅-C₂₀芳基)-取代的氨基、C₂-C₂₄烷基氨基(-NH-CO-烷基)、C₅-C₂₀芳基氨基(-NH-CO-芳基)、亚氨基(-CR=NH,其中R=氢、C₁-

C₂₄烷基、C₅-C₂₀芳基、C₆-C₂₀烷芳基、C₆-C₂₀芳烷基等)、烷基亚氨基(-CR=N(烷基),其中R=氢、烷基、芳基、烷芳基等)、芳基亚氨基(-CR=N(芳基),其中R=氢、烷基、芳基、烷芳基等)、硝基(-NO₂)、亚硝基(-NO)、磺酸基(-SO₂-OH)、磺酸盐(-SO₂-O⁻)、C₁-C₂₄烷基硫基(-S-烷基;也被叫做“烷基硫代”)、芳基硫基(-S-芳基;也被叫做“芳基硫代”)、C₁-C₂₄烷基亚磺酰基(-SO-烷基)、C₅-C₂₀芳基亚磺酰基(-SO-芳基)、C₁-C₂₄烷基磺酰基(-SO₂-烷基)、C₅-C₂₀芳基磺酰基(-SO₂-芳基)、磷酰基(-P(O)(OH)₂)、膦酸盐(-P(O)(O⁻)₂)、膦亚酸盐(-P(O)(O⁻))、二氧膦基(-PO₂)、膦基(-PH₂)、单和双(C₁-C₂₄烷基)-取代的膦基、单和双(C₅-C₂₀芳基)-取代的膦基;以及烃基部分C₁-C₂₄烷基(包括C₁-C₁₈烷基,进一步包括C₁-C₁₂烷基,进一步包括C₁-C₆烷基)、C₂-C₂₄烯基(包括C₂-C₁₈烯基,进一步包括C₂-C₁₂烯基,进一步包括C₂-C₆烯基)、C₂-C₂₄炔基(包括C₂-C₁₈炔基,进一步包括C₂-C₁₂炔基,进一步包括C₂-C₆炔基)、C₅-C₃₀芳基(包括C₅-C₂₀芳基,进一步包括C₅-C₁₂芳基)、C₆-C₃₀芳烷基(包括C₆-C₂₀芳烷基,进一步包括C₆-C₁₂芳烷基)。此外,如果特定的基团允许,前述的官能团可被一个或多个额外的官能团或一个或多个例如那些上文具体枚举的烃基部分进一步取代。类似地,上述烃基部分可被一个或多个额外的官能团或一个或多个例如那些上文具体枚举的烃基部分进一步取代。

[0137] 术语“缩短方法”是指将多步骤工艺折叠成较少数量的步骤或单元操作。单元操作不仅包括转化,也包括处理和分离步骤。离心、过滤、蒸馏、倾析、沉淀/结晶和包装是单元操作的例子。在文献中,有许多缩短和其他方法改进的例子(参见,例如J.Org.Chem., 2007, 72, 9757-9760)。

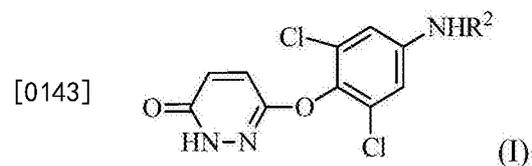
[0138] 应该理解,一些上述定义可能重叠,以致一些化学基团可能属于多个定义。

[0139] 当术语“取代的”出现在一系列的可能的取代的基团之前时,其意图为该术语应用到那个基团中的每个成员。例如,短语“取代的烷基和芳基”被解释为“取代的烷基和取代的芳基”。

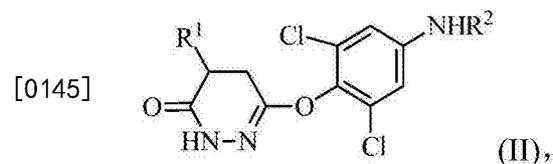
[0140] 本发明提供了一种合成化合物的方法,所述化合物例如是作为对于合成作为甲状腺激素类似物的吡嗪酮化合物有用的中间体。作为甲状腺激素类似物及其前药的吡嗪酮化合物在例如美国专利7452882、7807674和8076334中已被公开。

[0141] 特别地,本发明提供了一种制备6-(4-氨基-2,6-二氯苯氧)-4-异丙基吡嗪-3(2H)酮(“Int.7”)或其盐的方法,所述方法包括:

[0142] 使R¹MgX或R¹Li与通式(I)化合物:



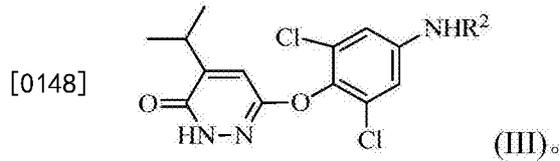
[0144] 接触,以形成通式(II)化合物:



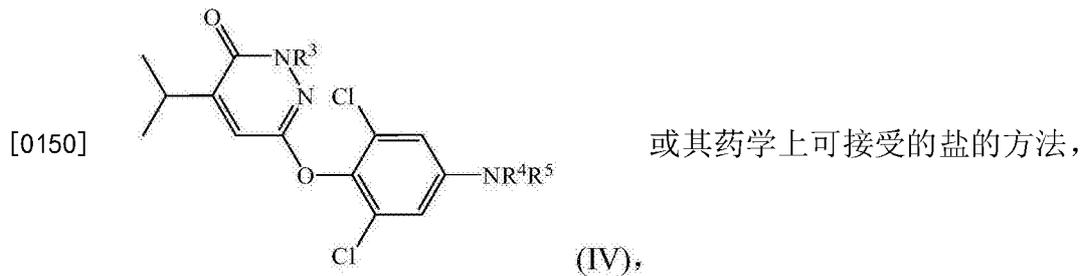
[0146] 其中R¹是异丙基或异丙烯基,X是卤素,R²是H或氨基保护基;以及

[0147] (b) 当R¹是异丙烯基时在碱存在下,或当R¹是异丙基时在氧化剂存在下,将通式

(II) 化合物转变为通式 (III) 化合物:



[0149] 本发明还描述了用于合成作为甲状腺激素类似物及其前药的吡嗪酮化合物的方法。这样的化合物包括在美国专利7452882、7807674和8076334中公开的那些化合物。特别是,本发明公开了制备通式 (IV) 化合物:

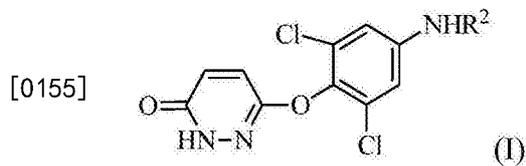


[0151] 其中

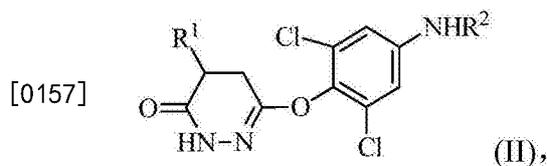
[0152] R^3 是 H 或 CH_2R_a , 其中 R_a 是羟基、O-连接的氨基酸、 $-OP(O)(OH)_2-OC(O)-R_b$, R_b 是低级烷基、烷氧基、烷基酸、环烷基、芳基、杂芳基或 $-(CH_2)_n-$ 杂芳基, n 是 0 或 1;

[0153] R^4 是 H, R^5 是 CH_2COOH 、 $C(O)CO_2H$ 或其酯或酰胺, 或者 R^4 和 R^5 一起为 $-N=C(R_c)-C(O)-NH-C(O)-$; 其中 R_c 是 H 或氰基。所述方法包括:

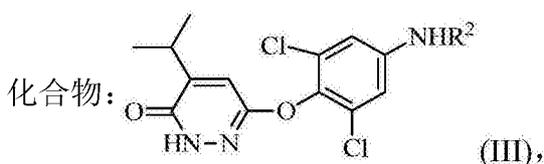
[0154] (a) 使 R^1MgX 或 R^1Li 与通式 (I) 化合物:



[0156] 接触, 以形成通式 (II) 化合物:



[0158] 其中 R^1 是异丙基或异丙烯基, X 是卤素, R^2 是 H 或氨基保护基; 以及 (b) 当 R^1 是异丙烯基时在碱存在下, 或当 R^1 是异丙基时在溴和酸存在下, 将通式 (II) 化合物转变为通式 (III)



[0159] (c) 如果存在时, 除去通式 (III) 化合物的氨基保护基 R^2 , 以形成 6-(4-氨基-2,6-二氯苯氧)-4-异丙基吡嗪-3(2H) 酮; 以及, 任选地,

[0160] (d) 在合适的条件下将通式 (IV) 化合物转变为 6-(4-氨基-2,6-二氯苯氧)-4-异丙基吡嗪-3(2H) 酮。

[0161] 根据以下方案和如实施例所示,本发明还提供了用于合成本发明公开的各种化合物详细方法。

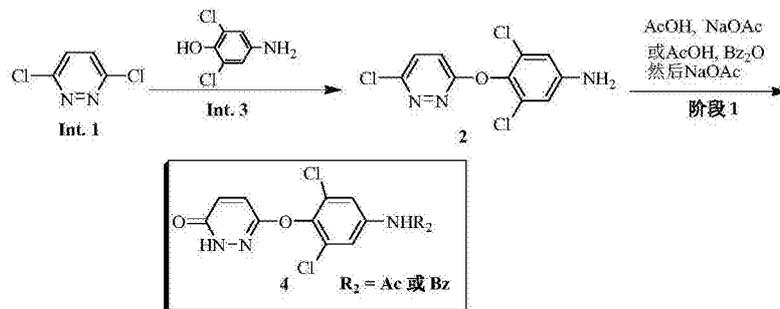
[0162] 整个说明书中,当组合物被描述为具有、包括或包括特定组分时,考虑所述组合物也基本上由所述组分组成或由所述组分组成,同样地,当一个方法或多个方法被描述为具有、包括、包含特定方法步骤时,所述方法也是基本上由所述方法步骤组成,或是由所述方法步骤组成。进一步,应该理解,只要本发明保持可操作,则为执行某些操作的步骤或顺序无关紧要。此外,两个或多个步骤或动作可以同时地进行。

[0163] 本发明的合成方法可以容许各种官能团,因此可以使用不同取代的起始原料。所述方法一般在整个方法的终端或接近终端的地方提供所需的最终化合物,虽然在某些情况下期望进一步将该化合物转变为其药学上可接受的盐、酯或前药。

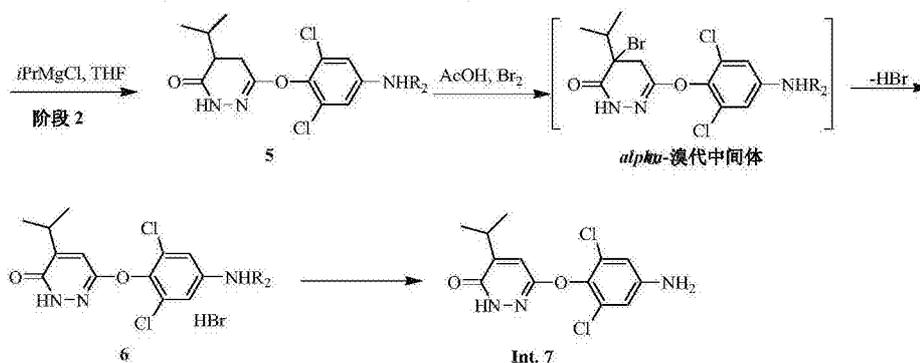
[0164] 在具体实施方式中,根据以下方案1或2制备6-(4-氨基-2,6-二氯苯氧)-4-异丙基吡嗪-3(2H)酮(“Int.7”)。

[0165] 方案1:用异丙基格林试剂($i\text{PrMgX}$)合成6-(4-氨基-2,6-二氯苯氧)-4-异丙基吡嗪-3(2H)酮(Int.7)。

[0166] 方案1

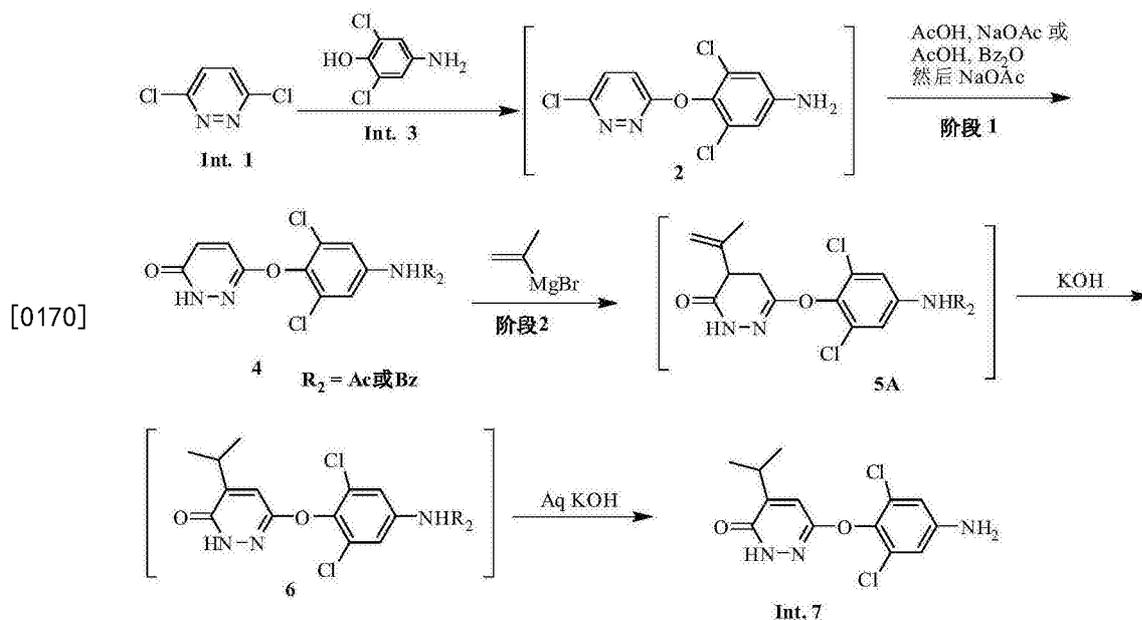


[0167]



[0168] 方案2:用异丙烯基格林试剂合成6-(4-氨基-2,6-二氯苯氧)-4-异丙基吡嗪-3(2H)酮(Int.7)。

[0169] 方案2



[0171] 阶段1: 3,5-二氯-4-((6-氯吡嗪-3-基)氧基)苯胺(化合物2)和N-(3,5-二氯-4-((6-氧代-1,6-二氢吡嗪-3-基)氧基)苯基)苯甲酰胺或N-(3,5-二氯-4-((6-氧代-1,6-二氢吡嗪-3-基)氧基)苯基)乙酰胺(化合物4)的合成

[0172] 化合物2通过如下步骤制备:使3,6-二氯吡嗪与2,6-二氯-4-氨基苯酚在合适的反应温度(例如60至120℃)、在合适的有机溶剂(例如DMSO或DMAC)中、在少量的合适的碱(例如金属碳酸盐(例如铯或钾的碳酸盐)或金属醇盐(例如叔丁醇钾))存在下接触直到反应完全,接触时间通常约3至30小时,例如约3至15小时。

[0173] 化合物4通过如下步骤制备:用合适的胺保护剂(例如苯甲酸酐或苯甲酰氯)保护2,然后在合适的有机溶剂(例如醋酸)存在下、合适的反应温度(例如100至120℃)下用醋酸钠对保护的中间体进行处理直到反应完全,通常约2至20小时,例如约5至15小时。将粗产物在合适的温度(例如88-100℃)下用合适的溶剂(例如水和醋酸的混合物)纯化。醋酸酯保护的化合物4可以通过在水解条件下处理化合物2来制备。

[0174] 阶段2: N-(3,5-二氯-4-((5-异丙基-6-氧代-1,6-二氢吡嗪-3-基)氧基)苯基)苯甲酰胺或N-(3,5-二氯-4-((5-异丙基-6-氧代-1,6-二氢吡嗪-3-基)氧基)苯基)乙酰胺(化合物6)和6-(4-氨基-2,6-二氯苯氧基)-4-异丙基吡嗪-3(2H)酮(Int.7)的合成

[0175] 化合物6通过如下步骤制备:使化合物4与异丙基格氏在合适的有机溶剂(例如四氢呋喃或二氧六环)接触,然后进行氧化步骤。所述氧化步骤可以在氧化剂(例如溴)存在下、在合适的有机溶剂(例如醋酸)中、在合适的反应温度(例如60至90℃)进行直到反应结束,通常约2至10小时,例如约2至5小时。

[0176] 应该理解,为了完成化合物6到Int.7的转化,脱保护反应是必需的。具体地,N-保护基(即乙酰基或苯甲酰基)必须被除去以得到Int.7中游离的氨基。因此,在一个具体实施方式中,Int.7是通过用碱例如金属氢氧化物(例如KOH或NaOH)或金属碳酸盐(例如碳酸钠)对化合物6(其中R²是Bz)进行脱保护获得的。在另一具体实施方式中,Int.7是通过用酸例如三氟乙酸对化合物6(其中R²是Ac)进行脱保护获得的。

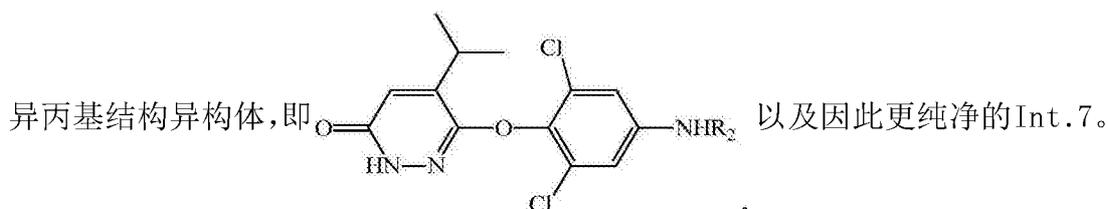
[0177] 备选地,通过使化合物4与异丙烯基格氏试剂在合适的有机溶剂(例如四氢呋喃或2-甲基THF)中接触,然后异构化(例如,从5A到6)并在碱例如金属氢氧化物(例如,KOH)处理

的条件下脱保护来制备化合物7。异构化/脱保护步骤在合适的反应温度(例如60至90℃)下进行直到反应结束,通常约10至60小时,例如在90℃约16小时。

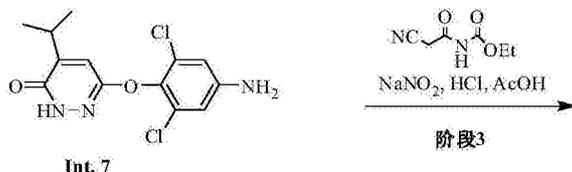
[0178] 该格氏反应可以在路易斯酸(例如LiCl或LiBr)存在下、在合适的反应温度(例如室温至40℃)进行直到反应完全,通常约2至10小时,例如约2至5小时。

[0179] 在具体实施方式中,相对于本领域公知的其他方法,化合物5或5A的合成导致Int.7的产率提高了。例如,5或5A的合成的产率结果为大于45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%或大于90%。

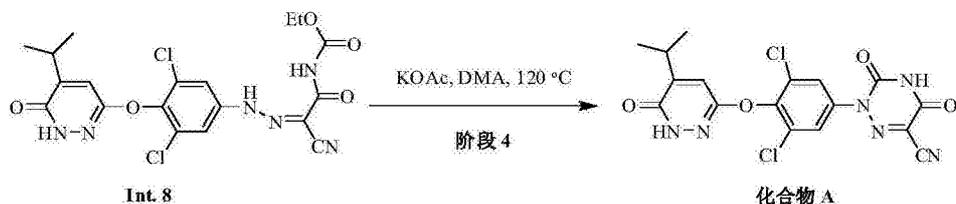
[0180] 在具体实施方式中,该格氏反应提高了区域选择性,导致明显较少的化合物6的β-



[0181] 在一个具体实施方式中,从6-(4-氨基-2,6-二氯苯氧)-4-异丙基吡嗪-3(2H)酮(“Int.7”)到化合物A的转化是根据下面的方案3进行的。



[0182]



[0183] 阶段3:6-(4-氨基-2,6-二氯苯氧)-4-异丙基吡嗪-3(2H)酮(Int.8)的合成

[0184] Int.8是通过如下方法制备的:使6-(4-氨基-2,6-二氯苯氧)-4-异丙基吡嗪-3(2H)酮与(2-氰基乙酰基)氨基甲酸乙酯和金属亚硝酸盐(例如亚硝酸钠)在酸(例如HCl)存在下、在合适的溶剂(例如醋酸和水的混合物)中、在合适的反应温度(例如低于10℃)下接触直到反应完全。

[0185] 阶段4:2-(3,5-二氯-4-((5-异丙基-6-氧代-1,6-二氢吡嗪-3-基)氧基)苯基)-3,5-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,2,4-三嗪-6-甲腈(化合物A)的合成

[0186] 化合物A是通过使Int.8和碱(例如醋酸钠或醋酸钾)在合适的溶剂(例如DMAC)中、在合适的反应温度(例如约120℃)下接触直到反应完全而制备的。

[0187] 在具体实施方式中,从6-(4-氨基-2,6-二氯苯氧)-4-异丙基吡嗪-3(2H)酮(“Int.7”)到通式(IV)化合物的转化(除了MGL-3916(例如其前药)以外)在例如美国专利7452882、7807674和8076334中所述的条件下进行,其全部内容通过引用结合在本文中。

[0188] 与之前在例如美国专利7452882所公开的合成路线(其给出较差的区域选择性)中二芳基醚的生成相比,由于采用异丙烯基或异丙基基团的格氏安装(Grignard installation),因此本文所描述的合成方法导致优越的区域选择性。进一步地,通过将二

芳基醚形成缩短为苯甲酰胺保护,本文所公开的方法避免二芳基醚产物的异构化,由于每批合成千克级的该产品时,过滤时间大于1星期,因此其近乎实际不可能。

[0189] 本发明提供高纯度和/或特定形态(例如晶型I)的化合物、本文所描述的组合物和用于治疗 and 预防肥胖、高血脂、血胆固醇过多、糖尿病、非酒精性脂肪性肝炎、脂肪肝、骨病、甲状腺轴变化、动脉粥样硬化、心血管障碍、心跳过速、多动行为、甲状腺机能障碍、甲状腺肿大、注意缺陷多动障碍、学习障碍、智力迟钝、听力缺损、骨龄延迟、神经或精神疾病或甲状腺癌的方法。

[0190] 应该理解,本文所述的方法同时合适于大规模和小规模制备所需化合物。在本文所述方法的优选实施例中,甲状腺激素类似物可以大规模例如工业化规模而不是实验/实验室规模制备。例如,根据本发明方法的间歇式方法允许制备批次为至少1g、或至少5g、或至少10g、或至少100g、或至少1kg或至少100kg的甲状腺激素类似物。此外,所述方法允许的制备具有HPLC所测定的至少98%或至少98.5%的纯度的甲状腺激素类似物。

[0191] 药物组合物

[0192] 本发明还提供了药物组合物,其包括通式IV化合物并结合至少一种药学上可接受的赋形剂或载体。

[0193] “药物组合物”是以适于给药予主体的形式含有本发明化合物的制剂。在一个实施方案中,药物组合物是散装的或单位剂型。所述单位剂型是多种形式中的任意一种,所述多种形式包括例如胶囊、IV包、片、气雾剂吸入器上的单泵,或者瓶。单位剂量组合物中的活性成分(例如,所公开化合物或其盐、水合物、溶剂化物或异构体的制剂)的量是有效量,并且所述量是根据所涉及的具体治疗而改变。本领域技术人员会理解,有时必须根据患者的年龄和病况对剂量进行常规的改变。剂量还取决于给药途径。能够想到许多途径,包括口服、肺、直肠、肠胃外、透皮、皮下、静脉内、肌内、腹膜内、吸入、颊、舌下、胸膜内、囊内和鼻内等等。本发明化合物的局部或透皮给药剂型包括粉末、喷雾、膏剂、糊剂、乳膏剂、洗液、凝胶、溶液、贴剂和吸入剂。在一个实施方案中,将活性化合物在无菌条件下与药学上可接受的载体以及任何所需要的防腐剂、缓冲剂或者推进剂进行混合。

[0194] 本文使用的短语“药学上可接受的”是指那些化合物、阴离子、阳离子、材料、组合物、载体和/或剂型在可靠的医学判断的范围之内适合于接触人类和动物的组织,而没有过多的毒性、放射性、过敏性反应或其它问题或并发症,与合理的利益/风险比相称。

[0195] “药学上可接受的赋形剂或载体”是指在制备通常是安全、无毒并且不具有生物学上或其他不良的特性的药物组合物中有用的赋形剂或载体,其包括在兽药和人类药物应用中可接受的赋形剂。在本说明书和权利要求书中所用的“药学上可接受的赋形剂”包括一个和多个此类赋形剂。

[0196] 本发明的药物组合物根据其拟定的给药途径配制。给药途径的例子包括肠胃外给药,例如静脉内、皮内、皮下、口服(例如,吸入)、透皮(局部)和粘膜给药。用于肠胃外、真皮内、皮下应用的溶液或悬浮液可以包括下列组分:无菌稀释剂,例如注射用水、生理盐水溶液、固定油、聚乙二醇、甘油、丙二醇或其它合成溶剂;抗菌剂,例如苄基醇或对羟苯甲酸甲酯;抗氧化剂,例如抗坏血酸或亚硫酸氢钠;螯合剂,例如乙二胺四乙酸;缓冲剂,例如乙酸盐、柠檬酸盐或磷酸盐以及渗透压调节剂,例如氯化钠或葡萄糖。pH值可以用酸或碱(如盐酸或氢氧化钠)调节。肠道外制剂可封装在安瓿、玻璃或塑料制成的一次性注射器或多剂量

小瓶中。

[0197] 术语“治疗有效量”，如在此所使用的，是指治疗、改善或防止确定的疾病或状况或表现出可检测的治疗或抑制效果的药物的用量。该效果可以通过在本领域中已知的任何方法检测。对主体来说精确的有效量将取决于主体的体重、尺寸和健康；病况的性质和程度；以及所选择的用于给药的治疗或联合治疗。特定情况下的治疗有效量可以通过在临床医生的技能和判断决定内的常规实验确定。在一个优选的方面，待治疗的疾病或病况是代谢障碍。

[0198] 在本发明的方法的实践中，有效量的任何一种本发明化合物或本发明的化合物的任何组合或其药学上可接受的盐或酯是通过本领域公知的任何常见并可接受的方法单独地或组合地施用。因此，所述化合物或组合物可以是口服给药（例如，口腔，舌下含服）、胃肠外给药（例如，肌肉注射、静脉注射或皮下注射）、直肠给药（例如，通过栓或洗涤）、经皮（例如，皮肤电穿孔）或吸入（例如，通过气溶胶），在形式上或是固态的、液体或气态的剂量，包括片剂和悬浮液。可以以单一的单位剂量形式连续治疗或单剂量疗法随意进行施用。治疗组合物也可以是油乳液或分散液与亲脂性盐如双羟萘酸结合的形式，或是同于皮下或肌肉施用的可降解的缓释组合物的形式。

[0199] 对于制备本发明的组合物有用的药物载体可以是固体、液体或气体；因此，该组合物可采用片、丸、胶囊、栓剂、粉、肠道涂层或其他保护的制剂（如结合在离子交换树脂上或包裹在脂质蛋白囊泡中）、缓释制剂、溶液、悬浮液、酏剂、气溶胶等形式。载体可以选自各种油，包括石油、动物、植物或合成来源的油，例如，花生油、大豆油、矿物油、芝麻油等。水、盐水、葡萄糖和乙二醇水溶液是优选的液体载体，特别是（与血液等渗时）对于可注入的溶液。例如，用于静脉给药的制剂包括活性成分的无菌水溶液，其是通过在水中溶解固体活性成分产生水溶液然后将该溶液进行无菌处理而制备的。适宜的药用辅料包括淀粉、纤维素、滑石粉、葡萄糖、乳糖、明胶、滑石粉、麦芽、大米、面粉、二氧化硅、硬脂酸镁、硬脂酸钠、粉笔、单硬脂酸甘油酯、氯化钠、脱脂奶粉、甘油、丙二醇、水、乙醇等。该组合物可添加常规药物添加剂，如防腐剂、稳定剂、润湿剂或乳化剂、用于调节渗透压的盐、缓冲剂等。合适的药物载体及其制剂在E.W.Martin的Remington's Pharmaceutical Sciences中描述。在任何情况下，这样的组合物包含有效量的活性化合物和合适的载体，以制备用于向接受者适当施用的适当剂型。

[0200] 药物制剂还可包含保鲜剂、增溶剂、稳定剂、润湿剂、乳化剂、甜味剂、着色剂、调味剂、用于改变渗透压的盐、缓冲剂、涂层剂或抗氧化剂。它们还可以包含其他在治疗上有价值的物质，包括除通式I的那些物质以外的额外的活性成分。

[0201] 本发明的化合物作为药物对于治疗具有至少一种TRB突变的主体中的抗甲状腺激素（RTH）是有用的。所述主体可具有疾病，例如肥胖、高血脂、血胆固醇过多、糖尿病、非酒精性脂肪性肝炎、脂肪肝、骨病、甲状腺轴变化、动脉粥样硬化、心血管障碍、心跳过速、多动行为、甲状腺机能障碍、甲状腺肿大、注意缺陷多动障碍、学习障碍、智力迟钝、听力缺损、骨龄延迟、神经或精神疾病或甲状腺癌。

[0202] 根据本发明的化合物的治疗有效量或剂量可在很宽的范围变化，并且可通过本领域中已知的方法确定。例如，该药物可根据体重施用。这些剂量将被调整到在每个特定的情况下的个体需求，所述每个特定的情况包括被施用的特定的化合物、给药途径、正在接受治

疗的疾病以及正在接受治疗的病人。在另一实施方式中,该药物可以固定剂量给药,例如,不根据体重调整剂量。一般来说,向成人口服或胃肠外给药的话,每日剂量从约0.5毫克到约1000毫克应当是适当的,虽然必要时可能会超过上限。用量优选为从约5毫克至约400毫克/天。优选的剂量可以是约20毫克到约100毫克/天。每日剂量可作为单剂量或分次给药,或胃肠外给药,其可以以连续输注的形式施用。

[0203] 药剂的有效量是指提供了被临床医生或其他有资格的观察者注意到的客观的可辨别的改善。例如,在患者体内的肿瘤消退可以参考肿瘤直径来测量。一个肿瘤的直径减小表示消退。消退也表明了治疗停止后肿瘤复发的失败。本文所使用的术语“剂量有效方式”是指活性化合物在患者或细胞中产生所需的生物效应的量。

[0204] 所述药物组合物可以同给药说明书一起包含在容器、包装或分配器中。

[0205] 本发明的化合物能够进一步形成盐。这些形式均考虑在要求保护的发明的范围内。

[0206] 本文使用的“药学上可接受的盐”是指本发明化合物的衍生物,其中母体化合物通过制造其酸或碱的盐而被修饰。药学上可接受的盐的例子包括,但不限于碱性残基(如胺)的无机酸盐或有机酸盐、酸性残基(如羧酸)的碱金属盐或有机盐,等等。所述药学上可接受的盐包括例如由无毒的无机酸或有机酸形成的常规的无毒性的盐或母体化合物形成的季铵盐。例如,所述常规的无毒性的盐包括,但不限于那些衍生自无机酸或有机酸的盐,所述无机酸或有机酸选自2-乙酰氧基苯甲酸、2-羟基乙磺酸、乙酸、抗坏血酸、苯磺酸、苯甲酸、碳酸氢根、碳酸、柠檬酸、依地酸、乙烷二磺酸、1,2-乙烷磺酸、富马酸、葡庚糖酸、葡萄糖酸、谷氨酸、乙醇酸、乙醇酰对氨基苯基砷酸(glycollyarsanilic)、己基间苯二酚酸(hexylresorcinic)、海巴明(hydrabamic)、氢溴酸、盐酸、氢碘酸、羟基马来酸、羟基萘甲酸、羟乙磺酸、乳酸、乳糖酸、月桂基磺酸、马来酸、苹果酸、扁桃酸、甲磺酸、萘磺酸(napsylic)、硝酸、草酸、双羟基萘酸、泛酸、苯乙酸、磷酸、多聚半乳糖醛酸、丙酸、水杨酸、硬脂酸、碱式乙酸(subacetic)、琥珀酸、氨基磺酸、磺胺酸、硫酸、单宁酸、酒石酸、甲苯磺酸,以及常用的氨基酸,例如甘氨酸、丙氨酸、苯丙氨酸、精氨酸等。

[0207] 药学上可接受的盐的其他例子包括己酸、环戊烷丙酸、丙酮酸、丙二酸、3-(4-羟基苯甲酰基)苯甲酸、肉桂酸、4-氯苯磺酸、2-萘磺酸、4-甲苯磺酸、樟脑磺酸、4-甲基双环-[2.2.2]-辛-2-烯-1-羧酸、3-苯基丙酸、三甲基乙酸、叔丁基乙酸、粘康酸等。本发明还包括当母体化合物中存在的酸性质子被金属离子(例如碱金属离子、碱土金属离子或铝离子)取代时形成的盐;或当母体化合物与有机碱配合时形成的盐,所述有机碱例如为乙醇胺、二乙醇胺、三乙醇胺、氨丁三醇、N-甲基葡萄糖胺等。在盐的形式中,可以理解的是化合物对该盐的阳离子或阴离子的比例可为1:1,或1:1以外的任意的比例,例如,3:1、2:1、1:2或1:3。

[0208] 应当理解的是,所有引用的药学上可接受的盐包括相同的盐的如本文所定义的溶剂加成形式(溶剂化物)或晶体形式(多形体)

[0209] 本发明的化合物也可以以酯的形式来制备,例如药学上可接受的酯。例如,化合物的羧酸官能团可以被转换成其相应的酯,例如甲酯、乙酯或其它酯。此外,化合物中的醇基可以被转换成其相应的酯,例如乙酯、丙酯或其它酯。

[0210] 本发明的化合物也可以以前药的形式来制备,例如药学上可接受的前体药物。术语“前体药物”和“前药”本文中可互换使用,是指在体内释放活性母体药物的任何化合物。

由于已知前药可以提高药品的许多可取的品质(例如,溶解度、生物利用度、制造等),所以本发明的化合物可以前药的形式来输送。因此,本发明意在覆盖本发明要求保护的化合物的前药、其输送方法以及包含它们的组合物。“前药”意在包括任何共价键合的载体,当所述前药给药于主体时所述载体在体内释放本发明中的活性母体药物。本发明中的前药通过对化合物中存在的官能团进行修饰的方式来制备,所述修饰在常规操作中或在体内裂解为母体化合物。前药包括本发明的化合物,其中,羟基、氨基、巯基、羧基或羰基键连到可在体内裂解分别形成游离羟基、游离氨基、游离巯基、游离羧基或游离羰基的任何基团。

[0211] 前药的例子包括,但不限于本发明化合物中的羟基官能团的酯(例如,乙酸酯、二烷基氨基乙酸酯、甲酸酯、磷酸酯、硫酸酯和苯甲酸酯衍生物)和氨基甲酸酯类(例如,N,N-二甲氨基羰基),羧基官能团的酯(如乙酯、吗啉乙醇酯),N-酰基衍生物(例如,N-乙酰基),氨基官能团的N-曼尼希碱、席夫碱和烯胺酮,酮和醛官能团的肟类、缩醛、缩酮和烯醇酯等等(参阅Bundegaard,H.,Design of Prodrugs,p1-92,Elsevier,New York-Oxford(1985))。

[0212] 所述化合物或其药学上可接受的盐、酯或前药经口服、鼻内、经皮、肺、吸入、颊、舌下、腹膜内、皮下、肌肉、静脉、直肠、胸腔内、鞘内和肠道外给药。在一个实施方案中,所述化合物经口服给药。本领域技术人员将认识到某些给药途径的优点。

[0213] 利用所述化合物的给药方案根据多种因素选择,包括患者的品种、物种、年龄、体重、性别和病情;需治疗的疾病的严重程度;给药途径;病人的肾肝功能,以及使用的具体化合物或其盐。本领域普通技术的医生或兽医可以很容易地确定和规定所需药物的有效量来防止、对抗或阻止病情的发展。

[0214] 本发明公开的化合物的制剂和给药技术可以参阅Remington:the Science and Practice of Pharmacy,19th edition,Mack Publishing Co.,Easton,PA(1995)。在一个实施方案中,本文所公开的化合物和其药学上可接受的盐与其药学上可接受的载体或稀释剂结合用于制备药物。合适的药学上可接受的载体包括惰性固体填充剂或稀释剂、无菌水溶液或有机溶液。所述化合物将以足以提供本文描述范围内的所需剂量存在于所述药物组合物中。本发明提供了一种用于治疗或改善主体中抗甲状腺激素症状的方法,通过向表达包括配体结合域中的突变的突变TRβ主体施用治疗有效量的通式(IV)化合物,例如化合物A,例如其I型。

[0215] 本发明还提供一种通过提供来自主体的样品;以及检测至少一种TRβ突变(例如基因突变或TRβ多肽在配体结合域中的突变,TRβ多肽例如SEQ ID NO:1中限定的多肽)来检测抗甲状腺激素(RTH)的主体对本文所公开的通式(IV)化合物的响应能力的方法通过提供来自主体的样品;所述突变的存在表明主体对通式(IV)化合物(例如化合物A,例如其I型)做出响应。所述方法可进一步包括通过施用治疗有效量的通式(IV)化合物(例如化合物A,例如其I型)治疗具有突变的主体。

[0216] 在一个具体实施方式中,显示或将显示对通式(IV)化合物(例如化合物A)响应的主体具有肥胖、高血脂、血胆固醇过多、糖尿病、非酒精性脂肪性肝炎、脂肪肝、骨病、甲状腺轴变化、动脉粥样硬化、心血管障碍、心跳过速、多动行为、甲状腺机能障碍、甲状腺肿大、注意缺陷多动障碍、学习障碍、智力迟钝、听力缺损、骨龄延迟、神经或精神疾病或甲状腺癌。

[0217] 进一步地,本发明还提供了一种方法,其包括确定在来自主体的样品中存在TRB基因突变;基于TRB基因突变存在,选择疗法,所述疗法包括施用治疗有效量的通式(IV)化合物,例如化合物A,例如其I型。

[0218] 本发明还提供一种方法,其包括用引物使来自主体的样品中的核酸扩增,所述引物与在SEQ ID NO:2中限定的核酸序列中包含TRB基因突变的突变TRB核酸序列互补;确定扩增核酸的存在,以及基于存在扩增的核酸,选择包括施用治疗有效量的通式(IV)化合物的疗法,或者基于存在扩增的核酸,通过施用治疗有效量的通式(IV)化合物来治疗主体。

[0219] 本文所描述的突变TRB是突变TRB多肽或编码突变TRB多肽的核酸序列。

[0220] 在一个具体实施方式中,突变TRB包括一个或多个在SEQ ID NO:1的氨基酸位点234、243、316和317处的突变。更优选地,突变选自在SEQ ID NO:1的氨基酸位点234处的野生型丙氨酸(A)残基被替换为苏氨酸(T) (A234T);在SEQ ID NO:1的氨基酸位点243处的野生型精氨酸(R)残基被替换为谷氨酰胺(Q)氨基酸;在SEQ ID NO:1的氨基酸位点316处的野生型精氨酸(R)残基被替换为组氨酸(R316H);以及在SEQ ID NO:1的氨基酸位点317处的野生型丙氨酸(A)残基被替换为苏氨酸(T) (A317T)。

[0221] 在一个具体实施方式中,所述突变TRB包括编码突变TRB多肽的核酸序列,所述突变TRB多肽具有在SEQ ID NO:1的氨基酸位点234、243、316和317处的一个或多个突变。编码突变TRB多肽或具有突变TRB多肽特征的多肽片段的核酸序列可以使用任何合适的方法检测。例如,编码突变TRB多肽的核酸序列可以根据本领域公知的方法采用使用适当选择的DNA来源和聚合酶链反应(PCR)引物的全基因组测序或靶区域测序(后者也被称为靶向重测序)来检测。参见,例如,Bentley (2006) *Curr Opin Genet Dev.* 16:545-52, and Li et al. (2009) *Genome Res* 19:1124-32。所述方法经典地、通常地需要以下步骤:基因组DNA纯化、对感兴趣区域扩增的PCR扩增、循环测序、测序反应清洁、毛细管电泳以及数据分析。使用生物信息学(in silico)引物设计工具设计覆盖感兴趣区域的高质量PCR引物。循环测序是个简单方法,其中在热循环中变性、热处理和延伸的连续轮回导致延伸产物的线性扩增。通常,所述产物的末端为以识别作为G、A、T或C的末端核苷酸碱基的荧光标记。未掺入的染料终止剂和可与毛细管电泳注射剂竞争的盐通过洗涤除去。毛细管电泳期间,循环测序反应的产物通过填充聚合物的毛细管迁移。当它们通过毛细管向阳极移动时,带负电的DNA片段按从小到大分离。电泳后,数据收集软件创建原始数据的样品文件。使用下游应用软件进行进一步数据分析以便将收集的彩色数据图像转译为相应的核苷酸碱基。备选地或另外地,所述方法可包括采用芯片目标区域基因组DNA捕获和/或测序。试剂盒、试剂和用于选择适当PCR引物和进行重测序的方法可以商购获得,例如,从Applied Biosystems, Agilent, and NimbleGen (Roche Diagnostics GmbH) 获得。为了用于本发明,PCR引物可被选择以扩增,例如,编码突变TRB多肽的核酸序列的至少相关部分,所述突变TRB多肽具有在SEQ ID NO:1的氨基酸位点234、243、316和317处的一个或多个突变。

[0222] 备选地或另外地,根据本领域公知的方法,使用印迹法编码突变TRB多肽的核酸序列可被检测。

[0223] 在某些具体实施方式中,本发明的方法包括步骤进行化验以检测来自主体的样品中的TRB的突变体的步骤。如在此所使用的,“来自主体的样品”是指从主体获得或衍生的包含细胞或细胞成分的任何合适的样品。在一个具体实施方式中,所述样品是血液样品。在一

个具体实施方式中,所述样品是从例如甲状腺体获得的活组织切片样本。

[0224] 本发明还提供了配体-突变TRB络合物,其包括:突变TRB多肽和通式(IV)化合物。例如,形成所述络合物的突变TRB多肽包括SEQ ID NO:1中的一个或多个在氨基酸位点234、243、316和317的突变。例如,形成所述络合物的化合物是化合物A。

[0225] 另外,本发明提供引物-核酸络合物包括:突变TRB核酸序列和与突变TRB核酸序列互补的PCR引物,其特征是,突变核酸序列包括在SEQ ID NO:2中限定的核酸序列中的EZH2基因突变。

[0226] 在此提及的所有专利、专利申请和出版物均通过引用并入本申请中。然而,包含表达定义的专利、专利申请和出版物被通过引用被包含时,那些表达定义应当理解为只适用于它们被发现的所并入的专利、专利申请和出版物,而不适用于该申请的文本的其余部分,特别是本申请的权利要求。

[0227] 需要了解的是,虽然已经结合优选的具体实施方式对本发明进行了描述,但是前述说明以及下面的实施示意图说明,而非限制本发明的保护范围。本领域技术人员将理解,各种变化和等价物可被替代,而不脱离本发明的保护范围,进一步地,对于本发明所属的那些本领域技术人员来说,其他方面、优点和修改将是显而易见的。

[0228] 除非另有说明,否则本文所使用的百分比和比率均以重量计。本发明的其它特征和优点在不同的实施例中变得显而易见。所提供的实施例说明可用于实施本发明的不同的组分和方法。这些实施例并不限制所要求保护的发明。基于本发明的公开内容,本领域技术人员可以识别和采用可用于实施本发明的其他组分和方法。

实施例

[0229] 除非另有说明,用于实施例描述的化合物的分析仪器和参数如下:

[0230] XRPD数据在X-射线粉末衍射仪(CubiX-Pro XRD)上收集,以从3至45度的2-theta (2θ)进行Cu K α 辐射(45kV,40mA),扫描速率为0.12度/分,步长为0.020度。样品置于Si零返回超微观样品架上。使用10mm的辐射宽度进行分析,以下参数设置在硬件/软件中:

[0231] X-射线管:Cu KV,45kV,40mA

[0232] 检测器:X' Celerator

[0233] ASS初级狭缝:Fixed 1°

[0234] 发散狭缝(Prog):自动-5mm辐照长度

[0235] 索勒狭缝:0.02弧度

[0236] 散射狭缝(PASS):自动-5mm观察长度

[0237] 扫描范围:3.0-45.0°

[0238] 扫描模式:连续

[0239] 步长:0.02°

[0240] 时间每步:10s

[0241] 工作长度:2.54°

[0242] 根据分析,使用X' Pert HighScore Plus软件,从可调的到固定的狭缝,将数据进行转换,参数如下:

[0243] 固定的发散狭缝大小:1.00°,1.59mm

[0244] 交叉点:44.3°Omega

[0245] 在以下实施例中,除非另有说明,化合物4是苯甲酰基保护的化合物。

[0246] 实施例1:N-(3,5-二氯-4-((6-氧代-1,6-二氢哒嗪-3-基)氧基)苯基)苯甲酰胺(化合物4,其中R²是苯甲酰基)的制备

[0247] 向装有顶置搅拌、热偶、回流冷凝管和N₂入口/出口的1L三口圆底烧瓶中加入3,6-二氯哒嗪(100g,0.672mol,1wt)、4-氨基-2,6-二氯苯酚(122g,0.686mol,1.02当量)和DMAC(500mL,5vol)。向所产生的溶液中加入碳酸铯(251g,0.771mol,1.15当量),将该悬浮液加热到110℃。在该温度下3h后,将批料温度降至70℃,并在该温度下搅拌16h。¹HNMR分析(DMSO)表明几乎所有的二氯哒嗪都被消耗了,该反应被认为反应完全了。将该批次冷却到室温,并在EtOAc(2L,20体积)帮助下转移到3L圆底烧瓶中。添加硅胶(100g,1wt),将该悬浮液搅拌30min,然后过滤。用EtOAc(500mL,5体积)将反应器和滤饼冲洗至洗脱的滤液为无色。所得到的滤液用10%NaCl水溶液(2L,20体积)处理,该两相混合物被搅拌30min,弃掉下层的水层。在减压条件下将上层的有机层浓缩干。将EtOAc(100mL,1体积)添加到残留物中,在减压条件下浓缩至干,以提供作为油状物的粗制化合物2(251g,128%的产率)。HPLC分析显示93.4%的纯度。¹HNMR分析(DMSO)与指定的结构一致,并且表明存在≈25%DMAC和2%EtOAc。

[0248] 在下面的表1-3讨论了合成化合物2的其他条件。

[0249] 表1.化合物2的反应参数总结

[0250]

规模 (g)	条件	%产率	¹ H NMR 或 HPLC
5.0	中间体 1 1 当量 DMSO 5 体积	80	≈90%纯

规模 (g)	条件	%产率	¹ H NMR 或 HPLC
	KOtBu 1.1 当量 Int. 3 1 当量 85 °C		
15	Int. 1 1 当量 DMSO 5 体积 KOtBu 1.1 当量 Int. 3 1 当量 85°C	84	≈90%纯
[0251] 15	Int. 1 1 当量 DMAC 5 体积 KOtBu 1.1 当量 Int. 3 1 当量 85°C	70	≈90%纯
50.0	Int. 1 0.98 当量 DMAC 5 体积 KOtBu 1.1 当量 Int. 3 1 当量 85°C	---	重叠的
17.45	Int. 1 0.98 当量 DMSO 5 体积 KOtBu 1.1 当量 Int. 3 1 当量 85°C	85	≈95%

[0252] 表2化合物2的反应参数总结

溶剂	条件	时间 (h)	%产率	HPLC AUC(220 nm)	NMR 纯度
[0253]					

[0254]	DMSO	1.15 + 0.26 当量 KOtBu 1 当量 Int. 1 1.02 当量 Int. 3 85°C	26	98	72.2	包含 DMSO
	DMAC	1.15 当量 Cs ₂ CO ₃ 1 当量 Int. 1 1.02 当量 Int. 3 120°C	2	130	88.8	包含 33% DMAC
	NMP	1.15 当量 Cs ₂ CO ₃ 1 当量 Int. 1 1.02 当量 Int. 3 120°C	2	172	86.8	包含 46% NMP
	DMAC	1.0 当量 Cs ₂ CO ₃ 1 当量 Int. 1 1.02 当量 Int. 3 120°C	4	120	66.0	包含 42% DMAC
	DMAC	1.02 当量 2 1.15 当量 Cs ₂ CO ₃ 5 体积 DMAC 110°C 至 70°C	1 2.25 3.25 19	128	93.4%	包含 26% DMAC 2% EtOAc

[0255] 表3化合物2的反应参数总结(所有反应都在DMAC中)

碱	时间 (h)	温度. °C	HPLC IPC (220 nm)
Cs ₂ CO ₃	3	110	94.8%
	15	90	94.4%
Li ₂ CO ₃	3	110	12.7%

[0257]

K ₂ CO ₃	3	110	91.6%
	15	90	91.4%
Na ₂ CO ₃	3	110	84.5%
	15	90	84.9%
NaOAc	3	110	25.2%
KF	3	110	54.1%
DIPEA	3	110	22.8%
DBU	3	110	80.8%
	15	90	--
DABCO	3	110	6.2%
KOH (磨碎的)	3	110	85.1%

[0258] 上述粗品2溶解在醋酸(1.48L,7.5体积)中,添加苯甲酸酐(168g,0.741mol,1.1当量)。将所得混合物加热至100℃,在该温度下35min后,2的量为0.8%。添加醋酸钠(110g,2当量),并将温度升至110℃。在该温度14.5h后,反应混合物的HPLC分析表明没有残留的中间体,该反应被视为反应完全。该批次被降至75℃,添加水(1.5L,7.7体积),1小时加完,同时保持其温度为72-75℃。将该批次冷却至21℃,通过Sharkskin滤纸进行过滤。反应器和滤饼依次用水(1L,5体积)洗涤。收集的固体在50℃真空干燥箱干燥16h后,粗品4的产率为195g(77%)。HPLC分析(方法B,220nm)显示91.6%的纯度。

[0259] HPLC方法B:

[0260] 柱:Waters Sunfire C18,3.5μM,4.6×150mm

[0261] 流速:1.0mL/min.

[0262] 流动相A:0.05%TFA水溶液

[0263] 流动相B:0.05%TFA水溶液

[0264] 稀释液:50:50MeCN/H₂O

[0265]

时间 (min.)	%A	%B
0.0	98	2
5.0	98	2
20	5	95
25	5	95
25.1	98	2
30	98	2

[0266] ¹HNMR分析 (DMSO) 与指定的结构一致,表明醋酸含量为1%。苯甲酰氯也用于代替苯甲酸酐进行保护。当用苯甲酰氯时,使用诸如碳酸铯或碳酸钾的碱,反应在室温下进行。

[0267] 下表4和5描述了合成化合物4的其他条件。

[0268] 表4. 化合物2的保护/水解 (Int.1报告的产率) (苯甲酰基保护基)

[0269]

溶剂	条件	时间(h)	IPC % Pdt	%产率	HPLC 纯度 (% AUC)
醋酸	1. 1.03 当量 2 1.15 当量 Cs ₂ CO ₃ 3 体积 DMSO 2. Bz ₂ O 3. 醋酸, 115 °C	1. 2h 2. 19h 3. 20.5h	1. 70 2. 70.7 3. 68.8	71	78.2
醋酸	1.1 当量 Bz ₂ O 2 当量 NaOAc 110 °C	16.5	79.0	66	91.6
醋酸	1.1 当量 Bz ₂ O 2 当量 NaOAc 100–110 °C	14.25	76.6	77	91.6

[0270] 表5. 化合物4的反应参数总结 (乙酰保护基)

规模 (g)	条件	%产率	¹ HNMR 或 HPLC
5.0	NaOAc 2 当量 醋酸 4 体积 115 °C	76	≈95%
15.0	NaOAc 2 当量 醋酸 4 体积 115 °C	60	>99%
50.0 g (中间体 1)	NaOAc 2 当量 醋酸 4 体积 115 °C	51 2 步	≈95%

[0272] 化合物4的纯化:向装有顶置搅拌、热电偶、回流冷凝管和N₂进口/出口的5L三颈圆底烧瓶投入粗品4 (100g, 1wt) 和醋酸 (2L, 20体积)。将悬浮液搅拌并加热至95°C, 发生溶解。加水 (2L, 20体积), 2.75h添加完毕。同时保持≈95°C的批次温度, 发生沉淀。所得浆液在95°C加热30min, 然后撤去加热。该批料达到室温后, 为了方便将其在该温度搅拌过夜, 通过Sharkskin滤纸进行过滤。反应器和滤饼依次用水 (1L, 10体积) 冲洗。所收集的白色固体在40°C真空干燥箱中干燥至不变的重量91g (91%)。该干燥的固体的HPLC分析显示98.0%的纯度。¹H NMR分析 (DMSO) 与指定的结构一致, 并显示0.3%的醋酸含量。下表6列出了纯化化合物4的其他条件。

[0273] 表6化合物4 (R²=Bz) 的纯化

溶剂	条件	时间 (h)	%产 率	HPLC 纯度 (% AUC)
醋酸 /H ₂ O	1 当量 4 20 体积 AcOH	1	90	96.8

	20 体积 水 88-100 °C			
[0275]	醋酸 /H ₂ O 1 当量 4 20 体积 AcOH 20 体积 水 95°C	3	91	98.0
	醋酸 /H ₂ O 1 当量 4 20 体积 AcOH 20 体积 水 95 °C	4	92	98.0
	醋酸 /H ₂ O 1 当量 4 12 体积 AcOH 10 体积 水 100-110 °C	1	90	98.9

[0276] 实施例2:6-(4-氨基-2,6-二氯苯氧)-4-异丙基吡嗪-3(2H)酮(Int.7)的制备

[0277] 向装有顶置搅拌、热电偶、回流冷凝管和N₂进口/出口的4L四颈圆底烧瓶中加入4(95g,0.253mol,1wt)、THF(665mL,7体积)和LiCl(32.3g,0.759mol,3当量)。所得悬浮液被加热至35°C,然后添加异丙基溴化镁溶液(0.5M的THF溶液,1.72L,0.859mol,3.4当量),80min加完,同时保持批料温度在35-45°C之间。所得浆液在40°C加热3h后,HPLC分析显示87%的转化率。添加额外的异丙基溴化镁溶液(0.5M的THF溶液,51mL,0.026mol,0.1当量),该浆液在40-43°C搅拌90min.HPLC分析显示92.9%的转化率,该反应视为反应完全。撤去加热装置,反应混合物冷却至14°C,缓慢添加3N HCl(380mL,4体积)水溶液,15分钟加完,同时保持批料温度在26°C以下,加完后,全部固体已经溶解。移去下面的水层,并用THF(350mL,3.7体积)萃取。除去下面的水层后,将合并的有机层在减压条件下浓缩至相对于4约5体积。向所得溶液中加入10%(w/w)KOH水溶液(532mL,5.6体积),将混合物加热至85°C,同时用短程蒸馏装置蒸馏除去THF。该批次在85°C保持11h,撤去加热装置。为了方便,将该批次冷却至室温并过夜。所得浆液的HPLC分析(下面的方法A)显示99%转化为Int.7,该反应视为反应完全。

[0278] HPLC方法A

[0279] 柱:Waters Sunfire C18,3.5μM,4.6×150mm

[0280] 流速:1.0mL/min.

[0281] 流动相A:0.05%TFA水溶液

[0282] 流动相B:0.05%TFA水溶液

[0283] 稀释液:50:50MeCN/H₂O

[0284]

时间 (min.)	%A	%B
0.0	98	2
15.0	5	95
25	5	95
25.1	98	2
30	98	2

[0285] 将该批料温度调至48℃,在35分钟的时间添加3N HCl (152mL, 1.6体积) 水溶液,以调节pH值至7.5-8.0,同时保持46-48℃的批料温度。撤去加热装置,该浆体冷却至30℃。¹HNMR分析 (DMSO) 显示Int.7/THF的摩尔比为1.0:0.22 (附件14)。将该批料在30℃通过Sharkskin滤纸过滤,将反应器和滤饼按照顺序用水 (475mL, 5体积) 进行洗涤。米色固体Int.7在40℃真空干燥箱中干燥至不变的重量81.6g (102%产率)。Karl Fischer分析显示0.8%的水含量。¹HNMR (DMSO) 与指定的结构一致,并且显示0.4%的THF含量。HPLC分析显示92.6%的纯度。下表7-10总结了用于制备Int.7的反应参数。

[0286] 表7格氏异丙烯化运行的总结

[0287]

规模(g)	条件	%产率	¹ HNMR 或 HPLC
5.0	1 当量 4 7 体积 THF 3.4 当量格氏试剂	97	94.1

[0288]

规模(g)	条件	%产率	¹ H NMR 或 HPLC
	3 当量 LiCl 40 °C		
25.0	1 当量 4 7 体积 THF 3.4 当量格氏试剂 3 当量 LiCl 40 °C	102	93.1
95.5	1 当量 4 7 体积 THF 3.5 当量 格氏试剂 3 当量 LiCl 40 °C	101	92.6
5.0	1 eq 4 3 eq LiCl 8volTHF 3.4eq格氏试剂1.5	97	90.7
5.0	1 eq 4 3 eq LiCl 15体积THF 2 eq t-BuMgCl ₂ M在 THF中 1.7eq 格氏试剂1.5	100	87.5
5.0	1 eq 4 3 eq LiCl 15体积THF 3.6eq 格氏试剂0.5	90	86.9

规模(g)	条件	%产率	¹ HNMR 或 HPLC
10.0	1 eq 4 3 eq LiCl 13体积THF 3.7eq 格氏试剂1.5	114	85.4
[0289] 10.0	1 eq 4 3 eq LiBr 13体积THF 3.7eq 格氏试剂1.5	67	89.3
10.0	1 eq 4 5 eq LiCl 13体积THF 3.7eq 格氏试剂0.5	88	91.2

[0290] 表8格氏异丙基化运行的总结

规模(g)	条件	%产率	¹ HNMR 或 HPLC
1.0	1 当量 4 (R ² =Ac) 20 体积 THF 3.3 当量 <i>i</i> PrMgCl 30 °C	35	>95
[0291] 5.0	1 当量 4 (R ² =Ac) 20 体积 THF 6 当量 <i>i</i> PrMgCl 40 °C	94	≈90
2.0	1 当量 4 20 体积 THF 4 当量 <i>i</i> PrMgCl 20 °C	51	>95

[0292]

规模 (g)	条件	%产率	¹ HNMR 或 HPLC
1.21	1 当量 4 20 体积 二氧六环 4.1 当量 <i>i</i> PrMgCl 40 °C	---	---
2.0	1 当量 4 (R ² =Ac) 8 当量 <i>i</i> PrMgCl 30 体积 THF 25-42°C	---	---
1.1	1 当量 4 2 当量 LiCl 4 当量 <i>i</i> PrMgCl 27 体积 THF	---	压缩为氧化
1.0	1 当量 4 (R ² =Ac) 3 当量 LiCl 5 当量 <i>i</i> PrMgCl 25 体积 THF	---	---
2.0	1 当量 4 3 当量 LiCl 4 当量 <i>i</i> PrMgCl 10 体积 THF	46	>95
4.0	1 当量 4 3 当量 LiCl 4.1 当量 <i>i</i> PrMgCl 7 体积 THF	95	88
5.0	1 当量 4 3 当量 LiCl 3.5 当量 <i>i</i> PrMgCl 7 体积 THF	---	压缩为氧化

规模 (g)	条件	%产率	¹ HNMR 或 HPLC
[0293] 10.0	1 当量 4 3 当量 LiCl 3.2 当量 <i>i</i> PrMgCl 7 体积 THF	---	压缩为氧化
5.0	1 当量 4 3 当量 LiCl 3.4 当量 <i>i</i> PrMgCl 10 体积 THF	---	压缩为氧化
5.0	1 当量 4 3 当量 LiCl 3.4 当量 <i>i</i> PrMgCl 10 体积 THF	---	压缩为氧化

[0294] 表9哒嗪酮化合物5的溴氧化总结

规模 (g)	条件	% 产率	¹ HNMR 或 HPLC
[0295] 0.13	5 (R ² = Ac) 1 当量 Br ₂ 2 当量 AcOH 10 体积 90 °C	82	≈95%
3.09	5 (R ² = Ac) 1 当量 Br ₂ 1.5 当量 AcOH 7 体积 90 °C	84	≈80%
0.82	5 (R ² = Bz) 1 当量 Br ₂ 1.5 当量 AcOH 7 体积 90 °C	84	>95%

[0296]

规模 (g)	条件	% 产率	¹ HNMR 或 HPLC
1.1	5 (R ² = Bz) 1 当量 AcOH 10 体积 Br ₂ 5 当量 90 °C	86 2-步	≈90 2-步
1.02	5 (R ² = Bz) 1 当量 AcOH 10 体积 Br ₂ 1.5 当量 90 °C	100	≈95
1.55	5 (R ² = Bz) 1 当量 AcOH 10 体积 Br ₂ 1.5 当量 60 °C	103 2-步	89.6 2-步
1.71	5 (R ² = Bz) 1 当量 AcOH 10 体积 Br ₂ 1.5 当量 60 °C	84 2-步	91.9

[0297] 表10去保护化合物6以得到Int.7的总结

[0298]

保护基	条件	温度	时间(h)	转化率 (%AUC)
乙酰基	TFA (10 体积)	90 °C	15	21.6
	水 (10 体积)		61	19.9
Bz (苯甲酰基)	TFA (10 体积)	90 °C	15	40.1
	水 (10 体积)		61	100
Bz	BF ₃ •Et ₂ O (6 当量)	RT	15	NR
	MeOH (10 体积)	60 °C	4.5	13.0

[0299]

保护基	条件	温度	时间(h)	转化率 (%AUC)
	Add 水 (10 当量)	60°C	18	31.1
Bz	6 N KOH (10 体积)	90°C	16	100
Bz	2 N NaOH (5 体积)	RT	5.5	4.7
		60°C	16	31.2
Bz	2 N NaOH (2.5 体积) MeOH (2.5 体积)	RT	5.5	6.1
		60°C	16	40.3
Bz	Na ₂ CO ₃ (10 wt %, 5 体 积)	70°C	2	7.0
Bz	KOH (10 wt %, 5 体 积)	70°C	2	19.6
			23	86.9
			52	97.3

[0300] 实施例3: (Z)-(2-氰基-2-(2-(3,5-二氯-4-((5-异丙基-6-氧代-1,6-二氢哒嗪-3-基)氧基)苯基)亚肼基)乙酰基)氨基甲酸乙酯(Int.8)的制备

[0301] 向装有顶置搅拌、热电偶、N₂进口/出口的2L三颈圆底烧瓶中加入Int.7 (75.0g, 0.239mol, 1wt)、醋酸(600mL, 8体积)、水(150mL, 2体积)和浓HCl(71.3mL, 0.95体积)。将所产生的稀浆液冷却至6°C, 添加NaNO₂(16.8g, 0.243mol, 1.02当量)的水溶液(37.5mL, 0.5体积), 10min加完, 同时保持批料温度低于10°C。在5-10°C额外搅拌10min后, HPLC分析显示Int.7完全转化为重氮化合物中间体。添加NaOAc(54.5g, 0.664mol, 2.78当量)的水(225mL, 3体积)溶液, 6min加完, 同时保持批料温度低于10°C。立即添加N-氰基乙酰基尿烷(37.9g, 0.243mol, 1.02当量), 移去冷却, 经过35min, 批次自然升温至8°C。HPLC分析表明重氮化合物中间体完全消耗掉, 反应视为反应完全。该批次自然升温至21°C, 通过Sharkskin滤纸过滤。反应器和滤饼按顺序用水(375mL, 5体积)洗涤两次。收集的橙色固体在35°C真空干燥箱中干燥64h以提供粗制Int.8(104.8g, 91%)。

[0302] 向装有顶置搅拌、热电偶、N₂进口/出口的1L三颈圆底烧瓶加入粗制Int.8(104.4g, 1wt)和醋酸(522mL, 5体积)。所得浆液加热至50°C, 在该温度保持1.5h。经过2h, 该批次自然冷却至25°C, 通过Sharkskin滤纸过滤。反应器和滤饼按顺序用水(522mL, 5体积)洗涤, 滤饼在真空条件下1.75h。该浅橙色固体在40°C真空干燥箱中被干燥至不变的重量以提供89.9g(78%从Int.7)所需产品。¹H NMR(DMSO)与指定的结构一致。

[0303] 实施例4: 2-(3,5-二氯-4-((5-异丙基-6-氧代-1,6-二氢哒嗪-3-基)氧基)苯基)-3,5-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,2,4-三嗪-6-甲腈(化合物A)的制备

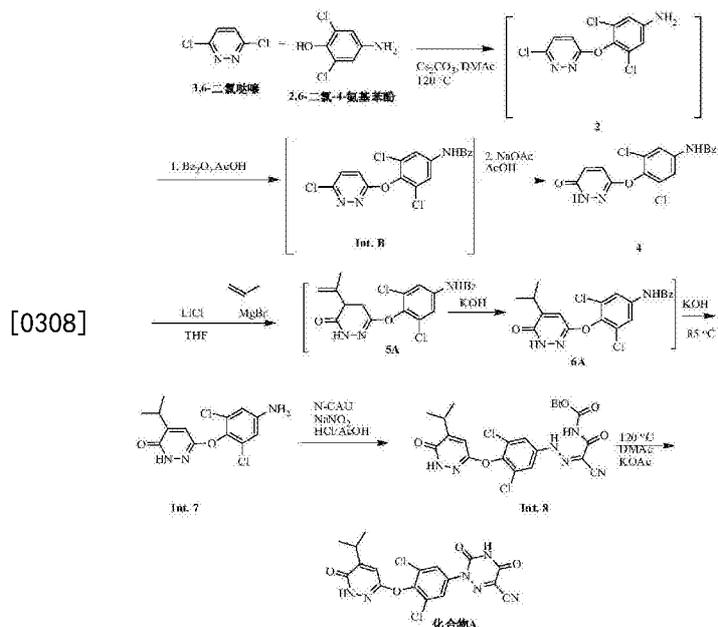
[0304] 向装有顶置搅拌、热电偶、N₂进口/出口以及回流冷凝器的2L三颈圆底烧瓶中加入

Int.8 (89.3g, 0.185mol, 1wt)、DMAC (446mL, 5体积) 和KOAc (20.0g, 0.204mol, 1.1当量)。将混合物加热到120℃, 并置于室温下2小时。HPLC分析显示完全转化成化合物A。将批次温度调节至18℃超过1小时, 加入水超过1小时; 橙色淤浆形成。将批次通过Sharkskin滤纸过滤, 为了方便, 允许滤饼在氮气无需真空的条件下过夜。1:1丙酮/水 (445mL, 5体积) 的预先混合的溶液充入烧瓶, 并作为洗液在使用真空的条件下加入滤饼。在真空下调节滤饼2小时之后, 将其转移到干净的1L装有顶置搅拌、热电偶、N₂进口/出口的1L三颈圆底烧瓶中。充入乙醇 (357mL, 4体积) 和丙酮 (357, 4体积), 将得到的淤浆加热到60摄氏度; 发生溶解。在90分钟的期间加入水 (890mL, 10体积), 同时保持批次温度在55-60摄氏度之间。允许得到的淤浆冷却到25℃, 并通过Sharkskin滤纸过滤。将反应器和滤饼顺序用1:1的EtOH/水 (446mL, 5体积) 的溶液洗涤。为了方便, 允许滤饼在氮气无需真空的条件下过夜。使滤饼的裂缝光滑。用水 (179mL, 2体积) 洗涤滤饼, 并在45摄氏度真空烤箱中干燥至70.5g (87%, 粗制化合物A) 的恒定的重量。HPLC分析显示纯度为94.8%。

[0305] 向装有顶置搅拌、热电偶、N₂进口/出口和回流冷凝器的500ml三颈圆底烧瓶加入粗制化合物A (70.0g) 和MIBK (350mL, 5体积)。将橙色浆液加热至50℃, 在该温度保持2h。将该批次自然冷却至23℃, 通过Sharkskin滤纸过滤。反应器和滤饼按顺序用MIBK (35mL, 0.5体积) 洗涤两次。收集的固体在45摄氏度真空烤箱中干燥至58.5g (84%) 的恒定体积。该固体充入装有顶置搅拌、热电偶、N₂进口/出口和回流冷凝器的500ml三颈圆底烧瓶中。加入乙醇 (290mL, 5体积), 将浆液加热到回流。在回流处3.5h之后, XRPD显示固体与晶型I一致, 去除加热。到达25℃时, 用滤纸过滤批次, 将反应器和滤饼用EtOH (174mL, 3体积) 顺序洗涤。黄褐色的固体化合物A在40℃真空烤箱中干燥至50.4g的恒定重量 (87%, 64%从Int.8)。HPLC分析显示99.1%的纯度。¹H NMR (DMSO) 与指定的结构一致。

[0306] 实施例5: 2-(3,5-二氯-4-((5-异丙基-6-氧代-1,6-二氢哒嗪-3-基)氧基)苯基)-3,5-二氧代-2,3,4,5-四氢-1,2,4-三嗪-6-甲腈 (化合物A) 的按比例放大的制备

[0307] 化合物A的按比例放大的批次根据下面的方案合成。下面方案中的条件与上面实施例1-4中所述的类似。



[0309] 4的合成:向50L夹套的玻璃容器(用N₂脱气)中加入3,6-二氯吡嗪(2.00kg)、4-氨基-2,6-二氯苯酚(2.44kg)和N,N-二甲基乙酰胺(10.0L)。该批次用真空(26in Hg)/氮(1PSIG)置换3次。添加碳酸铯(5.03kg),该批料温度在3.5小时期间从22.3℃调至65.0℃。该批次在65.0℃保持20小时。这时,¹H NMR分析显示相对于2,还有3.34%的3,6-二氯吡嗪。该批料温度被调至21.5℃,向该批次中加入乙酸乙酯(4.00L)。该批次搅拌10分钟,然后通过装有聚丙烯滤布的18" Nutsche过滤器进行过滤。过滤花费15分钟。向该容器中加入乙酸乙酯(5.34L),然后作为冲洗转移到该过滤器中。然后,将该批次在过滤器中手动重悬,然后再抽真空。该方法重复2次以上,滤饼条件10分钟。将该滤液加入到包含预先制备的15%氯化钠水溶液(16.0L)的100-L容器中。该批次搅拌5分钟,然后分离35分钟。由于看不到界面,因此将计算的23L下层水相去除。向该批次添加16.0L的15%氯化钠水溶液。将该批次搅拌6分钟,然后分离7分钟。在约~19L处可以看见界面,移去下层水相。17.0L的15%氯化钠水溶液被添加到该批次中。将该批次搅拌7分钟,然后分离11分钟。除去下层水相。该容器被设置为真空蒸馏,该批次2小时20分钟的时间从17.0L被浓缩至8.0L,该批料温度保持在21℃。将苯甲酸酐(3.19kg)和醋酸(18.0L)添加到容器中。该容器被设置为真空蒸馏,2天的时间将该批次从28.0L浓缩至12.0L(过夜保持在20℃),该批料温度保持在20至55℃之间。这时,¹H NMR分析显示醋酸与乙酸乙酯的摩尔比为1.0:0.015。将醋酸(4.0L)加入到该批次中,该批次蒸馏至12L。¹H NMR分析显示醋酸与乙酸乙酯的摩尔比为1.0:0.0036。将醋酸(20.0L)加入到该批次中,该批料温度被调至70.0℃。对该批次取样进行HPLC分析,2为0.16%。将醋酸钠(2,20kg)添加到该批次中,将该批料温度从72.4℃调至110.0℃。18.5小时后,HPLC分析显示没有检测到Int.B。该批料温度从111.3调至74.7℃,将DI水(30.0L)添加到该批次中,2小时加完。该批料温度被调至20.5℃,然后使用装有聚丙烯滤布的24" Hastelloy Nutsche过滤器进行过滤。预先制备的1:1醋酸的DI H₂O(10.0L)溶液加到容器中,并搅拌5分钟。该洗液被转移到过滤器中,然后手动使该批次在过滤器中重新悬浮,之后进行减压抽滤。将DI H₂O(10.0L)加到该容器中,然后转移至过滤器。手动使该批次在过滤器中重新悬浮,之后进行减压抽滤。直接将DI H₂O(10.0L)加到过滤器中,然后手动使该批次在过滤器中重新悬浮,之后进行减压抽滤。滤饼在该条件下18小时,以产生14.4kg的4。HPLC分析显示93.7%的纯度。将该湿滤饼继续进行纯化。向100L夹套的玻璃容器(N₂脱气)中加入粗制4(湿滤饼14.42kg)、醋酸(48.8L),启动搅拌器。加入DI H₂O(1.74L)。在4.25小时的时间将该批次(浆液)温度从18.1调至100.1℃。该批次在100.1至106.1℃保持1小时,然后再调至73.1℃。在1小时的时间将DI H₂O(28.0L)添加到该批次中,保持该批料温度在73.1至70.3℃之间。将该批料温度进一步从70.3℃调至25.0℃,过夜。使用装有聚丙烯滤布的24" Hastelloy Nutsche过滤器对该批次进行过滤。过滤耗时13分钟。制备DI H₂O(9.00L)和醋酸(11.0L)的溶液,并将其添加到100L容器中。该混合物搅拌5分钟,然后转移至滤饼。将DI H₂O(20.0L)加到容器中,搅拌6分钟,然后转移至滤饼。将DI H₂O(20.0L)加到该容器中,搅拌9分钟,然后转移至滤饼。该批次允许条件3天,然后转移至干燥盘以进行真空干燥箱干燥。在50℃和28"/Hg条件下3天后,该批次给出74%产率(3.7kg)的4,其为灰白色固体。¹H NMR谱图与指定的结构一致,HPLC分析显示98.87%的纯度,KF分析显示0.14% H₂O。

[0310] Int.7的合成:向100-L夹套的玻璃容器(N₂脱气)中加入四氢呋喃(44.4L)。启动搅拌器(125RPM),然后加入4(3.67kg)和氯化锂(1.26kg)。观察到该批料的温度为26.7℃并且

是琥珀色溶液。添加异丙烯基溴化镁(1.64摩尔)的2-甲基THF(21.29kg)溶液,2¹/₂小时加完,保持该批料在24.3至33.6℃之间。该批次在24.5℃搅拌17小时,这时,HPLC分析显示9%的4。向第二个100-L夹套的玻璃容器(N₂脱气)中加入3N盐酸(18.3L)。该批次被转移到这个包含3NHCl的容器中,25分钟转移完,保持该批料温度在20至46℃之间。观察到两相溶液。淬灭的批次被转移回到第一个100-L容器,以淬灭少量的留下的残留物。用THF(2.00L)进行冲洗。观察到该批料温度为40.9℃,以318RPM搅拌45分钟。该批料温度被调至21.8℃,两相分离。分离花费10分钟。除去下层水相(~26.0L)。制备氯化钠(1.56kg)的DI水(14.0L)溶液,并添加到该批次中。将其以318RPM搅拌10分钟,停止搅拌器。分离耗时3分钟。除去下层水相(~16.0L)。采用~24"/Hg和50至55℃的夹套温度,将该批次从58.0L减压蒸馏至18.4L。在72-L圆底烧瓶中制备氢氧化钾(2.30kg)的DI水(20.7L)溶液。使用2个蒸馏头安装容器以进行常压蒸馏,该批次被转移到此72-L容器中。使用THF(0.75L)进行冲洗。该批次体积为~41.0L,温度被调至64.1℃,蒸馏初始用N₂脱气。蒸馏的同时,继续加热以使该批料温度升至85.4℃,这时,将72-L容器安装以进行回流(蒸馏结束时,批次体积为约28.0L)。使该批次在85℃保持13小时,这时HPLC分析显示0.3%的化合物6A。停止加热,将该批次被转移到100-L夹套的玻璃容器中。观察到固体。将该批料温度从70.6℃调至56.7℃。添加预先制备的碳酸氢钠(2.82kg)的DI水(35.0L)溶液,80分钟加完,保持该批料温度在56.7℃至46.7℃之间。在添加结束时,该批次pH为9.8。该批次在46.7至49.0℃保持40分钟,然后冷却至25.0℃。使用18"不锈钢Nutsche过滤器将该批次进行过滤。将DI水(18.4L)加到该容器中,并转移至过滤器中。手动使滤饼在过滤器中重悬,然后除去酒精。重复该方法,滤饼为3"厚。将该滤饼在过滤器上放置3天,然后转移到干燥盘上,在真空干燥箱中在45℃干燥,以提供2.93kg的Int.7(95%的产率),其HPLC纯度为87.6%。

[0311] 合成Int.8:向100L夹套的玻璃容器(N₂脱气并密封入苛性碱洗涤器)加入酸性酸(13.0L)。向该容器中添加Int.7(2.85kg),启动搅拌器。将N-氰基乙酰基尿烷(1.56kg)和DI水(5.70L)加到该容器中。将该批料温度从17.0℃调至5.5℃,观察到稀浆液。在这时,添加37%盐酸(2.70L),10分钟加完,保持该批料温度在4.8℃至8.8℃之间。添加预先制备的亚硝酸钠(638g)的DI水(1.42L)溶液,26分钟加完,保持该批料温度在5.8℃至8.7℃之间。在添加期间观察到在容器顶部空间有棕色气体。HPLC分析表明没有检测到Int.7。这时,添加预先制备的醋酸钠(2.07kg)的DI水(8.50L)溶液,47分钟加完,保持该批料温度在5.5℃至9.5℃之间。添加后,观察到在恰好高于该批料的容器壁上有一薄层橙色残留物。将该批料温度从9.4℃调至24.5℃,并在25℃(±5℃)保持12小时。使用装有高密聚丙烯滤布的24" HastelloyNutsche过滤器将该批次进行过滤。过滤耗时30分钟。该容器用14.3L的1:1酸性酸/DI水进行冲洗。用漂洗液将反应器上的橙色残留物洗走。该漂洗液被转移到过滤器,在过滤器中,手动使该批次重悬。再次减压除去洗涤液。第二次用1:1酸性酸/DI水洗涤液进行如上洗涤,该批次在过滤器上放置26小时。湿滤饼的HPLC分析显示纯度为90.4%。在真空干燥箱中45℃和28"/Hg条件下,将该批次干燥至不变的重量3.97kg(91%产率)。

[0312] 化合物A的DMAC溶剂化物的制备

[0313] 向N₂脱气的100L夹套玻璃容器中投入Int.8(3.90kg)和醋酸钾(875g)。向该容器中投入N,N-二甲基乙酰胺(DMAC,18.3L),启动搅拌器。在2h的时间将该批料温度调至115℃。在115℃2h后,取样,HPLC分析表明还有0.27%的Int.8。该批料温度被调至25.0℃,过

夜。添加醋酸 (975mL), 继续搅拌3h。反应混合物被转移到大玻璃瓶中, 用800mL的DMAC将该容器洗涤干净。将反应混合物减压通过10 μ m串联的过滤器抽到100L容器中, 使用DMAC洗液 (1.15L)。过滤在开始的时候是快速的, 在结束的时候是慢速, 会堵塞过滤器。该批料温度被调至11.1 $^{\circ}$ C, 添加DI水 (35.1L), 2h 20min加毕, 保持该批料温度在5-15 $^{\circ}$ C之间。该批处理保持1h, 使用装有高密聚丙烯织布的18" Nutsche过滤器进行过滤。过滤耗时15h。将1:1乙醇/DI水洗液 (19.5L) 投入到容器中, 冷却至10 $^{\circ}$ C, 并转移至滤饼。滤饼在N₂和真空条件下8h, 转移至干燥盘。将该批次在真空干燥箱中在45 $^{\circ}$ C和28"/Hg条件下干燥以产生率89% (3.77kg) 的橙色/黄褐色固体的化合物A的DMAC溶剂化物。¹HNMR谱图与指定的结构一致, Karl Fischer分析表明0.49%的H₂O。XRPD显示预期的晶型, 即化合物A的DMAC溶剂化物。热重量分析 (TGA) 显示16%的重量损失。HPLC分析显示纯度为93.67%。

[0314] 制备粗制化合物A

[0315] 将化合物A的DMAC溶剂化物 (3.75kg) 和乙醇 (15.0L) 投入到用N₂脱气的100L夹套玻璃容器中。启动搅拌器, 添加丙酮 (15.0L)。在1h的时间将该批料温度从10.6 $^{\circ}$ C调至60.0 $^{\circ}$ C。这时, 该批料为溶液的状态。在1.5h的时间, 将DI水添加到该批次中, 保持该批料温度处于60 \pm 5 $^{\circ}$ C。将该批料在60 \pm 5 $^{\circ}$ C维持1h, 然后冷却至23.5 $^{\circ}$ C。装配装有高密 (0.67CFM) 聚丙烯织布的18" Nutsche过滤器, 并进行过滤。过滤耗时15h。将1:1乙醇/DI水洗液 (19.5L) 投入到容器中并转移至滤饼。滤饼在N₂和真空条件下8h, 转移至干燥盘。该批料在真空干燥箱中在45 $^{\circ}$ C、28"/Hg条件下干燥5天, 产生率为94% (2.90kg)、作为粉棕色固体的化合物A。¹HNMR谱图与指定的结构一致, Karl Fischer分析表明6.6%的H₂O。XRPD表明是预期的二水合物。TGA表明6.7%的重量损失。HPLC分析显示纯度为96.4% (AUC)。

[0316] 粗制化合物A的纯化

[0317] 向N₂脱气的50L夹套的玻璃容器加入化合物A的粗品 (2.90kg) 和甲基异丁基酮 (14.5L)。启动搅拌器, 在1.5h的时间将该批料温度从20.2 $^{\circ}$ C调至50.4 $^{\circ}$ C。该批次在50 $^{\circ}$ C (\pm 5 $^{\circ}$ C) 保持1h, 然后冷却至20-25 $^{\circ}$ C。该批次在20-25 $^{\circ}$ C保持2.5h。安装装有高密 (0.67CFM) 聚丙烯布的18" Nutsche过滤器, 将该批次过滤。过滤耗时20min。将甲基异丁基酮 (MIBK, 1.45L) 加到容器中, 并转移至滤饼。手动使该滤饼重悬, 减压下使酒精通过。将甲基异丁基酮 (2.90L) 加到该滤饼, 该滤饼被手动重悬。减压下使酒精通过, 该滤饼在减压和氮气条件下15h。滤饼干燥成黄褐色、硬的18" \times 1 $\frac{1}{2}$ "圆盘。将其手动弄碎并穿过咖啡研磨机, 产生76%产率 (2.72kg) 的MGL-3196MIBK溶剂化物, 其为黄褐色、粉状固体。不必进行真空干燥。¹HNMR谱图与指定的结构一致, Karl Fischer分析显示<0.1% H₂O。XRPD显示预期的晶型MIBK溶剂化物。TGA显示17.3%的重量损失。HPLC分析显示98.5%的纯度。

[0318] 实施例6: 化合物A到晶型I的转化

[0319] 纯化的化合物A (4802g) 作为1:1MIBK溶剂化物是从Int.8获得的, 如上述实施例5中所述, 其与24升乙醇一起被添加到夹套的、100L反应器中。在1h 25min的时间, 所得浆液被加热至80 \pm 5 $^{\circ}$ C (回流); 该混合物在此温度搅拌4h 25min。在2h 55min时对该过滤的固体的分析表明晶型转化完成了, XRPD谱图符合晶型I。该混合物45min冷却至20 \pm 5 $^{\circ}$ C, 在该温度下搅拌15min。该浆液过滤, 滤饼用预过滤的乙醇 (2 \times 4.8L) 洗涤两次。湿滤饼 (4.28kg) 在真空条件下、在40 \pm 5 $^{\circ}$ C干燥118h, 以提供3390g的化合物A的晶型I。

[0320] 对由上述方法产生的化合物A的许多不同形态I进行了X-射线粉末衍射研究。微粉

化后的XRPD确认了晶型I。

[0321] 在下面的表11中提供了晶型I的数据,在图1中提供了晶型I的衍射图。

[0322] 表11

[0323]

2 θ (角度)	d 值 (Å)	强度 (计数)	强度 % (%)
3.0288	29.17117	1925.62	15.89
3.4596	25.5397	832.08	4.58
3.6702	24.07429	707.65	3.89
4.0027	22.07529	410.45	6.78
4.4466	19.87232	432.4	2.38
4.5794	19.29632	429.89	4.73
5.2533	16.82257	320.41	5.29
5.8566	15.09082	335.71	1.85
6.05	14.60887	224.56	9.89
6.8068	12.98624	287.97	3.17

[0324]

2 θ (角度)	d 值 (Å)	强度 (计数)	强度 % (%)
7.2152	12.25213	293.93	4.04
7.6426	11.56781	239.85	2.64
8.2256	10.74918	1637.27	13.51
8.8542	9.98745	309.91	3.41
9.115	9.70221	244.6	2.02
9.576	9.23622	255.43	2.11
10.5373	8.39569	9763.54	100
11.1868	7.9096	2398.13	24.56
13.0814	6.76802	164.19	3.36
13.9013	6.37063	197.28	1.52
14.3022	6.19296	290.11	2.23
14.7284	6.01469	94.1	0.96
15.7399	5.63037	1305.28	16.71
16.4002	5.40513	804.24	10.3
16.732	5.2987	173.26	2.22
17.3055	5.12435	145.15	2.97
17.6872	5.01461	1400.39	17.93
18.3399	4.83761	1233.01	9.47
18.6986	4.7456	9825.6	100
18.9598	4.6808	572.69	3.5
19.3018	4.59864	278.53	1.7
19.6643	4.51468	97.55	0.4
20.0939	4.41912	64.71	2.63
21.0604	4.21845	333.65	2.72
22.2097	4.00268	833.43	8.48
22.6128	3.93224	1304.95	10.62
22.8964	3.88417	3375.42	34.35
23.066	3.856	976.63	5.96

[0325]

2 θ (角度)	d 值 (Å)	强度 (计数)	强度 % (%)
23.5742	3.77401	3115.33	38.05
23.8662	3.72849	571.62	4.65
24.1	3.69284	572.34	6.99
24.5243	3.62991	1097.27	6.7
24.6502	3.61166	1580.95	16.09
25.4993	3.49329	225.6	2.76
26.4933	3.36443	506.03	5.15
26.7528	3.33239	244.51	1.99
27.1244	3.28756	130.69	1.06
27.4354	3.251	546.35	4.45
27.8382	3.20487	213.44	2.17
28.5208	3.12971	158.82	1.29
28.9064	3.08883	436.59	2.67
29.1352	3.06509	710.53	5.79
29.5077	3.02724	416.16	4.24
30.0267	2.97608	1470.29	17.96
30.3658	2.94361	260.89	1.59
30.6326	2.91858	132.13	0.54
31.316	2.85644	177.78	1.45
31.6013	2.83129	397.61	5.67
31.9237	2.80343	514.26	4.19
32.2125	2.77895	1293.04	18.42
32.8721	2.72469	434.37	2.65
33.3755	2.68474	295.36	2.4
33.8232	2.65022	358.99	3.65
34.8364	2.57542	140.57	1.72
35.1838	2.55079	739.55	7.53
35.7301	2.51303	98.13	1.2

2 θ (角度)	d 值 (Å)	强度 (计数)	强度 % (%)
36.0084	2.49424	110.57	1.35
36.4676	2.46389	316.07	2.57
37.2747	2.41237	199.99	4.07
38.3543	2.34691	34.08	0.42
39.1941	2.29854	63.88	1.3
[0326] 39.9663	2.25589	211.73	1.29
40.6489	2.21957	96.61	0.59
41.194	2.19145	167.45	1.36
42.0276	2.14989	47.01	0.57
42.4477	2.12958	290.42	1.77
42.8091	2.11244	200.71	1.63
43.6289	2.07463	171.28	2.09

[0327] 通过DSC发现晶型I在约321℃时开始融化,然后在融化时通过DSC分解(图2)。

[0328] 实施例7:化合物A晶型I的制备:化合物A的溶剂化物到晶型I的转化

[0329] 向N₂脱气的50L夹套的、玻璃容器中加入来自上述实施例5的化合物A MIBK溶剂化物(2.72kg)和乙醇(13.6L)。启动搅拌器,将该批料温度在1.3h的时间从16.8℃调至79.4℃。该批次在79.5℃保持2h,取样进行XRPD分析。XRPD显示晶型I,在1小时10分钟的时间,该批次被冷却至24.9℃。安装装有高密(0.67CFM)聚丙烯布的18" Nutsche过滤器,将该批次进行过滤。过滤耗时4min。向该容器中加入乙醇(2.8L),然后转移至滤饼。手动使该滤饼重悬,通过减压抽滤使酒精通过。将乙醇(2.80L)加到滤饼上,手动使该滤饼重悬。通过减压抽滤使酒精通过,将该滤饼置于真空和氮气条件下1h。该滤饼被转移到干燥平盘中,在45℃、28"/Hg条件下干燥1天,得到89%产率(1.96kg)的化合物A,其为浅黄色固体。HPLC分析显示99.6%的纯度。XRPD分析与晶型I一致。在2"粉碎机上将300g的该物料进行微粉化,得到284g(95%产率)微粒化的化合物A。XRPD分析证实微粒化的化合物A保持晶型I。

[0330] 化合物A的DMAC溶剂化物可以,通过二水合物和MIBK溶剂化物,以形成如实施例7所描述的I,进行转化。备选地,通过与8体积的乙醇一起加热至80℃2小时,然后冷却至室温并过滤,所述DMAC溶剂化物被直接转化,以75%产率形成I(从中间体8计算的产率)。在另一个反应中,化合物A的样品,其为DMAC溶剂化物和二水合物的混合物,通过与8体积的MIBK一起被加热至80℃,然后冷却至室温,其以69%产率被转化以形成I。

[0331] 化合物A和甲状腺激素受体之间的相互作用的建模

[0332] 晶体结构从RCSB蛋白质数据库(ID号:1N46、1NQ0、1NQ1、1NQ2和1NU0)获得。使用MacPymol for Mac OS X(版权2006DeLano Scientific LLC.;现为Schrodinger Inc.的产品)对齐蛋白质共晶结构MacPymol还用于配体-蛋白质相互作用的全分析,并绘制图3-9。这些图表明,总的来说,化合物A能够较好地适应THR β 突变体的结构上的变化。例如,在突变

Arg316His中,Arg316突变为His,Arg320稍微移动离开配体。因此,Arg320之间的T3特定的相互作用在Arg316His突变中并不理想。相比之下,化合物A中的大的负电性的可极化的杂环形成了有利的、不被Arg316His突变破坏的相互作用。换句话说,化合物A,具有更大的,更易极化的杂环,与Arg320和突变的His316保持有利的相互作用。参见,例如图8和9。结果与其他突变相似。

[0333] 下表列出了某些TR β 突变体的生化性质。其他突变体及其性质可在例如M. Adams et al., J Clin Invest.1994;94 (2) :506-515,B.R.Huber et al., MolEndocrinol,2003, 17 (4) :643-652;以及B.R.Huber et al., MolEndocrinol,2003,17 (1) :107-116中发现,它们的全部内容通过引用结合在本申请中。

[0334]

TR β	% T3结合	反式激活	临床
WT	100	1X	正常
Ala234Thr	在溶液中高, 在甲状腺响应元素DNA 存在下低	.1X (在高T3正常)	

[0335]

Arg243Gln	在溶液中高, 在甲状腺响应元素DNA 存在下严重降低	<.1X (在非常高的T3正常)	
Ala317Thr	13	在10XT3正常	对甲状腺激素的一般抗性
Arg316His	.9	在高T3正常	对甲状腺激素的一般抗性

[0336] 等价形式

[0337] 本发明可以以其他具体形式体现,而不偏离本发明的精神和实质性特征。因此,前述实施方式在所有方面都是阐释性的,而非限制本文所述的发明。因此,本发明的范围由随附的权利要求书而非前述说明书来指出,在权利要求书的等价形式的含义和范围内作出的所有改变都意在包括于本发明中。

	Val	Val	Asp	Phe	Ala	Lys	Lys	Leu	Pro	Met	Phe	Cys	Glu	Leu	Pro	Cys
					85					90					95	
	Glu	Asp	Gln	Ile	Ile	Leu	Leu	Lys	Gly	Cys	Cys	Met	Glu	Ile	Met	Ser
					100				105						110	
	Leu	Arg	Ala	Ala	Val	Arg	Tyr	Asp	Pro	Glu	Ser	Glu	Thr	Leu	Thr	Leu
					115				120						125	
	Asn	Gly	Glu	Met	Ala	Val	Thr	Arg	Gly	Gln	Leu	Lys	Asn	Gly	Gly	Leu
					130				135						140	
	Gly	Val	Val	Ser	Asp	Ala	Ile	Phe	Asp	Leu	Gly	Met	Ser	Leu	Ser	Ser
	145					150					155					160
[0002]	Phe	Asn	Leu	Asp	Asp	Thr	Glu	Val	Ala	Leu	Leu	Gln	Ala	Val	Leu	Leu
						165						170				175
	Met	Ser	Ser	Asp	Arg	Pro	Gly	Leu	Ala	Cys	Val	Glu	Arg	Ile	Glu	Lys
						180						185				190
	Tyr	Gln	Asp	Ser	Phe	Leu	Leu	Ala	Phe	Glu	His	Tyr	Ile	Asn	Tyr	Arg
						195						200				205
	Lys	His	His	Val	Thr	His	Phe	Trp	Pro	Lys	Leu	Leu	Met	Lys	Val	Thr
						210										220
	Asp	Leu	Arg	Met	Ile	Gly	Ala	Cys	His	Ala	Ser	Arg	Phe	Leu	His	Met
	225						230					235				240
	Lys	Val	Glu	Cys	Pro	Thr	Glu	Leu	Phe	Pro	Pro	Leu	Phe	Leu	Glu	Val
							245					250				255

Phe Glu Asp

<210> 2

<211> 780

<212> DNA

<213> 人

<400> 2

[0003]

```

gagctgcaga agtccatcgg gcacaagcca gagcccacag acgaggaatg ggagctcatc      60
aaaactgtca ccgaagccca tgtggcgacc aacgcccgaag gcagccactg gaagcaaaaa      120
oggaaattcc tgccagaaga cattggacaa gcaccaatag tcaatgcccc agaaggtgga      180
aaggttgact tggaagcctt cagccatttt acaaaaaatca tcacaccagc aattaccaga      240
gtggtggatt ttgcaaaaa gttgcctatg ttttgtgagc tgccatgtga gaaccagatc      300
atcctcctca aaggctgctg catggagatc atgtcccttc gcgctgctgt gcgctatgac      360
ccagaaagtg agactttaac cttgaatggg gaaatggcag tgacacgggg ccagctgaaa      420
aatgggggtc ttgggggtgt gtcagacgcc atctttgacc tgggcatgtc tctgtcttct      480
ttcaacctgg atgacactga agtagccctc cttcaggccg tctgtctgat gtottcagat      540
cgccccgggc ttgctgtgtg tgagagaata gaaaagtacc aagatagttt cctgctggcc      600
tttgaacact atatcaatta ccgaaaacac cacgtgacac acttttggcc aaaactcctg      660
atgaagtgga cagatctgcg gatgatagga gcctgccatg ccagccgctt cctgcacatg      720
aaggtggaat gccccacaga actcttcccc cctttgttct tggaagtgtt cgaggattag      780

```

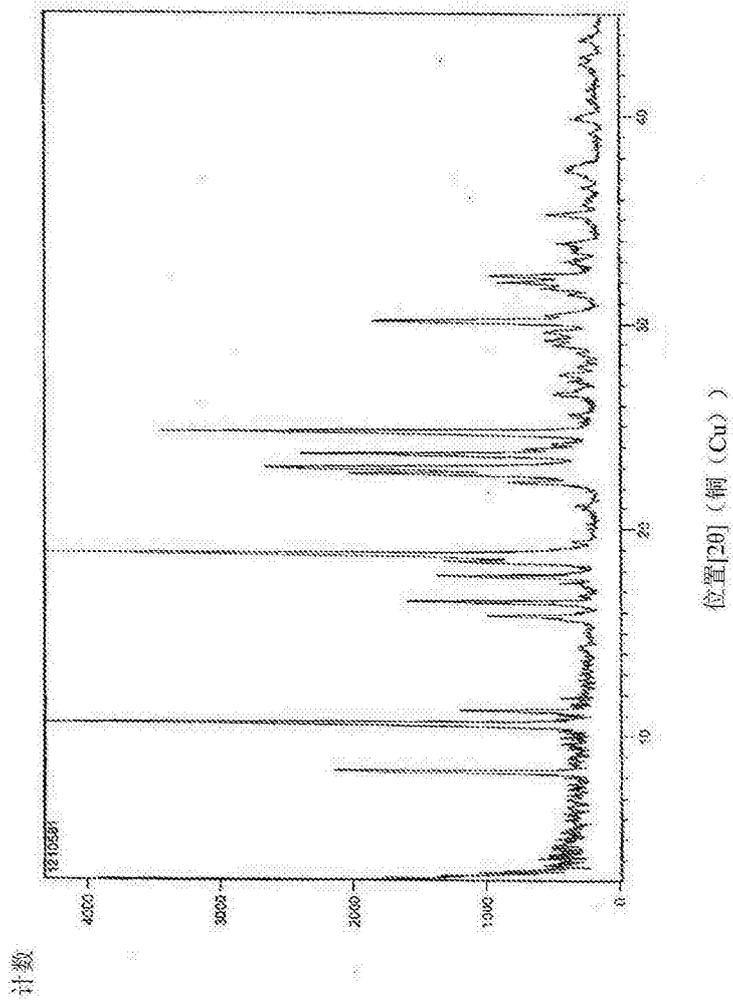


图1

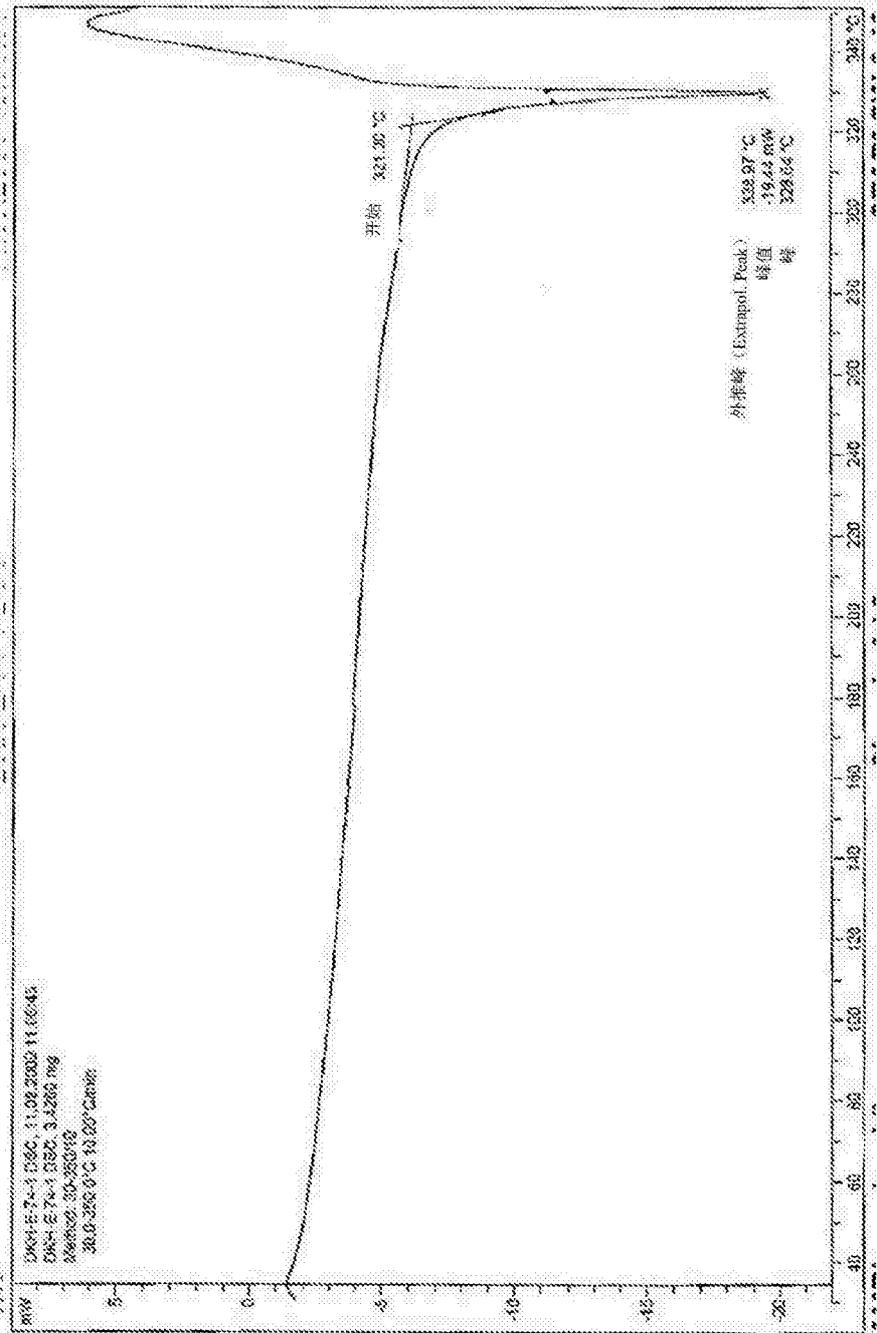


图2

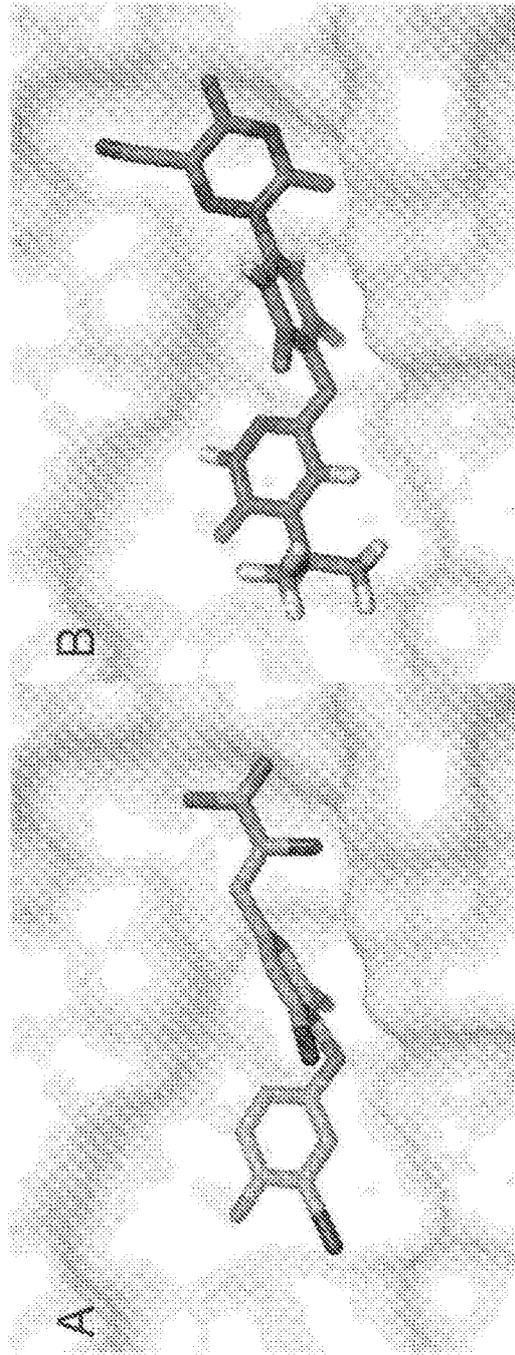


图3

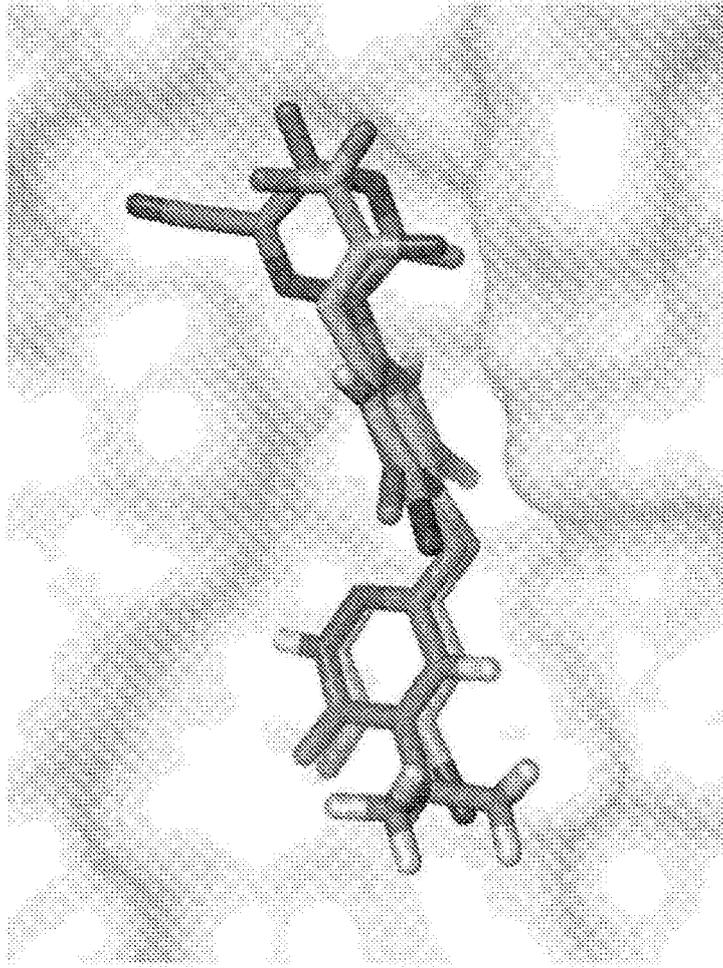


图4

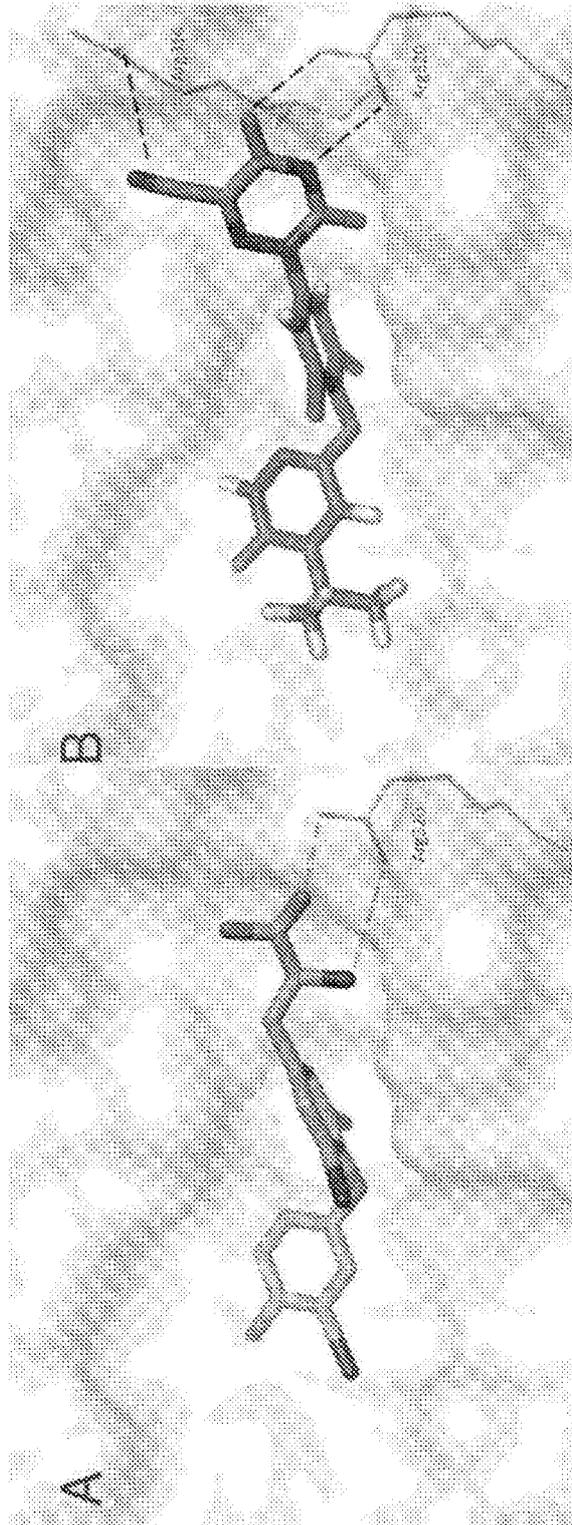


图5

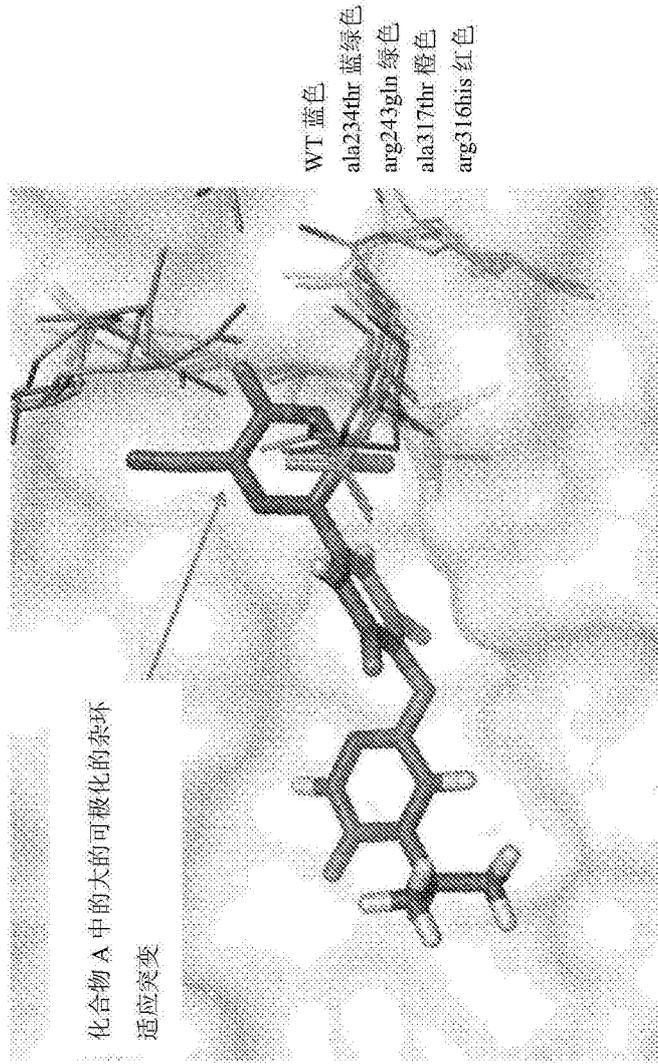


图6

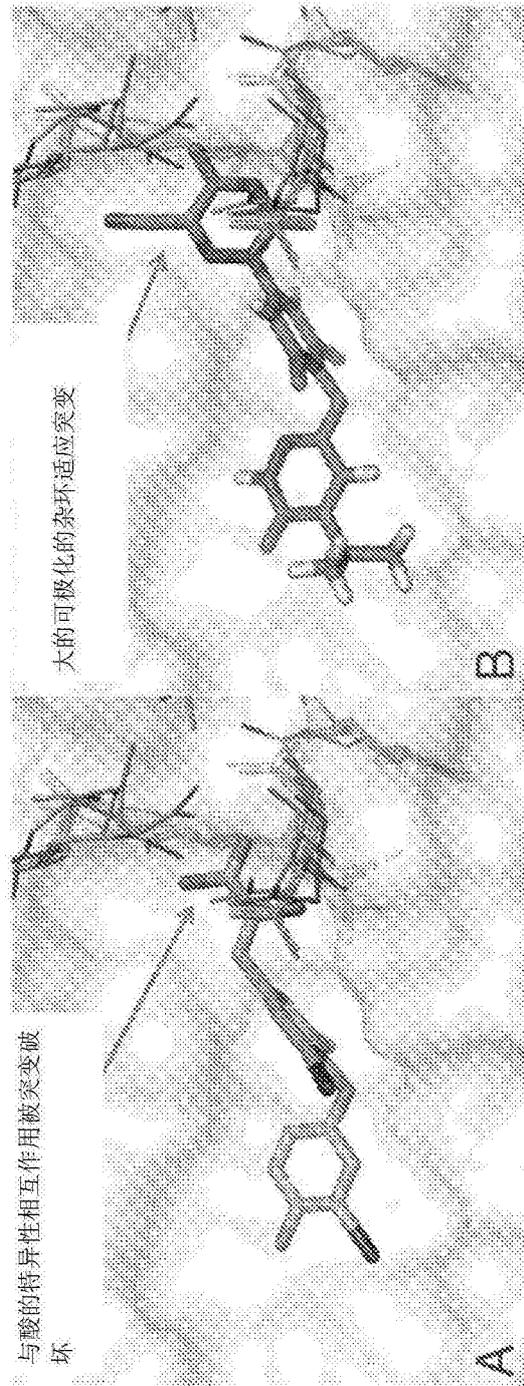


图7

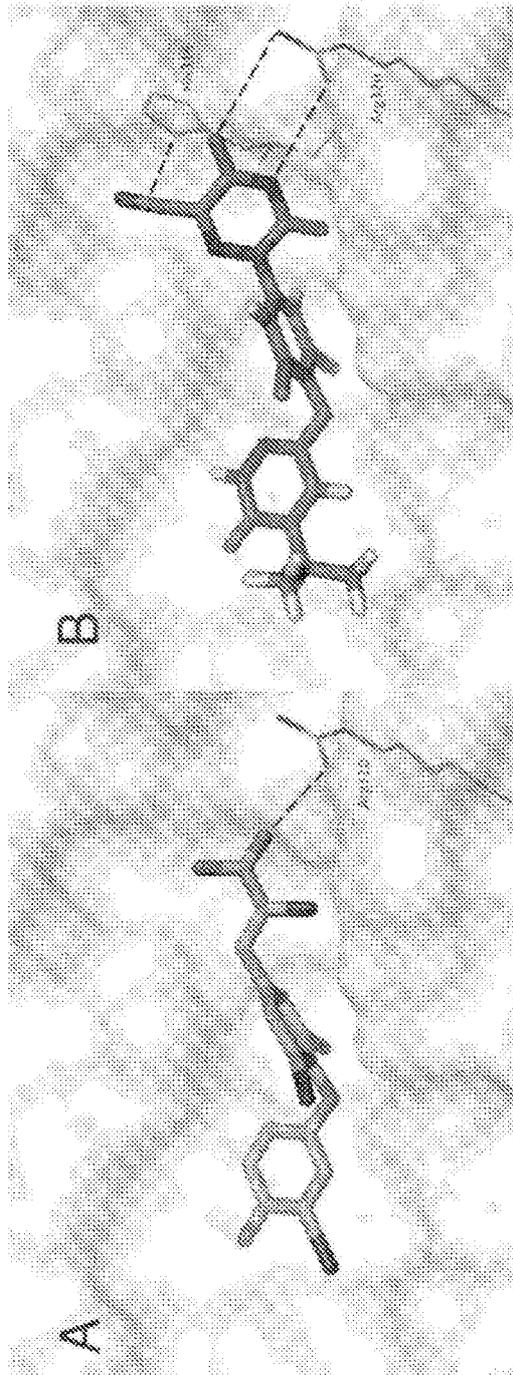


图8

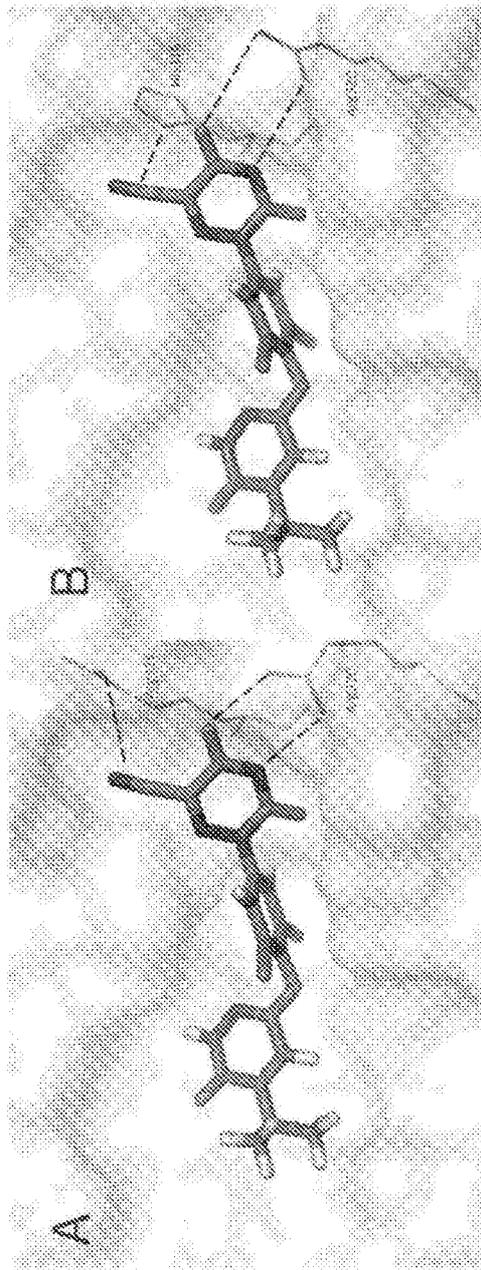


图9