



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 112661775 A

(43) 申请公布日 2021.04.16

(21) 申请号 202110127555.2

(22) 申请日 2017.05.11

(66) 本国优先权数据

201610320289.4 2016.05.16 CN

(62) 分案原申请数据

201780004350.7 2017.05.11

(71) 申请人 深圳市塔吉瑞生物医药有限公司

地址 518057 广东省深圳市南山区科技园
中区科苑路15号科兴科学园A栋1单元
301单位

(72) 发明人 王义汉 赵九洋

(51) Int. Cl.

C07D 498/18 (2006.01)

A61K 31/498 (2006.01)

A61P 31/14 (2006.01)

权利要求书3页 说明书22页

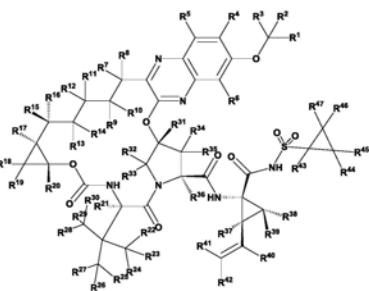
(54) 发明名称

一种取代的大环喹喔啉化合物及其药物组合物及应用

(57) 摘要

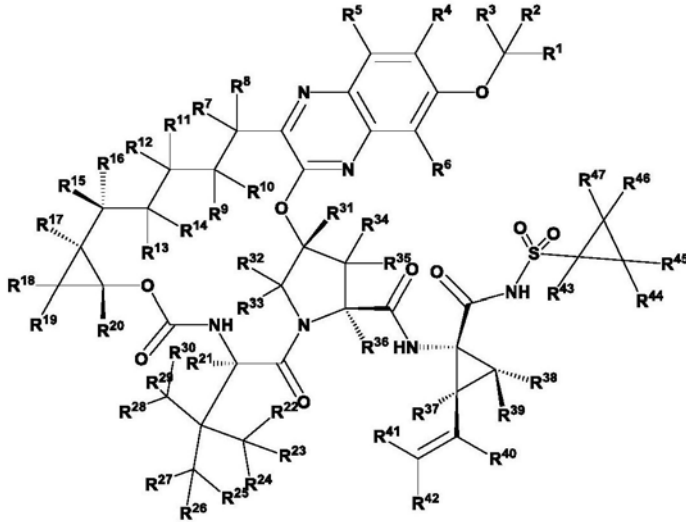
本发明提供了一种取代的大环喹喔啉化合物及其药物组合物及应用,所述大环喹喔啉化合物如为式(I)所示的化合物,或其多晶型、药学上可接受的盐、前药、立体异构体、同位素变体、水合物或溶剂化合物。本发明的化合物可作为丙型肝炎病毒抑制剂,且具有更好的丙肝病毒蛋白NS3A抑制活性,具有更好药效学/药代动力学性能,化合物的适用性好、安全性高,可用于制备治疗丙型肝炎病毒感染的药物,具有良好的市场开

发前景。



式(I)

1. 一种取代的大环喹啉化合物,其特征在于:如式(I)所示的化合物,或其多晶型、药学上可接受的盐、前药、立体异构体、同位素变体、水合物或溶剂化合物,



式 (I)

其中, $R^1, R^2, R^3, R^4, R^5, R^6, R^7, R^8, R^9, R^{10}, R^{11}, R^{12}, R^{13}, R^{14}, R^{15}, R^{16}, R^{17}, R^{18}, R^{19}, R^{20}, R^{21}, R^{22}, R^{23}, R^{24}, R^{25}, R^{26}, R^{27}, R^{28}, R^{29}, R^{30}, R^{31}, R^{32}, R^{33}, R^{34}, R^{35}, R^{36}, R^{37}, R^{38}, R^{39}, R^{40}, R^{41}, R^{42}, R^{43}, R^{44}, R^{45}, R^{46}, R^{47}$ 各自独立地为氢、氘、卤素或三氟甲基;

附加条件是 $R^1, R^2, R^3, R^4, R^5, R^6, R^7, R^8, R^9, R^{10}, R^{11}, R^{12}, R^{13}, R^{14}, R^{15}, R^{16}, R^{17}, R^{18}, R^{19}, R^{20}, R^{21}, R^{22}, R^{23}, R^{24}, R^{25}, R^{26}, R^{27}, R^{28}, R^{29}, R^{30}, R^{31}, R^{32}, R^{33}, R^{34}, R^{35}, R^{36}, R^{37}, R^{38}, R^{39}, R^{40}, R^{41}, R^{42}, R^{43}, R^{44}, R^{45}, R^{46}$ 和 R^{47} 中至少一个是氘代的或氘。

2. 根据权利要求1所述的大环喹啉化合物,其特征在于: R^1, R^2 和 R^3 各自独立地为氘或氢。

3. 根据权利要求1所述的大环喹啉化合物,其特征在于: R^4, R^5 和 R^6 各自独立地为氘或氢。

4. 根据权利要求1所述的大环喹啉化合物,其特征在于: $R^7, R^8, R^9, R^{10}, R^{11}, R^{12}, R^{13}, R^{14}, R^{15}, R^{16}, R^{17}, R^{18}, R^{19}$ 和 R^{20} 各自独立地为氘或氢。

5. 根据权利要求1所述的大环喹啉化合物,其特征在于: $R^{21}, R^{22}, R^{23}, R^{24}, R^{25}, R^{26}, R^{27}, R^{28}, R^{29}$ 和 R^{30} 各自独立地为氘或氢。

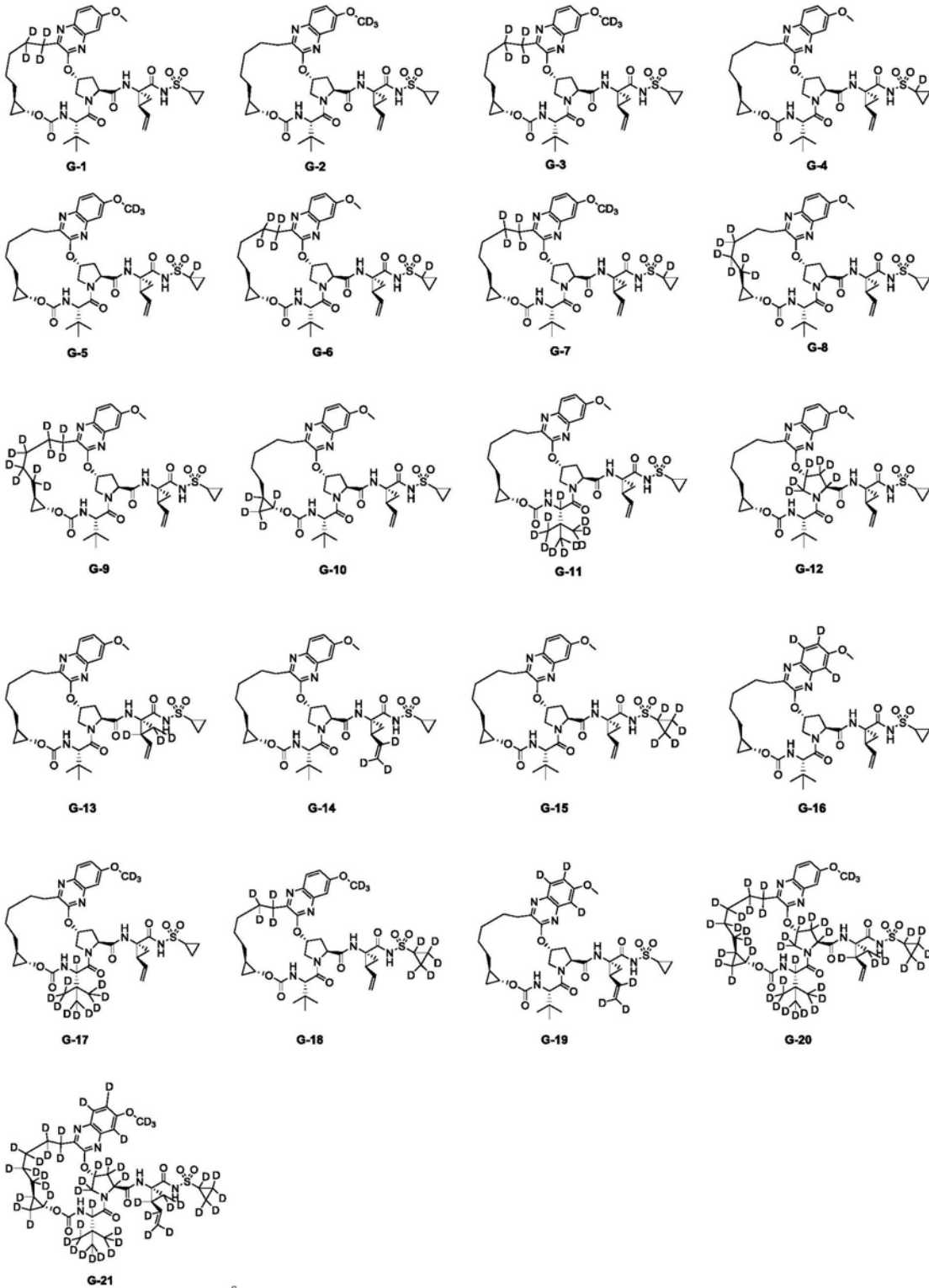
6. 根据权利要求1所述的大环喹啉化合物,其特征在于: $R^{31}, R^{32}, R^{33}, R^{34}, R^{35}$ 和 R^{36} 各自独立地为氘或氢。

7. 根据权利要求1所述的大环喹啉化合物,其特征在于: R^{37}, R^{38} 和 R^{39} 各自独立地为氘或氢。

8. 根据权利要求1所述的大环喹啉化合物,其特征在于: R^{40}, R^{41} 和 R^{42} 各自独立地为氘或氢。

9. 根据权利要求1所述的大环喹啉化合物,其特征在于: $R^{43}, R^{44}, R^{45}, R^{46}$ 和 R^{47} 各自独立地为氘或氢。

10. 根据权利要求1所述的大环喹啉化合物,其特征在于: 所述化合物选自下述化合物或其药学上可接受的盐:



11. 一种药物组合物,其特征在于:其含有药学上可接受的载体和如权利要求1~10任意一项所述的大环喹啉啉化合物,或其多晶型、药学上可接受的盐、前药、立体异构体、同位素变体、水合物或溶剂合物。

12. 根据权利要求11所述的药物组合物,其特征在于:其还包含其他活性化合物,所述活性化合物可选自HCV蛋白酶抑制剂、HCV NS5A抑制剂和HCV NS5B聚合酶抑制剂。

13. 一种如权利要求1~10任意一项所述的大环喹啉啉化合物的用途,其特征在于:用

于制备治疗丙型肝炎病毒感染的药物中的用途。

14. 根据权利要求11和12所述任一项的药物组合物的用途,其特征在于: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。

一种取代的大环喹喔啉化合物及其药物组合物及应用

[0001] 本申请是申请日为2017年05月11号、申请号为201780004350.7、发明名称为“一种取代的大环喹喔啉化合物及其药物组合物及应用”的发明专利申请的分案申请。

技术领域

[0002] 本发明属于医药技术领域,尤其涉及一种丙型肝炎病毒抑制剂、药物组合物及其应用。

背景技术

[0003] HCV (Hepatitis C Virus, 丙型肝炎病毒) 是一种RNA病毒,其属于黄病毒科 (Flaviviridae family) 中的丙型肝炎病毒属 (Hepacivirus genus)。包裹HCV病毒粒子包含正股RNA基因组,其在单个不间断的开放读码框中编码全部已知的病毒—特异的蛋白质。开放读码框包括大约9500个核苷酸并且编码单个约3000个氨基酸的巨大多蛋白。多蛋白包括芯蛋白,包裹蛋白E1和E2,膜结合蛋白P7,和非结构性蛋白NS2、NS3、NS4A、NS4B、NS5A和NS5B。

[0004] 索非布韦是目前世界上第一个在短期内可以彻底治愈丙肝的良药。它以口服途径直达病灶,方法简单副作用很小,深受患者的追捧。索非布韦由美国吉利德公司生产,2013年在美国上市,经临床试验证实可有效治疗基因1、2、3、4型丙肝,包括对肝移植、肝癌以及HCV/HIV-1合并感染的临床试验。这一突破为全世界的丙肝患者带来了福音。

[0005] HCV感染与进行性肝病状(包括肝硬化和肝细胞癌)有关。Grazoprevir是默沙东研发的一个NS3抑制剂。2016年1月,美国美国食品与药物管理局(FDA)批准了默沙东(Merck&Co)的联合药物elbasvir/grazoprevir (Zepatier) 用于治疗慢性丙型肝炎(HCV)基因1型和4型感染。该联合药物不需要同时使用干扰素,避免了干扰素治疗的所有严重不良事件。

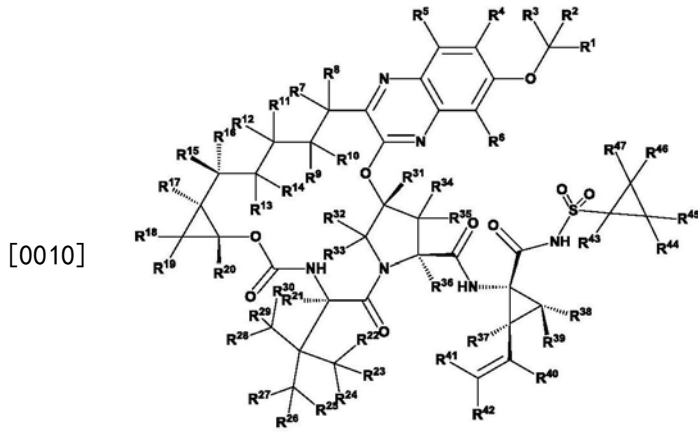
[0006] 因此,本领域仍需要开发对丙型肝炎病毒蛋白NS3有抑制活性或更好药效学性能的化合物。

发明内容

[0007] 针对以上技术问题,本发明公开了一种丙型肝炎病毒抑制剂、药物组合物及其应用,其具有更好的丙肝病毒蛋白NS5A抑制活性和/或具有更好药效学/药代动力学性能。

[0008] 对此,本发明采用的技术方案为:

[0009] 一种丙型肝炎病毒抑制剂,如式(I)所示的大环喹喔啉化合物,或其多晶型、药理学上可接受的盐、前药、立体异构体、同位素变体、水合物或溶剂化合物,



式 (1)

[0011] 其中, R¹、R²、R³、R⁴、R⁵、R⁶、R⁷、R⁸、R⁹、R¹⁰、R¹¹、R¹²、R¹³、R¹⁴、R¹⁵、R¹⁶、R¹⁷、R¹⁸、R¹⁹、R²⁰、R²¹、R²²、R²³、R²⁴、R²⁵、R²⁶、R²⁷、R²⁸、R²⁹、R³⁰、R³¹、R³²、R³³、R³⁴、R³⁵、R³⁶、R³⁷、R³⁸、R³⁹、R⁴⁰、R⁴¹、R⁴²、R⁴³、R⁴⁴、R⁴⁵、R⁴⁶、R⁴⁷各自独立地为氢、氘、卤素或三氟甲基;

[0012] 附加条件是R¹、R²、R³、R⁴、R⁵、R⁶、R⁷、R⁸、R⁹、R¹⁰、R¹¹、R¹²、R¹³、R¹⁴、R¹⁵、R¹⁶、R¹⁷、R¹⁸、R¹⁹、R²⁰、R²¹、R²²、R²³、R²⁴、R²⁵、R²⁶、R²⁷、R²⁸、R²⁹、R³⁰、R³¹、R³²、R³³、R³⁴、R³⁵、R³⁶、R³⁷、R³⁸、R³⁹、R⁴⁰、R⁴¹、R⁴²、R⁴³、R⁴⁴、R⁴⁵、R⁴⁶和R⁴⁷中至少一个是氘代的或氘。

[0013] 采用此技术方案, 氘在药物分子中的形状和体积与氢基本上相同, 如果药物分子中氢被选择性替换为氘, 氘代药物一般还会保留原来的生物活性和选择性。同时发明人经过实验证实, 碳氘键的结合比碳氢键的结合更稳定, 可直接影响一些药物的吸收、分布、代谢和排泄等属性, 从而提高药物的疗效、安全性和耐受性。

[0014] 优选的, 氘在氘代位置的氘同位素含量至少是大于天然氘同位素含量(0.015%), 较佳地大于30%, 更佳地大于50%, 更佳地大于75%, 更佳地大于95%, 更佳地大于99%。

[0015] 具体地说, 在本发明中R¹、R²、R³、R⁴、R⁵、R⁶、R⁷、R⁸、R⁹、R¹⁰、R¹¹、R¹²、R¹³、R¹⁴、R¹⁵、R¹⁶、R¹⁷、R¹⁸、R¹⁹、R²⁰、R²¹、R²²、R²³、R²⁴、R²⁵、R²⁶、R²⁷、R²⁸、R²⁹、R³⁰、R³¹、R³²、R³³、R³⁴、R³⁵、R³⁶、R³⁷、R³⁸、R³⁹、R⁴⁰、R⁴¹、R⁴²、R⁴³、R⁴⁴、R⁴⁵、R⁴⁶和R⁴⁷各氘代位置中氘同位素含量至少是5%, 较佳地大于10%, 更佳地大于15%, 更佳地大于20%, 更佳地大于25%, 更佳地大于30%, 更佳地大于35%, 更佳地大于40%, 更佳地大于45%, 更佳地大于50%, 更佳地大于55%, 更佳地大于60%, 更佳地大于65%, 更佳地大于70%, 更佳地大于75%, 更佳地大于80%, 更佳地大于85%, 更佳地大于90%, 更佳地大于95%, 更佳地大于99%。

[0016] 优选的, 式(I)中化合物的R¹、R²、R³、R⁴、R⁵、R⁶、R⁷、R⁸、R⁹、R¹⁰、R¹¹、R¹²、R¹³、R¹⁴、R¹⁵、R¹⁶、R¹⁷、R¹⁸、R¹⁹、R²⁰、R²¹、R²²、R²³、R²⁴、R²⁵、R²⁶、R²⁷、R²⁸、R²⁹、R³⁰、R³¹、R³²、R³³、R³⁴、R³⁵、R³⁶、R³⁷、R³⁸、R³⁹、R⁴⁰、R⁴¹、R⁴²、R⁴³、R⁴⁴、R⁴⁵、R⁴⁶和R⁴⁷, 至少其中一个R含氘, 更佳地两个R含氘, 更佳地三个R含氘, 更佳地四个R含氘, 更佳地五个R含氘, 更佳地六个R含氘, 更佳地七个R含氘, 更佳地八个R含氘, 更佳地九个R含氘, 更佳地十个R含氘, 更佳地十一个R含氘, 更佳地十二个R含氘, 更佳地十三个R含氘, 更佳地十四个R含氘, 更佳地十五个R含氘, 更佳地十六个R含氘, 更佳地十七个R含氘, 更佳地十八个R含氘, 更佳地十九个R含氘, 更佳地二十个R含氘, 更佳地二十一个R含氘, 更佳地二十二个R含氘, 更佳地二十三个R含氘, 更佳地二十四个R含氘, 更佳地二十五个R含氘, 更佳地二十六个R含氘, 更佳地二十七个R含氘, 更佳地二十八个R含氘,

更佳地二十九个R含氘,更佳地三十个R含氘,更佳地三十一一个R含氘,更佳地三十二个R含氘,更佳地三十三个R含氘,更佳地三十四个R含氘,更佳地三十五个R含氘,更佳地三十六个R含氘,更佳地三十七个R含氘,更佳地三十八个R含氘,更佳地三十九个R含氘,更佳地四十个R含氘,更佳地四十一个R含氘,更佳地四十二个R含氘,更佳地四十三个R含氘,更佳地四十四个R含氘,更佳地四十五个R含氘,更佳地四十六个R含氘,更佳地四十七个R含氘。

[0017] 作为本发明的进一步改进, R^1 、 R^2 和 R^3 各自独立地为氘或氢。

[0018] 在另一优选例中, R^1 、 R^2 、 R^3 是氘。

[0019] 作为本发明的进一步改进, R^4 、 R^5 和 R^6 各自独立地为氘或氢。

[0020] 在另一优选例中, R^4 、 R^5 、 R^6 是氘。

[0021] 作为本发明的进一步改进, R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{10} 、 R^{11} 、 R^{12} 、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 、 R^{16} 、 R^{17} 、 R^{18} 、 R^{19} 和 R^{20} 各自独立地为氘或氢。

[0022] 在另一优选例中, R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{10} 、 R^{11} 、 R^{12} 、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 、 R^{16} 、 R^{17} 、 R^{18} 、 R^{19} 、 R^{20} 是氘。

[0023] 作为本发明的进一步改进, R^{21} 、 R^{22} 、 R^{23} 、 R^{24} 、 R^{25} 、 R^{26} 、 R^{27} 、 R^{28} 、 R^{29} 和 R^{30} 各自独立地为氘或氢。

[0024] 在另一优选例中, R^{21} 、 R^{22} 、 R^{23} 、 R^{24} 、 R^{25} 、 R^{26} 、 R^{27} 、 R^{28} 、 R^{29} 、 R^{30} 是氘。

[0025] 作为本发明的进一步改进, R^{31} 、 R^{32} 、 R^{33} 、 R^{33} 、 R^{34} 、 R^{35} 和 R^{36} 各自独立地为氘或氢。

[0026] 在另一优选例中, R^{31} 、 R^{32} 、 R^{33} 、 R^{33} 、 R^{34} 、 R^{35} 、 R^{36} 是氘。

[0027] 作为本发明的进一步改进, R^{37} 、 R^{38} 和 R^{39} 各自独立地为氘或氢。

[0028] 在另一优选例中, R^{37} 、 R^{38} 、 R^{39} 是氘。

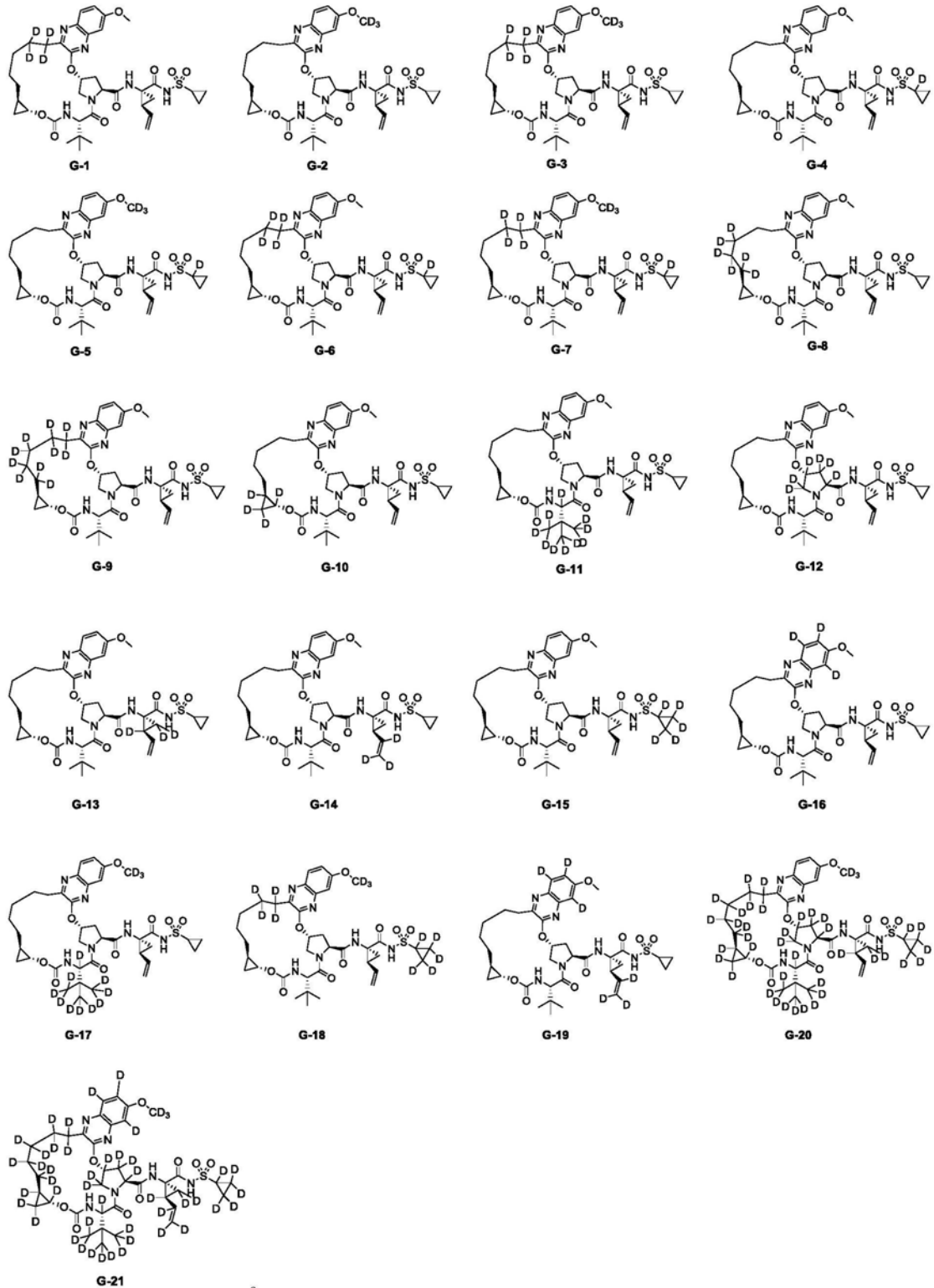
[0029] 作为本发明的进一步改进, R^{40} 、 R^{41} 和 R^{42} 各自独立地为氘或氢。

[0030] 在另一优选例中, R^{40} 、 R^{41} 、 R^{42} 是氘。

[0031] 作为本发明的进一步改进, R^{43} 、 R^{44} 、 R^{45} 、 R^{46} 和 R^{47} 各自独立地为氘或氢。

[0032] 在另一优选例中, R^{43} 、 R^{44} 、 R^{45} 、 R^{46} 、 R^{47} 是氘。

[0033] 作为本发明的进一步改进,所述化合物选自下述化合物或其药学上可接受的盐:



[0034]

[0035] 在另一优选例中,所述化合物不包括非氘代化合物。

[0036] 本发明还公开了一种药物组合物,其含有药学上可接受的载体和如上所述的所述的丙型肝炎病毒抑制剂,或其多晶型、药学上可接受的盐、前药、立体异构体、同位素变体、水合物或溶剂合物。

[0037] 作为本发明的进一步改进,其还包含其他活性化合物,所述活性化合物包括但不限于,其它HCV抗病毒剂、抗感染药、免疫调节剂、抗生素或疫苗结合。

[0038] 作为本发明的进一步改进,所述免疫调节剂为干扰素类药物化合物。

[0039] 作为本发明的进一步改进,本发明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。

[0040] 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。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。

[0041] 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, 12Anal. Profiles Drug Subs. 1-36 (1983)。

[0042] 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。

[0043] 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)。

[0044] 作为本发明的进一步改进,所述药学上可接受的载体包括助流剂、增甜剂、稀释剂、防腐剂、染料/着色剂、矫味增强剂、表面活性剂、润湿剂、分散剂、崩解剂、助悬剂、稳定剂、等渗剂、溶剂或乳化剂中的至少一种。

[0045] 作为本发明的进一步改进,所述药物组合物为片剂、丸剂、胶囊剂、粉剂、颗粒剂、膏剂、乳剂、悬浮剂、溶液剂、栓剂、注射剂、吸入剂、凝胶剂、微球或气溶胶。

[0046] 给予本发明药物组合物的典型途径包括但不限于口服、直肠、透黏膜、经肠给药,或者局部、经皮、吸入、肠胃外、舌下、阴道内、鼻内、眼内、腹膜内、肌内、皮下、静脉内给药。优选口服给药或注射给药。

[0047] 本发明的药物组合物可以采用本领域周知的方法制造,如常规的混合法、溶解法、制粒法、制糖衣药丸法、磨细法、乳化法、冷冻干燥法等。

[0048] 本发明还提供了一种制备药物组合物的方法,包括步骤:将药学上可接受的载体与如上所述的丙型肝炎病毒抑制剂,或其晶型、药学上可接受的盐、水合物或溶剂合物进行混合,形成药物组合物。

[0049] 本发明还公开了一种如上所述的丙型肝炎病毒抑制剂的用途,其特征在于:用于

制备治疗丙型肝炎病毒感染的药物中的用途。

[0050] 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。

[0051] 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。

[0052] 所述的HCV包括其多种基因型以及多种基因亚型,例如1a、1b、2a、2b、3a、3b、4a、5a、6a。

[0053] 应理解,在本发明范围内中,本发明的上述各技术特征和在下文(如实施例)中具体描述的各技术特征之间都可以互相组合,从而构成新的或优选的技术方案。限于篇幅,在此不再一一累述。

[0054] 本文中,如无特别说明,“卤素”指F、Cl、Br、和I。更佳地,卤原子选自F、Cl和Br。

[0055] 本文中,如无特别说明,“氘代”指化合物或基团中的一个或多个氢被氘所取代;氘代可以是一取代、二取代、多取代或全取代。术语“一个或多个氘代的”与“一次或多次氘代”可互换使用。

[0056] 本文中,如无特别说明,“非氘代的化合物”是指含氘原子比例不高于天然氘同位素含量(0.015%)的化合物。

[0057] 本发明还包括同位素标记的化合物(也称为“同位素变体”),等同于原始化合物在此公开。可以列为本发明的化合物同位素的例子包括氢,碳,氮,氧,磷,硫,氟和氯同位素,分别如²H, ³H, ¹³C, ¹⁴C, ¹⁵N, ¹⁷O, ¹⁸O, ³¹P, ³²P, ³⁵S, ¹⁸F以及³⁶Cl。其中含有上述同位素或其他同位素原子的本发明的式(I)的化合物或其多晶型、药学上可接受的盐、前药、立体异构体、同位素变体、水合物或溶剂合物都在本发明的范围之内。本发明中某些同位素标记化合物,例如³H和¹⁴C的放射性同位素也在其中,在药物和底物的组织分布实验中是有用的。氘,即³H和碳-14,即¹⁴C,它们的制备和检测比较容易,是同位素中的首选。此外,较重同位素取代如氘,即²H,由于其很好的代谢稳定性在某些疗法中有优势,例如在体内增加半衰期或减少用量,因此,在某些情况下可以优先考虑。同位素标记的化合物可以用一般的方法,通过用易得的同位素标记试剂替换为非同位素的试剂,用示例中的方案可以制备。

[0058] 药学上可接受的盐包括无机盐和有机盐。一类优选的盐是本发明化合物与酸形成的盐。适合形成盐的酸包括但不限于:盐酸、氢溴酸、氢氟酸、硫酸、硝酸、磷酸等无机酸;甲酸、乙酸、三氟乙酸、丙酸、草酸、丙二酸、琥珀酸、富马酸、马来酸、乳酸、苹果酸、酒石酸、柠檬酸、苦味酸、苯甲酸、甲磺酸、乙磺酸、对甲苯磺酸、苯磺酸、萘磺酸等有机酸;以及脯氨酸、苯丙氨酸、天冬氨酸、谷氨酸等氨基酸。另一类优选的盐是本发明化合物与碱形成的盐,例如碱金属盐(例如钠盐或钾盐)、碱土金属盐(例如镁盐或钙盐)、铵盐(如低级的烷醇铵盐以及其它药学上可接受的胺盐),例如甲胺盐、乙胺盐、丙胺盐、二甲基胺盐、三甲基胺盐、二乙基胺盐、三乙基胺盐、叔丁基胺盐、乙二胺盐、羟乙胺盐、二羟乙胺盐、三羟乙胺盐,以及分别由吗啉、哌嗪、赖氨酸形成的胺盐。

[0059] 术语“多晶型”是指化学药物分子的不同排列方式,一般表现为药物原料在固体状

态下的存在形式。一种药物可以多种晶型物质状态存在,同一种药物的不同晶型,在体内的溶解和吸收可能不同,从而会对制剂的溶出和释放产生影响。

[0060] 术语“溶剂合物”指本发明化合物与溶剂分子配位形成特定比例的配合物。“水合物”是指本发明化合物与水进行配位形成的配合物。

[0061] 术语“前药”是指在体内通过例如在血液中水解转变成其具有医学效应的活性形式的化合物。前药为任何共价键合的载体,当将这种前药给予患者时,其在体内释放本发明化合物。通常通过修饰官能团来制备前药,该修饰使得前药在体内裂解产生母体化合物。前药包括,例如,其中羟基、氨基或巯基与任意基团键合的本发明化合物,当将其给予患者时,可以裂解形成羟基、氨基或巯基。因此,前药的代表性实例包括但不限于,本发明化合物通过其中的羟基、氨基或巯基官能团与乙酸、甲酸或苯甲酸形成的共价衍生物。另外,在羧酸(-COOH)的情况下,可以使用酯,例如甲酯、乙酯等。酯本身可以是有活性的和/或可以在人体体内条件下水解。合适的药学上可接受的体内可水解的酯包括容易在人体中分解而释放母体酸或其盐的那些。

[0062] 本发明化合物可包括一个或多个不对称中心,且因此可以存在多种“立体异构体”形式,例如,对映异构体和/或非对映异构体形式。例如,本发明化合物可为单独的对映异构体、非对映异构体或几何异构体(例如顺式和反式异构体),或者可为立体异构体的混合物的形式,包括外消旋混合物和富含一种或多种立体异构体的混合物。异构体可通过本领域技术人员已知的方法从混合物中分离,所述方法包括:手性高压液相色谱法(HPLC)以及手性盐的形成和结晶;或者优选的异构体可通过不对称合成来制备。

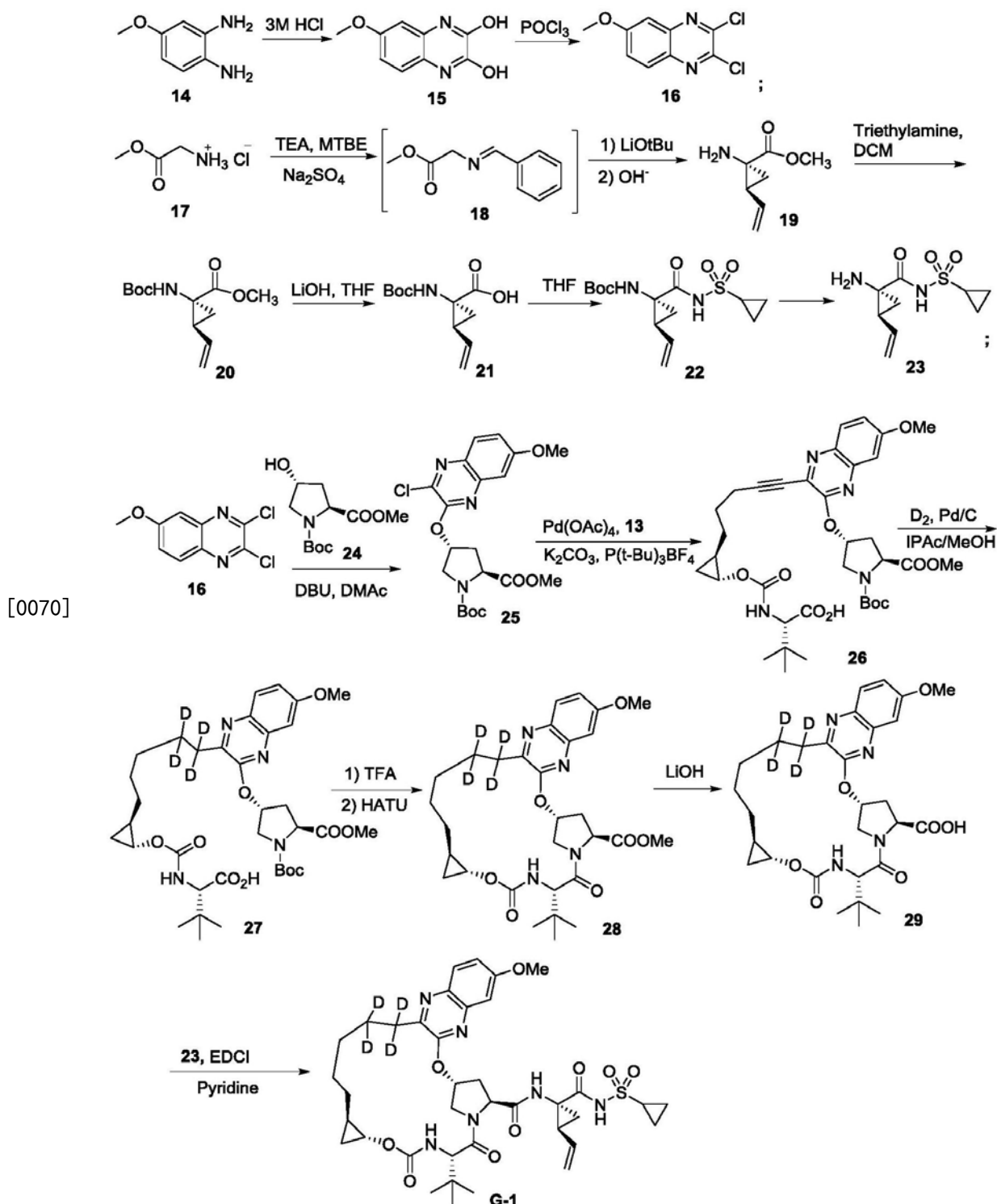
[0063] 与现有技术相比,本发明的有益效果为:第一,本发明的化合物对丙型肝炎病毒蛋白NS3具有优异的抑制性。第二,通过氘化这一技术改变化合物在生物体中的代谢,使化合物具有更好的药代动力学参数特性。在这种情况下,可以改变剂量并形成长效制剂,改善适用性。第三,用氘取代化合物中的氢原子,由于其氘同位素效应,提高化合物在动物体内的药物浓度,提高了药物疗效。第四,用氘取代化合物中的氢原子,可以抑制某些代谢产物,提高了化合物的安全性。

具体实施方式

[0064] 下面更具体地描述本发明式(I)结构化合物的制备方法,但这些具体方法不对本发明构成任何限制。本发明化合物还可以任选将在本说明书中描述的或本领域已知的各种合成方法组合起来而方便地制得,这样的组合可由本发明所属领域的技术人员容易地进行。

[0065] 通常,在制备流程中,各反应通常在惰性溶剂中,在室温至回流温度(如0℃~100℃,优选0℃~80℃)下进行。反应时间通常为0.1小时-60小时,较佳地为0.5-24小时。

[0066] 实施例1制备取代的大环喹啉啉化合物G-1,分子式如下:



[0071] 步骤1. 二乙基[2-(二甲氨基)-2-氧代乙基]磷酸酯(化合物3)的合成。

[0072] 氮气保护下向三口瓶中加入化合物2 (10.5g, 63.65mmol), 加热到110℃后。滴加化合物1 (10g, 82.65mmol) 滴加完成后, 于110℃中反应3-4小时, 65℃下浓缩得到粗产品, 柱层析纯化后得到7.7g化合物3, 收率54.5%, LC-MS (APCI) : $m/z = 224 (M+1)^+$, $^1H\ NMR$ (300MHz, $CDCl_3$) δ 4.22-4.08 (m, 4H), 3.11 (s, 3H), 3.08 (d, $J = 2.4Hz$, 2H), 2.99-2.91 (m, 3H), 1.32 (t, $J = 7.1Hz$, 6H)。

[0073] 步骤2. 7-氯-2-羟基-1-庚烯(化合物6)的合成。

[0074] 氮气保护下在三口瓶中加入10mL二甲基四氢呋喃,加入镁(2g,82.29mmol),加入碘90mg,缓慢滴加化合物4(10g,70.04mmol),滴加完成后70℃反应3-4小时,冷却至室温待用,氮气保护下向三口瓶中加入化合物3(5.26g,56.82mmol),CuI(530mg,2.78mmol)和28mL二甲基四氢呋喃,冷却至-60℃,缓慢滴加入上面的格式试剂,控制反应体系不超过-50℃,滴加完成后搅拌反应1小时,TLC检测原料反应完全,加入氯化铵水溶液淬灭反应,升至室温后搅拌30分钟,用叔丁基甲醚萃取三次,合并有机相,用饱和食盐水洗涤,用无水硫酸钠干燥,浓缩后得到9g化合物6,收率95.14%,直接用于下一步。¹H NMR(300MHz,CDCl₃) δ5.81(m,J=16.9,10.2,6.7Hz,1H),5.09-4.91(m,2H),3.80(t,J=7.4Hz,1H),3.69-3.61(m,1H),3.49(m,J=11.1,7.2Hz,1H),2.16(t,J=5.2Hz,1H),2.09(t,J=6.6Hz,2H),1.58-1.49(m,3H)。

[0075] 步骤3.(1R,2R)-2-戊-4-烯基-N,N-二甲基环丙基甲酰胺(化合物7)的合成。

[0076] 氮气保护下向三反应口瓶中加入化合物6(3.579g,24.182mmol),化合物3(5.39g,24.18mmol),加入二甲基四氢呋喃70mL,冷却至-35℃,缓慢滴加正丁基锂(29mL,72.546mmol),保持反应体系的温度不超过-20℃,大约滴加1小时,反应20分钟后自然升温至室温,加热至72℃后反应1小时,反应液变成淡黄色,TLC检测原料反应完全,冷却至室温,滴加10%的氯化钠溶液淬灭反应,用乙酸乙酯萃取三次,合并有机相,用无水硫酸钠干燥,浓缩后用柱层析纯化得到1.83g化合物8,收率41.9%,¹H NMR(300MHz,CDCl₃) δ5.90-5.70(m,1H),5.05-4.84(m,2H),3.14(d,J=11.1Hz,3H),2.99-2.91(m,3H),2.14-2.02(m,2H),1.60-1.42(m,3H),1.41-1.25(m,3H),1.15(m,J=6.4,4.5Hz,1H),0.95-0.85(m,1H),0.60(m,J=5.2,3.7Hz,1H)。

[0077] 步骤4.(1R,2R)-2-戊-4-烯基环丙基甲基酮(化合物8)的合成。

[0078] 氮气保护下向三口反应瓶中加入甲基氯化镁(16.9mL,50.94mmol)加热到60℃,在该温度下缓慢滴加化合物7的二甲基四氢呋喃溶液(4.16g,25.47mmol,20mL),滴加完成后60℃反应2小时,TLC检测原料反应完全,用氯化铵水溶液淬灭,用正己烷萃取三次,合并有机相,用1M的盐酸洗涤,用饱和氯化钠水溶液洗涤,无水硫酸钠干燥,浓缩得到4.37g化合物8,收率~100%。直接用于下一步反应。

[0079] 步骤5.(1R,2R)-2-(4,5-二溴戊基)环丙基甲基酮(化合物9)的合成。

[0080] 氮气保护下向反应瓶中加入化合物8(1.394g,9.96mmol),加入12mL二氯甲烷溶解,冷却至-45℃~-50℃,在该温度下分二次滴加溴(3.2g,19.92mmol),滴加完成后,反应40分钟,TLC检测原料反应完全,加入N,N-二异丙基乙胺(DIPEA,321mg,2.49mmol),用硫代硫酸钠淬灭,用正己烷萃取三次,合并有机相,用饱和氯化钠水溶液洗涤,无水硫酸钠干燥,柱层析纯化得到1.01g化合物9,收率38.4%,LC-MS(APCI):m/z=313(M+1)⁺,¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ4.22-4.10(m,1H),3.91-3.79(m,1H),3.67-3.58(m,1H),2.25(d,J=2.0Hz,3H),2.20-2.12(m,1H),1.82(m,J=6.1,5.1,3.0Hz,1H),1.77-1.67(m,2H),1.53(m,J=18.6,12.2,6.4Hz,1H),1.27(m,J=8.5,4.2Hz,1H),0.83-0.73(m,1H)。

[0081] 步骤6.(1R,2R)-2-(4,5-二溴戊基)环丙基乙酸酯(化合物10)的合成。

[0082] 向反应瓶中加入化合物9(963mg,3.086mmol)加入乙酸乙酯10mL溶解,冷却至0℃后分三次加入尿素过氧化氢复合物(UHP,1.16g,12.346mmol),滴加入三氟乙酸酐(TFAA,2.673g,12.73mmol)控制温度0-3℃,约滴加1小时,反应液变澄清,加热回流反应16小时,

TLC检测原料反应完全,冷却至室温,用20%的碳酸氢钠调节pH至7-9,用乙酸乙酯萃取三次,合并有机相用硫代硫酸钠溶液洗涤,用饱和氯化钠洗涤,无水硫酸钠干燥,浓缩,柱层析得到419mg化合物10,收率41.4%。¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ4.17 (m, J=13.3, 9.4, 3.9Hz, 1H), 3.94-3.75 (m, 2H), 3.71-3.50 (m, 1H), 2.24-2.08 (m, 1H), 2.03 (s, 2H), 1.92-1.64 (m, 2H), 1.59-1.47 (m, 1H), 1.45-1.15 (m, 2H), 1.03 (m, J=16.5, 6.9, 2.6Hz, 1H), 0.91-0.79 (m, 1H), 0.66-0.47 (m, 1H)。

[0083] 步骤7. (1R, 2R)-2-戊-4-炔基环丙醇(化合物11)的合成。

[0084] 氮气保护下向三口瓶中加入邻苯二甲酸二烯丙酯(DAP, 18.11mL)冷却至0℃,正丁基锂(20.4mL, 52mmol, 2.5M)缓慢滴加至反应瓶中,控制温度低于5℃,滴加完成后在该温度下搅拌30分钟,化合物10(2.84g, 8.66mmol)溶于5mL的THF中,缓慢滴加到反应瓶中,控制温度0-2℃,滴加过程中有黄色沉淀物生成,滴加完成后0℃搅拌30分钟,TLC检测原料反应完全,加入氯化铵水溶液淬灭,加入甲基叔丁基醚萃取三次,水相中加入1M的NaOH调至碱性,用甲基叔丁基醚萃取二次,合并有机相,用无水硫酸钠干燥,低于30℃浓缩,柱层析得到730mg化合物11,收率67.5%。¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ4.24-4.08 (m, 1H), 3.86 (m, J=10.2, 4.3Hz, 1H), 3.62 (t, J=10.1Hz, 1H), 2.24 (d, J=1.3Hz, 3H), 2.20-2.08 (m, 1H), 1.78 (m, J=21.9, 18.2, 9.2, 6.2Hz, 3H), 1.53 (m, J=13.2, 6.3Hz, 1H), 1.45-1.34 (m, 3H), 1.27 (m, J=7.9, 3.5Hz, 2H), 0.77 (m, J=7.5, 4.9, 2.8Hz, 1H)。

[0085] 步骤8. 化合物13的合成。

[0086] 向反应瓶中加入化合物11(630mg, 5.08mmol),加入DIPEA(2.35g, 18.28mmol),分两批加入N'-羰基二咪唑(CDI, 864mg, 5.334mmol),室温反应一个小时,加入化合物12(800mg, 6.1mmol),升温至90℃,反应4小时,TLC检测原料反应完全,向反应液中加入水20mL,用1M的盐酸调节pH至1.5-2.0。用甲基叔丁基醚(MTBE)萃取三次后浓缩得到1.56g,化合物12收率~100%,直接用于下一步反应。

[0087] 步骤9. 2,3-二羟基-7-甲氧基喹啉(化合物15)的合成。

[0088] 氮气保护下向反应瓶中加入化合物14(1g, 7.24mmol),加入草酰氯(1.2g, 10.136mmol),然后加入3N的盐酸10mL后90℃反应7小时,冷却至室温,0℃静置5小时,有黑色固体析出,过滤,滤饼用水洗涤,用少量的甲醇洗涤,低于50℃真空干燥18小时后得到1.08g,化合物15,收率77.6%,LC-MS (APCI): m/z=193 (M+1)⁺,¹H NMR (300MHz, DMSO) δ11.80 (d, J=13.7Hz, 2H), 7.03 (d, J=8.6Hz, 1H), 6.68 (m, J=4.6, 2.6Hz, 2H), 3.70 (s, 3H)。

[0089] 步骤10. 2,3-二氯-7-甲氧基喹啉(化合物16)的合成。

[0090] 氮气保护下向反应瓶中加入化合物15(5.2g, 27.06mmol),加入POCl₃(8mL),加热至98℃反应20小时,降温至80℃后加入乙腈25mL,然后降温至10-15℃,向反应瓶中加入冰水,使反应体系低于25℃,有蓝色固体析出,过滤,滤饼用水洗涤,用5%的碳酸氢钠洗涤至pH~8-9,低于50℃真空干燥24小时后得到4.65g化合物16,收率74.5%,LC-MS (APCI): m/z=230 (M+1)⁺。

[0091] 步骤11. 化合物19的合成。

[0092] 向反应瓶中加入甘氨酸甲酯盐酸盐(7.142g, 0.057mmol),加入无水硫酸钠(4.57g, 0.032mmol),加入三乙胺(6g, 0.059mmol),加入甲基叔丁基醚100mL,室温反应18小时,TLC检测原料反应完全,过滤浓缩得到中间体18。

[0093] 向反应瓶中加入叔丁醇锂(10.07g, 0.125mmol), 加入无水甲苯100mL, 冰水浴中滴加化合物18和1,4-二溴-2-丁烯(8.57g, 0.04mmol)的甲苯溶液50mL, 滴加完成后室温反应18小时, TLC检测原料反应完全, 加入水20mL, 加入4N的盐酸调节pH至1-2, 用水萃取3次, 合并水相, 用甲基叔丁基醚萃取三次, 水相用1N的氢氧化钠调节pH至11-12, 用乙酸乙酯萃取3次, 合并有机相, 用饱和氯化钠洗涤, 用无水硫酸钠干燥, 浓缩后得到1.54g化合物19。收率19.25%

[0094] 步骤12. 化合物20的合成。

[0095] 向反应瓶中加入化合物19(2g, 12.89mmol) 加入二氯甲烷10mL溶解, 加入三乙胺(5g, 48mmol), 加入Boc酸酐(4.3g, 19.33mmol) 室温反应3小时, TLC检测原料反应完全, 浓缩反应液, 柱层析得到2.2g化合物20, 收率64.7%

[0096] 步骤13. 化合物21的合成。

[0097] 向反应瓶中加入化合物20(2.2g, 9.12mmol) 加入四氢呋喃: 甲醇=1:1 40mL溶解, 加入氢氧化锂(873g, 36.47mmol), 升温至40℃反应18小时, TLC检测原料反应完全, 浓缩反应液, 向反应瓶中加入水10mL, 用乙酸乙酯萃取4次, 合并有机相, 用无水硫酸钠干燥, 浓缩后得到0.968g化合物21, 收率46.7%

[0098] 步骤14. 化合物22的合成。

[0099] 向反应瓶中加入化合物21(678mg, 2.986mmol), 用四氢呋喃12mL溶解, 加入CDI(628mg, 3.88mmol), 升温回流反应1小时, 冷却至室温, 环丙磺酰胺(469mg, 3.88mmol) 用2mL四氢呋喃溶解后加入到反应瓶中, 加入1,8-二氮杂二环[5.4.0]十一碳-7-烯(DBU, 658mg, 4.329mmol), 室温反应18小时, TLC检测原料反应完全, 加入1M的盐酸调节pH至1-2, 用乙酸乙酯萃取用3次, 合并有机相, 用饱和氯化钠洗涤, 用无水硫酸钠干燥, 柱层析得到495mg化合物22, 收率49.6%

[0100] 步骤15. 化合物23的合成。

[0101] 向反应瓶中加入化合物22(495mg, 1.39mmol) 加入乙酸乙酯10mL溶解, 加入盐酸甲醇(4M) 溶液5mL, 40℃反应4小时, TLC检测原料反应完全, 浓缩反应液得到400mg化合物23, 直接用于下一步反应。

[0102] 步骤16. 化合物25的合成。

[0103] 氮气保护下向反应瓶中加入化合物16(2g, 8.73mmol), 化合物24(2.36g, 9.6mmol), 加入二甲基乙酰胺(DMAC) 10mL, 加入DBU(2g, 13.09mmol), 加热至50℃反应20-30小时, 冷却至室温, 加入20mL水和30mL MTBE, 过滤, 除去黑色不溶物, 用MTBE萃取三次, 合并有机相, 用无水硫酸钠干燥, 浓缩后柱层析纯化得到1.2g化合物25, 回收原料, 收率31.4%, $^1\text{H NMR}$ (300MHz, CDCl_3) δ 7.81 (d, $J=9.1\text{Hz}$, 1H), 7.23 (m, $J=9.1, 2.6\text{Hz}$, 1H), 7.16 (m, $J=7.7, 2.5\text{Hz}$, 1H), 5.73 (d, $J=20.8\text{Hz}$, 1H), 4.57 (m, $J=22.7, 7.8\text{Hz}$, 1H), 4.02-3.89 (m, 5H), 3.78 (d, $J=9.0\text{Hz}$, 4H), 2.68 (d, $J=5.6\text{Hz}$, 1H), 2.51-2.35 (m, 1H), 1.46 (d, $J=8.6\text{Hz}$, 10H)。

[0104] 步骤17. 化合物26的合成。

[0105] 向反应瓶1中加入化合物25(1.866g, 4.27mmol) 加入10mL环戊基甲醚溶解, 化合物13(1.44g, 5.124mmol) 用10mL环戊基甲醚溶解加入到反应瓶中, 通入氮气搅拌30分钟。向反应瓶2中加入醋酸钨(32mg, 0.145mmol), $\text{P}(\text{t-Bu})_3\text{BF}_4$ (74mg, 0.256mmol), 碳酸钾(1.47g, 1.067mmol), 加入乙腈10ml, 通入氮气搅拌15分钟, 将其加入到反应瓶1中, 通入氮气搅拌15

分钟,升温至85℃反应3小时,TLC检测原料反应完全,加入水30mL,用2M的磷酸调节pH至1-2,用乙酸乙酯萃取3次,合并有机相,用无水硫酸钠干燥,浓缩,柱层析得到1.06g化合物26,收率36.5%。LC-MS (APCI) :m/z=683 (M+1)⁺。¹H NMR (300MHz, CDC1₃) δ7.89-7.78 (m, 1H), 7.19 (d, J=9.1Hz, 1H), 7.11 (d, J=7.4Hz, 1H), 5.68 (s, 1H), 5.31 (d, J=7.5Hz, 1H), 4.49 (t, J=7.5Hz, 1H), 4.02-3.89 (m, 4H), 3.79 (s, 6H), 2.60 (d, J=6.4Hz, 3H), 2.45 (m, J=12.9, 6.7Hz, 1H), 1.89-1.71 (m, 2H), 1.44 (d, J=5.8Hz, 11H), 1.26 (s, 1H), 1.01 (s, 11H), 0.89 (m, J=10.6, 5.9Hz, 3H), 0.56 (d, J=6.3Hz, 1H)。

[0106] 步骤18. 化合物27的合成。

[0107] 向反应瓶中加入化合物26 (445mg, 0.651mmol) 加入氘代甲醇5mL溶解,加入10%钨碳80mg,通入氩气40℃下反应18小时,LCMS检测原料反应完全,冷却至室温,加入硅藻土过滤,用甲醇洗涤滤饼,浓缩后得到380mg化合物27,收率84.4%

[0108] 步骤19. 化合物28的合成。

[0109] 向反应瓶中加入化合物27 (380mg, 0.55mmol),加入3mL乙腈溶解,加入三氟乙酸 (156mg, 1.375mmol),升温至40℃,反应18小时,TLC检测原料反应完全,浓缩除去乙腈和过量三氟乙酸,用DIPEA调节pH至8-9,加入乙腈3mL,加入HATU (282mg, 0.74mmol) 室温反应8小时,TLC检测原料反应完全,浓缩反应液,柱层析纯化后得到211mg化合物28,收率66.9%

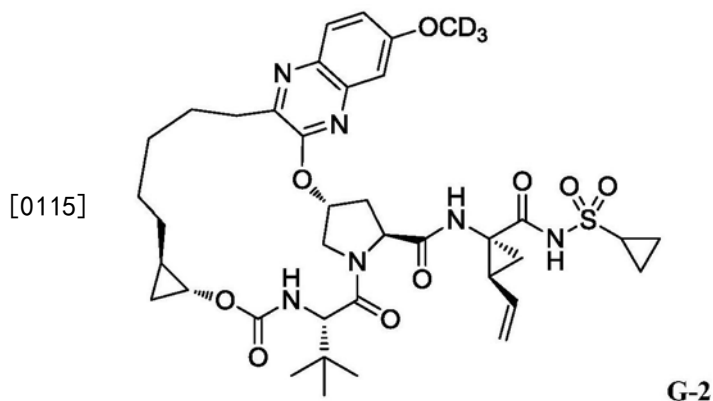
[0110] 步骤20. 化合物29的合成。

[0111] 向反应瓶中加入化合物28 (211mg, 0.368mmol) 加入四氢呋喃5mL,氢氧化锂 (73mg, 3.68mmol) 用2mL水溶解后加入到反应中,升温至40℃反应1小时,TLC检测原料反应完全,用乙酸乙酯萃取3次,用无水硫酸钠干燥,浓缩后得到114mg化合物29,收率45.6%。

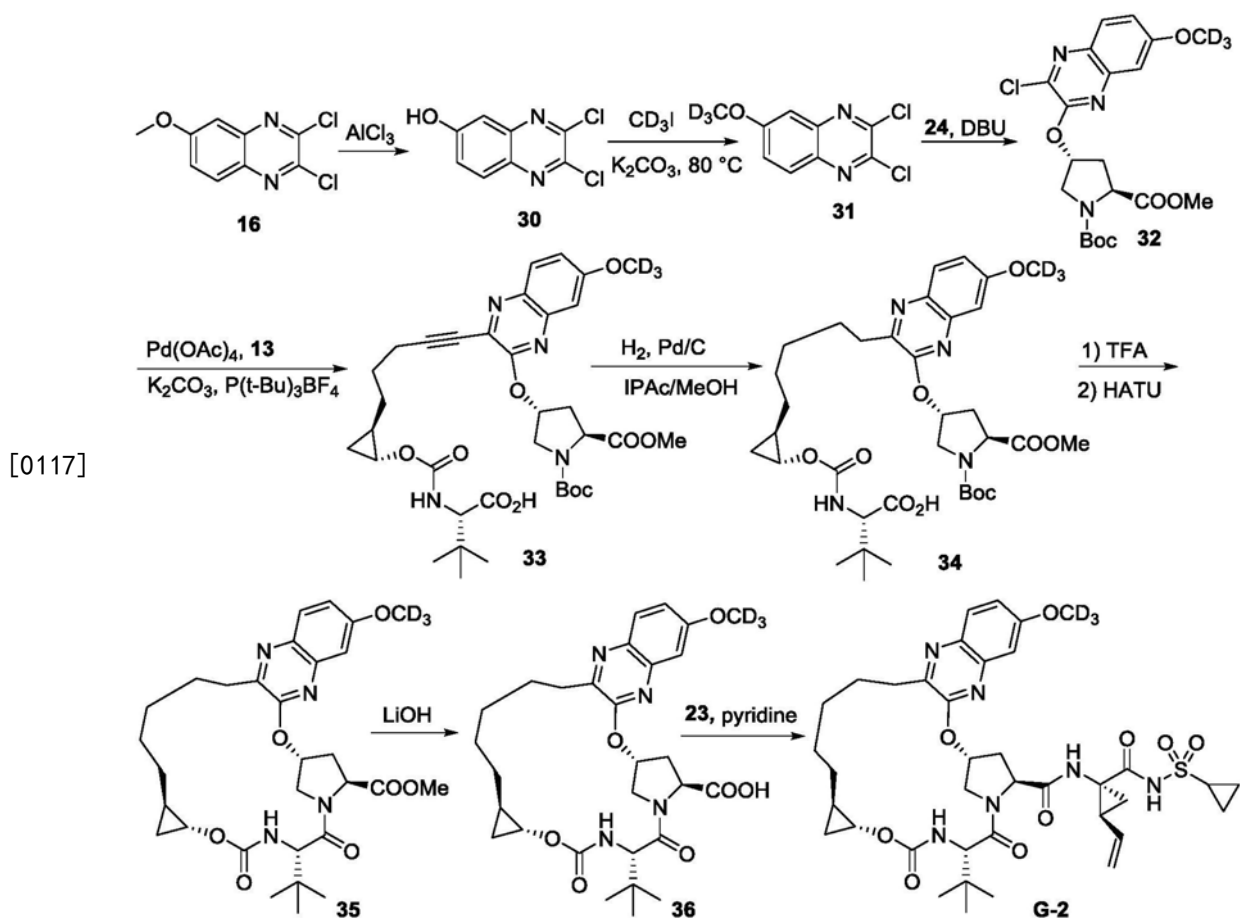
[0112] 步骤21. 化合物G-1的合成。

[0113] 室温下向反应瓶中加入化合物29 (114mg, 0.205mmol), 化合物23 (61mg, 0.266mmol), 用5mL的乙腈溶解。加入吡啶 (229mg, 0.87mmol), 室温反应15分钟,加入EDCI (62.4mg, 0.328mmol), 室温反应1.5小时,反应液变澄清,加入2N的盐酸溶液2mL,搅拌反应20分钟,TLC检测原料反应完全,浓缩反应液,用TLC制备得到31mg化合物G-1,¹H NMR (400MHz, CDC1₃) δ7.81 (d, J=9.1Hz, 1H), 7.18 (m, J=9.0, 2.8Hz, 1H), 7.12 (d, J=2.7Hz, 1H), 7.04 (s, 1H), 5.96 (s, 1H), 5.81 (s, 1H), 5.67 (s, 1H), 5.33 (m, J=13.5, 9.1Hz, 1H), 5.12 (s, 1H), 4.51 (d, J=11.3Hz, 1H), 4.45 (d, J=9.8Hz, 1H), 4.37 (s, 1H), 4.08 (d, J=6.7Hz, 1H), 3.92 (d, J=5.3Hz, 2H), 3.80-3.73 (m, 1H), 2.93-2.84 (m, 1H), 2.93-2.83 (m, 1H), 2.74 (m, J=13.3, 9.1Hz, 1H), 2.57 (m, J=13.8, 7.3Hz, 1H), 2.41 (s, 1H), 2.22-2.15 (m, 1H), 1.83 (s, 1H), 1.53 (m, J=36.0, 16.6Hz, 3H), 1.28 (s, 3H), 1.06 (s, 9H), 1.00-0.88 (m, 2H), 0.67 (d, J=6.8Hz, 1H), 0.46 (q, J=6.3Hz, 1H)。

[0114] 实施例2制备取代的大环喹啉啉化合物G-2,分子式如下:



[0116] 采用以下路线合成:



[0118] 步骤1.2,3-二氯-7-羟基喹啉啉(化合物30)的合成。

[0119] 0℃下向反应瓶中加入甲苯40mL,加入三氯化铝(1.96g,14.67mmol),加入化合物16(1.4g,6.11mmol),升温至80℃反应5小时,TLC检测原料反应完全,冷却至室温,有固体析出,向反应液中加入水40mL,加入乙酸乙酯50mL,加热至固体溶解,用乙酸乙酯萃取4次,合并有机相,用无水硫酸钠干燥,浓缩后得到1.3g化合物30,收率100%。

[0120] 步骤2.2,3-二氯-7-d3-甲氧基喹啉啉(化合物31)的合成。

[0121] 向反应瓶中加入化合物30(1g,4.6mmol)加入碳酸钾(1.6g,11.6mmol),加入30mL DMF溶解,加入氙代碘甲烷(1.65g,11.6mmol),升温至80℃反应3小时,TLC检测原料反应完全,冷却至室温,向反应液中加入水50mL,用乙酸乙酯萃取3次,合并有机相,用无水硫酸钠干燥,浓缩,柱层析纯化得到781mg化合物31,收率72.3%。

[0122] 步骤3. 化合物32的合成。

[0123] 氮气保护下向反应瓶中加入化合物31 (780mg, 3.36mmol), 化合物24 (906mg, 3.69mmol), 加入DMAC 30 mL, 加入DBU (664g, 4.368mmol), 加热至50℃反应18小时, TLC检测原料反应完全, 冷却至室温, 加入40mL水, 用乙酸乙酯萃取3次, 合并有机相, 用无水硫酸钠干燥, 浓缩, 柱层析纯化得到645mg化合物32, 收率45.3%, MS (APCI) : $m/z = 441 (M+1)^+$ 。

[0124] 步骤4. 化合物33的合成。

[0125] 向反应瓶1中加入化合物32 (463mg, 1.06mmol) 加入1mL环戊基甲醚溶解, 化合物13 (357mg, 1.27mmol) 用1.5mL环戊基甲醚溶解加入到反应瓶中, 通入氮气搅拌30分钟。向反应瓶2中加入醋酸钨 (8mg, 0.036mmol), $P(t-Bu)_3BF_4$ (18mg, 0.064mmol), 碳酸钾 (365g, 2.65mmol), 加入乙腈2mL, 通入氮气搅拌15分钟, 将其加入到反应瓶1中, 通入氮气搅拌15分钟, 升温至85℃反应2.5小时, TLC检测原料反应完全, 用2M的磷酸调节pH至1-2, 用乙酸乙酯萃取3次, 合并有机相, 用无水硫酸钠干燥, 浓缩, 柱层析得到370mg化合物33, 收率55.4%。LC-MS (APCI) : $m/z = 686 (M+1)^+$ 。

[0126] 步骤5. 化合物34的合成。

[0127] 向反应瓶中加入化合物33 (0.185mg, 0.219mmol) 加入甲醇2mL溶解, 5mL的异丙醇溶解, 加入10%钨碳20mg, 通入氢气40℃下反应18小时, LC-MS检测原料反应完全, 冷却至室温, 加入硅藻土过滤, 用甲醇洗涤滤饼, 浓缩后得到191mg化合物34, 收率95.5% LC-MS (APCI) : $m/z = 690 (M+1)^+$ 。

[0128] 步骤6. 化合物35的合成。

[0129] 向反应瓶中加入化合物34 (191mg, 0.29mmol), 加入3mL二氯甲烷溶解, 加入三氟乙酸2mL, 室温反应18小时, TLC检测原料反应完全, 浓缩除去二氯甲烷和过量三氟乙酸, 用DIPEA调节pH至8-9, 加入乙腈3mL, 加入HATU (148.9mg, 0.39mmol) 室温反应3小时, TLC检测原料反应完全, 浓缩反应液, 柱层析纯化后得到54mg化合物35, 收率32.9%, LC-MS (APCI) : $m/z = 572 (M+1)^+$ 。

[0130] 步骤7. 化合物36的合成。

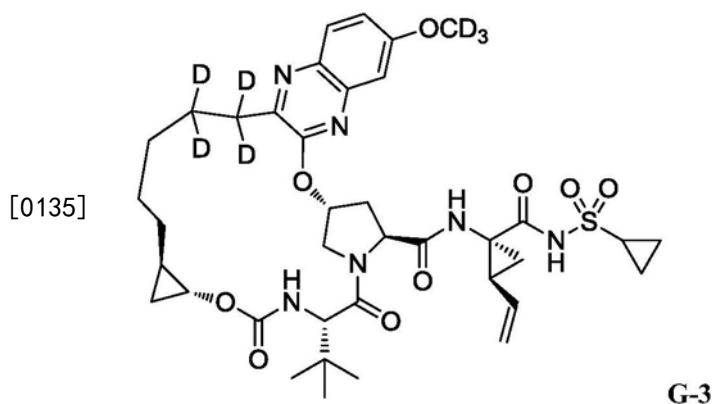
[0131] 向反应瓶中加入化合物35 (54mg, 0.094mmol) 加入四氢呋喃4mL, 氢氧化锂 (22mg, 0.944mmol) 用2mL水溶解后加入到反应中, 升温至40℃反应1小时, TLC检测原料反应完全, 用乙酸乙酯萃取3次, 用无水硫酸钠干燥, 浓缩后得到74mg化合物36, 不进一步纯化, 直接用于下一步。LC-MS (APCI) : $m/z = 556 (M+1)^-$ 。

[0132] 步骤8. 化合物G-2的合成。

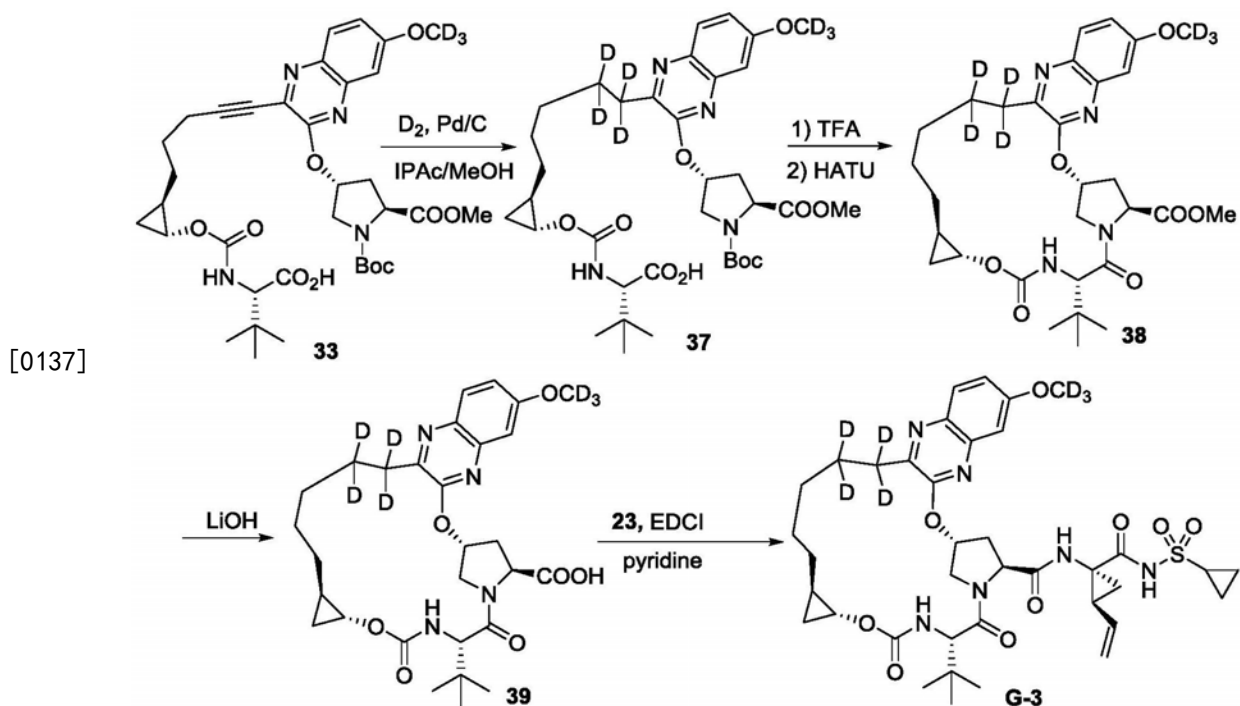
[0133] 室温下向反应瓶中加入化合物36 (74mg, 0.135mmol), 化合物23 (40.6mg, 0.177mmol), 用4mL的乙腈溶解。加入吡啶 (152mg, 1.902mmol), 室温反应15分钟, 加入EDCI (41mg, 0.217mmol), 室温反应1.5小时, 反应液变澄清, 加入2N的盐酸溶液2mL, 搅拌反应20分钟, TLC检测原料反应完全, 浓缩反应液, 用TLC制备得到27mg化合物G-2, LC-MS (APCI) : $m/z = 770 (M+1)^+$, 1H NMR (500MHz, $CDCl_3$) δ 7.82 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 7.19 (m, $J = 9.0, 2.8$ Hz, 1H), 7.12 (d, $J = 2.7$ Hz, 1H), 6.98 (s, 1H), 5.98 (s, 1H), 5.85-5.76 (m, 1H), 5.62 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 5.41-5.32 (m, 1H), 5.14 (m, $J = 23.0, 9.9$ Hz, 1H), 4.53 (d, $J = 11.4$ Hz, 1H), 4.46 (d, $J = 9.9$ Hz, 1H), 4.35 (m, $J = 25.6, 12.8$ Hz, 1H), 4.07 (m, $J = 11.6, 5.8$ Hz, 1H), 3.83-3.71 (m, 1H), 2.91-2.84 (m, 2H), 2.62-2.53 (m, 2H), 2.46-2.36 (m, 1H), 2.19 (m, $J = 16.1, 7.6$ Hz, 2H),

2.06-1.96 (m, 1H), 1.84 (m, J=8.3, 5.3Hz, 1H), 1.76-1.65 (m, 3H), 1.57-1.42 (m, 3H), 1.36-1.30 (m, 4H), 1.08 (s, 9H), 0.95 (m, J=10.1, 8.4, 3.0Hz, 3H), 0.69 (s, 1H), 0.49-0.41 (m, 1H)。

[0134] 实施例3制备取代的大环喹啉啉化合物G-3,分子式如下:



[0136] 采用以下路线合成:



[0138] 步骤1. 化合物37的合成。

[0139] 向反应瓶中加入化合物33 (0.185mg, 0.219mmol) 加入氘代甲醇5mL溶解, 加入10% 钯碳20mg, 通入氘气40℃下反应18小时, LC-MS检测原料反应完全, 冷却至室温, 加入硅藻土过滤, 用甲醇洗涤滤饼, 浓缩后得到211mg化合物37, 收率100%。LC-MS (APCI) : m/z = 692 (M+1)⁺。

[0140] 步骤2. 化合物38的合成。

[0141] 向反应瓶中加入化合物37 (211mg, 0.306mmol), 加入3mL二氯甲烷溶解, 加入三氟乙酸2mL, 室温反应18小时, TLC检测原料反应完全, 浓缩除去二氯甲烷和过量三氟乙酸, 用DIPEA调节pH至8-9, 加入乙腈3mL, 加入HATU (157mg, 0.414mmol) 室温反应3小时, TLC检测原料反应完全, 浓缩反应液, 柱层析纯化后得到63mg化合物38, 收率36%。

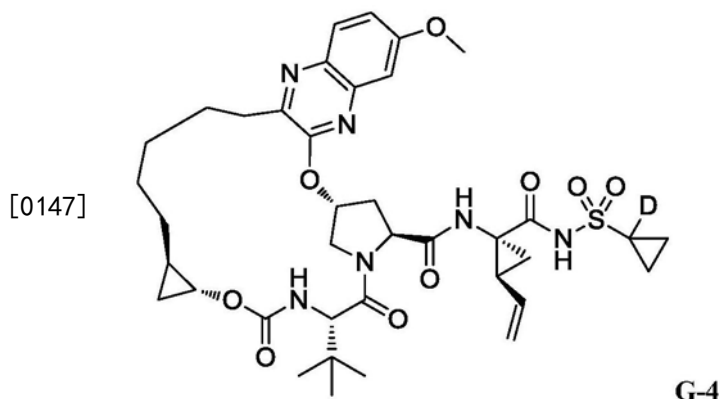
[0142] 步骤3. 化合物39的合成。

[0143] 向反应瓶中加入化合物38 (63mg, 0.109mmol) 加入四氢呋喃4mL, 氢氧化锂 (26mg, 1.09mmol) 用2mL水溶解后加入到反应中, 升温至40°C反应1小时, TLC检测原料反应完全, 用乙酸乙酯萃取3次, 用无水硫酸钠干燥, 浓缩后得到76mg化合物39, 不进一步纯化, 直接用于下一步。

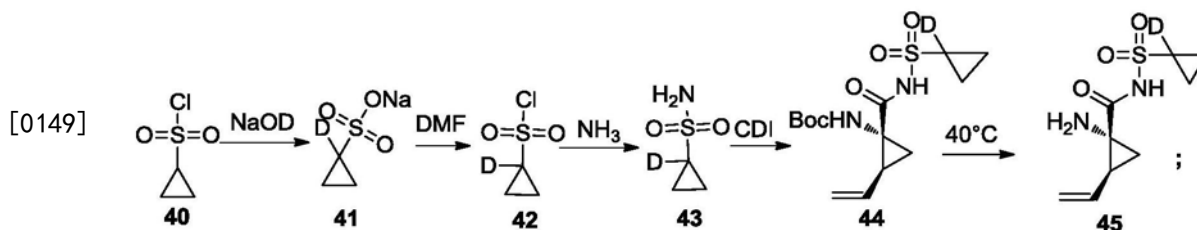
[0144] 步骤4. 化合物G-3的合成。

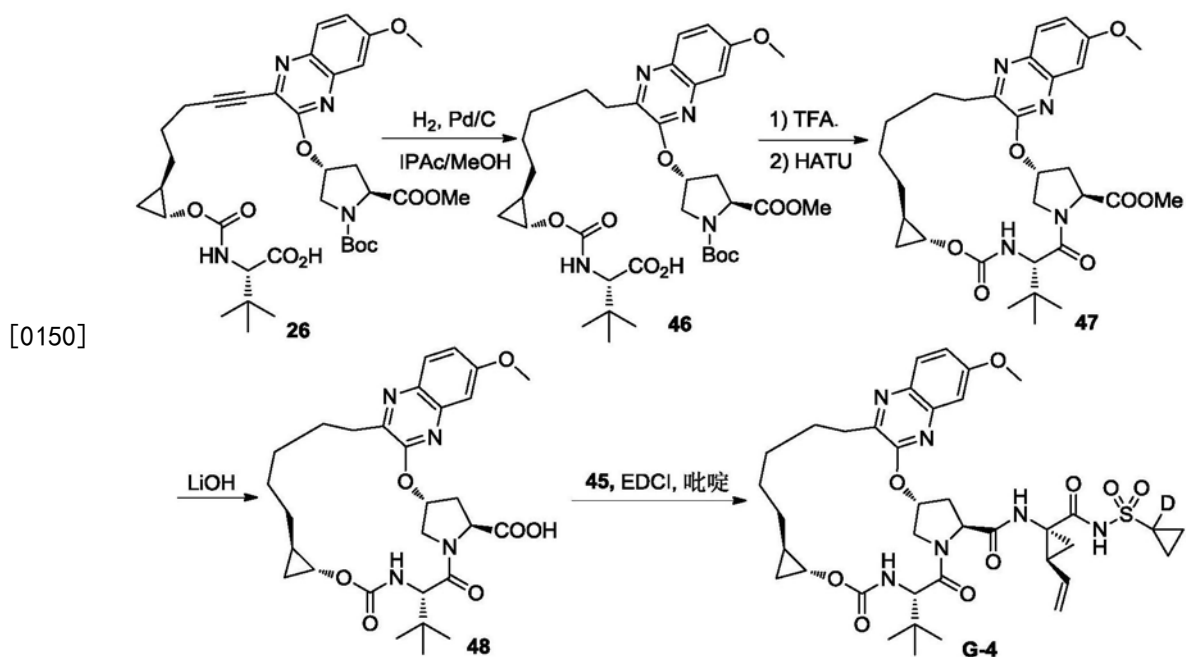
[0145] 室温下向反应瓶中加入化合物39 (74mg, 0.135mmol), 化合物23 (40.6mg, 0.177mmol), 用4mL的乙腈溶解。加入吡啶 (152mg, 1.902mmol), 室温反应15分钟, 加入EDCI (41mg, 0.22mmol), 室温反应1.5小时, 反应液变澄清, 加入2N的盐酸溶液2mL, 搅拌反应20分钟, TLC检测原料反应完全, 浓缩反应液, 用TLC制备得到28mg化合物G-3, $^1\text{H NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 7.82 (d, $J=9.0\text{Hz}$, 1H), 7.19 (dd, $J=9.0, 2.8\text{Hz}$, 1H), 7.12 (d, $J=2.7\text{Hz}$, 1H), 6.98 (s, 1H), 5.98 (s, 1H), 5.84-5.74 (m, 1H), 5.61 (d, $J=9.9\text{Hz}$, 1H), 5.38-5.32 (m, 1H), 5.16 (d, $J=11.3\text{Hz}$, 1H), 4.53 (d, $J=11.4\text{Hz}$, 1H), 4.46 (d, $J=9.9\text{Hz}$, 1H), 4.36 (m, $J=10.6, 6.6\text{Hz}$, 1H), 4.06 (m, $J=11.7, 4.1\text{Hz}$, 1H), 3.80-3.73 (m, 1H), 2.89 (m, $J=12.9, 8.2, 4.9\text{Hz}$, 2H), 2.70 (d, $J=19.5\text{Hz}$, 1H), 2.62-2.53 (m, 1H), 2.44 (m, $J=10.6, 3.8\text{Hz}$, 1H), 2.19 (m, $J=16.1, 7.6\text{Hz}$, 2H), 1.84 (m, $J=8.3, 5.3\text{Hz}$, 1H), 1.78-1.65 (m, 4H), 1.52-1.42 (m, 3H), 1.38-1.31 (m, 3H), 1.08 (s, 8H), 0.94 (m, $J=13.6, 12.7, 7.8\text{Hz}$, 4H), 0.69 (s, 1H), 0.48-0.42 (m, 1H)。

[0146] 实施例4制备取代的大环喹啉啉化合物G-4, 分子式如下:



[0148] 采用以下路线合成:





[0151] 步骤1. 化合物41的合成。

[0152] 向反应瓶中加入3mL乙二醇二甲醚，加入环丙磺酰氯(1.5g, 1.07mmol)，用冰水浴降温，氢氧化钠(40%，3mL, 0.03mol)用3mL重水稀释后滴加如反应瓶中，滴加完毕，室温反应18小时，冷却，用氘代盐酸调节pH至酸性，浓缩除去溶剂，得到化合物41的粗品3.19g，直接用于下一步，不进一步纯化。

[0153] 步骤2. 化合物42的合成。

[0154] 向反应瓶中加入化合物41(1.6g, 11.2mmol)加入氯化亚砷10mL，加入DMF 5滴，60℃回流反应4小时，冷却至室温，浓缩除去过量的氯化亚砷，得到化合物42的粗产品2.1g，直接用于下一步，不进一步纯化。

[0155] 步骤3. 化合物43的合成。

[0156] 向反应瓶中加入化合物42的粗产品2.1g，加入无水四氢呋喃100mL，降温冷却至-5℃，搅拌下通入氨气20分钟，室温反应18小时，浓缩除去四氢呋喃，加入水20mL，用乙酸乙酯萃取4次，合并有机相，用饱和氯化钠洗涤，用无水硫酸钠干燥，浓缩得到525mg化合物43，三步收率98%。

[0157] 步骤4. 化合物44的合成。

[0158] 向反应瓶中加入化合物21(430mg, 1.894mmol)，用四氢呋喃8mL溶解，加入CDI(398mg, 2.46mmol)，升温回流反应1小时，冷却至室温，化合物43(300mg, 2.46mmol)用2mL四氢呋喃溶解后加入到反应瓶中，加入DBU(417mg, 2.48mmol)，室温反应17小时，TLC检测原料反应完全，加入1M的盐酸调节pH至1-2，用乙酸乙酯萃取用3次，合并有机相，用饱和氯化钠洗涤，用无水硫酸钠干燥，柱层析得到326mg化合物44，收率40.9%。

[0159] 步骤5. 化合物45的合成。

[0160] 向反应瓶中加入化合物44(710mg, 2.14mmol)加入二氯甲烷10mL溶解，加入盐酸二氧六环(4M)溶液5mL，40℃反应4小时，TLC检测原料反应完全，浓缩反应液得到338mg化合物45，直接用于下一步反应。

[0161] 步骤6. 化合物46的合成。

[0162] 向反应瓶中加入化合物26 (109mg, 0.159mmol) 加入甲醇1mL溶解, 2mL的异丙醇溶解, 加入钨碳7mg, 通入氢气40℃下反应18小时, LCMS检测原料反应完全, 冷却至室温, 加入硅藻土过滤, 用甲醇洗涤滤饼, 浓缩后得到191mg化合物46, 收率63.5%, LC-MS (APCI) :m/z = 687 (M+1)⁺。

[0163] 步骤7. 化合物47的合成。

[0164] 向反应瓶中加入化合物46 (1g, 1.45mmol), 加入10mL乙腈溶解, 加入三氟乙酸 (573mg, 3.6mmol), 升温至40℃, 反应18小时, TLC检测原料反应完全, 浓缩除去乙腈和过量三氟乙酸, 用DIPEA调节pH至8-9, 加入乙腈3mL, 加入HATU (751mg, 1.97mmol) 室温反应4小时, TLC检测原料反应完全, 浓缩反应液, 柱层析纯化后得到300mg化合物47, 两步收率36.2%, LC-MS (APCI) :m/z = 569 (M+1)⁺。

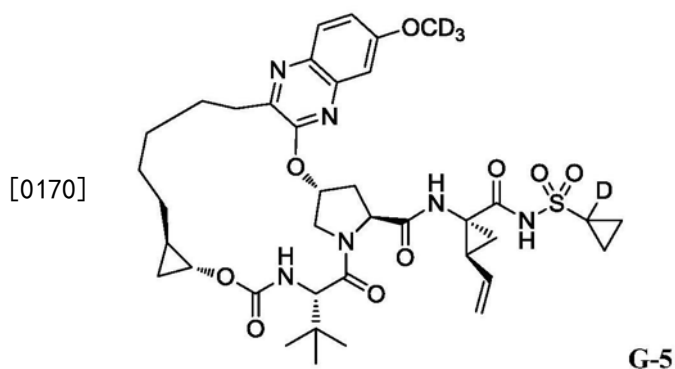
[0165] 步骤8. 化合物48的合成。

[0166] 向反应瓶中加入化合物47 (100mg, 0.152mmol) 加入四氢呋喃1mL, 氢氧化锂 (76mg, 1.5mmol) 用2mL水溶解后加入到反应中, 升温至40℃反应1小时, TLC检测原料反应完全, 冷却至室温, 用1N盐酸调节pH至酸性, 用乙酸乙酯萃取3次, 用无水硫酸钠干燥, 浓缩后得到90mg化合物48, 收率92.7%。

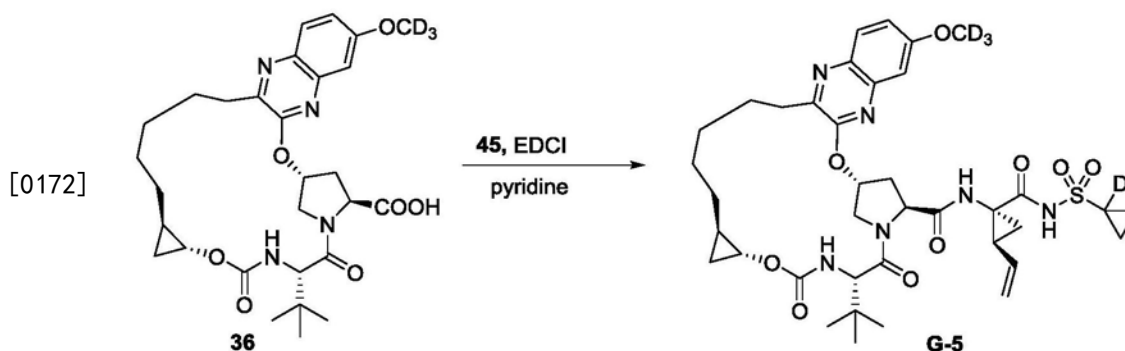
[0167] 步骤9. 化合物G-4的合成。

[0168] 室温下向反应瓶中加入化合物48 (100mg, 0.18mmol), 化合物45 (53.8mg, 0.23mmol), 用5mL的乙腈溶解。加入吡啶 (200mg, 2.25mmol), 室温反应15分钟, 加入EDCI (55mg, 0.288mmol), 室温反应1.5小时, 反应液变澄清, 加入2N的盐酸溶液2mL, 搅拌反应20分钟, TLC检测原料反应完全, 浓缩反应液, 用TLC制备得到10mg化合物G-4, ¹H NMR (500MHz, CDCl₃) δ7.83 (d, J=9.0Hz, 1H), 7.20 (m, J=9.0, 2.7Hz, 1H), 7.14 (d, J=2.7Hz, 1H), 7.08 (s, 1H), 5.99 (s, 1H), 5.87-5.79 (m, 1H), 5.38 (s, 1H), 5.21 (d, J=17.2Hz, 1H), 5.09 (d, J=10.1Hz, 1H), 4.51 (d, J=11.0Hz, 1H), 4.42 (d, J=9.9Hz, 1H), 4.37 (s, 1H), 4.05 (d, J=7.4Hz, 1H), 3.94 (d, J=8.4Hz, 3H), 3.79 (d, J=6.7Hz, 1H), 2.98 (d, J=6.6Hz, 2H), 2.88 (s, 1H), 2.57 (s, 1H), 2.47 (s, 1H), 2.07 (d, J=8.5Hz, 1H), 1.76 (d, J=14.1Hz, 2H), 1.66-1.61 (m, 2H), 1.57-1.48 (m, 3H), 1.36-1.31 (m, 3H), 1.09 (d, J=5.4Hz, 9H), 0.89 (m, J=13.3, 6.6Hz, 4H), 0.68 (s, 1H), 0.48 (d, J=6.5Hz, 1H)。

[0169] 实施例5制备取代的大环喹啉啉化合物G-5, 分子式如下:



[0171] 采用以下路线合成:



[0173] 室温下向反应瓶中加入化合物36 (77mg, 0.138mmol), 化合物45 (41.4mg, 0.179mmol), 用5mL的乙腈溶解。加入吡啶 (153mg, 0.192mmol), 室温反应15分钟, 加入EDCI (43mg, 0.219mmol), 室温反应1.5小时, 反应液变澄清, 加入2N的盐酸溶液2mL, 搅拌反应20分钟, TLC检测原料反应完全, 浓缩反应液, 用TLC制备得到11mg化合物G-5, ^1H NMR (500MHz, CDCl_3) δ 7.83 (d, $J=9.1\text{Hz}$, 1H), 7.20 (m, $J=9.1, 2.8\text{Hz}$, 1H), 7.13 (d, $J=2.7\text{Hz}$, 1H), 6.85 (s, 1H), 6.00 (s, 1H), 5.79 (m, $J=17.4, 8.8\text{Hz}$, 1H), 5.43 (d, $J=9.7\text{Hz}$, 1H), 5.22 (d, $J=17.3\text{Hz}$, 1H), 5.13 (d, $J=10.0\text{Hz}$, 1H), 4.65 (s, 1H), 4.53 (d, $J=11.3\text{Hz}$, 1H), 4.34-4.29 (m, 1H), 4.07-4.02 (m, 1H), 3.77 (d, $J=6.9\text{Hz}$, 1H), 2.87 (dd, $J=18.5, 11.2\text{Hz}$, 2H), 2.79 (d, $J=4.5\text{Hz}$, 1H), 2.58 (m, $J=12.8, 7.9\text{Hz}$, 1H), 2.46 (d, $J=10.4\text{Hz}$, 1H), 2.08 (d, $J=8.5\text{Hz}$, 1H), 1.75 (d, $J=15.1\text{Hz}$, 4H), 1.53-1.47 (m, 3H), 1.33 (d, $J=7.0\text{Hz}$, 3H), 1.09 (s, 9H), 0.89 (dd, $J=13.4, 6.6\text{Hz}$, 4H), 0.70 (d, $J=18.8\text{Hz}$, 1H), 0.48 (m, $J=12.6, 6.1\text{Hz}$, 1H)。

[0174] 生物活性评价。

[0175] 为了验证本文所述的化合物对HCV的作用, 发明人采用HCV复制子系统 (HCV Replicon System) 作为评价模型。自Science1999年首次报道以来, HCV复制子系统已经成为研究HCV RNA复制、致病性和病毒持续性的最重要的工具之一, 例如已经利用复制子成功地证明了HCV RNA复制所必须的5'-NCR最小区域, 并且HCV复制子系统已经成功地被用作抗病毒药物的评价模型。本发明的发明人按照Science, 1999, 285 (5424), 110-3, 以及J.Virol, 2003, 77 (5), 3007-19所描述的方法进行验证。

[0176] (1) 检测化合物抗HCV 1a和1b基因型复制子活性

[0177] 应用HCV-1a和HCV-1b稳定转染复制子细胞检测化合物丙型肝炎病毒基因型1a和1b复制子的抑制活性。本实验将以NS3抑制剂MK-5172作为阳性对照化合物。

[0178] 步骤一: 对化合物进行1:3系列稀释8个浓度点, 双复孔, 加入96孔板中。设置DMSO为无加化合物对照。细胞培养液中的DMSO最终浓度为0.5%。

[0179] 步骤二: 将HCV-1a和1b细胞分别悬浮在含10%FBS的培养液中, 以每孔8,000个细胞的密度种到含有化合物的96孔板中。细胞在5% CO_2 、37 $^\circ\text{C}$ 条件下培养3天。

[0180] 步骤三: 用CellTiter-Fluor (Promega) 测定化合物对GT1b复制子细胞毒性。

[0181] 步骤四: 用Bright-Glo (Promega) 检测荧光素酶测定化合物抗丙型肝炎病毒活性。

[0182] 步骤五: 采用GraphPad Prism软件分析数据, 拟合曲线并计算 EC_{50} 值和 CC_{50} 值。

[0183] 表1实施例1~4与对照品MK-5172的抗HCV基因型复制子活性对比表

[0184]

编号	HCV GT1a EC_{50} (nM)	HCV GT1b EC_{50} (nM)	HCV CC_{50} (nM)
MK-5172	0.967	0.98	>1000

G-1	2.188	1.863	>1000
G-2	1.172	0.963	>1000
G-3	1.404	0.884	>1000
G-4	3.370	2.613	>1000

[0185] 如表1所示,本发明化合物对抑制HCV的多个基因型,进而能够用于丙肝病毒的抑制。

[0186] (2) 代谢稳定性评价

[0187] 微粒体实验:人肝微粒体:0.5mg/mL, Xenotech;大鼠肝微粒体:0.5mg/mL, Xenotech;辅酶(NADPH/NADH):1mM, Sigma Life Science;氯化镁:5mM, 100mM磷酸盐缓冲剂(pH为7.4)。

[0188] 储备液的配制:精密称取一定量的化合物实施例1-4的粉末,并用DMSO分别溶解至5mM。

[0189] 磷酸盐缓冲液(100mM, pH7.4)的配制:取预先配好的0.5M磷酸二氢钾150mL和700mL的0.5M磷酸氢二钾溶液混合,再用0.5M磷酸氢二钾溶液调节混合液pH值至7.4,使用前用超纯水稀释5倍,加入氯化镁,得到磷酸盐缓冲液(100mM),其中含100mM磷酸钾,3.3mM氯化镁,pH为7.4。

[0190] 配制NADPH再生系统溶液(含有6.5mM NADP, 16.5mM G-6-P, 3U/mL G-6-P D, 3.3mM氯化镁),使用前置于湿冰上。

[0191] 配制终止液:含有50ng/mL盐酸普萘洛尔和200ng/mL甲苯磺丁脲(内标)的乙腈溶液。取25057.5μL磷酸盐缓冲液(pH7.4)至50mL离心管中,分别加入812.5μL人肝微粒体,混匀,得到蛋白浓度为0.625mg/mL的肝微粒体稀释液。取25057.5μL磷酸盐缓冲液(pH7.4)至50mL离心管中,分别加入812.5μL SD大鼠肝微粒体,混匀,得到蛋白浓度为0.625mg/mL的肝微粒体稀释液。

[0192] 样品的孵育:用含70%乙腈的水溶液将相应化合物的储备液分别稀释至0.25mM,作为工作液,备用。分别取398μL的人肝微粒体或者大鼠肝微粒体稀释液加入96孔孵育板中(N=2),分别加入2μL 0.25mM的工作液中,混匀。

[0193] 代谢稳定性的测定:在96孔深孔板的每孔中加入300μL预冷的终止液,并置于冰上,作为终止板。将96孔孵育板和NADPH再生系统置于37℃水浴箱中,100转/分钟震荡,预孵5min。从孵育板每孔取出80μL孵育液加入终止板,混匀,补充20μL NADPH再生系统溶液,作为0min样品。再向孵育板每孔加入80μL的NADPH再生系统溶液,启动反应,开始计时。相应化合物的反应浓度为1μM,蛋白浓度为0.5mg/mL。分别于反应10、30、90min时,各取100μL反应液,加入终止板中,涡旋3min终止反应。将终止板于5000×g, 4℃条件下离心10min。取100μL上清液至预先加入100μL蒸馏水的96孔板中,混匀,采用LC-MS/MS进行样品分析。

[0194] 数据分析:通过LC-MS/MS系统检测相应化合物及内标的峰面积,计算化合物与内标峰面积比值。通过化合物剩余量的百分率的自然对数与时间作图测得斜率,并根据以下公式计算 $t_{1/2}$ 和 CL_{int} ,其中V/M即等于1/蛋白浓度。

$$[0195] \quad t_{1/2} = -\frac{0.693}{\text{峰面积}}, \quad CL_{int} = \frac{0.693}{t_{1/2}} \cdot \frac{V}{M}$$

[0196] 对本发明化合物及其没有氘代的化合物同时测验比较,评价其在人和大鼠肝微粒

体的代谢稳定性。作为代谢稳定性的指标的半衰期及肝固有清除率如表2所示。表2中采用未经氘代的化合物MK-5172作为对照样品。如表2所示,通过与未经氘代的化合物MK-5172对照,本发明化合物特别是G-4可以显著改善代谢稳定性,进而更适于作为丙型肝炎病毒抑制剂。

[0197] 表2实施例1~4与MK-5172对照样的代谢稳定性对比表

编号	人肝微粒体实验		大鼠肝微粒体实验	
	$t_{1/2}(\text{min})$	CL_{int} ($\mu\text{L}/\text{min}/\text{mg}$)	$t_{1/2}(\text{min})$	CL_{int} ($\mu\text{L}/\text{min}/\text{mg}$)
MK-5172	67.3	20.6	227.2	6.1
G-1	46.8	29.6	135.8	10.2
G-2	66.0	21.0	1389.3	1.0
G-3	64.9	21.4	589.2	2.4
G-4	74.6	18.6	651.8	2.1

[0198]