



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107163029 A

(43)申请公布日 2017.09.15

(21)申请号 201710373494.1

(22)申请日 2017.05.24

(71)申请人 东南大学

地址 211189 江苏省南京市江宁区东南大学路2号

(72)发明人 蔡进 徐华 吉民 李丛丛 李贞

(74)专利代理机构 南京苏高专利商标事务所
(普通合伙) 32204

代理人 郑立发

(51) Int. Cl.

C07D 403/04(2006.01)

权利要求书1页 说明书8页

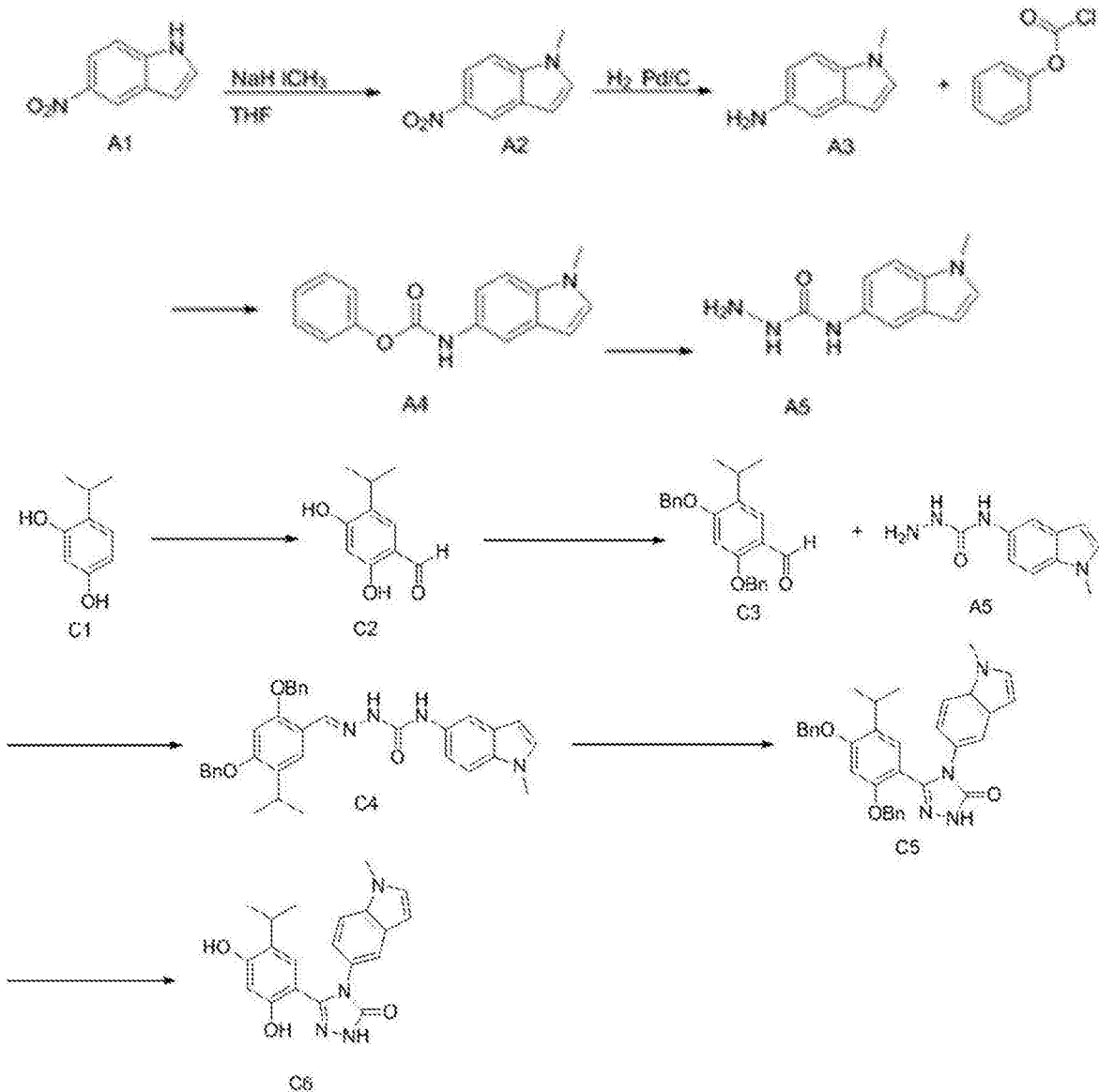
(54)发明名称

一种改进的HSP90抑制剂Ganetespib的制备方法

(57)摘要

本发明公开了一种改进的HSP90抑制剂Ganetespib的制备方法,通过改进合成方法中的原料,将较贵的几种原料进行了设计合成,降低了成本,还能有效提高产率;对原有的几种毒性大活性低的原料进行了替换;对反应过程中的温度、压强以及时间进行了更为精确的改进,使得产率大大提高。本发明注重于工艺改进,过程更加的容易进行,毒性更低、成本更加便宜,最重要的是大大提高了各步骤以及最终产物的产率。

1. 一种改进的HSP90抑制剂Ganetespib的制备方法,其特征在于,反应过程如下所示:



C6所示化合物即为所述HSP90抑制剂Ganetespib。

2. 根据权利要求1所述的改进的HSP90抑制剂Ganetespib的制备方法,其特征在于,所述A1制备A2的方法为:将5-硝基吲哚溶于有机溶剂中,缓慢滴加NaH的四氢呋喃悬浊液,室温反应1-3h,然后加入碘甲烷,室温搅拌过夜反应,得到A2。

3. 根据权利要求1所述的改进的HSP90抑制剂Ganetespib的制备方法,其特征在于,所述A2制备A3的方法为:将A2溶于有机溶剂,在Pd/C催化作用下和H₂反应,得到化合物A3。

4. 根据权利要求1所述的改进的HSP90抑制剂Ganetespib的制备方法,其特征在于,所述C1制备C2的过程中,用HCl进行酸化时,HCl溶液的浓度为0.06-0.1mol/L。

5. 根据权利要求1所述的改进的HSP90抑制剂Ganetespib的制备方法,其特征在于,所述C2制备C3的过程中,苯基化所使用的试剂为溴苄BnBr。

6. 根据权利要求1所述的改进的HSP90抑制剂Ganetespib的制备方法,其特征在于,所述C5制备C6的过程中,去苄基所使用的溶剂为甲醇。

一种改进的HSP90抑制剂Ganetespib的制备方法

技术领域

[0001] 本发明公开了一种改进的HSP90抑制剂Ganetespib的制备方法,属于医药化工技术领域。

背景技术

[0002] 热休克蛋白是哺乳动物细胞中含量最多的蛋白质之一,是一个具有大量成员的蛋白质家族,按照分子量进行分类分成:HSP110,HSP90,HSP70,HSP60,泛素;其中最重要的是HSP90。HSP90在细胞中主要起到分子伴侣的作用,对客户蛋白起装配、转运、折叠和降解的作用,这些客户蛋白中有不少是与细胞生长或者信号传导息息相关的,是致癌基因的表达产物,还有不少是临床确定的抗肿瘤作用靶点,因此抑制HSP90可以从多环节多途径影响癌细胞生长和存活。经过研究表明,人类细胞中的HSP90主要分为四种亚型:HSP90 α 、HSP90 β 、GRP94、TRAP。前两种位于细胞质内,GRP94位于内质网内,TRAP位于线粒体基质内。它们的作用机制基本类似,但是由于所处位置的不同,它们各自的受体蛋白也不一样,发挥的功能也不尽相同。细胞质中,HSP90主要以同源二聚体($\alpha\alpha$ 、 $\beta\beta$)的形式存在,并且,根据研究表明,在肿瘤细胞中,HSP90 α 的表达会升高,而HSP90 β 的表达几乎不变。

[0003] HSP90的结构亚型有三个功能区——(1)保守的N末端结合域;(2)中间结构域;(3)含有四氯肽重复结合基序的C末端具体化域。这三个结构域彼此之间有着很重要的相互作用,其中N末端结构域有着独特的疏水结构域,具有一个ADP/ATP结合位点,这个结合位点有着特异性的 β 转角折叠,可与拓扑异构酶、组氨酸激酶、细菌消旋酶结合,形成一个新的核苷酸的结合域,与HSP90的伴侣功能关系密切。C末端也可以与多肽形成复合物,而HSP90的中间域无法与其他多肽或者氨基酸形成复合物。

[0004] HSP90在细胞中起到一个分子伴侣的功能,具有ATP依赖性。当ATP与HSP90的N末端的ATP结合位点结合之后,HSP90的构象发生改变,形成由HSP90、客户蛋白和ATP结合在一起的复合物,客户蛋白在这种状态下处于比较稳定的状态,并且可以正常发挥功能,对刺激做出应答。并且,ATP水解成ADP之后,会引起HSP90构象发生变化,HSP90复合物释放出客户蛋白,经过泛素化-蛋白酶体途径进行降解。HSP90的客户蛋白有100多种,其中有很多蛋白跟细胞的生长和分化息息相关,包括BCRPABL融合基因、肿瘤细胞转移的信号传导分子如表皮生长因子-2、survivin、C2Raf、蛋白激酶B、polp样激酶-1、周期蛋白依赖性激酶-4、突变p53、类固醇激素受体、缺氧诱导因子-1和端粒末端转移酶端粒酶反转录酶等,HSP90具有保持这些客户蛋白构象的功能。抑制HSP90即可使得这些蛋白通过泛素化被降解,与此同时,还可以下调多种HSP90下游蛋白,调节多种细胞信号传导通路,抑制肿瘤生长和转移。

[0005] 临床研究表明,在肿瘤细胞中,HSP90处于活化态,因为肿瘤细胞中HSP90的客户蛋白被过分表达,引起HSP90的活性比起在正常细胞中高出很多,这也使得HSP90成为一个很有研究前景的抗肿瘤药物靶点。

[0006] 目前的HSP90抑制剂被分为三类:(1)N末端抑制剂;(2)C末端抑制剂;(3)中间域抑制剂。其中又以N末端抑制剂研究最多最深入。目前进入过临床研究的N末端抑制剂主要有格

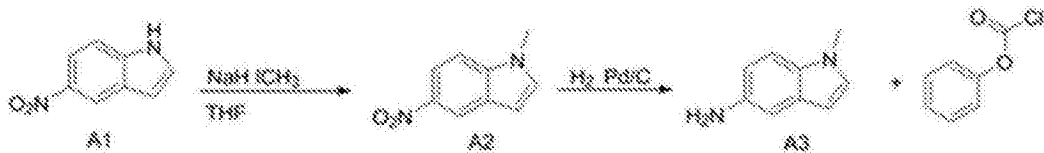
尔德霉素类及其衍生物和根赤壳菌素类及其衍生物。Ganetespib是根赤壳菌素的衍生物，属于第二代HSP90抑制剂。

[0007] Ganetespib是Synta制药公司研发的新药，为口服的小分子HSP90抑制剂，是根赤壳菌素的衍生物，是一种三氮唑类化合物，目前已经进入了临床三期，用于治疗非小细胞肺癌、血癌（急性白血病）。和第一类HSP90抑制剂——格尔德霉素及其衍生物相比，它的毒副作用大大降低（格尔德霉素具有很严重的肝毒性，影响了它的临床使用），并且大大提高了它与HSP90的结合亲和力，其化学名称是5-[2,4-二羟基-5-(1-甲基乙基)苯基]-2,4-二氢-4-(1-甲基-1H-吡唑-5-基)-3H-1,2,4-三唑-3-酮。

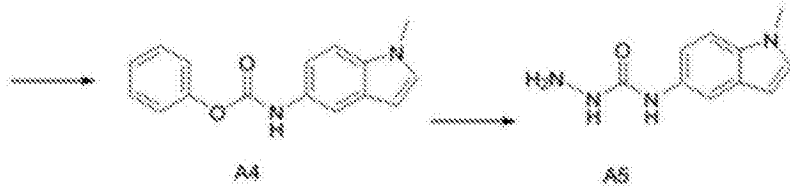
发明内容

[0008] 发明目的：针对上述技术问题，本发明提供了一种改进的HSP90抑制剂Ganetespib的制备方法。

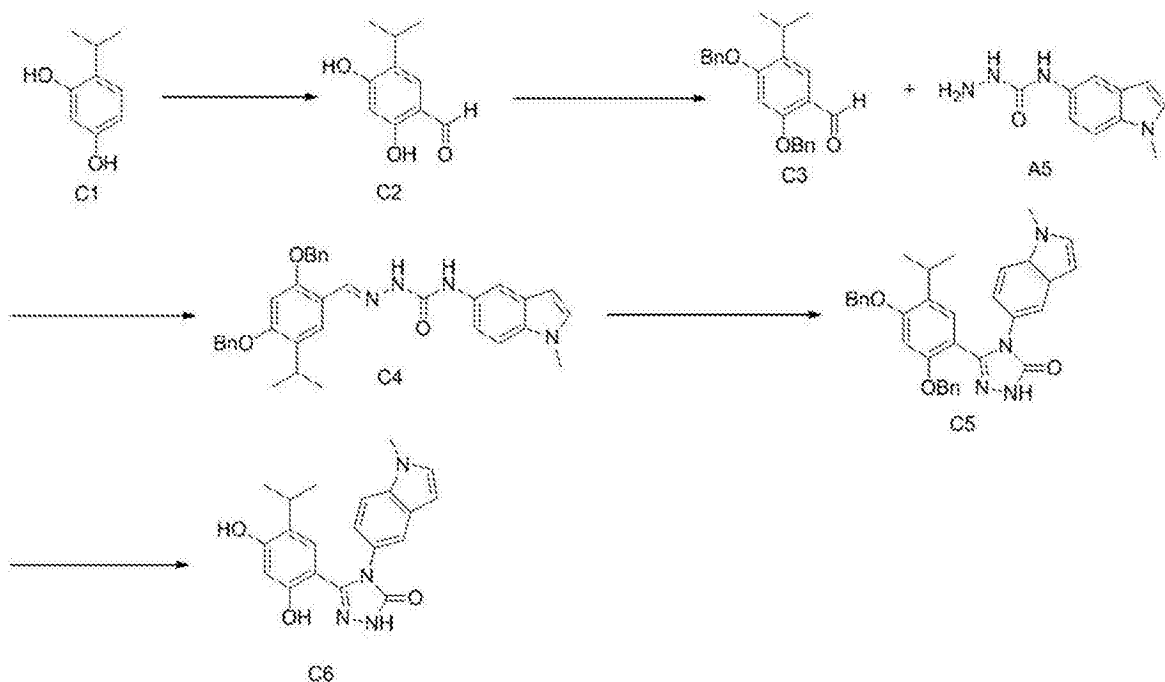
[0009] 技术方案：本发明提供了一种改进的HSP90抑制剂Ganetespib的制备方法，其特征在于，反应过程如下所示：



[0010]



[0011]



[0012] C6所示化合物即为所述HSP90抑制剂Ganetespib。

[0013] 所述A1制备A2的方法为:将5-硝基吲哚溶于有机溶剂中,缓慢滴加NaH的四氢呋喃悬浊液,室温反应1-3h,然后加入碘甲烷,室温搅拌过夜反应,得到A2。

[0014] 所述A2制备A3的方法为:将A2溶于有机溶剂,在Pd/C催化作用下和H₂反应,得到化合物A3。

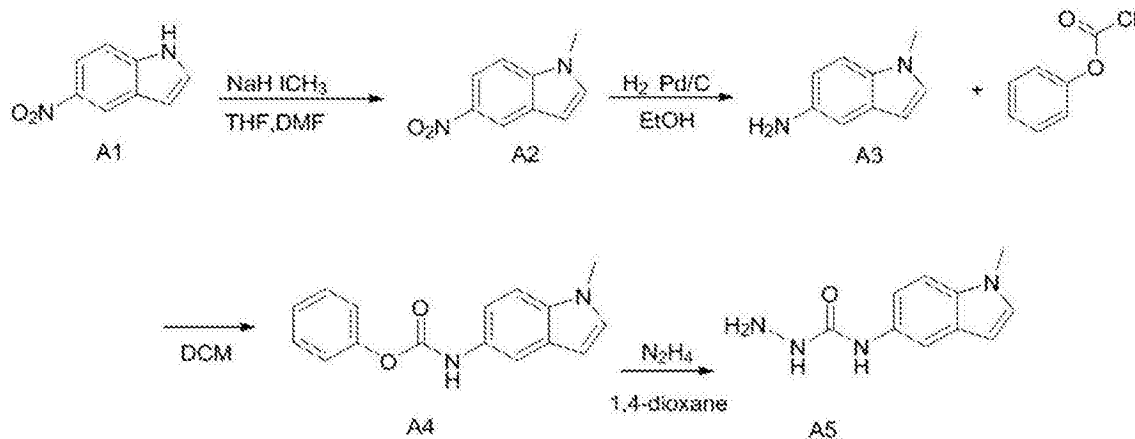
[0015] 所述C1制备C2的过程中,用HCl进行酸化时,HCl溶液的浓度为0.06-0.1mol/L。

[0016] 所述C2制备C3的过程中,苄基化所使用的试剂为溴苄BnBr。

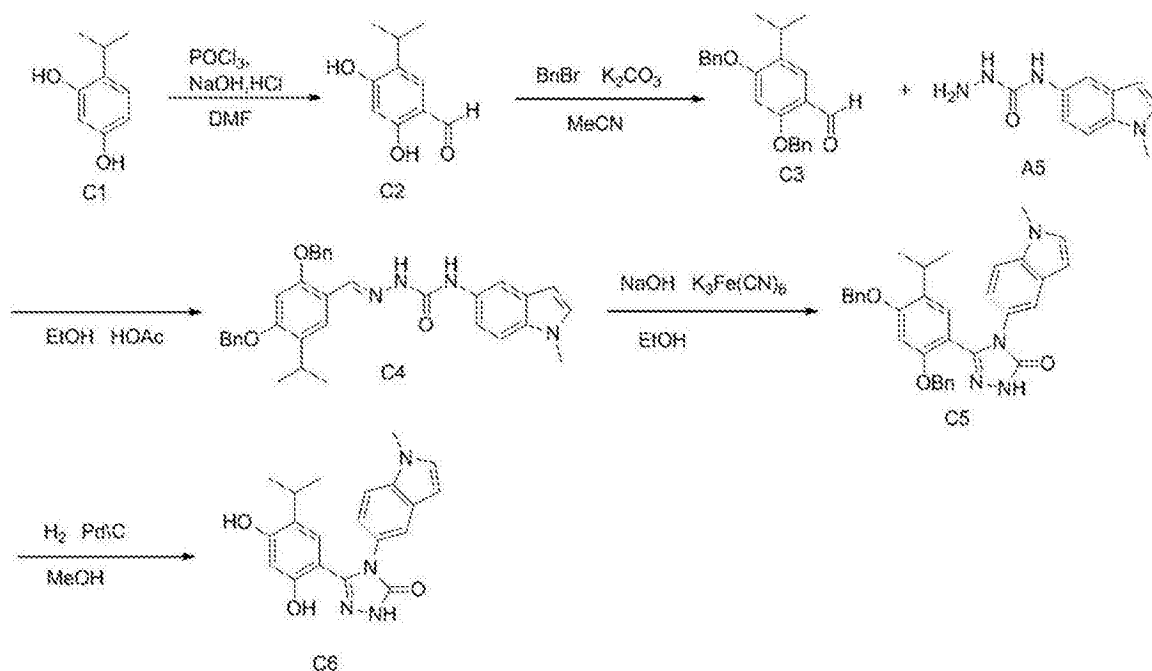
[0017] 所述C5制备C6的过程中,去苄基所使用的溶剂为甲醇。

[0018] 更具体的制备方法如下反应过程所示:

[0019]



[0020]



[0021] (1) 将5-硝基吲哚溶于有机溶剂中,缓慢滴加NaH的四氢呋喃悬浊液,室温反应一小时,然后加入碘甲烷,室温搅拌过夜反应,得到A2;

[0022] (2) 将A2溶于有机溶剂,在Pd/C催化作用下和H₂反应,得到化合物A3;

[0023] (3) 0℃下将氯甲酸苄酯溶于有机溶剂,缓慢滴加A3和三乙胺,得到化合物A4;

[0024] (4) 将A4溶于有机溶剂,加入水合肼,100℃下反应3h,得到化合物A5;

[0025] (5) 0℃将三氯氧磷缓慢滴加进有机溶剂,再缓慢加入C1,随后室温反应1h,升温至50℃反应1h,冷却,将混合物加入到NaOH溶液中,升温至75℃反应15min,随后加入酸进行酸化,得到固体沉淀,为化合物C2;

[0026] (6) 将C2和酚羟基保护化合物溶于有机溶剂,加入K₂CO₃,100℃下反应得到C3;

[0027] (7) 将C3溶于有机溶剂,加入乙酸,加入A5,随后80℃下反应1h,过滤得到沉淀,为化合物C4;

[0028] (8) 将C4溶于有机溶剂,加入K₃Fe(CN)₆和NaOH,80℃下催化反应8h,过滤掉沉淀,得到C5;

[0029] (9) 将C5溶于有机溶剂,在Pd/C催化作用下和H₂室温反应5h得到C6;

[0030] 在步骤1中,所述有机溶剂选自N,N-二甲基甲酰胺、N,N-二乙基甲酰胺和四氢呋喃中的一种或者几种。

[0031] 在步骤2中,所述有机溶剂选自甲醇、乙醇、乙酸乙酯、四氢呋喃、甲基叔丁基醚、乙醚中的一种或者几种。

[0032] 在步骤2中,反应温度为30℃到60℃。

[0033] 在步骤3中,所述有机溶剂选自二氯甲烷、二氯乙烷、乙酸乙酯、乙腈中的一种或者几种。

[0034] 在步骤4中,所述有机溶剂选自苯、二甲苯、1,4-二氧六环、甲基叔丁基醚、乙醚中的一种或者几种。

[0035] 在步骤5中,所述有机溶剂为N,N-二甲基甲酰胺。

[0036] 在步骤5中,所用的酸为盐酸、乙酸、硫酸中的一种或者几种,优选浓度为0.06-0.1mol/L的盐酸。

[0037] 在步骤5中,酸化应在0℃下进行,并搅拌足够长时间。

[0038] 在步骤6中,所述有机溶剂为乙腈、N,N-二甲基甲酰胺、苯、甲苯、1,4-二氧六环、二氯甲烷中的一种或者几种。

[0039] 在步骤6中,选用的酚羟基保护化合物为氯化苄、溴化苄中的其中一种,优选溴化苄。

[0040] 在步骤7中,所述有机溶剂为乙醇、甲醇、二氯甲烷、甲苯、二甲基甲酰胺中的一种或是几种。

[0041] 在步骤8中,所述有机溶剂为乙醇、甲醇、二甲基甲酰胺、二氯甲烷、甲苯、二甲基亚砷中的一种或者几种。

[0042] 在步骤9中,所述有机溶剂为甲醇、乙醇、二甲基甲酰胺、四氢呋喃、乙醚、甲基叔丁基醚、二甲基亚砷中的一种或是几种,优选甲醇。

[0043] 技术效果:相对于现有技术,本发明具有以下技术优势:

[0044] 1、本发明将原料由1-甲基-5-氨基吡啶换成了5-硝基吡啶,并由5-硝基吡啶制取1-甲基-5-氨基吡啶,相当于延长了路线。由于1-甲基-5-氨基吡啶价格较贵,并且本身的形状是黑色的油状物,不易保存,宜现制现用。路线分为两步,第一步是上甲基,第二步是硝基的还原氨化,这两步经过多次实验,可以达到95%以上的产率,尤其是第一步,产率高达100%,大大降低了成本;

[0045] 2、由C1制取C2的过程中,现有技术中最后一步需要用浓度1mol/L左右的HCl进行

酸化,但是本发明采用0.1mol/L以下的HCl溶液,最佳浓度在0.08mol/L左右,此时产率达到95%左右,大大提高了产率,降低了成本;

[0046] 3、由C2制取C3的过程中,本发明将原料由原来的氯苄换成了溴苄,相比之下溴苄的毒性更小,并且活性相对于氯苄更高,能够更有效保护酚羟基,提高产率;

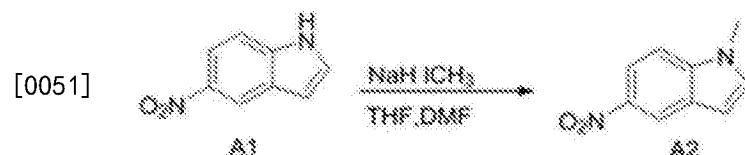
[0047] 4、最后一步去苄基的反应中,将现有技术中常用的溶剂四氢呋喃换成了甲醇,发现产率大大提高,且有效降低毒性。

具体实施方式

[0048] 下面结合具体实例,进一步阐明本发明,应理解这些实例仅用于说明本发明而不适用于限制本发明的范围,在阅读了本发明之后,本领域技术人员对本发明的各种等价形式的修改均落于本申请所附权利要求所限定的范围。

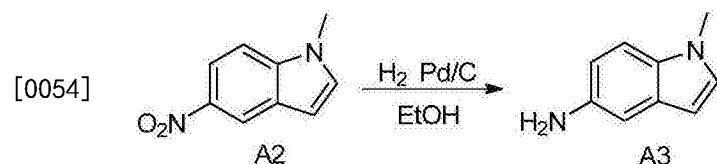
[0049] 实施例1

[0050] (1) 制备化合物A2



[0052] 将A1 (10.0g, 61.7mmol) 溶于100ml N,N-二甲基甲酰胺中,缓缓滴加NaH (2.7g, 112.5mmol) 的四氢呋喃悬浊液,室温条件下反应1小时,加入4.3ml碘甲烷,室温下搅拌反应过夜,反应结束后,先用1L饱和氯化铵溶液洗涤,用500ml乙酸乙酯萃取得到有机层,然后依次用400ml 5%的氯化钾溶液、1L水和1L盐水洗涤,有机层加入无水硫酸镁,干燥过夜,除去溶剂,得到10.9gA2,这一步产率100%,可以完全转化为目标产物;

[0053] (2) 制备化合物A3



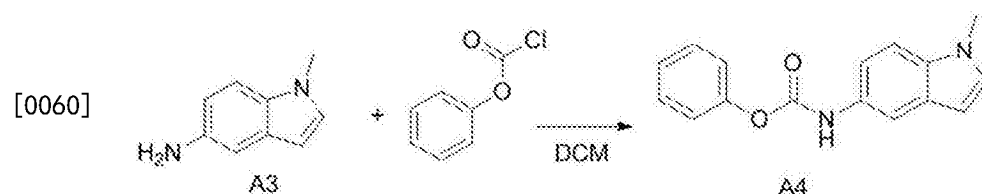
[0055] 将A2 (1.0g, 5.7mmol) 溶于乙醇,在50℃下用Pd/C催化和H₂反应5小时,过滤掉催化剂,除去溶剂得到0.85gA3,这一步产率为95.5%,无需进一步纯化;

[0056] 目标化合物A3的HNMR的数据如下

[0057] H-NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ:

[0058] 6.24 (s, 1H), 6.22 (d, J=1.86, 1H), 5.81 (d, J=1.14, 1H), 5.65 (dd, J₁=1.2, J₂=1.2, 1H), 5.24 (d, J=1.71, 1H), 3.59 (s, 2H), 2.81 (s, 3H);

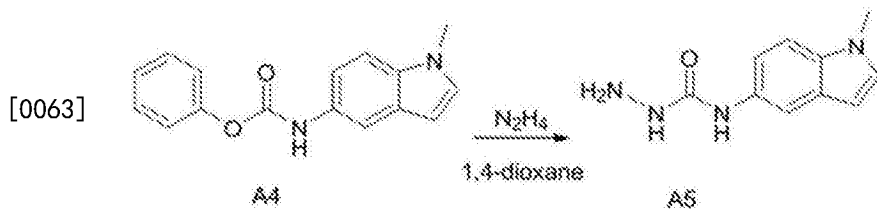
[0059] (3) 制备化合物A4



[0061] 将氯甲酸苯酯 (1.56g, 10mmol) 溶于4ml二氯甲烷,在0℃下往溶液里缓慢滴加A3 (1.46g, 10mmol) 的二氯甲烷 (4ml) 溶液,一边加一边搅拌,加完后0℃反应10分钟,再缓慢滴

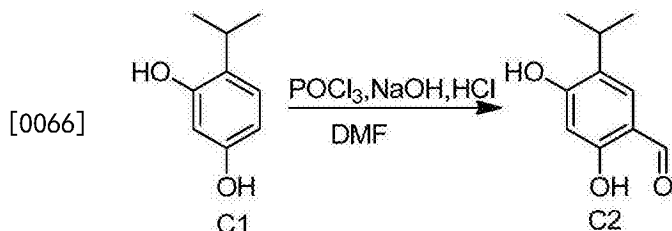
加入三乙胺 (1.64ml, 12.5mmol) 的二氯甲烷 (2ml) 溶液, 反应15分钟, 反应完成后, 加入50ml水和50ml二氯甲烷, 萃取两到三遍, 向有机层加入无水硫酸镁干燥, 后除去溶剂, 得到2.55gA4, 这一步产率95.9%, 但是需要经过柱层析纯化, 得到白色固体;

[0062] (4) 制备化合物A5



[0064] 将A4 (2.0g, 7.5mmol) 溶于10ml 1,4-二氧六环, 加入水合肼 (1.9ml, 37.5mmol), 102℃下反应3到4个小时, 点板确认反应完成, 除去溶剂, 冷却有固体析出, 得到1.65gA5, 这一步产率为96.5%, 无需柱层析纯化;

[0065] (5) 制备化合物C2

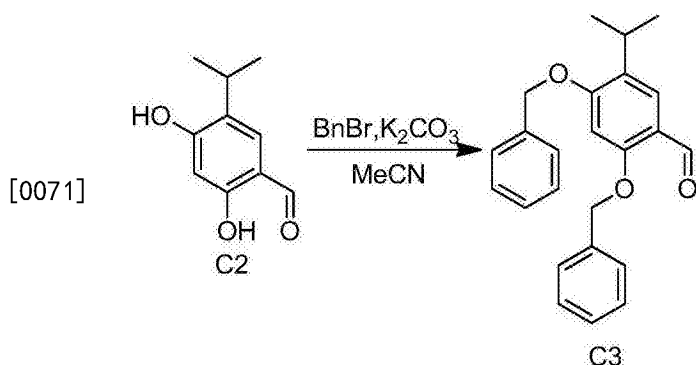


[0067] 0℃下将3.49ml (37.5mmol) POCl3缓慢滴加到7.88DMF中, 然后将2.28g (15mmol) C1溶于2.5mlDMF中, 缓慢滴加到混合液中, 随后室温反应1h, 随后50℃下反应1h, 冷却至室温, 加入14%的NaOH (7g, 50ml) 溶液, 搅拌, 得到红色溶液, 再将反应温度升高至75℃, 反应15min, 随后冷却至室温, 在0℃下用0.08mol/L稀盐酸溶液酸化, 至pH2-3, 溶液变为黄色, 继续搅拌1h左右, 有大量棕褐色固体析出, 过滤得到固体2.68g, 为目标产物C2, 产率99%。

[0068] ¹H-NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ:

[0069] 9.91 (s, 1H), 7.43 (s, 1H), 6.38 (s, 1H), 3.07 (m, 1H), 1.14 (d, J=6.9, 6H)

[0070] (6) 制备化合物C3



[0072] 将1.8g (1mmol) C2溶于10ml乙腈, 加入1.1g (8mmol) K₂CO₃, 加入0.43g (2.5mmol) 溴苯, 回流反应1.5h, 冷却, 过滤除去滤渣, 得到淡黄色溶液, 通过硅胶柱层析法 (石油醚: 乙酸乙酯=8:1) 进行分离, 得到淡黄色固体3.52g, 为目标产物C3, 产率98%

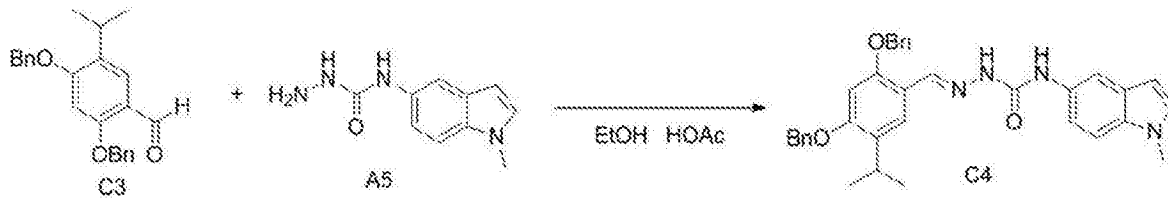
[0073] ¹H-NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ:

[0074] 11.07 (s, 1H), 7.63 (s, 1H), 7.47 (s, 4H), 7.42 (s, 2H), 7.37 (s, 2H), 7.35 (s, 2H),

6.92 (s, 1H) , 5.25 (s, 4H) , 3.22 (m, 1H) , 1.16 (d, J=6.81, 6H)

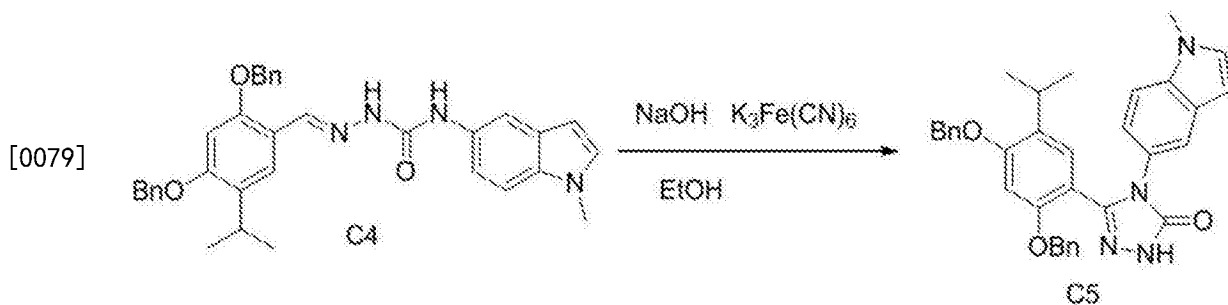
[0075] (7) 制备化合物C4

[0076]



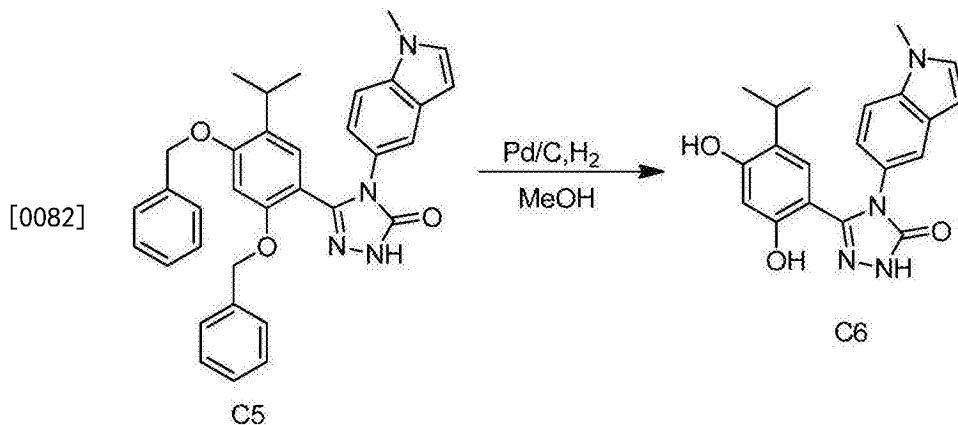
[0077] 将1g (3mmol) C3溶于10ml乙醇,加入0.1ml冰醋酸,室温搅拌下向溶液中缓缓加入0.61g (3mmol) A5,随后将反应移至80℃油浴反应1小时,如果过程中搅拌有困难,需要继续加入溶剂,反应结束后过滤得到白色固体为所需要的产物,用乙醇和甲基叔丁基醚洗涤,得到1.16g C4,这一步产率为70.9%;

[0078] (8) 制备化合物C5



[0080] 将2g (3.7mmol) C4溶于10ml乙醇,形成悬浊液,加入3.65g (11.1mmol) K₃Fe(CN)₆和0.74g (18.5mmol) NaOH, 100℃下回流反应8小时,TLC监测反应已完成,过滤掉无机物残渣,除去溶剂,柱层析纯化,得到1.89g C5,产率在95%左右。

[0081] (9) 制备化合物C6



[0083] 将0.55g (1mmol) C5溶于10ml甲醇,加入0.05g Pd/C,在室温和H₂氛围中反应3h,用硅胶柱层析法进行提纯,得到白色固体0.36g,为目标产物C6,产率99%。

[0084] ¹H-NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ:

[0085] 11.82 (s, 1H) , 9.48 (s, 1H) , 9.40 (s, 1H) , 7.41 (d, J=3.96, 2H) , 7.37 (d, J=1.77, 1H) , 6.94-6.92 (m, 1H) , 6.75 (s, 1H) , 6.41 (d, J=1.59, 1H) , 6.21 (s, 1H) , 3.78 (s, 3H) , 2.94-2.88 (m, 1H) , 0.86 (d, J=4.11, 6H) ;

[0086] 对比例1:

[0087] 按照现有技术,即参照实施例1方法,去掉步骤1和2,直接用化合物A3(1-甲基-5-氨基吡啶)进行后续反应,且C1制备C2的过程中,用浓度1mol/L的HCl进行酸化,;由C2制取C3的过程中,用氯苄保护酚羟基;最后一步去苄基的反应中,溶剂选择常用的四氢呋喃,其他方法均相同,最终结果可得,目标产物C6的产率仅为82.5%。

[0088] 对比例2:

[0089] 参照对比例1方法,不同之处仅在于如下:C1制备C2的过程中,用浓度0.08mol/L的HCl进行酸化,最终结果可得,目标产物C6的产率仅为85.4%。

[0090] 对比例3:

[0091] 参照对比例1方法,不同之处仅在于如下:由C2制取C3的过程中,用溴苄保护酚羟基,最终结果可得,目标产物C6的产率仅为85.8%。

[0092] 对比例4:

[0093] 参照对比例1方法,不同之处仅在于如下:C1制备C2的过程中,用浓度0.08mol/L的HCl进行酸化,由C2制取C3的过程中,用溴苄保护酚羟基,最终结果可得,目标产物C6的产率为95.2%。

[0094] 由上述对比例可以看出,在现有技术的基础上,仅在C1制备C2的过程中,用浓度0.08mol/L的HCl进行酸化,或者仅在C2制取C3的过程中,用溴苄保护酚羟基,最终所得目标产物C6的产率仅有限提高,几乎可以忽略;而同时改变上述两个条件,则目标产物C6的产率大大提高,表明上述两个条件具有协同作用,缺一不可,对于本发明改进具有实质性影响。