



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107987090 A

(43)申请公布日 2018.05.04

(21)申请号 201711370612.X

(22)申请日 2017.12.19

(71)申请人 杨文思

地址 233500 安徽省亳州市蒙城县城关镇  
中西医结合医院对面食品城

(72)发明人 杨文思

(51)Int. Cl.

C07D 495/04(2006.01)

A61P 33/06(2006.01)

权利要求书2页 说明书4页

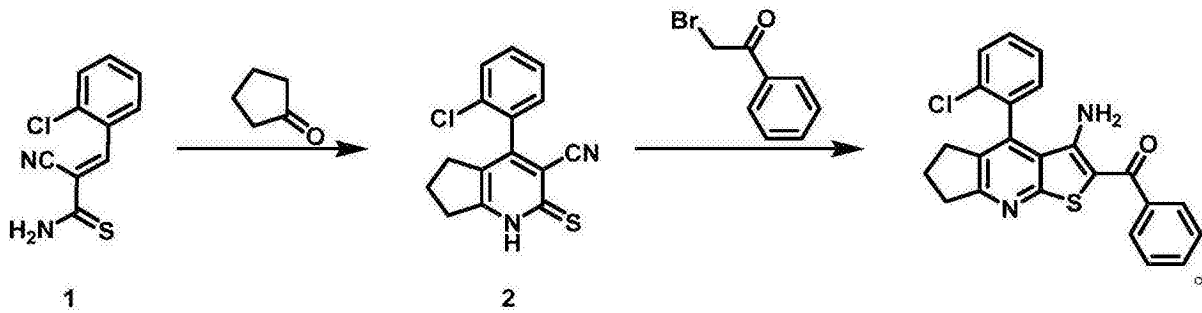
(54)发明名称

一种用于治疗疟疾的恶性疟原虫糖原合成酶激酶-3抑制剂的合成方法

(57)摘要

本发明公开了一种用于治疗疟疾的恶性疟原虫糖原合成酶激酶-3抑制剂的合成工艺。本发明所用的合成条件和方法,操作简单,生产周期较短,可以较大规模的制备恶性疟原虫糖原合成酶激酶-3抑制剂3-氨基-4-(2-氯甲基)-6,7-二氢-5H-环戊烯[b]噻吩并[3,2-e]吡啶-2-基苯基甲酮。

1. 一种用于治疗疟疾的恶性疟原虫糖原合成酶激酶-3抑制剂的合成方法,其特征在于所述工艺的路线如下:



2. 如权利要求1所述用于治疗疟疾的恶性疟原虫糖原合成酶激酶-3抑制剂的合成方法,其特征在于4-(2-氯苯基)-3-氰基-1,5,6,7-四氢-2H-环戊[b]吡啶-2-硫酮2的合成条件为:

将环戊酮、碱B1和溶剂S1混合,加热至60-80℃下搅拌1-2小时;

向体系中加入(E)-3-(2-氯苯基)-2-氰基硫代丙烯酰胺1,搅拌2-5小时;

降温至室温,过滤得到4-(2-氯苯基)-3-氰基-1,5,6,7-四氢-2H-环戊[b]吡啶-2-硫酮2;

其中碱B1选自三乙胺、二异丙基乙基胺、吡啶、哌啶或N-甲基吗啉,其用量与(E)-3-(2-氯苯基)-2-氰基硫代丙烯酰胺1的摩尔用量比为0.1-2:1;

溶剂S1选自二甲基甲酰胺、二氧六环、四氢呋喃、乙醚或二氯甲烷,其用量与(E)-3-(2-氯苯基)-2-氰基硫代丙烯酰胺1的体积用量比为1-20:1;

环戊酮的用量与(E)-3-(2-氯苯基)-2-氰基硫代丙烯酰胺1的摩尔用量比为1-3:1。

3. 如权利要求2所述的用于治疗疟疾的恶性疟原虫糖原合成酶激酶-3抑制剂的合成方法,其特征在于碱B1是三乙胺、吡啶或哌啶。

4. 如权利要求2所述的用于治疗疟疾的恶性疟原虫糖原合成酶激酶-3抑制剂的合成方法,其特征在于溶剂S1是二甲基甲酰胺、四氢呋喃或二氧六环。

5. 如权利要求1所述的用于治疗疟疾的恶性疟原虫糖原合成酶激酶-3抑制剂的合成方法,其特征在于所述的用于治疗疟疾的恶性疟原虫糖原合成酶激酶-3抑制剂的合成条件为:

所述的用于治疗疟疾的恶性疟原虫糖原合成酶激酶-3抑制剂为3-氨基-4-(2-氯甲基)-6,7-二氢-5H-环戊烯[b]噻吩并[3,2-e]吡啶-2-基苯基甲酮;

将4-(2-氯苯基)-3-氰基-1,5,6,7-四氢-2H-环戊[b]吡啶-2-硫酮2、 $\alpha$ -溴苯乙酮、碱B2和溶剂S2混合,于10-50℃下搅拌10-30分钟;

向体系中加入溶剂S3,搅拌1-2小时,过滤得到3-氨基-4-(2-氯甲基)-6,7-二氢-5H-环戊烯[b]噻吩并[3,2-e]吡啶-2-基苯基甲酮;

其中碱B2选自碳酸钠、碳酸钾、氢氧化钠、氢氧化钾或氢化钠,其用量与4-(2-氯苯基)-3-氰基-1,5,6,7-四氢-2H-环戊[b]吡啶-2-硫酮2的摩尔用量比为1-5:1;

$\alpha$ -溴苯乙酮的用量与4-(2-氯苯基)-3-氰基-1,5,6,7-四氢-2H-环戊[b]吡啶-2-硫酮2的摩尔用量比为1-5:1;

溶剂S2选自二甲基甲酰胺、二甲基乙酰胺、水、乙醇、甲醇或其混合溶剂,其用量与4-

(2-氯苯基)-3-氰基-1,5,6,7-四氢-2H-环戊[b]吡啶-2-硫酮2的体积用量比为1-20:1;

溶剂S3选自水、甲苯、四氢呋喃、乙酸乙酯或正庚烷,其用量与4-(2-氯苯基)-3-氰基-1,5,6,7-四氢-2H-环戊[b]吡啶-2-硫酮2的体积用量比为1-20:1。

6. 如权利要求5所述的用于治疗疟疾的恶性疟原虫糖原合成酶激酶-3抑制剂的合成方法,其特征在于碱B2是碳酸钾、氢氧化钾或氢化钠。

7. 如权利要求5所述的用于治疗疟疾的恶性疟原虫糖原合成酶激酶-3抑制剂的合成方法,其特征在于溶剂S2是二甲基甲酰胺、水、乙醇或其混合溶剂。

8. 如权利要求5所述的用于治疗疟疾的恶性疟原虫糖原合成酶激酶-3抑制剂的合成方法,其特征在于溶剂S3是甲苯、水或正庚烷。

## 一种用于治疗疟疾的恶性疟原虫糖原合成酶激酶-3抑制剂的合成方法

### 技术领域

[0001] 本发明领域属于药物合成领域,具体涉及一种用于治疗疟疾的恶性疟原虫糖原合成酶激酶-3抑制剂3-氨基-4-(2-氯甲基)-6,7-二氢-5H-环戊烯[b]噻吩并[3,2-e]吡啶-2-基苯基甲酮的合成工艺。

### 背景技术

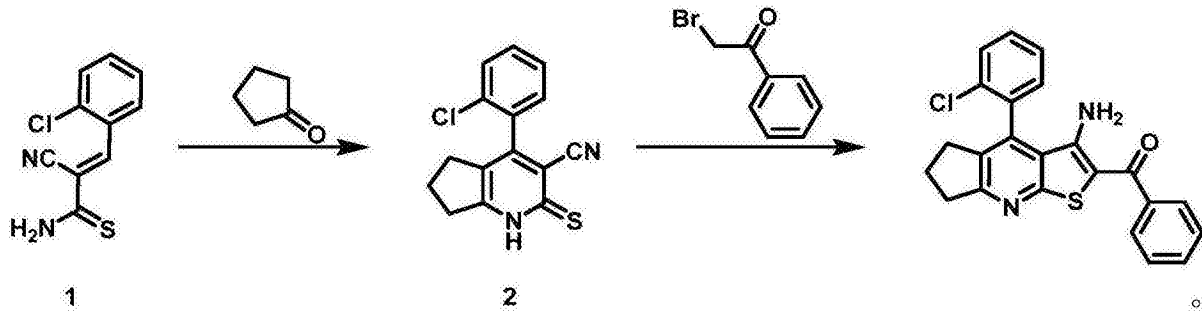
[0002] 疟疾是世界上最严重的传染病之一,主要影响发展中国家的贫困人口,特别是热带非洲国家的幼儿受到恶性疟原虫的威胁。恶性疟原虫是导致疟疾最具毒性的寄生虫。虽然使用杀虫剂处理的蚊帐导致了几个国家的感染数量大幅度减少,但2009年仍有2.25亿例疟疾病例报告,其中77.1万例死亡。疟疾治疗的一个主要问题是有限数量的合适药物和抗药性的发展。虽然较大的药物如氯喹或乙胺嘧啶在大多数流行地区由于耐药性而对恶性疟原虫变得无效,但目前的标准疗法由与第二种抗血浆药联合的青蒿素衍生物组成。最近报导的恶性疟原虫对柬埔寨-泰国边界青蒿素的敏感性下降令人担忧。青蒿素耐药性的进一步传播可能损害近年来在抗疟疾方面取得的进展。因此,迫切需要额外的抗疟疾药物,理想地应该对新的生物靶标和/或应该代表新的化学型。对来自葛兰素史克公司库存的近200万种化合物进行了体外培养的恶性疟原虫的筛选,其中13000多种化合物以2 $\mu$ M的浓度抑制了寄生虫的生长。有趣的是,与所有筛选的化合物相比,命中化合物组中可能通过抑制蛋白激酶起作用的分子的比例相当高。因此,蛋白激酶抑制剂在未来可能是抗疟疾药物的主要来源。虽然恶性疟原虫糖原合成酶激酶-3 (PfGSK-3)的生物学功能尚未确定,但PfGSK-3被证明是完成寄生虫的无性红细胞循环的必需酶,因此被认为是有效的抗疟药物靶标。故开发一种新颖的、可以有效抑制恶性疟原虫糖原合成酶激酶-3 (PfGSK-3)的生物活性的化合物,对治疗疟疾具有很大的意义,同时也具有广阔的市场前景;本专利所述的化合物是对哺乳动物 PfGSK-3具有一定程度选择性的小分子PfGSK-3抑制剂,具有治疗疟疾的潜在应用。

### 发明内容

[0003] 本发明提供的化合物3-氨基-4-(2-氯甲基)-6,7-二氢-5H-环戊烯[b]噻吩并[3,2-e]吡啶-2-基苯基甲酮能抑制恶性疟原虫糖原合成酶激酶-3,具有治疗疟疾的潜在应用。为了能进一步展开对恶性疟原虫糖原合成酶激酶-3抑制剂3-氨基-4-(2-氯甲基)-6,7-二氢-5H-环戊烯[b]噻吩并[3,2-e]吡啶-2-基苯基甲酮后续的药学试验,本发明提供了一种能较大规模的制备3-氨基-4-(2-氯甲基)-6,7-二氢-5H-环戊烯[b]噻吩并[3,2-e]吡啶-2-基苯基甲酮,并且其纯度能满足后续试验的要求。

[0004] 本发明采用如下的路线合成用于治疗疟疾的恶性疟原虫糖原合成酶激酶-3抑制剂3-氨基-4-(2-氯甲基)-6,7-二氢-5H-环戊烯[b]噻吩并[3,2-e]吡啶-2-基苯基甲酮,所述工艺的路线如下:

[0005]



[0006] 4-(2-氯苯基)-3-氰基-1,5,6,7-四氢-2H-环戊[b]吡啶-2-硫酮2的合成条件为:

[0007] 将环戊酮(1-3当量)、碱B1(0.1-2当量)和溶剂S1(1-20 倍体积)混合,加热至60-80℃下搅拌1-2小时;向体系中加入(E)-3-(2-氯苯基)-2-氰基硫代丙烯酰胺1,搅拌2-5小时,降温至室温,过滤得到4-(2-氯苯基)-3-氰基-1,5,6,7-四氢-2H-环戊[b]吡啶-2-硫酮2。

[0008] 碱B1选自三乙胺、二异丙基乙基胺、吡啶、哌啶或N-甲基吗啉;优选的碱B1是三乙胺、吡啶或哌啶。

[0009] 溶剂S1选自二甲基甲酰胺、二氧六环、四氢呋喃、乙醚或二氯甲烷;优选的溶剂S1是二甲基甲酰胺、四氢呋喃或二氧六环。

[0010] 3-氨基-4-(2-氯甲基)-6,7-二氢-5H-环戊烯[b]噻吩并[3,2-e]吡啶-2-基苯基甲酮的合成条件为:

[0011] 将4-(2-氯苯基)-3-氰基-1,5,6,7-四氢-2H-环戊[b]吡啶-2-硫酮2、 $\alpha$ -溴苯乙酮(1-5当量)、碱B2(1-5当量)和溶剂S2(1-20倍体积)混合,于10-50℃下搅拌10-30分钟;向体系中加入溶剂S3(1-20 倍体积),搅拌1-2小时,过滤得到3-氨基-4-(2-氯甲基)-6,7-二氢-5H-环戊烯[b]噻吩并[3,2-e]吡啶-2-基苯基甲酮。

[0012] 碱B2选自碳酸钠、碳酸钾、氢氧化钠、氢氧化钾或氢化钠;优选的碱B2是碳酸钾、氢氧化钾或氢化钠,最优选的碱B2是氢氧化钾。

[0013] 溶剂S2选自二甲基甲酰胺、二甲基乙酰胺、水、乙醇、甲醇或其混合溶剂;优选的溶剂S2是二甲基甲酰胺、水、乙醇或其混合溶剂。

[0014] 溶剂S3选自水、甲苯、四氢呋喃、乙酸乙酯或正庚烷;优选的溶剂S3是甲苯、水或正庚烷。

[0015] 本发明的原理:

[0016] (E)-3-(2-氯苯基)-2-氰基硫代丙烯酰胺1与环戊酮发生环化反应,得到4-(2-氯苯基)-3-氰基-1,5,6,7-四氢-2H-环戊[b]吡啶-2-硫酮2。随后,4-(2-氯苯基)-3-氰基-1,5,6,7-四氢-2H-环戊[b]吡啶-2-硫酮2在氢氧化钾作用下与 $\alpha$ -溴苯乙酮反应,得到3-氨基-4-(2-氯甲基)-6,7-二氢-5H-环戊烯[b]噻吩并[3,2-e]吡啶-2-基苯基甲酮;

[0017] 本发明所用的合成条件和方法,操作简单,生产周期较短,可以较大规模的制备恶性疟原虫糖原合成酶激酶-3抑制剂3-氨基-4-(2-氯甲基)-6,7-二氢-5H-环戊烯[b]噻吩并[3,2-e]吡啶-2-基苯基甲酮,为后续的药学试验提供足够的3-氨基-4-(2-氯甲基)-6,7-二氢-5H-环戊烯[b]噻吩并[3,2-e]吡啶-2-基苯基甲酮。

## 具体实施方式

[0018] 下面结合具体实施例对本发明作进一步说明：

### [0019] 实施例1

[0020] 4-(2-氯苯基)-3-氰基-1,5,6,7-四氢-2H-环戊[b]吡啶-2-硫酮2的合成条件为：

[0021] 将环戊酮(34.5g)、哌啶(12.7g)和二甲氧六环(350mL)混合,加热至60-80℃下搅拌1-2小时;向体系中加入(E)-3-(2-氯苯基)-2-氰基硫代丙烯酰胺1(83.0g),搅拌2-5小时,降温至室温,过滤得到4-(2-氯苯基)-3-氰基-1,5,6,7-四氢-2H-环戊[b]吡啶-2-硫酮2(89.4g, 84%)。

[0022] m.p.:234-238℃;IR(KBr):3225cm<sup>-1</sup>(NH),2925cm<sup>-1</sup>and 2861cm<sup>-1</sup>(脂肪族CH),2231cm<sup>-1</sup>(C≡N);<sup>1</sup>H NMR(DMSO-d<sub>6</sub>,500MHz):δ(ppm)=1.55-1.66(m,2H,CH<sub>2</sub>),1.90-1.99(m,2H,CH<sub>2</sub>),2.75-2.85(m,2H,CH<sub>2</sub>),7.25(m,1H,ArH),7.31(m,2H,ArH),7.58(m,2H,ArH),8.02(m,1H,ArH),14.14(brs,1H,NH);<sup>13</sup>C NMR(DMSO-d<sub>6</sub>,125MHz):δ(ppm)=20.3,24.8,27.0,128.0,128.9,130.7,138.9,96.3,113.9,115.6,120.1,140.0,152.9,159.0,175.4.m/z(MS-ESI):287.65[M+1]<sup>+</sup>。

[0023] 3-氨基-4-(2-氯甲基)-6,7-二氢-5H-环戊烯[b]噻吩并[3,2-e]吡啶-2-基苯基甲酮的合成条件为：

[0024] 将4-(2-氯苯基)-3-氰基-1,5,6,7-四氢-2H-环戊[b]吡啶-2-硫酮2(75.2g)、α-溴苯乙酮(104.3g)、氢氧化钾(36.7g)和二甲基甲酰胺:水(体积比10:1,400mL)混合,于10-50℃下搅拌10-30分钟;向体系中加入水(400mL),搅拌1-2小时,过滤得到3-氨基-4-(2-氯甲基)-6,7-二氢-5H-环戊烯[b]噻吩并[3,2-e]吡啶-2-基苯基甲酮(82.6g, 78%)。

[0025] m.p.:211-212℃;IR(KBr):3469cm<sup>-1</sup>(NH),2928cm<sup>-1</sup>(脂肪族CH);<sup>1</sup>H NMR(DMSO-d<sub>6</sub>,500MHz):δ(ppm)=1.66-1.77(m,2H,CH<sub>2</sub>),1.79-1.88(m,2H,CH<sub>2</sub>),2.97-3.06(m,2H,CH<sub>2</sub>),6.56(brs,2H,NH<sub>2</sub>),7.36(m,1H,ArH),7.45(m,1H,ArH),7.60-7.62(m,2H,ArH),7.67(m,2H,ArH),7.77-7.79(m,2H,ArH),8.15(d,1H,ArH);<sup>13</sup>C NMR(DMSO-d<sub>6</sub>,125MHz):δ(ppm)=25.8,33.1;128.5,128.7,129.1,129.4,131.0,139.3;98.4,102.3,119.1,126.6,135.7,139.2,139.3,148.2,150.3,158.7,161.2,187.4;HPLC:97.1%at 254nm and 97.3%at 280nm;m/z(MS-ESI):405.49[M+1]<sup>+</sup>。

### [0026] 实施例2激酶分析

[0027] 通过将蛋白质与缓冲液A(pH7.5,10mM MgCl<sub>2</sub>,1mM EGTA,1mM DTT,25mM Tris/HCl,pH7.5,50μg/mL肝素,0.15mg/mL BSA)中的40μM GS-1肽底物(YRRAAVPPSPSLSRHSSPHQpSEDEEE,其中pS代表磷酸化丝氨酸;Proteogenix,Oberhausbergen,法国)在15μM γ-<sup>33</sup>P-ATP存在下,终体积为30μL,一起温育,用于测量重组激酶的活性。除了DdGSK3(室温下30分钟)之外,在30℃温育30分钟后,将25μL反应物点在Whatman P81磷酸纤维素纸上。在1%的磷酸溶液中将过滤器洗涤5次(每次至少5分钟)。在1mL ACS(Amersham)闪烁液存在下计数湿滤器。扣除空白值,并将活性计算为在30分钟温育期间掺入的皮摩尔磷酸盐。活性通常表示为最大活性的百分比,即在不存在抑制剂的情况下。对照用适当稀释的二甲基亚砷进行。对于在10μM显示抑制活性的分子,进行剂量-反应曲线以计算IC<sub>50</sub>值。

[0028] 实施例3体外抗疟活性测定

[0029] 使用来自染色体基因座的hrp2启动子(NF54:LUC)稳定表达萤光素酶基因的恶性疟原虫红细胞期。这些寄生虫组成型表达高水平的萤光素酶。将20mL总体积的培养物在75mL组织培养瓶(Costar brand, NUNC,Denmark)中培养。当达到3%的寄生虫血症时,将培养基吸出,并将100 $\mu$ L的25%血细胞比容培养的寄生虫多道移液管移至96孔无菌板(每孔100 $\mu$ L)。在含有1%DMSO(10 $\mu$ M,100 $\mu$ L/孔)的完全 RPMI-1640中稀释的药物加入到每个孔中。每种药物一式三份进行测试。作为对照(NF54:LUC)在常规培养基中不含药物的三个孔和另外三个(NF54:LUC)仅暴露于1%DMSO的孔接种。用不表达萤光素酶的 NF54“野生型”寄生虫接种另外3个孔并用作“空白”。将板在密封的培养室中孵育48小时(37 $^{\circ}$ C,90%N<sub>2</sub>,5%CO<sub>2</sub>和5%O<sub>2</sub>)。48小时后,取出100 $\mu$ L培养基,加入Bright-Glo萤光素酶测定系统(100 $\mu$ L/孔, Promega,MT)裂解缓冲液裂解红细胞并在室温下孵育5分钟。将100 $\mu$ L 体积转移到不透明的96孔平底板(Costar brand,NUNC,Denmark)中进行萤光素酶测定,其余的在-20 $^{\circ}$ C冷冻。将100 $\mu$ L体积的Bright-Glo 底物加入到每个孔中,使用酶标仪(Fluoroskan Ascent,Thermo Labsystems,Finland)在5分钟后测量发光。然后进行滴定以确定如上所述的最活性化合物的IC<sub>50</sub>。

[0030]

化合物	Pf GSK-3			(SsGSK-3)
	IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	inhibition at 15 $\mu$ M (%)	EC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)
本发明化合物	0.13	100.0 ( $\pm$ 0.0)	3.7 (2.7-5.0)	0.4
control (DMSO)	not tested	0.0( $\pm$ 9.6)	not tested	not tested