



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108623570 A

(43)申请公布日 2018.10.09

(21)申请号 201810227190.9

(22)申请日 2018.03.20

(66)本国优先权数据

201710167944.1 2017.03.21 CN

(71)申请人 南京圣和药业股份有限公司

地址 210038 江苏省南京市经济技术开发区惠中路9号

(72)发明人 赵立文 储刚 王志强 罗放

于振磊

(51)Int.Cl.

C07D 403/14(2006.01)

G01N 30/02(2006.01)

权利要求书3页 说明书17页 附图5页

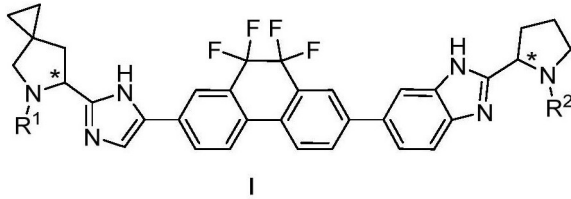
(54)发明名称

9,10-二氢菲类化合物、其制备方法及应用

(57)摘要

本发明属于医药化学领域,涉及9,10-二氢菲类化合物、其制备方法及应用,具体涉及具有9,9,10,10-四氟-9,10-二氢菲和氮杂螺环[2,4]庚烷基结构的化合物、其制备方法及其作为参比对照品用于N-((2S)-1-((S)-2-(6-(7-((S)-2-(5-((S)-2-((甲氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰基)-5-氮杂螺[2.4]庚烷-6-基)-1H-咪唑-5-基)-9,9,10,10-四氟-9,10-二氢菲-2-基)-1H-苯并[d]咪唑-2-基)吡咯烷-1-基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基甲酸甲酯原料药质量研究中相关杂质定性和/或定量分析的用途。

1. 一种通式I所示的化合物或其药学可接受的盐，



其中：

R^1 、 R^2 各自独立地选自氢、2-((甲氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰基、(S)-2-((甲氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰基、(R)-2-((甲氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰基和氨基保护基；

*表示不对称碳原子，其构型是S-或R-构型，或者是S-构型和R-构型的混合物；且

条件是所述化合物不是以下化合物：

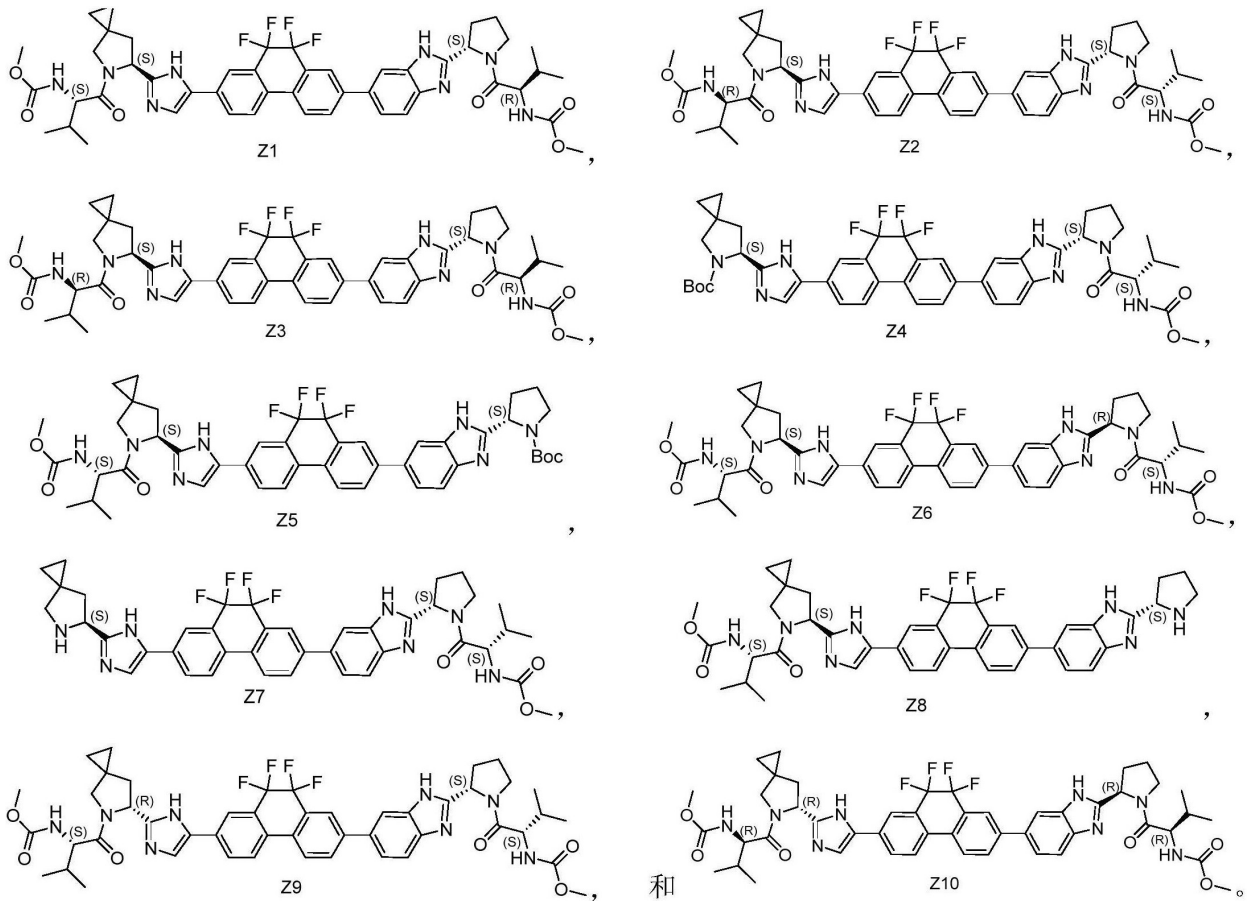
5-叔丁氧基羰基-(S)-6-(5-(7-(2-((S)-1-(叔丁氧羰基)吡咯-2-基)-1H-苯并[d]咪唑-6-基)-9,9,10,10-四氟-9,10-二氢菲-2-基)-1H-咪唑-2-基)-5-氮杂螺[2.4]庚烷；

6-(7-(2-((S)-5-氮杂螺[2.4]庚烷-6-基)-1H-咪唑-5-基)-9,9,10,10-四氟-9,10-二氢菲-2-基)-2-((S)-吡咯-2-基)-1H-苯并[d]咪唑；和

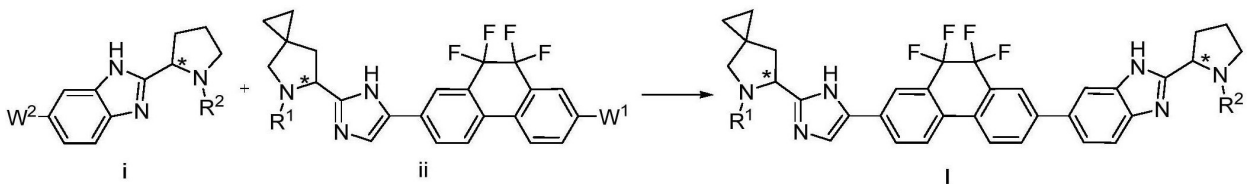
N-((2S)-1-((S)-2-(6-(7-((S)-2-(5-((S)-2-((甲氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰基)-5-氮杂螺[2.4]庚烷-6-基)-1H-咪唑-5-基)-9,9,10,10-四氟-9,10-二氢菲-2-基)-1H-苯并[d]咪唑-2-基)吡咯烷-1-基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基甲酸甲酯。

2. 根据权利要求1所述的化合物或其药学可接受的盐，其中所述氨基保护基选自烷基三硅烷基、芳基三硅烷基、烷基、烷基酰基、芳基酰基、烷基磺酰基、芳基磺酰基、烷氧基羰基、芳基氧基羰基、烷氧基和芳基氧基，所述烷基三硅烷基、芳基三硅烷基、烷基、烷基酰基、芳基酰基、烷基磺酰基、芳基磺酰基、烷氧基羰基、芳基氧基羰基、烷氧基和芳基氧基任选被一个或多个卤素、羟基、氨基、羧基、氰基、硝基和烷基取代；优选地，所述氨基保护基选自叔丁氧羰基、三甲基硅基、三乙基硅基、三异丙基硅基、叔丁基二甲基硅基、叔丁基二苯基硅基、甲基、叔丁基、烯丙基、三苯甲基、苄基、甲氧基甲基、乙氧基乙基、2-四氢吡喃基、甲酰基、乙酰基、三氟乙酰基、苯甲酰基、甲磺酰基、乙磺酰基、苯甲磺酰基、甲氧羰基、乙氧羰基、苄氧羰基、2-联苯基-2-丙氧羰基、苄甲氧羰基、苯氧羰基、甲氧基、乙氧基、苯氧基和三甲基硅基乙氧基。

3. 根据权利要求1所述的化合物或其药学可接受的盐，其中所述化合物为选自以下的化合物：



4. 一种制备权利要求1-3之任一项所述的化合物或其药学可接受的盐的方法,其中所述方法包括在催化剂和碱的存在下,使式i的化合物和式ii的化合物进行耦合反应,



其中:

W^1 、 W^2 各自独立地选自卤素和 $-B(OR^3)(OR^4)$,且当 W^1 是卤素时, W^2 是 $-B(OR^3)(OR^4)$,和当 W^2 是卤素时, W^1 是 $-B(OR^3)(OR^4)$;和 R^3 、 R^4 各自独立地选自氢和直链或支链的烷基,或 R^3 、 R^4 与它们所连接的原子一起形成杂环基,其中所述的杂环基任选被一个或多个卤素、烷基、硝基、氰基、氨基、单烷基氨基、双烷基氨基、烷氧基、脂基、烷基氨基酰基、烷基酰基取代;

R^1 、 R^2 各自独立地选自氢、2-((甲氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰基、(S)-2-((甲氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰基、(R)-2-((甲氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰基和氨基保护基;

*表示不对称碳原子,其构型是S-或R-构型,或者是S-构型和R-构型的混合物。

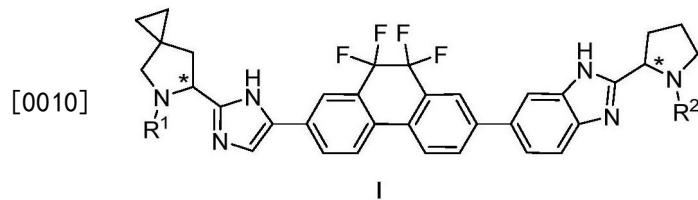
5. 根据权利要求4所述的方法,其中 R^3 、 R^4 各自独立地选自氢和直链或支链的 C_{1-10} 烷基,所述的烷基任选被一个或多个卤素、烷基、硝基、氰基、氨基、单烷基氨基、双烷基氨基、烷氧基、脂基、烷基氨基酰基、烷基酰基取代;优选地, R^3 、 R^4 各自独立地选自氢和直链或支链的 C_{1-6} 烷基,所述的烷基任选被一个或多个卤素、 C_{1-6} 烷基、硝基、氰基、氨基、单 C_{1-6} 烷基氨基、双 C_{1-6} 烷基氨基、 C_{1-6} 烷氧基、脂基、 C_{1-6} 烷基氨基酰基、 C_{1-6} 烷基酰基取代;更进一步优选地, R^3 、 R^4 各自独立地选自氢和直链或支链的 C_{1-3} 烷基,所述的烷基任选被一个或多个卤素、 C_{1-6}

确保制备得到符合药用标准、能够用于制备安全有效的药物制剂的原料药。原料药中的杂质可能是由于自身的降解而产生的,也可能来源于制备方法,例如,包括未反应的起始原料、起始原料中包含的杂质的化学衍生物、合成副产物、以及降解产物等。通过了解杂质的化学结构和合成途径,以及通过鉴别影响终产物中杂质含量的参数,能够大大增强对相关杂质的控制。

[0008] N-((2S)-1-((S)-2-(6-(7-((S)-2-(5-((S)-2-((甲氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰基)-5-氮杂螺[2.4]庚烷-6-基)-1H-咪唑-5-基)-9,9,10,10-四氟-9,10-二氢菲-2-基)-1H-苯并[d]咪唑-2-基)吡咯烷-1-基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基甲酸甲酯作为原料药可能包含多种来源的杂质,对其成药性、安全性和有效性带来隐患。因此,研究其副产物/杂质的性质,对这些副产物/杂质进行检测控制具有重大的意义。

发明内容

[0009] 本发明的一个目的是提供通式I所示的化合物或其药学可接受的盐,



[0011] 其中:

[0012] R^1 、 R^2 各自独立地选自氢、2-((甲氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰基、(S)-2-((甲氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰基、(R)-2-((甲氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰基和氨基保护基;

[0013] *表示不对称碳原子,其构型是S-或R-构型,或者是S-构型和R-构型的混合物;且

[0014] 条件是所述化合物不为以下化合物:

[0015] 5-叔丁氧基羰基-(S)-6-(5-(7-(2-((S)-1-(叔丁氧羰基)吡咯-2-基)-1H-苯并[d]咪唑-6-基)-9,9,10,10-四氟-9,10-二氢菲-2-基)-1H-咪唑-2-基)-5-氮杂螺[2.4]庚烷;

[0016] 6-(7-(2-((S)-5-氮杂螺[2.4]庚烷-6-基)-1H-咪唑-5-基)-9,9,10,10-四氟-9,10-二氢菲-2-基)-2-((S)-吡咯-2-基)-1H-苯并[d]咪唑;和

[0017] N-((2S)-1-((S)-2-(6-(7-((S)-2-(5-((S)-2-((甲氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰基)-5-氮杂螺[2.4]庚烷-6-基)-1H-咪唑-5-基)-9,9,10,10-四氟-9,10-二氢菲-2-基)-1H-苯并[d]咪唑-2-基)吡咯烷-1-基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基甲酸甲酯。

[0018] 在一些实施方案中,本发明的化合物为式I的化合物或其药学可接受的盐,其中 R^1 、 R^2 各自独立地选自氨基保护基,所述氨基保护基选自烷基三硅烷基、芳基三硅烷基、烷基、烷基酰基、芳基酰基、烷基磺酰基、芳基磺酰基、烷氧基羰基、芳基氧基羰基、烷氧基和芳基氧基,所述烷基三硅烷基、芳基三硅烷基、烷基、烷基酰基、芳基酰基、烷基磺酰基、芳基磺酰基、烷氧基羰基、芳基氧基羰基、烷氧基和芳基氧基任选被一个或多个卤素、羟基、氨基、羧基、氰基、硝基、烷基取代。

[0019] 在一些实施方案中,本发明的化合物为式I的化合物或其药学可接受的盐,其中所述氨基保护基选自 C_{1-10} 烷基三硅烷基、 C_{6-10} 芳基三硅烷基、 C_{1-10} 烷基、 C_{1-10} 烷基酰基、 C_{6-10} 芳基酰基、 C_{1-6} 烷基磺酰基、 C_{6-10} 芳基磺酰基、 C_{1-6} 烷氧基羰基、 C_{6-10} 芳基氧基羰基、 C_{1-6} 烷氧基和

C₆₋₁₀芳基氧基,所述烷基三硅烷基、芳基三硅烷基、烷基、烷基酰基、芳基酰基、烷基磺酰基、芳基磺酰基、烷氧基羰基、芳基氧基羰基、烷氧基和芳基氧基任选被一个或多个卤素、羟基、氨基、羧基、氰基、硝基、C₁₋₁₀烷基取代。

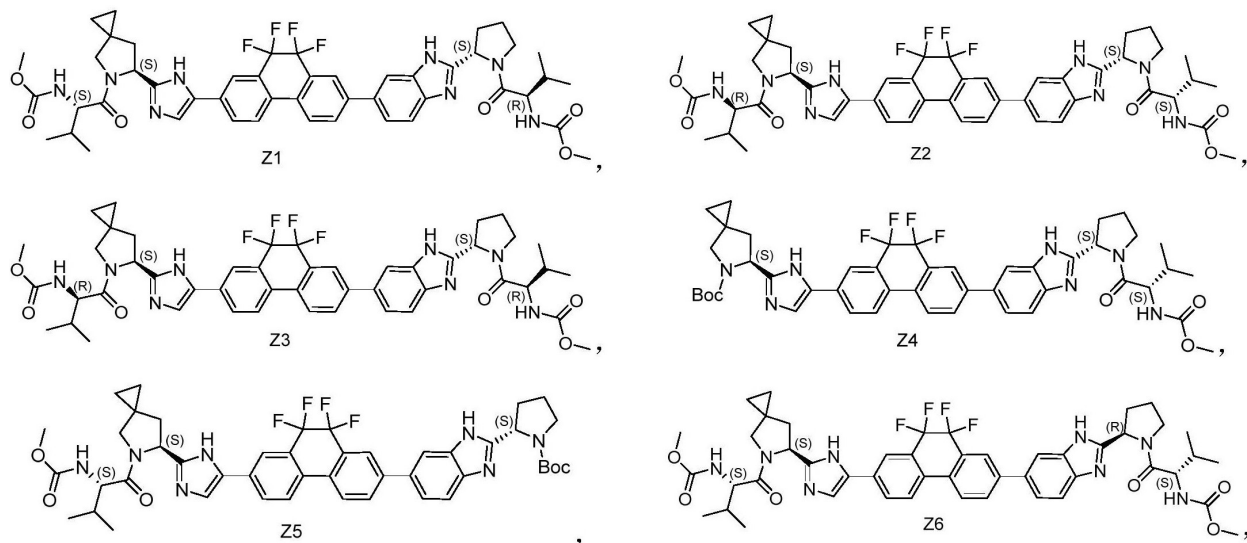
[0020] 在一些实施方案中,本发明的化合物为式I的化合物或其药学可接受的盐,其中所述氨基保护基选自三甲基硅基、三乙基硅基、三异丙基硅基、叔丁基二甲基硅基、叔丁基二苯基硅基、甲基、叔丁基、烯丙基、三苯甲基、苄基、甲氧基甲基、乙氧基乙基、2-四氢吡喃基(THP)、甲酰基、乙酰基、三氟乙酰基、苯甲酰基、甲磺酰基、乙磺酰基、苯甲磺酰基、甲氧羰基、乙氧羰基、苄氧羰基、2-联苯基-2-丙氧羰基、苄甲氧羰基、苯氧羰基、叔丁氧羰基(*t*-butyloxy carbonyl, Boc)、甲氧基、乙氧基、苯氧基和三甲基硅基乙氧基。

[0021] 在一些实施方案中,本发明的化合物为式I的化合物或其药学可接受的盐,其中所述氨基保护基选自三甲基硅基、三甲基硅基乙氧基、苄氧羰基、叔丁氧羰基、2-联苯基-2-丙氧羰基、苄甲氧羰基、甲酰基、三氟乙酰基、三苯甲基和苄基。

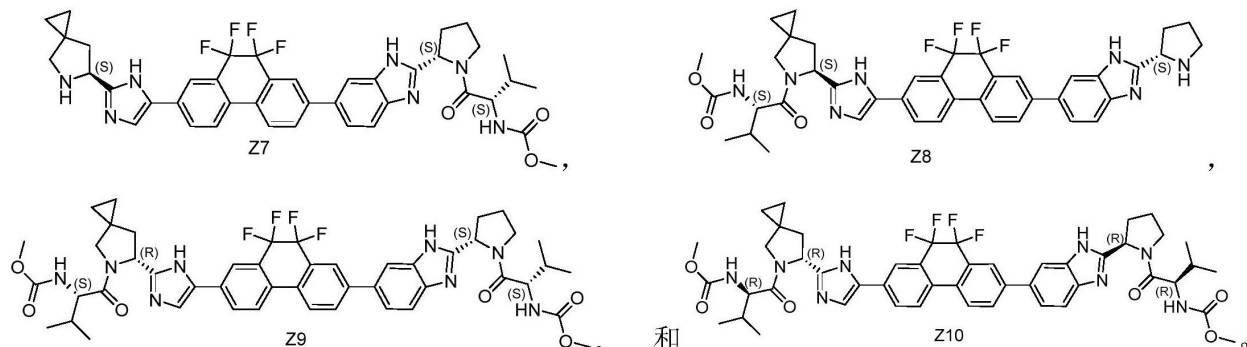
[0022] 在一些优选的实施方案中,本发明提供式I的化合物或其药学可接受的盐,其中所述化合物的构型是S-或R-构型,或者是S-构型和R-构型的混合物。

[0023] 本发明具体地提供以下式Z1、式Z2、式Z3、式Z4、式Z5、式Z6、式Z7、式Z8、式Z9或式Z10所示的化合物或其药学可接受的盐,

[0024]



[0025]



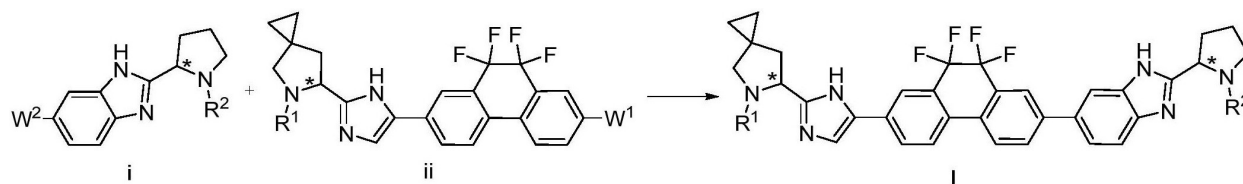
[0026] 在一些实施方案中,分离制备的式Z1、式Z2、式Z3、式Z4、式Z5、式Z6、式Z7、式Z8、式Z9和式Z10化合物基本上不含其他异构体。在另一些实施方案中,分离制备的式Z1、式Z2、式

Z3、式Z4、式Z5、式Z6、式Z7、式Z8、式Z9和式Z10化合物为基本上纯的异构体。在另一些实施方案中，分离制备的式Z1、式Z2、式Z3、式Z4、式Z5、式Z6、式Z7、式Z8、式Z9和式Z10化合物为纯的异构体。

[0027] 优选地，分离制备的式Z1、式Z2、式Z3、式Z4、式Z5、式Z6、式Z7、式Z8、式Z9和式Z10化合物各包含小于1%的式A化合物(根据HPLC判断，面积归一化法)，或者分离制备的式Z1、式Z2、式Z3、式Z4、式Z5、式Z6、式Z7、式Z8、式Z9和式Z10化合物的纯度至少为95% (根据HPLC判断，面积归一化法)。在一些实施方案中，分离制备的式Z1、式Z2、式Z3、式Z4、式Z5、式Z6、式Z7、式Z8、式Z9和式Z10化合物的光学异构体纯度至少为97%。在另一些实施方案中，分离制备的式Z1、式Z2、式Z3、式Z4、式Z5、式Z6、式Z7、式Z8、式Z9和式Z10化合物的光学异构体纯度至少为98%。在另一些实施方案中，分离制备的式Z1、式Z2、式Z3、式Z4、式Z5、式Z6、式Z7、式Z8、式Z9和式Z10化合物的光学异构体纯度至少为99%。在另一些实施方案中，分离制备的式Z1、式Z2、式Z3、式Z4、式Z5、式Z6、式Z7、式Z8、式Z9和式Z10化合物的光学异构体纯度至少为99.5%。

[0028] 本发明的第二个目的是提供通式I所示的化合物或其药学可接受的盐的制备方法，其中所述方法包括在催化剂和碱的存在下，使式i的化合物和式ii的化合物进行耦合反应，

[0029]



[0030] 其中：

[0031] R^1 、 R^2 和*具有通式I所述的定义， W^1 、 W^2 各自独立地选自卤素和-B(OR³)(OR⁴)，且当 W^1 是卤素时， W^2 是-B(OR³)(OR⁴)，和当 W^2 是卤素时， W^1 是-B(OR³)(OR⁴)；和 R^3 、 R^4 各自独立地选自氢和直链或支链的烷基，或 R^3 、 R^4 与其所连接的原子一起形成杂环基，其中所述的杂环基任选被一个或多个卤素、烷基、硝基、氰基、氨基、单烷基氨基、双烷基氨基、烷氧基、脂基、烷基氨基酰基、烷基酰基取代；

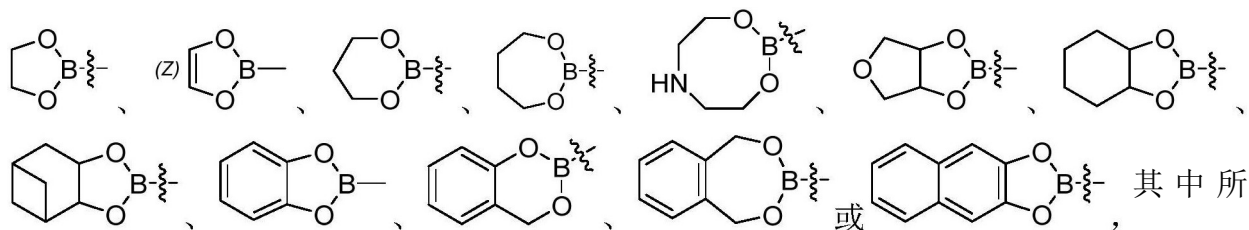
[0032] R^1 、 R^2 各自独立地选自氢、2-((甲氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰基、(S)-2-((甲氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰基、(R)-2-((甲氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰基和氨基保护基；

[0033] *表示不对称碳原子，其构型是S-或R-构型，或者是S-构型和R-构型的混合物。

[0034] 在一些优选的实施方案中，根据本发明提供的式I的化合物或其药学可接受的盐的制备方法，其中 R^3 、 R^4 各自独立地选自氢和直链或支链的C₁₋₁₀烷基，所述的烷基任选被一个或多个卤素、烷基、硝基、氰基、氨基、单烷基氨基、双烷基氨基、烷氧基、脂基、烷基氨基酰基、烷基酰基取代；优选地， R^3 、 R^4 各自独立地选自氢和直链或支链的C₁₋₆烷基，所述的烷基任选被一个或多个卤素、C₁₋₆烷基、硝基、氰基、氨基、单C₁₋₆烷基氨基、双C₁₋₆烷基氨基、C₁₋₆烷氧基、脂基、C₁₋₆烷基氨基酰基、C₁₋₆烷基酰基取代；更进一步优选地， R^3 、 R^4 各自独立地选自氢和直链或支链的C₁₋₃烷基，所述的烷基任选被一个或多个卤素、C₁₋₆烷基、硝基、氰基、氨基、单C₁₋₆烷基氨基、双C₁₋₆烷基氨基、C₁₋₆烷氧基、脂基、C₁₋₆烷基氨基酰基、C₁₋₆烷基酰基取代。

[0035] 在一些具体的实施方案中，根据本发明提供的式I的化合物或其药学可接受的盐

的制备方法,其中 R^3 、 R^4 与其所连接的原子一起形成 C_{1-16} 杂环基,其中所述的杂环基任选被一个或多个卤素、 C_{1-6} 烷基、硝基、氰基、氨基、单 C_{1-6} 烷基氨基、双 C_{1-6} 烷基氨基、 C_{1-6} 烷氧基、脂基、 C_{1-6} 烷基氨基酰基、 C_{1-6} 烷基酰基取代;优选地 R^3 、 R^4 与其所连接的原子一起形成 C_{2-10} 杂环基,其中所述的杂环基任选被一个或多个卤素、 C_{1-3} 烷基、硝基、氰基、氨基、单 C_{1-3} 烷基氨基、双 C_{1-3} 烷基氨基、 C_{1-3} 烷氧基、脂基、 C_{1-3} 烷基氨基酰基、 C_{1-3} 烷基酰基取代;更进一步优选地, R^3 、 R^4 与其所连接的原子一起形成



所述的基团任选被一个或多个卤素、 C_{1-3} 烷基、硝基、氰基、氨基、单 C_{1-3} 烷基氨基、双 C_{1-3} 烷基氨基、 C_{1-3} 烷氧基、脂基、 C_{1-3} 烷基氨基酰基、 C_{1-3} 烷基酰基取代。

[0036] 在一些优选的实施方案中,根据本发明的式I化合物的制备方法,其中所述催化剂选自Pd(0)、Pd(II)化合物,优选为双三苯基磷二氯化钯($Pd(PPh_3)_2Cl_2$)、双(乙腈)二氯化钯($Pd(MeCN)_2Cl_2$)、(1,1'-双(二苯基膦)二茂铁)二氯化钯($Pd(dppf)Cl_2$)、四(三苯基膦)钯($Pd(PPh_3)_4$)、醋酸钯($Pd(OAc)_2$)、三(二亚苄基丙酮)二钯($Pd_2(dba)_3$)和双(二亚苄基丙酮)钯($Pd(dba)_2$),进一步地优选为 $Pd(dppf)Cl_2$ 和 $Pd(PPh_3)_2Cl_2$ 。

[0037] 在一些优选的实施方案中,根据本发明的式I化合物的制备方法,其中所述碱选自丙酸盐、醋酸盐和磷酸盐,进一步优选为丙酸钠、丙酸钾、醋酸钠、醋酸钾、醋酸铯、磷酸钠和磷酸钾。

[0038] 本发明的第三个目的是提供一种定位、定量式A化合物或其药学可接受的盐中作为副产物的式I化合物的HPLC(高效液相色谱)方法。当式A化合物或其药学可接受的盐作为原料药生产时,产品中可能会存在一定量的作为副产物的式I化合物。为满足药品的要求,需要检测和控制作为杂质的式I化合物的含量。因此,式I化合物可以作为参比对照品,应用于HPLC法分析式A化合物或其药学可接受的盐中相关杂质的归属和定位,可以用于式A化合物或其药学可接受的盐中作为副产物的式I化合物的定量分析以及用于式A化合物或其药学可接受的盐的质量分析。

[0039] 在一些优选的实施方案中,本发明提供一种定位、定量式A化合物或其药学可接受的盐中作为副产物的式Z1、式Z2、式Z3、式Z4、式Z5、式Z6、式Z7、式Z8、式Z9和式Z10化合物的HPLC方法。当式A化合物或其药学可接受的盐作为原料药生产时,产品中可能会存在一定量的作为副产物的式Z1、式Z2、式Z3、式Z4、式Z5、式Z6、式Z7、式Z8、式Z9和式Z10化合物。为满足药品的要求,需要检测和控制作为杂质的式Z1、式Z2、式Z3、式Z4、式Z5、式Z6、式Z7、式Z8、式Z9和式Z10化合物的含量。因此,式Z1、式Z2、式Z3、式Z4、式Z5、式Z6、式Z7、式Z8、式Z9和式Z10化合物可以作为参比对照品,应用于HPLC法分析式A化合物或其药学可接受的盐中相关杂质的归属和定位,可以用于式A化合物或其药学可接受的盐中作为副产物的式Z1、式Z2、式Z3、式Z4、式Z5、式Z6、式Z7、式Z8、式Z9和式Z10化合物的定量分析以及用于式A化合物或其药学可接受的盐的质量分析。

[0040] 本发明的所述利用式I化合物分析式A化合物或其药学可接受的盐的HPLC方法包

括以下步骤：

[0041] 1) 制备各含有式I、式A化合物或其药学可接受的盐的定位溶液；

[0042] 2) 制备含有式I和式A化合物或其药学可接受的盐的混合溶液；和

[0043] 3) 使用步骤1) 制得的定位溶液和步骤2) 制得的混合溶液通过高效液相色谱法分离式I和式A化合物或其药学可接受的盐，并确定式I和式A化合物或其药学可接受的盐的位置和含量。

[0044] 在一些具体的实施方案中，根据本发明的利用式I和式A化合物或其药学可接受的盐的HPLC方法，其中步骤2) 的所述的混合溶液的制备方法包括：

[0045] I) 精密称定式I化合物，用溶剂溶解；和

[0046] II) 精密称定式A化合物或其药学可接受的盐，用溶剂溶解，再加入步骤I) 制得的溶液，之后再用溶剂稀释，得到混合溶液，优选地，所述溶剂选自醇溶剂、二氯甲烷和甲基叔丁基醚中的一种或几种，进一步优选为甲醇、乙醇、丙醇、二氯甲烷、甲基叔丁基醚和异丙醇中的一种或几种，更进一步优选地，所述溶剂选自甲醇、二氯甲烷、甲基叔丁基醚、乙醇中的一种或几种。

[0047] 在一些具体的实施方案中，根据本发明的利用式Z3、式Z4、式Z5、式Z7、式Z8和式A化合物或其药学可接受的盐的HPLC方法，其中步骤2) 的所述的系统适应性溶液的制备方法包括：

[0048] a) 精密称定式Z3、式Z4、式Z5、式Z7、式Z8化合物，分别用醇溶液溶解；和

[0049] b) 精密称定式A化合物或其药学可接受的盐，用醇溶液溶解，再加入步骤a) 制得的溶液，之后再用醇溶液稀释，得到混合溶液，优选地，所述醇溶液选自甲醇、乙醇、丙醇和异丙醇溶液，更优选地，所述醇溶液为甲醇溶液。

[0050] 在一些具体的实施方案中，根据本发明的利用式Z1、式Z2、式Z6、式Z9、式Z10和式A化合物或其药学可接受的盐的HPLC方法，其中步骤2) 的所述的系统适应性溶液的制备方法包括：

[0051] A) 精密称定式Z1、式Z2、式Z6、式Z9、式Z10化合物，分别用溶剂溶解；和

[0052] B) 精密称定式A化合物或其药学可接受的盐，用溶剂溶解，再加入步骤A) 制得的溶液，之后再用溶剂稀释，得到混合溶液，优选地，所述溶剂选自甲醇、乙醇、丙醇、二氯甲烷、甲基叔丁基醚和异丙醇中的一种或几种，更优选地，所述溶剂为二氯甲烷、甲基叔丁基醚和乙醇的混合溶剂。

[0053] 在本文中，式I、式Z1、式Z2、式Z3、式Z4、式Z5、式Z6、式Z7、式Z8、式Z9、式Z10和式A化合物还包括所述化合物的水合物、溶剂合物、结晶或药学上可接受的盐。

[0054] 术语说明

[0055] 除非另外定义，本文使用的所有技术和科学术语具有与本发明所属领域的普通技术人员通常理解的相同的含义。

[0056] 本发明的“氨基保护基”是指本领域已知的适当的用于氨基保护的基团，参见文献(“Protective Groups in Organic Synthesis”，5Th Ed.T.W.Greene&P.G.M.Wuts)中所述的氨基保护基团。例如，所述的氨基保护基可以是(C₁₋₁₀烷基或芳基)三硅烷基，例如三甲基硅基、三乙基硅基、三异丙基硅基、叔丁基二甲基硅基、叔丁基二苯基硅基等；可以是C₁₋₁₀烷基或取代烷基，例如甲基、叔丁基、烯丙基、三苯甲基、苄基、甲氧基甲基、乙氧基乙基、2-四

氢吡喃基 (THP) 等; 可以是 (C₁₋₁₀烷基或芳基) 酰基, 例如甲酰基、乙酰基、三氟乙酰基、苯甲酰基等; 可以是 (C₁₋₆烷基或C₆₋₁₀芳基) 磺酰基, 例如甲磺酰基、乙磺酰基、苯甲磺酰基等; 可以是 (C₁₋₆烷氧基或C₆₋₁₀芳基氧基) 羰基, 例如甲氧羰基、乙氧羰基、苄氧羰基、2-联苯基-2-丙氧羰基、苄甲氧羰基、苯氧羰基、叔丁氧羰基; 也可以是C₁₋₆烷氧基或C₆₋₁₀芳基氧基, 例如甲氧基、乙氧基、苯氧基、三甲基硅基乙氧基等。

[0057] 本发明的“烷基”指直链或支链的饱和脂肪烃基团, 优选含1至10个碳原子的直链或支链基团, 进一步优选含有1至6个碳原子的直链或支链基团, 非限制性实例包括甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、仲丁基、正戊基、1,1-二甲基丙基、1,2-二甲基丙基、2,2-二甲基丙基、1-乙基丙基、2-甲基丁基、3-甲基丁基、正己基等。烷基可以是取代的或未取代的, 当被取代时, 取代基可以在任何可使用的连接点上。

[0058] 本发明的“杂环基”是指如果为单环则具有1-3个杂原子、如果为双环则具有1-6个杂原子或如果为三环则具有1-9个杂原子的非芳族的3-16元单环、8-12元双环或11-14元三环环状系统, 所述杂原子选自O、N或S (或氧化形式例如N⁺-O⁻、S(0)和S(0)₂)。杂原子可任选为杂环基取代基的连接点。杂环基的实例包括但不限于四氢呋喃基、四氢吡喃基、哌啶基、吗啉基、吡咯啉基、嘧啶基和吡咯烷基。杂环基包括完全饱和的环状系统和部分饱和的环状系统。本发明的杂芳基任选被取代。

[0059] 本发明的“烷氧基”是指-O-烷基。根据本发明, 合适的烷氧基为C₁₋₁₀烷氧基, 如C₁₋₈烷氧基、C₁₋₇烷氧基、C₁₋₆烷氧基、C₁₋₅烷氧基、C₁₋₄烷氧基、C₁₋₃烷氧基, 包括甲氧基、乙氧基、丙氧基、异丙氧基、异丁氧基、仲丁氧基等。

[0060] 本发明的“卤素”是指氟、氯、溴、碘。

[0061] 本发明的“烷氧基”是指-O-烷基。

[0062] 本发明的“卤素”是指氟、氯、溴、碘。

[0063] 本发明的“硝基”是指-NO₂。

[0064] 本发明的“氰基”是指-CN。

[0065] 本发明的“氨基”是指-NH₂。

[0066] 本发明的“单烷基氨基”是指-NH-烷基。

[0067] 本发明的“双烷基氨基”是指-N-(烷基)(烷基)。

[0068] 本发明的“烷基氨基酰基”是指-C(=O)-NH-烷基。

[0069] 本发明的“烷基酰基”是指-C(=O)-烷基。

[0070] 本发明的“脂基”是指-C(=O)O-烷基。

[0071] 本发明“光学异构体”是指分子结构完全相同, 物理化学性质相近, 但旋光性不同的物质。对于给定的化学结构, 不同的光学活性化合物被称为光学异构体, 除了彼此互为镜像之外, 它们是相同的。在光学活性化合物的描述中, 前缀D和L或R和S用于表示与分子的手性中心有关的绝对构型。前缀(+)和(-)或d和l用于指定化合物引起的平面偏振光的旋转方向。用(-)或l表示化合物是左旋的。前缀为(+)或d的化合物是右旋的。许多有机化合物以光学活性形式存在, 即它们能使平面偏振光的平面旋转。

[0072] 在本发明中, 当特定异构体在混合物的组成中超过50%时, 外消旋混合物“富含”该特定异构体。“基本上不含”是指当使用本领域技术人员常规使用的传统分析方法确定时, 该化合物包括少于大约10%不需要的异构体, 例如不需要的异构体的量可以少于10%,

例如,9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%或甚至更少。含有大约95%或更多的所需异构体的富含异构体的化合物在此被称为“基本上纯的”异构体。含有大约99%或更多的所需异构体的富含异构体的化合物在此被称为“纯的”光学异构体。任何“光学异构体的纯度”可以使用传统的分析方法来确认,如可容易地通过本领域所建立的和公知的适当方法(例如手性高压液相色谱法(HPLC)、手性气相色谱法(GC)、使用手性位移试剂的核磁共振(NMR)等)将光学异构体与其对映异构体或非对映异构体完全分离,通过面积归一化法计算得到。

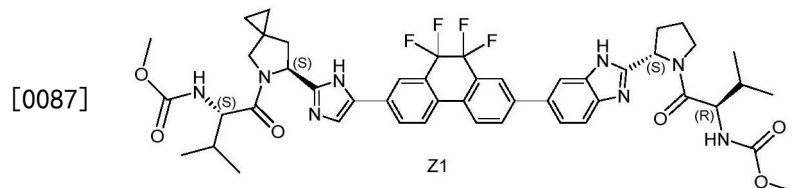
附图说明

- [0073] 图1是副产物式Z3化合物溶液的典型HPLC色谱图。
 [0074] 图2是副产物式Z4化合物溶液的典型HPLC色谱图。
 [0075] 图3是副产物式Z5化合物溶液的典型HPLC色谱图。
 [0076] 图4是副产物式Z7化合物溶液的典型HPLC色谱图。
 [0077] 图5是副产物式Z8化合物溶液的典型HPLC色谱图。
 [0078] 图6是式A化合物及副产物式Z3、式Z4、式Z5、式Z7和式Z8化合物及其它杂质混合进样的HPLC图谱,其中20.567min处为式A化合物,24.083min处为副产物式Z3化合物,23.653min处为副产物式Z4化合物,23.247min处为副产物式Z5化合物,17.702min处为副产物式Z7化合物,17.408min处为副产物式Z8化合物。
 [0079] 图7是副产物式Z1化合物溶液的典型HPLC色谱图。
 [0080] 图8是副产物式Z2化合物溶液的典型HPLC色谱图。
 [0081] 图9是副产物式Z6化合物溶液的典型HPLC色谱图。
 [0082] 图10是副产物式Z9化合物溶液的典型HPLC色谱图。
 [0083] 图11是副产物式Z10化合物溶液的典型HPLC色谱图。
 [0084] 图12是式A化合物及副产物式Z1、式Z2、式Z6、式Z9和式Z10化合物及其它杂质混合进样的HPLC图谱,其中9.264min为式A化合物,13.541min处为副产物式Z1化合物,12.394min处为副产物式Z2化合物,17.428min处为副产物式Z6化合物,19.421min处为副产物式Z9化合物,15.508min处为副产物式Z10化合物。

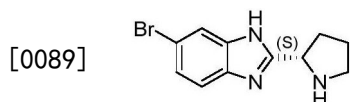
具体实施方式

[0085] 下面代表性的实施例是为了更好地说明本发明,而非用于限制本发明的保护范围。

[0086] 实施例1:N-((2R)-1-((S)-2-(6-(7-((S)-2-(5-((S)-2-((甲氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰基)-5-氮杂螺[2.4]庚烷-6-基)-1H-咪唑-5-基)-9,9,10,10-四氟-9,10-二氢菲-2-基)-1H-苯并[d]咪唑-2-基)吡咯烷-1-基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基甲酸甲酯

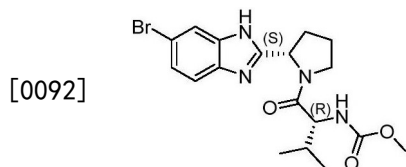


[0088] 步骤1:(S)-2-(4-溴-1H-咪唑-2-基)吡咯烷的制备



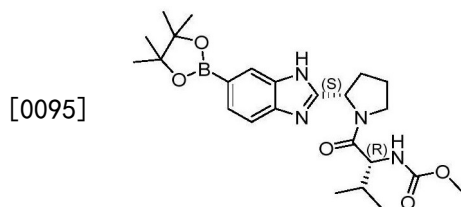
[0090] 将(S)-1-叔丁氧羰基-2-(6-溴-1H-苯并[d]咪唑-2-基)吡咯烷(3.65g)溶于50mL乙腈,开启加热,待温度升至65℃,缓慢加入25mL 2N的盐酸溶液,加完后继续搅拌反应2h。反应完全后,冷却,用2N NaOH溶液调pH至8,加入乙酸乙酯萃取,有机相用饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥,浓缩,得标题化合物。

[0091] 步骤2:(R)-1-((S)-2-(4-溴-1H-咪唑-2-基)吡咯烷-1-基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基甲酸甲酯的制备



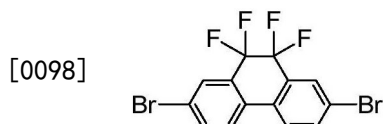
[0093] 在100mL圆底瓶中加入0.350g (R)-2-(甲氧基羰基氨基)-3-甲基丁酸、0.959g 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDCI)、0.135g 1-羟基苯并三唑(HOBt)和20mL二氯甲烷,搅拌降温至0℃,加入0.532g (S)-2-(4-溴-1H-咪唑-2-基)吡咯烷和0.607g N-甲基吗啉。待搅拌反应1h后,恢复至室温,继续反应1h。反应完全后,向反应液中加入20mL二氯甲烷和20mL水,分液,有机相经水洗,饱和食盐水洗,无水硫酸钠干燥,浓缩,得粗品。粗品柱层析纯化,得标题化合物。

[0094] 步骤3:((R)-3-甲基-1-氧代-1-((S)-2-(6-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂戊环硼烷-2-基)-1H-苯并[d]咪唑-2-基)吡咯烷-1-基)丙-2-基)氨基甲酸甲酯的制备



[0096] 将0.800g (R)-1-((S)-2-(4-溴-1H-咪唑-2-基)吡咯烷-1-基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基甲酸甲酯、0.504g联硼酸频哪醇酯、69.1mg [1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯化钯(Pd(dppf)Cl₂)和0.742g醋酸钾置于反应瓶中,加入20mL乙酸异丙酯(IP0Ac),氮气置换3次,搅拌升温至90℃反应。反应完全后,降温至室温,加入20mL水,分液,有机相用饱和食盐水洗,无水硫酸钠干燥,浓缩,得标题化合物。

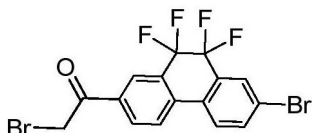
[0097] 步骤4:2,7-二溴-9,9,10,10-四氟-9,10-二氢菲的制备



[0099] 将2,7-二溴菲醌(5kg, 1eq.)置于100L玻璃反应釜中,抽入1,2-二氯乙烷(30L),开启搅拌,室温条件下滴加双(2-甲氧乙基)氨基三氟化硫(BAST, 12.6L, 5eq.),滴加完后开启加热,逐渐升温至80℃反应。HPLC监控反应完全后,将反应液冷至0℃,缓慢滴加饱和碳酸钠溶液调pH至8左右,分液,有机相浓缩得粗品,粗品用二氯甲烷打浆,抽滤得标题化合物。ESI-MS m/z: [M+H]⁺=409。

[0100] 步骤5: 2-溴-1-(7-溴-9,9,10,10-四氟-9,10-二氢菲-2-基)-1-乙酮的制备

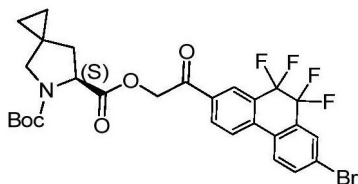
[0101]



[0102] 向100L玻璃反应釜中抽入二氧六环(40L), 氩气置换三次, 然后依次加入2,7-二溴-9,9,10,10-四氟-9,10-二氢菲(4kg, 1eq)、Pd(PPh₃)Cl₂(0.34kg, 0.05eq.)和三丁基(1-乙氧基乙烯)锡(3.18kg, 0.9eq.), 再次置换氩气, 加热升温至80℃反应。经HPLC监控反应完全后, 降温, 随后加入水(8L)和N-溴代丁二酰亚胺(1.9kg, 1.1eq), 室温下搅拌反应。HPLC监控反应完全后, 加入氟化钾(2.84kg, 5eq.)溶液淬灭反应, 抽滤, 滤饼彻底用二氯甲烷(4L×3)洗涤, 滤液分液, 有机相经无水硫酸钠干燥后直接用于下一步。ESI-MS m/z: [M+H]⁺=451。

[0103] 步骤6: (S)-5-叔丁氧基羰基-6-(((7-溴-9,9,10,10-四氟-9,10-二氢菲-2-基)-2-氧代乙氧基)羰基)-5-氮杂螺环[2,4]庚烷的制备

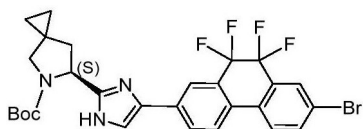
[0104]



[0105] 将步骤5中得到的有机相(2-溴-1-(7-溴-9,9,10,10-四氟-9,10-二氢菲-2-基)-1-乙酮)置于100L玻璃反应釜, 依次加入(S)-5-(叔丁氧羰基)-5-氮杂螺[2.4]庚烷-6-羧酸(1.9kg, 0.9eq.)和DIEA(3L, 2eq.), 室温搅拌反应。HPLC监控反应完全后, 加水淬灭反应, 分液, 有机相经碳酸氢钠溶液、饱和食盐水洗, 无水硫酸钠干燥后浓缩, 所得粗品直接用于下一步。ESI-MS m/z: [M+H]⁺=612, ¹H NMR (DMSO-d₆, 300M): δ8.34-8.39 (m, 3H, Ar-H), 8.25-8.27 (m, 1H, Ar-H), 8.14 (s, 1H, Ar-H), 8.05-8.07 (m, 1H, Ar-H), 5.53-5.78 (m, 2H, OCH₂), 4.46-4.49 (m, 1H, CH₂), 3.17-3.39 (m, 2H, CH₂), 2.40-2.49 (m, 1H, CH₂), 1.90-1.98 (m, 1H, CH₂), 1.38-1.39 (m, 9H, 3×CH₃), 0.56-0.60 (m, 4H, 2×CH₂)。

[0106] 步骤7: (S)-5-叔丁氧基羰基-6-(5-(7-溴-9,9,10,10-四氟-9,10-二氢菲-2-基)-1H-咪唑-2-基)-5-氮杂螺环[2,4]庚烷的制备

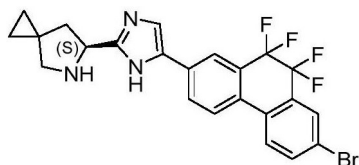
[0107]



[0108] 将步骤6中得到的(S)-5-叔丁氧基羰基-6-(((7-溴-9,9,10,10-四氟-9,10-二氢菲-2-基)-2-氧代乙氧基)羰基)-5-氮杂螺环[2,4]庚烷溶于甲苯(20L), 加入醋酸铵(6.8kg, 10eq.), 加热至110℃反应。HPLC监控反应完全后, 加水淬灭反应, 分液, 有机相经饱和食盐水洗, 无水硫酸钠干燥后浓缩, 粗品柱层析纯化(EA/PE=10~30%), 所得产品再用乙腈重结晶, 得标题化合物。

[0109] 步骤8: (S)-6-(5-(7-溴-9,9,10,10-四氟-9,10-二氢菲-2-基)-1H-咪唑-2-基)-5-氮杂螺环[2,4]庚烷的制备

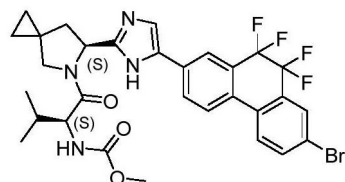
[0110]



[0111] 在50mL单口瓶中加入0.296g (S)-5-叔丁氧基羰基-6-(5-(7-溴-9,9,10,10-四氟-9,10-二氢菲-2-基)-1H-咪唑-2-基)-5-氮杂螺环[2,4]庚烷和5mL乙腈,搅拌升温至65℃,加入2.5mL 1N盐酸溶液。反应完全后,冷却,析出白色固体,抽滤,得264mg标题化合物。

[0112] 步骤9: ((S)-1-((S)-6-(5-(7-溴-9,9,10,10-四氟-9,10-二氢菲-2-基)-1H-咪唑-2-基)-5-氮杂螺[2.4]庚烷-5-基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基甲酸甲酯的制备

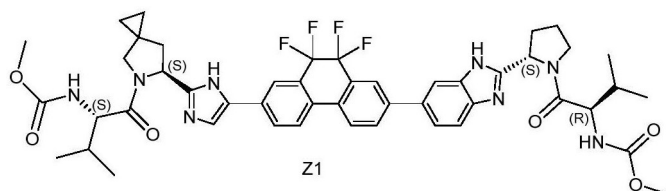
[0113]



[0114] 将77.6mg (S)-2-(甲氧基羰基氨基)-3-甲基丁酸、0.211g EDCI、29.7mg 1-羟基苯并三唑(HOBt)和20mL二氯甲烷加入反应瓶中,搅拌降温至0℃,加入0.250g (S)-6-(5-(7-溴-9,9,10,10-四氟-9,10-二氢菲-2-基)-1H-咪唑-2-基)-5-氮杂螺环[2,4]庚烷和0.222g N-甲基吗啉。搅拌反应1h后,恢复至室温,继续反应1h。反应完全后,加入20mL水,分液,有机相用饱和食盐水洗,无水硫酸钠干燥,浓缩,粗品柱层析纯化,得标题化合物。

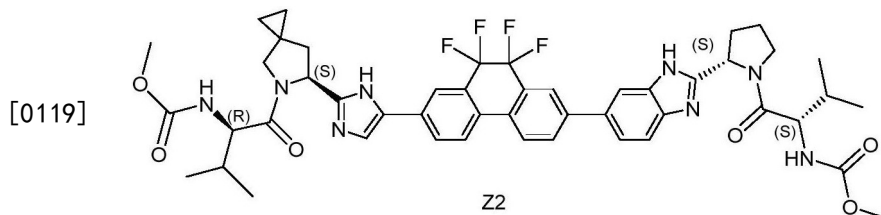
[0115] 步骤10: N-((2R)-1-((S)-2-(6-(7-((S)-2-(5-((S)-2-((甲氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰基)-5-氮杂螺[2.4]庚烷-6-基)-1H-咪唑-5-基)-9,9,10,10-四氟-9,10-二氢菲-2-基)-1H-苯并[d]咪唑-2-基)吡咯烷-1-基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基甲酸甲酯的制备

[0116]



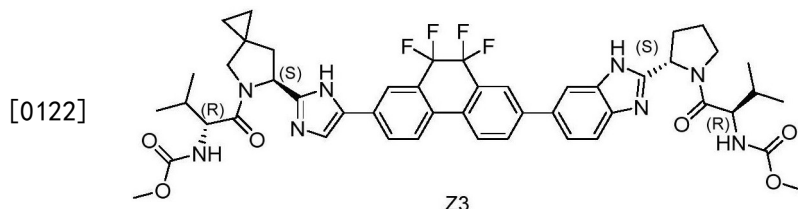
[0117] 将200mg ((S)-1-((S)-6-(5-(7-溴-9,9,10,10-四氟-9,10-二氢菲-2-基)-1H-咪唑-2-基)-5-氮杂螺[2.4]庚烷-5-基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基甲酸甲酯、152mg ((R)-3-甲基-1-氧代-1-((S)-2-(6-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂戊环硼烷-2-基)-1H-苯并[d]咪唑-2-基)吡咯烷-1-基)丙-2-基)氨基甲酸甲酯和0.62mL 0.2N碳酸钾溶于10mL IPOAc,加入22.7mg Pd(dppf)Cl₂,氮气置换3次,搅拌升温至90℃反应。反应完全后,降温至室温,加入10mL水和10mL IPOAc,分液,有机相用饱和食盐水洗,无水硫酸钠干燥,浓缩,柱层析纯化,得白色标题化合物。¹H NMR (DMSO-d₆, 500M): δ12.54 (1H, s), 11.99 (1H, s), 8.23-7.59 (10H, m), 7.26 (2H, m), 5.23 (2H, m), 4.19 (1H, t), 4.03 (1H, t), 3.94 (1H, m), 3.83 (1H, m), 3.73 (2H, m), 3.56 (6H, s), 2.28-2.15 (3H, m), 2.12-1.95 (5H, m), 0.96-0.84 (12H, m), 0.71-0.53 (4H, m). ESI-MS m/z: [M+H]⁺=913.9.

[0118] 实施例2: N-((2S)-1-((S)-2-(6-(7-((S)-2-(5-((R)-2-((甲氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰基)-5-氮杂螺[2.4]庚烷-6-基)-1H-咪唑-5-基)-9,9,10,10-四氟-9,10-二氢菲-2-基)-1H-苯并[d]咪唑-2-基)吡咯烷-1-基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基甲酸甲酯



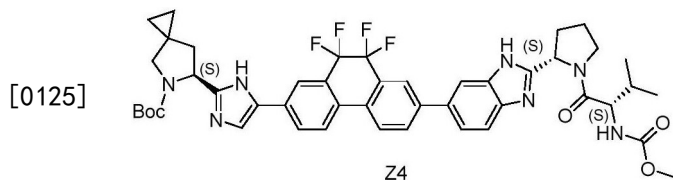
[0120] 制备方法类似于实施例1的制备方法,不同的是将实施例1步骤2的(R)-2-(甲氧基羰基氨基)-3-甲基丁酸替换为(S)-2-(甲氧基羰基氨基)-3-甲基丁酸,且将实施例1步骤9的(S)-2-(甲氧基羰基氨基)-3-甲基丁酸替换为(R)-2-(甲氧基羰基氨基)-3-甲基丁酸,制得标题化合物。¹H NMR (DMSO-d₆, 500M): δ12.28 (1H, s), 12.13-11.55 (1H, m), 8.26-7.58 (9H, m), 7.89 (1H, s), 7.26 (2H, m), 5.23 (2H, m), 4.11-4.05 (2H, m), 3.87 (2H, m), 3.74 (1H, m), 3.65 (1H, m), 3.56 (6H, s), 2.42-2.25 (3H, m), 2.11-1.96 (5H, m), 0.94-0.84 (12H, m), 0.74-0.55 (4H, m). ESI-MS m/z: [M+H]⁺=913.9.

[0121] 实施例3:N-(2R)-1-((S)-2-(6-(7-((S)-2-(5-((R)-2-((甲氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰基)-5-氮杂螺[2.4]庚烷-6-基)-1H-咪唑-5-基)-9,9,10,10-四氟-9,10-二氢菲-2-基)-1H-苯并[d]咪唑-2-基)吡咯烷-1-基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基甲酸甲酯



[0123] 制备方法类似于实施例1的制备方法,不同的是将实施例1步骤9的(S)-2-(甲氧基羰基氨基)-3-甲基丁酸替换为(R)-2-(甲氧基羰基氨基)-3-甲基丁酸,制得标题化合物。¹H NMR (DMSO-d₆, 500M): δ12.13 (1H, m), 11.93 (1H, m), 8.26-7.38 (10H, m), 7.30-7.25 (2H, m), 5.22 (2H, m), 4.18 (1H, t), 4.05 (1H, m), 3.93 (1H, m), 3.75-3.62 (3H, m), 3.58 (6H, s), 2.40 (1H, m), 2.27 (1H, m), 2.19-2.11 (2H, m), 2.06-1.94 (4H, m), 0.94-0.60 (12H, m), 0.61-0.40 (4H, m). ESI-MS m/z: [M+H]⁺=913.9.

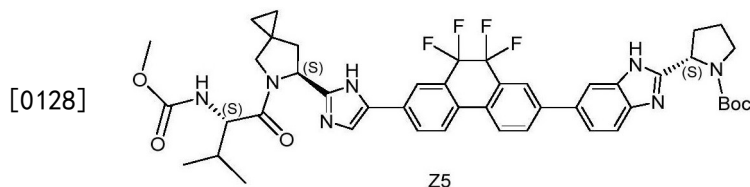
[0124] 实施例4:(S)-6-(5-(9,9,10,10-四氟-7-(2-((S)-1-((S)-2-(甲氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰基)吡咯烷-2-基)-1H-苯并[d]咪唑-6-基)-9,10-二氢菲-2-基)-1H-咪唑-2-基)-5-氮杂螺[2.4]庚烷-5-甲酸叔丁酯



[0126] 将460mg (S)-5-叔丁氧基羰基-6-(5-(7-溴-9,9,10,10-四氟-9,10-二氢菲-2-基)-1H-咪唑-2-基)-5-氮杂螺环[2,4]庚烷, 402mg ((S)-3-甲基-1-氧代-1-((S)-2-(6-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂戊环硼烷-2-基)-1H-苯并[d]咪唑-2-基)吡咯烷-1-基)丙-2-基)氨基甲酸甲酯、56.8mg Pd(dppf)Cl₂和1.5mL 0.2N碳酸钾投入反应瓶中,加入10mL IPOAc,氮气置换3次,搅拌升温至90℃反应。反应完全后,降温至室温,加入10ml水,分液,有机相饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥,浓缩,粗品柱层析纯化,得标题化合物。¹H NMR

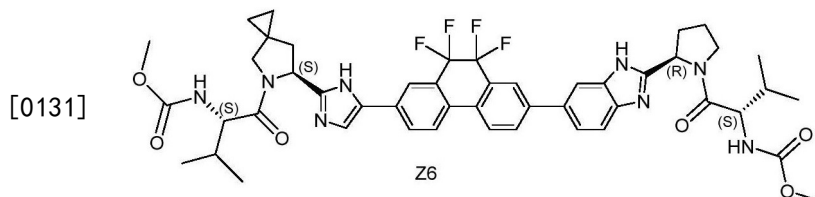
(DMSO-d₆, 500M) : δ 12.27 (1H, s), 12.11 (1H, m), 8.22-7.58 (10H, m), 7.26 (1H, m), 5.23 (1H, m), 4.98 (1H, m), 4.11 (1H, m), 3.87 (2H, m), 3.56 (3H, s), 3.56-3.27 (2H, m), 2.28-2.24 (3H, m), 2.11-1.91 (4H, m), 1.41-1.11 (9H, m), 0.92-0.83 (6H, m), 0.67-0.43 (4H, m). ESI-MS m/z : $[M+H]^+ = 856.4$.

[0127] 实施例5: (S)-2-(6-(9,9,10,10-四氟-7-(2-((S)-5-((S)-2-(甲氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰基)-5-氮杂螺[2.4]庚烷-6-基)-1H-咪唑-5-基)-9,10-二氢菲-2-基)-1H-苯并[d]咪唑-2-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯

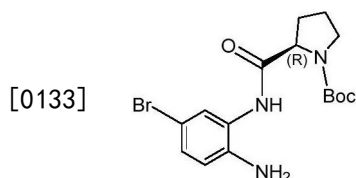


[0129] 将580mg ((S)-1-((S)-6-(5-(7-溴-9,9,10,10-四氟-9,10-二氢菲-2-基)-1H-咪唑-2-基)-5-氮杂螺[2.4]庚烷-5-基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基甲酸甲酯、406mg (S)-2-(6-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂戊环硼烷-2-基)-1H-苯并[d]咪唑-2-yl)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯、65.4mg Pd(dppf)Cl₂和1.8mL 0.2N碳酸钾投入反应瓶中,加入10mL IPOAc,氮气置换3次,搅拌升温至90℃反应。LC-MS监控反应完全,降温至室温,加入10mL水,分液,有机相用饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥,浓缩,粗品柱层析纯化,得标题化合物。¹H NMR (DMSO-d₆, 500M) : δ 12.38 (1H, s), 11.92 (1H, s), 8.23-7.58 (10H, m), 7.23 (1H, m), 5.22 (1H, m), 4.99 (1H, m), 4.02 (1H, m), 3.82 (1H, m), 3.72 (1H, m), 3.62 (1H, m), 3.55 (3H, s), 3.47-3.42 (1H, m), 2.36-2.20 (2H, m), 2.06-1.91 (5H, m), 1.41-1.11 (9H, m), 0.95-0.84 (6H, m), 0.71-0.54 (4H, m). ESI-MS m/z : $[M+H]^+ = 856.4$.

[0130] 实施例6: N-((2S)-1-((R)-2-(6-(7-((S)-2-(5-((S)-2-((甲氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰基)-5-氮杂螺[2.4]庚烷-6-基)-1H-咪唑-5-基)-9,9,10,10-四氟-9,10-二氢菲-2-基)-1H-苯并[d]咪唑-2-基)吡咯烷-1-基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基甲酸甲酯

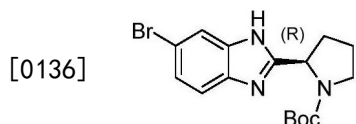


[0132] 步骤1: (R)-1-叔丁氧羰基-2-((2-氨基-5-溴苯基)氨基甲酰基)吡咯烷的制备



[0134] 将10g 4-溴邻苯二胺、9.1g BOC-D-脯氨酸羟基琥珀酰亚胺硬脂酸酯、9.42g EDCI、6.9g HOBt和120mL二氯甲烷加入反应瓶中,于-5℃搅拌下,滴加14.1g N-甲基吗啉(10mL二氯甲烷稀释),搅拌过夜。停止反应,反应液用60mL饱和碳酸氢钠洗涤,60mL饱和食盐水洗,有机层无水硫酸钠干燥,减压浓缩,得标题化合物。

[0135] 步骤2: (R)-1-叔丁氧羰基-2-(6-溴-1H-苯并[d]咪唑-2-基)吡咯烷的制备

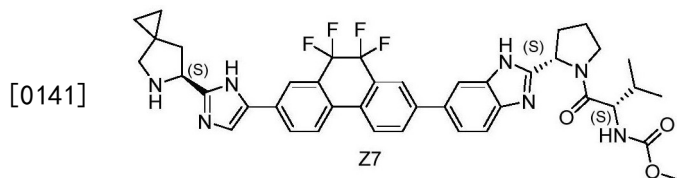


[0137] 将(R)-1-叔丁氧羰基-2-((2-氨基-5-溴苯基)氨基甲酰基)吡咯烷加100mL乙酸溶解,加热至75℃反应3h。减压浓缩除去乙酸,加入100mL乙酸乙酯溶解,饱和碳酸氢钠洗涤,饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥,浓缩,柱层析纯化,得到标题化合物。

[0138] 步骤3:N-((2S)-1-((R)-2-(6-(7-((S)-2-(5-((S)-2-((甲氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰基)-5-氮杂螺[2.4]庚烷-6-基)-1H-咪唑-5-基)-9,9,10,10-四氟-9,10-二氢菲-2-基)-1H-苯并[d]咪唑-2-基)吡咯烷-1-基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基甲酸甲酯的制备

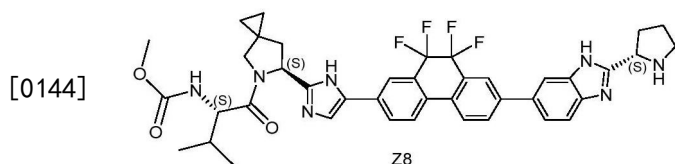
[0139] 制备方法同实施例1的制备方法,不同的是将实施例1步骤1中的(S)-1-叔丁氧羰基-2-(6-溴-1H-苯并[d]咪唑-2-基)吡咯烷替换为以上步骤中制得的(R)-1-叔丁氧羰基-2-(6-溴-1H-苯并[d]咪唑-2-基)吡咯烷,且将实施例1步骤2中的(R)-2-(甲氧基羰基氨基)-3-甲基丁酸替换为(S)-2-(甲氧基羰基氨基)-3-甲基丁酸,制备标题化合物。¹H NMR (DMSO-d₆, 500M): δ12.55 (1H, m), 11.94 (1H, s), 8.23-7.59 (10H, m), 7.25 (2H, m), 5.23 (2H, m), 4.18 (1H, m), 4.03 (1H, m), 3.93 (1H, m), 3.83 (1H, m), 3.74-3.69 (2H, m), 3.57 (6H, m), 2.35-2.23 (2H, m), 2.21-2.16 (2H, m), 2.14-1.99 (4H, m), 0.97-0.84 (12H, m), 0.70-0.53 (4H, m). ESI-MS m/z: [M+H]⁺=913.9.

[0140] 实施例7:(S)-1-((S)-2-(6-(7-(2-((S)-5-氮杂螺[2.4]庚烷-6-基)-1H-咪唑-5-基)-9,9,10,10-四氟-9,10-二氢菲-2-基)-1H-苯并[d]咪唑-2-基)吡咯烷-1-基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基-甲酸甲酯



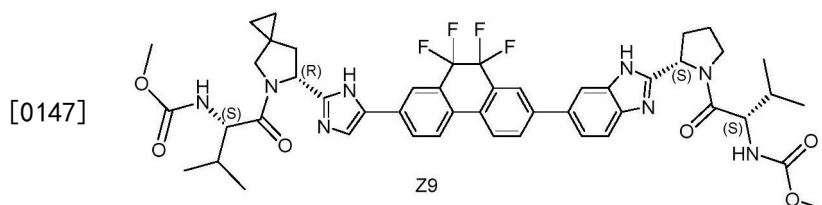
[0142] 将420mg (S)-6-(5-(9,9,10,10-四氟-7-(2-((S)-1-((S)-2-(甲氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰基)吡咯烷-2-基)-1H-苯并[d]咪唑-6-基)-9,10-二氢菲-2-基)-1H-咪唑-2-基)-5-氮杂螺[2.4]庚烷-5-甲酸叔丁酯溶于8mL乙腈,搅拌升温至65℃,加入1.5N HCl 1.3mL,搅拌反应。反应完全后,反应液浓缩,加水稀释,用饱和碳酸氢钠溶液调pH至8,抽滤,滤饼真空干燥,得标题化合物。¹H NMR (DMSO-d₆, 300M): δ12.30 (2H, m), 8.25-7.59 (10H, m), 7.27 (1H, d), 5.25 (1H, m), 4.43 (1H, t), 4.13 (1H, m), 3.88 (2H, m), 3.57 (3H, s), 2.91 (2H, dd), 2.27 (2H, m), 2.13-2.07 (2H, m), 2.05-1.95 (3H, m), 0.90 (6H, m), 0.61-0.51 (4H, m). ESI-MS m/z: [M+H]⁺=756.3.

[0143] 实施例8:(S)-3-甲基-1-氧代-1-((S)-6-(4-(9,9,10,10-四氟-7-(2-((S)-吡咯烷-2-基)-1H-苯并[d]咪唑-5-基)-9,10-二氢菲-2-基)-1H-咪唑-2-基)-5-氮杂螺[2.4]庚烷-5-基)丁烷-2-基-甲酸甲酯



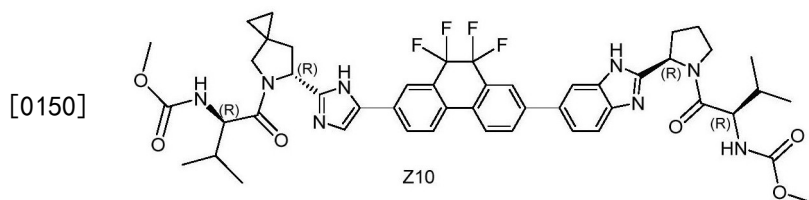
[0145] 将490mg (S)-2-(6-(9,9,10,10-四氟-7-(2-((S)-5-((S)-2-(甲氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰基)-5-氮杂螺[2.4]庚烷-6-基)-1H-咪唑-5-基)-9,10-二氢菲-2-基)-1H-苯并[d]咪唑-2-基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯溶于8mL乙腈,搅拌升温至65℃,加入1.5N HCl 0.6mL,搅拌反应。反应完全后,冷却,析出白色固体,抽滤,滤饼真空干燥得381mg白色固体。取150mg固体制备分离,所得水溶液用饱和碳酸氢钠溶液中中和,抽滤,滤饼真空干燥得标题化合物。¹H NMR (DMSO-d₆, 500M): δ12.27 (1H, m), 12.01 (1H, s), 8.26-7.58 (10H, m), 7.36 (1H, d), 5.24 (1H, t), 4.44 (1H, t), 4.04 (1H, t), 3.86 (1H, d), 3.75 (1H, d), 3.58 (3H, s), 2.99 (2H, d), 2.25-2.18 (2H, m), 2.07-2.02 (3H, m), 1.78 (2H, s), 0.99-0.90 (6H, m), 0.67-0.51 (4H, m). ESI-MS m/z: [M+H]⁺=756.3.

[0146] 实施例9:N-((2S)-1-((S)-2-(6-(7-((R)-2-(5-((S)-2-((甲氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰基)-5-氮杂螺[2.4]庚烷-6-基)-1H-咪唑-5-基)-9,9,10,10-四氟-9,10-二氢菲-2-基)-1H-苯并[d]咪唑-2-基)吡咯烷-1-基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基甲酸甲酯



[0148] 制备方法同实施例6的制备方法,不同的是将(R)-1-叔丁氧羰基-2-(6-溴-1H-苯并[d]咪唑-2-基)吡咯烷替换为(S)-1-叔丁氧羰基-2-(6-溴-1H-苯并[d]咪唑-2-基)吡咯烷,且将(S)-5-(叔丁氧羰基)-5-氮杂螺[2.4]庚烷-6-羧酸替换为(R)-5-(叔丁氧羰基)-5-氮杂螺[2.4]庚烷-6-羧酸,制得标题化合物。¹H NMR (DMSO-d₆, 500M): δ12.30 (1H, s), 12.16-11.57 (1H, m), 8.29-7.40 (10H, m), 7.27 (2H, m), 5.24 (2H, m), 4.13-4.08 (2H, m), 3.88 (2H, m), 3.69-3.46 (8H, m), 2.45-2.28 (3H, m), 2.13-1.76 (5H, m), 0.95-0.75 (12H, m), 0.68-0.47 (4H, m). ESI-MS m/z: [M+H]⁺=913.4.

[0149] 实施例10:N-((2R)-1-((R)-2-(6-(7-((R)-2-(5-((R)-2-((甲氧基羰基)氨基)-3-甲基丁酰基)-5-氮杂螺[2.4]庚烷-6-基)-1H-咪唑-5-基)-9,9,10,10-四氟-9,10-二氢菲-2-基)-1H-苯并[d]咪唑-2-基)吡咯烷-1-基)-3-甲基-1-氧代丁烷-2-基)氨基甲酸甲酯



[0151] 制备方法同实施例6的制备方法,不同的是(S)-5-(叔丁氧羰基)-5-氮杂螺[2.4]庚烷-6-羧酸替换为(R)-5-(叔丁氧羰基)-5-氮杂螺[2.4]庚烷-6-羧酸,且将(S)-2-(甲氧基羰基氨基)-3-甲基丁酸替换为(R)-2-(甲氧基羰基氨基)-3-甲基丁酸,制得标题化合物。¹H NMR (DMSO-d₆, 500M): δ12.27 (1H, s), 11.93 (1H, s), 8.43-7.43 (10H, m), 7.26 (2H, s),

5.22 (2H,m) , 4.11 (1H,m) , 4.02 (1H,m) , 3.84 (3H,m) , 3.72 (1H,m) , 3.56 (6H,s) , 2.25 (3H,m) , 2.18-1.79 (5H,m) , 1.11-0.78 (12H,m) , 0.77-0.41 (4H,m) .ESI-MS m/z: [M+H]⁺=913.9.

[0152] 实施例11:式Z3、式Z4、式Z5、式Z7和式Z8化合物的定位、定量分析

[0153] 副产物定位溶液的配制:精密称取副产物式Z3、式Z4、式Z5、式Z7和式Z8化合物各5mg,置于10mL容量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,作为定位溶液。

[0154] 式A化合物定位溶液的配制:精密称取式A化合物对照品5mg,置于10mL容量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得。

[0155] 混合溶液的配制:分别移取以上定位溶液各100 μ L,加甲醇稀释成每1mL含式A化合物约0.5mg,副产物0.5 μ g的溶液,作为混合溶液。

[0156] 取上述定位溶液及混合溶液,各量取10 μ L注入色谱柱(Agilent Poroshell 120SB C18,4.6*100mm,2.7 μ m),以0.1%三氟乙酸水溶液为流动相A,以0.1%三氟乙酸乙腈为流动相B,柱温为:30 $^{\circ}$ C,流速为1.0mL/min,依据表1梯度洗脱样品:

[0157] 表1

[0158]

时间 (min)	A相%	B相%
0	80	20
2	80	20
15	65	35
25	55	45
35	20	80
45	20	80
45.1	80	20
50	80	20

[0159] 使用紫外检测器在330nm波长处确定位置和含量。

[0160] 对比图1-5中的杂质式Z3、式Z4、式Z5、式Z7和式Z8化合物的保留时间与图6中各化合物的保留时间,保留时间一致即可确定杂质式Z3、式Z4、式Z5、式Z7和式Z8化合物在图6中的位置。实验结果显示,在图6中副产物式Z3化合物为24.083min处,副产物式Z4化合物为23.653min处,副产物式Z5化合物为23.247min处,副产物式Z7化合物为17.702min处,副产物式Z8化合物为17.408min处,具体见图1~图6。

[0161] 实施例12:式Z1、式Z2、式Z6、式Z9和式Z10化合物的定位、定量分析

[0162] 定位溶液的配制:分别称取式Z1、式Z2、式Z6、式Z9、式Z10和式A化合物适量,加溶剂二氯甲烷-甲基叔丁基醚-乙醇(68:14:18)溶解并稀释成每1mL约含1.0mg的溶液,摇匀,作为定位溶液。

[0163] 混合溶液的配制:分别移取以上定位溶液适量,加溶剂二氯甲烷-甲基叔丁基醚-乙醇(68:14:18)稀释成每1mL含式A化合物0.5mg,副产物0.5 μ g的溶液,作为混合溶液。

[0164] 取上述定位溶液及系统适用性溶液,量取10 μ L注入色谱柱(大赛璐Daicel Chiralpak IE,4.6mm*250mm,5 μ m),以二氯甲烷-甲基叔丁基醚-乙醇-二乙胺(68:14:18:0.1)为流动相,柱温:40 $^{\circ}$ C;流速:0.6mL/min,采用等度法洗脱样品,使用紫外检测器在340nm波长处确定位置和含量。

[0165] 对比图7-12中的杂质式Z1、式Z2、式Z6、式Z9和式Z10的化合物的保留时间与图12中各化合物的保留时间,保留时间一致即可确定杂质式Z1、式Z2、式Z6、式Z9、式Z10化合物在图12中的位置。实验结果显示,在图12中副产物式Z1化合物为13.541min处,副产物式Z2化合物为12.394min处,副产物式Z6化合物为17.428min处,副产物式Z9化合物为19.421min处,副产物式Z10化合物为15.508min处,具体见图7~图12。

[0166] 尽管以上已经对本发明作了详细描述,但是本领域技术人员理解,在不偏离本发明的精神和范围的前提下可以对本发明进行各种修改和改变。本发明的权利范围并不限于上文所作的详细描述,而应归属于权利要求书。

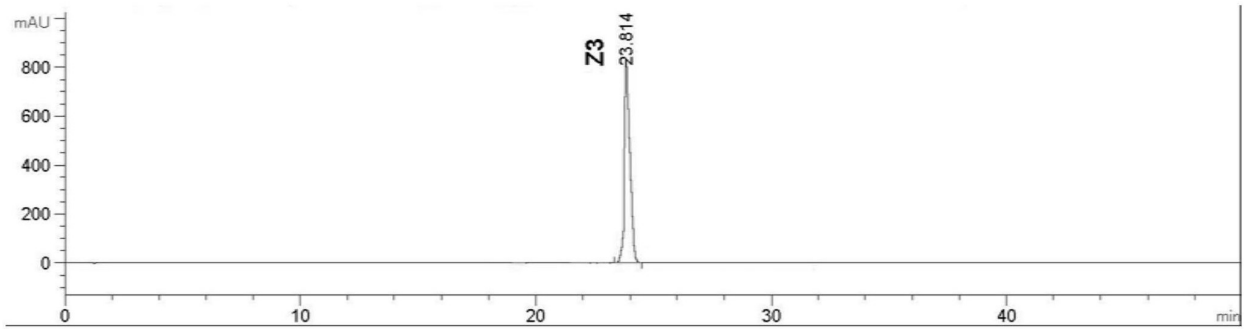


图1

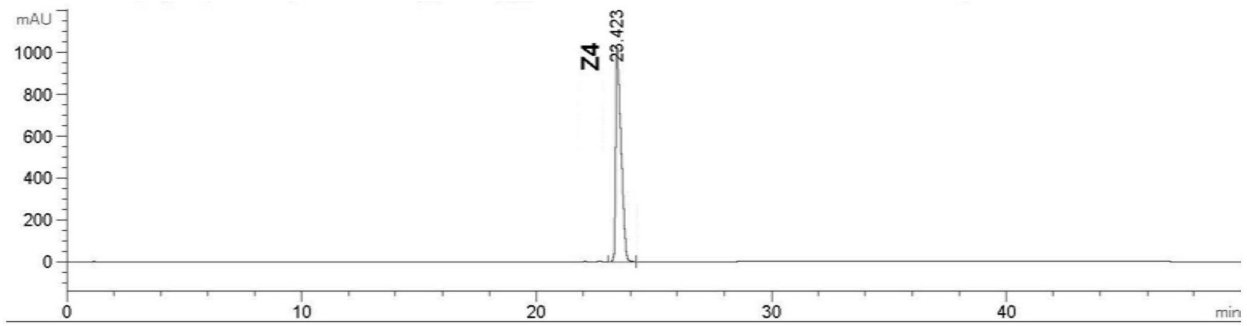


图2

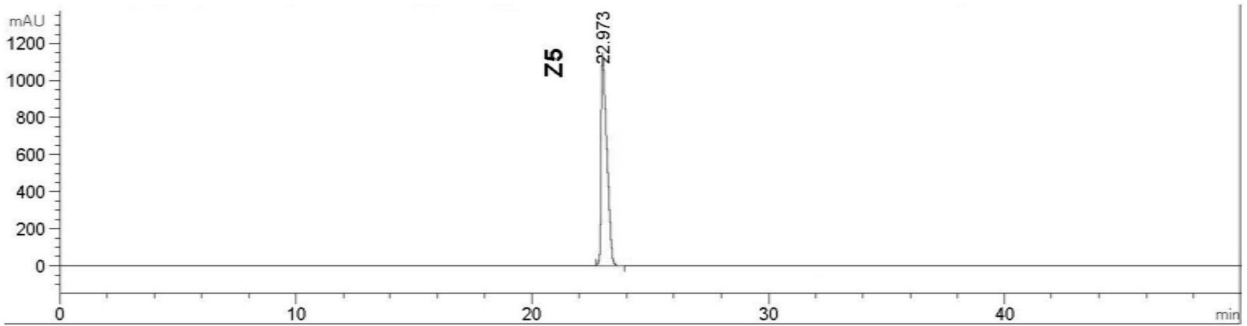


图3

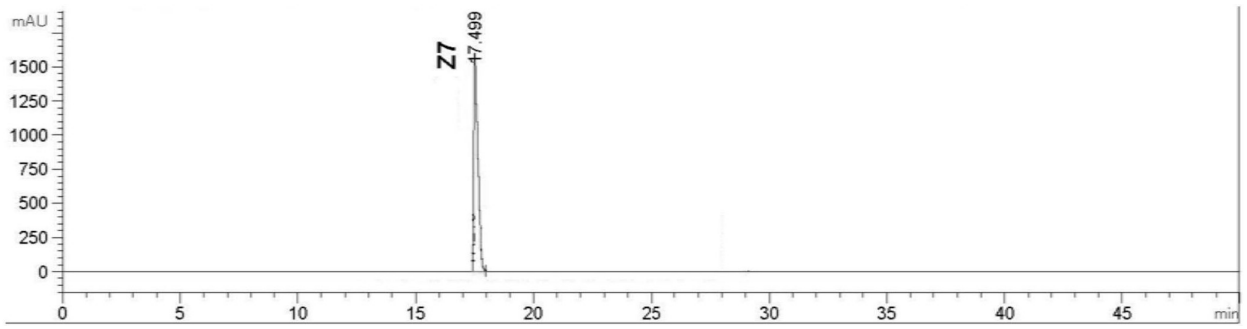


图4

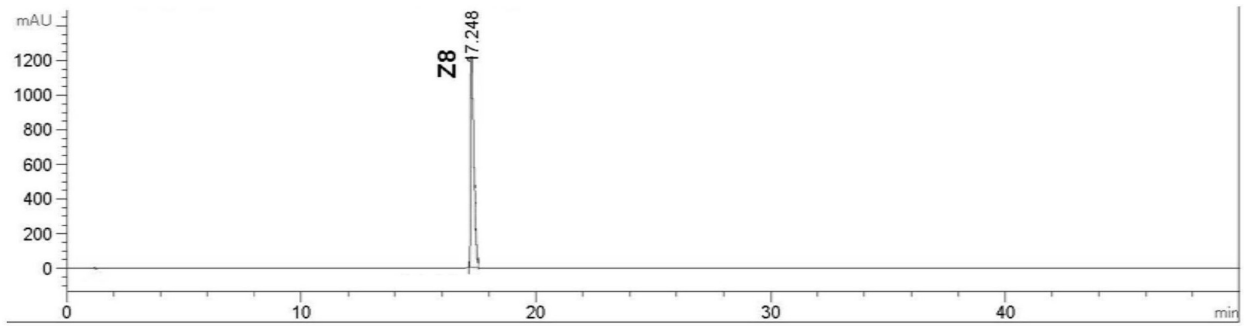


图5

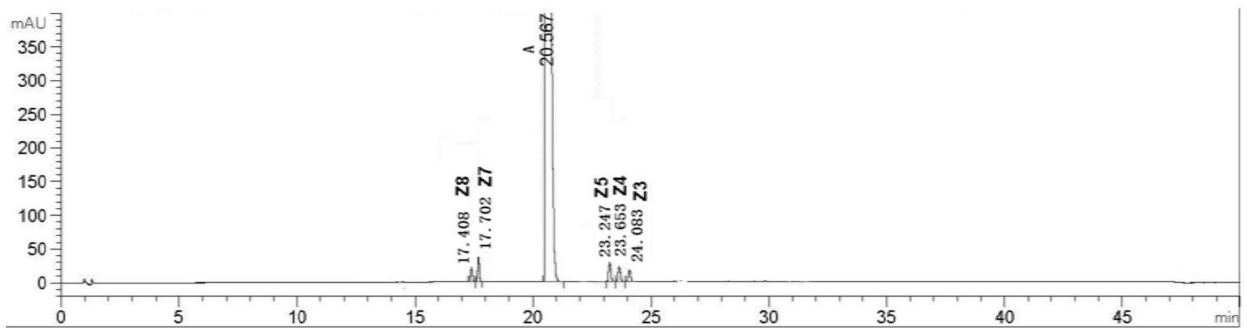


图6

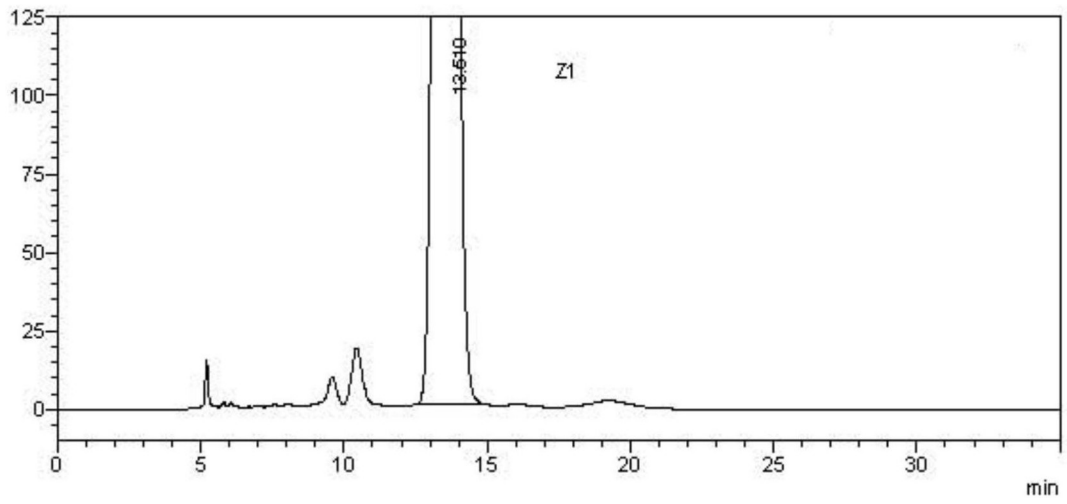


图7

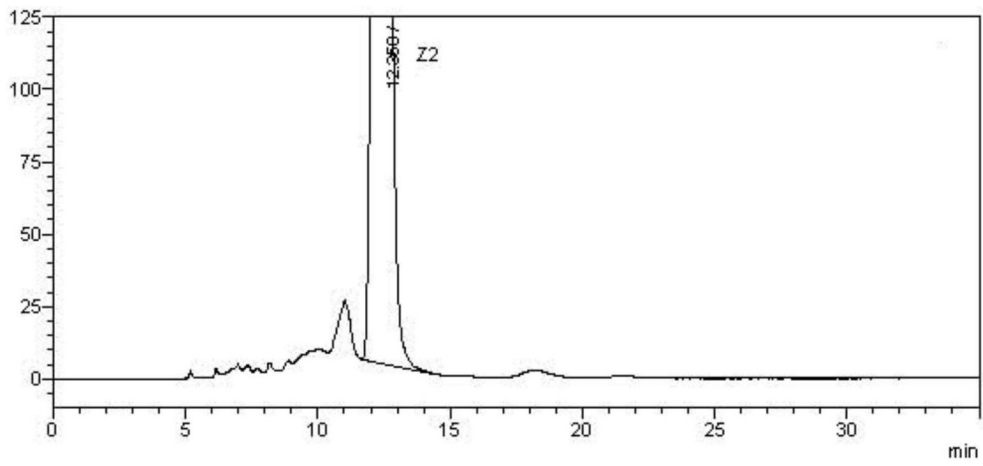


图8

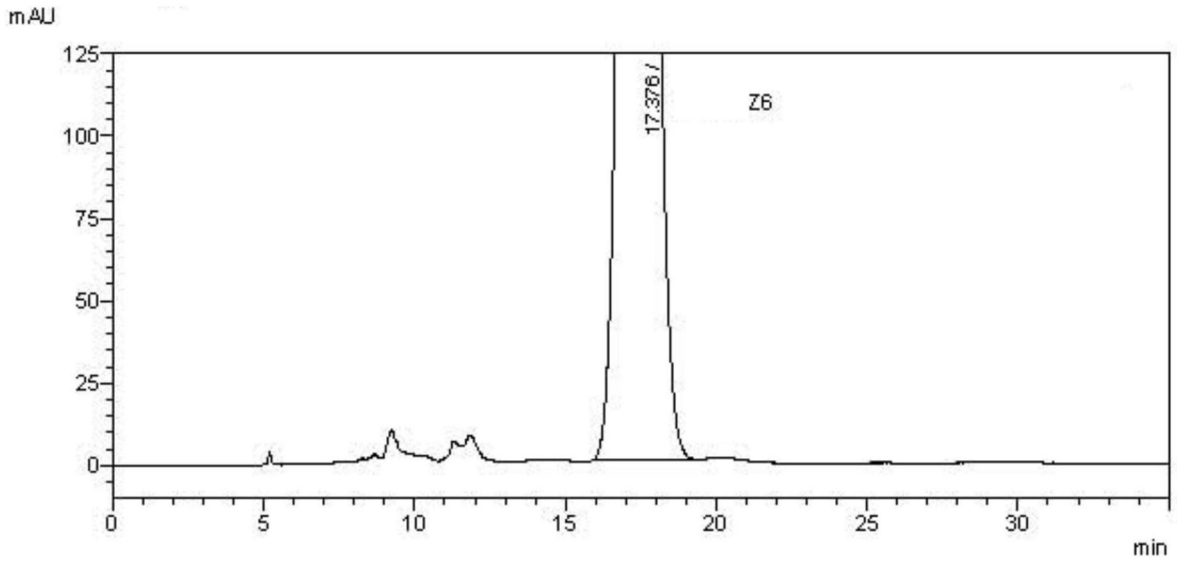


图9

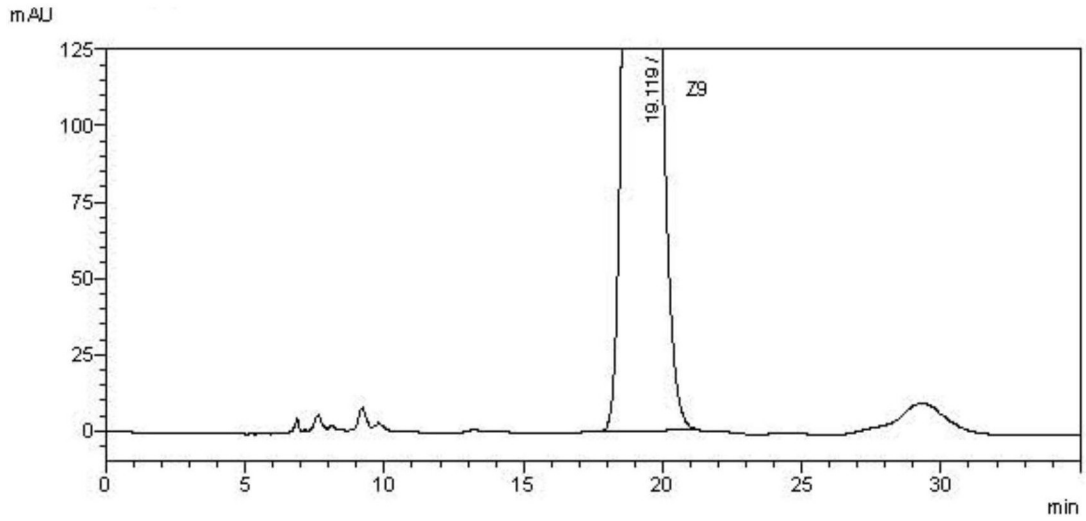


图10

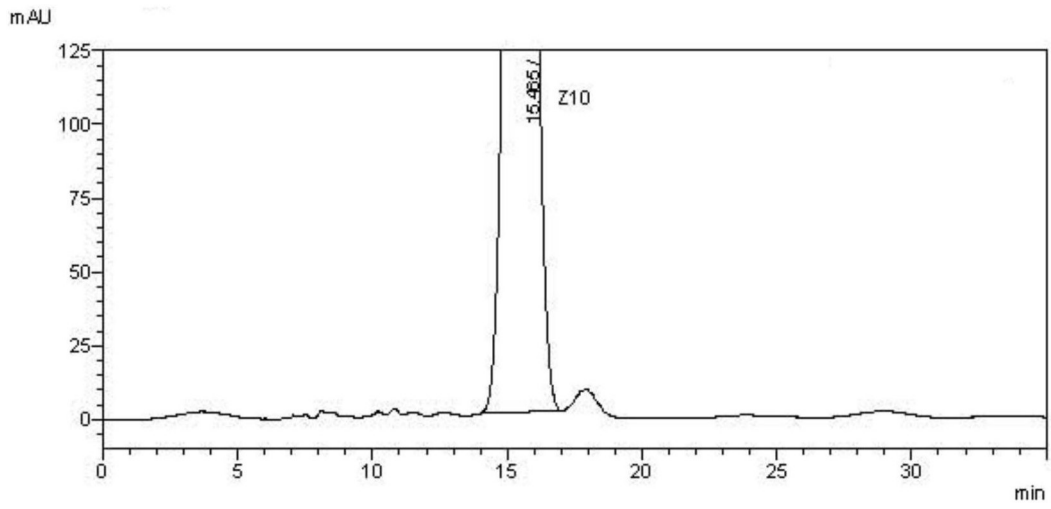


图11

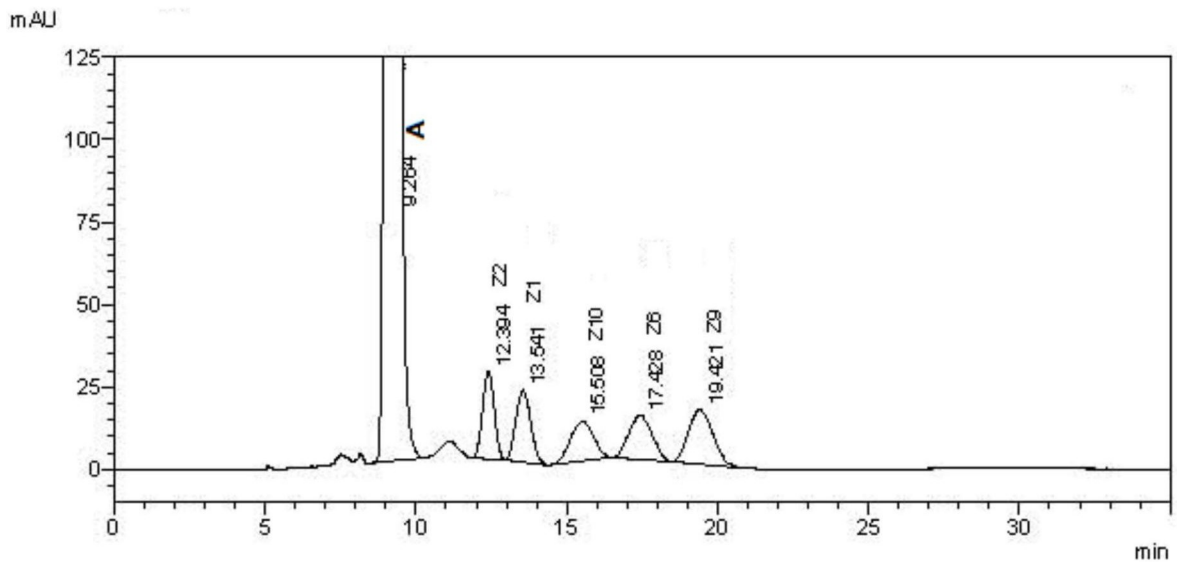


图12