研究论文

二氢乳清酸脱氢酶抑制剂 BAY2402234 的新合成工艺及手性质量控制

魏仔龙，谢　菲，钟　武*

（中国人民解放军军事科学院军事医学研究院毒物药物研究所，国家应急防控药物工程技术研究中心，北京 100850）

摘要：文章阐述了制备二氢乳清酸脱氢酶抑制剂 BAY2402234 的新方法。以苄氧基乙酸乙酯为原料，肼解后与异氰酸乙酯发生亲核加成，并在碱性条件下闭环得 5-[（苄氧基）甲基]-4- 乙基 -2,4- 二氢 -3*H*-1,2,4- 三唑 -3- 酮（**3**），**3** 经 2 步亲核取代、三氯化硼脱除苄基、羟基缩醛化得到关键中间体 4-[4- 乙基 -5- 氧代 -3-[[（四氢 -2*H*- 吡喃 -2- 基）氧基]甲基]-4,5- 二氢 -1*H*-1,2,4- 三唑 -1- 基]-5- 氟 -2-[[（*S*）-1,1,1- 三氟丙烷 -2- 基]氧基]苄腈（**7**），**7** 经碱性水解后与 2- 氯 -6- 氟苯胺发生酰胺缩合，再脱去保护基得到目标产物，高效液相色谱（HPLC）纯度 99.71%，总收率 17.34%（以苄氧基乙酸乙酯计）。同时建立了 BAY2402234 与其对映异构体的手性控制方法，新法合成的终产物 *ee* 值大于 99.9%。

关键词：二氢乳清酸脱氢酶抑制剂；BAY2402234；抗肿瘤药；合成工艺；手性质量控制

中图分类号：TQ463^{+}.5　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1001-8255(2023)06-0875-06

DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2023.06.006

Novel Synthesis and Chiral Quality Control of Dihydroorotate Dehydrogenase Inhibitor BAY2402234

WEI Zilong, XIE Fei, ZHONG Wu*

(*Institute of Pharmacology &Toxicology of AMMS, National Engineering and Technology Center of Emergency Prevention and Control Drugs, Beijing 100850*)

ABSTRACT: This paper described a new method for preparing BAY2402234, a dihydroorotate dehydrogenase inhibitor. Benzyloxy ethyl acetate was converted into 5-[(benzyloxy)methyl]-4-ethyl-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-one(**3**) by hydrazinolysis, nucleophilic addition with ethyl isocyanate, and then ring-closes under alkaline conditions. The intermediate **3** underwent the two-step nucleophilic substitution, and the benzyl was removed by boron trichloride, then the key intermediate 4-[4-ethyl-5-oxo-3-[[(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)oxy]methyl]-4,5-dihydro-1*H*-1,2,4-triazol-1-yl]-5-fluoro-2-[[(*S*)-1,1,1-trifluoropropan-2-yl]oxy]benzonitrile(**7**) was obtained by hydroxyacetalization. Compound **7** underwent the amide condensation with 2-chloro-6-fluoroaniline after alkaline hydrolysis, followed by the de-protection to obtain the target product, with a purity of 99.71% and a total yield of 17.34% based on benzyloxy ethyl acetate. At the same time, the chiral control method of BAY2402234 and its enantiomers was established. The *ee* value of the final product synthesized by the new method was more than 99.9%.

Key Words: dihydroorotate dehydrogenase inhibitor; BAY2402234; antineoplastics; synthetic process; chiral quality control

BAY2402234（**1**），化学名为 *N*-（2- 氯 -6- 氟苯基）-4-[4- 乙基 -3-（羟基甲基）-5- 氧代 -4,5- 二氢 -1*H*-1,2,4- 三唑 -1- 基]-5- 氟 -2-[[(2*S*)-1,1,1- 三氟丙烷 -2- 基]氧基]苯甲酰胺，是由德国拜耳公司研

收稿日期：2023-03-02

作者简介：魏仔龙(1994—)，男，硕士研究生，专业方向：新药设计与合成。

通信作者：钟　武(1972—)，男，研究员，博士生导师，从事药物分子设计和合成研究。

E-mail：zhongwu@bmi.ac.cn

发的具有高度靶向性和选择性的二氢乳清酸脱氢酶抑制剂，在多种急性髓系白血病基因型的细胞模型中显示出抗增殖和诱导分化的双重作用，目前已完成Ⅰ期临床，用于治疗髓系恶性肿瘤[1]，具有潜在的临床应用价值。

目前拜耳公司报道的**1**合成路线主要有2条。

路线一[2]：以4-溴-2,5-二氟苄腈为起始原料，通过亲核取代、氰基水解、酰胺缩合、Buchwald-Hartwig偶联等5步反应得到**1**。不足如下：①起始原料价格昂贵，生产成本较高。②酰氯中间体的合成使用草酰氯与*N*,*N*-二甲基甲酰胺（DMF）作催化剂，可形成致癌物*N*,*N*-二甲胺基甲酰氯，需要严格控制，并且难以纯化到药品所需的标准。③使用昂贵的钯催化剂进行偶联，反应会产生复杂的混合物，必须通过大量的纯化工作如制备型反相高效液相色谱（HPLC）等分离纯化，不利于大规模生产，而且终产品中的钯含量需要严格控制。

路线二[3]：以羟基乙酸丁酯为起始原料，通过羟基保护、碱性闭环、2步亲核取代、氰基水解和酰胺缩合等7步反应得到**1**。缺点如下：①在合成中间体4-乙基-5-[[（四氢-2*H*-吡喃-2-基）氧基]-甲基]-2,4-二氢-3*H*-1,2,4-三唑-3-酮时，产物为油状物，不利于纯化，而且紫外吸收弱，反应监测困难。②纯化中间体4-[4-乙基-5-氧代-3-[[（四氢-2*H*-吡喃-2-基）氧基]甲基]-4,5-二氢-1*H*-1,2,4-三唑-1-基]-5-氟-2-[[(*S*)-1,1,1-三氟丙烷-2-基]氧基]-苯甲酸（**8**）的过程中使用二异丙醚（DIPE）和四氢呋喃（THF）重结晶，损失较大，产率仅63%。③亲核取代反应以磷酸钾为碱，反应不完全，且原料和产物极性接近难以分离，重复文献操作的实际收率为87.5%，纯度仅77.13%，其中原料含量占17.25%。

本研究综合相关文献[3—4]，设计了图1所示的新合成路线。以易于获取的苄氧基乙酸乙酯为原料，在回流条件下肼解得2-苄氧基乙酰肼（**2**），**2**与异氰酸乙酯发生亲核加成，并在碱性条件下闭环得5-[（苄氧基）甲基]-4-乙基-2,4-二氢-3*H*-1,2,4-三唑-3-酮（**3**），**3**在碱性条件下选择性取代2,4,5-三氟苯腈的4-位氟原子，得到4-[3-[（苄氧基）甲基]-4-乙基-5-氧代-4,5-二氢-1*H*-1,2,4-三唑-1-基]-2,5-二氟苄腈（**4**），**4**在强碱氢化钠作用下，与（*S*）-1,1,1-三氟丙烷-2-醇发生2-位氟原子的亲核取代得（*S*）-4-[3-[（苄氧基）甲基]-4-乙基-5-氧代-4,5-二氢-1*H*-1,2,4-三唑-1-基]-5-氟-2-[(1,1,1-三氟丙烷-2-基）氧基]苄腈（**5**），于-78 ℃低温环境下，由**5**经路易斯酸（BCl_3）脱除苄基得（*S*）-4-[4-乙基-3-（羟甲基）-5-氧代-4,5-二氢-1*H*-1,2,4-三唑-1-基]-5-氟-2-[（1,1,1-三氟丙烷-2-基）氧基]苄腈（**6**），**6**的羟基与二氢吡喃经缩醛化反应得到含四氢吡喃（THP）保护基的中间体**7**，更换保护基的目的在于最后一步反应中THP比苄基更易于脱除，便于终产物的分离和纯化。然后用氢氧化钠溶液将中间体**7**的氰基水解，再酸化得到**8**，最后采用“一锅法”将**8**先与2-氯-6-氟苯胺进行酰胺缩合，随后加酸脱去保护基得到目标产物。其中，中间体**4**、**5**和**6**为新化合物，未见文献报道。中间体**4**的结构经MS、^{1}H NMR、^{12}C NMR、^{19}F NMR及HMBC、HSQC确证。

相较于路线①，新路线所用原料来源易得，避免了因使用DMF与酰氯作催化剂而产生的难以除去的致癌物质，无需使用钯催化剂及相关配体，生产成本降低。相较于路线②，新路线以苄氧基乙酸乙酯为起始原料，经2步反应即可获得中间体**3**，其以白色固体的形式从溶液中析出，更易制取，省略了多次蒸馏等烦琐的后处理步骤；制备中间体**5**的反应条件中，将磷酸钾替换为碱性更强的氢化钠，原料几乎定量转化（收率99.8%，纯度97.75%，其中原料含量1.25%），多数中间体只需经简单纯化即可投入后续反应，操作简单，可为实验室规模制备以及工业生产提供借鉴。本工艺总收率17.34%。

此外，**1**结构中具有1个手性中心，其光学纯度对生物学活性存在较大影响，因此开发手性分析方法对终产品的质量控制具有重要意义。本研究建立了手性HPLC的含量测定方法，考察**1**的光学纯度。参照上述合成路线制备了**1**对映异构体[$[\alpha]_{589}^{27.2}$ -11.7°（*c* 1, $CHCl_3$）]和消旋体，通过不同试验条件的探索[5—6]，结果显示可使用Phenomenex i-Amylose-3

柱，在流速 0.8 mL/min、检测波长 254 nm、进样量 10 μL（样品质量浓度 0.2 mg/mL）、运行时间 80 min、柱温 30 ℃、等度洗脱（30%乙腈水溶液）的条件下检测。图2的分析结果显示，消旋体能实现基本分离，峰形良好；根据出峰时间可以确定峰Ⅰ为目标化合物 **1**，峰Ⅱ为其对映异构体。按上述方法测得供试品的光学纯度 *ee*>99.9%，同时可对关键中间体 **5**、**6**、**7** 进行手性质量监测，测得其 *ee* 值分别为 98.84%、大于 99% 和 98.53%；中间体 **5**、**6**、**7**（其中，**5** 和 **6** 含有 1 个手性中心，**7** 含有 2 个手性中心）的保留时间分别为 31.77、54.60、22.48（35.33）min，它们的对映体的保留时间分别为 33.29、57.31、24.41（34.79）min。

实验部分

2- 苄氧基乙酰肼（2）

将 2- 苄氧基乙酸乙酯（6.6 g，34 mmol）溶于乙醇（60 mL）中，加入 85% 水合肼（3.9 mL，68 mmol），氮气保护下加热至 78 ℃回流反应 6 h，TLC［展开剂：石油醚和乙酸乙酯（体积比 4 ∶ 1）的混合溶液］监测反应。减压蒸除溶剂，剩余无色油状物 **2**（8.3 g）直接投入下步反应。纯度 98.48%［HPLC 归一化法：色谱柱 Agilent Eclipse Plus C_{18} 柱（4.6 mm×250 mm, 5 μm）；流动相 A 为甲醇，B 为 20 mmol/L 磷酸二氢钾溶液，梯度洗脱（0—5 min，B 90%；5—30 min，B 90% —10%；30—35 min，B 10%；35—35.1 min，B 10% —90%；35.1—40 min，B 90%）；柱温 30 ℃；流速 1 mL/min；检测波长 220 nm；进样量 5 μL。保留时间 15.44 min］。^{1}H NMR（600 MHz, DMSO-d_6）δ: 9.05（br s, 1H），7.26 ～ 7.43（m, 5H），4.52（s, 2H），4.14（br s, 2H），3.90（s, 2H）；ESI-MS（*m/z*）: 181.10［M+H］$^+$。

5-［（苄氧基）甲基］-4- 乙基 -2,4- 二氢 -3*H*-1,2,4- 三唑 -3- 酮（3）

在冰浴 0 ℃条件下将 **2**（8.275 g，46 mmol）溶于水（80 mL）中，滴加异氰酸乙酯（4 mL，55.1 mmol），滴毕撤去冰浴，室温搅拌过夜。向反应液中加入 10 mol/L 氢氧化钠溶液（23 mL），于 95 ℃回流 12 h，冷却至室温，加 12 mol/L 盐酸调至 pH 6，析出固体，过滤，滤饼用水洗涤，干燥后得到白色固体 **3**（4.17 g，2 步收率 52.6%），mp 117.3 ～ 118.7 ℃。纯度 99.37%（HPLC 归一化法，条件同 **2**；保留时间 22.19 min）。^{1}H NMR

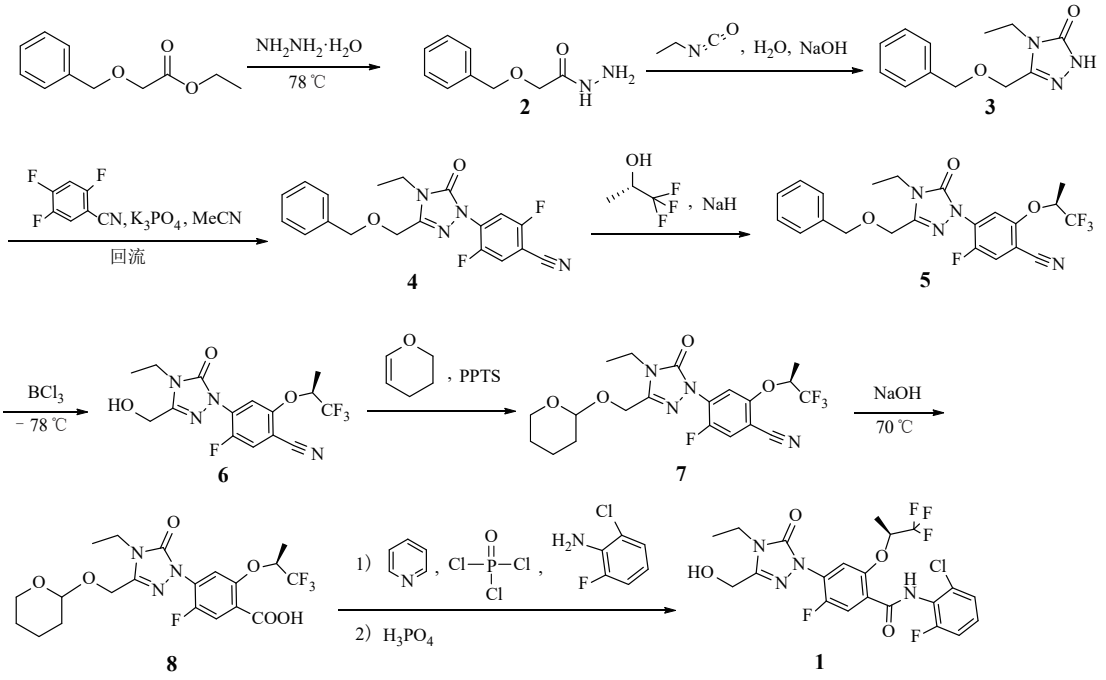


图 1　1 的新合成路线

Fig.1　The New Synthetic Route of **1**

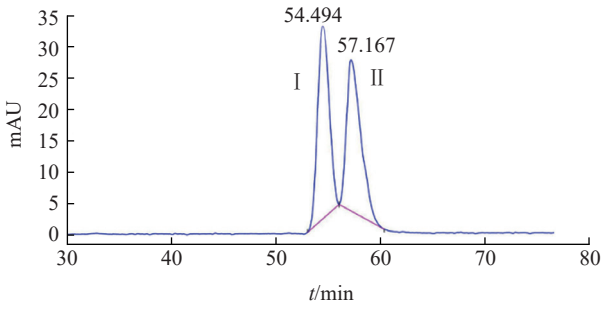


图 2　1 外消旋体的手性 HPLC 图谱

Fig.2　Chiral HPLC Chromatogram of Racemic **1**

(600 MHz, DMSO-d_6) δ: 11.67 (s, 1H), 7.22～7.43 (m, 5H), 4.51 (s, 2H), 4.42 (s, 2H), 3.62 (q, *J*=7.1 Hz, 2H), 1.16 (t, *J*=7.2 Hz, 3H)；ESI-MS (*m/z*): 234.13 $[M+H]^+$。

4-[3-[(苄氧基)甲基]-4- 乙基 -5- 氧代 -4,5- 二氢 -1*H*-1,2,4- 三唑 -1- 基]-2,5- 二氟苄腈 (4)

依次将 **3** (3.0 g，12.86 mmol) 和 2,4,5- 三氟苯腈 (2.23 g，14.15 mmol) 溶于乙腈 (33 mL) 中，加入磷酸钾 (5.5 g，25.8 mmol)，搅拌回流 12 h，冷却至室温，减压蒸除溶剂，残余物加水 (50 mL) 稀释，用二氯甲烷 (40 mL×4) 萃取。有机相合并后用无水硫酸钠干燥，过滤，滤液减压蒸除溶剂，剩余物经硅胶柱色谱 [洗脱剂：石油醚和乙酸乙酯 (体积比 2 ∶ 1) 的混合溶液] 分离、纯化，得到白色固体 **4** (4.16 g，87.5%)，mp 70.2～70.8 ℃。纯度 99.56%（HPLC 归一化法，条件同 **2**；保留时间 29.55 min]。^{1}H NMR (600 MHz, DMSO-d_6) δ: 8.23 (dd, *J*=10.0、5.7 Hz, 1H), 7.88 (dd, *J*=9.6、5.9 Hz, 1H), 7.18～7.50 (m, 5H), 4.59 (s, 2H), 4.57 (s, 2H), 3.75 (q, *J*=7.1 Hz, 2H), 1.23 (t, *J*=7.2 Hz, 3H)；^{19}F NMR (565 MHz, DMSO-d_6) δ: －111.59, －121.48；ESI-MS (*m/z*): 371.13 $[M+H]^+$。碳 - 氢相关谱解释见表 1。

(*S*)-4-[3-[(苄氧基)甲基]-4- 乙基 -5- 氧代 -4,5- 二氢 -1*H*-1,2,4- 三唑 -1- 基]-5- 氟 -2-[(1,1,1- 三氟丙烷 -2- 基)氧基] 苄腈 (5)

在冰浴 0 ℃条件下，向 (*S*)-1,1,1- 三氟丙烷 -2-

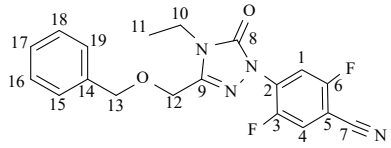


表 1　化合物 4 的碳 - 氢相关谱解释

Tab.1　Explanation of Carbon-hydrogen Correlation Spectra of Compound **4**

碳位置	δ_C	HSQC	HMBC
1	114.25 (d, *J*=25.5 Hz)	7.88 (dd, *J*=9.6、5.9 Hz)	—
2	130.50 (dd, *J*=12.5、11.2 Hz)	—	8.23 (dd, *J*=10.0、5.7 Hz, H-4) 7.88 (dd, *J*=9.6、5.9 Hz, H-1)
3	150.92 (dd, *J*=252.3、2.1 Hz)	—	8.23 (dd, *J*=10.0、5.7 Hz, H-4) 7.88 (dd, *J*=9.6、5.9 Hz, H-1)
4	122.49 (d, *J*=26.2 Hz)	8.23 (dd, *J*=10.0、5.7 Hz)	—
5	99.87 (dd, *J*=17.7、9.5 Hz)	—	8.23 (dd, *J*=10.0、5.7 Hz, H-4) 7.88 (dd, *J*=9.6、5.9 Hz, H-1)
6	159.05 (dd, *J*=253.4、1.9 Hz)	—	8.23 (dd, *J*=10.0、5.7 Hz, H-4) 7.88 (dd, *J*=9.6、5.9 Hz, H-1)
7	113.22 (s)	—	8.23 (dd, *J*=10.0、5.7 Hz, H-4)
8	152.06 (s)	—	3.75 (q, *J*=7.1 Hz, H-10)
9	146.91 (s)	—	3.75 (q, *J*=7.1 Hz, H-10) 4.57 (s, H-12)
10	37.40 (s)	3.75 (q, *J*=7.1 Hz)	1.23 (t, *J*=7.2 Hz, H-11)
11	14.32 (s)	1.23 (t, *J*=7.2 Hz)	3.75 (q, *J*=7.1 Hz, H-10)
12	62.72 (s)	4.57 (s)	—
13	72.34 (s)	4.59 (s)	7.18～7.45 (m, H-15, H-19)
14	137.70 (s)	—	7.18～7.45 (m, 5H)
15/16/17/18/19	128.84 (s), 128.51 (s), 128.35 (s)	7.18～7.45 (m, 5H)	7.18～7.45 (m, 5H)

醇（1.54 g，13.49 mmol）的 THF（90 mL）溶液中缓慢分批添加 60% NaH（0.6 g，13.49 mmol），加毕继续反应 20 min，缓慢滴加 **4**（4.16 g，11.24 mmol）的 THF 溶液（18 mL），滴毕冰浴搅拌 30 min 后，室温反应 24 h，TLC［展开剂：石油醚和乙酸乙酯（体积比 2 ∶ 1）的混合溶液］监测反应。冰浴下依次滴加甲醇（20 mL）和水（10 mL），反应液减压浓缩。残余物中加入乙酸乙酯（350 mL），用水洗涤（60 mL×2），用无水硫酸钠干燥，过滤，滤液减压蒸除溶剂，得黄色油状物 **5**（5.2 g，99.8%），直接投入下步反应。纯度 97.75%（HPLC 归一化法，条件同 **2**；保留时间 30.85 min）。$[\alpha]_{589}^{26.4}$ －6.3°（*c* 1, $CHCl_3$）；^{1}H NMR（600 MHz, DMSO-d_6）δ: 8.09（d, *J*=9.9 Hz, 1H）, 7.74（d, *J*=5.9 Hz, 1H）, 7.16～7.47（m, 5H）, 5.37～5.56（m, 1H）, 4.61（s, 2H）, 4.58（s, 2H）, 3.76（q, *J*=7.1 Hz, 2H）, 1.49（d, *J*=6.4 Hz, 3H）, 1.24（t, *J*=7.2 Hz, 3H）；ESI-MS（*m/z*）: 465.16［M+H］$^+$。

（*S*）-4-［4- 乙基 -3-（羟甲基）-5- 氧代 -4,5- 二氢 -1*H*-1,2,4- 三唑 -1- 基］-5- 氟 -2-［（1,1,1- 三氟丙烷 -2- 基）氧基］苄腈（6）[4]

在 N_2 条件下将 **5**（5.14 g，11.1 mmol）溶于二氯甲烷（110 mL）并冷却至 －78 ℃，缓慢滴入 1 mol/L 三氯化硼的二氯甲烷溶液（45 mL，45 mmol），滴毕升温至 －40 ℃反应 3 h，TLC［展开剂：石油醚和乙酸乙酯（体积比 1 ∶ 1）的混合溶液］监测反应。加入甲醇（68 mL），搅拌过夜，将反应液减压浓缩，剩余的淡黄色固体（4.2 g）用石油醚和乙酸乙酯（体积比 3 ∶ 2）的混合溶液重结晶，得白色晶体 **6**（3.38 g，81.3%），mp 138.3～139.9 ℃，$[\alpha]_{589}^{26.4}$ +5.4°（*c* 1, $CHCl_3$）。纯度 93.64%（HPLC 归一化法，条件同 **2**；保留时间 23.96 min）。^{1}H NMR（600 MHz, DMSO-d_6）δ: 8.08（d, *J*=9.9 Hz, 1H）, 7.73（d, *J*=5.9 Hz, 1H）, 5.82（s, 1H）, 5.45～5.51（m, 1H）, 4.47（d, *J*=11.0 Hz, 2H）, 3.79（q, *J*=7.1 Hz, 2H）, 1.48（t, *J*=7.2 Hz, 3H）, 1.27（t, *J*=7.2 Hz, 3H）；ESI-MS（*m/z*）: 375.11［M+H］$^+$。

4-［4- 乙基 -5- 氧代 -3-［［（四氢 -2*H*- 吡喃 -2- 基）-氧基］甲基］-4,5- 二氢 -1*H*-1,2,4- 三唑 -1- 基］-5- 氟 -2-［［（*S*）-1,1,1- 三氟丙烷 -2- 基］氧基］苄腈（7）

将 **6**（2.91 g，7.78 mmol）和 4- 甲基苯磺酸吡啶（0.2 g，0.791 mmol）溶于二氯甲烷（53 mL）中，滴加 3,4- 二氢 -2*H*- 吡喃（2.00 g，23.73 mmol），滴毕室温搅拌过夜，TLC［展开剂：石油醚和乙酸乙酯（体积比 1 ∶ 1）的混合溶液］监测反应。向反应液中加入二氯甲烷（50 mL）稀释，用 50% 氯化钠溶液洗涤（35 mL×2），用无水硫酸钠干燥，过滤，滤液减压蒸除溶剂，得淡黄色油状物 **7**（3.73 g，104%），直接用于下步反应。$[\alpha]_{589}^{26.7}$ +6.5°（*c* 1, $CHCl_3$）。纯度 95.23%（HPLC 归一化法，条件同 **2**；保留时间 29.82 min）。^{1}H NMR（600 MHz, DMSO-d_6）δ: 8.08（d, *J*=9.8 Hz, 1H）, 7.75（d, *J*=5.9 Hz, 1H）, 5.40～5.54（m, 1H）, 4.78（s, 1H）, 4.67（d, *J*=12.8 Hz, 1H）, 4.50（d, *J*=12.8 Hz, 1H）, 3.72～3.80（m, 3H）, 3.55～3.48（m, 1H）, 1.64～1.74（m, 2H）, 1.51（d, *J*=7.2 Hz, 4H）, 1.49（t, *J*=6.8 Hz, 3H）, 1.27（t, *J*=7.1 Hz, 3H）；ESI-MS（*m/z*）: 459.16［M+H］$^+$。

4-［4- 乙基 -5- 氧代 -3-［［（四氢 -2*H*- 吡喃 -2- 基）-氧基］甲基］-4,5- 二氢 -1*H*-1,2,4- 三唑 -1- 基］-5- 氟 -2-［［（*S*）-1,1,1- 三氟丙烷 -2- 基］氧基］苯甲酸（8）

向 **7**（3.73 g，8.14 mmol）的乙醇（11.4 mL）溶液中加入 2 mol/L 氢氧化钠溶液（12.5 mL），加热至 80 ℃搅拌 24 h。TLC［展开剂：二氯甲烷和甲醇（体积比 10 ∶ 1）的混合溶液］监测反应。冷却至室温，加水（90 mL）稀释。水相用二氯甲烷洗涤（15 mL×3），加 2 mol/L 盐酸调至 pH 4，用叔丁基甲醚萃取（30 mL×2），有机相经无水硫酸钠干燥，过滤，滤液减压蒸除溶剂，得黄色油状物 **8**（3.2 g，82.7%），直接投入下步反应。$[\alpha]_{589}^{27.2}$ +13.4°（*c* 1, $CHCl_3$）。纯度 92.69%（HPLC 归一化法，条件同 **2**；保留时间 23.60 min）。^{1}H NMR（600 MHz, DMSO-d_6）δ: 13.29（s, 1H）, 7.62（d, *J*=10.2 Hz, 1H）, 7.49（d,

J=5.5 Hz, 1H), 5.16 ～ 5.32(m, 1H), 4.78(s, 1H), 4.66(d, *J*=12.8 Hz, 1H), 4.49(d, *J*=12.8 Hz, 1H), 3.77(q, *J*=7.0 Hz, 3H), 3.48 ～ 3.56(m, 1H), 1.62 ～ 1.75(m, 2H), 1.44 ～ 1.56(m, 4H), 1.38 ～ 1.43(m, 3H), 1.24 ～ 1.29(m, 3H)；ESI-MS(*m/z*): 476.15[M－H]$^-$。

***N*-(2-氯-6-氟苯基)-4-[4-乙基-3-(羟基甲基)-5-氧代-4,5-二氢-1*H*-1,2,4-三唑-1-基]-5-氟-2-[[(2*S*)-1,1,1-三氟丙烷-2-基]氧基]苯甲酰胺(1)**

将**8**(1 g，2.1 mmol)溶于乙腈(5 mL)，加入吡啶(0.61 mL，7.4 mmol)和2-氯-6-氟苯胺(0.47 g，3.2 mmol)，冰浴条件下缓慢加磷酰氯(0.37 g，2.4 mmol)，冰浴继续搅拌1 h，加入甲醇(10 mL)和85%磷酸(0.2 mL，3.16 mmol)，加热至60 ℃反应1 h。TLC[展开剂：石油醚和乙酸乙酯(体积比1∶1)的混合溶液]监测反应。将反应液减压浓缩，残余物加乙酸乙酯(20 mL)稀释，依次用水(10 mL×3)和饱和碳酸氢钠溶液(10 mL)洗涤，用无水硫酸钠干燥，过滤，滤液减压蒸除溶剂，剩余淡黄色油状物于室温静置析晶，用少量二氯甲烷洗涤，过滤，所得白色晶体(0.78 g，71.4%，纯度94.87%)再用乙醇重结晶，得白色晶体**1**(0.59 g，75.6%)，mp 183.3 ～ 184.6 ℃，$[\alpha]_{589}^{27.2}$+12.8°(*c* 1, $CHCl_3$)。纯度99.71%(HPLC归一化法，条件同**2**；保留时间27.32 min)。^{1}H NMR(600 MHz, DMSO-d_6) δ: 10.05(s, 1H), 7.60(d, *J*=5.8 Hz, 1H), 7.56(d, *J*=9.8 Hz, 1H), 7.29 ～ 7.49(m, 3H), 5.79(t, *J*=5.8 Hz, 1H), 5.36(dt, *J*=12.7、6.3 Hz, 1H), 4.49(d, *J*=5.8 Hz, 2H), 3.79(q, *J*=7.1 Hz, 2H), 1.45(d, *J*=6.3 Hz, 3H), 1.29(t, *J*=7.2 Hz, 3H)；^{13}C NMR(150 MHz, DMSO-d_6) δ: 163.27(s), 158.85(d, *J*=251.0 Hz), 152.44(s), 150.86(d, *J*=248.5 Hz), 150.16(s), 148.84(s), 133.10(d, *J*=2.0 Hz), 129.70(d, *J*=9.1 Hz), 127.56(d, *J*=5.8 Hz), 126.80(d, *J*=12.9 Hz), 125.83(d, *J*=3.0 Hz), 125.04(q, *J*=281.6 Hz), 123.61(d, *J*=16.2 Hz), 117.65(d, *J*=22.8 Hz), 115.56(d, *J*=20.4 Hz), 115.02(s), 73.56(q, *J*=31.5 Hz), 55.26(s), 37.11(s), 14.57(s), 13.79(s)；^{19}F NMR(565 MHz, DMSO-d_6) δ: －77.20, －115.36, －127.07；ESI-MS(*m/z*): 521.13[M+H]$^+$。

参考文献：

[1] CHRISTIAN S, MERZ C, EVANS L, *et al*. The novel dihydroorotate dehydrogenase(DHODH) inhibitor BAY 2402234 triggers differentiation and is effective in the treatment of myeloid malignancies[J]. *Leukemia*, 2019, **33**(10): 2403-2415.

[2] GRADL S N, NIEHUES M, HALFBRODT W. Preparation of 5-oxo-4,5-dihydro-1*H*-1,2,4-triazole derivatives for the treatment of cancer: EP, 3553052[P]. 2019-10-16.

[3] HASSFELD J, GRADL S N, RUBENBAUER P, *et al*. Method for the preparation of a 2,4,5-trisubstituted 1,2,4-triazolone: WO, 2019197239[P]. 2019-10-17.

[4] CISAR J, KEOHANE C, KUDUK S. Fluorinated quinoline and quinoxaline derivatives as dihydroorotate dehydrogenase(DHODH) inhibitors for the treatment of cancer, autoimmune and inflammatory diseases: WO, 2021084500[P]. 2021-05-06.

[5] KUDUK S, ZHANG X. Heterocyclic compounds as dihydroorotate dehydrogenase inhibitors and their preparation: WO, 2021156787[P]. 2021-08-12.

[6] KUDUK S, ZHANG X. Indazoles and benzoisoxazoles as dihydroorotate dehydrogenase inhibitors and their preparation: WO, 2021240424[P]. 2021-12-02.