



(21) 申请号 202411459551.4

(51) Int.Cl.

(22) 申请日 2021.07.15

A61K 31/506 (2006.01)

(30) 优先权数据

A61P 25/26 (2006.01)

2020-122864 2020.07.17 JP

A61P 25/00 (2006.01)

C07D 451/02 (2006.01)

(62) 分案原申请数据

202180044081.3 2021.07.15

(71) 申请人 卫材R&D管理有限公司

地址 日本东京都

(72) 发明人 吉田融 北阳一 小竹真

反町启一 大房俊行 元木贵史

浅羽太郎

(74) 专利代理机构 北京市金杜律师事务所

11256

专利代理师 牛蔚然

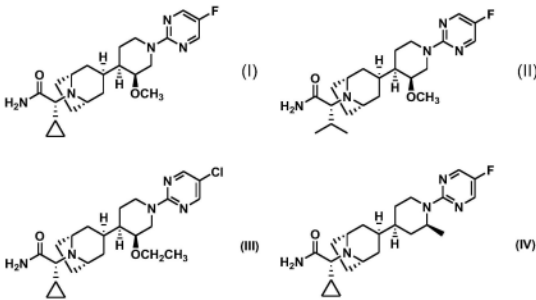
权利要求书3页 说明书27页 附图3页

(54) 发明名称

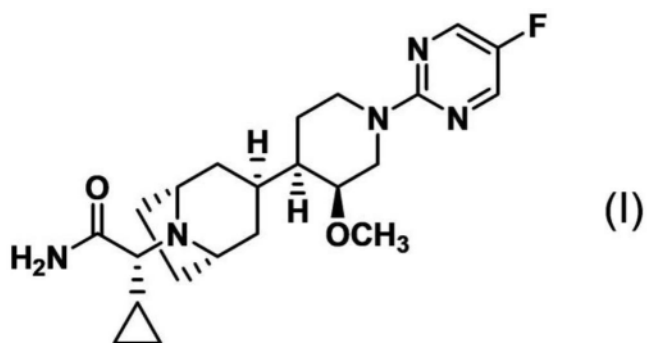
取代的哌啶化合物及其用途

(57) 摘要

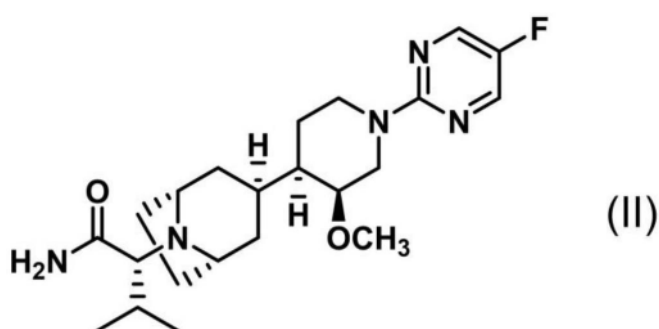
本申请涉及取代的哌啶化合物及其用途。本发明提供一种具有食欲素2型受体激动活性的下述式(I)、(II)、(III)及(IV)所表示的化合物或其药剂学上允许的盐。[化1]



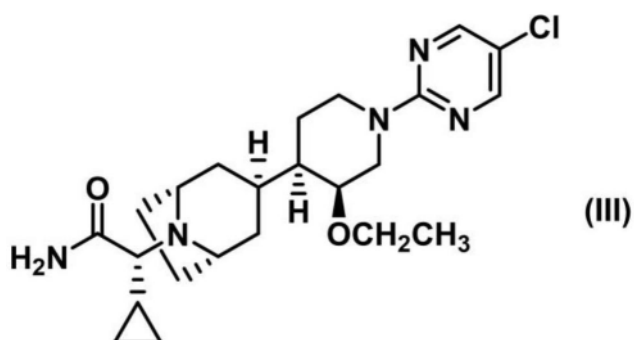
1.睡眠过度综合征的治疗剂,其含有选自由下述式(I)



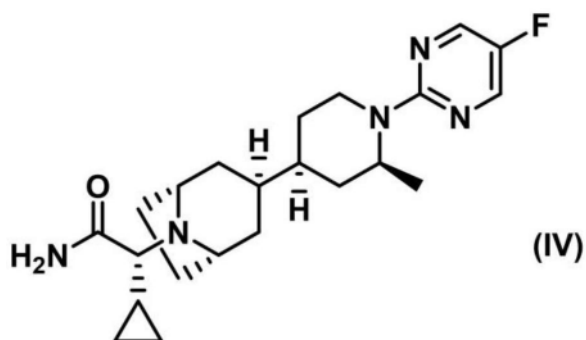
所表示的(2R)-2-环丙基-2-[(1R,3S,5S)-3-[(3S,4R)-1-(5-氟嘧啶-2-基)-3-甲氧基哌啶-4-基]-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-基]乙酰胺、  
下述式(II)



所表示的(R)-2-[(1R,3S,5S)-3-[(3S,4R)-1-(5-氟嘧啶-2-基)-3-甲氧基哌啶-4-基]-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-基]-3-甲基丁酰胺、  
下述式(III)



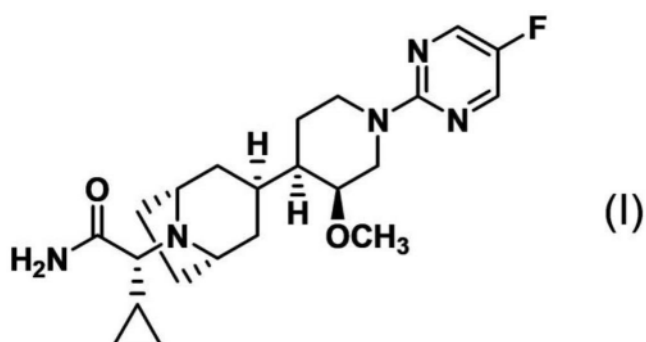
所表示的(R)-2-[(1R,3S,5S)-3-[(3S,4R)-1-(5-氯嘧啶-2-基)-3-乙氧基哌啶-4-基]-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-基]-2-环丙基乙酰胺、  
及  
下述式(IV)



所表示的(R)-2-环丙基-2-((1R,3S,5S)-3-((2S,4S)-1-(5-氟嘧啶-2-基)-2-甲基哌啶-4-基)-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-基)乙酰胺

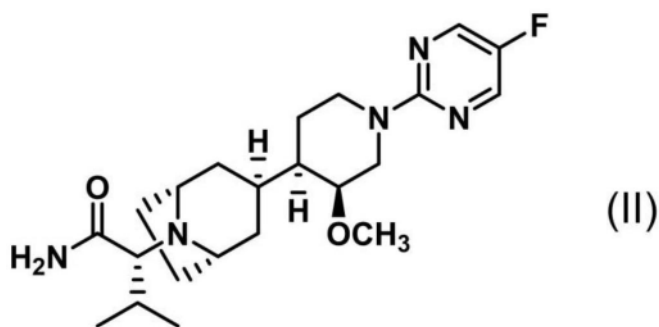
所组成的组中的化合物或其药剂学上允许的盐。

2. 选自由下述式(I)



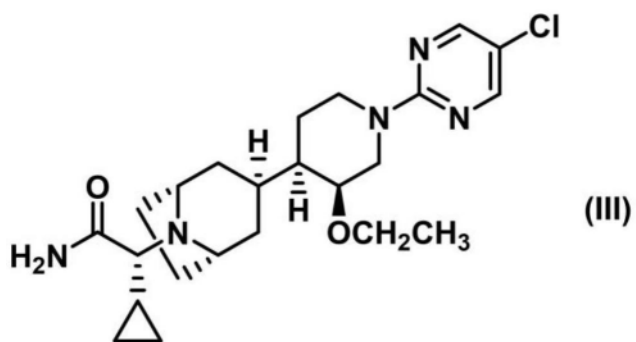
所表示的(2R)-2-环丙基-2-{(1R,3S,5S)-3-[(3S,4R)-1-(5-氟嘧啶-2-基)-3-甲氧基哌啶-4-基]-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-基}乙酰胺、

下述式(II)

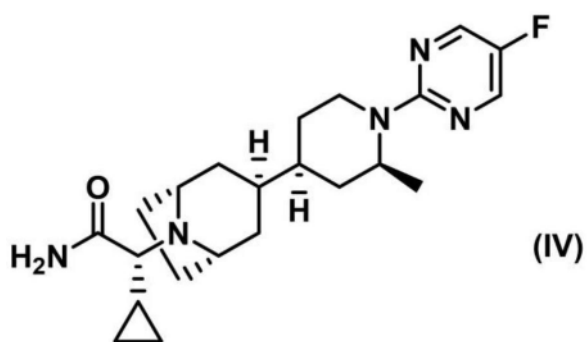


所表示的(R)-2-((1R,3S,5S)-3-((3S,4R)-1-(5-氟嘧啶-2-基)-3-甲氧基哌啶-4-基)-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-基)-3-甲基丁酰胺、

下述式(III)



所表示的(R)-2-((1R,3S,5S)-3-((3S,4R)-1-(5-氯嘧啶-2-基)-3-乙氧基哌啶-4-基)-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-基)-2-环丙基乙酰胺、  
及  
下述式(IV)



所表示的(R)-2-环丙基-2-((1R,3S,5S)-3-((2S,4S)-1-(5-氟嘧啶-2-基)-2-甲基哌啶-4-基)-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-基)乙酰胺

所组成的组中的化合物或其药剂学上允许的盐用于制造用于治疗睡眠过度综合征的医药组合物的用途。

## 取代的哌啶化合物及其用途

[0001] 本申请是申请日为2021年7月15日、发明名称为“取代的哌啶化合物及其用途”的中国发明专利申请No.202180044081.3 (PCT申请号为PCT/JP2021/026649)的分案申请。

### 技术领域

[0002] 本发明涉及一种具有食欲素2型受体激动活性的取代的哌啶化合物或其药剂学上允许的盐及其医药用途。另外,本发明涉及一种含有所述化合物作为有效成分的医药。

### 背景技术

[0003] 由位于外侧下丘脑的特定神经元特异性地产生的2种脑内神经肽、即食欲素-A (OX-A) 及食欲素-B (OX-B) 以食欲素受体 (专利文献1-4) 的内源性配体的形式被发现 (专利文献5、非专利文献1),所述食欲素受体是主要存在于脑内的G蛋白耦联受体。已知食欲素受体存在2种亚型,即,作为1型亚型的OX<sub>1</sub>受体 (以下,也称为OX1R) 及作为2型亚型的OX<sub>2</sub>受体 (以下,也称为OX2R)。已发现食欲素会使大鼠的摄食行为亢进 (非专利文献1)。

[0004] 另一方面,据报告,犬发作性睡病的原因是OX2R的基因突变 (非专利文献2),另外,食欲素缺陷小鼠表现出和人或犬的发作性睡病非常相似的发作性睡病样症状 (非专利文献3)。此外,据使用转基因小鼠、及双转基因小鼠的研究表明,因食欲素神经元的改性而出现的发作性睡病样症状会因食欲素的持续表达而消失 (非专利文献4),所述转基因小鼠是使食欲素神经变性后的小鼠,所述双转基因小鼠是使该转基因小鼠和食欲素过度表达转基因小鼠交配所得。同样地,即便在将OX-A施用于使食欲素神经元变性所得的转基因小鼠脑室内的情况下,也观察到发作性睡病样症状的改善,例如抑制猝倒症 (cataplexy) 样行为停滞、增加清醒 (非专利文献4)。另外,据OX2R敲除小鼠的研究提示,OX2R对于维持清醒很重要 (非专利文献5)。另外,提示帕金森病患者的白昼嗜睡是由食欲素神经缺失所致 (非专利文献6)。另外,提示睡眠无呼吸综合征患者的血浆中的OX-A浓度等级低 (非专利文献7)。在此背景下,提示OX2R激动剂成为发作性睡病治疗药、呈现出睡眠过度的其它睡眠障碍的治疗药 (非专利文献8)。

[0005] 因此,认为具有OX2R激动活性的化合物能够用作发作性睡病、特发性睡眠过度、睡眠过度、睡眠无呼吸综合征、昏睡等意识障碍、伴有发作性睡病样症状的发作性睡病综合征、伴有白昼睡眠过度的睡眠过度综合征 (例如帕金森病、吉兰-巴雷综合征、克莱恩-莱文综合征) 的治疗药。

[0006] 对于作为具有OX2R激动活性的化合物的TAK-925,正进行以健康人及发作性睡病患者为对象的一期试验 (静脉内施用)。

[0007] 现有技术文献

[0008] 专利文献

[0009] [专利文献1]国际公开第1996/34877号

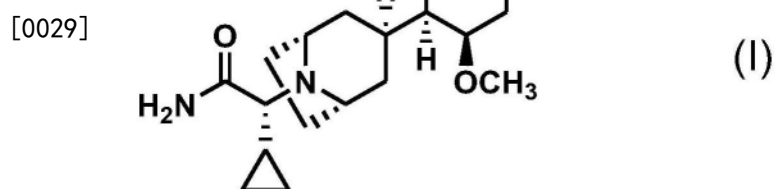
[0010] [专利文献2]日本专利特开平10-327888号公报

[0011] [专利文献3]日本专利特开平10-327889号公报

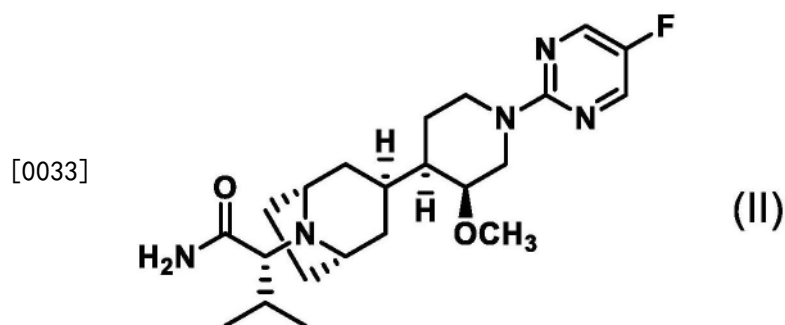
- [0012] [专利文献4]日本专利特开平11-178588号公报  
 [0013] [专利文献5]日本专利特开平10-229887号公报  
 [0014] 非专利文献  
 [0015] [非专利文献1]Sakurai T.et al,Cell,1998,92,573-585  
 [0016] [非专利文献2]Lin L.et al,Cell,1999,98,365-376  
 [0017] [非专利文献3]Chemelli R.M.et al,Cell,1999,98,437-451  
 [0018] [非专利文献4]Mieda M.et al,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,2004,101,4649-4654  
 [0019] [非专利文献5]Willie J.T.et al,Neuron,2003,38,715-730  
 [0020] [非专利文献6]Thannickal T.C.et al,Brain.2007,130,1586-1595  
 [0021] [非专利文献7]Busquets X.et al,Respiration,2004,71,575-579  
 [0022] [非专利文献8]Mieda M.et al,CNSDrugs,2013,27,83-90

## 发明内容

- [0023] 发明所要解决的问题  
 [0024] 本发明的课题在于提供一种具有食欲素2型受体激动活性的取代的哌啶化合物或其药剂学上允许的盐、及含有这些的医药组合物。  
 [0025] 解决问题的技术手段  
 [0026] 即,本发明涉及以下的[1]至[21]。  
 [0027] [1]一种化合物或其药剂学上允许的盐,该化合物是选自由下述式(I)  
 [0028] [化1]



- [0030] 所表示的(2R)-2-环丙基-2-[(1R,3S,5S)-3-[(3S,4R)-1-(5-氟嘧啶-2-基)-3-甲氧基哌啶-4-基]-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-基]乙酰胺、  
 [0031] 下述式(II)  
 [0032] [化2]

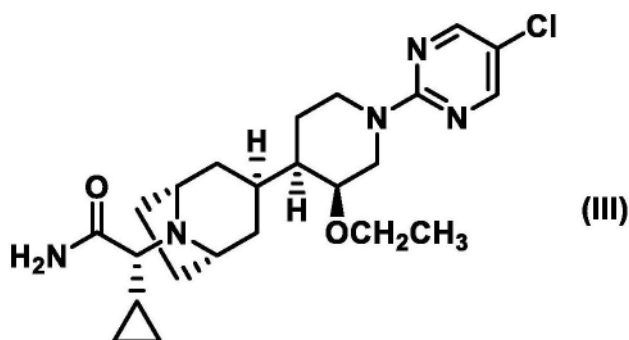


[0034] 所表示的(R)-2-((1R,3S,5S)-3-((3S,4R)-1-(5-氟嘧啶-2-基)-3-甲氧基哌啶-4-基)-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-基)-3-甲基丁酰胺、

[0035] 下述式(III)

[0036] [化3]

[0037]



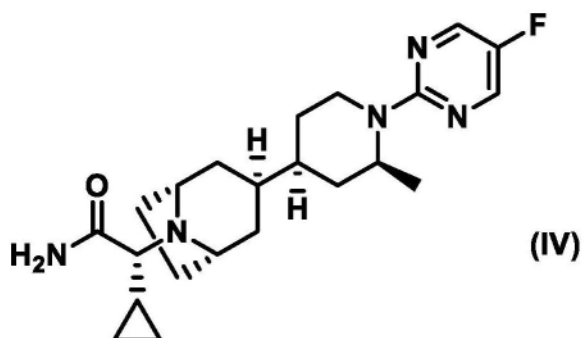
[0038] 所表示的(R)-2-((1R,3S,5S)-3-((3S,4R)-1-(5-氯嘧啶-2-基)-3-乙氧基哌啶-4-基)-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-基)-2-环丙基乙酰胺、

[0039] 及

[0040] 下述式(IV)

[0041] [化4]

[0042]



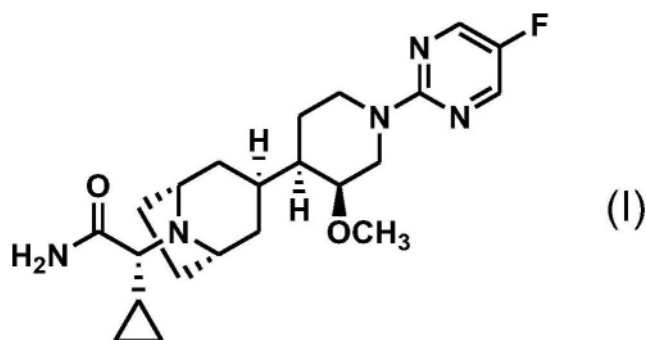
[0043] 所表示的(R)-2-环丙基-2-((1R,3S,5S)-3-((2S,4S)-1-(5-氟嘧啶-2-基)-2-甲基哌啶-4-基)-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-基)乙酰胺

[0044] 所组成的组中的一种。

[0045] [2]一种(2R)-2-环丙基-2-((1R,3S,5S)-3-[(3S,4R)-1-(5-氟嘧啶-2-基)-3-甲氧基哌啶-4-基]-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-基)乙酰胺或其药剂学上允许的盐,该化合物以下述式(I)表示,

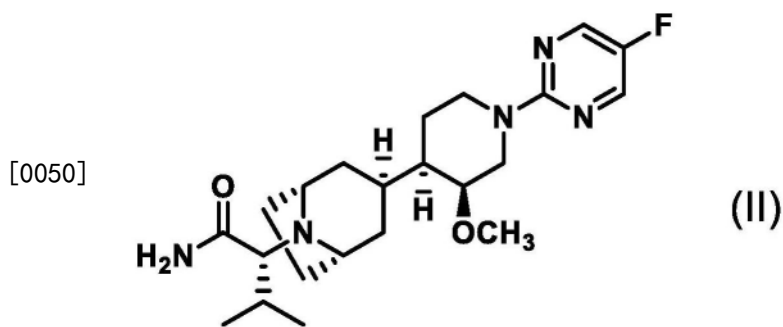
[0046] [化5]

[0047]



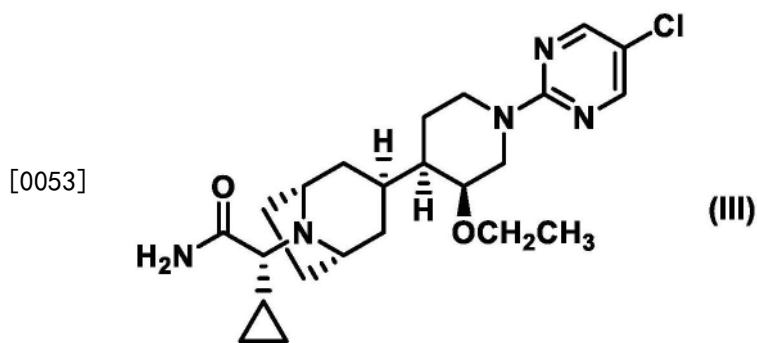
[0048] [3]一种(R)-2-((1R,3S,5S)-3-((3S,4R)-1-(5-氟嘧啶-2-基)-3-甲氧基哌啶-4-基)-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-基)-3-甲基丁酰胺或其药剂学上允许的盐,该化合物以下述式(II)表示,

[0049] [化6]



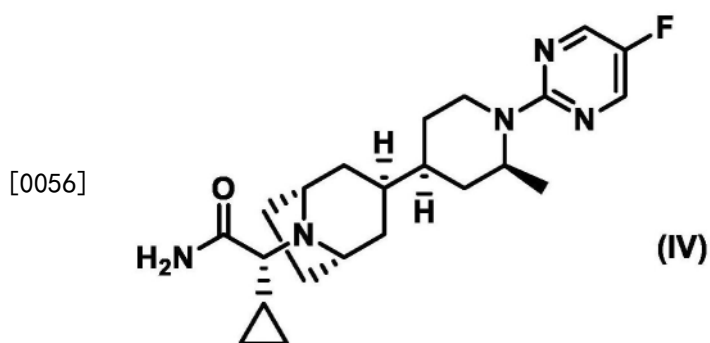
[0051] [4]一种(R)-2-((1R,3S,5S)-3-((3S,4R)-1-(5-氯嘧啶-2-基)-3-乙氧基哌啶-4-基)-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-基)-2-环丙基乙酰胺或其药剂学上允许的盐,该化合物以下述式(III)表示,

[0052] [化7]



[0054] [5]一种(R)-2-环丙基-2-((1R,3S,5S)-3-((2S,4S)-1-(5-氟嘧啶-2-基)-2-甲基哌啶-4-基)-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-基)乙酰胺或其药剂学上允许的盐,该化合物以下述式(IV)表示,

[0055] [化8]



[0057] [6]一种医药组合物,其含有所述[1]至所述[5]中任一项记载的化合物或其药剂学上允许的盐。

[0058] [7]一种食欲素2型受体激动剂,其含有所述[1]至所述[5]中任一项记载的化合物或其药剂学上允许的盐。



[0059] [8]一种发作性睡病的治疗剂,其含有所述[1]至所述[5]中任一项记载的化合物或其药剂学上允许的盐。

[0060] [9]一种对象的发作性睡病的治疗方法,其包括将药理学上有效量的所述[1]至所述[5]中任一项记载的化合物或其药剂学上允许的盐施用于该对象。

[0061] [10]一种对象中的食欲素2型受体的活化方法,其包括将药理学上有效量的所述[1]至所述[5]中任一项记载的化合物或其药剂学上允许的盐施用于该对象。

[0062] [11]一种发作性睡病的治疗方法,其包括将所述[1]至所述[5]中任一项记载的化合物或其药剂学上允许的盐施用于对象。

[0063] [12]一种所述[1]至所述[5]中任一项记载的化合物或其药剂学上允许的盐的用途,其用以制造用于治疗发作性睡病的医药组合物。

[0064] [13]根据所述[1]至所述[5]中任一项记载的化合物或其药剂学上允许的盐,其用于治疗发作性睡病。

[0065] [14]一种猝倒症的治疗剂,其含有所述[1]至所述[5]中任一项记载的化合物或其药剂学上允许的盐。

[0066] [15]一种对象的猝倒症的治疗方法,其包括将药理学上有效量的所述[1]至所述[5]中任一项记载的化合物或其药剂学上允许的盐施用于该对象。

[0067] [16]根据所述[1]至所述[5]中任一项记载的化合物或其药剂学上允许的盐,其用于治疗猝倒症。

[0068] [17]一种所述[1]至所述[5]中任一项记载的化合物或其药剂学上允许的盐的用途,其用以制造用于治疗猝倒症的医药组合物。

[0069] [18]一种睡眠过度综合征的治疗剂,其含有所述[1]至所述[5]中任一项记载的化合物或其药剂学上允许的盐。

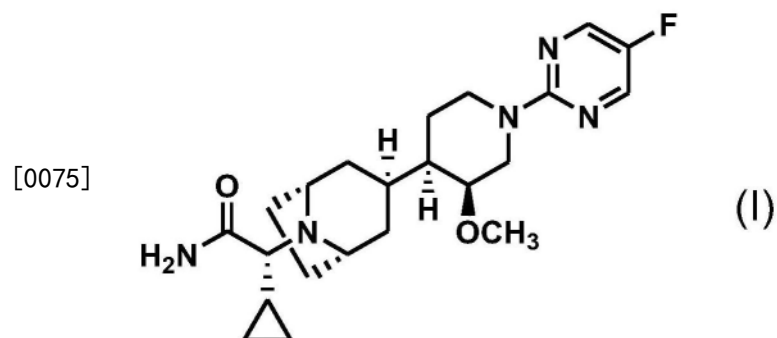
[0070] [19]一种对象的睡眠过度综合征的治疗方法,其包括将药理学上有效量的所述[1]至所述[5]中任一项记载的化合物或其药剂学上允许的盐施用于对象。

[0071] [20]一种所述[1]至所述[5]中任一项记载的化合物或其药剂学上允许的盐,其用于治疗睡眠过度综合征。

[0072] [21]一种所述[1]至所述[5]中任一项记载的化合物或其药剂学上允许的盐的用途,其用以制造用于治疗睡眠过度综合征的医药组合物。

[0073] 本申请涉及下述项:

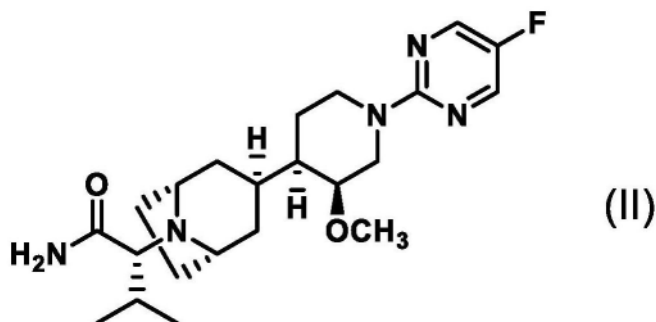
[0074] 项1.一种化合物或其药剂学上允许的盐,该化合物是选自由下述式(I)



[0076] 所表示的(2R)-2-环丙基-2-[(1R,3S,5S)-3-[(3S,4R)-1-(5-氟嘧啶-2-基)-3-甲氧基哌啶-4-基]-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-基]乙酰胺、

[0077] 下述式 (II)

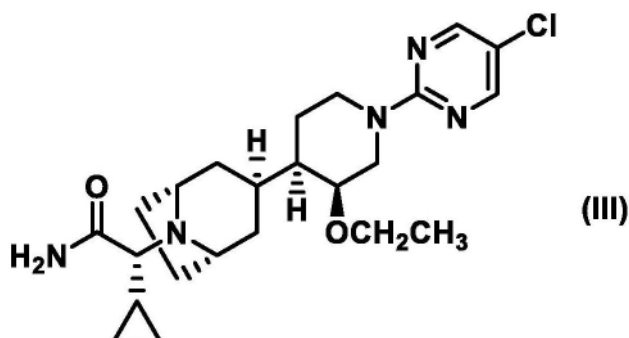
[0078]



[0079] 所表示的 (R)-2-((1R,3S,5S)-3-((3S,4R)-1-(5-氟嘧啶-2-基)-3-甲氧基哌啶-4-基)-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-基)-3-甲基丁酰胺、

[0080] 下述式 (III)

[0081]

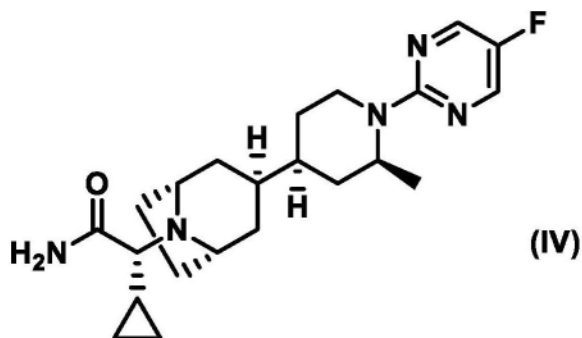


[0082] 所表示的 (R)-2-((1R,3S,5S)-3-((3S,4R)-1-(5-氯嘧啶-2-基)-3-乙氧基哌啶-4-基)-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-基)-2-环丙基乙酰胺、

[0083] 及

[0084] 下述式 (IV)

[0085]

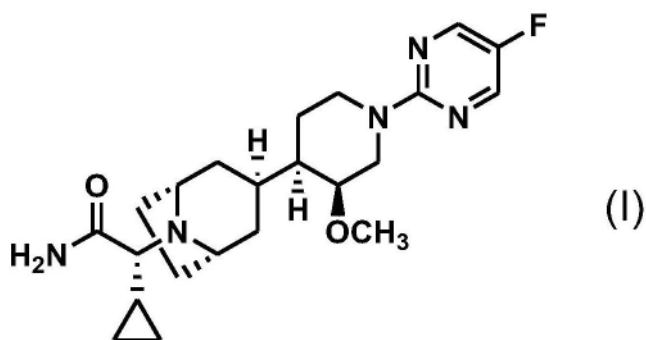


[0086] 所表示的 (R)-2-环丙基-2-((1R,3S,5S)-3-((2S,4S)-1-(5-氟嘧啶-2-基)-2-甲基哌啶-4-基)-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-基)乙酰胺

[0087] 所组成的组中的一种。

[0088] 项2. 下述式 (I) 所表示的 (2R)-2-环丙基-2-[(1R,3S,5S)-3-[(3S,4R)-1-(5-氟嘧啶-2-基)-3-甲氧基哌啶-4-基]-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-基]乙酰胺、或其药剂学上允许的盐

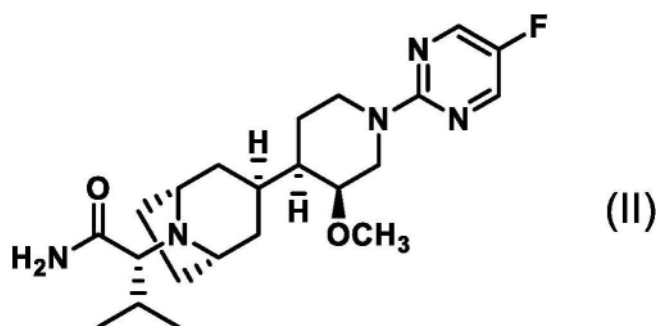
[0089]



(I)

[0090] 项3. 下述式 (II) 所表示的 (R)-2-((1R, 3S, 5S)-3-((3S, 4R)-1-(5-氟嘧啶-2-基)-3-甲氧基哌啶-4-基)-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-基)-3-甲基丁酰胺、或其药剂学上允许的盐

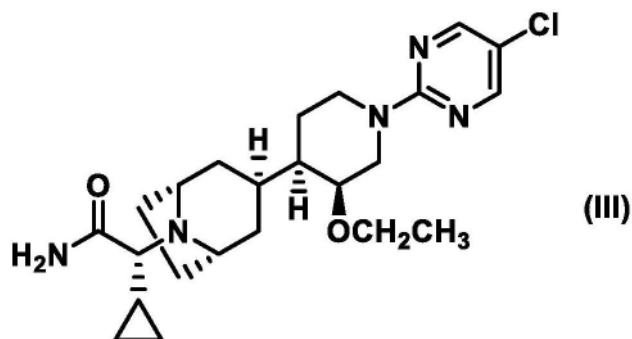
[0091]



(II)

[0092] 项4. 下述式 (III) 所表示的 (R)-2-((1R, 3S, 5S)-3-((3S, 4R)-1-(5-氯嘧啶-2-基)-3-乙氧基哌啶-4-基)-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-基)-2-环丙基乙酰胺、或其药剂学上允许的盐

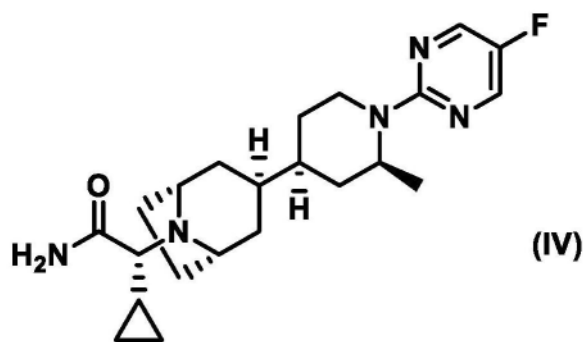
[0093]



(III)

[0094] 项5. 下述式 (IV) 所表示的 (R)-2-环丙基-2-((1R, 3S, 5S)-3-((2S, 4S)-1-(5-氟嘧啶-2-基)-2-甲基哌啶-4-基)-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-基)乙酰胺、或其药剂学上允许的盐

[0095]



(IV)

[0096] 项6.一种医药组合物,其含有根据项1至5中任一项所述的化合物或其药剂学上允许的盐。

[0097] 项7.一种食欲素2型受体激动剂,其含有根据项1至5中任一项所述的化合物或其药剂学上允许的盐。

[0098] 项8.一种发作性睡病的治疗剂,其含有根据项1至5中任一项所述的化合物或其药剂学上允许的盐。

[0099] 项9.一种对象的发作性睡病的治疗方法,其包括将药理学上有效量的根据项1至5中任一项所述的化合物或其药剂学上允许的盐施用于该对象。

[0100] 项10.根据项1至5中任一项所述的化合物或其药剂学上允许的盐,其用以治疗发作性睡病。

[0101] 项11.一种根据项1至5中任一项所述的化合物或其药剂学上允许的盐的用途,其用以制造用于治疗发作性睡病的医药组合物。

[0102] 项12.一种猝倒症的治疗剂,其含有根据项1至5中任一项所述的化合物或其药剂学上允许的盐。

[0103] 项13.一种对象的猝倒症的治疗方法,其包括将药理学上有效量的根据项1至5中任一项所述的化合物或其药剂学上允许的盐施用于该对象。

[0104] 项14.根据项1至5中任一项所述的化合物或其药剂学上允许的盐,其用以预防或治疗猝倒症。

[0105] 项15.一种根据项1至5中任一项所述的化合物或其药剂学上允许的盐的用途,其用以制造用于治疗猝倒症的医药组合物。

[0106] 发明的效果

[0107] 本发明的式(I)、(II)、(III)及(IV)所表示的取代的哌啶化合物(以下,称为化合物(I)、(II)、(III)及(IV))或其药剂学上允许的盐具有如以下述药理试验例中的活性数据所示食欲素2型受体激动活性。本发明的化合物(I)、(II)、(III)及(IV)具有食欲素2型受体激动活性,作为发作性睡病的治疗剂具有可利用性。

## 附图说明

[0108] 图1是表示实施例1中所获得的化合物的X射线晶体结构分析结果的ORTEP图(Oak Ridge Thermal Ellipsoid Plot,橡树岭热椭球图)。

[0109] 图2是表示实施例3中所获得的化合物(加成2分子乙腈后所得的二聚物)的X射线晶体结构分析结果的ORTEP图。

[0110] 图3是表示实施例4中所获得的化合物的X射线晶体结构分析结果的ORTEP图。

## 具体实施方式

[0111] 以下,对于本发明的内容详细地进行说明。

[0112] 本发明的化合物有时存在多晶型,但不限于其中任意一种,可以是任意一种晶形的单一物,也可以是混合物,另外,本发明的化合物还包括非晶质体,并且,本发明的化合物包含无水物和溶剂合物(特别是水合物)。

[0113] 本发明还包括化合物(I)、(II)、(III)及(IV)的经同位素标记的化合物。经同位素

标记的化合物中,1个或多个原子被原子质量或质量数不同于自然界中常见的原子质量或质量数的原子取代,除此以外,其和化合物(I)、(II)、(III)及(IV)相同。可组入本发明的化合物中的同位素例如为氢、碳、氮、氧、氟、磷、硫、碘、及氯的同位素,包括 $^2\text{H}$ 、 $^3\text{H}$ 、 $^{11}\text{C}$ 、 $^{14}\text{C}$ 、 $^{15}\text{N}$ 、 $^{18}\text{O}$ 、 $^{18}\text{F}$ 、 $^{32}\text{P}$ 、 $^{35}\text{S}$ 、 $^{123}\text{I}$ 、及 $^{125}\text{I}$ 等。

[0114] 所述同位素标记化合物、例如组入有 $^3\text{H}$ 及/或 $^{14}\text{C}$ 等放射性同位素的化合物可以用于医药及/或基质的组织分布检验。 $^3\text{H}$ 和 $^{14}\text{C}$ 由于容易制备和检测,所以被认为有用。同位素 $^{11}\text{C}$ 及 $^{18}\text{F}$ 被认为可用于PET(正电子发射断层扫描),同位素 $^{125}\text{I}$ 被认为可用于SPECT(单光子发射计算机断层扫描)中,所述同位素全部可用于脑成像。被 $^2\text{H}$ 等更重的同位素取代会产生某些治疗上的益处,例如代谢稳定性更高而使体内半衰期增加或所需用量减少,所以认为在某些情况下是有用的。所述同位素标记化合物通过使用可容易利用的经同位素标记的试剂来代替未被同位素标记的试剂,并进行以下实施例中公开的步骤,同样可以制备。

[0115] 本说明书中的“药剂学上允许的盐”没有特别限定,只要和本发明的化合物形成盐即可,具体来说,例如可例举:无机酸盐、有机酸盐或酸性氨基酸盐等酸加成盐。

[0116] 本说明书中的“药剂学上允许的盐”除非另有特别记载,则当以适当的比形成盐时,在所形成的盐中,相对于该化合物1分子,酸的分子数没有特别限定,优选相对于该化合物1分子,酸为约0.5~约2分子,更优选相对于该化合物1分子,酸为约0.5、约1、或约2分子。

[0117] 作为无机酸盐的优选例,例如可例举盐酸盐、氢溴酸盐、硫酸盐、硝酸盐、磷酸盐等,作为有机酸盐的优选例,例如可例举乙酸盐、琥珀酸盐、富马酸盐、马来酸盐、酒石酸盐、柠檬酸盐、乳酸盐、硬脂酸盐、苯甲酸盐、甲磺酸盐、对甲苯磺酸盐、苯磺酸盐等。

[0118] 作为酸性氨基酸盐的优选例,例如可例举天冬氨酸盐、谷氨酸盐等。

[0119] 在本发明的化合物(I)、(II)、(III)及(IV)以游离体的形式获得的情况下,可以依据常规方法转化为所述化合物(I)、(II)、(III)及(IV)可形成的盐或这些的水合物的状态。

[0120] 在本发明的化合物(I)、(II)、(III)及(IV)以化合物(I)、(II)、(III)及(IV)的盐或化合物(I)、(II)、(III)及(IV)的水合物的形式获得的情况下,可以依据常规方法转化为所述化合物(I)、(II)、(III)及(IV)的游离体。

[0121] 另外,由本发明的化合物(I)、(II)、(III)及(IV)获得的各种异构体(例如光学异构体、旋转异构体、立体异构体等)可通过使用常规分离手段、例如再结晶、非对映异构体盐法、酶切法、各种色谱法(例如薄层色谱法、柱色谱法、气相色谱法等)进行纯化并分离。

[0122] [制剂]

[0123] 本发明的医药组合物可通过将药剂学上允许的添加物和选自化合物群(I)、(II)、(III)及(IV)中的化合物或其药剂学上允许的盐加以混和来进行制造。本发明的医药组合物例如可依据日本药典第十七修订版的制剂总则中记载的方法等已知的方法进行制造。

[0124] 本发明的医药组合物可根据其剂型而适当施用于患者。

[0125] 本发明的化合物(I)、(II)、(III)及(IV)、或其药剂学上允许的盐的施用量根据症状程度、年龄、性别、体重、施用形态/盐的种类、疾病的具体种类等而有所不同,通常在成人的情况下,在口服施用时分别每天一次或分数次施用约 $30\mu\text{g}$ ~10g、优选 $100\mu\text{g}$ ~5g、进一步优选 $100\mu\text{g}$ ~1g,在注射施用时分别每天一次或分数次施用约 $30\mu\text{g}$ ~1g、优选 $100\mu\text{g}$ ~500mg、进一步优选 $100\mu\text{g}$ ~300mg。

[0126] 本说明书中“食欲素2型受体激动剂”是指具有和食欲素2型受体结合,并和体内配

体同样地会使食欲素2型受体活化的作用的药剂。

[0127] 本发明的化合物可以制成用以捕捉具有生理活性的低分子化合物的靶蛋白的化学探针。即,本发明的化合物可通过利用J.Mass Spectrum.Soc.Jpn.[日本质谱学会]第51卷,第5 2003期,第492-498页或W0 2007/139149等中记载的方法将标记基团、连接基等导入到不同于该化合物的活性表现所需的结构部分的部分,而转化为亲和色谱探针、光亲和探针等。

[0128] 化学探针所使用的标记基团、连接基等例如可例举由以下(1)至(5)所组成的群中所示的基团。

[0129] (1) 光亲和性标记基团(例如苯甲酰基、二苯甲酮基、叠氮基、羰基叠氮基、二氮丙啶基、烯酮基、重氮基及硝基等)及化学亲和性基团(例如, $\alpha$ 碳原子经卤素原子取代的酮基、氨甲酰基、酯基、烷硫基、 $\alpha,\beta$ -不饱和酮、酯等迈克尔受体、及环氧乙烷基等)等蛋白质标记基团;

[0130] (2) -S-S-、-O-Si-O-、单糖(葡萄糖基、半乳糖基等)或二糖(乳糖等)等可裂解的连接基、及可因酶促反应而裂解的寡肽连接基;

[0131] (3) 生物素、3-(4,4-二氟-5,7-二甲基-4H-3a,4a-二氮杂-4-硼-s-苯并二茛-3-基)丙酰基等采捕标签(fishing tag)基团;

[0132] (4)  $^{125}\text{I}$ 、 $^{32}\text{P}$ 、 $^3\text{H}$ 、 $^{14}\text{C}$ 等放射性标记基团;荧光素、罗丹明、丹酰、伞形酮、7-硝基咪唑基、3-(4,4-二氟-5,7-二甲基-4H-3a,4a-二氮杂-4-硼-s-苯并二茛-3-基)丙酰基等荧光标记基团;萤火虫荧光素、发光氨等化学发光基团;镧系元素金属离子、镧离子等重金属离子等可检测出的标记物;或者

[0133] (5) 和玻璃珠、玻璃床、微量滴定板、琼脂糖珠、琼脂糖床、聚苯乙烯珠、聚苯乙烯床、尼龙珠、尼龙床等固相载体结合的基团等。

[0134] 依据所述文献中记载的方法等,将上述选自(1)至(5)所组成的群中的标记基团等导入本发明的化合物中而制备探针,该制备的探针可用作用来鉴定标记蛋白的化学探针,该标记蛋白可用于探索新的药物开发目标等。

[0135] 实施方式

[0136] 本发明的化合物(I)、(II)、(III)及(IV)例如可通过以下实施例中记载的方法进行制造,另外,该化合物的效果可通过以下试验例中记载的方法来进行确认。但是,这些是例示性的,本发明在任何情况下均不受以下具体例限制,另外,还可在不脱离本发明范围的范围内进行变化。

[0137] 记载有文献名等的化合物表示它们是依据其文献等所制造。

[0138] 另外,本说明书所使用的缩写是本领域技术人员众所周知的惯用缩写。本说明书中使用以下缩写。

[0139] n-:正

[0140] tert-:叔

[0141]  $^1\text{H}$ -NMR:质子核磁共振波谱仪

[0142] MS:质谱仪

[0143] HPLC:高速液体色谱法

[0144] 以下的实施例及制造例中的“室温”通常表示约10°C至约35°C。除非另有说明,

则%表示重量百分比。

[0145] 关于质子核磁共振波谱的化学位移,对于四甲基硅烷,以 $\delta$ 单位(ppm)记录,偶合常数以赫兹(Hz)记录。关于图形,例如以s:单峰、d:双峰、t:三重峰、q:四重峰、m:多重峰、br:宽峰、brs:宽单峰等表示。

[0146] 质谱分析是使用沃特世公司制造的Acquity UPLC(注册商标)或Acquity UPC<sup>2</sup>(注册商标)进行。

[0147] 关于色谱法,硅胶使用默克公司制造的Silica Gel60(70-230目数、或230-400目数ASTM)或者富士硅化学公司制造的PSQ60B,或者使用预填充柱{柱:山善公司制造的Hi-Flash<sup>TM</sup> Column(硅胶)、尺寸;S(16×60mm)、M(20×75mm)、L(26×100mm)、2L(26×150mm)、3L(46×130mm)中的任意一种、或拜泰齐公司制造的Biotage<sup>TM</sup> SNAP Ultra Silica Cartridge、尺寸:10g、25g、50g中的任意一种}。另外,利用超临界流体色谱法(SFC)进行的分取是使用沃特世公司制造的Prep100q来进行。

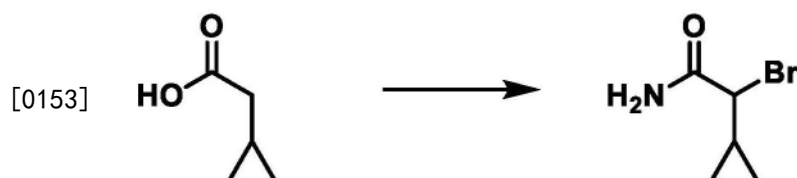
[0148] NH硅胶使用富士硅化学公司制造的CHROMATOREX NH-DM2035,或者使用预填充柱{柱:山善公司制造的Hi-Flash<sup>TM</sup>(注册商标)Column(氨基)、尺寸;S(16×60mm)、M(20×75mm)、L(26×100mm)、2L(26×150mm)、3L(46×130mm)中的任意一种、或和光纯药工业公司制造的Presep<sup>TM</sup>(注册商标)(鲁尔锁)NH<sub>2</sub>(HC)、尺寸:M型(14g/25mL)、L型(34g/70mL)、2L型(50g/100mL)、3L型(110g/200mL)中的任意一种}。

[0149] 关于以下所示的化合物的命名,除常用的试剂以外,使用“E-notebook”第12或13版(珀金埃尔公司)中所表示的命名。

[0150] 制造例1

[0151] 2-溴-2-环丙基乙酰胺的合成

[0152] [化9]



[0154] 向环丙基乙酸(CAS No.5239-82-7)(3.30g,33.0mmol)的1,2-二氯乙烷(60mL)溶液中加入乙二酰氯(CAS No.79-37-8)(3.11mL,36.3mmol)及N,N-二甲基甲酰胺(60.0 $\mu$ L,0.775mmol),在室温下搅拌40分钟。向反应液中加入氢溴酸(56.0mg,0.330mmol)及N-溴丁二酰亚胺(CAS No.128-08-5)(7.04g,39.6mmol),进行18小时加热回流。在0℃下向氨水(28%水溶液,60mL,2.77mol)中加入反应液,加入乙酸乙酯及氢氧化钠(2N水溶液)进行分离。将有机层在无水硫酸镁上进行干燥并过滤,在减压下进行浓缩。利用乙酸乙酯/正庚烷对所获得的固体进行研磨,滤出沉淀物。将所获得的固体在减压下进行干燥而获得标题化合物(1.20g)。

[0155] MS(ESI)m/z:178[M+H]<sup>+</sup>

[0156] 制造例2

[0157] 3-甲氧基异烟碱腈的合成

[0158] [化10]



[0160] 在室温下向3-氯-4-氰基吡啶 (CAS No.68325-15-5) (5.00g, 36.1mmol) 的四氢呋喃 (36.0mL) 溶液中加入甲醇钠 (CAS No.124-41-4) (3.90g, 72.2mmol), 将混合物进行1小时加热回流。向反应混合物中加入水及乙酸乙酯, 将有机层分离。将有机层在无水硫酸镁上进行干燥并过滤, 在减压下进行浓缩。利用乙酸乙酯/正庚烷对所获得的固体进行研磨, 滤出沉淀物。将所获得的固体在减压下进行干燥, 获得标题化合物 (1.91g)。

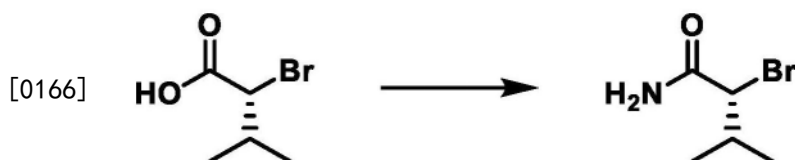
[0161]  $^1\text{H-NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 4.06 (s, 3H), 7.44 (d,  $J=5.0\text{Hz}$ , 1H), 8.37 (d,  $J=4.5\text{Hz}$ , 1H), 8.49 (s, 1H)。

[0162] MS (ESI)  $m/z$ : 135  $[\text{M}+\text{H}]^+$

[0163] 制造例3

[0164] (R)-2-溴-3-甲基丁酰胺的合成

[0165] [化11]



[0167] 在0℃下向(R)-2-溴-3-甲基丁酸 (CAS No.76792-22-8) (9.80g, 54.1mmol) 的二氯甲烷 (100mL) 溶液中加入乙二酰氯 (9.28mL, 108mmol) 及N,N-二甲基甲酰胺 (30.0 $\mu\text{L}$ , 0.387mmol), 在室温下搅拌6小时。在0℃下向氨水 (28%水溶液, 50.0mL, 2.31mol) 中加入反应液, 利用二氯甲烷萃取。将有机层在无水硫酸镁上进行干燥并过滤, 在减压下进行浓缩。利用乙酸乙酯/正庚烷对所获得的固体进行研磨, 滤出沉淀物。将所获得的固体在减压下进行干燥, 获得标题化合物 (8.20g)。

[0168]  $^1\text{H-NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 1.01 (d,  $J=6.3\text{Hz}$ , 3H), 1.07 (d,  $J=6.8\text{Hz}$ , 3H), 2.34-2.39 (m, 1H), 4.28 (d,  $J=4.5\text{Hz}$ , 1H), 5.58 (brs, 1H), 6.41 (brs, 1H)。

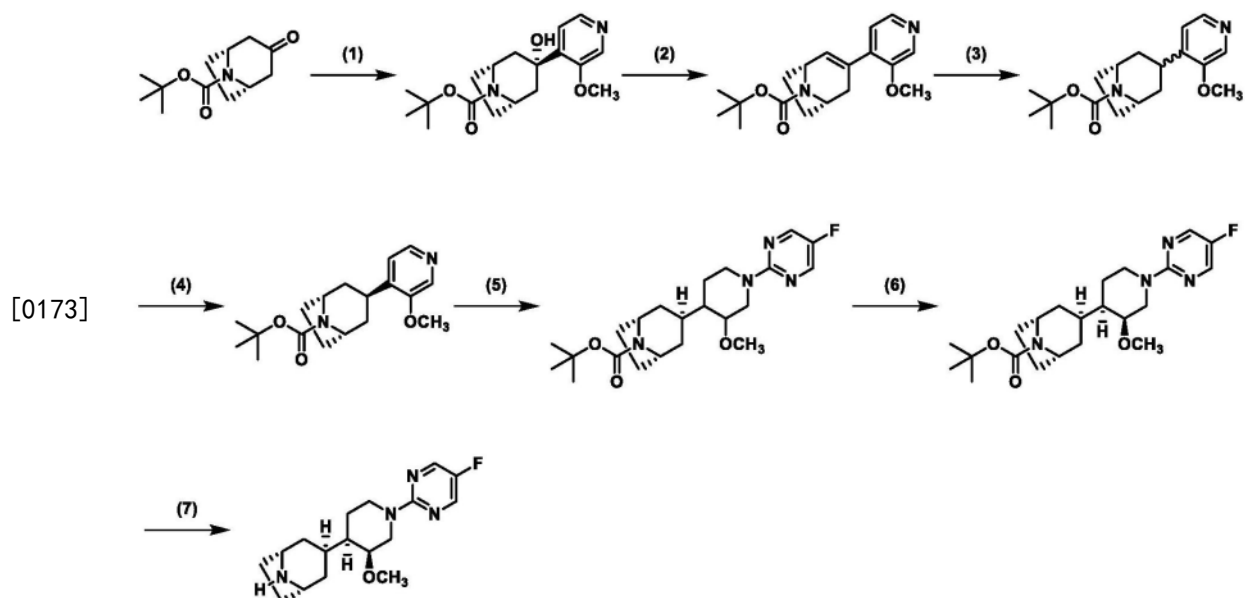
[0169] MS (ESI)  $m/z$ : 180  $[\text{M}+\text{H}]^+$

[0170] 制造例4

[0171] (1R, 3S, 5S)-3-((3S, 4R)-1-(5-氟嘧啶-2-基)-3-甲氧基哌啶-4-基)-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷的合成

[0172] [化12]





[0174] (1) (1R,3r,5S) -3-羟基-3-(3-甲氧基吡啶-4-基)-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-甲酸叔丁酯的合成

[0175] 向N-(叔丁氧基羰基)-降托品酮(CAS No.185099-67-6) (1.00g, 4.44mmol) 的甲基叔丁基醚(18.0mL) 溶液中加入3-甲氧基异烟碱腈(1.19g, 8.88mmol) 及双(频哪醇合)二硼(CAS No.73183-34-3) (2.25g, 8.88mmol), 进行16小时加热回流。在0℃下向反应混合物中加入碳酸钠(2mol/L水溶液, 20.0mL), 并在0℃下搅拌20分钟。向反应混合物中加入乙酸乙酯, 将有机层分离。将有机层在无水硫酸镁上进行干燥并过滤, 在减压下进行浓缩。将残渣利用柱色谱法(硅胶、0-20%甲醇/乙酸乙酯) 进行纯化, 获得标题化合物(1.12g)。

[0176]  $^1\text{H-NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 1.48 (s, 9H), 1.77 (m, 2H), 1.94-1.99 (m, 2H), 2.21-2.32 (m, 2H), 2.37-2.48 (m, 1H), 2.63-2.74 (m, 1H), 2.78 (s, 1H), 3.96 (s, 3H), 4.22-4.29 (m, 1H), 4.31-4.42 (m, 1H), 7.28 (d,  $J=5.4\text{Hz}$ , 1H), 8.22-8.25 (m, 2H)。

[0177] MS (ESI)  $m/z$ : 335  $[\text{M}+\text{H}]^+$

[0178] (2) (1R,5S) -3-(3-甲氧基吡啶-4-基)-8-氮杂双环[3.2.1]辛-2-烯-8-甲酸叔丁酯的合成

[0179] 向(1R,3r,5S) -3-羟基-3-(3-甲氧基吡啶-4-基)-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-甲酸叔丁酯(610mg, 1.82mmol) 中加入浓硫酸(1.60mL, 30.0mmol), 在室温下搅拌40分钟。在0℃下将反应混合物加入氢氧化钾(5.00g, 89.1mmol) 的水(10.0mL) 溶液中。向反应混合物中加入四氢呋喃(10.0mL) 及二碳酸二叔丁酯(CAS No.24424-99-5) (478mg, 2.19mmol), 在室温下搅拌10分钟。向反应混合物中加入乙酸乙酯, 将有机层分离。将有机层在无水硫酸镁上进行干燥并过滤, 在减压下进行浓缩。将残渣利用柱色谱法(硅胶, 5-100%乙酸乙酯/正庚烷) 进行纯化, 获得标题化合物(420mg)。

[0180]  $^1\text{H-NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 1.46 (s, 9H), 1.72-1.81 (m, 1H), 1.97-2.03 (m, 2H), 2.05-2.36 (m, 2H), 2.94-3.26 (m, 1H), 3.87 (s, 3H), 4.21-4.61 (m, 2H), 6.30 (brs, 1H), 6.99 (d,  $J=4.5\text{Hz}$ , 1H), 8.17 (d,  $J=5.0\text{Hz}$ , 1H), 8.21 (s, 1H)。

[0181] MS (ESI)  $m/z$ : 317  $[\text{M}+\text{H}]^+$

[0182] (3) (1R,5S) -3-(3-甲氧基吡啶-4-基)-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-甲酸叔丁酯的

### 合成

[0183] 向 (1R,5S) -3- (3-甲氧基吡啶-4-基) -8-氮杂双环[3.2.1]辛-2-烯-8-甲酸叔丁酯 (400mg, 1.26mmol) 的甲醇 (3.00mL) 溶液中加入10% 钯碳 (川研精细化学股份有限公司, AD, 52.7% 含水品, 284mg, 0.126mmol), 在氢气环境下, 在室温下搅拌1小时。将反应液进行硅藻土 (注册商标) 过滤, 利用乙酸乙酯将残渣洗净。将所获得的滤液在减压下进行浓缩, 获得内型体和外型体的混合物 (内型: 外型=1:2, 398mg)。

[0184]  $^1\text{H-NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 1.49 (s, 6H), 1.50 (s, 3H), 1.61-2.13 (m, 22/3H), 2.40-2.45 (m, 2/3H), 2.96-3.01 (m, 1/3H), 3.47-3.59 (m, 2/3H), 3.88 (s, 1H), 3.90 (s, 2H), 4.16-4.28 (m, 1H), 4.34 (brs, 1H), 7.04 (d,  $J=4.5\text{Hz}$ , 2/3H), 7.06 (d,  $J=5.0\text{Hz}$ , 1/3H), 8.13-8.23 (m, 2H)。

[0185] MS (ESI)  $m/z$ : 319  $[\text{M}+\text{H}]^+$

### [0186] (4) (1R,3s,5S) -3- (3-甲氧基吡啶-4-基) -8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-甲酸叔丁酯的合成

[0187] 向 (1R,5S) -3- (3-甲氧基吡啶-4-基) -8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-甲酸叔丁酯 (398mg, 1.25mmol) 的叔丁醇 (4.00mL) 溶液中加入叔丁醇钾 (281mg, 2.50mmol), 进行17小时加热回流。向反应混合物中加入乙酸乙酯和饱和食盐水, 将有机层分离。将有机层在无水硫酸镁上进行干燥并过滤, 在减压下进行浓缩, 获得标题化合物 (385mg)。

[0188]  $^1\text{H-NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 1.49 (s, 9H), 1.58-2.06 (m, 8H), 3.49-3.56 (m, 1H), 3.90 (s, 3H), 4.24 (brs, 1H), 4.34 (brs, 1H), 7.04 (d,  $J=5.0\text{Hz}$ , 1H), 8.17-8.19 (m, 2H)。

[0189] MS (ESI)  $m/z$ : 319  $[\text{M}+\text{H}]^+$

### [0190] (5) (1R,3s,5S) -3- (1- (5-氟嘧啶-2-基) -3-甲氧基哌啶-4-基) -8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-甲酸叔丁酯的合成

[0191] 向 (1R,3s,5S) -3- (3-甲氧基吡啶-4-基) -8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-甲酸叔丁酯 (11.2g, 35.2mmol) 的乙酸 (100mL) 溶液中加入10% 钯碳 (川研精细化学股份有限公司, AD, 52.7% 含水品, 7.91g, 3.52mmol), 在氢气环境下, 在70℃下搅拌18小时。将反应液进行硅藻土 (注册商标) 过滤, 将残渣利用乙酸乙酯洗净。将所获得的滤液在减压下进行浓缩。向残渣中加入乙酸乙酯和氢氧化钠 (2N), 将有机层分离。将有机层利用 ISOLUTE (注册商标) HM-N 进行干燥并过滤, 在减压下进行浓缩。向残渣中加入 N,N-二甲基甲酰胺 (50.0mL)、2-氯-5-氟嘧啶 (CAS No. 62802-42-0) (5.21mL, 42.2mmol) 及碳酸钾 (7.29g, 52.8mmol), 在80℃下搅拌40分钟。向反应混合物中加入乙酸乙酯及饱和食盐水, 将有机层分离。将有机层在无水硫酸镁上进行干燥并过滤, 在减压下进行浓缩。利用柱色谱法 (硅胶, 10-60% 乙酸乙酯/正庚烷) 对残渣进行纯化, 获得标题化合物 (9.84g)。

[0192]  $^1\text{H-NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 1.19-1.30 (m, 3H), 1.46 (s, 9H), 1.46-1.65 (m, 6H), 1.81-1.97 (m, 3H), 2.68 (d,  $J=14.5\text{Hz}$ , 1H), 2.71-2.81 (m, 1H), 3.30 (s, 3H), 3.35 (brs, 1H), 4.08-4.31 (m, 2H), 4.64-4.77 (m, 1H), 5.04-5.18 (m, 1H), 8.13 (s, 2H)。

[0193] MS (ESI)  $m/z$ : 421  $[\text{M}+\text{H}]^+$

### [0194] (6) (1R,3s,5S) -3- ((3S,4R) -1- (5-氟嘧啶-2-基) -3-甲氧基哌啶-4-基) -8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-甲酸叔丁酯的合成

[0195] 针对 (1R,3s,5S) -3- (1- (5-氟嘧啶-2-基) -3-甲氧基哌啶-4-基) -8-氮杂双环

[3.2.1] 辛烷-8-甲酸叔丁酯 (7.00g, 16.6mmol), 通过使用大赛璐公司制造CHIRALPAK (注册商标) IC/SFC (3cm×25cm) 的超临界流体色谱法 (流动相CO<sub>2</sub>: 甲醇 (90:10)、120bar、40°C、流速: 100mL/分钟), 每次各分取100mg, 获得随后溶出的保持时间8.45分钟的标题化合物 (3.02g)。

[0196] <sup>1</sup>H-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 1.17-1.29 (m, 3H), 1.46 (s, 9H), 1.46-1.66 (m, 6H), 1.85-1.97 (m, 3H), 2.68 (d, J=15.0Hz, 1H), 2.75 (td, J=12.9, 3.2Hz, 1H), 3.30 (s, 3H), 3.35 (brs, 1H), 4.11-4.31 (m, 2H), 4.66-4.76 (m, 1H), 5.10 (dt, J=14.4, 2.6Hz, 1H), 8.13 (s, 2H)。

[0197] MS (ESI) m/z: 443 [M+Na]<sup>+</sup>

[0198] (分析条件) 使用大赛璐公司制造的CHIRALPAK (注册商标) IC-3 (3.0mm×50mm) 的超临界流体色谱法 (流动相CO<sub>2</sub>: 甲醇 (85:15), 40°C, 流速: 1.2mL/分钟, 检测: UV (254nm))

[0199] (分析结果) 标题化合物的保持时间为1.34分钟, 光学纯度为>99% ee。

[0200] (7) (1R, 3s, 5S) -3-((3S, 4R) -1-(5-氟嘧啶-2-基)-3-甲氧基哌啶-4-基)-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷的合成

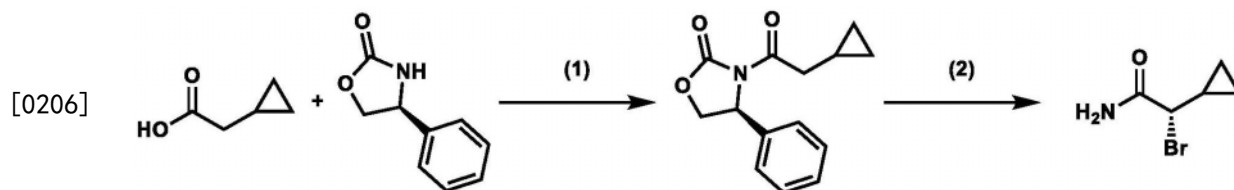
[0201] 向 (1R, 3s, 5S) -3-((3S, 4R) -1-(5-氟嘧啶-2-基)-3-甲氧基哌啶-4-基)-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-甲酸叔丁酯 (1.00g, 2.38mmol) 中加入三氟乙酸 (5.00mL, 64.9mmol), 在室温下搅拌20分钟。将反应液在减压下进行浓缩。向残渣中加入2N氢氧化钠水溶液, 利用乙酸乙酯萃取 (3次)。将合并的有机层在无水硫酸镁上进行干燥并过滤, 在减压下进行浓缩, 获得标题化合物 (620mg)。

[0202] MS (ESI) m/z: 321 [M+H]<sup>+</sup>

[0203] 制造例5

[0204] (S) -2-溴-2-环丙基乙酰胺的合成

[0205] [化13]



[0207] (1) (S) -3-(2-环丙基乙酰基)-4-苯基噁唑烷-2-酮的合成

[0208] 在室温下向四氢呋喃 (7000mL) 中加入特戊酰氯 (302mL, 2470mmol)。在室温下向其中加入环丙基乙酸 (238mL, 2450mmol), 在0°C下进行冷却。历时10分钟滴加三乙胺 (350mL) 后, 加入三乙胺 (400mL, 总量5340mmol), 在0°C下搅拌76分钟。向反应混合物中一次性加入 (S) -4-苯基噁唑烷-2-酮 (350g, 2140mmol) 后, 一次性加入氯化锂 (109g, 2570mmol)。将反应混合物在室温下搅拌18小时后, 加入乙酸乙酯 (7000mL) 及水 (3500mL), 在室温下搅拌40分钟。将有机层分离, 依序利用5%碳酸氢钠水溶液 (3500mL) 及水 (1750mL) 洗净。将所获得的有机层浓缩至1750mL。加入乙酸乙酯 (2100mL), 浓缩至1750mL, 将此共沸操作反复进行3次后, 进一步加入乙酸乙酯 (1050mL), 浓缩至1750mL。将所获得的浓缩液进行搅拌, 滴加正庚烷 (1000mL)。将所产生的悬浊液搅拌10分钟, 进一步滴加正庚烷 (2500mL)。将其混合液在室温下彻夜搅拌后, 进一步在0°C下搅拌3.5小时。使用玻璃过滤器滤出所产生的固体, 利用乙酸乙酯/正庚烷 (1:3的混合溶液550mL) 洗净。将所获得的固体在减压下进行干燥, 由此获得

标题化合物(407g)。

[0209]  $^1\text{H-NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 0.09-0.24 (m, 2H) 0.46-0.58 (m, 2H) 1.00-1.13 (m, 1H), 2.74-2.83 (m, 1H), 2.88-2.98 (m, 1H), 4.25-4.32 (m, 1H), 4.70 (t,  $J=8.83\text{Hz}$ , 1H), 5.45 (dd,  $J=8.83, 3.85\text{Hz}$ , 1H), 7.28-7.43 (m, 5H)。

[0210] (2) (S)-2-溴-2-环丙基乙酰胺的合成

[0211] 在冰浴冷却下,历时40分钟向(S)-3-(2-环丙基乙酰基)-4-苯基噁唑烷-2-酮(100g, 408mmol)的二氯甲烷(1000mL)溶液滴加三氟甲磺酸二丁硼的1M二氯甲烷溶液(500mL, 500mmol),在冰浴冷却下搅拌10分钟。在冰浴冷却下历时25分钟滴加N,N-二异丙基乙基胺(92mL, 530mmol)后,在冰浴冷却下搅拌1小时。其后,将反应混合物利用干冰-乙醇浴冷却至内温 $-72^\circ\text{C}$ 。一次性加入N-溴丁二酰亚胺(80g, 448mmol),在干冰-乙醇浴下搅拌1小时20分钟。加入28-30%氨水(800mL, 6390mmol)及四氢呋喃(1000mL)后,在水浴下搅拌2小时。分离有机层和水层后,将水层利用乙酸乙酯(500mL)萃取3次。将所获得的有机层在减压下进行浓缩,将所获得的残渣利用硅胶柱色谱法(硅胶4kg, 30-40%乙酸乙酯/正庚烷)进行纯化,获得132g的粗产物。向所获得的粗产物中加入叔丁基甲醚(1440mL),在 $50^\circ\text{C}$ 下搅拌一小时而使粗产物溶解后,在室温下搅拌1天。将所产生的固体进行过滤,利用叔丁基甲醚(200mL)洗净。将滤液和洗净液合并,向其中加入乙酸乙酯(700mL)及活性碳(纯化白鸞, 26g),在室温下搅拌30分钟。通过硅藻土(注册商标)过滤将活性碳去除,利用乙酸乙酯(700mL)将活性碳洗净。合并滤液和洗净液后,在减压下进行浓缩,由此获得标题化合物(97.1g, 含量65.9%)。

[0212]  $^1\text{H-NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 0.40-0.52 (m, 1H), 0.63-0.73 (m, 1H), 0.77-0.86 (m, 1H), 0.86-0.97 (m, 1H), 1.41-1.50 (m, 1H), 3.59-3.83 (m, 1H), 5.34-5.71 (m, 1H), 5.94-6.30 (m, 1H)。

[0213] MS (ESI)  $m/z$ : 180  $[\text{M}+\text{H}]^+$

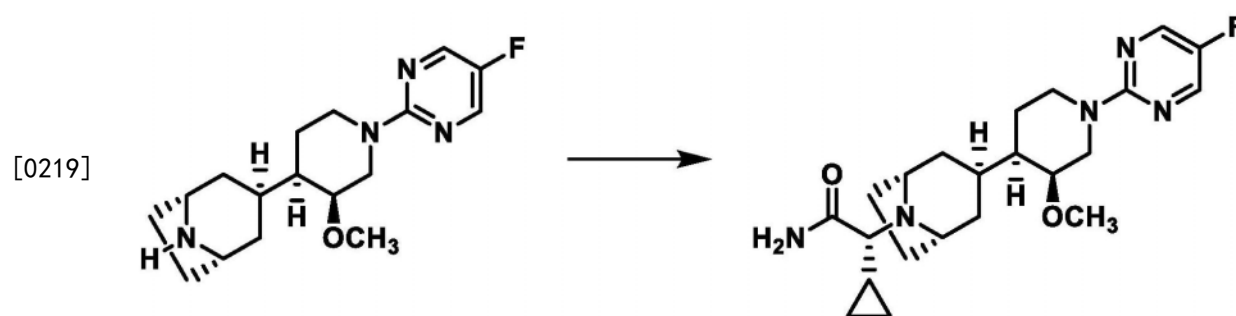
[0214] (分析条件)使用大赛璐公司制造的CHIRALPAK(注册商标) IA ( $0.46\text{cm} \times 25\text{cm} \times 2$  条)的色谱法(流动相乙醇:正己烷(10:90),  $40^\circ\text{C}$ , 流速:0.8mL/分钟, 检测:UV(210nm))

[0215] (分析结果)标题化合物的保持时间为24.5分钟。

[0216] 实施例1

[0217] (R)-2-环丙基-2-((1R,3S,5S)-3-((3S,4R)-1-(5-氟嘧啶-2-基)-3-甲氧基哌啶-4-基)-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-基)乙酰胺的合成

[0218] [化14]



[0220] 向(1R,3S,5S)-3-((3S,4R)-1-(5-氟嘧啶-2-基)-3-甲氧基哌啶-4-基)-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷(260mg, 0.811mmol)的乙腈(4.00mL)溶液中加入2-溴-2-环丙基乙酰胺

(433mg, 2.43mmol)、碳酸铯(793mg, 2.43mmol)、及氧化银(564mg, 2.43mmol), 在室温下搅拌40小时。直接利用柱色谱法(硅胶, 20% 甲醇/乙酸乙酯)纯化反应液。使所获得的产物溶解到甲醇(10mL)中, 供到Waters Porapak Rxn(注册商标)CX(2条2g墨盒)上。将固相利用甲醇(20mL)分别洗净后, 利用氨水(2mol/L 甲醇溶液, 20mL)分别将产物洗脱, 将合并的溶出液在减压下浓缩。使残渣溶解到甲醇中, 利用使用大赛璐公司制造的CHIRALPAK(注册商标)OD-H/SFC(2cm×25cm)的超临界流体色谱法(流动相CO<sub>2</sub>: 甲醇(85:15)、120bar、40℃、流速: 70mL/分钟)每次各分取10mg/500μL(甲醇), 获得作为对映体混合物的保持时间6.41分钟的化合物(120mg)。使所获得的化合物溶解到甲醇中, 利用使用大赛璐公司制造的CHIRALPAK(注册商标)IG/SFC(2cm×25cm)的超临界流体色谱法(流动相CO<sub>2</sub>: 甲醇(75:25)、120bar、40℃、流速: 70mL/分钟)每次各分取13mg/500μL(甲醇), 获得以随后溶出的成分为主的保持时间9.11分钟的化合物(75mg)。使所获得的化合物溶解到甲醇中, 利用使用大赛璐公司制造的CHIRALPAK(注册商标)IG/SFC(2cm×25cm)的超临界流体色谱法(流动相CO<sub>2</sub>: 甲醇(75:25)、120bar、40℃、流速: 70mL/分钟)每次各分取4mg/100μL(甲醇), 获得以随后溶出的成分为主的保持时间7.52分钟的化合物(52mg)。使所获得的化合物溶解到甲醇中, 利用使用大赛璐公司制造的CHIRALPAK(注册商标)IG/SFC(2cm×25cm)的超临界流体色谱法(流动相CO<sub>2</sub>: 甲醇(75:25)、120bar、40℃、流速: 70mL/分钟)每次各分取7mg/500μL(甲醇), 获得随后溶出的保持时间7.18分钟的标题化合物(31.3mg)。

[0221] <sup>1</sup>H-NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ(ppm): 0.28-0.37(m, 1H), 0.45-0.52(m, 1H), 0.53-0.58(m, 1H), 0.60-0.68(m, 1H), 0.78(dd, J=8.8, 4.3Hz, 1H), 1.20-1.27(m, 2H), 1.32-1.45(m, 2H), 1.46-1.52(m, 2H), 1.59-1.65(m, 3H), 1.70-1.80(m, 2H), 1.81-1.88(m, 1H), 2.08(d, J=9.1Hz, 1H), 2.68(dd, J=14.3, 1.1Hz, 1H), 2.75(td, J=12.8, 2.9Hz, 1H), 3.21-3.24(m, 1H), 3.30(s, 3H), 3.36(brs, 1H), 3.86-3.91(m, 1H), 4.65-4.76(m, 1H), 5.10(dt, J=14.2, 2.4Hz, 1H), 5.14-5.24(m, 1H), 6.92-7.02(m, 1H), 8.14(s, 2H)。

[0222] MS(ESI)m/z: 418[M+H]<sup>+</sup>

[0223] (分析条件) 使用大赛璐公司制造的CHIRALPAK(注册商标)IA(0.46cm×15cm)的色谱法(流动相乙醇: 己烷(20:80), 40℃, 流速: 1mL/分钟, 检测: UV(254nm))

[0224] (分析结果) 标题化合物的保持时间为4.91分钟, 光学纯度为>99% ee。

[0225] (R)-2-环丙基-2-((1R, 3S, 5S)-3-((3S, 4R)-1-(5-氟嘧啶-2-基)-3-甲氧基哌啶-4-基)-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-基)乙酰胺的单晶的制备及X射线晶体结构分析

[0226] 使实施例1中所获得的标题化合物(2.97mg)溶解到甲醇(1mL)中。将其中500μL加入小玻璃瓶中, 轻轻地合上盖子(溶剂蒸发法)。1天后, 在小玻璃瓶中获得标题化合物的单晶。针对所获得的单晶, 在以下的条件下进行X射线晶体结构分析。将标题化合物的X射线晶体结构示于图1。

[0227] 分析机器: XtaLAB PRO P200 MM007HF(日本理学(Rigaku))

[0228] 软件: CrysAlisPro(理学牛津衍射)

[0229] X射线: 多层镜单色Cu-Kα(40kV/30mA)

[0230] 测定法: ω轴振荡法

[0231] 相机长度: 35mm

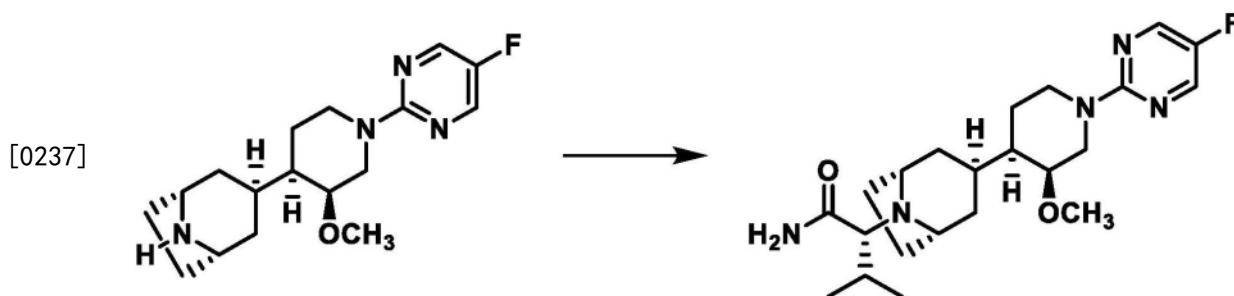
[0232] 测定温度: -170℃

[0233] 此外,实施例1中所合成的(R)-2-环丙基-2-((1R,3S,5S)-3-((3S,4R)-1-(5-氟嘧啶-2-基)-3-甲氧基哌啶-4-基)-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-基)乙酰胺的IUPAC名是(2R)-2-环丙基-2-((1R,3S,5S)-3-((3S,4R)-1-(5-氟嘧啶-2-基)-3-甲氧基哌啶-4-基)-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-基)乙酰胺。

[0234] 实施例2

[0235] (R)-2-((1R,3S,5S)-3-((3S,4R)-1-(5-氟嘧啶-2-基)-3-甲氧基哌啶-4-基)-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-基)-3-甲基丁酰胺的合成

[0236] [化15]



[0238] 向(1R,3S,5S)-3-((3S,4R)-1-(5-氟嘧啶-2-基)-3-甲氧基哌啶-4-基)-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷(290mg,0.905mmol)的乙腈(8.00mL)溶液中加入(R)-2-溴-3-甲基丁酰胺(326mg,1.81mmol)、碳酸铯(590mg,1.81mmol)、及氧化银(419mg,1.81mmol),并在室温下搅拌40小时。将反应液进行硅胶过滤,将残渣利用20%甲醇/乙酸乙酯洗净。将所获得的滤液在减压下进行浓缩。使残渣溶解到甲醇(5mL)中,供到Waters Porapak Rxn(注册商标)CX(块状,4g)上。将固相利用甲醇(40mL)洗净后,将产物利用氨水(2N甲醇溶液,40mL)洗脱,将溶出液在减压下进行浓缩。利用使用大赛璐公司制造CHIRALPAK(注册商标)IG/SFC(2cm×25cm)的超临界流体色谱法(流动相CO<sub>2</sub>:甲醇(80:20)、120bar、40℃、流速:70mL/分钟)每次各分取5mg的残渣,获得保持时间4.41分钟的标题化合物(154mg)。

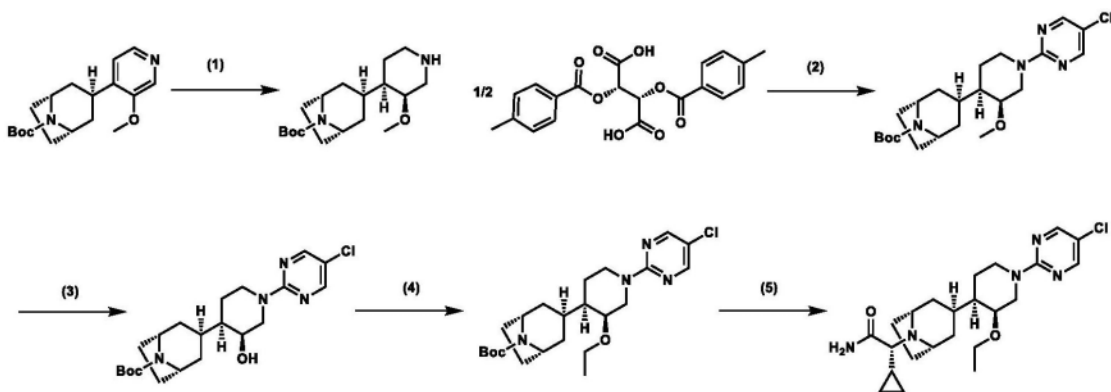
[0239] <sup>1</sup>H-NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>) δ(ppm):0.95(d,J=6.8Hz,3H),1.02(d,J=6.8Hz,3H),1.15-1.56(m,8H),1.75(td,J=10.8,6.1Hz,3H),1.86-2.10(m,2H),2.67(d,J=13.1Hz,1H),2.75(td,J=12.9,3.2Hz,1H),2.95(d,J=4.1Hz,1H),3.19-3.27(m,1H),3.30(s,3H),3.33-3.46(m,2H),4.70(dt,J=13.3,2.2Hz,1H),5.06-5.16(m,1H),5.30-5.36(m,1H),6.79(brd,J=5.0Hz,1H),8.14(s,2H)。

[0240] MS(ESI)m/z:421[M+H]<sup>+</sup>

[0241] 实施例3

[0242] (R)-2-((1R,3S,5S)-3-((3S,4R)-1-(5-氯嘧啶-2-基)-3-乙氧基哌啶-4-基)-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-基)-2-环丙基乙酰胺的合成

[0243] [化16]



[0244]

[0245] (1) (1R,3s,5S)-3-((3S,4R)-3-甲氧基哌啶-4-基)-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-甲酸叔丁酯半(2S,3S)-2,3-双((4-甲基苯甲酰基)氧基)丁二酸酯的合成

[0246] 将(1R,3s,5S)-3-(3-甲氧基吡啶-4-基)-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-甲酸叔丁酯(20g,62.8mmol)和10%钨碳(川研精细化学制造的AD型,约50%含水晶,6g)的乙酸(160mL)混合物在氢气环境下以70℃彻夜搅拌。利用过滤将钨碳去除,利用甲醇(10倍量)洗净后,将滤液浓缩至大约2倍量。向所获得的浓缩液中加入乙酸异丙酯(15倍量)及正庚烷(3倍量)后,利用48%氢氧化钠水溶液(54.7mL)洗净。加入正庚烷(100mL)并利用水(5倍量)洗净后,浓缩至大约5倍量。向所获得的浓缩液中加入乙酸异丙酯(5倍量),浓缩至大约5倍量,将此共沸操作反复进行2次,由此获得作为乙酸异丙酯溶液的(1R,3s,5S)-3-(3-甲氧基哌啶-4-基)-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-甲酸叔丁酯(15.1g)。

[0247] 向所获得的(1R,3s,5S)-3-(3-甲氧基哌啶-4-基)-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-甲酸叔丁酯(7.55g,23.3mmol)和(+)-二新戊酰-D-酒石酸(1.85g,5.82mmol)的乙酸异丙酯(151mL)、乙腈(30.2mL)及甲醇(38mL)溶液中加入(-)-二-对甲苯酰-L-酒石酸(2.70g,6.98mmol),在室温下搅拌3天而获得固体。

[0248] 滤出所获得的固体后,利用乙酸异丙酯和乙腈的混合溶液(9/1)将固体洗净。将所获得的母液浓缩至10倍量,加入乙酸异丙酯(10倍量)、5N氢氧化钠水溶液(4.65mL,23.269mmol)及水(4倍量)。将水层去除后,利用水(4倍量)洗净。浓缩至5倍量后,加入乙酸异丙酯(10倍量),共沸到5倍量,向(+)-二新戊酰-D-酒石酸(1.852g,5.817mmol)的甲醇(38mL)、乙腈(30.2mL)及乙酸异丙酯(151mL)溶液中加入(+)-二-对甲苯酰-D-酒石酸(3.15g,8.144mmol),在室温下彻夜搅拌。加入(+)-二-对甲苯酰-D-酒石酸(0.05当量)和乙酸异丙酯(10倍量)。通过浓缩、利用氢氧化钠进行的中和、利用纯水进行的洗净来回收全部,向(+)-二新戊酰-D-酒石酸(0.2当量)的乙酸异丙酯(151mL)、乙腈(30.2mL)及甲醇(38mL)溶液中加入(+)-二-对甲苯酰-D-酒石酸(3.15g,8.144mmol),在室温下彻夜搅拌。向反应混合物中加入(+)-二-对甲苯酰-D-酒石酸(0.05当量),在室温下搅拌4小时。向反应混合物中加入(+)-二-对甲苯酰-D-酒石酸(0.025当量)及乙酸异丙酯(10倍量),在室温下彻夜搅拌。通过浓缩、利用氢氧化钠进行的中和、利用纯水进行的洗净来回收全部,向(+)-二新戊酰-D-酒石酸(0.2当量)的乙酸异丙酯(151mL)、乙腈(30.2mL)及甲醇(38mL)溶液中加入(+)-二-对甲苯酰-D-酒石酸(3.15g,8.14mmol),在室温下彻夜搅拌。加入乙酸异丙酯(10倍量)。7小时后,滤出所产生的固体,利用乙酸异丙酯洗净,由此获得标题化合物(3.45g)。

[0249] (分析条件)使用大赛璐公司制造CHIRALPAK(注册商标)IA(0.46cm×25cm)的色谱

法(流动相乙醇:正己烷(20:80),40℃,流速:1.0mL/分钟,检测:UV(254nm))

[0250] (分析结果)标题化合物的保持时间为8.52分钟,光学纯度为99.2%ee。

[0251] (2) (1R,3s,5S)-3-((3S,4R)-1-(5-氯嘧啶-2-基)-3-甲氧基哌啶-4-基)-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-甲酸叔丁酯的合成

[0252] 将2,5-二氯嘧啶(288mg,1.93mmol)、(1R,3s,5S)-3-((3S,4R)-3-甲氧基哌啶-4-基)-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-甲酸叔丁酯半(2S,3S)-2,3-双((4-甲基苯甲酰基)氧基)丁二酸酯(500mg,0.966mmol)和碳酸钾(267mg,1.93mmol)的N,N-二甲基甲酰胺(10mL)在80℃下搅拌24小时。冷却至室温后,加入水,利用乙酸乙酯萃取3次。收集有机层并进行浓缩。利用柱色谱法(硅胶,10-100%乙酸乙酯/正庚烷)将所获得的残渣进行纯化,获得标题化合物(368mg)。

[0253]  $^1\text{H-NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 1.24-1.27 (m, 2H), 1.41-1.49 (m, 2H), 1.46 (s, 9H), 1.61 (brs, 4H), 1.82-1.98 (m, 4H), 2.68 (d,  $J=14.04\text{Hz}$ , 1H), 2.75 (td,  $J=12.91, 3.17\text{Hz}$ , 1H), 3.30 (s, 3H), 3.36 (brs, 1H), 4.11-4.32 (m, 2H), 4.68-4.80 (m, 1H), 5.12 (dt,  $J=14.27, 2.61\text{Hz}$ , 1H), 8.16 (s, 2H)。

[0254] (3) (1R,3s,5S)-3-((3S,4R)-1-(5-氯嘧啶-2-基)-3-羟基哌啶-4-基)-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-甲酸叔丁酯的合成

[0255] 将(1R,3s,5S)-3-((3S,4R)-1-(5-氯嘧啶-2-基)-3-甲氧基哌啶-4-基)-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-甲酸叔丁酯(300mg,0.687mmol)和48%氢溴酸(5mL)的混合物在室温下搅拌20分钟后,在100℃下加热2.5小时。其后在室温下彻夜搅拌,将所获得的反应混合物在减压下进行浓缩。向所获得的残渣中加入四氢呋喃(10mL)及饱和碳酸氢钠水溶液,在室温下向其中加入二碳酸二叔丁酯(165mg,0.755mmol)。利用UPLC确认到反应结束后,加入乙酸乙酯和水,将有机层分离。利用乙酸乙酯再次将水层萃取,和首先获得的有机层合并,利用无水硫酸钠进行干燥,在减压下进行浓缩。利用10%乙酸乙酯/正庚烷的混合溶剂洗净所获得的残渣,获得标题化合物(226mg)。

[0256]  $^1\text{H-NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 1.28-1.34 (m, 2H), 1.46 (s, 9H), 1.59-1.72 (m, 6H), 1.75-1.97 (m, 4H), 2.70-2.83 (m, 1H), 2.91 (dd,  $J=14.04, 0.91\text{Hz}$ , 1H), 3.97-4.03 (m, 1H), 4.09-4.34 (m, 2H), 4.68-4.79 (m, 1H), 4.81-4.91 (m, 1H), 8.18 (s, 2H)。MS (ESI)  $m/z$ : 423  $[\text{M}+\text{H}]^+$

[0257] (4) (1R,3s,5S)-3-((3S,4R)-1-(5-氯嘧啶-2-基)-3-乙氧基哌啶-4-基)-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-甲酸叔丁酯的合成

[0258] 在冰浴冷却下向(1R,3s,5S)-3-((3S,4R)-1-(5-氯嘧啶-2-基)-3-羟基哌啶-4-基)-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-甲酸叔丁酯(50mg,0.118mmol)的N,N-二甲基甲酰胺(1mL)溶液中加入氢化钠(60%,分散在液态石蜡中,7.09mg,0.177mmol)。搅拌30分钟后,加入碘乙烷(0.019mL,0.236mmol),在室温下搅拌16小时。向反应液中加入水和乙酸乙酯后,将有机层分离并浓缩。利用柱色谱法(硅胶,1-20%乙酸乙酯/正庚烷)对所获得的残渣进行纯化,而获得标题化合物(42.5mg)。

[0259] MS (ESI)  $m/z$ : 451  $[\text{M}+\text{H}]^+$

[0260] (5) (R)-2-((1R,3S,5S)-3-((3S,4R)-1-(5-氯嘧啶-2-基)-3-乙氧基哌啶-4-基)-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-基)-2-环丙基乙酰胺的合成



[0261] 利用三氟乙酸(1mL)对(1R,3s,5S)-3-((3S,4R)-1-(5-氯嘧啶-2-基)-3-乙氧基哌啶-4-基)-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-甲酸叔丁酯(42.5mg,0.094mmol)进行30分钟处理后,进行浓缩。使所获得的残渣溶解到甲醇中,供到Waters Porapak Rxn(注册商标)CX(0.4g)上。利用甲醇(6mL)将固相洗净后,利用氨水(2mol/L甲醇溶液,6mL)将产物洗脱,将溶出液在减压下浓缩。将所获得的残渣、通过和制造例5相同的操作获得的(S)-2-溴-2-环丙基乙酰胺(51.6mg,0.188mmol)、碳酸钾(26.0mg,0.188mmol)及乙腈(2mL)的混合物在室温下搅拌17天。使用乙腈(3mL)将反应混合物进行过滤,利用使用大赛璐公司制造的CHIRALPAK(注册商标)IA/SFC(3cm×25cm)的超临界流体色谱法(流动相CO<sub>2</sub>:甲醇(75:25)、120bar、40℃、流速:100mL/分钟)每次各分取500μL的所获得的滤液,获得保持时间7.55分钟的标题化合物(22.2mg)。

[0262] <sup>1</sup>H-NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>) δ(ppm):0.26-0.38(m,1H),0.40-0.58(m,2H),0.59-0.68(m,1H),0.71-0.83(m,1H),0.98-1.92(m,12H),1.04(t,J=7.02Hz,3H),2.07(brd,J=9.06Hz,1H),2.61-2.81(m,2H),3.13-3.30(m,2H),3.45(brs,1H),3.61-3.75(m,1H),3.84-3.92(m,1H),4.66-4.76(m,1H),4.93-5.11(m,1H),5.17-5.32(m,1H),6.90-7.03(m,1H),8.16(s,2H)。

[0263] MS(ESI)m/z:448[M+H]<sup>+</sup>

[0264] (分析条件)使用大赛璐公司制造的CHIRALPAK(注册商标)IA-3(0.46cm×25cm)的超临界流体色谱法(流动相CO<sub>2</sub>:甲醇(80:20),40℃,流速:1.2mL/分钟,检测:UV(257nm))

[0265] (分析结果)标题化合物的保持时间为2.19分钟,光学纯度为>99.9%ee。

[0266] (R)-2-((1R,3S,5S)-3-((3S,4R)-1-(5-氯嘧啶-2-基)-3-乙氧基哌啶-4-基)-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-基)-2-环丙基乙酰胺的单晶的制备及X射线晶体结构分析

[0267] 使实施例3中所获得的标题化合物(1.37mg)溶解到乙腈(600μL)中。将其中200μL加入小玻璃瓶,轻轻地合上盖子(溶剂蒸发法)。1天后,在小玻璃瓶中获得标题化合物的单晶(加成2分子乙腈后所得的二聚物的结晶)。针对所获得的单晶,在以下的条件下进行X射线晶体结构分析。将标题化合物的X射线晶体结构示于图2。

[0268] 分析机器:XtaLAB PRO P200 MM007HF(日本理学)

[0269] 软件:CrysAlisPro(理学牛津衍射)

[0270] X射线:多层镜单色Cu-Kα(40kV/30mA)

[0271] 测定法:ω轴振荡法

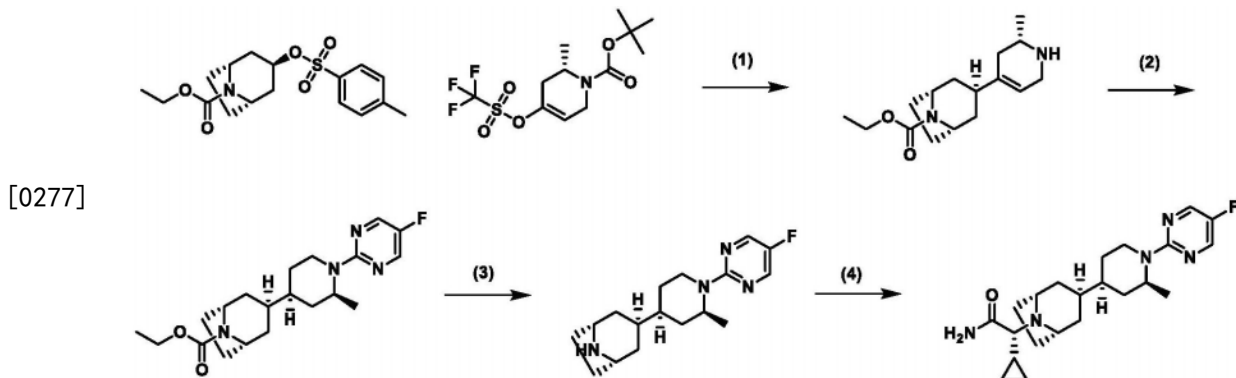
[0272] 相机长度:35mm

[0273] 测定温度:-170℃

[0274] 实施例4

[0275] (R)-2-环丙基-2-((1R,3S,5S)-3-((2S,4S)-1-(5-氟嘧啶-2-基)-2-甲基哌啶-4-基)-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-基)乙酰胺的合成

[0276] [化17]



[0277] (1) (1R,3s,5S)-3-((S)-2-甲基-1,2,3,6-四氢吡啶-4-基)-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-甲酸乙酯的合成

[0279] 在13mm螺旋盖试管中加入(1R,3s,5S)-3-(甲苯磺酰氧基)-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-甲酸乙酯(CAS No.2236076-85-8)(200mg,0.566mmol)、溴化镍(II)乙二醇二甲基醚络合物(17.5mg,0.057mmol)、4,4-二叔丁基-2,2-二吡啶(15.2mg,0.057mmol)、碘化钾(94.0mg,0.566mmol)及锰(62.2mg,1.13mmol)。然后,在氮气气流下加入(S)-2-甲基-4-(((三氟甲基)磺酰基)氧基)-3,6-二氢吡啶-1(2H)-甲酸叔丁酯(CAS No.876922-74-6)(195mg,0.566mmol)的N,N-二甲基乙酰胺(4.0mL)溶液及4-乙基吡啶(0.064mL,0.566mmol)。在氮气环境下,在80℃下将所获得的混合物搅拌12.5小时。冷却到室温后,利用乙酸乙酯进行稀释。利用棉塞过滤将不溶物去除,利用水及乙酸乙酯分配溶出物。分取水层,利用乙酸乙酯萃取。合并有机层,利用水洗净3次,在减压下进行浓缩,获得作为粗产物的偶合反应产物。

[0280] 向所获得的粗产物的二氯甲烷(4.0mL)溶液中加入三氟乙酸(1.0mL),在室温下搅拌1小时。通过向反应混合物吹送氮气而蒸馏去除溶剂,将残渣利用甲醇稀释。将所获得的甲醇溶液供到Waters PoraPak Rxn(注册商标)CX(20cc(2g)墨盒)上。利用甲醇(20.0mL)洗净固相后,利用氨水(2N甲醇溶液,20mL)使其溶出。通过将溶出液在减压下进行浓缩而获得标题化合物的粗产物(120mg)。

[0281] MS(ESI)m/z:279[M+H]<sup>+</sup>

(2) (1R,3s,5S)-3-((2S,4S)-1-(5-氟嘧啶-2-基)-2-甲基哌啶-4-基)-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-甲酸乙酯的合成

[0283] 将(1R,3s,5S)-3-((S)-2-甲基-1,2,3,6-四氢吡啶-4-基)-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-甲酸乙酯(120mg,0.431mmol)、10%钯碳(NE Chemcat股份有限公司,48.47%含水量,183mg,0.083mmol)及甲醇(4.0mL)的混合物在氢气环境下搅拌6.5小时。将不溶物利用硅藻土(注册商标)过滤去除,在减压下进行浓缩,由此获得作为顺式反式混合物的还原体(113mg)。

[0284] MS(ESI)m/z:281[M+H]<sup>+</sup>

[0285] 将所获得的还原体(113mg)、2-氯-5-氟嘧啶(0.048mL,0.517mmol)、碳酸铯(281mg,0.862mmol)及N,N-二甲基乙酰胺(2.0mL)的混合物在100℃下搅拌8小时。将混合物利用柱色谱法(硅胶,0-30%乙酸乙酯/正庚烷)进行纯化,获得作为顺式反式混合物的标题化合物(82.0mg)。

[0286] MS(ESI)m/z:377[M+H]<sup>+</sup>

[0287] (分析条件) 使用大赛璐公司制造的CHIRALPAK (注册商标) IF-3 (3.0mm×50mm) 的超临界流体色谱法 (流动相CO<sub>2</sub>: 甲醇 (70:30), 40℃, 流速: 1.2mL/分钟, 检测: UV (210-400nm))

[0288] (分析结果) 标题化合物的保持时间为1.02分钟, 反式体的保持时间为1.23分钟。顺式: 反式为4:5 (峰面积比), 光学纯度为>99% ee。

[0289] 利用使用大赛璐公司制造的CHIRALPAK (注册商标) IF/SFC (3cm×25cm) 的超临界流体色谱法 (流动相CO<sub>2</sub>: 甲醇 (70:30)、120bar、40℃、流速: 100mL/分钟) 每次各分取10mg的所获得的顺式反式混合物, 获得首先溶出的保持时间5.55分钟的标题化合物 (34.0mg)。

[0290] <sup>1</sup>H-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 1.17 (d, J=6.34Hz, 3H), 1.23 (t, J=7.25Hz, 3H), 1.19-2.02 (m, 14H), 3.09 (ddd, J=13.70, 10.99, 5.66Hz, 1H), 4.10 (q, J=7.10Hz, 2H), 4.17-4.30 (m, 3H), 4.34 (dd, J=13.59, 7.25Hz, 1H), 8.13 (s, 2H)。

[0291] MS (ESI) m/z: 377 [M+H]<sup>+</sup>

[0292] (分析条件) 使用大赛璐公司制造的CHIRALPAK (注册商标) IF-3 (3.0mm×50mm) 的超临界流体色谱法 (流动相CO<sub>2</sub>: 甲醇 (70:30), 40℃, 流速: 1.2mL/分钟, 检测: UV (245nm))

[0293] (分析结果) 标题化合物的保持时间为1.02分钟, 顺式: 反式为>99:1, 光学纯度为>99% ee。

[0294] (3) (1R, 3s, 5S) -3- ((2S, 4S) -1- (5-氟嘧啶-2-基) -2-甲基哌啶-4-基) -8-氮杂双环[3.2.1]辛烷的合成

[0295] 将(1R, 3s, 5S) -3- ((2S, 4S) -1- (5-氟嘧啶-2-基) -2-甲基哌啶-4-基) -8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-甲酸乙酯 (34mg, 0.09mmol) 和48% 氢溴酸 (2.0mL) 的混合物在100℃下搅拌1小时。在0℃下向反应混合物中加入5N 氢氧化钠水溶液以进行中和。将混合物利用二氯甲烷萃取3次, 将有机层利用无水硫酸镁进行干燥, 在减压下进行浓缩, 由此获得标题化合物 (21.7mg)。

[0296] MS (ESI) m/z: 305 [M+H]<sup>+</sup>

[0297] (4) (R) -2-环丙基-2- ((1R, 3S, 5S) -3- ((2S, 4S) -1- (5-氟嘧啶-2-基) -2-甲基哌啶-4-基) -8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-基) 乙酰胺的合成

[0298] 在室温下, 将(1R, 3s, 5S) -3- ((2S, 4S) -1- (5-氟嘧啶-2-基) -2-甲基哌啶-4-基) -8-氮杂双环[3.2.1]辛烷 (5.00mg, 0.016mmol)、碳酸钾 (4.54mg, 0.033mmol)、(S) -2-溴-2-环丙基乙酰胺 (8.24mg, 0.033mmol) 及乙腈 (1.0mL) 的混合物在室温下搅拌7天。向反应混合物中加入碳酸钾 (4.54mg, 0.033mmol) 及 (S) -2-溴-2-环丙基乙酰胺 (8.24mg, 0.033mmol), 进一步在室温下搅拌3天。向反应混合物中加入氯化铵水溶液而使反应终止。将混合物利用乙酸乙酯进行萃取, 利用水洗净有机层, 在减压下进行浓缩, 由此获得粗产物。

[0299] 将所获得的粗产物利用甲醇进行稀释, 供到Waters PoraPak Rxn (注册商标) CX (6cc (400mg) 墨盒) 上。利用甲醇 (6.0mL) 洗净固相后, 利用氨水 (2N 甲醇溶液, 6mL) 使固相溶出。将溶出液在减压下进行浓缩, 利用薄层色谱法 (NH, 二氯甲烷) 对所获得的残渣进行纯化, 由此获得标题化合物 (3.74mg)。

[0300] <sup>1</sup>H-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 0.25-0.36 (m, 1H), 0.39-0.51 (m, 1H), 0.51-0.59 (m, 1H), 0.59-0.70 (m, 1H), 0.70-0.84 (m, 1H), 1.18 (d, J=6.34Hz, 3H), 1.21-1.55 (m, 9H), 1.61-1.95 (m, 5H), 2.04 (d, J=9.06Hz, 1H), 3.10 (ddd, J=13.70, 10.99, 5.21Hz, 1H), 3.15-

3.28 (m, 1H), 3.80-3.94 (m, 1H), 4.17-4.29 (m, 1H), 4.35 (dd,  $J=13.59, 7.25\text{Hz}$ , 1H), 5.18 (brs, 1H), 6.94 (brs, 1H), 8.14 (s, 2H)。

[0301] MS (ESI)  $m/z$ : 402  $[M+H]^+$

[0302] (R)-2-环丙基-2-((1R,3S,5S)-3-((2S,4S)-1-(5-氟嘧啶-2-基)-2-甲基哌啶-4-基)-8-氮杂双环[3.2.1]辛烷-8-基)乙酰胺的单晶的制备及X射线晶体结构分析

[0303] 使实施例4中所获得的标题化合物(0.81mg)溶解到甲醇(600 $\mu\text{L}$ )中。将装有其中200 $\mu\text{L}$ 的小玻璃瓶缓慢地放入较该小玻璃瓶大1号且装有叔丁基甲醚2mL的小玻璃瓶中,合上盖子(蒸气扩散法)。12天后,在小玻璃瓶中获得标题化合物的单晶。针对所获得的单晶,在以下条件下进行X射线晶体结构分析。将标题化合物的X射线晶体结构示于图3。

[0304] 分析机器:XtaLAB PRO P200 MM007HF(Rigaku, Japan)

[0305] 软件:CrysAlisPro(理学牛津衍射)

[0306] X射线:多层镜单色Cu-K $\alpha$  (40kV/30mA)

[0307] 测定法: $\omega$ 轴振荡法

[0308] 相机长度:35mm

[0309] 测定温度:-170 $^{\circ}\text{C}$

[0310] 药理试验例

[0311] 使用实施例1~4的化合物,进行以下的药理试验。

[0312] 试验例1-1对于OX1R及OX2R的激动活性评价

[0313] 将强制表达hOX1R、hOX2R的人胚胎肾细胞293 (HEK293, Human Embryonic Kidney cells 293) 细胞以每孔有10,000个的方式接种到384孔微量板(Greiner公司)的各孔中,在添加有10% FBS(赛默飞世尔科技公司)及1%青霉素-链霉素(富士胶片和光纯药公司)的高糖DMEM(富士胶片和光纯药公司)中培养24小时。去除培养基后,添加包含钙4染料(Molecular Devices公司)及2.5mM丙磺舒(西格玛奥德里奇公司)的分析用缓冲液(20mM HEPES(西格玛奥德里奇公司)、汉克氏(Hank's)平衡盐溶液(吉布柯公司)、0.1%BSA(西格玛奥德里奇公司)、0.1%普朗尼克F-127(Biotium公司))40 $\mu\text{L}$ ,并培养60分钟。进一步添加分析用缓冲液20 $\mu\text{L}$ 后,添加包含试验化合物的分析用缓冲液20 $\mu\text{L}$ 而使反应开始。反应会使细胞内钙离子浓度产生变化,此变化是通过使用FDSS7000(浜松光子公司),测定由480nm及540nm的二波长激发获得的荧光强度比作为荧光值而测得。此外,试验化合物以10mM溶解到DMSO中,并经分析用缓冲液稀释,使得最终浓度从 $3 \times 10^{-10}\text{M}$ 变为 $1 \times 10^{-7}\text{M}$ (DMSO的最终浓度为0.1%)。将添加有不含化合物的缓冲液的孔的荧光值设为0%,将添加有OX-A(肽研究所公司)10nM的孔的荧光值设为100%而算出,根据添加有各种浓度的试验化合物时的荧光值,求出50%激动作用浓度(EC50值)。表1中示出各化合物的激动活性值。

[0314] [表1]

实施例编号	hOX1R EC50 (nM)	hOX2R EC50 (nM)
1	>100	0.99
2	>100	3.08

[0316] 试验例1-2对于OX1R及OX2R的激动活性评价

[0317] 将强制表达hOX1R、hOX2R的人胚胎肾细胞293 (HEK293) 细胞以每孔有10,000个的方式接种到384孔微量板(Greiner公司)的各孔中,在添加有10% FBS(赛默飞世尔科技公

司)及1%青霉素-链霉素(富士胶片和光纯药公司)的高糖DMEM(富士胶片和光纯药公司)中培养1天。去除培养基后,添加包含钙4染料(Molecular Devices公司)及2.5mM丙磺舒(西格玛奥德里奇公司)的分析用缓冲液(20mM HEPES(西格玛奥德里奇公司)、汉克氏平衡盐溶液(吉布柯公司)、0.1% BSA(西格玛奥德里奇公司)、0.1% 普朗尼克F-127(Biotium公司))30  $\mu$ L,并培养60分钟。添加包含试验化合物的分析用缓冲液30 $\mu$ L而使反应开始。反应会使细胞内钙离子浓度产生变化,此变化是通过使用FDSS7000(浜松光子公司),测定由480nm及540nm的二波长激发获得的荧光强度比作为荧光值而测得。此外,试验化合物以10mM溶解到DMSO中,并经分析用缓冲液稀释,使得最终浓度从 $3 \times 10^{-11}$ M变为 $1 \times 10^{-5}$ M(DMSO的最终浓度为0.1%)。将添加有不含化合物的缓冲液的孔的荧光值设为0%,将添加有OX-A(肽研究所公司)10nM的孔的荧光值设为100%而算出,根据添加有各种浓度的试验化合物时的荧光值,求出50%激动作用浓度(EC50值)。表2中示出各化合物的激动活性值。

[0318] [表2]

实施例编号	hOX1R EC50 (nM)	hOX2R EC50 (nM)
1	4700	2.3
3	1400	4.3
4	3900	4.4

[0320] 试验例2关于自发运动量的增加

[0321] 小鼠的运动量的增加和清醒时间的增加、体温的上升、心血管系统参数的增强等一样,都是清醒作用的一个指标。在该试验例中,通过测定小鼠的自发运动量来评价清醒作用。实验中使用雄性C57BL/6NCr1小鼠(18-19周龄,Charles River Laboratories Japan公司,每组各4例)。自发运动量是通过如下方式测得:使用运动量测定装置(VersaMax旷场,AccuScan Instrument公司)从测定笼的侧部照射红外线,对小鼠通过照射线的次数进行测定。将小鼠放入测定笼中,使小鼠适应3小时后,口服施用化合物(10mg/kg)。自发运动量是在施用后2小时进行测定。在试验化合物施用组中,将试验化合物溶解到包含5% (v/v) DMSO及5% (v/v) Kolliphor(注册商标)EL的0.1mol/L盐酸中而获得溶液,将所获得的溶液施用于小鼠。在对照组中,仅将不含试验化合物的所述溶剂施用于小鼠。

[0322] 将结果示于表3。关于自发运动量,将对照组的自发运动量设为100%时,以%表示试验化合物施用组的自发运动量。

[0323] [表3]

试验化合物	自发运动量 (相对于对照组%)
溶剂	100
实施例 1	865
实施例 2	253

[0325] 根据表3表明,本发明的化合物使得小鼠的自发运动量增强。即,表明本发明的化合物具有清醒效果。

[0326] 试验例3在暗期向野生型小鼠口服施用本发明化合物所带来的清醒效果

[0327] 实验动物是使用C57BL/6系统的野生型 (WT) 雄性小鼠。在异氟醚麻醉下,对13周龄的小鼠进行脑波及肌电图测定用电极置入手术。手术后,使小鼠适应照明周期、实验操作后,再测定脑波及肌电图,将可以正常记录脑波及肌电图的小鼠供于实验。在灯灭的30~15分钟前口服施用使溶剂 (0mg/kg) 或实施例1的化合物溶解到溶剂中所获得的溶液 (1、3或10mg/kg)。此外,溶剂使用包含5% (v/v) DMSO及5% (v/v) Kolliphor (注册商标) EL的0.1mol/L盐酸溶液。脑波及肌电图是从灯灭1小时前开始记录约24小时。对于小鼠,设置2天以上的洗脱期并反复使用。所获得的各小鼠的脑波及肌电图数据是利用睡眠分析软件 (SleepSign;KISSEI COMTEC股份有限公司),每1epoch (10秒) 判定为一次睡眠阶段。每1例都测定灯灭后直到出现最初睡眠 (从非快速眼动睡眠 (non-REM) 开始到8epoch以上的睡眠) 的时间 (睡眠潜伏期)。将各施用组的例数设为16,在溶剂施用组 (对照组) 和实施例1的化合物施用组间有关睡眠潜伏期的比较中,考虑同一个体和实验次数的对应关系来分析存活时间后,进行Dunnet型多重比较检验,显著性水平都设为两侧5%。

[0328] 施用了溶剂及1、3及10mg/kg的实施例1的化合物的鼠的睡眠潜伏期分别为0.23小时、0.28小时、0.44小时及2.07小时。另外,在3或10mg/kg的实施例1的化合物施用组中,和溶剂施用组相比,睡眠潜伏期明显增加。即,当在小鼠活动期开始的明期 (ZT12) 口服施用实施例1的化合物时,确认到睡眠潜伏期的延长具施用量依赖性。

[0329] 试验例4由在暗期向食欲素缺陷小鼠 (食欲素/共济失调蛋白3小鼠) 口服施用本发明化合物所带来的清醒效果、及猝倒症样行动抑制效果

[0330] 实验动物使用以C57BL/6系统作为遗传背景的食欲素/共济失调蛋白3小鼠 (orexin/ataxin-3Tg/+ (以下记为“Tg小鼠”)、Hara et al.,Neuron,30,345-54,2001),作为对照组,使用同窝仔的野生型小鼠 (以下记为“WT小鼠”)。在异氟醚麻醉下对于12周龄 (±2周) 的小鼠进行脑波及肌电图测定用电极置入手术。手术后,使小鼠适应照明周期、实验操作后,再测定脑波及肌电图,将可以正常记录脑波及肌电图的小鼠供于实验。在灯灭的30~15分钟前口服施用溶剂 (0mg/kg) 或样本 (使实施例1的化合物溶解到溶剂中所得的溶液;0.3、1、或3mg/kg)。此外,溶剂使用包含5% (v/v) DMSO及5% (v/v) Kolliphor (注册商标) EL的0.1mol/L盐酸溶液。脑波及肌电图是从灯灭1小时前开始记录约24小时。对于小鼠,设置2天以上的洗脱期以重复使用。所获得的各小鼠的脑波及肌电图数据是利用睡眠分析软件 (SleepSign;KISSEI COMTEC股份有限公司),每1epoch (10秒) 判定为一次睡眠阶段,最多4小时。本实验中的猝倒症样症状是指在连续4epoch以上的清醒状态后立即出现快速眼动睡眠的现象 (从清醒到快速眼动睡眠的直接过渡 (DREM))。小鼠的DREM和人的猝倒症类似 (Exp Neurol.2009;217:46-54)。每1例都测定灯灭后直到出现最初睡眠 (除DREM以外的连续8epoch以上的睡眠) 的时间 (睡眠潜伏期) 及直到出现最初DREM的时间 (DREM潜伏期)。关于例数,在溶剂施用组中为8例,在实施例1的化合物施用组中为14例。在病情对照组和化合物施用组间有关睡眠潜伏期的比较中,考虑同一个体和实验次数的对应关系来分析存活时间后,进行Dunnet型多重比较检验,显著性水平都设为两侧5%。另外,在正常对照组和病情对照组间有关DREM潜伏期的比较中,考虑同一个体和实验次数的对应关系来分析存活时间。在所述检验有意义的情况下的病情对照组和实施例1的化合物施用组间的比较中,考虑同一个体和实验次数的对应关系来分析存活时间后,进行Dunnet型多重比较检验,显著性水

平都设为两侧5%。

[0331] 施用了溶剂及0.3、1及3mg/kg的实施例1的化合物的Tg小鼠的睡眠潜伏期分别为0.21小时、0.31小时、0.64小时、及2.42小时,在1及3mg/kg的实施例1的化合物施用组中,睡眠潜伏期明显增加。即,当在小鼠活动期开始的明期(ZT12)口服施用实施例1的化合物时,在食欲素缺陷小鼠中确认到从1mg/kg开始睡眠潜伏期延长,该睡眠潜伏期延长具施用量依赖性。

[0332] WT小鼠在施用媒介物时DREM潜伏期为4.00小时。另一方面,Tg小鼠在施用溶剂及0.3、1及3mg/kg的实施例1的化合物时DREM潜伏期分别为1.16小时、1.50小时、2.26小时及4.00小时,在0.3、1及3mg/kg的实施例1的化合物施用组中,和溶剂施用组相比,确认到DREM潜伏期的增加明显且具施用量依赖性。即,通过施用本发明的化合物,施用量依赖性地抑制了食欲素缺陷小鼠所呈现的猝倒症样症状(DREM)。

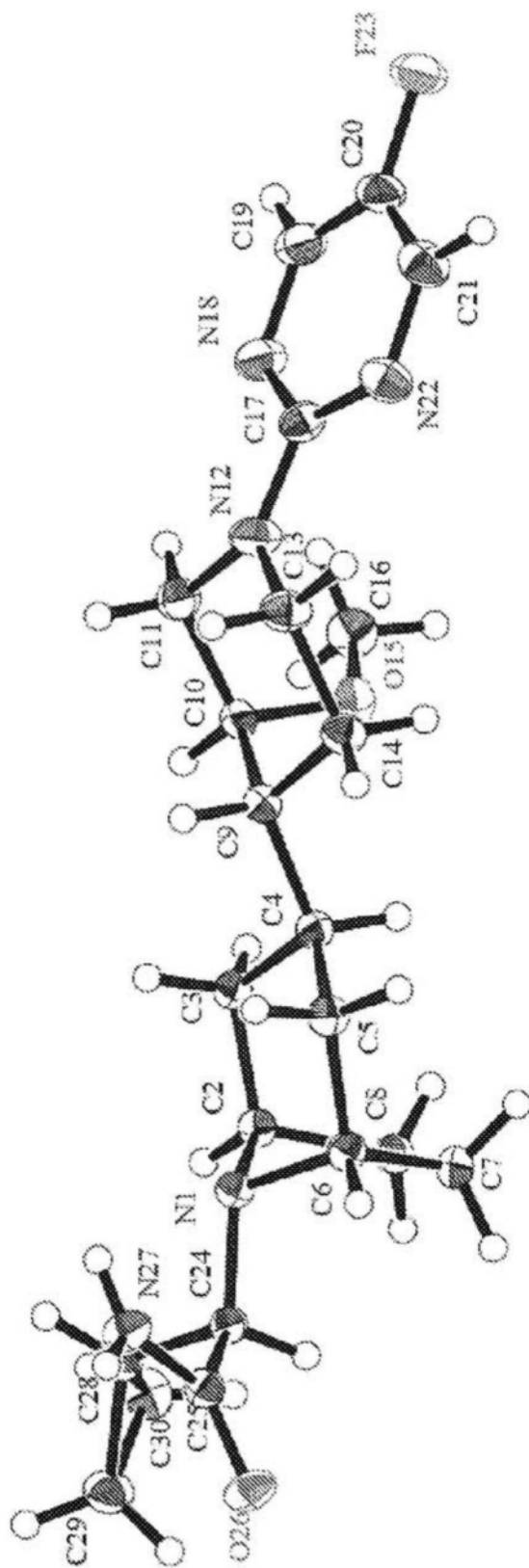


图1



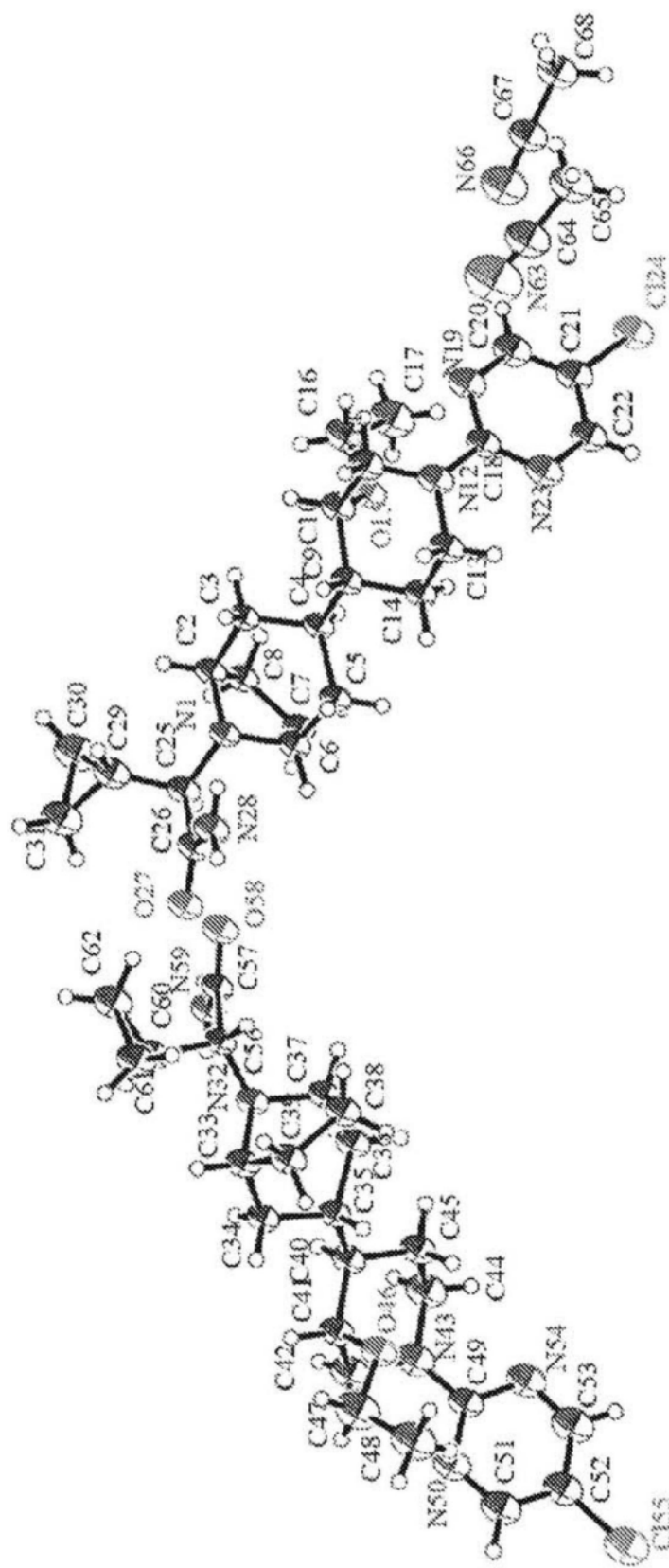


图2

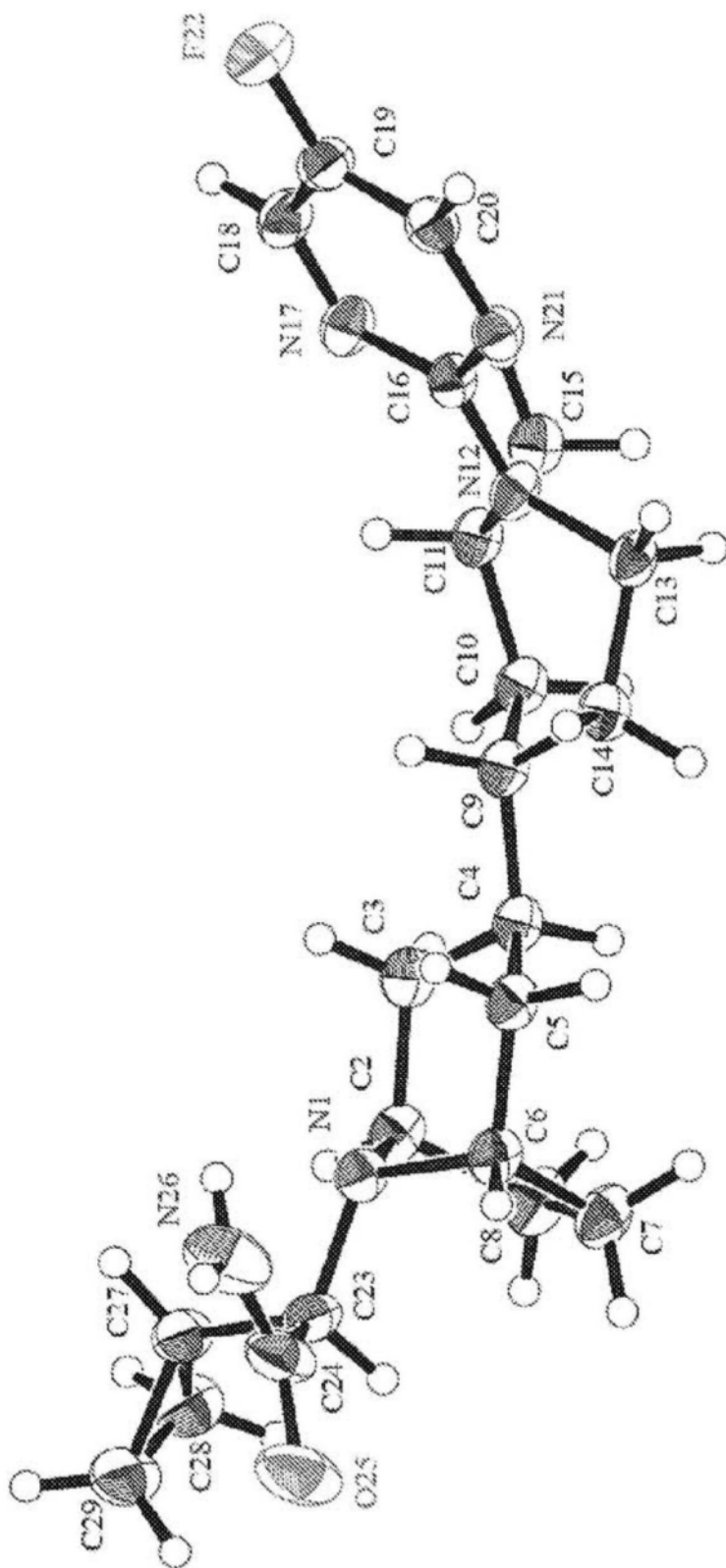


图3