



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107531702 A

(43)申请公布日 2018.01.02

(21)申请号 201680023326.3	A61K 31/437(2006.01)
(22)申请日 2016.04.22	A61P 29/00(2006.01)
(30)优先权数据	A61P 37/02(2006.01)
1507031.1 2015.04.24 GB	A61P 35/00(2006.01)
(85)PCT国际申请进入国家阶段日	A61P 19/02(2006.01)
2017.10.20	A61P 1/00(2006.01)
(86)PCT国际申请的申请数据	A61P 1/04(2006.01)
PCT/GB2016/051119 2016.04.22	A61P 9/10(2006.01)
(87)PCT国际申请的公布数据	A61P 25/28(2006.01)
W02016/170351 EN 2016.10.27	A61P 25/16(2006.01)
(71)申请人 普罗克斯马根有限公司	A61P 11/00(2006.01)
地址 英国剑桥郡	A61P 11/06(2006.01)
(72)发明人 爱德华·萨沃里	A61P 9/00(2006.01)
迈克尔·希金博特姆	A61P 1/16(2006.01)
(74)专利代理机构 北京集佳知识产权代理有限公司 11227	A61P 17/06(2006.01)
代理人 郑斌 刘振佳	A61P 27/02(2006.01)
(51)Int.Cl.	A61P 3/10(2006.01)
C07D 471/04(2006.01)	A61P 9/04(2006.01)
	A61P 25/08(2006.01)

权利要求书2页 说明书14页 附图1页

(54)发明名称

氨基脒敏感性胺氧化酶(SSAO)抑制剂的药用盐形式

(57)摘要

(4S)-4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3S)-四氢呋喃-3-基酯甲磺酸盐的甲磺酸盐和硫酸盐,及其水合物,及其在医学中的用途。

1. 选自以下的化合物:

(4S)-4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3S)-四氢呋喃-3-基酯甲磺酸盐,和

(4S)-4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3S)-四氢呋喃-3-基酯硫酸盐,

及其水合物。

2. 药物组合物,其包含一种或更多种合适的赋形剂和根据权利要求1所述的化合物。

3. 根据权利要求1所述的化合物或根据权利要求2所述的药物组合物,其用于治疗炎症、炎性疾病、免疫或自身免疫病或抑制肿瘤生长,或者用于制备用于治疗炎症、炎性疾病、免疫或自身免疫病或抑制肿瘤生长的药物。

4. 用于治疗炎症、炎性疾病、免疫或自身免疫病或抑制肿瘤生长的方法,其包括向患有这样疾病的对象施用有效量的如权利要求1中所述的化合物或如权利要求2中所述的药物组合物。

5. 根据权利要求3所述的化合物或药物组合物或根据权利要求4所述的方法,其中所述炎症或炎性疾病或免疫或自身免疫病是关节炎(包括类风湿性关节炎、幼年型类风湿性关节炎、骨关节炎和银屑病关节炎),滑膜炎,血管炎,舍格伦病,与肠的炎症有关的病症(包括克罗恩病、溃疡性结肠炎、炎性肠病和肠易激综合征),动脉粥样硬化,多发性硬化,阿尔茨海默病,血管性痴呆,帕金森病,脑淀粉样血管病,伴有皮层下梗死和脑白质病的常染色体显性脑动脉病,肺部炎性疾病(包括哮喘、慢性阻塞性肺病和急性呼吸窘迫综合征),纤维化疾病(包括特发性肺纤维化、心脏纤维化、肝纤维化和系统性硬化病(硬皮病)),皮肤炎性疾病(包括接触性皮炎、特应性皮炎和银屑病),眼的炎性疾病(包括年龄相关性黄斑变性、葡萄膜炎和糖尿病性视网膜病),全身炎症反应综合征,败血症,肝的炎性和/或自身免疫病症(包括自身免疫性肝炎、原发性胆汁性肝硬化、酒精性肝病、硬化性胆管炎和自身免疫性胆管炎),糖尿病(I型或II型)和/或其并发症,慢性心力衰竭,充血性心力衰竭,缺血性疾病(包括卒中和缺血再灌注损伤)或心肌梗死和/或其并发症,或癫痫。

6. 根据权利要求3所述的化合物或药物组合物或根据权利要求4所述的方法,其用于治疗选自以下的疾病:类风湿性关节炎、骨关节炎、肝纤维化、慢性阻塞性肺病、多发性硬化、舍格伦病、阿尔茨海默病、帕金森病、炎性肠病、或血管性痴呆。

7. 根据权利要求1所述的化合物,其是(4S)-4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3S)-四氢呋喃-3-基酯甲磺酸盐。

8. 根据权利要求7所述的化合物,其纯度大于95%。

9. 根据权利要求7所述的化合物,其纯度大于99%。

10. 根据权利要求7所述的化合物,其纯度大于99.5%。

11. 根据权利要求7至10中任一项所述的化合物,其对映体纯度大于95%。

12. 根据权利要求7至10中任一项所述的化合物,其对映体纯度大于99%。

13. 根据权利要求7至10中任一项所述的化合物,其对映体纯度大于99.5%。

14. 根据权利要求1所述的化合物,其是(4S)-4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3S)-四氢呋喃-3-基酯硫酸盐及其水合物。

15. 根据权利要求14所述的化合物,其是(4S)-4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,

5-c]吡啶-5-羧酸(3S)-四氢呋喃-3-基酯硫酸盐 $1.5\text{H}_2\text{O}$ 。

16. 根据权利要求14或15所述的化合物,其纯度大于95%。
17. 根据权利要求14或15所述的化合物,其纯度大于99%。
18. 根据权利要求14或15所述的化合物,其纯度大于99.5%。
19. 根据权利要求14至18中任一项所述的化合物,其对映体纯度大于95%。
20. 根据权利要求14至18中任一项所述的化合物,其对映体纯度大于99%。
21. 根据权利要求14至18中任一项所述的化合物,其对映体纯度大于99.5%。

氨基脲敏感性胺氧化酶(SSAO)抑制剂的药用盐形式

技术领域

[0001] 本发明涉及(4S)-4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3S)-四氢呋喃-3-基酯的新盐形式,及其在医学中的用途。

背景技术

[0002] 氨基脲敏感性胺氧化酶(Semicarbazide-sensitive amine oxidase, SSAO)活性是由血管黏附蛋白-1(Vascular Adhesion Protein-1, VAP-1)或含铜胺氧化酶3(Amine Oxidase, Copper Containing 3, AOC3)(属于含铜胺氧化酶家族酶(EC.1.4.3.6))表达的酶活性。因此,SSAO酶的抑制剂也可以调节VAP-1蛋白的生物学功能。

[0003] 已经在多种组织(包括血管和非血管平滑肌组织、内皮和脂肪组织)中发现了SSAO活性[Lewinsohn, Braz. J. Med. Biol. Res. 1984, 17, 223-256; Nakos & Gossrau, Folia Histochem. Cytobiol. 1994, 32, 3-10; Yu 等, Biochem. Pharmacol. 1994, 47, 1055-1059; Castillo 等, Neurochem. Int. 1998, 33, 415-423; Lyles & Pino, J. Neural. Transm. Suppl. 1998, 52, 239-250; Jaakkola 等, Am. J. Pathol. 1999, 155, 1953-1965; Morin 等, J. Pharmacol. Exp. Ther. 2001, 297, 563-572; Salmi & Jalkanen, Trends Immunol. 2001, 22, 211-216]。此外,在血浆中发现了SSAO蛋白,并且这种可溶性形式看来与组织结合形式具有相似的性质[Yu 等, Biochem. Pharmacol. 1994, 47, 1055-1059; **Kurkijärvi** 等, J. Immunol. 1998, 161, 1549-1557]。

[0004] 这种丰富的酶的精确生理作用尚未完全确定,但看来SSAO及其反应产物在细胞信号传导和调控中可能具有若干功能。例如,最近的研究结果表明SSAO在GLUT4介导的葡萄糖摄取[Enrique-Tarancon 等, J. Biol. Chem. 1998, 273, 8025-8032; Morin 等, J. Pharmacol. Exp. Ther. 2001, 297, 563-572]和脂肪细胞分化[Fontana 等, Biochem. J. 2001, 356, 769-777; Mercier 等, Biochem. J. 2001, 358, 335-342]二者中发挥作用。此外,已证明SSAO参与炎症过程,其中它作为白细胞的黏附蛋白起作用[Salmi & Jalkanen, Trends Immunol. 2001, 22, 211-216; Salmi & Jalkanen, in "Adhesion Molecules: Functions and Inhibition" K. Ley (编辑), 2007, 第 237-251 页],并且还可在结缔组织基质发育和维持中发挥作用[Langford 等, Cardiovasc. Toxicol. 2002, 2(2), 141-150; **Göktürk** 等, Am. J. Pathol. 2003, 163(5), 1921-1928]。此外,最近已经发现了SSAO和血管生成之间的联系[Noda 等, FASEBJ. 2008, 22(8), 2928-2935],并且基于该联系,预期SSAO的抑制剂具有抗血管生成作用。

[0005] 人中的几项研究已经证明血浆中的SSAO活性在例如充血性心力衰竭、糖尿病、阿尔茨海默病和炎症的病症中升高[Lewinsohn, Braz. J. Med. Biol. Res. 1984, 17, 223-256; Boomsma 等, Cardiovasc. Res. 1997, 33, 387-391; Ekblom, Pharmacol. Res. 1998, 37, 87-92; **Kurkijärvi** 等, J. Immunol. 1998, 161, 1549-1557; Boomsma 等, Diabetologia 1999, 42, 233-237; Meszaros 等, Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet. 1999, 24, 299-302; Yu 等, Biochim. Biophys. Acta 2003, 1647(1-2), 193-199; Mátyus 等, Curr. Med. Chem. 2004, 11

(10), 1285-1298; O'Sullivan等, *Neurotoxicology* 2004, 25 (1-2), 303-315; del Mar Hernandez等, *Neurosci. Lett.* 2005, 384 (1-2), 183-187]。已经表明, 由内源性胺氧化酶产生的活性醛和过氧化氢有助于心血管疾病、糖尿病并发症和阿尔茨海默病的进展 [Callingham等, *Prog. Brain Res.* 1995, 106, 305-321; Eklom, *Pharmacol. Res.* 1998, 37, 87-92; Yu等, *Biochim. Biophys. Acta* 2003, 1647 (1-2), 193-199; Jiang等, *Neuropathol Appl Neurobiol.* 2008, 34 (2), 194-204]。此外, SSAO的酶活性参与炎症部位的白细胞外渗过程, 其中SSAO已经显示出在血管内皮上强烈表达 [Salmi等, *Immunity* 2001, 14 (3), 265-276; Salmi & Jalkanen, in "Adhesion Molecules: Functions and Inhibition" K. Ley (编辑), 2007, 第237-251页]。因此, 已经表明SSAO的抑制在预防糖尿病并发症和炎症性疾病中具有治疗价值 [Eklom, *Pharmacol. Res.* 1998, 37, 87-92; Salmi等, *Immunity* 2001, 14 (3), 265-276; Salter-Cid等, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2005, 315 (2), 553-562]。

[0006] WO2007/146188教导了阻断SSAO活性抑制白细胞募集, 降低炎症反应, 并预期在预防和治疗癫痫发作 (例如在癫痫中) 中有益。

[0007] O'Rourke等 (*J Neural Transm.* 2007; 114 (6): 845-9) 检验了SSAO抑制剂在神经系统疾病中的潜力, 其先前已经在大鼠卒中模型中证实了 SSAO抑制的效力。对复发缓解型实验性自身免疫性脑脊髓炎 (experimental autoimmune encephalomyelitis, EAE) (一种与人多发性硬化共有很多特征的小鼠模型) 进行SSAO抑制剂的检测。数据证明了该模型中小分子抗SSAO治疗的潜在临床益处, 因此证明了在治疗人多发性硬化中的潜在临床益处。

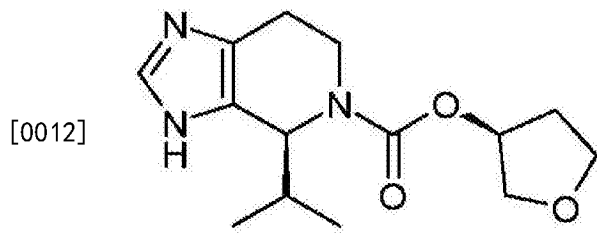
[0008] SSAO敲除动物表型明显正常, 但是表现出响应于多种炎性刺激引起的炎症反应的显著降低 [Stolen等, *Immunity* 2005, 22 (1), 105-115]。另外, 已经示出在人疾病的多种动物模型 (例如角叉菜胶诱导的爪炎症、脂多糖诱导的结肠炎、脂多糖诱导的肺炎、胶原诱导的关节炎、内毒素诱导的葡萄膜炎) 中, 通过使用抗体和/或小分子在野生型动物中对其功能的拮抗作用在降低白细胞浸润、降低疾病表型的严重性并且降低炎性细胞因子和趋化因子的水平中起保护作用 [Kirton等, *Eur. J. Immunol.* 2005, 35 (11), 3119-3130; Salter-Cid等, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2005, 315 (2), 553-562; McDonald等, *Annual Reports in Medicinal Chemistry* 2007, 42, 229-243; Salmi & Jalkanen, in "Adhesion Molecules: Functions and Inhibition" K. Ley (编辑), 2007, 第237-251页; Noda等, *FASEB J.* 2008, 22 (4), 1094-1103; Noda等, *FASEB J.* 2008, 22 (8), 2928-2935]。这种抗炎保护看来在广泛的具有独立致病机制的炎性模型中都有所提供, 而不仅限于一种特定的疾病或疾病模型。这将表明SSAO可以是调节炎性反应的关键节点, 因此SSAO抑制剂很可能是广泛的人疾病中的有效抗炎药物。VAP-1 还涉及纤维化疾病 (包括肝和肺的纤维化疾病) 的进展和维持。Weston 和 Adams (*J Neural Transm.* 2011, 118 (7), 1055-64) 总结了在肝纤维化中涉及VAP-1的实验数据, Weston等 (EASL Poster 2010) 报道了VAP-1 的阻断加速了对四氯化碳诱导的纤维化的消退。此外, VAP-1已经涉及肺炎 (例如Singh等, 2003, *Virchows Arch* 442: 491-495), 表明VAP-1阻断剂可降低肺炎, 因此其通过对疾病的促纤维化和促炎两方面的治疗对囊性纤维化的治疗有益。

[0009] SSAO (VAP-1) 在胃癌中上调, 并且已经在人黑素瘤、肝癌和头颈部肿瘤的肿瘤血管中被鉴定 (Yoong KF, McNab G, Hubscher SG, Adams DH. (1998), *J Immunol* 160, 3978-88.; Irjala H, Salmi M, Alanen K, Gre' nman R, Jalkanen S (2001), *Immunol.* 166, 6937-6943;

Forster-Horvath C,Dome B,Paku S,等.(2004),Melanoma Res.14, 135-40.)。一项报告(Marttila-Ichihara F,Castermans K,Auvinen K,Oude Egbrink MG,Jalkanen S,Griffioen AW,Salmi M.(2010),J Immunol.184, 3164-3173.)已经显示,携带无酶活性的VAP-1的小鼠发生黑素瘤较慢,并具有降低的肿瘤血管数目和直径。这些肿瘤的生长降低也反映在骨髓抑制细胞的浸润降低(降低60-70%)中。令人鼓舞的是,VAP-1缺乏对正常组织中的血管或淋巴形成没有影响。

[0010] 由于上述原因,预期SSAO的抑制将降低促炎性酶产物(pro-inflammatory enzyme product)(醛、过氧化氢和氨)的水平,同时还降低免疫细胞的黏附能力,并相应地降低其活化和最终的外渗(extra-vasation)。预期这样的活性在其中具有治疗益处的疾病包括其中免疫细胞在病理的起始、维持或消退中发挥重要作用的所有疾病,例如炎症性疾病和免疫/自身免疫病。这样的疾病的实例包括多发性硬化、关节炎和血管炎。

[0011] 存在对于新的和改进的SSAO抑制剂的未满足的医疗需求。W02010/031789(其内容通过引用并入本文)公开了一类有前景的SSAO 抑制剂化合物,尤其有前景的是实施例16,其为(4S)-4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3S)-四氢呋喃-3-基酯的游离碱,并且其具有以下结构:



[0013] (4S)-4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3S)-四氢呋喃-3-基酯的游离碱是吸湿性无定形玻璃状物/胶状物。玻璃化转变点是在39℃的相对较低的温度,因此游离碱通常作为胶状物存在。

[0014] 本文所述的发明涉及SSAO抑制剂(4S)-4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3S)-四氢呋喃-3-基酯的新盐形式,其具有出人意料的改进的性能。

发明内容

[0015] 吸湿性是药物的不期望的性质,因为水的并入导致许多问题。这些问题的实例包括由于水的可变质量而难以对药物称重,并且由于其变黏的倾向而难以处理药物。胶状物通常是不期望的,因为它们是黏的并且难以处理。晶体优于无定形胶状物,因为它们具有更好的过滤性能,因此更容易干燥。

[0016] 良好的热稳定性是药物的期望的性质。公知的是,在标准研磨和压片过程中,温度通常超过50℃(参见例如Developing Solid Oral Dosage Forms:Pharmaceutical Theory&Practice;Yihong Qiu,Yisheng Chen, Geoff G.Z.Zhang,Lirong Liu,William Porter,2009)。在研磨或压片过程中存在会发生“热点(hot spot)”,并且该热点的温度将超过药物的熔点的严重风险。预期在研磨或压片过程中熔融药物的存在会导致药物颗粒结块在一起,或以其他方式形成聚集体。预期这样的熔融、结块或聚集会阻碍准确性和一致性。

[0017] 经过对(4S)-4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3S)-四氢呋喃-3-基酯游离碱及其盐形式的制备和性质的广泛研究,申请人已经发现了有利的盐形式,即甲磺酸盐,其具有有利的高热稳定性和有利的低吸湿性;以及作为水合物存在的硫酸盐,其具有有利的高热稳定性和有利的低吸湿性。

[0018] 本发明包括含有(4S)-4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3S)-四氢呋喃-3-基酯的硫酸盐或甲磺酸盐的组合物,以及一种或更多种可药用赋形剂。

[0019] 预期(4S)-4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3S)-四氢呋喃-3-基酯的硫酸盐和甲磺酸盐可用于治疗炎症、炎性疾病、免疫或自身免疫病或抑制肿瘤生长。在一个实施方案中,炎症或炎性疾病或免疫或自身免疫病是关节炎(包括类风湿性关节炎、幼年型类风湿性关节炎、骨关节炎和银屑病关节炎),滑膜炎,血管炎,舍格伦病,与肠的炎症有关的病症(包括克罗恩病、溃疡性结肠炎、炎性肠病和肠易激综合征),动脉粥样硬化,多发性硬化,阿尔茨海默病,血管性痴呆,帕金森病,脑淀粉样血管病,伴有皮层下梗死和脑白质病的常染色体显性脑动脉病,肺部炎性疾病(包括哮喘、慢性阻塞性肺病和急性呼吸窘迫综合征),纤维化疾病(包括特发性肺纤维化、心脏纤维化、肝纤维化和系统性硬化(硬皮病)),皮肤炎性疾病(包括接触性皮炎、特应性皮炎和银屑病),眼的炎性疾病(包括年龄相关性黄斑变性、葡萄膜炎和糖尿病性视网膜病),全身炎症反应综合征,败血症,肝的炎性和/或自身免疫病症(包括自身免疫性肝炎、原发性胆汁性肝硬化、酒精性肝病、硬化性胆管炎和自身免疫性胆管炎),糖尿病(I型或II型)和/或其并发症,慢性心力衰竭,充血性心力衰竭,缺血性疾病(包括卒中和缺血再灌注损伤)或心肌梗死和/或其并发症,或癫痫。

[0020] 本发明包括所述(4S)-4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3S)-四氢呋喃-3-基酯的硫酸盐和甲磺酸盐在制备用于治疗或预防上述病症和疾病的药物中的用途。本发明还包括用于治疗或预防这样的病症和疾病的方法,其包括向需要这样的治疗的哺乳动物(包括人)施用有效量的上述化合物。

[0021] 附图简述

[0022] 图1示出了(4S)-4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3S)-四氢呋喃-3-基酯游离碱(标记为(A))及其盐酸盐(标记为(B))的¹H NMR谱。

[0023] 图2示出了(4S)-4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3S)-四氢呋喃-3-基酯游离碱(标记为(C))及其磷酸盐(标记为(D))的¹H NMR谱。

[0024] 发明详述

[0025] 经过对由(4S)-4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3S)-四氢呋喃-3-基酯与22种酸(盐酸、硫酸、1,2-乙二磺酸、对甲苯磺酸、甲磺酸、苯磺酸、L-天冬氨酸、马来酸、磷酸、乙磺酸、L-谷氨酸、L-酒石酸、富马酸、柠檬酸、L-苹果酸、D-葡萄糖酸、D/L-乳酸、L-乳酸、苯甲酸、琥珀酸、己二酸和乙酸)的反应之盐形成的长期研究,申请人发现了四种新的结晶盐形式,即:

[0026] (4S)-4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3S)-四氢呋喃-3-基酯盐酸盐;

[0027] (4S)-4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3S)-四氢呋喃-3-基酯磷酸盐;

[0028] (4S)-4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3S)-四氢呋喃-

3-基酯硫酸盐水合物;和

[0029] (4S)-4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3S)-四氢呋喃-3-基酯甲磺酸盐。

[0030] 发现由游离碱与1,2-乙二磺酸、对甲苯磺酸、苯磺酸、L-天冬氨酸、马来酸、乙磺酸、L-谷氨酸、L-酒石酸、富马酸、柠檬酸、L-苹果酸、D-葡萄糖酸、D/L-乳酸、L-乳酸、苯甲酸、琥珀酸、己二酸和乙酸形成的盐都是非结晶的。

[0031] 测试了这四种结晶盐以便确定其易于处理、吸湿性和热稳定性。盐酸盐和磷酸盐由于其结晶性而具有优于游离碱玻璃状物/胶状物的改善的处理性质的优点。然而,初步研究表明,这两种盐形式都有一定程度的吸湿性。这两种盐在具有75%相对湿度的环境中在40℃下过夜储存时潮解。

[0032] 由于其结晶性,甲磺酸盐和硫酸盐具有优于游离碱胶状物的处理性质的优点。两种盐都有出人意料的降低的吸湿性。甲磺酸盐在具有75%相对湿度的环境中在40℃下储存3天后潮解。硫酸盐在具有75%相对湿度的环境中在40℃下储存7天后无变化。

[0033] 甲磺酸盐和硫酸盐具有显著改善的热稳定性的优点。甲磺酸盐的熔点为189℃。硫酸盐的熔点为106℃。基于这些熔点,预期甲磺酸盐和硫酸盐二者都能在研磨和压片过程中保留下来而不熔化或以其他方式阻碍该过程。因此,与相应的游离碱相比,硫酸盐和甲磺酸盐二者都具有出人意料的改善的吸湿性和出人意料的改善的热稳定性。

[0034] 定义

[0035] 本文使用的“治疗”包括一旦其建立,则预防所述障碍或病症,或改善或消除病症。

[0036] “有效量”是指对所治疗的对象赋予治疗效果的化合物的量。治疗效果可以是客观的(即,通过一些测试或标志物可测量的)或主观的(即,对象产生了指征或感觉到作用)。

[0037] “可药用的”意指可用于制备一般是安全的、无毒的,在生物学以及其他方面均是适宜的药物组合物并且包括可用于兽医用途以及人的药用。

[0038] 除非有相反的说明,与本文所述的盐形式关联使用的术语“(4S)-4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3S)-四氢呋喃-3-基酯”包括(3S,4S)和(3R,4R)对映异构体的混合物。在一个实施方案中,(4S)-4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3S)-四氢呋喃-3-基酯及其盐的绝对纯度>95%,优选>99%,更优选>99.5%。在一个实施方案中,(4S)-4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3S)-四氢呋喃-3-基酯意指(3S,4S)对映异构体,其对映体纯度>95%,优选>99%,更优选>99.5%。在一个实施方案中,(4S)-4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3S)-四氢呋喃-3-基酯的非对映异构纯度>95%,优选>99%,更优选>99.5%。

[0039] 组合物

[0040] 对于临床应用,将本发明的化合物配制成用于多种施用方式的药物制剂。应认识到本发明的化合物可与生理上可接受的载体、赋形剂或稀释剂一起施用。本发明的药物组合物可以通过任何合适的途径施用,优选通过经口、经直肠、经鼻、局部(包括含和舌下)、舌下、经皮、鞘内、经黏膜或胃肠外(包括皮下、肌内、静脉内和皮内)施用。

[0041] 另一些制剂可以方便地以单位剂量形式(例如片剂和缓释胶囊剂,以及以脂质体形式)存在,并且可通过制药领域中公知的任何方法来制备。药物制剂通常通过将活性物质

或其可药用盐与常规可药用载体、稀释剂或赋形剂混合来制备。赋形剂的实例是水、明胶、阿拉伯胶、乳糖、微晶纤维素、淀粉、淀粉羟乙酸钠、磷酸氢钙、硬脂酸镁、滑石、胶体二氧化硅等。这样的制剂还可含有其他药理学活性剂和常规添加剂,例如稳定剂、润湿剂、乳化剂、矫味剂、缓冲剂等。通常,活性化合物的量为制剂按重量计的0.1-95%,对于肠胃外使用,优选在制剂中按重量计为0.2-20%,对于经口施用,更优选为在制剂中按重量计为1-50重量%。

[0042] 制剂可通过已知的方法进一步制备,例如造粒、压制、微胶囊化、喷涂等。制剂可通过常规方法以片剂、胶囊剂、颗粒剂、散剂、糖浆剂、混悬剂、栓剂或注射剂的剂量形式制备。液体制剂可通过将活性物质溶解或悬浮在水或其他合适的载体中来制备。片剂和颗粒剂可以以常规方式包衣。为了长期维持治疗有效的血浆浓度,可以将本发明的化合物并入缓释制剂中。

[0043] 具体化合物的剂量水平和剂量频率将根据多种因素而变化,包括所用具体化合物的效力、该化合物的代谢稳定性和作用时间、患者的年龄、体重、一般健康状况、性别、饮食、施用的方式和时间、排泄率、药物组合、待治疗病症的严重程度以及接受治疗的患者。每日剂量可以是例如每千克体重约0.001mg至约100mg,其以例如每次约0.01mg至约25mg的剂量单次或多次施用。通常,经口给予这样的剂量,但也可以选择肠胃外施用。

[0044] 实验方法

[0045] 盐形成实验

[0046] 使用24种酸性反离子(counter-ion)(参见表1)进行盐筛选,试图在适当情况下形成单盐和半盐二者。使用多种范围的溶剂体系和条件进行了九组实验。

[0047] 表1:用于盐形成实验的酸

[0048]

反离子	添加形式	反离子	添加形式
盐酸	在THF中1M	L-酒石酸	在THF中1M
硫酸	在THF中1M	富马酸	在THF:MeOH中0.5M
1,2-乙二磺酸	在THF中1M	柠檬酸	在THF中1M
对甲苯磺酸	在EtOH中1M	L-苹果酸	在THF中1M
甲磺酸	在THF中1M	D-葡萄糖酸	50%w/w水
苯磺酸	在THF中1M	D/L-乳酸	液体
L-天冬氨酸	固体	L-乳酸	在THF中1M
马来酸	在THF中1M	苯甲酸	在IPA中1M
磷酸	在THF中1M	琥珀酸	在MeOH中1M
乙磺酸	在THF中1M	己二酸	在MeOH:THF中1M
L-谷氨酸	固体	乙酸	在THF中1M

[0049] 缓冷盐形成实验(Slow cooling salt formation experiment)

[0050] 将(4S)-4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3S)-四氢呋喃-3-基酯游离碱(20mg)的单独样品溶于IPA(2.5体积)、IPAc(2.5 体积)、丙酮-水(9:1v/v,2.5体积)或DIPE(10体积)中。将这些溶液加热至40℃,并在温和搅拌下添加每种受测酸(1或0.5当量,参见表1)。将小瓶在40℃保持1小时,然后以1℃/分钟冷却至5℃。将混合物保

持在 5℃下过夜。通过过滤收集所获得的所有固体,并通过XRPD分析。将油状物和胶状物在室温(RT)至50℃下(在每个温度下4小时)进行熟化循环(maturation cycle)以促进结晶。使溶液在环境条件下蒸发。通过¹H-NMR和DSC分析残留物以评估加热时的盐形成和/或潜在的结晶。

[0051] 反溶剂加盐形成实验(Anti-solvent addition salt formation experiment)

[0052] 将(4S)-4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3S)-四氢呋喃-3-基酯游离碱(15mg)溶于IPAc(含和不含3%v/v的水;5体积),并将溶液加热至40℃。在温和搅拌下添加相应的酸(1或0.5当量,参见表1)。将小瓶在40℃下保持1小时,然后添加逐渐加大量的反溶剂(正庚烷或TBME)直至溶液变浑浊。此时,将所有样品以1℃/分钟冷却至5℃,并保持在5℃下过夜。在没有出现沉淀的情况下添加更多的反溶剂。通过过滤收集所获得的所有固体,并通过XRPD分析。将油和胶状物在室温至50℃下(每个温度下4小时)进行熟化循环以促进结晶。将溶液冷却至低于环境温度,并且如果不发生沉淀,则将其蒸发。

[0053] 分析方法

[0054] X射线粉末衍射(XRPD)

[0055] 使用Cu K α 辐射(40kV,40mA),自动化XYZ平台,用于自动样品定位的激光视频显微镜和HiStar二维区域检测器在Bruker AXS C2 GADDS衍射仪上收集X射线粉末衍射图案。X射线光学元件由与0.3mm的针孔准直器相联接的单个**Göbel**多层镜组成。使用经认证的标准NIST 1976刚玉(平板)进行每周性能检查。光束发散度,即样品上的X射线束的有效尺寸为约4mm。采用 θ - θ 连续扫描模式,样品到检测器距离为20cm,得到3.2°至29.7°的有效2 θ 范围。通常,将样品暴露于X射线束120秒。用于数据收集的软件是WNT 4.1.16的GADDS,并使用DiffraC Plus EVA v 9.0.0.2或v 13.0.0.2对数据进行分析 and 呈现。使用收到的未经研磨的粉末将在环境条件下运行的样品制备作为平板试样。将约1至2mg样品轻轻地压在载玻片上以获得平坦表面。将在非环境条件下运行的样品安装在具有导热化合物的硅晶片上。然后将样品以约10℃/分钟加热到合适的温度,随后在开始数据收集之前等温保持约1分钟。

[0056] 或者,使用Cu K α 辐射(40kV,40mA), θ -2 θ 测角仪和V4的发散度和接收狭缝,Ge单色仪和Lynxeye检测器在Bruker D8衍射仪上收集X射线粉末衍射图案。使用经认证的刚玉标准(NIST 1976)对仪器进行性能检查。用于数据采集的软件是DiffraC Plus XRD Commander v2.5.0,并使用DiffraC Plus EVA v 11.0.0.2或v 13.0.0.2对数据进行了分析和呈现。使用收到的粉末将样品在环境条件下作为平板试样运行。将约20mg的样品轻轻地包装到切割成抛光的零背景(510)硅晶片的腔中。分析过程中样品在自身的平面中旋转。数据采集的详情是:角度范围:2至42°2 θ ;步长:0.05°2 θ ;收集时间:0.5秒/步。

[0057] 核磁共振(NMR)

[0058] 在配备有自动采样器并由DRX400操纵台控制的Bruker 400MHz仪器上收集¹H NMR谱。使用标准布鲁克加载实验,使用运行Topspin v 1.3(补丁等级10)的ICONNMR v4.0.4(build 1)获得自动化实验。对于非常规光谱学,通过单独使用Topspin获得数据。除非另有说明,否则在d₆-DMSO中制备样品。使用ACD SpecManager v 12.00(build 29094)进行离线分析。或者,在Bruker Avance III 400MHz QNP Ultrashield Plus Cryo上收集¹H NMR谱。

[0059] 液相色谱-质谱 (LCMS)

[0060] 用使用Phenomenex Synergi色谱柱 (RP-Hydro, 150×4.6mm, 4μm, 1.5mL/分钟, 30℃, 在水 (+0.1% TFA) 中梯度5-100% MeCN (+ 0.085% TFA) 经过7分钟, 保持0.5分钟, 200-300nm) 的Waters ZQ质谱仪在Agilent 1100HPLC系统上进行分析型LCMS。

[0061] 差示扫描量热法 (DSC)

[0062] 在配备有50位自动采样器的TA Instruments Q2000上收集DSC数据。使用蓝宝石进行热容量的校准, 使用经认证的钢进行能量和温度的校准。通常将0.5至3mg的各样品在针孔铝盘中以10℃/分钟从25℃加热至 350℃。在样品上方保持以50mL/分钟吹扫干燥氮气。使用2℃/分钟的基础加热速率和±1.27℃/分钟和60秒的温度调制参数进行调制温度DSC。仪器控制软件是Advantage for Q Series v2.8.0.392和Thermal Advantage v4.8.3, 并采用Universal Analysis v4.3A分析数据。

[0063] 热重分析 (TGA)

[0064] 在配备有16位自动采样器的TA Instruments Q500TGA上收集TGA 数据。使用经认证的铝和镍对仪器进行温度校准。通常将5至30mg的各样品加载到预去皮重的 (pre-tared) 的铂坩埚和铝DSC盘上, 并以10℃ /分钟从环境温度加热至350℃。在样品上方保持60mL/分钟的氮气吹扫。仪器控制软件是Advantage for Q Series v2.8.0.392和Thermal Advantage v4.8.3。

[0065] 偏光显微术 (PLM)

[0066] 在具有用于图像捕获的数字摄像机的Leica LM/DM偏振光显微镜上研究样品。将少量的各样品放在玻璃载玻片上, 在浸油中固定并用玻璃片覆盖, 尽可能分离单个颗粒。用适当的放大倍数和与λ伪色彩滤光器 (false-colour filter) 联接的部分偏振光观察样品。

[0067] 热台显微术 (HSM) [熔点]

[0068] 使用与Mettler-Toledo MTFP82HT热台组合的Leica LM/DM偏光学显微镜和用于图像捕获的数字摄像机进行热台显微术。将少量的各样品放置在玻璃载片上, 并且尽可能分离单个颗粒。以适当的放大倍数和与伪色彩滤光器联接的部分偏振光观察样品, 同时通常以10-20℃/分钟从环境温度加热。

[0069] 通过HPLC的化学纯度测定

[0070] 使用下面详述的方法, 使用ChemStation软件vB.02.01-SR1在配备有二极管阵列检测器的Agilent HP1100系列系统上进行纯度分析。

[0071]

样品制备	在乙腈: 水1:1中, 0.5 mg/ml		
柱	Supelco Ascentis Express C18, 100 x 4.6mm, 2.7 μ m		
柱温度 (°C)	25		
注射 (μ l)	5		
波长, 带宽 (nm)	255, 90 nm		
流速 (ml. 分钟 ⁻¹)	2.0		
A相	在水中的0.1% TFA		
B相	在乙腈中0.085% TFA		
时间表:	时间 (分钟)	A相%	B相%
	0	95	5
	6	5	95
	6.2	95	5
	8	95	5

[0072] 通过手性HPLC的手性纯度确定

[0073] 使用Astec Chirobiotic T 100 $\times$ 4.6mm 5 μ m柱, 极性反相, 150 $\times$ 4.6 mm, 5 μ m, 等度85%MeOH 15%20mM乙酸铵, 经10分钟, 1.0mL/ 分钟, 220nm, 在Agilent 1200系统上进行手性HPLC。

[0074] 通过卡尔费谢尔 (Karl Fisher, KF) 滴定法的水分测定

[0075] 使用Hydranal Coulomat AG试剂和氩气吹扫在Mettler Toledo DL39 电量计上测量每个样品的水含量。将称重的固体样品引入容器中的铂 TGA盘上, 铂TGA盘连接到subaseal以避免水进入。每次滴定使用约 10mg的样品, 并进行重复测定。

[0076] 重量蒸汽吸附 (GVS)

[0077] 使用由DVS内在控制软件v1.0.0.30控制的SMS DVS内在湿度吸附分析仪 (Intrinsic moisture sorption analyser) 获得吸附等温线。通过仪器控制将样品温度保持在25°C。通过混合干湿氮流控制湿度, 总流速为 200mL/分钟。通过位于样品附近的经校准的Rotronic探针 (动态范围为 1.0-100%RH) 测量相对湿度。通过微量天平 (准确度 $\pm$ 0.005mg) 不断监测作为RH%函数的样品的重量变化 (质量松弛 (mass relaxation))。通常将5至20mg的样品在环境条件下放置在去皮重的网格不锈钢篮中。样品在40%RH和25°C (通常的室内条件) 下加载和卸载。如下所述完成吸湿等温线 (2次扫描, 产生1次完整循环)。标准等温线在25°C下在 0.5至90%RH范围内以10%RH间隔进行。使用DVS Analysis Suite v6.0.0.7在Microsoft Excel中进行数据分析。SMS DVS内在实验是方法参数: 吸附扫描140-90; 解吸/吸附扫描290-0, 0-40; 间隔 (%RH) 10; 扫描次数4; 流速 (mL/分钟) 200; 温度 (°C) 25; 稳定性 (°C/分钟) 0.2; 吸附时间 (h) 6h超时 (time out)。在等温线完成后回收样品, 并通过XRPD重新分析。

[0078] 离子色谱 (IC)

[0079] 使用IC Net软件v2.3在Metrohm 761 Compact IC (用于阳离子) 和Metrohm 861Advanced Compact IC (用于阴离子) 上收集数据。将准确称重的样品制备为在合适的溶解溶液中的原液, 并在测试前以1:9稀释。通过与正在分析的已知离子浓度的标准溶液进行比较来实现定量。阴离子色谱的IC方法参数: 方法类型-阴离子交换; 柱-Metrosep A Supp 5-250 (4.0 $\times$ 250mm); 柱温度 (°C) 环境; 进样 (μ l) 20; 检测-电导检测器; 流速 (mL/分钟)

0.7;洗脱剂-在5%丙酮水溶液中的3.2mM碳酸钠,1.0 mM碳酸氢钠。

[0080] 结果

[0081] 分离结晶盐酸盐、硫酸盐、磷酸盐和甲磺酸盐,并使用XRPD、¹H NMR、DSC、TGA、GVS、IC、PLM、HSM、HPLC和KF中的一些或全部对其进行表征(参见表2)。盐酸盐和磷酸盐是高吸湿性的。进一步分析甲磺酸盐和硫酸盐。

[0082] (4S)-4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3S)-四氢呋喃-3-基酯及其甲磺酸盐和硫酸盐形式的合成:

[0083] 使用以下缩写:

[0084] Aq 水性

[0085] DCM 二氯甲烷

[0086] DIPEA 二异丙基乙胺

[0087] ee 对映体过量

[0088] ES⁺ 电喷雾

[0089] EtOAc 乙酸乙酯

[0090] h 小时

[0091] HPLC 高效液相色谱

[0092] HRMS 高分辨率质谱

[0093] LCMS 液相色谱-质谱

[0094] M 摩尔每升(Molar)

[0095] MeOH 甲醇

[0096] [MH⁺] 质子化分子离子

[0097] min 分钟

[0098] RP 反相

[0099] MS 质谱

[0100] R_T 保留时间

[0101] sat 饱和的

[0102] THF 四氢呋喃

[0103] TFA 三氟乙酸

[0104] 实验方法

[0105] 除非另有说明,否则所有试剂均为商业级,收到后即可使用而无需进一步纯化。在所有情况下均使用试剂级溶剂。

[0106] 用与Agilent 1100 HPLC系统联接的Waters ZQ质谱仪进行分析型 LCMS。在Agilent 1100系统上进行分析型HPLC。用与Agilent 1100 HPLC系统联接的Agilent MSD-TOF获得高分辨率质谱(HRMS)。在分析过程中,通过两个质量检查校准,并在需要时自动校正。光谱以正电喷雾模式获得。获得的质量范围为m/z 100-1100。使用质量峰的分布检测(Profile detection)。在配备有RediSep二氧化硅的CombiFlash配套系统或配备有Strata SI-1 二氧化硅gigatube的Flash Master Personal系统上进行快速色谱法。在配备有Phenomenex Synergi Hydro RP 150×10 mm, YMC ODS-A 100/150×20mm或Chirobiotic T 250×10mm柱的 Gilson系统(具有Gilson 321平衡泵和Gilson 215自动进样器的Gilson

322 泵)上进行反相HPLC。在配备有Merck **LiChroprep**[®] RP-18 (40-63 μ m) 二氧化硅柱的Gilson系统(Gilson 321泵和Gilson FC204级分收集器) 上进行反相柱色谱法。使用ACD 6.0自动命名化合物。所有化合物在真空烘箱中干燥过夜。

[0107] 用以下获得分析型HPLC和LCMS数据:

[0108] 体系A:Phenomenex Synergi Hydro RP (C18,30 $\times$ 4.6mm,4 μ m),在水(+0.1%TFA)中梯度5-100%CH₃CN(+0.085%TFA),1.5mL/分钟,梯度时间1.75分钟,200nm,30 $^{\circ}$ C;或者

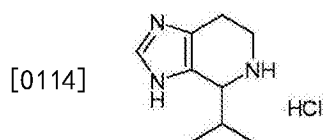
[0109] 体系B:Phenomenex Synergi Hydro RP (C18,150 $\times$ 4.6mm,4 μ m),在水(+0.1%TFA)中梯度5-100%CH₃CN(+0.085%TFA),1.5mL/分钟,梯度时间为7分钟,200nm,30 $^{\circ}$ C。

[0110] 用以下获得手性HPLC数据:

[0111] 体系C:Chirobiotic V极性离子模式(150 $\times$ 4.6mm),在10mM水性甲酸铵缓冲液中70%MeOH,1.0mL/分钟,超过10分钟,200nm,30 $^{\circ}$ C。

[0112] 中间体1

[0113] 4-异丙基-4,5,6,7-四氢-1H-咪唑并[4,5-c]吡啶盐酸盐

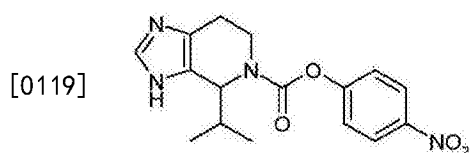


[0115] 将组胺二盐酸盐(61.9g,336mmol)溶于在水(125mL)和MeOH(500mL)中的NaOH(33.6g,841mmol)溶液中,并添加异丁醛(61.4 mL,672mmol)。将反应混合物在80 $^{\circ}$ C下回流加热24小时,冷却至室温,用1M HCl水溶液(250mL)将pH调节至7,并真空除去溶剂。将残余物溶于温热的MeOH(300mL)中,使其静置1小时,过滤并真空除去溶剂。将残余物在MeOH(50mL)和丙酮(400mL)中搅拌2小时,并冷却至4 $^{\circ}$ C保持2小时。将所得沉淀物过滤并用丙酮(100mL)洗涤以得到作为白色固体的4-异丙基-4,5,6,7-四氢-1H-咪唑并[4,5-c]吡啶盐酸盐(33.0g,48.7%)。

[0116] 分析型LCMS:纯度>90%(体系A, R_t =0.51分钟),ES⁺:166.4 [MH]⁺。

[0117] 中间体2

[0118] 4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸4-硝基苯基酯

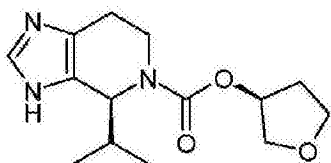


[0120] 将中间体1(2.78g,8.28mmol,60%纯)和DIPEA(5.27mL,30.3 mmol)溶于DCM(100mL)中。将反应混合物冷却至0 $^{\circ}$ C,并添加4-硝基苯基氯甲酸酯(4.07g,20.2mmol)。将反应混合物在室温下搅拌18小时。将反应混合物用饱和NaHCO₃水溶液(5 $\times$ 100mL)洗涤、干燥(MgSO₄),并真空除去溶剂以得到作为黄色胶状物的4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸4-硝基苯基酯(5.28g,粗制品)。

[0121] 分析型HPLC:纯度41%(体系B, R_t =4.70分钟);分析型LCMS:纯度86%(体系A, R_t =1.70分钟),ES⁺:331.0[MH]⁺。

[0122] (4S)-4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3S)-四氢呋喃-3-基酯

[0123]



[0124] 将NaH(0.40g,10.0mmol,在矿物油中60%分散体)悬浮于无水 THF (20mL) 中,冷却至0℃,并添加(S)-3-羟基四氢呋喃(0.88g,0.68 mL,10.0mmol)。将混悬液在0℃下搅拌30分钟,然后添加到中间体2 (3.30g,10.0mmol,70%纯)在THF (60mL) 的溶液中,并在室温下搅拌反应混合物。在5小时和29小时后分别添加另外两份这样的NaH和(S)-3-羟基四氢呋喃的THF溶液。2天后,将反应混合物用水(10mL) 淬灭并真空除去溶剂。将残余物溶于EtOAc (100mL) 中,用1M Na₂CO₃水溶液(4×100mL) 洗涤,干燥(MgSO₄),并真空除去溶剂。残余物通过柱色谱法纯化(正相,20g,Strata SI-1,二氧化硅gigatube,DCM(200 mL),随后是在DCM (200mL) 中的2%、4%和5%MeOH和反相HPLC (YMC ODS-A 100×20mm,5μm,25mL/分钟,梯度30%至60%(超过7分钟),然后100%(3分钟)在10%MeOH/水中的MeOH)以得到为白色固体的4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3S)-四氢呋喃-3-基酯(34.8mg,1.1%)。

[0125] 分析型HPLC:纯度100%(体系B,R_T=3.63分钟);分析型LCMS:纯度100%(体系B,R_T=4.01分钟),ES⁺:280.1[MH]⁺。

[0126] 4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3S)-四氢呋喃-3-基酯(39.91mg)溶于10mM甲酸铵缓冲液和MeOH(2mL,1:1) 中,并通过反相手性HPLC纯化两次(Chirobiotic T 250×10mm,3mL/分钟,以在10mM甲酸铵缓冲液(40分钟,pH7.4)中70%MeOH中等度运行)以得到单一非对映异构体(4S)-4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3S)-四氢呋喃-3-基酯(6.90mg,99% ee)。

[0127] 分析型HPLC:纯度100%(体系B,R_T=3.63分钟);手性HPLC:纯度99.5%(体系C,R_T=2.22分钟);分析型LCMS:纯度100%(体系 B,R_T=3.90分钟),ES⁺:280.1[MH]⁺;C₂₇H₂₁N₃O₃的HRMS计算值:279.1583,实测值279.1571。

[0128] (4S)-4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3S)-四氢呋喃-3-基酯甲磺酸盐

[0129] (4S)-4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3S)-四氢呋喃-3-基酯游离碱(460mg,1.65mmol)在室温下溶于EtOAc (10mL) 中以得到澄清无色溶液。在温和和加热下逐份添加甲磺酸(107μL)。将溶液冷却至室温过夜。通过过滤收集所得晶体,用EtOAc (2×10mL) 洗涤,并在40℃下真空干燥过夜。获得作为白色固体的99%产率的(4S)-4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3S)-四氢呋喃-3-基酯甲磺酸盐(615mg)。HPLC:保留时间2.27分钟,纯度99.5%。熔点:189℃。LCMS:保留时间4.19分钟,ES⁺280.0[MH]⁺,100%纯度。手性HPLC:保留时间3.70分钟,>99.5% de。

[0130] ¹H NMR (400MHz,CDCl₃): δ_H 8.72 (1H,m,NHCHNH⁺),5.29 (1H,m,OCH),5.05 (0.5H,d,J 8.4Hz,CCHN),4.89 (0.5H,d,J 7.6Hz,CCHN),4.59 (0.5H,m,NCHACH_B),4.39 (0.5H,m,NCHACH_B),3.97-3.85 (4H,m,CH₂OCH₂),3.20 (1H,m,NCHACH_B),2.89 (3H,s,CH₃SO₃⁻),2.89-2.72 (2H,m,CCH₂CH₂N),2.23-2.07 (3H,m,CH(CH₃)₂,OCH₂CH₂),1.16 (3H,d,J 6.4Hz,CH₃) 和 1.06-0.96 (3H,m,CH₃)。

[0131] (4S)-4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3S)-四氢呋喃-3-基酯硫酸盐

[0132] (4S)-4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3S)-四氢呋喃-3-基酯游离碱(440.4mg, 1.6mmol)溶于IPAc(5体积; 2.20mL)中。将澄清溶液加热至40℃,并在该温度下保持30分钟。然后在温和搅拌下添加H₂SO₄(THF中的1M溶液, 1当量, 1.6mL),这产生白色固体沉淀。将混悬液设置为以1℃/分钟冷却至5℃并在该温度下保持20小时。将固体通过抽吸过滤,并在室温下真空干燥过夜。得到作为白色固体的65%产率的(4S)-4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3S)-四氢呋喃-3-基酯硫酸盐。HPLC纯度99.3%。熔点:106℃。

[0133] ¹H NMR(400MHz, CDCl₃): δ_H 13.70(1H, br, HSO₄⁻), 9.05(1H, m, NHCHNH⁺), 5.28(1H, m, OCH), 4.95(0.5H, d, J 8.4Hz, CCHN), 4.86(0.5H, d, J 7.6Hz, CCHN), 4.55(0.5H, m, NCH_ACH_B), 4.35(0.5H, m, NCH_ACH_B), 3.95-3.74(4H, m, CH₂OCH₂), 3.15(1H, m, NCH_ACH_B), 2.78-2.67(2H, m, CCH₂CH₂N), 2.21-1.99(3H, m, CH(CH₃)₂, OCH₂CH₂), 1.09(3H, d, CH₃)和0.94-0.81(3H, m, CH₃)。

[0134] 表2: (4S)-4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3S)-四氢呋喃-3-基酯游离碱和盐酸盐、磷酸盐、硫酸盐和甲磺酸盐的性质汇总

	样品	形式	MP	吸湿性
[0135]	游离碱	无定形胶状物	-	在25℃/60%RH下在<24小时内潮解
	盐酸盐	结晶固体	168℃	在40℃/75%RH在<24小时内潮解
[0136]	磷酸盐	结晶固体	ND	在40℃/75%RH在<24小时内潮解
	硫酸盐 (.1.5H ₂ O)	结晶固体	106℃	在40℃/75%RH下长达7天没有变化
	甲磺酸盐	结晶固体	189℃	在40℃/75%RH下3天后潮解

[0137] 长期储存期间的稳定性/吸湿性

[0138] 还评估了(4S)-4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-羧酸(3S)-四氢呋喃-3-基酯甲磺酸盐的稳定性和吸湿性,当以3g等分试样分配在双层LDPE衬垫中时,用扎线带密封并放置,并将干燥剂袋放入箔袋中,随后将其热封。然后将箔袋放入装有HDPE盖的HDPE小桶中。这些条件反映了通常的GMP级存储条件。通过HPLC评估稳定性,通过卡尔费谢尔(KF)滴定法评估吸湿性。(4S)-4-异丙基-1,4,6,7-四氢-5H-咪唑并[4,5-c]吡啶-5-

羧酸 (3S)-四氢呋喃-3-基酯甲磺酸盐在25℃/60%RH下在 3年内仅降解0.1%、不吸水,在 40℃/75%RH下在6个月后仅降解0.1%、仅吸收0.1%的水。

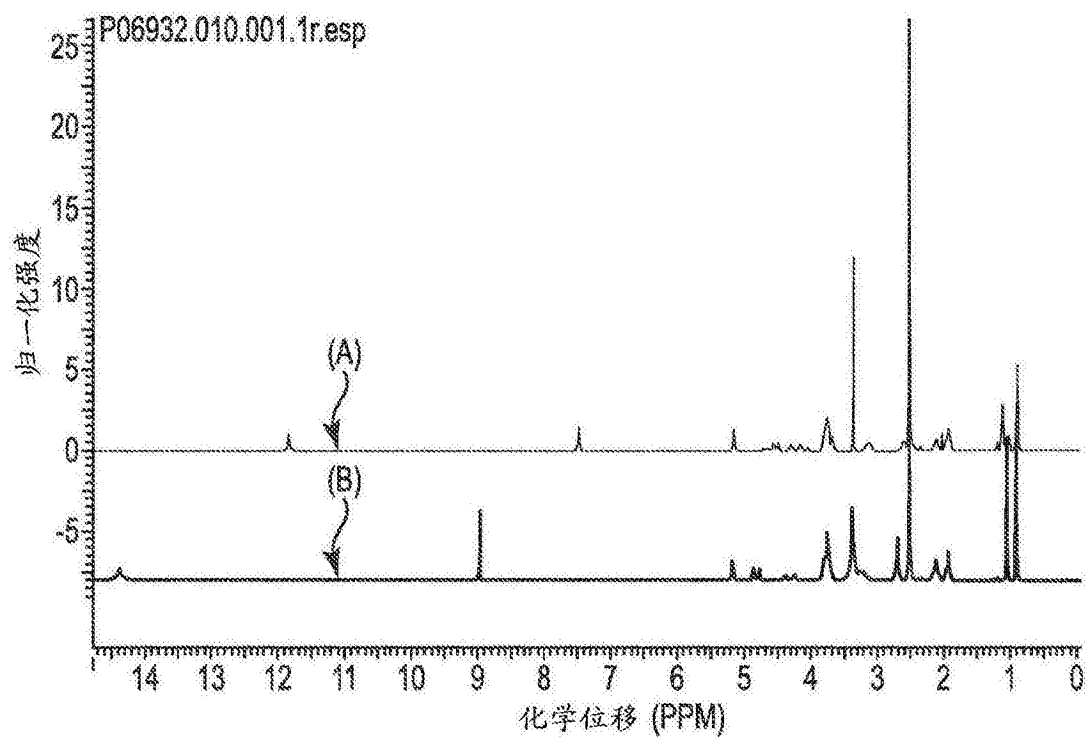


图1

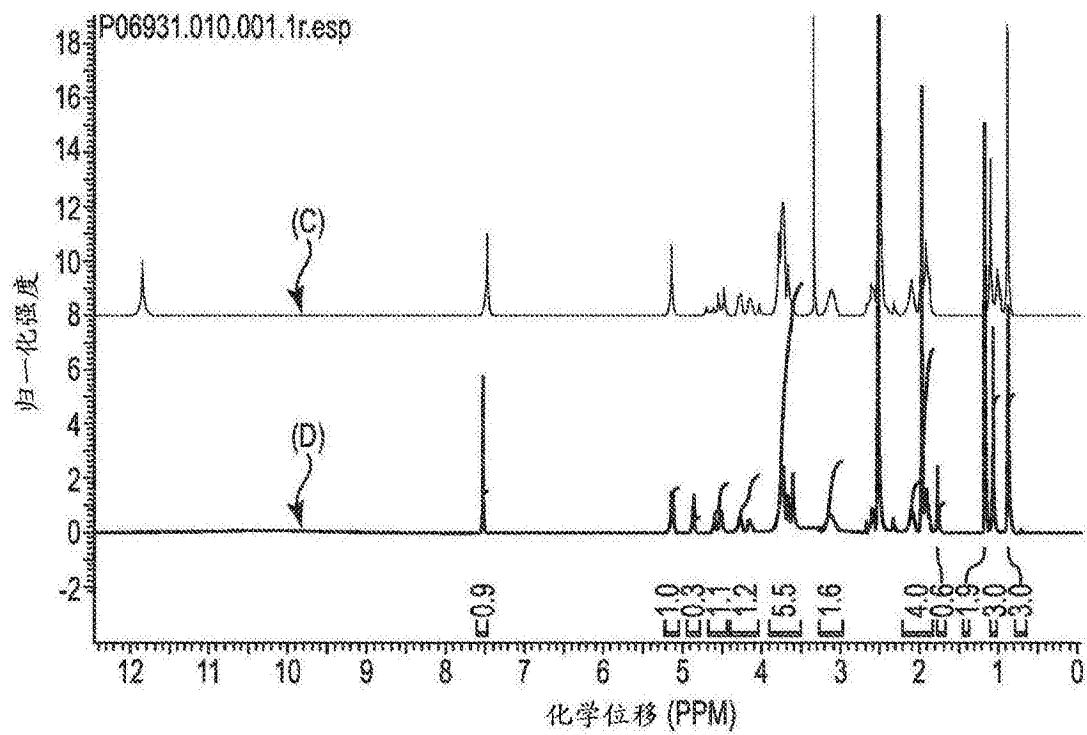


图2