



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 111187202 B

(45) 授权公告日 2025. 01. 21

(21) 申请号 202010014023.3

(22) 申请日 2014.10.30

(65) 同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 111187202 A

(43) 申请公布日 2020.05.22

(30) 优先权数据  
61/899,903 2013.11.05 US

(62) 分案原申请数据  
201480060416.0 2014.10.30

(73) 专利权人 阿斯利康(瑞典)有限公司  
地址 瑞典南泰利耶

(72) 发明人 G·诺德瓦尔 K·豪格丁  
P·J·马姆博格 A·谢尔斯  
D·魏格尔特 P·伯恩斯坦  
M·夸克 B·迈克尔

(74) 专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494  
专利代理师 陈校

(51) Int.Cl.  
C07D 213/40 (2006.01)  
C07D 401/12 (2006.01)  
C07D 401/14 (2006.01)

A61K 31/4402 (2006.01)

A61K 31/4439 (2006.01)

A61K 38/05 (2006.01)

C07K 5/062 (2006.01)

C07K 5/065 (2006.01)

C07K 5/068 (2006.01)

C07K 5/078 (2006.01)

A61P 25/24 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

A61P 25/08 (2006.01)

A61P 39/02 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

(56) 对比文件

WO 2010017504 A1,2010.02.11

WO 2011089216 A1,2011.07.28

WO 9320052 A1,1993.10.14

Michelle Y. H. Lai 等.Synthesis and pharmacological evaluation of glycine-modified analogues of the neuroprotective agent glycyl-L-prolyl-L-glutamic acid (GPE).Bioorganic & Medicinal Chemistry.2004,第13卷第533-548页.

审查员 周静

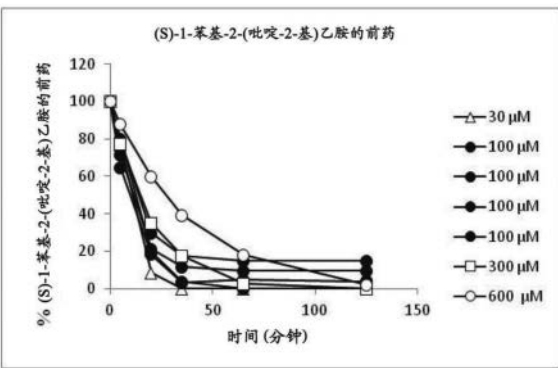
权利要求书1页 说明书31页 附图1页

(54) 发明名称

NMDA拮抗剂前药

(57) 摘要

本申请提供了NMDA拮抗剂(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺的前药,其用于治疗抑郁症(特别是重度抑郁症)或疼痛;包含它们的组合物及其制备方法。



1. 一种药物组合物,其包含按重量计0.10至50%的化合物或其药用盐和药用载体,所述化合物为(S)-1-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰基)-N-((S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙基)吡咯烷-2-甲酰胺。

2. 根据权利要求1的药物组合物,其中所述药用盐为:

(S)-1-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰基)-N-((S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙基)吡咯烷-2-甲酰胺二盐酸盐。

3. 根据权利要求1所述的药物组合物,其中所述药用盐为(S)-1-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰基)-N-((S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙基)吡咯烷-2-甲酰胺富马酸盐。

4. 根据权利要求1-3中任一项所述的药物组合物,其中所述载体选自乳糖、蔗糖、山梨醇、甘露醇、淀粉和纤维素衍生物。

5. 根据权利要求1-3中任一项所述的药物组合物,其进一步包含粘合剂。

6. 根据权利要求5所述的药物组合物,其中所述粘合剂选自明胶和聚乙烯吡咯烷酮。

7. 根据权利要求1-3中任一项所述的药物组合物,其进一步包含润滑剂。

8. 根据权利要求7的药物组合物,其中所述润滑剂选自硬脂酸镁、硬脂酸钙、聚乙二醇和蜡。

9. 根据权利要求1-3中任一项所述的药物组合物,其呈片剂形式。

10. 根据权利要求9所述的药物组合物,其中所述片剂具有包衣。

11. 根据权利要求10所述的药物组合物,其中所述包衣包含阿拉伯胶、明胶、滑石或二氧化钛。

12. 根据权利要求1-3中任一项所述的药物组合物,其呈软明胶胶囊的形式。

13. 根据权利要求12所述的药物组合物,其中所述软明胶胶囊包含植物油或聚乙二醇。

14. 权利要求1-3中任一项所述的药物组合物,其呈硬明胶胶囊的形式。

## NMDA拮抗剂前药

[0001] 本发明申请是基于申请日为2014年10月30日,申请号为201480060416.0(国际申请号为PCT/GB2014/053236),发明名称为“NMDA拮抗剂前药”的专利申请的分案申请。

[0002] 本发明涉及NMDA拮抗剂(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺的前药及其在治疗抑郁症和抑郁性病症(尤其是重度抑郁症(MDD))以及用于治疗疼痛(如神经性疼痛)中的用途。(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺的前药可用于治疗Rett综合征、自杀观念、双相型障碍(包括双相抑郁症)、强制性障碍、沙林毒气中毒和癫痫持续状态。本发明还涉及包含所述前药的药物组合物及其制备方法。

[0003] 各种形式的疼痛在人生活中无处不在。来自损伤的疼痛和术后疼痛经常是临时性的,但也可以是非常严重并且持续的。神经性疼痛如糖尿病性神经病变和疱疹后神经痛严重影响患者。每年,世界上有上千万的人包括处于生命末期的患者承受疼痛,而缺少足够的治疗。

[0004] 抑郁症在全球范围影响约1亿2000万人。抑郁症的症状包括但不限于情感低落、兴趣或乐趣的丧失、罪恶感或自我价值降低、睡眠或食欲紊乱、精力不足和注意力不集中,或上述任何组合。这些问题可以是长期的或复发性的且可导致个体照顾其自身日常职责的能力受到重大损害。由Years Lived with a Disability(YLD)所测量,抑郁症是能力丧失的主要原因且在2000年,由Disability Adjusted Life Years(DALY;即由于过早死亡导致的潜在生命损失的年份和由于能力丧失导致的有效生活丧失的年份的总和)所测量,抑郁症是全球疾病负担的第四主要因素。至2020年,预计抑郁症将成为针对全部年龄、在男性和女性两者中计算的DALY排名的第二名。目前,抑郁症已成为针对混合的两种性别的年龄在15-44岁类别中的DALY的第二诱因。

[0005] 已公开了(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺二盐酸盐,其经静脉输注治疗用于治疗MDD(Gerard Sanacora等人,2012年12月6日在Annual Meeting of the American College of Neuropsychopharmacology,Hollywood,Florida,USA展示的海报)。其他相关公开包括W01993/020052、W02000/056324和W02000/63175。为方便起见,能够将该药物作为口服剂型给药是有意义的。然而,关于(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺二盐酸盐的这种口服剂型的问题将是其可能导致静脉内滥用,例如,使(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺二盐酸盐的口服剂型成碎片,随后立即注射所获得的粉碎的(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺二盐酸盐口服剂型。预测(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺的前药在人机体中分解以提供(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺,由此,当(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺的前药口服给予时,其将分解以释放治疗上有效剂量的(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺。但如果静脉内给予本发明的前药,相比相应剂量的(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺的静脉内给予而言,预测该前药将以较慢的速率释放(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺,进而给出较低的C<sub>max</sub>。预测(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺前药的使用将改善(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺的临床安全性分布(例如在药物过量或药物滥用(例如药片粉碎)情况下)。因此,总之,将(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺直接置入口服制剂将导致滥用。本发明的化合物在体内代谢时相比静脉内给予(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺时以较慢的速率得到(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)

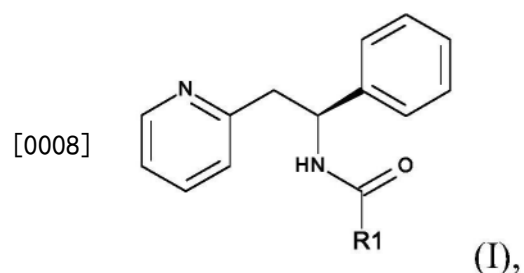
乙胺,且因此将不会导致(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺滥用的可能性。

### 附图说明

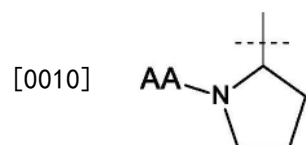
[0006] 图1a和1b阐述了在人肠液中孵育过程中(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺的前药(实施例5)向(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺的转化。具体地,图1阐述了在人肠液中的孵育过程中转化成(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺时,(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺的前药(实施例5)浓度(30、100、300和600 $\mu$ M的初始浓度)。图1b说明了在人肠液中孵育过程中,当从(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺前药转化时的(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺浓度(实施例5,30、100、300和600 $\mu$ M的初始浓度)。

### 发明内容

[0007] 本发明提供了式(I)的化合物或其药用盐



[0009] 其中R1是C<sub>1-6</sub>烷基C(O)O(C<sub>1-6</sub>烷氧基),或



[0011] AA是肽键连接的天然氨基酸。

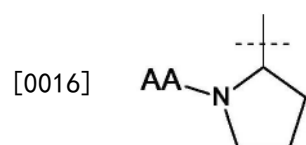
[0012] 烷基是直链或支链且包含1-6个例如1-4个碳原子。烷基是例如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、异丁基或叔丁基。

[0013] 烷氧基是直链或支链且包含1-6个例如1-4个碳原子。烷氧基是例如甲氧基、乙氧基、正丙氧基、异丙氧基、正丁氧基、仲丁氧基、异丁氧基或叔丁氧基。

### 具体实施方式

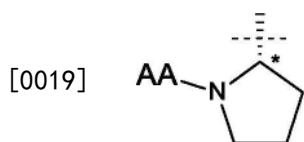
[0014] 本发明一方面提供式(I)的化合物,其中R1是C<sub>1-6</sub>烷基C(O)O(C<sub>1-6</sub>烷氧基),例如其为C<sub>1-4</sub>烷基C(O)O(C<sub>1-4</sub>烷氧基)。实例包括:(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CHC(O)OCH<sub>2</sub>O、(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CHC(O)OCH(CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>)O、CH<sub>3</sub>C(O)OCH(CH<sub>3</sub>)O或(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CHC(O)OCH(CH<sub>3</sub>)O。

[0015] 另一方面,本发明提供式(I)的化合物,其中R1是



[0017] 且AA是肽键连接的天然氨基酸。

[0018] 另一方面,本发明提供式(I)的化合物,其中R1是



[0020] (因此手性中心\*具有S绝对构型)。

[0021] 另一方面,本发明提供式(I)的化合物,其中AA为例如甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、丝氨酸、苏氨酸、半胱氨酸、胱氨酸、甲硫氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、赖氨酸、羟赖氨酸、精氨酸、组氨酸、苯丙氨酸、酪氨酸、色氨酸、脯氨酸或羟脯氨酸。在另一方面,AA选自:酪氨酸、色氨酸、苯丙氨酸、亮氨酸、精氨酸、组氨酸、赖氨酸和缬氨酸。另一方面,AA选自:酪氨酸、精氨酸、组氨酸、赖氨酸和缬氨酸。另一方面,AA是缬氨酸。

[0022] 适当的药用盐是例如酸加成盐,如盐酸盐、氢溴酸盐、硫酸盐、磷酸盐、乙酸盐、富马酸盐、马来酸盐、酒石酸盐、乳酸盐、柠檬酸盐、丙酮酸盐、琥珀酸盐、草酸盐、甲磺酸盐、对甲苯磺酸盐、硫酸氢盐、苯磺酸盐、乙磺酸盐、丙二酸盐、昔萘酸盐、抗坏血酸盐、油酸盐、烟酸盐、糖精酸盐、己二酸盐、甲酸盐、羟乙酸盐、L-乳酸盐、D-乳酸盐、天冬氨酸盐、苹果酸盐、L-酒石酸盐、D-酒石酸盐、硬脂酸盐、2-糠酸盐、3-糠酸盐、萘二磺酸盐(萘-1,5-二磺酸盐或萘-1-(磺酸)-5-磺酸盐)、乙二磺酸盐(乙烷-1,2-二磺酸盐或乙烷-1-(磺酸)-2-磺酸盐)、羟乙基磺酸盐(2-羟基乙基磺酸盐)、2-均三甲苯磺酸盐、2-萘磺酸盐、D-扁桃酸盐、L-扁桃酸盐、2,5-二氯苯磺酸盐、肉桂酸盐或苯甲酸盐。

[0023] 式(I)的化合物,其为:

[0024] 异丁酸(S)-(1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙基氨基甲酰基氧基)甲酯;

[0025] 异丁酸2-甲基-1-((S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙基氨基甲酰基氧基)丙酯;

[0026] 异丁酸2-甲基-1-((S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙基氨基甲酰基氧基)丙酯非对映异构体1;

[0027] 异丁酸2-甲基-1-((S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙基氨基甲酰基氧基)丙酯非对映异构体2;

[0028] 乙酸1-((S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙基氨基甲酰基氧基)乙酯;

[0029] 乙酸1-((S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙基氨基甲酰基氧基)乙酯非对映异构体1;

[0030] 乙酸1-((S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙基氨基甲酰基氧基)乙酯非对映异构体2;

[0031] 异丁酸1-((S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙基氨基甲酰基氧基)乙酯;

[0032] 异丁酸1-((S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙基氨基甲酰基氧基)乙酯非对映异构体1;

[0033] 异丁酸1-((S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙基氨基甲酰基氧基)乙酯非对映异构体2;

[0034] (S)-1-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰基)-N-((S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙基)吡咯烷-2-甲酰胺;

[0035] (S)-1-((S)-2,6-二氨基己酰基)-N-((S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙基)吡咯烷-2-甲酰胺;

[0036] (S)-1-((S)-2-氨基-3-(1H-咪唑-4-基)丙酰基)-N-((S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙基)吡咯烷-2-甲酰胺;

[0037] 2-((S)-2-((S)-1-((S)-2-氨基-3-(4-羟基苯基)丙酰基)吡咯烷-2-甲酰氨基)-

2-苯基乙基)吡啶;

[0038] 2-((S)-2-((S)-1-((S)-2-氨基-3-(1H-吡啶-3-基)丙酰基)吡咯烷-2-甲酰氨基)-2-苯基乙基)吡啶;

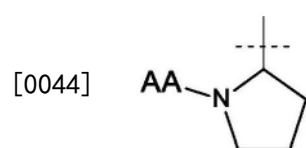
[0039] (S)-1-((S)-2-氨基-3-苯基丙酰基)-N-((S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙基)吡咯烷-2-甲酰胺;或

[0040] (S)-1-((S)-2-氨基-4-甲基戊酰基)-N-((S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙基)吡咯烷-2-甲酰胺;

[0041] 或上述任一者的药用盐。

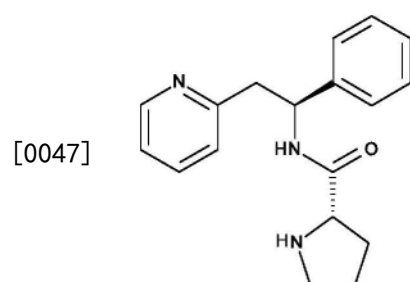
[0042] 本发明的化合物可通过本领域所述的适当方法或通过实施例中所所述的适当方法制备。例如化合物(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺可通过EP-0633879中的方法学制备,且该文件的内容通过引入的方式并入。

[0043] 本发明的化合物,其中R1是



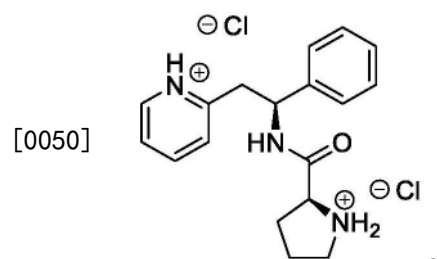
[0045] 其可使用通过2-((S)-2-苯基-2-((S)-吡咯烷-2-甲酰氨基)乙基)吡啶中间体进行的化学方法合成。

[0046] 因此,另一发面,本发明提供化合物2-((S)-2-苯基-2-((S)-吡咯烷-2-甲酰氨基)乙基)吡啶或其盐:



[0048] 其中所述盐是例如盐酸盐、氢溴酸盐、硫酸盐、磷酸盐、乙酸盐、甲磺酸盐、对甲苯磺酸盐、甲酸盐或苯甲酸盐。

[0049] 另一方面,本发明提供中间体化合物2-((S)-2-苯基-2-((S)-吡咯烷-2-甲酰氨基)乙基)吡啶鎓氯化物



[0051] 式(I)的化合物或其药用盐可用于治疗抑郁症(如重度抑郁症,例如治疗顽固的重度抑郁症)。

[0052] 式(I)的化合物或其药用盐可用于治疗疼痛(如神经性疼痛、慢性疼痛、幻肢痛、伤

害性疼痛、精神性疼痛、事故性疼痛或突破性疼痛)。

[0053] 式(I)的化合物或其药用盐可用于治疗Rett综合征、自杀观念、双相型障碍、强制性障碍、沙林毒气中毒或癫痫持续状态。

[0054] 因此,本发明提供如本文定义的用于治疗式(I)的化合物或其药用盐。因此,如本文使用的术语“前药”可指盐形式或游离碱形式的式(I)的化合物。

[0055] 另一方面,本发明提供如本文定义的式(I)的化合物或其药用盐在制备用于治疗的药物中的用途。

[0056] 另一方面,本发明提供将(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺给予至患者的方法,所述方法包括将式(I)的化合物或其药用盐给予至患者,其中所述式(I)的化合物在所述患者中代谢以产生(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺。

[0057] 在本说明书的上下文中,除非有特定的相反指示,否则术语“治疗”还包括“预防”。术语“治疗的”和“治疗地”也应该相应地解释。

[0058] 预防预期与患有所讨论的疾病或病症的先前发作或换言之认为处于增加的所讨论的疾病或病症的风险中的人的治疗特别相关。处于发展特定疾病或病症的风险的人一般包括具有所述疾病或病症的家族史或已通过该基因检测或筛选鉴别为对发展所述疾病或病症特别易感的那些人。

[0059] 本发明还进一步提供治疗抑郁症的方法,其包括对有需要的患者给予治疗有效量的如本文定义的式(I)的化合物或其药用盐。

[0060] 本发明还进一步提供治疗MDD的方法,其包括对有需要的患者给予治疗有效量的如本文定义的式(I)的化合物或其药用盐。

[0061] 本发明还进一步提供治疗疼痛的方法,其包括对有需要的患者给予治疗有效量的如本文定义的式(I)的化合物或其药用盐。

[0062] 本发明还进一步提供治疗神经性疼痛、慢性疼痛、幻肢痛、伤害性疼痛、精神性疼痛、事故性疼痛或突破性疼痛的方法,其包括对有需要的患者给予治疗有效量的如本文定义的式(I)的化合物或其药用盐。

[0063] 式(I)的化合物或其药用盐用于治疗抑郁症的用途。

[0064] 式(I)的化合物或其药用盐用于治疗疼痛的用途。

[0065] 对于上述治疗用途,给予的剂量将必然随采用的化合物、给药模式、预期的治疗和指定的病症而变化。例如,如果吸入给药,则本发明化合物的每日剂量可为每千克体重0.05微克( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )至每千克体重100微克( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )。可替换地,如果化合物口服给予,则本发明化合物的每日剂量可以为每千克体重0.01微克( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )至每千克体重100微克( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )。

[0066] 式(I)的化合物及其药用盐可单独使用,但一般将以药物组合物的形式给予,其中式(I)的化合物/盐(活性成分)与药用辅料、稀释剂或载体组合。用于选择和制备适当的药物制剂的常规方法如举例来说“Pharmaceuticals-The Science of Dosage Form Designs”,M.E.Aulton,Churchill Livingstone,1988所述。

[0067] 取决于给予模式,所述药物组合物优选包含如下百分比的活性成分:0.05-99%w(重量百分比),更优选0.05-80%w,还更优选0.10-70%w且甚至更优选0.10-50%w,全部重量百分比基于全部组合物计。在一些实施方案中,所述药物组合物包含0.5%w的活性成分。在一些实施方案中,所述药物组合物包含20%w的活性成分。

[0068] 本发明还提供药物组合物,其包含与药用辅料、稀释剂或载体组合的如本文定义的式(I)的化合物或其药用盐。

[0069] 本发明进一步提供用于制备本发明的药物组合物的方法,其包括将如本文定义的式(I)的化合物或其药用盐与药用辅料、稀释剂或载体混合。

[0070] 对于口服给药,本发明的化合物可与下列辅料或载体混合:例如乳糖、蔗糖、山梨醇、甘露醇;淀粉如马铃薯淀粉、玉米淀粉或支链淀粉;纤维素衍生物;粘合剂例如明胶或聚乙烯吡咯烷酮;和/或润滑剂例如硬脂酸镁、硬脂酸钙、聚乙二醇、蜡、石蜡等,随后压成片剂。如果需要包衣片剂,如上文所述制备的核心部分可用浓缩的糖溶液包衣,所述糖溶液包含例如阿拉伯胶、明胶、滑石和二氧化钛。可替换地,所述片剂可用适当的溶解于易挥发的有机溶剂中的聚合物包衣。

[0071] 对于软明胶胶囊的制备,本发明的化合物可与例如植物油或聚乙二醇混合。硬明胶胶囊可包含使用上述用于片剂的赋形剂的化合物的颗粒。此外,可将本发明化合物的液体或半固体制剂填充于硬明胶胶囊。

[0072] 本发明的化合物还可与其他用于治疗上述病症的化合物组合给予。

[0073] 下列实施例示例说明了本发明。在实施例中,使用了某些技术且现将其进行描述。

[0074] 在反相(RP)柱上进行高效液相色谱(HPLC)。采用线形梯度,其使用例如流动相A(MilliQ H<sub>2</sub>O中的0.1%甲酸或MilliQ H<sub>2</sub>O中的0.1%NH<sub>3</sub>或MilliQ H<sub>2</sub>O中的10mM NH<sub>4</sub>OAc和5%CH<sub>3</sub>CN,或MilliQ H<sub>2</sub>O中的0.05%三氟乙酸,或MilliQ H<sub>2</sub>O中的NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>(10mM))和B(CH<sub>3</sub>OH或CH<sub>3</sub>CN)。在阳离子和/或阴离子模式中使用电喷雾电离(ESI+/-)、大气压光电离(APPI+/-)和/或大气压化学电离(APCI+/-)实施了质谱(MS)分析。

[0075] 在配备了质谱仪(MS)或火焰离子化检测器(FID)的GC上实施气相色谱法(GC)。MS离子源为电子碰撞(EI)或化学电离(CI,反应气体:甲烷)。为分离,使用毛细管柱,例如DB-5MS(J&W Scientific)。采用了线性温度梯度。

[0076] 在正相柱上实施了超临界流体色谱(SFC)。采用等梯度流,使用流动相A(CO<sub>2</sub>)和例如流动相B(MeOH、EtOH或IPA)。

[0077] 可替换地,在正相柱上实施了高效液相色谱(HPLC)。采用线形梯度或等梯度流,使用例如流动相A(庚烷)和B(EtOH或IPA)。

[0078] 在装有适当配置的探针的300MHz(或更高场)NMR光谱仪上记录NMR谱。除非另外表明,在环境温度记录谱。以来自TMS(0.00ppm)的ppm低场和高场给出化学位移。使用下列参照信号:TMS 0.00或以下的残留溶剂信号:DMSO-d<sub>6</sub> 2.49、CD<sub>3</sub>OD 3.30、丙酮-d<sub>6</sub> 2.04、CDC<sub>13</sub> 7.25或D<sub>2</sub>O 4.79(除非另外表明)。共振多重性针对单峰、双峰、三重峰、四重峰、多重峰、宽峰和明显的峰分别指代为s、d、t、q、m、br和app。

[0079] 缩写列表

[0080] DBU 1,8-二氮杂二环[5.4.0]十一碳-7-烯

[0081] DCM 二氯甲烷

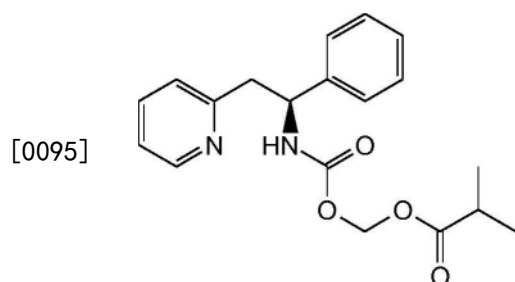
[0082] DEA 二乙胺

[0083] DIPEA 二异丙基乙基胺

[0084] DMF 二甲基甲酰胺

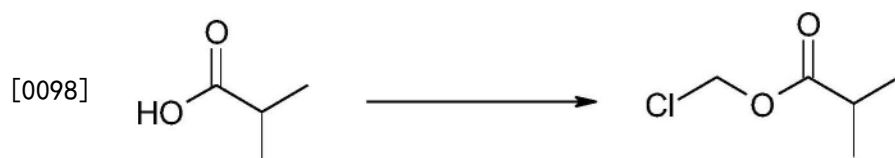


- [0085] DMSO 二甲基亚砷  
[0086] EtOAc 乙酸乙酯  
[0087] HATU 2-(1H-7-氮杂苯并三唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基脲鎓六氟磷酸盐  
[0088] IPA 异丙醇  
[0089] MTBE 甲基叔丁基醚  
[0090] rt 室温或环境温度,约20-25℃  
[0091] sat 饱和的  
[0092] T3P 丙烷膦酸酐  
[0093] 实施例1  
[0094] 异丁酸(S)-(1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙基氨基甲酰基氧基)甲酯



[0096] 步骤A

[0097] 异丁酸氯甲酯

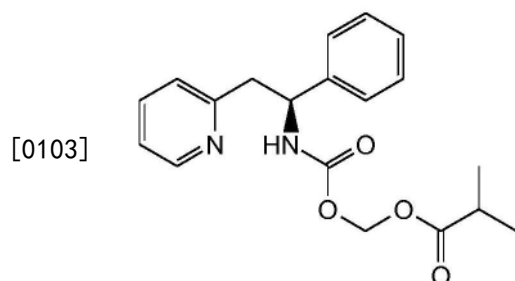


[0099] 将碳酸氢钠(2092mg,24.91mmol)、四丁基硫酸氢铵(220mg,0.65mmol)和水(6mL)添加至异丁酸(0.600mL,6.47mmol)在DCM(6mL)中的溶液中。伴随快速搅拌,在rt添加氯磺酸氯甲酯(0.767mL,7.44mmol)并将反应混合物随后在rt搅拌过夜。随后用DCM(10mL)稀释反应混合物,用水洗涤(2x 10mL),经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并浓缩得到异丁酸氯甲酯(746mg,84%),将其用于下一步而无需进一步纯化。

[0100] <sup>1</sup>H NMR(500MHz,CDCl<sub>3</sub>) δppm 1.17(m,6H),2.62(m,1H),5.72(s,2H)。

[0101] 步骤B

[0102] 异丁酸(S)-(1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙基氨基甲酰基氧基)甲酯



[0104] 在室温将碳酸铯(1543mg,4.74mmol)和四丁基碘化铵(1749mg,4.74mmol)添加至(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺(313mg,1.58mmol)在无水DMF(8mL)中的溶液中。使二氧化碳气体鼓泡通过反应混合物30分钟,随后添加异丁酸氯甲酯(647mg,4.74mmol)在DMF(2mL)

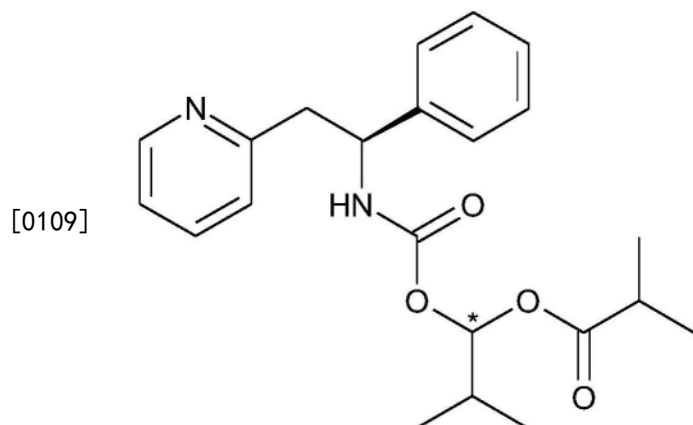
中的溶液。在rt通过持续的CO<sub>2</sub>气体鼓泡过夜搅拌反应混合物并持续搅拌过周末而无需进一步添加CO<sub>2</sub>气体。用水稀释反应混合物并用EtOAc (3x) 萃取,用水 (2x)、盐水洗涤合并的有机层,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥并浓缩。通过柱色谱(使用庚烷中的EtOAc梯度(0-60%))完成纯化得到标题化合物(239mg, 44.2%)。

[0105] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 1.00 (m, 6H), 2.46 (m, 1H, 部分隐藏在DMSO-d<sub>6</sub>中), 3.09 (m, 2H), 5.04 (m, 1H), 5.52 (m, 2H), 7.17-7.24 (m, 3H), 7.27-7.34 (m, 4H), 7.65 (td, 1H), 8.24 (d, 1H), 8.49 (m, 1H)。

[0106] 实施例2

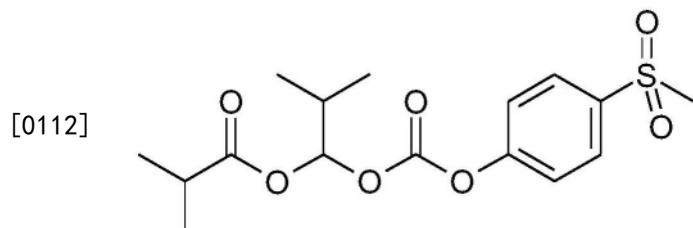
[0107] 异丁酸2-甲基-1-((S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙基氨基甲酰基氧基)丙酯

[0108] 由于在用\*表示的碳原子处有两种可能的构型,实施例2存在两种不同的非对映异构体。其称为实施例2非对映异构体1和实施例2非对映异构体2。并未确定其绝对构型。



[0110] 步骤A

[0111] 异丁酸2-甲基-1-((4-(甲基磺酰基)苯氧基)羰基氧基)丙酯。



[0113] (i) 将4-(甲基磺基)苯酚(8.46g, 57.30mmol)吸收于DCM(60mL),且随后将反应烧瓶冷却至0℃。随后添加氯甲酸1-氯-2-甲基丙酯(4.27mL, 28.65mmol)。在0℃历时50分钟逐滴添加4-甲基吗啉(7.87mL, 71.63mmol)在DCM(40mL)中的溶液并在该温度搅拌获得的混合物5分钟,并最终在rt搅拌150分钟。用水洗涤反应混合物(2x),经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并蒸发得到碳酸1-氯-2-甲基丙酯·4-(甲基磺基)苯酯(13.84g),将其用于下一步而无需进一步纯化。

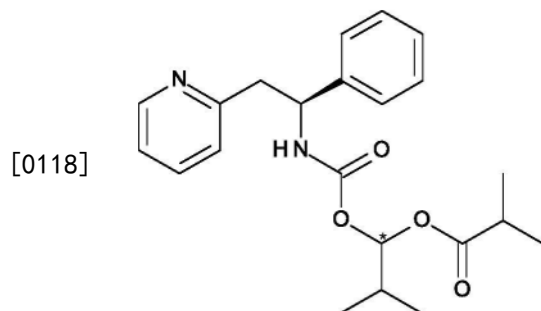
[0114] (ii) 将碳酸1-氯-2-甲基丙酯·4-(甲基磺基)苯酯(3.50g, 12.74mmol)、氧化银(I)(2.95g, 12.74mmol)和异丁酸(13.00mL, 140.12mmol)的混合物在氩气气氛下加热至95℃,持续2小时。将反应混合物冷却至rt并在rt搅拌过夜,随后用MTBE稀释,通过硅藻土过滤并用更多的MTBE洗涤。将合并的滤液用水(4x25 mL)、sat.aq.碳酸氢钠(2x25 mL)洗涤,干燥(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>),并蒸发得到3.56g的异丁酸2-甲基-1-((4-(甲基磺基)苯氧基)羰基氧基)丙酯,

将其用于下一步而无需进一步纯化。

[0115] (iii) 将异丁酸2-甲基-1-((4-(甲基硫基)苯氧基)羰基氧基)丙酯(3.56g, 10.91mmol)吸收于丙酮(30mL)和水(7.50mL)的混合物,随后历时5分钟逐份添加过硫酸氢钾制剂(13.41g, 21.81mmol),随后在rt搅拌2小时。过滤反应混合物并用MTBE(2x50 mL)洗涤滤液,将该体积减少至50mL(蒸馏出丙酮)且随后在MTBE和水之间分离所得的混合物。用MTBE萃取水层并经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥合并的有机物,过滤并蒸发得到1.89g的标题化合物,将其用于下一步而无需进一步纯化。

[0116] 步骤B:

[0117] 异丁酸2-甲基-1-((S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙基氨基甲酰基氧基)丙酯



[0119] 将异丁酸2-甲基-1-((4-(甲基磺酰基)苯氧基)羰基氧基)丙酯(0.389g, 1.08mmol)在乙腈(2mL)中的溶液添加至(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺(0.215g, 1.08mmol)和碳酸氢钠(0.182g, 2.17mmol)在乙腈(3mL)中的经搅拌的混合物中,并在rt搅拌反应混合物2小时。分离EtOAc和sat aq NaHCO<sub>3</sub>,用sat aq NaHCO<sub>3</sub>洗涤有机层并蒸发得到413mg的物质,经柱色谱纯化(使用庚烷中的EtOAc梯度(0-50%))得到235mg的异丁酸2-甲基-1-(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙基氨基甲酰基氧基)丙酯的两种非对映异构体的混合物。

[0120] 非对映异构体的分析和分离分别以3mL/min的流速在Chiralpak AD-H, 4.6\*250mm; 5μm上使用10%MeOH/90%CO<sub>2</sub>,以及以50mL/min的流速在Chiralpak AD-H, 20\*250mm; 5μm上使用10%MeOH/90%CO<sub>2</sub>完成。

[0121] 实施例2,非对映异构体1

[0122] 105mg的非对映异构体1通过手性分离作为第一洗脱非对映异构体以99%光学纯度获得。旋转异构体混合物:

[0123] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 0.66-1.07(m), 1.86(m), 2.39(m), 2.98-3.21(m), 5.01(m), 6.31(m), 7.10-7.26(m), 7.26-7.37(m), 7.56-7.73(m), 8.10(d), 8.43-8.55(m)。谱中完全无质子:28。主要/次要旋转异构体比率:1/0.15。

[0124] MS (ES+APCI+) m/z 385 (M+H)<sup>+</sup>

[0125] 实施例2,非对映异构体2

[0126] 104mg的非对映异构体2作为第二洗脱非对映异构体获得。旋转异构体混合物:

[0127] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 0.48-0.69(m), 0.75-0.87(m), 0.87-1.07(m), 1.73(m), 1.85(m), 2.40(m), 2.98(m), 3.03-3.18(m), 4.97(m), 6.22-6.38(m), 7.13-7.26(m), 7.26-7.37(m), 7.65(m), 7.78(d), 8.06(d), 8.48(m)。谱中完全无质子:28。主要/次要旋转异构体比率:1/0.17。

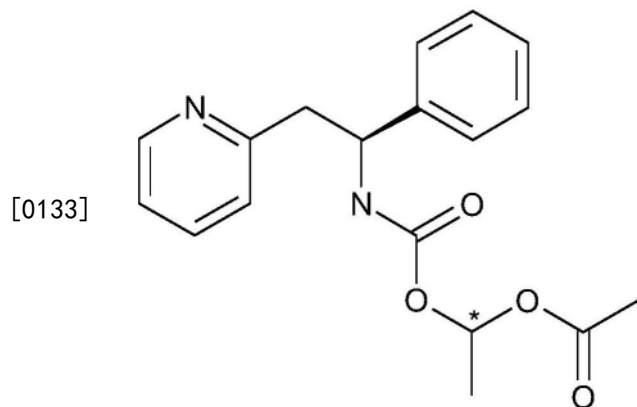
[0128] MS (ES+APCI+)  $m/z$  385 (M+H)<sup>+</sup>。

[0129] 光学纯度=99%

[0130] 实施例3

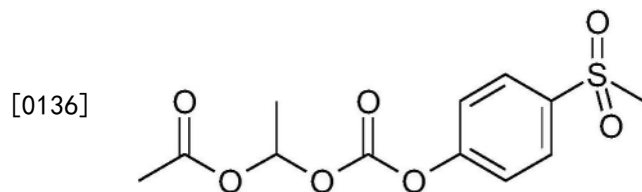
[0131] 乙酸1-((S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙基氨基甲酰基氧基)乙酯

[0132] 由于在用\*表示的碳原子处有两种可能的构型,实施例3存在两种不同的非对映异构体。其称为实施例3非对映异构体1和实施例3非对映异构体2。并未确定其绝对构型。



[0134] 步骤A:

[0135] 乙酸1-((4-(甲基磺酰基)苯氧基)羰基氧基)乙酯



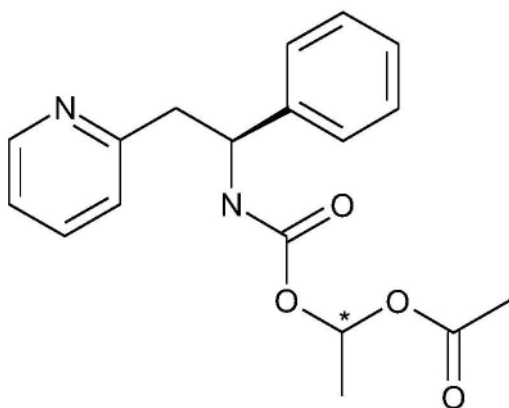
[0137] (i) 将碳酸1-氯乙酯·4-(甲基磺基)苯酯(4.6g, 18.65mmol)、氧化银(I) (4.32g, 18.65mmol)和乙酸(11.75mL, 205.1mmol)的混合物在氩气气氛下加热至95℃持续2小时。将反应混合物冷却至rt并用MTBE稀释,通过硅藻土过滤,并用更多的MTBE洗涤。将合并的滤液用水(4x 25mL)、sat.aq.碳酸氢钠(2x 25mL)洗涤,干燥( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ),并蒸发得到1.79g的乙酸1-((4-(甲基磺基)苯氧基)羰基氧基)乙酯,将其用于下一步而无需进一步纯化。

[0138] (ii) 将乙酸1-((4-(甲基磺基)苯氧基)羰基氧基)乙酯(1.79g, 6.62mmol)吸收于丙酮(16mL)和水(4.00mL)的混合物。历时5分钟逐份添加过硫酸氢钾制剂(8.14g, 13.24mmol),随后在rt搅拌过夜。过滤反应混合物并用MTBE(2x50mL)洗涤,将体积减少至50mL(蒸馏出丙酮)。在MTBE和水之间分离产物。用MTBE萃取水层并干燥合并的有机物( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ),过滤并蒸发得到832mg的标题化合物,将其用于下一步而无需进一步纯化。

[0139] 步骤B:

[0140] 乙酸1-((S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙基氨基甲酰基氧基)乙酯

[0141]



[0142] 将乙酸1-((4-(甲基磺酰基)苯氧基)羰基氧基)乙酯(302mg, 1.00mmol)在乙腈(1mL)中的溶液添加至(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺(198mg, 1mmol)和碳酸氢钠(168mg, 2.00mmol)在乙腈(4mL)中的搅拌混合物中,并在rt搅拌反应混合物4小时。随后在EtOAc和sat aq NaHCO<sub>3</sub>间分离反应混合物,用sat aq NaHCO<sub>3</sub>、盐水洗涤有机层,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥并蒸发。通过柱色谱(使用庚烷中的EtOAc梯度(0-50%))预纯化混合物得到160mg的标题化合物,其作为其两种非对映异构体的混合物。

[0143] 所述非对映异构体的分析和分离分别以3mL/min的流速在Phenomenex LuxC4, 4.6\*250mm; 5 $\mu$ m上使用30% MeOH+DEA/70% CO<sub>2</sub>,以及以50mL/min的流速在Phenomenex LuxC4, 20\*250mm; 5 $\mu$ m上使用25% MeOH+DEA/75% CO<sub>2</sub>完成。

[0144] 实施例3,非对映异构体1

[0145] 29mg的非对映异构体1通过手性分离作为第一洗脱非对映异构体以99%光学纯度获得。

[0146] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ ppm 1.31 (d, 3H), 1.92 (s, 3H), 3.00-3.16 (m, 2H), 5.00 (td, 1H), 6.52 (q, 1H), 7.14-7.25 (m, 3H), 7.30 (d, 4H), 7.65 (t, 1H), 8.13 (d, 1H), 8.50 (d, 1H)。扩大了谱中的信号且未看到DMSO-信号分裂。

[0147] <sup>13</sup>C NMR (126MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ 19.6, 20.7, 44.6, 54.9, 88.7, 121.6, 123.8, 126.4, 126.9, 128.3, 136.2, 143.0, 149.0, 153.2, 158.0, 168.6ppm。MS (ES<sup>+</sup>) m/z 328 (M+H)<sup>+</sup>。

[0148] 实施例3,非对映异构体2

[0149] 39mg的非对映异构体2作为第二洗脱非对映异构体获得。

[0150] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ ppm 1.32 (d, 3H), 1.95 (s, 3H), 3.01-3.18 (m, 2H), 5.00 (td, 1H), 6.53 (q, 1H), 7.13-7.24 (m, 3H), 7.29 (d, 4H), 7.65 (t, 1H), 8.17 (d, 1H), 8.49 (d, 1H)。扩大了谱中的信号且未看到DMSO-信号分裂。

[0151] <sup>13</sup>C NMR (126MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ 19.6, 20.7, 44.4, 54.9, 88.6, 121.6, 123.7, 126.4, 126.9, 128.3, 136.2, 143.0, 149.0, 153.1, 158.0, 168.5。MS (ES<sup>+</sup>) m/z 329 (M+H)<sup>+</sup>。

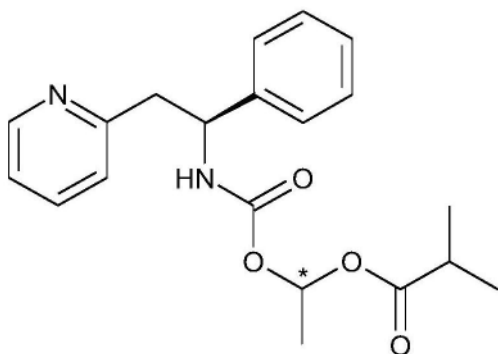
[0152] 光学纯度98%。

[0153] 实施例4

[0154] 异丁酸1-((S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙基氨基甲酰基氧基)乙酯

[0155] 由于在用\*表示的碳原子处有两种可能的构型,实施例4存在两种不同的非对映异构体。其称为实施例4非对映异构体1和实施例4非对映异构体2。并未确定其绝对构型。

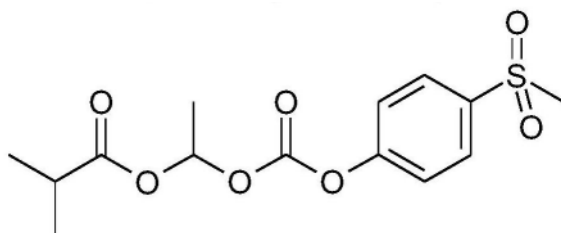
[0156]



[0157] 步骤A:

[0158] 异丁酸1-((4-(甲基磺酰基)苯氧基)羰基氧基)乙酯

[0159]



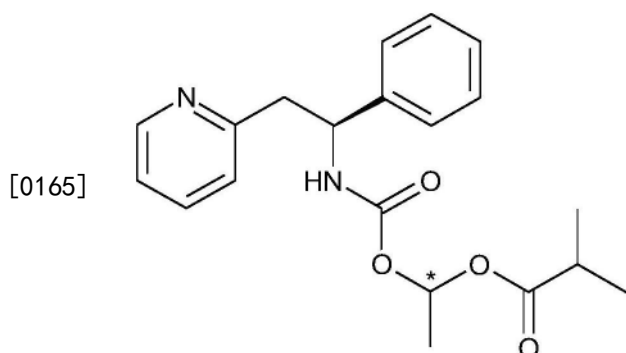
[0160] (i) 将4-(甲基磺基)苯酚(4.91g, 35.00mmol)吸收于DCM(100mL)并冷却至0℃。添加氯甲酸1-氯乙酯(1.888mL, 17.50mmol)。在0℃历时10分钟逐滴添加4-甲基吗啉(4.81mL, 43.74mmol)在DCM(20mL)中的溶液并在该温度搅拌获得的混合物5分钟。在rt搅拌反应混合物180分钟,随后用DCM稀释,用水洗涤(2x),经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并蒸发得到碳酸1-氯乙酯·4-(甲基磺基)苯酯(6.94g),将其用于下一步而无需进一步纯化。

[0161] (ii) 将碳酸1-氯乙酯·4-(甲基磺基)苯酯(2.3g, 9.32mmol)、氧化银(I)(2.160g, 9.32mmol)和异丁酸(9.51mL, 102.55mmol)的混合物在氩气气氛下加热至95℃,持续2小时。将反应混合物冷却至rt并用MTBE稀释,通过硅藻土过滤,用更多的MTBE洗涤。用水(4x25 mL)、sat.aq.碳酸氢钠(2x25 mL)洗涤合并的滤液,干燥(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)并蒸发得到1.16g的产物,将其用于下一步而无需进一步纯化。

[0162] (iii) 将异丁酸1-((4-(甲基磺基)苯氧基)羰基氧基)乙酯(1.16g, 3.89mmol)吸收于丙酮(12mL)和水(3.00mL)的混合物。历时5分钟逐份添加过硫酸氢钾制剂(4.78g, 7.78mmol),随后在rt搅拌过夜。过滤反应混合物并用MTBE(2x50 mL)洗涤滤液,通过蒸馏出丙酮将体积减少至约50mL,随后在MTBE和水间分离。用MTBE萃取水层并经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥合并的有机物,过滤并蒸发得到531mg的标题化合物,将其用于下一步而无需进一步纯化。

[0163] 步骤B

[0164] 异丁酸1-((S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙基氨基甲酰基氧基)乙酯



[0166] 将异丁酸1-((4-(甲基磺酰基)苯氧基)羰基氧基)乙酯(0.500g,1.51mmol)在乙腈(2mL)中的溶液添加至(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺(0.300g,1.51mmol)和碳酸氢钠(0.254g,3.03mmol)在乙腈(6mL)中的经搅拌的混合物中,并将反应混合物搅拌过夜。在EtOAc和sat aq NaHCO<sub>3</sub>间分离混合物,用sat aq NaHCO<sub>3</sub>、盐水洗涤有机层,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥并蒸发得到0.70g.,通过柱色谱纯化(使用庚烷中的EtOAc梯度(0-50%))得到作为两种非对映异构体的混合物的标题化合物(0.309g,57.2%)。

[0167] 非对映异构体的分析和分离分别以3mL/min的流速在Phenomenex LuxC4,4.6\*250mm;5μm上使用15%MeOH+DEA/85%CO<sub>2</sub>,以及以50mL/min的流速在Phenomenex LuxC4,20\*250mm;5μm上使用15%MeOH+DEA/85%CO<sub>2</sub>完成。

[0168] 实施例4,非对映异构体1

[0169] 25mg的非对映异构体1通过手性分离作为第一洗脱非对映异构体以99%光学纯度获得。旋转异构体混合物:

[0170] <sup>1</sup>H NMR (500MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 0.86-1.05(m),1.19(d),1.32(d),2.31-2.44(m),2.98-3.20(m),4.94-5.07(m),6.48(d),6.52(q),7.15-7.25(m),7.25-7.34(m),7.60-7.70(m),7.77(d),8.06-8.18(m),8.44-8.55(m)。谱中完全无质子:24。主要/次要的比率:1:0.07。

[0171] MS (ES+APCI+) m/z 357 (M+H)<sup>+</sup>。

[0172] UV纯度=100%。

[0173] 实施例4,非对映异构体2

[0174] 25mg的非对映异构体2作为第二洗脱异构体获得。旋转异构体混合物:

[0175] <sup>1</sup>H NMR (500MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 0.82-0.94(m),0.94-1.04(m),1.25(d),1.32(d),2.24-2.32(m),2.34-2.44(m),3.00-3.17(m),5.02(td),6.48(d),6.52(q),7.15-7.25(m),7.25-7.38(m),7.55-7.77(m),8.16(d),8.44-8.57(m)。谱中完全无质子:24。主要/次要的比率:1:0.08。

[0176] MS (ES+APCI+) m/z 357 (M+H)<sup>+</sup>。

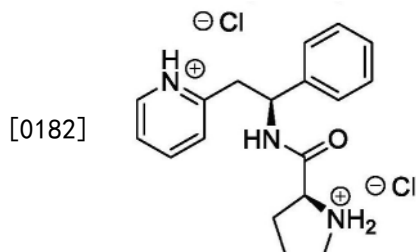
[0177] UV纯度=100%。

[0178] 光学纯度=99%。

[0179] 实施例5-12使用通用的中间体,现对其制备进行说明。

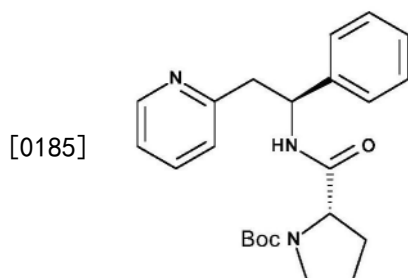
[0180] 用于实施例5-12的通用中间体的制备

[0181] 2-((S)-2-苯基-2-((S)-吡咯烷-2-磺甲酰氨基)乙基)吡啶鎓二氯化物(其也可称为:(S)-N-((S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙基)吡咯烷-2-甲酰胺二盐酸盐)



[0183] 步骤A

[0184] (S)-2-((S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙基氨基甲酰基)吡咯烷-1-羧酸叔丁酯



[0186] 在0℃将T3P (DMF中50%wt., 0.86mL, 1.47mmol) 逐滴添加至(1S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙-1-胺(200mg, 0.737mmol)、Boc-L-脯氨酸(159mg, 0.737mmol)和DIPEA(0.64mL, 3.69mmol)在CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(7.4mL)中的溶液。对反应混合物逐渐温热至rt同时搅拌过夜。用5% aq. NaHCO<sub>3</sub>洗涤有机层两次, 用盐水洗涤一次, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并浓缩。使用50g Snap柱纯化产物(用MeOH和CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>的梯度洗脱(0%MeOH/100%CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>→10%MeOH/90%CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)), 得到标题化合物305mg(>100%)。

[0187] <sup>1</sup>H NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>): ppm 1.35 (s, 9H), 1.70-1.90 (m, 2H), 2.05-2.19 (m, 2H), 3.13 (dd, 1H), 3.29-3.39 (m, 1H), 3.46-3.62 (m, 2H), 4.20-4.29 (m, 2H), 5.39 (q, 1H), 6.91 (d, 1H), 7.09-7.14 (m, 1H), 7.16-7.23 (m, 5H), 7.49 (td, 1H), 8.45-8.59 (m, 1H)。

[0188] 可替换的方法:

[0189] 将Boc-L-Pro-OH(2.0g, 9.29mmol)溶于无水DMF(15mL)。添加HATU(3.7g, 9.76mmol)和许尼希碱(5.3mL, 30.66mmol)并在rt搅拌混合物30分钟。随后, 将2-[(2S)-2-氨鎓基-2-苯基乙基]吡啶-1-鎓二氯化物(2.5g, 9.29mmol)添加至溶液并在rt搅拌混合物3小时30分钟。添加水且用EtOAc 3x萃取混合物。用盐水洗涤有机相, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并减压浓缩。在SiO<sub>2</sub>柱上纯化产物(用梯度(0%MeOH/50%EtOAc/50%庚烷→0%MeOH/100%EtOAc/0%庚烷→10%MeOH/90%EtOAc/0%庚烷)洗脱)且随后在C-18柱上纯化(用MeOH和水的梯度(0-100%MeOH)洗脱), 得到2.9g(78%)的标题化合物。

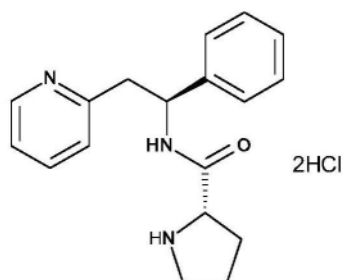
[0190] <sup>1</sup>H NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>): ppm 1.35 (s, 9H), 1.70-1.90 (m, 2H), 2.05-2.19 (m, 2H), 3.13 (dd, J=13.8, 7.1Hz, 1H), 3.29-3.39 (m, 1H), 3.46-3.62 (m, 2H), 4.20-4.29 (m, 1H), 5.39 (q, J=6.8Hz, 1H), 6.91 (d, J=7.3Hz, 1H), 7.09-7.14 (m, 1H), 7.16-7.23 (m, 5H), 7.49 (td, J=7.63, 1.8Hz, 1H), 8.45-8.59 (m, 1H)。

[0191] 步骤B

[0192] (S)-N-((S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙基)吡咯烷-2-甲酰胺二盐酸盐



[0193]



[0194] 在0℃,将(S)-2-((S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙基氨基甲酰基)吡咯烷-1-羧酸叔丁酯(305 mg,0.771 mmol)溶于4 M HCl在1,4-二噁烷中的溶液(7.7 mL,30.8mmol)。将反应混合物逐渐温热至rt同时搅拌过夜。在真空下去除挥发物并在MTBE中研磨产物。在布氏漏斗上通过过滤回收固体,用MTBE洗涤并在真空下干燥,获得为二盐酸盐的263 mg (93%)标题化合物。

[0195]  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ ): ppm 1.61-1.84(m, 3 H), 2.30-2.36(m, 1H), 3.05-3.11(m, 2 H), 3.39-3.47(m, 2 H), 4.05-4.20(m, 2 H), 5.34(q, 1 H), 7.17-7.41(m, 5 H), 8.20-8.42(m, 1 H), 8.67-8.75(m, 1 H), 9.45-9.62(m, 2H) .

[0196] 可替换的方法:

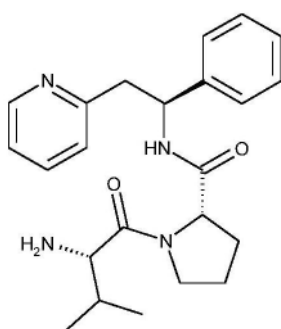
[0197] 将(2S)-2-[[ (1S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙基]氨基甲酰基}吡咯烷-1-羧酸叔丁酯(2.9 g,7.33 mmol)溶于4 M HCl在1,4-二噁烷中的溶液(73 mL,293.31mmol)中。在rt搅拌反应混合物3小时。在真空下去除挥发物并在MTBE中研磨产物。在布氏漏斗上通过过滤回收固体,用MTBE洗涤并在真空下干燥,获得2.7 g (100%)的(2S)-2-[[ (1S)-1-苯基-2-(吡啶-1-鎓-2-基)乙基]氨基甲酰基}吡咯烷-1-鎓。

[0198]  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ): ppm 1.66-1.83(m, 3 H), 2.20-2.26(m, 1 H), 3.14(t,  $J=6.9$  Hz, 2 H), 3.34(dd,  $J=14.1, 8.2$  Hz, 1 H), 3.51(dd,  $J=14.4, 7.3$ Hz, 1 H), 4.18(dd,  $J=8.5, 6.2$  Hz, 1 H), 5.11(t,  $J=7.9$  Hz, 1 H), 7.06-7.10(m, 2 H), 7.15-7.21(m, 3 H), 7.61-7.70(m, 2 H), 8.23(dt,  $J=7.9, 1.5$  Hz, 1 H), 8.37(d,  $J=5.8$  Hz, 1 H) .

[0199] 实施例5

[0200] (S)-1-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰基)-N-((S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙基)吡咯烷-2-甲酰胺

[0201]



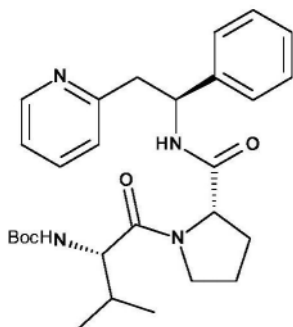
[0202] 制备标题化合物,其为(S)-1-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰基)-N-((S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙基)吡咯烷-2-甲酰胺的二盐酸盐。

[0203] 步骤A

[0204] (S)-3-甲基-1-氧代-1-((S)-2-((S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙基氨基甲酰基)吡

咯烷-1-基) 丁-2-基氨基甲酸叔丁酯

[0205]



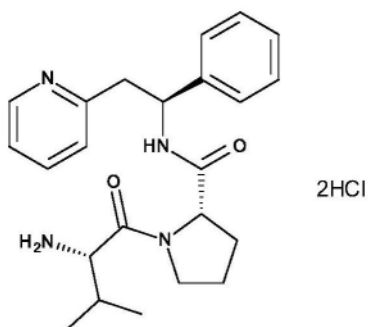
[0206] 在0℃将T3P(DMF中50%wt., 0.83mL, 1.42mmol) 逐滴添加至(S)-N-((S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基) 乙基) 吡咯烷-2-甲酰胺二盐酸盐(263mg, 0.714mmol)、Boc-L-缬氨酸(155mg, 0.714mmol) 和DIPEA(0.62mL, 3.57mmol) 在DCM(7mL) 中的溶液中。在搅拌下逐渐温热反应混合物至rt过夜。用5%aq. NaHCO<sub>3</sub>洗涤有机层两次, 用盐水洗涤一次, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并浓缩。使用50g Snap柱纯化产物(用MeOH和CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>梯度(5%MeOH/95%CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>→10%MeOH/90%CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) 洗脱), 得到标题化合物258mg(73%)。

[0207] <sup>1</sup>H NMR(300MHz, CDCl<sub>3</sub>): ppm 0.91(d, 3H), 1.00(d, 3H), 1.43(s, 9H), 1.85-1.99(m, 2H), 2.00-2.16(m, 1H), 2.17-2.21(m, 1H), 3.12-3.27(m, 2H), 3.47-3.62(m, 1H), 3.63-3.78(m, 1H), 4.32(dd, 1H), 4.58(d, 1H), 5.23-5.35(m, 2H), 6.97(d, 1H), 7.10(dd, 1H), 7.14-7.30(m, 5H), 7.50(td, 1H), 7.84(d, 1H), 8.48(dd, 1H)。

[0208] 步骤B

[0209] (S)-1-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰基)-N-((S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基) 乙基) 吡咯烷-2-甲酰胺二盐酸盐

[0210]



[0211] 将(S)-3-甲基-1-氧代-1-((S)-2-((S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基) 乙基氨基甲酰基) 吡咯烷-1-基) 丁-2-基氨基甲酸叔丁酯(258mg, 0.522mmol) 溶于4M HCl在1,4-二噁烷中的溶液(5.2mL, 30.8mmol) 中。搅拌反应混合物过夜。在真空下去除挥发物并在EtOAc中研磨产物。在布氏漏斗上通过过滤回收固体, 随后在Et<sub>2</sub>O中研磨。在布氏漏斗上过滤后, 在真空下干燥固体, 获得200mg(82%) 的标题化合物, 其为二盐酸盐。随后将作为二盐酸盐的标题化合物通过本领域的技术人员已知的技术转化为游离碱。可替换地, 标题化合物可作为富马酸盐通过本领域的技术人员已知的方法制备。

[0212] <sup>1</sup>H NMR(300MHz, CD<sub>3</sub>OD): ppm 0.97(d, 3H), 1.04(d, 3H), 1.68-1.79(m, 1H), 1.86-2.05(m, 2H), 2.13-2.27(m, 2H), 3.50-3.61(m, 3H), 3.68-3.75(m, 1H), 4.02(d, 1H), 4.45(dd, 1H), 5.40(dd, 1H), 7.31-7.43(m, 5H), 7.90(t, 1H), 8.02(d, 1H), 8.51(td, 1H), 8.75(d,

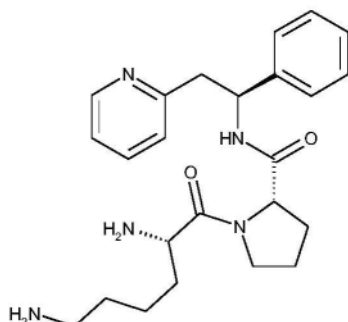
1H) .

[0213]  $[M+H]^+ = 395.27$

[0214] 实施例6

[0215] (S)-1-((S)-2,6-二氨基己酰基)-N-((S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙基)吡咯烷-2-甲酰胺

[0216]

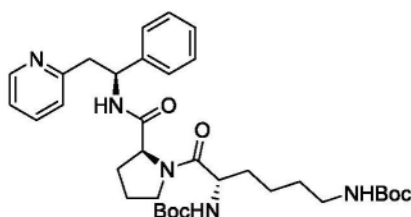


[0217] 制备标题化合物,其为2-[(2S)-2-{[(2S)-1-[(2S)-2,5-二氨鎗基己酰基]吡咯烷-2-基]甲酰氨基}-2-苯基乙基]吡啶-1-鎗三氯化物

[0218] 步骤A

[0219] (S)-6-氧代-6-((S)-2-((S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙基氨基甲酰基)吡咯烷-1-基)己-1,5-二基二氨基甲酸叔丁酯

[0220]



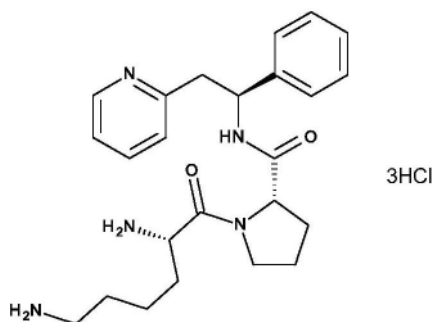
[0221] 将N- $\alpha$ ,N- $\epsilon$ -二(叔丁氧基羰基)-L-赖氨酸二环己基铵盐(287mg,0.54mmol)溶于无水DMF(4mL)。添加HATU(217mg,0.57mmol)和DIPEA(0.21mL,1.19mmol)并在rt搅拌混合物30分钟。随后,将(2S)-2-{[(1S)-1-苯基-2-(吡啶-1-鎗-2-基)乙基]氨基甲酰基}吡咯烷-1-鎗二氯化物(200mg,0.54mmol)添加至溶液并在rt搅拌混合物18小时。添加水并用EtOAc 3x萃取混合物。用盐水洗涤有机相,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并减压浓缩。在SiO<sub>2</sub>柱上纯化产物(用梯度(0%MeOH/50%EtOAc/50%庚烷→0%MeOH/100%EtOAc/0%庚烷→10%MeOH/90%EtOAc/0%庚烷)洗脱),随后在C-18柱上纯化(用MeOH和水的梯度(0-100%MeOH)洗脱),得到80mg(24%)的标题化合物。

[0222] <sup>1</sup>H NMR(300MHz,CDC1<sub>3</sub>):ppm 1.34-1.39(m,2H),1.41(s,9H),1.43(s,9H),1.52-1.64(m,3H),1.68-2.02(m,4H),2.08-2.22(m,2H),3.02-3.16(m,3H),3.20-3.28(m,1H),3.48-3.57(m,1H),3.60-3.70(m,1H),4.40-4.51(m,1H),4.54-4.57(m,1H),4.97-5.08(m,1H),5.29-5.39(m,2H),7.00(d,1H),7.10-7.32(m,6H),7.52(td,1H),7.86(d,1H),8.49(d,1H) .

[0223] 步骤B

[0224] 2-[(2S)-2-{[(2S)-1-[(2S)-2,5-二氨鎗基己酰基]吡咯烷-2-基]甲酰氨基}-2-苯基乙基]吡啶-1-鎗三氯化物的合成

[0225]



[0226] 将(S)-6-氧代-6-((S)-2-((S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙基氨基甲酰基)吡咯烷-1-基)己-1,5-二基二氨基甲酸叔丁酯(80mg,0.13mmol)溶于4M HCl在1,4-二噁烷中的溶液(1.6mL,6.4mmol)。在rt搅拌反应混合物18小时。在真空下去除挥发物并在MTBE中研磨产物。在布氏漏斗上通过过滤回收固体,用MTBE洗涤并在真空下干燥。将固体溶于水并冷冻干燥得到60mg(88%)的标题化合物。

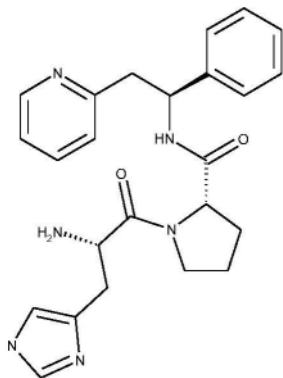
[0227]  $^1\text{H}$  NMR (300MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ): ppm 1.23-1.35 (m, 2H), 1.46-1.59 (m, 3H), 1.65-1.80 (m, 4H), 2.04-2.13 (m, 1H), 2.80 (t, 2H), 3.31-3.43 (m, 2H), 3.47-3.57 (m, 2H), 4.16 (t, 1H), 4.28 (t, 1H), 5.11 (t, 1H), 7.10-7.13 (m, 2H), 7.16-7.26 (m, 3H), 7.68-7.73 (m, 2H), 8.31 (td, 1H), 8.42 (dd, 1H);

[0228]  $[\text{M}+\text{H}]^+=424.2$ .

[0229] 实施例7

[0230] (S)-1-((S)-2-氨基-3-(1H-咪唑-4-基)丙酰基)-N-((S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙基)吡咯烷-2-甲酰胺

[0231]

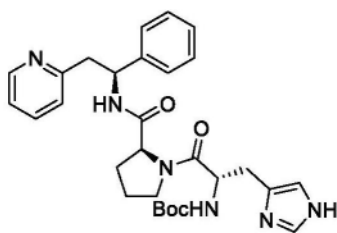


[0232] 制备标题化合物,其为2-[(2S)-2-{[(2S)-1-[(2S)-2-氨鎊基-3-(1H-咪唑-1-鎊-4-基)丙酰基]吡咯烷-2-基]甲酰氨基}-2-苯基乙基]吡啶-1-鎊三氯化物

[0233] 步骤A

[0234] (S)-3-(1H-咪唑-4-基)-1-氧代-1-((S)-2-((S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙基氨基甲酰基)吡咯烷-1-基)丙-2-基氨基甲酸叔丁酯

[0235]

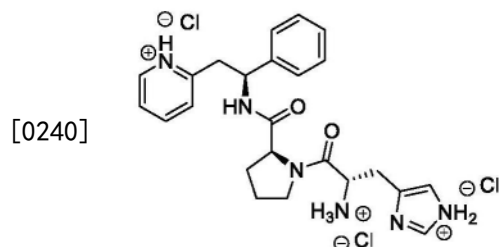


[0236] 将Boc-His-OH(166mg, 0.65mmol)溶于无水DMF(4mL)。添加HATU(260mg, 0.68mmol)和DIPEA(0.38mL, 2.85mmol)并在rt搅拌混合物30分钟。随后,添加2-((S)-2-苯基-2-((S)-吡咯烷-2-羧基)乙基)吡啶鎓氯化物(240mg, 0.65mmol)并在rt搅拌混合物66小时。添加水并用EtOAc 3x萃取混合物。用盐水洗涤有机相,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并减压浓缩。在SiO<sub>2</sub>柱上纯化产物(用MeOH和CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>的梯度(0%-13%MeOH)洗脱),随后在C-18柱上纯化(用MeOH和水的梯度的梯度(0-100%MeOH)洗脱),得到100mg(29%)的标题化合物。

[0237] <sup>1</sup>H NMR(300MHz, CDCl<sub>3</sub>): ppm 1.44(s, 9H), 1.77-2.00(m, 3H), 2.05-2.19(m, 1H), 3.03-3.14(m, 2H), 3.23(dd, 1H), 3.40(dd, 1H), 3.52-3.58(m, 1H), 4.50-4.62(m, 2H), 5.43-5.50(m, 2H), 6.91-6.97(m, 2H), 7.13-7.27(m, 5H), 7.53(t, 1H), 7.65(s, 1H), 8.53(d, 1H), 8.67(d, 1H)。

[0238] 步骤B

[0239] 2-((S)-2-((S)-1-((S)-2-氨基-3-(1H-咪唑-1-基)丙酰基)吡咯烷-2-甲酰氨基)-2-苯基乙基)吡啶鎓三氯化物



[0241] 将(S)-3-(1H-咪唑-4-基)-1-氧代-1-((S)-2-((S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙基氨基甲酰基)吡咯烷-1-基)丙-2-基氨基甲酸叔丁酯(100mg, 0.19mmol)溶于4M HCl在1,4-二噁烷中的溶液(2.3mL, 9.39mmol)中。在rt搅拌反应混合物18小时。在真空下去除挥发物并在MTBE中研磨产物。在布氏漏斗上通过过滤回收固体,用MTBE洗涤并在真空下干燥。将所述固体溶于水并冷冻干燥得到85mg(69%)的标题化合物。

[0242] <sup>1</sup>H NMR(300MHz, D<sub>2</sub>O): ppm 1.50-1.58(m, 1H), 1.69-1.76(m, 2H), 2.07-2.14(m, 1H), 3.12-3.21(m, 3H), 3.38(dd, 7.3Hz, 1H), 3.48-3.56(m, 2H), 4.32(t, 1H), 4.43(t, 1H), 5.14(t, 1H), 7.08-7.12(m, 2H), 7.15-7.23(m, 3H), 7.26(s, 1H), 7.65-7.70(m, 2H), 8.26(td, 1H), 8.39(d, 1H), 8.49(d, 1H);

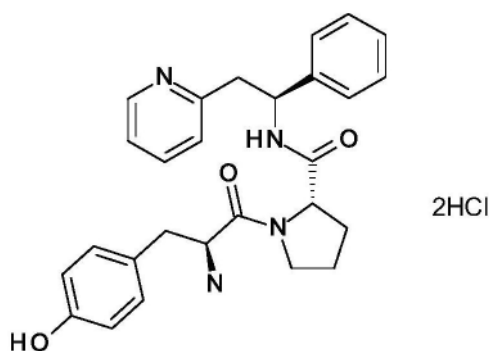
[0243] [M+H]<sup>+</sup>=433.2;

[0244] [M+Na]<sup>+</sup>=455.1.

[0245] 实施例8

[0246] 2-((S)-2-((S)-1-((S)-2-氨基-3-(4-羟基苯基)丙酰基)吡咯烷-2-甲酰氨基)-2-苯基乙基)吡啶二盐酸盐

[0247]

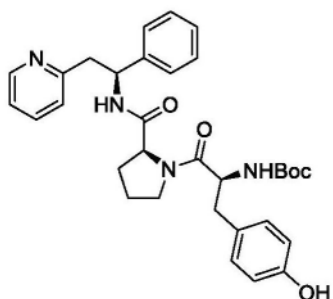


[0248] 标题化合物还可称为:2-[(2S)-2-{[(2S)-1-[(2S)-2-氨基-3-(4-羟基苯基)丙酰基]吡咯烷-2-基]甲酰氨基}-2-苯基乙基]吡啶-1-鎓二氯化物

[0249] 步骤A

[0250] (S)-3-(4-羟基苯基)-1-氧代-1-((S)-2-((S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙基氨基甲酰基)吡咯烷-1-基)丙-2-基氨基甲酸叔丁酯

[0251]

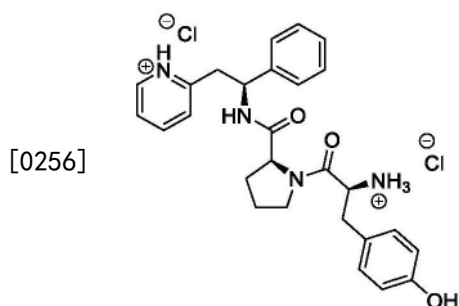


[0252] 将Boc-Tyr-OH(229mg,0.81mmol)溶于无水DMF(5mL)。添加HATU(325mg,0.86mmol)和DIPEA(0.47mL,2.69mmol)并在rt搅拌混合物30分钟。随后,将2-((S)-2-苯基-2-((S)-吡咯烷-2-鎓甲酰氨基)乙基)吡啶鎓氯化物(300mg,0.81mmol)添加至溶液并在rt搅拌混合物66小时。添加水并用EtOAc3x萃取混合物。用盐水洗涤有机相,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并减压浓缩。在SiO<sub>2</sub>柱上纯化产物(用0%MeOH/50%EtOAc/50%庚烷→0%MeOH/100%EtOAc/0%庚烷→15%MeOH/85%EtOAc/0%庚烷)洗脱,随后在C-18柱上纯化(用MeOH和水的梯度(0-100%MeOH)洗脱),得到180mg(40%)的标题化合物。

[0253] <sup>1</sup>H NMR(300MHz,CDCl<sub>3</sub>):ppm 1.44(s,9H),1.73-2.02(m,3H),2.16-2.22(m,1H),2.92-3.09(m,4H),3.35-3.42(m,1H),3.48-3.51(m,1H),3.53-3.68(m,1H),4.48-4.51(m,1H),4.65-4.73(m,1H),5.06-5.14(m,1H),5.43(d,1H),6.61(d,1H),6.86(d,,2H),6.94-6.99(m,2H),7.08-7.26(m,6H),7.42(dd,1H),8.49(d,1H),8.63(s,1H)。

[0254] 步骤B:

[0255] 2-((S)-2-((S)-1-((S)-2-氨基-3-(4-羟基苯基)丙酰基)吡咯烷-2-甲酰氨基)-2-苯基乙基)吡啶鎓二氯化物



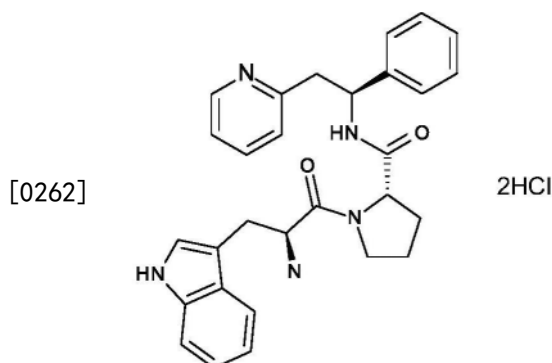
[0257] 将(S)-3-(4-羟基苯基)-1-氧代-1-((S)-2-((S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙基氨基甲酰基)吡咯烷-1-基)丙-2-基氨基甲酸叔丁酯(180mg, 0.32mmol)溶于4M HCl在1,4-二噁烷中的溶液(3.2mL, 12.89mmol)中。在rt搅拌反应混合物18小时。在真空下去除挥发物并在MTBE中研磨产物。在布氏漏斗上通过过滤回收固体,用MTBE洗涤并在真空下干燥。将所述固体溶于水并冷冻干燥得到150mg(88%)的标题化合物。

[0258]  $^1\text{H}$  NMR (300MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ): ppm 1.48-1.57 (m, 1H), 1.68-1.73 (m, 2H), 1.98-2.05 (m, 1H), 2.68-2.76 (m, 1H), 2.93-3.00 (m, 1H), 3.10-3.19 (m, 1H), 3.40-3.63 (m, 3H), 4.20-4.28 (m, 2H), 5.14 (t, 1H), 6.65 (d, 2H), 6.96 (d, 2H), 7.13-7.22 (m, 5H), 7.63-7.66 (m, 2H), 8.19-8.22 (m, 1H), 8.40 (d, 1H);

[0259]  $[\text{M}+\text{H}]^+ = 459.2$ .

[0260] 实施例9

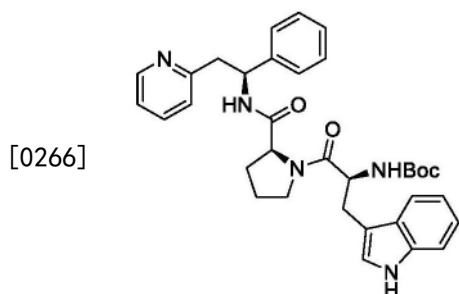
[0261] 2-((S)-2-((S)-1-((S)-2-氨基-3-(1H-吡啶-3-基)丙酰基)吡咯烷-2-甲酰氨基)-2-苯基乙基)吡啶二盐酸盐



[0263] 标题化合物还可称为:2-[(2S)-2-{[(2S)-1-[(2S)-2-氨鎓基-3-(1H-吡啶-3-基)丙酰基]吡咯烷-2-基]甲酰氨基}-2-苯基乙基]吡啶-1-鎓二氯化物

[0264] 步骤A

[0265] (S)-3-(1H-吡啶-3-基)-1-氧代-1-((S)-2-((S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙基氨基甲酰基)吡咯烷-1-基)丙-2-基氨基甲酸叔丁酯

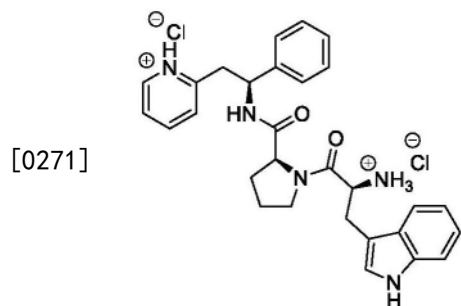


[0267] 将Boc-Trp-OH(207mg, 0.68mmol)溶于无水DMF(4mL)。添加HATU(271mg, 0.71mmol)和DIPEA(0.39mL, 2.24mmol)并在室温搅拌混合物30分钟。随后,添加(2S)-2-[[[(1S)-1-苯基-2-(吡啶-1-基)-2-基]乙基]氨基甲酰基]吡咯烷-1-基]二氯化物(250mg, 0.68mmol)并在rt搅拌混合物18小时。添加水并用EtOAc 3x萃取混合物。用盐水洗涤有机相,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并减压浓缩。在SiO<sub>2</sub>柱上纯化产物(用梯度(0%MeOH/50%EtOAc/50%庚烷→0%MeOH/100%EtOAc/0%庚烷→15%MeOH/85%EtOAc/0%庚烷)洗脱),得到410mg(量化的)的标题化合物。

[0268] <sup>1</sup>H NMR(300MHz, CDCl<sub>3</sub>): ppm 1.44(s, 9H), 1.77-1.89(m, 3H), 2.14-2.24(m, 1H), 3.03-3.24(m, 4H), 3.28-3.36(m, 2H), 3.54-3.65(m, 1H), 4.52-4.58(m, 1H), 4.79-4.88(m, 1H), 5.12-5.27(m, 1H), 5.34-5.41(m, 1H), 6.63(d, 1H), 6.94-7.31(m, 8H), 7.38-7.53(m, 3H), 7.62-7.67(m, 1H), 8.59(d, 1H), 9.87(s, 1H)。

[0269] 步骤B

[0270] 2-((S)-2-((S)-1-((S)-2-氨基-3-(1H-吡啶-3-基)丙酰基)吡咯烷-2-甲酰氨基)-2-苯基乙基)吡啶二氯化物



[0272] 将(S)-3-(1H-吡啶-3-基)-1-氧代-1-((S)-2-((S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙基氨基甲酰基)吡咯烷-1-基)丙-2-基氨基甲酸叔丁酯(395mg, 0.68mmol)溶于1M HCl在Et<sub>2</sub>O中的溶液(27.0mL, 27.20mmol)中。在rt搅拌反应混合物4小时。在Et<sub>2</sub>O中研磨产物并在布氏漏斗上通过过滤回收固体,用Et<sub>2</sub>O洗涤并在真空下干燥。将所述固体溶于水并冷却干燥得到175mg(44%)的标题化合物。

[0273] <sup>1</sup>H NMR(300MHz, D<sub>2</sub>O): ppm 1.41-1.53(m, 1H), 1.63-1.72(m, 2H), 1.93-2.04(m, 1H), 2.85(dd, 1H), 2.94-3.55(m, 5H), 4.19-4.31(m, 2H), 5.08(t, 1H), 6.90-7.31(m, 9H), 7.38(d, 1H), 7.55-7.58(m, 2H), 8.15(t, 1H), 8.31(d, 1H);

[0274] [M+H]<sup>+</sup>=482.2,

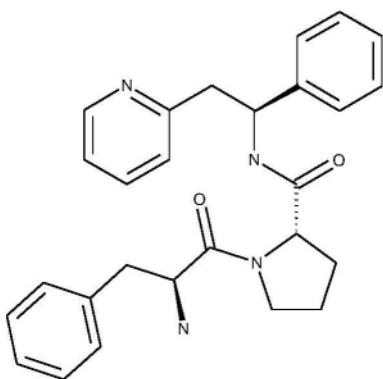
[0275] [M+Na]<sup>+</sup>=504.1.

[0276] 实施例10

[0277] (S)-1-((S)-2-氨基-3-苯基丙酰基)-N-((S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙基)吡咯烷-2-甲酰胺



[0278]

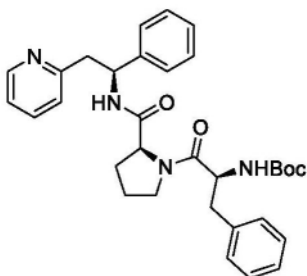


[0279] 制备标题化合物,其为2-[(2S)-2-{[(2S)-1-[(2S)-2-氨基-3-苯基丙酰基]吡咯烷-2-基]甲酰氨基}-2-苯基乙基]吡啶-1-鎓二氯化物

[0280] 步骤A

[0281] (S)-1-氧代-3-苯基-1-((S)-2-((S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙基氨基甲酰基)吡咯烷-1-基)丙-2-基氨基甲酸叔丁酯

[0282]



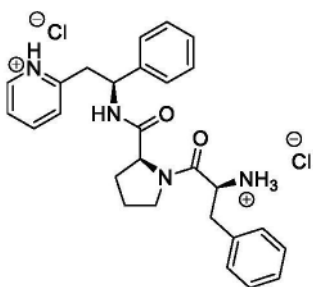
[0283] 将Boc-Phe-OH(180mg,0.68mmol)溶于无水DMF(4mL)。添加HATU(271mg,0.71mmol)和DIPEA(0.39mL,2.24mmol)并在rt搅拌混合物30分钟。随后,将(2S)-2-{[(1S)-1-苯基-2-(吡啶-1-鎓-2-基)乙基]氨基甲酰基}吡咯烷-1-鎓二氯化物(250mg,0.68mmol)添加至溶液并在rt搅拌混合物18小时。添加水并用EtOAc 3x萃取混合物。用盐水洗涤有机相,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并减压浓缩。在SiO<sub>2</sub>柱上纯化产物(用梯度(0%MeOH/50%EtOAc/50%庚烷→0%MeOH/100%EtOAc/0%庚烷→15%MeOH/85%EtOAc/0%庚烷)洗脱),随后在C-18柱上纯化(用MeOH和水的梯度(0-100%MeOH)洗脱),得到170mg(46%)的标题化合物。

[0284] <sup>1</sup>H NMR(300MHz,CDCl<sub>3</sub>):ppm 1.44(s,9H),1.73-1.91(m,3H),2.10-2.19(m,1H),3.10-3.40(m,3H),3.45-3.61(m,2H),4.27-4.35(m,1H),4.50-4.56(m,1H),4.60-4.69(m,1H),5.17-5.41(m,3H),6.93-7.03(m,2H),7.06-7.32(m,9H),7.47-7.56(m,1H),7.82(d,1H),8.48(d,1H)。

[0285] 步骤B

[0286] 2-((S)-2-((S)-1-((S)-2-氨基-3-苯基丙酰基)吡咯烷-2-甲酰氨基)-2-苯基乙基)吡啶鎓二氯化物

[0287]



[0288] 将(S)-1-氧代-3-苯基-1-((S)-2-((S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙基氨基甲酰基)吡咯烷-1-基)丙-2-基氨基甲酸叔丁酯(170mg, 0.31mmol)溶于1M HCl在Et<sub>2</sub>O中的溶液(12.5mL, 12.53mmol)中。在rt搅拌反应混合物18小时。在Et<sub>2</sub>O中研磨产物。在布氏漏斗上通过过滤回收固体,用Et<sub>2</sub>O洗涤并在真空下干燥。将所述固体溶于水并冷冻干燥得到150mg (93%)的标题化合物。

[0289] <sup>1</sup>H NMR (300MHz, D<sub>2</sub>O): ppm 1.39-1.48 (m, 1H), 1.58-1.65 (m, 2H), 1.92-1.99 (m, 1H), 2.66-2.74 (m, 1H), 2.95-3.10 (m, 2H), 3.29-3.45 (m, 3H), 4.15-4.27 (m, 2H), 5.09 (t, 1H), 6.97-7.17 (m, 10H), 7.59-7.64 (m, 2H), 8.18 (t, 1H), 8.35 (d, 1H);

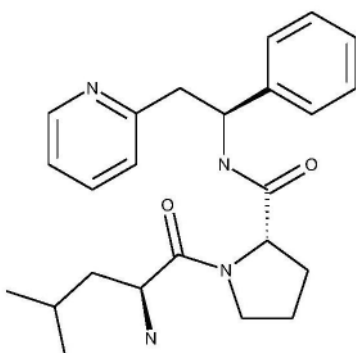
[0290] [M+H]<sup>+</sup>=443.3,

[0291] [M+Na]<sup>+</sup>=465.2.

[0292] 实施例11

[0293] (S)-1-((S)-2-氨基-4-甲基戊酰基)-N-((S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙基)吡咯烷-2-甲酰胺

[0294]

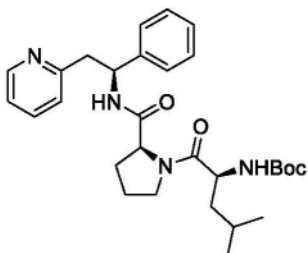


[0295] 制备标题化合物,其为2-[(2S)-2-{[(2S)-1-[(2S)-2-氨基-4-甲基戊酰基]吡咯烷-2-基]甲酰氨基}-2-苯基乙基]吡啶-1-鎓二氯化物。

[0296] 步骤A

[0297] (S)-4-甲基-1-氧代-1-((S)-2-((S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙基氨基甲酰基)吡咯烷-1-基)戊-2-基氨基甲酸叔丁酯

[0298]



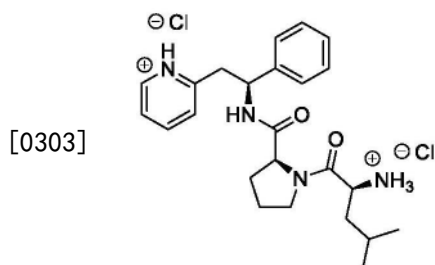
[0299] 将N-(叔丁氧基羰基)-L-亮氨酸(157mg, 0.68mmol)溶于无水DMF (4mL)。添加HATU

(271mg, 0.71mmol) 和 DIPEA (0.39mL, 2.24mmol) 并在 rt 搅拌混合物 30 分钟。随后, 添加 (2S)-2- {[ (1S)-1-苯基-2-(吡啶-1-基)-2-基] 氨基甲酰基} 吡咯烷-1-基二氯化物 (250mg, 0.68mmol) 至溶液并在 rt 搅拌混合物 18 小时。添加水并用 EtOAc 3x 萃取混合物。用盐水洗涤有机相, 经  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥, 过滤并减压浓缩。在  $\text{SiO}_2$  柱上纯化产物 (用梯度 (0% MeOH/50% EtOAc/50% 庚烷  $\rightarrow$  0% MeOH/100% EtOAc/0% 庚烷  $\rightarrow$  15% MeOH/85% EtOAc/0% 庚烷) 洗脱), 随后在 C-18 柱上纯化 (用 MeOH 和水的梯度 (0-100% MeOH) 洗脱), 得到 200mg (58%) 的标题化合物。

[0300]  $^1\text{H}$  NMR (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): ppm 0.91 (d, 3H), 0.98 (d, 3H), 1.34-1.52 (m, 1H), 1.41 (s, 9H), 1.70-1.84 (m, 2H), 1.85-1.96 (m, 3H), 2.11-2.18 (m, 1H), 3.07-3.27 (m, 2H), 3.47-3.56 (m, 1H), 3.61-3.71 (m, 1H), 4.43-4.56 (m, 2H), 5.14-5.18 (m, 1H), 5.26-5.34 (m, 1H), 6.98 (d,  $J=7.7\text{Hz}$ , 1H), 7.08-7.25 (m, 5H), 7.52 (t, 1H), 7.83 (d, 1H), 8.48 (d, 1H) .

[0301] 步骤B

[0302] 2-((S)-2-((S)-1-((S)-2-氨基-4-甲基戊酰基) 吡咯烷-2-甲酰氨基)-2-苯基乙基) 吡啶-1-基二氯化物



[0304] 将 (S)-4-甲基-1-氧代-1-((S)-2-((S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基) 乙基氨基甲酰基) 吡咯烷-1-基) 戊-2-基氨基甲酸叔丁酯 (200mg, 0.39mmol) 溶于 1M HCl 在  $\text{Et}_2\text{O}$  中的溶液 (15.7mL, 15.7mmol) 中。在 rt 搅拌反应混合物 18 小时。在  $\text{Et}_2\text{O}$  中研磨产物。在布氏漏斗上通过过滤回收固体, 用  $\text{Et}_2\text{O}$  洗涤并在真空下干燥。将固体溶于水并冷冻干燥得到 130mg (69%) 的标题化合物。

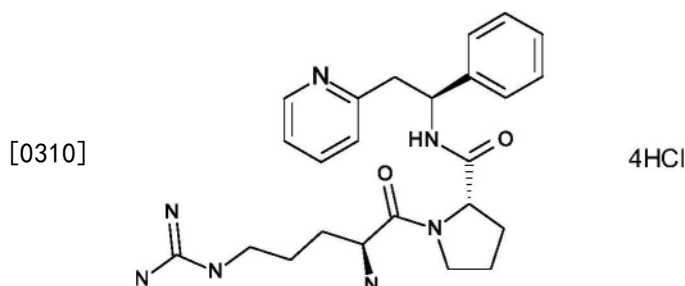
[0305]  $^1\text{H}$  NMR (300MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ): ppm 0.72 (d, 6H), 1.31-1.49 (m, 4H), 1.65-1.74 (m, 2H), 1.93-2.02 (m, 1H), 3.23-3.49 (m, 4H), 3.99-4.04 (m, 1H), 4.16-4.21 (m, 1H), 5.07 (t, 1H), 7.08-7.20 (m, 5H), 7.63-7.67 (m, 2H), 8.22 (td, 1H), 8.37 (dd, 1H);

[0306]  $[\text{M}+\text{H}]^+=409.2$ ,

[0307]  $[\text{M}+\text{Na}]^+=431.2$ .

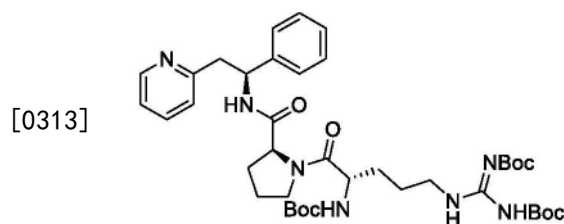
[0308] 实施例12

[0309] 2-[(2S)-2- {[ (2S)-1-[(2S)-2-氨基-5- {[ 氨基(亚氨基) 甲基] 氨基} 戊酰基]-吡咯烷-2-基] 甲酰氨基}-2-苯基乙基] 吡啶-1-基四氯化物



## [0311] 步骤A

[0312] N-[(1Z)-{[(4S)-4-{[(叔丁氧基)羰基]氨基}-5-氧代-5-[(2S)-2-{[(1S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙基]氨基甲酰基}吡咯烷-1-基]戊基]氨基}({[(叔丁氧基)羰基]亚氨基})甲基]氨基甲酸叔丁酯

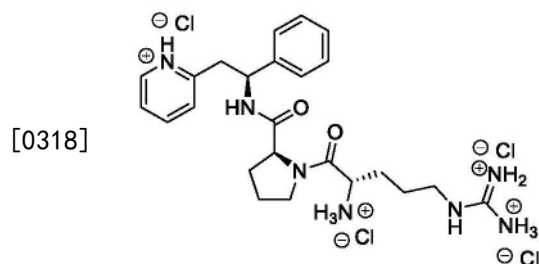


[0314] 将Boc-Arg(Boc)<sub>2</sub>-OH(644mg, 1.36mmol)溶于无水DMF(7mL)。添加HATU(542mg, 1.43mmol)和DIPEA(0.78mL, 4.48mmol)并在rt搅拌混合物30分钟。随后,添加(2S)-2-{[(1S)-1-苯基-2-(吡啶-1-鎓-2-基)乙基]氨基甲酰基}吡咯烷-1-鎓二氯化物(500mg, 1.36mmol)至溶液并在rt搅拌18小时。添加水并用EtOAc 3x萃取混合物。用盐水洗涤有机相,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并减压浓缩。在SiO<sub>2</sub>柱上纯化(用梯度(0%MeOH/50%EtOAc/50%庚烷→0%MeOH/100%EtOAc/0%庚烷→10%MeOH/90%EtOAc/0%庚烷)洗脱),随后在C-18柱上纯化(用MeOH和水的梯度(0-100%MeOH)洗脱),获得200mg(20%)的标题化合物。

[0315] <sup>1</sup>H NMR(300MHz, CDCl<sub>3</sub>): ppm 1.43(s, 9H), 1.46(s, 9H), 1.51(s, 9H), 1.57-1.76(m, 4H), 1.86-1.99(m, 3H), 2.12-2.25(m, 1H), 3.11(dd, 1H), 3.23-3.30(m, 1H), 3.58-3.95(m, 4H), 4.42(t, 1H), 4.56(d, 1H), 5.31-5.38(m, 2H), 6.98(d, 1H), 7.17-7.33(m, 5H), 7.54(t, 1H), 7.93(d, 1H), 8.56(d, 1H)。

## [0316] 步骤B

[0317] 2-[(2S)-2-{[(2S)-1-[(2S)-2-氨基鎓基-5-{[氨基鎓基(亚氨基鎓基)甲基]氨基}戊酰基]吡咯烷-2-基]甲酰氨基}-2-苯基乙基]吡啶-1-鎓四氯化物



[0319] 将N-[(1Z)-{[(4S)-4-{[(叔丁氧基)羰基]氨基}-5-氧代-5-[(2S)-2-{[(1S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙基]氨基甲酰基}吡咯烷-1-基]戊基]氨基}({[(叔丁氧基)羰基]亚氨基})甲基]氨基甲酸叔丁酯(200mg, 0.27mmol)溶于1M HCl在Et<sub>2</sub>O中的溶液(5.3mL, 10.64mmol)中。在rt搅拌反应混合物18小时。在Et<sub>2</sub>O中研磨产物。在布氏漏斗上通过过滤回收固体,用Et<sub>2</sub>O洗涤并在真空下干燥。将所述固体溶于水并冷冻干燥得到140mg(88%)的标题化合物。

[0320] <sup>1</sup>H NMR(300MHz, D<sub>2</sub>O): ppm 1.31-1.57(m, 3H), 1.66-1.78(m, 4H), 2.00-2.10(m, 1H), 2.99(t, 2H), 3.28-3.40(m, 4H), 4.16(t, 1H), 4.26(t, 1H), 5.09(t, 1H), 7.10-7.13(m, 2H), 7.16-7.21(m, 3H), 7.67-7.71(m, 2H), 8.27(t, 1H), 8.40(d, 1H);

[0321] [M+H]<sup>+</sup>=452.2.

[0322] 生物活性

[0323] 本文所述的前药预期口服给予至患有抑郁症或疼痛的受试者。

[0324] 实施例13


[0325] 该实施例阐述了不同的(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺的前药,其中R1是C<sub>1-6</sub>烷基C(O)O(C<sub>1-6</sub>烷氧基),其可用于实现转化至(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺的不同速率(即慢的或快的)以探明适当的PK分布。因此,改变R1以产生不同的前药导致(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺的不同药代动力学分布。此外,该实施例表明当将前药转化成游离碱时,口服暴露中不存在预期损失。其中R1是C<sub>1-6</sub>烷基C(O)O(C<sub>1-6</sub>烷氧基)的前药向(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺的转化预期经由如下发生:最初的官能团如酯的酶水解,随后向(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺的自发转化。参与的酶预期是数种非特异性、高容量的酯酶,其可通过如下显示:使用非选择性酯酶抑制剂抑制转化,而使用选择性抑制剂不抑制转化。这种酯酶预期分布于人的整个机体。人肠液(HIF)、人肝S9组分和人全血已用于检查(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺前药的药代动力学特性以及在不同机体隔室中(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺的形成速率和形成程度。由(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺的不同前药形成(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺的速率在全部测试测定中显著不同,如表1所示。

[0326] 表1

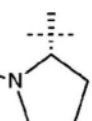
实施例化合物	HIF 测定		人肝脏测定		人血液测定	
	形成速率 HIF (k <sup>-1</sup> )	形成程度 HIF (%)	前药 Clint 人 肝 脏 S9 (ml/min/mg)	形成程度 人 肝 脏 S9 (%)	形成速率 人血液 (k <sup>-1</sup> )	形成程度 人血液 (%)
实施例 1	8.4	100	2300	100	45	100
实施例 2 非对映异构体 1	11	99	1700	96	0.4	76
实施例 2 非对映异构体 2	0.5	100	1900	92	0.2	71
实施例 3 非对映 异构体 1	0.3	100	240	96	未测量	未测量
实施例 3 非对映 异构体 2	8.9	100	1600	94	1.2	100
实施例 4 非对映 异构体 1	2.4	72	1200	57	未测量	未测量
实施例 4 非对映 异构体 2	7.5	93	1900	52	2.6	100

[0328] 表1中显示的体外结果表明(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺的不同药代动力学血浆分布可通过使用不同的(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺前药来实现。因此,特定前药的选择将允许实现不同的(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺的药代动力学分布,也就是说,可将不同的前药用于实现向(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺的慢或快的转化。使用的人肠液(HIF)、人肝脏和人血液测定以生成表1显示的结果,其已在Malmborg J&Ploeger BA, J Pharmacol Toxicol Methods (2013) May-Jun 67(3) 203-13进行了描述,其通过引入的方式并入本申请。

[0329] 实施例14

[0330] 该实施例表明可使用其中R1是的不同的(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺的前药以实现转化成(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺的不同速率(即慢或快)来探明适当

的PK分布。因此,改变R1以产生不同的前药导致(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺的不同药代动力学分布。此外,该实施例表明当将前药转化为游离碱时在口服暴露中不存在预期损失。

[0331] 其中R1为的式(I)化合物的前药向(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺的

转化预期经由在脯氨酸C-末端处的酶水解发生,从而释放二肽和(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺。参与的酶预期为二肽基肽酶IV(DPPIV),其可通过用该酶的选择性抑制剂抑制转化来显示。DPPIV预期分布于人的整个机体。人肠液(HIF)、人肝脏S9组分和人全血已用于检查(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺前药的药代动力学特性以及不同机体隔室中(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺的形成速率和形成程度。Caco-2细胞已用于评估(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺的前药的渗透性和吸收潜力。由不同的(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺前药形成(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺的速率在测试测定中有所不同,特别是在人血液中,如表2所示。由(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺的不同前药展示的不同渗透性表明(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺的前药的全身暴露将取决于所选的前药而不同。

[0332] 表2

实施例	HIF 测定		人肝脏测定		人血液测定		Caco-2
	形成速率 HIF (k <sup>-1</sup> )	形成程度 HIF (%)	前药 Clint 人肝脏 S9 (ml/min/ mg)	形成程度 人肝脏 S9 (%)	形成速率 人血液 (k <sup>-1</sup> )	形成程度 人血液 (%)	Caco-2 Papp (10 <sup>-6</sup> cm/s)
5	4.1	88	120	87	6.5	93	1.4
6	2.7	72	73	88	4.5	90	0.07
7	2.3	86	33	83	1.1	59	1.6
8	2.6	97	51	94	1.1	86	3.2
12	3.8	87	69	100	8.9	93	8.6

[0334] 体外测定显示(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺的不同药代动力学血浆分布可通过使用不同的前药实现。因此,(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺的不同药代动力学分布可通过使用不同的前药实现。

[0335] 实施例15

[0336] 该实施例说明(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺的前药的口服给药与(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺的IV 1小时输注具有相似的药代动力学分布。

[0337] 基于体外数据,(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺(拉尼西明,lanicemine)显示在人中具有良好的口服生物利用度(>75%),但当作为静脉内推注给予时具有高于可接受水平的C<sub>max</sub>(相对其1小时输注的安全性分布而言)。用于评估(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺前药的实用性和可用性的一种选择标准是当将前药直接给予入血流时,该前药在保留(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺的口服/1小时iv输注特征(例如T<sub>max</sub>、C<sub>max</sub>、AUC)的同时降低活性部分的C<sub>max</sub>的潜力,由此减少可能的滥用(例如滥用倾向)和/或C<sub>max</sub>驱动的安全性隐患。作为在人中鉴别具有适当的药代动力学分布的前药的方式,针对(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺和每种所考虑的前药构建了多隔室、基于生理学的药代动力学模型(PBPK)。使用可针对其获得人PK数据的一系列已知的前药验证了PBPK模型(参见Malmborg J&Ploeger BA, J Pharmacol Toxicol Methods(2013)May-Jun 67(3) 203-13,其通过引入的方式并入

本申请)。在模型中使用的速率常数是基于用前药和(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺(实施例值示于表1和2)进行的体外稳定性研究(即人肠液、人血液等)。

[0338] 表3显示了对于实施例5—一种DPPIV断裂的前药的关键性药代动力学预测。如表3中例举,当给定口服剂型粉碎并不适当地作为推注i.v.给予递送时,预测(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺的C<sub>max</sub>暴露增加>2x。与之相反,从口服给予的前药释放的(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺具有与(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺的1小时输注相似的PK分布,且当作为推注i.v.给药时,无C<sub>max</sub>倍增。此外,由于向(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺的转化由DPPIV选择性驱动,在故意或非故意滥用中可使用DPPIV抑制剂停止转化,这使得增加的安全性特征嵌入该DPPIV前药设计中。

[0339] 表3中,化合物1是(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺。表3中,将全部剂量选择为包含相等量的化合物1[(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺游离碱],即每种剂量在其中包含相同量的化合物1且潜在地可释放游离碱形式的(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺。因此如表3所示,游离碱化合物1的模型化C<sub>max</sub>浓度可直接与(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺和(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺前药的不同给药进行比较。

[0340] 表3

	化合物1 (IV-推注) 模型预测	化合物1 (IV-推注) 模型预测	来自前药的 化合物1 (IV-推注) 模型预测	化合物1 (口服) 模型预测	来自前药的 化合物1 (口服) 模型预测
[0341] 剂量	100 mg	114 mg	270 mg	114 mg	270 mg
T <sub>max</sub>	1h	0.11h	0.47h	0.88h	1.1h
C <sub>max</sub>	825ng/ml	1821ng/ml	825ng/ml	825ng/ml	825ng/ml
AUC	7590	8723	9089	6967	8251

[0342] 实施例16

[0343] 该实施例说明当将(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺二盐酸盐的前药(实施例5)和(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺二盐酸盐给予至狗,如通过NOEL和LOEL所示,使用前药癫痫发作的风险较小。

[0344] 将(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺二盐酸盐和媒介物每日一次经由口服管饲(水)给予。制剂每周制备两次、一次。储存给药制剂并在棕色玻璃容器中冷藏(2-8℃)直至需要给药时。在媒介物中制备一定浓度范围的(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺二盐酸盐进而保持全部剂量的剂量体积(1mL/kg)。单独的剂量是基于用于该研究中的狗的最近体重。

[0345] 将(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺作为富马酸盐的前药(实施例5)和媒介物经由口服管饲在每日以大约相同的时间(±1小时)每日给予一次持续14天(媒介物是0.3M葡萄糖酸pH 3.0)。在媒介物中制备了一定浓度范围的(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺作为富马酸盐的前药(例如3、10和30mg/mL的(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺前药),进而为全部剂量保持剂量体积(2mL/kg)。在给药前,将给药制剂通过搅拌至少30分钟温热至室温,且贯

穿整个给药操作持续搅拌。单独的剂量是基于在该研究中使用的狗的最近体重。

[0346] 表4化合物1是(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺。表4说明了在给予化合物1二盐酸盐后和给予化合物1的富马酸盐前药后,其中癫痫未发作的最高血液水平(未观察到作用极限,NOEL)和其中癫痫发生的最低血液水平(观察到最低的作用极限,LOEL)。在每种情况中,测量了游离碱(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺的最高血液浓度(C<sub>max</sub>)。在第一种情况中,游离碱(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺直接从作为二盐酸盐给予的化合物1生成。在第二种情况中,游离碱(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺经由作为富马酸盐给予的化合物1的前药的体内转化生成。作为富马酸盐给予的(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺前药与作为二盐酸盐给予的(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺前药相比,癫痫的NOEL更高。

[0347] 表4

[0348]	给予的治疗	狗中的 NOEL 癫痫 化合物 1 C <sub>max</sub> (给予的剂量)*	狗中的 LOEL 癫痫 化合物 1 C <sub>max</sub> (给予的剂量)*
	化合物 1, 其为二 HCl 盐	3-6 uM (10 mg/kg)	6-8 uM (20 mg/kg)
	化合物 1 的前药, 其为富马酸盐	10 uM (20 mg/kg)	20-36 uM (60 mg/kg)

[0349] \*给予的全部剂量(在括号中)反映了游离碱的浓度。

[0350] 实施例17

[0351] 该实施例说明了实施例5的(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺前药的剂量的增加在人肠液中产生低于成比例增加水平的(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺的浓度增加,如图1a和1b所示。结果,其使得(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺前药的给药难于获得相对直接给予(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺而言的高浓度的(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺,这对于药物滥用是需要寻求的。不希望受到理论限制,其中R1是的(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺的前药首先由DPPIV断裂。存在潜在的DPPIV的内源和/或外源调节以影响前药向(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺的转化。

[0352] 通过将一定体积(8.25、25、75和150μL)的20mmol/L(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺前药在DMSO中的溶液添加至FaSSIF-v2(491.75、475、425和350μL),制备了(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺前药的储备溶液(0.33、1、3和6mmol/L)。随后,将10μL(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺前药的储备溶液添加至玻璃瓶中的上清液(90μL HIF)中,混合1分钟,并注射在LC-UV系统上。孵育物的初始浓度为33、100、300和600μmol/L且从孵育开始的5、20、35、65和125分钟取样。将使用(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺(μmol/L)的孵育试验用作标准样品(单点校准)以确定(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺的形成速率和浓度。在与Waters Acquity UPLC偶联的光电二极管阵列检测器上实施分析(使用的分析波长为261nm)。使用的柱为保持在40℃并使用0.2μL串联预过滤器的BEH C-18,1.7μm,2.1×50mm ID。使用的流动相由A:H<sub>2</sub>O中0.03%TFA(v/v)和B:乙腈(v/v)中的0.03%TFA组成。示例梯度:以0.6mL/min的流速在7分钟内将初始1%B升高至95%B且随后保持在95%B持续0.4分钟。前药向(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺的转化速率通过将测量的前药和(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺浓度与时间拟合来确定。



[0353] 实施例18

[0354] 与从实施例17的体外观察一致,大鼠中的体内研究(下文实施例18)说明了如上文所述的(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺的C<sub>max</sub>暴露在(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺前药的治疗和超治疗剂量间的转变过程后以低于按比例增加的水平增加。这些体内研究结果在表5中列出。

[0355] 对52只雄性和52只雌性大鼠给予(a)在媒介物(0.3M葡萄糖酸,pH 3.0)中的作为富马酸盐的(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺前药或(b)媒介物(0.3M葡萄糖酸,pH 3.0),在每日以大约相同的时间(09:26+/-124分钟)每日一次给予,持续14日。将剂量(30、100和300mg/kg的(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺的前药)以10mL/kg的剂量体积给予。14天后,在给药后24小时从受限制动物的侧尾静脉收集血样。使用50ul中性Sarstedt Minivette POCT毛细管收集血样。随后将血液转移至包含冰冻柠檬酸钠的预先冷却的管中,用手晃动5-10次并在收集的10秒内干冰中冷冻。将全血样品在干冰上冷冻运输至Covance Laboratories Inc.以用于分析。分析样品的(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺前药和(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺的浓度。全部分析工作由Covance Laboratories, Inc., Madison, Wisconsin使用由该实验室开发并验证的LC/MS/MS分析方法实施。

[0356] 表5说明了给予治疗和超治疗剂量的(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺前药至大鼠后的毒物代谢动力学参数。

[0357] 表5

[0358] 口服给予(S)-1-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰基)-N-((S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙基)吡咯烷-2-甲酰胺富马酸盐(实施例5)14天后大鼠中(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺的平均毒物代谢动力学参数

[0359]

(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺-雄性(14天)			
剂量	30 mg/kg/天 (75 μmol/kg/天)	100 mg/kg/天 (250 μmol/kg/天)	300 mg/kg/天 (750 μmol/kg/天)
C <sub>max</sub> (nmol/L)	9980 ± 890	20700 ± 7660	50700 ± 18700
AUC <sub>0-t</sub> (nmol·hr/L)	133000 ± 11100	305000 ± 96600	784000 ± 180000
T <sub>max</sub> (小时)	3.33 ± 2.52	3.00 ± 0	1.54 ± 1.27
(S)-1-苯基-2-(吡啶-2-基)乙胺-雌性(14天)			
剂量	30 mg/kg/天 (75 μmol/kg/天)	100 mg/kg/天 (250 μmol/kg/天)	300 mg/kg/天 (750 μmol/kg/天)
C <sub>max</sub> (nmol/L)	11900 ± 1990	32400 ± 2750	83800 ± 8810
AUC <sub>0-t</sub> (nmol·hr/L)	14600 ± 10000	402000 ± 14000	1150000 ± 319000
T <sub>max</sub> (小时)	3.00 ± 0	1.67 ± 1.15	2.67 ± 2.89

[0359]

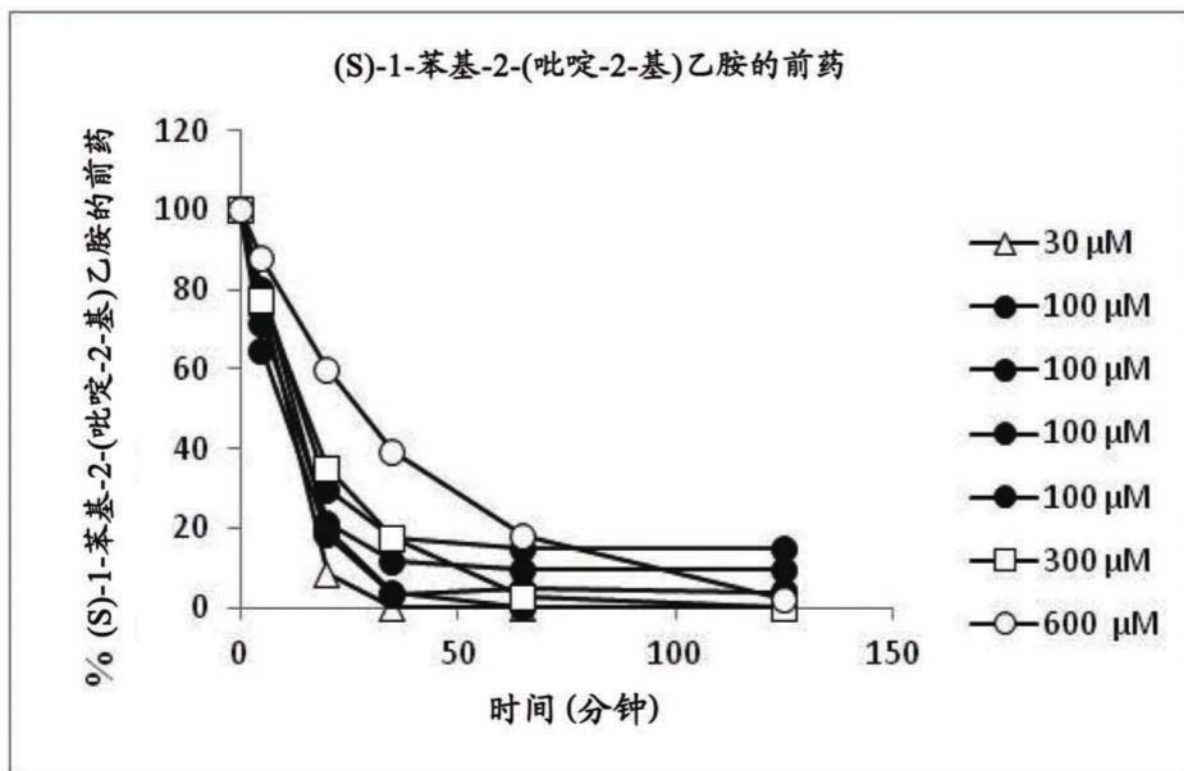


图1a

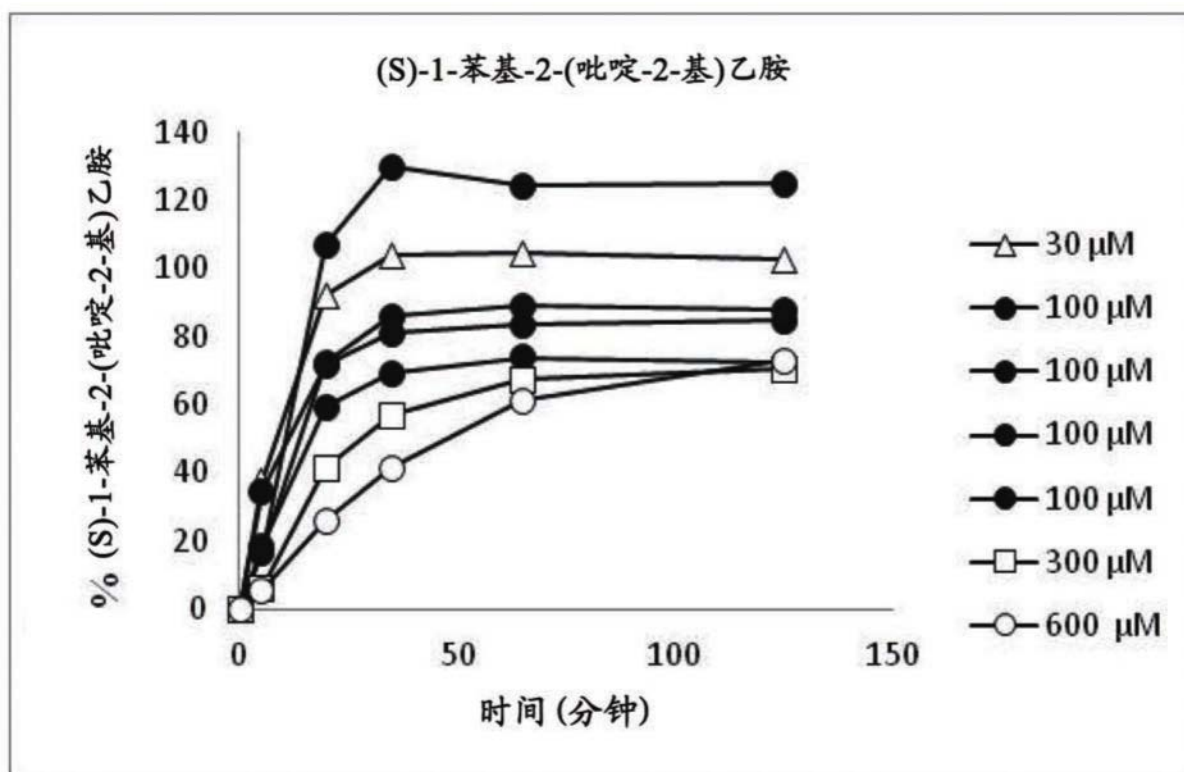


图1b