(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 116113415 A
(43)申请公布日 2023.05.12

(21)申请号 202180055830.2
(22)申请日 2021.06.08
(30)优先权数据
63/036,561 2020.06.09 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2023.02.08
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2021/036335 2021.06.08
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2021/252446 EN 2021.12.16
(71)申请人 联合治疗公司
地址 美国马里兰州
申请人 曼金德公司
(72)发明人 H·巴特拉 L·郭 P·珀森
S·H·图马拉 E·A·哈里斯
(74)专利代理机构 北京华睿卓成知识产权代理事务所(普通合伙) 11436
专利代理师 程淼 刘海
(51)Int.Cl.
A61K 31/4965(2006.01)

权利要求书3页 说明书18页

(54)发明名称

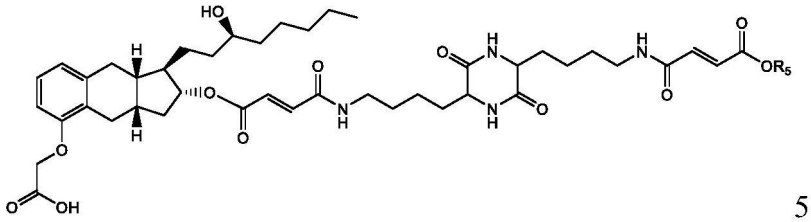
曲前列尼尔的富马酰基二酮哌啶前药

(57)摘要

本发明提供了新型曲前列尼尔类化合物及其治疗方法和制备方法。

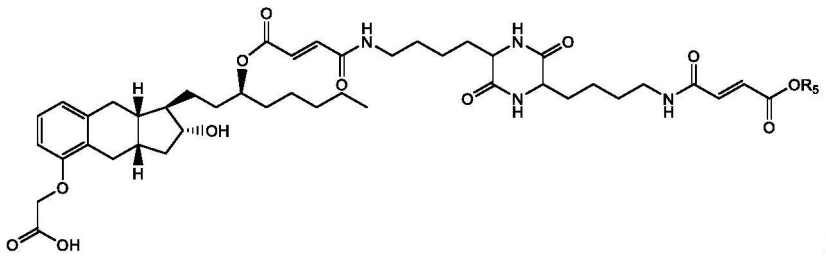
CN 116113415 A

1.式5a或5b的化合物：



5a；

或其药学上可接受的



5b，

盐，

其中R_5是H或聚合物载体。

2.根据权利要求1所述的化合物，其中所述化合物是式5a的化合物。

3.根据权利要求1所述的化合物，其中所述化合物是式5b的化合物。

4.根据权利要求1-3中任一项所述的化合物，其中R_5是H。

5.根据权利要求1-3中任一项所述的化合物，其中R_5是聚合物载体。

6.根据权利要求5所述的化合物，其中所述聚合物载体是聚乙二醇载体。

7.一种药学上可接受的批料，包含权利要求1-6中任一项所述的化合物，纯度为至少90％。

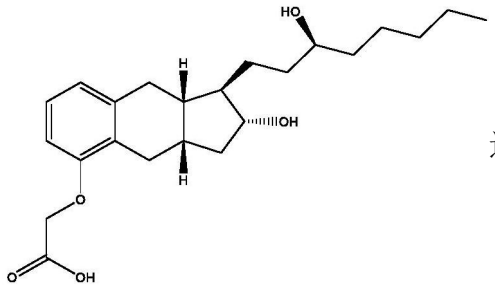
8.根据权利要求7所述的批料，纯度为至少95％。

9.根据权利要求8所述的批料，纯度为至少98％。

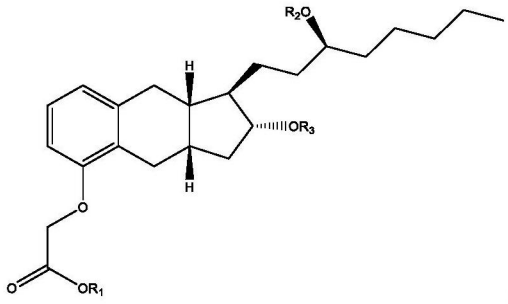
10.一种药物组合物，包含权利要求1-6中任一项所述的化合物和药学上可接受的赋形剂。

11.一种制备FDKP-曲前列尼尔化合物的方法，包含：

i)对曲前列尼尔(1)



进行双保护以形成双保护的曲前列尼尔部分(2)

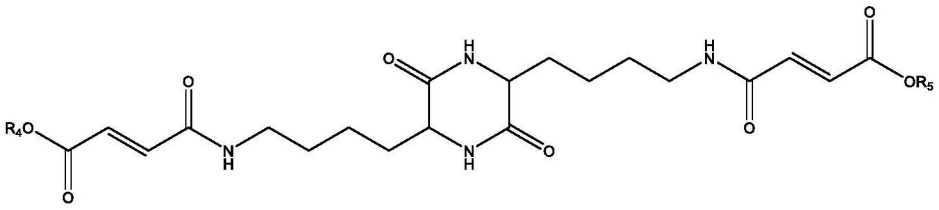


其中R_1是羧酸保护基团，并且其中

，

a)R_2是H且R_3是羟基保护基团，或者b)R_2是羟基保护基团且R_3是H；

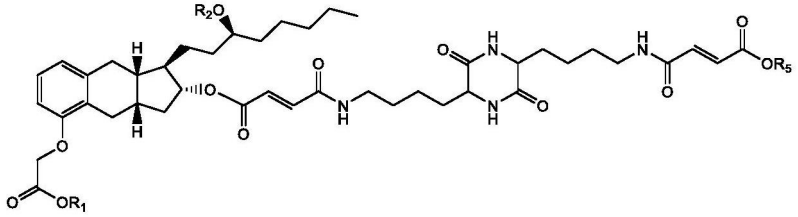
ii)使所述双保护的曲前列尼尔部分与式(3)化合物



反应，

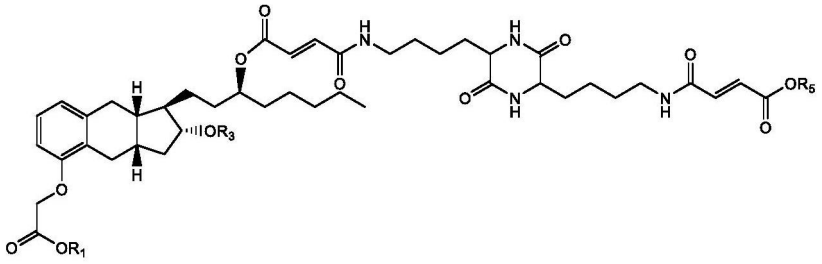
（3）

其中R_4是H，以形成具有式(4a)或(4b)的双保护的FDKP-曲前列尼尔化合物，



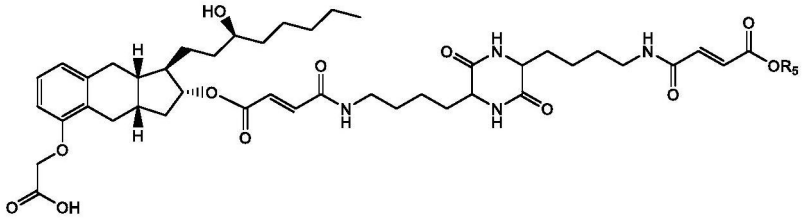
（4a）

和

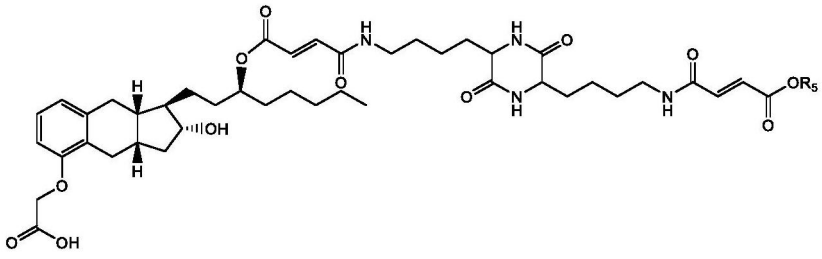


（4b）；

iii)对所述双保护的FDKP-曲前列尼尔化合物进行去保护以形成具有式(5a)或(5b)的FDKP-曲前列尼尔化合物



（5a）



（5b）。

12.根据权利要求11所述的方法，其中R_1是硅基羧酸保护基团或者取代或未取代的苄基羧酸保护基团。

13.根据权利要求12所述的方法，其中R_1是硅基羧酸保护基团，其选自三甲基硅基、三乙基硅基、三异丙基硅氧基甲基、三异丙基硅基、叔丁基二甲基硅基、叔丁基二苯基硅基和苯基二甲基硅基。

14.根据权利要求13所述的方法，其中R_1是三甲基硅基。

15.根据权利要求12所述的方法，其中R_1是取代或未取代的苄基羧酸保护基团。

16.根据权利要求15所述的方法，其中R_1是苄基基团。

17.根据权利要求11-16中任一项所述的方法，其中所述R_2是H，且R_3是羟基保护基团，所述双保护的FDKP-曲前列尼尔化合物具有式(4b)，并且所述FDKP-曲前列尼尔化合物具有式(5b)。

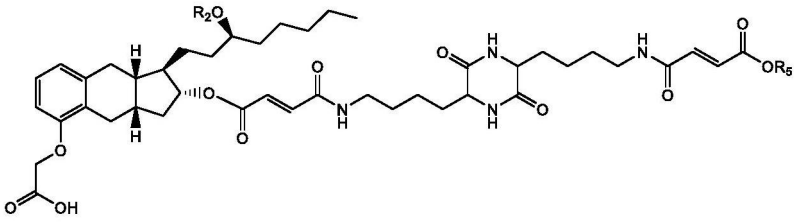
18.根据权利要求11-16中任一项所述的方法，其中所述R_3是H，且R_2是羟基保护基团，所述双保护的FDKP-曲前列尼尔化合物具有式(4a)，并且所述FDKP-曲前列尼尔化合物具有式(5a)。

19.根据权利要求11-17中任一项所述的方法，其中所述双保护的曲前列尼尔部分与式(3)化合物的反应是在碳二亚胺和亲核催化剂存在下于极性溶剂中进行的。

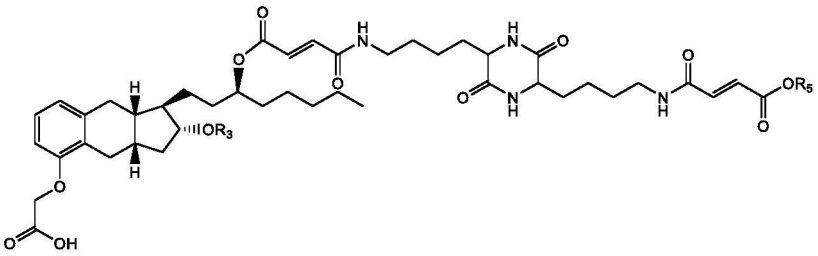
20.根据权利要求19所述的方法，其中所述碳二亚胺包含1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺，所述亲核催化剂包含括4-二甲基氨基吡啶，所述极性溶剂是N,N-二甲基乙酰胺或N,N-二甲基甲酰胺。

21.根据权利要求19或20所述的方法，其中所述反应在有机碱存在下进行。

22.根据权利要求15或16所述的方法，其中所述去保护包括对所述双保护的FDKP-曲前列尼尔化合物进行去保护以形成式(6a)或(6b)的单保护的FDKP-曲前列尼尔化合物：



（6a）



（6b）。

23.根据权利要求22所述的方法，其中在化学选择性苄基裂解剂的存在下，对所述双保护的FDKP-曲前列尼尔化合物进行去保护以形成所述单保护的FDKP-曲前列尼尔化合物。

24.根据权利要求24所述的方法，其中所述化学选择性裂解剂是三甲基氢氧化锡。

25.根据权利要求11-24中任一项所述的方法，其中所述FDKP-曲前列尼尔化合物的纯度为至少90％。

26.一种治疗曲前列尼尔可治疗病症的方法，包含向有需要的受试者施用权利要求1-6中任一项所述的化合物。

27.根据权利要求26所述的方法，其中所述病症是肺高压。

28.根据权利要求27所述的方法，其中所述病症是肺动脉高压。

曲前列尼尔的富马酰基二酮哌啶前药

[0001] 相关申请的交叉引用

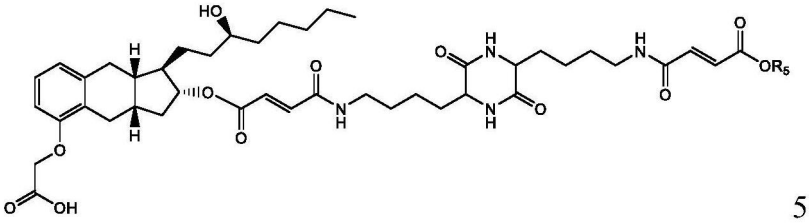
[0002] 本申请要求2020年6月9日提交的美国临时申请号63/036,561的优先权,该临时申请以全文引用方式并入。

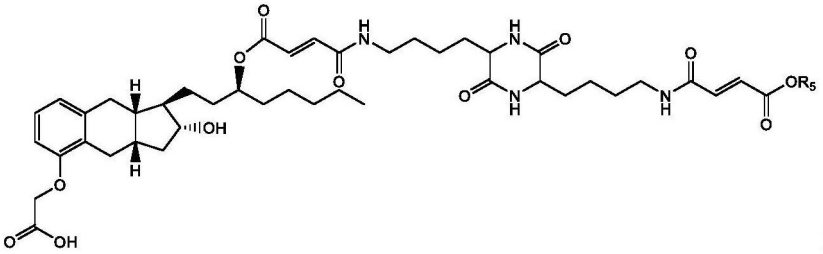
技术领域

[0003] 本申请总体上涉及前列环素,更具体地,涉及曲前列尼尔的前药以及此类前药的制备方法和使用方法。

发明内容

[0004] 一个实施方案是式5a或5b的化合物:

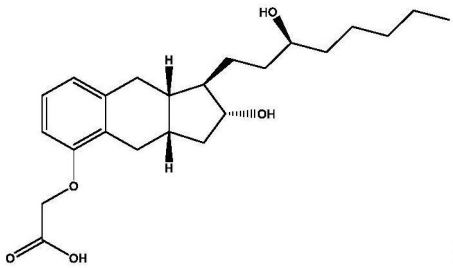
[0005]  5a;

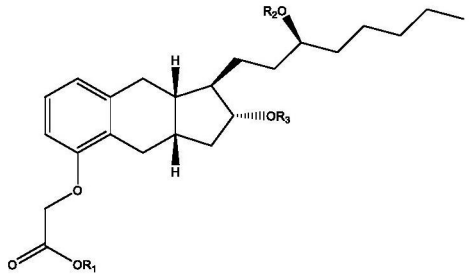
[0006]  5b,或其药学上可接受的盐,

[0007] 其中R_5是H或聚合物载体。

[0008] 另一个实施方案是药学上可接受的批料,包含纯度为至少90%的前述实施方案化合物。另一个实施方案是包含前述实施方案化合物的药物组合物。

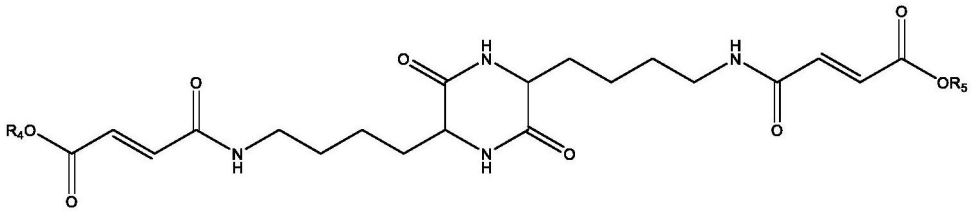
[0009] 另一个实施方案是制备FDKP-曲前列尼尔化合物的方法,包含:

[0010] i)对曲前列尼尔(1)  进行双保护以形成双保护的

曲前列尼尔部分(2)  其中R_1是羧酸保护基团,并且其中

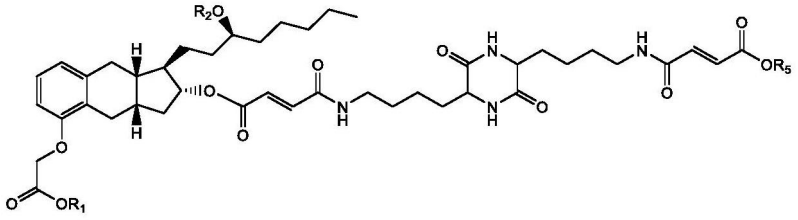
a)R_2是H且R_3是羟基保护基团或者b)R_2是羟基保护基团且R_3是H;

[0011] ii)使所述双保护的曲前列尼尔部分与式(3)化合物反应

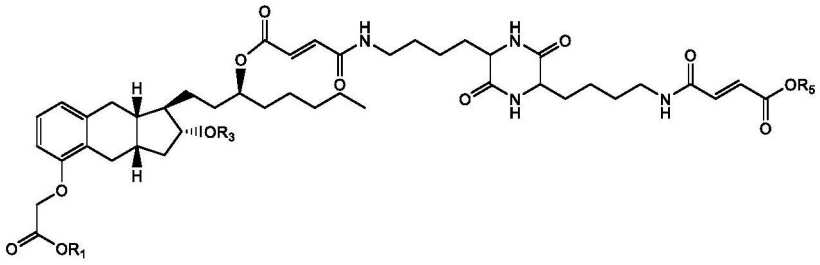
[0012]  其

（3），

中R_4是H,以形成具有式(4a)或(4b)的双保护的FDKP-曲前列尼尔化合物;

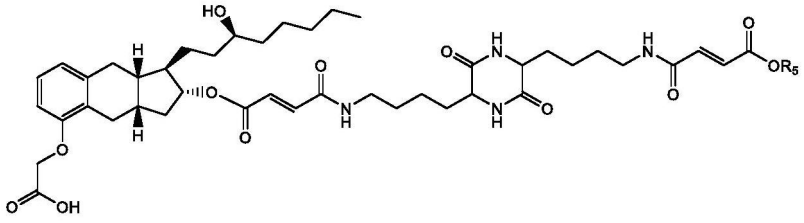
[0013] 

（4a）

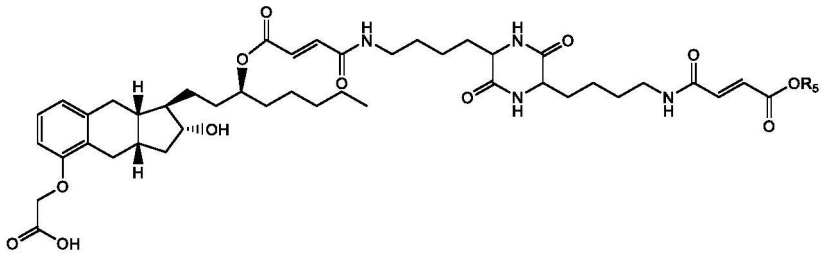
[0014]  和

（4b）;

[0015] iii)对所述双保护的FDKP-曲前列尼尔化合物进行去保护以形成具有式(5a)或(5b)的FDKP-曲前列尼尔



（5a）

[0016] 

（5b）。

[0017] 另一个实施方案是一种治疗曲前列尼尔可治疗病症的方法,包含向有需要的受试

者施用前述实施方案的化合物。

具体实施方式

[0018] 如此处和权利要求书中所使用的，除非上下文另有明确规定，单数形式“一个”(a)、“一个”(an)和“所述”包括复数指称。在本说明书中，除非另有说明，否则“包含”(comprise)、“包含”(comprises)和“包含”(comprising)的使用均是涵盖性而非排他性的。除非“或”一词被“任一”(either)修饰，否则该词也是涵盖性的。因此，除非上下文或明确的表述另有说明，否则“或”指特定列表中的任何一成员，也包括该列表中成员的任何组合。除了在实施例中，或在另有说明的情况下，表示本文所用成分或反应条件的量的所有数字都应理解为在所有情况下由“约”一词修饰。

[0019] 标题仅为方便而设，不应解释为以任何方式限制本发明。除非另有定义，否则本文使用的所有技术和科学术语与本领域普通技术人员通常理解的术语含义相同。本文使用的术语仅用于描述特定实施方案，并不旨在限制本发明的范围，本发明的范围仅由权利要求书限定。为了使本公开更容易理解，首先定义了某些术语。附加定义所有数值名称，例如pH、温度、时间、浓度和分子量，包括其范围，均为近似值，以1％、5％或10％的增量(+)或(-)变化。应当理解，尽管并非总是明确表示，所有的数字名称前面都有“约”一词。还应当理解，虽然并非总是明确地表示，本文描述的试剂仅仅是示例性的，并且这些试剂的等价物在本领域中是公知的，并且在整个具体实施方式中都有阐述。

[0020] “HPLC”指高效液相色谱法。

[0021] “NMR”指核磁共振。

[0022] “FDKP”指富马酰基2,5-二酮哌嗪或(E)-3,6-双[4-(N-羰基-2-丙烯基)氨基丁基]-2,5-二酮哌嗪。

[0023] “RRT”指相对保留时间。

[0024] “TMSE”指三甲基硅基乙基酯。

[0025] “TMBDS”指叔丁基二甲基硅基。

[0026] “EDCI”指1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺。

[0027] “DMAP”指4-二甲基氨基吡啶。

[0028] “DMA”指N,N-二甲基乙酰胺。

[0029] “DMF”指N,N-二甲基甲酰胺。

[0030] “TBAF”指四正丁基氟化铵。

[0031] “THF”指四氢呋喃。

[0032] “LCMS”指液相色谱质谱。

[0033] “IR”指红外光谱。

[0034] “TFA”指三氟乙酸。

[0035] “DIEA”或“DIPEA”指N,N-二异丙基乙胺。

[0036] “DQF-COSY”是指双量子滤波相关光谱。

[0037] “ACN”指乙腈。

[0038] “HOBt”指羟基苯并三氮唑。

[0039] “DEPT-NMR”指极化转移无畸变增强核磁共振。

[0040] 如本文所使用的,“保护基团”或“保护性基团”是本领域已知的,并如T.W.Green,P.G.M.Wuts,Protective Groups in Organic Synthesis,Wiley Interscience,New York,1999(以下简称“Greene,Protective Group in Organic Synthesis”)中所示,该文献通过全文引用的方式并入本文,以提供关于保护性基团的教导。

[0041] 如本文所用,“羟基保护性基团”或“羟基保护基团”是指通常理解的醇或羟基保护基团的定义,如T.W.Green,P.G.M.Wuts,Protective Groups in Organic Synthesis,Wiley-Interscience,New York,1999中所定义的。

[0042] 如本文所用,“羧酸保护基团”、“羧基保护基团”、“羧酸保护性基团”和“羧基保护性基团”是指一般理解的羧基保护基团定义,如T.W.Green,P.G.M.Wuts,Protective Groups in Organic Synthesis,Wiley-Interscience,New York,1999中所限定的。

[0043] 如本文所用,当在基团之前使用时,C_m-C_n,如C_1-C_{12}、C_1-C_8或C_1-C_6,是指含有m至n个碳原子的基团。

[0044] “任选取代的”是指选自该基团和该基团的取代形式的基团。取代基可包括以下限定基团的任一种。在一个实施方案中,取代基选自C_1-C_{10}或C_1-C_6烷基、取代的C_1-C_{10}和C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_6-C_{10}芳基、C_3-C_8环烷基、C_2-C_{10}杂环基、C_1-C_{10}杂芳基、取代的C_2-C_6烯基、取代的C_2-C_6炔基、取代的C_6-C_{10}芳基、取代的C_3-C_8环烷基、取代的C_2-C_{10}杂环基、取代的C_1-C_{10}杂芳基、卤代基、硝基、氰基、-CO_2H或其C_1-C_6烷基酯。

[0045] “药学上可接受的盐”是指化合物的盐,这些盐适用于医药用途,并且源自本领域众所周知的各种有机和无机抗衡离子。当所述化合物含有酸性官能度时,药学上可接受的盐包括,仅作为实例,钠、钾、钙、镁、铵,和四烷基铵。当所述分子含有碱性官能度时,药学上可接受的盐包括有机或无机酸的盐,如盐酸盐、氢溴酸盐、酒石酸盐、甲磺酸盐、乙酸盐、马来酸盐和草酸盐。Stahl and Wermuth,eds.,“Handbook of Pharmaceutically Acceptable Salts,”(2002),Verlag Helvetica Chimica Acta,Zürich,Switzerland),通过引用并入本文用于提供与药学上可接受的盐相关教导,讨论了各种药学盐及其选择、制备和用途。

[0046] “肺高压”是指世界卫生组织第1-5类所有形式的肺高。肺动脉高压(也称为PAH)是指世界卫生组织第1类肺高压。PAH包括特发性、遗传性、药物或毒素诱导的新生儿持续性肺高压(PPHN)。

[0047] 通常,药学上可接受的盐是那些基本上保留母体化合物一种或更多种所需药理活性并且适合体内施用的盐。药学上可接受的盐包括与无机酸或有机酸形成的酸加成盐。适用于形成药学上可接受的酸加成盐的无机酸包括,例如但不限于,氢卤酸(例如,盐酸、氢溴酸、氢碘酸等)、硫酸、硝酸、磷酸等。

[0048] 适于形成药学上可接受的酸加成盐的有机酸包括,例如但不限于,乙酸、三氟乙酸、丙酸、己酸、环戊烷丙酸、乙醇酸、草酸、丙酮酸、乳酸、丙二酸、琥珀酸、苹果酸、马来酸、富马酸、酒石酸、柠檬酸、棕榈酸、苯甲酸、3-(4-羟基苯甲酰基)苯甲酸、肉桂酸、扁桃酸、烷基磺酸(例如甲基磺酸、乙基磺酸、1,2-乙二磺酸、2-羟乙基磺酸等)、芳基磺酸(例如苯磺酸、4-氯苯磺酸、2-萘磺酸、4-甲苯磺酸、樟脑磺酸等)、谷氨酸、羟基萘甲酸、水杨酸、硬脂酸、粘康酸等。

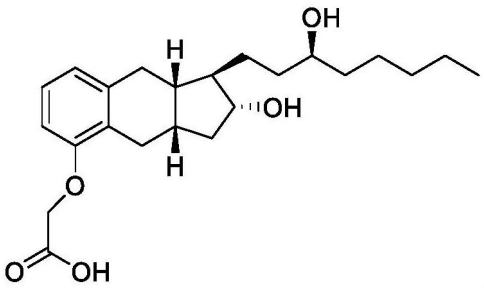
[0049] 药学上可接受的盐还包括当母体化合物中存在的酸性质子被金属离子(例如,碱

金属离子、碱土金属离子或铝离子)或铵离子(例如,源自有机碱的铵离子,例如乙醇胺、二乙醇胺、三乙醇胺、吗啉、哌啶、二甲胺、二乙胺、三乙胺和氨)取代时形成的盐。

[0050] 美国专利号4,306,075中描述了Remodulin®(曲前列尼尔)注射液、Tyvaso®(曲前列尼尔)吸入溶液和Orenitram®(曲前列尼尔)缓释片中的活性成分曲前列尼尔。例如,曲前列尼尔和其他前列环素衍生物的制备方法在以下中进行说明:Moriarty,et al.,J.Org.Chem.2004,69,1890-1902,Drug of the Future,2001,26(4),364-374,美国专利号6,441,245、6,528,688、6,700,025、6,809,223、6,756,117、8,461,393、8,481,782、8,242,305、8,497,393、8,940,930、9,029,607、9,156,786和9,388,154、9,346,738,美国公布的专利申请号2012-0197041、2013-0331593、2014-0024856、2015-0299091、2015-0376106、2016-0107973、2015-0315114、2016-0152548和2016-0175319,PCT公开号WO2016/0055819和WO2016/081658。

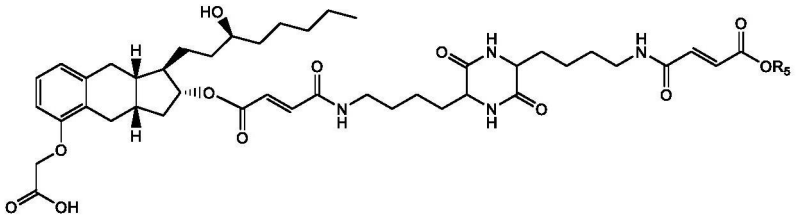
[0051] 例如,曲前列尼尔的各种用途和/或各种形式在以下中进行说明:美国专利号5,153,222、5,234,953、6,521,212、6,756,033、6,803,386、7,199,157、6,054,486、7,417,070、7,384,978、7,879,909、8,563,614、8,252,839、8,536,363、8,410,169、8,232,6316、8,609,728、8,350,079、8,349,892、7,999,007、8,658,694、8,653,137、9,029,607、8,765,813、9,050,311、9,199,908、9,278,901、8,747,897、9,358,240、9,339,507、9,255,064、9,278,902、9,278,903、9,758,465、9,422,223、9,878,972、9,624,156;美国公布的专利申请号2009-0036465、2008-0200449、2008-0280986、2009-0124697、2014-0275616、2014-0275262、2013-0184295、2014-0323567、2016-0030371、2016-0051505、2016-0030355、2016-0143868、2015-0328232、2015-0148414、2016-0045470、2016-0129087、2017-0095432、2018-0153847和PCT公开号WO00/57701、WO20160105538、WO2016038532、WO2018/058124。

[0052] 曲前列尼尔的化学式如下:

[0053] 

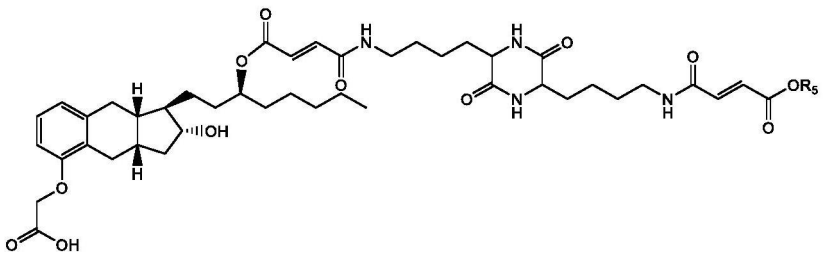
。

[0054] 本发明人开发了曲前列尼尔前药,其为式(5a)或(5b)的化合物:



（5a）；

[0055]



（5b），

[0056] 或其药学上可接受的盐。在式(5a)和(5b)中，R_5是H或聚合物载体，例如聚乙二醇(PEG)载体、脂肪醇载体或脂肪胺载体。

[0057] 在一些实施方案中，所述聚合物载体(例如PEG载体)的平均分子量(例如数均分子量)可为约200至约200,000。在一些实施方案中，所述聚合物载体(例如PEG载体)的平均分子量(如数均分子重量)可约为200至约80000，在一些实施方案中，所述聚合物载体可以是PEG 1500、PEG 4000、PEG 5000、PEG 8000、PEG 10,000、PEG 15,000、PEG 20,000和PEG 25,000。在一些实施方案中，所述聚合物载体可以为PEG 20,000。

[0058] 在一些实施方案中，所述脂肪醇载体包括C_1-C_{20}醇。在一些实施方案中，所述脂肪醇载体是饱和的或不饱和的。在一些实施方案中，所述脂肪醇载体是饱和脂肪醇载体，例如1-己醇、1-庚醇、1-辛醇、1-壬醇、1-癸醇等。在一些实施方案中，所述脂肪醇载体是不饱和脂肪醇载体，例如10-十一烯-1-醇、(Z)-9-十八烯-1-醇、(E)-9-十八烯-1-醇和(Z,Z)-9,12-十八碳二烯-1-醇等。本领域已知的其他脂肪醇可用作所述脂肪醇载体，例如，K.Nowek et al.,(2012)‘Fatty Alcohols’in Ullmann’s Encyclopedia of Industrial Chemistry.Wiley-VCH Verlag GmbH&Co.KGaA中公开的脂肪醇。特此将该文献的全部内容并入本文以提供脂肪醇的教导。

[0059] 在一些实施方案中，R_5是脂肪胺载体，并与羧基基团形成酰胺键。在一些实施方案中，所述脂肪胺载体包含C_1-C_{20}胺。在一些实施方案中，所述脂肪胺载体是饱和的或不饱和的。在一些实施方案中，所述脂肪胺载体是饱和脂肪胺载体，例如1-己胺、1-庚胺、1-辛胺、1-壬胺、1-癸胺等。在一些实施方案中，所述脂肪胺载体是不饱和的脂肪胺载体，例如10-十一烯-1-胺、(Z)-9-十八烯-1-10-十一烯-2-胺、(E)-9-十八烯-1-10-十一烯-1-胺、(Z,Z)-9,12-十八碳二烯-1-10-十一烯-1-胺等。本领域已知的其他脂肪胺可用作所述脂肪胺载体，例如，K.Eller et al.,(2012)‘Fatty Amines’in Ullmann’s Encyclopedia of Industrial Chemistry.Wiley-VCH Verlag GmbH&Co.KGaA中公开的脂肪胺。特此将此文献的全部内容并入本文，以提供脂肪胺的教导。

[0060] 当给受试者(如人)施用时，所述前药可通过例如化学裂解或酶裂解进行体内生物转化，从而向所述受试者递送有效量的曲前列尼尔。

[0061] 药物组合物

[0062] 曲前列尼尔前药可以药物组合物的形式提供，所述药物组合物还可以包含药学上

可接受的载体、赋形剂、粘合剂、稀释剂等。此类药物组合物可以通过本领域已知的方法生产，例如造粒、混合、溶解、包封、冷冻干燥、乳化或磨细工艺等。所述组合物的形式可以是例如颗粒剂、粉末、片剂、胶囊剂、糖浆、栓剂、注射剂、乳剂、酏剂、悬浮液和溶液。所述组合物可配制用于多种不同的施用途径，例如口服施用、经粘膜施用、直肠施用、经皮施用或皮下施用，以及鞘内、静脉内、肌肉内、腹腔内、鼻内、眼内或脑室内注射。所述曲前列尼尔前药可通过上述任何途径施用，例如局部施用而非全身施用，包括以注射剂或缓释配方施用。

[0063] 在一些实施方案中，所述曲前列尼尔前药可通过吸入施用。所述曲前列尼尔可使用任何合适的技术或配方配制用于干粉吸入(DPI)。

[0064] 在一个实施方案中，所述药物组合物可以包含曲前列尼尔的前药和载体(例如无菌水)。在一些实施方案中，所述曲前列尼尔的前药配制用于皮下施用，并且这种配方可以或可以不包括间甲酚或其他防腐剂。

[0065] 对于口服、口腔和舌下施用，粉末、悬浮液、颗粒剂、片剂、丸剂、胶囊剂、软胶囊剂和囊片剂可以作为固体剂型使用。这些剂型可以例如通过将一种或更多种曲前列尼尔前药或其药学上可接受的盐与至少一种添加剂或赋形剂(如淀粉)或其他添加剂混合来制备。合适的添加剂或赋形剂可以是蔗糖、乳糖、纤维素糖、甘露醇、麦芽糖醇、右旋糖酐、山梨醇、淀粉、琼脂、藻酸酯、甲壳素、壳聚糖、果胶、黄冈胶、阿拉伯胶、明胶、胶原蛋白、酪蛋白、白蛋白、合成或半合成聚合物或甘油酯、甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素和/或聚乙烯吡咯烷酮。可选地，口服剂型可含有其他有助于施用的成分，如非活性稀释剂或润滑剂(如硬脂酸镁)，或防腐剂(如尼泊金酯或山梨酸)，或抗氧化剂(如抗坏血酸、生育酚或半胱氨酸)、崩解剂、粘合剂、增稠剂、缓冲剂、甜味剂、调味剂或芳香剂。此外，可添加染料或颜料以进行识别。片剂可以用本领域已知的合适包衣材料进一步处理。

[0066] 口服施用的液体剂型的形式可以是药学上可接受的乳剂、糖浆、酏剂、悬浮液、浆液和溶液，其可能含有非活性稀释剂(如水)。药物配方可以使用无菌液体(例如但不限于油、水、醇及它们的组合)制备成液体悬浮液或溶液。可添加药学上合适的表面活性剂、悬浮剂、乳化剂用于口服施用或肠道外施用。

[0067] 如上所述，悬浮液可以包括油。此类油包括但不限于花生油、芝麻油、棉籽油、玉米油和橄榄油。悬浮制剂还可含有脂肪酸的酯，如油酸乙酯、肉豆蔻酸异丙酯、脂肪酸甘油酯和乙酰化脂肪酸甘油酯。悬浮液配方可含有醇，例如但不限于乙醇、异丙醇、十六醇、甘油和丙二醇。醚(例如但不限于聚(乙二醇))、石油烃(例如矿物油和矿脂)；以及水也可以用于悬浮液配方中。

[0068] 可注射剂型通常包括水悬浮液或油悬浮液，其可使用合适的分散剂或润湿剂和悬浮剂制备。可注射剂型可以是溶液相或悬浮液形式，其用溶剂或稀释剂制备。可接受的溶剂或媒介物包括消毒水、林格氏液或等渗盐水溶液。或者，可以使用无菌油作为溶剂或悬浮剂。优选地，所述油或脂肪酸是非挥发性的，包括天然油或合成油、脂肪酸、单甘油酯、二甘油酯或三甘油酯。

[0069] 对于注射，所述药物配方可以是适合于用上述适当溶液重新配制的粉末。这些粉末的实例包括但不限于冷冻干燥、旋转干燥或喷雾干燥的粉末，无定形粉末、颗粒剂，沉淀物或微粒。对于注射，所述配方可任选含有稳定剂、pH调节剂、表面活性剂、生物利用度调节剂及它们的组合。所述化合物可通过注射(例如通过弹丸式注射或连续输注)配制用于肠道

外施用。注射用单位剂型可以装入安瓿或多剂量容器。除了上述那些代表性的剂型之外，药学上可接受的赋形剂和载体是本领域技术人员通常已知的，并且可以利用。此类赋形剂和载体例如在“Remingtons Pharmaceutical Sciences”Mack Pub.Co.,New Jersey(1991)说明，该文献通过引用并入本文。

[0070] 曲前列尼尔前药可配制成适合肠道外施用的配方，该配方可包括曲前列尼尔前药的无菌水性制剂或其药学上可接受的盐，其中所述制剂可与意向接受者的血液等渗。这些制剂可通过皮下注射施用，但也可通过静脉注射或肌肉注射或皮内注射施用。通过将所述化合物与水或甘氨酸或柠檬酸盐缓冲液混合并使所得溶液无菌且与血液等渗，可以方便地制备这种制剂。基于前药中曲前列尼尔的重量，可注射配方可含有0.1至5％w/v的前药，且可以0.1ml/min/kg的速率施用。或者，基于所述前药中曲前列尼尔的重量，前药可以0.625至50ng/kg/min的速率施用。或者，基于所述前药中曲前列尼尔的重量，前药可以10至15ng/kg/min的速率施用。

[0071] 在一些实施方案中，用于肠道外施用(例如静脉输注或皮下输注(包括连续皮下输注))的配方中曲前列尼尔前药的浓度可为0.0005至30mg/mL或0.0007至50mg/mL或0.001至15mg/mL或这些范围内的任何值或子范围。示例性浓度可包括0.1mg/mL、1mg/mL、2.5mg/mL、5mg/mL或10mg/mL。

[0072] 在一些实施方案中，可通过将所述前药与媒介物(如缓冲液)混合来制备用于肠道外施用(例如，静脉内输注或皮下输注(包括连续皮下输注))的曲前列尼尔前药配方。在某些实施方案中，所述媒介物可以是含磷酸盐媒介物，即至少一种磷酸盐，可以是例如磷酸氢二钠或磷酸氢二钾等二碱式磷酸盐，或磷酸三钠或磷酸钾等三碱式磷酸盐。在某些实施方案中，所述媒介物还可以含有卤盐，例如氯化盐，可以是例如氯化钠或氯化钾。所述卤盐，例如氯化钠，可用于调节媒介物的张力。在某些实施方案中，优选磷酸盐和卤盐具有相同的阳离子。例如，当磷酸盐是磷酸钠，例如磷酸三钠或磷酸三钠时，卤盐可以是钠卤盐，例如氯化钠。类似地，当磷酸盐是磷酸钾，例如磷酸三钾或磷酸三钾时，卤盐可以是钾卤盐，例如氯化钾。所述媒介物中的溶剂可能含有水。在某些实施方案中，水可以是所述媒介物中的唯一溶剂。然而，在某些实施方案中，所述媒介物还可以含有除了水之外一种或更多种另外的溶剂。在一些实施方案中，另外的溶剂可以是防腐剂，例如间甲酚。

[0073] 优选地，所述媒介物与患者(例如人)的血液等渗。术语“等渗”可能意味着所述媒介物的渗透压和离子浓度与患者(例如人)的渗透压和离子浓度相匹配。媒介物的非限制性实例包括磷酸盐缓冲盐水，所述盐水是含有磷酸氢二钠、氯化钠以及一些配方中氯化钾和磷酸二氢钾的水基盐溶液。其他实例可包括含有20mM磷酸氢二钠和125mM氯化钠的媒介物，以及含有15mM磷酸三钠、125mM氯化钠和0.3％w/w间甲酚的媒介物。

[0074] 治疗方法

[0075] 曲前列尼尔前药可用于治疗曲前列尼尔可治疗的疾病或病症，即已知曲前列尼尔对其有效的疾病或病症。在一些实施方案中，此类病症可以是肺高压。在一些实施方案中，所述曲前列尼尔前药可用于治疗肺动脉高压(PAH)。在一些实施方案中，所述曲前列尼尔前药可用于治疗世界卫生组织第1-5类肺高压中的一种或更多种。同样，本文所述的曲前列尼尔前药可用于治疗曲前列尼尔适用或有用的任何疾病或病症。所述曲前列尼尔前药可以作为唯一的治疗剂施用或与其他活性剂(包括曲前列尼尔)一起施用。

[0076] 在一些实施方案中，提供了一种治疗疾病或病症的方法，所述方法包含向受试者施用本文公开的化合物(例如，前药)或组合物。在一些实施方案中，所述疾病或病症是选自由以下组成的组的一种或更多种：肺高压、充血性心力衰竭、外周血管疾病、雷诺现象、硬皮病、肾功能不全、周围神经病变、指溃疡、间歇性跛行、缺血性肢体疾病、外周缺血性病变、肺纤维化和哮喘。在一些实施方案中，所述疾病是肺高压。

[0077] 施用可通过上述途径进行，或例如口服、静脉内、动脉内、肌肉内、鼻内、直肠、阴道或皮下进行。在一些实施方案中，所述组合物通过注射施用。在一些实施方案中，进行口服施用。在一些实施方案中，进行皮下施用。

[0078] 接受治疗的所述受试者可能是人、狗、猫、鸟、非人灵长类动物、牛或马。在优选实施方案中，所述受试者是人。

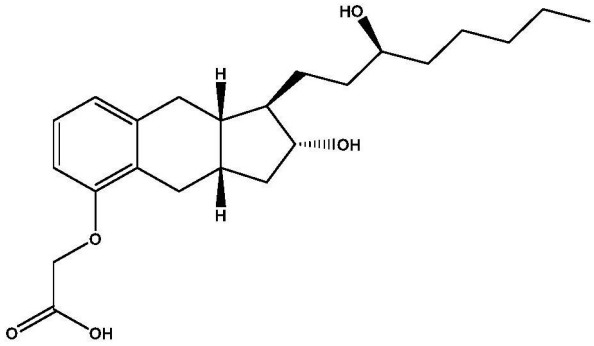
[0079] 在一些实施方案中，提供了一种治疗疾病或病症的方法，所述方法包括向受试者施用曲前列尼尔前药，其中在所述施用后，所述前药转化为代谢产物。所述代谢产物可以包含曲前列尼尔、基本上由其组成或由其组成。

[0080] 所述曲前列尼尔前药可以以有效量施用给受试者，如人。

[0081] 术语“有效量”可能指治疗疾病或病症(如肺高压)所需的曲前列尼尔前药的量。在一些实施方案中，曲前列尼尔前药的有效量可以与用于治疗相同疾病或病症的曲前列尼尔的有效量相同或相似。在一些实施方案中，曲前列尼尔前药的有效量可以不同于治疗相同疾病或病症的曲前列尼尔的有效量。本领域普通技术人员将能够基于例如相关疾病或病症，已知用于治疗、改善或预防疾病或病症的曲前列尼尔的量以及所述前药在体内转化为曲前列尼尔的速率来确定曲前列尼尔前药的“有效量”。

[0082] 制备方法

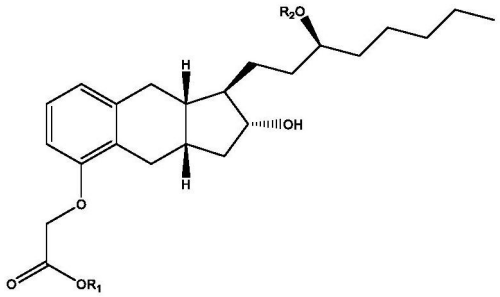
[0083] FDKP-曲前列尼尔前药可由双保护的曲前列尼尔部分制备，其中所述曲前列尼尔部分具有由羟基保护基团保护的三个羟基基团中的两个。

[0084] 

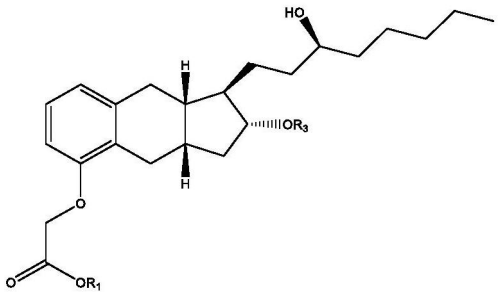
(1)

[0085] 所述双保护的曲前列尼尔部分可以使用例如Greene,Protective Groups in Organic Synthesis中公开的方法由未保护的曲前列尼尔(即式(1)化合物)形成，该文献通过全文引用的方式并入本文。

[0086] 对于形成环戊基环FDKP-曲前列尼尔前药，所述双保护的曲前列尼尔部分可以是式(2a)的化合物，而对于形成侧链FDKP-曲前列尼尔前药，所述双保护的曲前列尼尔部分可以是式(2b)的化合物。

[0087] 

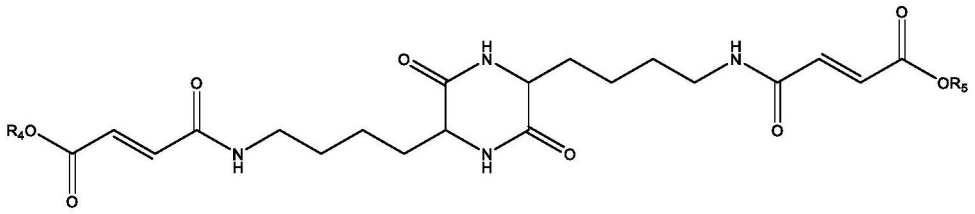
（2a）



（2b）。

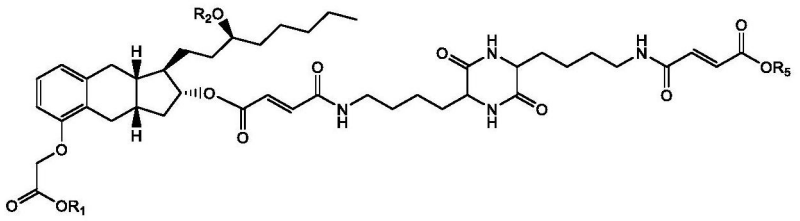
[0088] 在一些实施方案中，在所述双保护的曲前列尼尔部分中，R_1和R_2（或R_3）是保护基团。R_1和R_2（或R_3）可以相同或不同。在一些实施方案中，R_1可以是硅基羧酸保护基团或苄基羧酸保护基团。所述硅基羧酸保护基团可以是，例如，三甲基硅基、三乙基硅基、三异丙基硅氧基甲基、三异丙基硅基、叔丁基二甲基硅基、叔丁基二苯基硅基、苯基二甲基硅基。所述苄基羧酸保护基团可以是未取代的苄基或取代的苄基基团，即，在一个或更多个间位、邻位或对位被一个或更多个取代基取代的苄基基团，所述取代基可以独立地选自由以下组成的组：$-NO_2$、-CN、卤代基（例如-F、-Cl、-Br或-I）、（C_1-C_3）烷基、卤代（C_1-C_3）烷基、（C_1-C_3）烷氧基和卤代（C_1-C_3）烷氧基。在一些实施方案中，R_2（或R_3）可以是硅基羟基保护基团，例如，三甲基硅基、三乙基硅基、三异丙基硅氧基甲基、三异丙基硅基、叔丁基二甲基硅基、叔丁基二苯基硅基、苯基二甲基硅基。

[0089] 所述双保护的曲前列尼尔部分可与FDKP部分（如式（3）化合物）反应，形成双保护的FDKP-曲前列尼尔化合物，其可以是式（4a）或（4b）的双保护的FDKP-曲前列尼尔。

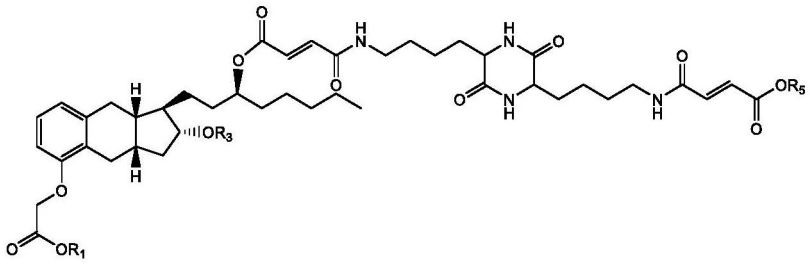


（3）

[0090]



（4a）



（4b）。

[0091] 在所述FDKP部分中，R_5可以是H。

[0092] 所述FDKP部分和双保护的曲前列尼尔部分之间的偶联反应可以在碳二亚胺的存在下进行，碳二亚胺可以是水溶性碳二亚胺，如EDCI。所述FDKP部分和双保护的曲前列尼尔部分之间的反应可以在亲核催化剂的存在下进行，所述亲核催化剂可以是吡啶化合物，例如DMAP。在一些实施方案中，所述亲核催化剂(如DMAP)可与有机碱(如DIPEA或三乙胺)一起使用。所述亲核催化剂(如DMAP)单独或与有机碱一起可以在极性溶剂(如DMA或DMF)中。所述FDKP部分和双保护的曲前列尼尔部分之间的反应可以在选自下表1的偶联试剂存在下进行。

[0093] 在式(5a)或(5b)化合物中，其中R_5是聚合物载体、脂肪醇载体或脂肪胺载体，所述化合物可由式(5a)或(5b)化合物(其中R_5是H)与所述聚合物、脂肪酸或脂肪胺的偶联反应形成。在一些实施方案中，所述偶联是二环己基碳二亚胺(DCC)偶联或使用选自下表1的试剂进行的偶联。

[0094] 表1:偶联试剂

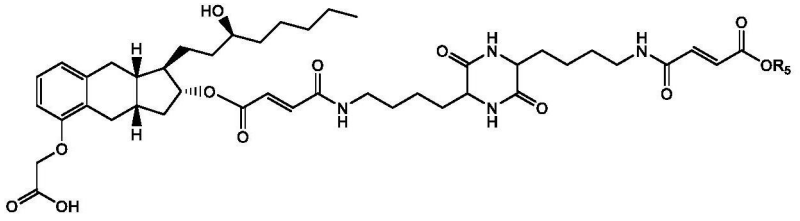
[0095]

试剂	全称
BOP	（苯并三氮唑-1-基-氧基-三(二甲基氨基)磷鎓六氟磷酸盐）
COMU	（1-[1-(氰基-2-乙氧基-2-氧代亚乙基氨基氧基)-二甲基氨基-吗啉基]-脲六氟磷酸酯）
DEPBT	（3-(二乙氧基磷酰氧基)-1,2,3-苯并[d]三嗪-4(3H)-酮）
EEDQ	（N-乙氧基羰基-2-乙氧基-1,2-二氢喹啉）

[0096]

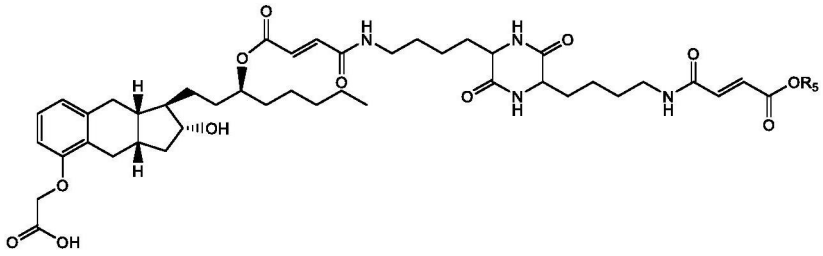
HATU	（N-[(7-氮杂-1H-苯并三氮唑-1-基)(二甲基氨基)-亚甲基]-N-甲基甲铵六氟磷酸盐 N-氧化物）
HDMC	（N-[(5-氯-1H-苯并三氮唑-1-基)-二甲基氨基-吗啉基]-脲六氟磷酸酯N-氧化物）
PyBOP	（苯并三氮唑-1-基-氧基-三吡咯烷基磷鎓六氟磷酸盐）
PyOxim	（氰基(羟基亚氨基)醋酸乙酯基-O2]三-(1-吡咯烷基)磷鎓六氟磷酸盐）
TATU	（N-[(7-氮杂-1H-苯并三氮唑-1-基)(二甲基氨基)-亚甲基]-N-甲基甲铵四氟硼酸盐 N-氧化物）
TBTU	（N-[(1H-苯并三氮唑-1-基)(二甲基氨基)-亚甲基]-N-甲基甲铵四氟硼酸盐 N-氧化物）
TFFH	（四甲基氟代甲脒六氟磷酸盐）
TOTT	（2-(1-氧化吡啶-2-基)-1,1,3,3-四甲基异硫脲四氟硼酸盐）

[0097] 可对所述双保护的FDKP-曲前列尼尔部分进行去保护以形成式(5a)或(5b)的未保护的FDKP-曲前列尼尔化合物。



（5a）

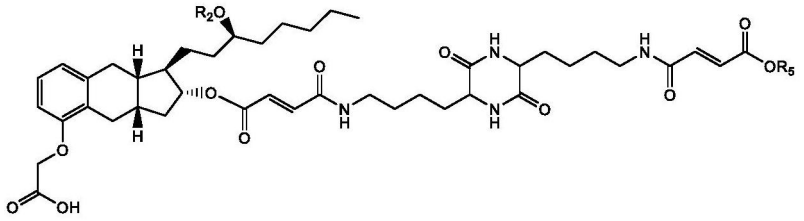
[0098]



（5b）。

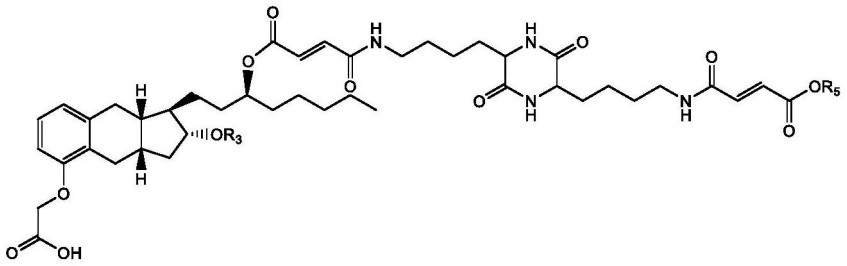
[0099] 在一些实施方案中，式4a(4b)双保护的FDKP-曲前列尼尔化合物的去保护可通过在一个步骤中裂解R_1和R_2(R_3)处的保护基团并用氢取代它们而一步进行。例如，R_1和R_2(R_3)处的保护基团是相同类型的保护基团，并且式4a(4b)双保护的FDKP-曲前列尼尔化合物的去保护可以一步进行。例如，当R_1和R_2(R_3)处的保护基团都是硅基保护基团(可以相同也可以不同)时，式4a(4b)双保护FDKP-曲前列尼尔化合物的去保护可以在一个步骤中使用硅基酯或醚裂解剂进行，所述裂解剂可以是酸或氟化物，例如四正丁基氟化铵。

[0100] 然而在一些实施方案中，式4a(4b)双保护的FDKP-曲前列尼尔化合物的去保护可分两步进行：一步用于裂解R_1处的羧基保护基团，另一步用于裂解R_2(R_3)处的羟基保护基团。在一些实施方案中，可以首先对R_1进行裂解，然后对R_2(R_3)进行裂解。在一些其他实施方案中，可首先对R_2(R_3)进行裂解，然后对R_1进行裂解。例如，当R_1是苄基羧酸保护基团且R_2(或R_3)是硅基羟基保护基团(例如三甲基硅基、三乙基硅基、三异丙基硅氧基甲基、三异丙基硅基、叔丁基二甲基硅基或叔丁基二苯基硅基、苯基二甲基硅基)时，所述苄基羧酸保护基团可在R_1处裂解以形成式(6a)或(6b)单保护的FDKP-曲前列尼尔化合物：



（6a）

[0101]



（6b）。

[0102] 在R_1处裂解所述苄基羧酸保护基团可使用化学选择性苄基裂解剂进行，如三甲基氢氧化锡、氢氧化钡、碳酸钡、氢氧化铯、碳酸铯、其他碱金属氢氧化物和碳酸盐、三丁基氢氧化锡、四甲基氢氧化铵或四丁基氢氧化铵。

[0103] 然后，式(5a)或(5b)未保护的FDKP-曲前列尼尔化合物可以由式(6a)或(6b)单保护的FDKP-曲前列尼尔化合物形成。在一些实施方案中，式(5a)或(5b)未保护的FDKP-曲前列尼尔化合物可以由式(6a)或(6b)单保护的FDKP-曲前列尼尔化合物通过使用硅基醚裂解剂(可以是酸或氟化物，例如四正丁基氟化铵)裂解R_2或R_3处的硅基醚羟基保护基团而形成。然而在一些其他实施方案中，式(5a)或(5b)未保护的FDKP-曲前列尼尔化合物可以由式(6a)或(6b)单保护的FDKP-曲前列尼尔化合物通过仅将其储存较长时间，例如至少10小时，或至少12小时，或至少14小时，或至少16小时，或至少18小时，以能够用硅基醚裂解剂(可以是酸或氟化物，例如四正丁基氟化铵)裂解R_2或R_3处的硅基醚羟基保护基团而形成。例如，在一些实施方案中，将式(6a)或(6b)单保护的FDKP-曲前列尼尔化合物与低浓度(例如约0.005％至约0.2％或约0.01％至约0.1％)的三氟乙酸(TFA)储存较长时间，例如至少10小时或至少12小时或至少14小时或至少16小时或至少18小时，可以在R_2或R_3处裂解硅基醚羟基保护基团。

[0104] 式(5a)或(5b)的FDKP-曲前列尼尔化合物可以用纯度为至少90％，或至少92％，或至少93％，或至少94％，或至少95％，或至少96％，或至少97％，或至少98％或，至少98.5％的批料生产。在一些实施方案中，一组批料平均纯度为至少90％，或至少92％，或至少93％，或至少94％，或至少95％，或至少96％，或至少97％，或至少98％，或至少98.5％。

[0105] 在一些实施方案中，式(5a)化合物的批料可以基本上不含式(5b)化合物。在一些实施方案中，式(5b)化合物的批料可以基本上不含式(5a)化合物。例如，在一些实施方案中，式(5a)化合物的批料可含有少于5％，或少于4％，或少于3％，或少于2％，或少于1％，或少于0.5％，或少于0.3％，或少于0.1％的式(5b)化合物。类似地，在一些实施方案中，式(5b)化合物的批料可含有少于5％，或少于4％，或少于3％，或少于2％，或少于1％，或少于0.5％，或少于0.3％，或少于0.1％的式(5a)化合物。

[0106] 批料中的式(5a)或(5b)化合物的量可以是，例如，至少0.1g、至少0.3g、至少0.5g、至少0.8g、至少1g、至少1.2g、至少1.5g、至少2g、至少3g、至少4g或至少5g。

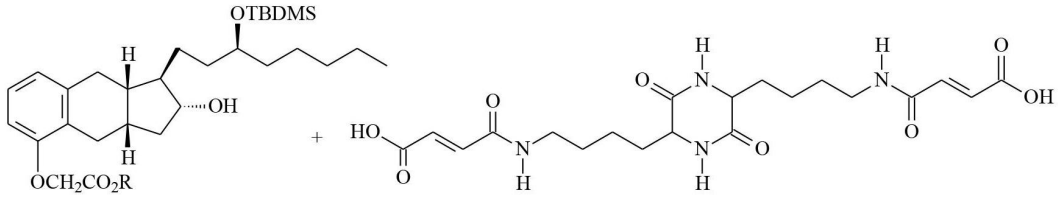
[0107] 本文描述的实施方案通过以下无操作实施例(working examples)进一步说明，但

不限于此。

[0108] 实施例

[0109] 合成了具有(E)-3,6-双[4-(N-羰基-2-丙烯基)氨基丁基]-2,5-二酮哌嗪(FDKP)的曲前列尼尔前药。具体而言,分别如方案1和方案2所示合成了FDKP-曲前列尼尔环戊基环酯和FDKP-曲前列尼尔侧链酯。

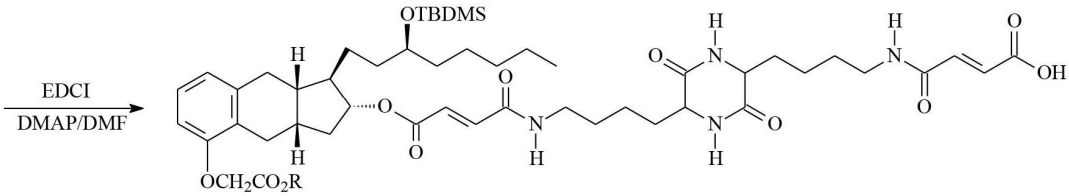
[0110] 方案1:FDKP-曲前列尼尔环戊基环酯(6)的合成



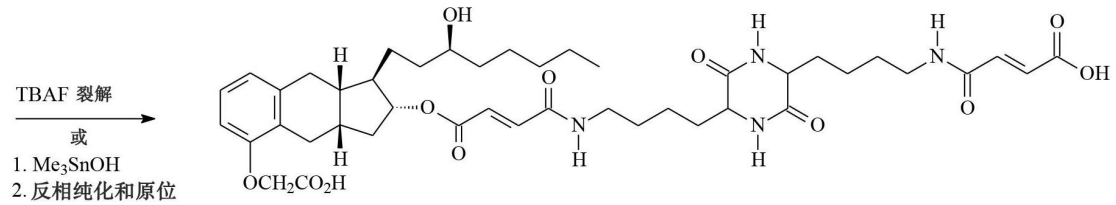
1, R = TMSE ($CH_2CH_2SiMe_3$)
2, R = 苄基

3

[0111]

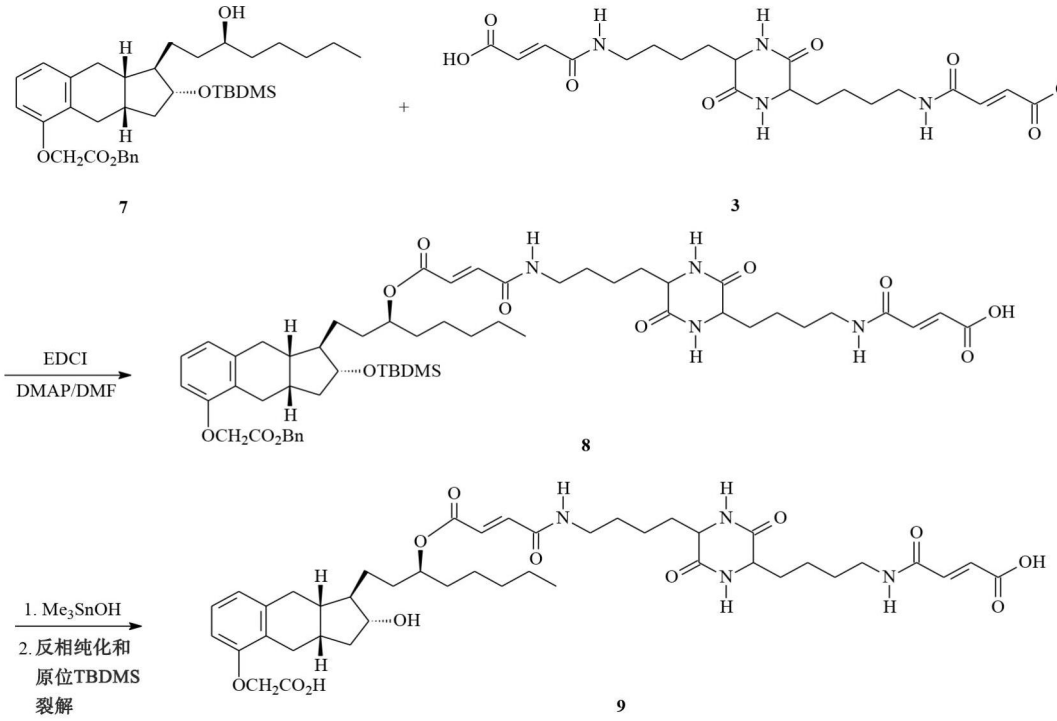


4, R = TMSE ($CH_2CH_2SiMe_3$)
5, R = 苄基



6

[0112] 方案2:FDKP-曲前列尼尔侧链酯(9)的合成

[0113] 

[0114] FDKP-曲前列尼尔酯:在EDCI.HCl和DMAP的DMA或DMF溶液存在下,使双保护的曲前列尼尔部分、侧链TBDMS曲前列尼尔TMSE酯(1,R＝TMSE)与(E)-3,6-双[4-(N-羰基-2-丙烯基)氨基丁基]-2,5-二酮哌嗪(FDKP)(3)偶联,在反相预填充柱上使用水和乙腈进行色谱分离后,以中等产率得到单TBDMS FDKP-曲前列尼尔TMSE环戊基酯(4,R＝TMSE)。在THF中使用TBAF尝试从化合物4对TMSE和TBDMS基团进行脱硅,得到一些所需的产物,即FDKP-曲前列尼尔环戊基环酯(6)和FDKP裂解产物,即曲前列尼尔。为了克服脱硅过程中的FDKP裂解,在酸的保护下,用苄基基团取代保护基团TMSE。苄基保护的酸、侧链TBDMS曲前列尼尔苄酯(2,R＝苄基)用于偶联反应。侧链TBDMS曲前列尼尔苄酯(2)与FDKP偶联,在进行反相柱色谱法后以中等产率产生TBDMS FDKP-曲前列尼尔苄基环戊基环酯(5,R＝苄基),并通过LCMS和^{1}H NMR确定。用三甲基氢氧化锡对粗品(5,R＝苄基)在1,2-二氯乙烷中进行化学选择性脱苄基反应得到相应的酸(5,R＝H)。存在少量的FDKP裂解产物。使用0.05％三氟乙酸(TFA)的水溶液和乙腈溶液通过反相柱纯化粗酸,得到所需的FDKP-曲前列尼尔环戊基环酯(6)。由于0.05％TFA溶液的弱酸性,TBDMS的脱硅反应发生在合并级分储存冰箱过夜期间。这避免了裂解TBDMS基团以获得最终化合物6的另外化学步骤。冷冻干燥所述合并级分得到了纯FDKP-曲前列尼尔环戊基环酯(6),为灰白色固体,并通过IR、^{1}H NMR和LCMS进行了表征。在类似的反应条件下,环戊基TBDMS曲前列尼尔苄酯(7)也与FDKP(2)偶联,得到TBDMS FDKP-曲前列尼尔苄基侧链环酯(3)。用三甲基氢氧化锡对粗产物(8)进行化学选择性脱苄基反应,然后在进行反相柱色谱法过程中脱硅,以中等产率得到FDKP-曲前列尼尔侧链酯(9),并通过IR、^{1}H NMR和LCMS进行表征。

[0115] 合成方法:

[0116] 尝试使用各种偶联试剂将双保护的曲前列尼尔(1或2)与(E)-3,6-双[4-(N-羰基-2-丙烯基)氨基丁基]-2,5-二酮哌嗪(FDKP)(3)偶联:

[0117] EDCI.HCl、DMAP、DIEA的N,N-二甲基乙酰胺(DMA)溶液

[0118] EDCI.HCl、DMAP的DMA或N,N-二甲基甲酰胺(DMF)溶液

[0119] O-(苯并三氮唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲四氟硼酸盐(TBTU)和DBU的DMA溶液

[0120] 2-氯-1-甲基吡啶碘化物(CMPI)和三乙胺的DMA溶液

[0121] EDCI.HCL、DMAP、HOBt、DIPEA的DMA溶液

[0122] 固体负载EDCI、固体负载DMAP的DMF溶液。

[0123] 使用EDCI.HCl、DMAP的DMF或DMA溶液进行双保护的曲前列尼尔(1或2)与FDKP(3)的偶联反应,得到所需的偶联产物(4或5)并且其他试剂不起作用(方案1和2)。使用乙腈和水作为流动相,通过反相柱色谱法纯化化合物(4)。使用四丁基氟化铵(TBAF)尝试从化合物(4)裂解TBDMS和TMSE,得到一些所需的化合物(6)以及曲前列尼尔(由于酯键的裂解),并且当使用化合物(5)时观察到类似的结果。随后,用三甲基氢氧化锡代替TBAF,使苄酯从化合物(3b)化学选择性裂解,得到相应的酸。当使用三甲基氢氧化锡时,FDKP和曲前列尼尔部分之间的酯键水解作用最小。使用0.05%TFA水溶液/0.05%TFA ACN溶液通过反相柱色谱法对苄酯水解后的粗酸进行纯化,得到TBDMS FDKP-曲前列尼尔-环戊基环酯,即化合物(6)的前体。通过LCMS检测所需产物。在储存纯化产物产生的最终产物(6)期间,TBDMS基团发生裂解。将合并的纯级分进行冷冻干燥,得到灰白色固体的FDKP-曲前列尼尔-环戊基环酯(6)。通过IR、^{1}H NMR、DQF-COSY和LCMS对纯化合物(6)进行表征。

[0124] 在成功合成FDKP-曲前列尼尔-环戊基环酯(6)后,采用类似的反应条件,如方案2所示使用双保护的曲前列尼尔(7)和FDKP(3)合成FDKP-曲前列尼尔侧链酯(9)。通过IR、^{1}H NMR、DQF-COSY和LCMS对纯FDKP-曲前列尼尔侧链酯(9)进行表征。

[0125] 实验:

[0126] TBDMS FDKP-曲前列尼尔TMSE环戊基环酯(4,R=TMSE)的合成:

[0127] 将(E)-3,6-双[4-(N-羰基-2-丙烯基)氨基丁基]-2,5-二酮哌嗪(FDKP)(3)(0.44g)、EDCI.HCl(0.24g)和DMAP(0.30g)在室温及氩气下添加到TBDMS-曲前列尼尔TMSE酯(1,R=TMSE)(0.50g)的N,N-二甲基乙酰胺(DMA)(14mL)的溶液中。搅拌悬浮反应混合物并加热至100℃。反应混合物变得清澈且呈浅棕色,并在100℃下继续加热过夜。停止加热所述反应混合物,然后真空蒸发以除去DMA和其他有机挥发物。用甲苯(75mL)湿磨粗产物并倾析甲苯可溶性产物(再重复两次)。在真空下干燥甲苯不溶性产物,得到浅棕色固体(0.61g)。使用水和乙腈混合物在反相预填充柱上对粗产物进行色谱分离,得到TBDMS曲前列尼尔TMSE环戊基FDKP酯(4,R=TMSE)(0.015g),通过LCMS确定。

[0128] FDKP-曲前列尼尔环戊基环酯(6)的合成:

[0129] 在室温及氩气下,向TBDMS FDKP-曲前列尼尔TMSE环戊基环酯(4,R=TMSE)(0.013g)的二甲基亚砜(0.75mL)溶液中加入四丁基氟化铵(TBAF)(1.0M)的THF(0.12mL)溶液。将反应混合物在室温下搅拌过夜。22小时后,通过LCMS检查所述反应混合物,并显示FDKP-曲前列尼尔环戊基环酯(6)以及FDKP裂解产物(即曲前列尼尔)的预期分子量。

[0130] TBDMS FDKP-曲前列尼尔苄基环戊基环酯(5,R=苄基)的合成:

[0131] 在室温及氩气下,向单TBDMS-曲前列尼尔苄酯(6,R=苄基)(3.17g)的N,N-二甲基甲酰胺(DMF)(90mL)溶液中加入(E)-3,6-双[4-(N-羰基-2-丙烯基)氨基丁基]-2,5-二酮哌嗪(FDKP)(3)(2.89g)、EDCI.HCl(1.54g)和DMAP(1.54克)。搅拌悬浮反应混合物并加热至100℃。所述反应混合物变成棕色浑浊,并在100℃下继续加热过夜。16小时后,通过LCMS检查反应混合物中的所需产物。在类似的反应条件下,又进行了两个批料0.61g TBDMS-曲前

列尼尔苄酯(2,R＝苄基)和0.55g(E)-3,6-双[4-(N-羰基-2-丙烯基)氨基丁基]-2,5-二酮哌嗪(FDKP)(3)的偶联反应,并通过LCMS进行了检查。这三个批料是基于LCMS数据合并的。真空蒸发所述反应混合物以除去DMF和其他有机挥发物,得到深棕色粘性液体(18.37g)。粗产物用二氯甲烷(3x 100mL)湿磨并过滤。丢弃二氯甲烷不溶性产物(棕色固体),真空浓缩二氯甲烷可溶性产物,得到棕色粘性半固体产物(14.59g)。粗产物用甲苯(3x 100mL)湿磨并过滤。丢弃甲苯可溶性产物(甲苯蒸发后为7.02g)。在真空下干燥甲苯不溶性产物,得到棕色半固体(5.02g)。粗产物(5.0g)在硅胶(188g)柱(230-400目)上使用甲醇的二氯甲烷溶液(0-100％)进行色谱分离,得到TBDMS FDKP-曲前列尼尔苄基环戊基环酯(5,R＝苄基)(2.26g),通过LCMS进行确定。纯化的产物含有一些DMAP,可在下一步中消除。使用含有0.05％三氟乙酸的水和乙腈混合物在反向预填充柱上进行色谱分离进一步纯化1.0g该纯化产物,得到纯TBDMS FDKP-曲前列尼尔苄基环戊基环酯(5,R＝苄基)(0.085g),通过LCMS进行确定。

[0132] FDKP-曲前列尼尔环戊基环酯(14)的合成:

[0133] 在室温及氩气下,将三甲基氢氧化锡(1.46g)添加到粗制单TBDMS FDKP-曲前列尼尔苄基环戊基环酯(13,R＝苄基)(1.04g)的1,2-二氯乙烷(25mL)溶液中。将反应混合物在60℃下加热过夜。19小时后,通过LCMS检查反应,发现反应完全。真空蒸发反应混合物,得到浅橙色固体(2.91g)。粗产物(1.45g)通过使用含有0.05％三氟乙酸的水和乙腈混合物在反向预填充柱上进行色谱分离而纯化,得到纯级分。在检查所选级分的LCMS后,将这些级分合并。合并的级分储存在冰箱中过夜。18小时后,TBDMS基团完全裂解并通过LCMS确定。同样地,纯化剩余的粗产物(1.45g)。然后,将两种纯化的产物合并并冻干,得到灰白色的FDKP-曲前列尼尔环戊基环酯(6),为白色固体(0.212g),并通过IR、^{1}H NMR和LCMS进行表征。

[0134] 单-TBDMS FDKP-曲前列尼尔苄基侧链酯(8)的合成:

[0135] 在室温及氩气下,向TBDMS-曲前列尼尔苄酯(7)(5.57g)的N,N-二甲基甲酰胺(DMF)(150mL)溶液中加入(E)-3,6-双[4-(N-羰基-2-丙烯基)氨基丁基]-2,5-二酮哌嗪(FDKP)(3)(5.08g)、EDCI.HCl(2.69g)和DMAP(3.43g)。搅拌悬浮反应混合物并加热至100℃。所述反应混合物变成棕色浑浊,并在100℃下继续加热过夜。16小时后,通过LCMS检查所述反应混合物中的所需产物。真空蒸发所述反应混合物以除去DMF和其他有机挥发物,得到棕色粘性液体(22.86g)。粗产物用二氯甲烷(3x 100mL)湿磨并过滤。丢弃二氯甲烷不溶性产物(棕色固体),真空浓缩二氯甲烷可溶性产物,得到棕色粘性液体产物(17.33g)。粗产物用甲苯(200mL)湿磨并过滤。丢弃甲苯可溶性产物(甲苯蒸发后为9.30g半固体产物)。将甲苯不溶性产物在真空下干燥,得到棕色泡沫状固体(7.73g)。该粗产物的LCMS显示所需的TBDMS FDKP曲前列尼尔苄基侧链酯(8)(7.73g)为主要产物。所述粗产物在下一步中使用,无需进一步纯化。

[0136] FDKP-曲前列尼尔侧链酯(9)的合成:

[0137] 在室温及氩气下,将三甲基氢氧化锡(3.44g)添加到粗制单TBDMS FDKP-曲前列尼尔苄基侧链酯(8)(2.45g)的1,2-二氯乙烷(100mL)溶液中。将反应混合物在60℃下加热过夜。17小时后,通过LCMS检查所述反应混合物,并发现反应完全。将所述反应混合物冷却至室温。将二氯乙烷层从棕色粘性液体(胶状)中倒出。真空蒸发二氯乙烷层,得到浅棕色粘性液体(4.48g)。该产物的LCMS显示产物很少。所述胶状棕色产物在高真空下干燥得到泡沫状

棕色固体(1.02g),并含有主要的所需产物。通过使用含有0.05%三氟乙酸的水和乙腈混合物在反相预填充柱上进行色谱分离纯化粗产物(1.0g),得到纯级分。在检查所选级分的LCMS后,将这些级分合并。合并的级分储存在冰箱中过夜。16小时后,TBDMS基团完全裂解并通过LCMS确定。将纯化的产物合并并冻干,得到白色FDKP-曲前列尼尔侧链酯(9),为灰白色固体(0.195g),并通过IR、^{1}H NMR和LCMS进行表征,通过HPLC检测的纯度为98.85%。

[0138] ***

[0139] 虽然前面提到了特定的优选实施方案,但应当理解,本发明并不限于此。本领域普通技术人员将想到,可以对所公开的实施方案进行各种修改,并且这些修改旨在包含在本发明的范围内。

[0140] 本说明书中引用的所有出版物、专利申请和专利的全部内容通过引用并入本文。