



(12) 发明专利



(10) 授权公告号 CN 114206839 B

(45) 授权公告日 2025. 03. 07

(21) 申请号 202080055475.4

(22) 申请日 2020.08.05

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 114206839 A

(43) 申请公布日 2022.03.18

(30) 优先权数据
62/883396 2019.08.06 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2022.01.29

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/US2020/044921 2020.08.05

(87) PCT国际申请的公布数据
W02021/026182 EN 2021.02.11

(73) 专利权人 拜奥克里斯特制药公司
地址 美国北卡罗来纳州

(72) 发明人 Y·埃尔-卡坦 Y·S·巴布

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001
专利代理师 李进 梅黎

(51) Int.Cl.
C07D 231/14 (2006.01)
C07C 237/40 (2006.01)
C07C 231/02 (2006.01)

(56) 对比文件
CN 106257976 A, 2016.12.28
K. M. Sharnabai et al..Efficient
synthesis of N-protected amino/peptide
Weinreb amides from T3P and DBU.
《Tetrahedron Letters》.2012,第54卷第478-
482页.

审查员 吴永英

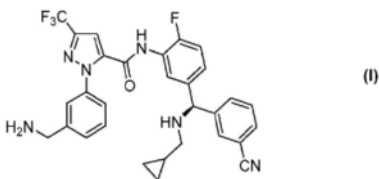
权利要求书4页 说明书23页

(54) 发明名称

血浆激肽释放酶抑制剂的规模化合成

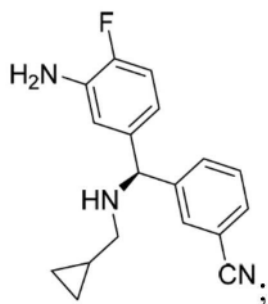
(57) 摘要

本发明公开了制备化合物(I)及其盐的方法。所述制备化合物I的方法适用于生产规模。

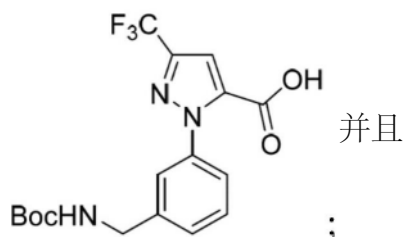


1. 一种方法,其包括以下步骤:

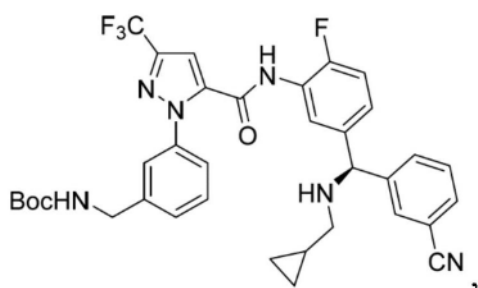
在足以产生化合物D或其盐的条件下,将化合物C或其盐与化合物F或其盐组合,其中:
化合物C表示为:



化合物F表示为:



化合物D表示为:



其中:

所述足以产生化合物D的条件包括酰胺偶联试剂和第一碱;

所述酰胺偶联试剂是丙基膦酸酐 (T3P);

所述第一碱是三乙胺、吡啶、二异丙基乙胺、二异丙基甲胺、咪唑、嘧啶、N-甲基吗啉、奎宁环或1,4-二氮杂双环[2.2.2]辛烷 (DABCO); 以及

化合物C以至少1kg的量使用。

2. 如权利要求1所述的方法,其中所述第一碱是吡啶。

3. 如权利要求1所述的方法,其中所述足以产生化合物D的条件还包括第一溶剂。

4. 如权利要求3所述的方法,其中所述第一溶剂是极性非质子溶剂。

5. 如权利要求4所述的方法,其中所述第一溶剂是二氯甲烷、四氢呋喃、丙酮、乙腈或乙酸乙酯。

6. 如权利要求4所述的方法,其中所述第一溶剂是乙酸乙酯。

7. 如权利要求1所述的方法,其中化合物C以酸盐的形式存在;并且

所述方法还包括将化合物C的所述酸盐与第二碱水溶液组合的步骤,从而形成化合物C的游离碱;

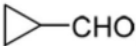
其中将化合物C的所述酸盐与第二碱水溶液组合的所述步骤在将化合物C与化合物F组合之前进行。

8. 如权利要求7所述的方法, 其中化合物C的所述酸盐是盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐或草酸盐。

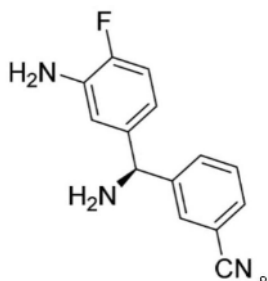
9. 如权利要求8所述的方法, 其中化合物C的所述酸盐是草酸盐。

10. 如权利要求7所述的方法, 其中所述第二碱水溶液包括氢氧化钾、氢氧化钠、氢氧化铵、碳酸氢钾、碳酸氢钠、碳酸钾或碳酸钠。

11. 如权利要求7所述的方法, 其中所述第二碱水溶液包括氢氧化钾。

12. 如权利要求1-11中任一项所述的方法, 其还包括 (a) 将化合物B或其盐与  组合以形成第一反应混合物, 接着 (b) 在足以形成化合物C或其盐的条件下, 将所述第一反应混合物与还原剂组合; 其中:

化合物B表示为:



13. 如权利要求12所述的方法, 其中所述还原剂是 LiAlH_4 或 NaBH_4 。

14. 如权利要求12所述的方法, 其中所述还原剂是 NaBH_4 。

15. 如权利要求12所述的方法, 其中所述足以产生化合物C的条件还包括第二溶剂。

16. 如权利要求15所述的方法, 其中所述第二溶剂是第二极性质子溶剂。

17. 如权利要求15所述的方法, 其中所述第二溶剂是甲醇、乙醇或异丙醇。

18. 如权利要求15所述的方法, 其中所述第二溶剂是甲醇。

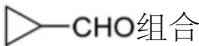
19. 如权利要求12所述的方法, 其还包括使化合物C与第一酸接触以形成化合物C的酸盐。

20. 如权利要求19所述的方法, 其中所述第一酸是盐酸、氢溴酸、氢碘酸或草酸; 并且化合物C的所述酸盐是盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐或草酸盐。

21. 如权利要求20所述的方法, 其中所述第一酸是草酸; 并且化合物C的所述酸盐是草酸盐。

22. 如权利要求12所述的方法, 其中化合物B以酸盐的形式存在; 并且

所述方法还包括将化合物B的所述盐与第三有机碱组合的步骤, 从而形成化合物B的游离碱;

其中将化合物B的所述盐与第三有机碱组合的所述步骤在将化合物B与  组合之前进行。

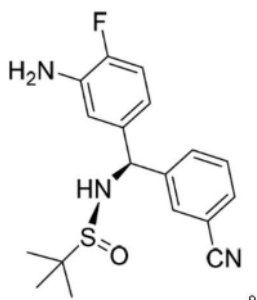
23. 如权利要求22所述的方法, 其中化合物B的所述酸盐是盐酸盐、氢溴酸盐或氢碘酸盐。

24. 如权利要求23所述的方法, 其中化合物B的所述酸盐是盐酸盐。

25. 如权利要求22所述的方法,其中所述第三有机碱包括甲醇钠。

26. 如权利要求12所述的方法,其还包括 (a) 在足以形成化合物B或其盐的条件下,将化合物A与第二酸组合;其中:

化合物A表示为:



27. 如权利要求26所述的方法,其中所述第二酸是盐酸、氢溴酸或氢碘酸。

28. 如权利要求27所述的方法,其中所述第二酸是盐酸。

29. 如权利要求26所述的方法,其中所述足以形成化合物B的条件包括第三极性质子溶剂。

30. 如权利要求29所述的方法,其中所述第三极性质子溶剂是甲醇、乙醇或异丙醇。

31. 如权利要求29所述的方法,其中所述第三极性质子溶剂是异丙醇。

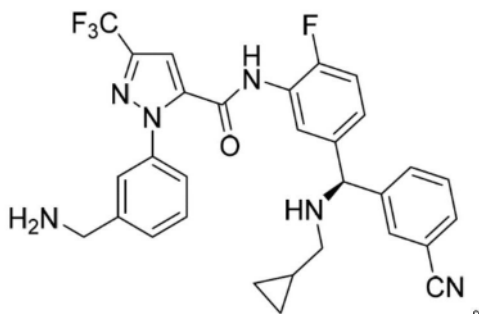
32. 如权利要求26所述的方法,其中化合物B以酸盐的形式形成。

33. 如权利要求32所述的方法,其中化合物B的所述酸盐是盐酸盐、氢溴酸盐或氢碘酸盐。

34. 如权利要求33所述的方法,其中化合物B的所述酸盐是盐酸盐。

35. 如权利要求1-11中任一项所述的方法,其还包括 (c) 将化合物D与去保护试剂组合以形成第二反应混合物,接着 (d) 将所述第二反应混合物暴露于足以形成呈游离碱形式的化合物I的条件;其中:

化合物I表示为:



36. 如权利要求35所述的方法,其中所述去保护试剂是第三酸。

37. 如权利要求36所述的方法,其中所述第三酸是盐酸、氢溴酸或氢碘酸。

38. 如权利要求37所述的方法,其中所述第三酸是盐酸。

39. 如权利要求35所述的方法,其中所述足以形成呈游离碱形式的化合物I的条件包括第四碱。

40. 如权利要求39所述的方法,其中所述第四碱是氨水。

41. 如权利要求35所述的方法,其还包括:

- e) 将呈游离碱形式的化合物I的第一游离碱混合物提供于第四有机溶剂中;
 - f) 在足以形成包括化合物I的盐的第三反应混合物的条件下,将所述游离碱混合物与包括第四酸和第五有机溶剂的第一试剂溶液组合;以及
 - g) 使化合物I的盐从包括化合物I的所述盐的所述混合物中结晶。
- 42. 如权利要求41所述的方法,其中所述结晶盐是盐酸盐。
 - 43. 如权利要求41所述的方法,其中所述结晶盐是双(盐酸)盐。
 - 44. 如权利要求41所述的方法,其中所述第四有机溶剂包括第四极性非质子溶剂。
 - 45. 如权利要求44所述的方法,其中所述第四极性非质子溶剂是甲基叔丁基醚。
 - 46. 如权利要求44所述的方法,其中所述第四有机溶剂还包括第四非极性溶剂。
 - 47. 如权利要求46所述的方法,其中所述第四非极性溶剂是甲苯。
 - 48. 如权利要求41所述的方法,其中所述第四酸是盐酸。
 - 49. 如权利要求41所述的方法,其中所述第五有机溶剂是第五极性质子溶剂。
 - 50. 如权利要求49所述的方法,其中所述第五极性质子溶剂是甲醇。
 - 51. 如权利要求1所述的方法,其中化合物C以至少5kg、至少10kg、至少15kg、至少20kg、至少25kg、至少30kg、至少35kg、至少40kg、至少45kg、至少50kg、至少55kg或至少60kg的量使用。
 - 52. 如权利要求1所述的方法,其中化合物C以至少50kg的量使用。

血浆激肽释放酶抑制剂的规模合成

[0001] 相关申请

[0002] 本申请要求于2019年8月6日提交的美国临时专利申请序列号62/883,396的优先权权益。

背景技术

[0003] 丝氨酸蛋白酶构成最大且最充分研究的蛋白水解酶组。其在生理学过程中的关键作用遍及不同领域,诸如血液凝固、纤维蛋白溶解、补体活化、繁殖、消化和生理学活性肽的释放。许多这些重要过程以前驱蛋白或肽中的单个肽键或几个肽键的裂解开始。在血液结块、纤维蛋白溶解和补体活化中涉及连续的有限蛋白水解反应或级联。也可控制并扩增开始这些级联的生物学信号。类似地,所控制的蛋白水解可通过单键的裂解中断或不活化蛋白质或肽。

[0004] 激肽释放酶是丝氨酸蛋白酶的子组。在人类中,血浆激肽释放酶(KLKB1)不具有已知同系物,而组织激肽释放酶相关的肽酶(KLK)编码十五个密切相关的丝氨酸蛋白酶的家族。血浆激肽释放酶参与与凝固、炎症和补体系统的内在途径有关的多个途径。

[0005] 凝固是血液形成结块,例如以停止出血的过程。凝固的生理机能有点复杂,因为其包括两个独立初始途径,所述途径汇聚成最终共同途径,从而导致结块形成。在最终共同途径中,凝血酶原转化成凝血酶,所述凝血酶继而将纤维蛋白原转化成纤维蛋白,后者是形成止血栓子的交联纤维蛋白聚合物的主要建构嵌段。在最终共同途径上游的两个初始途径中,一个称为接触活化或内在途径,并且另一个称为组织因子或外在途径。

[0006] 内在途径以通过高分子量激肽原(high-molecular-weight kininogen;HMWK)、前激肽释放酶和FXII(因子XII;哈格曼因子(Hageman factor))而在胶原蛋白上形成主要复合物开始。将前激肽释放酶转化为激肽释放酶,并且将FXII活化以变成FXIIa。FXIIa随后将因子XI(FXI)转化成FXIa,并且FXIa继而活化因子IX(FIX),所述FIX与其辅因子FVIIIa一起形成“因子X活化酶(tenase)”复合物,所述复合物将因子X(FX)活化成FXa。在最终共同途径内,FXa负责将凝血酶原转化成凝血酶。

[0007] 前激肽释放酶(血浆激肽释放酶的非活性前体)在肝脏中合成并且在结合至HMWK的血浆中循环或以游离酶原形式循环。前激肽释放酶由活化因子XII(FXIIa)裂解,以释放活化的血浆激肽释放酶(plasma kallikrein;PK)。活化的血浆激肽释放酶在精氨酸(优选)和赖氨酸之后表现出对肽键的内肽酶活性。PK随后在反馈回路中产生另外的FXIIa,所述另外的FXIIa继而将因子XI(FXI)活化为FXIa以连接至共同途径。尽管内在途径的初始活化是通过少量FXIIa,从而活化少量PK,但其为PK对FXII的后续反馈活化,控制内在途径的活化程度并且因此控制下游凝固。Hathaway, W.E.等人(1965)Blood 26:521-32。

[0008] 活化的血浆激肽释放酶还裂解HMWK以释放强效血管扩张剂肽缓激肽。其还能够裂解多个非活性前体蛋白以产生活性产物,诸如纤维蛋白溶酶(来自纤维蛋白溶酶原)和尿激酶(来自尿激酶原)。纤维蛋白溶酶(凝固的调节剂)将纤维蛋白蛋白水解裂解成抑制过度纤维蛋白形成的纤维蛋白降解产物。

[0009] 罹患急性心肌梗塞(myocardial infarction;MI)的患者显示出正处于高凝固(促进结块)状态的临床迹象。在接受纤维蛋白溶解疗法的那些患者中异常地另外加重这种高凝固性。如通过凝血酶-抗凝血酶III(TAT)水平所测量,与接受单独肝素的那些患者中已观察到的高水平相比,在进行此类治疗的患者中观察到凝血酶产生增加。Hoffmeister,H.M.等人(1998)Circulation 98:2527-33。已提出凝血酶的增加是由纤维蛋白溶酶直接活化FXII的纤维蛋白溶酶介导的内在途径活化所引起。

[0010] 纤维蛋白溶解诱导的高凝固性不仅导致再闭塞率增加,而且还可能(至少部分)造成不能实现结块(血栓)的完全纤维蛋白溶解,这是纤维蛋白溶解疗法的主要缺点(Keeley,E.C.等人(2003)Lancet 361:13-20)。纤维蛋白溶解疗法的另一个问题是伴随颅内出血风险升高。Menon,V.等人(2004)Chest 126:549S-575S;Fibrinolytic Therapy Trialists' Collaborative Group(1994)Lancet 343:311-22。因此,不增加出血风险但抑制新凝血酶形成的辅助抗凝剂疗法将大大有益。

[0011] 血浆激肽释放酶抑制剂还对治疗遗传性血管性水肿(HAE)具有治疗可能性。HAE是严重并且可能危及生命的罕见遗传病,其由定位于染色体11q上的C1酯酶抑制剂(C1INH)基因突变引起。HAE作为常染色体显性病状遗传,但四分之一的诊断病例起因于新突变。在欧洲,已将HAE列为罕见疾病,其中估计发病率为1/50,000。患有HAE的个体经历面部、喉、胃肠道、四肢或生殖器的疼痛性皮下或粘膜下水肿的复发性急性发作,如不治疗,则可持续至多5天。发作的频率、严重程度和位置变化并且可危及生命。具有窒息可能性的喉部发作造成最大风险。腹部发作尤其疼痛,并且通常导致探查性程序或不必要的手术。脸部和周边发作是使容貌受损和衰弱的。

[0012] HAE具有多个亚型。I型HAE由产生低水平的C1抑制剂的C1INH基因突变定义,而II型HAE由产生正常水平的无效C1蛋白的突变定义。III型HAE具有独立病原性,其由编码被称为因子XII的丝氨酸蛋白酶的F12基因突变引起。用于区分HAE的亚型并且从其他血管性水肿区分HAE的诊断标准可见于Ann Allergy Asthma Immunol 2008;100(增刊2):S30-S40和J Allergy Clin Immunol 2004;114:629-37,其以引用的方式并入本文中。

[0013] 当前对HAE的治疗属于两种主要类型。较旧的非特异性治疗(包括雄激素和抗纤维蛋白溶解剂)伴随有显著的副作用,尤其是在女性中。较新的治疗是基于对疾病的分子病理学的了解,即C1INH在人类血浆中是激肽释放酶的最重要抑制剂并且C1INH缺乏引起激肽释放酶-缓激肽级联的非对抗性活化,其中缓激肽是局部增加的血管通透性(其为发作的标志)的最重要介质。所有当前可用的靶向疗法通过静脉内或皮下注射施用。当前对于HAE不存在特异性靶向口服慢性疗法。

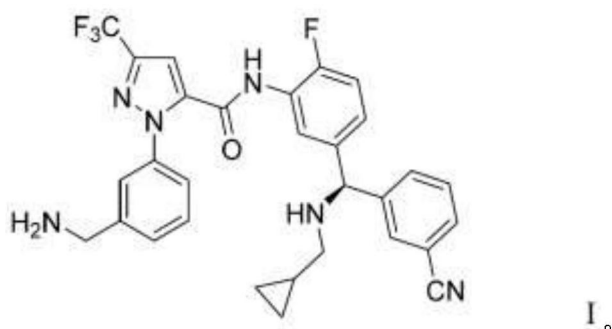
[0014] 因此,需要研发PK抑制剂,其可以使闭塞血栓处的纤维蛋白溶解/血栓形成的平衡朝向溶解倾斜,从而促进再灌注并且还缓解高凝固状态,从而防止血栓重新形成并且再闭塞血管。具体地讲,产生特定并且能够进行配制以供体内使用的血浆激肽释放酶抑制剂可能导致一种新的治疗剂类别。因此,需要用于制备和配制血浆激肽释放酶抑制剂的改良方法,尤其是在生产规模上。

发明内容

[0015] 本发明的一个方面涉及化合物I或其盐的合成,其能够在生产规模上执行(例如,

以产生约100千克化合物I或其盐)；

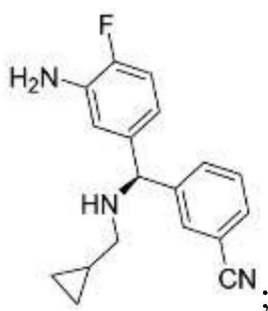
[0016]



[0017] 在某些方面中,本发明提供一种方法,其包括以下步骤:在足以产生化合物D或其盐的条件下,将化合物C或其盐与化合物F或其盐组合,其中:

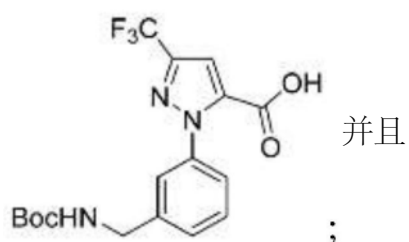
[0018] 化合物C表示为:

[0019]



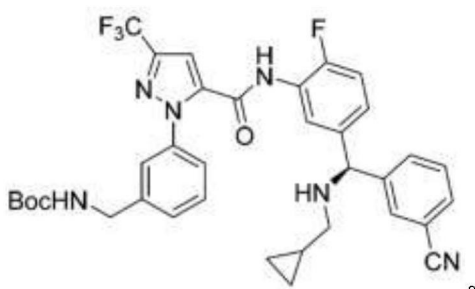
[0020] 化合物F表示为:

[0021]



[0022] 化合物D表示为:

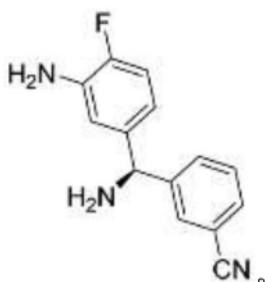
[0023]



[0024] 在某些方面中,所述方法还包括 (a) 将化合物B或其盐与 $\triangle-CHO$ 组合以形成第一反应混合物,接着 (b) 在足以形成化合物C或其盐的条件下,将所述第一反应混合物与还原剂组合;其中:

[0025] 化合物B表示为:

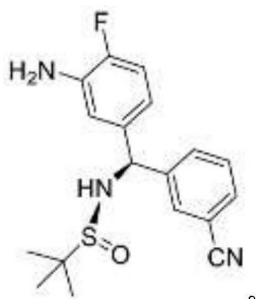
[0026]



[0027] 在某些方面中,所述方法还包括(a)在足以形成化合物B或其盐的条件下,将化合物A与第二酸组合;其中:

[0028] 化合物A表示为:

[0029]



[0030] 在某些方面中,所述方法还包括(c)将化合物D与去保护试剂组合以形成第二反应混合物,接着(d)将所述第二反应混合物暴露于足以形成呈游离碱形式的化合物I的条件。

[0031] 在某些方面中,所述方法还包括e)将呈游离碱形式的化合物I的第一游离碱混合物提供于第四有机溶剂中;f)在足以形成包括化合物I的盐的第三反应混合物的条件下,将所述游离碱混合物与包括第四酸和第五有机溶剂的第一试剂溶液组合;以及g)使化合物I的盐从包括化合物I的所述盐的所述混合物中结晶。

具体实施方式

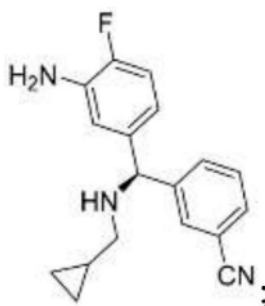
[0032] 本发明涉及化合物I的合成,其能够在生产规模上执行(例如,以产生约100千克化合物I)。

[0033] 制备化合物I的方法

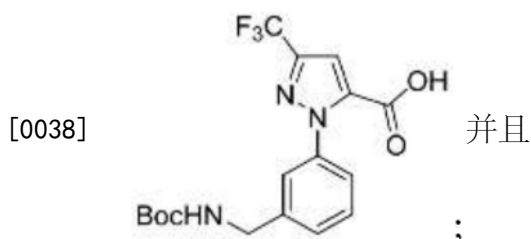
[0034] 在某些实施方案中,本发明涉及一种方法,其包括以下步骤:在足以产生化合物D或其盐的条件下,将化合物C或其盐与化合物F或其盐组合,其中:

[0035] 化合物C表示为:

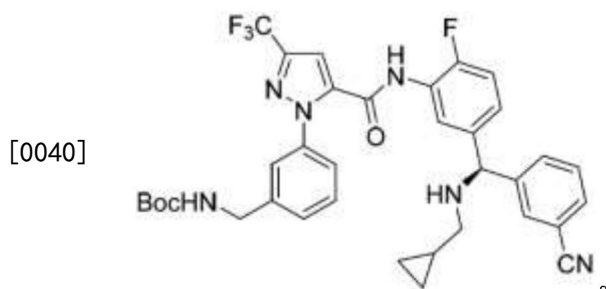
[0036]



[0037] 化合物F表示为:



[0039] 化合物D表示为：



[0041] 在某些实施方案中,足以产生化合物D的条件包括酰胺偶联试剂和第一碱。

[0042] 在某些实施方案中,酰胺偶联试剂是丙基膦酸酐 (T3P)、N,N'-二(异丙基) 碳化二亚胺、N,N'-二(环己基) 碳化二亚胺、1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基) 碳化二亚胺或2-氰基-2-(羟亚氨基) 乙酸乙酯;优选地,酰胺偶联试剂是丙基膦酸酐 (T3P)。

[0043] 在某些实施方案中,第一碱是第一有机碱。示例性有机碱包括胺碱和醇盐碱。在某些实施方案中,第一碱是三乙胺、吡啶、二异丙基乙胺、二异丙基甲胺、咪唑、嘧啶、N-甲基吗啉、奎宁环或1,4-二氮杂双环[2.2.2]辛烷 (DABCO)。在优选实施方案中,第一碱是吡啶。

[0044] 在某些实施方案中,足以产生化合物D的条件还包括第一溶剂。第一溶剂可以是极性非质子溶剂,诸如二氯甲烷、四氢呋喃、丙酮、乙腈或乙酸乙酯。在优选实施方案中,第一溶剂是乙酸乙酯。

[0045] 在某些实施方案中,化合物C以酸盐的形式存在;并且所述方法还包括将化合物C的酸盐与第二碱水溶液组合的步骤,从而形成化合物C的游离碱;其中将化合物C的酸盐与第二碱水溶液组合的步骤在将化合物C与化合物F组合之前进行。

[0046] 在某些实施方案中,“酸盐”意指在布朗斯台德酸 (Bronsted acid) 的存在下形成的盐。例如,诸如R-NH₂的胺容易通过布朗斯台德酸H-X质子化以形成R-NH₃⁺X⁻。因此,R-NH₃⁺X⁻是R-NH₂的酸盐。可导致酸盐形成的常见布朗斯台德酸包括盐酸、氢溴酸、氢碘酸和草酸。当其接触胺时,此类布朗斯台德酸可分别导致盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐或草酸盐的形成。

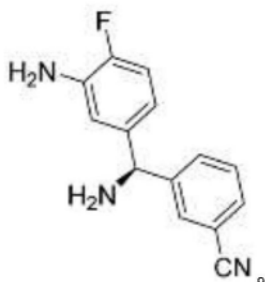
[0047] 在某些实施方案中,化合物C的酸盐是盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐或草酸盐。优选地,化合物C的酸盐是草酸盐。

[0048] 在某些实施方案中,第二碱水溶液包括氢氧化钾、氢氧化钠、氢氧化铵、碳酸氢钾、碳酸氢钠、碳酸钾或碳酸钠。在优选实施方案中,第二碱水溶液包括氢氧化钾。

[0049] 在某些实施方案中,所述方法还包括 (a) 将化合物B或其盐与 -CHO 组合以形成第一反应混合物,接着 (b) 在足以形成化合物C或其盐的条件下,将第一反应混合物与还原剂组合;其中:

[0050] 化合物B表示为:

[0051]



[0052] 在某些实施方案中,还原剂是 LiAlH_4 或 NaBH_4 ,优选是 NaBH_4 。

[0053] 在某些实施方案中,足以产生化合物C的条件还包括第二溶剂。

[0054] 在某些实施方案中,第二溶剂是第二极性质子溶剂。示例性的极性质子溶剂包括甲醇、乙醇和异丙醇。在某些实施方案中,第二溶剂是甲醇。

[0055] 在某些实施方案中,所述方法还包括使化合物C与第一酸接触以形成化合物C的酸盐。

[0056] 在某些此类实施方案中,第一酸是盐酸、氢溴酸、氢碘酸或草酸;并且化合物C的酸盐是盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐或草酸盐。在优选实施方案中,第一酸是草酸并且化合物C的酸盐是草酸盐。

[0057] 在某些实施方案中,化合物B以酸盐的形式存在;并且所述方法还包括将化合物B的盐与第三有机碱组合的步骤,从而形成化合物B的游离碱;其中将化合物B的盐与第三有机碱组合的步骤在将化合物B与 $\triangle\text{-CHO}$ 组合之前进行。

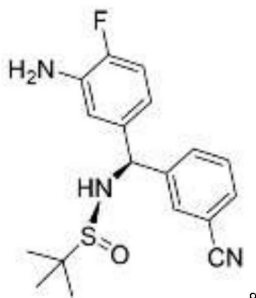
[0058] 在某些此类实施方案中,化合物B的酸盐是盐酸盐、氢溴酸盐或氢碘酸盐。优选地,化合物B的酸盐是盐酸盐。

[0059] 在某些实施方案中,第三有机碱包括甲醇钠。

[0060] 在某些实施方案中,所述方法还包括 (a) 在足以形成化合物B或其盐的条件下,将化合物A与第二酸组合;其中:

[0061] 化合物A表示为:

[0062]



[0063] 在某些实施方案中,第二酸是盐酸、氢溴酸或氢碘酸,优选是盐酸。

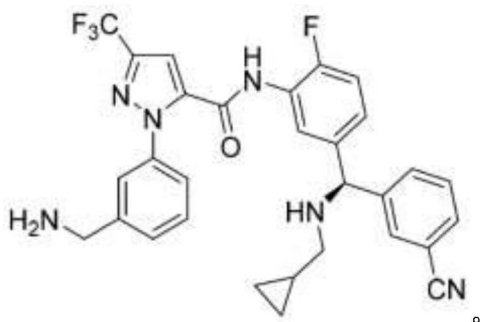
[0064] 在某些实施方案中,足以形成化合物B的条件包括第三极性质子溶剂。示例性的极性质子溶剂包括甲醇、乙醇和异丙醇。在优选实施方案中,第三极性质子溶剂是异丙醇。

[0065] 在某些实施方案中,化合物B以酸盐(诸如盐酸盐、氢溴酸盐或氢碘酸盐)的形式形成。在优选实施方案中,化合物B的酸盐是盐酸盐。

[0066] 在某些实施方案中,所述方法还包括 (c) 将化合物D与去保护试剂组合以形成第二反应混合物,接着 (d) 将第二反应混合物暴露于足以形成呈游离碱形式的化合物I的条件;其中:

[0067] 化合物I表示为：

[0068]



[0069] 在某些实施方案中，去保护试剂是第三酸。示例性的酸包括盐酸、氢溴酸和氢碘酸。在优选实施方案中，第三酸是盐酸。

[0070] 在某些实施方案中，足以形成呈游离碱形式的化合物I的条件包括第四碱。在某些实施方案中，第四碱是氨水。

[0071] 在某些实施方案中，所述方法还包括：

[0072] e) 将呈游离碱形式的化合物I的第一游离碱混合物提供于第四有机溶剂中；

[0073] f) 在足以形成包括化合物I的盐的第三反应混合物的条件下，将游离碱混合物与包括第四酸和第五有机溶剂的第一试剂溶液组合；以及

[0074] g) 使化合物I的盐从包括化合物I的盐的混合物中结晶。

[0075] 在某些实施方案中，结晶盐是盐酸盐，例如双(盐酸)盐。

[0076] 在某些实施方案中，第四有机溶剂包括第四极性非质子溶剂。示例性的极性非质子溶剂包括乙腈、N,N-二甲基乙酰胺(DMA)、二甲基甲酰胺(DMF)、二甲亚砜(DMSO)、二乙醚、乙酸乙酯、乙酸异丙酯、甲基乙基酮、甲基叔丁基醚(MTBE)、N-甲基-2-吡咯烷酮(NMP)、四氢呋喃、二氯甲烷和丙酮。在某些实施方案中，第四极性非质子溶剂是甲基叔丁基醚。

[0077] 在某些实施方案中，第四有机溶剂还包括第四非极性溶剂。非极性溶剂包括例如苯、庚烷、己烷和甲苯。在某些实施方案中，非极性溶剂是甲苯。

[0078] 在某些实施方案中，第四酸是盐酸。

[0079] 在某些实施方案中，第五有机溶剂是第五极性质子溶剂，诸如乙醇、甲醇、2-丙醇、1-丁醇、水或其任何组合。优选地，第五极性质子溶剂是甲醇。

[0080] 在某些实施方案中，化合物C以至少1kg、至少5kg、至少10kg、至少15kg、至少20kg、至少25kg、至少30kg、至少35kg、至少40kg、至少45kg、至少50kg、至少55kg或至少60kg的量使用。在另外的实施方案中，化合物C以至少50kg的量使用。

[0081] 在某些实施方案中，本发明的方法按照至少1kg、至少5kg、至少10kg、至少15kg、至少20kg、至少25kg、至少30kg、至少35kg、至少40kg、至少45kg、至少50kg、至少55kg、至少60kg、至少65kg、至少70kg、至少75kg、至少80kg、至少85kg、至少90kg、至少95kg或至少100kg的规模产生化合物I或其盐。

[0082] 药物组合物

[0083] 根据本文中所描述的方法合成的化合物I可配制于药物组合物中。此类药物组合物包含化合物I和药学上可接受的载剂。

[0084] 如本文中所使用的术语“载剂”和“药学上可接受的载剂”是指将化合物与其一起施用或配制以用于施用的稀释剂、佐剂、赋形剂或媒介物。此类药学上可接受的载剂的非限

制性实例包括液体,诸如水、盐水和油;以及固体,诸如阿拉伯胶、明胶、淀粉糊、滑石、角蛋白、胶态二氧化硅、脲等。另外,可使用助剂、稳定剂、增稠剂、润滑剂、调味剂和着色剂。合适的药物载剂的其他实例描述于E.W.Martin的Remington's Pharmaceutical Sciences中,其以全文引用的方式并入本文中。

[0085] 在某些实施方案中,本发明的药物组合物还包含至少一种除化合物I以外的另外的药物活性剂。至少一种另外的药物活性剂可以是可用于治疗特征是异常血浆激肽释放酶活性的疾病或病状的药剂。例如,至少一种另外的药物活性剂可以是抗凝剂、抗血小板剂或溶栓剂。

[0086] 抗凝剂预防血液组分凝固并且因此预防例如心房颤动中的结块形成。抗凝剂包括但不限于肝素、华法林(warfarin)、可迈丁(coumadin)、双羟香豆素、苯丙香豆素、醋硝香豆素、双香豆乙酯、水蛭素(hirudin)、比伐卢定(bivalarutin)、直接凝血酶抑制剂和二氢茛二酮衍生物。

[0087] 抗血小板剂抑制血小板凝集并且通常用于预防经历短暂局部缺血发作、中风或心房颤动的患者的血栓栓塞性中风。抗血小板剂包括但不限于阿司匹林(aspirin)、噻吩并吡啶衍生物(诸如噻氯匹啶(ticlopidine)和氯吡格雷(clopidogrel))、双嘧达莫(dipyridamole)和磺吡酮(sulfinpyrazone)以及RGD模拟物。

[0088] 溶栓剂溶解引起血栓栓塞现象(诸如中风、心肌梗塞和肺部血栓栓塞)的结块。溶栓剂包括但不限于纤维蛋白溶酶原、 α 2-抗纤维蛋白溶酶、链激酶、阿尼普酶(antistreplase)、TNK、组织纤维蛋白溶酶原活化剂(tPA)和尿激酶。组织纤维蛋白溶酶原活化剂包括原生tPA和重组tPA以及保留原生tPA的酶促或纤维蛋白溶解活性的tPA的修饰形式。

[0089] 可以通过将化合物I与药学上可接受的载剂和任选的一种或多种另外的药物活性剂组合来制备本发明的药物组合物。

[0090] 在某些实施方案中,本发明提供一种药物组合物,其被配制用于特征是异常血浆激肽释放酶活性的疾病或病状的预防性或治疗性治疗。

[0091] 治疗方法

[0092] 本发明提供制备化合物的方法,所述化合物经由内在途径抑制凝血酶形成并且因此降低新病理性血栓形成(血管闭塞或再闭塞)的风险,并且还在作为具有纤维蛋白溶解方案的辅助疗法给予时改善纤维蛋白溶解诱导的再灌注。可以使用本发明的化合物治疗的疾病和病状包括但不限于中风、炎症、再灌注损伤、急性心肌梗塞、深层静脉栓塞、纤维蛋白溶解治疗后病状、绞痛、水肿、血管性水肿、遗传性血管性水肿、败血症、关节炎、出血、心肺分流术期间失血、炎症性肠病、糖尿病、视网膜病变、糖尿病性视网膜病变、糖尿病性黄斑水肿、糖尿病性黄斑变性、年龄相关的黄斑水肿、年龄相关的黄斑变性、增殖性视网膜病变、神经病变、高血压、脑水肿、白蛋白分泌增加、大量清蛋白尿和肾病变。

[0093] 例如,在具有血管性水肿病状的患者中,小多肽PK抑制剂DX-88(艾卡拉肽(ecallantide))缓解患有遗传性血管性水肿(HAE)的患者的水肿。Williams,A.等人(2003)Transfus.Apher.Sci.29:255-8;Schneider,L.等人(2007)J Allergy Clin Immunol.120:416-22;以及Levy,J.H.等人(2006)Expert Opin.Invest.Drugs 15:1077-90。缓激肽B2受体拮抗剂艾替班特(Icatibant)也有效治疗HAE。Bork,K.等人(2007)J.Allergy

Clin.Immunol.119:1497-1503。因为血浆激肽释放酶产生缓激肽,因此预期血浆激肽释放酶的抑制将抑制缓激肽的产生。

[0094] 例如,在由纤维蛋白溶解治疗(例如,用组织纤维蛋白溶酶原活化剂或链激酶治疗)引起的凝固中,在进行纤维蛋白溶解的患者中发现较高水平的血浆激肽释放酶。Hoffmeister,H.M.等人(1998)J.Cardiovasc.Pharmacol.31:764-72。纤维蛋白溶酶介导的内在途径活化表现为在血浆和血液发生并且来自缺乏任何内在途径组分的个体的血浆中显著衰减。Ewald,G.A.等人(1995)Circulation 91:28-36。

[0095] 发现已患有急性MI的个体具有升高水平的活化血浆激肽释放酶和凝血酶。Hoffmeister,H.M.等人(1998)Circulation 98:2527-33。

[0096] DX-88在缺血性中风的动物模型中减少脑水肿、梗塞体积和神经性缺损。Storini,C.等人(2006)J.Pharm.Exp.Ther.318:849-854。C1抑制剂在大脑中动脉阻塞(middle cerebral artery occlusion;MCAO)的小鼠模型中减小梗塞大小。De Simoni,M.G.等人(2004)Am.J.Pathol.164:1857-1863;以及Akita,N.等人(2003)Neurosurgery 52:395-400。发现B2受体拮抗剂减少梗塞体积、脑肿胀和嗜中性粒细胞积聚,并且在MCAO动物模型中具有神经保护性。Zausinger,S.等人(2003)Acta Neurochir.增刊86:205-7;Lumenta,D.B.等人(2006)Brain Res.1069:227-34;Ding-Zhou,L.等人(2003)Br.J.Pharmacol.139:1539-47。

[0097] 关于心肺分流术(CPB)期间失血,已发现激肽释放酶-激肽(即,接触)系统在CABG期间被激活。Wachtfogel,Y.T.(1989)Blood 73:468。在CPB期间接触系统的活化导致血浆缓激肽增加高达20倍。Cugno,M.等人(2006)Chest 120:1776-82;以及Campbell,D.J.等人(2001)Am.J.Physiol.Reg.Integr.Comp.Physiol.281:1059-70。

[0098] 还发现血浆激肽释放酶抑制剂P8720和PKSI-527在关节炎的大鼠模型中减少关节肿胀。De La Cadena,R.A.等人(1995)FASEB J.9:446-52;Fujimori,Y.(1993)Agents Action 39:42-8。还发现关节炎的动物模型中的炎症伴随有接触系统的活化。Blais,C.Jr.等人(1997)Arthritis Rheum.40:1327-33。

[0099] 另外,已发现血浆激肽释放酶抑制剂P8720在炎症性肠病(inflammatory bowel disease;IBD)的急性和慢性大鼠模型中减少炎症。Stadnicki,A.等人(1998)FASEB J.12:325-33;Stadnicki,A.等人(1996)Dig.Dis.Sci.41:912-20;以及De La Cadena,R.A.等人(1995)FASEB J.9:446-52。接触系统在急性和慢性肠道炎症期间被激活。Sartor,R.B.等人(1996)Gastroenterology 110:1467-81。已发现B2受体拮抗剂(高分子量激肽原的抗体)或激肽原水平的降低在IBD动物模型中减少临床病理。Ibid.;Arai,Y.等人(1999)Dig.Dis.Sci.44:845-51;以及Keith,J.C.等人(2005)Arthritis Res.Therapy 7:R769-76。

[0100] 已发现H-D-Pro-Phe-Arg-氯甲基酮(CMK)(PK和FXII的抑制剂和生理学抑制剂(C1抑制剂))降低多个器官中的血管通透性并且减少动物中脂多糖(LPS)或细菌诱导的败血症的病变。Liu,D.等人(2005)Blood 105:2350-5;Persson,K.等人(2000)J.Exp.Med.192:1415-24。在用C1抑制剂治疗的败血症患者中观察到临床改善。Zeerleder,S.等人(2003)Clin.Diagnost.Lab.Immunol.10:529-35;Caliezi,C.等人(2002)Crit.Care Med.30:1722-8;以及Marx,G.等人(1999)Intensive Care Med.25:1017-20。发现败血症的致死性

案例具有较高的接触活化程度。Martinez-Brotons, F. 等人 (1987) *Thromb. Haemost.* 58: 709-713; 以及 Kalter, E. S. 等人 (1985) *J. Infect. Dis.* 151: 1019-27。

[0101] 还已发现在糖尿病患者 (尤其具有增殖性视网膜病变的那些) 中 prePK 水平较高, 并且与果糖胺水平相关。Gao, B.-B. 等人 (2007) *Nature Med.* 13: 181-8; 以及 Kedzierska, K. 等人 (2005) *Archives Med. Res.* 36: 539-43。还发现 prePK 在患有感觉运动神经病变的那些患者中最高。Christie, M. 等人 (1984) *Thromb. Haemostas. (Stuttgart)* 52: 221-3。prePK 水平在糖尿病患者中升高并且与血压增加有关。prePK 水平独立地与白蛋白分泌速率相关并且在具有大量清蛋白尿的糖尿病患者中升高, 从而表明 prePK 可能是进行性肾病变的标志物。Jaffa, A. A. 等人 (2003) *Diabetes* 52: 1215-21。已发现 B1 受体拮抗剂减少用链脲佐菌素 (streptozotocin) 治疗的大鼠中的血浆渗漏。Lawson, S. R. 等人 (2005) *Eur. J. Pharmacol.* 514: 69-78。B1 受体拮抗剂还可以防止链脲佐菌素治疗的小鼠出现高血糖症和肾功能不全。Zuccollo, A. 等人 (1996) *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 74: 586-9。

[0102] 化合物 I 可用作药物。

[0103] 例如, 化合物 I 可用于治疗或预防特征是异常血浆激肽释放酶活性的疾病或病状的方法中。所述方法包括向有需要的受试者施用治疗有效量的化合物 I 的步骤, 从而治疗或预防特征是异常血浆激肽释放酶活性的疾病或病状。通过降低受试者中的血浆激肽释放酶活性, 治疗特征是异常血浆激肽释放酶活性的疾病或病状。

[0104] 如本文中所使用的术语“治疗 (treat/treating/treatment)”意指预防、中止或减缓受试者的疾病或病状的进展, 或消除所述疾病或病状。在一些实施方案中, “治疗 (treat/treating/treatment)”意指中止或减缓受试者的疾病或病状的进展或消除所述疾病或病状。在一些实施方案中, “治疗 (treat/treating/treatment)”意指减少受试者的疾病或病状的至少一种客观表现。

[0105] 如本文中所使用的术语“有效量”是指足以产生期望的生物学作用的量。

[0106] 如本文中所使用的术语“治疗有效量”是指足以产生期望治疗作用的量。

[0107] 如本文中所使用的术语“抑制”意指客观上可测量的量或程度的降低。在各种实施方案中, “抑制”意指与相关对照相比降低了至少 5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90% 或 95%。在一个实施方案中, “抑制”意指降低 100%, 即, 中止或消除。

[0108] 如本文中所使用的术语“受试者”是指哺乳动物。在各种实施方案中, 受试者是小鼠、大鼠、兔、猫、犬、猪、绵羊、马、牛或非人类灵长类动物。在一个实施方案中, 受试者是人类。

[0109] 可替代地, 在某些方面中, 化合物 I 可用于治疗特征是异常血浆激肽释放酶活性的疾病或病状。

[0110] 可替代地, 在某些方面中, 化合物 I 可用于制造用于治疗特征是异常血浆激肽释放酶活性的疾病或病状的药物。

[0111] 如本文中所使用, “特征是异常血浆激肽释放酶活性的疾病或病状”是指期望降低血浆激肽释放酶活性的任何疾病或病状。例如, 可能期望在激肽释放酶不当活化或过度活化的情况下降低血浆激肽释放酶活性。作为另一实例, 可能期望降低高凝固状态情况下的血浆激肽释放酶活性。作为另一实例, 可能期望降低与血栓的存在或形成相关的组织缺血情况下的血浆激肽释放酶活性。

[0112] 在某些实施方案中,特征是异常血浆激肽释放酶活性的疾病或病状选自以下组成的组:中风、炎症、再灌注损伤、急性心肌梗塞、深层静脉栓塞、纤维蛋白溶解治疗后病状、绞痛、水肿、血管性水肿、遗传性血管性水肿、败血症、关节炎、出血、心肺分流术期间失血、炎症性肠病、糖尿病、视网膜病变、糖尿病性视网膜病变、糖尿病性黄斑水肿、糖尿病性黄斑变性、年龄相关的黄斑水肿、年龄相关的黄斑变性、增殖性视网膜病变、神经病变、高血压、脑水肿、白蛋白分泌增加、大量清蛋白尿和肾病变。

[0113] 在某些实施方案中,特征是异常血浆激肽释放酶活性的疾病或病状是血管性水肿。

[0114] 在某些实施方案中,特征是异常血浆激肽释放酶活性的疾病或病状是获得性血管性水肿或遗传性血管性水肿(HAE)。

[0115] 获得性血管性水肿(AAE)(Caldwell JR等人Clin Immunol Immunopathol.1972; 1:39-52)以若干方式进行表征,包括通过C1抑制剂(C1-INH)的获得性缺陷、人类补体的典型途径的过度活化和由接触-激肽系统的不当活化释放的缓激肽介导的血管性水肿症状。AAE可以两种形式存在, I型AAE(其通常与另一疾病相关)和通常与自身免疫疾病相关的II型AAE。AAE可由多个因素,包括但不限于自身免疫疾病(例如,产生抗C1INH抗体)或由C1INH的获得性突变引起。此外,化合物I可用于治疗血管收缩素转化酶(angiotensin converting enzyme;ACE)抑制剂治疗的副作用。ACE抑制剂阻断缓激肽分解的主要途径。通过使用化合物I抑制激肽释放酶形成减少缓激肽的形成。

[0116] 在某些实施方案中,特征是异常血浆激肽释放酶活性的疾病或病状是遗传性血管性水肿(HAE)。在某些实施方案中,遗传性血管性水肿是I型遗传性血管性水肿。可替代地,遗传性血管性水肿可以是II型遗传性血管性水肿。可替代地,遗传性血管性水肿可以是III型遗传性血管性水肿。

[0117] 在某些实施方案中,化合物I用于HAE的预防性治疗。在其他实施方案中,化合物I用于HAE的急性治疗。

[0118] 在某些实施方案中,化合物I用于预防或治疗患有HAE的受试者的血管性水肿发作。在某些实施方案中,化合物I用作预防性治疗以降低患有HAE的受试者的血管性水肿发作的频率。在其他实施方案中,化合物I用于治疗患有HAE的受试者的急性血管性水肿发作。

[0119] 在某些实施方案中,特征是异常血浆激肽释放酶活性的疾病或病状是中风。

[0120] 在某些实施方案中,特征是异常血浆激肽释放酶活性的疾病或病状是再灌注损伤。

[0121] 在某些实施方案中,特征是异常血浆激肽释放酶活性的疾病或病状是急性心肌梗塞。

[0122] 在某些实施方案中,特征是异常血浆激肽释放酶活性的疾病或病状是出血。

[0123] 在某些实施方案中,特征是异常血浆激肽释放酶活性的疾病或病状是心肺分流术期间失血。

[0124] 在某些实施方案中,特征是异常血浆激肽释放酶活性的疾病或病状选自以下组成的组:视网膜病变、糖尿病性视网膜病变、糖尿病性黄斑水肿、糖尿病性黄斑变性、年龄相关的黄斑水肿、年龄相关的黄斑变性和增殖性视网膜病变。

[0125] 制剂、施用途径和给药

[0126] 如本文中所描述合成的化合物I可以配制为药物组合物,并且以各种适合于所选择的施用途(例如,经口或肠胃外,通过静脉内、腹膜内、肌肉内、局部或皮下途径)的形式施用给诸如人类患者的哺乳动物宿主。本发明还涵盖另外的施用途。

[0127] 因此,化合物I(在本文中也称为“活性化合物”)可全身性地施用,例如与药学上可接受的媒介物(诸如惰性稀释剂或可同化的可食载剂)组合经口施用。它们可包封于硬或软壳明胶胶囊中,可压缩成片剂,或可直接与患者饮食的食物一起并入。对于经口治疗性施用,活性化合物可与一种或多种赋形剂组合并且以可摄取片剂、口颊片剂、糖衣锭、胶囊、酞剂、混悬剂、糖浆、薄片剂(wafer)等形式使用。此类组合物和制剂应含有至少0.1%的活性化合物。当然,组合物和制剂的百分比可变化并且可适宜地介于给定单位剂型重量的约2%与约60%之间。此类治疗上可用的组合物中活性化合物的量是将获得有效剂量水平的量。

[0128] 片剂、糖衣锭、丸剂、胶囊等还可含有以下稀释剂和载剂:粘合剂,诸如黄蓍胶、阿拉伯胶、玉米淀粉或明胶;赋形剂,诸如磷酸二钙;崩解剂,诸如玉米淀粉、马铃薯淀粉、海藻酸等;润滑剂,诸如硬脂酸镁;以及甜味剂,诸如蔗糖、果糖、乳糖或阿斯巴甜;或调味剂,诸如胡椒薄荷、冬青油,或樱桃调味剂。当单位剂型是胶囊时,除上述类型的材料以外,其可含有液体载剂,诸如植物油或聚乙二醇。各种其他材料可以涂层形式存在或以其他方式改变固体单位剂型的物理形式。例如,片剂、丸剂或胶囊可用明胶、蜡、虫胶或糖等涂布。糖浆或酞剂可含有活性化合物、作为甜味剂的蔗糖或果糖、作为防腐剂的羟苯甲酸甲酯和对羟基苯甲酸丙酯、染料和调味剂(诸如樱桃或橙风味剂)。当然,用于制备任何单位剂型的任何材料应是药学上可接受的并且在所用量方面基本上无毒。另外,活性化合物可并入至持续释放制剂和装置中。

[0129] 活性化合物还可通过输注或注射而静脉内或腹膜内施用。可以在水或生理学上可接受的水溶液中制备活性化合物的溶液,其任选地与无毒表面活性剂混合。还可以在甘油、液体聚乙二醇、三醋精及其混合物中以及在油中制备分散液。在一般的储存和使用条件下,这些制剂含有防腐剂以防止微生物生长。

[0130] 适用于注射或输注的药物剂型可以包括适合于临时制备无菌可注射或可输注溶液或分散液的包含活性化合物的无菌水溶液或分散液或无菌粉末,其任选地囊封于脂质体中。在所有情况下,最终剂型在制造和储存条件下应是无菌、流体并且稳定的。液体载剂或媒介物可以是溶剂或液体分散介质,包括例如水、乙醇、多元醇(例如,甘油、丙二醇、液体聚乙二醇等)、植物油、无毒甘油酯以及其合适的混合物。适当的流动性可以例如通过形成脂质体、在分散液的情况下通过维持所需粒度或通过使用表面活性剂来维持。防止微生物的作用可以通过各种抗菌剂和抗真菌剂,例如对羟基苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚、山梨酸、硫柳汞等来实现。在许多情况下,将优选包括等渗剂,例如糖、缓冲液或氯化钠。可注射组合物的延长吸收可以通过在组合物中使用延迟吸收的剂(例如单硬脂酸铝和明胶)来实现。

[0131] 通过将所需量的活性化合物根据需与上文所列举的各种其他成分一起并入于适当的溶剂中,随后过滤灭菌来制备无菌可注射溶液。在用于制备无菌可注射溶液的无菌粉末的情况下,制备方法可以包括真空干燥和冷冻干燥技术,其得到先前无菌过滤的溶液中存在的活性化合物外加任何另外期望成分的粉末。

[0132] 对于局部施用,化合物I可以纯形式应用,即当它们制备于液体中时。然而,通常将期望将其作为与皮肤病学上可接受的载剂(其可以是固体或液体)组合的组合物或制剂施

用于皮肤。

[0133] 可用的固体载剂包括细粉状固体,诸如滑石、粘土、微晶纤维素、二氧化硅、氧化铝等。可用的液体载剂包括水、醇或二醇或水-醇/二醇共混物,其中化合物I可以任选地借助于无毒表面活性剂以有效水平溶解或分散。可以添加佐剂(诸如芳香剂和另外的抗微生物剂)以优化针对给定用途的特性。所得液体组合物可以从吸收垫应用,用于浸渍绷带和其他敷料,或使用泵型或气雾喷雾器喷涂到感染区域上。

[0134] 增稠剂(诸如合成聚合物、脂肪酸、脂肪酸盐和酯、脂肪醇、改性纤维素或改性矿物质)也可以与液体载剂一起采用,以形成直接应用于使用者皮肤的可涂抹糊剂、凝胶、软膏、皂等。

[0135] 可以用于将化合物I递送至皮肤的可用的皮肤用组合物(dermatological composition)的实例是本领域中已知的;例如参见Jacquet等人(美国专利第4,608,392号;以引用的方式并入本文中)、Geria(美国专利第4,992,478号;以引用的方式并入本文中)、Smith等人(美国专利第4,559,157号;以引用的方式并入本文中)以及Wortzman(美国专利第4,820,508号;以引用的方式并入本文中)。

[0136] 化合物I的可用剂量可以至少初始地通过比较其在动物模型中的体外活性和体内活性来确定。用于将小鼠和其他动物中的有效剂量外推至人类的方法是本领域中已知的;例如参见美国专利第4,938,949号(以引用的方式并入本文中)。

[0137] 用于治疗所需的化合物I的量将随施用途径、所治疗的病状的性质以及患者的年龄和状况而变化,并且将最终由主治医师或临床医师酌情处理。

[0138] 然而,一般来说,合适的剂量将在每天约0.5至约100mg/kg受体体重的范围内,例如每天约3至约90mg/kg体重、每天约6至约75毫克/千克体重、每天约10至约60mg/kg体重或每天约15至约50mg/kg体重。

[0139] 可以适宜地以单位剂型配制化合物I;例如每单位剂型含有5至1000mg、10至750mg、50至500mg、75mg至350mg、75mg至300mg、75mg至250mg、75mg至200mg、75mg至175mg、75mg至150mg、75mg至125mg、100mg至750mg、100mg至500mg、100mg至350mg、100mg至300mg、100mg至250mg、100mg至200mg、100mg至175mg、100mg至150mg、100mg至125mg、125mg至350mg、125mg至300mg、125mg至250mg、125mg至200mg、125mg至175mg、125mg至150mg(包括例如5mg、10mg、25mg、50mg、75mg、100mg、125mg、150mg、175mg、200mg、250mg、300mg、350mg、400mg、450mg、500mg、550mg、600mg、650mg、700mg、750mg、800mg、850mg、900mg、950mg、1000mg)和落在前述单位剂量范围内的其他此类单位剂量的活性化合物。在一个实施方案中,本发明提供一种包含以此类单位剂型配制的化合物I的组合物。期望剂量可适宜地以单一剂量形式或作为以适当间隔施用的分次剂量(例如每天两次、三次、四次或更多次子剂量)提供。子剂量本身可进一步分成例如多个离散的松散间隔施用。

[0140] 化合物I还可以与其他治疗剂(例如可用于治疗或预防缺血、失血或再灌注损伤的其他药剂)组合施用。

[0141] 其他递送系统可以包括诸如本领域中熟知的定时释放、延迟释放或持续释放递送系统。此类系统可以避免重复施用活性化合物,从而增加受试者和医师的便利性。许多类型的释放递送系统是可行的并且是普通技术人员已知的。使用长期持续释放植入物可以是合乎需要的。如本文中所使用,长期释放意指递送系统或植入物被构造和配置成持续至少30

天并且优选地60天递送治疗水平的活性化合物。

[0142] 在某些实施方案中,化合物I被配制用于眼内施用,例如直接注射或插入眼内医疗装置中或与眼内医疗装置结合。

[0143] 化合物I可被配制成置放于可包括多种常规移植物、支架(包括支架移植物)、导管、球囊、篮状植入物(basket)或可以部署或永久地植入体腔内的其他装置中的任一者的医疗装置中。作为特定实例,将期望具有可以将化合物I递送至已通过介入技术治疗的身体区域的装置和方法。

[0144] 在示例性实施方案中,化合物I可置放于诸如支架的医疗装置内,并且递送至治疗部位以治疗身体的一部分。

[0145] 支架已用作治疗剂(即,药物)的递送媒介物。血管内支架通常永久地植入冠状动脉或周边血管中。支架设计包括美国专利第4,733,655号(Palmaz)、美国专利第4,800,882号(Gianturco)或美国专利第4,886,062号(Wiktor)的那些。此类设计包括金属和聚合物支架两者,以及自扩张支架和球囊扩张支架。支架还可用于在与血管结构接触的部位递送药物,如例如美国专利第5,102,417号(Palmaz)、美国专利第5,419,760号(Narciso, Jr.)、美国专利第5,429,634号(Narciso, Jr.)以及国际专利申请第W0 91/12779号(Medtronic, Inc.)和第W0 90/13332号(Cedars-Sinai Medical Center)中所公开。

[0146] 术语“置放”意指活性化合物通过本领域已知的方法涂布、吸附、放置或以其他方式并入装置中。例如,化合物可嵌入涂布或跨越医疗装置的聚合物材料内和从所述聚合物材料中释放(“基质型”)或由所述聚合物材料包围并且通过所述聚合物材料释放(“贮器型”)。在后一实例中,化合物可使用一种或多种用于产生本领域已知的此类材料的技术而夹带于聚合物材料内或偶联至聚合物材料。在其他制剂中,化合物可例如借助于可分离的键来连接至医疗装置的表面而无需涂布,并且随时间推移而释放或可以通过主动机械或化学过程移除。在其他制剂中,化合物可以呈将化合物提供于植入部位的永久固定形式。

[0147] 在某些实施方案中,活性化合物可在形成用于医疗装置(诸如支架)的生物相容涂层期间与聚合物组合物一起并入。由这些组分产生的涂层通常是均匀的并且可用于涂布多个被设计以供植入的装置。

[0148] 聚合物可取决于期望的释放速率或期望的聚合物稳定程度而为生物稳定或生物可吸收聚合物,但生物可吸收聚合物通常对此实施方案是优选的,因为与生物稳定聚合物不同,其不会在植入后长期存在以引起任何不良、慢性局部反应。可以使用的生物可吸收聚合物包括但不限于聚(L-乳酸)、聚己内酯、聚乙交酯(PGA)、聚(丙交酯-共-乙交酯)(PLLA/PGA)、聚(羟基丁酸酯)、聚(羟基丁酸酯-共-戊酸酯)、聚二氧杂环己酮、聚原酸酯、聚酸酐、聚(乙醇酸)、聚(D-乳酸)、聚(L-乳酸)、聚(D,L-乳酸)、聚(D,L-丙交酯)(PLA)、聚(L-丙交酯)(PLLA)、聚(乙醇酸-共-碳酸三亚甲酯)(PGA/PTMC)、聚氧化乙烯(PEO)、聚二氧杂环己酮(PDS)、聚磷酸酯、聚磷酸酯氨基甲酸酯、聚(氨基酸)、氰基丙烯酸酯、聚(碳酸三亚甲酯)、聚(亚氨基碳酸酯)、共聚(醚-酯)(例如,PEO/PLA)、聚亚烷基草酸酯、聚磷腈以及生物分子诸如纤维蛋白、纤维蛋白原、纤维素、淀粉、胶原蛋白和透明质酸、聚ε己内酯、聚羟基丁酸、聚原酸酯、聚缩醛、聚二氢吡喃、聚氰基丙烯酸酯、水凝胶的交联或两亲性嵌段共聚物以及本领域中已知的其他合适的生物可吸收聚合物。另外,可以使用具有相对低的慢性组织反应的生物稳定聚合物,诸如聚氨基甲酸酯、有机硅和聚酯,并且如果其他聚合物可以在医疗装

置上溶解和固化或聚合,则也可使用其他聚合物,诸如聚烯烃、聚异丁烯和乙烯- α 烯烃共聚物;丙烯酸聚合物和共聚物、乙烯基卤化物聚合物和共聚物,诸如聚氯乙烯;聚乙烯吡咯烷酮;聚乙烯醚,诸如聚乙烯甲基醚;聚偏二乙烯卤化物,诸如聚偏二氟乙烯和聚偏二氯乙烯;聚丙烯腈、聚乙烯酮;聚乙烯芳族物,诸如聚苯乙烯;聚乙烯酯,诸如聚乙酸乙烯酯;乙烯基单体与彼此和烯烃的共聚物,诸如乙烯-甲基丙烯酸甲酯共聚物、丙烯腈-苯乙烯共聚物、ABS树脂和乙烯-乙酸乙烯酯共聚物;吡喃共聚物;聚羧基-丙基-甲基丙烯酰胺-酚;聚羧基-天冬酰胺-酚;被棕榈酰基残基取代的聚氧化乙烯-聚赖氨酸;聚酰胺,诸如尼龙66和聚己内酰胺;醇酸树脂、聚碳酸酯;聚甲醛;聚酰亚胺;聚醚;环氧树脂、聚氨基甲酸酯;人造丝;人造丝-三乙酸酯;纤维素、乙酸纤维素、丁酸纤维素;乙酸丁酸纤维素;玻璃纸;硝酸纤维素;丙酸纤维素;纤维素醚;以及羧甲基纤维素。

[0149] 聚合物和半透性聚合物基质可形成成为成型制品,诸如瓣膜、支架、导管、假体等。

[0150] 在本发明的某些实施方案中,将化合物I与形成成为支架或支架移植植物装置的聚合物或半透性聚合物基质偶联。

[0151] 通常,聚合物通过旋涂、浸涂或喷涂而施涂于可植入装置的表面。出于此目的,还可以利用本领域中已知的另外方法。喷涂方法包括传统方法以及使用喷墨型分配器进行的微沉积技术。另外,聚合物可以使用光图案化沉积于可植入装置上以将聚合物放置于装置的唯一特定部分上。装置的这一涂层在装置周围提供均匀的层,这允许多种分析物通过装置涂层的扩散得以改善。

[0152] 在本发明的某些实施方案中,活性化合物被配制用于从聚合物涂层释放到放置医疗装置的环境中。优选地,以在经延长时间范围(例如几个月)内使用涉及聚合物载剂或层的若干熟知技术中的至少一种控制洗脱的控制方式释放化合物。这些技术中的一些描述于美国专利申请2004/0243225A1中,其全部公开内容以全文引用的方式并入本文中。

[0153] 此外,如例如全文并入本文中的美国专利第6,770,729号中所描述,聚合物组合物的试剂和反应条件可经过操纵以使得可以控制活性化合物从聚合物涂层的释放。例如,一个或多个聚合物涂层的扩散系数可经过调节以控制化合物从聚合物涂层的释放。在此主题上的变化形式中,一个或多个聚合物涂层的扩散系数可以经过控制以调节放置医疗装置的环境中存在的分析物(例如,促进聚合物的一些部分分解或水解的分析物)进入聚合物组合物内的一种或多种组分(以及例如由此调节化合物从聚合物涂层的释放)的能力。本发明的另一个实施方案包括具有多个聚合物涂层的装置,所述涂层各自具有多个扩散系数。在本发明的此类实施方案中,活性化合物从聚合物涂层的释放可以通过多个聚合物涂层来调节。

[0154] 在本发明的另一个实施方案中,活性化合物从聚合物涂层的释放通过调节聚合物组合物的一种或多种特性,诸如一种或多种内源性或外源性化合物的存在,或可替代地,聚合物组合物的pH来控制。例如,某些聚合物组合物可以被设计成响应于聚合物组合物的pH降低而释放化合物。

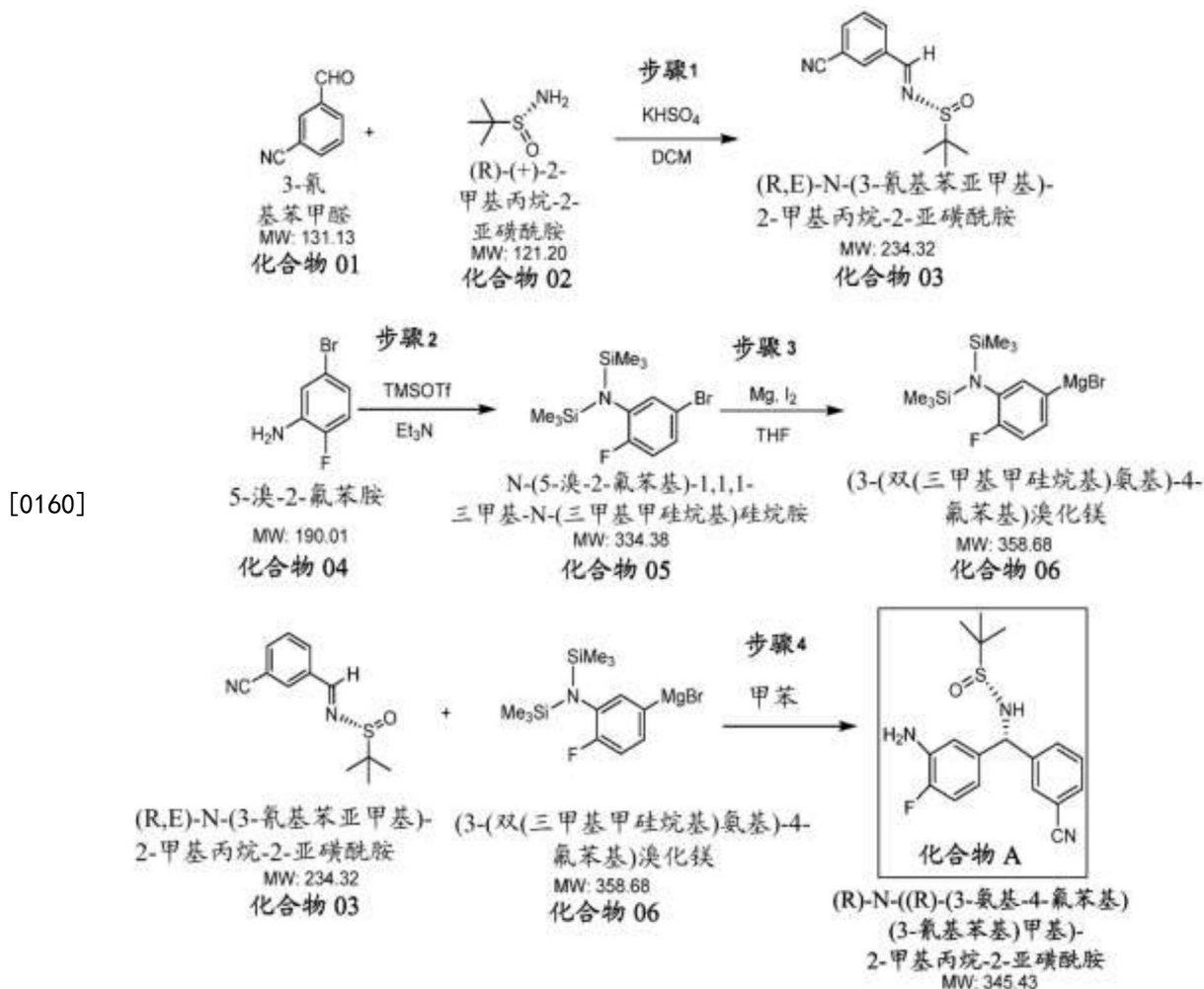
[0155] 试剂盒

[0156] 本发明还提供一种试剂盒,其包括化合物I、至少一种其他治疗剂、封装材料以及用于向哺乳动物施用化合物I和其他治疗剂或药剂以治疗或预防哺乳动物中特征是异常激肽释放酶活性的疾病或病状的说明书。在一个实施方案中,哺乳动物是人类。

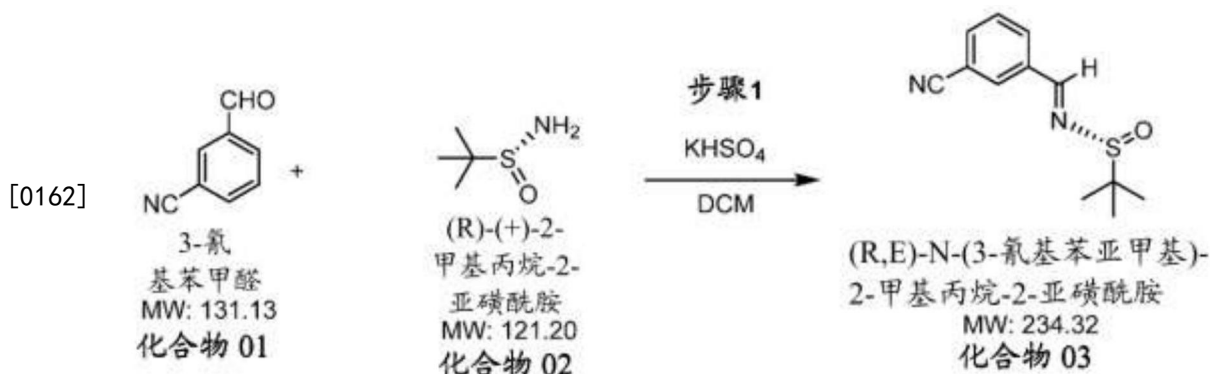
[0157] 实施例

[0158] 实施例1:化合物A的合成方案

[0159] 以下流程和随附步骤阐述用于合成化合物A的方案。



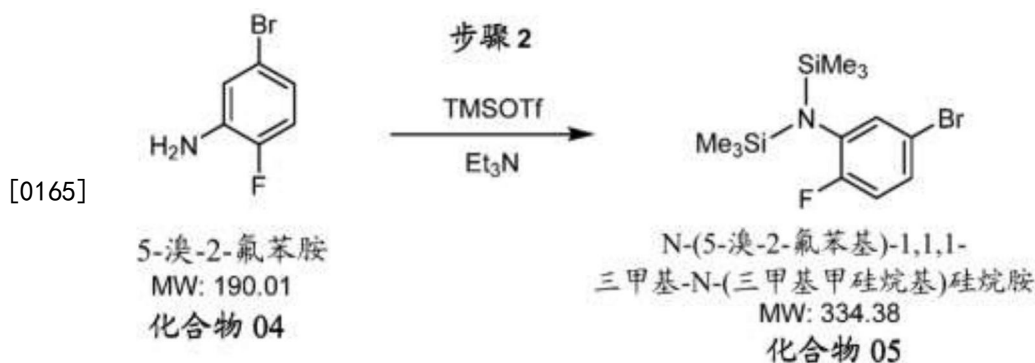
[0161] 步骤1: (R,E)-N-(3-氰基苯亚甲基)-2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺 (化合物03)



[0163] 在室温下,将3-氰基苯甲醛(化合物01;53.57kg,408.42mol,0.9当量)添加到(R)-(+)-2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺(化合物02;55.0kg,453.8mol,1.0当量)在二氯甲烷(DCM)(550.0L,10.0体积)中的搅拌溶液中。在室温下,添加KHSO₄(46.2kg,340.35mol,0.75当量)并且将反应混合物在此温度下搅拌6h。通过HPLC分析监测反应进程。反应混合物用水(220.0L)淬灭并且搅拌30min。分离DCM层并且再次用DCM(110.0L)萃取水层。合并的有机萃

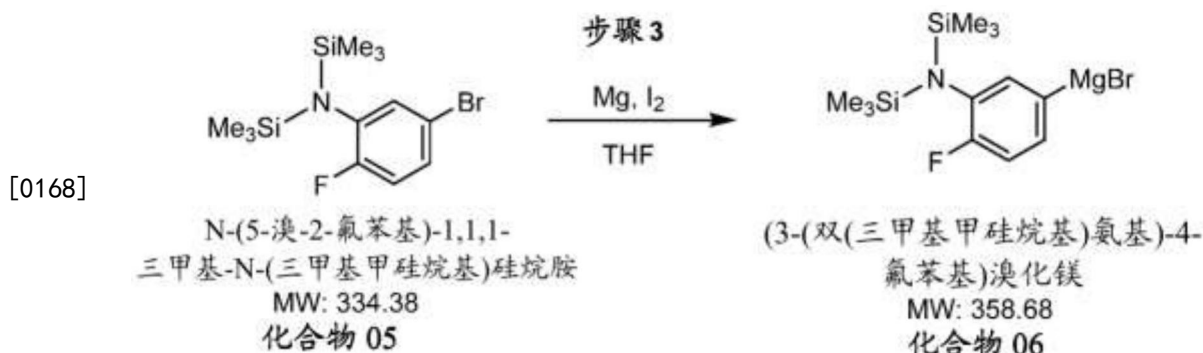
取物用焦亚硫酸钠(在DMW (165.0L) 中的17.24kg) 洗涤2h。用DCM(55.0L) 萃取水层。合并的有机物经 Na_2SO_4 (13.75kg) 干燥并且过滤。在减压下在40℃下浓缩滤液。添加110.0L正庚烷以用于结晶, 在10℃下搅拌2h, 过滤并且用27.5L正庚烷洗涤。在35℃下在真空盘式干燥器中干燥固体, 以得到呈灰白色固体状的 (R,E) -N-(3-氰基苯亚甲基)-2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺(化合物03; 86.23kg, 81.1%)。 ^1H NMR(300MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.63(s, 1H), 8.42(d, $J=1.7\text{Hz}$, 1H), 8.28(dt, $J=7.9, 1.4\text{Hz}$, 1H), 8.07(dt, $J=7.8, 1.4\text{Hz}$, 1H), 7.76(t, $J=7.8\text{Hz}$, 1H), 1.21(s, 9H); MS(ES+) 235.2(M+1), 257.2(M+Na)。

[0164] 步骤2: N-(5-溴-2-氟苯基)-1,1,1-三甲基-N-(三甲基甲硅烷基)硅烷胺:



[0166] 在室温下在氮气下, 将三甲基甲硅烷基三氟甲烷磺酸盐(55.1kg, 249.98mol) 添加到5-溴-2-氟苯胺(化合物04; 19.0kg, 99.99mol) 在三乙胺(95.0L) 中的搅拌溶液中。将反应混合物在氮气下加热回流并且搅拌8-14小时。通过 ^1H NMR监测反应进程。将反应混合物在氮气下冷却至室温并且使其静置以分离各层。在氮气下, 在独立HDPE滚筒中收集下层。在减压下在70℃至80℃下浓缩上层。通过HVD纯化残余物, 以得到呈浅微黄色油状的产物N-(5-溴-2-氟苯基)-1,1,1-三甲基-N-(三甲基甲硅烷基)硅烷胺(化合物05) (29.09kg, 86.99%)。

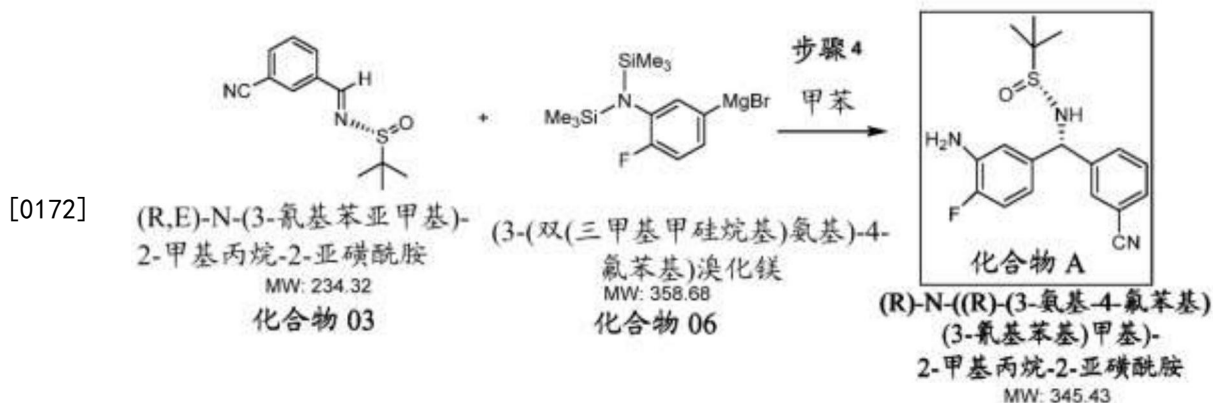
[0167] 步骤3: (3-(双(三甲基甲硅烷基)氨基)-4-氟苯基)溴化镁:



[0169] 在氮气下, 将烘箱干燥的Mg屑(4.5kg, 185.15mol) 在THF(15L) 和碘(50.50g, 0.0013当量) 中的悬浮液在室温下搅拌10分钟。在室温下在氮气下, 将N-(5-溴-2-氟苯基)-1,1,1-三甲基-N-(三甲基甲硅烷基)硅烷胺(化合物05) (1.5kg, 4.49mol) 缓慢添加到上述悬浮液中。在起始反应时观察到放热反应。在氮气下, 将THF(100.0L) 添加到反应物中。将剩余化合物05(48.5kg, 145.04mol) 以使得历经5至7h的时段维持反应温度低于45℃的速率添加到反应混合物中。将反应混合物在氮气下在室温下搅拌10h。反应混合物原样用于下一步骤中。

[0170] Qty:150.0L

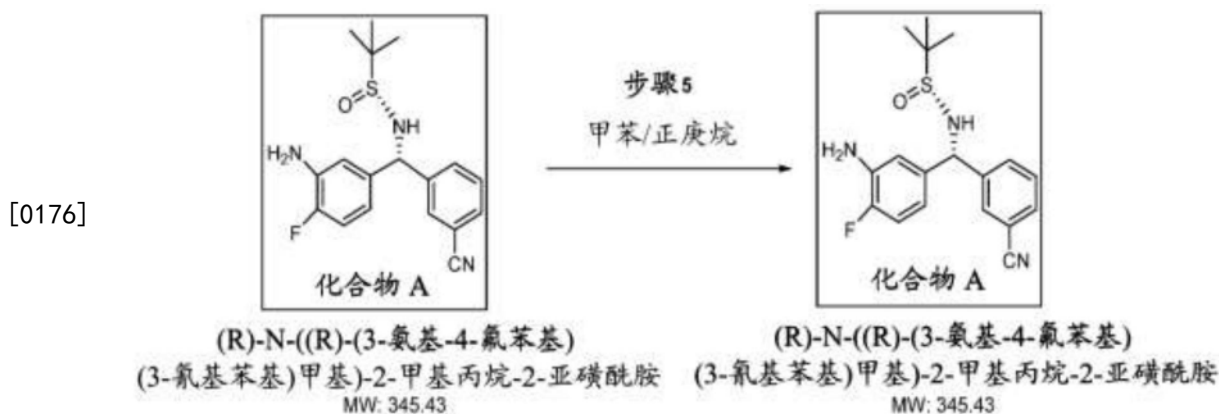
[0171] 步骤4: (R)-N-((R)-(3-氨基-4-氟苯基)(3-氰基苯基)甲基)-2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺(化合物A):



[0173] 将(R,E)-N-(3-氰基苯亚甲基)-2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺(化合物03) (62.0kg, 264.6mol) 在甲苯(1240.0L)中的搅拌溶液冷却至-60℃至-50℃。在氮气下在2h时段内添加格林纳试剂溶液(3-(双(三甲基甲硅烷基)氨基)-4-氟苯基)溴化镁(化合物06) (450.0L), 以使反应温度维持在-60℃至-35℃之间。将反应混合物在氮气下在-60℃至-35℃下搅拌1h并且接着在-60℃至15℃下用KHSO₄水溶液(在744L DM W中的99.2kg KHSO₄)淬灭,将混合物在室温下搅拌1h,接着使其静置以分离各层。将下部水层移除并且通过甲苯(341.0L)反萃取。通过盐水(在527.0L DM W中的105.4kg NaCl)洗涤合并的有机层。有机层经Na₂SO₄ (43.4kg)干燥并且过滤,并且在减压下在65℃下浓缩滤液以得到呈粘性淡红粗物质的粗化合物A(99.0kg)。

[0174] 在40-45℃下,将粘性淡红的粗化合物A(99.1kg)溶解于甲苯(893.0L)中。将溶液缓慢冷却至室温。剧烈搅拌溶液并且在室温下添加正庚烷(347.2L)。将混合物在15-20℃下搅拌5h并且所沉淀的固体通过过滤收集,用20份甲苯与80份正庚烷(97.0L)的混合物洗涤并且在室温下干燥24h,以得到呈浅褐色固体状的产物(40.36kg, 44.16%)。mp 100.6℃。

[0175] 步骤5: (R)-N-((R)-(3-氨基-4-氟苯基)(3-氰基苯基)甲基)-2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺(化合物A)的再结晶:

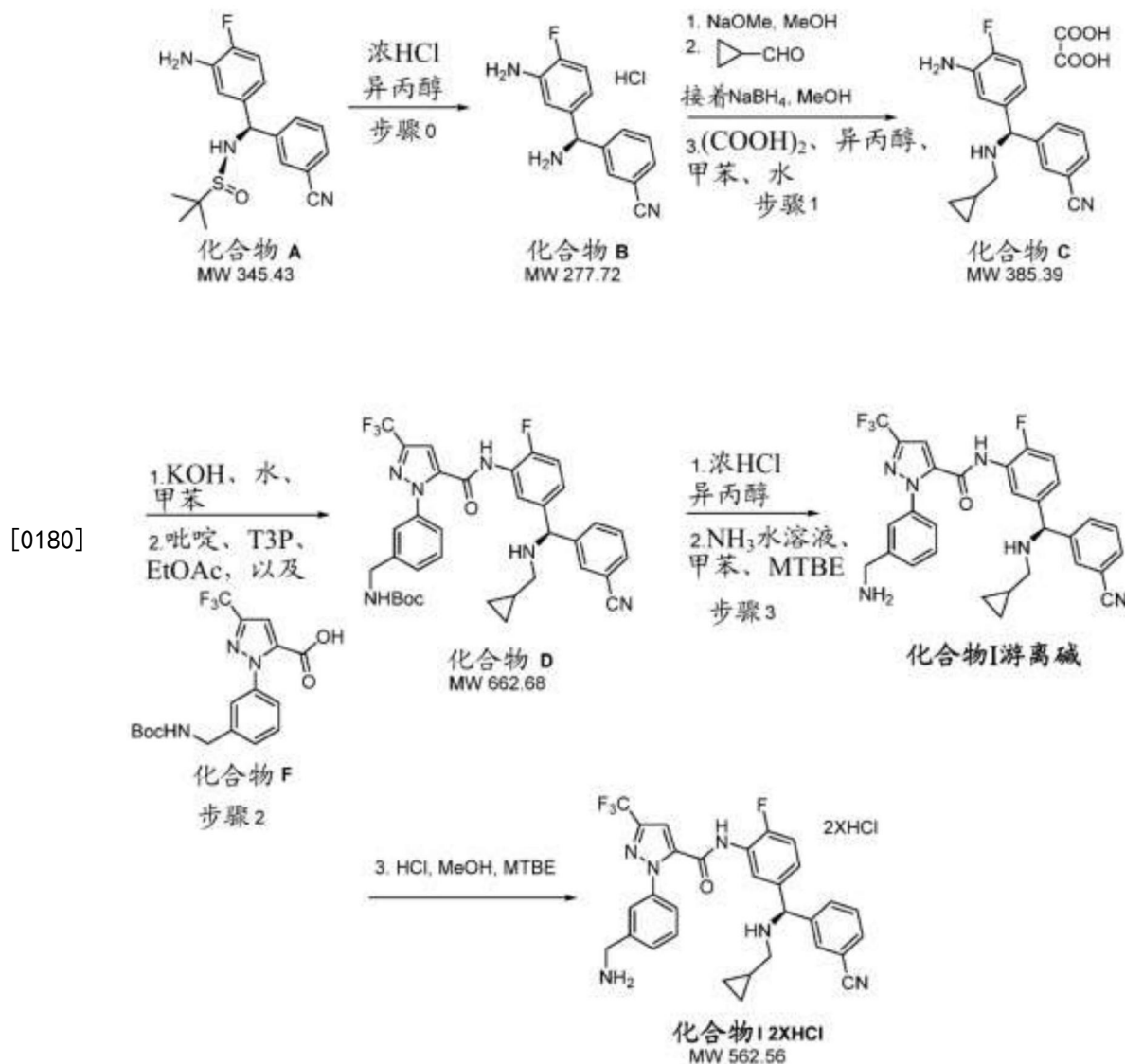


[0177] 在40-50℃下,将(R)-N-((R)-(3-氨基-4-氟苯基)(3-氰基苯基)甲基)-2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺(化合物A) (81.0kg)溶解于甲苯(567.0L)中。将反应混合物冷却至室温并且接着通过混流床(hyflowbed)过滤,用甲苯(162.0L)洗涤。将溶液装入反应器中。剧烈搅拌

溶液并且在室温下添加正庚烷(324.0L)。将混合物在15-20℃下搅拌5h并且所沉淀的固体通过过滤收集,用10份甲苯与90份正庚烷(81.0L)的混合物洗涤并且在室温下干燥24h,以得到呈灰白色固体状的产物(R)-N-((R)-(3-氨基-4-氟苯基)(3-氰基苯基)甲基)-2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺(化合物A)(67.96kg,83.9%)。¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆) δ7.82(d,J=1.7Hz,1H),7.70(ddt,J=8.1,5.2,1.4Hz,2H),7.54(t,J=7.7Hz,1H),6.93(dd,J=11.4,8.3Hz,1H),6.73(dd,J=8.8,2.3Hz,1H),6.57(ddd,J=8.4,4.4,2.2Hz,1H),5.99(d,J=6.0Hz,1H),5.48(d,J=6.0Hz,1H),5.14(s,2H),1.13(s,9H);MS(ES+)346.3(M+1)。

[0178] 实施例2:化合物I·2HCl的合成方案

[0179] 以下流程和随附步骤阐述用于合成化合物I的结晶双(盐酸)盐的方案。



[0181] 步骤0:制备化合物B HCl(100kg规模)

[0182] 将化合物A(151kg)和2-丙醇(501L)装入反应器中并且在35±5℃下搅拌直到获得澄清溶液。在温度调整至30-35℃之后,将浓盐酸(37%水溶液,64kg,1.5当量)经至少10分钟转移至反应器以使反应器温度保持≤35℃。将反应器内含物的温度调整至25±5℃并且在搅拌6±1小时后将内含物冷却至10±5℃并且收集IPC样品以用于通过IPC HPLC进行转化率分析。如果反应产物化合物B HCl的转化率<99.5%,则将反应混合物再加热至25±5℃

并且再搅拌 3 ± 1 小时并且接着再次冷却至 $10\pm 5^{\circ}\text{C}$,并且收集新IPC样品以用于分析。

[0183] 使反应器的内含物在 $10\pm 5^{\circ}\text{C}$ 下成熟20-35小时。将产物浆液转移至离心机并且产物通过离心分离并且用2-丙醇洗涤。在将产物化合物B HCl干旋转(dry spinning)之后,湿气从离心机中排出。将产物在真空下在 $\leq 30^{\circ}\text{C}$ 下干燥 ≥ 3 小时并且在 $\leq 40^{\circ}\text{C}$ 下干燥 ≥ 2 小时。收率(约80%)。 ^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6) δ 9.28(s, 3H), 8.04(s, 1H), 7.88-7.79(m, 2H), 7.63(t, $J=7.8\text{Hz}$, 1H), 7.10-6.98(m, 1H), 6.76(d, $J=10.3\text{Hz}$, 2H), 5.58(s, 1H), 5.32(s, 2H)。

[0184] 步骤1:制备化合物C草酸盐(100kg规模)

[0185] 将化合物B HCl (94kg) 和甲醇(412L) 装入反应器中并且将内含物温度调整至 $-10\pm 5^{\circ}\text{C}$ 。装入含30%甲醇钠的甲醇(46kg, 0.76当量), 从而使反应器内部温度保持在 $-10\pm 5^{\circ}\text{C}$ 下。将反应混合物搅拌 $\geq 60\text{min}$ 并且检查pH, 并且使用任选的一部分含30%甲醇钠的甲醇(2.6kg, 0.04当量) 进一步调整(根据需要) 至 $\text{pH}=7-8$ 。将反应混合物冷却至 $-22\pm 4^{\circ}\text{C}$, 并且将预称重的环丙烷甲醛(23.4kg, 0.99当量) 以五份形式装入, 从而使反应器内部温度保持 $\leq -10^{\circ}\text{C}$ 。接着将反应器内含物在温度 $-20\pm 5^{\circ}\text{C}$ 下搅拌 ≥ 1.5 小时。

[0186] 每次一份装入硼氢化钠(4.5kg, 0.35当量), 从而使反应器温度保持在 $-20\pm 5^{\circ}\text{C}$ 。接着将反应器内含物在温度 $-20\pm 5^{\circ}\text{C}$ 下搅拌 $\geq 30\text{min}$, 并且针对向化合物C的转化率进行IPC测定。如果需要, 则装入任选的一部分硼氢化钠(0.32kg, 0.025当量), 随后将反应器内含物在 $-20\pm 5^{\circ}\text{C}$ 下搅拌30min。当反应完成(向化合物C的转化率 $\geq 95.0\%$) 时, 在夹套温度 $\leq 50^{\circ}\text{C}$ 下执行甲醇的真空蒸馏直到达到体积标准(大约213L)。在内部温度 $30\pm 5^{\circ}\text{C}$ 下执行用甲苯(339L) 和工艺水(121L) 进行的萃取, 随后分离 $\geq 15\text{min}$ 。舍弃下部水相。将10%氯化钠(99kg) 和工艺水(121L) 预混合并且接着在 $30\pm 5^{\circ}\text{C}$ 下装入反应器中, 随后分离 $\geq 15\text{min}$ 。舍弃下部水相。工艺继续进行甲苯的真空蒸馏(夹套温度 $\leq 50^{\circ}\text{C}$), 至指定体积标准(大约221L)。

[0187] 将草酸二水合物(42kg, 1当量) 和2-丙醇(254L) 装入反应器中并且将内含物温度调整至 $30\pm 5^{\circ}\text{C}$ 。接着将内含物搅拌 $\geq 30\text{min}$ 直到获得澄清溶液。接着转移来自上述步骤的浓缩甲苯相, 并且将反应器温度调整至 $30\pm 5^{\circ}\text{C}$ 并且搅拌 $\geq 30\text{min}$ 并检查结晶。将反应器内含物冷却至 $20\pm 5^{\circ}\text{C}$ 并且搅拌 ≥ 6 小时。将沉淀产物转移至离心机并且用预混合甲苯(59L) 和2-丙醇(62L) 洗涤。在将产物化合物C草酸盐干旋转之后, 湿气从离心机中排出。通过将全部分批排出的化合物C草酸盐湿物装入反应器中, 随后装入预热($80-83^{\circ}\text{C}$) 的2-丙醇(516L) 和甲苯(348L) 来执行再结晶。将反应器内含物快速加热至 $79\pm 3^{\circ}\text{C}$ 并且搅拌直到获得澄清溶液。将工艺水(6.1L, 1当量) 装入反应器内含物中并且将内含物冷却至 $20\pm 3^{\circ}\text{C}$ 并搅拌至少12小时直到出现结晶。产物通过离心分离并且用预混合的异丙醇(62L) 和甲苯(59L) 洗涤。将产物排出并且进行IPC取样, 并且以与先前所描述相同的程序执行第二再结晶并且进行IPC取样(化合物B $\leq 0.05\%$, RRT $1.39\leq 1.04\%$)。产物首先在 $\leq 30^{\circ}\text{C}$ 下干燥 ≥ 3 小时并且接着在 $\leq 40^{\circ}\text{C}$ 下于锥形干燥器中干燥 ≥ 3 小时。排出所干燥的材料, 从而得到化合物C草酸盐(收率约77%)。 ^1H NMR (300MHz, 氧化氘) δ 7.77(d, $J=3.3\text{Hz}$, 2H), 7.73(s, 1H), 7.58(t, $J=7.8\text{Hz}$, 1H), 7.11(dd, $J=10.9, 8.4\text{Hz}$, 1H), 6.98(dd, $J=8.2, 2.3\text{Hz}$, 1H), 6.86(dt, $J=7.0, 3.2\text{Hz}$, 1H), 5.51(s, 1H), 2.88(d, $J=7.4\text{Hz}$, 2H), 1.03(tq, $J=7.9, 3.9, 3.0\text{Hz}$, 1H), 0.63(d, $J=7.7\text{Hz}$, 2H), 0.24(p, $J=5.5, 5.1\text{Hz}$, 2H)。

[0188] 步骤2:制备化合物D(100kg规模;甲苯溶液500kg,20w/w%化合物D)

[0189] 通过装入水(141L)和氢氧化钾(24kg,85%,2.1当量)来制备KOH溶液的预混合物。在 $20\pm5^{\circ}\text{C}$ 下搅拌混合物直到获得澄清溶液。将化合物C草酸盐(67kg)、2-丙醇(10L)和甲苯(292L)装入反应器中并且将反应器内含物在 $20\pm5^{\circ}\text{C}$ 下搅拌 $\geq 15\text{min}$ 。在温度 $\leq 50^{\circ}\text{C}$ 下将制备的氢氧化钾溶液转移至另一反应器。接着,将反应混合物加热至 $50\pm5^{\circ}\text{C}$ 并且搅拌直到获得澄清溶液。检查下部水相的pH(≥ 13)并且接着将反应器内含物静置以分离 $\geq 10\text{min}$,并且舍弃下部水相。

[0190] 在 $50\pm5^{\circ}\text{C}$ 下将剩余甲苯相用工艺水(156L)洗涤并且分离 $\geq 15\text{min}$,随后移除下部水相。重复程序,并且有机相进行IPC取样(RRT0.85,NMT 0.10%)。将甲苯相在真空下在夹套温度 $\leq 70^{\circ}\text{C}$ 下蒸馏至指定体积(173L)。装入甲苯(192L),并且以相同的程序重复蒸馏。

[0191] 向另一反应器中通过人孔装入化合物F(作为100%的73.5kg,1.1当量)并且将反应器在 $20\pm5^{\circ}\text{C}$ 下搅拌 $\geq 15\text{min}$ 并且装入第一部分吡啶(13.7kg,1.0当量)。接着搅拌内含物直到获得澄清溶液。

[0192] 在温度 $\leq 3^{\circ}\text{C}$ 下,将50%在EtOAc(148.7kg,50%,1.35当量)中的T3P装入上述溶液中。将在反应器中的内含物加热至 $20\pm5^{\circ}\text{C}$ 并且将混合物搅拌1.5-2.5小时,并且接着装入第二部分吡啶(6.9kg,0.5当量)。在将内含物在 $20\pm5^{\circ}\text{C}$ 下搅拌2-4小时后,对反应混合物(含有水和有机相两者)进行IPC取样以用于转化率分析(化合物D $\geq 99.6\%$)。将工艺水(265L)和第三部分吡啶(20.6kg)装入反应器中。将反应混合物在 $35-40^{\circ}\text{C}$ 下搅拌15min并且接着分离 $\geq 20\text{min}$,并且舍弃下部水相。有机相用工艺水(265L)洗涤并且在 $35-40^{\circ}\text{C}$ 下搅拌 $\geq 15\text{min}$ 并且接着静置以分离 $\geq 20\text{min}$,随后移除下部水相。根据需要重复程序。接着转移碳酸氢钠水溶液(5%)、水(487L)和 NaHCO_3 (24.8kg,1.7当量)的预混合溶液,并且将内含物在 $38\pm3^{\circ}\text{C}$ 下搅拌 $\geq 20\text{min}$ 并分离 $\geq 20\text{min}$,并且舍弃下部水相。工艺继续在 $35-40^{\circ}\text{C}$ 下在反应器中用工艺水(266L)对内含物进行洗涤,随后分离并且移除下部水相。

[0193] 在 $T_m < 70^{\circ}\text{C}$ 下执行在真空下对反应器内含物的蒸馏,至反应器中的体积 $\leq 284\text{L}$ 。装入甲苯(大约280L)以达到所指定的目标体积(大约563L)。将产物(化合物D)溶液冷却至 $4\pm5^{\circ}\text{C}$,取样并且排出至用氮气冲洗的筒中并且接着在 $4\pm5^{\circ}\text{C}$ 下储存于冷却容器中。 ^1H NMR (300MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 10.56 (s, 1H), 7.89 (t, $J=1.6\text{Hz}$, 1H), 7.74 (d, $J=7.7\text{Hz}$, 1H), 7.69-7.61 (m, 2H), 7.58 (s, 1H), 7.54-7.31 (m, 7H), 7.22 (dd, $J=10.3, 8.5\text{Hz}$, 1H), 4.93 (s, 1H), 4.19 (d, $J=6.2\text{Hz}$, 2H), 2.25 (s, 2H), 1.37 (s, 9H), 1.26 (s, 1H), 1.00-0.80 (m, 1H), 0.48-0.30 (m, 2H), 0.10--0.03 (m, 2H); ^{19}F NMR (282MHz, DMSO) δ -60.62, -123.00; MS (ES+) 663.5 (M+1)。

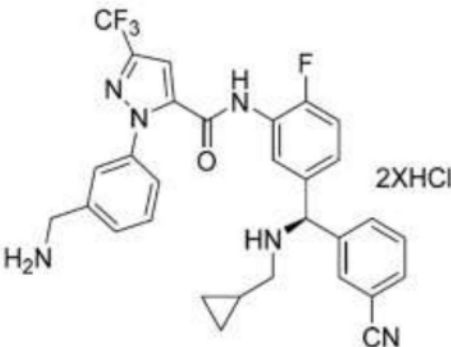
[0194] 步骤3:制备化合物I 2XHC1(100kg规模)

[0195] 向反应器中装入化合物D(119.9kg,呈614.7kg,19.5%甲苯溶液形式),并且在夹套温度 $\leq 70^{\circ}\text{C}$ 下真空蒸馏溶液以用于移除甲苯直到达到283L的体积含量。通过将2-丙醇(807L)装入反应器中来执行溶剂交换,随后在 $T_m < 70^{\circ}\text{C}$ 下真空蒸馏直到达到283L的体积含量。重复程序一次,并且接着将蒸馏溶液用2-丙醇(306L)和水(542L)稀释,并且温度调整至 $20\pm5^{\circ}\text{C}$ 。将37%盐酸(115.2kg;6.46当量)装入反应器中,从而使反应器内部温度保持 $\leq 45^{\circ}\text{C}$ 。接着将反应混合物在 $40-47^{\circ}\text{C}$ 下搅拌5-12小时并且接着进行IPC取样以用于转化率控制(化合物I $\geq 98\%$)。反应器的内含物用甲苯(420L)洗涤并且在 $35-40^{\circ}\text{C}$ 下搅拌至少15min,随

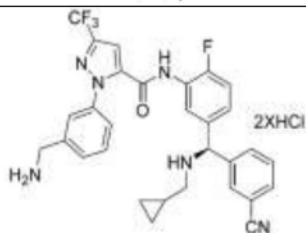
后在35-40℃下使产物相(下部水相)分离 $\geq 15\text{min}$ 。舍弃有机废弃相(上部相)。重复此程序两次(首先用540L甲苯,接着用633L甲苯)。将甲苯(662L)装入水性产物相中并且将25%氨水(137kg, 11.2当量)在温度 $\leq 40^\circ\text{C}$ 下经由玻璃容器装入反应器中,并且将碱性混合物在35-40℃下搅拌至少30min,并且检查pH ($\text{pH} \geq 10$),随后停止搅拌以允许将下部水相与含有产物化合物I游离碱的上部有机相分离。舍弃下部水相。在温度35-40℃下用工艺水(614L)洗涤有机产物相并且舍弃水相。重复此程序一次。在真空下在夹套温度 $\leq 70^\circ\text{C}$ 下将甲苯相在反应器中蒸馏至指定体积(314L)。在 $T_m < 70^\circ\text{C}$ 下在真空蒸馏下进行MTBE(627L)的溶剂交换。重复程序一次并且通过进一步添加MTBE或进一步蒸馏来调整反应器中的剩余内含物,以获得在 $20 \pm 5^\circ\text{C}$ 下控制的指定体积(最大1372L,最小1262L)。接着将内含物冷却至 $-7 \pm 3^\circ\text{C}$ 。

[0196] 将37%盐酸水溶液(38.1kg, 32.3L, 2.14当量)装入干净并且空的结晶容器中,添加甲醇(228.9kg, 39.5当量)冲洗剂,并且将内含物冷却至 $-7 \pm 3^\circ\text{C}$ 。在温度 $-5 \pm 5^\circ\text{C}$ 下通过精致过滤器将来自前一步骤的MTBE相过滤至结晶容器中。在用MTBE冲洗后,通过人孔装入预称重的化合物I 2XHC1晶种(1.39kg, 0.012当量)。将容器内含物加热至30-33℃并且将搅拌速度设定为25-50rpm。在确认结晶后,将浆液再搅拌三至四小时。将产物浆液转移至离心机并且通过离心分离,并且用MTBE(585L)洗涤产物。在将产物化合物I 2XHC1干燥之后,湿气从离心机中排出并且在 $\leq 40^\circ\text{C}$ 下在真空下于锥形干燥器中干燥产物。典型收率=74-86%。

[0197] ^1H NMR(300MHz, DMSO- d_6)数据示出于下表中:

[0198]	结构 	化学位移 (ppm) 0.02 - 0.10 0.33 - 0.42 0.80 - 0.97 2.21 -2.31 3.77 4.93 7.22 7.34 7.38 - 7.47 7.47 - 7.54 7.56 7.63 7.67 7.71 - 7.77 7.88 10.53	类别 m m m m s s dd ddt m m s dd dt m t s	氢的数目 2 2 1 2 2 1 1 2 2 2 1 1 1 1 1 1
--------	--	---	---	--

[0199] ^{19}F NMR(282MHz, DMSO- d_6)数据示出于下表中:

	结构	氟化学位移(ppm)
[0200]		-60.81, -119.99

[0201] 化合物I具有两个碱性位点。伯胺的共轭酸经过计算具有8.89的pKa值,并且仲胺的共轭酸经过计算具有7.86的pKa值。

[0202] 实施例3:化合物分析

[0203] 在体外生物化学测定中测量对人类血浆激肽释放酶活性的抑制来测定化合物I。测定的实验方案和结果见于W0 2015/134998和美国专利申请公布第2017/0073314A1号(两者均以引用的方式并入)中。此生物化学测定的结果表明化合物I是人类血浆激肽释放酶活性的强力抑制剂。

[0204] 以引用的方式并入

[0205] 本文中所提及的所有美国专利以及U.S.和PCT公布的专利申请均以全文引用的方式并入,如同各个别专利或所公布的申请特定地并且独立地指示是以引用的方式并入一般。在有冲突的情况下,将以本申请(包括本文中的任何定义)为准。

[0206] 等效物

[0207] 虽然已论述了本发明的特定实施方案,但上述说明书是说明性的而非限制性的。在审阅本说明书和以下权利要求后,本发明的许多变化形式对于本领域技术人员将变得显而易见。应参考权利要求以及其等效物的完整范围,以及说明书以及此类变化形式来确定本发明的完整范围。