

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

C07K 5/08

C07K 5/06 C07D213/56



[12] 发明专利说明书

[21] ZL 专利号 01804152.3

[45] 授权公告日 2004 年 11 月 17 日

[11] 授权公告号 CN 1176104C

[22] 申请日 2001.1.18 [21] 申请号 01804152.3

[30] 优先权

[32] 2000.1.28 [33] DE [31] 10003586.8

[86] 国际申请 PCT/EP2001/000523 2001.1.18

[87] 国际公布 WO2001/055175 英 2001.8.2

[85] 进入国家阶段日期 2002.7.26

[71] 专利权人 阿文蒂斯药物德国有限公司

地址 德国法兰克福

[72] 发明人 G·布雷波尔 W·霍拉

H·詹德里拉 G·贝克

审查员 吴永庆

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利
商标事务所

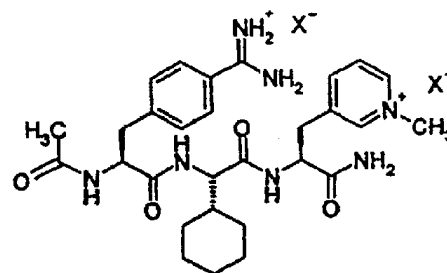
代理人 张 敏

权利要求书 3 页 说明书 35 页

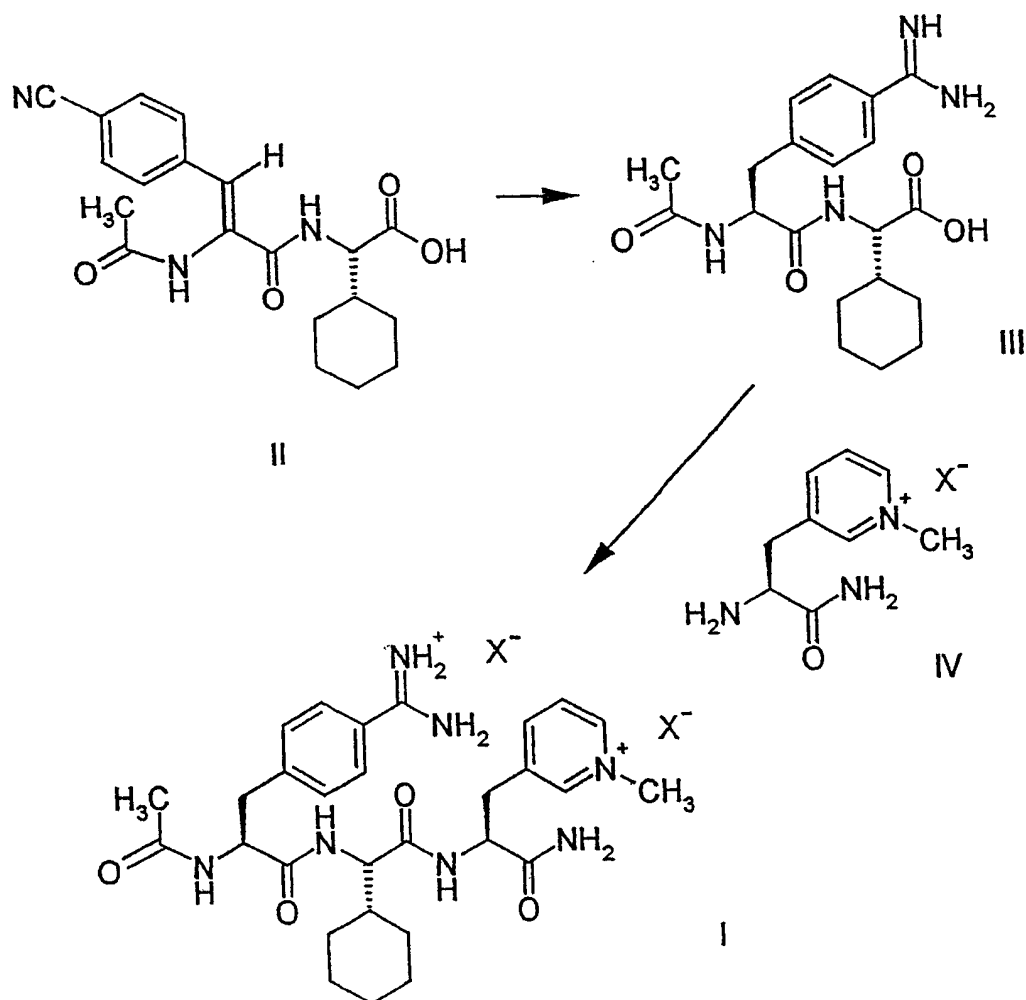
[54] 发明名称 乙酰基 - 脒基苯丙氨酰 - 环己基甘
氨酰 - 吡啶氨基丙酸酰胺的制备方法
3 - 吡啶子) 氨基丙酸酰胺。

[57] 摘要

本发明涉及式 (I) 的乙酰基 - 脒基苯丙氨酰 - 环己基甘氨酰 - 吡啶子氨基丙酸酰胺的制备方法, 其中阴离子 X 是生理可接受阴离子, 和它们的类似物, 它们是凝血因子 Xa 的有效抑制剂并且可以用来例如预防血栓形成。根据本发明的方法包括将通过不对称氢化作用并且将氰基转化为脒而从 2 - [2 - 乙酰基氨基 - 3 - (4 - 氰基苯基) 丙稀酰氨基] - 2 - 环己基乙酸获得的 2 - [2 - 乙酰基氨基 - 3 - (4 - 脒基苯基) 丙酰基氨基] - 2 - 环己基乙酸, 或者其盐, 与 3 - (2 - 氨基 - 2 - 氨基甲酰基乙基) - 1 - 甲基吡啶鎓盐或者其盐偶联。本发明还提供用于该方法的起始物和中间体, 它们的制备方法, 和作为二甲苯磺酸盐的乙酰基 - (S) - 4 - 脒基苯丙氨酰 - (S) - 环己基甘氨酰 - (S) - (1 - 甲基 -



1. 制备式 I 的化合物的方法, 包括通过催化氢化作用和氰基向脒基的转化作用将式 II 的化合物转化为式 III 的化合物或者其与酸 HX 的盐, 接着与式 IV 的化合物或者其与酸 HX 的盐反应, 得到式 I 化合物,



其中阴离子 X 是生理可接受阴离子。

2. 权利要求 1 的方法, 其中所述氢化作用是使用手性铑 (I) 复合物作为催化剂进行的。

3. 权利要求 1 或 2 的方法, 其中所述氢化作用是使用铑 (I) (+)-(2R,4R)-1-叔丁氧羰基-4-二苯基膦基-2-(二苯基膦基甲基)吡咯烷复合

物作为催化剂进行的。

4. 权利要求 1 或 2 的方法, 其中所述氰基向脒基的转化作用是通过与羟胺或者羟基铵盐的反应和得到的 N-羟基脒的氢解进行的。

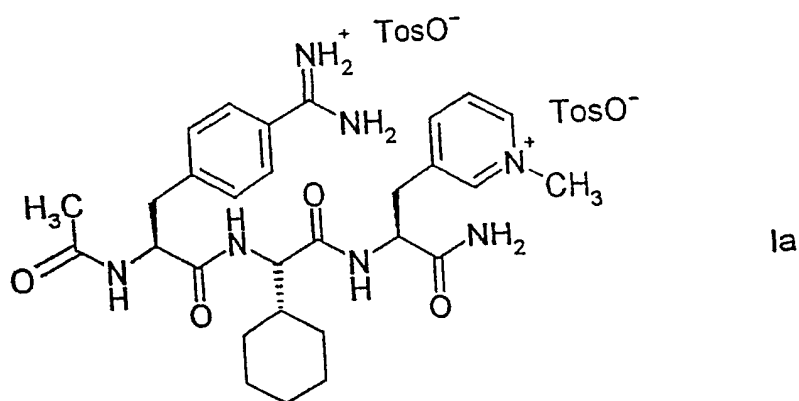
5. 权利要求 1 或 2 的方法, 其中所述式 III 和 IV 的化合物或者其盐的反应是在碳二亚胺的存在下进行的。

6. 权利要求 1 或 2 的方法, 其中所述式 III 和 IV 的化合物或者其盐的反应是在二环己基碳二亚胺和 3-羟基-4-氧代-3,4-二氢-1, 2, 3-苯并三嗪的存在下进行的。

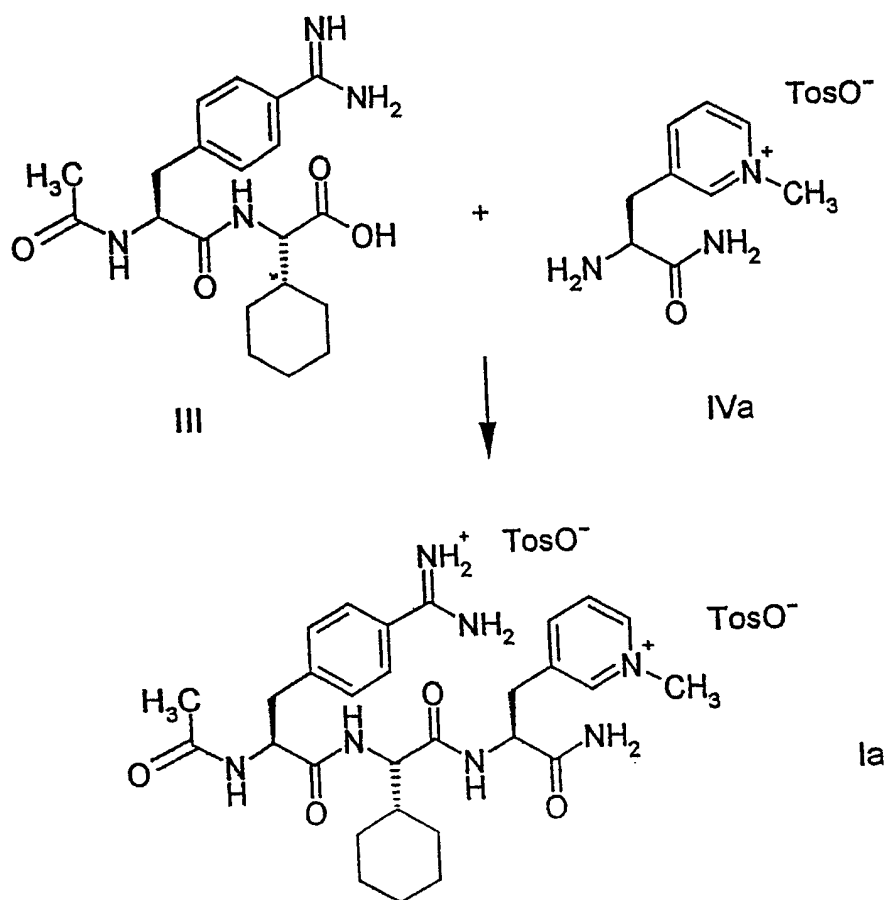
7. 权利要求 1 或 2 的方法, 其中在式 III 和 IV 的化合物的反应中, 以与酸 HX 的盐的形式使用式 IV 的化合物, 并且以其本身, 即甜菜碱的形式, 使用式 III 的化合物。

8. 权利要求 1 或 2 的方法, 其中阴离子 X^- 是甲苯-4-磺酸根。

9. 其中阴离子 $TosO^-$ 是甲苯-4-磺酸根的式 Ia 的化合物

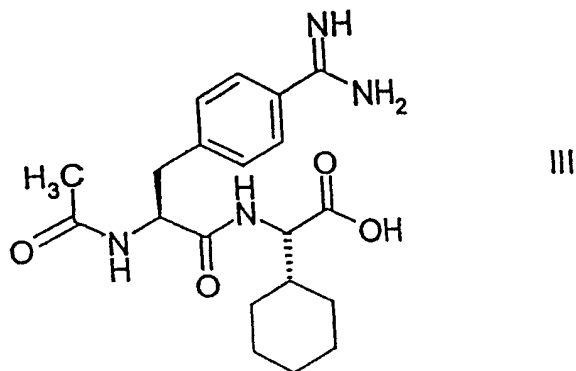


10. 权利要求 1 的方法, 制备其中阴离子 $TosO^-$ 是甲苯-4-磺酸根的式 Ia 的化合物, 包括使式 III 的化合物或者其甲苯-4-磺酸盐与式 IVa 的化合物或者其甲苯-4-磺酸盐反应, 得到式 Ia 的化合物



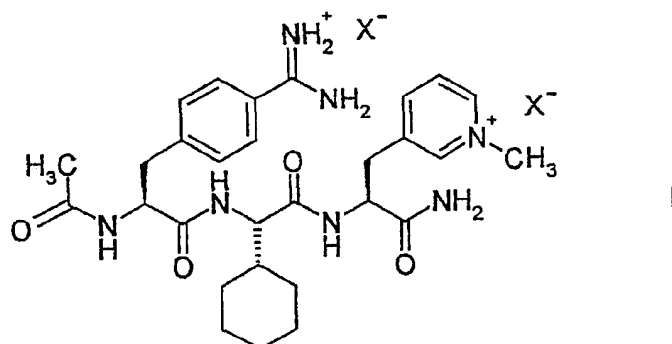
11. 权利要求 10 的方法，其中以其与甲苯-4-磺酸的盐的形式使用式 IVa 的化合物，并且以其本身，即以甜菜碱的形式，使用式 III 的化合物，并且反应是在二环己基碳二亚胺和 3-羟基-4-氧代-3,4-二氢-1, 2, 3-苯并三嗪的存在下进行的。

12. 式 III 的化合物及其盐



乙酰基-脒基苯丙氨酸-环己基甘氨酸-吡啶氨基丙酸酰胺的制备方法

本发明涉及式 I 的乙酰基-脒基苯丙氨酸-环己基甘氨酸-吡啶氨基丙酸酰胺的制备方法,



其中阴离子 X 是药可接受阴离子, 和它们的类似物, 它们是凝血因子 Xa 的有效抑制剂并且可以用来例如预防形成血栓。本发明方法包括将通过不对称氢化作用并且将氰基转化为脒而从 2-[2-乙酰基氨基-3-(4-氰基苯基)丙稀酰氨基]-2-环己基乙酸获得的 2-[2-乙酰基氨基-3-(4-脒基苯基)丙酰基氨基]-2-环己基乙酸或者其盐, 与 3-(2-氨基-2-氨基甲酰基乙基)-1-甲基吡啶鎓盐或者其盐偶联。本发明还提供用于该方法的起始物和中间体, 它们的制备方法, 和作为二甲苯磺酸盐的乙酰基-(S)-4-脒基苯丙氨酸-(S)-环己基甘氨酸-(S)-(1-甲基-3-吡啶基)氨基丙酸酰胺。

在某些临床情况下, 例如, 深度静脉血栓、高危心肌梗塞或者稳定的或者不稳定的心绞痛、凝血系统障碍和血栓形成可以导致致命。但是, 在防治血栓形成中, 不期望过分甚至完全抑制凝血系统, 因为这可以导致流血威胁生命。当前使用的血凝抑制剂, 例如肝素, 阿司匹林或者蛭素, 不具备最佳的性质轮廓, 因为它们能够导致流血并发症, 在提到的某些临床

情况下，不能够防止血管堵塞。动物实验证明凝血酶因子 Xa 的特异性抑制剂可靠地预防血栓形成而不发生出血，当直接使用凝血酶抑制剂时观察到出血现象。式 I 的化合物及其类似物是静脉内，皮下和口服施用后有效的因子 Xa 的特异性高效抑制剂。

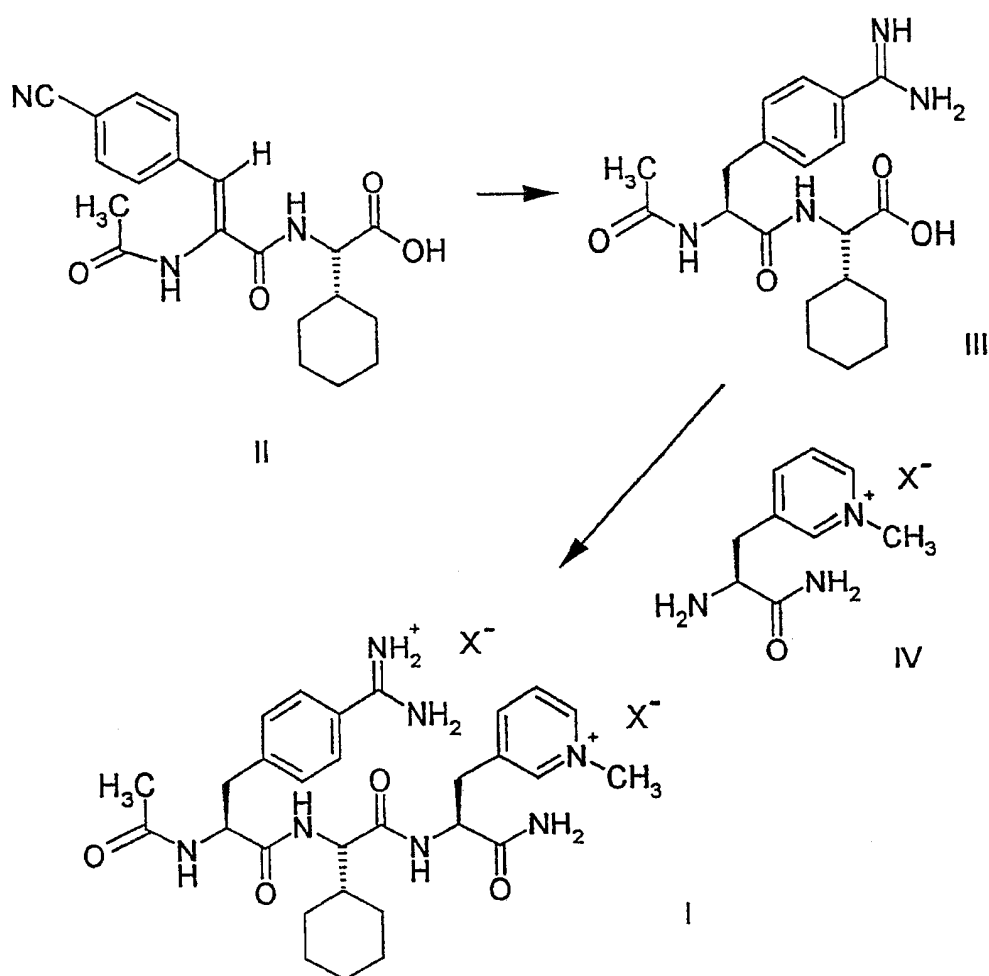
WO-A-95/29189 和相应的美国专利 No. US-A-5, 849, 510 中描述了式 I 的化合物及其类似物。根据 WO-A-95/29189，通过固相合成使用保护基团技术制备这些化合物，其中使用 Knorr 连接基团使 3-吡啶基丙氨酸与树脂偶联，然后与环己基甘氨酸偶联，吡啶氮原子被季铵化，该二肽与从 4-氰基苯丙氨酸制备的乙酰基-4-脒基苯丙氨酸偶联，并且该产物从树脂上裂解下来之后，通过色谱法纯化。这种固相方法不适合制备开发任务要求的多千克量，例如毒理学和临床研究，或者甚至不适合工业规模合成。

只有在要求的规模上进行制备并且具有合适的纯度时，一种药理学活性化合物可接受为开发产物并且随后用于患者，所谓纯度，在具有不对称中心化合物的情况下，还特别包括立体化学纯度。所述式 I 的化合物在脒基团和 N-甲基吡啶基团中含有携带正电荷的肽二阳离子。在带有不同的阴离子 X^- 例如乙酸根，氯离子，富马酸根，苯甲酸根，酒石酸根，马来酸根，三氟乙酸根，甲苯磺酸根，硫酸根或 pamoate 的式 I 的化合物中，发现只有三氟乙酸盐（式 I 的化合物， $X^- = CF_3CO_2^-$ ）是结晶体。但是，这种三氟乙酸盐的热稳定性不足够，其保存寿命不令人满意，并且从生理学角度看，这种盐较不优选长期使用。发现化合物 I 的所有的其它盐的 X-射线粉末图都是无定形的。在相对大规模制备式 I 的化合物中，这种盐的无定形性质是一个相当大的问题，因为这使得不可能重结晶，并且分级沉淀是适合大规模使用的唯一一种纯化方法。但是，沉淀的纯化效率当然比结晶的要低得多，因此必需在尽可能平和进行的反应中制备具有合适的阴离子 X 的粗式 I 的化合物，使得通过分级沉淀最后能够获得临床上可接受纯度的产物。但是，该制备方法自然也应具有一些可接受的因素，例如，产率，步骤数目或者有效性及起始物的成本。

WO-A-97/22712 中描述了不是在固相上进行的式 I 的化合物的制备方法。在该方法中，以和 WO-A-96/29189 方法中同样的顺序连接式 I 的化

合物中所包含的三个氨基酸单元。(S)-3-吡啶基丙氨酸,叔丁氧羰基(Boc)保护的氨基,最初转化为酰胺,接着,去除保护基团之后,与(S)-N-Boc-环己基甘氨酸偶联,去除保护基团,该二肽与乙酰基-(S)-4-氰基苯丙氨酸偶联,并且通过与硫化氢,碘甲烷和氨水反应将得到的三肽中的氰基转化为脒,并且将吡啶氮原子季铵化。通过蒸发最后反应步骤获得的反应溶液,加入三氟乙酸溶解残余物,过滤并且冷冻干燥,以三氟乙酸盐的形式分离产物。但是发现通过该方法获得的产物的纯度,包括立体化学纯度,不符合要求,必需要复杂的色谱法纯化,而这涉及大的损失并且当以大规模进行该方法时是不可接受的。从生理学角度看关于三氟乙酸根阴离子为了避免可能的缺点,进一步需要使用离子交换色谱将产物转化为不同的盐。此外,该方法具有相当的技术上的缺点,例如使用溶剂例如乙醚或己烷或者在低温下操作,并且使用昂贵的起始物(式 I 的化合物中所包含的作为结构单元的少量的三种对映体纯非天然 α -氨基酸(S)-3-吡啶基丙氨酸, (S)-环己基甘氨酸和(S)-4-脒基苯丙氨酸(或者(S)-4-氰基苯丙氨酸;脒基可以从氰基形成)可从商业上获得,但是这些化合物非常昂贵)。因此,仍然存在大规模制备具有合适的阴离子 X 的式 I 的化合物的平和进行的方法的需要。

通过根据本发明的式 I 的化合物的制备方法实现该目的,其包括通过催化氢化作用和氰基向脒基的转化作用将式 II 的化合物转化为式 III 的化合物或者其与酸 HX 的盐,接着使式 III 的化合物或者其盐与式 IV 的化合物或者其与酸 HX 的盐反应,得到其中 X 是生理可接受阴离子的式 I 的化合物。

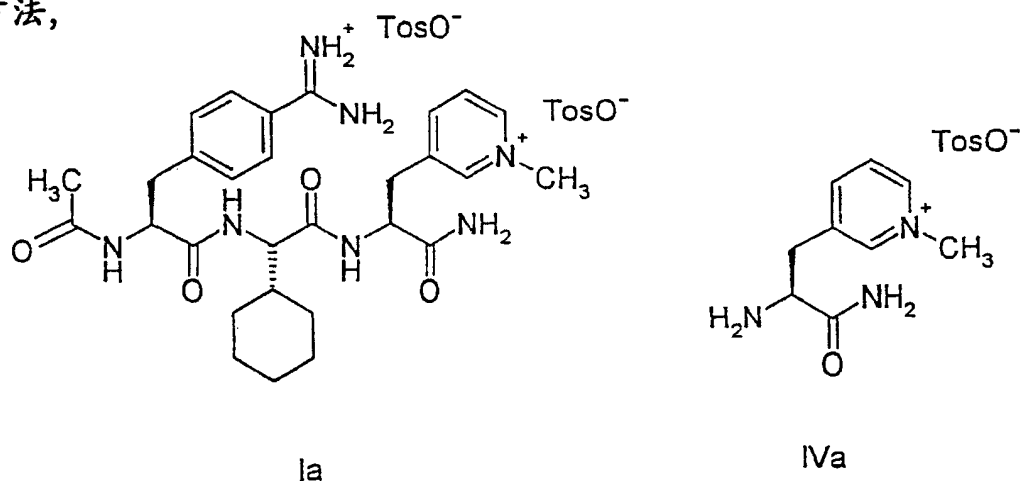


在已知方法中,通过将吡啶基丙氨酸和环己基甘氨酸的C-末端二肽与N-末端氨基酸脒基苯丙氨酸(或者氰基苯丙氨酸)偶联构建式I的分子,在根据本发明的方法中,通过使脒基苯丙氨酸和环己基甘氨酸的N-末端二肽与C-末端氨基酸吡啶基丙氨酸偶联来合成该分子。此外,在根据本发明的方法中,在用于该偶联的二肽中,和在已知方法中一样在两个手性 α -氨基酸的偶联反应中不形成具有两个对差向异构化作用敏感的手性中心的结构单元CH-CO-NH-CH-CO,而是通过不对称氢化作用形成。在根据本发明的方法中,肽偶联完全而且定量化,使用廉价的试剂。差向异构化作用程度非常低。通过分级沉淀以高产率和高化学纯度和立体化学纯度获得式I的化合物。获得期望的纯度不需要色谱法纯化或者昂贵并且复杂的技术,例如冷冻干燥。

本发明还提供了与上述方法相类似的方法,其中使用具有不同构型的

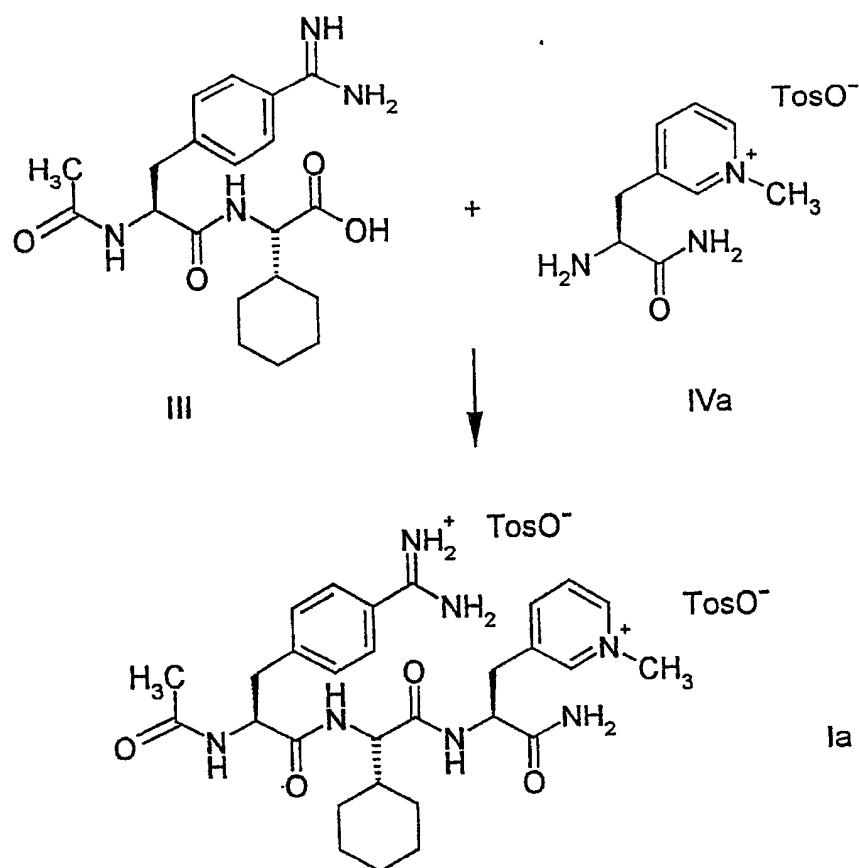
起始物制备式 I 的化合物的立体异构体, 例如, 其中脒基苯丙氨酸单元中手性中心具有(R)构型和/或环己基甘氨酸单元中手性中心具有(R)构型和/或吡啶基丙氨酸单元中手性中心具有(R)构型的化合物, 或者在一个或多个手性中心上以(RS)混合物存在的化合物。本发明还提供了与上述方法相类似的方法, 其中使用合适的起始物, 制备式 I 的化合物的类似物(和它们的立体异构体), 例如, 其中代替脒基苯丙氨酸单元中乙酰基氨基中的甲基, 包含(C₁-C₄)-烷基和/或, 代替吡啶季氮原子处的甲基, 包含(C₁-C₄)-烷基的化合物, 这样的(C₁-C₄)-烷基的例子是甲基, 乙基, 正丙基, 异丙基, 正丁基, 异丁基和叔丁基。

式 I 和 IV 的化合物中和酸 HX 中生理可接受阴离子可以是, 例如, 氯离子, 溴离子, 碘离子, 甲磺酸根, 甲苯-4-磺酸根, 乙酸根, 苯甲酸根和其它。在多价阴离子例如硫酸根的情况下, X 是阴离子等价物。X 优选是即使如果以相对高剂量和相对长的时间使用式 I 的化合物, 从生理学角度看也没有缺陷的, 和/或给式 I 的化合物带来药物加工和药理作用方面的有益性能例如在水中的合适的溶解度的, 和/或给式 I 和 IV 的化合物带来根据本发明的方法技术实施方面的有益性能例如容易操作, 在使用的溶剂中的合适的溶解度, 使得它们容易沉淀和/或容易过滤的事实等的阴离子。在本发明一个优选的实施方案中, X 是甲苯-4-磺酸根 (=4-甲基苯磺酸根=4-CH₃-C₆H₄-SO₃⁻=甲苯磺酸根=TosO⁻) 或者碘离子; 在特别优选的实施方案中, X 是甲苯-4-磺酸根。因此, 在该特别优选的实施方案中, 本发明涉及二甲苯磺酸盐形式的式 I 的化合物, 即式 Ia 的化合物的制备方法,

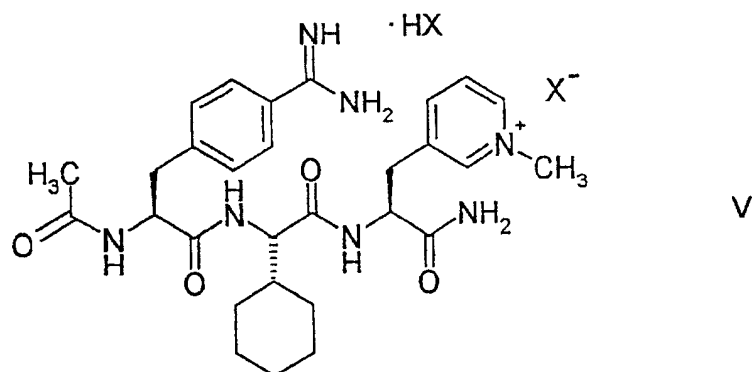


包括通过催化氢化作用和氨基向脒基的转化作用将式 II 的化合物转化为式 III 的化合物或者其甲苯-4-磺酸盐, 以及使式 III 的化合物或者其甲苯磺酸盐与式 IVa 的化合物或者其甲苯-4-磺酸盐反应, 得到式 Ia 的化合物。从生理学角度看, 式 Ia 的化合物中包含的甲苯磺酸根阴离子没有缺点, 式 Ia 的化合物是卓著的, 特别在于实施根据本发明的方法时特别好的性质。式 Ia 的化合物容易沉淀并且容易过滤, 并且以特别高的产率和纯度获得。本发明还提供了式 Ia 的化合物本身及其溶剂化物, 例如与水或者醇的加成物, 式 Ia 的化合物作为因子 Xa 的抑制剂, 或者用于处理, 包括治疗和预防, 血栓栓塞病症, 例如血栓形成, 心肌梗塞或者心绞痛的用途, 和式 Ia 的化合物制备用于这些医疗应用的药物的用途, 和含有有效量的式 Ia 的化合物和药学可接受载体, 即一种或多种药学可接受赋形剂和/或添加剂的药物制剂(或者药物组合物)。WO-A-95/29189 和美国专利 US-A-5, 849, 510 给出了对于式 I 的化合物包括式 Ia 的化合物的用途和对含有这些化合物的药物制剂的更详细的描述, 这些文献清楚地引入本发明说明书作为参考。

除了上述对于从式 II 和 IV 的化合物或者其盐制备式 I 的化合物和式 Ia 的化合物的方法之外, 本发明涉及式 Ia 的化合物的制备方法, 其包括使式 III 的化合物或者其甲苯-4-磺酸盐与式 IVa 的化合物或者其甲苯-4-磺酸盐反应, 得到式 Ia 的化合物。关于该方法, 该方法以出人意料特别好的产率和纯度提供特别的二甲苯磺酸盐形式的式 I 的化合物, 并且该方法特征在于这样的事实, 即其特别平和地进行并且可以以简单的方式实施, 相应地适用上文和下文对于式 III 和 IV 的化合物或者它们的盐的反应, 即对于上述方法背景中的肽偶联步骤的所有的详细描述。

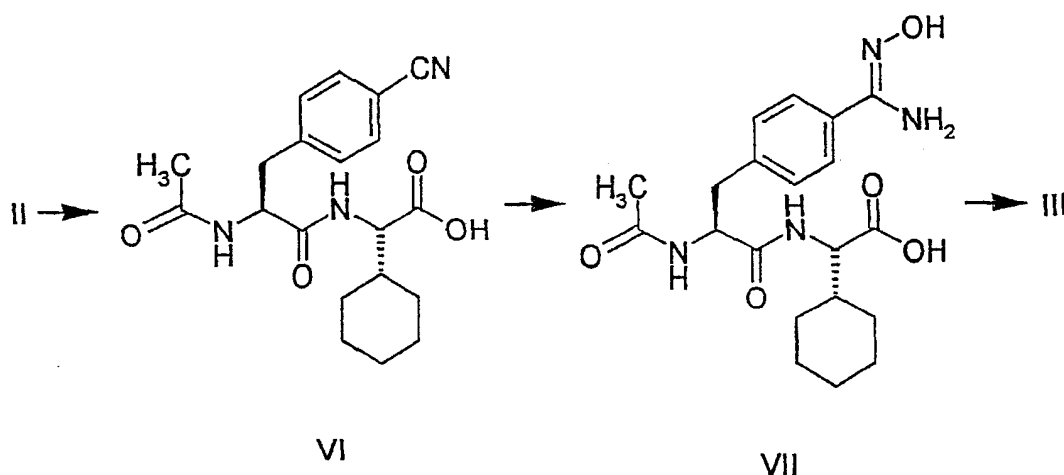


式 I 的化合物也可以用式 V 代表, 其表明它们形式上可以认为是酸 HX 和式 V 中包含的一价阳离子脒基-取代的吡啶鎓盐的酸加成盐 (具有一个游离的脒基 (=氨基甲基 N-亚氨基=氨基-亚氨基-甲基-C(=NH)-NH₂ 代替式 I 中质子化的带正电荷的脒基-C(=NH₂⁺)-NH₂)。



相应地, 这些化合物也可以以不同的方式命名, 例如作为包含带正电荷的脒基为取代基和两个带负电荷阴离子 X 为抗衡离子的二价阳离子吡啶鎓盐, 或者作为酸 HX 和包含游离脒基为取代基和带负电荷阴离子 X 为抗衡离子的一价阳离子吡啶鎓盐的酸加成盐。根据各种情况, 其它命名方式也可以是合适的, 例如来自肽命名法的名称, 其中带正电荷的脒鎓基(=脒基基团)或者游离脒基和带正电荷的吡啶鎓基(=吡啶子基团)被看作是取代基。例如式 Ia 的化合物, 可以称作是 3-[(S)-2-[(S)-2-((S)-2-乙酰基氨基-3-(4-脒基苯基)丙酰基氨基)-2-环己基乙酰基氨基]-2-氨基甲酰基乙基]-1-甲基吡啶鎓二甲苯磺酸盐或者是 3-[(S)-2-[(S)-2-((S)-2-乙酰基氨基-3-(4-脒基苯基)丙酰基氨基)-2-环己基乙酰基氨基]-2-氨基甲酰基乙基]-1-甲基吡啶鎓甲苯磺酸盐甲苯-4-磺酸盐, 或者是 N-乙酰基-4-(氨基亚氨基-甲基)-L-苯丙氨酰-L-2-环己基甘氨酸-3-(1-甲基吡啶鎓-3-基)-L-氨基丙酸酰胺甲苯磺酸盐甲苯-4-磺酸盐。

当实施根据本发明的方法时, 通过首先以立体选择方式将式 II 的化合物氢化, 给出式 VI 的化合物, 接着将氰基转化为脒, 或者通过首先将氰基转化为脒, 接着进行立体选择性氢化, 而将式 II 的化合物转化为式 III 的化合物。



优选地, 首先进行给出式 VI 的化合物的氢化作用, 接着将氰基转化为

脒。

使用选择性多相催化剂或者手性过渡金属络合物可以实施式 II 的脱氢二胺中 C=C 双键的立体控制氢化作用。优选使用铑(I) 或者钌(II)的特别优选铑(I)的手性金属络合物进行。所述过渡金属催化剂可以是阳离子性或中性的,其可以以分离形式使用或者是从手性配位体和预催化剂在氢化作用介质中就地形成的,所述预催化剂是例如铑盐例如 $[\text{Rh}(\text{COD})\text{Cl}]_2$ 或者 $[\text{Rh}(\text{COD})_2]^+\text{Y}^-$ (COD 是 1,5-环辛二烯, Y 在这里是,例如,四氟硼酸盐)。氢化作用催化剂可以以均匀溶解的形式存在于氢化作用介质中,或者其可以与固相载体连接而多相化,结果其在氢化作用完全之后可以通过过滤而容易去除并且反复用于下一批氢化作用。作为过渡金属络合物的手性配位体,很多种不同的化合物是合适的。例如在 I. Ojima, 不对称催化合成(Catalytic Asymmetric Synthesis), p. 445-447, VCH, 纽约 1993 中给出了这样的手性配位体的综述。在本发明优选的实施方案中,对于式 II 的化合物生成式 VI 的化合物的不对称氢化作用使用铑 (I) 与作为配位体的手性脒的络合物。特别优选地提到 Rh(I)-(+) -BPPM 催化剂,即铑 (I) 催化剂,包括作为手性配位体的 (+)-(2R, 4R)-1-叔-丁氧羰基-4-二苯基脒-2-(二苯基脒甲基)-吡咯烷(摩尔比铑:配位体=1:1)。优选从铑盐和配位体就地制备催化剂。

用于式 II 的化合物生成式 VI 的化合物的立体选择氢化作用的合适的溶剂是,例如,醚类,特别是水可混溶的醚,或者低级醇,例如甲醇,乙醇或者异丙醇。特别优选在甲醇中进行氢化作用。优选在大约 20℃ 至大约 60℃,特别优选在大约 30℃ 至大约 50℃,例如在大约 40℃ 的温度下进行氢化作用。根据使用的设备确定氢气压力;优选设置大约 1 至大约 20 巴,特别优选大约 5 至大约 15 巴,例如大约 10 巴的氢气压。为了提高氢化作用的效率,在基本上排除氧气并且非常强地混和下进行反应。以简单的方式向得到的沉淀加水并且过滤或者离心可以分离氢化作用产物。不对称氢化作用以非常高的立体选择性和产率进行并且得到式 VI 的化合物,粗产物中 (S, S)-异构体非对映过量 98.4% d. e., 分离的产物中 99.5% d. e., 分离产率是 97%。此外,以大约 2000:1 至大约 5000:1 非常高的底物/催

化剂之比获得这些极好的结果。

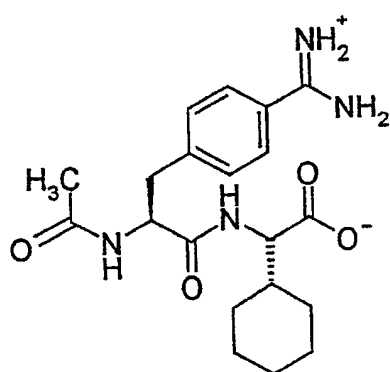
本发明还提供了式 VI 的化合物本身, 即 (S)-2-[(S)-2-乙酰基氨基-3-(4-氟基苯基)丙酰基氨基]-2-环己基乙酸及其盐, 例如碱金属或碱土金属盐, 例如钠盐或者钾盐, 其上述制备方法和作为中间体, 特别是作为药物活性物质的中间体的用途。

式 VI 的化合物中的氟基可以通过本领域技术人员公知的各种方法转化为脒, 例如通过 WO-A-97/22712 中描述的那些, 但是这些方法当以工业规模实施时有一些缺陷, 例如使用硫化氢。优选首先通过对式 VI 的化合物中的氟基加以羟胺, 形成式 VII 的 N-羟基脒中间体来实施转化。然后以简单方式通过氢解, 即通过在氢化作用催化剂存在下与氢气反应, 将式 VII 的化合物转化为式 III 的脒。该反应路线的原理描述于例如 H. Jendralla 等, 四面体 (Tetrahedron) 51 (1995) 12047。

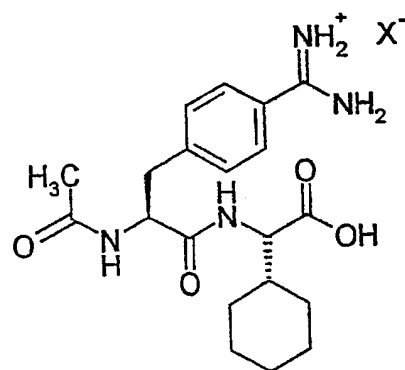
从羟基铵盐例如羟胺盐酸盐或者羟胺硫酸盐, 和碱, 例如碱性钠或钾化合物或者叔胺, 有利地就地制备需要的羟胺。用于式 VI 的化合物和羟胺盐的反应的碱优选是碳酸氢钠。优选过量使用羟胺或者羟胺盐, 例如对于每摩尔式 VI 的化合物使用大约 1 至大约 2 摩尔的量。用于与羟胺和羟胺盐的反应的合适的溶剂是例如低级醇。特别优选溶剂是甲醇。优选在大约 20℃ 至大约 65℃, 特别优选在大约 40℃ 至大约 60℃ 的温度下制备式 VII 的化合物。如果使用羟胺盐, 加入的碱也将式 VI 的化合物中的或者式 VII 的化合物中的羧酸官能团转化为相应的盐。如果期望式 VII 的 N-羟基脒的中间体分离, 可以以有利的方式以羧酸官能团处盐的形式分离该化合物, 即, 如果使用的碱是钠化合物, 以羧酸的钠盐形式分离, 其可通过浓缩反应混合物和/或与相对没有极性的溶剂混和而将其沉淀并且通过过滤或离心分离。

在催化氢化常规条件下, 例如在常规贵金属催化剂例如碳/钯的存在下, 可以进行生成式 III 的化合物的式 VII 的化合物或者其盐的氢解作用。反应条件取决于使用的设备。氢气压力可以是例如大约 1 至大约 30 巴的范围, 特别是大约 5 至大约 25 巴, 反应温度是大约 20℃ 至大约 70℃, 特别是大约 40℃ 至大约 60℃。氢解优选在酸性介质中进行。用于氢解的

优选的溶剂是,特别是如果使用盐形式的 N-羟基脒时,是极性溶剂,例如低级醇或乙酸。特别优选的溶剂是乙酸。得到的式 III 的脒化合物可以直接分离(即游离形式)或者是酸加成盐形式(式 III 的脒化合物本身不是以式 III 代表的具有游离的脒基和羧酸基团的形式存在,而是以式 IIIa 的互变异构形式存在,即作为甜菜碱或者两性离子,其中羧酸基团被解离为羧酸根阴离子并且脒单元被质子化为脒鎓阳离子)分离。



IIIa



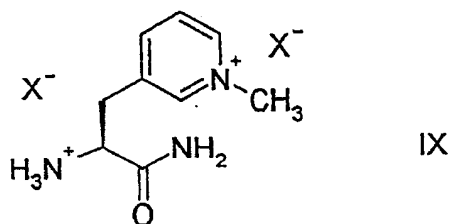
VIII

在酸的存在下,即使在氢解期间酸也可以存在,例如如果使用的溶剂是乙酸,或者酸可以在后处理期间加入,获得作为酸加成盐的式 III 的化合物。因此,使用式 HX 的酸,生成式 VIII 的盐,其中阴离子 X 优选是生理可接受阴离子,例如碘离子或甲苯磺酸根。式 VIII 的化合物是上述酸 HX 和式 III 的化合物的盐。如果分离酸加成盐形式的式 III 的化合物,优选选择酸 HX 使得式 VII 的化合物包含和要制备的式 I 的化合物相同的阴离子。因此,如果要制备式 Ia 的二甲苯磺酸盐并且分离作为盐的式 III 的化合物,则优选制备式 VIII 的脒鎓甲苯磺酸盐,其中 $X = \text{TosO}^-$, 例如通过后处理期间加入甲苯-4-磺酸。正如已经提到过的,对于与式 IV 的化合物的肽偶联,可以使用式 III 的化合物本身,即式 IIIa 的甜菜碱(或者两性离子),或者式 VIII 的脒鎓盐(=HX 和式 III 的化合物的盐),两者都给出相似的纯度和产率。式 III 的化合物优选分离为式 IIIa 的甜菜碱(或者两性离子)并且直接用于肽偶联。如果在乙酸中进行氢解,可以通过

用水重结晶而将最初形成的式 III 的化合物的乙酸盐(=式 VIII 的化合物, 其中 X=乙酸根) 转化为甜菜碱。

本发明还提供了式 III 的化合物及其盐和式 IIIa 和 VIII 的化合物本身, 即作为甜菜碱(两性离子)的(S)-2-[(S)-2-乙酰基氨基-3-(4-脒基苯基)丙酰基氨基]-2-环己基乙酸及其盐形式, 其上述制备方法和作为中间体, 特别是作为药物活性化合物的中间体的用途。

通过本领域技术人员公知的常规偶联方法进行生成式 I 的化合物的式 III 的脒(式 IIIa 的盐形式或者优选地甜菜碱形式)与式 IV 的吡啶基氨基丙酸酰胺或者其盐的肽偶联。优选使用与酸 HX 的盐的形式, 即其中阴离子 X 优选是生理可接受阴离子的式 IX 二阳离子盐形式的吡啶基氨基丙酸酰胺。



式 IV 的化合物或者式 IX 的化合物中的阴离子, 如果以式 VIII 的盐的形式使用式 III 的化合物, 以及式 VIII 的化合物中的阴离子优选是要制备的式 I 的化合物的阴离子, 即, 在制备式 Ia 的化合物的情况下, 是甲苯磺酸根阴离子。如果对于肽偶联既不使用与酸 HX 的盐形式的式 III 的化合物, 也不使用与酸 HX 的盐形式的式 IV 的化合物, 除了通过式 IV 的化合物引入的阴离子 X 的当量之外, 在肽偶联的反应混合物后处理期间可以以酸 HX 的当量或者酸 HX 的盐的形式加以制备式 I 的化合物的所需要的阴离子第二当量。

可以提到的适合活化式 III(或者 IIIa 或者 VIII)的化合物中的羧酸官能团或者羧酸根官能团的肽偶联试剂的例子是碳二亚胺, 例如, 二环己基碳二亚胺(DCC)或者二异丙基碳二亚胺(DIC), 或者脒鎓盐(uronium salts), 例如 O-[(氰基-乙氧羰基-亚甲基)氨基]-N,N,N',N'-四甲基-脒

鎘-四氟硼酸盐 (TOTU) 或者 O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲鎘-六氟磷酸盐 (HATU)。优选在羟基苯并三唑或者羟基苯并三唑试剂的存在下使用碳二亚胺, 例如 3-羟基-4-氧代-3,4-二氢-1,2,3-苯并三唑 (=3-羟基-1,2,3-苯并三唑-4(3H)-酮=H00bt) 或者 1-羟基-1H-苯并三唑 (H0bt)。优选手性碳原子处, 特别是式 III 的化合物中羰基的 α -位上差向异构化作用最小的活化剂和反应条件, 使得如果形成非对映体杂质的话非对映体杂质很少。在这方面特别优选的活化剂是 HATU, DCC/H00bt 和 DCC/H0bt。特别是使用 HATU 或者 DCC/H00bt, 偶联得到粗产物中只含有 0.7-1.5% 非对映体的产物。特别优选地, 由于其相当低的价格, 优选 DCC/H00bt。由于安全原因, 优选在载体上例如在 Dicalit® 上使用 H00bt。

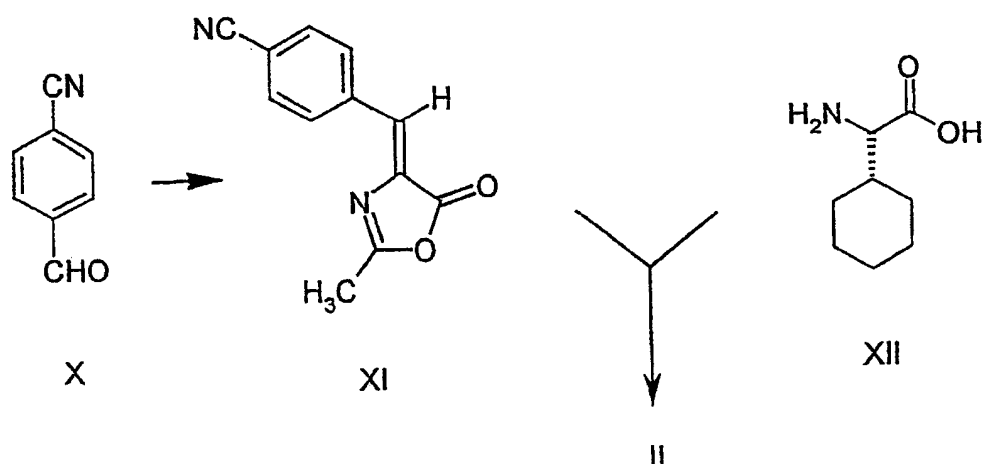
优选在极性溶剂 (或者溶剂混合物) 中进行偶联反应。合适的溶剂是质子溶剂, 例如低级醇, 例如甲醇, 乙醇或者异丙醇, 这些醇中优选异丙醇, 因为 C-末端酰胺基团转化为酯的可能性比使用甲醇或乙醇低。特别优选地, 在其中偶联进行得特别干净彻底的质子惰性极性溶剂中进行偶联, 例如在酰胺中, 例如 N,N-二甲基甲酰胺 (DMF) 或者 N-甲基-2-吡咯烷酮 (NMP), 或者在二甲亚砜 (DMSO) 中。但是, 也可以使用这样的溶剂, 例如, 乙酸乙酯, 四氢呋喃 (THF) 或者二氯甲烷, 特别是也可以在与其它溶剂的混合物中进行。非常特别优选地, 在 DMF 或者 NMP 中进行偶联, 这两者都给出极好的偶联结果和 85-95% 的式 I 的化合物的分离产率 (两种产物分离之后)。特别优选地, 在 DMF 中进行偶联, 因为其可以更容易地从产物中去除。偶联优选在大约 0℃ 至大约 30℃, 特别优选大约 0℃ 至大约 25℃ 的温度下进行, 例如首先在大约 10℃ 下搅拌反应混合物, 然后温热至室温。如果, 在偶联步骤优选的实施方案中, 式 IIIa 两性离子形式的式 III 的化合物与式 IX 的二阳离子盐反应, 则在偶联的整个过程中, 不需要加入另外的碱, 一般保持有利的 pH (如果式 IX 的化合物中的 X 是甲苯磺酸根, 则是大约 3.3 至 4.2)。任选地, 通过加入碱, 例如叔胺, 可以适当调节 pH。如果对于与酸 HX 的盐的形式偶联使用式 III 的化合物和式 IV 的化合物, 则肽偶联需要加入至少一当量的碱, 例如叔胺, 例如

三乙胺或者, 优选地, N-乙基二异丙基胺。

在偶联步骤优选的实施方案中, 使用的活化剂是碳二亚胺和N-羟基苯并三嗪或者N-羟基苯并三唑试剂, 例如HOObt的情况下, 该试剂可以以低于化学计算量的量或者只以催化量存在, 因为N-羟基试剂会在式IV的化合物与中间由式III的化合物和N-羟基试剂形成的活化酯反应期间再生。如果, 例如, 使用DCC/HOObt进行偶联, 则优选以每摩尔式III的化合物大约0.15至大约1摩尔的量, 特别优选以大约0.2至大约0.3摩尔的量, 例如以每摩尔式III的化合物大约0.25摩尔的量使用HOObt。优选稍微过量使用碳二亚胺。如果使用DCC/HOObt进行偶联, 例如, 优选以每摩尔式III的化合物大约1.1至大约1.4摩尔的量, 特别优选以大约1.2至大约1.3摩尔的量, 例如以每摩尔式III的化合物大约1.25摩尔的量使用DCC/HOObt。加入反应物的顺序是可变的。优选地, 经几小时, 例如大约5至大约10小时, 碳化二亚胺计量, 例如以溶剂例如DMF或NMP的溶液的形式, 首先加入式III和IV的化合物或者它们的盐, 可以加入的任何碱和N-羟基试剂。在该方法中, 在大约10℃的反应温度下偶联, 接着在室温下搅拌, 通常很快完全, 基本上定量发生反应并且给出高纯度产物。

关于后处理, 有利地首先过滤反应混合物, 然后通过加入合适的有机溶剂将产物沉淀。如果在DMF或NMP中进行偶联, 优选使用过量的低级酮进行沉淀, 例如丙酮或者甲基乙基酮, 特别优选滴加DMF溶液或者NMP溶液或者泵入到过量的丙酮或者甲基乙基酮中。沉淀出的产物通过过滤或离心分离, 洗涤, 并且如果期望提高纯度, 则以类似方法第二次沉淀或者第三次沉淀(例如通过将产物溶解于DMF并且通过将该溶液泵入丙酮或者甲基乙基酮而沉淀)。利用该方法, 大多数副产物留在溶液中, 并且例如两次沉淀之后, 以大约91%的产率和大约97%的纯度(+大约2.4%非对映异构体)获得式Ia的化合物(二甲苯磺酸盐)。

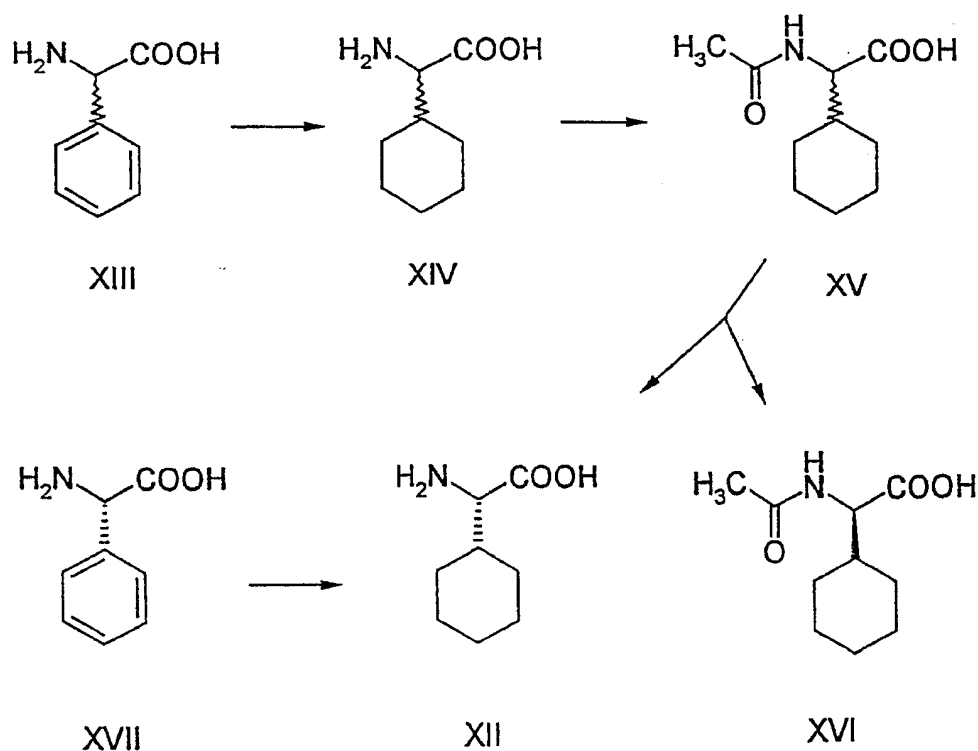
在上述根据本发明方法中使用的起始物式II和IV或者它们的盐可以例如通过下述方法制备。在上述根据本发明方法优选形式中, 通过下述方法制备使用的式II的起始物和/或式IV的起始物或者它们的盐或者通过下述方法部分制备。



通过使式 XI 的噁唑酮与 (S)-环己基甘氨酸 (式 XII) 反应可以获得式 II 的化合物。在从 4-甲酰基苄腈 (式 X) 和 N-乙酰基甘氨酸进行 Erlennmeyer 噁唑酮合成的标准条件下, 例如通过在溶剂中与乙酸钠和乙酸酐加热, 优选回流下在丙酮中加热, 生成基本上以 Z 异构体存在的式 XI 的噁唑酮。优选在碱性溶液中, 例如在水和水混溶性有机溶剂例如酮, 例如丙酮, 或者醚的混合物中, 优选丙酮和水的混合物中, 加入一当量 (以环己基甘氨酸为基础) 的碱, 例如氢氧化钠或氢氧化钾, 在大约 30 °C 至大约 50 °C, 例如在大约 40 °C 的温度下, 进行生成式 II 的脱氢二肽的式 XI 和 XII 的化合物的反应。为了分离产物, 例如使用盐酸将反应混合物酸化至大约 2.3 的 pH 并且用水稀释, 过滤沉淀并且离心。使用该方法, 得到的式 II 的化合物主要以 Z 异构体存在, E 异构体百分比小于 2%。本发明还提供了式 II 和 XI 的化合物和式 II 的化合物的盐的本身, 特别是 Z 构型, 它们的上述制备方法和它们作为中间体, 特别是作为药物活性化合物的中间体的用途。可以提到的式 II 的化合物的盐是例如碱金属和碱土金属盐, 例如钠盐或钾盐。

通过下面三种途径之一可有利地制备需要的旋光纯 (S)-环己基甘氨酸 (式 XII)。在一条途径中, 使用的起始物是外消旋苯基甘氨酸 (式 XIII), 其通过标准条件下芳香环的氢化作用被转化为外消旋环己基甘氨酸 (式 XIV), 例如通过在贵金属催化剂例如铑/碳的存在下, 在大约 80 °C 至大约 120 °C 例如大约 100 °C 的盐酸中, 在大约 10 至大约 30 巴氢气

压下的氢化作用。在碱例如氢氧化钠存在下在大约 0℃ 至大约 30℃ 的温度和至少 11 的 pH 下在水中使用例如乙酸酐，在标准条件下将外消旋环己基甘氨酸在氨基处乙酰化。然后使用酰基转移酶（L-特异性氨基酰基转移酶，E.C. 3.5.1.14）使外消旋 N-乙酰基-环己基甘氨酸（式 XV）进行酶促消旋体拆分，得到旋光纯（S）-环己基甘氨酸（式 XII）和含有高过量（R）对映体（式 XVI）的 N-乙酰基环己基甘氨酸（参见，例如，K. Drauz 等，有机合成中的酶催化（Enzyme Catalysis in Organic Synthesis），VCH, Weinheim, 1995；M. A. Verkhovskaya 等，Russ. Chem. Rev. 60 (1991) 1163；H. K. Chenault 等，J. Am. Chem. Soc. 111 (1989) 6354）。例如在氯化钴（II）存在下在 pH 大约 7.8 并且温度大约 38℃ 至 40℃ 的水中使用酰基转移酶“Amano” 30000，可以进行（RS）混合物中（S）-N-乙酰基-环己基甘氨酸的选择性酶促脱乙酰化作用。沉淀出的环己基甘氨酸基本上是对映体纯（S）异构体。滤液中残留的（R）-N-乙酰基环己基甘氨酸在例如通过用乙酸和乙酸酐在大约 115℃ 加热外消旋化之后再次进行酶促脱乙酰化作用，这样最后基本上全部的外消旋 N-乙酰基环己基甘氨酸被转化为旋光纯（S）-环己基甘氨酸。



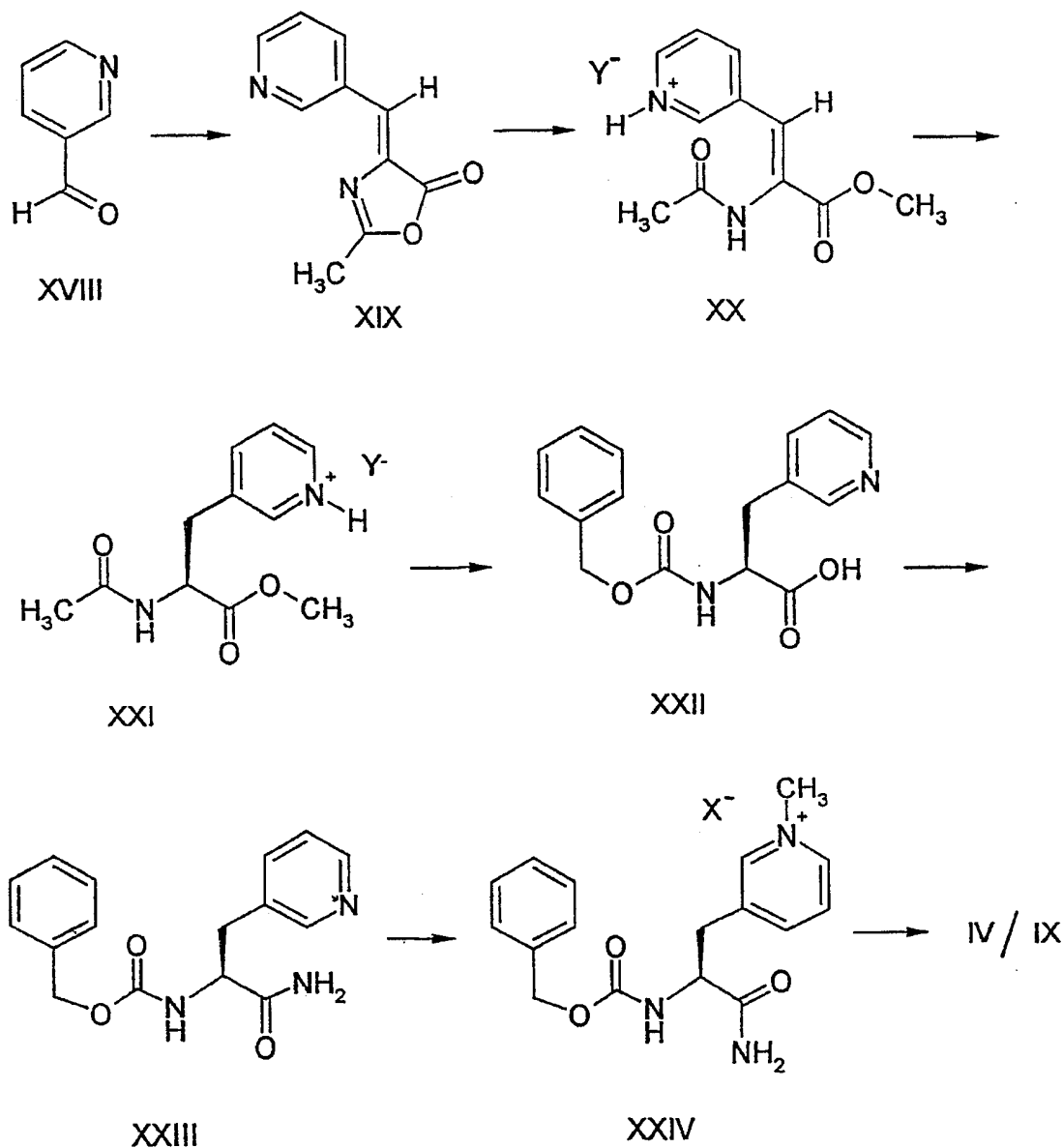
制备（S）-环己基甘氨酸的第二种可能性包括通过钌-催化从环己烷

甲醛、一氧化碳和乙酰胺进行酰胺羰基化作用，在一步法中制备外消旋 N-乙酰基环己基甘氨酸（式 XV），接着使用酰基转移酶进行所述的消旋体拆分（参见 M. Beller 等，欧洲化学杂志（Chem. Eur. J.）4(1998)935）。

在制备（S）-环己基甘氨酸（式 XII）的第三种方法中，在没有外消旋作用条件下将对映体纯的（S）-苯基甘氨酸（式 XVII）中的苯基氢化成环己基。再一次，合适的催化剂是贵金属催化剂，例如铑/碳。氢化作用优选在酸性介质中进行，例如在羧酸中，例如冰醋酸，特别优选在强酸中，例如 2N 盐酸或硫酸。在这样一种强酸中，氢化作用快速进行，并且在大约 60℃ 至大约 80℃ 的温度和例如大约 20 巴的氢气压力下没有任何显著的外消旋作用。得到的产物与通过上述方法从外消旋苯基甘氨酸得到的产物品质相同。起始物（S）-苯基甘氨酸比起始物（RS）-苯基甘氨酸更贵，但是由于更低的生产成本，使用（S）-苯基甘氨酸作为起始物的方法更有利。

从吡啶-3-甲醛（式 XVIII）起始有利地制备式 IV 的对映体纯起始物或者其式 IX 的盐，其可以在上文对于式 X 的化合物向式 XI 的化合物的转化所述的类似条件下，例如通过在丙酮中与 N-乙酰基甘氨酸和乙酸酐加热，而转化为式 XIX 的噁唑酮。式 XIX 的噁唑酮可以用水溶剂解得到 N-乙酰基脱氢吡啶基丙氨酸，即得到羧酸，或者用低级醇，例如（C₁-C₃）-链烷醇，例如甲醇或乙醇溶剂解，得到羧酸酯，优选用甲醇得到甲酯（比较式 XX）。因为在酸性条件下在醇中特别有利地进行下面的不对称氢化作用，其中大部分或者全部羧酸官能团被转化为酯，并且因为用醇对式 XIX 的噁唑酮的溶剂解比用水进行得更平缓，优选使用低级醇特别优选甲醇将式 XIX 的化合物溶剂解。优选在弱碱例如叔胺例如三乙胺的存在下在大约 50℃ 至大约 65℃ 的温度下进行醇解。优选分离与强酸的酸加成盐形式，即式 XX 的化合物的形式的甲酯，其中阴离子 Y 是强酸的阴离子，例如三氟硼酸根或甲苯磺酸根。特别优选地，通过加入四氟硼酸，例如四氟硼酸水溶液，最多至 pH 大约 1.5 至大约 2，例如大约 1.9，沉淀出作为三氟硼酸盐的式 XIX 的噁唑酮的甲醇解产物，并且通过加入非极性溶剂，例如醚，例如甲基叔丁基醚，而使沉淀完全之后，将产物过滤或

离心。以高产率(90%)和非常高的纯度(>99.5%)获得其中 $Y=BF_4$ 的式 XX 的化合物。



下一步是将式 XX 的脱氢吡啶基丙氨酸衍生物不对称催化氢化, 得到式 XXI 的旋光氨基酸衍生物。如所提到的, 为了获得高产率和短的反应时间, 优选在酸性条件下进行氢化作用, 例如在乙酸中, 特别优选在强酸例如甲苯-4-磺酸或四氟硼酸存在下进行, 至少以化学计算的量使用酸, 例如 1-至 2-倍摩尔量, 这样将吡啶基团完全转化为吡啶鎓盐。对于氢化作

用, 优选使用式 XX 的吡啶鎓盐和, 如果适当, 另外的酸。特别优选地, 在低级醇中, 特别是甲醇中, 在大约 15 摩尔 % 强酸的存在下, 进行式 XX 的吡啶鎓盐特别是其中 $Y=BF_4$ 的盐的氢化作用。在进行式 XX 的盐的氢化作用时存在的优选的酸是四氟硼酸和甲苯-4-磺酸, 特别是四氟硼酸, 其可以以水溶液形式存在。

关于将式 XX 的化合物不对称氢化为式 XXI 的化合物中使用的催化剂, 相应地适用上文对于式 II 的化合物氢化生成式 VI 的化合物的催化剂的详细说明。因此, 同样可以使用选择性多相催化剂或者使用手性过渡金属络合物进行式 XX 的化合物中 C=C 双键的立体控制氢化作用。优选使用铑 (I) 或者铑 (II) 的特别是铑 (I) 的手性过渡金属络合物进行。可以使用分离形式的过渡金属催化剂, 或者可以在氢化作用介质中从手性配位体和预催化剂例如铑盐, 例如 $[Rh(COD)Cl]_2$ 就地生成。优选就地制备催化剂。作为过渡金属络合物的手性配位体, 很多不同的化合物是合适的。在本发明优选的实施方案中, 用于将式 XX 的化合物不对称氢化为式 XXI 的化合物的催化剂是具有手性膦作为配位体的铑 (I) 络合物, 特别优选 Rh(I)-(+) - 苯基-CAPP 催化剂, 即包含作为手性配位体的 (+)-(2R, 4R)-1-苯基氨基羧基-4-二苯基膦基-2-(二苯基膦基甲基) 吡咯烷 (摩尔比铑: 配位体=1:1) 的铑 (I) 催化剂。但是, 适合用作催化剂络合物中的配位体也是例如上述 (+)-BPPM 或者氨基膦亚膦酸酯 (phosphinite) (+)-PPP (= (+)-propraphos, 参见 C. Döbler 等, 四面体: 不对称 (Tetrahedron: Asymmetry) 7 (1996) 117)。例如 I. Ojima, 催化不对称合成 (Catalytic Asymmetric Synthesis), p. 445-447, VCH, 纽约 1993 中列出了合适的催化活性过渡金属络合物的其它配位体。

优选在大约 20℃ 至大约 60℃, 特别优选大约 30℃ 至大约 50℃ 的温度下, 例如在大约 40℃ 下进行式 XX 的化合物的氢化作用。也是根据使用的设备设定氢气压; 优选氢气压是大约 0.2 至大约 20 巴, 特别优选大约 0.2 至大约 10 巴, 尤其优选大约 0.5 至大约 1 巴, 例如大约 0.8 巴。特别当使用 Rh(I)-苯基-CAPP 催化剂时, 为了提高对映体选择性, 优选在相对低氢气压下进行氢化作用。如上文对于式 II 的化合物的氢化作用所解释

的那样, 这里也是, 基本上排除氧并且在非常强的搅拌下进行该反应, 以提高氢化作用效率. 式 XXI 的氢化作用产物, 特别是在四氟硼酸盐的情况下, 优选通过结晶例如从醇例如异丙醇结晶而分离. 分离产率是大约 86 % 至大约 95%, 根据选择的条件对映体纯度是大约 70% 至大约 95% e. e. 的 (S) 异构体. 对于式 XX 的化合物生成式 XXI 的化合物的氢化作用, 可以使用大约 5 000:1 至大约 10 000:1, 例如大约 8 000:1 非常高的底物/催化剂之比.

在下一步中, 将式 XXI 的化合物中的甲酯基团水解, 得到羧酸基团, 去除氨基处的乙酰基并且用合适的方法保护氨基, 这样在生成羧酰胺官能团过程中其不引起任何副反应. 通过用酸例如盐酸水溶液, 例如 1N 盐酸或者 4N 盐酸, 在例如大约 60℃ 至大约 85℃ 或者大约 85℃ 至大约 90℃ 的温度下处理, 可以同时进行乙酰基的去除和甲酯的水解以得到游离的羧酸. 为了有利于从反应混合物水溶液分离产物, 然后有利地立即将游离的氨基转化为乙酰基氨基, 其随后容易去保护, 例如形成苄氧羰基氨基. 优选在弱碱性范围内于溶剂水/THF 中, 特别优选在大约 8.0 至大约 8.5 的 pH 下使用 N-苄氧羰基氧基琥珀酰亚胺 (=Z-OSu) 引入苄氧羰基保护基团 (=Z 基团). 反应完全之后, 蒸馏出有机溶剂, 使呈稍微的酸性 pH, 优选 pH 大约 5, 并且过滤或者离心出沉淀的式 XXII 的化合物. 如果期望, 在制备 XXIII 的酰胺之前通过重结晶例如用水重结晶可以提高式 XXII 的化合物的纯度.

如果通过上述方法获得的式 XXI 的化合物或者式 XXII 的化合物的对映体纯度不足够, 则有利地不是通过使用盐酸而是酶促并且因此对映体选择性地从式 XXI 的化合物中的氨基解离乙酰基. 使用酰基转移酶 "Amano" 30 000, 优选类似于上述 (RS)-N-乙酰基环己基甘氨酸的酶促脱乙酰作用进行酶促脱乙酰作用. 在特别优选的方法中, 将氢化作用之后分离的式 XXI 的盐首先溶解于水, 并且在加入碱例如氢氧化钠之后, 在碱性范围内例如在大约 10 至大约 11 的 pH 下搅拌, 来水解甲酯. 加入氯化钴 (II) 作为助催化剂之后, 在大约 7.8 至大约 7.9 的 pH 和大约 38℃ 至大约 40℃ 的温度下, 例如以每千克式 XXI 的化合物大约 5 至大约 6 克

的量加入酰基转移酶,并且搅拌混合物直到(S)-异构体脱乙酰化。为了将脱乙酰化(S)-异构体转化为保护的苄氧羰基氨基化合物,然后优选地,如上所述,向反应混合物加入水可混溶性溶剂,例如 THF,在大约 8.0 至大约 8.5 的 pH 下进行与 Z-OSu 的反应,蒸馏有机溶剂,将混合物酸化至大约 5 的 pH 并且然后分离沉淀出的式 XXII 的对映体纯产物。

使用对于这样的反应常规的并且是本领域技术人员公知的方法进行式 XXII 的 Z-保护的氨基酸向式 XXIII 的 Z-保护的氨基酸酰胺的转化。根据优选的方法,通过使用氯甲酸烷基酯,特别优选氯甲酸异丁酯转化为混合酸酐,活化式 XXII 的酸。该反应优选在叔胺例如 N-乙基二异丙基胺的存在下在醚例如 THF 作为溶剂在大约 -10℃ 至大约 0℃ 的温度下,优选在大约 -10℃ 至大约 -5℃ 的温度下反应。这之后,在大约 -10℃ 至大约 0℃ 的温度下,优选在大约 -10℃ 至大约 -5℃ 的温度下向混合酐的溶液中加入氨水。常规处理并且用溶剂例如乙酸乙酯结晶之后,以大约 87% 的产率获得式 XXIII 的化合物,各种情况下化学纯和对映体纯基本上是 100%。

生成式 XXIV 的吡啶鎓盐的式 XXIII 的化合物中的吡啶氮原子的甲基化作用可以在多种溶剂使用多种甲基化试剂平和进行,所述甲基化试剂是例如碘甲烷,溴甲烷,氯甲烷或者甲苯-4-磺酸甲酯,所述溶剂是例如醇,例如异丙醇,酰胺,例如 DMF, N,N,N',N'-四甲基脲,酮,例如丙酮,或者醚,例如 THF,优选在大约 40℃ 至大约 60℃ 的温度下进行。例如在 45℃ 下在 DMF 中式 XXIII 的化合物与氯甲烷反应,以定量的产率和大约 98.4% 的纯度获得其中 X=Cl 的式 XXIV 的化合物。当以工业化规模进行甲基化作用时,优选使用较小挥发性的甲基化试剂。因为如果可能,要避免另外的阴离子交换,例如通过离子交换色谱,甲基化试剂选择的另一个方面是式 IV, IX 和 I 的化合物所含有的并且来源于甲基化试剂的阴离子对这些化合物性质的影响,例如对式 IV 的化合物或者其盐的溶解度的影响,这在式 III 和 IV 的化合物的偶联反应中是重要的,或者对式 I 的化合物的溶解性、沉淀性质和生理相容性的影响。总之,根据其性质,发现碘化物和甲苯-4-磺酸酯是特别有利的,因此优选的甲基化试剂是碘甲烷

和甲苯-4-磺酸甲酯(=甲苯磺酸甲酯)。在式 IV 的化合物或者其甲苯-4-磺酸盐的情况下, 甲苯-4-磺酸酯是特别卓越的, 在于这样的事实, 即它们可以容易地分离, 高度可溶性并且具有高肽偶联速率, 并且在式 I 的化合物的情况下, 特别在于令人吃惊的好的沉淀性质、纯度和产率。因此用于式 XXIII 的化合物转化为式 XXIV 的化合物的特别优选的甲基化试剂是甲苯-4-磺酸甲酯。

优选在大约 40℃ 至大约 60℃ 的温度下, 例如在大约 50℃ 下, 在作为溶剂的低级醇中, 例如在异丙醇中, 进行甲苯-4-磺酸甲酯对式 XXIII 的化合物的甲基化作用。优选以小过量使用甲苯-4-磺酸甲酯, 例如以式 XXIII 的化合物为基础大约 1 至大约 1.2 倍摩尔量。可分开进行式 XXIII 的化合物的甲基化作用和接着的通过氢解去除式 XXIV 的化合物中的苄氧羰基保护基团。优选地, 在一步反应中进行甲基化作用和氢解, 不进行式 XXIV 的化合物的中间体分离。为此, 如果其从甲基化作用的反应介质中沉淀出来, 则通过例如加入水而溶解式 XXIV 的化合物, 然后在常规条件下进行氢化, 例如在贵金属催化剂例如钨/碳的存在下, 在大约 20℃ 至大约 40℃, 优选大约 20℃ 至大约 30℃ 的温度下, 在大约 1 至大约 20 巴, 优选大约 1 至大约 5 巴, 特别优选大约 1 巴氢气压下进行, 即不在氢气过压下进行。单阳离子盐, 包括 3-((S)-2-氨基-2-氨基甲酰基乙基)-1-甲基吡啶鎓阳离子 (2-位具有游离氨基 NH_2) 和阴离子 X, 例如甲苯磺酸根, 碘离子或氯离子作为抗衡例子, 即式 IV 的化合物, 可以直接分离。优选地, 分离以与酸 HX 的盐的形式, 即式 IX 的二阳离子盐形式的得到的吡啶基氨基丙酸酰胺, 为此, 氢解的反应混合物与大约 1 当量的酸 HX 混合, 即在甲苯磺酸盐情况下与大约 1 当量的甲苯-4-磺酸混合。过滤掉氢化作用催化剂, 然后通过浓缩并且将残余物结晶, 例如用醇例如异丙醇结晶, 分离产物。

本发明还提供了其中 X 是阴离子或者阴离子等价物, 特别是生理可接受阴离子例如氯离子, 溴离子, 碘离子或者甲苯-4-磺酸根的式 IV 的化合物, 和它们与酸 HX 的盐(=式 IX 的二阳离子盐)本身, 上述它们的制备方法和其中进行上述步骤的一步或几步的方法, 和它们作为中间体特别

是作为药理学活性化合物的中间体的用途,和式 XX, XXI, XXII 和 XXIV 的化合物本身。

下面的实施例用来说明本发明。但是,本发明也包括上述和下述实施方案的变化,例如其中步骤合并为一步法的方法,或者反之亦然,以几个分开的步骤进行的方法,或者各步骤以不同的顺序进行的方法,或者使用类似试剂或溶剂的方法,或者其中比例或后处理方法被改进的方法。

实施例

实施例 1 : 4-(2-甲基-5-氧代噁唑-4-亚基甲基)苄腈

向 4-甲酰基苄腈(15.0 kg, 114.5 mol)、N-乙酰基甘氨酸 (19.2 kg, 162.4 mol)和无水乙酸钠 (9.4 kg, 114.5 mol)的混合物加入丙酮(80.0 升),接着在搅拌下加入乙酸酐(35.0 升, 370.5 mol)。该反应混合物在回流下搅拌 1 小时。将得到的淡黄色悬浮液冷却到 50℃ 并且搅拌并且冷却下尽可能快地加入冰水 (200 升)。该混合物在 20℃ 下搅拌又 1 小时。为了分离产物,将黄色悬浮液压在离心机上并且用去离子水(75 升)、异丙醇(40 升)和甲基叔丁基醚 (75 升)洗涤。该产物在减压下在 40℃ 下干燥。产率 18.17 kg (85.7 mol, 理论值的 75.2%)。M.p.: 192-193℃; MS (DCI): $m/z=213$ $[M+H]^+$; 1H -NMR (DMSO- d_6): $\delta=2.42$ (s, 3H), 7.30 (s, 1H), 7.96 (d, 2H), 8.33 (d, 2H)。

实施例 2 : (R,S)-环己基甘氨酸

氮气下,搅拌下将(R,S)-苄基甘氨酸(10.0 kg, 66.2 mol)加入水(78.5 升)和盐酸(30%浓度, 21.5 升)中。然后搅拌下氮气下加入铑/碳(209.6 g, G 101 S/W 5%, 用水湿润, Degussa AG)。施加 18 巴氢气压,并且将混合物加热至内部温度 100℃ 并且搅拌 72 小时。然后将混合物冷却至内部温度 50℃。取 TLC 样品(丁醇/冰醋酸/水 2/1/1, R_f [苄基甘氨酸]=0.60, R_f [环己基甘氨酸]=0.68)。转化完全之后,在 50℃ 下过滤掉催化剂并且在 20℃ 下用氢氧化钠水溶液(浓的, 大约 15 升)将滤液的 pH 调节至 pH 4。将混合物搅拌 30 分钟并且过滤沉淀的产物,用水(每

次 35 升) 洗涤两次并且在减压下在 50℃ 下干燥。产率: 9.7 kg (理论值的 93%)。M. p.: >300 °C; MS (DCI): m/z (%) = 158 ($[M^+ + H]$, 100); $^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, 三氟乙酸(TFA)): δ = 1.1–1.6 (m, 5H), 1.7–2.1 (m, 5H), 2.1–2.3 (m, 1H), 4.3 (d, J = 4 Hz, 1H), 11.6 (s, 1H); IR (KBr): ν = 2927.7, 1583.9, 1508.8 cm^{-1} .

实施例 3: (R, S)-N-乙酰基-环己基甘氨酸

室温下, 搅拌下向水 (134 升) 中的氢氧化钠水溶液 (浓的, 30.2 升) 加入 (R, S)-环己基甘氨酸 (9.41 kg, 61.7 mol)。将该混合物冷却到 5–10 °C 的内部温度, 并且在该内部温度下经 2 小时计量加入乙酸酐 (15.7 升, 17 kg, 166 mol) (放热反应)。然后测定 pH, 并且如果需要, 使用氢氧化钠水溶液调节至至少 pH=11。在 5–10 °C 的内部温度下将混合物搅拌 1 小时。然后将内部温度调节至大约 23 °C, 并且继续搅拌又 2 小时。每小时都检测使得 pH 始终是 pH=11。反应完全之后 (TLC, 乙酸乙酯/甲醇/冰醋酸/水 70/30/5/5, R_f [乙酰基环己基甘氨酸] = 0.83, R_f [环己基甘氨酸] = 0.55), 将混合物冷却到 5–10 °C 的内部温度。通过在 5–10 °C 的内部温度下缓慢加入盐酸 (30% 浓度, 大约 36 升) 而将 pH 调节到 pH=3。又持续搅拌 15 分钟, 然后过滤混合物。得到的固体用水洗涤两次 (每次 45 升) 并且在减压下在 60 °C 下干燥。产率 11.52 kg (理论值的 96.7%)。M. p. 195–197 °C; MS (DCI): m/z (%) = 200.2 ($[M^+ + H]$, 100); $^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, DMSO-d_6): δ = 0.9–1.3 (m, 5H), 1.5–1.8 (m, 6H), 1.86 (s, 3H), 4.1 (dd, J_1 = 8 Hz, J_2 = 6 Hz, 1H), 7.96 (d, J = 8 Hz, 1H), 12.47 (s, 1H); IR (KBr): ν = 3339.7, 2929.3, 1699.9, 1615.7, 1563.2 cm^{-1} .

实施例 4: (R, S)-N-乙酰基-环己基甘氨酸的酶促脱乙酰作用得到 (S)-环己基甘氨酸

室温及搅拌下, 向水 (143 升) 中的氢氧化钠水溶液 (3.65 升, 33% 浓度) 加入 (R, S)-N-乙酰基环己基甘氨酸 (7.95 kg, 39.9 mol)。搅拌下, 使用盐酸 (2N, 大约 0.8 升) 将 pH 调节至 pH 7.8。搅拌下加入氯化钴(II)

六水合物(13.8 g, 0.058 mol)。然后将混合物加热至 38-40℃的内部温度。在不变的内部温度下, 缓慢搅拌下加入酰基转移酶“Amano” 30 000 (40 g, 于 400 毫升水中)。将混合物缓慢搅拌 41 小时, 期间(S)-环己基甘氨酸缓慢沉淀出。使用盐酸(30% 浓度), 小心将 pH 调节至 pH 5.5-6.0。将混合物冷却到 2-5℃内部温度并且搅拌 1 小时。过滤沉淀出的(S)-环己基甘氨酸, 用水(大约 16 升)并且减压下于 60℃下干燥。产率: 2.79 kg (44.5%)。M. p. >300 °C; $[\alpha]_D^{25} 32.1^\circ$ (c=1, 1N HCl); ee=99.78% (用丙醇/HCl 和全氟丙酸酐衍生化作用之后在 Chirasil L-Val 上的 GC 分析); MS (DCI): m/z (%)=158 ($[M^+H]$, 100); $^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, TFA): δ =1.1-1.6 (m, 5H), 1.7-2.1 (m, 5H), 2.1-2.3 (m, 1H), 4.3 (d, J=4 Hz, 1H), 11.6 (s, 1H); IR (KBr): ν =2927.7, 1583.9, 1508.8 cm^{-1} 。

为了回收没有反应的(R)-N-乙酰基环己基甘氨酸, 使用盐酸(30%浓度, 大约 4.3 升)在 2-5℃内部温度下将母液调节至 pH=1 并且在 2-5℃下搅拌 1 小时。过滤沉淀出的(R)-N-乙酰基-环己基甘氨酸, 用水(大约 16 升)洗涤并且在减压下在 60℃下干燥。产率: 3.76 kg (47.3%)。M. p. >210-212 °C; $[\alpha]_D^{25} -23.5^\circ$ (c=1, 甲醇); ee=98.39% (丙醇/HCl 或者甲醇/HCl 衍生化作用之后的 Chirasil L-Val 的 GC 分析)。H-NMR、MS 和 IR 数据与外消旋起始物 4 的数据相吻合。

实施例 5: (R)-N-乙酰基-环己基甘氨酸的外消旋作用产生(R,S)-N-乙酰基环己基甘氨酸

氮气及搅拌下, (R)-N-乙酰基环己基甘氨酸(10.9 kg, 54.7 mol)与冰醋酸(24.5 升)和乙酸酐(1.7 升)混合。内部温度升高至 115℃, 并且将该混合物在该温度下搅拌 3.5 小时。然后将内部温度降低至大约 20℃, 并且加入水(73 升)。该反应混合物的 pH 是 pH 2。该混合物在 0-3℃下搅拌 1 小时, 过滤得到的固体并且用水(每次 25 升)洗涤两次, 并且在减压下在 60℃下干燥该物质。产率: 7.95 kg (理论值的 73%)的(R,S)-N-乙酰基环己基甘氨酸。M. p. 195-196 °C; $[\alpha]_D^{25} 0^\circ$ (c=1, 甲醇)。 $^1\text{H-NMR}$ 、MS 和 IR 数据与实施例 3 获得的产物的数据相吻合。母液含有另一种大

约 2 kg 的 (R,S)-N-乙酰基-环己基甘氨酸。

实施例 6: 通过 (S)-苯基甘氨酸的没有外消旋化作用的氢化作用生产 (S)-环己基甘氨酸

在由瓷釉和哈斯特洛伊耐蚀镍基合金制成的氢化设备中, 在 50℃ 下在氮气气氛及搅拌下, 向去离子水 (0.70 升) 中的浓硫酸溶液 (97% 浓度, 60 g) 中加入 (S)-苯基甘氨酸 (90 g, 0.53 mol; R-异构体含量 <1%)。所有的苯基甘氨酸溶解之后 (如果需要, 加入另外的硫酸 (大约 5 毫升))、铑/碳 (6.3 g, 5%, 用水湿润 (50% 的水), 来自 Engelhard 型 5% RH Carb Polcere Escat 30 M, Engelhard Code 8000)。封闭氢化设备并且充满氢气使惰性保护。将该混合物加热至 80℃ 的内部温度, 并且施加 20 巴的氢气。总的氢化作用时间是 5-6 小时, 氢气吸收大约 37 升。吸收氢气之后, 使混合物在 20 巴下再氢化 30-60 分钟。然后将混合物冷却至 50℃ 内部温度, 使用加压过滤器在 50℃ 过滤催化剂。用去离子水 (0.30 升) 洗涤催化剂, 并且在 20℃ 通过加入浓氢氧化钠水溶液 (33% 浓度, 大约 90 毫升) 将滤液调节至 pH 4。继续搅拌 30 分钟, 并且抽吸过滤沉淀出的产物并且用去离子水 (总共大约 0.85 升) 洗涤, 直到洗出物没有硫酸根离子。50℃ 下减压下将湿润的产物 (大约 150 g) 干燥。产率: 80-84 g (理论值的 86-90%) 的 (S)-环己基甘氨酸。旋光纯度: 99.3% ee。

实施例 7: (S)-2-[2-乙酰基氨基-3-(4-氰基苯基)丙烯酰氨基]-2-环己基乙酸

35℃ 搅拌下, 将丙酮 (70 升) 中的 (S)-环己基甘氨酸 (3.14 kg, 20 mol) 加热。搅拌下, 然后经 10 分钟加入 1 N 氢氧化钠水溶液 (20 升)。混合物被加热至 40℃, 并且在 40℃ 的内部温度下, 剧烈搅拌下经 20 分钟分批计量加入固体 4-(2-甲基-5-氧代噁唑-4-亚基甲基) 苄腈 (4.66 kg, 22 mol)。加完之后, 在 40℃ 的内部温度下将反应混合物加热 1 小时。然后通过盖有 Seitz 滤纸 K1000 和活性炭 (1 kg) 的压力真空吸滤过滤器过滤反应溶液, 并且用 10 升丙酮洗涤过滤器残余物。然后将滤液冷却到 14

℃. 搅拌下, 然后经 10 分钟加入 2N 盐酸 (大约 10 升) 直到达到 pH 2.3. 继续搅拌 15 分钟, 用 2N HCl 再次调节 pH. 经 20 分钟, 该溶液然后在搅拌下与去离子水 (160 升) 混合, 其中沉淀出标题化合物. 搅拌下, 将混合物冷却到 0 ℃, 并且在该温度下搅拌 1 小时. 对于分离, 将产物抽吸到离心机上, 用水 (每次 10 升) 洗涤三次, 在 40℃ 减压下转动干燥和干燥. 产率: 4.21 kg (11.4 mol, 理论值的 57%). M. p.: 196–198 ℃; MS (ESI⁺): m/z=370.2 [M+H⁺]; ¹H-NMR (200 MHz, DMSO-d₆): δ=0.98–1.35 (m, 5H), 1.48–1.90 (m, 6H), 1.99 (s, 3H), 4.20 (dd, 1H), 6.98 (s, 1H), 7.72 (d, 2H), 7.88 (d, 2H), 8.02 (d, 1H), 9.58 (s, 1H), 12.65 (br s, 1H).

实施例 8: (S)-2-[(S)-2-乙酰基氨基-3-(4-氟基苯基)丙酰基氨基]-2-环己基乙酸

在高压釜中, 首先在甲醇 (100.0 升) 中加入 (S)-2-[2-乙酰基氨基-3-(4-氟基苯基)丙烯酰氨基]-2-环己基乙酸 (7.94 kg, 21.5 mol) 并且使用氮气小心地将反应釜惰性保护. 如下制备催化剂溶液: 用超声浴处理甲醇 (3.0 升) 15 分钟, 期间导入氮气. 排除氧气, 然后依次加入 (+)-BPPM (10.92 g, 19.65 mmol) 和 [Rh(COD)Cl]₂ (4.88 g, 9.75 mmol), 并且使该混合物置于超声浴又 30 分钟. 然后在排除氧气的条件下将橙黄色催化剂溶液抽吸到高压釜中.

施加三次大约 3 巴的氢气, 立即又对高压釜放气. 将反应混合物加热至 40℃ 内部温度, 施加 10 巴氢气并且然后搅拌下在 20℃ 下将混合物氢化 20 小时. 然后用氮气冲洗高压釜. 接着通过 Seitz 过滤器过滤氢化作用溶液. 将滤液加热至 50℃, 经 30 分钟加入去离子水 (110 升), 并且在 50℃ 下继续搅拌 1 小时. 然后将混合物冷却至 15 ℃ 并且在 15 ℃ 下搅拌 1 小时. 通过压力真空吸滤过滤器过滤分离沉淀的产物, 用去离子水 (20 升) 洗涤并且在 40℃ 下减压干燥. 产率: 7.73 kg (20.81 mol, 理论值的 96.7%). M. p.: 209–211 ℃; MS (ESI⁺): m/z=372.2 [M+H⁺]; ¹H-NMR (DMSO-d₆): δ=0.95–1.38 (m, 5H), 1.47–1.80 (m, 6H), 1.72 (s, 3H),

3.10 (2x dd, 2H), 4.15 (dd, 1H), 4.70 (m, 1H), 7.47 (d, 2H), 7.65 (d, 2H), 8.08 (d, 1H), 8.12 (d, 1H), 12.60 (br s, 1H).

实施例 9 : (S)-2-[(S)-2-乙酰基氨基-3-(4-脒基苯基)丙酰基氨基]-2-环己基乙酸甜菜碱

搅拌下, 将甲醇 (20 升) 加给 (S)-2-[(S)-2-乙酰基氨基-3-(4-氨基苯基)丙酰基氨基]-2-环己基乙酸 (3.77 kg, 10.1 mol) 和羟胺盐酸盐 (1.06 kg, 15.2 mol)。将混合物搅拌 10 分钟, 然后加入碳酸氢钠 (2.52 kg, 30 mol)。经 1 小时之后, 将反应混合物缓慢加热至 (放出二氧化碳) 55℃ 的内部温度, 然后在 55℃ 下搅拌 6 小时并且在室温下搅拌过夜。使用 Seitz 过滤器抽吸过滤沉淀出的氯化钠并且用甲醇 (4 升洗涤)。使用旋转蒸发器在大约 40℃ 的浴中将甲醇溶液浓缩至大约 10 升, 并且在剧烈搅拌下滴加到异丙醇 (60 升) 中。这导致 N-羟基脒的钠盐的沉淀。为了使沉淀完全, 在大约 40℃ 下减压浓缩混合物, 并且剧烈搅拌, 达到大约 50 升体积。然后继续在 15℃ 下搅拌 1 小时, 并且通过压力真空吸滤过滤器过滤产物。用异丙醇 (10 升) 洗涤沉淀并且在真空吸滤过滤器上在氮气流保护下干燥过夜。

然后将得到的 N-羟基脒的钠盐直接用于下面的氢化作用。为此, 首先在高压釜中加入冰醋酸 (26 升), 搅拌下分批加入 N-羟基脒的钠盐 (大约 6.2 kg, 来自上述反应的湿粗产物)。该溶液与钨/碳 (10%, 50% 水; 0.40 kg) 的冰醋酸 (1 升) 的悬浮液混合。首先用氮气然后用氢气冲洗高压釜, 然后在 50℃ 和 18 巴氢气压下将混合物氢化 72 小时。使反应混合物冷却至室温并且氮气下通过覆盖活性炭的澄清层 Seitz 过滤器过滤, 并且用冰醋酸 (2 升) 洗涤滤出的残余物。在 50℃ 温度浴下在旋转蒸发器上浓缩滤液直到不再蒸馏出冰醋酸并且开始结晶。然后使该混合物冷却至大约 25℃ 并且, 在混合物仍然旋转的同时, 将乙酸乙酯 (20 升) 浸透到旋转蒸发器的烧瓶中, 其中脒沉淀为乙酸盐。再搅拌 0.5 小时之后, 利用滤纸将沉淀物抽吸过滤并且抽吸以充分干燥。

剧烈搅拌下, 向已经加热至 40℃ 的去离子水 (20 升) 中加入如上所

述获得的粗咪唑乙酸盐, 并且该混合物在 80℃ 下加热直到形成澄清溶液。剧烈搅拌下, 在 30 分钟内将混合物冷却到 15℃, 这导致标题化合物 (作为甜菜碱) 的沉淀。在 15℃ 继续搅拌 1 小时, 并且通过压力真空吸滤过滤器过滤沉淀的产物。用冰水 (6 升) 洗涤滤饼, 在氮气流下充分干燥, 转移到容器中并且在室温和氮气下与 40 升丙酮搅拌 1 小时。通过压力真空吸滤过滤器过滤沉淀的产物, 并且用丙酮 (大约 10 升) 洗涤, 并且在 40℃ 下减压干燥。产率: 2.58 kg (6.64 mol, 理论值的 65.7%) 的标题化合物。MS (ESI⁺): m/z=389.3 [M+H⁺]; ¹H-NMR (甲醇-d₄): δ=0.98-1.38 (m, 5H), 1.58-1.78 (m, 6H), 1.96 (s, 3H), 3.10 (2x dd, 2H), 4.02 (d, 1H), 4.61 (dd, 1H), 7.42 (d, 2H), 7.68 (d, 2H)。

实施例 10: 2-甲基-4-[吡啶-3-基-(Z)-亚甲基]-4H-噁唑-5-酮

氮气下, 向 N-乙酰基甘氨酸 (32.7 kg, 280.0 mol) 和乙酸钠 (15.3 kg, 186.9 mol) 依次加入丙酮 (40.0 升) 和吡啶-3-甲醛 (20.0 kg, 186.9 mol)。搅拌下, 加入乙酸酐 (40.0 升, 429.0 mol)。30 分钟之内, 将反应混合物加热至回流温度然后在回流下搅拌 1.5 小时。这得到淡微红色悬浮液。该悬浮液冷却至 50℃, 然后加入甲基叔丁基醚 (80.0 升)。搅拌并且冷却下尽可能快地 (<5 分钟) 加入冰水 (<2℃, 200.0 升), 然后在 5-10℃ 下将该混合物搅拌 1 小时。将该淡棕色悬浮液加入用氮气惰性保护的离心机中。将沉淀物离心, 用去离子水 (80.0 升) 洗涤并且 40℃ 下减压干燥。产率: 24.8 kg (131.9 mol, 理论值的 70.6%)。M.p.: 173℃; MS (DCI): m/z (%)=189 ([M+H⁺], 100); ¹H-NMR (200 MHz, DMSO-d₆): δ=2.40 (s, 3H), 7.28 (s, 1H), 7.53 (dd, 1H), 8.61 (d, 2H), 9.18 (br s, 1H); IR (KBr): ν=1799.9, 1777.4, 898.0 cm⁻¹。

实施例 11: 3-(2-乙酰基氨基-2-甲氧羰基乙烯基)吡啶鎓四氟硼酸盐

氮气下, 在 60℃ 下加热 2-甲基-4-[吡啶-3-基-(Z)-亚甲基]-4H-噁唑-5-酮 (12.0 kg, 63.83 mol) 的甲醇 (120.0 升) 悬浮液。抽吸入三乙胺 (0.5 升), 并且用甲醇 (0.5 升) 洗涤仪器 (使用玻璃电极测定的取样的 pH 是 pH

8.15). 30 分钟之内, 反应溶液冷却到 30℃. 经 30 分钟加入四氟硼酸溶液(48% 浓度水溶液, 11.8 kg, 64.5 mol). 1 小时之内, 将混合物冷却到 10℃ 的内部温度并且(如果需要, 加入晶种之后)在 10℃ 下将悬浮液搅拌又 3 小时. 加入甲基叔丁基醚(40.0 升), 并且 10℃ 下将混合物搅拌 1 小时. 将该悬浮液加入用氮气惰性保护的离心机中, 离心, 用甲基叔丁基醚(20.0 升)洗涤产物并且 40℃ 下减压干燥. 产率: 18.7 kg (60.71 mol, 理论值的 95.1%). M. p.: 179.4 °C; MS (ESI⁺): m/z (%)=221 (游离碱的 [M+H]⁺, 100); ¹H-NMR (200 MHz, DMSO-d₆): δ=2.01 (s, 3H), 3.77 (s, 3H), 7.21 (s, 1H), 7.89 (dd, 1H), 8.48 (d, 1H), 8.76 (d, 1H), 8.98 (s, 1H), 9.92 (s, 1H); IR (KBr): ν=1726.9, 1670.1, 1091.5 cm⁻¹.

实施例 12: (S)-3-(2-乙酰基氨基-2-甲氧羰基乙基)吡啶鎓四氟硼酸盐

在高压釜中, 将 3-(2-乙酰基氨基-2-甲氧羰基乙基)吡啶鎓四氟硼酸盐(10.3 kg, 33.44 mol)溶解于甲醇(120.0 升). 加入四氟硼酸溶液(50% 水溶液, 1.018 kg, 5.8 mol), 封闭高压釜并且小心地用氮气惰性保护. 通过在通入氮气的同时在超声浴中处理甲醇(3.0 升)15 分钟来制备催化剂溶液. 排除空气, 用这种方法脱气的甲醇与(+)-苯基-CAPP (12.5 g, 20.83 mmol) 和[Rh(COD)Cl]₂ (5.0 g, 10.10 mmol)混合, 并且在氮气下将橙黄色催化剂溶液声波处理 30 分钟. 排除氧气, 将催化剂溶液加入高压釜. 1 小时之内, 将高压釜内含物加热至 40 °C. 在各种情况下施加三次大约 3 巴的氢气, 立即又对高压釜放气. 然后施加 1.5 巴氢气并且剧烈搅拌下在 50℃ 下将混合物氢化. 7 小时之后. 终止氢化. 取样的 HPLC 分析表明, 在该时间点, 存在 99.1 % 的标题化合物, 并且 GC 分析(30 米熔凝二氧化硅毛细管柱 Chirasil Val, 等温 160℃, 进样器 220 °C, 检测器(FID) 260 °C, 载体气体 0.8 巴的氢气, t_{ret} [(R) 对映体] 12.64 分钟, t_{ret} [(S) 对映体] 13.64 分钟)表明对映体纯度是 86% ee 的(S) 异构体. 用氮气冲洗高压釜, 并且使用氮气, 将高压釜内含物通过 Seitz 过滤器压至容器中, 滤液保存在氮气下+5 °C.

使用上述方法, 进行四个另外的不对称氢化作用(批量规模 8.0 kg (25.97 mmol)-10.3 kg (33.44 mol); 氢气压 2-10 巴; 温度 40℃; 氢化作用时间 4-6 小时; 产物含量 98.0-99.8% (HPLC); 氢化作用溶液中粗产物的对映体纯度是 62.0-84.5% ee 的 S 异构体(GC)).

合并五批滤液, 并且在 40℃ 夹套温度下, 减压浓缩至 150 升残余体积。加入异丙醇(200 升), 在 40℃ 夹套温度下, 减压下, 将混合物浓缩至 250 升残余体积。再进行两次, 加入异丙醇(每次 100 升), 并且在 40℃ 夹套温度下将混合物浓缩至 250 升残余体积。这导致标题化合物结晶。10℃ 下氮气下将白色悬浮液搅拌 1 小时。使用氮气惰性保护的离心机离心产物, 并且用异丙醇(100 升)和甲基叔丁基醚(150 升)洗涤。这得到 45.0 kg (144.7 mol, 理论值的 90.6%)的标题化合物, 71% ee 的 (S)-异构体(GC)。M. p.: 126.2 °C (根据 DSC); MS (ESI⁺): m/z (%)=223 (游离碱的 [M+H]⁺, 100); ¹H-NMR (200 MHz, DMSO-d₆): δ = 1.78 (s, 3H), 3.08 (dd, J=9.5 和 7 Hz, 1H), 3.29 (dd, J=9.5 和 4 Hz, 1H), 4.68 (m, 1H), 8.00 (dd, J=5.0 和 4.5 Hz, 1H), 8.42 (t 或 2 d, J 大约 6 Hz, 2H), 8.80 (d, J 大约 5 Hz, 1H), 8.82 (s, 1H); IR (KBr): ν = 1740.9, 1654.3 cm⁻¹。

实施例 13 : (S)-2-苄氧羰基氨基-3-(吡啶-3-基)丙酸

通过盖有活性炭(0.5kg)的压力真空吸滤过滤器过滤(S)-3-(2-乙酰基氨基-2-甲氧羰基乙基)吡啶鎓四氟硼酸盐(71% ee; 6.70 kg, 21.6 mol)的水 (88 升)溶液。使用浓氢氧化钠水溶液(33% 浓度, 大约 3.0 升), 将滤液的 pH 调节至 pH 10-11, 然后将该溶液在 20-25℃ 搅拌 2 小时, 期间使用浓氢氧化钠水溶液使 pH 保持不变。TLC (流动相乙酸乙酯/甲醇/水/乙酸 70/30/5/5) 表明甲酯水解完全, 得到羧酸。使用浓盐酸(大约 150 ml), 将 pH 调节至 pH 8.0。加入氯化钴(II)六水合物(11.7 g, 0.049 mol), 将反应混合物加热至 40℃ 内部温度并且在恒定温度 39℃ 下搅拌 1 小时。非常慢地搅拌地同时, 在 39℃ 加入于去离子水(400 ml)中的酰基转移酶 "Amano" 30 000 (38.0 g), 然后将混合物在恒定 pH 7.9 和恒定温度 39℃ 下搅拌 40 小时。TLC (流动相如上所述) 证明大约 85% 的羧酸(相应

于使用的 3-(2-乙酰基氨基-2-甲氧羰基乙基)吡啶鎓四氟硼酸盐中的 (S)-异构体的含量)被去乙酰化。容器用氮气惰性保护,然后加入四氢呋喃(22.0 升),并且反应混合物经 1 小时冷却至 10℃ 内部温度。45 分钟内,加入 N-(苄氧羰基氧基)琥珀酰亚胺(4.63 kg, 18.6 mol)的四氢呋喃(23.0 升)溶液,期间通过连续加入浓氢氧化钠水溶液(33%浓度)将 pH 保持在 8.0-8.5。然后在 20℃ 下将混合物搅拌 1.5 小时。TLC (流动相如上所述)表明游离氨基酸完全乙酰化。向反应混合物加入乙酸乙酯(60 升),然后剧烈搅拌 15 分钟。充分相分离之后,分离乙酸乙酯相并且弃之。用浓盐酸(大约 3.7 升)将水相调节至 pH 5.0,加入对映体纯的标题化合物的晶种,然后悬浮液在 5℃ 下搅拌过夜。氮气下,通过压力真空吸滤过滤晶体,用去离子水(20 升)洗涤并且在 48℃ 下减压下干燥。产率: 2.86 kg (9.52 mol, 理论值的 51.9%)的标题化合物, 100% ee (CSP Chiralpak AD 250X4.6 mm Daicel; 流动相: 异丙醇/乙醇/正己烷 12/4/84+0.1%二乙胺; t_{ret} 14.16 分钟), $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ -9.95 度($c=1.0$, 甲醇)。M. p.: 173-174℃ (通过 DSC 测定); MS (ESI⁺: m/z (%))=301 ($[M+H]^+$, 100); ¹H-NMR (200 MHz, DMSO- d_6): δ =2.85 (dd, $J=9.5$ 和 7.5 Hz, 1H), 3.10 (dd, $J=9.5$ 和 3.5 Hz, 1H), 4.23 (m, 1H), 4.98 (s, 2H), 7.15-7.40 (m, 6H), 7.62-7.78 (m, 2H), 8.38-8.50 (m, 2H), 12.80 (br s, 1H); IR (KBr): ν =3369.7, 1707.4, 1504.7, 1046.9, 699.2 cm^{-1} 。

实施例 14: (S)-[1-氨基甲酰基-2-(吡啶-3-基)-乙基]氨基甲酸苄酯

将(S)-2-苄氧羰基氨基-3-(吡啶-3-基)丙酸(2.60 kg, 8.65 mol)的四氢呋喃(60 升)悬浮液冷却至-9℃。在该温度下,经 5 分钟加入 N-乙基二异丙基胺(1.33 kg, 10.29 mol)。在-9℃下,然后在 20 分钟内加入氯甲酸异丁酯(1.36 kg, 9.96 mol),最后内部温度升至-6℃。剧烈搅拌 10 分钟之后,在(-5)-(-6)℃ 恒定温度下向得到的稀悬浮液中通入氨气(2.1 kg, 大约 123 mol)3 小时。该反应最初剧烈放热(最初要求缓慢通入),后来放热较少。经 30 分钟之后,反应混合物温热至 16℃,得到稠的但是仍然是可搅拌的结晶浆液。在夹套温度 30℃ 下,减压去除溶剂。将该白

色油腻状残余物悬浮于乙酸乙酯 (125 升). 加入碳酸氢钠 (3.0 kg) 水 (50 升) 溶液并且将混合物剧烈搅拌 30 分钟, 然后所有的固体被溶解. 分离有机相并且用硫酸钠 (1.0 kg) 干燥, 过滤干燥剂并且在 30℃ 浴温之下减压下浓缩滤液至大约 6 升体积. 抽吸过滤得到的沉淀, 用乙酸乙酯 (1.5 升) 洗涤并且减压下在 30℃ 下干燥. 产率: 2.26 kg (7.55 mol, 理论值的 87.3%). 化学纯度是 99.9% (HPLC: 125X4.0 mm RP18 Purospher, 40℃, 在 210 nm 下检测); 对映体纯度是 100% ee (HPLC: 250X4.6 mm CSP Chiralpak AD Daicel, 40℃; 在 248 nm 下检测; 流动相: 正己烷/异丙醇/乙醇 84/12/4+0.1% 二乙胺; t_{ret} [(S)-异构体] 14.93 分钟). M. p.: 152.8℃ (通过 DSC); MS (ESI⁺): m/z (%): 300 ([M+H]⁺, 100); ¹H-NMR (200 MHz, DMSO-d₆): δ = 2.77 (dd, J=9.5 和 7.0 Hz, 1H), 3.02 (dd, J=9.5 和 3.5 Hz, 1H), 4.19 (m, 1H), 4.96 (s, 3H), 7.00–7.40 (m, 7H), 7.40–7.60 (m, 2H), 7.60–7.76 (m, 1H), 8.36–8.53 (m, 2H); IR (KBr): ν = 3306.8, 1674.9, 1537.7, 1424.0, 1271.6, 1251.3 cm⁻¹.

实施例 15: 3-((S)-2-氨基-2-氨基甲酰基乙基)-1-甲基吡啶鎓二甲苯磺酸盐

在高压釜中, 将异丙醇 (1.7 升) 加入到 (S)-[1-氨基甲酰基-2-(吡啶-3-基)乙基]氨基甲酸苄酯 (1.00 kg, 3.33 mol) 和甲苯-4-磺酸甲酯 (0.67 kg, 3.6 mol) 中, 开始搅拌, 并且在 50℃ 下在氮气保护下在密闭的高压釜中将反应混合物搅拌 5 小时. 使反应混合物在室温下静置过夜, 这导致作为粘泥状甲基化 N-苄氧羰基化合物的沉淀. 用去离子水 (0.33 升) 稀释反应溶液, 然后加入钨/碳 (10%, 50% 水; 50 g). 20–25℃ 下经大约 3 小时, 通入氢气下 (大约 10 升/分钟) 在大气压下进行氢化作用, 连续计量加入甲苯-4-磺酸一水合物 (0.63 kg, 3.33 mol) 的去离子水 (1.0 升) 溶液. 氢化作用结束后, 用氮气冲洗高压釜, 并且通过 Seitz 过滤器过滤氢化作用溶液并且用去离子水 (0.5 升) 洗涤. 将滤液转移到旋转蒸发器并且在 40℃ 浴温下蒸气喷射真空下浓缩至大约 2.5 升. 剧烈搅拌下, 然后用异丙醇 (10 升浸透混合物, 40℃ 浴温下减压下搅拌下浓缩至大约 5

升, 这时标题化合物开始结晶。搅拌下, 将晶体悬浮液在 15℃ 冷却 0.5 小时, 通过滤纸将产物抽吸过滤, 用 1 升异丙醇洗涤, 抽吸充分干燥并且干燥。产率: 1.57 kg (3.0 mol, 理论值的 90%)。M. p.: 219-220℃; MS (ESI⁺): m/z (%)=180.1 ([M+H⁺], 100); ¹H-NMR (DMSO-d₆): δ=2.30 (s, 3H), 3.10-3.40 (m, 2H), 4.08 (dd, 1H), 4.35 (s, 3H), 7.12 (d, 4H), 7.48 (d, 4H), 7.70 (s, 1H), 7.90 (s, 1H), 8.05-8.22 (m, 4H), 8.42 (m, 1H), 8.95 (m, 1H)。

实施例 16: 3-[(S)-2-[(S)-2-((S)-2-乙酰基氨基-3-(4-脒基苯基)丙酰基氨基)-2-环己基乙酰基氨基]-2-氨基甲酰基乙基]-1-甲基吡啶鎓二甲苯磺酸盐

氮气下, 将 3-羟基-4-氧代-3,4-二氢-1,2,3-苯并三嗪(1.306 kg, 30.0%于 Dicalite[®]之上, 2.40 mol)加入到 N,N-二甲基甲酰胺(45.0 升)中的 3-((S)-2-氨基-2-氨基甲酰基乙基)-1-甲基吡啶鎓二甲苯磺酸盐(5.43 kg, 10.36 mol)和(S)-2-[(S)-2-乙酰基氨基-3-(4-脒基苯基)丙酰基氨基]-2-环己基乙酸甜菜碱(4.00 kg, 93.15%纯, 水含量 6.85%, 9.591 mol)的悬浮液中, 并且将悬浮液冷却至 10℃。在该温度下, 以始终如一的速度, 利用泵经 7 小时加入二环己基碳二亚胺(2.56 kg, 99% 纯, 12.28 mol)的 N,N-二甲基甲酰胺(3.4 升)溶液, 然后用 N,N-二甲基甲酰胺(0.5 升)冲洗泵和管。该混合物在 10℃ 下搅拌 1 小时之后温热至室温(23.5℃), 再反应 14 小时。悬浮液通过 Seitz 层过滤并且用 N,N-二甲基甲酰胺(2.2 升)和甲苯(0.2 升)的混合物洗涤。经 30 分钟, 将滤液抽吸到预先装有丙酮(1200 升)的容器中, 在 18℃ 下在氮气下剧烈搅拌。该混合物在室温下搅拌 10 分钟并且然后通过已经覆盖了聚丙烯制成的滤布的压力真空吸滤过滤器和 Seitz 过滤器在氮气压下过滤悬浮液。用丙酮(3×100 升)洗涤残余物, 在压力真空吸滤过滤器上的固体用氮气干燥过夜然后反复用丙酮沉淀产物。为此, 搅拌下将固体溶解于 N,N-二甲基甲酰胺(25 升), 并且该溶液与甲苯(2.5 升)混合, 并且经 15 分钟之后, 抽吸到预先加入丙酮(1200 升)的容器中, 在 18℃ 下在氮气下剧烈搅拌。

该悬浮液在室温下搅拌 10 分钟并且然后在氮气压下通过压力真空吸滤。残余物用丙酮 (3X100 升) 洗涤。固体在氮气流下充分干燥, 然后最初在 20℃ 下减压下干燥, 然后在 43℃ 高真空下干燥。产率: 7.83 kg (8.76 mol, 理论值的 91.3%)。对映体纯度是 >99% ee (HPLC: CSP Chiral AGP 100 × 4.0 mm 5 μm; 40℃, 0.7 ml/分钟乙酸钠水溶液 (100 mM); t_{ret} 6.20 分钟, t_{ret} [对映体] 4.26 分钟, t_{ret} [非对映体] 4.97 分钟); $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ -6.5° (c=1.0, 水)。化学纯度是 97%, 非对映体含量是 2.4% (HPLC: Superspher 60 RP select B 250 × 4.0 mm; 25℃; 在 210 nm 下检测; 1.0 ml/分钟; 流动相 A: 950 ml 的水+50 ml 的乙腈+7 ml 的正磷酸, 用大约 8 毫升三乙胺调节至 pH 3; 流动相 B: 600 ml 的水+400 ml 的乙腈+7 ml 的正磷酸, 用大约 8 毫升三乙胺调节至 pH 3; 洗脱程序: 15 分钟的 100% 流动相 A, 然后经 10 分钟线性至 50% 流动相 A+50% 流动相 B, 然后又 15 分钟恒溶剂洗脱用该 50:50 的流动相混合物: t_{ret} [标题阳离子] 13.44 分钟, t_{ret} [甲苯磺酸根阴离子] 26.88 分钟)。MS (FAB, NBA): m/z (%) = 722 (一甲苯磺酸盐的 $[M]^+$, 15%), 550 ($[M]$, 没有甲苯磺酸根的单阳离子 (N-甲基吡啶鎓盐), 100%); $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6): δ = 0.80–1.25 (m, 6H), 1.40–1.70 (m, 5H), 1.72 (s, 3H), 2.29 (s, 6H), 2.71 (d, 1H), 2.98–3.07 (m, 3H), 3.18 (dd, 1H), 4.05 (t, 1H), 4.36 (s, 3H), 4.55–4.65 (m, 2H), 7.11 (d, 4H), 7.27 (s, 1H), 7.42 (s, 1H), 7.47 (d, 4H), 7.51 (d, 2H), 7.73 (d, 2H), 7.92 (d, 1H), 8.06 (dd, 1H), 8.14 (d, 1H), 8.21 (d, 1H), 8.40 (d, 1H), 8.88 (m, 4H), 9.25 (s, 2H); $^{13}\text{C-NMR}$ (75.43 MHz, DMSO- d_6 , $\{^1\text{H}\}$ -宽带去耦): δ = 20.67 (2C), 22.31 (1C), 25.51 (2C), 25.65 (1C), 28.32 (1C), 28.89 (1C), 34.21 (1C), 36.95 (1C), 47.79 (1C), 52.19 (1C), 53.30 (1C), 57.67 (1C), 125.36 (4C), 125.80 (1C), 126.82 (1C), 127.70 (1C), 128.03 (4C), 129.59 (1C), 137.74 (2C), 138.13 (1C), 143.36 (1C), 144.68 (1C), 145.25 (2C), 145.37 (1C), 145.63 (1C), 165.16 (1C), 169.26 (1C), 170.58 (1C), 171.35 (2C); IR (KBr): ν = 3286, 1663, 1184, 1124, 1035, 1011, 683, 569 cm^{-1} 。