



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101809018 B

(45) 授权公告日 2013. 02. 06

(21) 申请号 200880108684. X

A61K 31/506 (2006. 01)

(22) 申请日 2008. 09. 25

A61P 1/00 (2006. 01)

A61P 25/00 (2006. 01)

(30) 优先权数据

60/975, 846 2007. 09. 28 US

(56) 对比文件

WO 2008/073933 A2, 2008. 06. 19, 说明书第 2 页第 1-18 行, 第 40 页实施例 6. 19 权利要求 1-53.

(85) PCT 申请进入国家阶段日

2010. 03. 25

(86) PCT 申请的申请数据

PCT/US2008/077594 2008. 09. 25

WO 2007/089335 A2, 2007. 08. 09, 权利要求 1.

(87) PCT 申请的公布数据

W02009/042733 EN 2009. 04. 02

审查员 杨杰

(73) 专利权人 莱西肯医药有限公司

地址 美国得克萨斯州

(72) 发明人 马克·S·贝德纳茨 苏珊·德保罗

拉玛奈亚·C·卡纳马拉普第

阿内特·佩尔贝格 张海明

(74) 专利代理机构 中原信达知识产权代理有限

责任公司 11219

代理人 刘慧 杨青

(51) Int. Cl.

C07D 403/12 (2006. 01)

权利要求书 2 页 说明书 12 页 附图 4 页

(54) 发明名称

(S)-2-氨基-3-(4-(2-氨基-6-((R)-1-(4-氯-2-(3-甲基-1H-吡啶-1-基)苯基)-2,2,2-三氟乙氧基)-嘧啶-4-基)苯基)丙酸乙酯的固体形式及其使用方法

(57) 摘要

本发明公开了(S)-2-氨基-3-(4-(2-氨基-6-((R)-1-(4-氯-2-(3-甲基-1H-吡啶-1-基)苯基)-2,2,2-三氟乙氧基)嘧啶-4-基)苯基)丙酸乙酯的固体形式及其盐。

1. 化合物, 其是结晶 (S)-2-氨基-3-(4-(2-氨基-6-((R)-1-(4-氯-2-(3-甲基-1H-吡唑-1-基)苯基))-2,2,2-三氟乙氧基)嘧啶-4-基)苯基)丙酸乙酯并具有与图 1 所示实质相同的 X 射线粉末衍射图。

2. 权利要求 1 的化合物, 其具有约 104°C 的熔点。

3. (S)-2-氨基-3-(4-(2-氨基-6-((R)-1-(4-氯-2-(3-甲基-1H-吡唑-1-基)苯基))-2,2,2-三氟乙氧基)嘧啶-4-基)苯基)丙酸乙酯的结晶盐, 其是马尿酸盐并具有与图 2 所示实质相同的 X 射线粉末衍射图。

4. 权利要求 3 的结晶盐, 其具有约 145°C 的熔点。

5. 权利要求 3 的结晶盐, 其具有与图 3 所示实质相同的拉曼光谱。

6. (S)-2-氨基-3-(4-(2-氨基-6-((R)-1-(4-氯-2-(3-甲基-1H-吡唑-1-基)苯基))-2,2,2-三氟乙氧基)嘧啶-4-基)苯基)丙酸乙酯的结晶盐, 其是琥珀酸盐并具有与图 4 所示实质相同的 X 射线粉末衍射图。

7. 制备权利要求 3 或 6 的 (S)-2-氨基-3-(4-(2-氨基-6-((R)-1-(4-氯-2-(3-甲基-1H-吡唑-1-基)苯基))-2,2,2-三氟乙氧基)嘧啶-4-基)苯基)丙酸乙酯的结晶盐的方法, 该方法包括:

使包含 (S)-2-氨基-3-(4-(2-氨基-6-((R)-1-(4-氯-2-(3-甲基-1H-吡唑-1-基)苯基))-2,2,2-三氟乙氧基)嘧啶-4-基)苯基)丙酸乙酯的溶液与马尿酸或琥珀酸在足以提供 (S)-2-氨基-3-(4-(2-氨基-6-((R)-1-(4-氯-2-(3-甲基-1H-吡唑-1-基)苯基))-2,2,2-三氟乙氧基)嘧啶-4-基)苯基)丙酸乙酯的盐的条件下接触;

在足以提供 (S)-2-氨基-3-(4-(2-氨基-6-((R)-1-(4-氯-2-(3-甲基-1H-吡唑-1-基)苯基))-2,2,2-三氟乙氧基)嘧啶-4-基)苯基)丙酸乙酯的所述结晶盐的条件下, 降低该盐在溶液中的溶解度; 和

分离该结晶盐。

8. 权利要求 7 的方法, 其中溶液包括乙酸异丙酯、乙酸乙酯、乙醇、异丙醇、甲基叔丁基醚或甲基异丁基酮。

9. 权利要求 7 的方法, 其中通过冷却溶液来降低盐的溶解度。

10. 权利要求 7 的方法, 其中通过增加 (S)-2-氨基-3-(4-(2-氨基-6-((R)-1-(4-氯-2-(3-甲基-1H-吡唑-1-基)苯基))-2,2,2-三氟乙氧基)嘧啶-4-基)苯基)丙酸乙酯在溶液中的浓度来降低溶解的盐的量。

11. 权利要求 7 的方法, 其中通过向溶液中加入反溶剂来降低盐的溶解度。

12. 权利要求 11 的方法, 其中反溶剂是庚烷。

13. 制备权利要求 1 的结晶 (S)-2-氨基-3-(4-(2-氨基-6-((R)-1-(4-氯-2-(3-甲基-1H-吡唑-1-基)苯基))-2,2,2-三氟乙氧基)嘧啶-4-基)苯基)丙酸乙酯的方法, 该方法包括:

将碱性水溶液加到有机悬浮液中以提供具有有机组分和水性组分的混合物, 其中该有机悬浮液包含 (S)-2-氨基-3-(4-(2-氨基-6-((R)-1-(4-氯-2-(3-甲基-1H-吡唑-1-基)苯基))-2,2,2-三氟乙氧基)嘧啶-4-基)苯基)丙酸乙酯的马尿酸盐和有机溶剂;

从混合物分离有机组分; 和

冷却和 / 或浓缩有机组分以提供所述结晶 (S)-2-氨基-3-(4-(2-氨基

基-6-((R)-1-(4-氯-2-(3-甲基-1H-吡唑-1-基)苯基)-2,2,2-三氟乙氧基)嘧啶-4-基)苯基)丙酸乙酯;和

分离该结晶游离碱。

14. 权利要求 13 的方法,其中有机溶剂是醚。

15. 权利要求 13 的方法,其中碱性水溶液包括碳酸氢钠。

16. 权利要求 13 的方法,进一步包括用有机溶剂洗涤结晶(S)-2-氨基-3-(4-(2-氨基-6-((R)-1-(4-氯-2-(3-甲基-1H-吡唑-1-基)苯基)-2,2,2-三氟乙氧基)嘧啶-4-基)苯基)丙酸乙酯。

17. 药物剂型,其包含权利要求 1 的结晶(S)-2-氨基-3-(4-(2-氨基-6-((R)-1-(4-氯-2-(3-甲基-1H-吡唑-1-基)苯基)-2,2,2-三氟乙氧基)嘧啶-4-基)苯基)丙酸乙酯。

18. 药物剂型,其包含权利要求 3 或 6 的(S)-2-氨基-3-(4-(2-氨基-6-((R)-1-(4-氯-2-(3-甲基-1H-吡唑-1-基)苯基)-2,2,2-三氟乙氧基)嘧啶-4-基)苯基)丙酸乙酯的结晶盐。

19. 治疗或预防有效量的权利要求 1 的结晶(S)-2-氨基-3-(4-(2-氨基-6-((R)-1-(4-氯-2-(3-甲基-1H-吡唑-1-基)苯基)-2,2,2-三氟乙氧基)嘧啶-4-基)苯基)丙酸乙酯在制备用于治疗、预防或管理有需要的患者的由外周 5-羟色胺介导的疾病或病症的药物中的应用。

20. 权利要求 19 的应用,其中疾病或病症是类癌综合征。

21. 权利要求 19 的应用,其中疾病或病症是胃肠道疾病或病症。

22. 权利要求 21 的应用,其中疾病或病症是肠易激综合征。

(S)-2-氨基-3-(4-(2-氨基-6-((R)-1-(4-氯-2-(3-甲基-1H-吡唑-1-基)苯基))-2,2,2-三氟乙氧基)-嘧啶-4-基)苯基)丙酸乙酯的固体形式及其使用方法

[0001] 本申请要求 2007 年 9 月 28 日提交的美国临时申请 no. 60/975, 846, 其作为参考被全文并入本文。

1. 技术领域

[0002] 本发明涉及 (S)-2-氨基-3-(4-(2-氨基-6-((R)-1-(4-氯-2-(3-甲基-1H-吡唑-1-基)苯基))-2,2,2-三氟乙氧基)-嘧啶-4-基)苯基)丙酸乙酯的固体形式及其盐。

2. 背景技术

[0003] 相同化合物的不同的固体形式可具有显著不同的性质。例如,药物的无定形形式与其结晶形式相比可能表现出不同的溶出特征和不同的生物利用度模式,这些都是可以影响该药物必须怎样被施用以达到最佳效果的性质。药物的无定形形式和结晶形式还可能具有不同的处理性质(例如,流动性,压缩性),溶出速率,溶解度和稳定性,所有这些可以影响剂型的生产。因此,由于各种各样的原因而希望获得药物的多种形式。另外,管理当局(例如,美国食品与药物管理局(U.S. Food and Drug Administration))可能要求新物质在被包含在产品中之前,要鉴定其所有的固体(例如,多晶型)形式。A. Goho, *Science News* 166(8):122-123(2004)。

[0004] 化合物可能以一种或多种结晶形式存在,但是对它们的存在和特征的预测没有任何确定性。另外,不存在标准的程序来制备化合物的所有可能的多晶型形式。并且甚至在已经鉴定了一个多晶型物之后,可能只可以通过另外的实验来测定其它形式的存在和特征。出处同上。

3. 发明概述

[0006] 本发明部分地涉及色氨酸羟化酶抑制剂 (S)-2-氨基-3-(4-(2-氨基-6-((R)-1-(4-氯-2-(3-甲基-1H-吡唑-1-基)苯基))-2,2,2-三氟乙氧基)-嘧啶-4-基)苯基)丙酸乙酯的固体形式,及其药学可接受的盐。具体的固体形式是结晶。

[0007] 本发明的一个实施方案涵盖了包含本文所述的固体形式的药物组合物。

[0008] 另一个实施方案涵盖了治疗、管理和预防不同的疾病和病况的方法,其包括使用本文所述的固体形式。

4. 附图说明

[0009] 图 1 是 (S)-2-氨基-3-(4-(2-氨基-6-((R)-1-(4-氯-2-(3-甲基-1H-吡唑-1-基)苯基))-2,2,2-三氟乙氧基)-嘧啶-4-基)苯基)丙酸乙酯的结晶形式的 X 射线粉末衍射图。该衍射图采用 Rigaku MiniFlex 衍射仪(铜 K α 辐射)获得。

[0010] 图 2 是 (S)-2-氨基-3-(4-(2-氨基-6-((R)-1-(4-氯-2-(3-甲基-1H-吡唑-1-基)苯基))-2,2,2-三氟乙氧基)-嘧啶-4-基)苯基)丙酸乙酯马尿酸盐的结晶形

式的 X 射线粉末衍射图。该衍射图采用 Bruker D8 Advance (铜 K α 辐射) 获得。

[0011] 图 3 是 (S)-2-氨基-3-(4-(2-氨基-6-((R)-1-(4-氯-2-(3-甲基-1H-吡唑-1-基)苯基)-2,2,2-三氟乙氧基)嘧啶-4-基)苯基)丙酸乙酯马尿酸盐的结晶形式的 FT-拉曼光谱。该图谱采用 Bruker RFS100 光谱仪 (1064nm 激发波长) 获得。

[0012] 图 4 是 (S)-2-氨基-3-(4-(2-氨基-6-((R)-1-(4-氯-2-(3-甲基-1H-吡唑-1-基)苯基)-2,2,2-三氟乙氧基)嘧啶-4-基)苯基)丙酸乙酯琥珀酸盐的结晶形式的 X 射线粉末衍射图。该衍射图采用 Bruker D8 Advance (铜 K α 辐射) 获得。

[0013] 5. 发明详述

[0014] 本发明部分地涉及 (S)-2-氨基-3-(4-(2-氨基-6-((R)-1-(4-氯-2-(3-甲基-1H-吡唑-1-基)苯基)-2,2,2-三氟乙氧基)嘧啶-4-基)苯基)丙酸乙酯的固体 (例如结晶) 形式, 及其药学可接受的盐。该化合物是色氨酸羟化酶的抑制剂。当被施用于动物时, 该化合物降低外周 5-羟色胺水平, 并可被用于治疗范围广泛的疾病和病症。参见 2006 年 12 月 12 日提交的美国专利申请 no. 60/874, 596。

[0015] 本发明还涉及包含 (S)-2-氨基-3-(4-(2-氨基-6-((R)-1-(4-氯-2-(3-甲基-1H-吡唑-1-基)苯基)-2,2,2-三氟乙氧基)嘧啶-4-基)苯基)丙酸乙酯的固体形式及其药学可接受的盐的剂型, 以及它们的使用方法。

[0016] 5.1 定义

[0017] 除非另有陈述, 否则短语“由外周 5-羟色胺介导的疾病或病症”和“由外周 5-羟色胺介导的疾病和病症”是指具有一种或多种症状的疾病和 / 或病症, 其严重程度受外周 5-羟色胺水平的影响。

[0018] 除非另有陈述, 否则术语“管理”包括在已经罹患特定疾病或病症的患者中预防该疾病或病症的复发, 和 / 或延长已经罹患该疾病或病症的患者保持缓解的时间。该术语涵盖了调节疾病或病症的阈值、发展和 / 或持续时间, 或改变患者对该疾病或病症的响应方式。

[0019] 除非另有陈述, 否则术语“预防”意指在患者开始罹患该指定疾病或病症之前起作用, 其抑制或减少了该疾病或病症的严重程度。换句话说, 该术语包括预防。

[0020] 除非另有陈述, 否则化合物的“预防有效量”是指足以预防疾病或病况或与该疾病或病况有关的一种或多种症状、或足以预防其复发的量。预防有效量的化合物是指一定量的治疗剂, 其单独或与其它药剂组合, 在该疾病或病况的预防中提供防病益处。术语“预防有效量”可涵盖改善总体预防或增强其它预防性药剂的预防效力的量。

[0021] 除非另有陈述, 否则化合物的“治疗有效量”是指足以在治疗或管理疾病或病况中提供治疗益处、或足以延迟或最小化与该疾病或病况有关的一种或多种症状的量。治疗有效量的化合物是指一定量的治疗剂, 其单独或与其它疗法组合, 在该疾病或病况的治疗或管理中提供治疗益处。术语“治疗有效量”可涵盖改善总体治疗、减少或避免疾病或病况的症状或病因、或增强其它治疗剂的治疗效力的量。

[0022] 除非另有陈述, 否则术语“治疗”意指在患者罹患该指定疾病或病症时起作用, 其减少了该疾病或病症或其一种或多种症状的严重程度, 或阻止或减缓该疾病或病症的进展。

[0023] 除非另有陈述, 否则术语“包括”与“包括但不限于”具有相同的含义。类似地, 术

语“诸如”与“诸如但不限于”具有相同的含义。

[0024] 除非另有陈述,否则紧接在一系列名词前面的一个或多个形容词被解释为适用于每个名词。例如,短语“任选被取代的烷基、芳基或杂芳基”与“任选被取代的烷基、任选被取代的芳基或任选被取代的杂芳基”具有相同含义。

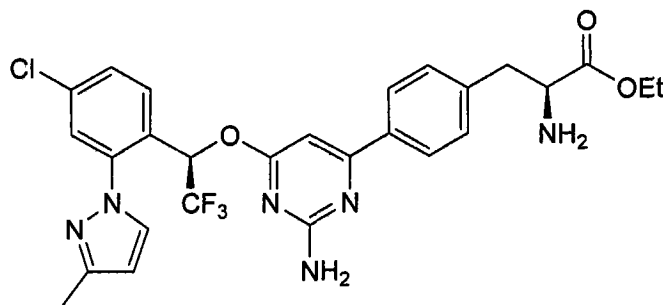
[0025] 除非另有陈述,否则化合物或化合物类的结构或名称涵盖了该化合物或化合物类的所有形式,以及包含所述的化合物或化合物类的所有组合物。

[0026] 还应注意,在图中显示的具有不饱和化合价的任何原子被假设连接有足够的氢原子以满足化合价。另外,用一个实线与一个虚线平行绘出的化学键涵盖单键和双(例如,芳香性)键,如果化合价允许的话。表示化合物具有一个或多个手性中心、但不指示立体化学的结构(例如用粗线或虚线),涵盖了纯的立体异构体和它们的混合物(例如,外消旋混合物)。类似地,具有一个或多个手性中心、但未具体说明这些中心的立体化学的化合物,其名称涵盖了纯的立体异构体及其混合物。

[0027] 5. 2(S)-2-氨基-3-(4-(2-氨基-6-((R)-1-(4-氯-2-(3-甲基-1H-吡唑-1-基)苯基)-2,2,2-三氟乙氧基)嘧啶-4-基)苯基)丙酸乙酯的形式

[0028] 本发明涉及(S)-2-氨基-3-(4-(2-氨基-6-((R)-1-(4-氯-2-(3-甲基-1H-吡唑-1-基)苯基)-2,2,2-三氟乙氧基)嘧啶-4-基)苯基)丙酸乙酯的固体形式

[0029]



[0030] 及其药学可接受的盐。具体的固体形式是结晶。

[0031] 本发明的实施方案涵盖了结晶(S)-2-氨基-3-(4-(2-氨基-6-((R)-1-(4-氯-2-(3-甲基-1H-吡唑-1-基)苯基)-2,2,2-三氟乙氧基)嘧啶-4-基)苯基)丙酸乙酯游离碱。该化合物的一种形式具有根据差示扫描量热法(DSC)测定的约104°C的熔点(开始温度)。该形式提供的X射线粉末衍射(XRPD)图包含了在约10.7、12.2、12.8、17.7和/或22.0度 2θ 处的峰。正如本领域技术人员充分知晓的,在结晶材料的XRPD图中峰的相对强度可以根据样品的制备方式以及数据的收集方式的不同而异。带着这种认识,该结晶形式的XRPD图的实例在图1中提供。

[0032] 另一个实施方案涵盖了结晶(S)-2-氨基-3-(4-(2-氨基-6-((R)-1-(4-氯-2-(3-甲基-1H-吡唑-1-基)苯基)-2,2,2-三氟乙氧基)嘧啶-4-基)苯基)丙酸乙酯马尿酸盐。该化合物的一种形式具有约142°C的熔点(DSC开始温度,具有在约147°C处的峰)。该形式提供的XRPD图包含在约8.2、9.5、12.6、16.9、21.8、22.0、22.7、24.3和/或29.1度 2θ 处的峰。该结晶形式的XRPD图的实例在图2中提供。该结晶形式的FT-拉曼光谱的实例在图3中提供。

[0033] 另一个实施方案涵盖了结晶(S)-2-氨基-3-(4-(2-氨基-6-((R)-1-(4-氯-2-(3-甲基-1H-吡唑-1-基)苯基)-2,2,2-三氟乙氧基)嘧

啶-4-基)苯基)丙酸乙酯琥珀酸盐。该化合物的一种形式提供的 XRPD 图包含了在约 7.7、11.5、11.7、15.7、17.9、21.1 和 / 或 23.2 度 2θ 处的峰。该结晶形式的 X 射线粉末衍射图的实例在图 4 中提供。

[0034] 本发明涵盖了作为无定形形式和结晶形式二者的混合物的固体。某些这样的固体包含至少约 50、75、80、85、90、95 或 99 重量 % 的量的结晶 (S)-2-氨基-3-(4-(2-氨基-6-((R)-1-(4-氯-2-(3-甲基-1H-吡唑-1-基)苯基)-2,2,2-三氟乙氧基)啶-4-基)苯基)丙酸乙酯或其药学可接受的盐。

[0035] (S)-2-氨基-3-(4-(2-氨基-6-((R)-1-(4-氯-2-(3-甲基-1H-吡唑-1-基)苯基)-2,2,2-三氟乙氧基)啶-4-基)苯基)丙酸乙酯的结晶盐可如下制备:使包含 (S)-2-氨基-3-(4-(2-氨基-6-((R)-1-(4-氯-2-(3-甲基-1H-吡唑-1-基)苯基)-2,2,2-三氟乙氧基)啶-4-基)苯基)丙酸乙酯的溶液与药学可接受的酸在足以提供 (S)-2-氨基-3-(4-(2-氨基-6-((R)-1-(4-氯-2-(3-甲基-1H-吡唑-1-基)苯基)-2,2,2-三氟乙氧基)啶-4-基)苯基)丙酸乙酯的盐的条件下接触;在足以提供 (S)-2-氨基-3-(4-(2-氨基-6-((R)-1-(4-氯-2-(3-甲基-1H-吡唑-1-基)苯基)-2,2,2-三氟乙氧基)啶-4-基)苯基)丙酸乙酯的结晶盐的条件下降低该盐在溶液中的溶解度;和分离该结晶盐。

[0036] 该溶液可包括诸如以下的溶剂:乙酸异丙酯,乙酸乙酯,乙醇,异丙醇,甲基叔丁基醚,和甲基异丁基酮。具体的酸包括马尿酸和琥珀酸。

[0037] 该盐在溶液中的溶解度可以通过冷却溶液被降低,通过增加 (S)-2-氨基-3-(4-(2-氨基-6-((R)-1-(4-氯-2-(3-甲基-1H-吡唑-1-基)苯基)-2,2,2-三氟乙氧基)啶-4-基)苯基)丙酸乙酯在溶液中的浓度被降低,或者通过向该溶液中加入反溶剂(即,该盐在其中不溶的溶剂)被降低。庚烷是反溶剂的实例。

[0038] 结晶 (S)-2-氨基-3-(4-(2-氨基-6-((R)-1-(4-氯-2-(3-甲基-1H-吡唑-1-基)苯基)-2,2,2-三氟乙氧基)啶-4-基)苯基)丙酸乙酯游离碱可以如下制备:将碱性水溶液加到有机悬浮液中以提供具有有机组分和水性组分的混合物,其中有机悬浮液包含 (S)-2-氨基-3-(4-(2-氨基-6-((R)-1-(4-氯-2-(3-甲基-1H-吡唑-1-基)苯基)-2,2,2-三氟乙氧基)啶-4-基)苯基)丙酸乙酯的盐(例如,马尿酸盐)和有机溶剂;从混合物分离有机组分;冷却和 / 或浓缩有机组分以提供结晶 (S)-2-氨基-3-(4-(2-氨基-6-((R)-1-(4-氯-2-(3-甲基-1H-吡唑-1-基)苯基)-2,2,2-三氟乙氧基)啶-4-基)苯基)丙酸乙酯。

[0039] 有机溶剂的实例包括醚。碱性水溶液的实例包括碳酸氢钠的水溶液。

[0040] 5.3 治疗方法

[0041] 本发明涵盖了抑制色氨酸羟化酶 (TPH) 的方法,该方法包括使 TPH 接触本发明的化合物(即,本文所公开的化合物)。在具体的方法中,TPH 同工型。在具体方法中,抑制在体外进行。在另一个方法中,抑制在体内进行。

[0042] 本发明涵盖了治疗、预防和管理由外周 5-羟色胺介导的不同的疾病和病症的方法,该方法包括抑制需要这种治疗、预防或管理的患者中的 TPH1 活性。

[0043] 具体的疾病和病症包括类癌综合征以及胃肠道疾病和病症。具体的疾病和病症的实例包括腹痛(例如,与甲状腺髓样癌有关的腹痛),焦虑症,类癌综合征,乳糜泻,

便秘（例如具有医源性起因的便秘，和特发性便秘），克隆病，抑郁症，糖尿病，腹泻（例如胆汁酸腹泻，由肠毒素诱导的分泌型腹泻，具有医源性起因的腹泻，特发性腹泻（例如，特发性分泌型腹泻），和旅行者腹泻），呕吐，功能性腹痛，机能性消化不良，肠易激综合征（IBS），乳糖不耐受，I 和型 MEN，假性结肠梗阻，胰源性霍乱综合征，胰功能不全，嗜铬细胞瘤（pheochromocytoma），硬皮病，躯体化障碍，和卓 - 艾氏（Zollinger-Ellison）综合征。

[0044] 5.4 药物组合物

[0045] 本发明涵盖了包含本发明的固体形式的药物组合物和剂型。本发明的药物组合物和剂型可任选含有一种或多种药学可接受的载体或赋形剂。某些药物组合物是适于经口，局部，粘膜（例如，经鼻，经肺，舌下，经阴道，经颊或经直肠），非肠道（例如，皮下，静脉内，快速推注，肌肉内或动脉内）或透皮给药至患者的单一单位剂型。剂型的实例包括但不限于：片剂；囊片；胶囊，诸如软弹性明胶胶囊；扁囊剂；锭剂；菱形剂；分散剂；栓剂；膏剂；泥敷剂（泥罨剂）；糊剂；粉剂；敷料剂；霜剂；膏药；溶液；贴剂；气雾剂（例如，经鼻喷雾剂或吸入剂）；凝胶剂；适于经口或经粘膜给药至患者的液体剂型，包括悬浮液（例如，水性或非水性液体悬浮液，水包油型乳液，或油包水型液体乳液），溶液和酞剂；适于非肠道给药至患者的液体剂型；和无菌固体（例如，结晶和无定形固体），其可复溶以提供适于非肠道给药至患者的液体剂型。

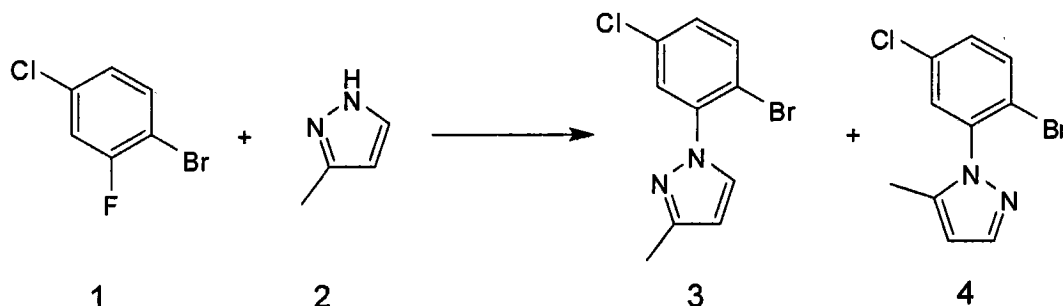
[0046] 所述制剂应适合给药方式。例如，口服给药可能需要肠溶衣以保护活性成分不在胃肠道内降解。在另一个实例中，活性成分可在脂质体制剂中被施用以使其免遭降解性酶，促进在循环系统中的转运，和 / 或实现跨细胞膜到达细胞内位点的递送。

[0047] 本发明的剂型的组成、形状和类型一般会随着它们的应用的不同而异。例如，在疾病的急性治疗中所用的剂型与同一疾病的长期治疗中使用的剂型相比，所包含的一种或多种活性成分的含量可以较大。类似地，非肠道剂型与用于治疗同一疾病的口服剂型相比，所包含的一种或多种活性成分可以较少。被本发明所涵盖的具体剂型彼此不同的这些和其它方式对于本领域技术人员是显而易见的。例如，参见 Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th ed., Mack Publishing, EastonPA(1990)。

6. 实施例

[0048] 6.1 制备 1-(4-氯-2-(3-甲基-1H-吡唑-1-基)苯基)-2,2,2-三氟乙酮

[0049]

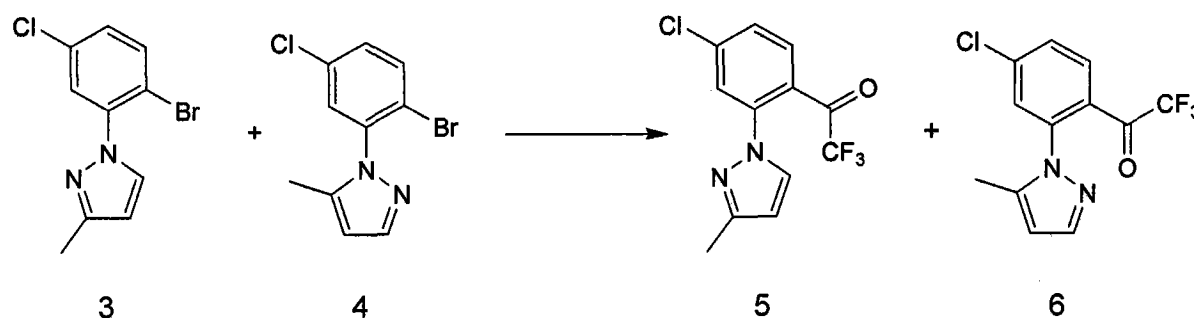


[0050] 向装备有机械搅拌器、温度控制器和氮气进口的 3L 的 3 颈圆底烧瓶中在室温下加入叔丁醇钾 (Aldrich 95%, 84.6g, 0.716mol) 和 DMSO (400mL, 4X) 并搅拌 15 分钟。向该溶液中加入吡唑 2 (59g, 0.719mol), 然后加入 DMSO 洗液 (50mL, 0.5X)。将生成的橙色混浊的溶液搅拌 15 分钟并加入氟化物 1 (100g, 0.477mol), 然后加入 DMSO 洗液 (50mL, 0.5X)。然

后将该混合物加热至 50℃并在该温度保持 5 小时。冷却到室温后,将反应混合物用 MTBE 稀释 (750mL),加入水 (500mL) 得到褐色的混浊的混合物。在搅拌 15 分钟后,分离有机层并依次用 1NHCl (250mL)、盐水 (250mL) 和水 (250mL) 洗涤。使用 GC 对有机层进行溶液分析 (转化 > 99%, 3 及其区域异构体 4 的溶液收率分别是 83% 和 17%)。然后将 MTBE 溶液真空浓缩到约 200mL 的总体积 (KF 显示有 0.737% 的水)。加 THF (500mL), 浓缩到 2X 溶液 (KF = 0.158%)。重复进行 THF 添加 - 浓缩顺序, 得到 2X 溶液 (KF = 0.023%), 其直接用于下一步。

[0051] 化合物 3 和 4 的分析样品通过柱色谱纯化和表征: 化合物 3: 白色结晶; ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 7.80 (1H, d, $J = 2.3\text{Hz}$), 7.61 (1H, d, $J = 8.6\text{Hz}$), 7.58 (1H, d, $J = 2.5\text{Hz}$), 7.22 (1H, dd, $J = 8.6, 2.6\text{Hz}$), 6.27 (1H, d, $J = 2.5\text{Hz}$), 2.38 (3H, s); ^{13}C NMR (100MHz, CDCl_3) δ 150.8, 140.6, 134.6, 134.1, 132.0, 129.0, 128.2, 115.4, 107.0, 13.6。化合物 4: 白色结晶; ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 7.65 (1H, d, $J = 8.6\text{Hz}$), 7.62 (1H, d, $J = 1.5\text{Hz}$), 7.43 (1H, d, $J = 2.5\text{Hz}$), 7.35 (1H, dd, $J = 8.6, 2.2\text{Hz}$), 6.21 (1H, s), 2.19 (3H, s); ^{13}C NMR (100MHz, CDCl_3) δ 140.6, 140.2, 140.0, 134.1, 133.9, 130.8, 130.2, 120.7, 105.9, 11.4。

[0052]

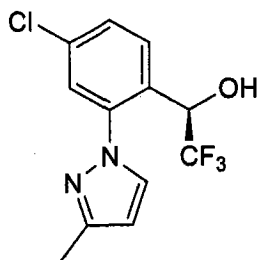


[0053] 将上述的 THF 溶液转移到带夹套并装备有机械搅拌器、温度控制器和氮气进口的 3L 的 3 颈圆底烧瓶中。在用 THF (800mL) 稀释后,通过 KF 检查溶液中的水含量 (0.053%)。向上述溶液中在 0-10℃ 下经 1 小时添加 *i*-PrMgCl 在 THF (Aldrich 2M, 286mL, 0.572mol) 中的溶液。将生成的溶液在 10℃ 搅拌 30 分钟 (GC 显示镁 - 溴交换反应完成)。然后向格氏 (Grignard) 溶液中在 -20℃ 到 -10℃ 之间经 45 分钟加入三氟乙酸乙酯 (74mL, 0.620mol), 缓慢地回温到 0℃, 并在该温度下搅拌 30 分钟。将反应混合物倾入 0℃ 的 2N HCl (300mL) 中, 并在室温下搅拌 30 分钟。将有机层用 MTBE (500mL) 稀释, 并用盐水 (250mL) 洗涤, 然后用水 (250mL) 洗涤。使用 GC 对有机层进行溶液分析 (化合物 5: 67% 的溶液收率, 相应的区域异构体 6 相对于 5 以约 20% 存在)。然后将溶液真空浓缩到 2X 溶液。为了除去水, 加入 THF (500mL), 并蒸发到 2X 溶液。重复进行 THF 添加 - 浓缩过程以得到 2X 溶液。加入庚烷 (500mL), 浓缩到 2X 溶液以交换重结晶用溶剂。再添加庚烷 (500mL), 浓缩到 3.5X 溶液。

[0054] 然后将 3.5X 庚烷溶液转移到装备有机械搅拌器、温度控制器和氮气进口的带夹套的 1L 3 颈圆底烧瓶中。将溶液在 60℃ 加热, 并将生成的均匀溶液在搅拌下缓慢地 (1-2 小时) 冷却到室温, 进一步冷却到 0℃ 并在该温度下搅拌 30 分钟。收集结晶并用冰冷的庚烷 (200mL) 洗涤, 在 50℃ 真空干燥, 得到浅黄色固体 (化合物 5, 85.7g, GC 检测纯度为 99%, 从氟化物 1 得到的收率为 62%)。 ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 7.85 (1H, d, $J = 2.5\text{Hz}$), 7.48 (1H, d,

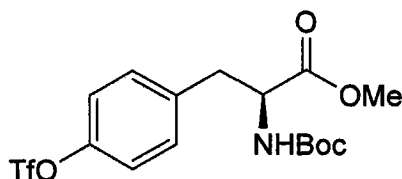
$J = 1.7\text{Hz}$), 7.38 (1H, d, $J = 8.3\text{Hz}$), 7.31 (1H, dd, $J = 8.1, 1.8\text{Hz}$), 6.33 (1H, d, $J = 2.5\text{Hz}$), 2.30 (3H, s); ^{13}C NMR (100MHz, CDCl_3) δ 184.2 (q, $J_{\text{C-F}} = 36.6\text{Hz}$), 151.7, 138.7, 138.5, 130.7, 126.4, 125.7, 124.5, 116.8, 116.1 (q, $J_{\text{C-F}} = 289.8\text{Hz}$), 109.7, 13.0; ^{19}F NMR (376MHz, CDCl_3) $\delta = -76.8$ (s)。

[0055] 6.2 制备 (R)-1-(4-氯-2-(3-甲基-1H-吡唑-1-基)苯基)-2,2,2-三氟乙醇
[0056]



[0057] 向装备有机械搅拌器、温度控制器和氮气进口的带夹套的 3L 3 颈圆底烧瓶中在室温下依次装入二氯(五甲基环戊二烯基)铱(III)二聚体 ($[\text{Cp}^*\text{IrCl}_2]_2$, STREM, CAS#: 12354-85-7, 34mg, 0.043mmol)、(1R,2R)-(-)-N-(4-甲苯磺酰基)-1,2-二苯基亚乙二胺 (STREM, CAS#: 144222-34-4, 32mg, 0.087mmol) 和水 (400mL, 4X)。将生成的混合物在 40°C 搅拌 3 小时得到均匀的橙色溶液。向该活性催化剂溶液在 40°C 添加甲酸钾 (145.5g, 1.73mol) 和酮 1-(4-氯-2-(3-甲基-1H-吡唑-1-基)苯基)-2,2,2-三氟乙酮 (100g, GC 检测 $> 99\%$ 纯度, 0.346mol) 在 CH_3CN (500mL, 5X) 中的溶液。然后将反应混合物在 40°C 搅拌 2 小时, 此时通过 GC 测定反应完成。在冷却到 30°C 后, 除去水层 T (大约 480mL)。将有机层 (大约 600mL, 6X) 用活性碳 (Darco G-60, 20g, 0.2X) 在 45°C 处理 2 小时并过滤通过 1/4 英寸的 Celpure P65 层 (USP-NF, Pharmaceutical grade, Sigma), 用 CH_3CN (200mL, 2X) 洗涤。将滤液浓缩到 250mL (2.5X) 并转移到装备有机械搅拌器和温度控制器的带夹套的 2L 3 颈圆底烧瓶中。加入更多的 CH_3CN (50mL, 0.5X) 以使溶液体积增加到 300mL (3X)。将该溶液回温到 60°C 并向该溶液在相同温度下加入水 (500mL, 5X)。在 60°C 搅拌 15 分钟后, 将生成的乳液样乳状混合物缓慢地冷却到室温。然后在室温下过滤结晶, 用 $\text{CH}_3\text{CN}/$ 水 (1 : 2, 150mL, 1.5X) 洗涤。将湿滤饼 (108g, KF : 8.83%) 在 45°C 真空下干燥 4 小时, 得到所需的醇 (白色固体, 95g, 94% 收率, $> 99\%$ 化学纯度, $> 99\%$ ee, KF : 0.014%)。 ^1H NMR (甲醇- d_4 , 400MHz) δ 2.19 (br. s., 3H), 5.23 (dd, 6.8Hz, 7.2Hz, 1H), 6.19 (d, 2.4Hz, 1H), 7.29 (d, 2Hz, 1H), 7.42 (dd, 2.0Hz, 6.4Hz, 1H), 7.59 (d, 2.4Hz, 1H), 7.68 (d, 8.4Hz, 1H)。 ^{13}C NMR (甲醇- d_4) δ 13.4, 67.2, 108.3, 121.7, 124.5, 127.4, 130.1, 131.9, 134.1, 136.4, 141.6, 152.3. LC/MS : $\text{MH}^+ = 291$ 。

[0058] 6.3 制备 (S)-2-(叔丁氧羰基氨基)-3-(4-(三氟甲基磺酰氧基)苯基)丙酸甲酯
[0059]

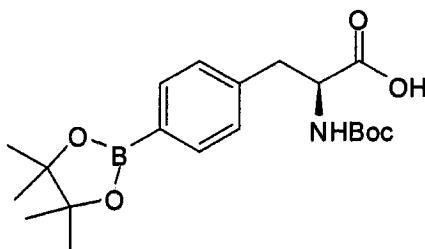


[0060] 该化合物基于文献过程制备 (Shieh, 等人, *J. Org. Chem.* 57 : 379-381 (1992))。向 Boc-Tyr-OMe (Bachem, California, 100g, 0.34mol) 和 N-甲基吗啉 (51g, 1.5eq) 在二氯甲

烷 (1000ml) 中的溶液中在 -5°C 到 -15°C 下经 2 小时加入三氟甲磺酸酐 (100g, 1.05eq)。将生成的红色溶液在 -10°C 搅拌 10 分钟。HPLC 分析显示起始材料完全消失。将反应用 10% 柠檬酸 (500ml) 淬灭。有机层用 10% 柠檬酸 (500ml) 洗涤, 然后用水 (500ml) 洗涤。将生成的浅粉色溶液减压浓缩到 200ml。将其用乙腈 (600ml) 稀释, 并进一步浓缩到 200g 溶液。该溶液无需进一步纯化直接用于下一步。通过将样品气提至干得到熔点低的浅黄色固体, 估计收率是 98%。LC-MS (ESI) : $\text{MH}^+ = 428.0$, $\text{MNH}_4^+ = 445.0$ 。 ^1H NMR (CDCl_3) δ 7.16 (m, 4H), 4.95 (d, $J = 7.1\text{Hz}$, 1H), 4.53 (m, 1H), 3.64 (s, 3H), 3.10 (dd, $J_1 = 5.7\text{Hz}$, $J_2 = 13.8\text{Hz}$, 1H), 2.97 (dd, $J_1 = 6.3\text{Hz}$, $J_2 = 13.6\text{Hz}$, 1H), 1.34 (s, 9H)。 ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 172.3, 155.4, 149.0, 137.4, 131.5, 121.7, 119.1 (q, $J = 321\text{Hz}$), 80.54, 54.62, 52.7, 38.3, 28.6。 ^{19}F NMR (CDCl_3) δ -73.4。

[0061] 6.4 制备 (S)-2-(叔丁氧羰基氨基)-3-(4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼戊环-2-基)苯基)丙酸

[0062]



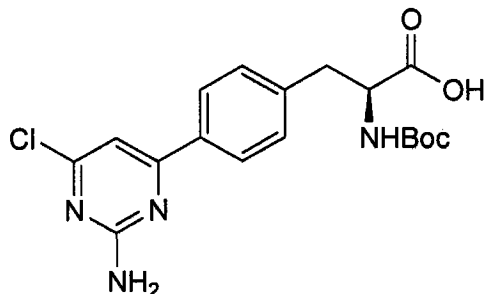
[0063] 该化合物基于文献过程制备 (Firooznia, 等人, Tetrahedron Lett. 40 : 213-216 (1999))。将二(频哪醇根合)二硼 (90g, 1.1eq)、乙酸钾 (63g, 2eq)、三环己基磷 (2.3g, 2.5% mol) 和乙酸钯 (0.72g, 1mol%) 在乙腈 (950ml) 中混合, 并将生成的混合物在室温下搅拌 5 分钟。加入 (S)-2-(叔丁氧羰基氨基)-3-(4-(三氟甲基磺酰氧基)-苯基)丙酸甲酯溶液 (190g, 0.32mol), 并将生成的混合物在 80°C 加热 1 小时并冷却。HPLC 显示起始材料完全耗尽。将反应混合物用碳酸氢钾水溶液 (57g 碳酸氢钾在 475ml 水中) 淬灭, 将生成的混合物在室温下搅拌 30 分钟。将混合物过滤通过纤维素垫以除去钯黑。将有机层的样品浓缩并进行柱色谱纯化 (梯度: 1 : 10 到 1 : 4 乙酸乙酯 / 己烷), 得到 (S)-2-(叔丁氧羰基氨基)-3-(4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼戊环-2-基)苯基)丙酸甲酯, 为透明油状物。LC-MS (ESI) : $\text{MH}^+ = 406.2$, $\text{MNH}_4^+ = 423.2$, $\text{M}_2\text{H}^+ = 811.5$, $\text{M}_2\text{NH}_4^+ = 428.5$ 。 ^1H NMR (CDCl_3) δ 7.76 (d, $J = 8.1\text{Hz}$, 2H), 7.15 (d, $J = 7.6\text{Hz}$, 2H), 4.96 (d, $J = 7.3\text{Hz}$, 1H), 4.60 (m, 1H), 3.72 (s, 3H), 3.13 (m, 2H), 1.44 (s, 9H), 1.36 (s, 12H)。

[0064] 将上述的酯的有机层与氢氧化锂水溶液 (23g, 在 500mL 水中) 在室温下搅拌 30 分钟。将生成的浆料的 pH 用 6N 盐酸调节到约 10 并过滤。将滤饼用水 (200mL) 洗涤。从滤液中减压除去乙腈, 得到含水浆料 (950mL, 在蒸馏期间添加补充水)。将浆料过滤通过纤维素垫并用水 (200mL) 洗涤。将滤液用 MTBE (500mL) 洗涤并用 700mL MTBE 再稀释。将混合物用 6N 盐酸酸化到 pH 约 4.5。将有机层用水 (500mL) 洗涤并减压浓缩得到酸化合物, 为棕色油状物 (206g, 95% 收率, 基于 NMR 估算的纯度)。该粗产物直接用于下一步。或者, 可从 MTBE/ 庚烷结晶来纯化化合物, 得到白色固体, 其包含少量的相应的硼酸, (S)-3-(4-硼苯基)-2-(叔丁氧羰基氨基)丙酸。MS (ESI) : $\text{MH}^+ = 392.2$, $\text{MNH}_4^+ = 409.2$, $\text{M}_2\text{H}^+ = 783.4$, $\text{M}_2\text{NH}_4^+ = 800.4$ 。 ^1H NMR (CDCl_3) δ 7.95 (br s, 1H), 7.76 (d, $J = 7.8\text{Hz}$, 2H), 7.21 (d, $J = 7.6\text{Hz}$, 2H),

5. 03 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 4. 62 (m, 1H), 3. 18 (m, 2H), 1. 43 (s, 9H), 1. 35 (s, 12H). ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 175. 8, 155. 7, 139. 7, 135. 4, 129. 2, 84. 2, 80. 5, 54. 5, 38. 3, 28. 7, 25. 2.

[0065] 6. 5 制备 (S)-3-(4-(2-氨基-6-氯嘧啶-4-基)苯基)-2-(叔丁氧羰基氨基)丙酸

[0066]



[0067] 向装备有机械搅拌器和温度控制器的 2L 的 3 颈圆底烧瓶中加入 (S)-2-(叔丁氧羰基氨基)-3-(4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼戊环-2-基)苯基)丙酸 (30. 3g, 0. 078mol)、2-氨基-4,6-二氯嘧啶 (38. 03g, 3. 0eq)、催化剂 POPd_6 (0. 605g, 1. 0mol % , CombiPhos Catalysts, Inc., New Jersey) 和乙醇 (728mL)。然后向上述搅拌的浆料中缓慢地加入碳酸氢钾水溶液 (27. 85g, 3. 5eq, 在 173mL 的 H_2O) 中, 以便 CO_2 气体放出不剧烈。将该混合物在 75°C 加热 6 小时, 此时 HPLC 分析显示起始材料的转化率大于 99%。从混合物中减压除去乙醇以得到含水浆料 ($\sim 200\text{mL}$), 加入另外的 H_2O (90mL), 将溶液浓缩到 $\sim 250\text{mL}$ 。将水 (90mL) 加入到该浆料中, 然后将其过滤并用水洗涤 (60mL \times 2)。将滤液用乙酸乙酯 (150mL) 提取。将含水溶液用 Darco-G60 (6. 0g) 在 60°C 处理 2 小时, 过滤通过才利特 (Celpure 300, 10g), 并用 THF (240mL) 和甲苯 (180mL) 稀释。在室温下向混合物中加入 6N HCl 直到 pH 达到 4. 0。分离有机层并用水洗涤 (180mL), 加入 Darco-G60 (6. 0g); 将得到的混合物在 60°C 加热 2 小时。将溶液冷却到室温并过滤通过才利特 (Celpure 300, 10g)。将滤饼用 THF (30mL \times 2) 洗涤。将生成的溶液真空浓缩到 $\sim 180\text{mL}$ 总体积, 此时, 产物从溶液中沉淀析出。然后将浆料冷却到室温, 过滤并将滤饼用甲苯 (30mL \times 2) 洗涤。将固体在 50°C 真空干燥过夜以得到 24. 0g 的产品, 为浅黄色固体, 通过 ^1H NMR 分析, 其含有 $\sim 8.0\text{wt}\%$ 的甲苯, 收率为 75% (经校正)。HPLC 显示纯度为 91%, 含 9. 0% 的二酸杂质。

[0068] 6. 6 从 (S)-2-氨基-3-(4-硼苯基)丙酸使用碳酸钾作为碱制备 (S)-3-(4-(2-氨基-6-氯嘧啶-4-基)苯基)-2-(叔丁氧羰基氨基)丙酸的可供选择的过程

[0069] 将 (S)-2-氨基-3-(4-硼苯基)丙酸 (Ryscor Science, Inc., NorthCarolina, 1. 0g, 4. 8mmol) 和碳酸钾 (1. 32g, 2eq) 在含水乙醇 (15ml 乙醇和 8ml 水) 中混合。一次性加入二碳酸二叔丁酯 (1. 25g, 1. 2eq)。在室温搅拌 30 分钟后, HPLC 分析显示起始化合物完全消耗并形成 (S)-3-(4-硼苯基)-2-(叔丁氧基羰基氨基)丙酸。加入 2-氨基-4,6-二氯嘧啶 (1. 18g, 1. 5eq) 和催化剂双(三苯基膦)二氯化钯 (II) (34mg, 1mol %), 并将生成的混合物在 $65\text{--}70^\circ\text{C}$ 加热 3 小时。HPLC 分析显示中间体 (S)-3-(4-硼苯基)-2-(叔丁氧基羰基氨基)丙酸完全消耗。在浓缩和过滤后, 将生成的水溶液相对于标题化合物的标准溶液进行 HPLC 分析, 显示 1. 26g (67% 收率)。

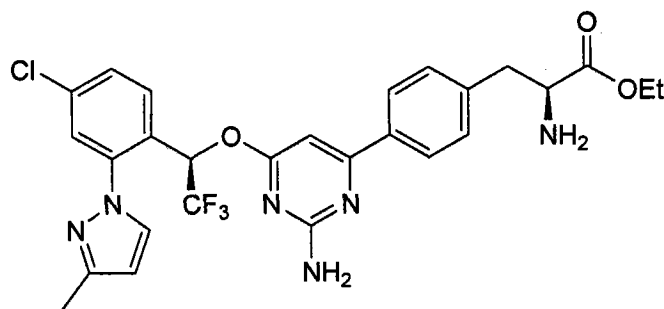
[0070] 6. 7 从 (S)-2-氨基-3-(4-硼苯基)丙酸使用碳酸钾 / 碳酸氢钾作为碱制备 (S)-3-(4-(2-氨基-6-氯嘧啶-4-基)苯基)-2-(叔丁氧羰基氨基)丙酸的可供选择的过

程

[0071] 将 (S)-2-氨基-3-(4-硼苯基)丙酸 (10g, 48mmol) 和碳酸氢钾 (14.4g, 3eq) 在含水乙醇中 (250ml 乙醇和 50ml 水) 混合。一次性加入二碳酸二叔丁酯 (12.5g, 1.2eq)。HPLC 分析显示在室温下搅拌过夜后反应不完全。加入碳酸钾 (6.6g, 1.0eq) 和另外的二碳酸二叔丁酯 (3.1g, 0.3eq)。在室温下搅拌 2.5 小时后, HPLC 分析显示起始化合物完全耗尽并形成 (S)-3-(4-硼苯基)-2-(叔丁氧羰基氨基)丙酸。加入 2-氨基-4,6-二氯嘧啶 (11.8g, 1.5eq) 和催化剂双(三苯膦)-二氯化钯 (II) (0.34g, 1mol%), 并将生成的混合物在 75-80°C 加热 2 小时。HPLC 分析显示中间体 (S)-3-(4-硼苯基)-2-(叔丁氧羰基氨基)丙酸完全耗尽。将混合物减压浓缩并过滤。将滤液用乙酸乙酯 (200ml) 洗涤并用 3:1THF/MTBE(120ml) 稀释。将该混合物用 6N 盐酸酸化到 pH 约 2.4。将有机层用盐水洗涤并减压浓缩。将残余物在异丙醇中沉淀, 过滤, 并在 50°C 真空干燥, 得到标题化合物, 为灰白色固体 (9.0g, 48% 收率)。HPLC 分析纯度: 92.9%。将母液浓缩另外得到 2.2g 的灰白色粉末 (12% 收率)。HPLC 分析纯度: 93.6%。

[0072] 6.8 制备 (S)-2-氨基-3-(4-(2-氨基-6-((R)-1-(4-氯-2-(3-甲基-1H-吡唑-1-基)苯基)-2,2,2-三氟乙氧基)嘧啶-4-基)苯基)丙酸乙酯

[0073]



[0074] 向装备有机械搅拌器、温度控制器和冷凝器的 500mL 的 3 颈圆底烧瓶中加入 (S)-3-(4-(2-氨基-6-氯嘧啶-4-基)苯基)-2-(叔丁氧羰基氨基)丙酸一氯化物 (20.0g, 51mmol)、(R)-1-(4-氯-2-(3-甲基-1H-吡唑-1-基)苯基)-2,2,2-三氟乙醇 (> 99% ee, 16.3g, 56mmol, 1.1 当量)、Cs₂CO₃ (24.9g, 76mmol, 1.5 当量) 和无水 1,4-二氧杂环己烷 (150mL, 7.5X, KF = 0.003%)。将混合物在氮气下搅拌并在良好搅拌下使温度增加到 100°C。将反应混合物在 100°C 搅拌 1 小时并加入另外的 Cs₂CO₃ (33.2g, 102mmol, 2.0 当量)。然后将反应混合物在 100°C 搅拌 18 小时。将非均匀的反应混合物冷却到 90°C 并在良好搅拌下加入水 (150mL, 7.5X)。将混合物冷却到室温。

[0075] 在室温下向双相溶液中加入二碳酸二叔丁酯 (1.11g, 5.1mmol, 0.1 当量) 并在相同温度搅拌 2 小时。加入甲苯 (100mL, 5X), 并将生成的混合物在室温下搅拌 15 分钟, 分离各相。将水 (100mL, 5X) 加入到有机层中, 将得到的混合物在室温下搅拌 15 分钟, 分离各相。然后用 6N 的 HCl 在室温下将水层 (pH = 10.5) 酸化到 pH 7-6。将 EtOAc (100mL, 5X) 加入到该混合物中, 并使用 6N HCl 在室温下在良好搅拌下进一步酸化到 pH 4。在分离有机层后, 用 EtOAc (100mL, 5X) 提取水层。将合并的有机层用盐水 (100mL, 5X) 洗涤。然后真空浓缩 EtOAc 层达到约 40mL 的总体积 (2X)。加入 EtOH (100mL, 5X), 并浓缩成 2X 溶液。重复进行 EtOAc (150mL, 7.5X) 添加-浓缩顺序, 得到 (S)-3-(4-(2-氨基-6-((R)-1-(4-氯-2-(3-甲基-1H-吡唑-1-基)苯基)-2,2,2-三氟乙氧基)嘧啶-4-基)苯基)-2-(叔丁氧羰基氨基)丙酸乙酯。

基氨基)丙酸的 2X 溶液,其直接用于下一化学步骤。溶液分析表明从 (S)-3-(4-(2-氨基-6-氯嘧啶-4-基)苯基)-2-(叔丁氧羰基氨基)丙酸的收率为约 75%,假定化合物的纯度是 100%。通过柱色谱获得分析纯 Boc-酸并进行表征:¹H NMR(DMSO-d₆,400MHz) δ 1.30(s,9H),2.34(s,3H),2.86(dd,1H),3.07(dd,1H),4.14(m,1H),6.45(d,1H),6.83(s,1H),7.29(dd,1H),7.33(d,2H),7.61(dd,1H),7.75(d,1H),7.99(d,2H),8.21(d,1H),12.5-12.8(br. s.,1H).¹³C NMR(DMSO-d₆) δ 13.99,13.89,22.05,27.78,28.08,28.32,31.21,36.22,54.83,67.41,67.73,78.03,91.15,107.69,124.99,125.18,126.59,128.12,129.30,130.23,132.69,134.65,135.08,140.73,140.89,150.41,155.39,162.76,166.17,168.22,173.40. C₃₀H₃₀ClF₃N₆O₅ 元素分析的计算值:C,55.69;小时,4.67;N,12.99. 实测值:C,55.65;小时,4.56;N,12.74.

[0076] 将上述的 2X 溶液用 EtOH(60mL,3X) 和 CH₃CN(100mL,5X) 在室温下稀释。在氮气下向该溶液(KF = 0.034%) 中加入 TBTU(97%纯,Fluka,19.7g,61mmol,1.2 当量) 和 N-甲基吗啉(6.17mL,56mmol,1.1 当量)。将得到的溶液在室温下搅拌 4 小时。HPLC 显示 Boc-酸定量转化为 Boc-酯 (S)-3-(4-(2-氨基-6-((R)-1-(4-氯-2-(3-甲基-1H-吡唑-1-基)苯基)-2,2,2-三氟乙氧基)嘧啶-4-基)苯基)-2-(叔丁氧羰基氨基)丙酸乙酯。将反应混合物减压浓缩得到约 2X(40°C 浴温,100 毫巴),并用 EtOAc(100mL,5X) 和水(100mL,5X) 稀释。将有机层用饱和 KHC03 水溶液(pH ~ 8.5)(2x100mL,5X) 和盐水(50mL,2.5X) 洗涤。然后将该红色的有机层用活性碳(Darco G-60,8g,0.4X) 在 50°C 处理 1.5 小时并过滤通过 1/4 英寸的 Celpure P65 层(USP-NF,药用级,Sigma),并将滤饼用 CH₃CN(100mL,5X) 洗涤。将得到的黄色的滤液浓缩成 2X 溶液。加入 CH₃CN(100mL,5X) 并将溶液浓缩成 2X 溶液。重复进行 CH₃CN 添加-浓缩顺序,以得到 Boc 酯的 2X 的 CH₃CN 溶液,其直接用于下一步。通过柱色谱法得到分析纯的 Boc-酯并进行表征:¹H NMR(DMSO-d₆,300MHz) δ 1.11(t, J = 7.06Hz,3H),1.31(s,9H),2.34(s,3H),2.85-3.08(m,2H),4.1-4.2(m,1H),6.45(d, J = 2.29Hz,1H),6.84(s,1H),7.25-7.41(m,3H),7.66(dd, J = 8.58,2.10Hz,1H)7.71(d, J = 2.1Hz,1H)7.80(d, J = 8.58Hz,1H)8.0(d, J = 8.39Hz,2H)8.21(d, J = 2.29Hz,1H).¹³C NMR(DMSO-d₆) δ 13.2,14.0,22.1,24.7,27.7,28.0,28.3,28.4,31.2,33.9,34.1,36.2,36.6,55.0,56.3,60.4,67.1,67.4,67.7,68.0,78.2,78.5,91.1,107.7,122.1,125.0,125.2,126.6,127.7,128.1,129.3,130.2,132.7,134.7,135.1,140.4,140.7,150.4,154.2,155.3,162.8,166.1,168.2,171.9. C₃₂H₃₄ClF₃N₆O₅ 元素分析的计算值:C,56.93;小时,5.08;N,12.45. 实测值:C,57.20;小时,4.86;N,12.21.

[0077] 将上述的 2X 溶液在室温下用另外的 CH₃CN(160mL,8X) 稀释。在室温下向该溶液(KF = 0.005%) 中加入甲磺酸(18.4mL,255mmol),并在 45°C 搅拌 1 小时,此时 HPLC 显示脱 Boc 反应完成。将反应混合物浓缩到 2X,冷却到 0-5°C,并用冰冷的水(100mL,5X) 稀释并将该含水溶液用冷的乙酸异丙酯(IPAc,100mL,5X 和 50mL,2.5X) 洗涤两次。然后用 20%的 Na₂CO₃ 水溶液在 5°C 在搅拌下将水层碱化到 pH = 6。向该混合物中加入 IPAc(100mL,5X),并进一步用 20%的 Na₂CO₃ 水溶液在室温下在充分搅拌碱化到 pH 8.5。分离有机层后,将水层用 IPAc(50mL,2.5X) 提取。将合并的混浊的有机层浓缩成 2X 溶液。加入 IPAc(100mL,5X),并将该混合物浓缩成 2X 溶液,其含有无机盐。将混合物过滤,将固体用 IPAc(100mL,5X) 洗涤,并将滤液浓缩成 2X 溶液。该澄清的 IPAc 溶液的 HPLC 分析显示 20.8g 的标题化

合物 (36mmol, HPLC 显示 > 99%, 71% 溶液收率)。

[0078] 通过柱色谱法获得分析纯的标题化合物并进行表征: $^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6 , 400MHz) δ 1.15 (t, $J = 7.07\text{Hz}$, 3H), 2.39 (s, 3H), 2.50 (m, 2H), 3.63 (t, $J = 6.82\text{Hz}$, 1H), 4.07 (q, $J = 7.07$, 14.5Hz, 2H), 6.50 (d, $J = 2.27\text{Hz}$, 2H), 6.87 (s, 1H), 7.33 (m, 3H), 7.65 (dd, $J = 8.59$, 2.27Hz, 1H), 7.71 (d, $J = 2.27\text{Hz}$, 1H), 7.81 (d, $J = 8.59\text{Hz}$, 1H) 8.01 (d, $J = 8.08\text{Hz}$, 2H), 8.26 (d, $J = 2.27\text{Hz}$, 1H). $^{13}\text{C NMR}$ (DMSO- d_6) δ 13.4, 13.9, 18.5, 21.0, 21.5, 25.4, 55.6, 56.0, 59.9, 66.9, 67.1, 67.4, 67.7, 68.0, 91.1, 107.7, 122.1, 124.9, 125.0, 125.2, 126.5, 127.7, 128.1, 129.4, 130.2, 132.7, 134.6, 135.1, 140.7, 140.9, 150.4, 162.8, 166.2, 168.2, 174.8. C₂₇H₂₆ClF₃N₆O₃ 元素分析的计算值: C, 56.40; H, 4.56; N, 14.62. 实测值: C, 56.51; H, 4.52; N, 14.51。

[0079] 6.9 制备 (S)-2-氨基-3-(4-(2-氨基-6-((R)-1-(4-氯-2-(3-甲基-1H-吡唑-1-基)苯基)-2,2,2-三氟乙氧基)嘧啶-4-基)苯基)丙酸乙酯马尿酸盐

[0080] 将 (S)-2-氨基-3-(4-(2-氨基-6-((R)-1-(4-氯-2-(3-甲基-1H-吡唑-1-基)苯基)-2,2,2-三氟乙氧基)嘧啶-4-基)苯基)丙酸乙酯的 2X IPAc 溶液在 60°C 加入到马尿酸 (6.49g, 36mol, 1.0 当量) 在 IPAc (208mL, 10X) 和 EtOH (42mL, 2X) 中的稀浆中。然后将澄清的黄色溶液冷却到 50°C, 此时加入晶种并在相同温度下搅拌 1 小时。然后将悬浮液缓慢地冷却到室温并在室温下搅拌 14 小时。过滤固体, 用冰冷的 IPAc 洗涤 (0-5°C, 42mL, 2X) 并在 50°C 真空干燥过夜, 得到白色固体 (19.0g, 69% 收率)。M. p.: 145°C (DSC 开始温度)。

[0081] 6.10 制备结晶 (S)-2-氨基-3-(4-(2-氨基-6-((R)-1-(4-氯-2-(3-甲基-1H-吡唑-1-基)苯基)-2,2,2-三氟乙氧基)嘧啶-4-基)苯基)丙酸乙酯游离碱

[0082] 将总共 35.79g 马尿酸盐悬浮在 350mL 甲基叔丁基醚中。将该搅拌的悬浮液的 pH 通过添加 125mL 的 10% w/v 的碳酸钠水溶液调节到 pH9.6。在 1.5 小时后, 脱去上层有机相并用 100mL 盐水洗涤。将有机层浓缩得到 28.47g 的浅橙黄色玻璃状的油状物, 其在静置过周末期间结晶。将固体打碎并与 400mL 庚烷在约 45°C 研磨。在冷却到周围环境温度后, 通过过滤分离悬浮的结晶, 用庚烷洗涤, 并在约 40°C 真空干燥, 得到 25.49g 的标题化合物, 为结晶的白色粉末。M. p.: 104°C (DSC 开始温度)。

[0083] 6.11 制备结晶 (S)-2-氨基-3-(4-(2-氨基-6-((R)-1-(4-氯-2-(3-甲基-1H-吡唑-1-基)苯基)-2,2,2-三氟乙氧基)嘧啶-4-基)苯基)丙酸乙酯琥珀酸盐

[0084] 将 (S)-2-氨基-3-(4-(2-氨基-6-((R)-1-(4-氯-2-(3-甲基-1H-吡唑-1-基)苯基)-2,2,2-三氟乙氧基)嘧啶-4-基)苯基)丙酸乙酯 (80.2mg) 悬浮在 0.2mL THF 中。向该溶液中加入琥珀酸在 THF 中的溶液 (16.4mg, 在 0.372mL 溶液中, 1eq.), 同时用磁性搅拌器搅拌。滴加庚烷 (1.8mL), 并将生成的悬浮液搅拌 1.5 小时。加入另外的庚烷 (1mL), 并将悬浮液在室温下搅拌过夜 (19.5 小时)。通过过滤离心分离白色固体 (15000rpm, 5 分钟, 0.22 μm PVDF 膜)。

[0085] 上文所提到的所有的参考文献 (例如, 专利和专利申请) 以它们的全文被并入本文作为参考。

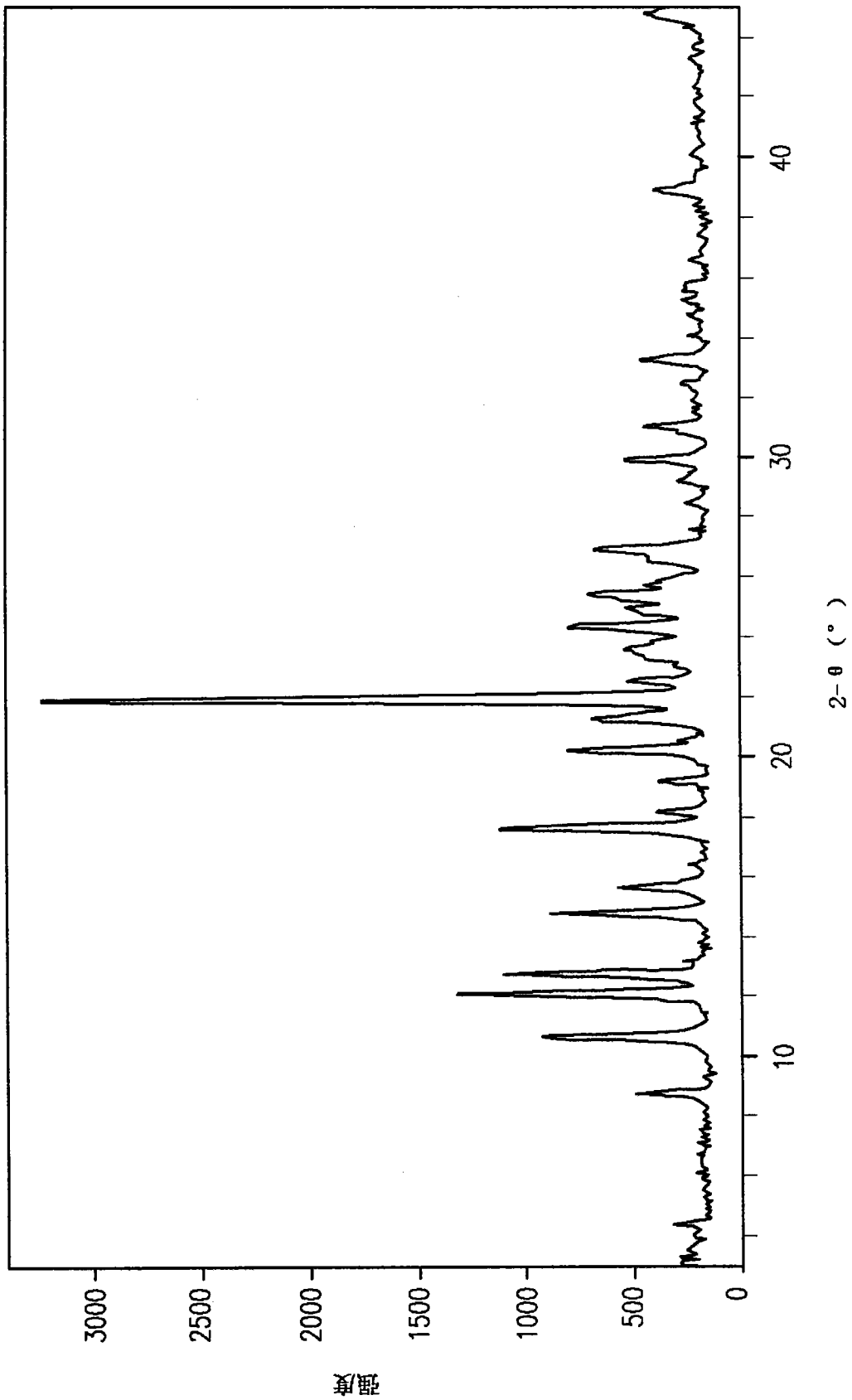


图 1

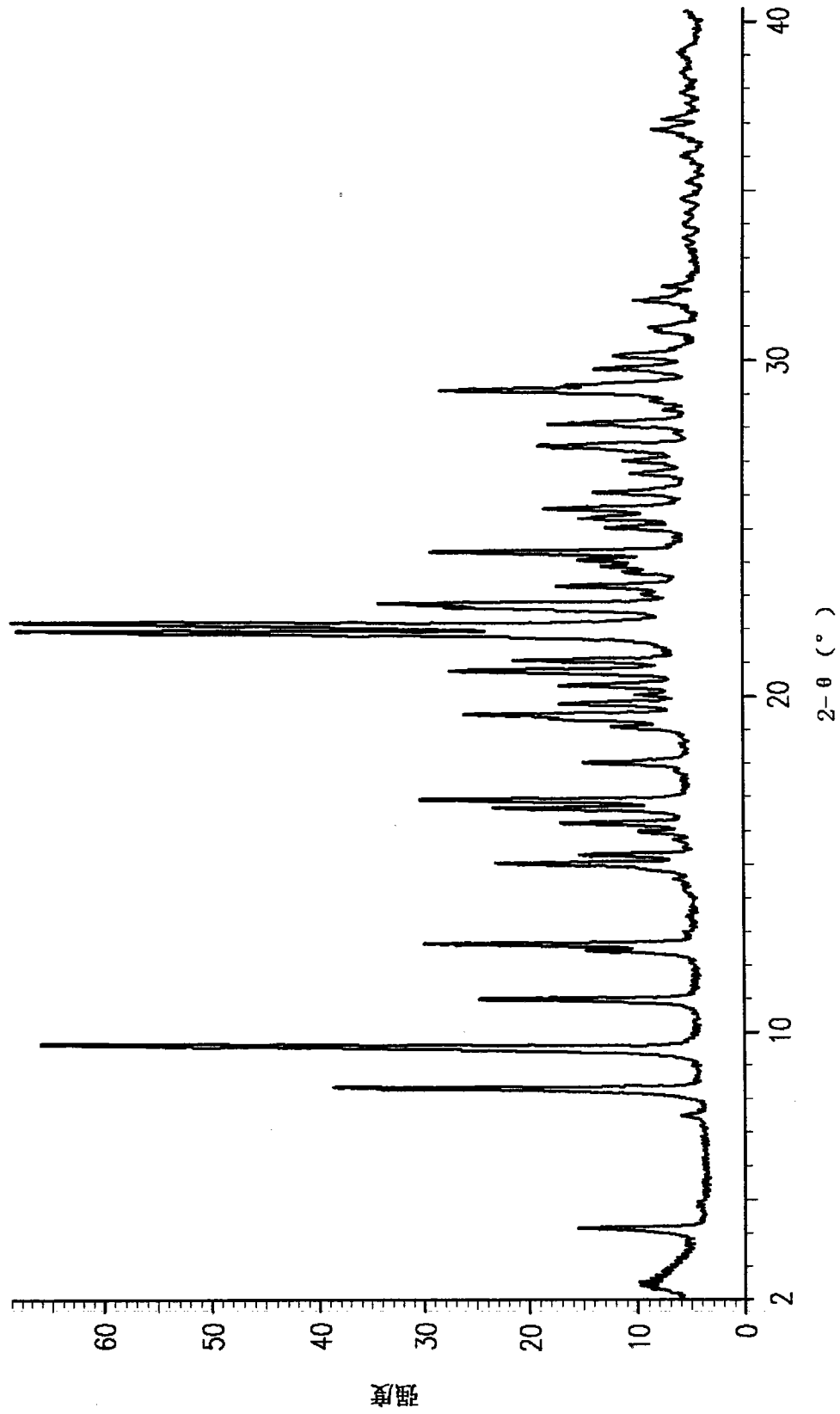


图 2

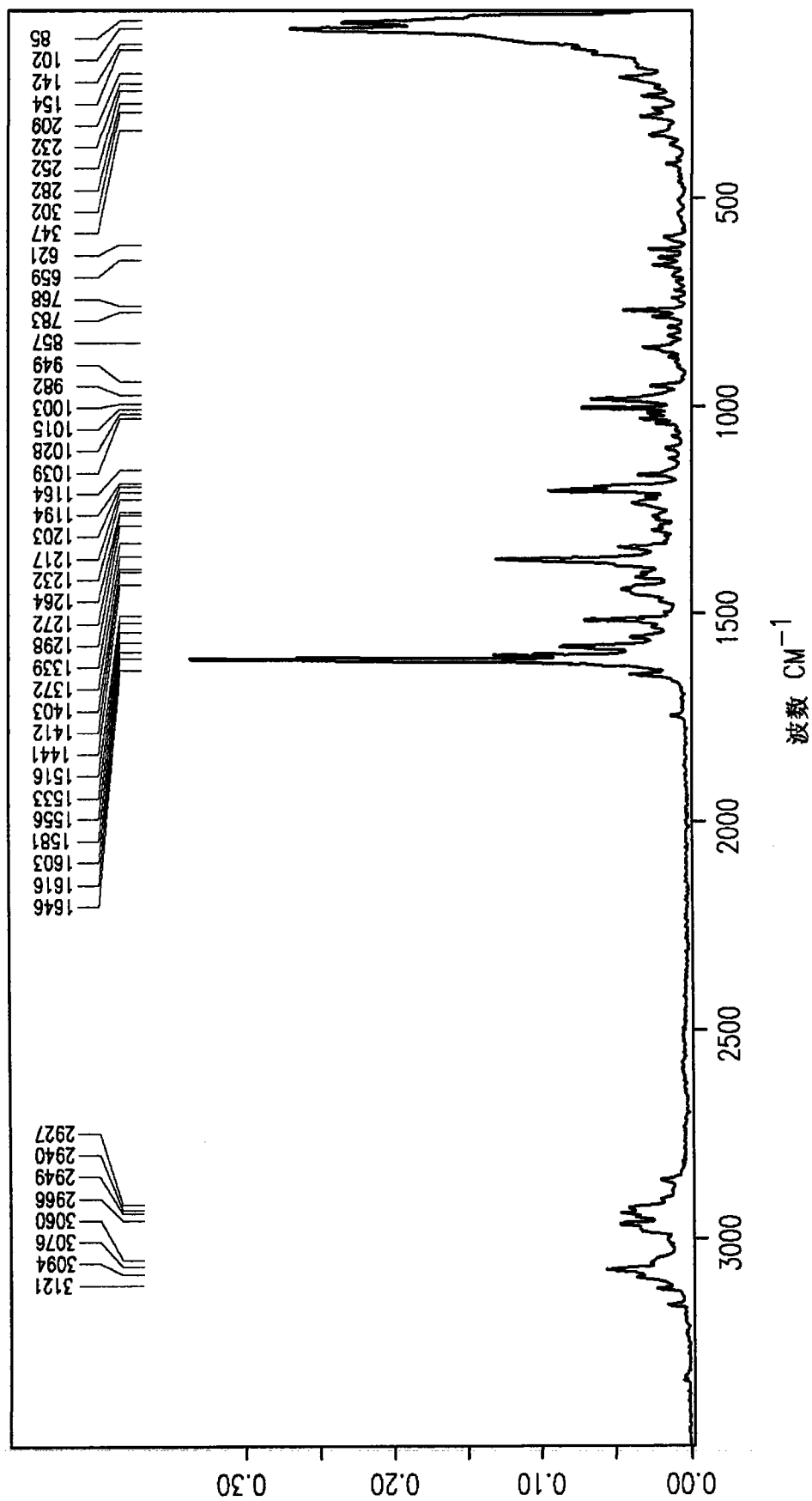


图 3

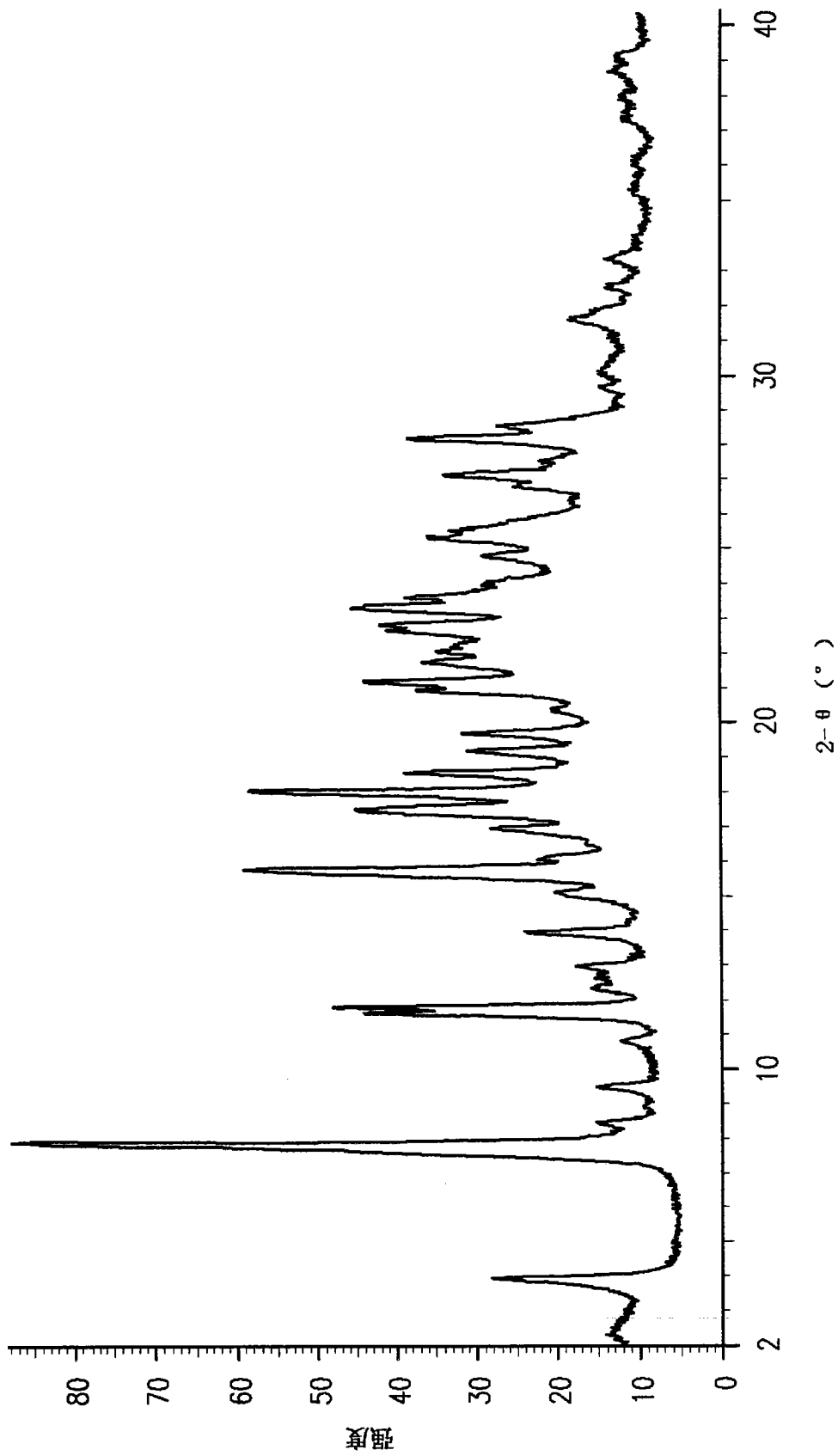


图 4