



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I522358 B

(45)公告日：中華民國 105 (2016) 年 02 月 21 日

(21)申請案號：099129616

(22)申請日：中華民國 99 (2010) 年 09 月 02 日

(51)Int. Cl. : C07D487/04 (2006.01)

A61K31/4985 (2006.01)

A61P3/10 (2006.01)

(71)申請人：江蘇恆瑞醫藥股份有限公司(中國大陸)JIANGSU HENGRUI MEDICINE CO., LTD.
(CN)

中國大陸

上海恆瑞醫藥有限公司(中國大陸)SHANGHAI HENGRUI PHARMACEUTICAL
CO., LTD. (CN)

中國大陸

(72)發明人：鄧炳初 TANG, PENG CHO (CN)；孫飄揚 SUN, PIAOYANG (CN)；楊方龍 YANG,
FANGLONG (CN)；梁金棟 LIANG, JINDONG (CN)；沈光遠 SHEN,
GUANGYUAN (CN)；王陽 WANG, YANG (CN)；範江 FAN, JIANG (CN)

(74)代理人：洪武雄；陳昭誠

(56)參考文獻：

http://www.tma.tw/magazine/ShowRepID.asp?rep_id=2354, 台灣醫界第 49 卷
第 9 期, 2006/09

審查人員：俞樹生

申請專利範圍項數：9 項 圖式數：0 共 44 頁

(54)名稱

四氫咪唑并〔1,5-a〕吡嗪衍生物的鹽，其製備方法及其在醫藥上的應用

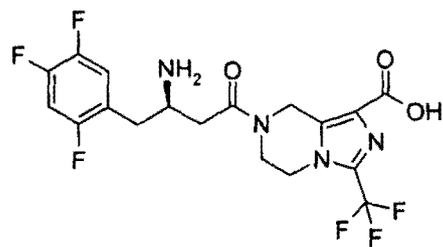
TETRAHYDRO-IMIDAZO[1,5-A]PYRAZINE DERIVATIVES SALTS, PREPARATION PROCESS
AND PHARMACEUTICAL USE THEREOF

(57)摘要

本發明涉及(R)-7-[3-胺基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁醯基]-3-三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-a]吡嗪-1-甲酸可藥用的鹽、其製備方法以及含有該可藥用鹽的醫藥組成物、以及其作為治療劑特別是作為二肽基肽酶 IV(DPPIV)抑制劑的用途。

The present invention relates to (R)-7-[3-Amino-4-(2,4,5-trifluoro-phenyl)-butyryl]-3-trifluoromethyl-5,6,7,8-tetrahydro-imidazo[1,5-a]pyrazine-1-carboxylic acid pharmaceutical salts, methods for their preparation, pharmaceutical compositions containing the same and their use as a therapeutic agent, especially as a dipeptidyl peptidase IV inhibitor.

特徵化學式：



(I)

公告本

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號：99129616

C07D 487/06 (2006.01)

※申請日：99.09.02

※IPC 分類：

A61K 31/4985 (2006.01)

A61P 3/10 (2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

四氫咪唑并[1,5-a]吡嗪衍生物的鹽，其製備方法及其在醫藥上的應用

TETRAHYDRO-IMIDAZO[1,5-A]PYRAZINE DERIVATIVES
SALTS, PREPARATION PROCESS AND PHARMACEUTICAL USE
THEREOF

二、中文發明摘要：

本發明涉及(R)-7-[3-胺基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁醯基]-3-三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-a]吡嗪-1-甲酸可藥用的鹽、其製備方法以及含有該可藥用鹽的醫藥組成物、以及其作為治療劑特別是作為二肽基肽酶 IV (DPPIV) 抑制劑的用途。

三、英文發明摘要：

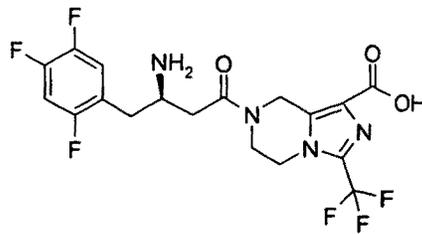
The present invention relates to (R)-7-[3-Amino-4-(2,4,5-trifluoro-phenyl)-butyryl]-3-trifluoromethyl-5,6,7,8-tetrahydro-imidazo[1,5-a]pyrazine-1-carboxylic acid pharmaceutical salts, methods for their preparation, pharmaceutical compositions containing the same and their use as a therapeutic agent, especially as a dipeptidyl peptidase IV inhibitor.

四、指定代表圖：本案無圖式

(一)本案指定代表圖為：第()圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：



(I)

六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明涉及(R)-7-[3-胺基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁醯基]-3-三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-a]吡啶-1-甲酸可藥用的鹽的形式、其製備方法、包含該可藥用的鹽的醫藥組成物以及其作為治療劑特別是作為二肽基肽酶IV(DPP IV)抑制劑的用途。

【先前技術】

糖尿病是一種非常古老的代謝疾病，表現為慢性高血糖，是由於人體內胰島素絕對或相對缺乏而引起的血中葡萄糖濃度升高，進而糖大量從尿中排出，從而引起糖、脂肪和蛋白質的代謝紊亂，生理上表現多飲、多尿、多食、消瘦、頭暈、乏力等症狀。

永久性的或不受控制的高血糖症導致發病率與死亡率的增加。通常血糖恆定(glucose homeostasis)的異常直接或間接地與脂質、脂蛋白質、脂蛋白元新陳代謝的變更或其他的代謝和血液動力學疾病有關。II型糖尿病患者患有大多孔脂質體及微血管綜合症，如冠狀心臟病、中風、周邊血管性疾病、高血壓、腎病、神經病和視網膜病等疾病的發病率顯著增加。因此，對血糖恆定、脂類代謝、高血壓等疾病進行治療控制，對於臨床上治療糖尿病是極其重要的。

通常來說，有兩種類型的糖尿病。I型糖尿病人，即胰島素依賴型糖尿病(IDDM)，患者自身產生的胰島素很少

或幾乎沒有。胰島素是體內用來調節葡萄糖利用的一種荷爾蒙。II型糖尿病人，即胰島素非依賴型糖尿病(NIDDM)，患者與非糖尿病患者的血漿內胰島素濃度是相似的或者更高，然而，此類患者卻對胰島素產生抵抗力，這些胰島素對於主要的胰島素敏感的組織細胞，如肌肉、肝臟、25個脂肪組織等的葡萄糖和脂類代謝起著刺激作用。即使血漿胰島素濃度提高，也無法克服患者對於胰島素顯著的抵抗性。

胰島素抵抗性主要是因為胰島素受體數量的減少而產生的，或因胰島素受體功能缺陷造成，到目前為止此機制還未能理解。胰島素應答的抵抗性導致胰島素無法在肌肉組織中對葡萄糖攝取、氧化、存儲進行啟動，同時無法有效抑制脂肪組織脂解作用，以及調節肝臟中葡萄糖的產生和分泌。

二肽基肽酶-IV(DPP IV)是一種絲胺酸蛋白酶，它可以在次末端含有一個脯胺酸殘基的肽鏈中裂解N-末端二肽，儘管DPP IV在哺乳動物體內的生理作用還沒有得到完全的證實，但其在神經酶代謝、T-細胞啟動、癌細胞對內皮組織的粘附浸潤及HIV病毒進入淋巴樣細胞的過程都起到重要的作用(W098/19998)。

最近，有研究顯示DPP IV可以阻止類胰升糖素肽(GLP)-1的分泌，具體而言，它可以裂解GLP-1中N-末端的組胺酸-丙胺酸二肽，使其從活性形式的GLP-1(7-36)NH₂降解為無活性的GLP-1(9-36)NH₂(Endocrinology, 1999,

140:5356~5363)。由於生理情況下，循環血中完整 GLP-1 的半衰期很短，DPP IV 降解 GLP-1 後的無活性代謝物能與 GLP-1 受體結合拮抗活性 GLP-1 從而縮短了對 GLP-1 的生理反應。而 DPP IV 抑制劑能完全保護內源性甚至外源性的 GLP-1 不因 DPP IV 失去活性，從而極大地提高 GLP-1 的生理活性(5 至 10 倍)，由於 GLP-1 對胰腺胰島素的分泌是一個重要的刺激物並能直接影響葡萄糖的利用，因此 DPP IV 抑制劑是治療非胰島素依賴型糖尿病(NIDDM)的理想方法(US6110949)。

然而，儘管已有若干 DPP IV 抑制劑被公開，但是目前還未有長效的藥物，仍然需要性質得到改善的 DPP IV 抑制劑。

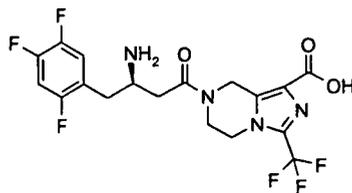
本發明的目的是提供一種具有抑制 DPP IV 活性並且可用於糖尿病或類似疾病的治療或緩解性藥物的化合物。

本申請案的申請人於 2008 年 11 月 27 日提交的申請案 PCT/CN2008/001936 描述了一類新型的四氫咪唑并 [1,5-a]吡啶類衍生物，以及其作為 DPP IV 抑制劑的應用，其中公開的實施例 10 為 (*R*)-7-[3-胺基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁醯基]-3-三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并 [1,5-a]吡啶-1-甲酸鹽酸鹽形式，試驗證明其對於 DPP IV 的抑制作用明顯，因此將其公開內容整個作為本發明的參考文獻。

本發明的另一目的是提供式(I)化合物的可藥用的鹽形式和組成物形式，從而改善其溶解度、生物利用度、降糖活性和藥物動力學性質。

【發明內容】

本發明所要解決的技術問題是提供新穎的(*R*)-7-[3-氨基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁醯基]-3-三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-a]吡啶-1-甲酸可藥用的鹽(pharmaceutical salt)、其製備方法、包含該可藥用的鹽的醫藥組成物以及其作為治療劑特別是作為二肽基肽酶IV抑制劑的用途。該成鹽形式具有優異的治療糖尿病的特性，溶解度明顯改善，且在動物體內的活性及其生物利用度良好，毒性低，適用於製備治療糖尿病的製劑。



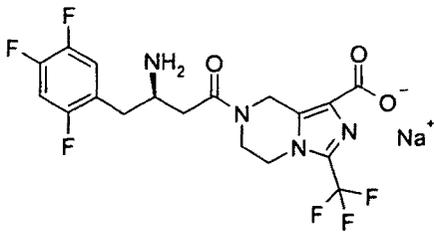
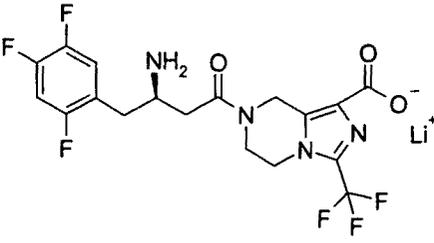
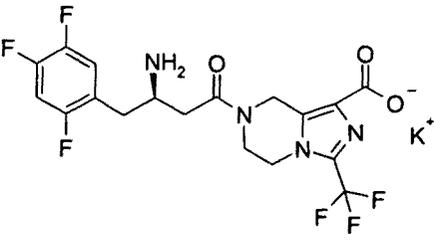
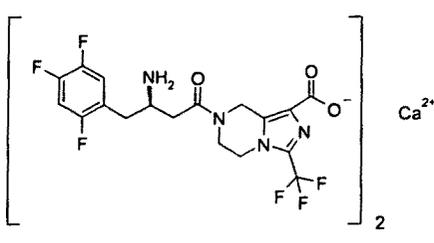
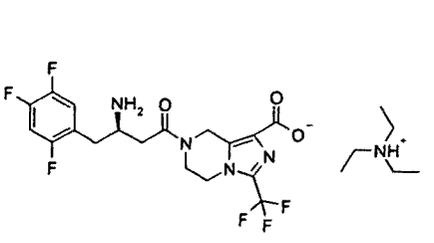
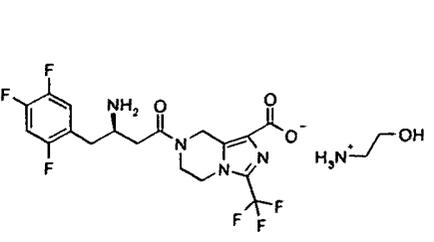
(I)

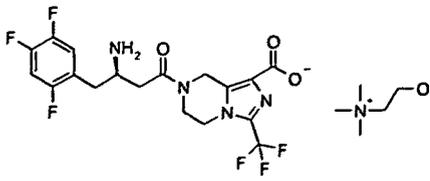
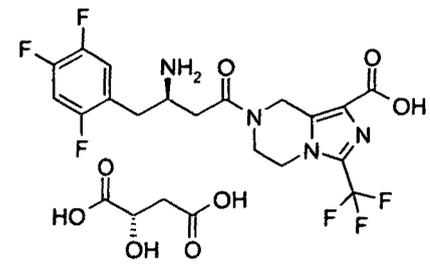
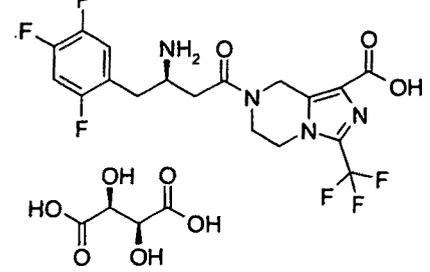
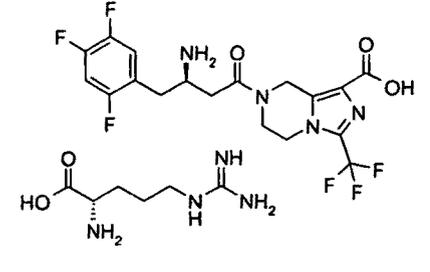
本發明提供了一種式(I)化合物的可藥用的鹽。本發明中，所述的“可藥用的鹽”是指在藥學上無毒的酸加成鹽和鹼加成鹽。所述的酸加成鹽為所述的式(I)化合物與合適的無機酸或者有機酸形成的鹽，包括鹽酸鹽、磷酸鹽、磷酸氫鹽、硫酸鹽、硫酸氫鹽、亞硫酸鹽、乙酸鹽、草酸鹽、丙二酸鹽、戊酸鹽、麩胺酸鹽、油酸鹽、棕櫚酸鹽、硬脂酸鹽、月桂酸鹽、硼酸鹽、對甲苯磺酸鹽、甲磺酸鹽、蘋果酸鹽、酒石酸鹽、苯甲酸鹽、雙羥萘酸鹽、水楊酸鹽、香草酸鹽、扁桃酸鹽、琥珀酸鹽、葡萄糖酸鹽、乳糖酸鹽和月桂基磺酸鹽等，特別是磷酸鹽。所述的鹼加成鹽為式(I)化合物與合適的無機鹼或者有機鹼形成的鹽，包括如與

鹼金屬、胺類或四級銨類化合物形成的鹽，如鈉鹽、鋰鹽、鉀鹽、鈣鹽、鎂鹽、胺鹽、四甲基四級銨鹽、四乙基四級銨鹽、膽鹼鹽，特別是膽鹼鹽。胺鹽，包括與胺(NH₃)、一級胺、二級胺或三級胺形成的鹽，如甲胺鹽、二甲胺鹽、三甲胺鹽、三乙胺鹽、乙胺鹽、乙醇胺鹽、離胺酸鹽和精胺酸鹽，特別是乙醇胺鹽。

本發明式(I)化合物的典型的可藥用的鹽包括，但不限於：

實施例 編號	結構	名稱
1		(R)-7-[3-胺基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁醯基]-3-三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-a]吡啶-1-甲酸鹽 酸鹽
2		(R)-7-[3-胺基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁醯基]-3-三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-a]吡啶-1-甲酸磷酸鹽
3		(R)-7-[3-胺基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁醯基]-3-三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-a]吡啶-1-甲酸

4		<p>(<i>R</i>)-7-[3-氨基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁醯基]-3-三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-a]吡啶-1-甲酸鈉</p>
5		<p>(<i>R</i>)-7-[3-氨基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁醯基]-3-三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-a]吡啶-1-甲酸鋰</p>
6		<p>(<i>R</i>)-7-[3-氨基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁醯基]-3-三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-a]吡啶-1-甲酸鉀</p>
7		<p>(<i>R</i>)-7-[3-氨基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁醯基]-3-三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-a]吡啶-1-甲酸鈣</p>
8		<p>(<i>R</i>)-7-[3-氨基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁醯基]-3-三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-a]吡啶-1-甲酸三乙胺鹽</p>
9		<p>(<i>R</i>)-7-[3-氨基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁醯基]-3-三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-a]吡啶-1-甲酸乙醇胺鹽</p>

10		(R)-7-[3-胺基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁醯基]-3-三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-a]吡啶-1-甲酸膽鹼鹽
11		(R)-7-[3-胺基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁醯基]-3-三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-a]吡啶-1-甲酸蘋果酸鹽
12		(R)-7-[3-胺基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁醯基]-3-三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-a]吡啶-1-甲酸酒石酸鹽
13		(R)-7-[3-胺基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁醯基]-3-三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-a]吡啶-1-甲酸精胺酸鹽

通常上述製備過程可以在冷卻、常溫或者加熱條件下進行，值得注意的是反應溫度的選擇對不同的成鹽反應有一定的影響，這也是本領域技術人員技術所熟知的，本發明成鹽反應溫度為常溫至所用溶劑的沸點，較佳為：0至40℃；本領域技術人員藉由本領域常規的技術手段就能容易地確定具體成鹽反應的最佳反應溫度。

本發明涉及式(I)化合物可藥用的鹽的製備方法，該

方法包括酸加成鹽製法和鹼加成鹽製法。其中酸加成鹽製法包括將(*R*)-7-[3-胺基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁醯基]-3-三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-a]吡啶-1-甲酸鹽與鹼性溶液反應，接著再將得到的(*R*)-7-[3-胺基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁醯基]-3-三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-a]吡啶-1-甲酸與無機酸或有機酸進行反應，其中所述的無機酸或有機酸選自鹽酸、磷酸、硫酸、亞硫酸、乙酸、草酸、丙二酸、戊酸、麩胺酸、油酸、棕櫚酸、硬脂酸、月桂酸、硼酸、對甲苯磺酸、甲磺酸、蘋果酸、酒石酸、苯甲酸、雙羥萘酸、水楊酸、香草酸、扁桃酸、琥珀酸、葡萄糖酸、乳糖酸或月桂基磺酸。鹼加成鹽製法包括將(*R*)-7-[3-胺基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁醯基]-3-三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-a]吡啶-1-甲酸與鹼金屬氫氧化物、經取代之胺類或四級銨類化合物進行反應，其中所述的鹼金屬氫氧化物選自氫氧化鈉、氫氧化鋰、氫氧化鉀、氫氧化鈣、氫氧化鎂，所述的胺類或四級銨類化合物選自四甲基四級銨、四乙基四級銨、乙醇胺、膽鹼、離胺酸、精胺酸、甲胺、二甲胺、三甲胺、三乙胺或乙胺。

本發明涉及式(I)化合物可藥用的鹽在製備治療 II 型糖尿病、高血糖症、肥胖症或胰島素抵抗症的藥物的用途。

本發明涉及式(I)化合物可藥用的鹽在製備 DPP IV 抑制劑的用途。

本發明涉及一種治療 II 型糖尿病、高血糖症、肥胖

症或胰島素抵抗症的方法，該方法包括給予需要治療的患者治療有效量的式(I)化合物可藥用的鹽。

本發明涉及一種抑制二肽基肽酶 IV 催化活性的方法，該方法包括將該二肽基肽酶 IV 與式(I)化合物可藥用的鹽相接觸。

本發明涉及以式(I)化合物可藥用的鹽作為治療 II 型糖尿病、高血糖症、肥胖症或胰島素抵抗症的藥物。

本發明涉及以式(I)化合物可藥用的鹽作為抑制二肽基肽酶 IV 的藥物。

本發明涉及一種醫藥組成物，其含有治療有效量的式(I)化合物可藥用的鹽，及藥學上可以接受的載劑，且本發明還涉及該醫藥組成物在製備治療 II 型糖尿病、高血糖症、肥胖症或胰島素抵抗症的藥物的用途。

本發明涉及一種治療 II 型糖尿病、高血糖症、肥胖症或胰島素抵抗症的方法，該方法包括給予需要治療的患者含有治療有效量的式(I)化合物可藥用的鹽的醫藥組成物。

本發明涉及以含有治療有效量的式(I)化合物可藥用的鹽的醫藥組成物作為治療 II 型糖尿病、高血糖症、肥胖症或胰島素抵抗症的藥物。

【實施方式】

除非有相反陳述，下列用在說明書和申請專利範圍中的術語具有下述含義。

“醫藥組成物”表示一種或多種本文所述化合物可

藥用的鹽或前體藥物與其他化學組分的混合物，其他組分為例如生理學/可藥用的載劑。醫藥組成物的目的是促進化合物對生物體的給藥。

[本發明化合物的合成方法]

為了完成本發明的目的，本發明採用如下技術方案：

式(I)化合物的合成方法按照本申請案的申請人於2008年11月27日提交的申請案PCT/CN2008/001936實施例10所述的方法製備，因此將該公開內容作為參考文獻。

(*R*)-7-[3-胺基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁醯基]-3-三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-a]吡啶-1-甲酸酸加成鹽和鹼加成鹽採用如下方法：

酸加成鹽的方法包括：

將(*R*)-7-[3-胺基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁醯基]-3-三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-a]吡啶-1-甲酸鹽酸鹽與鹼性溶液反應，接著再將得到的(*R*)-7-[3-胺基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁醯基]-3-三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-a]吡啶-1-甲酸與無機酸或有機酸進行反應。

鹼加成鹽的方法包括：

將(*R*)-7-[3-胺基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁醯基]-3-三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-a]吡啶-1-甲酸在與水混溶的有機溶劑中與鹼金屬氫氧化物、胺類或四級銨鹽類等無機鹼或有機鹼進行反應。

具體實施方式

以下實施例用於進一步描述本發明，但這些實施例並非限制著本發明的範圍和精神實質。

實施例

化合物的結構是藉由核磁共振(^1H NMR)或質譜(MS)來確定的。 ^1H NMR 位移(δ)以百萬分之一(ppm)的單位出示。 ^1H NMR 的測定是用 Bruker AVANCE-400 核磁儀，測定溶劑為氘代甲醇(CD_3OD)，化學位移是以 10^{-6} (ppm)作為單位出示；

MS 的測定用 FINNIGAN LCQAd (ESI)質譜儀(生產商：Thermo, 型號：Finnigan LCQ advantage MAX)；

薄層層析矽膠板使用煙臺黃海 HSGF254 或青島 GF254 矽膠板，TLC 採用的規格是 0.15mm 至 0.2 mm，薄層層析分離純化產品採用的規格是 0.4 mm 至 0.5 mm。

管柱層析一般使用煙臺黃海矽膠 200 至 300 網目矽膠為載體。

本發明的起始原料是已知的，並且可以在市場上購買到，購買自 ABCR GmbH & Co. KG, Acros Organics, Aldrich Chemical Company, 韶遠化學科技(Accela ChemBio Inc)、達瑞化學品等公司，或者可以採用或者按照本領域已知的方法來合成。

實施例中無特殊說明，反應均在氮氣氛圍下進行；

氮氣氛圍是指反應瓶連接一個約 1 L 容積的氮氣氣球；

氮氣氛圍是指反應瓶連接一個約 1 L 容積的氮氣氣

球。

實施例中無特殊說明，溶液是指水溶液。

實施例中無特殊說明，反應的溫度為室溫。

室溫為最適宜的反應溫度，為 20°C 至 30°C。

實施例中的反應進程的監測採用薄層層析法(TLC)，反應所使用的展開劑的體系有：二氯甲烷和甲醇體系，正己烷和乙酸乙酯體系，石油醚和乙酸乙酯體系，丙酮，溶劑的體積比根據化合物的極性不同而進行調節。

管柱層析的洗提液(eluent)的體系包括：A：二氯甲烷和甲醇體系，B：正己烷和乙酸乙酯體系，溶劑的體積比根據化合物的極性不同而進行調節，也可以加入少量的胺水和醋酸等進行調節。

HPLC 是指高效液相層析；

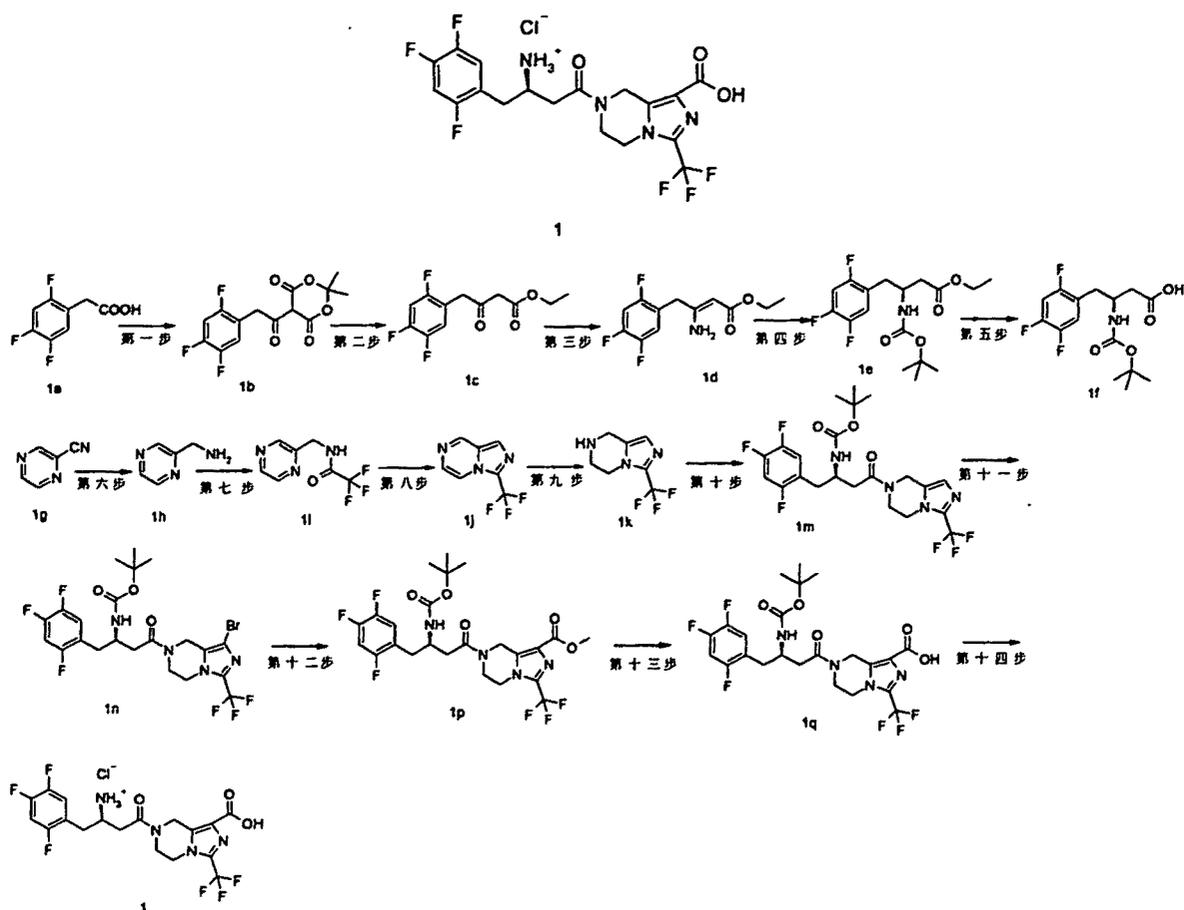
HPLC 的測定使用安捷倫 2695-2996 高壓液相層析儀 (Gimini C18 150×4.6mm 層析柱)；

HPLC 測試條件：運行時間：30 min 柱溫：30°C PDA：230 nm

流動相： 甲醇：水(0.1%胺水)=25：75 流速：1.0 mL/分

實施例 1

(R)-7-[3-胺基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁醯基]-3-三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-a]吡啶-1-甲酸鹽酸鹽



第一步

2,2-二甲基-5-[2-(2,4,5-三氟苯基)-乙醯基]-[1,3]二噁烷-4,6-二酮

將 2,2-二甲基-[1,3]二噁烷-4,6-二酮(5.69 g, 39.5 mmol)溶解於 400 mL 二氯甲烷中，冰浴下，加入 2,4,5-三氟苯乙酸 1a (7.15 g, 37.6 mmol)和對二甲胺基吡啶(7.35 g, 60.2 mmol)，滴加 250 mL 1-(3-二甲基氨基-丙基)-3-乙基-碳二亞胺鹽酸鹽(8.28 g, 43.2 mmol)的二氯甲烷懸浮液，攪拌反應 36 小時。反應液依次用 5% 硫酸氫鉀溶液 (250 mL×7)、飽和食鹽水洗滌(250 mL×2)，用無水硫酸鎂乾燥，過濾，濾液減壓濃縮，得到 2,2-二甲基-5-[2-(2,4,5-三氟苯基)-乙醯基]-[1,3]二噁烷-4,6-二

酮 1b (11.4 g, 白色固體), 收率: 96%。

MS m/z (ESI): 315.5 [M-1]

第二步

3-氧代-4-(2, 4, 5-三氟苯基)-丁酸乙酯

將 2, 2-二甲基-5-[2-(2, 4, 5-三氟苯基)-乙醯基]-[1, 3]二噁烷-4, 6-二酮 1b(15.72 g, 49.6 mmol)溶解於 280 mL 乙醇中, 70°C 下, 攪拌反應 12 小時。冷卻至室溫, 減壓濃縮, 用矽膠管柱層析法以洗提液體系 B 純化所得殘餘物, 得到 3-氧代-4-(2, 4, 5-三氟苯基)-丁酸乙酯 1c (12 g, 黃色液體), 收率: 88%。

MS m/z (ESI): 259 [M-1]

第三步

3-胺基-4-(2, 4, 5-三氟苯基)-丁-2-烯酸乙酯

將 3-氧代-4-(2, 4, 5-三氟苯基)-丁酸乙酯 1c(24.6 g, 94.5 mmol)溶解於 240 mL 甲醇中, 加入醋酸銨(36.4 g, 473 mmol), 回流反應 3 小時。反應液減壓濃縮, 加入 100 mL 水, 用乙酸乙酯(200 mL×3)萃取, 合併有機相, 用飽和食鹽水洗滌(200 mL), 用無水硫酸鎂乾燥, 過濾, 濾液減壓濃縮。得到的淡黃色固體中加入 50 mL 乙酸乙酯, 在 80 °C 下溶解, 加入 50 mL 正己烷, 晶種, 冷卻至室溫, 0.5 小時後, 加入 100 mL 正己烷, 在冰箱中靜置 12 小時, 過濾, 得到 3-胺基-4-(2, 4, 5-三氟苯基)-丁-2-烯酸乙酯 1d (19.5 g, 白色固體), 收率: 80%。

MS m/z (ESI): 260.1 [M+1]

第四步

(*R*)-3-第三丁氧羰基氨基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁酸乙酯

將 3-氧代-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁酸乙酯 1d(4.1 g, 15.8 mmol) 加入高壓釜中，加入 70 mL 甲醇、二碳酸二第三丁酯(3.8 g, 17.4 mmol)、氯(1,5-環辛二烯)銻(I)二聚體(32 mg, 0.063 mmol)和(*R*)-1-[(*S*)-2-(二苯基膦基)二茂鐵基]-乙基-第三丁基膦(68 mg, 0.13 mmol)。在 30°C 下，6.67 個大氣壓的氫氣中反應 24 小時。過濾，濾液減壓濃縮，在 50°C 下加入 34 mL 甲醇，完全溶解後加入 12 mL 水，冷卻至室溫後，在冰箱中靜置 12 小時，過濾，用甲醇和水(V/V=1:1)混合溶劑洗滌固體產品，真空乾燥，得到(*R*)-3-第三丁氧羰基氨基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁酸乙酯 1e(4 g, 淡黃色固體)，收率：70%。

MS m/z (ESI): 362.4 [M+1]

第五步

(*R*)-3-第三丁氧羰基氨基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁酸

採用公知的方法 *Tetrahedron Asymmetry*, 2006, 17(2), 205-209，將(*R*)-3-第三丁氧羰基氨基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁酸乙酯 1e(10 g, 27.7 mmol)和氫氧化鈉(3.32 g, 83.1 mmol)溶解於 150 mL 甲醇和水(V/V=1:1)混合溶劑中。在 40 至 45°C 下，攪拌反應 1 至 1.5 小時，減壓濃縮除去部分溶劑。加入少量水，在冰浴下，滴加 1M 鹽酸至反應液 pH 為 2 至 3，用乙酸乙酯(200 mL×3)萃取，合併有機相，用飽和食鹽水洗滌(200 mL)，用無水硫酸鈉

乾燥，過濾，濾液減壓濃縮，用乙酸乙酯/正己烷再結晶，得到(*R*)-3-第三丁氧羰基胺基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁酸 1f(9.2 g，白色固體)，直接用於下一步反應。

MS m/z (ESI): 332.3 [M-1]

第六步

C-吡啶-2-基-甲胺

將 2-氟基吡啶 1g(10.5 g，100 mmol)溶解於 150 mL 1,4-二噁烷中，加入 1.0 g 蘭尼鎳於 250 mL 高壓反應釜中，在 60°C 下，40 個大氣壓的氫氣中攪拌反應 8 小時。過濾，濾液減壓濃縮，得到 C-吡啶-2-基-甲胺 1h(10.7 g，棕色油狀物)，收率：98%。

MS m/z (ESI): 110 [M+1]

第七步

2,2,2-三氟-N-吡啶-2-甲基-甲醯胺

將 C-吡啶-2-基-甲胺 1h(10.9 g，100 mmol)加入到反應瓶中，冰浴下，在 1 小時內滴加 20 mL 三氟乙酸酐，室溫下攪拌反應 2 小時，反應液減壓濃縮，用矽膠管柱層析法以洗提液體系 A 純化所得殘餘物，得到標題產物 2,2,2-三氟-N-吡啶-2-甲基-甲醯胺 1i(21.0 g，棕色油狀物)。

MS m/z (ESI): 206.1 [M+1]

第八步

3-三氟甲基-咪唑并[1,5-a]吡啶

將 2,2,2-三氟-N-吡啶-2-甲基-甲醯胺 1i(21.0 g，

100 mmol)加入反應瓶中，加入 100 mL 三氯氧磷，攪拌 30 分鐘後，加入五氧化二磷(17.8 g, 125 mmol)。回流反應 5 小時，減壓濃縮。用去離子水淬滅反應，在冰浴下，滴加 20% 氫氧化鈉溶液至反應液 pH 為 5 至 6，用乙酸乙酯 (250 mL×4) 萃取，合併有機相，用無水硫酸鎂乾燥，過濾，濾液減壓濃縮，用矽膠管柱層析法以洗提液體系 A 純化所得殘餘物，得到標題產物 3-三氟甲基-咪唑并[1,5-a]吡啶 1j(12.0 g, 黃色固體)，收率：65%。

MS m/z (ESI): 188.0 [M+1]

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , ppm): δ 9.15 (s, 1H), 8.06 (d, 1H), 7.92 (s, 1H), 7.81 (d, 1H)

第九步

3-三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-a]吡啶

將 3-三氟甲基-咪唑并[1,5-a]吡啶 1j(12.0 g, 64.2 mmol)溶解於 150 mL 無水乙醇中，加入 500 mg 10% 鈀/碳。氫氣氛圍下，攪拌反應 12 小時。用粗矽膠過濾反應液，濾液減壓濃縮，得到標題產物 3-三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-a]吡啶 1k(12.2 g, 棕色固體)，收率：99%。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , ppm): δ 6.84 (s, 1H), 4.10 (m, 4H), 3.26 (m, 2H), 1.81 (s, 1H)

第十步

(*R*)-[3-氧代-1-(2,4,5-三氟苄基)-3-(3-三氟甲基-5,6-二氫-8H-咪唑并[1,5-a]吡啶-7-基)-丙基]-胺基甲酸第三丁酯

將(*R*)-3-第三丁氧羰基氨基-4-(2,4,5-三氟苄基)-丁酸 1f(8.6 g, 45 mmol)和 9.4 mL 三乙胺溶解於 300 mL 二氯甲烷中，攪拌 5 分鐘後，依次加入 3-三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-a]吡啶 1k(15.0 g, 45 mmol)和雙(2-氧代-3-噁唑烷基)次膦醯氯(17.1 g, 67.3 mmol)。攪拌反應 2 小時，反應液減壓濃縮，用矽膠管柱層析法以洗提液體系 B 純化所得殘餘物，得到(*R*)-[3-氧代-1-(2,4,5-三氟苄基)-3-(3-三氟甲基-5,6-二氫-8H-咪唑并[1,5-a]吡啶-7-基)-丙基]-氨基甲酸第三丁酯 1m(20.0 g, 白色固體)，收率：88%。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CD_3OD , ppm): δ 7.25 (m, 1H), 7.11 (m, 1H), 7.032 (s, 1H), 4.93 (m, 2H), 4.35 (m, 3H), 4.05 (m, 2H), 2.99 (m, 2H), 2.73 (m, 2H), 1.34 (s, 9H)

第十一步

(*R*)-[3-氧代-1-(2,4,5-三氟苄基)-3-(1-溴-3-三氟甲基-5,6-二氫-8H-咪唑并[1,5-a]吡啶-7-基)-丙基]-氨基甲酸第三丁酯

將(*R*)-[3-氧代-1-(2,4,5-三氟苄基)-3-(3-三氟甲基-5,6-二氫-8H-咪唑并[1,5-a]吡啶-7-基)-丙基]-氨基甲酸第三丁酯 1m(20.0 g, 39.6 mmol)溶解於 300 mL 無水乙醇中，加入 *N*-溴化琥珀醯亞胺(14.1 g, 79.2 mmol)，攪拌 1 小時後，加入碳酸鉀(10.9 g, 79.2 mmol)和二碳酸二第三丁酯(8.6 g, 39.6 mmol)，繼續攪拌反應 1 小時。用粗矽膠過濾反應液，濾液減壓濃縮，用矽膠管柱層析法

以洗提液體系 B 純化所得殘餘物，得到 (*R*)-[3-氧代-1-(2,4,5-三氟苄基)-3-(1-溴-3-三氟甲基-5,6-二氫-8H-咪唑并[1,5-a]吡啉-7-基)-丙基]-胺基甲酸第三丁酯 1n (20.0 g, 白色固體)，收率：86%。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, ppm): δ 7.06 (m, 1H), 6.88 (m, 1H), 4.72 (s, 1H), 4.56 (s, 1H), 4.13 (m, 3H), 3.88 (m, 2H), 2.94 (m, 2H), 2.62 (m, 2H), 1.36 (s, 9H)

第十二步

(*R*)-7-[3-第三丁氧羰基胺基-4-(2,4,5-三氟苄基)-丁醯]-3-三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-a]吡啉-1-甲酸甲酯

採用公知的方法 *Journal of Organometallic Chemistry*, 1985, 285(1-3), 293-303，將八羰基二鈷 (4.02 g, 11.76 mmol)、氯乙酸乙酯 (0.71 g, 5.88 mmol)、碳酸鉀 (1.62 g, 11.76 mmol) 以及 50 mL 甲醇加入反應瓶中，攪拌 5 分鐘後，加入 (*R*)-[3-氧代-1-(2,4,5-三氟苄基)-3-(1-溴-3-三氟甲基-5,6-二氫-8H-咪唑并[1,5-a]吡啉-7-基)-丙基]-胺基甲酸第三丁酯 1n (2.3 g, 3.92 mmol)。60°C 下，攪拌反應 2 小時，反應液減壓濃縮，用矽膠管柱層析法以洗提液體系 B 純化所得殘餘物，得到 (*R*)-7-[3-第三丁氧羰基胺基-4-(2,4,5-三氟苄基)-丁醯基]-3-三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-a]吡啉-1-甲酸甲酯 1p (1.1 g, 白色固體)，收率：50%。

MS m/z (ESI): 565.0 [M+1]

第十三步

(*R*)-7-[3-第三丁氧羰基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁醯基]-3-三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-*a*]吡啶-1-甲酸

將(*R*)-7-[3-第三丁氧羰基胺基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁醯基]-3-三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-*a*]吡啶-1-甲酸甲酯 1p(1.8 g, 3.2 mmol)溶解於 50 mL 甲醇中，加入 10 mL 4 M 氫氧化鈉溶液。攪拌反應 1 小時，冰浴下，滴加 2 M 鹽酸至反應液 pH 為 3 至 5，用乙酸乙酯(100 mL×3)萃取反應液，合併有機相，用無水硫酸鎂乾燥，過濾，濾液減壓濃縮，得到(*R*)-7-[3-第三丁氧羰基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁醯基]-3-三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-*a*]吡啶-1-甲酸 1q(1.76 g, 淡黃色固體)，收率：100%。

MS *m/z* (ESI): 550.9[M+1]

¹H NMR (400 MHz, CD₃OD, ppm): δ 7.29-7.23(m, 1H), 7.121-7.08(m, 1H), 5.15-5.03 (m, 2H), 4.41-4.06 (m, 5H), 2.98-2.77(m, 4H), 1.42-1.26(m, 9H)

第十四步

(*R*)-7-[3-胺基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁醯基]-3-三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-*a*]吡啶-1-甲酸鹽酸鹽

將(*R*)-7-[3-第三丁氧羰基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁醯基]-3-三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-*a*]吡啶-1-甲酸 1q(1.76 g, 3.2 mmol)加入反應瓶中，加入 10 mL 氫化氫乙酸乙酯溶液，攪拌反應 1 小時，反應液減壓濃縮，得到標題產物(*R*)-7-[3-胺基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁醯

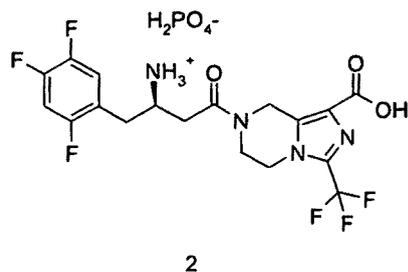
基]-3-三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-a]吡啶-1-甲酸鹽酸鹽 1 (1.56 g, 白色固體), 收率: 100%。

MS m/z (ESI): 451.2 [M+1]

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD , ppm): δ 7.42-7.37 (m, 1H), 7.28-7.23 (m, 1H), 5.19-5.05 (m, 2H), 4.36-4.29 (m, 1H), 4.15-4.00 (m, 2H), 3.94-3.93 (m, 2H), 3.21-2.88 (m, 2H), 2.86-2.81 (m, 2H)

實施例 2

(*R*)-7-[3-胺基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁醯基]-3-三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-a]吡啶-1-甲酸磷酸鹽



將(*R*)-7-[3-胺基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁醯基]-3-三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-a]吡啶-1-甲酸鹽酸鹽 1 (1.45 g, 2.97 mmol) 溶解於 14 mL 二氯甲烷中, 加入 6 mL 飽和碳酸氫鈉溶液洗滌, 水層用 5.6 mL 二氯甲烷萃取, 合併的有機相用飽和食鹽水洗滌 (6 mL), 用無水硫酸鈉乾燥, 過濾, 濾液減壓濃縮, 得到的油狀殘餘物 (1.38 g) 用 40 mL 異丙醇溶解, 攪拌下迅速加入 85% 磷酸 (343 mg, 2.97 mmol) 的 2 mL 異丙醇溶液, 有固體析出, 攪拌 2 小時後過濾, 濾餅用冷異丙醇洗滌, 在 40°C 減壓乾燥得粗品 1.44 g, 收率 88.6%。將粗品 (1.44 g, 2.63 mmol) 溶解於

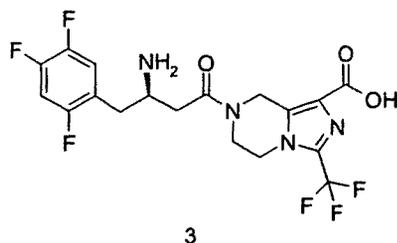
26 mL 異丙醇，攪拌 1 小時，過濾，濾餅用異丙醇洗滌，固體用去離子水溶解，40°C 下減壓濃縮，並在 40°C 下真空乾燥得到標題產物 (*R*)-7-[3-胺基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁醯基]-3-三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-a]吡啉-1-甲酸磷酸鹽 2 (1.33g, 白色粉末)，收率：92.6%。

MS m/z (ESI) : 451.2 [M+1]

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD , ppm): δ 7.36-7.42 (m, 1H), 7.19-7.25 (m, 1H), 5.01-5.15 (m, 2H), 4.24-4.34 (m, 2H), 4.06-4.11 (m, 1H), 3.91-3.98 (m, 1H), 3.07-3.12 (m, 2H), 2.8-3.09 (m, 2H)

實施例 3

(*R*)-7-[3-胺基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁醯基]-3-三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-a]吡啉-1-甲酸



將 (*R*)-7-[3-胺基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁醯基]-3-三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-a]吡啉-1-甲酸鹽酸鹽 1 (1.02 g, 2.1 mmol) 溶解於 30 mL 甲醇中，加入氫氧化鈉溶液 (2.1 mL, 2.1 mmol)，攪拌反應 15 分鐘。反應液減壓濃縮，得到的固體用 15 mL 二氯甲烷和甲醇的混合溶劑 ($V_{\text{二氯甲烷}}:V_{\text{甲醇}}=1:3$) 溶解，過濾，濾液減壓濃縮，得到標題產物 (*R*)-7-[3-胺基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁醯基]-3-

三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-a]吡啶-1-甲酸 3

(943 mg, 白色固體, HPLC: 99.89%), 產率: 100%。

MS m/z (ESI): 451.2[M+1]

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD , ppm): δ 7.32-7.41 (m, 1H),

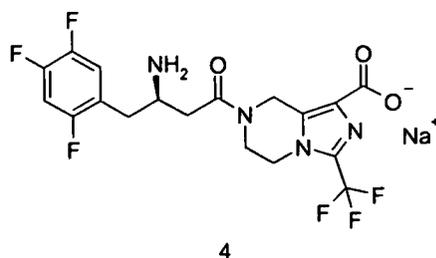
7.11-7.21(m, 1H), 5.00-5.07 (m, 2H), 4.16-4.24 (m,

2H), 4.05-4.08 (m, 1H), 3.85-3.97 (m, 2H), 3.05-3.17

(m, 2H), 2.91-2.93 (m, 2H)

實施例 4

(*R*)-7-[3-胺基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁醯基]-3-三氟甲
基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-a]吡啶-1-甲酸鈉



將(*R*)-7-[3-胺基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁醯基]-3-
三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-a]吡啶-1-甲酸 3

(100 mg, 0.22 mmol)溶解於 5 mL 甲醇中, 加入氫氧化鈉
溶液(0.44 mL, 0.22 mmol), 攪拌反應 15 分鐘。反應液減
壓濃縮, 得到標題產物(*R*)-7-[3-胺基-4-(2,4,5-三氟苯
基)-丁醯基]-3-三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-a]吡
啶-1-甲酸鈉 4 (104 mg, 白色固體, HPLC: 99.65%), 收
率: 99.7%。

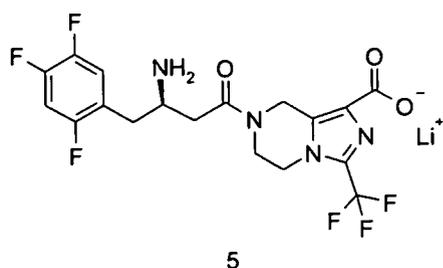
MS m/z (ESI): 451.2[M+1]

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD , ppm): δ 7.26-7.30 (m, 1H),

7.08-7.13 (m, 1H), 5.00-5.20 (m, 2H), 4.26-4.27 (m, 2H), 4.00-4.11 (m, 2H), 3.44-3.48 (m, 1H), 2.72-2.83 (m, 2H), 2.59-2.60 (m, 2H)

實施例 5

(*R*)-7-[3-胺基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁醯基]-3-三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-a]吡啞-1-甲酸鋰



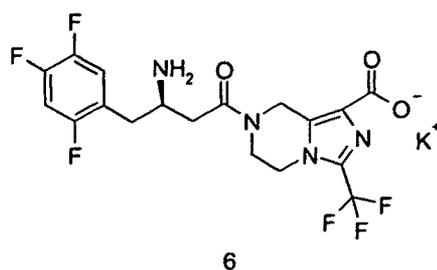
將(*R*)-7-[3-胺基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁醯基]-3-三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-a]吡啞-1-甲酸 3 (100 mg, 0.22 mmol) 溶解於 5 mL 甲醇中，加入氫氧化鋰溶液 (0.44 mL, 0.22 mmol)，攪拌反應 15 分鐘。反應液減壓濃縮，得到標題產物(*R*)-7-[3-胺基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁醯基]-3-三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-a]吡啞-1-甲酸鋰 5 (48 mg, 白色固體, HPLC: 99.66%)，收率：98.6%。

MS m/z (ESI): 451.2[M+1]

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD , ppm): δ 7.31-7.38 (m, 1H), 7.13-7.22 (m, 1H), 5.07-5.27 (m, 2H), 4.26-4.36 (m, 2H), 4.01-4.15 (m, 2H), 3.53-3.60 (m, 1H), 2.80-2.91 (m, 2H), 2.59-2.72 (m, 2H)

實施例 6

(*R*)-7-[3-胺基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁醯基]-3-三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-a]吡啞-1-甲酸鉀



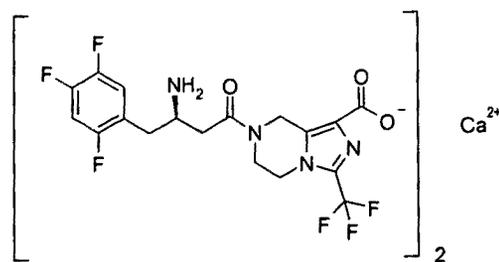
將(*R*)-7-[3-胺基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁醯基]-3-三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-a]吡啞-1-甲酸 3 (100 mg, 0.22 mmol) 溶解於 5 mL 甲醇中，加入氫氧化鉀溶液(0.44 mL, 0.22 mmol)，攪拌反應 15 分鐘。反應液減壓濃縮，得到標題產物(*R*)-7-[3-胺基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁醯基]-3-三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-a]吡啞-1-甲酸鉀 6 (108 mg, 白色固體, HPLC: 92.78%)，收率：100%。

MS m/z (ESI): 451.2 [M+1]

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD , ppm): δ 7.31-7.38(m, 1H), 7.14-7.23(m, 1H), 5.07-5.27 (m, 2H), 4.26-4.36 (m, 2H), 4.01-4.15(m, 2H), 3.52-3.60(m, 1H), 2.80-2.92 (m, 2H), 2.59-2.74 (m, 2H)

實施例 7

(*R*)-7-[3-胺基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁醯基]-3-三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-a]吡啞-1-甲酸鈣



7

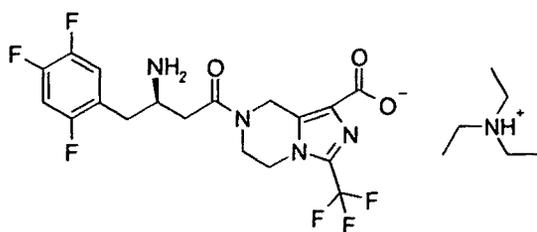
將 (*R*)-7-[3-氨基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁醯基]-3-三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-a]吡啶-1-甲酸 3 (100 mg, 0.22 mmol) 溶解於 10 mL 甲醇中，加入氫氧化鈣 (8.1 mg, 0.11 mmol)，攪拌反應 20 小時。反應液減壓濃縮，得到標題產物 (*R*)-7-[3-氨基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁醯基]-3-三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-a]吡啶-1-甲酸鈣 7 (103 mg, 白色固體，HPLC: 99.60%)，收率：100%。

MS m/z (ESI): 451.2 [M+1]

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD , ppm): δ 7.28-7.34 (m, 1H), 7.11-7.21 (m, 1H), 5.10-5.21 (m, 2H), 4.22-4.36 (m, 2H), 4.03-4.09 (m, 2H), 3.55-3.59 (m, 1H), 2.76-2.85 (m, 2H), 2.60-2.71 (m, 2H)

實施例 8

(*R*)-7-[3-氨基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁醯基]-3-三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-a]吡啶-1-甲酸三乙胺鹽



8

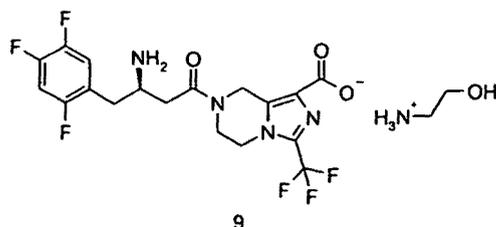
將(*R*)-7-[3-胺基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁醯基]-3-三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-a]吡啞-1-甲酸 3 (100 mg, 0.22 mmol) 溶解於 5 mL 甲醇中，加入三乙胺的甲醇溶液(0.767 mL, 0.22 mmol, 配製方法為將 1 mL 三乙胺加入甲醇中，配成 25 mL 三乙胺的甲醇溶液)，攪拌反應 40 小時。反應液減壓濃縮，得到標題產物(*R*)-7-[3-胺基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁醯基]-3-三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-a]吡啞-1-甲酸三乙胺鹽 8 (112 mg, 白色固體，HPLC: 99.34%)，收率：99.8%。

MS m/z (ESI): 451.2[M+1]

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD , ppm): δ 7.28-7.35 (m, 1H), 7.10-7.19 (m, 1H), 5.03-5.13 (m, 2H), 4.17-4.25 (m, 2H), 3.88-4.08 (m, 2H), 3.70-3.73 (m, 1H), 3.12-3.17 (m, 6H), 2.93-2.95 (m, 2H), 2.71-2.80 (m, 2H), 1.27-1.30 (m, 9H)

實施例 9

(*R*)-7-[3-胺基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁醯基]-3-三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-a]吡啞-1-甲酸乙醇胺鹽



將(*R*)-7-[3-胺基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁醯基]-3-三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-a]吡啞-1-甲酸 3 (100 mg, 0.22 mmol) 溶解於 5 mL 甲醇中，加入乙醇胺的

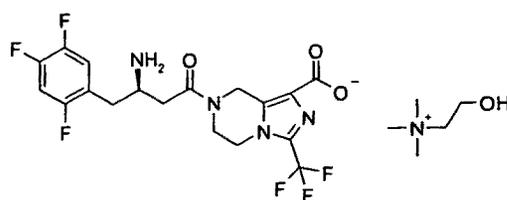
甲醇溶液(0.33 mL, 0.22 mmol, 配製方法為將 1 mL 乙醇胺加入甲醇中, 配成 25 mL 乙醇胺的甲醇溶液), 攪拌反應 40 小時。反應液減壓濃縮, 得到標題產物(*R*)-7-[3-胺基-4-(2, 4, 5-三氟苯基)-丁醯基]-3-三氟甲基-5, 6, 7, 8-四氫咪唑并[1, 5-a]吡啶-1-甲酸乙醇胺鹽 9 (114 mg, 白色固體, HPLC: 99.62%), 收率: 100%。

MS *m/z* (ESI): 451.2[M+1]

¹H NMR (400 MHz, CD₃OD, ppm): δ 7.27-7.32(m, 1H), 7.07-7.16(m, 1H), 4.96-5.17 (m, 2H), 4.12-4.26 (m, 2H), 3.91-4.09(m, 2H), 3.70-3.72(t, 2H), 3.56-3.57(m, 1H), 2.95-2.98 (t, 2H), 2.80-2.89 (m, 2H), 2.58-2.70(m, 2H)

實施例 10

(*R*)-7-[3-胺基-4-(2, 4, 5-三氟苯基)-丁醯基]-3-三氟甲基-5, 6, 7, 8-四氫咪唑并[1, 5-a]吡啶-1-甲酸膽鹼鹽



10

將(*R*)-7-[3-胺基-4-(2, 4, 5-三氟苯基)-丁醯基]-3-三氟甲基-5, 6, 7, 8-四氫咪唑并[1, 5-a]吡啶-1-甲酸 3 (100 mg, 0.22 mmol)溶解於 5 mL 甲醇中, 加入膽鹼的甲醇溶液(1.55 mL, 0.22 mmol, 配製方法為將 1 mL 45%膽鹼加入甲醇中, 配成 25 mL 膽鹼的甲醇溶液), 攪拌反應 3 小時。反應液減壓濃縮, 得到標題產物(*R*)-7-[3-胺基

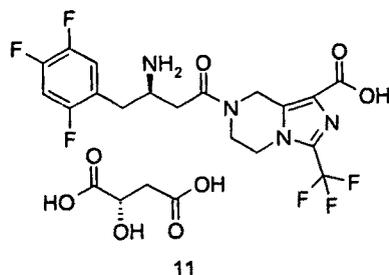
-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁醯基]-3-三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-a]吡啶-1-甲酸膽鹼鹽 10 (120 mg, 白色固體, HPLC: 99.41%), 收率: 98.5%。

MS m/z (ESI): 451.2[M+1]

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD , ppm): δ 7.23-7.30(m, 1H), 7.06-7.15(m, 1H), 4.99-5.19 (m, 2H), 4.19-4.26 (m, 2H), 3.89-4.07(m, 4H), 3.60-3.71(m, 1H), 3.50-3.55(m, 2H), 3.21 (s, 9H), 2.72-2.84 (m, 2H), 2.55-2.66(m, 2H)

實施例 11

(*R*)-7-[3-胺基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁醯基]-3-三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-a]吡啶-1-甲酸蘋果酸鹽



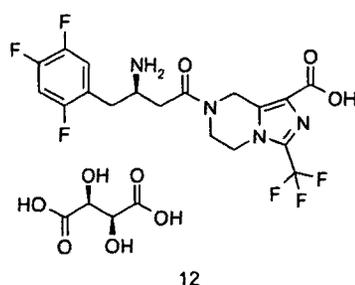
將 L-蘋果酸(368 mg, 2.74 mmol)溶解於 25 mL 甲醇和水(V/V=4:1)混合溶劑中, 配成 0.11 M 的溶液, 備用。將(*R*)-7-[3-胺基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁醯基]-3-三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-a]吡啶-1-甲酸 3 (100 mg, 0.22 mmol)溶解於 10 mL 甲醇中, 加入 2 mL 上述備用溶液, 攪拌反應 30 分鐘。反應液減壓濃縮, 得到標題產物(*R*)-7-[3-胺基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁醯基]-3-三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-a]吡啶-1-甲酸蘋果酸鹽 11 (129 mg, 白色固體, HPLC: 98.92%), 收率: 100%。

MS m/z (ESI): 451.1[M+1]

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD , ppm): δ 7.32-7.41 (m, 1H), 7.16-7.23 (m, 1H), 4.96-5.13 (m, 2H), 4.35-4.39 (m, 1H), 4.20-4.30 (m, 2H), 4.04-4.13 (m, 1H), 3.90-4.00 (m, 2H), 3.07-3.13 (m, 2H), 2.77-2.97 (m, 3H), 2.56-2.62 (m, 1H)

實施例 12

(*R*)-7-[3-胺基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁醯基]-3-三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-*a*]吡啶-1-甲酸酒石酸鹽



將 D-酒石酸(413 mg, 2.75 mmol)溶解於 25 mL 甲醇和水(V/V=4:1)混合溶劑中，配成 0.11 M 的溶液，備用。將(*R*)-7-[3-胺基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁醯基]-3-三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-*a*]吡啶-1-甲酸 3(100 mg, 0.22 mmol)溶解於 10 mL 甲醇中，加入 2 mL 上述備用溶液，攪拌反應 30 分鐘。反應液減壓濃縮，得到標題產物(*R*)-7-[3-胺基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁醯基]-3-三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-*a*]吡啶-1-甲酸酒石酸鹽 12(131 mg, 白色固體，HPLC: 99.35%)，收率：99%。

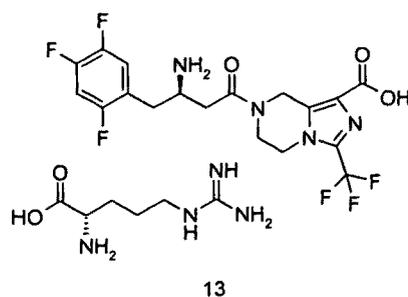
MS m/z (ESI): 451.1[M+1]

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD , ppm): δ 7.32-7.41 (m, 1H),

7.17-7.26 (m, 1H), 5.01-5.14 (m, 2H), 4.51 (s, 1H),
4.20-4.35 (m, 2H), 4.00-4.13 (m, 1H), 3.89-3.96 (m,
2H), 3.04-3.13 (m, 2H), 2.90-3.00 (m, 1H), 2.77-2.87
(m, 1H)

實施例 13

(*R*)-7-[3-胺基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁醯基]-3-三氟甲
基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-a]吡啞-1-甲酸精胺酸鹽



將 L-精胺酸 (239 mg, 1.37 mmol) 溶解於 25 mL 甲醇
和水 (V/V=4:1) 混合溶劑中，配成 0.055 M 的溶液，備用。
將 (*R*)-7-[3-胺基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁醯基]-3-三氟
甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-a]吡啞-1-甲酸 3 (100
mg, 0.22 mmol) 溶解於 15 mL 甲醇中，加入 4 mL 上述備用
溶液，攪拌反應 4 小時。反應液減壓濃縮，得到標題產物
(*R*)-7-[3-胺基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁醯基]-3-三氟甲
基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-a]吡啞-1-甲酸精胺酸鹽 13
(139 mg, 白色固體，HPLC: 98.89%)，收率：100%。

MS m/z (ESI): 451.1 [M+1]

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD , ppm): δ 7.24-7.32 (m, 1H),
7.09-7.14 (m, 1H), 4.98-5.18 (m, 2H), 4.25-4.28 (m,
1H), 4.18-4.19 (m, 1H), 3.93-4.04 (m, 2H), 3.50-3.54

(m, 2H), 3.18-3.23 (m, 2H), 2.76-2.87 (m, 2H),
2.58-2.69 (m, 2H), 1.77-1.90 (m, 2H), 1.67-1.75 (m,
2H)

測試例：

溶解度實驗

按照常規溶解度測定方法，測試本發明化合物在四種不同系統中的溶解度：磷酸鹽緩衝液 PBS (pH7.4)、甲醇、0.1% HCl 及水中，結果如表 1 所示：

表 1

實施例	溶解度數值 (mg/mL)			
	PBS(pH7.4)	甲醇	0.1%HCl	水
實施例 1	18.6	31.3	17.2	20.9
實施例 2	20.2	37.5	32.5	26.1
實施例 3	7.0	32.7	20.5	9.2
實施例 4	57.4	46.7	94.8	43.5
實施例 5	60.5	50.3	100.6	40.2
實施例 8	0.2	20.1	8.3	0.5
實施例 9	0.3	35.2	12.6	1.0
實施例 10	1.2	40.3	15.2	1.5
實施例 11	19.5	5.4	32.6	22.2
實施例 12	12.3	0.5	33.8	19.5

結論：實施例 2、實施例 4 和實施例 5 溶解度明顯改善。

生物學評價

下面的方法可用來測定本發明化合物對 DPP IV、DPP VIII 和 DPP IX 酶活性的抑制能力。化合物的半數抑制濃度 IC₅₀ 值 (將酶活性抑制至 50% 時所需的化合物濃度) 是藉

由將一定量的酶與受質 (substrate) 及不同濃度的待測化合物混合後反應而測定並計算出的。

以下試驗藉由使用 Promega DPPIV-Glo™ Protease Assay (Cat No. G8350/G8351) 試劑盒來測定本發明實施例化合物對 DPP IV, DPP VIII 和 DPP IX 酶活性的抑制作用。

其中：

a. DPP IV 酶購於 Calbiochem, Catalog no. 317630

b. DPP VIII 酶購於 Bioscience, Catalog no. 80080

c. DPP IX 酶購於 Bioscience, Catalog no. 80090

測定試驗所需的通用試劑 (DPPIV-Glo 緩衝液, luciferin reagents 等) 的具體配製過程及試驗的詳細操作可參照上述試劑盒的說明書, 簡要的試驗方法如下：

測試化合物用 DMSO 溶解後配製成實驗所需的濃度。先將 DPP IV-Glo 緩衝液和凍乾的螢光素檢測試劑粉末 (luciferin detection reagent) 平衡到室溫, 隨後於棕色瓶中用適量緩衝液溶解螢光素檢測試劑粉末製成溶液。隨後將 DPPIV-Glo 受質用超純水溶解配製為試驗所需的濃度, 之後以適當的比例將受質溶液和螢光素檢測試劑溶液 (本測試所用比例為 1:49) 充分混勻, 並於室溫下靜置 30 至 60 分鐘。將一定量的 Tris buffer (2mM, pH8.0)、測試化合物以及 DPPIV (DPPVIII 或 DPPIX) 酶混合均勻後, 轉移至 96 孔反應盤上, 每個測試設立複孔或 3 孔對照, 空白孔和陰性對照孔中加入與測試化合物同等體積的 DMSO 做替代。隨後於各孔中加入配製好的受質-螢光素檢測試劑混合

液以啟動反應，將 96 孔盤密封後，在平板振盪器上於室溫下培養 40 分鐘。之後用酶標儀讀取各孔的螢光信號強度，計算出該濃度下化合物對酶的抑制率，計算公式如下：

$$\text{抑制率 IR} = [1 - (S - B) / (N - B)] * 100\%$$

S：樣品孔信號讀數

B：空白對照信號讀數

N：陰性對照信號讀數

測試化合物的 IC₅₀ 值可藉由不同濃度下的抑制率計算得出。

表 2：

實施例	IC ₅₀ (μM)		
	DPP1V	DPP8	DPP9
1	0.021	87.9	63.6
2	0.015	399.7	185.0
3	0.013	235.7	125.4
4	0.022	77.3	42.3
5	0.025	80.5	50.6
8	0.021	152.5	135.6
9	0.012	113.7	128.3
10	0.023	210.1	165.6
11	0.009	279.7	180.1
12	0.012	243.8	135.5

結論：游離態及各種鹽化合物，對 DPP1V 均具有良好的抑制活性，實施例 2 具有更好選擇性。

藥物動力學測試

測試例 1 本發明的化合物藥物動力學測試

1、試驗目的

以大鼠為受試動物，應用 LC/MS/MS 法測定了大鼠灌胃及尾靜脈注射給予實施例 3 及灌胃給予實施例 1 至 4、實施例 9、實施例 11 至 12 後不同時刻血漿中的藥物濃度。研究本發明的化合物在大鼠體內的藥物動力學行為，評估其藥物動力學特徵，並考察其口服絕對生物利用度。

2、試驗方案

2.1、試驗藥品

實施例 1 至 4 化合物，實施例 9 化合物，實施例 11 至 12 化合物

2.2、試驗動物

健康成年 SD 大鼠 28 隻，雌雄各半，購自上海西普爾-必凱實驗動物有限公司，動物生產許可證號：SCXK(滬)2008-0016。

2.3、儀器設備

API 4000 Q-trap 線性離子阱質譜儀，美國 Applied Biosystems 公司；

Agilent 1200 高效液相層析系統，美國 Agilent 公司。

2.4、藥物配製

靜脈注射組：稱取適量藥物，加 DMSO 0.5 mL 超音波溶解，之後加生理鹽水稀釋至 15 mL，製成 0.3 mg/mL 溶液。

灌胃給藥組：稱取適量藥物，加 0.5% CMC-Na 超音波製成 0.3 mg/mL 混懸液。

2.5、給藥

健康成年 SD 大鼠 32 隻，雌雄各半，平均分成 8 組，每組 4 隻。禁食過夜後，分別尾靜脈注射給予實施例 3 及灌胃給予實施例 3 及其鹽，給藥劑量均為 3.0 mg/kg(以鹼原形計)，給藥體積 10 mL/kg。

2.6、樣品採集

靜脈注射給藥組於給藥前及給藥後 2 分鐘、15 分鐘、30 分鐘、1.0 小時、2.0 小時、4.0 小時、6.0 小時、8.0 小時、12.0 小時、24.0 小時由眼眶採血 0.2 mL，置於肝素化試管中，3500 轉離心 10 分鐘分離血漿，於 -20°C 保存，給藥後 2 小時進食。

灌胃給藥組於給藥前及給藥後 0.5 小時、1.0 小時、2.0 小時、3.0 小時、4.0 小時、6.0 小時、8.0 小時、12.0 小時、24.0 小時採血，樣品處理方法同靜脈注射給藥組。

2.7、分析方法

取給藥後各時刻的大鼠血漿 50 μ L，加入內標溶液 50 μ L、甲醇 150 μ L，渦旋混合 3 分鐘，離心 10 分鐘(13500 轉/分鐘)，取上清液 10 μ L 進行 LC-MS/MS 分析。

2.8、藥物動力學參數計算

對受試化合物的藥物動力學行為進行房室模型 (compartment model) 擬合，並計算主要藥物動力學參數，採用 DAS 2.0 軟體計算，其中 C_{\max} 、 t_{\max} 採用實測值。根據灌胃及尾靜脈注射給藥後 AUC_{0-t} 計算口服絕對生物利用度。

3、藥物動力學參數結果

本發明的化合物的藥物動力學參數如表 2 所示。

結論：實施例 2 與其他化合物相比，藥物動力學性質和生物利用度明顯改善，具有明顯的藥物動力學優勢。

表 3：

實施例	F (%)	C _{max} (ng/mL)	AUC _{0-∞} (ng·h/mL)	t _{1/2} (h)	T _{max} (h)	MRT (h)	CL/F (L/h/kg)	Vz/F (l/kg)
1	2.90	18.0±7.5	66.6±19.5	1.74±0.16	2.50±1.00	3.17±0.36	45.6±11.5	114±27
2	8.63	66.6±36.4	198.1±57.4	1.69±1.24	0.92±0.58	4.05±3.66	16.2±4.55	41±29.7
3	2.54	13.4±5.6	58.3±17.3	2.73±0.73	1.00±0.00	4.45±1.01	51.7±16.0	193±38
		靜脈	2295±353	2.35±1.90	—	0.22±0.06	1.33±0.20	6.05±6.53
4	2.90	14.2±2.0	66.6±10.6	2.65±0.94	1.75±0.96	4.30±0.60	43.7±7.1	164±56
9	4.06	25.1±13.9	93.2±36.4	3.18±0.71	1.25±0.50	4.34±0.66	32.9±10.0	155±63
11	3.03	13.5±3.9	69.5±25.2	2.21±0.69	1.63±1.11	4.50±1.32	46.6±17.7	140±39
12	3.25	17.0±6.9	74.6±21.7	2.54±0.86	1.75±0.50	4.23±0.84	40.3±9.9	154±77

本發明化合物降血糖作用的初步評估

一、試驗目的

觀察受試化合物實施例 1 至 4、實施例 8 至 12 對正常 ICR 小鼠(上海斯萊克實驗動物有限公司)口服糖耐量的影響，使用血糖儀對給藥給糖 2 小時內不同時刻小鼠尾部採血中含糖量進行測定並加以分析，初步評估其在體內的降血糖作用。

二、試驗方法

2.1 劑量設置

給藥劑量為 10 mg/kg，空白(Blank)組給予水(均含有 5 %的 DMSO)。

2.2 給藥方法

灌胃給藥，給藥 15 分鐘後以 4 g/kg 給予 10%葡萄糖

溶液(每隻小鼠給予 0.8 mL)。

2.3 血糖值的測定

按劑量給藥(Blank 組給予含有 5%DMSO 的水)，測定血糖值(-15 分鐘)。

給藥 15 分鐘後以 4 g/kg 給予 20%葡萄糖溶液，並在 0、15、30、45、60、120 分鐘時使用羅氏羅康全血糖測定儀測定各小鼠的血糖值。

2.4 試驗結果如表 3 所示：

表 3：

實施例編號	小鼠給藥 30 分鐘後血糖下降率%(10mg/kg)
1	16.06
2	29.96
3	25.60
4	9.49
8	19.82
9	27.56
10	20.92
11	20.18
12	24.11

結論：實施例 2 相對其他化合物具有明顯降血糖作用。

【圖式簡單說明】

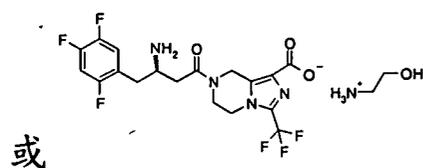
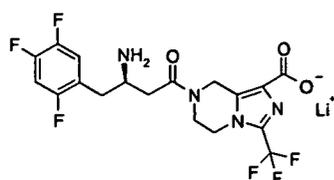
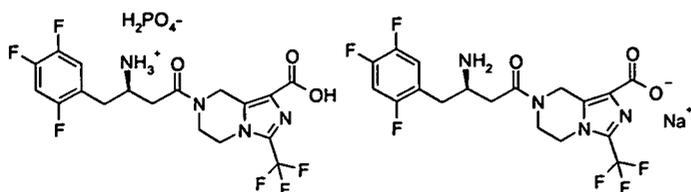
無

【主要元件符號說明】

無

七、申請專利範圍：

1. 一種 (*R*)-7-[3-胺基-4-(2,4,5-三氟苯基)-丁醯基]-3-三氟甲基-5,6,7,8-四氫咪唑并[1,5-a]吡啶-1-甲酸的鹽，其中，該鹽選自磷酸鹽、鈉鹽、鋰鹽、或乙醇胺鹽，且該鹽如下式所示：



或

2. 如申請專利範圍第 1 項所述的鹽，該鹽係磷酸鹽或乙醇胺鹽。
3. 一種申請專利範圍第 1 或 2 項所述的鹽的用途，係用於製備治療 II 型糖尿病或高血糖症的藥物。
4. 一種申請專利範圍第 1 或 2 項所述的鹽的用途，係用於製備二肽基肽酶 IV 抑制劑。
5. 如申請專利範圍第 1 或 2 項所述的鹽，係作為治療 II 型糖尿病或高血糖症的藥物。
6. 如申請專利範圍第 1 或 2 項所述的鹽，係作為抑制二肽基肽酶 IV 的藥物。

7. 一種醫藥組成物，其含有治療有效量的申請專利範圍第 1 或 2 項所述的鹽及藥學上可以接受的載劑。
8. 一種申請專利範圍第 7 項的醫藥組成物的用途，係用於製備治療 II 型糖尿病或高血糖症的藥物。
9. 如申請專利範圍第 7 項的醫藥組成物，係作為治療 II 型糖尿病或高血糖症的藥物。