

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200710004470.5

[51] Int. Cl.

C07D 207/16 (2006.01)

C07D 401/12 (2006.01)

C07D 409/12 (2006.01)

C07D 413/12 (2006.01)

C07D 401/06 (2006.01)

C07D 409/06 (2006.01)

[43] 公开日 2007 年 7 月 4 日

[11] 公开号 CN 1990469 A

[51] Int. Cl. (续)

A61K 31/40 (2006.01)

A61K 31/402 (2006.01)

A61P 3/10 (2006.01)

[22] 申请日 2002.6.26

[21] 申请号 200710004470.5

分案原申请号 02812736.6

[30] 优先权

[32] 2001.6.27 [33] US [31] 60/301333

[32] 2002.4.26 [33] US [31] 60/376015

[71] 申请人 史密丝克莱恩比彻姆公司

地址 美国宾夕法尼亚州

[72] 发明人 C·D·哈夫纳

D·L·麦克杜加尔德

A·S·兰哈瓦 S·M·赖斯特

J·M·伦哈德

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 刘冬 黄可峻

权利要求书 2 页 说明书 135 页

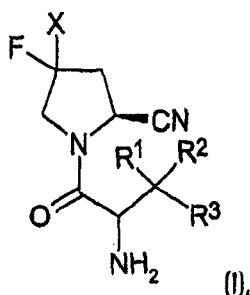
[54] 发明名称

作为二肽酶抑制剂的氟代吡咯烷

[57] 摘要

本发明涉及一种新化合物,其抑制丝氨酸蛋白酶,如二肽酶 IV(DPP-IV)等二肽酶的用途及其制备方法及其治疗用途。

1. 一种式(I)的化合物:



- 5 包括其盐、溶剂合物和药物功能衍生物, 其中:
 X 为 F 或 H;
 R¹ 和 R² 各为任选取代的芳基或杂芳基; 和
 R³ 为 H 或烷基。
- 10 2. 权利要求 1 的化合物, 其中所述 X 为 H。
3. 权利要求 1 的化合物, 其中所述 R¹ 和 R² 各为取代的芳基。
4. 权利要求 1 的化合物, 其中所述 R³ 为 H。
5. 权利要求 3 或 4 的化合物, 其中各个所述芳基为苯基。
6. 权利要求 5 的化合物, 其中各个所述苯基被卤素取代。
7. 权利要求 6 的化合物, 其中各个所述卤素为氟。
- 15 8. 一种药物制剂, 所述药物制剂包括权利要求 1 到 7 中任一项
 的化合物。
9. 权利要求 8 的药物制剂, 所述药物制剂还包括一种药学上可
 接受的载体。
- 20 10. 权利要求 1 到 7 中任一项的化合物在制备用于抑制切割次末
 端脯氨酸/丙氨酸的蛋白酶药物中的用途。
11. 权利要求 10 的用途, 其中所述切割次末端脯氨酸/丙氨酸的
 蛋白酶为丝氨酸蛋白酶。
12. 权利要求 11 的用途, 其中所述丝氨酸蛋白酶为二肽酶。
13. 权利要求 12 的用途, 其中所述二肽酶为 DPP-II。

14. 权利要求 12 的用途, 其中所述二肽酶为 DPP-IV。

15. 权利要求 1 到 7 中任一项的化合物在制备用于治疗或预防代谢病、胃肠病、病毒病、炎症疾病、糖尿病、肥胖症、高脂血症、皮肤病或粘膜疾病、牛皮癣、肠道疾病、便秘、自身免疫病、脑脊髓炎、
5 补体介导的疾病、肾小球性肾炎、脂肪营养不良、组织损伤、身心疾病、抑郁、神经精神疾病、HIV 感染、变态反应、炎症、关节炎、移植排斥、高血压、充血性心力衰竭、肿瘤和紧张性流产的药物中的用途。

16. 权利要求 15 的用途, 其中所述疾病为糖尿病。

10 17. 一种药物制剂, 所述药物制剂包含权利要求 1 到 7 中任一项的化合物和一种或多种另外的抗糖尿病药。

18. 权利要求 17 的药物制剂, 其中所述一种或多种另外的抗糖尿病药选自胰岛素、 α -葡萄糖苷酶抑制剂、双缩脲、胰岛素促分泌素、胰岛素致敏物或其组合。

15 19. 权利要求 18 的药物制剂, 其中所述另外的抗糖尿病药选自胰岛素甲福明、PPAR- γ 激动剂或其组合。

20. 一种药物制剂, 所述药物制剂包含权利要求 1 到 7 中任一项的化合物和甲福明。

21. 一种药物制剂, 所述药物制剂包含权利要求 1 到 7 中任一项
20 的化合物和 Avandia[®]。

22. 一种药物制剂, 所述药物制剂包含权利要求 1 到 7 中任一项的化合物、甲福明和 Avandia[®]。

作为二肽酶抑制剂的氟代吡咯烷

- 5 本申请是以下申请的分案申请：申请日：2002年6月26日；申请号：028127366(PCT/US02/20471)；发明名称：“作为二肽酶抑制剂的氟代吡咯烷”。

技术领域

- 10 本发明涉及抑制二肽酶的化合物诸如 II(DPP-II)和 IV(DPP-IV)，涉及它们的制备方法以及治疗用途。

背景技术

- 15 二肽酶 IV(DPP-IV)是一种存在于包括肾、肝和肠在内的机体各组织中的切割次末端脯氨酸/丙氨酸的丝氨酸蛋白酶。DPP-IV 被认为能调节多种生理学上重要肽的活性，包括但不限于 GLP1、GIP、GLP2、GRP、血管活性肠肽、组氨酸蛋氨酸肽、PYY、P 物质、 β -casomorphine、NPY、PACAP38、催乳激素、绒膜促性腺激素、抑酶肽、促肾上腺皮质激素类垂体中叶肽、垂体腺苷酰环化酶活化肽、(Tyr)
- 20 促黑素抑制素、LD78 β -(3-70), RANTES, eotaxinprocolipase, 肠抑制素(enterostatin)、血管抑制素 1(vasostatin1)、内啡素、morphiceptin、基质细胞源因子、巨嗜细胞驱化因子、粒细胞趋化蛋白质-2 和 GHRH/GRF。作为 DPP-IV 治疗价值的例子，相信 DPP-IV 涉及各种代谢、胃肠、病毒和炎症疾病，包括但不限于糖尿病、肥胖症、高脂血症、皮肤病或粘膜疾病、牛皮癣、肠道疾病、便秘、自身免疫
- 25 病诸如脑脊髓炎、补体介导疾病诸如肾小球性肾炎、脂肪营养不良、组织损伤、身心疾病、抑郁、神经精神疾病如焦虑、抑郁、失眠症、精神分裂症、癫痫、痉挛和慢性疼痛、HIV 感染、变态反应、炎症、

关节炎、移植排斥、高血压、充血性心力衰竭、肿瘤和紧张性流产，例如细胞因子介导的鼠流产。例如也称为 CD26 的 DPP-IV 介导 T-细胞活化和 HIV 感染(Ohtsuki 等人, 2000)。在 HIV 感染的个体中 T-细胞表达 DPP-IV/CD26 被优先感染和排除(Ohtsuki 等人, 2000)。已经证实 DPP-IV 抑制剂在关节炎的动物模型上的消炎效果(Tanaka 等人, 1997)。另外，已经表明 DPP-IV 抑制延长了心脏移植存活期(Korom 等人, 1997)。体外研究表明 DPP-IV/CD26 表达与皮肤恶性成黑素细胞的肿瘤扩散有关(Van den Oord, 1998)。此外，DPP-IV 被认为通过切割在多肽(如胰高血糖素类肽(GLP)和神经肽 Y(NPY))的氨基端的次末端脯氨酸/丙氨酸来调节代谢(Mentlein, 1999)。

更具体地说，GLP 有助于代谢葡萄糖，并因此 GLP 的调节应有助于治疗代谢疾病诸如糖尿病，如 II 型糖尿病(也称为非胰岛素依赖型糖尿病(NIDDM)或 maturity-onset)，由于胰岛素的绝对或相对缺乏导致血糖水平升高。II 型糖尿病为糖尿病中较普通的形式，占病例的 90%，约 1 千 600 百万美国人患有这种疾病。大多数 II 型糖尿病患者产生不同并有时正常的胰岛素，但是它们在阻碍其活动的肝和肌肉细胞中不正常。胰岛素连接到细胞受体上，但葡萄糖并不进入其中，形成称为抗胰岛素状态。许多 II 型糖尿病患者似乎不能分泌足够的胰岛素来克服抗胰岛素状态。GLP-1 增强了胰岛素分泌。因此，GLP-1 的调节与胰岛素分泌的调节相关。此外，GLP-1 降低了肝葡萄糖的生产、胃排空和食物摄入(Deacon 等人, 1995)。此外，GLP-2 通过对胃活动、养分吸收、隐蔽细胞增殖和编程性细胞死亡和肠透性的影响维持了肠粘膜上皮细胞的完整性 (Drucker, 2001)。

DPP-IV 抑制剂长时间保护 GLP-1 功能(Balka, 1999)。因此，DPP-IV 抑制剂能促进达到饱感、减重和增强 GLP-1 的抗糖尿病效果(Deacon 等人, 1995; Holst 和 Deacon, 1998)。例如，用已知化合物 NVP-DPP728 抑制 DPP-IV 降低了血浆 GLP-1(2-36 酰胺)浓度并提高了在肥胖 zucker 鼠的口服葡萄糖耐受性。参见 Diabetologia 42: 1324-

1331。经皮下和静脉给药的 GLP-1 在 II 型糖尿病人和健康受试者体中均从 NH₂-端快速降解。参见 Diabetes 44: 1126, 1995。

此外, DPP-IV 抑制剂可长时间保护 GLP-2, 因此可用于治疗肠道机能不全和粘膜疾病(Hartmann B 等人, 2000)。

5 虽然 DPP-IV 是调节 GLP 转换的优势蛋白酶, 但从相关蛋白酶上也可观察到类似的底物或抑制剂专一性。相关的丝氨酸蛋白酶包括但不限于二肽酶-II(DPP-II)、二肽酶 IV β 、二肽酶 8、二肽酶 9、氨基肽酶 P、成纤维细胞活化蛋白质 α (seprase)、脯氨酰三肽酶、脯氨酰寡肽酶(内切蛋白酶 Pro-C)、吸引素(可溶性二肽氨基肽酶)、酰氨基肽基肽酶(N-酰基肽水解酶; fMet 氨基肽酶)和溶酶体 Pro-X 羧基肽酶(血管紧张肽酶 C, 脯氨酰羧肽酶)。可享有与 DPP-IV 类似底物或抑制剂专一性的切割脯氨酸的金属肽酶包括膜 Pro-X 羧肽酶(羧肽酶 P)、血管紧张肽转化酶(肽-二肽酶 A 多肽酶)、胶原酶 1(肠胶原酶; 基质金属蛋白酶 1; MMP-1; Mcol-A), ADAM 10(α -分泌酶、髓磷脂缔合性解整连蛋白金属蛋白酶), neprilysin(atriopeptidase; CALLA; CD10; 内切肽酶 24.11; 脑啡肽酶), 巨嗜细胞弹性蛋白酶(金属弹性蛋白酶; 基质金属蛋白酶 12; MMP-12)、间质溶素(基质金属蛋白酶 7; MMP-7)和 溶神经素(内肽酶 24.16; 微粒体内肽酶; 线粒体寡肽酶)。参见 <http://merops.iapc.bbsrc.ac.uk/>。

10

15

20 此外, 除了哺乳动物丝氨酸肽酶和切割脯氨酸的金属肽酶外, 其它非哺乳动物蛋白酶可享有与 DPP-IV 类似的底物或抑制剂专一性。这种非哺乳动物丝氨酸蛋白酶包括脯氨酰氨基肽酶(脯氨酰亚胺肽酶)、IgA1-特异丝氨酸型脯氨酰内肽酶(IgA 蛋白酶, Neisseria, Haemophilus), 二肽氨基肽酶 A(STE13)(酿酒酵母)、二肽氨基肽酶 B(真菌)、脯氨酰寡肽同系物(Pyrococcus sp.)、寡肽酶 B(大肠杆菌碱性蛋白酶 II; 蛋白酶 II), 二肽氨基肽酶 B1(假单胞杆菌 sp.)、二肽酶 IV(细菌)、二肽氨基肽酶(Aureobacterium)、二肽酶 IV(昆虫)、二肽酶 V, 变应素 Trit 4(Trichophyton tonsurans)、分泌的丙氨酰 DPP(米曲

25

酶)、肽酶 II-mes(*Prosopis velutina*)和竹丝氨酸蛋白酶(*Pleuroblastus hindsii*)。这种非哺乳动物切割脯氨酸的金属肽酶的非限定性例子包括 penicillolysin(真菌酸性金属内肽酶)、脯氨酸特异肽的二肽酶(链霉菌属)、coccolysin(明胶酶, *Enterococcus faecalis*), 氨基肽酶 Ey(鸡蛋黄)(apdE g. p.; *Gallus gallus domesticus*), gametolysin(衣藻细胞壁降解蛋白酶)以及蛇毒切割脯氨酸的金属蛋白酶。进一步情况可参见 <http://merops.iapc.bbsrc.ac.uk/>。

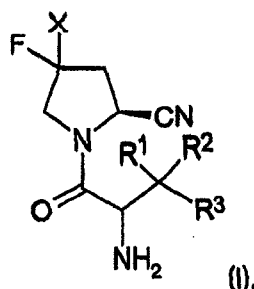
二肽酶 II(DPP II)是位于细胞溶酶体的丝氨酸蛋白酶, 相信其涉及溶酶体降解和蛋白质转换。DPP-II 表达的顺序为肾>>睾丸>或=心脏>大脑>或=肺>脾>骨骼肌>或=肝(Araki H 等人, *J. Biochem*(东京)2001,129:279-88)。这种表达表明在肾或溶酶体相关疾病上可能的效用。底物专一性研究表明纯的 DPP-II 在酸性 pH(4.5-5.5)下专一水解丙氨酸或脯氨酸。DPP-II 对休眠细胞二肽酶和脯氨酰羧肽酶具有明显的顺序对应性和底物专一性, 表明在蛋白酶间可能存在功能重叠(Araki H 等人, *J. Biochem*(东京)2001,129:279-88)。

本发明包括新的 DPP-II 和/或 DPP-IV 抑制剂以及其治疗使用方法和其制备方法。虽然并未在此限定, 但是相信本发明的化合物可用于治疗各种代谢、胃肠、病毒和炎症疾病, 包括但不限于糖尿病、肥胖症、高脂血症、皮肤病或粘膜疾病、牛皮癣、肠道疾病、便秘、自身免疫病诸如脑脊髓炎、补体介导疾病诸如肾小球性肾炎、脂肪营养不良、组织损伤、身心疾病、抑郁、神经精神疾病如焦虑、抑郁、失眠症、精神分裂症、癫痫、痉挛和慢性疼痛、HIV 感染、变态反应、炎症、关节炎、移植排斥、高血压、充血性心力衰竭、肿瘤和紧张性流产, 例如细胞因子介导的鼠流产。

与其它二肽酶抑制剂相比, 本发明的化合物提供了改善的稳定性、效价、作用时间和/或安全性/毒性面貌。

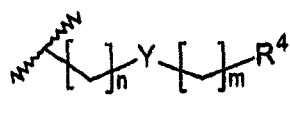
发明内容

本发明包括式(I)的化合物:



包括其盐、溶剂合物和药用功能衍生物, 其中:

- 5 X 为 F 或 H; R^1 和 R^2 各自为 H、烷基、任选取代的芳基或杂芳基或结合成任选包含一个或多个杂原子以及任选包含一个或多个不饱和度的 3 到 14 元环体系。当 R^1 和 R^2 为任选取代的芳基或杂芳基时, R^3 为 H 或烷基。否则, R^3 为:



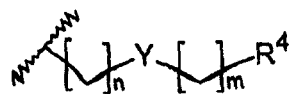
- 10 式中 n 为 0-5、 m 为 0-12; Y 为 $S(O)_p$ 、O、亚烷基、亚烯基、亚炔基或键; p 为 0-2; 当 Y 为 S、O、亚烷基、亚烯基、亚炔基或键时, R^4 为 R^5 , 其中 R^5 为任选取代的烷基、烯基、炔基、芳基、环烷基、杂芳基或杂环基; 当 Y 为 $S(O)$ 或 $S(O)_2$ 时, R^4 为 R^6 , 其中 R^6 为任选取代的烷基、芳基、环烷基、杂芳基、氨基、烷氨基、芳氨基、杂芳基氨基、环烷基氨基或羟基。
- 15

虽然没有限定, 但是优选的任选取代基包括一个或多个烷基、烷氧基、芳氧基、卤基、卤代烷基、氰基、烷基磺酰基或芳基。更优选任选的取代基包括一个或多个 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 烷氧基、苯氧基、苄氧基、氟、氯、 C_1 - C_6 卤代烷基、氰基、 C_1 - C_6 烷基磺酰基、苯基或苄基。

20

在一种实施方案中, R^1 和 R^2 各为芳基, R^3 为 H。优选各芳基均为苯基。更优选各苯基均被卤素取代。更优选各卤素为氟, 更优选 4-氟。

在另一实施方案中, R^1 和 R^2 各为烷基并且 R^3 为

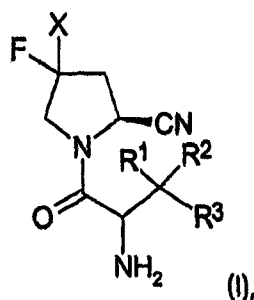


5 优选各个烷基为 C_1 - C_6 烷基。更优选各个烷基为甲基。优选 n 为 0, m 为 1 并且 Y 为 $S(O)_p$ 。在一个优选实施方案中, p 为 0, R^4 为 R^5 , 并且 R^5 为任选取代的芳基。优选 R^5 为被烷氧基取代的苯基。更优选所述烷氧基为甲氧基。在另一优选实施方案中, p 为 1 或 2, R^4 为 R^6 , 并且 R^6 为任选取代的芳基。优选 R^6 为被烷氧基取代的苯基。更优选所述烷氧基为甲氧基。更优选 p 为 2。

10 在一实施方案中, 优选所述 NH_2 基对所述腈基团为顺式。在另一实施方案中, 优选所述 NH_2 基对腈基团为反式。

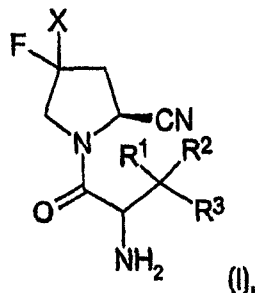
优选 A 为 H 。优选所述 F 对所述腈为顺式。

特别优选的本发明化合物包括式(I)的化合物:



15 包括其盐、溶剂合物和药用功能衍生物; 其中 X 为 F 或 H ; R^1 和 R^2 各为任选取代的芳基或杂芳基; 并且 R^3 为 H 或烷基。

特别优选的本发明的化合物包括式(I)的化合物:

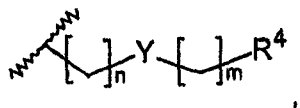


包括其盐、溶剂合物和药用功能衍生物; 其中 X 为 F 或 H ; R^1 和 R^2 各为:

(i)烷基; 或

(ii)结合成 3 到 14 元环体系, 任选包含一个或多个杂原子以及
任选包含一个或多个不饱和度:

R^3 为



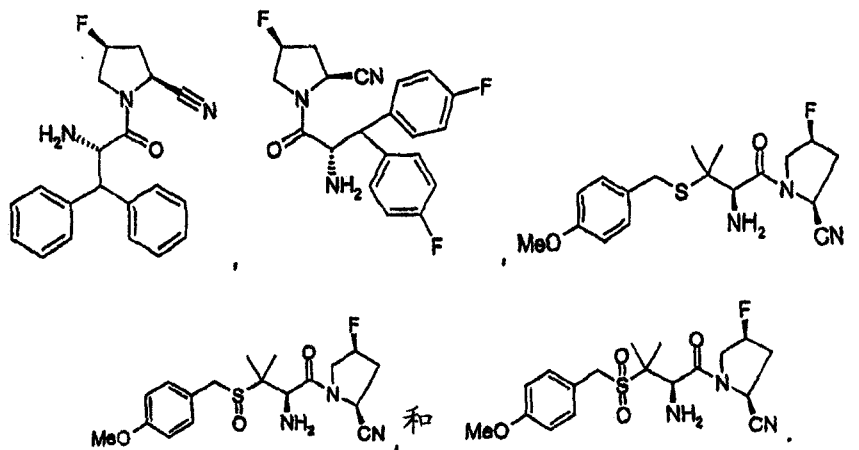
5

其中 n 为 0-5; m 为 0-12; Y 为 $S(O)_p$ 、O、亚烷基、亚烯基或
亚炔基; p 为 0-2; 当 Y 为 S、O、亚烷基、亚烯基或亚炔基时, R^4
为 R^5 ; 其中 R^5 为任选取代的烷基、烯基、炔基、芳基、环烷基、杂
芳基或杂环基; 当 Y 为 $S(O)$ 或 $S(O)_2$ 时, R^4 为 R^6 , 其中 R^6 为任选取
代的烷基、芳基、环烷基、杂芳基、氨基、烷氨基、芳氨基、杂芳
基氨基、环烷基氨基或羟基。

10

优选 p 为 1 或 2。更优选 p 为 2。优选 R^1 和 R^2 各为烷基。更优
选 R^1 和 R^2 各为 C_1 - C_6 烷基。更优选 R^1 和 R^2 各为甲基。

特别优选的本发明化合物包括:



15

特别优选的化合物选自:

(1) (2S,4S)-1-[(2S)-2-氨基-3,3-二苯基丙酰基]-4-氟代吡咯烷-2-
甲腈盐酸盐;

(2) (2S,4S)-1-[(2S)-2-氨基-3,3-双(4-氟苯基)丙酰基]-4-氟代吡咯
烷-2-甲腈盐酸盐;

20

(3) (2S,4S)-1-[(2S)-2-氨基-5-(4-氟苯基)-3,3-二甲基戊酰基]-4-

氟-2-吡咯烷甲脒盐酸盐;

(4) (2S, 4R)-1-[(2S)-2-氨基-4-(4-氟苯基)-3,3-二甲基丁酰基]-4-氟吡咯烷-2-甲脒盐酸盐;

5 (5) (2S,4S)-1-[(2R)-2-氨基-3-[(4-甲氧基苄基)硫基]-3-甲基丁酰基]-4-氟代吡咯烷-2-甲脒盐酸盐;

(6) (2S,4S)-1-[(2R)-2-氨基-3-甲基-3-[(3-苯基丙基)硫基]丁酰基]-4-氟代吡咯烷-2-甲脒盐酸盐;

(7) (2S,4S)-1-[(2R)-2-氨基-3-甲基-3-[(2-苯基乙基)硫基]丁酰基]-4-氟代吡咯烷-2-甲脒盐酸盐;

10 (8) (2S,4S)-1-[(2R)-2-氨基-3-[[3-(4-氟苯基)丙基]硫基]-3-甲基丁酰基]-4-氟代吡咯烷-2-甲脒盐酸盐;

(9) (2S,4S)-1-[(2R)-2-氨基-3-[(4-甲氧基苄基)磺酰基]-3-甲基丁酰基]-4-氟代吡咯烷-2-甲脒盐酸盐;

15 (10) (2S,4S)-1-[(2R)-2-氨基-3-[(4-甲氧基苄基)亚磺酰基]-3-甲基丁酰基]-4-氟代吡咯烷-2-甲脒盐酸盐;

(11) (2S,4S)-1-[(2R)-2-氨基-3-甲基-3-[[4-(三氟甲基)苄基]硫基]丁酰基]-4-氟代吡咯烷-2-甲脒盐酸盐;

(12) (2S,4S)-1-[(2S)-2-氨基-2-(1-乙烯基环戊基)乙酰基]-4-氟代吡咯烷-2-甲脒盐酸盐;

20 (13) (2S,4S)-1-[(2S)-2-氨基-5-(4-甲氧基苯基)-3,3-二甲基戊酰基]-4-氟代吡咯烷-2-甲脒盐酸盐;

(14) (2S,4S)-1-[(2R)-2-氨基-3-甲基-3-[(3-苯基丙基)磺酰基]丁酰基]-4-氟代吡咯烷-2-甲脒;

25 (15) (2S,4S)-1-[(2R)-2-氨基-3-甲基-3-[(4-甲基苄基)磺酰基]丁酰基]-4-氟代吡咯烷-2-甲脒;

(16) (2S,4S)-1-[(2R)-2-氨基-3-[[4-(苄氧基)苄基]磺酰基]-3-甲基丁酰基]-4-氟代吡咯烷-2-甲脒;

(17) (2S,4S)-1-[(2R)-2-氨基-3-[(4-氟苄基)磺酰基]-3-甲基丁酰基]

基}-4-氟代吡咯烷-2-甲腈;

(18) (2S,4S)-1-((2R)-2-氨基-3-甲基-3-{[4-(甲基磺酰基)苄基]磺酰基}丁酰基)-4-氟代吡咯烷-2-甲腈;

5 (19) (2S,4S)-1-((2S)-2-氨基-2-[1-(4-氟苄基)环戊基]乙酰基}-4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐;

(20) (2S,4S)-1-((2S)-2-氨基-2-{1-[4-(三氟甲基)苯基]环戊基}乙酰基)-4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐;

(21) (2S,4S)-1-((2S)-2-氨基-2-[1-(4-氟苄基)环丙基]乙酰基)-4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐;

10 (22) (2S,4S)-1-[(2R)-2-氨基-3-(苄基磺酰基)-3-甲基丁酰基]-4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐;

(23) (2S,4S)-1-((2R)-2-氨基-3-[(3-甲氧基苄基)磺酰基]-3-甲基丁酰基)-4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐;

15 (24) (2S,4S)-1-((2R)-2-氨基-3-[(1,1'-联苯-4-基甲基)磺酰基]-3-甲基丁酰基)-4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐;

(25) (2S,4S)-1-((2R)-2-氨基-3-[(2-甲氧基苄基)磺酰基]-3-甲基丁酰基)-4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐;

(26) (2S,4S)-1-((2R)-2-氨基-3-甲基-3-[(吡啶-3-基甲基)硫基]丁酰基)-4-氟代吡咯烷-2-甲腈;

20 (27) (2S,4S)-1-((2R)-2-氨基-3-甲基-3-[(吡啶-2-基甲基)硫基]丁酰基)-4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐;

(28) (2S,4S)-1-((2R)-2-氨基-3-甲基-3-[(吡啶-4-基甲基)硫基]丁酰基)-4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐;

25 (29) (2S,4S)-1-((2R)-2-氨基-3-[(4-氟苄基)磺酰基]-3-甲基丁酰基)-4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐;

(30) (2S,4S)-1-((2R)-2-氨基-3-甲基-3-[(3-苯氧基苄基)磺酰基]丁酰基)-4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐;

(31) (2S,4S)-1-((2R)-2-氨基-3-甲基-3-[(3-苯氧基苄基)硫基]丁酰

基}-4-氟代吡咯烷-2-甲脒盐酸盐;

(32) (2S,4S)-1-((2R)-2-氨基-3-{[(5-氯-1,1-二氧化-1-苯并噻吩-3-基)甲基]磺酰基}-3-甲基丁酰基)-4-氟代吡咯烷-2-甲脒盐酸盐;

5 (33) (2S,4S)-1-((2R)-2-氨基-3-[(2,1,3-苯并噁二唑-5-基甲基)磺基]-3-甲基丁酰基)-4-氟代吡咯烷-2-甲脒盐酸盐;

(34) (2S,4S)-1-((2R)-2-氨基-3-甲基-3-[(吡啶-4-基甲基)磺酰基]丁酰基)-4-氟代吡咯烷-2-甲脒盐酸盐;

(35) (2S,4S)-1-[(2S)-2-氨基-3-吡啶-4-基丙酰基]-4-氟代吡咯烷-2-甲脒盐酸盐;

10 (36) (2S,4S)-1-[(2S)-2-氨基-3-吡啶-3-基丙酰基]-4-氟代吡咯烷-2-甲脒盐酸盐;

(37) (2S,4S)-1-[(2S)-2-氨基-3-哌啶-4-基丙酰基]-4-氟代吡咯烷-2-甲脒二盐酸盐;

15 (38) (2S,4S)-1-[(2S)-2-氨基-3-哌啶-3-基丙酰基]-4-氟代吡咯烷-2-甲脒二盐酸盐;

(39) (2S,4S)-1-[(2S)-2-氨基-3-哌啶-2-基丙酰基]-4-氟代吡咯烷-2-甲脒二盐酸盐;

(40) (2S,4S)-1-((2S)-2-氨基-3-[1-(异丙基磺酰基)哌啶-4-基]丙酰基)-4-氟代吡咯烷-2-甲脒盐酸盐;

20 (41) (2S,4S)-1-((2S)-2-氨基-3-[1-(4-甲基苯基磺酰基)哌啶-4-基]丙酰基)-4-氟代吡咯烷-2-甲脒盐酸盐;

(42) (2S,4S)-1-((2S)-2-氨基-3-[1-(异丙基磺酰基)哌啶-3-基]丙酰基)-4-氟代吡咯烷-2-甲脒盐酸盐;

25 (43) (2S,4S)-1-((2S)-2-氨基-3-[1-(4-甲基苯基磺酰基)哌啶-3-基]丙酰基)-4-氟代吡咯烷-2-甲脒盐酸盐;

(44) (2S,4S)-1-[(2S)-2-氨基-3-(1-苯并噻吩-3-基)丙酰基]-4-氟代吡咯烷-2-甲脒盐酸盐;

(45) (2S,4S)-1-((2S)-2-氨基-3-甲基-3-[4-(三氟甲基)苯基]丁酰

基}-4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐；和

(46) (3R)-3-氨基-4-[(2S,4S)-2-氟基-4-氟代吡咯烷-1-基]-2-甲基-4-氧代丁烷-2-磺酸。

5 本发明的另一方面包括含本发明化合物的药物制剂。优选所述药物制剂还包括药学上可接受的载体。

本发明的另一方面包括通过给予本发明的化合物来抑制切割次末端脯氨酸/丙氨酸的蛋白酶的方法。优选所述切割次末端脯氨酸/丙氨酸的蛋白酶为丝氨酸蛋白酶。更优选所述丝氨酸蛋白酶为二肽酶。更优选所述二肽酶为 DPP-II 或 DPP-IV。

10 本发明的另一方面包括通过给予本发明的化合物来治疗或预防代谢疾病、胃肠疾病、病毒疾病、炎症疾病、糖尿病、肥胖症、高脂血症、皮肤病或粘膜疾病、牛皮癣、肠道疾病、便秘、自身免疫病、脑脊髓炎、补体介导疾病、肾小球性肾炎、脂肪营养不良、组织损伤、身心疾病、抑郁、神经精神疾病、HIV 感染、变态反应、炎症、关节炎、移植排斥、高血压、充血性心力衰竭、肿瘤和紧张性流产，例如细胞因子介导的鼠流产的方法。优选所述给药用于治疗或预防糖尿病。

15 本发明另一方面包括本发明化合物在制备用于抑制切割次末端脯氨酸/丙氨酸的蛋白酶的用途。优选所述切割次末端脯氨酸/丙氨酸的蛋白酶为丝氨酸蛋白酶。更优选所述丝氨酸蛋白酶为二肽酶。更优选所述二肽酶为 DPP-II 或 DPP-IV。

20 本发明另一方面包括本发明化合物在制备用于治疗或预防以下疾病的药物中的用途：代谢疾病、胃肠疾病、病毒疾病、炎症疾病、糖尿病、肥胖症、高脂血症、皮肤病或粘膜疾病、牛皮癣、肠道疾病、便秘、自身免疫病、脑脊髓炎、补体介导疾病、肾小球性肾炎、脂肪营养不良、组织损伤、身心疾病、抑郁、神经精神疾病、HIV 感染、变态反应、炎症、关节炎、移植排斥、高血压、充血性心力衰竭、肿瘤和紧张性流产。

本发明的另一方面包括作为治疗物质的本发明的化合物。本发明的化合物另外可用于制备用于抑制丝氨酸蛋白酶的药品。优选这种用途是用于制备用于治疗或预防预防代谢疾病、胃肠疾病、病毒疾病、炎症疾病、糖尿病、肥胖症、高脂血症、皮肤病或粘膜疾病、
5 牛皮癣、肠道疾病、便秘、自身免疫病、脑脊髓炎、补体介导的疾病、肾小球性肾炎、脂肪营养不良、组织损伤、身心疾病、抑郁、神经精神疾病、HIV 感染、变态反应、炎症、关节炎、移植排斥、高血压、充血性心力衰竭、肿瘤和紧张性流产的药品。

10 具体实施方式

术语“烷基”是指直链或支链饱和脂族烃基，可任选被取代并可具多个取代基。“烷基”的例子包括但不限于甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、叔丁基、正戊基、仲丁基等。

在整篇专利说明书中，优选的碳原子数将通过例如短语“C_x-C_y
15 烷基”表示，该短语是指如本文中定义的烷基含有特定的碳原子数。同样的术语也应用于其它优选的范围。

术语“亚烷基”是指二价直链或支链脂族烃基，可任选被取代并可具多个取代基。亚烷基的例子包括但不限于亚甲基，即-CH₂-。

术语“烯基”是指含一个或多个碳-碳双键的直链或支链脂族烃基，可任选被取代并可具多个取代基。例子包括但不限于乙烯基等。
20

本文所用术语“亚烯基”是指含一个或多个碳-碳双键的二价直链或支链脂族烃基，可任选被取代并可具多个取代基。“亚烯基”的例子包括但不限于亚乙烯基，即-CH=CH-。

本文所用术语“炔基”是指含一个或多个三键的直链或支链脂族烃基，可任选被取代并可具多个取代基。本文所用“炔基”的例子包括但不限于乙炔基等。
25

本文所用术语“亚炔基”是指含至少一个碳-碳三键的二价直链或支链脂族烃基，可被取代并可具多个取代基。“乙炔基”的例子包

括但不限于亚乙炔基, 即 $-C\equiv C-$ 。

术语“芳基”是指芳环体系, 诸如任选取代的苯环体系(如苯基)。该术语包括一个或多个任选取代的苯环形成的稠合体系, 例如蒽、菲或萘环体系。该术语包括任选取代的环, 可具多个取代基, 同时也包括一个任选的亚烷基连接基, 如 C_1-C_6 亚烷基, 通过该连接基将芳基与母体连接在一起。“芳基”的例子包括但不限于苯基、苄基、2-萘基、1-萘基、联苯基以及它们的取代衍生物。

术语“杂芳基”是指单环芳环体系, 或是指包括两个或多个芳环的稠合双环体系。这些杂芳基环包含一个或多个氮、硫和/或氧原子, 其中氮氧化物、硫氧化物和二氧化物是容许存在的杂原子取代基并且所述环可任选被多个取代基取代。该术语包括任选具多个取代基的环体系, 并且也包括任选的亚烷基连接基, 如 C_1-C_6 亚烷基, 通过亚烷基可将杂芳基与母体连接在一起。本文所用“杂芳基”的例子包括呋喃、噻吩、吡咯、咪唑、吡唑、三唑、四唑、噻唑、噁唑、异噁唑、噁二唑、噻二唑、异噻唑、吡啶、哒嗪、吡嗪、嘧啶、喹啉、异喹啉、苯并呋喃、苯并噻吩、吲哚、吲唑和它们的取代产物。

本文所用术语“环烷基”是指单环或双环烃环体系, 可进一步被多个取代基取代, 并且任选包括亚烷基连接基, 通过该连接基可将环烷基与母体连接在一起。“环烷基”的例子包括但不限于环丙基、环丁基、环戊基、环己基和环庚基。被取代时, 本发明环烷基的一个优选取代位为“1-位”。为了说明而非限定, 一个优选的取代位由下面称为“R”的取代基表示:

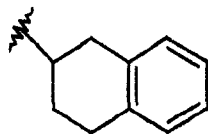


25

或更适当地说,

术语“环烷基”包括桥连或稠合的环体系, 以及如茛烷

(hydrindane)、萘烷或金刚烷基。为了便于引用,该术语范围也包括环烷基/芳基稠合体系,例如环烷基(如环己基)与芳环(如苯环)稠合形成的基团诸如:



5 本文所用术语“杂环”或术语“杂环基”是指饱和或具有一个或多个不饱和度、优选三到十二元的杂环。所述杂环包含一个或多个如氮、硫和/或氧原子的杂原子,其中氮氧化物、硫氧化物和二氧化物为可存在的杂原子取代基。本文所用杂环基团可任选被多个取代基取代,还包括一个任选的亚烷基连接基,如 C_1-C_6 亚烷基,通过
10 所述连接基可将杂环基与母体连接。这种环可任选与一个或多个另外的“杂环”、芳环或环烷基环稠合。“杂环”的例子包括但不限于四氢呋喃(THF)、吡喃、1,4-二噁烷、1,3-二噁烷、哌啶、吡咯烷、吗啉、四氢噻喃、四氢噻吩等。

术语“卤素”是指氟、氯、溴或碘。

15 术语“卤代烷基”是指被至少一个卤原子取代的如本文定义的烷基。“卤代烷基”的非限定性例子包括分别被一个或多个卤原子如氟、氯、溴和/或碘取代的甲基、乙基、丙基、异丙基、正丁基和叔丁基。术语“卤代烷基”应理解为包括诸如全氟烷基,如三氟甲基 CF_3 等的取代基。

20 本文所用术语“卤代烷氧基”是指基团-OR_a, 其中 R_a 是如上定义的卤代烷基。

本文所用术语“烷氧基”是指基团-OR_a, 其中 R_a 为如上定义的烷基。

25 本文所用术语“芳氧基”是指基团-OR_b, 其中 R_b 为如上定义的芳基。

作为一个例子并且适用于整篇专利说明书,因为术语“芳基”包括任选取代的芳基,所以术语“芳氧基”包括任选取代的芳氧基。

“任选取代”应用于所有此中所定义的适合术语中。此外，如上所定义，术语“芳基”包括亚烷基连接的芳基。因此术语如“芳氧基”等应认为包括亚烷基连接的芳基。作为一个非限定性的例子，所述芳氧基可以是 $-\text{OR}_b$ ，其中 R_b 为苄基。

5 本文所用术语“杂芳氧基”是指基团 $-\text{OR}_b$ ，其中 R_b 为如上定义的杂芳基。

本文所用术语“烷氧基羰基”是指基团 $-\text{C}(\text{O})\text{OR}_a$ ，其中 R_a 是如上定义的烷基。

10 本文所用术语“芳氧基羰基”是指基团 $-\text{C}(\text{O})\text{OR}_a$ ，其中 R_a 是如上定义的芳基。

本文所用术语“杂芳氧基羰基”是指基团 $-\text{C}(\text{O})\text{OR}_a$ ，其中 R_a 是如上定义的杂芳基。

本文所用术语“烷氧基硫代羰基”是指基团 $-\text{C}(\text{S})\text{OR}_a$ ，其中 R_a 是如上定义的烷基。

15 本文所用术语“芳氧基硫代羰基”是指基团 $-\text{C}(\text{S})\text{OR}_a$ ，其中 R_a 是如上定义的芳基。

本文所用术语“杂芳氧基硫代羰基”是指基团 $-\text{C}(\text{S})\text{OR}_a$ ，其中 R_a 是如上定义的杂芳基。

本文所用术语“氧代基”是指基团 $=\text{O}$ 。

20 本文所用术语“巯基”是指基团 $-\text{SH}$ 。

本文所用术语“硫基”是指基团 $-\text{S}-$ 。

本文所用术语“亚磺酰基”是指基团 $-\text{S}(\text{O})-$ 。

本文所用术语“磺酰基”是指基团 $-\text{S}(\text{O})_2-$ 。

25 本文所用术语“烷硫基”是指基团 $-\text{SR}_a$ ，其中 R_a 为如上定义的烷基。

本文所用术语“芳硫基”是指基团 $-\text{SR}_b$ ，其中基团 R_b 为如上定义的芳基。

本文所用术语“杂芳硫基”是指基团 $-\text{SR}_b$ ，其中基团 R_b 为如上

定义的杂芳基。

本文所用术语“烷基亚磺酰基”是指基团-S(O)R_a, 其中 R_a 为如上定义的烷基。

5 本文所用术语“芳基亚磺酰基”是指基团-S(O)R_b, 其中 R_b 为如上定义的芳基。

本文所用术语“杂芳基亚磺酰基”是指基团-S(O)R_b, 其中 R_b 为如上定义的杂芳基。

本文所用术语“烷基磺酰基”是指基团-S(O)₂R_a, 其中 R_a 为如上定义的烷基。

10 本文所用术语“环烷基磺酰基”是指基团-S(O)₂R_a, 其中 R_a 为如上定义的环烷基。

本文所用术语“芳基磺酰基”是指基团-S(O)₂R_b, 其中 R_b 为如上定义的芳基。

15 本文所用术语“杂芳基磺酰基”是指基团-S(O)₂R_b, 其中 R_b 为如上定义的杂芳基。

本文所用术语“氨基磺酰基”是指基团-S(O)₂NH₂。

本文所用术语“氰基”是指基团-CN。

本文所用术语“氰烷基”是指基团-R_aCN, 其中 R_a 为如上定义的亚烷基。

20 本文所用术语“羧基”是指基团-COOH。

本文所用术语“氨基甲酰基”是指基团-C(O)NH₂。

本文所用术语“烷基氨基甲酰基”是指基团-C(O)N(R_a)₂, 其中一个 R_a 是烷基, 另一个 R_a 独立地为 H 或烷基。

25 本文所用术语“芳基氨基甲酰基”是指基团-C(O)N(R_a)₂, 其中一个 R_a 是如上定义的芳基, 另一个 R_a 独立地为 H 或芳基

本文所用术语“杂芳基氨基甲酰基”是指基团-C(O)N(R_a)₂, 其中一个 R_a 为如上定义的杂芳基, 另一个 R_a 独立地为 H 或杂芳基。

本文所用术语“硫代氨基甲酰基”是指基团-C(S)NH₂。

本文所用术语“烷基硫代氨基甲酰基”是指基团 $-C(S)N(R_a)_2$ ，其中一个 R_a 为烷基，另一个 R_a 独立地为H或烷基。

本文所用术语“芳基硫代氨基甲酰基”是指基团 $-C(S)N(R_a)_2$ ，其中一个 R_a 为如上定义的芳基，另一个 R_a 独立地为H或芳基。

5 本文所用术语“杂芳基硫代氨基甲酰基”是指基团 $-C(S)N(R_a)_2$ ，其中一个 R_a 为如上定义的杂芳基，另一个 R_a 独立地为H或杂芳基。

本文所用术语“氨基”是指基团“ $-NH_2$ ”。

本文所用术语“烷氨基”是指基团 $-N(R_a)_2$ ，其中一个 R_a 为如上定义的烷基，另一个 R_a 独立地为H或烷基。

10 本文所用术语“环烷基氨基”是指基团 $-N(R_a)_2$ ，其中一个 R_a 为如上定义的环烷基，另一个 R_a 独立地为H或环烷基。

本文所用术语“芳氨基”是指基团 $-N(R_a)_2$ ，其中一个 R_a 为如上定义的芳基，另一个 R_a 独立地为H或芳基。

15 本文所用术语“杂芳基氨基”是指基团 $-N(R_a)_2$ ，其中一个 R_a 为如上定义的杂芳基，另一个 R_a 独立地为H或杂芳基。

本文所用术语“酰基”是指基团 $-C(O)R_a$ ，其中 R_a 为如上定义的烷基、芳基、杂芳基、环烷基或杂环基。

本文所用术语“硫代酰基”是指基团 $-C(S)R_a$ ，其中 R_a 为如上定义的烷基、芳基、杂芳基、环烷基或杂环基。

20 本文所用术语“羟基”是指基团 $-OH$ 。

本文所用术语“羟烷基”是指基团 $-R_aOH$ ，其中 R_a 为如上定义的亚烷基。

25 同样，整篇说明书中所用的短语“任选取代的”是指一次或多次用如上定义的下述取代基取代：酰基；烷基；烯基；炔基；烷基磺酰基；烷氧基；氰基；卤素；卤代烷基；羟基；硝基；芳基，其可进一步被酰基，烷氧基，烷基，烯基，炔基，烷基磺酰基，氰基，卤素，卤代烷基，羟基或硝基取代；杂芳基，其可进一步被酰基，烷氧基，烷基，烯基，炔基，烷基磺酰基，氰基，卤素，卤代烷基，羟

基或硝基取代；芳基磺酰基，其可进一步被酰基，烷氧基，烷基，烯基，炔基，烷基磺酰基，氰基，卤素，卤代烷基，羟基或硝基取代；杂芳基磺酰基，其可进一步被酰基，烷氧基，烷基，烯基，炔基，烷基磺酰基，氰基，卤素，卤代烷基，羟基或硝基取代；芳氧基，其可进一步被酰基，烷氧基，烷基，烯基，炔基，烷基磺酰基，氰基，卤素，卤代烷基，羟基或硝基取代；杂芳氧基，其可进一步被酰基，烷氧基，烷基，烯基，炔基，烷基磺酰基，氰基，卤素，卤代烷基，羟基或硝基取代； $-R^1OR^4$ 或 $-NR^4R^5$ ，在各种情况下 R^1 为亚烷基，亚烯基或亚炔基，并且 R^4 和 R^5 分别选自 H，烷基，烯基，炔基，环烷基，杂环基，芳基，杂芳基，烷基磺酰基，芳基磺酰基或杂芳基磺酰基，在各种情况下这种芳基或杂芳基可被一个或多个酰基，烷氧基，烷基，烯基，烷基磺酰基，氰基，卤素，卤代烷基，羟基或硝基取代，或者 R^4 和 R^5 可结合成环，任选具有另外的杂原子，任选具有一个或多个不饱和度并且任选进一步被酰基，烷氧基，烷基，烯基，炔基，烷基磺酰基，氰基，卤素，卤代烷基，羟基或硝基取代。

本发明的化合物可以多种形式结晶，即具有所谓的多晶型特征。所有多晶型物均在本发明的范围内。多晶现象通常由于温度、压力或两者的变化而出现，并且也可由于结晶方法的不同而产生。多晶型可通过本领域人们熟知的各种物理特性如 X-射线衍射图谱、溶解度和熔点等加以区分。

这里所述的某些化合物包含一个或多个手性中心，即存在多种立体异构体。本发明的范围包括纯的立体异构体以及各立体异构体的混合物，如纯化的对映异构体/非对映异构体或对映异构体富集混合物/非对映异构体富集混合物。在本发明范围内也包括化合物本身的各种异构体以及任何其全部或部分平衡混合物。本发明包括上式表示的各种化合物的异构体与其中一个或多个手性中心为反转的异构体的混合物。

正如上面所述，本发明包括本发明化合物的盐、溶剂合物和药

用功能衍生物。盐包括加成盐、金属盐或任选的烷基化的铵盐。这种盐的例子包括氢氯酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、磷酸盐、硫酸盐、三氟乙酸盐、三氯乙酸盐、草酸盐、马来酸盐、丙酮酸盐、丙二酸盐、琥珀酸盐、柠檬酸盐、扁桃酸盐、苯甲酸盐、肉桂酸盐、甲磺酸盐、乙磺酸盐、苦味酸盐等。

其它盐包括锂盐、钠盐、钾盐、镁盐等。其它盐的例子包括乙酸盐、苯磺酸盐、苯甲酸盐、碳酸氢盐、硫酸氢盐、酒石酸氢盐、硼酸盐、溴化物、乙二胺四乙酸钙、樟磺酸盐、碳酸盐、氯化物、棒酸盐、柠檬酸盐、二盐酸盐、乙二胺四乙酸盐、乙二磺酸盐、依托酸盐、乙磺酸盐、富马酸盐、葡庚糖酸盐、葡糖酸盐、谷氨酸盐、乙醇酰阿散酸盐、己基间苯二酚盐、海巴明，羟基萘甲酸盐、羟乙磺酸盐、乳酸盐、乳糖酸盐、月桂酸盐、苹果酸盐、扁桃酸盐、甲磺酰化物、甲基溴化物、甲基硝酸盐、甲基硫酸盐、马来酸一钾、粘酸盐、萘磺酸盐，硝酸盐、N-甲基葡糖胺盐、双羟萘酸盐(恩波酸盐)、棕榈酸盐、泛酸盐、磷酸盐/磷酸氢盐、聚半乳糖醛酸盐、钾盐、水杨酸盐、钠盐、硬脂酸盐、碱式乙酸盐、单宁酸盐、酒石酸盐、萘绿酸盐、甲苯磺酸盐、三乙基碘化物、三甲基铵盐和戊酸盐。相关盐也可参照通过引用并入本文的文献 *Journal of Pharmaceutical Science*, 1997, 66, 2。

本文所用术语“溶剂合物”是指通过溶质或其盐或药用功能衍生物和溶剂形成的可变计量的络合物。这种用于本发明的溶剂应不干扰溶质的生物活性。溶剂的例子包括但不限于水、甲醇、乙醇和乙酸。优选所用的溶剂为药学上可接受的溶剂。药学上可接受的溶剂的例子包括水、乙醇和乙酸。

术语“药用功能衍生物”是指本发明化合物的药学上可接受的衍生物，例如酯或酰胺，其对哺乳动物给药后就能提供(直接或间接)本发明的化合物或其活性代谢物。这种衍生物无需过多实验就可为本领域技术人员所认识。还可参照 Burger 的 *Medicinal Chemistry and*

Drug Discovery, 第5版, 第1卷: Principles and Practice 中的教导, 其描述药用功能衍生物的内容通过引用并入本文。尽管本发明的化合物可以原化学物的形式给药, 但优选本发明的化合物以本领域人们熟悉的药物制剂活性成分的形式出现。因此, 本发明还包括包含
5 本发明的化合物或其盐、溶剂合物或药用功能衍生物连同一种或多种药学上可接受的载体的药物制剂。任选在所述药物制剂中还包括其它治疗和/或预防(“活性”)成分。例如, 本发明的化合物可结合其它抗糖尿病药如胰岛素、 α -葡萄糖苷酶抑制剂、缩二脲、胰岛素促分泌素或胰岛素增感剂等一种或多种药物一起使用。 α -葡萄糖苷酶抑制剂的非限定性实例包括阿卡糖, emiglitate, miglitol 和 voglibose。缩二脲的非限定性例子包括甲福明, 丁福明和苯乙福明。胰岛素促分泌素包括磺酰脲。胰岛素增感剂的非限定性实例包括过氧化物酶体增殖剂 (proliferator)活化的受体(PPAR)配体诸如 PPAR- γ 激动剂例如 Actos™ 和 Avandia™。

15 本发明的药物制剂包括特别配制成经口、口腔、肠胃外、经皮、吸入、鼻内、肌肉、植入或直肠给药。在各种给药形式中, 一般优选经口给药。对于经口给药来说, 片剂、胶囊和小胶囊可包含常规的赋形剂, 如粘合剂、填充剂、润滑剂、崩解剂和/或润湿剂。粘合剂的非限定性例子包括糖浆、阿拉伯胶、明胶、山梨糖醇、西黄蓍胶、淀粉粘胶或聚乙烯吡咯烷酮(PVP)。填充剂的非限定性例子包括
20 例如乳糖、蔗糖、微晶纤维素、玉米淀粉、磷酸钙或山梨糖醇。润滑剂的非限定性例子包括例如硬脂酸镁、硬脂酸、滑石、聚乙二醇或硅石。崩解剂的非限定性例子包括例如土豆淀粉或葡萄糖酸淀粉钠。润湿剂的非限定性例子包括月桂基硫酸钠。片剂另外可按照本领域
25 人们熟悉的方法包衣。

或者, 本发明的化合物可混入到口服液制剂如水悬浮液或油悬浮液、溶液、乳浊液、糖浆或酏剂中。此外, 含这些化合物的制剂可以干燥产品形式存在, 使用前用水或其它适合溶媒配制。液体制

剂可包含常规的添加剂。这种添加剂的非限定性例子包括悬浮剂，如山梨糖醇糖浆、甲基纤维素、葡萄糖/蔗糖糖浆、明胶、羟乙基纤维素、羧甲基纤维素、硬脂酸铝凝胶或氢化食用油脂。另外，可包括乳化剂诸如卵磷脂、脱水山梨糖醇单油酸酯或阿拉伯胶；非水溶媒(其可包括食用油)，如杏仁油、精馏椰油、油酯、丙二醇或乙醇。5 制剂中还可混入防腐剂诸如对羟基苯甲酸甲酯或丙酯或山梨酸。这种制剂也可配制成例如含常规栓剂基料如椰子油或其它甘油酯的栓剂。

另外，本发明的制剂可配制成供肠胃外的注射或连续灌注给药。10 注射制剂可采用在油或水性溶媒中的悬浮液、溶液或乳状液形式，并且可包含配制剂诸如悬浮剂、稳定剂和/或分散剂。或者，活性剂可以是粉末形式，使用前用适合的溶媒如无菌无致热源的水配制。

按照本发明的制剂也可配制成长效制剂。这种长效制剂可通过例如皮下或肌肉植入或肌肉注射给药。因此，本发明的化合物可用15 适合的聚合物或疏水物质，如在可接受油中的乳状液、离子交换树脂配制或作为微溶衍生物，如微溶盐配制。

药物制剂也可以单位剂型存在，每单位剂量含预定量活性成分。这种单位可根据所治疗的疾病、给药途径、患者年龄、体重和病况包含一定量的本发明化合物。这种量的例子包括含约 0.1-99.9%活性20 成分的制剂。优选的单位剂量制剂是那些含预定剂量，诸如日剂量或其适合分量的活性成分的制剂。这种药物制剂可通过任何药业中所熟悉的方法制备。

本文所用术语“有效量”是指引发例如研究人员或临床医生所研究的组织、系统、动物或人的生物或医疗反应的药物或药物制剂25 的量。此外，术语“治疗有效量”是指与没有接受这种量的相应受试者相比，对疾病、障碍或副作用产生改善的治疗、愈合、预防或好转，或降低疾病恶化速率的量。该术语也包括有效增强正常生理功能的有效量。

本发明化合物的治疗有效量取决于多种因素，包括例如动物的年龄和体重、需要治疗的确切病状和其严重性、制剂的性质和给药途径。治疗效果最终将取决于主治医生或兽医的结论。所述化合物的盐或溶剂合物或药用功能衍生物的有效量可为本发明化合物本身有效量的一定比例。剂量可根据治疗或预防各种代谢病、胃肠病、病毒病和炎症的 DPP-IV 的适当抑制需要而不同，其中所述疾病包括但不限于糖尿病、肥胖症、高脂血症、皮肤病或粘膜疾病、牛皮癣、肠道疾病、便秘、自身免疫病诸如脑脊髓炎、补体介导的疾病，如肾小球性肾炎、脂肪营养不良、组织损伤、身心疾病、抑郁、神经精神疾病(如焦虑、抑郁、失眠症、精神分裂症、癫痫、痉挛和慢性疼痛)、HIV 感染、变态反应、炎症、关节炎、移植排斥、高血压、充血性心力衰竭、肿瘤和紧张性流产，例如细胞因子介导鼠流产。

当本发明的化合物以上述剂量范围给药时，表现出/可预期不产生毒性反应。

下面实施例将举例说明本发明的各个方面，但并不能看作是对其作出限定。在这些方法、图表和实例中所用的符号和约定与用于当代科学文献如 the Journal of the American Chemical Society 或 the Journal of Biological Chemistry 中的一致。除非另外指明，否则所有原料均由商业供应商获得并且没有进一步纯化直接使用。

^1H NMR 光谱在 Varian VXR-300、Varian Unity-300、Varian Unity-400 仪器或 General Electric QE-300 上记录。化学位移以 ppm(δ 单位)表示。偶合常数以赫兹(Hz)为单位。裂解图案描述了表观峰裂数并标记为 s(单峰)、d(双峰)、t(三峰)、q(四峰)、m(多峰)、br(宽峰)。

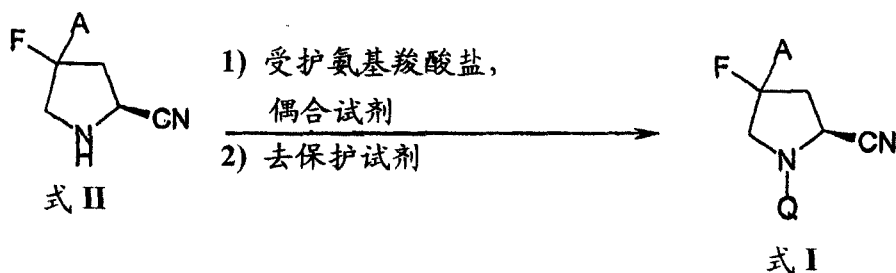
低分辨率质谱(MS)在 JOEL JMS-AX505HA、JOEL AX-102 或 SCIEX-APLiii 质谱仪上记录；高分辨率 MS 使用 JOEL SX-102A 质谱仪获得。所有质谱图均在电喷雾电离(ESI)、化学离子化(CI)、电子轰击(EI)或通过快原子轰击(FAB)方法下获得。红外(IR)谱图在使用 1 mm NaCl 池的 Nicolet 510 FT-IR 光谱仪获得。所有反应均通过在 0.25

mm E. Merck 硅胶板(60F-254)上的薄层层析监测,用紫外光、5%磷钼酸乙醇溶液或对茴香醛乙醇溶液显色观察。快速柱层析在硅胶(230-400目, Merck)上进行。旋光性使用 Perkin Elmer 241 型旋光计获得。熔点使用 Mel-Temp II 装置测定,但未校准。

- 5 本文包括了 IUPAC 名称来进一步确证本发明的具体化合物。但此中所述的 IUPAC 名称并不限定本发明的范围。

实验

- 10 按照本发明以及下面的所述,本发明化合物的一个例子可通过在标准偶合条件(如采用 HATU、DMF、Hunigs 碱)下,使式 II 的化合物与 α -或 β -氨基羧酸盐或与 α -或 β -氨基活化的羧酸盐(本文中两者均通称为氨基羧酸盐)反应来制备。

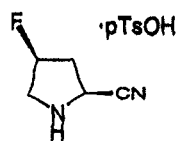


- 15 更具体地说,式 II 的化合物可与氨基羧酸盐反应,其中氨基羧酸盐用合适的保护基,如叔丁基羧基保护基对如 α -氮进行适当地保护。

- 20 在一可替用的实施方案中,式 II 的化合物可与氨基活化的羧酸盐如 N-羟基琥珀酰亚胺酯或酰氯反应,其中氨基活化的羧酸盐用合适的保护基如叔丁基羧基保护基对如 α -氮进行适当地保护。在适合条件下去除保护基,如用三氟乙酸去除叔丁基羧基后得到式(I)化合物。

对于制备用于制备本发明化合物的氨基羧酸盐的更详细资料可参照 WO95/15309 和 WO98/19998(其中相关制备资料均通过引用并入本文)。

中间体实施例 1



(2S,4S)-4-氟-2-吡咯烷甲腈 4-甲基苯磺酸盐

5 A. (2S, 4R)-4-羟基-2-吡咯烷甲酸甲酯盐酸酯

向在冰水浴中冷却的含 L-羟基脯氨酸(62.67 g, 478 mmol)的甲醇溶液(420 mL)滴加硫酰氯(58.6 g, 492.3 mmol)。完成加入后立即在室温下搅拌悬浮液 2 小时。然后将混合物加热回流 6 小时, 然后冷却到室温并真空去除溶剂。在高真空下泵吸残留固体物得到 86.03 g(474
10 mmol, 99%收率)白色固体状的化合物 A。

¹H NMR (d₄-MeOH) 400 MHz δ 4.62-4.57 (m, 2H), 3.85 (s, 3H), 3.43 (dd, 1H, J = 12.2, 3.7 Hz), 3.30 (m, 1H), 2.41 (dd, 1H, J = 13.6, 7.6 Hz), 2.19 (m, 1H) ppm.

B. (2S, 4R)-4-羟基-1,2-吡咯烷二甲酸 1-叔丁酯•2-甲酯

在 0°C 用 1.5 小时向含化合物 A(88.67 g, 0.49 mol)和二碳酸二叔丁酯(109.8 g, 0.50 mol)的二氯甲烷溶液(1.4 L)滴加三乙胺(123.6 g, 1.22 mol)。然后将得到的溶液缓慢加温到室温过夜。真空除去溶剂后向残余固体物加入乙醚。真空过滤收集固体物并用乙醚彻底洗涤。真空去除滤饼中的溶剂并溶解于二氯甲烷中。有机物经饱和氯化钠和饱和碳酸氢钠洗涤后用硫酸镁干燥。过滤并真空去除溶剂得到浅
15 黄色油状物, 高真空抽吸约 15 分钟后固化。向固体加入 500 mL 己烷并搅拌过夜。真空过滤收集固体物, 并在高真空下抽吸得到 104.5 g(0.43 mol, 87%收率)白色固体状化合物 B。

20 ¹H NMR (d₄-MeOH) 400 MHz δ 4.37-4.32 (m, 2H), 3.72-3.71 (m, 3H), 3.51 (m, 1H), 3.43 (m, 1H), 2.23 (m, 1H), 2.02 (m, 1H), 1.42 (m, 9H) ppm.

C. (2S,4S)-4-氟-1,2-吡咯烷二甲酸 1-叔丁酯•2-甲酯.

向冷却到-30°C 的装有化合物 B(124.25 g, 0.51 mol)的 1.25 L 1,2-二氯乙烷溶液的 2 L 烧瓶中加入纯 DAST(125 g, 0.78 mol)。用 1 小时让反应物缓慢升温到-10°C, 此时去除冷浴。在室温下持续搅拌 24 小时, 将深色溶液倾入到两个分别含碎冰和固体碳酸氢钠的 2 L 烧瓶中。将烧瓶定时旋转和搅拌直到无二氧化碳逸出(注意: 定时加入另外的固体碳酸氢钠)。分离有机层并将水层用二氯甲烷萃取。经硫酸镁干燥后, 真空去除溶剂, 将残留的深色油溶解于 200 mL 乙酸乙酯中并然后加入 800 mL 己烷。向该溶液加入 100 g 二氧化硅。搅拌 30 分钟后, 将溶液过滤, 用己烷/乙酸乙酯(4:1, 约 500 mL)洗涤二氧化硅。真空去除溶剂并高真空抽吸过夜, 得到 121.81 g(0.40 mol, 97% 收率)深色油状化合物 C。

¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 5.18 (d(br), 1H, J = 53 Hz), 4.53 (d, 1/2H, J = 9.7 Hz), 4.40 (d, 1/2H, J = 9.4 Hz), 3.87-3.59 (m, 2H), 3.73 (s, 3H), 2.51-2.28 (m, 2H), 1.46 (s, 3H, rotomer), 1.41 (s, 6H, rotomer) ppm.

D. (2S,4S)-1-(叔丁氧基羰基)-4-氟-2-吡咯烷甲酸

在室温下向装有化合物 C(121.8 g, 0.49 mol)的 1.1 L 二噁烷溶液的 2 L 烧瓶中加入 380 mL 水, 接着加入氢氧化锂水合物(103.6 g, 2.46 mol)。将得到的溶液搅拌 23 小时(注意: TLC 分析表明 5 小时后反应完成), 然后真空除去大部分二噁烷。将残留物溶解于另外的水中, 加入活性炭。搅拌 15 分钟后, 将溶液通过硅藻土床过滤。向滤液加入固体氯化钠直到氧化钠不再溶解。然后在冰浴中冷却并用浓盐酸酸化到 pH 为 3, 同时保持溶液温度在 5-10°C 之间。在 pH 为 4 时产物开始沉淀出来, 一旦达到 pH 3, 就将褐色固体物经真空过滤收集。在高真空抽吸过夜后, 将固体物溶解于乙腈(1.5 L)中并经硫酸镁干燥。真空去除溶剂, 并高真空干燥得到 92.7 g(0.40 mol, 81%收率)褐色固体状的化合物 D。

^1H NMR (d_6 -DMSO) 400 MHz δ 12.5 (s(br), 1H), 5.22 (d(br), 1H, $J = 54$ Hz), 4.25 (m, 1H), 3.60-3.43 (m, 2H), 2.45 (m, 1H), 2.20 (m, 1H), 1.33 (m, 9H) ppm.

E.(2S,4S)-2-(氨基羰基)-4-氟-1-吡咯烷甲酸叔丁酯

在室温下向配有空气驱动搅拌器的 2 L 三颈烧瓶中加入化合物 D(92.7 g, 0.40 mol)、乙腈(1.1 L)、二碳酸二叔丁酯(130 g, 0.60 mol)和吡啶(32.4 g, 0.41 mol)。搅拌 20 分钟后, 加入碳酸氢铵(47.2 g, 0.60 mol)。将反应物搅拌 23 小时后, 将大部分乙腈真空去除。残渣溶解于二氯甲烷中, 用 1:1 1M HCl/饱和氯化钠溶液洗涤。然后将水层用二氯甲烷萃取二次。合并的有机层经硫酸镁干燥后真空去除溶剂。棕褐色固体在己烷(约 0.5 L)中研磨并真空过滤收集。高真空抽吸后获得 68.75 g(0.30 mol, 74%收率)棕褐色固体形式的化合物 E。将滤液真空去除溶剂后得到深色油, 经 ^1H NMR 鉴定也显示出含有其它产物。

^1H NMR (d_6 -DMSO) 400 MHz δ 7.21 (s(br), 1/2H), 7.14 (s(br), 1/2H), 6.94 (s(br), 1H), 5.19 (d(br), 1H, $J = 54$ Hz), 4.11 (m, 1H), 3.63-3.47 (m, 2H), 2.38 (m, 1H), 2.11 (m, 1H), 1.39 (s, 3H, rotomer), 1.34 (s, 6H, rotomer) ppm.

F.(2S,4S)-2-氟基-4-氟-1-吡咯烷甲酸叔丁酯

向含咪唑(2.93 g, 43.1 mmol)的烧瓶中加入吡啶(75 g, 0.9 mol, 对酰胺的容重为 15)。然后将溶液冷却到 0°C, 接着搅拌 10 分钟, 一次加入 BOC-4-氟脯氨酸酰胺(5.0 g, 21.6 mmol)。然后将溶液冷却到 -30°C(注意: 在该温度以下可能导致形成多相溶液), 用 5 分钟滴加 POCl_3 (13.2 g, 86.4 mmol)。完成添加后, 用冰水浴代替干冰丙酮浴并在 0°C 继续搅拌 1 小时, 然后将其倾入到碎冰、固体氯化钠和乙酸乙酯混合物中。分离有机层并将水层用乙酸乙酯萃取二次。真空除去溶剂(注意: 保持旋转蒸发器水浴温度 <35°C)并将残渣溶解于乙酸乙酯中。有机层用饱和氯化钠和 1 M HCl 洗涤两次。经硫酸镁干燥

后, 真空去除溶剂得到 4.0 g(18.6 mmol, 86%收率)淡褐色固体物形式的化合物 F。

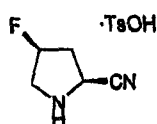
^1H NMR (d_4 -MeOH) 400 MHz δ 5.32 (d(br), 1H, $J = 52$ Hz), 4.78 (m, 1H), 3.74-3.48 (m, 2H), 2.55-2.40 (m, 2H), 1.52-1.43 (m, 9H) ppm.

5 G.(2S,4S)-4-氟-2-吡咯烷甲腈 4-甲基苯磺酸盐

在室温下向含化合物 F(56.62 g, 0.26 mol)的乙腈溶液(1 L)加入对甲苯磺酸水合物(75.4 g, 0.40 mol)。24 小时后, 真空去除乙腈, 然后将残留的棕色油溶解于 500 mL 乙酸乙酯中。1 分钟内固体物沉淀出来, 将溶液在冰水浴中冷却, 搅拌 1 小时后固体物经真空过滤收集。收集的固体物用冷(约 20°C)乙酸乙酯(约 500 mL)洗涤, 然后在高真空抽吸过夜得到 60.94 g(0.21 mol, 82%收率)淡褐色固体物形式的化合物 G。

^1H NMR (d_4 -MeOH) 400 MHz δ 7.69 (d, 2H, $J = 8.1$ Hz), 7.23 (d, 2H, $J = 8.0$ Hz), 5.52 (dd, 1H, $J = 51, 3.4$ Hz), 4.96 (dd, 1H, $J = 9.8, 3.6$ Hz), 3.78 (m, 1H), 3.55 (m, 1H), 2.84-2.63 (m, 2H), 2.36 (s, 3H) ppm.

15 中间体实施例 1 的另一途径



(2S,4S)-4-氟-2-吡咯烷甲腈 4-甲基苯磺酸盐

(2S,4R)-2-(氨基羰基)-4-羟基吡咯烷-1-甲酸叔丁酯

20 向冷却到 -15°C 的含 BOC-L-羟基脯氨酸(30.0 g, 129 mmol)和三乙胺(14.4 g, 141.9 mmol)的四氢呋喃溶液(420 mL)中滴加氯甲酸乙酯(15.4 g, 141.9 mmol)。将得到的溶液搅拌 10 分钟, 加入 80 mL 28% 氢氧化铵。用 2 小时让反应物缓慢升温到 5°C , 加入饱和氯化铵直到全部白色固体物溶解。分离四氢呋喃并用四氢呋喃萃取水层。将合

并的有机层经硫酸镁干燥并真空去除溶剂。残留的油用乙醚和少量二氯甲烷和甲醇处理。在冰柜存放 1 小时后, 真空过滤收集形成的白色固体, 获得 22.0 g(95.6 mmol, 74%收率)化合物 A。

^1H NMR (d_6 -DMSO) 400 MHz δ 7.33-7.29 (d(br), 1H, rotomers), 6.88-6.80 (d(br), 1H, rotomers), 4.94 (s(br), 1H), 4.18 (s(br), 1H), 4.04 (m, 1H), 3.35 (m, 1H), 3.21 (m, 1H), 1.99 (m, 1H), 1.77 (m, 1H), 1.36-1.31 (d, 9H, rotomers) ppm.

5

B.(2S, 4R)-2-氟基-4-羟基吡咯烷-1-甲酸叔丁酯

向冷却到-20℃的含化合物 A(17.89 g, 77.8 mmol)的吡啶溶液(180 mL)滴加三氟乙酸酐(40.8 g, 194.4 mmol)。完成添加后, 让反应物升温到室温。6 小时后, 用水猝灭反应, 并倾入到乙酸乙酯(约 500 mL)中。有机物用饱和氯化钠、1.0 M HCl 和 2.0 M NaOH 洗涤, 接着经硫酸镁干燥。向滤液加入活性炭, 搅拌 10 分钟后将溶液通过硅藻土床过滤。真空去除溶剂(旋转蒸发器温度为 34℃), 得到 13.21 g(62.3 mmol, 80%收率)橙色油状的化合物 B。

10

^1H NMR (d_4 -MeOH) 400 MHz δ 4.60 (m, 1H), 4.40 (s(br), 1H), 3.49 - 3.41 (m, 2H), 2.36 - 2.34 (m, 2H), 1.51-1.48 (m, 9H, rotomers)

15

C.(2S,4S)-2-氟基-4-氟-1-吡咯烷甲酸叔丁酯

向冷却到-30℃的含化合物 B(13.21 g, 62.3 mmol)的 1,2-二氯乙烷溶液(300 mL)加入 DAST(15.1 g, 93.4 mmol)。30 分钟后, 除去冷浴并继续搅拌 24 小时, 然后小心用饱和碳酸氢钠猝灭反应。将溶液倾入到碎冰中并用二氯甲烷萃取有机物(两次)。最终用饱和硫酸氢铵洗涤后, 有机物经硫酸镁干燥并真空去除溶剂得到 10.86 g(50.7 mmol, 81%收率)棕色半固体状的化合物 C。

20

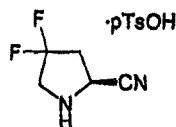
^1H NMR (d_4 -MeOH) 400 MHz δ 5.32 (d(br), 1H, $J = 52$ Hz), 4.78 (m, 1H), 3.74-3.48 (m, 2H), 2.55-2.40 (m, 2H), 1.52-1.43 (m, 9H) ppm.

D.(2S,4S)-4-氟-2-吡咯烷甲腈 4-甲基苯磺酸盐

在室温下向含化合物 C(10.86 g, 50.7 mmol)的乙腈溶液(200 mL)加入对甲苯磺酸(14.8 g, 78 mmol)。将得到的溶液搅拌 24 小时后即真空去除乙腈。将残留棕色油溶解于乙酸乙酯(300 mL)中, 在 1 分钟内沉淀出固体物。将溶液在冰浴中冷却 2 小时, 真空过滤收集固体物。将其用 300 mL 冷(-20℃)乙酸乙酯洗涤得到 10.07 g(35.2 mmol, 69%收率)化合物 D。

¹H NMR (d₄-MeOH) 400 MHz δ 7.69 (d, 2H, J = 8.1 Hz), 7.23 (d, 2H, J = 8.0 Hz), 5.52 (dd, 1H, J = 51, 3.4 Hz), 4.96 (dd, 1H, J = 9.8, 3.6 Hz), 3.78 (m, 1H), 3.55 (m, 1H), 2.84-2.63 (m, 2H), 2.36 (s, 3H) ppm.

10 中间体实施例 2



(2S)-4,4-二氟-2-吡咯烷甲腈 4-甲基苯磺酸盐

A.(2S,4S)-2-(氨基羧基)-4-羟基-1-吡咯烷甲酸叔丁酯

向冷却到-15℃的含 BOC-L-羟基脯氨酸(30.0 g, 129 mmol)和三乙胺(14.4 g, 141.9 mmol)的四氢呋喃溶液(420 mL)中滴加氯甲酸乙酯(15.4 g, 141.9 mmol)。将得到的白色溶液在-15℃搅拌 30 分钟, 然后通过注射器加入 80 mL 28%氢氧化铵溶液。完成添加后, 除去冷浴并继续搅拌 19 小时。将均相溶液倾入到饱和氯化铵中并分离出有机层。水层用四氢呋喃萃取, 然后将合并的有机层经硫酸镁干燥。真空除去溶剂并通过高真空抽吸所得半固体 2 小时。真空过滤收集得到的白色固体, 用乙醚洗涤, 得到 15.86 g(68.9 mmol, 53%收率)化合物 A。

¹H NMR (d₆-DMSO) 400 MHz δ 7.34 (s(br), 1H, rotomer), 7.31 (s(br), 1H, rotomer), 6.90 (s(br), 1H, rotomer), 6.82 (s(br), 1H, rotomer), 4.95 (d, 1H, J = 3.1 Hz), 4.05 (m, 1H), 3.36 (m, 1H), 3.22 (m, 1H), 2.03 (m, 1H), 1.78 (m, 1H), 1.37 (s, 3H, rotomer), 1.32 (s, 6H, rotomer) ppm.

B.(2S)-2-(氨基羰基)-4-氧代-1-吡咯烷甲酸叔丁酯

向冷却到-78℃的含草酰氯(607 mg, 4.78 mmol)的二氯甲烷溶液(12 mL)加入含 DMSO 的二氯甲烷溶液(3 mL)。5 分钟后, 滴加 (2S,4S)-2-(氨基羰基)-4-羟基-1-吡咯烷甲酸叔丁酯(1.0 g, 4.35 mmol, 如上述步骤 E 所述)在二氯甲烷/四氢呋喃(20 mL/15 mL)中的溶液。完成添加后, 将反应物搅拌 20 分钟, 加入三乙胺(2.20 g, 21.7 mmol)。10 分钟后, 除去冷浴并继续搅拌 1 小时。将溶液倾入到饱和碳酸氢钠溶液中, 用二氯甲烷萃取有机物。经硫酸镁干燥后, 真空除去溶剂, 将残留黄色油经柱层析(二氯甲烷/甲醇(15:1))纯化而得到 560 mmol (2.45 mmol, 56%收率)化合物 B 的白色固体物。

¹H NMR (d₆-DMSO) 400 MHz δ 7.58 (s(br), 1H), 7.15 (s(br), 1H, rotomer), 7.09 (s(br), 1H, rotomer), 4.51 (d, 1H, J = 9.7 Hz, rotomer), 4.46 (d, 1H, J = 8.8 Hz, rotomer), 3.76-3.64 (m, 2H), 3.02 (m, 1H), 2.28 (m, 1H), 1.39 (s, 3H, rotomer), 1.37 (s, 6H, rotomer) ppm.

15 C.(2S)-2-(氨基羰基)-4,4-二氟-1-吡咯烷甲酸叔丁酯

向冷却到-70℃的含化合物 B(423 mg, 1.85 mmol)的二氯甲烷溶液(10 mL)加入 DAST(889 mg, 5.50 mmol)。将得到的溶液在-70℃搅拌 30 分钟, 然后在室温下搅拌 2 小时。用饱和碳酸氢钠猝灭反应, 并用二氯甲烷萃取有机物。经硫酸镁干燥后, 将留下的黄色固体经柱层析(二氯甲烷/甲醇(15:1))纯化, 得到 211 mg(0.84 mmol, 46%收率)化合物 C。

¹H NMR (d₄-MeOH) 400 MHz δ 4.38 (m, 1H), 3.84-3.75 (m, 2H), 2.76 (m, 1H), 2.41 (m, 1H), 1.44 (s(br), 9H) ppm.

D.(2S)-2-氰基-4,4-二氟-1-吡咯烷甲酸叔丁酯.

向冷却到-35℃的含化合物 C(658 mg, 2.63 mmol)和咪唑(358 mg, 5.26 mmol)的吡啶溶液(20 mL)加入 POCl₃(1.61 g, 10.5 mmol)。将得到的淤浆搅拌 1.5 小时, 然后加温到 10℃。将溶液用乙酸乙酯稀释并用 1 M HCl 洗涤 3 次。经硫酸镁干燥后, 真空除去溶剂, 得到 610 mg(2.63 mmol, 100%收率)化合物 D, 该产物直接用于 E(下面)。

¹H NMR (d₄-MeOH) 400 MHz δ 4.88 (s(br), 1H), 3.79-3.72 (m, 2H), 2.87 (m, 1H), 2.69 (m, 1H), 1.50 (s, 9H) ppm.

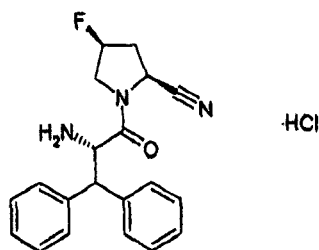
E.(2S)-4,4-二氟-2-吡啶甲腈 4-甲基苯磺酸盐

在室温下向含化合物 D(512 mg, 2.21 mmol)的乙腈溶液(15 mL)加入对甲苯磺酸水合物(839 mg, 4.42 mmol)。将得到的溶液搅拌 2 小时后真空去除乙腈。向残留的油加入乙酸乙酯(约 10 mL), 然后真空除去。得到的固体物在乙醚中研磨, 接着加入乙酸乙酯。经真空过滤收集固体物, 得到 375 mg(1.23 mmol, 56%收率)化合物 E 的白色固体。

¹H NMR (d₄-MeOH) δ 400 MHz δ 7.70 (d, 2H, J = 8.2 Hz), 7.23 (d, 2H, J = 7.9 Hz), 5.12 (t, 1H, J = 7.9 Hz), 3.91-3.78 (m, 2H), 3.08-2.89 (m, 2H), 2.89 (s, 3H), 2.36 (s, 9H) ppm.

实施例

实施例 1



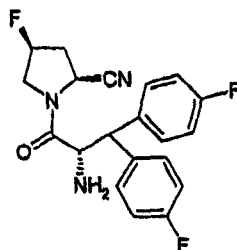
(2S,4S)-1-[(2S)-2-氨基-3,3-二苯基丙酰基]-4-氟代吡咯烷-2-甲腈
盐酸盐

A.(2S,4S)-1-[(2S)-2-氨基-3,3-二苯基丙酰基]-4-氟代吡咯烷-2-甲腈
盐酸盐.

- 5 向无水二甲基甲酰胺(DMF, 25 mL)加入(2S)-2-[(叔丁氧基羰基)氨基]-3,3-二苯基丙酸(1.96 g, 6.0 mmol)、HATU(2.28 g, 6.0 mmol)和N,N-二异丙基乙胺(1.05 mL, 6.0 mmol)。在室温下搅拌30分钟后,加入(2S,4S)-4-氟-2-吡咯烷甲腈 4-甲基苯磺酸盐(1.31 g, 4.5 mmol)和N,N-二异丙基乙胺(0.783 mL, 4.5 mmol)。在室温下将溶液搅拌12小
10 时,然后加入饱和碳酸氢钠溶液(110 mL)。将混合物用乙酸乙酯(2 × 100 mL)萃取,将有机物用饱和氯化钠(100 mL)洗涤、经硫酸镁干燥并浓缩至干而得到粗制固体物。将这种固体物进行层析(硅胶,己烷/乙酸乙酯 4:1)而得到固体物,将所得固体物在二噁烷-HCl(4.0 M, 2.0 mL)溶液中搅拌2小时,接着加入乙醚(100 mL)。过滤收集得到沉淀
15 物,在高真空下干燥,得到1.36 g(3.64 mmol, 81%收率)化合物A的白色固体。

¹H NMR (d₆-DMSO) 400 MHz δ 8.45-8.41 (s(br), 3H), 7.70 (m, 2H), 7.38-7.36 (m, 2H), 7.29-7.26 (m, 3H), 7.24-7.18 (m, 3H), 5.39 (d, 1H, J = 51 Hz), 4.89-4.85 (m, 2H), 4.38 (d, 1H, J = 11.3 Hz), 3.98 (ddd, 1H, J = 38.8, 12.4 & 3.1 Hz), 3.39-3.33 (m, 1H), 2.30-2.18 (m, 2H) ppm.

实施例2



(2S,4S)-1-[(2S)-2-氨基-3,3-双(4-氟苯基)丙酰基]-4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐

A. 3,3-双(4-氟苯基)-3-羟基丙酸

5 在 0℃向正丁锂(46 mL 2.5 M 溶液, 115 mmol)无水四氢呋喃(80 mL)溶液滴加二异丙胺(11.13 g, 115 mmol)并将溶液搅拌 10 分钟。将溶液保持在 0℃下, 滴加乙酸(2.64 g, 44 mmol), 将混合物搅拌 10 分钟, 然后在 50℃下加热。30 分钟后形成许多沉淀, 冷却溶液。在 0℃下加入 4,4'-二氟二苯酮(9.6 g, 0.044 mol)的四氢呋喃(50 mL, 无水)溶液, 将溶液在室温下搅拌过夜。加入水(100 mL)和乙醚(100 mL),
10 分离水层并用 1 M HCl 酸化到 pH 为 3。用乙酸乙酯萃取有机物(3 × 200 mL), 接着用硫酸镁干燥。过滤并真空去除溶剂, 得到粗制白色固体物, 可用冷三氯甲烷洗涤来去除痕量二苯酮。将固体物在高真空下干燥得到 5.63 g(20.2 mmol, 46%收率)化合物 A 可白色固体。

¹H NMR (d₆-DMSO) 400 MHz δ 12.4 (s(br), 1H), 7.48-7.39 (m, 4H), 7.19-7.02 (m, 4H), 5.91 (s(br), 1H), 3.25 (s, 2H) ppm.

15

B. 3,3-双(4-氟苯基)丙烯酸

向 20%硫酸的乙酸溶液(50 mL, V/V)中加入化合物 A(5.6 g, 20.2 mmol), 并在室温下搅拌混合物 30 分钟。向该溶液加入水(500 mL), 用乙酸乙酯(3 × 150 mL)萃取有机物, 接着经硫酸镁干燥。过滤并真
20 空去除溶剂得到白色固体。将固体物在高真空下干燥, 得到 4.97 g(19.1 mmol, 95%收率)化合物 B 的白色固体。

¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 7.27-7.21 (m, 2H), 7.19-7.13 (m, 2H), 7.10-6.95 (m, 4H), 6.26 (s, 1H) ppm.

C. 3,3-双(4-氟苯基)丙酸

25 向化合物 B(2.5 g, 9.61 mmol)的乙酸乙酯(250 mL)溶液加入 10% 钨钼碳(50% w/w), 在 1 大气压氢气压力下氢化 12 小时。将该多相

溶液经硅藻土过滤并真空浓缩滤液得到黄色油状物。将该油状物在高真空下干燥得到 2.40 g(9.16 mmol, 95%收率)化合物 C 的黄色油状物。

^1H NMR (d_6 -DMSO) 400 MHz δ 12.08 (brs, 1H), 7.40-7.30 (m, 4H), 7.15-7.05 (m, 4H), 4.45 (t, 1H, $J = 8.1$ Hz), 3.05(d, 2H, $J = 8.1$ Hz) ppm.

5

D.(4S,5R)-3-[3,3-双(4-氟苯基)丙酰基]-4-甲基-5-苯基-1,3-噁唑烷-2-酮

向化合物 C(2.0 g, 7.63 mmol)的四氢呋喃(50 mL, 无水)加入 N,N-二异丙基乙胺(1.18 g, 9.16 mmol), 然后将溶液冷却到 -78°C 。向该溶液加入三甲基乙酰氯(0.97 g, 8.01 mmol)并用 1 小时让溶液升温到 0°C 。将浑浊混合物过滤并在 -78°C 下用 10 分钟缓慢将滤液加入到锂化 (4S, 5R)-(-)-4-甲基-5-苯基-2-噁唑烷酮[其通过在 -78°C 将正丁锂(3.0 mL 2.5 M 溶液, 7.63 mmol)滴加到已经搅拌 10 分钟的(4S, 5R)-(-)-4-甲基-5-苯基-2-噁唑烷酮(1.35 g, 7.63 mmol)来制备]中。将黄色混合物升温到 0°C 并用水(50 mL)猝灭, 用乙醚(3×250 mL)萃取, 接着经硫酸镁干燥。过滤并真空除去溶剂得到固体物。快速层析(硅胶, 20%乙酸乙酯/己烷)纯化得到化合物 D。将白色固体在高真空下干燥, 得到 2.31 g(5.49 mmol, 72%收率)白色固体。

10
15

^1H NMR (d_6 -DMSO) 400 MHz δ 7.40-7.25 (m, 9H), 7.18-7.02 (m, 4H), 5.76 (d, 1H, $J = 7.6$ Hz), 4.65 (m, 1H), 4.58 (t, 1H, $J = 7.6$ Hz), 3.72 (dd, 1H, $J = 16.8, 7.0$ Hz) 3.57 (dd, 1H, $J = 16.8, 7.0$ Hz), 0.58 (d, 3H, $J = 6.7$ Hz) ppm.

20

E.(4S,5R)-3-[(2S)-2-叠氮基-3,3-双(4-氟苯基)丙酰基]-4-甲基-5-[(1E, 3Z)-1-甲基己-1,3,5-三烯基]-1,3-噁唑烷-2-酮

在 -78°C 向化合物 D(2.0 g, 4.75 mmol)的四氢呋喃溶液(50 mL, 无水)滴加二(三甲基甲硅烷基)氨基化钾(10.0 mL 0.5 M 甲苯溶液, 4.98 mmol)。搅拌 10 分钟后, 一次性加入在无水四氢呋喃(10 mL)中的 2,4,6-

25

三异丙基苯磺酰基叠氮化物(1.84 g, 5.94 mmol)。3 分钟后, 在-78℃加入乙酸(1.31 g, 21.8 mmol)并快速将反应物加温到 30℃, 在该温度下搅拌 1 小时, 产生淡黄色溶液。向该溶液加入水(100 mL)并用乙酸乙酯(500 mL)萃取有机物。用饱和碳酸氢钠(100 mL)洗涤后, 经硫酸镁干燥, 真空除去溶剂而得到黄色油状物。经柱层析(乙酸乙酯/己烷 1:9)纯化得到白色固体状化合物 E。HPLC 分析表明为单一非对映异构体。将白色固体在高真空下干燥得到 1.71 g(3.70 mmol, 78%收率)白色固体。

¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 7.42-7.35 (m, H), 7.25-7.18 (m, H), 7.10-7.06 (m, 2H), 7.05-6.92 (m, 2H), 5.95 (d, 1H, J = 10.8 Hz), 5.05 (d, 1H, J = 7.1 Hz), 4.60 (d, 1H, J = 10.8 Hz), 4.38 (m, 1H), 0.95 (d, 3H, J = 6.8 Hz) ppm.

10

F.(2S)-2-叠氮基-3,3-双(4-氟苯基)丙酸

在 0℃向化合物 E(1.5 g, 3.25 mmol)的 THF/H₂O(4:1, 50 mL)溶液加入氢氧化锂(0.272 g, 6.49 mmol)在过氧化氢(1.50 mL 30%水溶液, 48.75 mmol)中的溶液。将混合物在 0℃搅拌 1 小时, 然后用硫酸钠(6.3 g, 50 mL 1.0 M 水溶液)猝灭。真空去除 THF, 在 0℃将溶液用 6.0 M HCl 酸化到 pH 1。有机物用乙酸乙酯(2 × 200 mL)萃取, 接着经硫酸镁干燥。过滤并真空去除溶液得到透明油状物。柱层析(乙酸乙酯/己烷/乙酸 50:50:1)纯化后得到化合物 F 的白色固体。将固体在高真空下干燥, 得到 0.78 g(2.60 mmol, 80%收率)的白色固体。

15

¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 9.60(s(br), 1H), 7.25-7.10 (m, 4H), 7.10-6.95 (m, 4H), 4.50 (d, 2H, J = 8.6 Hz) ppm.

20

G.(2S)-2-氨基-3,3-双(4-氟苯基)丙酸

向化合物 F(1.5 g, 4.95 mmol)的乙酸乙酯(250 mL)溶液加入 10% 披钨碳(10% w/w), 在 1 大气压氢气压力下氢化 12 小时。将该多相溶液经硅藻土(1 g)过滤并将滤液真空浓缩, 得到透明油状物。将该油

25

状物在高真空下干燥, 得到 1.30 g(4.70 mmol, 95%收率)白色固体状化合物 G。

$^1\text{H NMR}$ (d_6 -DMSO) 400 MHz δ 10.2(s(br), 1H), 7.38-7.27(m, 4H), 7.08-6.98 (m, 4H), 4.25 (d, 1H, $J = 8.3$ Hz), 3.95 (d, 1H, $J = 8.3$ Hz) ppm.

5 H.(2S)-2-[(叔丁氧基羰基)氨基]-3,3-双(4-氟苯基)丙酸

向化合物 G(1.30 g, 4.69 mmol)的二氯甲烷(150 mL)溶液加入三乙胺(2.37 g, 23.4 mmol)和二碳酸二叔丁酯(1.23 g, 5.63 mmol)。搅拌 12 小时后, 加入水(50 mL)和二氯甲烷(300 mL)并将溶液用 1.0 M HCl 酸化到 pH 为 3。分离乙酸乙酯层后, 经硫酸镁干燥并真空去除溶剂得到透明油状物。将该油状物在高真空下干燥得到 1.68 g(4.4 mmol, 95%收率)化合物 H 的白色固体。

$^1\text{H NMR}$ (d_6 -DMSO) 400 MHz δ 12.4 (s(br), 1H), 7.35-7.22 (m, 4H), 7.15-6.95 (m, 4H), 4.78 (t, 1H, $J = 8.9$ Hz), 4.25 (d, 1H, $J = 8.9$ Hz), 3.05 (m, 1H), 1.20 (s, 3H), 1.15 (s, 6H) ppm.

15 I.(2S,4S)-1-[(2S)-2-(叔丁氧基羰基)氨基-3,3-双(4-氟苯基)丙酰基]-4-氟代吡咯烷-2-甲腈。

向化合物 H(1.0 g, 2.65 mmol)和 HATU(1.0 g, 2.65 mmol)的二甲基甲酰胺(DMF)溶液(25 mL, 无水)加入 N,N-二异丙基乙胺(0.462 mL, 2.65 mmol), 30 分钟后加入(2S,4S)-4-氟-2-吡咯烷甲腈 4-甲基苯磺酸盐(0.619 g, 2.12 mmol)和另外的 N,N-二异丙基乙胺(0.37 mL, 2.12 mmol)。在室温下将该溶液搅拌 12 小时, 然后加入饱和碳酸氢钠(100 mL)。将形成的胶状混合物用乙酸乙酯(3×100 mL)萃取, 并将有机物用饱和氯化钠溶液(50 mL)洗涤, 接着经硫酸镁干燥。过滤并真空去除溶剂后得到透明油状物。将该油状物经硅胶层析(己烷/乙酸乙酯 4:1)纯化得到白色固体。将该固体在高真空下干燥, 得到 815 mg(1.72 mmol, 65%收率)白色固体状的化合物 I。

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7.38-7.32 (m, 2H), 7.21-7.15 (m, 2H), 7.12-6.98(m, 4H), 5.15 (d, 1H, $J = 51$ Hz), 5.03 (d, 1H, $J = 8.9$ Hz), 4.89 (d, 1H, $J = 11.2$ Hz), 4.86 (d, 1H, $J = 8.9$ Hz), 4.40 (d, 1H, $J = 11.2$ Hz), 3.83 (ddd, 1H, $J = 36.8, 12.1, 3.7$ Hz), 3.05 (d, 1H, $J = 12.2$ Hz), 2.62 (t, 1H, $J = 15.3$ Hz), 2.25 (m, 1H), 1.38 (s, 9H) ppm.

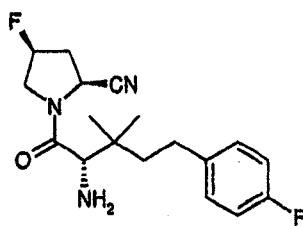
J.(2S,4S)-1-[(2S)-2-氨基-3,3-双(4-氟苯基)丙酰基]-4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐

5 向化合物 I(0.5 g, 1.05 mmol)加入 4.0 N HCl 的 1,4-二噁烷溶液(10 mL, 40 mmol)并在 3 小时后加入乙醚(100 mL)。通过过滤收集形成的沉淀并在高真空下干燥后获得 0.41 g(1.0 mmol, 95%收率)白色固体状化合物 A。

^1H NMR (d_6 -DMSO) 400 MHz δ 8.42 (s(br), 3H), 7.72-7.66 (m, 2H), 7.38-7.32 (m, 2H), 7.25-7.19 (m, 2H), 7.06-7.0 (m, 2H), 5.38 (d, 1H, $J = 51$ Hz), 4.91 (d, 2H, $J = 8.8$ Hz), 4.82 (d, 1H, $J = 11.3$ Hz), 4.41 (d, 1H, $J = 11.3$ Hz), 3.86 (ddd, 1H, $J = 39.2, 12.4, 3.1$ Hz), 3.45 (q, 1H, $J = 12.4$ Hz), 2.38-2.20 (m, 2H) ppm.

10

实施例 3



15 (2S,4S)-1-[(2S)-2-氨基-5-(4-氟苯基)-3,3-二甲基戊酰基]-4-氟-2-吡咯烷甲腈盐酸盐

A. 4-(4-氟苯基)-2,2-二甲基丁醛

向冷却到 -78°C 的装有 4-(4-氟苯基)-2,2-二甲基丁腈(该化合物的制备参见: Knochel, P.等人, Org. Lett. 2000, 2, 3285;)(13.4 g, 70.2 mmol) 的 300 mL 甲苯的烧瓶中加入 70.2 mL 1.5 M DIBAL(105.3 mmol)的甲

苯溶液。2.5 小时后, 逐渐加入含 17.9 g 乙酸钠和 17.9 mL 乙酸的水/THF(250 mL/50 mL)溶液。完成添加后, 加入硅藻土和乙醚, 让烧瓶升温到室温。搅拌 1 小时后, 将多相溶液通过硅藻土床过滤。硅藻土用乙醚洗涤, 然后将滤液用水洗涤。经硫酸镁干燥后, 真空除去溶剂并将残余油状物经柱层析(5% 乙酸乙酯/己烷)纯化, 得到 11.3 g(58.2 mmol, 83%收率)化合物 A。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) 400 MHz δ 9.47 (s, 1H), 7.12 – 7.10 (m, 2H), 7.09 – 6.93 (m, 2H), 2.51 – 2.47 (m, 2H), 1.77 – 1.72 (m, 2H), 1.12 (s, 6H) ppm.

B. 5-(4-氟苯基)-3,3-二甲基-2-({(1R)-1-苯基-2-[(三甲基甲硅烷基)氧基]乙基}氨基)戊腈

室温下向化合物 A(9.07 g, 46.8 mmol)的二氯甲烷(250 mL)溶液加入(R)-苯基甘氨酸(glycinol)(6.41 g, 46.8 mmol)。将得到的溶液搅拌 1.5 小时, 然后冷却到 0°C 并加入三甲基甲硅烷基氰化物(9.28 g, 93.5 mmol)。将黄色溶液缓慢升温到室温过夜。然后用饱和硫酸氢钠猝灭并将有机层分离。有机物用水洗涤并用硫酸镁干燥, 用活性炭脱色。通过硅藻土过滤后, 将黄色油通过柱层析(己烷/乙酸乙酯 9:1)纯化, 得到 11.9 g(28.9 mmol, 62%收率)化合物 B, 为 6:1 非对映体的混合物形式。

主要非对映体异构体: $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) 400 MHz δ 7.38 – 7.29 (m, 5H), 7.11 – 7.07 (m, 2H), 6.98 – 6.93 (m, 2H), 4.03 (dd, 1H, $J = 9.95, 3.8$ Hz), 3.68 (m, 1H), 3.52 (t, 1H, $J = 10.2$ Hz), 3.06 (d, 1H, $J = 13.4$ Hz), 2.44 – 2.34 (m, 3H), 1.73 – 1.65 (m, 2H), 1.11 (s, 3H), 1.09 (s, 3H), 0.14 (s, 9H) ppm.

C. 5-(4-氟苯基)-2-{{(1R)-2-羟基-1-苯乙基}氨基}-3,3-二甲基戊腈

室温下向化合物 B(11.85 g, 28.8 mmol)的甲醇溶液(300 mL)加入氯化钾(16.7 g, 287.6 mmol)。将溶液搅拌 1.5 小时, 然后真空除去大部分甲醇。加入二氯甲烷和水并分离有机层。经硫酸镁干燥后, 真

空除去溶剂并将得到的残留油经柱层析(己烷/乙酸乙酯(4:1))纯化,得到 8.86 g(26.1 mmol, 90%收率)化合物 C, 为 6:1 非对映体混合物的形式。

主要非对映体异构体: $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) 400 MHz δ 7.38 – 7.30 (m, 5H), 7.10 – 7.06 (m, 2H), 6.97 – 6.92 (m, 2H), 4.06 (dd, 1H, $J = 9.5, 4.0$ Hz), 3.79 (m, 1H), 3.58 (m, 1H), 3.07 (d, 1H, $J = 12.5$ Hz), 2.43 – 2.30 (m, 3H), 1.95 (dd, 1H, $J = 7.8, 4.1$ Hz), 1.74 – 1.64 (m, 2H), 1.11 (s, 3H), 1.09 (s, 3H) ppm.

5

D. 5-(4-氟苯基)-3,3-二甲基-2-{[(E)-苯基亚甲基]氨基}戊腈

向冷却到 0℃ 的化合物 C(494 mg, 1.45 mmol)的二氯甲烷(10 mL)/甲醇(4 mL)溶液加入四乙酸铅(838 mg, 1.89 mmol)。将得到的溶液搅拌过夜, 然后升温到环境温度。向该溶液加入 20 mL pH 7.2 磷酸盐缓冲液。30 分钟后, 将浑浊溶液通过硅藻土床过滤, 将硅藻土用二氯甲烷彻底洗涤。向滤液加入水后分离出有机层, 水层用二氯甲烷萃取, 随后将合并的有机层经硫酸镁干燥。真空除去溶剂后将残留油经柱层析(己烷/乙酸乙酯(9:1))纯化, 得到 270 mg(0.88 mmol, 60%收率)化合物 D。

10

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) 400 MHz δ 8.50 (d, 1H, $J = 1.4$ Hz), 7.81 – 7.80 (d, 2H, $J = 6.6$ Hz), 7.54 – 7.43 (m, 3H), 7.17 – 7.13 (m, 3H), 6.99 – 6.94 (m, 2H), 4.48 (s, 1H), 2.68 – 2.64 (m, 2H), 1.81 – 1.74 (m, 2H), 1.19 (s, 3H), 1.15 (s, 3H) ppm.

15

E. 5-(4-氟苯基)-3,3-二甲基正缬氨酸盐酸盐

向含化合物 D(268 mg, 0.87 mmol)的烧瓶加入 7 mL 浓盐酸。将溶液加热回流 18 小时, 然后冷却并用乙醚萃取。真空去除去除水层中的溶剂, 将残留油性固体溶解于乙醚/甲醇中并用活性炭脱色。过滤后真空除去溶剂, 残留物在乙醚中研磨并真空除去溶剂, 得到 180 mg(0.65 mmol, 75%收率)粗制油状固体形式的化合物 E。

20

¹H NMR (d₄-MeOH) 400 MHz δ 7.25 – 7.20 (m, 2H), 7.01 – 6.95 (m, 2H), 4.45 (s(br), 1H),
2.67 – 2.63 (m, 2H), 1.76 – 1.72 (m, 2H), 1.22 – 1.13 (m, 6H).

F. N-(叔丁氧基羰基)-5-(4-氟苯基)-3,3-二甲基正缬氨酸

室温下向化合物 E(180 mg, 0.65 mmol)的二噁烷溶液(5 mL)加入
5 2.5 mL 2M NaOH 溶液。然后向得到的溶液加入二碳酸二叔丁酯(284
mg, 1.34 mmol)。搅拌过夜后, 将溶液用 1.0 M HCl 酸化。将有机物
用乙酸乙酯萃取两次, 经硫酸镁干燥并真空除去溶剂。残留油经柱
层析(5% 甲醇/二氯甲烷)纯化得到 76 mg(0.22 mmol, 34%收率)化合物
F。

¹H NMR (d₄-MeOH) 400 MHz δ 7.18 – 7.15 (m, 2H), 6.96 – 6.92 (m, 2H), 6.62 (d, 1H, J =
9.3 Hz), 4.18 (d, 1H, J = 9.5 Hz), 2.65 – 2.58 (m, 2H), 1.62 – 1.53 (m, 2H), 1.44 (s, 9H), 1.05
10 (s, 3H), 1.01 (s, 3H) ppm.

G.(1S)-1-{[(2S,4S)-2-氟基-4-氟代吡咯烷基]羰基}-4-(4-氟苯基)-
2,2-二甲基丁基氨基甲酸叔丁酯

室温下向化合物 F(172 mg, 0.51 mmol)的二甲基甲酰胺溶液(4 mL)
15 加入二异丙基乙胺(98 mg, 0.76 mmol), 接着加入 HATU(213 mg, 0.56
mmol)。15 分钟后, 加入(2S,4S)-4-氟-2-吡咯烷甲腈 4-甲基苯磺酸盐(153
mg, 0.53 mmol)和二异丙基乙胺(68 mg, 0.53 mmol)的二甲基甲酰胺(2
mL)溶液。将反应物搅拌过夜, 然后将其倾入到乙酸乙酯中。将有机
物用水(两次)、饱和碳酸氢钠溶液和饱和硫酸氢钠溶液洗涤。经硫酸
20 镁干燥后, 真空除去溶剂, 残留黄色油经柱层析(2% 甲醇/二氯甲烷)
纯化, 得到 147 mg 粗制化合物 G, 其经半制备 HPLC 进一步纯化而
得到 80 mg 化合物 G。

¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 7.15 – 7.12 (m, 2H), 6.96 – 6.92 (m, 2H), 5.40 (d(br), 1H, J =
52.0 Hz), 5.18 (d, 1H, J = 9.7 Hz), 5.04 (d, 1H, J = 9.3 Hz), 4.31 (d, 1H, J = 9.9 Hz), 4.11 (s,

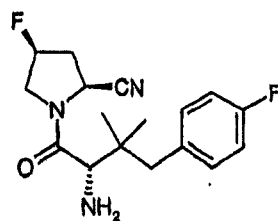
1H), 4.03 (m, 1H), 2.70 – 2.52 (m, 3H), 2.33 (m, 1H), 1.64 – 1.60 (m, 2H), 1.41 (s, 9H), 1.11 (s, 3H), 1.09 (s, 3H) ppm.

H.(2S,4S)-1-[(2S)-2-氨基-5-(4-氟苯基)-3,3-二甲基戊酰基]-4-氟-2-吡咯烷甲腈盐酸盐

5 向化合物 G(80 mg, 0.18 mmol)的二氯甲烷溶液(4 mL)加入 71 μ L TFA(5 当量)。30 分钟后, 再加入 5 当量 TFA, 1 小时后再加入 10 当量 TFA。总共搅拌 3.5 小时后, 真空除去溶剂并将残留物溶解于乙酸乙酯中。将有机物用饱和碳酸氢钠溶液洗涤, 经硫酸镁干燥并真空除去溶剂。向残留油加入 1.5 mL 二噁烷, 接着加入 2.0 mL 4.0 M HCl 的二噁烷溶液。真空除去溶剂并加入乙醚。经真空过滤收集沉淀固体物, 得到 40 mg(0.11 mmol, 60%收率)化合物 H。

¹H NMR (d₄-MeOH) 400 MHz δ 7.25 – 7.22 (m, 2H), 7.00 – 6.95 (m, 2H), 5.46 (d(br), 1H, J = 51.1 Hz), 5.09 (d, 1H, J = 9.4 Hz), 4.12 (m, 1H), 4.03 (s, 1H), 3.90 (ddd, 1H, J = 37.6, 12.7, 3.0 Hz), 2.68 – 2.44 (m, 4H), 1.78 – 1.73 (m, 2H), 1.21 (s, 6H) ppm.

实施例 4



(2S,4R)-1-[(2S)-2-氨基-4-(4-氟苯基)-3,3-二甲基丁酰基]-4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐

A. 3-(4-氟苯基)-2,2-二甲基丙腈

20 向冷却到 0°C 的异丁腈(5.0 g, 72.3 mmol)的甲苯溶液(60 mL)加入 152 mL 0.5 M KHMDS(76.0 mmol)的甲苯溶液。15 分钟后, 加入 4-氟苄基溴(14.4 g, 76.0 mmol)。将溶液缓慢升温到环境温度过夜, 然

后用水猝灭。有机物用乙酸乙酯萃取并用饱和硫酸氢钠溶液洗涤。经硫酸镁干燥后，真空除去溶剂将残留黄色油经柱层析(5%乙酸乙酯/己烷)纯化，得到 10.05 g(56.8 mmol, 79%收率)化合物 A。

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7.25 – 7.22 (m, 2H), 7.05 – 7.00 (m, 2H), 2.78 (s, 2H), 1.34 (s, 6H) ppm.

5

B. 3-(4-氟苯基)-2,2-二甲基丙醇

向冷却到 -78°C 的化合物 A(10.0 g, 56.5 mmol)的甲苯溶液(100 mL)加入 56.5 mL 1.5 M DIBAL(84.7 mmol)的甲苯溶液。2.5 小时后，加入乙酸钠(14.3 g)的水/THF 溶液(160 mL/40 mL)和乙酸(14.3 mL)，接着加入硅藻土。将溶液搅拌 1 小时，然后加入乙醚。将溶液通过硅藻土过滤，硅藻土用乙醚彻底洗涤。滤液用水洗涤两次，然后用饱和碳酸氢钠洗涤。经硫酸镁干燥后，真空去除溶剂，残留油经柱层析(5%乙酸乙酯/己烷)纯化，得到 9.23 g(51.3 mmol, 91%收率)化合物 B。

10

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 9.56 (s, 1H), 7.06 – 7.03 (m, 2H), 6.97 – 6.93 (m, 2H), 2.75 (s, 2H), 1.04 (s, 6H) ppm.

15

C. 2-氨基-4-(4-氟苯基)-3,3-二甲基丁腈

向化合物 B(5.0 g, 27.8 mmol)的甲醇溶液(32 mL)加入 3.8 mL 30% 氢氧化铵溶液、氰化钾(1.9 g, 29.2 mmol)和 15 mL 水。室温下向该溶液加入氯化铵(1.64 g, 30.6 mmol)。将得到的溶液搅拌过夜，然后加热到 70°C 。5 小时后，将溶液冷却，用乙酸乙酯稀释，用水洗涤(两次)，接着用饱和碳酸氢钠洗涤。用硫酸镁干燥后，真空除去溶剂，残留的黄色油经柱层析(己烷/乙酸乙(1:1))纯化，得到 3.69 g(17.9 mmol, 64%收率)化合物 C。

20

¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 7.17 – 7.13 (m, 2H), 7.00 – 6.95 (m, 2H), 3.33 (t, 1H, *J* = 8.5 Hz), 2.80 (d, 1H, *J* = 13.4 Hz), 2.61 (d, 1H, *J* = 13.4 Hz), 1.58 – 1.57 (m, 2H), 1.03 (s, 3H), 1.02 (s, 3H) ppm.

D. 2-氨基-4-(4-氟苯基)-3,3-二甲基丁酸

5 向含化合物 C(3.69 g, 17.9 mmol)的烧瓶加入 80 mL 浓盐酸。将该溶液加热回流 24 小时。将多相溶液在冰浴中冷却, 经真空过滤收集白色固体。在高真空下抽吸后获得 4.06 g 白色粉末。该粗制物直接使用。

E. 2-[(叔丁氧基羰基)氨基]-4-(4-氟苯基)-3,3-二甲基丁酸

10 向化合物 D(2.0 g, 7.66 mmol)的二噁烷溶液(20 mL)加入 5 mL 水和 9.6 mL 2.0 M NaOH 水溶液。室温下向该溶液加入二碳酸二叔丁酯(2.34 g, 10.7 mmol)。搅拌过夜后, 将多相溶液倾入到饱和碳酸氢钠溶液中并用乙醚洗涤。乙醚层用饱和碳酸氢钠洗涤, 然后将合并的水层用 1.0 M HCl 酸化, 用乙酸乙酯萃取两次。经硫酸镁干燥后, 真空除去溶剂, 得到 928 mg(2.86 mmol, 37%收率)化合物 E。

15 ¹H NMR (d₄-MeOH) 400 MHz δ 7.21 – 7.18 (m, 2H), 7.00 – 6.95 (m, 2H) 6.74 (d, 1H, *J* = 9.0 Hz), 3.98 (d, 1H, *J* = 9.0 Hz), 2.68 (d, 1H, *J* = 13.4 Hz), 2.62 (d, 1H, *J* = 13.3 Hz), 1.45 (s(br), 9H), 0.93 (s, 3H), 0.92 (s, 3H) ppm.

F.(1S)-1-{[(2S,4S)-2-氟基-4-氟代吡咯烷-1-基]羰基}-3-(4-氟苯基)-2,2-二甲基丙基氨基甲酸叔丁酯

20 室温下向化合物 E(928 mg, 2.86 mmol)的 DMF 溶液(20 mL)顺序加入二异丙基乙胺(406 mg, 3.14 mmol)和 HATU(1.14 g, 3.00 mmol)。30 分钟后, 加入(2S,4S)-4-氟-2-吡咯烷甲腈 4-甲基苯磺酸盐(857 mg, 3.00 mmol)和二异丙基乙胺(388 mg, 3.00 mmol)的 13 mL DMF 溶液。搅拌过夜后, 将该溶液倾入到乙酸乙酯并用水洗涤两次、并再顺序用饱

和碳酸氢钠溶液和 1.0 M HCl 溶液洗涤。经硫酸镁干燥后, 真空除去溶剂。残留油经柱层析(己烷/乙酸乙酯/二氯甲烷(5:4:1))纯化, 得到 273 mg(0.65 mmol, 低 R_f 物质)(S)-非异构体(由振动圆二色性测定)和 226 mg(R)-非异构体加上未知杂质的混合物。使用(S)-非异构体。

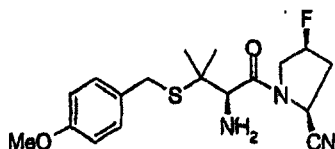
^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7.15 – 7.11 (m, 2H), 7.01 – 6.96 (m, 2H), 5.32 (dt, 1H, $J =$
51.3, 3.3 Hz), 5.20 (d, 1H, $J = 9.7$ Hz), 5.01 (d, 1H, $J = 9.3$ Hz), 4.16 (d, 1H, $J = 10.1$ Hz),
3.91 (m, 1H), 3.68 (dd, 1H, $J = 23.6, 12.1$ Hz), 2.72 – 2.56 (m, 2H), 2.30 (m, 1H), 1.43 (s,
9H), 1.08 (s, 3H), 0.95 (s, 3H) ppm.

G.(2S,4R)-1-[(2S)-2-氨基-4-(4-氟苯基)-3,3-二甲基丁酰基]-4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐

室温下向化合物 F(242 mg, 0.58 mmol)的二氯甲烷溶液(7 mL)加入 443 μL (10 当量)TFA。30 分钟后, 再加入 10 当量 TFA, 并在总共 3 小时后, 将反应混合物倾入到饱和碳酸氢钠溶液中。将有机物用乙酸乙酯萃取, 经硫酸镁干燥并真空除去溶剂。将残留油溶解于二噁烷(4 mL)中, 然后加入 4.0 mL HCl 的二噁烷溶液。真空除去溶剂, 剩余物在乙醚中研磨。经真空过滤收集得到的固体物, 得到 175 mg(0.46 mmol, 79%收率)盐 G。

^1H NMR (d_4 -MeOH) 400 MHz δ 7.22 – 7.19 (m, 2H), 7.08 – 7.04 (m, 2H), 5.43 (d(br), 1H, $J = 51.1$ Hz), 5.09 (d, 1H, $J = 9.5$ Hz), 4.05 (s, 1H), 3.97 – 3.74 (m, 2H), 2.82 (d, 1H, $J = 13.4$ Hz), 2.72 (d, 1H, $J = 13.2$ Hz), 2.64 – 2.39 (m, 2H), 1.07 (s, 3H), 1.00 (s, 3H) ppm.

实施例 5



(2S,4S)-1-{(2R)-2-氨基-3-[(4-甲氧基苄基)硫基]-3-甲基丁酰基}-4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐

A.(1R)-1-{[(2S,4S)-2-氨基-4-氟代吡咯烷-1-基]羰基}-2-[(4-甲氧基苄基)硫基]-2-甲基丙基氨基甲酸叔丁酯

- 5 向(2R)-2-[(叔丁氧基羰基)氨基]-3-[(4-甲氧基苄基)硫基]-3-甲基丁酸(2.0 g, 5.41 mmol, 1.2 当量)的 DMF 溶液(35 mL)顺序加入 N,N-二异丙基乙胺(1.06 mL, 6.09 mmol, 1.35 当量)和 HATU(2.9 g, 7.67 mmol, 1.7 当量)。将得到的琥珀色溶液在室温下搅拌 20 分钟。向该搅拌着的溶液加入(2S,4S)-4-氟-2-吡咯烷甲腈 4-甲基苯磺酸盐(1.29 g, 4.51 mmol, 1.0 当量)和 N,N-二异丙基乙胺(864 μ L, 4.96 mmol, 1.1 当量)的 DMF(12 mL)溶液。得到的溶液在室温下搅拌 18 小时, 然后用饱和碳酸氢钠溶液(约 50 mL)猝灭。将浑浊溶液倾入到水(约 100 mL)中, 用乙酸乙酯(3 $\times$ 50 mL)萃取。合并的有机萃取物顺序用水(两次)和盐水(一次)萃取; 经硫酸镁干燥并真空浓缩。得到的琥珀色油使用 1:1 己烷/乙酸乙酯作为流动相的快速层析纯化, 分离出 1.96 g(4.23 mmol, 78%收率)白色泡沫状化合物 A。
- 10
- 15

¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 7.29 (d, 2H, J = 8.8 Hz), 6.83 (d, 2H, J = 8.6 Hz), 5.48 (d, 1H, J = 51.4 Hz), 5.43 (d, 1H, J = 9.2 Hz), 5.04 (d, 1H, J = 9.3 Hz), 4.38 (d, 1H, J = 8.9 Hz), 4.27 (m, 1H), 4.04 (m, 1H), 3.80 (s, 2H), 3.77 (s, 3H), 2.72 (t, 1H, 15.5 Hz), 2.37 (m, 1H), 1.47-1.41 (m, 14H) ppm.

- 20 B.(2S,4S)-1-{(2R)-2-氨基-3-[(4-甲氧基苄基)硫基]-3-甲基丁酰基}-4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐

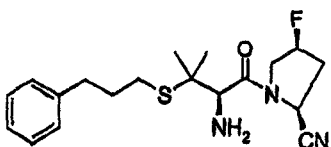
 向三氟乙酸(8 mL)的二氯甲烷(60 mL)溶液加入化合物 A(1.2 g, 2.58 mmol, 1.0 当量)。将得到的淡黄色溶液在室温下搅拌 2 小时, 然后真空除去溶剂。通过加入饱和碳酸氢钠溶液将得到的 TFA 盐转化成游离碱, 用乙酸乙酯萃取水层(两次)。合并的有机萃取物经硫酸钠干燥并真空浓缩。得到的灰白色泡沫使用 5%甲醇(含 0.1%氨)的二氯

25

甲烷溶液作为流动相的快速层析纯化, 得到 897 mg(2.45 mmol, 95% 收率)的白色泡沫。为了形成盐酸盐, 将游离碱溶于乙醚中, 加入丙酮直到所有固体物溶解。滴加 2.0 M HCl 的乙醚溶液直到不再形成沉淀。然后将沉淀物过滤并用乙醚洗涤几次。得到的盐在高真空下干燥。

¹H NMR (D₂O) 400 MHz δ 7.31 (d, 2H, J = 8.6 Hz), 6.88 (d, 2H, J = 8.5 Hz), 5.49 (d, 1H, J = 50.5 Hz), 5.00 (d, 1H, J = 9.8 Hz), 4.02-3.52 (m, 8H), 2.65 (t, 1H, J = 15.7 Hz), 2.40 (m, 1H), 1.44 (s, 3H), 1.31 (s, 3H) ppm.

实施例 6



(2S,4S)-1-((2R)-2-氨基-3-甲基-3-[(3-苯丙基)硫基]丁酰基)-4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐

A.(2R)-2-氨基-3-巯基-3-甲基丁酸甲酯

向 L-青霉胺(3.0 g, 20.11 mmol, 1.0 当量)的甲醇(18 mL, 1.14 M)溶液加入硫酰氯(1.5 mL, 20.7 mmol, 1.03 当量)。将得到的混合物加热回流 18 小时并真空除去溶剂。得到的透明半固体用于下一步骤而无进一步纯化。分离得到 3.28 g(20.1 mmol, 100%收率)。

B.(2R)-2-[(叔丁氧基羰基)氨基]-3-巯基-3-甲基丁酸甲酯

向化合物 A(3.28 g, 20.1 mmol, 1.0 当量)的二氯甲烷溶液(60 mL)加入二碳酸二叔丁酯(4.48 g, 20.5 mmol, 1.02 当量)和三乙胺(7.0 mL, 50.3 mmol, 2.5 当量)。将得到的混合物在室温下搅拌 18 小时。真空除去溶剂并将残留物溶于乙醚中。将不溶的白色固体过滤并将滤液用盐水洗涤, 经硫酸镁干燥并真空浓缩。得到的白色固体用于下一步骤而无进一步纯化。分离得到 5.01 g(19.02 mmol, 95%收率)

^1H NMR (d_4 -MeOH) 400 MHz δ 4.26 (m, 1H), 3.72 (s, 3H), 1.44-1.42 (m, 15H) ppm.

C.(2R)-2-[(叔丁氧基羰基)氨基]-3-甲基-3-[(3-苯丙基)硫基]丁酸甲酯

5 向化合物 B(346 mg, 1.31 mmol, 1.0 当量)的乙腈(20 mL)溶液加入叔丁醇钠(138 mg, 1.44 mmol, 1.1 当量)。将得到的淡黄色混合物在室温下搅拌 10 分钟, 然后加入 1-溴-3-苯基丙烷(219 μL , 1.44 mmol, 1.1 当量)。将得到的溶液在室温下搅拌 18 小时。然后用饱和氯化铵溶液猝灭反应物, 倾入到水中并用乙酸乙酯萃取两次。将合并的萃取物
10 经硫酸镁干燥并真空浓缩。使用以 2:1 己烷/乙酸乙酯作为流动相的快速层析纯化。分离得到 376 mg(0.988 mmol, 76%收率)。

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7.30-7.16 (m, 5H), 5.38 (d, 1H, $J = 8.8$ Hz), 4.29 (d, 1H, $J = 9.0$ Hz), 3.71 (s, 3H), 2.72 (t, 2H, $J = 7.4$ Hz), 2.58-2.51 (m, 2H), 1.89-1.82 (m, 2H), 1.44 (s, 9H), 1.36 (d, 6H, $J = 8.8$ Hz) ppm.

15 D.(2R)-2-[(叔丁氧基羰基)氨基]-3-甲基-3-[(3-苯基丙基)硫基]丁酸

向化合物 C(376 mg, 0.988 mmol, 1.0 当量)的二噁烷(7.5 mL)/水(2.5 mL)溶液加入一水合氢氧化锂(207 mg, 4.94 mmol, 5.0 当量)。得到的多相化合物在室温下搅拌 18 小时。将反应物用饱和氯化铵溶液猝灭, 倾入到水中并用乙酸乙酯萃取两次。合并的萃取物经硫酸镁
20 干燥并真空浓缩。使用以 1:1 己烷/乙酸乙酯(含 0.1%AcOH)作为流动相的快速层析纯化。分离得到 230 mg 产物(0.626 mmol, 64%收率)。

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7.31-7.16 (m, 5H), 5.51 (d, 1H, $J = 9.5$ Hz), 4.33 (d, 1H, $J = 9.5$ Hz), 3.41 (t, 2H, $J = 6.8$ Hz), 2.79 (t, 2H, $J = 7.3$ Hz), 2.20-2.13 (m, 2H), 1.47-1.44 (m, 15H) ppm.

E.(1R)-1-{[(2S,4S)-2-氟基-4-氟代吡咯烷-1-基]羰基}-2-甲基-2-[(3-苯丙基)硫基]丙基氨基甲酸叔丁酯

向化合物 D(230 mg, 0.626 mmol, 1.2 当量)的 DMF 溶液(5 mL)顺序加入 N,N-二异丙基乙胺(123 μ L, 0.705 mmol, 1.35 当量)和 HATU(337 mg, 0.887 mmol, 1.7 当量)。将得到的琥珀色溶液在室温下搅拌 20 分钟。向该搅拌溶液加入(2S,4S)-4-氟-2-吡咯烷甲腈 4-甲基苯磺酸盐(149 mg, 0.522 mmol, 1.0 当量)和 N,N-二异丙基乙胺(100 μ L, 0.574 mmol, 1.1 当量)的 DMF(2 mL)溶液。将得到的溶液在室温下搅拌 18 小时并用饱和碳酸氢钠溶液(约 5 mL)猝灭。然后将浑浊溶液倾入到水(约 20 mL)中并用乙酸乙酯(3 $\times$ 10 mL)萃取。合并的有机萃取物用水(2 $\times$)和盐水(1 $\times$)洗涤;经硫酸镁干燥并真空浓缩。将得到的琥珀色油使用以 1:1 己烷/乙酸乙酯作为流动相的快速层析纯化。分离得到 190 mg(0.411 mmol, 79%收率)白色泡沫形式的化合物 E。

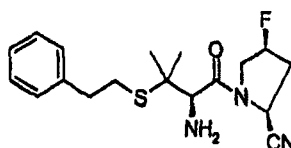
^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7.28-7.17 (m, 5H), 5.46 (d, 1H, $J = 51.4$ Hz), 5.37 (d, 1H, $J = 9.0$ Hz), 5.00 (d, 1H, $J = 9.3$ Hz), 4.38-4.29 (m, 2H), 4.01 (m, 1H), 2.77-2.58 (m, 5H), 2.35 (m, 1H), 1.92-1.80 (m, 2H), 1.44-1.34 (m, 15H) ppm.

F.(2S,4S)-1-{(2R)-2-氨基-3-甲基-3-[(3-苯丙基)硫基]丁酰基}-4-氟代吡咯烷-2-甲腈

向三氟乙酸(1 mL)的二氯甲烷(10 mL)溶液加入化合物 E(190 mg, 0.411 mmol, 1.0 当量)。将得到的淡黄色溶液在室温下搅拌 2 小时,然后真空除去溶剂。通过加入饱和碳酸氢钠溶液将得到的 TFA 盐转变成游离碱,用乙酸乙酯萃取水层(2X)。将合并的有机萃取物经硫酸钠干燥并真空浓缩。得到的灰白色泡沫使用以 5%MeOH(含 0.1% NH_3)/的二氯甲烷溶液作为流动相的快速层析纯化,得到 134 mg(0.389 mmol, 94%收率)白色泡沫。为了形成盐酸盐,将游离碱溶于乙醚中,加入丙酮直到所有固体物溶解。滴加 2.0 M HCl/乙醚直到不再形成沉淀。然后将沉淀物过滤并用乙醚洗涤几次。将得到的盐在高真空下干燥。

^1H NMR (D_2O) 400 MHz δ 7.23-7.11 (m, 5H), 5.46 (d, 1H, $J = 50.4$ Hz), 4.98 (d, 1H, $J = 9.1$ Hz), 4.04-3.96 (m, 2H), 3.68 (m, 1H), 2.62-2.30 (m, 6H), 1.78-1.71 (m, 2H), 1.29 (d, 6H, $J = 9.7$ Hz) ppm.

实施例 7



5

(2S,4S)-1-((2R)-2-氨基-3-甲基-3-[(2-苯乙基)硫基]丁酰基)-4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐

A.(2R)-2-[(叔丁氧基羰基)氨基]-3-甲基-3-[(2-苯乙基)硫基]丁酸甲酯

10

向(2R)-2-[(叔丁氧基羰基)氨基]-3-巯基-3-甲基丁酸甲酯(如上所述)(1.26 g, 4.78 mmol, 1.0 当量)的乙腈(50 mL)溶液加入叔丁醇钠(597 mg, 6.21 mmol, 1.3 当量)。得到的淡黄色混合物在室温下搅拌 10 分钟, 然后加入(2-溴乙基)苯(718 μL , 5.26 mmol, 1.1 当量)。得到的溶液在室温下搅拌 18 小时。然后用饱和氯化铵溶液猝灭反应物, 倾入到水中并用乙酸乙酯萃取两次。合并的萃取物经硫酸镁干燥并真空浓缩。使用以 5:1 己烷/乙酸乙酯作为流动相的快速层析纯化。分离得到 761 mg 产物(2.07 mmol, 45%收率)。

15

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7.31-7.19 (m, 5H), 5.36 (d, 1H, $J = 9.0$ Hz), 4.33 (d, 1H, $J = 9.1$ Hz), 3.71 (s, 3H), 2.83-2.78 (m, 4H), 1.44 (s, 9H), 1.36 (d, 6H, $J = 7.5$ Hz) ppm.

20

B.(2R)-2-[(叔丁氧基羰基)氨基]-3-甲基-3-[(2-苯乙基)硫基]丁酸

向化合物 A(761 mg, 2.07 mmol, 1.0 当量)的二噁烷(20 mL)/水(7 mL)溶液加入一水合氢氧化锂(434 mg, 10.35 mmol, 5.0 当量)。得到的多相混合物在室温下搅拌 18 小时。用饱和氯化铵溶液猝灭反应, 倾

入到水中并用乙酸乙酯萃取两次。合并的萃取物用硫酸镁干燥并真空浓缩。使用以 1:1 己烷/乙酸乙酯(含 0.1%乙酸)作为流动相的快速层析纯化。分离得到 502 mg 产物(1.42 mmol, 69%收率)。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) 400 MHz δ 7.31-7.18 (m, 5H), 5.42 (d, 1H, $J = 8.3$ Hz), 4.32 (s(br), 1H), 2.87-2.81 (m, 4H), 1.44 (s, 9H), 1.40 (s, 3H), 1.36 (s, 3H) ppm.

5

C.(1R)-1-{[(2S,4S)-2-氟基-4-氟代吡咯烷-1-基]羰基}-2-甲基-2-[(2-苯乙基)硫基]丙基氨基甲酸叔丁酯

向化合物 B(502 mg, 1.42 mmol, 1.2 当量)的 DMF 溶液(10 mL)顺序加入 N,N-二异丙基乙胺(278 μL , 1.59 mmol, 1.35 当量)和 HATU(764 mg, 2.01 mmol, 1.7 当量)。得到的琥珀色溶液在室温下搅拌 20 分钟。向该搅拌着的溶液加入(2S,4S)-4-氟-2-吡咯烷甲腈 4-甲基苯磺酸盐(338 mg, 1.18 mmol, 1.0 当量)和 N,N-二异丙基乙胺(226 μL , 1.3 mmol, 1.1 当量)的 DMF(5 mL)溶液。将得到的溶液在室温下搅拌 18 小时并用饱和碳酸氢钠溶液(约 5 mL)猝灭。然后将浑浊溶液倾入到水(约 20 mL)中, 用乙酸乙酯(3 $\times$ 10 mL)萃取。合并的有机萃取物用水(2 $\times$)和盐水(1 $\times$)洗涤; 经硫酸镁干燥并真空浓缩。将得到的琥珀色油使用以 1:1 己烷/乙酸乙酯作为流动相的快速层析纯化。分离得到 361 mg(0.803 mmol, 80%收率)白色泡沫形式的化合物 C。

15

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) 400 MHz δ 7.30-7.20 (m, 5H), 5.46 (d, 1H, $J = 51.0$ Hz), 5.38 (d, 1H, $J = 9.2$ Hz), 5.01 (d, 1H, $J = 9.4$ Hz), 4.36-4.25 (m, 2H), 4.06 (m, 1H), 2.87-2.84 (m, 4H), 2.70 (t, 1H, $J = 15.0$ Hz), 2.35 (m, 1H), 1.41-1.37 (m, 15H) ppm.

20

D.(2S,4S)-1-{(2R)-2-氨基-3-甲基-3-[(2-苯乙基)硫基]丁酰基}-4-氟代吡咯烷-2-甲腈

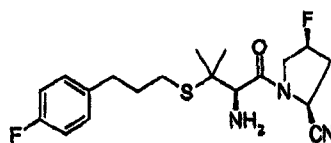
向三氟乙酸(2 mL)的二氯甲烷(20 mL)溶液加入化合物 C(361 mg, 0.803 mmol, 1.0 当量)。将得到的淡黄色溶液在室温下搅拌 2 小时, 然后真空除去溶剂。通过加入饱和碳酸氢钠溶液将得到的 TFA 盐转

25

变成游离碱，并用乙酸乙酯萃取水层(2X)。将合并的有机萃取物经硫酸钠干燥并真空浓缩。得到的灰白色泡沫使用以 5%MeOH(含 0.1%NH₃)/二氯甲烷作为流动相的快速层析纯化，得到 223 mg(0.638 mmol, 80%收率)白色泡沫。为了形成盐酸盐，将游离碱溶于乙醚中，加入丙酮直到所有固体物溶解。滴加 2.0 M HCl/乙醚，直到不再形成沉淀。然后将沉淀物过滤并用乙醚洗涤几次。将得到的盐在高真空中干燥。

¹H NMR (D₂O) 400 MHz δ 7.20-7.09 (m, 5H), 5.43 (d, 1H, *J* = 50.5 Hz), 4.94 (d, 1H, *J* ≈ 9.5 Hz), 4.13 (m, 1H), 3.89 (s, 1H), 3.71 (m, 1H), 2.84-2.70 (m, 4H), 2.59 (t, 1H *J* = 15.7 Hz), 2.37 (m, 1H), 1.28 (s, 3H), 1.22 (s, 3H) ppm.

实施例 8



(2S,4S)-1-[(2R)-2-氨基-3-[[3-(4-氟苯基)丙基]硫基]-3-甲基丁酰基]-4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐

A. 3-(4-氟苯基)丙-1-醇

用 0.5 小时向 3-(4-氟苯基)丙酸(33.6 g, 0.2 mol)的 THF(200 mL)溶液加入 1.0 M LiAlH₄ 的乙醚溶液(200 mL, 0.2 mol)。得到的混合物在室温下搅拌 18 小时。通过缓慢加入水猝灭反应物，水层用乙醚萃取。合并的有机萃取物经硫酸镁干燥并真空浓缩。得到的油没有再纯化直接用于下一步骤。分离得到 31.4 g(0.2 mol, 100%收率)。

B. 1-(3-氟丙基)-4-氟苯

向化合物 A(31.4 g, 0.2 mol)的二氯甲烷(300 mL)溶液加入二氯三苯基磷(110 g, 0.33 mol)。得到的混合物在室温下搅拌 20 分钟并真空浓缩。将己烷(约 200 mL)加热到残留物中，并将得到的多相混合物

室温下搅拌 30 分钟。将不溶的固体物过滤并用己烷洗涤。将滤液真空浓缩,得到的油没有进一步纯化直接用于下一步骤。分离得到 33.3 g 产物(0.193 mol, 96%收率)。

5 C.(2R)-2-[(叔丁氧基羰基)氨基]-3-{[3-(4-氟苯基)丙基]硫基}-3-甲基丁酸甲酯

向(2R)-2-[(叔丁氧基羰基)氨基]-3-硫基-3-甲基丁酸甲酯(如上所述)(1.51 g, 5.73 mmol, 1.0 当量)的乙腈(60 mL)溶液加入叔丁醇钠(716 mg, 7.45 mmol, 1.3 当量)。得到的淡黄色混合物在室温下搅拌 10 分钟, 然后加入 1-(3-氯丙基)-4-氟苯(如上所述)(1.09 g, 6.3 mmol, 1.1 当量)。得到的溶液在室温下搅拌 18 小时。然后用饱和氯化铵溶液猝灭反应物, 倾入到水中并用乙酸乙酯萃取两次。合并的萃取物经硫酸镁干燥并真空浓缩。使用以 5:1 己烷/乙酸乙酯作为流动相的快速层析纯化。分离得到 700 mg 产物(1.75 mmol, 31%收率)。

¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 7.14-7.10 (m, 2H), 6.98-6.93 (m, 2H), 5.36 (d, 1H, *J* = 9.1 Hz), 4.29 (d, 1H, *J* = 9.2 Hz), 3.71 (s, 3H), 2.68 (t, 2H, *J* = 7.4 Hz), 2.56-2.49 (m, 2H), 1.86-1.79 (m, 2H), 1.43 (s, 9H), 1.35 (d, 6H, *J* = 6.8 Hz) ppm.

D.(2R)-2-[(叔丁氧基羰基)氨基]-3-{[3-(4-氟苯基)丙基]硫基}-3-甲基丁酸

向化合物 A(700 mg, 1.75 mmol, 1.0 当量)的二噁烷(20 mL)/水(7 mL)溶液加入一水合氢氧化锂(367 mg, 8.75 mmol, 5.0 当量)。得到的多相混合物在室温下搅拌 18 小时。用饱和氯化铵溶液猝灭反应物, 倾入到水中并用乙酸乙酯萃取两次。合并的萃取物用硫酸镁干燥并真空浓缩。使用以 1:1 己烷/乙酸乙酯(含 0.1%乙酸)作为流动相的快速层析纯化。分离得到 512 mg 产物(1.33 mmol, 76%收率)。

¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 7.13-7.10 (m, 2H), 6.99-6.93 (m, 2H), 5.41 (d, 1H, *J* = 8.1 Hz), 4.29 (s(br), 1H), 2.68-2.55 (m, 4H), 1.88-1.80 (m, 2H), 1.43 (s, 9H), 1.39 (s, 3H), 1.36 (s, 3H) ppm.

E.(1R)-1-{[(2S,4S)-2-氟基-4-氟代吡咯烷-1-基]羰基}-2-{[3-(4-氟苯基)丙基]硫基}-2-甲基丙基氨基甲酸叔丁酯

5 向化合物 B(512 mg, 1.33 mmol, 1.2 当量)的 DMF 溶液(15 mL)顺序加入 N,N-二异丙基乙胺(261 μL, 1.5 mmol, 1.35 当量)和 HATU(717 mg, 1.89 mmol, 1.7 当量)。得到的琥珀色溶液在室温下搅拌 20 分钟。向该搅拌溶液加入(2S,4S)-4-氟-2-吡咯烷甲腈 4-甲基苯磺酸盐(317 mg, 1.11 mmol, 1.0 当量)和 N,N-二异丙基乙胺(213 μL, 1.22 mmol, 1.1 当量)的 DMF(10 mL)溶液。将得到的溶液在室温下搅拌 18 小时并用饱和碳酸氢钠溶液(约 5 mL)猝灭。然后将浑浊溶液倾入到水(约 20 mL)并用乙酸乙酯(3 × 10 mL)萃取。合并的有机萃取物用水(2 ×)和盐水(1 ×)洗涤; 经硫酸镁干燥并真空浓缩。将得到的琥珀色油使用以 1:1 己烷/乙酸乙酯作为流动相的快速层析纯化。分离得到 420 mg(0.872 mmol, 79%收率)白色泡沫形式的化合物 C。

¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 7.14-7.11 (m, 2H), 6.97-6.92 (m, 2H), 5.47 (d, 1H, *J* = 50.9 Hz), 5.36 (d, 1H, *J* = 8.4 Hz), 5.00 (d, 1H, *J* = 9.3 Hz), 4.42-4.32 (m, 2H), 4.01 (m, 1H), 2.74-2.57 (m, 5H), 2.36 (m, 1H), 1.89-1.76 (m, 2H), 1.41-1.37 (m, 15H) ppm.

F.(2S,4S)-1-((2R)-2-氨基-3-{[3-(4-氟苯基)丙基]硫基}-3-甲基丁酰基)-4-氟代吡咯烷-2-甲腈

20 向三氟乙酸(3 mL)的二氯甲烷(30 mL)溶液加入化合物 C(420 mg, 0.872 mmol, 1.0 当量)。将得到的淡黄色溶液在室温下搅拌 2 小时, 然后真空除去溶剂。通过加入饱和碳酸氢钠溶液将得到的 TFA 盐转变成游离碱, 用乙酸乙酯萃取水层(2X)。将合并的有机萃取物经硫酸钠干燥并真空浓缩。得到的灰白色泡沫使用以 5%MeOH(含 0.1%NH₃)/

二氯甲烷作为流动相的快速层析纯化, 得到 275 mg(0.721 mmol, 83% 收率)白色泡沫。为了形成盐酸盐, 将游离碱溶于乙醚中, 加入丙酮直到所有固体物溶解。滴加 2.0 M HCl/乙醚直到不再形成沉淀。然后将沉淀物过滤并用乙醚洗涤几次。将得到的盐在高真空下干燥。

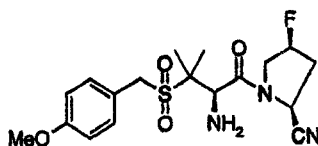
^1H NMR (D_2O) 400 MHz δ 7.15-7.10 (m, 2H), 6.96-6.90 (m, 2H), 5.48 (d, 1H, $J = 50.9$ Hz),

4.99 (d, 1H, $J = 9.6$ Hz), 4.07-3.98 (m, 2H), 3.74 (m, 1H), 2.64-2.32 (m, 6H), 1.80-1.68 (m,

2H), 1.30 (d, 6H, $J = 6.6$ Hz) ppm.

5

实施例 9



10 (2S,4S)-1-((2R)-2-氨基-3-[(4-甲氧基苄基)磺酰基]-3-甲基丁酰基)-4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐

A.(1R)-1-[[[(2S,4S)-2-氨基-4-氟代吡咯烷-1-基]羧基]-2-[(4-甲氧基苄基)磺酰基]-2-甲基丙基氨基甲酸叔丁酯

15 向(1R)-1-[[[(2S,4S)-2-氨基-4-氟代吡咯烷-1-基]羧基]-2-[(4-甲氧基苄基)磺酰基]-2-甲基丙基氨基甲酸叔丁酯(如上所述)(473 mg, 1.017 mmol, 1.0 当量)的氯仿(25 mL)溶液加入 3-氯过氧苯甲酸(1.76 g, 10.18 mmol, 10 当量)。得到的混合物在室温下搅拌 18 小时。然后用 1.0 N NaOH(约 5 mL)猝灭反应物, 分离各层。有机层经硫酸镁干燥并真空浓缩。得到的白色蓬松固体物直接用于下一步骤而无进一步纯化。

20 分离得到 400 mg(0.805 mmol, 80%收率)。

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7.35 (d, 2H, $J = 8.8$ Hz), 6.92 (d, 2H, $J = 8.8$ Hz), 5.48 (d, 1H, J

= 51.0 Hz), 5.04 (d, 1H, $J = 9.1$ Hz), 4.99 (d, 1H, $J = 9.4$ Hz), 4.34-3.98 (m, 4H), 3.81 (s,

3H), 2.73 (t, 1H, $J = 15.0$ Hz), 2.39 (m, 1H), 1.58 (s, 3H), 1.53 (s, 3H), 1.42 (s, 9H) ppm.

B.(2S,4S)-1-{(2R)-2-氨基-3-[(4-甲氧基苄基)磺酰基]-3-甲基丁酰基}-4-氟代吡咯烷-2-甲腈

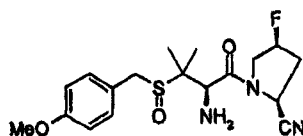
向三氟乙酸(4 mL)的二氯甲烷(40 mL)溶液加入化合物 A(400 mg, 0.805 mmol, 1.0 当量)。将得到的淡黄色溶液在室温下搅拌 2 小时, 然后真空除去溶剂。通过加入饱和碳酸氢钠溶液将得到的 TFA 盐转

5 化成游离碱, 用乙酸乙酯萃取水层(两次)。合并的有机萃取物经硫酸钠干燥并真空浓缩。得到的灰白色泡沫使用以 5%甲醇(含 0.1%氨)的二氯甲烷溶液作为流动相的快速层析纯化, 得到 296 mg(0.745 mmol, 93%收率)白色泡沫。为了形成盐酸盐, 将游离碱溶于乙醚中并加入

10 丙酮直到所有固体物溶解。滴加 2.0 M HCl 的乙醚溶液直到不再形成沉淀。然后将沉淀物过滤并用乙醚洗涤几次。得到的盐在高真空中干燥。

¹H NMR (D₂O) 400 MHz δ 7.28 (d, 2H, J = 8.8 Hz), 6.92 (d, 2H, J = 8.8 Hz), 5.47 (d, 1H, J = 50.6 Hz), 5.00 (d, 1H, J = 10.0 Hz), 4.66 (s, 1H), 4.51 (s, 2H), 4.05 (m, 1H), 3.81 (m, 1H), 3.69 (s, 3H), 2.64 (t, 1H, J = 15.7 Hz), 2.42 (m, 1H), 1.62 (s, 3H), 1.48 (s, 3H) ppm.

15 实施例 10



(2S,4S)-1-{(2R)-2-氨基-3-[(4-甲氧基苄基)亚磺酰基]-3-甲基丁酰基}-4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐

20 A.(1R)-1-{[(2S,4S)-2-氟基-4-氟代吡咯烷-1-基]羰基}-2-[(4-甲氧基苄基)亚磺酰基]-2-甲基丙基氨基甲酸叔丁酯

向(1R)-1-{[(2S,4S)-2-氟基-4-氟代吡咯烷-1-基]羰基}-2-[(4-甲氧基苄基)硫基]-2-甲基丙基氨基甲酸叔丁酯(如上所述)(660 mg, 1.42 mmol, 1.0 当量)的甲醇(10 mL)溶液加入 NaIO₄(334 mg, 1.56 mmol, 1.1

25 当量)的水(10 mL)溶液。将所得混合物在室温下搅拌 18 小时。得到

的多相混合物在二氯甲烷和水间分配。有机层经硫酸镁干燥并真空浓缩。得到的白色蓬松固体物直接用于下一步骤而无进一步纯化。分离得到 600 mg 非对映体混合物(1.25 mmol, 87%收率)。

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7.27-7.25 (m, 2H), 6.90-6.88 (m, 2H), 5.87 (s(br), 1H), 5.40 (m, 1H), 5.03-4.95 (m, 2H), 4.19-3.66 (m, 7H), 2.65 (m, 1H), 2.36 (m, 1H), 1.49-1.38 (m, 15H) ppm.

5

B.(2S,4S)-1-((2R)-2-氨基-3-[(4-甲氧基苄基)亚磺酰基]-3-甲基丁酰基)-4-氟代吡咯烷-2-甲腈

向三氟乙酸(5 mL)的二氯甲烷(50 mL)溶液加入化合物 A(600 mg, 1.25 mmol, 1.0 当量)。将得到的淡黄色溶液在室温下搅拌 2 小时, 然后真空除去溶剂。通过加入饱和碳酸氢钠溶液将得到的 TFA 盐转化成游离碱, 用乙酸乙酯萃取水层(两次)。合并的有机萃取物经硫酸钠干燥并真空浓缩。得到的灰白色泡沫使用以 5% 甲醇(含 0.1% 氨)的二氯甲烷溶液作为流动相的快速层析纯化, 得到 368 mg(0.965 mmol, 77%收率)白色泡沫。为了形成盐酸盐, 将游离碱吸收在乙醚中并加入丙酮直到所有固体物溶解。滴加 2.0 M HCl 的乙醚溶液直到不再形成沉淀。然后将沉淀物过滤并用乙醚洗涤几次。得到的盐在高真空下干燥。

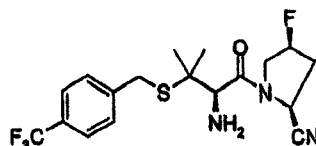
10

15

^1H NMR (D_2O) 400 MHz δ 7.25-7.21 (m, 2H), 6.93-6.90 m, 2H), 5.42 (m, 1H), 5.02 (m, 1H), 4.48 (m, 1H), 4.24-3.70 (m, 7H), 2.68-2.31 (m, 2H), 1.52-1.32 (m, 6H) ppm.

20

实施例 11



(2S,4S)-1-((2R)-2-氨基-3-甲基-3-{[4-(三氟甲基)苄基]硫基}丁酰基)-4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐

A. (2R)-2-[(叔丁氧基羰基)氨基]-3-硫基-3-甲基丁酸

向 L-青霉胺(5.0 g, 33.51 mmol, 1.0 当量)的 THF(300 mL)溶液加入氢氧化钾(1.88 g, 33.51 mmol, 1.0 当量)。将混合物冷却到 0℃并加入二碳酸二叔丁酯(7.31 g, 33.51 mmol, 1.0 当量)。将得到的混合物搅拌升温到室温过夜。然后将反应物倾入到水(约 300 mL)中并用乙酸乙酯萃取两次。合并的有机萃取物经硫酸镁干燥并真空浓缩。得到的白色固体没有进一步纯化直接用于下一步。分离得到 7.68 g(30.80 mmol, 92%收率)。

¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 5.51 (d, 1H, J = 9.6 Hz), 4.33 (d, 1H, J = 9.6 Hz), 1.55 (s, 3H), 1.45 (s, 9H), 1.41 (s, 3H) ppm.

B. (2R)-2-[(叔丁氧基羰基)氨基]-3-甲基-3-{[4-(三氟甲基)苄基]硫基}丁酸

向化合物 A(1.0 g, 4.011 mmol, 1.0 当量)的乙腈(40 mL)加入叔丁醇钾(810 mg, 8.42 mmol, 2.1 当量)。得到的淡黄色溶液搅拌 10 分钟, 然后加入 4-(三氟甲基)苄基溴(1.05 g, 4.41 mmol, 1.1 当量)。将得到的混合物加热到 50℃并搅拌 18 小时。然后将反应物倾入到水(约 50 mL)中并用乙酸乙酯萃取两次。合并的萃取物经硫酸镁干燥并真空浓缩。得到的固体没有进一步纯化直接用于下一步。分离得到 1.45 g 产物(3.55 mmol, 89%收率)。

¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 7.55 (d, 2H, J = 8.1 Hz), 7.44 (d, 2H, J = 8.1 Hz), 5.39 (s(br), 1H), 4.44 (s(br), 1H), 3.85 (s, 2H), 1.45-1.43 (m, 15H) ppm.

C. (1R)-1-{[(2S,4S)-2-氟基-4-氟代吡咯烷-1-基]羰基}-2-甲基-2-{[4-(三氟甲基)苄基]硫基}丙基氨基甲酸叔丁酯

向化合物 B(1.45 mg, 3.55 mmol, 1.2 当量)的 DMF 溶液(30 mL)顺

序加入 N,N-二异丙基乙胺(698 μ L, 4.01 mmol, 1.35 当量)和 HATU(1.92 mg, 5.05 mmol, 1.7 当量)。得到的琥珀色溶液在室温下搅拌 20 分钟。向该搅拌着的溶液加入(2S,4S)-4-氟-2-吡咯烷甲腈 4-甲基苯磺酸盐(849 mg, 2.97 mmol, 1.0 当量)和 N,N-二异丙基乙胺(569 μ L, 3.27 mmol, 1.1 当量)的 DMF(25 mL)溶液。将得到的溶液在室温下搅拌 18 小时并用饱和碳酸氢钠溶液(约 5 mL)猝灭。然后将浑浊溶液倾入到水(约 20 mL)并用乙酸乙酯(3×10 mL)萃取。合并的有机萃取物用水($2 \times$)和盐水($1 \times$)洗涤;经硫酸镁干燥并真空浓缩。将得到的琥珀色油使用的 1:1 己烷/乙酸乙酯作为流动相的快速层析纯化。分离得到 682 mg(1.35 mmol, 45%收率)白色泡沫形式的化合物 C。

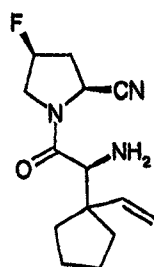
^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7.55 (d, 2H, $J = 8.1$ Hz), 7.50 (d, 2H, $J = 8.8$ Hz), 5.49 (d, 1H, $J = 50.8$ Hz), 5.42 (d, 1H, $J = 9.9$ Hz), 5.03 (d, 1H, $J = 10.0$ Hz), 4.40 (d, 1H, $J = 9.5$ Hz), 4.32 (m, 1H), 4.04 (m, 1H), 3.88 (s, 2H), 2.74 (t, 1H, $J = 15.1$ Hz), 2.38 (m, 1H), 1.47 (s, 3H), 1.42 (s, 9H), 1.41 (s, 3H) ppm.

D.(2S,4S)-1-((2R)-2-氨基-3-甲基-3-{[4-(三氟甲基)苄基]硫基}丁酰基)-4-氟代吡咯烷-2-甲腈

向三氟乙酸(7 mL)的二氯甲烷(70 mL)溶液加入化合物 A(682 mg, 1.35 mmol, 1.0 当量)。将得到的淡黄色溶液在室温下搅拌 2 小时,然后真空除去溶剂。通过加入饱和碳酸氢钠溶液将得到的 TFA 盐转变成游离碱,用乙酸乙酯萃取水层($2 \times$)。将合并的有机萃取物经硫酸钠干燥并真空浓缩。得到的灰白色泡沫使用以 5%MeOH(含 0.1% NH_3)/二氯甲烷作为流动相的快速层析纯化,得到 390 mg(0.967 mmol, 72%收率)白色泡沫。为了形成盐酸盐,将游离碱溶于乙醚中,加入丙酮直到所有固体物溶解。滴加 2.0 M HCl/乙醚直到不再形成沉淀。然后将沉淀物过滤并用乙醚洗涤几次。将得到的盐在高真空下干燥。

^1H NMR (D_2O) 400 MHz δ 7.57 (d, 2H, $J = 8.1$ Hz), 7.49 (d, 2H, $J = 8.5$ Hz), 5.46 (d, 1H, $J = 51.4$ Hz), 4.98 (d, 1H, $J = 9.5$ Hz), 4.05–3.53 (m, 5H), 2.62–2.28 (m, 2H), 1.40 (s, 3H), 1.31 (s, 3H) ppm.

实施例 12



(2S,4S)-1-[(2S)-2-氨基-2-(1-乙烯基环戊基)乙酰基]-4-氟代吡咯烷-2-甲脒盐酸盐

A.(1S)-2-[(2S,4S)-2-氟基-4-氟代吡咯烷-1-基]-2-氧代-1-(1-乙烯基环戊基)乙基氨基甲酸叔丁酯

5 将外消旋[(叔丁氧基羰基)氨基](1-乙烯基环戊基)乙酸(如 Robl, Jeffrey A; Sulsky, Richard B.; Augeri, David J.; Magnin, David R.; Hamann, Lawrence G.; Betebenner; David A. 二肽酶 IV 的稠合环丙基吡咯烷基抑制剂的制备, WO 200168603A2)(1.07 g, 3.97 mmol)的 DMF 溶液(25 mL)加入 Hünig 氏碱(0.835 mL, 4.37 mmol)和 HATU(1.66 g, 4.37 mmol)。将得到的溶液在室温下搅拌 15 分钟, 然后用 2-3 分钟滴加(2S,4S)-4-氟-2-吡咯烷甲脒 4-甲基苯磺酸盐(1.14 g, 3.97 mmol)和 Hünig 氏碱(0.835 mL, 4.37 mmol)在 10 mL DMF 中的溶液。获得的溶液在室温下搅拌 18 分钟并然后用水猝灭。将溶液倾入到水中并用乙酸乙酯萃取有机物(两次)。顺序用饱和氯化钠溶液和 1.0 N HCl 洗涤, 将有机物经硫酸镁干燥, 真空除去溶剂得到深色油, 用 Biotage FlashElute System, 以己烷/乙酸乙酯 3:1 到 1:1 的洗脱梯度在硅胶上纯化, 得到约 1:1 比例的两种 α -氨基位(C1)的非对映体产物(582 mg 非对映体 1、628 mg 非对映体 2, 总收率 83%)。基于终产物的振动

圆二色性分析, 测得较慢洗脱的非对映体具有(S)绝对立体化学构像。

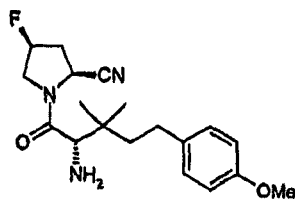
$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) 400 MHz δ 5.92 (dd 1H, $J = 10.8, 17.3$ Hz), 5.38 (m, 1H), 5.22 (dd, 2 H, $J = 10.8, 27.4$ Hz), 5.02 (d, 1H, $J = 10.3$ Hz), 4.23 (d, 1H, $J = 9.2$ Hz), 4.06 (m, 2H), 2.63 (t, 1H, $J = 15.5$ Hz), 2.40-2.23 (m, 2H), 1.85 (m, 1H), 1.75-1.52 (m, 6H), 1.43 (m, 1H), 1.37 (s, 9H) ppm.

5 B.(2S,4S)-1-[(2S)-2-氨基-2-(1-乙烯基环戊基)乙酰基]-4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐

向装有(1S)-2-[(2S,4S)-2-氟基-4-氟代吡咯烷-1-基]-2-氧代-1-(1-乙烯基环戊基)乙基氨基甲酸叔丁酯(70 mg, 0.19 mmol)的 1 mL 1,4-二噁烷溶液的烧瓶中顺序加入 2 mL 4 N HCl/1,4-二噁烷和 1 mL 2 N HCl/乙醚。得到的溶液在室温下搅拌 3 小时, 然后通过 TLC 判断原料消耗情况。将 3 mL 乙醚加入到反应混合物中, 接着加入 3 mL 己烷。将得到的淡褐色沉淀物过滤, 在乙醚中研磨, 真空过滤收集并真空干燥, 得奶油色固体形式的化合物 B(35 mg, 70%收率)。

$^1\text{H NMR}$ ($d_4\text{-MeOH}$) 400 MHz δ 5.83 (dd, 1H, $J = 10.7, 17.6$ Hz), 5.36 (dd, 2H, $J = 10.7, 27.7$ Hz), 5.07 (d, 1H, $J = 9.7$ Hz), 4.16 (m, 2H), 3.79 (m, 1H), 2.63 (t, 1H, $J = 16.2$ Hz), 2.45 (m, 1H), 1.86-1.58 (m, 7H), 1.36 (M, 3H) ppm.

15 实施例 13



(2S,4S)-1-[(2S)-2-氨基-5-(4-甲氧基苯基)-3,3-二甲基戊酰基]-4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐

20 A. 4-(4-甲氧基苯基)-2,2-二甲基丁醛

向冷却到 -78°C 的 4-(4-甲氧基苯基)-2,2-二甲基丁腈(3.65 g, 18.0

mmol; 参见: Knochel, P 等人. Org. Lett. 2000, 2, 3285 有关这种化合物的制备)的甲苯溶液(80 mL)加入 18.0 mL 1.5 M DIBAL(27.0 mmol)的甲苯溶液。在-78℃3小时后,反应物用含乙酸钠(4.6 g)和乙酸(4.6 mL)的水/THF 溶液(75 mL/15 mL)在-78℃下猝灭。向该溶液顺序加入硅藻土和乙醚。将溶液升温到室温,然后通过硅藻土床过滤。用乙醚彻底洗涤硅藻土,然后将滤液用水洗涤。经硫酸镁干燥后,真空除去溶剂并将残留物用快速层析(己烷/乙酸乙酯(9:1))纯化,得到 3.55 g(17.2 mmol, 96%收率)化合物 A。

¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 9.47 (s, 1H), 7.07 (d, 2H, *J* = 8.6 Hz), 6.81 (d, 2H, *J* = 8.4 Hz), 3.78 (s, 3H), 2.48 – 2.44 (m, 2H), 1.77 – 1.73 (m, 2H), 1.11 (s, 6H) ppm.

10

B. 1,1,1-三氯-5-(4-甲氧基苯基)-3,3-二甲基戊-2-醇

用 5 分钟向冷却到-78℃的化合物 A(511 mg, 2.48 mmol)的 THF 溶液(10 mL)和无水氯仿(311 mg, 2.60 mmol)滴加 2.6 mL 1.0 M LiHMDS(2.60 mmol)的 THF 溶液。得到的溶液在-78℃搅拌 30 分钟后将反应用水猝灭。升温后有机物用乙酸乙酯萃取并经硫酸镁干燥,真空除去溶剂。残留黄色油经柱层析(10%乙酸乙酯/己烷)纯化,得到 588 mg(1.81 mmol, 73%收率)白色固体状化合物 B。

15

¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 7.10 (d, 2H, *J* = 8.7 Hz), 6.82 (d, 2H, *J* = 8.4 Hz), 4.05 (d, 1H, *J* = 5.7 Hz), 3.78 (s, 3H), 2.95 (d, 1H, *J* = 5.7 Hz), 2.64 – 2.59 (m, 2H), 1.95 (m, 1H), 1.73 (m, 1H), 1.32 (s, 3H), 1.25 (s, 3H) ppm.

20

C. 2-叠氮基-5-(4-甲氧基苯基)-3,3-二甲基戊酸

在室温下向化合物 B(581 mg, 1.79 mmol)的 DME 溶液(4 mL)加入 7 mL 含叠氮化钠(232 mg, 3.58 mmol)和氢氧化钠(286 mg, 7.15 mmol)的水溶液。搅拌过夜后,将溶液倾入到 2.0 M NaOH 中并将有机物用乙醚萃取。水层用饱和硫酸氢钠酸化并用乙酸乙酯萃取有机物两次。经硫酸镁干燥后,真空除去溶剂后,将残留油用柱层析

25

(5%MeOH/二氯甲烷)纯化得到 186 mg(0.67 mmol, 37%收率)化合物 C。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) 400 MHz δ 7.09 (d, 2H, $J = 8.4$ Hz), 6.82 (d, 2H, $J = 8.6$ Hz), 3.91 (s, 1H),

3.78 (s, 3H), 2.58 - 2.52 (m, 2H), 1.71 - 1.61 (m, 2H), 1.10 (s, 6H) ppm.

5 D.(2S,4S)-1-[2-叠氮基-5-(4-甲氧基苯基)-3,3-二甲基戊酰基]-4-氟代吡咯烷-2-甲腈

室温下向化合物 C(696 mg, 2.52 mmol)和 N,N-二异丙基乙胺(358 mg, 2.77 mmol)的 DMF 溶液(15 mL)加入 HATU(1.05 g, 2.77 mmol)。20 分钟后, 加入(2S,4S)-4-氟-2-吡咯烷甲腈 4-甲基苯磺酸盐(755 mg, 2.64 mmol)和 N,N-二异丙基乙胺(341 mg, 2.64 mmol)的 DMF 溶液(8mL)。将溶液搅拌过夜, 然后用乙酸乙酯稀释并用水(三次)、饱和碳酸氢钠和 2.0 M HCl 顺序洗涤。经硫酸镁干燥后, 真空除去溶剂。残留的黄色油经柱层析(最初用己烷/乙酸乙酯/二氯甲烷(6:3:1), 然后用己烷/乙酸乙酯/二氯甲烷(3:1:1))纯化而得到 605 mg(1.62 mmol, 64%收率)白色固体形式的化合物 D。其经 $^1\text{H NMR}$ 分析为 3:2 非对映体混合物。采用这种非对映体混合物。

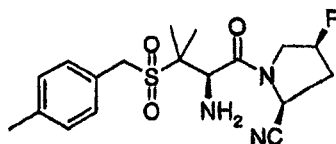
E.(2S,4S)-1-[(2S)-2-氨基-5-(4-甲氧基苯基)-3,3-二甲基戊酰基]-4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐

20 向 100% Pd/C(200 mg)的乙醇溶液(8mL)加入化合物 D(593 mg, 1.59 mmol)的 1:1 THF/EtOH 溶液(10 mL)。将该溶液脱气四次, 然后用氢气气囊供氢气保护。6.5 小时后, 将该溶液通过硅藻土床过滤并将硅藻土用二氯甲烷彻底洗涤。真空除去溶剂, 残留固体经柱层析(5% 氨甲醇溶液/二氯甲烷)纯化, 得到 251 mg(0.72 mmol)游离碱形式的化合物 E。然后将该物质溶解于 2 mL 二氯甲烷中, 加入 3.0 mL 4.0 M HCl 的二噁烷溶液。然后立即将溶剂真空除去, 残留油在乙醚中研磨。残留固体经真空过滤收集, 得到 231 mg(0.60 mmol)化合物 E 的盐酸

氯甲烷溶液作为流动相的快速层析纯化,得到 532 mg(1.35 mmol, 83% 收率)化合物 B 的游离碱。为了形成盐酸盐,将游离碱溶于乙醚中,加入丙酮直到所有固体物溶解。滴加 2.0 M HCl 的乙醚溶液直到不再形成沉淀。然后将沉淀物过滤并用乙醚洗涤几次。得到的盐在高真空下干燥。

¹H NMR (D₂O) 400 MHz δ 7.26-7.13 (m, 5H), 5.48 (d, 1H, J = 50.7 Hz), 5.00 (d, 1H, J = 9.7 Hz), 4.63 (s, 1H), 4.02 (m, 1H), 3.81 (m, 1H), 3.20-3.15 (m, 2H), 2.71 (t, 2H, J = 7.5 Hz), 2.65-2.33 (m, 2H), 2.09-2.01 (m, 2H), 1.50 (s, 3H), 1.35 (s, 3H) ppm.

实施例 15



(2S,4S)-1-((2R)-2-氨基-3-甲基-3-[(4-甲基苄基)磺酰基]丁酰基)-4-氟代吡咯烷-2-甲腈

A.(2R)-2-[(叔丁氧基羰基)氨基]-3-甲基-3-[(4-甲基苄基)硫基]丁酸

向(2R)-2-[(叔丁氧基羰基)氨基]-3-巯基-3-甲基丁酸(如上所述)(1.0 g, 4.01 mmol, 1.0 当量)的 1.0 N NaOH(50 mL)溶液加入 4-甲基苄基氯(584 μL, 4.41 mmol, 1.1 当量)。将得到的混合物在室温下搅拌 18 小时。然后将反应混合物倾入到分液漏斗中并用乙醚洗涤(1 ×)以除去未反应氯化物。向水层加入浓盐酸直到 pH 达到 2-3。然后将水层用乙醚萃取两次。合并的有机萃取物经硫酸镁干燥并真空浓缩。得到的白色蓬松固体没有进一步纯化直接用于下一步。分离得到 1.29 g 化合物 A(3.65 mmol, 91%收率)。

¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 7.21 (d, 2H, *J* = 7.9 Hz), 7.11 (d, 2H, *J* = 8.3 Hz), 5.46

(d (br), 1H, *J* = 8.5 Hz), 4.40 (s (br), 1H), 3.83 (q, 2H, *J* = 11.7 Hz), 2.31 (s, 3H), 1.48-1.42

(m, 15H) ppm.

B. (1R)-1-{[(2S,4S)-2-氟基-4-氟代吡咯烷-1-基]羰基}-2-甲基-2-[(4-甲基苄基)硫基]丙基氨基甲酸叔丁酯

5 向化合物 A(1.29 mg, 3.65 mmol, 1.2 当量)的 DMF 溶液(25 mL)顺序加入 N,N-二异丙基乙胺(715 μL, 4.1 mmol, 1.35 当量)和 HATU(1.96 mg, 5.17 mmol, 1.7 当量)。得到的琥珀色溶液在室温下搅拌 20 分钟。向该搅拌溶液加入(2S,4S)-4-氟-2-吡咯烷甲腈 4-甲基苯磺酸盐(869 mg, 3.04 mmol, 1.0 当量)和 N,N-二异丙基乙胺(582 μL, 3.34
10 mmol, 1.1 当量)的 DMF(15 mL)溶液。将得到的溶液在室温下搅拌 18 小时并用饱和碳酸氢钠溶液(约 5 mL)猝灭。然后将浑浊溶液倾入到水(约 20 mL)并用乙酸乙酯(3 × 10 mL)萃取。合并的有机萃取物用水(2 ×)和盐水(1 ×)洗涤;经硫酸镁干燥并真空浓缩。将得到的琥珀色油使用以 1:1 己烷/乙酸乙酯作为流动相的快速层析纯化。分离得到 1.14
15 g(2.54 mmol, 84%收率)白色泡沫形式的化合物 B。

¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 7.26 (d, 2H, *J* = 8.4 Hz), 7.10 (d, 2H, *J* = 7.8 Hz), 5.48 (d, 1H, *J* = 51.9 Hz), 5.44 (d, 1H, *J* = 9.5 Hz), 5.04 (d, 1H, *J* = 9.2 Hz), 4.37 (d, 1H, *J* = 9.0 Hz), 4.25 (m, 1H), 4.04 (m, 1H), 3.81 (s, 2H), 2.72 (t, 1H, *J* = 15.2 Hz), 2.45-2.28 (m, 4H), 1.47-1.41 (m, 15H) ppm.

C.(1R)-1-{[(2S,4S)-2-氟基-4-氟代吡咯烷-1-基]羰基}-2-甲基-2-[(4-甲基苄基)磺酰基]丙基氨基甲酸叔丁酯

20 向化合物 B(1.14 g, 2.54 mmol, 1.0 当量)的三氯甲烷(75 mL)溶液加入 3-氯过氧苯甲酸(3.09 g, 17.9 mmol, 10 当量)。得到的混合物在室温下搅拌 18 小时。然后用 1.0 N NaOH(约 15 mL)猝灭反应物并分层。有机层用硫酸镁干燥并真空浓缩。得到的白色蓬松固体没有进一步

纯化直接用于下一步。分离得到 1.03 g 化合物 C(2.14 mmol, 84%收率)。

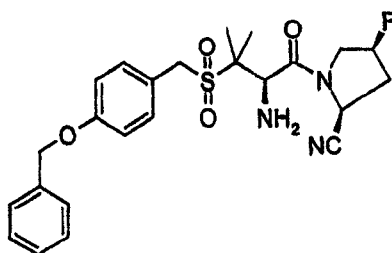
^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7.32 (d, 2H, $J = 8.0$ Hz), 7.19 (d, 2H, $J = 7.9$ Hz), 5.51 (m, 1H), 5.48 (d, 1H, $J = 50.7$ Hz), 5.04 (d, 1H, $J = 9.2$ Hz), 4.99 (d, 1H, $J = 9.7$ Hz), 4.32-3.97 (m, 4H), 2.72 (t, 1H, $J = 15.7$ Hz), 2.46-2.29 (m, 4H), 1.58 (s, 3H), 1.52 (s, 3H), 1.41 (s, 9H) ppm.

5 D.(2S,4S)-1-{(2R)-2-氨基-3-甲基-3-[(4-甲基苄基)磺酰基]丁酰基}-4-氟代吡咯烷-2-甲腈

向三氟乙酸(10 mL)的二氯甲烷(100 mL)溶液加入化合物 C(1.03 g, 2.14 mmol, 1.0 当量)。将得到的淡黄色溶液在室温下搅拌 2 小时, 然后真空除去溶剂。通过加入饱和碳酸氢钠溶液将得到的 TFA 盐转化成游离碱并用乙酸乙酯萃取水层(两次)。合并的有机萃取物经硫酸钠干燥, 真空浓缩。得到的灰白色泡沫使用以 5% 甲醇(含 0.1% 氨)的二氯甲烷溶液作为流动相的快速层析纯化, 得到 577 mg(1.51 mmol, 71% 收率)白色泡沫状化合物 D。为了形成盐酸盐, 将游离碱溶于乙醚中并加入丙酮直到所有固体物溶解。滴加 2.0 M HCl 的乙醚溶液直到不再形成沉淀。然后将沉淀物过滤并用乙醚洗涤几次。得到的盐在高真空下干燥。

^1H NMR ($d_4\text{-MeOH}$) 400 MHz δ 7.38 (d, 2H, $J = 8.1$ Hz), 7.24 (d, 2H, $J = 7.7$ Hz), 5.56 (d, 1H, $J = 50.7$ Hz), 5.12 (d, 1H, $J = 9.7$ Hz), 4.74 (s, 1H), 4.64 (ABq, 2H, $J = 19.7, 13.3$ Hz), 4.12 (m, 1H), 3.94 (m, 1H), 2.70-2.43 (m, 2H), 2.36 (s, 3H), 1.76 (s, 3H), 1.58 (s, 3H) ppm.

实施例 16



(2S,4S)-1-((2R)-2-氨基-3-{[4-(苄氧基)苄基]磺酰基}-3-甲基丁酰基)-4-氟代吡咯烷-2-甲腈

A.(2R)-3-{[4-(苄氧基)苄基]硫基}-2-[(叔丁氧基羰基)氨基]-3-甲基丁酸

- 5 向(2R)-2-[(叔丁氧基羰基)氨基]-3-硫基-3-甲基丁酸(如上所述)(500 mg, 2.01 mmol, 1.0 当量)的 1.0 N NaOH(25 mL)溶液加入 4-苄氧基苄基氯(515 mg, 2.21 mmol, 1.1 当量)。将得到的混合物在室温下搅拌 18 小时。然后将反应混合物倾入到分液漏斗中并用乙醚洗涤(1 ×)以除去任何未反应氯化物。向水层加入浓盐酸直到 pH 达到 2-3。
- 10 然后将水层用乙醚萃取两次。合并的有机萃取物经硫酸镁干燥并真空浓缩。得到的白色蓬松固体没有进一步纯化直接用于下一步。分离得到 700 mg 化合物 A(1.57 mmol, 78%收率)。

¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 7.42-7.31 (m, 5H), 7.24 (d, 2H, *J* = 8.6 Hz), 6.90 (d, 2H, *J* = 8.6 Hz), 5.46 (s(br), 1H), 5.03 (s, 2H), 4.39 (s(br), 1H), 3.81 (q, 2H, *J* = 11.5 Hz), 1.47-1.41 (m, 15H) ppm.

- 15 B. (1R)-2-{[4-(苄氧基)苄基]硫基}-1-{[(2S,4S)-2-氟基-4-氟代吡咯烷-1-基]羰基}-2-甲基丙基氨基甲酸叔丁酯

- 向化合物 A(700 mg, 1.57 mmol, 1.2 当量)的 DMF 溶液(20 mL)顺序加入 N,N-二异丙基乙胺(308 μL, 1.77 mmol, 1.35 当量)和 HATU(847 mg, 2.23 mmol, 1.7 当量)。得到的琥珀色溶液在室温下搅拌 20 分钟。
- 20 向该搅拌溶液加入(2S,4S)-4-氟-2-吡咯烷甲腈 4-甲基苯磺酸盐(375 mg, 1.31 mmol, 1.0 当量)和 N,N-二异丙基乙胺(251 μL, 1.44 mmol, 1.1 当量)的 DMF(10 mL)溶液。将得到的溶液在室温下搅拌 18 小时并用饱和碳酸氢钠溶液(约 5 mL)猝灭。然后将浑浊溶液倾入到水(约 20 mL)中并用乙酸乙酯(3 × 10 mL)萃取。合并的有机萃取物用水(2 ×)和盐水(1 ×)洗涤; 经硫酸镁干燥并真空浓缩。将得到的琥珀色油使用以 1:1 己烷/乙酸乙酯作为流动相的快速层析纯化。分离得到 340 mg(0.628
- 25

mmol, 48%收率)白色泡沫形式的化合物 B。

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7.42-7.27 (m, 7H), 6.91 (d, 2H, $J = 8.8$ Hz), 5.46 (d, 1H, $J = 50.9$ Hz), 5.43 (d, 1H, $J = 9.3$ Hz), 5.05-5.01 (m, 3H), 4.37 (d, 1H, $J = 9.0$ Hz), 4.26 (m, 1H), 4.03 (m, 1H), 3.80 (s, 2H), 2.71 (t, 1H, $J = 15.2$ Hz), 2.36 (m, 1H), 1.47-1.41 (m, 15H) ppm.

5 C.(1R)-2-{[4-(苄氧基)苄基]磺酰基}-1-{[(2S,4S)-2-氟基-4-氟代吡咯烷-1-基]羰基}-2-甲基丙基氨基甲酸叔丁酯

向化合物 B(340 mg, 0.628 mmol, 1.0 当量)的三氯甲烷(30 mL)溶液加入 3-氯过氧苯甲酸(1.08 g, 6.28 mmol, 10 当量)。得到的混合物在室温下搅拌 18 小时。然后用 1.0 N NaOH(约 5 mL)猝灭反应并分层。有机层用硫酸镁干燥并真空浓缩。得到的白色蓬松固体没有进一步
10 纯化直接用于下一步。分离得到 280 mg 化合物 C(0.488 mmol, 78%收率)。

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7.43-7.32 (m, 7H), 7.00 (d, 2H, $J = 8.8$ Hz), 5.51 (s(br), 1H), 5.48 (d, 1H, $J = 50.7$ Hz), 5.06-4.97 (m, 4H), 4.34-3.99 (m, 4H), 2.73 (t, 1H, $J = 15.2$ Hz), 2.38 (m, 1H), 1.59 (s, 3H), 1.53 (s, 3H), 1.42 (s, 9H) ppm.

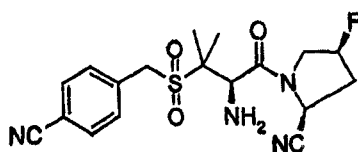
15 D.(2S,4S)-1-{(2R)-2-氨基-3-{[4-(苄氧基)苄基]磺酰基}-3-甲基丁酰基}-4-氟代吡咯烷-2-甲脒

向三氟乙酸(3 mL)的二氯甲烷(27 mL)溶液加入化合物 C(280 mg, 0.488 mmol, 1.0 当量)。将得到的淡黄色溶液在室温下搅拌 2 小时, 然后真空除去溶剂。通过加入饱和碳酸氢钠溶液将得到的 TFA 盐转化成游离碱, 并用乙酸乙酯萃取水层(两次)。合并的有机萃取物经硫酸钠干燥并真空浓缩。得到的灰白色泡沫使用以 5%甲醇(含 0.1%氨)的二氯甲烷溶液作为流动相的快速层析纯化, 得到 182 mg(0.385 mmol, 79%收率)白色泡沫状化合物 D 的游离碱。为了形成盐酸盐, 将游离碱溶于在乙醚中并加入丙酮直到所有固体物溶解。滴加 2.0 M HCl 的乙醚溶液直到不再形成沉淀。然后将沉淀物过滤并用乙醚洗涤几次。
20

得到的盐在高真空下干燥。

^1H NMR (d_4 -MeOH) 400 MHz δ 7.44-7.29 (m, 7H), 7.05 (d, 2H, $J = 8.8$ Hz), 5.56 (d, 1H, $J = 50.0$ Hz), 5.11-5.09 (m, 3H), 4.72 (s, 1H), 4.61 (ABq, 2H, $J = 18.1, 13.5$ Hz), 4.13 (m, 1H), 3.91 (m, 1H), 2.70-2.42 (m, 2H), 1.75 (s, 3H), 1.58 (s, 3H) ppm.

实施例 17



(2S,4S)-1-((2R)-2-氨基-3-[(4-氰基苄基)磺酰基]-3-甲基丁酰基)-4-氟代吡咯烷-2-甲腈

A. (2R)-2-[(叔丁氧基羰基)氨基]-3-[(4-氰基苄基)硫基]-3-甲基丁酸

向(2R)-2-[(叔丁氧基羰基)氨基]-3-硫基-3-甲基丁酸(如上所述)(500 mg, 2.01 mmol, 1.0 当量)的 1.0 N NaOH(25 mL)溶液加入 4-氰基苄基氯(433 mg, 2.21 mmol, 1.1 当量)。将得到的混合物在室温下搅拌 18 小时。然后将反应混合物倾入到分液漏斗中, 用乙醚洗涤(1 ×)以除去未反应氯化物。向水层加入浓盐酸直到 pH 达到 2-3。然后将水层用乙醚萃取两次。合并的有机萃取物经硫酸镁干燥并真空浓缩。得到的白色蓬松固体没有进一步纯化直接用于下一步。分离得到 792 mg 化合物 A(1.72 mmol, 86%收率)。

B. (1R)-2-[(4-氰基苄基)硫基]-1-[[[(2S,4S)-2-氰基-4-氟代吡咯烷-1-基]羰基]-2-甲基丙基氨基甲酸叔丁酯

向化合物 A(792 mg, 1.72 mmol, 1.2 当量)的 DMF 溶液(25 mL)顺序加入 N,N-二异丙基乙胺(337 μL , 1.93 mmol, 1.35 当量)和 HATU(924 mg, 2.43 mmol, 1.7 当量)。得到的琥珀色溶液在室温下搅拌 20 分钟。

向该搅拌溶液加入(2S,4S)-4-氟-2-吡咯烷甲脒 4-甲基苯磺酸盐(409 mg, 1.43 mmol, 1.0 当量)和 N,N-二异丙基乙胺(274 μ L, 1.57 mmol, 1.1 当量)的 DMF(10 mL)溶液。将得到的溶液在室温下搅拌 18 小时, 用饱和碳酸氢钠溶液(约 5 mL)猝灭。然后将浑浊溶液倾入到水(约 20 mL)并用乙酸乙酯(3×10 mL)萃取。合并的有机萃取物用水($2 \times$)和盐水($1 \times$)洗涤; 经硫酸镁干燥并真空浓缩。将得到的琥珀色油使用以 1:1 己烷/乙酸乙酯作为流动相的快速层析纯化。分离得到 572 mg(1.24 mmol, 87%收率)白色泡沫形式的化合物 B。

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7.59 (d, 2H, $J = 8.4$ Hz), 7.50 (d, 2H, $J = 8.4$ Hz), 5.50 (d, 1H, $J = 50.5$ Hz), 5.42 (d, 1H, $J = 9.7$ Hz), 5.03 (d, 1H, $J = 9.5$ Hz), 4.41-4.30 (m, 2H), 4.04 (m, 1H), 3.88 (s, 2H), 2.75 (t, 1H, $J = 15.7$ Hz), 2.39 (m, 1H), 1.46-1.41 (m, 15H) ppm.

10

C.(1R)-2-[(4-氟基苄基)磺酰基]-1-{[(2S,4S)-2-氟基-4-氟代吡咯烷-1-基]羰基}-2-甲基丙基氨基甲酸叔丁酯

向化合物 B(572 mg, 1.24 mmol, 1.0 当量)的三氯甲烷(50 mL)溶液加入 3-氯过氧苯甲酸(2.14 g, 12.4 mmol, 10 当量)。得到的混合物在室温下搅拌 18 小时。然后用 1.0 N NaOH(约 5 mL)猝灭反应物并分层。有机层用硫酸镁干燥并真空浓缩。得到的白色蓬松固体没有进一步纯化直接用于下一步。分离得到 487 mg 化合物 C(0.989 mmol, 80%收率)。

15

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7.70 (d, 2H, $J = 8.5$ Hz), 7.57 (d, 2H, $J = 8.4$ Hz), 5.53 (s(br), 1H), 5.51 (d, 1H, $J = 50.7$ Hz), 5.04 (d, 1H, $J = 9.9$ Hz), 4.99 (d, 1H, $J = 9.8$ Hz), 4.43-4.29 (m, 3H), 4.04 (m, 1H), 2.77 (t, 1H, $J = 15.0$ Hz), 2.42 (m, 1H), 1.61 (d, 6H, $J = 5.8$ Hz), 1.44 (s, 9H) ppm.

20

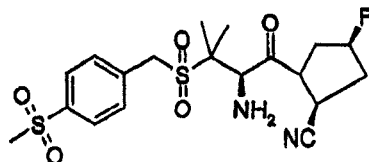
D.(2S,4S)-1-{(2R)-2-氨基-3-[(4-氟基苄基)磺酰基]-3-甲基丁酰基}-4-氟代吡咯烷-2-甲脒

向三氟乙酸(6 mL)的二氯甲烷(54 mL)溶液加入化合物 C(487 mg,

0.989 mmol, 1.0 当量)。将得到的淡黄色溶液在室温下搅拌 2 小时, 然后真空除去溶剂。通过加入饱和碳酸氢钠溶液将得到的 TFA 盐转化成游离碱, 用乙酸乙酯萃取水层(两次)。合并的有机萃取物经硫酸钠干燥并真空浓缩。得到的灰白色泡沫使用 5% 甲醇(含 0.1% 氨)的二氯甲烷溶液作为流动相的快速层析纯化, 得到 285 mg(0.726 mmol, 73% 收率)白色泡沫状化合物 D 的游离碱。为了形成盐酸盐, 将游离碱溶于乙醚中并加入丙酮直到所有固体物溶解。滴加 2.0 M HCl 的乙醚溶液直到不再形成沉淀。然后将沉淀物过滤并用乙醚洗涤几次。得到的盐在高真空下干燥。

¹H NMR (D₂O) 400 MHz δ 7.72 (d, 2H, J = 8.6 Hz), 7.51 (d, 2H, J = 8.5 Hz), 5.49 (d, 1H, J = 50.6 Hz), 5.02 (d, 1H, J = 9.7 Hz), 4.72-4.67 (m, 3H), 4.08 (m, 1H), 3.85 (m, 1H), 2.66-2.35 (m, 2H), 1.66 (s, 3H), 1.51 (s, 3H) ppm.

实施例 18



(2S,4S)-1-((2R)-2-氨基-3-甲基-3-{[4-(甲基磺酰基)苄基]磺酰基}丁酰基)-4-氟代吡咯烷-2-甲腈

A.(2R)-2-[(叔丁氧基羰基)氨基]-3-甲基-3-{[4-(甲基磺酰基)苄基]磺基}丁酸

向(2R)-2-[(叔丁氧基羰基)氨基]-3-巯基-3-甲基丁酸(如上所述)(500 mg, 2.01 mmol, 1.0 当量)的 1.0 N NaOH(25 mL)溶液加入 4-甲基磺酰基苄基氯(452 mg, 2.21 mmol, 1.1 当量)。将得到的混合物在室温下搅拌 18 小时。然后将反应混合物倾入到分液漏斗中并用乙醚洗涤(1 ×)以除去任何未反应氯化物。向水层加入浓盐酸直到 pH 达到 2-3。然后将水层用乙醚萃取两次。合并的有机萃取物经硫酸镁干燥

并真空浓缩。得到的白色蓬松固体没有进一步纯化直接用于下一步。分离得到 768 mg 化合物 A(1.84 mmol, 92%收率)。

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7.87 (d, 2H, $J = 8.5$ Hz), 7.54 (d, 2H, $J = 8.5$ Hz), 5.39 (s(br), 1H), 4.44 (s(br), 1H), 3.88 (s, 2H), 3.03 (s, 3H), 1.46-1.43 (m, 15H) ppm.

5 B. (1R)-1-{[(2S,4S)-2-氟基-4-氟代吡咯烷-1-基]羰基}-2-甲基-2-{[4-(甲基磺酰基)苄基]磺基}丙基氨基甲酸叔丁酯

向化合物 A(768 mg, 1.84 mmol, 1.2 当量)的 DMF 溶液(25 mL)顺序加入 N,N-二异丙基乙胺(361 μL , 2.07 mmol, 1.35 当量)和 HATU(989 mg, 2.60 mmol, 1.7 当量)。得到的琥珀色溶液在室温下搅拌 20 分钟。
10 向该搅拌溶液加入(2S,4S)-4-氟-2-吡咯烷甲腈 4-甲基苯磺酸盐(438 mg, 1.53 mmol, 1.0 当量)和 N,N-二异丙基乙胺(293 μL , 1.68 mmol, 1.1 当量)的 DMF(10 mL)溶液。将得到的溶液在室温下搅拌 18 小时并用饱和碳酸氢钠溶液(约 5 mL)猝灭。然后将浑浊溶液倾入到水(约 20 mL)并用乙酸乙酯(3×10 mL)萃取。合并的有机萃取物用水($2 \times$)和盐水($1 \times$)洗涤;
15 $\times$)洗涤;经硫酸镁干燥并真空浓缩。将得到的琥珀色油使用以 1:1 己烷/乙酸乙酯作为流动相的快速层析纯化。分离得到 683 mg(1.33 mmol, 87%收率)白色泡沫形式的化合物 B。

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7.86 (d, 2H, $J = 8.5$ Hz), 7.58 (d, 2H, $J = 8.3$ Hz), 5.50 (d, 1H, $J = 50.9$ Hz), 5.43 (d, 1H, $J = 9.9$ Hz), 4.43-4.30 (m, 2H), 4.03 (m, 1H), 3.90 (s, 2H), 3.02 (s, 3H), 2.74 (t, 1H, $J = 15.6$ Hz), 2.39 (m, 1H), 1.47-1.41 (m, 15H) ppm.

20 C.(1R)-1-{[(2S,4S)-2-氟基-4-氟代吡咯烷-1-基]羰基}-2-甲基-2-{[4-(甲基磺酰基)苄基]磺酰基}丙基氨基甲酸叔丁酯

向化合物 B(683 mg, 1.33 mmol, 1.0 当量)的三氯甲烷(50 mL)溶液加入 3-氯过氧苯甲酸(2.30 g, 13.3 mmol, 10 当量)。得到的混合物在室温下搅拌 18 小时。然后用 1.0 N NaOH(约 5 mL)猝灭反应并分离各
25 层。有机层用硫酸镁干燥并真空浓缩。得到的白色蓬松固体没有进

一步纯化直接用于下一步。分离得到 581 mg 化合物 C(1.06 mmol, 80% 收率)。

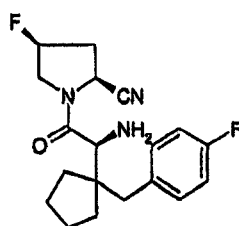
^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7.98 (d, 2H, $J = 8.6$ Hz), 7.66 (d, 2H, $J = 8.5$ Hz), 5.53 (s, 1H), 5.51 (d, 1H, $J = 50.5$ Hz), 5.08 (d, 1H, $J = 10.0$ Hz), 4.99 (d, 1H, $J = 9.5$ Hz), 4.44-4.32 (m, 2H), 4.03 (m, 1H), 3.06 (s, 3H), 2.77 (t, 1H, $J = 16.0$ Hz), 2.41 (m, 1H), 1.63 (s, 3H), 1.60 (s, 3H), 1.43 (s, 9H) ppm.

5 D.(2S,4S)-1-((2R)-2-氨基-3-甲基-3-{[4-(甲基磺酰基)苄基]磺酰基}丁酰基)-4-氟代吡咯烷-2-甲腈

10 向三氟乙酸(7 mL)的二氯甲烷(63 mL)溶液加入化合物 C(581 mg, 1.06 mmol, 1.0 当量)。将得到的淡黄色溶液在室温下搅拌 2 小时, 然后真空除去溶剂。通过加入饱和碳酸氢钠溶液将得到的 TFA 盐转化成游离碱并用乙酸乙酯萃取水层(两次)。合并的有机萃取物经硫酸钠干燥并真空浓缩。得到的灰白色泡沫使用 5% 甲醇(含 0.1% 氨)的二氯甲烷溶液作为流动相的快速层析纯化, 得到 296 mg(0.664 mmol, 63% 收率)白色泡沫状化合物 D 游离碱。为了形成盐酸盐, 将游离碱溶于乙醚中并加入丙酮直到所有固体物溶解。滴加 2.0 M HCl 的乙醚溶液直到不再形成沉淀。然后将沉淀物过滤并用乙醚洗涤几次。得到的盐在高真空下干燥。

15 ^1H NMR (D_2O) 400 MHz δ 7.91 (d, 2H, $J = 8.1$ Hz), 7.63 (d, 2H, $J = 8.2$ Hz), 5.49 (d, 1H, $J = 50.3$ Hz), 5.02 (d, 1H, $J = 9.7$ Hz), 4.77-4.68 (m, 3H), 4.09 (m, 1H), 3.85 (m, 1H), 3.14 (s, 3H), 2.66-2.36 (m, 2H), 1.67 (s, 3H), 1.53 (s, 3H) ppm.

实施例 19



(2S,4R)-1-((2S)-2-氨基-2-[1-(4-氟苄基)环戊基]乙酰基)-4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐

A. 1-(4-氟苄基)-环戊烷甲腈

向搅拌着的 4-氟苄基溴(10.0 g, 52.9 mmol)的甲苯溶液(100 mL)加入环戊烷甲腈(6.1 mL, 58.2 mmol)。将混合物彻底搅拌并冷却到 0 °C。经加液漏斗缓慢加入 159 mL 0.5 M KHMDS(79.35 mmol)的甲苯溶液, 然后将反应混合物升温到室温并搅拌 14 小时。向反应混合物加入 1.0 M HCl 到 pH < 7 将反应物猝灭。分离各层后, 水层用乙酸乙酯再次萃取。合并的有机层顺序用饱和碳酸氢钠、水、盐水洗涤, 经硫酸镁干燥, 过滤并真空浓缩。经硅胶层析(10:1 己烷:乙酸乙酯)纯化, 得到 8.61 g(80%收率)黄色液体形式的化合物 A。

¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 7.28-7.24 (m, 2H), 7.01 (t, J=8.7 Hz, 2H), 2.84 (s, 2H), 2.07-2.01 (m, 2H), 1.89-1.66 (m, 6H) ppm.

B. 1-(4-氟苄基)环戊烷甲醛

将经搅拌的化合物 A(8.61 g, 42.36 mmol)的甲苯(150 mL)溶液冷却到-78 °C。用注射器滴加纯二异丁基氢化铝(DIBAL, 11.3 mL, 63.54 mmol)并将反应混合物在-78 °C搅拌 2 小时。小心加入 THF(100 mL)、水(30 mL)、乙酸(8 mL)和乙酸钠(7 g)的溶液, 将反应混合物升温到室温并再搅拌 1 小时。加入乙醚后, 将两相混合物通过硅藻土板真空过滤, 倒入到分液漏斗中, 排掉水层。有机层顺序用饱和碳酸氢钠溶液、水和盐水洗涤, 经硫酸镁干燥, 过滤并真空浓缩。经硅胶层析(10:1 己烷:乙酸乙酯)纯化得到 6.55 g(75%收率)无色液体状化合物 B。

¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 9.53 (s, 1H), 7.07 (dd, J=8.4, 5.5 Hz, 2H), 6.93 (t, J=8.7 Hz, 2H), 2.88 (s, 2H), 1.93-1.87 (m, 2H), 1.67-1.48 (m, 6H) ppm.

C. 氨基-[1-(4-氟苄基)环戊基]乙腈

向经搅拌的化合物 B(6.55 g, 31.76 mmol)的甲醇(30 mL)和水(18mL)溶液加入 4.4 mL 约 30%氢氧化铵溶液(33.35 mmol)、氰化钾(2.17 g, 33.35 mmol)和氯化铵(1.87 g, 34.94 mmol)。将浑浊的反应混合物加热到 70℃下 14 小时。将溶液冷却到室温后,用乙酸乙酯稀释,然后顺序用饱和碳酸氢钠、水、盐水洗涤,用硫酸镁干燥,过滤并真空浓缩。硅胶柱层析(4:1 己烷/乙酸乙酯)纯化,得到 5.99 g(81%收率)无色粘稠油状的化合物 C。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) 400 MHz δ 7.23-7.19 (m, 2H), 6.98 (t, $J=8.7$ Hz, 2H), 3.54 (d, $J=3.5$ Hz, 1H), 2.97 (d, $J=13.6$ Hz, 1H), 2.63 (d, $J=13.7$ Hz, 1H), 2.08 (br s, 2H), 1.75-1.57 (m, 8H) ppm.

D. 氨基-[1-(4-氟苄基)环戊基]乙酸盐酸盐

向经搅拌的化合物 C(5.99 g, 25.79 mmol)的冰乙酸(20 mL)溶液加入 100 mL 浓盐酸。将该反应混合液加热缓慢回流(130℃)16 小时。冷却到室温后,将反应混合物真空浓缩至干得到白色固体物。将该固体物在玻璃料上经真空过滤,用乙醚洗涤并经真空干燥获得 6.33 g(85%收率)白色固体形式的化合物 D。

$^1\text{H NMR}$ (CD_3OD) 400 MHz δ 7.30 (dd, $J=8.7, 5.4$ Hz, 2H), 7.04 (t, $J=8.8$ Hz, 2H), 3.89 (s, 1H), 2.85-2.76 (m, 2H), 1.79-1.43 (m, 8H) ppm.

E. [(叔丁氧基羰基)氨基][1-(4-氟苄基)环戊基]乙酸

向经搅拌的化合物 D(6.33 g, 21.99 mmol)的二噁烷溶液(100 mL)顺序加入 76 mL 1.0 M NaOH(75.57 mmol)和 24 mL 水。将反应混合物在室温下搅拌几分钟直到原料完全溶解。加入二碳酸二叔丁酯(BOC_2O , 8.25 g, 37.78 mmol)并将反应混合物室温下搅拌 14 小时。缓慢加入浓盐酸直到 pH <7,接着用乙酸乙酯稀释。分离水层,然后再用两份乙酸乙酯萃取。合并的有机层经硫酸镁干燥,过滤并真空

浓缩得到 7.95 g(90%收率)白色泡沫体形式的化合物 E。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) 400 MHz δ 7.20 (dd, $J=8.6, 5.5$ Hz, 2H), 6.96 (t, $J=8.7$ Hz, 2H),

5.00 (d, $J=9.1$ Hz, 1H), 4.28 (d, $J=9.0$ Hz, 1H), 2.72-2.64 (m, 2H), 1.63-1.35 (m, 8H), 1.45

(s, 9H) ppm.

5 F.(1S)-2-[(2S,4S)-2-氟基-4-氟代吡咯烷-1-基]-1-[1-(4-氟苄基)环戊基]-2-氧代乙基氨基甲酸叔丁酯

10 向经搅拌的化合物 E(1.90 g, 5.41 mmol)的 DMF 溶液(54 mL)顺序加入(2S,4S)-4-氟代吡咯烷-2-甲腈 4-甲基苯磺酸盐(1.55 g, 5.41 mmol)、HATU(2.06 g, 5.41 mmol)和二异丙基乙胺(2.83 g, 16.23 mmol)。将反应混合物在室温下搅拌 16 小时。加入水(50 mL)后, 将反应混合物用五份乙酸乙酯萃取。合并对萃取物顺序用水、饱和氯化铵溶液、饱和碳酸氢钠溶液和盐水洗涤, 经硫酸镁干燥, 过滤, 并真空浓缩。经快速硅胶层析(2:1 己烷:乙酸乙酯)分离两种非对映体, 得到 586 mg(25%所需非对映体收率)无色油状的化合物 F。两种非对映体中化合物 F 极性较大(R_f 值较低)。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) 400 MHz δ 7.20-7.16 (m, 2H), 7.00 (t, $J=8.7$, 2H), 5.22 (br d,

$J=51.1$ Hz, 1H), 5.15 (d, $J=5.9$ Hz, 1H), 4.93 (d, $J=9.3$ Hz, 1H), 4.26 (d, $J=9.7$ Hz, 1H), 3.77-

3.63 (m, 1H), 3.28-3.19 (m, 1H), 2.78-2.52 (m, 4H), 2.32-2.11 (m, 2H), 1.73-1.52 (m, 6H),

15 1.42 (s, 9H) ppm.

G.(2S,4R)-1-[(2S)-2-氨基-2-[1-(4-氟苄基)环戊基]乙酰基]-4-氟代吡咯烷-2-甲腈

20 向经搅拌的化合物 F(586 mg, 1.31 mmol)的二氯甲烷溶液(13 mL)加入 1.00 mL(13.1 mmol)TFA。将反应混合物在室温下搅拌 14 小时。真空浓缩后, 再将反应混合物溶解于乙酸乙酯中并用饱和碳酸氢钠溶液洗涤, 经硫酸镁干燥, 过滤并真空浓缩。经硅胶快速层析(5%MeOH(含 2% NH_3)的二氯甲烷溶液)纯化, 得到 160 mg(35%收率)

白色固体状化合物 G。

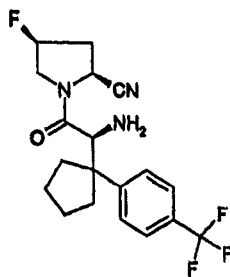
^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7.21-7.17 (m, 2H), 6.99 (t, $J=8.6$ Hz, 2H), 5.24 (br d, $J=51.1$ Hz, 1H), 4.93 (d, $J=9.3$ Hz, 1H), 3.53-3.40 (m, 1H), 3.34 (s, 1H), 3.29-3.20 (m, 1H), 2.92 (d, $J=13.6$ Hz, 1H), 2.66 (d, $J=13.7$ Hz, 1H), 2.63-2.49 (m, 2H), 2.31-1.32 (m, 8H) ppm.

5 H.(2S,4R)-1-((2S)-2-氨基-2-[1-(4-氟苄基)环戊基]乙酰基)-4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐

向经搅拌的化合物 G(160 mg, 0.460 mmol)的乙醚(5 mL)溶液加入 2.0 M HCl/乙醚(1.0 mL)溶液。将反应混合物在室温下搅拌 5 分钟, 期间沉淀出白色固体物。经玻璃料真空过滤收集固体物并高真空干燥过夜, 得到 139 mg(79%收率)白色固体物形式的化合物 H。

10 ^1H NMR (CD_3OD) 400 MHz δ 7.31-7.27 (m, 2H), 7.13 (t, $J=8.8$ Hz, 2H), 5.30 (br d, $J=51.1$, 1H), 5.01 (d, $J=9.5$ Hz, 1H), 4.04 (s, 1H), 3.56-3.43 (m, 1H), 3.20-3.11 (m, 1H), 2.90 (d, $J=13.9$ Hz, 1H), 2.73 (d, $J=14.0$ Hz, 1H), 2.60-2.30 (m, 2H), 2.14-1.37 (m, 8H) ppm.

实施例 20



15 (2S,4S)-1-((2S)-2-氨基-2-[1-[4-(三氟甲基)苯基]环戊基]乙酰基)-4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐

A. 1-[4-(三氟甲基)苯基]-环戊烷甲腈

20 向经搅拌的 4-氟苄基三氟化物(5.0 g, 30.47 mmol)的甲苯溶液(40 mL)加入环戊烷甲腈(10.5 mL, 100.55 mmol), 接着加入 92 mL 0.5 M KHMDS(45.71 mmol)的甲苯溶液。然后将反应混合物加热到 70℃并

搅拌 14 小时。冷却到室温后向反应混合物加入 1.0 M HCl 到 pH <7 将反应物猝灭。分离各层，有机层顺序用饱和碳酸氢钠、水、盐水洗涤，经硫酸镁干燥，过滤并真空浓缩。经硅胶层析(6:1 己烷:乙酸乙酯)纯化，得到 7.53 g 化合物 A 和残留环戊烷甲腈的混合物。因为这两种混合物不易通过层析分离，因此将该混合物直接用于下一步。

B. 1-[4-(三氟甲基)苯基]环戊烷甲醛

将经搅拌的化合物 A(7.53 g, 如上所述)的甲苯(100 mL)溶液冷却到 -78°C。用注射器缓慢滴加 1.5 M 二丁基氢化铝的甲苯溶液(DIBAL, 32.0 mL, 47.21 mmol)并将反应混合物在 -78°C 搅拌 2 小时。小心加入 THF(100 mL)、水(20 mL)、乙酸(6 mL)和乙酸钠(6.6 g)的溶液并将反应混合物升温到室温，再搅拌 1 小时。加入乙醚后，将两相混合物通过硅藻土板过滤，倒入到分液漏斗中，排掉水层。有机层顺序用饱和碳酸氢钠溶液、水和盐水洗涤，经硫酸镁干燥，过滤并真空浓缩。经硅胶层析(10:1 己烷:乙酸乙酯)纯化得到 3.91 g(53%两步收率)无色液体状化合物 B。

¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 9.41 (s, 1H), 7.61 (d, J=8.1 Hz, 2H), 7.38 (d, J=8.2 Hz, 2H), 2.58-2.52 (m, 2H), 1.93-1.65 (m, 6H) ppm.

C. 氨基-{1-[4-(三氟甲基)苯基]环戊基}乙腈

向经搅拌的化合物 B(3.91 g, 16.14 mmol)的甲醇(20 mL)和水(12 mL)溶液加入 2.20 mL 氢氧化铵溶液(氨含量约 30% 16.95 mmol)、氰化钾(1.11 g, 16.95 mmol)和氯化铵(950 mg, 17.76 mmol)。将浑浊的反应混合物加热到 70°C 下 6 小时。将反应混合液冷却到室温后，用乙酸乙酯稀释并然后顺序用饱和碳酸氢钠、水、盐水洗涤，用硫酸镁干燥，过滤并真空浓缩。经硅胶柱快速层析(2:1 己烷/乙酸乙酯)纯化，得到 2.16 g(50%收率)白色固体状的化合物 C。

¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 7.63 (d, *J*=8.4 Hz, 2H), 7.54 (d, *J*=8.4 Hz, 2H), 3.74 (s, 1H), 2.43-2.36 (m, 1H), 2.32-2.25 (m, 1H), 2.15-2.08 (m, 1H), 2.01-1.93 (m, 1H), 1.85-1.72 (m, 4H), 1.54 (br s, 2H) ppm.

D. 氨基-{1-[4-(三氟甲基)苯基]环戊基}乙酸盐酸盐

5 向经搅拌的化合物 C(2.16 g, 8.05 mmol)的冰乙酸(10 mL)溶液加入 50 mL 浓盐酸。将该溶液加热至缓慢回流(130℃)16 小时。冷却到室温后, 将反应混合物真空浓缩至干得到白色固体物。将该固体物经高真空干燥获得 2.61 g(100%收率)白色固体形式的化合物 D。

¹H NMR (d₄-MeOH) 400 MHz δ 7.69 (d, *J*=8.4 Hz, 2H), 7.60 (d, *J*=8.4 Hz, 2H), 4.20 (d, *J*=2.4 Hz, 1H), 2.42-2.34 (m, 2H), 2.27-2.19 (m, 1H), 2.14-2.07 (m, 1H), 1.86-1.79 (m, 2H), 1.61-1.51 (m, 2H) ppm.

10 E. [(叔丁氧基羰基)氨基]{1-[4-(三氟甲基)苯基]环戊基}乙酸

向经搅拌的化合物 D(2.61 g, 8.05 mmol)的 1,4-二噁烷(20 mL)和水(20 mL)溶液加入 1.08 g 固体 NaOH(27.06 mmol)。将反应混合物在室温下搅拌几分钟后, 加入二碳酸二叔丁酯(BOC₂O, 3.94 g, 18.04 mmol)并将反应混合物在室温下搅拌 14 小时。缓慢加入浓盐酸直到 pH < 7, 接着用乙酸乙酯稀释。分离水层, 用氯化钠饱和后再用两份乙酸乙酯再萃取。合并的有机层经硫酸镁干燥, 过滤并真空浓缩得到 3.01 g(86%收率)无色粘稠油状的化合物 E。

¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 7.55 (d, *J*=7.8 Hz, 2H), 7.40 (d, *J*=8.2 Hz, 2H), 4.85 (d, *J*=8.5 Hz, 1H), 4.55 (d, *J*=8.5 Hz, 1H), 2.43-1.59 (m, 8H), 1.42 (s, 9H) ppm.

20 F. (1S)-2-[(2S,4S)-2-氨基-4-氟代吡咯烷-1-基]-2-氧代-1-{1-[4-(三氟甲基)苯基]环戊基}乙基氨基甲酸叔丁酯

向经搅拌的化合物 E(1.01 g, 2.61 mmol)的 DMF 溶液(26 mL)顺序加入(2S,4S)-4-氟代吡咯烷-2-甲腈 4-甲基苯磺酸盐(747 mg, 2.61

mmol)、HATU(993 mg, 2.61 mmol)和二异丙基乙胺(1.40 mL, 7.83 mmol)。将反应混合物在室温下搅拌 16 小时。加入水(20 mL)后, 将反应混合物用五份乙酸乙酯萃取。合并的萃取物顺序用水、1.0 M 硫酸氢钠、饱和碳酸氢钠溶液、盐水洗涤, 经硫酸镁干燥, 过滤, 并真空浓缩。经硅胶层析(1:1 己烷:乙酸乙酯)分离得到 442 mg(35%收率)非对映体混合物形式的产物。进一步硅胶层析(2:1 己烷:乙酸乙酯)分离非对映体, 得到 145 mg 白色泡沫状化合物 F。两种非对映体中化合物 F 极性较大(R_f 值较低)。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) 400 MHz δ 7.63 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 7.56 (d, $J=8.6$ Hz, 2H), 5.27 (d, $J=9.7$ Hz, 1H), 5.08 (br d, $J=50.9$ Hz, 1H), 4.84 (d, $J=9.5$ Hz, 1H), 4.49 (d, $J=9.9$ Hz, 1H), 3.63-3.50 (m, 1H), 2.77 (dd, $J=23.6, 12.0$ Hz, 1H), 2.48 (t, $J=15.5$ Hz, 1H), 2.25-2.20 (m, 2H), 2.10-2.03 (m, 2H), 1.77-1.71 (m, 2H), 1.52-1.48 (m, 2H), 1.41 (s, 9H) ppm.

G.(2S,4S)-1-((2S)-2-氨基-2-{1-[4-(三氟甲基)苯基]环戊基}乙酰基)-4-氟代吡咯烷-2-甲腈

向经搅拌的化合物 F(145 mg, 0.30 mmol)的二氯甲烷溶液(3 mL)加入 0.116 mL(1.50 mmol)TFA。将反应混合物在室温下搅拌 14 小时。真空浓缩后, 再将反应混合物溶解于乙酸乙酯中并用饱和碳酸氢钠溶液洗涤, 经硫酸镁干燥, 过滤并真空浓缩。经硅胶快速层析(5%MeOH(含 2% NH_3)的二氯甲烷溶液)纯化, 得到 62 mg(54%收率)白色固体状化合物 G。

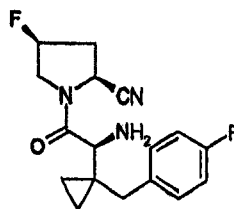
$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) 400 MHz δ 7.62 (d, $J=8.2$ Hz, 2H), 7.54 (d, $J=8.6$ Hz, 2H), 5.12 (br d, $J=51.1$ Hz, 1H), 4.86 (d, $J=9.5$ Hz, 1H), 3.57 (s, 1H), 3.55-3.42 (m, 1H), 2.97-2.88 (m, 1H), 2.50 (t, $J=15.2$ Hz, 1H), 2.24-2.10 (m, 5H), 1.99 (br s, 2H), 1.76-1.71 (m, 2H), 1.54-1.41 (m, 2H) ppm.

H.(2S,4S)-1-((2S)-2-氨基-2-{1-[4-(三氟甲基)苯基]环戊基}乙酰基)-4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐

5 向装有化合物 G(51 mg, 0.133 mmol)的烧瓶加入乙醚(3 mL)。加入几滴丙酮使溶液成为均匀溶液。加入 2.0 M HCl/乙醚(1.0 mL)溶液并将反应混合物在室温下搅拌 5 分钟。真空除去溶剂并将得到的固体物在高真空下干燥过夜, 得到 55 mg(98%收率)白色固体物形式的化合物 H。

$^1\text{H NMR}$ (D_2O) 400 MHz δ 7.62 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 7.58 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 5.13 (br d, $J=51.1$ Hz, 1H), 4.86 (d, $J=9.5$ Hz, 1H), 4.37 (s, 1H), 3.54-3.40 (m, 1H), 2.95-2.86 (m, 1H), 2.44-2.18 (m, 4H), 1.92-1.84 (m, 2H), 1.64-1.58 (m, 2H), 1.33-1.25 (m, 2H) ppm.

10 实施例 21



(2S,4S)-1-((2S)-2-氨基-2-[1-(4-氟苄基)环丙基]乙酰基)-4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐

15 A. 1-(4-氟苄基)-环丙烷甲腈

20 将环丙烷甲腈(4.3 mL, 58.2 mmol)的甲苯溶液(100 mL)冷却 0 °C。经加液漏斗缓慢加入 159 mL 0.5 M KHMDS(79.35 mmol)的甲苯溶液, 然后将反应混合物在 0 °C 搅拌 30 分钟。接着在 0 °C 滴加 4-氟苄基溴(10.0 g, 52.9 mmol)的甲苯(20 mL)溶液。将反应混合物升温到室温并搅拌 3 小时。然后向反应混合物加入 1.0 M HCl 到 pH < 7 将其猝灭。分层后, 水层再次用乙酸乙酯萃取。合并的有机层顺序用饱和碳酸氢钠、水、盐水洗涤, 经硫酸镁干燥, 过滤并真空浓缩。经硅胶层析(95:5 己烷:乙酸乙酯)纯化, 得到 7.76 g(84%收率)黄色液体形式的化合物 A。

¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 7.25-7.22 (m, 2H), 7.03 (t, *J*=8.7 Hz, 2H), 2.77 (s, 2H), 1.28 (dd, *J*=7.1, 5.1 Hz, 2H), 0.94 (dd, *J*=7.1, 5.1 Hz, 2H) ppm.

B. 1-(4-氟苄基)环丙烷甲醛

5 将经搅拌的化合物 A(7.76 g, 44.29 mmol)的甲苯(150 mL)溶液冷却到-78℃。用注射器滴加纯二丁基氢化铝(DIBAL, 11.8 mL, 66.43 mmol)并将反应混合物在-78℃搅拌2小时。小心加入 THF(100 mL)、水(40 mL)、乙酸(8 mL)和乙酸钠(7.5 g)的溶液, 将反应混合物升温到室温并再搅拌1小时。加入乙醚后, 将两相混合物通过硅藻土板真空过滤, 倒入到分液漏斗中, 排掉水层。有机层顺序用饱和碳酸氢钠溶液、水和盐水洗涤, 经硫酸镁干燥, 过滤并真空浓缩。经硅胶层析(95:5 己烷:乙酸乙酯)纯化得到 7.20 g(91%收率)无色液体状化合物 B。

¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 8.71 (s, 1H), 7.16-7.13 (m, 2H), 6.94 (t, *J*=8.8 Hz, 2H), 2.96 (s, 2H), 1.20-1.17 (m, 2H), 1.00-0.97 (m, 2H) ppm.

15 C. 氨基-[1-(4-氟苄基)环丙基]乙腈

20 向经搅拌掉化合物 B(7.20 g, 40.40 mmol)的甲醇(40 mL)和水(25mL)溶液加入 5.51 mL 氢氧化铵溶液(氨含量约 30% 42.42 mmol)、氰化钾(2.76 g, 42.42 mmol)和氯化铵(2.38 g, 44.44 mmol)。将浑浊的反应混合物加热到 70℃14 小时。将溶液冷却到室温后, 用乙酸乙酯稀释并然后顺序用饱和碳酸氢钠、水、盐水洗涤, 用硫酸镁干燥, 过滤并真空浓缩。经硅胶快速柱层析(20%乙酸乙酯的己烷溶液)纯化, 得到 2.21 g(27%收率)无色粘稠油状的化合物 C。

¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 7.22-7.19 (m, 2H), 6.98 (t, *J*=8.6 Hz, 2H), 3.62 (d, *J*=3.3 Hz, 1H), 3.12 (d, *J*=14.3 Hz, 1H), 2.56 (d, *J*=14.3 Hz, 1H), 1.93 (br s, 1H), 1.82 (br s, 1H), 0.78-0.76 (m, 2H), 0.67-0.64 (m, 1H), 0.54-0.51 (m, 1H) ppm.

D. 氨基-[1-(4-氟苄基)环丙基]乙酸盐盐酸盐

向经搅拌的化合物 C(2.21 g, 10.82 mmol)的冰乙酸(10 mL)溶液加入 50 mL 浓盐酸。将该溶液加热缓慢回流(130℃)16 小时。冷却到室温后, 将反应混合物真空浓缩至干得到白色固体物。将该固体物在玻璃料上经真空过滤, 用乙醚洗涤并经高真空干燥获得 2.81 g(100% 收率)白色固体形式的化合物 D。

¹H NMR (d₄-MeOH) 400 MHz δ 7.18 (dd, *J*=8.8, 5.5 Hz, 2H), 7.01 (t, *J*=8.8 Hz, 2H), 3.54 (s, 1H), 2.84 (d, *J*=4.9 Hz, 2H), 0.89-0.84 (m, 1H), 0.70-0.59 (m, 2H), 0.51-0.47 (m, 1H) ppm.

E. [(叔丁氧基羰基)氨基][1-(4-氟苄基)环丙基]乙酸

向经搅拌的化合物 D(2.81 g, 10.85 mmol)的 1,4-二噁烷溶液(50 mL)顺序加入 33 mL 1.0 M NaOH(33.03 mmol)和 17 mL 水。将反应混合物在室温下搅拌几分钟直到原料完全溶解。加入二碳酸二叔丁酯(BOC₂O, 3.60 g, 16.52 mmol)并将反应混合物在室温下搅拌 14 小时。缓慢加入浓盐酸直到 pH <7, 接着用乙酸乙酯稀释。分离水层, 然后再用两份乙酸乙酯萃取。合并的有机层经硫酸镁干燥, 过滤并真空浓缩得到 4.06 g(112%收率)淡黄色粘稠油状的化合物 E。

¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 7.19-7.15 (m, 2H), 6.95 (t, *J*=8.7 Hz, 2H), 4.98 (d, *J*=7.0 Hz, 1H), 3.98 (d, *J*=7.5 Hz, 1H), 2.85 (d, *J*=14.5 Hz, 1H), 2.60 (d, *J*=14.2 Hz, 1H), 1.45 (s, 9H), 0.79-0.72 (m, 2H), 0.51-0.47 (m, 2H) ppm.

F. (1S)-2-[(2S,4S)-2-氟基-4-氟代吡咯烷-1-基]-1-[1-(4-氟苄基)环丙基]-2-氧代乙基氨基甲酸叔丁酯

向经搅拌的化合物 E(4.06 g, 12.56 mmol)的 DMF 溶液(125 mL)顺序加入(2S,4S)-4-氟代吡咯烷-2-甲腈 4-甲基苯磺酸盐(3.60 g, 12.56 mmol)、HATU(4.78 g, 12.56 mmol)和二异丙基乙胺(6.60 g, 37.68 mmol)。将反应混合物在室温下搅拌 16 小时。加入水(125 mL)后,

将反应混合物用四份乙酸乙酯萃取。合并的萃取物顺序用饱和氯化铵溶液、饱和碳酸氢钠溶液、水、盐水洗涤，经硫酸镁干燥，过滤，并真空浓缩。经快速硅胶层析(1:1 己烷:乙酸乙酯)分离得到 1.29 g(25 收率)非对映体混合物形式的产物。进一步经硅胶快速层析(2:1 己烷:乙酸乙酯)分离非对映体，得到 853 mg 白色泡沫体形式的化合物 F。两种非对映体中化合物 F 极性较大(R_f 值较低)。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) 400 MHz δ 7.29 (dd, $J=8.6, 5.5$ Hz, 2H), 7.03 (t, $J=8.7$ Hz, 2H), 5.15 (d, $J=9.3$ Hz, 1H), 5.14 (br d, $J=51.1$ Hz, 1H), 4.76 (d, $J=9.3$ Hz, 1H), 4.42 (d, $J=9.3$ Hz, 1H), 3.29-3.16 (m, 1H), 3.15-3.11 (m, 1H), 3.07-2.98 (m, 1H), 2.52 (t, $J=15.2$ Hz, 1H), 2.24-2.17 (m, 1H), 2.14-2.07 (m, 1H), 1.44 (s, 9H), 0.86-0.76 (m, 2H), 0.56-0.45 (m, 2H) ppm.

G.(2S,4S)-1-{(2S)-2-氨基-2-[1-(4-氟苄基)环丙基]乙酰基}-4-氟代吡咯烷-2-甲腈

向经搅拌的化合物 F(853 mg, 2.03 mmol)的二氯甲烷溶液(20 mL)加入 1.56 mL(20.4 mmol)TFA。将反应混合物在室温下搅拌 18 小时。真空浓缩后，再将反应混合物溶解于乙酸乙酯中，用饱和碳酸氢钠溶液洗涤，经硫酸镁干燥，过滤并真空浓缩。经硅胶快速层析(5%MeOH(含 2% NH_3)的二氯甲烷溶液)纯化，得到 401 mg(62%收率)白色固体状化合物 G。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) 400 MHz δ 7.27-7.24 (m, 2H), 7.00 (t, $J=8.6$ Hz, 2H), 5.17 (br d, $J=51.3$ Hz, 1H), 4.76 (d, $J=9.3$ Hz, 1H), 3.48 (s, 1H), 3.32-3.01 (m, 3H), 2.54 (t, $J=15.0$ Hz, 1H), 2.22-2.05 (m, 2H), 1.74 (br s, 2H), 0.79-0.71 (m, 2H), 0.53-0.39 (m, 2H) ppm.

H.(2S,4S)-1-{(2S)-2-氨基-2-[1-(4-氟苄基)环丙基]乙酰基}-4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐

向装有化合物 G(401 mg, 1.26 mmol)的烧瓶加入乙醚(8 mL)。加入约 1 mL 丙酮使溶液均一。加入 2.0 M HCl/乙醚(6.0 mL)溶液并将

反应混合物搅拌 5 分钟。真空除去溶剂得到一种白色固体，将其与一部分 HCl/乙醚溶液一起研磨。经玻璃料真空过滤收集固体物并用几份乙醚洗涤，高真空干燥过夜，得到 376 mg(84%收率)白色固体物形式的化合物 H。

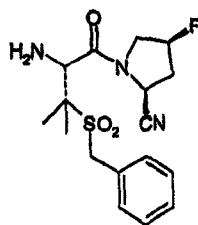
$^1\text{H NMR}$ (D_2O) 400 MHz δ 7.29-7.23 (m, 2H), 7.07-7.01 (m, 2H), 5.22 (br d, $J=50.6$

Hz, 1H), 4.82 (d, $J=9.1$ Hz, 1H), 4.10 (s, 1H), 3.25-2.92 (m, 3H), 2.28 (t, $J=16.0$ Hz, 1H),

2.32-2.21 (m, 2H), 1.16-0.43 (m, 4H) ppm.

5

实施例 22



(2S,4S)-1-[(2R)-2-氨基-3-(苄基磺酰基)-3-甲基丁酰基]-4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐

A.(2R)-3-(苄硫基)-2-[(叔丁氧基羰基)氨基]-3-甲基丁酸

室温下向(2R)-2-[(叔丁氧基羰基)氨基]-3-巯基-3-甲基丁酸(1 g, 0.00401 摩尔)的 1.0 N KOH 溶液(50 mL)加入苄基溴(755 mg, 0.00441 摩尔)。17.0 小时后，将反应物用水稀释并用乙醚洗涤。弃去有机物，将水层冷却到 0-5℃。使用浓盐酸将水溶液调成酸性(pH 3.5)，并用乙酸乙酯萃取产物。有机物经硫酸镁干燥并浓缩至干，得到总共 1.1 g(81%)纯油性固体形式的化合物 A。

15

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) 400 MHz δ 7.32-7.20 (m, 5H), 5.44 (d (br), 1H, $J = 7.2$ Hz), 4.38 (d (br),

1H, $J = 8.0$ Hz), 3.80 (m, 2H), 1.45-1.43 (m, 15H) ppm.

20

B.(1R)-2-(苄硫基)-1-{[(2S,4S)-2-氨基-4-氟代吡咯烷-1-基]羰基}-2-甲基丙基氨基甲酸叔丁酯

室温下向化合物 A(1.1 g, 0.0032 摩尔)和 N,N-二异丙基乙胺(1.4 g, 0.0107 摩尔)的 DMF(20 mL)溶液加入 HATU(1.85 g, 0.0049 摩尔)。

5 30 分钟后, 将反应混合物与(2S,4S)-4-氟-2-吡咯烷甲腈 4-甲基苯磺酸盐(1.0 g, 0.0035 摩尔)混和。搅拌过夜后, 用碳酸氢钠猝灭反应物, 有机物用乙酸乙酯萃取两次。将有机物用饱和氯化钠溶液洗涤并经硫酸镁干燥。真空除去溶剂并经柱层析(1/1 己烷/乙酸乙酯)纯化, 得到 445 mg(32%)化合物 B。

¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 7.36-7.18 (m, 5H), 5.37 (d (br), 1H), 5.45 (d (br), 1H, J=51.6

Hz), 5.00 (d, 1H, J= 9.2 Hz), 4.35 (d, 1H, J=8.8), 4.27-3.92 (m, 4H), 2.67-2.59 (m, 1H),

10 2.40-2.23 (m, 1H), 1.46-1.36 (m, 15H) ppm.

C.(1R)-2-(苄基磺酰基)-1-{[(2S,4S)-2-氨基-4-氟代吡咯烷-1-基]羰基}-2-甲基丙基氨基甲酸叔丁酯

15 向化合物 B(445 mg, 0.00102 摩尔)的二氯甲烷(75 mL)溶液加入 3-氯过氧苯甲酸(57-86%)(1.8 g, 0.0102 摩尔)。将反应混合物在室温下搅拌 16.0 小时, 然后用 2.0 N KOH 中和。分离有机物, 经硫酸镁干燥, 浓缩至干, 得到 421 mg 粗制化合物 C(88%)。得到的褐色固体没有进一步纯化直接使用。

20 D.(2S,4S)-1-[(2R)-2-氨基-3-(苄基磺酰基)-3-甲基丁酰基]-4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐

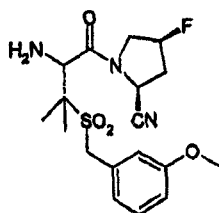
向化合物 C(421 mg, 0.00102 摩尔)的二氯甲烷溶液(45 mL)加入 TFA(5 mL)。将反应混合物在室温下搅拌 16.0 小时, 接着用饱和碳酸氢钠中和。有机物用硫酸镁干燥并浓缩至干, 得到一种粗制固体。

25 得到的固体物用硅胶层析(99%二氯甲烷/1%含 2.0 M NH₃ 的甲醇)纯化。将纯的褐色固体溶解于丙酮/乙醚混合物(1/1)中, 使用 2.0 N HCl/

乙醚沉淀。将得到的固体物真空过滤并用乙醚洗涤。高真空干燥后，总共得到 96 mg 化合物 D。

^1H NMR (d_4 -MeOH) 400 MHz δ 7.49-7.35 (m, 5H), 5.47 (d (br), 1H, $J=50.8$ Hz), 5.10 (d, 1H, $J=8.8$ Hz), 4.92-4.59 (m, 3H), 4.15-3.91 (m, 2H), 2.71-2.43 (m, 2H), 1.77 (s, 3H), 1.60 (s, 3H) ppm.

5 实施例 23



(2S,4S)-1-[(2R)-2-氨基-3-[(3-甲氧基苄基)磺酰基]-3-甲基丁酰基]-4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐

10 A.(2R)-2-[(叔丁氧基羰基)氨基]-3-[(3-甲氧基苄基)硫基]-3-甲基丁酸

室温下向(2R)-2-[(叔丁氧基羰基)氨基]-3-巯基-3-甲基丁酸(1 g, 0.00401 摩尔)的 1.0 N KOH 溶液(50 mL)加入 3-甲氧基苄基氯(691mg, 0.00441 摩尔)。17.0 小时后，将反应混合物用水(50 mL)稀释并用乙醚洗涤。弃去有机物，将水层冷却到 0-5℃。使用浓盐酸将水溶液调成酸性(pH 3.5)，并用乙酸乙酯萃取产物。有机物经硫酸镁干燥并浓缩至干，得到总共 1.35 g(91%)化合物 A。

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7.19 (dd, 1H, $J=7.8$ Hz), 6.90 (d, 1H, $J=7.2$ Hz), 6.86 (s, 1H), 6.76 (dd, 1H, $J=8.4$ Hz), 5.43 (d (br), 1H, $J=6.4$ Hz), 4.39 (d (br), 1H, $J=6.8$ Hz), 3.82-3.74 (m, 5H), 1.45-1.35 (m, 15H) ppm.

B. (1R)-1-{[(2S,4S)-2-氟基-4-氟代吡咯烷-1-基]羰基}-2-[(3-甲氧基苄基)磺基]-2-甲基丙基氨基甲酸叔丁酯

室温下向化合物 A(1.3 g, 0.0035 摩尔)和 N,N-二异丙基乙胺(1.36 g, 0.0106 摩尔)的 DMF(25 mL)溶液加入 HATU(2.0 g, 0.0053 摩尔)。30 分钟后, 将反应混合物与(2S,4S)-4-氟-2-吡咯烷甲腈 4-甲基苯磺酸盐(1.1 g, 0.0038 摩尔)混和。搅拌过夜后, 用碳酸氢钠猝灭反应物, 有机物用乙酸乙酯萃取两次。将有机物用饱和氯化钠溶液洗涤并经硫酸镁干燥。真空除去溶剂并经柱层析(1/1 己烷/乙酸乙酯)纯化, 得到 617 mg(38%)化合物 B。

¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 7.18 (dd, 1H, J=7.8 Hz), 6.95 (s, 1H), 6.92 (d (br), 1H, J=2.8), 6.74 (dd, 1H, J=8.2 Hz), 5.41 (d (br), 1H, J = 8.8 Hz), 5.39 (d (br), 1H, J=51.2), 5.00 (d, 1H, J=9.6 Hz), 4.35 (d, 1H, J = 8.8 Hz), 4.28-3.78 (m, 7H), 2.71-2.52 (m, 1H), 2.46-2.27 (m, 1H), 1.62-1.39 (m, 15H) ppm.

C. (1R)-1-{[(2S,4S)-2-氟基-4-氟代吡咯烷-1-基]羰基}-2-[(3-甲氧基苄基)磺酰基]-2-甲基丙基氨基甲酸叔丁酯

向化合物 B(617 mg, 0.0013 摩尔)的二氯甲烷(100 mL)溶液加入 3-氯过氧苯甲酸(57-86%)(2.3 g, 0.013 摩尔)。将反应混合物在室温下搅拌 16.0 小时, 然后用 2.0 N KOH 中和。有机物经硫酸镁干燥, 浓缩至干, 得到 647 mg 粗制化合物 C(98%)。得到的灰白色固体没有进一步纯化直接使用。

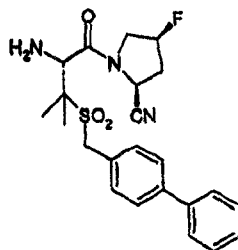
¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 7.30-7.25 (m, 1H), 7.01-6.98 (m, 2H), 6.92-6.88 (m, 1H), 5.49 (d (br), 1H, J=8.4 Hz), 5.39 (d (br), 1H, J = 50.8 Hz), 5.03 (d (br), 1H, J=9.2), 4.96 (d, 1H, J = 9.2 Hz), 4.32-3.80 (m, 4H), 3.79 (s, 3H), 2.71-2.54 (m, 1H), 2.46-2.24 (m, 1H), 1.59-1.39 (m, 15H) ppm.

D.(2S,4S)-1-[(2R)-2-氨基-3-[(3-甲氧基苄基)磺酰基]-3-甲基丁酰基]-4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐

向化合物 C(647 mg, 0.0013 摩尔)的二氯甲烷溶液(45 mL)加入 TFA(5 mL)。将反应混合物在室温下搅拌 16.0 小时,接着用饱和碳酸氢钠中和。分离出有机物,用硫酸镁干燥并浓缩至干,得到一种粗制固体。得到的固体物用硅胶层析(99%二氯甲烷/1%含 2.0 M NH₃ 的甲醇)纯化。将所述纯的固体溶解于丙酮/乙醚混合物(1/1)中并使用 2.0 N HCl/乙醚沉淀。将得到的固体物真空过滤并用乙醚洗涤。高真空干燥后,总共得到 221 mg 化合物 D。

¹H NMR (d₄-MeOH) 400 MHz δ 7.31 (dd, 1H, J=8.0 Hz), 7.18-7.06 (m, 2H), 6.98 (d, 1H, J=8.0 Hz), 5.49 (d (br), 1H, J=50.8 Hz), 5.10 (d, 1H, J= 9.2 Hz), 4.72-4.58 (m, 3H), 4.15-3.88 (m, 2H), 3.81 (s, 3H), 2.69-2.44 (m, 2H), 1.75 (s, 3H), 1.59 (s, 3H) ppm.

实施例 24



(2S,4S)-1-[(2R)-2-氨基-3-[(1,1'-联苯-4-基甲基)磺酰基]-3-甲基丁酰基]-4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐

A.(2R)-3-[(1,1'-联苯-4-基甲基)硫基]-2-[(叔丁氧基羰基)氨基]-3-甲基丁酸

室温下向 1,4-二噁烷(10 mL)和(2R)-2-[(叔丁氧基羰基)氨基]-3-巯基-3-甲基丁酸(1 g, 0.00401 摩尔)的 1.0 N KOH 溶液(50 mL)加入 4-苯基苄基氯(894 mg, 0.00441 摩尔)。17.0 小时后,将反应物用水稀释并用乙醚洗涤。弃去有机物,将水层冷却到 0-5℃。使用浓盐酸将水溶液调成酸性(pH 3.5),并用乙醚萃取产物。有机物经硫酸镁干燥并浓

缩至干, 得到总共 1.4 g(82%)白色固体形式的化合物 A。

¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 7.59-7.31 (m, 9H), 5.49 (m, 1H), 4.32 (d (br), 1H, J = 9.6 Hz),
3.88-3.71 (m, 2H), 1.57-1.40 (m, 15H) ppm.

5 B.(1R)-2-[(1,1'-联苯-4-基甲基)硫基]-1-{[(2S,4S)-2-氰基-4-氟代吡咯烷-1-基]羰基}-2-甲基丙基氨基甲酸叔丁酯

室温下向化合物 A(1.4 g, 0.0034 摩尔)和 N,N-二异丙基乙胺(1.3 g, 0.0101 摩尔)的 DMF(25 mL)溶液加入 HATU(1.9 g, 0.0051 摩尔)。30 分钟后, 将反应混合物与(2S,4S)-4-氟-2-吡咯烷甲腈 4-甲基苯磺酸盐(1.1 g, 0.0037 摩尔)混和。搅拌过夜后, 用碳酸氢钠猝灭反应物, 有
10 有机物用乙酸乙酯萃取两次。将有机物用饱和氯化钠溶液洗涤并经硫酸镁干燥。真空除去溶剂并经柱层析(1/1 己烷/乙酸乙酯)纯化, 得到 828 mg(48%)极纯的产物。

¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 7.57-7.30 (m, 9H), 5.47-5.33 (m, 2H), 5.03 (d(br), 1H, J=9.6), 4.39 (d, 1H, J = 8.8 Hz), 4.31-3.97 (m, 2H), 3.89 (s, 2H), 2.68 (dd, 1H, J=15.6 Hz),
2.44-2.28 (m, 1H), 1.58-1.41 (m, 15H) ppm.

15 C. (1R)-2-[(1,1'-联苯-4-基甲基)磺酰基]-1-{[(2S,4S)-2-氰基-4-氟代吡咯烷-1-基]羰基}-2-甲基丙基氨基甲酸叔丁酯

向化合物 B(828 mg, 0.0016 摩尔)的二氯甲烷(100 mL)溶液加入 3-氯过氧苯甲酸(57-86%)(2.8 g, 0.0162 摩尔)。将反应混合物在室温下搅拌 16.0 小时, 然后用 2.0 N KOH 中和。有机物经硫酸镁干燥, 浓
20 缩至干, 得到 867 mg 化合物 C(99%)。得到的白色固体没有进一步纯化直接使用。

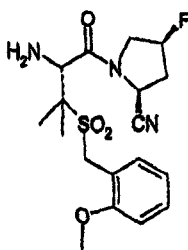
¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 7.63-7.33 (m, 9H), 5.53 (d(br), 1H, J=8.4 Hz), 5.42 (d(br), 1H, J = 50.8 Hz), 5.07 (d(br), 1H, J=9.2), 4.99 (d, 1H, J = 9.2 Hz), 4.39-4.00 (m, 4H), 2.70 (dd, 1H, J=15.2 Hz), 2.47-2.34 (m, 1H), 1.62-1.40 (m, 15H) ppm.

D.(2S,4S)-1-{(2R)-2-氨基-3-[(1,1'-联苯-4-基甲基)磺酰基]-3-甲基丁酰基}-4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐

向化合物 C(867 mg, 0.0016 摩尔)的二氯甲烷溶液(45 mL)加入 TFA(5 mL)。将反应混合物在室温下搅拌 16.0 小时,接着用饱和碳酸氢钠中和。分离出有机物,用硫酸镁干燥并浓缩至干,得到一种粗制固体。得到的固体物用硅胶层析(99%二氯甲烷/1%含 2.0 M NH_3 的甲醇)纯化。将纯的固体溶解于丙酮/乙醚混合物(1/1)中,使用 2.0 N HCl/乙醚沉淀。将得到的固体物真空过滤并用乙醚洗涤。高真空干燥后,总共得到 307 mg 化合物 D。

^1H NMR (d_4 -MeOH) 400 MHz δ 7.66-7.32 (m, 9H), 5.48 (d(br), 1H, $J=50.4$ Hz), 5.10 (d, 1H, $J=8.0$), 4.86-4.64 (m, 3H), 4.19-3.86 (m, 2H), 2.70-2.41 (m, 2H), 1.78 (s, 3H), 1.63 (s, 3H) ppm.

实施例 25



(2S,4S)-1-{(2R)-2-氨基-3-[(2-甲氧基苄基)磺酰基]-3-甲基丁酰基}-4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐

A.(2R)-2-[(叔丁氧基羰基)氨基]-3-[(2-甲氧基苄基)硫基]-3-甲基丁酸

室温下向(2R)-2-[(叔丁氧基羰基)氨基]-3-硫基-3-甲基丁酸(1 g, 0.00401 摩尔)的 1.0 N KOH 溶液(50 mL)加入 2-甲氧基苄基氯(691 mg, 0.00441 摩尔)。17.0 小时后,将反应物用水稀释并用乙醚洗涤。弃去有机物,将水层冷却到 0-5 $^{\circ}\text{C}$ 。使用浓盐酸将水溶液调成酸性(pH 3.5),并用乙酸乙酯萃取产物。有机物经硫酸镁干燥并浓缩至干,得到总

共 1.1 g(74%)化合物 A。

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7.25-7.21 (m, 2H), 6.90-6.85 (m, 2H), 5.63-5.55 (m, 1H), 4.31 (d(br), 1H, $J = 9.2$ Hz), 3.88-3.79 (m, 5H), 1.58-1.33 (m, 15H) ppm.

5 B. (1R)-1-([(2S,4S)-2-氰基-4-氟代吡咯烷-1-基]羰基)-2-[(2-甲氧基苄基)磺基]-2-甲基丙基氨基甲酸叔丁酯

室温下向化合物 A(1.0 g, 0.0027 摩尔)和 N,N-二异丙基乙胺(1.05 g, 0.0081 摩尔)的 DMF(25 mL)溶液加入 HATU(1.5 g, 0.00405 摩尔)。30 分钟后, 将反应混合物与(2S,4S)-4-氟-2-吡咯烷甲腈 4-甲基苯磺酸盐(851 mg, 0.003 摩尔)混和。搅拌过夜后, 用碳酸氢钠猝灭反应, 有
10 有机物用乙酸乙酯萃取两次。将有机物用饱和氯化钠溶液洗涤并经硫酸镁干燥。真空除去溶剂并经柱层析(1/1 己烷/乙酸乙酯)纯化, 得到 668 mg(53%)化合物 B。

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7.31 (dd, 1H, $J=7.6\text{Hz}$), 7.19 (dd, 1H, $J=8.0$ Hz), 6.92-6.83 (m, 2H), 5.47-5.31 (m, 2H), 5.03 (d(br), 1H, $J=9.2$), 4.34 (d, 1H, $J = 8.4$ Hz), 4.26-3.66 (m, 7H), 2.68 (dd, 1H, $J=15.2$ Hz), 2.43-2.26 (m, 1H), 1.57-1.37 (m, 15H) ppm.

15 C. (1R)-1-([(2S,4S)-2-氰基-4-氟代吡咯烷-1-基]羰基)-2-[(2-甲氧基苄基)磺酰基]-2-甲基丙基氨基甲酸叔丁酯

向化合物 B(668 mg, 0.0014 摩尔)的二氯甲烷(75 mL)溶液加入 3-氯过氧苯甲酸(57-86%)(2.5 g, 0.0140 摩尔)。将反应混合物在室温下搅拌 16.0 小时并然后用 2.0 N KOH 中和。有机物经硫酸镁干燥, 浓
20 缩至干, 得到 678 mg 化合物 C(95%)。得到的白色固体没有进一步纯化直接使用。

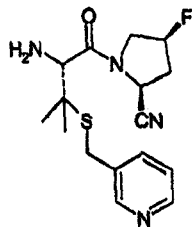
^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7.44 (dd, 1H, $J=7.6\text{Hz}$), 7.34 (m, 1H), 6.99-6.91 (m, 2H), 5.61-5.57 (m, 1H), 5.40 (d(br), 1H, $J=11.2$ Hz), 5.00-4.95 (m, 2H), 4.49-3.85 (m, 7H), 2.65 (dd, 1H, $J=15.6$ Hz), 2.45-2.28 (m, 1H), 1.62-1.37 (m, 15H) ppm.

D.(2S,4S)-1-{(2R)-2-氨基-3-[(2-甲氧基苄基)磺酰基]-3-甲基丁酰基}-4-氟代吡咯烷-2-腈盐酸盐

向化合物 C(678 mg, 0.00136 摩尔)的二氯甲烷溶液(45 mL)加入 TFA(5 mL)。将反应混合物在室温下搅拌 16.0 小时,接着用饱和碳酸氢钠中和。分离有机物,用硫酸镁干燥并浓缩至干,得到一种粗制固体。得到的固体物用硅胶层析(99%二氯甲烷/1%含 2.0 M NH₃ 的甲醇)纯化。将纯的固体溶解于丙酮/乙醚混合物(1/1)中,使用 2.0 N HCl/乙醚沉淀。将得到的固体物真空过滤,用乙醚洗涤。高真空干燥后,总共得到 313 mg 化合物 D。

¹H NMR (d₄-MeOH) 400 MHz δ 7.45-7.38 (m, 2H), 7.06 (d, 1H, J=8.4 Hz), 6.99-6.99 (dd, 1H, J=7.2 Hz), 5.49 (d(br), 1H, J=50.8 Hz), 5.09 (m, 1H, J=9.2), 4.13-3.84 (m, 6H), 2.67-2.44 (m, 2H), 1.74 (s, 3H), 1.58 (s, 3H) ppm.

实施例 26



(2S,4S)-1-{(2R)-2-氨基-3-甲基-3-[(吡啶-3-基甲基)硫基]丁酰基}-4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐

A.(2R)-2-[(叔丁氧基羰基)氨基]-3-甲基-[(吡啶-3-基甲基)硫基]丁酸

室温下向(2R)-2-[(叔丁氧基羰基)氨基]-3-巯基-3-甲基丁酸(1 g, 0.00401 摩尔)的 1.0 N KOH 溶液(50 mL)加入 3-(溴甲基)吡啶氢溴酸盐(1.1 g, 0.00441 摩尔)。17.0 小时后,将反应物用水稀释并用乙醚洗涤。弃去有机物,将水层冷却到 0-5℃。使用浓盐酸将水溶液调成酸性(pH 4.0),并用乙酸乙酯萃取产物。有机物经硫酸钠干燥并浓缩至

干, 得到总共 403 mg(30%)纯油性固体形式的化合物 A。

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 8.77 (s, 1H), 8.56 (d, 1H, $J=5.6$ Hz), 7.80 (d, 1H, $J=8.0$ Hz), 7.37 (dd, 1H, $J=8.0$ Hz), 5.47 (d(br), 1H, $J=9.6$ Hz), 4.53 (d(br), 1H, $J=9.6$ Hz), 3.95 (dd, 2H, $J=69.6$ Hz), 1.60-1.35 (m, 15H) ppm.

5 B.(1R)-1-{[(2S,4S)-2-氟基-4-氟代吡咯烷-1-基]羰基}-2-甲基-2-[(吡啶-3-基甲基)硫基]丙基氨基甲酸叔丁酯

室温下向化合物 A(400 mg, 0.0012 摩尔)和 N,N-二异丙基乙胺 (456 g, 0.0035 摩尔)的 DMF(20 mL)溶液加入 HATU(670 mg, 0.0018 摩尔)。30 分钟后, 将反应混合物与(2S,4S)-4-氟-2-吡咯烷甲腈 4-甲基苯磺酸盐(370 mg, 0.0013 摩尔)混和。搅拌过夜后, 用碳酸氢钠猝灭
10 反应物, 有机物用乙酸乙酯萃取两次。将有机物用饱和氯化钠溶液洗涤并经硫酸钠干燥。真空除去溶剂并经柱层析(1/1 己烷/乙酸乙酯)纯化, 得到 314 mg(61%)化合物 B。

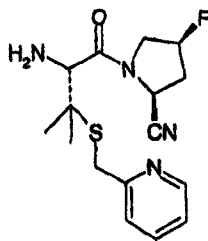
^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 8.58 (s, 1H), 8.46 (d, 1H, $J=4.8$ Hz), 7.71 (d, 1H, $J=8.0$ Hz), 7.21 (dd, 1H, $J=8.0$ Hz), 5.45 (d(br), 1H, $J=9.2$ Hz), 5.43 (d(br), 1H, $J=51.2$ Hz), 5.02 (d, 1H, $J=9.2$ Hz), 4.41 (d, 1H, $J=9.6$ Hz), 4.37-3.79 (m, 4H), 2.70 (dd, 1H, $J=15.6$ Hz), 2.46-2.29 (m, 1H), 1.55-1.39 (m, 15H) ppm.

15 C. (2S,4S)-1-{(2R)-2-氨基-3-[(吡啶-3-基甲基)硫基]丁酰基}-4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐

向化合物 B(314 mg, 0.720 mmol)的二氯甲烷(22 mL)溶液加入 TFA(3 mL)。将反应混合物在室温下搅拌 16.0 小时, 接着用饱和碳酸氢钠中和。分离有机物并用硫酸钠干燥并浓缩至干, 得到一种粗制
20 固体。得到的固体物用硅胶层析(99%二氯甲烷/1%含 2.0 M NH_3 的甲醇)纯化。将纯的固体溶解于丙酮/乙醚混合物(1/1)中并使用 2.0 N HCl/乙醚沉淀。将得到的固体物真空过滤并用乙醚洗涤。高真空干燥后, 总共得到 69 mg 化合物 C。

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 8.57 (s, 1H), 8.46 (d, 1H, $J=5.2$ Hz), 7.71 (d, 1H, $J=6.4$ Hz), 7.23 (dd, 1H, $J=8.0$ Hz), 5.44 (d(br), 1H, $J=51.2$ Hz), 4.97 (d, 1H, $J=9.6$ Hz), 4.20-3.58 (m, 5H), 2.66 (dd, 1H, $J=15.2$ Hz), 2.39-2.22 (m, 1H), 1.78 (s(br), 2H), 1.48 (s, 3H), 1.39 (s, 3H) ppm.

实施例 27



5

(2S,4S)-1-((2R)-2-氨基-3-甲基-3-[(吡啶-2-基甲基)硫基]丁酰基)-4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐

A.(2R)-2-[(叔丁氧基羰基)氨基]-3-甲基-3-[(吡啶-2-基甲基)硫基]丁酸

10

室温下向(2R)-2-[(叔丁氧基羰基)氨基]-3-巯基-3-甲基丁酸(1 g, 0.00401 摩尔)的 1.0 N KOH 溶液(50 mL)加入 2-(溴甲基)吡啶氢溴酸盐(1.1 g, 0.00441 摩尔)。17.0 小时后, 将反应物用水稀释, 用乙醚洗涤。弃去有机物, 将水层冷却到 0-5℃。使用浓盐酸将水溶液调成酸性(pH 4.0), 并用乙酸乙酯萃取产物。有机物经硫酸钠干燥并浓缩至干, 总共得到 557 mg(41%)白色固体状的化合物 A。

15

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 8.53 (d, 1H, $J=4.8$ Hz), 7.75 (dd, 1H, $J=7.6$ Hz), 7.34-7.30 (m, 2H), 5.73 (d(br), 1H, $J=8.8$ Hz), 4.47 (d, 1H, $J=8.8$ Hz), 4.41-4.01 (m, 2H) 1.55 (m, 15H) ppm.

B.(1R)-1-{[(2S,4S)-2-氟基-4-氟代吡咯烷-1-基]羰基}-2-甲基-2-[(吡啶-2-基甲基)硫基]丙基氨基甲酸叔丁酯

20

室温下向化合物 A(557 mg, 0.0016 摩尔)和 N,N-二异丙基乙胺(635 mg, 0.0049 摩尔)的 DMF(20 mL)溶液加入 HATU(912 mg, 0.0024

摩尔)。30 分钟后, 将反应混合物与(2S,4S)-4-氟-2-吡咯烷甲腈 4-甲基苯磺酸盐(504 mg, 0.00176 摩尔)混和。搅拌过夜后, 用碳酸氢钠猝灭反应物, 有机物用乙酸乙酯萃取两次。将有机物用饱和氯化钠溶液洗涤并经硫酸钠干燥。真空除去溶剂并经柱层析(1/1 己烷/乙酸乙酯)纯化, 得到 466 mg(65%)化合物 B。

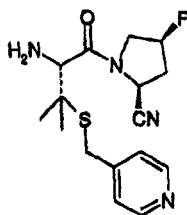
^1H NMR (d_6 Acetone) 400 MHz δ 8.46 (d, 1H, $J=4.4$ Hz), 7.71 (dd, 1H, $J=7.6$ Hz), 7.48 (d, 1H, $J=8.0$ Hz), 7.21 (dd, 1H, $J=7.6$ Hz), 6.25 (d(br), 1H, $J=8.4$ Hz), 5.60 (d(br), 1H, $J=50.8$ Hz), 5.05 (m, 1H), 4.61 (d, 1H, $J=8.8$ Hz), 4.43-3.83 (m, 4H), 2.83-2.52 (m, 2H), 1.50-1.35 (m, 15H) ppm.

C. (2S,4S)-1-{(2R)-2-氨基-3-甲基-3-[(吡啶-2-基甲基)硫基]丁酰基}-4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐

向化合物 B(314 mg, 1.07 mmol)的二氯甲烷(45 mL)溶液加入 TFA(5 mL)。将反应混合物在室温下搅拌 16.0 小时, 接着用饱和碳酸氢钠中和。分离有机物并用硫酸钠干燥并浓缩至干, 得到一种粗制固体。得到的固体物用硅胶层析(99%二氯甲烷/1%含 2.0 M NH_3 的甲醇)纯化。将纯的固体溶解于丙酮/乙醚混合物(1/1)中并使用 2.0 N HCl/乙醚沉淀。将得到的固体物真空过滤并用乙醚洗涤。高真空干燥后, 总共得到 127 mg 化合物 C。

^1H NMR (D_2O) 400 MHz δ 8.54 (d, 1H, $J=5.6$ Hz), 8.34 (dd, 1H, $J=8.0$ Hz), 7.92 (d, 1H, $J=8.4$ Hz), 7.21 (dd, 1H, $J=6.4$ Hz), 5.44 (d(br), 1H, $J=50.4$ Hz), 5.02 (d, 1H, $J=10$ Hz), 4.60 (m, 5H), 2.62 (dd, 1H, $J=15.6$ Hz), 2.54-2.34 (m, 1H), 1.40 (s, 6H) ppm.

20 实施例 28



(2S,4S)-1-[(2R)-2-氨基-3-甲基-3-[(吡啶-4-基甲基)硫基]丁酰基]-4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐

A.(2R)-2-[(叔丁氧基羰基)氨基]-3-甲基-[(吡啶-4-基甲基)硫基]丁酸

- 5 室温下向(2R)-2-[(叔丁氧基羰基)氨基]-3-巯基-3-甲基丁酸(1 g, 0.00401 摩尔)的 1.0 N KOH 溶液(50 mL)加入 4-(溴甲基)吡啶氢溴酸盐(1.1 g, 0.00441 摩尔)。17.0 小时后, 将反应物用水稀释并用乙醚洗涤。弃去有机物, 将水层冷却到 0-5℃。使用浓盐酸将水溶液调成酸性(pH 4.0), 并用乙酸乙酯萃取产物。有机物经硫酸钠干燥并浓缩至干, 总共得到 482 mg(35%)白色固体形式的化合物 A。

¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 8.48 (d, 2H, J=6.0 Hz), 7.40 (d, 2H, J=5.6 Hz), 5.48 (d(br), 1H, J = 9.2 Hz), 4.41 (d, 1H, J = 9.2 Hz), 3.82 (s, 2H) 1.52-1.38 (m, 15H) ppm.

B.(1R)-1-[(2S,4S)-2-氨基-4-氟代吡咯烷-1-基]羰基}-2-甲基-2-[(吡啶-4-基甲基)硫基]丙基氨基甲酸叔丁酯

- 15 室温下向化合物 A(482 mg, 0.00142 摩尔)和 N,N-二异丙基乙胺(549 mg, 0.0042 摩尔)的 DMF(20 mL)溶液加入 HATU(810 mg, 0.00213 摩尔)。30 分钟后, 将反应混合物与(2S,4S)-4-氟-2-吡咯烷甲腈 4-甲基苯磺酸盐(447 mg, 0.00156 摩尔)混和。搅拌过夜后, 用碳酸氢钠猝灭反应物, 有机物用乙酸乙酯萃取两次。将有机物用饱和氯化钠溶液洗涤并经硫酸钠干燥。真空除去溶剂并经柱层析(1/1 己烷/乙酸乙酯)纯化, 得到 476 mg(77%)化合物 B。

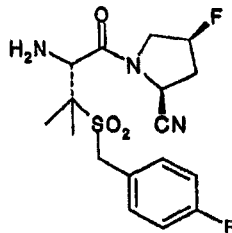
20 ¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 8.51 (d, 2H, J=4.4 Hz), 7.31 (d, 2H, J=6.4 Hz), 5.43 (d(br), 1H, J=9.6 Hz), 5.43 (d(br), 1H, J=51.2 Hz), 5.01 (d, 1H, J=9.6 Hz), 4.39 (d, 1H, J=9.6 Hz), 4.35-3.96 (m, 2H), 3.80 (s, 2H), 2.70 (dd, 1H, J=15.4), 2.46-2.29 (m, 1H), 1.45-1.41 (m, 15H) ppm.

C. (2S,4S)-1-[(2R)-2-氨基-3-[(吡啶-4-基甲基)硫]丁酰基]-4-氟代吡咯烷-2-腈盐酸盐

5 向化合物 B(476 mg, 1.09 mmol)的二氯甲烷(45 mL)溶液加入 TFA(5 mL)。将反应混合物在室温下搅拌 16.0 小时,接着用饱和碳酸氢钠中和。分离有机物,用硫酸钠干燥并浓缩至干,得到一种粗制固体。得到的固体物用硅胶层析(99%二氯甲烷/1%含 2.0 M NH_3 的甲醇)纯化。将纯的固体溶解于丙酮/乙醚混合物(1/1)中并使用 2.0 N HCl/乙醚沉淀。将得到的固体物真空过滤并用乙醚洗涤。高真空干燥后,总共得到 107 mg 化合物 C。

$^1\text{H NMR}$ (d_4 -MeOH) 400 MHz δ 8.81 (d, 2H, $J=4.8$ Hz), 8.08 (d, 2H, $J=6.4$ Hz), 5.51 (d(br), 1H, $J=51.2$ Hz), 5.10 (d, 1H, $J=9.2$ Hz), 4.35-3.96 (m, 4H), 2.65-2.43 (m, 2H), 1.62-1.42 (m, 6H) ppm.

实施例 29



15 (2S,4S)-1-[(2R)-2-氨基-3-[(4-氟苄基)磺酰基]-3-甲基丁酰基]-4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐

A.(2R)-2-[(叔丁氧基羰基)氨基]-3-[(4-氟苄基)磺基]-3-甲基-丁酸
室温下向(2R)-2-[(叔丁氧基羰基)氨基]-3-巯基-3-甲基丁酸(1 g, 0.00401 摩尔)的 1.0 N KOH 溶液(50 mL)加入 1-(溴甲基)-4-氟苯(834 mg, 0.00441 摩尔)。17.0 小时后,将反应物用水稀释并用乙醚洗涤。
20 弃去有机物,将水层冷却到 0-5℃。使用浓盐酸将水溶液调成酸性(pH 3.5),并用乙酸乙酯萃取产物。有机物经硫酸镁干燥并浓缩至干,总共得到 1.2 g(86%)油状化合物 A。

¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 7.29-7.26 (m, 2H), 6.99-6.94 (m, 2H), 5.40 (d(br), 1H, J = 8.0 Hz), 4.40 (d(br), 1H, J = 8.0 Hz), 3.80-3.74 (m, 2H) 1.50-1.40 (m, 15H) ppm.

B.(1R)-1-{[(2S,4S)-2-氟基-4-氟代吡咯烷-1-基]羰基}-2-[(4-氟苄基)磺基]-2-甲基丙基氨基甲酸叔丁酯

5 室温下向化合物 A(1.2 g, 0.0034 摩尔)和 N,N-二异丙基乙胺(1.3 g, 0.0101 摩尔)的 DMF(25 mL)溶液加入 HATU(1.9 g, 0.0051 摩尔)。30 分钟后, 将反应混合物与(2S,4S)-4-氟-2-吡咯烷甲腈 4-甲基苯磺酸盐(1.1 g, 0.0037 摩尔)混和。搅拌过夜后, 用碳酸氢钠猝灭反应物, 有机物用乙酸乙酯萃取两次。将有机物用饱和氯化钠溶液洗涤并经硫酸钠干燥。真空除去溶剂并经柱层析(1/1 己烷/乙酸乙酯)纯化, 得到
10 929 mg(61%)化合物 B。

¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 7.33 (dd, 2H, J=8.4 Hz), 6.96 (dd, 2H, J=8.8 Hz), 5.42 (d(br), 1H, J=9.2 Hz), 5.43 (d(br), 1H, J=51.6 Hz), 5.02 (d, 1H, J=9.6 Hz), 4.38 (d, 1H, J=9.2 Hz), 4.34-3.97 (m, 2H), 3.82 (s, 2H), 2.69 (dd, 1H, J=15.4 Hz), 2.46-2.28 (m, 1H), 1.45-1.41 (m, 15H) ppm.

15 C.(1R)-1-{[(2S,4S)-2-氟基-4-氟代吡咯烷-1-基]羰基}-2-[(4-氟苄基)磺酰基]-2-甲基丙基氨基甲酸叔丁酯

向化合物 B(929 mg, 0.0019 摩尔)的二氯甲烷溶液(100 mL)加入 3-氯过氧苯甲酸(57-86%)(3.3 g, 0.0191 摩尔)。将反应混合物在室温下搅拌 16.0 小时, 接着用 2.0N KOH 中和。有机物经硫酸镁干燥并浓缩至干, 得到 678 mg 化合物 C(97%收率)。得到的灰白色固体未经进一步纯化直接使用。
20

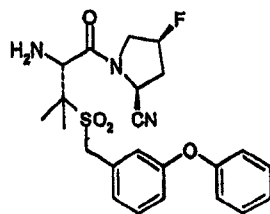
¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 7.40 (dd, 2H, J=8.8 Hz), 7.07 (dd, 2H, J=8.6 Hz), 5.52 (d(br), 1H, J=9.2 Hz), 5.43 (d(br), 1H, J=51.2 Hz), 5.03 (d, 1H, J=9.6 Hz), 4.97 (d, 1H, J=9.6 Hz), 4.36-3.74 (m, 4H), 2.70 (dd, 1H, J=15.2 Hz), 2.47-2.28 (m, 1H), 1.72-1.35 (m, 15H) ppm.

D. (2S,4S)-1-{(2R)-2-氨基-3-[(4-氟苄基)磺酰基]-3-甲基丁酰基}-4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐

向化合物 C(678 mg, 1.40 mmol)的二氯甲烷(45 mL)溶液加入 TFA(5 mL)。将反应混合物在室温下搅拌 16.0 小时,接着用饱和碳酸氢钠中和。分离有机物,用硫酸镁干燥并浓缩至干,得到一种粗制固体。得到的固体物用硅胶层析(99%二氯甲烷/1%含 2.0 M NH_3 的甲醇)纯化。将纯的固体溶解于丙酮/乙醚混合物(1/1)中,使用 2.0 N HCl/乙醚沉淀。将得到的固体物真空过滤并用乙醚洗涤。高真空干燥后,总共得到 254 mg 化合物 D。

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7.39 (dd, 2H, $J=8.4$ Hz), 7.08 (dd, 2H, $J=8.6$ Hz), 5.41 (d(br), 1H, $J=50.8$ Hz), 4.94 (d, 1H, $J=9.6$ Hz), 4.63 (d, 1H, $J=13.2$ Hz), 4.35-3.55 (m, 4H), 2.70 (dd, 1H, $J=15.4$ Hz), 2.43-2.26 (m, 1H), 1.80-1.39 (m, 8H) ppm.

实施例 30



(2S,4S)-1-{(2R)-2-氨基-3-甲基-3-[(3-苯氧基苄基)磺酰基]丁酰基}-4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐

A.(2R)-2-[(叔丁氧基羰基)氨基]-3-甲基-3-[(3-苯氧基苄基)磺基]丁酸

室温下向(2R)-2-[(叔丁氧基羰基)氨基]-3-巯基-3-甲基丁酸(1 g, 0.00401 摩尔)的 1.0 N KOH 溶液(50 mL)加入 1-(氯甲基)-3-苯氧基苯(964 mg, 0.00441 摩尔)和 1,4-二噁烷(15 mL)。17.0 小时后,将反应物用水稀释并用乙醚洗涤。弃去有机物,将水层冷却到 0-5 $^{\circ}\text{C}$ 。使用浓盐酸将水溶液调成酸性(pH 3.5),并用乙醚萃取产物。有机物经硫酸

镁干燥并浓缩至干, 总共得到 1.4 g(82%)化合物 A 的白色固体。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) 400 MHz δ 7.34-6.98 (m, 8H), 6.85 (dd, 1H, $J=8.0$ Hz), 5.44 (m, 1H), 4.38 (m, 1H), 3.80 (m, 2H), 1.50-1.40 (m, 15H) ppm.

5 B.(1R)-1-{[(2S,4S)-2-氟基-4-氟代吡咯烷-1-基]羰基}-2-甲基-2-[(3-苄氧基苄基)硫基]丙基氨基甲酸叔丁酯

室温下向化合物 A(1.4 g, 0.0032 摩尔)和 N,N-二异丙基乙胺(1.3 g, 0.0100 摩尔)的 DMF(20 mL)溶液加入 HATU(1.8 g, 0.0048 摩尔)。30 分钟后, 将反应混合物与(2S,4S)-4-氟-2-吡咯烷甲腈 4-甲基苯磺酸盐(1.0 g, 0.0035 摩尔)混和。搅拌过夜后, 用碳酸氢钠猝灭反应物, 有机物用乙酸乙酯萃取两次。将有机物用饱和氯化钠溶液洗涤并经硫酸镁干燥。真空除去溶剂并经柱层析(1/1 己烷/乙酸乙酯)纯化, 得到 1.1 g(65%)化合物 B。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) 400 MHz δ 7.34-6.97 (m, 8H), 6.84 (dd, 1H, $J=8.0$ Hz), 5.44 (d(br), 1H, $J=9.2$ Hz), 5.39 (d(br), 1H, $J=51.2$ Hz), 5.01 (d, 1H, $J=9.6$ Hz), 4.36 (d, 1H, $J=9.2$ Hz), 4.29-3.90 (m, 2H), 3.80 (s, 2H), 2.66 (dd, 1H, $J=15.4$ Hz), 2.43-2.26 (m, 1H), 1.52-1.38 (m, 15H) ppm.

15 C.(1R)-1-{[(2S,4S)-2-氟基-4-氟代吡咯烷-1-基]羰基}-2-甲基-2-[(3-苄氧基苄基)磺酰基]丙基氨基甲酸叔丁酯

向化合物 B(600 mg, 0.0011 摩尔)的二氯甲烷溶液(50 mL)加入 3-氯过氧苯甲酸(57-86%)(2.0 g, 0.011 摩尔)。将反应混合物在室温下搅拌 16.0 小时, 接着用 2.0 KOH 中和。有机物经硫酸镁干燥并浓缩至干, 得到 594 mg 化合物 C(93%收率)。得到的白色固体未经进一步纯化直接使用。

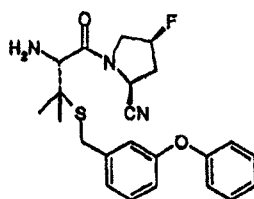
$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) 400 MHz δ 7.34-7.00 (m, 9H), 5.40 (d(br), 1H, $J=51.2$ Hz), 5.27 (d(br), 1H, $J=8.8$ Hz), 4.93 (d, 1H, $J=9.6$ Hz), 4.62 (d, 1H, $J=13.2$ Hz), 4.46-3.55 (m, 4H), 2.69 (dd, 1H, $J=15.4$ Hz), 2.42-2.25 (m, 1H), 1.62-1.43 (m, 15H) ppm.

D. (2S,4S)-1-[(2R)-2-氨基-3-甲基-3-[(3-苯氧基苄基)磺酰基]丁酰基]-4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐

向化合物 C(678 mg, 1.06 mmol)的二氯甲烷(45 mL)溶液加入 TFA(5 mL)。将反应混合物在室温下搅拌 16.0 小时,接着用饱和碳酸氢钠中和。分离有机物,用硫酸镁干燥并浓缩至干,得到一种粗制固体。得到的固体物用硅胶层析(99%二氯甲烷/1%含 2.0 M NH_3 的甲醇)纯化。将纯的固体溶解于丙酮/乙醚混合物(1/1)中,使用 2.0 N HCl/乙醚沉淀。将得到的固体物真空过滤并用乙醚洗涤。高真空干燥后,总共得到 268 mg 白色固体状的化合物 D。

^1H NMR (d_6 -DMSO) 400 MHz δ 7.42-6.99 (m, 9H), 5.54 (d(br), 1H, $J=51.2$ Hz), 5.04 (d, 1H, $J=9.2$ Hz), 4.70 (m, 2H), 4.46 (m, 1H), 4.16-3.79 (m, 2H), 2.55-2.30 (m, 2H), 1.55 (s, 3H), 1.47 (s, 3H) ppm.

实施例 31

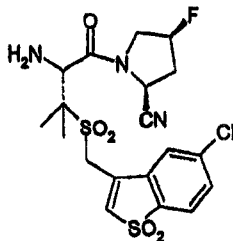


(2S,4S)-1-[(2R)-2-氨基-3-甲基-3-[(3-苯氧基苄基)磺基]丁酰基]-4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐

向(1R)-1-[(2S,4S)-2-氰基-4-氟代吡咯烷-1-基]羧基}-2-甲基-2-[(3-苯氧基苄基)磺基]丙基氨基甲酸叔丁酯(500 mg, 1.0 mmol)的二氯甲烷(45 mL)溶液加入 TFA(5 mL)。将反应混合物在室温下搅拌 16.0 小时,接着用饱和碳酸氢钠中和。分离有机物,用硫酸镁干燥并浓缩至干,得到一种粗制固体。得到的固体物用硅胶层析(99%二氯甲烷/1%含 2.0 M NH_3 的甲醇)纯化。将纯的固体溶解于丙酮/乙醚混合物(1/1)中,使用 2.0 N HCl/乙醚沉淀。将得到的固体物真空过滤并用乙醚洗涤。高真空干燥后,总共得到 132 mg 题述化合物。

^1H NMR (D_2O) 400 MHz δ 7.17-6.71 (m, 9H), 5.38 (d(br), 1H, $J=50.4$ Hz), 5.00 (d, 1H, $J=9.6$ Hz), 4.16-3.60 (m, 4H), 2.62-2.30 (m, 2H), 1.38-1.29 (s, 6H) ppm.

实施例 32



(2S,4S)-1-((2R)-2-氨基-3-[[5-氯-1,1-二氧化-1-苯并噻吩-3-基)甲基]磺酰基}-3-甲基丁酰基)-4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐

A.(2R)-2-[(叔丁氧基羰基)氨基]-3-[[5-氯-1-苯并噻吩-3-基)甲基]硫基}-3-甲基丁酸

室温下向(2R)-2-[(叔丁氧基羰基)氨基]-3-硫基-3-甲基丁酸(1 g, 0.00401 摩尔)的 1.0 N KOH 溶液(50 mL)加入 3-(溴甲基)-5-氯-1-苯并噻吩(1.2 g, 0.00441 摩尔)和 1,4-二噁烷(10 mL)。17.0 小时后, 将反应物用水稀释并用乙醚洗涤。弃去有机物, 将水层冷却到 0-5℃。使用浓盐酸将水溶液调成酸性(pH 3.5), 用乙醚萃取产物。有机物经硫酸镁干燥并浓缩至干, 总共得到 1.0 g(59%)化合物 A 的褐色固体。

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7.84 (s, 1H), 7.72 (d, 1H, $J=8.4$ Hz), 7.39 (s, 1H), 7.30 (d, 1H, $J=8.4$ Hz), 5.44 (m, 1H), 4.45 (m, 1H, $J=7.6$ Hz), 4.07-4.00 (m, 2H), 1.55-1.40 (m, 15H) ppm.

B.(1R)-2-[[5-氯-1-苯并噻吩-3-基)甲基]硫基]-1-[[2-(2S,4S)-2-氨基-4-氟代吡咯烷-1-基]羰基]-2-甲基丙基氨基甲酸叔丁酯

室温下向化合物 A(1.0 g, 0.0023 摩尔)和 N,N-二异丙基乙胺(902 mg, 0.007 摩尔)的 DMF(20 mL)溶液加入 HATU(1.3 g, 0.00345 摩尔)。30 分钟后, 将反应混合物与(2S,4S)-4-氟-2-吡咯烷甲腈 4-甲基苯磺酸

盐(725 mg, 0.0025 摩尔)混和。搅拌过夜后, 用碳酸氢钠猝灭反应物, 有机物用乙酸乙酯萃取两次。将有机物用饱和氯化钠溶液洗涤并经硫酸镁干燥。真空除去溶剂并经柱层析(1/1 己烷/乙酸乙酯)纯化, 得到 738 mg(60%)化合物 B。

¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 7.91 (s, 1H), 7.72 (d, 1H, *J*=8.8 Hz), 7.47 (s, 1H), 7.30

(d, 1H, *J*=8.4 Hz), 5.49-5.35 (m, 2H), 5.04 (d, 1H, *J*=9.6 Hz), 4.41 (d, 1H, *J*=9.2 Hz), 4.35-

3.98 (m, 4H), 2.69 (dd, 1H, *J*=15.2 Hz), 2.46-2.29 (m, 1H), 1.47-1.40 (m, 15H) ppm.

5

C.(1R)-2-{[(5-氯-1,1-二氧化-1-苯并噻吩-3-基)甲基]磺酰基}-1-
{[(2S,4S)-2-氟基-4-氟代吡咯烷-1-基]羰基}-2-甲基丙基氨基甲酸叔丁
酯

10

向化合物 B(738 mg, 0.0014 摩尔)的二氯甲烷溶液(100 mL)加入 3-
氯过氧苯甲酸(57-86)(4.8 g, 0.028 摩尔)。将反应混合物在室温下搅拌
16.0 小时, 接着用 2.0 KOH 中和。有机物经硫酸镁干燥并浓缩至干,
得到 803 mg 化合物 C(97%收率)。得到的灰白色固体未经进一步纯化
直接使用。

¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 8.05 (s, 1H), 7.96 (d, 1H, *J*=7.6 Hz), 7.48 (m, 3H), 5.45 (d(br),

1H *J*=10 Hz), 5.44 (d(br), 1H, *J*=50.8 Hz), 5.02 (d, 1H, *J*=10 Hz), 4.95 (d, 1H, *J*=9.6 Hz),

4.77-3.96 (m, 4H), 2.70 (dd, 1H, *J*=14.8 Hz), 2.46-2.30 (m, 1H), 1.70-1.37 (m, 15H) ppm.

15

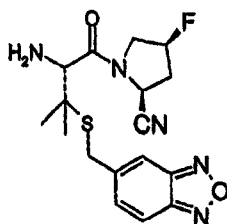
D. (2S,4S)-1-((2R)-2-氨基-3-{[(5-氯-1,1-二氧化-1-苯并噻吩-3-基)
甲基]磺酰基}-3-甲基丁酰基)-4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐

向化合物 C(500 mg, 1.0 mmol)的二氯甲烷(45 mL)溶液加入
TFA(5 mL)。将反应混合物在室温下搅拌 16.0 小时, 接着用饱和碳酸
20 氢钠中和。分离有机物, 用硫酸镁干燥并浓缩至干, 得到一种粗制
固体。得到的固体物用硅胶层析(99%二氯甲烷/1%含 2.0 M NH₃ 的甲
醇)纯化。将纯的固体溶解于丙酮/乙醚混合物(1/1)中并使用 2.0 N HCl/
乙醚沉淀。将得到的固体物真空过滤并用乙醚洗涤。高真空干燥后,

总共得到 132 mg 化合物 D。

^1H NMR (D_2O) 400 MHz δ 7.99 (s, 1H), 7.81-7.56 (m, 3H), 5.44 (d(br), 1H, $J=50.4$ Hz), 5.01 (d, 1H, $J=9.6$ Hz), 4.19-3.80 (m, 4H), 2.66-2.22 (m, 2H), 1.58 (s, 3H), 1.43 (s, 3H) ppm.

实施例 33



5

(2S,4S)-1-((2R)-2-氨基-3-[(2,1,3-苯并噁二唑-5-基甲基)硫基]-3-甲基丁酰基)-4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐

10 A. (2R)-3-[(2,1,3-苯并噁二唑-5-基甲基)硫基]-2-[(叔丁氧基羰基)氨基]-3-甲基丁酸

15 室温下向(2R)-2-[(叔丁氧基羰基)氨基]-3-巯基-3-甲基丁酸(1 g, 0.00401 摩尔)的 1.0 N KOH 溶液(50 mL)加入 5-(溴甲基)-2,1,3-苯并噁二唑(940 mg, 0.00441 摩尔)和 1,4-二噁烷(5 mL)。17.0 小时后, 将反应混合物用水稀释并用乙醚洗涤。弃去有机物, 将水层冷却到 0-5℃。使用浓盐酸将水溶液调成酸性(pH 4.0), 并用乙酸乙酯萃取产物。有机物经硫酸钠干燥并浓缩至干, 总共得到 622 mg(41%)化合物 A 的棕色固体。

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7.76 (d, 1H, $J=9.2$ Hz), 7.72 (s, 1H), 7.44 (d, 1H, $J=9.2$ Hz), 5.40 (d (br), 1H, $J=8.0$ Hz), 4.46 (d (br), 1H, $J=8.4$ Hz), 3.89 (s, 2H) 1.47-1.40 (m, 15H) ppm.

B. (1R)-2-[(2,1,3-苯并噁二唑-5-基甲基)硫基]-1-{[(2S,4S)-2-氰基-4-氟代吡咯烷-1-基]羰基}-2-甲基丙基氨基甲酸叔丁酯

5 室温下向化合物 A(622 mg, 0.00163 摩尔)和 N,N-二异丙基乙胺(632 mg, 0.0049 摩尔)的 DMF(20 mL)溶液加入 HATU(930 mg, 0.00244 摩尔)。30 分钟后, 将反应混合物与(2S,4S)-4-氟-2-吡咯烷甲腈 4-甲基苯磺酸盐(514 mg, 0.00180 摩尔)混和。搅拌过夜后, 用碳酸氢钠猝灭反应物, 有机物用乙酸乙酯萃取两次。将有机物用饱和氯化钠溶液洗涤并经硫酸镁干燥。真空除去溶剂并经柱层析(1/1 己烷/乙酸乙酯)纯化, 得到 444 mg(45%)化合物 B。

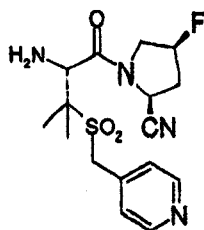
10 ¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 7.78 (s, 1H), 7.76 (d, 1H, J=9.2 Hz), 7.48 (d, 1H, J=9.2 Hz), 5.43 (d (br), 1H, J=9.6 Hz), 5.45 (d (br), 1H, J=50.8 Hz), 5.02 (d, 1H, J=9.6 Hz), 4.44 (d, 1H, J=9.6 Hz), 4.39-3.89 (m, 4H), 2.72 (dd, 1H, J=15.2), 2.48-2.32 (m, 1H), 1.60-1.40 (m, 15H) ppm.

C. (2S,4S)-1-{(2R)-2-氨基-3-[(2,1,3-苯并噁二唑-5-基甲基)硫基]-3-甲基丁酰基}-4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐

15 向化合物 B(444 mg, 0.770 mmol)的二氯甲烷(45 mL)溶液加入 TFA(5 mL)。将反应混合物在室温下搅拌 16.0 小时, 接着用饱和碳酸氢钠中和。分离有机物并用硫酸钠干燥并浓缩至干, 得到一种粗制固体。得到的固体物用硅胶层析(99%二氯甲烷/1%含 2.0 M NH₃ 的甲醇)纯化。将纯的固体溶解于丙酮/乙醚混合物(1/1)中并使用 2.0 N HCl/乙醚沉淀。将得到的固体物真空过滤并用乙醚洗涤。高真空干燥后, 20 总共得到 105 mg 化合物 C。

¹H NMR (d₆-DMSO) 400 MHz δ 8.02-7.99 (m, 2H), 7.63 (d, 1H, J=9.6 Hz), 5.55 (d (br), 1H, J=51.2 Hz), 5.07 (d, 1H, J=9.2 Hz), 4.22-3.98 (m, 5H), 2.58-2.32 (m, 2H), 1.48 (s, 3H), 1.40 (s, 3H) ppm.

实施例 34

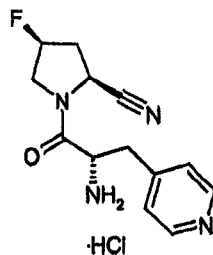


5 (2S,4S)-1-((2R)-2-氨基-3-甲基-3-[(吡啶-4-基甲基)磺酰基]丁酰基)-4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐

向(1R)-1-{[(2S,4S)-2-氰基-4-氟代吡咯烷-1-基]羰基}-2-甲基-2-[(吡啶-4-基甲基)磺基]丙基氨基甲酸叔丁酯(500 mg, 1.1 mmol)的二氯
甲烷(90 mL)溶液加入 TFA(10 mL)。将反应混合物在室温下搅拌 16.0
小时,接着加入 3-氯过氧苯甲酸(2.0 g, 0.0114 摩尔)。将反应混合物
10 搅拌 4.0 小时后用 2.0 N NaOH 中和。分离有机物并用硫酸钠干燥并
浓缩至干,得到一种粗制固体。得到的固体物用硅胶层析(99%二氯
甲烷/1%含 2.0 M NH₃ 的甲醇)纯化。将纯的固体溶解于丙酮/乙醚混
合物(1/1)中并使用 2.0 N HCl/乙醚沉淀。将得到的固体物真空过滤并
用乙醚洗涤。高真空干燥后,总共得到 22 mg 标题化合物。

¹H NMR (d₄-CDCl₃) 400 MHz δ 8.64 (d, 2H, J=5.6 Hz), 7.37 (d, 2H, J=5.6 Hz), 5.42 (d (br),
1H, J=51.2 Hz), 4.94 (d, 1H, J=9.6 Hz), 4.77 (d, 1H, J=13.2 Hz), 4.39-3.75 (m, 4H), 2.71 (dd,
15 1H, J=15.6 Hz), 2.43-2.29 (m, 1H), 2.06-1.86 (s (br), 2H), 1.62 (s, 3H), 1.46 (s, 3H) ppm.

实施例 35



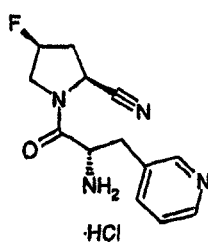
20

(2S,4S)-1-[(2S)-2-氨基-3-吡啶-4-基丙酰基]-4-氟代吡咯烷-2-甲腈
盐酸盐

向无水 DMF(25 mL)加入(2S)-2-[(叔丁氧基羰基)氨基]-3-吡啶-4-
基丙酸(705 mg, 2.65 mmol)、HATU(1.0 g, 2.65 mmol)和 N,N-二异丙
基乙胺(0.46 mL, 2.65 mmol)。室温下搅拌 30 分钟后, 加入(2S,4S)-4-
氟-2-吡咯烷甲腈 4-甲基苯磺酸盐(581 mg, 1.99 mmol)和另外的 N,N-
二异丙基乙胺(0.35 mL, 1.99 mmol)。将该溶液在室温下搅拌 12 小时。
然后加入饱和碳酸氢钠(100 mL), 将混合物用乙酸乙酯(2 × 100 mL)
萃取。有机物用饱和氯化钠(100 mL)溶液洗涤, 经硫酸镁干燥, 浓缩
至干, 得到一种粗制固体。将该固体经柱层析(硅胶, 己烷/乙酸乙酯
4:1)纯化, 得到的固体物在 HCl 的二噁烷溶液(4.0 M, 20 mL)搅拌 2
小时并接着加入乙醚(100 mL)。过滤收集沉淀的固体物并经高真空干
燥得到 388 mg(1.3 mmol, 65%收率)化合物 A 的白色固体。

^1H NMR (d_6 -DMSO) 400 MHz δ 8.92 (s(br), 3H), 8.84 (d, 2H, $J = 6.2$ Hz), 7.96 (d, 2H, $J = 6.2$ Hz), 5.45 (d, 1H, $J = 51$ Hz), 5.00 (d, 1H, $J = 8.8$ Hz), 4.47 (m(br), 1H), 4.05-3.78 (m, 2H), 3.41-3.36 (m, 2H), 2.42-2.25 (m, 2H) ppm.

实施例 36



(2S,4S)-1-[(2S)-2-氨基-3-吡啶-3-基丙酰基]-4-氟代吡咯烷-2-甲腈
盐酸盐

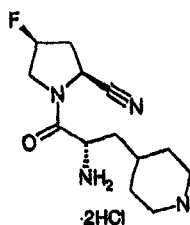
A.(2S,4S)-1-[(2S)-2-氨基-3-吡啶-3-基丙酰基]-4-氟代吡咯烷-2-甲
腈盐酸盐

向无水 DMF(25 mL)加入(2S)-2-[(叔丁氧基羰基)氨基]-3-吡啶-3-

基丙酸(534 mg, 2.0 mmol)、HATU(0.76 g, 2.0 mmol)和 N,N-二异丙基乙胺(0.35 mL, 2.0 mmol)。室温下搅拌 30 分钟后, 加入(2S,4S)-4-氟-2-吡咯烷甲腈 4-甲基苯磺酸盐(438 mg, 1.5 mmol)和另外的 N,N-二异丙基乙胺(0.26 mL, 1.5 mmol)。将该溶液在室温下搅拌 12 小时, 然后加入饱和碳酸氢钠(150 mL)。将混合物用乙酸乙酯(3 × 100 mL)萃取。有机物用饱和氯化钠(100 mL)溶液洗涤, 经硫酸镁干燥并浓缩至干, 得到一种粗制固体。将该固体经柱层析(硅胶, 己烷/乙酸乙酯 4:1)纯化, 得到的固体物在二噁烷-HCl 溶液(4.0 M, 25 mL)搅拌 2 小时, 接着加入乙醚(200 mL)。通过过滤收集沉淀的固体物并经高真空干燥得到 266 mg(0.89 mmol, 59%收率)化合物 A 的白色固体。

¹H NMR (d₆-DMSO) 400 MHz δ 8.88 (s, 1H), 5.51 (d, 1H, J = 51 Hz), 5.01 (d, 1H, J = 8.8 Hz), 4.45-4.38 (m(br), 1H), 4.00-3.86 (m, 2H), 3.38-3.27 (m, 2H), 2.42-2.30 (m, 3H) ppm.

实施例 37



(2S,4S)-1-[(2S)-2-氨基-3-吡啶-4-基丙酰基]-4-氟代吡咯烷-2-甲腈二盐酸盐

A.(2S)-2-[(叔丁氧基羰基)氨基]-3-吡啶-4-基丙酸乙酸盐

向(2S)-2-[(叔丁氧基羰基)氨基]-3-吡啶-4-基丙酸(0.69 g, 2.58 mmol)的乙酸(冰乙酸, 50 mL)溶液加入 10% Pd/C(50% w/w, 0.35 g), 并在 60 psi 氢气气氛下氢化。将溶液通过硅藻土过滤, 浓缩而得到一种白色固体。高真空干燥得到 822 mg(2.48 mmol, 96%收率)化合物 A 的乙酸盐。

¹H NMR (d₆-DMSO) 400 MHz δ 10.5 (s(br), 1H), 6.21-6.19 (m(br), 1H), 3.69-3.62 (m, 1H), 3.19-3.06 (m, 2H), 2.75-2.65 (m, 2H), 1.92 (s, 3H), 1.80-1.45 (m, 6H), 1.35 (s, 9H), 1.21-1.05 (m, 1H) ppm.

B.(2S)-2-[(叔丁氧基羰基)氨基]-3-[1-(叔丁氧基羰基)哌啶-4-基]丙酸

5 向(2S)-2-[(叔丁氧基羰基)氨基]-3-哌啶-4-基丙酸乙酸盐(1.0 g, 3.00 mmol)的二氯甲烷(150 mL)溶液加入三乙胺(1.52 g, 15 mmol)和二碳酸二叔丁酯(786 mg, 3.6 mmol)并搅拌 12 小时。然后加入水(50 mL)和二氯甲烷(300 mL), 用 1.0 M HCl 酸化到 pH 4, 接着用乙酸乙酯萃取。分离乙酸乙酯层并通经硫酸镁干燥, 过滤并真空除去溶剂得到
10 一种透明油。将该油在高真空下干燥得到 1.06 g(2.86 mmol, 95%收率)化合物 B 的白色固体。

¹H NMR (d₆-DMSO) 400 MHz δ 12.4 (s(br), 1H), 7.08 (d, 1H, J = 8.3 Hz), 3.98-3.81 (m(br), 3H), 2.78-2.59 (m(br), 2H), 1.68-1.42 (m, 6H), 1.39 (s, 16H), 1.02-0.89 (m, 2H) ppm.

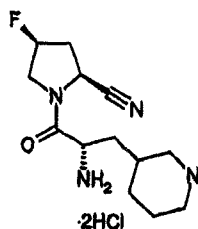
15 C.(2S,4S)-1-[(2S)-2-氨基-3-哌啶-4-基丙酰基]-4-氟代吡咯烷-2-甲脒盐酸盐

向无水 DMF(25 mL)加入(2S)-2-[(叔丁氧基羰基)氨基]-3-[1-(叔丁氧基羰基)哌啶-4-基]丙酸(0.85 g, 2.28 mmol)、HATU(0.87 g, 2.28 mmol)和 N,N-二异丙基乙胺(0.40 mL, 2.28 mmol)。室温下搅拌 30 分钟后, 加入(2S,4S)-4-氟-2-吡咯烷甲脒 4-甲基苯磺酸盐(500 mg, 1.71 mmol)和另外的 N,N-二异丙基乙胺(0.30 mL, 1.71 mmol)。将该溶液室温下
20 搅拌 12 小时后加入饱和碳酸氢钠(100 mL)。将该混合物用乙酸乙酯(2 × 100 mL)萃取, 将有机物用饱和氯化钠溶液(50 mL)洗涤并经硫酸镁干燥。真空蒸发得到粗制固体, 经层析(硅胶, 己烷/乙酸乙酯 4:1)纯化得到固体物, 将该固体物在二噁烷-HCl(4.0 M, 20 mL)溶液中搅拌
25 2 小时, 接着再加入乙醚(100 mL)。通过过滤收集得到的沉淀物并在高

真空下干燥, 得到 432 mg(1.26 mmol, 74%收率)化合物 C 的白色固体。

$^1\text{H NMR}$ (d_6 -DMSO) 400 MHz δ 9.0-8.83 (s(br), 2H), 8.80-8.60 (s(br), 3H), 5.52 (d, 1H, $J =$ 51 Hz), 5.06 (d, 1H, $J = 8.8$ Hz), 4.07-4.01 (m(br), 1H), 3.94-3.81 (m, 2H), 3.23-3.20 (m, 2H), 2.87 (s, 1H), 2.74-2.66 (m, 3H), 2.46-2.37 (m, 2H), 1.95-1.91 (m, 1H), 1.77-1.58 (m, 3H), 1.42-1.31 (m, 1H) ppm.

5 实施例 38



(2S,4S)-1-[(2S)-2-氨基-3-哌啶-3-基丙酰基]-4-氟代吡咯烷-2-甲脒二盐酸盐

10 A.(2S)-2-[(叔丁氧基羰基)氨基]-3-哌啶-3-基丙酸

向(2S)-2-[(叔丁氧基羰基)氨基]-3-哌啶-3-基丙酸(0.8 g, 3.0 mmol)的乙酸(冰乙酸, 50 mL)溶液加入 10% Pd/C(50% w/w, 0.40 g), 并在 60 psi 氢气气氛下氢化。将溶液通过硅藻土过滤, 浓缩, 高真空干燥得到 946 mg(2.85 mmol, 95%收率)化合物 A 的乙酸盐。

$^1\text{H NMR}$ (d_6 -DMSO) 400 MHz δ 10.2 (s(br), 1H), 6.15-6.05 (m, 1H), 3.69-2.64 (m, 1H), 3.21-3.07 (m, 2H), 2.67-2.61 (m, 1H), 2.39-2.31 (m(br), 1H), 1.95 (s, 3H), 1.91-1.41 (m, 6H), 1.91 (s, 9H), 1.08-1.01 (m, 1H) ppm.

B.(2S)-2-[(叔丁氧基羰基)氨基]-3-[1-(叔丁氧基羰基)哌啶-3-基]丙酸

向化合物 A(1.0 g, 3.00 mmol)的二氯甲烷(150 mL)溶液加入三乙胺(1.52 g, 15 mmol)和二碳酸二叔丁酯(786 mg, 3.6 mmol)并搅拌 12 小时。然后用水(50 mL)和二氯甲烷(300 mL)猝灭, 用 1.0 M HCl 酸化到

pH 为 4, 接着用乙酸乙酯萃取。将合并的有机层通经硫酸镁干燥, 真空除去溶剂得到一种透明油。将该油在高真空下干燥得到 1.07 g(2.87 mmol, 95%收率)化合物 B 的白色固体。

^1H NMR (d_6 -DMSO) 400 MHz δ 12.15 (s(br), 1H), 7.17 (d, 1H, $J = 8.3$ Hz), 3.95-3.87

(m(br), 3H), 2.61-2.45 (m(br), 2H), 1.73-1.40 (m, 6H), 1.35 (s, 16H), 1.2-0.89 (m, 2H) ppm.

5

C.(2S,4S)-1-[(2S)-2-氨基-3-哌啶-3-基丙酰基]-4-氟代吡咯烷-2-甲脒二盐酸盐

向无水 DMF(25 mL)加入化合物 B(0.85 g, 2.28 mmol)、HATU(0.87 g, 2.28 mmol)和 N,N-二异丙基乙胺(0.40 mL, 2.28 mmol)。

10 室温下搅拌 30 分钟后, 加入(2S,4S)-4-氟-2-吡咯烷甲脒 4-甲基苯磺酸盐(500 mg, 1.71 mmol)和另外的 N,N-二异丙基乙胺(0.30 mL, 1.71 mmol)。将该溶液室温下搅拌 12 小时后加入饱和碳酸氢钠(100 mL)。将该混合物用乙酸乙酯(2×100 mL)萃取, 将有机物用饱和氯化钠溶液(50 mL)洗涤并经硫酸镁干燥。真空去除溶剂得到粗制固体, 将其

15 层析纯化(硅胶, 己烷/乙酸乙酯 4:1)而得到一种固体物, 将这种固体物在二噁烷-HCl(4.0 M, 20 mL)溶液中搅拌 2 小时, 接着再加入乙醚(100 mL)。通过过滤收集得到的沉淀物并在高真空下干燥, 得到 419 mg(1.23 mmol, 72%收率)化合物 C 的白色固体。

^1H NMR (d_6 -DMSO) 400 MHz δ 9.0-8.83 (s(br), 2H), 8.60-8.50 (s(br), 3H), 5.52 (d, 1H, J

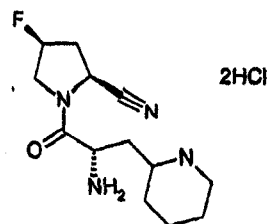
=51 Hz), 5.02 (d, 1H, $J = 8.8$ Hz), 4.13-4.08 (m(br), 1H), 3.99-3.87 (m, 2H), 3.37-3.31 (m,

2H), 3.05-3.01 (m, 1H), 2.87 (m, 2H), 2.46-2.37 (m, 2H), 1.95-1.91 (m, 5H), 1.22-1.11(m,

20

1H) ppm.

实施例 39



5 (2S,4S)-1-[(2S)-2-氨基-3-哌啶-2-基丙酰基]-4-氟代吡咯烷-2-甲腈
二盐酸盐

A.(2S)-2-[(叔丁氧基羰基)氨基]-3-哌啶-2-基丙酸

向(2S)-2-[(叔丁氧基羰基)氨基]-3-哌啶-2-基丙酸(1.6 g, 6.0 mmol)
的乙酸(冰乙酸, 50 mL)溶液加入 10% Pd/C(50% w/w, 0.80 g)并在 60 psi
氢气气氛下氢化。将溶液通过硅藻土过滤, 浓缩并高真空干燥得到 951
10 mg(2.85 mmol, 95%收率)化合物 A 的乙酸盐。

¹H NMR (d₆-DMSO) 400 MHz δ 10.15 (s(br), 1H), 6.21-6.19 (m, 1H), 3.69-2.64 (m, 1H),

3.61-3.56 (m, 2H), 3.27-3.12 (m, 2H), 2.72-2.65 (m, 1H), 1.89 (s, 3H), 1.81-1.63 (m, 5H),

1.52-2.42 (m, 1H), 1.91 (s, 9H) ppm.

B.(2S)-2-[(叔丁氧基羰基)氨基]-3-[1-(叔丁氧基羰基)哌啶-2-基]丙
酸

15 向化合物 A(1.5 g, 4.50 mmol)的二氯甲烷(150 mL)溶液加入三乙
胺(2.27 g, 23 mmol)和二碳酸二叔丁酯(1.18 g, 5.4 mmol)。搅拌 12 小
时后加入水(50 mL)和二氯甲烷(300 mL), 接着用 1.0 M HCl 酸化到 pH
为 3。分离有机层并通经硫酸镁干燥, 真空除去溶剂得到一种透明油。
将该油在高真空下干燥得到 1.68 g(4.45 mmol, 95%收率)化合物 B 的
20 白色固体。

¹H NMR (d₆-DMSO) 400 MHz δ 12.2 (s(br), 1H), 7.15 (d, 1H, J = 8.3 Hz), 4.25-3.99 (m(br),

3H), 3.89-3.78 (m(br), 2H), 2.68-2.58 (m, 1H) 1.79-1.40 (m, 5H), 1.35 (s, 16H), 1.2-1.14

(m, 2H) ppm.

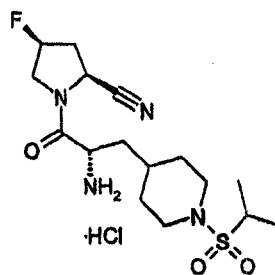
C.(2S,4S)-1-[(2S)-2-氨基-3-哌啶-2-基丙酰基]-4-氟代吡咯烷-2-甲腈二盐酸盐

向无水 DMF(25 mL)加入化合物 B(0.85 g, 2.28 mmol)、
HATU(0.869 g, 2.28 mmol)和 N,N-二异丙基乙胺(0.40 mL, 2.28
5 mmol)。室温下搅拌 30 分钟后, 加入(2S,4S)-4-氟-2-吡咯烷甲腈 4-甲
基苯磺酸盐(500 mg, 1.71 mmol)和另外的 N,N-二异丙基乙胺(0.30 mL,
1.71 mmol)。将该溶液室温下搅拌 12 小时后加入饱和碳酸氢钠(100
mL)。将该混合物用乙酸乙酯(2 × 100 mL)萃取, 将有机物用饱和氯化
化钠溶液(50 mL)洗涤并经硫酸镁干燥。真空去除溶剂得到粗制固体,
10 将其层析纯化(硅胶, 己烷/乙酸乙酯 4:1)而得到一种固体物, 将这种
固体物在二噁烷-HCl(4.0 M, 20 mL)溶液中搅拌 2 小时, 接着再加入
乙醚(100 mL)。通过过滤收集得到的沉淀物并在高真空下干燥, 得到
365 mg(1.07 mmol, 63%收率)化合物 C 的白色固体。

¹H NMR (d₆-DMSO) 400 MHz δ 9.32-9.10 (s(br), 2H), 8.79-8.53 (s(br), 3H), 5.51 (d, 1H, J
=51 Hz), 5.04 (d, 1H, J = 8.8 Hz), 4.25-4.21 (m(br), 1H), 4.19-3.88 (m, 2H), 3.58-3.46 (m,
1H), 3.42-3.32 (m, 2H), 2.85 (s, 1H), 2.71-2.63 (m, 2H), 2.27-2.14 (m, 1H), 2.05-1.97 (m,
1H), 1.81-1.40 (m, 5H) ppm.

15

实施例 40



(2S,4S)-1-{(2S)-2-氨基-3-[1-(异丙基磺酰基)哌啶-4-基]丙酰基}-4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐

A.(2S)-2-[(叔丁氧基羰基)氨基]-3-[1-(异丙基磺酰基)哌啶-4-基]丙酸

5 向实施例 12 的化合物 A(1.0 g, 3.00 mmol)的乙腈(150 mL)溶液加入三乙胺(1.52 g, 15 mmol)和异丙基磺酰氯(513 mg, 3.6 mmol)。搅拌 6 小时后, 真空除去乙腈并加入水(50 mL)和乙酸乙酯(300 mL)。分离乙酸乙酯层并通经硫酸镁干燥, 真空除去溶剂得到一种固体物, 将这种固体物用乙醚洗涤并经高真空干燥得到 860 mg(2.26 mmol, 75%收率)化合物 A 的白色固体。

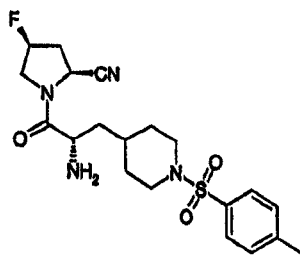
¹H NMR (d₆-DMSO) 400 MHz δ 12.4 (s(br), 1H), 7.15 (d, 1H, J = 8.3 Hz), 4.37-4.29 (m, 1H), 3.99-3.95 (m(br), 1H), 3.85-3.80 (m, 1H), 3.62-3.58 (m, 1H), 2.97-2.92 (m, 1H), 2.42-2.37 (m, 1H), 1.91-1.89 (m, 1H) 1.87-1.46 (m, 7H), 1.37 (s, 9H), 1.19-0.89 (d, 4H) ppm.

B.(2S,4S)-1-{(2S)-2-氨基-3-[1-(异丙基磺酰基)哌啶-4-基]丙酰基}-4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐

15 向无水 DMF(25 mL)加入化合物 A(1.75 g, 4.62 mmol)、HATU(1.76 g, 4.62 mmol)和 N,N-二异丙基乙胺(0.80 mL, 4.62 mmol)。室温下搅拌 30 分钟后, 加入(2S,4S)-4-氟-2-吡咯烷甲腈 4-甲基苯磺酸盐(1.0 g, 3.47 mmol)和另外的 N,N-二异丙基乙胺(0.60 mL, 3.47 mmol)。将该溶液室温下搅拌 12 小时后加入饱和碳酸氢钠(110 mL)。将20 该混合物用乙酸乙酯(2 × 100 mL)萃取并将有机物用饱和氯化钠溶液(50 mL)洗涤并经硫酸镁干燥。真空去除溶剂得到粗制固体, 将其层析纯化(硅胶, 己烷/乙酸乙酯 4:1)而得到一种固体物, 将这种固体物在二噁烷-HCl(4.0 M, 20 mL)溶液中搅拌 2 小时, 接着再加入乙醚(100 mL)。通过过滤收集得到的沉淀物并在高真空下干燥, 得到 969 mg(2.35 mmol, 68%收率)化合物 B 的白色固体。

¹H NMR (d₆-DMSO) 400 MHz δ 8.51–8.44 (s(br), 3H), 5.15 (d, 1H, *J* = 51 Hz), 5.06 (d, 1H, *J* = 8.8 Hz), 4.04–4.01 (s(br), 1H), 3.96–3.84 (m, 2H), 3.72–3.61 (m, 2H), 3.51–3.37 (m(br), 2H), 3.35–3.27 (m, 1H), 2.79–2.76 (m, 2H), 1.82–1.69 (m, 5H), 1.17 (m, 8H) ppm.

实施例 41



(2S,4S)-1-[(2S)-2-氨基-3-[1-(4-甲基苯基磺酰基)吡啶-4-基]丙酰基]-4-氟代吡咯烷-2-甲脒盐酸盐

A.(2S)-2-[(叔丁氧基羰基)氨基]-3-[1-(4-甲基磺酰基)哌啶-4-基]丙酸

向实施例 12 的化合物 A(1.0 g, 3.00 mmol)的乙腈(150 mL)溶液加入三乙胺(1.52 g, 15 mmol)和甲苯磺酰氯(686 mg, 3.6 mmol)。搅拌 6 小时后, 真空除去乙腈并加入水(50 mL)和乙酸乙酯(300 mL)。分离乙酸乙酯层并通经硫酸镁干燥, 真空除去溶剂得到一种固体物, 将这种固体物用乙醚洗涤并经高真空干燥得到 1.09 g(2.56 mmol, 85%收率)化合物 A 的白色固体。

¹H NMR (d₆-DMSO) 400 MHz δ 12.4 (s(br), 1H), 7.61 (d, 2H, *J* = 8.2 Hz), 7.42 (d, 2H, *J* = 8.2 Hz), 7.13 (d, 1H, *J* = 8.3 Hz), 4.27–4.21 (m, 1H), 3.98–3.95 (m, 1H), 3.58–3.52 (m, 1H), 2.98–2.91 (m, 1H), 2.42 (s, 3H), 2.21–2.20 (m, 1H), 1.81–1.50 (m, 6H), 1.39 (s, 9H), 1.21–1.08 (m, 1H) ppm.

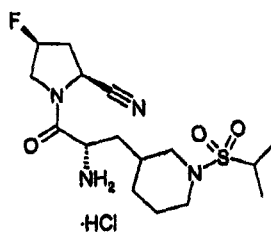
B.(2S,4S)-1-[(2S)-2-氨基-3-[1-(4-甲基苯基磺酰基)哌啶-4-基]丙酰基]-4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐

向无水 DMF(25 mL)加入化合物 A(2.13 g, 5.0 mmol)、HATU(1.90

g, 5.00 mmol)和 N,N-二异丙基乙胺(0.87 mL, 5.0 mmol)。室温下搅拌 30 分钟后, 加入(2S,4S)-4-氟-2-吡咯烷甲腈 4-甲基苯磺酸盐(1.1 g, 3.75 mmol)和另外的 N,N-二异丙基乙胺(0.65 mL, 3.75 mmol)。将该溶液在 5 室温下搅拌 12 小时后加入饱和碳酸氢钠(110 mL)。将该混合物用乙酸乙酯(2 × 100 mL)萃取, 将有机物用饱和氯化钠溶液(50 mL)洗涤并经硫酸镁干燥。真空去除溶剂得到粗制固体, 将其层析纯化(硅胶, 己烷/乙酸乙酯 4:1)而得到一种固体物, 将这种固体物在二噁烷-HCl(4.0 M, 20 mL)溶液中搅拌 2 小时, 接着再加入乙醚(100 mL)。通过过滤 10 收集得到沉淀物并在高真空下干燥, 得到 1.10 g(2.4 mmol, 64%收率)化合物 B 的白色固体。

¹H NMR (d₆-DMSO) 400 MHz δ 8.21-8.05 (s(br), 3H), 7.60 (d, 2H, J = 7.9 Hz), 7.43 (d, 2H, J = 7.9 Hz), 3.91-3.88 (m, 2H), 3.07-2.99 (m, 1H), 2.43 (s, 3H), 2.09-2.03 (m, 1H), 1.94-1.29 (m, 8H), 1.12-1.02 (m, 1H) ppm.

实施例 42



15

(2S,4S)-1-((2S)-2-氨基-3-[1-(异丙基磺酰基)吡啶-3-基]丙酰基)-4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐

A.(2S)-2-[(叔丁氧基羰基)氨基]-3-[1-(异丙基磺酰基)吡啶-3-基]丙酸

20

向实施例 13 的化合物 A(1.0 g, 3.00 mmol)的乙腈(150 mL)溶液加入三乙胺(1.52 g, 15 mmol)和异丙基磺酰氯(513 mg, 3.6 mmol)。搅拌 6 小时后, 真空除去乙腈并加入水(50 mL)和乙酸乙酯(300 mL)。分离乙酸乙酯层并通经硫酸镁干燥, 真空除去溶剂得到一种固体物,

将这种固体物用乙醚洗涤并经高真空干燥得到 926 mg(2.43 mmol, 81%收率)化合物 A 的白色固体。

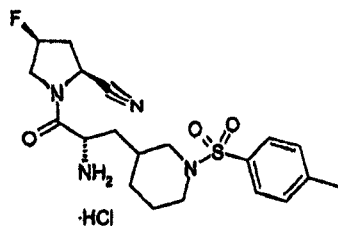
^1H NMR (d_6 -DMSO) 400 MHz δ 12.2 (s(br), 1H), 7.18 (d, 1H, $J = 8.3$ Hz), 3.94-3.89 (m, 1H), 3.55-3.49 (m(br), 2H), 3.35-3.30 (m, 2H), 2.89-2.85 (m, 1H), 2.62-2.57 (m, 1H), 1.91-1.42 (m, 5H), 1.39 (s, 9H), 1.19 (d, 6H) ppm.

5 B.(2S,4S)-1-((2S)-2-氨基-3-[1-(异丙基磺酰基)吡啶-3-基]丙酰基)-4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐

向无水 DMF(25 mL)加入化合物 A(1.75 g, 4.62 mmol)、HATU(1.76 g, 4.62 mmol)和 N,N-二异丙基乙胺(0.80 mL, 4.62 mmol)。室温下搅拌 30 分钟后, 加入(2S,4S)-4-氟-2-吡咯烷甲腈 4-甲基苯磺酸盐(1.0 g, 3.47 mmol)和另外的 N,N-二异丙基乙胺(0.60 mL, 3.47 mmol)。将该溶液在室温下搅拌 12 小时后加入饱和碳酸氢钠(110 mL)。将该混合物用乙酸乙酯(2×100 mL)萃取, 将有机物用饱和氯化钠溶液(50 mL)洗涤并经硫酸镁干燥。真空去除溶剂得到粗制固体, 将其层析纯化(硅胶, 己烷/乙酸乙酯 4:1)而得到一种固体物, 将这种固体物在二噁烷-HCl(4.0 M, 20 mL)溶液中搅拌 2 小时, 接着再加入乙醚(100 mL)。通过过滤收集得到的沉淀物并在高真空下干燥, 得到 1.01 g(2.46 mmol, 71%收率)化合物 B 的白色固体。

^1H NMR (d_6 -DMSO) 400 MHz δ 8.42-8.39 (s(br), 3H), 5.51 (d, 1H, $J = 51$ Hz), 5.06 (d, 1H, $J = 8.8$ Hz), 4.07-4.01 (s(br), 1H), 3.98-3.84 (m, 2H), 3.52-3.49 (m, 1H), 3.41-3.27 (m(br), 4H), 3.09-3.02 (m, 1H), 2.98-2.80 (m, 1H), 2.65-2.61 (m, 1H), 1.77-1.63 (m, 6H), 1.18 (m, 8H) ppm.

实施例 43



(2S,4S)-1-((2S)-2-氨基-3-[1-(4-甲基磺酰基)哌啶-3-基]丙酰基)-
4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐

A.(2S)-2-[(叔丁氧基羰基)氨基]-3-[1-(4-甲基磺酰基)哌啶-3-基]丙酸

向实施例 13 的化合物 A(1.0 g, 3.00 mmol)的乙腈(150 mL)溶液加入三乙胺(1.52 g, 15 mmol)和甲苯磺酰氯(686 mg, 3.6 mmol)。搅拌 6 小时后, 真空除去乙腈并加入水(50 mL)和乙酸乙酯(300 mL)。分离乙酸乙酯层并通经硫酸镁干燥, 真空除去溶剂得到一种固体物, 将这种固体物用乙醚洗涤并经高真空干燥得到 946 mg(2.22 mmol, 74% 收率)化合物 A 的白色固体。

¹H NMR (d₆-DMSO) 400 MHz δ 12.4 (s(br), 1H), 7.61 (d, 2H, J = 8.2 Hz), 7.41 (d, 2H, J = 8.2 Hz), 7.15 (d, 1H, J = 8.3 Hz), 3.98-3.91 (m, 1H), 3.45-3.41 (m, 2H), 2.42 (s, 3H), 2.21-2.20 (m, 1H), 2.05-1.95 (m, 1H), 1.87-1.45 (m, 6H), 1.42 (s, 9H), 1.21-1.08 (m, 1H) ppm.

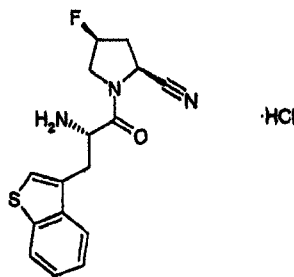
B.(2S,4S)-1-((2S)-2-氨基-3-[1-(4-甲基磺酰基)哌啶-3-基]丙酰基)-4-氟代吡咯烷-2-腈盐酸盐

向无水 DMF(25 mL)加入化合物 A(2.13 g, 5.0 mmol)、HATU(1.90 g, 5.00 mmol)和 N,N-二异丙基乙胺(0.87 mL, 5.00 mmol)。室温下搅拌 30 分钟后, 加入(2S,4S)-4-氟-2-吡咯烷甲腈 4-甲基苯磺酸盐(1.1 g, 3.75 mmol)和另外的 N,N-二异丙基乙胺(0.65 mL, 3.75 mmol)。将该溶液室温下搅拌 12 小时后加入饱和碳酸氢钠(110 mL)。将该混合物用乙酸乙酯(2 × 100 mL)萃取, 将有机物用饱和氯化钠溶液(50 mL)洗涤并经

硫酸镁干燥。真空去除溶剂得到粗制固体, 将其层析纯化(硅胶, 己烷/乙酸乙酯 4:1)而得到一种固体物, 将这种固体物在二噁烷-HCl(4.0 M, 20 mL)溶液中搅拌 2 小时, 接着再加入乙醚(100 mL)。通过过滤收集得到的沉淀物并在高真空下干燥, 得到 1.17 g(2.55 mmol, 51%收率)化合物 B 的白色固体。

^1H NMR (d_6 -DMSO) 400 MHz δ 8.50-8.43 (s(br), 3H), 7.61 (d, 2H, $J = 7.9$ Hz), 7.43 (d, 2H, $J = 7.9$ Hz), 5.51 (d, 1H, $J = 51$ Hz), 5.07 (d, 1H, $J = 8.8$ Hz), 4.07-4.01 (brm, 1H), 3.91-3.83 (m, 1H), 3.48-3.40 (m, 2H), 3.17-3.05 (m, 2H), 2.57-2.51 (m, 1H), 2.38 (s, 3H), 1.84-1.23 (m, 8H), 1.07-1.05 (m, 1H) ppm.

实施例 44



(2S,4S)-1-[(2S)-2-氨基-3-(1-苯并噻吩-3-基)丙酰基]-4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐

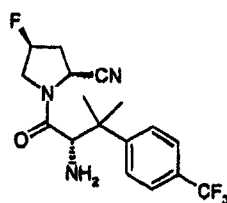
A.(2S,4S)-1-[(2S)-2-氨基-3-(1-苯并噻吩-3-基)丙酰基]-4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐

向无水 DMF(25 mL)加入(2S)-3-(1-苯并噻吩-3-基)-2-[(叔丁氧基羰基)氨基]丙酸(1.92 g, 6.0 mmol)、HATU(2.28 g, 6.0 mmol)和 N,N-二异丙基乙胺(1.05 mL, 6.0 mmol)。室温下搅拌 30 分钟后, 加入(2S,4S)-4-氟-2-吡咯烷甲腈 4-甲基苯磺酸盐(1.31 g, 4.5 mmol)和另外的 N,N-二异丙基乙胺(0.78 mL, 4.5 mmol)。将该溶液室温下搅拌 12 小时后加入饱和碳酸氢钠(110 mL)。将该混合物用乙酸乙酯(2×100 mL)萃取, 将有机物用饱和氯化钠溶液(50 mL)洗涤并经硫酸镁干燥。浓缩至干

得到粗制固体, 将其层析纯化(硅胶, 己烷/乙酸乙酯 4:1)而得到一种固体物, 将这种固体物在二噁烷-HCl(4.0 M, 20 mL)溶液中搅拌 2 小时, 接着再加入乙醚(100 mL)。通过过滤收集得到的沉淀物并在高真空下干燥, 得到 1.0 g(2.84 mmol, 63%收率)化合物 A 的白色固体。

$^1\text{H NMR}$ (d_6 -DMSO) 400 MHz δ 8.70-8.61 (s(br), 3H), 8.05-8.00 (m, 2H), 7.45-7.36 (m, 3H), 5.21 (d, 1H, $J = 51$ Hz), 5.01 (d, 1H, $J = 8.8$ Hz), 4.23-4.20 (m, 1H), 3.71 (ddd, 1H, $J = 41.1, 12.3, 3.2$ Hz), 3.55-3.51 (m, 1H), 3.30-3.24 (m, 1H), 2.73 (q, 1H, $J = 12.1$ Hz), 2.39-2.14 (m, 2H) ppm.

实施例 45



(2S,4S)-1-((2S)-2-氨基-3-甲基-3-[4-(三氟甲基)苯基]丁酰基)-4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐

A. 2-甲基-2-[4-(三氟甲基)苯基]丙醛

向冷却到 -78°C 的 2-甲基-2-[4-(三氟甲基)苯基]丙腈(参见: J. Am. Chem. Soc. 2000, 122, 712, Caron, S.等人关于这种化合物的制备的论述)的甲苯溶液(90 mL)加入 26.0 mL 1.5 M DIBAL(39.0 mmol)的甲苯溶液。将得到的溶液在 -78°C 搅拌 2.5 小时后, 用含乙酸钠(6.6 g)和乙酸(6.6 mL)的 THF 水溶液(105 mL/20 mL)猝灭。5 分钟后, 除去冷浴并在室温下继续搅拌 20 分钟, 然后加入硅藻土和乙醚。再搅拌 30 分钟后, 将多相溶液通过硅藻土床过滤。硅藻土用乙醚彻底清洗并然后分离水层。有机物用水洗涤, 经硫酸镁干燥并真空除去溶剂。残留油经柱层析(5%乙酸乙酯/己烷)纯化, 得到 4.22 g(19.5 mmol, 75%收率)透明油状的化合物 A。

¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 9.52 (s, 1H), 7.63 (d, 2H, *J* = 8.2 Hz), 7.39 (d, 2H, *J* = 8.2 Hz), 1.49 (s, 3H) ppm.

B. 2-氨基-3-甲基-3-[4-(三氟甲基)苯基]丁腈

向化合物 A(1.87 g, 8.66 mmol)的甲醇溶液(10 mL)加入 1.2 mL
5 30% NH₄OH、H₂O(6 mL)和氯化钾(592 mg, 9.09 mmol)。室温下向该溶液加入氯化铵(510 mg, 9.53 mmol)。1 小时后, 将溶液加热到 70℃ 下 6 小时。冷却后, 将反应物用乙酸乙酯稀释并用饱和碳酸氢钠溶液和水顺序洗涤。经硫酸镁干燥后, 真空除去溶剂, 残留物经柱层析(乙酸乙酯/己烷(3:2))纯化, 得到 1.52 g(6.27 mmol, 72%收率)化合物 B。
10

¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 7.63 (d, 2H, *J* = 8.4 Hz), 7.55 (d, 2H, *J* = 8.5 Hz), 3.80 (t, 1H, *J* = 7.9 Hz), 1.56 (s, 3H), 1.53 (s, 3H), 1.40 (d(br), 2H, *J* = 6.9 Hz) ppm.

C. 2-氨基-3-甲基-3-[4-(三氟甲基)苯基]丁酸盐盐酸盐

向装有化合物 B(2.96 g, 12.2 mmol)的烧瓶中加入 10 mL 乙酸,
15 接着加入 60 mL 浓盐酸。然后将溶液加热回流过夜, 冷却后真空除去大部分溶剂。得到的白色固体在乙醚/己烷(2:1)中研磨并经真空过滤收集。高真空下抽吸后, 得到 3.13 g(10.5 mmol, 86%收率)化合物 C 的白色固体。

¹H NMR (d₄-MeOH) 400 MHz δ 7.69 – 7.68 (m, 4H), 4.33 (s, 1H), 1.57 (s, 3H), 1.53 (s, 3H) ppm.
20

D. 2-[(叔丁氧基羰基)氨基]-3-甲基-3-[4-(三氟甲基)苯基]丁酸

室温下向化合物 C(3.05 g, 10.2 mmol)的二噁烷(30 mL)/水(7 mL)溶液顺序加入 12.8 mL 2.0 M NaOH 溶液(25.6 mmol)和二碳酸二叔丁酯(3.13 g, 14.4 mmol)。将溶液搅拌过夜, 然后倒入到饱和碳酸氢钠溶液中, 用乙醚洗涤。乙醚层用饱和碳酸氢钠溶液洗涤, 然后合并
25

水层。用 1.0 M HCl 酸化后, 有机物用乙酸乙酯萃取两次。经硫酸镁干燥后, 真空除去溶剂, 得到 3.58 g(9.92 mmol, 97%收率)化合物 D 的白色固体。

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7.57 (d, 2H, $J = 8.2$ Hz), 7.49 (d, 2H, $J = 8.3$ Hz), 4.99 (d(br), 1H, $J = 9.2$ Hz), 4.63 (d(br), 1H, $J = 9.3$ Hz), 1.45 (s, 3H), 1.44 (s, 3H), 1.36 (s, 9H) ppm.

5

E.(1S)-1-[(2S,4S)-2-氟基-4-氟代吡咯烷-1-基]羰基}-2-甲基-2-{4-(三氟甲基)苯基}丙基氨基甲酸叔丁酯

室温下向化合物 D(2.0 g, 5.54 mmol)的 DMF 溶液(45 mL)顺序加入 N,N-二异丙基乙胺(788 mg, 6.09 mmol)和 HATU(2.21 g, 5.82 mmol)。将得到的溶液搅拌 30 分钟, 然后加入(2S,4S)-4-氟-2-吡咯烷甲腈 4-甲基苯磺酸盐(1.66 g, 5.82 mmol)和 N,N-二异丙基乙胺(752 mg, 5.82 mmol)的 DMF 溶液(27 mL)。搅拌过夜后, 将溶液用乙酸乙酯稀释并顺序用水(3 $\times$)、饱和碳酸氢钠和 1.0 M HCl 洗涤。经硫酸镁干燥后, 真空除去溶剂并将残留深色油经柱层析(己烷/乙酸乙酯/二氯甲烷(5:4:1))纯化。获得低 R_f 物质(610 mg, 1.37 mmol)(^1H NMR 和 LC 鉴定为单独的立体异构体)的和 335 mg 含有所需产物但被另一种化合物污染的高 R_f 物质。在体外测试中所述低 R_f 物质显示为(S)-非对映体。

15

低 R_f 非对映体:

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7.65 - 7.60 (m, 2H), 7.59 - 7.55 (m, 2H), 5.29 (d, 1H, $J = 9.9$ Hz), 5.06 (dt, 1H, $J = 51.1, 3.3$ Hz), 4.85 (d, 1H, $J = 9.4$ Hz), 4.34 (d, 1H, $J = 9.9$ Hz), 3.55 (ddd, 1H, $J = 3.4, 12.1, 36.2$ Hz), 2.70 (dd, 1H, $J = 12.3, 17.8$ Hz), 2.48 (t, 1H, $J = 15.4$ Hz), 2.15 (m, 1H), 1.53 (s, 3H), 1.51 (s, 3H), 1.40 (s, 9H) ppm.

20

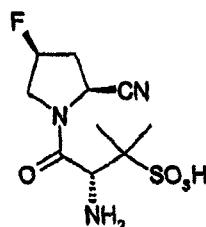
F.(2S,4S)-1-[(2S)-2-氨基-3-甲基-3-[4-(三氟甲基)苯基]丁酰基}-4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐

室温下向化合物 E(643 mg, 1.44 mmol, 低 R_f 异构体)的二氯甲烷溶液(10 mL)加入 TFA(1.65 g, 14.4 mmol)。1 小时后, 加入另外 5 当

量的 TFA, 总共 2 小时后, 真空除去溶剂, 将残留油溶解于 5 mL 二噁烷中。向该溶液加入 10 mL 4.0 M HCl 的二噁烷溶液。真空除去溶剂, 接着加入二氯甲烷和乙醚。将该过程重复三次直到形成恒定量固体物。将固体物经真空过滤收集, 得到 406 mg(1.03 mmol, 72%收率)化合物 F。

^1H NMR ($\text{d}_4\text{-MeOH}$) 400 MHz δ 7.74 – 7.66 (m, 4H), 5.13 (d(br), 1H, $J = 51.3$ Hz), 4.97 (d, 1H, $J = 9.3$ Hz), 4.25 (s, 1H), 3.52 (m, 1H), 2.74 (dd, 1H, $J = 22.0, 11.9$ Hz), 2.47 – 2.22 (m, 2H), 1.67 (s, 3H), 1.60 (s, 3H) ppm.

实施例 46



(3R)-3-氨基-4-[(2S,4S)-2-氰基-4-氟代吡咯烷-1-基]-2-甲基-4-氧代丁烷-2-磺酸

A.(4R)-2,2,5,5-四甲基-1,3-噻唑烷-4-甲酸

向 L-青霉胺(0.300 g, 2.01 mmol)在甲醇(2 mL)中的悬浮液内加入丙酮(4 mL, 54.5 mmol)。该溶液变得透明, 搅拌约 3 小时后溶液又变得浑浊。将溶液浓缩得到 0.377 g 化合物 A 的白色固体(99%收率)。

^1H -NMR ($\text{d}_6\text{-DMSO}$) 400 MHz δ 3.74 (s, 1H), 2.48 (m, 2H), 1.54 (m, 6H), 1.43 (s, 3H), 1.18 (s, 3H) ppm.

B.(2S,4S)-4-氟-1-{[(4R)-2,2,5,5-四甲基-1,3-噻唑烷-4-基]羰基}吡咯烷-2-甲脒

将化合物 A(0.256 g, 1.35 mmol)、(2S,4S)-4-氟代吡咯烷-2-甲脒甲苯磺酸盐(0.387 g, 1.35 mmol)、1-羟基苯并三唑水合物(0.182 g, 1.35

mmol)和 N,N'-二环己基碳二亚胺(0.279 g, 1.35 mmol)和 N,N'-二异丙基乙胺(0.280 mL, 1.63 mmol)的四氢呋喃(13 mL)溶液搅拌约 48 小时后浓缩。残留物溶于乙酸乙酯中并过滤。滤液用碳酸氢钠水溶液和盐水洗涤。有机层经硫酸镁干燥并浓缩。粗制混合物经硅胶层析(5% MeOH/95%三氯甲烷)纯化得到 0.171 g 化合物 B 的白色固体(44%收率)。

¹H-NMR (d₆-DMSO) 400 MHz δ 5.48 (d, J = 50 Hz, 1H), 5.02 (m, 1H), 4.05-3.85 (m, 3H), 3.48 (m, 1H), 2.42 (m, 1H), 1.54 (m, 5H), 1.47 (s, 3H), 1.22 (s, 3H) ppm.

C.(2S,4S)-1-[(2R)-2-氨基-3-巯基-3-甲基丁酰基]-4-氟代吡咯烷-2-甲腈盐酸盐

向化合物 B(0.143 g, 0.501 mmol)在 50%(v/v)水/甲醇(20 mL)溶液加入 1.0 N HCl(0.550 mL, 0.550 mmol)。将该溶液在约 35℃及约 500 毫巴下混和约 1 小时。将溶液浓缩, 用四氢呋喃吸收, 经硫酸镁干燥并再次浓缩, 得到 0.163 g 化合物 C 的灰白色固体(100%收率)。

¹H-NMR (d₆-DMSO) 400 MHz δ 8.61 (s, 1H), 5.54 (d, J = 52 Hz, 1H), 5.05 (d, J = 9 Hz, 1H), 4.28-3.89 (m, 4H), 2.47 (m, DMSO overlap, 1H), 1.74 (m, 3H), 1.43 (m, 6H), 1.33 (s, 3H) ppm.

D.(1R)-1-{[(2S,4S)-1-氟基-4-氟代吡咯烷-1-基]羰基}-2-巯基-2-甲基丙基氨基甲酸叔丁酯

向化合物 C(0.141 g, 0.501 mmol)和 N,N-二异丙基乙胺(0.090 mL, 0.526 mmol)的二氯甲烷(3 mL)溶液顺序加入二碳酸二叔丁酯(0.120 g, 0.551 mmol)和另外的 N,N-二异丙基乙胺(0.100 mL, 0.584 mmol)。将该溶液搅拌约 2 小时后浓缩。粗制化合物经硅胶柱层析(2%甲醇/98%三氯甲烷)纯化, 得到 0.088 g 油状化合物 D, 其经结晶变成白色固体(51%收率)。

¹H-NMR (d₆-DMSO) 400 MHz δ 6.99 (d, J = 9 Hz, 1H), 5.53 (d, J = 51 Hz, 1H), 4.97 (d, J = 7 Hz, 1H), 4.37-3.74 (m, 3H), 2.95 (s, 1H), 2.40 (m, 1H), 1.35 (m, 15H) ppm.

E.(3R)-3-氨基-4-[(2S,4S)-2-氟基-4-氟代吡咯烷-1-基]-2-甲基-4-氧代丁烷-2-磺酸

5 向化合物 D(4.412 g, 12.8 mmol)的甲醇(18 mL)溶液加入 30%过氧化氢水溶液(5.9 mL)。将该溶液搅拌约 30 小时、浓缩、冻干并在约 40℃下用五氧化二磷干燥至少 12 小时。粗制混合物用 20%甲醇/80%氯仿/乙酸溶液吸收并沉淀出固体物。将悬浮液过滤, 得到 0.607 g 化合物 E 的粉红色固体(16%收率)。

¹H-NMR (d₆-DMSO) 400 MHz δ 8.12 (s, 3H), 5.50 (d, J = 50 Hz, 1H), 5.07 (d, J = 9 Hz, 1H), 4.27-3.30 (m, 6H), 2.30 (m, DMSO overlap, 1H), 1.26 (s, 3H), 1.15 (s, 3H) ppm.

10

生物学数据

材料:

H-Ala-Pro-pNA•HCl 购自 BACHEM Bioscience Inc.(产品编号 L-1115)。用二甲亚砜制备 500 mM 贮备液并存贮于-20℃下。Gly-Pro-AMC 购自 Enzyme System Products(产品编号 AMC-39)并以 10 mM 二甲亚砜贮备液形式存贮于-20℃下。受试化合物溶解成 10 mM 二甲亚砜溶液并用作 DPP-IV 滴定分析的贮备液。Athens Research and Technology, Inc 制备了纯化的人的 DPP-IV。该材料使用 DeMeester 等人在 J. Immunol. Methods 189, 99-105.(1996)中所述的方法从人的 prostasomers 分离。

15

20

DPP-II 分析:

受试化合物的 100%二甲亚砜两倍系列稀释液在 96-孔聚苯乙烯平底板(Costar, #9017)上进行。含二甲亚砜但不含受试化合物的孔的平均酶活性用于计算百分抑制率的对照值。DPP-IV(20 ng/mL)在微量

25

滴定板上与受试化合物、底物和分析缓冲剂混和而得到在 25 mM Tris, pH 7.5, 10 mM KCl、140 mM NaCl 中的 100 μ M H-Ala-Pro-pNA•HCl。整个肽包含对硝基苯基苯胺, 其通过 DPP-IV 水解而释放出吸收剂对硝基苯基苯胺。使用 Molecular Device SpectraMax 250 吸光度平板读出计以 20 分钟间隔在 387 nm 波长处监测吸光度。通过具有最佳线性的数据来估计测定酶活性。酶活性值由平板读出计软件测得的线性拟合直接得到。

数据分析: 通过对数据的最佳线性拟合来估计测定。数据整理使用 Microsoft Excel RoboSage 进行。

IC₅₀ 值的测定: 将酶活性对受试化合物的浓度(包括[I]=0)绘图, 将数据代入方程 2 测得 IC₅₀。

$$\text{速率} = V_{\max}/(1+([I]/IC_{50})) \quad (2)$$

V_{max} 是最大酶活性的最佳拟合估计值。

K_i 值的测定: K_i 值使用假设竞争模式的方程 3, 由 IC₅₀ 值计算。

$$K_i = IC_{50} * [1 - \frac{S}{(S + K_m)}] \quad (3)$$

每个实施例化合物的表观 pK_i 值大于 5.0。

DPP-II 测定:

中间板包含 5.3 μ L 受试化合物, 沿板以两倍系列稀释。向中间板的每个孔加入 209 μ L 含底物(H-Lys-Ala-Pro-pNA•2HCl; 产品编号 L-2085; BACHEM Bioscience Inc.)的缓冲液(100 mM 乙酸钠, pH 5.5)。向含 20 μ L 酶的测试板转移 180 μ L 底物/受试化合物溶液引发反应。测试时的最终浓度为 100 nM 酶和 1000 μ M 底物/100 mM NaOAc, pH 5.5, 2.5%DMSO, 最终体积为 200 μ L。使用 Molecular Device SpectraMax 250 吸光度平板读出计以 20 分钟间隔在 387 nm 波长处监测吸光度 5 小时。

数据分析: 通过估计对数据的最佳线性拟合测定酶活性。使用

Microsoft Excel RoboSage 进行数据整理。

IC₅₀ 值的测定：将酶活性对受试化合物的浓度(包括[I]=0)绘图，
IC₅₀通过将数据代入方程 2 测得。

$$\text{速率} = V_{\max} / (1 + ([I] / IC_{50})) \quad (2)$$

5 V_{max} 是最大酶活性的最佳拟合估计值。

K_i 值的测定：K_i 值使用假设竞争模式的方程 3，由 IC₅₀ 值计算。

$$K_i = IC_{50} * [1 - \frac{S}{(S + K_m)}] \quad (3)$$

本发明某些化合物显示出对 DPP-II 的活性，例如 pK_i 值>6.0，
而其它如上所讨论的那样，显示出对 DPP-IV 的选择性。

10

体内研究：

以 12 小时光/暗循环分别在 72°F 和 50%相对湿度下饲养年龄和
体重适合的雄性 CD1 小鼠。以 10 ml/kg 载体(0.5%含 0.1%吐温 80 的
甲基纤维素(HPMC))或 1 mg/kg 载于溶媒中的受试化合物经口管饲与
15 动物。将动物用异氟烷麻醉，定时(0-6 小时)采血。按照生产商说明
书(Enzyme System Products, Livermore CA)使用荧光底物 Gly-Pro-
AMC(50 μM)测量血浆 DPP-IV 活性。将底物与 50 mM Tris(pH 7.8)和
20%血浆混和。将样品在 30°C 培养 20 分钟后使用具 360 nm 激发波
长和 460 nm 发射波长滤光片的细胞荧光分光光度计测定荧光。

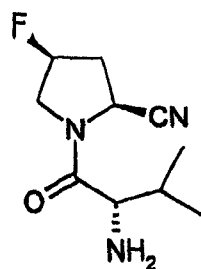
20

对比实施例

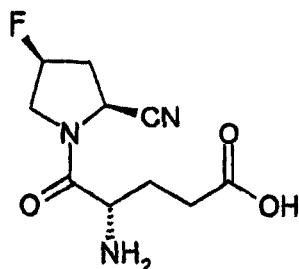
本发明的化合物证明了许多有益的特征。相信本发明化合物的
有益特征是由于通过式(I)化合物取代方式的控制获得的出乎意料的
益处，但并不限于此。对比测试点结果示例了几种令人惊异的益处。
25 更具体地说，对比试验表明本发明的化合物证明了：(i)以血浆测得的
DPP-IV 抑制活性表征的提高了的效力；(ii)提高的选择性；(iii)提高的
作用时间；和/或(iv)改善的安全分布。

对比实施例

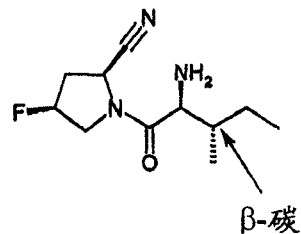
对比实施例 1



对比实施例 2

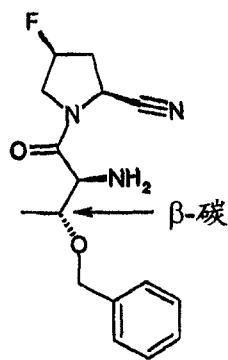


对比实施例 3

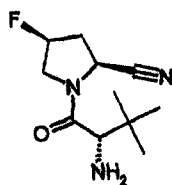


5

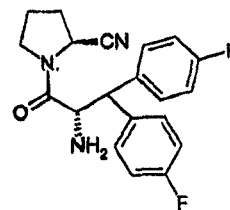
对比实施例 4



对比实施例 5



对比实施例 6



10

比较项 1-效力/作用时间

就具体用 DPP-IV 抑制二肽酶来说,证明具有对酶高亲和性(即效能)的化合物令人惊异地并不需要达到治疗效果所需的作用时间。本文所用术语“作用时间”包括化合物在一持续时间段保持效力(优选治疗效力)的能力。具有优选作用时间水平的化合物提供了每日一次给药的治疗效力。每日一次给药方案为制药领域人们所偏爱,因为患者依从性和方便的原因,其优于每日多次给药。因此,优选的

15

化合物应不仅充分有效，而且还应具有所需的作用时间水平。

5 遗憾的是，正如本领域技术人员所认识的那样，在效力和作用时间之间不存在必要的联系。换句话说，虽然一种化合物具有对 DPP-IV 酶的高亲和力，但是这种化合物并不一定具有适合作为优选的每日一次给药的持续性。下面说明效力和作用时间之间缺乏相关性。下面数据说明本发明，但不能认为是对本发明的限定。

10 以 12 小时光/暗循环分别在 72°F 和 50%相对湿度下饲养年龄和体重适合的雄性 CD 小鼠。以溶媒(10 mM 乙酸)或 1 mg/kg 溶媒中的受试化合物经口饲与动物。给饲化合物 6 小时后，将动物用异氟烷麻醉，进行心血采集。按照生产商说明书(Enzyme System Products, Livermore CA)使用荧光底物 Gly-Pro-AMC(50 mM)测量血清 DPP-IV 活性。将底物与 50 mM Tris(pH 7.8)/血浆(最终 20%v/v)混和并将样品在 30°C 培养 5-20 分钟。使用具 360 nm 激发波长和 460 nm 发射波长滤光片的细胞荧光分光光度计测量荧光测定 DPP-IV 活性。使用
15 Students T-检验计算每组(n=3)平均偏差和标准偏差并与溶媒处理的小鼠比较来测定如表 I 中所示的百分抑制率。

表 I

	IC ₅₀ (nM) 人 DPP-IV	6 小时后对大鼠 DPP-IV 百分抑制率
对比实施例 1	1.3	32±3
对比实施例 2	3	32±3
对比实施例 4	5.6	2.8±0.1
对比实施例 5	3	71±13
实施例 2	22	68±4
实施例 9	72	64±12

20 如表中所示，对比实施例 1、2 和 4 均非常有效，各具有低于 5.6 nM 的 IC₅₀ 值。示例本发明的实施例 2 和 9 化合物具有足够的效力，

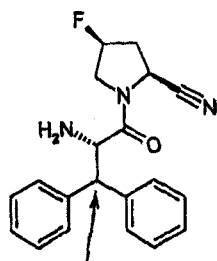
即分别 22 和 72 的 IC_{50} 值。但是, 当测试对比实施例 1、2 和 4 的作用时间时, 它们各展现出差的作用时间水平。本发明的化合物虽然没有它们有效, 但是表现出对整个治疗分布图优选的作用时间。

对比实施例 5 进一步证明了效价和作用时间的不可预测性。更具体地说, 对比实施例 5 说明了一种同时具有高结合亲和力和作用时间的化合物。因此效价和作用时间的关系不能严格地表征为正相关或反相关, 而是不可预测。

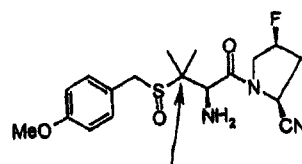
效力和作用时间间相关性的缺乏带来了二肽酶的抑制剂特别是 DPP-IV 可预测性的缺乏。这种不可预测性以前并未被认识到。如上所示, 单单凭结合数据可能或不可能足以确定这种化合物的治疗效用。除了本文讨论的其它性能外, 本发明的化合物具有所需的效力和作用时间水平。

对比项 II- β -取代和环化

正如本文所述, 本发明的化合物具有两个相同的 β -取代, 即 R^1 和 R^2 相同。正如本文所介绍, 如实施例 1 和 10 分别示例, 本发明的化合物为双 β -取代;



β -碳 (实施例 1)



β -碳 (实施例 10)

因此, 使用实施例 10 作为一个例子, 一种优选的实施方案是 R^1 和 R^2 各为烷基, 更优选各为 C_1 - C_6 烷基, 更优选各为甲基。另一优选的实施方案由实施例 1 示例, 即 R^1 和 R^2 各为芳基, 更优选为苯基, 并且如实施例 2 示例, 更优选为被卤素(优选氟)取代的苯基。一般来说, 二 β -取代化合物(如本发明的化合物)并不易与脒环化形成环脒, 因此是稳定的。

另一方面, 单 β -取代化合物(如如上所述的 β -碳并不携带两个相同取代基的对比实施例 3 和 4)易于环化, 因此表现出较短稳定性半衰期($t_{1/2}$)。

此外, 通常在 β -碳具偕取代型的化合物也表现出更好的选择性。

5

对 DPP-IV 化合物的稳定性研究

通常将 0.2-0.5 mg 化合物溶解于在 HPLC 样品管瓶中的 1 mL 磷酸盐缓冲的盐水(PBS)中, 并置于恒温控制在 37℃的自动进样器中。获得在初始时点的 HPLC 色谱图以及后续在 24、48、72 等小时点的 HPLC 色谱图。

10

HPLC 方法:

柱: Phenomenex Luna C18(2), 3 μ , 100 $\times$ 4.6 mm, 恒温在 40℃

流动相 A: 95:5:0.2%水:乙腈:三氟乙酸

15

流动相 B: 5:95:0.2%水:乙腈:三氟乙酸

流速: 1 mL/分

梯度: 15 分钟从 0 到 100%B

UV 检测波长: 215 nm。

将药物峰下面积与各色谱图最初面积相比, 并以最初时间(t_0)残留百分比画图。

20

化合物环化/降解反应半衰期($t_{1/2}$)的比较表明二- β -取代化合物(如实施例 2 和 9)显示出增加的稳定性。升高的 $t_{1/2}$ 直接与升高的化合物稳定性相关。

表 2

化合物	在 37℃ 下的 $t_{1/2}$
实施例 9	1733 小时
实施例 2	266 小时
对比实施例 4	33.5 小时
对比实施例 3	23 小时(计算)* 在 23℃ 47 小时

*注: 对于对比实施例 3 来说, 自动进样器并未如上所述那样恒温控制, 而是自动进样器留在室温下。一般来说每升高 10℃, 反应速率提高两倍, 依此 $t_{1/2}$ 降低两倍。正如会被本领域技术人员所认识的那样, 对对比实施例 3 合理计算的 $t_{1/2}$ 将会是室温(23℃)下测量值的一半(或更低)。

因此, 除了效价和作用时间外, 本发明的化合物也具有所需的稳定性。

10 对比项 III-安全分布

狗是常用于满足常规需要的普通非啮齿动物。选择小猎兔犬检查本发明化合物的安全性, 因为人们熟悉这种动物的普通病理学和对各种药物的反应。9 到 12 个月(5 到 12 kg)的狗(Marshall Farms Inc, North Rose, NY, USA)经口每日给饲 10 mL/kg/天溶媒(10 mM 乙酸, pH 3.3)或含受试化合物的溶媒。每次给药后约 10 mL 水冲洗, 在各随后的给药之间的 24-48 小时每日一次。如果没有观察到限定胃肠毒性, 在先行给药约 24 小时后立即将剂量增加 3 倍。限定的胃肠毒性包括腹泻、松散或粘液粪便、血便和/或肠上皮脱落。治疗期间每日至少做三次临床观察(给药前一次、给药后约一小时一次和与午后活性检查一起一次)。按照生产商说明书(Enzyme System Products, Livermore CA)使用荧光底物 Gly-Pro-AMC(50 μ M)测量血清 DPP-IV 活性。将底物与 50 mM Tris(pH 7.8)/血浆(最终 20%v/v)混和并将样品在 30℃ 培养 5-20 分钟。使用具 360 nm 激发波长和 460 nm 发射波长

滤光片的细胞荧光荧光分光光度计测量荧光测定 DPP-IV 活性。

5 上面示例的化合物(如对比实施例 5)包含较小的 P2 部分(通过分子量测定)。因此在所述的逐步增加剂量的研究中测试对比实施例 5 和本文所述的具有较大 P2 部分的本发明化合物(即例如实施例 2 和 9)。

基于对狗的剂量逐步增加研究, 0.3 mg/kg 对比实施例 5 导致带少量血的松散/粘液粪便, 而 1 mg/kg 本发明化合物(实施例 9)没有不良反应。但是增加到 3 mg/kg 后, 实施例 9 导致带少量血的松散/粘液粪便。

10 相反, 口服给药 0.2 mg/kg 对比实施例 5 后 12 小时, 对比实施例 5 抑制 DPP4 2%。令人惊异的是, 0.2 mg/kg 实施例 9 抑制了 DPP4 76%, 表明实施例 9 显著抑制了血清中 DPP4 活性。

同样, 对其它本发明化合物来说, 10 mg/kg 的实施例 2 对胃肠毒性没有不良影响, 0.5 mg/kg 的实施例 2 在口服给药后 12 小时抑制
15 DPP4 45%。

基于对狗的逐增剂量研究, 优选具有较大分子量 P2 部分的本发明化合物如实施例 2 和 9。

比较项 IV-氟代对非氟代

20 当本发明化合物在 0 到 10 小时的时间段体内试验时, 本发明的氟代化合物比非氟代相应物质具有显著提高的 DPP-IV 抑制率。因此本发明的化合物提供了出乎意料的前所未有的效力。例如对比了实施例 2 和其非氟代物质对比实施例 6 来测定 4-氟取代基的益处。令人惊异的是 4-氟取代基极大延长了酶抑制剂结合并同时提供了效价
25 的显著增加。这些有益性质在此前并未为人所认识。

表 3

	IC ₅₀ (nM) 人 DPP-IV	6 小时后对大鼠 DPP-IV 百分抑制率
实施例 2	22	68±4
对比实施例 6	151	15±1

所有研究遵从实验室动物养护原则(NIH 发布号 85-23, 1985 年修订)和对动物使用的 GlaxoSmithKline 政策。

5 尽管详细示例说明和描述了本发明的具体实施方案，但是本发明并不限于此。上面对优选实施方案的详细上面不应看作对本发明的限定。本领域技术人员可容易地进行修改，所有不背离本发明宗旨的修改均拟包括在所附权利要求书的范围内。