



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 114008021 B

(45) 授权公告日 2024. 11. 05

(21) 申请号 202080041924.X

(22) 申请日 2020.06.03

(65) 同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 114008021 A

(43) 申请公布日 2022.02.01

(30) 优先权数据  
19382477.8 2019.06.07 EP

(85) PCT国际申请进入国家阶段日  
2021.12.07

(86) PCT国际申请的申请数据  
PCT/US2020/035825 2020.06.03

(87) PCT国际申请的公布数据  
W02020/247429 EN 2020.12.10

(73) 专利权人 伊莱利公司  
地址 美国印第安纳州

(72) 发明人 C·拉富恩特布兰科

N·迪亚兹布埃佐

J·A·马丁内斯佩雷斯

G·C·桑兹吉尔 J·普列高索勒

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司  
72001

专利代理师 郭慧 彭昶

(51) Int. Cl.

C07D 207/08 (2006.01)

A61K 31/4025 (2006.01)

A61P 9/00 (2006.01)

A61K 31/40 (2006.01)

A61P 3/06 (2006.01)

A61P 7/02 (2006.01)

(56) 对比文件

EP 1452521 A1, 2004.09.01

WO 2005068410 A1, 2005.07.28

审查员 马晓婧

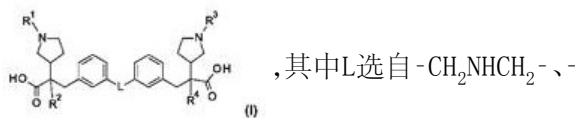
权利要求书3页 说明书40页

(54) 发明名称

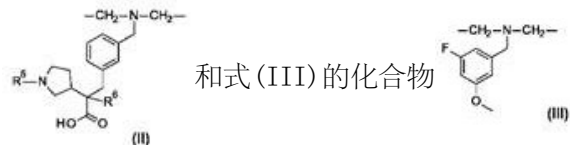
吡咯烷化合物

(57) 摘要

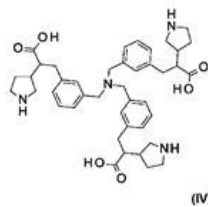
本发明提供式(I)的化合物



CH<sub>2</sub>NH-、-NH-、-S-、-S(O)-、-S(O)<sub>2</sub>-、-O-、-OCH<sub>2</sub>-、-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O-、-NHSO<sub>2</sub>NH-，式(II)的化合物



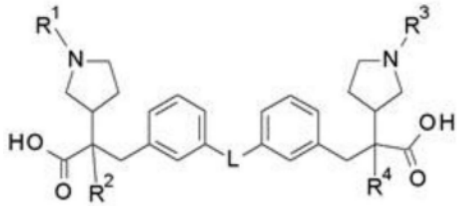
或其可药用盐；式(IV)的化合物



，制备所述化合物及其盐的方法、药物组合物和治疗需要这种治疗的患者的方法。

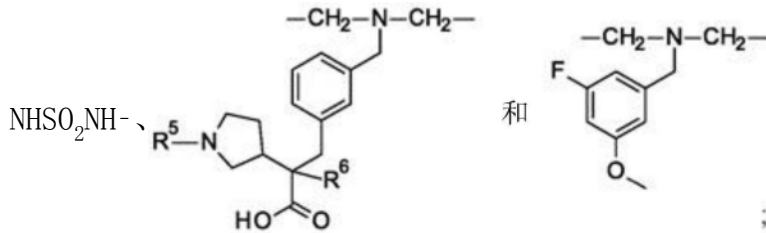
法、药物组合物和治疗需要这种治疗的患者的方法。

1. 下式的化合物或其可药用盐:



其中

L选自 -CH<sub>2</sub>NHCH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>NH-、-NH-、-S-、-S(O)-、-S(O)<sub>2</sub>-、-O-、-OCH<sub>2</sub>-、-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O-、-



R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>和R<sup>6</sup>各自独立地选自H和CH<sub>3</sub>。

2. 如权利要求1所述的化合物或其可药用盐,其中R<sup>1</sup>是H且R<sup>3</sup>是H。

3. 如权利要求1所述的化合物或其可药用盐,其中R<sup>5</sup>是H。

4. 如权利要求1所述的化合物或其可药用盐,其中R<sup>2</sup>是H且R<sup>4</sup>是H。

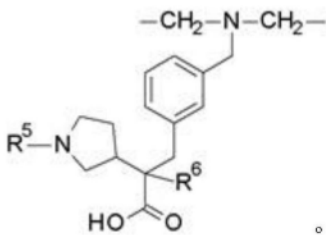
5. 如权利要求1所述的化合物或其可药用盐,其中R<sup>6</sup>是H。

6. 如权利要求1所述的化合物或其可药用盐,其中R<sup>2</sup>是CH<sub>3</sub>且R<sup>4</sup>是CH<sub>3</sub>。

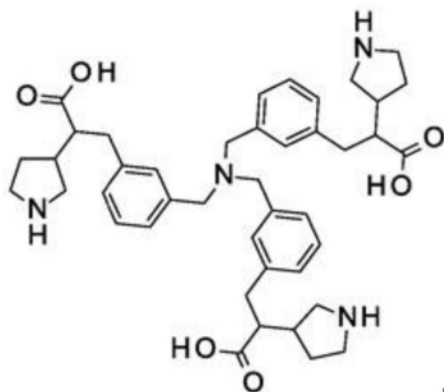
7. 如权利要求1所述的化合物或其可药用盐,其中R<sup>2</sup>是CH<sub>3</sub>,R<sup>4</sup>是CH<sub>3</sub>且R<sup>6</sup>是CH<sub>3</sub>。

8. 如权利要求1所述的化合物或其可药用盐,其中L选自 -CH<sub>2</sub>NHCH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>NH-、-NH-、-S-、-S(O)-、-S(O)<sub>2</sub>-、-O-、-OCH<sub>2</sub>-、-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O-和-NHSO<sub>2</sub>NH-。

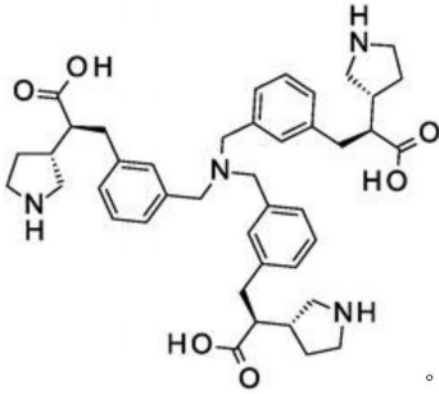
9. 如权利要求1所述的化合物或其可药用盐,其中L是



10. 如权利要求1所述的化合物或其可药用盐,其中所述化合物是:



11. 如权利要求10所述的化合物或其可药用盐,其中所述化合物是



12. 如权利要求11所述的化合物,其中所述化合物是盐酸盐。

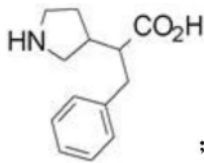
13. 如权利要求12所述的化合物,其中所述化合物是四盐酸盐。

14. 药物组合物,其包含如权利要求1所述的化合物或其可药用盐,和至少一种可药用载体、稀释剂或赋形剂。

15. 如权利要求14所述的药物组合物用于制备用于治疗Lp(a)血浆水平升高的药物的用途。

16. 根据权利要求1的化合物或其可药用盐用于制备用于治疗Lp(a)血浆水平升高的药物的用途。

17. 下式的化合物:

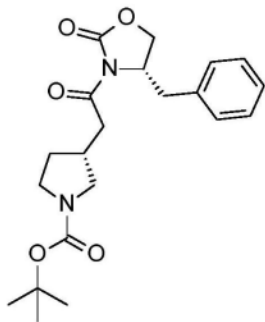


或其可药用盐。

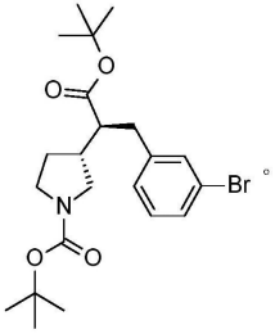
;

18. 药物组合物,其包含如权利要求17所述的化合物或其可药用盐,和至少一种可药用载体、稀释剂或赋形剂。

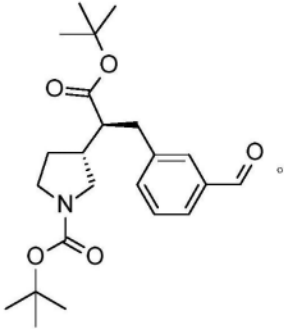
19. 下式的化合物:



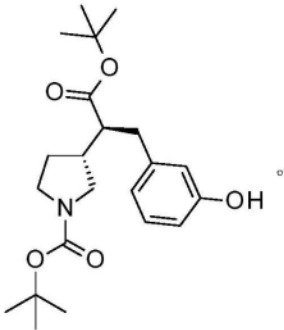
20. 下式的化合物:



21. 下式的化合物:



22. 下式的化合物:



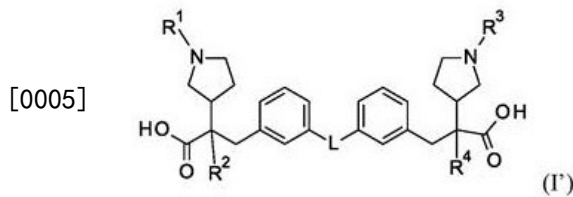
## 吡咯烷化合物

[0001] 本发明涉及吡咯烷化合物、其可药用盐、药物组合物和所述化合物的治疗用途。

[0002] 在心血管疾病(CVD)的治疗中已取得重大进展。尽管治疗进展,患者仍然会经历心血管疾病事件,如心绞痛、心肌梗死和中风,如果不治疗,会导致死亡。血脂紊乱或血脂异常仍然是CVD的主要危险因素。血脂紊乱可分成四个一般危险因素:低密度脂蛋白胆固醇(LDL-c)升高、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-c)低、甘油三酯(TG)升高和脂蛋白(a)(Lp(a))升高。针对LDL-c升高、低HDL-c和甘油三酯升高有各种治疗方案。对Lp(a)浓度升高的患者,批准的治疗选择很少。在一些情况下,血浆分离置换法(apheresis)可用于过滤血液以除去LDL和Lp(a);但是,效果是暂时的并通常需要每两周重复。没有批准用于降低Lp(a)水平的药物疗法。Lp(a)的生理机能是复杂的;但是,据报道,Lp(a)血浆水平升高是CVD的独立危险因素。需要用于Lp(a)升高的患者的药物疗法。

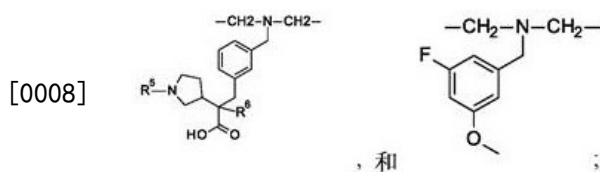
[0003] 患有心血管疾病的患者,特别是患有血脂紊乱或血脂异常的患者需要另外的治疗选择。使用护理疗法的现行标准(如饮食、锻炼和/或使用一种或多种药物,如他汀类、贝特类和烟酸)不足以管理心血管风险的患者需要另外的治疗选择。本发明为患有CVD的患者提供另一治疗选择。需要用于降低血浆Lp(a)水平的可药用化合物和治疗选择。

[0004] 提供了式I'的化合物或其可药用盐:



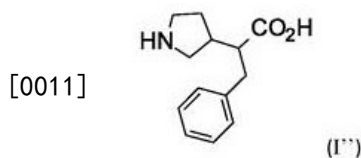
[0006] 其中

[0007] L选自 $-\text{CH}_2\text{NHCH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{NH}-$ 、 $-\text{NH}-$ 、 $-\text{S}-$ 、 $-\text{S}(\text{O})-$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2-$ 、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{OCH}_2-$ 、 $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}-$ 、 $-\text{NHSO}_2\text{NH}-$ 、

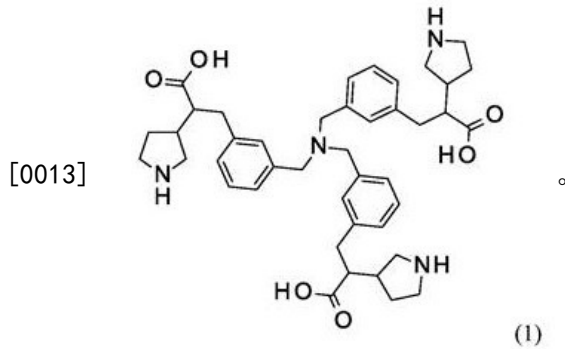


[0009]  $\text{R}^1$ 、 $\text{R}^2$ 、 $\text{R}^3$ 、 $\text{R}^4$ 、 $\text{R}^5$ 和 $\text{R}^6$ 各自独立地选自H和 $\text{CH}_3$ 。

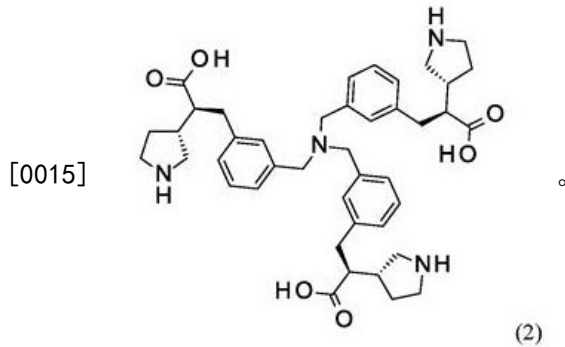
[0010] 提供了式I''的化合物或其可药用盐:



[0012] 提供了式1的化合物或其可药用盐:



[0014] 一个实施方案是式2的化合物或其可药用盐:



[0016] 在一个实施方案中是式I'、I''、1或式2的化合物,其中该化合物是可药用盐。在一个实施方案中是式I'、式1或式2的化合物,其中该化合物是盐酸盐。在一个实施方案中是式1或式2的化合物,其中该化合物是四盐酸盐。

[0017] 在一个实施方案中是式I'、式1或式2的化合物,其中该化合物是选自单盐酸盐、二盐酸盐、三盐酸盐和四盐酸盐的盐酸盐。在一个实施方案中是两性离子形式的式1或式2的化合物。

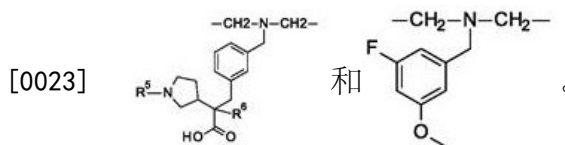
[0018] 提供了式I'的化合物或其可药用盐,其中L选自 $-\text{CH}_2\text{NHCH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{NH}-$ 、 $-\text{NH}-$ 、 $-\text{S}-$ 、 $-\text{S}(0)-$ 、 $-\text{S}(0)_2-$ 、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{OCH}_2-$ 、 $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}-$ 和 $-\text{NHSO}_2\text{NH}-$ 。

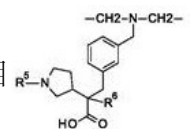
[0019] 提供了式I'的化合物或其可药用盐,其中 $\text{R}^1$ 和 $\text{R}^3$ 各自是H;且L选自 $-\text{CH}_2\text{NHCH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{NH}-$ 、 $-\text{NH}-$ 、 $-\text{S}-$ 、 $-\text{S}(0)-$ 、 $-\text{S}(0)_2-$ 、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{OCH}_2-$ 、 $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}-$ 和 $-\text{NHSO}_2\text{NH}-$ 。

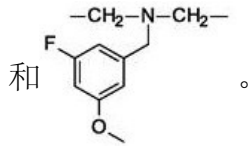
[0020] 提供了式I'的化合物或其可药用盐,其中 $\text{R}^1$ 和 $\text{R}^3$ 各自是H; $\text{R}^2$ 和 $\text{R}^4$ 各自是 $\text{CH}_3$ ;且L选自 $-\text{CH}_2\text{NHCH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{NH}-$ 、 $-\text{NH}-$ 、 $-\text{S}-$ 、 $-\text{S}(0)-$ 、 $-\text{S}(0)_2-$ 、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{OCH}_2-$ 、 $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}-$ 和 $-\text{NHSO}_2\text{NH}-$ 。

[0021] 提供了式I'的化合物或其可药用盐,其中 $\text{R}^1$ 和 $\text{R}^3$ 各自是H; $\text{R}^2$ 和 $\text{R}^4$ 各自是H;且L选自 $-\text{CH}_2\text{NHCH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{NH}-$ 、 $-\text{NH}-$ 、 $-\text{S}-$ 、 $-\text{S}(0)-$ 、 $-\text{S}(0)_2-$ 、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{OCH}_2-$ 、 $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}-$ 和 $-\text{NHSO}_2\text{NH}-$ 。

[0022] 提供了式I'的化合物或其可药用盐,其中L选自

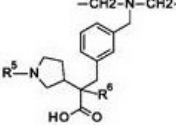


[0024] 提供了式I'的化合物或其可药用盐,其中 $\text{R}^1$ 、 $\text{R}^3$ 和 $\text{R}^5$ 各自是H;且L选自 



[0025] 提供了式I'的化合物或其可药用盐,其中R<sup>1</sup>、R<sup>3</sup>和R<sup>5</sup>各自是H;R<sup>2</sup>、R<sup>4</sup>和R<sup>6</sup>各自是H。

[0026] 提供了式I'的化合物或其可药用盐,其中R<sup>1</sup>、R<sup>3</sup>和R<sup>5</sup>各自是H;R<sup>2</sup>、R<sup>4</sup>和R<sup>6</sup>各自是CH<sub>3</sub>。

[0027] 提供了式I'的化合物或其可药用盐,其中L是  ;R<sup>1</sup>、R<sup>3</sup>和R<sup>5</sup>各自是H;R<sup>2</sup>、R<sup>4</sup>和R<sup>6</sup>各自是CH<sub>3</sub>。

[0028] 在一个实施方案中是一种药物组合物,其包含式I'、式I'、式1或式2的化合物或其可药用盐,和至少一种可药用载体、稀释剂或赋形剂。

[0029] 在一个实施方案中是一种治疗需要治疗心血管疾病的患者的方法,其包括给予有效量的选自式I'、式1和2的化合物或其可药用盐。在一个实施方案中是一种治疗需要治疗心血管疾病的患者的方法,其包括给予有效量的式I'的化合物或其可药用盐。在一个实施方案中是一种治疗需要治疗Lp(a)血浆水平升高的患者的方法,其包括给予有效量的选自式I'、式1或式2的化合物或其可药用盐。在一个实施方案中是一种治疗需要治疗Lp(a)血浆水平升高的患者的方法,其包括给予有效量的式I'的化合物或其可药用盐。

[0030] 在一个实施方案中是选自式I'、式1和2的化合物或其可药用盐,其用于治疗。在一个实施方案中是式I'的化合物或其可药用盐,其用于治疗。

[0031] 在一个实施方案中是选自式I'、式1和2的化合物或其可药用盐,其用于治疗心血管疾病。在一个实施方案中是式I'的化合物或其可药用盐,其用于治疗心血管疾病。

[0032] 在一个实施方案中是选自式I'、式1和2的化合物或其可药用盐,其用于治疗Lp(a)血浆水平升高。

[0033] 在一个实施方案中是选自式I'、式1和式2的化合物或其可药用盐在制备心血管疾病药物中的用途。

[0034] Lp(a)可表现出促血栓(prothrombotic)和抗血栓性质,和动脉粥样化血栓形成性质。Lp(a)可抑制纤维蛋白溶解并积聚在血管壁中以诱发血栓形成和粥样硬化病变。Lp(a)的血浆水平在个体间差异很大。不同于其它危险因素,Lp(a)血浆水平不随饮食和锻炼而显著变化。Lp(a)血浆水平可能与遗传倾向有关。

[0035] Lp(a)与LDL-c的相似在于其包括LDL脂质核心和附带的载脂蛋白B(apoB),但不同于LDL-c,Lp(a)还含有经由二硫键结合到apoB的独特载脂蛋白(a)(apo(a))。Apo(a)在肝中合成。由apo(a)和LDL粒子组装Lp(a)可在肝细胞中、在细胞壁上或在血浆中进行。LDL粒子与apo(a)的组装的抑制可降低Lp(a)水平。

[0036] 本文所用的术语“Lp(a)血浆水平升高”是指等于或高于大约50 mg/dL的血浆水平。本文提供的化合物可用于降低Lp(a)血浆水平的治疗。

[0037] 本文所用的术语“可药用盐”是指临床使用和/或兽用可接受的化合物的盐。可药用盐和用于制备它们的常见方法的实例可见于“Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use” P. Stahl等人,第二次修订版,Wiley-VCH,2011和

S.M. Berge等人, "Pharmaceutical Salts", *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1977, 66(1), 1-19. 式I'、I''、1或式2的化合物可以是两性离子、单酸加成盐、二酸加成盐或三酸加成盐。式I'、I''、1或式2的化合物可以是单碱加成盐、二碱加成盐或三碱加成盐。

[0038] 本发明的药物组合物可使用可药用添加剂制备。术语“可药用”是指与该组合物的其它组分相容并在医药学上对患者无害的一种或多种载体、稀释剂和/或赋形剂。药物组合物及其制备方法的实例是技术人员众所周知的,并可见于例如“Remington: The Science and Practice of Pharmacy”, Loyd, V.等人编辑, 22<sup>nd</sup> Ed., Mack Publishing Co., 2012。

[0039] 本文所用的术语“有效量”是指有效治疗障碍的剂量。用于特定患者的有效量可由有经验的保健专业人员确定。

[0040] 本文所用的术语“治疗”包括减慢、减轻、预防或逆转已有症状、障碍、病况或疾病的进展或严重程度。本文所用的“治疗心血管疾病”是指减慢、减轻、预防或逆转心脏或血管疾病的进展。提供一种治疗心肌梗死的方法,其包括给予需要其的患者式I'、式1或式2的化合物。

[0041] 本文所用的术语“患者”是指哺乳动物。患者优选是人类。

[0042] 药物组合物可配制为用于口服给药的片剂或胶囊、用于口服给药的溶液、或可注射溶液。在一个实施方案中,该组合物适合口服给药。

[0043] 某些缩写如下定义:“Apo”是指载脂蛋白;“BOC”是指叔丁氧基羰基;“BSA”是指牛血清白蛋白;“DAD”是指二极管阵列检测器;“DCM”是指二氯甲烷或亚甲基氯;“de”是指非对映体过量;“DMEA”是指二甲基乙基胺;“DMEM”是指Dulbecco氏改良伊格尔培养基;“DMF”是指N,N-二甲基甲酰胺;“DMSO”是指二甲亚砜;“ee”是指对映体过量;“EACA”是指ε-氨基己酸或6-氨基己酸;“ELISA”是指酶联免疫吸附分析法;“equiv”是指当量;“Et<sub>2</sub>O”是指乙醚;“EtOAc”是指乙酸乙酯;“EtOH”是指乙醇或乙醇;“Ex”是指实施例;“FBS”是指胎牛血清;“HEC”是指羟乙基纤维素;“HEK”是指人胚肾;“HepG2”是指人肝癌细胞系;“HEPES”是指4-(2-羟乙基)-1-哌嗪乙磺酸;“HPLC”是指高效液相色谱法;“HRP”是指辣根过氧化物酶;“IC<sub>50</sub>”是指产生试剂可能的最大抑制响应的50%的该试剂浓度;“min”是指分钟;“MeOH”是指甲醇或甲基醇;“MTBE”是指甲基叔丁基醚;“RP-HPLC/MS”是指反相高效液相色谱质谱联用;“RT”是指室温;“SFC”是指超临界流体色谱法;“SPA”是指闪烁逼近分析法;“t<sub>(R)</sub>”是指保留时间;“THF”是指四氢呋喃;“TMB”是指3,3',5,5'-四甲基联苯胺且“Tris”是指三(羟甲基)氨基甲烷。

[0044] 本领域普通技术人员可以在下列化合物的合成中的任何方便的点通过技术人员已知的方法,如选择性结晶技术或手性色谱法分离或拆分独立的异构体、对映体和非对映体。

[0045] 式I'、式I''、式1或式2的化合物容易转化成可药用盐并可作为可药用盐分离。可在加入可药用酸以形成酸加成盐或加入可药用碱以形成碱加成盐时发生成盐。也可在氮或氧的脱保护,即除去保护基的同时形成盐。用于形成盐的实例、反应和条件是技术人员已知的。

[0046] 选自式I'、式I''、式1和式2的化合物或其盐可通过各种程序制备,其中一些例示在下面的制备和实施例中。所述各路线的具体合成步骤可以以不同方式组合,或与来自不

同路线的步骤结合,以制备本发明的化合物或盐。以下制备中的各步骤的产物可通过常规方法回收,包括萃取、蒸发、沉淀、色谱法、过滤、研制和结晶。

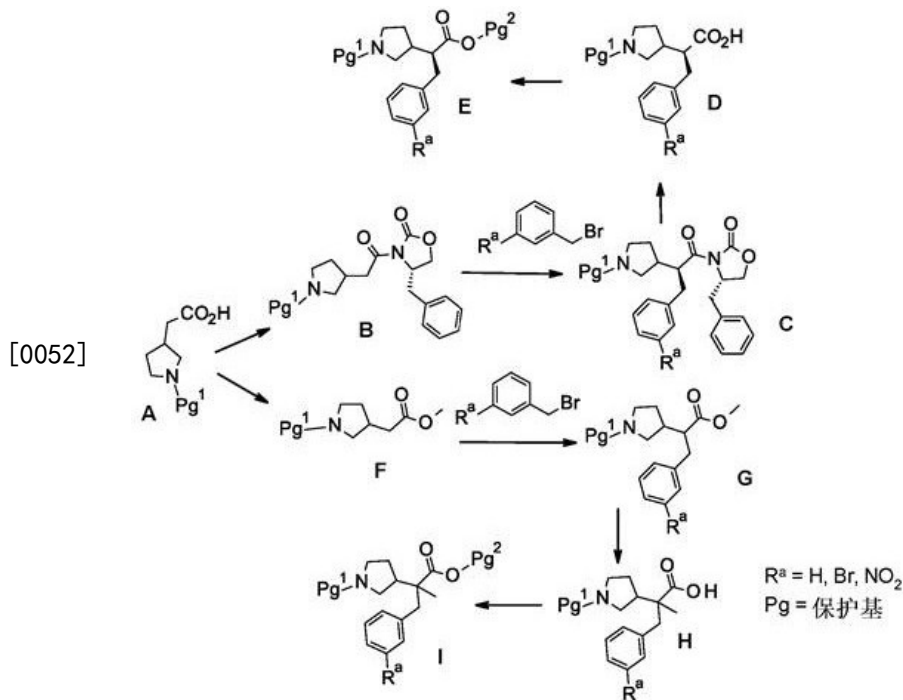
[0047] 在下列方案中,除非另行指明,所有取代基如上文定义。试剂和原材料是本领域普通技术人员易得的。提供下列方案、制备和实施例以进一步例示本发明而不限本发明的范围。式I'、I''、式1和式2的化合物或其盐可使用具有相应的所需立体化学构型的原材料或中间体制备。

[0048] 方案1描绘了可得到本发明化合物的中间体的制备。受保护的吡咯烷-3-基乙酸衍生物A首先转化成酰基噁唑烷酮B。这通过首先将A转化成酰氯和在氯化锂存在下在10°C下与(4S)-4-苄基噁唑烷-2-酮反应实现。酰基噁唑烷酮B用苄基溴衍生物和碱如双(三甲基甲硅烷基)氨基锂在0°C下的烷基化以非对映选择性方式产生中间体C。本领域普通技术人员会认识到,噁唑烷酮取代的立体化学影响烷基化的非对映选择性,且相反或外消旋立体化学构型的噁唑烷酮衍生物B在这种合成中的使用分别可产生相反的非对映选择性或不产生非对映选择性。在5至15°C下在THF中用LiOH水溶液和H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>实现酰基噁唑烷酮C转化成酸中间体D。酸中间体D任选作为铵盐分离。酸中间体D通过与叔丁基-1,3-二异丙基异脲在升高的温度下反应以产生中间体E而例如作为叔丁基酯受到保护。

[0049] 方案1也描绘了酸A转化成甲酯F,这通过使A与碘甲烷在碳酸盐碱存在下反应实现。中间体F随后使用碱如双(三甲基甲硅烷基)氨基锂在-78°C下用苄基溴衍生物烷基化以产生中间体G。中间体G再使用碱如双(三甲基甲硅烷基)氨基锂在-78°C下用碘甲烷烷基化,然后酯用氢氧化钠在升高的温度下水解以产生酸中间体H。酸中间体H通过与叔丁基-1,3-二异丙基异脲在升高的温度下反应以产生中间体I而例如作为叔丁基酯受到保护。

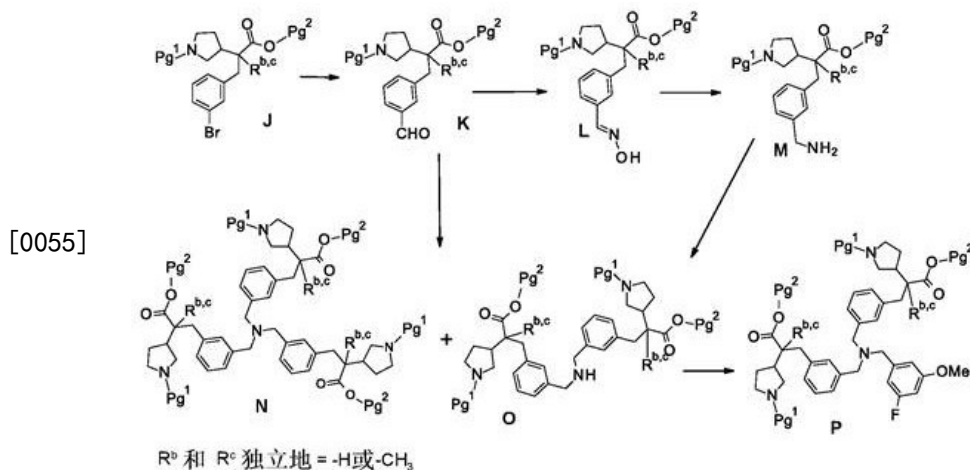
[0050] 特别地,其中R<sup>a</sup>是溴或-NO<sub>2</sub>的中间体D、E、H和I对式I'的化合物的制备中的进一步转化特别有用。其中R<sup>a</sup>是-H的中间体D可通过B与苄基溴的烷基化和随后酰基噁唑烷酮的水解或通过氢气气氛下与碳载钯一起搅拌其中R<sup>a</sup>是溴的中间体D来制备。当R<sup>a</sup>是-H时,中间体D上的吡咯烷氮的脱保护产生式I''的化合物。

[0051] 方案1



[0053] 方案2描绘了关键中间体(J,如方案1中所述制备)转成本发明的倒数第二化合物。溴化物使用合成气(1:1 CO/H<sub>2</sub>)、乙酸钪(II)、丁基二-1-金刚烷基磷和N,N,N',N'-四甲基乙二胺在升高的温度下转化成醛K。醛K随后通过K(分别2或3当量)用氨和还原剂如三乙酰氧基硼氢化钠或氰基硼氢化钠的还原胺化转化成N和O的混合物,然后通过色谱法分离N和O。或者,通过将醛K转化成醛肟L、通过使用海绵镍催化剂在升高的温度下流动氢化(flow hydrogenation)以将L还原成胺M和随后胺M用醛K的还原胺化来制备二聚化合物O。通过二聚中间体O用3-氟-5-甲氧基苯甲醛的还原胺化制备中间体P。

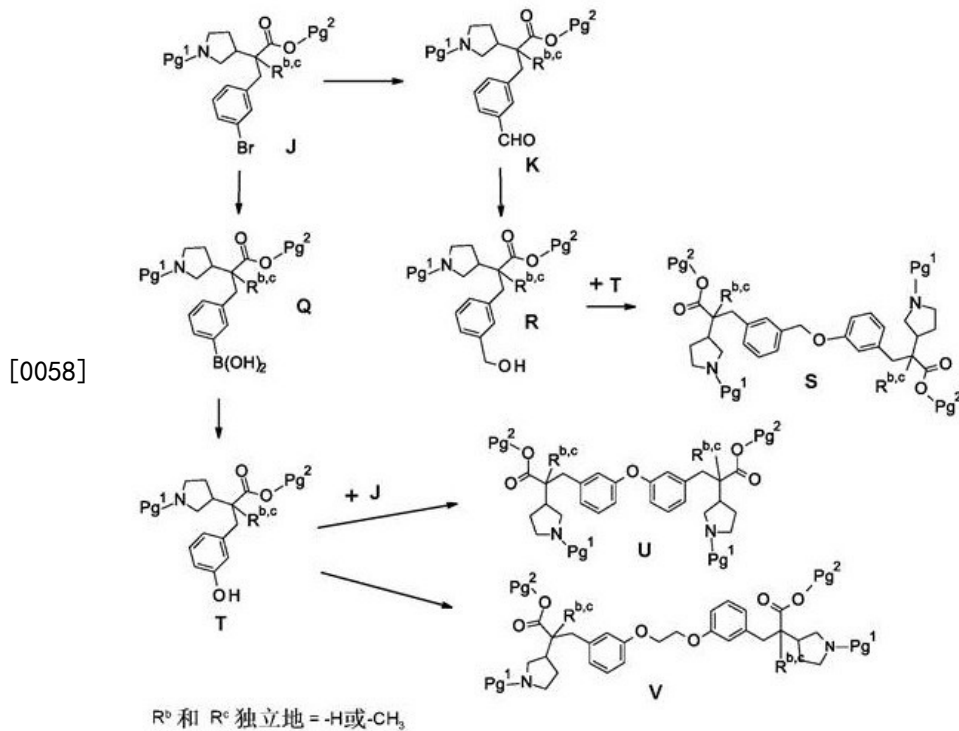
[0054] 方案2



[0056] 方案3显示进一步使用溴化物中间体J制备本发明的倒数第二化合物。溴化物J使用四羟基二硼、氯(2'-二环己基磷基-2',4',6'-三异丙基-1,1'-联苯)(2'-氨基-1,1'-联苯-2-基)钪(II)、X-PHOS和乙酸钾在升高的温度下转化成硼酸Q。硼酸Q随后在5°C下使用H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>转化成酚T。酚T使用碘化铜(I)、N,N-二甲基甘氨酸盐酸盐和碳酸铯在升高的温度下偶联到溴化物J上以产生二苯基醚U。酚T也与1,2-二溴乙烷和碳酸盐碱在升高的温度下反应以产生V。醛中间体K(如方案2中所述由溴化物J制备)用硼氢化钠在0°C下还原成醇R,其随

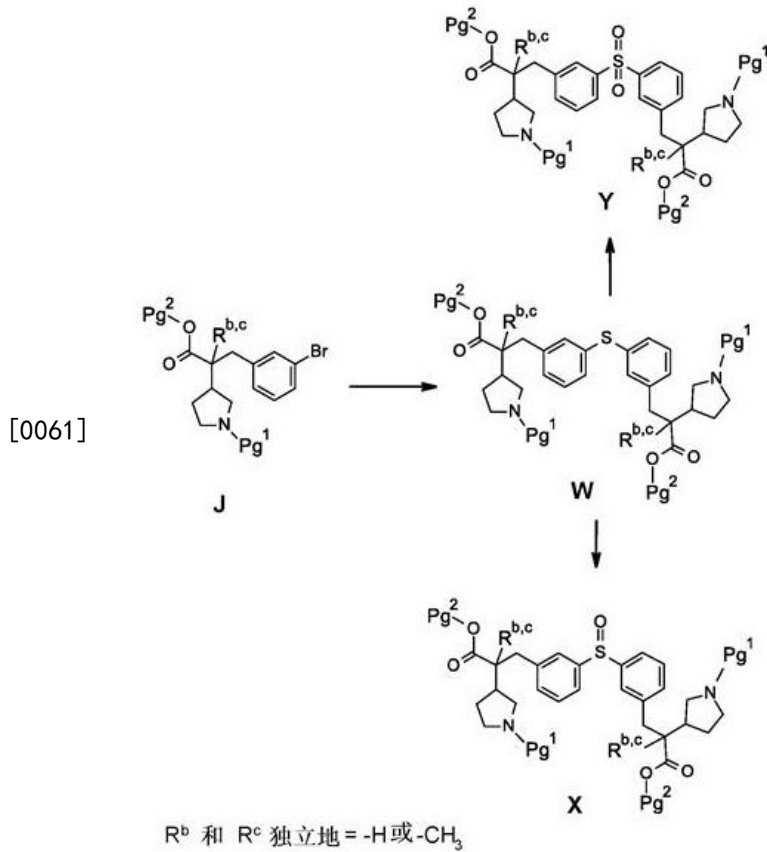
后经过Mitsunobu反应以产生中间体S。

[0057] 方案3



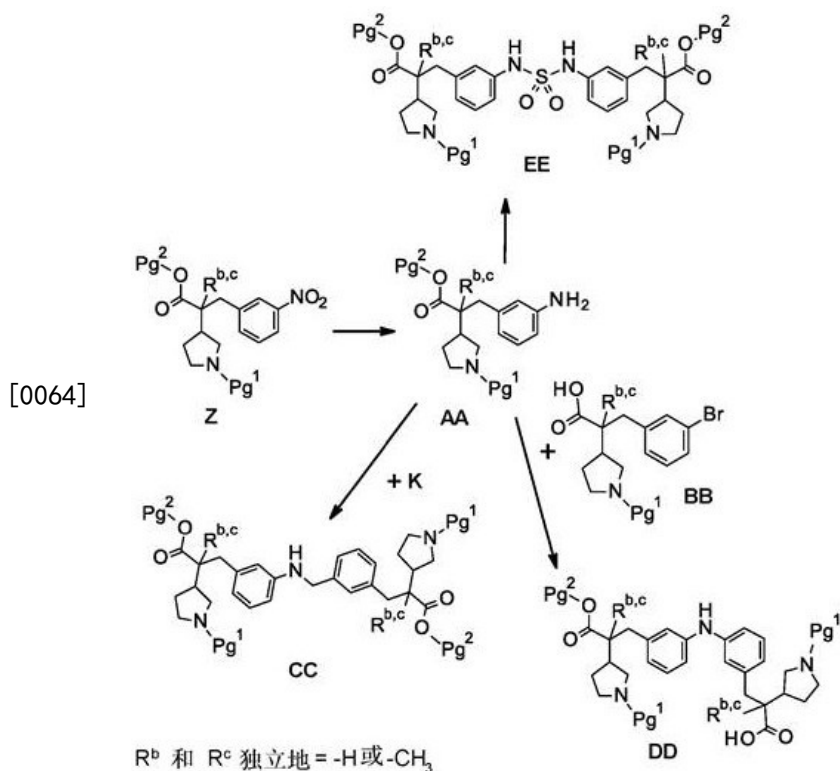
[0059] 方案4显示进一步使用溴化物中间体J制备本发明的倒数第二化合物。2当量的溴化物J使用双(二亚苄基丙酮)钯、磷酸三钾、1,1'-双(二苄基膦基)二茂铁与硫代乙酸钾偶联以产生二苄硫醚W。硫化物W随后分别使用1或2当量的间氯过氧苯甲酸转化成砜X或亚砜Y。

[0060] 方案4



[0062] 方案5描绘了使用硝基中间体Z(如方案1中制备)制备本发明的倒数第二化合物。硝基中间体Z在氢气气氛下在催化剂存在下还原成苯胺AA。苯胺AA使用还原剂如三乙酰氧基硼氢化钠用醛K(如方案2中制备)进行还原胺化以产生CC。使用甲磺酸[(2-二环己基膦基-3,6-二甲氧基-2',4',6'-三异丙基-1,1'-联苯)-2-(2'-氨基-1,1'-联苯)]钯(II)(BrettPhos Pd G3)和碳酸钾在升高的温度下的苯胺AA和溴化物BB(如方案1中制备)之间的Buchwald反应产生二苯基胺衍生物DD。2当量的苯胺AA也与1,4-二氮杂双环[2.2.2]辛烷双(二氧化硫)加合物(DABS0)和碘在升高的温度下反应以产生磺酰胺EE。

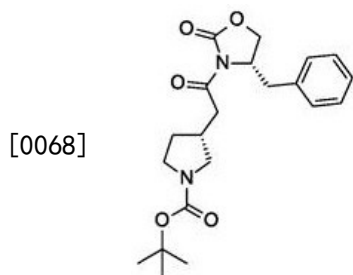
[0063] 方案5



[0065] 来自方案2至5的中间体N、O、P、S、U、V、W、X、Y、CC、DD和EE的全面脱保护产生式I'的化合物。如果吡咯烷保护基(方案1至5中的 $Pg^1$ )是-BOC且酯(方案1至5中的 $Pg^2$ )是叔丁酯,使用HCl在有机溶剂如乙醚、二氧杂环己烷或异丙醇中的溶液在一个步骤中实现全面脱保护。在脱保护后,式I'的化合物中的吡咯烷氮可通过用低聚甲醛和三乙酰氧基硼氢化钠的还原胺化甲基化。

[0066] 制备1

[0067] (3R)-3-[2-[(4S)-4-苄基-2-氧代-噁唑烷-3-基]-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯



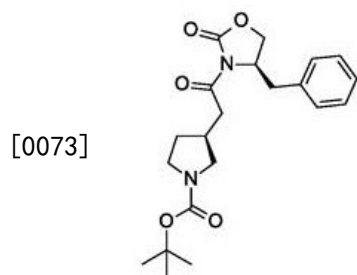
[0069] 将三乙胺(56.5 g, 77.9 mL, 559 mmol, 2.5 equiv)添加到保持在 $10^{\circ}\text{C}$ 下的2-[(3R)-1-叔丁氧基羰基吡咯烷-3-基]乙酸(53.8 g, 235 mmol, 1.05 equiv)在THF(540 mL)中的溶液中。在5分钟后,加入特戊酰氯(33.7 g, 34.2 mL, 279 mmol, 1.25 equiv)。在15分钟后,加入在THF(540 mL)中的氯化锂(11.8 g, 279 mmol, 1.25 equiv)和(4S)-4-苄基噁唑烷-2-酮(40.0 g, 223 mmol, 1 equiv)。允许混合物升温到RT并搅拌24 h。在24 h后,加入1N HCl水溶液(500 mL)并将有机相与水相分离。用1N NaOH水溶液(500 mL)和饱和NaCl水溶液(500 mL)洗涤有机相,经 $\text{MgSO}_4$ 干燥,过滤并在真空中浓缩溶液。将残留物悬浮在MeOH/水的混合物(1:2, 575 mL)中并在RT下搅拌整夜。滤出固体,用己烷洗涤( $2 \times$

150 mL) 并将固体干燥以产生标题化合物 (65.7 g, 76%)。

[0070] ES/MS (m/z): 333 (M+H-叔丁基), <sup>1</sup>H NMR (400.13 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.38-7.28 (m, 3H), 7.25-7.20 (m, 2H), 4.73-4.70 (m, 1H), 4.27-4.19 (m, 2H), 3.75-3.66 (m, 1H), 3.55-3.48 (m, 1H), 3.38-3.30 (m, 2H), 3.11-2.96 (m, 3H), 2.84-2.76 (m, 1H), 2.74-2.65 (m, 1H), 2.14-2.11 (m, 1H), 1.64-1.58 (m, 1H), 1.49 (s, 9H).

[0071] 制备2

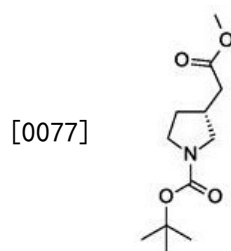
[0072] (3S)-3-[2-[(4R)-4-苄基-2-氧代-噁唑烷-3-基]-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯



[0074] 使用2-[(3S)-1-叔丁氧基羰基吡咯烷-3-基]乙酸和(4R)-4-苄基噁唑烷-2-酮基本如制备1中所述制备标题化合物。通过使用10至50% EtOAc/己烷梯度的硅胶色谱法提纯产物。ES/MS (m/z): 333 (M+H-叔丁基)。

[0075] 制备3

[0076] (3R)-3-(2-甲氧基-2-氧代-乙基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯

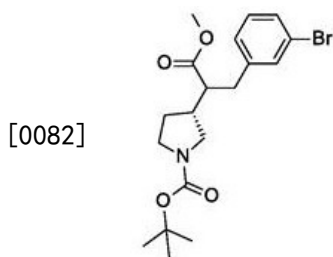


[0078] 在RT下将碘甲烷 (2 mol/L在MTBE中, 240 mL, 480 mmol, 1.1 equiv) 添加到2-[(3R)-1-叔丁氧基羰基吡咯烷-3-基]乙酸 (100g, 436 mmol) 在DMF (800 mL) 中的溶液中。加入碳酸钾 (90.4 g, 654 mmol, 1.5 equiv) 并将所得混合物搅拌4 h。加入水 (1.5 L) 并用MTBE (3 L) 萃取。用冰/水 (3 × 500 mL) 洗涤有机相, 经MgSO<sub>4</sub>干燥有机相, 过滤并在减压下浓缩溶液以产生标题化合物 (103 g, 97%)。

[0079] <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 3.68 (s, 3H), 3.65-3.53 (m, 1H), 3.52-3.36 (m, 1H), 3.35-3.23 (m, 1H), 3.03-2.84 (m, 1H), 2.64-2.49 (m, 1H), 2.45-2.30 (m, 2H), 2.13-1.97 (m, 1H), 1.65-1.48 (m, 1H), 1.45 (s, 9H).

[0080] 制备4

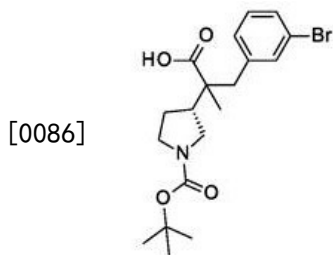
[0081] (3R)-3-[1-[(3-溴苯基)甲基]-2-甲氧基-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯



[0083] 在-78℃下向(3R)-3-(2-甲氧基-2-氧代-乙基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(7 g, 28 mmol)在THF(93 mL)中的溶液中加入双(三甲基甲硅烷基)氨基锂(在THF中的1 M溶液, 33.5 mL, 33.5 mmol, 1.2 equiv)。在-78℃下搅拌混合物1 h。加入3-溴苄基溴(8.37 g, 33.5 mmol, 1.2 equiv)在THF(5 mL)中的溶液。使混合物升温到RT并搅拌整夜。混合物用饱和NH<sub>4</sub>Cl水溶液淬灭并用EtOAc萃取。用饱和NaCl水溶液洗涤有机物,经MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤并蒸发至干。通过使用10至40% EtOAc/己烷梯度的硅胶色谱法提纯残留物以产生为黄色油的标题化合物的非对映体混合物(8.4 g, 73%)。ES/MS (m/z): 356, 358 (M+H-叔丁基)。

[0084] 制备5

[0085] 3-(3-溴苯基)-2-[(3R)-1-叔丁氧基羰基吡咯烷-3-基]-2-甲基-丙酸

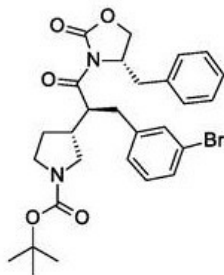


[0087] 在氮气下和在-78℃下向(3R)-3-[1-[(3-溴苯基)甲基]-2-甲氧基-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(8.4 g, 20 mmol)在THF(100 mL)中的溶液中加入双(三甲基甲硅烷基)氨基锂(在THF中的1M溶液, 41 mL, 41 mmol, 2 equiv)。在-78℃下搅拌反应2 h。加入碘甲烷(25 mL, 410 mmol, 20 equiv)并使混合物升温到RT。搅拌混合物整夜。加入饱和NH<sub>4</sub>Cl水溶液并用EtOAc萃取。用饱和NaCl水溶液洗涤有机层并经MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤并在真空中除去溶剂。将残留物溶解在MeOH(80 mL)和THF(80 mL)中,然后加入氢氧化钠(在水中的5M溶液, 81 mL, 410 mmol, 20 equiv)并将所得混合物在60℃下加热3天。使混合物冷却到RT,加入HCl(1 N水溶液)以将混合物pH调节到2-3。用EtOAc萃取水层。经MgSO<sub>4</sub>干燥有机层,过滤并在真空中浓缩。对残留物施以在下列参数下的手性SFC:柱 - Chiralpak<sup>®</sup> AD (25 × 3 cm, 5 μm);流动相-溶剂A = CO<sub>2</sub>,溶剂B = MeOH +0.2% v/v DMEA;梯度 - 等度 80:20 A:B;流速 - 120 mL/min)。获得为白色固体的标题化合物的异构体1(1.7 g, 27%)和异构体2(3.4 g, 41%)。ES/MS (m/z): 356 / 358 (M+H-叔丁基)。

[0088] 制备6

[0089] (3R)-3-[(1S)-2-[(4S)-4-苄基-2-氧代-噁唑烷-3-基]-1-[(3-溴苯基)甲基]-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯

[0090]

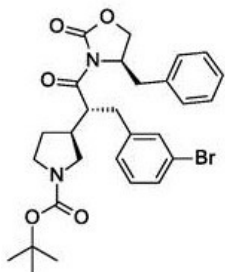


[0091] 在三颈3升圆底烧瓶中在冰浴中在氮气下在机械搅拌下将双(三甲基甲硅烷基)氨基锂的溶液(1M在THF中, 818 mL, 818 mmol, 1.2 equiv)经29分钟添加到(3R)-3-[2-[(4S)-4-苄基-2-氧代-噁唑烷-3-基]-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(265 g, 682 mmol)在THF(1325 mL)中的0°C溶液中。在0.6°C下搅拌混合物47 min。然后经28 min加入1-溴-3-(溴甲基)苯(190 g, 760 mmol, 1.12 equiv)在THF(450 mL)中的溶液,将反应温度升高到5.1°C。在整夜搅拌下使混合物升温到RT。使用冰/水浴冷却反应混合物,然后以使反应温度保持低于21°C的速率分4份加入NH<sub>4</sub>Cl饱和水溶液(1 L)。将水(1 L)添加到混合物中并用MTBE(3.5 L)萃取。用水(1 L)和饱和NaCl水溶液(500 mL)的混合物、然后用饱和NaCl水溶液(500 mL)洗涤有机层。有机物经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤,然后在真空中浓缩。向残留物中加入己烷(1 L)并在真空中浓缩,然后在高真空下干燥整夜以获得为橙色油的标题化合物(416 g, >100%),基于理论收率,纯度估计为90 wt%。ES/MS (m/z): 501/503 (M+H-叔丁基)。

[0092] 制备7

[0093] (3S)-3-[(1R)-2-[(4R)-4-苄基-2-氧代-噁唑烷-3-基]-1-[(3-溴苯基)甲基]-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯

[0094]

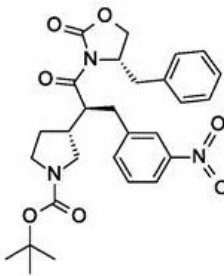


[0095] 使用(3S)-3-[2-[(4R)-4-苄基-2-氧代-噁唑烷-3-基]-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯基本如制备6所述制备标题化合物。ES/MS (m/z): 501, 503 (M+H-叔丁基)。

[0096] 制备8

[0097] (3R)-3-[(1S)-2-[(4S)-4-苄基-2-氧代-噁唑烷-3-基]-1-[(3-硝基苯基)甲基]-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯

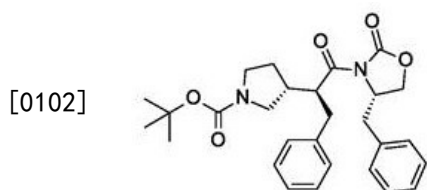
[0098]



[0099] 在-20℃下将双(三甲基甲硅烷基)氨基锂(1.0 M在THF中, 46 mL, 46 mmol, 1.2 equiv)添加到(3R)-3-[2-[(4S)-4-苄基-2-氧代-噁唑烷-3-基]-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(15 g, 39 mmol, 1 equiv)在THF(75mL)中的溶液中。在-20℃下搅拌混合物20 min。加入1-(溴甲基)-3-硝基苯(9.17 g, 42.5 mmol, 1.1 equiv)在THF(45 mL)中的溶液。搅拌溶液2 h并使其升温到RT。用MTBE稀释混合物并用NH<sub>4</sub>Cl饱和水溶液淬灭。分离各相并用MTBE萃取水相。合并有机萃取物并用水和饱和NaCl水溶液相继洗涤有机物。经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并在真空中浓缩滤液。用MeOH/H<sub>2</sub>O的混合物(2:1, 150 mL)研制残留物。搅拌浆料整夜。过滤以收集固体并用己烷洗涤。在真空中在40℃下干燥固体以产生标题化合物(19 g, 88%)。ES/MS (m/z): 468 (M+H-叔丁基)。

[0100] 制备9

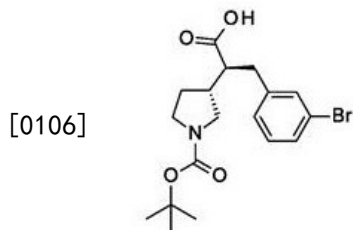
[0101] (3R)-3-[(1S)-1-苄基-2-[(4S)-4-苄基-2-氧代-噁唑烷-3-基]-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯



[0103] 使用苄基溴基本如制备6中所述以76%纯度制备标题化合物。ES/MS (m/z): 423 (M+H-叔丁基)。

[0104] 制备10

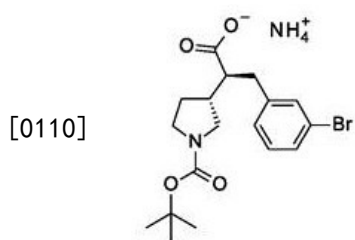
[0105] (2S)-3-(3-溴苯基)-2-[(3R)-1-叔丁氧基羰基吡咯烷-3-基]丙酸



[0107] 将过氧化氢的溶液(0.88 M在水中, 105 mL, 926 mmol, 1.5 equiv)一次性添加到(3R)-3-[(1S)-2-[(4S)-4-苄基-2-氧代-噁唑烷-3-基]-1-[(3-溴苯基)甲基]-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(90 wt%纯, 381 g, 615 mmol)在THF(4 L)中的机械搅拌混合物中并在三颈12升圆底烧瓶中用冰/水浴冷却到8.6℃。经25分钟加入一水合氢氧化锂(38.7 g, 923 mmol, 1.5 equiv)在水(930 mL)中的溶液,将反应温度升高到12.8℃。将反应搅拌2.5 h,然后冷却到5.7℃。经40分钟加入亚硫酸氢钠(129.4 g, 1244 mmol, 2.02 equiv)在水(2 L)中的溶液,将反应温度升高到14.7℃。加入NaOH的水溶液(5N)以反应混合物的pH提高到>12,然后加入水(1 L)和MTBE(4 L)。分离各层并用MTBE(2 L)萃取水层。合并有机物,用水(1 L)萃取,然后将这种水性萃取物添加到本体(bulk)水溶液中。与MTBE(3 L)一起搅拌水溶液并将混合物冷却到5℃。加入盐酸的水溶液(5N)以使混合物的pH达到3。分离各层并用饱和NaCl水溶液(1 L)和水(500 mL)的混合物洗涤有机层。有机物经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并在真空中在40℃下浓缩。在高真空下干燥残留物以获得为白色固体的标题化合物(221.5 g, 90%)。ES/MS (m/z): 342/344 (M+H-叔丁基)。

[0108] 制备11

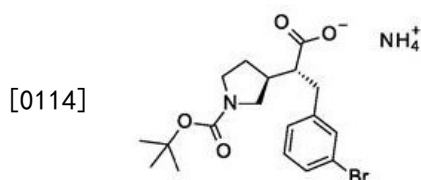
[0109] (2S)-3-(3-溴苯基)-2-[(3R)-1-叔丁氧基羰基吡咯烷-3-基]丙酸铵



[0111] 混合(2S)-3-(3-溴苯基)-2-[(3R)-1-叔丁氧基羰基吡咯烷-3-基]丙酸(237.6 g, 596.5 mmol)和MTBE(3801 mL)以产生含固体的浑浊混合物。经2张玻璃纤维滤纸过滤混合物,并在氮气下在机械搅拌下将在MeOH中的氨(7 M)(128 mL, 896 mmol, 1.5 equiv)添加到滤液中。白色固体沉淀且混合物变得非常浓稠。将MTBE(800 mL)添加到混合物中以产生自由流动的浆料。将混合物在RT下搅拌1.5 h,然后在冰/丙酮浴中冷却到-5至0°C并搅拌1.5 h。通过经丙烯垫和3 L玻璃烧结漏斗真空过滤而过滤固体并用MTBE(1 L)冲洗固体,然后继续在氮气层下在RT下施加真空整夜。将固体与另外2批由(2S)-3-(3-溴苯基)-2-[(3R)-1-叔丁氧基羰基吡咯烷-3-基]丙酸(47.3 g, 113 mmol和53.0 g, 120 mmol)起始以类似方式制备的物质合并。将固体悬浮在乙腈(4300 mL)中并将混合物在氮气下在机械搅拌下在23°C下搅拌整夜。通过真空过滤法过滤固体并用乙腈(500 mL)和MTBE(1 L)洗涤,然后在氮气层下在RT下继续施加真空4 h以获得为白色粉末的标题化合物(249.5 g, 77%)。ES/MS (m/z): 342/344 (M+H-叔丁基)。

[0112] 制备12

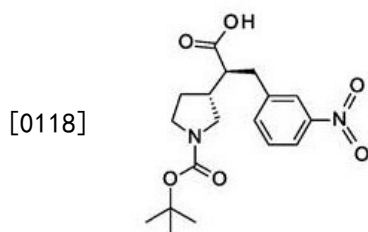
[0113] (2R)-3-(3-溴苯基)-2-[(3S)-1-叔丁氧基羰基吡咯烷-3-基]丙酸铵



[0115] 使用(3S)-3-[(1R)-2-[(4R)-4-苄基-2-氧代-噁唑烷-3-基]-1-[(3-溴苯基)甲基]-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯基本如制备10中所述制备标题化合物,然后如制备11中所述形成铵盐。ES/MS (m/z): 342, 344 (M+H-叔丁基)。

[0116] 制备13

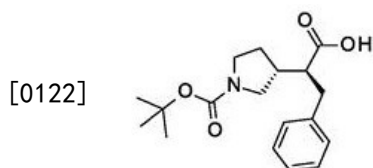
[0117] (2S)-2-[(3R)-1-叔丁氧基羰基吡咯烷-3-基]-3-(3-硝基苯基)丙酸



[0119] 使用(3R)-3-[(1S)-2-[(4S)-4-苄基-2-氧代-噁唑烷-3-基]-1-[(3-硝基苯基)甲基]-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯基本如制备10中所述制备标题化合物,省略在反应后处理中加入亚硫酸氢钠水溶液的步骤。ES/MS (m/z): 309 (M+H-叔丁基)。

[0120] 制备14

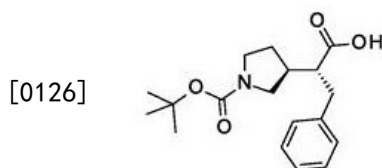
[0121] (2S)-2-[(3R)-1-叔丁氧基羰基吡咯烷-3-基]-3-苯基-丙酸



[0123] 使用(3R)-3-[(1S)-1-苄基-2-[(4S)-4-苄基-2-氧代-噁唑烷-3-基]-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯基本如制备10中所述制备标题化合物。通过用1:1 MeOH:水研制而提纯产物。ES/MS (m/z): 264 (M+H-叔丁基)。

[0124] 制备15

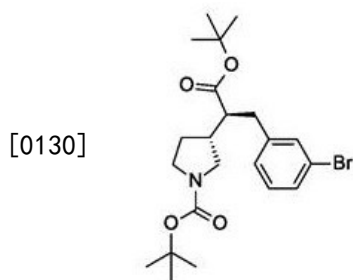
[0125] (2R)-2-[(3S)-1-叔丁氧基羰基吡咯烷-3-基]-3-苯基-丙酸



[0127] 将(2R)-3-(3-溴苯基)-2-[(3S)-1-叔丁氧基羰基吡咯烷-3-基]丙酸铵(830 mg, 2.08 mmol)溶解在EtOH(20 mL)中并加入碳载钯(10% w/w, 222 mg, 0.208 mmol, 0.1 equiv)。在氢气球下在RT下搅拌混合物整夜。经硅藻土垫过滤反应混合物。浓缩滤液并通过使用添加了1%乙酸的10至40% EtOAc/己烷梯度的硅胶色谱法提纯残留物以产生为白色固体的标题化合物(560 mg, 84%)。ES/MS (m/z): 264 (M+H-叔丁基)。

[0128] 制备16

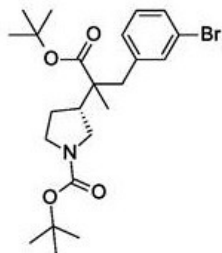
[0129] (3R)-3-[(1S)-1-[(3-溴苯基)甲基]-2-叔丁氧基-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯



[0131] 向反应器中加入(2S)-3-(3-溴苯基)-2-[(3R)-1-叔丁氧基羰基吡咯烷-3-基]丙酸铵(500 g, 1210 mmol)、2-甲基四氢呋喃(4000 mL),然后加入KHSO<sub>4</sub>溶液(1M在水中, 3000 mL)。将混合物搅拌30 min,在此期间测得pH为2-3。分离反应混合物的各相并用2-甲基四氢呋喃(1000 mL)萃取水层。合并有机相并将其用饱和NaCl水溶液洗涤。经MgSO<sub>4</sub>干燥有机相并将其过滤。将溶液转移到反应器中并加入2-叔丁基-1,3-二异丙基异脲(618.2 g, 3024 mmol, 2.5 equiv)。将混合物在65℃下搅拌3小时并加入更多2-叔丁基-1,3-二异丙基异脲(247.3 g, 1210 mmol, 1 equiv)。将混合物在65℃下搅拌整夜。将混合物冷却到RT。滤出固体并用饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液(1000 mL)洗涤有机层。经MgSO<sub>4</sub>干燥有机层,过滤并在真空中浓缩。将MTBE(2000 mL)添加到残留物中并滤出固体。浓缩滤液以获得为白色固体的标题化合物(483 g, 88%)。ES/MS (m/z): 342/344 (M+H- 2x叔丁基)。

[0132] 制备17

[0133] (3R)-3-[1-[(3-溴苯基)甲基]-2-叔丁氧基-1-甲基-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯

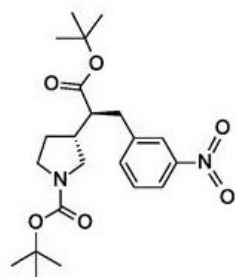


[0134]

[0135] 向3-(3-溴苯基)-2-[(3R)-1-叔丁氧基羰基吡咯烷-3-基]-2-甲基-丙酸,异构体2 (3.4 g, 8.2 mmol) 在2-甲基四氢呋喃 (33 mL) 中的溶液中加入2-叔丁基-1,3-二异丙基异脲 (5.1 g, 5.7 mL, 25 mmol, 3 equiv) 并将混合物在55°C下加热3.5 h。追加2-叔丁基-1,3-二异丙基异脲 (5.1 g, 5.7 mL, 25 mmol, 3 equiv) 并在55°C下继续加热反应1.5 h。追加2-叔丁基-1,3-二异丙基异脲 (2.5 g, 2.9 mL, 12 mmol, 1.5 equiv) 并在55°C下继续加热反应整夜。滤出白色固体并用MTBE洗涤,然后蒸发滤液至干。通过使用0至100% EtOAc/己烷梯度的硅胶色谱法提纯残留物以产生为黄色油的标题化合物 (3.6 g, 93%)。ES/MS (m/z): 356, 358 [M+H- (2×叔丁基)]。

[0136] 制备18

[0137] (3R)-3-[(1S)-2-叔丁氧基-1-[(3-硝基苯基)甲基]-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯



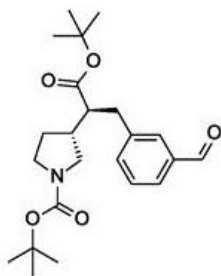
[0138]

[0139] 使用(2S)-2-[(3R)-1-叔丁氧基羰基吡咯烷-3-基]-3-(3-硝基苯基)丙酸和在作为反应溶剂的甲苯中在80°C下运行反应,基本如制备17中所述制备标题化合物。通过使用5至20% EtOAc/己烷梯度的硅胶色谱法提纯粗产物。ES/MS (m/z): 309 [M+H- (2×叔丁基)]。

[0140] 制备19

[0141] (3R)-3-[(1S)-2-叔丁氧基-1-[(3-甲酰基苯基)甲基]-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯

[0142]

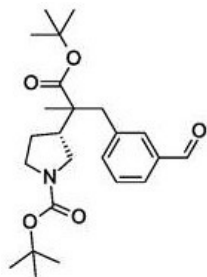


[0143] 向parr反应器中加入(3R)-3-[(1S)-1-[(3-溴苯基)甲基]-2-叔丁氧基-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(300 g, 660 mmol)在甲苯(3000 mL)中的溶液,接着加入乙酸钡(II)(7.41 g, 33.0 mmol, 0.05 equiv)、丁基二-1-金刚烷基膦(24.92 g, 66.02 mmol, 0.1 equiv)和N,N,N',N'-四甲基乙二胺(115g, 149 mL, 990 mmol, 1.5 equiv)。用70 psi合成气(CO/H<sub>2</sub> 1:1)将混合物加压并在100°C下搅拌整夜。将混合物冷却到RT并蒸发溶剂至干。将残留物溶解在EtOAc中并经硅胶过滤以获得为橙色油的标题化合物(273 g, 97%)。ES/MS (m/z): 426 (M+Na)。

[0144] 制备20

[0145] (3R)-3-[2-叔丁氧基-1-[(3-甲酰基苯基)甲基]-1-甲基-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯

[0146]

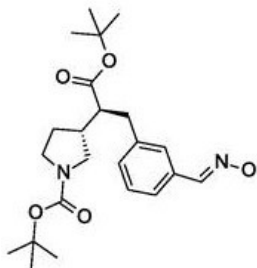


[0147] 使用(3R)-3-[1-[(3-溴苯基)甲基]-2-叔丁氧基-1-甲基-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯基本如制备19中所述制备标题化合物。通过使用10至30%丙酮/己烷梯度的硅胶色谱法提纯粗产物。ES/MS (m/z): 262 (M+H-叔丁基-BOC)。

[0148] 制备21

[0149] (3R)-3-[(1S)-2-叔丁氧基-1-[[3-[羟基亚氨基甲基]苯基]甲基]-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯

[0150]

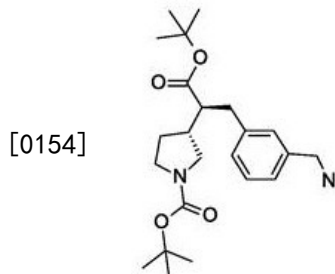


[0151] 混合(3R)-3-[(1S)-2-叔丁氧基-1-[(3-甲酰基苯基)甲基]-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(50 g, 105 mmol, 纯度85%)、EtOH (400 mL)、吡啶(17.0 mL, 211 mmol, 2 equiv)和羟胺盐酸盐(10.98 g, 158.0 mmol, 1.5 equiv)。在RT下搅拌混合物2 h。蒸发溶剂,加入KHSO<sub>4</sub>(在水中的1 M溶液, 300 mL)和MTBE(500 mL)。分离有机层,用饱和

NaHCO<sub>3</sub>水溶液洗涤有机层,过滤并经MgSO<sub>4</sub>干燥。经Celite<sup>®</sup>过滤并浓缩至干以获得为黄色油的标题化合物(49g, 98%收率, 纯度88% w/w)。ES/MS (m/z): 319 (M+H-Boc)。

[0152] 制备22

[0153] (3R)-3-[(1S)-1-[[3-(氨基甲基)苯基]甲基]-2-叔丁氧基-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯

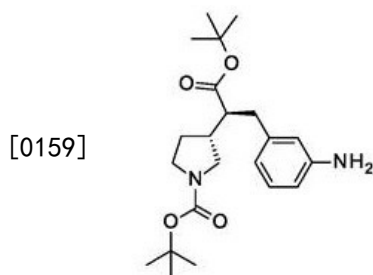


[0155] 制备具有含海绵镍催化剂(2 g)和玻璃珠(6 g, 212至300微米)的不锈钢填充床反应器柱(1.2 cm内径 × 10 cm长)的FlowCAT高压流动化学反应器(H.E.L Ltd)。该反应器配备气体和液体流速控制器和包围该柱的加热夹套。通过在下列参数下用MeOH和氢气吹扫而平衡该柱:液体流速 - 4 mL/min;H<sub>2</sub>流速 - 60 mL/min;压力 - 50巴;反应器柱夹套温度 - 120°C(内部反应温度保持在50°C)。

[0156] 将(3R)-3-[(1S)-2-叔丁氧基-1-[[3-[羟基氨基甲基]苯基]甲基]-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(49 g, 103 mmol, 纯度88% w/w)溶解在氨(在MeOH中的7 M溶液, 606 mL)中并使用柱平衡参数将其与氢气一起吹扫过反应器柱,从反应器柱中收集洗脱液。再用氨(在MeOH中的7 M溶液)吹扫该柱20 min,收集反应器柱洗脱液。合并反应器柱洗脱液级分并在真空中浓缩混合物以获得为油的标题化合物(46.9 g, 88%收率, 纯度78% w/w)。ES/MS (m/z): 405 (M+H)。

[0157] 制备23

[0158] (3R)-3-[(1S)-1-[(3-氨基苯基)甲基]-2-叔丁氧基-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯



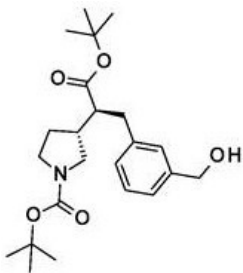
[0160] 在氮气气氛下将碳载钯(10% w/w, 380 mg, 0.36 mmol, 0.05 equiv)添加到(3R)-3-[(1S)-2-叔丁氧基-1-[(3-硝基苯基)甲基]-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(3 g, 7.1 mmol)在EtOAc(71 mL)中的搅拌溶液中。用氢气吹扫混合物并在氢气球下在RT下搅拌整夜。经硅藻土垫过滤反应混合物。在真空中浓缩滤液以产生为白色固体的标题化合物(2.62 g, 94%)。ES/MS (m/z): 291 (M+H-BOC)。

[0161] 制备24

[0162] (3R)-3-[(1S)-2-叔丁氧基-1-[[3-(羟甲基)苯基]甲基]-2-氧代-乙基]吡咯烷-

## 1-甲酸叔丁酯

[0163]

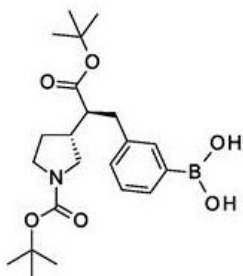


[0164] 在0℃下将硼氢化钠(0.208 g, 5.50 mmol, 1.2 equiv)添加到(3R)-3-[(1S)-2-叔丁氧基-1-[(3-甲酰基苯基)甲基]-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(1.85 g, 4.58 mmol)在MeOH(25 mL)中的溶液中。在10分钟后,蒸发溶剂。加入饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液并用EtOAc萃取水层。用水和饱和NaCl水溶液洗涤有机物。有机物经MgSO<sub>4</sub>干燥并在真空中浓缩以产生为无色油的标题化合物(2.94 g, 97.5%)。ES/MS (m/z): 428 (M+Na)。

[0165] 制备25

[0166] [3-[(2S)-3-叔丁氧基-2-[(3R)-1-叔丁氧基羰基吡咯烷-3-基]-3-氧代-丙基]苯基]硼酸

[0167]

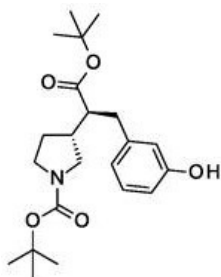


[0168] 混合(3R)-3-[(1S)-1-[(3-溴苯基)甲基]-2-叔丁氧基-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(16.4 g, 36.1 mmol)、四羟基二硼(5.00 g, 54.1 mmol, 1.5 equiv)、氯(2-二环己基膦基-2',4',6'-三异丙基-1,1'-联苯)[2-(2'-氨基-1,1'-联苯基)]钯(II)(XPhos Pd G2, 0.145 g, 0.180 mmol, 0.005 equiv)、2-二环己基膦基-2',4',6'-三异丙基联苯(XPhos, 0.176 g, 0.361 mmol, 0.01 equiv)、乙酸钾(10.6 g, 108 mmol, 3 equiv)、EtOH(246 mL)和乙二醇(6.10 mL, 108 mmol, 3 equiv)。用氮气吹扫5分钟。将混合物在90℃下搅拌整夜。将反应冷却到RT,加入2-甲基四氢呋喃(158 mL)并过滤。浓缩且残留物未经进一步提纯地用于制备26。ES/MS (m/z): 308 (M+H-2x叔丁基)。

[0169] 制备26

[0170] (3R)-3-[(1S)-2-叔丁氧基-1-[(3-羟苯基)甲基]-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯

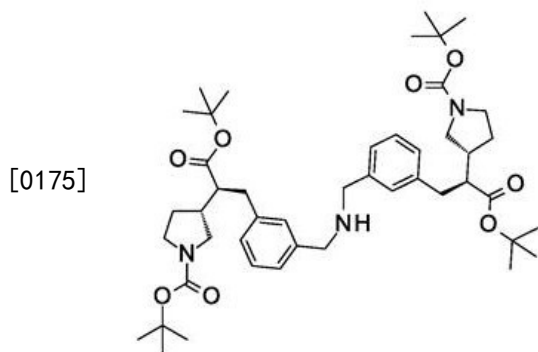
[0171]



[0172] 向[3-[(2S)-3-叔丁氧基-2-[(3R)-1-叔丁氧基羰基吡咯烷-3-基]-3-氧代-丙基]苯基]硼酸(3.8 g, 8.4 mmol)在THF(42 mL)中的溶液中加入过氧化氢溶液(30%在水中, 9.1 mL, 84 mmol, 10 equiv)。将反应在RT下搅拌整夜。通过加入亚硫酸氢钠溶液(20% w/v在水中, 120 mL),缓慢淬灭反应。混合物用EtOAc萃取两次并用饱和NaCl水溶液洗涤合并的有机物。有机物经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并在真空中浓缩。通过使用10至40%丙酮/己烷梯度的硅胶色谱法提纯残留物以产生为米色固体的标题化合物(3.05 g, 90%)。ES/MS (m/z): 280 (M+H-2x叔丁基)。

[0173] 制备27

[0174] (3R)-3-[(1S)-2-叔丁氧基-1-[[3-[[[3-[(2S)-3-叔丁氧基-2-[(3R)-1-叔丁氧基羰基吡咯烷-3-基]-3-氧代-丙基]苯基]甲基]氨基]甲基]苯基]甲基]-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯



[0176] 将(3R)-3-[(1S)-2-叔丁氧基-1-[(3-甲酰基苯基)甲基]-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(48g, 100 mmol, 纯度85% w/w, 1.1 equiv.)、异丙醇(328 mL)和(3R)-3-[(1S)-1-[[3-(氨基甲基)苯基]甲基]-2-叔丁氧基-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(46.9 g, 93 mmol, 纯度78%, 1 equiv)添加到圆底烧瓶中。在RT下搅拌混合物1 h。将混合物在0°C冷却,加入三乙酰氧基硼氢化钠(59 g, 280 mmol, 3 equiv)并在RT下搅拌混合物2天。在减压下除去溶剂。加入水(200 mL)、饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液(300 mL)和EtOAc(500 mL)。分离有机层并通过使用50至100% EtOAc/己烷梯度的硅胶色谱法提纯以获得为无色油的标题化合物(36 g, 42%收率, 纯度85% w/w)。ES/MS (m/z): 792 (M+H)。

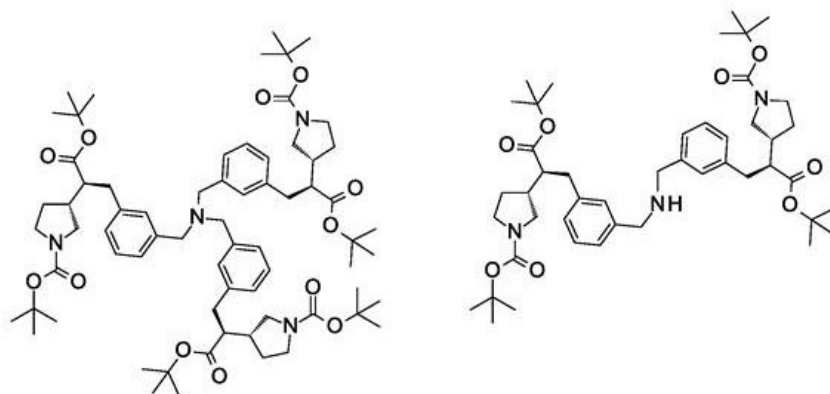
[0177] 制备28

[0178] (3R)-3-[(1S)-1-[[3-[[双[[3-[(2S)-3-叔丁氧基-2-[(3R)-1-叔丁氧基羰基吡咯烷-3-基]-3-氧代-丙基]苯基]甲基]氨基]甲基]苯基]甲基]-2-叔丁氧基-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯

[0179] &

[0180] (3R)-3-[(1S)-2-叔丁氧基-1-[[3-[[[3-[(2S)-3-叔丁氧基-2-[(3R)-1-叔丁氧基羰基吡咯烷-3-基]-3-氧代-丙基]苯基]甲基]氨基]甲基]苯基]甲基]-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯

[0181]



[0182] 方法1 用于制备为混合物的标题化合物,然后通过色谱法分离

[0183] 向圆底烧瓶中加入 (3R)-3-[(1S)-2-叔丁氧基-1-[(3-甲酰基苯基)甲基]-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯 (222 g, 550 mmol)、2-丙醇 (888 mL) 和氨溶液 (2 M 在 2-丙醇中, 302.6 mL, 605.2 mmol, 1.1 equiv)。用冰-水浴将混合物冷却到 0 至 5°C。分四份加入三乙酰氧基硼氢化钠 (116.6 g, 550.2 mmol, 1 equiv), 在每份的添加之间有 40 分钟。将混合物在 RT 下搅拌整夜。蒸发溶剂至干。向残留物中加入水 (200 mL)、K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 水溶液 (300 mL) 并用 MTBE (2 × 500 mL) 萃取水层。经 MgSO<sub>4</sub> 干燥有机层, 过滤并浓缩至干。通过使用 20 至 80% EtOAc/己烷梯度的硅胶色谱法提纯残留物以获得为白色固体的 (3R)-3-[(1S)-1-[[3-[[双[[3-[(2S)-3-叔丁氧基-2-[(3R)-1-叔丁氧基羰基吡咯烷-3-基]-3-氧代-丙基]苯基]氨基]甲基]苯基]甲基]-2-叔丁氧基-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯 (57.8 g, 27%)。

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz,

[0184]

CDCl<sub>3</sub>) δ 7.30-7.24 (m, 6H), 7.12 (s, 3H), 7.04 (s, 3H), 3.75-3.43 (m, 12H), 3.30-3.21 (m, 3H), 3.10-2.96 (m, 3H), 2.89-2.76 (m, 6H), 2.49 (d, J= 4.7 Hz, 3H), 2.37 (dd, J= 7.2, 14.4 Hz, 3H), 1.98-1.90 (m, 3H), 1.74-1.61 (m, 3H), 1.48 (s, 27H), 1.22 (s, 27H)。

[0185] 由上述硅胶色谱法也获得为无色油的 (3R)-3-[(1S)-2-叔丁氧基-1-[[3-[[[[3-[(2S)-3-叔丁氧基-2-[(3R)-1-叔丁氧基羰基吡咯烷-3-基]-3-氧代-丙基]苯基]氨基]甲基]苯基]甲基]-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯 (82.50 g, 34%)。ES/MS (m/z): 792 (M+H), HPLC 显示 90 wt% 纯度。

[0186] 方法2 用于制备 (3R)-3-[(1S)-1-[[3-[[双[[3-[(2S)-3-叔丁氧基-2-[(3R)-1-叔丁氧基羰基吡咯烷-3-基]-3-氧代-丙基]苯基]氨基]甲基]苯基]甲基]-2-叔丁氧基-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯

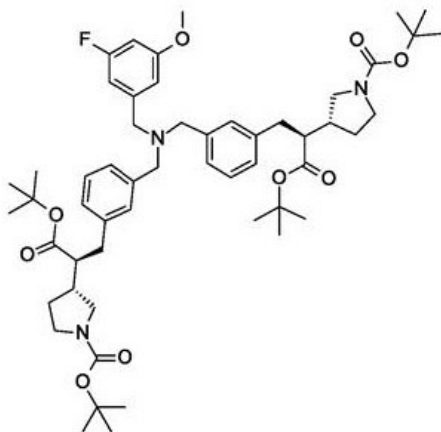
[0187] 向圆底烧瓶中加入 (3R)-3-[(1S)-2-叔丁氧基-1-[[3-[[[[3-[(2S)-3-叔丁氧基-2-[(3R)-1-叔丁氧基羰基吡咯烷-3-基]-3-氧代-丙基]苯基]氨基]甲基]苯基]甲基]-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯 (90 wt% 纯, 81.5 g, 92.6 mmol)、(3R)-3-[(1S)-2-叔丁氧基-1-[(3-甲酰基苯基)甲基]-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯 (85 wt% 纯, 50.6 g, 106 mmol, 1.15 equiv)、2-丙醇 (652 mL) 和乙酸 (5.31 mL, 92.6 mmol, 1 equiv) 并将混合物搅拌 30 min。将三乙酰氧基硼氢化钠 (2 equiv, 185 mmol, 39.3 g) 添加到混合物中并在 RT 下搅拌 2 h, 然后在真空中浓缩反应混合物。将水 (200 mL) 和 MTBE (300 mL) 添加到残留物中, 然后加入浓氢氧化铵水溶液以调节到 pH 9-10。分离有机相并经

MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤并浓缩至干。通过使用20至40% EtOAc/己烷梯度的硅胶色谱法提纯残留物以获得为白色固体的(3R)-3-[(1S)-1-[[3-[[双[[3-[(2S)-3-叔丁氧基-2-[(3R)-1-叔丁氧基羰基吡咯烷-3-基]-3-氧代-丙基]苯基]甲基]氨基]甲基]苯基]甲基]-2-叔丁氧基-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(89 g, 82%)。

[0188] 制备29

[0189] (3R)-3-[(1S)-2-叔丁氧基-1-[[3-[[[3-[(2S)-3-叔丁氧基-2-[(3R)-1-叔丁氧基羰基吡咯烷-3-基]-3-氧代-丙基]苯基]甲基]-[(3-氟-5-甲氧基-苯基)甲基]氨基]甲基]苯基]甲基]-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯

[0190]

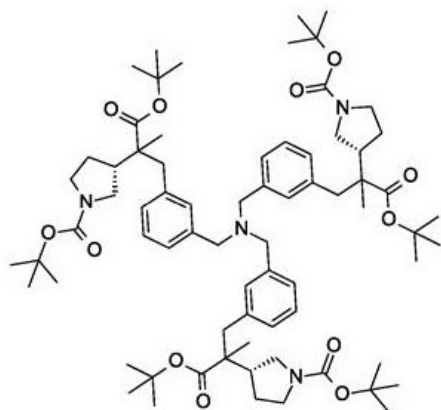


[0191] 混合(3R)-3-[(1S)-2-叔丁氧基-1-[[3-[[[3-[(2S)-3-叔丁氧基-2-[(3R)-1-叔丁氧基羰基吡咯烷-3-基]-3-氧代-丙基]苯基]甲基]氨基]甲基]苯基]甲基]-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(36 g, 39 mmol, 纯度85%)、3-氟-5-甲氧基苯甲醛(6.684 g, 42.49 mmol, 1.1 equiv)、异丙醇(288 mL)和三乙酰氧基硼氢化钠(16.38 g, 77.26 mmol, 2 equiv)并在RT下搅拌混合物2 h。蒸发溶剂。加入饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液(500 mL)并用EtOAc(500 mL)萃取水层。经MgSO<sub>4</sub>干燥有机层,然后过滤并浓缩至干。通过使用10至40% EtOAc/己烷梯度的硅胶色谱法提纯以获得为无色油的标题化合物(32g, 76%收率, 纯度85% w/w)。ES/MS (m/z): 931 (M+H)。

[0192] 制备30

[0193] (3R)-3-[1-[[3-[[双[[3-[[3-叔丁氧基-2-[(3R)-1-叔丁氧基羰基吡咯烷-3-基]-2-甲基-3-氧代-丙基]苯基]甲基]氨基]甲基]苯基]甲基]-2-叔丁氧基-1-甲基-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯

[0194]



[0195] 使用(3R)-3-[2-叔丁氧基-1-[(3-甲酰基苯基)甲基]-1-甲基-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯基本如制备28中所述制备标题化合物。通过使用20至40% EtOAc/己烷梯度的硅胶色谱法提纯粗物质。

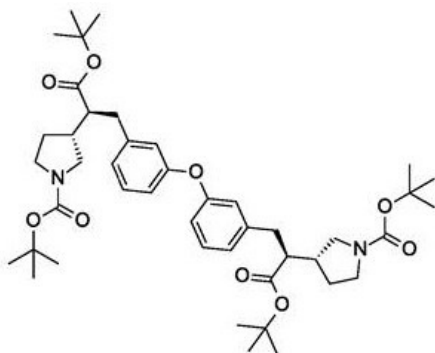
<sup>1</sup>H NMR (400.21 MHz, d<sub>6</sub>-DMSO): δ

[0196] 7.27-7.19 (m, 6H), 7.13 (s, 3H), 7.08-7.00 (m, 3H), 3.57-3.24 (m, 9H, 在溶剂下),  
3.22-2.98 (m, 9H), 2.63-2.38 (m, 9H, 在溶剂下), 1.86-1.68 (m, 6H), 1.40 (s, 27H),  
1.31 (s, 27H), 0.93 (s, 9H).

[0197] 制备31

[0198] (3R)-3-[(1S)-2-叔丁氧基-1-[[3-[3-[(2S)-3-叔丁氧基-2-[(3R)-1-叔丁氧基羰基吡咯烷-3-基]-3-氧代-丙基]苯氧基]苯基]甲基]-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯

[0199]

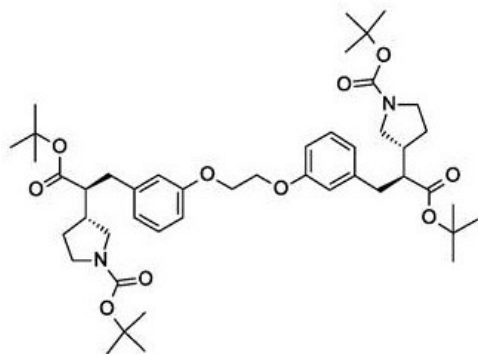


[0200] 在DMF (2.3 mL) 中混合(3R)-3-[(1S)-1-[(3-溴苯基)甲基]-2-叔丁氧基-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(150 mg, 0.330 mmol)、(3R)-3-[(1S)-2-叔丁氧基-1-[(3-羟苯基)甲基]-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(0.155 g, 0.396 mmol, 1.2 equiv)、碘化亚铜(6 mg, 0.03 mmol, 0.1 equiv)、N,N-二甲基甘氨酸盐酸盐(0.0138 g, 0.0990 mmol, 0.3 equiv)和碳酸铯(0.215 g, 0.660 mmol, 2 equiv)。混合物在氮气下在110°C下搅拌整夜。冷却反应,然后经硅藻土垫过滤,用DCM和MeOH洗涤。在真空中浓缩滤液。通过使用下列参数的RP-HPLC/MS提纯所得残留物:柱 - XBridge™ C18 (19 × 100 mm, 5 μm);流动相-溶剂A = 20 mM碳酸氢铵/水(pH 9),溶剂B = 乙腈;梯度 - 0:100至100:0 B:A;流速 - 25 mL/min。获得标题化合物(43 mg, 17%)。ES/MS (m/z): 665 (M+H-BOC)。

[0201] 制备32

[0202] (3R)-3-[(1S)-2-叔丁氧基-1-[[3-[2-[3-[(2S)-3-叔丁氧基-2-[(3R)-1-叔丁氧基羰基吡咯烷-3-基]-3-氧代-丙基]乙氧基]苯基]甲基]-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯

[0203]

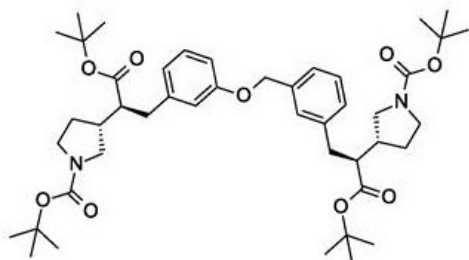


[0204] 将(3R)-3-[(1S)-2-叔丁氧基-1-[(3-羟苯基)甲基]-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(275 mg, 0.70 mmol)溶解在DMF(1.2 mL)中。加入碳酸铯(285 mg, 0.86 mmol)和1,2-二溴乙烷(0.030 mL, 0.34 mmol)并在RT下搅拌3天。在接下来9天,加入另外3份碳酸铯或碳酸钾和1,2-二溴乙烷并逐步提高温度到70°C和110°C。将混合物在RT冷却并加入饱和NH<sub>4</sub>Cl水溶液。用EtOAc萃取水层。用饱和NaCl水溶液和水洗涤有机相。有机相经MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤并在真空中浓缩溶液。通过使用0至30% EtOAc/己烷梯度的硅胶色谱法提纯残留物以产生为无色油的标题化合物(33.4 mg, 11%)。ES/MS (m/z): 709 (M+H-BOC)。

[0205] 制备33

[0206] (3R)-3-[(1S)-2-叔丁氧基-1-[[3-[[3-[(2S)-3-叔丁氧基-2-[(3R)-1-叔丁氧基羰基吡咯烷-3-基]-3-氧代-丙基]苯氧基]甲基]苯基]甲基]-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯

[0207]

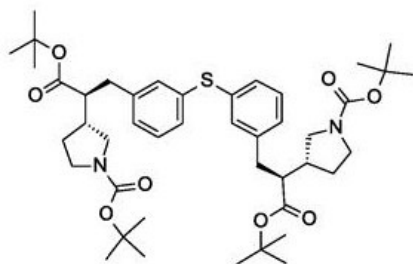


[0208] 将三苯基膦(0.5733 g, 2.164 mmol, 1.5 equiv)添加到(3R)-3-[(1S)-2-叔丁氧基-1-[[3-(羟甲基)苯基]甲基]-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(585 mg, 1.443 mmol)和(3R)-3-[(1S)-2-叔丁氧基-1-[(3-羟苯基)甲基]-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(0.8472 g, 2.164 mmol, 1.5 equiv)在THF(14 mL)中的溶液中。用氮气吹扫,然后逐滴加入偶氮二甲酸二乙酯(0.34 mL, 2.2 mmol, 1.5 equiv)。在RT下搅拌混合物整夜。经硅藻土垫过滤反应,然后用DCM和MeOH洗涤。在真空中浓缩滤液。通过使用下列参数的SFC提纯所得残留物:柱 - Chiracel® OD (5 μm, 2 × 25 cm);流动相-溶剂A = CO<sub>2</sub>,溶剂B = MeOH + DMEA (1.0% v/v);梯度 - 等度80:20 A:B;流速 - 80 mL/min;压力 - 120巴;柱温 - 40°C。获得标题化合物(315 mg, 28%)。ES/MS (m/z): 679 (M+H-BOC)。

[0209] 制备34

[0210] (3R)-3-[(1S)-2-叔丁氧基-1-[[3-[[3-[(2S)-3-叔丁氧基-2-[(3R)-1-叔丁氧基羰基吡咯烷-3-基]-3-氧代-丙基]苯基]硫基苯基]甲基]-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯

[0211]

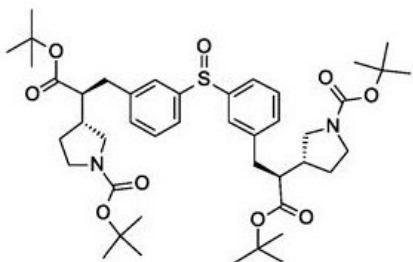


[0212] 将无水甲苯 (0.9 mL) 和丙酮 (1.8 mL) 添加到 (3R)-3-[(1S)-1-[(3-溴苯基)甲基]-2-叔丁氧基-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯 (796 mg, 1.75 mmol)、磷酸三钾 (229 mg, 1.06 mmol)、双(二亚苺基丙酮)钡 (50 mg, 0.09 mmol)、1,1'-双(二苺基磷基)二茂铁 (70 mg, 0.12 mmol) 和硫代乙酸钾 (103 mg, 0.90 mmol) 的混合物中。所得混合物在氮气气氛下超声处理 5 分钟, 然后在 110°C 下搅拌 6 h。加入饱和  $\text{NH}_4\text{Cl}$  水溶液和 EtOAc。用水洗涤有机层。经  $\text{MgSO}_4$  干燥有机相, 过滤并在真空中浓缩。通过使用 0 至 40% EtOAc/己烷梯度的硅胶色谱法提纯残留物以产生为黄色油的标题化合物 (370 mg, 52%)。ES/MS (m/z): 781 (M+H)。

[0213] 制备 35

[0214] (3R)-3-[(1S)-2-叔丁氧基-1-[[3-[3-[(2S)-3-叔丁氧基-2-[(3R)-1-叔丁氧基羰基吡咯烷-3-基]-3-氧代-丙基]苺基]亚硫酰基苺基]甲基]-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯

[0215]

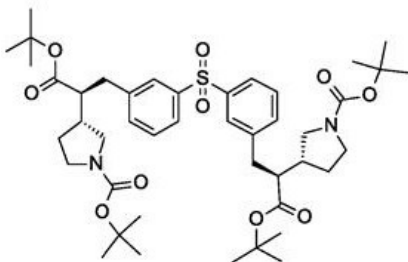


[0216] 将 (3R)-3-[(1S)-2-叔丁氧基-1-[[3-[3-[(2S)-3-叔丁氧基-2-[(3R)-1-叔丁氧基羰基吡咯烷-3-基]-3-氧代-丙基]苺基]硫基苺基]甲基]-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯 (111 mg, 0.14 mmol) 溶解在 DCM (2 mL) 中。加入 3-氯过氧苯甲酸 (34 mg, 0.14 mmol, 1 equiv)。在 RT 下搅拌混合物 3 h。加入饱和  $\text{NaHCO}_3$  水溶液, 接着加入 DCM 并分离各层。用 NaOH 溶液 (3% w/v 在水中) 和用水洗涤有机相。有机相经  $\text{MgSO}_4$  干燥, 然后过滤并在真空中浓缩溶液。通过使用 0 至 60% EtOAc/己烷梯度的硅胶色谱法提纯残留物以产生为无色油的标题化合物 (97.2 mg, 87%)。ES/MS (m/z): 697 (M+H-BOC)。

[0217] 制备 36

[0218] (3R)-3-[(1S)-2-叔丁氧基-1-[[3-[3-[(2S)-3-叔丁氧基-2-[(3R)-1-叔丁氧基羰基吡咯烷-3-基]-3-氧代-丙基]苺基]磺酰基苺基]甲基]-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯

[0219]

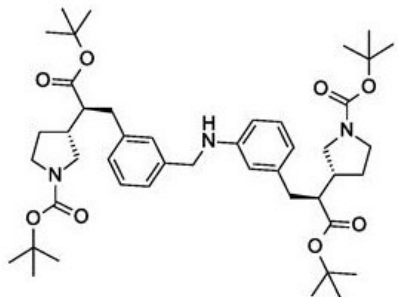


[0220] 以基本类似于制备35的方法的方式但使用2.5当量的3-氯过氧苯甲酸制备该化合物。通过使用20至60% EtOAc/己烷梯度的硅胶色谱法提纯粗产物以产生为白色固体的标题化合物(116.6 mg, 82%)。ES/MS (m/z): 713 (M+H-BOC)。

[0221] 制备37

[0222] (3R)-3-[(1S)-2-叔丁氧基-1-[[3-[[3-[(2S)-3-叔丁氧基-2-[(3R)-1-叔丁氧基羰基吡咯烷-3-基]-3-氧代-丙基]苯胺基]甲基]苯基]甲基]-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯

[0223]

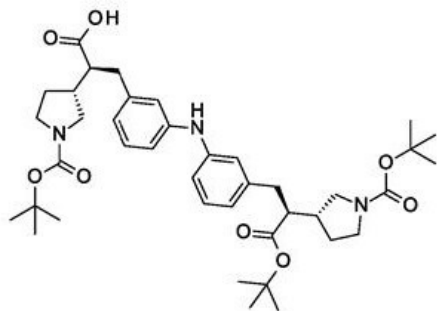


[0224] 将三乙酰氧基硼氢化钠(543 mg, 2.56 mmol, 2 equiv)添加到(3R)-3-[(1S)-1-[(3-氨基苯基)甲基]-2-叔丁氧基-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(500 mg, 1.28 mmol)、(3R)-3-[(1S)-2-叔丁氧基-1-[(3-甲酰基苯基)甲基]-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(620 mg, 1.54 mmol, 1.2 equiv)和乙酸(220 uL, 3.84 mmol, 3 equiv)的溶液中。在RT下搅拌4天。加入饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液并用DCM萃取水层。合并的有机层经MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤并在真空中浓缩溶液。通过使用10至50% EtOAc/己烷梯度的硅胶色谱法提纯残留物以产生标题化合物(850 mg, 72%)。ES/MS (m/z): 778 (M+H)。

[0225] 制备38

[0226] (2S)-3-[3-[3-[(2S)-3-叔丁氧基-2-[(3R)-1-叔丁氧基羰基吡咯烷-3-基]-3-氧代-丙基]苯胺基]苯基]-2-[(3R)-1-叔丁氧基羰基吡咯烷-3-基]丙酸

[0227]

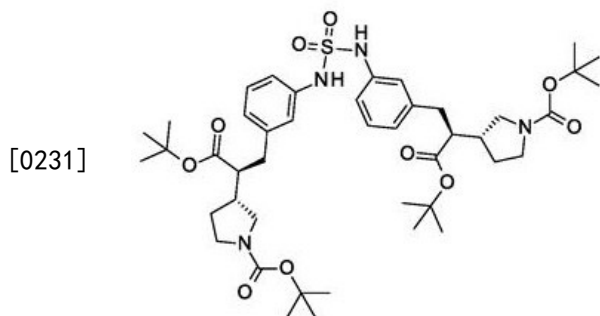


[0228] 混合在1,4-二氧杂环己烷(160 mL)中的(2S)-3-(3-溴苯基)-2-[(3R)-1-叔丁氧基羰基吡咯烷-3-基]丙酸(8 g, 20 mmol)、(3R)-3-[(1S)-1-[(3-氨基苯基)甲基]-2-叔丁

氧基-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(8.628 g, 22.09 mmol, 1.1 equiv)和碳酸钾(4 equiv., 11.22 g, 80.34 mmol)。混合物在氮气下在60℃下加热15 min。加入甲磺酸[(2-二-环己基膦基-3,6-二甲氧基-2',4',6'-三异丙基-1,1'-联苯)-2-(2'-氨基-1,1'-联苯)]钯(II)(BrettPhos Pd G3, 0.371 g, 0.402 mmol, 0.02 equiv)并将反应在搅拌下在100℃下加热整夜。将反应冷却到RT,用EtOAc稀释并通过加入HCl水溶液(1 N)将混合物的pH调节到小于3。用Me-THF萃取水层三次。用饱和NaCl水溶液洗涤合并的有机物。有机物经MgSO<sub>4</sub>干燥并在真空中浓缩溶液。通过使用0至100% EtOAc/己烷梯度的硅胶色谱法提纯残留物以产生标题化合物(9.5 g, 67%)。ES/MS (m/z): 608 (M+H-BOC)。

[0229] 制备39

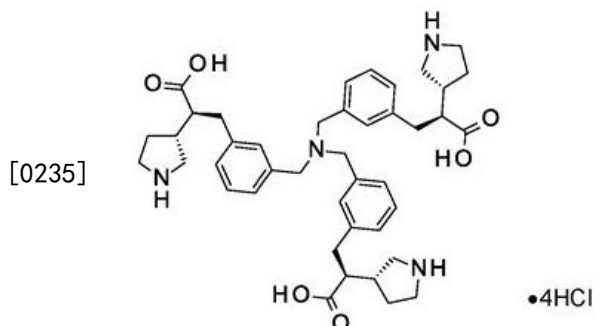
[0230] 3,3'-((2S,2'S)-((磺酰基双(氮烷二基))双(3,1-亚苯基))双(3-(叔丁氧基)-3-氧代丙烷-1,2-二基))(3R,3'R)-双(吡咯烷-1-甲酸二叔丁酯)



[0232] 将1,4-二氮杂双环[2.2.2]辛烷双(二氧化硫)加合物(DABSO, 0.6279 g, 2.561 mmol, 2 equiv)在乙腈(12.8 mL)中的溶液冷却到0℃。加入碘(0.4875 g, 1.921 mmol, 1.5 equiv)。将混合物在0℃下搅拌15 min,然后加入(3R)-3-[(1S)-1-[(3-氨基苯基)甲基]-2-叔丁氧基-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(500 mg, 1.280 mmol)。将反应加热到80℃整夜。冷却反应,经硅藻土垫过滤并用DCM和MeOH洗涤该垫。在真空中浓缩滤液。通过使用下列参数的RP-HPLC/MS提纯残留物:柱 - XBridge™ C18 (19 × 100 mm, 5 μm);流动相-溶剂A = 20 mM碳酸氢铵水溶液(pH 9),溶剂B = 乙腈;梯度 - 等度80:20 A:B;流速 - 25 mL/min;RT。获得为浅黄色固体的标题化合物(195 mg, 18%)。ES/MS (m/z): 743 (M+H-BOC)。

[0233] 实施例1

[0234] (2S)-3-[3-[[双[[3-[(2S)-2-羧基-2-[(3R)-吡咯烷-3-基]乙基]苯基]甲基]氨基]甲基]苯基]-2-[(3R)-吡咯烷-3-基]丙酸;四盐酸盐



[0236] 将盐酸溶液(4M在1,4-二氧杂环己烷中, 67 mL, 270 mmol, 20 equiv)添加到

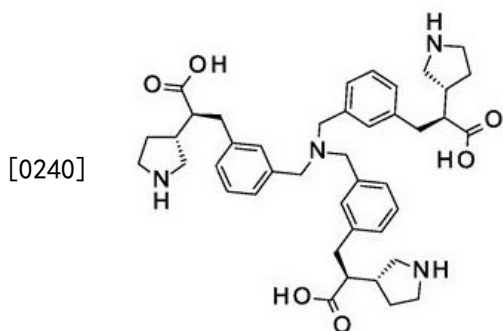
(3R)-3-[(1S)-1-[[3-[[双[[3-[(2S)-3-叔丁氧基-2-[(3R)-1-叔丁氧基羰基吡咯烷-3-基]-3-氧代-丙基]苯基]氨基]甲基]苯基]甲基]-2-叔丁氧基-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯 (15.7 g, 13.3 mmol) 中并将混合物在40°C下搅拌整夜。将混合物冷却到RT, 然后浓缩至干。将残留物溶解在水 (40 mL) 中并冻干。将所得固体再溶解在水 (40 mL) 中并冻干以获得为白色泡沫的标题化合物 (8.6 g, 75%)。

ES/MS (m/z): 711

[0237] (M+H); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 7.35-7.10 (m, 12H), 4.25-4.17 (m, 6H), 3.55 (dd, J=8.1, 11.5 Hz, 3H), 3.38-3.33 (m, 3H), 3.22-3.15 (m, 3H), 3.03-2.87 (m, 12H), 2.56-2.45 (m, 3H), 2.12-2.08 (m, 3H), 1.73-1.63 (m, 3H).

[0238] 实施例2

[0239] (2S)-3-[3-[[双[[3-[(2S)-2-羧基-2-[(3R)-吡咯烷-3-基]乙基]苯基]甲基]氨基]甲基]苯基]-2-[(3R)-吡咯烷-3-基]丙酸



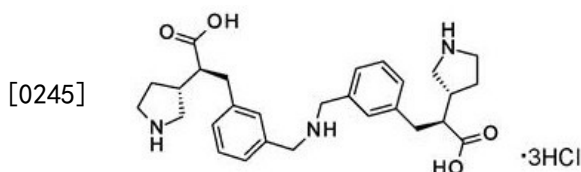
[0241] 向圆底烧瓶中加入 (3R)-3-[(1S)-1-[[3-[[双[[3-[(2S)-3-叔丁氧基-2-[(3R)-1-叔丁氧基羰基吡咯烷-3-基]-3-氧代-丙基]苯基]氨基]甲基]苯基]甲基]-2-叔丁氧基-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯 (499.3 g, 423.3 mmol)、1,4-二氧杂环己烷 (1997 mL) 和盐酸溶液 (12 M在水中, 529.1 mL, 15 equiv)。将混合物在40°C下搅拌1 h, 然后在真空中浓缩混合物以除去1,4-二氧杂环己烷, 以产生水性浆料。经丙烯过滤器过滤混合物以清除不溶性粒子。使用NaOH溶液 (2M在水中) 将滤液的pH调节到9-10。在RT下搅拌混合物整夜。使用纸过滤器缓慢滤出所得固体 (缓慢过滤, 使用低真空)。用水洗涤固体并在真空中在45°C下干燥以获得为白色结晶固体的标题化合物 (281 g, 88%)。

ES/MS (m/z): 711

[0242] (M+H); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 7.33 (t, J=7.6 Hz, 3H), 7.27 (d, J=7.8 Hz, 3H), 7.13 (d, J=7.8 Hz, 3H), 7.09 (s, 3H), 4.20 (s, 6H), 3.54 (dd, J=7.9, 11.6 Hz, 3H), 3.39-3.34 (m, 3H), 3.23-3.17 (m, 3H), 3.02-2.98 (m, 3H), 2.84 (dd, J=4.6, 13.7 Hz, 3H), 2.76 (dd, J=10.6, 13.3 Hz, 3H), 2.60 (td, J=9.9, 4.8 Hz, 3H), 2.48 (td, J=17.3, 9.6 Hz, 3H), 2.12-2.07 (m, 3H), 1.73-1.65 (m, 3H).

[0243] 实施例3

[0244] (2S)-3-[3-[[[3-[(2S)-2-羧基-2-[(3R)-吡咯烷-3-基]乙基]苯基]甲基]氨基]甲基]苯基]-2-[(3R)-吡咯烷-3-基]丙酸;三盐酸盐

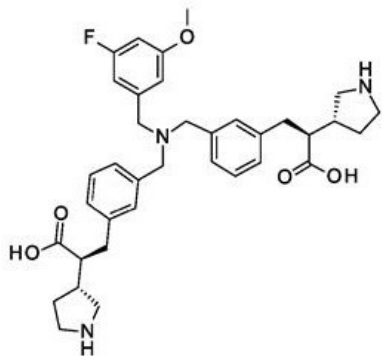


[0246] 使用(3R)-3-[(1S)-2-叔丁氧基-1-[[3-[[[3-[(2S)-3-叔丁氧基-2-[(3R)-1-叔丁氧基羰基吡咯烷-3-基]-3-氧代-丙基]苯基]甲基]氨基]甲基]苯基]甲基]-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯和在Et<sub>2</sub>O中的2 M HCl在RT下基本如对实施例1所述制备标题化合物。ES/MS (m/z): 480 (M+H)。

[0247] 实施例4

[0248] (2S)-3-[3-[[[3-[(2S)-2-羧基-2-[(3R)-吡咯烷-3-基]乙基]苯基]甲基]-[(3-氟-5-甲氧基-苯基)甲基]氨基]甲基]苯基]-2-[(3R)-吡咯烷-3-基]丙酸

[0249]

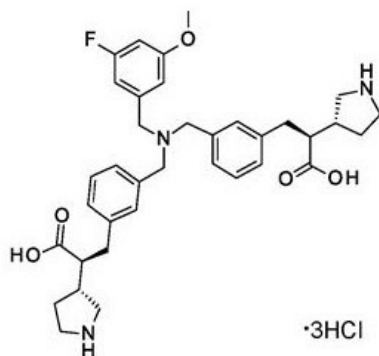


[0250] 使用(3R)-3-[(1S)-2-叔丁氧基-1-[[3-[[[3-[(2S)-3-叔丁氧基-2-[(3R)-1-叔丁氧基羰基吡咯烷-3-基]-3-氧代-丙基]苯基]甲基]-[(3-氟-5-甲氧基-苯基)甲基]氨基]甲基]苯基]甲基]-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯基本如对实施例2所述制备标题化合物。ES/MS (m/z): 618 (M+H)。

[0251] 实施例5

[0252] (2S)-3-[3-[[[3-[(2S)-2-羧基-2-[(3R)-吡咯烷-3-基]乙基]苯基]甲基]-[(3-氟-5-甲氧基-苯基)甲基]氨基]甲基]苯基]-2-[(3R)-吡咯烷-3-基]丙酸;三盐酸盐

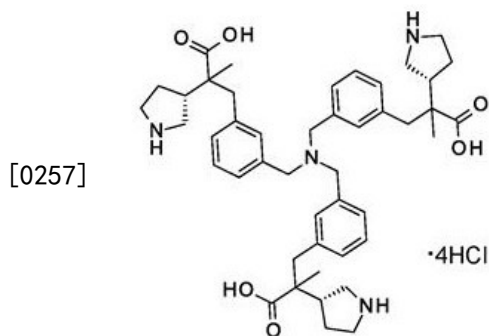
[0253]



[0254] 混合(3R)-3-[(1S)-2-叔丁氧基-1-[[3-[[[3-[(2S)-3-叔丁氧基-2-[(3R)-1-叔丁氧基羰基吡咯烷-3-基]-3-氧代-丙基]苯基]甲基]-[(3-氟-5-甲氧基-苯基)甲基]氨基]甲基]苯基]甲基]-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(541 mg, 0.582 mmol)、HCl(在乙醚中的2 M溶液,5.8 mL)和水(0.5 mL)。在RT下搅拌混合物5 h。在减压下清除溶剂以获得标题化合物(434 mg, 102%)。ES/MS (m/z): 618 (M+H)。

[0255] 实施例6

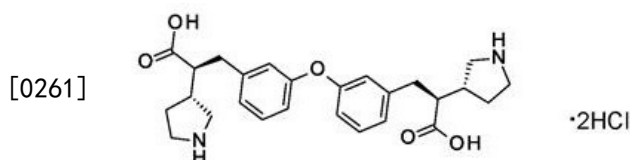
[0256] 3-[3-[[双[[3-2-羧基-2-[(3R)-吡咯烷-3-基]丙基]苯基]甲基]氨基]甲基]苯基]-2-甲基-2-[(3R)-吡咯烷-3-基]丙酸;四盐酸盐



[0258] 在DCM(1.4 mL)中混合(3R)-3-[1-[[3-[[双[[3-[3-叔丁氧基-2-[(3R)-1-叔丁氧基羰基吡咯烷-3-基]-2-甲基-3-氧代-丙基]苯基]甲基]氨基]甲基]苯基]甲基]-2-叔丁氧基-1-甲基-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(275 mg, 0.225 mmol)并加入HCl(在Et<sub>2</sub>O中的2 M溶液, 3.4 mL, 6.7 mmol, 30 equiv)。在RT下搅拌混合物整夜。从白色固体中倾析反应溶剂并将固体溶解在水中。在氮气流下蒸发混合物至干,然后在真空中在40℃下干燥以产生为白色固体的标题化合物(190 mg, 86%)。ES/MS (m/z): 753 (M+H)。

[0259] 实施例7

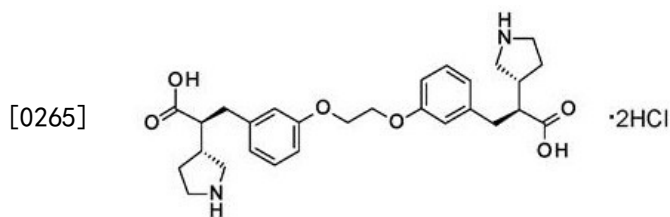
[0260] (2S)-3-[3-[3-[2-羧基-2-[(3R)-吡咯烷-3-基]乙基]苯氧基]苯基]-2-[(3R)-吡咯烷-3-基]丙酸;二盐酸盐



[0262] 使用(3R)-3-[(1S)-2-叔丁氧基-1-[[3-[3-[(2S)-3-叔丁氧基-2-[(3R)-1-叔丁氧基羰基吡咯烷-3-基]-3-氧代-丙基]苯氧基]苯基]甲基]-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯基本如实施例6中所述制备标题化合物。ES/MS (m/z): 453 (M+H)。

[0263] 实施例8

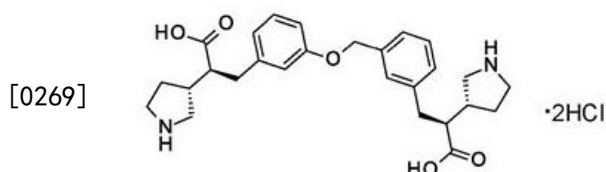
[0264] (2S)-3-[3-[2-[3-[2-羧基-2-[(3R)-吡咯烷-3-基]乙基]苯氧基]乙氧基]苯基]-2-[(3R)-吡咯烷-3-基]丙酸;二盐酸盐



[0266] 使用(3R)-3-[(1S)-2-叔丁氧基-1-[[3-[2-[3-[(2S)-3-叔丁氧基-2-[(3R)-1-叔丁氧基羰基吡咯烷-3-基]-3-氧代-丙基]苯氧基]乙氧基]苯基]甲基]-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯基本如实施例6中所述制备标题化合物。通过用MTBE研制分离产物。ES/MS (m/z): 497 (M+H)。

[0267] 实施例9

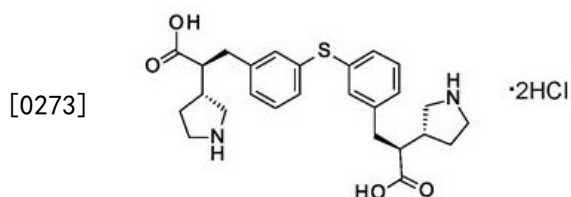
[0268] (2S)-3-[3-[3-[3-[2-羧基-2-[(3R)-吡咯烷-3-基]乙基]苯氧基]甲基]苯基]-2-[(3R)-吡咯烷-3-基]丙酸;二盐酸盐



[0270] 使用(3R)-3-[(1S)-2-叔丁氧基-1-[[3-[[3-[(2S)-3-叔丁氧基-2-[(3R)-1-叔丁氧基羰基吡咯烷-3-基]-3-氧代-丙基]苯氧基]甲基]苯基]甲基]-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯基本如实施例6中所述制备标题化合物。ES/MS (m/z): 467 (M+H)。

[0271] 实施例10

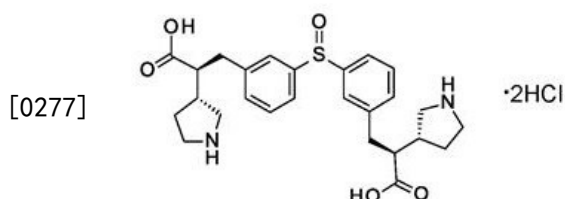
[0272] (2S)-3-[3-[3-[(2S)-2-羧基-2-[(3R)-吡咯烷-3-基]乙基]苯基]硫基苯基]-2-[(3R)-吡咯烷-3-基]丙酸;二盐酸盐



[0274] 使用(3R)-3-[(1S)-2-叔丁氧基-1-[[3-[[3-[(2S)-3-叔丁氧基-2-[(3R)-1-叔丁氧基羰基吡咯烷-3-基]-3-氧代-丙基]苯基]硫基苯基]甲基]-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯基本如实施例6中所述制备标题化合物。通过用Et<sub>2</sub>O研制分离产物。ES/MS (m/z): 469 (M+H)。

[0275] 实施例11

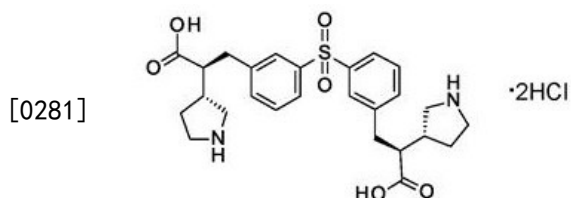
[0276] (2S)-3-[3-[3-[(2S)-2-羧基-2-[(3R)-吡咯烷-3-基]乙基]苯基]亚硫酰基苯基]-2-[(3R)-吡咯烷-3-基]丙酸;二盐酸盐



[0278] 使用(3R)-3-[(1S)-2-叔丁氧基-1-[[3-[[3-[(2S)-3-叔丁氧基-2-[(3R)-1-叔丁氧基羰基吡咯烷-3-基]-3-氧代-丙基]苯基]亚硫酰基苯基]甲基]-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯基本如实施例6中所述制备标题化合物。通过用Et<sub>2</sub>O研制、接着使用下列参数的RP-HPLC/MS分离产物:柱 - Agilent ZORBAX Bonus RP;流动相-溶剂A = 0.05%三氟乙酸/水(pH 2.5),溶剂B = 乙腈 + 0.05%三氟乙酸;梯度 - 5至30%溶剂B在溶剂A中;流速: 25 mL/min。将产物溶于HCl(10% w/v水溶液)和水的混合物中,然后在氮气流下在40℃下蒸发溶剂。ES/MS (m/z): 485 (M+H)。

[0279] 实施例12

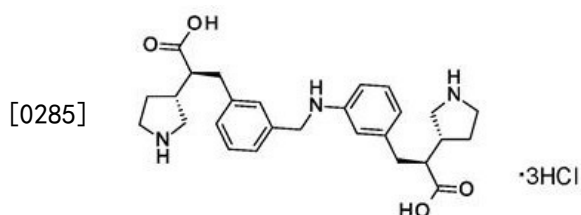
[0280] (2S)-3-[3-[3-[(2S)-2-羧基-2-[(3R)-吡咯烷-3-基]乙基]苯基]磺酰基苯基]-2-[(3R)-吡咯烷-3-基]丙酸;二盐酸盐



[0282] 使用(3R)-3-[(1S)-2-叔丁氧基-1-[[3-[3-[(2S)-3-叔丁氧基-2-[(3R)-1-叔丁氧基羰基吡咯烷-3-基]-3-氧代-丙基]苯基]磺酰基苯基]甲基]-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯基本如实施例6中所述制备标题化合物。通过用Et<sub>2</sub>O研制分离产物。ES/MS (m/z): 501 (M+H)。

[0283] 实施例13

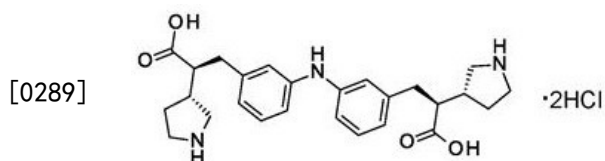
[0284] (2S)-3-[3-[[3-[(2S)-2-羧基-2-[(3R)-吡咯烷-3-基]乙基]苯胺基]甲基]苯基]-2-[(3R)-吡咯烷-3-基]丙酸;三盐酸盐



[0286] 使用(3R)-3-[(1S)-2-叔丁氧基-1-[[3-[[3-[(2S)-3-叔丁氧基-2-[(3R)-1-叔丁氧基羰基吡咯烷-3-基]-3-氧代-丙基]苯胺基]甲基]苯基]甲基]-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯基本如实施例6中所述制备标题化合物。在倾析产物后,通过使用下列参数的RP-HPLC/MS提纯:柱 - Waters™ XBridge™ C18 (19 × 100 mm, 5 μm);流动相-溶剂A = 20 mM NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>/水,溶剂B = 乙腈;流速25 mL/min;梯度 - 5:95至25:75 B:A。将纯化物质溶解在HCl水溶液(1 N)中,在RT下搅拌1 h,在氮气流下蒸发溶剂并在真空中在40℃下干燥固体。ES/MS (m/z): 466 (M+H)。

[0287] 实施例14

[0288] (2S)-3-[3-[3-[(2S)-2-羧基-2-[(3R)-吡咯烷-3-基]乙基]苯胺基]苯基]-2-[(3R)-吡咯烷-3-基]丙酸;二盐酸盐

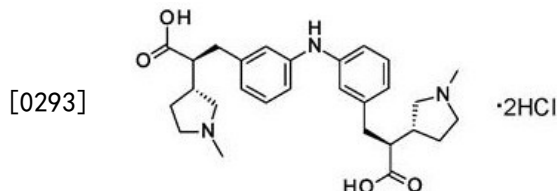


[0290] 混合(2S)-3-[3-[3-[(2S)-3-叔丁氧基-2-[(3R)-1-叔丁氧基羰基吡咯烷-3-基]-3-氧代-丙基]苯胺基]苯基]-2-[(3R)-1-叔丁氧基羰基吡咯烷-3-基]丙酸(9g, 12.7 mmol)、异丙醇(27 mL)和HCl(在异丙醇中的5.5 M溶液)并在RT下搅拌2.5 h。将反应加热到60℃持续2.5 h,然后冷却到RT并搅拌3天。将反应再加热到60℃持续2 h,冷却到RT,并将反应混合物在真空中浓缩至干。在超声处理下用MTBE研制固体残留物,过滤并用MTBE冲洗,然后在真空中干燥固体。将固体与浓HCl水溶液混合并加热到80℃整夜,然后冷却到RT并在真空中浓缩至干。将残留物溶解在最少量的水中并通过加入NaOH水溶液将pH调节到7.5。在RT下搅拌混合物3 h,然后滤出沉淀的固体。将固体溶解在HCl水溶液(1 N)中并在RT下搅拌15

min,然后在真空中除去水。残留物在真空中在45℃下干燥整夜以产生标题化合物(5.4 g, 81%)。ES/MS (m/z): 452 (M+H)。

[0291] 实施例15

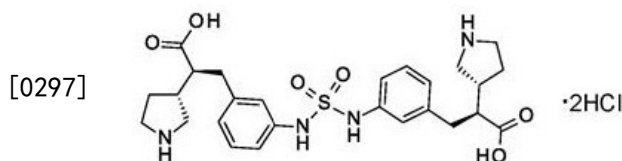
[0292] (2S)-3-[3-[3-[3-[(2S)-2-羧基-2-[(3R)-1-甲基吡咯烷-3-基]乙基]苯胺基]苯基]-2-[(3R)-1-甲基吡咯烷-3-基]丙酸];二盐酸盐



[0294] 将低聚甲醛(89 mg, 0.95 mmol)添加到(2S)-3-[3-[3-[3-[(2S)-2-羧基-2-[(3R)-吡咯烷-3-基]乙基]苯胺基]苯基]-2-[(3R)-吡咯烷-3-基]丙酸二盐酸盐(100 mg, 0.19 mmol)在MeOH(1.9 mL)中的悬浮液中。在RT下搅拌15 min。加入三乙酰氧基硼氢化钠(202 mg, 0.95 mmol)并在RT下搅拌16 h。在真空中浓缩溶液。用反相色谱法(柱: Claricep C-系列的二氧化硅结合C<sub>18</sub>)使用5至25%乙腈/NH<sub>4</sub>CO<sub>3</sub>水溶液(pH 9)的梯度提纯残留物。用盐酸水溶液(1 N, 1 mL)溶解纯化物质并在RT下搅拌6 h。在真空中浓缩溶液以获得标题化合物(30 mg, 27%)。ES/MS (m/z): 480 (M+H)。

[0295] 实施例16

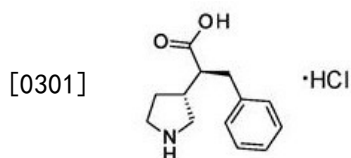
[0296] (2S,2'S)-3,3'-[磺酰基双(氮烷二基-3,1-亚苯基)]双{2-[(3R)-吡咯烷-3-基]丙酸};二盐酸盐



[0298] 使用3,3'-((2S,2'S)-((磺酰基双(氮烷二基))双(3,1-亚苯基))双(3-(叔丁氧基)-3-氧代丙烷-1,2-二基))(3R,3'R)-双(吡咯烷-1-甲酸二叔丁酯)基本如实施例6中所述制备标题化合物。ES/MS (m/z): 531 (M+H)。

[0299] 实施例17

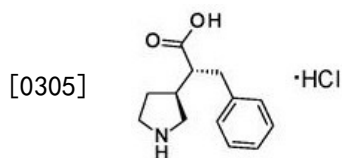
[0300] (2S)-3-苯基-2-[(3R)-吡咯烷-3-基]丙酸;盐酸盐



[0302] 将HCl(5.5 M在异丙醇中, 511 mL, 2.81 mol, 13 equiv)添加到(2S)-2-[(3R)-1-叔丁氧基羰基吡咯烷-3-基]-3-苯基-丙酸(69 g, 216 mmol)在异丙醇(207 mL)中的溶液中并在RT下搅拌整夜。用2:1 MTBE:己烷的混合物(900 mL)稀释混合物并搅拌10 min。过滤悬浮液并用1:1 MTBE:己烷(100 mL)洗涤固体。在真空中在50℃下干燥固体以产生为白色固体的标题化合物(51.3 g, 93%)。ES/MS (m/z): 220 (M+H)。

[0303] 实施例18

[0304] (2R)-3-苯基-2-[(3S)-吡咯烷-3-基]丙酸;盐酸盐

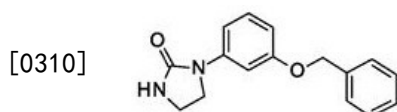


[0306] 使用(2R)-2-[(3S)-1-叔丁氧基羰基吡咯烷-3-基]-3-苯基-丙酸基本如实施例6中所述制备标题化合物。与HCl(2 M在乙醚中)和水一起搅拌分离的产物3 h,在真空中浓缩,然后用MTBE研制并在真空中在40℃下干燥。ES/MS (m/z): 220 (M+H)。

[0307] 用于体外Apo (a) 结合检测的放射性标记的和冷的(即非放射性标记的)标准品的合成

[0308] 制备40

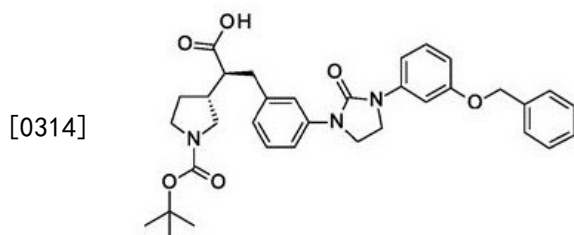
[0309] 1-(3-苄氧基苯基)咪唑烷-2-酮



[0311] 将氩气鼓泡的DMF(20 mL)添加到亚乙基脲(1.4 g, 16 mmol)、1-苄氧基-3-碘苯(4.9 g, 16 mmol, 1.0 equiv)、碘化亚铜(0.61 g, 3.1 mmol, 0.20 equiv)、磷酸二氢钾(4.2 g, 31 mmol, 2.0 equiv)的混合物中。向所得悬浮液中加入N,N'-二甲基乙二胺(0.33 mL, 0.28 g, 3.1 mmol, 0.20 equiv)。蓝色悬浮液在微波反应器中在120℃下加热3 h。冷却反应并经硅胶垫过滤,用EtOAc冲洗该垫。浓缩滤液。通过使用0至100%的(5:20:75 MeOH:丙酮:EtOAc)/己烷梯度的硅胶色谱法提纯残留物以产生为黄色固体的标题化合物(1.10 g, 26%)。ES/MS (m/z): 269 (M+H)。

[0312] 制备41

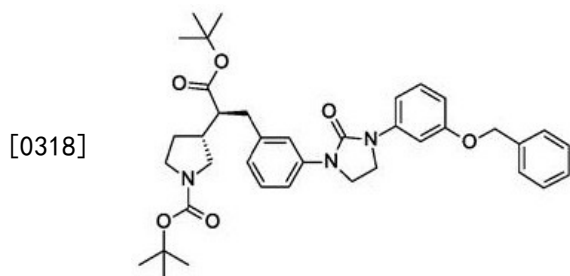
[0313] (2S)-3-[3-[3-(3-苄氧基苯基)-2-氧代-咪唑烷-1-基]苯基]-2-[(3R)-1-叔丁氧基羰基吡咯烷-3-基]丙酸



[0315] 在氮气气氛下向1-(3-苄氧基苯基)咪唑烷-2-酮(3.33 g, 12.4 mmol, 1.50 equiv)和(2S)-3-(3-溴苯基)-2-[(3R)-1-叔丁氧基羰基吡咯烷-3-基]丙酸铵(3.30 g)的混合物中加入乙腈(41 mL)和DMF(以助于溶解)。将稳定氩气流鼓过悬浮液15分钟。加入碳酸钾(3.75 g, 26.8 mmol, 3.24 equiv)、碘化亚铜(0.316 g, 1.66 mmol, 0.2 equiv)和N,N'-二甲基乙二胺(0.360 mL, 3.31 mmol, 0.4 equiv)。将密封容器在100℃下加热整个周末。加入水并用EtOAc萃取水层两次。用0.5 N HCl/水将水相酸化并用EtOAc、DCM和然后EtOAc萃取水层。合并的有机相经MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤并蒸发至干。通过使用10至60%(1%乙酸/丙酮)/己烷梯度的硅胶色谱法提纯残留物以产生标题化合物(4 g, 82%)。ES/MS (m/z): 486 (M+H-BOC)。

[0316] 制备42

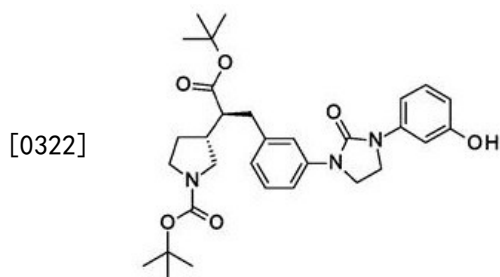
[0317] (3R)-3-[(1S)-1-[[3-[3-(3-苄氧基苯基)-2-氧代-咪唑烷-1-基]苯基]甲基]-2-叔丁氧基-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯



[0319] 在70℃下向(2S)-3-[3-[3-(3-苄氧基苯基)-2-氧代-咪唑烷-1-基]苯基]-2-[(3R)-1-叔丁氧基羰基吡咯烷-3-基]丙酸(4.0 g, 6.8 mmol)在甲苯(68 mL)中的溶液中加入N,N-二甲基甲酰胺缩二叔丁醇(15 mL, 55 mmol, 8.0 equiv)并将反应在70℃下加热整夜。通过使用0至50% EtOAc/己烷梯度的硅胶色谱法提纯残留物以产生标题化合物(1.56 g, 33%)。ES/MS (m/z): 542 (M+H-BOC)。

[0320] 制备43

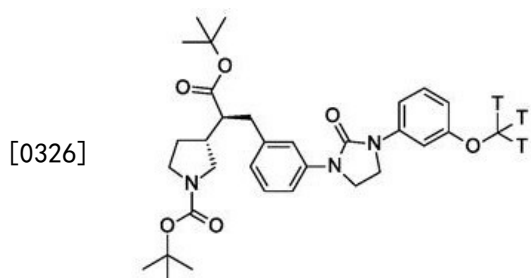
[0321] (3R)-3-[(1S)-2-叔丁氧基-1-[[3-[3-(3-羟苯基)-2-氧代-咪唑烷-1-基]苯基]甲基]-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯



[0323] 将(3R)-3-[(1S)-1-[[3-[3-(3-苄氧基苯基)-2-氧代-咪唑烷-1-基]苯基]甲基]-2-叔丁氧基-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(1.56 g, 2.43 mmol)溶解在THF(80 mL)中并加入氢氧化钡(0.7 g, 0.99 mmol, 0.41 equiv)。反应在真空下脱气,然后暴露于氢气三次。在RT下在氢气下(1 atm)搅拌反应4 h。浓缩反应并通过使用0至50% EtOAc/己烷梯度的硅胶色谱法提纯残留物以获得标题化合物(1.19 g, 87%)。ES/MS (m/z): 452 (M+H-BOC)。

[0324] 制备44

[0325] (3R)-3-[(1S)-2-叔丁氧基-2-氧代-1-[[3-[2-氧代-3-[3-(三氟代甲氧基)苯基]咪唑烷-1-基]苯基]甲基]乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯

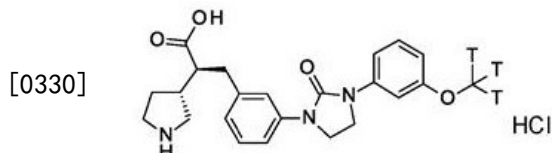


[0327] 向(3R)-3-[(1S)-2-叔丁氧基-1-[[3-[3-(3-羟苯基)-2-氧代-咪唑烷-1-基]苯基]苯基]甲基]乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯

基]甲基]-2-氧代-乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(4 mg, 0.007 mmol)在DMF(0.5 mL)中的溶液中加入碳酸铯(10 mg, 0.03 mmol)。将溶液在RT下搅拌10分钟。加入 $[^3\text{H}]$ 硝基苯磺酸甲酯(50 mCi)并在RT下搅拌1.5 h。通过使用下列参数的RP-HPLC/MS提纯反应混合物:柱 - Phenomenex<sup>®</sup> Gemini<sup>®</sup> C18 (250 × 10 mm);流动相-溶剂A = 水 + 三氟乙酸(0.1%),溶剂B = 乙腈 + 三氟乙酸(0.1%);梯度 - 50至100% B在A中,经50分钟;流速 - 3 mL/min。将纯化产物溶解在EtOH中并且不经进一步表征地进入制备45。

[0328] 制备45

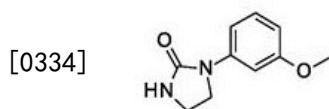
[0329] (2S)-3-[3-[2-氧代-3-[3-(三氟代甲氧基)苯基]咪唑烷-1-基]苯基]-2-[(3R)-吡咯烷-3-基]丙酸;盐酸盐



[0331] 在真空中从(3R)-3-[(1S)-2-叔丁氧基-2-氧代-1-[[3-[2-氧代-3-[3-(三氟代甲氧基)苯基]咪唑烷-1-基]苯基]甲基]乙基]吡咯烷-1-甲酸叔丁酯中除去溶剂并将残留物溶解在氯化氢(在1,4-二氧杂环己烷中的4M溶液)中。在RT下搅拌混合物整夜。通过使用下列参数的RP-HPLC/MS提纯反应混合物:柱 - Phenomenex<sup>®</sup> Gemini<sup>®</sup> C18 (250 × 10 mm);流动相-溶剂A = 水 + 三氟乙酸(0.1%),溶剂B = 乙腈 + 三氟乙酸(0.1%);梯度 - 10至70% B在A中,经60分钟;流速 - 3 mL/min。将纯化产物溶解在乙醇中。质谱法得出与无活性物质相符的波谱[ES/MS (m/z): 410 (M+H)]和63 Ci/mmol的比活性。

[0332] 制备46

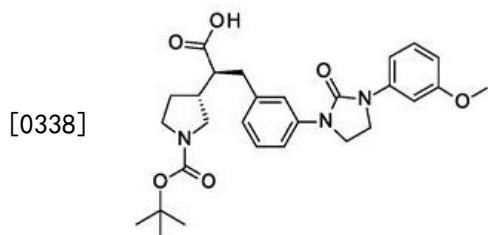
[0333] 1-(3-甲氧基苯基)咪唑烷-2-酮



[0335] 使用1-碘-3-甲氧基苯和磷酸三钾作为碱基本如制备40所述制备标题化合物。使用常规加热以将反应加热到120°C持续16 h。通过用EtOAc稀释而后处理反应,经Celite<sup>®</sup>垫过滤,用水、NH<sub>4</sub>OH水溶液和饱和NaCl水溶液洗涤有机物。通过使用20至100% EtOAc/己烷梯度的硅胶色谱法提纯粗物质。ES/MS (m/z): 193 (M+H)。

[0336] 制备47

[0337] (2S)-2-[(3R)-1-叔丁氧基羰基吡咯烷-3-基]-3-[3-[3-(3-甲氧基苯基)-2-氧代-咪唑烷-1-基]苯基]丙酸

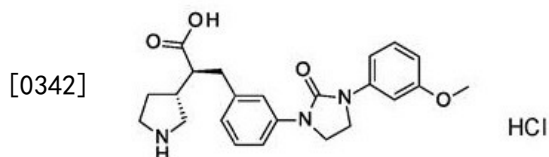


[0339] 在1,4-二氧杂环己烷(4.8 mL)中混合(2S)-3-(3-溴苯基)-2-[(3R)-1-叔丁氧基羰基吡咯烷-3-基]丙酸(190 mg, 0.4770 mmol)、1-(3-甲氧基苯基)咪唑烷-2-酮(0.2751

g, 1.431 mmol, 3 equiv)、甲磺酸[(2-二-叔丁基膦基-2',4',6'-三异丙基-1,1''-联苯)-2-(2'-氨基-1,1'-联苯)]钯(II) (tBuXPhos-Pd-G3, 0.0379 g, 0.0477 mmol, 0.1 equiv)和叔丁醇钠(0.1418 g, 1.431 mmol, 3 equiv)并将混合物在氮气气氛下在100°C下搅拌整夜。混合物用EtOAc稀释并用HCl水溶液(1 N)酸化。混合物经Celite®垫过滤,分离各层且有机物经MgSO<sub>4</sub>干燥。过滤并浓缩有机物,然后通过使用40至70%乙腈/NH<sub>4</sub>CO<sub>3</sub>水溶液(pH 9)梯度的反相快速色谱法(二氧化硅结合的C18柱)提纯残留物以产生为白色固体的标题化合物(70 mg, 28%)。通过使用下列参数的RP-HPLC/MS获得另外量的标题化合物(90 mg, 36%):柱 - Waters™ XBridge™ C18 (19 × 100 mm, 5 μm);流动相-溶剂A = 20 mM NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>/水,溶剂B = 乙腈;流速25 mL/min;梯度 - 30:70至50:50 B:A。ES/MS (m/z): 510 (M+H)。

[0340] 制备48

[0341] (2S)-3-[3-[2-氧代-3-[3-(甲氧基)苯基]咪唑烷-1-基]苯基]-2-[(3R)-吡咯烷-3-基]丙酸;盐酸盐



[0343] 使用(2S)-2-[(3R)-1-叔丁氧基羰基吡咯烷-3-基]-3-[3-[3-(3-甲氧基苯基)-2-氧代-咪唑烷-1-基]苯基]丙酸基本如制备45中所述制备标题化合物。ES/MS (m/z): 410 (M+H)。

[0344] 生物检测

[0345] 体外Apo(a)结合检测

[0346] 在竞争性结合检测中测试化合物对预期靶人Apo(a)蛋白的体外结合亲和力。从瞬时转染的HEK-293F细胞的条件培养基中亲和纯化含有17个Kringle重复的人Apo(a)蛋白。所有试剂在含有50 mM Tris-HCl pH 7.4、0.1% BSA的检测缓冲液中制备。通过向透明底板的各孔中加入各50 μl的(1)在稀释系列中的受试化合物(最终浓度0.32~10000 nM)、(2)Apo(a)蛋白(6 ng/孔)、(3)再悬浮的小麦胚芽凝集素聚乙烯基甲苯SPA珠(20 mg/ml)和(4)放射性配体氚标记的(2S)-3-[3-[2-氧代-3-[3-(三氘代甲氧基)苯基]咪唑烷-1-基]苯基]-2-[(3R)-吡咯烷-3-基]丙酸盐(最终浓度0.52 nM),进行结合检测。板在RT下孵育60分钟并在TRILUX LSC上计数。减去非特异性结合以测定特异性结合,所述非特异性结合被定义为在10 μM冷(即非放射性标记的)配体(2S)-3-[3-[2-氧代-3-[3-(甲氧基)苯基]咪唑烷-1-基]苯基]-2-[(3R)-吡咯烷-3-基]丙酸盐存在下的结合。通过拟合到标准单点结合模型而分析数据并测定实施例受试化合物的IC<sub>50</sub>。这些结果概括在表1中,并表明实施例受试化合物结合到人Apo(a)蛋白。通过结合到Apo(a)蛋白而抑制LDL粒子与apo(a)的组装支持Lp(a)水平的降低。

表1

实施例	IC <sub>50</sub> * (nM)
1	<0.314 (n=1)
3	2.13 ± 0.159 (n=2)
[0347] 6	<0.314 (n=1)
14	<0.314 (n=1)
17	152 ± 21.3 (n=2)
18	126 ± 5.97 (n=2)

\*几何平均数 ± SEM (n)

[0348] 体外Lp(a) 组装检测

[0349] 通过无细胞组装检测(cell-free assembly assay) 评估化合物在体外抑制Lp(a) 粒子形成的能力。在37°C和5% CO<sub>2</sub>下孵育24小时后从汇合野生型HepG2细胞(内源性表达的ApoB的来源) 和从表达含有17个Kringle重复的人Apo(a) 蛋白的HEK293稳定细胞系(在1 mg/ml遗传霉素上选择) 收集条件培养基(补充了10% FBS、20 mM HEPES和1x 青霉素/链霉素的DMEM)。通过将等份数的HepG2和HEK293条件培养基与在稀释系列中添加的受试化合物(最终浓度0.01~100 nM) 合并, 进行体外组装检测。反应在37°C下孵育2小时, 然后通过加入6-氨基己酸(EACA) 至150 mM的最终浓度而终止。使用夹心ELISA用抗-Lp(a) 捕获抗体和HRP缀合的抗ApoB检测抗体检测Lp(a)。ELISA使用TMB显色, 使用1 N硫酸终止并在Molecular Devices读板仪上在450 nm下读取信号。通过将不存在抑制剂的组装反应(具有在1%的匹配DMSO浓度) 设定为0%抑制并将存在最少量HepG2条件培养基(50倍稀释) 的组装反应设定为100%抑制, 测定在各受试条件下形成的Lp(a) 的%抑制。将数据拟合到4参数曲线以测定概括在表2中的IC<sub>50</sub>值。将实施例受试化合物添加到含有ApoB和Apo(a) 的条件培养基中导致如表2中概括的体外Lp(a) 形成的浓度依赖性抑制。结果表明这些化合物抑制由Apo(a) 和LDL粒子组装Lp(a)。

表2

实施例	IC <sub>50</sub> * (nM)
1	0.0963 ± 0.0233 (n=9)
3	0.934 ± 0.306 (n=2)
5	0.17 ± 0.0124 (n=4)
6	0.108 ± 0.0149 (n=4)
7	0.372 ± 0.0464 (n=8)
8	0.288 ± 0.19 (n=4)
9	0.359 ± 0.0292 (n=2)
10	0.36 ± 0.119 (n=4)
11	0.396 ± 0.241 (n=4)
12	0.235 ± 0.0509 (n=2)
13	2.39 ± 0.61 (n=2)
14	0.348 ± 0.0984 (n=13)
15	54.6 ± 9.15 (n=3)
16	0.563 ± 0.119 (n=2)
17	1690 ± 402 (n=43)
18	635 ± 165 (n=9)

\*几何平均数 ± SEM (n)

[0350]

[0351] 在小鼠中的体内Lp(a)抑制

[0352] 在能够生成成人源化Lp(a)粒子的转基因小鼠模型中评估化合物在体内降低稳态Lp(a)水平的能力。在表达人*apoB*-100和含有17个Kringle重复的人*apo(a)*的7至17月龄的雌性双转基因小鼠中测试Lp(a)干扰化合物的体内效果;B6.SJL-Tg(APOB)1102Sgy Tg(Alb-LPA)32Arte。小鼠用标准光照周期(12小时光照/12小时暗)、在RT 72 ± 8°F和30~70%相对湿度下圈养,自由获取水和正常饮食(Harlan Tecklad diet 2014)。在研究前3至5天使用BRAT(Block Randomized Allocation Tool)通过体重和基线血浆Lp(a)浓度将小鼠随机分成治疗组(n=5/组)以供研究。小鼠口服(或如果注明,皮下)给药媒介物(口服给药媒介物:10 mL/kg、1% HEC、0.25% Tween80、0.01% Antifoam;皮下给药媒介物:5 mL/kg盐水)或各种剂量水平的受试化合物,每天两次(6:30 am和3:30 pm),持续5天。经由尾部采血将血液收集在肝素涂覆毛细管中。将各20微升血样转移到DBS卡(Whatman Cat#: WB12 9243)上进行药物暴露分析。将剩余血样离心以分离血浆。使用如对外Lp(a)组装检测所述的夹心ELISA测量血浆中的Lp(a)浓度。通过将媒介物对照组的平均Lp(a)水平设定为0%抑制,测定各剂量组的%抑制。表3显示来自剂量响应研究的结果,其中在第3天在早晨口服给药后8小时获取尾部采血样品。如通过阈值最小有效剂量分析测定ED<sub>50</sub>(50% Lp(a)抑制的有效剂量)计算。表4显示来自单剂量研究的结果,其中在第3天在早晨口服给药(或如果注明,皮下给药)后4小时(或如果注明,8小时)获取尾部采血样品。表3和4中显示的这些结果证实化合物在体内有效降低血浆Lp(a)水平,支持化合物可用于降低Lp(a)血浆浓度的提议。

表3

[0353]

实施例	ED <sub>50</sub> (mg/kg) <sup>1</sup>	Lp(a) 抑制 (在30 mpk下的%) <sup>2</sup>
1	3.3 ± 0.53	91 ± 0.73
14	14.6 ± 2.48	72 ± 2.23
17	20.6 ± 1.79	60 ± 3.46
18	7.6 ± 2.43	68 ± 1.82

1. ED<sub>50</sub> ± 标准误差
2. 平均值 ± SEM

表4

[0354]

实施例	剂量 (mg/kg)	Lp(a) 抑制 (%) <sup>1</sup>
5	3	43.8 ± 4.24
7	30 <sup>2</sup>	44.6 ± 5.0
9	30	56.5 ± 2.77
10	30	43.6 ± 4.6
12	30	50 ± 3.82 <sup>3</sup>

1. 平均值 ± SEM
2. 皮下给药
3. 在口服给药后8小时提取的样品