

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

C07D213/61

C07D213/85 A61K 31/44



[12] 发明专利说明书

[21] ZL 专利号 99803908.X

[45] 授权公告日 2004 年 7 月 21 日

[11] 授权公告号 CN 1158261C

[22] 申请日 1999.1.15 [21] 申请号 99803908.X

[30] 优先权

[32] 1998.1.16 [33] SE [31] 9800116-7

[32] 1998.1.16 [33] SE [31] 9800113-4

[86] 国际申请 PCT/SE1999/000053 1999.1.15

[87] 国际公布 WO1999/036406 英 1999.7.22

[85] 进入国家阶段日期 2000.9.11

[71] 专利权人 美迪维尔公司

地址 瑞典胡丁厄

[72] 发明人 C·萨尔贝里 R·诺雷恩

M·赫格贝里 P·恩格尔哈德特

审查员 吴顺华

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

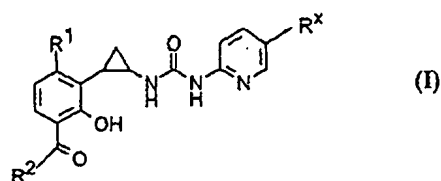
代理人 谭明胜

权利要求书 2 页 说明书 67 页 附图 3 页

[54] 发明名称 抗病毒药物

[57] 摘要

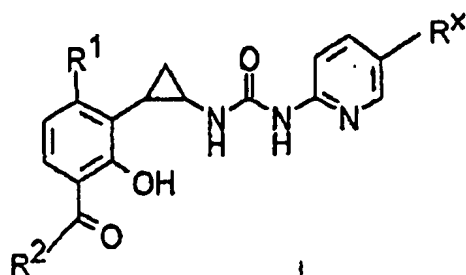
其中 R^x 为氰基或溴代, R¹ 为卤代, R² 为 C₁ - C₃ 烷基的式 I 化合物和它们的药学上可接受的盐和
前药具有抗逆转录病毒活性。



ISSN 1008-4274

1. 式 I 化合物:

5



10

其中

 R^X 为氰基或溴; R^1 为卤素; R^2 为 C_1 - C_3 烷基;

15 和它们的药学上可接受的盐和前药。

2. 权利要求 1 的化合物, 其中 R^1 为氟。3. 权利要求 1 的化合物, 其中 R^2 为乙基。

4. 权利要求 1 的化合物, 包括至少 60% 的 1S, 2S 对映体形式。

5. 权利要求 1 的化合物, 包括至少 90% 的 1S, 2S 对映体形式。

20 6. 权利要求 1 的化合物, 其中 R^X 为氰基。

7. 权利要求 1 的化合物选自 (1S,2S)-N-[顺式-2-(6-氟,2-羟基,3-丙酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-氰基吡啶-2-基)-脲、(1R,2R)-N-[顺式-2-(6-氟,2-羟基,3-丙酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-氰基吡啶-2-基)-脲、(1S,2S)-N-[顺式-2-(6-氟,2-羟基,3-丙酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-溴吡啶-2-基)-脲和 (1R,2R)-N-[顺式-2-(6-氟,2-羟基,3-丙酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-溴吡啶-2-基)-脲和它们的药学上可接受的盐。

25

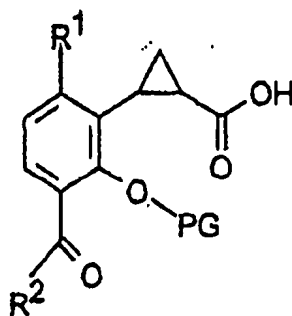
8. 药用组合物, 包括权利要求 1 至 7 中的任何一项定义的化合物和为此药学上可接受的载体或稀释剂。

9. 权利要求 1 至 7 中任何一项的化合物用于制备用于治疗或预防

HIV 的药物。

10. 制备式 I 化合物的方法，包括下式化合物的叠氮化物的库尔提斯重排：

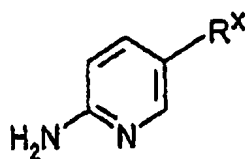
5



10

随后与下式化合物偶合和脱除保护：

15



20 其中 R^1 、 R^2 和 R^x 如上定义并且 PG 为羟基保护基团。

抗病毒药物

5 技术领域

本发明涉及抗病毒药物领域并且特别涉及 HIV 逆转录酶抑制剂。本发明提供新的化合物、含有这些化合物的药用组合物和使用它们用于抑制 HIV 的方法。

10 发明背景

在 HIV 的治疗中，在 HIV 逆转录酶抑制方面已经显示出临床相应活性的药物当中，大多数为核苷类似物例如 AZT、ddI、ddC 和 D4T。这些核苷类似物并不是象所要求的那样是特异性的，因此不得不以相对高的剂量水平给药。在这些剂量水平下，核苷类似物引起相当

15 的毒性，限制了它们的长期使用。

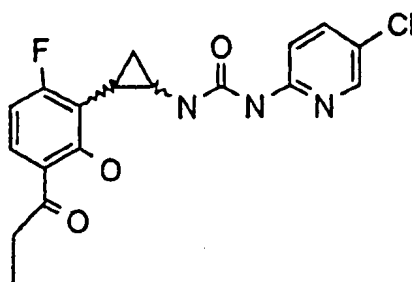
为克服这些特异性和毒性问题，已开发多种所述 HIV 逆转录酶的非核苷类抑制剂。例如来自杨森公司的逆转录酶抑制剂 TIBO 在纳摩尔浓度下抑制 HIV 且未呈现出临床显著的毒性。TIBO 和所述非核苷类逆转录酶抑制剂奈韦拉平两者迅速进行患者 II 期临床试验。然而，不久变得明显的是这些非核苷类抑制剂体内迅速选择出其对抗通常剂量的所述各自抑制剂的 HIV 突变型。例如在奈韦拉平情况中，

20 仅在治疗四周后，患者血清中分离出的病毒与未治疗患者中分离出的病毒相比较对所述药物的敏感性低 100 倍(Drug Design & Discovery 1992 8 第 255-263 页)。对已进入临床试验的其它非核苷类 RT 抑制剂已出现了相似的模式，即当给予患者时，有体外活性的默克公司的

25 的 L-697661 和普强公司的 delavirdine(U-87201)已迅速产生对抗 HIV 的突变型。尽管限于在尝试延缓抗药性的发展中的特定联合给药方案，具有上述缺点的奈韦拉平和 delavirdine 最近已经登记用于临床。

国际专利申请第 WO 95/06034 号描述一系列新的脲衍生物，其呈现良好的体外抗 HIV 逆转录酶活性并在细胞培养中呈现良好的抑制 HIV 复制作用。然而，在 WO 95/06034 中所述化合物的实际应用受到它们不佳的药代动力学表现的阻碍。此外，与许多非核苷类逆转录酶抑制剂一样，在 WO 95/06034 中的化合物在缓慢抗药性发展的关键参数上和由其它的抗病毒药方案产生的抗 HIV 突变型活性的良好模式上留有改进的余地。

Öberg 等于 1995 年在 Santa Fe 举行的 ICAR 上用墙报特别公开了以上提及的 WO 95/06034 中并具有下式的外消旋化合物

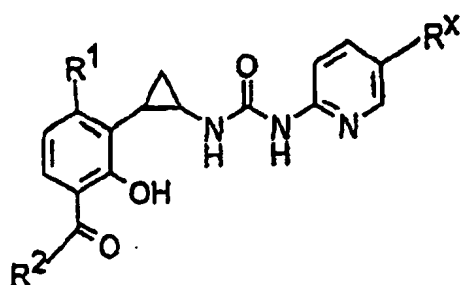


此时，以上描述的化合物被看作比含有带甲氧基/乙酰基的苯环的硫脲的变体具有更小的意义。然而，与现有技术的具有良好的药代动力学性质和延长的病毒抗药性的时间的化合物相比较，我们现已发现另外的取代模式证实它们具有改善的抗药性模式。因此，本发明提供了将非核苷类抑制剂优越的特异性与所有现有技术抑制剂缺乏的临床实用性相结合的抑制剂。

发明简述

本发明提供式 I 化合物：

5



10

其中

R^1 为卤素;

R^2 为 C_1 - C_3 烷基;

R^x 为氰基或溴;

和它们的药学上可接受的盐和前药。

15

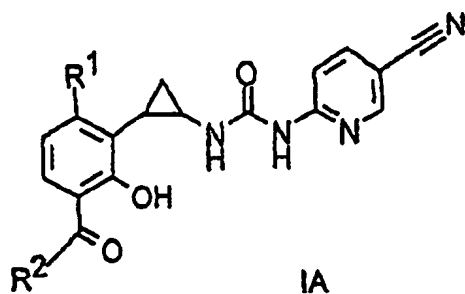
本发明另外提供包括式 I 化合物和为此药学上可接受的载体或稀释剂的药用组合物。本发明另外的方面提供了抑制 HIV 的方法, 该方法包括将式 I 化合物给予 HIV 的患者。本发明也扩展到治疗中式 I 化合物的用途, 例如在制备用于治疗 HIV 感染的药物中的用途。

20

在治疗 HIV 引起的疾病中, 所述式 I 化合物优选以达到大约 10 至 1000 nM 的血浆水平的量给药并且更优选为 100 至 500 nM。这相应于依所述制剂的生物利用度而定的剂量比例为 0.01 至 10 mg/kg/天, 优选为 0.1 至 2 mg/kg/天。正常成人的一般剂量比例将为每天大约 0.05 至 5 g, 优选为每天一至四个剂量单位, 0.1 至 2 g 例如 500-750 mg。

在权利要求 1 中特别关于药代动力学的优选的化合物子集具有所述结构 IA:

25

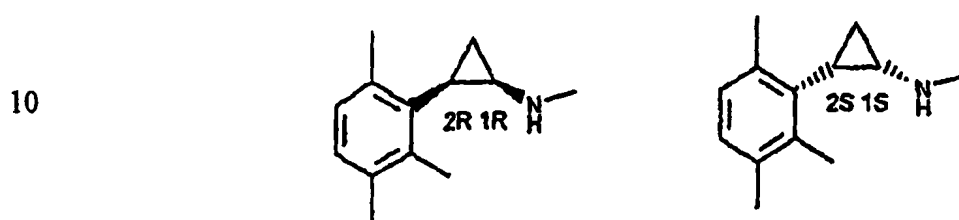


其中 R^1 和 R^2 如上定义, 包括它们的药学上可接受的盐和前药。

在式 I 中, 特别易于形成前药的另一个有利的化合物子集包括其中 R^x 为溴的化合物。

R^1 优选为氯并且更优选为氟。适宜的 R^2 基团包括甲基、异丙基、正丙基并且优选为乙基。

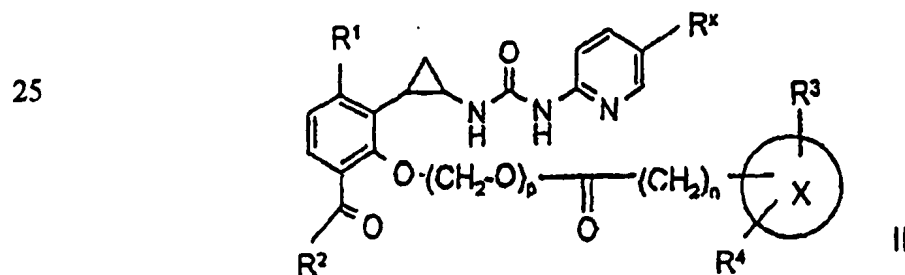
5 如上所述, 所述环丙基环以顺式构型存在, 允许存在两个对映体, 1S,2S 和 1R,2R(分别和非常规指明在 SE 980016-7 和 SE 9800113-4 中为 2R,1S 和 2S,1R):



15 这些对映体每一个为有效的抗逆转录病毒药物, 尽管所述不同的对映体在生理性质上能够表现出细微的差异。例如所述 1S,2S 和 1R,2R 对映体在所述 P450 系统中能显示出不同模式的代谢。其中 R^x 为氟基的化合物的 1S,2S 对映体为特别优选, 因为其独一无二地呈现出有能力避免所述 P450 系统中的关键成分。其它的逆转录病毒药物例如所述 HIV 蛋白酶抑制剂 ritonavir 与所述 P450 系统广泛地相互作用, 导致大量的不合乎需要的生理应答, 其包括广泛改变其它联合

20 给予药物的代谢。当患者期待多年(如果不是十年的话)服用多种药剂时, 这与用于慢性感染所给予的药物特别相关。

式 I 化合物适宜的前药包括式 II 那些化合物:



其中

- R^1 、 R^2 和 R^x 如上定义，
 R^3 为H、 $(CH_m)_nNR^5R^6$ ；
 R^4 为H、 C_1 - C_3 烷基、 $(CH_m)_nNR^5R^6$ 、 $(CH_m)_nC(=O)R^5$ 、 $(CH_m)_nOH$ 、 OR^7 、
 卤素、 CF_3 或CN；或者
 5 R^3 和 R^4 一起定义为具有0-2个杂原子和/或0-2个不饱和键和/或0-2个取代基的5或6元稠环；
 R^5 为H、 C_1 - C_3 烷基、 $C(=O)R^7$ 或1至4个氨基酸的肽；
 R^6 为H、 C_1 - C_3 烷基；或者
 R^5 和 R^6 一起定义为具有0或1个另外的杂原子和/或0-2个不饱和键
 10 和/或0-2个取代基的5或6元环；
 R^7 为H、 C_1 - C_{12} 烷基、 $(CH_m)_nNR^5R^6$ ；
 X和包含其的环定义为具有0至3个不饱和键和/或0至3个选自S、O和N的杂原子的5或6元环；
 m独立为1或2；
 15 n独立为0、1或2；
 和它们的药学上可接受的盐。

其中 R^x 为氯的化合物的相应前药形成本发明的另一个方面。

- 在下文指的是X-环的含有X的环结构可为饱和的或具有1-3个
 不饱和键，包括具有芳香特征的环。优选的X-环包括环己环或环己
 20 烯环或者更优选为苯环。其它优选的X-环包括吗啉代或者更优选为
 吡啶环。或者，X-环可定义为五元环例如戊烯基或吡咯基。

- 在 R^3 和 R^4 结合形成含有任选杂原子的环的情况中，对X-环适
 宜的稠合环系统包括萘基、喹啉基、四氢异喹啉基、吲哚基或苯并
 咪唑环系统。在 R^4 和 R^5 结合形成环的情况中，对X-环的适宜的取
 25 代基环包括吗啉代和哌啶子基。这些稠合的或取代基的环可以被卤
 素、卤代甲基、氨基如 $(CH_m)_nNR^5R^6$ 、 $C(=O)NR^5R^6$ 、羟基、羟基甲基、
 羧基、羧基甲基、 C_{1-3} 烷基、 C_{1-3} 烷氧基等任选取代。

X-环可与相邻的羰基部分通过亚甲基或亚乙基隔开，其可以被

取代基如卤素、卤代甲基、氨基、氨基甲基、羟基、羟基甲基、羧基、羧基甲基、C₁₋₃烷基、C₁₋₃烷氧基等任选取代。优选X-环与所述羧基相邻。

5 由X-环系统、R³、R⁴和如果存在的R⁵-R⁷表示的部分优选具有一点碱性。这能通过选择适宜的碱性杂环作为所述X-环，例如吡啶基或苯并吡啶基来达到。或者，R³至R⁷中的一个或多个可包含碱性取代基如伯、仲或叔胺、氨基酸等。

10 有利的R³和/或R⁴基团包括NH₂、N(CH₂)₂和NHC₁₋₃烷基如NHCH₃或NHCH₂CH₃。R³优选处于相对于所述羧基和其任选的间隔基团的间位，尤其是当含有X的环为苯基或者当含有X的环为杂芳香环例如吡啶-3-基时，R³处于对位。通常优选的p和/或n的值为零，即各自的基团不存在。

本发明优选化合物包括：

(1S,2S)-N-[顺式-2-(6-氟,2-羟基,3-丙酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-氟基吡啶-2-基)-脲；

(1S,2S)-N-[顺式-2-(6-氟,2-羟基,3-丁酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-氟基吡啶-2-基)-脲；

(1S,2S)-N-[顺式-2-(6-氟,2-羟基,3-乙酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-氟基吡啶-2-基)-脲；

(1S,2S)-N-[顺式-2-(2-(3-氨基苯基羧基氧基)-6-氟-3-丙酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-氟基吡啶-2-基)-脲；

(1S,2S)-N-[顺式-2-(2-(3-氨基苯基羧基氧基)-6-氟-3-丁酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-氟基吡啶-2-基)-脲；

(1S,2S)-N-[顺式-2-(2-(3-氨基苯基羧基氧基)-6-氟-3-乙酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-氟基吡啶-2-基)-脲；

(1S,2S)-N-[顺式-2-(2-(3-乙基氨基苯基羧基氧基)-6-氟-3-丙酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-氟基吡啶-2-基)-脲；

(1S,2S)-N-[顺式-2-(2-(3-乙基氨基苯基羧基氧基)-6-氟-3-丁酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-氟基吡啶-2-基)-脲；

基)-环丙基]-N'-(5-氟基吡啶-2-基)-脲;

(1S,2S)-N-[顺式-2-(2-(3-乙基氨基苯基羧基氧基)-6-氟-3-乙酰基苯

基)-环丙基]-N'-(5-氟基吡啶-2-基)-脲;

(1S,2S)-N-[顺式-2-(2-(3-二甲基氨基苯基羧基氧基)-6-氟-3-丙酰基苯

基)-环丙基]-N'-(5-氟基吡啶-2-基)-脲;

(1S,2S)-N-[顺式-2-(2-(3-二甲基氨基苯基羧基氧基)-6-氟-3-丁酰基苯

基)-环丙基]-N'-(5-氟基吡啶-2-基)-脲;

(1S,2S)-N-[顺式-2-(2-(3-二甲基氨基苯基羧基氧基)-6-氟-3-乙酰基苯

基)-环丙基]-N'-(5-氟基吡啶-2-基)-脲;

和它们的药学上可接受的盐。

其它优选的化合物包括:

(1S,2S)-N-[顺式-2-(2-(6-甲基氨基吡啶-3-基羧基氧基)-6-氟-3-丙酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-氟基吡啶-2-基)-脲;

(1S,2S)-N-[顺式-2-(2-(6-甲基氨基吡啶-3-基羧基氧基)-6-氟-3-丁酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-氟基吡啶-2-基)-脲;

(1S,2S)-N-[顺式-2-(2-(6-甲基氨基吡啶-3-基羧基氧基)-6-氟-3-乙酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-氟基吡啶-2-基)-脲;

(1S,2S)-N-[顺式-2-(2-(6-氨基吡啶-3-基羧基氧基)-6-氟-3-丙酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-氟基吡啶-2-基)-脲;

(1S,2S)-N-[顺式-2-(2-(6-氨基吡啶-3-基羧基氧基)-6-氟-3-丁酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-氟基吡啶-2-基)-脲;

(1S,2S)-N-[顺式-2-(2-(6-氨基吡啶-3-基羧基氧基)-6-氟-3-乙酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-氟基吡啶-2-基)-脲;

和它们的药学上可接受的盐。

本发明其它合适的化合物包括:

(1R,2R)-N-[顺式-2-(6-氟,2-羟基,3-丙酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-氟基吡啶-2-基)-脲;

(1R,2R)-N-[顺式-2-(6-氟,2-羟基,3-丁酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-氟基

吡啶-2-基)-脲;

(1R,2R)-N-[顺式-2-(6-氟,2-羟基,3-乙酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-氟基吡啶-2-基)-脲;

(1R,2R)-N-[顺式-2-(2-(3-氨基苯基羧基氧基)-6-氟-3-丙酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-氟基吡啶-2-基)-脲;

(1R,2R)-N-[顺式-2-(2-(3-氨基苯基羧基氧基)-6-氟-3-丁酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-氟基吡啶-2-基)-脲;

(1R,2R)-N-[顺式-2-(2-(3-氨基苯基羧基氧基)-6-氟-3-乙酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-氟基吡啶-2-基)-脲;

(1R,2R)-N-[顺式-2-(2-(3-乙基氨基苯基羧基氧基)-6-氟-3-丙酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-氟基吡啶-2-基)-脲;

(1R,2R)-N-[顺式-2-(2-(3-乙基氨基苯基羧基氧基)-6-氟-3-丁酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-氟基吡啶-2-基)-脲;

(1R,2R)-N-[顺式-2-(2-(3-乙基氨基苯基羧基氧基)-6-氟-3-乙酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-氟基吡啶-2-基)-脲;

(1R,2R)-N-[顺式-2-(2-(3-二甲基氨基苯基羧基氧基)-6-氟-3-丙酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-氟基吡啶-2-基)-脲;

(1R,2R)-N-[顺式-2-(2-(3-二甲基氨基苯基羧基氧基)-6-氟-3-丁酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-氟基吡啶-2-基)-脲;

(1R,2R)-N-[顺式-2-(2-(3-二甲基氨基苯基羧基氧基)-6-氟-3-乙酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-氟基吡啶-2-基)-脲;

和它们的药学上可接受的盐。

其它合适的化合物包括:

(1R,2R)-N-[顺式-2-(2-(6-甲基氨基吡啶-3-基羧基氧基)-6-氟-3-丙酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-氟基吡啶-2-基)-脲;

(1R,2R)-N-[顺式-2-(2-(6-甲基氨基吡啶-3-基羧基氧基)-6-氟-3-丁酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-氟基吡啶-2-基)-脲;

(1R,2R)-N-[顺式-2-(2-(6-甲基氨基吡啶-3-基羧基氧基)-6-氟-3-乙酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-氟基吡啶-2-基)-脲;

(1R,2R)-N-[顺式-2-(2-(6-氨基吡啶-3-基羧基氧基)-6-氟-3-丙酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-氟基吡啶-2-基)-脲;

(1R,2R)-N-[顺式-2-(2-(6-氨基吡啶-3-基羧基氧基)-6-氟-3-丁酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-氟基吡啶-2-基)-脲;

(1R,2R)-N-[顺式-2-(2-(6-氨基吡啶-3-基羧基氧基)-6-氟-3-乙酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-氟基吡啶-2-基)-脲;

和它们的药学上可接受的盐。

本发明优选的化合物包括:

(1S,2S)-N-[顺式-2-(2-(6-氟,2-羟基,3-丙酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-溴代吡啶-2-基)-脲;

(1S,2S)-N-[顺式-2-(2-(3-氨基苯基羧基氧基)-6-氟-3-丙酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-溴吡啶-2-基)-脲;

(1S,2S)-N-[顺式-2-(2-(3-氨基苯基羧基氧基)-6-氟-3-乙酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-溴吡啶-2-基)-脲;

(1S,2S)-N-[顺式-2-(2-(3-氨基苯基羧基氧基)-6-氟-3-丁酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-溴吡啶-2-基)-脲;

(1S,2S)-N-[顺式-2-(2-(3-乙基氨基苯基羧基氧基)-6-氟-3-丙酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-溴吡啶-2-基)-脲;

(1S,2S)-N-[顺式-2-(2-(3-乙基氨基苯基羧基氧基)-6-氟-3-乙酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-溴吡啶-2-基)-脲;

(1S,2S)-N-[顺式-2-(2-(3-乙基氨基苯基羧基氧基)-6-氟-3-丁酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-溴吡啶-2-基)-脲;

(1S,2S)-N-[顺式-2-(2-(3-二甲基氨基苯基羧基氧基)-6-氟-3-丙酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-溴吡啶-2-基)-脲;

(1S,2S)-N-[顺式-2-(2-(3-二甲基氨基苯基羧基氧基)-6-氟-3-乙酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-溴吡啶-2-基)-脲;

(1S,2S)-N-[顺式-2-(2-(3-二甲基氨基苯基羧基氧基)-6-氟-3-丁酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-溴吡啶-2-基)-脲;

(1R,2R)-N-[顺式-2-(2-(6-氟,2-羟基,3-丙酰基苯基)-环丙基)-N'-(5-溴吡啶-2-基)-脲;

(1R,2R)-N-[顺式-2-(2-(3-氨基苯基羧基氧基)-6-氟-3-丙酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-溴吡啶-2-基)-脲;

(1R,2R)-N-[顺式-2-(2-(3-氨基苯基羧基氧基)-6-氟-3-乙酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-溴吡啶-2-基)-脲;

(1R,2R)-N-[顺式-2-(2-(3-氨基苯基羧基氧基)-6-氟-3-丁酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-溴吡啶-2-基)-脲;

(1R,2R)-N-[顺式-2-(2-(3-乙基氨基苯基羧基氧基)-6-氟-3-丙酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-溴吡啶-2-基)-脲;

(1R,2R)-N-[顺式-2-(2-(3-乙基氨基苯基羧基氧基)-6-氟-3-乙酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-溴吡啶-2-基)-脲;

(1R,2R)-N-[顺式-2-(2-(3-乙基氨基苯基羧基氧基)-6-氟-3-丁酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-溴吡啶-2-基)-脲;

(1R,2R)-N-[顺式-2-(2-(3-二甲基氨基苯基羧基氧基)-6-氟-3-丙酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-溴吡啶-2-基)-脲;

(1R,2R)-N-[顺式-2-(2-(3-二甲基氨基苯基羧基氧基)-6-氟-3-乙酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-溴吡啶-2-基)-脲;

(1R,2R)-N-[顺式-2-(2-(3-二甲基氨基苯基羧基氧基)-6-氟-3-丁酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-溴吡啶-2-基)-脲;

和它们的药学上可接受的盐。

另外优选的化合物包括:

(1S,2S)-N-[顺式-2-(2-(6-甲基氨基吡啶-3-基羧基氧基)-6-氟-3-丙酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-溴吡啶-2-基)-脲;

(1S,2S)-N-[顺式-2-(2-(6-甲基氨基吡啶-3-基羧基氧基)-6-氟-3-丁酰基

苯基)-环丙基]-N'-(5-溴吡啶-2-基)-脲;
(1S,2S)-N-[顺式-2-(2-(6-甲基氨基吡啶-3-基羧基氧基)-6-氟-3-乙酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-溴吡啶-2-基)-脲;
(1S,2S)-N-[顺式-2-(2-(6-氨基吡啶-3-基羧基氧基)-6-氟-3-丙酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-溴吡啶-2-基)-脲;
(1S,2S)-N-[顺式-2-(2-(6-氨基吡啶-3-基羧基氧基)-6-氟-3-丁酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-溴吡啶-2-基)-脲;
(1S,2S)-N-[顺式-2-(2-(6-氨基吡啶-3-基羧基氧基)-6-氟-3-乙酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-溴吡啶-2-基)-脲;
(1R,2R)-N-[顺式-2-(2-(6-甲基氨基吡啶-3-基羧基氧基)-6-氟-3-丙酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-溴吡啶-2-基)-脲;
(1R,2R)-N-[顺式-2-(2-(6-甲基氨基吡啶-3-基羧基氧基)-6-氟-3-丁酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-溴吡啶-2-基)-脲;
(1R,2R)-N-[顺式-2-(2-(6-甲基氨基吡啶-3-基羧基氧基)-6-氟-3-乙酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-溴吡啶-2-基)-脲;
(1R,2R)-N-[顺式-2-(2-(6-氨基吡啶-3-基羧基氧基)-6-氟-3-丙酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-溴吡啶-2-基)-脲;
(1R,2R)-N-[顺式-2-(2-(6-氨基吡啶-3-基羧基氧基)-6-氟-3-丁酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-溴吡啶-2-基)-脲;
(1R,2R)-N-[顺式-2-(2-(6-氨基吡啶-3-基羧基氧基)-6-氟-3-乙酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-溴吡啶-2-基)-脲;
和它们的药学上可接受的盐。

式 I 化合物的适宜的药学上可接受的盐包括有机羧酸盐, 例如乙酸、乳酸、葡糖酸、枸橼酸、酒石酸、马来酸、苹果酸、泛酸、羟乙磺酸、草酸、乳糖酸和琥珀酸, 有机磺酸例如甲磺酸、乙磺酸、苯磺酸、对氯苯磺酸和对甲苯磺酸的盐; 并且包括无机酸例如盐酸、氢碘酸、硫酸、磷酸和氨基磺酸盐。

5

在保持采用 HIV 抑制剂通常实践中, 共同给予一至三种另外的

抗病毒药物以提供协同应答和确保互补抗性模式是有利的。这样另外的抗病毒药可包括 AZT、ddI、ddC、D4T、3TC、abacavir、adefovir、adefovir dipivoxil、双-POC-PMPA、膦甲酸、羟基脲、赫斯特-拜耳 HBY097、efavirenz、trivirdine、奈韦拉平、delaviridine、PFA、H2G、
5 ABT606、DMP-450、loviride、ritonavir、沙奎那韦、indinavir、amprenavir (Vertex VX478)、nelfinavir 等，一般的以反应它们各自的活性和生物利用度的摩尔比例给药。一般这样的比例相对于式 I 化合物为 25:1 至 1:25。

10 尽管对于所述活性剂而言可单独给药，但是其优选作为药用制剂的一部分存在。这样的制剂将包括与一种或多种可接受的载体一起的以上定义的活性剂并且任选包括其它的治疗成分。所述载体必须与与所述制剂的其它成分相容性方面是可接受的并且对接受者无害。

15 所述制剂包括那些适宜于口服、直肠、鼻、局部(包括颊和舌下)、阴道或非肠道(包括皮下、肌肉、静脉和透皮)给药。所述制剂可便利地以单位剂型例如片剂和缓释胶囊剂形式存在，并且可通过任何药理学领域熟知的方法进行制备。

20 这样的方法包括使以上定义的活性剂与所述载体混合在一起的步骤。所述制剂一般通过使活性剂与液体载体或粉末的固体载体或两者皆有之均匀地和紧密地混合在一起，然后如果必要，使所述产物成形来制备。

25 在本发明中用于口服的制剂可作为独立的单位如每一种含有预先确定量的所述活性剂的胶囊剂、扁囊剂或片剂，作为散剂或颗粒剂，作为所述活性剂在水溶性或非水溶性液体中的溶液剂或混悬剂或者作为水包油液体乳剂或油包水液体乳剂和作为大药丸(bolus)等呈现。

关于口服给药的组合物(例如片剂和胶囊剂)，术语适宜的载体包括媒介物例如普通的赋形剂，例如粘合剂如糖浆、阿拉伯胶、明胶、

山梨糖醇、黄蓍胶、聚乙烯吡咯烷酮(povidone)、甲基纤维素、乙基纤维素、羧甲基纤维素钠、羟基丙基甲基纤维素、蔗糖和淀粉；填充剂和载体如玉米淀粉、明胶、乳糖、蔗糖、微晶纤维素、高岭土、甘露糖醇、磷酸二钙、氯化钠和藻酸；和润滑剂如硬脂酸镁和其它的金属硬脂酸盐、硬脂酸、硅酮液、滑石粉、蜡类、油类和胶态二氧化硅。也能够使用矫味剂例如薄荷、冬青油、樱桃香精等。可要求加入着色剂以使所述剂型易于辨别。也可以本领域熟知的方法包衣片剂。

用于口服给药的合适的载体包括以溶液剂、混悬剂或乳剂形式存在的，任选以常规方法胶囊化的或以单位剂型存在的液体制剂。有利的制剂包括阿拉伯胶/吐温/水、吐温/水、丙二醇、具有10-20%乙醇的植物油(如花生油、红花油、橄榄油等)、植物油/Capmul MGM、Capmul MCM/丙二醇、甲基纤维素/水、植物油/硬脂酰基单甘油酯、植物油/单不饱和脂肪酸甘油酯等。

片剂可通过任选与一种或多种辅助成分一起压制或模压来制备。通过在适宜的机械中，压制与粘合剂、润滑剂、惰性稀释剂、防腐剂、表面活性剂或分散剂任选混合的，以自由流动的形式如粉末或颗粒存在的所述活性剂可制备压制片剂。通过在适宜的机械中，模压用惰性液体稀释剂湿润的粉末状化合物的混合物可制备模压片剂。所述片剂可任选被包衣或刻痕并且配制以便提供缓慢或控制释放的所述活性剂。

适宜用于局部给药的制剂包括含有在矫味的基质通常为蔗糖和阿拉伯胶或黄蓍胶中的所述活性剂的糖锭剂、在惰性基质例如明胶和甘油或蔗糖和阿拉伯胶中的所述活性剂的锭剂和含有在适宜的液体载体中的所述活性剂的漱口剂。

适宜用于皮肤局部给药的制剂包括可作为含有活性剂和药学上活性载体的软膏剂、霜剂、凝胶剂和糊剂呈现。举例说明的局部传递系统为含有所述活性剂的透皮贴剂。其它的局部制剂包括防腐药

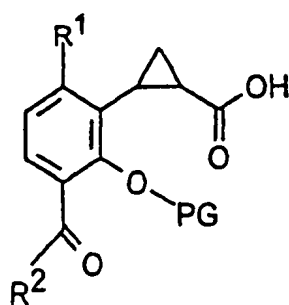
5 签，其在例如注射器或毛细管采血样的侵袭性过程之前释放所述活性剂到皮肤上。这样的药签中和来自所述侵袭性过程流出的血液或血清中的 HIV，由此帮助防止 HIV 经针头意外转移至健康的护理人员。这样的药签可包括浸泡在挥发性溶剂例如乙醇中的所述活性剂溶液中的灭菌手术纱布垫并且单个包装在密封的香囊中。

用于直肠或阴道给药的制剂可作为具有包括例如可可豆脂或水杨酸盐的适宜的基质的栓剂和阴道栓。其它的阴道制剂能够作为棉塞剂、霜剂、凝胶剂、糊剂、泡沫剂或喷雾剂呈现，它们含有除了所述活性剂以外的作为在本领域是已知的适当的载体。

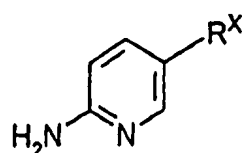
10 适宜用于鼻给药的其中所述载体为固体的制剂包括具有粒子体积例如在所述范围 20 至 500 微米的粗粉末，该粉末以其中服用鼻吸药的方式给药，即通过从举至贴近鼻子的所述粉末容器迅速吸入给药。适宜用于例如作为鼻喷雾剂或者作为鼻滴剂给药的其中所述载体为液体的制剂包括所述活性剂的水或油溶液。

15 适宜用于非肠道给药的制剂包括可含有抗氧化剂、缓冲液、杀菌剂和使所述制剂与所打算的接受者的血液等渗的溶质的水和非水灭菌注射溶液剂和其可包括悬浮剂和增稠剂的水和非水灭菌混悬剂。所述制剂可以单位-剂量或多-剂量容器例如密封安瓿和小瓶呈现，并且可在冻干(冷冻干燥)条件下贮存，使用前仅需要立即加入所
20 述灭菌液体载体例如注射用水。可由先前描述的那种灭菌散剂、颗粒剂和片剂制备临时的注射溶液和悬浮液剂。

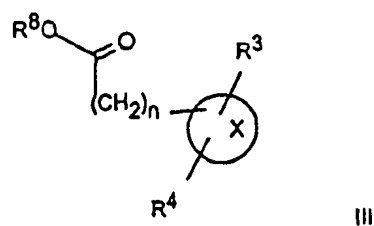
本发明另一方面提供用于制备式 I 化合物尤其是所述顺式异构体的方法，该方法包括下式化合物的库尔提斯重排：



随后通过使下式化合物偶合和脱除保护，其中 R^1 、 R^2 和 R^x 如上定义并且 PG 为羟基保护基团：

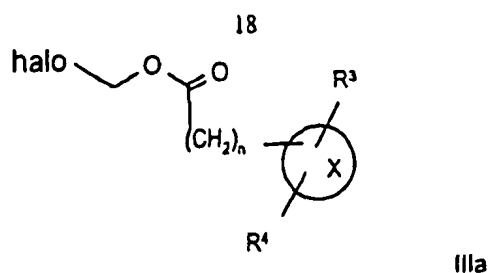


本发明所述方法另外包括用活化的式 III 化合物酰化的步骤：



5

其中 R^3 、 R^4 、X 和 n 如上定义但任选被保护，并且 R^8 为氢或常规活化基团。或者本发明所述方法可另外包括用式 IIIa 化合物烷基化的步骤：

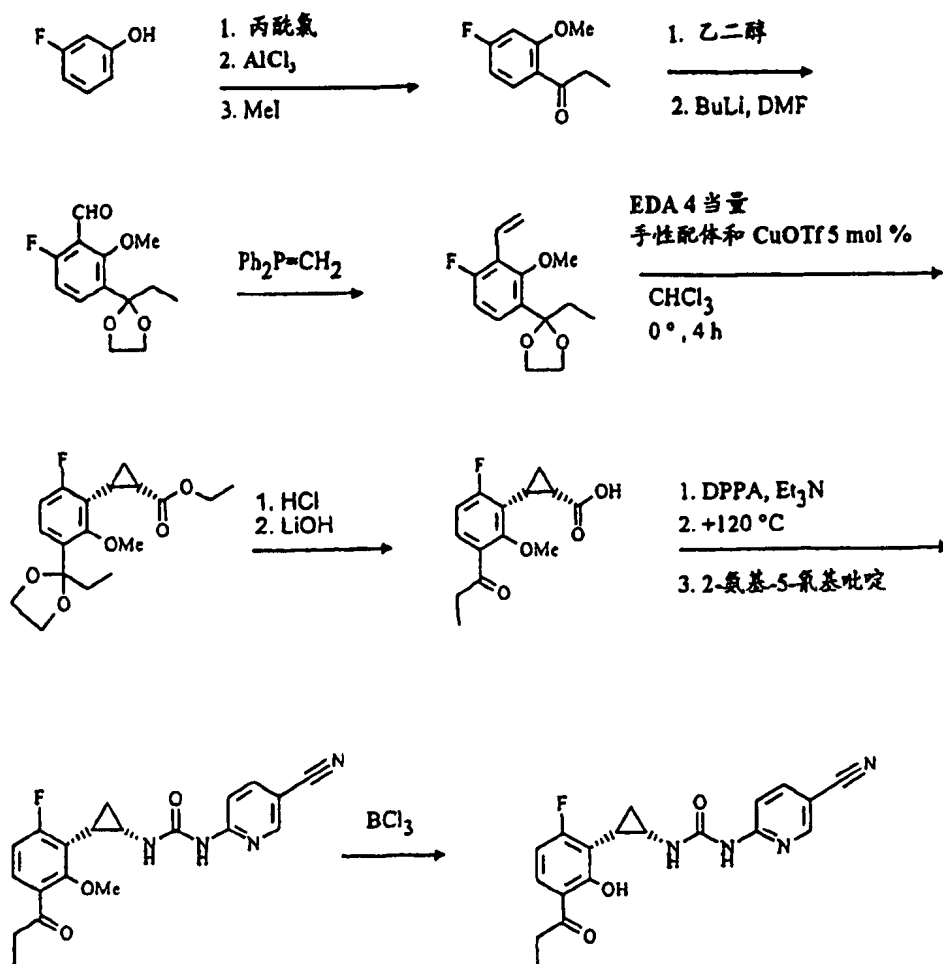


10

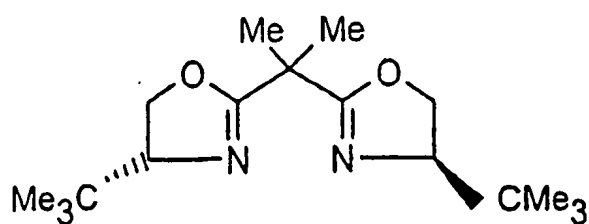
其中 n、 R^3 、 R^4 和 X 如上定义，但暴露的胺、羟基等取代基用常规

保护基团保护。

因此，式 I 对映体化合物可通过以下反应流程制备：

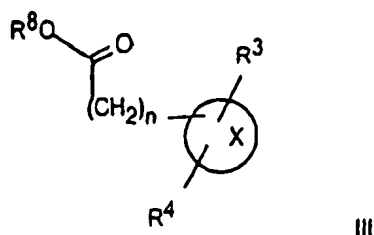


- 5 以上流程阐明其中 R^x 为氟基、 R^1 为 F 和 R^2 为乙基的本发明 (1S,2S) 化合物的制备，但是相应的方法适合于其它的 R^x 、 R^1 和 R^2 的变体。适用于第四步骤的所述手性配体可包括例如下式化合物：



为制备 1R,2R 对映体, 使用镜像手性配体, 或者为形成外消旋体而省去所述手性配体。

其中 p 为 0 的式 II 的前药能够通过用活化的式 III 化合物酰化式 I 化合物来合成,



5

其中 R^3 、 R^4 、X 和 n 如上定义但是任选被保护, 并且 R^8 为氢或常规活化基团。

活化的式 III 化合物包括在偶合剂例如二环己基-碳二亚胺存在下的酰卤、酸酐、活化酸的酯或者所述酸。代表性的活化酸衍生物包括酰氯、甲酸和乙酸衍生的混合酸酐、衍生于烷氧基羰基卤例如异丁氧基羰基氯等的酸酐、N-羟基琥珀酰胺衍生的酯、N-羟基苯邻二甲酰亚胺衍生的酯、N-羟基-5-降冰片烯-2,3-二甲酰胺衍生的酯、2,4,5-三氯苯酚衍生的酯等。用于式 III 化合物特别是任何取代基的胺的适宜的任选保护基团包括那些打算保护氨基酸或肽的 N-末端或者打算保护氨基基团以在合成过程中对抗不合乎需要的反应的基团。常用的 N 保护基团在 Greene 的“在有机合成中的保护基团”(John Wiley & Sons, New York, 1981)中公开, 其通过引用结合到本文中。N-保护基团包括酰基基团例如甲酰基、乙酰基、丙酰基、三甲基乙酰基、叔丁基乙酰基、2-氯乙酰基、2-溴乙酰基、三氯乙酰基、三氯乙酰基、邻苯二甲酰基、邻硝基苯氧基乙酰基、 α -氯丁酰基、苯甲酰基、4-氯苯甲酰基、4-溴苯甲酰基、4-硝基苯甲酰基等; 磺酰基例如苯磺酰基、对甲苯磺酰基等, 氨基甲酸酯形成基团例如苄氧基羰基、对氯苄氧基羰基、对甲氧基苄氧基羰基、对硝基苄氧基羰基、2-硝基苄氧基羰基、对溴苄氧基羰基、3,4-二甲氧基苄氧基羰基、4-甲氧基苄氧

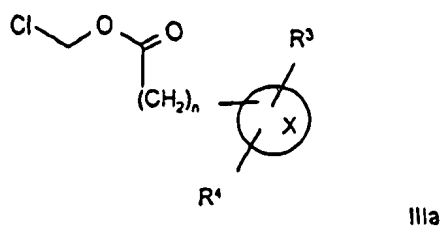
15

20

基羰基、2-硝基-4,5-二甲氧基苄氧基羰基、3,4,5-三甲氧基苄氧基羰基、1-(对联苯基)-1-甲基乙氧基羰基、 α,α -二甲基-3,5-二甲氧基苄氧基羰基、二苯甲氧基羰基、叔丁氧基羰基、二异丙基甲氧基羰基、异丙氧基羰基、乙氧基羰基、甲氧基羰基、烯丙氧基羰基、2,2,2-三氯乙氧基羰基、苄氧基羰基、4-硝基苄氧基羰基、苄基-9-甲氧基羰基、环戊氧基羰基、金刚烷氧基羰基、环己氧基羰基、苄基硫代羰基等；烷基例如苄基、三苯基甲基、苄氧基甲基等；和甲硅烷基例如三甲基甲硅烷基等。有利的 N-保护基团包括甲酰基、乙酰基、苯甲酰基、三甲基乙酰基、叔丁基乙酰基、苯磺酰基、苄基、叔丁氧基羰基(BOC)和苄氧基羰基(Cbz)。

所述酰化反应用常规酯化条件例如 DMAP 和 DCC 在溶剂例如二甲基甲酰胺或吡啶中进行。任选保护基团可以用如在以上 Greene 中综合讨论的常规技术除去，例如 TFA、HCl(aq)/二氧六环或在催化剂存在下氢化，得到式 II 化合物。

其中 p 为 1 的式 II 化合物能够通过如下方法制备：在常规烷基化条件下，使式 III 化合物与碘氯甲烷或者混合的二氯甲烷/碘氯甲烷反应，形成式 IIIa 化合物：



其中 n、 R^3 、 R^4 和 X 如上定义，但是暴露的胺、羟基等取代基用常规保护基团保护。然后，一般在碱性条件下，例如含有氢氧化钠的有机溶剂中，式 IIIa 化合物通过与 NaI 反应优选转化为相应的碘代衍生物随后与式 I 化合物偶合。

详细描述

本发明的这些方面现在将通过实施例阐明，仅参照以下非限制性实施例和附图，其中：

图 1 描述如同在生物实施例 2 中介绍的本发明化合物与现有技术化合物相比较的抗药性发展速率与时间的关系。

图 2 描述如同在生物实施例 5 中介绍的本发明化合物或者现有技术化合物口服给予大鼠后的时间与血浆水平的关系。

图 3 描述以如同在生物实施例 10 中介绍的如表面细胞质基因组共振方法测定的本发明化合物与现有技术化合物相比较的逆转录酶的结合动力学。

中间体的制备

实施例 1

3-[1,1-(亚乙二氧基)丙基]-6-氟-2-甲氧基苯甲醛

在室温下，于 5 分钟内，向 3-氟苯酚(22.4 g, 0.2 mol)、吡啶(24 ml, 0.3 mol)和二氯甲烷(200 ml)的溶液中加入 20 ml(0.225 mol)丙酰氯。该反应放热。将所述溶液搅拌另外 30 分钟。加入二氯甲烷后，以饱和 NaHCO_3 溶液和水洗涤所述有机相，经 MgSO_4 干燥并真空浓缩。得到 33.8 g(100%)3-氟-1-丙酰氧基苯。在 150°C 下，使该化合物与 33.3 g(0.25 mol) AlCl_3 反应 10 分钟。在小心以水骤冷后，所述反应混合物以乙醚提取三次。干燥(MgSO_4)所述醚相并蒸发，得到 29.5 g(0.176 mol, 88%)重排产物。将该中间体溶于 200 ml 丙酮和 K_2CO_3 (42, 0.3 mol)中并加入 MeI (25 ml, 0.4 mol)。在 40°C 下，将所述反应混合物加热 12 小时。过滤反应混合物并蒸发丙酮。将残余物溶于乙醚并以 0.5 M NaOH 溶液和水洗涤所述醚相。干燥(MgSO_4)并蒸发，得到 31.2 g(0.17 mol, 三步收率 86%)的 4-氟-2-甲氧基苯基乙基酮。

向 4-氟-2-甲氧基苯基乙基酮(31.2 g, 0.171 mol)、乙二醇(10.5 ml, 0.188 mol)在苯(300 ml)的溶液中加入 1 g 对甲苯磺酸。在迪安-斯达克

装置中将所述反应混合物回流大约 12 小时。在冷却后，以 1 M NaOH 溶液洗涤所述有机相几次并干燥(Na_2SO_4 和 K_2CO_3)。蒸发溶剂并得到大约 38 g 缩醛。根据毛细管 GC 其纯度为 88% 和杂质基本上为未反应的酮。在 -65°C 和在氮气气氛下，向所述缩醛在 THF(450 ml) 的溶液中滴加入 128 ml(0.32 mol) 的 2.5 M 正丁基锂。在保持所述温度在大约 -65°C 的同时，加入 DMF(25 ml, 0.32 mol) 在 THF(50 ml) 中的溶液。使所述反应混合物缓慢达到室温并根据 GC 在大约 30 分钟后未留下起始原料。在另一个 1 小时后，所述反应混合物以饱和 NH_4Cl 溶液骤冷并以乙醚提取三次。干燥(Na_2SO_4) 后在硅胶柱(来自默克硅胶 60, 粒度 0.04-0.063 mm) 上纯化所述残余物，以 EtOAc 1 和己烷 9 洗脱，得到 10 g (25%) 标题化合物。

$^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3) \delta$ 0.85 (t, 3H), 2.1 (q, 2H), 3.8-3.95 (m, 2H), 3.97 (s, 3H), 4.0-4.15 (m, 2H), 6.9 (t, 1H), 7.7-7.8 (m, 1H), 10.4 (s, 1H)。

15 实施例 2

3-[1,1-(亚乙二氧基)丙基]-6-氟-2-甲氧基苯乙烯

在室温下和在氮气气氛中，向甲基三苯基溴化磷(14.3 g, 40 mmol) 在 THF(250 ml) 的悬浮液中加入 16 ml(40 mmol) 的 2.5 M 正丁基锂。然后向得到的溶液中加入在 THF(30 ml) 中的 3-[1,1-(亚乙二氧基)丙基]-6-氟-2-甲氧基苯甲醛(10 g, 39.5 mmol)。然后在室温下将所述反应混合物搅拌 2 小时并倾入到己烷和盐水的混合物中。所述有机相以盐水洗涤两次和以水洗涤一次。蒸发溶剂后，通过以氧化铝(来自默克的氧化铝 90 acc. Brockmann) 填充的漏斗过滤所述残余物并以 EtOAc 1 和己烷 9 洗脱，以便于除去所形成的三苯基氧化磷。蒸发有机溶剂得到残余物，最后将其在硅胶柱上纯化，以 EtOAc 1 和己烷 9 洗脱，得到 6.9 g (70%) 如同通过毛细管 GC 测定的具有 94.5% 纯度的标题化合物。

$^1\text{H NMR}(250 \text{ MHz}, \text{CDCl}_3) \delta$ 0.85 (t, 3H), 2.1 (q, 2H), 3.8 (s, 3H), 3.8-

3.95 (m, 2H), 4.0-4.1 (m, 2H), 5.55-5.65 (m, 1H), 5.95-6.05 (m, 1H), 6.7-6.85 (m, 2H), 7.3-7.4 (m, 1H).

实施例 3

5 (1S,2R)-顺式-2-(6-氟-2-甲氧基-3-丙酰基苯基)环丙基羧酸

如同 Evans 等在 *J. Am. Chem. Soc.* 1991, 113, 726-728 中通常描述的那样, 使用通过三氟甲磺酸铜(I)(679 mg, 1.35 mmol)和手性配体 ([2,2'-亚异丙基双((4R)-4-叔丁基-2-噁唑啉)](794 mg, 2.7 mmol)催化的不对称环丙烷化反应, 由 3-[1,1-(亚乙二氧基)丙基]-6-氟-2-甲氧基苯

10 乙烯(19.4 g, 69 mmol)和重氨基乙酸乙酯(29 ml, 275 mmol)制备 (1S,2R)-顺式-2-[3-(1,1-亚乙二氧基)乙基-6-氟(2-甲氧基-苯基)环丙基羧酸乙酯。在硅胶层析法后, 得到 9.4 g(40.5%)所述乙酯。通过在手性柱上的 HPLC 测定, 对映体过量为 99%。将所述酯溶于 150 ml 二氧六环中并且加入 30 ml 的 6 M HCl。将所述反应混合物搅拌过夜并在乙醚和盐水之间分配。蒸发溶剂, 得到 19 g 粗品。将所述产物溶

15 于甲醇(250 ml)和水(75 ml)中并加入 6 g(250 mmol)的 LiOH。将所述反应混合物加热至 90℃反应 24 小时并且蒸发大部分溶剂。将残留的混合物酸化并以二氯甲烷提取三次。蒸发溶剂, 得到 11.2 g 的标题化合物。

20 ¹H NMR(250 MHz, CDCl₃) δ 1.15 (t, 3H), 1.59 (t, 2H), 2.10-2.17 (m, 1H), 2.22-2.32 (m, 1H), 2.91 (q, 2H), 3.80 (st, 3H), 6.82 (t, 1H), 7.44-7.50 (m, 1H), 11.30 (宽 s, 1H)。

实施例 4

25 (1R,2S)-顺式-2-(6-氟-2-甲氧基-3-丙酰基苯基)环丙基羧酸

如同对实施例 3 中所述酸描述的那样, 由 3-[1,1-(亚乙二氧基)丙基]-6-氟-2-甲氧基苯乙烯制备该化合物。所使用的手性配体为 2,2'-亚异丙基双((4S)-4-叔丁基-2-噁唑啉)。

$^1\text{H NMR}$ (250 Mhz, CDCl_3) δ 7.48 (q, 1H), 6.84 (t, 1H), 3.82 (s, 3H), 2.93 (q, 2H), 2.29 (q, 1H), 2.14 (q, 1H), 1.60 (m, 2H), 1.16 (t, 3H).

制备式 I 和 II 化合物

5 实施例 5

($\pm$)N-[顺式-2-(2-(6-氟-2-羟基-3-丙酰基苯基)-环丙基)-N'-(5-氟基吡啶-2-基)-脲

在氮气氛围下, 将 3-[1,1-(亚乙二氧基)丙基]-6-氟-2-甲氧基苯乙烯 (32.4 g, 实施例 2) 和溴化铜-二甲硫复合物(0.30 g)在二氯乙烷(200 ml) 10 中的溶液加热至 80°C . 在 7 小时内加入在二氯乙烷(600 ml)中的重氮基乙酸乙酯(54 ml). 加入完成后, 结束加热. 在 16 小时后, 蒸发溶剂并在硅胶上纯化所述残余物, 以乙酸乙酯和己烷洗脱, 得到顺式-酯(6.5 g).

将所述顺式-酯(3.7 g, 10.9 mmol)溶于乙醇(20 ml)中并将 KOH (1.8 15 g, 32.7 mmol)溶于水(10 ml)中. 合并所述溶液并加热至回流 3 小时. 加入水(30 ml)并以己烷(20 ml)洗涤所述溶液两次. 在冰浴上冷却水相并以稀 HCl 酸化. 以甲苯提取所述溶液三次. 干燥(MgSO_4)甲苯相并蒸发, 得到 1.9 g 的($\pm$)-顺式-2-[3-(1,1-亚乙二氧基丙基)-6-氟-2-甲氧基苯基]环丙基羧酸.

20 将三乙胺($59\ \mu\text{l}$, 0.43 mmol)和二苯基磷酰基叠氮化物($92\ \mu\text{l}$, 0.43 mmol)加入到所述酸(120 mg, 0.39 mmol)在干燥甲苯的溶液中. 在室温下, 将所述溶液搅拌 1 小时, 然后加热至 120°C . 在 1 小时后, 加入 2-氨基-5-氟基吡啶(51 mg, 0.43 mmol). 维持加热另外 3 小时. 在 16 小时后, 蒸发溶剂, 所述残余物溶于二氯甲烷(30 ml)中并以稀 HCl 25 洗涤, 干燥(MgSO_4)并蒸发, 得到 152 mg. 将所述产物溶于二氧六环中并加入 HCl(6 N, 1 ml). 在 2 小时后, 蒸发所述混合物, 使其溶于二氯甲烷(25 ml)中, 以水(10+10 ml)洗涤, 干燥(MgSO_4)并蒸发, 得到 117 mg. 所述残余物在硅胶上纯化, 以乙酸乙酯和己烷洗脱, 得

到 37 mg 的 2-甲氧基苯基中间体产物。

在-60℃下, 将三溴化硼在二氯甲烷中的 1 M 溶液(194 μl, 0.194 mmol)加入到所述 2-甲氧基苯基中间体(37 mg, 0.097 mmol)在二氯甲烷中的溶液中。在 10 分钟后, 撤除冷却浴并继续搅拌 2 小时。以二氯甲烷稀释所述溶液, 以稀 NaHCO₃ 和水洗涤, 干燥(MgSO₄)并蒸发。
5 所述残余物由 MeCN 重结晶, 得到 17 mg 标题化合物。

¹H NMR(250 MHz, DMSO-d₆) δ 1.07-1.16 (m, 4H), 1.41-1.50 (m, 1H), 1.91-2.01 (m, 1H), 3.06-3.19 (m, 3H), 6.86 (dd, 1H), 7.43 (d, 1H), 7.80-7.90 (m, 1H), 7.97-8.08 (m, 2H), 8.32 (d, 1H), 9.83 (s, 1H), 13.2 (d, 1H).

10

实施例 6

(1R,2R)-N-(顺式-2-(6-氟-2-羟基-3-丙酰基苯基)-环丙基)-N'-(5-氟基吡啶-2-基)-脲

将三乙胺(0.85 ml, 6.1 mmol)和二苯基磷酰基叠氮化物(1.72 g, 6.1 mmol)加入到在实施例 4 中制备的所述酸(1.47 g, 5.5 mmol)在干燥甲苯(15 mL)中的溶液中。在室温下, 于氩气氛中将所述溶液搅拌 30 分钟, 然后加热至 120℃。在 15 分钟后, 加入 2-氨基-5-氟基吡啶(0.99 g, 8.9 mmol)在 DMF(3 mL)中的溶液。继续加热 4 小时。蒸发甲苯, 所述混合物以乙醚(100 mL)和乙酸乙酯(50 mL)稀释并以 1 M HCl、H₂O 和盐水洗涤。干燥(Na₂SO₄)所述有机层并浓缩。所述残余物以硅胶快速柱层析法纯化, 以乙酸乙酯/正己烷 1:10 至 1:1 洗脱, 得到 1.6 g (66%) 所述 2-甲氧基苯基中间体。
15
20

在-72℃下, 于氩气氛中将三氯化硼在 CH₂Cl₂ 中的 1 M 溶液(11.0 mL, 11.0 mmol)加入到所述 2-甲氧基苯基中间体(1.40 g, 3.66 mmol)在 CH₂Cl₂(80 mL)中的溶液中。在 10 分钟后, 撤除冷却浴并继续搅拌 1 小时 15 分钟。所述溶液以 CH₂Cl₂ 稀释并以 NaHCO₃ 水溶液、H₂O 和盐水洗涤。干燥(Na₂SO₄)有机层并浓缩。来自乙腈/H₂O 1:1 的沉淀给出 0.62 g 纯的标题化合物。将其残余物浓缩并通过以乙酸乙酯/正己
25

烷 1:10 至 1:1 和乙酸乙酯洗脱的层析法, 然后从乙腈结晶, 给出 0.2 g 标题产物。其产量为 0.82 g(61%)。如同通过在手性柱上的 HPLC 测定的那样, 其 ee 为 95%。 $[\alpha]_D^{22} -171.2^\circ$ (c=0.50, CH₂Cl₂)。

¹H NMR(250 Mhz, CDCl₃) δ 13.35 (d, 1H), 10.02 (br s, 1H), 9.40 (br s, 1H), 8.11 (s, 1H), 7.71 (m, 2H), 7.00 (m, 1H), 6.61 (t, 1H), 3.21 (m, 1H), 3.01 (q, 2H), 2.03 (m, 1H), 1.55 (m, 1H), 1.29 (m, 4H).

实施例 7

(1R,2R)-N-[顺式-2-(2-(3-氨基苯基羧基氧基)-6-氟-3-丙酰基苯基)环丙基]-N'-(5-氟基吡啶-2-基)-脲

在室温下, 于氩气氛中向在实施例 6 中描述的化合物(1.64 g, 4.4 mmol)、BOC-保护的 3-氨基苯甲酸(1.6 g, 6.6 mmol)和 4-二甲基氨基吡啶(269 mg, 2.2 mmol)在 20 ml 二氯甲烷和 10 ml 的 DMF 中的溶液中加入 1.36 g(6.6 mmol)DCC。将所述反应混合物搅拌 24 小时。小心蒸发溶剂并使用作为溶剂的己烷/乙酸乙酯 1:1, 在硅胶上纯化残余物, 得到 2.6 g 的 BOC-保护的标题产物。在 0℃ 下, 将所述产物加入到 75 ml 三氟乙酸中。然后在 0℃ 下将所述混合物搅拌 1 小时。小心真空除去溶剂。在乙酸乙酯和饱和碳酸钾之间分配所述残余物。干燥所述有机相并蒸发。使用作为洗脱剂的乙酸乙酯/己烷 4:1, 在硅胶柱上纯化残余物, 得到 1.03 g 为游离碱的标题化合物。以在乙醚中的 3 ml 的 1 M HCl 处理该中间体并得到标题化合物 0.84 g。HPLC 纯度为大约 97%。

¹H NMR 释出的胺(250 MHz, CDCl₃) δ 1.09 (t, 3H), 1.2-1.3 (m, 1H), 1.4-1.5 (m, 1H), 1.95-2.00 (m, 1H), 2.83 (q, 2H), 3.15-3.25 (m, 1H), 3.85 (s, 2H), 6.90 (dd, 2H), 7.09 (t, 1H), 7.20-7.27 (m, 1H), 7.44-7.46 (m, 1H), 7.56 (dd, 1H), 7.65-7.77 (m, 2H), 8.13 (d, 1H), 9.1 (宽 s, 1H), 9.6 (宽 s, 1H).

实施例 8

(1S,2S)-N-(顺式-2-(6-氟-2-羟基-3-丙酰基苯基)-环丙基)-N'-(5-氟基吡啶-2-基)-脲

在氮气氛围下,将三乙胺(670 μ l, 4.8 mmol)和二苯基磷酰基叠氮化物(1.05 ml, 4.9 mmol)加入到在实施例 3 中制备的所述酸(1.2 g, 4.5 mmol)在干燥甲苯(10 ml)中的溶液中。在室温下,将所述溶液搅拌 30 分钟,然后加热至 120 $^{\circ}$ C。在 15 分钟后,加入 2-氨基-5-氟基吡啶(0.80 g, 6.7 mmol)在二甲基甲酰胺(1.5 ml)中的溶液并继续加热 4 小时。所述溶液以乙醚稀释并以 1 M 盐酸洗涤。干燥(MgSO₄)所述有机层并浓缩。残余物经硅胶快速层析法纯化(梯度洗脱,开始以正己烷/乙酸乙酯 1:1,以纯的乙酸乙酯完成),得到稍微不纯的 2-甲氧基苯基衍生物(0.93 g)。如同以上描述的那样,重复层析法,得到所述纯的 2-甲氧基苯基衍生物(0.70 g, 41%)。

在-60 $^{\circ}$ C下,将三氯化硼在二氯甲烷中的 1 M 溶液(5.5 ml, 5.5 mmol)加入到所述 2-甲氧基苯基中间体(700 mg, 1.8 mmol)在二氯甲烷中的溶液中。在 10 分钟后,撤除冷却浴并继续搅拌 2 小时。所述溶液以二氯甲烷稀释并以碳酸氢钠水溶液洗涤。干燥(MgSO₄)所述有机层并浓缩,将残余物通过硅胶快速层析法(梯度,正己烷:乙酸乙酯 2:1、1:1、1:2,乙酸乙酯:甲醇(8:1)纯化,得到标题化合物(500 mg, 74%)。

$[\alpha]_D^{22} +165.0^{\circ}$ (C=0.5, CH₂Cl₂)。

¹H NMR(DMSO-d₆) δ 1.10-1.16 (m, 4H, CH₃, CH₂-环丙基), 1.45 (dd, 1H, CH₂-环丙基), 1.96 (q, 1H, CH-环丙基), 3.10-3.19 (m, 3H, CH-环丙基, CH₂), 6.85 (t, 1H, Ar), 7.43 (d, 1H, Ar), 7.86-8.07 (m, 3H), 8.32 (s, 1H), 9.83 (s, 1H), 13.22 (s, 1H, Ar-OH)。

实施例 9

(1S,2S)-N-[顺式-2-(2-(3-氨基苯基羰基氧基)-6-氟-3-丙酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-氟基吡啶-2-基)-脲

5 从在实施例 6 中描述的化合物开始, 并使用在实施例 7 中描述的方法, 得到作为盐酸盐的标题产物。

^1H NMR(250 MHz, DMSO- d_6) δ 0.94 (t, 3H), 0.9-1.0 (m, 1H), 1.3-1.4 (m, 1H), 1.85-1.95 (m, 1H), 2.91 (q, 2H), 3.05-3.15 (m, 1H), 7.4-7.5 (m, 2H), 7.6-7.7 (m, 1H), 7.9-8.1 (m, 5H), 8.08 (d, 1H), 9.85 (s, 1H).

实施例 10

10 (1S,2S)-N-(顺式-2-(6-氟-2-羟基-3-丙酰基苯基)-环丙基)-N'-(5-溴吡啶-2-基)-脲

在室温下, 于氩气氛中将(1S,2R)-顺式-2-(6-氟-2-甲氧基-3-丙酰基苯基)环丙基羧酸(3.0 g, 11.3 mmol)、三乙胺(1.58 ml, 11.3 mmol)和二苯基磷酰基叠氮化物(2.44 ml, 11.3 mmol)溶于干燥甲苯(8 ml)中。

15 在室温下, 将所述反应混合物搅拌 30 分钟, 之后将温度升至 120°C 并维持另外 15 分钟。然后, 加入 2-氨基-5-溴吡啶(2.08 g, 12 mmol)并在 120°C 下将所述反应混合物搅拌 2.5 小时。加入苯和 1 M HCl 溶液并将所述有机相蒸发。使用己烷/乙酸乙酯 1:1 作为洗脱剂, 在硅胶

20 胶上纯化残余物。收集适当的部分并得到 5.0g(1S,2S)-N-(顺式-2-(6-氟-2-甲氧基-3-丙酰基苯基)-环丙基)-N'-(5-溴吡啶-2-基)-脲。将所述化合物溶于二氯甲烷(100 ml)中, 将所述溶液保持在氩气氛下并冷却至-65°C。加入三氯化硼(30 ml 在二氯甲烷中的 1 M 溶液, 30 mmol)并使所述反应混合物达到室温过夜。加入二氯甲烷和饱和碳酸氢钠。

25 蒸发有机相并使用乙酸乙酯:甲醇 9:1 作为洗脱液, 在硅胶上纯化残余物。得到 1.96 g(41%)标题化合物。

分析: 计算值: C 51.2, H 4.1, N 9.9。实测值: C 51.5, H 3.7, N 9.5。

Mp: 198-199°C. $[\alpha]_D^{22} +149.8^\circ$ (c=0.50, CH₂Cl₂).

^1H NMR(250 MHz, CDCl_3) δ 1.28 (t, 3H), 1.52-1.62 (m, 2H), 1.94-2.05 (m, 1H), 2.97-3.06 (m, 2H), 3.17-3.20 (m, 1H), 6.60 (t, 1H), 6.76 (宽 s, 1H), 7.57 (dd, 1H), 7.67-7.72 (m, 1H), 7.83 (宽 s, 1H), 8.53 (宽 s, 1H), 13.32 (d, 1H).

5

实施例 11

(1R,2R)-N-(顺式-2-(6-氟-2-羟基-3-丙酰基苯基)-环丙基)-N'-(5-溴吡啶-2-基)-脲

使用手性配体 2,2'-亚异丙基双(4S)-4-叔丁基-2-噁唑啉(从 Aldrich 得到), 如同在实施例 3 中描述的那样, 对在实施例 2 中描述的化合物实施不对称环丙烷化反应. 然后把得到的(1R,2S)-顺式-2-(6-氟-2-甲氧基-3-丙酰基苯基)环丙基羧酸以类似于实施例 10 的方法使用, 得到标题化合物.

^1H NMR(250 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 1.05-1.15 (m, 1H), 1.12 (t, 3H), 1.40-1.50 (m, 1H), 1.90 (q, 1H), 3.00-3.10 (m, 1H), 3.12 (q, 2H), 6.82 (t, 1H), 7.18 (d, 1H), 7.78 (dd, 1H), 7.88 (宽 s, 1H), 7.95-8.05 (m, 1H), 9.41 (宽 s, 1H), 13.20 (s, 1H).

15

$[\alpha]_D^{22}$ -153.8° ($c=0.50$, CH_2Cl_2).

20

实施例 12

(1S,2S)-N-[顺式-2-(2-(3-氨基苯基羧基氧基)-6-氟-3-丙酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-溴吡啶-2-基)-脲

在室温下, 于氩气氛中向实施例 10 的化合物(633 mg, 1.5 mmol)、BOC-保护的 3-氨基苯甲酸(475 mg, 2 mmol)和 4-二甲基氨基吡啶(123 mg, 1 mmol)在 20 ml 二氯甲烷:DMF 1:1 中的溶液中加入 415 mg (2 mmol)的 DCC. 将所述反应混合物搅拌 36 小时. 小心蒸发溶剂并使用作为溶剂的己烷:乙酸乙酯 1:1, 在硅胶上纯化残余物, 得到 811 mg 的 BOC-保护的标题产物. 将该产物溶于二氧六环(20 ml)中并加入 10

25

ml 的 6M HCl, 并将所述混合物搅拌过夜。小心真空除去溶剂。以乙醇和乙醚处理残余物, 得到 255 mg 作为 HCl 盐的标题产物。所述 HPLC 纯度为大约 93%。

¹H-NMR(250 MHz, CD₃OD) δ 1.15 (t, 3H), 1.3-1.4 (m, 1H), 1.5-1.6 (m, 1H), 2.05-2.15 (m, 3H), 3.04 (q, 2H), 3.23-3.27 (m, 1H), 7.16 (d, 1H), 7.34 (t, 1H), 7.85-7.93 (m, 2H), 8.05 (dd, 1H), 8.19 (宽 d, 1H), 8.26 (宽 s, 1H), 8.35-8.37 (m, 1H), 8.42-8.46 (m, 1H)。

实施例 13

(1S,2S)-N-[顺式-2-(2-(3-L-丙氨酰氨基苯基羧基氧基)-6-氟-3-丙酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-溴吡啶-2-基)-脲

参见例如 Bodanszky 的“肽合成的实践”第二版, Springer, 使用标准化学方法从 TCE-保护的 3-氨基苯甲酸制备起始化合物 BOC-保护的 3-L-丙氨酰氨基苯甲酸。如同在实施例 12 中描述的那样, 使该化合物与实施例 10 的化合物反应, 得到作为 HCl 盐的标题产物。
¹H-NMR(250 MHz, 释出的胺, CDCl₃) δ 1.10 (t, 3H), 1.15-1.25 (m, 1H), 1.4-1.5 (m, 1H), 1.42 (d, 2H), 1.76 (宽 s, 2H), 1.88-1.97 (m, 1H), 2.84 (q, 2H), 3.1-3.2 (m, 1H), 3.59-3.67 (m, 1H), 6.78 (d, 1H), 7.09 (t, 1H), 7.85-7.93 (m, 2H), 8.08 (d, 1H), 8.11 (s, 1H), 8.29 (宽 s, 1H), 9.05 (宽 s, 1H), 9.70 (宽 s, 1H)。

实施例 14

(1S,2S)-N-{顺式-2-[6-氟-3-丙酰基-2-(4-吡啶基羧基氧基)苯基]环丙基}-N'-(5-溴吡啶-2-基)脲

以类似实施例 12 的方法, 使实施例 10 的产物与异烟酸缩合, 得到作为 HCl 盐的标题产物。

¹H-NMR(250 MHz, CD₃OD) δ 9.26 (d, 2H), 8.83 (d, 2H), 8.14 (m, 2H), 8.04 (dd, 1H), 7.39 (t, 1H), 7.10 (d, 1H), 3.38 (m, 1H), 3.08 (m, 2H), 2.15

(m, 1H), 1.62 (m, 1H), 1.38 (m, 1H), 1.13 (t, 3H).

实施例 15

(1S,2S)-N-{顺式-2-[2-(3-二甲基氨基苯基羰基氧基)-6-氟-3-丙酰基苯基]环丙基}-N'-(5-溴吡啶-2-基)脲

以类似于实施例 12 的方法, 使实施例 10 的产物与 3-二甲基氨基苯甲酸缩合, 得到作为 HCl 盐的标题产物。

¹H-NMR(250 MHz, CD₃OD) δ 8.61 (s, 1H), 8.45 (d, 1H), 8.15-8.03 (m, 4H), 7.92 (t, 1H), 7.34 (t, 1H), 7.10 (d, 1H), 3.48 (s, 6H), 3.28 (m, 1H), 3.00 (m, 2H), 2.11 (m, 1H), 1.58 (m, 1H), 1.38 (m, 1H), 1.14 (t, 3H).

实施例 16

(1S,2S)-N-[顺式-2-(2-(3-氨基甲基苯甲酰氧基甲氧基)-5-氟-3-丙酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-溴吡啶-2-基)-脲

以四丁基氢氧化铵溶液(1 M 在 MeOH 中)处理 3-叔丁氧基羰基酰氨基甲基苯甲酸至 pH 9 并蒸发。将残余物溶于二氯甲烷中并以氯碘甲烷处理过夜。以水洗涤所述溶液并蒸发, 得到粗品 3-叔丁氧基羰基酰氨基甲基苯甲酰氧基甲基氯。用少量碘化钠作为催化剂, 该物料与实施例 10 的钠盐(在 DMF 中用氢化钠制备)反应。在 2 小时反应后, 以乙酸骤冷所述溶液并以二氯甲烷稀释, 以水洗涤并蒸发。经以乙酸乙酯/己烷 1:2 洗脱, 在硅胶上纯化所述粗品产物, 并以三氟乙酸处理所述纯的物料并蒸发, 得到作为固体的标题化合物的三氟乙酸盐。

¹H-NMR(CDCl₃) δ 1.1 (t, 3H), 1.3-1.5 (m, 2H), 2.2 (q, 1H), 2.9 (m, 2H), 3.2 (bs, 1H), 4.2 (s, 2H), 5.9 (q, 2H), 6.8 (d, 2H), 7.0 (t, 1H), 7.3-8.1 (m, 9H).

实施例 17

(1S,2S)-N-(顺式-2-(2-(3-氨基-4-甲基苯甲酰氧基)-6-氟-3-丙酰基苯基)环丙基)-N'-(5-溴吡啶-2-基)-脲

按照在实施例 12 中方法, 使来自实施例 10 的(1S,2S)-N-(顺式-2-(6-氟-2-羟基-3-丙酰基苯基)-环丙基)-N'-(5-溴吡啶-2-基)-脲与 3-叔丁氧基羰基酰氨基-4-甲基苯甲酸缩合。将其产物以三氟乙酸处理并蒸发, 得到作为固体的标题化合物的三氟乙酸盐。

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3) \delta$ 1.1 (t, 3H), 1.3-1.5 (m, 2H), 1.9 (q, 1H), 2.4 (s, 3H), 2.9 (q, 2H), 3.1 (BS, 1H), 7.1 (t, 1H), 7.4 (d, 1H), 7.8 (m, 1H), 7.9 (m, 2H), 8.1 (s, 1H), 8.3 (s, 1H).

实施例 18

(1S,2S)-N-(顺式-2-(2-(3-乙基氨基苯甲酰氧基)-6-氟-3-丙酰基苯基)环丙基)-N'-(5-溴吡啶-2-基)-脲

按照在实施例 12 中方法, 将实施例 10 的化合物与 3-(N-乙基-叔丁氧基羰基酰氨基)苯甲酸缩合, 并将其产物以三氟乙酸处理并蒸发, 得到作为固体的标题化合物的三氟乙酸盐。

$^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3) \delta$ 1.1 (t, 3H), 1.3-1.6 (m, 5H), 2.9 (q, 2H), 3.1 (bs, 1H), 3.5 (q, 2H), 7.1 (t, 1H), 7.2 (bs, 1H), 7.6 (t, 1H), 7.7-7.8 (m, 2H), 7.9 (d, 1H), 8.1 (s, 1H), 8.2 (d, 1H), 8.4 (s, 1H).

实施例 19

(1S,2S)-N-(顺式-2-(2-quinolo-4-基氧基-6-氟-3-丙酰基苯基)环丙基)-N'-(5-溴吡啶-2-基)-脲

按照实施例 12 中方法, 将实施例 10 的化合物与 4-喹啉酸缩合, 并将其产物溶于三氟乙酸中并蒸发, 得到作为固体的标题化合物的乙酸盐。

$^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3) \delta$ 1.1 (t, 3H), 1.2 (m, 1H), 1.5 (m, 1H), 1.9 (m, 1H), 2.8

(q, 2H), 3.2 (bs, 1H), 6.7 (d, 1H), 7.2 (t, 1H), 7.5 (m, 1H), 7.7 (t, 1H), 7.8-8.0 (m, 2H), 8.2 (d, 1H), 8.3 (d, 1H), 8.8 (d, 1H), 9.1 (m, 2H), 9.2 (bs, 1H).

5 实施例 20

(1S,2S)-N-(顺式-2-(3-氨基甲基-2-甲基苯甲酰氧基)-氟-3-丙酰基苯基)环丙基)-N'-(5-溴吡啶-2-基)-脲

按照实施例 12 中方法, 将实施例 10 的化合物与 3-叔丁氧基羰基酰氨基-2-甲基苯甲酸缩合。将其产物以三氟乙酸处理并蒸发, 得到作为固体的标题化合物。

$^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3) \delta$ 1.1 (t, 3H), 1.1-1.3 (m, 2H), 1.9 (m, 1H), 2.5 (s, 3H), 2.9 (q, 2H), 3.1 (bs, 1H), 4.2 (s, 2H), 7.0-7.2 (m, 2H), 7.4 (d, 1H), 7.6-7.7 (m, 2H), 7.8-8.0 (m, 2H), 8.2 (bs, 2H).

15 实施例 21

(1S,2S)-N-[顺式-2-(6-氟-2-(4-氨基甲基苯基羰基氧基)-3-丙酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-溴吡啶-2-基)-脲

通过向 4g 4-氟基苯甲酸在 200 ml MeOH 中的溶液中加入 6.5 g DCC 制备 4-(叔丁氧基羰基酰氨基甲基)苯甲酸。将所述混合物在室温下搅拌 70 小时, 过滤除去沉淀出的二环己基脲并在真空下浓缩滤液, 得到 7 g 粗产物。将所述甲基酯溶于 500 ml MeOH 中并加入 9.6 g $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 。将所述混合物以 NaBH_4 分次处理。5 小时后把所述反应混合物浓缩并除去沉淀。滤液以 150 ml 的 1M HCl(aq.) 酸化并以 2×100 ml 的 CH_2Cl_2 提取。该酸性的水相以 100 ml 的 25% $\text{NH}_3(\text{aq.})$ 处理, 以 3×100 ml CH_2Cl_2 提取, 以 Na_2SO_4 干燥并浓缩, 得到 2.64 g 棕色的油。

将该油溶于 30 ml 的二氧六环/水混合物(2:1)中并以 1.5g NaOH(s) 处理 20 小时。除去溶剂并加入 40 ml 叔丁醇/水混合物(1:1)。加入 3.7g

二碳酸二叔丁基酯后将该溶液搅拌 24 小时, 然后加入更多的水并用
 2 × 50 ml 己烷提取该混合物. 将所述水相以 NaHSO₄ 酸化(pH~1.5-2.0)
 并以 3 × 75 ml 乙醚提取. 将该合并的提取液以 50 ml 盐水洗涤, 以
 Na₂SO₄ 干燥并蒸发, 得到作为白色固体的中间体 4-(叔丁氧基羰基酰
 氨基甲基)苯甲酸.

将 4-(叔丁氧基羰基酰氨基甲基)苯甲酸和来自实施例 10 的
 (1S,2S)-N-(顺式-2-(6-氟-2-羟基-3-丙酰基苯基)-环丙基)-N'-(5-溴吡啶-
 2-基)-脲缩合, 并使用实施例 12 中描述的方法除去 BOC-保护基团,
 得到作为盐酸盐的标题产物.

¹H-NMR(250 MHz, CDCl₃) δ 0.98 (t, 3H), 1.05-1.20 (m, 1H), 1.31-1.49
 (m, 1H), 1.69-1.90 (m, 1H), 2.65 (q, 2H), 3.33-3.49 (m, 1H), 4.31 (宽 s,
 2H), 7.02-7.22 (m, 2H), 7.35-7.49 (m, 1H), 7.50-7.68 (m, 2H), 7.69-7.83
 (m, 2H), 8.08 (d, 1H), 8.37 (宽 s, 1H).

15 实施例 22

(1S,2SR)-N-[顺式-2-(6-氟-2-(N-甲基吲哚-5-羧基氧基)-3-丙酰基苯基)-
 环丙基]-N'-(5-溴吡啶-2-基)-脲

i) N-甲基吲哚-5-羧酸的制备

在室温下, 将 0.1 g 吲哚-5-羧酸与 2 当量的三氟甲磺酸甲酯在 1 ml
 DMF 中混合. 5 小时后蒸发溶剂并记录 ¹H-NMR:

¹H-NMR(250 MHz, DMSO-d₆) δ 2.76 (s, 3H), 6.57 (宽 s, 1H), 7.46-7.50
 (m, 2H), 7.75 (dd, 1H), 8.23-8.29 (m, 2H), 11.56 (宽 s, 1H).

ii) 制备标题化合物

使用实施例 12 中描述的方法, 将 N-甲基吲哚-5-羧酸和来自实
 施例 10 的(1S,2S)-N-(顺式-2-(6-氟-2-羟基-3-丙酰基苯基)-环丙基)-N'-
 (5-溴吡啶-2-基)-脲缩合, 得到作为盐酸盐的标题产物.

¹H-NMR(250 MHz, CDCl₃) δ 1.08 (t, 3H), 1.15-1.25 (m, 1H), 1.39-1.50
 (m, 1H), 1.92-2.08 (m, 1H), 2.89 (q, 2H), 2.90 (s, 3H), 3.20-3.35 (m, 1H),

6.55 (宽 s, 1H), 6.65 (宽 d, 1H), 7.11 (t, 1H), 7.20-7.29 (m, 2H), 7.41 (dd, 1H), 7.72-7.83 (m, 2H), 7.95 (dd, 1H), 8.51 (宽 s, 1H), 9.25 (宽 s, 1H), 9.43 (宽 s, 1H).

5 实施例 23

(1S,2S)-N-[顺式-2-(6-氟-2-(吲哚-4-羧基氧基)-3-丙酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-溴吡啶-2-基)-脲

10 使用实施例 12 中描述的方法, 将吲哚-4-羧酸和来自实施例 10 的(1S,2S)-N-(顺式-2-(6-氟-2-羟基-3-丙酰基苯基)-环丙基)-N'-(5-溴吡啶-2-基)-脲缩合, 得到作为盐酸盐的标题产物。

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, CDCl_3) δ 1.07 (t, 3H), 1.17-1.30 (m, 1H), 1.31-1.47 (m, 1H), 1.90-2.10 (m, 1H), 2.89 (q, 2H), 3.02-3.18 (m, 1H), 6.75 (宽 d, 1H), 7.00-7.35 (m, 4H), 7.55 (dd, 1H), 7.60 (d, 1H), 7.79 (dd, 1H), 7.89 (d, 1H), 8.10 (d, 1H), 9.27(宽 d, 2H).

15

实施例 24

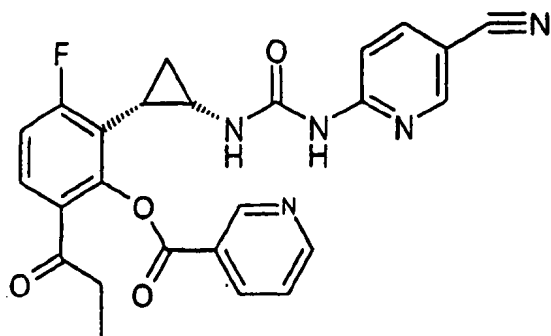
(1S,2S)-N-[顺式-2-(6-氟-2-(3-氨基-4-氯苯基羧基氧基)-3-丙酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-溴吡啶-2-基)-脲

20 使用实施例 12 中描述的方法, 将 3-氨基-4-氯苯甲酸和来自实施例 10 的(1S,2S)-N-(顺式-2-(6-氟-2-羟基-3-丙酰基苯基)-环丙基)-N'-(5-溴吡啶-2-基)-脲缩合, 得到作为盐酸盐的标题产物。

25 $^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, 释出的胺, CDCl_3) δ 1.10 (t, 3H), 1.17-1.30 (m, 1H), 1.42-1.52 (m, 1H), 1.88-2.01 (m, 1H), 2.88 (q, 2H), 3.19-3.31 (m, 1H), 4.25 (宽 s, 2H), 6.80 (宽 d, 1H), 7.09 (t, 1H), 7.35 (t, 1H), 7.48-7.60 (m, 2H), 7.66 (d, 1H), 7.73-7.88 (m, 2H), 9.25 (宽 s, 2H).

实施例 25

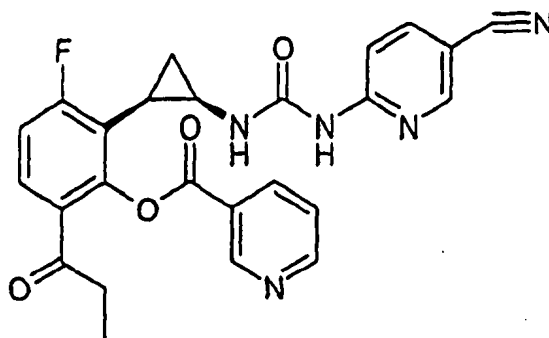
(1S,2S)-N-[顺式-2-(6-氟-2-(吡啶-3-基羧基氧基)-3-丙酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-氰基吡啶-2-基)-脲



- 5 将实施例 8 的化合物(50 g, 0.68 mmol)、*N,N'*-二环己基碳二亚胺(0.168 g, 0.81 mmol)、烟酸(0.1 g, 0.81 mmol)和 4-(二甲基氨基)吡啶(0.041 g, 0.34 mmol)的干燥混合物溶于 CH_2Cl_2 (5 ml)和 *N,N*-二甲基甲酰胺(DMF)(2.5 ml)中。然后在室温下搅拌该混合物。20 小时后, 过滤所述混合物并真空干燥, 然后再溶解在最小量的二氯甲烷中并过滤。将该澄清的溶液在硅胶上蒸发并通过层析法(乙酸乙酯)纯化, 得到标题化合物(0.168 g, 50%)。通过从氯仿-己烷重结晶得到分析样品。
- 10 ^1H NMR(CDCl_3): 9.89 (br s, 1H), 9.41 (m, 1H), 9.33 (br s, 1H), 8.86 (dd, 1H), 8.46 (dt, 1H), 8.18 (d, 1H), 7.80 (dd, 1H), 7.71 (dd, 1H), 7.49 (ddd, 1H), 7.13 (t, 1H), 6.92 (d, 1H), 3.18 (m, 1H), 2.88 (q, 2H), 1.99 (m, 1H),
- 15 1.52 (m, 1H), 1.25 (m, 1H), 1.13 (t, 3H).

实施例 26

(1R,2R)-N-[顺式-2-(6-氟-2-(吡啶-3-基羰基氧基)-3-丙酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-氰基吡啶-2-基)-脲



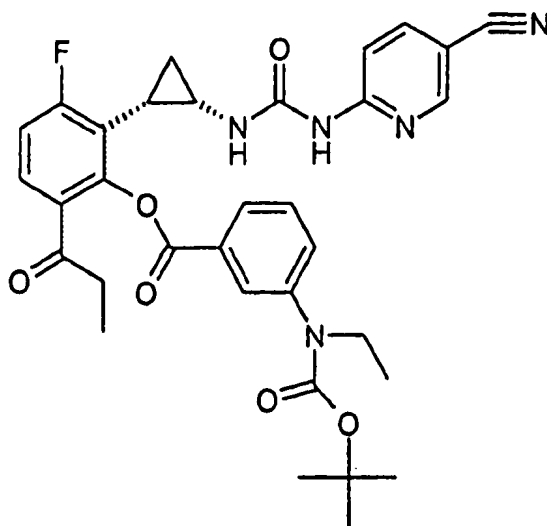
5 将实施例 6 的化合物(0.1 g, 0.27 mmol)、*N,N'*-二环己基碳二亚胺(0.067 g, 0.33 mmol)和烟酸(0.037 g, 0.3 mmol)的干燥混合物悬浮于二氯甲烷(2 ml)中。滴加最少的 DMF 以得到相当澄清的溶液。然后加入 4-(二甲基氨基)吡啶(0.016 g, 0.14 mmol)。在室温下, 搅拌该反应混合物。20 小时后, 真空蒸发溶剂并将粗品残余物溶于盐酸水溶液(pH

10 1-2)中并过滤。然后以碳酸氢钠使所述澄清溶液呈稍微碱性并过滤所沉淀出的产物。通过层析法(二氯甲烷-甲醇, 15:1)纯化, 得到标题化合物 0.072 g(56%)。

¹H NMR(CDCl₃): 9.85 (br s, 1H), 9.42 (s, 1H), 9.35 (br s, 1H), 8.86 (d, 1H), 8.47 (dt, 1H), 8.18 (d, 1H), 7.81 (dd, 1H), 7.71 (dd, 1H), 7.48 (dd, 1H), 7.13 (t, 1H), 6.92 (d, 1H), 3.19 (m, 1H), 2.91 (q, 2H), 1.99 (m, 1H), 1.49 (m, 1H), 1.24 (m, 1H), 1.13 (t, 3H)。

实施例 27

(1S,2S)-N-[顺式-2-(2-(3-(N-乙基,N-Boc-氨基)苯基羧基氧基)-6-氟-3-丙酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-氰基吡啶-2-基)-脲



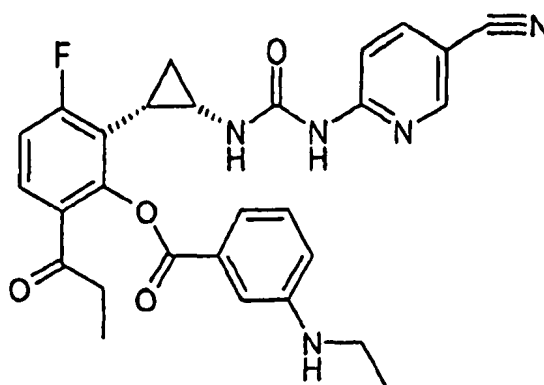
- 5 将实施例 8 的化合物(0.37 g, 1.0 mmol)、*N,N'*-二环己基碳二亚胺(0.25 g, 1.2 mmol)、4-二甲基氨基吡啶(0.06 g, 0.5 mmol)和 3-(N-乙基-N-丁氧基羰基)氨基苯甲酸(0.320 g, 1.2 mmol)(通过 3-氨基苯甲酸的还原性胺化, 随后保护所述氨基来制备)溶于二氯甲烷(8 ml)和 DMF(3 ml)中。然后在室温下将所述混合物搅拌。在 18 小时后, 真空除去溶剂
- 10 并将粗品产物再溶于二氯甲烷中且过滤。所述澄清溶液在硅胶上蒸发并通过层析法(乙酸乙酯-己烷, 3:2)纯化, 得到足够纯的标题化合物(0.24 g, 39%)。

¹H NMR(CDCl₃): 10.0 (br s, 2H), 8.20 (d, 1H), 8.06 (d, 1H), 8.03 (m, 1H), 7.77 (dd, 1H), 7.70 (dd, 1H), 7.48 (m, 2H), 7.10 (t, 1H), 6.95 (d, 1H), 3.71 (q, 2H), 3.14 (m, 1H), 2.90 (q, 2H), 1.95 (q, 1H), 1.44 (s, 10H), 1.2-1.09 (m, 7H).

15

实施例 28

(1S,2S)-N-[顺式-2-(2-(3-乙基氨基苯基羧基氧基)-6-氟-3-丙酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-氰基吡啶-2-基)-脲



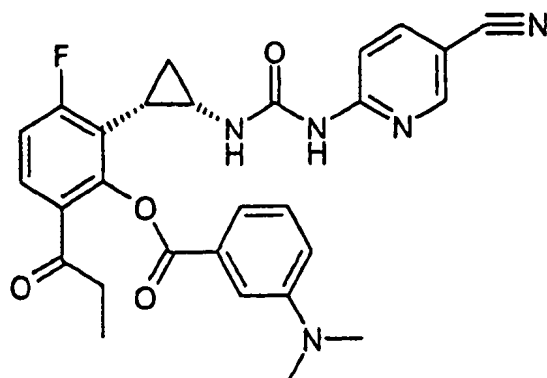
5 将三氟乙酸(5 ml)加入到实施例 27 的化合物(0.120 mg, 0.19 mmol)在二氯甲烷(10 ml)中搅拌着的溶液中。在室温下, 将所述混合物放置 1-2 小时。然后蒸发至干。在 HPLC(制备型 C-18 柱, 40%水在乙腈中)上纯化所述粗品产物, 得到 0.045 g(30%)作为三氟乙酸盐的标题化合物。

10 ^1H NMR(CDCl_3): 11.08 (br s, 2H), 9.83 (br s, 1H), 9.36 (br s, 1H), 8.23-8.08 (m, 3H), 7.82-7.54 (m, 4H), 7.13 (t, 1H), 7.02 (d, 1H), 3.42 (q, 2H), 3.20 (m, 1H), 2.83 (q, 2H), 1.94 (q, 1H), 1.46 (m, 1H), 1.34 (t, 3H), 1.24 (m, 1H), 1.06 (t, 3H).

15

实施例 29

(1S,2S)-N-[顺式-2-(2-(3-二甲基氨基苯基羧基氧基)-6-氟-3-丙酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-氰基吡啶-2-基)-脲



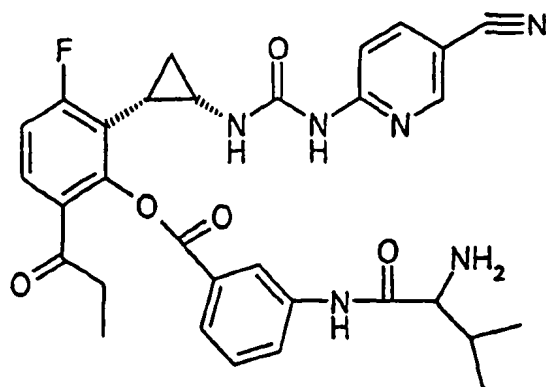
5 将实施例 8 的化合物(0.1 g, 0.27 mmol)、*N,N'*-二环己基碳二亚胺(0.067 g, 0.33 mmol)、4-二甲基氨基吡啶(0.016 g, 0.14 mmol)和 3-二甲基氨基苯甲酸(0.054 g, 0.39 mmol)溶于二氯甲烷(3 ml)和 DMF (1 ml)中。在室温下将所述反应物放置 16 小时。然后真空除去溶剂并将固体再溶于二氯甲烷中且过滤。通过层析法(乙酸乙酯-己烷, 2:1)随后经
10 HPLC(C-18 柱, 0.1% TFA 在乙腈中)纯化, 得到作为三氟乙酸盐的标题化合物 0.1 g(58%)。

¹H NMR(CDCl₃): 8.38-8.23 (m, 3H), 7.92-7.69 (m, 4H), 7.15 (t, 1H), 7.05 (m, 1H), 3.32 (s, 6H), 3.26 (m, 1H), 2.89 (q, 2H), 2.02 (m, 1H), 1.55-1.27 (m, 2H), 1.10 (t, 3H)。

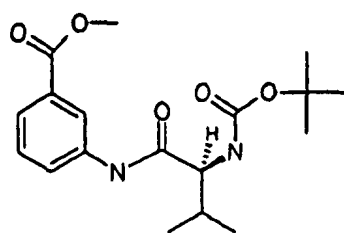
15

实施例 30

(1S,2S)-N-[顺式-2-(2-(3-L-缬氨酰氨基苯基羧基氧基)-6-氟-3-丙酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-氰基吡啶-2-基)-脲



5 a) 3-(N-Boc-L-缬氨酰)氨基甲基苯甲酸酯

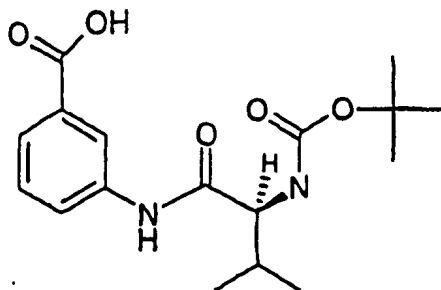


类似 Villaneuve 和 Chan 的方法, 四面体快报, 1997, 第 37 卷 第 6489-6492 页制备该中间体。在氮气氛围下, 将 *N*-叔丁氧基羰基-L-缬氨酸(2.17 g, 10 mmol)和六氯丙酮(1.32 g, 5 mmol)在二氯甲烷(20 ml)中的混合物搅拌并冷却至-78℃, 滴加入在二氯甲烷(10 ml)中的三苯基膦(2.6 g, 10 mmol)并把所述混合物搅拌 30 分钟。然后滴加入在二氯甲烷(10 ml)中的 3-氨基苯甲酸甲酯(1.5 g, 10 mmol), 随后加入在二氯甲烷中的三乙胺(1 g, 10 mmol)。然后使所述反应物达到室温, 之后真空下蒸发溶剂。经硅胶层析法(己烷-乙酸乙酯, 3:1)纯化残余物, 随后从乙酸乙酯-己烷中重结晶, 得到 0.7 g(28%)以上描述的纯的中间体。

¹H NMR(CDCl₃): 8.30 (br s, 1H), 8.07 (d, 1H), 7.85-7.75 (m, 2H), 7.37 (t,

1H), 5.15 (d, 1H), 4.05 (m, 1H), 3.91 (s, 3H), 2.26 (m, 1H), 1.48 (s, 9H), 1.03 (dd, 6H).

b) 3-(N-Boc-L-缬氨酰)氨基苯甲酸



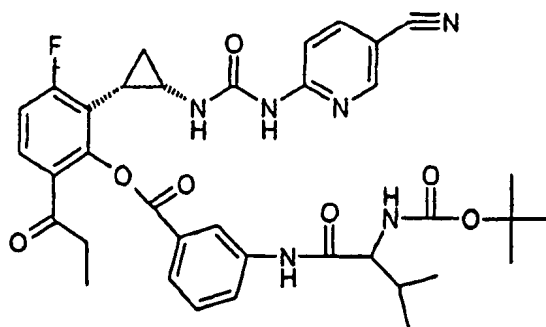
5

将步骤 a) 中间体(0.65 mg, 1.8 mmol)悬浮于甲醇(6 ml)和水(2 ml)中。加入氢氧化锂(0.11 g, 3.9 mmol)并在室温下将所述混合物搅拌 24 小时。然后加入水(10 ml)并把其体积减少至一半。以 10-20 ml 乙酸乙酯洗涤所述水溶液, 然后以盐酸水溶液酸化。以乙酸乙酯(2 × 20 ml)提取, 干燥并真空蒸发, 得到以上描述的纯的中间体 0.524 g(84%)。

10

¹H NMR(CD₃OD): 8.23 (t, 1H), 7.84 (d, 1H), 7.76 (d, 1H), 7.42 (t, 1H), 6.70 (d, 1H), 4.00 (m, 1H), 2.08 (m, 1H), 1.45 (a, 9H), 1.00 (d, 6H).

c) (1S,2S)-N-[顺式-2-(2-(3-N-Boc-L-缬氨酰氨基苯基羧基氧基)-6-氟-3-丙酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-氨基吡啶-2-基)-脲



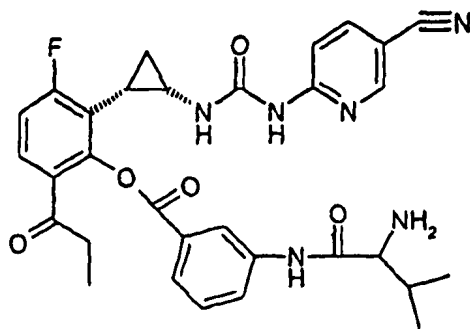
15

将实施例 8 的化合物(0.23 g, 0.62 mmol)、N,N'-二环己基碳二亚胺(0.153 g, 0.74 mmol)、4-二甲基氨基吡啶(0.038 g, 0.3 mmol)和步骤 b) 中间体(0.25 g, 0.74 mmol)溶于二氯甲烷(9 ml)和 DMF (3 ml)中。在

室温下, 将所述反应物放置 19 小时。真空除去溶剂并将固体重新溶于二氯甲烷中且过滤。通过层析法(乙酸乙酯-己烷, 1:1)纯化, 得到 0.029 g(67%)纯的 N-保护标题化合物。

¹H NMR(CD₃OD): 8.56 (t, 1H), 8.27 (s, 1H), 7.98-7.82 (m, 4H), 7.53 (t, 1H), 7.23 (t, 1H), 7.10 (d, 1H), 3.98 (d, 1H), 3.09 (m, 1H), 2.90 (q, 2H), 2.06-1.93 (m, 2H), 1.44 (m, 10H), 1.18-0.94 (m, 10H).

d) (1S,2S)-N-[顺式-2-(2-(3-L-缬氨酰氨基苯基羰基氧基)-6-氟-3-丙酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-氰基吡啶-2-基)-脲

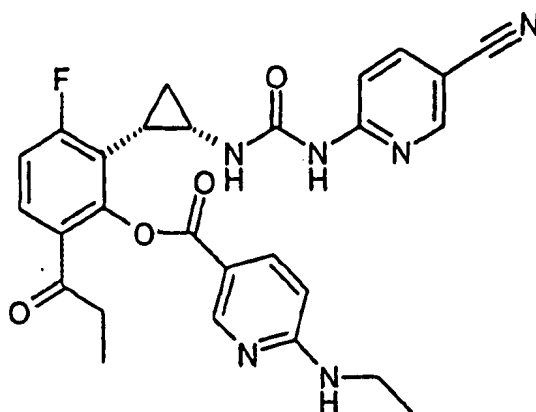


10 将 N-保护的步骤 c) 的化合物(0.16 g, 0.23 mmol)和苯硫酚(0.054 g, 0.46 mmol)溶于二氯甲烷(6 ml)中并冷却至 0℃。加入三氟乙酸(6 ml)并使所述混合物达到室温且放置 1 小时。蒸发至干, 随后经层析法(二氯甲烷-甲醇, 10:1.5)纯化, 得到 0.150 g(90%)作为 TFA 盐的标题化合物。

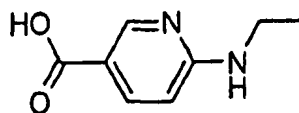
15 ¹H NMR(CD₃OD): 8.60 (s, 1H), 8.25 (d, 1H), 8.0-7.85 (m, 4H), 7.53 (t, 1H), 7.21 (t, 1H), 7.09 (d, 1H), 5.0 (m, 1H), 3.12 (m, 1H), 2.96-2.87 (m, 2H), 2.20 (m, 1H), 1.97 (m, 1H), 1.46 (m, 1H), 1.09-1.03 (m, 10H).

实施例 31

(1S,2S)-N-{顺式-2-[6-氟-3-丙酰基-2-(6-乙基氨基吡啶-3-基羧基氧基)苯基]环丙基}-N'-(5-氟基吡啶-2-基)脲



5 a) 6-乙基氨基烟酸

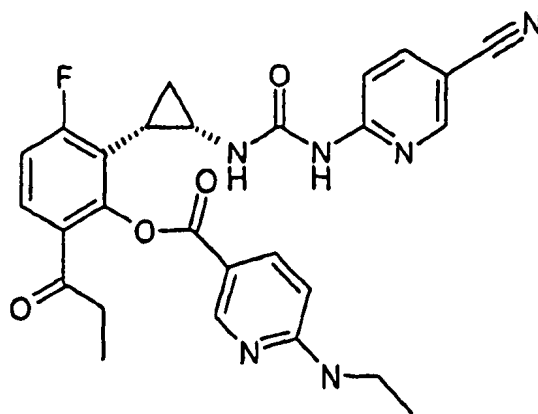


通过与实施例 35 步骤 a) 中描述的相同的方法，从 6-氯烟酸和乙基胺制备该中间体。以 1-丁醇替代乙酸乙酯用于提取。重结晶

10 (MeOH-CHCl₃) 得到 0.53 g (50%)。

¹H NMR(DMSO-d₆): 12.1 (br s, 1H), 8.54 (d, 1H), 7.77 (dd, 1H), 7.15 (t, 1H), 6.45 (dd, 1H), 3.33 (m, 2H), 1.14 (t, 3H).

b) (1S,2S)-N-{顺式-2-[6-氟-3-丙酰基-2-(6-乙基氨基吡啶-3-基羧基氧基)苯基]环丙基}-N'-(5-氰基吡啶-2-基)脲

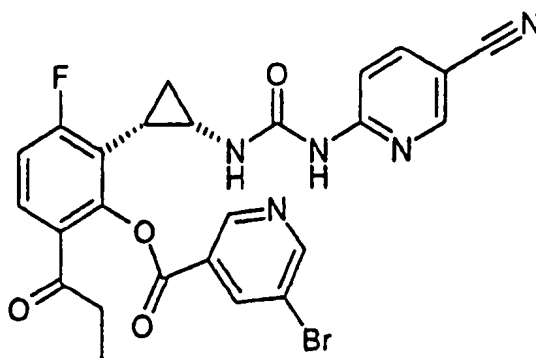


将实施例 8 的化合物(0.1 g, 0.27 mmol)、6-乙基氨基烟酸(0.084 g, 0.54 mmol)、*N,N'*-二环己基碳二亚胺(0.127 g, 0.62 mmol)和 4-二甲氨基吡啶(0.016 g, 0.13 mmol)溶于 DMF(3 ml)中并在环境温度下放置。在 19 小时后, 真空除去溶剂并把残余物悬浮于二氯甲烷中且过滤。除去溶剂并经层析法(乙酸乙酯-己烷, 2:1)纯化所述粗品产物, 得到标题化合物(0.063 g, 45%)。

¹H NMR(CDCl₃): 9.85 (br s, 1H), 9.25 (br s, 1H), 8.91 (d, 1H), 8.18-8.02 (m, 3H), 7.76-7.67 (m, 2H), 7.65 (t, 1H), 6.96 (d, 1H), 6.37 (d, 1H), 5.40 (m, 1H), 3.37 (m, 2H), 3.19 (m, 1H), 2.8 (q, 2H), 1.98 (m, 1H), 1.49 (m, 1H), 1.28 (t, 3H), 1.15 (m, 1H), 1.10 (t, 3H).

实施例 32

(1S,2S)-N-{顺式-2-[6-氟-3-丙酰基-2-(5-溴吡啶-3-基羧基氧基)苯基]环丙基}-N'-(5-氰基吡啶-2-基)脲



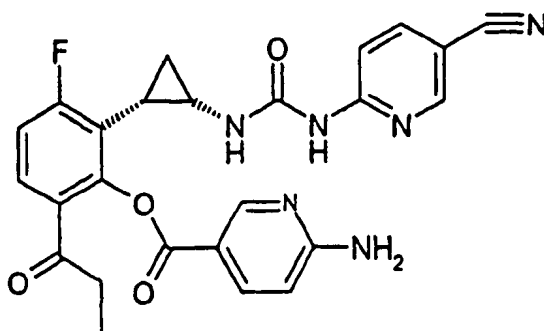
5 将 5-溴烟酸(0.065 g, 0.33 mmol)、实施例 8 的化合物(0.1 g, 0.27 mmol)、*N,N'*-二环己基碳二亚胺(0.127 g, 0.62 mmol)和 4-二甲基氨基吡啶(0.016 g, 0.13 mmol)溶于二氯甲烷(4 ml)中并在环境温度下放置。在 19 小时后, 将所述混合物过滤并真空除去溶剂。经层析法(乙酸乙酯-己烷, 1:1)纯化所述粗品产物, 得到标题化合物 (0.040 g, 27%)。

10 ¹H NMR(CDCl₃): 9.80 (br s, 1H), 9.30 (d, 1H), 9.17 (br s, 1H), 8.89 (d, 1H), 8.57 (dd, 1H), 8.57 (dd, 1H), 7.80 (dd, 1H), 7.70 (dd, 1H), 7.12 (t, 1H), 6.83 (d, 1H), 3.25 (m, 1H), 2.87 (q, 2H), 2.00 (q, H), 1.50 (m, 1H), 1.24 (m, 1H), 1.12 (t, 3H)。

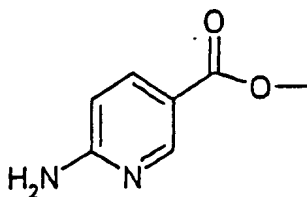
15

实施例 33

(1S,2S)-N-{顺式-2-[6-氟-3-丙酰基-2-(6-氨基吡啶-3-基羧基氧基)苯基]环丙基}-N'-(5-氰基吡啶-2-基)脲



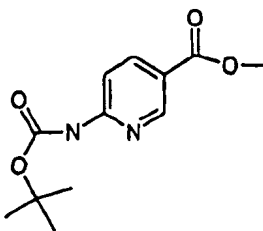
5 a) 6-氨基烟酸甲酯



将 6-氨基烟酸(2 g, 22 mmol)溶于甲醇(10 ml)和硫酸(0.5 ml)中。将所述溶液回流过夜并真空蒸发溶剂。将其粗品产物溶于水-EtOAc 中并经碳酸氢钠水溶液使之碱化。通过 EtOAc 提取，得到以上描述的纯的中间体(2.3 g, 70%)。

$^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6): 8.51 (dd, 1H), 7.81 (dd, 1H), 6.66 (br s, 2H), 6.45 (dd, 1H), 3.77 (s, 3H)。

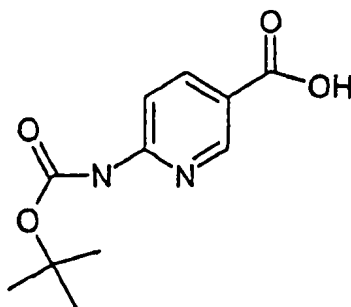
b) 6-丁氧基羰基氨基烟酸甲酯



将步骤 a) 中间体(0.75 g, 4.9 mmol)溶于 THF (5 ml)中。滴加入双

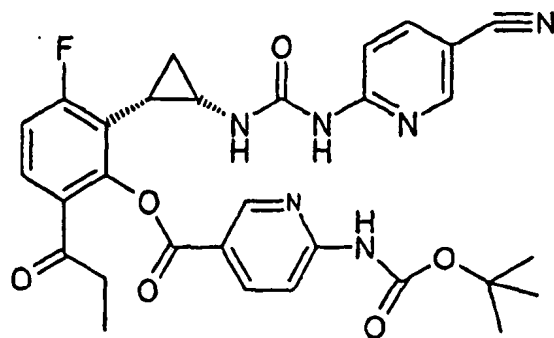
(三甲基甲硅烷基)氯化钠(5 ml, 2 M 在 THF 中). 在室温下搅拌 30 分钟. 加入在 THF(8 ml)中的二碳酸二叔丁基酯(1.1 g, 5 mmol). 在氮气氛下, 将所述反应混合物放置过夜. 然后将所述溶液真空蒸发并使之溶于 EtOAc(40 ml)和 0.1 M 盐酸(100 ml)中. 分层并以 EtOAc (40 ml) 5 提取所述水相两次, 然后以碳酸氢钠水溶液将其稍微碱化并以 EtOAc (20 ml)再提取一次. 合并所述有机部分, 经硫酸钠干燥并经层析法 (EtOAc-己烷, 1:4)纯化, 得到以上描述的纯的中间体(0.5 g, 40%).
 $^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3)$: 8.93 (dd, 1H), 8.62 (s, 1H), 8.26 (dd, 1H), 8.06 (dd, 1H), 3.91 (s, 3H), 1.60 (s, 9H).

10 c) 6-叔丁氧基羰基氨基烟酸



将步骤 c) 中间体(0.4 g, 1.6 mmol)悬浮于甲醇(4 ml)和水(1.25 ml)中. 加入 LiOH(0.1 g, 4 mmol). 在室温下, 将所述浆化物放置 48 小时. 然后将澄清的溶液真空浓缩并溶于水中, 以乙酸酸化(pH=4-5). 15 以 EtOAc 提取, 得到以上描述的纯的中间体(0.27 g, 70%).
 $^1\text{H NMR}(\text{DMSO}-d_6)$: 9.98 (s, 1H), 8.74 (d, 1H), 8.18 (d, 1H), 8.88 (d, 1H), 1.49 (s, 9H).

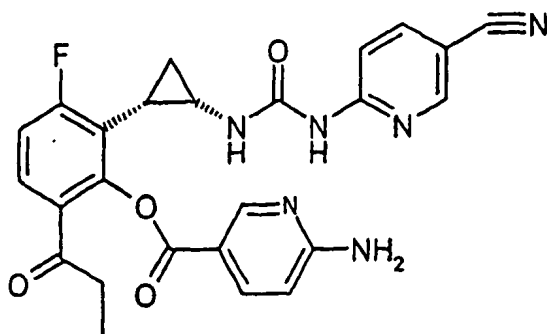
d) (1S,2S)-N-{顺式-2-[6-氟-3-丙酰基-2-(6-叔丁氧基羰基氨基-吡啶-3-基羰基氧基)苯基]环丙基}-N'-(5-氰基吡啶-2-基)脲



将实施例 8 的化合物(0.150 g, 0.41 mmol)、步骤 c) 中间体(0.17 g, 0.49 mmol)、*N,N'*-二环己基碳二亚胺(0.1 g, 0.49 mmol)和 4-二甲基氨基吡啶(0.06 g, 0.49 mmol)溶于 DMF(2 ml)中。在室温下，将所述混合物搅拌过夜，然后放入 50℃ 油浴中 2 小时。在硅胶上蒸发并经层析法纯化，得到 *N*-保护的标题化合物(0.048 g, 20%)。

¹H NMR(CDCl₃/CD₃OD): 9.02 (s, 1H), 8.43 (dd, 1H), 8.22 (d, 1H), 8.10 (d, 1H), 7.81-7.75 (m, 2H), 7.15 (t, 1H), 7.08 (d, 1H), 3.15-3.05 (m, 1H), 2.90 (q, 2H), 1.96 (m, 1H), 1.56 (s, 9H), 1.50-1.40 (m, 1H), 1.25-1.09 (m, 4H).

e) (1S,2S)-N-{顺式-2-[6-氟-3-丙酰基-2-(6-氨基吡啶-3-基羰基氧基)苯基]环丙基}-N'-(5-氰基吡啶-2-基)脲



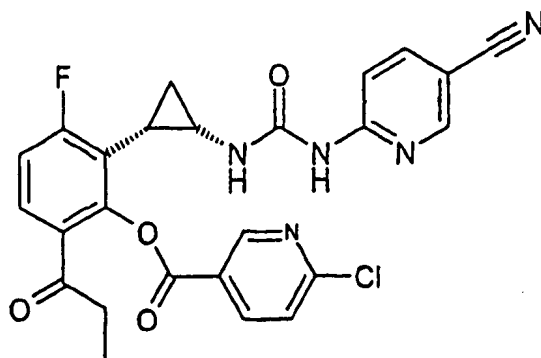
将步骤 d) 中间体(0.048 g, 0.08 mmol)溶于二氯甲烷(2 ml)中。加

入三氟乙酸(1 ml)并把所述混合物搅拌 1 小时。真空蒸发, 得到粗品标题化合物。将所述产物溶于乙醚(2 ml)中并放置过夜。滤出形成的白色沉淀, 得到作为三氟乙酸盐的纯的标题化合物(0.032 g, 65%).

¹H NMR(CD₃OD/CDCl₃): 8.71 (d, 1H), 8.29 (dd, 1H), 8.16 (t, 1H),
 5 8.82.7.74 (m, 2H), 7.20 7.10 (m, 2H), 6.96 (d, 1H), 3.25 (m, 1H), 2.86 (m, 2H), 1.96 (m, 1H), 1.52-1.43 (m, 1H), 1.24-1.19 (m, 1H), 1.09 (t, 3H).

实施例 34

(1S,2S)-N-{顺式-2-[6-氟-3-丙酰基-2-(6-氯吡啶-3-基羰基氧基)苯基]环
 10 丙基}-N'-(5-氯基吡啶-2-基)脲

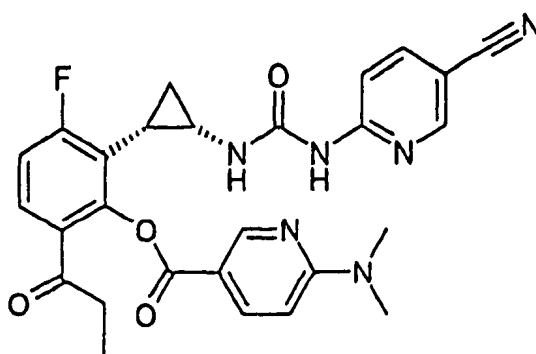


将实施例 8 的化合物(0.15 g, 0.4 mmol)、6-氯烟酸(0.076 g, 0.49 mmol)、N,N'-二环己基碳二亚胺(0.1 g, 0.49 mmol)和 4-二甲基氨基吡啶(0.024 g, 0.2 mmol)溶于二氯甲烷(4 ml)中。将所述混合物放置过
 15 夜, 真空蒸发, 经层析法(EtOAc-己烷, 1:2)纯化, 得到标题化合物(0.067 g, 32%).

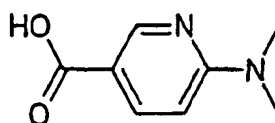
¹H NMR(CDCl₃): 9.77 (br s, 1H), 9.18 (br d, 2H), 8.39 (dd, 1H), 8.14,
 7.79 (dd, 1H), 7.71 (dd, 1H), 7.46 (d, 1H), 7.13 (t, 1H), 6.92 (d, 1H), 3.25
 (m, 1H), 2.88 (q, 2H), 2.00-1.90 (m, 1H), 1.55-1.46 (m, 1H), 1.25-1.22 (m,
 20 1H), 1.11 (t, 3H).

实施例 35

(1S,2S)-N-{顺式-2-[6-氟-3-丙酰基-2-(6-二甲基氨基吡啶-3-基羰基氧基)苯基]环丙基}-N'-(5-氟基吡啶-2-基)脲



5 a) 6-二甲基氨基烟酸



在 130℃ 下，在密封压力容器中将 6-氯烟酸(0.5 g, 3.17 mmol)和二甲基胺(10 ml, 40%在水中)加热 6 小时。然后除去溶剂并以水提取
10 残余物，并把其 pH 调至 4-5。以二氯甲烷提取，得到以上描述的纯的中间体(0.1 g, 20%)。

¹H NMR(CDCl₃): 8.87 (dd, 1H), 8.04 (dd, 1H), 6.49 (dd, 1H), 3.18 (s, 6H).

15 b) (1S,2S)-N-{顺式-2-[6-氟-3-丙酰基-2-(6-二甲基氨基吡啶-3-基羰基氧基)苯基]环丙基}-N'-(5-氟基吡啶-2-基)脲

将实施例 8 的化合物(0.13 g, 0.3 mmol)、步骤 a)中间体(0.05 g, 0.3 mmol)、N,N'-二环己基碳二亚胺(0.09 g, 0.4 mmol)和 4-二甲基氨基吡啶(0.02 g, 0.18 mmol)溶于二氯甲烷(3ml)和 DMF(1ml)中。将所述混合物放置过夜，真空蒸发并经层析法(EtOAc-己烷, 2:1)纯化，得到标题
20 化合物(0.06 g, 39%)。

^1H NMR(CDCl_3): 10.10 (br s, 1H), 9.29 (br s, 1H), 8.18 (d, 1H), 8.12 (dd, 1H), 7.76-7.60 (m, 2H), 7.06 (t, 1H), 6.95 (d, 1H), 6.62 (d, 1H), 3.18 (m, 7H), 2.83 (q, 2H), 2.10-1.99 (m, 1H), 1.51-1.42 (m, 1H), 1.19 (m, 1H), 1.09 (t, 3H).

5

实施例 36

(1S,2S)-N-[顺式-2-(6-氟-2-O-3-丙酰基苯基)-环丙基]-N'-(5-氟基吡啶-2-基)脲-O-4-羟基苯甲酸酯

a) 4-苄氧基苯甲酸

10 向 4-羟基苯甲酸(6.9 g, 50 mmole)在 150 ml 的 DMF 中的溶液中加入叔丁醇钾(12.34 g, 110 mmole), 并在室温下将所述混合物搅拌一小时。加入苄基溴(20.5 g, 120 mmole)并在室温下将所述混合物搅拌两天。减压下蒸发所述混合物并加入 100 ml 的 1,4-二氧六环和氢氧化钠(6.0 g, 150 mmole)在 50 ml 水中的溶液。将所述混合物回流两小
15 时, 冷却并减压下蒸发。加入水并以乙酸使所述混合物酸化。将所述产物过滤, 以冷水洗涤并干燥。产量: 10.2 g=89%。

b) 4-苄氧基苯甲酰氯

向 4-苄氧基苯甲酸(2.28 g, 10 mmole)在 20 ml 干燥二氯甲烷中的混合物中加入 5 滴 DMF 和 2.5 ml 亚硫酸氯。将所述混合物回流三小
20 时并减压下蒸发。产量: 2.45 g=100%。

c) (1S,2H)-N-[顺式-2-(6-氟-2-O-3-丙酰基苯基)环丙基]-N'-[2-(5-氟基吡啶-2-基)脲-O-4-苄氧基苯甲酸酯

向(1S,2S)-N-[顺式-2-(6-氟-2-羟基-3-丙酰基苯基)环丙基]-N'-(5-氟基吡啶-2-基)脲(184 mg, 0.5 mmole)在 3 ml 的 DMF 中的溶液中加入
25 叔丁醇钾(78.5 mg, 0.7 mmole), 并在室温下将所述混合物搅拌一小时。加入 4-苄氧基苯甲酰氯(185 mg, 0.75 mmole)在 1 ml 的 DMF 中的溶液并在室温下把所述混合物搅拌过夜。加入 40 ml 乙酸乙酯并以水将所述有机相洗涤四次。以硫酸钠干燥所述溶液并减压下蒸发。

产物经硅胶柱层析法分离。产量: 180 mg=62%。

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO δ -6): 0.92 (m, 4H), 1.31 (m, 1H), 1.85 (m, 1H), 2.82 (m, 2H), 3.06 (m, 1H), 5.26 (s, 2H), 7.20 (m, 2H), 7.38-8.12 (m, 11H), 8.38 (m, 1H).

- 5 d) (1S,2S)-N-[顺式-2-(6-氟-2-O-3-丙酰基苯基)环丙基]-N'-(5-氟基吡啶-2-基)]脲-O-4-羟基苯甲酸酯的合成

在室温和正常压力下, 将(1S,2S)-N-[顺式-2-(6-氟-2-O-3-丙酰基苯基)环丙基]-N'-(5-氟基吡啶-2-基)]脲-O-4-苄氧基苯甲酸酯(170 mg, 0.29 mmole)在 15 ml 乙酸乙酯和 15 ml 甲醇中的溶液用 10% 披钨炭(30 mg)氢化三次, 过滤催化剂并以乙酸乙酯和甲醇洗涤, 并减压下将所述溶液蒸发。产物经硅胶柱层析法分离。产量: 100 mg=70%。

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO δ -6): 0.93 (m, 4H), 1.32 (m, 1H), 1.88 (m, 1H), 2.85 (m, 2H), 3.05 (m, 1H), 6.92 (m, 2H), 7.38 (m, 2H), 8.00 (m, 4H), 8.38 (m, 1H).

15

实施例 37

(1S,2S)-N-[顺式-2-(6-氟-2-O-3-丙酰基苯基)-环丙基]-N'-[2-(5-氟基吡啶基)]脲-O-亚甲基-4-羟基苯甲酸酯

a) 4-(4-甲氧基苄氧基)苯甲酸甲酯

- 20 向 4-羟基苯甲酸甲酯(6.85 g, 45 mmole)在 80 ml DMF 中的溶液中加入叔丁醇钾(5.6 g, 51 mmole)并在室温下将所述混合物搅拌一小时。加入 4-甲氧基苄基氯(8.3 g, 52 mmole)并在室温下将所述混合物搅拌过夜。减压下将所述混合物蒸发并加入 200 ml 乙酸乙酯。以水将所述有机相洗涤四次, 以硫酸钠干燥并减压下蒸发。产量: 12.3 g=100%。

25

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 3.82 (s, 3H), 3.88 (s, 3H), 5.03 (s, 2H), 6.96 (m, 4H), 7.36 (d, 2H), 7.98 (d, 2H).

b) 4-(4-甲氧基苄氧基)苯甲酸

向 4-(4-甲氧基苄氧基)苯甲酸甲酯(12.2 g, 44.8 mmole)在 50 ml 的 1,4-二氧六环中的溶液中加入氢氧化锂(2.15 g, 89.6 mmole)溶液并在 60℃ 下把所述混合物搅拌过夜。减压下蒸发所述混合物并加入 5% 乙酸。将所述产物过滤, 以水洗涤并干燥。产量: 10.1 g = 87%。

$^1\text{H-NMR}(\text{DMSO } \delta -6)$: 3.74 (s, 3H), 5.08 (s, 2H), 6.92 (d, 2H), 7.06 (d, 2H), 7.36 (d, 2H), 7.90 (d, 2H)。

c) 4-(4-甲氧基苄氧基)苯甲酸氯甲酯

向 4-(4-甲氧基苄氧基)苯甲酸(5.16 g, 20 mmole)在 100 ml 的 1,4-二氧六环中的溶液中加入 40% 氢氧化四丁基铵(14.27 g, 22 mmole)溶液并在室温下将所述混合物搅拌 2 小时。减压下将所述混合物蒸发并与 1,4-二氧六环共同蒸发两次且与甲苯共同蒸发两次。将所述干燥的产物溶于 60 ml 二氯甲烷中并加入碘氯甲烷(35.3 g, 200 mmole)。在室温下, 将所述溶液搅拌两天并减压下蒸发。加入大约 100 ml 乙酸乙酯并以水洗涤所述有机相两次。以硫酸钠干燥并减压下蒸发。经硅胶柱层析法纯化其产物。产量: 4.48 g = 73%。

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: 3.83 (s, 3H), 5.06 (s, 2H), 5.94 (s, 2H), 7.00 (m, 4H), 7.36 (d, 2H), 8.05 (d, 2H)。

d) 4-(4-甲氧基苄氧基)苯甲酸碘甲酯

向 4-(4-甲氧基苄氧基)苯甲酸氯甲酯(0.77 g, 2.5 mmole)在 15 ml 干燥丙酮中的溶液中加入碘化钠(1.87 g, 12.5 mmole)并在室温下将所述混合物搅拌过夜。减压下将所述混合物蒸发并以乙酸乙酯/水提取。以 5% 硫代硫酸钠溶液洗涤所述有机相, 以硫酸钠干燥并减压下蒸发。产量: 0.86 g = 86%。

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: 3.84 (s, 3H), 5.05 (s, 2H), 6.14 (s, 2H), 6.98 (m, 4H), 7.36 (d, 2H), 8.00 (d, 2H)。

e) (1S,2S)-N-[顺式-2-(6-氟-2-O-3-丙酰基苯基)环丙基]-N'-[2-(5-氟基吡啶基)脲-O-亚甲基-4-(4-甲氧基苄氧基)苯甲酸酯

向(1S,2S)-N-[顺式-2-(6-氟-2-羟基-3-丙酰基苯基)环丙基]-N'-[2-(5-氟基吡啶基)脲(368 mg, 1 mmole)在 5 ml 的 DMF 中的溶液中加入
5 60%氯化钠在矿物油中的悬浮液(44 mg, 1.1 mmole)并在室温下将所述混合物搅拌一小时。加入 4-(4-甲氧基苄氧基)苯甲酸碘甲酯(0.84 g, 2.1 mmole)在 2 ml 的 THF 中的溶液并在室温下将所述混合物搅拌过夜。加入 50 ml 乙酸乙酯并以水把所述有机相洗涤四次, 以硫酸钠干燥并减压下蒸发。经硅胶柱层析法分离所述产物。产量: 525 mg = 82%。
10 ¹H-NMR(CDCl₃): 0.91 (m, 3H), 1.32 (m, 1H), 1.60 (m, 1H), 2.04 (m, 1H), 2.90 (m, 2H), 3.20 (m, 1H), 3.82 (s, 3H), 5.04 (s, 2H), 5.84-6.06 (m, 2H), 6.91-8.18 (m, 13H).

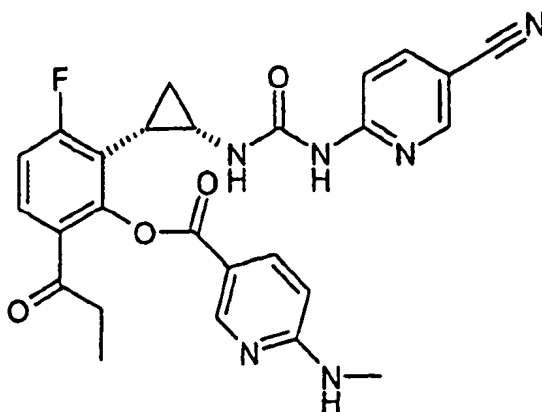
f) (1S,2S)-N-[顺式-2-(6-氟-2-O-3-丙酰基苯基)环丙基]-N'-[2-(5-氟基吡啶基)]脲-O-亚甲基-4-羟基苯甲酸酯

15 向(1S,2S)-N-[顺式-2-(6-氟-2-O-3-丙酰基苯基)环丙基]-N'-[2-(5-氟基吡啶基)脲-O-亚甲基-4-(4-甲氧基苄氧基)苯甲酸酯(100 mg, 0.156 mmole)在 4 ml 二氯甲烷中的溶液中加入 TFA(0.5 ml)并在室温下将所述溶液搅拌一小时。减压下将所述溶液蒸发并经硅胶柱层析法分离产物。产量: 45 mg = 55%。

20 ¹H-NMR(DMSO δ -6): 0.84 (m, 3H), 1.10 (m, 1H), 1.48 (m, 1H), 2.12 (m, 1H), 2.80 (m, 2H), 3.19 (m, 1H), 5.85-6.02 (m, 2H), 6.84 (m, 2H), 7.18 (m, 1H), 7.46 (m, 2H), 7.74 (m, 2H), 8.04 (m, 2H), 8.38 (m, 1H).

实施例 39

(1S,2S)-N-{顺式-2-[6-氟-3-丙酰基-2-(6-甲基氨基吡啶-3-基羧基氧基)苯基]环丙基}-N'-(5-氰基吡啶-2-基)脲



5 通过以实施例 31 相同的方法, 由 6-甲基氨基烟酸(0.050 g, 0.33 mmol)和实施例 8 的化合物(0.1 g, 0.27 mmol)制备该化合物。经层析法(乙酸乙酯)纯化所述粗品产物(含有标题化合物和未反应的原料), 得到 0.030 g(22%)标题化合物。

10 ¹H.NMR(CDCl₃): 9.8 (br s, 1H), 9.25 (br s, 1H), 8.90 (d, 1H), 8.20 (d, 1H), 8.10 (m, 1H), 7.72 (m, 2H), 7.08 (t, 1H), 6.9 (d, 1H), 6.37 (d, 1H), 3.20 (m, 1H), 2.95 (d, 3H), 2.85 (q, 2H), 1.95 (m, 1H), 1.48 (m, 1H), 1.10 (t, 3H).

生物实施例 1

抗性模式

15 检测本发明化合物用于抗多种 HIV 株的抗病毒活性, 所述的多 种 HIV 株包括野生型和使用从在 Schinazi 等的综述中, International Antiviral News, 第 4 卷, 第 6 期, 95-107 页(1996)描述的其它非核苷 类逆转录酶抑制剂所出现的已知突变型。结果呈现在表 1 中。

表 1

HIV 株	实施例 5	实施例 6	实施例 8	现有技术*
野生型	0.0012 +/-0.0004	0.0008 +/-0.0004	0.0007 +/-0.0002	0.0056 +/-0.004
野生型 50%血清	0.01 +/-0.009	0.006 +/-0.003	0.007 +/-0.001	0.023 +/-0.011
K103N	0.05 +/-0.04	0.017 +/-0.008	0.037 +/-0.007	0.13 +/-0.060
K103N 50%血清	0.38 +/-0.31	0.17 +/-0.07	0.39 +/-0.31	0.9 +/-0.6
Y181C	0.017 +/-0.018	0.006 +/-0.002	0.006 +/-0.001	0.13 +/-0.02
Y181C 50%血清	0.10 +/-0.06	0.08 +/-0.05	0.08 +/-0.06	0.13 +/-0.07
Y188L	0.13 +/-0.07	0.08 +/-0.06	0.06 +/-0.02	0.17 +/-0.03
Y188L 50%血清	1.5 +/-0.9	0.9 +/-0.05	1.0 +/-0.05	1.9 +/-1.5
L100I,Y181C	ND	ND	0.34 +/-0.06	1.0
L100I	ND	ND	0.009 +/-0.001	0.026 +/-0.009
SI	>41 600	22 500	87 000	5 900
SI 50%血清	ND	8 830	4 285	800

所述测试包括在 MT-4 细胞中以 XTT 诱导的多种测定(Weislow 等, J Nat Cancer Inst 1989, 第 81 卷 第 8 期, 577 页等), 这包括在 50% 人血清存在下表明有助于蛋白结合的作用的测定。ED₅₀ 以 μ g/ml 呈现。基于计算的治疗指数(SI)的原始数据也被呈现, 其定义在相应于无 HIV 细胞产生 50%毒性的剂量除以所述 ED₅₀。来自所述 1995 ICAR

Santa Fe 的现有技术的化合物如上描述。

显而易见地是本发明化合物特别是所述对映体具有比迄今已知的化合物明显更低的 ED_{50} 值，包括抗已知未定的突变型 K103N 和 Y181C 以及 L100I 和双重突变型 L100I、Y181C 的值。此外，所述对映体的治疗指数比现有技术的化合物高 5 至 10 倍。在 HIV 疗法的内容中将观察到这些结果，即使患者生命的其余部分不能显著抗众所周知的原病毒 HIV，那么患者也能够期待长期服药治疗。因此，需要大的 SI 以避免蓄积毒性，同时适当给药以维持治疗压力并且防止自发产生对 HIV 株的抗性。

生物实施例 2

时间与抗性

在微量滴定板上，以 5-10 $TCID_{50}$ 的 HIV-1_{IIIIB} 感染每孔 2×10^4 MT4 细胞。使用每浓度 8 对，以大约 ED_{50} 的浓度加入受试化合物。孵育 6 天后测量在 10 μ l 上清液中的 RT 活性。

在随后每周一次培养物传代之后，进行以下过程：使在显示 >50% 的未处理感染细胞的 RT 活性的受试化合物的浓度(SIC, 初始抑制浓度)下产生的病毒传代给新鲜的 MT4 细胞。将来自所述八对试验的每一个试验的 15 μ l 上清液转移至无受试化合物的细胞(对照组)中和含有相同浓度受试化合物的细胞中，并且另两种分别具有五倍高的浓度。(参见以下表 2)。

当允许病毒在最高非毒性浓度(5-40 μ M)下生长时，收集 2-4 平行孔并且扩展给出物料用于结果的分析交叉方式抗性。

表 2

允许病毒生长

所抑制的病毒产生

				125 × SIC
			125 × SIC	<u>25 × SIC</u> →
			25 × SIC	<u>5 × SIC</u>
		25 × SIC	<u>5 × SIC</u> →	<u>无化合物</u>
	25 × SIC	<u>5 × SIC</u> →	<u>无化合物</u>	
	5 × SIC	SIC		
	SIC →	<u>无化合物</u>		
<u>SIC</u> →	<u>无化合物</u>			
传代(pass)1	传代 2	传代 3	传代 4	传代 5

图 1 描绘了对于本发明化合物(实施例 8)病毒抗性生长对时间的曲线。也描绘了以上提到的最近的 Santa Fe 化合物的相应曲线。显
而易见的是本发明化合物显示显著低的抗药性发展的速率。

生物实施例 3

P450 代谢

在以人细胞色素 P450 cDNA(超体(supersomes))Gentest 公司 Woburn USA 转染的杆状病毒感染的昆虫细胞中, 测定本发明化合物经过人细胞色素系统 P450 的主要同种型的代谢。

在过度表达多种细胞色素 P450 同种型的超体的存在下, 在 0.5、5 和 50 μM 的浓度下, 一式两份孵育所述受试化合物, 该同种型包括 CYP1A2 + P450 还原酶、CYP2A6 + P450 还原酶、CYP2C9-Arg 144 + P450 还原酶、CYP2C19 + P450 还原酶、CYP2D6-Val 374 + P450 还原酶和 CYP3A4 + P450 还原酶。孵育液含有固定浓度(例如 50 皮摩尔)的细胞色素 P450 并且进行 1 小时以上。通过 UV HPLC 色谱测量母体化合物的消失来测定在所述受试化合物代谢中所涉及的给定

同种型。

将所述三种浓度测试 7.5 分钟后，所述寿命保留百分比图提示 CYP3A4、1A2、2C19 和 2A6 参与实施例 7 化合物的代谢。相似构象的 P450 同种型也参与现有技术的 Santa Fe 卤代吡啶基化合物的代谢。

令人惊奇地是对实施例 8 化合物，未记录到明显的具有任何异构体的 P450 代谢，暗示所述化合物在体内稳定并且联合给予药物的代谢干扰的可能性是相应低的。

10 生物实施例 4

药物代谢动力学

监控来自口服给予式 II 的前药的式 I 化合物在大鼠中的释放。以相应于 0.027 mmol/kg 的剂量，将实施例 7 化合物溶解在丙二醇媒介中并且口服给予成对禁食的雄性 Sprague-Dawley 大鼠。在指明的时间间隔，从植入 canis 颈静脉的导管采集 0.2 ml 的血，离心并冷冻用于以后的分析。释放的式 I 药物(实施例 6)经 HPLC 测试。将含有 40-100 μ l 的每个血浆样品的等分试样与等体积乙腈混合(10 秒，Vibrofex)。将所述样品离心(2 分钟，14000 RPM)并把 30 μ l 的上清液注射进入如下的 HPLC 系统。

预柱:	RP-18, 7 μ M, 15 $\times$ 3.2 mm
柱:	YMC 基质, 3 μ M, 150 $\times$ 3 mm
流动相:	60%乙腈在 3 mM 乙酸铵中, pH 6.4
流速:	0.4 ml/min
检测:	UV, 250 nm

20

表 3

时间 (min)	母体化合物的血浆水平(μ g/ml)
30	0.24, 0.35
60	0.18, 0.28
120	0.13, 0.17
240	0.07, 0.12
360	0.05, 0.07

在表 3 中, 很清楚, 口服给予式 II 的前药体内释放临床上显著量的式 I 化合物.

生物实施例 5-8

5 i) 预备

在药代动力学实施例中使用的大鼠为体重大约 200-250 g 的雄性 Sprague-Dawley 大鼠. 在实验之前, 所述大鼠至少禁食 16 小时, 但是自由接近水. 在所述实验的前一天, 使用的 Efrane®、笑气和氧的混合物麻醉所述大鼠. 将导管插入大鼠颈静脉. 在实验那天, 记录大鼠的体重. 在口服给予药物或静脉给药注射进入到所述颈的背部之前, 短暂麻醉所述动物. 每种物质给予两只大鼠.

在口服给药之前, 猴子禁食 12 小时, 但是自由接近水. 借助婴儿鼻胃喂饲管给予所述受试化合物. 在 6 小时后, 所述猴子得到苹果.

15 ii) 剂量制备

把在以下实施例中描述的适当量的所述活性成分溶解/悬浮在丙二醇溶液中或 10%阿拉伯胶和 1%吐温在水的溶液中, 以用于口服给药. 将化合物溶于 DMSO 中以用于静脉给药.

iii) 血样采集

20 在药物给予前, 采集血样(大鼠一般为 0.6 ml, 猴子为 2 ml)并在在药物给予后于指定的时间间隔内(如图所示), 如同前者取得血样. 从股静脉轻叩使猴血进入含有 EDTA 的试管中. 将血样离心, 以 1% SDS/64°/20 分钟中和感染的药物并将血浆于-20°C 下贮存.

iv) 生物分析

如下制备血浆样品: 将 40-100 μ l 的血浆与等体积乙腈混合(10 秒, Vibroflex). 将所述样品离心(2 分钟, 14000 RPM)并把 30 μ l 的上清液注射进入如下的 HPLC 系统.

预柱: RP-18, 7 μ M, 15 $\times$ 3.2 mm
柱: YMC 基质, 3 μ M, 150 $\times$ 3 mm
流动相: 60%乙腈在 3 mM 乙酸铵中, pH 6.4
流速: 0.4 ml/min
检测: UV, 250 nm

5

生物实施例 5

与最接近的现有技术化合物的比较

将式 I 化合物的体内稳定性和有效性与最接近的 Santa Fe 化合物即(+/-)-N-(顺式-2-(6-氟-2-羟基-3-丙酰基苯基)-环丙基)-N'-(5-氟吡啶-2-基)-脲相比较, 从而给予在 DMSO 媒介中 0.024 mmol/kg 剂量的所述各化合物. 图 2 为整个时间内所述各化合物的血浆水平的曲线图(在每种情况下 n=2). 显而易见的是所述各曲线按照常规模式, 但是本发明化合物具有超过最接近的现有技术化合物的 AUC(0-4 小时)1.5 倍的 AUC(0-4 小时). 换言之, 本发明化合物比先前描述的衍生物提供大于 50%的体内接触, 无论是否由于本发明化合物比现有技术化合物更缓慢的清除率还是更高程度的组织结合也已经被测定.

15

生物实施例 6

前药与母体化合物的生物等效性

将多种式 II 化合物(即式 I 化合物的前药)给予大鼠并全程监控本发明母体化合物(在这个实施例中为实施例 10 化合物)的血浆水平. 所述溶媒为在水或丙二醇中 10%阿拉伯胶和 1%吐温(加星号). 在表 4 中的血浆水平数据指的是个体动物.

20

表 4

化合物	剂量 (mmol/kg)	时间 (min)	母体化合物的血浆水平 (μ g/ml)			
实施例 12	0.053	30	0.2	0.3	0.06	0.11
		60	0.2	0.4	0.12	0.20
		90	0.3	0.4		
		120	0.2	0.5	0.10	0.20
		180	0.3	0.4	0.11	0.23
		240	0.3	0.4	0.08	0.24
		330			0.08	0.15
		420			0.05	0.12
实施例 12	0.026	30	0.09	0.05		
		60	0.10	0.07		
		120	0.09	0.08		
		180	0.08	0.08		
		240	0.06	0.05		
		330		0.03		
		420		0.02		
实施例 22	0.026	30		0.08		
		60	0.05	0.11		
		120	0.04	0.08		
		180	0.03	0.07		
		240	0.02	0.04		
		360	<0.02	<0.02		
实施例 14	0.053	30	0.10	0.08		
		60	0.15	0.08		
		120	0.27	0.07		
		180	0.35	0.09		
		240	0.35	0.09		
		360	0.24	0.12		
实施例 18	0.053	30	0.12	0.03		
		60	0.15	0.03		
		120	0.15	0.07		
		180	0.23	0.14		
		240	0.12	0.16		
		360	0.08	0.08		

实施例 23	0.053	30	0.14	0.32		
		60	0.22	0.49		
		120	0.36	0.49		
		180	0.44	0.32		
		240	0.35	0.27		
		360	0.14	0.14		
实施例 17	0.053	30	0.05	0.05		
		60	0.07	0.05		
		120	0.06	0.14		
		180	0.07	0.20		
		240	0.07	0.17		
		360	0.04	0.12		
实施例 29	0.027*	30	0.258	0.031		
		60	0.268	<0.03		
		120	0.128	<0.03		
		240	0.051	<0.03		
		360	<0.03	<0.03		
实施例 37	0.027*	30	0.234	0.137		
		60	0.273	0.189		
		120	0.111	0.133		
		240	0.056	0.045		
		360	0.054	0.056		

显而易见地是式 II 的前药体内将临床相应量的式 I 化合物释放进入血液。所述绝对口服生物利用度(相对于所述 iv 剂量进行测定,如同在制备部分描述的那样)对实施例 37 的化合物为 28-33%和对服用实施例 27 的化合物的评价动物为 27%。

5

生物实施例 7

不同物种中的生物利用度

将本发明式 II 的前药(实施例 12)以相同剂量(0.026 mmol/kg)和相同的溶媒(在水中 10%阿拉伯胶和 1%吐温)给予大鼠和短尾猴。式 I 母体化合物(实施例 10)的血浆水平作为时间的函数来测量。

10

表 5

物种	时间 (min)	母体化合物的血浆水平 (μ g/ml)	
大鼠	30	0.09	0.05
	60	0.10	0.07
	120	0.09	0.08
	180	0.08	0.08
	240	0.06	0.05
	330		
	420		
猴子	45	0.08	0.04
	90	0.20	0.26
	180	1.0	0.55
	240	0.72	0.54
	360	0.38	0.39
	600	0.13	0.10
	24 小时	0.03	0.03

显而易见地是式 II 的前药体内释放临床相应量的式 I 化合物。释放既发生在啮齿动物也发生在灵长目动物，在灵长目动物中存在显著更高的血浆水平。

- 5 实施例 28 的化合物的相应数据(大鼠: 阿拉伯胶/吐温, 猴子: 丙二醇)显示在表 5A 中:

表 5A

物种	时间 (min)	母体化合物的血浆水平 (μ g/ml)	
大鼠	30	0.033	0.046
	60	0.039	0.084
	120	0.066	0.123
	240	0.039	0.034
	360	<0.03	<0.03
猴子	30	0.108	<0.03
	90	0.159	0.098
	180	0.062	0.050
	240	<0.03	0.060
	540	0.036	0.070

生物实施例 8

抗病毒活性

- 5 在所述 XTT 甲腈测试中, 在有和无 50%人血清存在下, 测试式 I 化合物用于抗野生型 HIV_{III}B 和抗性突变型的 HIV-1 活性, 其中在 MT4 细胞中测试对致细胞病变效应的抑制作用, 在每一种情况下 ED₅₀ 以 μ M 表明.

表 6

HIV 株	实施例 10	实施例 10 50%血清	实施例 11	实施例 11 50%血清
野生型	0.01	0.06	0.009	0.05
L100I	0.05	0.33	0.09	0.95
K103N	0.38	2.4	0.09	2.0
Y181C	0.09	0.4	0.07	3.3

- 10 在体内可达到的浓度下, 式 I 化合物对抗多种 HIV 株具有高度活性.

生物实施例 9

抗病毒活性

使用现有技术细胞培养测试也对本发明化合物与所述最接近的现有技术化合物进行了比较, 其中人 T 细胞系 MT4 细胞在接种进入 96 孔微量滴定板($2 \cdot 10^4$ 细胞/孔)的补充 10%胎牛血清、青霉素和链霉素的 RPMI 1640 培养基中生长, 以每孔的 HIV-1_{IIIb}(野生型)或者载有 RT Ile 100、Cys 181 或 Asn 103 突变的突变型病毒 10-20 TCID₅₀ 感染。将被连续稀释的受试化合物加入到各自的孔中并将所述培养物在 37℃ 下于富含 CO₂ 的气氛中孵育, 并且在第五天或第六天用 XTT 活体染料测定细胞生存力。所述结果显示以下多种测定的平均值。结果表示为 ED₅₀ μM.

表 8

实施例	野生型	野生型 50%血清	Ile100	Cys181	Asn103
现有技术 Santa Fe	0.027	nd	0.220	0.340	0.350
实施例 10	0.012	0.056	0.053	0.095	0.358
实施例 11	0.008	0.058	0.100	0.069	0.080
实施例 8	0.003	0.019	0.021	0.019	0.086
实施例 6	0.002	0.016	0.064	0.018	0.046

本发明化合物已显著改善抗野生型并且特别是抗临床重要的、在以 NNRTIs 治疗期间出现的突变型的性能。

生物实施例 10

结合动力学

NNRTI 在所述靶酶上的结合与解离率能够通过直接通过表面细胞质基因组共振方法进行测试, 其中将逆转录酶固定在嵌片的表面并且通过观察由伴随嵌片的质量增加或减少引起的折射率的变化来监控

假定的抑制剂的结合或者解离。如同以上描述的那样，将本发明化合物(实施例 8)与来自 Santa Fe 的最接近的现有技术的化合物进行比较。实验在 Biacore 2000(Biacore AB, Uppsala, 瑞典)上进行，使用 BIA 评价软件(3.0 版)用于评价数据。所述小的分析物(NNRTI)对大得多的酶的结合导致在 10-20 RU 的范围内结合应答。在流动的缓冲液和样品之间的总体折射率的差异使得评价在注射样品期间得到的数据是困难的。在所述解离相期间，在总体折射率方面存在不明显的变化，因此在这个相中已评价了不同物质的结合。

固定：通过直接偶合于伯胺，所述酶和对照蛋白固定在 CM5 芯片上(Markgren 等, 1998)。对 Fc g(Biacore BR-1000-57)的抗体被用作对照蛋白并且按照制造商的说明书固定。使用 Nanosept 离心浓缩器 10K(Pall Filtron, MA, U.S.A)，将 HIV 逆转录酶(Unge 等, 1990)从 3 M 的 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 转移至含有 4 mM MgCl_2 的 5 mM Hepes, pH 7.6 中。将相应于 6800-9700 RU 量的 RT 固定于所述传感器芯片上。通过注射 35 ml 的 0.5 M Tris pH 7.6、4 mM MgCl_2 、0.5 M KCl 钝化所述传感器表面。所述固定方法在 33℃ 下进行。

与抑制剂的相互作用：将抑制剂的贮存液(1 mg/ml 在 DMSO 中)溶于 RT 流动的缓冲液(10 mM Hepes pH 7.6、4 mM MgCl_2 、0.25 mM 精胺、40 mM KCl、0.5% Triton X-100、3% DMSO、0.5% 胎牛血清)中以达到 10 mM 的浓度。通过注射 200 ml 的所述稀释物质来分析物质对 RT 的结合，流速为 20 ml/min 和温度为 25℃。在每一次注射物质后，通过注射在 RT 的流动的缓冲液中的 120 ml 的 10% 的 DMSO 洗涤所述系统。

所述结果在图 3 中得到描绘。显而易见地是本发明化合物和现有技术的化合物显示不同的相互作用动力学，本发明化合物具有最低的解离率，这表明其更有效地与所述酶结合。

参考文献：

Unge T, Ahola H, Bhikhabhai R, Backbro K, Lovgren S, Fenyo EM,

Honigman A, Panet A, Gronowitz JS, Strandberg B, HIV-1 逆转录酶(RT)的表达、纯化和结晶。 AIDS Res Hum Retroviruses 1990 年 11 月; 6(11):1297-303.

5 Markgren P-O, Hamalainen M, Danielson UH, 使用光学生物传感器技术筛选与 HIV-1 蛋白酶相互作用的化合物。 Analytical Biochemistry 1998, 第 265 卷. (在印刷中).

10 尽管参照以上具体的实施例、比较实施例和附图已阐明了本发明的多个方面和实施方案, 易于理解的是本发明不以任何方式局限于这些实施方案, 而是扩展到整个所附的权利要求书的精神和范围内。

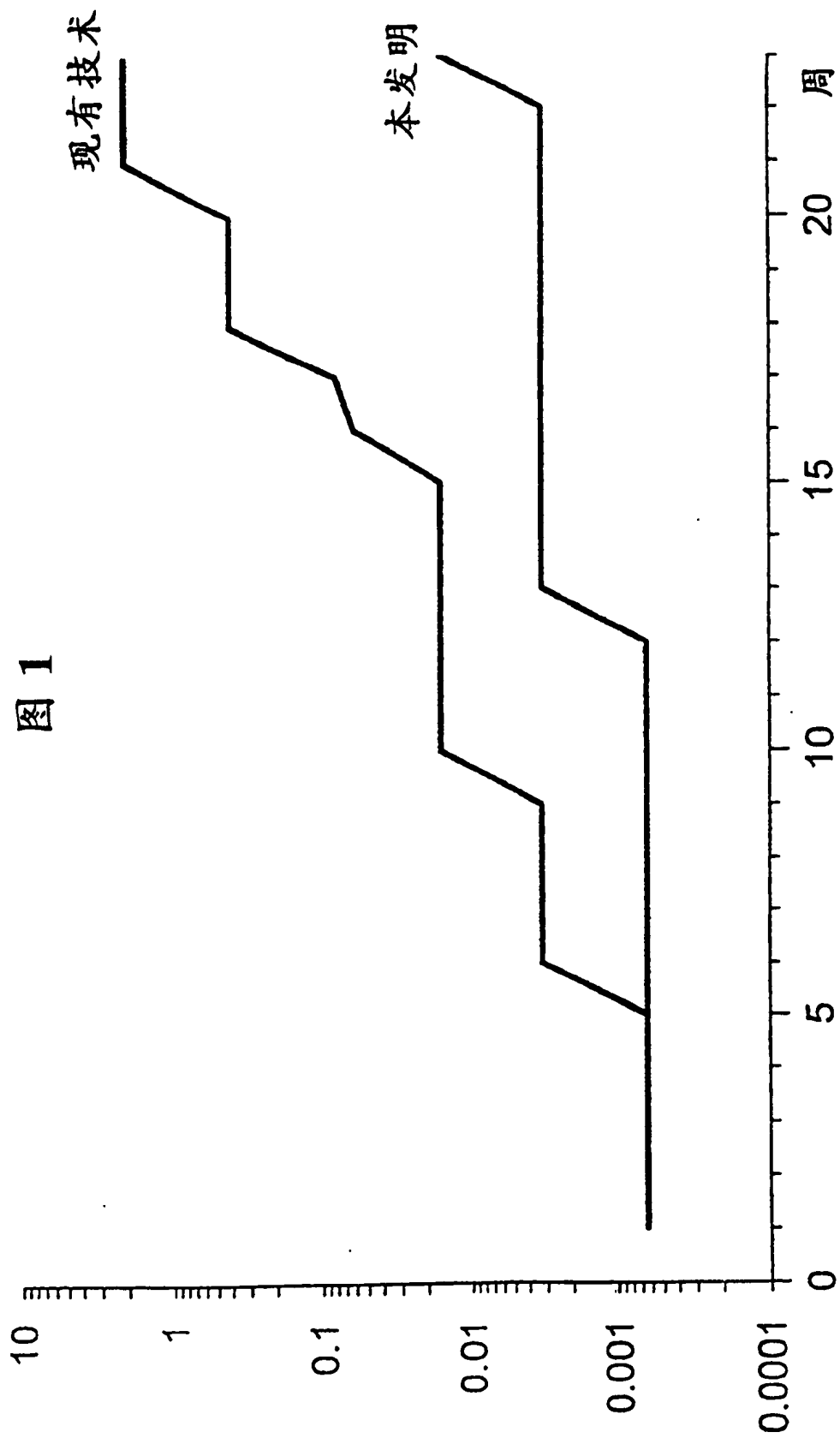
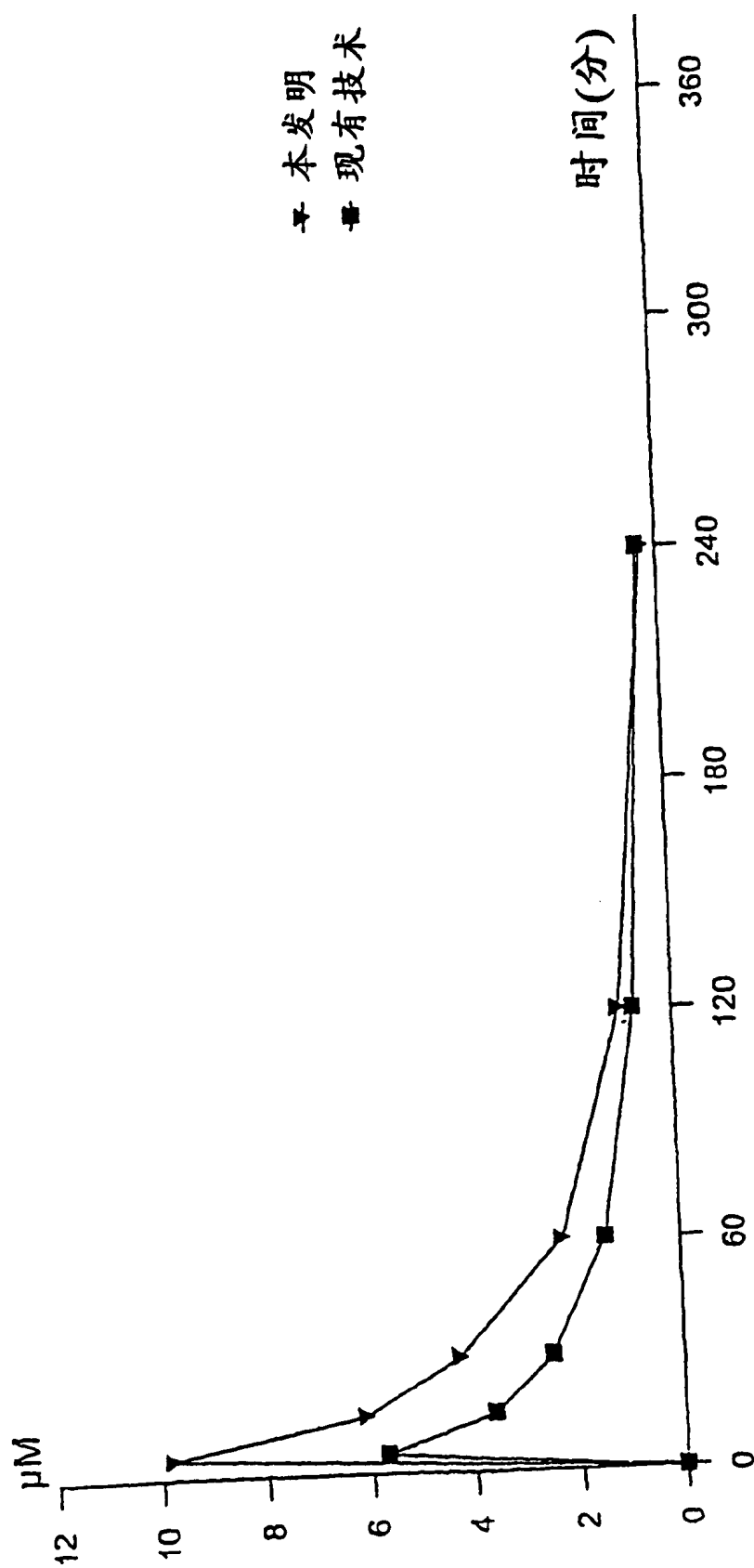


图 2



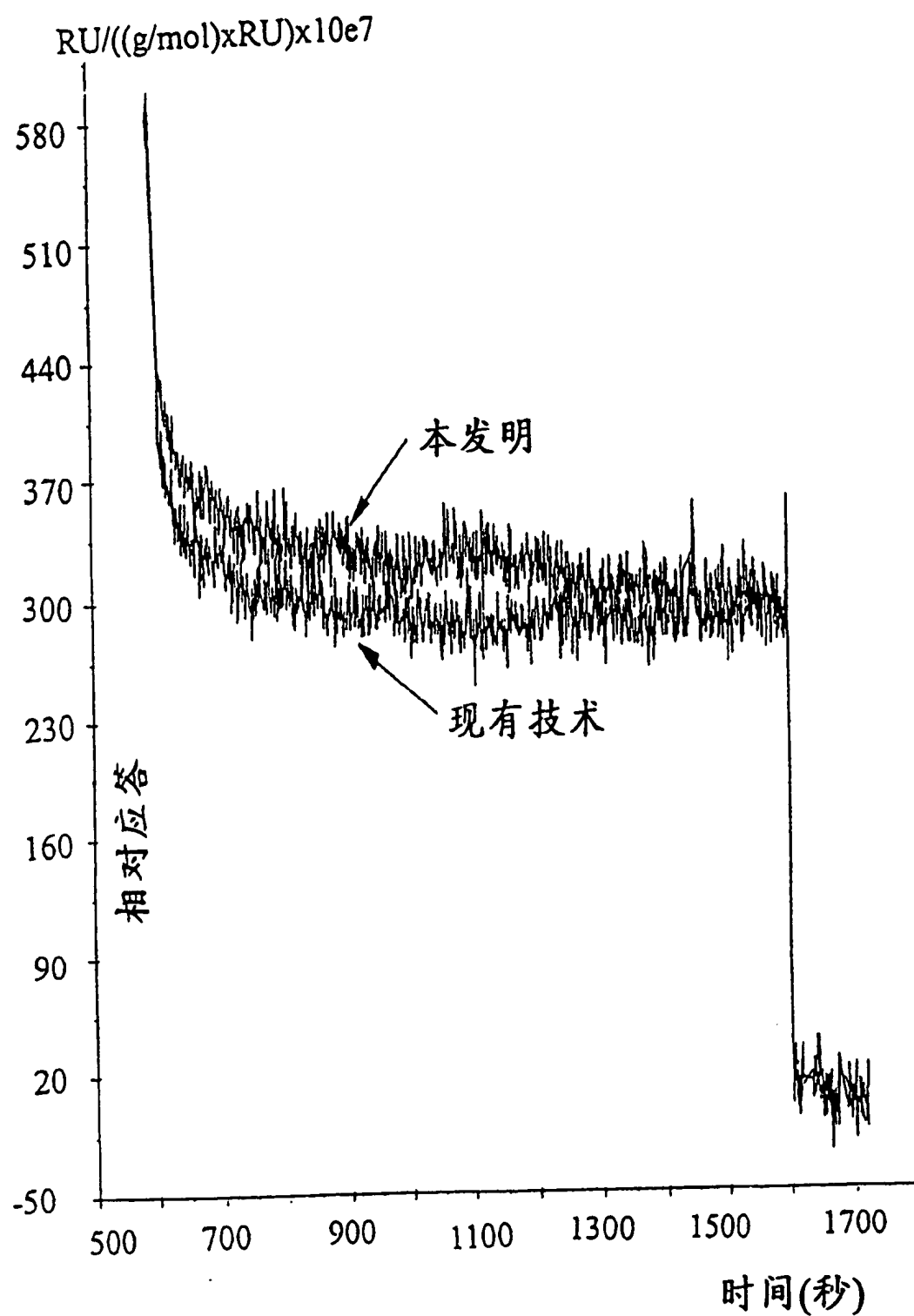


图 3