

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



# [12] 发明专利说明书

专利号 ZL 02823587.8

[51] Int. Cl.

*C07D 487/04 (2006.01)*

*A61K 31/519 (2006.01)*

*A61P 35/00 (2006.01)*

*A61P 25/00 (2006.01)*

[45] 授权公告日 2007 年 7 月 11 日

[11] 授权公告号 CN 1325498C

[22] 申请日 2002.11.25 [21] 申请号 02823587.8

[30] 优先权

[32] 2001.12.6 [33] US [31] 60/338,984

[86] 国际申请 PCT/IB2002/004948 2002.11.25

[87] 国际公布 WO2003/048162 英 2003.6.12

[85] 进入国家阶段日期 2004.5.27

[73] 专利权人 辉瑞产品公司

地址 美国康涅狄格州

[72] 发明人 M·E·弗拉纳甘 Z·J·李

[56] 参考文献

WO0142246A2 2001.6.14

审查员 刘广南

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利  
商标事务所

代理人 唐伟杰

权利要求书 2 页 说明书 11 页 附图 1 页

[54] 发明名称

新型结晶化合物

[57] 摘要

本发明涉及一种新型无定形和结晶形式的 3 -  
{ (3R, 4R) - 4 - 甲基 - 3 - [ 甲基 - (7H - 吡咯并  
[2, 3 - d] 嘧啶 - 4 - 基) - 氨基] - 哌啶 - 1 -  
基} - 3 - 氧代 - 丙腈 - 柠檬酸盐, 它可用作蛋白激  
酶的抑制剂, 本发明还涉及它们的制备方法。

1、结晶性的 3-[(3R, 4R)-4-甲基-3-[甲基-(7H-吡咯并[2, 3-d]嘧啶-4-基)-氨基]-哌啶-1-基]-3-氧代-丙腈一柠檬酸盐。

2、如权利要求 1 的 3-[(3R, 4R)-4-甲基-3-[甲基-(7H-吡咯并[2, 3-d]嘧啶-4-基)-氨基]-哌啶-1-基]-3-氧代-丙腈一柠檬酸盐的结晶形式，包括以度计  $2\theta$  在 5.7、16.1、20.2 和 20.5 的特征峰的 X-射线衍射图样。

3、如权利要求 2 的结晶形式，包括以度计  $2\theta$  有如下的特征峰的粉末衍射图样：

| 角度<br>$2\theta$ | 角度<br>$2\theta$ | 角度<br>$2\theta$ | 角度<br>$2\theta$ |
|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| 5.7             | 17.3            | 25.5            | 32.8            |
| 7.7             | 18.7            | 26.2            | 33.6            |
| 8.9             | 20.2            | 27.0            | 34.4            |
| 11.0            | 20.5            | 27.5            | 34.8            |
| 11.5            | 21.1            | 28.1            | 35.3            |
| 13.6            | 21.4            | 28.7            | 35.9            |
| 13.9            | 22.0            | 29.4            | 36.5            |
| 14.8            | 23.0            | 30.1            | 37.8            |
| 15.2            | 23.4            | 30.3            | 38.5            |
| 16.1            | 24.0            | 31.1            | 39.2            |
| 16.6            | 25.0            | 32.0            |                 |

4、如权利要求 1 的 3-[(3R, 4R)-4-甲基-3-[甲基-(7H-吡咯并[2, 3-d]嘧啶-4-基)-氨基]-哌啶-1-基]-3-氧代-丙腈一柠檬酸盐的结晶形式，具有约 199℃-约 206℃的开始熔融温度。

5、3-[(3R, 4R)-4-甲基-3-[甲基-(7H-吡咯并[2, 3-d]嘧啶-4-基)-氨基]-哌啶-1-基]-3-氧代-丙腈一柠檬酸盐。

6、药物组合物，它用于 (a) 治疗或预防选自如下的紊乱或病症：器

官移植排斥、异种移植、狼疮、多发性硬化症、类风湿性关节炎、牛皮癣、I型糖尿病和如下病症的并发症：糖尿病、癌症、哮喘、特应性皮炎、自身免疫甲状腺疾病、溃疡性结肠炎、克隆氏病、阿耳茨海默氏病、白血病以及其它自身免疫疾病或者用于(b)抑制哺乳动物、包括人的蛋白激酶，所述药用组合物包含在这些紊乱或病症中有效量的权利要求1的化合物本身或者其与一种或多种调节哺乳动物免疫系统的其它试剂或抗炎剂的组合，以及一种药用可接受的载体。

7、权利要求1的化合物本身，或者其与一种或多种调节哺乳动物免疫系统的其它试剂或抗炎剂的组合用于制备抑制哺乳动物、包括人的蛋白激酶的药物用途。

8、权利要求1的化合物本身，或者其与一种或多种调节哺乳动物免疫系统的其它试剂或抗炎剂的组合用于制备治疗或预防哺乳动物、包括人的选自如下的紊乱或病症的药物的用途：器官移植排斥、异种移植、狼疮、多发性硬化症、类风湿性关节炎、牛皮癣、I型糖尿病和如下病症的并发症：糖尿病、癌症、哮喘、特应性皮炎、自身免疫甲状腺疾病、溃疡性结肠炎、克隆氏病、阿耳茨海默氏病、白血病以及其它自身免疫疾病。

9、制备 3-((3R,4R)-4-甲基-3-[甲基-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-氨基]-哌啶-1-基)-3-氧代-丙腈-柠檬酸盐的方法，包括使 3-((3R,4R)-4-甲基-3-[甲基-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-氨基]-哌啶-1-基)-3-氧代-丙腈与柠檬酸进行反应。

10、根据权利要求6的药物组合物，其中的蛋白激酶为 Janus 激酶 3。

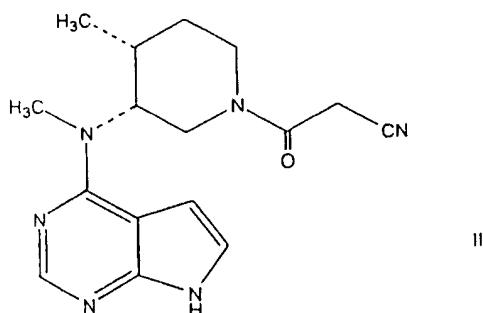
11、根据权利要求7的用途，其中的蛋白激酶为 Janus 激酶 3。

## 新型结晶化合物

### 发明背景

本发明涉及一种 3-[(3R, 4R)-4-甲基-3-[甲基-(7H-吡咯并[2, 3-d] 嘧啶-4-基)-氨基]-哌啶-1-基]-3-氧代-丙腈一柠檬酸盐的新型结晶形式及其制备方法。

3-[(3R, 4R)-4-甲基-3-[甲基-(7H-吡咯并[2, 3-d] 嘧啶-4-基)-氨基]-哌啶-1-基]-3-氧代-丙腈具有化学式  $C_{16}H_{20}N_6O$  并具有以下结构式



其合成描述在待审美国专利申请序列号 09/732,669 (2000 年 12 月 8 日申请) 和美国临时专利申请序列号 60/294,775 (2001 年 5 月 31 日申请) 中, 这两个专利申请都转让给本发明的受让人, 并将它们全文加入本文作为参考。3-[(3R, 4R)-4-甲基-3-[甲基-(7H-吡咯并[2, 3-d] 嘧啶-4-基)-氨基]-哌啶-1-基]-3-氧代-丙腈及其相应的柠檬酸盐可用作蛋白激酶如 Janus 激酶 3 (本文后面还称之为 JAK3) 的抑制剂, 并且本身可以作为免疫抑制剂用于器官移植、异种移植、狼疮、多发性硬化症、类风湿性关节炎、牛皮癣、I 型糖尿病和如下病症的并发症: 糖尿病、癌症、哮喘、特应性皮炎、自身免疫甲状腺疾病、溃疡性结肠炎、克隆氏病、阿耳茨海默氏病、白血病以及需要免疫抑制的其它适应症。

测定结晶形式的 3-[(3R, 4R)-4-甲基-3-[甲基-(7H-吡咯并[2, 3-d] 嘧啶-4-基)-氨基]-哌啶-1-基]-3-氧代-丙腈一柠檬酸盐具有适合支持片剂开发的固态性能。

本发明还涉及结晶 3-[(3R, 4R)-4-甲基-3-[甲基-(7H-吡咯并[2, 3-d]嘧啶-4-基)-氨基]-哌啶-1-基]-3-氧代-丙腈一柠檬酸盐的制备方法。

### 发明概述

本发明涉及一种新型结晶形式 3-[(3R, 4R)-4-甲基-3-[甲基-(7H-吡咯并[2, 3-d]嘧啶-4-基)-氨基]-哌啶-1-基]-3-氧代-丙腈一柠檬酸盐新型结晶形式，它可用于(a)治疗或预防选自如下的紊乱或病症：器官移植排斥、异种移植、狼疮、多发性硬化症、类风湿性关节炎、牛皮癣、I型糖尿病和如下病症的并发症：糖尿病、癌症、哮喘、特应性皮炎、自身免疫甲状腺疾病、溃疡性结肠炎、克隆氏病、阿耳茨海默氏病、白血病以及其它自身免疫疾病或(b)抑制哺乳动物(包括人)的蛋白激酶或 Janus 激酶 3(JAK3)。该新型结晶形式在约 203°C-约 210°C 的温度下熔融，并且显示以度计 2-theta (2θ) 在 5.7、16.1、20.2 和 20.5 的特征峰的 X-射线衍射图样，如图 1 所述。有关 X-射线粉末衍射图样的理论的讨论可以在 Stout & Jensen, X-Ray Structure Determination: A Practical Guide, MacMillan Co., New York, N.Y. (1968) 中找到，将其全文加入本文作为参考。

本发明还涉及结晶形式的 3-[(3R, 4R)-4-甲基-3-[甲基-(7H-吡咯并[2, 3-d]嘧啶-4-基)-氨基]-哌啶-1-基]-3-氧代-丙腈一柠檬酸盐，它具有如图 2 所述的差示扫描量热曲线，该曲线在约 203°C-约 210°C 的温度具有以特征峰，并且在约 199°C-约 206°C 的范围内以 5°C/分钟的扫描速度开始。

本发明还涉及一种无定形的 3-[(3R, 4R)-4-甲基-3-[甲基-(7H-吡咯并[2, 3-d]嘧啶-4-基)-氨基]-哌啶-1-基]-3-氧代-丙腈一柠檬酸盐。

本发明还涉及一种药用组合物，它用于(a)治疗或预防选自如下的紊乱或病症：器官移植排斥、异种移植、狼疮、多发性硬化症、类风湿性关节炎、牛皮癣、I型糖尿病和如下病症的并发症：糖尿病、癌症、哮喘、特应性皮炎、自身免疫甲状腺疾病、溃疡性结肠炎、克隆氏病、阿耳茨海默氏病、白血病、以及其它自身免疫疾病或(b)抑制哺乳动物(包括人)的

蛋白激酶或 Janus 激酶 3 (JAK3)，该药用组合物包括对这些紊乱或病症有效量的式 I 化合物和一种药用可接受的载体。

本发明还涉及一种抑制哺乳动物、包括人的蛋白酪氨酸激酶或 Janus 激酶 3 (JAK3) 的方法，包括向所述哺乳动物给予有效量的式 I 化合物。

本发明还涉及一种治疗或预防哺乳动物、包括人在内的选自如下的紊乱或病症的方法：器官移植排斥、异种移植、狼疮、多发性硬化症、类风湿性关节炎、牛皮癣、I 型糖尿病和如下病症的并发症：糖尿病、癌症、哮喘、特应性皮炎、自身免疫甲状腺疾病、溃疡性结肠炎、克隆氏病、阿耳茨海默氏病、白血病、以及其它自身免疫疾病，该方法包括向所述哺乳动物给予有效地治疗这种病症量的式 I 化合物。

本发明还涉及一种制备 3-((3R, 4R)-4-甲基-3-[甲基-(7H-吡咯并[2, 3-d]嘧啶-4-基)-氨基]-哌啶-1-基)-3-氧代-丙腈一柠檬酸盐的方法，包括使 3-((3R, 4R)-4-甲基-3-[甲基-(7H-吡咯并[2, 3-d]嘧啶-4-基)-氨基]-哌啶-1-基)-3-氧代-丙腈与柠檬酸反应。

#### 附图简述

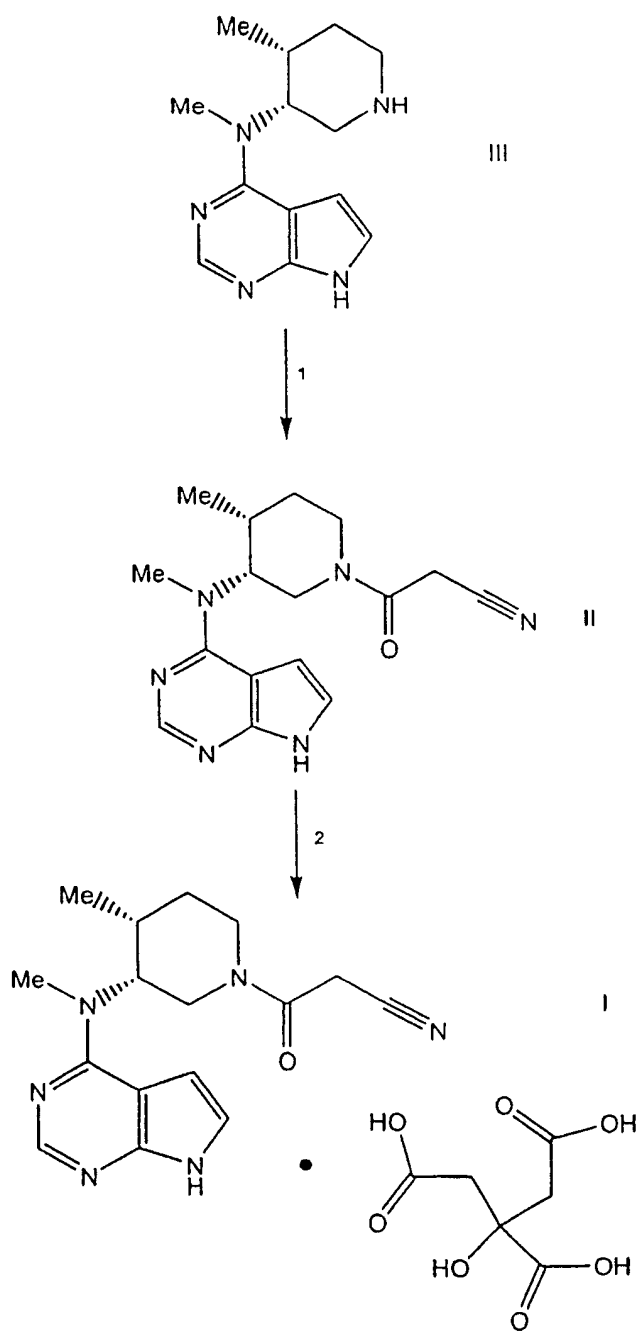
图 1 是 3-((3R, 4R)-4-甲基-3-[甲基-(7H-吡咯并[2, 3-d]嘧啶-4-基)-氨基]-哌啶-1-基)-3-氧代-丙腈一柠檬酸盐的特征 X-射线粉末衍射图样。(垂直轴：强度(计数)；水平轴： $2\theta$ (度))。

图 2 是 3-((3R, 4R)-4-甲基-3-[甲基-(7H-吡咯并[2, 3-d]嘧啶-4-基)-氨基]-哌啶-1-基)-3-氧代-丙腈一柠檬酸盐的特征差示扫描量热曲线。(扫描速度：5°C/分钟；垂直轴：热流(w/g)；水平轴：温度(°C))。

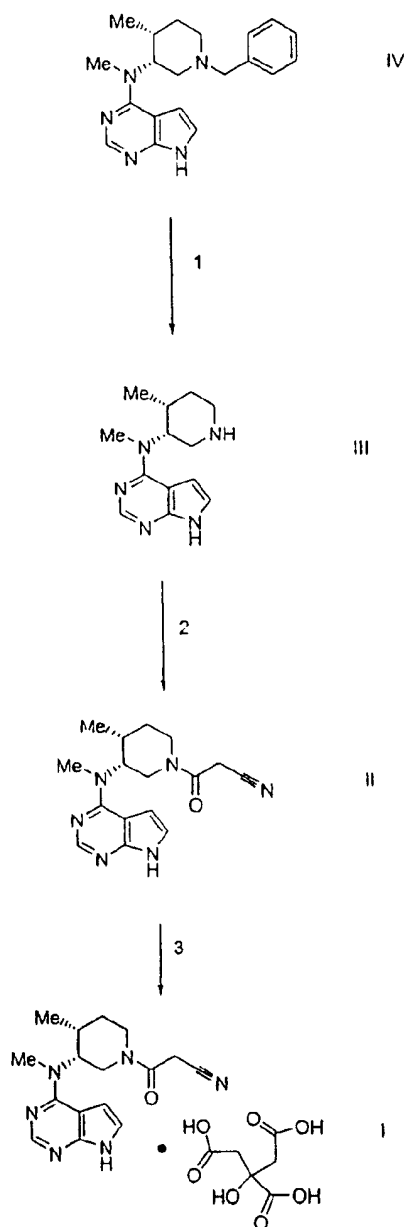
#### 发明详述

如下所述制备结晶形式的本发明化合物 3-((4-甲基-3-[甲基-(7H-吡咯并[2, 3-d]嘧啶-4-基)-氨基]-哌啶-1-基)-3-氧代-丙腈一柠檬酸盐。

#### 方案 1



## 方案 2



在方案 1 的反应 1 中, 在有碱例如三乙胺存在的情况下通过式 III 的 (3R, 4R)-甲基-(4-甲基-哌啶-3-基)-(7H-吡咯并[2, 3-d]嘧啶-4-基)胺化合物与氰乙酸 2, 5-二氧化-吡咯烷-1-基酯反应, 将式 III 转化成相应的式 II 的 3-((3R, 4R)-4-甲基-3-[甲基-(7H-吡咯并[2, 3-d]嘧啶-4-基)-氨基]-哌啶-1-基)-3-氧代-丙腈化合物。在室温下将该反应混合物搅拌大约 15 分钟至大约 2 小时, 优选大约 30 分钟。

在方案 1 的反应 2 中, 通过将 II 化合物与含水柠檬酸反应, 将式 II 的 3-((3R, 4R)-4-甲基-3-[甲基-(7H-吡咯并[2, 3-d] 嘧啶-4-基)-氨基]-哌啶-1-基)-3-氧代-丙腈化合物转化为相应的式 I 的 3-((3R, 4R)-4-甲基-3-[甲基-(7H-吡咯并[2, 3-d] 嘧啶-4-基)-氨基]-哌啶-1-基)-3-氧代-丙腈-柠檬酸盐化合物。

在方案 2 的反应 1 中, 通过在有 20% 氢氧化钡/炭 (50% 重量的水) 和一种极性质子溶剂如乙醇存在的情况下用氢处理式 IV 的 ((3R, 4R)-1-苄基-4-甲基-哌啶-3-基)-甲基-(7H-吡咯并[2, 3-d] 嘧啶-4-基)-胺化合物, 将式 IV 转化为相应的式 III 的 (3R, 4R)-甲基-(4-甲基-哌啶-3-基)-(7H-吡咯并[2, 3-d] 嘧啶-4-基) 胺化合物。在约 45°C 至约 75°C、优选约 60°C 的温度, 约 60 psi、优选约 50 psi 的压力下, 将该反应混合物搅拌约 2 天至约 4 天、优选约 3 天。

在方案 2 的反应 2 中, 通过在有一种极性质子溶剂如乙醇存在的情况下将式 III 的 (3R, 4R)-甲基-(4-甲基-哌啶-3-基)-(7H-吡咯并[2, 3-d] 嘧啶-4-基) 胺化合物与氰乙酸 2, 5-二氧化-吡咯烷-1-基酯反应, 将式 III 转化为相应的式 II 的 3-((3R, 4R)-4-甲基-3-[甲基-(7H-吡咯并[2, 3-d] 嘧啶-4-基)-氨基]-哌啶-1-基)-3-氧代-丙腈化合物。在室温下将该反应混合物搅拌约 30 分钟至约 3 小时、优选约 1 小时。

在方案 2 的反应 3 中, 通过在有一种极性溶剂如丙酮存在的情况下将式 II 的 3-((3R, 4R)-4-甲基-3-[甲基-(7H-吡咯并[2, 3-d] 嘧啶-4-基)-氨基]-哌啶-1-基)-3-氧代-丙腈化合物与柠檬酸反应, 将式 II 转化为相应的式 I 的 3-((3R, 4R)-4-甲基-3-[甲基-(7H-吡咯并[2, 3-d] 嘧啶-4-基)-氨基]-哌啶-1-基)-3-氧代-丙腈-柠檬酸盐化合物。在约 30°C 至约 50°C、优选约 40°C 的温度下将该反应混合物搅拌约 1 小时至约 3 小时、优选约 2 小时。所得反应混合物还可以任选在约 20°C 至约 40°C、优选约 30°C 的温度下搅拌约 3 小时至约 5 小时、优选约 4 小时, 接着在室温下再搅拌约 16 小时至约 20 小时、优选约 18 小时。

可以用一种或多种药用可接受的载体以常规方式配制本发明的组合物。

为了口服,这些药用组合物可以通过常规方式用如下药用可接受的赋形剂制得的片剂形式:粘合剂(例如,预明胶化玉米淀粉、聚乙烯吡咯烷酮或羟丙基甲基纤维素);填充剂(例如,乳糖、微晶纤维素或磷酸钙);润滑剂(例如硬脂酸镁、滑石或二氧化硅);崩解剂(例如,马铃薯淀粉或淀粉乙醇酸钠);或湿润剂(例如,十二烷基硫酸钠)。这些片剂可以通过本领域公知的方法包衣。

本发明的活性化合物用于口服、肠道外给药或颊给药到一般成人以治疗上述病症(例如,类风湿性关节炎)的推荐剂量是 0.1-1000 mg 活性成分/可以给药的单位剂量,例如 1-4 次/天。

式 I 化合物可以药用可接受的形式单独给药,或者可以与一种或多种调整哺乳动物免疫系统的试剂或消炎剂组合给药,这些涉及包括但不限于环孢菌素 A(例如, Sandimmune®或 Neoral®、雷帕霉素、FK-506(他克莫司)、来氟米特、脱氧精脒菌素、麦考酚酯(例如, Cellcept®、硫唑嘌呤(例如 Imuran®)、达克隆单抗(daclizumab)(例如 Zenapax®)、OKT3(例如 Orthoclone®)、AtGam、阿司匹林、acetaminophen、布洛芬、萘普生、吡罗昔康和抗炎类固醇类(例如泼尼松龙或地塞米松);并且可以将这些药物通过相同或不同的给药途径,并根据标准药学实践的相同或不同的给药方案以相同或单独的剂量形式给药。

FK506(他克莫司)以 0.10-0.15 mg/kg 体重在手术后的头 48 小时内每隔 12 小时口服。通过血清他克莫司谷底(trough)水平监控剂量。

环孢菌素 A(山地明口服或静脉制剂,或者 Neoral®, 口服液或胶囊)以 5 mg/kg 体重在手术后的头 48 小时内每隔 12 小时口服。通过血液环孢菌素 A 谷底水平监控剂量。

可以根据本领域普通技术人员公知的方法将这些活性剂配制用于持续给药。这些制剂的实例可以在美国专利 3,538,214、4,060,598、4,173,626、3,119,742 和 3,492,397 中找到。

通过以下体外试验测定显示了式 I 化合物抑制 Janus 激酶 3 的能力,并由此证实了其能够有效地治疗以 Janus 激酶 3 为特征的紊乱或病症。

### 生物学试验

### JAK3 (JH1: GST) 酶促试验

该 JAK3 激酶试验利用一种在杆状病毒感染的 SF9 细胞 (GST 和人 JAK3 的催化区的融合蛋白) 内表达并在谷胱甘肽-Sepaharose 上通过亲和色谱提纯的蛋白质。反应底物是聚-谷氨酸-酪氨酸 (PGT (4: 1), Sigma catalog # P0275), 以 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$  涂布在 Nunc Maxi Sorp 平皿上, 在 37°C 下过夜。在涂布之后的早上, 将这些平皿洗涤 3 次, 并将 JAK3 加入到含有 100  $\mu\text{l}$  的激酶缓冲液 (50 mM HEPES, pH 7.3, 125 mM NaCl, 24 mM  $\text{MgCl}_2$ ) + 0.2  $\mu\text{M}$  ATP + 1 mM 原钒酸钠) 的孔中。在室温下将反应进行 30 分钟, 并将这些平皿洗涤 3 次以上。利用抗磷酸酪氨酸抗体 (ICN PY20, 目录号 69-151-1) 通过标准 ELISA 分析对给定孔内的磷酸化酪氨酸的水平定量。

### 人 IL-2 依赖性 T-细胞胚细胞增殖的抑制

该筛选测定化合物在体外对 IL-2 依赖性 T-细胞胚细胞增殖的抑制效果。由于通过 IL-2 受体发信号需要 JAK-3, 因此 JAK-3 的细胞活性抑制剂应抑制 IL-2 依赖性 T-细胞胚细胞增殖。

将用于该试验的细胞与新鲜的人血分离。使用 Accuspin System-Histopaque-1077 (Sigma # A7054) 分离这些单核细胞之后, 使用 Lympho-Kwik T (One Lambda, Inc., 目录号 LK-50T) 通过负选择分离初级人 T-细胞。将 T-细胞以  $1-2 \times 10^6/\text{ml}$  在培养基 (RPMI + 10% 热失活的胎牛血清 (Hyclone 目录号 A-1111-L) + 1% 青霉素/链霉素 (Gibco)) 中培养并通过加入 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$  PHA (Murex Diagnostics, 目录号 HA 16) 诱导增殖。在 37°C、5%  $\text{CO}_2$  下 3 天之后, 将细胞于培养基中洗涤 3 次, 并在培养基+100 U/ml 人重组 IL-2 (R & D Systems, 目录号 202-IL) 中再次悬浮至密度  $1-2 \times 10^6$  个细胞/ml。1 周之后这些细胞是 IL-2 依赖性的, 并且通过每周两次补充等体积的培养基+100 U/ml IL-2 可以保持高达 3 周。

为了测定试验化合物抑制 IL-2 依赖性 T-细胞增殖的能力, 将 IL-2 依赖性细胞洗涤 3 次, 将它们再次悬浮于培养基中, 然后平铺 (plate) (50,000 个细胞/孔/0.1 ml) 到平底 96-孔微量滴定平皿 (Falcon # 353075) 中。由 10 mM 的处于 DMSO 内的受验化合物的贮备液, 将化合物的系列 2-倍稀释以 10  $\mu\text{M}$  一式三份地加入到孔中。1 小时之后, 将 10 U/ml

的 IL-2 加入到每一个测定孔中。将平皿在 37℃、5% CO<sub>2</sub> 下培养 72 小时。然后向平皿中加入 <sup>3</sup>H-胸腺嘧啶脱氧核苷 (0.5 μCi/孔) (NEN 目录号 NET-027A)，并且再培养 18 小时。然后用 96-孔平皿采集器收获培养皿，并通过在 Packard Top Count 闪烁计数器上计数来确定加入到增殖细胞内的 <sup>3</sup>H-胸腺嘧啶脱氧核苷的量。通过将%增殖抑制相对试验化合物的浓度绘图分析数据。由该图确定 IC<sub>50</sub> 值 (μM)。

以下实施例描述了本发明化合物的制备，但是它并不限于其细节。熔点没有校正。NMR 数据以百万分之一份 (δ) 报道，并以样品溶剂 (氘代氯仿，除非另有说明) 的氘锁信号作为参照。

### 实施例 1

#### 3-[(3R, 4R)-4-甲基-3-[甲基-(7H-吡咯并[2, 3-d]嘧啶-4-基)-氨基]-哌啶-1-基]-3-氧代-丙腈-柠檬酸盐

将乙醇 (13 L)、(3R, 4R)-甲基-(4-甲基-哌啶-3-基)-(7H-吡咯并[2, 3-d]嘧啶-4-基)-胺 (1.3 kg)、氰乙酸 2, 5-二氧代-吡咯烷-1-基酯 (1.5 kg) 和三乙胺 (1.5 L) 混合并在室温下搅拌。反应结束之后 (通过高压液相色谱 (HPLC) 分析确定，约 30 分钟)，将溶液过滤，浓缩并与 15 L 的二氯甲烷共沸。依次用 12 L 的 0.5 N 氢氧化钠溶液、12 L 的生理盐水和 12 L 水洗涤该反应混合物。将有机层浓缩并与 3 L 丙酮共沸 (最终罐温是 42℃)。将所得溶液冷却至 20℃-25℃，接着加入 10 L 丙酮。将该溶液过滤，然后经在线过滤器加入含水柠檬酸 (0.8 kg 于 4 L 水中)。使该反应混合物成粒。将浆液冷却，之后过滤收集固体。将固体干燥，得到 1.9 kg (71 %) (3R, 4R)-3-{4-甲基-3-[甲基-(7H-吡咯并[2, 3-d]嘧啶-4-基)-氨基]-哌啶-1-基}-3-氧代-丙腈-柠檬酸盐。然后将该物料与 15 L 的 1:1 比的乙醇/水混合，并将该浆液搅拌过夜。将固体过滤并干燥，得到 1.7 kg (63% 的 (3R, 4R)-甲基-(4-甲基-哌啶-3-基)-(7H-吡咯并[2, 3-d]嘧啶-4-基)-胺) 标题化合物，其为白色结晶固体。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz) (D<sub>2</sub>O) δ HOD: 0.92 (2H, d, J = 7.2 Hz), 0.96 (1H, d, J = 7.6 Hz), 1.66 (1H, m), 1.80 (1H, m), 2.37 (1H, m), 2.58 (2H, 1/2 ABq, J = 15.4 Hz), 2.70 (2H, 1/2 ABq, J = 15.4 Hz), 3.23 (2H, s), 3.25 (1H, s), 3.33

(1H, m), 3.46 (1 H, m), 3.81 (4H, m), 4.55 (1 H, m), 6.65 (1 H, d, J = 3.2 Hz), 7.20 (1 H, t, J = 3.2 Hz), 8.09 (1 H, m)。

### 实施例 2

#### 3-((3R, 4R)-4-甲基-3-[甲基-(7H-吡咯并[2, 3-d]嘧啶-4-基)-氨基]-哌啶-1-基)-3-氧代-丙腈-柠檬酸盐

向 79 g ((3R, 4R)-1-苄基-4-甲基-哌啶-3-基)-甲基-(7H-吡咯并[2, 3-d]嘧啶-4-基)-胺溶解于 2 升乙醇的溶液中加入 79 g 的 20%氢氧化钡/炭(50%重量的水), 并在 50 psi 氢的大气压下将混合物搅拌 3 天(在高温[50°C-70°C]下进行氢化明显缩短反应时间)。经 Celite®过滤除去催化剂之后, 向该乙醇溶液中加入 51 g 氰乙酸 2, 5-二氧代-吡咯烷-1-基酯, 并在室温下将所得混合物搅拌 1 小时, 与此同时在减压下除去乙醇。将残余物再次溶解在 1.0 L 二氯甲烷中, 该溶液依次用 0.6 L 饱和碳酸氢钠水溶液和 0.4 L 饱和碳酸氢钠溶液洗涤。将该混合的含水层用 0.4 L 二氯甲烷反洗, 将二氯甲烷层合并, 在硫酸镁上干燥, 过滤并真空浓缩, 得到 61 g 琥珀色油。然后将该物料溶解在 2.1 L 丙酮内并将溶液加热至 40°C。向该溶液中慢慢加入细碎的柠檬酸(37 g)(固体)。该混合物在 40°C 下连续搅拌 2 小时(成粒结束)。冷却至室温之后, 过滤收集固体, 用丙酮洗涤并在真空下干燥, 得到 78.5 g (以((3R, 4R)-1-苄基-4-甲基-哌啶-3-基)-甲基-(7H-吡咯并[2, 3-d]嘧啶-4-基)-胺计, 产率为 66%)标题化合物, 其为略微灰白色结晶固体。

### 实施例 3

#### 3-((3R, 4R)-4-甲基-3-[甲基-(7H-吡咯并[2, 3-d]嘧啶-4-基)-氨基]-哌啶-1-基)-3-氧代-丙腈-柠檬酸盐

将(3R, 4R)-3-{4-甲基-3-[甲基-(7H-吡咯并[2, 3-d]嘧啶-4-基)-氨基]-哌啶-1-基}-3-氧代-丙腈(230 mg/0.74 mmol)溶解在 23 mL 丙酮内的搅拌溶液加热至 40°C。向该溶液中加入 155 mg (0.81 mmol)的细研磨的柠檬酸。所得混合物在 40°C 下搅拌 2 小时, 然后在 30°C 下搅拌 4 小时,

接着在室温下再搅拌 18 小时。此时，过滤收集固体，用丙酮洗涤并在真空下干燥，得到 280 mg (75%) 标题化合物白色结晶固体。

#### 实施例 4

采集 3-((3R, 4R)-4-甲基-3-[甲基-(7H-吡咯并[2, 3-d]嘧啶-4-基)-氨基]-哌啶-1-基)-3-氧代-丙腈一柠檬酸盐的粉末 X-射线衍射的方法

使用配备有铜辐射、固定狭缝 (1.0、1.0、0.6mm) 和 Kevex 固态检测器的 Bruker D5000 衍射计 (Madison, Wisconsin) 采集 3-((3R, 4R)-4-甲基-3-[甲基-(7H-吡咯并[2, 3-d]嘧啶-4-基)-氨基]-哌啶-1-基)-3-氧代-丙腈一柠檬酸盐的粉末 x-射线衍射图。如下收集数据：Cu 阳极；波长 1: 1.54056；波长 2: 1.54439 (相对强度: 0.500)； $2\theta$  为 3.0-40.0 度，并使用 0.04 度的步长和 1.0 秒的步时。结果汇总于表 1。

表 1

粉末 X-射线衍射峰的列表 ( $\pm 0.2$  度)

| 角度<br>$2-\theta$ | d-值<br>埃 | 强度*<br>(相对)% | 角度<br>$2-\theta$ | d-值<br>埃 | 强度*<br>(相对)% |
|------------------|----------|--------------|------------------|----------|--------------|
| 5.7              | 15.4     | 62.4         | 25.5             | 3.5      | 21.5         |
| 7.7              | 11.5     | 7.5          | 26.2             | 3.4      | 16.7         |
| 8.9              | 9.9      | 6.8          | 27.0             | 3.3      | 43.6         |
| 11.0             | 8.0      | 7.7          | 27.5             | 3.2      | 15.1         |
| 11.5             | 7.7      | 9.7          | 28.1             | 3.2      | 32.1         |
| 13.6             | 6.5      | 13.7         | 28.7             | 3.1      | 12.6         |
| 13.9             | 6.4      | 19.6         | 29.4             | 3.0      | 14.8         |
| 14.8             | 6.0      | 38           | 30.1             | 3.0      | 13.8         |
| 15.2             | 5.8      | 42.4         | 30.3             | 2.9      | 11           |
| 16.1             | 5.5      | 87.8         | 31.1             | 2.9      | 23.4         |
| 16.6             | 5.3      | 11.4         | 32.0             | 2.8      | 6.8          |
| 17.3             | 5.1      | 50.8         | 32.8             | 2.7      | 14.1         |
| 18.7             | 4.7      | 49.7         | 33.6             | 2.7      | 22.9         |
| 20.2             | 4.4      | 100          | 34.4             | 2.6      | 7.7          |
| 20.5             | 4.3      | 59.4         | 34.8             | 2.6      | 5.7          |
| 21.1             | 4.2      | 46.7         | 35.3             | 2.5      | 8.5          |
| 21.4             | 4.1      | 24           | 35.9             | 2.5      | 16.3         |
| 22.0             | 4.0      | 46.5         | 36.5             | 2.5      | 9.2          |
| 23.0             | 3.9      | 7.5          | 37.8             | 2.4      | 8.5          |
| 23.4             | 3.8      | 12.8         | 38.5             | 2.3      | 6.8          |
| 24.0             | 3.7      | 6            | 39.2             | 2.3      | 11.1         |
| 25.0             | 3.6      | 28.3         |                  |          |              |

\*峰强度可以随结晶大小和形态而改变。

图1

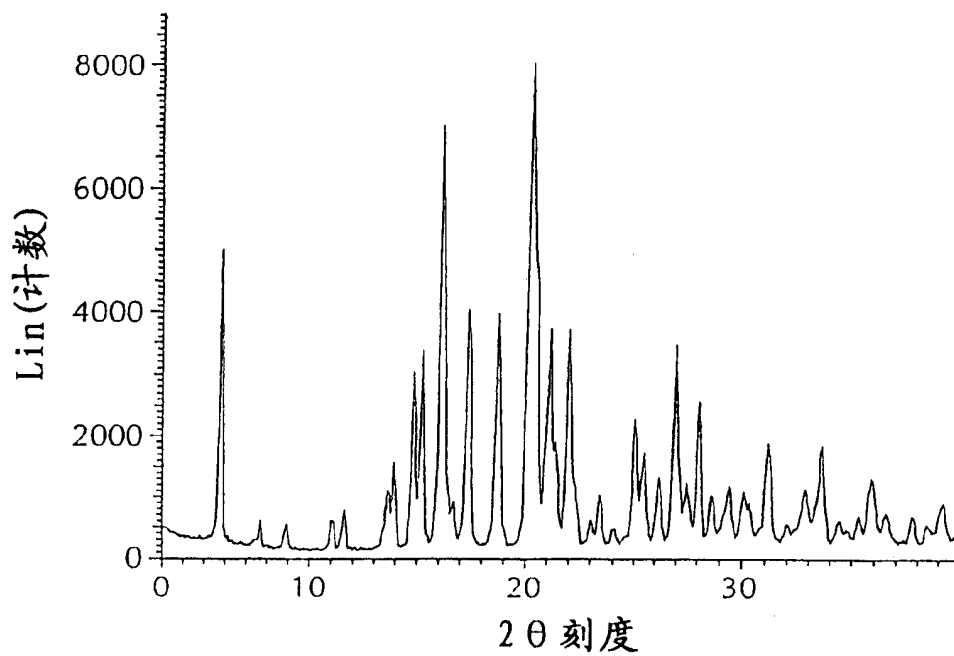


图2

