



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104321071 A

(43) 申请公布日 2015. 01. 28

(21) 申请号 201280063834. 6

(22) 申请日 2012. 10. 24

(30) 优先权数据

61/550, 782 2011. 10. 24 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2014. 06. 23

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2012/061696 2012. 10. 24

(87) PCT国际申请的公布数据

W02013/063120 EN 2013. 05. 02

(71) 申请人 西北大学

地址 美国伊利诺斯

(72) 发明人 A·M·卡恩 J·莫斯卡尔

(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 11038

代理人 李华英

(51) Int. Cl.

A61K 38/10 (2006. 01)

权利要求书4页 说明书97页 附图13页

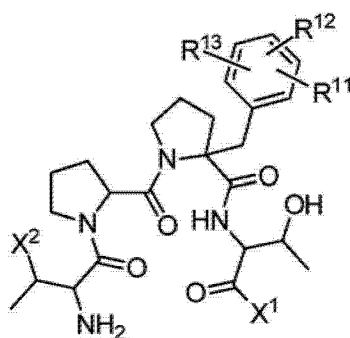
(54) 发明名称

NMDA 受体调节剂及其用途

(57) 摘要

本发明公开了在 NMDA 受体活性的调节中具有增强效能的化合物。考虑将此类化合物用于诸如学习、认知活性和痛觉缺失的疾病和病症的治疗,特别是用于减轻和/或降低神经性疼痛。还公开了所述化合物的可口服制剂和包括静脉内制剂的其它药学上可接受的递送形式。

1. 一种化合物,其由以下表示:



其中

R^{11} 、 R^{12} 和 R^{13} 各自独立地选自 H、卤素、 C_{1-3} 烷氧基和 C_{1-3} 烷基 (任选地被一个、两个或三个卤素取代);

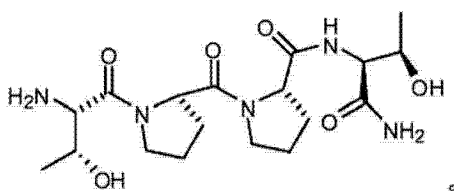
X^1 为 OH 或 NH_2 ,

X^2 为 H 或 OH;

及其药学上可接受的盐、立体异构体和水合物。

2. 根据权利要求 1 所述的化合物,其中对于每次出现的所述卤素独立地选自 Cl、Br 和 F。

3. 根据权利要求 1 或 2 所述的化合物,其中与将由以下表示的肽基化合物口服施用于患者相比当将所述化合物口服施用于患者时所述化合物实质上更有效。

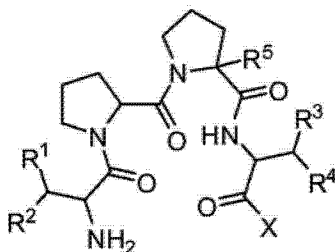


4. 根据权利要求 1-3 中任一项所述的化合物,其中 X^2 为 OH 并且 X^1 为 NH_2 。

5. 根据权利要求 1-4 中任一项所述的化合物,其中每个 R^{11} 、 R^{12} 和 R^{13} 为 H。

6. 根据权利要求 1-5 中任一项所述的化合物,其中 R^{11} 和 R^{13} 为 H,并且 R^{12} 选自 F、Br、Cl、 CH_3 、 CF_3 和 $-OCH_3$ 。

7. 一种化合物,其由以下表示:



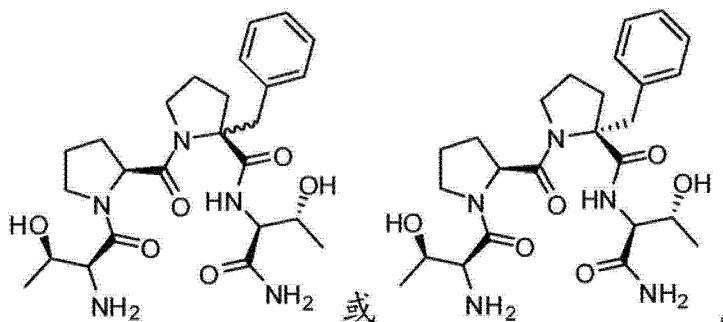
其中:

R^1 、 R^2 、 R^3 和 R^4 各自独立地选自氢;卤素、 C_1 - C_6 烷基和 $-OH$;

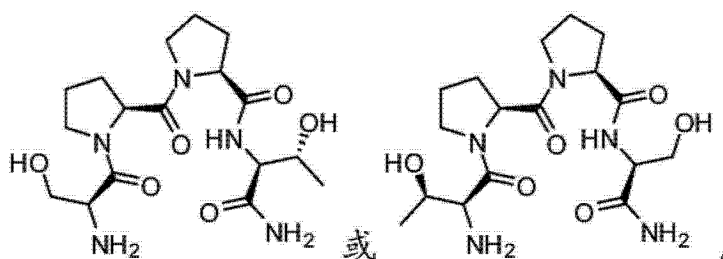
R^5 为 H 或 $-CH_2-$ 苯基 (其中所述苯基任选地被一个、两个或三个选自以下的取代基取代:卤素、 C_{1-3} 烷氧基和 C_{1-3} 烷基 (任选地被一个、两个或三个卤素取代)),条件是当 R_1 和 R_3 为 $-OH$ 并且 R_2 和 R_4 为甲基时, R^5 为 $-CH_2-$ 苯基;并且

X 选自 OR^x 和 NR^xR^x , 其中每次出现时, R^x 独立地选自氢和 C_1-C_6 烷基;
其药学上可接受的盐、立体异构体和水合物。

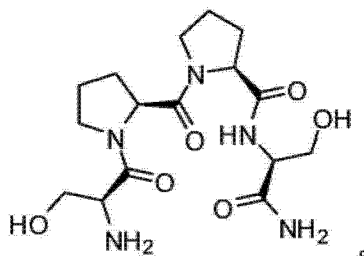
8. 根据权利要求 7 所述的化合物, 其由以下表示:



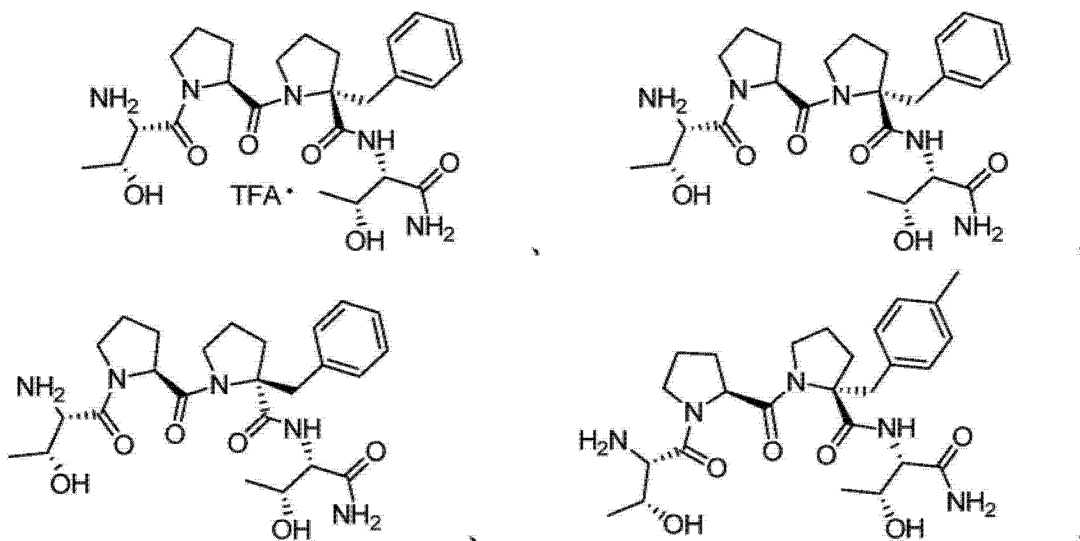
9. 根据权利要求 7 所述的化合物, 其由以下表示:

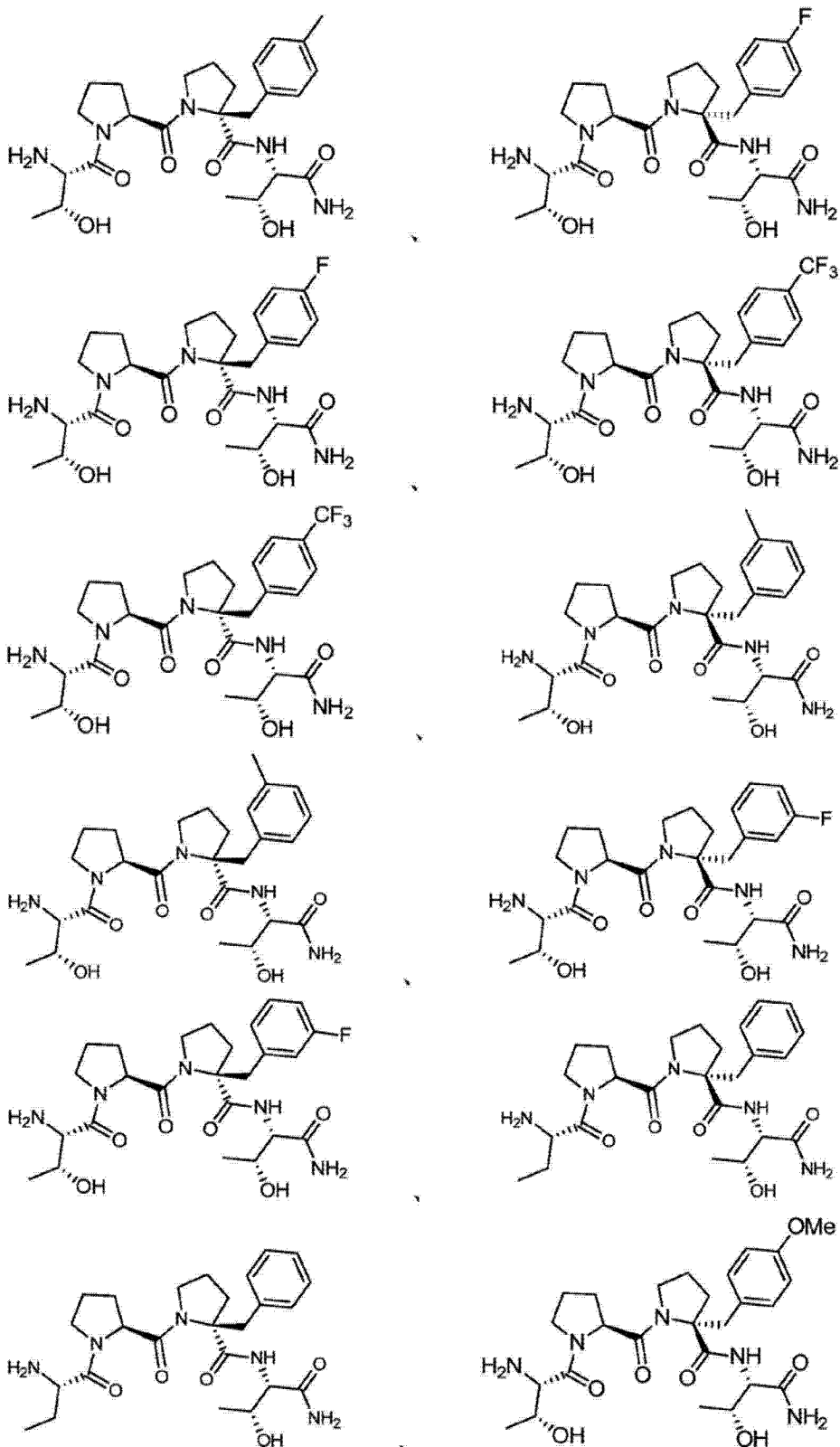


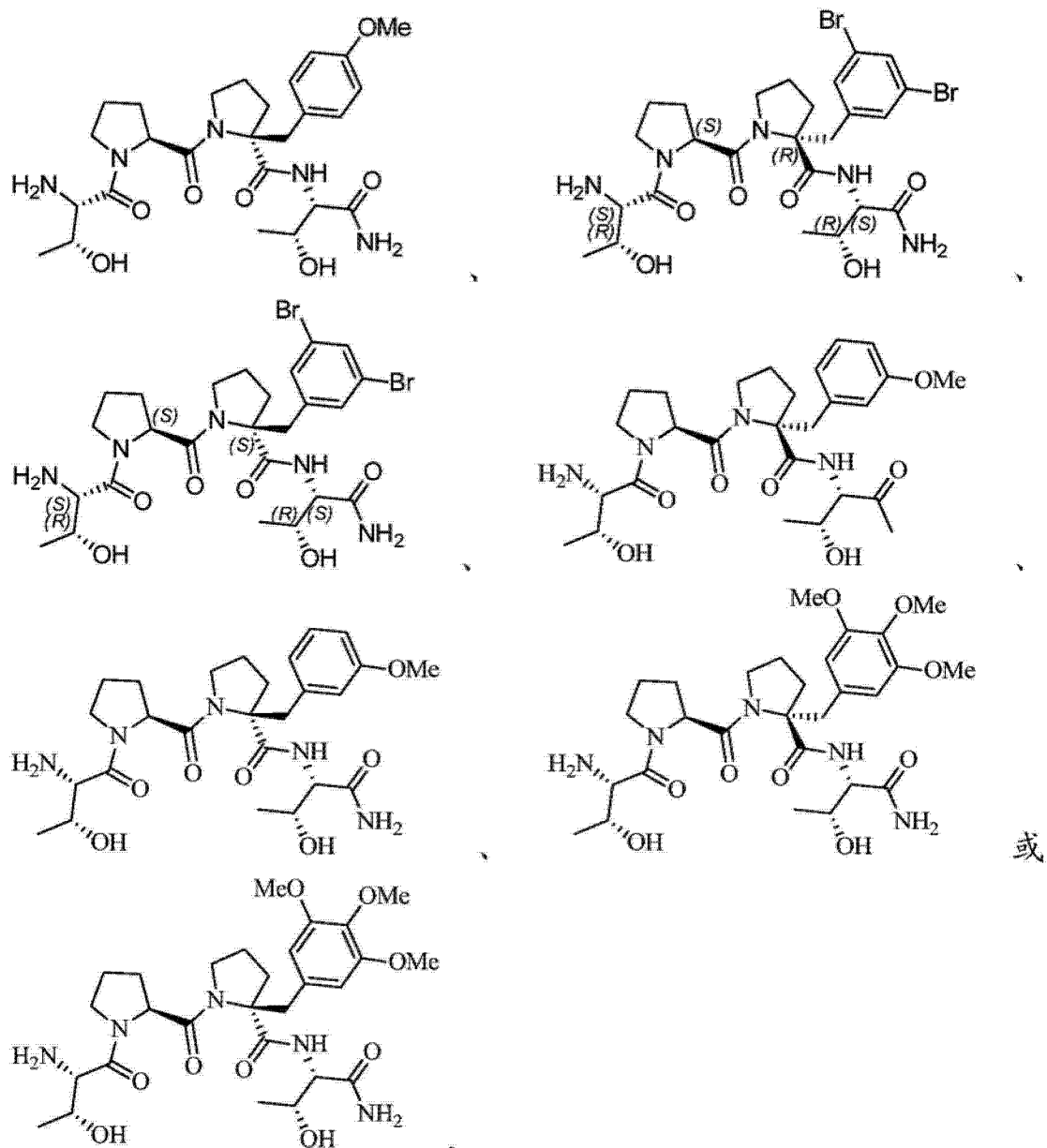
10. 根据权利要求 7 所述的化合物, 其由以下表示:



11. 根据权利要求 7 所述的化合物, 其由以下表示:







12. 一种药物组合物,其包含:

治疗有效量的权利要求 1-11 中任一项所述的化合物和药学上可接受的载体。

13. 根据权利要求 11 所述的药物组合物,所述药物组合物适用于注射。

14. 一种治疗有需要的患者的抑郁症、阿尔茨海默氏病、注意力缺陷症、ADHD、精神分裂症或焦虑的方法,其包括向所述患者施用

药学上有效量的权利要求 1-12 中任一项所述的化合物。

15. 一种治疗有需要的患者的抑郁症、阿尔茨海默氏病、注意力缺陷症、ADHD、精神分裂症或焦虑的方法,其包括向所述患者口服施用药学上有效量的权利要求 1-6 中任一项所述的化合物。

16. 一种治疗有需要的患者的抑郁症、阿尔茨海默氏病、注意力缺陷症、ADHD、精神分裂症或焦虑的方法,其包括向所述患者皮下或静脉内施用药学上有效量的权利要求 8-11 中任一项所述的化合物。

NMDA 受体调节剂及其用途

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求 2011 年 10 月 24 日提交的美国临时申请 No. 61/550,782 的优先权,所述专利在此通过引用整体并入。

背景技术

[0003] N-甲基-D-天冬氨酸 (NMDA) 受体为突触后离子型受体,其尤其响应于兴奋性氨基酸谷氨酸和甘氨酸以及合成的化合物 NMDA。NMDA 受体控制二价和一价离子通过受体相关的通道流入突触后神经细胞 (Foster 等, *Nature* 1987, 329:395-396; Mayer 等, *Trends in Pharmacol. Sci.* 1990, 11:254-260)。NMDA 受体在特定神经元建构和突触连接的发展期间有涉及,并且可以参与经验依赖性的突触修饰。另外, NMDA 受体也被认为参与长时程增强和中枢神经系统障碍。

[0004] NMDA 受体在成为许多较高认知功能诸如记忆获得、保留和学习的基础的突触可塑性中以及在某些认知途径和痛觉中发挥主要作用 (Collingridge 等, *The NMDA Receptor*, Oxford University Press, 1994)。另外, NMDA 受体的某些特性表明它们可以参与成为意识本身的基础的脑信息处理。

[0005] NMDA 受体特别有吸引力的原因是其似乎参与广泛的 CNS 障碍中。例如,在由卒中或跌打损伤引起的脑缺血期间,自损害或缺氧的神经元释放过量的兴奋性氨基酸谷氨酸。所述过量的谷氨酸结合于 NMDA 受体,这打开它们的配体-门控离子通道;从而钙内流产生高水平的细胞内钙,所述细胞内钙活化生物化学级联,引起蛋白质降解和细胞死亡。该现象,称为兴奋性中毒,也被认为引起与低血糖症和心脏停搏乃至癫痫的范围的其它障碍相关的神经损害。另外,有初步报告指出在亨廷顿氏病、帕金森氏病、阿尔茨海默氏病的慢性神经变性中存在类似参与。NMDA 受体的活化已示出引起卒中后痉挛并且在某些癫痫模型中, NMDA 受体的活化已示出为产生癫痫发作所必需的。NMDA 受体的神经精神涉及也已得到认识,由于动物麻醉剂 PCP (苯环利定) 阻断 NMDA 受体 Ca^{++} 通道在人类中产生类似精神分裂症的精神病状态 (Johnson, K. 和 Jones, S. 中的综述, 1990)。另外, NMDA 受体也牵涉于某些类型的空间学习中。

[0006] 据信 NMDA 受体由包埋在突触后膜中的若干蛋白质链组成。目前发现的前两种类型的亚单位形成大的细胞外区,所述细胞外区可能含有大多数的变构结合位点,若干跨膜区域成环并且折叠以便形成孔隙或通道,所述孔隙或通道可渗透 Ca^{++} 和羧基末端区域。所述通道的打开和关闭通过各种配体和位于胞外表面的蛋白质的多个域(变构位点)的结合而调节。所述配体的结合被认为影响蛋白质总体结构的构象变化,所述构象变化最终反映为通道打开、部分打开、部分关闭或关闭。

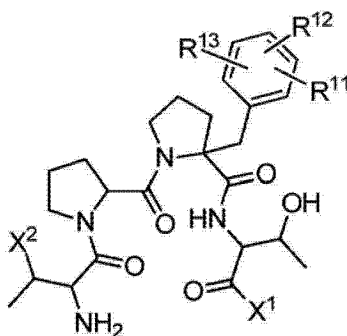
[0007] NMDA 受体化合物可以通过变构位点对 NMDA 受体发挥双重(激动剂/拮抗剂)效果。这些化合物通常被称为“部分激动剂”。在主要位点配体存在下,部分激动剂将替换某些配体并从而减少通过受体的 Ca^{++} 流。在不存在或低水平的主要位点配体的情况下,部分激动剂增加通过受体通道的 Ca^{++} 流。

[0008] 本领域中一直需要新的且更特异的 / 有效的化合物, 所述化合物能够结合至 NMDA 受体的甘氨酸结合位点, 并提供药物益处。另外, 在医学领域持续存在对于这类化合物能够口服递送的形式需要。

发明内容

[0009] 本文至少部分地提供为 NMDA 调节剂, 例如, NMDA 的部分激动剂的化合物。例如, 本文公开的为由下式

[0010]



[0011] 其中

[0012] R^{11} 、 R^{12} 和 R^{13} 各自独立地选自 H、卤素、 C_{1-3} 烷氧基和 C_{1-3} 烷基 (任选地被一个、两个或三个卤素取代);

[0013] X^1 为 OH 或 NH_2 ,

[0014] X^2 为 H 或 OH;

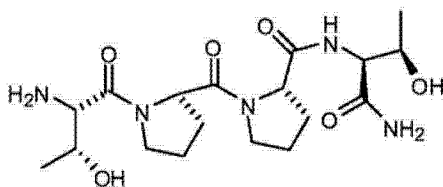
[0015] 及其药学上可接受的盐、立体异构体和水合物。

[0016] 在一些实施方案中, 预期的化合物的卤素可以独立地选自 Cl、Br 和 F。在一些情况下, 上述结构中的 X^2 可以为 OH 并且上述结构中的 X^1 可以为 NH_2 。

[0017] 在一些情况下, 上述结构中的每个 R^{11} 、 R^{12} 和 R^{13} 可以为 H。或者, 上述结构中的 R^{11} 和 R^{13} 可以为 H。上述结构中的 R^{12} 可以选自 H、卤素、 C_{1-3} 烷氧基和 C_{1-3} 烷基 (任选地被一个、两个或三个卤素取代)。例如, 上述结构中的 R^{11} 和 R^{13} 可以为 H, 并且上述结构中的 R^{12} 可以选自 F、Br、Cl、 CH_3 、 CF_3 和 $-OCH_3$ 。

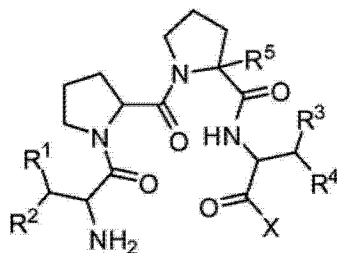
[0018] 在某些实施方案中, 与下式相比, 当口服施用, 预期的化合物可能实质上更有效

[0019]



[0020] 在另一方面, 提供了由下式表示的化合物:

[0021]



[0022] 其中：

[0023] R^1 、 R^2 、 R^3 和 R^4 各自独立地选自氢；卤素、 C_1 - C_6 烷基或 $-OH$ ；

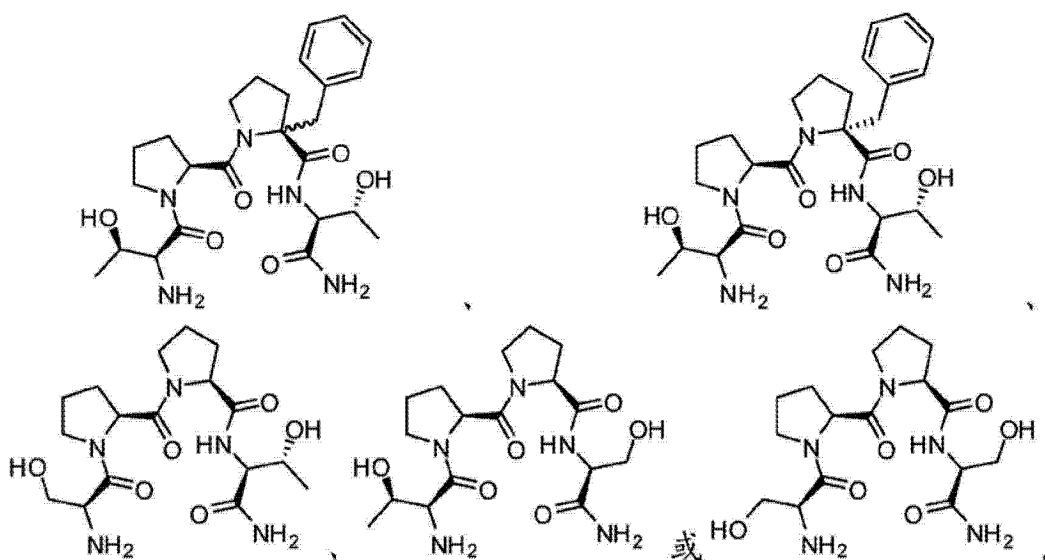
[0024] R^5 为 H 或 $-CH_2-$ 苯基（其中所述苯基任选地被一个、两个或三个选自以下的取代基取代：卤素、 C_{1-3} 烷氧基和 C_{1-3} 烷基（任选地被一个、两个或三个卤素取代）），条件是当 R_1 和 R_3 为 $-OH$ 并且 R_2 和 R_4 为甲基时， R^5 为 $-CH_2-$ 苯基；并且

[0025] X 选自 OR^x 和 NR^xR^x ，其中每次出现时， R^x 独立地选自氢和 C_1 - C_6 烷基；

[0026] 其药学上可接受的盐、立体异构体和水合物。

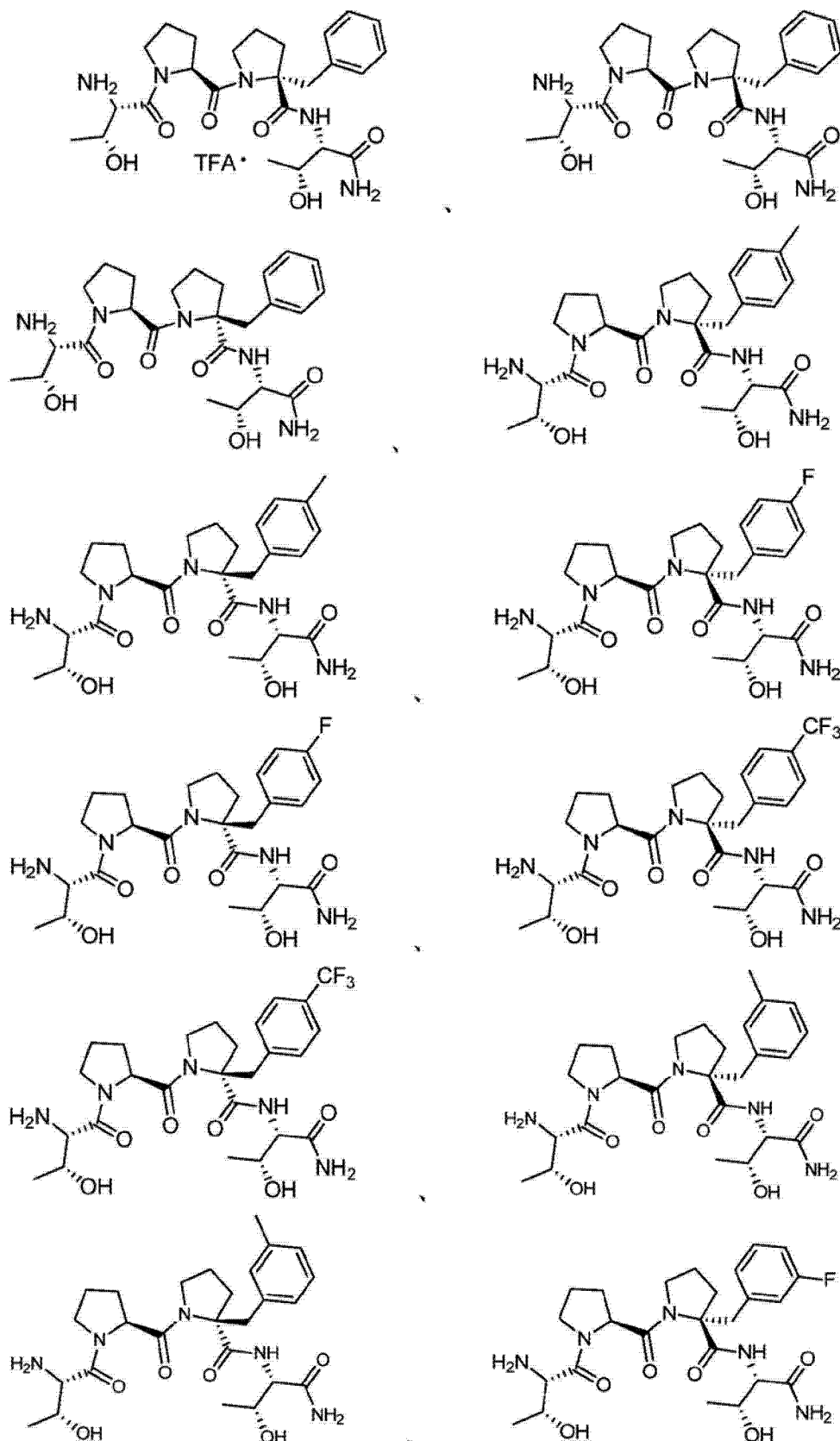
[0027] 例如，预期的化合物可以表示为：

[0028]

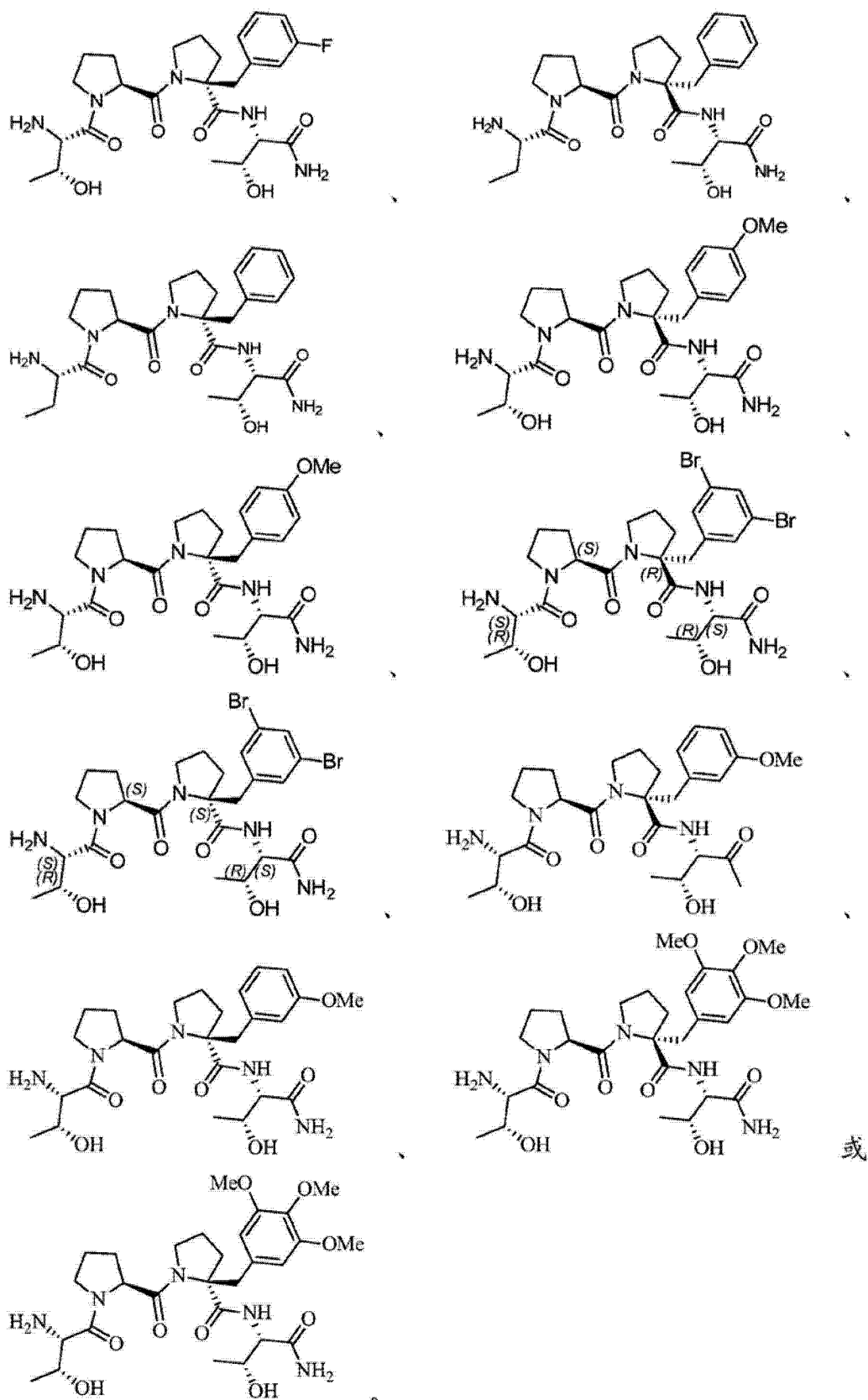


[0029] 在其它实例中，预期的化合物可以表示为：

[0030]



[0031]



[0032] 本文还提供了包含公开的化合物和药学上可接受的赋形剂的药学上可接受的组合物。例如,此类组合物可适于口服施用于患者。在其它实施方案中,此类组合物可适于注

射。

[0033] 在另一方面,提供了治疗有需要的患者的抑郁症、阿尔茨海默氏病、注意力缺陷症、ADHD、精神分裂症或焦虑的方法,所述方法包括向所述患者施用(如口服、静脉内或皮下)药学上有效量的预期的化合物。

附图说明

[0034] 图 1 示出 CM-4A 的血浆浓度随给药后时间的变化的图。

[0035] 图 2 示出用于评估预期的化合物的激动特性的 [³H]MK-801 结合测定的剂量依赖图。

[0036] 图 3 示出用于评估预期的化合物的激动特性的 [³H]MK-801 结合测定的剂量依赖图。

[0037] 图 4 示出用于评估预期的化合物的激动特性的 [³H]MK-801 结合测定的剂量依赖图。

[0038] 图 5 示出描绘 CM-4A 对单次电击记录于 CA1 锥体神经元中的谢弗侧枝诱发的药理学上分离的 NMDA 兴奋性突触后电流 (EPSC) 的效果的时间进程的图。

[0039] 图 6 示出描绘在高频刺激记录于 CA1 锥体神经元的谢弗侧枝诱发的 NMDA EPSC 之后 CM-4A 浓度对长时程增强的效果的图。

[0040] 图 7 示出描绘 CM-4A 对长时程抑制 (LTD) 的剂量 - 反应关系的图。

[0041] 图 8 示出对预期的化合物的场兴奋性突触后电位 (fEPSP) 斜率的长时程增强%的柱形图。

[0042] 图 9 示出描绘 Porsolt 测试平均漂浮时间随 CM-4A 浓度的变化的图。

[0043] 图 10 示出对 CM-4A 和与 AMPA 受体拮抗剂 2, 3- 二羟基 -6- 硝基 -7- 氨磺酰 - 苯并 [f] 喹啉 -2, 3- 二酮 (NBQX) 结合的 CM-4A 的 Porsolt 测试平均漂浮时间的柱形图。

[0044] 图 11A-11C 示出描绘对预期的化合物的 Porsolt 测试的结果的柱形图。

[0045] 图 12 示出描绘在 1 小时和 24 小时之后对预期的化合物的 Porsolt 测试的结果的柱形图。

[0046] 图 13 示出描绘对 CM-4A 的大鼠新奇诱导的食欲过盛 (NIH) 测试的结果的柱形图。

[0047] 图 14A 和 14B 示出描绘对 CM-4A 的大鼠超声发声 (USV) 测试的结果的柱形图。图 14A 定量积极的情感学习,而图 14B 定量愉悦的和厌恶的 USV 以及奖励。

[0048] 图 15 示出描绘对 CM-4A 的大鼠旷场测试的结果的柱形图。

[0049] 图 16 示出描绘对 CM-4A 的大鼠加速转杆测试的结果的柱形图。

[0050] 发明详述

[0051] 本公开一般涉及能够调节 NMDA 如 NMDA 拮抗剂或部分激动剂的化合物,和组合物和 / 或使用所公开的化合物的方法。

[0052] 定义

[0053] 在一些实施方案中,如本文所描述的化合物可以被任何数目的取代基或官能部分取代。通常,无论前面有无术语“任选地”,术语“取代的”和式中含有的取代基是指用指定的取代基基团置换给定结构中的氢基团。

[0054] 在一些情况下,当任何给定结构中一个以上的位置可以经一个以上选自指定群组

的取代基取代时,每一位置上的取代基可相同或不同。

[0055] 如本文所用,术语“取代的”是指包括有机化合物的所有可允许的取代基。在一个广义方面,可允许的取代基包括有机化合物的非环状和环状、支链和未支化、碳环和杂环、芳族和非芳族的取代基。在一些实施方案中,杂原子(诸如氮)可以具有氢取代基和/或满足杂原子化合价的本文所描述有机化合物的任何可允许的取代基。取代基的非限制性实例包括酰基;脂族;杂脂族;芳基;杂芳基;芳基烷基;杂芳基烷基;烷氧基;环烷氧基;杂环基烷氧基;杂环基氧基;杂环氧基烷基;烯氧基;炔氧基;芳氧基;杂烷氧基;杂芳氧基;烷硫基;芳硫基;杂芳基硫基;氧代;-F;-Cl;-Br;-I;-OH;-NO₂;-N₃;-CN;-SCN;-SR^x;-CF₃;-CH₂CF₃;-CHCl₂;-CH₂OH;-CH₂CH₂OH;-CH₂NH₂;-CH₂SO₂CH₃;-OR^x;-C(O)R^x;-CO₂(R^x);-C(O)N(R^x)₂;-C(NR^x)N(R^x)₂;-OC(O)R^x;-OCO₂R^x;-OC(O)N(R^x)₂;-N(R^x)₂;-SOR^x;-S(O)₂R^x;-NR^xC(O)R^x;-NR^xC(O)N(R^x)₂;-NR^xC(O)OR^x;-NR^xC(NR^x)N(R^x)₂;和-C(R^x)₃;其中每次出现的R^x独立地包括但不限于氢、卤素、酰基、脂族、杂脂族、芳基、杂芳基、芳基烷基或杂芳基烷基,其中以上和本文描述的脂族、杂脂族、芳基烷基或杂芳基烷基取代基中的任一者可以为取代或未取代的、支链或未支化的、环状或非环状的,并且其中以上和本文描述的任何芳基或杂芳基取代基可以为取代或未取代的。此外,本文描述的化合物不旨在以任何方式受有机化合物的可允许的取代基的限制。在一些实施方案中,本文描述的取代基和变量的组合可以优选为导致形成稳定化合物的那些。如本文所用,术语“稳定的”是指具有足以允许制造的稳定性并且保持待检测的足够时间段并且优选用于本文详述目的的足够时间段的化合物的完整性的化合物。

[0056] 如本文所用,术语“脂族”包括饱和和不饱和的、直链(即,未支化的)、支链、非环状、环状或多环的脂族烃,所述脂族烃任选地被一个或多个官能团取代。正如本领域普通技术人员将理解的,“脂族”在本文旨在包括但不限于烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基和环炔基部分。

[0057] 如本文所用,术语“芳基”和“杂芳基”是指优选具有3-14个碳原子的单环或多环不饱和部分,其各自可以被取代或未被取代。在某些实施方案中,“芳基”是指具有一个或两个芳族环的单环或双环碳环系统,所述芳族环包括但不限于苯基、萘基、四氢萘基、茚满基、茚基等。在某些实施方案中,“杂芳基”是指具有一个或两个芳族环的单环或双环杂环系统,其中一个、两个或三个环原子为独立地选自S、O和N的杂原子,剩余的环原子为碳。杂芳基的非限制性实例包括吡啶基、吡嗪基、嘧啶基、吡咯基、吡唑基、咪唑基、噻唑基、噁唑基、异噁唑基、噻二唑基、噁二唑基、苯硫基、呋喃基、喹啉基、异喹啉基等。

[0058] 如本文所用,术语“烯基”是指具有至少一个碳-碳双键的不饱和的直链或支链烃,诸如2-12、2-10或2-6个碳原子的直链或支链基团,在文中分别称为C₂-C₁₂烯基、C₂-C₁₀烯基和C₂-C₆烯基。示例性的烯基包括但不限于乙烯基、烯丙基、丁烯基、戊烯基、己烯基、丁二烯基、戊二烯基、己二烯基、2-乙基己烯基、2-丙基-2-丁烯基、4-(2-甲基-3-丁烯)-戊烯基等。

[0059] 如本文所用,术语“烷氧基”是指连接于氧的烷基(-O-烷基)。示例性的烷氧基包括但不限于具有1-12、1-8或1-6个碳原子的烷基的基团,在文中分别称为C₁-C₁₂烷氧基、C₁-C₈烷氧基和C₁-C₆烷氧基。示例性的烷氧基包括但不限于甲氧基、乙氧基等。类似地,示例性的“烯氧基”包括但是不限于乙烯基氧基、烯丙氧基、丁烯基氧基等。

[0060] 如本文所用,术语“烷氧羰基”是指连接于氧、连接于羰基的直链或支链烷基(烷基 $-O-C(=O)-$)。示例性的烷氧羰基包括但不限于 1-6 个碳原子的烷氧羰基,在文中称为 C_{1-6} 烷氧羰基。示例性的烷氧羰基包括但不限于甲氧羰基、乙氧羰基、叔丁氧羰基等。

[0061] 本文使用的术语“炔氧基”是指连接于氧的直链或支链炔基(炔基 $-O-$)。示例性的炔氧基包括但不限于丙炔氧基。

[0062] 如本文所用,术语“烷基”是指饱和的直链或支链烃,例如,诸如 1-6、1-4 或 1-3 个碳原子的直链或支链基团,在文中分别称为 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_4 烷基和 C_1-C_3 烷基。示例性的烷基包括但不限于甲基、乙基、丙基、异丙基、2-甲基-1-丙基、2-甲基-2-丙基、2-甲基-1-丁基、3-甲基-1-丁基、2-甲基-3-丁基、2,2-二甲基-1-丙基、2-甲基-1-戊基、3-甲基-1-戊基、4-甲基-1-戊基、2-甲基-2-戊基、3-甲基-2-戊基、4-甲基-2-戊基、2,2-二甲基-1-丁基、3,3-二甲基-1-丁基、2-乙基-1-丁基、丁基、异丁基、叔丁基、戊基、异戊基、新戊基、己基、庚基、辛基等。

[0063] 如本文所用,术语“烷基羰基”是指连接于羰基的直链或支链烷基(烷基 $-C(=O)-$)。示例性的烷基羰基包括但不限于 1-6 个碳原子的烷基羰基,在文中称为 C_1-C_6 烷基羰基。示例性的烷基羰基包括但不限于乙酰基、丙酰基、异丙酰基、丁酰基等。

[0064] 如本文所用,术语“炔基”是指具有至少一个碳-碳三键的不饱和的直链或支链烃,诸如 2-6 或 3-6 个碳原子的直链或支链基团,在文中分别称为 C_{2-6} 炔基和 C_{3-6} 炔基。示例性的炔基包括但不限于乙炔基、丙炔基、丁炔基、戊炔基、己炔基、甲基丙炔基等。

[0065] 如果没有另外指示,烷基、烯基和炔基可任选地被一个或多个选自烷氧基、烷基、环烷基、氨基、卤素和 $-C(=O)$ 烷基的基团取代。在某些实施方案中,所述烷基、烯基和炔基为未被取代的,即,它们为未取代的。

[0066] 如本文所用,术语“酰胺 (amide)”或“酰氨基 (amido)”是指形式 $-R^aC(=O)N(R^b)-$ 、 $-R^aC(=O)N(R^b)R^c-$ 或 $-C(=O)NR^bR^c$ 的基团,其中 R^a 、 R^b 和 R^c 各自独立地选自烷氧基、烷基、烯基、炔基、酰胺、氨基、芳基、芳基烷基、氨基甲酸酯、环烷基、酯、醚、甲酰基、卤素、卤代烷基、杂芳基、杂环基、氢、羟基、酮和硝基。所述酰胺可通过碳、氮、 R^b 、 R^c 或 R^a 连接于另一基团。所述酰胺也可环状的,例如可以将 R^b 和 R^c 、 R^a 和 R^b 或 R^a 和 R^c 接合以形成 3 至 12 元环,诸如 3 至 10 元环或 5 至 6 元环。术语“甲酰胺基”是指结构 $-C(=O)NR^bR^c$ 。

[0067] 如本文所用,术语“胺”或“氨基”是指形式 $-NR^dR^e$ 的基团,其中 R^d 和 R^e 独立地选自氢、烷基、烯基、炔基、芳基、芳基烷基、环烷基、卤代烷基、杂芳基和杂环基。所述氨基也可以为环状的,例如 R^d 和 R^e 与 N 接合在一起形成 3 至 12 元环,如,吗啉代或哌啶基。术语氨基也包括任何氨基的对应的季铵盐,如, $-[N(R^d)(R^e)(R^f)]^+$ 。示例性的氨基包括氨基烷基,其中 R^d 、 R^e 或 R^f 中的至少一者为烷基。在某些实施方案中, R^d 和 R^e 为氢或烷基。

[0068] 如本文所用,术语“环烷基”是指例如 3-6 或 4-6 个碳,在文中称为,如 C_{3-6} 环烷基或 C_{4-6} 环烷基和来源于环烷烃的单环饱和的或部分不饱和的烃基。示例性的环烷基包括但不限于环己基、环己烯基、环戊基、环丁基或环丙基。

[0069] 如本文所用,术语“卤代”、“卤素”或“Hal”是指 F、Cl、Br 或 I。如本文所用,术语“卤代烷基”是指被一个或多个卤原子取代的烷基。

[0070] 术语“杂环基”或“杂环基团”为本领域公知的并且是指饱和的或部分不饱和的 3 至 10 元环结构,或为 3 至 7 元环,所述环结构包括一至四个杂原子,诸如氮、氧和硫。杂环

也可以为单、二或其它多环的环系统。杂环可以稠合于一个或多个芳基、部分不饱和的或饱和的环。杂环基包括,例如,生物素基、色烯基、二氢呋喃基、二氢吡喃基、二氢噻吩基、二噻唑基、高哌啶基、咪唑烷基、异喹啉基、异噻唑烷基、异噁唑烷基、吗啉基、氧杂环戊基 (oxolanyl)、噁唑烷基、吩咕吨基 (phenoxanthenyl)、哌嗪基、哌啶基、吡喃基、吡唑烷基、吡唑啉基、吡啶基、嘧啶基、吡咯烷基、吡咯烷-2-酮基、吡咯啉基、四氢呋喃基、四氢异喹啉基、四氢吡喃基、四氢噻啉基、噻唑烷基、硫杂戊环基 (thiolanyl)、硫代吗啉基、噻喃基、咕吨基、内酯、诸如氮杂环丁酮和吡咯烷酮的内酰胺、硫内酰胺 (sultams)、硫内酯等。所述杂环可以在一个或多个位置被以下取代基取代,诸如烷酰基、烷氧基、烷基、烯基、炔基、酰氨基、脒基、氨基、芳基、芳基烷基、叠氨基、氨基甲酸酯、碳酸酯、羧基、氰基、环烷基、酯、醚、甲酰基、卤素、卤代烷基、杂芳基、杂环基、羟基、亚氨基、酮、硝基、磷酸酯、膦酸根 (phosphonato)、亚膦酸根 (phosphinato)、硫酸酯、硫化物、亚磺酰氨基、磺酰基和硫代羰基。在某些实施方案中,所述杂环基为未被取代的,即,所述杂环基为未取代的。

[0071] 如本文所用,术语“杂环基烷氧基”是指杂环基-烷基-O-基团。

[0072] 术语“杂环基氧基”是指杂环基-O-基团。

[0073] 术语“杂环基氧烷基”是指杂环基-O-烷基-基团。

[0074] 如本文所用,术语“羟基 (hydroxy)”和“羟基 (hydroxyl)”是指-OH基团。

[0075] 如本文所用,术语“氧代”是指=O基团。

[0076] “药学上或药理学上可接受的”包括当施用至动物或人类(视情况而定)不产生不利、过敏或其它不良反应的分子实体和组合物。对于人类施用,制品应该符合如由FDA生物制品标准办公室要求的无菌、致热原性、一般安全性以及纯度标准。

[0077] 如在本发明中所用,术语“部分NMDA受体激动剂”被定义为能够与NMDA受体的甘氨酸结合位点结合的化合物;在低浓度时NMDA受体激动剂基本上作为激动剂,在高浓度时它基本上作为拮抗剂。对于每种和每个“部分激动剂”通过实验确定这些浓度。

[0078] 如本文所用,“药学上可接受的载体”或“赋形剂”包括任何和所有生理上相容的溶剂、分散介质、包衣、抗菌药和抗真菌试剂、等渗剂和吸收延迟剂等。在一个实施方案中,所述载体适于肠胃外施用。或者,载体可适于静脉内、腹膜内、肌内、舌下和口服施用。药学上可接受的载体包括无菌水溶液或分散剂以及用于临时制备无菌可注射溶液或分散剂的无菌粉末。用于药学活性物质的此类介质和试剂的用途是本领域熟知的。除非任何常规介质或试剂与活性化合物不相容,预期将其用于本发明的药物组合物中。补充性有效化合物也可并入组合物中。

[0079] 如本文所用,术语“药学上可接受的盐”是指可以在本组合物中使用的化合物中存在的酸性或碱性基团的盐。在自然界中是碱性的包括于本组合物中的化合物能够与多种无机酸和有机酸形成多种多样的盐。可以用于制备此类碱性化合物的药学上可接受的酸加成盐的酸为形成非毒性酸加成盐的那些,即,含有药理学上可接受的阴离子的盐,所述盐包括但不限于苹果酸盐、草酸盐、氯化物、溴化物、碘化物、硝酸盐、硫酸盐、硫酸氢盐、磷酸盐、酸性磷酸盐、异烟酸盐、乙酸盐、乳酸盐、水杨酸盐、柠檬酸盐、酒石酸盐、油酸盐、单宁酸盐、泛酸盐、酒石酸氢盐、抗坏血酸盐、琥珀酸盐、马来酸盐、龙胆酸盐、富马酸盐、葡萄糖酸盐、葡萄糖醛酸盐、蔗糖盐、甲酸盐、苯甲酸盐、谷氨酸盐、甲磺酸盐、乙磺酸盐、苯磺酸盐、对甲苯磺酸盐和双羟萘酸盐(即,1,1'-亚甲基-双-(2-羟基-3-萘甲酸盐)))。在包含氨基部

分的本组合物中包括的化合物可以与除了以上提及的酸以外的多种氨基酸形成药学上可接受的盐。在自然界中是酸性的包括于本组合物中的化合物能够与多种药学上可接受的阳离子形成碱式盐。此类盐的实例包括碱金属盐或碱土金属盐,以及特别为钙盐、镁盐、钠盐、锂盐、锌盐、钾盐和铁盐。

[0080] 本公开的化合物可以含有一个或多个手性中心和 / 或双键并且,因此作为立体异构体(诸如几何异构体、对映体或非对映体)存在。当用于本文时术语“立体异构体”由所有几何异构体、对映体或非对映体组成。取决于立构碳原子周围的取代基的构型,这些化合物可以由符号“R”或“S”指定。本发明涵盖这些化合物及其混合物的多种立体异构体。立体异构体包括对映体和非对映体。对映体或非对映体的混合物在命名法中可以指定为“(±)”,但本领域技术人员将会认识到结构可以隐式指代手性中心。

[0081] 本发明的化合物的单个立体异构体可以通过从含有不对称或立构中心的可商购的起始材料合成地制备,或通过制备外消旋混合物、接着进行本领域普通技术人员熟知的拆分方法来制备。通过以下举例说明这些拆分方法:(1) 对映体的混合物附接至手性助剂、通过重结晶或层析分离所产生的非对映体的混合物并且从所述助剂释放光学纯产物,(2) 采用光学活性拆分剂形成盐,或(3) 在手性色谱柱上直接分离光学对映体的混合物。还可以通过熟知方法(诸如手性相气相色谱法、手性相高效液相色谱法)使所述化合物以手性盐复合物结晶或使所述化合物在手性溶剂中结晶来将立体异构混合物拆分成它们的组分立体异构体。也可以通过熟知的不对称合成方法从立体异构纯的中间体、试剂和催化剂中获得立体异构体。

[0082] 几何异构体也可存在于本发明的化合物中。符号表示键,所述键可以为如本文所描述的单键、双键或三键。本发明涵盖由碳-碳双键周围的取代基排列或碳环周围的取代基排列所产生的多种几何异构体及其混合物。碳-碳双键周围的取代基被指定为“Z”或“E”构型,其中术语“Z”和“E”根据 IUPAC 标准使用。除非另有说明,否则描绘双键的结构涵盖“E”和“Z”两种异构体。

[0083] 碳-碳双键周围的取代基可以可选地称为“顺式”或“反式”,其中“顺式”表示在双键的相同侧上的取代基,而“反式”表示在双键的相对侧上的取代基。碳环周围取代基的排列被指定为“顺式”或“反式”。术语“顺式”表示环的平面的相同侧上的取代基,而术语“反式”表示环的平面的相对侧上的取代基。其中取代基排列在环的平面的相同侧和相对侧上的化合物的混合物为指定为“顺式 / 反式。”

[0084] 本文公开的化合物可以呈与药学上可接受的溶剂(诸如水、乙醇等)形成的溶剂化形式和非溶剂化形式存在,并且本发明旨在包括溶剂化形式和非溶剂化形式。在一个实施方案中,所述化合物为非晶形的。在一个实施方案中,所述化合物为单一多晶型物。在另一实施方案中,所述化合物呈结晶形式。

[0085] 本发明还包括本发明的同位素标志化合物,所述化合物与本文列举的那些是同样的,除了一个或多个原子被具有与通常在自然界中发现的原子质量或质量数不同的原子质量或质量数的原子替代。可以并入本发明的化合物中的同位素的实例包括氢、碳、氮、氧、磷、氟和氯的同位素,诸如分别为²H、³H、¹³C、¹⁴C、¹⁵N、¹⁸O、¹⁷O、³¹P、³²P、³⁵S、¹⁸F 和 ³⁶Cl。

[0086] 某些同位素标记的公开的化合物(如,被³H 和 ¹⁴C 标记的那些)在化合物和 / 或基质组织分布测定中是有用的。氟化(即,³H)和碳-14(即,¹⁴C)同位素因为它们易于制备

和检测为特别优选的。此外,经较重同位素诸如氘(即 ^2H) 取代可以提供由较大的代谢稳定性产生的某些治疗优势(如活体内半衰期延长或剂量需要减少),并且因此在一些情况下可能为优选的。同位素标记的本发明的化合物通常可以通过与实施例中公开的那些类似的方法制备,本文中的实施例通过将非同位素标记的试剂替换为同位素标记的试剂。

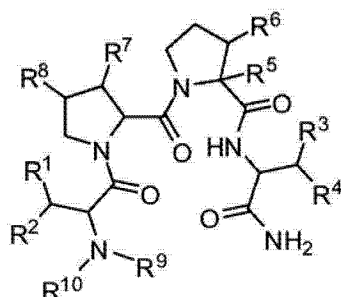
[0087] 如本发明中所用,“NMDA”被定义为 N-甲基-D-天冬氨酸。

[0088] 在本说明书中,术语“治疗有效量”意指研究人员、兽医、内科医生或其他临床医师正在寻求的将会引起组织、系统、动物或人类的生物或医学响应的所述主题化合物的量。以治疗有效量来施用本发明的化合物以便治疗疾病。或者,化合物的治疗有效量是达到期望的治疗和/或预防性效果所需的量,诸如其终归定义为获得行为(例如,学习)、生理学反应(例如,LTP 诱导)的最大增强或抑制神经性疼痛所需的量。

[0089] 化合物

[0090] 公开的化合物包括由下式表示的化合物:

[0091]



[0092] 及其药学上可接受的盐、立体异构体、代谢物和水合物,

[0093] 其中:

[0094] R^1 、 R^2 、 R^3 和 R^4 可以独立地选自氢;卤素;环状或非环状的、取代或未取代的、支链或未支化的脂族;环状或非环状的、取代或未取代的、支链或未支化的杂脂族;取代或未取代的芳基;取代或未取代的杂芳基; $-\text{OR}^x$; $-\text{NO}_2$; $-\text{N}_3$; $-\text{CN}$; $-\text{SCN}$; $-\text{SR}^x$; $-\text{C}(\text{O})\text{R}^x$; $-\text{CO}_2(\text{R}^x)$; $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^x)_2$; $-\text{C}(\text{NR}^x)\text{N}(\text{R}^x)_2$; $-\text{OC}(\text{O})\text{R}^x$; $-\text{OCO}_2\text{R}^x$; $-\text{OC}(\text{O})\text{N}(\text{R}^x)_2$; $-\text{N}(\text{R}^x)_2$; $-\text{SOR}^x$; $-\text{S}(\text{O})_2\text{R}^x$; $-\text{NR}^x\text{C}(\text{O})\text{R}^x$; $-\text{NR}^x\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^x)_2$; $-\text{NR}^x\text{C}(\text{O})\text{OR}^x$; $-\text{NR}^x\text{C}(\text{NR}^x)\text{N}(\text{R}^x)_2$; 和 $-\text{C}(\text{R}^x)_3$; 其中每次出现的 R^x 独立地选自氢;卤素;酰基;任选取代的脂族;任选取代的杂脂族;任选取代的芳基;和任选取代的杂芳基;

[0095] R^5 和 R^6 可以独立地选自 $-\text{Q}-\text{Ar}$ 和氢,条件是 R^5 和 R^6 中的至少一者为 $-\text{Q}-\text{Ar}$; 其中 Q 独立地选自环状或非环状的、取代或未取代的、支链或未支化的脂族;环状或非环状的、取代或未取代的、支链或未支化的杂脂族;和键;并且其中 Ar 选自取代或未取代的芳基和取代或未取代的杂芳基;或 R^5 和 R^6 连同它们连接的原子一起形成取代或未取代的 4-6 元杂环或环烷基环;

[0096] R^7 和 R^8 可以独立地选自氢;卤素;羟基;取代或未取代的 C_1-C_6 烷基;取代或未取代的 C_1-C_6 烷氧基;和取代或未取代的芳基;或 R^7 和 R^8 连同它们连接的原子一起形成取代或未取代的 4-6 元杂环或环烷基环;

[0097] R^9 和 R^{10} 可以独立地选自氢;任选地被一个或多个各自独立地选自卤素、氧代和羟基的取代基取代的 C_1-C_6 烷基;任选地被一个或多个各自独立地选自卤素、氧代和羟基的取

代基取代的 C_{2-6} 烯基 ; 任选地被一个或多个各自独立地选自卤素、氧代和羟基的取代基取代的 C_{2-6} 炔基 ; 任选地被一个或多个各自独立地选自 C_{1-6} 烷基、卤素、氧代和羟基的取代基取代的 C_{3-6} 环烷基 ; 任选地被一个或多个各自独立地选自 C_{1-6} 烷基的取代基取代的苯基 ; C_{1-6} 烷氧基 ; 卤素 ; 羟基 ; $-C(O)R^x$; $-CO_2(R^x)$; $-C(O)N(R^x)_2$; $-C(NR^x)N(R^x)_2$; 和 $-C(R^x)_3$; 其中每次出现的 R^x 独立地选自氢 ; 卤素 ; C_{1-6} 烷基 ; C_{2-6} 烯基 ; C_{2-6} 炔基 ; C_{3-6} 环烷基 ; 和苯基 ; 或 R^9 和 R^{10} , 连同 N 形成任选地被一个或多个各自独立地选自 C_{1-6} 烷基、卤素、氧代和羟基的取代基取代的 4-6 元杂环。

[0098] 在某些实施方案中, R^1 、 R^2 、 R^3 和 R^4 可以独立地选自氢 ; 卤素 ; C_{1-6} 烷基 ; C_{2-6} 烯基 ; C_{2-6} 炔基 ; C_{3-6} 环烷基 ; 苯基 ; 萘基 ; 杂芳基 ; 杂环基 ; C_{3-6} 环烷基 $-C_{1-6}$ 烷基 ; 苯基 $-C_{1-6}$ 烷基 ; 萘基 $-C_{1-6}$ 烷基 ; 杂芳基 $-C_{1-6}$ 烷基 ; 和杂环基 $-C_{1-6}$ 烷基 ; $-OR^x$; $-NO_2$; $-N_3$; $-CN$; $-SCN$; $-SR^x$; $-C(O)R^x$; $-CO_2(R^x)$; $-C(O)N(R^x)_2$; $-C(NR^x)N(R^x)_2$; $-OC(O)R^x$; $-OCO_2R^x$; $-OC(O)N(R^x)_2$; $-N(R^x)_2$; $-SOR^x$; $-S(O)_2R^x$; $-NR^xC(O)R^x$; $-NR^xC(O)N(R^x)_2$; $-NR^xC(O)OR^x$; $-NR^xC(NR^x)N(R^x)_2$; 和 $-C(R^x)_3$; 其中杂芳基为具有一个、两个或三个各自独立地选自 N、O 或 S 的杂原子的 5-6 元环 ; 其中杂芳基任选地被一个或多个各自独立地选自 R^b 的取代基取代 ; 其中杂环基任选地被一个或多个各自独立地选自 R^c 的取代基取代的 4-7 元环 ; 其中当杂环基含有 $-NH-$ 部分时, 所述 $-NH-$ 部分任选地被 R^d 取代 ; 其中 C_{2-6} 烯基和 C_{2-6} 炔基各自独立地任选地被一个或多个各自独立地选自 R^e 的取代基取代 ; 其中 C_{1-6} 烷基任选地被一个或多个各自独立地选自 R^f 的取代基取代 ; 其中 C_{3-6} 环烷基独立地任选地被一个或多个各自独立地选自 R^g 的取代基取代 ;

[0099] 每次出现时, R^b 可以独立地选自卤素 ; 羟基 ; $-NO_2$; $-N_3$; $-CN$; $-SCN$; C_{1-6} 烷基 ; C_{2-6} 烯基 ; C_{2-6} 炔基 ; C_{3-6} 环烷基 ; C_{1-6} 烷氧基 ; C_{3-6} 烯氧基 ; C_{3-6} 炔氧基 ; C_{3-6} 环烷氧基 ; C_{1-6} 烷基 $-S(O)_w-$, 其中 w 为 0、1 或 2 ; C_{1-6} 烷基 C_{3-6} 环烷基 ; C_{3-6} 环烷基 $-C_{1-6}$ 烷基 ; C_{1-6} 烷氧羰基 $-N(R^a)-$; C_{1-6} 烷基 $N(R^a)-$; C_{1-6} 烷基 $-N(R^a)$ 羰基 ; $R^aR^{a'}N-$; $R^aR^{a'}N-$ 羰基 ; $R^aR^{a'}N-$ 羰基 $-N(R^a)-$; $R^aR^{a'}N-SO_2-$; 和 C_{1-6} 烷基 $-$ 羰基 $-N(R^a)-$;

[0100] 每次出现时, R^a 和 $R^{a'}$ 可以独立地选自氢和 C_{1-6} 烷基, 或 R^a 和 $R^{a'}$ 当与它们连接的氮合起来一起时形成 4-6 元杂环, 其中 C_{1-6} 烷基任选地被一个或多个各自独立地选自卤素、氧代和羟基的取代基取代, 并且其中所述杂环任选地被一个或多个各自独立地选自卤素、烷基、氧代或羟基的取代基取代 ;

[0101] 每次出现时, R^c 可以独立地选自卤素 ; 羟基 ; $-NO_2$; $-N_3$; $-CN$; $-SCN$; 氧代 ; C_{1-6} 烷基 ; C_{2-6} 烯基 ; C_{2-6} 炔基 ; C_{3-6} 环烷基 ; C_{1-6} 烷氧基 ; C_{3-6} 烯氧基 ; C_{3-6} 炔氧基 ; C_{3-6} 环烷氧基 ; C_{1-6} 烷基 $-S(O)_w-$, 其中 w 为 0、1 或 2 ; C_{1-6} 烷基 C_{3-6} 环烷基 ; C_{3-6} 环烷基 $-C_{1-6}$ 烷基 ; C_{1-6} 烷氧羰基 $-N(R^a)-$; C_{1-6} 烷基 $N(R^a)-$; C_{1-6} 烷基 $-N(R^a)$ 羰基 ; $R^aR^{a'}N-$; $R^aR^{a'}N-$ 羰基 ; $R^aR^{a'}N-$ 羰基 $-N(R^a)-$; $R^aR^{a'}N-SO_2-$; 和 C_{1-6} 烷基 $-$ 羰基 $-N(R^a)-$;

[0102] 每次出现时, R^d 可以独立地选自 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷基羰基和 C_{1-6} 烷基磺酰基, 其中 C_{1-6} 烷基任选地被一个或多个各自独立地选自卤素、羟基和 $R^aR^{a'}N-$ 的取代基取代 ;

[0103] 每次出现时, R^e 可以独立地选自卤素 ; 羟基 ; $-NO_2$; $-N_3$; $-CN$; $-SCN$; C_{1-4} 烷氧基 ; C_{1-4} 烷氧羰基 ; $R^aR^{a'}N-$; $R^aR^{a'}N-$ 羰基 ; $R^aR^{a'}N-SO_2-$; 和 C_{1-4} 烷基 $S(O)_w-$, 其中 w 为 0、1 或 2 ;

[0104] 每次出现时, R^f 可以独立地选自卤素 ; 羟基 ; $-NO_2$; $-N_3$; $-CN$; $-SCN$; C_{1-4} 烷氧基 ; C_{1-4} 烷氧羰基 ; $R^aR^{a'}N-$; $R^aR^{a'}N-$ 羰基 ; $R^aR^{a'}N-SO_2-$; 和 C_{1-4} 烷基 $S(O)_w-$, 其中 w 为 0、1 或 2 ;

[0105] 每次出现时, R^g 可以独立地选自卤素 ; 羟基 ; $-NO_2$; $-N_3$; $-CN$; $-SCN$; C_{1-6} 烷基 ; C_{1-4} 烷

氧基 ; C_{1-4} 烷氧羰基 ; $R^a R^{a'} N-$; $R^a R^{a'} N-$ 羰基 ; $R^a R^{a'} N-SO_2-$;和 C_{1-4} 烷基 $S(O)_w-$,其中 w 为 0、1 或 2 ;

[0106] R^x 可以独立地选自氢 ;卤素 ; C_{1-6} 烷基 ; C_{2-6} 烯基 ; C_{2-6} 炔基 ; C_{3-6} 环烷基 ;苯基 ;萘基 ;杂芳基 ;杂环基 ; C_{3-6} 环烷基- C_{1-6} 烷基 ;苯基- C_{1-6} 烷基- ;萘基- C_{1-6} 烷基- ;杂芳基- C_{1-6} 烷基- ;和杂环基- C_{1-6} 烷基- ;其中杂芳基为具有一个、两个或三个各自独立地选自 N、O 或 S 的杂原子的 5-6 元环 ;其中杂芳基任选地被一个或多个各自独立地选自 R^b 的取代基取代 ;其中杂环基为任选地被一个或多个各自独立地选自 R^c 的取代基取代的 4-7 元环 ;其中当杂环基含有 $-NH-$ 部分时,所述 $-NH-$ 部分任选地被 R^d 取代 ;其中 C_{2-6} 烯基和 C_{2-6} 炔基各自独立任选地被一个或多个各自独立地选自 R^e 的取代基取代 ;其中 C_{1-6} 烷基任选地被一个或多个各自独立地选自 R^f 的取代基取代 ;其中 C_{3-6} 环烷基独立任选地被一个或多个各自独立地选自 R^g 的取代基取代。

[0107] 在某些实施方案中, R^1 、 R^2 、 R^3 和 R^4 中的至少一者可以为羟基。

[0108] 在一些情况下, R^1 、 R^2 、 R^3 和 R^4 中的至少一者可以为任选地被一个、两个或三个独立地选自卤素、羟基、 $-NH_2$ 和氰基的取代基取代的 C_1-C_6 烷基。

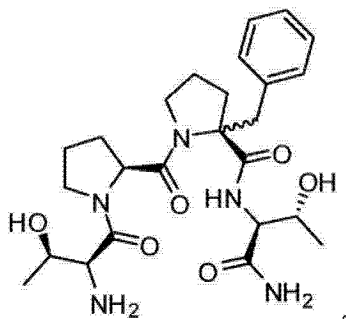
[0109] 在一些实施方案中, R^5 和 R^6 中的至少一者可以为 $-(C_1-C_6 \text{ 亚烷基})-Ar$ 。 R^5 和 R^6 中的至少一者也可以为 $-CH_2-Ar$ 。在一些情况下, R^5 和 R^6 中的至少一者为 $-Q-$ 苯基。在某些实施方案中, R^5 和 R^6 中的一者可以为氢。

[0110] 在一些情况下, R^7 和 R^8 可以独立地选自氢 ;卤素 ;羟基 ; C_1-C_6 烷基 ;苯基 ;和萘基 ;或 R^7 和 R^8 , 连同它们连接的原子一起形成 4-6 元杂环或环烷基环 ;其中 C_1-C_6 烷基、苯基、萘基、环烷基环和杂环可以各自被一个或多个选自卤素 ;羟基 ; $-NO_2$; $-N_3$; $-CN$; $-SCN$; C_{1-4} 烷氧基 ; C_{1-4} 烷氧羰基 ; $R^a R^{a'} N-$; $R^a R^{a'} N-$ 羰基 ; $R^a R^{a'} N-SO_2-$;和 C_{1-4} 烷基 $S(O)_w-$ 的取代基独立地取代,其中 w 为 0、1 或 2 ;其中每次出现时, R^a 和 $R^{a'}$ 可以独立地选自氢和 C_{1-6} 烷基,或 R^a 和 $R^{a'}$ 当与它们连接的氮合起来一起时形成 4-6 元杂环,其中 C_{1-6} 烷基任选地被一个或多个选自卤素、氧代和羟基的取代基取代,并且其中所述杂环任选地被一个或多个各自独立地选自卤素、烷基、氧代或羟基的取代基取代。

[0111] 在一些情况下, R^7 和 R^8 可以为氢。

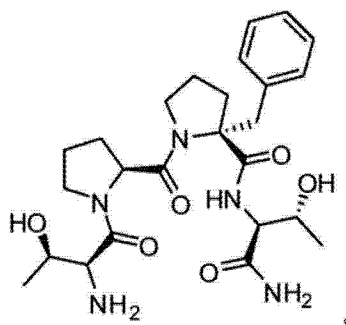
[0112] 在示例性实施方案中,化合物可以表示为 :

[0113]



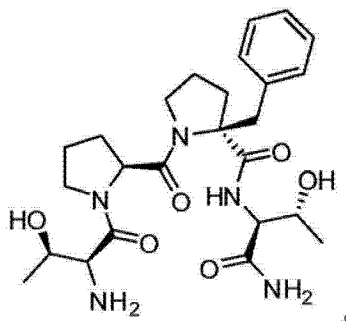
[0114] 在另一示例性实施方案中,化合物可以表示为 :

[0115]



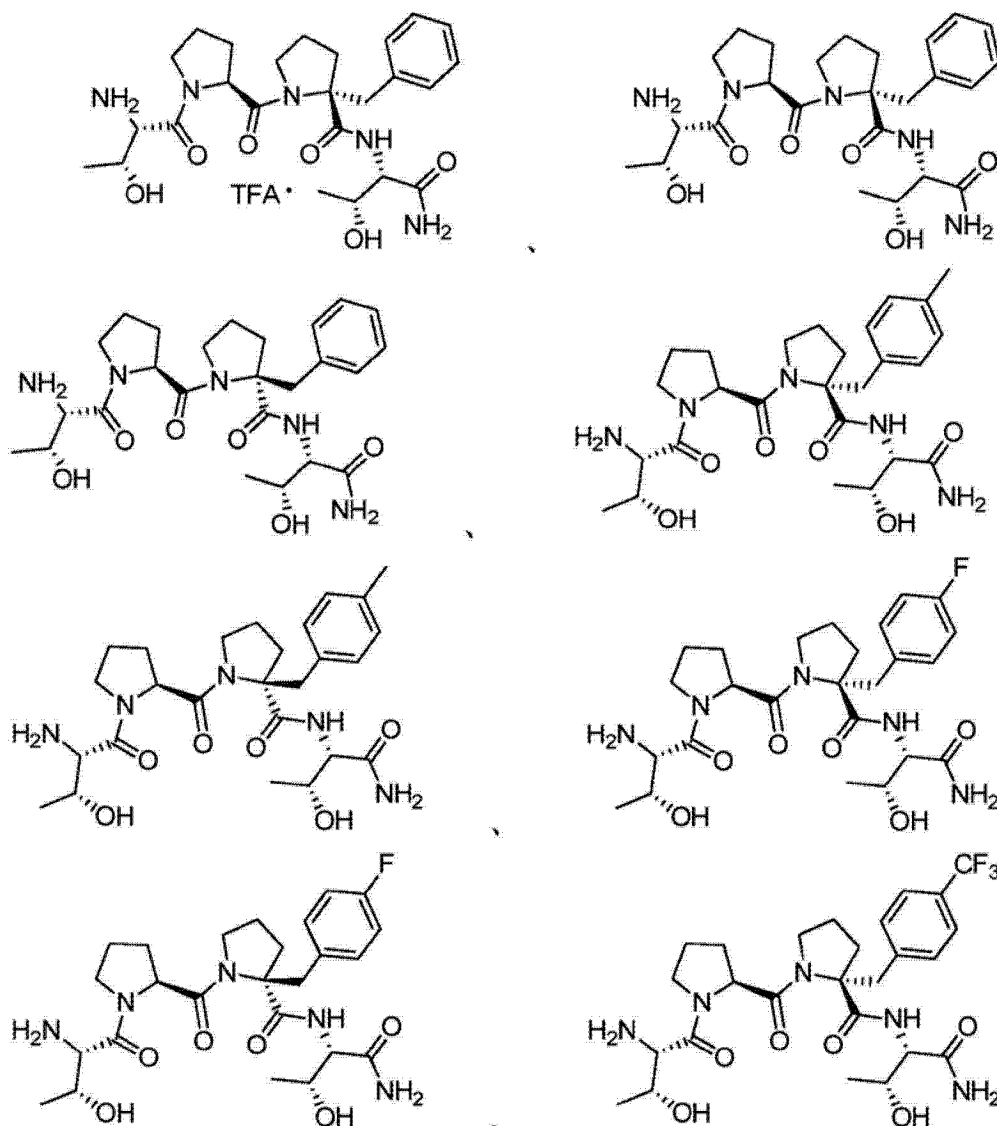
[0116] 在再另一示例性实施方案中,化合物可以表示为:

[0117]

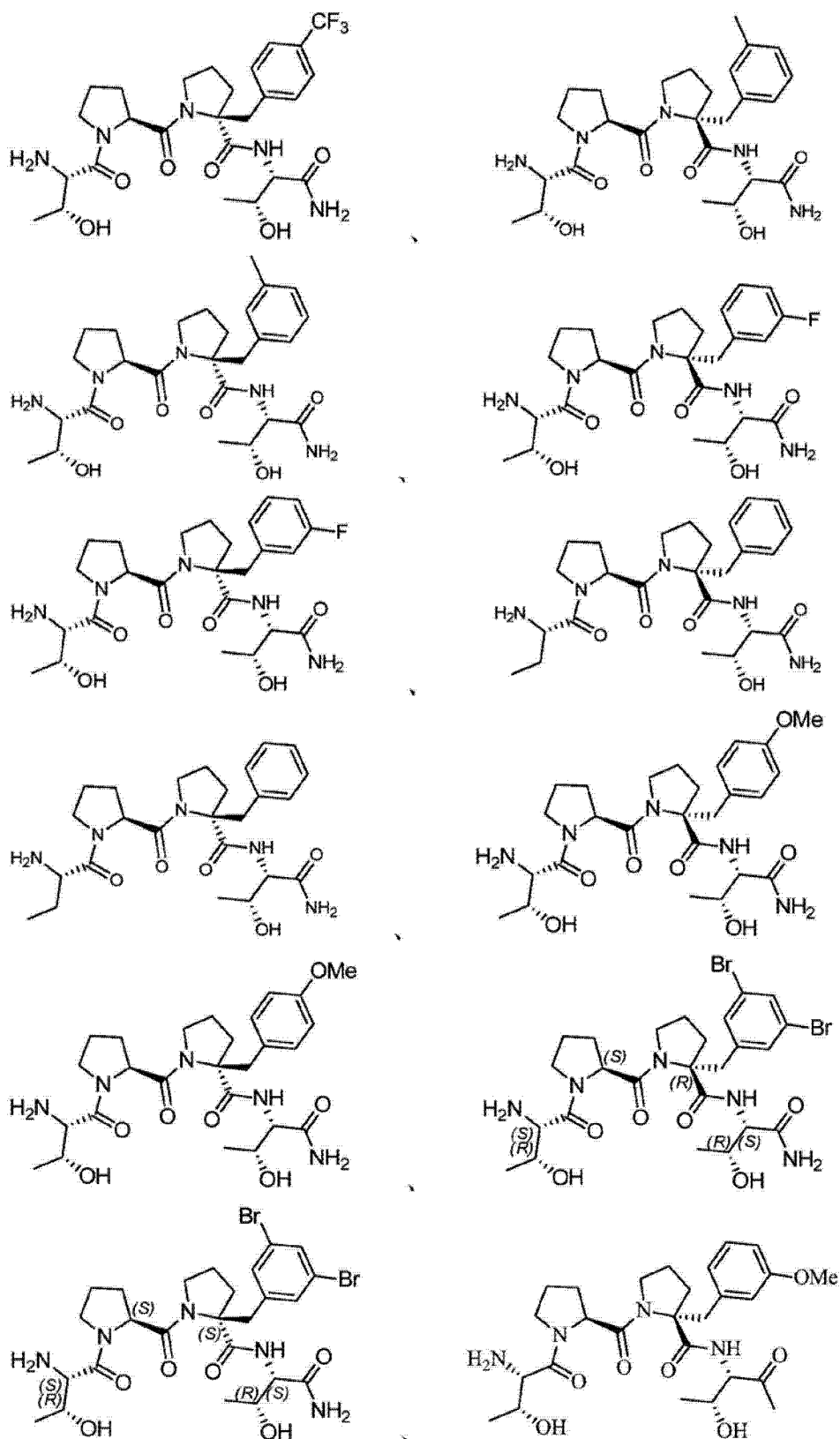


[0118] 在又另一示例性实施方案中,化合物可以表示为:

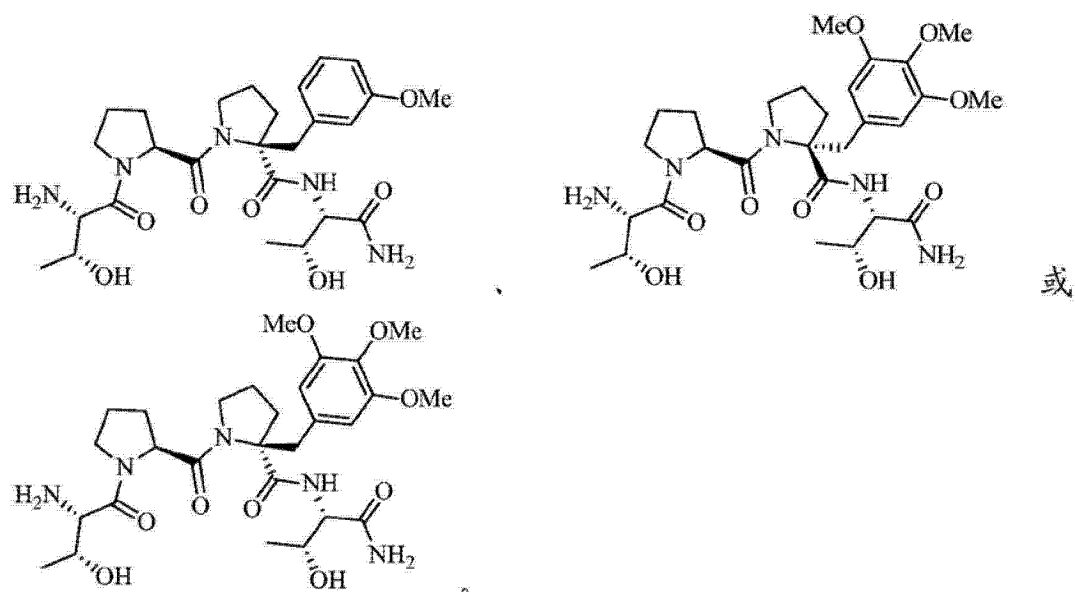
[0119]



[0120]

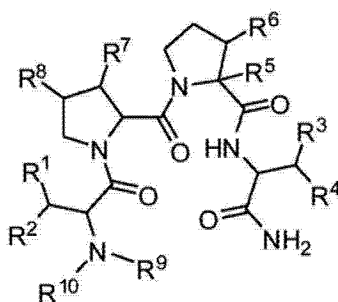


[0121]



[0122] 公开的化合物还包括由下式：

[0123]



[0124] 及其药学上可接受的盐、立体异构体、代谢物和水合物，

[0125] 其中：

[0126] R^1 和 R^3 可以独立地选自氢；卤素；环状或非环状的、取代或未取代的、支链或未支化的脂族；环状或非环状的、取代或未取代的、支链或未支化的杂脂族；取代或未取代的芳基；取代或未取代的杂芳基； $-OR^x$ ； $-NO_2$ ； $-N_3$ ； $-CN$ ； $-SCN$ ； $-SR^x$ ； $-C(O)R^x$ ； $-CO_2(R^x)$ ； $-C(O)N(R^x)_2$ ； $-C(NR^x)N(R^x)_2$ ； $-OC(O)R^x$ ； $-OCO_2R^x$ ； $-OC(O)N(R^x)_2$ ； $-N(R^x)_2$ ； $-SOR^x$ ； $-S(O)_2R^x$ ； $-NR^xC(O)R^x$ ； $-NR^xC(O)N(R^x)_2$ ； $-NR^xC(O)OR^x$ ； $-NR^xC(NR^x)N(R^x)_2$ ；和 $-C(R^x)_3$ ；其中每次出现的 R^x 独立地选自氢；卤素；酰基；任选取代的脂族；任选取代的杂脂族；任选取代的芳基；和任选取代的杂芳基；

[0127] R^2 和 R^4 可以独立地选自氢和 $-OR^x$ ，条件是 R^2 和 R^4 中的至少一者为氢，其中 R^x 选自氢；卤素；酰基；任选取代的脂族；任选取代的杂脂族；任选取代的芳基；和任选取代的杂芳基；

[0128] R^5 和 R^6 可以独立地选自 $-Q-Ar$ 和氢；其中 Q 独立地选自环状或非环状的、取代或未取代的、支链或未支化的脂族；环状或非环状的、取代或未取代的、支链或未支化的杂脂族；和键；并且其中 Ar 选自取代或未取代的芳基和取代或未取代的杂芳基；或 R^5 和 R^6 连同它们连接的原子一起形成取代或未取代的 4-6 元杂环或环烷基环；

[0129] R^7 和 R^8 独立地选自氢 ; 卤素 ; 羟基 ; 取代或未取代的 C_1 - C_6 烷基 ; 取代或未取代的 C_1 - C_6 烷氧基 ; 和取代或未取代的芳基 ; 或 R^7 和 R^8 连同它们连接的原子一起形成取代或未取代的 4-6 元杂环或环烷基环 ;

[0130] R^9 和 R^{10} 可以独立地选自氢 ; 任选地被一个或多个各自独立地选自卤素、氧代和羟基的取代基取代的 C_1 - C_6 烷基 ; 任选地被一个或多个各自独立地选自卤素、氧代和羟基的取代基取代的 C_{2-6} 烯基 ; 任选地被一个或多个各自独立地选自卤素、氧代和羟基的取代基取代的 C_{2-6} 炔基 ; 任选地被一个或多个各自独立地选自 C_{1-6} 烷基、卤素、氧代和羟基的取代基取代的 C_{3-6} 环烷基 ; 任选地被一个或多个各自独立地选自 C_{1-6} 烷基的取代基取代的苯基 ; C_{1-6} 烷氧基 ; 卤素 ; 羟基 ; $-C(O)R^x$; $-CO_2(R^x)$; $-C(O)N(R^x)_2$; $-C(NR^x)N(R^x)_2$; 和 $-C(R^x)_3$; 其中每次出现的 R^x 独立地选自氢 ; 卤素 ; C_{1-6} 烷基 ; C_{2-6} 烯基 ; C_{2-6} 炔基 ; C_{3-6} 环烷基 ; 和苯基 ; 或 R^9 和 R^{10} 连同 N 形成任选地被一个或多个各自独立地选自 C_{1-6} 烷基、卤素、氧代和羟基的取代基取代的 4-6 元杂环。

[0131] 在某些实施方案中, R^1 和 R^3 可以独立地选自氢 ; 卤素 ; C_{1-6} 烷基 ; C_{2-6} 烯基 ; C_{2-6} 炔基 ; C_{3-6} 环烷基 ; 苯基 ; 萘基 ; 杂芳基 ; 杂环基 ; C_{3-6} 环烷基 - C_{1-6} 烷基 - ; 苯基 - C_{1-6} 烷基 - ; 萘基 - C_{1-6} 烷基 - ; 杂芳基 - C_{1-6} 烷基 - ; 和杂环基 - C_{1-6} 烷基 - ; $-OR^x$; $-NO_2$; $-N_3$; $-CN$; $-SCN$; $-SR^x$; $-C(O)R^x$; $-CO_2(R^x)$; $-C(O)N(R^x)_2$; $-C(NR^x)N(R^x)_2$; $-OC(O)R^x$; $-OCO_2R^x$; $-OC(O)N(R^x)_2$; $-N(R^x)_2$; $-SOR^x$; $-S(O)_2R^x$; $-NR^xC(O)R^x$; $-NR^xC(O)N(R^x)_2$; $-NR^xC(O)OR^x$; $-NR^xC(NR^x)N(R^x)_2$; 和 $-C(R^x)_3$; 其中杂芳基为具有一个、两个或三个各自独立地选自 N 、 O 或 S 的杂原子的 5-6 元环 ; 其中杂芳基任选地被一个或多个各自独立地选自 R^b 的取代基取代 ; 其中杂环基任选地被一个或多个各自独立地选自 R^c 的取代基取代的 4-7 元环 ; 其中当杂环基含有 $-NH-$ 部分时, 所述 $-NH-$ 部分任选地被 R^d 取代 ; 其中 C_{2-6} 烯基和 C_{2-6} 炔基各自独立地任选地被一个或多个各自独立地选自 R^e 的取代基取代 ; 其中 C_{1-6} 烷基任选地被一个或多个各自独立地选自 R^f 的取代基取代 ; 其中 C_{3-6} 环烷基独立地任选地被一个或多个各自独立地选自 R^g 的取代基取代 ;

[0132] 每次出现时, R^b 可以独立地选自卤素 ; 羟基 ; $-NO_2$; $-N_3$; $-CN$; $-SCN$; C_{1-6} 烷基 ; C_{2-6} 烯基 ; C_{2-6} 炔基 ; C_{3-6} 环烷基 ; C_{1-6} 烷氧基 ; C_{3-6} 烯氧基 ; C_{3-6} 炔氧基 ; C_{3-6} 环烷氧基 ; C_{1-6} 烷基 - $S(O)_w-$, 其中 w 为 0、1 或 2 ; C_{1-6} 烷基 C_{3-6} 环烷基 - ; C_{3-6} 环烷基 - C_{1-6} 烷基 - ; C_{1-6} 烷氧羰基 - $N(R^a)-$; C_{1-6} 烷基 $N(R^a)-$; C_{1-6} 烷基 - $N(R^a)$ 羰基 - ; $R^aR^{a'}N-$; $R^aR^{a'}N-$ 羰基 - ; $R^aR^{a'}N-$ 羰基 - $N(R^a)-$; $R^aR^{a'}N-SO_2-$; 和 C_{1-6} 烷基 - 羰基 - $N(R^a)-$;

[0133] 每次出现时, R^a 和 $R^{a'}$ 可以独立地选自氢和 C_{1-6} 烷基, 或 R^a 和 $R^{a'}$ 当与它们连接的氮合起来一起时形成 4-6 元杂环, 其中 C_{1-6} 烷基任选地被一个或多个各自独立地选自卤素、氧代和羟基的取代基取代, 并且其中所述杂环任选地被一个或多个各自独立地选自卤素、烷基、氧代或羟基的取代基取代 ;

[0134] 每次出现时, R^c 可以独立地选自卤素 ; 羟基 ; $-NO_2$; $-N_3$; $-CN$; $-SCN$; 氧代 ; C_{1-6} 烷基 ; C_{2-6} 烯基 ; C_{2-6} 炔基 ; C_{3-6} 环烷基 ; C_{1-6} 烷氧基 ; C_{3-6} 烯氧基 ; C_{3-6} 炔氧基 ; C_{3-6} 环烷氧基 ; C_{1-6} 烷基 - $S(O)_w-$, 其中 w 为 0、1 或 2 ; C_{1-6} 烷基 C_{3-6} 环烷基 - ; C_{3-6} 环烷基 - C_{1-6} 烷基 - ; C_{1-6} 烷氧羰基 - $N(R^a)-$; C_{1-6} 烷基 $N(R^a)-$; C_{1-6} 烷基 - $N(R^a)$ 羰基 - ; $R^aR^{a'}N-$; $R^aR^{a'}N-$ 羰基 - ; $R^aR^{a'}N-$ 羰基 - $N(R^a)-$; $R^aR^{a'}N-SO_2-$; 和 C_{1-6} 烷基 - 羰基 - $N(R^a)-$;

[0135] 每次出现时, R^d 可以独立地选自 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷基羰基和 C_{1-6} 烷基磺酰基, 其中 C_{1-6} 烷基任选地被一个或多个各自独立地选自卤素、羟基和 $R^aR^{a'}N-$ 的取代基取代 ;

[0136] 每次出现时, R^e 可以独立地选自卤素;羟基; $-\text{NO}_2$; $-\text{N}_3$; $-\text{CN}$; $-\text{SCN}$; C_{1-4} 烷氧基; C_{1-4} 烷氧羰基; $\text{R}^a\text{R}^{a'}\text{N}-$; $\text{R}^a\text{R}^{a'}\text{N}-$ 羰基; $\text{R}^a\text{R}^{a'}\text{N}-\text{SO}_2-$; 和 C_{1-4} 烷基 $\text{S}(\text{O})_w-$, 其中 w 为 0、1 或 2;

[0137] 每次出现时, R^f 可以独立地选自卤素;羟基; $-\text{NO}_2$; $-\text{N}_3$; $-\text{CN}$; $-\text{SCN}$; C_{1-4} 烷氧基; C_{1-4} 烷氧羰基; $\text{R}^a\text{R}^{a'}\text{N}-$; $\text{R}^a\text{R}^{a'}\text{N}-$ 羰基; $\text{R}^a\text{R}^{a'}\text{N}-\text{SO}_2-$; 和 C_{1-4} 烷基 $\text{S}(\text{O})_w-$, 其中 w 为 0、1 或 2;

[0138] 每次出现时, R^g 可以独立地选自卤素;羟基; $-\text{NO}_2$; $-\text{N}_3$; $-\text{CN}$; $-\text{SCN}$; C_{1-6} 烷基; C_{1-4} 烷氧基; C_{1-4} 烷氧羰基; $\text{R}^a\text{R}^{a'}\text{N}-$; $\text{R}^a\text{R}^{a'}\text{N}-$ 羰基; $\text{R}^a\text{R}^{a'}\text{N}-\text{SO}_2-$; 和 C_{1-4} 烷基 $\text{S}(\text{O})_w-$, 其中 w 为 0、1 或 2;

[0139] R^x 可以独立地选自氢;卤素; C_{1-6} 烷基; C_{2-6} 烯基; C_{2-6} 炔基; C_{3-6} 环烷基; 苯基; 萘基; 杂芳基; 杂环基; C_{3-6} 环烷基 $-\text{C}_{1-6}$ 烷基; 苯基 $-\text{C}_{1-6}$ 烷基; 萘基 $-\text{C}_{1-6}$ 烷基; 杂芳基 $-\text{C}_{1-6}$ 烷基; 和杂环基 $-\text{C}_{1-6}$ 烷基; 其中杂芳基为具有一个、两个或三个各自独立地选自 N、O 或 S 的杂原子的 5-6 元环; 其中杂芳基任选地被一个或多个各自独立地选自 R^b 的取代基取代; 其中杂环基为任选地被一个或多个各自独立地选自 R^e 的取代基取代的 4-7 元环; 其中当杂环基含有 $-\text{NH}-$ 部分时, 所述 $-\text{NH}-$ 部分任选地被 R^d 取代; 其中 C_{2-6} 烯基和 C_{2-6} 炔基各自独立地任选地被一个或多个各自独立地选自 R^e 的取代基取代; 其中 C_{1-6} 烷基任选地被一个或多个各自独立地选自 R^f 的取代基取代; 其中 C_{3-6} 环烷基独立地任选地被一个或多个各自独立地选自 R^g 的取代基取代。

[0140] 在一些情况下, R^2 和 R^4 可以独立地选自氢和 $-\text{OR}^x$, 条件是 R^2 和 R^4 中的至少一者为氢, 其中 R^x 可以选自氢;卤素; C_{1-6} 烷基; C_{2-6} 烯基; C_{2-6} 炔基; C_{3-6} 环烷基; 苯基; 萘基; 杂芳基; 杂环基; C_{3-6} 环烷基 $-\text{C}_{1-6}$ 烷基; 苯基 $-\text{C}_{1-6}$ 烷基; 萘基 $-\text{C}_{1-6}$ 烷基; 杂芳基 $-\text{C}_{1-6}$ 烷基; 和杂环基 $-\text{C}_{1-6}$ 烷基; 其中杂芳基为具有一个、两个或三个各自独立地选自 N、O 或 S 的杂原子的 5-6 元环; 其中杂芳基任选地被一个或多个各自独立地选自 R^b 的取代基取代; 其中杂环基为任选地被一个或多个各自独立地选自 R^e 的取代基取代的 4-7 元环; 其中当杂环基含有 $-\text{NH}-$ 部分时, 所述 $-\text{NH}-$ 部分任选地被 R^d 取代; 其中 C_{2-6} 烯基和 C_{2-6} 炔基各自独立地任选地被一个或多个各自独立地选自 R^e 的取代基取代; 其中 C_{1-6} 烷基任选地被一个或多个各自独立地选自 R^f 的取代基取代; 其中 C_{3-6} 环烷基独立地任选地被一个或多个各自独立地选自 R^g 的取代基取代;

[0141] 每次出现时, R^b 可以独立地选自卤素;羟基; $-\text{NO}_2$; $-\text{N}_3$; $-\text{CN}$; $-\text{SCN}$; C_{1-6} 烷基; C_{2-6} 烯基; C_{2-6} 炔基; C_{3-6} 环烷基; C_{1-6} 烷氧基; C_{3-6} 烯氧基; C_{3-6} 炔氧基; C_{3-6} 环烷氧基; C_{1-6} 烷基 $-\text{S}(\text{O})_w-$, 其中 w 为 0、1 或 2; C_{1-6} 烷基 C_{3-6} 环烷基; C_{3-6} 环烷基 $-\text{C}_{1-6}$ 烷基; C_{1-6} 烷氧羰基 $-\text{N}(\text{R}^a)-$; C_{1-6} 烷基 $\text{N}(\text{R}^a)-$; C_{1-6} 烷基 $-\text{N}(\text{R}^a)$ 羰基; $-\text{R}^a\text{R}^{a'}\text{N}-$; $\text{R}^a\text{R}^{a'}\text{N}-$ 羰基; $-\text{R}^a\text{R}^{a'}\text{N}-$ 羰基 $-\text{N}(\text{R}^a)-$; $\text{R}^a\text{R}^{a'}\text{N}-\text{SO}_2-$; 和 C_{1-6} 烷基 $-\text{羰基}-\text{N}(\text{R}^a)-$;

[0142] 每次出现时, R^a 和 $R^{a'}$ 可以独立地选自氢和 C_{1-6} 烷基, 或 R^a 和 $R^{a'}$ 当与它们连接的氮合起来一起时形成 4-6 元杂环, 其中 C_{1-6} 烷基任选地被一个或多个各自独立地选自卤素、氧代和羟基的取代基取代, 并且其中所述杂环任选地被一个或多个各自独立地选自卤素、烷基、氧代或羟基的取代基取代;

[0143] 每次出现时, R^c 可以独立地选自卤素;羟基; $-\text{NO}_2$; $-\text{N}_3$; $-\text{CN}$; $-\text{SCN}$; 氧代; C_{1-6} 烷基; C_{2-6} 烯基; C_{2-6} 炔基; C_{3-6} 环烷基; C_{1-6} 烷氧基; C_{3-6} 烯氧基; C_{3-6} 炔氧基; C_{3-6} 环烷氧基; C_{1-6} 烷基 $-\text{S}(\text{O})_w-$, 其中 w 为 0、1 或 2; C_{1-6} 烷基 C_{3-6} 环烷基; C_{3-6} 环烷基 $-\text{C}_{1-6}$ 烷基; C_{1-6} 烷氧羰基 $-\text{N}(\text{R}^a)-$; C_{1-6} 烷基 $\text{N}(\text{R}^a)-$; C_{1-6} 烷基 $-\text{N}(\text{R}^a)$ 羰基; $-\text{R}^a\text{R}^{a'}\text{N}-$; $\text{R}^a\text{R}^{a'}\text{N}-$ 羰基; $-\text{R}^a\text{R}^{a'}\text{N}-$ 羰基

基 $-N(R^a)-$; $R^aR^{a'}N-SO_2-$; 和 C_{1-6} 烷基-羰基 $-N(R^a)-$;

[0144] 每次出现时, R^d 可以独立地选自 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷基羰基和 C_{1-6} 烷基磺酰基, 其中 C_{1-6} 烷基任选地被一个或多个各自独立地选自卤素、羟基和 $R^aR^{a'}N-$ 的取代基取代;

[0145] 每次出现时, R^e 可以独立地选自卤素; 羟基; $-NO_2$; $-N_3$; $-CN$; $-SCN$; C_{1-4} 烷氧基; C_{1-4} 烷氧羰基; $R^aR^{a'}N-$; $R^aR^{a'}N-$ 羰基; $R^aR^{a'}N-SO_2-$; 和 C_{1-4} 烷基 $S(O)_w-$, 其中 w 为 0、1 或 2;

[0146] 每次出现时, R^f 可以独立地选自卤素; 羟基; $-NO_2$; $-N_3$; $-CN$; $-SCN$; C_{1-4} 烷氧基; C_{1-4} 烷氧羰基; $R^aR^{a'}N-$; $R^aR^{a'}N-$ 羰基; $R^aR^{a'}N-SO_2-$; 和 C_{1-4} 烷基 $S(O)_w-$, 其中 w 为 0、1 或 2;

[0147] 每次出现时, R^g 可以独立地选自卤素; 羟基; $-NO_2$; $-N_3$; $-CN$; $-SCN$; C_{1-6} 烷基; C_{1-4} 烷氧基; C_{1-4} 烷氧羰基; $R^aR^{a'}N-$; $R^aR^{a'}N-$ 羰基; $R^aR^{a'}N-SO_2-$; 和 C_{1-4} 烷基 $S(O)_w-$, 其中 w 为 0、1 或 2。

[0148] 在某些实施方案中, R^5 和 R^6 可以独立地选自 $-Q-Ar$ 和氢; 其中 Q 独立地选自 C_{1-6} 烷基; C_{2-6} 烯基; C_{2-6} 炔基; C_{3-6} 环烷基; 杂环基; C_{3-6} 环烷基- C_{1-6} 烷基-; 杂环基- C_{1-6} 烷基-; 和键; 并且其中 Ar 选自取代或未取代的苯基、萘基和杂芳基; 或 R^5 和 R^6 连同它们连接的原子一起形成任选地被一个或多个各自独立地选自卤素、羟基、 $-NO_2$; $-N_3$; $-CN$; $-SCN$; C_{1-6} 烷基; C_{1-4} 烷氧基; C_{1-4} 烷氧羰基; $R^aR^{a'}N-$; $R^aR^{a'}N-$ 羰基; $R^aR^{a'}N-SO_2-$; 和 C_{1-4} 烷基 $S(O)_w-$ 的取代基取代的 4-6 元杂环或环烷基环, 其中 w 为 0、1 或 2; 并且

[0149] 每次出现时, 其中 R^a 和 $R^{a'}$ 可以独立地选自氢和 C_{1-6} 烷基, 或 R^a 和 $R^{a'}$ 当与它们连接的氮合起来一起时形成 4-6 元杂环, 其中 C_{1-6} 烷基任选地被一个或多个各自独立地选自卤素、氧代和羟基的取代基取代, 并且其中所述杂环任选地被一个或多个各自独立地选自卤素、烷基、氧代或羟基的取代基取代。

[0150] 在某些实施方案中, R^1 、 R^2 、 R^3 和 R^4 中的至少一者可以为羟基。

[0151] 在一些情况下, R^1 、 R^2 、 R^3 和 R^4 中的至少一者可以为任选地被一个、两个或三个独立地选自卤素、羟基、 $-NH_2$ 和氰基的取代基取代的 C_1-C_6 烷基。

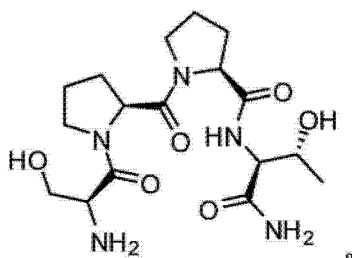
[0152] 在一些实施方案中, R^5 和 R^6 中的至少一者可以为 $-(C_1-C_6 \text{ 亚烷基})-Ar$, 如, R^5 和 R^6 中的一者也可以为 $-CH_2-Ar$ 。在一些情况下, R^5 和 R^6 中的至少一者为 $-Q-$ 苯基。在某些实施方案中, R^5 和 R^6 中的一者可以为氢。

[0153] 在一些情况下, R^7 和 R^8 可以独立地选自氢; 卤素; 羟基; C_1-C_6 烷基; 苯基; 和萘基; 或 R^7 和 R^8 , 连同它们连接的原子一起形成 4-6 元杂环或环烷基环; 其中 C_1-C_6 烷基、苯基、萘基、环烷基环和杂环可以各自被一个或多个选自卤素; 羟基; $-NO_2$; $-N_3$; $-CN$; $-SCN$; C_{1-4} 烷氧基; C_{1-4} 烷氧羰基; $R^aR^{a'}N-$; $R^aR^{a'}N-$ 羰基; $R^aR^{a'}N-SO_2-$; 和 C_{1-4} 烷基 $S(O)_w-$ 的取代基独立地取代, 其中 w 为 0、1 或 2; 其中每次出现时, R^a 和 $R^{a'}$ 可以独立地选自氢和 C_{1-6} 烷基, 或 R^a 和 $R^{a'}$ 当与它们连接的氮合起来一起时形成 4-6 元杂环, 其中 C_{1-6} 烷基任选地被一个或多个选自卤素、氧代和羟基的取代基取代, 并且其中所述杂环任选地被一个或多个各自独立地选自卤素、烷基、氧代或羟基的取代基取代。

[0154] 在一些情况下, R^7 和 R^8 可以为氢。

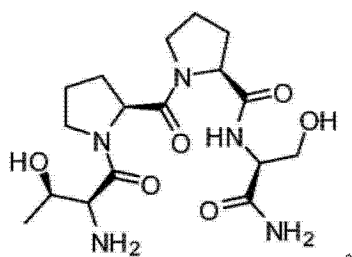
[0155] 在示例性实施方案中, 化合物可以表示为:

[0156]



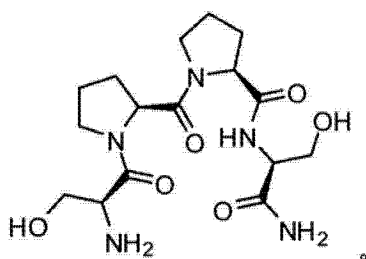
[0157] 在另一示例性实施方案中,化合物可以表示为:

[0158]



[0159] 在再另一示例性实施方案中,化合物可以表示为:

[0160]



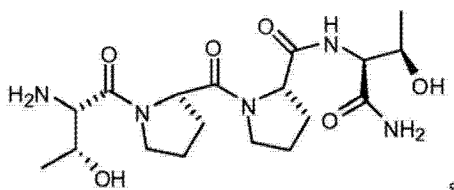
[0161] 本发明的化合物及其制剂可以具有多个手性中心。每个手性中心可以独立地为 R、S 或 R 和 S 的任何混合物。例如,在一些实施方案中,手性中心可以具有约 100:0 至约 50:50、约 100:0 至约 75:25、约 100:0 至约 85:15、约 100:0 至约 90:10、约 100:0 至约 95:5、约 100:0 至约 98:2、约 100:0 至约 99:1、约 0:100 至 50:50、约 0:100 至约 25:75、约 0:100 至约 15:85、约 0:100 至约 10:90、约 0:100 至约 5:95、约 0:100 至约 2:98、约 0:100 至约 1:99、约 75:25 至 25:75 和约 50:50 的 R:S 比率。相对于所公开的化合物或化合物的混合物的外消旋制剂,包含较高比率的一种或多种异构体(即, R 和 / 或 S) 的所公开的化合物的制剂可以具有增强的治疗特性。

[0162] 所公开的化合物可以在 NMDA 受体处提供有效的阳离子通道开口,如可以与 NMDA 受体的谷氨酸位点结合或缔合以有助于打开阳离子通道。可以使用所公开的化合物调节(打开或关闭)通过激动剂作用的 NMDA 受体。

[0163] 如本文所描述的化合物可以为甘氨酸位点 NMDA 受体部分激动剂。如在本上下文使用的部分激动剂应理解为意指在低浓度,该类似物充当激动剂,而在高浓度,该类似物充当拮抗剂。甘氨酸结合不受谷氨酸或谷氨酸的竞争性抑制剂的抑制,并且在 NMDA 受体上也不结合在与谷氨酸盐相同的位点。NMDA 受体存在甘氨酸的第二且单独的结合位点。因此,NMDA 受体的配体-门控离子通道在至少这两个不同的变构位点的控制之下。所公开的化合物可以能够结合或缔合至 NMDA 受体的甘氨酸结合位点。在某些实施方案中,所公开的化合物可以具有的效能是现有 NMDA 受体甘氨酸位点部分激动剂活性的 10 倍或更大。例如,

所公开的化合物与 GLYX-13 相比可以具有 10 倍至 20 倍增强的效能。GLYX-13 表示为：

[0164]



[0165] 例如,本文提供与 GLYX-13 相比可以更有效至少约 20 倍的化合物,如通过在 50nM 浓度下于海马 CA1 锥体神经元培养物中迸发活化的 NMDA 受体-门控单一神经元电导 (I_{NMDA}) 测量。在另一实施方案中,提供的化合物可以在 100nM 至 1 μ M 的浓度下于海马 CA1 锥体神经元中能够产生增强的单次冲击诱发的 NMDA 受体-门控单一神经元电导 (I_{NMDA})。如通过在体外海马切片中测量在谢弗侧枝-CA-1 突触处的长时程增强 (LTP) 的量级,所公开的化合物与 GLYX-13 相比可以具有增强的效能。

[0166] 所公开的化合物可以显示出高治疗指数。如本文所用,治疗指数是指在 50% 群体中产生毒性的剂量 (即, TD_{50}) 与 50% 群体的最小有效剂量 (如, ED_{50}) 的比率。因此,治疗指数 = (TD_{50}) : (ED_{50})。在一些实施方案中,所公开的化合物可以具有至少约 10:1、至少约 50:1、至少约 100:1、至少约 200:1、至少约 500:1 或至少约 1000:1 的治疗指数。

[0167] 组合物

[0168] 在其它方面中,提供了包含所公开的化合物和任选地药学上可接受的赋形剂的制剂和组合物。在某些实施方案中,预期的制剂包含一种或多种所公开的化合物的外消旋混合物。

[0169] 预期的制剂可以以任何各种使用形式制备。举例来说,而非限制,化合物可以以适于口服施用、皮下注射的制剂来制备,或用药物领域已知的将活性剂施用于动物的其它方法来制备。

[0170] 如本文描述的制剂中所公开的化合物的量可以根据诸如个体的疾病状态、年龄、性别和体重的因素而变化。可以调节剂量方案以提供最佳治疗反应。例如,可以施用单个药丸,可以随时间的推移施用若干分开的剂量,或者可以如由治疗情况的急迫性所指示将剂量成比例地减少或增加。特别有利的是将肠胃外组合物配制成为易于施用和均匀剂量的剂量单位形式。如本文所用,剂量单位形式是指适合作为单位剂量用于待处理的哺乳动物受试者的物理上分离的单元;各单位含有预定量的活性化合物,该量经计算为与药学上需要的载体相结合时足以产生所需的治疗效果的量。

[0171] 本发明剂量单元形式的特征决定于且直接取决于 (a) 所选化合物的独特特征和待实现的特别治疗效果,和 (b) 在本领域配混此类活性化合物在个体中治疗敏感性的固有的局限。

[0172] 治疗组合物通常必须为无菌的并且在制备和储存条件下稳定。组合物能够配制为溶液、微乳剂、脂质体或适于高药物浓度的其它有序结构。载体可为含有例如水、乙醇、多元醇 (例如,甘油、丙二醇和液体聚乙二醇等) 及其合适的混合物的溶剂或分散介质。适当的流动性可例如,通过使用诸如卵磷脂的涂层,通过在分散剂的情况下保持需要的粒度以及通过使用表面活性剂来保持。在许多情况中,优选的是在组合物中包括等渗剂,例如糖,多元醇诸如甘露醇、山梨醇或氯化钠。可通过组合物中包括延迟吸收的试剂 (例如单硬脂酸

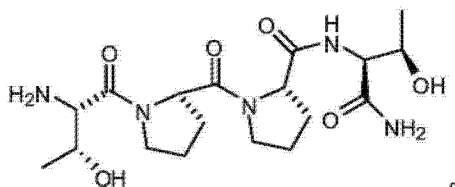
盐和明胶)引起可注射组合物的延长吸收。

[0173] 化合物可在时间释放制剂中,例如在包括缓释聚合物的组合物中,施用。化合物可与将保护化合物免于快速释放的载体一起制备,诸如受控释放制剂,包括植入和微囊化递送系统。可使用生物可降解的、生物可相容的聚合物诸如乙烯乙酸乙烯酯、聚酐、聚乙醇酸、胶原、聚原酸酯、聚乳酸和聚乳酸聚乙醇酸共聚物 (PLG)。制备此类制剂的许多方法通常为本领域技术人员已知的。

[0174] 可通过以下方式制备无菌可注射溶液剂:将化合物以要求的量连同以上列举的一种成分或成分组合一起掺入适宜的溶剂中,根据需要,随后过滤消毒。通常,分散剂这样制备:将活性化合物掺入无菌媒介物,所述媒介物含有基础分散介质和来自以上列举的那些的所需其它成分。在用于制备无菌注射液的无菌粉末的情况下,优选的制备方法为真空干燥和冷冻干燥,其产生活性成分和任何其它所需成分(来自其之前经无菌过滤的溶液)的粉末。

[0175] 在某些实施方案中,当将某些公开的化合物口服施用于患者时能够递送有效量的化合物。例如,在某些实施方案中,与将由下式表示的肽基化合物口服施用于患者相比,当将某些公开的化合物口服施用于患者时更有效:

[0176]



[0177] 根据本发明的另一方面,化合物可以与增强化合物的溶解度的一种或多种其它的化合物配制。

[0178] 方法

[0179] 提供了用于治疗认知障碍和用于增强学习的方法。此类方法包括将所公开的化合物中的一种或多种药学上可接受的制剂施用于需要其的患者。还预期了治疗患有下述疾病的患者的方法:与衰老相关的记忆缺失、精神分裂症、特殊学习障碍、癫痫发作、卒中后痉挛、脑缺血、低血糖症、心脏停搏、癫痫、偏头痛以及亨廷顿氏病、帕金森氏病和阿尔茨海默氏病。

[0180] 预期的其它方法包括脑缺血症、中风、脑外伤、脑瘤、急性神经性疼痛、慢性神经性疼痛、睡眠障碍、药物成瘾、抑郁、某些视觉障碍、酒精戒断、焦虑、记忆和学习失能、孤独症、癫痫、AIDS 痴呆、多系统萎缩、进行性核上麻痹、Friedrich 氏共济失调、唐氏综合征、脆性 X 综合征、结节性硬化症、橄榄体-脑桥-小脑萎缩、大脑性麻痹、药物诱导的视神经炎、周围神经病、脊髓病、缺血性视网膜病、糖尿病视网膜病、青光眼、心脏停搏、行为病、冲动控制障碍、阿尔茨海默氏病、伴随早期阿尔茨海默氏病的记忆丧失、注意力缺陷症、ADHD、精神分裂症、阿片剂的改善、尼古丁成瘾、乙醇成瘾 (ethanol addiction)、外伤性脑损伤、脊髓损伤、创伤后紧张症和亨廷顿舞蹈症的治疗。

[0181] 例如,本文提供了治疗需要其的患者的抑郁的方法,所述方法包括施用所公开的化合物,如,通过急性施用所公开的化合物。在某些实施方案中,所述抗治疗患者被确定为在施用所公开的化合物之前已经用至少两种类型的抗抑郁治疗治疗的患者。在其它实施方

案中,所述抗治疗患者为被确定为不愿意或不能耐受至少一种类型的抗抑郁治疗的副作用的患者。

[0182] 最常见的抑郁病症包括严重抑郁障碍和心境恶劣障碍。其它抑郁病症在独特环境下形成。此类抑郁病症包括但不限于精神病性抑郁症,产后抑郁症,季节性情感障碍(SAD),心境障碍,由慢性医疗病症诸如癌症或慢性疼痛、化疗、慢性应激、创伤后应激障碍和双相情感障碍(或躁郁症)引起的抑郁。

[0183] 难治性抑郁症在患有抑郁的患者中发生,所述患者抵抗标准的药物治疗以及非药物治疗,所述标准的药物治疗包括三环抗抑郁药、MAOI、SSRI 以及双重和三重摄取抑制剂和/或抗焦虑药物,所述非药物治疗为诸如精神疗法、电惊厥疗法、迷走神经刺激和/或经颅磁力刺激。抗治疗患者可以被确定为尽管经历标准的药物治疗或非药物治疗中的一种或多种,却未能经历一种或多种抑郁的症状的缓解的患者(如,持续的焦虑或悲哀的感觉、无助感、绝望、悲观)。在某些实施方案中,抗治疗患者为尽管经历用两种不同的抗抑郁药物治疗,却未能经历一种或多种抑郁的症状的缓解的患者。在某些实施方案中,抗治疗患者为尽管经历用四种不同的抗抑郁药物治疗,却未能经历一种或多种抑郁的症状的缓解的患者。抗治疗患者也可以被确定为不愿意或不能耐受标准药物治疗或非药物治疗中的一种或多种的副作用的患者。

[0184] 在再另一方面,提供了用于增强疼痛的缓解和用于向动物提供痛觉缺失的方法。

[0185] 在某些实施方案中,提供了用于治疗精神分裂症的方法。例如,妄想型精神分裂症、错乱型精神分裂症(即青春型精神分裂症)、紧张型精神分裂症、未分化型精神分裂症、残余型精神分裂症、后抑郁型精神分裂症和单纯型精神分裂症可以使用本文预期的方法和组合物治疗。精神障碍诸如情感型精神分裂症、妄想症、短暂性精神障碍、共享精神障碍和患有妄想或幻觉的精神障碍也可以使用本发明预期的组合物治疗。

[0186] 偏执型精神分裂症的特征可在于其中存在妄想或听觉幻觉但是不存在思维障碍、行为紊乱或情感冷淡。妄想可为迫害的和/或夸大的,但除了这些之外,也可以存在其它的主题诸如妒忌、笃信或躯体化。

[0187] 错乱型精神分裂症的特征可在于其中思维障碍和情感贫乏一起存在。

[0188] 紧张型精神分裂症的特征可在于其中所述患者可以为几乎不动的或表现出不安的、无目的的移动。症状可包括紧张性木僵和蜡样屈曲。

[0189] 未分化型精神分裂症的特征可在于其中存在精神病症状但是未满足偏执型、错乱型或紧张型的标准。

[0190] 残余型精神分裂症的特征可在于阳性症状仅以较低的密度存在。

[0191] 后抑郁型精神分裂症的特征可在于抑郁发作在的精神分裂症疾病之后产生,其中仍可存在一些低水平的精神分裂症症状。

[0192] 单纯型精神分裂症的特征可在于无精神病发作史的显著阴性症状的隐伏和逐渐形成。

[0193] 在一些实施方案中,提供了治疗可以存在于其它精神障碍中的精神病症状的方法,所述其它精神障碍包括但不限于双相型障碍、边缘型人格障碍、药物中毒和药物诱导的精神病。

[0194] 在另一实施方案中,提供了治疗可能存在于,例如,妄想症中的妄想(如,“非难于

相信”)的方法。

[0195] 还提供了治疗病患中回避社交的方法,所述回避社交包括但不限于社交焦虑障碍、回避型人格障碍和精神分裂型人格障碍。

[0196] 另外,提供了用于治疗强迫性精神障碍(OCD)的方法。

具体实施方式

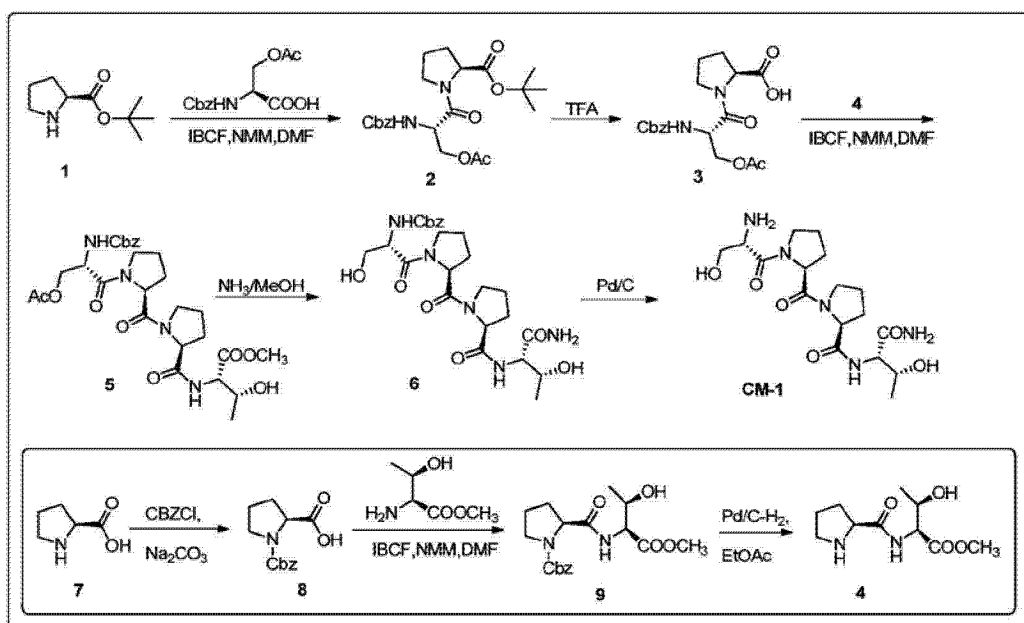
[0197] 提供这些以下实施例只是为了说明的目的而非意欲限制本公开的范围。

[0198] 实施例 1 - (S)-N-((2S,3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-1-((S)-1-((S)-2-氨基-3-羟基丙酰基)吡咯烷-2-羧基)吡咯烷-2-甲酰胺(CM-1)的合成。

[0199] 使用以下反应顺序(方案A)合成(S)-N-((2S,3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-1-((S)-1-((S)-2-氨基-3-羟基丙酰基)吡咯烷-2-羧基)吡咯烷-2-甲酰胺(CM-1):

[0200] 方案A. CM-1的合成。

[0201]



[0202] (S)-1-((S)-3-乙酰氧基-2-(苄氧基羰基氨基)-丙酰基)-吡咯烷-2-羧酸叔丁酯(2)的合成:

[0203] 将(S)-3-乙酰氧基-2-(苄氧基羰基氨基)-丙酸(1.5g, 5.33mmol)溶解于CH₂Cl₂(15mL)。在-15℃下加入N-甲基吗啉(NMM)(0.64mL, 5.87mmol)和氯甲酸异丁酯(IBCf)(0.72mL, 6.12mmol)并在惰性气氛下搅拌30分钟。将(S)-吡咯烷-2-羧酸叔丁酯(1)(998mg, 5.87mmol)和NMM(0.64mL, 5.87mmol)在DMF(5mL)中的混合物滴加至反应混合物并在室温下再继续搅拌3h。将反应混合物用DCM(200mL)稀释,用水(50mL)、柠檬酸溶液(10mL)和盐水(10mL)洗涤。将分离的有机层经无水Na₂SO₄干燥并在减压下浓缩。将获得的粗残余物通过用30% EtOAc/己烷洗脱的硅胶柱色谱法纯化以获得化合物2(1.6g, 69.5%)。

[0204] ¹H-NMR: (200MHz, DMSO-d₆): δ 7.81-7.76(d, J = 20.5Hz, 1H), 7.35-7.30(m, 5H), 5

. 03-4. 97 (m, 2H), 4. 61-4. 55 (m, 1H), 4. 32-4. 16 (m, 2H), 4. 08-3. 87 (m, 2H), 3. 65-3. 59 (m, 1H), 2. 21-2. 11 (m, 2H), 1. 98 (s, 3H), 1. 91-1. 75 (m, 2H), 1. 37 (s, 9H).

[0205] 质量 m/z : 435. 0 $[M^+ + 1]$ 。

[0206] (S)-1-((S)-3-乙酰氧基-2-(苄氧基羰基氨基)-丙酰基)-吡咯烷-2-羧酸 (3) 的合成:

[0207] 向化合物 2 (1g, 2. 30mmol) 在 CH_2Cl_2 (5mL) 中的溶液加入 20% TFA-DCM (10mL) 并在室温搅拌 2h。将反应混合物用水 (10mL) 稀释并用 EtOAc (2×15mL) 萃取。将有机层经无水 Na_2SO_4 干燥并在减压下浓缩以获得化合物 3 (800mg, 92%)。

[0208] 1H -NMR: (200MHz, DMSO- d_6): δ 12. 58 (br s, 1H), 7. 81-7. 77 (d, J = 8. 0Hz, 1H), 7. 35-7. 27 (m, 5H), 5. 04-4. 96 (m, 2H), 4. 66-4. 60 (m, 1H), 4. 32-4. 24 (m, 2H), 4. 04-3. 86 (m, 1H), 3. 66-3. 59 (t, J = 12. 6Hz, 2H), 2. 17-2. 07 (m, 3H), 1. 98-1. 80 (m, 4H)。

[0209] 质量 m/z : 379. 0 $[M^+ + 1]$ 。

[0210] (2S, 3R)-2-((S)-1-((S)-1-((R)-3-乙酰氧基-2-(苄氧基羰基氨基)-丙酰基)-吡咯烷-2-羰基)吡咯烷-2-甲酰胺基)-3-羟基丁酸甲酯 (5) 的合成:

[0211] 将化合物 3 (1. 0g, 2. 64mmol) 溶解于 CH_2Cl_2 (10mL), 在 -15 °C 下将 NMM (0. 32g, 3. 17mmol) 和 IBCF (0. 41g, 3. 04mmol) 加入至反应混合物并在惰性气氛下搅拌 30 分钟。在 -15 °C 下将 (2S, 3R)-3-羟基-2-((S)-吡咯烷-2-甲酰胺基)-丁酸甲酯 (4) (0. 73g, 3. 17mmol) 和 NMM (0. 35mL) 在 DMF (3mL) 中的混合物滴加至反应混合物并在室温下再继续搅拌 3h。将反应混合物用 DCM (200mL) 稀释, 用水 (20mL)、柠檬酸溶液 (2×20mL) 和盐水 (2×50mL) 洗涤。将分离的有机层经无水 Na_2SO_4 干燥并在减压下浓缩。将获得的粗残余物通过用 5% CH_3OH /EtOAc 洗脱的硅胶柱色谱法纯化以获得化合物 (5) (0. 29g, 19%)。

[0212] 1H -NMR: (500MHz, DMSO- d_6): δ 7. 83-7. 81 (m, 1H), 7. 72-7. 70 (m, 1H), 7. 36-7. 35 (m, 5H), 5. 07-5. 01 (m, 2H), 4. 99-4. 93 (m, 1H), 4. 58 (s, 1H), 4. 50-4. 48 (m, 1H), 4. 26-4. 22 (m, 2H), 4. 07-4. 00 (m, 2H), 3. 89-3. 86 (m, 1H), 3. 61-3. 55 (m, 5H), 3. 53 (s, 1H), 3. 39 (s, 1H), 2. 12 (s, 1H), 1. 98 (s, 3H), 1. 94-1. 83 (m, 4H), 1. 81-1. 80 (m, 3H), 1. 05 (d, J = 6. 5Hz, 3H)。

[0213] 质量 m/z : 591. 0 $[M^+ + 1]$ 。

[0214] 苄基-(R)-1-((S)-2-((S)-2-((2S, 3R)-1-(氨基氧基)-3-羟基-1-氧代丁-2-基氨基甲酰基)-吡咯烷-1-羰基)-吡咯烷-1-基)-3-羟基-1-氧代丙-2-基氨基甲酸酯 (6):

[0215] 将甲醇氨的溶液 (3mL) 加入至化合物 5 (0. 28g, 0. 47mmol) 并在室温搅拌 18h。将挥发物在减压下蒸发以获得化合物 6 (0. 21g, 82. 3%)。

[0216] 1H -NMR: (500MHz, DMSO- d_6): δ 7. 38-7. 31 (m, 5H), 7. 26 (s, 1H), 7. 10-7. 03 (m, 2H), 6. 65 (br s, 1H), 5. 04-5. 01 (m, 2H), 4. 98-4. 84 (m, 1H), 4. 76-4. 75 (m, 1H), 4. 61 (s, 1H), 4. 38-4. 31 (m, 2H), 4. 02-4. 00 (m, 2H), 3. 77-3. 74 (m, 1H), 3. 67-3. 56 (m, 3H), 3. 44-3. 37 (m, 2H), 2. 14-1. 86 (m, 8H), 1. 01-1. 00 (m, 3H)。

[0217] 质量 m/z : 550 $[M^+ + 1]$ 。

[0218] (S)-N-((2S, 3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-1-((S)-1-((S)-2-氨基-3-羟基丙酰基)-吡咯烷-2-羰基)-吡咯烷-2-甲酰胺 (CM-1) 的合成:

[0219] 向化合物 6 (0. 21g, 0. 39mmol) 在甲醇 (5mL) 中的溶液加入 10% Pd/C (30mg) 并将反应混合物在氢气气氛下搅拌 2h。将反应混合物经硅藻土过滤, 将溶剂在真空下蒸发, 并将

获得的粗残余物用乙醚研磨以获得 CM-1 (130mg, 83.3%)。

[0220] $^1\text{H-NMR}$: (500MHz, DMSO- d_6) (旋转异构体): δ 7.39(d, $J = 8.0\text{Hz}$, 1H), 7.08-7.03(m, 2H), 6.65(br s, 1H), 4.89-4.85(m, 1H), 1.61-1.59(m, 1H), 4.39-4.38(m, 1H), 4.02-4.00(m, 2H), 3.68-3.52(m, 4H), 3.43-3.36(m, 2H), 3.22-3.10(m, 2H), 2.19-2.13(m, 1H), 2.07-1.98(m, 1H), 1.93-1.81(m, 5H), 1.75(s, 2H), 1.01-1.00(m, 3H)。

[0221] LCMS m/z : 400.2 [$M^+ + 1$]。

[0222] HPLC 纯度: 99.27%。

[0223] (S)-1-(苄氧基羰基)吡咯烷-2-羧酸(8)的合成:

[0224] 向(S)-吡咯烷-2-羧酸(7) (2.0g, 17.39mmol) 在 THF:H₂O (20mL, 1:1) 中的搅拌溶液加入 Na₂CO₃ (2.76g, 26.08mmol) 和 Cbz-Cl (3.54g, 20.80mmol) 并在室温搅拌 18h。将反应混合物用 EtOAc (10mL) 洗涤, 将水层用 3N HCl 酸化并用 EtOAc (2x20mL) 萃取。将合并的有机层用盐水洗涤, 经无水 Na₂SO₄ 干燥并在减压下浓缩以获得化合物 8 (3.0g, 69.7%)。

[0225] $^1\text{H-NMR}$: (500MHz, DMSO- d_6): δ 12.62(br s, 1H), 7.36-7.22(m, 5H), 5.12-5.00(m, 2H), 4.24-4.15(dd, $J = 5.0, 36.0\text{Hz}$, 1H), 3.46-3.31(m, 2H), 2.25-2.15(m, 1H), 1.94-1.79(m, 3H)。

[0226] 质量 m/z : 250.0 [$M^+ + 1$]。

[0227] (S)-2-((2S, 3R)-3-羟基-1-甲氧基-1-氧代丁-2-基氨基甲酰基)吡咯烷-1-羧酸苄酯(9)的合成:

[0228] 将化合物 8 (5.0g, 20.08mmol) 溶解于 CH₂Cl₂ (50mL), 加入 NMM (2.43mL, 22.08mmol) 和 IBCF (2.74mL, 23.09mmol) 并在 -15°C 下于惰性气氛下搅拌 30 分钟。在 -15°C 下滴加 (2S, 3R)-2-氨基-3-羟基丁酸甲酯 (2.93g, 22.08mmol) 和 NMM (2.43mL, 22.08mmol) 在 DMF (15mL) 中的混合物。将所得反应混合物在室温搅拌 3h。将其用 DCM (200mL) 稀释并将有机层用水 (50mL)、盐水 (50mL) 洗涤, 经无水 Na₂SO₄ 干燥并在减压下浓缩。将获得的粗品通过用 30% EtOAc/己烷洗脱的硅胶柱色谱法纯化以获得化合物 9 (3.1g, 42%)。

[0229] $^1\text{H-NMR}$: (500MHz, DMSO- d_6) (旋转异构体): δ 7.98-7.94(m, 1H), 7.35-7.27(m, 5H), 5.09-4.94(m, 3H), 4.44(dd, $J = 5.5, 8.5\text{Hz}$, 1H), 4.29-4.27(m, 1H), 4.12(s, 1H), 3.62(s, 3H), 3.44-3.30(m, 2H), 2.20-2.08(m, 1H), 1.87-1.78(m, 3H), 1.08-0.94(2d, 3H)。

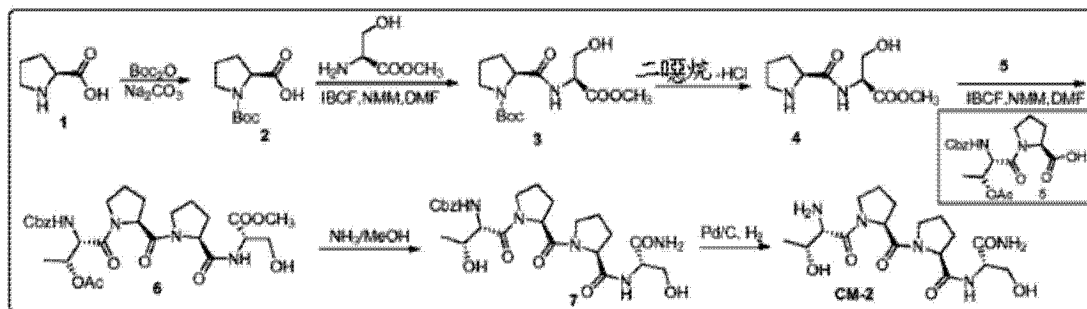
[0230] 质量 m/z : 365.0 [$M^+ + 1$]。

[0231] 实施例 2 - (S)-N-((S)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丙-2-基)-1-((S)-1-((2S, 3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)吡咯烷-2-甲酰胺 (CM-2) 的合成:

[0232] 使用以下反应顺序 (方案 B) 合成 (S)-N-((S)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丙-2-基)-1-((S)-1-((2S, 3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)吡咯烷-2-甲酰胺 (CM-2):

[0233] 方案 B. CM-2 的合成。

[0234]



[0235] (S)-1-(叔丁氧基羰基)-吡咯烷-2-羧酸 (2) 的合成：

[0236] 向 (S)-吡咯烷-2-羧酸 (1) (3.0g, 26.08mmol) 在 $\text{THF}:\text{H}_2\text{O}$ (60mL, 1:1) 中的冰冷搅拌的溶液加入 Na_2CO_3 (5.52g, 52.16mmol)、 Boc_2O (6.25g, 26.69mmol) 并在室温搅拌 16h。将反应混合物用水稀释并用 EtOAc (50mL) 洗涤。将水层用 2N HCl 酸化并用 EtOAc (2x100mL) 萃取。将合并的有机层经无水 Na_2SO_4 干燥并在减压下浓缩以获得 (S)-1-(叔丁氧基羰基)-吡咯烷-2-羧酸 (2) (4.8g, 86%)。

[0237] $^1\text{H-NMR}$: (500MHz, DMSO-d_6): δ 12.49 (br s, 1H), 4.08-4.03 (m, 1H), 3.36-3.24 (m, 2H), 2.22-2.11 (m, 1H), 1.87-1.76 (m, 3H), 1.39 (s, 9H)。

[0238] 质量 m/z : 216.0 [$\text{M}^+ + 1$]。

[0239] (S)-2-((S)-3-羟基-1-甲氧基-1-氧代丙-2-基氨甲酰基)-吡咯烷-1-羧酸叔丁酯 (3) 的合成：

[0240] 将化合物 2 (2.0g, 9.00mmol) 溶解于冷却至 -15°C 的 CH_2Cl_2 (10mL)，加入 NMM (1.12mL, 10.2mmol) 和 IBCF (1.26mL, 1.15mmol) 并在 0°C 搅拌 20 分钟。在 -15°C 下滴加 (S)-2-氨基-3-羟基丙酸甲酯 (1.59g, 10.2mmol) 和 NMM (1.12mL) 在 DMF (3mL) 中的混合物并将所得反应混合物在室温搅拌 1h。将其用 DCM (200mL)、水 (50mL) 稀释，并用 2N HCl (20mL) 和盐水 (2x50mL) 洗涤。将分离的有机层经无水 Na_2SO_4 干燥并在减压下浓缩。将获得的粗残余物通过用 20% EtOAc/己烷洗脱的硅胶柱色谱法纯化以获得呈浆料的化合物 3 (2.3g)。

[0241] 质量 m/z : 317.0 [$\text{M}^+ + 1$]。

[0242] (S)-3-羟基-2-((S)-吡咯烷-2-甲酰胺基)丙酸甲酯 (4) 的合成：

[0243] 将 (S)-叔丁基-2-((S)-3-羟基-1-甲氧基-1-氧代丙-2-基氨甲酰基)-吡咯烷-1-羧酸酯 (3) (500mg, 1.58mmol) 溶解于 1,4-二噁烷 (3mL) 并加入在二噁烷中的 HCl 溶液 (3.16mL, 3.16mmol)，在室温搅拌 4h。将挥发物在减压下蒸发以获得呈固体的化合物 4 (280mg)。

[0244] $^1\text{H-NMR}$: (200MHz, DMSO-d_6): δ 9.99 (br s, 1H), 9.12-9.08 (m, 1H), 8.53 (br s, 1H), 5.48 (br s, 2H), 4.43-4.22 (m, 2H), 3.82-3.67 (m, 4H), 3.56 (s, 3H), 2.36-2.27 (m, 1H), 1.93-1.86 (m, 3H)。

[0245] 质量 m/z : 217.0 [$\text{M}^+ + 1$]。

[0246] (S)-2-((S)-1-((S)-1-((2R,3S)-3-乙酰氧基-2-(苄氧基羰基氨基)-丁酰基)-吡咯烷-2-羰基)-吡咯烷-2-甲酰胺基)-3-羟基丙酸甲酯 (6) 的合成：

[0247] 将 (2S)-1-((2R)-3-乙酰氧基-2-(苄氧基羰基氨基)-丁酰基)-吡咯烷-2-羧酸 (5) (1.3g, 2.62mmol) 溶解于 CH_2Cl_2 (15mL)，在 -10°C 下加入 NMM (0.43mL) 和 IBCF (0.51mL)

并在惰性气氛下搅拌 30 分钟。将 (S)-甲基-3-羟基-2-((S)-吡咯烷-2-甲酰胺基)-丙酸酯 (4) (992mg, 3.93mmol) 和 NMM(0.43mL) 在 DMF(5mL) 中的混合物滴加至反应混合物并将搅拌在室温下再持续 3h。将反应混合物用 DCM(200mL) 稀释, 用水 (20mL)、柠檬酸溶液 (2x20mL) 和盐水 (2x50mL) 洗涤。将分离的有机层经无水 Na_2SO_4 干燥并在减压下浓缩。将获得的粗物质通过用 5% $\text{CH}_3\text{OH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 洗脱的硅胶柱色谱法纯化以获得化合物 6 (270mg, 17.5%)。

[0248] $^1\text{H-NMR}$: (500MHz, DMSO-d_6): δ 8.13 (d, $J = 8.0\text{Hz}$, 1H), 7.74 (d, $J = 7.5\text{Hz}$, 1H), 7.38-7.31 (m, 5H), 5.08-4.96 (m, 3H), 4.85-4.82 (m, 1H), 4.56 (d, $J = 8.0\text{Hz}$, 1H), 4.44-4.42 (m, 2H), 4.27 (d, $J = 7.0\text{Hz}$, 1H), 4.10 (d, $J = 10.5\text{Hz}$, 2H), 3.81-3.78 (m, 1H), 3.72-3.70 (m, 1H), 3.61-3.59 (m, 3H), 3.54-3.50 (m, 2H), 2.16-2.14 (m, 1H), 2.05-2.01 (m, 1H), 1.90 (s, 3H), 1.87-1.86 (m, 3H), 1.85-1.84 (m, 3H), 1.21-1.20 (d, $J = 6.0\text{Hz}$, 3H)。

[0249] 质量 m/z : 591.0 $[\text{M}^+ + 1]$ 。

[0250] 苄基-(2R, 3S)-1-((S)-2-((S)-2-((S)-1-(氨基氧基)-3-羟基-1-氧代丙-2-基氨基甲酰基)吡咯烷-1-羰基)吡咯烷-1-基)-3-羟基-1-氧代丁-2-基氨基甲酸酯 (7) 的合成:

[0251] 向化合物 6 (250g, 0.42mmol) 在 CH_3OH (2mL) 中的溶液加入 MeOH-NH_3 (10mL) 并在室温搅拌 16h。将挥发物在减压下蒸发以获得化合物 7 (190mg, 84%)。

[0252] $^1\text{H-NMR}$: (500MHz, DMSO-d_6): δ 7.60 (d, $J = 7.5\text{Hz}$, 1H), 7.35-7.30 (m, 5H), 7.18 (d, $J = 7.0\text{Hz}$, 1H), 7.11-7.06 (m, 2H), 5.05-4.97 (m, 2H), 4.82-4.81 (m, 1H), 4.60-4.59 (m, 2H), 4.33-4.31 (m, 1H), 4.15-4.08 (m, 2H), 3.81-3.79 (m, 1H), 3.72-3.64 (m, 2H), 3.59-3.53 (m, 4H), 2.14 (s, 1H), 2.03 (d, $J = 9.0\text{Hz}$, 1H), 1.95-1.85 (m, 5H), 1.75 (s, 1H), 1.10 (d, $J = 6.5\text{Hz}$, 3H)。

[0253] 质量 m/z : 550.0 $[\text{M}^+ + 1]$ 。

[0254] (S)-N-((S)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丙-2-基)-1-((S)-1-((2S, 3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)-吡咯烷-2-甲酰胺 (CM-2) 的合成:

[0255] 向化合物 7 (190mg, 0.35mmol) 在甲醇 (5mL) 中的溶液加入 10% Pd/C (50mg) 并将反应混合物在氢气气氛下搅拌 2h。将反应混合物通过硅藻土垫过滤, 将溶剂在真空中蒸发并将粗品通过在碱性氧化铝上使用含 0-5% CH_3OH 的 CH_2Cl_2 作为洗脱液的柱色谱法纯化以获得 CM-2 (130mg, 73%)。

[0256] $^1\text{H-NMR}$: (500MHz, DMSO-d_6): δ 7.65-7.60 (m, 1H), 7.12-7.03 (m, 2H), 4.81 (br s, 1H), 4.58-4.57 (m, 1H), 4.49 (m, 1H), 4.38-4.19 (m, 1H), 4.10-4.06 (m, 1H), 3.69-3.62 (m, 2H), 3.59-3.56 (m, 4H), 3.49-3.45 (m, 2H), 3.37-3.26 (m, 2H), 2.19-2.15 (m, 1H), 2.09-1.99 (m, 1H), 1.95-1.84 (m, 5H), 1.75 (s, 1H), 1.06 (d, $J = 13.0\text{Hz}$, 3H)。

[0257] LCMS m/z : 400.8 $[\text{M}^+ + 1]$ 。

[0258] HPLC 纯度: 97.71%。

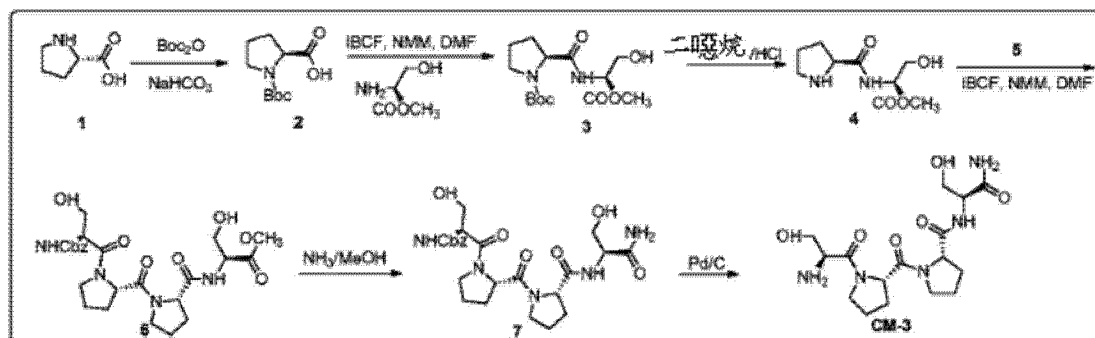
[0259] 实施例 3 - (S)-N-((S)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丙-2-基)-1-((S)-1-((S)-2-氨基-3-羟基-丙酰基)-吡咯烷-2-羰基)-吡咯烷-2-甲酰胺 (CM-3) 的合成:

[0260] 使用以下反应顺序 (方案 C) 合成 (S)-N-((S)-1-氨基-3-羟基-1-氧代

丙-2-基)-1-((S)-1-((S)-2-氨基-3-羟基-丙酰基)-吡咯烷-2-羰基)-吡咯烷-2-甲酰胺 (CM-3) :

[0261] 方案 C. CM-3 的合成。

[0262]



[0263] (S)-1-(叔丁氧基羰基)-吡咯烷-2-羧酸 (2) 的合成 :

[0264] 在 0℃ 下向 (S)-吡咯烷-2-羧酸 (3.0g, 26.08mmol) 在 THF:H₂O (60mL, 1:1) 中的搅拌溶液加入 Na₂CO₃ (5.52g, 52.16mmol) 和 Boc₂O (6.25g, 26.69mmol) 并在室温搅拌 16h。将反应混合物用水稀释并用 EtOAc (50mL) 洗涤。将水层用 2N HCl 酸化并用 EtOAc (2x50mL) 萃取。将合并的有机层经无水 Na₂SO₄ 干燥并在减压下浓缩以获得 (S)-1-(叔丁氧基羰基)-吡咯烷-2-羧酸 2 (4.8g, 85.7%)。

[0265] ¹H-NMR: (500MHz, DMSO-d₆): δ 12.49 (br s, 1H), 4.08-4.03 (m, 1H), 3.36-3.24 (m, 2H), 2.22-2.11 (m, 1H), 1.87-1.76 (m, 3H), 1.39 (s, 9H)。

[0266] 质量 m/z: 216.0 [M⁺+1]。

[0267] (S)-2-((S)-3-羟基-1-甲氧基-1-氧代丙-2-基氨甲酰基)吡咯烷-1-羧酸叔丁酯 (3) 的合成 :

[0268] 将化合物 2 (2.0g, 9.00mmol) 溶解于冷却至 -15℃ 的 CH₂Cl₂ (10mL), 加入 NMM (1.12mL, 10.2mmol) 和 IBCF (1.26mL, 1.15mmol) 并在 0℃ 搅拌 20 分钟。在 -15℃ 下滴加 (S)-甲基-2-氨基-3-羟基丙酸酯 (1.59g, 10.2mmol) 和 NMM (1.12mL) 在 DMF (3mL) 中的混合物。将所得反应混合物在室温搅拌 1h。将该反应混合物用 DCM (200mL) 和水 (25mL) 稀释, 并用 2N HCl (20mL) 和盐水 (10mL) 洗涤。将分离的有机层经无水 Na₂SO₄ 干燥并在减压下浓缩。将获得的粗品通过用 20% EtOAc/己烷洗脱的硅胶柱色谱法纯化以获得呈固体的化合物 3 (2.3g)。

[0269] 质量 m/z: 317.0 [M⁺+1]。

[0270] (S)-3-羟基-2-((S)-吡咯烷-2-甲酰胺基)丙酸甲酯 (4) 的合成 :

[0271] 向 (S)-叔丁基-2-((S)-3-羟基-1-甲氧基-1-氧代丙-2-基氨甲酰基)吡咯烷-1-羧酸酯 3 (500mg, 1.58mmol) 在 1,4-二噁烷 (3mL) 中的溶液加入 HCl 在二噁烷中的溶液 (3.16mL, 3.16mmol) 并在室温搅拌 4h。将挥发物在减压下蒸发以获得呈固体的化合物 4 (280mg)。

[0272] ¹H-NMR: (200MHz, DMSO-d₆): δ 9.99 (br s, 1H), 9.12-9.08 (m, 1H), 8.53 (br s, 1H), 5.48 (br s, 2H), 4.43-4.22 (m, 2H), 3.82-3.67 (m, 4H), 3.56 (s, 3H), 2.36-2.27 (m, 1H), 1.93-1.86 (m, 3H)。

[0273] 质量 m/z : 217.0 $[M^+ + 1]$ 。

[0274] (S)-2-((S)-1-((S)-1-((S)-2-(苄氧基羰基氨基)-3-羟基丙酰基)-吡咯烷-2-羰基)-吡咯烷-2-甲酰胺基)-3-羟基丙酸甲酯 (6) 的合成:

[0275] 将 (S)-1-((S)-3-乙酰氧基-2-(苄氧基羰基氨基)-丙酰基)-吡咯烷-2-羧酸 (5) (400mg, 1.05mmol) 溶解于 CH_2Cl_2 (2mL), 在 $-15^\circ C$ 下加入 NMM (0.13mL) 和 IBCF (0.14mL) 并在惰性气氛下搅拌 30 分钟。将 (S)-甲基-3-羟基-2-((S)-吡咯烷-2-甲酰胺基)-丙酸酯盐酸盐 (4) (293mg, 1.16mmol) 和 NMM (0.13mL) 在 DMF (2mL) 中的混合物滴加至反应混合物并在室温下再继续搅拌 3h。将反应混合物用 DCM (200mL) 稀释, 用水 (20mL) 和盐水 (10mL) 洗涤。将分离的有机层经无水 Na_2SO_4 干燥并在减压下浓缩。将获得的粗物质通过用 5% CH_3OH/CH_2Cl_2 洗脱的硅胶柱色谱法纯化以获得化合物 6 (80mg, 13%)。

[0276] 1H -NMR: (500MHz, $DMSO-d_6$): δ 8.09 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.71 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.36-7.31 (m, 6H), 5.07-4.99 (m, 3H), 4.59-4.58 (m, 2H), 4.41-4.40 (m, 1H), 4.29-4.24 (m, 3H), 3.86 (t, $J = 9.5$ Hz, 1H), 3.72-3.68 (m, 1H), 3.64-3.57 (m, 3H), 3.40-3.38 (m, 3H), 2.14-2.01 (m, 2H), 1.98 (s, 3H), 1.90-1.80 (m, 6H)。

[0277] 质量 m/z : 535.0 $[M^+ + 1]$ 。

[0278] 苄基-(S)-1-((S)-2-((S)-2-((S)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丙-2-基氨基甲酰基)-吡咯烷-1-羰基)-吡咯烷-1-基)-3-羟基-1-氧代丙-2-基氨基甲酸酯 (7) 的合成:

[0279] 向 (S)-甲基-2-((S)-1-((S)-1-((S)-2-(苄氧基羰基氨基)-3-羟基丙酰基)-吡咯烷-2-羰基)-吡咯烷-2-甲酰胺基)-3-羟基丙酸酯 (6) (60mg, 1.04mmol) 在 MeOH 中的溶液加入 MeOH- NH_3 (3mL) 并在室温搅拌 16h。将挥发物在减压下蒸发以获得化合物 7 (30mg, 55%)。

[0280] 1H -NMR: (500MHz, $DMSO-d_6$): δ 7.60 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.36-7.31 (m, 6H), 7.11-7.06 (m, 2H), 5.04-4.98 (m, 2H), 4.82-4.74 (m, 2H), 4.61-4.59 (m, 1H), 4.36-4.30 (m, 2H), 4.10-4.07 (m, 1H), 3.67-3.65 (m, 2H), 3.59-3.55 (m, 6H), 3.44-3.40 (m, 2H), 1.95-1.92 (m, 6H)。

[0281] 质量 m/z : 520.0 $[M^+ + 1]$ 。

[0282] (S)-N-((S)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丙-2-基)-1-((S)-1-((S)-2-氨基-3-羟基-丙酰基)-吡咯烷-2-羰基)-吡咯烷-2-甲酰胺 (CM-3) 的合成:

[0283] 将苄基-(S)-1-((S)-2-((S)-2-((S)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丙-2-基氨基甲酰基)-吡咯烷-1-羰基)-吡咯烷-1-基)-3-羟基-1-氧代丙-2-基氨基甲酸酯 7 (300mg, 0.57mmol) 溶解于甲醇 (8mL), 加入 10% Pd/C (50mg) 并将反应混合物在氢气气氛下搅拌 2h。将反应混合物过滤并将滤液在减压下浓缩以获得 CM-3 (150mg, 68%)。

[0284] 1H -NMR: (500MHz, $DMSO-d_6$) (旋转异构体): δ 7.62 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.24 (br s, 1H), 7.14-7.07 (m, 2H), 4.87-4.82 (m, 2H), 4.59-4.57 (m, 1H), 4.37-4.31 (m, 2H), 4.11-4.07 (m, 2H), 3.70-3.39 (m, 8H), 2.17-2.01 (m, 2H), 1.95-1.79 (m, 6H)。

[0285] LCMS m/z : 386.4 $[M^+ + 1]$ 。

[0286] HPLC 纯度: 98.45%。

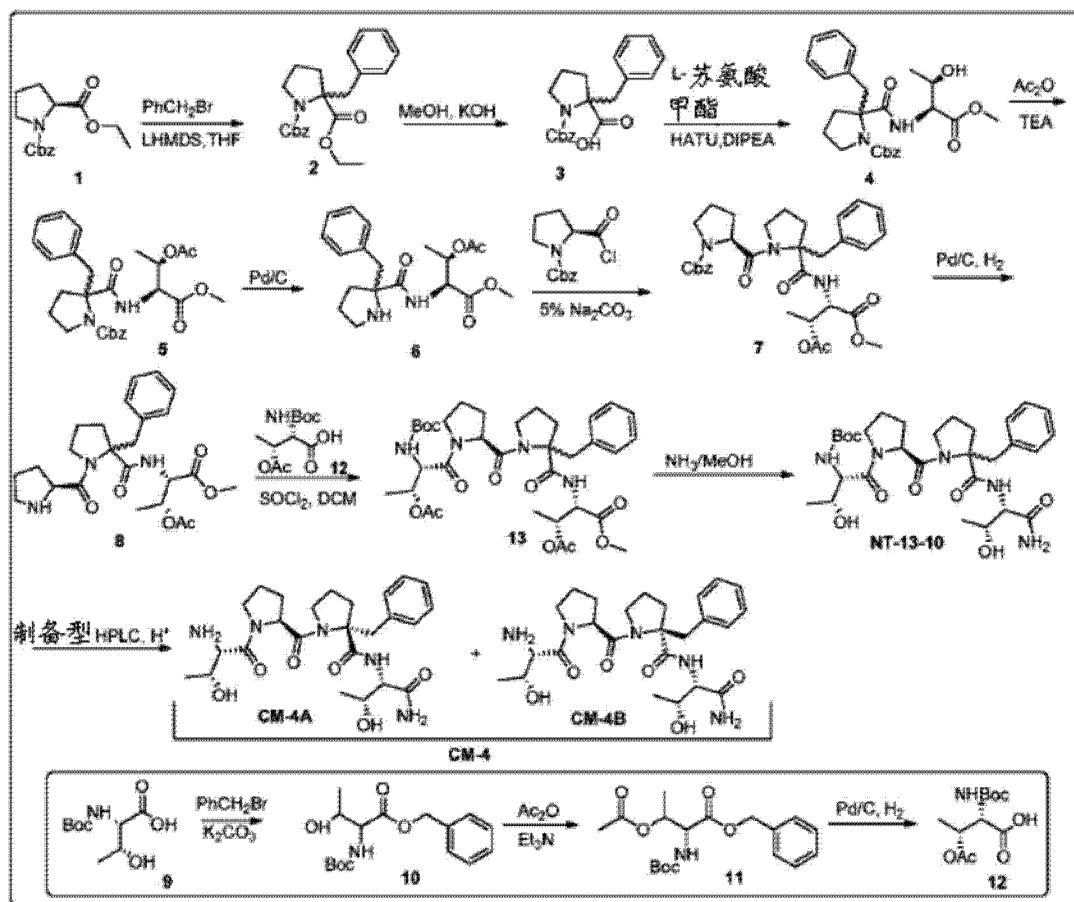
[0287] 实施例 4 - (R)-N-((2S, 3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-1-((S)-1-((2S, 3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)-吡咯烷-2-羰基)-2-苄基吡咯烷-2-甲酰胺 (CM-4A) 和 (S)-N-((2S, 3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代

丁-2-基)-1-((S)-1-((2S,3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)-吡咯烷-2-羰基)-2-苄基吡咯烷-2-甲酰胺 (CM-4B) 的合成:

[0288] 使用以下反应顺序 (方案 D) 合成 (R)-N-((2S,3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-1-((S)-1-((2S,3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)-2-苄基吡咯烷-2-甲酰胺 (CM-4A) 和 (S)-N-((2S,3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-1-((S)-1-((2S,3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)-吡咯烷-2-羰基)-2-苄基吡咯烷-2-甲酰胺 (CM-4B):

[0289] 方案 D. CM-4A 和 CM-4B 的合成。

[0290]



[0291] 2-苄基吡咯烷-1,2-二羧酸 1-苄酯 2-乙酯 (2) 的合成:

[0292] 在 -25°C 下向 (S)-吡咯烷-1,2-二羧酸 1-苄酯 2-乙酯 1 (10g, 36.10mmol) 在 THF (150mL) 中的溶液于惰性气氛下加入 LiHMDS (1M 在 THF 中) (43.3mL, 43.3mmol) 并搅拌 2h。在 -25°C 下将苄基溴 (5.17mL, 43.26mmol) 滴加至反应混合物。使其升温至室温并搅拌 2h。将反应混合物冷却至 5°C , 用饱和的 NH_4Cl 溶液淬灭并将水层用 EtOAc (2x200mL) 萃取。将合并的有机提取物经无水 Na_2SO_4 干燥并在减压下浓缩。将获得的粗残余物通过用 5% EtOAc/己烷洗脱的硅胶柱色谱法纯化以获得呈液体的化合物 2 (13g, 75%)。

[0293] $^1\text{H-NMR}$: (200MHz, DMSO-d_6): δ 7.47-7.32 (m, 5H), 7.27-7.16 (m, 3H), 7.07-7.04 (m, 2H), 5.29-5.06 (m, 2H), 4.16-3.89 (m, 2H), 3.57-3.33 (m, 2H), 3.02-2.78 (m, 2H), 2.13-1.89 (m, 2H), 1.56-1.51 (m, 1H), 1.21-1.04 (m, 3H), 0.93-0.79 (m, 1H).

[0294] 质量 m/z : 368. 2 $[M^+ + 1]$ 。

[0295] 2- 苄基吡咯烷 -1, 2- 二羧酸 1- 苄酯 2- 乙酯 (3) 的合成:

[0296] 向化合物 2 (8. 0g, 21. 79mmol) 在 CH_3OH (20mL) 中的搅拌溶液加入 2N KOH 水溶液 (20mL) 并加热直至 100℃ 并搅拌 16h。将挥发物在减压下蒸发。将获得的残余物用冰冷的水 (50mL) 稀释并用醚 (50mL) 洗涤。将水层使用 HCl 溶液酸化至 pH ~ 2 并用 EtOAc (2×100mL) 萃取。将合并的有机层经无水 Na_2SO_4 干燥并在减压下浓缩以获得呈灰白色固体的化合物 3 (6g, 81%)。

[0297] 1H -NMR: (200MHz, $DMSO-d_6$): δ 12. 71 (br s, 1H), 7. 40-7. 30 (m, 5H), 7. 25-7. 19 (m, 3H), 7. 07-7. 00 (m, 2H), 5. 27-5. 02 (m, 2H), 3. 59-3. 32 (m, 2H), 3. 02-2. 83 (m, 2H), 2. 13-1. 91 (m, 2H), 1. 58-1. 49 (m, 1H), 0. 90-0. 77 (m, 1H)。

[0298] 质量 m/z : 340. 1 $[M^+ + 1]$ 。

[0299] 2- 苄基 -2-((2S, 3R)-3- 羟基 -1- 甲氧基 -1- 氧代丁 -2- 基氨甲酰基) 吡咯烷 -1- 羧酸苄酯 (4) 的合成:

[0300] 在 5℃ 下向 2- 苄基 -1-(苄氧基羰基氨基) 吡咯烷 -2- 羧酸 (1. 0g, 2. 94mmol)、L- 苏氨酸甲酯 (471mg, 3. 53mmol) 在 DMF (20mL) 中的悬浮液中加入 HATU (1. 12g, 2. 94mmol) 和 DIPEA (1. 58mL, 8. 84mmol)。将反应混合物在室温搅拌 16h。将其用 EtOAc (150mL) 稀释并用水 (2×30mL) 洗涤。将有机层用盐水洗涤, 经 Na_2SO_4 干燥, 浓缩并通过 50% EtOAc/ 己烷作为洗脱液的硅胶柱色谱法纯化以获得化合物 4 (1. 0g, 74%)。

[0301] 1H -NMR: (200MHz, $DMSO-d_6$): δ 7. 62-7. 59 (m, 1H), 7. 44-7. 31 (m, 5H), 7. 21-7. 18 (m, 3H), 7. 06-6. 99 (m, 2H), 5. 25-5. 24 (m, 1H), 5. 12-4. 94 (m, 2H), 4. 30 (s, 1H), 4. 15-4. 08 (m, 1H), 3. 66-3. 64 (m, 3H), 3. 63-3. 49 (m, 2H), 3. 14 (s, 1H), 2. 89 (s, 1H), 2. 09-2. 02 (m, 2H), 1. 56-1. 51 (m, 1H), 1. 09-0. 98 (m, 4H)。

[0302] 质量 m/z : 455. 1 $[M^+ + 1]$, 477. 3 $[M + Na]$ 。

[0303] 2-((2S, 3R)-3- 乙酰氧基 -1- 甲氧基 -1- 氧代丁 -2- 基氨甲酰基) -2- 苄基吡咯烷 -1- 羧酸苄酯 (5) 的合成

[0304] 将 2- 苄基 -2-((2S, 3R)-3- 羟基 -1- 甲氧基 -1- 氧代丁 -2- 基氨甲酰基) 吡咯烷 -1- 羧酸酯 (3g, 6. 60mmol) 溶解于 THF (30mL), 在室温下加入 Et_3N (1. 11mL, 7. 92mmol) 和 Ac_2O (742mg, 7. 26mmol)。将反应混合物在室温搅拌 2h。将挥发物在减压下蒸发并将所获得的残余物用 CH_2Cl_2 稀释并用稀 HCl 洗涤。将合并的有机提取物经 Na_2SO_4 干燥并在减压下浓缩。将粗残余物通过使用 30% EtOAc/ 己烷作为洗脱液的柱色谱法纯化以获得化合物 5 (2. 5g, 76%)。

[0305] 1H -NMR: (500MHz, $DMSO-d_6$) (旋转异构体): δ 8. 15-7. 71 (m, 1H), 7. 42-7. 04 (m, 10H), 5. 30-5. 19 (m, 2H), 5. 11-5. 09 (m, 1H), 4. 99-4. 93 (m, 1H), 4. 67-4. 62 (m, 1H), 3. 66-3. 64 (m, 3H), 3. 55-3. 46 (m, 2H), 3. 38-3. 35 (m, 1H), 2. 88-2. 69 (m, 1H), 2. 17-2. 00 (m, 2H), 1. 98-1. 92 (m, 3H), 1. 56-1. 46 (m, 1H), 1. 23-1. 17 (m, 3H), 1. 02-0. 86 (m, 1H)。

[0306] LCMS m/z : 497. 4 $[M^+ + 1]$ 。

[0307] (2S, 3R)-3- 乙酰氧基 -2-(2- 苄基吡咯烷 -2- 甲酰胺基) 丁酸甲酯 (6) 的合成:

[0308] 向化合物 5 (4g, 8. 06mmol) 在乙醇 (50mL) 中的搅拌溶液中加入 10% Pd/C (1. 2g) 并将反应混合物在 H_2 气氛 (球囊压力) 下搅拌 4h。将其通过硅藻土垫过滤并将滤液在减

压下浓缩以获得化合物 6 (2.2g, 75%)。

[0309] $^1\text{H-NMR}$: (500MHz, DMSO- d_6) (旋转异构体): δ 8.22-8.17 (m, 1H), 7.24-7.16 (m, 5H), 5.17 (t, $J = 11.5\text{Hz}$, 1H), 4.48-4.42 (m, 1H), 3.60-3.54 (s, 3H), 3.20 (t, $J = 13.5\text{Hz}$, 1H), 3.06-2.97 (m, 1H), 2.82-2.68 (m, 3H), 2.08-2.02 (m, 1H), 1.89 (s, 3H), 1.72-1.51 (m, 3H), 1.10 (2d, 3H)。

[0310] LCMS m/z : 363 [$M^+ + 1$], 385 [$M + \text{Na}$]。

[0311] (S)-2-(2-((2S, 3R)-3-乙酰氧基-1-甲氧基-1-氧代丁-2-基氨基羰基)-2-苄基吡咯烷-1-羰基)吡咯烷-1-羧酸苄酯 (7) 的合成:

[0312] 向化合物 6 (1g, 2.76mmol) 和 Na_2CO_3 (732mg, 6.90mmol) 在 $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{H}_2\text{O}$ (20mL, 1:1) 中的搅拌溶液加入酰氯 [在 0°C 下向 (S)-1-(苄氧基羰基)吡咯烷-2-羧酸 (825mg, 3.31mmol) 在 CH_2Cl_2 (20mL) 中的溶液滴加 SOCl_2 (0.60mL) 并回流 2h。将挥发物在减压下去除以获得 (S)-2-(氯甲酰基)吡咯烷-1-羧酸苄酯] 在 CH_2Cl_2 中的溶液并将反应混合物在室温搅拌 2h。将挥发物在减压下蒸发。将残余物用 CH_2Cl_2 (100mL) 稀释、过滤并将滤液在真空下浓缩。将粗残余物通过使用 60% EtOAc/己烷作为洗脱液的柱色谱法纯化以获得化合物 7 (750mg, 45%)。

[0313] $^1\text{H-NMR}$: (500MHz, DMSO- d_6) (旋转异构体): δ 7.36-7.23 (m, 8H), 7.15-7.12 (m, 3H), 5.21-5.15 (m, 2H), 5.04-4.92 (m, 1H), 4.57-4.50 (m, 2H), 3.88 (d, $J = 14.5\text{Hz}$, 1H), 3.65 (s, 3H), 3.54-3.46 (m, 3H), 3.21-3.13 (m, 1H), 3.02-2.90 (m, 2H), 2.19-2.02 (m, 4H), 1.97 (s, 3H), 1.89 (s, 1H), 1.77-1.65 (m, 1H), 1.17 (s, 2H), 1.06 (s, 2H)。

[0314] 质量 m/z : 594.1 [$M^+ + 1$]。

[0315] (2S, 3R)-3-乙酰氧基-2-(2-苄基-1-((S)-吡咯烷-2-羰基)吡咯烷-2-甲酰胺基)丁酸甲酯 (8) 的合成:

[0316] 向化合物 7 (200mg, 0.336mmol) 在 EtOAc (15mL) 中的溶液于惰性气氛下加入 10% Pd/C (40mg) 并在 H_2 气氛 (球囊压力) 下搅拌 12h。将反应混合物通过硅藻土垫过滤并在减压下浓缩。将获得的残余物用醚 (10mL) 研磨以获得呈固体的化合物 8 (125mg, 81%)。

[0317] $^1\text{H-NMR}$: (500MHz, CDCl_3) (旋转异构体): δ 7.88-7.87 (d, 1H, $J = 8.5$), 7.30-7.26 (m, 2H), 7.24-7.21 (m, 1H), 7.13-7.12 (d, 2H, $J = 7$), 5.44-5.43 (m, 1H), 4.76-4.74 (m, 1H), 3.94-3.92 (m, 1H), 3.84-3.81 (m, 1H), 3.75 (s, 3H), 3.50 (m, 1H), 3.26-3.12 (m, 3H), 2.90-2.88 (m, 1H), 2.23-2.15 (m, 4H), 2.04 (s, 3H), 1.87-1.77 (m, 5H), 1.27-1.24 (m, 3H)。

[0318] 质量 m/z : 460 ($M + 1$)。

[0319] 2-(叔丁氧基羰基氨基)-3-羟基丁酸苄酯 (10) 的合成:

[0320] 向 2-(叔丁氧基羰基氨基)-3-羟基丁酸 (3.0g, 13.69mmol) 在 DMF (50mL) 中的溶液加入 K_2CO_3 (3.73g, 27.39mmol) 并在室温搅拌 15min。加入 (溴甲基)苯 (2.81g, 16.43mmol) 并在室温搅拌 6h。将反应混合物用水 (50mL) 稀释并用 EtOAc (2×50mL) 萃取。将合并的有机层用盐水 (50mL) 洗涤, 经无水 Na_2SO_4 干燥并在减压下浓缩。将粗物质通过用 20% EtOAc/己烷作为洗脱液的硅胶柱色谱法纯化以获得 2-(叔丁氧基羰基氨基)-3-羟基丁酸苄酯 10 (2.8g, 66%)。

[0321] $^1\text{H-NMR}$: (500MHz, DMSO- d_6): δ 7.37-7.30 (m, 5H), 6.60 (d, $J = 8.5\text{Hz}$, 1H), 5.18-5.08 (m, 2H), 4.76 (d, $J = 7\text{Hz}$, 1H), 4.08-4.00 (m, 2H), 1.38 (s, 9H), 1.09 (d, $J = 6.0\text{Hz}$, 3H)。

[0322] 质量 m/z : 310.0 $[M^+ + 1]$, 210 $[M^+ - \text{De Boc}]$ 。

[0323] 3-乙酰氧基-2-(叔丁氧基羰基氨基)丁酸苄酯(11)的合成:

[0324] 向 2-(叔丁氧基羰基氨基)-3-羟基丁酸苄酯(2.8g, 9.06mmol) 在 THF(80mL) 中的溶液加入 Ac_2O (1.1g, 10.87mmol)、 Et_3N (1.51mL, 10.87mmol) 和 DMAP(280mg) 并在室温搅拌 15min。将挥发物在减压下去除。将获得的残余物用 EtOAc(150mL) 稀释并用冷的 0.5N HCl 溶液(2x20mL) 洗涤。将有机层用盐水洗涤、经无水 Na_2SO_4 干燥并在减压下浓缩以获得 3-乙酰氧基-2-(叔丁氧基羰基氨基)丁酸酯 11(2.8g, 88%)。

[0325] $^1\text{H-NMR}$: (500MHz, DMSO-d_6): δ 7.35-7.34(m, 5H), 7.27-7.25(d, $J = 8.5\text{Hz}$, 1H), 5.18-5.06(m, 3H), 4.34-4.32(m, 1H), 1.90(s, 3H), 1.39(s, 9H), 1.16(d, $J = 3\text{Hz}$, 3H)。

[0326] 质量 m/z : 252 $[M^+ + 1 - \text{De Boc}]$ 。

[0327] (2S, 3R)-3-乙酰氧基-2-(叔丁氧基羰基氨基)丁酸(12)的合成:

[0328] 将苄基-3-乙酰氧基-2-(叔丁氧基羰基氨基)丁酸酯 11(1.4g, 3.98mmol) 溶解于 EtOAc(40mL), 加入 10% Pd/C(600mg) 并将反应混合物在氢气气氛下搅拌 16h。将反应混合物经硅藻土过滤, 将溶剂在真空下蒸发并将该粗残余物用己烷研磨以获得 (2S, 3R)-3-乙酰氧基-2-(叔丁氧基羰基氨基)丁酸 12(0.7g, 70%)。

[0329] $^1\text{H-NMR}$: (500MHz, DMSO-d_6): δ 12.78(br s, 1H), 6.94(d, $J = 9.5\text{Hz}$, 1H), 5.16-5.14(m, 1H), 4.17-4.15(m, 1H), 1.95(s, 3H), 1.39(s, 9H), 1.10(d, $J = 6.0\text{Hz}$, 3H)。

[0330] 质量 m/z : 260.0 $[M - 1]$ 。

[0331] (2S, 3R)-3-乙酰氧基-2-(1-((S)-1-((2S, 3R)-3-乙酰氧基-2-((叔丁氧基羰基)-氨基)丁酰基)吡咯烷-2-羰基)-2-苄基吡咯烷-2-甲酰胺基)丁酸甲酯(13)的合成:

[0332] 在 -15°C 下向化合物 (2S, 3R)-3-乙酰氧基-2-(叔丁氧基羰基氨基)丁酸 12(199mg, 0.76mmol) 在 CH_2Cl_2 (6mL) 中的溶液于惰性气氛下加入 IBCF(125mg, 0.91mmol) 和 NMM(154mg, 1.52mmol) 并搅拌 1h。将 (2S, 3R)-3-乙酰氧基-2-(2-苄基-1-((S)-吡咯烷-2-羰基)吡咯烷-2-甲酰胺基)丁酸甲酯 8(350mg, 0.76mmol) 在 DMF(2mL) 中的溶液加入至反应混合物并在 -15°C 下搅拌 1h。将所得的反应混合物升温至室温并搅拌 19h。将反应混合物用 EtOAc 萃取并将分离的有机层用水(20mL), 随后用盐水(20mL) 洗涤, 经 Na_2SO_4 干燥并在减压下浓缩。将粗物质通过制备型 HPLC 纯化以获得化合物 13(100mg, 20%)。

[0333] $^1\text{H-NMR}$: (500MHz, CD_3OD) (旋转异构体): δ 7.30-7.24(m, 3H), 7.15-7.13(m, 2H), 4.62-4.55(m, 2H), 4.29-3.97(m, 1H), 3.98-3.79(m, 4H), 3.75(s, 3H), 3.62-3.22(m, 2H), 3.23(d, $J = 13.5\text{Hz}$, 1H), 3.00-2.95(q, 1H), 2.37-2.31(m, 1H), 2.23-2.10(m, 2H), 2.02-1.88(m, 3H), 1.46-1.28(m, 2H), 0.97(d, $J = 7.0\text{Hz}$, 6H)。

[0334] ((2S, 3R)-1-((S)-2-(2-(((2S, 3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)羰基)-2-苄基吡咯烷-1-羰基)吡咯烷-1-基)-3-羟基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸叔丁酯(NT-13-10)的合成。

[0335] 在室温下将化合物 13(100mg, 0.153mmol) 在甲醇- NH_3 (10mL) 中的溶液于密封管中搅拌 72h。将反应混合物在减压下浓缩。将获得的粗残余物用醚(2x2mL) 洗涤以获得 NT-13-10(85mg)。

[0336] (R)-N-((2S, 3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-1-((S)-1-((2S, 3R)-2-氨

基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)-2-苄基吡咯烷-2-甲酰胺(CM-4A)和(S)-N-((2S,3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-1-((S)-1-((2S,3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)-2-苄基吡咯烷-2-甲酰胺(CM-4B)的合成:

[0337] 将 NT-13-10 (85mg) 通过手性制备型 HPLC 进一步纯化以获得两种异构体,将两种异构体用二噁烷 HCl 处理并蒸发分别获得 15mg 的 CM-4A 和 CM-4B。

[0338] $^1\text{H-NMR}$: (500MHz, CD_3OD) (旋转异构体): δ 7.33-7.26 (m, 3H), 7.16 (s, 2H), 4.55-4.54 (m, 1H), 4.39 (s, 1H), 4.14 (s, 1H), 4.01-3.98 (m, 1H), 3.91-3.71 (m, 3H), 3.59 (s, 2H), 3.25-3.16 (m, 1H), 3.04-3.00 (m, 1H), 2.33-2.10 (m, 3H), 2.01-1.91 (m, 2H), 1.86-1.80 (m, 1H), 1.46-1.44 (m, 1H), 1.34-1.29 (m, 1H), 1.25-1.19 (m, 3H), 0.99-0.97 (d, $J = 14.0\text{Hz}$, 3H).

[0339] 质量 m/z : 503 [M^+]

[0340] HPLC 纯度: 98.1%。

[0341] (R)-N-((2S,3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-1-((S)-1-((2S,3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)-吡咯烷-2-羰基)-2-苄基吡咯烷-2-甲酰胺三氟乙酸盐(CM-4A-TFA)的合成:

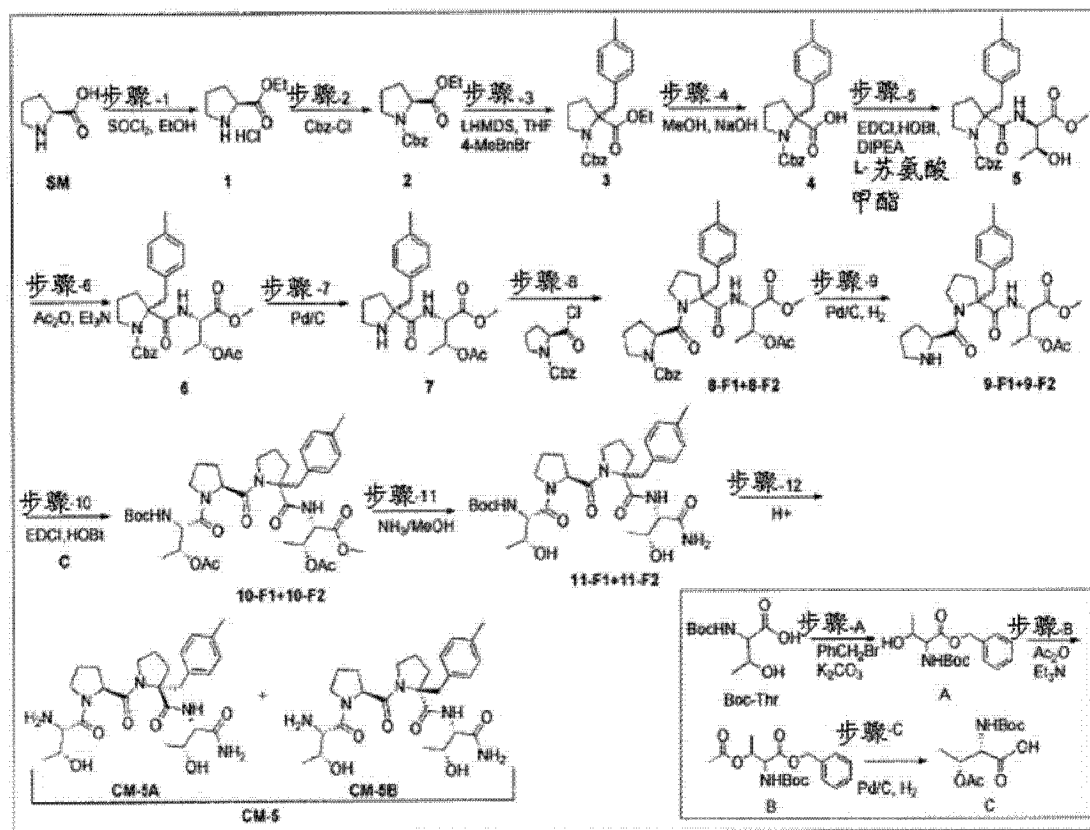
[0342] 向 CM-4A 在甲醇中的溶液加入过量的三氟乙酸。将所得的沉淀通过过滤收集、用甲醇洗涤并在真空下干燥以获得 CM-4A-TFA。

[0343] 实施例 5 - (R)-N-((2S,3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-1-((S)-1-((2S,3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)-2-(4-甲基苄基)吡咯烷-2-甲酰胺(CM-5A)和(S)-N-((2S,3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-1-((S)-1-((2S,3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)-2-(4-甲基苄基)吡咯烷-2-甲酰胺(CM-5B)的合成:

[0344] 使用以下反应顺序(方案 E)合成 (R)-N-((2S,3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-1-((S)-1-((2S,3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)-2-(4-甲基苄基)吡咯烷-2-甲酰胺(CM-5A)和 (S)-N-((2S,3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-1-((S)-1-((2S,3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)-2-(4-甲基苄基)吡咯烷-2-甲酰胺(CM-5B):

[0345] 方案 E. CM-5A 和 CM-5B 的合成:

[0346]



[0347] (S)-吡咯烷-2-羧酸乙酯盐酸盐 (1) 的合成：

[0348] 向 L-脯氨酸 (SM) (110g, 956.5mmol) 在乙醇中的搅拌溶液加入亚硫酸氯 (141ml, 1911.3mmol) 并回流 16h。将反应混合物温度调节至室温并在真空下浓缩以获得呈盐酸盐的化合物 1 (170g, 99%)。

[0349] (S)-吡咯烷-1,2-二羧酸 1-苄酯 2-乙酯 (2) 的合成：

[0350] 向化合物 1 (170g, 947mmol) 在 CH_2Cl_2 中的搅拌溶液加入 Et_3N (398ml, 2.83mol)。在搅拌 30min 之后, 将 Cbz-Cl (1.136mol) 加入至反应混合物并在室温下再持续搅拌 12h。将反应混合物用水洗涤并用 CH_2Cl_2 萃取。将有机层经无水 Na_2SO_4 干燥并在真空下浓缩。将粗品通过柱色谱法纯化以获得化合物 2 (230g, 88%)。

[0351] $^1\text{H-NMR}$: (200MHz, DMSO-d_6): δ 7.42-7.31 (m, 5H), 5.09 (m, 2H), 4.32-4.23 (m, 1H), 4.08-3.98 (m, 2H), 3.50-3.38 (m, 2H), 2.30-2.18 (m, 1H), 1.90-1.81 (m, 3H), 1.10-1.04 (t, 3H)。

[0352] 质量 m/z : 278 [$\text{M}^+ + 1$]。

[0353] 2-(4-甲基苄基)吡咯烷-1,2-二羧酸 1-苄酯 2-乙酯 (3) 的合成：

[0354] 在 -78°C 下向化合物 2 (5g, 0.018mol) 在 THF (40mL) 中的搅拌溶液于惰性气氛下加入 LiHMDS (1M 在 THF 中) (36mL, 0.036mol) 并搅拌 30min。在 -30°C 下滴加 4-甲基苄基溴 (5g, 0.027mol) 并使其升温至室温并搅拌 2h。将反应混合物冷却至 5°C , 用饱和的 NH_4Cl 溶液淬灭并将水层用 EtOAc (2x100mL) 萃取。将合并的有机提取物经无水 Na_2SO_4 干燥并在减压下浓缩。将获得的粗残余物通过用 20% EtOAc /己烷洗脱的硅胶柱色谱法纯化以获得呈液体的化合物 3 (5.2g, 76%)。

[0355] $^1\text{H-NMR}$: (500MHz, DMSO-d_6): δ 7.47-7.32 (m, 5H), 7.17-7.12 (m, 1H), 7.05-7.01 (m,

1H), 6.95–6.90 (m, 2H), 5.25–5.00 (m, 2H), 4.16–4.12 (m, 1H), 4.00–3.89 (m, 1H), 3.52 (d, 1H), 3.38–3.33 (m, 1H), 2.99–2.89 (m, 2H), 2.23 (s, 3H), 2.12–1.90 (m, 1H), 1.56–1.51 (m, 1H), 1.05–1.01 (m, 3H), 1.00–0.97 (m, 1H), 0.92–0.89 (m, 1H).

[0356] 1-((苄氧基)羰基)-2-(4-甲基苄基)吡咯烷-2-羧酸(4)的合成:

[0357] 向化合物3(5.2g, 0.0136mol)在甲醇(25mL)和水(15mL)中的搅拌溶液加入2N NaOH水溶液(2g, 0.052mol)并加热至85℃保持4h。将挥发物在减压下蒸发并将所得残留物用冰冷的水(50mL)稀释并用醚(50mL)洗涤。将水层使用2N HCl酸化至pH~2并用CH₂Cl₂(2x100mL)萃取。将合并的有机层经无水Na₂SO₄干燥并在减压下浓缩以获得呈灰白色固体的化合物4(4.3g, 89%)。

[0358] ¹H-NMR: (400MHz, CDCl₃): δ 7.45–7.38 (m, 5H), 7.09–6.89 (m, 4H), 5.35–5.26 (m, 2H), 3.67–3.47 (m, 2H), 3.14–2.99 (m, 2H), 2.42–2.39 (m, 1H), 2.29 (s, 3H), 2.22–1.99 (m, 1H), 1.74–1.61 (m, 1H), 1.31–1.22 (m, 1H).

[0359] LCMS(ESI): 354[M⁺+1]。

[0360] 2-(((2R, 3S)-3-羟基-1-甲氧基-1-氧代丁-2-基)氨甲酰基)-2-(4-甲基苄基)吡咯烷-1-羧酸苄酯(5)的合成:

[0361] 在0℃下向化合物4(4.3g, 12.1mmol)在CH₂Cl₂(40mL)中的搅拌溶液加入EDCI·HCl(2.5g, 13.4mmol)、随后加入HOBt(1.82g, 13.4mmol)和DIPEA(6.4mL, 36.5mmol)。在搅拌10min之后,将L-苏氨酸甲酯(2.2g, 13.4mmol)加入至反应混合物并在室温下再搅拌4h。在原料耗尽之后(通过TLC),将反应物用CH₂Cl₂(150mL)稀释并用水(2×30mL)洗涤。将有机层用盐水洗涤,经Na₂SO₄干燥、浓缩并通过用2% MeOH/CH₂Cl₂洗脱的硅胶柱色谱法纯化以获得化合物5(4.1g, 72%)。

[0362] ¹H-NMR: (500MHz, CDCl₃): δ 7.44–7.31 (m, 5H), 7.09–6.85 (m, 5H), 5.32–5.25 (m, 1H), 5.05–4.94 (m, 2H), 4.25–4.20 (m, 1H), 4.15–4.08 (m, 1H), 3.66–3.64 (m, 2H), 3.45–3.41 (m, 2H), 3.14–3.09 (m, 1H), 2.89–2.84 (m, 1H), 2.20 (s, 3H), 2.05–2.02 (m, 2H), 1.55–1.51 (m, 1H), 1.09–0.98 (m, 4H).

[0363] LCMS(ESI): 469[M⁺+1]。

[0364] 2-(((2S, 3R)-3-乙酰氧基-1-甲氧基-1-氧代丁-2-基)氨甲酰基)-2-(4-甲基苄基)吡咯烷-1-羧酸苄酯(6)的合成:

[0365] 在0℃下向化合物5(4.1g, 8.75mmol)在CH₂Cl₂(40mL)中的搅拌溶液加入Et₃N(3.0mL, 21.9mmol)、随后加入Ac₂O(1.0g, 10.5mmol)并搅拌1h。加入DMAP(25mg, 催化量)并在室温搅拌2h。在原料耗尽之后(通过TLC),将反应混合物用水稀释并用EtOAc(2x100mL)萃取。将分离的有机层经无水Na₂SO₄干燥、过滤并真空下浓缩以获得化合物6(4.2g, 粗品)。这不经进一步纯化直接用于下一步。

[0366] ¹H-NMR: (500MHz, CDCl₃): δ 7.42–7.30 (m, 5H), 7.09–6.85 (m, 5H), 5.25–5.21 (m, 2H), 5.11–5.09 (m, 1H), 4.67–4.62 (m, 1H), 3.66–3.64 (m, 2H), 3.55–3.46 (m, 3H), 3.15–3.10 (m, 1H), 2.92–2.85 (m, 1H), 2.20 (s, 3H), 2.05–1.95 (m, 5H), 1.56–1.46 (m, 1H), 1.15–1.11 (m, 4H).

[0367] LCMS(ESI): 511[M⁺+1]。

[0368] (2S, 3R)-3-乙酰氧基-2-(2-(4-甲基苄基)吡咯烷-2-甲酰胺基)丁酸甲酯(7)

的合成：

[0369] 向化合物 6 (4.2g, 8.22mmol) 在甲醇 (35mL) 中的搅拌溶液于 N₂ 气氛下加入 10% Pd/C (1.0g)。将该反应混合物在 H₂ 气氛 (球囊压力) 下搅拌 3h。在原料耗尽之后 (通过 TLC), 将反应物过滤通过硅藻土垫过滤并将滤液在减压下浓缩以获得呈浆料的化合物 7 (3.0g, 100%)。

[0370] ¹H-NMR: (500MHz, CDCl₃): δ 8.22 (br s, 1H), 7.09-7.06 (m, 4H), 5.23-5.19 (m, 1H), 4.50-4.42 (m, 1H), 3.60 (d, 3H), 3.20 (m, 1H), 3.00-2.97 (m, 1H), 2.75-2.68 (m, 2H), 2.28 (s, 3H), 2.05-2.02 (m, 1H), 1.90 (d, 3H), 1.65-1.51 (m, 3H), 1.10 (dd, 3H)。

[0371] LCMS m/z: 377 [M⁺+1]。

[0372] (2S)-2-(2-(((2S, 3R)-3-乙酰氧基-1-甲氧基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基))-2-(4-甲基苄基)吡咯烷-1-羰基)吡咯烷-1-羧酸苄酯 (8) 的合成：

[0373] 向化合物 7 (3.0g, 7.97mmol) 在 CH₂Cl₂ (30mL) 和水 (20mL) 中的搅拌溶液加入 Na₂CO₃ (2.1g, 19.9mmol) 并在 0℃ 下搅拌 5min。加入酰氯 [在 0℃ 下向 (S)-1-(苄氧基羰基)吡咯烷-2-羧酸 (2.3g, 9.56mmol) 在 CH₂Cl₂ (10mL) 中的溶液滴加 SOCl₂ (1.4mL) 并回流 2h。将挥发物在减压下去除] 并将反应混合物在室温搅拌 2h。将分离的有机层在真空下浓缩并将获得的异构体通过用乙醚 (2x20mL) 洗涤以获得化合物 8-F1 (1.6g) 和化合物 8-F2 (2.6g)。

[0374] 化合物 8-F1 的分析数据：

[0375] ¹H-NMR: (400MHz, CDCl₃): δ 7.39-7.28 (m, 5H), 7.15-6.85 (m, 5H), 5.21-5.05 (m, 2H), 5.04-4.92 (m, 1H), 4.65-4.50 (m, 1H), 4.53-4.45 (m, 1H), 3.65 (s, 3H), 3.54-3.46 (m, 4H), 3.21-3.13 (m, 2H), 2.25-2.16 (m, 4H), 2.05-2.00 (m, 2H), 1.95-1.85 (m, 4H), 1.56-1.51 (m, 2H), 1.15 (dd, 3H)。

[0376] LCMS m/z: 608 [M⁺+1]。

[0377] UPLC (纯度): 97%。

[0378] 化合物 8-F2 的分析数据：

[0379] ¹H-NMR: (400MHz, CDCl₃): δ 8.50 (br s, 1H), 7.36-7.23 (m, 5H), 7.15-6.85 (m, 5H), 5.21-5.05 (m, 2H), 5.04-4.92 (m, 1H), 4.65-4.50 (m, 1H), 4.53-4.45 (m, 1H), 3.65 (s, 3H), 3.54-3.46 (m, 4H), 3.21-3.13 (m, 2H), 2.25-2.16 (m, 4H), 2.05-2.00 (m, 2H), 1.95-1.85 (m, 4H), 1.56-1.51 (m, 2H), 1.15 (dd, 3H)。

[0380] LCMS m/z: 608 [M⁺+1]

[0381] UPLC (纯度): 96%。

[0382] (2S, 3R)-3-乙酰氧基-2-((R)-2-(4-甲基苄基)-1-((S)-吡咯烷-2-羰基)吡咯烷-2-甲酰胺基)丁酸甲酯 (9-F1) 的合成：

[0383] 向化合物 8-F1 (1.6g, 2.63mmol) 在 MeOH (20mL) 和 EtOAc (20mL) 中的搅拌溶液于惰性气氛下加入 10% Pd/C (0.5g) 并在 H₂ 气氛 (球囊压力) 下搅拌 4h。将反应混合物通过硅藻土垫过滤并在减压下浓缩以获得化合物 9-F1 (1.1g, 92%)。

[0384] ¹H-NMR: (400MHz, CDCl₃): δ 8.23 (dd, 1H), 7.20-6.85 (m, 5H), 5.20-5.13 (m, 1H), 4.63-4.59 (m, 1H), 3.85-3.81 (m, 1H), 3.65-3.61 (m, 5H), 3.32-3.25 (m, 2H), 3.12-3.05 (m, 3H), 2.75-2.71 (m, 1H), 2.25 (s, 3H), 2.15-2.13 (m, 2H), 2.00 (d, 3H), 1.77 (m, 3H), 1.27 (dd, 4

H)。

[0385] LCMS m/z : 474 $[M^+ + 1]$ 。

[0386] (2S, 3R)-3-乙酰氧基-2-((S)-2-(4-甲基苄基)-1-((S)-吡咯烷-2-羰基)吡咯烷-2-甲酰胺基)丁酸甲酯 (9-F2) 的合成:

[0387] 向化合物 8-F2 (2.6g, 4.20mmol) 在 MeOH (25mL) 中的搅拌溶液于惰性气氛下加入 10% Pd/C (1.0g) 并在 H_2 气氛 (球囊压力) 下搅拌 3h。将反应混合物通过硅藻土垫过滤并在减压下浓缩以获得化合物 9-F2 (1.1g, 55%)。

[0388] 1H -NMR: (400MHz, $CDCl_3$): δ 8.23 (dd, 1H), 7.20-6.85 (m, 5H), 5.20-5.13 (m, 1H), 4.63-4.59 (m, 1H), 3.85-3.81 (m, 1H), 3.65-3.61 (m, 5H), 3.32-3.25 (m, 2H), 3.12-3.05 (m, 3H), 2.75-2.71 (m, 1H), 2.25 (s, 3H), 2.15-2.13 (m, 2H), 2.00 (d, 3H), 1.77 (m, 3H), 1.27 (dd, 4H)。

[0389] LCMS m/z : 474 $[M^+ + 1]$ 。

[0390] 2-(叔丁氧基羰基氨基)-3-羟基丁酸苄酯 (A) 的合成:

[0391] 向 2-(叔丁氧基羰基氨基)-3-羟基丁酸 (50g, 228.3mmol) 在 DMF (500mL) 中的溶液加入 K_2CO_3 (63g, 456.6mmol) 并在室温搅拌 15min。加入苄基溴 (46.83g, 273.9mmol) 并在室温搅拌 6h。将反应混合物用水 (500mL) 稀释并用 EtOAc (2x750mL) 萃取。将合并的有机层用盐水 (50mL) 洗涤, 经无水 Na_2SO_4 干燥并在减压下浓缩。将粗物质通过用 20% EtOAc/己烷洗脱的硅胶柱色谱法纯化以获得 2-(叔丁氧基羰基氨基)-3-羟基丁酸苄酯 A (52g, 73%)。

[0392] 1H -NMR: (500MHz, $DMSO-d_6$): δ 7.37-7.30 (m, 5H), 6.60 (d, 1H), 5.18-5.08 (m, 2H), 4.76 (d, 1H), 4.08-4.00 (m, 2H), 1.38 (s, 9H), 1.09 (d, 3H)。

[0393] 质量 m/z : 310.0 $[M^+ + 1]$, 210 $[M^+ - De Boc]$ 。

[0394] 3-乙酰氧基-2-(叔丁氧基羰基氨基)丁酸苄酯 (B) 的合成:

[0395] 向化合物 A (52g, 168.2mmol) 在 CH_2Cl_2 (500mL) 中的搅拌溶液加入 Ac_2O (20.5g, 201.9mmol)、 Et_3N (25.4g, 252.4mmol) 和 DMAP (3.5g) 并在室温搅拌 2h。将挥发物在减压下去除。将获得的残余物用 EtOAc (750mL) 稀释并用冷 0.5N HCl 溶液 (2x200mL) 洗涤。将有机层用盐水洗涤, 经无水 Na_2SO_4 干燥并在减压下浓缩以获得 3-乙酰氧基-2-(叔丁氧基羰基氨基)丁酸酯 B (52g, 88%)。

[0396] 1H -NMR: (500MHz, $DMSO-d_6$): δ 7.35-7.34 (m, 5H), 7.27-7.25 (d, 1H), 5.18-5.06 (m, 3H), 4.34-4.32 (m, 1H), 1.90 (s, 3H), 1.39 (s, 9H), 1.16 (d, 3H)。

[0397] 质量 m/z : 252 $[M^+ + 1 - De Boc]$

[0398] (2S, 3R)-3-乙酰氧基-2-(叔丁氧基羰基氨基)丁酸 (C) 的合成:

[0399] 向化合物 B (52g, 148.1mmol) 在 MeOH (1L) 中的混合溶液在 N_2 气氛下加入 10% Pd/C 并将反应混合物在氢气气氛下搅拌 16h。将反应混合物通过硅藻土垫过滤, 将获得的滤液在真空下蒸发并将粗残余物用己烷研磨以获得 (2S, 3R)-3-乙酰氧基-2-(叔丁氧基羰基氨基)丁酸 C (35g, 90%)。

[0400] 1H -NMR: (500MHz, $DMSO-d_6$): δ 12.78 (br s, 1H), 6.94 (d, 1H), 5.16-5.14 (m, 1H), 4.17-4.15 (m, 1H), 1.95 (s, 3H), 1.39 (s, 9H), 1.10 (d, 3H)。

[0401] 质量 m/z : 260.0 $[M - 1]$ 。

[0402] (2S, 3R)-3-乙酰氧基-2-((R)-1-((S)-1-((2S, 3R)-3-乙酰氧基-2-((叔丁氧基

羰基)氨基)丁酰基)吡咯烷-2-羰基)-2-(4-甲基苄基)吡咯烷-2-甲酰胺基)丁酸甲酯(10-F1)的合成:

[0403] 在 0℃ 下向化合物 C(0.66g, 2.55mmol) 在 CH₂Cl₂(15mL) 中的搅拌溶液加入 EDCI(0.49g, 2.55mmol)、HOBt(0.345g, 2.55mmol)、随后加入 DIPEA(1.2mL, 6.96mmol) 并搅拌 10min。加入化合物 9-F1(1.1g, 2.32mmol) 并搅拌 15h。将反应混合物用 EtOAc(2x75mL) 萃取并将分离的有机层用水(200mL), 随后用盐水(200mL) 洗涤, 经 Na₂SO₄ 干燥并在减压下浓缩。将粗物质通过用 70% EtOAc/ 己烷洗脱的柱色谱法纯化以获得呈浆料的化合物 10-F1(1.6g, 100%)。

[0404] ¹H-NMR: (500MHz, CDCl₃): δ 7.24-6.91(m, 5H), 5.42-5.01(m, 2H), 4.73-4.68(m, 1H), 4.54-4.41(m, 1H), 3.90-3.85(m, 1H), 3.67(s, 3H), 3.65-3.60(m, 2H), 3.59-3.55(m, 1H), 3.59-3.55(m, 1H), 3.30(s, 3H), 3.12-3.05(m, 1H), 2.33(s, 3H), 2.05(s, 3H), 2.00-1.96(m, 4H), 1.94-1.85(m, 4H), 1.43(s, 9H), 1.25(d, 3H), 1.15(d, 3H)。

[0405] LCMS(ESI): m/z 717[M⁺+1]。

[0406] ((2S, 3R)-3-乙酰氧基-2-((S)-1-((S)-1-((2S, 3R)-3-乙酰氧基-2-((叔丁氧基羰基)氨基)丁酰基)吡咯烷-2-羰基)-2-(4-甲基苄基)吡咯烷-2-甲酰胺基)丁酸甲酯(10-F2)的合成:

[0407] 在 0℃ 下向化合物 C(0.66g, 2.55mmol) 在 CH₂Cl₂(10mL) 中的搅拌溶液加入 EDCI·HCl(0.48g, 2.55mmol)、HOBt(0.345g, 2.55mmol)、随后加入 DIPEA(1.2mL, 6.96mmol) 并搅拌 10min。加入化合物 9-F2(1.1g, 2.32mmol) 并搅拌 15h。将反应混合物用 EtOAc(2x75mL) 萃取并将分离的有机层用水(200mL), 随后用盐水(200mL) 洗涤, 经 Na₂SO₄ 干燥并在减压下浓缩。将粗物质通过用 70% EtOAc/ 己烷洗脱的柱色谱法纯化以获得呈浆料的化合物 10-F2(0.8g, 50%)。

[0408] ¹H-NMR: (400MHz, DMSO-d₆): δ 7.24-6.91(m, 5H), 5.42-5.01(m, 2H), 4.73-4.68(m, 1H), 4.54-4.41(m, 1H), 3.90-3.85(m, 1H), 3.67(s, 3H), 3.65-3.60(m, 2H), 3.59-3.55(m, 1H), 3.59-3.55(m, 1H), 3.30(s, 3H), 3.12-3.05(m, 1H), 2.33(s, 3H), 2.05(s, 3H), 2.00-1.96(m, 4H), 1.94-1.85(m, 4H), 1.43(s, 9H), 1.25(d, 3H), 1.15(d, 3H)。

[0409] LCMS(ESI): m/z 717[M⁺+1]。

[0410] ((2S, 3R)-1-((S)-2-((R)-2-(((2S, 3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)氨甲酰基)-2-(4-甲基苄基)吡咯烷-1-羰基)吡咯烷-1-基)-3-羟基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸叔丁酯(11-F1)的合成:

[0411] 将化合物 10-F1(1.6g, 2.20mmol) 和甲醇 NH₃(20mL) 中的混合物放入高压釜中并加热至 70℃ 保持 16h。在原料耗尽之后(通过 TLC), 将反应混合物在减压下浓缩以获得化合物 11-F1(0.6g, 46%)。

[0412] ¹H-NMR: (400MHz, DMSO-d₆): δ 7.32(br s, 1H), 7.15-7.10(m, 2H), 7.05-6.91(m, 3H), 6.65(br s, 1H), 4.75-4.59(m, 2H), 4.24-3.45(m, 8H), 3.35(s, 1H), 3.05-3.00(m, 1H), 2.32(s, 3H), 2.26-1.85(m, 6H), 1.75(s, 6H), 1.60-1.55(m, 1H), 1.47(s, 9H), 1.15(d, 3H)。

[0413] LCMS(ESI): m/z 618.5[M⁺+1]。

[0414] ((2S, 3R)-1-((S)-2-((S)-2-(((2S, 3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)氨甲酰基)-2-(4-甲基苄基)吡咯烷-1-羰基)吡咯烷-1-基)-3-羟基-1-氧代丁-2-基)

氨基甲酸叔丁酯 (11-F2) 的合成：

[0415] 将化合物 10-F2 (0.8g, 1.11mmol) 和甲醇 NH_3 (20mL) 中的混合物在室温搅拌 16h。在原料耗尽之后 (通过 TLC & LCMS), 将反应混合物在减压下浓缩以获得化合物 11-F2 (0.4g, 58%)。

[0416] $^1\text{H-NMR}$: (400MHz, DMSO-d_6): δ 7.32 (br s, 1H), 7.15-7.10 (m, 2H), 7.05-6.91 (m, 3H), 6.65 (br s, 1H), 4.75-4.59 (m, 2H), 4.24-3.45 (m, 8H), 3.35 (s, 1H), 3.05-3.00 (m, 1H), 2.32 (s, 3H), 2.26-1.85 (m, 6H), 1.75 (s, 6H), 1.60-1.55 (m, 1H), 1.47 (s, 9H), 1.15 (d, 3H)。

[0417] LCMS (ESI): m/z 618.5 $[\text{M}^+ + 1]$ 。

[0418] (R)-N-((2S, 3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-1-((S)-1-((2S, 3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯啉-2-羰基)-2-(4-甲基苄基)吡咯啉-2-甲酰胺 (CM-5A) 的合成：

[0419] 将化合物 11-F1 (0.25g, 0.40mmol) 在含 2N-HCl 的 1,4-二噁烷 (7mL) 中的搅拌溶液于室温保持 2h。将反应混合物在减压下浓缩并通过制备型 HPLC 纯化获得呈盐酸盐的 CM-5A (0.1g, 44%)。

[0420] $^1\text{H-NMR}$: (400MHz, D_2O): δ 7.35 (t, 2H), 7.25 (d, 2H), 4.95-4.90 (m, 1H), 4.43-4.35 (m, 4H), 3.94-3.89 (m, 1H), 3.87-3.78 (m, 2H), 3.63 (d, 1H), 3.49-3.40 (m, 1H), 3.25 (d, 1H), 2.56-2.34 (m, 5H), 2.28-2.20 (m, 4H), 1.75-1.71 (m, 1H), 1.56 (d, 3H), 1.32 (d, 3H), 1.15-1.11 (m, 1H)。

[0421] LCMS (ESI) m/z : 518 $[\text{M}^+ + 1]$ 。

[0422] UPLC 纯度: 99%。

[0423] 旋光度 $[\alpha]_D^{25}$: +30.51 (在水中 $C = 1\%$)。

[0424] 制备型 HPLC: $R_t = 7.56\text{min}$ (Chiralpak IA, 250x4.6mm, 5 μ ; 流动相 (A) 含 0.1% TFA 的正己烷 (B) EtOH (4/1): A:B (80:20); 流速: 1.00mL/min)。

[0425] (S)-N-((2S, 3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-1-((S)-1-((2S, 3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)-2-(4-甲基苄基)吡咯烷-2-甲酰胺 (CM-5B) 的合成：

[0426] 将化合物 11-F2 (0.4g, 0.64mmol) 在含 2N-HCl 的 1,4-二噁烷 (5mL) 中的搅拌溶液于室温保持 2h。将反应混合物在减压下浓缩以得到粗品; 将所述粗品用 EtOAc 和正戊烷洗涤以获得呈盐酸盐的 CM-5B (0.15g, 42%)。

[0427] $^1\text{H-NMR}$: (400MHz, D_2O): δ 7.35 (t, 2H), 7.25 (d, 2H), 4.95-4.90 (m, 1H), 4.43-4.35 (m, 4H), 3.94-3.89 (m, 1H), 3.87-3.78 (m, 2H), 3.63 (d, 1H), 3.49-3.40 (m, 1H), 3.25 (d, 1H), 2.56-2.34 (m, 5H), 2.28-2.20 (m, 4H), 1.75-1.71 (m, 1H), 1.56 (d, 3H), 1.32 (d, 3H), 1.15-1.11 (m, 1H)。

[0428] LCMS (ESI) m/z : 518 $[\text{M}^+ + 1]$ 。

[0429] UPLC 纯度: 96%。

[0430] 旋光度 $[\alpha]_D^{25}$: -124.6 (在水中 $C = 1\%$)。

[0431] 制备型 HPLC: $R_t = 9.68\text{min}$ (Chiralpak IA, 250x4.6mm, 5 μ ; 流动相 (A) 含 0.1% TFA 的正己烷 (B) EtOH (4/1): A:B (80:20); 流速: 1.00mL/min)。

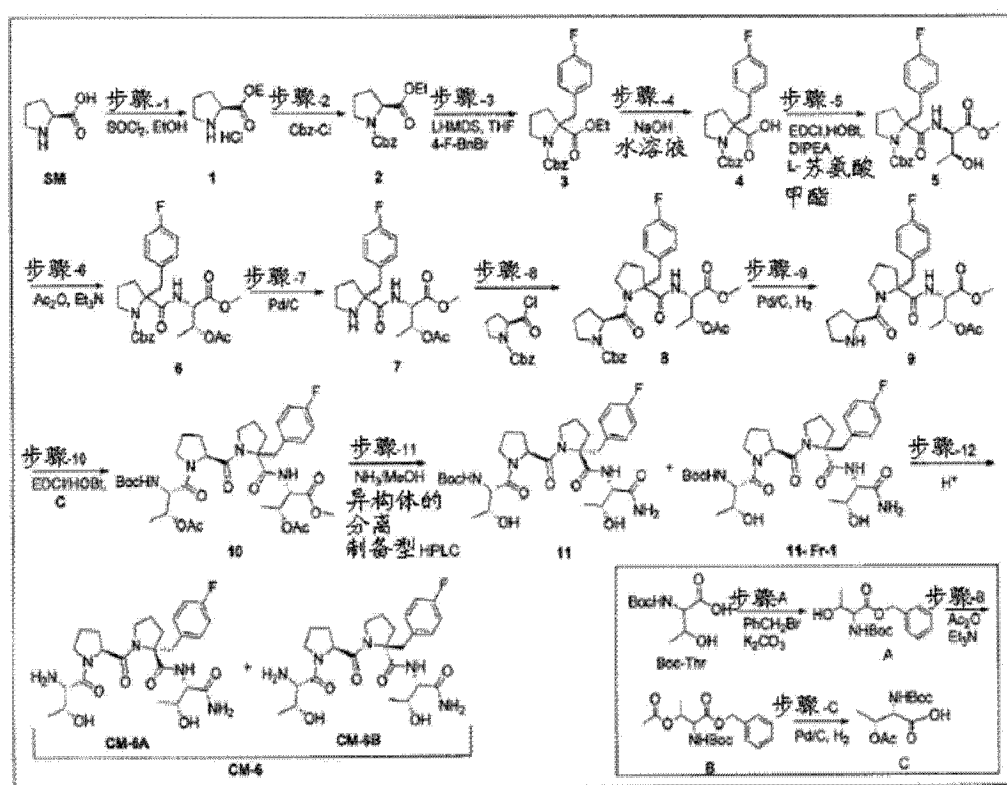
[0432] 实施例 6 - (R)-N-((2S, 3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代

丁-2-基)-1-((S)-1-((2S,3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)-2-(4-氟苄基)吡咯烷-2-甲酰胺 (CM-6A) 和 (S)-N-((2S,3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-1-((S)-1-((2S,3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)-2-(4-氟苄基)吡咯烷-2-甲酰胺 (CM-6B) 的合成:

[0433] 使用以下反应顺序 (方案 F) 合成 (R)-N-((2S,3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-1-((S)-1-((2S,3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)-2-(4-氟苄基)吡咯烷-2-甲酰胺 (CM-6A) 和 (S)-N-((2S,3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-1-((S)-1-((2S,3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)-2-(4-氟苄基)吡咯烷-2-甲酰胺 (CM-6B):

[0434] 方案 F. CM-6A 和 CM6B 的合成:

[0435]



[0436] (S)-吡咯烷-2-羧酸乙酯盐酸盐 (1) 的合成:

[0437] 向 L-脯氨酸 (SM) (110g, 956.5mmol) 在乙醇中的搅拌溶液加入亚硫酸氯 (141ml, 1911.3mmol) 并回流 16h。将反应混合物温度调节至室温并在真空下浓缩以获得呈盐酸盐的化合物 1 (170g, 99%)。

[0438] (S)-吡咯烷-1,2-二羧酸 1-苄酯 2-甲酯 (2) 的合成:

[0439] 向化合物 1 (170g, 947mmol) 在 CH_2Cl_2 中的搅拌溶液加入 Et_3N (398ml, 2.83mol)。在搅拌 30min 之后, 将 Cbz-Cl (1.136mol) 加入至反应混合物并在室温下再持续搅拌 12h。将反应混合物用水洗涤并用 CH_2Cl_2 萃取。将有机层经无水 Na_2SO_4 干燥并在真空下浓缩。将粗品通过柱色谱法纯化以获得化合物 2 (230g, 88%)。

[0440] $^1\text{H-NMR}$: (200MHz, DMSO-d_6): δ 7.42-7.31 (m, 5H), 5.09 (m, 2H), 4.32-4.23 (m, 1H), 4.08-3.98 (m, 2H), 3.50-3.38 (m, 2H), 2.30-2.18 (m, 1H), 1.90-1.81 (m, 3H), 1.10-1.04 (t,

3H)。

[0441] 质量 m/z : 278 $[M^+ + 1]$ 。

[0442] 2-(4-氟苄基)吡咯烷-1,2-二羧酸 1-苄酯 2-乙酯 (3) 的合成:

[0443] 在 -20°C 下向化合物 2 (10g, 36.0mmol) 在干燥 THF (100mL) 中的搅拌溶液于惰性气氛下加入 LiHMDS (1M 在 THF 中) (72.1mL, 72.1mmol) 并搅拌 1h。在 -20°C 下滴加 4-氟苄基溴 (5.34mL, 43.2mmol) 并使其升温至室温并搅拌 1h。将反应混合物冷却至 5°C , 用 NH_4Cl 水溶液淬灭并将水层用 EtOAc (2x100mL) 萃取。将合并的有机提取物经无水 Na_2SO_4 干燥并在减压下浓缩。将获得的粗残余物通过用 30% EtOAc/己烷洗脱的硅胶柱色谱法纯化以获得化合物 3 (10g, 72%)。

[0444] $^1\text{H-NMR}$: (400MHz, DMSO-d_6) (旋转异构体): δ 7.46-7.32 (m, 5H), 7.15-7.01 (m, 4H), 5.18-5.09 (m, 2H), 4.16-3.91 (m, 2H), 3.53 (d, 1H), 3.62 (d, 1H), 3.38-3.32 (m, 1H), 2.97-2.81 (m, 1H), 2.14-1.91 (m, 2H), 1.65-1.51 (m, 1H), 1.25 (t, 2H), 1.09 (t, 1H), 0.99-0.85 (m, 1H)。

[0445] LCMS (ESI): 386 $[M^+ + 1]$ 。

[0446] 1-((苄氧基)羰基)-2-(4-氟苄基)吡咯烷-2-羧酸 (4) 的合成:

[0447] 向化合物 3 (10g, 25.9mmol) 在甲醇 (50mL) 和水 (50mL) 中的搅拌溶液加入 2N NaOH 水溶液 (3.11g, 77.8mmol) 并加热至 70°C 保持 16h。将挥发物在减压下蒸发并将所得残留物用冰冷的水 (50mL) 稀释并用醚 (50mL) 洗涤。将水层用 HCl 水溶液酸化至 $\text{pH} \sim 2$ 并用 EtOAc (2x100mL) 萃取。将合并的有机层用盐水洗涤, 经无水 Na_2SO_4 干燥并在减压下浓缩以获得粗品; 将所述粗品通过用 2% MeOH/ CH_2Cl_2 洗脱的硅胶柱色谱法纯化以获得化合物 4 (9g, 97%)。

[0448] 2-(4-氟苄基)-2-(((2R,3S)-3-羟基-1-甲氧基-1-氧代丁-2-基)氨甲酰基)吡咯烷-1-羧酸苄酯 (5) 的合成:

[0449] 在 0°C 下向化合物 4 (9.5g, 26.6mmol) 在 CH_2Cl_2 (95mL) 中的搅拌溶液于 N_2 气氛下加入 EDCI.HCl (7.61g, 39.87mmol)、随后加入 HOBt (5.42g, 39.87mmol) 和 DIPEA (14.6mL, 79.7mmol)。在搅拌 10min 之后, 将 L-苏氨酸甲酯的盐酸盐 (5.4g, 31.89mmol) 加入至反应混合物并在室温下再搅拌 16h。在原料耗尽之后 (通过 TLC), 将反应混合物用水 (100mL) 稀释并用 CH_2Cl_2 (2x100mL) 萃取。将有机层经 Na_2SO_4 干燥并浓缩以获得粗品, 所述粗品通过用 2% MeOH/ CH_2Cl_2 洗脱的硅胶柱色谱法纯化以获得化合物 5 (13g, 粗品)。

[0450] 2-(((2S,3R)-3-乙酰氧基-1-甲氧基-1-氧代丁-2-基)氨甲酰基)-2-(4-氟苄基)吡咯烷-1-羧酸苄酯 (6) 的合成:

[0451] 在 0°C 下向化合物 5 (13g, 27.5mmol) 在 CH_2Cl_2 (130mL) 中的溶液加入 Et_3N (9.58mL, 68.7mmol)、随后加入 Ac_2O (4.13mL, 41.26mmol) 并搅拌 1h。加入 DMAP (0.13g) 并在室温搅拌 16h。在原料耗尽之后 (通过 TLC), 将反应混合物用水 (100mL) 稀释并用 CH_2Cl_2 (2x100mL) 萃取。将有机层经 Na_2SO_4 干燥并浓缩以得到粗品; 所述粗品通过用 30% EtOAc/己烷洗脱的硅胶柱色谱法纯化以获得化合物 6 (10g, 71%)。

[0452] $^1\text{H-NMR}$: (500MHz, DMSO-d_6) (旋转异构体): δ 7.22-7.14 (m, 5H), 7.11-6.98 (m, 4H), 5.26-5.21 (m, 2H), 5.09 (t, 1H), 4.67-4.63 (m, 1H), 3.66-3.64 (m, 3H), 3.69-3.65 (m, 2H), 3.

1.19-3.16 (m, 1H), 2.92-2.85 (m, 1H), 2.10-2.02 (m, 1H), 2.98 (s, 4H), 1.56-1.46 (m, 1H), 1.20-1.14 (m, 3H), 1.12 (t, 1H).

[0453] LCMS (ESI): 515 $[M^+ + 1]$.

[0454] 质量 m/z : 515 $[M^+ + 1]$.

[0455] (2S, 3R)-3-乙酰氧基-2-(2-(4-氟苄基)吡咯烷-2-甲酰胺基)丁酸甲酯 (7) 的合成:

[0456] 向化合物 6 (10g, 19.4mmol) 在甲醇 (100mL) 中的搅拌溶液于 N_2 气氛下加入湿的 10% Pd/C (2g)。将该反应混合物在 H_2 气氛 (球囊压力) 下搅拌 4h。在原料耗尽之后 (通过 TLC), 将反应物通过硅藻土垫过滤并将滤液在减压下浓缩以获得化合物 7 (6.7g, 91%)。

[0457] (2S)-2-(2-(((2S, 3R)-3-乙酰氧基-1-甲氧基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基))-2-(4-氟苄基)吡咯烷-1-羧基)吡咯烷-1-羧酸苄酯 (8) 的合成:

[0458] 向化合物 7 (6.7g, 17.6mmol) 在 CH_2Cl_2 (67mL) 和水 (67mL) 中的搅拌溶液加入 Na_2CO_3 (4.67g, 44.0mmol) 并在 0°C 下搅拌 5min。加入酰氯 [在 0°C 下向 (S)-1-(苄氧基羰基)吡咯烷-2-羧酸 (20.6g, 82.8mmol) 在 CH_2Cl_2 (20mL) 中的溶液滴加 $SOCl_2$ (3.19mL, 44.0mmol) 并回流 2h。将挥发物在减压下去除以获得 (S)-2-(氯甲酰基)吡咯烷-1-羧酸苄酯] (5.26g, 21.15mmol) 并且将该反应混合物在室温搅拌 2h。将分离的有机层在真空下浓缩并将获得的粗物质通过用 2% MeOH/ CH_2Cl_2 洗脱的柱色谱法纯化以获得化合物 8 (8.9g, 83%)。

[0459] LCMS m/z : 612 $[M^+ + 1]$.

[0460] 质量 m/z : 612 $[M^+ + 1]$.

[0461] (2S, 3R)-3-乙酰氧基-2-(2-(4-氟苄基)-1-((S)-吡咯烷-2-羧基)吡咯烷-2-甲酰胺基)丁酸甲酯 (9) 的合成:

[0462] 向化合物 8 (8.9g, 14.5mmol) 在 MeOH (180mL) 中的溶液于惰性气氛下加入湿的 10% Pd/C (1.8g) 并在 H_2 气氛 (球囊压力) 下搅拌 4h。将反应混合物通过硅藻土垫过滤并在减压下浓缩以获得化合物 9 (6.9g, 粗品)。

[0463] 1H -NMR: (400MHz, CD_3OD) (旋转异构体): δ 7.22-7.14 (m, 2H), 7.03 (t, 2H), 5.39-5.34 (m, 1H), 4.52 (t, 1H), 3.78-3.72 (m, 2H), 3.74 (d, 3H), 3.35 (s, 2H), 3.29-3.24 (m, 1H), 3.18-3.12 (m, 1H), 2.85-2.83 (m, 1H), 2.31-2.25 (m, 2H), 2.18-2.15 (m, 1H), 2.06 (d, 3H), 1.89-1.75 (m, 3H), 1.71-1.65 (m, 1H), 1.52-1.40 (m, 1H), 1.29 (dd, 3H).

[0464] 质量 m/z : 478 $[M^+ + 1]$.

[0465] 2-(叔丁氧基羰基氨基)-3-羟基丁酸苄酯 (A) 的合成:

[0466] 向 2-(叔丁氧基羰基氨基)-3-羟基丁酸 (Boc-Thr) (50g, 228.3mmol) 在 DMF (500mL) 中的溶液加入 K_2CO_3 (63g, 456.6mmol) 并在室温搅拌 15min。加入苄基溴 (46.83g, 273.9mmol) 并在室温搅拌 6h。将反应混合物用水 (500mL) 稀释并用 EtOAc (2×750mL) 萃取。将合并的有机层用盐水 (50mL) 洗涤, 经无水 Na_2SO_4 干燥并在减压下浓缩。将粗物质通过用 20% EtOAc/己烷洗脱的硅胶柱色谱法纯化以获得 2-(叔丁氧基羰基氨基)-3-羟基丁酸苄酯 A (52g, 73%)。

[0467] 1H -NMR: (500MHz, $DMSO-d_6$): δ 7.37-7.30 (m, 5H), 6.60 (d, 1H), 5.18-5.08 (m, 2H), 4.76 (d, 1H), 4.08-4.00 (m, 2H), 1.38 (s, 9H), 1.09 (d, 3H).

[0468] 质量 m/z : 310.0 $[M^+ + 1]$, 210 $[M^+ - De\ Boc]$.

[0469] 3-乙酰氧基-2-(叔丁氧基羰基氨基)丁酸苄酯(B)的合成:

[0470] 向化合物A(52g, 168.2mmol)在CH₂Cl₂(500mL)中的搅拌溶液加入Ac₂O(20.5g, 201.9mmol)、Et₃N(25.4g, 252.4mmol)和DMAP(3.5g)并在室温搅拌2h。将挥发物在减压下去除。将获得的残余物用EtOAc(750mL)稀释并用冷0.5N HCl溶液(2×200mL)洗涤。将有机层用盐水洗涤,经无水Na₂SO₄干燥并在减压下浓缩以获得3-乙酰氧基-2-(叔丁氧基羰基氨基)丁酸酯B(52g, 88%)。

[0471] ¹H-NMR: (500MHz, DMSO-d₆): δ 7.35-7.34(m, 5H), 7.27-7.25(d, 1H), 5.18-5.06(m, 3H), 4.34-4.32(m, 1H), 1.90(s, 3H), 1.39(s, 9H), 1.16(d, 3H)。

[0472] 质量 m/z: 252[M⁺+1-De Boc]。

[0473] (2S, 3R)-3-乙酰氧基-2-(叔丁氧基羰基氨基)丁酸(C)的合成:

[0474] 向化合物B(52g, 148.1mmol)在MeOH(1L)中的搅拌溶液于N₂气氛下加入10% Pd/C并将反应混合物在氢气气氛下搅拌16h。将反应混合物通过硅藻土垫过滤,将获得的滤液在真空下蒸发并将粗残余物用己烷研磨以获得(2S, 3R)-3-乙酰氧基-2-(叔丁氧基羰基氨基)丁酸C(35g, 90%)。

[0475] ¹H-NMR: (500MHz, DMSO-d₆): δ 12.78(br s, 1H), 6.94(d, 1H), 5.16-5.14(m, 1H), 4.17-4.15(m, 1H), 1.95(s, 3H), 1.39(s, 9H), 1.10(d, 3H)。

[0476] 质量 m/z: 260.0[M⁺-1]。

[0477] (2S, 3R)-3-乙酰氧基-2-(1-((S)-1-((2S, 3R)-3-乙酰氧基-2-(叔丁氧基羰基)氨基)丁酰基)吡咯烷-2-羰基)-2-(4-氟苄基)吡咯烷-2-甲酰胺基)丁酸甲酯(10)的合成:

[0478] 在0℃下向化合物C(4.53g, 17.35mmol)在CH₂Cl₂(69mL)中的搅拌溶液加入EDCI·HCl(4.14g, 21.69mmol)、HOBT(2.95g, 21.7mmol)、随后加入DIPEA(7.99mL, 43.4mmol)并搅拌10min。加入化合物9(6.9g, 14.46mmol)并搅拌16h。将反应混合物用水(75mL)稀释并用EtOAc(2×75mL)萃取。将分离的有机层经Na₂SO₄干燥并在减压下浓缩。将粗物质通过用2% MeOH/CH₂Cl₂洗脱的硅胶柱色谱法纯化以获得化合物10(8.0g, 77%)。

[0479] ¹H-NMR: (400MHz, DMSO-d₆) (旋转异构体): δ 7.35-7.29(m, 1H), 7.23(m, 1H), 7.13(d, 2H), 7.08-7.05(m, 1H), 5.30-5.12(m, 2H), 4.67-4.34(m, 3H), 3.98-3.70(m, 3H), 3.65(s, 1H), 3.49-3.45(m, 1H), 3.25-3.10(m, 1H), 2.32-1.96(m, 8H), 1.75-1.62(m, 2H), 1.49(d, 9H), 1.32-1.29(m, 3H), 1.25-1.20(m, 3H)。

[0480] LCMS m/z: 621[M⁺+1]。

[0481] ((2S, 3R)-1-((2S)-2-(2-(((2S, 3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-(4-氟苄基)吡咯烷-1-羰基)吡咯烷-1-基)-3-羟基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸叔丁酯(11)的合成:

[0482] 将化合物10(4g, 5.55mmol)和甲醇-NH₃(20mL)中的搅拌混合物放入密封管中并搅拌48h。将反应混合物在真空下浓缩以获得粗品;所述粗品通过用2% MeOH/CH₂Cl₂洗脱的硅胶柱色谱法纯化以获得呈混合物的化合物11(1.6g)。将该粗物质提交用于手性制备-纯化。

[0483] 异构体的手性制备型HPLC:

[0484] 化合物的异构体11(1.6g, 粗品)通过手性制备型HPLC分离以获得化合物

11-F1 (0.6g) 和化合物 11-F2 (0.25g)。

[0485] 化合物 11-F1 的分析数据：

[0486] $^1\text{H-NMR}$: (400MHz, DMSO- d_6): δ 8.15 (br s, 1H), 7.39-7.35 (m, 2H), 7.24 (s, 1H), 7.11 (t, 2H), 7.04-7.00 (m, 1H), 6.79-6.74 (m, 2H), 4.75 (d, 1H), 4.21 (t, 2H), 4.02-3.95 (m, 1H), 3.81-3.75 (m, 2H), 3.69-3.56 (m, 2H), 3.53-3.49 (m, 1H), 3.27-3.09 (m, 2H), 2.29-2.10 (m, 1H), 2.05-1.91 (m, 5H), 1.69-1.51 (m, 1H), 1.40 (s, 9H), 1.19-1.11 (m, 6H), 0.92-0.84 (m, 1H)。

[0487] HPLC: 85%。

[0488] LCMS (ESI): m/z 622 [$M^+ + 1$]。

[0489] 手性 HPLC: $R_t = 10.69\text{min}$ (Chiralpak IA, 250x4.6mm, 5 μ ; 流动相 (A) 含 0.1% TFA 的正己烷 (B) EtOH (4/1): A:B (80:20); 流速: 1.00mL/min)。

[0490] 化合物 11-F2 的分析数据：

[0491] $^1\text{H-NMR}$: (400MHz, DMSO- d_6): δ 8.15 (br s, 1H), 7.39-7.35 (m, 2H), 7.24 (s, 1H), 7.11 (t, 2H), 7.04-7.00 (m, 1H), 6.79-6.74 (m, 2H), 4.75 (d, 1H), 4.21 (t, 2H), 4.02-3.95 (m, 1H), 3.81-3.75 (m, 2H), 3.69-3.56 (m, 2H), 3.53-3.49 (m, 1H), 3.27-3.09 (m, 2H), 2.29-2.10 (m, 1H), 2.05-1.91 (m, 5H), 1.69-1.51 (m, 1H), 1.40 (s, 9H), 1.19-1.11 (m, 6H), 0.92-0.84 (m, 1H)。

[0492] HPLC: 84%。

[0493] LCMS (ESI): m/z 622 [$M^+ + 1$]。

[0494] 手性 HPLC: $R_t = 18.55\text{min}$ (Chiralpak IA, 250x4.6mm, 5 μ ; 流动相 (A) 含 0.1% TFA 的正己烷 (B) EtOH (4/1): A:B (80:20); 流速: 1.00mL/min)。

[0495] (R)-N-((2S, 3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-1-((S)-1-((2S, 3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)-2-(4-氟苄基)吡咯烷-2-甲酰胺 (CM-6A) 的合成：

[0496] 在 0°C 下向化合物 11-F1 (0.6g, 0.96mmol) 在 CH_2Cl_2 (12mL) 中的搅拌溶液加入含 4M-HCl 的 1,4-二噁烷 (6mL) 中并在室温搅拌 1h。将反应混合物在真空下浓缩以获得粗品，将所述粗品进一步用 EtOAc 洗涤并在真空下干燥以获得呈盐酸盐的 CM-6A (0.28g, 52%)。

[0497] $^1\text{H-NMR}$: (400MHz, D_2O): δ 7.41-7.32 (m, 2H), 7.21 (t, 2H), 4.95-4.90 (m, 1H), 4.43-4.35 (m, 4H), 3.94-3.62 (m, 5H), 3.27 (d, 1H), 2.56-2.50 (m, 1H), 2.35-2.29 (m, 1H), 2.14-2.05 (m, 4H), 1.81-1.75 (m, 1H), 1.35 (d, 3H), 1.32 (d, 3H), 1.19-1.11 (m, 1H)。

[0498] LCMS (ESI) m/z : 522 [$M^+ + 1$]。

[0499] UPLC 纯度: 96%。

[0500] 手性 HPLC: $R_t = 7.73\text{min}$ (Chiralpak IA, 250x4.6mm, 5 μ ; 流动相 (A) 含 0.1% TFA 的正己烷 (B) EtOH (4/1): A:B (80:20); 流速: 1.00mL/min)。

[0501] 旋光度 [α^{20}_D]: +7.15 (在水中 $C = 1\%$)。

[0502] (S)-N-((2S, 3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-1-((S)-1-((2S, 3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)-2-(4-氟苄基)吡咯烷-2-甲酰胺 (CM-6B) 的合成：

[0503] 在 0°C 下向化合物 11-F2 (0.25g, 0.40mmol) 在 CH_2Cl_2 (5mL) 中的搅拌溶液加入含

4M-HCl 的 1,4-二噁烷 (2.5mL) 中并在室温搅拌 3h。将反应混合物在真空下浓缩以获得粗品;所述粗品进一步用 EtOAc 洗涤并在真空下干燥以获得呈盐酸盐的 CM-6B (0.1g, 45%)。

[0504] $^1\text{H-NMR}$: (400MHz, D_2O): δ 7.41-7.32 (m, 2H), 7.21 (t, 2H), 4.95-4.90 (m, 1H), 4.43-4.35 (m, 4H), 3.94-3.62 (m, 5H), 3.27 (d, 1H), 2.56-2.50 (m, 1H), 2.35-2.29 (m, 1H), 2.14-2.05 (m, 4H), 1.81-1.75 (m, 1H), 1.35 (d, 3H), 1.32 (d, 3H), 1.19-1.11 (m, 1H)。

[0505] LCMS (ESI) m/z : 522 [$\text{M}^+ + 1$]。

[0506] UPLC 纯度: 98.38%。

[0507] 手性 HPLC: $R_t = 11.28\text{min}$ (Chiralpak IA, 250x4.6mm, 5 μ ; 流动相 (A) 含 0.1% TFA 的正己烷 (B) EtOH (4/1): A:B (80:20); 流速: 1.00mL/min)。

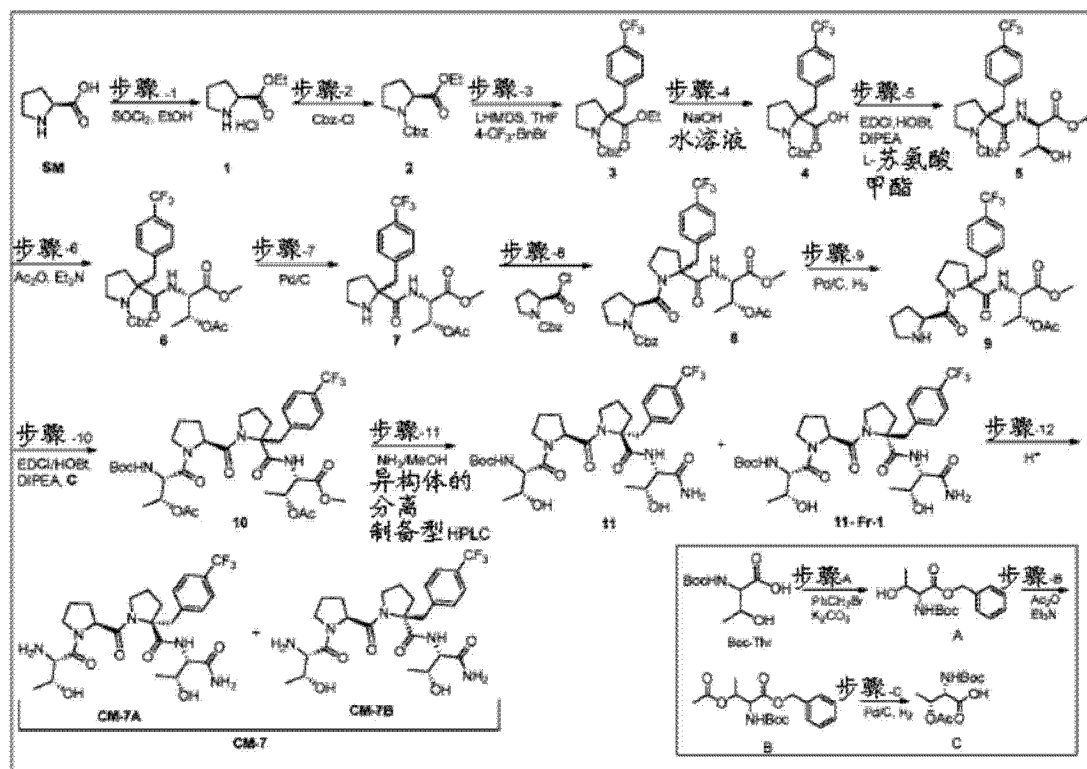
[0508] 旋光度 [α_D^{20}]: -102.77 (在水中 $C = 1\%$)。

[0509] 实施例 7 - (R)-N-((2S, 3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-1-((S)-1-((2S, 3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)-2-(4-(三氟甲基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺 (CM-7A) 和 (S)-N-((2S, 3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-1-((S)-1-((2S, 3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)-2-(4-(三氟甲基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺 (CM-7B) 的合成:

[0510] 使用以下反应顺序 (方案 G) 合成 (R)-N-((2S, 3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-1-((S)-1-((2S, 3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)-2-(4-(三氟甲基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺 (CM-7A) 和 (S)-N-((2S, 3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-1-((S)-1-((2S, 3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)-2-(4-(三氟甲基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺 (CM-7B):

[0511] 方案 G. CM-7A 和 CM-7B 的合成:

[0512]



[0513] (S)-吡咯烷-2-羧酸乙酯盐酸盐(1)的合成:

[0514] 向 L-脯氨酸(SM)(110g, 956.5mmol)在乙醇中的搅拌溶液加入亚硫酸氯(141ml, 1911.3mmol)并回流 16h。将反应混合物温度调节至室温并在真空下浓缩以获得呈盐酸盐的化合物 1(170g, 99%)。

[0515] (S)-吡咯烷-1,2-二羧酸 1-苄酯 2-甲酯(2)的合成:

[0516] 向化合物 1(170g, 947mmol)在 CH_2Cl_2 中的搅拌溶液加入 Et_3N (398ml, 2.83mol)。在搅拌 30min 之后,将 Cbz-Cl(1.136mol)加入至反应混合物并在室温下再持续搅拌 12h。将反应混合物用水洗涤并用 CH_2Cl_2 萃取。将有机层经无水 Na_2SO_4 干燥并在真空下浓缩。将粗品通过柱色谱法纯化以获得化合物 2(230g, 88%)。

[0517] $^1\text{H-NMR}$: (200MHz, DMSO-d_6): δ 7.42-7.31(m, 5H), 5.09(m, 2H), 4.32-4.23(m, 1H), 4.08-3.98(m, 2H), 3.50-3.38(m, 2H), 2.30-2.18(m, 1H), 1.90-1.81(m, 3H), 1.10-1.04(t, 3H)。

[0518] 质量 m/z : 278 [$\text{M}^+ + 1$]。

[0519] 2-(4-(三氟甲基)苄基)吡咯烷-1,2-二羧酸 1-苄酯 2-乙酯(3)的合成:

[0520] 在 -78°C 下向化合物 2(5g, 0.018mol)在 THF(50mL)中的搅拌溶液于惰性气氛下加入 LiHMDS(1M 在 THF 中)(27mL, 0.026mol)并搅拌 30min。在 -40°C 下滴加 1-(溴甲基)-4-(三氟甲基)苯(3.3mL, 0.021mol)并使其升温至室温并搅拌 3h。将反应混合物冷却至 5°C ,用 NH_4Cl 水溶液淬灭并将水层用 EtOAc(2x100mL)萃取。将合并的有机提取物经无水 Na_2SO_4 干燥并在减压下浓缩。将获得的粗残余物通过用 10% EtOAc/己烷洗脱的硅胶柱色谱法纯化以获得呈液体的化合物 3(6g, 76%)。

[0521] $^1\text{H-NMR}$: (500MHz, DMSO-d_6): δ 7.64-7.58(m, 2H), 7.44-7.25(m, 7H), 5.22-5.12(m, 2H), 4.16-4.12(m, 1H), 4.05-3.89(m, 1H), 3.62(d, 1H), 3.48-3.39(m, 1H), 3.16-3.10(m, 1H), 2.99-2.89(m, 1H), 2.19-1.99(m, 2H), 1.63-1.58(m, 1H), 1.19(t, 2H), 1.05(t, 1H), 0.92-0.89(m, 1H)。

[0522] 1-((苄氧基)羰基)-2-(4-(三氟甲基)苄基)吡咯烷-2-羧酸(4)的合成:

[0523] 向化合物 3(6g, 0.014mol)在甲醇(50mL)和水(15mL)中的搅拌溶液加入 2N NaOH 水溶液(1.1g, 0.027mol)并加热至 70°C 保持 3h。将挥发物在减压下蒸发并将所得残留物用冰冷的水(50mL)稀释并用醚(50mL)洗涤。将水层用 2N HCl 酸化至 $\text{pH} \sim 2$ 并用 EtOAc(2x100mL)萃取。将合并的有机层经无水 Na_2SO_4 干燥并在减压下浓缩以获得呈灰白色固体的化合物 4(4g, 71%)。

[0524] $^1\text{H-NMR}$: (400MHz, DMSO-d_6): δ 7.59-7.22(m, 10H), 5.24-5.19(m, 1H), 5.05-5.00(m, 1H), 3.65(d, 1H), 3.35-3.20(m, 1H), 3.19(t, 1H), 3.01-2.89(m, 1H), 2.00-1.97(m, 2H), 1.65-1.61(m, 1H), 0.85-0.77(m, 1H)。

[0525] LCMS(ESI): 406 [$\text{M}^+ - 1$]。

[0526] 质量 m/z : 406 [$\text{M}^+ - 1$]。

[0527] 2-(((2R,3S)-3-羟基-1-甲氧基-1-氧代丁-2-基)氨甲酰基)-2-(4-(三氟甲基)苄基)吡咯烷-1-羧酸苄酯(5)的合成:

[0528] 在 0°C 下向化合物 4(4g, 9.80mmol)在 CH_2Cl_2 (40)中的搅拌溶液加入 EDCI(2.8g, 14.7mmol)、随后加入 HOBt(2.6g, 19.6mmol)和 DIPEA(3.5mL, 19.6mmol)。在搅

拌 10min 之后,将 L- 苏氨酸甲酯的盐酸盐 (2g, 11.8mmol) 加入至反应混合物并在室温下再搅拌 16h。在原料耗尽之后 (通过 TLC),将反应混合物用 CH_2Cl_2 (150mL) 稀释并用 NaHCO_3 水溶液 ($2 \times 30\text{mL}$) 洗涤、随后用柠檬酸 ($2 \times 30\text{mL}$) 洗涤。将有机层经 Na_2SO_4 干燥并浓缩以获得化合物 5 (5g, 粗品)。

[0529] 2-(((2S, 3R)-3-乙酰氧基-1-甲氧基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-(4-(三氟甲基)苄基)吡咯烷-1-羧酸苄酯 (6) 的合成:

[0530] 在 0°C 下向化合物 5 (5g, 9.57mmol) 在 CH_2Cl_2 (50mL) 中的搅拌溶液加入 Et_3N (4mL, 28.7mmol)、随后加入 Ac_2O (2.7mL, 28.7mmol) 并搅拌 1h。加入 DMAP (0.1g) 并在室温搅拌 16h。将挥发物在减压下蒸发并将获得的粗物质通过用 20% EtOAc /己烷洗脱的柱色谱法纯化以获得呈浅黄色液体的化合物 6 (3.4g, 63%)。

[0531] $^1\text{H-NMR}$: (500MHz, DMSO-d_6) (旋转异构体): δ 7.62-7.50 (m, 2H), 7.43-7.24 (m, 7H), 5.27-5.21 (m, 2H), 5.11-5.09 (m, 1H), 4.67-4.62 (m, 1H), 3.66-3.64 (m, 4H), 3.55-3.46 (m, 2H), 2.92-2.85 (m, 2H), 2.05-1.95 (m, 1H), 1.99 (s, 3H), 1.56-1.46 (m, 1H), 1.15-1.11 (m, 4H)。

[0532] LCMS (ESI): 565 $[\text{M}^+ + 1]$ 。

[0533] (2S, 3R)-3-乙酰氧基-2-(2-(4-(三氟甲基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺基)丁酸甲酯 (7) 的合成:

[0534] 向化合物 6 (3.4g, 6.02mmol) 在甲醇 (20mL) 中的搅拌溶液于 N_2 气氛下加入湿的 10% Pd/C (0.34g)。将该反应混合物在 H_2 气氛 (球囊压力) 下搅拌 6h。在原料耗尽之后 (通过 TLC),将反应物通过硅藻土垫过滤并将滤液在减压下浓缩以获得呈浓稠浆料的化合物 7 (2.1g, 77%)。

[0535] $^1\text{H-NMR}$: (400MHz, DMSO-d_6) (旋转异构体): δ 8.22 (br s, 1H), 7.62-7.56 (m, 2H), 7.45-7.39 (m, 2H), 5.23-5.19 (m, 1H), 4.50-4.42 (m, 1H), 3.60 (d, 3H), 3.05-3.00 (m, 1H), 2.97-2.85 (m, 3H), 2.18-2.09 (m, 1H), 1.95 (d, 3H), 1.65-1.51 (m, 3H), 1.10 (d, 2H), 0.75 (d, 1H)。

[0536] LCMS m/z : 431 $[\text{M}^+ + 1]$ 。

[0537] (2S)-2-(2-(((2S, 3R)-3-乙酰氧基-1-甲氧基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-(4-(三氟甲基)苄基)吡咯烷-1-羧基)吡咯烷-1-羧酸苄酯 (8) 的合成:

[0538] 向化合物 7 (4.5g, 10.4mmol) 在 CH_2Cl_2 (60mL) 和水 (40mL) 中的搅拌溶液加入 Na_2CO_3 (2.2g, 20.9mmol) 并在 0°C 下搅拌 5min。加入 (S)-2-(氯甲酰基)吡咯烷-1-羧酸苄酯 (3.3g, 12.5mmol) 并将该反应混合物在室温搅拌 2h。将分离的有机层在真空下浓缩并将获得的粗物质通过用 50% EtOAc /己烷洗脱的柱色谱法纯化以获得呈黄色液体的化合物 8 (4.5g, 65%)。如下合成 (S)-2-(氯甲酰基)吡咯烷-1-羧酸苄酯。在 0°C 下向 (S)-1-(苄氧基羰基)吡咯烷-2-羧酸 (20.6g, 82.8mmol) 在 CH_2Cl_2 (20mL) 中的溶液滴加 SOCl_2 (20.5g, 172.6mmol) 并回流 2h。将挥发物在减压下去除以获得 (S)-2-(氯甲酰基)吡咯烷-1-羧酸苄酯。

[0539] $^1\text{H-NMR}$: (400MHz, DMSO-d_6) (旋转异构体): δ 8.50 (br s, 1H), 7.79-7.65 (m, 2H), 7.52-7.37 (m, 7H), 5.42-5.05 (m, 3H), 4.79-4.59 (m, 1H), 4.15 (q, 1H), 3.78 (s, 3H), 3.69-3.50 (m, 3H), 3.21-3.13 (m, 1H), 2.45-2.16 (m, 2H), 2.10 (s, 6H), 2.05-2.00 (m, 2H), 1.95-1.85 (m, 1H), 1.44-1.19 (m, 6H)。

[0540] LCMS m/z : 662 [$M^+ + 1$].

[0541] (2S, 3R)-3-乙酰氧基-2-(1-((S)-吡咯烷-2-羰基)-2-(4-(三氟甲基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺基)丁酸甲酯 (9) 的合成:

[0542] 向化合物 8 (4.5g, 6.8mmol) 在 MeOH (45mL) 中的搅拌溶液于惰性气氛下加入湿的 10% Pd/C (0.45g) 并在 H_2 气氛 (球囊压力) 下搅拌 16h。将该反应混合物通过硅藻土垫过滤并在减压下浓缩以获得呈半固体的化合物 9 (3.5g, 粗品)。

[0543] 2-(叔丁氧基羰基氨基)-3-羟基丁酸苄酯 (A) 的合成:

[0544] 向 2-(叔丁氧基羰基氨基)-3-羟基丁酸 (Boc-Thr) (50g, 228.3mmol) 在 DMF (500mL) 中的溶液加入 K_2CO_3 (63g, 456.6mmol) 并在室温搅拌 15min。加入苄基溴 (46.83g, 273.9mmol) 并在室温搅拌 6h。将反应混合物用水 (500mL) 稀释并用 EtOAc (2×750mL) 萃取。将合并的有机层用盐水 (50mL) 洗涤, 经无水 Na_2SO_4 干燥并在减压下浓缩。将粗物质通过用 20% EtOAc/己烷洗脱的硅胶柱色谱法纯化以获得 2-(叔丁氧基羰基氨基)-3-羟基丁酸苄酯 A (52g, 73%)。

[0545] 1H -NMR: (500MHz, DMSO- d_6): δ 7.37–7.30 (m, 5H), 6.60 (d, 1H), 5.18–5.08 (m, 2H), 4.76 (d, 1H), 4.08–4.00 (m, 2H), 1.38 (s, 9H), 1.09 (d, 3H)。

[0546] 质量 m/z : 310.0 [$M^+ + 1$], 210 [$M^+ - De\ Boc$]。

[0547] 3-乙酰氧基-2-(叔丁氧基羰基氨基)丁酸苄酯 (B) 的合成:

[0548] 向化合物 A (52g, 168.2mmol) 在 CH_2Cl_2 (500mL) 中的搅拌溶液加入 Ac_2O (20.5g, 201.9mmol)、 Et_3N (25.4g, 252.4mmol) 和 DMAP (3.5g) 并在室温搅拌 2h。将挥发物在减压下去除。将获得的残余物用 EtOAc (750mL) 稀释并用冷 0.5N HCl 溶液 (2×200mL) 洗涤。将有机层用盐水洗涤, 经无水 Na_2SO_4 干燥并在减压下浓缩以获得 3-乙酰氧基-2-(叔丁氧基羰基氨基)丁酸酯 B (52g, 88%)。

[0549] 1H -NMR: (500MHz, DMSO- d_6): δ 7.35–7.34 (m, 5H), 7.27–7.25 (d, 1H), 5.18–5.06 (m, 3H), 4.34–4.32 (m, 1H), 1.90 (s, 3H), 1.39 (s, 9H), 1.16 (d, 3H)。

[0550] 质量 m/z : 252 [$M^+ + 1 - De\ Boc$]。

[0551] (2S, 3R)-3-乙酰氧基-2-(叔丁氧基羰基氨基)丁酸 (C) 的合成:

[0552] 向化合物 B (52g, 148.1mmol) 在 MeOH (1L) 中的搅拌溶液于 N_2 气氛下加入 10% Pd/C 并将反应混合物在氢气气氛下搅拌 16h。将反应混合物通过硅藻土垫过滤, 将获得的滤液在真空下蒸发并将粗残余物用己烷研磨以获得 (2S, 3R)-3-乙酰氧基-2-(叔丁氧基羰基氨基)丁酸 C (35g, 90%)。

[0553] 1H -NMR: (500MHz, DMSO- d_6): δ 12.78 (br s, 1H), 6.94 (d, 1H), 5.16–5.14 (m, 1H), 4.17–4.15 (m, 1H), 1.95 (s, 3H), 1.39 (s, 9H), 1.10 (d, 3H)。

[0554] 质量 m/z : 260.0 [$M - 1$]。

[0555] (2S, 3R)-3-乙酰氧基-2-(1-((S)-1-((2S, 3R)-3-乙酰氧基-2-(叔丁氧基羰基)氨基)吡咯烷-2-羰基)-2-(4-(三氟甲基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺基)丁酸甲酯 (10) 的合成:

[0556] 在 0℃ 下向化合物 C (1.78g, 6.83mmol) 在 CH_2Cl_2 (30mL) 中的搅拌溶液加入 EDCI (1.63g, 8.53mmol)、HOBt (1.53g, 11.38mmol)、随后加入 DIPEA (2mL, 14.2mmol) 并搅拌 10min。加入化合物 9 (3g, 5.69mmol) 并搅拌 16h。将反应混合物用 EtOAc (2×75mL) 萃取并

将分离的有机层用 NaHCO_3 水溶液 (100mL)、柠檬酸水溶液 (100mL)、然后用盐水 (100mL) 洗涤,经 Na_2SO_4 干燥并在减压下浓缩。将粗物质通过用 70% EtOAc/ 己烷洗脱的柱色谱法纯化以获得呈灰白色固体的化合物 10 (2.1g, 51%)。

[0557] $^1\text{H-NMR}$: (400MHz, DMSO- d_6) (旋转异构体): δ 7.71–7.55 (m, 3H), 7.34–7.05 (m, 2H), 5.35–5.20 (m, 1H), 5.09–5.01 (m, 1H), 4.78–4.35 (m, 3H), 3.90–3.85 (m, 2H), 3.67 (s, 4H), 3.39–3.25 (m, 1H), 3.25–3.05 (m, 1H), 2.21–1.96 (m, 12H), 1.39 (d, 9H), 1.35–1.25 (m, 8H), 0.85 (d, 1H)。

[0558] ((2S, 3R)-1-((2S)-2-(2-(((2S, 3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-(4-(三氟甲基)苄基)吡咯烷-1-羰基)吡咯烷-1-基)-3-羟基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸叔丁酯 (11) 的合成:

[0559] 在 0℃ 下向化合物 10 (1g, 1.29mmol) 在 MeOH (10mL) 中的搅拌溶液加入甲醇- NH_3 (20mL) 并在室温搅拌 24h。将反应混合物在真空下浓缩以获得呈灰白色固体的化合物 11 (0.87g, 粗品)。

[0560] 异构体的手性制备型 HPLC:

[0561] 化合物 11 的异构体 (0.3g, 粗品) 通过手性制备型 HPLC 分离以获得化合物 11 (0.3g) 和化合物 11-F2 (0.15g)。

[0562] 化合物 11 的分析数据:

[0563] $^1\text{H-NMR}$: (400MHz, DMSO- d_6): δ 7.59–7.51 (m, 4H), 7.24 (s, 1H), 7.02 (s, 1H), 6.79–6.60 (m, 2H), 5.09 (d, 1H), 4.77–4.74 (m, 1H), 4.64–4.61 (m, 1H), 4.21 (t, 2H), 3.98 (dd, 1H), 3.85–3.80 (m, 2H), 3.71–3.60 (m, 3H), 3.25–3.19 (m, 2H), 2.21–1.85 (m, 5H), 1.75–1.70 (m, 1H), 1.44 (s, 10H), 1.21 (d, 3H), 1.09 (d, 3H), 0.91–0.85 (m, 1H)。

[0564] HPLC: 93%。

[0565] LCMS (ESI): m/z 671.6 [$M^+ + 1$]。

[0566] 手性 HPLC: $R_t = 11.70\text{min}$ (Chiralpak IA, 250x4.6mm, 5 μ ; 流动相 (A) 正己烷 (B) EtOH (4/1): A:B (80:20); 流速: 1.00mL/min)。

[0567] 化合物 11-F2 的分析数据:

[0568] $^1\text{H-NMR}$: (400MHz, DMSO- d_6): δ 7.59–7.51 (m, 4H), 7.24 (s, 1H), 7.02 (s, 1H), 6.79–6.60 (m, 2H), 5.09 (d, 1H), 4.77–4.74 (m, 1H), 4.64–4.61 (m, 1H), 4.21 (t, 2H), 3.98 (dd, 1H), 3.85–3.80 (m, 2H), 3.71–3.60 (m, 3H), 3.25–3.19 (m, 2H), 2.21–1.85 (m, 5H), 1.75–1.70 (m, 1H), 1.44 (s, 10H), 1.21 (d, 3H), 1.09 (d, 3H), 0.91–0.85 (m, 1H)。

[0569] HPLC: 91%。

[0570] LCMS (ESI): m/z 671.6 [$M^+ + 1$]。

[0571] 手性 HPLC: $R_t = 19.68\text{min}$ (Chiralpak IA, 250x4.6mm, 5 μ ; 流动相 (A) 正己烷 (B) EtOH (4/1): A:B (80:20); 流速: 1.00mL/min)。

[0572] (R)-N-((2S, 3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-1-((S)-1-((2S, 3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)-2-(4-(三氟甲基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺 (CM-7A) 的合成:

[0573] 在 0℃ 下向化合物 11-F1 (0.3g, 0.45mmol) 在 CH_2Cl_2 (5mL) 中的搅拌溶液加入含 4N-HCl 的 1,4-二噁烷 (1mL) 中并在室温搅拌 3h。将反应混合物在真空下浓缩以获得呈盐

酸盐的 CM-7A (0.15g, 59%)。

[0574] $^1\text{H-NMR}$: (400MHz, D_2O): δ 7.89 (d, 2H), 7.57 (d, 2H), 4.95-4.90 (m, 1H), 4.43-4.35 (m, 4H), 3.94-3.79 (m, 5H), 3.35 (q, 2H), 2.56-2.50 (m, 1H), 2.35-2.29 (m, 2H), 2.14-2.05 (m, 3H), 1.81-1.75 (m, 1H), 1.35 (d, 3H), 1.32 (d, 3H), 1.19-1.11 (m, 1H)。

[0575] LCMS (ESI) m/z : 572.6 $[\text{M}^+ + 1]$ 。

[0576] 质量 m/z : 572.4 $[\text{M}^+ + 1]$ 。

[0577] UPLC 纯度: 97%。

[0578] 旋光度 $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$: +14.86 (在水中 $C = 1\%$)。

[0579] (S)-N-((2S, 3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-1-((S)-1-((2S, 3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)-2-(4-(三氟甲基)苄基)吡咯烷-2-甲酰胺 (CM-7B) 的合成:

[0580] 在 0°C 下向化合物 11-F2 (0.15g, 0.22mmol) 在 CH_2Cl_2 (5mL) 中的搅拌溶液加入含 4N-HCl 的 1,4-二噁烷 (0.5mL) 中并在室温搅拌 3h。将反应混合物在真空下浓缩以获得呈盐酸盐的 CM-7B (140mg, 59%)。

[0581] $^1\text{H-NMR}$: (400MHz, D_2O): δ 7.89 (d, 2H), 7.57 (d, 2H), 4.95-4.90 (m, 1H), 4.43-4.35 (m, 4H), 3.94-3.79 (m, 5H), 3.35 (q, 2H), 2.56-2.50 (m, 1H), 2.35-2.29 (m, 2H), 2.14-2.05 (m, 3H), 1.81-1.75 (m, 1H), 1.35 (d, 3H), 1.32 (d, 3H), 1.19-1.11 (m, 1H)。

[0582] LCMS (ESI) m/z : 572.8 $[\text{M}^+ + 1]$ 。

[0583] 质量 m/z : 572.4 $[\text{M}^+ + 1]$ 。

[0584] UPLC 纯度: 97.67%。

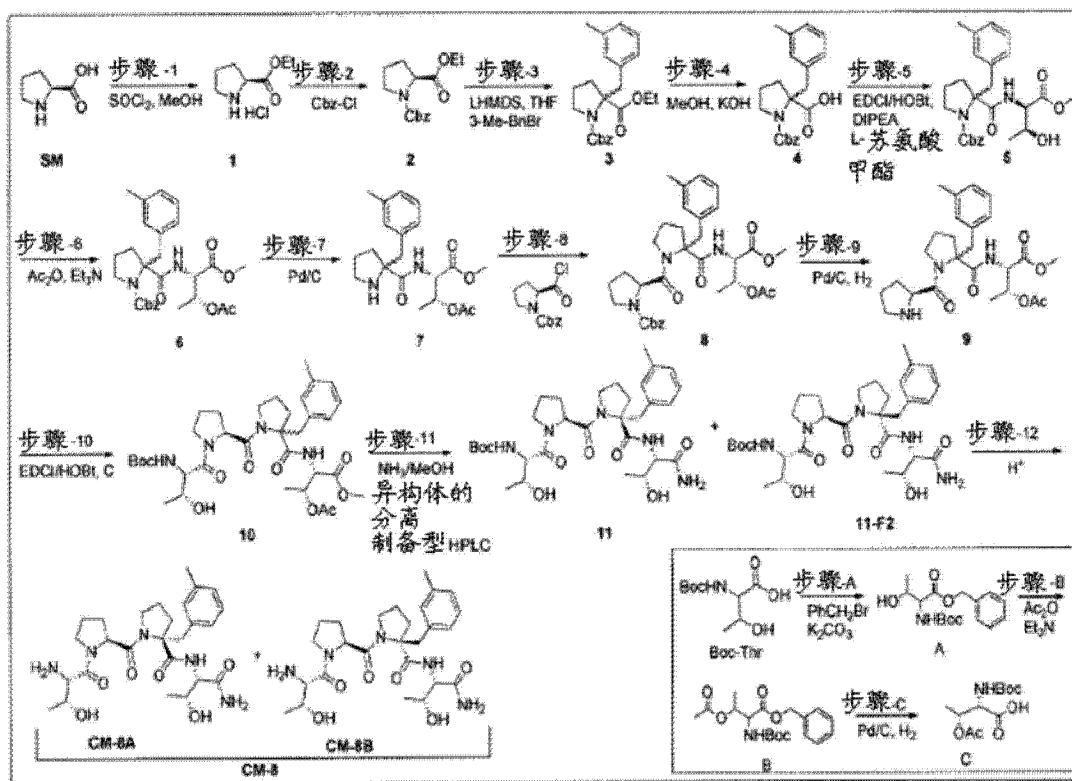
[0585] 旋光度 $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$: -105.51 (在水中 $C = 1\%$)。

[0586] 实施例 8 - (R)-N-((2S, 3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-1-((S)-1-((2S, 3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)-2-(3-甲基苄基)吡咯烷-2-甲酰胺 (CM-8A) 和 (S)-N-((2S, 3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-1-((S)-1-((2S, 3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)-2-(3-甲基苄基)吡咯烷-2-甲酰胺 (CM-8B) 的合成:

[0587] 使用以下反应顺序 (方案 H) 合成 (R)-N-((2S, 3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-1-((S)-1-((2S, 3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)-2-(3-甲基苄基)吡咯烷-2-甲酰胺 (CM-8A) 和 (S)-N-((2S, 3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-1-((S)-1-((2S, 3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)-2-(3-甲基苄基)吡咯烷-2-甲酰胺 (CM-8B):

[0588] 方案 H. CM-8A 和 CM-8B 的合成:

[0589]



[0590] (S)-吡咯烷-2-羧酸乙酯盐酸盐 (1) 的合成：

[0591] 向 L-脯氨酸 (SM) (110g, 956.5mmol) 在乙醇中的搅拌溶液加入亚硫酸氯 (141ml, 1911.3mmol) 并回流 16h。将反应混合物温度调节至室温并在真空下浓缩以获得呈盐酸盐的化合物 1 (170g, 99%)。

[0592] (S)-吡咯烷-1,2-二羧酸 1-苄酯 2-甲酯 (2) 的合成：

[0593] 向化合物 1 (170g, 947mmol) 在 CH_2Cl_2 中的搅拌溶液加入 Et_3N (398ml, 2.83mol)。在搅拌 30min 之后, 将 Cbz-Cl (1.136mol) 加入至反应混合物并在室温下再持续搅拌 12h。将反应混合物用水洗涤并用 CH_2Cl_2 萃取。将有机层经无水 Na_2SO_4 干燥并在真空下浓缩。将粗品通过柱色谱法纯化以获得化合物 2 (230g, 88%)。

[0594] $^1\text{H-NMR}$: (200MHz, DMSO-d_6): δ 7.42-7.31 (m, 5H), 5.09 (m, 2H), 4.32-4.23 (m, 1H), 4.08-3.98 (m, 2H), 3.50-3.38 (m, 2H), 2.30-2.18 (m, 1H), 1.90-1.81 (m, 3H), 1.10-1.04 (t, 3H)。

[0595] 质量 m/z : 278 [$\text{M}^+ + 1$]。

[0596] 2-(3-甲基苄基)吡咯烷-1,2-二羧酸 1-苄酯 2-乙酯 (3) 的合成：

[0597] 在 -78°C 下向化合物 2 (5g, 0.018mol) 在 THF (50mL) 中的搅拌溶液于惰性气氛下加入 LiHMDS (1M 在 THF 中) (37mL, 0.036mol) 并搅拌 30min。在 -40°C 下滴加 3-甲基苄基溴 (4g, 0.021mol) 并使其升温至室温并搅拌 2h。将反应混合物冷却至 5°C , 用饱和的 NH_4Cl 溶液淬灭并将水层用 EtOAc (2x100mL) 萃取。将合并的有机提取物经无水 Na_2SO_4 干燥并在减压下浓缩。将获得的粗残余物通过用 20% EtOAc /己烷洗脱的硅胶柱色谱法纯化以获得呈液体的化合物 3 (6g, 87%)。

[0598] $^1\text{H-NMR}$: (500MHz, DMSO-d_6): δ 7.47-7.32 (m, 5H), 7.17-7.12 (m, 1H), 7.05-7.01 (m,

1H), 6.95-6.90 (m, 2H), 5.25-5.00 (m, 2H), 4.16-4.12 (m, 1H), 4.00-3.89 (m, 1H), 3.52 (d, 1H), 3.38-3.33 (m, 1H), 2.99-2.89 (m, 2H), 2.23 (s, 3H), 2.12-1.90 (m, 1H), 1.56-1.51 (m, 1H), 1.05-1.01 (m, 3H), 1.00-0.97 (m, 1H), 0.92-0.89 (m, 1H).

[0599] LCMS (ESI): 382 [M⁺+1].

[0600] HPLC (纯度): 99%.

[0601] 1-((苄氧基)羰基)-2-(3-甲基苄基)吡咯烷-2-羧酸 (4) 的合成:

[0602] 向化合物 3 (6g, 0.015mol) 在甲醇 (30mL) 和水 (15mL) 中的搅拌溶液加入 2N NaOH 水溶液 (2g, 0.052mol) 并加热至 85℃ 保持 6h。将挥发物在减压下蒸发并将所得残留物用冰冷的水 (50mL) 稀释并用醚 (50mL) 洗涤。将水层用 2N HCl 酸化至 pH ~ 2 并用 EtOAc (2×100mL) 萃取。将合并的有机层经无水 Na₂SO₄ 干燥并在减压下浓缩以获得呈灰白色固体的化合物 4 (3.3g, 78%)。

[0603] ¹H-NMR: (400MHz, DMSO-d₆): δ 12.71 (br s, 1H), 7.40-7.30 (m, 5H), 7.15-7.11 (m, 1H), 7.07-7.00 (m, 1H), 6.97-6.85 (m, 2H), 5.27-5.20 (m, 1H), 5.05-5.00 (m, 1H), 3.65 (d, 1H), 3.35-3.20 (m, 1H), 3.00-2.85 (m, 2H), 2.26 (s, 3H), 2.00-1.97 (m, 2H), 1.65-1.61 (m, 1H), 0.85-0.77 (m, 1H).

[0604] HPLC (纯度): 99.78%.

[0605] 2-(((2R, 3S)-3-羟基-1-甲氧基-1-氧代丁-2-基)氨甲酰基)-2-(3-甲基苄基)吡咯烷-1-羧酸苄酯 (5) 的合成:

[0606] 在 0℃ 下向化合物 4 (3.3g, 9.0mmol) 在 CH₂Cl₂ (30) 中的搅拌溶液加入 EDCI. HCl (2.2g, 11.4mmol)、随后加入 HOBt (1.82g, 13.5mmol) 和 DIPEA (6.1mL, 27.0mmol)。在搅拌 10min 之后, 将 L-苏氨酸甲酯的盐酸盐 (1.95g, 11.2mmol) 加入至反应混合物并在室温下再搅拌 16h。在原料耗尽之后 (通过 TLC), 将反应物用 EtOAc (150mL) 稀释并用水 (2×30mL) 洗涤。将有机层用盐水洗涤, 经 Na₂SO₄ 干燥、浓缩并通过用 2% MeOH/CH₂Cl₂ 洗脱的硅胶柱色谱法纯化以获得化合物 5 (3.15g, 73%)。

[0607] ¹H-NMR: (500MHz, DMSO-d₆): δ 7.64 (br s, 1H), 7.44-7.31 (m, 5H), 7.12-7.00 (m, 2H), 6.95-6.85 (m, 2H), 5.32-5.25 (m, 1H), 5.05-4.94 (m, 2H), 4.25-4.20 (m, 1H), 4.15-4.08 (m, 1H), 3.66-3.64 (m, 2H), 3.45-3.41 (m, 2H), 3.14-3.09 (m, 1H), 2.89-2.84 (m, 1H), 2.20 (s, 3H), 2.05-2.02 (m, 2H), 1.55-1.51 (m, 1H), 1.09-0.98 (m, 4H).

[0608] LCMS (ESI): 469 [M⁺+1].

[0609] 2-(((2S, 3R)-3-乙酰氧基-1-甲氧基-1-氧代丁-2-基)氨甲酰基)-2-(3-甲基苄基)吡咯烷-1-羧酸苄酯 (6) 的合成:

[0610] 在 0℃ 下向化合物 5 (3.1g, 6.4mmol) 在 CH₂Cl₂ (30mL) 中的搅拌溶液加入 Et₃N (1.4mL, 5.6mmol)、随后加入 Ac₂O (0.8mL, 8.4mmol) 并搅拌 1h。加入 DMAP (0.1g) 并在室温搅拌 6h。将挥发物在减压下蒸发并将获得的粗物质通过用 20% EtOAc/己烷洗脱的柱色谱法纯化以获得化合物 6 (3.15g, 92.5%)。

[0611] ¹H-NMR: (400MHz, DMSO-d₆) (旋转异构体): δ 8.25 (br s, 1H), 7.42-7.30 (m, 5H), 7.12-7.00 (m, 2H), 6.98-6.89 (m, 2H), 5.25-5.21 (m, 2H), 5.11-5.09 (m, 1H), 4.67-4.62 (m, 1H), 3.66-3.64 (m, 2H), 3.55-3.46 (m, 3H), 3.15-3.10 (m, 1H), 2.92-2.85 (m, 1H), 2.20 (s, 3H), 2.05-1.95 (m, 5H), 1.56-1.46 (m, 1H), 1.15-1.11 (m, 4H).

[0612] LCMS (ESI): 511 $[M^+ + 1]$ 。

[0613] HPLC (纯度): 98%。

[0614] (2S, 3R)-3-乙酰氧基-2-(2-(3-甲基苄基)吡咯烷-2-甲酰胺基)丁酸甲酯 (7) 的合成:

[0615] 向化合物 6 (3.15g, 5.97mmol) 在甲醇 (30mL) 中的搅拌溶液于 N_2 气氛下加入湿的 10% Pd/C (1.0g)。将该反应混合物在 H_2 气氛 (球囊压力) 下搅拌 4h。在原料耗尽之后 (通过 TLC), 将反应物过滤通过硅藻土垫过滤并将滤液在减压下浓缩以获得呈浆料的化合物 7 (2.35g, 99.5%)。

[0616] 1H -NMR: (400MHz, DMSO- d_6) (旋转异构体): δ 8.22 (br s, 1H), 7.19-7.16 (m, 1H), 7.00-6.95 (m, 3H), 5.23-5.19 (m, 1H), 4.50-4.42 (m, 1H), 3.60 (d, 3H), 3.20 (m, 1H), 3.00-2.97 (m, 1H), 2.75-2.68 (m, 2H), 2.28 (s, 3H), 2.05-2.02 (m, 1H), 1.90 (d, 3H), 1.65-1.51 (m, 3H), 1.10 (dd, 3H)。

[0617] LCMS m/z : 377 $[M^+ + 1]$ 。

[0618] HPLC (纯度): 98.5%。

[0619] (2S)-2-(2-(((2S, 3R)-3-乙酰氧基-1-甲氧基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-(3-甲基苄基)吡咯烷-1-羰基)吡咯烷-1-羧酸苄酯 (8) 的合成:

[0620] 向化合物 7 (2.35g, 6.30mmol) 在 CH_2Cl_2 (60mL) 和水 (40mL) 中的搅拌溶液加入 Na_2CO_3 (2.0g, 18.8mmol) 并在 0°C 下搅拌 5min。加入 (S)-2-(氯甲酰基)吡咯烷-1-羧酸苄酯 (2.12g, 7.6mmol) 并将反应混合物在室温搅拌 2h。将分离的有机层在真空下浓缩并将获得的粗物质通过用 3% MeOH/ CH_2Cl_2 洗脱的柱色谱法纯化以获得化合物 8 (2.5g, 63%)。如下合成 (S)-2-(氯甲酰基)吡咯烷-1-羧酸苄酯。在 0°C 下向 (S)-1-(苄氧基羰基)吡咯烷-2-羧酸 (20.6g, 82.8mmol) 在 CH_2Cl_2 (20mL) 中的溶液滴加 $SOCl_2$ (20.5g, 172.6mmol) 并回流 2h。将挥发物在减压下去除以获得 (S)-2-(氯甲酰基)吡咯烷-1-羧酸苄酯。

[0621] 1H -NMR: (400MHz, DMSO- d_6) (旋转异构体): δ 8.50 (br s, 1H), 7.36-7.23 (m, 5H), 7.15-6.85 (m, 5H), 5.21-5.05 (m, 2H), 5.04-4.92 (m, 1H), 4.65-4.50 (m, 1H), 4.53-4.45 (m, 1H), 3.65 (s, 3H), 3.54-3.46 (m, 4H), 3.21-3.13 (m, 2H), 2.25-2.16 (m, 4H), 2.05-2.00 (m, 2H), 1.95-1.85 (m, 4H), 1.56-1.51 (m, 2H), 1.15 (dd, 3H)。

[0622] LCMS m/z : 608 $[M^+ + 1]$ 。

[0623] HPLC (纯度): 91.3%。

[0624] (2S, 3R)-3-乙酰氧基-2-(2-(3-甲基苄基)-1-((S)-吡咯烷-2-羰基)吡咯烷-2-甲酰胺基)丁酸甲酯 (9) 的合成:

[0625] 向化合物 8 (2.5g, 4.0mmol) 在 MeOH (30mL) 中的搅拌溶液于惰性气氛下加入湿的 10% Pd/C (0.5g) 并在 H_2 气氛 (球囊压力) 下搅拌 4h。将反应混合物通过硅藻土垫过滤并在减压下浓缩以获得化合物 9 (1.56g, 79.5%)。

[0626] 1H -NMR: (400MHz, DMSO- d_6) (旋转异构体): δ 8.23 (dd, 1H), 7.20-6.85 (m, 5H), 5.20-5.13 (m, 1H), 4.63-4.59 (m, 1H), 3.85-3.81 (m, 1H), 3.65-3.61 (m, 5H), 3.32-3.25 (m, 2H), 3.12-3.05 (m, 3H), 2.75-2.71 (m, 1H), 2.25 (s, 3H), 2.15-2.13 (m, 2H), 2.00 (d, 3H), 1.77 (m, 3H), 1.27 (dd, 4H)。

[0627] LCMS m/z : 474 $[M^+ + 1]$ 。

[0628] HPLC(纯度):87.3%。

[0629] 2-(叔丁氧基羰基氨基)-3-羟基丁酸苄酯(A)的合成:

[0630] 向2-(叔丁氧基羰基氨基)-3-羟基丁酸(Boc-Thr)(50g, 228.3mmol)在DMF(500mL)中的溶液加入 K_2CO_3 (63g, 456.6mmol)并在室温搅拌15min。加入苄基溴(46.83g, 273.9mmol)并在室温搅拌6h。将反应混合物用水(500mL)稀释并用EtOAc(2×750mL)萃取。将合并的有机层用盐水(50mL)洗涤,经无水 Na_2SO_4 干燥并在减压下浓缩。将粗物质通过用20% EtOAc/己烷洗脱的硅胶柱色谱法纯化以获得2-(叔丁氧基羰基氨基)-3-羟基丁酸苄酯A(52g, 73%)。

[0631] 1H -NMR:(500MHz, DMSO- d_6): δ 7.37-7.30(m, 5H), 6.60(d, 1H), 5.18-5.08(m, 2H), 4.76(d, 1H), 4.08-4.00(m, 2H), 1.38(s, 9H), 1.09(d, 3H)。

[0632] 质量m/z:310.0[M⁺+1], 210[M⁺-De Boc]。

[0633] 3-乙酰氧基-2-(叔丁氧基羰基氨基)丁酸苄酯(B)的合成:

[0634] 向化合物A(52g, 168.2mmol)在 CH_2Cl_2 (500mL)中的搅拌溶液加入 Ac_2O (20.5g, 201.9mmol)、 Et_3N (25.4g, 252.4mmol)和DMAP(3.5g)并在室温搅拌2h。将挥发物在减压下去除。将获得的残余物用EtOAc(750mL)稀释并用冷0.5N HCl溶液(2×200mL)洗涤。将有机层用盐水洗涤,经无水 Na_2SO_4 干燥并在减压下浓缩以获得3-乙酰氧基-2-(叔丁氧基羰基氨基)丁酸酯B(52g, 88%)。

[0635] 1H -NMR:(500MHz, DMSO- d_6): δ 7.35-7.34(m, 5H), 7.27-7.25(d, 1H), 5.18-5.06(m, 3H), 4.34-4.32(m, 1H), 1.90(s, 3H), 1.39(s, 9H), 1.16(d, 3H)。

[0636] 质量m/z:252[M⁺+1-De Boc]。

[0637] (2S, 3R)-3-乙酰氧基-2-(叔丁氧基羰基氨基)丁酸(C)的合成:

[0638] 向化合物B(52g, 148.1mmol)在MeOH(1L)中的搅拌溶液于 N_2 气氛下加入10% Pd/C并将反应混合物在氢气气氛下搅拌16h。将反应混合物通过硅藻土垫过滤,将获得的滤液在真空下蒸发并将粗残余物用己烷研磨以获得(2S, 3R)-3-乙酰氧基-2-(叔丁氧基羰基氨基)丁酸C(35g, 90%)。

[0639] 1H -NMR:(500MHz, DMSO- d_6): δ 12.78(br s, 1H), 6.94(d, 1H), 5.16-5.14(m, 1H), 4.17-4.15(m, 1H), 1.95(s, 3H), 1.39(s, 9H), 1.10(d, 3H)。

[0640] 质量m/z:260.0[M-1]。

[0641] (2S, 3R)-3-乙酰氧基-2-(1-((S)-1-((2S, 3R)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)-2-(3-甲基苄基)吡咯烷-2-甲酰胺基)丁酸甲酯(10)的合成:

[0642] 在0℃下向化合物C(10g, 0.02mol)在 CH_2Cl_2 (100mL)中的搅拌溶液加入EDCI(5g, 0.02mol)、HOBt(5g, 0.04mol)、随后加入DIPEA(10.6mL, 0.06mol)并搅拌10min。加入化合物9(7g, 0.025mol)并搅拌15h。将反应混合物用EtOAc(2x75ml)萃取并将分离的有机层用水(200mL),随后用盐水(200mL)洗涤,经 Na_2SO_4 干燥并在减压下浓缩。将粗物质通过用4% MeOH/ CH_2Cl_2 洗脱的硅胶柱色谱法纯化以获得呈浆料的化合物10(10g, 67%)。

[0643] 1H -NMR:(400MHz, DMSO- d_6)(旋转异构体): δ 7.24-6.91(m, 5H), 5.42-5.01(m, 2H), 4.73-4.68(m, 1H), 4.54-4.41(m, 1H), 3.90-3.85(m, 1H), 3.67(s, 3H), 3.65-3.60(m, 2H), 3.59-3.55(m, 1H), 3.59-3.55(m, 1H), 3.30(s, 3H), 3.12-3.05(m, 1H), 2.33(s, 3H), 2.05(s, 3

H), 2.00–1.96 (m, 4H), 1.94–1.85 (m, 4H), 1.43 (s, 9H), 1.25 (d, 3H), 1.15 (d, 3H).

[0644] LCMS (ESI) : m/z 675 [M⁺+1].

[0645] HPLC: 71%.

[0646] ((2S, 3R)-1-((2S)-2-(2-(((2S, 3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基))-2-(3-甲基苄基)吡咯烷-1-羰基)吡咯烷-1-基)-3-羟基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸叔丁酯 (11) 的合成:

[0647] 向化合物 10 (10g, 0.014mol) 在 MeOH (20mL) 中的搅拌溶液加入甲醇-NH₃ (100mL) 并且放入密封管中。将反应混合物在室温搅拌 20h。将反应混合物在减压下浓缩。将获得的粗物质通过用 4% MeOH/CH₂Cl₂ 洗脱的硅胶柱色谱法纯化以获得化合物 11 (8.0g, 99% 产率)。

[0648] ¹H-NMR: (400MHz, DMSO-d₆) (旋转异构体): δ 7.32 (br s, 2H), 7.15–7.10 (m, 4H), 7.05–6.91 (m, 4H), 6.65 (br s, 2H), 4.75–4.59 (m, 2H), 4.24–3.45 (m, 8H), 3.35 (s, 1H), 3.05–3.00 (m, 1H), 2.32 (s, 3H), 2.26–1.85 (m, 6H), 1.75 (s, 6H), 1.60–1.55 (m, 1H), 1.47 (s, 9H), 1.15 (d, 3H), 1.05 (d, 3H).

[0649] LCMS (ESI) : m/z 618 [M⁺+1].

[0650] 异构体的手性制备型 HPLC:

[0651] 化合物 11 的异构体 (8.0g, 12.9mmol) 通过手性制备型 HPLC 分离以获得化合物 11-F1 (0.4g) 和化合物 11-F2 (0.25g)。

[0652] 化合物 11-F1 的分析数据:

[0653] HPLC: 91.1%。

[0654] LCMS (ESI) : m/z 618 [M⁺+1].

[0655] 手性 HPLC: R_t = 9.20min (Chiralpak IA, 250x4.6mm, 5 μ; 流动相 (A) 含 0.1% TFA 的正己烷 (B) EtOH (4/1): A:B (80:20); 流速: 1.00mL/min)。

[0656] 化合物 11-F2 的分析数据:

[0657] HPLC: 84%。

[0658] LCMS (ESI) : m/z 618 [M⁺+1].

[0659] 手性 HPLC: R_t = 13.39min (Chiralpak IA, 250x4.6mm, 5 μ; 流动相 (A) 含 0.1% TFA 的正己烷 (B) EtOH (4/1): A:B (80:20); 流速: 1.00mL/min)。

[0660] (R)-N-((2S, 3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-1-((S)-1-((2S, 3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)-2-(3-甲基苄基)吡咯烷-2-甲酰胺 (CM-8A) 的合成:

[0661] 在 0°C 下向化合物 12-F1 (0.4g, 0.60mmol) 在 CH₂Cl₂ (20mL) 中的搅拌溶液加入含 2N-HCl 的 1,4-二噁烷 (2mL) 并在室温搅拌 3h。将反应混合物在减压下浓缩并将获得的物质用 EtOAc 研磨并在真空下干燥以获得呈盐酸盐的 CM-8A (0.22g, 66%)。

[0662] ¹H-NMR: (400MHz, D₂O): δ 7.35 (t, 1H), 7.25 (s, 1H), 7.21 (d, 1H), 7.15 (d, 1H), 4.95–4.90 (m, 1H), 4.43–4.35 (m, 4H), 3.94–3.89 (m, 1H), 3.87–3.78 (m, 2H), 3.63 (d, 1H), 3.49–3.40 (m, 1H), 3.25 (d, 1H), 2.56–2.34 (m, 5H), 2.28–2.20 (m, 4H), 1.75–1.71 (m, 1H), 1.56 (d, 3H), 1.32 (d, 3H), 1.15–1.11 (m, 1H).

[0663] LCMS (ESI) m/z: 518 [M⁺+1].

[0664] HPLC 纯度 :97%。

[0665] 旋光度 $[\alpha]_D^{25}$: +18.8 (在水中 $C = 1\%$)。

[0666] (S)-N-((2S, 3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-1-((S)-1-((2S, 3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)-2-(3-甲基苄基)吡咯烷-2-甲酰胺 (CM-8B) 的合成:

[0667] 在 0℃ 下向化合物 12-F2 (0.25g, 0.40mmol) 在 CH_2Cl_2 (20mL) 中的搅拌溶液加入含 2N-HCl 的 1,4-二噁烷 (2mL) 并在室温搅拌 3h。将反应混合物在减压下浓缩并将获得的物质用 EtOAc 研磨并在真空中干燥以获得呈盐酸盐的 CM-8B (130mg, 62%)。

[0668] $^1\text{H-NMR}$: (400MHz, D_2O): δ 7.35-7.23 (m, 2H), 7.12-7.00 (m, 2H), 4.45-4.40 (m, 1H), 4.32-4.10 (m, 3H), 3.94-3.75 (m, 3H), 3.60 (d, 1H), 3.25 (d, 1H), 3.14-3.11 (m, 1H), 2.56-2.05 (m, 10H), 1.85-1.79 (m, 2H), 1.45 (d, 3H), 1.25 (d, 3H)。

[0669] LCMS (ESI) m/z : 518 $[\text{M}^+ + 1]$ 。

[0670] HPLC 纯度 :92%。

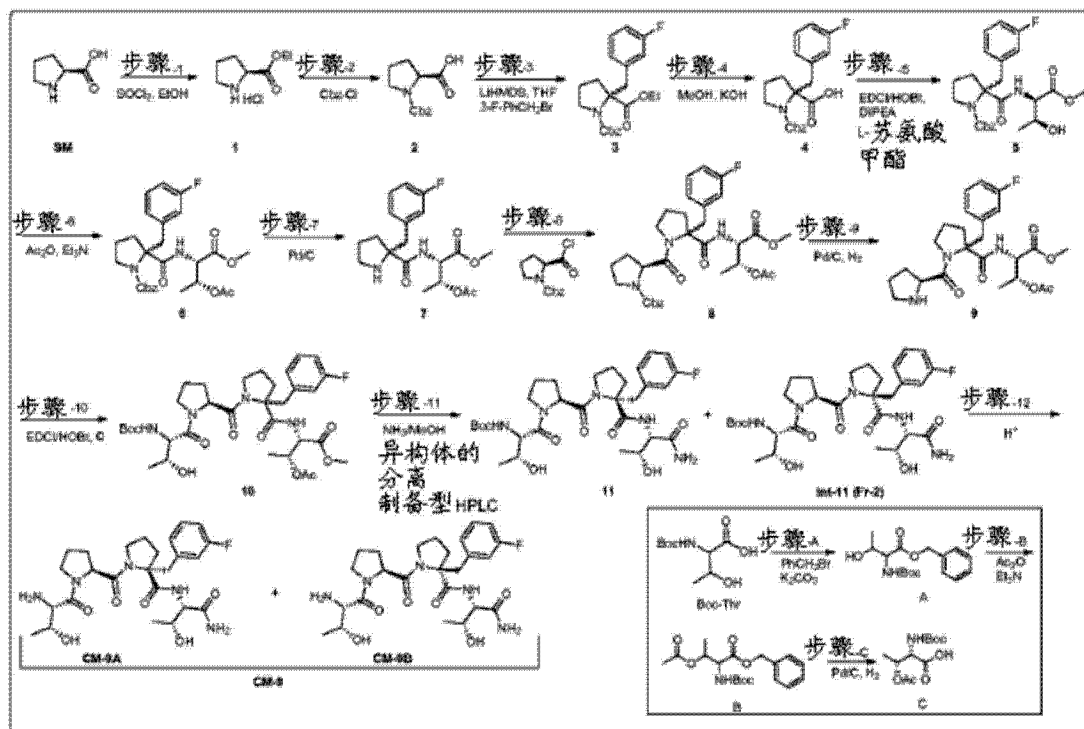
[0671] 旋光度 $[\alpha]_D^{25}$: -104.9 (在水中 $C = 1\%$)。

[0672] 实施例 8 - (R)-N-((2S, 3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-1-((S)-1-((2S, 3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)-2-(3-氟苄基)吡咯烷-2-甲酰胺 (CM-9A) 和 (S)-N-((2S, 3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-1-((S)-1-((2S, 3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)-2-(3-氟苄基)吡咯烷-2-甲酰胺 (CM-9B) 的合成:

[0673] 使用以下反应顺序 (方案 I) 合成 (R)-N-((2S, 3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-1-((S)-1-((2S, 3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)-2-(3-氟苄基)吡咯烷-2-甲酰胺 (CM-9A) 和 (S)-N-((2S, 3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-1-((S)-1-((2S, 3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)-2-(3-氟苄基)吡咯烷-2-甲酰胺 (CM-9B):

[0674] 方案 I. CM-9A 和 CM-9B 的合成:

[0675]



[0676] (S)-吡咯烷-2-羧酸乙酯盐酸盐 (1) 的合成：

[0677] 向 L-脯氨酸 (SM) (110g, 956.5mmol) 在乙醇中的搅拌溶液加入亚硫酰氯 (141ml, 1911.3mmol) 并回流 16h。将反应混合物温度调节至室温并在真空下浓缩以获得呈盐酸盐的化合物 1 (170g, 99%)。

[0678] (S)-吡咯烷-1,2-二羧酸 1-苄酯 2-甲酯 (2) 的合成：

[0679] 向化合物 1 (170g, 947mmol) 在 CH_2Cl_2 中的搅拌溶液加入 Et_3N (398ml, 2.83mol)。在搅拌 30min 之后, 将 Cbz-Cl (1.136mol) 加入至反应混合物并在室温下再持续搅拌 12h。将反应混合物用水洗涤并用 CH_2Cl_2 萃取。将有机层经无水 Na_2SO_4 干燥并在真空下浓缩。将粗品通过柱色谱法纯化以获得化合物 2 (230g, 88%)。

[0680] $^1\text{H-NMR}$: (200MHz, DMSO-d_6): δ 7.42-7.31 (m, 5H), 5.09 (m, 2H), 4.32-4.23 (m, 1H), 4.08-3.98 (m, 2H), 3.50-3.38 (m, 2H), 2.30-2.18 (m, 1H), 1.90-1.81 (m, 3H), 1.10-1.04 (t, 3H)。

[0681] 质量 m/z : 278 [$\text{M}^+ + 1$]。

[0682] 2-(3-氟苄基)吡咯烷-1,2-二羧酸 1-苄酯 2-乙酯 (3) 的合成：

[0683] 在 -78°C 下向化合物 2 (10g, 0.018mol) 在 THF (100mL) 中的搅拌溶液于惰性气氛下加入 LiHMDS (1M 在 THF 中) (76mL, 0.076mol) 并搅拌 1h。在 -30°C 下滴加 3-氟苄基溴 (5.6mL, 0.045mol) 并搅拌 3h。将反应混合物冷却至 5°C , 用饱和的 NH_4Cl 溶液淬灭并将水层用 EtOAc (2x100mL) 萃取。将合并的有机提取物经无水 Na_2SO_4 干燥并在减压下浓缩。将获得的粗残余物通过用 12% EtOAc/己烷洗脱的硅胶柱色谱法纯化以获得呈液体的化合物 3 (11g, 78%)。

[0684] $^1\text{H-NMR}$: (400MHz, DMSO-d_6): δ 7.64-7.58 (m, 2H), 7.44-7.25 (m, 7H), 5.22-5.12 (m, 2H), 4.16-4.12 (m, 1H), 4.05-3.89 (m, 1H), 3.62 (d, 1H), 3.48-3.39 (m, 1H), 3.16-3.10 (m, 1H), 2.99-2.89 (m, 1H), 2.19-1.99 (m, 2H), 1.63-1.58 (m, 1H), 1.19 (t, 2H), 1.05 (t, 1H), 0.92-

0.89 (m, 1H).

[0685] LCMS (ESI): 372 $[M^+ + 1]$.

[0686] 1-((苄氧基)羰基)-2-(3-氟苄基)吡咯烷-2-羧酸(4)的合成:

[0687] 向化合物 3 (11g, 0.029mol) 在甲醇 (50mL) 和水 (50mL) 中的搅拌溶液加入 2N NaOH 水溶液 (3.5g, 0.089mol) 并加热至 60℃ 保持 3h。将挥发物在减压下蒸发并将所得残留物用冰冷的水 (50mL) 稀释并用醚 (50mL) 洗涤。将水层用 2N HCl 酸化至 pH ~ 2 并用 EtOAc (2×100mL) 萃取。将合并的有机层经无水 Na₂SO₄ 干燥并在减压下浓缩以获得呈液体的化合物 4 (9.5g, 90%)。

[0688] ¹H-NMR: (400MHz, DMSO-d₆): δ 7.59-7.22 (m, 10H), 5.24-5.19 (m, 1H), 5.05-5.00 (m, 1H), 3.65 (d, 1H), 3.35-3.20 (m, 1H), 3.19 (t, 1H), 3.01-2.89 (m, 1H), 2.00-1.97 (m, 2H), 1.65-1.61 (m, 1H), 0.85-0.77 (m, 1H).

[0689] LCMS (ESI): 358 $[M^+ + 1]$.

[0690] 2-(3-氟苄基)-2-(((2R, 3S)-3-羟基-1-甲氧基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)吡咯烷-1-羧酸苄酯(5)的合成:

[0691] 在 0℃ 下向化合物 4 (9.5g, 26.6mmol) 在 CH₂Cl₂ (100mL) 中的搅拌溶液加入 EDCI·HCl (6.1g, 31.9mmol)、随后加入 HOBt (5.4g, 39.9mmol) 和 DIPEA (14mL, 79.8mmol)。在搅拌 10min 之后, 将 L-苏氨酸甲酯的盐酸盐 (4.97g, 29.2mmol) 加入至反应混合物并在室温下再搅拌 16h。在原料耗尽之后 (通过 TLC), 将反应物用 CH₂Cl₂ (150mL) 稀释, 用盐水洗涤, 经 Na₂SO₄ 干燥并浓缩以获得化合物 5 (13g, 粗品)。

[0692] LCMS (ESI): 473.7 $[M^+ + 1]$ 。

[0693] 2-(((2S, 3R)-3-乙酰氧基-1-甲氧基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-(3-氟苄基)吡咯烷-1-羧酸苄酯(6)的合成:

[0694] 在 0℃ 下向化合物 5 (13g, 27.5mmol) 在 CH₂Cl₂ (100mL) 中的搅拌溶液加入 Et₃N (5.8mL, 41.3mmol)、随后加入 Ac₂O (3.23mL, 33.0mmol) 并搅拌 10min。加入 DMAP (1.2g) 并在室温搅拌 2h。将反应混合物用柠檬酸洗涤并用 CH₂Cl₂ (2×150mL) 萃取。将分离的有机层经无水 Na₂SO₄ 干燥、过滤并在真空下浓缩以得到粗品; 所述粗品通过用 20% EtOAc/己烷洗脱的柱色谱法纯化以获得呈浅黄色液体的化合物 6 (9.5g, 67%)。

[0695] ¹H-NMR: (400MHz, DMSO-d₆) (旋转异构体): δ 7.39-7.23 (m, 6H), 7.05 (t, 1H), 6.95-6.78 (m, 2H), 5.27-5.21 (m, 2H), 5.11-5.09 (m, 1H), 4.67-4.62 (m, 1H), 3.66-3.64 (m, 4H), 3.55-3.46 (m, 2H), 2.92-2.85 (m, 2H), 2.05-1.95 (m, 1H), 1.99 (s, 3H), 1.56-1.46 (m, 1H), 1.15-1.11 (m, 4H)。

[0696] LCMS (ESI): 515 $[M^+ + 1]$ 。

[0697] (2S, 3R)-3-乙酰氧基-2-(2-(3-氟苄基)吡咯烷-2-甲酰胺基)丁酸甲酯(7)的合成:

[0698] 向化合物 6 (9.5g, 18.4mmol) 在甲醇 (100mL) 中的搅拌溶液于 N₂ 气氛下加入湿的 10% Pd/C (1.2g)。将该反应混合物在 H₂ 气氛 (球囊压力) 下搅拌 3h。在原料耗尽之后 (通过 TLC), 将反应物过滤通过硅藻土垫过滤并将滤液在减压下浓缩以获得呈液体的化合物 7 (6.3g, 90%)。

[0699] ¹H-NMR: (400MHz, DMSO-d₆) (旋转异构体): δ 8.22 (br s, 1H), 7.62-7.56 (m, 2H), 7.

4.5-7.39 (m, 2H), 5.23-5.19 (m, 1H), 4.50-4.42 (m, 1H), 3.60 (d, 3H), 3.05-3.00 (m, 1H), 2.97-2.85 (m, 3H), 2.18-2.09 (m, 1H), 1.95 (d, 3H), 1.65-1.51 (m, 3H), 1.10 (d, 2H), 0.75 (d, 1H).

[0700] LCMS m/z : 381 [$M^+ + 1$].

[0701] (2S)-2-(2-(((2S, 3R)-3-乙酰氧基-1-甲氧基-1-氧代丁-2-基)氨基羰基))-2-(3-氟苄基)吡咯烷-1-羰基)吡咯烷-1-羧酸苄酯 (8) 的合成:

[0702] 向化合物 7 (6.2g, 16.3mmol) 在 CH_2Cl_2 (50mL) 和水 (50mL) 中的搅拌溶液加入 Na_2CO_3 (4.3g, 40.7mmol) 并在 0°C 下搅拌 5min。加入 (S)-2-(氯甲酰基)吡咯烷-1-羧酸苄酯 (17.93mmol) 并将反应混合物在室温搅拌 2h。将反应混合物用水洗涤并用 CH_2Cl_2 (2x100mL) 萃取。将分离的有机层在真空下浓缩并将获得的粗物质通过用 30% EtOAc/己烷洗脱的柱色谱法纯化以获得呈液体的化合物 8 (7.3g, 73%)。如下合成 (S)-2-(氯甲酰基)吡咯烷-1-羧酸苄酯。在 0°C 下向 (S)-1-(苄氧基羰基)吡咯烷-2-羧酸 (4.87g, 19.5mmol) 在 CH_2Cl_2 (20mL) 中的溶液滴加 $SOCl_2$ (3.0mL, 40.7mmol) 并回流 2h。将挥发物在减压下去除以获得 (S)-2-(氯甲酰基)吡咯烷-1-羧酸苄酯。

[0703] 1H -NMR: (400MHz, $DMSO-d_6$) (旋转异构体): δ 8.50 (br s, 1H), 7.79-7.65 (m, 2H), 7.52-7.37 (m, 7H), 5.42-5.05 (m, 3H), 4.79-4.59 (m, 1H), 4.15 (q, 1H), 3.78 (s, 3H), 3.69-3.50 (m, 2H), 3.21-3.13 (m, 1H), 2.45-2.16 (m, 2H), 2.10 (s, 6H), 2.05-2.00 (m, 2H), 1.95-1.85 (m, 1H), 1.44-1.19 (m, 6H).

[0704] LCMS m/z : 612 [$M^+ + 1$], 613 [$M^+ + 2$].

[0705] (2S, 3R)-3-乙酰氧基-2-(2-(3-氟苄基)-1-((S)-吡咯烷-2-羰基)吡咯烷-2-甲酰胺基)丁酸甲酯 (9) 的合成:

[0706] 向化合物 8 (7.2g, 11.78mmol) 在 MeOH (80mL) 中的搅拌溶液于惰性气氛下加入湿的 10% Pd/C (1.2g) 并在 H_2 气氛 (球囊压力) 下搅拌 16h。将反应混合物通过硅藻土垫过滤并在减压下浓缩以获得呈液体的化合物 9 (5.2g, 92%)。

[0707] 2-(叔丁氧基羰基氨基)-3-羟基丁酸苄酯 (A) 的合成:

[0708] 向 2-(叔丁氧基羰基氨基)-3-羟基丁酸 (Boc-Thr) (50g, 228.3mmol) 在 DMF (500mL) 中的溶液加入 K_2CO_3 (63g, 456.6mmol) 并在室温搅拌 15min。加入苄基溴 (46.83g, 273.9mmol) 并在室温搅拌 6h。将反应混合物用水 (500mL) 稀释并用 EtOAc (2x750mL) 萃取。将合并的有机层用盐水 (50mL) 洗涤, 经无水 Na_2SO_4 干燥并在减压下浓缩。将粗物质通过用 20% EtOAc/己烷洗脱的硅胶柱色谱法纯化以获得 2-(叔丁氧基羰基氨基)-3-羟基丁酸苄酯 A (52g, 73%)。

[0709] 1H -NMR: (500MHz, $DMSO-d_6$): δ 7.37-7.30 (m, 5H), 6.60 (d, 1H), 5.18-5.08 (m, 2H), 4.76 (d, 1H), 4.08-4.00 (m, 2H), 1.38 (s, 9H), 1.09 (d, 3H).

[0710] 质量 m/z : 310.0 [$M^+ + 1$], 210 [$M^+ - De Boc$].

[0711] 3-乙酰氧基-2-(叔丁氧基羰基氨基)丁酸苄酯 (B) 的合成:

[0712] 向化合物 A (52g, 168.2mmol) 在 CH_2Cl_2 (500mL) 中的搅拌溶液加入 Ac_2O (20.5g, 201.9mmol)、 Et_3N (25.4g, 252.4mmol) 和 DMAP (3.5g) 并在室温搅拌 2h。将挥发物在减压下去除。将获得的残余物用 EtOAc (750mL) 稀释并用冷 0.5N HCl 溶液 (2x200mL) 洗涤。将有机层用盐水洗涤, 经无水 Na_2SO_4 干燥并在减压下浓缩以获得 3-乙酰氧基-2-(叔丁氧基羰基氨基)丁酸酯 B (52g, 88%)。

[0713] $^1\text{H-NMR}$: (500MHz, DMSO- d_6): δ 7.35–7.34 (m, 5H), 7.27–7.25 (d, 1H), 5.18–5.06 (m, 3H), 4.34–4.32 (m, 1H), 1.90 (s, 3H), 1.39 (s, 9H), 1.16 (d, 3H).

[0714] 质量 m/z : 252 [$M^+ + 1 - \text{De Boc}$].

[0715] (2S, 3R)-3-乙酰氧基-2-(叔丁氧基羰基氨基)丁酸(C)的合成:

[0716] 向化合物B(52g, 148.1mmol)在MeOH(1L)中的搅拌溶液于 N_2 气氛下加入10% Pd/C并将反应混合物在氢气气氛下搅拌16h。将反应混合物通过硅藻土垫过滤,将获得的滤液在真空下蒸发并将粗残余物用己烷研磨以获得(2S, 3R)-3-乙酰氧基-2-(叔丁氧基羰基氨基)丁酸C(35g, 90%)。

[0717] $^1\text{H-NMR}$: (500MHz, DMSO- d_6): δ 12.78 (br s, 1H), 6.94 (d, 1H), 5.16–5.14 (m, 1H), 4.17–4.15 (m, 1H), 1.95 (s, 3H), 1.39 (s, 9H), 1.10 (d, 3H).

[0718] 质量 m/z : 260.0 [$M-1$].

[0719] (2S, 3R)-3-乙酰氧基-2-(1-((S)-1-((2S, 3R)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)-2-(3-氟苄基)吡咯烷-2-甲酰胺基)丁酸甲酯(10)的合成:

[0720] 在0℃下向化合物C(3.41g, 13.0mmol)在 CH_2Cl_2 (50mL)中的搅拌溶液加入EDCI(3.12g, 16.3mmol)、HOBt(2.2g, 16.3mmol)、随后加入DIPEA(5.7mL, 32.7mmol)并搅拌10min。加入化合物9(5.2g, 10.9mmol)并搅拌16h。将反应混合物用 CH_2Cl_2 (2x75mL)萃取并将分离的有机层用 NaHCO_3 水溶液(100mL)、柠檬酸水溶液(100mL)、随后用盐水(100mL)洗涤,经 Na_2SO_4 干燥并在减压下浓缩。将粗物质通过用2% MeOH/ CH_2Cl_2 洗脱的柱色谱法纯化以获得呈液体的化合物10(6.0g, 77%)。

[0721] $^1\text{H-NMR}$: (400MHz, DMSO- d_6) (旋转异构体): δ 7.71–7.55 (m, 3H), 7.34–7.05 (m, 2H), 5.35–5.20 (m, 1H), 5.09–5.01 (m, 1H), 4.78–4.35 (m, 3H), 3.90–3.85 (m, 2H), 3.67 (s, 3H), 3.39–3.25 (m, 1H), 3.25–3.05 (m, 1H), 2.21–1.96 (m, 12H), 1.39 (d, 9H), 1.35–1.25 (m, 8H), 0.85 (d, 1H).

[0722] LCMS(ESI): m/z 478.4 [$M^+ + 1$], 479.4 [$M^+ + 2$].

[0723] ((2S, 3R)-1-((2S)-2-(2-(((2S, 3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-(3-氟苄基)吡咯烷-1-羰基)吡咯烷-1-基)-3-羟基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸叔丁酯(11)的合成:

[0724] 将化合物10(3g, 4.1mmol)在甲醇氨(50mL)中的溶液在室温搅拌48h。将反应混合物在真空下浓缩以得到粗品;将所述粗品通过用4% MeOH/ CH_2Cl_2 硅胶柱色谱法纯化以获得呈白色固体的化合物11(1.7g, 粗品)。

[0725] $^1\text{H-NMR}$: (400MHz, DMSO- d_6): δ 7.59–7.51 (m, 4H), 7.24 (s, 1H), 7.02 (s, 1H), 6.79–6.60 (m, 2H), 5.09 (d, 1H), 4.77–4.74 (m, 1H), 4.64–4.61 (m, 1H), 4.21 (t, 2H), 3.98 (dd, 1H), 3.85–3.80 (m, 2H), 3.71–3.60 (m, 3H), 3.25–3.19 (m, 2H), 2.21–1.85 (m, 5H), 1.75–1.70 (m, 1H), 1.44 (s, 10H), 1.21 (d, 3H), 1.09 (d, 3H), 0.91–0.85 (m, 1H).

[0726] LCMS(ESI): m/z 622 [$M^+ + 1$].

[0727] 异构体的手性制备型HPLC:

[0728] 将化合物11的异构体(1.7g)通过手性制备型HPLC分离以获得化合物11(0.4g)和化合物11-F2(0.3g)。

[0729] 化合物 11 的分析数据：

[0730] $^1\text{H-NMR}$: (400MHz, DMSO- d_6): δ 7.59–7.51 (m, 4H), 7.24 (s, 1H), 7.02 (s, 1H), 6.79–6.60 (m, 2H), 5.09 (d, 1H), 4.77–4.74 (m, 1H), 4.64–4.61 (m, 1H), 4.21 (t, 2H), 3.98 (dd, 1H), 3.85–3.80 (m, 2H), 3.71–3.60 (m, 3H), 3.25–3.19 (m, 2H), 2.21–1.85 (m, 5H), 1.75–1.70 (m, 1H), 1.44 (s, 10H), 1.21 (d, 3H), 1.09 (d, 3H), 0.91–0.85 (m, 1H).

[0731] UPLC: 87%。

[0732] LCMS (ESI): m/z 622 [$M^+ + 1$]。

[0733] 手性 HPLC: $R_t = 10.32\text{min}$ (Chiralpak IA, 250x4.6mm, 5 μ ; 流动相 (A) 含 0.1% TFA 的正己烷 (B) EtOH (4/1): A:B (80:20); 流速: 1.00mL/min)。

[0734] 化合物 11-F2 的分析数据：

[0735] $^1\text{H-NMR}$: (400MHz, DMSO- d_6): δ 7.59–7.51 (m, 4H), 7.24 (s, 1H), 7.02 (s, 1H), 6.79–6.60 (m, 2H), 5.09 (d, 1H), 4.77–4.74 (m, 1H), 4.64–4.61 (m, 1H), 4.21 (t, 2H), 3.98 (dd, 1H), 3.85–3.80 (m, 2H), 3.71–3.60 (m, 3H), 3.25–3.19 (m, 2H), 2.21–1.85 (m, 5H), 1.75–1.70 (m, 1H), 1.44 (s, 10H), 1.21 (d, 3H), 1.09 (d, 3H), 0.91–0.85 (m, 1H).

[0736] UPLC: 91%。

[0737] LCMS (ESI): m/z 622 [$M^+ + 1$]。

[0738] 手性 HPLC: $R_t = 15.37\text{min}$ (Chiralpak IA, 250x4.6mm, 5 μ ; 流动相 (A) 含 0.1% TFA 的正己烷 (B) EtOH (4/1): A:B (80:20); 流速: 1.00mL/min)。

[0739] (R)-N-((2S, 3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-1-((S)-1-((2S, 3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)-2-(3-氟苄基)吡咯烷-2-甲酰胺 (CM-9A) 的合成：

[0740] 在 0℃ 下向化合物 11-F1 (0.4g, 0.64mmol) 在 CH_2Cl_2 (5mL) 中的搅拌溶液加入含 4N-HCl 的 1,4-二噁烷 (2mL) 中并在室温搅拌 2h。将反应混合物在真空下浓缩。将获得的粗物质用 EtOAc (20mL) 洗涤、随后用正戊烷 (20mL) 洗涤并在真空下干燥以获得呈盐酸盐的 CM-9A (0.2g, 59%)。

[0741] $^1\text{H-NMR}$: (400MHz, D_2O): δ 7.89 (d, 2H), 7.57 (d, 2H), 4.95–4.90 (m, 1H), 4.43–4.35 (m, 4H), 3.94–3.79 (m, 5H), 3.35 (q, 2H), 2.56–2.50 (m, 1H), 2.35–2.29 (m, 2H), 2.14–2.05 (m, 3H), 1.81–1.75 (m, 1H), 1.35 (d, 3H), 1.32 (d, 3H), 1.19–1.11 (m, 1H).

[0742] LCMS (ESI) m/z : 522 [$M^+ + 1$], 523 [$M^+ + 2$]。

[0743] UPLC 纯度: 97%。

[0744] 手性 HPLC 纯度: 99%。

[0745] 旋光度 [α_D^{20}]: +15.6 (在水中 $C = 1\%$)。

[0746] (S)-N-((2S, 3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-1-((S)-1-((2S, 3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)-2-(3-氟苄基)吡咯烷-2-甲酰胺 (CM-9B) 的合成：

[0747] 在 0℃ 下向化合物 11-F2 (0.2g, 0.32mmol) 在 CH_2Cl_2 (5mL) 中的搅拌溶液加入含 4N-HCl 的 1,4-二噁烷 (2mL) 中并在室温搅拌 2h。将反应混合物在真空下浓缩。将获得的粗物质用 EtOAc (20mL) 洗涤、随后用正戊烷 (20mL) 洗涤并在真空下干燥以获得呈盐酸盐的 CM-9B (0.1g, 59%)。

[0748] $^1\text{H-NMR}$: (400MHz, D_2O): δ 7.89 (d, 2H), 7.57 (d, 2H), 4.95-4.90 (m, 1H), 4.43-4.35 (m, 4H), 3.94-3.79 (m, 5H), 3.35 (q, 2H), 2.56-2.50 (m, 1H), 2.35-2.29 (m, 2H), 2.14-2.05 (m, 3H), 1.81-1.75 (m, 1H), 1.35 (d, 3H), 1.32 (d, 3H), 1.19-1.11 (m, 1H).

[0749] LCMS (ESI) m/z : 522 [$\text{M}^+ + 1$], 523 [$\text{M}^+ + 2$].

[0750] UPLC 纯度: 98%.

[0751] 手性 HPLC 纯度: 98%.

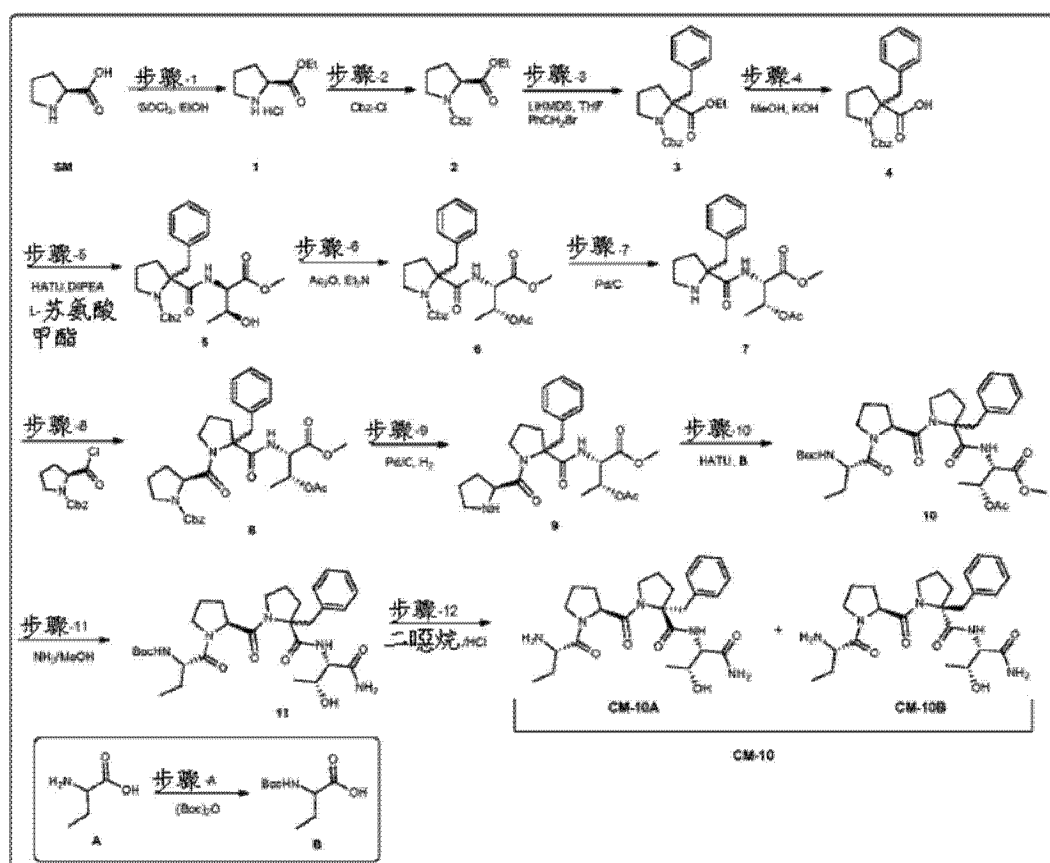
[0752] 旋光度 [α^{20}_{D}]: -101.46 (在水中 $C = 1\%$).

[0753] 实施例 10 - N-((2S, 3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-1-((S)-1-((S)-2-氨基-3-羟基丙酰基)吡咯烷-2-羰基)-2-苄基吡咯烷-2-甲酰胺 (CM-10) 的合成:

[0754] 使用以下反应顺序 (方案 J) 合成 N-((2S, 3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-1-((S)-1-((S)-2-氨基-3-羟基丙酰基)吡咯烷-2-羰基)-2-苄基吡咯烷-2-甲酰胺 (CM-10):

[0755] 方案 J. CM-10 的合成.

[0756]



[0757] (S)-吡咯烷-2-羧酸乙酯盐酸盐 (1) 的合成:

[0758] 向 L-脯氨酸 (SM) (110g, 956.5mmol) 在乙醇中的搅拌溶液加入亚硫酸氯 (141ml, 1911.3mmol) 并回流 16h. 将反应混合物温度调节至室温并在真空下浓缩以获得呈盐酸盐的化合物 1 (170g, 99%).

[0759] (S)-吡咯烷-1,2-二羧酸 1-苄酯 2-甲酯 (2) 的合成:

[0760] 向化合物 1 (170g, 947mmol) 在 CH_2Cl_2 中的搅拌溶液加入 TEA (398mL, 2.83mol) 并在 30min 之后加入 Cbz-Cl (1.136mol)。将反应混合物在室温搅拌 12h。将反应混合物用水洗涤并用 CH_2Cl_2 萃取。将有机层经无水 Na_2SO_4 干燥并在真空下浓缩。将获得的粗物质通过柱色谱法纯化以获得化合物 2 (230g, 88%)。

[0761] $^1\text{H-NMR}$: (200MHz, DMSO-d_6): δ 7.42-7.31 (m, 5H), 5.09 (m, 2H), 4.32-4.23 (m, 1H), 4.08-3.98 (m, 2H), 3.50-3.38 (m, 2H), 2.30-2.18 (m, 1H), 1.90-1.81 (m, 3H), 1.10-1.04 (t, 3H)。

[0762] 质量 m/z : 278 [$\text{M}^+ + 1$]。

[0763] 2-苄基吡咯烷-1,2-二羧酸 1-苄酯 2-乙酯 (3) 的合成:

[0764] 在 -25°C 下向 (S)-吡咯烷-1,2-二羧酸 1-苄酯 2-乙酯 2 (87g, 314mmol) 在 THF (800mL) 中的溶液于惰性气氛下加入 LiHMDS (1M 在 THF 中) (351mL, 351mmol) 并搅拌 2h。在 -25°C 下将苄基溴 (45mL, 376mmol) 滴加至反应混合物。使其升温至室温并搅拌 2h。将反应混合物冷却至 5°C , 用饱和的 NH_4Cl 溶液淬灭并将水层用 EtOAc (2x200mL) 萃取。将合并的有机提取物经无水 Na_2SO_4 干燥并在减压下浓缩。将获得的粗残余物通过用 5% EtOAc/己烷洗脱的硅胶柱色谱法纯化以获得呈液体的化合物 3 (80g, 69%)。

[0765] $^1\text{H-NMR}$: (200MHz, DMSO-d_6): δ 7.47-7.32 (m, 5H), 7.27-7.16 (m, 3H), 7.07-7.04 (m, 2H), 5.29-5.06 (m, 2H), 4.16-3.89 (m, 2H), 3.57-3.33 (m, 2H), 3.02-2.78 (m, 2H), 2.13-1.89 (m, 2H), 1.56-1.51 (m, 1H), 1.21-1.04 (m, 3H), 0.93-0.79 (m, 1H)。

[0766] 质量 m/z : 368.2 [$\text{M}^+ + 1$]。

[0767] 2-苄基吡咯烷-1,2-二羧酸 1-苄酯 2-乙酯 (4) 的合成:

[0768] 向化合物 3 (125g, 340mmol) 在 CH_3OH (700mL) 中的搅拌溶液加入 2N NaOH 水溶液 (680mmol) 并加热直至 100°C 保持 16h。将挥发物在减压下蒸发。将获得的残余物用冰冷的水 (50mL) 稀释并用醚 (50mL) 洗涤。将水层使用 2N HCl 酸化至 $\text{pH} \sim 2$ 并用 EtOAc (2x100mL) 萃取。将合并的有机层经无水 Na_2SO_4 干燥并在减压下浓缩以获得呈灰白色固体的化合物 4 (90g, 78%)。

[0769] $^1\text{H-NMR}$: (200MHz, DMSO-d_6): δ 12.71 (br s, 1H), 7.40-7.30 (m, 5H), 7.25-7.19 (m, 3H), 7.07-7.00 (m, 2H), 5.27-5.02 (m, 2H), 3.59-3.32 (m, 2H), 3.02-2.83 (m, 2H), 2.13-1.91 (m, 2H), 1.58-1.49 (m, 1H), 0.90-0.77 (m, 1H)。

[0770] 质量 m/z : 340.1 [$\text{M}^+ + 1$]。

[0771] 2-苄基-2-((2S,3R)-3-羟基-1-甲氧基-1-氧代丁-2-基氨基甲酰基)吡咯烷-1-羧酸苄酯 (5) 的合成:

[0772] 在 5°C 下向化合物 4 (50g, 147.9mmol)、L-苏氨酸甲酯 (25g, 147.9mmol) 在 DCM (500mL) 中的搅拌悬浮液加入 HATU (56.2g, 147.9mmol) 和 DIPEA (64mL, 36.98mmol)。将反应混合物在室温搅拌 3h。将其用 EtOAc (150mL) 稀释并用水 (2x30mL) 洗涤。将有机层用盐水洗涤, 经 Na_2SO_4 干燥, 浓缩并通过 50% EtOAc/己烷作为洗脱液的硅胶柱色谱法纯化以获得化合物 5 (49.6g, 74%)。

[0773] $^1\text{H-NMR}$: (200MHz, DMSO-d_6): δ 7.62-7.59 (m, 1H), 7.44-7.31 (m, 5H), 7.21-7.18 (m, 3H), 7.06-6.99 (m, 2H), 5.25-5.24 (m, 1H), 5.12-4.94 (m, 2H), 4.30 (s, 1H), 4.15-4.08 (m, 1H), 3.66-3.64 (m, 3H), 3.63-3.49 (m, 2H), 3.14 (s, 1H), 2.89 (s, 1H), 2.09-2.02 (m, 2H), 1.56-

1.51 (m, 1H), 1.09–0.98 (m, 4H).

[0774] 质量 m/z : 455.1 $[M^+ + 1]$, 477.3 $[M + Na]$ 。

[0775] 2-((2S, 3R)-3-乙酰氧基-1-甲氧基-1-氧代丁-2-基氨基甲酰基)-2-苄基吡咯烷-1-羧酸苄酯 (6) 的合成:

[0776] 在室温下向化合物 5 (49g, 107.9mmol) 在 THF (30mL) 中的搅拌溶液加入 Et_3N (22.7mL, 161.8mmol) 和 Ac_2O (13.2g, 129.5mmol)。将反应混合物在室温搅拌 2h。将挥发物在减压下蒸发并将所获得的残余物用 CH_2Cl_2 稀释并用稀 HCl 洗涤。将合并的有机提取物经 Na_2SO_4 干燥并在减压下浓缩。将粗残余物通过使用 30% EtOAc/己烷作为洗脱液的柱色谱法纯化以获得化合物 6 (42g, 80%)。

[0777] ^1H-NMR : (500MHz, DMSO- d_6) (旋转异构体): δ 8.15–7.71 (m, 1H), 7.42–7.04 (m, 10H), 5.30–5.19 (m, 2H), 5.11–5.09 (m, 1H), 4.99–4.93 (m, 1H), 4.67–4.62 (m, 1H), 3.66–3.64 (m, 3H), 3.55–3.46 (m, 2H), 3.38–3.35 (m, 1H), 2.88–2.69 (m, 1H), 2.17–2.00 (m, 2H), 1.98–1.92 (m, 3H), 1.56–1.46 (m, 1H), 1.23–1.17 (m, 3H), 1.02–0.86 (m, 1H)。

[0778] LCMS m/z : 497.4 $[M^+ + 1]$ 。

[0779] (2S, 3R)-甲基-3-乙酰氧基-2-(2-苄基吡咯烷-2-甲酰胺基)-丁酸酯 (7) 的合成:

[0780] 向化合物 6 (50g, 100.9mmol) 在甲醇 (1.5L) 中的搅拌溶液于 N_2 气氛下加入 10% Pd/C。将该反应混合物在 H_2 气氛 (球囊压力) 下搅拌 4h。在原料耗尽之后 (通过 TLC), 将反应物通过硅藻土垫过滤并将滤液在减压下浓缩以获得化合物 7 (28g, 77%)。

[0781] ^1H-NMR : (500MHz, DMSO- d_6) (旋转异构体): δ 8.22–8.17 (m, 1H), 7.24–7.16 (m, 5H), 5.17 (t, 1H), 4.48–4.42 (m, 1H), 3.60–3.54 (s, 3H), 3.20 (t, 1H), 3.06–2.97 (m, 1H), 2.82–2.68 (m, 3H), 2.08–2.02 (m, 1H), 1.89 (s, 3H), 1.72–1.51 (m, 3H), 1.10 (2d, 3H)。

[0782] LCMS m/z : 363 $[M^+ + 1]$, 385 $[M + Na]$ 。

[0783] (S)-2-(2-((2S, 3R)-3-乙酰氧基-1-甲氧基-1-氧代丁-2-基氨基甲酰基)-2-苄基吡咯烷-1-羧基)-吡咯烷-1-羧酸苄酯 (8) 的合成:

[0784] 向化合物 7 (25g, 69.1mmol) 和 Na_2CO_3 (18.3g, 172.6mmol) 在 $CH_2Cl_2:H_2O$ (200mL, 1:1) 中的搅拌混合物加入 (S)-2-(氯甲酰基)吡咯烷-1-羧酸苄酯在 CH_2Cl_2 中的溶液并将反应混合物在室温搅拌 2h。将挥发物在减压下蒸发。将残余物用 CH_2Cl_2 (100mL) 稀释、过滤并将滤液在真空中浓缩。将粗残余物通过使用 60% EtOAc/己烷作为洗脱液的柱色谱法纯化以获得化合物 8 (30g, 73%)。如下制备 (S)-2-(氯甲酰基)吡咯烷-1-羧酸苄酯。在 0°C 下向 (S)-1-(苄氧基羰基)吡咯烷-2-羧酸 (20.6g, 82.8mmol) 在 CH_2Cl_2 (20mL) 中的溶液滴加 $SOCl_2$ (20.5g, 172.6mmol) 并将所得溶液回流 2h。将挥发物在减压下去除以获得 (S)-2-(氯甲酰基)吡咯烷-1-羧酸苄酯。

[0785] ^1H-NMR : (500MHz, DMSO- d_6) (旋转异构体): δ 7.36–7.23 (m, 8H), 7.15–7.12 (m, 3H), 5.21–5.15 (m, 2H), 5.04–4.92 (m, 1H), 4.57–4.50 (m, 2H), 3.88 (d, 1H), 3.65 (s, 3H), 3.54–3.46 (m, 3H), 3.21–3.13 (m, 1H), 3.02–2.90 (m, 2H), 2.19–2.02 (m, 4H), 1.97 (s, 3H), 1.89 (s, 1H), 1.77–1.65 (m, 1H), 1.17 (s, 2H), 1.06 (s, 2H)。

[0786] 质量 m/z : 594.1 $[M^+ + 1]$ 。

[0787] (2S, 3R)-3-乙酰氧基-2-(2-苄基-1-((S)-吡咯烷-2-羧基)吡咯烷-2-甲酰胺

基) 丁酸甲酯 (9) 的合成:

[0788] 向化合物 8 (30g, 50.05mmol) 在 MeOH (300mL) 中的搅拌溶液于惰性气氛下加入 10% Pd/C 并在 H₂ 气氛 (球囊压力) 下搅拌 12h。将反应混合物通过硅藻土垫过滤并在减压下浓缩。将获得的残余物用醚 (10mL) 研磨以获得呈固体的化合物 9 (21g, 90%)。

[0789] ¹H-NMR: (500MHz, CDCl₃) (旋转异构体): δ 7.88-7.87 (m, 1H), 7.30-7.26 (m, 2H), 7.24-7.21 (m, 1H), 7.13-7.12 (d, 2H), 5.44-5.43 (m, 1H), 4.76-4.74 (m, 1H), 3.94-3.92 (m, 1H), 3.84-3.81 (m, 1H), 3.75 (s, 3H), 3.50 (m, 1H), 3.26-3.12 (m, 3H), 2.90-2.88 (m, 1H), 2.23-2.15 (m, 4H), 2.04 (s, 3H), 1.87-1.77 (m, 5H), 1.27-1.24 (m, 3H)。

[0790] 质量 m/z: 460 (M+1)。

[0791] 2-((叔丁氧基羰基)氨基)丁酸 (B) 的合成:

[0792] 向 2-氨基丁酸 A (50g, 0.47mol) 在 THF:H₂O (1L, 1:1) 中的搅拌溶液加入 NaHCO₃ (80g, 0.95mol) 并将反应混合物冷却至 0°C。滴加 Boc 酸酐 (124g, 0.57mol) 并在室温保持 16h。在原料耗尽之后 (通过 TLC), 将反应物用醚洗涤并将水层用 HCl 水溶液 (pH ~ 4-5) 中和并用 EtOAc (2×250mL) 萃取。将合并的有机提取物经无水 Na₂SO₄ 干燥、过滤并在真空下浓缩以获得呈无色浓稠浆料的化合物 B (40g, 41%)。

[0793] (2S, 3R)-3-乙酰氧基-2-(2-苄基-1-((S)-1-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-羟基丙酰基)吡咯烷-2-羰基)吡咯烷-2-甲酰胺基)丁酸甲酯 (10) 的合成:

[0794] 向化合物 9 (0.6g, 1.30mmol) 和化合物 B (267mg, 1.30mmol) 在 CH₂Cl₂ (10mL) 中的搅拌混合物在氩气气氛下加入 EDCI (248mg, 1.30mmol)、HOBt (351mg, 2.60mmol)、随后加入 DIPEA (167mg, 1.30mmol)。将所得反应混合物搅拌 3h 并在室温下进一步搅拌 16h。在原料耗尽之后 (通过 TLC), 将反应物用水稀释并用 CH₂Cl₂ (2×150mL) 萃取。将分离的有机层用盐水洗涤, 经无水 Na₂SO₄ 干燥并在减压下浓缩。将粗物质通过用 50% EtOAc/己烷洗脱的硅胶柱色谱法纯化以获得呈灰白色固体的化合物 10 (0.5g, 59%)。

[0795] ¹H-NMR: (400MHz, DMSO-d₆) (旋转异构体): δ 7.30-7.24 (m, 6H), 7.12-7.10 (m, 1H), 5.29-5.20 (m, 1H), 4.79-4.60 (m, 2H), 4.55 (t, 1H), 4.38-4.30 (m, 2H), 3.79-3.60 (m, 11H), 2.21-1.87 (m, 11H), 1.36 (s, 9H), 1.25-1.15 (m, 4H)。

[0796] LCMS (ESI): 647 (M+1)。

[0797] ((2S)-1-((2S)-2-(2-(((2S, 3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)氨甲酰基)-2-苄基吡咯烷-1-羰基)吡咯烷-1-基)-3-羟基-1-氧代丙-2-基)氨基甲酸叔丁酯 (11) 的合成:

[0798] 将化合物 10 (0.5g, 0.77mmol) 在甲醇-NH₃ (5mL) 中的溶液放入密封管中并搅拌 24h。在原料耗尽之后 (通过 TLC), 将反应混合物在减压下浓缩以得到粗品。将获得的物质通过用 10% MeOH/CH₂Cl₂ 洗脱的硅胶柱色谱法纯化以获得呈灰白色固体的化合物 11 (275mg, 60%)。

[0799] ¹H-NMR: (400MHz, DMSO-d₆) (旋转异构体): δ 7.35-7.20 (m, 6H), 7.15 (d, 1H), 7.01-6.97 (m, 2H), 6.77 (d, 1H), 5.09 (d, 1H), 4.75 (t, 2H), 4.39-4.35 (m, 1H), 4.24-4.20 (m, 1H), 3.92 (dd, 1H), 3.74-3.49 (m, 6H), 3.21-3.11 (m, 2H), 2.23-1.91 (m, 6H), 1.80-1.56 (m, 2H), 1.41 (s, 9H), 1.09 (d, 3H), 0.89-0.80 (m, 1H)。

[0800] LCMS (ESI): 590 (M+1)。

[0801] 质量 (m/z): 590 ($M+1$)。

[0802] N-((2S, 3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-1-((S)-1-((S)-2-氨基-3-羟基丙酰基)吡咯烷-2-羰基)-2-苄基吡咯烷-2-甲酰胺 (CM-10) 的合成:

[0803] 向化合物 11 (175mg, 0.29mmol) 在二噁烷 (3mL) 中的搅拌溶液于 N_2 气氛下加入含 4N-HCl 的 1,4-二噁烷 (2mL) 中。将反应混合物在室温搅拌 2h。将反应混合物在减压下浓缩、用乙醚稀释并进一步再搅拌 15min。滗析醚层并在真空下干燥以获得呈灰白色固体的 CM-10 (108mg, 74%)。

[0804] 1H -NMR: (400MHz, DMSO- d_6) (旋转异构体): δ 8.29 (br s, 3H), 7.39-7.20 (m, 7H), 7.07-7.01 (m, 1H), 5.45-5.40 (m, 1H), 5.06 (d, 1H), 4.79-4.76 (m, 1H), 4.27-4.20 (m, 2H), 4.01 (d, 1H), 3.91-3.85 (m, 4H), 3.69-3.55 (m, 5H), 3.29-3.21 (m, 2H), 2.10-1.87 (m, 6H), 1.08 (s, 3H)。

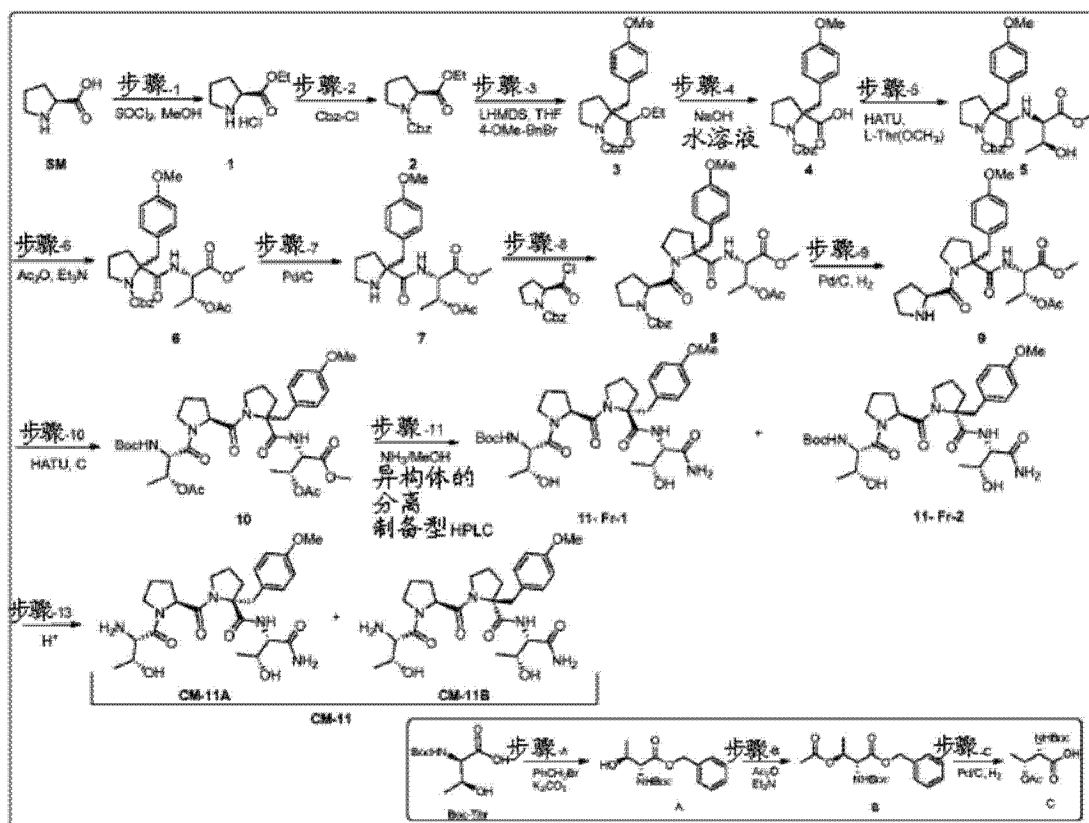
[0805] LCMS (ESI): 490 ($M+2$)。

[0806] 实施例 11 - (R)-N-((2S, 3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-1-((S)-1-((2S, 3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)-2-(4-甲氧基苄基)吡咯烷-2-甲酰胺 (CM-11A) 和 (S)-N-((2S, 3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-1-((S)-1-((2S, 3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)-2-(4-甲氧基苄基)吡咯烷-2-甲酰胺 (CM-11B) 的合成:

[0807] 使用以下反应顺序 (方案 K) 合成 (R)-N-((2S, 3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-1-((S)-1-((2S, 3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)-2-(4-甲氧基苄基)吡咯烷-2-甲酰胺 (CM-11A) 和 (S)-N-((2S, 3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-1-((S)-1-((2S, 3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)-2-(4-甲氧基苄基)吡咯烷-2-甲酰胺 (CM-11B):

[0808] 方案 K. CM-11A 和 CM-11B 的合成。

[0809]



[0810] (S)-吡咯烷-2-羧酸乙酯盐酸盐 (1) 的合成：

[0811] 向 L-脯氨酸 (SM) (110g, 956.5mmol) 在乙醇中的溶液加入亚硫酸氯 (141ml, 1911.3mmol) 并回流 16h。将反应混合物温度调节至室温并在减压下浓缩以获得呈盐酸盐的化合物 1 (170g, 99%)。该物质不经进一步纯化直接用于下一步。

[0812] (S)-吡咯烷-1,2-二羧酸 1-苄酯 2-乙酯 (2) 的合成：

[0813] 向 1 (170g, 947mmol) 在 DCM 中的溶液加入 TEA (398ml, 2.83mol) 并在 30min 之后加入 Cbz-Cl (1.136mol)。将反应混合物在室温搅拌 12h。将反应混合物用水洗涤并用 DCM 萃取。将有机层经无水 Na_2SO_4 干燥并在减压下浓缩。将粗品通过柱色谱法纯化以获得化合物 2 (230g, 88%)。

[0814] $^1\text{H-NMR}$: (200MHz, DMSO-d_6): δ 7.42-7.31 (m, 5H), 5.09 (m, 2H), 4.32-4.23 (m, 1H), 4.08-3.98 (m, 2H), 3.50-3.38 (m, 2H), 2.30-2.18 (m, 1H), 1.90-1.81 (m, 3H), 1.10-1.04 (t, 3H)。

[0815] 质量 m/z : 278 [$\text{M}^+ + 1$]。

[0816] 2-(4-甲氧基苄基)吡咯烷-1,2-二羧酸 1-苄酯 2-乙酯 (3) 的合成：

[0817] 在 -25°C 下向化合物 2 (10g, 0.038mol) 在 THF (100mL) 中的溶液于惰性气氛下加入 LiHMDS (1M 在 THF 中) (76mL, 0.076mol) 并搅拌 2h。在 -25°C 下滴加 4-甲氧基苄基溴 (11.5g, 0.057mol), 使其升温至室温并搅拌 2h。将反应混合物冷却至 5°C , 用饱和的 NH_4Cl 溶液淬灭并将水层用 EtOAc (2x200mL) 萃取。将合并的有机提取物经无水 Na_2SO_4 干燥并在减压下浓缩。将获得的粗残余物通过用 10% EtOAc/己烷洗脱的硅胶柱色谱法纯化以获得化合物 3 (11g, 75%)。

[0818] $^1\text{H-NMR}$: (400MHz, CDCl_3): δ 7.44-7.29 (m, 6H), 7.01 (t, 2H), 6.81-6.79 (m, 2H), 5.3

2 (t, 1H), 5.15 (d, 1H), 3.82 (d, 5H), 3.55 (d, 1H), 3.50 (s, 2H), 3.02 (d, 2H), 2.14-1.99 (m, 2H), 1.65-1.62 (m, 1H), 1.09-0.95 (m, 1H).

[0819] LCMS(m/z): 384.3 [M⁺+1].

[0820] 1-((苄氧基)羰基)-2-(4-甲氧基苄基)吡咯烷-2-羧酸(4)的合成:

[0821] 向化合物3(1g, 0.026mol)在CH₃OH(50mL)中的搅拌溶液加入2N NaOH水溶液(25mL)并加热直至100℃保持16h。将挥发物在减压下蒸发。将获得的残余物用冰冷的水(50mL)稀释并用醚(50mL)洗涤。将水层用2N HCl酸化至pH~2并用EtOAc(2×100mL)萃取。将合并的有机层经无水Na₂SO₄干燥并在减压下浓缩以获得化合物4(10g, 94%)。

[0822] ¹H-NMR:(400MHz, DMSO-d₆): δ 12.55 (br s, 1H), 7.49-7.65 (m, 5H), 6.99 (t, 2H), 6.78-6.75 (m, 2H), 5.25 (d, 1H), 5.11 (t, 1H), 3.72 (s, 3H), 3.51-3.42 (m, 3H), 2.99-2.95 (m, 2H), 2.15-2.09 (m, 2H), 1.62-1.57 (m, 1H), 0.98-0.94 (m, 1H).

[0823] LCMS(m/z): 368.3 [M⁺-1]

[0824] HPLC(纯度): 95%。

[0825] 2-(((2R, 3S)-3-羟基-1-甲氧基-1-氧代丁-2-基)氨甲酰基)-2-(4-甲氧基苄基)吡咯烷-1-羧酸苄酯(5)的合成:

[0826] 在5℃下向化合物4(10g, 0.027mol)、L-苏氨酸甲酯(4.5g, 0.027mol)在DCM(100mL)中的悬浮液加入HATU(10.2g, 0.027mol)和DIPEA(11.8mL, 0.067mol)。将反应混合物在RT下搅拌2h。将反应混合物用DCM(150mL)稀释,用水(2×30mL)、盐水洗涤并经Na₂SO₄干燥,浓缩并通过50% EtOAc/己烷作为洗脱液的硅胶柱色谱法纯化以获得化合物5(7.8g, 59%)。

[0827] ¹H-NMR:(400MHz, DMSO-d₆): δ 7.47-7.42 (m, 6H), 6.99-6.95 (m, 2H), 6.84-6.77 (m, 2H), 5.35-5.24 (m, 1H), 5.12-4.95 (m, 2H), 4.35-4.32 (m, 1H), 4.19-4.15 (m, 1H), 3.74 (s, 3H), 3.65 (d, 2H), 3.59-3.50 (m, 2H), 3.14-3.05 (m, 1H), 3.92-3.85 (m, 1H), 2.71 (s, 5H), 2.19-2.05 (m, 2H), 1.68-1.60 (m, 1H), 1.14-1.05 (m, 3H).

[0828] LCMS(m/z): 4858.3 [M⁺+1].

[0829] 2-(((2S, 3R)-3-乙酰氧基-1-甲氧基-1-氧代丁-2-基)-氨甲酰基)-2-(4-甲氧基苄基)吡咯烷-1-羧酸苄酯(6)的合成:

[0830] 在室温下向化合物5(7.8g, 0.016mol)在DCM(100mL)中的搅拌溶液加入Et₃N(3.36mL, 0.024mol)和Ac₂O(1.9g, 0.019mol)并搅拌2h。将挥发物在减压下蒸发并将所获得的残余物用CH₂Cl₂稀释并用稀HCl洗涤。将合并的有机提取物经Na₂SO₄干燥并在减压下浓缩。将粗残余物通过使用30% EtOAc/正己烷作为洗脱液的柱色谱法纯化以获得化合物6(7.6g, 90%)。

[0831] ¹H-NMR:(400MHz, DMSO-d₆): δ 7.45-7.40 (m, 5H), 6.99-6.95 (m, 2H), 6.82-6.75 (m, 2H), 5.31-5.25 (m, 2H), 4.62-4.55 (m, 1H), 3.74 (s, 3H), 3.65 (t, 2H), 3.09-3.01 (m, 2H), 3.19-3.10 (m, 1H), 2.92-2.87 (m, 1H), 2.21-1.99 (m, 6H), 1.59-1.45 (m, 1H), 1.25-1.15 (m, 4H).

[0832] LCMS(m/z): 527.4 [M⁺+1].

[0833] (2S, 3R)-3-乙酰氧基-2-(2-苄基吡咯烷-2-甲酰胺基)丁酸甲酯(7)的合成:

[0834] 向化合物6(7.6g, 0.014mol)在甲醇(100mL)中的搅拌溶液加入10% Pd/C(1.5g)并将该反应混合物在H₂气氛(球囊压力)下搅拌12h。将反应混合物通过硅藻土垫过滤并

将滤液在减压下浓缩以获得化合物 7 (4.5g, 80%)。

[0835] $^1\text{H-NMR}$: (400MHz, DMSO- d_6): δ 8.25 (br s, 1H), 6.81 (t, 2H), 5.2-5.17 (m, 1H), 4.52 (dd, 1H), 3.73 (d, 3H), 3.64 (d, 3H), 3.05 (br s, 1H), 2.86-2.80 (m, 2H), 2.12 (br s, 1H), 1.95 (d, 3H), 1.71-1.62 (br m, 3H), 1.12 (d, 1H), 0.82 (d, 1H)。

[0836] LCMS (m/z): 393.3 [$M^+ + 1$]。

[0837] (2S)-2-(2-(((2S, 3R)-3-乙酰氧基-1-甲氧基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基))-2-(4-甲氧基苄基)吡咯烷-1-羰基)吡咯烷-1-羧酸苄酯 (8) 的合成:

[0838] 向化合物 7 (4.5g, 11.4mmol) 和 Na_2CO_3 (3.0g, 28.0mmol) 在 CH_2Cl_2 (54mL) 和 H_2O (36mL) 中的搅拌溶液加入酰氯 (3.4g, 13.0mmol) 在 CH_2Cl_2 中的溶液并将该反应混合物在室温搅拌 2h。将挥发物在减压下蒸发。将残余物用 CH_2Cl_2 (100mL) 稀释、过滤并将滤液在减压下浓缩。将粗残余物通过使用 30% EtOAc/己烷作为洗脱剂的柱色谱纯化以获得化合物 8 (7.0g, 96%)。

[0839] $^1\text{H-NMR}$: (400MHz, DMSO- d_6): δ 7.45-7.36 (m, 4H), 7.22-6.69 (m, 3H), 5.27-5.05 (m, 2H), 4.69-4.55 (m, 1H), 3.75-3.62 (m, 4H), 3.55-3.47 (m, 3H), 3.25-3.01 (m, 1H), 2.31-1.85 (m, 6H), 1.75-1.45 (m, 1H), 1.22-1.09 (m, 3H)。

[0840] (2S, 3R)-3-乙酰氧基-2-(2-(4-甲氧基苄基)-1-((S)-吡咯烷-2-羰基)吡咯烷-2-甲酰胺基)丁酸甲酯 (9) 的合成:

[0841] 向化合物 8 (7.0g, 11.2mmol) 在 MeOH (100mL) 中的溶液加入 10% Pd/C (2.0g) 并在 H_2 气氛 (球囊压力) 下搅拌 12h。将反应混合物通过硅藻土垫过滤并在减压下浓缩以获得化合物 9 (5.4g, 99%)。

[0842] $^1\text{H-NMR}$: (400MHz, DMSO- d_6): δ 9.25 (br m, 1H), 8.01-7.85 (m, 1H), 7.11-6.99 (m, 2H), 6.85 (d, 2H), 5.29-5.22 (m, 1H), 4.65-4.60 (m, 1H), 4.44-4.22 (m, 1H), 3.72 (s, 3H), 3.55 (s, 3H), 3.49 (d, 3H), 3.39-3.30 (m, 5H), 3.15-3.09 (m, 3H), 2.25-2.20 (m, 1H), 2.02 (s, 9H), 1.65-1.60 (m, 2H), 1.21 (t, 3H)。

[0843] LCMS (m/z): 490.4 [$M^+ + 1$]。

[0844] (2S, 3R)-3-乙酰氧基-2-(1-((S)-1-((2S, 3R)-3-乙酰氧基-2-((叔丁氧基羰基)氨基)丁酰基)吡咯烷-2-羰基))-2-(4-甲氧基苄基)吡咯烷-2-甲酰胺基)丁酸甲酯 (10) 的合成:

[0845] 在 0°C 下向化合物 9 (5.4g, 81.1mmol) 在 CH_2Cl_2 (100mL) 中的溶液于惰性气氛下加入 EDCI·HCl (3.1g, 16.0mmol)、HOBt (2.2g, 16.0mmol)、随后加入 DIPEA (4.2g, 33.0mmol) 和化合物 C (3.4g, 13.0mmol)。将该反应混合物在室温搅拌 12h。将反应混合物用 EtOAc (2X75mL) 萃取并将分离的有机层用水 (200mL), 随后用盐水 (200mL) 洗涤, 经 Na_2SO_4 干燥并在减压下浓缩。将粗物质通过柱色谱法纯化以获得化合物 10 (5.8g, 72%)。

[0846] $^1\text{H-NMR}$: (400MHz, DMSO- d_6): δ 7.22-7.01 (m, 2H), 6.85-6.82 (m, 1H), 5.25-5.05 (m, 1H), 4.65-4.20 (m, 2H), 3.85-3.42 (m, 7H), 3.22-3.12 (m, 1H), 2.22-1.85 (m, 8H), 1.52 (d, 6H), 1.29-1.10 (m, 5H)。

[0847] ((2S, 3R)-1-((2S)-2-(2-(((2S, 3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基))-2-(4-甲氧基苄基)-吡咯烷-1-羰基)吡咯烷-1-基)-3-羟基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸叔丁酯 (11) 的合成:

[0848] 将化合物 10 (4g, 5.45mmol) 在甲醇-NH₃ (40mL) 中的溶液在室温搅拌 36h。将反应混合物在减压下浓缩。将获得的粗物质通过硅胶柱色谱法纯化、随后进行制备-纯化以获得化合物 11-Fr-1 (200mg) 和化合物 11-Fr-2 (150mg)。

[0849] (R)-N-((2S, 3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-1-((S)-1-((2S, 3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)-2-(4-甲氧基苄基)吡咯烷-2-甲酰胺 (CM-11A) 的合成:

[0850] 向化合物 11-Fr-1 (0.2g, 0.3mmol) 在 DCM (3mL) 中的溶液加入含 4N-HCl 的 1,4-二噁烷 (2mL) 中并在室温搅拌 2h。将反应混合物在减压下浓缩以获得呈盐酸盐的 CM-11A (0.12g, 66%)。

[0851] ¹H-NMR: (400MHz, D₂O): δ 7.32 (d, 2H), 7.05 (d, 2H), 4.99-4.95 (m, 2H), 4.42 (d, 1H), 4.37 (s, 3H), 3.81 (s, 3H), 3.74 (d, 1H), 3.72-3.65 (m, 1H), 3.62 (d, 1H), 3.35-3.30 (m, 1H), 3.29-3.25 (m, 1H), 3.22 (d, 1H), 2.51-2.50 (m, 1H), 2.35-2.30 (m, 1H), 2.19-2.05 (m, 4H), 1.75-1.72 (m, 1H), 1.55 (d, 3H), 1.25 (d, 3H), 1.21-1.15 (m, 1H)。

[0852] LCMS (m/z): 534.5 [M⁺+1]。

[0853] HPLC 纯度: 97%。

[0854] 旋光度 [α]_D²⁰: 34.33 (在水中 C = 1%)。

[0855] (S)-N-((2S, 3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-1-((S)-1-((2S, 3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)-2-(4-甲氧基苄基)吡咯烷-2-甲酰胺 (CM-11B) 的合成:

[0856] 向化合物 11-Fr-2 (0.15g, 0.2mmol) 在 DCM (3mL) 中的溶液加入含 4N-HCl 的 1,4-二噁烷 (2mL) 并在室温搅拌 2h。将反应混合物在减压下浓缩以获得呈盐酸盐的 CM-11B (90mg, 66%)。

[0857] ¹H-NMR: (400MHz, D₂O): δ 7.32 (d, 2H), 7.05 (d, 2H), 4.99-4.95 (m, 2H), 4.42 (d, 1H), 4.37 (s, 3H), 3.81 (s, 3H), 3.74 (d, 1H), 3.72-3.65 (m, 1H), 3.62 (d, 1H), 3.35-3.30 (m, 1H), 3.29-3.25 (m, 1H), 3.22 (d, 1H), 2.51-2.50 (m, 1H), 2.35-2.30 (m, 1H), 2.19-2.05 (m, 4H), 1.75-1.72 (m, 1H), 1.55 (d, 3H), 1.25 (d, 3H), 1.21-1.15 (m, 1H)。

[0858] LCMS (m/z): 534.5 [M⁺+1]。

[0859] HPLC 纯度: 92%。

[0860] 旋光度 [α]_D²⁰: -108.63 (在水中 C = 1%)。

[0861] 2-(叔丁氧基羰基氨基)-3-羟基丁酸苄酯 (A) 的合成:

[0862] 向 2-(叔丁氧基羰基氨基)-3-羟基丁酸 (Boc-Thr) (50g, 228.3mmol) 在 DMF (500mL) 中的溶液加入 K₂CO₃ (63g, 456.6mmol) 并在室温搅拌 15min。加入苄基溴 (46.83g, 273.9mmol) 并在室温搅拌 6h。将反应混合物用水 (500mL) 稀释并用 EtOAc (2×750mL) 萃取。将合并的有机层用盐水 (50mL) 洗涤, 经无水 Na₂SO₄ 干燥并在减压下浓缩。将粗物质通过使用 20% EtOAc/己烷作为洗脱液的硅胶柱色谱纯化以获得 2-(叔丁氧基羰基氨基)-3-羟基丁酸苄酯 A (52g, 73%)。

[0863] ¹H-NMR: (500MHz, DMSO-d₆): δ 7.37-7.30 (m, 5H), 6.60 (d, J = 8.5Hz, 1H), 5.18-5.08 (m, 2H), 4.76 (d, J = 7Hz, 1H), 4.08-4.00 (m, 2H), 1.38 (s, 9H), 1.09 (d, J = 6.0Hz, 3H)。

[0864] 质量 m/z: 310.0 [M⁺+1], 210 [M⁺-De Boc]。

[0865] 3-乙酰氧基-2-(叔丁氧基羰基氨基)丁酸苄酯(B)的合成:

[0866] 向2-(叔丁氧基羰基氨基)-3-羟基丁酸苄酯A(52g, 168.2mmol)在DCM(500mL)中的搅拌溶液加入Ac₂O(20.5g, 201.9mmol)、Et₃N(25.4g, 252.4mmol)和DMAP(3.5g)并在室温搅拌2h。将挥发物在减压下去除。将获得的残余物用EtOAc(750mL)稀释并用冷0.5N HCl溶液(2×200mL)洗涤。将有机层用盐水洗涤,经无水Na₂SO₄干燥并在减压下浓缩以获得3-乙酰氧基-2-(叔丁氧基羰基氨基)丁酸酯B(52g, 88%)。

[0867] ¹H-NMR: (500MHz, DMSO-d₆): δ 7.35-7.34(m, 5H), 7.27-7.25(d, J = 8.5Hz, 1H), 5.18-5.06(m, 3H), 4.34-4.32(m, 1H), 1.90(s, 3H), 1.39(s, 9H), 1.16(d, J = 3Hz, 3H)。

[0868] 质量m/z: 252[M⁺+1-De Boc]。

[0869] (2S, 3R)-3-乙酰氧基-2-(叔丁氧基羰基氨基)丁酸(C)的合成:

[0870] 将苄基-3-乙酰氧基-2-(叔丁氧基羰基氨基)丁酸酯B(52g, 148.1mmol)溶解于MeOH(1L),加入10% Pd/C并将反应混合物在氢气气氛下搅拌16h。将反应混合物经硅藻土过滤,将溶剂在减压下蒸发并将粗残余物用己烷研磨以获得(2S, 3R)-3-乙酰氧基-2-(叔丁氧基羰基氨基)丁酸C(35g, 90%)。

[0871] ¹H-NMR: (500MHz, DMSO-d₆): δ 12.78(br s, 1H), 6.94(d, J = 9.5Hz, 1H), 5.16-5.14(m, 1H), 4.17-4.15(m, 1H), 1.95(s, 3H), 1.39(s, 9H), 1.10(d, J = 6.0Hz, 3H)。

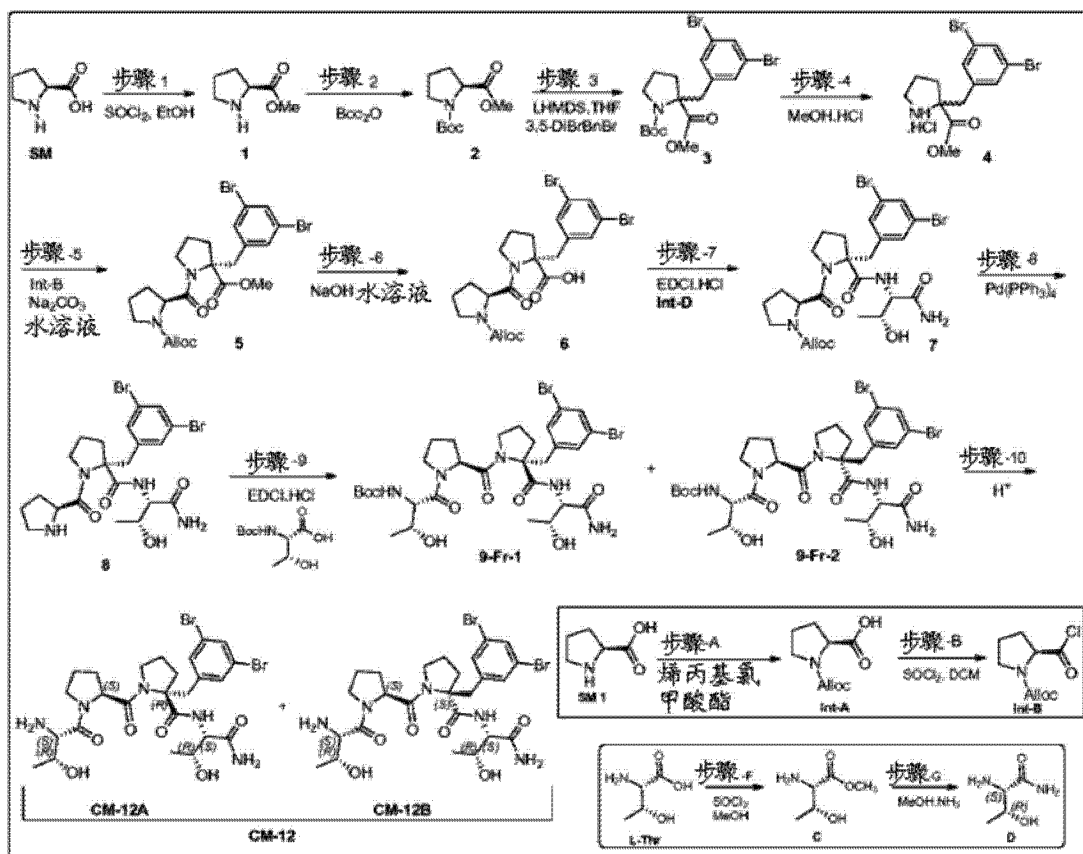
[0872] 质量m/z: 260.0[M-1]。

[0873] 实施例 12 - (R)-N-((2S, 3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-1-((S)-1-((2S, 3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)-2-(3,5-二溴苄基)吡咯烷-2-甲酰胺 (CM-12A) 和 (S)-N-((2S, 3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-1-((S)-1-((2S, 3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)-2-(3,5-二溴苄基)吡咯烷-2-甲酰胺 (CM-12B) 的合成:

[0874] 使用以下反应顺序(方案L)合成(R)-N-((2S, 3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-1-((S)-1-((2S, 3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)-2-(3,5-二溴苄基)吡咯烷-2-甲酰胺(CM-12A)和(S)-N-((2S, 3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-1-((S)-1-((2S, 3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)-2-(3,5-二溴苄基)吡咯烷-2-甲酰胺(CM-12B):

[0875] 方案L. CM-12A 和 CM-12B 的合成:

[0876]



[0877] (S)-吡咯烷-2-羧酸乙酯 (1) 的合成：

[0878] 在 0℃ 下向吡咯烷-2-羧酸 (SM) (100g, 0.87mol) 在甲醇 (800mL) 中的搅拌溶液缓慢加入亚硫酰氯 (76.9mL, 1.04mol)。将该反应混合物加热回流 12h。在原料耗尽之后 (通过 TLC)，将反应混合物在减压下浓缩以获得化合物 1 (143.9g, HCl 盐)。

[0879] ¹H-NMR: (400MHz, CDCl₃) (旋转异构体): δ 3.89 (s, 3H), 3.68-3.62 (m, 2H), 3.59-3.47 (m, 2H), 2.49-2.37 (m, 1H), 2.27-2.05 (m, 3H)。

[0880] LCMS (m/z): 166 [M⁺+1]。

[0881] 吡咯烷-1,2-二羧酸 1-叔丁酯 2-甲酯 (2) 的合成：

[0882] 在 0℃ 下向化合物 1 (35g, 0.22mol) 在 CH₂Cl₂ (175mL) 中的搅拌溶液加入 Et₃N (90mL, 0.65mol)、随后加入 Boc 酸酐 (56.9mL, 0.26mol)。将反应混合物在室温搅拌 16h。在原料耗尽之后 (通过 TLC)，将反应混合物用水 (100mL) 稀释并用 CH₂Cl₂ (2x100mL) 萃取。将有机层用水、盐水洗涤，经 Na₂SO₄ 干燥并浓缩。将获得的粗物质通过用 30% EtOAc/正己烷洗脱的硅胶柱色谱法纯化以获得化合物 2 (41g, 95%)。

[0883] ¹H-NMR: (400MHz, CDCl₃) (旋转异构体): δ 4.25-4.21 (m, 1H), 3.75 (s, 3H), 3.57-3.26 (m, 2H), 2.29-2.10 (m, 1H), 1.99-1.75 (m, 3H), 1.45 (s, 9H)。

[0884] LCMS (m/z): 130 [(M⁺+1)-Boc]。

[0885] 2-(3,5-二溴苄基)吡咯烷-1,2-二羧酸 1-丁酯 2-甲酯 (3) 的合成：

[0886] 在 -25℃ 下向化合物 2 (10g, 0.043mol) 在 THF (50mL) 中的搅拌溶液加入 LiHMDS (65.5mL, 0.065mol) 并搅拌 2h。在 -25℃ 下滴加 3,5-二溴苄基溴化物 (17.1g, 0.052mol) 并在室温搅拌 2h。在原料耗尽之后 (通过 TLC)，在 0℃ 下将反应物用 NH₄Cl 淬灭。将分离的有机层用水洗涤并用 EtOAc 萃取。将分离的有机层经 Na₂SO₄ 干

燥并在减压下浓缩以获得粗产物,将所述粗产物通过硅胶柱色谱法纯化以获得化合物 3(10g, 50%)。

[0887] $^1\text{H-NMR}$: (500MHz, DMSO-d_6): δ 7.72 (s, 1H), 7.41 (d, 2H), 3.69 (d, 3H), 3.37-3.35 (m, 2H), 3.07-3.01 (m, 1H), 2.89-2.81 (m, 1H), 2.08-2.01 (m, 2H), 1.68-1.62 (m, 1H), 1.45 (s, 9H), 1.19-1.12 (m, 1H)。

[0888] LCMS (m/z): 419.1 [$(\text{M}^+ + 1) - \text{Boc}$]。

[0889] 2-(3,5-二溴苄基)吡咯烷-2-羧酸甲酯(4)的合成:

[0890] 向化合物 3(10g, 0.016mol) 在甲醇(20mL)中的搅拌溶液于 N_2 气氛下加入 MeOH.HCl(80mL) 并在室温搅拌 8h。将挥发物在减压下蒸发以获得呈白色固体的化合物 4(8g, 93%)。

[0891] $^1\text{H-NMR}$: (400MHz, DMSO-d_6): δ 10.95 (br s, 1H), 9.45 (br s, 1H), 7.81 (s, 1H), 7.65 (s, 2H), 3.75 (s, 3H), 3.55 (d, 1H), 3.39 (d, 1H), 3.22 (br s, 1H), 2.43 (t, 1H), 2.15-2.10 (m, 2H), 1.85-1.81 (m, 1H)。

[0892] LCMS (m/z): 378 [$(\text{M}^+ - \text{HCl})$]。

[0893] (S)-1-((烯丙氧基)羰基)吡咯烷-2-羧酸(A)的合成:

[0894] 在 0°C 下向 (S)-吡咯烷-2-羧酸(SM)(5g, 0.043mol) 在 1,4-二噁烷(50mL) 和水(100mL)中的搅拌溶液加入 Na_2CO_3 (11.5g, 0.11mol)、随后加入氯甲酸烯丙酯(6.2g, 0.052mol) 并搅拌 12h。将反应混合物用 EtOAc(2x75mL) 萃取。将分离的有机层经无水 Na_2SO_4 干燥、过滤并在减压下浓缩以得到粗品;将所述粗品通过硅胶柱色谱法纯化以获得化合物 A(3.28g, 37%)。

[0895] (S)-2-((R)-2-(3,5-二溴苄基)-2-(甲氧基羰基)吡咯烷-1-羰基)吡咯烷-1-羧酸烯丙酯(5)的合成:

[0896] 向化合物 4(8g, 0.019mol) 和 Na_2CO_3 (5.1g, 0.048mol) 在 $\text{DCM}:\text{H}_2\text{O}$ (150mL, 3:2) 中的搅拌溶液加入酰氯 B 的溶液并在室温搅拌 2h。将水层用 CH_2Cl_2 (2x50mL) 萃取。将分离的有机层用水(50mL)洗涤,经无水 Na_2SO_4 干燥、过滤并在减压下浓缩。将获得的粗物质通过硅胶柱色谱法纯化以获得化合物 5(8g, 74%)。如下制备酰氯 B。在 0°C 下向化合物 A(4.6g, 0.023mol) 在 DCM 中的溶液滴加 SOCl_2 (5.7g, 0.048mol) 并将所得溶液回流 2h;将来自该反应的溶剂在减压下去除。

[0897] $^1\text{H-NMR}$: (400MHz, DMSO-d_6): δ 7.75-7.42 (m, 2H), 7.37 (s, 1H), 5.95 (br s, 1H), 9.45 (br s, 1H), 7.81 (s, 1H), 7.65 (s, 2H), 3.75 (s, 3H), 3.55 (d, 1H), 3.39 (d, 1H), 3.22 (br s, 1H), 2.43 (t, 1H), 2.15-2.10 (m, 2H), 1.85-1.81 (m, 1H)。

[0898] LCMS (m/z): 559.3 [$(\text{M}^+ + 1)$]。

[0899] (R)-1-((S)-1-((烯丙氧基)羰基)吡咯烷-2-羰基)-2-(3,5-二溴苄基)吡咯烷-2-羧酸(6)的合成:

[0900] 向化合物 5(8g, 0.014mol) 在 MeOH(50mL)中的搅拌溶液加入 2N NaOH 溶液(10mL) 并加热回流 5h。将挥发物在减压下蒸发并将获得的残余物用水稀释并用醚洗涤。将水层使用 2N HCl 溶液酸化至 $\text{pH} \sim 2$ 并用 EtOAc 萃取。将分离的有机层经无水 Na_2SO_4 干燥、过滤并在减压下浓缩以获得化合物 6(7g, 90%)。将该物质不经进一步纯化直接用于下一步。

[0901] LCMS (m/z): 543.3 [$(\text{M}^+ - 1)$]。

[0902] (2S, 3R)-2-氨基-3-羟基丁酸甲酯 (C) 的合成:

[0903] 在 0℃ 下向 (2S, 3R)-2-氨基-3-羟基丁酸 (200g, 1.68mol) 在甲醇 (1.2L) 中的搅拌溶液滴加 SOCl_2 (244mL, 3.36mol) 并搅拌 1h。将所得反应混合物回流 24h。在原料耗尽之后 (通过 TLC), 将反应物升温至室温并在减压下浓缩并用正己烷 (2x50mL) 洗涤。将残余物溶解于 EtOH (1L) 中并用 Et_3N (471mL, 3.36mol) 中和并再搅拌 2h。将沉淀的固体滤掉; 将获得的滤液在减压下浓缩以获得化合物 C (195g, 80%)。

[0904] $^1\text{H-NMR}$: (400MHz, DMSO-d_6): δ 8.51 (br s, 3H), 4.13-4.10 (m, 1H), 3.91 (br s, 1H), 1.20 (d, 3H)。

[0905] LCMS (m/z): 134.1 [$\text{M}^+ + 1$]。

[0906] (2S, 3R)-2-氨基-3-羟基丁酰胺 (D) 的合成:

[0907] 将化合物 C (190g, 1.35mol) 在 IPA (2L) 中的溶液放入高压釜中并用 NH_3 气 (7-8kg) 吹扫并在 35℃ 下搅拌 24h。然后去除 NH_3 气并将反应混合物在减压下浓缩, 加入 CH_2Cl_2 并过滤。在 78℃ 下将获得的固体在 EtOH 中回流 1h。将反应物料在加热条件下过滤并将正己烷加入至滤液中并再搅拌 4h。将获得的沉淀固体过滤并在减压下干燥以获得化合物 D (160g, 47%)。

[0908] $^1\text{H-NMR}$: (500MHz, DMSO-d_6): δ 7.38 (br s, 1H), 7.02 (br s, 1H), 4.66 (br s, 1H), 3.77-3.70 (m, 1H), 2.93 (d, 1H), 2.72 (br m, 1H), 1.05 (d, 3H)。

[0909] LCMS (m/z): 119.1 [$\text{M}^+ + 1$]。

[0910] UPLC (ELSD 纯度): 99.9%。

[0911] (S)-2-((R)-2-(((2S, 3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-(3,5-二溴苄基)吡咯烷-1-羰基)吡咯烷-1-羧酸烯丙酯 (7) 的合成:

[0912] 在 0℃ 下向化合物 6 (5g, 9.19mmol) 在 CH_2Cl_2 (100mL) 中的搅拌溶液加入 HOBt (1.8g, 13.7mmol)、EDCI·HCl (2.6g, 13.7mmol)、随后加入 DIPEA (3.5g, 27.0mmol) 和化合物 D (1.3g, 11.0mmol)。将该反应混合物在室温搅拌 12h。在原料耗尽之后 (通过 TLC), 将反应物用水淬灭并用 CH_2Cl_2 (2x100mL) 萃取。将有机层经无水 Na_2SO_4 干燥并在减压下浓缩。将粗品通过柱色谱法纯化以获得化合物 7 (5g, 84%)。

[0913] (R)-N-(((2S, 3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-2-(3,5-二溴苄基)-1-((S)-吡咯烷-2-羰基)吡咯烷-2-甲酰胺 (8) 的合成:

[0914] 在室温下向化合物 7 (1g, 1.35mmol) 在 THF (50mL) 中的搅拌溶液加入 DABCO (1.3g, 12.4mmol)、随后加入 $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (358mg, 0.3mmol) 并搅拌 30min。将反应混合物用 EtOAc (75mL) 和饱和的 NaHCO_3 溶液 (75mL) 稀释。将分离的有机层经无水 Na_2SO_4 干燥并在减压下浓缩以获得化合物 8 (560mg, 64%)。将该物质不经进一步纯化直接用于下一步。

[0915] ((2S, 3R)-1-((S)-2-((R)-2-(((2S, 3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基)-2-(3,5-二溴苄基)吡咯烷-1-羰基)吡咯烷-1-基)-3-羟基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸叔丁酯 (9) 的合成:

[0916] 在 0℃ 下向化合物 8 (1.8g, 3.20mmol) 在 CH_2Cl_2 (100mL) 中的搅拌溶液加入 EDCI·HCl (0.916g, 4.80mmol)、HOBt (0.65g, 4.80mmol)、随后加入 DIPEA (1.7mL, 9.60mmol) 和 (2S, 3R)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-羟基丁酸 (0.84g, 3.80mmol)。将该反应混合物在室温搅拌 12h。将反应混合物用水 (100mL) 淬灭并用 CH_2Cl_2 (2x150mL) 萃取。将分离的有

机层用盐水洗涤、经无水 Na_2SO_4 干燥、过滤并在减压下浓缩以获得粗产物；将所述粗产物通过硅胶柱色谱法纯化、随后通过制备型 HPLC 纯化以获得化合物 9-Fr-1 (140mg) 和化合物 9-Fr-2 (150mg)。

[0917] 化合物 9-Fr-1 的手性 HPLC 数据：

[0918] $^1\text{H-NMR}$: (400MHz, DMSO-d_6) : δ 7.71 (d, 3H), 7.21 (s, 1H), 6.99–6.75 (m, 2H), 6.59 (d, 1H), 5.01 (d, 1H), 4.65–4.60 (m, 2H), 4.19 (t, 2H), 3.99 (d, 1H), 3.89–3.85 (m, 2H), 3.65–3.61 (m, 2H), 3.44–3.39 (m, 3H), 2.25–2.15 (m, 1H), 2.02–1.95 (m, 5H), 1.75–1.72 (m, 1H), 1.35 (s, 9H), 1.25 (d, 3H), 1.19 (d, 3H), 0.99–0.95 (m, 1H)。

[0919] HPLC: 99.83%。

[0920] LCMS (m/z) : 762.3 $[\text{M}^+ + 1]$ 。

[0921] 化合物 9-Fr-2 的手性 HPLC 数据：

[0922] $^1\text{H-NMR}$: (400MHz, DMSO-d_6) : δ 7.71 (d, 3H), 7.21 (s, 1H), 6.99–6.75 (m, 2H), 6.59 (d, 1H), 5.01 (d, 1H), 4.65–4.60 (m, 2H), 4.19 (t, 2H), 3.99 (d, 1H), 3.89–3.85 (m, 2H), 3.65–3.61 (m, 2H), 3.44–3.39 (m, 3H), 2.25–2.15 (m, 1H), 2.02–1.95 (m, 5H), 1.75–1.72 (m, 1H), 1.35 (s, 9H), 1.25 (d, 3H), 1.19 (d, 3H), 0.99–0.95 (m, 1H)。

[0923] HPLC: 92%。

[0924] LCMS (m/z) : 762.2 $[\text{M}^+ + 1]$ 。

[0925] (R)-N-((2S, 3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-1-((S)-1-((2S, 3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)-2-(3,5-二溴苄基)吡咯烷-2-甲酰胺 (CM-12A) 的合成：

[0926] 在 0°C 下向化合物 9-Fr-1 (140mg, 0.183mmol) 在 CH_2Cl_2 (3mL) 中的搅拌溶液于 N_2 气氛下加入二噁烷·HCl (2mL)。将反应混合物在室温搅拌 2h。将反应混合物在减压下浓缩以获得 CM-12A (120mg, 93%)。

[0927] $^1\text{H-NMR}$: (400MHz, D_2O) : δ 7.84 (s, 1H), 7.61 (s, 2H), 4.39 (d, 4H), 3.92–3.85 (m, 4H), 3.65–3.62 (m, 2H), 3.45 (d, 1H), 2.59–2.55 (m, 1H), 2.48–2.44 (m, 2H), 2.15–2.19 (m, 3H), 1.91–1.87 (m, 1H), 1.60 (s, 3H), 1.25 (s, 3H)。

[0928] LCMS (m/z) : 662 (M+1)。

[0929] HPLC: 97.55%。

[0930] 旋光度 $[\alpha]_D^{20}$: +29.21 (在水中 $C = 0.5\%$)。

[0931] (S)-N-((2S, 3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-1-((S)-1-((2S, 3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)-2-(3,5-二溴苄基)吡咯烷-2-甲酰胺 (CM-12B) 的合成：

[0932] 在 0°C 下向化合物 9-Fr-2 (150mg, 0.197mmol) 在 CH_2Cl_2 (3mL) 中的搅拌溶液于 N_2 气氛下加入二噁烷·HCl (2mL)。将反应混合物在室温搅拌 2h。将反应混合物在减压下浓缩以获得 CM-12B (130mg, 94%)。

[0933] $^1\text{H-NMR}$: (400MHz, D_2O) : δ 7.84 (s, 1H), 7.61 (s, 2H), 4.39 (d, 4H), 3.92–3.85 (m, 4H), 3.65–3.62 (m, 2H), 3.45 (d, 1H), 2.59–2.55 (m, 1H), 2.48–2.44 (m, 2H), 2.15–2.19 (m, 3H), 1.91–1.87 (m, 1H), 1.60 (s, 3H), 1.25 (s, 3H)。

[0934] LCMS (m/z) : 662 (M+1)。

[0935] HPLC:92.11%。

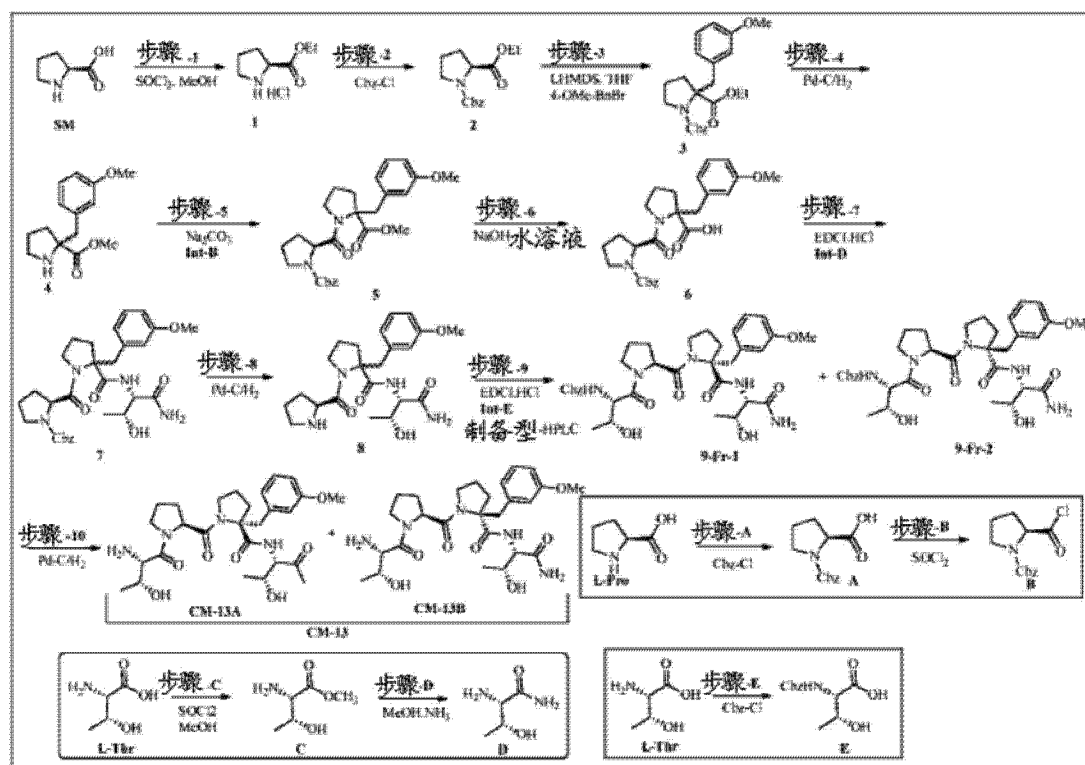
[0936] 旋光度 $[\alpha]_D^{20}$: -78.70 (在水中 $C = 0.5\%$)。

[0937] 实施例 13 - (R)-N-((2S,3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-1-((S)-1-((2S,3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)-2-(3-甲氧基苄基)吡咯烷-2-甲酰胺 (CM-13A) 和 N-((2S,3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-1-((S)-1-((2S,3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)-2-(3-甲氧基苄基)吡咯烷-2-甲酰胺 (CM-13B) 的合成:

[0938] 使用以下反应顺序 (方案 M) 合成 (R)-N-((2S,3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-1-((S)-1-((2S,3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)-2-(3-甲氧基苄基)吡咯烷-2-甲酰胺 (CM-13A) 和 N-((2S,3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-1-((S)-1-((2S,3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)-2-(3-甲氧基苄基)吡咯烷-2-甲酰胺 (CM-13B):

[0939] 方案 M. CM-13A 和 CM-13B 的合成:

[0940]



[0941] (S)-1-((苄氧基)羰基)吡咯烷-2-羧酸 (A) 的合成:

[0942] 向 (S)-吡咯烷-2-羧酸 (250g, 2.17mol) 在水 (1L) 中的搅拌溶液加入 Na_2CO_3 (576g, 5.43mol) 并搅拌 1h。在冷却至 0°C 后, 将氯甲酸苄酯 (444g, 2.61mol) 滴加至反应混合物并再搅拌 1h。将所得反应混合物升温至室温并再搅拌 24h。在原料耗尽之后 (通过 TLC), 将反应物用水 (1L) 和醚 (1.5L) 稀释。将分离的水层用 PhCH_3 (1.5L) 处理并使用 6N HCl 酸化。将分离的水层用 EtOAc (3x1.5L) 萃取; 将合并的有机提取物用盐水洗涤、经无水 Na_2SO_4 干燥、过滤并在减压下浓缩以获得呈浅黄色浆料的化合物 A (450g, 84%)。

[0943] $^1\text{H-NMR}$: (400MHz, DMSO-d_6): δ 12.71 (br s, 1H), 7.40-7.30 (m, 5H), 5.19-5.01 (m, 2H), 4.25 (dd, 1H), 3.51-3.50 (m, 2H), 2.29-2.15 (m, 1H), 1.89-1.80 (m, 3H)。

[0944] LCMS(m/z): 250 [M⁺+1]。

[0945] (S)-2-(氯甲酰基)吡咯烷-1-羧酸苄酯(B)的合成:

[0946] 在 0℃下向化合物 A(2.5g, 0.01mol) 在 CH₂Cl₂(50mL) 中的搅拌溶液加入 SOCl₂(2.7g, 0.02mol) 并搅拌 2h。将反应混合物在减压下浓缩以获得呈粗品的化合物 B。将该物质不经进一步纯化直接用于下一步。

[0947] (2S, 3R)-2-(((苄氧基)羰基)氨基)-3-羟基丁酸(E)的合成:

[0948] 在室温下向 NaHCO₃(529g, 6.30mol) 在水(1L) 中的搅拌溶液加入 (2S, 3R)-2-氨基-3-羟基丁酸(250g, 2.10mol) 并搅拌 30min。将反应混合物冷却至 0℃, 将 Cbz-Cl(850mL, 2.52mol, 50%于 PhCH₃上) 滴加至反应混合物并搅拌 1h。将反应混合物升温至室温并再搅拌 28h。加入 MTBE(1L) 并搅拌 20min。将分离的水层用甲苯搅拌并搅拌 20min。将水层用 1N HCl(pH ~ 1-2) 酸化并用 EtOAc(3x1.5L) 萃取。将有机层用盐水洗涤, 经无水 Na₂SO₄ 干燥并在减压下浓缩。将粗物质用二环己胺(819mL, 4.20mol) 搅拌 4h 以得到白色固体、过滤并干燥。将获得的固体用 EtOAc(1.5L) 回流 1h, 然后过滤。将固体物质溶解于水(1L) 并用稀 H₂SO₄ 酸化并再搅拌 30min。将水层用 EtOAc(3x1L) 萃取。将分离的有机层用盐水洗涤, 经无水 Na₂SO₄ 干燥、过滤并在减压下浓缩。将获得的粗物质用正己烷研磨 2h 以得到白色固体。将获得的固体物质过滤并在减压下干燥以获得化合物 E(230g, 43%)。

[0949] ¹H-NMR: (400MHz, DMSO-d₆): δ 7.35-7.32(m, 5H), 6.91(d, 1H), 5.06(s, 2H), 4.13-4.09(m, 1H), 3.99-3.95(m, 1H), 1.02(d, 3H)。

[0950] LCMS(m/z): 254.1 (M+1)。

[0951] UPLC(ELSD 纯度): 99.82%。

[0952] (2S, 3R)-2-氨基-3-羟基丁酸甲酯(C)的合成:

[0953] 在 0℃下向 (2S, 3R)-2-氨基-3-羟基丁酸(200g, 1.68mol) 在甲醇(1.2L) 中的搅拌溶液滴加 SOCl₂(244mL, 3.36mol) 并搅拌 1h。将所得反应混合物回流 24h。在原料耗尽之后(通过 TLC), 将反应物升温至室温并在减压下浓缩并用正己烷(2x50mL) 洗涤。将残余物溶解于 EtOH(1L) 中并用 Et₃N(471mL, 3.36mol) 中和并再搅拌 2h。将沉淀的固体滤掉; 将获得的滤液在减压下浓缩以获得化合物 C(195g, 80%)。

[0954] ¹H-NMR: (400MHz, DMSO-d₆): δ 8.51(br s, 3H), 4.13-4.10(m, 1H), 3.91(br s, 1H), 1.20(d, 3H)。

[0955] LCMS(m/z): 134.1 [M⁺+1]。

[0956] (2S, 3R)-2-氨基-3-羟基丁酰胺(D)的合成:

[0957] 将化合物 F(190g, 1.35mol) 在 IPA(2L) 中的溶液放入高压釜中并用 NH₃ 气(7-8kg) 吹扫并在 35℃下搅拌 24h。然后去除 NH₃ 气并将反应混合物在减压下浓缩, 加入 CH₂Cl₂ 并过滤。在 78℃下将获得的固体在 EtOH 中回流 1h。将反应物料在加热条件下过滤并将正己烷加入至滤液中并再搅拌 4h。将获得的沉淀固体过滤并在减压下干燥以获得化合物 D(160g, 47%)。

[0958] ¹H-NMR: (500MHz, DMSO-d₆): δ 7.38(br s, 1H), 7.02(br s, 1H), 4.66(br s, 1H), 3.77-3.70(m, 1H), 2.93(d, 1H), 2.72(br m, 1H), 1.05(d, 3H)。

[0959] LCMS(m/z): 119.1 [M⁺+1]。

[0960] UPLC(ELSD 纯度): 99.9%。

[0961] (S)-吡咯烷-2-羧酸乙酯盐酸盐(1)的合成:

[0962] 向 L-脯氨酸(SM)(110g, 956.5mmol)在乙醇中的溶液加入亚硫酸氯(141ml, 1911.3mmol)并回流 16h。将反应混合物温度调节至室温并在减压下浓缩以获得呈盐酸盐的化合物 1(170g, 99%)。

[0963] (S)-吡咯烷-1,2-二羧酸 1-苄酯 2-乙酯(2)的合成:

[0964] 向 1(170g, 947mmol)在 DCM 中的溶液加入 TEA(398ml, 2.83mol)并在 30min 之后加入 Cbz-Cl(1.136mol)。将反应混合物在室温搅拌 12h。将反应混合物用水洗涤并用 DCM 萃取。将有机层经无水 Na_2SO_4 干燥并在减压下浓缩。将粗品通过柱色谱法纯化以获得化合物 2(230g, 88%)。

[0965] $^1\text{H-NMR}$: (200MHz, DMSO-d_6): δ 7.42-7.31(m, 5H), 5.09(m, 2H), 4.32-4.23(m, 1H), 4.08-3.98(m, 2H), 3.50-3.38(m, 2H), 2.30-2.18(m, 1H), 1.90-1.81(m, 3H), 1.10-1.04(t, 3H)。

[0966] 质量 m/z : 278 [$\text{M}^+ + 1$]。

[0967] 2-(3-甲氧基苄基)吡咯烷-1,2-二羧酸 1-苄酯 2-乙酯(3)的合成:

[0968] 在 -25°C 下向化合物 2(10g, 37.9mmol)在干燥 THF(100mL)中的溶液于惰性气氛下加入 LiHMDS(1M 在 THF 中)(76mL, 0.076mol)并搅拌 2h。在 -25°C 下将 3-甲氧基苄基溴(9.21g, 45.59mmol)滴加至反应混合物,使其升温至室温并搅拌 30min。将该反应混合物用饱和的 NH_4Cl 溶液淬灭并将水层用 EtOAc(2x200mL)萃取。将合并的有机提取物经无水 Na_2SO_4 干燥并在减压下浓缩。将获得的粗残余物通过用 10% EtOAc/己烷洗脱的硅胶柱色谱法纯化以获得化合物 3(10g, 69%)。

[0969] $^1\text{H-NMR}$: (400MHz, CDCl_3): δ 7.41-7.32(m, 5H), 7.19-7.09(m, 1H), 6.80(t, 1H), 6.65(d, 2H), 5.30(t, 1H), 5.19(t, 1H), 3.79-3.70(m, 5H), 3.55-3.52(m, 2H), 3.10-3.07(m, 2H), 2.15-2.08(m, 1H), 1.79-1.72(m, 1H), 1.10-0.99(m, 1H)。

[0970] 2-(3-甲氧基苄基)吡咯烷-2-羧酸甲酯(4)的合成:

[0971] 向化合物 3(10g, 26.17mmol)在 CH_3OH (100mL)中的搅拌溶液加入 Pd/C(3g)并在室温下于 H_2 气氛下搅拌 10h。在原料耗尽之后(通过 TLC),将反应混合物通过硅藻土垫过滤并用 MeOH 洗涤。将获得的滤液在减压下浓缩以获得化合物 4(5.3g, 82%)。将该物质不经进一步纯化直接用于下一步。

[0972] $^1\text{H-NMR}$: (400MHz, DMSO-d_6): δ 7.15(t, 1H), 6.59-6.55(m, 3H), 3.71(s, 3H), 3.55(s, 3H), 2.99(d, 1H), 2.85-2.81(m, 3H), 2.09-2.05(m, 1H), 1.75-1.67(m, 3H)。

[0973] LCMS(m/z): 250.2 [$\text{M}^+ + 1$]。

[0974] (2S)-2-(2-(3-甲氧基苄基)-2-(甲氧基羰基)吡咯烷-1-羰基)吡咯烷-1-羧酸苄酯(5)的合成:

[0975] 在室温下向化合物 4(4.3g, 17.47mmol)在 $\text{DCM}:\text{H}_2\text{O}$ (700mL, 2:5)中的悬浮液加入 Na_2CO_3 (4.6g, 43.69mmol)、随后加入 Int-B(5.2g, 20.97mmol)在 DCM 中的溶液并搅拌 2h。将有机层用盐水洗涤,经 Na_2SO_4 干燥,在减压下浓缩以获得呈粗品的化合物 5(7g)。将该物质不经进一步纯化直接用于下一步。

[0976] (S)-1-(1-((苄氧基)羰基)吡咯烷-2-羰基)-2-(3-甲氧基苄基)吡咯烷-2-羧酸(6)的合成:

[0977] 向化合物 5 (7g, 14.58mmol) 在 MeOH (100mL) 中的搅拌溶液加入 1N NaOH 溶液 (100mL) 并在回流温度下搅拌 5h。将挥发物在减压下蒸发并将获得的残余物用水稀释并使用饱和的柠檬酸溶液调节 pH ~ 2。将水层用 EtOAc 萃取。将合并的有机提取物经 Na₂SO₄ 干燥并在减压下浓缩以获得呈粗品的化合物 6 (7.6g)。

[0978] ¹H-NMR: (400MHz, DMSO-d₆): δ 12.45 (br s, 1H), 7.85-7.75 (m, 4H), 6.99-6.82 (m, 2H), 5.34-5.29 (m, 1H), 3.74 (d, 1H), 3.65-3.41 (m, 2H), 3.39-3.34 (m, 1H), 3.01 (t, 1H), 2.25-2.21 (m, 1H), 2.01-1.92 (m, 3H), 1.12 (t, 1H)。

[0979] LCMS (m/z): 467 [M⁺+1]。

[0980] (S)-2-(2-(((2S, 3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)氨甲酰基)-2-(3-甲氧基苄基)吡咯烷-1-羰基)吡咯烷-1-羧酸苄酯 (7) 的合成:

[0981] 在 0 °C 下向化合物 6 (2g, 4.29mmol) 在 CH₂Cl₂ (30mL) 中的搅拌溶液加入 EDCI·HCl (1.23g, 6.43mmol)、HOBt (869mg, 6.43mmol)、随后加入 DIPEA (1.66g, 12.87mmol) 和化合物 D (506mg, 4.29mmol)。将反应混合物在室温搅拌 12h。在原料耗尽之后 (通过 TLC), 将反应物用水淬灭并用 CH₂Cl₂ (2x100mL) 萃取。将有机层经无水 Na₂SO₄ 干燥并在减压下浓缩。将粗品通过柱色谱法纯化以获得化合物 7 (1.5g, 61%)。

[0982] ¹H-NMR: (400MHz, DMSO-d₆): δ 7.49-7.37 (m, 6H), 7.11-6.92 (m, 2H), 6.88-6.82 (m, 2H), 5.35-5.01 (m, 2H), 4.89-4.52 (m, 1H), 4.22 (d, 1H), 4.01-3.84 (m, 1H), 3.72 (d, 2H), 3.62-3.55 (m, 4H), 3.22-3.18 (m, 1H), 2.22-1.75 (m, 5H), 1.09 (br s, 3H)。

[0983] N-(((2S, 3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-2-(3-甲氧基苄基)-1-((S)-吡咯烷-2-羰基)吡咯烷-2-甲酰胺 (8) 的合成:

[0984] 向化合物 7 (1.5g, 2.65mmol) 在 MeOH (20mL) 中的搅拌溶液加入 10% Pd/C (0.4g) 并在室温下于 H₂ 气氛下搅拌 6h。在原料耗尽之后 (通过 TLC), 将反应混合物通过硅藻土垫过滤并将滤液在减压下浓缩以获得呈白色固体的化合物 8 (1g, 87%)。

[0985] ¹H-NMR: (400MHz, DMSO-d₆): δ 7.22-7.18 (m, 2H), 7.08-7.01 (m, 1H), 6.98 (br s, 1H), 6.84 (t, 1H), 6.75-6.71 (m, 2H), 5.05 (d, 1H), 4.23 (t, 1H), 5.09 (br s, 1H), 3.95 (d, 1H), 3.74 (s, 4H), 3.61 (t, 2H), 3.09-3.01 (m, 2H), 2.72-2.68 (m, 1H), 2.17-2.01 (m, 3H), 1.85-1.80 (m, 5H), 1.08 (d, 3H)。

[0986] LCMS (m/z): 433 [M⁺+1]。

[0987] ((2S, 3R)-1-((S)-2-(2-(((2S, 3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)氨甲酰基)-2-(3-甲氧基苄基)吡咯烷-1-羰基)吡咯烷-1-基)-3-羟基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸苄酯 (9) 的合成:

[0988] 在 0 °C 下向化合物 8 (2g, 4.62mmol) 在 CH₂Cl₂ (30mL) 中的搅拌溶液加入 HOBt (937mg, 6.94mmol)、EDCI·HCl (1.32g, 6.93mmol)、随后加入 DIPEA (1.79g, 13.82mmol) 和化合物 E (1.17g, 4.62mmol)。将反应混合物在室温搅拌 12h。在原料耗尽之后 (通过 TLC), 将反应物用水淬灭并用 CH₂Cl₂ (2x100mL) 萃取。将有机层经无水 Na₂SO₄ 干燥并在减压下浓缩。将粗品通过柱色谱法纯化、然后通过制备型 HPLC 纯化以获得呈白色固体的化合物 9-Fr-1 (0.5g) 和化合物 9-Fr-2 (0.1g)。

[0989] 化合物 9-Fr-1 的手性 HPLC 数据:

[0990] ¹H-NMR: (400MHz, DMSO-d₆): δ 7.39 (s, 4H), 7.19-7.15 (m, 2H), 7.09-7.02 (m, 2H), 6

. 75-6. 71 (m, 2H), 5. 10-4. 99 (m, 2H), 4. 76-4. 71 (m, 1H), 4. 29-4. 21 (m, 1H), 4. 07-3. 87 (m, 2H), 3. 71 (d, 2H), 3. 65-3. 62 (m, 1H), 3. 45 (d, 1H), 3. 21-3. 14 (m, 1H), 2. 15-2. 01 (m, 5H), 1. 72 (br m, 1H), 1. 22-1. 15 (m, 2H), 1. 05 (t, 2H).

[0991] HPLC:41. 56%。

[0992] LCMS(m/z):668[M⁺+1]。

[0993] 化合物 9-Fr-2 的手性 HPLC 数据:

[0994] ¹H-NMR:(400MHz, DMSO-d₆): δ 7. 391 (s, 4H), 7. 19-7. 15 (m, 2H), 7. 09-7. 02 (m, 2H), 6. 75-6. 71 (m, 2H), 5. 10-4. 99 (m, 2H), 4. 76-4. 71 (m, 1H), 4. 29-4. 21 (m, 1H), 4. 07-3. 87 (m, 2H), 3. 71 (d, 2H), 3. 65-3. 62 (m, 1H), 3. 45 (d, 1H), 3. 21-3. 14 (m, 1H), 2. 15-2. 01 (m, 5H), 1. 72 (br m, 1H), 1. 22-1. 15 (m, 2H), 1. 05 (t, 2H).

[0995] HPLC:58. 43%。

[0996] LCMS(m/z):762. 2[M⁺+1]。

[0997] (R)-N-((2S, 3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-1-((S)-1-((2S, 3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)-2-(3-甲氧基苄基)吡咯烷-2-甲酰胺 (CM-13A) 的合成:

[0998] 向化合物 9-Fr-1 (0. 5g, 0. 0. 09mol) 在 DCM(2mL) 中的溶液加入醚 HCl (2mL) 并在室温搅拌 1h。将反应混合物在减压下浓缩以获得呈白色固体的 CM-13A (45mg, 84%)。

[0999] ¹H-NMR:(400MHz, DMSO-d₆): δ 8. 01 (br s, 3H), 7. 35 (d, 1H), 7. 21 (t, 1H), 7. 09 (s, 1H), 7. 01 (s, 1H), 6. 89 (d, 1H), 6. 69 (s, 2H), 5. 49 (br s, 1H), 4. 69 (t, 1H), 4. 35-4. 31 (m, 1H), 4. 15 (d, 1H), 4. 09 (br m, 1H), 3. 91-3. 85 (m, 4H), 3. 75-3. 71 (m, 1H), 3. 49 (d, 2H), 3. 19 (s, 2H), 3. 12 (d, 1H), 2. 21-2. 15 (m, 1H), 2. 12-2. 05 (m, 3H), 1. 97-1. 92 (m, 3H), 1. 75-1. 71 (m, 1H), 1. 41 (d, 3H), 1. 09 (d, 3H).

[1000] LCMS(m/z):534[M⁺+1]。

[1001] HPLC 纯度:94%。

[1002] N-((2S, 3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-1-((S)-1-((2S, 3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)-2-(3-甲氧基苄基)吡咯烷-2-甲酰胺 (CM-13B) 的合成:

[1003] 向化合物 9-Fr-2 (0. 1g, 0. 187mmol) 在 DCM(3mL) 中的溶液加入醚 HCl (2mL) 并在室温搅拌 1h。将反应混合物在减压下浓缩以获得呈白色固体的 CM-13B (80mg, 75%)。

[1004] ¹H-NMR:(400MHz, DMSO-d₆): δ 8. 01 (br s, 3H), 7. 35 (d, 1H), 7. 21 (t, 1H), 7. 09 (s, 1H), 7. 01 (s, 1H), 6. 89 (d, 1H), 6. 69 (s, 2H), 5. 49 (br s, 1H), 4. 69 (t, 1H), 4. 35-4. 31 (m, 1H), 4. 15 (d, 1H), 4. 09 (br m, 1H), 3. 91-3. 85 (m, 4H), 3. 75-3. 71 (m, 1H), 3. 49 (d, 2H), 3. 19 (s, 2H), 3. 12 (d, 1H), 2. 21-2. 15 (m, 1H), 2. 12-2. 05 (m, 3H), 1. 97-1. 92 (m, 3H), 1. 75-1. 71 (m, 1H), 1. 41 (d, 3H), 1. 09 (d, 3H).

[1005] LCMS(m/z):534[M⁺+1]。

[1006] HPLC 纯度:92%。

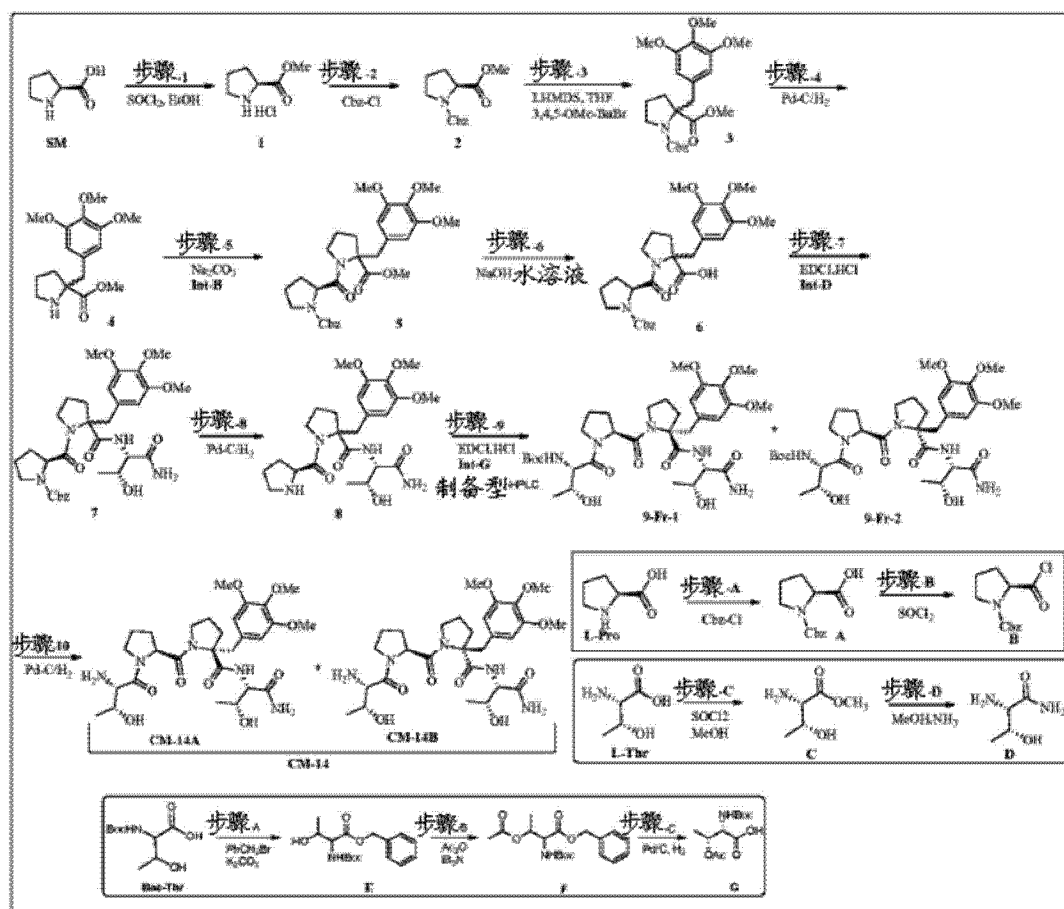
[1007] 实施例 14 - (R)-N-((2S, 3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-1-((S)-1-((2S, 3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)-2-(3, 4, 5-三甲氧基苄基)吡咯烷-2-甲酰胺 (CM-14A) 和 (S)-N-((2S, 3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代

丁-2-基)-1-((S)-1-((2S,3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)-2-(3,4,5-三甲氧基苄基)吡咯烷-2-甲酰胺 (CM-14B) 的合成:

[1008] 使用以下反应顺序 (方案 N) 合成 (R)-N-((2S,3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-1-((S)-1-((2S,3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)-2-(3,4,5-三甲氧基苄基)吡咯烷-2-甲酰胺 (CM-14A) 和 (S)-N-((2S,3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-1-((S)-1-((2S,3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)-2-(3,4,5-三甲氧基苄基)吡咯烷-2-甲酰胺 (CM-14B):

[1009] 方案 N. CM-14A 和 CM-14B 的合成:

[1010]



[1011] (S)-1-((苄氧基)羰基)吡咯烷-2-羧酸 (A) 的合成:

[1012] 向 (S)-吡咯烷-2-羧酸 (250g, 2.17mol) 在水 (1L) 中的搅拌溶液加入 Na₂CO₃ (576g, 5.43mol) 并搅拌 1h。在冷却至 0°C 后, 将氯甲酸苄酯 (444g, 2.61mol) 滴加至反应混合物并再搅拌 1h。将所得反应混合物升温至室温并再搅拌 24h。在原料耗尽之后 (通过 TLC), 将反应物用水 (1L) 和醚 (1.5L) 稀释。将分离的水层用 PhCH₃ (1.5L) 处理并使用 6N HCl 酸化。将水层用 EtOAc (3x1.5L) 萃取。将合并的有机提取物用盐水洗涤, 经无水 Na₂SO₄ 干燥, 过滤并在减压下浓缩以获得呈浅黄色浆料的化合物 A (450g, 84%)。

[1013] ¹H-NMR: (400MHz, DMSO-d₆): δ 12.71 (br s, 1H), 7.40-7.30 (m, 5H), 5.19-5.01 (m, 2H), 4.25 (dd, 1H), 3.51-3.50 (m, 2H), 2.29-2.15 (m, 1H), 1.89-1.80 (m, 3H)。

[1014] LCMS (m/z): 250 [M⁺+1]。

[1015] (S)-2-(氯甲酰基)吡咯烷-1-羧酸苄酯(B)的合成:

[1016] 在 0℃下向化合物 A(2.5g, 0.01mol) 在 CH_2Cl_2 (50mL) 中的搅拌溶液加入 SOCl_2 (2.7g, 0.02mol) 并搅拌 2h。将反应混合物在减压下浓缩以获得呈粗品的化合物 B。将该物质不经进一步纯化直接用于下一步。

[1017] (2S, 3R)-2-氨基-3-羟基丁酸甲酯(C)的合成:

[1018] 在 0℃下向 (2S, 3R)-2-氨基-3-羟基丁酸 (200g, 1.68mol) 在甲醇 (1.2L) 中的搅拌溶液滴加 SOCl_2 (244mL, 3.36mol) 并搅拌 1h。将所得反应混合物回流 24h。在原料耗尽之后(通过 TLC), 将反应混合物升温至室温并在减压下浓缩并用正己烷 (2x50mL) 淬析。将残余物溶解于 EtOH (1L) 中并用 Et_3N (471mL, 3.36mol) 中和并再搅拌 2h。将沉淀的固体滤掉; 将获得的滤液在减压下浓缩以获得化合物 C (195g, 80%)。

[1019] $^1\text{H-NMR}$: (400MHz, DMSO-d_6): δ 8.51 (br s, 3H), 4.13-4.10 (m, 1H), 3.91 (br s, 1H), 1.20 (d, 3H)。

[1020] LCMS(m/z): 134.1 [M^+ +1]。

[1021] (2S, 3R)-2-氨基-3-羟基丁酰胺(D)的合成:

[1022] 将化合物 F (190g, 1.35mol) 在 IPA (2L) 中的溶液放入高压釜中并用 NH_3 气 (7-8kg) 吹扫并在 35℃下搅拌 24h。然后去除 NH_3 气并将反应混合物在减压下浓缩, 加入 CH_2Cl_2 并过滤。在 78℃下将获得的固体在 EtOH 中回流 1h。将反应物料在加热条件下过滤并将正己烷加入至滤液中并再搅拌 4h。将获得的沉淀固体过滤并在减压下干燥以获得化合物 D (160g, 47%)。

[1023] $^1\text{H-NMR}$: (500MHz, DMSO-d_6): δ 7.38 (br s, 1H), 7.02 (br s, 1H), 4.66 (br s, 1H), 3.77-3.70 (m, 1H), 2.93 (d, 1H), 2.72 (br m, 1H), 1.05 (d, 3H)。

[1024] LCMS(m/z): 119.1 [M^+ +1]。

[1025] UPLC(ELSD 纯度): 99.9%。

[1026] 2-(叔丁氧基羰基氨基)-3-羟基丁酸苄酯(E)的合成:

[1027] 向 2-(叔丁氧基羰基氨基)-3-羟基丁酸 (50g, 228.3mmol) 在 DMF (500mL) 中的溶液加入 K_2CO_3 (63g, 456.6mmol) 并在室温搅拌 15min。加入苄基溴 (46.83g, 273.9mmol) 并在室温搅拌 6h。将反应混合物用水 (500mL) 稀释并用 EtOAc (2x750mL) 萃取。将合并的有机层用盐水 (50mL) 洗涤, 经无水 Na_2SO_4 干燥并在减压下浓缩。将粗物质通过用 20% EtOAc/ 己烷洗脱的硅胶柱色谱法纯化以获得 2-(叔丁氧基羰基氨基)-3-羟基丁酸苄酯 E (52g, 73%)。

[1028] $^1\text{H-NMR}$: (500MHz, DMSO-d_6): δ 7.37-7.30 (m, 5H), 6.60 (d, 1H), 5.18-5.08 (m, 2H), 4.76 (d, 1H), 4.08-4.00 (m, 2H), 1.38 (s, 9H), 1.09 (d, 3H)。

[1029] 质量 m/z: 310.0 [M^+ +1], 210 [M^+ -De Boc]。

[1030] 3-乙酰氧基-2-(叔丁氧基羰基氨基)丁酸苄酯(F)的合成:

[1031] 向化合物 E (52g, 168.2mmol) 在 CH_2Cl_2 (500mL) 中的搅拌溶液加入 Ac_2O (20.5g, 201.9mmol)、 Et_3N (25.4g, 252.4mmol) 和 DMAP (3.5g) 并在室温搅拌 2h。将挥发物在减压下去除。将获得的残余物用 EtOAc (750mL) 稀释并用冷 0.5N HCl 溶液 (2x200mL) 洗涤。将有机层用盐水洗涤, 经无水 Na_2SO_4 干燥并在减压下浓缩以获得 3-乙酰氧基-2-(叔丁氧基羰基氨基)丁酸酯 F (52g, 88%)。

[1032] $^1\text{H-NMR}$: (500MHz, DMSO- d_6): δ 7.35–7.34 (m, 5H), 7.27–7.25 (d, 1H), 5.18–5.06 (m, 3H), 4.34–4.32 (m, 1H), 1.90 (s, 3H), 1.39 (s, 9H), 1.16 (d, 3H).

[1033] 质量 m/z : 252 [M^+ +1-De Boc]。

[1034] (2S, 3R)-3-乙酰氧基-2-(叔丁氧基羰基氨基)丁酸 (G) 的合成:

[1035] 向化合物 F (52g, 148.1mmol) 在 MeOH (1L) 中的搅拌溶液于 N_2 气氛下加入 10% Pd/C 并将反应混合物在氢气气氛下搅拌 16h。将反应混合物通过硅藻土垫过滤, 将获得的滤液在减压下蒸发并将粗残余物用己烷研磨以获得 (2S, 3R)-3-乙酰氧基-2-(叔丁氧基羰基氨基)丁酸 G (35g, 90%)。

[1036] $^1\text{H-NMR}$: (500MHz, DMSO- d_6): δ 12.78 (br s, 1H), 6.94 (d, 1H), 5.16–5.14 (m, 1H), 4.17–4.15 (m, 1H), 1.95 (s, 3H), 1.39 (s, 9H), 1.10 (d, 3H)。

[1037] 质量 m/z : 260.0 [$M-1$]。

[1038] (S)-吡咯烷-2-羧酸甲酯盐酸盐 (1) 的合成:

[1039] 向 L-脯氨酸 (SM) (110g, 956.5mmol) 在甲醇中的溶液加入亚硫酸氯 (141ml, 1911.3mmol) 并回流 16h。将反应混合物温度调节至室温并在减压下浓缩以获得呈盐酸盐的化合物 1 (170g, 99%)。

[1040] (S)-吡咯烷-1,2-二羧酸 1-苄酯 2-甲酯 (2) 的合成:

[1041] 向 1 (170g, 947mmol) 在 DCM 中的溶液加入 TEA (398ml, 2.83mol) 并在 30min 之后加入 Cbz-Cl (1.136mol)。将反应混合物在室温搅拌 12h。将反应混合物用水洗涤并用 DCM 萃取。将有机层经无水 Na_2SO_4 干燥并在减压下浓缩。将粗品通过柱色谱法纯化以获得化合物 2 (230g, 88%)。

[1042] $^1\text{H-NMR}$: (200MHz, DMSO- d_6): δ 7.42–7.31 (m, 5H), 5.09 (m, 2H), 4.32–4.23 (m, 1H), 4.08–3.98 (m, 2H), 3.50–3.38 (m, 2H), 2.30–2.18 (m, 1H), 1.90–1.81 (m, 3H), 1.10–1.04 (t, 3H)。

[1043] 质量 m/z : 278 [M^+ +1]。

[1044] 2-(3,4,5-三甲氧基苄基)吡咯烷-1,2-二羧酸 1-苄酯 2-甲酯 (3) 的合成:

[1045] 在 -25°C 下向化合物 2 (3.4g, 12.9mmol) 在干燥 THF (60mL) 中的溶液于惰性气氛下加入 LiHMDS (1M 在 THF 中) (25mL, 25.0mmol) 并搅拌 2h。在 -25°C 下将 5-(溴甲基)-1,2,3-三甲氧基苯 (4g, 15.5mmol) 滴加至反应混合物。将其升温至室温并搅拌 2h。将反应混合物用饱和的 NH_4Cl 溶液淬灭并将水层用 EtOAc (2x200mL) 萃取。将合并的有机提取物经无水 Na_2SO_4 干燥并在减压下浓缩。将获得的粗残余物通过用 15% EtOAc/己烷洗脱的硅胶柱色谱法纯化以获得化合物 3 (4.8g, 84%)。

[1046] LCMS (m/z): 444.4 [M^+ +1]。

[1047] HPLC: 92%。

[1048] 2-(3,4,5-三甲氧基苄基)吡咯烷-2-羧酸甲酯 (4) 的合成:

[1049] 向化合物 3 (4.8g, 10.8mmol) 在 CH_3OH (40mL) 中的搅拌溶液加入 Pd/C (1.5g) 并在室温下于 H_2 气氛下搅拌 16h。在原料耗尽之后 (通过 TLC), 将反应混合物通过硅藻土垫过滤并用 MeOH 洗涤。将获得的滤液在减压下浓缩以获得化合物 4 (3.0g, 90%)。

[1050] $^1\text{H-NMR}$: (400MHz, DMSO- d_6): δ 6.49 (s, 2H), 3.72 (s, 6H), 3.61 (s, 6H), 2.99 (d, 1H), 2.85–2.81 (m, 2H), 2.78 (d, 1H), 2.12–2.07 (m, 1H), 1.79–1.71 (m, 3H)。

[1051] LCMS(m/z):310.2[M⁺+1]。

[1052] (2S)-2-(2-(甲氧基羰基)-2-(3,4,5-三甲氧基苄基)-吡咯烷-1-羰基)吡咯烷-1-羧酸苄酯(5)的合成:

[1053] 在室温下向化合物5(3g, 9.70mmol)在DCM:H₂O(45mL, 5:4)中的悬浮液加入Na₂CO₃(2.5g, 24.20mmol)、随后加入Int-B(3.2g, 11.60mmol)在DCM中的溶液并搅拌2h。将有机层用盐水洗涤,经Na₂SO₄干燥,在减压下浓缩以获得呈粗品的化合物5(4.6g)。将该物质不经进一步纯化直接用于下一步。

[1054] LCMS(m/z):541.3[M⁺+1]。

[1055] (S)-1-(1-((苄氧基)羰基)吡咯烷-2-羰基)-2-(3,4,5-三甲氧基苄基)吡咯烷-2-羧酸(6)的合成:

[1056] 向化合物5(4.6g, 8.80mmol)在MeOH(40mL)中的搅拌溶液加入2N NaOH溶液(10mL)并在回流温度下搅拌16h。将挥发物在减压下蒸发并将获得的残余物用水稀释并使用1N HCl溶液调节pH~2。将水层用EtOAc萃取。将合并的有机提取物经Na₂SO₄干燥并在减压下浓缩以获得呈粗品的化合物6(4g)。

[1057] (S)-2-(2-(((2S,3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基))-2-(3,4,5-三甲氧基苄基)吡咯烷-1-羰基)吡咯烷-1-羧酸苄酯(7)的合成:

[1058] 在0℃下向化合物6(4g, 7.60mmol)在CH₂Cl₂(50mL)中的搅拌溶液加入HOBt(1.5g, 11.40mmol)、EDCI·HCl(2.10g, 11.40mmol)、随后加入DIPEA(4.1mL, 22.8mmol)和化合物D(987mg, 8.00mmol)。将该反应混合物在室温搅拌16h。在原料耗尽之后(通过TLC),将反应物用水淬灭并用CH₂Cl₂(2x100mL)萃取。将有机层经无水Na₂SO₄干燥并在减压下浓缩以获得粗产物,所述粗产物通过柱色谱法纯化以获得化合物7(3g, 63%)。

[1059] LCMS(m/z):625.6[M⁺-1]。

[1060] N-(((2S,3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-1-((S)-吡咯烷-2-羰基))-2-(3,4,5-三甲氧基苄基)吡咯烷-2-甲酰胺(8)的合成:

[1061] 向化合物7(3g, 4.79mmol)在MeOH(30mL)中的搅拌溶液于N₂气氛下加入10% Pd/C(0.7g)。将反应混合物在室温下于H₂气氛下搅拌16h。在原料耗尽之后(通过TLC),将反应混合物通过硅藻土垫过滤并将滤液在减压下浓缩以获得呈白色固体的化合物8(2.1g, 91%)。

[1062] ((2S,3R)-1-((S)-2-(2-(((2S,3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酰基))-2-(3,4,5-三甲氧基苄基)吡咯烷-1-羰基)吡咯烷-1-基)-3-羟基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸叔丁酯(9)的合成:

[1063] 在0℃下向化合物8(2g, 4.00mmol)在CH₂Cl₂(30mL)中的搅拌溶液加入HOBt(823mg, 6.00mmol)、EDCI·HCl(1.16g, 6.00mmol)、随后加入DIPEA(2.2mL, 11.6mmol)和化合物G(1.068g, 4.80mmol)。将反应混合物在室温搅拌16h。在原料耗尽之后(通过TLC),将反应物用水淬灭并用CH₂Cl₂(2x100mL)萃取。将有机层经无水Na₂SO₄干燥并在减压下浓缩。将粗品通过柱色谱法纯化、随后通过制备型HPLC纯化以获得呈白色固体的化合物9-Fr-1(0.12g)和化合物9-Fr-2(0.2g)。

[1064] 化合物9-Fr-1的手性HPLC数据:

[1065] LCMS(m/z):594.5[(M⁺+1)-Boc]。

[1066] HPLC:94%。

[1067] 化合物 9-Fr-2 的手性 HPLC 数据：

[1068] LCMS(m/z):594.5 [M^+ +1]-Boc]。

[1069] HPLC:95%。

[1070] (R)-N-((2S,3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-1-((S)-1-((2S,3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)-2-(3,4,5-三甲氧基苄基)吡咯烷-2-甲酰胺 (CM-14A) 的合成：

[1071] 向化合物 9-Fr-1 (0.12g, 0.17mmol) 在 DCM(2.5mL) 中的溶液加入 1,4-二噁烷 HCl (2.5mL) 并在室温搅拌 2h。将反应混合物在减压下浓缩以获得呈 HCl 盐的 CM-14A (80mg)。

[1072] $^1\text{H-NMR}$: (400MHz, D_2O): δ 6.89 (s, 2H), 4.99 (t, 1H), 4.45-4.40 (m, 4H), 3.98 (s, 6H), 3.85 (s, 4H), 3.71-3.65 (m, 4H), 3.51 (d, 1H), 3.39 (d, 1H), 2.62-2.55 (m, 1H), 2.44-2.37 (m, 1H), 2.24-2.20 (m, 4H), 1.84-1.82 (m, 1H), 1.51 (d, 3H), 1.27 (d, 3H), 1.15-1.09 (m, 1H)。

[1073] LCMS(m/z):594.5 [M^+ +1]

[1074] HPLC 纯度:93%。

[1075] 旋光度 [$\alpha^{19.9}_D$]:+21.91 (在水中 $C = 0.5\%$)。

[1076] (S)-N-((2S,3R)-1-氨基-3-羟基-1-氧代丁-2-基)-1-((S)-1-((2S,3R)-2-氨基-3-羟基丁酰基)吡咯烷-2-羰基)-2-(3,4,5-三甲氧基苄基)吡咯烷-2-甲酰胺 (CM-14B) 的合成：

[1077] 向化合物 9-Fr-2 (0.2g, 0.20mmol) 在 DCM(2.5mL) 中的溶液加入 1,4-二噁烷 HCl (2.5mL) 并在室温搅拌 2h。将反应混合物在减压下浓缩以获得呈 HCl 盐的 CM-14B (170mg)。

[1078] $^1\text{H-NMR}$: (400MHz, D_2O): δ 6.89 (s, 2H), 4.99 (t, 1H), 4.45-4.40 (m, 4H), 3.98 (s, 6H), 3.85 (s, 4H), 3.71-3.65 (m, 4H), 3.51 (d, 1H), 3.39 (d, 1H), 2.62-2.55 (m, 1H), 2.44-2.37 (m, 1H), 2.24-2.20 (m, 4H), 1.84-1.82 (m, 1H), 1.51 (d, 3H), 1.27 (d, 3H), 1.15-1.09 (m, 1H)。

[1079] LCMS(m/z):594.5 [M^+ +1]

[1080] HPLC 纯度:95%。

[1081] 旋光度 [$\alpha^{19.9}_D$]:-92.57 (在水中 $C = 0.5\%$)。

[1082] 实施例 15 - 药物代谢和药代动力学

[1083] 本实施例显示测试化合物的药物代谢和药代动力学特性。

[1084] 测试化合物 CM-5A、CM-6A、CM-7A、CM-8A 和 CM-9A 在体外的水溶性、MDCK 渗透性和代谢稳定性测定。还测试了化合物 CM-5A、CM-6A 和 CM-7A 在大鼠中的药代动力学。简短的程序、结果和结论总结在下文。

[1085] 水溶性：

[1086] 程序．使用以下参数评估动力学水溶性 (pION 方法)：

[1087] • 储备液的制备 :DMSO

[1088] • 缓冲液 :不含磷酸盐的缓冲液

[1089] • pH 条件 :pH7.4

[1090] • 测试浓度 :具有 1% DMSO 的 200 μM ($n = 3$)

- [1091] • 温育时间 :16h
- [1092] • 过滤 :0.22 μ 过滤板
- [1093] • 分析 :LC-MS/MS
- [1094] 结果以下为溶解度测定的结果 :
- [1095]

化合物	测试浓度	在pH 7.4下平均溶解度(N=3)
咖啡因	200 μM	> 200
DES		2.6 ± 2.1
CM-5A		> 200
CM-6A		> 200
CM-7A		-
CM-8A		> 200
CM-9A		148 ± 42

- [1096] 结论 :结果表明测试化合物在 pH7.4 下具有良好的水溶性。
- [1097] 代谢稳定性 :
- [1098] 用很少化合物在肝脏微粒体以及肝细胞中评估代谢稳定性。
- [1099] 微粒体稳定性的程序 :
- [1100] • 物种 :大鼠和人类
- [1101] • 测试浓度 :1 μ M(n = 2)
- [1102] • 蛋白质浓度 :0.125mg/mL
- [1103] • 时间点 :0、5、15、30 和 60 分钟
- [1104] • 对照 : -NADPH 和缓冲液
- [1105] • 分析 :母体化合物监测 LC-MS/MS (峰面积比率)
- [1106] 肝细胞稳定性的程序 :
- [1107] • 储备液的制备 :DMSO
- [1108] • 缓冲液 :克汉二氏缓冲液 (Krebs Krebs-Henseleit Buffer)
- [1109] • 总温育体积 :1000 μ L
- [1110] • 细胞密度 :1 百万个细胞 /mL
- [1111] • 测试浓度 :含有 0.5% DMSO 的 10 μ M(n = 2)
- [1112] • 时间点 :0 和 60min
- [1113] • 分析 :LC-MS/MS
- [1114] 结果 :
- [1115]

化合物	微粒体/肝细胞	在 60 分钟时 剩余的%	半衰期(min)	稳定性级别
CM-4A	大鼠(M)	68	>60	不稳定的
	人类(M)	72	>60	中等的
CM-5A	大鼠(M)	95	>60	稳定的
	人类(M)	86	>60	中等的
CM-6A	大鼠(M)	100	>60	稳定的
	人类(M)	88	>60	中等的
CM-6A	大鼠(H)	87	>60	中等的
	人类(H)	98	>60	稳定的
CM-7A	大鼠(H)	76	>60	中等的
	人类(H)	92	>60	稳定的
CM-8A	大鼠(M)	91	>60	稳定的
	人类(M)	75	>60	中等的
CM-9A	大鼠(M)	100	>60	稳定的
	人类(M)	69	>60	不稳定的

[1116] (H) :肝细胞 ;(M) :微粒体

[1117] 代谢稳定性的分类基于以下标准。

[1118]

稳定的	剩余的% >90%
中等的	剩余的% 为 70-90%
不稳定的	剩余的% <70%

[1119] 结论。结果表明测试化合物在微粒体 / 肝细胞中具有中等至高度稳定性。

[1120] MDCK 渗透性：

[1121] 程序。使用 MDCK (马 - 达二氏犬肾细胞 (Madin-Darby Canine Kidney Cells)) 利用以下参数评估测试化合物的渗透性。

[1122] • 测试浓度 :5 μ M (n = 3)

[1123] • 缓冲液 :HBSS pH7.4

[1124] • 时间点 :0、15、30、60 和 90min

[1125] • 分析 :使用 LC-MS/MS 的母体化合物监测

[1126] 结果以下为来自 MDCK 渗透性测定的结果：

[1127]

化合物	浓度 (μM)	Papp (10^{-6} cm/秒)	回收率	渗透性 分类
咖啡因	10	27.0 ± 1.3	100	高
呋塞米		0.14 ± 0.01	100	低
CM-4A	5	0.15	100	低
CM-5A		0.0 ± 0.0	100	低
CM-6A		0.0 ± 0.0	100	低
CM-7A		0.11 ± 0.0	68	低
CM-8A		0.14 ± 0.01	83	低
CM-9A		0.0 ± 0.0	100	低

[1128] 结论。结果表明测试化合物通过 MDCK 细胞的渗透性为差的 / 低的。MDCK 渗透性分类基于以下标准。

[1129]

低	$\leq 3 \times 10^{-6} \text{ cm/秒}$
中等的	$3-15 \times 10^{-6} \text{ cm/秒}$
高	$>15 \times 10^{-6} \text{ cm/秒}$

[1130] CM-4A 的生物利用度

[1131] 程序。将 2-3 月龄的雄性 (1mg/kg IV 和 10mg/kg PO) 以及雄性和雌性 (0.1 和 1mg/kg PO) Sprague Dawley 大鼠在无菌盐水媒介物中用 CM-4A (1mg/kg IV [尾静脉] 或 0.1、1 或 10mg/kg PO [胃管饲法]; n = 5-6 只 / 组) 给药并在不同时间点使用经 K2-EDTA 处理的注射器通过侧尾静脉抽取 (lateral tail vein draws) 或心棒 (cardiac sticks) 进行重复抽血。考虑到未观察到性别差异将 1mg/kg PO 给药的雄性与雌性的数据合并。将血浆通过离心 (在 4°C 下 1,000x G 保持 10min) 分离并将血浆样品储存在 -80°C 直至测定。将样品储存在 -80°C 直至测定。在测定的当天, 将样品和加标的血浆标准在 4°C 下解冻, 在 3 体积的冰冷乙腈中萃取, 在 4°C 下以 25,000x G 离心 10min 并将上清液装载入自动取样小瓶中 (4°C)。将样品在多反应监测模式 (504.3 → 171.1, 199.1, 386.1m/z) 中使用 Agilent QQQ LC/MS/MS 仪器进行分析并且 CM-4A 的保留时间为 9.3min 并且具有约 10 秒的对称峰。

[1132] 如图 1 所示, CM-4A 口服生物利用度从 0.1 至 10mg/kg 基本上为线性的。

[1133] 实施例 16 - [^3H]MK-801 结合测定

[1134] 该实施例显示可以用于评估候选的 NMDA 受体调节剂的激动和 / 或拮抗特性的 [^3H]MK-801 结合测定。

[1135] 粗突触膜如在 Moskal 等 (2001), “The use of antibody engineering to create novel drugs that target N-methyl-D-aspartate receptors,” Curr. Drug Targets, 2:331-45. 中所述由大鼠前脑制备。将 2-3 月龄的雄性大鼠通过断头台未经麻醉

而斩首,快速去除脑(约 90 秒)并将全皮层和海马在冰冷平台上切割,在干冰上冷冻并储存于 -80°C 。将样品在 20 体积冰冷的 5mM Tris HCl pH7.4 中通过 Brinkman Polytron 均化,在 4°C 下以 $48,000\times g$ 沉淀 20min 并如以上描述洗涤另外 3 次。然后将膜重悬浮于 5mM EDTA 和 15mM Tris HCl pH7.4 并在 37°C 下温育 1 小时,在 4°C 下以 $48,000\times g$ 将膜沉淀 20min,在液氮中快速冷冻并储存于 -80°C 。在实验的当天,将膜在室温下解冻并如以上描述在冰冷的 5mM Tris-HCl (pH7.4) 中洗涤另外 7 次。在最后一次洗涤后,将膜重悬浮于测定缓冲液 (5mM Tris- 乙酸盐 pH7.4),蛋白质含量通过 BCA 测定来确定。

[1136] $[^3\text{H}]$ MK-801 结合测定如在 Urwyler 等 (2009), “Drug design, in vitro pharmacology, and structure-activity relationships of 3-acylamino-2-aminopropionic acid derivatives, a novel class of partial agonists at the glycine site on the N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor complex,” J. Med. Chem., 52:5093-10 中所述进行。在 23°C 下将膜蛋白 (200 μg) 用含有 50 μM 谷氨酸的不同浓度的测试化合物 (10^{-3} - 10^{-17}M) 温育 15min。然后在 23°C 下将测定管在非平衡条件下用 $[^3\text{H}]$ MK-801 (5nM ; 22.5Ci/mmol) 温育 15min、随后使用 Brandel M-24R Cell Harvester 通过 Whatman GF/B 过滤器过滤。然后将管用测定缓冲液 (5mM Tris- 乙酸盐 PH 7.4) 洗涤三次,并通过液体闪烁对过滤器进行分析以计算每分钟衰变数 (DPM)。在不存在任何甘氨酸配体的情况下和存在 30 μM 5, 7- 二氯犬尿喹啉酸 (5, 7-DCKA) 的情况下确定零水平。在存在 1mM 甘氨酸的情况下测量最大刺激。在所有样品中存在 50 μM 谷氨酸。

[1137] 对于每个数据点 (即,测试化合物的单个浓度),最大的 $[^3\text{H}]$ MK-801 结合%通过下式计算:

[1138] 最大的 $[^3\text{H}]$ MK-801 结合 % = $((\text{DPM}(\text{测试化合物}) - \text{DPM}_{5,7\text{-DCKA}}) / (\text{DPM}_{1\text{mM 甘氨酸}} - \text{DPM}_{5,7\text{-DCKA}})) \times 100\%$

[1139] 表示为在 $[^3\text{H}]$ MK-801 结合中增加的%的每种化合物的功效通过使用 Graph Pad Prism 将数据拟合成“log(激动剂)对比反应(三个参数)”的方程计算,并且计算每种测试化合物的效能 (EC_{50} , 以 pM 表示) 和最大活性 (最大刺激%),其中测试化合物的功效为最佳拟合的最高值 (图 2-4)。

[1140] 表 1. $[^3\text{H}]$ MK-801 结合测定数据

[1141]

化合物	效能	功效 (在 $[^3\text{H}]$ MK-801 结合中增加的 %)
CM-1	5 pM	79%
CM-2	6 pM	24%
CM-3	16 pM	23%
CM-4A	0.2 pM	12%
CM-4B	0.2 pM	12%
CM-5	196 pM	19%
CM-6	0.6 pM	12%
CM-7	10617 pM	13%
CM-8	6 pM	16%
CM-9	7 pM	15%
CM-10	0.4 pM	16%
CM-11	13 pM	9%
CM-12	2211 pM	13%
CM-13	0.9 pM	10%
CM-14	443 pM	8%

[1142] 实施例 17-NMDA 受体 (NMDAR) 电流

[1143] 该实施例显示确定测试化合物对 NMDAR 电流的效果的测定。

[1144] 如 Zhang 等 (2008) “A NMDA receptor glycine site partial agonist, GLYX-13 (“GLYX”), simultaneously enhances LTP and reduces LTD at Schaffer collateral-CA1 synapses in hippocampus,” *Neuropharmacology*, 55:1238-50 中所述对来自 14-18 天龄的 Sprague-Dawley 大鼠的海马切片进行实验。全细胞记录由电压钳制在 -60mV 时在用含有 0mM[Mg²⁺] 和 3mM[Ca²⁺], +10 μ M 荷包牡丹碱和 20 μ M CNQX 的 (人工脑脊液) ACSF 灌注的切片的 CA1 锥体神经元至药理上分离的 NMDAR- 依赖的兴奋性突触后电流 (EPSC) 而获得。对不同浓度的测试化合物 (10nM 至 1 μ M) 进行浴应用并每隔 30s 用单个电脉冲 (80 μ s 持续时间) 刺激谢弗侧枝纤维一次。NMDAR EPSC 的特征在于为长上升和衰减时间, 并且在每个实验结束时通过 NMDAR 特异性拮抗剂 D-2- 氨基 -5- 膦酰基戊酸 (D-AP5; 50 μ M) 的浴应用完全阻断。测试化合物的功效被计算为 NMDAR 电流从基线增加的%。在施加测试化合物之前将基线测量为 NMDAR 电流。

[1145] 表 2. NMDAR 电流测定数据。

[1146]

化合物	浓度	功效 (NMDAR 电流从基线 变化的%)
CM-1	1 μ M	70%
CM-2	NT	NT
CM-3	NT	NT
CM-4A	1 μ M	75%
CM-4B	1 μ M	10%

[1147] NT = 未测试。

[1148] 图 5 示出 CM-4A (1 μ M) 对单次电击记录于 CA1 锥体神经元中的谢弗侧枝诱发的药理学上分离的 NMDA EPSC 的效果的时间进程 ($n = 5$)。(每个点为 n 个锥体神经元的 EPSC 峰值振幅或场兴奋性突触后电位 (fEPSP) 的平均值 $\pm$ SEM)。

[1149] 实施例 18-长时程增强 (LTP) 测定方法 1

[1150] 本实施例显示确定测试化合物对 LTP 的效果的测定。

[1151] 将来自 14-18 天龄 Sprague-Dawley 大鼠的海马切片转移至界面记录室并在 $32 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 下用充氧的 ACSF 以 3ml/min 连续地灌注。低电阻记录电极由薄壁的硼硅酸盐玻璃制成 (在用 ACSF 填充之后为 1 - 2M Ω) 并插入 CA1 区域的辐射层中的谢弗侧枝终端区域的顶部树突区域以记录场兴奋性突触后电位 (fEPSP)。将两极不锈钢刺激电极 (FHC Co.) 置于 CA3 辐射层中的谢弗侧枝连合纤维中,并调节恒定电流刺激强度以每 30s (50 - 100pA ;100ms 持续时间) 诱发大约半数最大的 fEPSP 一次。通过由 20% -80% 最大负偏移的线性插值法测量 fEPSP 斜率并且在开始实验之前确定斜率在 $\pm 10\%$ 内稳定至少 10min。在谢弗侧枝 -CA1 突触处通过高频刺激训练 (3x100Hz/500ms ;箭号) 在对照 (媒介物)、未处理的切片或用测试化合物 (10nM 至 100 μ M) 预处理的切片中诱导长时程增强 (LTP)。使用 Multiclamp700B 放大器记录长时程增强信号并用 Digidata1322 (Axon Instruments, Foster City, CA) 数字化。在 IBM- 兼容性个人电脑上使用 pClamp 软件 (9 版, Axon Instruments) 分析数据。功效计算为与媒介物相比用测试化合物预处理的切片测量的长时程增强中增加的%。

[1152] 表 3. LTP 测定数据。

[1153]

化合物	浓度	功效 (由媒介物增加的%)
CM-1	NT	NT
CM-2	NT	NT
CM-3	NT	NT
CM-4A	1 μ M	30%
CM-4B	1 μ M	10%

[1154] NT = 未测试。

[1155] 图 6 示出 CM-2、CM-1 和 CM-4A 对 LTP 效果的剂量 - 反应关系。

[1156] 图 7 示出 GLYX-13 (“GLYX”) 对比 CM-4A 对长时程抑制 (LTD) 的效果的剂量 - 反应关系。1 μ M GLYX-13 和 CM-4A 均显著降低 LTD 的大小,而较低浓度导致较小大小的改变。(注意 0.001 μ M 表示无药物添加 ;每个点为 8-10 个切片的平均值 $\pm$ SEM)。

[1157] 实施例 19 - 长时程增强 (LTP) 测定方法 2

[1158] 本实施例显示确定测试化合物对 LTP 的效果的测定。

[1159] 测定如 Zhang 等 (2008) 中所述进行。将 Sprague-Dawley 大鼠 (12 - 18 天龄 ;Taconic Farms) 用异氟醚深度麻醉并斩首。快速去除脑,浸入冰冷的人工脑脊液中 (ACSF, 2 - 4 $^\circ\text{C}$),所述人工脑脊液含有 (以 mM 计) :124 NaCl, 4 KCl, 2 MgSO₄, 2 CaCl₂, 1.25 NaH₂PO₄, 26NaHCO₃, 10 葡萄糖 ;pH 7.4, 用 95% O₂/5% CO₂ 持续供应气体)。将脑切成对半,切断额叶,并在切割期间使用氰基丙烯酸酯粘合剂将各个半球粘至浸入用 95% O₂/5% CO₂ 持续供应气体的冰冷的 ACSF 的载物台 (stage)。将 400 μ m 厚的冠状切片使用 Vibratome (Leica VT1200S) 切割并转移至界面容置室用于在室温下温育最少一小时,然后

转移至在 $32 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 下用充氧的 ACSF 以 $3\text{ml}/\text{min}$ 连续灌注的 Haas 式界面记录室。低电阻记录电极由薄壁的硼硅酸盐玻璃（在用 ACSF 填充之后为 $1 - 2\text{M}\Omega$ ）并插入场 CA1 区域的辐射层中的谢弗侧枝终端区域的顶部树突区域以记录场兴奋性突触后电位（fEPSP）。将两极不锈钢刺激电极（FHC Co.）置于 CA3 辐射层中的谢弗侧枝连合纤维中，并调节恒定电流刺激强度以每 30s 一次（ $50 - 100\text{pA}$ ； $100\mu\text{s}$ 持续时间）诱发大约半数最大的 fEPSP。在 LTP 诱导之前和之后通过由 20% 至 80% 最大负偏移的线性插值法测量 fEPSP 斜率并且在开始实验之前确定斜率在 $\pm 10\%$ 内稳定至少 15min。在应用谢弗侧枝刺激训练以引发 LTP 之前将测试化合物（ $1\mu\text{M}$ ）的浴应用施加 30min。通过刺激具有以 200ms 的交互突释间隔施加的每次为 $10 \times 100\text{Hz}/5$ 脉冲突释的四次高频 θ 突释刺激训练的谢弗侧枝轴突诱导 LTP。每次训练的持续时间为 2s，并且训练以 15s 间隔施加。使用 Multiclamp700B 放大器记录信号并用 Digidata1322（Axon Instruments, USA）数字化。在 IBM- 兼容性个人电脑上使用 pClamp 软件（9 版，Axon Instruments）分析数据。

[1160] 如图 8 所示，在高频刺激记录于 CA1 椎体神经元中的大鼠谢弗侧枝诱发的 NMDA EPSC 之后，CM-6A、CM-7A、CM-8A 和 CM-9A（ $1\mu\text{M}$ ）增加长时程增强。 $*P < .05$ 。

[1161] 实施例 20 - Porsolt 测试方法 1

[1162] 本实施例显示用于评估测试化合物的抗抑郁活性的 Porsolt 测试。

[1163] 如在 Burgdorf 等（2009）“The effect of selective breeding for differential rates of 50-kHz ultrasonic vocalizations on emotional behavior in rats,” *Devel. Psychobiol.*, 51:34-46 中所述进行实验。在测试前 1 小时以盲法用测试化合物（0.3 至 $30\text{mg}/\text{kg}$ ；经由尾静脉注射的静脉内或经由胃管饲法口服）或媒介物（ $1\text{ml}/\text{kg}$ 无菌盐水或 $1\text{ml}/\text{kg}$ 2, 5- 二氮杂螺 [3.4] 辛 -1- 酮的 DMSO）对雄性 Sprague-Dawley 大鼠（2-3 月龄）给药。在测试当天于室温（ $23^\circ\text{C} \pm 0.5^\circ\text{C}$ ）下将动物置于 46cm 高 $\times 20\text{cm}$ 直径的用自来水填充至 30cm 的透明玻璃管中保持 5min。在每个游泳阶段之后将所有动物由实验者用毛巾擦干。每隔一只动物之后换一次水。对动物录像并由盲法实验者对漂浮行为（如定义为以保持动物的头部在水的上方所需的最小移动）的总持续时间（秒）定量。

[1164] 表 4. Porsolt 测定数据。

[1165]

化合物	剂量, 途径	漂浮中减少的%
CM-1	$3\text{ mg}/\text{kg}$, i.v.	90%
CM-2	NT	NT
CM-3	NT	NT
CM-4A	$1\text{ mg}/\text{kg}$, p.o.	84%
CM-4B	$1\text{ mg}/\text{kg}$, p.o.	63%

[1166] NT = 未测试。

[1167] 图 9 示出在第一测试阶段前 1 小时用 CM-4A（0.1 至 $10\text{mg}/\text{kg}$ PO 胃管饲法）或无菌盐水媒介物（ $1\text{ml}/\text{kg}$ PO）给药的 2-3 月龄雄性 SD 大鼠在大鼠 Porsolt 测试中的平均值 $\pm$ SEM 漂浮时间。动物在首次 5min Porsolt 测试之前的当天接受单次 15min Porsolt 适应阶段。N = 9-10 只 / 组。结果显示剂量 - 依赖和时间 - 依赖的抗抑郁效果。

[1168] 图 10 示出在测试前 1 小时用 CM-4A（ $1\text{mg}/\text{kg}$ PO）或无菌盐水媒介物（ $1\text{ml}/\text{kg}$ PO 胃管饲法）给药之前 10min 用 AMPA 受体拮抗剂 2, 3- 二羟基 -6- 硝基 -7- 氨磺酰 - 苯并

[f] 喹喔啉-2,3-二酮 (NBQX) (10mg/kg IP) 或蒸馏水媒介物 (1ml/kg) 给药的 2-3 月龄雄性 SD 大鼠在大鼠 Porsolt 测试中的平均值 $\pm$ SEM 漂浮时间。动物在首次 5min Porsolt 测试之前的当天接受单次 15min Porsolt 适应阶段。N = 6 只 / 组。对比所有其它组 Fisher PLSD 事后检验 * $P < 0.05$ 。结果显示 AMPA 拮抗剂 NBQX 阻断 CM-4A 的抗抑郁类效果。

[1169] 实施例 21 - Porsolt 试验方法 2

[1170] 本实施例显示用于评估测试化合物的抗抑郁活性的 Porsolt 测试。

[1171] 测试化合物的抗抑郁类效果用如 Page 等 (1999) 和 Burgdorf 等 (2009) 中所述的大鼠 Porsolt 测试进行检查。在本研究中使用雄性 Sprague Dawley 大鼠 (2-3 月龄)。在单个测试阶段之前 1 小时将动物用测试化合物 (0.3mg/kg IV) 或无菌盐水媒介物 (1ml/kg IV 尾静脉) 给药。将第二组的雄性 Sprague Dawley 大鼠 (2-3 月龄) 用测试化合物 (0.1mg/kg PO) 或无菌盐水媒介物 (1ml/kg PO 胃管饲法) 在第一测试阶段之前 1 小时给药并在给药后 24 小时再测试。于室温下 (22-23°C) 将动物置于 46cm 高 $\times$ 20cm 直径的用自来水填充至 30cm 的透明玻璃管中在给药 (适应) 之前 1 天保持 15min 和随后在测试日保持 5min。每隔一只动物之后换一次水。对动物录像并由盲法实验者对漂浮行为的总持续时间 (秒) 定量。在 Porsolt 测试中测试 CM-6A、CM-7A、CM-8A 和 CM-9A。在 Porsolt 测试中未测试 CM-5A。

[1172] 如图 11A 所示, CM-6A、CM-7A、CM-8A 和 CM-9A 在 Porsolt 测试中产生抗抑郁类效果, 如通过与给药后 1 小时的媒介物相比施用单剂量 (0.3mg/kg IV) 之后减少的漂浮时间所指示, 如通过每个测试化合物相比于媒介物组的显著的药物效果 ANOVA ($F(2, 24) = 17.5, P < 0.0001$), 随后通过显著的 Fisher PLSD 事后检验 (* 所有 $P < 0.0001$) 所指示。N = 5-6 只大鼠 / 组。

[1173] 如图 11B 和 11C 所示, CM-6A、CM-7A、CM-8A 和 CM-9A 在 Porsolt 测试中产生抗抑郁类效果, 如通过与给药后 1 小时 (图 11B) 和 24 小时 (图 11C) 的媒介物相比施用单剂量 (0.3mg/kg IV) 之后减少的漂浮时间所指示, 如通过在每个时间点处测试化合物相比于各自媒介物组的显著的药物效果重复量度 ANOVA ($F(4, 25) = 58.2, P < 0.0001$), 随后通过显著的 Fisher PLSD 事后检验 (* 所有 $P < 0.0001$) 所指示。n = 6 只大鼠 / 组。

[1174] 如图 12 所示, 在测试之前 1 小时和给药后 24 小时用阳性对照 CM-4A (1mg/kg PO)、测试化合物 (0.1mg/kg PO) 或无菌盐水媒介物 (1ml/kg PO 胃管饲法) 给药的 2-3 月龄雄性 SD 大鼠的大鼠 Porsolt 测试中的大鼠 Porsolt 测试平均值 $\pm$ SEM 漂浮时间中观察到稳健的抗抑郁类效果。动物在首次 5min Porsolt 测试之前的当天接受单次 15min Porsolt 适应阶段。N = 6 只 / 组。相比于媒介物的 Fisher PLSD 事后检验 * $P < 0.05$ 。

[1175] 实施例 22 - 大鼠新奇诱导的食欲过盛 (NIH) 测试

[1176] 大鼠 NIH 测试如下进行。在测试之前对动物剥夺食物过夜, 并将实验室食物置于旷场的中央室。在 NIH 测试之后, 确定在动物原来笼子的进食的潜伏期作为对照。急性作用抗抑郁药以及慢性而非急性 SSRI 治疗降低了在新笼中而非动物原来笼中的进食潜伏期。图 13 示出在单次 10min 测试阶段之前 1 小时用 CM-4A (1mg/kg PO) 或无菌盐水媒介物 (1ml/kg PO) 处理 2-3 月龄雄性 SD 大鼠的 NIH 测试中进食的平均值 $\pm$ SEM 线性潜伏期。N = 12 只 / 组。* $P < 0.05$ 。CM-4A (1mg/kg PO) 在大鼠 NIH 测试中产生抗抑郁 / 抗焦虑类效果。

[1177] 实施例 23 - 大鼠超声发声 (USV) 测试

[1178] 图 14A 和 14B 示出大鼠 USV 测试的结果。在非条件刺激 (UCS) 试验 (图 14A) 反馈之前的条件刺激 (CS) 试验期间测量积极的情感学习。动物接受每次由 6 次 CS 和 6 次 UCS 试验组成的 15 秒试验 (总计 3min)。在 3min 阶段结束时还测量了动物对自我管理瘙痒的运动速度。图 14B 示出在测试前 1 小时用 CM-4A (1mg/kg PO) 或无菌盐水媒介物 (1ml/kg PO) 处理的 2-3 月龄雄性 SD 大鼠在大鼠 USV 测试中平均值 $\pm$ SEM 愉悦的和厌恶的 USV。N = 7-8。*P<0.05。结果显示 CM-4A 在大鼠 USV 测试中增加积极情绪学习并减少厌恶的 20-kHz USV, 从而表明抗抑郁效果。

[1179] 实施例 24 - 大鼠旷场测试

[1180] 图 15 示出在旷场中在单次 10min 测试阶段之前 1 小时用 CM-4A (1mg/kg PO) 或无菌盐水媒介物 (1ml/kg PO) 处理的 2-3 月龄雄性 SD 大鼠中平均值 $\pm$ SEM 直线穿越、中央室穿越和中央室时间。N = 7-8。*P<0.05。结果显示 CM-4A 在大鼠旷场测试中产生抗焦虑类效果而不影响运动行为。

[1181] 实施例 24 - 大鼠加速转杆测试

[1182] 图 16 示出用盐水媒介物 (1ml/kg PO)、CM-4A (1、10 或 100mg/kg PO) 或阳性对照氯胺酮 (30mg/kg SC) 预处理的 2-3 月龄雄性 SD 大鼠在加速转杆测试 (在整个 300 秒内为 4-40RPM) 中平均值 $\pm$ SEM 坠落潜伏期 (秒)。使用个体内设计在给药之前 (0min)、给药后 30min 和给药后 60min 立即测试动物。在测试前一天, 动物接受 3 次旋转适应阶段, 其中每个阶段之间具有至少 30min, 并且在测试期间在最后一个适应阶段的转杆表现并未显著不同于 0min 时间点的表现。对于媒介物和 CM-4A 给药, N = 5, 对于氯胺酮, N = 3。*P<0.05。结果显示 CM-4A (10-100mg/kg PO) 在大鼠加速转杆测试中未产生镇静 / 共济失调类效果。

[1183] 等效方案

[1184] 本领域技术人员仅使用常规实验将承认或能够确定, 许多实施方案等同于本文中描述的本发明的具体实施方案。此类等同方案意欲被在下列权利要求包括。

[1185] 通过引用并入

[1186] 本文引用的所有专利、已公布的专利申请、网址和其它参考在此通过引用以其整体明确并入本文。

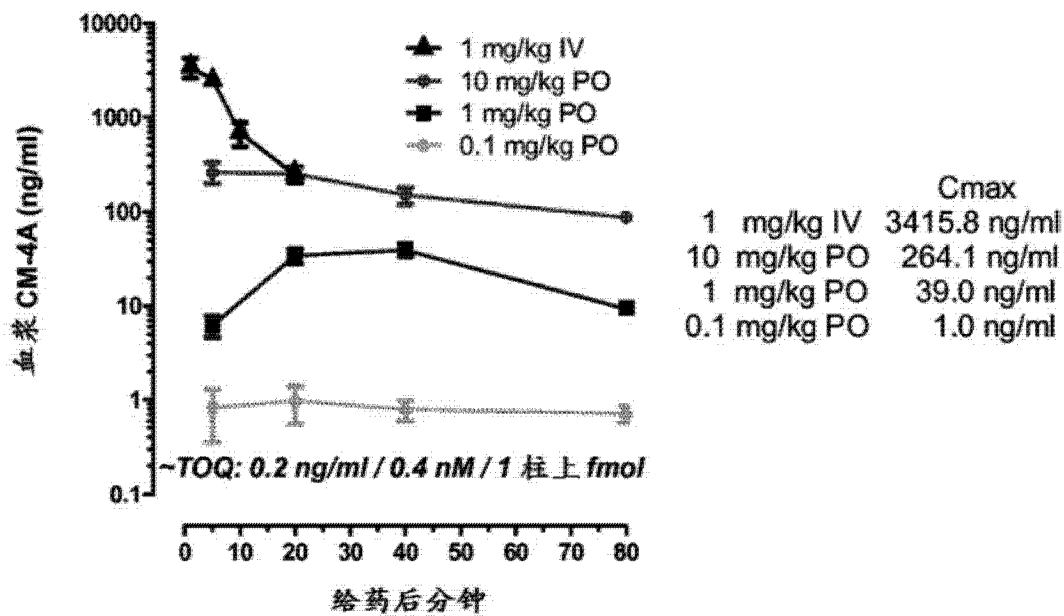


图 1

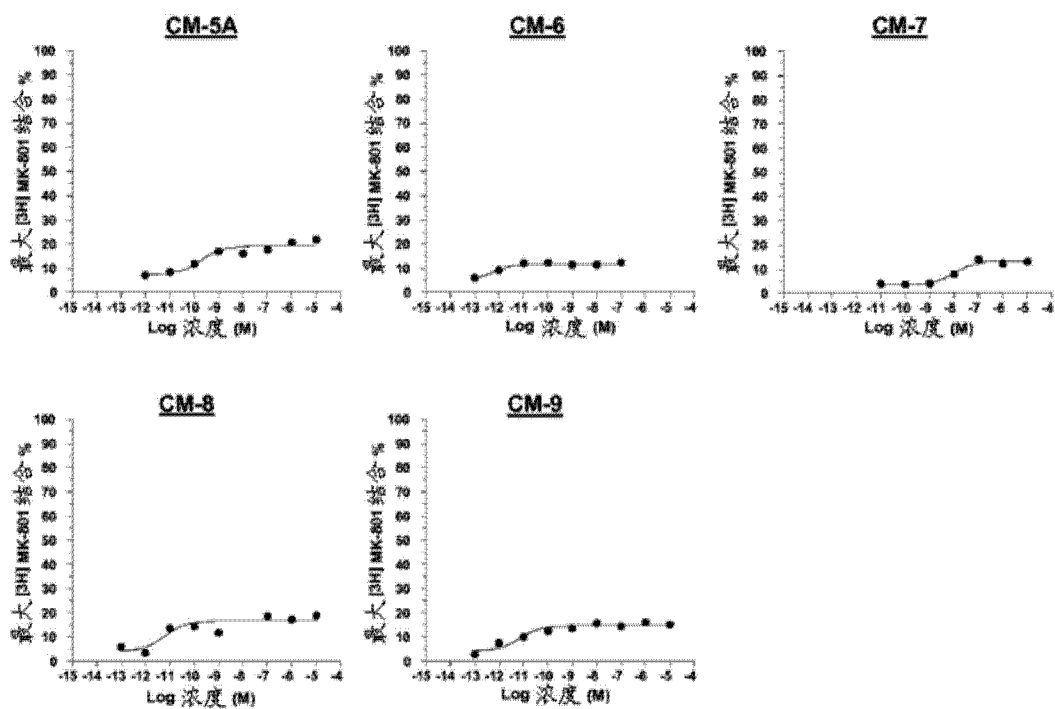


图 2

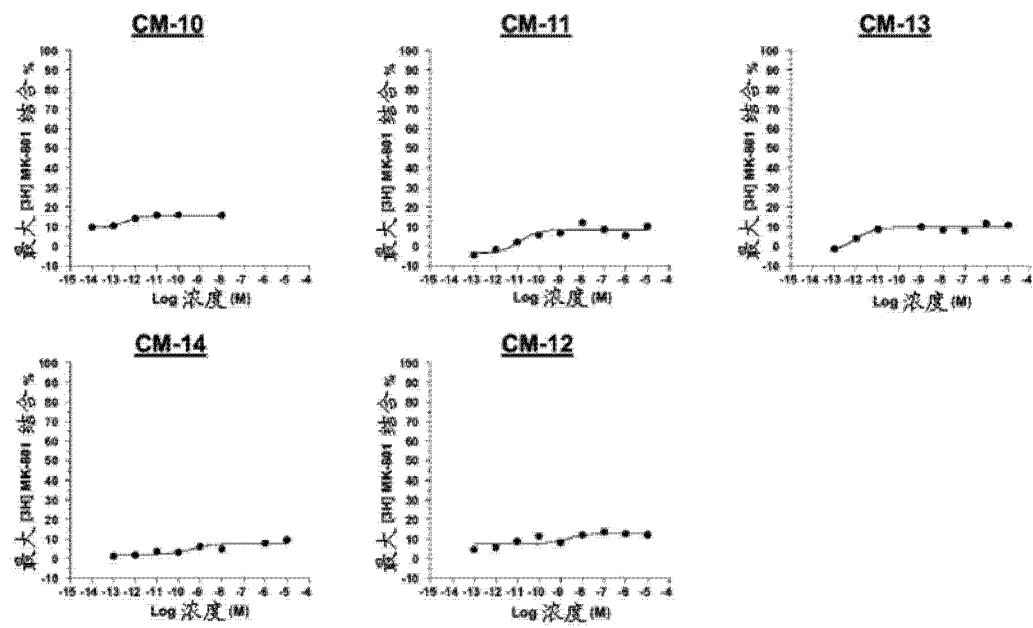


图 3

[³H] MK-801 结合

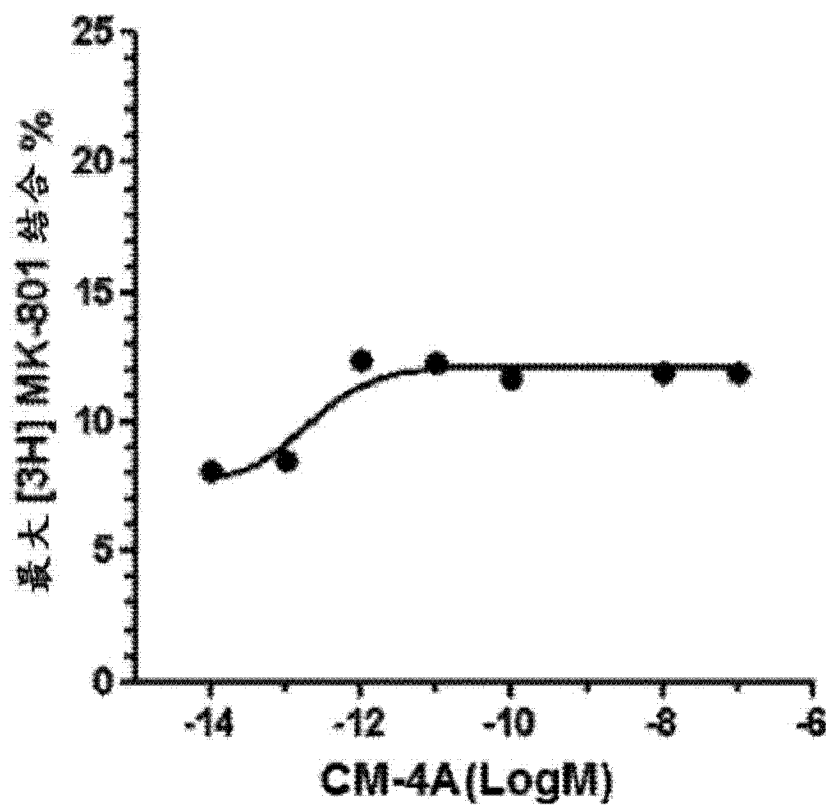


图 4

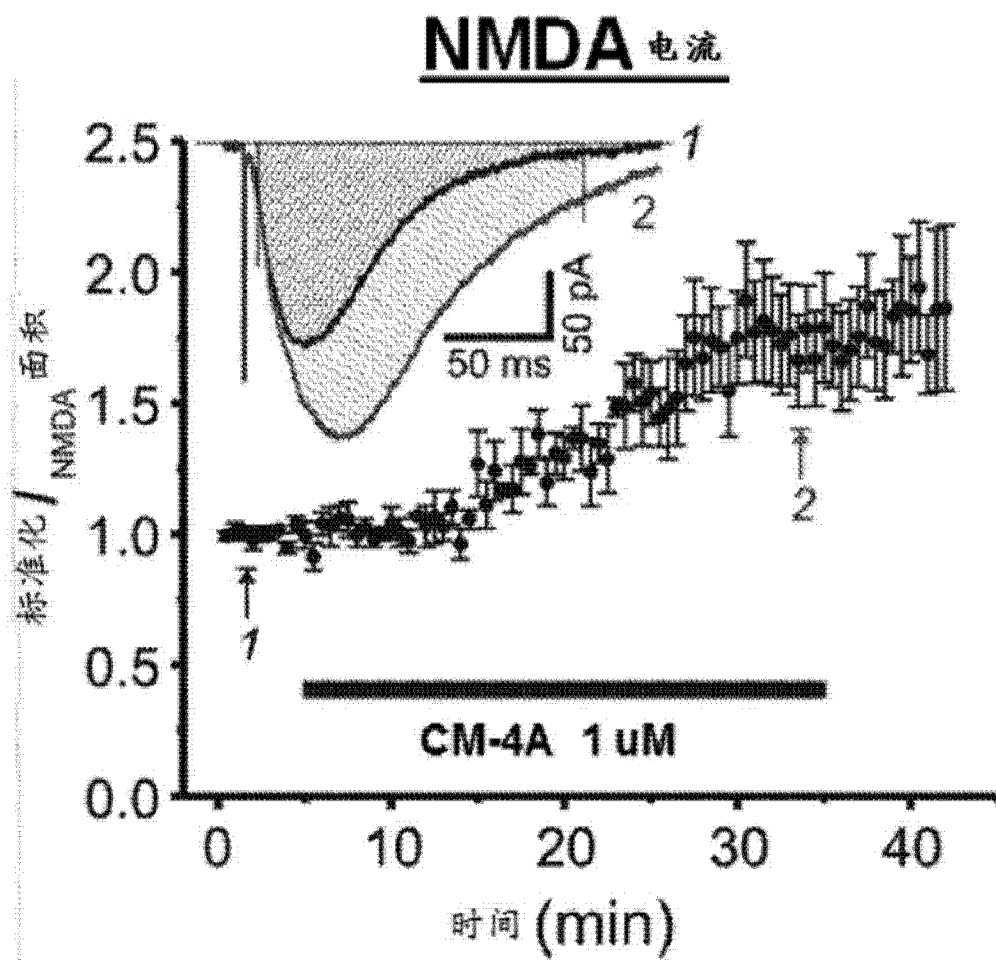


图 5

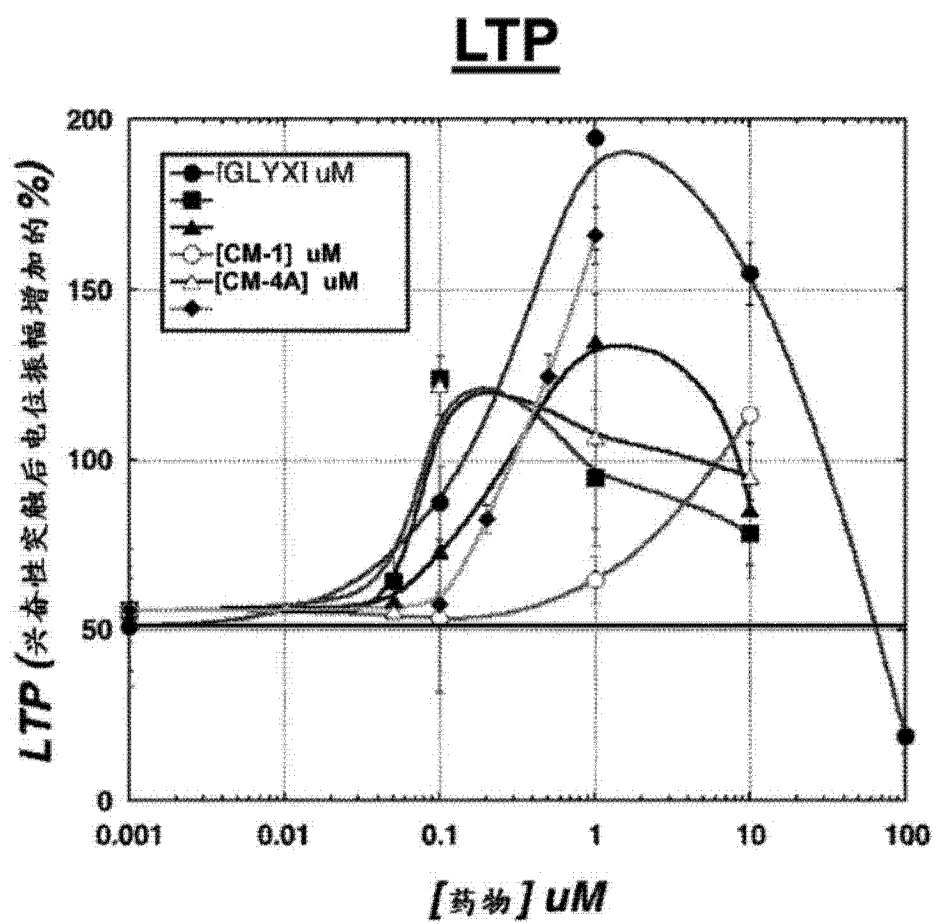


图 6

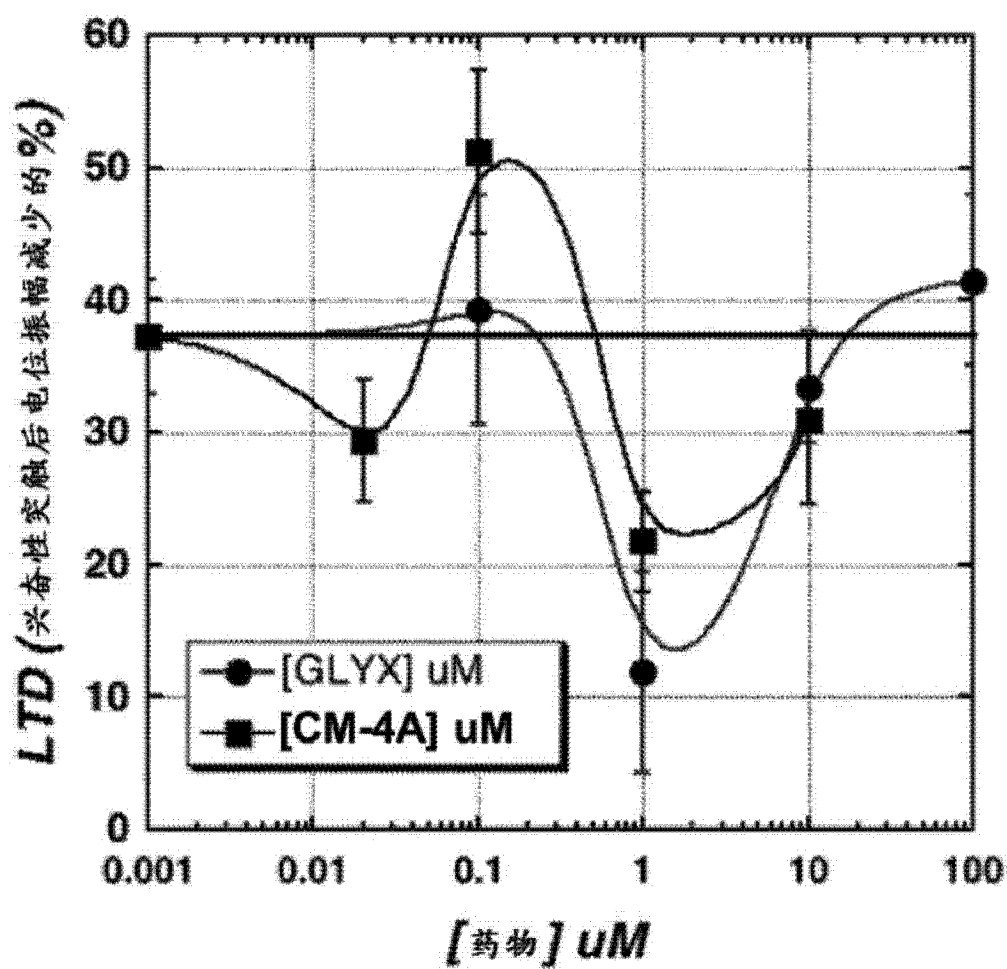


图 7

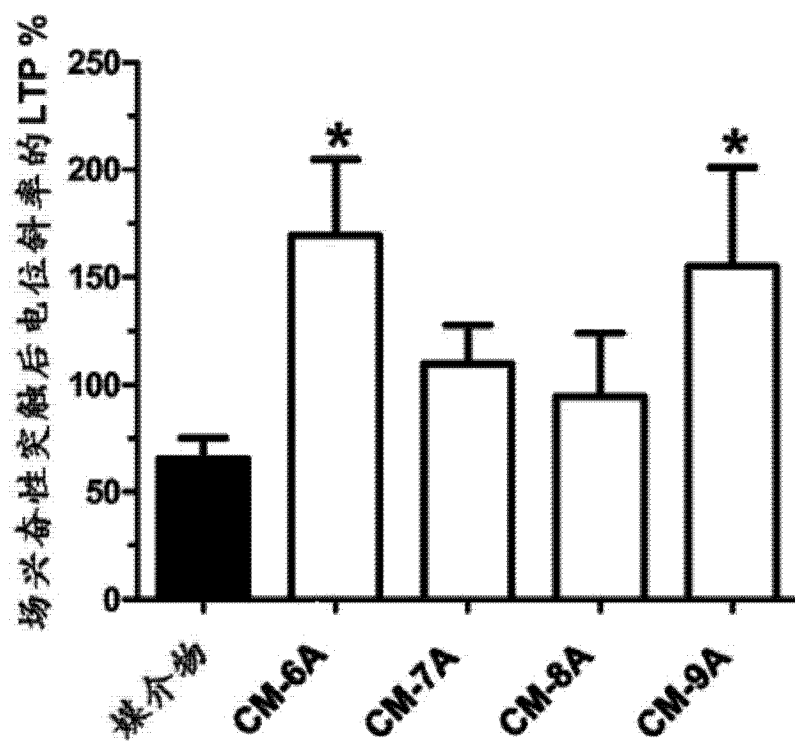


图 8

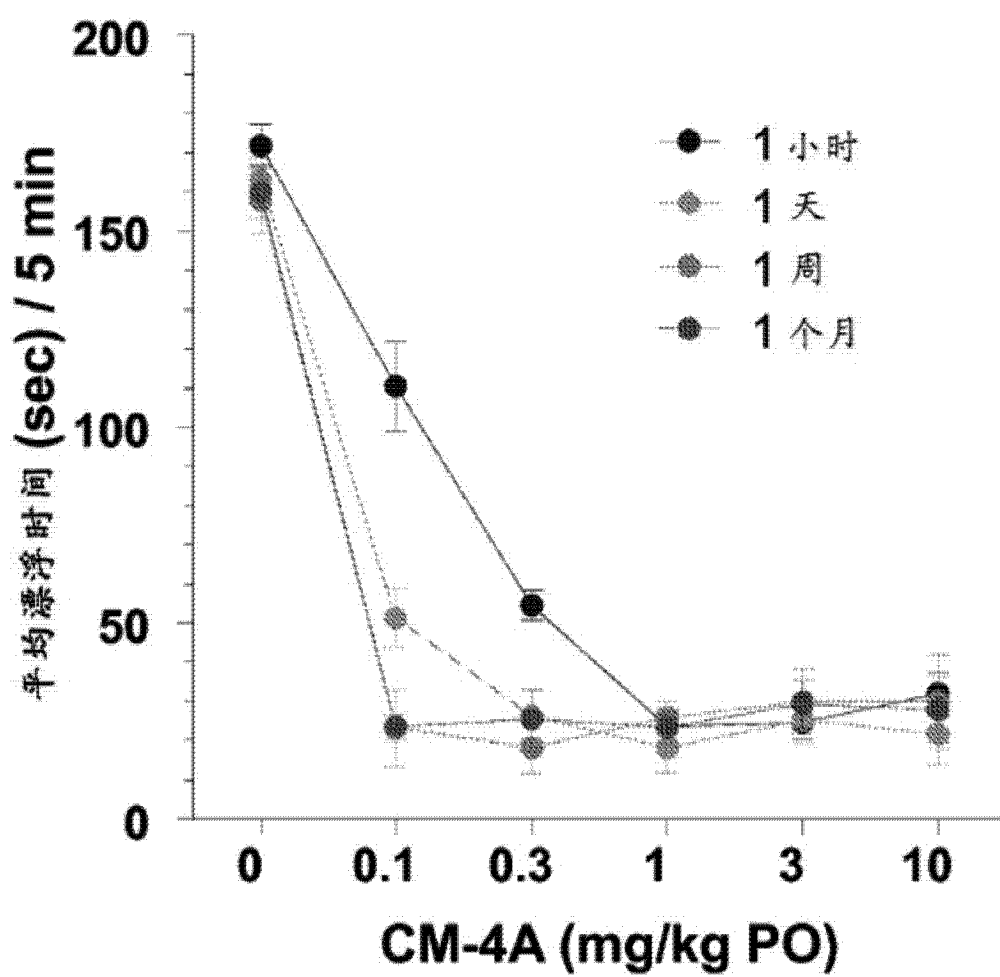


图 9

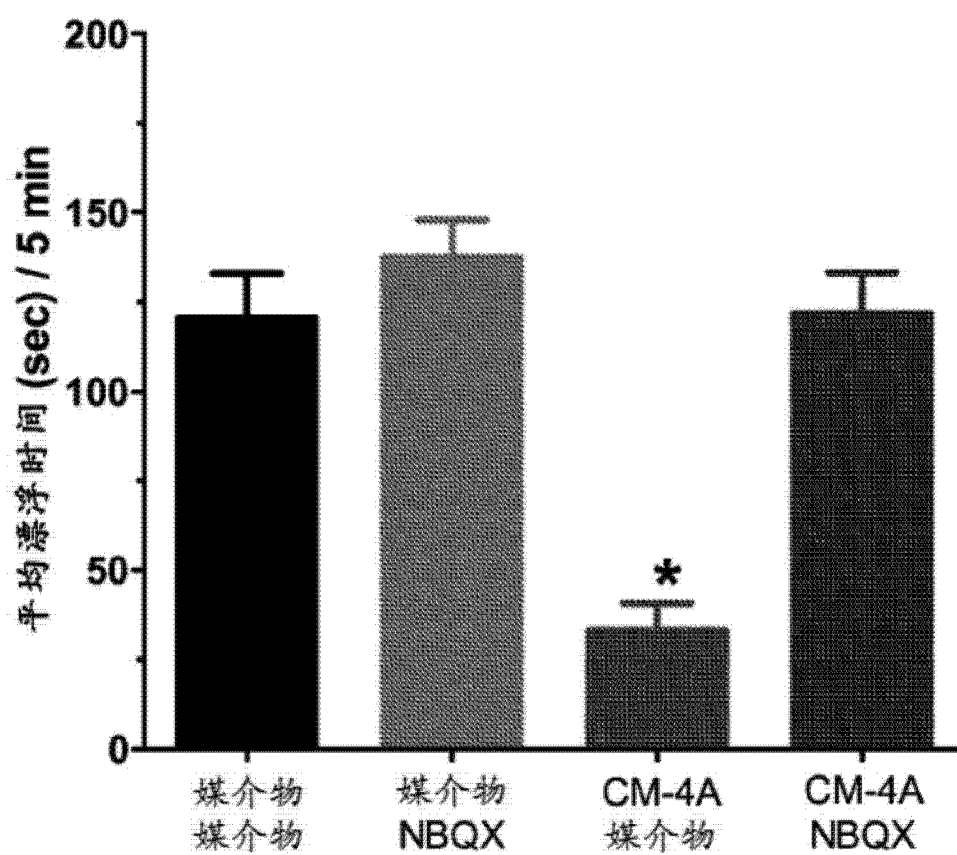


图 10

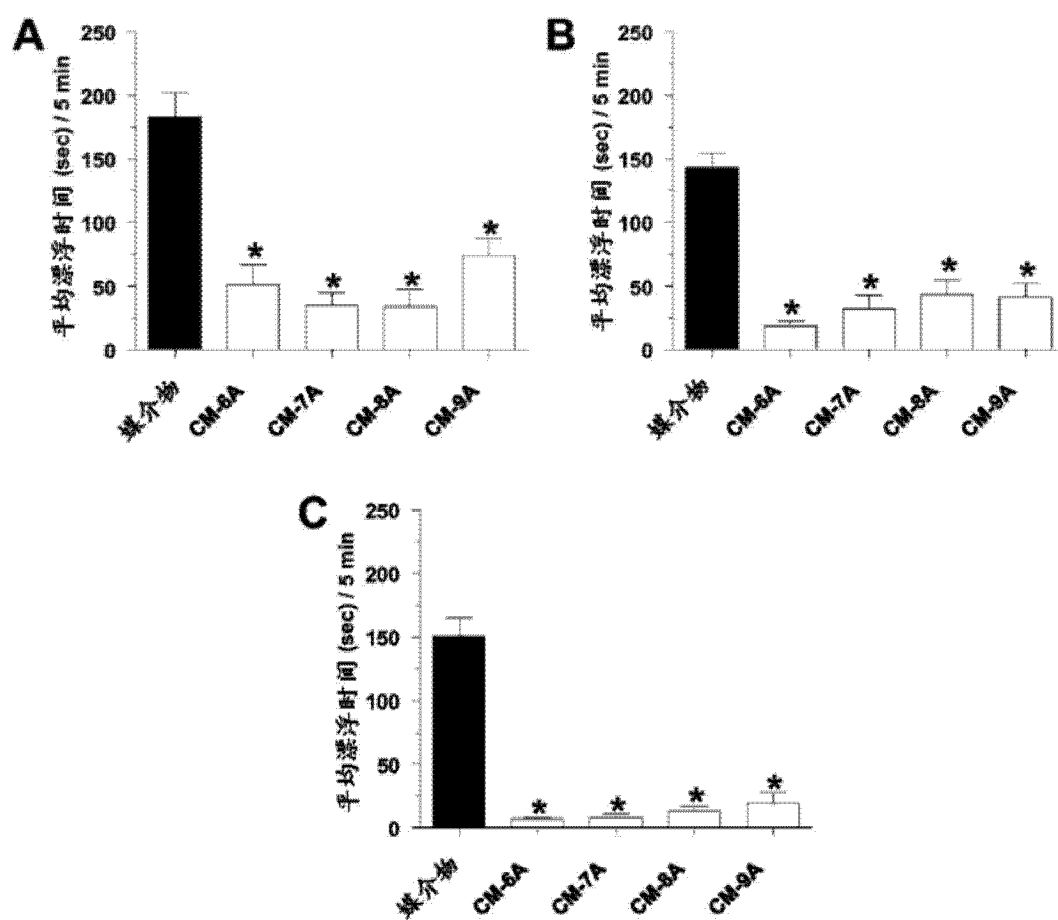


图 11

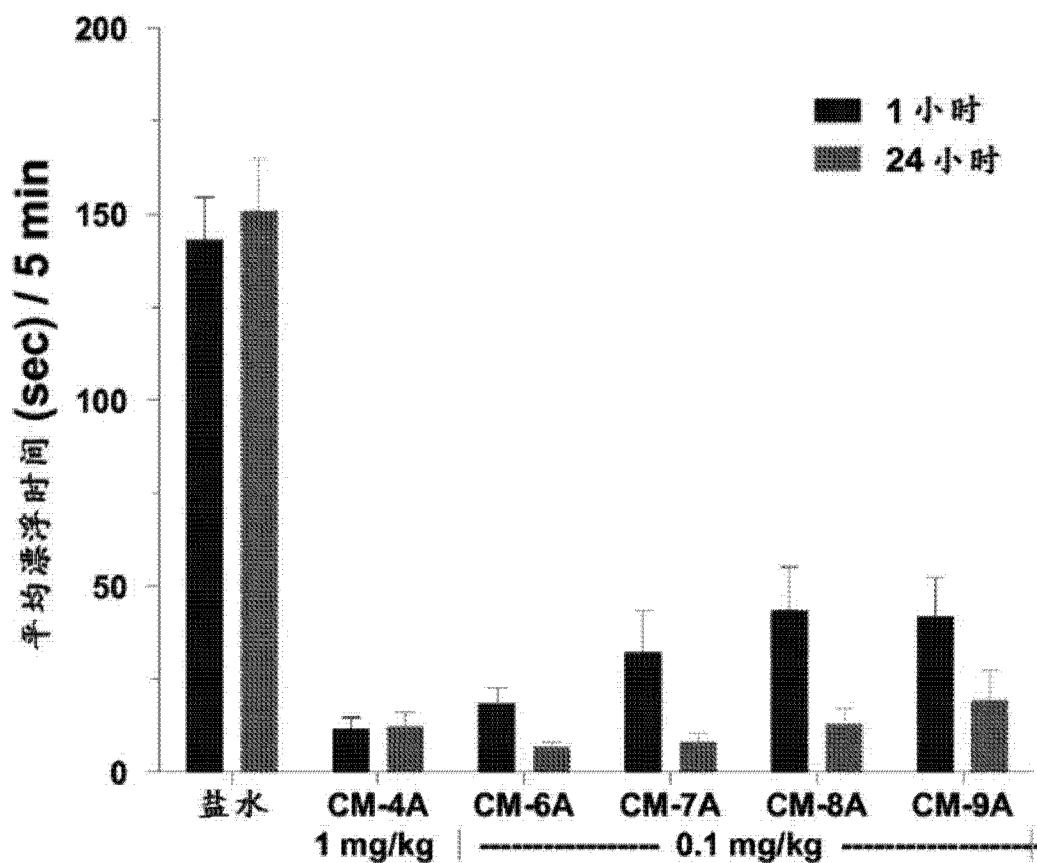


图 12

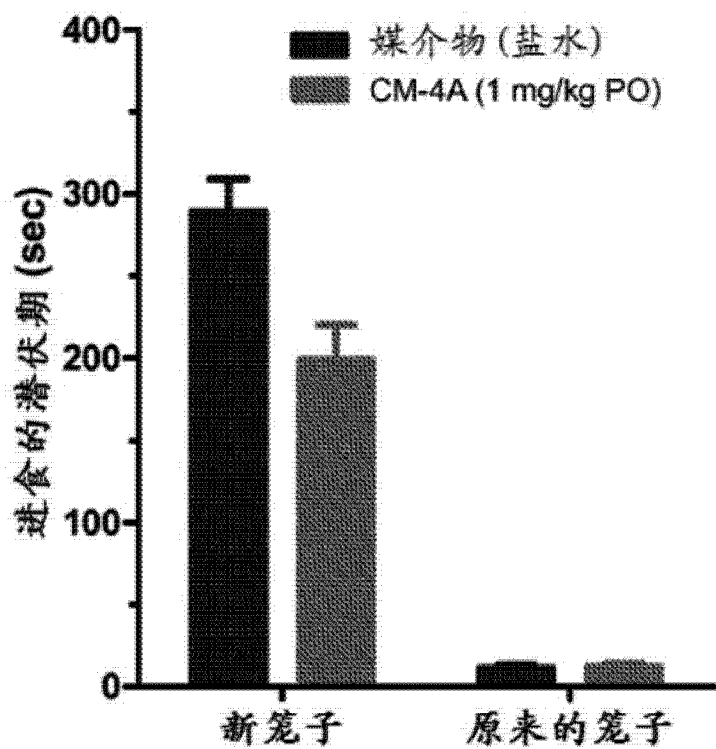
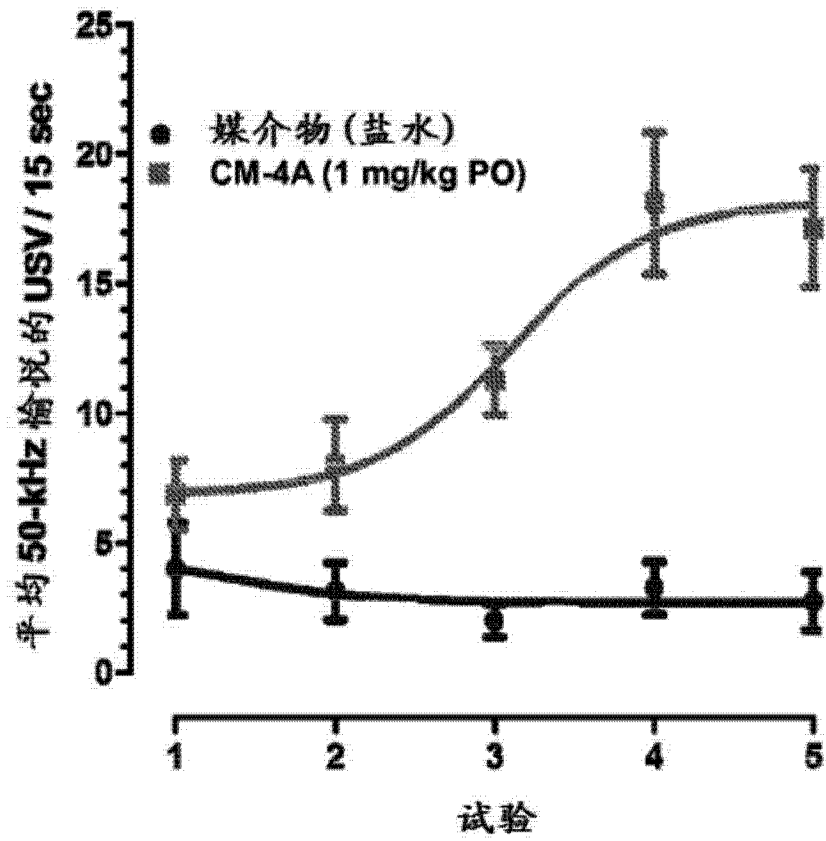
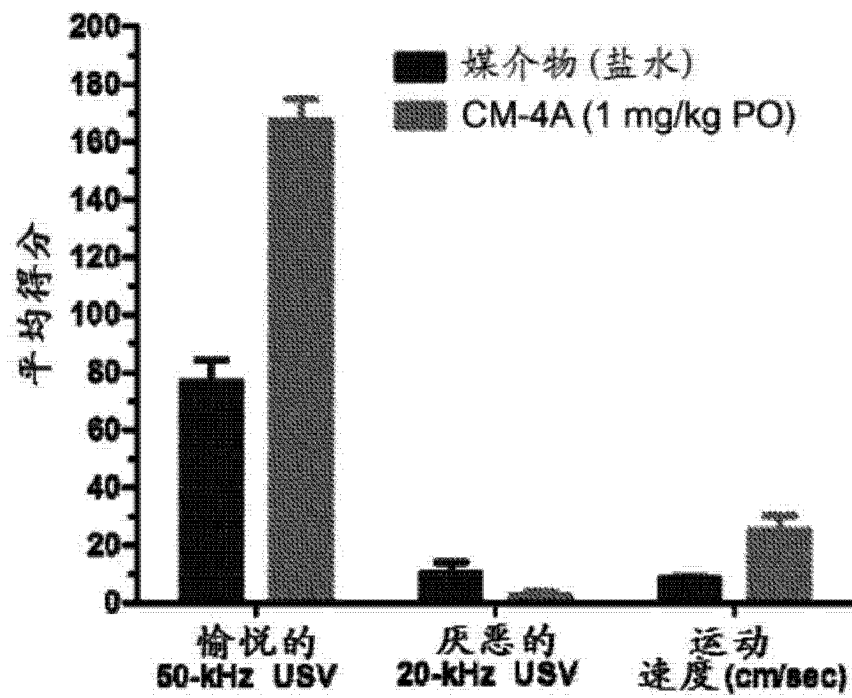


图 13



A.



B.

图 14

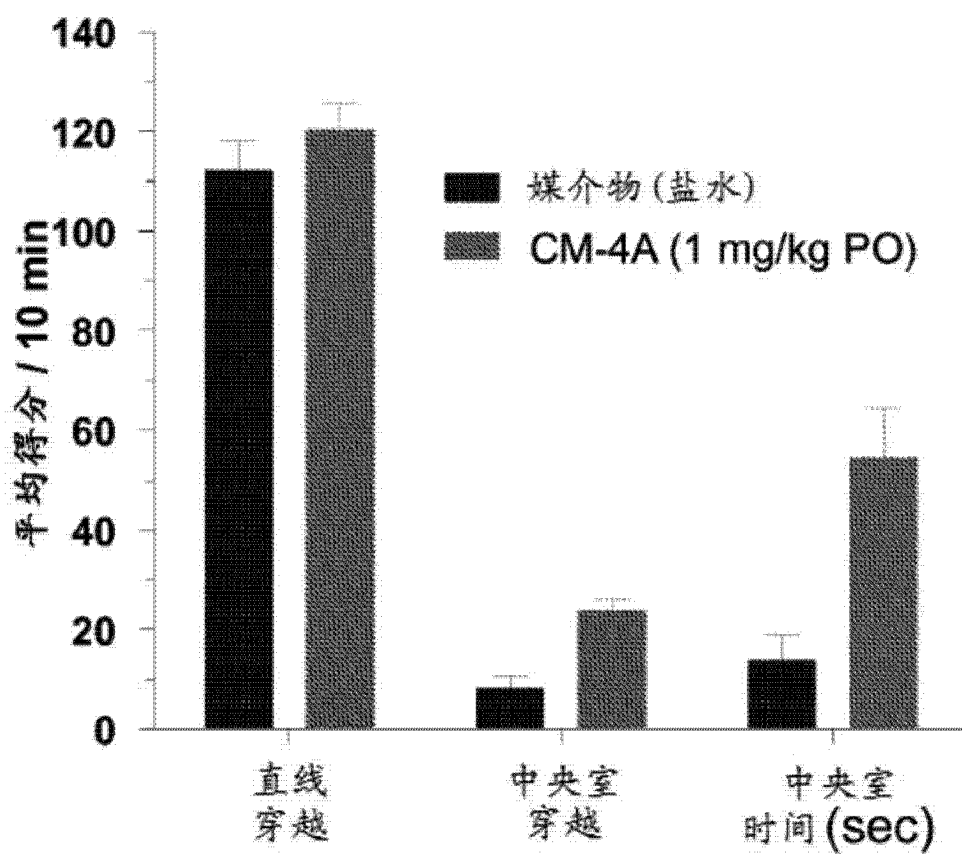


图 15

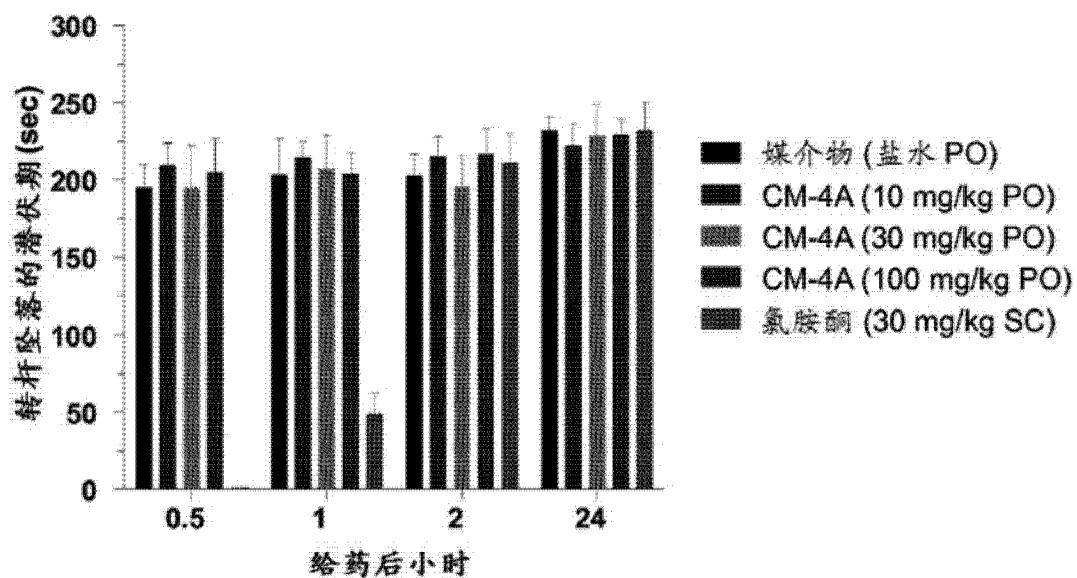


图 16