

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200780017663.2

[51] Int. Cl.

C07C 231/20 (2006.01)  
C07C 237/04 (2006.01)  
C07D 209/52 (2006.01)  
C07D 403/12 (2006.01)  
C07D 403/14 (2006.01)  
C07D 498/10 (2006.01)

[43] 公开日 2009年6月3日

[11] 公开号 CN 101448781A

[51] Int. Cl. (续)

A61K 31/498 (2006.01)

A61K 31/422 (2006.01)

A61K 31/403 (2006.01)

A61P 31/12 (2006.01)

[22] 申请日 2007.3.14

[21] 申请号 200780017663.2

[30] 优先权

[32] 2006.3.16 [33] US [31] 60/782,788

[32] 2006.3.16 [33] US [31] 60/782,976

[32] 2006.9.15 [33] US [31] 60/844,771

[86] 国际申请 PCT/US2007/006493 2007.3.14

[87] 国际公布 WO2007/109080 英 2007.9.27

[85] 进入国家阶段日期 2008.11.14

[71] 申请人 弗特克斯药品有限公司

地址 美国马萨诸塞州

[72] 发明人 R·B·佩尔尼 陈民章 郑荣春

R·E·富尔斯隆 G·J·塔努里

Y·本纳尼 G·奇洛卡尼克

F·马尔泰斯

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 关立新 范 赤

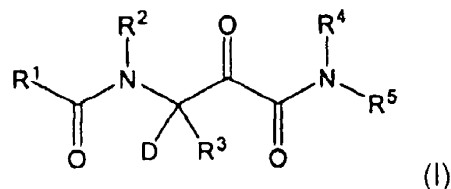
权利要求书 11 页 说明书 41 页

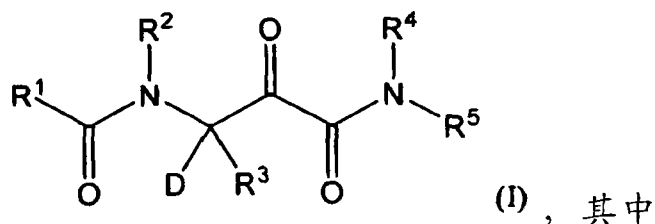
[54] 发明名称

氘化的丙型肝炎蛋白酶抑制剂

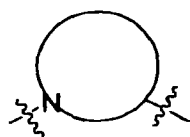
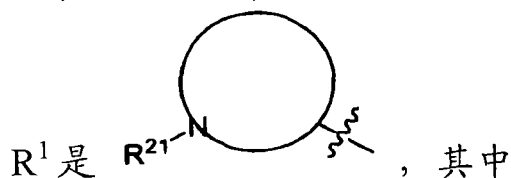
[57] 摘要

式(I)的氘富集的  $\alpha$ -酮酰胺立体特异性化合物, 其中 D 表示在立体特异性碳原子上的氘原子。



1. 下式的氘富集 $\alpha$ -酮酰胺化合物

D 表示氘原子;



是任选取代的单环氮杂杂环基或任选取代的多环氮杂

杂环基, 或任选取代的多环氮杂杂环烯基, 其中不饱和是在远离带有 R<sup>21</sup> 部分的环并与 -C(O)-N(R<sup>2</sup>)-CDR<sup>3</sup>-C(O)-C(O)-NR<sup>4</sup>R<sup>5</sup> 部分连接的环中;

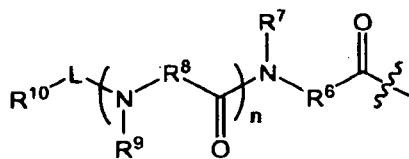
R<sup>21</sup> 是 Q<sup>3</sup>-W<sup>3</sup>-Q<sup>2</sup>-W<sup>2</sup>-Q<sup>1</sup>; 其中

W<sup>2</sup> 和 W<sup>3</sup> 各自独立地是键, -CO-, -CS-, -C(O)N(Q<sup>4</sup>)-, -CO<sub>2</sub>-, -O-, -N(Q<sup>4</sup>)-C(O)-N(Q<sup>4</sup>)-, -N(Q<sup>4</sup>)-C(S)-N(Q<sup>4</sup>)-, -OC(O)NQ<sup>4</sup>-, -S-, -SO-, -SO<sub>2</sub>-, -N(Q<sup>4</sup>)-, -N(Q<sup>4</sup>)SO<sub>2</sub>-, -N(Q<sup>4</sup>)SO<sub>2</sub>N(Q<sup>4</sup>)-, 以及当 W<sup>2</sup> 和 W<sup>3</sup> 任何一个为末端基团时, 其为氢;

Q<sup>1</sup>, Q<sup>2</sup> 和 Q<sup>3</sup> 各自独立地是键, 任选取代的脂族基, 任选取代的杂脂族基, 任选取代的环脂族基, 任选取代的芳基, 任选取代的杂芳基, 任选取代的芳烷基, 或任选取代的杂芳烷基; 或当 Q<sup>3</sup>, Q<sup>2</sup>, 或 Q<sup>1</sup> 任何一个为末端基团时, 其为氢, 条件是当 W<sup>3</sup> 和 W<sup>2</sup> 都存在时 Q<sup>2</sup> 不是键; 和

R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> 和 R<sup>4</sup> 各自独立地是 H 或 C<sub>1-6</sub> 烷基; 和

R<sup>5</sup> 是 H, 烷基, 环烷基, 任选被 1-4 个烷基取代的芳基, 烷基芳基、芳基, 任选被 1 或 2 个烷基取代的氨基。



2. 权利要求 1 的化合物，其中  $R^{21}$  是

中

$R^6$  和  $R^8$  各自独立地是

键；或

任选取代的(1,1-或 1,2-)环亚烷基；或

任选取代的(1,1-或 1,2-)杂环亚烷基；或

亚甲基或亚乙基，被一个选自由以下基团组成的组的取代基取代，所述取代基为任选取代的脂族基团，任选取代的环状基团以及任选取代的芳族基团，其中亚甲基或亚乙基进一步任选被脂族基团取代基取代；

$R^7$ ,  $R^9$  和  $R^{11}$  各自独立地是氢或任选取代的脂族基团；

$R^{10}$  是任选取代的脂族基团，任选取代的环状基团或任选取代的芳族基团；

L 是  $-C(O)-$ ,  $-OC(O)-$ ,  $-NR^{11}C(O)-$ ,  $-S(O)_2-$ ,  $-NR^{11}S(O)_2-$ , 或键；

n 是 0 或 1。

3. 权利要求 2 的化合物，其中 n 是 1。

4. 权利要求 2 的化合物，其中  $R^6$  是被一个选自由以下基团组成的组的取代基取代的亚甲基，所述取代基为任选取代的脂族基团，任选取代的环状基团，任选取代的芳族基团。

5. 权利要求 2 的化合物，其中  $R^6$  是被异丁基取代的亚甲基。

6. 权利要求 2 的化合物，其中  $R^7$  是氢。

7. 权利要求 2 的化合物，其中  $R^8$  是被一个选自由以下基团组成的组的取代基取代的亚甲基，所述取代基选自任选取代的脂族基团，任选取代的环状基团，任选取代的芳族基团。

8. 权利要求 7 的化合物，其中  $R^8$  是被任选取代的环状基团取代的亚甲基。

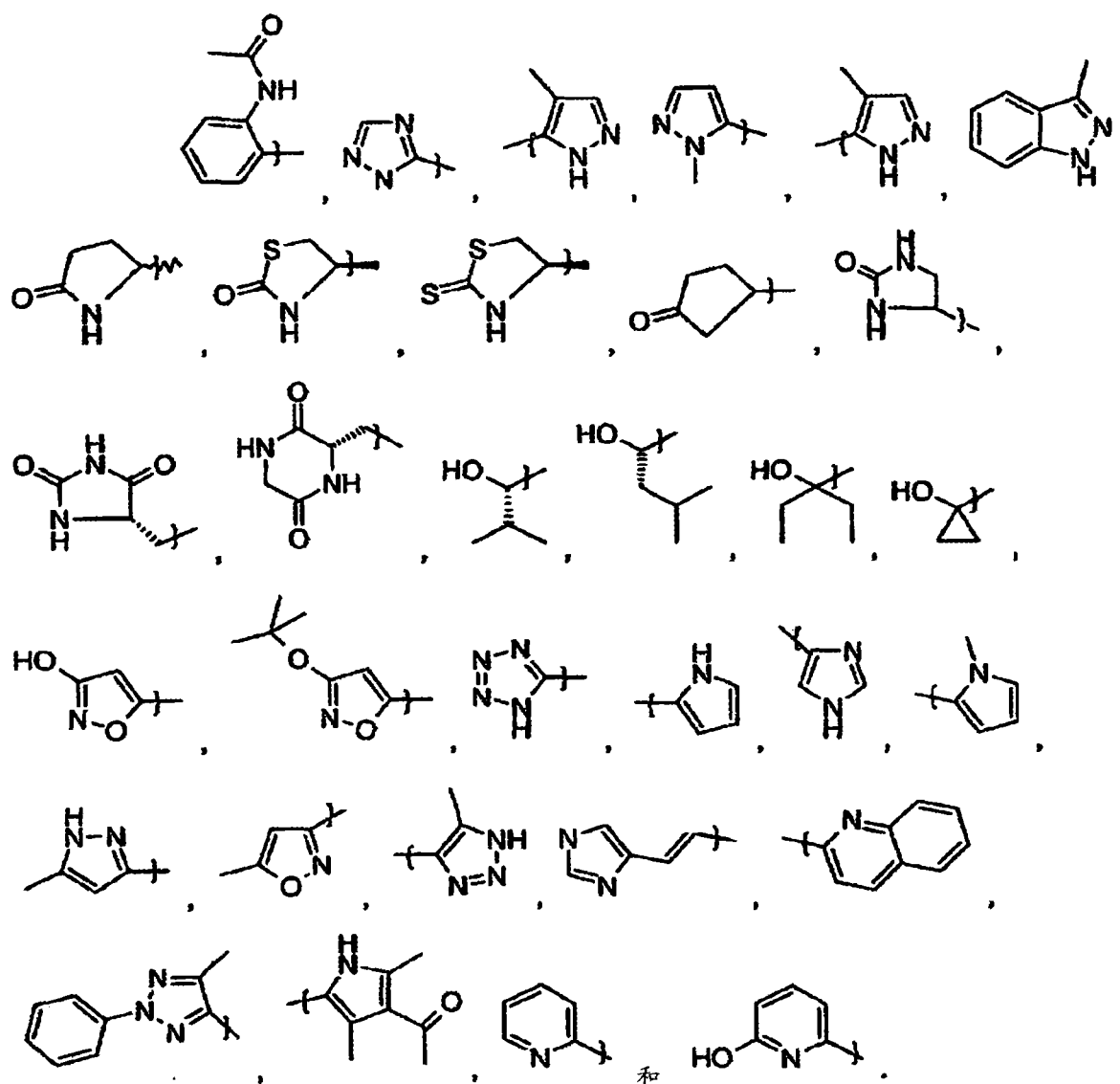
9. 权利要求 8 的化合物，其中  $R^8$  是被环己基取代的亚甲基。

10. 权利要求 2 的化合物，其中  $R^9$  是氢。

11. 权利要求 2 的化合物，其中 L 是  $-CO-$ 。

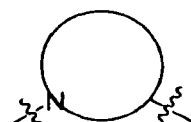
12. 权利要求 2 的化合物，其中  $R^{10}$  是任选被取代的芳族基团。

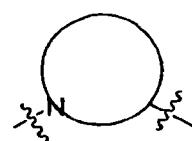
13. 权利要求 12 的化合物, 其中  $R^{10}$  选自以下基团:



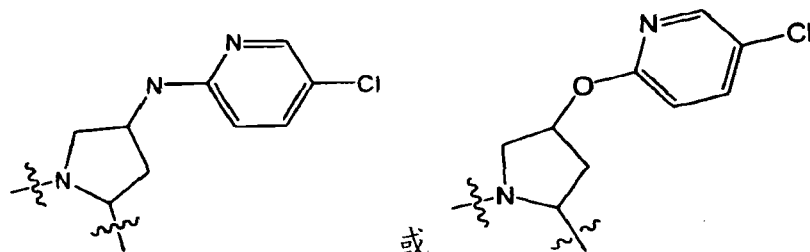
14. 权利要求 12 的化合物, 其中  $R^{10}$  是任选取代的吡嗪基.

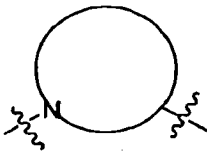
15. 权利要求 14 的化合物, 其中  $R^{10}$  是 2-吡嗪基.

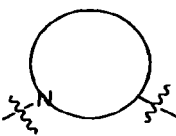
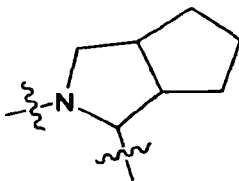
16. 权利要求 2 的化合物, 其中  是取代的单环氮杂杂环基。

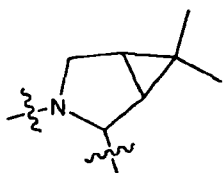
17. 权利要求 16 的化合物, 其中  是 3-碳原子被杂芳氧基取代的吡咯烷基, 其中杂芳基进一步任选被 1-4 个卤素基团取代。


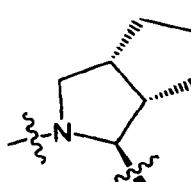
18. 权利要求 16 的化合物，其中  是

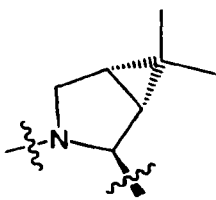


19. 权利要求 2 的化合物，其中  是任选取代的多环氮杂杂环基。

20. 权利要求 19 的化合物，其中  是  或



21. 权利要求 20 的化合物，其中  是  或



22. 权利要求 2 的化合物，其中  $R^2$  是氢， $R^4$  和  $R^5$  各自独立地是氢或环丙基。

23. 权利要求 2 的化合物，其中  $R^3$  是丙基。

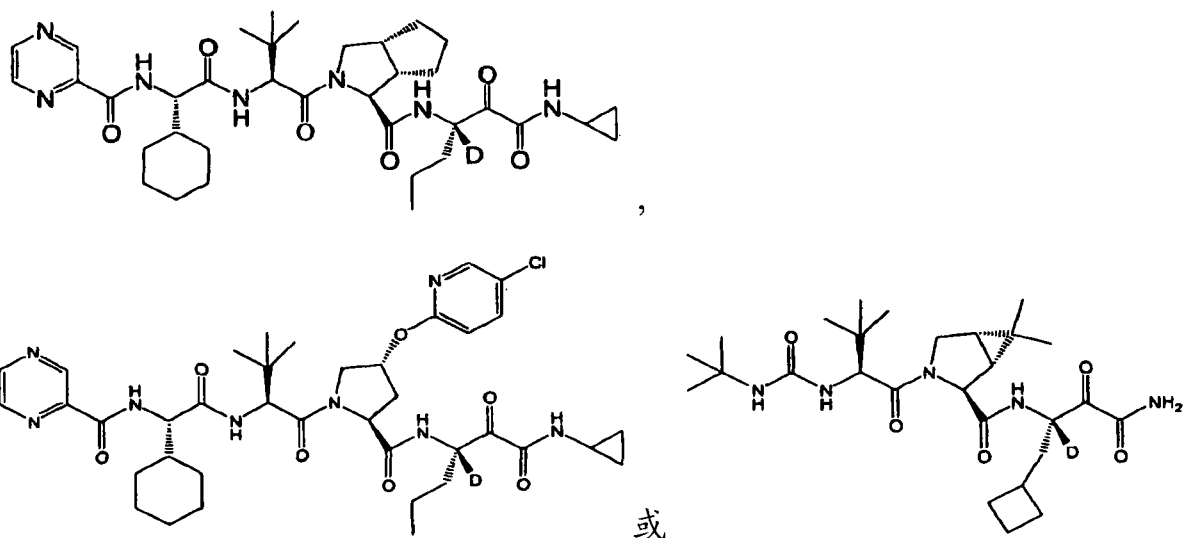
24. 权利要求 2 的化合物，其中  $n$  是 0。

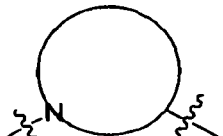
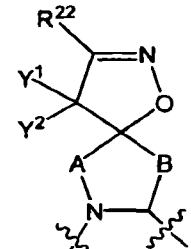
25. 权利要求 2 的化合物, 其中 L 是  $-NR^{11}C(O)-$ ,  $R^{11}$  是氢。

26. 权利要求 2 的化合物, 其中  $R^{10}$  是任选取代的脂族基团。

27. 权利要求 26 的化合物, 其中  $R^{10}$  是叔丁基。

28. 权利要求 2 的化合物, 其中该化合物是



29. 权利要求 19 的化合物, 其中  是 , 其中

其中 A 是  $-(CHX^1)_a-$ ;

B 是  $-(CHX^2)_b-$ ;

a 是 0 至 3;

b 是 0 至 3, 条件是  $a + b$  是 2 或 3;

$X^1$  和  $X^2$  各自独立选自氢, 任选取代的  $C_{1-4}$  脂族基, 任选取代的芳基;

$Y^1$  和  $Y^2$  各自独立地是氢, 任选取代的脂族基, 任选取代的芳基, 氨基或  $-OQ^4$ ; 其中  $Q^4$  各自独立地是氢或任选取代的脂族基;

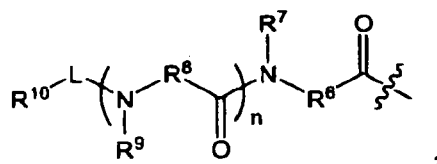
$R^{22}$  是任选取代的脂族基, 任选取代的环脂族基, 任选取代的杂环脂族基, 任选取代的芳基, 或任选取代的杂芳基。

30. 权利要求 29 的化合物, 其中  $R^{21}$  是任选取代的烷基羰基。

31. 权利要求 30 的化合物, 其中  $R^{21}$  是氨基烷基羰基, 卤代烷基羰

基，芳基烷基羰基，芳基烷基羰基，脂环族烷基羰基，或杂脂环族烷基羰基，其各自任选被 1-3 个取代基取代。

32. 权利要求 31 的化合物，其中  $R^{21}$  是杂环烷基-氧基羰基氨基-烷基羰基，杂芳基-羰基氨基-烷基-羰基氨基-烷基-羰基，双环芳基-磺酰氨基-烷基羰基，芳基-烷氧基-羰基氨基-烷基-羰基，烷基-羰基氨基-烷基-羰基，脂族基-氧基羰基氨基-烷基-羰基，脂环族基-烷基-氨基羰基氨基-烷基-羰基，杂芳基-羰基氨基-烷基-羰基氨基-烷基-羰基，烷基-氨基羰基氨基-烷基-羰基，或双环芳基-氨基羰基氨基-烷基-羰基，各自任选被 1-3 个取代基取代。



33. 权利要求 29 的化合物，其中  $R^{21}$  是

其中

$R^6$  和  $R^8$  各自独立地是

键；或

任选取代的(1,1-或 1,2-)环亚烷基；或

任选取代的(1,1-或 1,2-)杂环亚烷基；或

亚甲基或亚乙基，被一个选自由以下基团组成的组的取代基取代，所述取代基为任选取代的脂族基团，任选取代的环状基团以及任选取代的芳族基团，其中亚甲基或亚乙基进一步任选被脂族基团取代基取代；

$R^7$ ,  $R^9$  和  $R^{11}$  各自独立地是氢或任选取代的脂族基团；

$R^{10}$  是任选取代的脂族基团，任选取代的环状基团或任选取代的芳族基团；

L 是  $-C(O)-$ ,  $-OC(O)-$ ,  $-NR^{11}C(O)-$ ,  $-S(O)_2-$ ,  $-NR^{11}S(O)_2-$ , 或键；

n 是 0 或 1。

34. 权利要求 29 的化合物，其中  $R^{22}$  是任选取代的脂族基，任选取代的杂脂族基，任选取代的脂环族基，任选取代的杂脂环族基，任选取代的芳基或任选取代的杂芳基。

35. 权利要求 34 的化合物，其中  $R^{22}$  是任选取代的苯基，任选取代的萘基，任选取代的蒽基，任选取代的萘或任选取代的蒽。

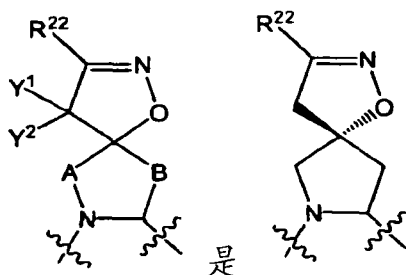
36. 权利要求 29 的化合物，其中  $X^1$ ,  $X^2$ ,  $Y^1$  和  $Y^2$  分别是氢，a 和 b

分别是 1。

37. 权利要求 36 的化合物, 其中  $R^{22}$  是任选取代的脂族基, 任选取代的杂脂族基, 任选取代的脂环族基, 任选取代的杂脂环族基, 任选取代的芳基或任选取代的杂芳基。

38. 权利要求 37 的化合物, 其中  $R^{22}$  是任选取代的苯基, 任选取代的萘基, 任选取代的蒽基, 任选取代的萘或任选取代的蒽。

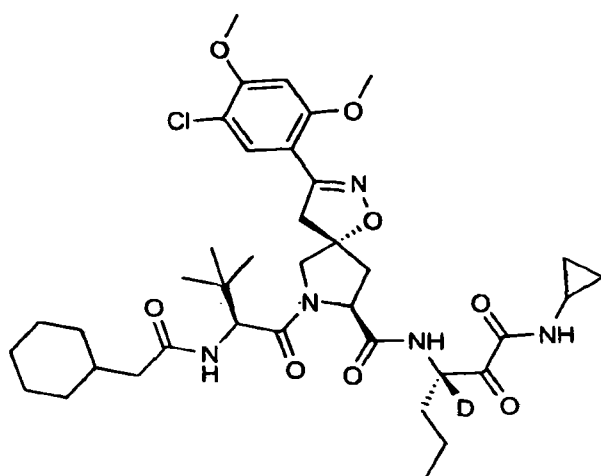
39. 权利要求 38 的化合物, 其中  $R^{21}$  是杂环烷基-氧基羰基氨基-烷基羰基, 杂芳基-羰基氨基-烷基-羰基氨基-烷基-羰基, 双环芳基-磺酰氨基-烷基羰基, 芳基-烷氧基-羰基氨基-烷基-羰基, 烷基-羰基氨基-烷基-羰基, 脂族基-氧基羰基氨基-烷基-羰基, 脂环族基-烷基-氨基羰基氨基-烷基-羰基, 杂芳基-羰基氨基-烷基-羰基氨基-烷基-羰基, 烷基-氨基羰基氨基-烷基-羰基, 或双环芳基-氨基羰基氨基-烷基-羰基, 各自任选被 1-3 个取代基取代。



40. 权利要求 29 的化合物, 其中

是

41. 权利要求 40 的化合物, 其中该化合物的结构是



42. 权利要求 1 的化合物, 其中化合物中氘富集量为至少 50%。

43. 权利要求 42 的化合物, 其中化合物中氘富集量为至少 80%。

44. 权利要求 43 的化合物, 其中化合物中氘富集量为至少 90%。



45. 权利要求 44 的化合物, 其中化合物中氘富集量为至少 99%。

46. 一种药物组合物, 其包括药学上可接受的载体和权利要求 1, 28, 41, 44 或 45 任一项的化合物。

47. 一种增加药剂活性异构体内浓度的方法, 包括给需要的患者施用足以产生药物作用的量的该药剂的氘化异构体。

48. 权利要求 47 的方法, 其中药剂的氘化异构体是权利要求 1, 28, 41, 44 或 45 任一项的化合物。

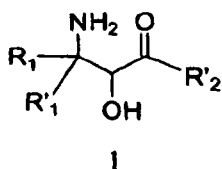
49. 一种增加化合物生物利用度的方法, 包括用氘原子替换化合物中与立体碳原子键合的氢原子。

50. 权利要求 49 的方法, 其中由此获得的氘化化合物是权利要求 1, 28, 41, 44 或 45 任一项的化合物。

51. 一种抑制 HCV 蛋白酶的方法, 包括用权利要求 1, 28, 41, 44 或 45 任一项的化合物接触 HCV 蛋白酶。

52. 一种治疗患有 HCV 感染或 HCV 蛋白酶介导的病症的患者的方法, 包括给患者施用药学有效量的权利要求 1, 28, 41, 44 或 45 任一项的化合物。

53. 一种制备光学富集的式 1 化合物的方法, 其中



$\alpha$  和  $\beta$  羧基的碳原子为立构中心;

$R_1$  独立地是 H, 任选取代的脂族基, 任选取代的脂环族基, 任选取代的芳脂族基, 任选取代的杂脂族基或任选取代的杂芳脂族基;

$R_1'$  是氘以使氘的富集量为至少 50%;

$R_2'$  是  $-NHR_2$  或  $-OE$ ;

$R_2$  是 H, 任选取代的脂族基, 任选取代的脂环族基, 任选取代的芳脂族基, 任选取代的杂脂族基或任选取代的杂芳脂族基; 和

$E$  是  $C_{1-6}$  烷基或苯甲基;

包括步骤:

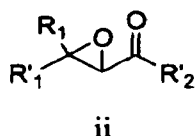
a) 形成式 1 化合物的盐, 和

b)结晶所述盐得到对映体过量 55% 以上的化合物。

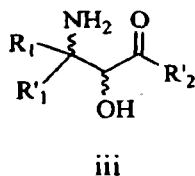
54. 权利要求 53 的方法，其中  $R_1$  是  $C_{1-6}$  烷基， $R'_2$  是  $-NHR_2$ ，其中  $R_2$  是  $C_{1-6}$  烷基或  $C_{1-6}$  环烷基。

55. 权利要求 54 的方法，其中  $R_1$  是丙基并且  $R_2$  是环丙基。

56. 权利要求 53 的方法，其中进一步包括用胺化试剂将式 ii 化合物

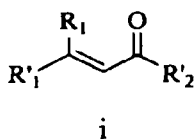


胺化以得到式 iii 的化合物

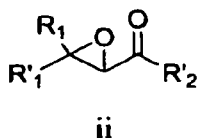


57. 权利要求 56 的方法，其中胺化试剂是叠氮化物盐，通过氢化使中间体叠氮化合物还原。

58. 权利要求 56 的方法，其中进一步包括用氧化试剂氧化不饱和的式 i 化合物，其中  $R'_2$  是  $-NHR_2$  或  $-OE$ ，其中 E 是  $C_{1-5}$  烷基或任选取代的苯甲基，



以得到式 ii 的化合物



59. 权利要求 58 的方法，其中氧化试剂包括叔丁基过氧化氢。

60. 权利要求 59 的方法，其中氧化试剂进一步包括手性试剂。

61. 权利要求 58 的方法，其中氧化试剂是异丙氧化钐 (III)，三苯

肿化氧, S-(-)1,1'-双-2-萘酚和 4 A 分子筛的混合物.

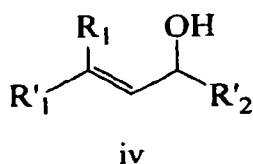
62. 权利要求 58 的方法, 其中氧化试剂包括在三氟乙酸酐存在的情况下的脲过氧化氢。

63. 权利要求 62 的方法, 其中  $R'_2$  是 -OE。

64. 权利要求 62 的方法, 其中  $R'_2$  是 -NHR<sub>2</sub>。

65. 权利要求 58 的方法, 其中水解式 ii 的化合物以得到酸, 然后将酸转化为式 ii 的酰胺化合物, 其中  $R'_2$  是 -NHR<sub>2</sub>。

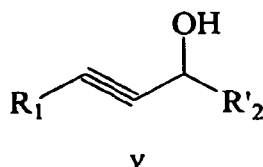
66. 权利要求 58 的方法, 其中进一步包括氧化式 iv 的化合物



以得到式 ii 的化合物。

67. 权利要求 66 的方法, 其中氧化通过使用二氧化锰进行。

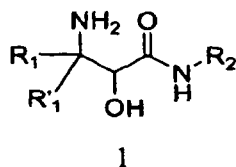
68. 权利要求 66 的方法, 进一步包括还原式 V 的化合物



以得到式 iv 的化合物。

69. 权利要求 68 的方法, 其中用 Red-Al<sup>®</sup>还原化合物, 然后用氧化剂淬灭。

70. 制备式 I 化合物的方法



其中:

$R_1$  是 H, 任选取代的脂族基, 任选取代的脂环族基, 任选取代的芳脂族基, 任选取代的杂脂族基或任选取代的杂芳脂族基;



## 氘化的丙型肝炎蛋白酶抑制剂

### 交叉参照

本申请要求 2006 年 3 月 16 日提交的美国临时申请序列第 60/782,778 号, 2006 年 3 月 16 日提交的美国临时申请序列第 60/782,976 号和 2006 年 9 月 15 日提交的美国临时申请序列第 60/844,771 号的权益。

### 发明背景

丙型肝炎病毒(“HCV”)感染是一个亟需解决的人类医学问题。HCV 被公认为是大多数非甲非乙型肝炎的原因, 据估计全球人口的血清流行率为 3% [A. Alberti 等人, “Natural History of Hepatitis C,” J. Hepatology, 31., (Suppl. 1), 第 17-24 页(1999)]. 仅在美国, 近四百万人可能已被感染[MJ. Alter, “The Epidemiology of Viral Hepatitis in the United States, Gastroenterol. Clin. North Am., 23, 第 437-455 页(1994); M. J. Alter “Hepatitis C Virus Infection in the United States,” J. Hepatology, 31., (Suppl. 1), 第 88-91 页(1999)].

当首次暴露于 HCV, 仅有约 20% 的被感染个体发展为急性临床肝炎, 而其他人的感染似乎自发地消散。不过, 在几乎 70% 的情形中, 病毒建立起慢性感染, 持续数十年[S. Iwarson, “The Natural Course of Chronic Hepatitis,” FEMS Microbiology Reviews, 14, 第 201-204 页(1994); D. Lavanchy, “Global Surveillance and Control of Hepatitis C,” J. Viral Hepatitis, 6, 第 35-47 页(1999)]. 这通常导致复发性和进行性恶化性肝脏炎症, 经常引起更为严重的疾病状态, 例如肝硬化和肝细胞癌[M.C. Kew, “Hepatitis C and Hepatocellular Carcinoma”, FEMS Microbiology Reviews, 14, 第 211-220 页(1994); I.Saito 等人, “Hepatitis C Virus Infection is Associated with the Development of Hepatocellular Carcinoma,” Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87, 第 6547-6549 页(1990)]. 不幸的是, 没有普遍有效的治疗可以削弱慢性 HCV 的进展。

HCV 基因组编码 3010-3033 个氨基酸的多蛋白[Q.L. Choo 等, “Genetic Organization and Diversity of the Hepatitis C Virus.” Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 88, pp. 2451-2455 (1991); N. Kato 等, “Molecular

Cloning of the Human Hepatitis C Virus Genome From Japanese Patients with Non-A, Non-B Hepatitis," *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 87, pp. 9524-9528 (1990); A. Takamizawa 等, "Structure and Organization of the Hepatitis C Virus Genome Isolated From Human Carriers," *J. Virol.*, 65, pp. 1105-1113 (1991)]. HCV 非结构性(NS)蛋白被假定为病毒复制提供必需的催化手段。NS 蛋白起源于多蛋白的蛋白水解性裂解[R. Bartenschlager 等, "Nonstructural Protein 3 of the Hepatitis C Virus Encodes a Serine-Type Proteinase Required for Cleavage at the NS3/4 and NS4/5 Junctions," *J. Virol.*, 67, pp. 3835-3844 (1993); A. Grakoui 等, "Characterization of the Hepatitis C Virus-Encoded Serine Proteinase: Determination of Proteinase-Dependent Polyprotein Cleavage Sites," *J. Virol.*, 67, pp. 2832-2843 (1993); A. Grakoui 等, "Expression and Identification of Hepatitis C Virus Polyprotein Cleavage Products," *J. Virol.*, 67, pp. 1385-1395 (1993); L. Tomei 等, "NS3 is a serine protease required for processing of hepatitis C virus polyprotein", *J. Virol.*, 67, pp. 4017-4026 (1993)].

HCV NS 蛋白 3(NS3)含有丝氨酸蛋白酶活性,这有助于加工大多数病毒酶,因而被视为病毒复制和感染性所必需的。已知黄热病病毒 NS3 蛋白酶的突变降低病毒的感染性[Chambers, TJ 等人, "Evidence that the N-terminal Domain of Nonstructural Protein NS3 From Yellow Fever Virus is a Serine Protease Responsible for Site-Specific Cleavages in the Viral Polyprotein", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 87, pp. 8898-8902 (1990)]. 已经显示 NS3 的前 181 个氨基酸(病毒多蛋白的第 1027-1207 个残基)含有加工 HCV 多蛋白的全部四个下游位点的 NS3 丝氨酸蛋白酶结构域 [C. Lin 等人, "Hepatitis C Virus NS3 Serine Proteinase: Trans- Cleavage Requirements and Processing Kinetics", *J. Virol.*, 68, pp. 8147-8157 (1994)].

HCV NS3 丝氨酸蛋白酶及其有关辅因子 NS4A 有助于加工全部病毒酶,因而被视为病毒复制所必需的。这种加工似乎类似于由人免疫缺陷病毒天冬氨酰蛋白酶所进行的加工,该蛋白酶也参与病毒酶加工。HIV 蛋白酶抑制病毒蛋白的加工,其是有力的人用抗病毒剂,表明干扰这一阶段的病毒生命周期可以获得治疗活性剂。所以, HCV NS3 丝氨酸蛋

白酶是一个有吸引力的药物发现目标。

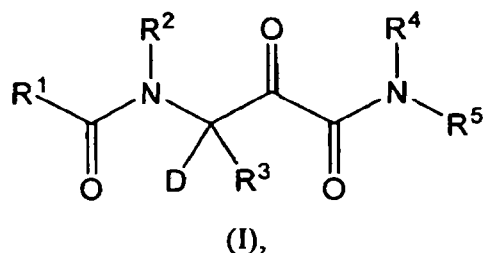
目前还没有任何令人满意的抗-HCV 剂或治疗。直到最近, 唯一既定的 HCV 疾病疗法是干扰素治疗。不过, 干扰素具有显著的副作用[M. A. Wlaker 等, "Hepatitis C Virus: An Overview of Current Approaches and Progress," DDT, 4, pp. 518-29 (1999); D. Moradpour 等, "Current and Evolving Therapies for Hepatitis C," Eur. J. Gastroenterol. Hepatol., 11, pp. 1 199-1202 (1999); H. L. A. Janssen 等, "Suicide Associated with Alfa-Interferon Therapy for Chronic Viral Hepatitis," J. Hepatol., 21, pp. 241-243 (1994); P.F. Renault 等, "Side Effects of Alpha Interferon," Seminars in Liver Disease, 9, pp. 273-277. (1989)], 仅在一部分(约 25%) 病例中诱导长期的缓解作用[O. Weiland, "Interferon Therapy in Chronic Hepatitis C Virus Infection", FEMS Microbiol. Rev., 14, pp. 279-288 (1994)]. 最近关于干扰素的 PEG 化形式(PEG-INTRON®和 PEGASYS®) 与病毒唑和 PEG 化共轭素(REBETROL®)的联合治疗的介绍, 仅仅在缓解率方面产生少量的改进、并且在副作用方面仅仅产生部分降低。而且, 有效抗-HCV 疫苗的前景仍然是不确定的。

因而, 存在对更有效的抗-HCV 疗法的需求。这类抑制剂作为蛋白酶抑制剂将具有治疗潜力, 尤其作为丝氨酸蛋白酶抑制剂, 更尤其作为 HCV NS 3 蛋白酶抑制剂。具体而言, 这类化合物可以用作抗病毒剂, 特别是用作抗-HCV 剂。

最近发现在化合物中引入氘将会由于氘的同位素效应而降低差向异构化速率, 由此相对于其未氘化的类似物提高活性异构体的体内浓度。

### 发明概述

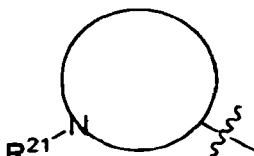
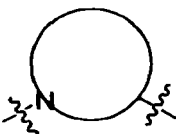
本发明涉及氘化的式 (I) 的化合物



及其药学可接受的盐、前药以及溶剂化合物。在(I)中D代表氮原子。

涉及式(I)时,

D代表氮原子;

$R^1$  是  , 其中  是任选取代的单环氮杂

杂环基或任选取代的多环氮杂杂环基, 或任选取代的多环氮杂杂环烯基, 其中不饱和是在远离带有  $R^{21}$  部分的环并与  $-C(O)-N(R^2)-CDR^3-C(O)-C(O)-NR^4R^5$  部分连接的环中;

$R^{21}$  是  $Q^3-W^3-Q^2-W^2-Q^1$ ; 其中  $W^2$  和  $W^3$  各自独立地是键,  $-CO-$ ,  $-CS-$ ,  $-C(O)N(Q^4)-$ ,  $-CO_2-$ ,  $-O-$ ,  $-N(Q^4)-C(O)-N(Q^4)-$ ,  $-N(Q^4)-C(S)-N(Q^4)-$ ,  $-OC(O)NQ^4-$ ,  $-S-$ ,  $-SO-$ ,  $-SO_2-$ ,  $-N(Q^4)-$ ,  $-N(Q^4)SO_2-$ ,  $-N(Q^4)SO_2N(Q^4)-$ , 以及当  $W^2$  和  $W^3$  任何一个为末端基团时, 其为氢;

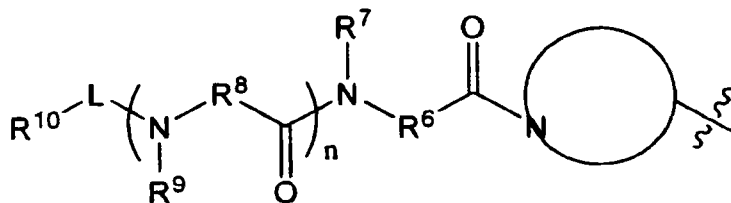
$Q^1$ ,  $Q^2$  和  $Q^3$  各自独立地是键, 任选取代的脂族基, 任选取代的杂脂族基, 任选取代的环脂族基, 任选取代的芳基, 任选取代的杂芳基, 任选取代的芳烷基, 或任选取代的杂芳烷基; 或当  $Q^3$ ,  $Q^2$ , 或  $Q^1$  任何一个为末端基团时, 其为氢, 条件是当  $W^3$  和  $W^2$  都存在时  $Q^2$  不是键; 和

$R^2$ ,  $R^3$  和  $R^4$  各自独立地是 H 或  $C_{1-6}$  烷基; 和

$R^5$  是 H, 烷基, 环烷基, 任选被 1-4 个烷基取代的芳基, 烷基芳基、芳基, 任选被 1 或 2 个烷基取代的氨基; 和

$R^{21}$  是  $Q^3-W^3-Q^2-W^2-Q^1$ ; 其中  $W^2$  和  $W^3$  各自独立地是键,  $-CO-$ ,  $-CS-$ ,  $-C(O)N(Q^4)-$ ,  $-CO_2-$ ,  $-O-$ ,  $-N(Q^4)-C(O)-N(Q^4)-$ ,  $-N(Q^4)-C(S)-N(Q^4)-$ ,  $-OC(O)NQ^4-$ ,  $-S-$ ,  $-SO-$ ,  $-SO_2-$ ,  $-N(Q^4)-$ ,  $-N(Q^4)SO_2-$ ,  $-N(Q^4)SO_2N(Q^4)-$ , 和当  $W^2$  和  $W^3$  任何一个为末端基团时, 其为氢;  $Q^1$ ,  $Q^2$  和  $Q^3$  各自独立地是键, 任选取代的脂族基, 任选取代的杂脂族基, 任选取代的环脂族基, 任选取代的芳基、任选取代的杂芳基、任选取代的芳烷基、任选取代的杂芳烷基; 或当  $Q^3$ ,  $Q^2$ , 或  $Q^1$  任何一个为末端基团时, 其为氢, 条件是当  $W^3$  和  $W^2$  都存在时  $Q^2$  不是键。





在一些实施方案中,  $R^1$  是

其中

$R^6$  和  $R^8$  各自独立地是

键; 或

任选取代的(1,1-或 1,2-)环亚烷基; 或

任选取代的(1,1-或 1,2-)杂环亚烷基 (heterocyclylene); 或

亚甲基或亚乙基, 可被一个选自由以下基团组成的组的取代基取代, 所述取代基为任选取代的脂族基团, 任选取代的环状基团以及任选取代的芳族基团, 其中亚甲基或亚乙基进一步任选被脂族基团取代基取代;

$R^7$ ,  $R^9$  和  $R^{11}$  各自独立地是氢或任选取代的脂肪族基团;

$R^{10}$  是任选取代的脂族基团, 任选取代的环状基团或任选取代的芳族基团;

L 是  $-C(O)-$ ,  $-OC(O)-$ ,  $-NR^{11}C(O)-$ ,  $-S(O)_2-$ ,  $-NR^{11}S(O)_2-$ , 或键;

n 是 0 或 1。

在一些实施方案中, n 是 1。

在一些实施方案中,  $R^6$  是被一个选自由以下基团组成的组的取代基取代的亚甲基, 所述取代基为任选取代的脂族基团, 任选取代的环状基团, 任选取代的芳族基团。

在一些实施方案中,  $R^6$  是被异丁基取代的亚甲基。

在一些实施方案中,  $R^7$  是氢。

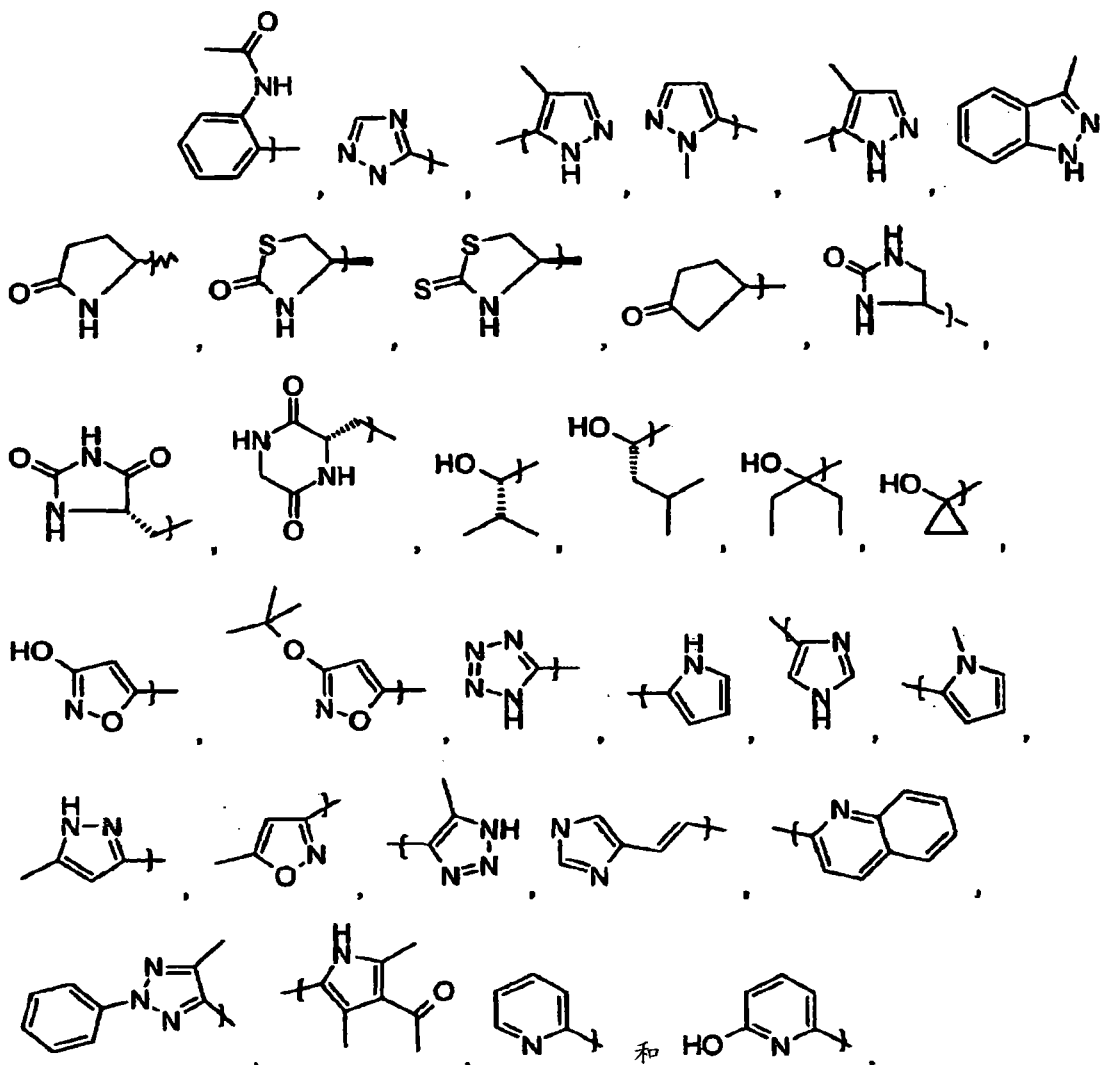
在一些实施方案中,  $R^8$  是被一个选自由以下基团组成的组的取代基取代的亚甲基, 所述取代基选自任选取代的脂族基团, 任选取代的环状基团, 任选取代的芳族基团。在一些另外的实施方案中,  $R^8$  是被任选取代的环状基团取代的亚甲基。还是在一些另外的实施方案中,  $R^8$  是被环己基取代的亚甲基。

在一些实施方案中,  $R^9$  是氢。


在一些实施方案中, L 是  $-CO-$ 。

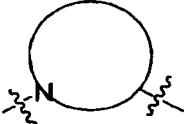
在一些实施方案中， $R^{10}$  是任选被取代的芳族基团。

在一些实施方案中， $R^{10}$  选自以下基团：

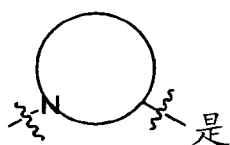


在一些实施方案中， $R^{10}$  是任选取代的吡嗪基（例如 2-吡嗪基）。

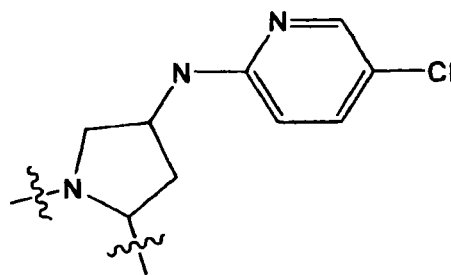
在一些实施方案中， 是取代的单环氮杂杂环基。

在一些实施方案中， 是 3-碳原子被杂芳氧基取代的吡咯烷基，其中杂芳基进一步任选被 1-4 个卤素基团取代。

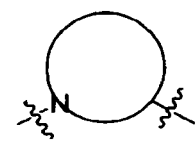
在一些实施方案中,



是

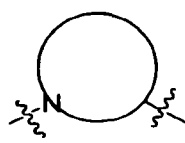


在一些实施方案中,

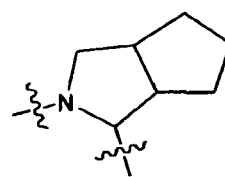


是任选取代的多环氮杂杂环基。

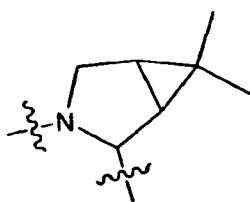
在一些实施方案中,



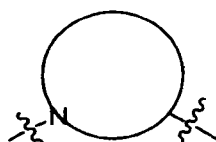
是



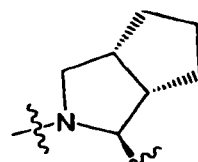
或



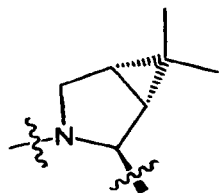
。在一些实施方案中,



是



或



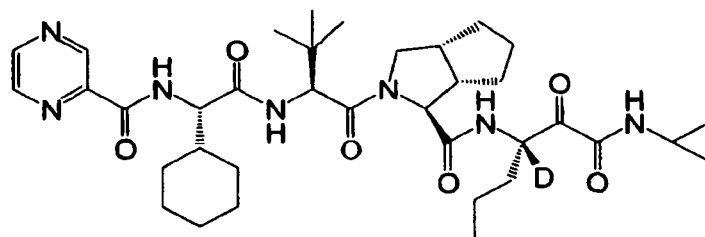
在一些实施方案中,  $R^2$  是氢,  $R^4$  和  $R^5$  各自独立地是氢或环丙基。

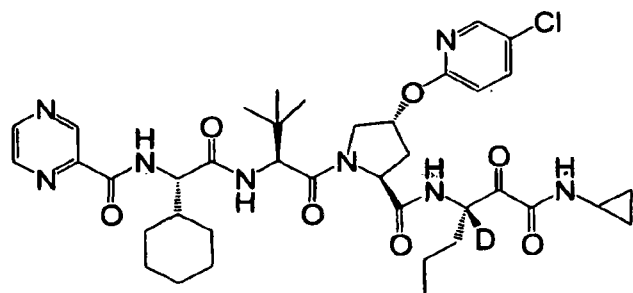
在另一个实施方案中,  $R^3$  是丙基。在另一个实施方案中,  $n$  是 0。在另一个

实施方案中,  $L$  是  $-NR^{11}C(O)-$ ,  $R^{11}$  是氢。在另一个实施方案中,  $R^{10}$

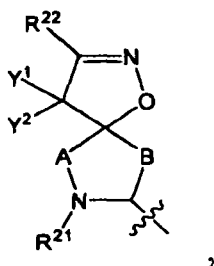
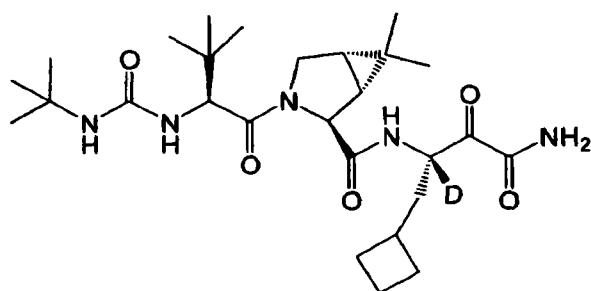
是任选取代的脂族基团。在另一个实施方案中,  $R^{10}$  是叔丁基。在另一

个实施方案中, 该化合物是





或



在一些实施方案中， $R^1$  是

其中 A 是  $-(CHX^1)_a-$ ;

B 是  $-(CHX^2)_b-$ ;

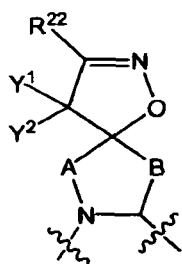
a 是 0 至 3;

b 是 0 至 3，条件是  $a + b$  是 2 或 3;

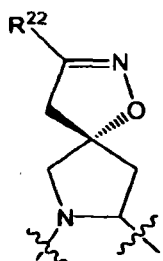
$X^1$  和  $X^2$  各自独立选自氢，任选取代的  $C_{1-4}$  脂族基，任选取代的芳基;

$Y^1$  和  $Y^2$  各自独立地是氢，任选取代的脂族基，任选取代的芳基，氨基或  $-OQ^4$ ; 其中  $Q^4$  各自独立地是氢或任选取代的脂族基;

$R^{22}$  是任选取代的脂族基，任选取代的环脂族基，任选取代的杂环脂族基，任选取代的芳基，或任选取代的杂芳基。在一些实施方案中， $R^{21}$  是任选取代的烷基羰基。



部分包括其全部立体特异性的对映异构体，例如



(当 A 和 B 都是  $\text{CH}_2$  时， $\text{Y}^1$  和  $\text{Y}^2$  都是 H)。

在一些实施方案中， $\text{R}^{21}$  是氨基烷基羰基，卤代烷基羰基，芳基烷基羰基，芳基烷基羰基，脂环族烷基羰基，或杂脂环族烷基羰基，其各自任选被 1-3 个取代基取代。在一些实施方案中， $\text{R}^{21}$  是杂环烷基-氧基羰基氨基-烷基羰基，杂芳基-羰基氨基-烷基-羰基氨基-烷基-羰基，双环芳基-磺酰氨基-烷基羰基，芳基-烷氧基-羰基氨基-烷基-羰基，烷基-羰基氨基-烷基-羰基，脂族基-氧基羰基氨基-烷基-羰基，脂环族基-烷基-氨基羰基氨基-烷基-羰基，杂芳基-羰基氨基-烷基-羰基氨基-烷基-羰基，烷基-氨基羰基氨基-烷基-羰基，或双环芳基-氨基羰基氨基-烷基-羰基，各自任选被 1-3 个取代基取代。在一些实施方案中， $\text{R}^{22}$  是任选取代的脂族基，任选取代的杂脂族基，任选取代的脂环族基，任选取代的杂脂环族基，任选取代的芳基或任选取代的杂芳基。在一些实施方案中， $\text{R}^{22}$  是任选取代的苯基，任选取代的萘基，任选取代的蒽基，任选取代的萘或任选取代的蒽。在一些实施方案中， $\text{X}^1, \text{X}^2, \text{Y}^1$  和  $\text{Y}^2$  分别是氢，a 和 b 分别是 1。

在一些实施方案中， $\text{R}^{21}$  是任选取代的烷基羰基。

在一些实施方案中， $\text{R}^{21}$  是氨基烷基羰基，卤代烷基羰基，芳烷基羰基，芳烷基羰基，脂环烷基羰基或杂脂环烷基羰基，其各自任选被 1-3 个取代基取代。

在一些实施方案中， $\text{R}^{21}$  是杂环烷基-氧基羰基氨基-烷基羰基，杂芳基-羰基氨基-烷基-羰基氨基-烷基-羰基，双环芳基-磺酰氨基-烷基羰基，芳基-烷氧基-羰基氨基-烷基-羰基，烷基-羰基氨基-烷基-羰基，脂族基-

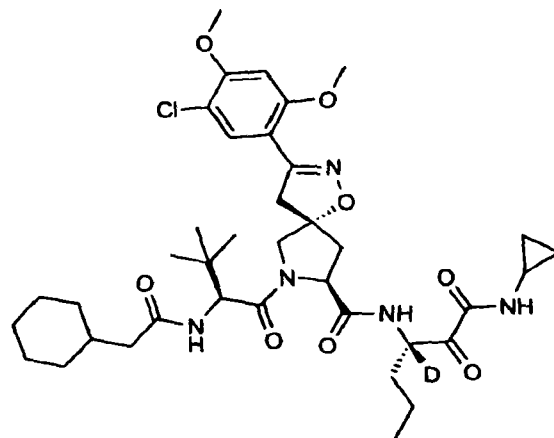
氧基羰基氨基-烷基-羰基，脂环族基-烷基-氨基羰基氨基-烷基-羰基，脂环族基-烷基-羰基氨基-烷基-羰基，杂芳基-羰基氨基-烷基-羰基氨基-烷基-羰基，烷基-氨基羰基氨基-烷基-羰基，或双环芳基-氨基羰基氨基-烷基-羰基，各自任选被 1-3 个取代基取代。

在一些实施方案中， $R^{22}$  是任选取代的脂族基，任选取代的杂脂族基，任选取代的脂环族基，任选取代的杂脂环族基，任选取代的芳基或任选取代的杂芳基。

在一些实施方案中， $R^{22}$  是任选取代的苯基，任选取代的萘基，任选取代的蒽基，任选取代的萘或任选取代的蒽。

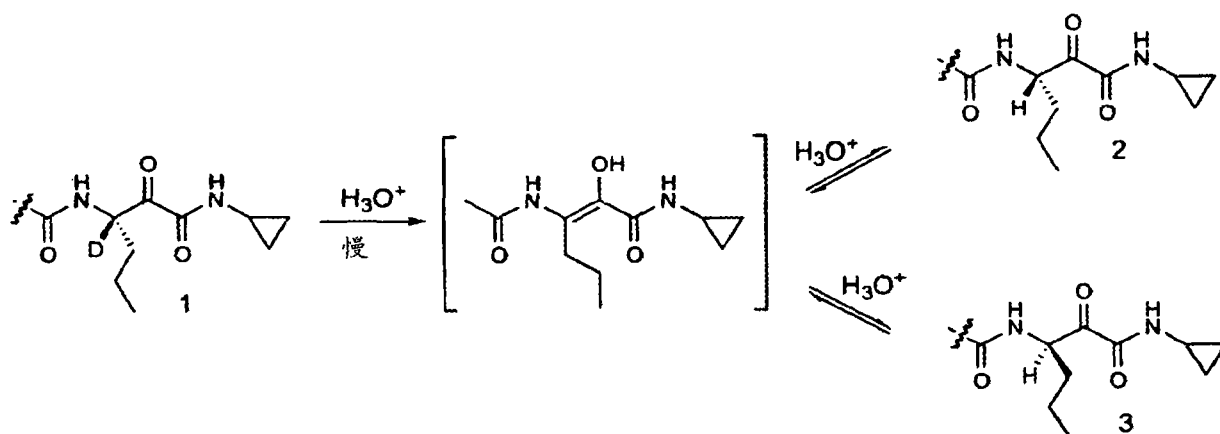
在一些实施方案中， $X^1, X^2, Y^1$  和  $Y^2$  分别是氢， $a$  和  $b$  分别是 1。

在一些实施方案中， $R^{22}$  是任选取代的脂族基，任选取代的杂脂族基，任选取代的脂环族基，任选取代的杂脂环族基，任选取代的芳基或任选取代的杂芳基。



在一个实施方案中，化合物是

本发明的氘化化合物的差向异构化比其未氘化的对应物要慢。如下所示，氘化的化合物 1 非常缓慢的转化为未氘化的中间体，然后转化为差向异构体 2 和 3。然后差向异构体 2 和 3 保持平衡，这种平衡进一步延缓了氘化化合物 1 的差向异构化。



由于其差向异构化缓慢，本发明的氘化化合物相对于其未氘化的类似物能够提高活性异构体的体内浓度。

在一些实施方案中，本发明化合物中氘富集量为至少 50%。在一些实施方案中，本发明化合物中氘富集量为至少 80%。在一些实施方案中，本发明化合物中氘富集量为至少 90%。在一些实施方案中，本发明化合物中氘富集量为至少 99%。

本发明还涉及一种药物组合物，其包括药学上可接受的载体和式(I)的化合物或以上所述任一实施方案的化合物。

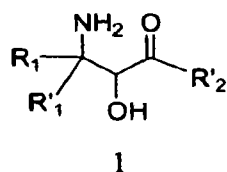
本发明还涉及增加药剂活性异构体体内浓度的方法，包括给需要的患者施用足以产生药物作用的量的该药剂的氘化异构体。

本发明还涉及增加化合物生物利用度的方法，包括用氘原子替换化合物中与立体碳原子键合的氢原子。在一个实施方案中，氘化的化合物为式(I)或以上所述任一实施方案的化合物。

本发明还涉及抑制 HCV 蛋白酶的方法，包括用氘化的式(I)或以上所述任一实施方案的化合物接触 HCV 蛋白酶。

本发明还涉及治疗患有 HCV 感染或 HCV 蛋白酶介导的病症的患者方法，包括给患者施用药学有效量的氘化的式(I)或以上所述任一实施方案的化合物。

制备光学富集的式 1 化合物的方法也在本发明的范围内，其中



$\alpha$  和  $\beta$  羧基的碳原子为立构中心;

$R_1$  独立地是 H, 任选取代的脂族基, 任选取代的脂环族基, 任选取代的芳脂族基, 任选取代的杂脂族基或任选取代的杂芳脂族基;

$R'_1$  是氘;

$R'_2$  是  $-NHR_2$  或  $-OE$ ;

$R_2$  是 H, 任选取代的脂族基, 任选取代的脂环族基, 任选取代的芳脂族基, 任选取代的杂脂族基或任选取代的杂芳脂族基; 和

E 是  $C_{1-6}$  烷基或苯甲基;

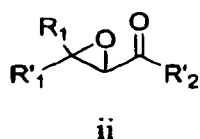
该方法包括步骤:

a) 形成式 1 化合物的盐, 和

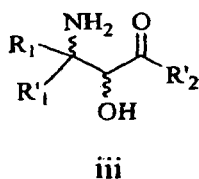
b) 结晶所述盐得到对映体过量 55% 以上的化合物。

在一些实施方案中,  $R_1$  是  $C_{1-6}$  烷基,  $R'_2$  是  $-NHR_2$ , 其中  $R_2$  是  $C_{1-6}$  烷基或  $C_{1-6}$  环烷基。在一些实施方案中,  $R_1$  是丙基并且  $R_2$  是环丙基。

在一些实施方案中, 该方法进一步包括用胺化试剂将式 ii 化合物

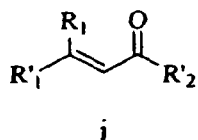


胺化以得到式 iii 的化合物



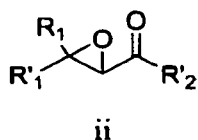
还是在一些实施方案中, 胺化试剂是叠氮化物盐, 通过氢化使中间体叠氮化合物还原。

在一些实施方案中, 该方法进一步包括用氧化试剂氧化不饱和的式 i 化合物, 其中  $R'_2$  是  $-NHR_2$  或  $-OE$ , 其中 E 是  $C_{1-5}$  烷基或任选取代的苯甲基,





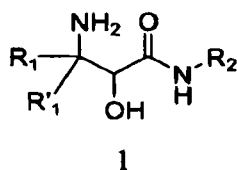
以得到式 ii 的化合物。



在一些进一步的实施方案中，氧化试剂包括叔丁基过氧化氢。在一些进一步的实施方案中，氧化试剂进一步包括手性试剂。在一些进一步的实施方案中，氧化试剂是异丙氧化钪 (III)，三苯肿化氧，S-(-)-1,1'-双-2-萘酚和 4 A 分子筛的混合物。在一些进一步的实施方案中，氧化试剂包括在三氟乙酸酐存在的情况下的脲过氧化氢。

在一些实施方案中，该方法进一步包括水解式 ii 的化合物以得到酸，然后将酸转化为式 ii 的酰胺化合物，其中 R'2 是 -NHR2。

制备式 1 化合物的方法也在本发明的范围内，



其中：

R1 是 H, 任选取代的脂族基, 任选取代的脂环族基, 任选取代的芳脂族基, 任选取代的杂脂族基或任选取代的杂芳脂族基;

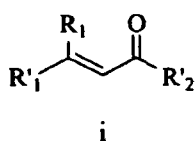
R'1 是氘;

R2 是 H, 任选取代的脂族基, 任选取代的脂环族基, 任选取代的芳脂族基, 任选取代的杂脂族基或任选取代的杂芳脂族基; 和

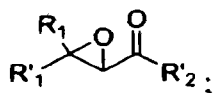
式 I 化合物对映体过量 55% 以上。

该方法包括步骤：

a) 氧化不饱和的式 i 的化合物

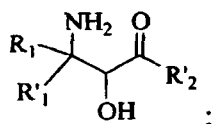


以得到式 ii 的化合物；



ii

b)式 ii 的化合物以胺化试剂反应



iii

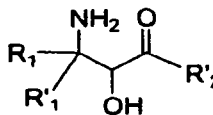
得到式 iii 的化合物;

c)形成式 iii 化合物与光学活性有机酸的盐;

d)结晶所述的盐, 得到对映体过量为 55% 以上的化合物。

在一些实施方案中, 式 1 的化合物是(2S,3S)-3-氨基-3-氘-N-环丙基-2-羟基己酰胺。在一些实施方案中, 有机酸是 L-酒石酸或脱氧胆酸。

制备光学富集的式 1 化合物的方法也在本发明的范围内,



1

其中:

$\alpha$  和  $\beta$  羧基的碳原子为立构中心;

$R_1$  独立地是 H, 任选取代的脂族基, 任选取代的脂环族基, 任选取代的芳脂族基, 任选取代的杂脂族基或任选取代的杂芳脂族基;

$R'_1$  是氘, 氘富集量为至少 50%;

$R'_2$  是 -NHR<sub>2</sub> 或 -OE;

$R_2$  是 H, 任选取代的脂族基, 任选取代的脂环族基, 任选取代的芳脂族基, 任选取代的杂脂族基或任选取代的杂芳脂族基; 和

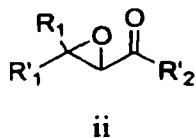
E 是 C<sub>1-6</sub> 烷基或苯甲基。

该方法包括步骤: a)形成式 I 化合物的盐, 和 b)结晶所述盐得到对映体过量 55% 以上的化合物。

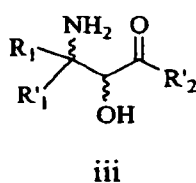
在一些实施方案中,  $R_1$  是 C<sub>1-6</sub> 烷基,  $R'_2$  是 -NHR<sub>2</sub>, 其中  $R_2$  是 C<sub>1-6</sub>

烷基或 C<sub>1-6</sub> 环烷基。在一些实施方案中，R<sub>1</sub> 是丙基并且 R<sub>2</sub> 是环丙基。

在一些实施方案中，该方法进一步包括用胺化试剂将式 ii 化合物

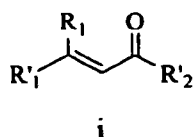


胺化以得到式 iii 的化合物的步骤

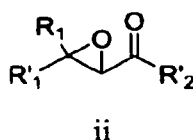


在一些实施方案中，胺化试剂是叠氮化物盐，通过氢化使中间体叠氮化合物还原。

在一些实施方案中，该方法进一步包括用氧化试剂氧化不饱和的式 i 化合物，其中 R<sub>2</sub>' 是 -NHR<sub>2</sub> 或 -OE，其中 E 是 C<sub>1-5</sub> 烷基或任选取代的苯甲基，



以得到式 ii 的化合物。

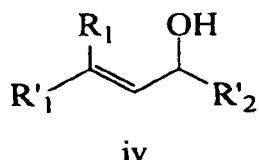


在一些进一步的实施方案中，氧化试剂包括叔丁基过氧化氢。在一些进一步的实施方案中，氧化试剂进一步包括手性试剂。在一些进一步的实施方案中，氧化试剂是异丙氧化钪 (III)，三苯膦化氧，S-(-)1,1'-双-2-萘酚和 4 Å 分子筛的混合物。在一些进一步的实施方案中，氧化试剂包括在三氟乙酸酐存在的情况下的脲过氧化氢。

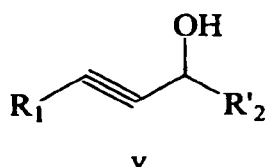
在一些实施方案中，R<sub>2</sub>' 是 -OE。在一些实施方案中，R<sub>2</sub>' 是 -NHR<sub>2</sub>。

在一些实施方案中,该方法进一步包括水解式 ii 的化合物以得到酸,然后将酸转化为式 ii 的酰胺化合物,其中  $R_2$  是  $-NHR_2$ 。

在一些实施方案中,该方法进一步包括氧化式 iv 的化合物

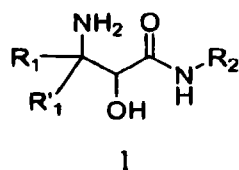


以得到式 ii 的化合物。在一些情况中,氧化通过使用二氧化锰进行。在一些实施方案中,该方法进一步包括还原式 V 的化合物



以得到式 iv 的化合物。在一些情况中,用 Red-Al<sup>®</sup> 还原化合物,然后用氧化氙淬灭。如本领域已知,“Red-Al<sup>®</sup>”指化合物  $[(CH_3OCH_2OCH_2)_2AlH_2]Na$ , 其可商购获得,通常为甲苯溶液(例如,70% W/W)。对于 Red-Al<sup>®</sup> 的更多信息,可参见例如 Bates R.W 等人, Tetrahedron, 1990, 46, 4063。

制备式 I 化合物的方法也在本发明的范围内,



其中:

$R_1$  是 H, 任选取代的脂族基, 任选取代的脂环族基, 任选取代的芳脂族基, 任选取代的杂脂族基或任选取代的杂芳脂族基;

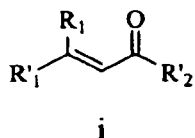
$R'_1$  是氘;

$R_2$  是 H, 任选取代的脂族基, 任选取代的脂环族基, 任选取代的芳脂族基, 任选取代的杂脂族基或任选取代的杂芳脂族基; 和

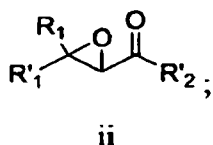
式 I 化合物对映体过量为 55% 以上。

该方法包括步骤:

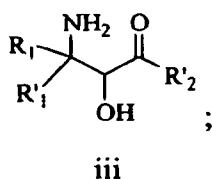
a) 氧化不饱和的式 I 的化合物



以得到式 ii 的化合物;



b) 将式 ii 的化合物以胺化试剂反应



以得到式 iii 的化合物;

c) 形成式 iii 化合物与光学活性有机酸的盐;

d) 结晶所述的盐, 得到对映体过量为 55% 以上的化合物。

在一些实施方案中, 式 I 的化合物是 (2S,3S)-3-氨基-3-氘-N-环丙基-2-羟基己酰胺。在一些实施方案中, 有机酸是 L-酒石酸或脱氧胆酸。

## 发明详述

### I. 定义

#### A. 术语

如本文所用, 术语“脂族基”包括烷基、烯基和炔基。

如本文所用, 术语“烷基”基团指含有 1-8 个 (例如 1-6 或 1-4 个) 碳原子的饱和脂肪族烃基。烷基基团可以是直链或支链的。烷基基团的实例包括但不限于甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、正戊基、正己基以及 2-乙基己基。烷基基团可任选被一个或多个取代基取代, 所述取代基为例如烷氧基、环烷氧基、杂环烷氧基、芳

氧基、杂芳氧基、芳烷氧基、杂芳烷氧基、氨基、硝基、羧基、氰基、卤代、羟基、硫代、巯基、烷基硫烷基 (alkylsulfanyl)、烷基亚磺酰基 (alkylsulfinyl)、烷基磺酰基、氨基羰基、烷基羰基氨基、环烷基羰基氨基、环烷基烷基羰基氨基、芳基羰基氨基、芳烷基羰基氨基、杂环烷基-羰基氨基、杂环烷基-烷基羰基氨基、杂芳基羰基氨基或杂芳烷基羰基氨基、脲、硫脲、氨磺酰基、磺酰胺、烷氧基糖基或烷基羰基氧基。

如本文所用，“烯基”基团指含有 2-8 个（例如，2-6 或 2-4 个）碳原子和至少一个双键的脂族碳基团。与烷基基团相似，烯基基团可以为直链或支链。烯基基团的实例包括但不限于烯丙基、异戊二烯基、2-丁烯基和 2-己烯基。烯基基团可任选被一个或多个取代基取代，所述取代基为例如烷氧基、环烷氧基、杂环烷氧基、芳氧基、杂芳氧基、芳烷氧基、杂芳烷氧基、氨基、硝基、羧基、氰基、卤代、羟基、硫代、巯基、烷基硫烷基、烷基亚磺酰基、烷基磺酰基、氨基羰基、烷基羰基氨基、环烷基羰基氨基、环烷基-烷基羰基氨基、芳基羰基氨基、芳烷基羰基氨基、杂环烷基-羰基氨基、杂环烷基-烷基羰基氨基、杂芳基羰基氨基、杂芳烷基羰基氨基、脲、硫脲、氨磺酰基、磺酰胺、烷氧基糖基或烷基羰基氧基。

如本文所用，“炔基”基团指含有 2-8 个（例如，2-6 或 2-4 个）碳原子和至少一个三键的脂族碳基团。炔基基团可以为直链或支链。炔基基团的实例包括但不限于炔丙基、丁炔基。炔基基团可任选被一个或多个取代基取代，所述取代基为例如烷氧基、环烷氧基、杂环烷氧基、芳氧基、杂芳氧基、芳烷氧基、杂芳烷氧基、氨基、硝基、羧基、氰基、卤代、羟基、硫代、巯基、烷基硫烷基、烷基亚磺酰基、烷基磺酰基、氨基羰基、烷基羰基氨基、环烷基羰基氨基、环烷基-烷基羰基氨基、芳基羰基氨基、芳烷基羰基氨基、杂环烷基-羰基氨基、杂环烷基-烷基羰基氨基、杂芳基羰基氨基、杂芳烷基羰基氨基、脲、硫脲、氨磺酰基、磺酰胺、烷氧基糖基或烷基羰基氧基。

如本文所用，“氨基”基团指  $-NR^X R^Y$ ，其中每个  $R^X$  和  $R^Y$  独立地是氢、烷基、环烷基、（环烷基）烷基、芳基、芳烷基、杂环烷基、（杂环烷基）烷基、杂芳基或杂芳烷基。当术语“氨基”不是末端基团（例如烷基羰基氨基）时，其由  $-NR^X-$  表示。 $R^X$  含义与以上定义相同。

如本文所用，“芳基”基团指苯基、萘基或具有 2 至 3 个环的苯并

稠合基团。例如苯并稠合基团包括与一个或两个 C<sub>4-8</sub> 脂环部分稠合的苯，例如 1,2,3,4-四氢萘基、茛满基、二氢茛满基或芴基。芳基可任选被一个或多个取代基取代，所述取代基为例如烷基（包括羧基烷基、羟基烷基以及卤代烷基，例如三氟甲基）、烯基、炔基、环烷基、（环烷基）烷基、杂环烷基、（杂环烷基）烷基、芳基、杂芳基、烷氧基、环烷氧基、杂环烷氧基、芳氧基、杂芳氧基、芳烷基氧基、杂芳基烷基氧基、芳酰基、杂芳酰基、氨基、硝基、羧基、烷氧基羰基、烷基羰基氧基、氨基羰基、烷基羰基氨基、环烷基羰基氨基、（环烷基）烷基羰基氨基、芳基羰基氨基、芳烷基羰基氨基、（杂环烷基）羰基氨基、（杂环烷基）烷基羰基氨基、杂芳基羰基氨基、杂芳烷基羰基氨基、氰基、卤代、羟基、酰基、巯基、烷基硫烷基、硫氧基、脲、硫脲、氨基磺酰基、磺酰胺、氧代或氨基甲酰基。

如本文所用，“芳烷基”基团指被芳基基团取代的烷基基团（例如 C<sub>1-4</sub> 烷基基团）。“烷基”和“芳基”如本文定义。芳烷基基团的实例是苯甲基。

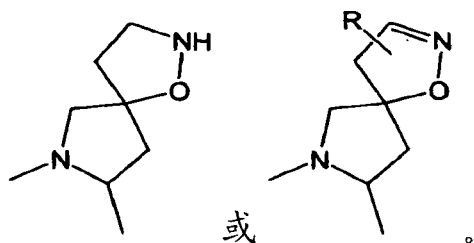
如本文所用，脂环基包括环烷基、环烯基和环炔基。

如本文所用，“环烷基”基团指具有 3-10（例如 4-8 个碳原子）脂族碳环。环烷基基团的实例包括环丙基、环戊基、环己基、环庚基、金刚烷基、降冰片烯基（norbornyl）、立方烷基(cubyl)、八氢茛基、十氢萘基、双环[3.2.1]辛基、双环[2.2.2]辛基、双环[3.3.1]壬基以及双环[3.3.2.]壬基。如本文所用，“环烯基”基团指具有一个或多个双键的具有 3-10（例如 4-8）个碳原子的非芳香族碳环。环烯基基团的实例包括环戊烯基、1,4-环己二-烯-基、环庚烯基、环辛烯基、六氢茛基、八氢萘基、双环[2.2.2]辛烯基和双环[3.3.1]壬烯基。环烷基或环烯基基团可任选被一个或多个取代基取代，所述取代基为例如烷基（包括羧基烷基、羟基烷基以及卤代烷基，例如三氟甲基）、烯基、炔基、环烷基、（环烷基）烷基、杂环烷基、（杂环烷基）烷基、芳基、杂芳基、烷氧基、环烷氧基、杂环烷氧基、芳氧基、杂芳氧基、芳烷基氧基、杂芳烷基氧基、芳酰基、杂芳酰基、氨基、硝基、羧基、烷氧基羰基、烷基羰基氧基、氨基羰基、烷基羰基氨基、环烷基羰基氨基、（环烷基）烷基羰基氨基、芳基羰基氨基、芳烷基羰基氨基、（杂环烷基）羰基氨基、（杂环烷基）烷基羰基氨基、杂芳基羰基氨基、杂芳烷基羰基氨基、氰基、卤代、羟基、酰

基、巯基、烷基硫烷基、硫氧基、脲、硫脲、氨磺酰基、磺酰胺、氧代或氨基甲酰基。

如本文所用，杂脂环基指杂环烷基、杂环烯基以及杂环炔基。如本文所用，“杂环烷基”基团是指3至10-元(例如，4至8-元)的饱和环结构，其中一个或多个环原子是诸如N、O或S的杂原子。杂环烷基的实例是哌啶基、哌嗪基、四氢吡喃基、四氢呋喃基、二氧戊环基、噁唑烷基、异噁唑烷基、吗啉基、八氢苯并呋喃基、八氢苯并吡喃基、八氢苯并噻喃基、八氢吲哚基、八氢氮茛基、十氢喹啉基、八氢苯并[b]噻吩基、2-氧杂-双环[2.2.2]辛基、1-氮杂-双环[2.2.2]辛基、3-氮杂-双环[3.2.1]辛基和2,6-二氧杂-三环[3.3.1.0<sup>3,7</sup>]壬基。如本文所用，“杂环烯基”基团是指具有一个或多个双键的3至10-元(例如，4至8-元)非芳环结构，其中一个或多个环原子是诸如N、O或S的杂原子。杂环烷基或杂环烯基基团可以任选被一个或多个取代基取代，所述取代基为例如：烷基(包括羧基烷基、羟基烷基和卤代烷基，例如三氟甲基)、烯基、炔基、环烷基、(环烷基)烷基、杂环烷基、(杂环烷基)烷基、芳基、杂芳基、烷氧基、环烷基氧基、杂环烷基氧基、芳氧基、杂芳氧基、芳烷基氧基、杂芳烷基氧基、芳酰基、杂芳酰基、氨基、硝基、羧基、烷氧基羰基、烷基羰基氧基、氨基羰基、烷基羰基氨基、环烷基羰基氨基、(环烷基)烷基羰基氨基、芳基羰基氨基、芳烷基羰基氨基、(杂环烷基)羰基氨基、(杂环烷基)烷基羰基氨基、杂芳基羰基氨基、杂芳烷基羰基氨基、氰基、卤素、羟基、酰基、巯基、烷基硫烷基、硫氧基、脲、硫脲、氨磺酰基、磺酰胺基、氧代或氨基甲酰基。在某些情况中，杂环烷基或杂环烯基本身上的取代基可以是环状(任选含有一个或多个杂原子)，以使所得到的取代杂环烷基或杂环烯基为螺环系，例如





如本文所用,“杂芳基”基团是指具有 5-15 个环原子的单环、二环或三环结构,其中一个或多个环原子是诸如 N、O、S 或 B 的杂原子且其中二环或三环结构中的一个或多个环是芳环。杂芳基的一些实例是吡啶基、呋喃基、吡咯基、噻吩基、噻唑基、咪唑基、吡啶基、2,3-二氢吡啶基、喹啉基、1,2-二氢喹啉基、1,2,3,4-四氢喹啉基、四唑基、苯并呋喃基、2,3-二氢苯并呋喃基、苯并噻唑基、咕吨、噻吨、吩噻嗪、二氢吡啶和苯并[1,3]间二氧杂环戊烯。杂芳基可以任选被一个或多个取代基取代,所述取代基为例如烷基(包括羧基烷基、羟基烷基和卤代烷基,例如三氟甲基)、烯基、炔基、环烷基、(环烷基)烷基、杂环烷基、(杂环烷基)烷基、芳基、杂芳基、烷氧基、环烷基氧基、杂环烷基氧基、芳氧基、杂芳氧基、芳烷基氧基、杂芳烷基氧基、芳酰基、杂芳酰基、氨基、硝基、羧基、烷氧基羰基、烷基羰基氧基、氨基羰基、烷基羰基氨基、环烷基羰基氨基、(环烷基)烷基羰基氨基、芳基羰基氨基、芳烷基羰基氨基、(杂环烷基)羰基氨基、(杂环烷基)烷基羰基氨基、杂芳基羰基氨基、杂芳烷基羰基氨基、氰基、卤素、羟基、酰基、巯基、烷基硫烷基、硫氧基、脲、硫脲、氨基磺酰基、磺酰胺基、氧代或氨基甲酰基。

如本文所用,“杂芳烷基”基团是指被杂芳基基团取代的烷基烷基(例如, C<sub>1-4</sub> 烷基基团)。“烷基”和“杂芳基”如上定义。

如本文所用,“环状部分”包括环烷基、杂环烷基、环烯基、杂环烯基、芳基或杂芳基,各自如先前定义。

如本文所用,“酰基”基团是指甲酰基或烷基-C(=O)-,其中“烷基”如先前定义。酰基基团的实例是乙酰基和新戊酰基。

如本文所用,“氨基甲酰基”基团是指具有 -O-CO-NR<sup>X</sup>R<sup>Y</sup> 或 -NR<sup>X</sup>-CO-O-R<sup>Z</sup> 结

构的基团,其中 R<sup>X</sup> 和 R<sup>Y</sup> 如上定义, R<sup>Z</sup> 是烷基、芳基、芳烷基、杂环烷基、杂芳基或杂芳烷基。

如本文所用，“羧基”和“磺基”基团分别指  $-\text{COOH}$  和  $-\text{SO}_3\text{H}$ 。

如本文所用，“烷氧基”基团是指烷基-O-基团，其中“烷基”如先前定义。

如本文所用，“硫氧基”是指  $-\text{O}-\text{SO}-\text{R}^{\text{X}}$  或  $-\text{SO}-\text{O}-\text{R}^{\text{X}}$ ，其中  $\text{R}^{\text{X}}$  如上定义。如本文所用，“硫烷基”指  $-\text{S}-\text{R}^{\text{X}}$ ，其中  $\text{R}^{\text{X}}$  如上定义。

如本文所用，“亚磺酰基”指  $-\text{S}(\text{O})-\text{R}^{\text{X}}$ ，其中  $\text{R}^{\text{X}}$  具有上文的定义。

如本文所用，“磺酰基”指  $-\text{S}(\text{O})_2-\text{R}^{\text{X}}$ ，其中  $\text{R}^{\text{X}}$  具有上文的定义。

如本文所用，“卤素”或“卤代”基团指氟、氯、溴或碘。

如本文所用，“氮磺酰基”基团指结构  $-\text{S}(\text{O})_2-\text{NR}^{\text{X}}\text{R}^{\text{Y}}$  或  $-\text{NR}^{\text{X}}-\text{S}(\text{O})_2-\text{R}^{\text{Z}}$ ，其中  $\text{R}^{\text{X}}$ 、 $\text{R}^{\text{Y}}$  和  $\text{R}^{\text{Z}}$  如上文定义。

如本文所用，“磺酰胺”基团指结构  $-\text{NR}^{\text{X}}-\text{S}(\text{O})_2-\text{NR}^{\text{X}}\text{R}^{\text{Y}}$ ，其中  $\text{R}^{\text{X}}$ 、 $\text{R}^{\text{Y}}$  和  $\text{R}^{\text{Z}}$  如上文定义。

如本文所用，“脲”基团指结构  $-\text{NR}^{\text{X}}-\text{CO}-\text{NR}^{\text{Y}}\text{R}^{\text{Z}}$ ，“硫脲”基团指结构  $-\text{NR}^{\text{X}}-\text{CS}-\text{NR}^{\text{Y}}\text{R}^{\text{Z}}$ ， $\text{R}^{\text{X}}$ 、 $\text{R}^{\text{Y}}$  和  $\text{R}^{\text{Z}}$  如上文定义。

如本文所用，“胍基”基团指结构  $-\text{N}=\text{C}(\text{NR}^{\text{X}}\text{R}^{\text{Y}})\text{N}(\text{R}^{\text{X}}\text{R}^{\text{Y}})$ ，其中  $\text{R}^{\text{X}}$  和  $\text{R}^{\text{Z}}$  如上定义。

如本文所用，“脒基”基团指结构  $-\text{C}(\text{NR}^{\text{X}})\text{N}(\text{R}^{\text{X}}\text{R}^{\text{Y}})$ ，其中  $\text{R}^{\text{X}}$  和  $\text{R}^{\text{Y}}$  如上定义。

如本文所用，术语“脞基”指结构  $-\text{C}=\text{N}-\text{OR}^{\text{X}}$ ，其中  $\text{R}^{\text{X}}$  如上定义。

如本文所用，有效量定义为在受治疗患者中产生治疗效果所需的量，通常根据患者的年龄、表面积、体重和状况来确定。动物和人类剂量之间的相互关系（基于每平方米体表面积的毫克量）已由 Freireich 等人, *Cancer Chemother. Rep.*, 50: 219 (1966)进行了描述。体表面积可大致地根据患者的身高和体重来确定。参见，例如 *Scientific Tables*, Geigy Pharmaceuticals, Ardsley, New York, 537 (1970)。

如本文所用，“患者”指哺乳动物，包括人类。

如本文所用，拮抗剂指与受体结合但是不会活化该受体的分子。其与内源性配体或底物竞争受体上的结合位点，由此抑制受体传导与内源性配体结合的细胞内信号的能力。

短语“任选取代的”可与短语“取代或未取代的”互换使用。如本文所述，本发明的化合物可任选被一个或多个取代基取代，所述取代基为例如上文所列举的通常那些，或作为举例的本发明的特定类别、亚类

以及种类。除非另外指明，式(I)中变量 $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ 和 $R^5$ 的每个具体基团可任选被一个或多个本文所述的取代基取代。每个具体基团的取代基进一步任选被一至三个卤素、氰基、烷氧基、羟基、硝基、卤代烷基和烷基取代。例如，烷基可被烷基硫烷基取代，烷基硫烷基任选被一至三个卤素、氧代、氰基、烷氧基、羟基、硝基、卤代烷基和烷基取代。作为另外的实施例，烷基可被(环烷基)羰基氨基取代，(环烷基)羰基氨基的环烷基部分任选被一至三个卤素、氰基、羟基、硝基、卤代烷基和烷基取代。

通常，术语“取代的”，无论其前面是否具有术语“任选地”，在给定的结构中均指用特定取代基的原子团替换氢原子团。特定取代基如上文定义和下文对化合物及其实施例的描述。除非另外指明，任选地取代的基团在该基团的各可取代部分具有取代基，当在任何给定的结构中一个以上的位置被选自特定基团的一个以上的取代基取代时，各位置的取代基可以相同或不同。环取代基，例如杂环烷基可以与另一个环，例如环烷基键合形成螺双环系，例如，两个环共有一个共同的原子。本领域技术人员将会认识到，本发明所预期的取代基的组合是形成稳定或化学可行的化合物的那些组合。

如本文所用，短语“稳定或化学可行的”指当经历其生产、检测的条件，优选经历其回收、纯化条件，以及用于本文公开的一个或多个目的时，基本上不会发生改变的化合物。在某些实施方案中，稳定的化合物或化学可行的化合物是指在40°C或更低温度，缺乏水分或其他化学反应性的条件下保持至少一周基本上不发生改变的化合物。

除非另外指明，本文描述的结构还意味着包括该结构的全部同分异构体(例如，对映异构体、非对映异构体以及几何异构体(或构象异构体))形式，例如各不对称中心的R和S构型，(Z)和(E)双键异构体，以及(Z)和(E)构象异构体。因此，本发明化合物的单独的立体化学异构体以及对映异构体、非对映异构体和几何异构体(或构象异构体)的混合物均在本发明的范围内。除非另外指明，本发明化合物的全部互变异构形式在本发明的范围内。

另外，除非另外指明，本文描述的结构还意味着包括仅在一种或多种同位素富集原子方面存在差别的化合物。例如，具有本发明结构的化合物除用氘或氚取代氢外，用 $^{13}\text{C}$ 或 $^{14}\text{C}$ 富集碳原子取代碳在本发明的

范围内。此类化合物在例如生物测定中是有用的分析工具或探针。

每个式(I)化合物的N-氧化物或药学上可接受的盐也在本发明的范围内。例如,咪唑或吡唑中心环或含有氮的杂环基取代基的氮环原子可在适合的氧化剂,例如间氯过苯甲酸或 $H_2O_2$ 存在的情况下形成氧化物。

本质上为酸性的式(I)化合物(具有羧基或酚羟基基团)能够形成药学上可接受的盐,例如钠、钾、钙或金盐。与药学上可接受的胺,例如氨水、烷基胺、羟烷基胺和N-甲基glycamine形成的盐也在本发明的范围内。式(I)的化合物可用酸处理形成酸加成盐。此类酸的实例包括盐酸、氢溴酸、氢碘酸、硫酸、甲磺酸、磷酸、对溴苯基磺酸、碳酸、琥珀酸、柠檬酸、苯甲酸、草酸、丙二酸、水杨酸、苹果酸、富马酸、抗坏血酸、马来酸、乙酸以及本领域众所周知的其他无机酸和有机酸。酸加成盐可通过用足量的酸(例如盐酸)处理游离碱形式的式(I)化合物来制备以产生酸加成盐(例如盐酸盐)。通过用适合的稀释碱水溶液(例如,氢氧化钠、碳酸氢钠、碳酸钾或氨水)处理所述盐可将酸加成盐转化回其游离碱形式。式(I)的化合物还可以是例如为非手性化合物、外消旋混合物、光学活性化合物,纯化的非对映异构体或非对映异构体化合物的混合物。

#### B.缩写

下列缩写具有以下含义。如果缩写没有定义,它具有其通常接受的含义。

BEMP=2-叔丁基亚胺基-2-二乙基氨基-1,3-二甲基全氢-1,3,2-二氮杂正磷(phosphorine)

Boc=叔丁氧基羰基

BOP=苯并三唑-1-基氧基三(二甲基氨基)六氟磷酸磷盐

bd=宽双峰

bs=宽单峰

CDI=羰基二咪唑

d=双峰

dd=双峰的双峰

DIC=二异丙基碳二亚胺

DMF=二甲基甲酰胺

DMAP=二甲基氨基吡啶  
DMSO=二甲基亚砷  
EDCI=乙基-1-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺  
eq=当量  
EtOAc=乙酸乙酯  
g=克  
HOBT=1-羟基苯并三唑  
DIPEA=Hunig's 碱=二异丙基乙胺  
L=升  
m=多重峰  
M=摩尔  
max=最大  
meq=毫当量  
mg=毫克  
mL=毫升  
mm=毫米  
mmol=毫摩尔  
MOC=甲氧基氧基羰基  
N=正常  
N/A=没有获得  
ng=纳克  
nm=纳米  
OD=光密度  
PEPC=1-(3-(1-吡咯烷基)丙基)-3-乙基碳二亚胺  
PP-HOBT=哌啶-哌啶-1-羟基苯并三唑  
psi=磅/平方英寸  
Ph=苯基  
q=四重峰  
quint.=五重峰  
rpm=每分钟转数  
s=单峰  
t=三重峰

TFA=三氟乙酸

THF=四氢呋喃

tlc=薄层色谱

$\mu$ L=微升

UV=紫外线

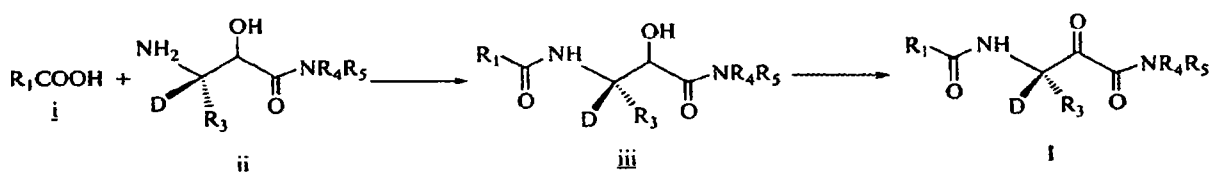
## II 本发明的化合物

一般地，本发明的氘化化合物可通过本领域已知的合成它们未氘化形式的方法来合成，除了在合成过程中使用氘化起始物料或反应试剂。可应用的方法的实例包括描述于美国专利申请第 60/71 1,530 号；WO 02/18369；WO 07/022459；Advanced Organic Chemistry, 第二版, 第 204 页, J. March, McGraw Hill, New York, NY, 1997, 以及 Synthesis of A: Elemes and Ragnarsosson, J. of Chem. Soc, Perkin 1, 1996, 537 中的那些。

本文引用的全部出版物将其全部内容通过参考引入。

式 I 的化合物可使用已知的方法制备，例如在以下流程图 I 所举例说明的。

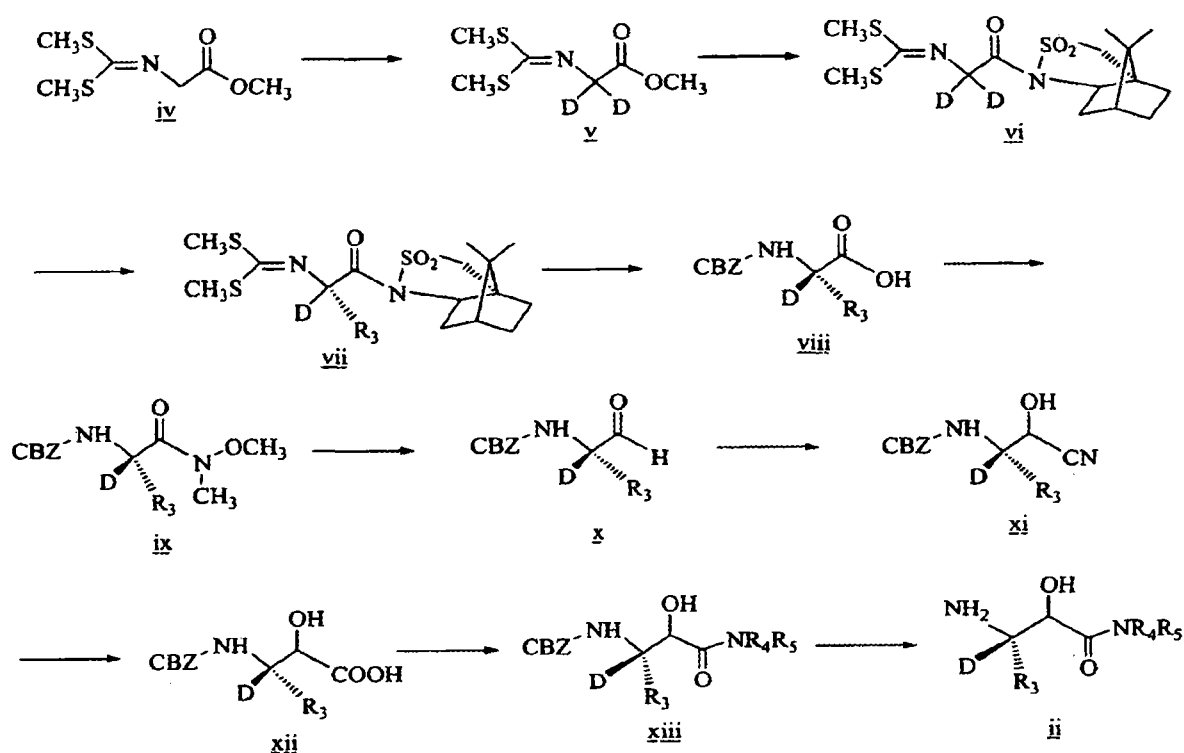
### 流程图 I



涉及流程图 I 时，将式 i 的酸与氘化的式 ii 的氨醇-酰胺在缩合试剂存在的情况下反应以提供式 iii 的羟基-酰胺，所述缩合试剂为例如 EDCI 和 HOSu。在一些实施方案中，在 ii 中显示的氘 (D) 富集量百分数为 10% 以上。在其他实施方案中，富集量为 10% 至 99.95%，40% 至 99.95%，50% 至 99.95%，60% 至 99.95%，80% 至 99.95%，90% 至 99.95%，93% 至 99.95%，97% 至 99.95% 或 99 至 99.95%，或 99.95% 或更高。用适合的氧化剂氧化 iii 以提供式 I 的化合物。适合的氧化试剂包括，例如 Dess-Martin 全碘烷 (periodinane) 或 TEMPO 以及次氯酸钠。

在流程图 I 中显示的式 ii 氘化氨基-醇-酰胺可通过使用已知的方法制备，例如，以下流程图 II 所举例说明的。

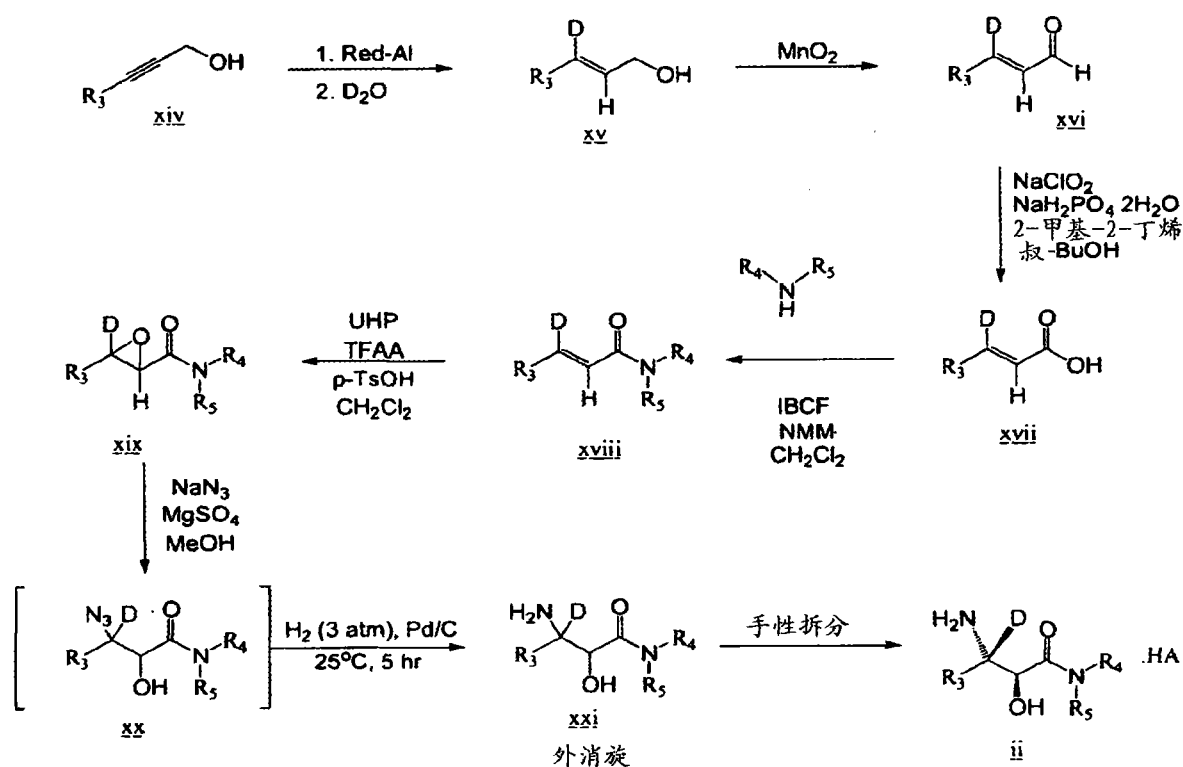
## 流程图 II



涉及流程图 II 时, 将式 iv 的甘氨酸亚胺 (iminic) 酯转化为式 vii 的胍化磺内酰胺可根据以前所述方法进行(Y. Elemes 和 U. Ragnarsson, J. Chem. Soc, Perkin I, 1996, 6, p.537. 如先前所述(L. Lankiewicz 等人, J. Chem. Soc, Perkin I, 1994, 17, 第 2503 页), 用酸和碱连续处理式 vii 的化合物, 随后用苯甲氧基碳酰氯处理中间体氨基酸 (未显示) 提供被保护的胍化氨基酸 viii。在缩合试剂 CDI 存在的情况下, viii 与甲氧基甲胺的反应提供了式 ix 的 Weinreb 酰胺。用例如二异丁基氢化铝或氢化铝锂还原 vi 提供了醛 x。使用与先前所述那些类似的方法(参见, 例如, WO 02/18369), 将醛 x 转化为氰醇 xi, 由此得到被保护的羟基-氨基酸 xii。将酸 xii 转化为被保护的酰胺 xiii, 将其脱保护以提供氨基-酰胺 ii。

替代性地, 可制备在流程图 I 中描述的胍化氨基-酰胺 ii, 其中  $R_2$  是 H, 例如, 如流程图 III 所举例说明的。

## 流程图 III



涉及到流程图 III 时, 用双 (2-甲氧基乙氧基) 氢化铝钠还原炔丙醇 xiv, 随后用氧化氘使反应混合物淬灭以提供氘化的烯丙醇 xv。用二氧化锰氧化 xv 提供醛 xvi, 在磷酸钠和 2-甲基-2-丁烯存在的情况下, 用亚氯酸钠 ( $\text{NaClO}_2$ ) 将其进一步氧化成酸 xvii。酸 xvii 与异丁基氯甲酸酯 (ICBF) 在 N-甲基吗啉存在的情况下进行反应, 随后中间体混合酐与胺  $\text{HNR}_4\text{R}_5$  的反应提供酰胺 xviii。在三氟乙酸和对甲苯磺酸存在的情况下用脲过氧化氢 (UHP) 环氧化 xviii 的以提供环氧化物 xix。xix 与叠氮化钠的反应提供了中间体叠氮化合物 xx, 其随后在碳载钯存在的情况下通过催化氢化被还原为外消旋氨醇 xxi。外消旋氨醇 xxi 可通过使用已知的方法例如手性色谱, 制备光学活性衍生物或与光学活性酸 HA 形成盐, 随后由有机溶剂结晶来拆分。适合于制备盐的光学活性有机酸包括, 例如 L-酒石酸、L-苹果酸、(S)-扁桃酸、(1S)-(+)-10-樟脑磺酸、(-)-2,2,4,6-二-O-异丙基二烯-2-酮-L-古洛糖酸水合物、N-乙酰基-L-亮氨酸、脱氧胆酸、(+)-O,O'-二苯甲酰基-D-酒石酸、O,O'-二-(4-甲苯酰基)-D-酒石酸, S-(+)-1,1-二萘基-2,2-磷酸、L-乳酸、D-葡萄糖酸、乳糖醛酸、双特戊酰基-L-酒石酸、S-(+)-O-乙酰基扁桃酸以及 S-(-)-2-(苯基氨基甲酰氧基)丙酸。用于重结晶的



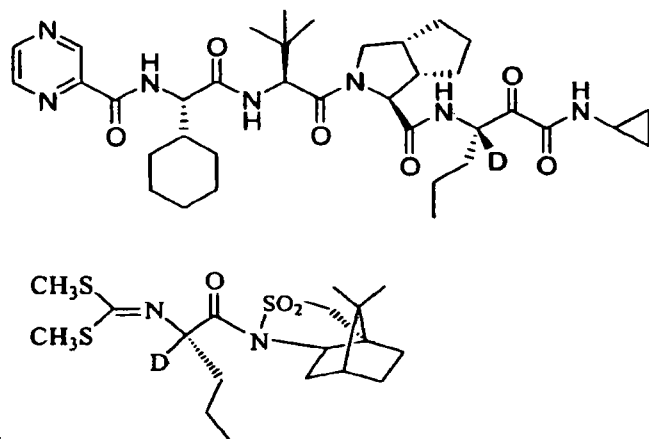
适合有机溶剂的实例包括二甲基乙酰胺、乙酸乙酯和丙酮。

可通过常规的分析方法，例如 NMR 和质谱仪来对由此获得的氘化化合物进行鉴别。可以使用 NMR 确定化合物的结构，而质谱仪可用于通过将化合物与其未氘化形式比较来确定化合物中氘原子的量。

本发明的氘化化合物通常比其未氘化的类似物更稳定，差异化倾向更小。因此，它们可用于需要本发明化合物特定立体构型的应用。例如，式 (I) 的氘化化合物可用于治疗或防止 HCV 感染或其他 HCV 蛋白酶介导的病症，因为它们能够抑制 HCV 蛋白酶。可通过常规的酶抑制试验测量它们的抑制活性，其中的一些描述于以上引用的出版物。参见，例如 Perni, R.B. 等人, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2006 (march), 50 (3): 899-909。

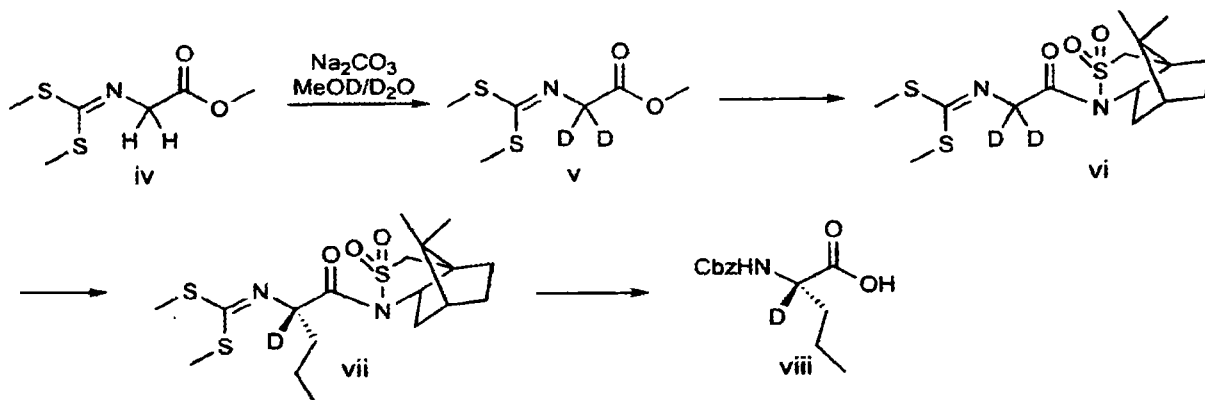
另外，式 (I) 的氘化化合物可用作生物学工具研究其未氘化形式的药理学特性。因此，这些用途也在本发明的范围内。

实施例 1. 制备 (1*S*, 3*aR*, 6*aS*)-2-((*S*)-2-((*S*)-2-环己基-2-(吡嗪-2-羧酰氨基)乙酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-*N*-((*S*)-1-(环丙基氨基)-1,2-二氧代-3-氘-己-3-基)八氢环戊[*c*]吡咯-1-羧酰胺



步骤 a: 制备

通过已知方法，例如描述于 Y. Elemes 和 U. Ragnarsson, *J. of Chem. Soc, Perkin 1*, 1996, 6, 537; W. Oppolzer 等人, *Helv. Chim. Acta.*, 1994, 25: 2363 的那些方法，使用相应的未取代的磺内酰胺和丙基碘来制备氘化的磺内酰胺（即在以下流程图中显示的化合物 vi）。



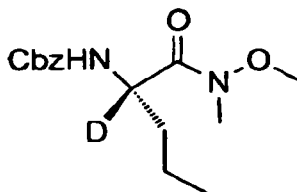
然后将 17.32 g 的化合物 vi (45.8 mmol) 和 229 mL THF 装入配备有磁力搅拌棒和 N<sub>2</sub> 进气口的 500 mL 圆底烧瓶中。将所得溶液冷却到 -78 °C，在 1 小时内用注射泵加入 n-BuLi (31.5 mL，在己烷中的 1.6 M 溶液，50.3 mmol)。在加入 HPMA (56 mL) 溶液以前，将所得黄色溶液熟化 30 分钟，在 30 分钟内将 n-PrI (13.4 mL，137 mmol) 加入其中。在 8 小时内将混合物加热至室温，然后在向混合物中加入 D<sub>2</sub>O (50 mL) 以前，将混合物冷却到 -20 °C。然后用 EtOAc (400 mL) 萃取反应混合物，将有机层在 MgSO<sub>4</sub> 上干燥，浓缩得到 61.3 g 粗制油。在 500g 硅胶上进行层析，用 2:1 庚烷/EtOAc 洗脱，随后浓缩富集的切割带 (rich cut) 得到 20.35 g 白色固体。然后将白色固体从 EtOH (210 mL) 重结晶，得到为白色晶体固体的 15.39 g 化合物 vii。通过 <sup>1</sup>H NMR 测定掺入的氘为 93%。

步骤 b: 制备 (S)-2-(苯甲氧基羰基氨基)-2-含氘戊酸，viii

将步骤 a 的化合物 vii (15.39 g, 32.1 mmol) 装入 THF (100 mL) 和 1N HCl (50 mL) 中。在室温搅拌所得乳液过夜，然后真空浓缩以提供粘稠的油。然后将油溶解于 THF (100 mL) 中，向溶液中加入水 (25 mL) 和 LiOH (3.08 g, 128 mmol)。将该溶液在室温再次搅拌过夜，然后浓缩除去 THF。剩余混浊的浅黄色溶液。将其用水 (25 mL) 稀释，并用 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 萃取 (三次，每次 50 mL)。将水相用 THF (200 mL) 稀释并冷却到 0 °C，同时快速搅拌，在 15 分钟内逐滴加入 CBZ-Cl (7.6 mL, 54 mmol)。在 0 °C 搅拌 1 小时后，真空除去 THF 溶剂，残留物通过加入 1N HCl (50 mL) 酸化。将该溶液用 EtOAc 萃取 (3 次，每次 100 mL)，将有机相在 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 上干燥并浓缩得到油。将残留物溶于 EtOAc (25 mL) 和庚烷 (150 mL) 中，加入晶种，并在室温搅拌过夜。在玻璃料 (frit) 上收集固体，用庚烷 (30 mL) 淋洗，风

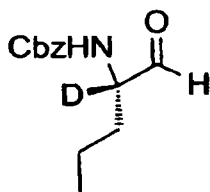
干得到 5.65 g (70%) 在以上流程图中所示的化合物 viii。通过  $^1\text{H}$  NMR 测定掺入的氘为 93%。

步骤 c: 制备(S)-苯甲基 1-(甲氧基(甲基)氨基)-1-氧代-2-氘戊-2-基氨基甲酸酯



向保持在  $0^\circ\text{C}$  的含有在 20 mL 二氯甲烷中的 1.0g (S)-2-(苯甲氧基羰基氨基)-2-含氘戊酸(3.97 mmol)的烧瓶中加入 3.0 eq 的 N-甲基吗啉(700  $\mu\text{L}$ ), 1.5 eq N,O-二甲基盐酸羟胺(581 mg) 和 1.5 eq EDCI (1.14 g)。将反应混合物从  $0^\circ\text{C}$  至室温搅拌过夜。然后用二氯甲烷稀释反应混合物, 用 HCl (1 N)和盐水洗涤。将有机层在  $\text{MgSO}_4$  上干燥。粗制混合物通过快速层析(在己烷中的 15-75% 的乙酸乙酯)纯化得到 814 mg 纯化的酰胺(标题化合物)。ES+ = 296.1, ES- = 295.2。用  $^1\text{H}$  NMR 谱确认其结构。

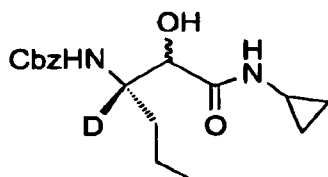
步骤 d: 制备 (S)-苯甲基 1-氧代-2-氘戊-2-基氨基甲酸酯



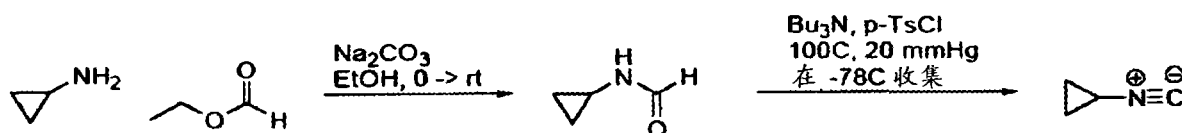
使用在 WO 02/18369 中描述的方法, 将步骤 c 中 Cbz-保护的氨基酸转化为标题化合物。具体地。向保持在  $0^\circ\text{C}$  (冰浴中) 的含有在 10 mL 无水 THF 中的 1.0 eq(S)-苯甲基 1-(甲氧基(甲基)氨基)-1-氧代-2-氘戊-2-基氨基甲酸酯(810 mg, 2.75 mmol)的烧瓶中缓慢加入 1.7 eq 的硼氢化锂溶液(1.0M) (4.67 mL)。搅拌大约 10 分钟后, 移去冰浴, 继续反应 1 小时。在  $0^\circ\text{C}$  通过加入 5 mL  $\text{KHSO}_4$  (10%)溶液使反应淬灭。然后通过加入 10 mL HCl (1 N)来稀释溶液。将混合物搅拌 30 分钟, 然后用二氯甲烷萃取 3 次。将有机相合并, 并用 HCl (1 N)溶液、水和盐水洗涤。然后将

有机相在  $MgSO_4$  上干燥，蒸发挥发物。在下一个步骤中使用该醛。ES+ = 237.1, ES- = 235.2。

步骤 e: 制备苯甲基(3S)-1-(环丙基氨基)-2-羟基-1-氧代-3-氘己-3-基氨基甲酸酯

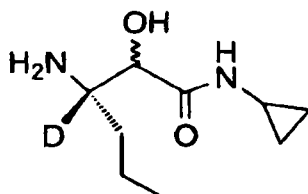


环丙基异脞根据以下所示流程图制备。

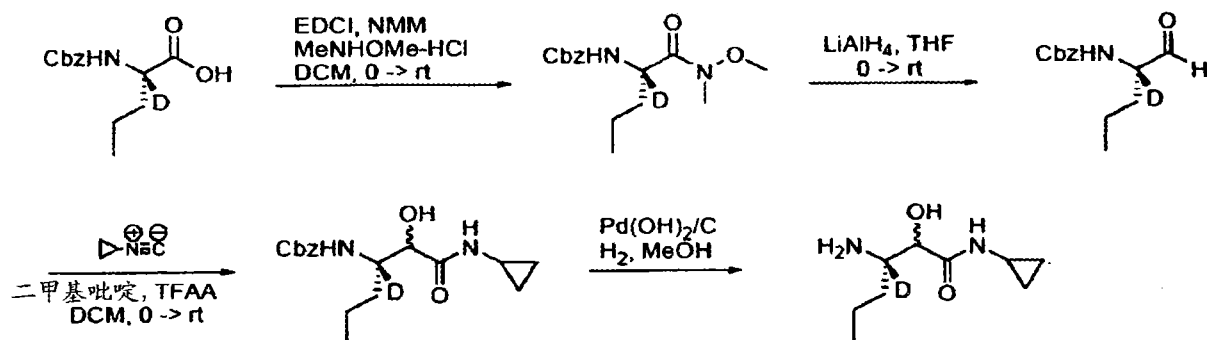


然后将环丙基异脞与步骤 d 的醛产物偶联得到标题化合物，如 J. E. Semple 等人, *Org. Lett.*, 2000, 2(18), p.2769; Lumma W., *J. Org. Chem.*, 1981, 46, 3668” 中所述。ES+ = 322.1。

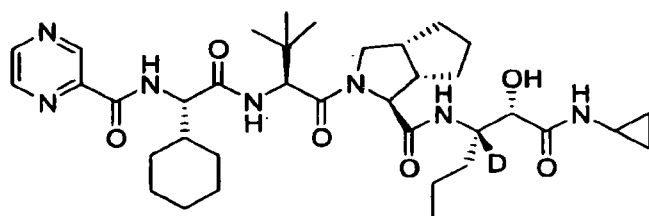
步骤 f: 制备(3S)-3-氨基-N-环丙基-3-氘-2-羟基己酰胺



在氢存在的情况下通过使用碳载钨催化剂将步骤 e 的 Cbz 化合物氢解获得标题化合物。在以下流程图中显示的是步骤 c, d, e 和 f。

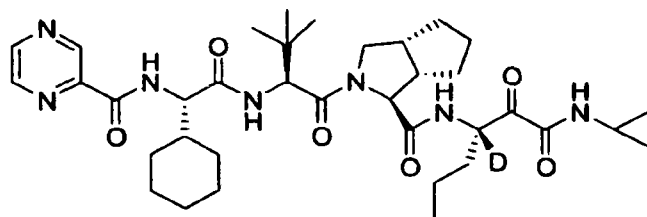


步骤 g: 制备(1*S*, 3*aR*, 6*aS*)-2-((*S*)-2-((*S*)-2-环己基-2-(吡嗪-2-羧酰氨基)乙酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-*N*-((3*S*)-1-(环丙基氨基)-3-氘-2-羟基-1-氧代己-3-基)八氢环戊[*c*]吡咯-1-羧酰胺



在偶联剂，例如 EDCI 和 HOSu 存在的情况下由步骤 f 的羟基氨酰胺产物与适合的酸缩合来制备标题化合物。具体地，向含有在 20 mL DMF 中的 1.2eq 的(1*S*, 3*aR*, 6*aS*)-2-((*S*)-2-((*S*)-2-环己基-2-(吡嗪-2-羧酰氨基)乙酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)八氢环戊[*c*]吡咯-1-羧酸(1.59g)的烧瓶中加入 2.5 eq 的二异丙基胺(980  $\mu$ L)，1.2 eq 的 *N*-羟基苯并三唑水合物(411 mg)和 1.3 eq 的 EDCI (558 mg)。在室温搅拌 15 分钟后，向混合物中加入 1.0 eq 的 (3*S*)-3-氨基-*N*-环丙基-3-氘-2-羟基盐酸己酰胺(500 mg)。另外 24 小时后，将反应混合物稀释到 400 mL 乙酸乙酯中。用 HCl(1 N)、水、饱和碳酸氢钠溶液、盐水洗涤混合物的有机相，然后在  $MgSO_4$  干燥。在二氧化硅上通过层析(在己烷中的 70-100% 乙酸乙酯)来纯化粗制产物得到 1.31 g 为白色固体的标题化合物。ES+ = 683.6, ES- = 682.2。使用 NMR  $^1H$  确认其结构。

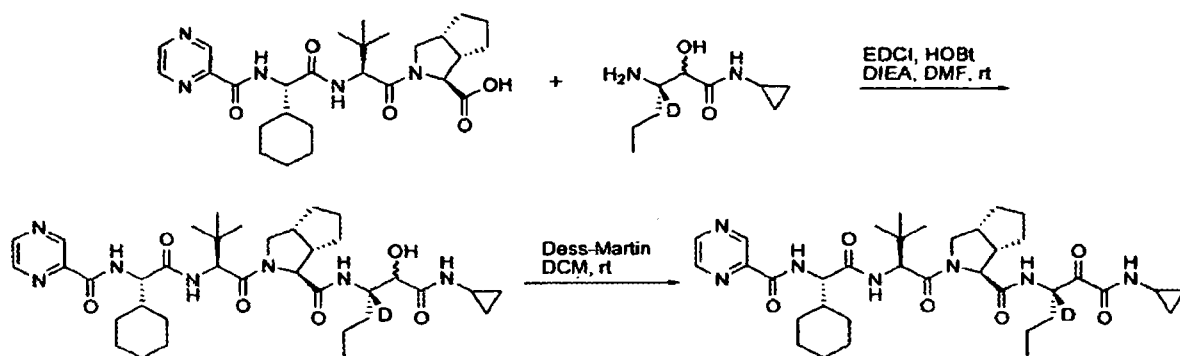
步骤 h: 制备(1*S*, 3*aR*, 6*aS*)-2-((*S*)-2-((*S*)-2-环己基-2-(吡嗪-2-羧酰氨基)乙酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-*N*-((*S*)-1-(环丙基氨基)-1,2-二氧代-3-氘-己-3-基)八氢环戊[*c*]吡咯-1-羧酰胺



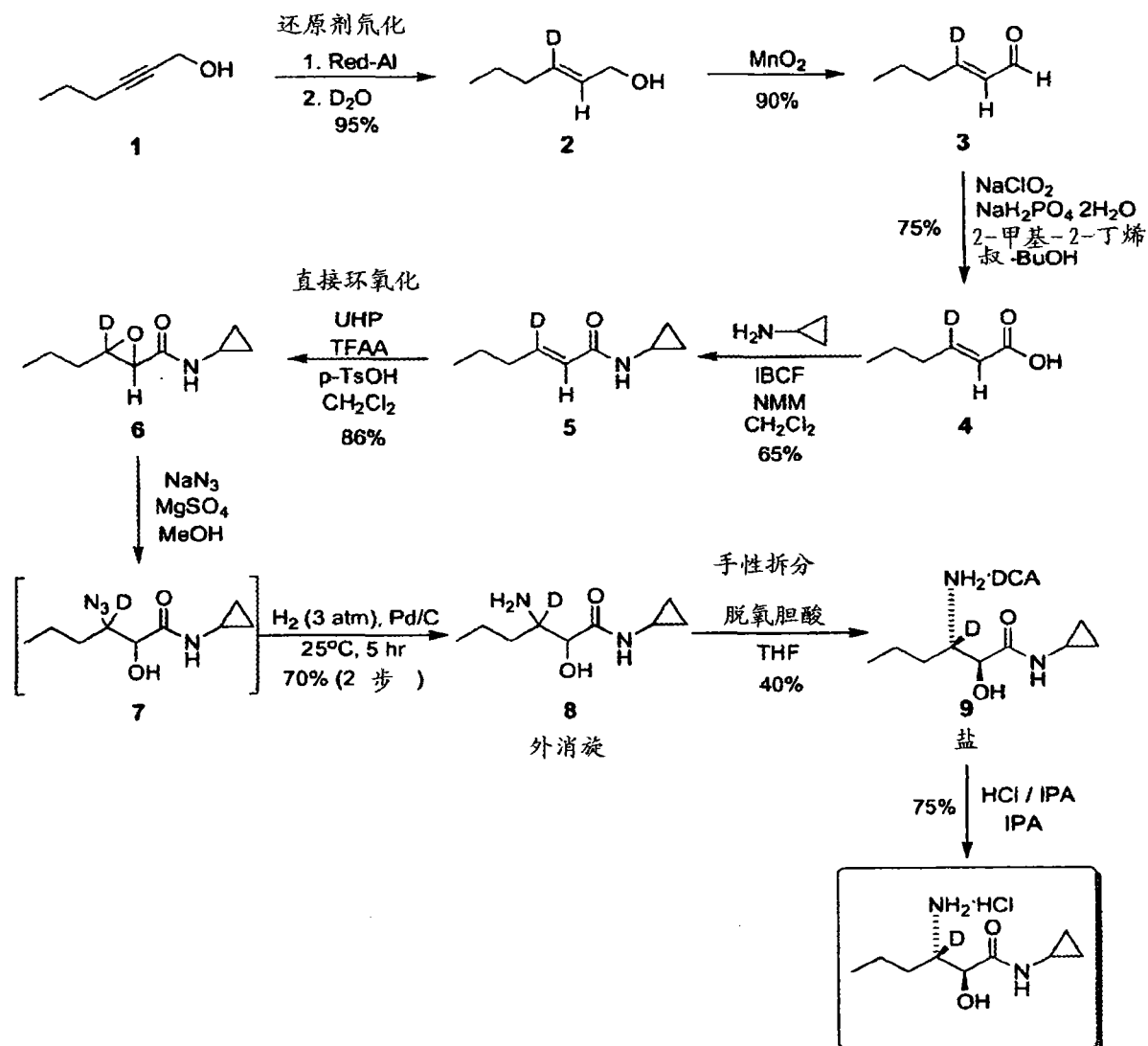
标题化合物通过用适当的氧化剂，例如 Dess Martin 全碘烷或 TEMPO 以及次氯酸钠氧化步骤 g 的产物来制备。具体地，在室温向含有在 40 mL 二氯甲烷中的 1.31g (1*S*, 3*aR*, 6*aS*)-2-((*S*)-2-((*S*)-2-环己基-2-(吡嗪-2-羧酰氨基)乙酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-*N*-((3*S*)-1-(环丙基氨基)-3-氘-2-羟基-1-氧代己-3-基)八氢环戊[*c*]吡咯-1-羧酰胺的烧瓶中加入 1.06g Dess Martin 全碘烷。搅拌 2 小时后，加入 50 mL 亚硫酸氢钠(1 N)，将混合物搅拌 30 分钟。分离两相，用水洗涤有机相两次，再用盐水洗涤，在 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 上干燥。在二氧化硅上通过层析（在己烷中的 20-100% 乙酸乙酯）来纯化粗制产物得到 1.07g 为白色固体的标题化合物。ES+ = 681.5, ES- = 680.0。使用 <sup>1</sup>H NMR 谱确认其结构。

通过 MS 确定掺入的氘为 93%。通过手性正相 HPLC 确定非对映异构体的比例高于 99% d.e.。

以下流程图显示步骤 g 和 h 的反应。



实施例 2: 制备(2*S*, 3*S*)-3-氨基-3-氘-*N*-环丙基-2-羟基盐酸己酰胺



以下所示流程图举例说明了标题化合物的总体合成。每个步骤如下详述。

### 步骤 1: 制备 3-氘-(E)-己-2-烯-1-醇

向配备有机械搅拌器和回流冷凝器的 250 mL 三颈圆底烧瓶中加入 2-己-1-醇(10 g, 0.1 摩尔)和 THF(100 mL, 10 体积)。将所得混合物冷却到  $0 \pm 5^\circ\text{C}$ , 然后在氮气气氛下在  $0^\circ\text{C}$  至  $20^\circ\text{C}$  缓慢加入 Red-Al(在甲苯中 65%, 32 mL, 1.6 eq)。将所得混合物加温到  $25^\circ\text{C}$ , 并搅拌 5 小时。将反应混合物冷却至  $-5 \pm 5^\circ\text{C}$ , 在  $0^\circ\text{C}$  至  $15^\circ\text{C}$  之间逐滴加入 D<sub>2</sub>O (8.2 g, 4 eq)。向所得混合物中装入 IPAC(50 mL, 5 体积)和饱和的 NH<sub>4</sub>Cl 溶液(50 mL, 5 体积)。在搅拌混合物 10 分钟后, 将形成的白色固体滤出。从滤液分离有机层, 水层用 IPAC(30 mL, 3 体积)萃取。有机层合并, 用水(30 mL, 3 体积)洗涤并在 MgSO<sub>4</sub> 上干燥, 浓缩得到 9.8 g 为无色的油的产物

(化合物 2)。粗制产物 2 没有做进一步纯化而用于下一步骤。

$^1\text{H NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  5.66 (t, 1H,  $J=5.0$  Hz), 4.12 (d, 2H,  $J=5.0$  Hz), 2.04 (t, 2H,  $J=5.0$  Hz), 1.38-1.46 (m, 2H), 0.93 (t, 3H,  $J=5.0$  Hz)。

#### 步骤 2: 制备 3-氘-(E)-己-2-烯醛

在室温向配备有机械搅拌器的含有在  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (150 mL, 15 体积)中的 3-氘-2-己烯醇(10 g, 0.1 摩尔)的 250 mL 三颈圆底烧瓶中装入活化的  $\text{MnO}_2$ (87 g, 10 eq)。在强力搅拌 1 小时后, 加入另外一部分  $\text{MnO}_2$ (16 g, 2 eq), 继续振荡 4 小时。将反应溶液通过硅藻土垫过滤。真空除去溶剂(25  $^\circ\text{C}$ , 100 mmHg)得到 8.8 g 为淡黄色油的粗制醛产物(化合物 3)。该粗制产物没有进一步纯化而用于下个步骤。

$^1\text{H NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  9.54 (d, 1H,  $J=100$  Hz), 6.14(s, 1H), 2.34 (m, 2H), 1.55-1.60(m, 2H), 1.00 (t, 3H,  $J=5.0$  Hz)。

#### 步骤 3: 制备 3-氘-(E)-己-2-烯酸

向配备有机械搅拌器和回流冷凝器的 500 mL 三颈圆底烧瓶中装入 3-氘-2-己烯-1-醛(10 g, 0.1 摩尔), 叔-BuOH (90 mL, 9 体积)和 2-甲基-2-丁烯(30 mL, 3 体积)。在 30 分钟内向所得溶液中加入新鲜制备的在水(200 mL)中的  $\text{NaClO}_2$ (27.4 g, 3 eq)和  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ (62.9 g, 4 eq)的溶液。将反应混合物在室温搅拌 2 小时。将反应溶液冷却到 0  $^\circ\text{C}$ , 并加入饱和的  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  水溶液直到反应颜色变成无色。停止搅拌, 分离有机层, 用 EtOAc(3 体积 x 3)萃取水层。将有机层合并, 真空浓缩直到总体积变为 3 体积。用 1 N NaOH (3 体积 x 3)萃取所得溶液, 丢弃剩余的有机层。用 6 N HCl 将合并的水层酸化至 pH 变为 1.0。用  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (3 体积 x 5)萃取该溶液。将合并的有机层在  $\text{MgSO}_4$  上干燥, 浓缩得到 8.7 g 为白色固体的产物(化合物 4)。

$^1\text{H NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  5.84 (s, 1H), 2.23 (t, 2H,  $J=5.0$  Hz), 1.51-1.55 (m, 2H), 0.98 (t, 3H,  $J=5.0$  Hz)。

#### 步骤 4: 制备 3-氘-(E)-N-环丙基己-2-烯酰胺

向配备有机械搅拌器和回流冷凝器的 250 mL 三颈圆底烧瓶中装入在  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (100 mL, 10 体积)中的 2-己烯酸-3d(10 g, 0.09 摩尔), IBCF (13



g, 1.1 eq)。将所得溶液冷却至 0℃，通过控制温度在 0℃至 20℃缓慢加入 NMM (13.2 g, 1.5 eq)。然后，将混合物加温至室温并搅拌 1 小时。向所得溶液中加入环丙胺(5.9 g, 1.2 eq)，将该溶液搅拌 2 小时。用 1 N NaOH (3 体积 x 2)，1 N HCl (3 体积 x 2)和盐水溶液 (3 体积)以及水(3 体积)洗涤反应混合物。将有机层在 MgSO<sub>4</sub> 上干燥，浓缩得到为油的粗制产物。将粗制产物溶解于庚烷(5 体积)中，搅拌的同时冷却到-78℃。过滤沉淀的固体，干燥得到 8.7 g 为白色固体的产物 (化合物 5)。

<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO) δ 7.92 (s, 1H), 5.78 (s, 1H), 2.66-2.68 (m, 1H), 2.08 (t, 2H, J=5.0 Hz), 1.38-1.42 (m, 2H), 0.87 (t, 3H, J=5.0 Hz), 0.63 (t, 2H, J=3.0 Hz), 0.40 (t, 2H, J=3.0 Hz)。

#### 步骤 5: 制备 3-氘-N-环丙基-3-丙基环氧乙烷-Z-羧酰胺

在 0℃30 分钟内向配备有机械搅拌器的含有在 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(100 mL, 10 体积)中的(E)-N-环丙基己-2-烯酰胺-3d (即步骤 4 的产物) (10 g, 0.06 摩尔)，脲过氧化氢(25 g, 4 eq)和对-TsOH(12.3 g, 1 eq)的 250 mL 三颈圆底烧瓶中加入在 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(50 mL, 5 体积)中的三氟乙酸酐(40.9 g, 3 eq)。将反应混合物加热到 40 ± 5℃，并搅拌 3 小时。冷却至 0℃后，通过缓慢加入 6 N NaOH (100 mL, 10 体积)使反应混合物淬灭，搅拌 30 分钟。将有机层分离并用盐水(5 体积)和水(5 体积)洗涤。将洗涤的有机层在 MgSO<sub>4</sub> 上干燥，蒸发溶剂得到为浅黄色油的 9.7 g 环氧产物(即化合物 6)。该粗制产物没有进一步纯化而用于下个步骤。

<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO) δ 8.01 (s, 1H), 3.09 (s, 1H), 2.63-2.65 (m, 1H), 1.39-1.54 (m, 4H), 0.91 (t, 3H, J=5.0 Hz), 0.60 (t, 2H, J=3.0 Hz), 0.45 (t, 2H, J=3.0 Hz)。

#### 步骤 6: 制备 3-叠氮-3-氘-N-环丙基-2-羟基己酰胺

向配备有机械搅拌器和回流冷凝器的含有在 MeOH(100 mL, 10 体积)中的环氧化物-3d 6(10 g, 0.06 摩尔)和无水硫酸镁 (14.1 g, 2.0 eq)的 250 mL 三颈圆底烧瓶中加入一份叠氮化钠(15.3 g, 4.0 eq)。将所得混合物加热到 65 ± 5℃并搅拌 5 小时。将反应混合物冷却至室温并加入 IPAC(100mL, 10 体积)，将混合物搅拌另外 10 分钟。将混合物通过 Celite<sup>®</sup> 垫过滤以除去不溶性盐，将所得澄清溶液浓缩至 3 体积。向所得溶液中

加入 IPAC(170mL, 17 体积), 将混合物搅拌另外 10 分钟。再次将溶液通过 Celite® 垫过滤得到产物, 叠氮化物-3d(化合物 7), 为在 IPAC(大约 200 mL)中的澄清溶液, 其没有进一步纯化而用于下个步骤。

<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO)  $\delta$  7.91 (s, 1H), 6.00 (d, 1H, J=5.0 Hz), 4.03 (d, 1H, J=5.0 Hz), 2.66-2.67 (m, 1H), 1.30-1.58 (m, 4H), 0.88 (t, 3H, J=5.0 Hz), 0.60 (t, 2H, J=3.0 Hz), 0.48 (t, 2H, J=3.0 Hz)。

#### 步骤 7: 制备 3-氨基-3-氘-N-环丙基-2-羟基己酰胺

在氢化反应器中向装配有机械搅拌器的含有在前一步骤获得的在 IPAC 中的叠氮化物-3d 7(200 mL, 0.05 摩尔)的 500 mL 高压氢化反应器中装入 Pd/C (10% Pd, 水 50%, 0.8 g)。向所得溶液充入氮气(1.0 atm), 释放三次, 然后充入氢气(3.0 atm)并释放三次。向所得溶液充入氢气(3 atm), 搅拌 5 小时。释放氢气后, 用氮气净化溶液 5 分钟。向所得溶液中加入 MeOH(30ml, 3 体积), 将反应混合物加热至  $50 \pm 5^\circ\text{C}$ 。通过硅藻土垫将反应混合物过滤得到澄清溶液。通过在  $20 \pm 5^\circ\text{C}$  浓缩溶液直到剩余 3 体积溶液来分离产物。通过过滤收集固体, 洗涤(IPAC, 3 体积), 干燥得到 7.7 g 为白色晶体固体的标题化合物(化合物 8)。<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO)  $\delta$  7.70 (s, 1H), 5.31(s, 2H), 3.68 (s, 1H), 2.64-2.66 (m, 1H), 1.10-1.50 (m, 4H), 0.82 (t, 3H, J=5.0 Hz), 0.59 (t, 3H, J=3.0 Hz), 0.45 (t, 3H, J=3.0 Hz)。

#### 步骤 8: 制备(2S,3S)-3-氨基-3-氘-N-环丙基-2-羟基脱氧胆酸己酰胺

向配备有机械搅拌器并含有在 THF(100 mL, 10 v))中的步骤 7 的外消旋(2S,3S)-3-氨基-3-氘-N-环丙基-2-羟基己酰胺(10 g, 0.05 摩尔)的 250 mL 三颈圆底烧瓶中装入脱氧胆酸(15.7 g, 0.75 eq)。将反应混合物加热到  $65 \pm 5^\circ\text{C}$  并搅拌 1 小时。在 1 小时内将所得均匀混合物冷却至  $23 \pm 2^\circ\text{C}$ , 将其保持在同样的温度范围 1 小时。通过过滤收集沉淀的固体, 用 THF(50 mL, 5 体积)洗涤, 干燥得到 12.4 g 为白色固体的盐化合物(化合物 9)。产物的对映体比例(ER)= 2:98。

#### 步骤 9: 制备(2S,3S)-3-氨基-3-氘-N-环丙基-2-羟基盐酸己酰胺

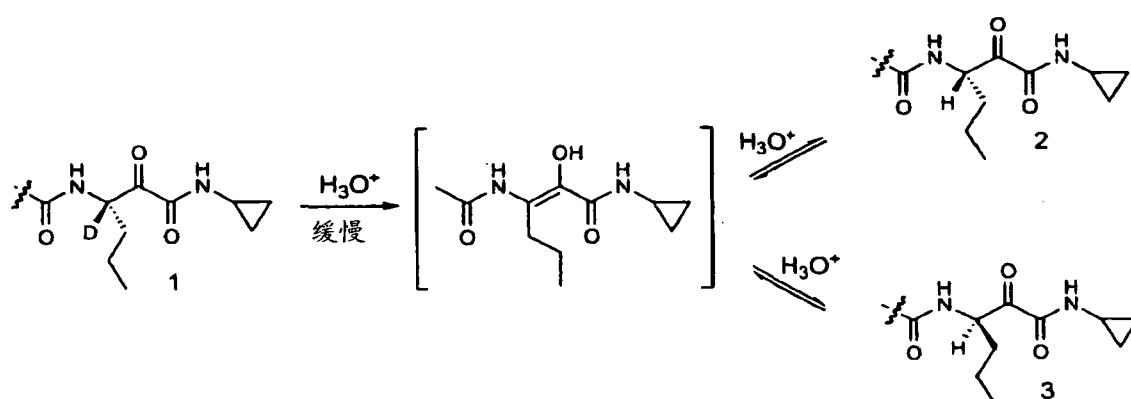
向配备有机械搅拌器的 250 mL 三颈圆底烧瓶中加入脱氧胆酸盐(来

自于步骤 8) 和 2-丙醇(62 mL, 5 体积)。将所得溶液加热至  $75 \pm 5^\circ\text{C}$ , 缓慢加入在 IPA(12 mL, 3 eq) 中的 5 至 6 N HCl, 同时强力搅拌。将所得溶液在相同的温度搅拌 1 小时, 然后冷却至  $23 \pm 2^\circ\text{C}$ 。将反应混合物在相同的温度保持 1 小时。通过过滤收集沉淀的固体, 用 2-丙醇洗涤(36 mL, 3 体积), 干燥得到 3.0 g 为白色固体的标题化合物(对映体比例(ER) = 0:100)。通过 MS 和  $^1\text{H NMR}$  确定掺入的氘为 99% 以上。

$^1\text{H NMR}$  (500 MHz, DMSO)  $\delta$  8.07 (s, 1H), 7.97 (s, 3H), 6.25 (d, 1H,  $J=5.0$  Hz), 4.16 (d, 1H,  $J=5.0$  Hz), 2.67-2.70 (m, 1H), 1.33-1.46(m, 4H), 0.84 (t, 3H,  $J=5.0$  Hz), 0.61 (t, 3H,  $J=3.0$  Hz), 0.53 (t, 3H,  $J=3.0$  Hz)。

### 实施例 3: 测量差向异构化速率的试验

氘化的本发明化合物差向异构化缓慢, 如下所示:



根据以下试验测量差向异构化速率。具体地, 将  $100 \mu\text{L}$  培养基(缓冲液, 大鼠血浆, 狗血浆或人类血浆)加入到 96 孔深板中。然后向血浆中加入  $10 \mu\text{L}$  含有测试化合物(1*S*, 3*aR*, 6*aS*)-2-((*S*)-2-((*S*)-2-环己基-2-(吡嗪-2-羧酰氨基)乙酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-*N*-((*S*)-1-(环丙基氨基)-1,2-二氧代-3-氘-己-3-基)八氢环戊[*c*]吡咯-1-羧酰胺( $1 \mu\text{M}$  或  $10 \mu\text{M}$ )的乙腈溶液, 同时通过使用 TomTec 液体操作工作站(Hamden, CT, USA)将  $1200 \mu\text{L}$  乙酸乙酯加入到 96 深孔板中(2mL)。然后将培养板紧密遮盖, 在将其以 3000 rpm 离心 10 分钟前涡旋振荡 20 分钟。离心后, 使用 TomTec 将  $900 \mu\text{L}$  上清液转移到新的 V 字形 96 深孔板中, 然后在  $20^\circ\text{C}$  在氮气下(流速  $60 \text{ L/min}$ )干燥 30 分钟。残留物用  $100 \mu\text{L}$  重建, 将该溶液再次转移到在 96 孔板的玻璃插入物中。将  $20 \mu\text{L}$  重建溶液注射入 LC-MS/MS 中以确定差向异构体的量。LC-MS/MS 谱仪使用

ChiralPak AD 柱(4.6x150 mm, 10  $\mu$ m), 异丙醇和正庚烷的混合物(10:90, 50:50 或 90:10)为流动相, 异丙醇为洗涤溶剂。还在 MS 谱仪中使用测试化合物的氘化类似物, 所述类似物在环己基基团含有 11 个氘原子 ( $C_{36}H_{42}D_{11}N_7O_6$ , MW 690.47)。

测试化合物的质量( $M+H$ ,  $m/z$ )为 681.36, 而其未氘化类似物(在氘化碳中心具有相同或不同的手性构型)的质量( $M+H$ ,  $m/z$ )为 680.36。它们的 LC-MS/MS 谱显示 323.30(具有氘)和 322.30(未氘化)的碎片。

以两种浓度 (1  $\mu$ M 和 10  $\mu$ M) 并且在相同的培养基中 (即缓冲液, 大鼠血浆, 狗血浆和人血浆), 测试的氘化的式 (I) 化合物显示的差向异构化速率比其未氘化形式缓冲液、大鼠血浆、狗血浆慢; 在人血浆中差向异构化速率慢的多。例如, 在人血浆中并且以 1  $\mu$ M 或 10  $\mu$ M, 氘化化合物在 180 分钟内差向异构化大约 30%, 而未氘化形式差向异构化几乎 40%。另外, 在人血浆中, 氘化化合物以线性速率差向异构化 180 分钟, 而未氘化形式显示在其水平稳定之前的最初 60 分钟内差向异构化呈指数速率。

#### 实施例 4: 测定在 HCV 复制子细胞中 $IC_{50}$ 的试验

在本试验中使用(1*S*, 3*aR*, 6*aS*)-2-((*S*)-2-((*S*)-2-环己基-2-(吡嗪-2-羧酰氨基)乙酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-*N*-((*S*)-1-(环丙基氨基)-1,2-二氧代-3-氘-己-3-基)八氢环戊[*c*]吡咯-1-羧酰胺和(5*S*, 8*S*)-3-(5-氯-2,4-二甲氧基苯基)-7-((*S*)-2-(2-环己基乙酰氨基)-3,3-二甲基丁酰基)-*N*-((*S*)-1-(环丙基氨基)-1,2-二氧代-3-氘基-3-基)-1-氧杂-2,7-二氮杂螺[4.4]壬-2-烯-8-羧酰胺, 如 Lin, C 等人, J. Biol. Chem., 2004, 279: 17508-17514; Lin, K 等人, Antimicrob. Agents Chemother., 2004, 48:4784-4792 中所述。

将 Con1 株的携带有自主复制、亚基因组 HCV 复制子的 Huh-7 细胞在 Dulbecco's 改良 Eagle's 培养基(DMEM), 10%热失活胎牛血清(FBS), 2 mM L-谷氨酰胺, 以及非必须氨基酸(JRH Biosciences, Lenexa, KS), 和 0.25 mg/ml G418 (Invitrogen, Carlsbad, CA)中培养。亚基因组 HCV 复制子还编码新霉素磷酸转移酶, 其可使含有 HCV 复制子的 Huh-7 细胞相对于 HCV 复制子阴性的 Huh-7 细胞在 G418 存在的情况下选择性生长。使用 4 参数曲线拟合(SoftMax Pro)在 HCV Con1 亚基因组复制子细胞(19)中测定使复制子细胞中 HCV RNA 水平减少 50% ( $IC_{50}$ )或 90% ( $IC_{90}$ ), 或

细胞存活减少 50% ( $CC_{50}$ ) 的测试化合物的浓度。将复制子细胞与用含有 2% FBS 和 5% DMSO (没有 G418) DMEM 稀释的测试化合物在 37°C 一起培养。使用 RNeasy-96 试剂盒 (QIAGEN, Valencia, CA) 提取总的细胞 RNA, 以定量、实时、多重逆转录-PCR (QRT-PCR, 或 Taqman) 试验测定 HCV RNA 的拷贝数目。使用基于四唑的细胞存活试验, 在相同的试验设定下测量化合物在 HCV 复制子细胞中的细胞毒性。

结果显示两种测试化合物所具有的  $K_i$  均小于 50 nM,  $IC_{50}$  (超过 5 天) 小于 10.0  $\mu$ M.

#### 其他实施方案

应该理解, 虽然已结合详细的说明书对本发明进行了描述, 但是前文的描述用于解释, 而不是限制由所附权利要求范围限定的本发明的范围。其他方面、优点以及修改均在所附权利要求的范围内。