



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101318922 B

(45) 授权公告日 2010. 11. 10

(21) 申请号 200710041760. 7

(22) 申请日 2007. 06. 08

(73) 专利权人 上海阳帆医药科技有限公司  
地址 201203 上海市张江高科技园区蔡伦路  
720 弄 2 号楼 204、206 室

(72) 发明人 陈慧茹 陈义朗

(74) 专利代理机构 上海专利商标事务所有限公  
司 31100

代理人 徐迅

(51) Int. Cl.

C07D 207/16 (2006. 01)

A61K 31/40 (2006. 01)

A61P 3/06 (2006. 01)

A61P 3/10 (2006. 01)

A61P 3/04 (2006. 01)

(56) 对比文件

US 20050070719 A1, 2005. 03. 31, 权利要求  
1-7.

CN 1926128 A, 2007. 03. 07, 权利要求 1.

CN 1524082 A, 2004. 08. 25, 权利要求 1.

CN 1723196 A, 2006. 01. 18, 权利要求 1.

审查员 龙巧云

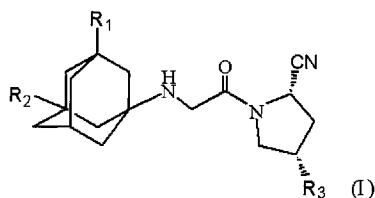
权利要求书 2 页 说明书 17 页

(54) 发明名称

一类二肽基肽酶抑制剂、合成方法和用途

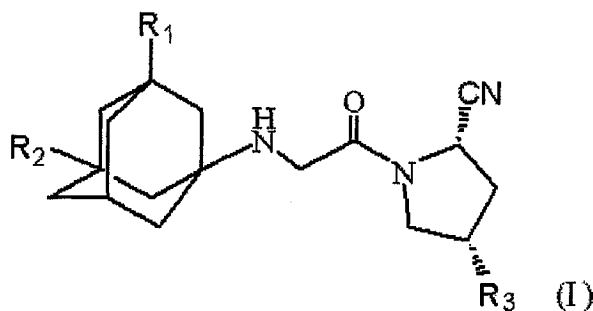
(57) 摘要

本发明提供了如下式 (I) 所示的二肽基肽酶 IV 的抑制剂, 式中, R<sub>1</sub> 为氢、氯、氟、溴、羟基或 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 的烷氧基, R<sub>2</sub> 为氢、氯、氟、溴或羟基, 但 R<sub>2</sub> 为氢时排除 R<sub>1</sub> 为羟基或 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 的烷氧基, R<sub>3</sub> 为氢或氟。这类化合物可用于治疗或预防与二肽基肽酶 IV 相关的疾病, 如糖尿病, 肥胖, 高血脂。本发明还提供 (I) 所示化合物及其药学上可接受的盐、药物组合物的制备方法及其用于制备治疗或预防与二肽基肽酶 IV 相关疾病的药物中的应用。



CN 101318922 B

1. 一种式 (I) 所示的化合物,或其药学上可接受的无机或有机盐:



式中,  $R_1$  为氯、氟、溴、或羟基;

$R_2$  为氢、或羟基;

$R_3$  为氢或氟;

且当  $R_3$  为氢时,  $R_1$ 、 $R_2$  中至少一个为卤素。

2. 如权利要求 1 所述的化合物,其特征在于,  $R_1$  为氯或氟。

3. 如权利要求 1 所述的化合物,其特征在于,  $R_2$  为羟基。

4. 如权利要求 1 所述的化合物,其特征在于,  $R_3$  为氟。

5. 如权利要求 1 所述的化合物,其特征在于,所述化合物选自下组:

(2S)-1-[(3-氟-5-羟基-1-金刚烷基)氨基乙酰基]-2-氰基吡咯烷;

(2S,4S)-1-[(3-氟-5-羟基-1-金刚烷基)氨基乙酰基]-4-氟-2-氰基吡咯烷;

(2S,4S)-1-[(3-羟基-1-金刚烷基)氨基乙酰基]-4-氟-2-氰基吡咯烷;

(2S)-1-[(3-氯-5-羟基-1-金刚烷基)氨基乙酰基]-2-氰基吡咯烷;

(2S,4S)-1-[(3-氯-5-羟基-1-金刚烷基)氨基乙酰基]-4-氟-2-氰基吡咯烷。

6. 一种药物组合物,其特征在于,它含有药理上可接受的赋形剂或载体,以及权利要求 1 所述的化合物、或其药学上可接受的无机或有机盐。

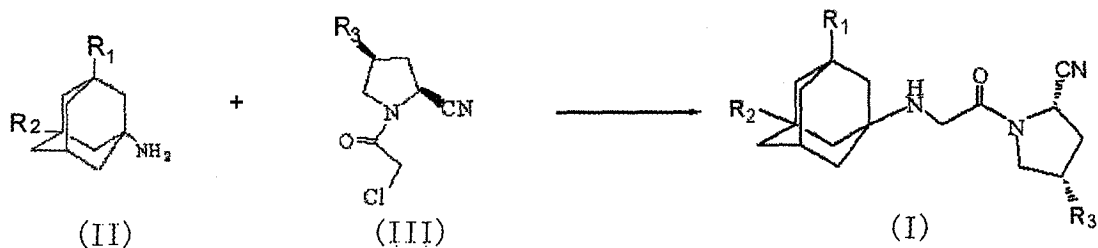
7. 一种权利要求 1 所述的化合物、或其药学上可接受的无机或有机盐的用途,其特征在于,用于制备二肽基肽酶 IV 即 DPP-IV 抑制剂。

8. 一种权利要求 1 所述的化合物、或其药学上可接受的盐的用途,其特征在于,用于制备治疗、预防以及缓解与二肽基肽酶 IV 即 DPP-IV 相关的疾病的药物。

9. 如权利要求 8 所述的用途,其特征在于,所述的与二肽基肽酶 IV 相关的疾病选自糖尿病、肥胖症、高血脂。

10. 一种制备式 (I) 所示化合物的方法,其特征在于,所述方法包括如下步骤:

在惰性溶液中,碱性条件下,使式 (II) 所示化合物与式 (III) 所示化合物反应生成式 (I) 所示化合物,



式中,  $R_1$  为氯、氟、溴、或羟基;

$R_2$  为氢、或羟基；

$R_3$  为氢或氟；

且当  $R_3$  为氢时， $R_1$ 、 $R_2$  中至少一个为卤素。

## 一类二肽基肽酶抑制剂、合成方法和用途

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一类新型二肽基肽酶 IV (Dipeptidyl peptidases, DPP-IV) 抑制剂、其制备方法以及其在制备治疗 DPP-IV 相关的疾病药物、特别是制备治疗糖尿病, 肥胖症, 高血脂药物中的应用。

[0002] 发明背景

[0003] 糖尿病是一种由于胰岛素分泌不足或胰岛素抵抗而导致的碳水化合物、脂肪及蛋白质代谢异常, 而以慢性高血糖 (空腹血糖浓度大于 130mg/dL) 和糖尿为主要特征的一组临床综合症。持续的高血糖会导致许多并发症的产生, 如视网膜、肾脏、神经系统病变及血管并发症, 尤其心血管并发症是糖尿病患者致死致残的主要威胁, 所以控制病人的血糖水平对于延缓或阻断并发症的产生极为重要。目前, 治疗 2 型糖尿病的药物主要有胰岛素、双胍类如二甲双胍、磺酰脲类如格列美脲、 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制剂如阿卡波糖、列奈类如那格列奈、列酮类如罗格列酮。但这些药物除疗效有限外, 都有明显的副作用, 因此迫切需要新的更有效、更安全的治疗糖尿病药物。

[0004] 胰高血糖素样肽-1 (GLP-1) 由胰岛  $\alpha$  细胞和肠道 L 细胞分泌, 具有葡萄糖依赖性促胰岛素分泌以及增加胰岛素的生物合成的作用, 因此使用 GLP-1 治疗糖尿病引起科学家极大兴趣。GLP-1 除了具有促进胰岛素分泌作用外, 还具有促进  $\beta$ -细胞增生、抗  $\beta$ -细胞凋亡、抑制胰高血糖素和肝糖的生成、抑制食欲、降低胃肠排空速度、保护神经细胞等生理功能 [Trends Endocrinol Metab, 1999, 10(6):229-235]。GLP-1 是含有 30 个氨基酸的多肽, 葡萄糖和脂肪可刺激其释放。GLP-1 这些特点使其成为理想的糖尿病治疗药物。GLP-1 连续静脉滴注可以降低糖尿病患者血糖, 甚至对磺酰脲治疗失败的患者依然有效, 但是单次皮下注射 GLP-1 无效, 而连续 6 周皮下注射效果理想。产生这一现象的原因是 GLP-1 在体内的半衰期仅数分钟, 能被内源性二肽基肽酶 (DPP-IV) 迅速降解, 除去 N 端二肽, 而失去促胰岛素分泌活性 [Expert Opin. Investing. Drugs, 2004, 13(9):1091-1102]。DPP-IV 在人体内广泛分布, 是 GLP-1 的主要代谢酶, 在调控 GLP-1 活性中发挥着重要作用。因此抑制 DPP-IV 的活性化合物即 DPP-IV 抑制剂, 可增强 GLP-1 (肠降糖素) 的作用, 可望成为新型的 2 型糖尿病治疗药物。

[0005] 现有文献和专利公开了许多 DPP-IV 抑制剂 [Current Medicinal Chemistry, 1999, 6, 311-327; Biochemistry 1999, 38, 11597-11603; Expert Opin. Investing. Drugs, 2005, 15(10):1387-1407; Expert Opin. Ther. Patents, 2003, 13(4):499-510]。W000/34241 公开了具有 DPP-IV 抑制活性的 N-取代-2-氰基吡咯类化合物, 其金刚烷部分为单取代或简单烷基取代, US2003/0100563 公开了用于治疗糖尿病的  $\beta$ -氨基杂环类 DPP-IV 抑制剂, W003/057666 公开了环丙烷化的 2-氰基吡咯类 DPP-IV 抑制剂, US2004/0171848 公开了一系列含有偕二苯基侧链的 2-氰基吡咯化合物, W02005/095381 公开了一类新结构的 2,4-二氧-3,4-二氢嘧啶类 DPP-IV 抑制剂。

[0006] 然而, 现有技术中这些化合物对二肽基肽酶的抑制性还不够令人满意, 因此本领域迫切需要开发高活性的二肽基肽酶抑制剂, 以便治疗各种与二肽基肽酶 (DPP-IV) 相关

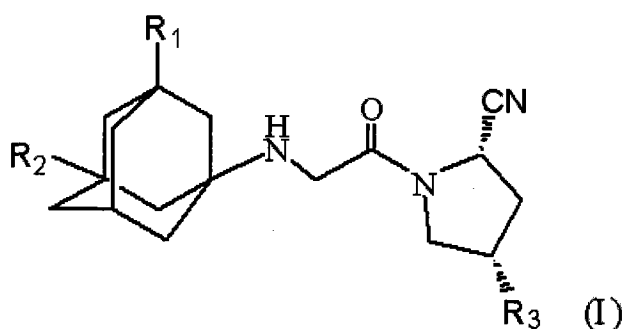
的各种疾病。

### 发明内容

[0007] 本发明的目的是提供一类新型二肽基肽酶 IV(Dipeptidyl peptidases, DPP-IV) 抑制剂、其制备方法及其应用。

[0008] 本发明的第一方面, 提供了一种式 (I) 所示的化合物, 或其各光学异构体、各晶型、药学上可接受的无机或有机盐、水合物或溶剂合物:

[0009]



[0010] 式中,  $R_1$  为氢、氯、氟、溴、羟基或  $C_1-C_6$  的烷氧基;

[0011]  $R_2$  为氢、氯、氟、溴或羟基;

[0012]  $R_3$  为氢或氟;

[0013] 且当  $R_3$  为氢时,  $R_1$ 、 $R_2$  中至少一个为卤素。

[0014] 在另一优选例中,  $R_1$  为氯或氟。

[0015] 在另一优选例中,  $R_2$  为氢或羟基。

[0016] 在另一优选例中,  $R_3$  为氟。

[0017] 在另一优选例中, 所述化合物选自下组:

[0018] (2S)-1-[(3-氟-5-羟基-1-金刚烷基)氨基乙酰基]-2-氰基吡咯烷 (YF-4);

[0019] (2S, 4S)-1-[(3-氟-5-羟基-1-金刚烷基)氨基乙酰基]-4-氟-2-氰基吡咯烷 (YF-12);

[0020] (2S, 4S)-1-[(3-羟基-1-金刚烷基)氨基乙酰基]-4-氟-2-氰基吡咯烷 (YF-8);

[0021] (2S)-1-[(3-氯-5-羟基-1-金刚烷基)氨基乙酰基]-2-氰基吡咯烷 (YF-3);

[0022] (2S, 4S)-1-[(3-氯-5-羟基-1-金刚烷基)氨基乙酰基]-4-氟-2-氰基吡咯烷 (YF-9)。

[0023] 本发明的第二方面, 提供了一种药物组合物, 它含有药理上可接受的赋形剂或载体, 以及本发明的上述化合物、或其各光学异构体、各晶型、药学上可接受的无机或有机盐、水合物或溶剂合物。

[0024] 本发明的第三方面, 提供了本发明的上述化合物、或其各光学异构体、各晶型、药学上可接受的无机或有机盐、水合物或溶剂合物的用途, 它们被用于制备 DPP-IV 抑制剂。

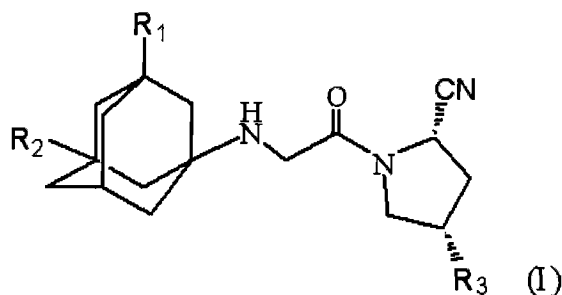
[0025] 本发明的第四方面, 提供了本发明上述化合物、或其各光学异构体、各晶型、药学上可接受的盐、水合物或溶剂合物的用途, 它们被用于制备治疗、预防以及缓解与 DPP-IV 相关的疾病的药物。

[0026] 在另一优选例中, 所述的与 DPP-IV 相关的疾病选自糖尿病、肥胖症、高血脂。



[0042] 本发明的式 (I) 所示的化合物中具有代表性的化合物名称及结构式如下：

[0043]



[0044]

化合物	名称	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
YF-1	(2S)-1-[(3-氟-1-金刚烷基)氨基乙酰基]-2-氰基吡咯烷	F	H	H
YF-2	(2S)-1-[(3-氯-1-金刚烷基)氨基乙酰基]-2-氰基吡咯烷	Cl	H	H
YF-3	(2S)-1-[(3-氯-5-羟基-1-金刚烷基)氨基乙酰基]-2-氰基吡咯烷	Cl	OH	H
YF-4	(2S)-1-[(3-氟-5-羟基-1-金刚烷基)氨基乙酰基]-2-氰基吡咯烷	F	OH	H
YF-5	(2S)-1-[(3-溴-5-羟基-1-金刚烷基)氨基乙酰基]-2-氰基吡咯烷	Br	OH	H
YF-6	(2S)-1-[(3-甲氧基-5-羟基-1-金刚烷基)氨基乙酰基]-2-氰基吡咯烷	OCH <sub>3</sub>	OH	H
YF-7	(2S)-1-[(3,5-二氯-1-金刚烷基)氨基乙酰基]-2-氰基吡咯烷	Cl	Cl	H
YF-8	(2S,4S)-1-[(3-羟基-1-金刚烷基)氨基乙酰基]-4-氟-2-氰基吡咯烷	OH	H	F
YF-9	(2S,4S)-1-[(3-氯-5-羟基-1-金刚烷基)氨基乙酰基]-4-氟-2-氰基吡咯烷	Cl	OH	F
YF-10	(2S,4S)-1-[(3-氟-1-金刚烷基)氨基乙酰基]-4-氟-2-氰基吡咯烷	F	H	F
YF-11	(2S,4S)-1-[(3-氯-1-金刚烷基)氨基乙酰基]-4-氟-2-氰基吡咯烷	Cl	H	F
YF-12	(2S,4S)-1-[(3-氟-5-羟基-1-金刚烷基)氨基乙酰基]-4-氟-2-氰基吡咯烷	F	OH	F

[0045] [0045] 制备方法

[0046] 下面更具体地描述本发明结构式 (I) 化合物的制备方法,但这些具体方法不对本发明构成任何限制。此外反应条件,例如反应物、溶剂、碱、所用化合物的量、反应温度、反应所需时间等不限于下面的解释。

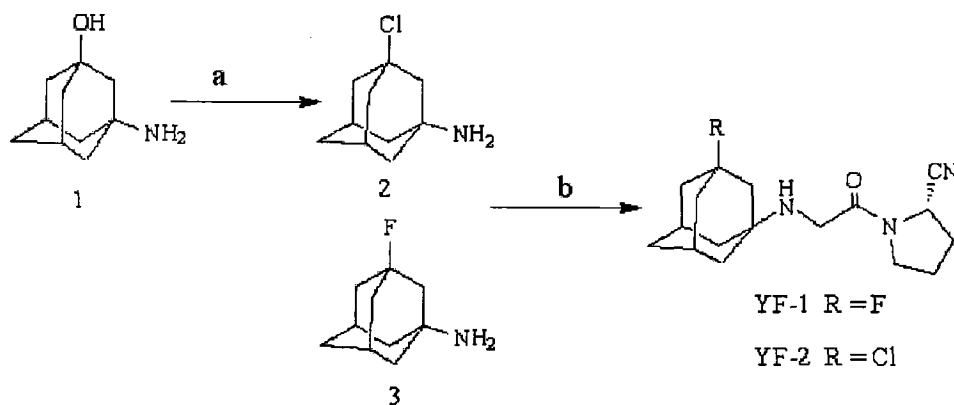
[0047] 本发明化合物还可以任选将在本说明书中描述的或本领域已知的各种合成方法组合起来而方便的制得,这样的组合可由本发明所属领域的技术人员容易的进行。

[0048] 在本发明的制备方法中,各反应通常在惰性溶剂中,在 0°C 至溶剂回流温度 (优选室温 ~ 80°C) 下进行。反应时间通常为 0.1 小时 ~ 60 小时,较佳地为 0.5 ~ 48 小时。

[0049] 在一优选例中,本发明式 (I) 化合物可按如下路线 I 制备:

[0050] 路线 I

[0051]



[0052] 其中, a : $\text{SOCl}_2$ ,  $\text{CCl}_4$ , b :1- 氯乙酰基 -2- 氰基吡咯,  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , THF

[0053] 步骤 1. 3-羟基 -1-金刚烷胺盐酸盐 1 [Synthetic Communications ;1988, 18(16):1975-1978], 在非质子溶剂中, 于碱存在下与氯化试剂反应可高产率得到 3-氯 -1-金刚烷胺。

[0054] 适合上述反应的溶剂为四氯化碳、二氯甲烷、苯、甲苯、二甲基甲酰胺以及氯仿, 适合的碱为三乙胺和吡啶。氯化试剂可以是二氯亚砷、三氯氧磷、五氯化磷, 反应温度为室温到溶剂回流的温度。

[0055] 步骤 2. 在有机溶剂四氯化碳、二氯甲烷、苯、甲苯、二甲基甲酰胺、四氢呋喃、二氧六环、甲基叔丁基醚中, 化合物 2 或化合物 3 [J. Chem. Soc. 2000, 122, 466-473] 在碱性条件下与 (2S)-1-氯乙酰基 -2- 氰基吡咯 [J. Med. Chem ;2003, 46, 2774-2789] 反应, 得到 YF-1 和 YF-2。

[0056] 反应温度在  $0^\circ\text{C}$  到溶剂回流温度的范围内, 最佳温度为  $0 \sim 35^\circ\text{C}$ 。反应使用的碱为三乙胺、吡啶等有机碱或碳酸钾、碳酸钠、氢氧化钠、氢氧化钾、氟化钾、氟化钠等无机碱。在反应中加入碘化钠或碘化钾, 以加快反应速度。

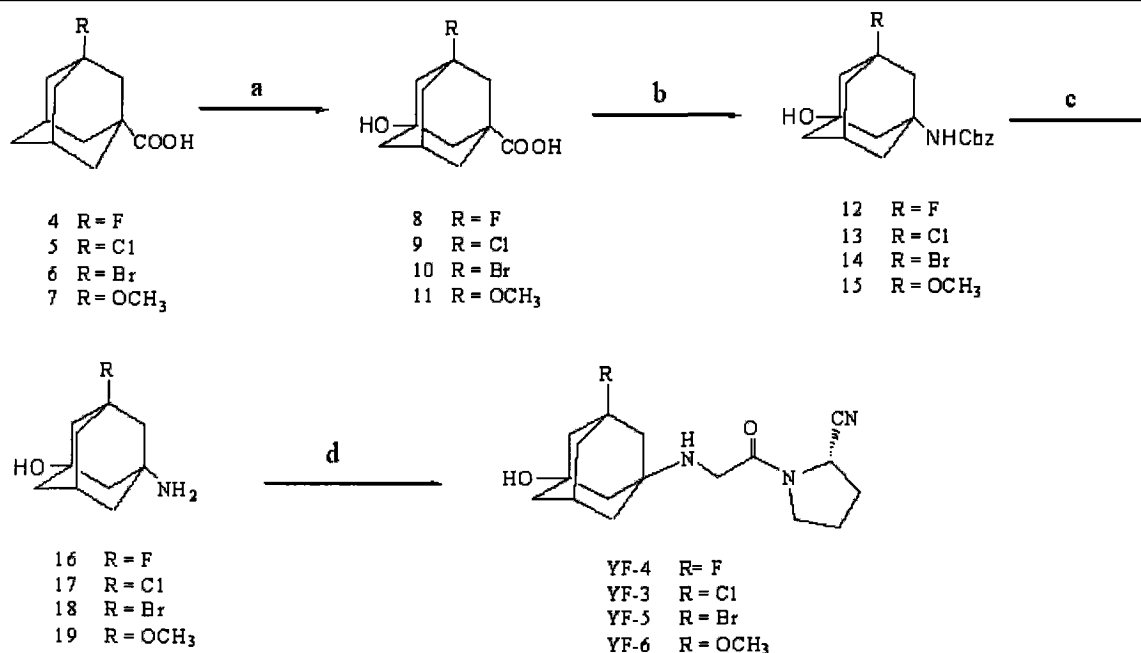
[0057] 步骤 3. 根据需要, YF-1 和 YF-2 可制成各种晶型, 药学上可接受的无机或有机盐, 水合物或溶剂合物, 以及含有它们做为活性成分的药物组合物。

[0058] 在另一优选例中, 本发明式 (I) 化合物可按如下路线 II 制备:

[0059] 路线 II

[0060]





[0061] 其中, a :KMnO<sub>4</sub>, 2% KOH ; b :DPPA, BnOH, TEA, 苯 ; c :H<sub>2</sub>/Pd/C ; d :1-氯乙酰基-2-氰基吡咯, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, THF

[0062] 步骤 1. 3 位取代的金刚烷羧酸化合物 4 ~ 7 [Chem Ber ; 1962, 95:667] 在碱性水溶液中, 被氧化 24 ~ 72 小时, 一般 24 ± 2 小时为宜, 得到化合物 5-羟基-3-取代的金刚烷甲酸化合物 8 ~ 11。

[0063] 反应使用的碱为氢氧化钾、氢氧化钠、氢氧化锂等, 氧化剂为高锰酸钾、浓硝酸、浓硫酸等, 反应的温度 0 ~ 100℃, 适宜温度为 40 ~ 60℃。

[0064] 步骤 2. 在四氯化碳、二氯甲烷、苯、甲苯、四氢呋喃、二氧六环、甲基叔丁基醚等非质子溶剂中, 金刚烷甲酸化合物 8 ~ 11 在碱性条件下与 DPPA (二苯氧基磷酰基叠氮)、苄醇加热回流, 进行重排反应, 得到 5-羟基-3-取代-(1-苄氧羰基氨基)-1-金刚烷化合物 12 ~ 15。

[0065] 反应中所使用的碱为三乙胺或吡啶等有机碱。

[0066] 步骤 3. 在醋酸、甲醇、乙醇等极性质子溶剂中, 0 ~ 100℃ 温度下、最适宜温度 25 ± 5℃, 化合物 12 ~ 15 在 Pd/C 或其它金属催化剂如镍、铑、钌等的催化下氢化还原, 脱去苄氧羰基, 得到 5-羟基-3-取代-1-金刚烷胺醋酸盐 16 ~ 19, 最适合的溶剂为醋酸。

[0067] 步骤 4. 在四氯化碳、二氯甲烷、苯、甲苯、二甲基甲酰胺、四氢呋喃、二氧六环或甲基叔丁基醚等有机溶剂中, 化合物 16 ~ 19 在碱性条件下与 (2S)-1-氯乙酰基-2-氰基吡咯以摩尔比 1 ~ 10 : 1 反应, 得到 YF-3、YF-4、YF-5、YF-6。

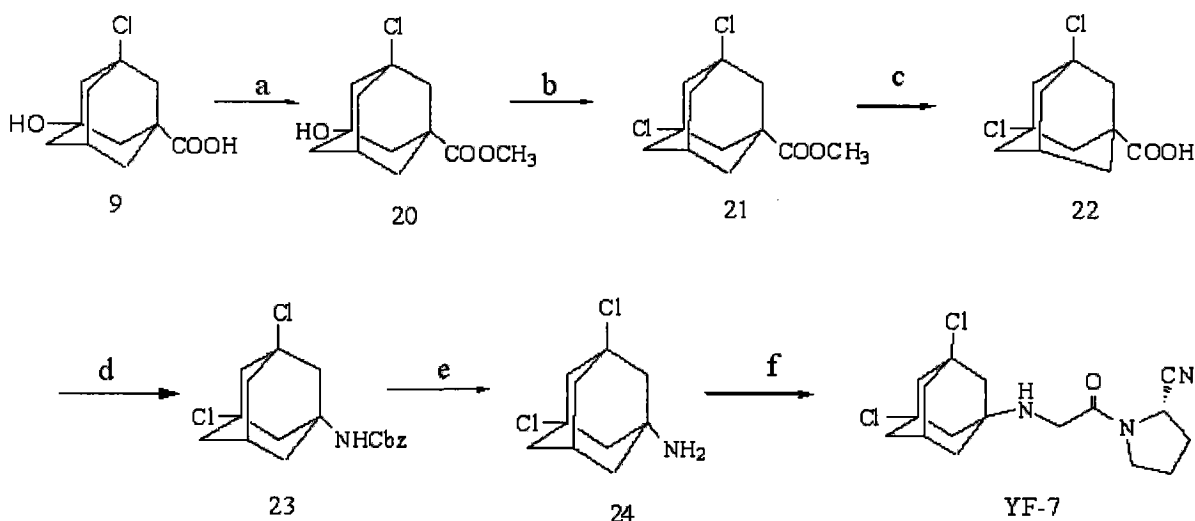
[0068] 反应最适宜的摩尔比为 2 : 1, 反应温度在 0℃ 到溶剂回流温度的范围内, 最佳温度为 0 ~ 35℃, 反应使用的碱为三乙胺、吡啶等有机碱或碳酸钾、碳酸钠、氢氧化钠、氢氧化钾、氟化钾、氟化钠等无机碱, 在反应中可以加入碘化钠或碘化钾, 以加快反应速度。

[0069] 步骤 5. 根据需要, YF-3、YF-4、YF-5、YF-6 可制成各种晶型, 药学上可接受的无机或有机盐, 水合物或溶剂合物, 以及含有它们做为活性成分的药物组合物。

[0070] 在另一优选例中, 本发明式 (I) 化合物可按如下路线 (III) 制备:

[0071] 路线 III

[0072]



[0073] 其中, a :MeOH, 浓 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ; b SOCl<sub>2</sub> 和 CCl<sub>4</sub> ; c :KOH, 50% EtOH/H<sub>2</sub>O ; d :KMnO<sub>4</sub>, 2% KOH ; e :DPPA, BnOH, TEA, 苯 ; f :H<sub>2</sub>/Pd/C ; g :1- 氯乙酰基 -2- 氰基吡咯, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, THF

[0074] 步骤 1. 以甲醇为溶剂, 加入少量硫酸或者二氯亚砷, 加热回流即可制得酯化物 20。

[0075] 步骤 2. 化合物 20 在非质子溶剂中, 在碱存在下与氯化试剂反应可得到化合物 21。

[0076] 适合于上述反应的溶剂为四氯化碳、二氯甲烷、苯、甲苯、二甲基甲酰胺氯仿, 适合的碱为三乙胺、吡啶, 氯化试剂可以是二氯亚砷、三氯氧磷、五氯化磷, 反应温度在室温到溶剂回流温度的范围内。

[0077] 步骤 3. 在如水、乙醇、二氧六环的极性溶剂中, 于碱性条件下水解化合物 21 可以得到化合物 22。

[0078] 适合的碱为氢氧化锂、氢氧化钾或氢氧化钠, 反应温度为 0 ~ 100℃, 最佳温度为 30-50℃。

[0079] 步骤 4. 用与制备化合物 12 相似的方法可以由化合物 22 制得化合物 23。

[0080] 步骤 5. 用与制备化合物 16 相似的方法可以由化合物 23 制得化合物 24。

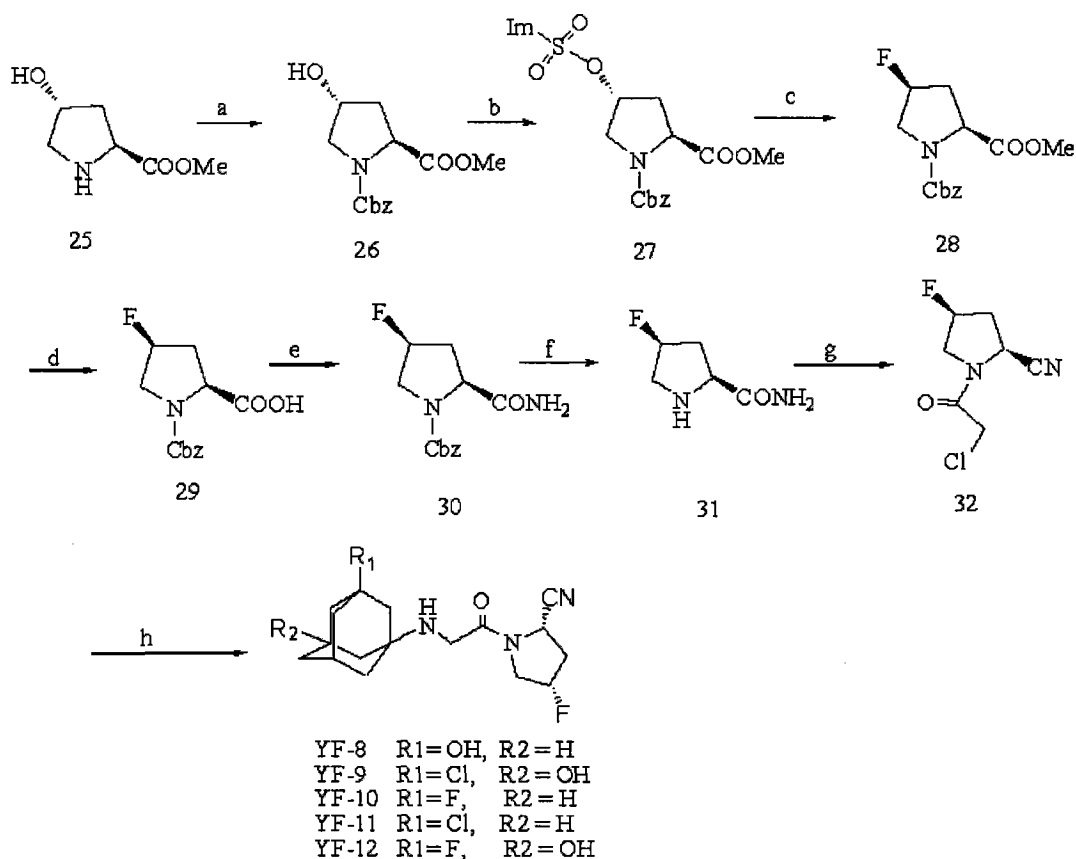
[0081] 步骤 6. 用与制备化合物 YF-3 相似的方法可以由化合物 24 和 (2S)-1- 氯乙酰基 -2- 氰基吡咯制得化合物 YF-7。

[0082] 步骤 7. 根据需要, YF-7 可制成各种晶型, 药学上可接受的无机或有机盐, 水合物或溶剂合物, 以及含有它们做为活性成分的药物组合物。

[0083] 在另一优选例中, 本发明式 (I) 化合物可按如下路线 IV 制备:

[0084] 路线 IV

[0085]



[0086] 其中, Im 代表咪唑基; a: 饱和  $\text{NaHCO}_3$ , Cbz-Cl,  $5-10^\circ\text{C}$ ; b: 咪唑,  $\text{SO}_2\text{Cl}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ; c:  $\text{HF}/\text{TEA}$ ,  $\text{CH}_3\text{COOEt}$ ,  $60^\circ\text{C}$ ; d:  $\text{KOH}$ ,  $\text{EtOH}$ ; e:  $\text{EDC}$ ,  $\text{HOBT}$ ,  $\text{CH}_3\text{CN}$ ; f:  $\text{H}_2/\text{Pd}/\text{C}$ ; g: 氯乙酰氯,  $\text{K}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{THF}$ ,  $\text{TFAA}$ ; h: 3,5 二取代金刚烷胺盐酸盐,  $\text{K}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{THF}$

[0087] 步骤 1. 以碱水溶液作溶剂, (4R)-4-羟基-L-脯氨酸甲酯 [US20040171848] 与苄氧酰氯在  $-5 \sim 50^\circ\text{C}$  反应, 得到化合物 26。

[0088] 反应最适合温度为  $5 \sim 10^\circ\text{C}$ , 反应适合的碱为碳酸钾、碳酸钠、碳酸氢钠、氢氧化钠、氢氧化钾。

[0089] 步骤 2. 在无水条件下, 用 DMF 或二氯甲烷作溶剂, 将化合物 26 与磺酰氯、咪唑混合, 在温度为  $0 \sim 50^\circ\text{C}$ 、优选为  $20 \sim 25^\circ\text{C}$  下反应 1 ~ 5 小时、优选为 2 小时, 得到化合物 27。

[0090] 步骤 3. 在极性非质子溶剂如 1,2-二氯乙烷、乙酸乙酯、甲苯、二甲基甲酰胺中, 用  $\text{HF}/\text{TEA}$  对咪唑磺酰基进行  $\text{SN}_2$  反应, 得到构型翻转的氟代产物 28。

[0091] 反应温度为  $40^\circ\text{C}$  到溶剂回流温度, 最佳温度为  $70 \sim 80^\circ\text{C}$ 。

[0092] 另外, 化合物 26 和  $\text{DAST}$  在惰性溶剂中反应, 也可以一步制得 28。

[0093] 步骤 4. 于  $30 \sim 50^\circ\text{C}$ , 在如水、乙醇或二氧六环的极性溶剂中, 用氢氧化锂、氢氧化钾或氢氧化钠水解化合物 28, 即可得到化合物 29。

[0094] 步骤 5. 在二甲基甲酰胺或乙腈等极性非质子溶剂中, 用碳二亚胺 ( $\text{EDC}$ )、 $N,N$ -二环己基碳二亚胺 ( $\text{DCC}$ ) 或卡特缩合剂 ( $\text{BOP}$ ) 等缩合剂使 1-羟基苯并三唑 ( $\text{HOBT}$ ) 与化合物 29 反应形成活性酯, 然后和氨气反应, 氨解形成的活性酯, 得到酰胺化合物 30。

[0095] 反应适合的温度为  $0 \sim 40^\circ\text{C}$ , 最适宜温度在  $20 \sim 30^\circ\text{C}$  之间。

[0096] 步骤 6. 在醋酸、甲醇、乙醇等极性质子溶剂中, 于  $0 \sim 100^\circ\text{C}$  温度、优选为  $25^\circ\text{C}$  下,

使化合物 30 在 Pd/C 或其它金属催化剂如镍、铑、钌等的催化下氢化还原,脱去苄氧酰基得到 31,最适合的溶剂为醋酸,最适合的温度为 10 ~ 25℃。

[0097] 步骤 7. 使化合物 31 在无水四氢呋喃、二氧六环等醚类溶剂或二氯甲烷、氯仿、乙酸乙酯、乙腈等溶剂中,于碱存在下,与氯乙酰氯在 0 ~ 35℃ 反应 1 ~ 10 小时后,进行过滤,再向滤液中加入三氟乙酸酐,于室温搅拌 1 ~ 15 小时,得到化合物 32。

[0098] 步骤 8. 在有机溶剂四氯化碳、二氯甲烷、苯、甲苯、二甲基甲酰胺、四氢呋喃、二氧六环、甲基叔丁基醚中,化合物 1、2、3、16、17 在碱性条件下与化合物 32 反应,分别得到 YF-8、YF-9、YF-10、YF-11、YF-12。

[0099] 反应温度在 0℃ 到溶剂回流温度之间,最佳温度为 0 ~ 35℃,反应使用的碱为三乙胺、吡啶等有机碱或碳酸钾、碳酸钠、氢氧化钠、氢氧化钾、氟化钾、氟化钠等无机碱,在反应中加入碘化钠或碘化钾,以加快反应速度。

[0100] 步骤 9. 根据需要,YF-8、YF-9、YF-10、YF-11、YF-12 可制成各种晶型,药学上可接受的无机或有机盐,水合物或溶剂合物,以及含有它们做为活性成分的药物组合物。

[0101] 药物组合物和施用方法

[0102] 由于本发明化合物具有优异的 DPP-IV 抑制作用,因此本发明化合物及其各种晶型、药学上可接受的无机或有机盐、水合物或溶剂合物,以及含有本发明化合物为主要活性成分的药物组合物可用于治疗、预防以及缓解 DPP-IV 相关疾病。根据现有技术,本发明化合物可用于治疗 2 型糖尿病、肥胖症、高血脂。

[0103] 本发明的药物组合物包含安全、有效量范围内的本发明化合物或其药理上可接受的盐及药理上可以接受的赋形剂或载体。其中“安全、有效量”指的是:化合物的量足以明显改善病情,而不至于产生严重的副作用。通常,药物组合物含有 1-1000mg 本发明化合物 / 剂,较佳地 5-500mg 本发明化合物 / 剂,更佳地,含有 10-200mg 本发明化合物 / 剂。

[0104] 本发明的化合物及其药理上可接受的盐可制成各种制剂,其中包含安全、有效量范围内的本发明化合物或其药理上可接受的盐及药理上可以接受的赋形剂或载体。其中“安全、有效量”指的是:化合物的量足以明显改善病情,而不至于产生严重的副作用。化合物的安全、有效量根据治疗对象的年龄、病情、疗程等具体情况来确定。

[0105] “药理上可以接受的赋形剂或载体”指的是:一种或多种相容性固体或液体填料或凝胶物质,它们适合于人使用,而且必须有足够的纯度和足够低的毒性。“相容性”在此指的是组合物中各组份能与本发明的化合物以及它们之间相互掺和,而不明显降低化合物的药效。药理上可以接受的赋形剂或载体部分例子有纤维素及其衍生物(如羧甲基纤维素钠、乙基纤维素钠、纤维素乙酸酯等)、明胶、滑石、固体润滑剂(如硬脂酸、硬脂酸镁)、硫酸钙、植物油(如豆油、芝麻油、花生油、橄榄油等)、多元醇(如丙二醇、甘油、甘露醇、山梨醇等)、乳化剂(如吐温®)、润湿剂(如十二烷基硫酸钠)、着色剂、调味剂、稳定剂、抗氧化剂、防腐剂、无热原水等。

[0106] 施用本发明化合物时,可以口服、直肠、肠胃外(静脉内、肌肉内或皮下)、局部给药。

[0107] 用于口服给药的固体剂型包括胶囊剂、片剂、丸剂、散剂和颗粒剂。在这些固体剂型中,活性化合物与至少一种常规惰性赋形剂(或载体)混合,如柠檬酸钠或磷酸二钙,或与下述成分混合:(a) 填料或增容剂,例如,淀粉、乳糖、蔗糖、葡萄糖、甘露醇和硅酸;(b)

粘合剂,例如,羟甲基纤维素、藻酸盐、明胶、聚乙烯基吡咯烷酮、蔗糖和阿拉伯胶;(c) 保湿剂,例如,甘油;(d) 崩解剂,例如,琼脂、碳酸钙、马铃薯淀粉或木薯淀粉、藻酸、某些复合硅酸盐、和碳酸钠;(e) 缓溶剂,例如石蜡;(f) 吸收加速剂,例如,季胺化合物;(g) 润湿剂,例如鲸蜡醇和单硬脂酸甘油酯;(h) 吸附剂,例如,高岭土;和(i) 润滑剂,例如,滑石、硬脂酸钙、硬脂酸镁、固体聚乙二醇、十二烷基硫酸钠,或其混合物。胶囊剂、片剂和丸剂中,剂型也可包含缓冲剂。

[0108] 固体剂型如片剂、糖丸、胶囊剂、丸剂和颗粒剂可采用包衣和壳材制备,如肠衣和其它本领域公知的材料。它们可包含不透明剂,并且,这种组合物中活性化合物或化合物的释放可以延迟的方式在消化道内的某一部分中释放。可采用的包埋组分的实例是聚合物物质和蜡类物质。必要时,活性化合物也可与上述赋形剂中的一种或多种形成微胶囊形式。

[0109] 用于口服给药的液体剂型包括药学上可接受的乳液、溶液、悬浮液、糖浆或酞剂。除了活性化合物外,液体剂型可包含本领域中常规采用的惰性稀释剂,如水或其它溶剂,增溶剂和乳化剂,例如,乙醇、异丙醇、碳酸乙酯、乙酸乙酯、丙二醇、1,3-丁二醇、二甲基甲酰胺以及油,特别是棉籽油、花生油、玉米胚油、橄榄油、蓖麻油和芝麻油或这些物质的混合物等。

[0110] 除了这些惰性稀释剂外,组合物也可包含助剂,如润湿剂、乳化剂和悬浮剂、甜味剂、矫味剂和香料。

[0111] 除了活性化合物外,悬浮液可包含悬浮剂,例如,乙氧基化异十八烷醇、聚氧乙烯山梨醇和脱水山梨醇酯、微晶纤维素、甲醇铝和琼脂或这些物质的混合物等。

[0112] 用于肠胃外注射的组合物可包含生理上可接受的无菌含水或无水溶液、分散液、悬浮液或乳液,和用于重新溶解成无菌的可注射溶液或分散液的无菌粉末。适宜的含水和非水载体、稀释剂、溶剂或赋形剂包括水、乙醇、多元醇及其适宜的混合物。

[0113] 用于局部给药的本发明化合物的剂型包括软膏剂、散剂、贴剂、喷射剂和吸入剂。活性成分在无菌条件下与生理上可接受的载体及任何防腐剂、缓冲剂,或必要时可能需要的推进剂一起混合。

[0114] 本发明化合物可以单独给药,或者与其他药学上可接受的化合物联合给药。

[0115] 使用药物组合物时,是将安全有效量的本发明化合物适用于需要治疗的哺乳动物(如人),其中施用剂量为药学上认为的有效给药剂量,对于60kg体重的人而言,日给药剂量通常为1~1000mg,优选20~500mg。当然,具体剂量还应考虑给药途径、病人健康状况等因素,这些都是熟练医师技能范围内的。

[0116] 本发明的主要优点包括:

[0117] (1) 本发明化合物对二肽基肽酶(DPP-IV)有更强的抑制活性。

[0118] (2) 本发明化合物是一类新型的二肽基肽酶(DPP-IV)抑制剂。

[0119] (3) 本发明化合物制备方法简单,制造成本低。

[0120] 下面结合具体实施例,进一步阐述本发明。应理解,这些实施例仅用于说明本发明而不适用于限制本发明的范围。下列实施例中未注明具体条件的实验方法,通常按照常规条件,或按照制造厂商所建议的条件。除非另外说明,否则份数和百分比为重量份和重量百分比。

[0121] 所有实施例中,熔点用MEL-TEMP熔点仪测定,温度计未校正;<sup>1</sup>H-NMR用Varian

Mercury400 核磁共振仪记录, 化学位移以  $\delta$  (ppm) 表示; 分离采用硅胶, 未说明均为 200-300 目, 柱层析和 TLC 检测展开剂比例为体积比。

[0122] 实施例 1: (2S)-1-[(3-氟-1-金刚烷基)氨基乙酰基]-2-氰基吡咯烷 (YF-1)

[0123] 在室温下, 将 3-氟-1-金刚烷胺盐酸盐 (245mg, 1.45mmol)、碳酸钾 (500mg, 3.6mmol) 和四氢呋喃 (15ml) 一起加入反应瓶中, 开动搅拌, 滴加入 (2S)-1-氯乙酰基-2-氰基吡咯 (100mg, 0.58mmol) 的四氢呋喃溶液, 滴加完毕, 加入碘化钠 (0.1g)。室温下搅拌反应混合物 15h, 用 TLC( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} = 10:1$ ) 监测反应。待反应完全后, 进行冷却, 过滤掉碳酸钾固体, 滤液减压蒸干溶剂, 直接进行柱层析, (展开剂:  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} = 25:1$ ) 得黄色粘稠状物。向黄色粘稠状物加入氯化氢的乙醚饱和溶液生成盐酸盐, 过滤后得到白色固体 (61mg, 12%)。

[0124] Mp: 190-200 °C。 $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.48-2.37 (m, 19H), 3.36-3.68 (m, 4H), 4.74-4.82 (dd, 1H)。

[0125] 实施例 2: (2S)-1-[(3-氯-1-金刚烷基)氨基乙酰基]-2-氰基吡咯烷 (YF-2)

[0126] 1. 3-氯-1-金刚烷胺 (化合物 2)

[0127] 将 3-羟基金刚烷胺 (500mg, 3mmol) 溶于四氯化碳 (20ml) 中, 加入二氯亚砷 (0.5ml, 7.5mmol), 搅拌回流 22h, 旋出溶剂得粘稠状物 (650mg, 100%)。直接投入下一步反应。

[0128]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.46-1.56 (m, 8H), 1.97-2.07 (m, 6H), 2.25 (s, 2H)。

[0129] 2. (2S)-1-[(3-氯-1-金刚烷基)氨基乙酰基]-2-氰基吡咯烷 (YF-2)

[0130] 将化合物 2 (555mg, 3.0mmol) 和 (2S)-1-氯乙酰基-2-氰基吡咯 (172mg, 1mmol) 按实施例 1 方法进行反应和处理得白色固体 (54g, 5.6%)。

[0131] Mp: 134-138 °C。 $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.49-2.29 (m, 19H), 3.35-3.59 (m, 4H), 4.71-4.73 (dd, 1H)。

[0132] 实施例 3: (2S)-1-[(3-氯-5-羟基-1-金刚烷基)氨基乙酰基]-2-氰基吡咯烷 (YF-3)

[0133] 1. 3-氯-5-羟基-1-金刚烷甲酸 (化合物 9)

[0134] 将高锰酸钾 (1.58g, 0.01mol) 和 KOH 溶液 (2.0%, 50ml) 一起加入瓶中, 在搅拌下, 分批加入 3-氯-1-金刚烷甲酸 (2g, 0.009mol), 添加完成后, 升温至 50-60 °C 反应 20h。之后, 将混合液冷却, 用浓盐酸调为强酸性, 加入亚硫酸氢钠固体, 直到混合液变为白色, 过滤固体, 用乙酸乙酯萃取滤液, 萃取液用无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干为白色固体化合物 9 (900mg, 41%)。

[0135] Mp: 198-200 °C。 $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO)  $\delta$  1.48-1.66 (m, 11H), 2.11 (s, 2H)。

[0136] 2. 3-氯-5-羟基-(1-苄氧酰基)-1-金刚烷胺 (化合物 13)

[0137] 将化合物 9 (820mg, 3.56mmol)、DPPA (1.2g, 0.93ml, 4.2mmol)、三乙胺 (430mg, 0.6mmol) 和苯 (60ml) 一起加入反应瓶中, 搅拌回流 1h 后加入苄醇 (1.4ml, 13.5mmol) 回流 12h。旋出溶剂, 加入乙酸乙酯稀释, 用饱和碳酸氢钠溶液和饱和食盐水洗涤, 分出有机层用无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干, 柱层析得白色固体化合物 13 (500mg, 51%)。

[0138]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.49-1.51 (m, 2H), 1.65 (s, 4H), 1.82-1.91 (m, 5H), 2.23 (s, 2H), 2.40 (s, 1H), 4.86 (s, 1H), 5.00 (s, 1H), 7.26-7.32 (m, 5H)。

[0139] 3. 3-氯-5-羟基-1-金刚烷胺醋酸盐(化合物 17)

[0140] 将化合物 13(500g, 1.49mmol) 溶于冰醋酸(25ml) 中, 加入 Pd/C(100mg), 通氢气室温搅拌 10h。滤掉 Pd/C, 蒸出乙酸, 加入甲苯旋干带出多余的乙酸溶剂得白色固体化合物 17(420mg, 100%)。

[0141] Mp: 230-240°C。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO) δ 1.37-1.72(m, 13H), 2.07(s, 1H), 5.74(s, 2H)。

[0142] 4. (2S)-1-[(3-氯-5-羟基-1-金刚烷基)氨基乙酰基]-2-氰基吡咯烷(YF-3)

[0143] 将化合物 17(120mg, 0.46mmol) 和 (2S)-1-氯乙酰基-2-氰基吡咯(52mg, 0.30mmol) 按实施例 1 方法进行反应和处理得白色固体为化合物 YF-3(42g, 27%)。

[0144] Mp: 200-205°C。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.23-2.31(m, 18H), 3.35-3.61(m, 4H), 4.74-4.85(dd, 1H)。

[0145] 实施例 4: (2S)-1-[(3-氟-5-羟基-1-金刚烷基)氨基乙酰基]-2-氰基吡咯烷(YF-4)

[0146] 将化合物 16[J. Chem. Soc.; 2000, 122, 466-473](161mg, 0.87mmol) 和 (2S)-1-氯乙酰基-2-氰基吡咯(100mg, 0.58mmol) 按实施例 1 方法进行反应和处理得白色固体为化合物 YF-4(43mg, 20%)。

[0147] Mp: 220-223°C。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.43-2.40(m, 18H), 3.34-3.60(m, 4H), 4.71-4.77(dd, 1H)。

[0148] 实施例 5: (2S)-1-[(3-溴-5-羟基-1-金刚烷基)氨基乙酰基]-2-氰基吡咯烷(YF-5)

[0149] 将化合物 18(410mg, 1.34mmol) 和 (2S)-1-氯乙酰基-2-氰基吡咯(182mg, 1mmol) 按实施例 1 方法进行反应和处理得白色固体为化合物 YF-5(42mg, 7.5%)。

[0150] Mp: 148-153°C <sup>1</sup>H NMR(300MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.49-1.67(m, 11H), 1.95(s, 3H), 2.39(s, 1H), 2.04-2.34(m, 5H), 3.33-3.66(m, 4H), 4.72-4.86(m, 1H)。

[0151] 实施例 6: (2S)-1-[(3-甲氧基-5-羟基-1-金刚烷基)氨基乙酰基]-2-氰基吡咯烷(YF-6)

[0152] 将化合物 19(272mg, 1.38mmol) 和 (2S)-1-氯乙酰基-2-氰基吡咯(172.5mg, 1mmol) 按实施例 1 方法进行反应和处理得白色固体为化合物 YF-6(66mg, 20%)。

[0153] Mp: 167-175°C。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.43-1.80(m, 14H), 2.10-2.31(m, 4H), 2.39(s, 1H), 3.25(s, 1H), 3.38-3.62(m, 4H), 4.75-4.77(m, 1H)。

[0154] 实施例 7: (2S)-1-[(3,5-二氯-1-金刚烷基)氨基乙酰基]-2-氰基吡咯烷(YF-7)

[0155] 1. 5-羟基-3-氯-1-金刚烷甲酸甲酯(化合物 20)

[0156] 将化合物 9(1.7g, 7.4mmol)、甲醇(60ml) 和浓硫酸(0.2ml) 一起加入反应瓶中, 搅拌回流 8h。旋出溶剂, 加入二氯甲烷稀释, 依次用饱和碳酸氢钠, 饱和氯化钠溶液洗涤, 有机层用无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干得粘稠状物(2.6g, 98%)。

[0157] 2. 3,5-二氯-1-金刚烷甲酸甲酯(化合物 21)

[0158] 将化合物 20(2.6g, 0.01mol) 溶于二氯甲烷(60ml) 中, 加入二氯亚砷(2ml) 搅拌回流 14h。旋出溶剂得油状物(2.75g, 98%)。直接投入下一步反应。

[0159] 3,3,5-二氯-1-金刚烷甲酸(化合物 22)

[0160] 将原料化合物 21(3.6g,0.014mol)溶于50%的乙醇水溶液(50ml)中,加入固体氢氧化钾(852mg,0.015mol)升温至40℃搅拌10h,冷却溶液,加水稀释,用2NHCl酸化为PH=2,过滤得白色固体(1.8g,56%)。

[0161] 4,3,5-二氯-(1-苄氧酰基)-1-金刚烷胺(化合物 23)

[0162] 将化合物 22(1.8g,0.007mol)、DPPA(1.88ml,0.0087mol)、三乙胺(1.2ml,0.0084mol)和苯(120ml)一起加入反应瓶中,搅拌回流1h后加入苄醇(2.75ml,0.0266mol)回流12h。冷却后旋出溶剂,加入乙酸乙酯稀释,依次用饱和碳酸氢钠溶液和饱和氯化钠溶液洗涤,有机层用无水硫酸钠干燥,过滤,旋干,柱层析得白色固体(1.2g,50%)。(洗脱剂:石油醚:乙酸乙酯=2:1)

[0163]  $^1\text{H NMR}$ (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.56-2.09(m, 10H), 2.28-2.35(m, 4H), 4.74(s, 1H), 5.04(s, 2H), 7.25-7.41(m, 5H)。

[0164] 5,3,5-二氯-1-金刚烷胺醋酸盐(化合物 24)

[0165] 将化合物 23(1.2g,0.0036mol)溶于乙酸(30ml)中,加入Pd/C(322mg),通氢气室温搅拌2h。过滤,旋干滤液,加入甲苯稀释,旋出得粘状物(1g,78%)。

[0166] 6.(2S)-1-[(3,5-二氯-1-金刚烷基)氨基乙酰基]-2-氰基吡咯烷(YF-7)

[0167] 将化合物 24(200mg,0.71mmol)和(2S)-1-氯乙酰基-2-氰基吡咯(60.7mg,0.48mmol)按实施例1方法进行反应和处理得白色固体为化合物 YF-7(36mg,29%)。

[0168] Mp:155-160 °C  $^1\text{H NMR}$ (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.51-2.32(m, 18H), 3.35-3.62(m, 4H), 4.75-4.76(dd, 1H)。

[0169] 实施例 8:(2S,4S)-1-[(3-羟基-1-金刚烷基)氨基乙酰基]-4-氟-2-氰基吡咯烷(YF-8)

[0170] 1.(4R)-苄氧羰基-4-羟基-L-脯氨酸甲酯(化合物 26)

[0171] 将(4R)-4-羟基-L-脯氨酸甲酯(5.0g,27.7mmol)溶于饱和 $\text{NaHCO}_3$ 溶液(150ml),冰浴降温5-10℃,加入氯甲酸苄酯(6.0g,6ml),室温搅拌4h,TLC检测反应进程( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}=15/1$ )。用乙醚萃取反应液,用饱和NaCl洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,旋干,柱层析得淡黄色液体(7.75g,100%)(洗脱剂:石油醚/乙酸乙酯=4/1)。

[0172]  $^1\text{H-NMR}$ (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.36-7.26(5H, m), 5.23-5.05(3H, m), 4.53-4.47(2H, m), 3.76-3.55(5H, m), 2.30-2.05(1H, m)。

[0173] 2.(4R)-1-苄氧羰基-4-咪唑磺酰基-L-脯氨酸甲酯(化合物 27)

[0174] 将化合物 26(2.00g,7.2mmol)溶于二氯甲烷(50ml)中,在-20℃搅拌,滴加 $\text{SO}_2\text{Cl}_2$ (1.08g,8.0mmol),加毕,分批加入咪唑(544mg,8.0mmol)。升温至室温搅拌2h,TLC检测反应进程(石油醚/乙酸乙酯=2/1)。加入水分层,分出有机层,水层用二氯甲烷萃取,合并有机相,用饱和氯化钠洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤,旋干,得黄色液体(2.62g,70%)。

[0175] 3.(4S)-1-苄氧羰基-4-氟-L-脯氨酸甲酯(化合物 28)

[0176] 将化合物 27(1.8g,6.4mmol)溶于乙酸乙酯(50ml),加入HF/TEA(0.45ml,20mmol),升温60℃搅拌4h,再升温70℃反应12h。TLC检测反应进程(石油醚/乙酸乙酯=1/1)。加入水分层,分出有机层,水层用乙酸乙酯萃取,饱和氯化钠洗涤,无水硫酸钠干燥,旋干得黄色液体(620mg,62%)。



[0177]  $^1\text{H-NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.34-7.26 (5H, m), 5.19-5.03 (2H, m), 4.51-4.32 (2H, m), 4.01-3.93 (1H, m), 3.72-3.68 (2H, m), 3.61-3.52 (1H, s), 2.71-2.62 (1H, m), 2.43-2.37 (1H, m)

[0178] 4. (4S)-1- 苄氧羰基 -4- 氟 -L- 脯氨酸 (化合物 29)

[0179] 将化合物 28 (620mg, 2.2mmol) 溶于 50% 的乙醇水溶液 (30ml), 加入氢氧化钾 (140mg, 2.5mmol), 升温至 40℃ 搅拌 10h。TLC 跟踪监测 (石油醚 / 乙酸乙酯 = 2/1)。冷却, 加水稀释, 用乙醚萃取, 水层用 2N 的盐酸酸化  $\text{PH} = 2$ 。用二氯甲烷萃取水层, 用饱和氯化钠溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤旋干得黄色液体 (560mg, 94%)。

[0180]  $^1\text{H-NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  10.73 (1H, s), 7.38-7.26 (5H, m), 5.29-5.13 (2H, m), 4.58-4.48 (1H, m), 4.41-4.40 (1H, m), 4.05-3.96 (1H, m), 3.79-3.71 (1H, m), 2.76-2.68 (1H, m), 2.53-2.49 (1H, m)

[0181] 5. (4S)-1- 苄氧羰基 -4- 氟 -L- 脯氨酸酰胺 (化合物 30)

[0182] 将化合物 29 (560mg, 2.07mmol) 溶于乙腈 (30ml) 中, 冷却至 0℃, 加入 HOBt (338mg, 2.5mmol) 和 EDC (480mg, 2.5mmol), 室温搅拌 14h, TLC 检测 (石油醚 / 乙酸乙酯 = 1/4)。用冰水冷却, 加入浓氨水 (1ml), 搅拌 20min, 升温至室温搅拌 20min。加入乙腈, 滤去不溶物, 滤液旋干, 过层析柱得黄色液体 (380mg, 68%) (洗脱剂: 石油醚 / 乙酸乙酯 = 1/4)。

[0183]  $^1\text{H-NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.31-7.26 (5H, s), 6.75-6.39 (2H, m), 5.16-5.07 (2H, m), 4.36 (2H, s), 3.92 (1H, s), 3.67 (1H, s), 2.57-2.49 (2H, m)

[0184] 6. (4S)-4- 氟 -L- 脯氨酸酰胺 (化合物 31)

[0185] 将化合物 30 (380mg, 1.6mmol) 溶于甲醇 (50ml), 加入 Pd/C (76mg), 通入氢气, 室温搅拌 4h。TLC 检测 ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH} = 6/1$ )。过滤, 旋干, 过层析柱 (洗脱剂:  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH} = 6/1$ ) 得化合物 31 (100mg, 53%)。

[0186]  $^1\text{H-NMR}$  (400MHz, DMSO)  $\delta$  7.46-7.12 (2H, s) 4.41-4.36 (1H, m), 3.55-3.46 (1H, dd), 3.21-3.15 (1H, dt), 2.89-2.85 (1H, dd), 2.57-2.49 (2H, m), 1.95-1.89 (1H, m)

[0187] 7. (2S, 4S)-1- 氯乙酰基 -4- 氟 -2- 氰基吡咯 (化合物 32)

[0188] 将碳酸钾 (2.6g, 18.8mmol) 和无水四氢呋喃溶液 (60ml) 加入反应瓶中, 搅拌, 在冰水浴下 (5-10℃) 滴加入氯乙酰氯 (1.2g, 0.88ml, 10mmol), 加毕, 分批加入化合物 31 (627mg, 3.72mmol), 升温至室温搅拌 2h。过滤, 滤液用无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液在冰水浴下 (5~10℃) 加入三氟乙酸酐 (2ml), 室温搅拌 5h。旋出溶剂, 加入乙酸乙酯稀释, 再旋干 (如此操作三次), 旋干的溶液用乙酸乙酯稀释, 用碳酸氢钠溶液洗涤, 分出有机层, 水层用乙酸乙酯萃取, 合并有机层, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋干, 过层析柱 (洗脱剂: 石油醚: 乙酸乙酯 = 1:2) 得黄色固体 (710mg, 100%)。

[0189] Mp: 118-126℃。  $^1\text{H NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  2.31-2.76 (m, 2H), 3.81-4.29 (m, 4H), 4.93-5.05 (dd, 1H), 5.36-5.55 (dd, 1H)。

[0190] 8. (2S, 4S)-1-[(3-羟基-1-金刚烷基)氨基乙酰基]-4-氟-2-氰基吡咯烷 (YF-8)

[0191] 将 3-羟基-1-金刚烷胺 (145mg, 0.87mmol)、碳酸钾 (200mg, 1.2mmol) 和四氢呋喃 (15ml) 一起加入反应瓶中, 滴加入化合物 32 (55mg, 0.30mmol) 的四氢呋喃溶液, 滴加完毕, 加入碘化钠 (50mg), 反应混合物在室温搅拌 20h。按实施例 1 方法处理得白色固体化合物

YF-8 (43mg, 42%)。

[0192] Mp : 128-133 °C。<sup>1</sup>H NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.48-1.87 (m, 15H), 2.26-2.66, 3.34-3.60 (m, 4H), 4.92-5.50 (dd, 2H)。

[0193] 实施例 9 : (2S, 4S)-1-[(3-羟基-5-氯-1-金刚烷基)氨基乙酰基]-4-氟-2-氰基吡咯烷 (YF-9)

[0194] 将化合物 17 (300mg, 1.15mmol) 与化合物 32 (100mg, 0.52mmol) 按实施例 8 方法进行反应和处理得白色固体化合物 YF-9 (24mg, 10%)。Mp : 225-232°C (分解)。

[0195] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.52-1.69 (m, 10H), 1.96 (s, 3H), 2.28-2.74 (m, 4H), 3.40-3.97 (m, 4H), 4.95-5.19 (dd, 1H), 5.28-5.50 (dd, 1H)。

[0196] 实施例 10 : (2S, 4S)-1-[(3-氟-1-金刚烷基)氨基乙酰基]-4-氟-2-氰基吡咯烷 (YF-10)

[0197] 将 3-氟-1-金刚烷胺盐酸盐 (160mg, 0.78mmol) 与化合物 32 (100mg, 0.52mmol) 按实施例 8 方法进行反应和处理得白色固体化合物 YF-10 (94mg, 46%)。Mp : 165-175°C。

[0198] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.47-1.87 (m, 13H), 2.23-2.73 (m, 4H), 3.34-3.97 (m, 4H), 4.91-5.10 (dd, 1H), 5.27-5.49 (dd, 1H)。

[0199] 实施例 11 : (2S, 4S)-1-[(3-氯-1-金刚烷基)氨基乙酰基]-4-氟-2-氰基吡咯烷 (YF-11)

[0200] 将化合物 2 (350mg, 1.5mmol) 与化合物 32 (100mg, 0.52mmol) 按实施例 8 方法进行反应和处理得白色固体化合物 YF-11 (42mg, 7%)。Mp : 140-145°C。

[0201] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.52-2.08 (m, 13H), 2.23-2.73 (m, 4H), 3.34-3.95 (m, 4H), 4.92-5.10 (dd, 1H), 5.27-5.49 (dd, 1H)。

[0202] 实施例 12 : (2S, 4S)-1-[(3-氟-1-金刚烷基)氨基乙酰基]-4-氟-2-氰基吡咯烷 (YF-12)

[0203] 将化合物 16 (161mg, 0.87mmol) 与化合物 32 (100mg, 0.52mmol) 按实施例 8 方法进行反应和处理得白色固体化合物 YF-12 (42mg, 7%)。Mp : 140-145°C。

[0204] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.52-2.08 (m, 13H), 2.23-2.73 (m, 4H), 3.34-3.95 (m, 4H), 4.92-5.10 (dd, 1H), 5.27-5.49 (dd, 1H)。

[0205] 实施例 13. DPP-IV 抑制活性测定

[0206] DPP-IV 抑制活性测定可用常规方法进行。DPP-IV 为应用杆状病毒表达系统表达并经纯化的纯酶, 纯酶的 K<sub>m</sub>, K<sub>cat</sub> 均与文献报道相符, 表明表达纯化得到的 DPP-IV 纯酶在酶学性质上完全正常。反应体系在 pH 7.5 的缓冲液中进行, 酶反应底物为丙氨酸-脯氨酸-7-氨基-4-甲基香豆素 (Ala-Pro-AMC)。

[0207] DPP-IV 可降解底物 Ala-Pro-AMC 生成产物 AMC, AMC 被 355nm 的紫外光激发产生 460nm 的发射光。通过动态测量 AMC 在 460nm 处荧光值的上升的速度来测定 DPP-IV 的活性。

[0208] 将受试化合物、酶和反应缓冲液混匀, 在 37°C 预孵 15min, 加入底物启动反应, 连续测定 460nm 荧光值 5min。同时设置不加底物的空白对照组、以 DMSO 替代受试化合物的溶剂对照组、以及 LAF-237 [Bioorg. Med. Chem. Lett., 2005, 15, 4770-4773] 阳性对照组。所有反应终体积均为 100ul。每个样品每个浓度设 3 个复孔。

[0209] 首先计算酶初速度期内单位时间荧光强度的增量 (单位:RFU/sec), 以此代表酶的初速度, 然后计算样品各浓度组的活性百分数, 公式如下:

[0210]

$$\text{活性}\% = \frac{v_{\text{样品}}}{v_{\text{DMSO}}} \times 100\%$$

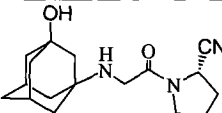
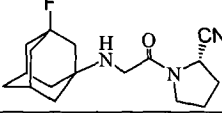
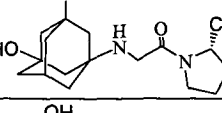
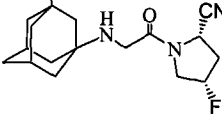
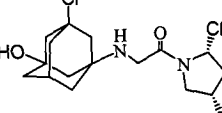
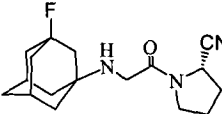
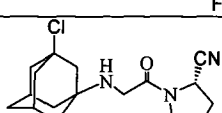
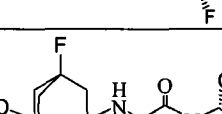
[0211] 其中  $v_{\text{样品}}$  表示样品各浓度组的初速度,  $v_{\text{DMSO}}$  表示 DMSO 组的初速度

[0212] 以浓度的对数值对活性百分数作图, 然后采用非线性回归算出拟和曲线, 计算得到 IC<sub>50</sub> 值。

[0213] 本发明代表性化合物的分子结构式及部分化合物的生物活性测试结果见表 1。

[0214] 表 1 本发明部分化合物对 DPP-IV 抑制活性

[0215]

化合物	结构式	IC <sub>50</sub> (nM)
LAF-237		53.18 ± 5.91
YF-1		18.41 ± 0.89
YF-4		20.84 ± 1.32
YF-8		36.36 ± 8.39
YF-9		30.61 ± 5.10
YF-10		30.60 ± 2.78
[0216] YF-11		23.94 ± 2.66
YF-12		10.84 ± 1.02

[0217] 其中 LAF-237 是做为对比的现有技术而提出的,由表 1 中的数据可以看出本发明的化合物对 DPP-IV 的抑制活性明显强于 DPP-IV,尤其 YF-1、YF-4、YF-12 的 DPP-IV 抑制活性比 LAF-237 强 2 ~ 5 倍,因此,本发明化合物相对于现有药物具有更优的生物活性。

[0218] 实施例 13 药物组合物

[0219] 化合物 YF-12            20g

[0220] 淀粉                    140g

[0221] 微晶纤维素            60g

[0222] 按常规方法,将实施例 13 所得的药物组合物混合均匀后,装入普通明胶胶囊,得到 1000 颗胶囊。

[0223] 按类似方法,分别制得含化合物 YF-8 或 YF-4 的胶囊。

[0224] 实施例 14 :胶囊剂的制备

[0225] 化合物 YF-12            50g

[0226] 淀粉                    400g

[0227] 微晶纤维素            200g

[0228] 按常规方法,将实施例 14 所得的药物组合物混合均匀后,装入普通明胶胶囊,得到 1000 颗胶囊。

[0229] 按类似方法,分别制得含化合物 YF-4 或 YF-8 的胶囊。

[0230] 在本发明提及的所有文献都在本申请中引用作为参考,就如同每一篇文献被单独引用作为参考那样。此外应理解,在阅读了本发明的上述讲授内容之后,本领域技术人员可以对本发明作各种改动或修改,这些等价形式同样落于本申请所附权利要求书所限定的范围。