



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 114805478 A

(43) 申请公布日 2022.07.29

(21) 申请号 202210600047.6

(22) 申请日 2022.05.30

(66) 本国优先权数据

202111629214.1 2021.12.28 CN

(71) 申请人 石药集团中奇制药技术(石家庄)有限公司

地址 050035 河北省石家庄市高新区
中山东路896号

(72) 发明人 孙晓伟 梁敏 张豪豪 高娜
郭小丰 淡墨 赵杰 何影

(51) Int. Cl.

C07K 5/093 (2006.01)

A61K 38/06 (2006.01)

A61K 45/06 (2006.01)

A61P 31/14 (2006.01)

权利要求书5页 说明书18页

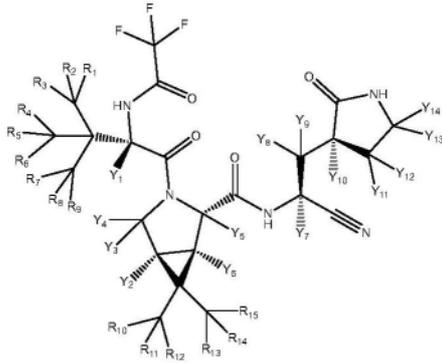
(54) 发明名称

氘代拟肽类化合物及其用途

(57) 摘要

氘代拟肽类化合物及其用途。本发明提供一种具有氘代拟肽类结构的化合物和含有其的药物组合物,以及使用该组合物用于预防和/或治疗对3CL蛋白酶抑制剂敏感的RNA病毒感染引起的病症,以及PAXLOVID适用的相关病症的用途。本发明提供的化合物与PF-07321332相比具有更高的血浆峰浓度和更高的血浆中暴露,有更优异的体内药代动力学行为。

1. 一种如下式 (I) 所示的氘代化合物或其药学上可接受的盐, 其具有如下结构



(I)

其中,

R₁~R₁₅各自独立地为氢或氘;

Y₁~Y₁₄各自独立地为氢或氘;

且,R₁~R₁₅和Y₁~Y₁₄中至少有一个为氘原子。

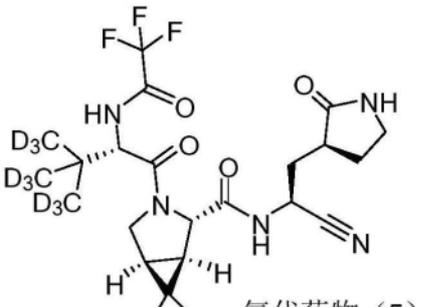
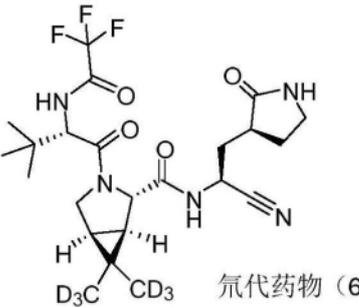
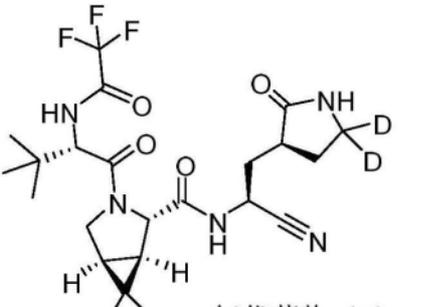
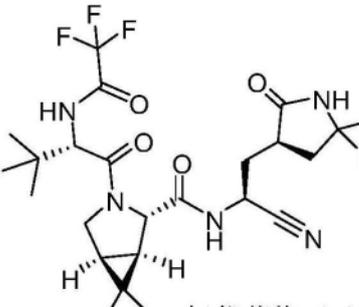
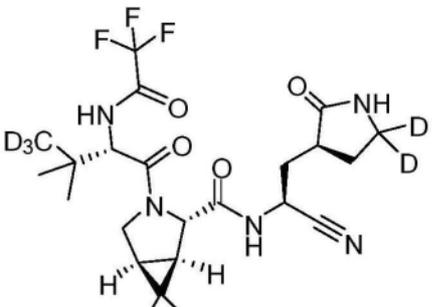
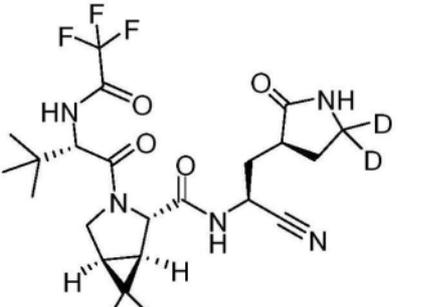
2. 权利要求1所述化合物或其药学上可接受的盐, 其中,R₁~R₉中3-9个为氘原子; 优选的R₁~R₉均为氘原子; 优选的R₁~R₉中6个为氘原子; 优选的R₁~R₉中3个为氘原子; 优选的R₁~R₃或R₄~R₆或R₇~R₉为氘原子。

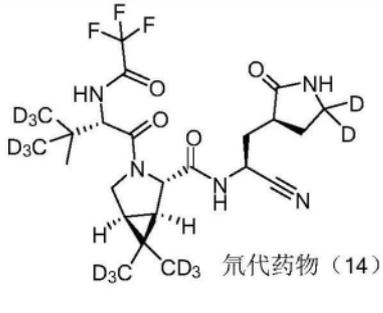
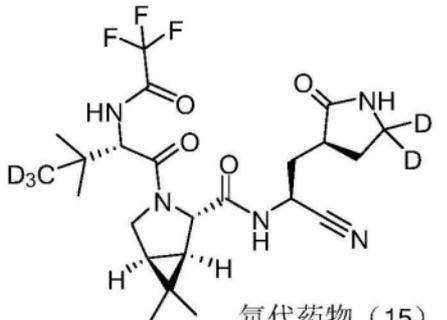
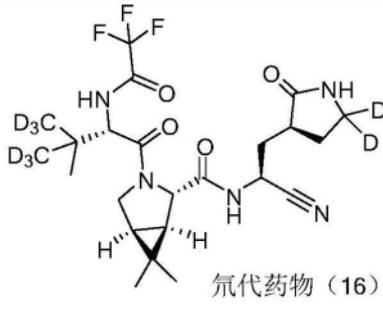
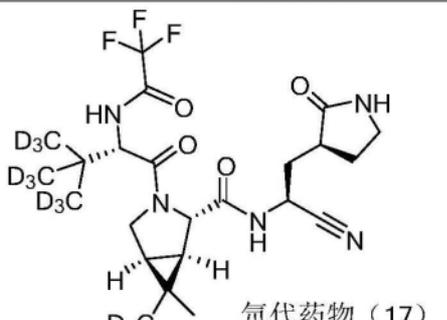
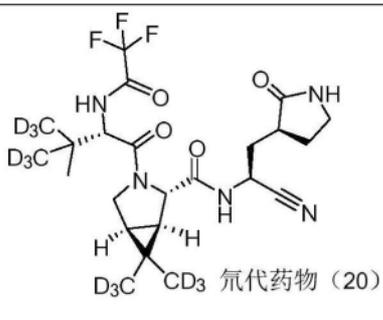
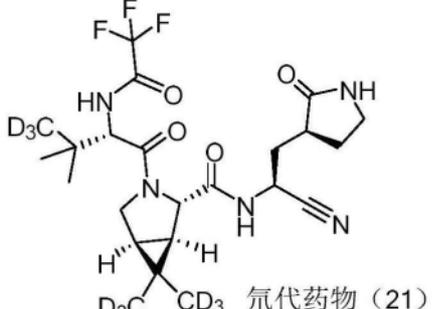
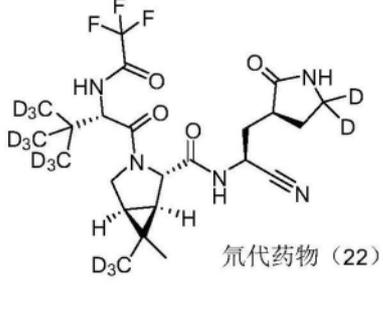
3. 权利要求1或2所述化合物或其药学上可接受的盐, 其中,R₁₀~R₁₅中3-6个为氘原子; 优选的R₁₀~R₁₅均为氘原子; 优选的R₁₀~R₁₅中3个为氘原子; 优选的R₁₀~R₁₂或R₁₃~R₁₅为氘原子。

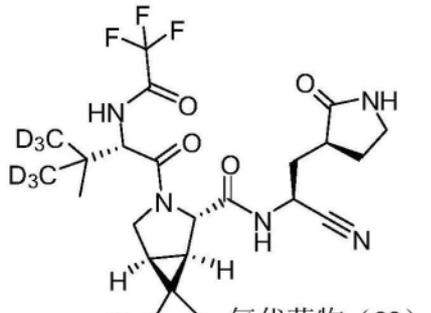
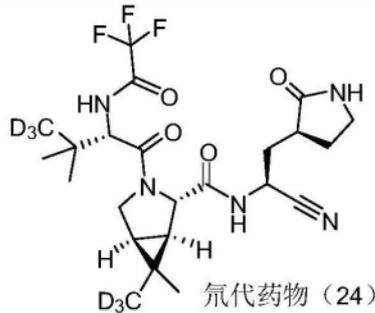
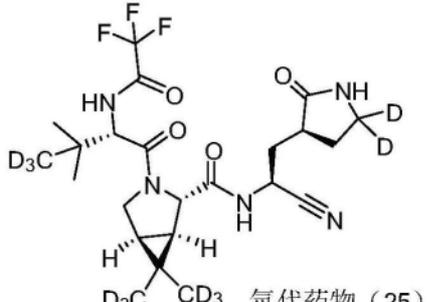
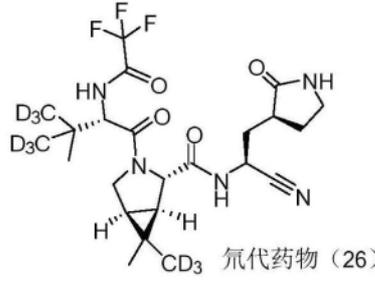
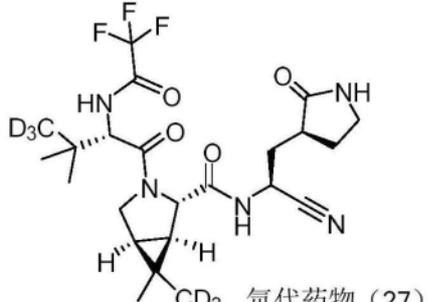
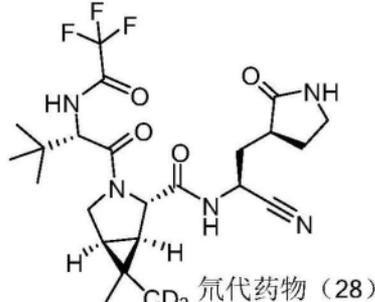
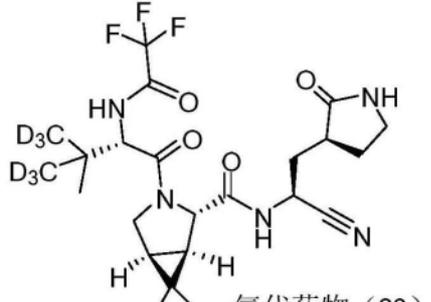
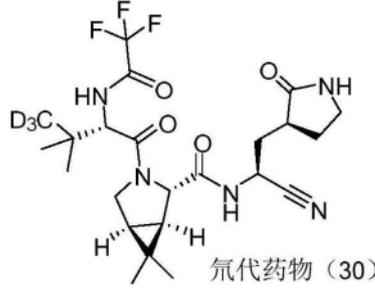
4. 权利要求1~3中任一项所述化合物或其药学上可接受的盐, 其中,Y₁~Y₁₄中2-14个为氘原子; 进一步优选的Y₁₃~Y₁₄为氘原子。

5. 选自如下所述的化合物或其药学上可接受的盐,

序号	结构	序号	结构
1	<p>氘代药物 (1)</p>	2	<p>氘代药物 (2)</p>

<p>3</p>	 <p>氘代药物 (3)</p>	<p>4</p>	 <p>氘代药物 (4)</p>
<p>5</p>	 <p>氘代药物 (5)</p>	<p>6</p>	 <p>氘代药物 (6)</p>
<p>7</p>	 <p>氘代药物 (7)</p>	<p>8</p>	 <p>氘代药物 (8)</p>
<p>9</p>	 <p>氘代药物 (9)</p>	<p>10</p>	 <p>氘代药物 (10)</p>
<p>11</p>	 <p>氘代药物 (11)</p>	<p>12</p>	 <p>氘代药物 (12)</p>

<p>13</p>	 <p>氘代药物 (13)</p>	<p>14</p>	 <p>氘代药物 (14)</p>
<p>15</p>	 <p>氘代药物 (15)</p>	<p>16</p>	 <p>氘代药物 (16)</p>
<p>17</p>	 <p>氘代药物 (17)</p>	<p>18</p>	 <p>氘代药物 (18)</p>
<p>19</p>	 <p>氘代药物 (19)</p>	<p>20</p>	 <p>氘代药物 (20)</p>
<p>21</p>	 <p>氘代药物 (21)</p>	<p>22</p>	 <p>氘代药物 (22)</p>

23	 <p>氘代药物 (23)</p>	24	 <p>氘代药物 (24)</p>
25	 <p>氘代药物 (25)</p>	26	 <p>氘代药物 (26)</p>
27	 <p>氘代药物 (27)</p>	28	 <p>氘代药物 (28)</p>
29	 <p>氘代药物 (29)</p>	30	 <p>氘代药物 (30)</p>
31	 <p>氘代药物 (31)</p>		

6. 一种药用组合物,其包含权利要求1~5中任一项所述化合物,或其药学上可接受的盐,以及药学上可接受的载体。

7. 权利要求1~5中任一项所述化合物或其药学上可接受的盐,或权利要求6的药用组合物在制备预防和治疗对3CL蛋白酶抑制剂敏感的RNA病毒感染引起的病症,以及PAXLOVID适用的相关病症的药物中的用途。

8. 权利要求7所述的用途,其中,所述RNA病毒感染相关的疾病为COVID-19。

氘代拟肽类化合物及其用途

技术领域

[0001] 本发明涉及医药技术领域,具体而言,涉及氘代拟肽类化合物以及所述化合物的用途。

背景技术

[0002] 严重急性呼吸系统综合冠状病毒2 (SARS-CoV-2) 引起冠状病毒病 (COVID-19) 全球大流行病。除了疫苗,抗病毒疗法也是应对COVID-19持续威胁的医疗保健应对措施的重要组成部分。2021年11月辉瑞公司宣布抗新冠病毒口服药PAXLOVID可将患严重疾病风险的成年人住院或死亡的几率降低89%,其主要活性成分为PF-07321332,通过抑制3CL蛋白酶来限制病毒繁殖。PAXLOVID目前临床试验剂量为每日两次,每次至少150~250毫克PF-07321332与100毫克利托那韦同时服用。

[0003] 该药物化合物存在以下缺陷:1. 每天需要服药两次,药物依从性差;2. 联合用药增加不良反应风险;3. 需要与强效CYP3A4抑制剂利托那韦同时服用,限制其它药物的使用范围。较高的服用剂量和利托那韦本身容易引起多种不良反应,强效CYP酶抑制作用也限制了大量CYP酶代谢底物类药物的使用,给治疗方法带来诸多限制,极大增加患者风险。

[0004] 改善药物代谢特性的一个潜在的有吸引力的策略是氘代修饰。氘代技术是通过同位素之间的转换,部分氢原子替换为氘原子,使药物分子理化性质得到改变,该效应被称为同位素效应。在这种方法中,人们试图减慢药物CYP介导的代谢,或者通过用氘原子取代一个或多个氢原子来减少不良代谢产物的形成。氘是氢的一种安全稳定的非放射性同位素。和未用氘原子修饰的药物分子相比,化学性质相同,现有药物的有效性和安全性都已经过验证,基于氢和氘对整个分子的影响微乎其微,不会影响药物的生物化学效力和选择性,最大程度的保留其有效性。

[0005] PAXLOVID药物分子PF-07321332在体内主要由CYP3A4代谢清除。临床前研究显示PF-07321332猴口服生物利用度较低,主要由于口服吸收后强首过效应导致。临床研究中将PAXLOVID中的PF-07321332服用剂量设定较高(150mg/次,每日两次),需要与强效CYP3A4抑制剂利托那韦同时服用以提高药物在血浆中的暴露量,满足治疗新型冠状病毒疾病的要求。

[0006] 药物的氘代修饰是提高药物体内暴露量、降低药物不良代谢产物影响、提高药效的技术手段之一。药物分子中特定位置的氢原子被氘原子取代后,不仅保持药物的原有生物活性和选择性,碳氘键还会明显提高代谢稳定性,延长半衰期。与氘代前的药物相比可以降低用药剂量,提高用药安全性。PF-07321332作为CYP3A4酶代谢底物药物,适合通过氘代修饰改善代谢稳定性和药代动力学特征。

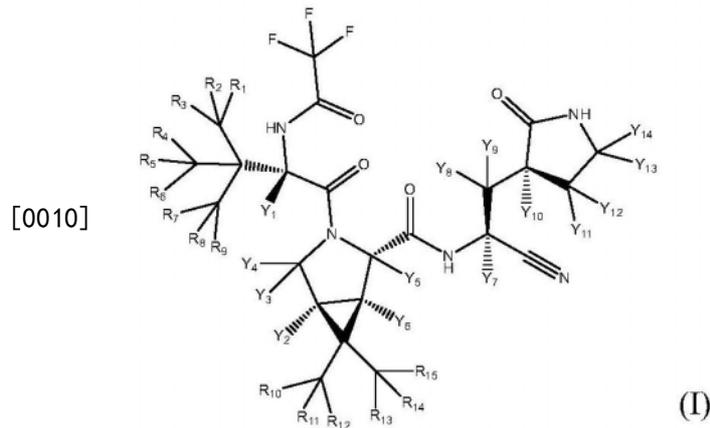
[0007] 但是,由于代谢过程复杂,药物在生物体内的药代动力学性质受到多方面因素影响,也表现出相应的复杂性。与相应的非氘代药物相比,氘代药物药代动力学性质的变化表现出极大的偶然性和不可预测性。某些位点的氘代非但不能延长半衰期,反而可能会使其缩短;另一方面,药物分子上某些位置的氢被氘取代也有极大难度。药物适合氘代的位点并

非显而易见的,氘代效果也是不可预期的。因此氘代位点的选择对于改善药物的代谢稳定性以及药效至关重要。合理选择特定位点氘代修饰的情况下,氘赋予的结合强度增加可以积极影响药物的代谢特性,提高药物疗效、安全性和/或耐受性的潜力。

发明内容

[0008] 本发明的目的在于提供一种具有氘代拟肽类结构的化合物及其预防和治疗对3CL蛋白酶抑制剂敏感的RNA病毒感染引起的病症,以及PAXLOVID适用的相关病症的用途。

[0009] 本发明的第一方面,提供了一种如下式(I)所示的氘取代化合物或其药学上可接受的盐,其具有如下结构



[0011] 其中,

[0012] $R_1 \sim R_{15}$ 各自独立地为氢或氘;

[0013] $Y_1 \sim Y_{14}$ 各自独立地为氢或氘;

[0014] 且, $R_1 \sim R_{15}$ 和 $Y_1 \sim Y_{14}$ 中至少有一个为氘原子。

[0015] 在本发明的一个优选实施方案中, $R_1 \sim R_9$ 中3-9个为氘原子;

[0016] 优选的 $R_1 \sim R_9$ 均为氘原子;

[0017] 优选的 $R_1 \sim R_9$ 中6个为氘原子;

[0018] 优选的 $R_1 \sim R_9$ 中3个为氘原子;

[0019] 优选的 $R_1 \sim R_3$ 或 $R_4 \sim R_6$ 或 $R_7 \sim R_9$ 为氘原子;

[0020] 在本发明的一个优选实施方案中, $R_{10} \sim R_{15}$ 中3-6个为氘原子;

[0021] 优选的 $R_{10} \sim R_{15}$ 均为氘原子;

[0022] 优选的 $R_{10} \sim R_{15}$ 中3个为氘原子;

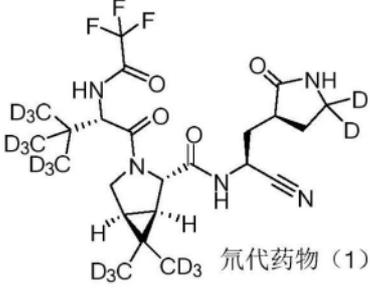
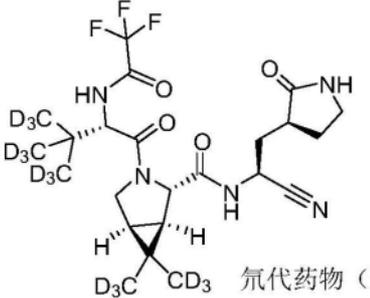
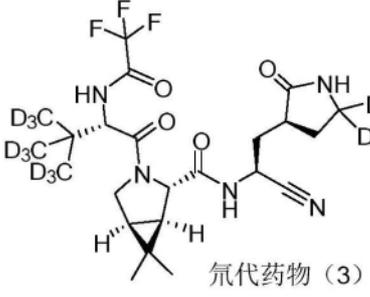
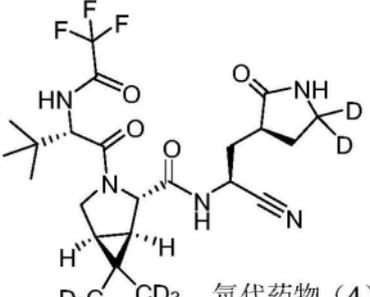
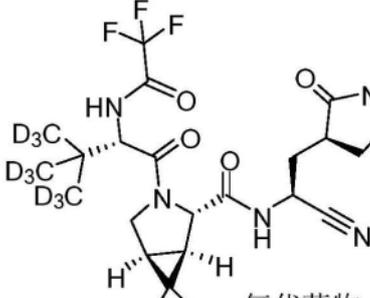
[0023] 优选的 $R_{10} \sim R_{12}$ 或 $R_{13} \sim R_{15}$ 为氘原子;

[0024] 在本发明的一个优选实施方案中, $Y_1 \sim Y_{14}$ 中2-14个为氘原子;

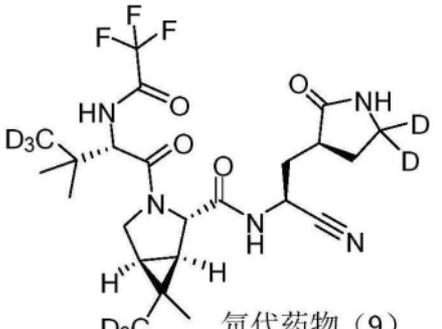
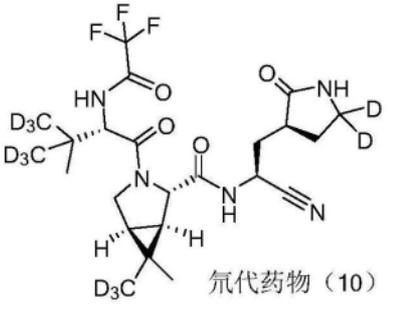
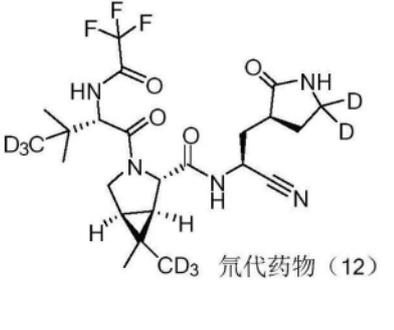
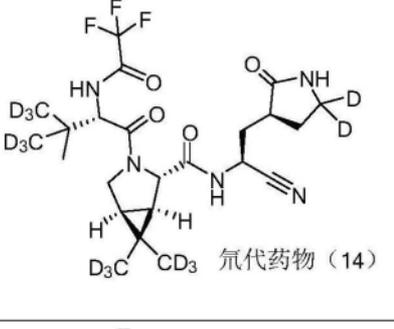
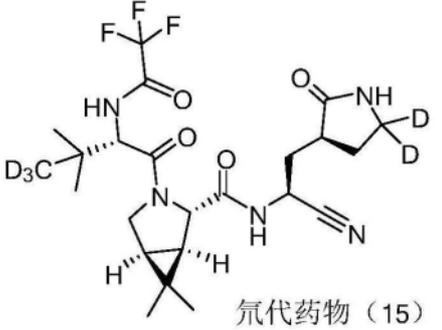
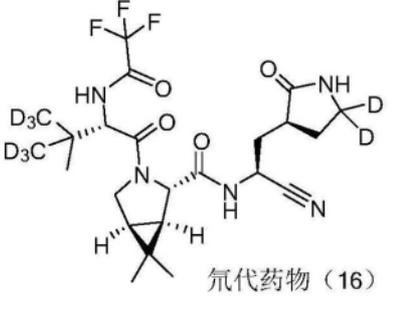
[0025] 进一步优选的 $Y_{13} \sim Y_{14}$ 为氘原子。

[0026] 以下为举例结构,包括但不限于下列结构式化合物或其药学上可接受的盐:

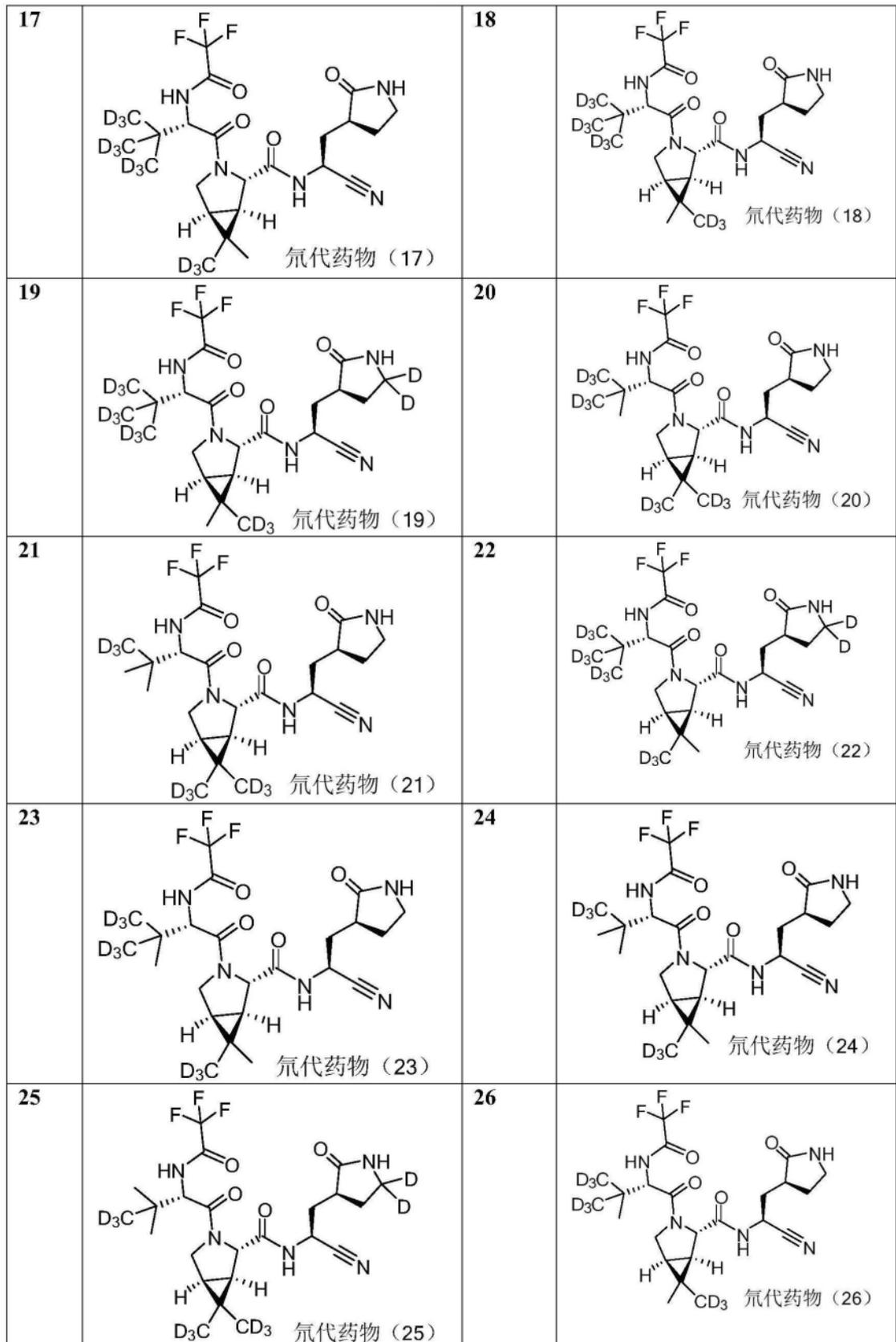
[0027]

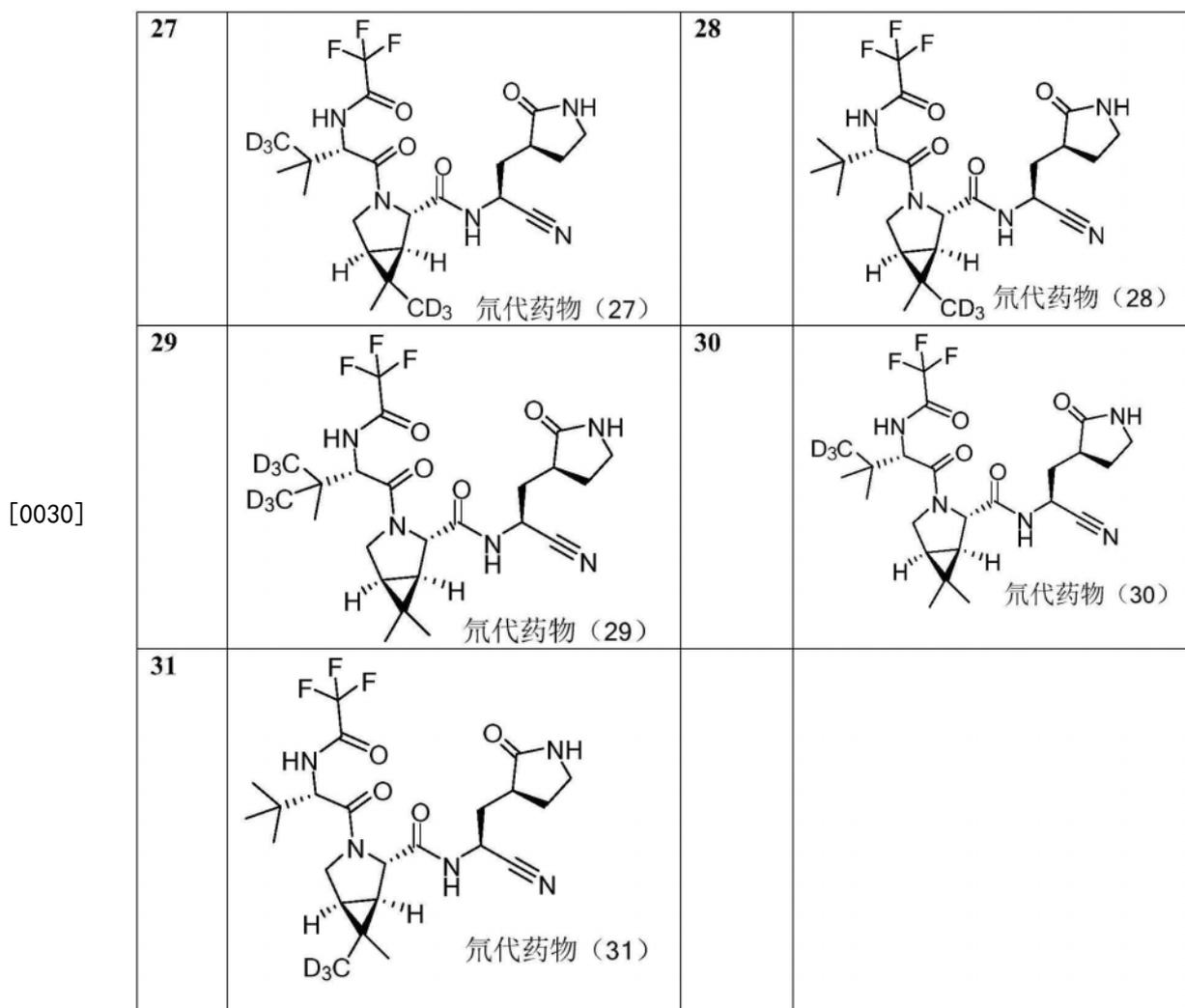
序号	结构	序号	结构
1	 <p>氘代药物 (1)</p>	2	 <p>氘代药物 (2)</p>
3	 <p>氘代药物 (3)</p>	4	 <p>氘代药物 (4)</p>
5	 <p>氘代药物 (5)</p>	6	 <p>氘代药物 (6)</p>

[0028]

<p>7</p>	 <p>氘代药物 (7)</p>	<p>8</p>	 <p>氘代药物 (8)</p>
<p>9</p>	 <p>氘代药物 (9)</p>	<p>10</p>	 <p>氘代药物 (10)</p>
<p>11</p>	 <p>氘代药物 (11)</p>	<p>12</p>	 <p>氘代药物 (12)</p>
<p>13</p>	 <p>氘代药物 (13)</p>	<p>14</p>	 <p>氘代药物 (14)</p>
<p>15</p>	 <p>氘代药物 (15)</p>	<p>16</p>	 <p>氘代药物 (16)</p>

[0029]





[0031] 本发明的目的还包括提供制备式 (I) 所示的化合物或其药学上可接受的盐的方法。

[0032] 本发明还提供一种药用组合物,其包含本发明所述的化合物或其药学上可接受的盐。

[0033] 本发明还提供一种药用组合物,其包含本发明所示的化合物或其药学上可接受的盐,以及药学上可接受的载体。

[0034] 本发明的目的还包括提供本发明所示的化合物或其药学上可接受的盐在制备预防和治疗对3CL蛋白酶抑制剂敏感的RNA病毒感染引起的病症,以及PAXLOVID适用的相关病症的药物中的用途。

[0035] 在一些实施例中,所述RNA病毒感染相关的疾病为COVID-19。

[0036] 本发明的目的还包括提供一种预防和治疗对3CL蛋白酶抑制剂敏感的RNA病毒感染引起的病症,以及PAXLOVID适用的相关病症的方法,其包括向患者施用治疗有效剂量的通式 (I) 所示的化合物或其药学上可接受的盐,或本发明所述药物组合物。

[0037] 本发明的通式 (I) 所示的化合物或其药学上可接受的盐,可联合其他相关药物组合施用。

[0038] 在一些实施例中,所述相关药物为CYP抑制剂。

[0039] 定义

[0040] 除另有规定外,术语“药学上可接受的盐”或“可药用盐”是指在合理医学判断范围内适用于与哺乳动物特别是人的组织接触而无过度毒性、刺激、过敏反应等并与合理的效益/风险比相称的盐,比如胺、羧酸和其他类型化合物的医学上可接受的盐在所属领域中是被熟知的。可以在本发明化合物的最终分离和纯化期间原位制备所述盐,或单独通过将游离碱或游离酸与合适的试剂反应制备所述盐。

[0041] 除另有规定外,本发明化合物还包括其“晶型”,术语“晶型”是指晶体物质的某种晶格构型。本领域已知的是,晶型在制药中和稳定性、溶出性和机械性有关。相同物质的不同晶型通常具有其特有的不同物理性质的不同的晶格(例如晶胞)。不同的晶型可通过本领域已知的方法进行表征。例如,可通过固态表征方法例如通过X射线粉末衍射(XRPD)来鉴定。其它表征方法包括示差扫描量热法(DSC)、热解重量分析(TGA)、动态蒸汽吸附(DVS)、固态NMR等。可以使用上述任一种方法对晶型进行表征,或者组合使用两种以上的方法进行表征。

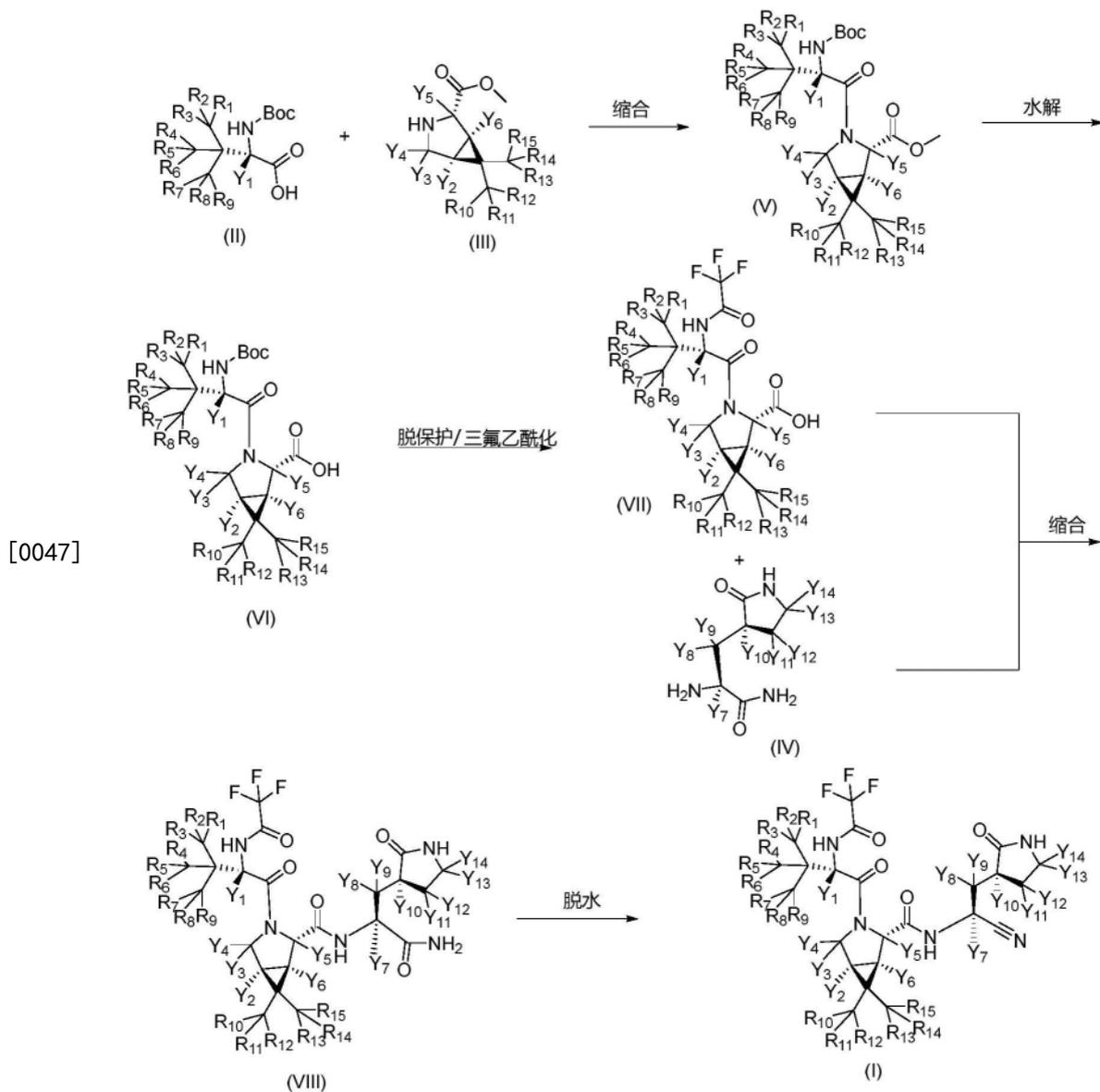
[0042] 除另有规定外,本发明化合物还包括其“溶剂化物”,术语“溶剂化物”、“溶剂化物”意指本发明化合物与一个或多个溶剂分子(无论有机的还是无机的)的物理缔合。该物理缔合包括氢键。在某些情形中,例如当一个或多个溶剂分子纳入结晶固体的晶格中时,溶剂化物将能够被分离。溶剂化物中的溶剂分子可按规则排列和/或无序排列存在。溶剂化物可包含化学计量或非化学计量的溶剂分子。“溶剂化物”涵盖溶液相和可分离的溶剂化物。示例性溶剂化物包括但不限于水合物、乙醇合物、甲醇合物和异丙醇合物。溶剂化方法是本领域公知的。

[0043] 除另有规定外,本发明化合物还包括其“水合物”,术语“水合物”是指水分子以配位键或共价键与化合物中的阳离子或阴离子结合,或指水分子不直接与阳离子或阴离子结合而是以一定比例存在于固体晶格的确定位置而形成的物质。

[0044] 本发明的有益效果为:

[0045] 本发明的目的是提供一种代谢稳定性和药代动力学性质更佳,药效和安全性更高的抗病毒药物,服用剂量比现有药物更低,可以降低利托那韦等CYP强效抑制剂的联用剂量,或者单独给药。从而提高药物的有效性、降低患者的用药风险、及改善药物的依从性。

[0046] 所述化合物可通过下述步骤制备:



[0048] 其中 $R_1 \sim R_{15}$ 、 $Y_1 \sim Y_{14}$ 的定义同前所述。

[0049] 第一步:氨基保护的叔亮氨酸化合物(II)与氮杂双环化合物(III)进行酰胺缩合反应制得化合物(V);

[0050] 第二步:化合物(V)经水解得到化合物(VI);

[0051] 第三步:化合物(VI)经酸性条件脱去Boc保护基,再与三氟乙酸或三氟乙酸衍生物反应得到三氟乙酸酰胺类化合物(VII);

[0052] 第四步:化合物(VII)与化合物(IV)进行缩合反应制备得到化合物(VIII);

[0053] 第五步:化合物(VIII)经脱水反应得到目标产物氕取代化合物(I)。

[0054] 其中,第一步和第四步的缩合反应选用溶解性较佳且性质稳定的溶剂或混合溶剂,包括但不限于N,N-二甲基甲酰胺、四氢呋喃、乙腈、丙酮、丁酮、二氧六环、N,N-二甲基乙酰胺、二甲基亚砜、乙酸乙酯、二氯甲烷、氯仿、1,2-二氯乙烷、甲醇、乙醇、异丙醇、纯化水等;选用的缩合剂包括但不限于1-羟基苯并三氮唑、二氯亚砜、三氯氧磷、2-羟基吡啶-N-氧化物、二环己基碳二亚胺、EDCI、HATU等;反应选用的缚酸剂包括但不限于碳酸钾、碳酸钠、三乙胺、N,N-二异丙基乙胺,碳酸铯等;反应温度范围 $0^{\circ}\text{C} \sim 60^{\circ}\text{C}$,优选 $15^{\circ}\text{C} \sim 35^{\circ}\text{C}$ 。

[0055] 第二步水解反应采用水为溶剂或水与相溶性较好的混合溶剂,包括不限于乙醇、甲醇、异丙醇、丙酮、N,N-二甲基甲酰胺、四氢呋喃、N,N-二甲基乙酰胺、丁酮、二氧六环、环丁砜、二甲基亚砜、乙腈等;催化剂采用碱或酸,包括不限于氢氧化钠、氢氧化钾、氢氧化锂、氢氧化镁、碳酸钾、碳酸钠、碳酸铯、盐酸、硫酸、磷酸、三氟乙酸等;反应温度范围0℃~60℃,优选15℃~35℃。

[0056] 第三步采用酸性条件下反应脱保护基,溶剂为单一或混合溶剂,包括不限于二氯甲烷、二氧六环、水、N,N-二甲基甲酰胺、四氢呋喃、N,N-二甲基乙酰胺、二甲基亚砜、乙酸乙酯、乙腈、乙醇、甲醇、异丙醇、丙酮、丁酮等;选用的酸包括不限于盐酸,硫酸,磷酸,三氟乙酸,高碘酸,氢溴酸等;选用的三氟乙酰化试剂包括不限于三氟乙酸、三氟乙酸钠、三氟乙酸钾、三氟乙酸镁、三氟乙酸甲酯、三氟乙酸乙酯、三氟乙酸苯酯、三氟乙酸酐等;反应温度范围5℃~80℃,优选15℃~65℃。

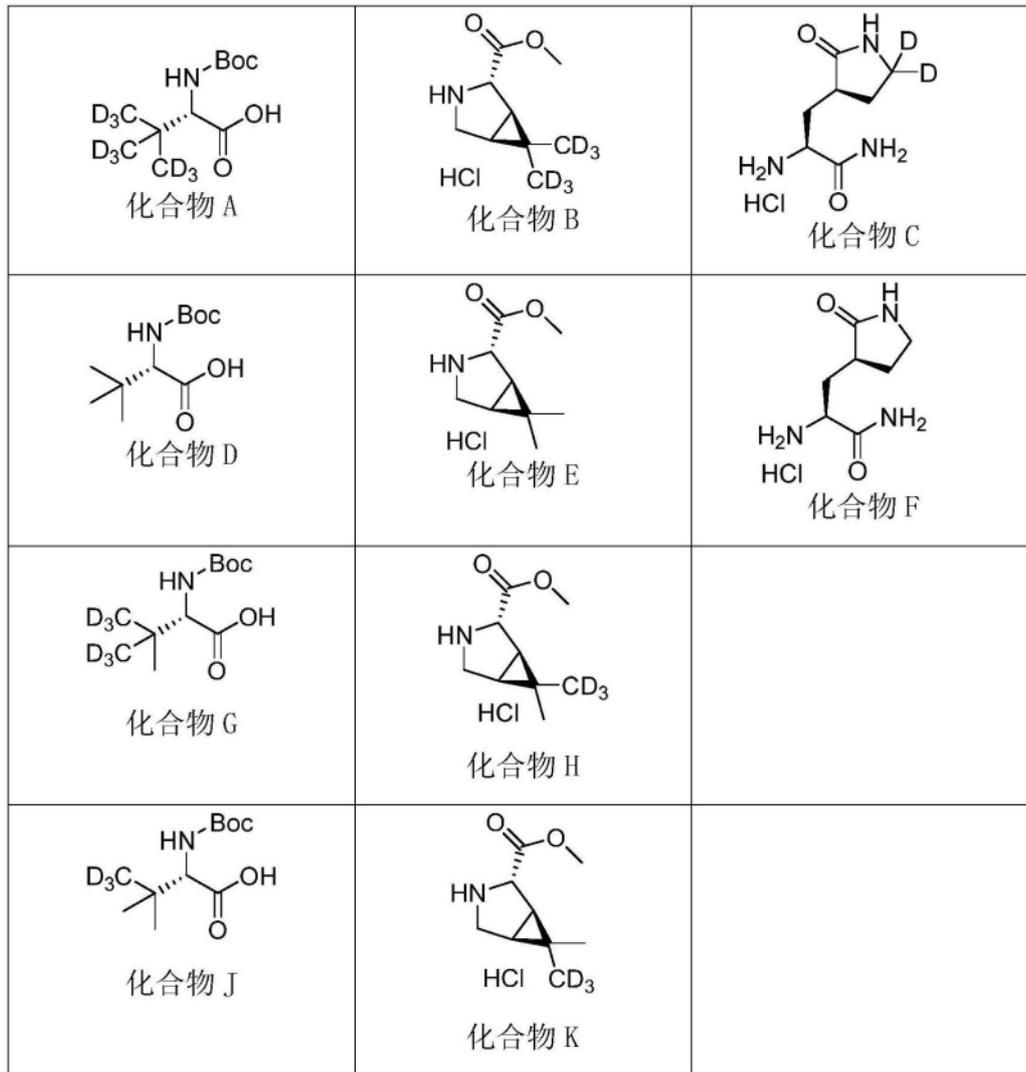
[0057] 第五步脱水反应选用溶剂包括不限于二氯甲烷、二氧六环、N,N-二甲基甲酰胺、四氢呋喃、N,N-二甲基乙酰胺、二甲基亚砜、乙酸乙酯、乙腈、甲基叔丁基醚、苯甲醚、正己烷、环己烷、正庚烷、氯仿、1,2-二氯乙烷;选用的脱水剂包括不限于二氯亚砷、三氯氧磷、三氯化磷、五氯化磷、五氧化二磷、醋酸酐、三氟乙酸酐、伯吉斯试剂、苯磺酸酐、甲磺酸酐、三氟甲磺酸酐等;反应温度范围10℃~80℃,优选15℃~35℃。

[0058] 文中描述的不同位点氘代产物可以采用不同的化合物作为起始反应物制备,如下所示结构:

[0059] 氨基保护的叔亮氨酸化合物(II)可以为下述化合物A、化合物D、化合物G或化合物J;

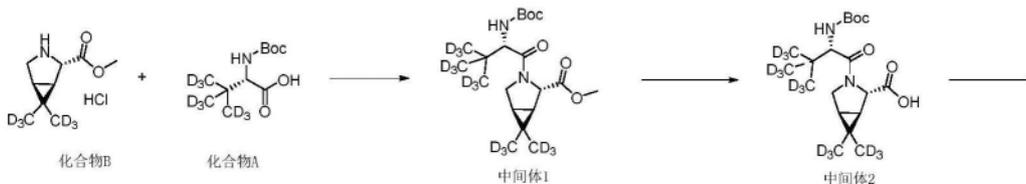
[0060] 氮杂双环化合物(III)可以为下述化合物B、化合物E、化合物H或化合物K;

[0061] 化合物(IV)可以为下述化合物C或化合物F;



[0062]

[0063] 氘代药物(1)的制备:



[0064]



[0065] 氘代药物(2)~(31)可采用化合物A或化合物D或化合物G或化合物J作为氨基保护的叔亮氨酸化合物(II),采用化合物B或化合物E或化合物H或化合物K作为氮杂双环化合物(III),采用化合物C或化合物F作为化合物(IV)通过上述制备方法进行制备。

具体实施方式

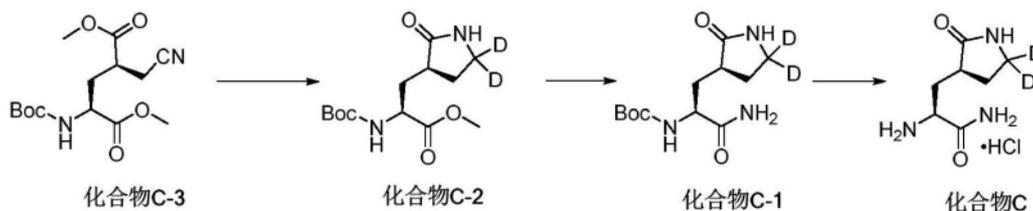
[0066] 下面结合具体实施例,进一步阐述本发明。应理解,这些实施例仅用于说明本发明而不适用于限制本发明的范围。下列实施例中未注明具体条件的实验方法,通常按照常规条件或者按照制造厂商所建议的条件。除非另行定义,文中所使用的所有专业与科学用语与本领域专业人员所熟悉的意义相同。此外,任何与所记载内容相似或均等的方法及材料皆可应用于本发明方法之中。文中所示的较佳实施方法与材料仅做示范之用。

[0067] 本发明的化合物结构是通过核磁共振(NMR)或/和液质联用色谱(LC-MS)来确定的。

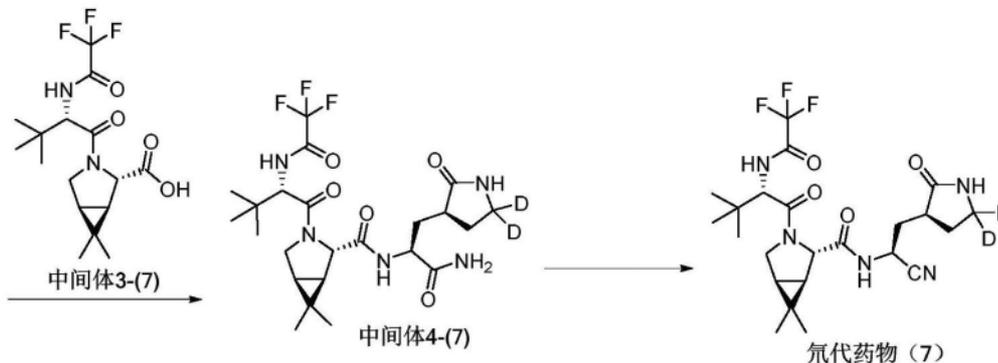
[0068] 本发明实施例中的起始原料是已知的并且可以在市场上买到,或者可以采用或按照本领域已知的方法来合成。

[0069] 实施例1

[0070] (1R,2S,5S)-N-{(S)-1-氰基-2-[(S)-2-氧代-3-吡咯烷基-5,5-二氘]乙基}-3-[(S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙酰氨基)丁酰基]-6,6-二甲基-3-氮杂双环[3.1.0]己烷-2-甲酰胺,氘代药物(7)的合成路线如下:



[0071]



[0072] 化合物C-2的合成

[0073] 将化合物C-3 (9.0g, 28.6mmol) 和氘代甲醇 (MeOD, 72ml) 加入反应瓶中, 搅拌溶解后加入氯化钴 (2.23g, 17.2mmol), 降温至0℃, 30min内分批加入硼氘化钠 (4.79g, 114.4mmol), 加毕后转移至室温反应24h。加入饱和氯化铵水溶液淬灭, 减压蒸馏, 使用乙酸乙酯萃取水相3次, 合并有机相, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 硅胶柱层析分离 (正庚烷/乙酸乙酯梯度洗脱), 减压浓缩后得化合物C-2 (3.73g)。

[0074] ^1H NMR (600MHz, CDCl_3) δ 1.44 (9H, s), 1.83-1.86 (2H, m), 2.11-2.15 (1H, m), 2.44-2.51 (2H, m), 3.74 (3H, s), 4.31-4.33 (1H, m), 5.47 (1H, br s), 5.94 (1H, br s). LCMS m/z 311.0 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

[0075] 化合物C-1的合成

[0076] 将化合物C-2 (3.7g, 12.8mmol) 与氨甲醇溶液 (7M, 18.5ml) 加入反应瓶中, 室温反应60h。减压浓缩得化合物C-1 (3.5g)。

[0077] ^1H NMR (600MHz, CD_3OD) δ 1.47 (9H, s), 1.73-1.78 (1H, m), 1.85-1.89 (1H, m), 2.02-2.07 (1H, m), 2.34-2.37 (1H, m), 2.48-2.50 (1H, m), 4.10-4.12 (1H, m). LCMS m/z 296.0 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

[0078] 化合物C的合成

[0079] 将化合物C-1 (3.4g, 12.4mmol) 与异丙醇 (30ml) 加入反应瓶中, 然后滴加氯化氢乙酸乙酯溶液 (5.5M, 10ml), 50°C 反应4h后, 冷却至室温搅拌过夜, 减压浓缩后得化合物C (2.12g)。

[0080] ^1H NMR (600MHz, CD_3OD) δ 1.68-1.90 (1H, m), 2.00-2.11 (2H, m), 2.43-2.45 (1H, m), 2.75-2.80 (1H, m), 4.04-4.05 (1H, dd). LCMS m/z 195.9 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

[0081] 中间体4- (7) 的合成

[0082] 将2-羟基吡啶-N-氧化物 (0.37g) 加入到中间体3- (7) (6.00g) 和化合物C (3.34g) 的丁酮 (60ml) 溶液中, 0°C 下搅拌下, 向其中加入N,N-二异丙基乙胺 (7ml), 和EDCI (3.1g)。室温下搅拌20h, 将反应液用乙酸乙酯/甲基叔丁基醚 (1:1, 60ml) 稀释, 然后用水 (20ml) 和饱和氯化钠溶液 (20ml) 进行洗涤后, 将有机相再用1M稀盐酸水溶液 (20ml) 和饱和氯化钠溶液 (20ml) 洗涤, 将有机相用无水硫酸镁干燥, 过滤, 减压浓缩, 硅胶柱层析分离 (二氯甲烷/甲醇梯度洗脱), 减压浓缩后得中间体4- (7) (6.0g)。

[0083] ^1H NMR (600MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 0.84 (3H, s), 0.98 (9H, s), 1.02 (3H, s), 1.37 (1H, d), 1.48-1.50 (2H, m), 1.60-1.64 (1H, m), 1.91-1.99 (1H, m), 2.10-2.14 (1H, m), 2.37-2.43 (1H, m), 3.66 (1H, d), 3.88-3.90 (1H, m), 4.28-4.32 (2H, m), 4.42 (1H, d), 7.03 (1H, br s), 7.31 (1H, br s), 7.53 (1H, s), 8.29 (1H, d), 9.41 (1H, d). LCMS m/z 542.1 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

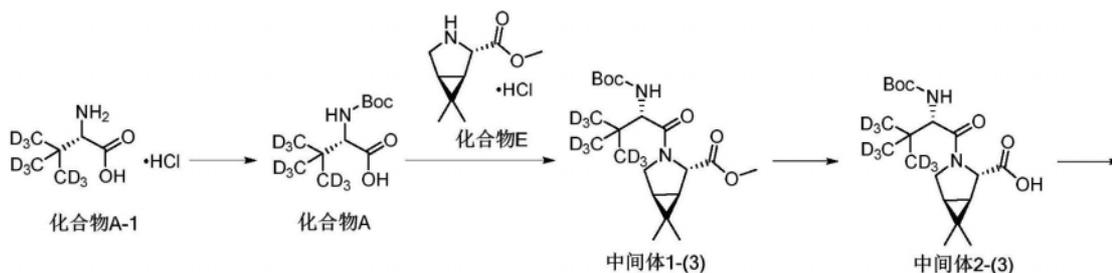
[0084] 氟代药物 (7) 的合成

[0085] 将中间体4- (7) (1.2g, 2.3mmol) 与二氯甲烷 (6ml) 加入反应瓶中, 搅拌下加入N-甲基吗啉 (0.94g), 然后加入三氟乙酸酐 (0.97g) 室温反应2h。加入纯化水淬灭反应, 分相后用饱和氯化钠水溶液洗涤有机相, 将有机相减压浓缩。加入甲基叔丁基醚 (12ml) 打浆1h, 过滤。滤饼用醋酸异丙酯 (3.5ml) 溶解后, 加入正己烷 (30ml), 搅拌过夜, 纯化, 并在 50°C 真空干燥4h后得氟代药物 (7) (0.7g)。

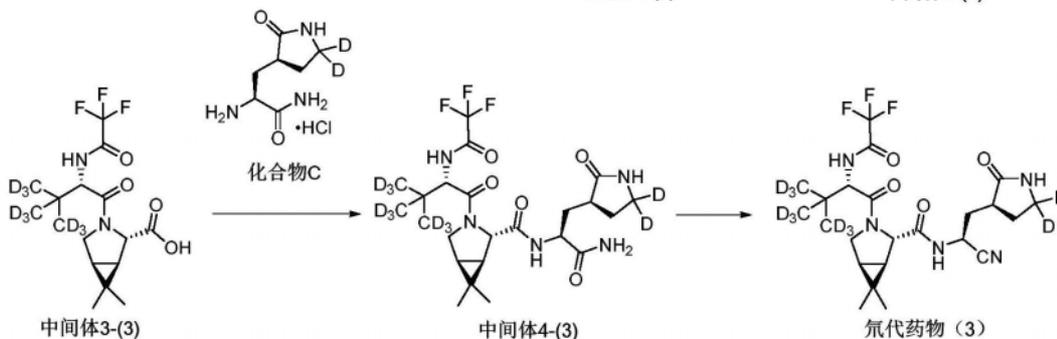
[0086] ^1H NMR (600MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 0.85 (3H, s), 0.98 (9H, s), 1.03 (3H, s), 1.31 (1H, d), 1.56-1.58 (1H, dd), 1.66-1.72 (2H, m), 2.05-2.09 (1H, m), 2.12-2.17 (1H, m), 2.37-2.43 (1H, m), 3.69 (1H, d), 3.90-3.92 (1H, m), 4.16 (1H, s), 4.41 (1H, d), 4.95-4.99 (1H, m), 7.65 (1H, s), 9.03 (1H, d), 9.41 (1H, d). LCMS m/z 502.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[0087] 实施例2:

[0088] (1R, 2S, 5S) -3- [(S) -3, 3-二(三氟代甲基) -2- (2, 2, 2-三氟乙酰氨基) 丁酰基-4, 4, 4-三氟] -N- [(S) -1-氰基-2- [(S) -2-氧代-3-吡咯烷基-5, 5-二氟] 乙基] -6, 6-二甲基-3-氮杂双环[3.1.0]己烷-2-甲酰胺, 氟代药物 (3) 的合成路线如下:



[0089]



[0090] 化合物A的合成

[0091] 向1M氢氧化钠水溶液(18ml)中加入二氧六环(12ml)和化合物A-1(1.52g), 0℃下, 向反应液中滴加Boc₂O(2.25g), 滴加完毕后0℃搅拌5min, 升至室温搅拌13h。将反应液减压浓缩蒸除二氧六环, 用1M稀盐酸水溶液将反应液pH调至2-3, 用乙酸乙酯(30ml)萃取, 将有机相用饱和氯化钠洗涤后用无水硫酸镁干燥, 过滤, 将滤液减压浓缩至干后得化合物A(1.8g)。

[0092] ¹H NMR (600MHz, DMSO-d₆) δ 1.38 (9H, s), 3.73 (1H, d), 6.78 (1H, d), 12.11 (1H, br s)。

[0093] 中间体1-(3)的合成

[0094] 将化合物A(1.78g)和化合物E即(1R, 2S, 5S)-6,6-二甲基-3-氮杂双环[3.1.0]己烷-2-甲酸甲酯盐酸盐(1.58g)和HATU(3.21g)加入到乙腈(30ml)和DMF(3ml)中, 向其中加入N,N-二异丙基乙胺(3.0g)。室温下搅拌20h, 减压浓缩至无液体流出, 向浓缩物中加入乙酸乙酯(10ml), 用纯化水(10ml)洗涤, 用1M稀盐酸水溶液(20ml)和饱和氯化钠溶液(20ml)洗涤, 将有机相用无水硫酸镁干燥, 过滤, 减压浓缩至干, 硅胶柱层析分离(正己烷/乙酸乙酯梯度洗脱), 减压浓缩后得中间体1-(3)(2.3g)。

[0095] ¹H NMR (600MHz, DMSO-d₆) δ 0.85 (3H, s), 1.01 (3H, s), 1.35 (9H, s), 1.41 (1H, d),

[0096] 1.49-1.55 (1H, m), 3.65 (3H, s), 3.79 (1H, dd), 3.93 (1H, d), 4.05 (1H, d), 4.21 (1H, s), 6.73 (1H, d)。

[0097] 中间体2-(3)的合成

[0098] 将中间体1-(3)(2.2g)溶于四氢呋喃(10ml), 向其中加入氢氧化锂(0.56g)的水溶液(3ml), 室温搅拌4h。向反应液中加入水(50ml)后减压浓缩, 用1M稀盐酸水溶液将反应液pH调至2-3, 用乙酸乙酯(30ml)萃取, 将有机相用饱和氯化钠洗涤后用无水硫酸镁干燥, 过滤, 将滤液减压浓缩至得中间体2-(3)(2.0g)。

[0099] ¹H NMR (600MHz, DMSO-d₆) δ 0.84 (3H, s), 1.01 (3H, s), 1.35 (9H, s), 1.38-1.40 (1H, d), 1.46-1.52 (1H, m), 3.77 (1H, dd), 3.91 (1H, d), 4.04 (1H, d), 4.12 (1H, s), 6.67 (1H, d), 12.64 (1H, s)。

[0100] 中间体3- (3) 的合成

[0101] 将中间体2- (3) (2.0g) 加入氯化氢乙酸乙酯溶液 (20ml) 中, 室温搅拌反应3h, 减压浓缩至干。向浓缩物中加入乙酸乙酯 (5ml) 打浆1h, 过滤, 用乙酸乙酯 (5ml) 洗涤滤饼, 将滤饼干燥得1.3g。

[0102] 将该滤饼 (1.3g)、三乙胺 (1.8g) 和三氟乙酸乙酯 (1.3g) 加入到甲醇 (7ml) 中, 室温搅拌20h, 减压浓缩至干。向浓缩物中加入水 (20ml), 用1M稀盐酸水溶液将水相pH调至2-3, 用乙酸乙酯 (30ml) 萃取, 将有机相用饱和氯化钠洗涤后用无水硫酸镁干燥, 过滤, 减压浓缩得中间体3- (3) (1.2g)。

[0103] $^1\text{H NMR}$ (600MHz, DMSO- d_6) δ 0.83 (3H, s), 1.01 (3H, s), 1.43 (1H, d), 1.53 (1H, dd), 3.72 (1H, d), 3.85 (1H, dd), 4.15 (1H, s), 4.43 (1H, d), 9.41 (1H, d), 12.73 (1H, br s)。

[0104] 中间体4- (3) 的合成

[0105] 中间体4- (3) 的合成参照实施例1中间体4- (7) 的合成, 合成操作中需将中间体3- (7) 替换为中间体3- (3)。

[0106] $^1\text{H NMR}$ (600MHz, DMSO- d_6) δ 0.84 (3H, s), 1.02 (3H, s), 1.39 (1H, d), 1.48-1.52 (2H, m), 1.61-1.67 (1H, m), 1.91-1.96 (1H, m), 2.12-2.16 (1H, m), 2.37-2.43 (1H, m), 3.68 (1H, d), 3.87-3.91 (1H, m), 4.29-4.31 (2H, m), 4.42 (1H, d), 7.03 (1H, br s), 7.31 (1H, br s), 7.53 (1H, s), 8.28-8.29 (1H, d), 9.40 (1H, d). LCMS m/z 551.1 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。

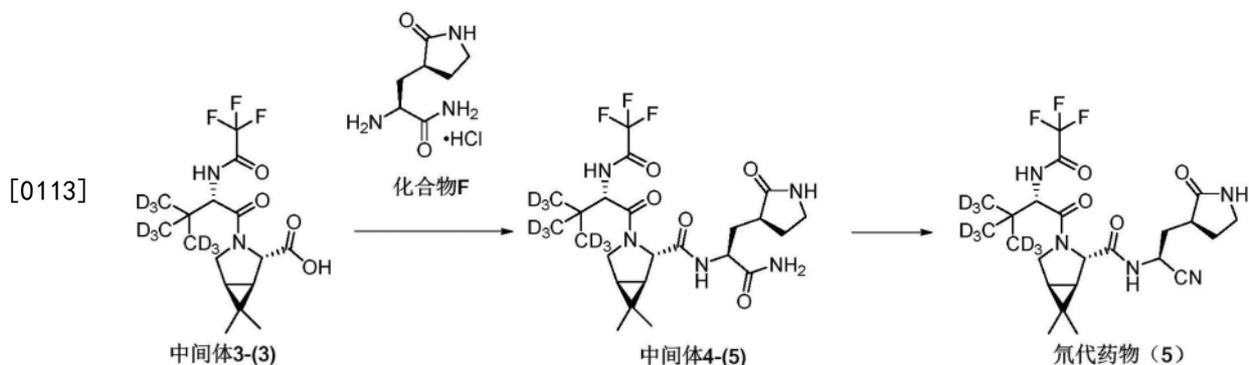
[0108] 氘代药物 (3) 的合成

[0109] 氘代药物 (3) 的合成参照实施例1氘代药物 (7) 的合成, 合成操作中需将中间体4- (7) 替换为中间体4- (3)。

[0110] $^1\text{H NMR}$ (600MHz, DMSO- d_6) δ 0.85 (3H, s), 1.03 (3H, s), 1.31-1.32 (1H, d), 1.55-1.58 (1H, dd), 1.65-1.72 (2H, m), 2.04-2.09 (1H, m), 2.11-2.17 (1H, m), 2.36-2.43 (1H, m), 3.69 (1H, d), 3.90-3.92 (1H, m), 4.16 (1H, s), 4.41 (1H, d), 4.94-4.99 (1H, m), 7.65 (1H, s), 9.03 (1H, d), 9.41 (1H, d). LCMS m/z 511.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0111] 实施例3:

[0112] (1R, 2S, 5S) -3- [(S) -3, 3-二(三氘代甲基) -2- (2, 2, 2-三氟乙酰氨基) 丁酰基-4, 4, 4-三氟] -N- [(S) -1-氰基-2- [(S) -2-氧代-3-吡咯烷基] 乙基] -6, 6-二甲基-3-氮杂双环 [3.1.0] 己烷-2-甲酰胺, 氘代药物 (5) 的合成路线如下:



[0114] 中间休4- (5) 的合成

[0115] 中间休4- (5) 的合成参照实施例1中间休4- (7) 的合成, 合成操作中需将中间休3- (7) 替换为中间休3- (3), 将化合物C替换为化合物F。

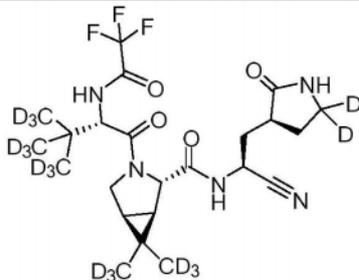
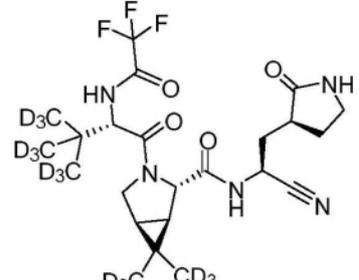
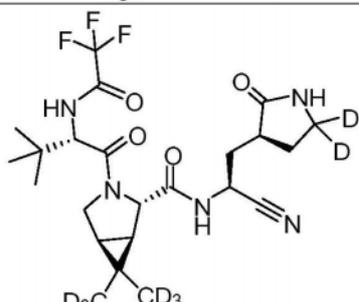
[0116] ^1H NMR (600MHz, DMSO- d_6) δ 0.84 (3H, s), 1.02 (3H, s), 1.39 (1H, d), 1.47-1.52 (2H, m), 1.60-1.67 (1H, m), 1.91-1.96 (1H, m), 2.13-2.16 (1H, m), 2.37-2.43 (1H, m), 3.00-3.05 (1H, m), 3.12-3.15 (1H, m), 3.68 (1H, d), 3.87-3.90 (1H, m), 4.28-4.31 (2H, m), 4.42 (1H, d), 7.03 (1H, br s), 7.31 (1H, br s), 7.53 (1H, s), 8.28 (1H, d), 9.40 (1H, d). LCMS m/z 549.1 [M+Na] $^+$.

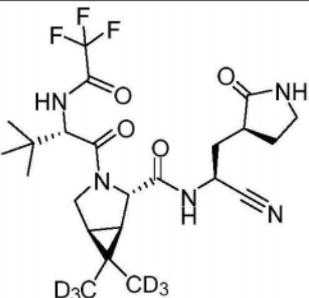
[0117] 氘代药物(5)的合成

[0118] 氘代药物(5)的合成参照实施例1氘代药物(7)的合成,合成操作中需将中间体4-(7)替换为中间体4-(5)。

[0119] ^1H NMR (600MHz, DMSO- d_6) δ 0.87 (3H, s), 1.04 (3H, s), 1.31-1.34 (1H, d), 1.56-1.59 (1H, dd), 1.66-1.73 (2H, m), 2.05-2.09 (1H, m), 2.12-2.17 (1H, m), 2.37-2.42 (1H, m), 3.02-3.06 (1H, m), 3.11-3.17 (1H, m), 3.70 (1H, d), 3.90-3.92 (1H, m), 4.17 (1H, s), 4.40 (1H, d), 4.95-4.99 (1H, m), 7.68 (1H, s), 9.02 (1H, d), 9.40 (1H, d). LCMS m/z 509.2 [M+H] $^+$.

[0120] 氘代药物(1)、氘代药物(2)、氘代药物(4)及氘代药物(6)的合成均参考以上实施例的合成方法,这些化合物的质谱数据如下:

名称	结构式	质谱数据
氘代药物(1)		LCMS m/z 517 [M+H] $^+$
[0121] 氘代药物(2)		LCMS m/z 515 [M+H] $^+$
氘代药物(4)		LCMS m/z 508 [M+H] $^+$

[0122] 氘代药物(6)		LCMS m/z 506 $[M+H]^+$
----------------	---	--------------------------

[0123] 生物学测试评价

[0124] 以下结合测试例进一步描述解释本发明,但这些实施例并非意味着限制本发明的范围。

[0125] 试验例1、肝微粒体代谢稳定性试验

[0126] (1) 目的:

[0127] 本实验采用大鼠,小鼠,人,犬和猴肝微粒体评价本发明化合物的代谢稳定性;

[0128] (2) 试剂:

[0129] 混合人肝微粒体,购于美国Corning公司;

[0130] 混合雄性SD大鼠肝微粒体,购于美国Corning公司;

[0131] 混合雄性ICR小鼠肝微粒体,购于美国Corning公司;

[0132] 混合Beagle犬肝微粒体,购于美国Xenotech公司;

[0133] 混合食蟹猴肝微粒体,购于RILD公司。

[0134] 还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH),购于德国罗氏公司;

[0135] 乙腈(色谱纯),购于德国Merck公司。

[0136] (3) 肝微粒体孵育体系:

[0137] 每个孵育体系总体积为100 μ L,介质为100mM磷酸缓冲液(PBS, pH7.4),包括终浓度为0.50mg/mL的肝微粒体蛋白、3.00 μ M的待测化合物和1.00mM的NADPH,采用37 $^{\circ}$ C水浴进行孵育,分别在反应0、5、15、30、45、60min后加入同体积冰冷乙腈终止反应。阴性对照采用相应种属的热失活肝微粒体进行孵育,孵育时间点分别为0、15、60min。采用LC/MS/MS方法检测待测化合物的剩余含量。所有孵育样本均为双样本。

[0138] (4) 数据处理:

[0139] 使用Excel软件,以孵育体系中药物的ln剩余率对孵育时间作图,进行线性回归得到斜率k,计算半衰期 $T_{1/2}$ (min)、固有清除率 CL_{int} (mL/min/kg)、肝清除率 CL_{hb} (mL/min/kg)和剩余率Remaining(T=60min)值:

[0140] (5) 结果

待测化合物在不同种属肝微粒体中的稳定性					
化合物	种属	T _{1/2} (min)	CL _{int} (μL/min/mg)	CL _{hb} (mL/min/kg)	Remaining (T=60min)
[0141] PF07321332	小鼠	13.0	422.6	74	4.0%
	大鼠	131.3	19.0	14	73.8%
	犬	69.7	28.6	15	57.9%
	猴	10.7	175.4	35	2.2%
氘代药物(7)	小鼠	16.3	336.4	71	7.9%
	大鼠	>145	<17.3	-	83.6%
	犬	126.7	15.8	10	73.0%
	猴	28.7	65.3	26	23.5%

[0142] 注：-, 无法计算。

[0143] 从上表中可以看出与非氘代化合物 (PF-07321332) 相比, 氘代药物 (7) 在四个种属的肝微粒体中均具有更好的代谢稳定性, 在小鼠和大鼠中稳定性优于 (PF-07321332); 在犬和猴微粒体中的稳定性显著高于 (PF-07321332), 半衰期显著延长和清除率的显著降低表明氘代药物 (7) 具有更低的药物服用剂量、减少或避免与利托那韦联用及每日仅需服药一次的成药潜力。

[0144] 试验例2、大鼠体内药代动力学实验

[0145] (1) 目的:

[0146] 本实验评价本发明化合物在大鼠体内的代谢稳定性, 以及经静脉注射和口服给药后暴露量的体内药代动力学的评估。

[0147] (2) 试剂及试验动物:

[0148] Waters ACQUITY UPLC超高效液相系统 (Waters公司);

[0149] Xevo-TQ XS三重四级杆质谱仪 (Waters公司);

[0150] Phenix Winnolin药动力学软件 (V8.0, 美国Certara公司);

[0151] R320低速冷冻离心机 (北京白洋医疗器械);

[0152] TGL-16M高速台式冷冻离心机 (湘仪仪器有限公司);

[0153] MS105电子分析天平 (梅特勒-托利多 (上海) 有限公司);

[0154] SD大鼠, 购于北京维通利华试验动物技术有限公司;

[0155] 甲基纤维素 (3500-5600), 生产厂家九鼎化学;

[0156] 二甲基亚砷 (DMSO), 购于Sigma公司;

[0157] 聚乙二醇 (PEG400), 购于Sigma公司;

[0158] 吐温80 (Tween 80), 购于Sigma公司;

[0159] 甲基纤维素 (MC), 购于Sigma公司;

[0160] Wsitar Han大鼠, 购于北京维通利华试验动物技术有限公司

[0161] (3) 大鼠体内药代动力学实验方法

[0162] (3.1) 药液配制:

[0163] 静脉给药: 10% DMSO+30% PEG400+60% 去离子水;

[0164] 口服给药: 0.5% MC和2% Tween 80溶液。

[0165] (3.2) 给药方案:

[0166] 每个化合物健康成年Wistar Han大鼠6只(每组3只动物);禁食过夜(自由饮水)后,分别尾静脉注射(iv)及灌胃给药(po);i.v.组分别于给药后5min、15min、0.5、1、2、4、8、12、24h由颈静脉采血0.2ml,4℃离心5min分离血浆,于-20℃保存待测。po.组于给药前及给药后0.5、1、2、4、6、8、12、24h由颈静脉采血0.2ml,处理方法同静脉注射给药组。建立LC/MS/MS法测定血浆中的原形药物浓度,绘制血药浓度-时间曲线,采用WinNonlin 7.2软件计算主要药动学参数。

[0167] 大鼠药代动力学参数(po)

化合物	Dose (mg/kg)	Tmax (h)	Cmax (ng/ml)	AUClast (h*ng/ml)
[0168] PF-07321332	10	0.250(0.250,0.250)	629	799
氘代药物(7)	10	0.250(0.250,0.250)	1632	1475

[0169] 注:Tmax*用中位数(最小值,最大值)表示

[0170] 从上表中可以看出与非氘代化合物(PF-07321332)相比,灌胃给药后氘代药物(7)具有更高的血浆峰浓度和更高的血浆中暴露,说明氘代药物(7)具有更优异的体内药代动力学行为。在临床上具备服用剂量比PF-07321332更低、或减少利托那韦联用量以至不需要与利托那韦联用的应用潜力,从而能够扩大临床使用人群,减轻或减少不良反应。

[0171] 结果表明本发明化合物有良好的体内药代动力学,具有成药潜质。