



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103827100 A

(43) 申请公布日 2014. 05. 28

(21) 申请号 201280037547. 8

A61K 31/5415(2006. 01)

(22) 申请日 2012. 06. 06

(30) 优先权数据

61/494, 288 2011. 06. 07 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2014. 01. 27

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2012/041106 2012. 06. 06

(87) PCT国际申请的公布数据

W02012/170536 EN 2012. 12. 13

(71) 申请人 安那迪斯药品股份有限公司

地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 J·L·弗雷多

(74) 专利代理机构 上海专利商标事务所有限公

司 31100

代理人 杨昀

(51) Int. Cl.

C07D 285/22(2006. 01)

权利要求书3页 说明书60页

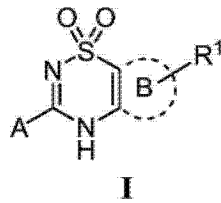
(54) 发明名称

用于降低血清尿酸的 [1, 2, 4] 噻二嗪 1, 1-二  
氧化物化合物

(57) 摘要

本发明描述了 [1, 2, 4] 噻二嗪 1, 1-二氧化物  
化合物及其药学上可接受的盐, 其可用于降低存  
在需要的患者的血清尿酸, 包括给予所述患者治  
疗或预防有效量的 [1, 2, 4] 噻二嗪 1, 1-二氧化物  
化合物。

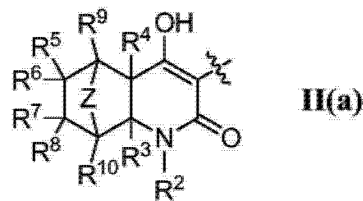
1. 一种降低患者血清尿酸的方法,所述方法包括给予所述患者治疗有效量的式 I 化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物、互变异构体或立体异构体,



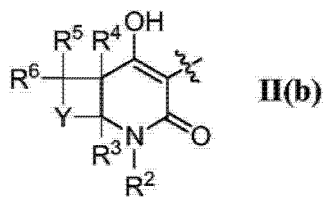
其中  
环 B 是



A 是



或



Z 是  $-(CR^{11}R^{12})_n-$ ,

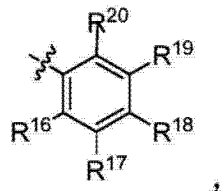
Y 是  $-(CR^{13}R^{14})_m-$ ,

n 是 1 或 2,

m 是 2 或 3,

R<sup>1</sup> 是 H、-NH<sub>2</sub> 或  $-(CH_2)_q-NH-S(O)_2CH_3$ , 其中 q 是 0 或 1,

R<sup>2</sup> 是 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基、C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> 环烷基、芳基或  $-(CH_2)-R^{15}$ , 其中 R<sup>15</sup> 是

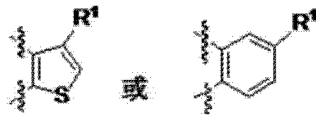


其中 R<sup>16</sup>、R<sup>17</sup>、R<sup>18</sup>、R<sup>19</sup> 和 R<sup>20</sup> 独立地是 H、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基、羟基或卤素,

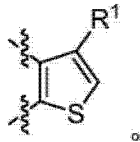
R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>、R<sup>7</sup>、R<sup>8</sup>、R<sup>9</sup>、R<sup>10</sup>、R<sup>11</sup>、R<sup>12</sup>、R<sup>13</sup> 和 R<sup>14</sup> 独立地是 H 或 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基,

其中各烷基、环烷基或芳基可任选地被一个或多个烷基、羟基或卤素取代基取代。

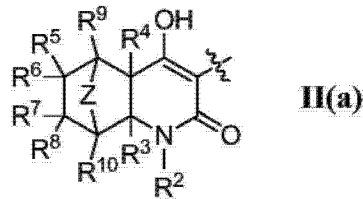
2. 如权利要求 1 所述的方法,其特征在于,环 B 是



3. 如权利要求 1 所述的方法,其特征在于, q 是 1,且环 B 是

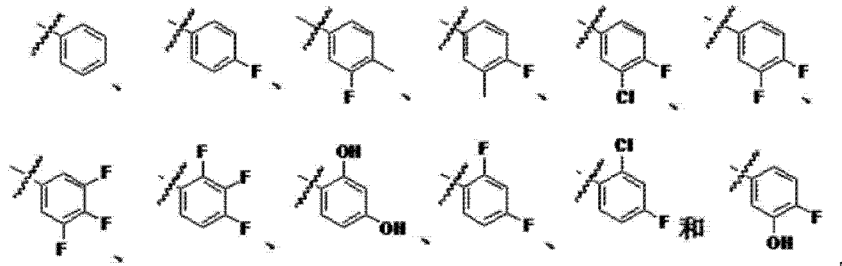


4. 如权利要求 1 所述的方法,其特征在于, A 是



5. 如权利要求 1 所述的方法,其特征在于, R<sup>1</sup> 是 H。

6. 如权利要求 1 所述的方法,其特征在于, R<sup>2</sup> 是  $-(CH_2)_n-R^{15}$ ,且 R<sup>15</sup> 选自:



7. 如权利要求 1 所述的方法,其特征在于, q 是 0。

8. 如权利要求 1 所述的方法,其特征在于, n 是 1。

9. 如权利要求 1 所述的方法,其特征在于, q 是 0,且 n 是 1。

10. 如权利要求 1 所述的方法,其特征在于, R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>、R<sup>7</sup>、R<sup>8</sup>、R<sup>9</sup>、R<sup>10</sup>、R<sup>11</sup>、R<sup>12</sup>、R<sup>13</sup> 和 R<sup>14</sup> 是 H。

11. 如权利要求 1 所述的方法,其特征在于, R<sup>16</sup>、R<sup>17</sup>、R<sup>18</sup>、R<sup>19</sup> 和 R<sup>20</sup> 独立地是 H、甲基或卤素。

12. 如权利要求 1 所述的方法,其特征在于, R<sup>16</sup>、R<sup>17</sup>、R<sup>18</sup>、R<sup>19</sup> 和 R<sup>20</sup> 独立地是 H 或卤素。

13. 如权利要求 1 所述的方法,其特征在于, R<sup>18</sup> 是氟,且 R<sup>16</sup>、R<sup>17</sup>、R<sup>19</sup> 和 R<sup>20</sup> 是 H。

14. 如权利要求 1 所述的方法,其特征在于:

q 是 0,且 n 是 1,

R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>、R<sup>7</sup>、R<sup>8</sup>、R<sup>9</sup>、R<sup>10</sup>、R<sup>11</sup>、R<sup>12</sup>、R<sup>13</sup> 和 R<sup>14</sup> 是 H,且

R<sup>16</sup>、R<sup>17</sup>、R<sup>18</sup>、R<sup>19</sup> 和 R<sup>20</sup> 独立地是 H 或卤素。

15. 如权利要求 1 的方法,其特征在于,所述患者是人。

16. 如权利要求 1 所述的方法,其特征在于,所述方法还包括给予所述患者额外的治疗剂。

17. 一种用于降低存在需要的患者的血清尿酸的方法,所述方法包括给予所述患者治

疗有效量的化合物或其药学上可接受的盐,所述化合物选自:

N-{3-[(1R, 2S, 7R, 8S)-3-(4-氟-苄基)-6-羟基-4-氧代-3-氮杂-三环[6.2.1.0<sup>2,7</sup>]十一碳-5-烯-5-基]-1,1-二氧化-1,4-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并[1,2,4]噻二嗪-7-基甲基}-甲磺酰胺、

N-{3-[(1R, 2S, 7R, 8S)-3-(4-氟-苄基)-6-羟基-4-氧代-3-氮杂-三环[6.2.1.0<sup>2,7</sup>]十一碳-5-烯-5-基]-1,1-二氧化-1,4-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并[1,2,4]噻二嗪-7-基}-甲磺酰胺、

(1R, 2S, 7R, 8S)-5-(1,1-二氧化-1,4-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并[1,2,4]噻二嗪-3-基)-3-(4-氟-苄基)-6-羟基-3-氮杂-三环[6.2.1.0<sup>2,7</sup>]十一碳-5-烯-4-酮、

(4aR, 7aS)-N-{3-[1-(4-氟-苄基)-4-羟基-2-氧代-2,4a,5,6,7,7a-六氢-1H-[1]吡啶-3-基]-1,1-二氧化-1,4-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并[1,2,4]噻二嗪-7-基}-甲磺酰胺、

N-[3-(1R, 2S, 7R, 8S)-3-环戊基-6-羟基-4-氧代-3-氮杂-三环[6.2.1.0<sup>2,7</sup>]十一碳-5-烯-5-基]-1,1-二氧化-1,4-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并[1,2,4]噻二嗪-7-基}-甲磺酰胺、

(1R, 2S, 7R, 8S)-5-(7-氨基-1,1-二氧化-1,4-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并[1,2,4]噻二嗪-3-基)-3-(4-氟-苄基)-6-羟基-3-氮杂-三环[6.2.1.0<sup>2,7</sup>]十一碳-5-烯-4-酮、

N-{3-[(1S, 2R, 7S, 8R)-3-(4-氟-苄基)-6-羟基-4-氧代-3-氮杂-三环[6.2.1.0<sup>2,7</sup>]十一碳-5-烯-5-基]-1,1-二氧化-1,4-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并[1,2,4]噻二嗪-7-基}-甲磺酰胺、

(1R, 2S, 7R, 8S)-N-{3-[3-(4-氟-苄基)-6-羟基-4-氧代-3-氮杂-三环[6.2.1.0<sup>2,7</sup>]十一碳-5-烯-5-基]-1,1-二氧化-1,4-二氢-1λ<sup>6</sup>-噻吩并[2,3-e][1,2,4]噻二嗪-7-基甲基}-甲磺酰胺、

N-{3-[(2S, 7R)-3-(4-氟-苄基)-6-羟基-4-氧代-3-氮杂-三环[6.2.2.0<sup>2,7</sup>]十二碳-5-烯-5-基]-1,1-二氧化-1,4-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并[1,2,4]噻二嗪-7-基}-甲磺酰胺、

N-{3-[(1S, 2S, 7R, 8R)-3-(4-氟-苄基)-6-羟基-4-氧代-3-氮杂-三环[6.2.1.0<sup>2,7</sup>]十一碳-5-烯-5-基]-1,1-二氧化-1,4-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并[1,2,4]噻二嗪-7-基}-甲磺酰胺和

N-{3-[(1R, 2R, 7S, 8S)-3-(4-氟-苄基)-6-羟基-4-氧代-3-氮杂-三环[6.2.1.0<sup>2,7</sup>]十一碳-5-烯-5-基]-1,1-二氧化-1,4-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并[1,2,4]噻二嗪-7-基}-甲磺酰胺。

18. 如权利要求17所述的方法,其特征在于,所述化合物是N-{3-[(1R, 2S, 7R, 8S)-3-(4-氟-苄基)-6-羟基-4-氧代-3-氮杂-三环[6.2.1.0<sup>2,7</sup>]十一碳-5-烯-5-基]-1,1-二氧化-1,4-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并[1,2,4]噻二嗪-7-基}-甲磺酰胺。

19. 一种用于治疗或预防存在需要的患者的高尿酸血症、痛风、炎性疾病、尿结石、再灌注疾病或肾功能障碍,例如肿瘤溶解综合征、高血压或心血管疾病的方法,所述方法包括给予所述患者治疗有效量的如权利要求1所述的式I化合物或其药学上可接受的盐。

## 用于降低血清尿酸的 [1, 2, 4] 噻二嗪 1, 1- 二氧化物化合物

### 发明领域

[0001] 本发明提供用于降低血清尿酸和治疗或预防疾病的 [1, 2, 4] 噻二嗪 1, 1- 二氧化物化合物和含有该化合物的药物组合物, 所述疾病例如高尿酸血症、痛风、炎性疾病、尿结石、再灌注疾病、肾功能障碍、肿瘤裂解综合征、高血压和心血管疾病。

### [0002] 发明背景

[0003] 血液尿酸水平的异常升高, 即, 高尿酸血症, 是与痛风、肾功能障碍、尿结石等密切相关的疾病 (Diagnosis and Treatment, 220-224, 244-248 (2002))。已知在器官移植 (Ren. Fail., 361-7 (2002)) 或癌症化疗 (Am. J. Health Syst. Pharm., 2213-22 (2003)) 中, 血清尿酸水平显著升高, 由此导致肾功能障碍, 或在化疗情况中, 血清尿酸水平由于急剧的细胞破坏量而显著升高 (肿瘤裂解综合征)。

[0004] 高尿酸血症是先于痛风的病症或疾病, 其由尿酸产出增加或排出减少, 或由这两种过程结合造成。在患有高尿酸血症的个体内, 血浆和胞外液的尿酸盐过饱和, 并且可能发生组织内晶体沉积, 导致痛风的临床表现。当晶体在关节内形成时, 导致复发性关节炎发作。慢性痛风还可导致关节内或关节周围的尿酸硬块沉积, 并可造成关节破坏和肾功能减弱。可将用于治疗高尿酸血症的试剂粗略地分为促排尿酸剂或尿酸合成抑制剂。所述促排尿酸剂可能对肾功能已经降低的情况无效, 因此, 尿酸合成抑制剂别嘌呤醇合适用于肾功能降低的患者。

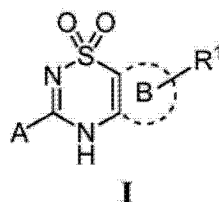
[0005] 黄嘌呤氧化酶是控制尿酸生物合成的酶, 而使用黄嘌呤氧化酶抑制剂作为尿酸合成抑制剂来抑制该酶是对高尿酸血症及其引发的多种疾病的有效治疗。别嘌呤醇是目前用于临床治疗实践的唯一黄嘌呤氧化酶抑制剂, 尽管已知其诱导不希望的副作用。

### 发明内容

[0006] 本发明描述 [1, 2, 4] 噻二嗪 1, 1- 二氧化物化合物及其药学上可接受的盐, 其可用于降低患者的血清尿酸, 包括给予所述患者治疗有效量的 [1, 2, 4] 噻二嗪 1, 1- 二氧化物化合物。

[0007] 在一个总的方面, 本发明涉及采用式 I 化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物、互变异构体或立体异构体来降低患者的血清尿酸的方法

[0008]



[0009] 式中

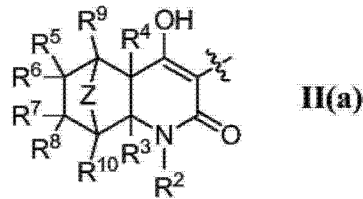
[0010] 环 B 是

[0011]

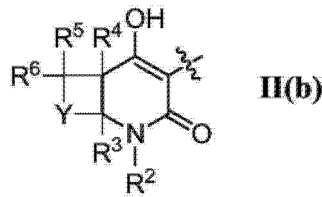


[0012] A 是

[0013]



, 或



[0014]

[0015] Z 是  $-(CR^{11}R^{12})_n-$ ,

[0016] Y 是  $-(CR^{13}R^{14})_m-$ ,

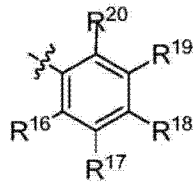
[0017] n 是 1 或 2,

[0018] m 是 2 或 3,

[0019]  $R^1$  是 H、 $-NH_2$  或  $-(CH_2)_q-NH-S(O)_2CH_3$ , 其中 q 是 0 或 1,

[0020]  $R^2$  是  $C_1-C_6$  烷基、 $C_3-C_6$  环烷基、芳基或  $-(CH_2)-R^{15}$ , 其中  $R^{15}$  是

[0021]



[0022] 其中,  $R^{16}$ 、 $R^{17}$ 、 $R^{18}$ 、 $R^{19}$  和  $R^{20}$  独立地是 H、 $C_1-C_6$  烷基、羟基或卤素,

[0023]  $R^3$ 、 $R^4$ 、 $R^5$ 、 $R^6$ 、 $R^7$ 、 $R^8$ 、 $R^9$ 、 $R^{10}$ 、 $R^{11}$ 、 $R^{12}$ 、 $R^{13}$  和  $R^{14}$  独立地是 H 或  $C_1-C_6$  烷基,

[0024] 其中烷基、环烷基或芳基各自可任选地被一个或多个烷基、羟基或卤素取代基取代。

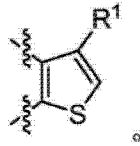
[0025] 在一个实施方式中, 本发明涉及使用式 I 化合物的方法, 其中环 B 是

[0026]



[0027] 在一个实施方式中, 本发明涉及使用式 I 化合物的方法, 其中 q 是 1 且环 B 是

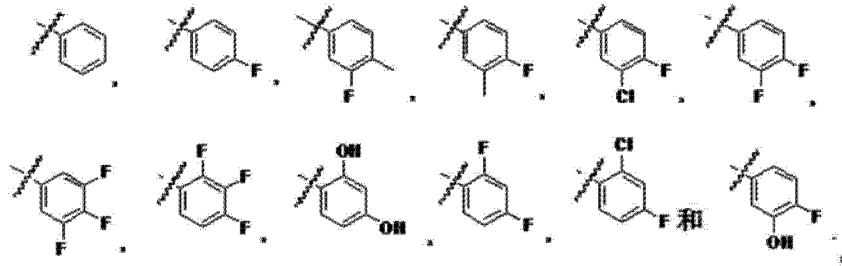
[0028]



[0029] 在一个实施方式中,本发明涉及使用式 I 化合物的方法,其中  $R^1$  是 H。

[0030] 在一个实施方式中,本发明涉及使用式 I 化合物的方法,其中  $R^2$  是  $-(CH_2)_n-R^{15}$  且  $R^{15}$  选自

[0031]



[0032] 在一个实施方式中,本发明涉及使用式 I 化合物的方法,其中  $q$  是 0。

[0033] 在一个实施方式中,本发明涉及使用式 I 化合物的方法,其中  $n$  是 1。

[0034] 在一个实施方式中,本发明涉及使用式 I 化合物的方法,其中  $q$  是 0 且  $n$  是 1。

[0035] 在一个实施方式中,本发明涉及使用式 I 化合物的方法,其中  $R^3, R^4, R^5, R^6, R^7, R^8, R^9, R^{10}, R^{11}, R^{12}, R^{13}$  和  $R^{14}$  是 H。

[0036] 在一个实施方式中,本发明涉及使用式 I 化合物的方法,其中  $R^{16}, R^{17}, R^{18}, R^{19}$  和  $R^{20}$  独立地是 H、甲基或卤素。

[0037] 在一个实施方式中,本发明涉及使用式 I 化合物的方法,其中  $R^{16}, R^{17}, R^{18}, R^{19}$  和  $R^{20}$  独立地是 H 或卤素。

[0038] 在一个实施方式中,本发明涉及使用式 I 化合物的方法,其中  $R^{18}$  是氟且  $R^{16}, R^{17}, R^{19}$  和  $R^{20}$  是 H。

[0039] 在一个实施方式中,本发明涉及使用式 I 化合物的方法,其中

[0040]  $q$  是 0 且  $n$  是 1,

[0041]  $R^3, R^4, R^5, R^6, R^7, R^8, R^9, R^{10}, R^{11}, R^{12}, R^{13}$  和  $R^{14}$  是 H, 且

[0042]  $R^{16}, R^{17}, R^{18}, R^{19}$  和  $R^{20}$  独立地是 H 或卤素。在另一个实施方式中,本发明涉及选自以下的化合物

[0043] N-{3-[(1R, 2S, 7R, 8S)-3-(4-氟-苄基)-6-羟基-4-氧代-3-氮杂-三环[6.2.1.0<sup>2,7</sup>]十一碳-5-烯-5-基]-1,1-二氧化-1,4-二氢-1 $\lambda^6$ -苯并[1,2,4]噻二嗪-7-基甲基}-甲磺酰胺,

[0044] N-{3-[(1R, 2S, 7R, 8S)-3-(4-氟-苄基)-6-羟基-4-氧代-3-氮杂-三环[6.2.1.0<sup>2,7</sup>]十一碳-5-烯-5-基]-1,1-二氧化-1,4-二氢-1 $\lambda^6$ -苯并[1,2,4]噻二嗪-7-基}-甲磺酰胺,

[0045] (1R, 2S, 7R, 8S)-5-(1,1-二氧化-1,4-二氢-1 $\lambda^6$ -苯并[1,2,4]噻二嗪-3-基)-3-(4-氟-苄基)-6-羟基-3-氮杂-三环[6.2.1.0<sup>2,7</sup>]十一碳-5-烯-4-酮,

[0046] (4aR, 7aS)-N-{3-[1-(4-氟-苄基)-4-羟基-2-氧代-2,4a,5,6,7,7a-六氢-1H-[1]吡啶-3-基]-1,1-二氧化-1,4-二氢-1 $\lambda^6$ -苯并[1,2,4]噻二嗪-7-基}-甲

磺酰胺，

[0047] N-[3-(1R, 2S, 7R, 8S)-3-环戊基-6-羟基-4-氧代-3-氮杂-三环[6.2.1.0<sup>2,7</sup>]十一碳-5-烯-5-基]-1,1-二氧化-1,4-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并[1,2,4]噻二嗪-7-基]-甲磺酰胺，

[0048] (1R, 2S, 7R, 8S)-5-(7-氨基-1,1-二氧化-1,4-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并[1,2,4]噻二嗪-3-基)-3-(4-氟-苄基)-6-羟基-3-氮杂-三环[6.2.1.0<sup>2,7</sup>]十一碳-5-烯-4-酮，

[0049] N-{3-[3-(1S, 2R, 7S, 8R)-3-(4-氟-苄基)-6-羟基-4-氧代-3-氮杂-三环[6.2.1.0<sup>2,7</sup>]十一碳-5-烯-5-基]-1,1-二氧化-1,4-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并[1,2,4]噻二嗪-7-基}-甲磺酰胺，

[0050] (1R, 2S, 7R, 8S)-N-{3-[3-(4-氟-苄基)-6-羟基-4-氧代-3-氮杂-三环[6.2.1.0<sup>2,7</sup>]十一碳-5-烯-5-基]-1,1-二氧化-1,4-二氢-1λ<sup>6</sup>-噻吩并[2,3-e][1,2,4]噻二嗪-7-基甲基}-甲磺酰胺，

[0051] N-{3-[3-(2S, 7R)-3-(4-氟-苄基)-6-羟基-4-氧代-3-氮杂-三环[6.2.2.0<sup>2,7</sup>]十二碳-5-烯-5-基]-1,1-二氧化-1,4-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并[1,2,4]噻二嗪-7-基}-甲磺酰胺，

[0052] N-{3-[3-(1S, 2S, 7R, 8R)-3-(4-氟-苄基)-6-羟基-4-氧代-3-氮杂-三环[6.2.1.0<sup>2,7</sup>]十一碳-5-烯-5-基]-1,1-二氧化-1,4-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并[1,2,4]噻二嗪-7-基}-甲磺酰胺，和

[0053] N-{3-[3-(1R, 2R, 7S, 8S)-3-(4-氟-苄基)-6-羟基-4-氧代-3-氮杂-三环[6.2.1.0<sup>2,7</sup>]十一碳-5-烯-5-基]-1,1-二氧化-1,4-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并[1,2,4]噻二嗪-7-基}-甲磺酰胺，

[0054] 或其药学上可接受的盐。

[0055] 一方面，本发明涵盖用于治疗或预防存在需求的患者的高尿酸血症、痛风、炎症性疾病、尿结石、再灌注疾病、肾功能障碍、肿瘤裂解综合征、高血压或心血管疾病的方法，所述方法包括给予所述患者治疗有效量的式 I 化合物和药学上可接受的赋形剂、运载体或载剂。另一方面，本发明涵盖用于降低存在需要的患者的血清尿酸的方法，所述方法包括给予所述患者治疗有效量的式 I 化合物和药学上可接受的赋形剂、运载体或载剂。另一方面，本发明涵盖用于治疗或预防血浆尿酸水平异常相关疾病，所述疾病选自高尿酸血症和急性尿酸肾病。

[0056] 另一方面，本发明涵盖用于治疗或预防存在需要的患者的高尿酸血症、痛风、炎症性疾病、尿结石、再灌注疾病、肾功能障碍、肿瘤裂解综合征、高血压或心血管疾病的方法，所述方法包括给予所述患者治疗有效量的式 I 化合物和其它治疗剂。

[0057] 发明详述

[0058] 本说明书中所用的以下术语以如下定义使用：

[0059] 本文所用的术语“包含”、“有”和“包括”以其开放、非限定含义使用。

[0060] 术语“Me”指甲基，“Et”指乙基，且“Ac”指乙酰基。

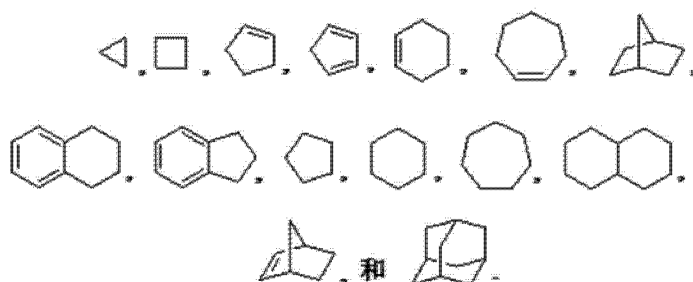
[0061] 本文中所述的术语“烷基”，除非另有说明，包括具有直链或支链部分的 1-6 饱和单价烃基团。

[0062] 本文所用的术语“环烷基”，除非另有说明，在本文中指非芳香的、饱和的或部分饱



和的、单环或稠合的、螺或未稠合二环或三环的烃，总共包含 3~10 个碳原子，优选 5~8 个环碳原子。示例性的环烷基包括具有 3~7 个，优选 3~6 个碳原子的单环，例如环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基等。环烷基的说明性示例源自但不限于以下：

[0063]



[0064] 本文所用的术语“芳基”，除非另有说明，包括衍生自移去了一个氢的芳香烃的有机基团，且在其环系统内具有 6~14 个碳原子，例如苯基或萘基。术语“预防”指本发明化合物或组合物预防被诊断患有本文所述疾病的患者或有患上该疾病风险的患者内的所述疾病的能力。该术语还涵盖预防已患有所述疾病或已有所述疾病症状的患者内的该疾病的进一步发展。

[0065] 术语“患者”或“对象”指动物（例如，牛、马、绵羊、猪、鸡、火鸡、鹌、猫、狗、小鼠、大鼠、兔、豚鼠等）或哺乳动物，包括嵌合(chimeric)和转基因动物和哺乳动物。在例如痛风或高尿酸血症的治疗或预防中，术语“患者”或“对象”优选指猴、黑猩猩或人，最优选是人。术语“治疗有效量”指本发明化合物在例如痛风或高尿酸血症的治疗或预防中足以提供益处的量，所述量延迟或最小化与所预防的痛风或高尿酸血症相关的症状，或者治愈或使所述疾病或感染或其病因好转。具体而言，治疗有效量指足以在体内提供治疗益处的量。在联系本发明化合物的量使用时，所述术语优选涵盖非毒性量，所述非毒性量改善全体治疗，降低或避免疾病症状或病因，或者增强其它治疗剂疗效或增强与其它治疗剂的协同作用。术语“痛风”指包括性关节炎、关节内尿酸盐晶体沉积、肾实质中尿酸盐晶体沉积、尿结石和肾石病的疾病组。

[0066] 术语“联合”指多于一种预防性和 / 或治疗性试剂以其各自效果叠加或协同的方式同时或序贯使用。术语“治疗”指：

[0067] (i) 防止易罹患疾病、病症和 / 或状态但尚未确诊的动物出现相关疾病、病症或状态；

[0068] (ii) 抑制该疾病、病症或状态，即阻止其发展；和

[0069] (iii) 减轻疾病、病症或状态，即促使疾病、病症和 / 或状态退行。

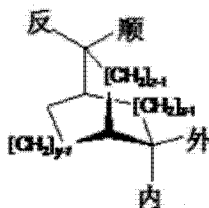
[0070] 术语“R”和“S”指示所绘制的化学结构中非对称碳原子处的取代基的特定立体化学构型。

[0071] 术语“rac”指化合物是外消旋物，其被定义为对映体对的等摩尔混合物。“rac”化合物不显示光学活性。外消旋物的化学名称或化学式通过前缀(±)-或rac-(或外消旋-)或通过标志RS和SR与这些对映体的化学名称或化学式区分。

[0072] 术语“内”和“外”是取代基连接二环[x.y.z]烷烃( $x \geq y > z > 0$ )中的非桥头原子的相对方向的描述符。

[0073] 术语“顺”和“反”是取代基连接二环 [x. y. z] 烷烃 ( $x \geq y > z > 0$ ) 中的桥头原子的相对方向的描述符。

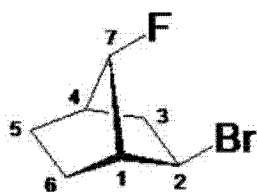
[0074]



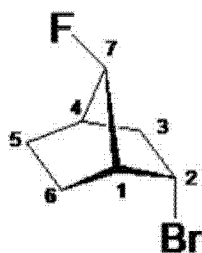
[0075] 术语“外”指定的取代基（例如，在下述示例中连接 C-2 的 Br）指向最高编号桥（z 桥，例如下述示例中的 C-7）；如果所述取代基不指向所述最高编号的桥则对其指定描述符“内”。

[0076] 术语“顺”指定的取代基连接最高编号的桥（z 桥，例如下述示例中连接 C-7 的 F）并指向最低编号的桥（x 桥，例如下述示例中的 C-2 和 C-3）；如果所述取代基不指向所述最低编号的桥，则对其指定描述符“反”。

[0077]



2-外-溴-7-顺-氟-二环[2.2.1]庚烷



2-内-溴-7-反-氟-二环[2.2.1]庚烷

[0078] 术语“顺”和“反”是显示连接单独原子的两个配体之间关系的描述符，其通过双键连接或包含在环中。如果两个配体位于平面同侧，则这两个配体被称为彼此“顺”定位。如果它们位于相反侧面，则它们的相对位置被描述为“反”。双键的合适参照平面是垂直于相关  $\sigma$ -键且穿过所述双键的平面。就环而言，其指的是所述一个或多个环的平均平面 (mean plane)。

[0079] 在本发明方法中使用的化合物可显示互变现象。虽然式 I 无法清楚描述全部可能的互变异构体形式，但应理解式 I 意在表示所描述化合物的任何互变异构体形式，并且不仅限于该式描述的特定化合物形式。

[0080] 所述化合物中的一些可以单一立体异构体（即，基本无其它立体异构体）、消旋物，和 / 或对映体和 / 或非对映体的混合物形式存在。本发明范围意在包括所有所述单一立体异构体、消旋物及其混合物。优选地，所述化合物具有光活性，并且以光学纯形式使用。

[0081] 如本领域技术人员一般理解，具有一个手性中心（即，一个不对称碳原子）的光学纯化合物是基本由两种可能的对映体之一（即，对映异构体）组成的化合物，而具有多于一个手性中心的光学纯化合物是既非对映异构体又对映异构体的化合物。优选地，本发明方

法中所用化合物以至少 90% 无该化合物的其它对映体或非对映体的形式使用,即以含有至少 90% 单一异构体 (80% 对映体过量 (“e. e.”) 或非对映体过量 (“d. e.”)) 的形式使用,更优选至少 95% (90% e. e. 或 d. e.), 甚至更优选至少 97.5% (95% e. e. 或 d. e.), 且最优选至少 99% (98% e. e. 或 d. e.)。

[0082] 此外,式 I 意在涵盖所确定结构的溶剂化物和溶剂化物形式。例如,式 I 包括所示结构的水合和非水合形式的化合物。溶剂化物的其它示例包括所述结构与异丙醇、乙醇、甲醇、DMSO、乙酸乙酯、乙酸戊酯、乙酸或乙醇胺的组合。

[0083] 除式 I 化合物以外,本发明包括所述化合物和代谢物的药学上可接受的前药、药学活性代谢物,以及药学上可接受的盐。

[0084] “药学上可接受的前药”是在生理条件下或通过溶剂分解作用可转变为特定化合物或转变为该化合物的药学上可接受的盐,随后显示其药理学作用的化合物。配制前药的目的通常是改善化学稳定性、改善患者接受性和适应性、改善生物利用度、延长作用持续时间、改善器官选择性、改善制剂 (例如提高水溶性) 和 / 或降低副作用 (例如毒性)。前药可以方便地从式 I 化合物用本领域已知方法制备,例如由 Burger's Medicinal Chemistry and Drug Chemistry (《伯格医疗化学和药品化学》), 1, 172-178, 949-982 (1995) 描述的那些。还参见 Bertolini 等, J. Med. Chem., 40, 2011-2016 (1997); Shan 等, J. Pharm. Sci., 86 (7), 765-767; Bagshawe, Drug Dev. Res., 34, 220-230 (1995); Bodor, Advances in Drug Res., 13, 224-331 (1984); Bundgaard, Design of Prodrugs (《前药设计》) (埃尔斯威尔出版社 (Elsevier Press), 1985); Larsen, Design and Application of Prodrugs (《前药设计与应用》), Drug Design and Development (药物设计与开发) (Krogsgaard-Larsen 等编, 哈伍德学术出版公司 (Harwood Academic Publisher), 1991); Dear 等, J. Chromatogr. B, 748, 281-293 (2000); Spraul 等, J. Pharmaceutical & Biomedical Analysis, 10, 601-605 (1992); 和 Prox 等, Xenobiol., 3, 103-112 (1992)。

[0085] “药学活性代谢物”意在指特定化合物或其盐通过体内代谢产生的药理学活性产物。进入身体后,大多数药物是可以改变其物理性质和生物效应的化学反应的底物。这些通常会影式 I 化合物的极性的代谢转变改变了药物在体内分布和从体内排泄的方式。然而,在某些情况下,药物的代谢是疗效所需要的。例如,属于抗代谢物质类的抗癌药必须在输送进细胞之后转化成其活性形式。

[0086] 由于大多数药物进行某种代谢转变,在药物代谢中发挥某种作用的生化反应可能数目庞大、种类繁多。药物代谢的主要位点是肝脏,虽然其它组织也可能参与。

[0087] 许多这些转化的特有特点是,所述代谢产物或“代谢物”的极性大于母体药物,尽管极性药物有时确实产出较小极性的产物。脂 / 水分配系数高的物质容易通过膜,也容易从肾小管尿反过来扩散通过肾小管细胞进入血浆。因此,该物质往往在肾脏内的清除率低且在体内长时间持续存在。如果药物被代谢成极性更大的化合物,其分配系数更低,则其肾小管重新吸收将大幅减少。而且,近端肾小管和实质肝细胞中的阴离子和阳离子的特异性分泌机制靠大极性物质起作用。

[0088] 作为特定示例,非那西丁 (乙酰乙氧基苯胺) 和乙酰苯胺都是温和镇痛剂和退热剂,但在体内转化成极性更大且更有效的代谢物,如今广泛使用的对羟基乙酰苯胺 (醋氨酚)。当对人给予一个剂量的乙酰苯胺时,连续代谢物循序地在血浆中成峰和衰减。在第一

小时中,乙酰苯胺是主血浆成分。在第二小时中,乙酰苯胺水平下降,代谢物醋氨酚浓度达到顶峰。最终,几小时后,主血浆成分是其它代谢物,该代谢物无活性且可从身体排出。因此,一种或多种代谢物以及所述药物本身的血浆浓度在药理学上是重要的。

[0089] “药学上可接受的盐”意在指保留特定化合物的游离酸和碱的生物有效性的盐,所述盐不是生物学不利的或发生其它不利情况。本发明方法使用的化合物具有足够酸性的官能团、足够碱性的官能团或所述两种官能团,并因此与多种无机或有机碱以及无机或有机酸中的任何物质反应以形成药学上可接受的盐。药学上可接受的盐的示例包括通过使本发明化合物与无机或有机酸或无机碱反应制备的那些盐,例如,所述盐包括硫酸盐、焦硫酸盐、硫酸氢盐、亚硫酸盐、亚硫酸氢盐、磷酸盐、磷酸一氢盐、磷酸二氢盐、偏磷酸盐、焦磷酸盐、盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、乙酸盐、丙酸盐、癸酸盐、辛酸盐、丙烯酸盐、甲酸盐、异丁酸盐、己酸盐、庚酸盐、丙炔酸盐、草酸盐、丙二酸盐、琥珀酸盐、辛二酸盐、癸二酸盐、反丁烯二酸盐、马来酸盐、丁炔-1,4-二酸盐、己炔-1,6-二酸盐、苯甲酸盐、氯苯甲酸盐、甲基苯甲酸盐、二硝基苯甲酸盐、羟基苯甲酸盐、甲氧基苯甲酸盐、邻苯二甲酸盐、磺酸盐、二甲苯磺酸盐、苯基乙酸盐、苯基丙酸盐、苯基丁酸盐、柠檬酸盐、乳酸盐、 $\gamma$ -羟基丁酸盐、乙醇酸盐、酒石酸盐、甲磺酸盐、丙磺酸盐、萘-1-磺酸盐、萘-2-磺酸盐和扁桃酸盐。

[0090] 如果所述化合物是碱,则可以通过本领域现有的任何合适方法制备所需药学上可接受的盐,例如,用无机酸处理游离碱,所述无机酸例如盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、磷酸等,或者用有机酸处理游离碱,所述有机酸例如乙酸、马来酸、琥珀酸、扁桃酸、富马酸、丙二酸、丙酮酸、草酸、乙醇酸、水杨酸、吡喃糖苷酸(例如葡萄糖醛酸或半乳糖醛酸)、 $\alpha$ -羟基酸(例如柠檬酸或酒石酸)、氨基酸(例如天冬氨酸或谷氨酸)、芳族酸(例如苯甲酸或肉桂酸)、磺酸(例如对甲苯磺酸或乙磺酸)等。

[0091] 如果所述化合物是酸,则可通过任何合适的方法制备所需药学上可接受的盐,所述方法例如用无机碱或有机碱处理游离酸,所述碱是例如胺(伯胺、仲胺或叔胺),碱金属氢氧化物或碱土金属氢氧化物等。合适的盐的示例性的例子包括源自氨基酸(例如甘氨酸和精氨酸)、氨、伯胺、仲胺和叔胺,以及环状胺(例如哌啶,吗啉和哌嗪)的有机盐,以及源自钠、钙、钾、镁、锰、铁、铜、锌、铝和锂的无机盐。

[0092] 在试剂为固体的情况中,本领域技术人员应理解所述化合物和盐可以不同结晶、共结晶或多晶型形式存在,所有这些物质均意在属于本发明和指定化学式的范围内。

#### [0093] 高尿酸血症等的治疗和预防方法

[0094] 本发明提供用于降低血清尿酸和治疗或预防存在需要的患者的高尿酸血症、痛风、炎性疾病、尿结石、再灌注疾病、肾功能障碍、肿瘤裂解综合征、高血压或心血管疾病的方法,所述方法包括给予所述患者治疗有效量的式 I 化合物和药学上可接受的赋形剂、运载体或载剂。

[0095] 本发明式 I 化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物的预防性剂量或治疗性剂量的大小在尿酸水平升高的急性或慢性治疗或预防中不同。所述剂量,以及在一些情况中的剂量频率,也会随需治疗的疾病或病症、个体患者的年龄、体重和反应而不同。在对所述因素应有给予考虑的基础上,本领域技术人员可容易地选择剂量服法。

#### [0096] 剂量

[0097] 可通过标准药理学方法,在例如细胞培养物或实验动物中测定 LD50(使 50% 群体死

亡的剂量)和ED<sub>50</sub>(在50%群体中有效治疗的剂量)来确定本发明方法中使用的化合物的毒性和功效。毒性和疗效的剂量比是治疗指数,可表示为LD<sub>50</sub>/ED<sub>50</sub>。

[0098] 获自所述细胞培养实验和动物研究的数据可用于配制一定范围剂量的所述化合物以用于人体。这类化合物的剂量优选属于包括几乎无毒性或无毒性的ED<sub>50</sub>在内的循环浓度范围。该剂量可根据所用的剂型和所用的给药途径在此范围内变化。就本发明方法所用的任何化合物而言,最初可由细胞培养实验估计治疗有效剂量。可在动物模型中设计剂量以实现包括EC<sub>50</sub>(即,引起基线与最大反应之间一半的反应的测试化合物浓度)的循环血浆浓度范围,由细胞培养中测定;或者,可在动物模型中设计式I化合物的剂量以实现该化合物的循环血浆浓度范围符合所需浓度以达到固定的响应量。可利用这些信息更精确地确定人用剂量。例如,可通过高效液相色谱测定血浆水平。

[0099] 在用于人之前,优选先在体外,然后在体内测试本发明方法中使用的方案和组合物的所需治疗或预防活性。例如,体外试验可用于确定是否需要给予特定治疗方案,所述体外试验包括体外细胞培养试验,其中使响应式I化合物作用的细胞暴露至所述配体,并通过合适技术检测所述响应的量。然后,在需测试的化合物是前药的情况中,就式I化合物效能和式I化合物前药的转化度方面评价所述式I化合物。可以在进行人体测试之前,在合适的动物模型系统中测试本发明方法中使用的化合物,所述动物模型包括但不限于大鼠、小鼠、鸡、牛、猴、黑猩猩、兔、仓鼠等。该化合物可用于合适的临床试验。

[0100] 在对所述因素给予应有考虑的基础上,本领域技术人员可容易地选择合适的剂量服法。在一个实施方式中,所给予的剂量取决于使用的特定化合物,以及患者的体重和身体状况。该剂量还视不同的具体式I化合物而不同;可在前述体外检测和动物研究的基础上预测合适剂量,从而较小剂量将合适于在本文所述或提及的系统中检测时以低于其它式I化合物的浓度显示有效性的那些式I化合物。一般而言,每天的剂量在约0.001~100mg/kg范围内,优选约1~25mg/kg,更优选约5~15mg/kg。

[0101] 此外,推荐的每天剂量可以单一试剂或联合其它治疗剂的形式周期性给予。在一个实施方式中,所述每天剂量可以单一剂量或以等分剂量给予。在一个相关实施方式中,推荐的每天剂量可以一次/周、两次/周、三次/周、四次/周或五次/周给予。

[0102] 在一个实施方式中,给予本发明方法中使用的化合物以提供所述化合物在该患者内的全身分布。在一个相关实施方式中,给予本发明的化合物以在体内产生全身效果。

[0103] 在另一个实施方式中,通过经口、粘膜(包括舌下或口腔)、肠胃外(包括皮下、肌内、推注、动脉内或静脉内)、经皮肤或局部给予来给予本发明方法中使用的化合物。在一个特定实施方式中,通过粘膜(包括舌下或口腔)、肠胃外(包括皮下、肌内、推注、动脉内或静脉内)、经皮肤或局部给予来给予本发明方法的化合物。在一个更特定的实施方式中,通过经口给予来给予本发明的化合物。在一个更特定的实施方式中,不通过经口给予来给予本发明的化合物。

#### [0104] 联合治疗

[0105] 本发明的特定方法还包括给予其它治疗剂(即,非本发明化合物的治疗剂)。在本发明的某些实施方式中,本发明的化合物可与至少一种其它治疗剂联用。治疗剂包括但不限于秋水仙碱、抗炎试剂、关节内糖皮质激素、IL-1b拮抗剂(例如,利纳西普、唐纳单抗)、尿酸生成抑制剂(如黄嘌呤氧化酶抑制剂),或所述抑制剂的前药(例如非布索坦、奥昔嘌

醇、别嘌呤醇),降解尿酸的试剂(例如培戈洛酶(pegloticase)及其它尿酸酶),以及促排尿酸剂(如丙磺舒和磺吡酮)。本发明的化合物和其它治疗剂可产生叠加作用,或者更优选地,产生协同作用。在一个实施方式中,同时给予含有本发明化合物的组合物和其它治疗剂,所述其它治疗剂可以是所述同一组合物的部分或者在与含有本发明化合物的组合物不同的组合物中。在另一个实施方式中,在给予另一治疗剂之前或之后给予本发明的化合物。在另一个实施方式中,对之前未经受过或目前未经受其它治疗剂治疗的患者给予本发明的化合物。

[0106] 在一个实施方式中,本发明的方法包括给予一种或多种本发明的化合物但不给予其它治疗剂。

#### [0107] 药物组合物和剂型

[0108] 本发明还涵盖包含本发明方法中所用化合物或其药学上可接受的盐或水合物的药物组合物和单一单位剂型。本发明的单一剂型可适合于经口、粘膜(包括舌下或口腔)、肠胃外(包括皮下、肌内、推注、动脉内或静脉内)、经皮肤或局部给予。本发明的药物组合物和剂型通常还包括一种或多种药学上可接受的赋形剂。还考虑无菌剂型。

[0109] 在另一个实施方式中,由该实施方式涵盖的药物组合物包含本发明的化合物或其药学上可接受的盐或水合物,以及至少一种其它治疗剂。其它治疗剂的示例包括但不限于上文所列举的那些。

[0110] 本发明剂型的组成、形状和种类通常会视其用途而不同。例如,疾病或相关疾病的急性治疗中所用的剂型包含的一种或多种活性成分的量可大于相同疾病的慢性治疗中所用的剂型包含的所述活性成分的量。类似地,肠胃外剂型包含的一种或多种活性成分的量可小于治疗相同疾病或病症所用的经口剂型包含的所述活性成分的量。本发明涵盖的特定剂型在这些方面及其他方面彼此不同,这对本领域技术人员而言是显而易见的。参见,例如,Remington's Pharmaceutical Sciences(《雷明顿药物科学》),第18版,宾西马尼亚州伊斯顿(Easton)的马克出版公司(Mack Publishing), (1990)。剂型的示例包括但不限于:片剂、囊片、胶囊(如软弹性明胶胶囊)、扁囊剂、含片、锭剂、分散体、软膏、吡啶美辛巴布膏(膏状药)、糊料、粉剂、敷料、乳膏、膏、溶液、贴片、凝胶;适合患者口服或粘膜给药的液体剂型,包括混悬液(例如,水性或非水性液体混悬液,水包油乳液或油包水液体乳液),溶液和酞剂;适合患者肠胃外给药的液体剂型;以及无菌固体(例如,晶体或无定形固体),所述无菌固体能够再造以提供适合患者肠胃外给予的液体剂型。

[0111] 典型的药物组合物和剂型包含一种或多种载体、赋形剂或稀释剂。合适的赋形剂是药学领域技术人员熟知的,而本文提供合适的赋形剂的非限定性示例。特定的赋形剂是否适合于掺入药物组合物或剂型取决于本领域熟知的多种因素,所述因素包括但不限于给予患者该剂型的方式。例如,经口剂型(例如片剂)可包含不适合用在肠胃外剂型中的赋形剂。特定赋形剂的合适性还取决于该剂型中的特定活性成分。

[0112] 本发明还涵盖包含活性成分的无水药物组合物和剂型,因为水会促进一些化合物降解。例如,作为模拟长期储存的手段,添加水(例如5%)是在药学领域被广泛接受的,其目的是确定制剂随时间变化的特性,例如储藏期或稳定性。参见,例如,Carstensen, Drug Stability:Principles&Practice(《药物稳定性:原理与实践》),第2版,纽约州纽约市的马塞尔德克公司(Marcel Dekker),1995,第379-80页。实际上,水和热加速一些化合物的

分解。因此,水可对试剂造成显著影响,因为在制剂的制造、处理、包装、储藏、运输和使用中通常会遇到水分和 / 或潮湿。本发明的无水药物组合物和剂型可以采用无水或含水量低的成分以及低水分或低湿度环境制备。

[0113] 应以保持无水药物组合物的无水性质的方式制备并储藏该无水药物组合物。因此,优选采用已知的防水材料包装无水组合物,使它们能被装在合适的配方试剂盒中。合适的包装的示例包括但不限于,气密性密封的箔、塑料、单位剂量容器(例如,小瓶)、泡罩包装和条状包装。

[0114] 本发明还涵盖包含减小活性成分分解速率的一种或多种化合物的药物组合物和剂型。所述化合物(其在本文中称作“稳定剂”)包括但不限于,抗氧化剂(例如抗坏血酸)、pH 缓冲剂或盐缓冲剂。

[0115] 如同赋形剂的量和种类,剂型中活性成分的量 and 特定种类可视因素而不同,所述因素例如但不限于给予患者的途径。然而,包含本发明化合物或其药学上可接受的盐或水合物的本发明典型剂型包括 0.1mg ~ 1500mg/ 单位以提供约 0.01 ~ 200mg/kg/ 天的剂量。

#### 口服剂型

[0116] 本发明方法中使用的适合于经口给予的药物组合物可以是离散剂型,例如但不限于片剂(例如,咀嚼片剂)、囊片、胶囊和液体(例如,调味糖浆剂)。所述剂型包含预定量的活性成分,并且可通过本领域技术人员熟知的药学方法制备。一般参见 Remington's Pharmaceutical Sciences(《雷明顿药物科学》),第 18 版,宾西马尼亚州伊斯顿的马克出版公司(Mack Publishing), (1990)。

[0117] 本发明的典型经口剂型按照传统药学配混技术,通过使所述一种或多种活性成分紧密混合至少一种赋形剂来制备。赋形剂可以是视给予所需的制备形式而定的各种形式。例如,适用于经口液体剂型的赋形剂包括但不限于,水、二醇、油、醇类、调味剂、防腐剂和着色剂。适用于固体经口剂型(例如,粉末、片剂、胶囊和囊片)的赋形剂的示例包括但不限于淀粉、糖、微晶纤维素、稀释剂、粒化剂、润滑剂、粘合剂和分解剂。

[0118] 因为片剂和胶囊易于给予,所以它们代表了最有利的经口单位剂型,在这种情况下使用固体赋形剂。如果需要,可用标准水性或非水性技术来对片剂包衣。所述剂型可通过任何药学方法制备。药物组合物和剂型通常通过均匀、紧密地混合所述活性成分和液体运载体、细分的固体运载体或所述两种运载体,然后(若需要)使该产物成型为所需形式来制备。例如,片剂可通过压缩或成型来制备。压缩片剂可通过在合适的机器内压缩可任选与赋形剂混合的自由流动形式(例如粉末或颗粒)的活性成分来制备。成型片剂的制作方法可以是在合适的机器中将用惰性液态稀释剂湿润的粉末状化合物的混合物进行成型。

[0119] 可用于本发明的经口剂型的赋形剂的示例包括但不限于粘合剂、填充剂、分解剂和润滑剂。适用于药物组合物和剂型的粘合剂包括但不限于,谷物淀粉、马铃薯淀粉或其它淀粉、明胶、天然的和合成的树胶(如阿拉伯树胶)、藻酸钠、海藻酸、其它藻酸盐、黄芪胶粉末、瓜尔豆胶、纤维素及其衍生物(例如,乙基纤维素、乙酸钠纤维素、羧甲基纤维素钙、羧甲基纤维素钠)、聚乙烯吡咯烷酮、甲基纤维素、预凝胶化淀粉、羟丙基甲基纤维素(例如, 2208、2906、2910 号)、微晶纤维素及其混合物。

[0120] 适用于本文公开的药物组合物和剂型的填充剂的示例包括但不限于,滑石、碳酸钙(如,粒剂或粉剂)、微晶纤维素、粉末状纤维素、葡萄糖结合剂、高岭土、甘露醇、偏硅酸、

山梨醇、淀粉、预糊化淀粉,及其混合物。本发明的药物组合物中的粘合剂或填充剂通常以所述药物组合物或剂型的约 50 ~ 约 99 重量 % 存在。

[0121] 微晶纤维素的合适形式包括但不限于,以 AVICEL-PH-101、AVICEL-PH-103、AVICEL RC-581、AVICEL-PH-105 (获自宾夕法尼亚州马库斯胡克(Marcus Hook)的 FMC 公司,美国粘胶部,微晶纤维素销售处) 售卖的材料及其混合物。特定粘合剂是以 AVICEL RC-581 售卖的微晶纤维素和羧甲基纤维素钠混合物。合适的无水或水含量低的赋形剂或添加剂包括 AVICEL-PH-103<sup>TM</sup> 和 Starch1500LM。

[0122] 本发明的组合物中使用分解剂来提供在暴露于水性环境时分解的片剂。含有过多分解剂的片剂可能会在储藏中分解,而含有过少分解剂的片剂可能不以所需速率或不在所需条件下分解。因此,应使用既不过多又不过少以免不利地改变所述活性成分的释放的足量分解剂以形成本发明的固体经口剂型。所用分解剂的量根据制剂类型而不同,并且容易被本领域技术人员确定。典型的药物组合物包含约 0.5 ~ 约 15 重量 % 的分解剂,特别是约 1 ~ 约 5 重量 % 的分解剂。可用于本发明的药物组合物和剂型的分解剂包括但不限于,琼脂-琼脂、海藻酸、碳酸钙、微晶纤维素、交联羧甲基钠、交聚维酮、波拉克林钾、淀粉羟乙酸钠、马铃薯或木薯淀粉、预胶化淀粉、其它淀粉、黏土、其它藻胶、其它纤维素、树胶及其混合物。可用于本发明的药物组合物和剂型的润滑剂包括但不限于,硬脂酸钙、硬脂酸镁、矿物油、轻矿物油、甘油、山梨醇、甘露醇、聚乙二醇、其它二醇、硬脂酸、十二烷基硫酸钠、滑石、氢化植物油(例如,花生油、棉籽油、葵花油、芝麻油、橄榄油、玉米油和大豆油)、硬脂酸锌、油酸乙酯、月桂酸乙酯、琼脂及其混合物。其它润滑剂包括,例如,塞罗得(syloid) 硅胶(AEROSIL200,由马里兰州巴尔的摩(Baltimore)的 W. R. 格雷斯公司(W. R. Grace Co.) 制造)、合成二氧化硅的凝结气溶胶(由德克萨斯州普莱诺(Plano)的德固赛公司(Degussa Co.) 销售)、CAB-O-SIL(马萨诸塞州波士顿的卡博特公司(Cabot Co.) 出售的热解二氧化硅产品)及其混合物。如果使用的话,润滑剂通常以低于约 1 重量 % 的量掺入所述药物组合物或剂型使用。

#### [0123] 缓释剂型

[0124] 用于本发明方法的活性成分可以通过本领域普通技术人员熟知的控释手段或递送装置给予。示例包括但不限于,美国专利号 3,845,770、3,916,899、3,536,809、3,598,123 和 4,008,719、5,674,533、5,059,595、5,591,767、5,120,548、5,073,543、5,639,476、5,354,556 和 5,733,566 描述的那些,上述各篇文献通过引用全文纳入本文。所述剂型可用于提供一种或多种活性成分的缓慢或受控释放,例如,所述剂型使用羟丙基甲基纤维素、其它聚合物基材、凝胶、可穿透膜、渗透系统、多层包衣、微粒、脂质体、微球或其组合以提供所需的释放曲线。可以容易地选择本领域普通技术人员已知的合适的控释制剂,包括本文所述的那些,以结合本发明的活性成分使用。因此,本发明涵盖合适于经口给予的单独单位剂型,所述剂型包括但不限于适于控释的片剂、胶囊、粒状胶囊和囊片。

[0125] 所有控释药物产品的共同目标是改善药物治疗,使其优于所述药物的非控制对应物所获得的治疗。理想上,在医疗中使用优化设计的控释制剂的特点是使用最小量的药物物质在最短时间内治愈或控制病症。控释制剂的益处包括药物活性延长、给药频率减少和患者适应性增加。此外,可使用控释制剂来影响药物作用的启动时间或其它特性(例如药物在血液中的水平),因而能影响副作用(例如,反作用)的出现。



[0126] 大多数控释制剂被设计成在开始时释放迅速产生所需疗效的药物（活性成分）量，然后逐渐并持续地释放其它的药量以在更长的时间内维持该治疗或预防效果的水平。为了保持体内恒定的药物水平，所述药物必须以替代该药物经代谢并排出身体的量的速度从所述剂型释放。可通过不同条件来刺激活性成分的控释，所述条件包括但不限于 pH、温度、酶、水或其它生理条件或化合物。

#### [0127] 肠胃外剂型

[0128] 肠胃外剂型可通过多种途径给予患者，所述途径包括但不限于皮下、静脉内（包括推注）、肌肉内和动脉内。因为肠胃外剂型的给予通常绕过患者针对污染物的天然防御，所以肠胃外剂型优选是无菌的，或者能够在给予患者前消毒。肠胃外剂型的示例包括但不限于，可注射的溶液、可在药学上可接受的载剂中溶解或悬浮以供注射的干燥和 / 或冻干产物（可复水的粉末）、可注射的悬液，以及乳剂。

[0129] 可用于提供本发明的肠胃外剂型的合适载剂是本领域技术人员熟知的。示例包括但不限于：用于注射 USP 的水；水性载剂如但不限于氯化钠注射液、林格注射液、右旋糖注射液、右旋糖和氯化钠注射液，以及乳酸林格注射液；水混溶性载剂如但不限于乙醇、聚乙二醇和聚丙二醇；和非水性载剂如但不限于玉米油、棉籽油、花生油、芝麻油、油酸乙酯、肉豆蔻酸异丙酯和苯酸苄酯。

[0130] 还可在本发明的肠胃外剂型中掺入增加本文公开的一种或多种活性成分的溶解度的化合物。

#### [0131] 经皮剂型

[0132] 所述经皮剂型包括“储器型”或“基质型”贴片，其可应用于皮肤且佩戴一定时间，以允许所需量的活性成分穿透。

[0133] 可用于提供本发明涵盖的经皮和局部剂型的合适赋形剂（例如，运载体和稀释剂）和其它物质是药学领域技术人员熟知的，并且取决于将要被施予药物组合物或剂型的特定组织。基于该事实，所述局部赋形剂包括但不限于水、丙酮、乙醇、乙二醇、丙二醇、1, 3- 丁二醇、肉豆蔻酸异丙酯、棕榈酸异丙酯、矿物油及其混合物。

[0134] 根据需治疗的特定组织，可在用本发明活性成分治疗之前、同时或之后使用其它成分。例如，可使用穿透促进剂来协助所述活性成分递送至所述组织。合适的穿透促进剂包括但不限于：丙酮；各种醇如乙醇、油醇和四氢呋喃；烷基亚砷如二甲基亚砷；二甲基乙酰胺；二甲基甲酰胺；聚乙二醇；吡咯烷酮如聚乙烯吡咯烷酮；科利当（Kollidon）级（聚乙烯吡咯酮、聚维酮）；尿素；和各种水溶性或不溶性糖酯如吐温 80（聚山梨醇酯 80）和司盘 60（山梨醇酐单硬脂酸酯）。

[0135] 还可调节药物组合物或剂型的 pH，或者调节施加所述药物组合物或剂型的组织的 pH，以改善一种或多种活性成分的递送。类似地，可调节溶剂运载体的极性、其离子强度或肌肉弹性来改善递送。还可向药物组合物或剂型添加化合物（例如硬脂酸盐）以有利地改变一种或多种活性成分的亲水性或亲脂性，从而改善递送。在该方面，硬脂酸盐可用作制剂的脂质载剂，用作乳化剂或表面活性剂，以及用作递送增强剂或穿透促进剂。可使用所述活性成分的不同盐、水合物或溶剂化物来进一步调节所得组合物的性质。

#### [0136] 局部剂型

[0137] 本发明的局部剂型包括但不限于，乳膏剂、洗剂、软膏、凝胶、溶液、乳液、混悬液或

本领域技术人员已知的其它形式。参见,例如 Remington's Pharmaceutical Sciences(《雷明顿药物科学》),第 18 版,宾夕法尼亚州伊斯顿的马克出版公司 (Mack Publishing) (1990);和 Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms(《药物剂型导论》),第 4 版,费城的 Lea&Febiger 公司 (1985)。

[0138] 可用于提供本发明涵盖的经皮和局部剂型的合适赋形剂(例如,运载体和稀释剂)和其它物质是药学领域技术人员熟知的,并且取决于将要被施予药物组合物或剂型的特定组织。基于该事实,典型的赋形剂包括但不限于水、丙酮、乙醇、乙二醇、丙二醇、1,3-丁二醇、肉豆蔻酸异丙酯、棕榈酸异丙酯、矿物油及其混合物。

[0139] 根据需治疗的特定组织,可在用本发明活性成分治疗之前、同时或之后使用其它成分。例如,可使用渗透促进剂来协助所述活性成分递送至所述组织。合适的渗透促进剂包括但不限于:丙酮;各种醇如乙醇、油醇和四氢呋喃;烷基亚砷如二甲基亚砷;二甲基乙酰胺;二甲基甲酰胺;聚乙二醇;吡咯烷酮如聚乙烯吡咯烷酮;科利当(Kollidon)级(聚乙烯吡咯酮、聚维酮);尿素;和各种水溶性或不溶性糖酯如吐温 80(聚山梨醇酯 80)和司盘 60(山梨醇酐单硬脂酸酯)。

#### [0140] 粘膜剂型

[0141] 本发明的粘膜剂型包括但不限于眼药溶液和喷雾剂,或本领域技术人员已知的其它形式。参见,例如 Remington's Pharmaceutical Sciences(《雷明顿药物科学》),第 18 版,宾夕法尼亚州伊斯顿的马克出版公司 (Mack Publishing) (1990);和 Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms(《药物剂型导论》),第 4 版,费城的 Lea&Febiger 公司 (1985)。

[0142] 除前述制剂外,还可将本发明方法中所用的化合物配制成长效制剂。这种长效制剂可通过植入(例如皮下或肌肉内植入)或肌肉内注射给药。因此,例如,化合物也可与合适的聚合物材料或疏水材料(例如,用可接受的油配制成乳剂)或离子交换树脂配制在一起,或者配制成微溶性衍生物,例如,微溶性盐。

[0143] 或者,可使用其它药物递送系统。脂质体、乳液、自乳化 (SEDDS) 和自微乳化系统 (SMEDDS) 是递送载体的熟知示例,所述递送载体可用于递送本发明的组合物。所述系统还包括脂肪酸、胆汁盐和甘油一酯、甘油二酯和甘油三酯的混合物以改善可能的食用效果。其它功能性脂质赋形剂包括甘油酯类、PEG 酯类、丙二醇酯类和聚甘油酯类。还可使用某些有机溶剂(例如,二甲亚砷),尽管通常以较大毒性为代价。本发明的化合物还可在控释系统内递送。在一个实施方式中,可以使用泵 (Sefton, CRC Crit. Ref Biomed Eng., 1987, 14, 201; Buchwald 等, Surgery, 1980, 88, 507; Saudek 等, N. Engl. J. Med., 1989, 321, 574)。在另一个实施方式中,可以使用聚合物材料(参见 Medical Applications of Controlled Release(《控释的医学应用》), Langer 和 Wise(编), 佛罗里达州波卡拉顿(Boca Raton)的 CRC 出版社 (CRC Pres.) (1974); Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance(《受控药物的生物利用度, 药物产品设计和性能》), Smolen 和 Ball(编), 纽约的威利出版社 (Wiley) (1984); Ranger 和 Peppas, J. Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem., 1983, 23, 61; 还参见 Levy 等, Science, 1985, 228, 190; During 等, Ann. Neurol., 1989, 25, 351; Howard 等, J. Neurosurg., 71, 105 (1989)。在又一实施方式中,可将控释系统放置于本发明化合物的靶

点附近,因此仅需要全身剂量的一部分(参见,例如, Goodson, Medical Applications of Controlled Release(《控释的医学应用》),同上,第2卷,第115页(1984))。可使用其它控释系统(参见,例如, Langer, Science, 1990, 249, 1527)。

[0144] 可用于提供本发明涵盖的粘膜剂型的合适赋形剂(例如,运载体和稀释剂)和其它物质是药学领域技术人员熟知的,并且取决于将要被施与给定的药物组合物或剂型的特定定位点或方法。基于该事实,典型的赋形剂包括但不限于无毒且药学上可接受的水、乙醇、乙二醇、丙二醇、1,3-丁二醇、肉豆蔻酸异丙酯、棕榈酸异丙酯、矿物油及其混合物。本领域熟知此类添加组分的例子。参见,例如, Remington's Pharmaceutical Sciences(《雷明顿药物科学》),第18版,宾西马尼亚州伊斯顿的马克出版公司(Mack Publishing), (1990)。

[0145] 还可调节药物组合物或剂型的pH,或者调节施加所述药物组合物或剂型的组织的pH,以改善一种或多种活性成分的递送。类似地,可调节溶剂运载体的极性、其离子强度或肌肉弹性来改善递送。还可向药物组合物或剂型添加化合物(例如硬脂酸盐)以有利地改变一种或多种活性成分的亲水性或亲脂性,从而改善递送。在该方面,硬脂酸盐可用作制剂的脂质载剂,用作乳化剂或表面活性剂,以及用作递送增强剂或穿透促进剂。可使用所述活性成分的不同盐、水合物或溶剂化物来进一步调节所得组合物的性质。

#### [0146] 试剂盒

[0147] 本发明提供包括含有本发明化合物的一个或多个容器的药物包或试剂盒,所述化合物有利于降低血清尿酸和治疗或预防例如痛风或高尿酸血症。在其它实施方式中,本发明提供包括含有本发明化合物的一个或多个容器和含有其它治疗剂的一个或多个容器的药物包或试剂盒,所述化合物有利于降低血清尿酸和治疗或预防痛风或高尿酸血症。

[0148] 本发明还提供包括一个或多个容器的药物包或试剂盒,所述容器包含本发明药物组合物的一种或多种成分。所述容器任选附有管理药品或生物制品的生产、使用或销售的政府机构规定的告知书,该告知书反映出生产、使用或销售管理机构批准其用于人体。

[0149] 本发明试剂可使用下文所述的反应途径和合成方案,利用本领域已知的一般技术,采用易于获得的起始材料制备。本发明的非示例性化合物的合成可以通过本领域技术人员显而易见的修改来成功地进行,例如,通过合适地保护干扰基团,通过换用本领域已知的其它合适试剂,或通过改变反应条件进行常规修改。或者,可以认识到,本文公开的或本领域公知的其它反应具有制备本发明其它化合物的适用性。

#### [0150] 化合物的制备

[0151] 在下文所述的合成方案中,除非另有说明,所有温度以摄氏度计,且所有份数和百分数以重量计。试剂购自市场供应商,例如艾尔德里奇化学公司(Aldrich Chemical Company)或阿法埃莎公司(Alfa Aesar.),并且除非另有说明,使用前不经进一步纯化。全部溶剂购自市场供应商,例如艾尔德里奇(Aldrich)、EMD化学公司或费舍尔公司(Fisher)并直接使用。以下反应通常在氩气或氮气的正压于室温(除非另有说明)在无水溶剂中进行,并且反应烧瓶装有的橡胶隔片以供通过注射器引入底物和试剂。玻璃器具经烘箱干燥和/或加热干燥。

[0152] 所述反应由TLC检测和/或由LC-MS或HPLC分析,并且根据起始物质的消耗判断是否结束。分析薄层色谱(TLC)在预被覆硅胶60F<sub>254</sub>0.25mm板(EMD化学公司)的玻璃板上进行,并采用紫外光(254nm)和/或硅胶上的碘和/或采用TLC染剂的加热来观测,所述染

剂例如磷钼酸乙醇、茛三酮溶液、高锰酸钾溶液或硫酸高铈溶液。制备型薄层色谱（制备型 TLC）在预被覆硅胶 60F<sub>254</sub> 0.5mm 板（20×20cm，来自汤姆森仪器公司（Thomson Instrument Company））的玻璃板上进行，并采用紫外光（254nm）观测。

[0153] 通常用反应溶剂或萃取溶剂使反应体积加倍，接着使用 25 体积 % 萃取体积（除非另外说明）的所示水性溶液洗涤，由此完成后处理。产物溶液经无水硫酸钠和 / 或硫酸镁干燥后过滤，然后在旋转蒸发仪上减压蒸发溶剂，并以真空去除的溶剂注明。柱色谱使用 Merck 硅胶 60, 230-400 目或 50-200 目中性氧化铝在正压下进行，Teledyne Isco 快速色谱使用预填充的 RediSep 硅胶柱，或 Analogix 快速柱色谱使用预填充的 SuperFlash 硅胶柱。在实施例中说明的压力下或在环境压力下进行氢解作用。

[0154] 在以 400MHz 操作的 Varian Mercury-VX400 仪器上记录 <sup>1</sup>H-NMR 谱和 <sup>13</sup>C-NMR。以 CDCl<sub>3</sub> 溶液（以 ppm 报告），使用参比标准的氯仿（对质子 7.27ppm，且对碳 77.00ppm）、CD<sub>3</sub>OD（对质子 3.4 和 4.8ppm，且对碳 49.3ppm）、DMSO-d<sub>6</sub>（对质子 2.49ppm）或适时使用内部的四甲基硅烷（0.00ppm）获得 NMR 谱。若需要，可使用其它 NMR 溶剂。当报导峰多样性时，使用以下缩写：s（单峰）、d（双峰）、t（三峰）、q（四峰）、m（多峰）、br（宽峰）、bs（单宽峰）、dd（双二重峰）、dt（双三重峰）。当给出耦合常数时，以赫兹（Hz）为单位报导。

[0155] 在 ATR FT-IR 光谱仪上以纯油或固体记录红外线（IR）谱，并在给出时以波数（cm<sup>-1</sup>）报告。报告的质谱是通过安那迪斯药品公司（Anadys Pharmaceuticals, Inc.）的分析化学部实施的 (+)-ES 或 APCI(+)-LC/MS。元素分析由佐治亚州诺克斯（Norcross）的大西洋微观实验室公司（Atlantic Microlab, Inc.）实施。在开放毛细管装置上测定熔点（mp），这些熔点是未经校正的。

[0156] 对映体过量（ee）值使用 Chiralpak（手性技术公司（Chiral Technologies Inc.））柱 AS-RH, 2.1×150mm, 5 μm, λ=312nm 或 AS-RH, 4.6×250mm, 5 μm, λ=310nm 通过 HPLC 分析测定。AS-RH, 2.1×150mm, 5 μm：二元梯度 HPLC 分离。溶剂 A：内含 0.1% 甲酸的水，溶剂 B：内含 0.1% 甲酸的乙腈。使注射的 10 μL 样品在 50% 甲醇～50% 水中溶解 [0.1mg/mL]。

[0157]

	时间(分钟)	%B	流速(mL/分钟)
	0.0	55	0.3
	5.0	95	0.3
	5.5	95	0.3
[0158]	6.0	55	0.3
	12.0	55	0.3

[0159] AS-RH, 4.6×250mm, 5 μm：二元梯度 HPLC 分离。溶剂 A：内含 0.05%TFA 的水，溶剂 B：内含 0.05%TFA 的乙腈。注射的 3～5 μL 样品在乙腈中溶解 [1mg/mL]。

[0160]

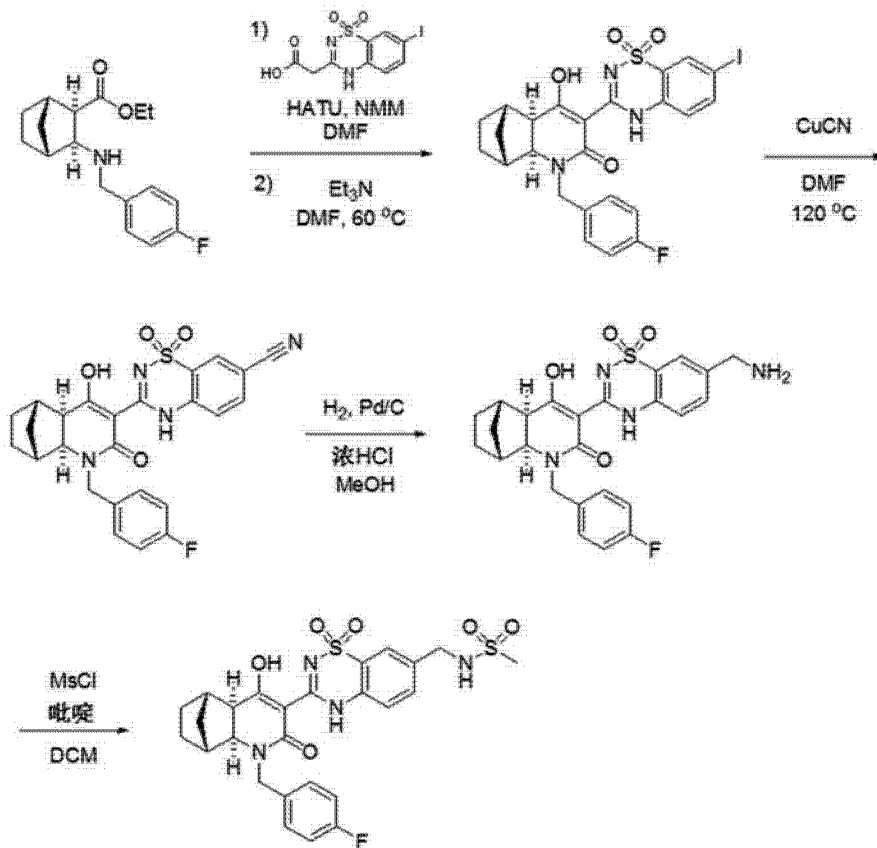
时间(分钟)	%B	流速(mL/分钟)
0.0	50	0.8
8.0	95	0.8
10.0	95	0.8
11.0	50	0.8
13.0	50	0.8

[0161] 所述的合成途径和实验方案使用许多常规化学缩写: 2, 2-DMP (2, 2-二甲氧基丙烷)、Ac (乙酰基)、ACN (乙腈)、Bn (苄基)、BnOH (苯甲醇)、Boc (叔丁氧基羰基)、Boc<sub>2</sub>O (二碳酸二叔丁酯)、Bz (苯甲酰基)、CSA (樟脑磺酸)、CSI (氯代磺酰基异氰酸酯)、DBU (1, 8-二氮杂双环 [5, 4, 0] 十一碳 -7- 烯)、DCC (N, N'-二环己基碳二亚胺)、DCE (1, 2-二氯乙烷)、DCM (二氯甲烷)、DEAD (偶氮二羧酸二乙酯)、DIBAL (二异丁基氢化铝)、DIEA (二异丙基乙胺)、DMA (N, N-二甲基乙酰胺)、DMAP (4-(N, N-二甲基氨基) 吡啶)、DMF (N, N-二甲基甲酰胺)、DMSO (二甲亚砜)、EDC (1-(3-二甲基氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐)、Et (乙基)、EtOAc (乙酸乙酯)、EtOH (乙醇)、HATU (O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-1, 1, 3, 3-四甲基脲鎓六氟磷酸盐)、HBTU (O-苯并三唑-1-基-N, N, N', N'-四甲基脲鎓六氟磷酸盐)、HF (氟化氢)、HOAc (乙酸)、HOBT (1-羟基苯并三唑水合物)、HPLC (高压液相色谱)、IPA (异丙醇)、KHMDs (双(三甲基甲硅烷基)酰胺钾)、KN(TMS)<sub>2</sub> (双(三甲基甲硅烷基)酰胺钾)、KO<sup>t</sup>Bu (叔丁醇钾)、LDA (二异丙基氨基锂)、MCPBA (3-氯过苯甲酸)、Me (甲基)、MeCN (乙腈)、MeOH (甲醇)、NaCNBH<sub>3</sub> (氰基硼氢化钠)、NaH (氢化钠)、NaN(TMS)<sub>2</sub> (双(三甲基甲硅烷基)酰胺钠)、NaOAc (乙酸钠)、NaOEt (乙醇钠)、NEt<sub>3</sub> (三乙胺)、NMM (N-甲基吗啉)、Phe (苯丙氨酸)、PPTS (对甲苯磺酸吡啶鎓)、PS (聚合物负载的)、Py (吡啶)、pyBOP (苯并三唑-1-基氧基) 三吡咯烷基鎓六氟磷酸盐)、TEA (三乙胺)、TFA (三氟乙酸)、TFAA (三氟乙酸酐)、THF (四氢呋喃)、TLC (薄层色谱)、Tol (甲苯酰)、Val (缬氨酸) 等。

[0162] 方案 1 提供用于制备实施例 1 的化合物, N-亚甲基甲磺酰胺 [1, 2, 4] 噻二嗪 1, 1-二氧化物衍生物的详细过程。

[0163] 方案 1

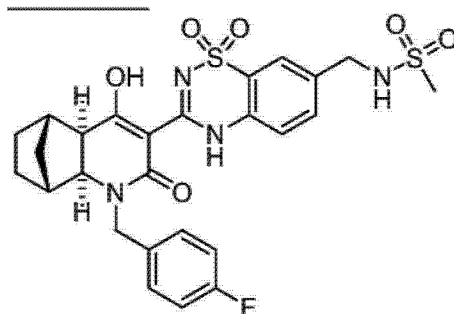
[0164]



[0165] 在O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基脲鎗六氟磷酸盐 (HATU) 和N-甲基吗啉存在下使所示N-取代的环 $\beta$ -氨基酸酯中间体偶联(7-碘-1,1-二氧化-1,4-二氢-1 $\lambda^6$ -苯并[1,2,4]噻二嗪-3-基)-乙酸(如W02007150001A1所述制备)以获得酰胺中间体,使该酰胺中间体在三乙胺存在下环化以获得所需的环状中间体。用氰化亚铜(I)置换碘部分以获得所需的脘中间体。在标准氢化条件下还原所述脘生成所需的苄胺衍生物,然后用甲磺酰氯处理该苄胺衍生物以获得所需的[1,2,4]噻二嗪1,1-二氧化物化合物。

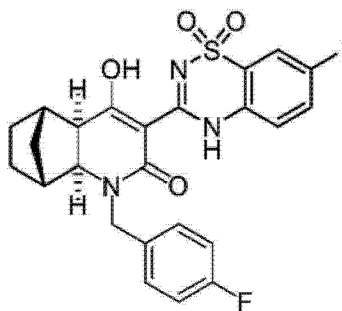
[0166] 实施例 1N-{3-[(1R,2S,7R,8S)-3-(4-氟-苄基)-6-羟基-4-氧代-3-氮杂-三环[6.2.1.0<sup>2,7</sup>]十一碳-5-烯-5-基]-1,1-二氧化-1,4-二氢-1 $\lambda^6$ -苯并[1,2,4]噻二嗪-7-基甲基}-甲磺酰胺

[0167]



[0168] a) (1R,2S,7R,8S)-3-(4-氟-苄基)-6-羟基-5-(7-碘-1,1-二氧化-1,4-二氢-1 $\lambda^6$ -苯并[1,2,4]噻二嗪-3-基)-3-氮杂-三环[6.2.1.0<sup>2,7</sup>]十一碳-5-烯-4-酮

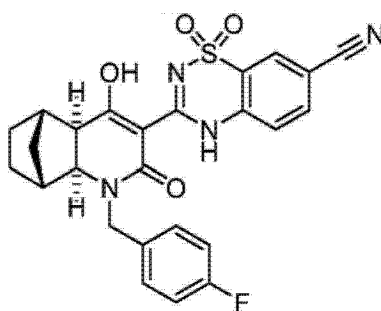
[0169]



[0170] 合并 (7-碘-1,1-二氧化-1,4-二氢-1 $\lambda^6$ -苯并[1,2,4]噻二嗪-3-基)-乙酸 (如美国专利申请 US2008/0031852 所述制备; 2.51g, 6.86mmol)、(1S, 2R, 3S, 4R)-3-(4-氟-苄基氨基)-二环[2.2.1]庚烷-2-羧酸乙酯 (用于制备  $\beta$ -氨基酸中间体, 参见下文所述的实施例 2f ~ 1) (2g, 6.86mmol) 和 O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲鎓六氟磷酸盐 (2.74g, 7.2mmol) 并使其溶解于无水 N,N-二甲基甲酰胺 (18mL)。添加 N-甲基吗啉 (3mL, 27.44mmol) 并使该混合物在 25°C 搅拌 2 小时。添加三乙胺 (3.82mL, 27.44mmol) 并使该混合物在 60°C 搅拌 16 小时。冷却后, 将该混合物缓慢添加至搅拌中的 1.0M 水性盐酸溶液 (200mL)。产物立即沉淀。搅拌持续 5 分钟。通过真空过滤收集所述固体, 用水冲洗 (2 $\times$ 60mL) 并真空干燥 16 小时, 以获得白色脆性泡沫状的所需产物, (1S, 2R, 3S, 4R)-3-(4-氟-苄基)-6-羟基-5-(7-碘-1,1-二氧化-1,4-二氢-1 $\lambda^6$ -苯并[1,2,4]噻二嗪-3-基)-3-氮杂-三环[6.2.1.0<sup>2,7</sup>]十一碳-5-烯-4-酮 (1.94g, 3.27mmol, 48%)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ : 1.20-1.23 (1H, m), 1.38-1.61 (5H, m), 2.50-2.53 (1H, m), 2.62 (1H, d, J=3.2Hz), 2.98 (1H, d, J=9.3Hz), 3.52 (1H, d, J=9.4Hz), 4.40 (1H, d, J=15.7Hz), 4.95 (1H, d, J=14.9Hz), 7.12-7.16 (2H, m), 7.30-7.34 (3H, m), 7.97 (1H, dd, J<sub>1</sub>=8.6Hz, J<sub>2</sub>=1.4Hz), 8.07 (1H, d, J=1.7Hz)。

[0171] b) (1R, 2S, 7R, 8S)-3-[3-(4-氟-苄基)-6-羟基-4-氧代-3-氮杂-三环[6.2.1.0<sup>2,7</sup>]十一碳-5-烯-5-基]-1,1-二氧化-1,4-二氢-1 $\lambda^6$ -苯并[1,2,4]噻二嗪-7-腈

[0172]

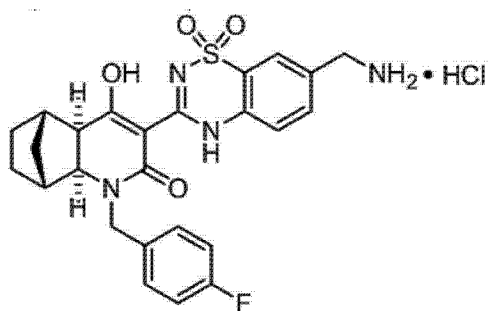


[0173] 使 (1R, 2S, 7R, 8S)-3-(4-氟-苄基)-6-羟基-5-(7-碘-1,1-二氧化-1,4-二氢-1 $\lambda^6$ -苯并[1,2,4]噻二嗪-3-基)-3-氮杂-三环[6.2.1.0<sup>2,7</sup>]十一碳-5-烯-4-酮 (0.5g, 0.84mmol) 和氰化亚铜 (I) (0.151g, 1.7mmol) 悬浮于无水 N,N-二甲基甲酰胺 (4mL) 中。于 120°C, 在氮气下搅拌该混合物 24 小时。冷却后, 所述混合物用乙酸乙酯 (20mL) 稀释, 并用饱和氯化铵水溶液洗涤 (3 $\times$ 15mL)。使有机相通过硅藻土 (Celite) 短塞, 然后通过硅胶 (默克 (Merck) 硅胶 60, 40-63  $\mu$ m) 短塞, 用乙酸乙酯洗脱。真空浓缩滤液以获得黄色固体。通过快速柱色谱 (Teledyne Isco RediSep 柱; 25-100% 乙酸乙酯的己烷溶液) 纯化,

然后真空浓缩获得白色脆性泡沫状的所需产物, (1R, 2S, 7R, 8S)-3-[3-(4-氟-苄基)-6-羟基-4-氧代-3-氮杂-三环[6.2.1.0<sup>2,7</sup>]十一碳-5-烯-5-基]-1,1-二氧化-1,4-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并[1,2,4]噻二嗪-7-腈 (0.398g, 0.808mmol, 96%)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 1.15-1.15(1H, m), 1.34-1.61(5H, m), 2.48-2.48(1H, m), 2.60(1H, d, J=3.3Hz), 2.90(1H, d, J=9.4Hz), 3.48(1H, d, J=9.4Hz), 4.38(1H, d, J=15.6Hz), 4.96(1H, d, J=15.4Hz), 7.11-7.16(2H, m), 7.31(2H, dd, J<sub>1</sub>=8.6Hz, J<sub>2</sub>=5.4Hz), 7.60(1H, d, J=8.6Hz), 8.02(1H, dd, J<sub>1</sub>=8.6Hz, J<sub>2</sub>=2.5Hz), 8.37(1H, s)。C<sub>25</sub>H<sub>21</sub>FN<sub>4</sub>O<sub>4</sub>S 的 LC-MS(ESI) 计算值为 492.13, 测量值为 [M+H<sup>+</sup>]493.1。

[0174] c) (1R, 2S, 7R, 8S)-5-(7-氨基甲基-1,1-二氧化-1,4-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并[1,2,4]噻二嗪-3-基)-3-(4-氟-苄基)-6-羟基-3-氮杂-三环[6.2.1.0<sup>2,7</sup>]十一碳-5-烯-4-酮盐酸盐

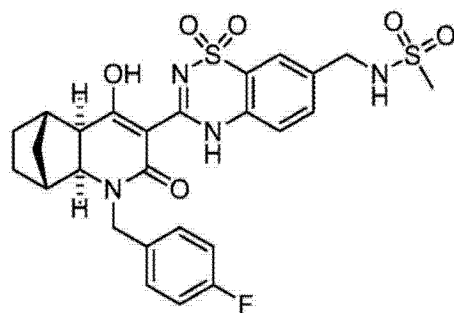
[0175]



[0176] 使 (1R, 2S, 7R, 8S)-3-[3-(4-氟-苄基)-6-羟基-4-氧代-3-氮杂-三环[6.2.1.0<sup>2,7</sup>]十一碳-5-烯-5-基]-1,1-二氧化-1,4-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并[1,2,4]噻二嗪-7-腈 (0.38g, 0.77mmol) 溶解于甲醇 (需要通过加热枪温和加热)。添加浓缩的水性盐酸溶液 (5mL), 然后添加 10% 钨碳 (约 150mg)。使该混合物脱气并通过气囊回填氢气。使该混合物在 25°C 搅拌 3 小时。使该混合物通过硅藻土塞, 用额外的甲醇 (200mL) 洗脱。使滤液真空浓缩以获得淡黄色固体形式的所需产物, (1R, 2S, 7R, 8S)-5-(7-氨基甲基-1,1-二氧化-1,4-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并[1,2,4]噻二嗪-3-基)-3-(4-氟-苄基)-6-羟基-3-氮杂-三环[6.2.1.0<sup>2,7</sup>]十一碳-5-烯-4-酮盐酸盐 (约 0.77mmol)。该固体无需进一步纯化或表征, 直接用于下一步骤。C<sub>25</sub>H<sub>25</sub>FN<sub>4</sub>O<sub>4</sub>S 的 LC-MS(ESI) 计算值是 496.16, 测量值是 [M+H<sup>+</sup>]497.3。

[0177] d) N-{3-[ (1R, 2S, 7R, 8S)-3-(4-氟-苄基)-6-羟基-4-氧代-3-氮杂-三环[6.2.1.0<sup>2,7</sup>]十一碳-5-烯-5-基]-1,1-二氧化-1,4-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并[1,2,4]噻二嗪-7-基甲基}-甲磺酰胺

[0178]



[0179] 使 (1R, 2S, 7R, 8S)-5-(7-氨基甲基-1,1-二氧化-1,4-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并[1,2,4]噻

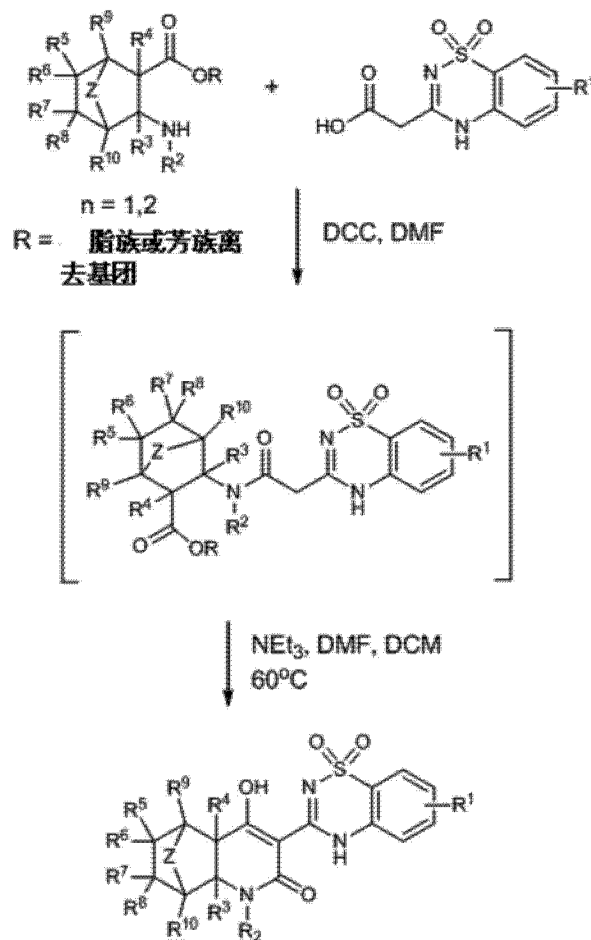


二嗪-3-基)-3-(4-氟-苄基)-6-羟基-3-氮杂-三环[6.2.1.0<sup>2,7</sup>]十一碳-5-烯-4-酮盐酸盐(前述步骤的粗产物,约0.77mmol)溶解于二氯甲烷(10mL)。添加三乙胺(2mL)和吡啶(2mL)。添加甲磺酰氯(2mL)并使该混合物在25°C搅拌20分钟。添加水(50mL)并使该混合物搅拌5分钟。所述溶液用乙酸乙酯(200mL)稀释,并用1.0M盐酸水溶液(3×300mL)、饱和的氯化铵水溶液(2×200mL)和饱和的盐水溶液(200mL)洗涤。有机相用硫酸镁干燥,过滤并真空浓缩以获得澄清油状物。通过快速柱色谱(Teledyne Isco RediSep柱;内含25-100%乙酸乙酯的己烷)纯化,然后真空浓缩以获得白色脆性泡沫状的所需产物, N-{3-[(1R,2S,7R,8S)-3-(4-氟-苄基)-6-羟基-4-氧代-3-氮杂-三环[6.2.1.0<sup>2,7</sup>]十一碳-5-烯-5-基]-1,1-二氧化-1,4-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并[1,2,4]噻二嗪-7-基甲基}-甲磺酰胺(0.139g,0.238mmol,31%)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ:1.19-1.25(1H,m),1.40-1.64(5H,m),2.50-2.54(1H,m),2.64(1H,d,J=2.5Hz),2.92(3H,s),3.04(1H,d,J=8.8Hz),3.53(1H,d,J=9.5Hz),4.25(2H,d,J=6.2Hz),4.42(1H,d,J=15.8Hz),4.97(1H,d,J=14.7Hz),7.12-7.17(2H,m),7.33(2H,dd,J<sub>1</sub>=7.7Hz,J<sub>2</sub>=5.4Hz),7.52(1H,d,J=8.7Hz),7.63-7.70(2H,m),7.81(1H,s)。C<sub>26</sub>H<sub>27</sub>FN<sub>4</sub>O<sub>6</sub>S<sub>2</sub>的LC-MS(ESI)计算值为574.14,测量值为[M+H<sup>+</sup>]575.3。

[0180] 方案2提供可用于制备实施例2、3、5、6、7、9、10和11的饱和5,6-二氢-1H-吡啶-2-酮化合物的一般方法。

[0181] 方案2

[0182]

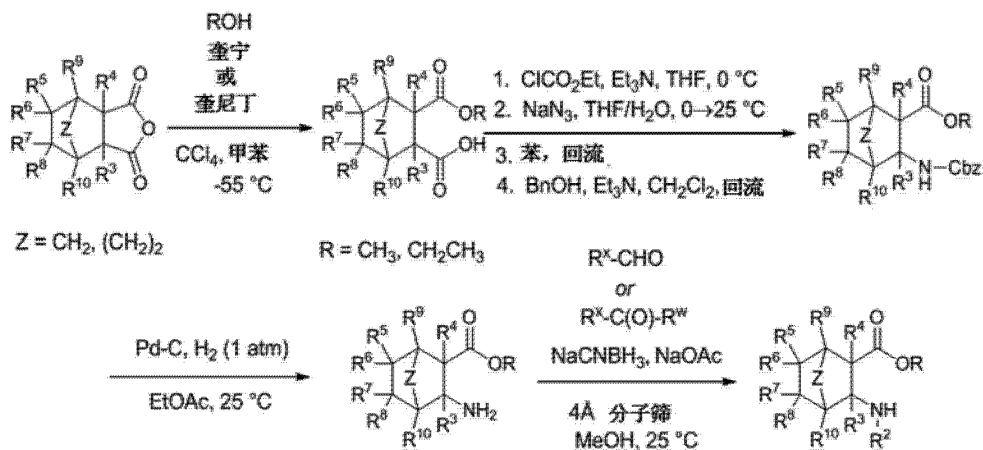


[0183] 饱和的环状N-取代的-β-氨基酸酯中间体可通过所述的方案2a~e中的方法

之一获得,可使用用于形成酰胺键(例如 DCC)的标准肽偶联条件使该物质和羧酸中间体缩合以生成所示酰胺。可使该中间体在碱(例如,三乙胺)存在下经分离或不经分离而环化以获得所需的饱和 5,6-二氢-1H-吡啶-2-酮化合物。

[0184] 方案 2a

[0185]

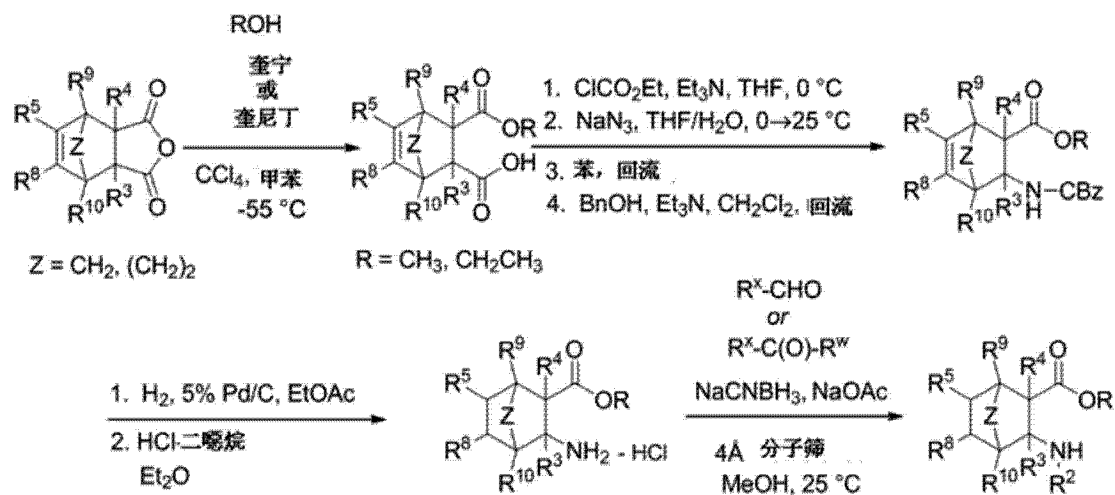


[0186] 如文献所述,可在酶或手性试剂(例如金鸡纳生物碱(例如,奎宁或奎尼丁))的协助下使市售可得的饱和环状内消旋酸酐去对称(desymmetrized),得到光学活性饱和环状二羧酸单酯。参见 J. Org. Chem., 65, 6984-6991 (2000); Synthesis, 11, 1719-1730 (2001) 及其中引用的文献。可通过重排反应(例如库尔修斯(Curtius)重排反应(示出))或霍夫曼(Hofmann)降解使这些中间体进一步精细化成受保护的(例如 Cbz 保护的)光学活性饱和环状  $\beta$ -氨基酸酯。可采用所述受保护的饱和环状  $\beta$ -氨基酸酯在标准条件下的氢化来去除保护基团,从而提供所述光学活性的饱和环状  $\beta$ -氨基酸酯,其能以游离碱或其相应的盐被分离(和使用)。然后,用醛或酮处理所述光学活性的饱和环状  $\beta$ -氨基酸酯(或其盐),其中  $R^X$  和  $R^W$  独立地是  $C_1$ - $C_5$  烷基、 $C_3$ - $C_8$  环烷基、 $-C_1$ - $C_5$  亚烷基( $C_3$ - $C_8$  环烷基)、 $-C_1$ - $C_5$  亚烷基(芳基)、 $-C_1$ - $C_5$  亚烷基(杂环基)、芳基或杂环基,或者  $R^W$  可在还原剂(例如氰基硼氢化钠)的存在下与  $R^X$  合并以形成 3~8 元环,以获得所需的光学活性的饱和环状 N-取代的  $\beta$ -氨基酸酯中间体。或者,可不使用导致相应非手性中间体和产物的酶或手性试剂进行上述反应顺序。

[0187] 方案 2b 提供可用于从不饱和酸酐制备环状 N-取代的  $\beta$ -氨基酸酯中间体的一般方法。

[0188] 方案 2b

[0189]

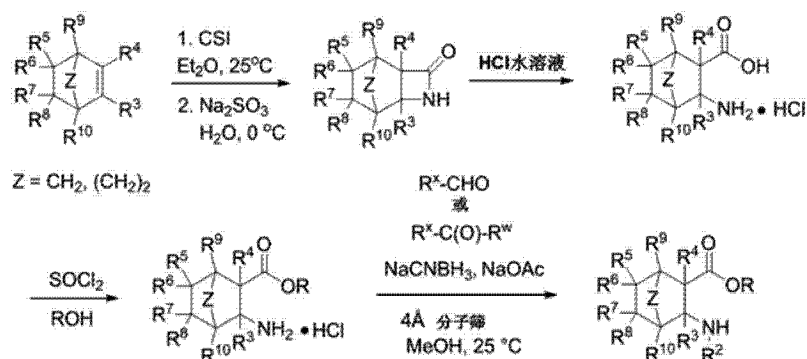


[0190] 如上文方案 2b 所述,可使市售可得的不饱和环状内消旋酸酐去对称,以提供光学活性的不饱和环状二羧酸单酯。通过重排反应(例如库尔修斯重排(示出))或霍夫曼降解使这些中间体进一步精细化成受保护的(例如, CBz 保护的)光学活性不饱和环状  $\beta$ -氨基酸酯。然后可去除该 CBz 保护基团并通过催化氢化还原烯烃,从而形成所述光学活性的不饱和环状  $\beta$ -氨基酸酯中间体,其能以盐或其对应游离碱的形式被分离(和使用)。

[0191] 方案 2c 提供可用于制备饱和环状 N-取代的  $\beta$ -氨基酸酯中间体的替代性一般方法。

[0192] 方案 2c

[0193]

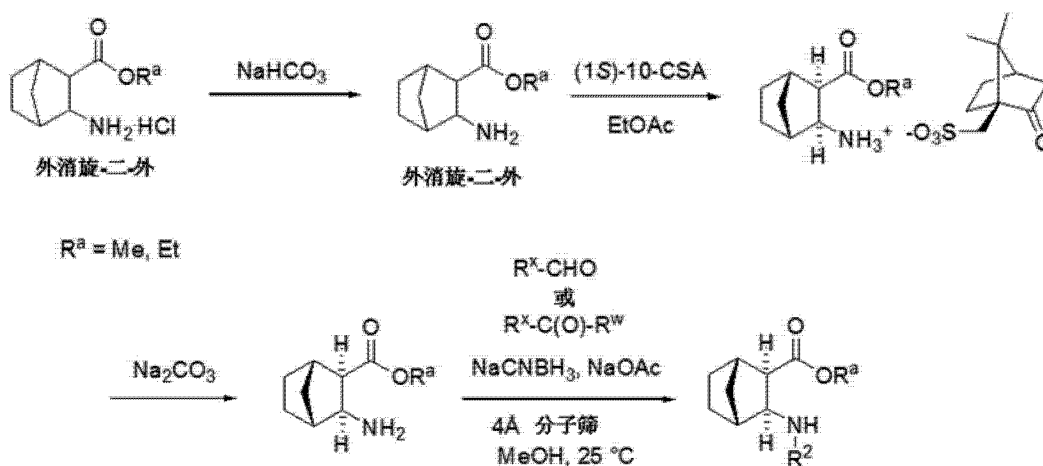


[0194] 二环烯烃,例如降冰片烯,可与氯代磺酰基异氰酸酯反应以生成所示  $\beta$ -内酰胺。可使这些中间体在强酸(例如盐酸)存在下水解以获得所述饱和环状  $\beta$ -氨基酸(或其盐),其可接着在标准条件下被进一步精细化成相对应的酯。然后,可在还原剂(例如氰基硼氢化钠)存在下使用醛或酮处理该饱和的环状  $\beta$ -氨基酸酯,以获得所需的饱和环状 N-取代的  $\beta$ -氨基酸酯中间体。

[0195] 方案 2d 提供的一般方案描述可用来通过非对映异构体结晶来拆分二-外-对映体(di-exo enantiomers)的方法。

[0196] 方案 2d

[0197]

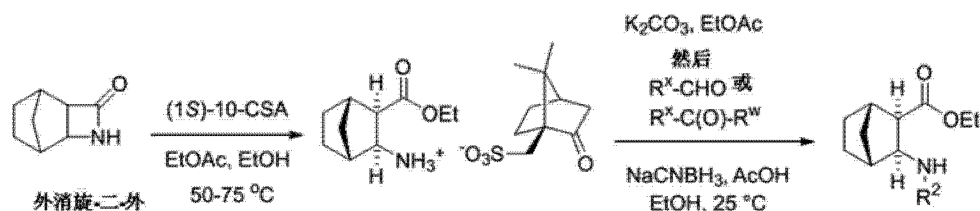


[0198] 可通过用光学纯的酸（例如 (1S)-(+)-10-樟脑磺酸）形成非对映体盐来拆分如上所述由降冰片烯获得的外消旋二-外- $\beta$ -氨基酸酯衍生物。用 (1S)-(+)-10-樟脑磺酸形成结晶盐的 (1R, 2R, 3S, 4S)- $\beta$ -氨基酸酯衍生物可以选择性地通过从合适的溶剂（例如，乙酸乙酯）过滤来分离，并用碱（例如碳酸钠）处理，以获得游离的对映异构纯的环状 (1R, 2R, 3S, 4S)- $\beta$ -氨基酸酯。然后，可在还原剂（例如氰基硼氢化钠）存在下用醛或酮处理所述光学纯的环状 (1R, 2R, 3S, 4S)- $\beta$ -氨基酸酯（或其盐），以获得所需的光学纯的饱和环状 N-取代的-(1R, 2R, 3S, 4S)- $\beta$ -氨基酸酯中间体。

[0199] 方案 2e 提供可用于制备对映异构纯的饱和环状 N-取代的- $\beta$ -氨基酸酯中间体的替代性方法。

[0200] 方案 2e

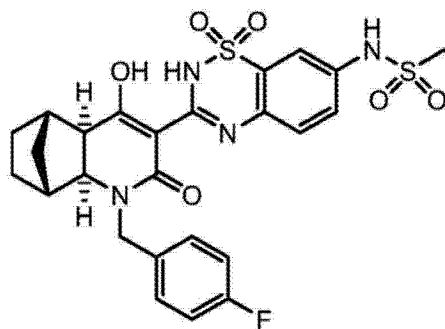
[0201]



[0202] 所述  $\beta$ -内酰胺（如方案 2c 所述制备）可以是打开的，并通过在醇（例如，乙醇）存在下用光学纯的酸（例如 (1S)-(+)-10-樟脑磺酸（如方案 2d 所述））形成非对映体盐来拆分，以与 (1S)-(+)-10-樟脑磺酸形成的盐的形式直接获得非对映异构纯的 (1R, 2R, 3S, 4S)- $\beta$ -氨基酸酯。用碱（例如碳酸钾）处理，然后在还原剂（例如氰基硼氢化钠）存在下用醛或酮进行还原烷基化，获得所需的对映异构纯的饱和环状 N-取代的-(1R, 2R, 3S, 4S)- $\beta$ -氨基酸酯中间体。

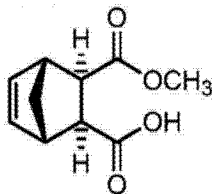
[0203] 实施例 2 :N-{3-[(1R, 2S, 7R, 8S)-3-(4-氟-苄基)-6-羟基-4-氧代-3-氮杂-三环[6.2.1.0<sup>2,7</sup>]十一碳-5-烯-5-基]-1,1-二氧化-1,4-二氢-1 $\lambda^6$ -苯并[1,2,4]噻二嗪-7-基}-甲磺酰胺

[0204]



[0205] a) (1S, 2S, 3R, 4R)-3-(甲氧基羰基)二环[2.2.1]庚-5-烯-2-羧酸

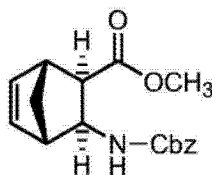
[0206]



[0207] 如 J. Org. Chem. 2000, 65, 6984-6991 所述制备标题化合物。使顺-5-降冰片烯-内-2, 3-二羧酸酐 (5g, 30.45mmol) 悬浮于甲苯和四氯化碳 (610mL) 的 1:1 混合物。使该混合物搅拌 10 分钟。添加奎宁 (10.87g, 33.5mmol) 并使烧瓶脱气然后用氮气回填。使该溶液冷却至  $-55^{\circ}\text{C}$ 。搅拌时, 添加甲醇 (3.7mL, 91.35mmol)。使该混合物在  $-55^{\circ}\text{C}$  搅拌 16 小时。回暖至  $25^{\circ}\text{C}$  后, 使该混合物真空浓缩成泡沫。使该泡沫溶解于乙酸乙酯 (400mL) 和 1.0M 盐酸水溶液 (400mL) 的混合物中。分离各层并用 1.0M 盐酸水溶液 (2x200mL)、饱和盐水溶液 (100mL) 进一步洗涤有机层, 用硫酸镁干燥, 过滤, 并真空浓缩以获得透明油状的所需产物, (1S, 2S, 3R, 4R)-3-(甲氧基羰基)二环[2.2.1]庚-5-烯-2-羧酸 (5.95g, 30.3mmol, 产率 99%)。 $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ : 1.31 (1H, d,  $J=8.5\text{Hz}$ ), 1.98 (1H, d,  $J=8.6\text{Hz}$ ), 2.51 (2H, d,  $J=1.6\text{Hz}$ ), 2.95 (2H, bs), 3.52 (3H, s), 6.17-6.21 (2H, m), 12.16 (1H, s)。

[0208] b) (1R, 2R, 3S, 4S)-3-[[ (苄氧基) 羰基 ] 氨基] 二环[2.2.1]庚-5-烯-2-羧酸甲酯

[0209]

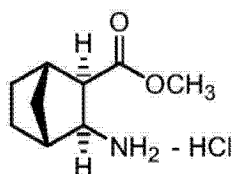


[0210] 使 (1S, 2S, 3R, 4R)-3-(甲氧基羰基)二环[2.2.1]庚-5-烯-2-羧酸 (5.9g, 30mmol) 溶解于无水四氢呋喃 (133mL)。使该烧瓶脱气, 并用氮气回填, 使该混合物冷却至  $0^{\circ}\text{C}$ 。添加三乙胺 (12.64mL, 90mmol), 然后在剧烈搅拌下逐滴添加氯甲酸乙酯 (5.72mL, 60mmol)。立即观察到沉淀。使该混合物在  $0^{\circ}\text{C}$  搅拌 1 小时。使叠氮化钠 (5.86g, 90mmol) 溶解于水 (40mL) 中, 并添加至所述混合物 ( $0^{\circ}\text{C}$ )。使该混合物在  $0^{\circ}\text{C}$  搅拌 5 分钟。移去冰浴。使该混合物回暖至  $25^{\circ}\text{C}$  并持续搅拌 2 小时。将该混合物倾倒至水 (300mL) 中, 用乙酸乙酯 (300mL) 萃取产物。有机层用 1/2 饱和碳酸氢钠水溶液 (2x100mL)、饱和盐水溶液 (100mL) 进一步洗涤, 用硫酸镁干燥, 过滤, 并真空浓缩以获得浅棕色油状物。使该油状物溶解于无水苯 (66mL) 中, 在氮气下搅拌回流 2 小时。冷却至  $25^{\circ}\text{C}$  后, 使

该溶液真空浓缩以获得浅棕色油状物。使该油状物溶解于二氯甲烷 (40mL), 并添加苯甲醇 (3.41mL, 33mmol), 然后添加三乙胺 (8.44mL, 60mmol)。使该混合物在氮气下回流 16 小时。冷却至 25℃ 后, 使该溶液真空浓缩以获得稠厚油状物。通过快速柱色谱 (Merck 硅胶 60, 40-63 μm, 柱 1:3:1 己烷 / 乙酸乙酯; 柱 2:2:4:1 二氯甲烷 / 戊烷 / 二乙醚) 纯化获得浅黄色油状的所需产物, (1R, 2R, 3S, 4S)-3-[[ (苯氧基) 羰基] 氨基] 二环 [2.2.1] 庚-5-烯-2-羧酸甲酯 (6.95g, 23.09mmol, 产率 77%)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ : 1.59 (1H, d, J=9.3Hz), 1.96 (1H, d, J=9.3Hz), 2.66 (1H, d, J=7.9Hz), 2.75 (1H, s), 2.96 (1H, s), 3.59 (3H, s), 4.01 (1H, t, J=8.5Hz), 5.09 (2H, q, J=10.4Hz), 5.46 (1H, d, J=9.4Hz), 6.17-6.22 (2H, m), 7.29-7.36 (5H, m)。C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>4</sub> 的 LC-MS (ESI) 计算值为 301.13, 测量值为 258.1 (100%)、302.2 [M+H<sup>+</sup>] (70%)、603.5 [2M+H<sup>+</sup>] (20%)。

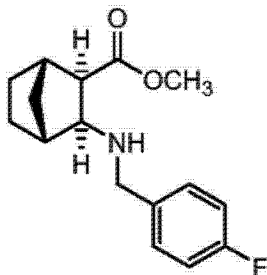
[0211] c) 盐酸 (1S, 2R, 3S, 4R)-3-氨基二环 [2.2.1] 庚烷-2-羧酸甲酯

[0212]



[0213] 使 (1R, 2R, 3S, 4S)-3-[[ (苯氧基) 羰基] 氨基] 二环 [2.2.1] 庚-5-烯-2-羧酸甲酯 (1g, 3.32mmol) 溶解于乙酸乙酯 (15mL)。添加 5% 钯碳 (120mg)。使该烧瓶脱气, 并通过气囊用氢气回填。使该混合物在 25℃ 搅拌 16 小时。然后使该混合物通过硅藻土塞, 滤液真空浓缩以获得稠厚透明油状物。使该油状物溶解于二乙醚 (10mL), 并在剧烈搅拌下逐滴添加至内含 4.0M 盐酸溶液的 1,4-二噁烷 (1.8mL) 和二乙醚 (18mL) 的混合物中。所需产物开始沉淀成白色固体。另添加二乙醚 (10mL) 并使该混合物搅拌 10 分钟。通过真空过滤收集所述沉淀, 用额外的二乙醚 (2x8mL) 洗涤。使该固体进一步真空干燥 1 小时以获得白色粉末状的所需产物, 盐酸 (1S, 2R, 3S, 4R)-3-氨基二环 [2.2.1] 庚烷-2-羧酸甲酯 (0.64g, 3.11mmol, 产率 94%)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ : 1.17-1.27 (3H, m), 1.40-1.61 (2H, m), 1.91 (1H, d, J=10.7Hz), 2.36 (1H, d, J=4.1Hz), 2.44 (1H, d, J=3.1Hz), 2.75 (1H, d, J=7.8Hz), 3.30-3.38 (1H, m), 3.61 (3H, s), 8.05 (3H, bs)。C<sub>9</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>2</sub> (游离胺) 的 LC-MS (ESI) 计算值为 169.11, 测量值为 170.3 [M+H<sup>+</sup>] (100%)、339.3 [2M+H<sup>+</sup>] (50%)。

[0214]

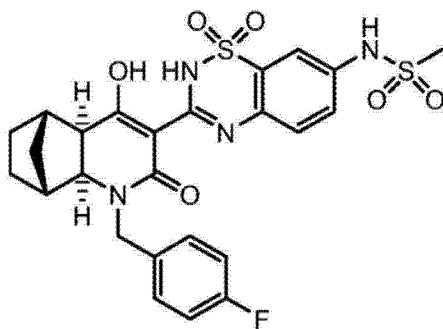


[0215] d) (1S, 2R, 3S, 4R)-3-[(4-氟苄基) 氨基] 二环 [2.2.1] 庚烷-2-羧酸甲酯使盐酸 (1S, 2R, 3S, 4R)-3-氨基二环 [2.2.1] 庚烷-2-羧酸甲酯 (0.5g, 2.43mmol) 溶解于甲醇 (12mL)。添加乙酸钠 (0.4g, 4.86mmol), 然后添加 4Å 粉末状分子筛 (0.5g) 和 4-氟-苯甲醛 (0.302g, 2.43mmol)。添加氰基硼氢化钠 (0.305g, 4.86mmol) 并使该混

合物在 25℃ 搅拌 16 小时。将该混合物倾倒入饱和碳酸氢钠水溶液 (200mL) 和乙酸乙酯 (300mL) 的混合物中。振荡后,使两层通过硅藻土塞。有机相用饱和碳酸氢钠水溶液 (100mL)、饱和盐水溶液 (100mL) 进一步洗涤,用硫酸镁干燥,过滤,并真空浓缩以获得透明油状的粗产物, (1S, 2R, 3S, 4R)-3-[(4-氟苄基)氨基]二环 [2.2.1] 庚烷-2-羧酸甲酯 (0.663g, 2.39mmol, 产率 98%)。C<sub>16</sub>H<sub>20</sub>FNO<sub>2</sub> 的 LC-MS (ESI) 计算值为 277.15, 测量值为 278.2[M+H<sup>+</sup>] (100%)。

[0216] e)N-{3-[(1R, 2S, 7R, 8S)-3-(4-氟-苄基)-6-羟基-4-氧代-3-氮杂-三环 [6.2.1.0<sup>2,7</sup>] 十一碳-5-烯-5-基]-11-二氧化-14-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并 [124] 噻二嗪-7-基}-甲磺酰胺

[0217]



[0218] 使 (1S, 2R, 3S, 4R)-3-[(4-氟苄基)氨基]二环 [2.2.1] 庚烷-2-羧酸甲酯 (0.6g, 2.16mmol) 溶解于无水 N,N-二甲基甲酰胺 (20mL)。添加 (7-甲磺酰基氨基-1,1-二氧化-1,4-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并 [1,2,4] 噻二嗪-3-基)-乙酸 (US7, 939, 524B2) (0.72g, 2.16mmol), 然后添加 N-甲基吗啉 (0.5mL, 4.54mmol)。搅拌该混合物直至所有物质溶解, 约需 5 分钟。添加 1-(3-二甲基氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐 (0.435g, 2.27mmol) 并使该混合物在 25℃ 搅拌 45 分钟。添加三乙胺 (0.91mL, 6.48mmol) 并使该混合物在 50℃ 搅拌 16 小时。

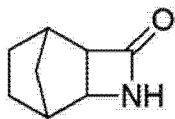
[0219] 冷却至 25℃ 后, 该溶液用乙酸乙酯 (300mL) 稀释并用 1.0M 盐酸水溶液 (3x300mL)、饱和盐水溶液 (100mL) 洗涤, 用硫酸镁干燥, 过滤, 并真空浓缩以获得金色油状物。通过快速柱色谱 (Merck 硅胶 60, 40-63 μm, 内含 0~0.75% 甲醇的二氯甲烷) 纯化获得白色泡沫状的产物。使该泡沫状物溶解于甲醇 (10mL), 并通过在搅拌下添加 1.0M 盐酸水溶液 (20mL) 使产物沉淀。通过真空过滤收集该固体, 并进一步真空干燥以获得白色粉末状的所需产物, N-{3-[(1R, 2S, 7R, 8S)-3-(4-氟-苄基)-6-羟基-4-氧代-3-氮杂-三环 [6.2.1.0<sup>2,7</sup>] 十一碳-5-烯-5-基]-1,1-二氧化-1,4-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并 [1,2,4] 噻二嗪-7-基}-甲磺酰胺 (0.573g, 1.02mmol, 产率 47%)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ : 1.16-1.22 (2H, m), 1.37-1.65 (4H, m), 2.49-2.53 (1H, m), 2.63 (1H, d, J=2.3Hz), 3.02 (1H, d, J=8.5Hz), 3.05 (3H, s), 3.52 (1H, d, J=9.4Hz), 4.41 (1H, d, J=15.6Hz), 4.95 (1H, d, J=15.6Hz), 7.14 (2H, t, J=9.0Hz), 7.32 (2H, dd, J<sub>1</sub>=8.1Hz, J<sub>2</sub>=5.7Hz), 7.50 (1H, dd, J<sub>1</sub>=9.5Hz, J<sub>2</sub>=2.3Hz), 7.55-7.57 (2H, m), 10.17 (1H, s)。C<sub>25</sub>H<sub>25</sub>FN<sub>4</sub>O<sub>6</sub>S<sub>2</sub> 的 LC-MS (ESI) 计算值为 560.12, 测量值为 561.3[M+H<sup>+</sup>] (100%)。ee=90%[HPLC-分析: Chiralpak AS-RH2. 1x150mm, 室温下 5 微米, 溶剂 A-溶剂 B (参见梯度表), 0.3mL/分钟, 312nm, t<sub>1</sub>=4.3 分钟 (主), t<sub>2</sub>=6.0 分钟]。

[0220] 或者, 可以如下制备 N-{3-[(1S, 2S, 7R, 8R)-3-(4-氟-苄基)-6-羟基-4-氧

代-3-氮杂-三环[6.2.1.0<sup>2,7</sup>]十一碳-5-烯-5-基]-1,1-二氧化-1,4-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并[1,2,4]噻二嗪-7-基}-甲磺酰胺:

[0221] f) (外消旋-二-外)-3-氮杂-三环[4.2.1.0<sup>2,5</sup>]壬烷-4-酮

[0222]

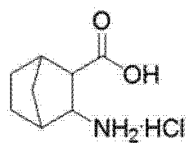


外消旋-二-外

[0223] 在 0℃, 用 10 分钟向内含二环[2.2.1]庚-2-烯 (21.29g, 223.8mmol) 的二乙醚 (100mL) 溶液逐滴添加内含氯代磺酰基异氰酸酯 (20.0mL, 225.7mmol) 的二乙醚 (40mL) 溶液。使该混合物缓慢回暖 12 小时至 25℃。使该反应混合物冷却至 0℃, 并在搅拌下逐滴添加内含亚硫酸钠 (39.16g, 301.4mmol) 的水 (300mL) 溶液。使该混合物回暖至 25℃。向该混合物添加 10% 氢氧化钾水溶液直至 pH 达到 7~8。分离有机层并用二乙醚 (2x100mL) 萃取水层。合并的有机层用饱和盐水溶液 (100mL) 洗涤, 用无水无水硫酸镁干燥, 真空浓缩并在高真空下干燥以获得白色固体粗产物 (外消旋-二-外)-3-氮杂-三环[4.2.1.0<sup>2,5</sup>]壬烷-4-酮 (23.37g, 170.4mmol, 产率 76%)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 1.02-1.11 (2H, m), 1.24 (1H, dt, J<sub>1</sub>=10.9Hz, J<sub>2</sub>=1.6Hz), 1.51-1.72 (3H, m), 2.37-2.37 (1H, m), 2.43-2.44 (1H, m), 2.99-3.00 (1H, m), 3.40 (1H, d, J=3.4Hz), 5.73 (1H, bs)。

[0224] g) (外消旋-二-外)-3-氨基-二环[2.2.1]庚烷-2-羧酸盐盐酸盐

[0225]

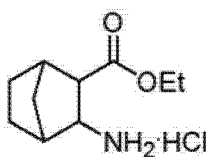


外消旋-二-外

[0226] 向 (外消旋-二-外)-3-氮杂-三环[4.2.1.0<sup>2,5</sup>]壬烷-4-酮 (23.37g, 170.4mmol) 添加 12.0M 盐酸水溶液 (150mL)。使该混合物在 25℃ 搅拌 12 小时。真空蒸发溶剂并在高真空下干燥粗制化合物 0.5 小时。所述粗制化合物用丙酮研磨并过滤以获得白色固体的 (外消旋-二-外)-3-氨基-二环[2.2.1]庚烷-2-羧酸盐盐酸盐 (28.43g, 148.3mmol, 产率 87%)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 1.15-1.26 (3H, m), 1.42-1.59 (2H, m), 1.87 (1H, d, J=10.3Hz), 2.33 (1H, d, J=3.4Hz), 2.45 (1H, d, J=2.3Hz), 2.67 (1H, d, J=7.6Hz), 3.23-3.26 (1H, m), 7.93 (3H, bs), 12.73 (1H, bs)。

[0227] h) (外消旋-二-外)-3-氨基-二环[2.2.1]庚烷-2-羧酸乙酯盐酸盐

[0228]



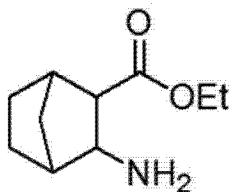
外消旋-二-外

[0229] 在 -10℃ 向无水乙醇 (75mL) ( ) 逐滴添加亚硫酰氯 (4.1mL, 54.5mmol), 然后添加



(外消旋-二-外)-3-氨基-二环[2.2.1]庚烷-2-羧酸盐(9.60g, 50.1mmol)。使该混合物在0℃搅拌1小时,在25℃搅拌4小时,然后回流加热0.5小时。所述溶液真空浓缩并在高真空下干燥以获得灰白色固体的粗产物(外消旋-二-外)-3-氨基-二环[2.2.1]庚烷-2-羧酸乙酯盐酸盐(11.01g, 50.1mmol, 产率100%)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 1.17-1.27(3H, m), 1.21(3H, t, J=7.0Hz), 1.43-1.57(2H, m), 1.91(1H, d, J=10.0Hz), 2.36(1H, d, J=3.9Hz), 2.42(1H, d, J=3.0Hz), 2.72(1H, d, J=7.6Hz), 3.28(1H, d, J=8.3Hz), 4.00-4.13(2H, m), 8.06(3H, bs)。

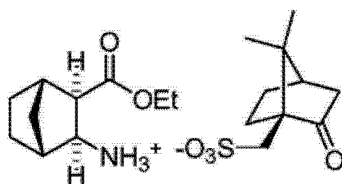
[0230] i) (外消旋-二-外)-3-氨基-二环[2.2.1]庚烷-2-羧酸乙酯  
[0231]



外消旋-二-外

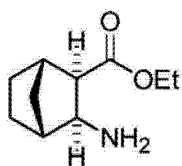
[0232] 向(外消旋-二-外)-3-氨基-二环[2.2.1]庚烷-2-羧酸乙酯盐酸盐(11.01g, 50.1mmol)添加饱和碳酸氢钠水溶液(50mL)并使该混合物在25℃搅拌0.5小时。所述粗产物用乙酸乙酯(3x100mL)萃取。该溶液用无水硫酸镁干燥,过滤,真空浓缩并在高真空下干燥2小时以获得棕色油状的粗产物,(外消旋-二-外)-3-氨基-二环[2.2.1]庚烷-2-羧酸乙酯(8.17g, 44.6mmol, 产率89%)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 1.10-1.26(3H, m), 1.29(3H, t, J=7.0Hz), 1.45-1.62(2H, m), 1.86(2H, bs), 1.95(1H, dt, J<sub>1</sub>=10.3Hz, J<sub>2</sub>=1.9Hz), 2.09(1H, d, J=4.5Hz), 2.49(1H, d, J=4.2Hz), 2.56(1H, d, J=9.0Hz), 3.24(1H, d, J=7.7Hz), 4.09-4.21(2H, m)。

[0233] j) (1'S)-(+)-10-樟脑磺酸-(1R, 2S, 3R, 4S)-3-乙氧基羰基-二环[2.2.1]庚-2-基-铵  
[0234]



[0235] 向内含(外消旋-二-外)-3-氨基-二环[2.2.1]庚烷-2-羧酸乙酯(4.00g, 21.8mmol)的乙酸乙酯(120mL)溶液添加(1S)-(+)-10-樟脑磺酸(2.57g, 11.0mmol)。使该混合物在25℃剧烈搅拌0.5小时。过滤该固体(3.23g, 7.77mmol)并在乙酸乙酯(360mL)中重结晶以获得白色固体(1'S)-(+)-10-樟脑磺酸-(1R, 2S, 3R, 4S)-3-乙氧基羰基-二环[2.2.1]庚-2-基-铵(2.76g, 6.64mmol, 产率30%)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 0.84(3H, s), 1.08(3H, s), 1.30(3H, t, J=6.9Hz), 1.32-1.43(4H, m), 1.58-1.75(3H, m), 1.89(1H, d, J=17.7Hz), 1.95-2.07(3H, m), 2.33(1H, dt, J<sub>1</sub>=18.4Hz, J<sub>2</sub>=3.9Hz), 2.53(1H, s), 2.58-2.65(1H, m), 2.69(1H, d, J=2.9Hz), 2.76-2.79(2H, m), 3.26(1H, d, J=14.1Hz), 3.60(1H, d, J=7.4Hz), 4.14-4.27(2H, m), 7.80(3H, bs)。

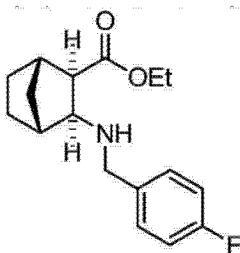
[0236] k) (1S, 2R, 3S, 4R)-3-氨基-二环[2.2.1]庚烷-2-羧酸乙酯  
[0237]



[0238] 向 (1'S)-(+)-10-樟脑磺酸-(1R, 2S, 3R, 4S)-3-乙氧基羰基-二环[2.2.1]庚-2-基-铵 (2.76g, 6.64mmol) 添加乙酸乙酯 (28mL) 和饱和碳酸钠水溶液 (28mL), 并使该混合物在 25°C 搅拌 0.5 小时。分离有机层并用乙酸乙酯 (2x50mL) 萃取水层。该溶液用无水硫酸镁干燥, 真空浓缩并在高真空下干燥 1 小时以获得无色油状的 (1S, 2R, 3S, 4R)-3-氨基-二环[2.2.1]庚烷-2-羧酸乙酯 (1.15g, 6.28mmol, 产率 95%)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ : 1.10-1.26 (3H, m), 1.29 (3H, t, J=7.0Hz), 1.45-1.62 (2H, m), 1.86 (2H, bs), 1.95 (1H, dt, J<sub>1</sub>=10.3Hz, J<sub>2</sub>=1.9Hz), 2.09 (1H, d, J=4.5Hz), 2.49 (1H, d, J=4.2Hz), 2.56 (1H, d, J=9.0Hz), 3.24 (1H, d, J=7.7Hz), 4.09-4.21 (2H, m)。

[0239] 为了测定对映体过量, 按以下方式使 (1S, 2R, 3S, 4R)-3-氨基-二环[2.2.1]庚烷-2-羧酸乙酯衍生化成 (S)-扁桃酸盐: 向内含 (1S, 2R, 3S, 4R)-3-氨基-二环[2.2.1]庚烷-2-羧酸乙酯 (34.2mg, 0.187mmol) 的乙酸乙酯 (1mL) 溶液添加 (S)-α-羟苯基乙酸 (28.7mg, 0.187mmol), 并使该混合物在 25°C 搅拌 0.5 小时。过滤该固体并使其在高真空下干燥以获得白色固体 (S)-α-羟苯基乙酸-(1R, 2S, 3R, 4S)-3-乙氧基羰基-二环[2.2.1]庚-2-基-铵 (11.4mg, 0.034mmol, 产率 18%, 97%de)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ : 1.08-1.20 (3H, m), 1.28 (3H, t, J=7.1Hz), 1.50-1.59 (2H, m), 1.79 (1H, d, J=10.9Hz), 2.23 (1H, s), 2.46-2.48 (2H, m), 3.04 (1H, d, J=7.8Hz), 4.05-4.18 (2H, m), 4.89 (1H, s), 5.49 (3H, bs), 7.22-7.31 (3H, m), 7.43 (2H, d, J=6.9Hz)。

[0240] l) (1S, 2R, 3S, 4R)-3-(4-氟苄基氨基)-二环[2.2.1]庚烷-2-羧酸乙酯  
[0241]

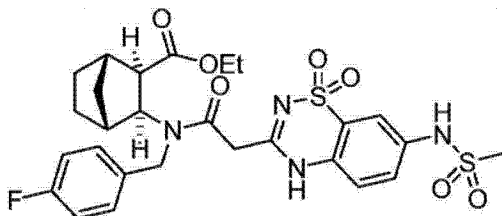


[0242] 在 25 °C 向内含 (1S, 2R, 3S, 4R)-3-氨基-二环[2.2.1]庚烷-2-羧酸乙酯 (1.15g, 6.28mmol) 的乙醇 (30mL) 溶液添加 4-氟苯甲醛 (0.68mL, 6.31mmol)、冰乙酸 (0.4mL, 6.99mmol) 和氰基硼氢化钠 (1.04g, 15.7mmol)。搅拌 3 小时后, 该混合物用乙酸乙酯 (50mL) 稀释并用饱和碳酸氢钠水溶液 (50mL) 淬灭 0.5 小时。使该混合物通过硅藻土过滤。分离有机层并用乙酸乙酯 (50mL x 2) 萃取水层。去除所有溶剂后, 形成固体。该固体经过滤, 用水洗涤, 并在真空下干燥以获得白色固体 (1S, 2R, 3S, 4R)-3-(4-氟苄基氨基)-二环[2.2.1]庚烷-2-羧酸乙酯 (1.74g, 5.97mmol, 产率 95%)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ : 1.05-1.16 (2H, m), 1.21 (1H, dt, J<sub>1</sub>=8.0Hz, J<sub>2</sub>=1.6Hz), 1.27 (3H, t, J=7.4Hz), 1.45-1.61 (2H, m), 1.94 (1H, dt, J<sub>1</sub>=10.1Hz, J<sub>2</sub>=1.9Hz), 2.28 (1H, d, J=3.9Hz), 2.43 (1H, d, J=3.3Hz), 2.60 (1H,

dd,  $J_1=8.8\text{Hz}$ ,  $J_2=1.5\text{Hz}$ ), 2.94 (1H, d,  $J=7.8\text{Hz}$ ), 3.66 (1H, d,  $J=13.2\text{Hz}$ ), 3.80 (1H, d,  $J=13.5\text{Hz}$ ), 4.13 (2H, q,  $J=7.0\text{Hz}$ ), 6.97 (2H, t,  $J=8.5\text{Hz}$ ), 7.26 (2H, t,  $J=7.1\text{Hz}$ ).

[0243] m) (1S, 2R, 3S, 4R)-3-((4-氟苄基)-[2-(7-甲磺酰基氨基-1,1-二氧化-1,4-二氢-1 $\lambda^6$ -苯并[1,2,4]噻二嗪-3-基)-乙酰基]-氨基)-二环[2.2.1]庚烷-2-羧酸乙酯

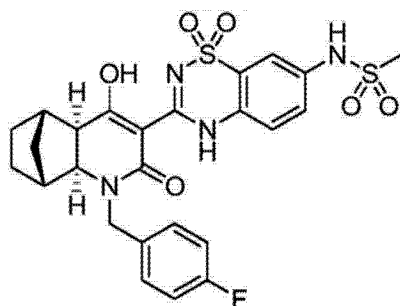
[0244]



[0245] 向内含 (1S, 2R, 3S, 4R)-3-(4-氟苄基氨基)-二环[2.2.1]庚烷-2-羧酸乙酯 (100.6mg, 0.345mmol) 的 N,N-二甲基甲酰胺 (3.0mL) 溶液添加 (7-甲磺酰基氨基-1,1-二氧化-1,4-二氢-1 $\lambda^6$ -苯并[1,2,4]噻二嗪-3-基)-乙酸 (US7,939,524B2) (120.8mg, 0.362mmol)、4-二甲基氨基吡啶 (10.6mg, 0.086mmol) 和 1-[3-(二甲基氨基)丙基]-3-乙基碳二亚胺盐酸盐 (70.9mg, 0.362mmol)。在 25℃ 搅拌 12 小时后,该混合物用乙酸乙酯稀释并用 1.0M 盐酸水溶液酸化至 pH1。分离有机层并用乙酸乙酯 (2x20mL) 萃取水层。合并的有机层用无水硫酸镁干燥,过滤,真空浓缩并在高真空下干燥以获得浅黄色油状粗产物 (1S, 2R, 3S, 4R)-3-((4-氟苄基)-[2-(7-甲磺酰基氨基-1,1-二氧化-1,4-二氢-1 $\lambda^6$ -苯并[1,2,4]噻二嗪-3-基)-乙酰基]-氨基)-二环[2.2.1]庚烷-2-羧酸乙酯。该粗产物无需进一步纯化即可用于下一步骤。 $\text{C}_{27}\text{H}_{31}\text{FN}_4\text{O}_7\text{S}_2$  的 LC-MS (ESI) 计算值为  $(\text{M}+\text{H}^+)$  607.17, 测量值为 607.2。

[0246] n) N-{3-[ (1R, 2S, 7R, 8S)-3-(4-氟-苄基)-6-羟基-4-氧代-3-氮杂-三环[6.2.1.0<sup>2,7</sup>]十一碳-5-烯-5-基]-1,1-二氧化-1,4-二氢-1 $\lambda^6$ -苯并[1,2,4]噻二嗪-7-基}-甲磺酰胺

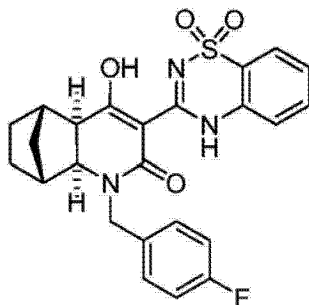
[0247]



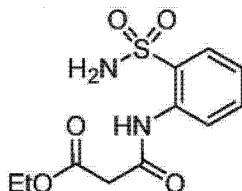
[0248] 向内含 (1S, 2R, 3S, 4R)-3-((4-氟苄基)-[2-(7-甲磺酰基氨基-1,1-二氧化-1,4-二氢-1 $\lambda^6$ -苯并[1,2,4]噻二嗪-3-基)-乙酰基]-氨基)-二环[2.2.1]庚烷-2-羧酸乙酯 (209.3mg, 0.345mmol) 的无水乙醇 (3mL) 溶液添加内含 21 重量% 乙醇钠的乙醇 (0.51mL, 1.37mmol) 溶液。在 60℃ 搅拌 2 小时后,该混合物用乙酸乙酯稀释并用 1.0M 盐酸水溶液酸化至 pH1。分离有机层并用乙酸乙酯 (2x20mL) 萃取水层。合并的有机层用无水硫酸镁干燥,过滤,并真空浓缩。粗制混合物通过快速柱色谱 (Teledyne ISCO RediSep 柱, 内含 0 ~ 100% 乙酸乙酯的己烷) 纯化以获得灰白色固体

N-{3-[(1R, 2S, 7R, 8S)-3-(4-氟-苄基)-6-羟基-4-氧代-3-氮杂-三环[6.2.1.0<sup>2,7</sup>]十一碳-5-烯-5-基]-1,1-二氧化-1,4-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并[1,2,4]噻二嗪-7-基}-甲磺酰胺 (131.5mg, 0.235mmol, 产率 68%)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, MeOH-d<sub>4</sub>) δ : 1.28(2H, d, J=11.0Hz), 1.47(1H, t, J=10.8Hz), 1.57-1.74(3H, m), 2.56(1H, d, J=3.2Hz), 2.75(1H, d, J=2.3Hz), 2.96(1H, d, J=9.2Hz), 3.02(3H, s), 3.58(1H, d, J=9.2Hz), 4.42(1H, d, J=15.5Hz), 5.03(1H, d, J=15.7Hz), 7.04(2H, t, J=8.5Hz), 7.31(2H, dd, J<sub>1</sub>=7.9Hz, J<sub>2</sub>=5.5Hz), 7.37(1H, d, J=8.8Hz), 7.54(1H, dd, J<sub>1</sub>=8.3Hz, J<sub>2</sub>=2.3Hz), 7.69(1H, d, J=2.3Hz)。C<sub>25</sub>H<sub>25</sub>FN<sub>4</sub>O<sub>6</sub>S<sub>2</sub> 的 LC-MS(ESI) 计算值为 (M+H<sup>+</sup>) 561.13, 测量值为 561.4。ee=98.5%[HPLC-分析: Chiralpak AS-RH2. 1x150mm, 室温下 5 微米, 溶剂 A - 溶剂 B(参见上文梯度表), 0.3mL/分钟, 312nm, t<sub>1</sub>=7.58 分钟(主), t<sub>2</sub>=8.95 分钟]。

[0249] 实施例 3: (1R, 2S, 7R, 8S)-5-(1,1-二氧化-1,4-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并[1,2,4]噻二嗪-3-基)-3-(4-氟-苄基)-6-羟基-3-氮杂-三环[6.2.1.0<sup>2,7</sup>]十一碳-5-烯-4-酮  
[0250]

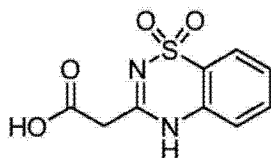


[0251] a) N-(2-氨基磺酰基-苯基)-丙酰胺酸乙酯  
[0252]



[0253] 使 2-氨基-苯磺酰胺 (5g, 29mmol) 溶解于 N,N-二甲基乙酰胺 (25mL) 和二乙醚 (25mL)。向上述反应溶液添加 3-氯-3-氧代-丙酸乙酯 (4.6g, 30.45mmol)。该反应混合物在 25°C 搅拌 3 小时。产物开始沉淀并通过真空过滤收集。使该固体溶解于乙酸乙酯 (200mL) 并用水 (200mL) 萃取。水层用乙酸乙酯 (200mL) 反萃取。合并的有机层用硫酸钠干燥, 过滤, 并真空浓缩以获得白色固体粗产物 N-(2-氨基磺酰基-苯基)-丙酰胺酸乙酯, 该粗产物无需进一步纯化即可用于下一步骤。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ : 1.23(3H, t, J=7.0 Hz), 3.61(2H, s), 4.14(2H, 四峰, J=7.0Hz), 7.29-7.33(1H, m), 7.53(2H, bs), 7.56-7.60(1H, m), 7.84-7.86(1H, m), 7.97-7.99(1H, m), 9.54(1H, bs)。C<sub>11</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S 的 LC-MS(ESI) 计算值为 286.06, 测量值为 287.1[M+H<sup>+</sup>]。

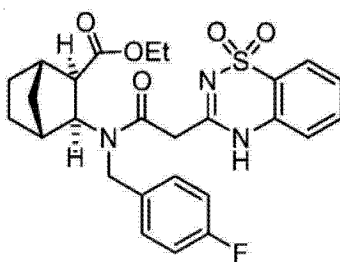
[0254] b) (11-二氧化-14-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并[1,2,4]噻二嗪-3-基)-乙酸  
[0255]



[0256] 使固体氢氧化钠 (3.48g, 87mmol) 溶解于水中以配制饱和溶液。向该氢氧化钠溶液添加粗制 N-(2-氨基磺酰基-苯基)-丙酰胺酸乙酯。使该反应混合物在 110℃ 加热 2.5 小时, 然后冷却至 25℃。在冰水浴中冷却的同时, 通过缓慢添加 12.0M 盐酸水溶液 (9.67g, 116mmol) 使该反应混合物酸化。产物沉淀并通过真空过滤收集。该固体用冷水洗涤, 并在高真空下干燥以获得白色固体粗产物, (1,1-二氧化-1,4-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并[1,2,4]噻二嗪-3-基)-乙酸 (5g, 20.8mmol, 两步后 71.7%)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ : 3.58 (2H, s), 7.31 (1H, d, J=8.0Hz), 7.44 (1H, dd, J<sub>1</sub>=7.8Hz, J<sub>2</sub>=7.8Hz), 7.67 (1H, dd, J<sub>1</sub>=7.8Hz, J<sub>2</sub>=7.8Hz), 7.79 (1H, d, J=7.9Hz), 12.18 (1H, bs), 13.03 (1H, bs)。C<sub>9</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S 的 LC-MS (ESI) 计算值为 240.02, 测量值为 241.1 [M+H<sup>+</sup>]。

[0257] c) (1S, 2R, 3S, 4R)-3-[[2-(1,1-二氧化-1,4-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并[1,2,4]噻二嗪-3-基)-乙酰基]-(4-氟-苄基)-氨基]-二环[2.2.1]庚烷-2-羧酸乙酯

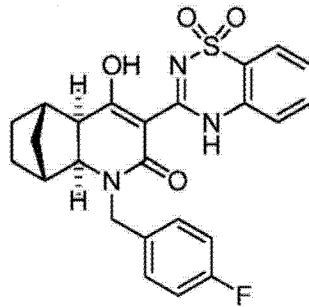
[0258]



[0259] 使 (1,1-二氧化-1,4-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并[1,2,4]噻二嗪-3-基)-乙酸 (0.2g, 0.833mmol) 溶解于无水 N,N-二甲基甲酰胺 (8mL) 中。添加 (1S, 2R, 3S, 4R)-3-(4-氟-苄基氨基)-二环[2.2.1]庚烷-2-羧酸乙酯 (如实施例 21 所述制备, 0.244g, 0.833mmol), 然后添加 1-(3-二甲基氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐 (0.168g, 0.875mmol)。然后向上述反应混合物添加 N-甲基吗啉 (0.177g, 1.75mmol)。使该混合物在 25℃ 搅拌 16 小时。将该溶液倾倒至 1.0M 盐酸水溶液 (100mL) 中。用乙酸乙酯 (2×100mL) 萃取水层。有机相用硫酸钠干燥, 过滤, 并真空浓缩以获得橙色油状粗产物 (1S, 2R, 3S, 4R)-3-[[2-(1,1-二氧化-1,4-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并[1,2,4]噻二嗪-3-基)-乙酰基]-(4-氟-苄基)-氨基]-二环[2.2.1]庚烷-2-羧酸乙酯, 该粗产物无需进行任何进一步纯化即可用于下一步骤。C<sub>26</sub>H<sub>28</sub>FN<sub>3</sub>O<sub>5</sub>S 的 LC-MS (ESI) 计算值为 513.58, 测量值为 514.4 [M+H<sup>+</sup>]。

[0260] d) (1R, 2S, 7R, 8S)-5-(1,1-二氧化-1,2-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并[1,2,4]噻二嗪-3-基)-3-(4-氟-苄基)-6-羟基-3-氮杂-三环[6.2.1.0<sup>2,7</sup>]十一碳-5-烯-4-酮

[0261]

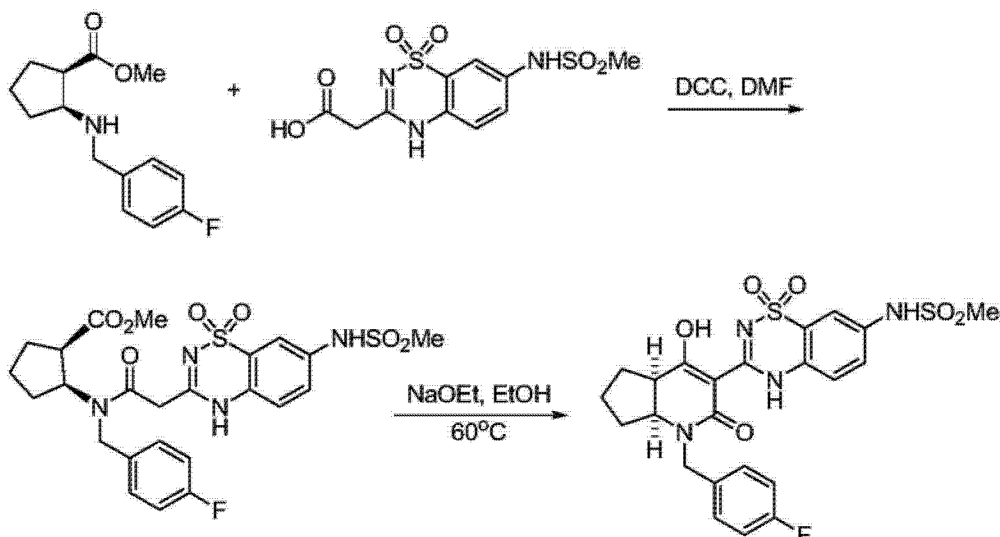


[0262] 使粗产物 (1S, 2R, 3S, 4R)-3-[[2-(1,1-二氧代-1,4-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并[1,2,4]噻二嗪-3-基)-乙酰基]-(4-氟-苄基)-氨基]-二环[2.2.1]庚烷-2-羧酸乙酯溶于乙醇 (8mL), 并向上述溶液添加内含 21 重量% 乙醇钠的乙醇 (1.6mL, 4.2mmol) 溶液。使该混合物在 60°C 搅拌 4 小时, 并使其冷却至 25°C。将该混合物倾倒入 0.5M 盐酸水溶液 (100mL)。产物开始沉淀并通过真空过滤收集。通过快速柱色谱 (Teledyne Isco RediSep 柱; 100% 乙酸乙酯) 纯化该沉淀以获得白色固态的所需产物, (1R, 2S, 7R, 8S)-5-(1,1-二氧代-1,2-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并[1,2,4]噻二嗪-3-基)-3-(4-氟-苄基)-6-羟基-3-氮杂-三环[6.2.1.0<sup>2.7</sup>]十一碳-5-烯-4-酮 (0.242g, 0.517mmol, 两步后 62.1%)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ : 1.16-1.22 (2H, m), 1.40-1.60 (4H, m), 2.51 (1H, bs), 2.64 (1H, d, J = 2.1Hz), 3.03 (1H, d, J = 8.0Hz), 3.54 (1H, d, J = 9.3Hz), 4.42 (1H, d, J = 15.6Hz), 4.97 (1H, d, J = 15.7Hz), 7.15 (2H, t, J = 8.8Hz), 7.33 (2H, dd, J<sub>1</sub> = 8.0Hz, J<sub>2</sub> = 5.9Hz), 7.45-7.53 (2H, m), 7.67-7.71 (1H, m), 7.85 (1H, d, J = 7.9Hz)。C<sub>24</sub>H<sub>22</sub>FN<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S 的 LC-MS (ESI) 计算值为 467.13, 测量值为 468.2 [M+H]<sup>+</sup>。C<sub>24</sub>H<sub>22</sub>FN<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S 的分析计算值: C, 61.66; H, 4.74; N, 8.99; 测量值 C, 61.96; H, 4.88; N, 8.99。

[0263] 方案 3 提供用于制备实施例 4 的 5,6-二氢-1H-吡啶-2-酮化合物的特定方法。

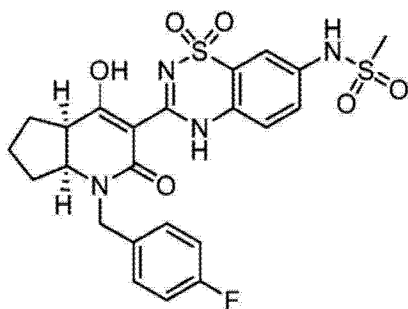
[0264] 方案 3

[0265]



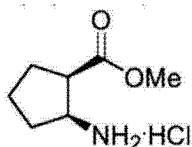
[0266] 实施例 4: (4aR, 7aS)-N-{3-[1-(4-氟-苄基)-4-羟基-2-氧代-2,4a,5,6,7,7a-六氢-1H-[1]吡啶-3-基]-1,1-二氧代-1,4-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并[1,2,4]噻二嗪-7-基}-甲磺酰胺

[0267]



[0268] a) (1R, 2S)-2-氨基-环戊烷羧酸甲酯盐酸盐

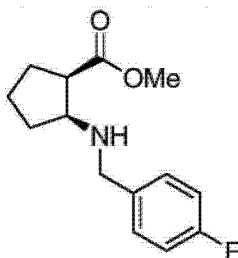
[0269]



[0270] 使 (1R, 2S)-2-氨基-环戊烷羧酸盐 (96mg, 0.58mmol) 溶解于苯和甲醇的 1:1 混合物 (6mL)。使该混合物冷却至 0℃。添加内含 2.0M (三甲基甲硅烷基) 重氮甲烷的己烷 (0.44mL, 0.87mmol) 溶液并使该反应在 25℃ 搅拌 30 分钟。使该混合物浓缩并真空干燥。该粗产物直接用于下一步骤。

[0271] b) (1R, 2S)-2-(4-氟-苄基氨基)-环戊烷羧酸甲酯

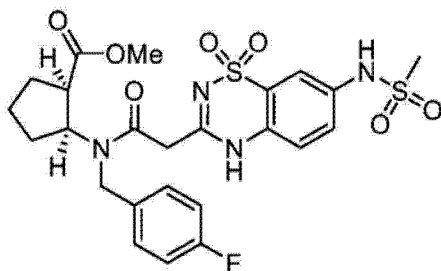
[0272]



[0273] 在 25℃ 向内含 (1R, 2S)-2-氨基-环戊烷羧酸甲酯盐酸盐 (104mg, 0.58mmol) 的四氢呋喃 (6mL) 溶液依次添加硫酸镁 (200mg)、三乙胺 (0.085mL, 0.61mmol) 和 4-氟苯甲醛 (0.13mL, 1.19mmol)。使该反应在 25℃ 搅拌 16 小时。使该混合物通过硅藻土短垫, 对滤液进行浓缩和真空干燥。在 25℃ 使残余物重溶解于甲醇 (10mL)。向该溶液缓慢添加硼氢化钠 (45mg, 1.19mmol)。使该混合物在 25℃ 搅拌 1 小时。然后将其倾倒入饱和的碳酸氢钠水溶液 (10mL) 中, 并用乙酸乙酯 (20mL) 萃取该混合物。有机层用硫酸镁干燥, 过滤, 并真空浓缩以获得透明油状物。通过快速柱色谱 (Merck 硅胶 60, 40-63 μm; 内含 0 ~ 15% 乙酸乙酯的己烷) 纯化获得透明油状的所需产物, (1R, 2S)-2-(4-氟-苄基氨基)-环戊烷羧酸甲酯 (116mg, 0.46mmol, 79%)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 1.55-1.73 (2H, m), 1.83-1.93 (3H, m), 1.99-2.08 (1H, m), 2.97 (1H, dd, J<sub>1</sub>=14.4Hz, J<sub>2</sub>=8.0Hz), 3.31 (1H, dd, J<sub>1</sub>=14.4Hz, J<sub>2</sub>=7.2Hz), 3.70 (3H, s), 3.77 (2H, dd, J<sub>1</sub>=19.6Hz, J<sub>2</sub>=12.0Hz), 4.67 (1H, s), 6.96-7.06 (2H, m), 7.26-7.35 (2H, m)。C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>FNO<sub>2</sub> 的 LC-MS (ESI) 计算值为 251.30, 测量值为 252.1 [M+H<sup>+</sup>]。

[0274] c) (1R, 2S)-2-[(4-氟-苄基)-[2-(7-甲磺酰基氨基-1,1-二氧化-1,4-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并[1,2,4]噻二嗪-3-基)-乙酰基]-氨基]-环丙戊烷羧酸甲酯

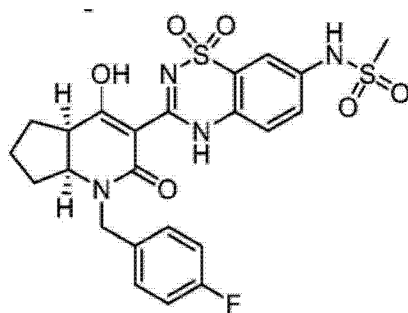
[0275]



[0276] 使 (1R, 2S)-2-(4-氟-苄基氨基)-环戊烷羧酸甲酯 (106mg, 0.42mmol) 和 (7-甲磺酰基氨基-1,1-二氧化-1,4-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并[1,2,4]噻二嗪-3-基)-乙酸 (如 US7,939,524B2 所述制备, 140mg, 0.42mmol) 溶解于二氯甲烷和 N,N'-二甲基甲酰胺的 1:1 混合物 (6mL) 中。添加内含 1.0M N,N'-二环己基碳二亚胺的二氯甲烷 (0.46mL, 0.46mmol)。使该反应在 25℃ 搅拌 16 小时。使该混合物真空浓缩并通过快速柱色谱 (Merck 硅胶 60, 40-63 μm; 内含 0-85% 乙酸乙酯的己烷) 纯化以获得白色固态的所需产物, (1R, 2S)-2-((4-氟-苄基)-[2-(7-甲磺酰基氨基-1,1-二氧化-1,4-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并[1,2,4]噻二嗪-3-基)-乙酰基]-氨基)-环戊烷羧酸甲酯 (127mg, 0.22mmol, 52%)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ : 1.80-2.22 (6H, m), 3.07 (3H, s), 3.24 (1H, dd, J<sub>1</sub>=18.8Hz, J<sub>2</sub>=8.0Hz), 3.32 (1H, dd, J<sub>1</sub>=15.6Hz, J<sub>2</sub>=8.0Hz), 3.69 (1H, s), 4.63 (2H, d, J=4.8Hz), 4.67-4.74 (1H, m), 4.82-4.89 (1H, m), 6.99-7.14 (5H, m), 7.51-7.64 (2H, m)。C<sub>24</sub>H<sub>27</sub>FN<sub>4</sub>O<sub>7</sub>S<sub>2</sub> 的 LC-MS (ESI) 计算值为 566.62, 测量值为 567.1 [M+H]<sup>+</sup>。

[0277] d) (4aR, 7aS)-N-((3-((1-(4-氟-苄基)-4-羟基-2-氧代-2,4a,5,6,7,7a-六氢-1H-[1]吡啶-3-基)-1,1-二氧化-1,4-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并[1,2,4]噻二嗪-7-基)-甲磺酰胺

[0278]



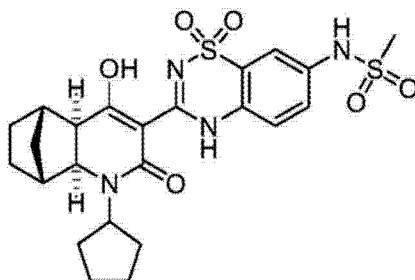
[0279] 使 (1R, 2S)-2-((4-氟-苄基)-[2-(7-甲磺酰基氨基-1,1-二氧化-1,4-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并[1,2,4]噻二嗪-3-基)-乙酰基]-氨基)-环戊烷羧酸甲酯 (117mg, 0.21mmol) 溶解于乙醇 (10mL)。添加内含 21%w/w 乙醇钠的乙醇 (0.17mL, 0.46mmol) 溶液并使该混合物在 60℃ 搅拌 4 小时。使该反应冷却至 25℃, 并用 1.0M 盐酸水溶液 (10mL) 淬灭。该混合物用乙酸乙酯 (3×20mL) 萃取。合并有机层, 用硫酸镁干燥, 过滤并真空浓缩。粗材料通过快速柱色谱 (Merck 硅胶 60, 40-63 μm; 内含 0~5% 甲醇的二氯甲烷) 纯化以获得白色固态的所需产物, (4aR, 7aS)-N-((3-((1-(4-氟-苄基)-4-羟基-2-氧代-2,4a,5,6,7,7a-六氢-1H-[1]吡啶-3-基)-1,1-二氧化-1,4-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并[1,2,4]噻二嗪-7-基)-甲磺酰胺 (80mg, 0.15mmol, 71%)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ : 1.46-1.61 (4H, m), 1.95-2.12 (2H, m), 3.07 (3H, s), 3.85 (1H, bs), 4.48 (1H, bs), 4.91 (1H, d, J=



14. 8Hz), 7. 16(2H, t, J=8. 4Hz), 7. 40(2H, bs), 7. 50-7. 61(3H, m), 10. 18(1H, s)。C<sub>23</sub>H<sub>23</sub>FN<sub>4</sub>O<sub>6</sub>S<sub>2</sub> 的 LC-MS (ESI) 计算值为 534. 58, 测量值为 535. 1[M+H<sup>+</sup>]。e. e. =98%[HPLC- 分析: Chiralpak AS-RH4. 6×250mm, 25 °C 下 5 微米, 0. 7mL/ 分钟, 310nm, t<sub>1</sub>=14. 89 分钟, t<sub>2</sub>=22. 20 分钟(主)]。α<sub>D</sub>=-40. 76(c=0. 92, 二氯甲烷/ 甲醇 1:1)。C<sub>23</sub>H<sub>23</sub>FN<sub>4</sub>O<sub>6</sub>S<sub>2</sub> 的分析计算值. 0. 3H<sub>2</sub>O. 0. 3EtOAc. 0. 2Et<sub>2</sub>O :C, 51. 66;H, 4. 86;N, 9. 64, 测量值 C, 51. 64;H, 4. 90;N, 9. 56。

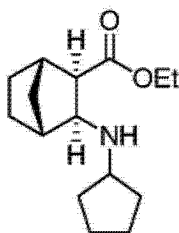
[0280] 实施例 5 :N-[3-(1R, 2S, 7R, 8S)-3-环戊基-6-羟基-4-氧代-3-氮杂-三环[6. 2. 1. 0<sup>2,7</sup>]十一碳-5-烯-5-基)-1, 1-二氧化-1, 4-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并[1, 2, 4]噻二嗪-7-基]-甲磺酰胺

[0281]



[0282] a) (1S, 2R, 3S, 4R)-3-环戊基氨基-二环[2. 2. 1]庚烷-2-羧酸乙酯

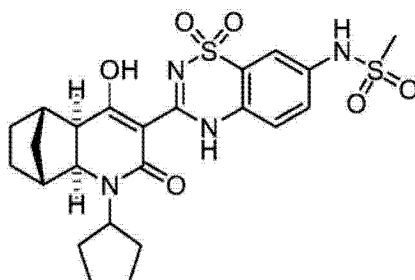
[0283]



[0284] 在 25°C 于氮气气氛下向内含 (1S, 2R, 3S, 4R)-3-氨基-二环[2. 2. 1]庚烷-2-羧酸乙酯(如实施例 2k 所述制备, 230mg, 1. 26mmol) 的无水甲醇(10mL) 溶液添加环戊酮(0. 12mL, 1. 38mmol)。搅拌 10 分钟后, 依次添加冰乙酸(0. 5mL) 和氰基硼氢化钠(260mg, 3. 15mmol), 并使所得混合物在 50°C 搅拌 30 分钟。将该反应混合物倾倒入饱和碳酸氢钠水溶液中, 并用乙酸乙酯萃取。合并的有机层用饱和盐水溶液洗涤, 用硫酸钠干燥并过滤。真空浓缩滤液以获得黄色油状的所需产物, (1S, 2R, 3S, 4R)-3-环戊基氨基-二环[2. 2. 1]庚烷-2-羧酸乙酯(237mg, 0. 94mmol, 75%)。C<sub>15</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>2</sub> 的 LC-MS (ESI) 计算值为 251. 19, 测量值为 252. 0[M+H<sup>+</sup>]。

[0285] b) N-[3-(1R, 2S, 7R, 8S)-3-环戊基-6-羟基-4-氧代-3-氮杂-三环[6. 2. 1. 0<sup>2,7</sup>]十一碳-5-烯-5-基)-11-二氧化-14-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并[124]噻二嗪-7-基]-甲磺酰胺

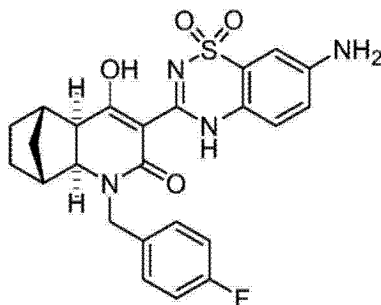
[0286]



[0287] 在氮气气氛下向内含 (1S, 2R, 3S, 4R)-3-环戊基氨基-二环 [2.2.1] 庚烷-2-羧酸乙酯 (150mg, 0.60mmol) 和 (7-甲磺酰基氨基-1,1-二氧化-1,4-二氢-1 $\lambda^6$ -苯并 [1,2,4] 噻二嗪-3-基)-乙酸 (如 US7,939,524B2 所述制备, 181mg, 0.54mmol) 的无水 N,N-二甲基甲酰胺 (5mL) 搅拌溶液依次添加 N-甲基吗啉 (0.12mL, 1.08mmol) 和 1-(3-二甲基氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐 (104mg, 0.54mmol)。该混合物在 25℃ 搅拌 45 分钟, 添加三乙胺 (0.25mL, 1.76mmol), 并使所得混合物在 50℃ 搅拌 60 小时。使该反应混合物冷却至 25℃, 用乙酸乙酯稀释, 用 1.0M 盐酸水溶液和饱和盐水溶液洗涤, 用硫酸镁干燥, 然后过滤。真空浓缩滤液, 残余物通过制备型-HPLC [所用柱为 Column Luna5 $\mu$  C18(2) 100Å AXIA150 $\times$ 21.2mm, 5 微米, 30%~95%, 7 分钟, 流速 30mL/分钟, 内含 0.05% 三氟乙酸的乙腈 / 内含 0.05% 三氟乙酸的水] 纯化以获得黄色固态的所需产物, N-[3-(1R, 2S, 7R, 8S)-3-环戊基-6-羟基-4-氧代-3-氮杂-三环 [6.2.1.0<sup>2,7</sup>] 十一碳-5-烯-5-基)-1,1-二氧化-1,4-二氢-1 $\lambda^6$ -苯并 [1,2,4] 噻二嗪-7-基]-甲磺酰胺 (80mg, 0.15mmol, 26%)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ : 1.20-1.65 (8H, m), 1.75-1.95 (6H, m), 2.42 (1H, s), 2.60 (1H, s), 2.99 (1H, d, J=9.2Hz), 3.05 (3H, s), 3.60 (1H, d, J=9.2Hz), 3.93 (1H, m), 7.48-7.58 (3H, m), 10.17 (1H, s)。C<sub>23</sub>H<sub>28</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>S<sub>2</sub> 的 LC-MS (ESI) 计算值为 520.15, 测量值为 521.4 [M+H<sup>+</sup>]。

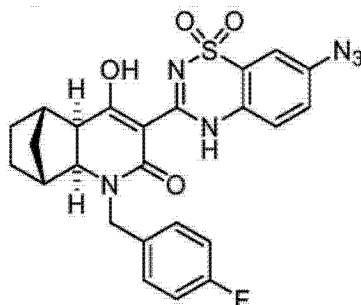
[0288] 实施例 6: (1R, 2S, 7R, 8S)-5-(7-氨基-1,1-二氧化-1,4-二氢-1 $\lambda^6$ -苯并 [1,2,4] 噻二嗪-3-基)-3-(4-氟-苄基)-6-羟基-3-氮杂-三环 [6.2.1.0<sup>2,7</sup>] 十一碳-5-烯-4-酮

[0289]



[0290] a) (1R, 2S, 7R, 8S)-5-(7-叠氮基-1,1-二氧化-1,4-二氢-1 $\lambda^6$ -苯并 [1,2,4] 噻二嗪-3-基)-3-(4-氟-苄基)-6-羟基-3-氮杂-三环 [6.2.1.0<sup>2,7</sup>] 十一碳-5-烯-4-酮

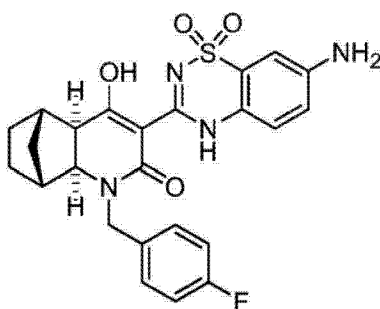
[0291]



[0292] 在 25℃ 使 (1R, 2S, 7R, 8S)-3-(4-氟-苄基)-6-羟基-5-(7-碘-1,1-二氧化-1,4-二氢-1 $\lambda^6$ -苯并 [1,2,4] 噻二嗪-3-基)-3-氮杂-三环 [6.2.1.0<sup>2,7</sup>] 十一碳-5-烯-4-酮 (如实施例 1a 所述制备, 0.513g, 0.864mmol)、叠氮化钠 (1.12g, 17.2mmol)、抗坏血酸钠 (0.086g, 0.43mmol)、碘化亚铜 (I) (0.16g, 0.84mmol) 和反式-N,N'-二甲基环

己烷-1,2-二胺 (0.20mL, 1.27mmol) 溶解于二甲亚砜和水的 5:1 混合物 (10mL) 中。对该反应烧瓶脱气并用氮气 (5×) 回填。在 25℃ 搅拌 14 小时后, 使该反应混合物在水 (150mL) 和乙酸乙酯 (2×150mL) 之间分配。有机层用硫酸钠干燥, 过滤并真空浓缩。残余物通过快速柱色谱 (Teledyne Isco RediSep 柱; 内含 0 ~ 60% 乙酸乙酯的己烷) 纯化以获得深棕色泡沫状的所需产物, (1R, 2S, 7R, 8S)-5-(7-叠氨基-1,1-二氧化-1,4-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并[1,2,4]噻二嗪-3-基)-3-(4-氟-苄基)-6-羟基-3-氮杂-三环[6.2.1.0<sup>2,7</sup>]十一碳-5-烯-4-酮 (0.348g, 0.684mmol, 79%), 该产物无需任何进一步纯化即可用于下一步骤。

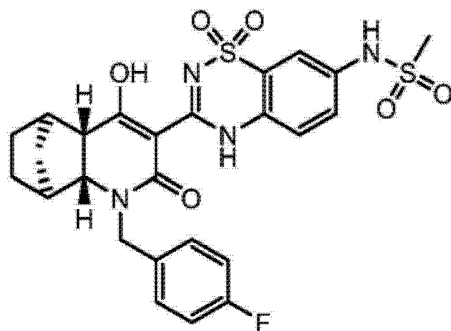
[0293] b) (1R, 2S, 7R, 8S)-5-(7-氨基-1,1-二氧化-1,4-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并[1,2,4]噻二嗪-3-基)-3-(4-氟-苄基)-6-羟基-3-氮杂-三环[6.2.1.0<sup>2,7</sup>]十一碳-5-烯-4-酮  
[0294]



[0295] 在 25℃ 使 (1R, 2S, 7R, 8S)-5-(7-叠氨基-1,1-二氧化-1,4-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并[1,2,4]噻二嗪-3-基)-3-(4-氟-苄基)-6-羟基-3-氮杂-三环[6.2.1.0<sup>2,7</sup>]十一碳-5-烯-4-酮 (0.348g, 0.684mmol) 溶解于甲醇和乙酸乙酯的 1:1 混合物 (15mL) 中。添加钯碳 (0.40g, 5%, “湿”) 导致黑色混悬液。使该反应保持在 25℃ 的氢气气氛 (气囊) 下 6 小时, 然后通过硅藻土过滤。该硅藻土用乙酸乙酯 (2×30mL) 洗涤, 真空浓缩滤液。残余物通过快速柱色谱 (Teledyne Isco RediSep 柱; 内含 50 ~ 100% 乙酸乙酯的己烷) 纯化以获得浅黄色固态的所需产物, (1R, 2S, 7R, 8S)-5-(7-氨基-1,1-二氧化-1,4-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并[1,2,4]噻二嗪-3-基)-3-(4-氟-苄基)-6-羟基-3-氮杂-三环[6.2.1.0<sup>2,7</sup>]十一碳-5-烯-4-酮 (0.159g, 0.330mmol, 48%)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 1.08-1.19 (3H, m), 1.40-1.57 (3H, m), 2.99 (1H, d, J=7.2Hz), 3.31 (3H, s), 3.36-3.37 (1H, m), 3.50 (1H, d, J=7.8Hz), 4.39 (1H, d, J=14.6Hz), 4.93 (1H, d, J=14.5Hz), 6.86-6.91 (3H, m), 7.13-7.15 (2H, m), 7.21 (1H, d, J=8.8Hz), 7.30 (2H, bs), 13.79 (1H, s)。C<sub>24</sub>H<sub>23</sub>FN<sub>4</sub>O<sub>4</sub>S 的 LC-MS (ESI) 计算值为 482.14, 测量值为 483.4 [M+H<sup>+</sup>]。

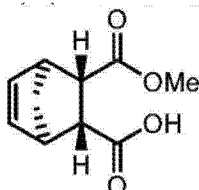
[0296] 实施例 7: N-{3-[(1S, 2R, 7S, 8R)-3-(4-氟-苄基)-6-羟基-4-氧代-3-氮杂-三环[6.2.1.0<sup>2,7</sup>]十一碳-5-烯-5-基]-1,1-二氧化-1,4-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并[1,2,4]噻二嗪-7-基}-甲磺酰胺

[0297]



[0298] a) (1R, 2R, 3S, 4S)-3-(甲氧基羰基)二环[2.2.1]庚-5-烯-2-羧酸

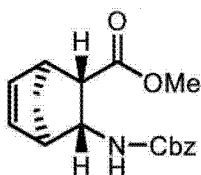
[0299]



[0300] 该化合物如 J. Org. Chem. 2000, 65, 6984-6991 所述制备。使顺-5-降冰片烯-外-2,3-二羧酸酐 (5g, 30.45mmol) 悬浮于甲苯和四氯化碳的 1:1 混合物 (150mL) 中。使该混合物搅拌 10 分钟。添加奎尼丁 (10.9g, 33.5mmol), 然后对该烧瓶脱气并用氮气回填。使该溶液冷却至 -55℃。搅拌下添加甲醇 (3.7mL, 91.35mmol)。使该混合物在 -55℃ 搅拌 16 小时。回暖至 25℃ 后, 使该混合物真空浓缩成泡沫。使该泡沫溶解于乙酸乙酯 (400mL) 和 1.0M 盐酸水溶液 (400mL) 的混合物中。分层, 有机层用 1.0M 盐酸水溶液 (2×100mL)、饱和盐水溶液 (100mL) 进一步洗涤, 并用硫酸镁干燥, 过滤, 真空浓缩以获得透明油状的所需产物, (1R, 2R, 3S, 4S)-3-(甲氧基羰基)二环[2.2.1]庚-5-烯-2-羧酸 (5.92g, 30.2mmol, 99%)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ : 1.29(1H, d, J=10.2Hz), 1.96(1H, d, J=8.6Hz), 2.47-2.49(2H, m), 2.93-2.94(2H, m), 3.51(3H, s), 6.15-6.20(2H, m), 12.15(1H, s)。

[0301] b) (1S, 2S, 3R, 4R)-3-[(苄氧基)羰基]氨基}二环[2.2.1]庚-5-烯-2-羧酸甲酯

[0302]



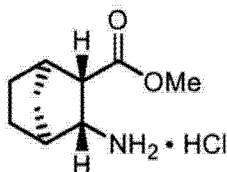
[0303] 该中间体如 Synthesis2001, 11, 1719-1730 所述制备。使 (1R, 2R, 3S, 4S)-3-(甲氧基羰基)二环[2.2.1]庚-5-烯-2-羧酸 (5.9g, 30mmol) 溶解于无水四氢呋喃 (133mL) 中。对该烧瓶脱气并用氮气回填, 然后使该混合物冷却至 0℃。在剧烈搅拌下添加三乙胺 (12.64mL, 90mmol), 然后逐滴添加氯甲酸乙酯 (5.72mL, 60mmol)。立即观察到沉淀。使该混合物在 0℃ 搅拌 1 小时。使叠氮化钠 (5.86g, 90mmol) 溶解于水 (40mL) 并在 0℃ 添加至所述反应混合物。使该混合物在 0℃ 搅拌 5 分钟。移去冰浴。使该混合物回暖至 25℃, 并持续搅拌 2 小时。将该混合物倾倒至水 (300mL) 中, 并用乙酸乙酯 (350mL) 萃取产物。有机

层用半饱和的碳酸氢钠水溶液 (2×100mL)、饱和盐水溶液 (100mL) 进一步洗涤,用硫酸镁干燥,过滤,并真空浓缩以获得浅棕色油状物。

[0304] 使该油状物溶解于无水苯 (66mL) 中,并于氮气下在搅拌下回流 2 小时。冷却至 25℃后,使该溶液真空浓缩以获得浅黄色油状物。使该油状物溶解于二氯甲烷 (40mL),并添加苯甲醇 (3.41mL, 33mmol),然后添加三乙胺 (8.44mL, 60mmol)。使该混合物在氮气下回流 16 小时。冷却至 25℃后,使该溶液真空浓缩以获得稠厚油状物。通过快速柱色谱 (Merck 硅胶 60, 40-63 μm; 第 1 根柱 :3:1 己烷 / 乙酸乙酯; 第 2 根柱 :2:4:1 二氯甲烷 / 戊烷 / 二乙醚) 纯化获得淡黄色油状的所需产物, (1S, 2S, 3R, 4R)-3-[(苄氧基)羰基]氨基}二环 [2.2.1] 庚-5-烯-2-羧酸甲酯 (6.195g, 20.58mmol, 69%)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ : 1.60 (1H, d, J=9.4Hz), 1.97 (1H, d, J=9.3Hz), 2.66 (1H, d, J=7.5Hz), 2.75 (1H, s), 2.96 (1H, s), 3.60 (3H, s), 4.02 (1H, t, J=8.9Hz), 5.09 (2H, q, J=10.5Hz), 5.47 (1H, d, J=8.8Hz), 6.18-6.23 (2H, m), 7.29-7.37 (5H, m)。C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>4</sub> 的 LC-MS (ESI) 计算值为 301.13, 测量值为 258.1 (100%), 302.2 [M+H<sup>+</sup>] (70%), 603.4 [2M+H<sup>+</sup>] (20%)。

[0305] c) (1R, 2S, 3R, 4S)-3-氨基二环 [2.2.1] 庚烷-2-羧酸甲酯盐酸盐

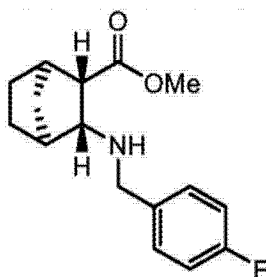
[0306]



[0307] 使 (1S, 2S, 3R, 4R)-3-[(苄氧基)羰基]氨基}二环 [2.2.1] 庚-5-烯-2-羧酸甲酯 (1g, 3.32mmol) 溶解于乙酸乙酯 (15mL)。添加 5% 钯碳 (120mg)。使该烧瓶脱气并通过气囊用氢气回填。使该混合物在 25℃搅拌 16 小时。使该混合物通过硅藻土塞,并真空浓缩滤液以获得稠厚透明油状物。使该油状物溶解于二乙醚 (10mL),并在剧烈搅拌下逐滴添加至内含 4.0M 盐酸溶液的 1,4-二噁烷 (1.8mL, 7.2mmol) 和二乙醚 (18mL) 的混合物中。所需产物开始沉淀为白色固体。另添加二乙醚 (10mL) 并使该混合物搅拌 10 分钟。通过真空过滤收集沉淀物并用额外的二乙醚 (2×8mL) 洗涤。使该固体进一步真空干燥 1 小时以获得白色粉末状的所需产物, (1R, 2S, 3R, 4S)-3-氨基二环 [2.2.1] 庚烷-2-羧酸甲酯盐酸盐 (0.554g, 2.7mmol, 81%)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ : 1.18-1.27 (3H, m), 1.37-1.61 (2H, m), 1.90 (1H, d, J=11.0Hz), 2.35 (1H, d, J=3.8Hz), 2.44 (1H, d, J=3.1Hz), 2.75 (1H, d, J=8.7Hz), 3.29-3.34 (1H, m), 3.61 (3H, s), 8.03 (3H, bs)。C<sub>9</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>2</sub> (游离胺) 的 LC-MS (ESI) 计算值为 169.11, 测量值为 170.3 [M+H<sup>+</sup>] (100%), 339.3 [2M+H<sup>+</sup>] (50%)。

[0308] d) (1R, 2S, 3R, 4S)-3-[(4-氟苄基)氨基]二环 [2.2.1] 庚烷-2-羧酸甲酯

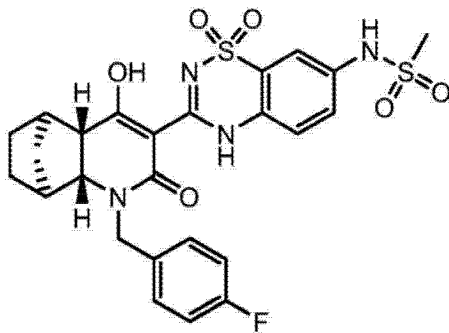
[0309]



[0310] 使 (1R, 2S, 3R, 4S)-3-氨基二环 [2.2.1] 庚烷-2-羧酸甲酯盐酸盐 (0.5g, 2.43mmol) 溶解于甲醇 (12mL)。添加乙酸钠 (0.4g, 4.86mmol), 然后添加 4Å 粉末分子筛 (0.5g) 和 4-氟-苯甲醛 (0.302g, 2.43mmol)。添加氰基硼氢化钠 (0.305g, 4.86mmol) 并使该混合物在 25℃ 搅拌 3 小时。将该混合物倾倒入乙酸乙酯 (300mL) 中并加饱和碳酸氢钠水溶液 (200mL) 振荡。使两层通过硅藻土塞。有机层用饱和碳酸氢钠水溶液 (100mL)、饱和盐水溶液 (100mL) 进一步洗涤, 用硫酸镁干燥, 过滤, 并真空浓缩以获得透明油状的粗产物, (1R, 2S, 3R, 4S)-3-[(4-氟苄基)氨基]二环 [2.2.1] 庚烷-2-羧酸甲酯 (0.675g, 2.43mmol, 99%)。C<sub>16</sub>H<sub>20</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的 LC-MS (ESI) 计算值为 277.15, 测量值为 278.2 [M+H<sup>+</sup>]。

[0311] e) N-{3-[(1S, 2R, 7S, 8R)-3-(4-氟-苄基)-6-羟基-4-氧代-3-氮杂-三环 [6.2.1.0<sup>2,7</sup>] 十一碳-5-烯-5-基]-1, 1-二氧化-1, 4-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并 [1, 2, 4] 噻二嗪-7-基}-甲磺酰胺

[0312]



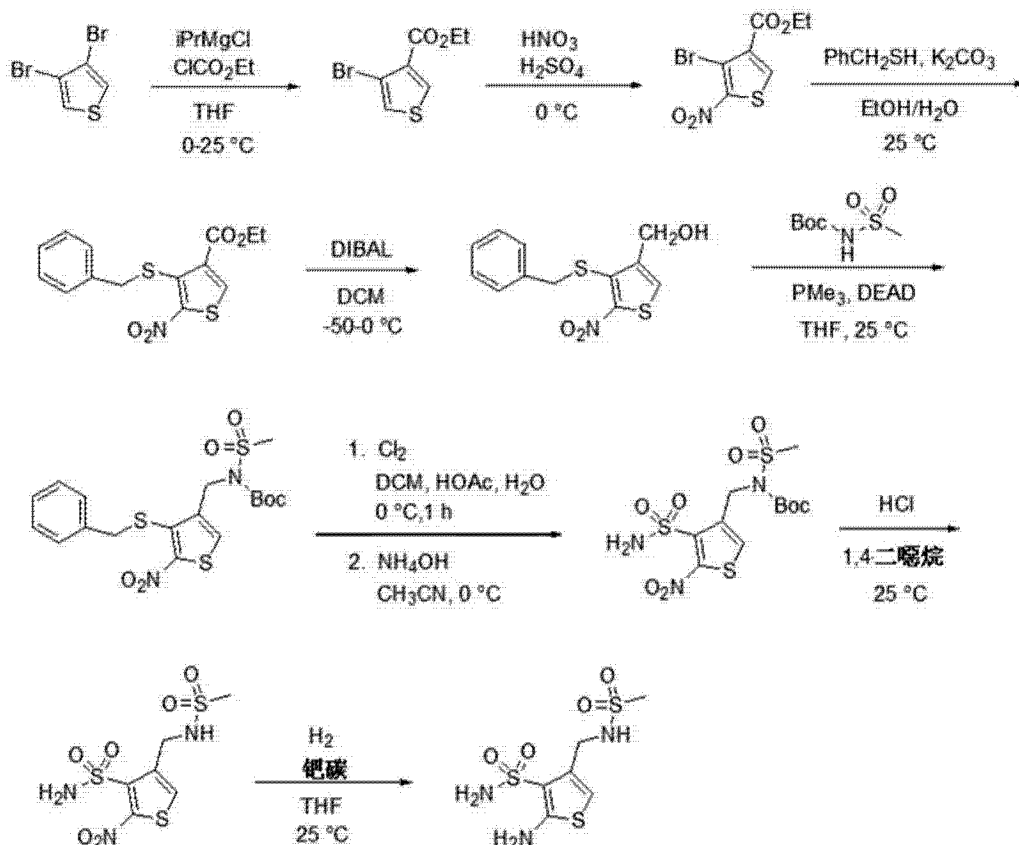
[0313] 使 (1R, 2S, 3R, 4S)-3-[(4-氟苄基)氨基]二环 [2.2.1] 庚烷-2-羧酸甲酯 (0.6g, 2.16mmol) 溶解于无水 N, N-二甲基甲酰胺 (20mL)。添加 (7-甲磺酰基氨基-1, 1-二氧化-1, 4-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并 [1, 2, 4] 噻二嗪-3-基)-乙酸 (如 US7, 939, 524B2 所述制备, 0.72g, 2.16mmol), 然后添加 N-甲基吗啉 (0.5mL, 4.54mmol)。搅拌该混合物直至所有物质溶解, 用时约 5 分钟。添加 1-(3-二甲基氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐 (0.435g, 2.27mmol) 并使该混合物在 25℃ 搅拌 45 分钟。添加三乙胺 (0.91mL, 6.48mmol) 并使该混合物在 50℃ 搅拌 16 小时。冷却至 25℃ 后, 该溶液用乙酸乙酯 (300mL) 稀释并用 1.0M 盐酸水溶液 (3×300mL)、饱和盐水溶液 (100mL) 洗涤, 用硫酸镁干燥, 过滤并真空浓缩以获得金色油状物。通过快速柱色谱 (Merck 硅胶 60, 40-63 μm, 内含 0~0.75% 甲醇的二氯甲烷) 纯化获得白色泡沫状产物。使该泡沫溶解于甲醇 (10mL) 并通过在搅拌下添加 1.0M 盐酸水溶液 (20mL) 使产物沉淀。该固体通过真空过滤收集, 并进一步真空干燥以获得白色粉末状的所需产物, N-{3-[(1S, 2R, 7S, 8R)-3-(4-氟-苄基)-6-羟基-4-氧代-3-氮杂-三环 [6.2.1.0<sup>2,7</sup>] 十一碳-5-烯-5-基]-1, 1-二氧化-1, 4-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并 [1, 2, 4] 噻二嗪-7-基}-甲磺酰胺 (0.592g, 1.06mmol, 49%)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 1.15-1.22 (2H, m), 1.39-1.61 (4H, m), 2.49-2.55 (1H, m), 2.62-2.63 (1H, m), 3.02 (1H, d, J=9.8Hz), 3.05 (3H, s), 3.52 (1H, d, J=9.3Hz), 4.41 (1H, d, J=15.5Hz), 4.95 (1H, d, J=15.5Hz), 7.14 (2H, t, J=8.7Hz), 7.32 (2H, dd, J<sub>1</sub>=8.2Hz, J<sub>2</sub>=5.7Hz), 7.50 (1H, dd, J<sub>1</sub>=8.4Hz, J<sub>2</sub>=2.4Hz), 7.55-7.57 (2H, m), 10.17 (1H, s)。C<sub>25</sub>H<sub>25</sub>FN<sub>4</sub>O<sub>6</sub>S<sub>2</sub> 的 LC-MS (ESI) 计算值为 560.12, 测量值为 561.3 [M+H<sup>+</sup>]。ee=96% [HPLC-分析: Chiralpak AS-RH2.1×150mm, 室温下 5 微米, 溶剂 A-溶剂 B (参见上

述梯度表), 0.3mL/分钟, 312nm, t1=4.3分钟, t2=6.0分钟(主)]。

[0314] 方案 4a 提供用于制备 2-氨基-4-(甲磺酰基氨基-甲基)-噻吩-3-磺酰胺中间体的特定方法。

[0315] 方案 4a

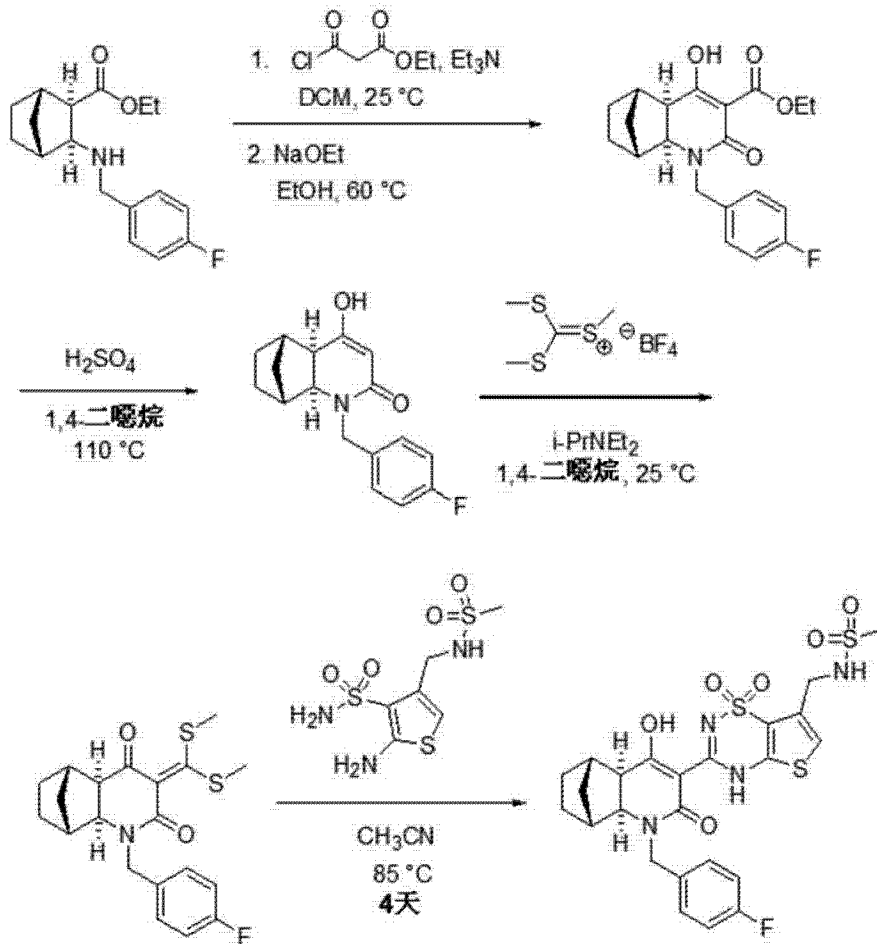
[0316]



[0317] 方案 4b 提供用于制备实施例 8 的 5,6-二氢-1H-吡啶-2-酮化合物的特定方法。

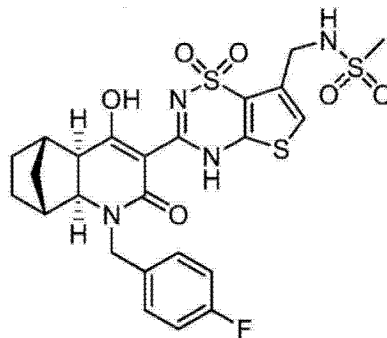
[0318] 方案 4b

[0319]



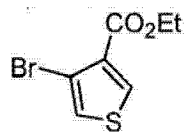
[0320] 实施例 8 : (1R, 2S, 7R, 8S)-N-{3-[3-(4-氟-苄基)-6-羟基-4-氧代-3-氮杂-三环 [6.2.1.0<sup>2,7</sup>] 十一碳-5-烯-5-基]-1,1-二氧化代-1,4-二氢-1λ<sup>6</sup>-噻吩并 [2,3-e] [1,2,4] 噻二嗪-7-基甲基}-甲磺酰胺

[0321]



[0322] a) 4-溴-噻吩-3-羧酸乙酯

[0323]



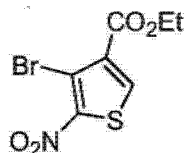
[0324] 用 35 分钟在  $0^\circ\text{C}$  通过套管向内含 3,4-二溴-噻吩 (102g, 0.421mol) 的四氢呋喃 (600mL) 溶液添加异丙基氯化镁 (263mL 在四氢呋喃中形成的 2.0M 溶液, 0.527mol)。使该混合物回暖至  $25^\circ\text{C}$  并在该温度搅拌 18 小时。添加水 (25mL), 并在  $25^\circ\text{C}$  搅拌该混合物 15



分钟,然后真空浓缩至约 200mL 体积。使该浓缩物在 1.0M 盐酸水溶液 (400mL) 和乙酸乙酯 (2×350mL) 之间分配。合并的有机层用硫酸钠干燥,过滤并真空浓缩以获得黄色 / 棕色油状的粗产物,4- 溴 - 噻吩 -3- 羧酸乙酯 (91.9g, 0.391mol, 93%)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ :1.40(3H, t, J=7.5Hz), 4.36(2H, q, J=7.3Hz), 7.31(1H, d, J=3.9Hz), 8.10(1H, d, J=3.0Hz)。

[0325] b) 4- 溴 -5- 硝基 - 噻吩 -3- 羧酸乙酯

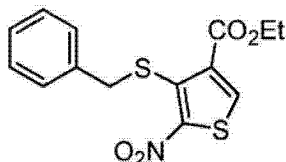
[0326]



[0327] 用 10 分钟在 0℃ 通过移液管向 18.0M 硫酸 (660mL) 添加 4- 溴 - 噻吩 -3- 羧酸乙酯 (97.6g, 0.415mol)。在 0℃ 搅拌 5 分钟后,用 30 分钟通过加料漏斗添加溶解于 18.0M 硫酸 (130mL) 中的发烟硝酸 (18mL)。添加完成后,使该反应混合物在 0℃ 搅拌 5 分钟,然后倾倒入至冰 (3.5kg) 上。所得沉淀物通过过滤收集,并依次用水 (300mL)、10% 碳酸氢钠水溶液 (400mL) 和水 (300mL) 洗涤。使由此获得的棕色 / 黄色固体在真空炉中于 40℃ 干燥过夜以获得粗产物,4- 溴 -5- 硝基 - 噻吩 -3- 羧酸乙酯 (97.9g, 0.350mol, 84%)。该材料通过快速柱色谱 (Merck 硅胶 60, 40-63 μm; 内含 25% 己烷的二氯甲烷) 纯化成 20g 部分,然后用于下一步骤 (回收率 =80-90%)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ :1.31(3H, t, J=7.0Hz), 4.30(4H, q, J=7.0Hz), 8.68(1H, s)。

[0328] c) 4- 苄基硫烷基 -5- 硝基 - 噻吩 -3- 羧酸乙酯

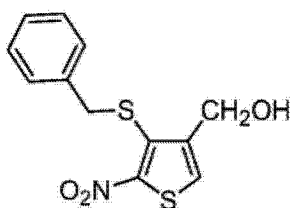
[0329]



[0330] 在 25℃ 向内含 4- 溴 -5- 硝基 - 噻吩 -3- 羧酸乙酯 (20.06g, 71.6mmol) 的乙醇混悬液添加碳酸钾水溶液 (9.90g, 71.6mmol, 溶解于 40mL 水)。通过移液管添加苄基硫醇 (8.41mL, 71.6mmol),使该暗红色反应混合物在 25℃ 搅拌 4 小时,然后真空浓缩至近干。剩余的橙棕色固体用水 (200mL) 研磨然后通过过滤收集。在用水 (200mL) 洗涤之后,所得固体空气干燥过夜以获得黄色 / 棕色固体的所需产物,4- 苄基硫烷基 -5- 硝基 - 噻吩 -3- 羧酸乙酯 (22.63g, 70.0mmol, 98%)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ :1.41(3H, t, J=7.1Hz), 4.25(2H, s), 4.39(2H, q, J=7.0Hz), 7.18-7.23(5H, m), 8.07(1H, s)。

[0331] d) (4- 苄基硫烷基 -5- 硝基 - 噻吩 -3- 基) - 甲醇

[0332]

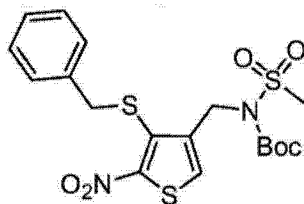


[0333] 在 -50℃ 用 25 分钟通过套管向 4- 苄基硫烷基 -5- 硝基 - 噻吩 -3- 羧酸乙

酯 (22.63g, 70.0mmol) 溶液添加二异丁基氢化铝 (154mL 在二氯甲烷中形成的 1.0M 溶液, 154mmol)。使该反应混合物在  $-50^{\circ}\text{C}$  搅拌 2 小时, 然后回暖至  $0^{\circ}\text{C}$  并在该温度保留 35 分钟。通过加料漏斗用 15 分钟添加水 (200mL), 使所得混悬液回暖至  $25^{\circ}\text{C}$ , 然后另添加水 (200mL) 和 D/L- 酒石酸 (20g)。在  $25^{\circ}\text{C}$  剧烈搅拌 30 分钟后, 使该反应混合物在 1.0M 水性盐酸溶液 (300mL) 和二氯甲烷 ( $2 \times 400\text{mL}$ ) 之间分配。合并的有机层用硫酸钠干燥, 过滤并真空浓缩。残余物通过快速柱色谱 (Merck 硅胶 60,  $40-63 \mu\text{m}$ ; 内含 10-50% 乙酸乙酯的己烷) 纯化获得暗棕色油状的所需产物, (4-苄基硫烷基-5-硝基-噻吩-3-基)-甲醇 (10.52g, 37.4mmol, 53%)。 $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 4.21 (2H, s), 4.40 (2H, s), 7.09-7.12 (1H, m), 7.21-7.24 (4H, m), 7.39 (1H, s)。

[0334] e) Boc-N-(4-苄基硫烷基-5-硝基-噻吩-3-基甲基)-甲磺酰胺

[0335]

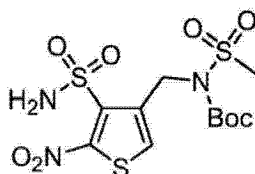


[0336] 在  $25^{\circ}\text{C}$  向内含甲磺酰胺 (10.0g, 105mmol) 的二氯甲烷 (300mL) 溶液依次添加三乙胺 (22.0mL, 158mmol)、二碳酸二叔丁酯 (27.5g, 126mmol) 和 4-(N,N-二甲基氨基) 吡啶 (1.28g, 10.5mmol)。使该混合物在  $25^{\circ}\text{C}$  搅拌 2 小时, 然后真空浓缩至约 40mL 体积。添加乙酸乙酯 (350mL), 并用 1.0M 盐酸水溶液 (300mL) 洗涤该混合物。水层用乙酸乙酯 (250mL) 萃取, 且合并的有机层用硫酸钠干燥, 过滤并真空浓缩以获得白色固态的 Boc-N-甲磺酰胺 (17.1g, 87.6mmol, 83%)。 $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.53 (9H, s), 3.27 (3H, s)。

[0337] 在  $25^{\circ}\text{C}$  向内含 (4-苄基硫烷基-5-硝基-噻吩-3-基)-甲醇 (10.52g, 37.4mmol) 的四氢呋喃 (300mL) 溶液依次添加 Boc-N-甲磺酰胺 (11.0g, 56.3mmol)、三甲基膦 (56.1mL 在四氢呋喃中形成的 1.0M 溶液, 56.1mmol) 和内含 40 重量% 偶氮二羧酸二乙酯的甲苯 (25.6mL, 56.0mmol) 溶液。使该混合物在  $25^{\circ}\text{C}$  搅拌 3.5 小时, 然后真空浓缩。剩余物通过快速柱色谱 (Merck 硅胶 60,  $40-63 \mu\text{m}$ ; 内含 20% 乙酸乙酯的己烷) 纯化获得暗棕色油状的所需产物, Boc-N-(4-苄基硫烷基-5-硝基-噻吩-3-基甲基)-甲磺酰胺 (9.79g, 21.3mmol, 57%)。 $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.50 (9H, s), 3.29 (3H, s), 4.19 (2H, s), 4.68 (2H, s), 7.15-7.18 (2H, m), 7.22-7.25 (3H, m), 7.40 (1H, s)。

[0338] f) Boc-4-(甲磺酰基氨基-甲基)-2-硝基-噻吩-3-磺酸酰胺

[0339]



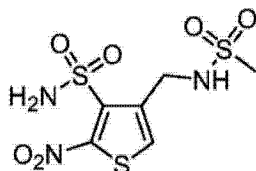
[0340] 使 Boc-N-(4-苄基硫烷基-5-硝基-噻吩-3-基甲基)-甲磺酰胺 (4.90g, 10.7mmol) 溶解于二氯甲烷 (65mL), 然后使该暗棕色溶液冷却至  $0^{\circ}\text{C}$ 。然后, 缓慢添加冰乙酸 (15mL) 和水 (20mL) 的混合物, 生成两相混合物。在  $0^{\circ}\text{C}$  使用吸管将氯气鼓泡通入该混合物 5 分钟。使所得黄色双相混合物在  $0^{\circ}\text{C}$  另搅拌 35 分钟, 然后倾倒至分液漏斗

并分离各层。水层用二氯甲烷 (1×50mL) 萃取,而合并的有机层用水 (1×50mL) 洗涤,用硫酸钠干燥,过滤并真空浓缩至约 25mL 体积。然后,用 30 分钟通过另一个漏斗向该溶液添加庚烷 (80mL)。所得橙色沉淀通过过滤收集,用庚烷 (2×20mL) 洗涤,并空气干燥以获得 Boc-4-(甲磺酰基氨基-甲基)-2-硝基-噻吩-3-磺酰氯 (2.45g, 5.63mmol, 53%)。

[0341] 在 0℃ 向内含 Boc-4-(甲磺酰基氨基-甲基)-2-硝基-噻吩-3-磺酰氯 (3.30g, 7.59mmol) 的乙腈 (90mL) 溶液添加浓缩的氢氧化铵水溶液 (3mL)。使该混合物在 0℃ 搅拌 45 分钟,然后在半饱和的碳酸氢钠水溶液 (150mL) 和乙酸乙酯 (2×150mL) 之间分配。合并的有机层用硫酸钠干燥,过滤并真空浓缩。剩余物通过快速柱色谱 (Teledyne Isco RediSep 柱; 内含 20-90% 乙酸乙酯的己烷) 纯化获得黄色固态的所需产物, Boc-4-(甲磺酰基氨基-甲基)-2-硝基-噻吩-3-磺酰胺 (2.64g, 6.35mmol, 84%)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ : 1.54 (9H, s), 3.35 (3H, s), 5.12 (2H, s), 5.81 (2H, bs), 7.61 (1H, s)。

[0342] g) 4-(甲磺酰基氨基-甲基)-2-硝基-噻吩-3-磺酰胺

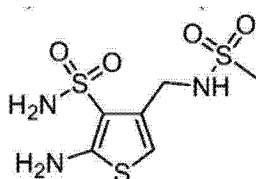
[0343]



[0344] 在 25℃ 向内含 Boc-4-(甲磺酰基氨基-甲基)-2-硝基-噻吩-3-磺酰胺 (0.600g, 1.44mmol) 的 1,4-二噁烷 (10mL) 溶液添加内含 4.0M 盐酸的 20mL 1,4-二噁烷。使该混合物在 25℃ 搅拌 18 小时,然后在半饱和碳酸氢钠水溶液 (150mL) 和乙酸乙酯 (2×150mL) 之间分配。合并的有机层用硫酸钠干燥,过滤并真空浓缩。剩余物通过快速柱色谱 (Teledyne Isco RediSep 柱; 内含 60~100% 乙酸乙酯的己烷) 纯化提供黄色油状物。该物质用二氯甲烷研磨以获得黄色固体,通过过滤收集该固体以获得所需产物, 4-(甲磺酰基氨基-甲基)-2-硝基-噻吩-3-磺酰胺 (0.400g, 1.27mmol, 88%)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ : 2.96 (3H, s), 3.31 (2H, s), 4.35 (1H, d, J=5.4Hz), 7.61 (1H, t, J=6.2Hz), 7.85 (1H, s), 7.87 (2H, bs)。

[0345] h) 2-氨基-4-(甲磺酰基氨基-甲基)-噻吩-3-磺酰胺

[0346]

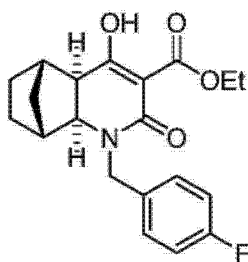


[0347] 在 25℃ 向内含 4-(甲磺酰基氨基-甲基)-2-硝基-噻吩-3-磺酰胺 (0.156g, 0.495mmol) 的四氢呋喃 (12mL) 溶液添加钯碳 (10%, 0.150g, 干燥)。对该烧瓶脱气并通过气囊用氢气回填,然后使该混合物在氢气正压 (两个气囊) 下搅拌 17 小时。然后,使该混合物通过硅藻土过滤,并用四氢呋喃 (3×20mL) 洗涤该硅藻土。使合并的滤液和洗液真空浓缩以获得黄色油状的粗产物, 2-氨基-4-(甲磺酰基氨基-甲基)-噻吩-3-磺酰胺。该物质不需要额外纯化即可用于后续合成转化。

[0348] i) (1R, 2S, 7R, 8S)-3-(4-氟-苄基)-6-羟基-4-氧代-3-氮杂-三环 [6.2.1.0<sup>2,7</sup>]

十一碳-5-烯-5-羧酸乙酯

[0349]

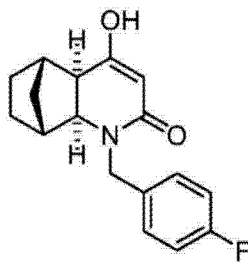


[0350] 在 25℃ 向内含 (1S, 2R, 3S, 4R)-3-(4-氟苄基氨基)-二环 [2.2.1] 庚烷-2-羧酸乙酯 (如实施例 21 所述制备, 4.21g, 14.4mmol) 的二氯甲烷溶液依次添加三乙胺 (4.22mL, 30.3mmol) 和氯甲酰乙酸乙酯 (1.91mL, 15.2mmol)。使该混合物在 25℃ 搅拌 1 小时, 然后在 1.0M 盐酸水溶液 (150mL) 和乙酸乙酯 (2×150mL) 之间分配。合并的有机层用硫酸钠干燥, 过滤并真空浓缩以获得黄色 / 橙色油状物。

[0351] 使该物质在 25℃ 溶解于无水乙醇 (80mL), 并添加内含 21 重量 % 乙醇钠的乙醇 (14.0mL, 43.2mmol) 溶液。对该混合物加热至 60℃ 45 分钟, 然后冷却至 25℃。然后, 使该混合物真空浓缩并将获得的橙色 / 棕色固体在 1.0M 盐酸水溶液 (150mL) 和乙酸乙酯 (2×150mL) 之间分层。合并的有机相用硫酸钠干燥, 过滤并真空浓缩。剩余物通过快速柱色谱 (Teledyne Isco RediSep 纯化; 内含 10~80% 乙酸乙酯的己烷) 纯化获得灰黄色油状的所需产物, (1R, 2S, 7R, 8S)-3-(4-氟-苄基)-6-羟基-4-氧代-3-氮杂-三环 [6.2.1.0<sup>2,7</sup>] 十一碳-5-烯-5-羧酸乙酯。该物质直接用于下一合成步骤。

[0352] q) (1R, 2S, 7R, 8S)-3-(4-氟-苄基)-6-羟基-3-氮杂-三环 [6.2.1.0<sup>2,7</sup>] 十一碳-5-烯-4-酮

[0353]

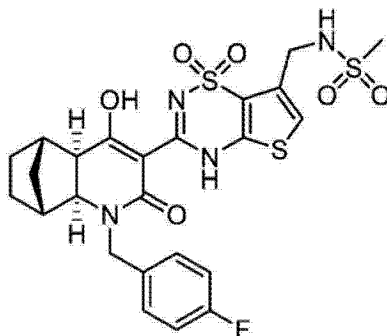


[0354] 使 (1R, 2S, 7R, 8S)-3-(4-氟-苄基)-6-羟基-4-氧代-3-氮杂-三环 [6.2.1.0<sup>2,7</sup>] 十一碳-5-烯-5-羧酸乙酯悬浮在 1,4-二噁烷和 1.0M 水性硫酸溶液的 1/1 混合物 (200mL) 中。将该混合物加热至 110℃ 40 分钟, 然后冷却至 25℃。将该冷却的混合物倾倒至分液漏斗中, 并用乙酸乙酯 (2×150mL) 萃取。合并的有机相用硫酸钠干燥, 过滤并真空浓缩以获得白色固体。该物质用己烷研磨并通过过滤收集, 用己烷 (2×15mL) 洗涤, 并空气干燥以获得白色固态的所需产物, (1R, 2S, 7R, 8S)-3-(4-氟-苄基)-6-羟基-3-氮杂-三环 [6.2.1.0<sup>2,7</sup>] 十一碳-5-烯-4-酮 (2.24g, 7.80mmol, 三步后 54%)。<sup>1</sup>H NMR (主要互变异构体, 400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 1.11-1.16 (1H, m), 1.20-1.39 (3H, m), 1.57-1.69 (2H, m), 2.53 (1H, d, J=8.4Hz), 2.63 (1H, bs), 2.73 (1H, bs), 3.39 (1H, d, J=4.1Hz), 3.51 (1H, d, J=9.5Hz), 4.29 (1H, d, J=14.9Hz), 5.20 (1H, d, J=14.9Hz), 6.98-7.04 (2H, m), 7.19-7.24 (2H, m)。

[0355] r) (1R, 2S, 7R, 8S)-N-{3-[3-(4-氟-苄基)-6-羟基-4-氧代-3-氮杂-三环

[6.2.1.0<sup>2,7</sup>] 十一碳-5-烯-5-基]-1,1-二氧化-1,4-二氢-1λ<sup>6</sup>-噻吩并[2,3-e][1,2,4]噻二嗪-7-基甲基}-甲磺酰胺

[0356]

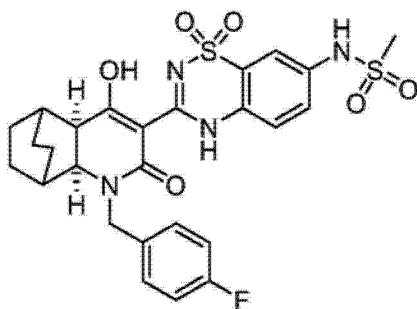


[0357] 在 25 °C 向内含 (1R, 2S, 7R, 8S)-3-(4-氟-苄基)-6-羟基-3-氮杂-三环[6.2.1.0<sup>2,7</sup>]十一碳-5-烯-4-酮 (0.197g, 0.686mmol) 的 1,4-二噁烷溶液 (50mL) 依次添加 N,N-二异丙基乙胺 (0.974mL, 5.59mL) 和 (二-甲基硫烷基-亚甲基)-甲基-钼四氟硼酸盐 (按 WO2008/011337 所述制备, 0.466g, 1.94mmol)。使所得橙色混合物在 25°C 搅拌 2 小时, 然后在水 (100mL) 和乙酸乙酯 (2×100mL) 之间分配。合并的有机层用硫酸钠干燥, 过滤并真空浓缩以获得橙色油状物。

[0358] 使该材料溶解于乙腈 (8mL), 然后在 85 °C 添加至内含粗制 2-氨基-4-(甲磺酰氨基-甲基)-噻吩-3-磺酰胺 (如上所述; 实施例 8h, 0.495mmol) 的乙腈 (4mL) 溶液中。使该混合物在 85 °C 保持 4 天, 然后冷却至 25 °C 并真空浓缩。残留物通过制备型-HPLC [Column Thomson ODS-A 100Å 5, 150×21.2mm, 30%-100%, 11.5 分钟, 流速 22mL/分钟, 内含 0.05% 三氟乙酸的乙腈 / 内含 0.05% 三氟乙酸的水] 纯化以获得粗产物。通过快速柱色谱 (Teledyne Isco RediSep 柱; 内含 50-100% 乙酸乙酯的己烷) 纯化该物质以获得灰白色固态的所需产物, (1R, 2S, 7R, 8S)-N-{3-[3-(4-氟-苄基)-6-羟基-4-氧代-3-氮杂-三环[6.2.1.0<sup>2,7</sup>]十一碳-5-烯-5-基]-1,1-二氧化-1,4-二氢-1λ<sup>6</sup>-噻吩并[2,3-e][1,2,4]噻二嗪-7-基甲基}-甲磺酰胺 (0.060g, 0.103mmol, 21%)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ : 0.84-0.90 (1H, m), 1.08-1.60 (5H, m), 1.99 (1H, s), 2.61 (1H, bs), 2.96 (3H, s), 3.50 (1H, d, J=9.4Hz), 3.96-3.99 (1H, m), 4.24 (1H, d, J=5.7Hz), 4.38 (1H, d, J=14.8Hz), 4.93 (1H, d, J=15.7Hz), 7.11-7.16 (2H, m), 7.27 (1H, s), 7.29-7.33 (2H, m), 7.65 (1H, t, J=5.9Hz)。C<sub>24</sub>H<sub>25</sub>FN<sub>4</sub>O<sub>6</sub>S<sub>3</sub> 的 LC-MS (ESI) 计算值为 580.09, 测量值为 581.1 [M+H]<sup>+</sup>。

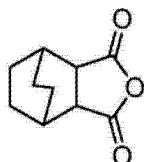
[0359] 实施例 9 : N-{3-[(2S, 7R)-3-(4-氟-苄基)-6-羟基-4-氧代-3-氮杂-三环[6.2.2.0<sup>2,7</sup>]十二碳-5-烯-5-基]-1,1-二氧化-1,4-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并[1,2,4]噻二嗪-7-基}-甲磺酰胺

[0360]



[0361] a) 4-氧杂-三环 [5.2.2.0<sup>2,6</sup>] 十一烷 -3,5-二酮

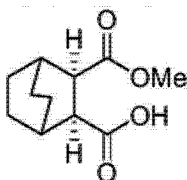
[0362]



[0363] 使 4-氧杂-三环 [5.2.2.0<sup>2,6</sup>] 十一碳 -8-烯 -3,5-二酮 (4.00g, 22.45mmol) 溶解于乙酸乙酯 (100mL)。添加 10% 钯碳 (400mg)。对烧瓶脱气,并通过气囊用氢气回填。使该混合物在 25°C 搅拌 16 小时。使该混合物通过硅藻土塞,并真空浓缩滤液以获得稠厚透明油状物。通过快速色谱柱 (Teledyne Isco RediSep 柱;内含 0~30% 乙酸乙酯的己烷) 纯化获得白色粉末状的所需产物,4-氧杂-三环 [5.2.2.0<sup>2,6</sup>] 十一烷 -3,5-二酮 (2.92g, 16.20mmol, 72%)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 1.55-1.64 (6H, m), 1.76 (2H, d, J=9.2Hz), 2.25 (2H, s), 3.11 (2H, s)。C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>O<sub>3</sub> 的 LC-MS (ESI) 计算值为 180.20, 测量值为 181.0 [M+H<sup>+</sup>]。

[0364] b) (2S,3R)-二环 [2.2.2] 辛烷 -2,3-二羧酸单甲酯

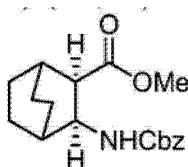
[0365]



[0366] 使 4-氧杂-三环 [5.2.2.0<sup>2,6</sup>] 十一碳 -3,5-二酮 (0.90g, 4.99mmol) 溶解于甲苯 (50mL) 和四氯化碳 (50mL)。添加奎宁 (1.78g, 5.49mmol) 并使该混合物冷却至 -55°C。向上述混合物逐滴添加甲醇 (0.61mL, 14.97mmol)。使所述反应在 -55°C 搅拌 18 小时。使所述反应回温至 25°C 并真空浓缩。使所述粗制物溶解于乙酸乙酯 (50mL) 中并用 1.0M 盐酸水溶液 (2×40mL) 洗涤。有机层进一步用饱和盐水溶液 (20mL) 洗涤,用硫酸镁干燥,过滤并真空浓缩以获得透明油状物。通过快速柱色谱 (Teledyne Isco RediSep 纯化;内含 0~50% 乙酸乙酯的己烷) 纯化获得透明油状的所需产物,(2S,3R)-二环 [2.2.2] 辛烷 -2,3-二羧酸单甲酯 (1.10g, 5.18mmol, 92%)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 1.31 (2H, dd, J<sub>1</sub>=20.0Hz, J<sub>2</sub>=12.4Hz), 1.52-1.54 (4H, m), 1.63 (1H, t, J=10.4Hz), 1.75 (1H, t, J=9.6Hz), 1.87 (2H, bs), 2.84 (2H, dd, J<sub>1</sub>=29.6Hz, J<sub>2</sub>=10.8Hz), 3.52 (3H, s), 12.01 (1H, s)。C<sub>11</sub>H<sub>16</sub>O<sub>4</sub> 的 LC-MS (ESI) 计算值为 212.24, 测量值为 213.1 [M+H<sup>+</sup>]。

[0367] c) (2R,3S)-3-苄氧基羰基氨基-二环 [2.2.2] 辛烷 -2-羧酸甲酯

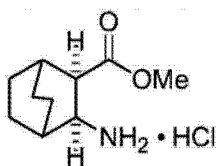
[0368]



[0369] 使 (2S,3R)-二环 [2.2.2] 辛烷 -2,3-二羧酸单甲酯 (1.01g, 4.76mmol) 溶解于无水四氢呋喃 (20mL)。对所述烧瓶脱气,然后用氮气回填,并使所述混合物冷却至 0℃。添加三乙胺 (1.99mL, 14.28mmol),然后在剧烈搅拌下逐滴添加氯甲酸乙酯 (0.91mL, 9.52mmol)。使所述混合物在 0℃ 搅拌 1 小时。使叠氮化钠 (0.93g, 14.28mmol) 溶解于水 (5mL),并在 0℃ 添加至所述反应混合物。使所述混合物在 0℃ 搅拌 5 分钟。移去冰浴。使所述混合物回暖至 25℃ 并搅拌 2 小时。将所述混合物倾倒入水 (50mL) 中,并用乙酸乙酯 (50mL) 萃取所述产物。有机层用半饱和的碳酸氢钠水溶液 (2×20mL)、饱和的盐水溶液 (20mL) 进一步洗涤,用硫酸镁干燥,过滤并真空浓缩以获得透明油状物。使该油状物溶解于无水苯 (10mL) 并在氮气下于搅拌中回流 2 小时。冷却至 25℃ 后,使所述溶液真空浓缩以获得浅黄色油状物。使所述油状物溶解于二氯甲烷 (10mL),并添加苯甲醇 (0.54mL, 5.24mmol),然后添加三乙胺 (1.33mL, 9.52mmol)。使所述混合物在氮气下回流 16 小时。冷却至 25℃ 后,使所述溶液真空浓缩以获得金色油状物。通过快速柱色谱 (Teledyne Isco RediSep 柱;内含 0~20% 乙酸乙酯的己烷) 纯化获得透明油状的所需产物, (2R,3S)-3-苄氧基羰基氨基-二环 [2.2.2] 辛烷-2-羧酸甲酯 (0.58g, 1.83mmol, 38%)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ : 1.18-1.28 (2H, m), 1.42-1.50 (5H, m), 1.73-1.96 (3H, m), 2.88 (1H, d, J<sub>1</sub>=5.6Hz), 3.27 (1H, s), 3.42 (3H, s), 4.00-4.04 (1H, m), 4.97 (2H, dd, J<sub>1</sub>=46.4Hz, J<sub>2</sub>=12.8Hz), 7.06 (1H, d, J=9.6Hz), 7.24-7.34 (4H, m)。C<sub>18</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>4</sub> 的 LC-MS (ESI) 计算值为 317.38, 测量值为 317.9 [M+H<sup>+</sup>]。

[0370] d) 盐酸 (2R,3S)-3-氨基-二环 [2.2.2] 辛烷-2-羧酸甲酯

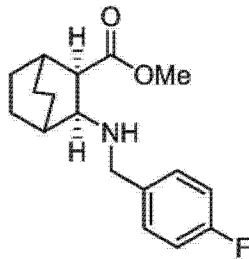
[0371]



[0372] 使 (2R,3S)-3-苄氧基羰基氨基-二环 [2.2.2] 辛烷-2-羧酸甲酯 (0.57g, 1.79mmol) 溶解于乙酸乙酯 (20mL)。添加 10% 钯碳 (60mg)。对该烧瓶脱气并通过气囊回填氢气。使所述混合物在 25℃ 搅拌 16 小时。使所述混合物通过硅藻土塞,并将滤液真空浓缩以获得稠厚透明油状物。使所述油状物溶解于二乙醚 (6mL),并在剧烈搅拌下逐滴添加至内含 4.0M 盐酸溶液的 1,4-二噁烷 (1.02mL) 和二乙醚 (10mL) 的混合物中。所需产物开始沉淀为白色固体。使所述混合物搅拌 20 分钟。所述沉淀物通过真空过滤收集,并另用二乙醚 (5mL) 洗涤。使所述固体进一步真空干燥 1 小时以获得白色粉末状的所需产物,盐酸 (2R,3S)-3-氨基-二环 [2,2,2] 辛烷-2-羧酸甲酯 (0.33g, 1.50mmol, 84%)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ : 1.38 (2H, dd, J<sub>1</sub>=21.2Hz, J<sub>2</sub>=13.6Hz), 1.55-1.63 (5H, m), 1.76-1.89 (3H, m), 3.02 (1H, dd, J<sub>1</sub>=10.0Hz, J<sub>2</sub>=2.4Hz), 3.47 (1H, bs), 3.65 (3H, s), 7.97 (3H, s)。C<sub>10</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>2</sub> (游离胺) 的 LC-MS (ESI) 计算值为 183.25, 测量值为 184.2 [M+H<sup>+</sup>]。

[0373] e) (2R, 3S)-3-(4-氟-苄基氨基)-二环[2.2.2]辛烷-2-羧酸甲酯

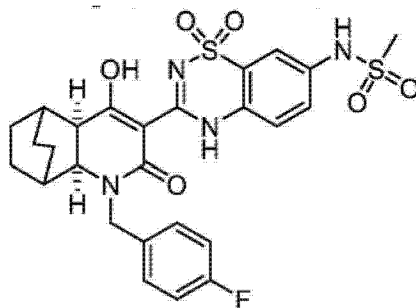
[0374]



[0375] 使盐酸 (2R, 3S)-3-氨基-二环[2, 2, 2]辛烷-2-羧酸甲酯 (0.34g, 1.54mmol) 溶解于甲醇 (10mL)。添加乙酸钠 (0.25g, 3.08mmol), 然后添加 4Å 粉末分子筛 (0.34g) 和 4-氟-苯甲醛 (0.16mL, 1.54mmol)。添加氰基硼氢化钠 (0.19g, 3.08mmol), 并使所述混合物在 25℃ 搅拌 16 小时。将所述混合物倾倒至饱和碳酸氢钠水溶液 (20mL) 和乙酸乙酯 (30mL) 的混合物。振荡后, 使两层都通过硅藻土塞。有机层进一步用饱和碳酸氢钠水溶液 (10mL)、饱和盐水溶液 (10mL) 洗涤, 用硫酸镁干燥, 过滤, 并真空浓缩以获得透明油状的粗产物, (2R, 3S)-3-(4-氟-苄基氨基)-二环[2, 2, 2]辛烷-2-羧酸甲酯 (0.32g, 1.11mmol, 72%)。C<sub>17</sub>H<sub>22</sub>FNO<sub>2</sub> 的计算值为 291.36, 测量值为 292.2[M+H<sup>+</sup>]。

[0376] f) N-{3-[ (2S, 7R)-3-(4-氟-苄基)-6-羟基-4-氧代-3-氮杂-三环[6.2.2.0<sup>2,7</sup>]十二碳-5-烯-5-基]-1,1-二氧化-1,4-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并[1,2,4]噻二嗪-7-基}-甲磺酰胺

[0377]



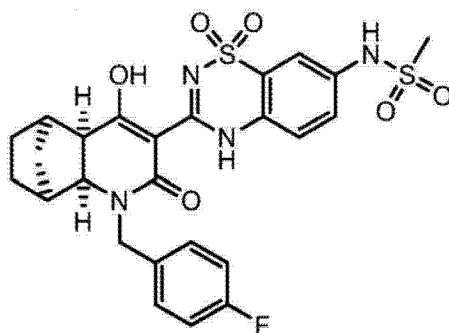
[0378] 使 (2R, 3S)-3-(4-氟-苄基氨基)-二环[2, 2, 2]辛烷-2-羧酸甲酯 (93mg, 0.32mmol) 溶解于无水 N,N-二甲基甲酰胺 (4mL)。添加 (7-甲磺酰基氨基-1,1-二氧化-1,4-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并[1,2,4]噻二嗪-3-基)-乙酸 (按 US7, 939, 524B2 所述制备, 107mg, 0.32mmol), 然后添加 N-甲基吗啉 (74 μL, 0.67mmol)。使所述混合物搅拌直至全部物质溶解, 用时约 5 分钟。添加 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐 (65mg, 0.34mmol) 并使所述混合物在 25℃ 搅拌 16 小时。通过添加饱和碳酸氢钠水溶液 (20mL) 来淬灭所述反应。所述混合物用乙酸乙酯 (3×30mL) 萃取。合并的有机层用饱和盐水溶液 (20mL) 洗涤, 用硫酸镁干燥, 过滤并真空浓缩以获得金色油状物。使所述油状物溶解于乙醇 (5mL)。添加内含 21 重量% 的乙醇钠的乙醇 (0.36mL, 0.96mmol) 溶液。使所述反应回流 16 小时。通过添加 1.0M 盐酸水溶液 (10mL) 来淬灭该反应。所述混合物用乙酸乙酯 (3×20mL) 萃取。有机层进一步用饱和碳酸氢钠溶液 (2×20mL)、饱和盐水溶液 (20mL) 洗涤, 用硫酸镁干燥, 过滤并真空浓缩以获得透明油状物。通过快速柱色谱 (Teledyne Isco RediSep 柱; 内含 0 ~ 20% 乙酸乙酯的二氯甲烷) 纯化获得白色粉末状的



所需产物, N-{3-[(2S, 7R)-3-(4-氟-苄基)-6-羟基-4-氧代-3-氮杂-三环[6.2.2.0<sup>2,7</sup>]十二碳-5-烯-5-基]-1, 1-二氧化-1, 4-二氢-1λ<sup>6</sup>-苝并[1, 2, 4]噻二嗪-7-基}-甲磺酰胺 (0.11g, 0.19mmol, 59%)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ : 1.39(2H, d, J=8.0Hz), 1.54-1.59(8H, m), 1.91(1H, s), 2.14(1H, s), 3.06(3H, s), 3.75(1H, d, J=11.6Hz), 4.28(1H, d, J=15.2Hz), 5.03(1H, d, J=15.6Hz), 7.13-7.17(2H, m), 7.34-7.37(2H, m), 7.50-7.60(3H, m), 10.18(1H, s)。C<sub>26</sub>H<sub>27</sub>FN<sub>4</sub>O<sub>6</sub>S<sub>2</sub> 的 LC-MS (ESI) 计算值为 574.64, 测量值为 575.1 [M+H]<sup>+</sup>。m. p. : 203.8-205.7°C。ee=94.4% [HPLC-分析: Chiralpak AS-RH4.6×250mm, 5微米, 0.8mL/分钟, 310nm]。

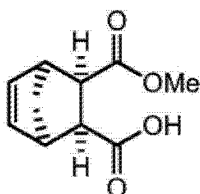
[0379] 实施例 10: N-{3-[(1S, 2S, 7R, 8R)-3-(4-氟-苄基)-6-羟基-4-氧代-3-氮杂-三环[6.2.1.0<sup>2,7</sup>]十一碳-5-烯-5-基]-1, 1-二氧化-1, 4-二氢-1λ<sup>6</sup>-苝并[1, 2, 4]噻二嗪-7-基}-甲磺酰胺

[0380]



[0381] a) (1R, 2S, 3R, 4S)-3-(甲氧基羰基)二环[2.2.1]庚-5-烯-2-羧酸

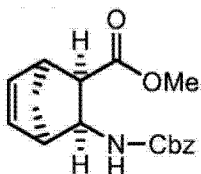
[0382]



[0383] 起始物质 (a) 按 J. Org. Chem. 2000, 65, 6984-6991 所述制备。使顺-5-降冰片烯-内-2, 3-二羧酸酐 (4.104g, 25mmol) 悬浮于甲苯和四氯化碳的 1:1 混合物 (500mL) 中。使该混合物搅拌 20 分钟。添加奎宁 (8.92g, 27.5mmol), 对该烧瓶脱气并用氮气回填。使所述溶液冷却至 -55°C。在搅拌下添加甲醇 (3.04mL, 75mmol)。使所述混合物在 -55°C 搅拌 20 小时。回温至 25°C 后, 使所述混合物真空浓缩成稠厚油状物。使所述油状物溶解于乙酸乙酯 (400mL) 中, 用 1.0M 盐酸水溶液 (2×400mL)、饱和盐水溶液 (100mL) 洗涤, 用硫酸镁干燥, 过滤并真空浓缩以获得透明蜡状固态的所需产物, (1R, 2S, 3R, 4S)-3-(甲氧基羰基)二环[2.2.1]庚-5-烯-2-羧酸 (4.8g, 24.5mmol, 98%)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ : 1.26(1H, d, J=8.5Hz), 1.33(1H, d, J=8.8Hz), 3.00(1H, s), 3.03(1H, s), 3.21-3.30(2H, m), 3.45(3H, s), 6.02-6.04(1H, m), 6.14-6.16(1H, m), 11.86(1H, s)。

[0384] b) (1S, 2R, 3S, 4R)-3-[[ (苄氧基) 羰基 ] 氨基] 二环[2.2.1]庚-5-烯-2-羧酸甲酯

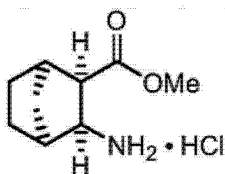
[0385]



[0386] 使 (1R, 2S, 3R, 4S)-3-(甲氧基羰基)二环 [2.2.1] 庚-5-烯-2-羧酸 (4.61g, 23.5mmol) 溶解于无水四氢呋喃 (40mL)。对该烧瓶脱气,用氮气回填并使所述混合物冷却至 0°C。添加三乙胺 (9.9mL, 70.5mmol), 然后在剧烈搅拌下逐滴添加氯甲酸乙酯 (4.48mL, 47mmol)。立即观察到沉淀。另添加四氢呋喃 (60mL)。使所述混合物在 0°C 搅拌 1 小时。使叠氮化钠 (4.58g, 70.5mmol) 溶解于水 (30mL) 并在 0°C 添加至所述反应混合物。使所述混合物在 0°C 搅拌 5 分钟。移去冰浴。使所述混合物回温至 25°C 并搅拌 2 小时。将所述混合物倾倒至水 (300mL) 中, 然后用乙酸乙酯 (300mL) 萃取产物。有机层进一步用半饱和碳酸氢钠水溶液 (2×100mL)、饱和盐水溶液 (100mL) 洗涤, 用硫酸镁干燥, 过滤并真空浓缩以获得透明油状物。使所述油状物溶解于无水苯 (50mL) 并在氮气下于搅拌中回流 2 小时。冷却至 25°C 后, 使所述溶液真空浓缩以获得浅黄色油状物。使所述油状物溶解于二氯甲烷 (30mL) 并添加苯甲醇 (2.68mL, 25.9mmol), 然后添加三乙胺 (6.61mL, 47mmol)。使所述混合物在氮气下回流 16 小时。冷却至 25°C 后, 使所述溶液真空浓缩以获得金色油状物。通过快速柱色谱 (Merck 硅胶 60, 40-63 μm, 内含 15% 乙酸乙酯的己烷) 以获得透明油状的所需产物, (1S, 2R, 3S, 4R)-3-[(苄氧基)羰基]氨基}二环 [2.2.1] 庚-5-烯-2-羧酸甲酯 (5.51g, 18.31mmol, 78%)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ : 1.38 (1H, d, J=9.1Hz), 1.50 (1H, d, J=9.4Hz), 3.10 (2H, s), 3.21 (1H, dd, J<sub>1</sub>=9.2Hz, J<sub>2</sub>=2.3Hz), 3.53 (3H, s), 4.62 (1H, dt, J<sub>1</sub>=9.4Hz, J<sub>2</sub>=2.9Hz), 5.07 (2H, q, J=13.0Hz), 5.29 (1H, d, J=8.6Hz), 6.15-6.17 (1H, m), 6.37-6.38 (1H, m), 7.29-7.35 (5H, m)。C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>4</sub> 的 LC-MS (ESI) 计算值为 301.13, 测量值为 258.1 (100%)、302.2 [M+H<sup>+</sup>] (70%)、603.5 [2M+H<sup>+</sup>] (20%)。

[0387] c) 盐酸 (1R, 2R, 3S, 4S)-3-氨基二环 [2.2.1] 庚烷-2-羧酸甲酯

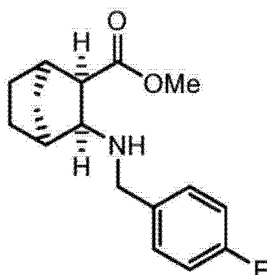
[0388]



[0389] 将 (1S, 2R, 3S, 4R)-3-[(苄氧基)羰基]氨基}二环 [2.2.1] 庚-5-烯-2-羧酸甲酯 (5.5g, 18.27mmol) 溶解于乙酸乙酯 (75mL)。添加 5% 钨碳 (650mg)。对该烧瓶脱气并通过气囊用氢气回填。使所述混合物在 25°C 搅拌 16 小时。使所述混合物通过硅藻土塞并使滤液真空浓缩以获得稠厚透明油状物。使所述油状物溶解于乙酸乙酯 (15mL) 并在剧烈搅拌下逐滴添加至内含 4.0M 盐酸的 1,4-二噁烷 (10mL, 40mmol) 和二乙醚 (90mL) 的混合物中。所需产物开始沉淀成白色固体。使所述混合物搅拌 20 分钟。所述沉淀物通过真空过滤收集, 并另用二乙醚 (15mL) 洗涤。所述固体进一步真空干燥 1 小时以获得白色粉末状的所需产物, 盐酸 (1R, 2R, 3S, 4S)-3-氨基二环 [2.2.1] 庚烷-2-羧酸甲酯 (2.61g, 12.69mmol, 69%)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ : 1.34-1.43 (4H, m), 1.54 (1H, d, J=9.5Hz), 1.68 (1H, d, J=11.4Hz), 2.47-2.48 (2H, m), 3.03 (1H, dd, J<sub>1</sub>=11.0Hz, J<sub>2</sub>=4.0Hz), 3.49-3.53 (1H, m), 3.62 (3H, s),

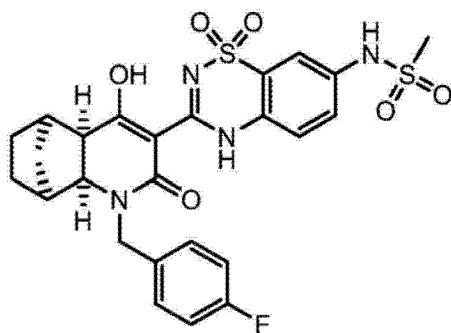
8.07 (3H, bs)。C<sub>9</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>2</sub> (游离胺) 的 LC-MS (ESI) 计算值为 169.11, 测量值为 170.1 [M+H<sup>+</sup>] (100%), 339.2 [2M+H<sup>+</sup>] (50%)。

[0390] d) (1R, 2R, 3S, 4S)-3-[(4-氟苄基)氨基]二环[2.2.1]庚烷-2-羧酸甲酯  
[0391]



[0392] 使盐酸 (1R, 2R, 3S, 4S)-3-氨基二环[2.2.1]庚烷-2-羧酸甲酯 (1g, 4.86mmol) 溶解于甲醇 (23mL)。添加乙酸钠 (0.755g, 9.2mmol), 然后添加 4Å 粉末分子筛 (1g) 和 4-氟-苯醛 (0.571g, 4.6mmol)。添加氰基硼氢化钠 (0.578g, 9.2mmol) 并使所述混合物在 25℃ 搅拌 16 小时。将所述混合物倾倒入饱和碳酸氢钠水溶液 (200mL) 和乙酸乙酯 (300mL) 的混合物中。振荡后, 使两层都通过硅藻土塞。有机层进一步用饱和碳酸氢钠水溶液 (100mL)、饱和盐水溶液 (100mL) 洗涤, 用硫酸镁干燥, 过滤并真空浓缩以获得透明油状的粗产物, (1R, 2R, 3S, 4S)-3-[(4-氟苄基)氨基]二环[2.2.1]庚烷-2-羧酸甲酯 (1.172g, 4.23mmol, 92%)。C<sub>16</sub>H<sub>20</sub>FNO<sub>2</sub> 的 LC-MS (ESI) 计算值为 277.15, 测量值为 278.2 [M+H<sup>+</sup>]。

[0393] e) N-{3-[(1S, 2S, 7R, 8R)-3-(4-氟-苄基)-6-羟基-4-氧代-3-氮杂-三环[6.2.1.0<sup>2,7</sup>]十一碳-5-烯-5-基]-1,1-二氧化-1,4-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并[1,2,4]噻二嗪-7-基}-甲磺酰胺  
[0394]

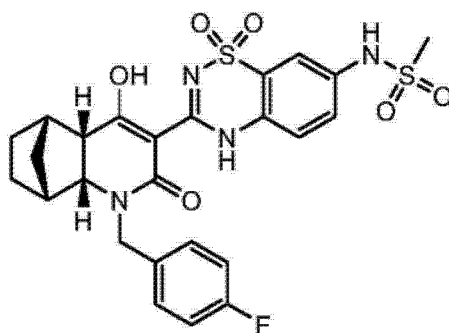


[0395] 使 (1R, 2R, 3S, 4S)-3-[(4-氟苄基)氨基]二环[2.2.1]庚烷-2-羧酸甲酯 (0.087g, 0.3mmol) 溶解于无水 N,N-二甲基甲酰胺 (2.8mL)。添加 (7-甲磺酰基氨基-1,1-二氧化-1,4-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并[1,2,4]噻二嗪-3-基)-乙酸 (按 US7,939,524B2 所述制备, 0.1g, 0.3mmol), 然后添加 N-甲基吗啉 (0.07mL, 0.63mmol)。使所述混合物搅拌直至全部物质溶解, 约需 5 分钟。添加 1-(3-二甲基氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐 (0.061g, 0.315mmol) 并使所述混合物在 25℃ 搅拌 4 小时。添加三乙胺 (0.126mL, 0.9mmol) 并使所述混合物在 50℃ 搅拌 16 小时。冷却至 25℃ 后, 所述溶液用乙酸乙酯 (25mL) 稀释并用 1.0M 盐酸水溶液 (2×25mL)、饱和盐水溶液 (10mL) 洗涤, 用硫酸镁干燥, 过滤并真空浓缩以获得金色油状物。使所述油状物溶解于甲醇 (4mL) 并通过在搅拌下添加 1.0M 盐酸

水溶液 (4mL) 来使所述产物沉淀。所述固体通过真空过滤收集并进一步真空干燥以获得白色粉末状的所需产物, N-{3-[(1S, 2S, 7R, 8R)-3-(4-氟-苄基)-6-羟基-4-氧代-3-氮杂-三环[6.2.1.0<sup>2,7</sup>]十一碳-5-烯-5-基]-1,1-二氧化-1,4-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并[1,2,4]噻二嗪-7-基}-甲磺酰胺 (0.0805g, 0.144mmol, 48%)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ : 1.23-1.48(6H, m), 2.67-2.68(2H, m), 3.06(3H, s), 3.24(1H, d, J=15.0Hz), 3.72(1H, d, J=11.9Hz), 4.07(1H, d, J=15.6Hz), 5.12(1H, d, J=15.7Hz), 7.14(2H, t, J=8.4Hz), 7.39(2H, dd, J<sub>1</sub>=8.2Hz, J<sub>2</sub>=5.8Hz), 7.51(1H, dd, J<sub>1</sub>=8.4Hz, J<sub>2</sub>=2.3Hz), 7.57-7.60(2H, m), 10.18(1H, s)。C<sub>25</sub>H<sub>25</sub>FN<sub>4</sub>O<sub>6</sub>S<sub>2</sub> 的 LC-MS (ESI) 计算值为 560.12, 测量值为 561.3[M+H]<sup>+</sup>。ee=99%[HPLC-分析: Chiralpak AS-RH4.6×250mm, 5微米, 室温下, 溶剂 A-溶剂 B(参见梯度表), 0.8mL/分钟, 310nm, t<sub>1</sub>=7.58 分钟(主要), t<sub>2</sub>=10.08 分钟]。

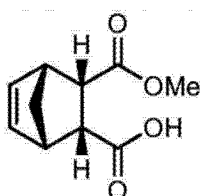
[0396] 实施例 11: N-{3-[(1R, 2R, 7S, 8S)-3-(4-氟-苄基)-6-羟基-4-氧代-3-氮杂-三环[6.2.1.0<sup>2,7</sup>]十一碳-5-烯-5-基]-1,1-二氧化-1,4-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并[1,2,4]噻二嗪-7-基}-甲磺酰胺

[0397]



[0398] a) (1S, 2R, 3S, 4R)-3-(甲氧基羰基)二环[2.2.1]庚-5-烯-2-羧酸

[0399]

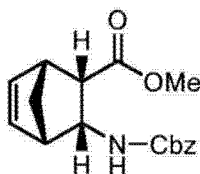


[0400] 起始物质 (a) 按 J. Org. Chem. 2000, 65, 6984-6991 所述制备。使顺-5-降冰片烯-内-2,3-二羧酸酐 (8.21g, 50mmol) 悬浮于甲苯和四氯化碳的 1:1 混合物 (250mL) 中。使所述混合物搅拌 10 分钟。添加奎尼丁 (17.84g, 55mmol), 对该烧瓶脱气并用氮气回填。使所述溶液冷却至 -55°C。在搅拌下添加甲醇 (6.08mL, 150mmol)。使所述混合物在 -55°C 搅拌 18 小时。回温至 25°C 后, 使所述混合物真空浓缩成稠厚油状物。使所述油状物溶解于乙酸乙酯 (400mL) 和 1.0M 盐酸水溶液 (300mL) 的混合物中。振荡后, 分离各层, 有机层进一步用 1.0M 盐酸水溶液 (2×100mL)、饱和盐水溶液 (100mL) 洗涤, 用硫酸镁干燥, 过滤并真空浓缩以获得透明油状的所需产物, (1S, 2R, 3S, 4R)-3-(甲氧基羰基)二环[2.2.1]庚-5-烯-2-羧酸 (9.15g, 46.6mmol, 94%)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ : 1.26(1H, d, J=8.4Hz), 1.33(1H, d, J=8.4Hz), 3.00(1H, s), 3.03(1H, s), 3.21-3.29(2H, m), 3.45(3H, s), 6.02-6.04(1H, m), 6.14-6.16(1H, m), 11.86(1H, s)。

[0401] b) (1R, 2S, 3R, 4S)-3-[(苯氧基)羰基]氨基}二环[2.2.1]庚-5-烯-2-羧酸

甲酯

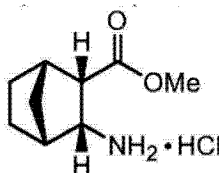
[0402]



[0403] 该中间体按 Synthesis2001, 11, 1719-1730 所述制备。使 (1S, 2R, 3S, 4R)-3-(甲氧基羰基)二环 [2.2.1]庚-5-烯-2-羧酸 (8.94g, 45.57mmol) 溶解于无水四氢呋喃 (200mL)。对该烧瓶脱气,用氮气回填并使所述混合物冷却至 0℃。添加三乙胺 (19.2mL, 136.7mmol), 然后在剧烈搅拌下逐滴添加氯甲酸乙酯 (8.69mL, 91.1mmol)。立即观察到沉淀。使所述混合物在 0℃ 搅拌 1 小时。使叠氮化钠 (8.89g, 136.7mmol) 溶解于水 (60mL) 并在 0℃ 添加至所述反应混合物。使所述混合物在 0℃ 搅拌 1 小时。移去冰浴。使所述混合物回温至 25℃ 并继续搅拌 2 小时。将所述混合物倾倒至水 (400mL) 中, 并用乙酸乙酯 (400mL) 萃取产物。有机层进一步用半饱和碳酸氢钠水溶液 (2×200mL)、饱和盐水溶液 (2×200mL) 洗涤, 用硫酸镁干燥, 过滤并真空浓缩以获得浅棕色油状物。使所述油状物溶解于无水苯 (100mL), 并在氮气下于搅拌中回流 2 小时。冷却至 25℃ 后, 使所述溶液真空浓缩以获得浅棕色油状物。使所述油状物溶解于二氯甲烷 (60mL), 并添加苯甲醇 (5.19mL, 50.13mmol), 然后添加三乙胺 (12.81mL, 91.14mmol)。使所述混合物在氮气下回流 16 小时。冷却至 25℃ 后, 使所述溶液真空浓缩以获得金色油状物。通过快速柱色谱 (Merck 硅胶 60, 40-63 μm, 内含 10% 乙酸乙酯的己烷) 纯化以获得透明油状的所需产物, (1R, 2S, 3R, 4S)-3-[[ (苄氧基) 羰基 ] 氨基] 二环 [2.2.1] 庚-5-烯-2-羧酸甲酯 (10.1g, 33.55mmol, 74%)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 1.38 (1H, d, J=8.7Hz), 1.50 (1H, d, J=8.4Hz), 3.10 (2H, s), 3.21 (1H, d, J=8.8Hz), 3.53 (3H, s), 4.59-4.64 (1H, m), 5.07 (2H, q, J=13.0Hz), 5.29 (1H, d, J=8.3Hz), 6.15-6.17 (1H, m), 6.37-6.38 (1H, m), 7.27-7.36 (5H, m)。C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>4</sub> 的 LC-MS (ESI) 计算值为 301.13, 测量值为 258.1 (100%)、302.2 [M+H<sup>+</sup>] (70%)、603.5 [2M+H<sup>+</sup>] (20%)。

[0404] c) 盐酸 (1S, 2S, 3R, 4R)-3-氨基二环 [2.2.1] 庚烷-2-羧酸甲酯

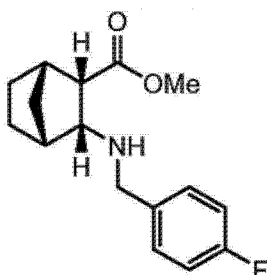
[0405]



[0406] 使 (1R, 2S, 3R, 4S)-3-[[ (苄氧基) 羰基 ] 氨基] 二环 [2.2.1] 庚-5-烯-2-羧酸甲酯 (10g, 33.22mmol) 溶解于乙酸乙酯 (150mL)。添加 5% 钯碳 (1.5mg)。对该烧瓶脱气并通过气囊用氢气回填。使所述混合物在 25℃ 搅拌 2 小时。使所述混合物通过硅藻土塞, 并将滤液真空浓缩成 50mL 体积。在剧烈搅拌下将所述溶液逐滴添加至内含 4.0M 盐酸溶液的 1,4-二噁烷 (20mL) 和二乙醚 (200mL) 的混合物中。所需产物开始沉淀成白色固体。使所述混合物搅拌 10 分钟。所述沉淀物通过真空过滤收集, 另用二乙醚 (15mL) 洗涤。所述固体进一步真空浓缩 1 小时以获得白色粉末状的所需产物, 盐酸 (1S, 2S, 3R, 4R)-3-氨基二环

[2. 2. 1] 庚烷 -2- 羧酸甲酯 (5. 21g, 25. 33mmol, 76. 3%)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ :1. 33-1. 42(4H, m), 1. 54(1H, d, J=10. 3Hz), 1. 69(1H, d, J=11. 5Hz), 2. 46-2. 48(2H, m), 3. 03(1H, dd, J<sub>1</sub>=10. 8Hz, J<sub>2</sub>=4. 1Hz), 3. 46-3. 55(1H, m), 3. 62(3H, s), 8. 09(3H, bs)。C<sub>9</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>2</sub>(游离胺)的 LC-MS(ESI) 计算值为 169. 11, 测量值为 170. 1[M+H<sup>+</sup>](100%)、339. 2[2M+H<sup>+</sup>](50%)。

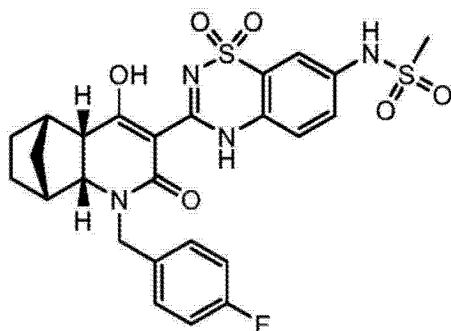
[0407] d) (1S, 2S, 3R, 4R)-3-[(4-氟苄基)氨基]二环[2. 2. 1]庚烷-2-羧酸甲酯  
[0408]



[0409] 使盐酸 (1S, 2S, 3R, 4R)-3-氨基二环[2. 2. 1]庚烷-2-羧酸甲酯 (1g, 4. 86mmol) 溶解于甲醇 (23mL) 中。添加乙酸钠 (0. 755g, 9. 2mmol), 然后添加 4Å 粉末分子筛 (1g) 和 4-氟-苯甲醛 (0. 571g, 4. 6mmol)。添加氰基硼氢化钠 (0. 578g, 9. 2mmol) 并使所述混合物在 25℃ 搅拌 16 小时。将所述混合物倾倒至饱和碳酸氢钠水溶液 (200mL) 和乙酸乙酯 (300mL) 的混合物中。振荡后, 使两层都通过硅藻土塞。有机层进一步用饱和碳酸氢钠水溶液 (100mL)、饱和盐水溶液 (100mL) 洗涤, 用硫酸镁干燥, 过滤并真空浓缩以获得透明油状的粗产物, (1S, 2S, 3R, 4R)-3-[(4-氟苄基)氨基]二环[2. 2. 1]庚烷-2-羧酸甲酯 (1. 11g, 4. 0mmol, 87%)。C<sub>16</sub>H<sub>20</sub>FNO<sub>2</sub> 的 LC-MS(ESI) 计算值为 277. 15, 测量值为 278. 2[M+H<sup>+</sup>]。

[0410] e) N-{3-[(1R, 2R, 7S, 8S)-3-(4-氟-苄基)-6-羟基-4-氧代-3-氮杂-三环[6. 2. 1. 0<sup>2,7</sup>]十一碳-5-烯-5-基]-1, 1-二氧化-1, 4-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并[1, 2, 4]噻二嗪-7-基}-甲磺酰胺

[0411]



[0412] 使 (1S, 2S, 3R, 4R)-3-[(4-氟苄基)氨基]二环[2. 2. 1]庚烷-2-羧酸甲酯 (0. 087g, 0. 3mmol) 溶解于无水 N, N-二甲基甲酰胺 (2. 8mL)。添加 (7-甲磺酰基氨基-1, 1-二氧化-1, 4-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并[1, 2, 4]噻二嗪-3-基)-乙酸 (按 US7, 939, 524B2 所述制备, 0. 1g, 0. 3mmol), 然后添加 N-甲基吗啉 (0. 07mL, 0. 63mmol)。使所述混合物搅拌直至全部物质溶解, 约需 5 分钟。添加盐酸 1-(3-二甲基氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺 (0. 061g, 0. 315mmol), 并使所述混合物在 25℃ 搅拌 4 小时。添加三乙胺 (0. 126mL, 0. 9mmol) 并使所述混合物在 50℃ 搅拌 16 小时。冷却至 25℃ 后, 所述溶液用乙酸乙酯 (25mL) 稀释并用 1. 0M 盐酸水溶液 (2×25mL)、饱和盐水溶液 (10mL) 洗涤, 用硫酸镁干燥, 过滤并真空

浓缩以获得金色油状物。使所述油状物溶解于甲醇 (4mL) 并通过在搅拌下添加 1.0M 盐酸水溶液 (4mL) 使产物沉淀。所述固体通过真空过滤收集并进一步真空干燥以获得白色粉末状的所需产物, N-{3-[(1R, 2R, 7S, 8S)-3-(4-氟-苄基)-6-羟基-4-氧代-3-氮杂-三环 [6.2.1.0<sup>2,7</sup>] 十一碳-5-烯-5-基]-1, 1-二氧化-1, 4-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并 [1, 2, 4] 噻二嗪-7-基}-甲磺酰胺 (0.0781g, 0.139mmol, 46%)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ : 1.23-1.48 (6H, m), 2.67-2.68 (2H, m), 3.06 (3H, s), 3.24 (1H, d, J=15.0Hz), 3.72 (1H, d, J=11.9 Hz), 4.07 (1H, d, J=15.6Hz), 5.12 (1H, d, J=15.7Hz), 7.14 (2H, t, J=8.4Hz), 7.39 (2H, dd, J<sub>1</sub>=8.2Hz, J<sub>2</sub>=5.8Hz), 7.51 (1H, dd, J<sub>1</sub>=8.4Hz, J<sub>2</sub>=2.3Hz), 7.57-7.60 (2H, m), 10.18 (1H, s)。C<sub>25</sub>H<sub>25</sub>FN<sub>4</sub>O<sub>6</sub>S<sub>2</sub> 的 LC-MS (ESI) 计算值为 560.12, 测量值为 561.3 [M+H<sup>+</sup>]。ee=99% [HPLC-分析: Chiralpak AS-RH4.6×250mm, 室温下 5 微米, 溶剂 A-溶剂 B (参见梯度表), 0.8mL/分钟, 310nm, t<sub>1</sub>=7.58 分钟, t<sub>2</sub>=10.08 分钟 (主要)]。

#### [0413] 生物学测试

[0414] 健康对象的 I 期研究显示了式 I 化合物降低实验对象的血清尿酸水平的能力。向六名实验对象给予单次 800mg 口服剂量的 N-{3-[(1R, 2S, 7R, 8S)-3-(4-氟-苄基)-6-羟基-4-氧代-3-氮杂-三环 [6.2.1.0<sup>2,7</sup>] 十一碳-5-烯-5-基]-1, 1-二氧化-1, 4-二氢-1λ<sup>6</sup>-苯并 [1, 2, 4] 噻二嗪-7-基}-甲磺酰胺 (实施例 2 的化合物), 而两名实验对象接受匹配的无效对照药。在接受所述化合物的全部实验对象中发现显著预料外的自基线至所述试验结束的尿酸降低 (24-40%) (参见表 1)。表 1

#### [0415]

对象编号	年龄 / 性别							
-----	-----		筛选	给药前	4 小时	24 小时	48 小时	144 小时
1	38/M		5.1	5.3	5.0	3.4	3.3	4.6
2	33/F		2.9	2.8	2.9	1.6	1.8	2.8
3	53/M		6.3	5.0	5.0	2.8	3.4	5.3
4	32/M	P	5.1	4.3	4.3	4.7	4.7	6.0
5	41/F		4.9	4.8	4.9	2.4	2.3	4.3
6	28/F	P	3.5	3.4	3.4	3.8	3.3	4.3
7	25/M		6.2	6.2	6.2	4.6	4.5	5.8
8	35/M		5.9	6.4	5.5	4.9	4.3	5.8

[0416] 尿酸 (mg/dL)

[0417] P= 无效对照药

[0418] 尿酸摄取的抑制

[0419] 尿酸 (UA) 是人体内嘌呤代谢的终产物。其被分泌至尿液中, 而其 90% 被重吸收至

血流中。对抑制 URAT1 的先导化合物进行的筛选评价了这些先导化合物减少 UA 重吸收并因而减少 UA 血液水平的潜力,这可能会对某些患者群有利。

[0420] 检测抑制尿酸摄取的  $EC_{50}$  值。使用表达 URAT1 (用含人 URAT1cDNA 的载体转染的 HEK293 细胞) 的人胚胎肾 (HEK293) 细胞和对照细胞 (仅用载体转染的 HEK293 细胞)。在实验之前,细胞培养在底面积为  $75\text{-cm}^2$  的培养瓶中,并且每 3 或 4 天传代一次。将对照细胞和 URAT1 表达细胞以  $1 \sim 4 \times 10^5$  细胞 / 孔接种在被覆 I 型胶原 (Collagen I) 的 24 孔板上,并在  $\text{CO}_2$  孵育箱 ( $37^\circ\text{C}$  和  $5\%\text{CO}_2$ ) 中孵育 1 ~ 3 天以制备单层细胞用于细胞转运活性的测定 (排空体积 (cleared volume))。

[0421] 对于受细胞内表达的 URAT1 促进的 UA 向 HEK293 细胞的摄取,所测试的实施例 1 ~ 11 的化合物抑制该 UA 摄取的  $EC_{50}$  值在约  $0.5 \mu\text{M} \sim 14.8 \mu\text{M}$  的范围内。在相同条件下,苯溴马隆 (阳性对照 URAT1 抑制剂) 的  $EC_{50}$  是  $<0.1 \mu\text{M}$ 。