

# MB-102 相关化合物及其制备方法和用途

## 技术领域

本发明涉及药用化合物，特别是与 3,6-二氨基-2,5-双{N-[(1R)-1-羧酸-2-羟基乙基]氨基甲酰基}吡嗪(MB-102)相关的化合物，及其制备方法和用途。

## 背景技术

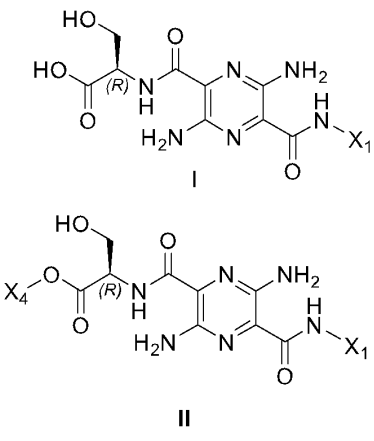
肾小球滤过率(Glomerular Filtration Rate, GFR)是评价肾脏功能最好的指标。3,6-二氨基-2,5-双{N-[(1R)-1-羧酸-2-羟基乙基]氨基甲酰基}吡嗪(MB-102)是一种双丝氨酸氨基吡嗪类化合物，由美国 MediBeacon 公司开发并用于 MediBeacon™透皮 GFR 测量系统，作为荧光示踪剂在评估肾功能方面具有潜在的应用前景。

有必要在生产、储存过程中对 MB-102 的原料药、制剂及其合成中间体进行质量控制。

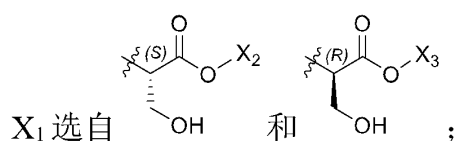
## 发明内容

本发明人发现，如本公开所述的式 I、式 VI、式 X 和式 XI 的化合物有用于 MB-102 的原料药及其制剂的质量控制的潜力，例如用作质量控制的标准品或对照品。

在第一方面，本公开提供式 I 的化合物，以及作为所述式 I 的化合物的合成中间体的式 II 的化合物：



其中：



$X_2$  选自 H、取代或未取代的  $C_{1-10}$  烷基、和-(取代或未取代的  $C_{1-10}$  烷基)- $R^1$ ;

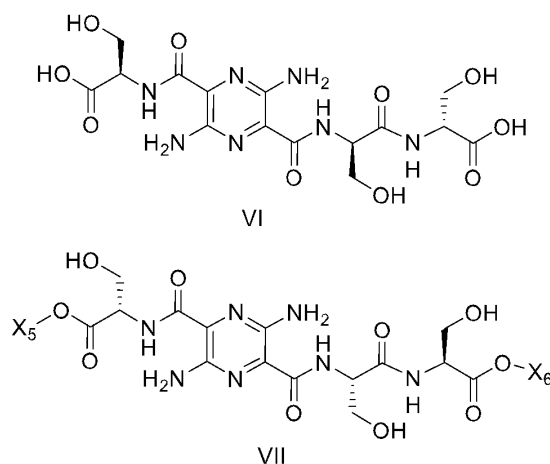
$X_3$  和  $X_4$  各自独立地选自取代或未取代的  $C_{1-10}$  烷基、和-(取代或未取代的  $C_{1-10}$  烷基)- $R^1$ ;

$R^1$  选自:  $C_{3-10}$  环烷基、4-10 元杂环基、 $C_{6-10}$  芳基和 5-10 元杂芳基。

在第二方面, 本公开提供用于制备所述式 I 的化合物的方法, 其特征在于, 所述方法包括以下步骤:

a) 使所述式 II 的化合物与氢气或借氢试剂在溶剂中, 在适合的金属催化剂的存在下进行氢化反应, 以提供所述式 I 的化合物。

在第三方面, 本公开提供式 VI 的化合物, 以及作为所述式 VI 的化合物的合成中间体的式 VII 的化合物:



其中:

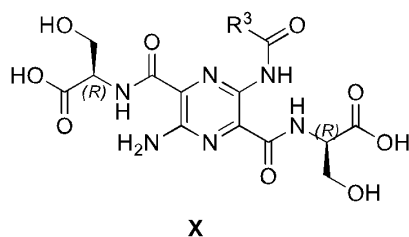
$X_5$  和  $X_6$  各自独立地为-(取代或未取代的  $C_{1-10}$  烷基)- $R^2$ ; 以及

$R^2$  选自:  $C_{3-10}$  环烷基、4-10 元杂环基、 $C_{6-10}$  芳基和 5-10 元杂芳基。

在第四方面, 本公开提供用于制备所述式 VI 的化合物的方法, 其特征在于, 所述方法包括以下步骤:

i) 使所述式 VII 的化合物在溶剂中, 在适合的金属催化剂的存在下进行氢化反应, 以提供所述式 VI 的化合物。

在第五方面, 本公开提供式 X 的化合物:

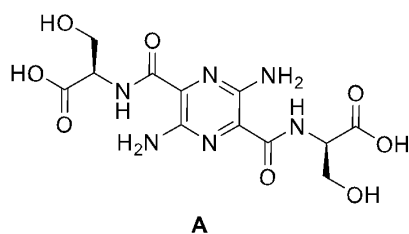


其中  $R^3$  为 H、或者取代或未取代的  $C_{1-4}$  烷基，优选 H 或甲基。

在一些优选的实施方案中， $R^3$  为 H。

在第六方面，本公开提供用于制备所述式 X 的化合物的方法，其特征在于，所述方法包括以下步骤：

x-i) 提供式 A 的化合物在溶剂中的溶液；

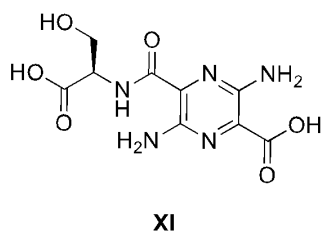


x-ii) 在升高的温度下，用酸  $R^3$ -COOH 使式 A 的化合物酰化，以提供所述式 X 的化合物；以及

x-iii) 任选地，分离和纯化所述式 X 的化合物；

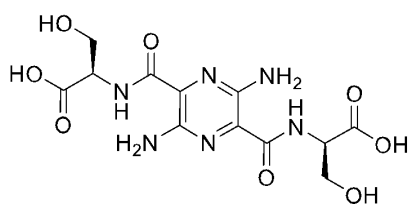
其中  $R^3$  为 H、或者取代或未取代的  $C_{1-4}$  烷基，优选 H 或甲基，更优选 H。

在第七方面，本公开提供式 XI 的化合物：



在第八方面，本公开提供用于制备所述式 XI 的化合物的方法，其特征在于，所述方法包括以下步骤：

xi-i) 使式 A 的化合物在水中，在碱的存在下以及在升高的温度下水解，以提供所述式 XI 的化合物或其盐；



A

, 以及

xi-ii) 任选地, 分离和纯化所述式 XI 的化合物或其盐。

在第九方面, 本公开提供用于 MB-102 的原料药或制剂的质量控制的方法, 其包括测定在所述原料药或制剂中, 所述式 I 的化合物、优选所述式 I-1 的化合物、所述式 I-2 的化合物或所述式 I-3 的化合物、所述式 VI 的化合物、所述式 X 的化合物和/或所述式 XI 的化合物的含量, 并任选地与所述化合物中每一种的指定含量做比较。

在第十方面, 本公开提供所述式 I 的化合物、优选所述式 I-1 的化合物、所述式 I-2 的化合物或所述式 I-3 的化合物、所述式 VI 的化合物、所述式 X 的化合物和/或所述式 XI 的化合物作为用于 MB-102 的原料药或制剂的质量控制的标准品或对照品的用途。

## 具体实施方式

### 定义

除非在下文中另有定义, 本文中所用的所有技术术语和科学术语的含义意图与本领域技术人员通常所理解的相同。提及本文中使用的技术意指在本领域中通常所理解的技术, 包括那些对本领域技术人员显而易见的技术的变化或等效技术的替换。虽然相信以下术语对于本领域技术人员很好理解, 但仍然阐述以下定义以更好地解释本发明。

如本文中所使用, 术语“包括”、“包含”、“具有”、“含有”或“涉及”及其在本文中的其它变体形式为包含性的(inclusive)或开放式的, 且不排除其它未列举的元素或方法步骤(即, 这些术语也涵盖术语“基本上由……组成”和“由……组成”)。

如本文中所使用, 术语“烷基”是直链或支链的饱和一价烃基。优选地, 烷基具有 1 至 10 个碳原子(C<sub>1-10</sub> 烷基), 例如具有 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 个碳原子。所述烷基包括 C<sub>1-8</sub> 烷基、C<sub>1-6</sub> 烷基、C<sub>1-4</sub> 烷基、C<sub>1-3</sub> 烷基和 C<sub>1-2</sub> 烷基。烷基的实例包括但不限于甲基、乙基、正丙基、异丙基、

正丁基、仲丁基、异丁基、叔丁基、正戊基、正己基、正庚基、正辛基、正壬基和正癸基。所述烷基可以是取代的或未取代的。

本文所用的术语“烯基”是直链或支化的一价烃基，其包含 1 个或多个双键 ( $C=C$ )。优选地，烯基具有 2 至 6 个碳原子 ( $C_{2-6}$  烯基)，例如具有 2、3、4、5、或 6 个碳原子，并且具有 1、2 或 3 个双键。烯基的实例包括但不限于乙烯基、丙烯基、丁-1-烯基、丁-2-烯基、戊-1-烯基、戊-2-烯基、己-1-烯基、己-2-烯基、己-3-烯基。所述烯基可以是取代的或未取代的。

本文所用的术语“炔基”是直链或支化的一价炔基，其包含 1 个或多个叁键 ( $C\equiv C$ )。优选地，炔基具有 2 至 6 个碳原子 ( $C_{2-6}$  炔基)，例如具有 2、3、4、5 或 6 个碳原子，并且具有 1、2 或 3 个叁键。炔基的实例包括但不限于乙炔基、丙炔基、丁-1-炔基、丁-2-炔基、戊-1-炔基、戊-2-炔基、己-1-炔基、己-2-炔基、己-3-炔基。所述炔基可以是取代的或未取代的。

如本文中所使用，术语“环烷基”是指具有例如 3-10 个(适合地具有 3-8 个，例如 5-7 个；更适合地具有 3-6 个，例如 5-6)环碳原子的饱和(即，“环烷基”)或部分不饱和的(即在环内具有一个或多个双键(环烯基)和/或三键(环炔基))单环或多环烃环，其包括但不限于环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基、环辛基、环壬基、环己烯基等。所述环烷基可以是取代的或未取代的。

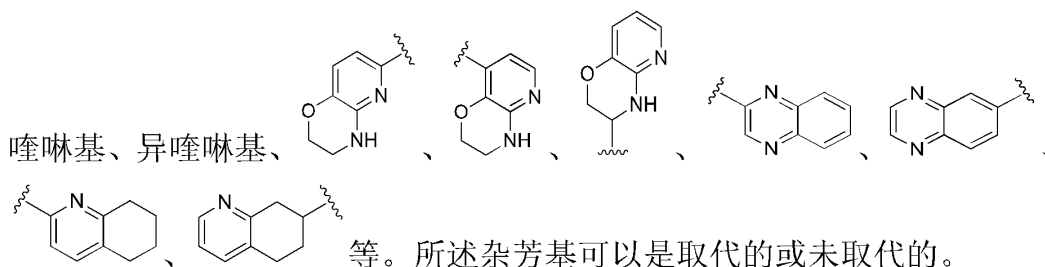
如本文中所使用，术语“环烷基”指饱和的单环或多环(诸如双环)烃环(例如单环，诸如环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基、环辛基、环壬基，或双环，包括螺环、稠合或桥连系统，诸如双环[1.1.1]戊基、双环[2.2.1]庚基、双环[3.2.1]辛基或双环[5.2.0]壬基、十氢化萘基等)。环烷基具有例如 3 至 10 个，例如 3-7、5-6 或 5-7 个碳原子。所述环烷基可以是取代的或未取代的。

如本文中所使用，术语“杂环”或“杂环基”意指具有选自 N、O 和 S 的环杂原子的饱和的或部分不饱和的环状基团。优选地，杂环为具有选自 N、O 和 S 中的 1、2、3、4、5 或 6 个环杂原子的 4 至 10 元杂环。更优选地，杂环为具有选自 N、O 和 S 的 1、2、3 或 4 个环杂原子的 4 至 7 元饱和杂环，更优选具有选自 N、O 和 S 的 1、2 或 3 个环杂原子的 5 至 7 元(例如 5 至 6 元)饱和杂环。杂环的实例包括但不限于：氮杂环丁烷、氧杂环丁基、四氢呋喃、吡咯烷、咪唑烷、吡啶烷、四氢吡喃、哌啶、吗啉、硫吗啉、哌

噻。所述杂环可以是取代的或未取代的。

如本文中所使用，术语“C<sub>6-10</sub> 芳基”意指苯基或萘基，其可以是取代的或未取代的。

如本文中所使用，术语“杂芳基”指单环的杂芳基或含有至少一个杂芳环(杂芳环指至少含有一个杂原子的芳族环系)的双环或多环环系，具有 5、6、7、8、9、10、11、12、13 或 14 个环原子，特别是 5、6、7、8、9 或 10 个环原子，且其包含至少一个可以相同或不同的杂原子(例如氧、氮或硫)，并且，在每一种情况下可以与芳基、杂环基或环烷基彼此共用两个相邻的原子形成并环基团，其连接点在杂芳环上或其它环上。例如，如本文中所使用，术语“5-10 元杂芳基”意指含有 5 至 10 个环原子的杂芳基，包括 5-6 元杂芳基，其实例包括但不限于噻吩基、呋喃基、吡咯基、噁唑基、噻唑基、咪唑基、吡唑基、异噁唑基、异噻唑基、三唑基、四唑基、噁二唑基、噻二唑基等，或吡啶基、哒嗪基、嘧啶基、吡嗪基、三嗪基等，以及它们的并环衍生物。所述并环衍生物不限于杂芳基并杂芳基、杂芳基并芳基、杂芳基并杂环基或杂芳基并环烷基，特别是 5-6 元杂芳基并 5-6 元杂芳基、5-6 元杂芳基并苯基、5-6 元杂芳基并 5-6 元杂环基、或 5-6 元杂芳基并 C<sub>4</sub>-C<sub>6</sub> 环烷基(特别是 5-6 元杂芳基并环丁基、5-6 元杂芳基并环戊基、5-6 元杂芳基并环己基)，其实例包括但不限于吲哚基、异吲哚基、吲唑基、苯并咪唑、



如本文中所使用，术语“卤代”或“卤素”基团定义为包括 F、Cl、Br 或 I。

如本文中所使用，术语“取代的或未取代的”意指与原子或基团连接的 1 个或多个氢原子独立地未被取代，或被 1 个或多个(例如 1、2、3 或 4 个)取代基取代。所述取代基独立地选自：氘(D)、卤素、-OH、巯基、氰基、-CD<sub>3</sub>、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基(优选 C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> 烷基)、C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> 烯基、C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> 炔基、环烷基(优选 C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> 环烷基)、芳基、杂环基(优选 3-8 元杂环基)、杂芳基、芳基 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基-、杂芳基 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 卤代烷基、-OC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基(优选-OC<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> 烷基)、-OC<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> 烯基、OC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基苯基、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基-OH (优选 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 烷基-OH)、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>

烷基-SH、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基-O-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基、OC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 卤代烷基、NH<sub>2</sub>、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基-NH<sub>2</sub> (优选 C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> 烷基-NH<sub>2</sub>)、-N(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基)<sub>2</sub> (优选-N(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> 烷基)<sub>2</sub>)、-NH(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基) (优选-NH(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> 烷基))、-N(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基)(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基苯基)、-NH(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基苯基)、硝基、-C(O)-OH、-C(O)OC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基 (优选-C(O)OC<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> 烷基)、-CONR<sub>i</sub>R<sub>ii</sub> (其中 R<sub>i</sub> 和 R<sub>ii</sub> 是 H、D 和 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基, 优选 C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> 烷基)、-NHC(O)(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基)、-NHC(O)(苯基)、-N(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基)C(O)(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基)、-N(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基)C(O)(苯基)、-C(O)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基、-C(O)杂芳基 (优选-C(O)-5-7 元杂芳基)、-C(O)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基苯基、-C(O)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 卤代烷基、-OC(O)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基 (优选-OC(O)C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> 烷基)、-S(O)<sub>2</sub>-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基、-S(O)-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基、-S(O)<sub>2</sub>-苯基、-S(O)<sub>2</sub>-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 卤代烷基、-S(O)<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>、-S(O)<sub>2</sub>NH(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基)、-S(O)<sub>2</sub>NH(苯基)、-NHS(O)<sub>2</sub>(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基)、-NHS(O)<sub>2</sub>(苯基)和-NHS(O)<sub>2</sub>(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 卤代烷基)。当一个原子或基团被多个取代基取代时, 所述多个取代基可以相同或不同。

本文中所述的数值范围应理解为涵盖其中包含的任何和所有子范围。例如, 范围“1 至 10”应理解为不仅包括明确记载的 1 和 10 的值, 而且还包括 1 至 10 范围内的任何单个值(例如 2、3、4、5、6、7、8 和 9)和子范围(例如 1 至 2、1.5 至 2.5、1 至 3、1.5 至 3.5、2.5 至 4、3 至 4.5 等等)。该原则亦适用于仅用一个数值作为最小值或最大值的范围。

如本文中所使用, 术语“室温”是指约 20 至 25°C。

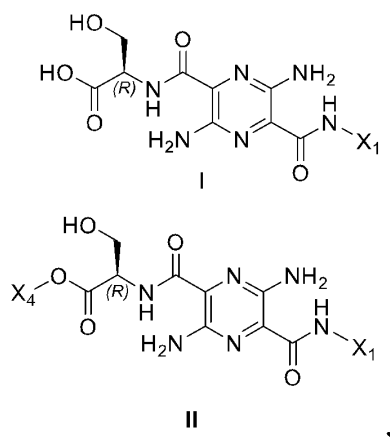
如本文中所使用, 术语“升高的温度”是指大于约 25°C 的温度。在一些实施方案中, “升高的温度”是不低于约 30°C, 在一些实施方案中是不低于约 35°C, 在一些实施方案中是不低于约 40°C, 在一些实施方案中是不低于约 45°C, 在一些实施方案中是不低于约 50°C, 在一些实施方案中是不低于约 55°C, 在一些实施方案中是不低于约 60°C, 在一些实施方案中是不低于约 70°C, 在一些实施方案中是不低于约 80°C, 在一些实施方案中是不低于约 90°C, 或者在一些实施方案中是不低于约 100°C, 或更高的温度。在一些实施方案中, “升高的温度”是不超过约 100°C, 在一些实施方案中是不超过约 90°C, 在一些实施方案中是不超过约 80°C, 在一些实施方案中是不超过约 70°C, 在一些实施方案中是不超过约 60°C, 在一些实施方案中是不超过约 55°C, 在一些实施方案中是不超过约 50°C, 在一些实施方案中是不超过约 45°C, 或者在一些实施方案中是不超过约 40°C。

如本文中所使用, 术语“约”是指在所述数值的±10%范围内, 优选±5%

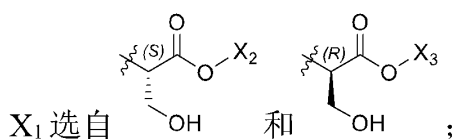
范围内，更优选 $\pm 2\%$ 范围内。

### 化合物及其制备方法

在第一方面，本公开提供式 I 的化合物，以及作为所述式 I 的化合物的合成中间体的式 II 的化合物：



其中：

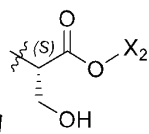


$X_2$  选自 H、取代或未取代的  $C_{1-10}$  烷基、和-(取代或未取代的  $C_{1-10}$  烷基)- $R^1$ ；

$X_3$  和  $X_4$  各自独立地选自取代或未取代的  $C_{1-10}$  烷基、和-(取代或未取代的  $C_{1-10}$  烷基)- $R^1$ ；以及

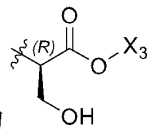
$R^1$  选自： $C_{3-10}$  环烷基、4-10 元杂环基、 $C_{6-10}$  芳基和 5-10 元杂芳基。

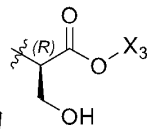
在一些实施方案中， $R^1$  选自： $C_{3-7}$  环烷基，优选  $C_{5-6}$  环烷基；4-7 元杂环基，优选 5-6 元杂环基；苯基和 5-6 元杂芳基。优选地， $R^1$  为苯基。



在一些实施方案中， $X_1$  为 。在一些此类实施方案中， $X_2$  选自 H、取代或未取代的  $C_{1-8}$  烷基、和-(取代或未取代的  $C_{1-8}$  烷基)- $R^1$ 。在一些实施方案中， $X_2$  选自 H、取代或未取代的  $C_{1-6}$  烷基、和-(取代或未取代的  $C_{1-6}$  烷基)- $R^1$ 。在一些实施方案中， $X_2$  选自 H、取代或未取代的  $C_{1-4}$  烷基、和-(取代或未取代的  $C_{1-4}$  烷基)- $R^1$ 。在一些实施方案中， $X_2$  选自 H、未取代的  $C_{1-2}$  烷基、和-(未取代的  $C_{1-2}$  烷基)- $R^1$ 。在一些优选的实施方案中， $X_2$  选

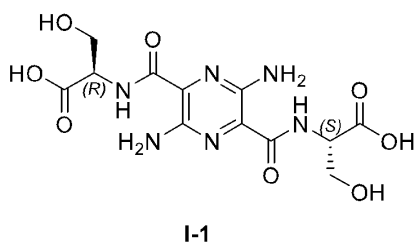
自 H、乙基和-CH<sub>2</sub>-R<sup>1</sup>。更优选地，X<sub>2</sub> 选自 H、乙基和-CH<sub>2</sub>-苯基。



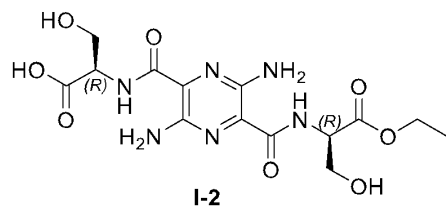
在另一些实施方案中，X<sub>1</sub> 为 。在一些此类实施方案中，X<sub>3</sub> 选自取代或未取代的 C<sub>1-8</sub> 烷基、和-(取代或未取代的 C<sub>1-8</sub> 烷基)-R<sup>1</sup>。在一些实施方案中，X<sub>3</sub> 选自优选取代或未取代的 C<sub>1-6</sub> 烷基、和-(取代或未取代的 C<sub>1-6</sub> 烷基)-R<sup>1</sup>。在一些实施方案中，X<sub>3</sub> 选自更优选取代或未取代的 C<sub>1-4</sub> 烷基、和-(取代或未取代的 C<sub>1-4</sub> 烷基)-R<sup>1</sup>。在一些实施方案中，X<sub>3</sub> 选自更优选未取代的 C<sub>1-2</sub> 烷基、和-(未取代的 C<sub>1-2</sub> 烷基)-R<sup>1</sup>。在一些实施方案中，X<sub>3</sub> 选自更优选乙基和-CH<sub>2</sub>-R<sup>1</sup>。更优选地，X<sub>3</sub> 选自乙基和-CH<sub>2</sub>-苯基。

在一些实施方案中，X<sub>4</sub> 选自取代或未取代的 C<sub>1-8</sub> 烷基、和-(取代或未取代的 C<sub>1-8</sub> 烷基)-R<sup>1</sup>。在一些实施方案中，X<sub>4</sub> 选自优选取代或未取代的 C<sub>1-6</sub> 烷基、和-(取代或未取代的 C<sub>1-6</sub> 烷基)-R<sup>1</sup>。在一些实施方案中，X<sub>4</sub> 选自更优选取代或未取代的 C<sub>1-4</sub> 烷基、和-(取代或未取代的 C<sub>1-4</sub> 烷基)-R<sup>1</sup>。在一些实施方案中，X<sub>4</sub> 选自更优选未取代的 C<sub>1-2</sub> 烷基、和-(未取代的 C<sub>1-2</sub> 烷基)-R<sup>1</sup>。在一些实施方案中，X<sub>4</sub> 选自更优选乙基和-CH<sub>2</sub>-R<sup>1</sup>。更优选地，X<sub>4</sub> 选自乙基和-CH<sub>2</sub>-苯基。甚至更优选地，X<sub>4</sub> 为-CH<sub>2</sub>-苯基。

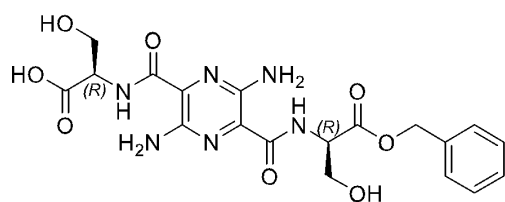
在一些实施方案中，所述式 I 的化合物为式 I-1 的化合物：



在一些实施方案中，所述式 I 的化合物为式 I-2 的化合物：

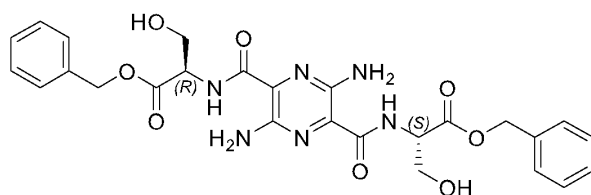


在一些实施方案中，所述式 I 的化合物为式 I-3 的化合物：



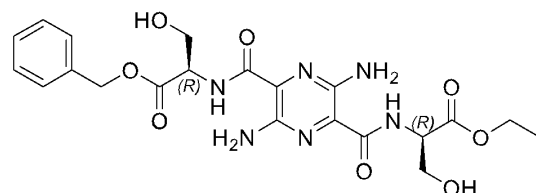
I-3

在一些实施方案中，所述式 II 的化合物为式 II-1 的化合物：



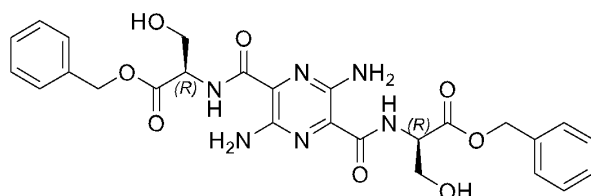
II-1

在一些实施方案中，所述式 II 的化合物为式 II-2 的化合物：



II-2

在一些实施方案中，所述式 II 的化合物为式 II-3 的化合物：



II-3

在第二方面，本公开提供用于制备如上文所述的式 I 的化合物的方法，其特征在于，所述方法包括以下步骤：

a) 使如上文所述的式 II 的化合物与氢气或借氢试剂在溶剂中，在适合的金属催化剂的存在下进行氢化反应，以提供所述式 I 的化合物。

在一些实施方案中，在所述步骤 a) 中，使所述式 II 的化合物与所述借氢试剂进行所述氢化反应。在一些此类实施方案中，所述式 II 的化合物与所述借氢试剂的摩尔比为约 1:2 至 1:20，优选约 1:2 至 1:10，例如约 1:2.5、

约 1:4、约 1:5、约 1:6 或约 1:8。在一些实施方案中，所述借氢试剂选自甲酸和碱金属甲酸盐的组合、环己二烯和异丙醇。在一些优选的实施方案中，所述借氢试剂为甲酸和碱金属甲酸盐的组合。优选地，所述甲酸与所述碱金属甲酸盐的摩尔比为约 1:6 至 6:1，优选约 1:1 至 5:1。在一些实施方案中，所述碱金属甲酸盐为甲酸钠或甲酸钾，优选甲酸钾。在一些实施方案中，所述式 II 的化合物与所述借氢试剂的反应在约 20°C 至 100°C，更优选约 20°C 至 80°C，更优选室温或约 50°C 至 70°C、更优选约 60°C 的温度下进行。在另一些实施方案中，在所述步骤 a) 中，使所述式 II 的化合物与所述氢气进行所述氢化反应。在一些此类实施方案中，所述氢气的压力为约 0.05Mpa 至约 0.8Mpa，优选约 0.1Mpa 至约 0.4Mpa。在一些实施方案中，所述式 II 的化合物与所述氢气的反应在约 15 至 25°C（例如约 20 至 25°C）的温度下进行。

使用借氢试剂的反应具有诸多优势，例如，避免了使用易燃易爆的氢气，大大降低了工业化生产中的安全隐患；反应时间短；使用碱金属甲酸盐而不是甲酸铵，避免了在使用甲酸铵时由升华所致的堵塞管路的问题。

在一些实施方案中，在所述步骤 a) 中，所述溶剂与所述式 II 的化合物的体积比为约 10:1 至 80:1，优选约 20:1 至 50:1。在一些实施方案中，所述溶剂为醇水溶液。在一些实施方案中，所述醇水溶液中醇与水的体积比为约 1:1 至约 8:1（例如约 4:1 或约 6:1）。在一些实施方案中，所述醇水溶液中的醇选自甲醇(MeOH)、乙醇(EtOH)、异丙醇及其任意混合物。优选地，所述醇为乙醇。在另一些实施方案中，所述溶剂为醇和酯的混合溶剂。在一些实施方案中，所述醇和酯的混合溶剂中所述酯与所述醇的体积比为约 1:1 至约 1:5，更优选约 1:1 至约 1:2。在一些实施方案中，所述醇和酯的混合溶剂中的醇选自甲醇(MeOH)、乙醇(EtOH)、异丙醇及其任意混合物。优选地，所述醇为乙醇。在一些实施方案中，所述醇和酯的混合溶剂中的酯选自乙酸乙酯(EA)、乙酸异丙酯或其混合物。优选地，所述酯为乙酸乙酯(EA)。在一些实施方案中，所述醇和酯的混合溶剂中的醇为乙醇，和/或所述酯为乙酸乙酯(EA)。

在一些优选的实施方案中，所述式 II 的化合物与所述借氢试剂的氢化反应在上文所述的醇水溶液中进行。在一些优选的实施方案中，所述式 II 的化合物与所述氢气的氢化反应在上文所述的醇水溶液、或上文所述的醇

和酯的混合溶剂中进行。

在一些实施方案中，所述式 II 的化合物与所述金属催化剂的质量比为约 1:0.01 至 1:1，优选约 1:0.2。在一些实施方案中，所述金属催化剂为炭载钯(Pd/C)。优选地，所述 Pd/C 中钯的质量分数为约 5-20%，更优选约 10% (例如所述 Pd/C 催化剂含有约 50 w/w%的水)。

在一些实施方案中，所述氢化反应进行约 1 至 72 小时(h)，优选约 1 至 48h，更优选约 6 至 12h 的时间。

在一些实施方案中，本公开提供如上文所述的方法，所述方法包括以下步骤：

a) 使所述式 II 的化合物与所述氢气或与所述借氢试剂在乙醇水溶液、或乙醇和乙酸乙酯的混合溶剂中，在 Pd/C 的催化下进行氢化反应约 1 至 72h，例如约 1 至 48h，约 1 至 12h，约 1 至 10h，约 2 至 5h，或约 6 至 12h，以提供所述式 I 的化合物，

其中：

(1) 在一些实施方案中，所述氢气的压力为约 0.05Mpa 至约 0.8Mpa，优选约 0.1Mpa 至约 0.4Mpa，以及

所述式 II 的化合物与所述氢气的反应在约 20 至 25°C 的温度下进行；或者

在另一些实施方案中，所述式 II 的化合物与所述借氢试剂的摩尔比为约 1:2 至 1:10，例如约 1:2.5、约 1:4、约 1:5、约 1:6 或约 1:8，

在所述借氢试剂的反应在约 20°C 至 100°C，优选约 20°C 至 80°C，更优选室温或约 50°C 至 70°C、更优选约 60°C 的温度下进行，以及

所述借氢试剂为甲酸和甲酸钾的组合，其中所述甲酸与所述甲酸钾的摩尔比为约 1:1 至 5:1；

(2) 所述式 II 的化合物与所述 Pd/C 的质量比为约 1:0.01 至 1:1，优选约 1:0.2；

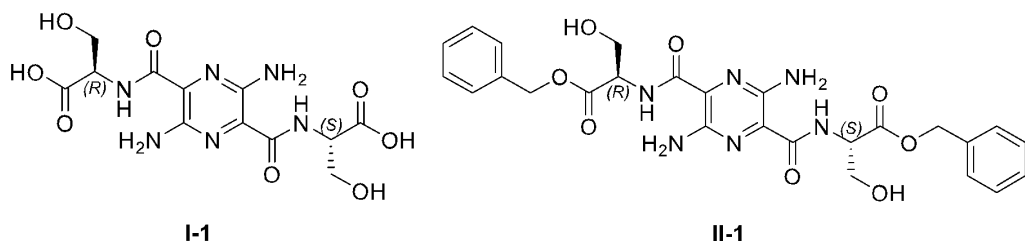
(3) 所述乙醇水溶液、或所述乙醇和乙酸乙酯的混合溶剂与所述式 II 的化合物的体积比为约 10:1 至 80:1，优选约 20:1 至 50:1；以及

(4) 所述乙醇水溶液中乙醇与水的体积比为约 1:1 至约 8:1，例如约 4:1 或约 6:1；以及

所述乙醇和乙酸乙酯的混合溶剂中乙酸乙酯和乙醇的体积比为约 1:1

至约 1:5, 优选约 1:1 至约 1:2。

在一些上文所述的根据本公开的方法的实施方案中, 所述式 I 的化合物为所述式 I-1 的化合物, 并且所述式 II 的化合物为所述式 II-1 的化合物:



在一些此类实施方案中, 所述方法包括以下步骤:

a) 使所述式 II-1 的化合物与借氢试剂在所述乙醇水溶液中, 在所述 Pd/C 的催化下进行氢化反应约 1 至 12h, 以提供所述式 I-1 的化合物。

在一些优选的实施方案中, 所述式 II-1 的化合物与所述借氢试剂的摩尔比为约 1:2 至 1:10, 例如约 1:2.5、约 1:4、约 1:5、约 1:6 或约 1:8。在一些实施方案中, 所述式 II-1 的化合物与所述借氢试剂的反应在约 20°C 至 100°C, 优选约 20°C 至 80°C, 更优选室温或约 50°C 至 70°C、更优选约 60°C 的温度下进行。在一些实施方案中, 所述借氢试剂为甲酸和甲酸钾的组合, 其中所述甲酸与所述甲酸钾的摩尔比为约 1:1 至 5:1。

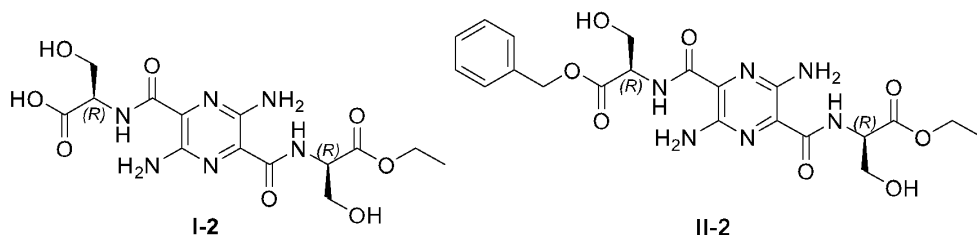
在另一些此类实施方案中, 所述方法包括以下步骤:

a) 使所述式 II-1 的化合物与所述氢气在所述乙醇水溶液、或所述乙醇和乙酸乙酯的混合溶剂中, 在所述 Pd/C 的催化下进行氢化反应约 6 至 12h, 以提供所述式 I-1 的化合物。

在一些优选的实施方案中, 所述氢气的压力为约 0.05Mpa 至约 0.8Mpa, 优选约 0.1Mpa 至约 0.4Mpa。在一些实施方案中, 所述式 II-1 的化合物与所述氢气的反应在约 20 至 25°C 的温度下进行。在一些实施方案中, 所述式 II-1 的化合物与所述 Pd/C 的质量比为约 1:0.01 至 1:1, 优选约 1:0.2。在一些实施方案中, 所述乙醇水溶液、或所述乙醇和乙酸乙酯的混合溶剂与所述式 II-1 的化合物的体积比为约 10:1 至 80:1, 优选约 20:1 至 50:1。在一些实施方案中, 所述乙醇水溶液中乙醇与水的体积比为约 1:1 至约 8:1 (例如约 4:1 或约 6:1)。在另一些实施方案中, 所述乙醇和乙酸乙酯的混合溶剂中乙酸乙酯和乙醇的体积比为约 1:1 至约 1:5, 优选约 1:1 至约 1:2。

在另一些上文所述的根据本公开的方法的实施方案中, 所述式 I 的化合

物为所述式 I-2 的化合物，并且所述式 II 的化合物为所述式 II-2 的化合物：

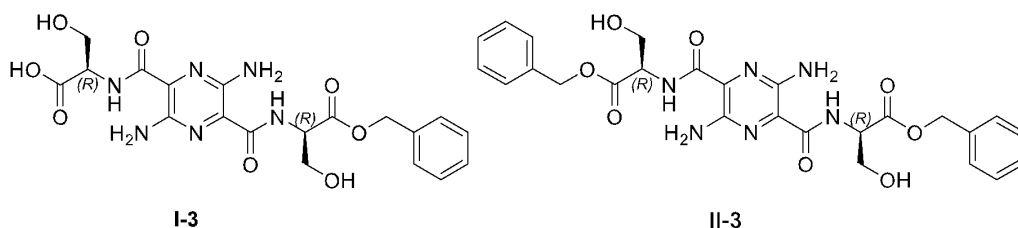


在一些此类实施方案中，所述方法包括以下步骤：

a) 使所述式 II-2 的化合物与所述氢气在所述乙醇水溶液、或所述乙醇和乙酸乙酯的混合溶剂中，在所述 Pd/C 的催化下进行氢化反应约 6 至 12h，以提供所述式 I-2 的化合物。

在一些优选的实施方案中，所述氢气的压力为约 0.05Mpa 至约 0.8Mpa，优选约 0.1Mpa 至约 0.4Mpa。在一些实施方案中，所述式 II-2 的化合物与所述氢气的反应在约 20 至 25°C 的温度下进行。在一些实施方案中，所述式 II-2 的化合物与所述 Pd/C 的质量比为约 1:0.01 至 1:1，优选约 1:0.2。在一些实施方案中，所述乙醇水溶液、或所述乙醇和乙酸乙酯的混合溶剂与所述式 II-2 的化合物的体积比为约 10:1 至 80:1，优选约 20:1 至 50:1。在一些实施方案中，所述乙醇水溶液中乙醇与水的体积比为约 1:1 至约 8:1（例如约 4:1 或约 6:1）。在另一些实施方案中，所述乙醇和乙酸乙酯的混合溶剂中乙酸乙酯和乙醇的体积比为约 1:1 至约 1:5，优选约 1:1 至约 1:2。

在另一些上文所述的根据本公开的方法的实施方案中，所述式 I 的化合物为所述式 I-3 的化合物，并且所述式 II 的化合物为所述式 II-3 的化合物：



在一些此类实施方案中，所述方法包括以下步骤：

a) 使所述式 II-3 的化合物与所述氢气在所述乙醇水溶液、或所述乙醇和乙酸乙酯的混合溶剂中，在 Pd/C 的催化下进行氢化反应约 1 至 12h，例如约 1 至 10h，约 2 至 5h，或约 6 至 12h，以提供所述式 I-3 的化合物。

在一些优选的实施方案中，所述氢气的压力为约 0.05Mpa 至约 0.8Mpa，优选约 0.1Mpa 至约 0.4Mpa。在一些实施方案中，所述式 II-3 的化合物与

所述氢气的反应在约 20 至 25°C 的温度下进行。在一些实施方案中，所述式 II-3 的化合物与所述 Pd/C 的质量比为约 1:0.01 至 1:1，优选约 1:0.2。在一些实施方案中，所述乙醇水溶液、或所述乙醇和乙酸乙酯的混合溶剂与所述式 II-3 的化合物的体积比为约 10:1 至 80:1，优选约 20:1 至 50:1。在一些实施方案中，所述乙醇水溶液中乙醇与水的体积比为约 1:1 至约 8:1（例如约 4:1 或约 6:1）。在另一些实施方案中，所述乙醇和乙酸乙酯的混合溶剂中乙酸乙酯和乙醇的体积比为约 1:1 至约 1:5，优选约 1:1 至约 1:2。

在一些上文所述的根据本公开的方法的实施方案中，所述方法还包括以下步骤：

b) 从所述步骤 a) 的反应混合物中除去所述金属催化剂，然后干燥所述反应混合物，得到所述式 I 的化合物；和

c) 任选地，进一步纯化得自所述步骤 b) 的所述式 I 的化合物。

在所述步骤 b) 中，所述金属催化剂可以通过经硅藻土过滤而除去；除去所述金属催化剂的反应混合物可以在升高的温度（例如约 40-50°C、优选约 45°C）下减压浓缩至干燥。

在所述步骤 c) 中，所述纯化可以通过以下方式进行：

将得自所述步骤 b) 的所述式 I 的化合物用乙腈打浆（例如约 1 至 4h），进一步用水打浆（约 1 至 4h），然后过滤，并干燥滤饼。

例如，所述干燥可以通过在升高的温度（例如约 40-50°C、优选约 45°C）下减压浓缩来进行。

在所述步骤 c) 中，所述纯化还可以通过以下方式进行：

使得自所述步骤 b) 的所述式 I 的化合物通过层析柱或高压制备色谱仪。

对于高压制备色谱仪没有特别的限制。可以采用的高压制备色谱仪包括但不限于 LAB-ZB-05、北京澳诺科技有限公司的中高压设备，等等。

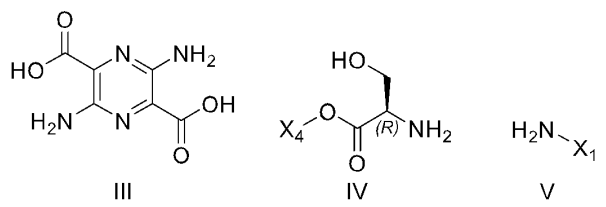
在一些上文所述的根据本公开的方法的实施方案中，其中所述式 I 的化合物为所述式 I-1 的化合物，并且所述式 II 的化合物为所述式 II-1 的化合物，所述方法包括进行步骤 c)。在一些此类实施方案中，在步骤 c) 中，通过以下方式进一步纯化得自步骤 b) 的所述式 I-1 的化合物：将得自步骤 b) 的所述式 I-1 的化合物用乙腈打浆（例如约 1 至 4h），进一步用水打浆（约 1 至 4h），然后过滤，并干燥滤饼。所述干燥可以通过在更高的温度（例如约 40-50°C、优选约 45°C）下减压浓缩来进行。

在另一些实施方案中，其中所述式 I 的化合物为所述式 I-2 的化合物，并且所述式 II 的化合物为所述式 II-2 的化合物，所述方法包括进行步骤 c)。在一些此类实施方案中，在步骤 c) 中，通过以下方式进一步纯化得自步骤 b) 的所述式 I-2 的化合物：将得自步骤 b) 的所述式 I-2 的化合物用乙腈打浆（例如约 1 至 4h），进一步用水打浆（约 1 至 4h），然后过滤，并干燥滤饼；或者使得自步骤 b) 的所述式 I-2 的化合物通过层析柱或高压制备色谱仪。所述干燥可以通过在升高的温度（例如约 40-50°C、优选约 45°C）下减压浓缩来进行。

在又一些实施方案中，其中所述式 I 的化合物为所述式 I-3 的化合物，并且所述式 II 的化合物为所述式 II-3 的化合物时，所述方法包括进行步骤 c)。在一些此类实施方案中，在步骤 c) 中，通过以下方式进一步纯化得自步骤 b) 的所述式 I-3 的化合物：使得自步骤 b) 的所述式 I-3 的化合物通过层析柱或高压制备色谱仪。

在一些上文所述的根据本公开的方法的实施方案中，所述方法还包括以下步骤：

a') 使式 III 的化合物 3,6-二氨基吡嗪-2,5-二酸与式 IV 的化合物或其盐和式 V 的化合物或其盐在适合的有机溶剂中，在适合的有机碱、适合的偶联剂和适合的缩合剂的存在下进行酰胺缩合反应，以提供所述式 II 的化合物，

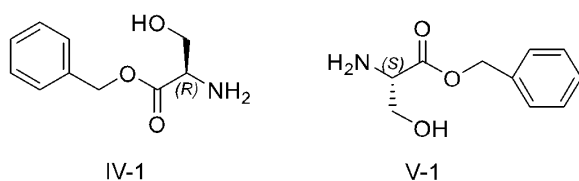


其中 X<sub>1</sub> 和 X<sub>4</sub> 如上文所定义。

所述式 IV 的化合物的盐包括但不限于盐酸盐和氢溴酸盐，优选盐酸盐；所述式 V 的化合物的盐包括但不限于盐酸盐和氢溴酸盐，优选盐酸盐。

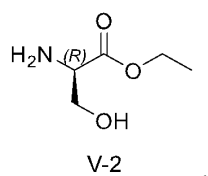
在一些实施方案中，其中所述式 II 的化合物为所述式 II-1 的化合物，所述方法包括：

由所述式 III 的化合物与具有式 IV-1 的所述式 IV 的化合物的盐酸盐和具有式 V-1 的所述式 V 的化合物的盐酸盐反应，以提供所述式 II-1 的化合物：



在另一些实施方案中,其中所述式 II 的化合物为所述式 II-2 的化合物,所述方法包括:

由所述式 III 的化合物与具有所述式 IV-1 的所述式 IV 的化合物的盐酸盐和具有式 V-2 的所述式 V 的化合物的盐酸盐反应, 以提供所述式 II-2 的化合物:



在又一些实施方案中,其中所述式 II 的化合物为所述式 II-3 的化合物,所述方法包括:

由所述式 III 的化合物与具有所述式 IV-1 的化合物的盐酸盐反应, 以提供所述式 II-3 的化合物。

在一些上文所述的根据本公开的方法的实施方案中, 所述式 IV 的化合物与所述式 III 的化合物的摩尔比为约 0.5:1 至 8:1, 优选约 1:1 至 4:1。

在一些实施方案中, 所述式 V 的化合物与所述式 III 的化合物的摩尔比为约(0.5~8.0):1.0, 优选约 1:1 至 4:1。

在一些实施方案中, 所述有机溶剂与所述式 III 的化合物的体积比为约 10:1 至 80:1, 优选约 20:1 至 50:1。

在一些实施方案中, 所述有机碱与所述式 III 的化合物的摩尔比为约 0.5:1 至 9:1, 优选约 1:1 至 5:1。

在一些实施方案中, 所述偶联剂与所述式 III 的化合物的摩尔比为约 0.5:1 至 9:1, 优选约 1:1 至 5:1。

在一些实施方案中, 所述缩合剂与所述式 III 的化合物的摩尔比为约 0.5:1 至 9:1, 优选约 1:1 至 5:1。

在一些实施方案中, 所述酰胺缩合反应先在适合的温度, 优选约-5 至 20°C, 更优选约-5 至 10°C, 更优选约 0-10°C 下持续适当的时间, 例如约 10-60 分钟(min), 然后在室温下持续适当的时间, 优选约 10-72h, 更优选

约 18-36h。

在一些实施方案中,所述有机溶剂是 N,N-二甲基甲酰胺(DMF)、DCM、DMSO、四氢呋喃和/或 1,4-二氧六环。

在一些实施方案中,所述有机碱是二异丙基乙胺(DIPEA)、三乙胺、吡啶和/或 DMAP。

在一些实施方案中,所述偶联剂为 2-肟乙酸乙酯(Oxyma)、1-羟基苯并三唑(HOBt)、HATU、HBTU、HCTU、TBTU、TSTU、TNTU、O-(7-氮杂苯并三氮唑-1-基)-二(四氢吡咯基)碳鎗六氟磷酸盐(HAPyU)和/或 O-(苯并三氮唑-1-基)-二(四氢吡咯基)碳鎗六氟磷酸盐(HBPyU)。

在一些实施方案中,所述缩合剂选自: 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳化二亚胺盐酸盐(EDC.HCl)、HOBt、HATU、HBTU、HCTU、TBTU、TSTU、TNTU、O-(7-氮杂苯并三氮唑-1-基)-二(四氢吡咯基)碳鎗六氟磷酸盐(HAPyU)、O-(苯并三氮唑-1-基)-二(四氢吡咯基)碳鎗六氟磷酸盐(HBPyU)及其任意组合。

在一些上文所述的根据本公开的方法的实施方案中,所述方法包括以下步骤:

a') 使所述式 III 的化合物与所述式 IV 的化合物和所述式 V 的化合物在 DMF 中在约 -5 至 20°C, 优选约 -5 至 10°C, 更优选约 0-10°C 下, 在 DIPEA、2-肟乙酸乙酯和 EDC\*HCl 的存在下反应约 10-60min, 然后在室温下反应约 10-72h, 更优选约 18-36h。

在一些实施方案中,所述方法还包括以下步骤:

b') 任选地, 向所述步骤 a') 中的反应混合物中加入水, 以析出所述式 II 的化合物; 以及

c') 任选地, 进一步纯化得自步骤 b') 的所述式 II 的化合物。

优选地, 在步骤 b') 中, 所添加的水与所述反应混合物的体积比为约 20:1 至 150:1, 更优选约 35:1 至 75:1。

优选地, 在步骤 c') 中, 所述纯化通过使得自步骤 b') 的所述式 II 的化合物通过层析柱或高压制备色谱仪来进行。

在一些上文所述的根据本公开的方法的实施方案中, 其中所述式 II 的化合物为所述式 II-1 的化合物, 所述方法包括进行所述步骤 c')。在一些此类实施方案中, 在所述步骤 c') 中, 通过使得自所述步骤 b') 的所述式 II-1

的化合物通过层析柱进一步纯化所述式 II-1 的化合物。

在另一些实施方案中,其中所述式 II 的化合物为所述式 II-2 的化合物,所述方法包括进行所述步骤 c')。在一些此类实施方案中,在所述步骤 c')中,通过使得自所述步骤 b')的所述式 II-2 的化合物通过层析柱或高压制备色谱仪进一步纯化所述式 II-2 的化合物。

在又一些实施方案中,其中所述式 II 的化合物为所述式 II-3 的化合物,所述方法包括进行所述步骤 c')。在一些此类实施方案中,在所述步骤 c')中,通过使得自所述步骤 b')的所述式 II-3 的化合物通过层析柱或高压制备色谱仪进一步纯化所述式 II-3 的化合物。

在第一特别实施方案中,根据本公开的方法包括如下步骤:

(1) 在容器中加入 3,6-二氨基吡嗪-2,5-二酸(式 III 的化合物)和 D-丝氨酸苄酯盐酸盐以及 L-丝氨酸苄酯盐酸盐,加入 DMF 并搅拌均匀,其中优选地, D-丝氨酸苄酯盐酸盐与所述式 III 的化合物的摩尔比以及 L-丝氨酸苄酯盐酸盐与式 III 的化合物的摩尔比各自为约 0.5:1 至 8:1,优选约 1:1 至 4:1;以及 DMF 与式 III 的化合物的体积比为约 10:1 至 80:1,优选约 20:1 至 50:1;

(2) 降温到约-5°C~20°C(优选约-5 至 10°C,更优选约 0-10°C)后加入 DIPEA,约 30min 后加入 2-脞氰乙酸乙酯,反应约 10min~60min 后再加入 EDC\*HCl,再反应约 10min~60min 后升到室温并反应约 10h~72h(优选约 18-36h),其中优选地,DIPEA 与所述式 III 的化合物的体积比为约 0.5:1 至 9:1,优选约 1:1 至 5:1;以及 2-脞氰乙酸乙酯与所述式 III 的化合物的摩尔比以及 EDC\*HCl 与所述式 III 的化合物的摩尔比各自为约 0.5:1 至 9:1,优选约 1:1 至 5:1;

(3)以相对于所述式 III 的化合物约 20:1 至 150:1(优选约 35:1 至 75:1)的体积比加入纯化水,固体析出后过滤,得到式 II-1 的化合物粗品;

(4)使得自步骤(3)的粗品过层析柱,得到经纯化的式 II-1 的化合物;

(5)将所述经纯化的 II-1 的化合物在醇水溶液在 Pd/C 催化下与约 0.05Mpa 至约 0.8Mpa(优选约 0.1Mpa 至约 0.4Mpa)的氢气反应约 1 至 72h(优选约 1 至 48h,更优选约 6 至 12h),反应结束后除去 Pd/C(例如经硅藻土过滤),干燥剩余物(例如通过于约 45°C 下减压浓缩滤液至干燥),得到所述式 I-1 的化合物粗品,其中优选地,所述式 II-1 的化合物与所述

Pd/C 的质量比为约 1:0.01 至 1:1, 优选约 1:0.2; 所述 Pd/C 中钯的质量分数为约 5-20%, 更优选约 10% (例如该 Pd/C 催化剂含有约 50 w/w% 的水); 所述醇水溶液中醇与水的体积比为约 1:1 至约 8:1 (例如约 4:1 或约 6:1); 以及所述醇水溶液中的醇选自甲醇、乙醇、异丙醇及其任意混合物, 优选乙醇;

(6) 任选地, 将得自步骤 (5) 的粗品先用乙腈打浆约 1 至 4h, 然后用水打浆约 1 至 4h, 然后过滤, 将滤饼于升高的温度 (例如约 45°C) 下减压干燥, 得到作为终产物的式 I-1 的化合物。

在第二特别实施方案中, 本公开提供如所述第一特别实施方案所述的方法, 但是所述步骤 (1) 中的 L-丝氨酸苄酯盐酸盐替换为 D-丝氨酸乙酯盐酸盐; 所述步骤 (3)、(4) 和 (5) 中的式 II-1 的化合物替换为式 II-2 的化合物; 以及所述步骤 (5) 和 (6) 中的式 I-1 的化合物替换为式 I-2 的化合物。

在第三特别实施方案中, 本公开提供如所述第一特别实施方案所述的方法, 但是所述步骤 (1) 中的 L-丝氨酸苄酯盐酸盐替换为 D-丝氨酸苄酯盐酸盐; 所述步骤 (3)、(4) 和 (5) 中的式 II-1 的化合物替换为式 II-3 的化合物; 以及所述步骤 (5) 和 (6) 中的式 I-1 的化合物替换为式 I-3 的化合物。

在第四特别实施方案中, 本公开提供如所述第一特别实施方案所述的方法, 但是所述步骤 (5) 替换为以下步骤 (5'):

(5') 在容器中使式 II-1 的化合物在醇水溶液中, 在甲酸和甲酸钾的存在下以及在 Pd/C 的催化下在约 20°C 至 100°C (优选约 20°C 至 80°C, 更优选室温或约 50°C 至 70°C、更优选约 60°C) 下反应约 1 至 12h, 反应结束后除去 Pd/C (例如经硅藻土过滤), 干燥剩余物 (例如通过于约 40°C 下减压浓缩滤液至干燥), 得到所述式 I-1 的化合物粗品, 其中优选地, 所述式 II-1 的化合物与甲酸根(HCOO<sup>-</sup>)的摩尔比为约 1:2 至 1:10 (例如约 1:2.5、约 1:4、约 1:5、约 1:6 或约 1:8); 所述式 II-1 的化合物与所述 Pd/C 的质量比为约 1:0.01 至 1:1, 优选约 1:0.2; 所述 Pd/C 中钯的质量分数为约 5-20%, 更优选约 10% (例如该 Pd/C 催化剂含有约 50 w/w% 的水); 所述醇水溶液中醇与水的体积比为约 4:1 至约 8:1; 以及所述醇水溶液中的醇选自甲醇、乙醇、异丙醇及其任意混合物, 优选乙醇。

在第五特别实施方案中，本公开提供如所述第四特别实施方案所述的方法，但是所述步骤（1）中的 L-丝氨酸苄酯盐酸盐替换为 D-丝氨酸乙酯盐酸盐；所述步骤（3）、（4）和（5）中的式 II-1 的化合物替换为式 II-2 的化合物；以及所述步骤（5）和（6）中的式 I-1 的化合物替换为式 I-2 的化合物。

在第六特别实施方案中，本公开提供如所述第四特别实施方案所述的方法，但是所述步骤（1）中的 L-丝氨酸苄酯盐酸盐替换为 D-丝氨酸苄酯盐酸盐；所述步骤（3）、（4）和（5）中的式 II-1 的化合物替换为式 II-3 的化合物；以及所述步骤（5）和（6）中的式 I-1 的化合物替换为式 I-3 的化合物。

在第七特别实施方案中，根据本公开的方法包括如下步骤：

(i) 进行如上述第一、第二、第三、第四、第五或第六实施方案中任一实施方案所述的方法的步骤（1）；

(ii) 相应地进行进行如上述第一、第二、第三、第四、第五或第六实施方案中任一实施方案所述的方法的步骤（2）；

(iii) 相应地进行进行如上述第一、第二、第三、第四、第五或第六实施方案中任一实施方案所述的方法的步骤（3）；

(iv) 相应地进行进行如上述第一、第二、第三、第四、第五或第六实施方案中任一实施方案所述的方法的步骤（5）；

(v) 使得自步骤(iv)的产物通过层析柱或高压制备色谱仪；以及

(vi) 将得自步骤(v)的产物冻干。

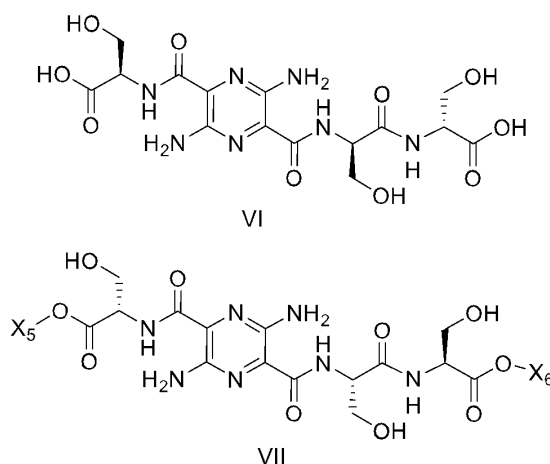
在第八特别实施方案中，根据本公开的方法包括如下步骤：

(i) 进行如上述第三特别实施方案所述的方法的步骤（5）；

(ii) 使得自步骤(ii)的产物通过层析柱或通过高压制备色谱仪进行纯化；

(iii) 将得自步骤(ii)的产物冻干，得到式 I-3 的化合物。

在第三方面，本公开提供式 VI 的化合物，以及作为所述式 VI 的化合物的合成中间体的式 VII 的化合物：



其中:

X<sub>5</sub> 和 X<sub>6</sub> 各自独立地为-(取代或未取代的 C<sub>1-10</sub> 烷基)-R<sup>2</sup>; 以及

R<sup>2</sup> 选自: C<sub>3-10</sub> 环烷基、4-10 元杂环基、C<sub>6-10</sub> 芳基和 5-10 元杂芳基。

在一些实施方案中, R<sup>2</sup> 选自: C<sub>3-7</sub> 环烷基, 优选 C<sub>5-6</sub> 环烷基; 4-7 元杂环基, 优选 5-6 元杂环基; 苯基和 5-6 元杂芳基。优选地, R<sup>2</sup> 为苯基。

在一些实施方案中, X<sub>5</sub> 和 X<sub>6</sub> 各自独立地为-(取代或未取代的 C<sub>1-8</sub> 烷基)-R<sup>2</sup>, 优选-(取代或未取代的 C<sub>1-6</sub> 烷基)-R<sup>2</sup>, 更优选-(取代或未取代的 C<sub>1-4</sub> 烷基)-R<sup>2</sup>, 更优选-(未取代的 C<sub>1-2</sub> 烷基)-R<sup>2</sup>, 更优选-CH<sub>2</sub>-R<sup>2</sup>。优选地, X<sub>5</sub> 和 X<sub>6</sub> 各自独立地为-CH<sub>2</sub>-苯基。

在第四方面, 本公开提供用于制备如上文所述的式 VI 的化合物的方法, 其特征在于, 所述方法包括以下步骤:

i) 使所述式 VII 的化合物在溶剂中, 在适合的金属催化剂的存在下进行氢化反应, 以提供所述式 VI 的化合物。

在一些实施方案中, 在所述步骤 i) 中, 所述氢化反应是在氢气氛下进行的。在一些此类实施方案中, 所述氢气的压力为约 0.05Mpa 至约 0.8Mpa, 优选约 0.1Mpa 至约 0.4Mpa。在一些实施方案中, 所述式 VII 的化合物与所述氢气的反应在约 20 至 30°C (例如约 20 至 25°C) 的温度下进行。

在一些实施方案中, 所述式 VII 的化合物与所述金属催化剂的质量比为约 1:0.01 至 1:1, 优选约 1:0.2。

在一些实施方案中, 所述金属催化剂为炭载钯(Pd/C), 其中优选地, 所述 Pd/C 中钯的质量分数为约 5-20%, 更优选约 10% (例如所述 Pd/C 催化剂含有约 50 w/w%的水)。

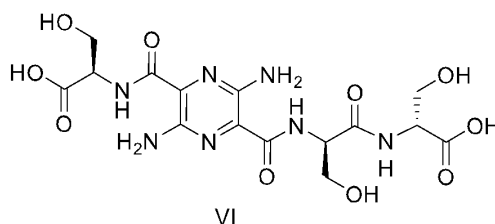
在一些实施方案中,所述溶剂与所述式 VII 的化合物的体积比为约 10:1 至 50:1, 优选约 10:1 至 30:1。

在一些实施方案中, 所述溶剂为 N,N-二甲基甲酰胺(DMF)、二氯甲烷(DCM)、二甲基亚砷(DMSO)、四氢呋喃和/或 1,4-二氧六环, 优选 N,N-二甲基甲酰胺。

在一些实施方案中, 所述氢化反应进行约 5 至 72h, 例如约 10 至 48h, 或约 10 至 30h 的时间。

在一些实施方案中, 本公开提供如上文所述的用于制备式 VI 的化合物或其盐的方法, 所述方法包括以下步骤:

i) 使式 VII-1 的化合物在 N,N-二甲基甲酰胺中, 在约 10%的 Pd/C 存在下, 在 0.05Mpa 至约 0.8Mpa、优选约 0.1Mpa 至约 0.4Mpa 氢气氛下, 在约 20 至 25°C 的温度下进行氢化反应约 5 至 72h、优选约 10 至 30h 的时间, 以提供所述式 VI 的化合物,



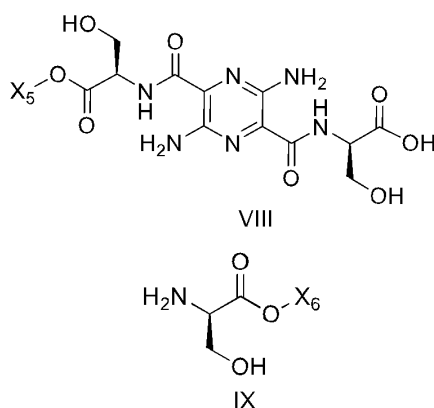
其中:

所述式 VII-1 的化合物与所述 Pd/C 的质量比为约 1:0.01 至 1:1, 优选约 1:0.2; 以及

所述 N,N-二甲基甲酰胺与所述式 VII-1 的化合物的体积比为约 10:1 至 50:1, 优选约 10:1 至 30:1。

在一些实施方案中, 如上文所述的用于制备式 VI 的化合物或其盐的方法还包括以下步骤:

i') 使式 VIII 的化合物与式 IX 的化合物或其盐 (优选盐酸盐) 在惰性气氛下, 在适合的有机溶剂中, 在适合的有机碱、适合的偶联剂和适合的缩合剂的存在下进行酰胺缩合反应, 以提供所述式 VII 的化合物,



其中  $X_5$  和  $X_6$  各自如上文所定义；以及

ii') 任选地，过滤所述步骤 i') 中的反应混合物，向滤液中滴加水，以使所述式 VII 的化合物结晶析出；以及

iii') 任选地，向分离出的所述式 VII 的化合物中加入乙酸乙酯打浆，然后过滤，并在升高的温度下（例如约  $50 \pm 5^\circ\text{C}$ ）真空干燥 18 小时以上。

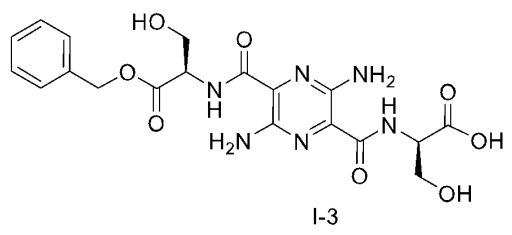
在一些实施方案中，在所述步骤 i') 中，所述惰性气氛是在氮气保护下。在一些实施方案中，所述有机溶剂与所述式 IX 的化合物或其盐的体积比为约 10:1 至 80:1，优选约 20:1 至 50:1。在一些实施方案中，所述有机碱与所述式 VIII 的化合物的摩尔比为约 0.5:1 至 9:1，优选约 1:1 至约 5:1。在一些实施方案中，所述缩合剂与所述式 VIII 的化合物的摩尔比为约 0.5:1 至 9:1，优选约 1:1 至约 5:1。在一些实施方案中，所述偶联剂与所述式 VIII 的化合物的摩尔比为约 0.5:1 至 9:1，优选约 1:1 至约 5:1。在一些实施方案中，所述酰胺缩合反应在约 10 至  $30^\circ\text{C}$ ，优选约  $20 \sim 30^\circ\text{C}$  的温度下进行。在一些实施方案中，所述酰胺缩合反应持续约 10 至 72h，优选约 18 至 36h 的时间。在一些实施方案中，所述有机溶剂是 N,N-二甲基甲酰胺(DMF)、二氯甲烷(DCM)、二甲基亚砜(DMSO)、四氢呋喃和/或 1,4-二氧六环。在一些实施方案中，所述有机碱是二异丙基乙胺(DIPEA)、三乙胺、吡啶和/或 4-二甲氨基吡啶(DMAP)。在一些实施方案中，所述偶联剂为 2-脒乙酸乙酯(Oxyma)、HOBt、HATU、HBTU、HCTU、TBTU、TSTU、TNTU、O-(7-氮杂苯并三氮唑-1-基)-二(四氢吡咯基)碳鎓六氟磷酸盐 (HAPyU) 和/或 O-(苯并三氮唑-1-基)-二(四氢吡咯基)碳鎓六氟磷酸盐 (HBPYU)。在一些实施方案中，所述缩合剂选自：1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳化二亚胺盐酸盐(EDC\*HCl)、HOBt、HATU、HBTU、HCTU、TBTU、TSTU、TNTU、O-(7-氮杂苯并三

氮唑-1-基)-二(四氢吡咯基)碳鎗六氟磷酸盐 (HAPyU)、O-(苯并三氮唑-1-基)-二(四氢吡咯基)碳鎗六氟磷酸盐 (HBPYU) 及其任意组合。

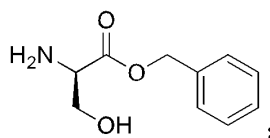
在一些实施方案中,在所述步骤 ii')中,所加入的水与所述滤液的体积比为约 20:1 至 150:1,优选 35:1 至 75:1。

在一些实施方案中,在所述步骤 iii')中,所述乙酸乙酯与所述式 VII 的化合物的体积比为约 5:1 至 30:1,优选约 5:1 至 10:1。

在另一些实施方案中,所述式 VIII 的化合物为式 I-3 的化合物:



所述式 IX 的化合物为下式的化合物:



所述有机溶剂是 DMF;

所述有机碱是二异丙基乙胺(DIPEA);

所述偶联剂为 HOBt; 以及

所述缩合剂为: EDC\*HCl。

在一些实施方案中,如上文所述的用于制备式 VI 的化合物或其盐的方法还包括以下步骤:

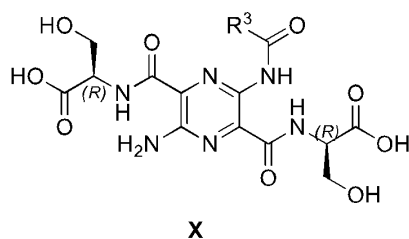
ii) 任选地,过滤所述步骤 i)中的反应混合物,向滤液中滴加乙酸乙酯,以使所述式 VI 的化合物结晶析出; 以及

iii) 任选地,向分离出的所述式 VI 的化合物中加入乙酸乙酯打浆,然后过滤,并在升高的温度(例如约  $35 \pm 5^\circ\text{C}$ )下真空干燥 12 小时以上。

在一些此类实施方案中,在所述步骤 ii)中,所述乙酸乙酯与所述滤液的体积比为约 30:1 至 90:1,优选约 30:1 至 50:1。

在一些此类实施方案中,在所述步骤 iii)中,所述乙酸乙酯与所述式 VI 的化合物的体积比为约 1:1 至 10:1,优选约 2:1 至 5:1。

在第五方面,本公开提供式 X 的化合物:

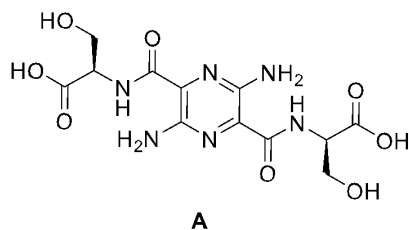


其中  $R^3$  为 H、或者取代或未取代的  $C_{1-4}$  烷基，优选 H 或甲基。

在一些优选的实施方案中， $R^3$  为 H。

在第六方面，本公开提供用于制备所述式 X 的化合物的方法，其特征在于，所述方法包括以下步骤：

x-i) 提供式 A 的化合物在溶剂中的溶液；



x-ii) 在升高的温度下，用酸  $R^3$ -COOH 使式 A 的化合物酰化，以提供所述式 X 的化合物；以及

x-iii) 任选地，分离和纯化所述式 X 的化合物；

其中  $R^3$  如上文所定义。

在一些优选的实施方案中， $R^3$  为 H。

在一些实施方案中，在步骤 x-i) 中，所述溶剂与所述式 A 的化合物的体积比为约 5:1 至 30:1，优选约 5:1 至 10:1。在一些实施方案中，在步骤 x-i) 中所述的溶剂是 N,N-二甲基甲酰胺(DMF)、二氯甲烷(DCM)、二甲基亚砜(DMSO)、四氢呋喃和/或 1,4-二氧六环，优选 DMF。在一些实施方案中，在步骤 x-ii) 中所述的升高的温度是约 55 至 75°C，优选约 70°C。在一些实施方案中，在步骤 x-ii) 中，所述酸  $R^3$ -COOH 与所述式 A 的化合物的体积比为约 0.5:1 至 10:1，优选约 1:1 至 5:1。在一些实施方案中，在步骤 x-ii) 中，反应时间为约 1 至 20h，优选约 1 至 5h。

在一些实施方案中，所述步骤 x-iii) 包括：

1) 浓缩所述步骤 x-i) 中的反应混合物至无馏分，然后向残余物中滴加乙酸乙酯以使所述式 X 的化合物结晶析出；以及

2) 将分离出的所述式 X 的化合物溶于步骤 x-i) 中所使用的溶剂中，然

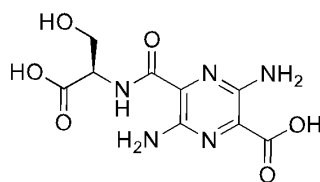
后滴加乙酸乙酯以使所述式 X 的化合物结晶析出，然后过滤，并在升高的温度（例如约  $30 \pm 5^\circ\text{C}$ ）下真空干燥；

3) 重复所述步骤 1) 和 2) 的重结晶；以及

4) 将得自所述步骤 3) 的干燥的所述式 X 的化合物用乙酸乙酯打浆，然后过滤，并在升高的温度（例如约  $30 \pm 5^\circ\text{C}$ ）下真空干燥 16 小时以上。

在一些此类实施方案中，在所述步骤 1) 中，所述乙酸乙酯与所述式 A 的化合物的体积比为约 15:1 至 90:1，优选约 15:1 至 30:1。在一些实施方案中，在所述步骤 2) 中，所述溶剂与所述式 A 的化合物的体积比为约 0.5:1 至 5:1，优选约 1:1 至 2:1。在一些实施方案中，在所述步骤 2) 中，所述乙酸乙酯与所述式 A 的化合物的体积比为约 1:1 至 10:1，优选约 2:1 至 4:1。在一些实施方案中，在所述步骤 4) 中，所述乙酸乙酯与所述式 A 的化合物的体积比为约 1:1 至 10:1，优选约 2:1 至 5:1。

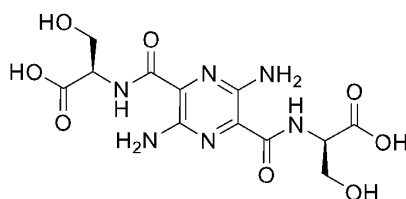
在第七方面，本公开提供式 XI 的化合物：



XI

在第八方面，本公开提供用于制备所述式 XI 的化合物的方法，其特征在于，所述方法包括以下步骤：

xi-i) 使式 A 的化合物在水中，在碱的存在下以及在升高的温度下水解，以提供所述式 XI 的化合物或其盐；



A

，以及

xi-ii) 任选地，分离和纯化所述式 XI 的化合物或其盐。

在一些实施方案中，在步骤 xi-i) 中，所述水与所述式 A 的化合物的体积比为约 5:1 至 30:1，优选约 5:1 至 10:1。在一些实施方案中，在步骤 xi-i) 中，所述碱与所述式 A 的化合物的摩尔比为约 1:1 至 5:1，优选约 2:1 至 5:1。

在一些实施方案中，所述碱为无机碱，优选氢氧化钾、氢氧化钠及其混合物，更优选氢氧化钾。在一些实施方案中，在步骤 xi-i)中，所述升高的温度为约 50 至 100°C，优选约 80 至 90°C。在一些实施方案中，在步骤 xi-i)中，所述水解反应进行约 5 至 48h，优选约 10 至 20h。

在一些实施方案中，所述步骤 xi-ii)包括：

1) 向所述步骤 xi-ii)中的反应混合物添加硅胶，以将所述反应混合物浓缩并制成硅胶干粉，将所述硅胶干粉通过硅胶柱层析，得到所述式 XI 的化合物或其盐的固体粗品；

2) 将得自所述步骤 xii-1)的固体粗品用甲醇打浆，过滤，然后在升高的温度（例如约 50±5°C）下真空干燥 16 小时以上，得到经纯化的所述式 XI 的化合物或其盐。

在一些此类实施方案中，在所述步骤 1)中，所添加的硅胶与所述式 A 的化合物的质量比为约 0.5:1 至 2:1，优选约 2:1。在一些实施方案中，在所述步骤 1)中，所述硅胶层析柱用 EA/MeOH (1% 三氟乙酸(TFA))作为洗脱剂梯度洗脱，其中 EA : MeOH (1% TFA)的体积比为约 50:1 至 1:1，优选约 30:1 至 10:1。在一些实施方案中，在所述步骤 2)中，所述甲醇与所述式 A 的化合物的体积比为约 1:1 至 10:1，优选约 2:1 至 5:1。

### 用途

在第九方面，本公开提供用于 MB-102 的原料药或制剂的质量控制的方法，其包括测定在所述原料药或制剂中，所述式 I 的化合物（包括所述式 I-1 的化合物、所述式 I-2 的化合物、所述式 I-3 的化合物及其任意组合）、所述式 VI 的化合物、所述式 X 的化合物、和/或所述式 XI 的化合物的含量，并任选地与所述化合物中每一种的指定含量比较。

在一些实施方案中，对于所述式 I 的化合物而言，所述指定含量为：以所述原料药的总重量计，不超过约 0.9%，优选不超过约 0.6%，更优选不超过约 0.45%。

在一些实施方案中，对于所述式 I-1 的化合物而言，所述指定含量为：以所述原料药的总重量计，不超过约 0.3%，优选不超过约 0.25%，更优选不超过约 0.15%；或者，在一些实施方案中，以所述制剂的总重量计，不超过约 0.40%，优选不超过约 0.3%，更优选不超过约 0.20%。

在一些实施方案中，对于所述式 I-2 的化合物而言，所述指定含量为：以所述原料药的总重量计，不超过约 0.3%，优选不超过约 0.25%，更优选不超过约 0.15%。

在一些实施方案中，对于所述式 I-3 的化合物而言，所述指定含量为：以所述原料药的总重量计，不超过约 0.3%，优选不超过约 0.25%，更优选不超过约 0.15%。

在一些实施方案中，对于所述式 VI 的化合物而言，所述指定含量为：以所述原料药的总重量计，不超过约 0.3%，优选不超过约 0.25%，更优选不超过约 0.15%。

在一些实施方案中，对于所述式 X 的化合物而言，所述指定含量为：以所述原料药的总重量计，不超过约 0.3%，优选不超过约 0.25%，更优选不超过约 0.15%。

在一些实施方案中，对于所述式 XI 的化合物而言，所述指定含量为：以所述原料药的总重量计，不超过约 0.2%，优选不超过约 0.15%，更优选不超过约 0.10%；或者，在一些实施方案中，以所述制剂的总重量计，不超过约 0.40%，优选不超过约 0.3%，更优选不超过约 0.20%。

进行所述含量测定的方法是本领域已知的，例如 HPLC 法。

在第十方面，本公开提供所述式 I 的化合物（包括所述式 I-1 的化合物、所述式 I-2 的化合物、所述式 I-3 的化合物及其任意组合）、所述式 VI 的化合物、所述式 X 的化合物、和/或所述式 XI 的化合物作为用于 MB-102 的原料药或制剂的质量控制的标准品或对照品的用途。

在又一方面，本公开提供具有低含量的相关化合物的 3,6-二氨基-2,5-双{N-[(1R)-1-羧酸-2-羟基乙基]氨基甲酰基}吡嗪原料药，其特征在于，所述相关化合物为所述式 I 的化合物，优选所述式 I-1 的化合物、所述式 I-2 的化合物、所述式 I-3 的化合物、所述式 VI 的化合物、所述式 X 的化合物、和/或所述式 XI 的化合物；以及

所述原料药具有如下所述的含量中的一者或多者：

以所述原料药的总重量计，不超过约 0.9%，优选不超过约 0.6%，更优选不超过约 0.45% 的所述式 I 的化合物，

以所述原料药的总重量计，不超过约 0.3%，优选不超过约 0.25%，更优选不超过约 0.15% 的所述式 I-1 的化合物，

以所述原料药的总重量计，不超过约 0.3%，优选不超过约 0.25%，更优选不超过约 0.15%所述式 I-2 的化合物，

以所述原料药的总重量计，不超过约 0.3%，优选不超过约 0.25%，更优选不超过约 0.15%所述式 I-3 的化合物，

以所述原料药的总重量计，不超过约 0.3%，优选不超过约 0.25%，更优选不超过约 0.15%的所述式 VI 的化合物，

以所述原料药的总重量计，不超过约 0.3%，优选不超过约 0.25%，更优选不超过约 0.15%的所述式 X 的化合物，

以所述原料药的总重量计，不超过约 0.2%，优选不超过约 0.15%，更优选不超过约 0.10%的所述式 XI 的化合物。

在又一方面，本公开提供具有低含量的相关化合物的 3,6-二氨基-2,5-双{N-[(1R)-1-羧酸-2-羟基乙基]氨基甲酰基}吡嗪制剂，其特征在于，所述相关化合物选自所述式 I-1 的化合物和所述式 XI 的化合物；以及

所述制剂具有如下所述的含量中的一者或两者：

以所述制剂的总重量计，不超过约 0.40%，优选不超过约 0.3%，更优选不超过约 0.20%的所述式 I-1 的化合物；

以所述制剂的总重量计，不超过约 0.40%，优选不超过约 0.3%，更优选不超过约 0.20%的所述式 XI 的化合物。

在一些实施方案中，上文所述的制剂是注射用溶液或注射用冻干粉，优选注射用溶液。

在第十一方面，本公开提供如上文所述的式 II 的化合物作为如上文所述的式 I 的化合物的合成中间体的用途。

在一些实施方案中，本公开提供如上文所述的式 II-1 的化合物作为如上文所述的式 I-1 的化合物的合成中间体的用途。

在一些实施方案中，本公开提供如上文所述的式 II-2 的化合物作为如上文所述的式 I-2 的化合物的合成中间体的用途。

在一些实施方案中，本公开提供如上文所述的式 II-3 的化合物作为如上文所述的式 I-3 的化合物的合成中间体的用途。

在第十二方面，本公开提供如上文所述的式 VII 的化合物作为如上文所述的式 VI 的化合物的合成中间体的用途。

在第十三方面，如本公开提供如上文所述的式 A 的化合物作为如上文

所述的式 X 和 XI 的化合物的合成中间体的用途。

### 有益效果

本发明人提供了如上文所述的式 I 的化合物，特别是式 I-1 的化合物、式 I-2 的化合物和式 I-3 的化合物，以及式 VI 的化合物、式 X 的化合物、和式 XI 的化合物，及其制备方法，所述方法具有操作简便、纯度高和产率高的优点。本发明人首次提出将这些化合物用作 MB-102 的原料药或制剂的质量控制的标准品或对照品，并提供相应的质量控制方法，这对于 MB-102 的合成、存储过程中的质量控制具有重要的意义。

### 实施例

以下结合实施例进一步描述本发明，但提供这些实施例并非意图限制本发明的范围。

本发明实施例中未注明具体条件的实验方法，通常为常规条件，或按照原料或商品制造厂商所建议的条件；未注明来源的试剂，通常为通过商业途径可购得的常规试剂或者可以由已知的试剂通过常规方法制备得到。

#### 实施例 1-1：式 I-1 的化合物制备

通过包括以下步骤的方法制备式 I-1 的化合物：

(1) 在一只三口夹套瓶中加入 3,6-二氨基吡嗪-2,5-二酸(化合物 III) (10g, 1eq)、D-丝氨酸苄酯盐酸盐(12.86g, 1.1eq)和 L-丝氨酸苄酯盐酸盐(12.86g, 1.1eq)，加入 DMF (化合物 III 的 35 倍体积)并搅拌均匀。

(2) 降温到 0°C 后加入 DIPEA (14.34g, 2.2eq)，30min 后加入 2-脞氰乙酸乙酯 (15.77g, 2.2eq)，20min 后加入 EDC·HCl (21.28g, 2.2eq)，再反应 40min 后升到室温并反应 18h。

(3) 加入纯化水(化合物 III 的 70 倍体积)，固体析出后过滤。

(4) 过层析柱 (欣维尔 C184806C 具砂板层析柱，φ80mm)，于 33°C 下减压浓缩洗脱液，得到纯的式 II-1 的化合物 (4.8g)。

(5) 在反应瓶中加入式 II-1 的化合物(2g, 1eq)，相继加入乙醇 (32ml, 16 倍体积)、甲酸-氢氧化钾水溶液 (HCOOH: 1.0g, 6eq; KOH: 0.4g, 6eq; 纯化水: 8ml, 4 倍体积) 和 Pd/C (0.2g, 0.1 倍体积)，于 60°C 反应 2h。TLC

监测反应完毕后，趁热经硅藻土过滤除去 Pd/C，滤饼用乙醇水溶液（36% H<sub>2</sub>O, v/v）洗涤至滤液为浅黄色，合并滤液。向滤液中加入 1 mol/L 盐酸(7ml)，搅拌 15min 后减压浓缩至干。

（6）将所得固体用 20 ml 乙腈打浆 2h，过滤，然后用水打浆 2h，过滤后将滤饼于 40°C 减压干燥 12h，得到固体形式的式 II-1 的化合物(0.79g)：综合摩尔收率为 10%（以式 III 的化合物计），纯度 98.39%。

经过核磁共振氢谱分析（布鲁克 AVANCE III HD），确定所得产物的化学结构如式 I-1 所示。所得核磁共振氢谱如表 1 所示：

表 1

| 化学位移(ppm) | 多重峰<br>(J 值, Hz) | 质子数 | 归属<br>H |
|-----------|------------------|-----|---------|
| 12.97     | br. s            | 2   | OH(a)   |
| 8.47      | d(8.2)           | 2   | NH(c)   |
| 6.79      | s                | 4   | NH(d)   |
| 5.26      | br. s            | 2   | OH(b)   |
| 4.49      | m                | 2   | 3       |
| 3.90      | dd(11.0,10.8)    | 2   | 2a      |
| 3.77      | dd(10.9,10.8)    | 2   | 2b      |

实施例 1-2

本实施例提供用于制备式 I-1 的化合物的方法，其与实施例 1-1 的方法的区别在于：步骤(1)中，D-丝氨酸苄酯盐酸盐与式 III 的化合物的摩尔比为 0.5:1.0；L-丝氨酸苄酯盐酸盐与式 III 的化合物的摩尔比为 0.5:1.0；DMF 与式 III 的化合物的体积比为 10:1。

实施例 1-3

本实施例提供用于制备式 I-1 的化合物的方法，其与实施例 1-1 的方法的区别在于：步骤(1)中，D-丝氨酸苄酯盐酸盐与式 III 的化合物的摩尔比为 1.0:1.0；L-丝氨酸苄酯盐酸盐与式 III 的化合物的摩尔比为 1.0:1.0；DMF 与式 III 的化合物的体积比为 20:1。

实施例 1-4

本实施例提供用于制备式 I-1 的化合物的方法，其与实施例 1-1 的方法

的区别在于：步骤(1)中，D-丝氨酸苄酯盐酸盐与式 III 的化合物的摩尔比为 4.0:1.0；L-丝氨酸苄酯盐酸盐与式 III 的化合物的摩尔比为 4.0:1.0；DMF 与式 III 的化合物的体积比为 50:1。

#### 实施例 1-5

本实施例提供用于制备式 I-1 的化合物的方法，其与实施例 1-1 的方法的区别在于：步骤(1)中，D-丝氨酸苄酯盐酸盐与式 III 的化合物的摩尔比为 8.0:1.0；L-丝氨酸苄酯盐酸盐与式 III 的化合物的摩尔比为 8.0:1.0；DMF 与式 III 的化合物的体积比为 80:1。

#### 实施例 1-6

本实施例提供用于制备式 I-1 的化合物的方法，其与实施例 1-1 的方法的区别在于：步骤(2)中，DIPEA 与式 III 的化合物的摩尔比为 0.5:1.0；EDC\*HCl 与式 III 的化合物的摩尔比为 0.5:1.0；降温至 -5°C；加入 2-肟氰乙酸乙酯后反应 10min；加入 EDC\*HCl 后再反应 10min；室温下反应时间为 10h。

#### 实施例 1-7

本实施例提供用于制备式 I-1 的化合物的方法，其与实施例 1-1 的方法的区别在于：步骤(2)中，DIPEA 与式 III 的化合物的摩尔比为 1.0:1.0；EDC\*HCl 与式 III 的化合物的摩尔比为 1.0:1.0；降温至 10 °C；加入 2-肟氰乙酸乙酯后反应 60min；加入 EDC\*HCl 后再反应 60min；室温下反应时间为 36h。

#### 实施例 1-8

本实施例提供用于制备式 I-1 的化合物的方法，其与实施例 1-1 的方法的区别在于：步骤(2)中，DIPEA 与式 III 的化合物的摩尔比为 5.0:1.0；EDC\*HCl 与式 III 的化合物的摩尔比为 5.0:1.0；降温至 15 °C；室温下反应时间为 72h。

#### 实施例 1-9

本实施例提供用于制备式 I-1 的化合物的方法，其与实施例 1-1 的方法的区别在于：步骤(2)中，DIPEA 与式 III 的化合物的摩尔比为 9.0:1.0；EDC\*HCl 与式 III 的化合物的摩尔比为 9.0:1.0；降温至 20 °C。

#### 实施例 1-10

本实施例提供用于制备式 I-1 的化合物的方法，其与实施例 1-1 的方法

的区别在于：步骤(3)中，纯化水与式 III 的化合物的体积比为 20:1。

#### **实施例 1-11**

本实施例提供用于制备式 I-1 的化合物的方法，其与实施例 1-1 的方法的区别在于：步骤(3)中，纯化水与式 III 的化合物的体积比为 35:1。

#### **实施例 1-12**

本实施例提供用于制备式 I-1 的化合物的方法，其与实施例 1-1 的方法的区别在于：步骤(3)中，纯化水与式 III 的化合物的体积比为 75:1。

#### **实施例 1-13**

本实施例提供用于制备式 I-1 的化合物的方法，其与实施例 1-1 的方法的区别在于：步骤(3)中，纯化水与式 III 的化合物的体积比为 150:1。

#### **实施例 1-14**

本实施例提供用于制备式 I-1 的化合物的方法，其与实施例 1-1 的方法的区别在于：步骤(5)中，所述醇水溶液中醇选自甲醇，其与水的体积比为 1:1；式 II-1 的化合物与 Pd/C 的质量比为 1:0.01；Pd/C 中钯的质量分数为 5%；反应时间 1h。

#### **实施例 1-15**

本实施例提供用于制备式 I-1 的化合物的方法，其与实施例 1-1 的方法的区别在于：步骤(5)中，所述醇水溶液中醇选自乙醇，其与水的体积比为 3:1；式 II-1 的化合物与 Pd/C 的质量比为 1:0.2；Pd/C 中钯的质量分数为 10%(含水 50%)；反应时间 6h。

#### **实施例 1-16**

本实施例提供用于制备式 I-1 的化合物的方法，其与实施例 1-1 的方法的区别在于：步骤(5)中，所述醇水溶液中醇选自异丙醇，其与水的体积比为 5:1；式 II-1 的化合物与 Pd/C 的质量比为 1:1；Pd/C 中钯的质量分数为 20%；反应时间 12h。

#### **实施例 1-17**

本实施例提供用于制备式 I-1 的化合物的方法，其与实施例 1-1 的方法的区别在于：步骤(5)中，所述醇水溶液中醇选自甲醇，其与水的体积比为 8:1；式 II-1 的化合物与 Pd/C 的质量比为 1:1；Pd/C 中钯的质量分数为 20%；反应时间 48h。

#### **实施例 1-18**

本实施例提供用于制备式 I-1 的化合物的方法，其与实施例 1-1 的方法的区别在于：步骤（6）中将粗品分别乙腈打浆 1h、水打浆 1h 后过滤，滤饼置于 45°C 减压干燥得到式 I-1 的化合物。

### 实施例 1-19

本实施例提供用于制备式 I-1 的化合物的方法，其与实施例 1-1 的区别在于：步骤（6）中将粗品先用乙腈打浆 4h，然后用水打浆 4h，过滤后将滤饼于 45°C 下减压干燥，得到式 II-1 的化合物。

检测实施例 1-2 至 1-19 的产物的综合摩尔收率均为约 10%（以式 III 的化合物计），纯度约 98%。结果表明，在所述条件下反应制备得到的式 I-1 的化合物的纯度高，产率高。

### 实施例 2-A：式 I-2 的化合物的制备

通过包括以下步骤的方法制备式 I-2 的化合物：

（1）在一只三口夹套瓶中加入化合物 III (10g, 1eq)、D-丝氨酸苄酯盐酸盐(12.86g, 1.1eq)和 D-丝氨酸乙酯盐酸盐(9.38g, 1.1eq)，加入 DMF (化合物 III 的 35 倍体积)并搅拌均匀。

（2）降温到 0°C 后加入 DIPEA (14.34g, 2.2eq)，30min 后加入 2-胍氰乙酸乙酯 (15.77g, 2.2eq)，20min 后加入 EDC·HCl (21.28g, 2.2eq)，再反应 40min 后升到室温并反应 18h。

（3）加入纯化水(化合物 III 的 70 倍体积)，固体析出后过滤，得到式 II-2 的化合物的粗品 (10g)。

（4）在高压氢化釜中加入式 II-2 的化合物 (5g)，将其溶于 175ml 乙醇水溶液 (36% $\text{H}_2\text{O}$ , v/v)。再加入 Pd/C (0.5g, 0.1 倍体积)。氮气置换 3 次后，再氢气置换 3 次 (0.2 Mpa)，反应 4~12h。反应结束后经硅藻土过滤除去 Pd/C，将滤液旋干或减压浓缩至干燥。

（5）将所得固体进行制备：色谱柱：自装弹簧柱 (030\*250mm，填料为华谱 C18 颗粒)；流速：30ml/min；柱温：30°C；梯度如下：

Time (min) 0-12-29-29.1-33

A (%) 20-85-30-90-90

B (%) 80-15-70-10-10

流动相 A: 0.1% TFA · 水

流动相 B: 乙腈 (MeCN)

收集 19min 至 22min 的流出液。

(6) 旋蒸除去流出液中的 MeCN 后冻干。

得到 1g 式 I-2 的化合物, 纯度 98.5%, 综合摩尔收率 11% (以式 III 的化合物计)。

经过核磁共振氢谱分析 (布鲁克 AVANCE III HD), 确定所得产物的化学结构如式 I-2 所示。所得核磁共振氢谱如表 2 所示:

表 2

| 化学位移(ppm) | 多重峰<br>(J 值, Hz) | 质子数 | 归属<br>H                    |
|-----------|------------------|-----|----------------------------|
| 12.98     | br. s            | 1   | OH(a)                      |
| 8.51      | d(8.2)           | 1   | NH(e)                      |
| 8.47      | d(8.2)           | 1   | NH(c)                      |
| 5.43      | br. s            | 6   | NH(d), NH(g), OH(f), OH(b) |
| 4.55      | m                | 1   | 10                         |
| 4.49      | m                | 1   | 3                          |
| 4.16      | q(7.1)           | 2   | 13                         |
| 3.90      | 重合               | 1   | 11a                        |
| 3.90      | 重合               | 1   | 2a                         |
| 3.77      | 重合               | 1   | 11b                        |
| 3.77      | 重合               | 1   | 2b                         |
| 1.22      | t(7.1)           | 3   | 14                         |

实施例 2-B: 式 I-2 的化合物的制备

通过包括以下步骤的方法制备式 I-2 的化合物:

(1) 在一只三口夹套瓶中加入化合物 III (10g, 1eq)、D-丝氨酸苄酯盐酸盐(12.86g, 1.1eq)和 D-丝氨酸乙酯盐酸盐(9.38g, 1.1eq), 加入 DMF (化合物 III 的 35 倍体积)并搅拌均匀。

(2) 降温到 0°C 后加入 DIPEA (14.34g, 2.2eq), 30min 后加入 2-脲基乙酸乙酯 (15.77g, 2.2eq), 20min 后加入 EDC·HCl (21.28g,2.2eq), 再反应 40min 后升到室温并反应 18h。

(3) 加入纯化水(化合物 III 的 70 倍体积), 固体析出后过滤, 得到式 II-2 的化合物的粗品 (10g)。

通过层析柱 (欣维尔 C184806C 具砂板层析柱,  $\phi 80\text{mm}$ ) 或高压制备色谱仪 (LAB-ZB-05、国产澳诺中高压设备) 得到纯的式 II-2 的化合物。

(4) 在高压氢化釜中加入式 II-2 的化合物 (5g), 溶于 175ml 乙醇水溶液 (36% $\text{H}_2\text{O}$ , v/v)。再加入 Pd/C (0.5g, 0.1 倍体积)。氮气置换 3 次后, 再氢气置换 3 次 (0.2 Mpa), 反应 4~12h。反应结束后经硅藻土过滤除去 Pd/C, 将滤液旋干或减压浓缩至干燥。

(5) 将所得粗品先用乙腈打浆 1h、然后用水打浆 1h, 过滤后将滤饼于 45°C 下减压干燥, 得到式 I-2 的化合物。

### 实施例 2-1

本实施例提供用于制备式 I-2 的化合物的方法, 其与实施例 2-A、2-B 的区别在于: 步骤(1)中, D-丝氨酸苄酯盐酸盐与化合物 III 的摩尔比为 0.5:1.0; D-丝氨酸乙酯盐酸盐与化合物 III 的摩尔比为 0.5:1.0; DMF 与化合物 III 的体积比为 10:1。

### 实施例 2-2

本实施例提供用于制备式 I-2 的化合物的方法, 其与实施例 2-A、2-B 的区别在于: 步骤(1)中, D-丝氨酸苄酯盐酸盐与化合物 III 的摩尔比为 1.0:1.0; D-丝氨酸乙酯盐酸盐与化合物 III 的摩尔比为 1.0:1.0; DMF 与化合物 III 的体积比为 20:1。

### 实施例 2-3

本实施例提供用于制备式 I-2 的化合物的方法, 其与实施例 2-A、2-B 的区别在于: 步骤(1)中, D-丝氨酸苄酯盐酸盐与化合物 III 的摩尔比为 4.0:1.0; D-丝氨酸乙酯盐酸盐与化合物 III 的摩尔比为 4.0:1.0; DMF 与化合物 III 的体积比为 50:1。

### 实施例 2-4

本实施例提供用于制备式 I-2 的化合物的方法, 其与实施例 2-A、2-B 的区别在于: 步骤(1)中, D-丝氨酸苄酯盐酸盐与化合物 III 的摩尔比为 8.0:1.0; D-丝氨酸乙酯盐酸盐与化合物 III 的摩尔比为 8.0:1.0; DMF 与化合物 III 的体积比为 80:1。

### 实施例 2-5

本实施例提供用于制备式 I-2 的化合物的方法，其与实施例 2-A、2-B 的区别在于：步骤(2)中，DIPEA 与化合物 III 的摩尔比为 0.5:1.0；EDC\*HCl 与化合物 III 的摩尔比为 0.5:1.0；降温至 -5℃；加入 2-脞氰乙酸乙酯后反应 10min；加入 EDC\*HCl 后再反应 10min；室温下反应时间为 10h。

#### 实施例 2-6

本实施例提供用于制备式 I-2 的化合物的方法，其与实施例 2-A、2-B 的区别在于：步骤(2)中，DIPEA 与化合物 III 的摩尔比为 1.0:1.0；EDC\*HCl 与化合物 III 的摩尔比为 1.0:1.0；降温至 10℃；加入 2-脞氰乙酸乙酯后反应 60min；加入 EDC\*HCl 后再反应 60min；室温下反应时间为 36h。

#### 实施例 2-7

本实施例提供用于制备式 I-2 的化合物的方法，其与实施例 2-A、2-B 的区别在于：步骤(2)中，DIPEA 与化合物 III 的摩尔比为 5.0:1.0；EDC\*HCl 与化合物 III 的摩尔比为 5.0:1.0；降温至 15℃；室温下反应时间为 72h。

#### 实施例 2-8

本实施例提供用于制备式 I-2 的化合物的方法，其与实施例 2-A、2-B 的区别在于：步骤(2)中，DIPEA 与化合物 III 的摩尔比为 9.0:1.0；EDC\*HCl 与化合物 III 的摩尔比为 9.0:1.0；降温至 20℃。

#### 实施例 2-9

本实施例提供用于制备式 I-2 的化合物的方法，其与实施例 2-A、2-B 的区别在于：步骤(3)中，纯化水与式 III 的化合物的体积比为 20:1。

#### 实施例 2-10

本实施例提供用于制备式 I-2 的化合物的方法，其与实施例 2-A、2-B 的区别在于：步骤(3)中，纯化水与化合物 III 的体积比为 35:1。

#### 实施例 2-11

本实施例提供用于制备式 I-2 的化合物的方法，其与实施例 2-A、2-B 的区别在于：步骤(3)中，纯化水与化合物 III 的体积比为 75:1。

#### 实施例 2-12

本实施例提供用于制备式 I-2 的化合物的方法，其与实施例 2-A、2-B 的区别在于：步骤(3)中，纯化水与化合物 III 的体积比为 150:1。

#### 实施例 2-13

本实施例提供用于制备式 I-2 的化合物的方法，其与实施例 2-A、2-B

的区别在于：步骤(4)中，所述醇水溶液中的醇选自甲醇，其与水的体积为在 1:1；式 II-2 的化合物与 Pd/C 的质量比为 1:0.01；Pd/C 中钯的质量分数为 5%；氢气的压力 0.05Mpa；反应时间 1h。

#### 实施例 2-14

本实施例提供用于制备式 I-2 的化合物的方法，其与实施例 2-A、2-B 的区别在于：步骤(4)中，所述醇水溶液中的醇选自乙醇，其与水的体积比为 3:1；式 II-2 的化合物与 Pd/C 的质量比为 1:0.2；Pd/C 中钯的质量分数为 10%(含水 50%)，氢气的压力 0.1Mpa；反应时间 6h。

#### 实施例 2-15

本实施例提供用于制备式 I-2 的化合物的方法，其与实施例 2-A、2-B 的区别在于：步骤(4)中，所述醇水溶液中的醇选自异丙醇，其与水的体积比为 5:1；式 II-2 的化合物与 Pd/C 的质量比为 1:1；Pd/C 中钯的质量分数为 20%；氢气的压力 0.4Mpa；反应时间 12h。

#### 实施例 2-16

本实施例提供用于制备式 I-2 的化合物的方法，其与实施例 2-A、2-B 的区别在于：步骤(4)中，所述醇水溶液中的醇选自甲醇，其与水的体积比为 8:1；式 II-2 的化合物与 Pd/C 的质量比为 1:1；Pd/C 中钯的质量分数为 20%；氢气的压力 0.8Mpa；反应时间 48h。

#### 实施例 2-17

本实施例提供用于制备式 I-2 的化合物的方法，其与实施例 2-B 的区别在于：步骤（5）中将粗品先用乙腈打浆 4h、然后用水打浆 4h，过滤后将滤饼于 45°C 减压干燥，得到式 I-2 的化合物。

检测实施例 2-B 和 2-1 至 2-17 的产物的综合摩尔收率为约 11%（以式 III 的化合物计），纯度为约 98%。

结果表明，在所述条件下反应制备得到的式 I-2 的化合物的纯度高，产率高。

#### 实施例 3-1：式 I-3 的化合物的制备

通过包括以下步骤的方法制备式 I-3 的化合物：

（1）在高压氢化釜中加入式 II-3 的化合物(5g)，将其溶于 175ml 乙醇水溶液（36%H<sub>2</sub>O，v/v）。再加入 Pd/C（0.5g，0.1 倍体积）。氮气置换 3

次后，再氢气置换 3 次（0.2Mpa），反应 4~12h。反应结束后经硅藻土过滤除去 Pd/C，将滤液旋干。

（2）将所得固体进行制备：色谱柱：自装弹簧柱（ $\varnothing 30 \times 250 \text{mm}$ ，填料为华谱 C18 颗粒）；流速：30ml/min；柱温：30°C；梯度如下：

Time (min) 0-20-21-25-26-28

A (%) 70-70-10-10-70-70

B (%) 30-30-90-90-30-30

流动相 A：0.1% TFA·水

流动相 B：乙腈

收集 13min 至 19min 的流出液。

（3）旋蒸除去流出液中的 MeCN 后冻干。

得到 1g 式 I-3 的化合物，纯度 98.7%，综合摩尔收率 29%（以式 II-3 的化合物计）。

经过核磁共振氢谱分析（布鲁克 AVANCE III HD），确定所得产物的化学结构如式 I-3 所示。所得核磁共振氢谱如表 3 所示：

表 3

| 化学位移<br>(ppm) | 多重峰<br>(J 值, Hz) | 质子<br>数 | 归属<br>H  |
|---------------|------------------|---------|----------|
| 12.97         | br. s            | 1       | OH(a)    |
| 8.57          | d(8.2)           | 1       | NH(e)    |
| 8.48          | d(8.2)           | 1       | NH(c)    |
| 7.36          | 重合               | 5       | 15,16,17 |
| 6.78          | s                | 4       | NH(d)    |
| 5.38          | br. s            | 1       | OH(f)    |
| 5.27          | br. s            | 1       | OH(b)    |
| 5.20          | s                | 2       | 13       |
| 4.65          | m                | 1       | 10       |
| 4.49          | m                | 1       | 3        |
| 3.96          | m                | 1       | 11a      |
| 3.90          | dd(11.0,10.8)    | 1       | 2a       |
| 3.80          | m                | 1       | 11b      |
| 3.76          | dd(11.0,10.8)    | 1       | 2b       |

**实施例 3-2**

本实施例提供用于制备式 I-3 的化合物的方法，其与实施例 3-1 的区别在于：步骤(1)中，式 II-3 的化合物与 Pd/C 的质量比为 1:0.01，Pd/C 中钯的质量分数为 5%；所述醇水溶液中的醇选自甲醇，其与水的体积比为 1:1；氢气的压力为 0.05Mpa；反应时间 1h。

**实施例 3-3**

本实施例提供用于制备式 I-3 的化合物的方法，其与实施例 3-1 的区别在于：步骤(1)中，式 II-3 的化合物与 Pd/C 的质量比为 1:1，Pd/C 中钯的质量分数为 10%(含水 50%)；所述醇水溶液中的醇选自异丙醇，其与水的体积比为 3:1；氢气的压力为 0.1Mpa；反应时间 6h。

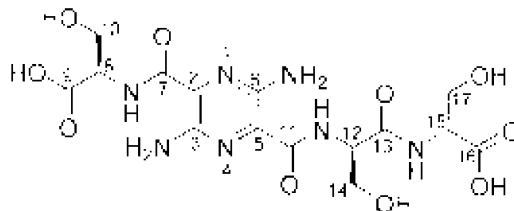
**实施例 3-4**

本实施例提供用于制备式 I-3 的化合物的方法，其与实施例 3-1 的区别在于：步骤(1)中，式 II-3 的化合物与 Pd/C 的质量比为 1:0.1，Pd/C 中钯的质量分数为 20%；所述醇水溶液中的醇选自甲醇，其与水的体积比为 5:1；氢气的压力为 0.4Mpa；反应时间 12h。

**实施例 3-5**

本实施例提供用于制备式 I-3 的化合物的方法，其与实施例 3-1 的区别在于：步骤(1)中，式 II-3 的化合物与 Pd/C 的质量比为 1:1，Pd/C 中钯的质量分数为 10%(含水 50%)；所述醇水溶液中醇的选自甲醇；其与水的体积比为 8:1；氢气的压力为 0.8Mpa；反应时间 48h。

检测实施例 3-2 至 3-5 的产物的综合摩尔收率为约 29%(以式 II-3 的化合物计)，纯度为约 98%。结果表明，在所述条件下反应制备得到的式 I-3 的化合物的纯度高，产率高。

**实施例 4：式 VI 的化合物的制备**

VI

在一只三口夹套瓶中加入精制的式 II-3 的化合物(40.0g, 1.0eq)和乙酸乙酯/乙醇(952mL/952mL, 23.8vol/23.8vol), 搅拌溶解后加入 10% Pd/C (4.0g, 10wt%)。密闭反应器, 对反应器内部进行氮气置换。置换完毕再进行氢气置换三次, 并保持反应器内反应液温度为  $25\pm 5^{\circ}\text{C}$  以及氢气压为 0.1~0.3MPa, 恒温反应 2 小时。过滤, 用乙醇淋洗滤饼。合并所得滤液并浓缩至无明显馏分, 然后加入硅胶(40g)制成硅胶干粉。将固体干粉粗品进行柱层析分离, 得到固体形式的式 I-3 的化合物 (4.6g) (依此使用 EA、EA/MeOH (1% TFA) (50/1)、EA/MeOH(1%TFA) (30/1)作为洗脱剂进行洗脱)。

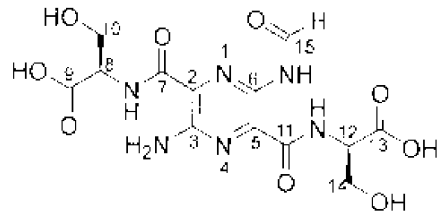
氮气保护下, 向三口瓶中加入 DMF (147.2mL, 32.0 vol), 在搅拌下加入 D-丝氨酸苄酯盐酸盐(2.3g, 1.0eq), 搅拌 15 分钟以上, 同时控制内温在  $0\sim 10^{\circ}\text{C}$ 。滴加 N,N-二异丙基乙胺(1.29g, 1.0eq), 滴加过程控制内温低于  $10^{\circ}\text{C}$ 。滴加完毕后, 保持温度在  $0\sim 10^{\circ}\text{C}$  下搅拌 5~15 分钟。随后, 使内温升至  $20\sim 30^{\circ}\text{C}$ , 依次加入式 I-3 的化合物(4.6g, 1.0eq)、1-羟基苯并三氮唑一水物 (1.52g, 1.0eq)、1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐(1.91g, 1.0eq)。加毕, 在  $20\sim 30^{\circ}\text{C}$  下搅拌反应 4 小时。过滤, 在  $10\sim 20^{\circ}\text{C}$  下向滤液滴加纯化水(294.4g, 64.0vol)以析晶。过滤, 将滤饼用水淋洗, 然后将滤饼加入到乙酸乙酯(46mL, 10.0vol)中打浆。过滤, 滤饼于  $50^{\circ}\text{C}$  真空干燥 22 小时, 得(3,6-二氨基-5-(((S)-1-(((S)-1-(苄氧基)-3-羟基-1-氧代丙-2-基)氨基)-3-羟基-1-氧代丙-2-基)氨基甲酰基)吡嗪-2-羰基)-L-丝氨酸苄酯的粗品 2.6g。

向氢化反应器中加入(3,6-二氨基-5-(((S)-1-(((S)-1-(苄氧基)-3-羟基-1-氧代丙-2-基)氨基)-3-羟基-1-氧代丙-2-基)氨基甲酰基)吡嗪-2-羰基)-L-丝氨酸苄酯的粗品(4.5g, 1.0eq)、10% Pd/C (0.9g, 20wt%)及 DMF (45mL, 10.0 vol)。密闭反应器, 对反应器内部进行氮气置换。置换完毕再进行氢气置换三次, 保持反应器内反应液温度为  $25\pm 5^{\circ}\text{C}$  以及氢气压为 0.1~0.3MPa, 反应 2 小时。过滤反应混合物, 用 DMF 淋洗滤饼。向滤液滴加乙酸乙酯(135mL, 30.0vol)以析晶。将过滤后的滤饼加入乙酸乙酯(22.5mL, 5.0vol)中打浆, 然后过滤, 将滤饼于  $35^{\circ}\text{C}$  真空干燥 24 小时, 得到固体形式的式 VI 的化合物 (2.1g)。综合摩尔收率为 3.7% (以式 II-3 的化合物计), 纯度为 92.7%。

表 4. 式 VI 的化合物的核磁共振氢谱

| 化学位移<br>(ppm) | 多重峰<br>(J 值, Hz) | 质子数 | 归属<br>H                                  |
|---------------|------------------|-----|------------------------------------------|
| 8.447         | 重合               | 1   | NH(7)                                    |
|               |                  | 1   | NH(11)                                   |
| 8.287         | d(8.0)           | 1   | NH(13)                                   |
| 6.748         | 重合               | 4   | NH <sub>2</sub> (3), NH <sub>2</sub> (6) |
| 4.605         | dt(8.0, 5.0)     | 1   | H(12)                                    |
| 4.470         | dt(8.0, 4.0)     | 1   | H(8)                                     |
| 4.325         | dt(8.0, 4.5)     | 1   | H(15)                                    |
| 3.879         | dd(11.0, 4.0)    | 1   | H(10a)                                   |
| 3.757-3.668   | 重合               | 1   | H(10b)                                   |
|               |                  | 2   | H(14)                                    |
|               |                  | 1   | H(17a)                                   |
| 3.654         | dd(11.0, 4.0)    | 1   | H(17b)                                   |

实施例 5: (2R,2'R)-2,2'-((3-氨基-6-甲酰胺基吡嗪-2,5-二羰基)二(氮杂二基))二(3-羟基丙酸)的制备

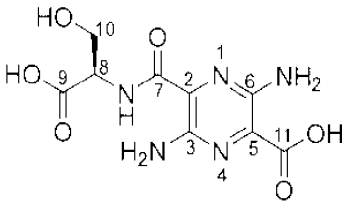


在一只三口夹套瓶中加入 MB-102 (15g, 1.0eq)和 DMF (150mL, 10.0vol), 搅拌溶清后升温至 70°C, 加入甲酸(37.5mL, 2.5vol), 恒温 70°C 反应 1 小时。浓缩去除大部分 DMF, 滴加乙酸乙酯(300mL, 20.0vol)以析晶, 过滤得式 X 的化合物的粗品。将该粗品加入 DMF (15mL, 1.0vol)中, 室温溶解, 然后缓慢滴加乙酸乙酯(30mL, 2.0vol)以析晶, 打浆, 然后过滤, 在 30°C 真空烘干。重复重结晶操作过程。重结晶后过滤, 然后将滤饼加入乙酸乙酯(30mL, 2.0vol)中打浆, 再次过滤, 在 35°C 真空干燥 16 小时, 得固体形式的 (2R,2'R)-2,2'-((3-氨基-6-甲酰胺基吡嗪-2,5-二羰基)二(氮杂二基))二(3-羟基丙酸) (3.0g)。综合摩尔收率为 18.6% (以 MB-102 计), 纯度为 83.4%。

表 5. (2R,2'R)-2,2'-((3-氨基-6-甲酰胺基吡嗪-2,5-二羰基)二(氮杂二基))二(3-羟基丙酸)的核磁共振氢谱

| 化学位移<br>(ppm) | 多重峰<br>(J 值, Hz) | 质子数 | 归属<br>H             |
|---------------|------------------|-----|---------------------|
| 10.903        | br. s            | 1   | NH(6)               |
| 9.387         | s                | 1   | H(15)               |
| 8.772         | m                | 1   | NH(11)              |
| 8.725         | m                | 1   | NH(7)               |
| 7.511         | br. s            | 2   | NH <sub>2</sub> (3) |
| 4.234         | m                | 1   | H(8)                |
| 1.186         | m                | 1   | H(12)               |
| 3.799-3.672   | 重合               | 4   | H(10); H(14)        |

实施例 6：式 XI 的化合物的制备



XI

在一只三口夹套瓶中加入纯化水(300mL, 10.0vol)、氢氧化钾(11.3g, 2.5eq)和 MB-102 (30g, 1.0eq), 将反应液升温至 80°C, 恒温搅拌反应 16 小时, 然后降温至 25°C。向反应液添加硅胶(60g), 浓缩制成硅胶干粉, 然后通过硅胶柱层析分离纯化, 得到式 XI 的化合物的粗品溶液。将该溶液浓缩以析出固体, 将其加入甲醇(150mL, 5.0vol)中在 50°C 打浆, 然后降温并过滤。将湿产物在 35°C 真空干燥, 得到固体形式的式 XI 的化合物 (1.3g)。综合摩尔收率为 11.3% (以 MB-102 计), 纯度为 99.3%。

表 6. 式 XI 的化合物核磁共振氢谱

| 化学位移<br>(ppm) | 多重峰<br>(J 值, Hz) | 质子数 | 归属<br>H |
|---------------|------------------|-----|---------|
| 12.969        | br. s            | 1   | OH(9)   |
| 8.475         | d(8.0)           | 1   | NH(7)   |

|       |               |   |                     |
|-------|---------------|---|---------------------|
| 6.682 | br. s         | 2 | NH <sub>2</sub> (3) |
| 5.249 | br. s         | 1 | OH(10)              |
| 4.478 | dt(8.5, 3.5)  | 1 | H(8)                |
| 3.880 | dd(11.0, 3.5) | 1 | H(10a)              |
| 3.741 | dt(11.0, 3.5) | 1 | H(10b)              |

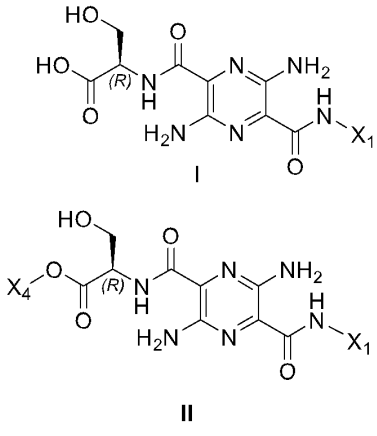
除本文中描述的实施方案外，根据前述描述，本发明的多种修改对本领域技术人员而言会是显而易见的。这样的修改也意图落入所附权利要求书的范围内。

本申请中所引用的各参考文献(包括所有专利、专利申请、期刊文章、书籍及任何其它公开)均以其整体通过援引加入本文。

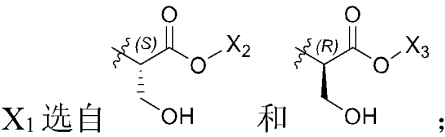
# 权 利 要 求 书

1. 用于制备式 I 的化合物或其盐的方法，其特征在于，所述方法包括以下步骤：

a) 使式 II 的化合物与氢气或借氢试剂在溶剂中，在适合的金属催化剂的存在下进行氢化反应，以提供所述式 I 的化合物，

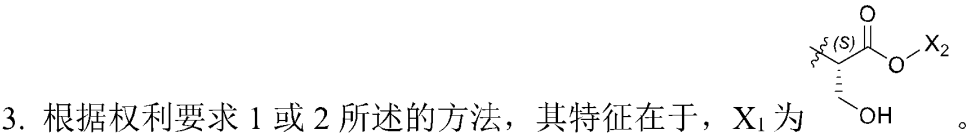


其中：



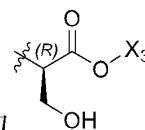
X<sub>1</sub> 选自  $\text{H}$ 、取代或未取代的 C<sub>1-10</sub> 烷基、和-(取代或未取代的 C<sub>1-10</sub> 烷基)-R<sup>1</sup>；  
X<sub>2</sub> 选自 H、取代或未取代的 C<sub>1-10</sub> 烷基、和-(取代或未取代的 C<sub>1-10</sub> 烷基)-R<sup>1</sup>；  
X<sub>3</sub> 和 X<sub>4</sub> 各自独立地选自取代或未取代的 C<sub>1-10</sub> 烷基、和-(取代或未取代的 C<sub>1-10</sub> 烷基)-R<sup>1</sup>；以及  
R<sup>1</sup> 选自：C<sub>3-10</sub> 环烷基、4-10 元杂环基、C<sub>6-10</sub> 芳基和 5-10 元杂芳基。

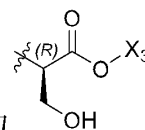
2. 根据权利要求 1 所述的方法，其中其特征在于，R<sup>1</sup> 选自：C<sub>3-7</sub> 环烷基，优选 C<sub>5-6</sub> 环烷基；4-7 元杂环基，优选 5-6 元杂环基；苯基和 5-6 元杂芳基；优选为苯基。



3. 根据权利要求 1 或 2 所述的方法，其特征在于，X<sub>1</sub> 为  $\text{H}$ 。

4. 根据权利要求 1 至 3 中任一项所述的方法，其特征在于， $X_2$  选自：  
 H、取代或未取代的  $C_{1-8}$  烷基、和-(取代或未取代的  $C_{1-8}$  烷基)- $R^1$ ；  
 优选 H、取代或未取代的  $C_{1-6}$  烷基、和-(取代或未取代的  $C_{1-6}$  烷基)- $R^1$ ；  
 更优选 H、取代或未取代的  $C_{1-4}$  烷基、和-(取代或未取代的  $C_{1-4}$  烷基)- $R^1$ ；  
 更优选 H、未取代的  $C_{1-2}$  烷基、和-(未取代的  $C_{1-2}$  烷基)- $R^1$ ；  
 更优选 H、乙基和- $CH_2-R^1$ ；  
 更优选 H、乙基和- $CH_2$ -苯基。



5. 根据权利要求 1 或 2 所述的方法，其特征在于， $X_1$  为 。
6. 根据权利要求 1、2 或 5 所述的方法，其特征在于， $X_3$  选自：  
 取代或未取代的  $C_{1-8}$  烷基、和-(取代或未取代的  $C_{1-8}$  烷基)- $R^1$ ；  
 优选取代或未取代的  $C_{1-6}$  烷基、和-(取代或未取代的  $C_{1-6}$  烷基)- $R^1$ ；  
 更优选取代或未取代的  $C_{1-4}$  烷基、和-(取代或未取代的  $C_{1-4}$  烷基)- $R^1$ ；  
 更优选未取代的  $C_{1-2}$  烷基、和-(未取代的  $C_{1-2}$  烷基)- $R^1$ ；  
 更优选乙基和- $CH_2-R^1$ ；  
 更优选乙基和- $CH_2$ -苯基。
7. 根据权利要求 1 至 6 中任一项所述的方法，其特征在于， $X_4$  选自：  
 取代或未取代的  $C_{1-8}$  烷基、和-(取代或未取代的  $C_{1-8}$  烷基)- $R^1$ ；  
 优选取代或未取代的  $C_{1-6}$  烷基、和-(取代或未取代的  $C_{1-6}$  烷基)- $R^1$ ；  
 更优选取代或未取代的  $C_{1-4}$  烷基、和-(取代或未取代的  $C_{1-4}$  烷基)- $R^1$ ；  
 更优选未取代的  $C_{1-2}$  烷基、和-(未取代的  $C_{1-2}$  烷基)- $R^1$ ；  
 更优选乙基和- $CH_2-R^1$ ；  
 更优选乙基和- $CH_2$ -苯基；  
 更优选- $CH_2$ -苯基。

8. 根据权利要求 1 至 7 中任一项所述的方法，其特征在于，

(1) 在所述步骤 a) 中，使所述式 II 的化合物与所述借氢试剂进行所述氢化反应，

其中优选地，所述式 II 的化合物与所述借氢试剂的摩尔比为约

1:2 至 1:20, 优选约 1:2 至 1:10, 例如约 1:2.5、约 1:4、约 1:5、约 1:6 或约 1:8;

和/或

其中优选地, 所述借氢试剂选自甲酸和碱金属甲酸盐的组合、环己二烯和异丙醇, 更优选为甲酸和碱金属甲酸盐的组合, 其中优选地, 所述甲酸与所述碱金属甲酸盐的摩尔比为约 1:6 至 6:1, 更优选约 1:1 至 5:1;

和/或

其中优选地, 所述碱金属甲酸盐为甲酸钠或甲酸钾, 优选甲酸钾;

和/或

其中优选地, 所述式 II 的化合物与所述借氢试剂的反应在约 20°C 至 100°C, 更优选约 20°C 至 80°C, 更优选室温或约 50°C 至 70°C、更优选约 60°C 的温度下进行;

或者

在所述步骤 a) 中, 使所述式 II 的化合物与所述氢气进行所述氢化反应,

其中优选地, 所述氢气的压力为约 0.05Mpa 至约 0.8Mpa, 更优选约 0.1Mpa 至约 0.4Mpa;

和/或

其中优选地, 所述式 II 的化合物与所述氢气的反应在约 15 至 25°C 的温度下进行;

和/或

(2) 所述溶剂与所述式 II 的化合物的体积比为约 10:1 至 80:1, 优选约 20:1 至 50:1;

和/或

(3) 所述溶剂为醇水溶液,

其中优选地, 所述醇水溶液中醇与水的体积比为约 1:1 至约 8:1 (例如约 4:1 或约 6:1); 和/或

其中优选地, 所述醇水溶液中的醇选自甲醇、乙醇、异丙醇及其任意混合物, 更优选乙醇;

或者

所述溶剂为醇和酯的混合溶剂，

其中优选地，所述醇和酯的混合溶剂中所述酯与所述醇的体积比为约 1:1 至约 1:5，更优选约 1:1 至约 1:2；和/或

其中优选地，所述醇和酯的混合溶剂中的醇为甲醇、乙醇、异丙醇或其任意混合物，和/或所述酯为乙酸乙酯(EA)、乙酸异丙酯或其混合物；

和/或

(4) 所述式 II 的化合物与所述借氢试剂的氢化反应在所述醇水溶液中进行；

或者

所述式 II 的化合物与所述氢气的氢化反应在所述醇水溶液、或所述醇和酯的混合溶剂中进行；

和/或

(5) 所述式 II 的化合物与所述金属催化剂的质量比为约 1:0.01 至 1:1，优选约 1:0.2；

和/或

(6) 所述金属催化剂为炭载钯(Pd/C)，其中优选地，所述 Pd/C 中钯的质量分数为约 5-20%，更优选约 10% (例如所述 Pd/C 催化剂含有约 50 w/w% 的水)；

和/或

(7) 所述氢化反应进行约 1 至 72h，例如约 1 至 48h，约 1 至 12h，约 1 至 10h，约 2 至 5h，或约 6 至 12h 的时间。

9. 根据权利要求 1 至 8 中任一项所述的方法，其特征在于，所述方法包括以下步骤：

a) 使所述式 II 的化合物与所述氢气或与所述借氢试剂在乙醇水溶液、或乙醇和乙酸乙酯的混合溶剂中，在 Pd/C 的催化下进行氢化反应约 1 至 72h，例如约 1 至 48h，约 1 至 12h，约 1 至 10h，约 2 至 5h，或约 6 至 12h，以提供所述式 I 的化合物，

其中：

(1) 所述氢气的压力为约 0.05Mpa 至约 0.8Mpa，优选约 0.1Mpa 至约

0.4Mpa, 以及

所述式 II 的化合物与所述氢气的反应在约 20 至 25°C 的温度下进行;  
或者

所述式 II 的化合物与所述借氢试剂的摩尔比为约 1:2 至 1:10, 例如约 1:2.5、约 1:4、约 1:5、约 1:6 或约 1:8,

所述式 II 的化合物与所述借氢试剂的反应在约 20°C 至 100°C, 优选约 20°C 至 80°C, 更优选室温或约 50°C 至 70°C、更优选约 60°C 的温度下进行, 以及

所述借氢试剂为甲酸和甲酸钾的组合, 其中所述甲酸与所述甲酸钾的摩尔比为约 1:1 至 5:1;

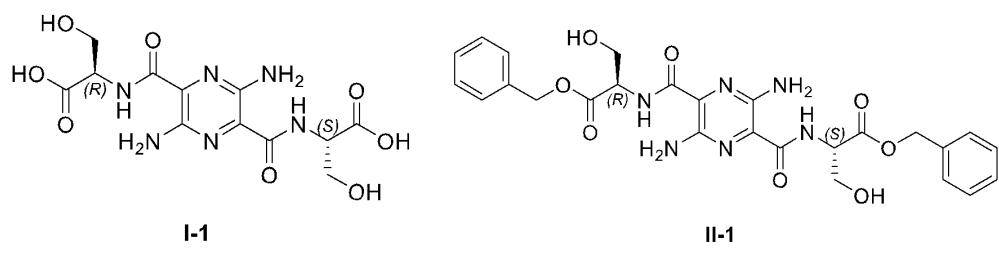
(2) 所述式 II 的化合物与所述 Pd/C 的质量比为约 1:0.01 至 1:1, 优选约 1:0.2;

(3) 所述乙醇水溶液、或所述乙醇和乙酸乙酯的混合溶剂与所述式 II 的化合物的体积比为约 10:1 至 80:1, 优选约 20:1 至 50:1; 以及

(4) 所述乙醇水溶液中乙醇与水的体积比为约 1:1 至约 8:1 (例如约 4:1 或约 6:1); 以及

所述乙醇和乙酸乙酯的混合溶剂中乙酸乙酯和乙醇的体积比为约 1:1 至约 1:5, 优选约 1:1 至约 1:2。

10. 根据权利要求 1 至 4 和 7 至 9 中任一项所述的方法, 其特征在于, 所述式 I 的化合物为式 I-1 的化合物, 并且所述式 II 的化合物为式 II-1 的化合物:



其中优选地, 所述方法包括以下步骤:

a) 使所述式 II-1 的化合物与所述借氢试剂在所述乙醇水溶液中, 在所述 Pd/C 的催化下进行氢化反应约 1 至 12h, 以提供所述式 I-1 的化合物,

其中优选地, 所述式 II-1 的化合物与所述借氢试剂的摩尔比为

约 1:2 至 1:10, 例如约 1:2.5、约 1:4、约 1:5、约 1:6 或约 1:8,

和/或

所述式 II-1 的化合物与所述借氢试剂的反应在约 20°C 至 100°C, 优选约 20°C 至 80°C, 更优选室温或约 50°C 至 70°C、更优选约 60°C 的温度下进行,

和/或

所述借氢试剂为甲酸和甲酸钾的组合, 其中所述甲酸与所述甲酸钾的摩尔比为约 1:1 至 5:1;

或者

a) 使所述式 II-1 的化合物与所述氢气在所述乙醇水溶液、或所述乙醇和乙酸乙酯的混合溶剂中, 在所述 Pd/C 的催化下进行氢化反应约 6 至 12h, 以提供所述式 I-1 的化合物,

其中优选地, 所述氢气的压力为约 0.05Mpa 至约 0.8Mpa, 优选约 0.1Mpa 至约 0.4Mpa;

和/或

其中优选地, 所述式 II-1 的化合物与所述氢气的反应在约 20 至 25°C 的温度下进行;

和/或

其中优选地, 所述式 II-1 的化合物与所述 Pd/C 的质量比为约 1:0.01 至 1:1, 优选约 1:0.2;

和/或

其中优选地, 所述乙醇水溶液、或所述乙醇和乙酸乙酯的混合溶剂与所述式 II-1 的化合物的体积比为约 10:1 至 80:1, 优选约 20:1 至 50:1;

和/或

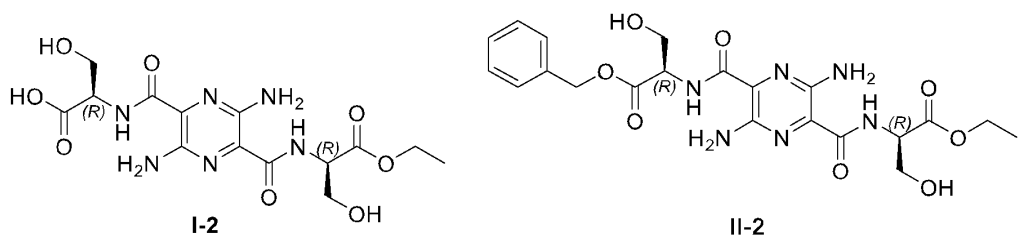
其中优选地, 所述乙醇水溶液中乙醇与水的体积比为约 1:1 至约 8:1 (例如约 4:1 或约 6:1);

和/或

其中优选地, 所述乙醇和乙酸乙酯的混合溶剂中乙酸乙酯和乙醇的体积比为约 1:1 至约 1:5, 优选约 1:1 至约 1:2。

11. 根据权利要求 1 至 2 和 5 至 9 中任一项所述的方法, 其特征在于,

所述式 I 的化合物为式 I-2 的化合物，并且所述式 II 的化合物为式 II-2 的化合物：



其中优选地，所述方法包括以下步骤：

a) 使所述式 II-2 的化合物与所述氢气在所述乙醇水溶液、或所述乙醇和乙酸乙酯的混合溶剂中，在所述 Pd/C 的催化下进行氢化反应约 6 至 12h，以提供所述式 I-2 的化合物；

其中优选地，所述氢气的压力为约 0.05Mpa 至约 0.8Mpa，优选约 0.1Mpa 至约 0.4Mpa；

和/或

其中优选地，所述式 II-2 的化合物与所述氢气的反应在约 20 至 25°C 的温度下进行；

和/或

其中优选地，所述式 II-2 的化合物与所述 Pd/C 的质量比为约 1:0.01 至 1:1，优选约 1:0.2；

和/或

其中优选地，所述乙醇水溶液、或所述乙醇和乙酸乙酯的混合溶剂与所述式 II-2 的化合物的体积比为约 10:1 至 80:1，优选约 20:1 至 50:1；

和/或

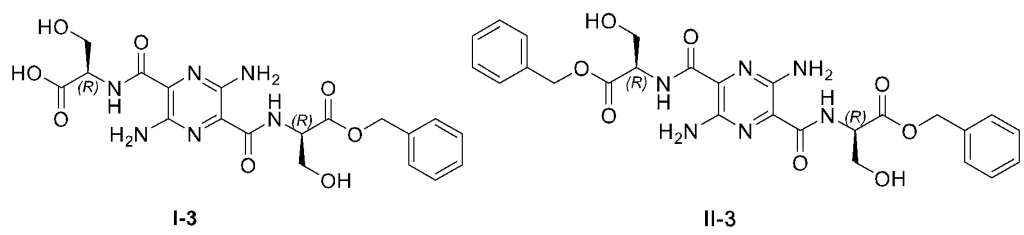
其中优选地，所述乙醇水溶液中乙醇与水的体积比为约 1:1 至约 8:1（例如约 4:1 或约 6:1）；

和/或

其中优选地，所述乙醇和乙酸乙酯的混合溶剂中乙酸乙酯和乙醇的体积比为约 1:1 至约 1:5，优选约 1:1 至约 1:2。

12. 根据权利要求 1 至 2 和 5 至 9 中任一项所述的方法，其特征在于，

所述式 I 的化合物为式 I-3 的化合物，并且所述式 II 的化合物为式 II-3 的化合物：



其中优选地，所述方法包括以下步骤：

a) 使所述式 II-3 的化合物与所述氢气在所述乙醇水溶液、或所述乙醇和乙酸乙酯的混合溶剂中，在所述 Pd/C 的催化下进行氢化反应约 1 至 12h，例如约 1 至 10h，约 2 至 5h，或约 6 至 12h，以提供所述式 I-3 的化合物；

其中优选地，所述氢气的压力为约 0.05Mpa 至约 0.8Mpa，优选约 0.1Mpa 至约 0.4Mpa；

和/或

其中优选地，所述式 II-3 的化合物与所述氢气的反应在约 20 至 25°C 的温度下进行；

和/或

其中优选地，所述式 II-3 的化合物与所述 Pd/C 的质量比为约 1:0.01 至 1:1，优选约 1:0.2；

和/或

其中优选地，所述乙醇水溶液、或所述乙醇和乙酸乙酯的混合溶剂与所述式 II-3 的化合物的体积比为约 10:1 至 80:1，优选约 20:1 至 50:1；

和/或

所述乙醇水溶液中乙醇与水的体积比为约 1:1 至约 8:1（例如约 4:1 或约 6:1）；

和/或

其中优选地，所述乙醇和乙酸乙酯的混合溶剂中乙酸乙酯和乙醇的体积比为约 1:1 至约 1:5，优选约 1:1 至约 1:2。

13. 如权利要求 1 至 12 中任一项所述的方法，其特征在于，所述方法还包括以下步骤：

b) 从所述步骤 a) 的反应混合物中除去所述金属催化剂，然后干燥所述反应混合物，得到所述式 I 的化合物；和

c) 任选地，进一步纯化得自所述步骤 b) 的所述式 I 的化合物，优选通过以下方式：

将得自所述步骤 b) 的所述式 I 的化合物用乙腈打浆（例如约 1 至 4h），进一步用水打浆（约 1 至 4h），然后过滤，并干燥滤饼；或者

使得自所述步骤 b) 的所述式 I 的化合物通过层析柱或高压制备色谱仪。

14. 如权利要求 1 至 13 中任一项所述的方法，其特征在于，

当所述式 I 的化合物为所述式 I-1 的化合物，并且所述式 II 的化合物为所述式 II-1 的化合物时，所述方法包括进行步骤 c)，优选通过以下方式进一步纯化得自步骤 b) 的所述式 I-1 的化合物：将得自步骤 b) 的所述式 I-1 的化合物用乙腈打浆（例如约 1 至 4h），进一步用水打浆（约 1 至 4h），然后过滤，并干燥滤饼；

或者

当所述式 I 的化合物为所述式 I-2 的化合物，并且所述式 II 的化合物为所述式 II-2 的化合物时，所述方法包括进行步骤 c)，优选通过以下方式进一步纯化得自步骤 b) 的所述式 I-2 的化合物：将得自步骤 b) 的所述式 I-2 的化合物用乙腈打浆（例如约 1 至 4h），进一步用水打浆（约 1 至 4h），然后过滤，并干燥滤饼；或者使得自步骤 b) 的所述式 I-2 的化合物通过层析柱或高压制备色谱仪；

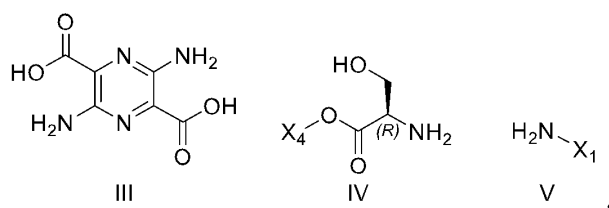
或者

当所述式 I 的化合物为所述式 I-3 的化合物，并且所述式 II 的化合物为所述式 II-3 的化合物时，所述方法包括进行步骤 c)，优选通过以下方式进一步纯化得自步骤 b) 的所述式 I-3 的化合物：使得自步骤 b) 的所述式 I-3 的化合物通过层析柱或高压制备色谱仪。

15. 如权利要求 1 至 14 中任一项所述的方法，其特征在于，所述方法还包括以下步骤：

a') 使式 III 的化合物 3,6-二氨基吡嗪-2,5-二酸与式 IV 的化合物或其盐（优选盐酸盐）和式 V 的化合物或其盐（优选盐酸盐）在适合的有机溶剂

中，在适合的有机碱、适合的偶联剂和适合的缩合剂的存在下进行酰胺缩合反应，以提供所述式 II 的化合物，

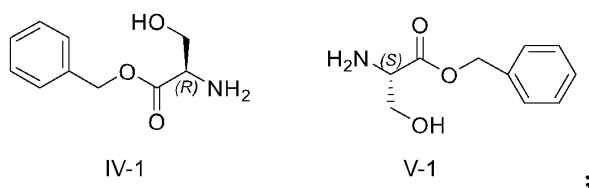


其中  $X_1$  和  $X_4$  如权利要求 1 至 14 中任一项所定义。

16. 根据权利要求 15 所述的方法，其特征在于，

所述式 II 的化合物为所述式 II-1 的化合物，并且所述方法包括：

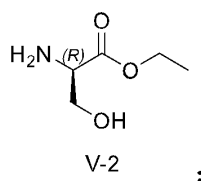
由所述式 III 的化合物与具有式 IV-1 的所述式 IV 的化合物的盐酸盐和具有式 V-1 的所述式 V 的化合物的盐酸盐反应，以提供所述式 II-1 的化合物：



或者

所述式 II 的化合物为所述式 II-2 的化合物，并且所述方法包括：

由所述式 III 的化合物与具有所述式 IV-1 的所述式 IV 的化合物的盐酸盐和具有式 V-2 的所述式 V 的化合物的盐酸盐反应，以提供所述式 II-2 的化合物：



或者

所述式 II 的化合物为所述式 II-3 的化合物，并且所述方法包括：

由所述式 III 的化合物与具有所述式 IV-1 的化合物的盐酸盐反应，以提供所述式 II-3 的化合物。

17. 根据权利要求 15 或 16 所述的方法，其特征在于，

所述式 IV 的化合物与所述式 III 的化合物的摩尔比为约 0.5:1 至 8:1, 优选约 1:1 至 4:1; 和/或

所述式 V 的化合物与所述式 III 的化合物的摩尔比为约(0.5~8.0):1.0, 优选约 1:1 至 4:1;

所述有机溶剂与所述式 III 的化合物的体积比为约 10:1 至 80:1, 优选约 20:1 至 50:1; 和/或

所述有机碱与所述式 III 的化合物的摩尔比为约 0.5:1 至 9:1, 优选约 1:1 至 5:1; 和/或

所述偶联剂与所述式 III 的化合物的摩尔比为约 0.5:1 至 9:1, 优选约 1:1 至 5:1; 和/或

所述缩合剂与所述式 III 的化合物的摩尔比为约 0.5:1 至 9:1, 优选约 1:1 至 5:1; 和/或

所述酰胺缩合反应先在适合的温度, 优选约-5 至 20°C, 更优选约-5 至 10°C, 更优选约 0-10°C 下持续适当的时间, 例如约 10-60 min, 然后在室温下持续适当的时间, 优选约 10-72h, 更优选约 18-36h; 和/或

所述有机溶剂是 N,N-二甲基甲酰胺(DMF)、二氯甲烷(DCM)、二甲基亚砜(DMSO)、四氢呋喃和/或 1,4-二氧六环; 和/或

所述有机碱是二异丙基乙胺(DIPEA)、三乙胺、吡啶和/或 4-二甲氨基吡啶(DMAP); 和/或

所述偶联剂为 2-脞氧乙酸乙酯(Oxyma)、1-羟基苯并三唑(HOBt)、HATU、HBTU、HCTU、TBTU、TSTU、TNTU、O-(7-氮杂苯并三氮唑-1-基)-二(四氢吡咯基)碳鎗六氟磷酸盐(HAPyU)和/或 O-(苯并三氮唑-1-基)-二(四氢吡咯基)碳鎗六氟磷酸盐(HBPyU); 和/或

所述缩合剂选自: 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳化二亚胺盐酸盐(EDC\*HCl)、HOBt、HATU、HBTU、HCTU、TBTU、TSTU、TNTU、O-(7-氮杂苯并三氮唑-1-基)-二(四氢吡咯基)碳鎗六氟磷酸盐(HAPyU)、O-(苯并三氮唑-1-基)-二(四氢吡咯基)碳鎗六氟磷酸盐(HBPyU)及其任意组合。

18. 根据权利要求 15 至 17 中任一项所述的方法, 其特征在于, 所述方法包括以下步骤:

a') 使所述式 III 的化合物与所述式 IV 的化合物和所述式 V 的化合物在

DMF 中在约-5 至 20°C, 优选约-5 至 10°C, 更优选约 0-10°C 下, 在 DIPEA、2-肟乙酸乙酯和 EDC\*HCl 的存在下反应约 10-60min, 然后在室温下反应约 10-72h, 更优选约 18-36h。

19. 根据权利要求 15 至 18 中任一项所述的方法, 其特征在于, 所述方法还包括以下步骤:

b') 任选地, 向所述步骤 a') 中的反应混合物中加入水, 以析出所述式 II 的化合物, 其中优选地, 所添加的水与所述式 III 的化合物的体积比为约 20:1 至 150:1, 更优选约 35:1 至 75:1; 以及

c') 任选地, 进一步纯化得自所述步骤 b') 的所述式 II 的化合物, 优选通过使得自步骤 b') 的所述式 II 的化合物通过层析柱或高压制备色谱仪。

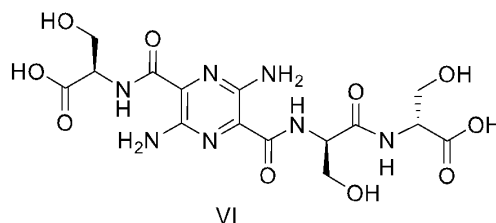
20. 根据权利要求 15 至 19 中任一项所述的方法, 其特征在于,

当所述式 II 的化合物为所述式 II-1 的化合物时, 所述方法包括进行所述步骤 c'), 其中通过使得自所述步骤 b') 的所述式 II-1 的化合物通过层析柱进一步纯化所述式 II-1 的化合物; 或者

当所述式 II 的化合物为所述式 II-2 的化合物时, 所述方法包括进行所述步骤 c'), 其中通过使得自所述步骤 b') 的所述式 II-2 的化合物通过层析柱或高压制备色谱仪进一步纯化所述式 II-2 的化合物; 或者

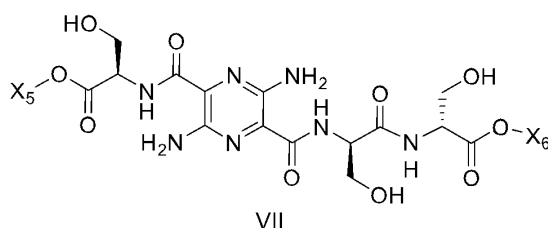
当所述式 II 的化合物为所述式 II-3 的化合物时, 所述方法包括进行所述步骤 c'), 其中通过使得自所述步骤 b') 的所述式 II-3 的化合物通过层析柱或高压制备色谱仪进一步纯化所述式 II-3 的化合物。

21. 用于制备式 VI 的化合物或其盐的方法,



其特征在于, 所述方法包括以下步骤:

i) 使式 VII 的化合物在溶剂中, 在适合的金属催化剂的存在下进行氢化反应, 以提供所述式 VI 的化合物,



其中：

$X_5$  和  $X_6$  各自独立地为-(取代或未取代的  $C_{1-10}$  烷基)- $R^2$ ；以及

$R^2$  选自： $C_{3-10}$  环烷基、4-10 元杂环基、 $C_{6-10}$  芳基和 5-10 元杂芳基。

22. 根据权利要求 21 所述的方法，其中其特征在于， $R^2$  选自： $C_{3-7}$  环烷基，优选  $C_{5-6}$  环烷基；4-7 元杂环基，优选 5-6 元杂环基；苯基和 5-6 元杂芳基；优选为苯基。

23. 根据权利要求 21 或 22 所述的方法，其特征在于， $X_5$  和  $X_6$  各自独立地为-(取代或未取代的  $C_{1-8}$  烷基)- $R^2$ ，优选-(取代或未取代的  $C_{1-6}$  烷基)- $R^2$ ，更优选-(取代或未取代的  $C_{1-4}$  烷基)- $R^2$ ，更优选-(未取代的  $C_{1-2}$  烷基)- $R^2$ ，更优选- $CH_2$ - $R^2$ ，更优选- $CH_2$ -苯基。

24. 根据权利要求 21 至 23 中任一项所述的方法，其特征在于，

(1) 在所述步骤 i) 中，所述氢化反应是在氢气氛下进行的，

其中优选地，所述氢气的压力为约 0.05Mpa 至约 0.8Mpa，优选约 0.1Mpa 至约 0.4Mpa；

和/或

其中优选地，所述式 VII 的化合物与所述氢气的反应在约 20 至 30°C 的温度下进行；

和/或

(2) 所述式 VII 的化合物与所述金属催化剂的质量比为约 1:0.01 至 1:1，优选约 1:0.2；

和/或

(3) 所述金属催化剂为炭载钯(Pd/C)，其中优选地，所述 Pd/C 中钯的质量分数为约 5-20%，更优选约 10% (例如所述 Pd/C 催化剂含有约 50 w/w% 的水)；

和/或

(4) 所述溶剂与所述式 VII 的化合物的体积比为约 10:1 至 50:1, 优选约 10:1 至 30:1;

和/或

(5) 所述溶剂为 N,N-二甲基甲酰胺(DMF)、二氯甲烷(DCM)、二甲基亚砜(DMSO)、四氢呋喃和/或 1,4-二氧六环, 优选 N,N-二甲基甲酰胺;

和/或

(6) 所述氢化反应进行约 5 至 72h, 例如约 10 至 48h, 或约 10 至 30h 的时间。

25. 根据权利要求 21 至 24 中任一项所述的方法, 其特征在于, 所述方法包括以下步骤:

i) 使式 VII-1 的化合物在 N,N-二甲基甲酰胺中, 在约 10% 的 Pd/C 存在下, 在 0.05Mpa 至约 0.8Mpa、优选约 0.1Mpa 至约 0.4Mpa 氢气氛下, 在约 20 至 25°C 的温度下进行氢化反应约 5 至 72h、优选约 10 至 30h 的时间, 以提供所述式 VI 的化合物,

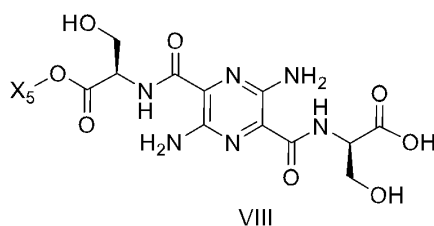
其中:

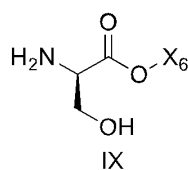
所述式 VII-1 的化合物与所述 Pd/C 的质量比为约 1:0.01 至 1:1, 优选约 1:0.2; 以及

所述 N,N-二甲基甲酰胺与所述式 VII-1 的化合物的体积比为约 10:1 至 50:1, 优选约 10:1 至 30:1。

26. 根据权利要求 1 至 25 中任一项所述的方法, 其特征在于, 所述方法还包括以下步骤:

i') 使式 VIII 的化合物与式 IX 的化合物或其盐 (优选盐酸盐) 在惰性气氛下, 在适合的有机溶剂中, 在适合的有机碱、适合的偶联剂和适合的缩合剂的存在下进行酰胺缩合反应, 以提供所述式 VII 的化合物,





其中 X<sub>5</sub> 和 X<sub>6</sub> 各自如权利要求 21 至 25 中任一项所定义；以及

ii') 任选地，过滤所述步骤 i') 中的反应混合物，向滤液中滴加水，以使所述式 VII 的化合物结晶析出，其中优选地，所加入的水与所述滤液的体积比为约 20:1 至 150:1，优选 35:1 至 75:1；以及

iii') 任选地，向分离出的所述式 VII 的化合物中加入乙酸乙酯打浆，然后过滤，并在升高的温度下真空干燥 18 小时以上，其中优选地，所述乙酸乙酯与所述式 VII 的化合物的体积比为约 5:1 至 30:1，优选约 5:1 至 10:1。

27. 根据权利要求 26 所述的方法，其特征在于，

所述惰性气氛是在氮气保护下；和/或

所述有机溶剂与所述式 IX 的化合物或其盐的体积比为约 10:1 至 80:1，优选约 20:1 至 50:1；和/或

所述有机碱与所述式 VIII 的化合物的摩尔比为约 0.5:1 至 9:1，优选约 1:1 至约 5:1；和/或

所述缩合剂与所述式 VIII 的化合物的摩尔比为约 0.5:1 至 9:1，优选约 1:1 至约 5:1；和/或

所述偶联剂与所述式 VIII 的化合物的摩尔比为约 0.5:1 至 9:1，优选约 1:1 至约 5:1；和/或

所述酰胺缩合反应在约 10 至 30°C，优选约 20~30°C 的温度下进行；和/或

所述酰胺缩合反应持续约 10 至 72h，优选约 18 至 36h 的时间；和/或

所述有机溶剂是 N,N-二甲基甲酰胺(DMF)、二氯甲烷(DCM)、二甲基亚砜(DMSO)、四氢呋喃和/或 1,4-二氧六环；和/或

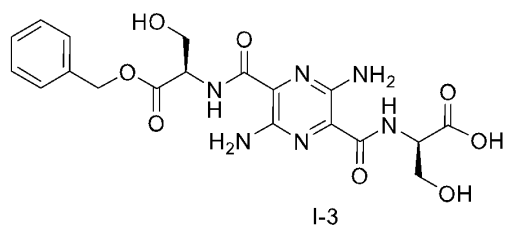
所述有机碱是二异丙基乙胺(DIPEA)、三乙胺、吡啶和/或 4-二甲氨基吡啶(DMAP)；和/或

所述偶联剂为 2-脒乙酸乙酯(Oxyma)、HOBt、HATU、HBTU、HCTU、TBTU、TSTU、TNTU、O-(7-氮杂苯并三氮唑-1-基)-二(四氢吡咯基)碳鎓六氟磷酸盐 (HAPyU) 和/或 O-(苯并三氮唑-1-基)-二(四氢吡咯基)碳鎓六氟磷

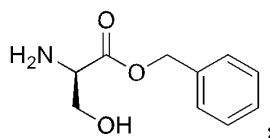
酸盐 (HBP<sub>y</sub>U) ; 和/或

所述缩合剂选自: 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳化二亚胺盐酸盐 (EDC\*HCl)、HOBt、HATU、HBTU、HCTU、TBTU、TSTU、TNTU、O-(7-氮杂苯并三氮唑-1-基)-二(四氢吡咯基)碳鎓六氟磷酸盐 (HAP<sub>y</sub>U)、O-(苯并三氮唑-1-基)-二(四氢吡咯基)碳鎓六氟磷酸盐 (HBP<sub>y</sub>U) 及其任意组合。

28. 根据权利要求 26 或 27 所述的方法, 其特征在于,  
所述式 VIII 的化合物为式 I-3 的化合物:



所述式 IX 的化合物为下式的化合物:



所述有机溶剂是 DMF;

所述有机碱是二异丙基乙胺(DIPEA);

所述偶联剂为 HOBt; 以及

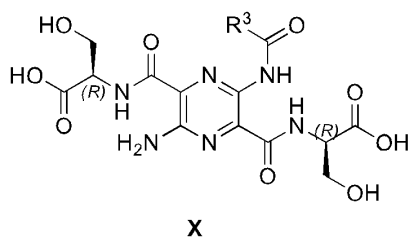
所述缩合剂为: EDC\*HCl。

29. 根据权利要求 21 至 28 中任一项所述的方法, 其特征在于, 所述方法还包括以下步骤:

ii) 任选地, 过滤所述步骤 i) 中的反应混合物, 向滤液中滴加乙酸乙酯, 以使所述式 VI 的化合物结晶析出, 其中优选地, 所述乙酸乙酯与所述滤液的体积比为约 30:1 至 90:1, 优选约 30:1 至 50:1; 以及

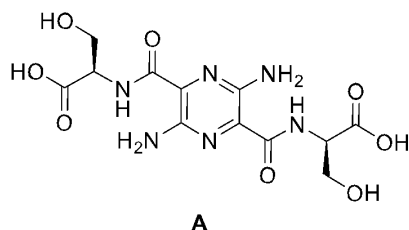
iii) 任选地, 向分离出的所述式 VI 的化合物中加入乙酸乙酯打浆, 然后过滤, 并在升高的温度下真空干燥 12 小时以上, 其中优选地, 所述乙酸乙酯与所述式 VI 的化合物的体积比为约 1:1 至 10:1, 优选约 2:1 至 5:1。

30. 用于制备式 X 的化合物或其盐的方法,



其特征在于，所述方法包括以下步骤：

x-i) 提供式 A 的化合物在溶剂中的溶液；



x-ii) 在升高的温度下，用酸  $R^3$ -COOH 使式 A 的化合物酰化，以提供所述式 X 的化合物；以及

x-iii) 任选地，分离和纯化所述式 X 的化合物；

其中  $R^3$  为 H、或者取代或未取代的  $C_{1-4}$  烷基，优选 H 或甲基，更优选 H。

31. 根据权利要求 30 所述的方法，其特征在于，

$R^3$  为 H；和/或

在步骤 x-i) 中，所述溶剂与所述式 A 的化合物的体积比为约 5:1 至 30:1，优选约 5:1 至 10:1；和/或

在步骤 x-i) 中所述的溶剂是 N,N-二甲基甲酰胺(DMF)、二氯甲烷(DCM)、二甲基亚砜(DMSO)、四氢呋喃和/或 1,4-二氧六环，优选 DMF；和/或

在步骤 x-ii) 中所述的升高的温度是约 55 至 75°C，优选约 70°C；和/或

在步骤 x-ii) 中，所述酸  $R^3$ -COOH 与所述式 A 的化合物的体积比为约 0.5:1 至 10:1，优选约 1:1 至 5:1；和/或

在步骤 x-ii) 中，反应时间为约 1 至 20h，优选约 1 至 5h；和/或

所述步骤 x-iii) 包括：

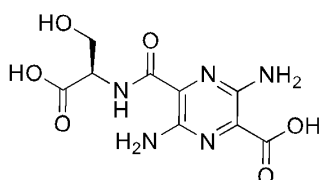
1) 浓缩所述步骤 x-i) 中的反应混合物至无馏分，然后向残余物中滴加乙酸乙酯以使所述式 X 的化合物结晶析出，其中优选地，所述乙酸乙酯与所述式 A 的化合物的体积比为约 15:1 至 90:1，优选约 15:1 至 30:1；以及

2) 将分离出的所述式 X 的化合物溶于步骤 x-i)中所使用的溶剂中, 然后滴加乙酸乙酯以使所述式 X 的化合物结晶析出, 然后过滤, 并在升高的温度下真空干燥, 其中优选地, 所述溶剂与所述式 A 的化合物的体积比为约 0.5:1 至 5:1, 优选约 1:1 至 2:1; 和/或所述乙酸乙酯与所述式 A 的化合物的体积比为约 1:1 至 10:1, 优选约 2:1 至 4:1;

3) 重复所述步骤 1)和 2)的重结晶; 以及

4) 将得自所述步骤 3)的干燥的所述式 X 的化合物用乙酸乙酯打浆, 然后过滤, 并在升高的温度下真空干燥 16 小时以上, 其中优选地, 所述乙酸乙酯与所述式 A 的化合物的体积比为约 1:1 至 10:1, 优选约 2:1 至 5:1。

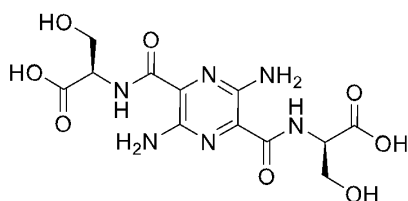
32. 用于制备式 XI 的化合物或其盐的方法,



**XI**

其特征在于, 所述方法包括以下步骤:

xi-i) 使式 A 的化合物在水中, 在碱的存在下以及在升高的温度下水解, 以提供所述式 XI 的化合物或其盐;



**A**

, 以及

xi-ii) 任选地, 分离和纯化所述式 XI 的化合物或其盐。

33. 根据权利要求 32 所述的方法, 其特征在于,

在步骤 xi-i)中, 所述水与所述式 A 的化合物的体积比为约 5:1 至 30:1, 优选约 5:1 至 10:1; 和/或

在步骤 xi-i)中, 所述碱与所述式 A 的化合物的摩尔比为约 1:1 至 5:1, 优选约 2:1 至 5:1; 和/或

所述碱为无机碱, 优选氢氧化钾、氢氧化钠及其混合物, 更优选氢氧化

化钾；和/或

在步骤 xi-i)中，所述升高的温度为约 50 至 100°C，优选约 80 至 90°C；  
和/或

在步骤 xi-i)中，所述水解反应进行约 5 至 48h，优选约 10 至 20h；和/或

所述步骤 xi-ii)包括：

1) 向所述步骤 xi-ii)中的反应混合物添加硅胶，以将所述反应混合物浓缩并制成硅胶干粉，将所述硅胶干粉通过硅胶柱层析，得到所述式 XI 的化合物或其盐的固体粗品，

其中优选地，所添加的硅胶与所述式 A 的化合物的质量比为约 0.5:1 至 2:1，优选约 2:1；和/或所述硅胶层析柱用 EA/MeOH (1%TFA)作为洗脱剂梯度洗脱，其中 EA : MeOH (1% TFA)的体积比为约 50:1 至 1:1，优选约 30:1 至 10:1；

2) 将得自所述步骤 xii-1)的固体粗品用甲醇打浆，过滤，然后在升高的温度下真空干燥 16 小时以上，得到经纯化的所述式 XI 的化合物或其盐，

其中优选地，所述甲醇与所述式 A 的化合物的体积比为约 1:1 至 10:1，优选约 2:1 至 5:1。

34. 用于 3,6-二氨基-2,5-双{N-[(1R)-1-羧酸-2-羟基乙基]氨基甲酰基}吡嗪的原料药或制剂的质量控制的方法，其包括测定在所述原料药或制剂中，如权利要求 1 至 7 中任一项所述的式 I 的化合物，优选如权利要求 10 所述的式 I-1 的化合物、如权利要求 11 所述的式 I-2 的化合物、如权利要求 12 所述的式 I-3 的化合物、如权利要求 21 所述的式 VI 的化合物、如权利要求 30 所述的式 X 的化合物、和/或如权利要求 32 所述的式 XI 的化合物的含量，并任选地与所述化合物中每一种的指定含量比较；

其中优选地，对于所述式 I 的化合物而言，所述指定含量为：以所述原料药的总重量计，不超过约 0.9%，优选不超过约 0.6%，更优选不超过约 0.45%；

对于所述式 I-1 的化合物而言，所述指定含量为：以所述原料药的总重量计，不超过约 0.3%，优选不超过约 0.25%，更优选不超过约 0.15%；或者，以所述制剂的总重量计，不超过约 0.40%，优选不超过约 0.3%，更优

选不超过约 0.20%;

对于所述式 I-2 的化合物而言,所述指定含量为:以所述原料药的总重量计,不超过约 0.3%,优选不超过约 0.25%,更优选不超过约 0.15%;

对于所述式 I-3 的化合物而言,所述指定含量为:以所述原料药的总重量计,不超过约 0.3%,优选不超过约 0.25%,更优选不超过约 0.15%;

对于所述式 VI 的化合物而言,所述指定含量为:以所述原料药的总重量计,不超过约 0.3%,优选不超过约 0.25%,更优选不超过约 0.15%;

对于所述式 X 的化合物而言,所述指定含量为:以所述原料药的总重量计,不超过约 0.3%,优选不超过约 0.25%,更优选不超过约 0.15%;和/或

对于所述式 XI 的化合物而言,所述指定含量为:以所述原料药的总重量计,不超过约 0.2%,优选不超过约 0.15%,更优选不超过约 0.10%;或者,以所述制剂的总重量计,不超过约 0.40%,优选不超过约 0.3%,更优选不超过约 0.20%。

35. 如权利要求 1 至 7 中任一项所述的式 I 的化合物,优选如权利要求 10 所述的式 I-1 的化合物、如权利要求 11 所述的式 I-2 所述的化合物、如权利要求 12 所述的式 I-3 的化合物、如权利要求 21 所述的式 VI 的化合物、如权利要求 30 所述的式 X 的化合物、和/或如权利要求 32 所述的式 XI 的化合物作为用于 3,6-二氨基-2,5-双{N-[(1R)-1-羧酸-2-羟基乙基]氨基甲酰基}吡嗪的原料药或制剂的质量控制的标准品或对照品的用途。

36. 具有低含量的相关化合物的 3,6-二氨基-2,5-双{N-[(1R)-1-羧酸-2-羟基乙基]氨基甲酰基}吡嗪原料药,其特征在于,所述相关化合物为如权利要求 1 至 7 中任一项所述的式 I 的化合物,优选如权利要求 10 所述的式 I-1 的化合物、如权利要求 11 所述的式 I-2 的化合物、如权利要求 12 所述的式 I-3 的化合物、如权利要求 21 所述的式 VI 的化合物、如权利要求 30 所述的式 X 的化合物、和/或如权利要求 32 所述的式 XI 的化合物;以及

所述原料药具有如下所述的含量中的一者或多者:

以所述原料药的总重量计,不超过约 0.9%,优选不超过约 0.6%,更优选不超过约 0.45%的所述式 I 的化合物,

以所述原料药的总重量计，不超过约 0.3%，优选不超过约 0.25%，更优选不超过约 0.15%的所述式 I-1 的化合物，

以所述原料药的总重量计，不超过约 0.3%，优选不超过约 0.25%，更优选不超过约 0.15%所述式 I-2 的化合物，

以所述原料药的总重量计，不超过约 0.3%，优选不超过约 0.25%，更优选不超过约 0.15%所述式 I-3 的化合物，

以所述原料药的总重量计，不超过约 0.3%，优选不超过约 0.25%，更优选不超过约 0.15%的所述式 VI 的化合物，

以所述原料药的总重量计，不超过约 0.3%，优选不超过约 0.25%，更优选不超过约 0.15%的所述式 X 的化合物，

以所述原料药的总重量计，不超过约 0.2%，优选不超过约 0.15%，更优选不超过约 0.10%的所述式 XI 的化合物。

37. 具有低含量的相关化合物的 3,6-二氨基-2,5-双{N-[(1R)-1-羧酸-2-羟基乙基]氨基甲酰基}吡嗪制剂，其特征在于，所述相关化合物选自如权利要求 10 所述的式 I-1 的化合物和如权利要求 32 所述的式 XI 的化合物；以及

所述制剂具有如下所述的含量中的一者或两者：

以所述制剂的总重量计，不超过约 0.40%，优选不超过约 0.3%，更优选不超过约 0.20%的所述式 I-1 的化合物；

以所述制剂的总重量计，不超过约 0.40%，优选不超过约 0.3%，更优选不超过约 0.20%的所述式 XI 的化合物。

38. 根据权利要求 34 所述方法、根据权利要求 35 所述用途、根据权利要求 36 所述的原料药、根据权利要求 37 所述的制剂，其中所述制剂是注射用溶液或注射用冻干粉，优选注射用溶液。