



(21)申請案號：105135023

(22)申請日：中華民國 105 (2016) 年 10 月 28 日

(51)Int. Cl.：

C07D471/10 (2006.01)

C07D498/20 (2006.01)

A61K31/4545(2006.01)

A61K31/4704(2006.01)

A61K31/517 (2006.01)

A61K31/537 (2006.01)

(30)優先權：2015/10/30 英國

1519195.0

(71)申請人：黑普達斯醫療公司(英國) HEPTARES THERAPEUTICS LIMITED (GB)
英國

(72)發明人：克里斯多夫 約翰 安德魯斯 CHRISTOPHER, JOHN ANDREW (GB)；康葛雷邁爾斯 史都華 CONGREVE, MILES STUART (GB)；巴克納爾 莎拉 喬安妮 BUCKNELL, SARAH JOANNE (GB)；德佛利安 法蘭西斯卡 DEFLORIAN, FRANCESCA (IT)；皮克沃 馬克 PICKWORTH, MARK (GB)；梅森 強納森 史蒂芬 MASON, JONATHAN STEPHEN (GB)

(74)代理人：閻啟泰；林景郁

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：14 項 圖式數：0 共 60 頁

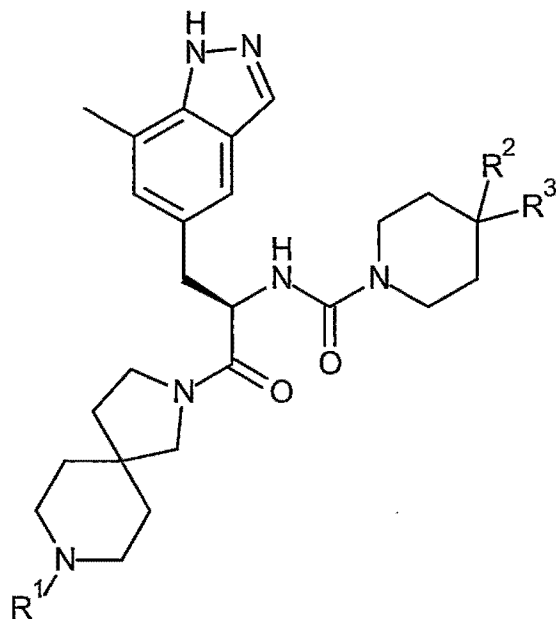
(54)名稱

C G R P 受體拮抗劑

CGRP RECEPTOR ANTAGONISTS

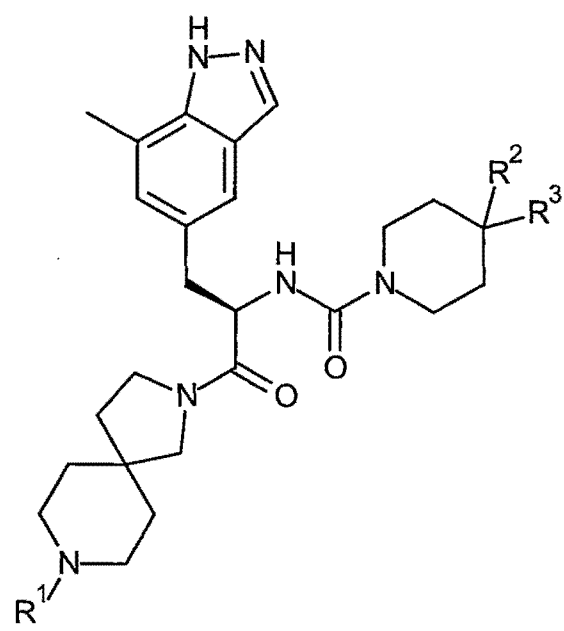
(57)摘要

本文之揭示內容係關於下式之新穎化合物



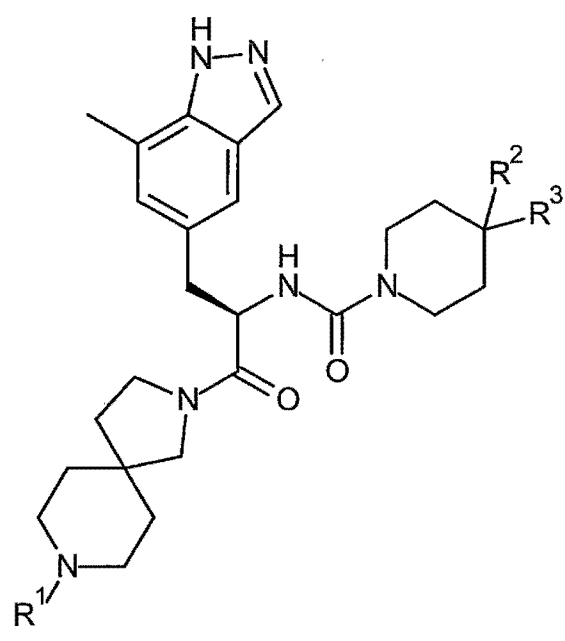
其中 R^1 、 R^2 與 R^3 係如本文中所定義的、與其等於治療、預防、改善、控制或減輕與 CGRP 受體功能聯結的腦血管或血管疾患的用途。

The disclosures herein relate to novel compounds of formula



wherein R¹, R² and R³ are as defined herein, and their use in treating, preventing, ameliorating, controlling or reducing cerebrovascular or vascular disorders associated with CGRP receptor function.

特徵化學式：



發明摘要

※ 申請案號：105135023

※ 申請日：105/10/28

※IPC 分類：

C07D 471/10 (2006.01)

C07D 498/20 (2006.01)

A61K 31/4545 (2006.01)

A61K 31/4704 (2006.01)

A61K 31/517 (2006.01)

A61K 31/537 (2006.01)

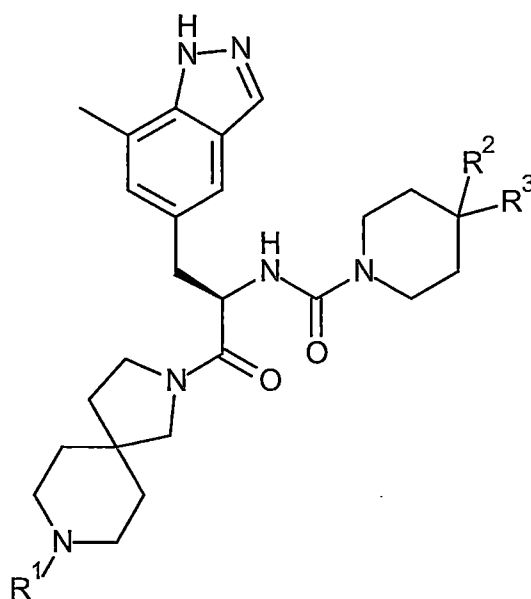
【發明名稱】(中文/英文)

CGRP 受體拮抗劑

CGRP RECEPTOR ANTAGONISTS

【中文】

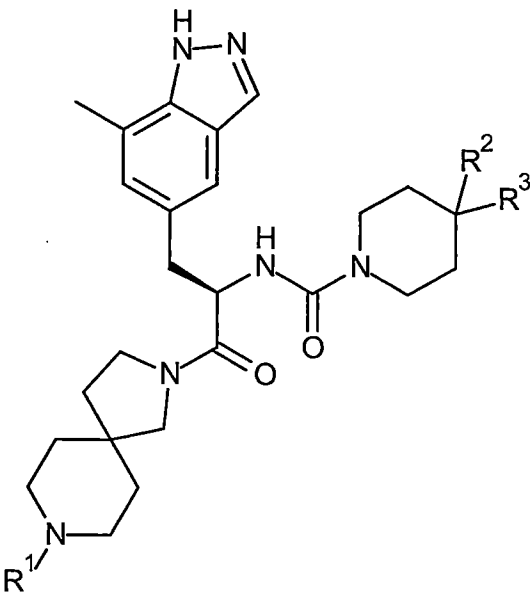
本文之揭示內容係關於下式之新穎化合物



其中 R^1 、 R^2 與 R^3 係如本文中所定義的、與其等於治療、預防、改善、控制或減輕與 CGRP 受體功能聯結的腦血管或血管疾患的用途。

【英文】

The disclosures herein relate to novel compounds of formula



wherein R¹, R² and R³ are as defined herein, and their use in treating, preventing, ameliorating, controlling or reducing cerebrovascular or vascular disorders associated with CGRP receptor function.

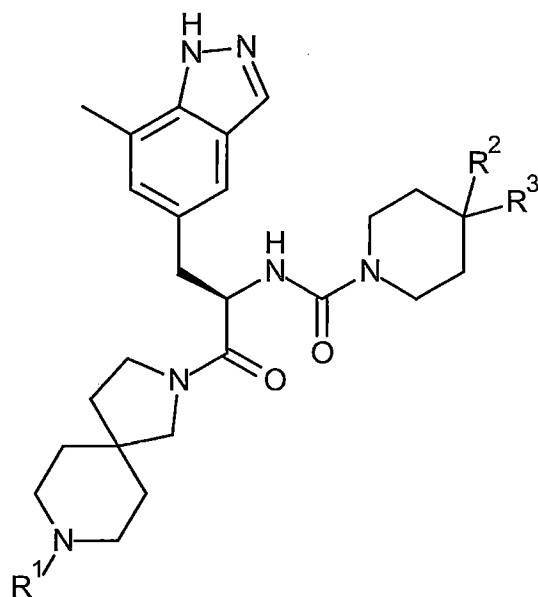
【代表圖】

【本案指定代表圖】：第（ 無 ）圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：

無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：



發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】(中文/英文)

CGRP 受體拮抗劑

CGRP RECEPTOR ANTAGONISTS

相關申請案之交互參照

【0001】 本申請案主張 2015 年 10 月 30 日提申的大不列顛專利申請案編號 1519195.0 之利益，該申請案之完整內容係以引用方式併入本文中。

【技術領域】

【0002】 本申請案係關於新穎化合物與其等作為 CGRP 受體拮抗劑的用途。於本文中描述的化合物可用於治療或預防諸如偏頭痛的腦血管或血管疾患。本申請案亦係針對包含此等化合物的醫藥組成物與此等化合物與組成物之製造與於預防或治療如此腦血管或血管疾患的用途。

【先前技術】

【0003】 偏頭痛係高度失能性神經血管疾患，其特徵在於往往與噁心、嘔吐、畏光症、與懼音症聯結的中度至嚴重頭痛之發作。發作可持續 4 至 72 h，且平均發作頻率為每個月 1 或 2 次。約 20-30% 的偏頭痛患者會經歷稱為先兆的暫時性病灶神經症狀，其等通常係視覺的且可在頭痛之前或伴隨著頭痛。偏頭痛於全世界折磨著約 11% 的成人且在生活品質與喪失生產力兩方面皆造成顯著的社會經濟負荷。

【0004】 儘管尚不清楚偏頭痛之病機為何，主要的假設之一係基於三叉神經血管系統 (TS) 之活化。數個神經肽參與此活化，而抑鈣素基因

關連性胜肽 (CGRP) 於其等中扮演了關鍵性的角色。CGRP 透過周圍與中樞神經系統 (CNS) 發揮各種各樣的生物功效。功能性 CGRP-受體 (CGRP-R) 複合物之特徵已被充分界定，且新穎的治療方法瞄準 CGRP 本身與其受體。本發明係關於 CGRP 受體拮抗劑 (CGRP-RA) 之開發。

【0005】 CGRP(一種衍生自編碼抑鈣素的基因的 37 個胺基酸的神經胜肽) 係由位於染色體 11 上的抑鈣素/CGRP 基因之選擇式剪接形成。於人類中，CGRP 有兩種同功型： α -與 β -CGRP。 β -同功型與 α -同功型不同處在於位於位置 3、22 與 25 的胺基酸。CGRP 之化學結構包含在殘基 2 與 7 間的二硫橋與經醯胺化 C 端。環狀的半胱胺酸 2-半胱胺酸 7 模體於受體活化具有基礎作用。於人類三叉神經神經節 (TRIG)，CGRP 免疫反應性神經元占有所有神經元之至多 50%。已透過原位雜交技術展示了所有神經細胞體之 40% 含有 CGRP mRNA 與 CGRP。雙重免疫染色已顯示於人類 TRIG 中，CGRP 係與一氧化氮合成酶、P 物質 (SP)、腦下垂體腺苷酸環化酶活化性胜肽 (PACAP) 及 nociceptin 位於相同位置，其可能於偏頭痛之病機中扮演一個角色。

【0006】 功能性 CGRP-R 係由三個蛋白質所組成：i) 類抑鈣素受體受體 (稱為 CRLR、CALCRL 或 CLR) 係一個七個跨膜跨越性蛋白質，其與以下者形成配體結合位置；ii) RAMP1，決定受體之專一性；與 iii) CGRP-R 組份蛋白質 (RCP)，其將受體與細胞內訊號轉導途徑以及與腺苷酸環化酶拴在一起。

【0007】 咸認為 CGRP 之 C 端區域最初與受體之大型 N 端細胞外功能域 (ECD) 結合，可能與 CLR 和 RAMP1 兩者皆交互作用。此最初的結合

事件於 CLR 之近膜部分之附近大大地增加了 CGRP 之 N 端區域之局部濃度，允許其等之相對上弱的交互作用發生並造成受體活化。由於突變誘發實驗表明大部分的小型分子拮抗劑與 CLR/RAMP1 之 ECD 交互作用，咸假設其等與受體之此區域結合並預防 CGRP 與受體的最初結合。此胜肽結合與小型分子受體拮抗作用之模型的一個顯著的例外係羥基吡啶類拮抗劑，其於 CLR 中顯然與跨膜功能域 7 (TM7) 交互作用而不與細胞外功能域交互作用 (Bell IM, J. Med. Chem., 2014, 57(19), 7838-58)。

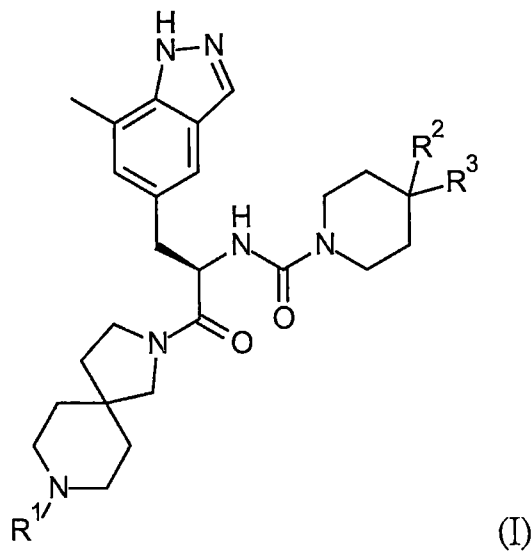
【0008】 第一個於臨床上測試的 CGRP-RA (olcegepant) 係基於二胜肽主鏈、具有高分子量、且於口服上並非生物可利用的。但是，當靜脈內地給藥時，olcegepant 被證明為有效的抗偏頭痛劑，且此概念驗證研究大大地增加了於所屬技術領域的興趣。在 olcegepant 之成功後，一些口服上有活性的 CGRP-RA 被推進到臨床試驗。Telcagepant 與化合物 BI 44370、MK-3207、及 BMS-927711 皆已以口服劑的形式被用於偏頭痛之急性治療。來自此等臨床研究的結果結合在一起展示了 CGRP-RA 可展示與良好的標準 triptan 藥物類似的抗偏頭痛效力但有顯著比典型於 triptan 觀察到者低的不良事件之發生率。值得注意的是可得的數據表明此等 CGRP 封阻劑不會造成血管收縮且建議其等可能具有比 triptan 優秀的心血管安全性輪廓。一個已於一些 CGRP-RA 被報導的潛在的擔心係於一些患者中觀察到肝臟轉胺酶之水平升高，且據報導此導致 MK-3207 之中止。雖然肝臟酵素升高亦在長期給藥 telcagepant 後於少數受藥者中發現，不清楚此等發現是否係在某些方面上是基於機制的或是此二種化合物特有的。於急性偏頭痛治療之臨床試驗中，CGRP-RA 顯示有利的功效，但頻繁地投予其等與肝臟毒性（肝臟轉胺

酶升高) 聯結，其限制了其等之臨床用途。因此，有需要去開發不會誘發肝臟損害的新穎 CGRP-RA。

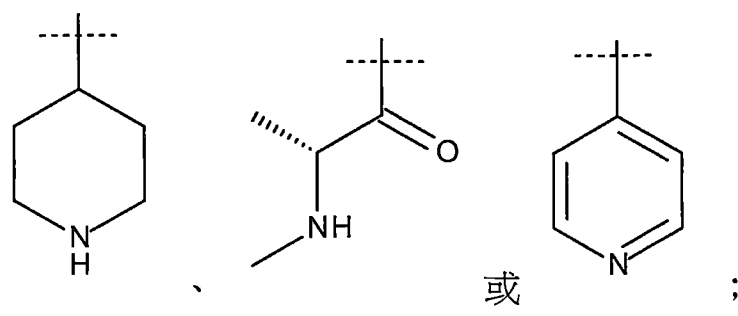
【發明內容】

【0009】 一個解決肝臟損害之風險的可能性係去瞄準用於小型分子的非口服遞送途徑，其會造成較低的透過首渡暴露的對肝臟的負荷。本發明之化合物可用於皮下的、靜脈內的及／或鼻內的投予之途徑。意欲用於如此投予之途徑的 CGRP-RA 之分子輪廓與口服分子所需的輪廓不同：需要極高的親和力與功能潛力加上極高的可溶性。於本文中揭示者係新穎化合物、與該化合物作為 CGRP 受體拮抗劑的第一醫藥用途。

【0010】 本發明之化合物包含式(I)之化合物或其鹽，



其中 R¹ 係選自



R^2 係 H 或與 R^3 形成螺環性雜環；

R^3 與 R^2 形成螺環性雜環，或若 R^2 係 H 則 R^3 係雜環。

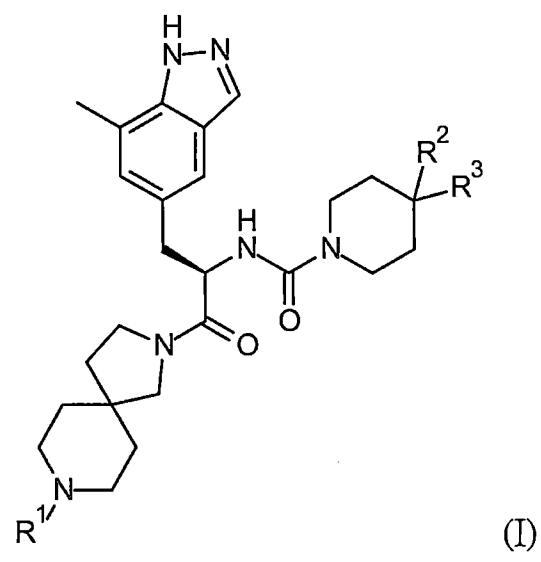
【圖式簡單說明】

無

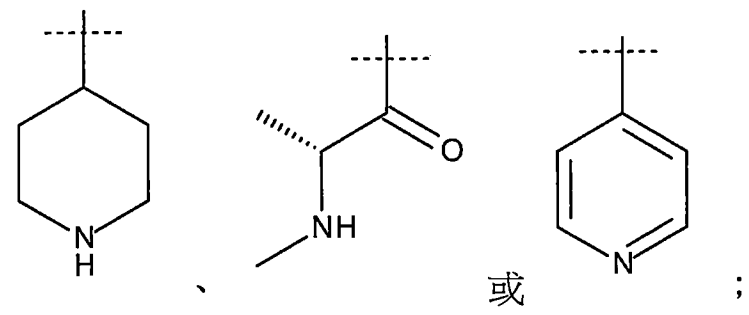
【實施方式】

【0011】 本發明係關於新穎化合物。本發明亦係關於新穎化合物作為 CGRP 受體拮抗劑的用途。本發明進一步係關於化合物於製造供作為 CGRP 受體拮抗劑之用的醫藥品的用途。本發明進一步係關於用於治療以下者的化合物、組成物與醫藥品：腦血管或血管疾患，諸如偏頭痛（包含諸如下者的亞型：無先兆的偏頭痛、慢性偏頭痛、純粹月經偏頭痛、與月經相關的偏頭痛、有先兆的偏頭痛、家族性偏癱偏頭痛、散發性偏癱偏頭痛、基底型偏頭痛、周期性嘔吐、腹部型偏頭痛、童年之良性陣發性眩暈、視網膜型偏頭痛）、偏頭痛持續狀態（status migrainosus）、頭痛群、透析頭痛、陣發性半側顱痛（paroxysmal hemicrania）、骨關節炎、與更年期或導因於外科手術或藥物治療的醫藥誘發性更年期聯結的潮熱、連續性半側顱痛（hemicrania continua）、週期性嘔吐症候群、過敏性鼻炎、或痤瘡。本發明進一步係關於用於治療包含以下者的更廣大的疼痛狀態與疾病的化合物、組成物與醫藥品：神經發炎，包含牙痛、耳痛、中耳發炎、曬傷、與骨關節炎及類風濕性關節炎聯結的關節疼痛、癌症疼痛、纖維肌痛、糖尿病神經病變、與發炎性腸病-克羅恩氏病聯結的疼痛、痛風、複雜性局部疼痛症候群、Behçet 氏病、子宮內膜異位疼痛、背痛或咳嗽。

【0012】 於本文中例示的化合物係基於以下結構：

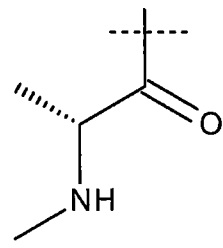


其中 R¹係選自

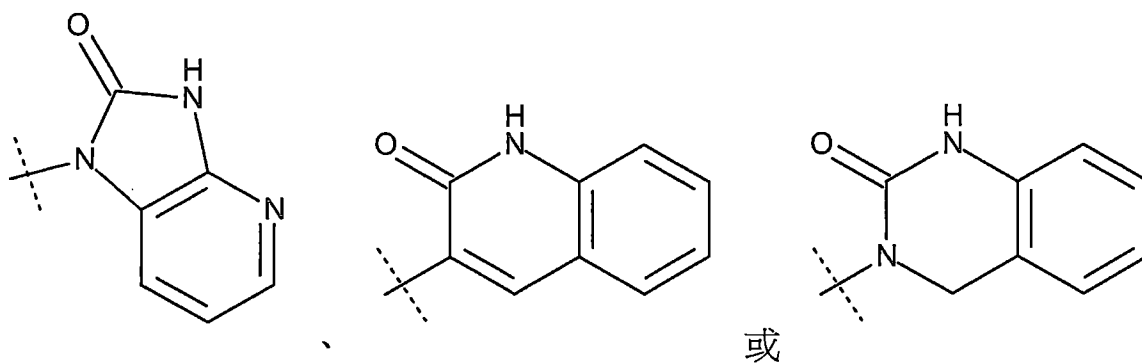


R²係 H 或與 R³形成螺環性雜環；
R³與 R²形成螺環性雜環，或若 R²係 H 則 R³係雜環。

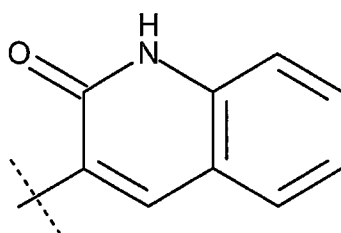
【0013】 於一個更特殊的具體態樣中，用於 R¹之取代基係



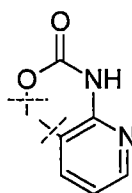
【0014】 於一個特殊的具體態樣中，用於 R²的取代基係 H 且 R³係選自：



於一個更特殊的具體態樣中， R^3 係



【0015】 於一個特殊的具體態樣中， R^2 與 R^3 形成螺環性雜環以形成：

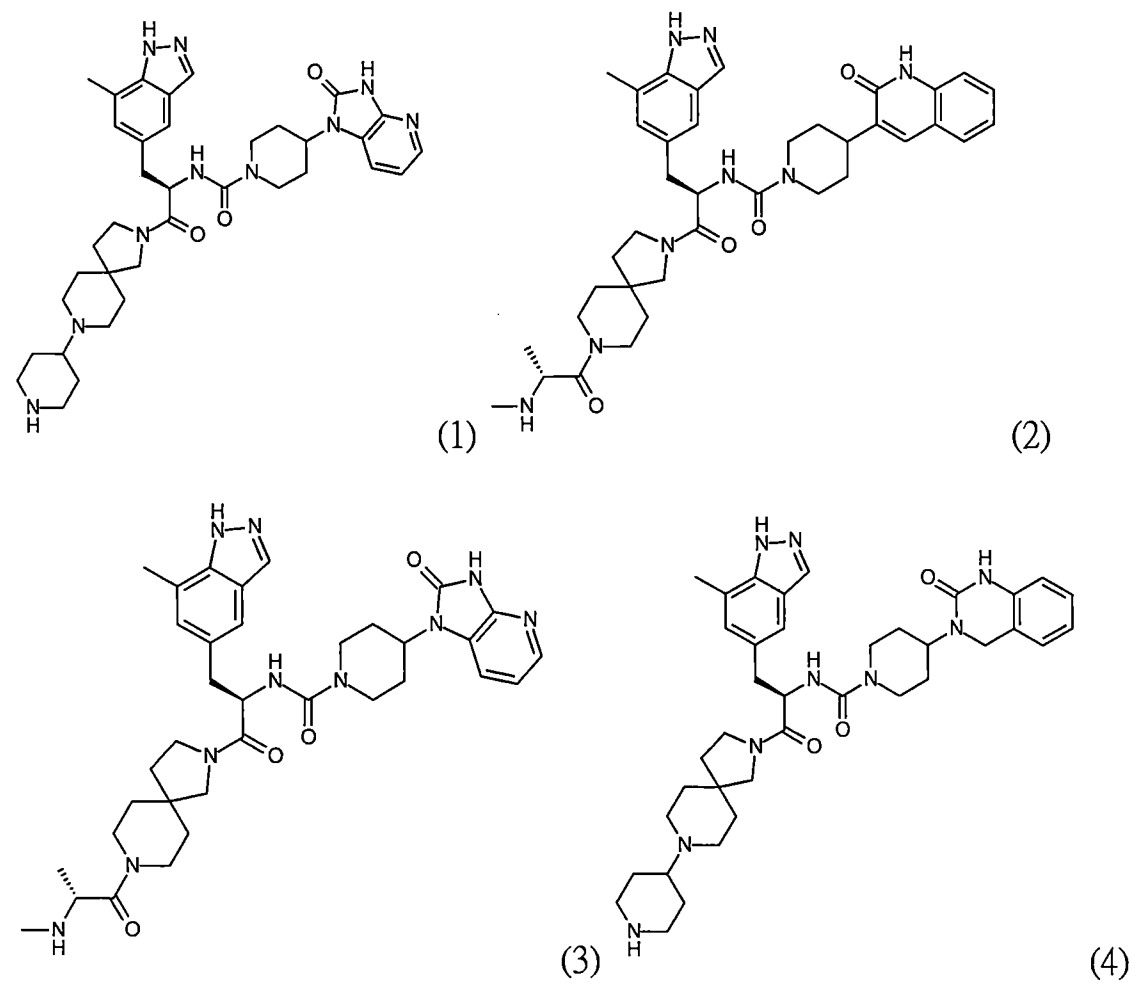


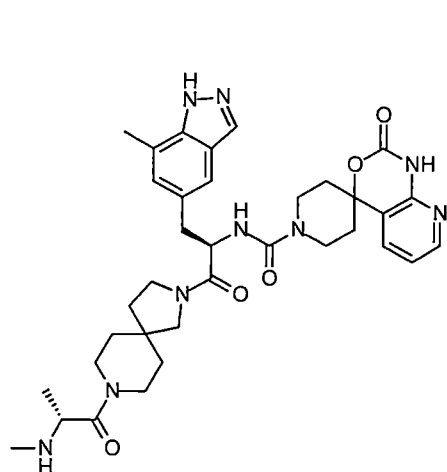
【0016】 本發明之進一步具體態樣包含治療方法，其包含投予式(I)之化合物作為 CGRP 受體拮抗劑。使用式(I)之化合物的治療可於治療以下者：腦血管疾患，諸如偏頭痛（包含諸如以下者的亞型：無先兆的偏頭痛、慢性偏頭痛、純粹月經偏頭痛、與月經相關的偏頭痛、有先兆的偏頭痛、家族性偏癱偏頭痛、散發性偏癱偏頭痛、基底型偏頭痛、周期性嘔吐、腹部型偏頭痛、童年之良性陣發性眩暈、視網膜型偏頭痛）、偏頭痛持續狀態、頭痛群、透析頭痛、陣發性半側顱痛、骨關節炎、與更年期或導因於外科手術或藥物治療的醫藥誘發性更年期聯結的潮熱、連續性半側顱痛、週期性嘔吐症候群、過敏性鼻炎、或痤瘡。本發明進一步係關於用於治療包含

以下者的更廣大的疼痛狀態與疾病的化合物、組成物與醫藥品：神經發炎，包含牙痛、耳痛、中耳發炎、曬傷、與骨關節炎及類風濕性關節炎聯結的關節疼痛、癌症疼痛、纖維肌痛、糖尿病神經病變、與發炎性腸病-克羅恩氏病聯結的疼痛、痛風、複雜性局部疼痛症候群、Behçet 氏病、子宮內膜異位疼痛、背痛或咳嗽。

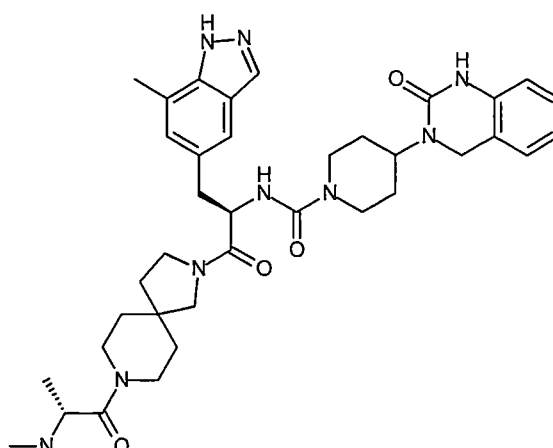
【0017】 某些本發明之新穎化合物顯示特別高的作為 CGRP 受體拮抗劑的活性。

【0018】 例示性化合物包含：

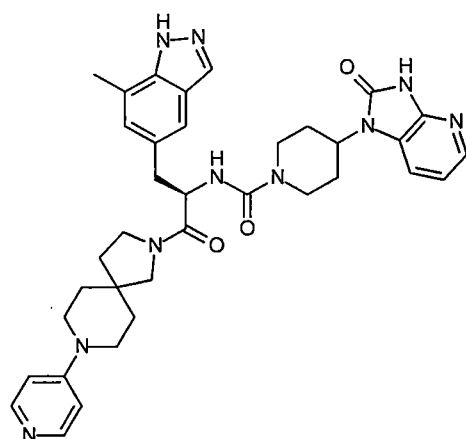




(5)



(6)



(7)

【0019】 此等化合物之 NMR 與 LCMS 特性以及生物活性係於表 2 及 3 中給出。

【0020】 倘若所描述的化合物之任一者具有手性中心，本發明延伸至如此化合物之所有光學異構物，無論是呈外消旋物或經解析鏡相異構物的形式。於本文中描述的發明係關於所揭示的化合物之任一者之所有晶型、溶劑合物與水合物，無論是如何製備地。倘若於本文中揭示的化合物與中間物之任一者具有酸或鹼中心（諸如羧酸或胺基基團），則該化合物之所有鹽形式被包含於本文中。在醫藥用途之情況下，該鹽應被視為醫藥上可接受的鹽。

【0021】 可提及的醫藥上可接受的鹽包含酸加成鹽與鹼加成鹽。如此

鹽可藉由習用方式形成，例如藉由使化合物之自由酸或自由鹼形式與適當的酸或鹼之一或多個同等物反應（視需要地於溶劑中或於在其中該鹽不可溶的介質中），接著使用標準技術（例如在真空內、藉由冷凍乾燥或藉由過濾）移除該溶劑或該介質。鹽亦可藉由使呈鹽的形式的化合物之相對離子與另一個相對離子交換（例如使用適合的離子交換樹脂）來製備。

【0022】 醫藥上可接受的鹽之實例包含衍生自礦物酸與有機酸的酸加成鹽、與衍生自諸如鈉、鎂、或較佳為鉀與鈣的金屬的鹽。

【0023】 酸加成鹽之實例包含與以下者形成的酸加成鹽：醋酸、2,2-二氯醋酸、己二酸、藻酸、芳基磺酸（例如苯磺酸、萘-2-磺酸、萘-1,5-二磺酸與對甲苯磺酸）、抗壞血酸（例如 L-抗壞血酸）、L-天門冬胺酸、苯甲酸、4-乙醯胺基苯甲酸、丁酸、(+)-樟腦酸、樟腦-磺酸、(+)-(1S)-樟腦-10-磺酸、癸酸、己酸、辛酸、肉桂酸、檸檬酸、環己基胺基磺酸、十二烷基硫酸、乙-1,2-二磺酸、乙磺酸、2-羥基乙磺酸、甲酸、延胡索酸、半乳糖二酸、龍膽酸、葡萄糖庚酸、葡萄糖酸（例如 D-葡萄糖酸）、葡萄糖醛酸（例如 D-葡萄糖醛酸）、麩胺酸（例如 L-麩胺酸）、 α -酮己二酸、羥乙酸、馬尿酸、氫溴酸、氫氯酸、氫碘酸、羥乙磺酸、乳酸（例如(+)-L-乳酸與(±)-DL-乳酸）、乳糖酸、馬來酸、蘋果酸（例如(-)-L-蘋果酸）、丙二酸、(±)-DL-苦杏仁酸、偏磷酸、甲磺酸、1-羥基-2-萘甲酸、菸鹼酸、硝酸、油酸、乳清酸、草酸、棕櫚酸、撲酸、磷酸、丙酸、L-焦麩胺酸、水楊酸、4-胺基-水楊酸、癸二酸、硬脂酸、琥珀酸、硫酸、單寧酸、酒石酸（例如(+)-L-酒石酸）、硫氰酸、十一烯酸與戊酸。

【0024】 鹽之特殊實例係衍生自諸如氫氯酸、氫溴酸、磷酸、偏磷酸、

硝酸與硫酸的礦物酸的鹽；衍生自諸如酒石酸、醋酸、檸檬酸、蘋果酸、乳酸、延胡索酸、苯甲酸、羥乙酸、葡萄糖酸、琥珀酸、芳基磺酸、撲酸的有機酸的鹽；與衍生自諸如鈉、鎂、或較佳為鉀與鈣的金屬的鹽。

【0025】 亦涵蓋者為化合物與其等之鹽之任何溶劑合物。較佳的溶劑合物係藉由將非毒性醫藥上可接受的溶劑（以下稱為溶劑合溶劑）之分子併入至本發明之化合物之固態結構（例如結晶結構）中來形成的溶劑合物。如此溶劑之實例包含水、醇（諸如乙醇、異丙醇與丁醇）與二甲基亞砷。溶劑合物可藉由以含有溶劑合溶劑的溶劑或溶劑之混合物再結晶化本發明之化合物來製備。一溶劑合物是否已於任何給定實例中形成可藉由使用廣為人知的與標準的技術（諸如熱重量分析（TGE）、示差掃描熱析法（DSC）與 X 射線結晶學）分析化合物之結晶來測定。

【0026】 該溶劑合物可為化學計量或非化學計量溶劑合物。特殊的溶劑合物可為水合物，且水合物之實例包含半水合物、單水合物與二水合物。

【0027】 對於溶劑合物及用於製造其等與定其等之特徵的方法之更詳細的討論，參見 Bryn 等人, Solid-State Chemistry of Drugs，第二版，由 SSCI, Inc 出版, West Lafayette, IN, USA, 1999, ISBN 0-967-06710-3。

【0028】 如於本文中定義的，化合物之「醫藥功能性衍生物」包含酯衍生物及／或具有與任何相關的本發明之化合物相同的生物功能及／或活性或為如此功能及／或活性作準備的衍生物。因此，為了本發明之目的，該術語亦包含如於本文中定義的化合物之前藥。

【0029】 術語相關的化合物之「前藥」包含任何在口服或非經腸投予後於預先決定的時間內（例如在介於 6 與 24 個小時之間的給藥間隔內（即

每日一至四次)) 被活體內代謝以形成實驗上可偵測的量的該化合物的化合物。

【0030】 化合物之前藥可藉由修飾出現在該化合物上的功能性基團來製備，其方式為當如此前藥被投予至哺乳動物受藥者時該修飾被活體內切下。該修飾典型係藉由以前藥取代基合成親本化合物來達成。前藥包含其中化合物中的羥基、胺基、氫硫基、羧基或羰基基團係與任何可被活體內切下以分別重建自由羥基、胺基、氫硫基、羧基或羰基基團的基團鍵結的化合物。

【0031】 前藥之實例包含(但不限於)羥基功能性基團之酯與胺甲酸酯、羧基功能性基團之酯基團、N-鹽基衍生物與 N-曼尼希鹼。前藥之一般資訊可於例如 Bundegaard, H. "Design of Prodrugs" p. 1-92, Elsevier, New York-Oxford (1985)中找到。

定義

雜環

【0032】 雜環意謂其中至少一個環成員不為碳的可為芳香族的環狀基團。例如，至少一個環成員(例如一個、二個或三個環成員)可選自氮、氧與硫。雜芳基基團之接附點可經由環系統之任何原子。例示性雜芳基基團包含吡啶基、呋唑基、1,4-二氫-2*H*-吡啶并[2,3-*d*][1,3]噁并-2-酮、1,3-二氫-2*H*-咪唑并[4,5-*b*]吡啶-2-酮、3,4-二氫喹啉-2(1*H*)-酮、喹啉-2(1*H*)-酮、哌啶基、吡咯啶基、2,8-二氮螺[4.5]癸烷、與類似者。

【0033】 於本發明之前後文中，術語「醫藥組成物」意謂包含活性劑且另外包含一或多種醫藥上可接受的載劑的組成物。取決於投予模式與劑

型之性質，該組成物可進一步含有選自例如以下者的成分：稀釋劑、佐劑、賦形劑、媒劑、保存劑、填充劑、崩散劑、潤溼劑、乳化劑、懸浮劑、甜味劑、調味劑、芳香劑、抗細菌劑、抗真菌劑、潤滑劑與分散劑。該組成物可採取例如以下者之形式：錠劑、糖衣錠、粉末、酏劑、糖漿、液體製劑，包含懸浮液、噴霧、吸入物、錠劑、菱形錠、乳液、溶液、藥包、顆粒、膠囊與栓劑、以及用於注射的液體製劑，包含脂質體製劑。

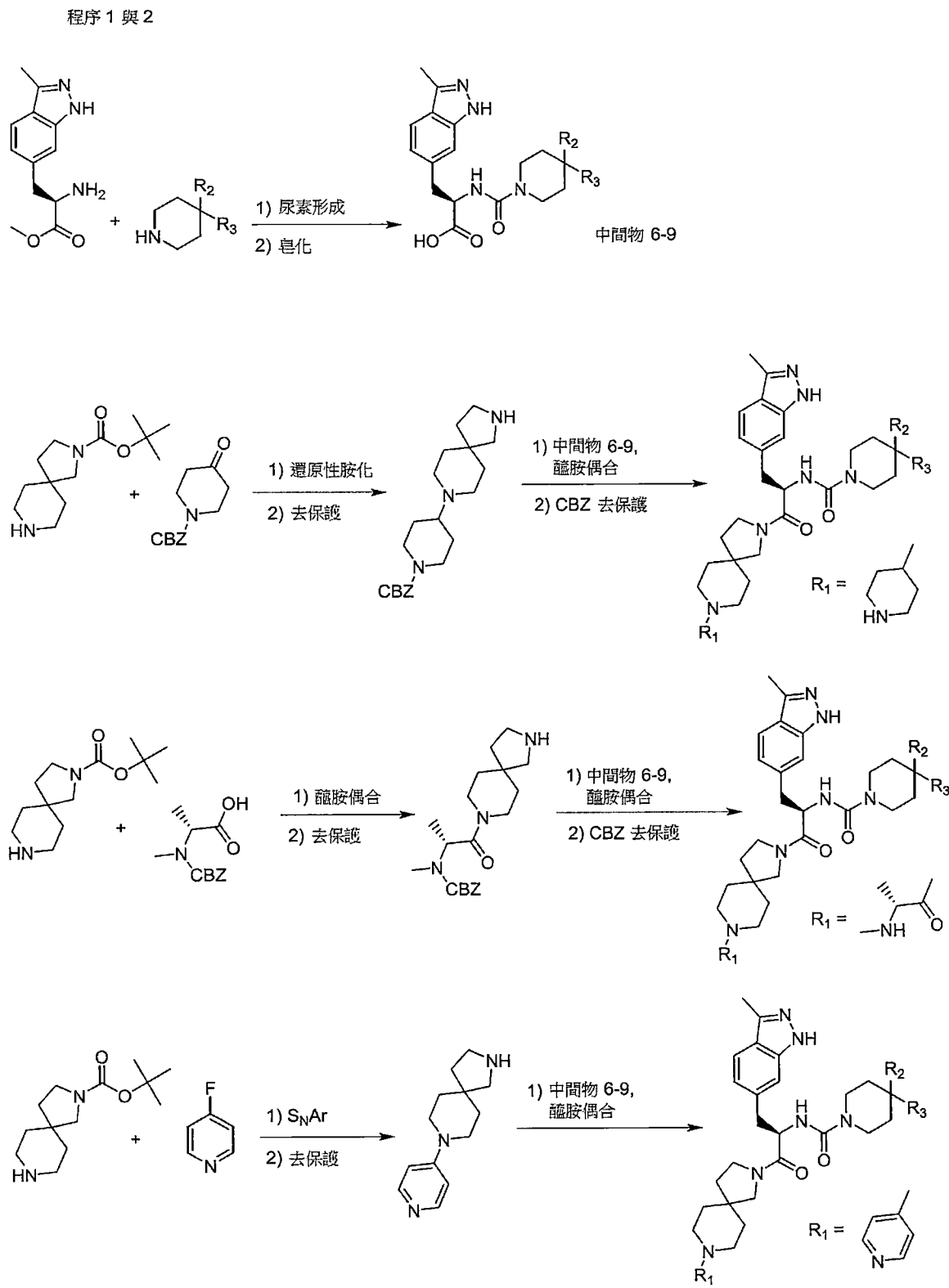
【0034】 劑量可根據患者之需要、欲治療的病況之嚴重性、與所利用的化合物而變化。特定情況之適當劑量之測定係於所屬技術領域中的技術內。一般地，治療係以比化合物之最理想的劑量少的較小的劑量開始。之後，劑量係以小型增加量增加直到達到在該情況下的最理想的功效。為了方便起見，若所欲，總每日劑量可在該日期間被分成數個部分並逐部分投予。

【0035】 當然，化合物之有效劑量之量會隨欲治療的病況之嚴重性之性質並隨特殊的化合物及其投予之途徑而變化。適當的劑量之挑選係落入所屬技術領域中具有通常知識者之能力內而無須過度負荷。一般而言，每日劑量範圍可為約 10 μg 至約 30 mg 每公斤體重的人類與非人類動物，較佳為約 50 μg 至約 30 mg 每公斤體重的人類與非人類動物，例如約 50 μg 至約 10 mg 每公斤體重的人類與非人類動物，例如約 100 μg 至約 30 mg 每公斤體重的人類與非人類動物，例如約 100 μg 至約 10 mg 每公斤體重的人類與非人類動物且最較佳為約 100 μg 至約 1 mg 每公斤體重的人類與非人類動物。

本發明之化合物之製備

【0036】 本發明之化合物可藉由（例如）包含該等於流程圖 1 中描繪的途徑製備。諸如該等於以下途徑中者以及可被用於執行相同轉變的其他者的許多標準轉變之細節可於諸如 “Organic Synthesis” , M. B. Smith, McGraw-Hill (1994)或 “Advanced Organic Chemistry” , 第 4 版, J. March, John Wiley & Sons (1992)的標準參考教科書中找到。

流程圖 1



【0037】 胺基酸中間物（例如胺基酸之甲基酯）與胺中間物間的尿素形成可在使用諸如 DSC 的偶合劑的條件下在諸如三乙基胺或 DIPEA 的鹼的

存在下於諸如 DMF 的溶劑中形成。隨後形成的尿素衍生物之甲基酯部分可使用諸如氫氧化鋰的水性鹼於諸如 THF、MeOH、1,4-二噁山、EtOAc 或其混合物的適合的溶劑中皂化。所形成的酸中間物可在標準條件下（例如使用諸如 HATU 的偶合劑，在諸如 DIPEA 的鹼的存在下在諸如 DMF 或 DCM 的適合的溶劑中）被轉變成醯胺實例。如此醯胺偶合之胺伙伴可使用標準轉變之適當組合製備（例如使用胺、醛或酮、以及諸如三乙醯氧基硼氫化鈉的還原劑於諸如 DCM 的溶劑中在醋酸的存在下的還原性胺化；或在諸如該等以上詳細描述者的條件下的醯胺形成；或親核性芳香族取代（ S_NAr ）反應）。於本發明之化合物之合成中，胺與經鹵化雜環間的 S_NAr 反應典型係於 80°C 下、於諸如 MeCN 的適當的溶劑中與在諸如 K_2CO_3 的鹼之存在下實施。在諸如以上者的標準轉變後、或在如此轉變之如此序列期間，移除標準保護性基團可能是必須的且可使用可於參考教科書（例如“Protecting Groups”，第三版，P. J. Kocienski, Georg Thieme Verlag (2005)）中找到的條件進行。一個如此轉變係在諸如 HCl 的酸性條件下於諸如 1,4-二噁山、MeOH、EtOH、DCM 或其組合的溶劑中自胺移除 *tert*-丁氧基羰基基團（通常稱為 Boc 基團）。咸可領會到具有另外的鹼性中心的本發明之胺中間物之 Boc 去保護可造成不同化學計量之氫氯化物鹽。例如，具有一個另外的鹼性中心的中間物之 Boc 去保護會造成例如單氫氯化物或二氫氯化物鹽的新的胺中間物之形成，其往往會不經中和氫氯化物鹽就使用以製造該中間物之自由鹼，因為咸領會到在隨後的醯胺形成中過量的諸如 DIPEA 或三乙基胺的鹼典型係用於中和氫氯化物鹽。不經中和成自由鹼就使用的藉由 Boc 去保護形成的本發明之胺中間物於本文中被稱為氫氯化物 ($x \text{ HCl}$)，且本發明延伸至該中間物之

所有鹽形式。另一個如此保護性基團移除係使用諸如在碳上藉由鈀的催化的還原條件於諸如 EtOH 或水性 EtOH 的溶劑中在氣體 H₂ 的存在下的經苯甲氧羰基（通常稱為 Cbz 或 Z 基團）保護的胺之去保護。用於移除經 Cbz 保護的基團的供選擇的條件包含轉換氫化，例如使用在碳上的鈀催化劑在或甲酸銨的存在下於諸如 EtOH 或水性 EtOH 的溶劑中於諸如 70°C 的提高了的溫度下。

一般程序

【0038】 當未包含製備途徑時，相關的中間物係商業上可購得的。商業上可購得的試劑係不進一步純化就利用。室溫 (rt) 係關於大約 20-27°C。除非另加具體指明，¹H NMR 光譜係於 400 MHz 或 600 MHz 在 Bruker、Varian 或 JEOL 儀器上於周圍溫度下記錄。化學位移值係以百萬分之一 (ppm) (即 (δ) 值) 表現。以下縮寫係用於 NMR 訊號之多重性：s=單重、br=寬、d=二重、t=三重、q=四重、quin=五重、h=七重、dd=二重之二重、dt=三重之二重、m=多重。偶合常數係列成 *J* 值，以 Hz 測量。NMR 與質譜術結果係針對背景波峰作校正。色層分離法係關於使用矽石執行且在正壓（快速色層分離法）條件下實施的管柱色層分離法。LCMS 實驗係使用電噴霧條件在以下條件下進行。LCMS 數據係以以下格式給出：質量離子 (Mass ion)、電噴霧模式（正或負）、滯留時間（實驗文字與表 1）；質量離子、電噴霧模式（正或負）、滯留時間、大約的純度（表 2）。

【0039】 方法 A。儀器：有 G1315A DAD 的 Hewlett Packard 1100，Micromass ZQ；管柱：Waters X-Bridge C-18，2.5 微米，2.1 x 20 mm 或 Phenomenex Gemini-NX C-18，3 微米，2.0 x 30 mm；梯度[時間 (min)]/於溶

劑 C 中的溶劑 D (%)] : 0.00/2、0.10/2、8.40/95、10.00/95 ; 溶劑 : 溶劑 C = 2.5 L H₂O + 2.5 mL 28% 氨, 於水溶液中 ; 溶劑 D = 2.5 L MeCN + 135 mL H₂O + 2.5 mL 28% 氨, 於水溶液中 ; 注射體積 1 L ; UV 偵測 230 至 400 nM ; 管柱溫度 45°C ; 流率 1.5 mL/min 。

【0040】 方法 B。儀器 : 有 Chemstation 軟體的 Agilent Technologies 1260 Infinity LC , 二極體陣列偵測器 , 有 API-ES 來源的 Agilent 6120B 單一四極 MS ; 管柱 : Phenomenex Gemini-NX C-18 , 3 微米 , 2.0 x 30 mm ; 梯度[時間 (min) / 於溶劑 C 中的溶劑 D (%)] : 0.00/5、2.00/95、2.50/95、2.60/5、3.00/5 ; 溶劑 C 與 D 係如以上於方法 A 中描述的 ; 注射體積 0.5 μL ; UV 偵測 190 至 400 nM ; 管柱溫度 40°C ; 流率 1.5 mL/min 。

縮寫

DCM = 二氯基甲烷

DIPEA = *N,N*-二異丙基乙基胺

DMAC = *N,N*-二甲基乙醯胺

DMF = 二甲基甲醯胺

DMSO = 二甲基亞砷

ES = 電噴霧

EtOAc = 乙酸乙酯

h = 小時

HATU = 1-[雙(二甲基胺基)次甲基]-1*H*-1,2,3-三唑并[4,5-*b*]吡啶陽離子
3-氧陰離子六氟磷酸酯

L = 公升

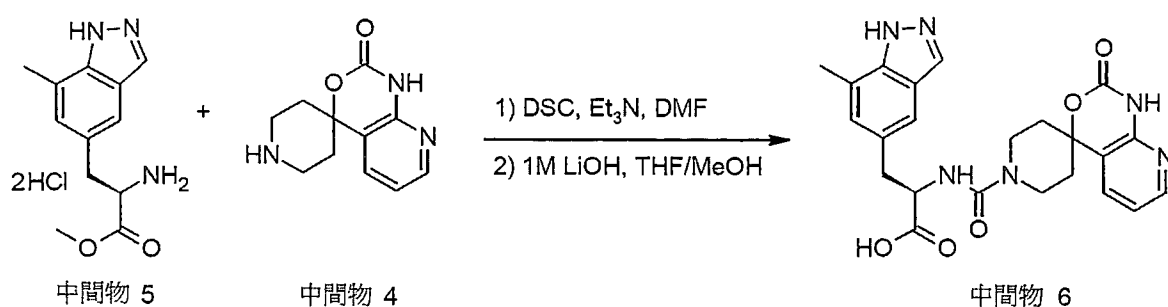
LC	=	液相色層分離法
LCMS	=	液相色層分離法質譜法
MeCN	=	乙腈
min	=	分鐘
MS	=	質譜法
NMR	=	核磁共振
rcf	=	相對離心力
rpm	=	每分鐘轉數
rt	=	室溫
s	=	秒
THF	=	四氫呋喃

前綴 *n*-、*s*-、*i*-、*t*-與 *tert*-具有其等之通常意義：正、二級、異、與三級。

中間物之合成

羧酸中間物之製備

用於經由尿素形成與隨後皂化來製備羧酸中間物的典型程序，如由中間物 6，(2*R*)-3-(7-甲基-1*H*-吡啶-5-基)-2-[[2'-側氧基-1',2'-二氫-1*H*-螺[哌啶-4,4'-吡啶并[2,3-*d*][1,3]嘔啡]-1-基)羰基]胺基}丙酸之製備例示的



【0041】 步驟 1)將 Et₃N(2.26 mL, 16.3 mmol)加至(*R*)-甲基 2-胺基-3-(7-甲基-1*H*-吡啶-5-基)丙酸酯二氫氯化物(中間物 5, 995 mg, 3.3 mmol)與 DSC (917 mg, 3.6 mmol)於 DMF (20 mL)中的溶液並於 rt 下攪拌混合物共 30 min。接著逐部分地添加螺[哌啶-4,4'-[4*H*]吡啶并[2,3-*d*][1,3]嘔井]-2'(*1H*)-酮(中間物 4, 785 mg, 3.6 mmol)並於 rt 下攪拌反應混合物共 18 h, 然後在真空內濃縮。在 H₂O 與 MeOH / DCM (1:9)間分配殘餘物, 分離各相並以 H₂O 洗滌水層。將來自分離步驟的殘餘的固體溶解在 MeOH 中並在真空內濃縮組合的有機層與藉由快速色層分離法純化, 以 EtOAc (於 MeOH 中) (20:1)洗提, 以產生呈白色固體的甲基(2*R*)-3-(7-甲基-1*H*-吡啶-5-基)-2-[(2'-側氧基-1',2'-二氫-1*H*-螺[哌啶-4,4'-吡啶并[2,3-*d*][1,3]嘔井]-1-基)羰基]胺基}丙酸酯 (1.06 g, 2.22 mmol)。

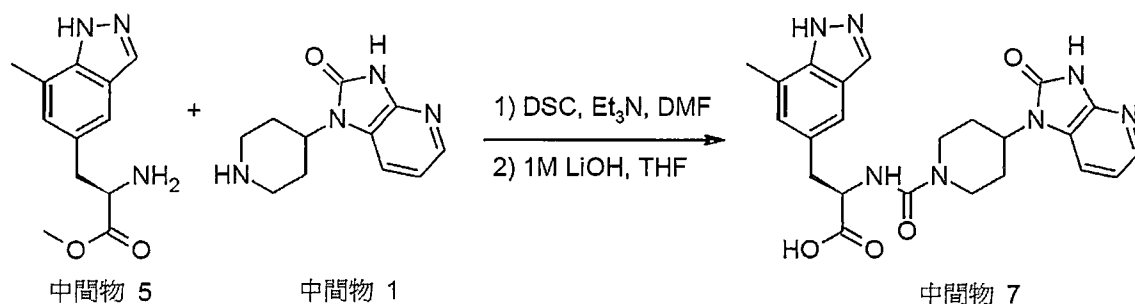
LCMS (方法 A): *m/z* 479.3 (ES⁺), 於 2.61 min, 100%。

¹H NMR: (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 1.59-1.75 (m, 2H), 1.78-1.90 (m, 2H), 2.45 (s, 3H), 2.90-3.08 (m, 4H), 3.59 (s, 3H), 3.86-3.96 (m, 2H), 4.28-4.38 (m, 1H), 6.94-7.06 (m, 3H), 7.32 (dd, *J*=7.4, 1.2, 1H), 7.39 (s, 1H), 7.95 (s, 1H), 8.18 (dd, *J*=5.1, 1.6, 1H), 10.79 (s, 1H), 13.04 (s, 1H)。

【0042】 步驟 2)將甲基(2*R*)-3-(7-甲基-1*H*-吡啶-5-基)-2-[(2'-側氧基-1',2'-二氫-1*H*-螺[哌啶-4,4'-吡啶并[2,3-*d*][1,3]嘔井]-1-基)羰基]胺基}丙酸酯 (1.06 g, 2.22 mmol)溶解於 THF (15 mL)與 MeOH (3 mL)中並逐滴添加 LiOH 之水溶液 (1M, 4.4 mL, 4.4 mmol)。在於 rt 下攪拌共 3.5 h 後, 逐滴添加另外的水性 LiOH (1M, 2.2 mL, 2.2 mmol)並於 rt 下攪拌混合物共 1 h, 然後在氮氣流下濃縮。將殘餘物溶解於最小量的 H₂O 中並冷卻至 0°C。

逐滴添加水性 1M HCl 以將 pH 調整至 ≤ 3 並藉由過濾分離所得的沈澱物、以冷 H₂O 與 Et₂O 洗滌以產生呈淺黃色固體的標題化合物(877 mg, 1.89 mmol)。
數據於表 1。

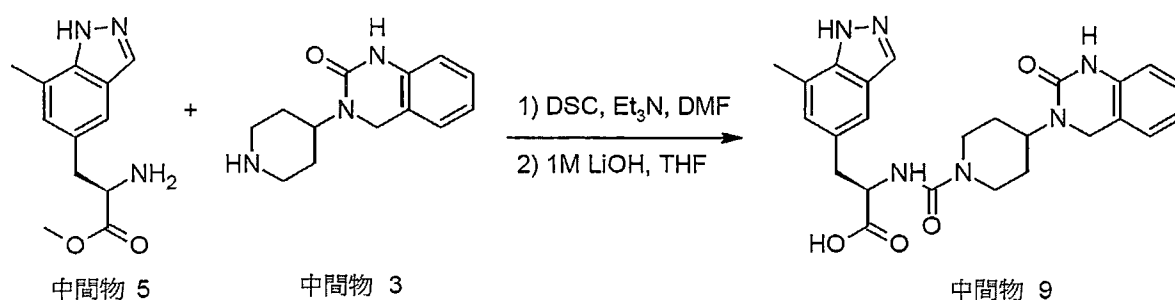
中間物 7, (2*R*)-3-(7-甲基-1*H*-吡唑-5-基)-2-([4-(2-側氧基-2,3-二氫-1*H*-咪唑并[4,5-*b*]吡啶-1-基)哌啶-1-基]羰基)胺基)丙酸



【0043】 標題化合物 (1.50 g, 3.2 mmol) 係以二步驟自(*R*)-甲基 2-胺基-3-(7-甲基-1*H*-吡唑-5-基)丙酸酯 (中間物 5, 1.00 g, 4.3 mmol) 與 1-(哌啶-4-基)-1,3-二氫-2*H*-咪唑并[4,5-*b*]吡啶-2-酮 (中間物 1, 1.02 g, 4.7 mmol) 使用中間物 6 之方法製備。

數據於表 1。

中間物 9, (2*R*)-3-(7-甲基-1*H*-吡唑-5-基)-2-([4-(2-側氧基-1,4-二氫喹啉-3(2*H*)-基)哌啶-1-基]羰基)胺基)丙酸

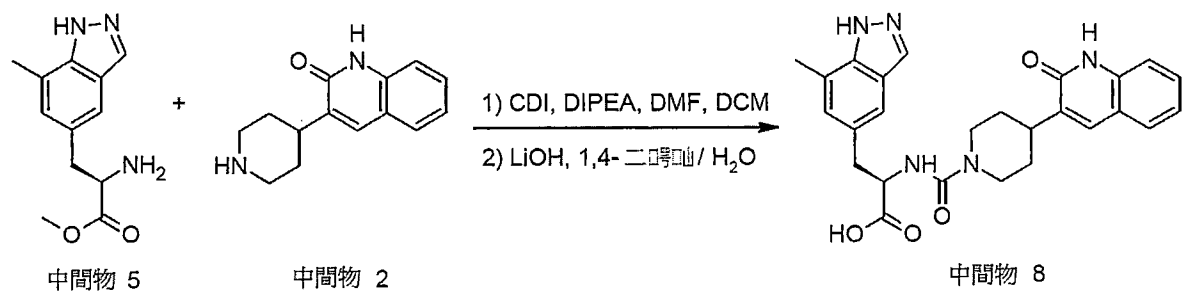


【0044】 標題化合物 (561 mg, 1.18 mmol) 係以二步驟自(*R*)-甲基 2-胺基-3-(7-甲基-1*H*-吡唑-5-基)丙酸酯 (中間物 5, 917 mg, 3.93 mmol) 與 3-(哌

啖-4-基)-3,4-二氫喹啉-2(1*H*)-酮（中間物 3，1.00 g，4.32 mmol）使用中間物 6 之方法製備。

數據於表 1。

中間物 8，(2*R*)-3-(7-甲基-1*H*-吡啶-5-基)-2-([4-(2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-基)哌啶-1-基]羰基)胺基)丙酸



【0045】 步驟 1)在 N₂下於大約-20℃ 下將 CDI (8.40 g，51.8 mmol) 加至(R)-甲基 2-胺基-3-(7-甲基-1*H*-吡啶-5-基)丙酸酯（中間物 5，6.05 g，25.9 mmol）於 DMF（60 mL）中的溶液並攪拌混合物共 15 min 同時將溫度維持在低於-10℃。添加 H₂O（2.34 mL）於一些 mL 的 DMF 中的溶液並持續攪拌共 15 min，同時將溫度維持在低於-10℃。接著以 3-(哌啶-4-基)喹啉-2(1*H*)-酮（中間物 2，6.99 g，30.6 mmol）、DIPEA（4.93 mL，28.2 mmol）與 DCM（20 mL）的順序添加其等並在 N₂下將混合物加熱至 40℃ 共 12 hr。於冷卻至 rt 後，添加 2M HCl（aq）（38.7 mL）並以 DCM 萃取混合物兩次。以 H₂O 洗滌組合的有機萃取物三次、乾燥（Na₂SO₄）並在真空內濃縮。藉由快速色層分離法純化，以 MeOH/DCM（5:95）洗提，產生呈淺棕黃固體的甲基(2*R*)-3-(7-甲基-1*H*-吡啶-5-基)-2-([4-(2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-基)哌啶-1-基]羰基)胺基)丙酸酯（10.4 g，21.3 mmol）。

¹H NMR: (400 MHz, CDCl₃) δ : 1.40-1.60 (m, 2H), 1.95-1.97 (m, 2H), 2.46 (s, 3H),

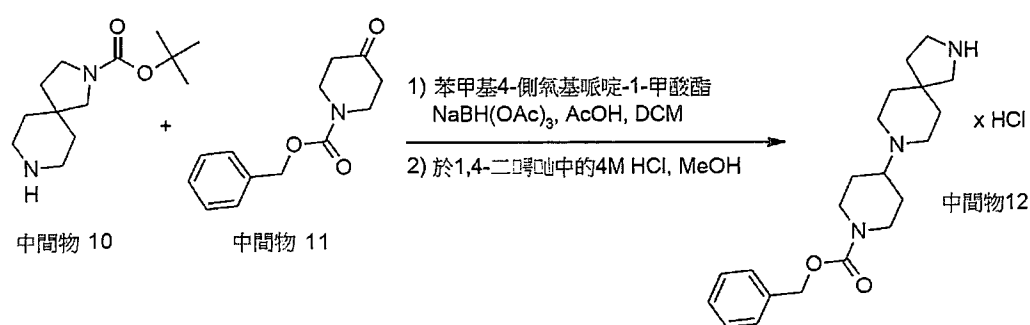
2.90-3.00 (m, 2H), 3.11-3.26 (m, 3H), 3.76 (s, 3H), 4.07-4.12 (m, 2H), 4.86-4.91 (m, 1H), 5.18 (d, J=7.6, 1H), 6.93 (s, 1H), 7.17-7.21 (m, 1H), 7.24 (s, 1H), 7.32 (s, 1H), 7.43-7.54 (m, 3H), 7.95 (s, 1H), 10.70 (s, 2H)。

【0046】 步驟 2)將 LiOH·H₂O (1.26 g, 30.0 mmol) 於 H₂O (150 mL) 中的溶液加至甲基(2*R*)-3-(7-甲基-1*H*-呋唑-5-基)-2-([4-(2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-基)哌啶-1-基]羰基)胺基)丙酸酯 (9.79 g, 20.1 mmol) 於 1,4-二噁山 (150 mL) 中的溶液並於 rt 下攪拌混合物共 2 h。在真空內將反應混合物濃縮至接近乾燥並將其再溶解於 H₂O 中，然後以水性 2M HCl (大約 15 mL) 酸化同時快速攪拌。藉由過濾分離所得的黏稠白色沈澱物並以 H₂O 洗滌直到被洗滌物之 pH 接近中性。在真空內乾燥產生呈灰白色固體的標題化合物 (8.11 g, 17.1 mmol)。

數據於表 1。

胺中間物之製備

中間物 12，苯甲基 4-(2,8-二氮螺[4.5]癸-8-基)哌啶-1-甲酸酯氫氯化物



【0047】 步驟 1)於 rt 下攪拌 *tert*-丁基 2,8-二氮螺[4.5]癸烷-2-甲酸酯(中間物 10, 0.50 g, 2.08 mmol)、苯甲基 4-側氧基哌啶-1-甲酸酯 (中間物 11, 583 mg, 2.50 mmol)、醋酸 (143 μ L, 2.50 mmol) 與三乙鹽氧基硼氫化鈉 (530 mg, 2.50 mmol) 於 DCM (10 mL) 中的混合物過夜。添加另外的苯甲基 4-

側氧基哌啶-1-甲酸酯（中間物 11，600 mg，2.57 mmol）與醋酸（150 μ L，2.62 mmol）並於 rt 下攪拌混合物共 1 h，之後添加另外的三乙醯氧基硼氫化鈉（550 mg，2.59 mmol）。於 rt 下攪拌混合物過夜，之後在真空內濃縮並藉由梯度快速色層分離法純化，以於 DCM 中的 0-10% MeOH 洗提，產生了 *tert*-丁基 8-{1-[(苯甲氧基)羰基]哌啶-4-基}-2,8-二氮螺[4.5]癸烷-2-甲酸酯（620 mg，1.35 mmol）。

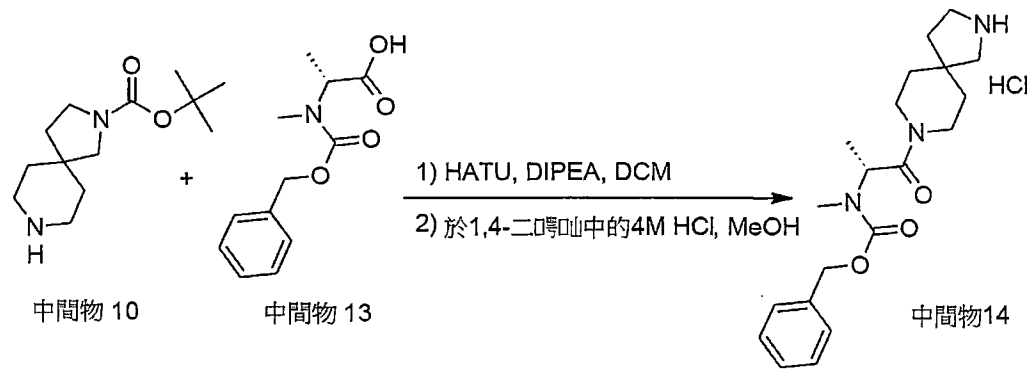
LCMS（方法 B）： m/z 458.2 (ES⁺)，於 1.70 min。

¹H NMR：(400 MHz，CDCl₃) δ ：ppm 1.45 (s, 9H), 1.48-1.56 (m, 1H), 1.64-1.74 (m, 4H), 1.87-1.96 (m, 2H), 2.51-1.85 (m, 10H), 3.30-3.43 (m, 4H), 4.19-4.32 (m, 2H), 5.11 (s, 2H), 7.30-7.40 (m, 5H)。

【0048】 步驟 2)將於 1,4-二噁吡喃中的 HCl（4M，5.0 mL，20.0 mmol）添加至(*tert*-丁基 8-{1-[(苯甲氧基)羰基]哌啶-4-基}-2,8-二氮螺[4.5]癸烷-2-甲酸酯（310 mg，0.68 mmol）於 MeOH（5 mL）中的溶液。於 rt 下攪拌混合物共 3 d，之後在真空內濃縮產生了標題化合物（無色固體，290 mg）。

數據於表 1。

中間物 14，苯甲基[(2R)-1-(2,8-二氮螺[4.5]癸-8-基)-1-側氧基丙-2-基]甲基胺
甲酸酯氫氯化物



【0049】 步驟 1)於 rt 下攪拌 *tert*-丁基 2,8-二氮螺[4.5]癸烷-2-甲酸酯(中間物 10, 865 mg, 3.60 mmol)、*N*-[(苯甲氧基)羰基]-*N*-甲基-*D*-丙胺酸(中間物 13, 712 mg, 3.00 mmol)、HATU (1.37 g, 3.60 mmol) 與 DIPEA (2.68 mL, 15.0 mmol) 於 DCM (25 mL) 中的混合物過夜。添加飽和的 NaHCO₃ 水溶液, 分離各相並在真空內濃縮有機相。藉由梯度快速色層分離法純化, 以於 DCM 中的 2-10% MeOH 洗提, 接著為製備性 HPLC (Phenomenex Gemini-NX 5 μ m C18 管柱, 100 x 30 mm, 以 50 至 80% MeCN/溶劑 B 在 12.5 min 的期間以 30 mL/min 洗提[其中溶劑 B 係 0.2%的 (28% NH₃/H₂O), 於 H₂O 中], 藉由於 205 nm 下監視來收集流份), 產生了呈無色泡沫的 *tert*-丁基 8-{*N*-[(苯甲氧基)羰基]-*N*-甲基-*D*-丙胺鹽基}-2,8-二氮螺[4.5]癸烷-2-甲酸酯 (1.08 g, 2.19 mmol)。

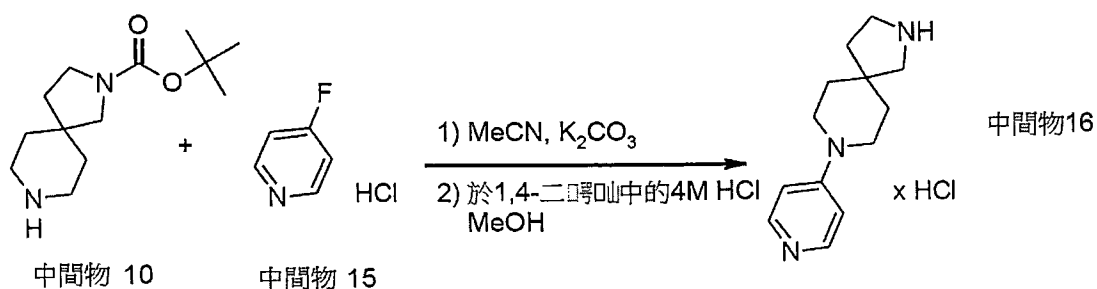
LCMS (方法 A): m/z 460.5 (ES⁺), 於 4.68 min。

¹H NMR: (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 1.10-1.29 (m, 5H), 1.30-1.47 (m, 1H), 1.39 (s, 9H), 1.52-1.77 (m, 2H), 2.67-2.77 (m, 3H), 2.87-3.12 (m, 3H), 3.12-3.35 (m, 5H), 3.46-3.76 (m, 1H), 4.88-5.09 (m, 2H), 5.12-5.22 (m, 1H), 7.25-7.42 (m, 5H)。

【0050】 步驟 2)標題化合物(白色泡沫, 1.08 g)係自步驟 1 的材料 (1.08 g, 2.19 mmol) 與於 1,4-二噁山中的 4M HCl (15 mL, 60.0 mmol) 於 MeOH (15 mL) 中使用中間物 12 之方法製備。

數據於表 1。

中間物 16, 8-(吡啶-4-基)-2,8-二氮螺[4.5]癸烷氫氯化物



【0051】 步驟 1)於 80°C 下加熱 *tert*-丁基 2,8-二氮螺[4.5]癸烷-2-甲酸酯 (中問物 10, 1.00 g, 4.16 mmol)、4-氟吡啶氫氯化物 (中問物 15, 614 mg, 4.60 mmol) 與 K₂CO₃ (1.74 g, 12.6 mmol) 於 MeCN (80 mL) 中的混合物過夜, 之後冷卻至 rt 並在真空內濃縮。在 EtOAc 與 H₂O 間分配殘餘物, 以鹵水洗滌有機相, 乾燥 (MgSO₄), 並在真空內濃縮。藉由梯度快速色層分離法純化, 以於 DCM 中的 0-100%溶劑 B 洗提 (其中溶劑 B 係 7N NH₃, 於 MeOH/DCM 中, 1:9) 產生了呈黏稠棕色油的 *tert*-丁基 8-(吡啶-4-基)-2,8-二氮螺[4.5]癸烷-2-甲酸酯(610 mg, 1.92 mmol)。

LCMS (方法 B): m/z 318.2 (ES⁺), 於 1.36 min。

¹H NMR: (400 MHz, CD₃OD) δ : 1.46 (s, 9H), 1.63-1.68 (m, 4H), 1.81-1.85 (m, 2H), 3.23 (s 2H), 3.36-3.54 (m, 6H), 6.82-6.83 (m, 2H), 8.07-8.09 (m, 2H)。

【0052】 步驟 2)標題化合物 (棕色油, 550 mg) 係自步驟 1)材料 (610 mg, 1.92 mmol) 與於 1,4-二噁山中的 4M HCl (10 mL) 使用中問物 12 之方法製備, 且不經純化即使用於實施例 7 之製備。

數據於表 1。

表 1.

中間物	名稱	數據
1	1-(哌啶-4-基)-1,3-二氫-2 <i>H</i> -咪唑并[4,5- <i>b</i>]吡啶-2-酮	商業上可購得的，CAS 編號 185961-99-3
2	3-(哌啶-4-基)喹啉-2(1 <i>H</i>)-酮	商業上可購得的，CAS 編號 205058-78-2
3	3-(哌啶-4-基)-3,4-二氫喹啉-2(1 <i>H</i>)-酮	商業上可購得的，CAS 編號 79098-75-2
4	螺[哌啶-4,4'-[4 <i>H</i>]吡啶并[2,3- <i>d</i>][1,3]噻吩]-2'(1' <i>H</i>)-酮	商業上可購得的，CAS 編號 753440-87-8
5	(<i>R</i>)-甲基 2-胺基-3-(7-甲基-1 <i>H</i> -吡唑-5-基)丙酸酯	商業上可購得的，CAS 編號 890044-58-3 (自由鹼)，CAS 編號 1414976-14-9 (二氫氯化物鹽)
6	(2 <i>R</i>)-3-(7-甲基-1 <i>H</i> -吡唑-5-基)-2-[(2'-側氧基-1',2'-二氫-1 <i>H</i> -螺[哌啶-4,4'-吡啶并[2,3- <i>d</i>][1,3]噻吩]-1-基)羰基]胺基}	LCMS(方法 A): <i>m/z</i> 463.5 (ES-)、465.3 (ES+)，於 0.10 min。 ¹ H NMR (400 MHz，DMSO- <i>d</i> ₆) δ: 1.53-1.91 (m, 4H), 2.44 (s, 3H), 2.89-3.14 (m, 5H), 3.89 (t, <i>J</i> =11.5,

中間物	名稱	數據
	丙酸	2H), 4.23 (br s, 1H), 6.73 (d, J=7.8, 1H), 6.93-7.06 (m, 2H), 7.31 (d, J=7.4, 1H), 7.38 (s, 1H), 7.93 (s, 1H), 8.17 (dd, J=5.1, 1.2, 1H), 10.78 (s, 1H), 13.00 (br s, 1H)
7	(2 <i>R</i>)-3-(7-甲基-1 <i>H</i> -吡啶-5-基)-2-([4-(2-側氧基-2,3-二氫-1 <i>H</i> -咪唑并[4,5- <i>b</i>]吡啶-1-基)羰基}胺基)丙酸	LCMS (方法 A) : m/z 464.1 (ES+), 於 1.14 min. ¹ H NMR (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ : 1.62-1.67 (m, 2H), 1.87-2.12 (m, 2H), 2.38-2.52 (m, 1H), 2.46 (s, 3H), 2.70-2.80 (m, 2H), 2.98 (dd, J=13.7, 9.8, 1H), 3.09 (dd, J=13.7, 4.3, 1H), 4.08 (br d, J=12.9, 2H), 4.20-4.27 (m, 1H), 4.28-4.38 (m, 1H), 6.75 (d, J=8.2, 1H), 6.88 (dd, J=7.8, 5.5, 1H), 7.42 (s, 1H), 7.27 (d, J=7.8, 1H), 7.42 (s, 1H), 7.88 (dd, J=5.1, 1.2, 1H), 7.96 (s, 1H), 11.54 (br s, 1H), 12.99 (br s, 1H)
8	(2 <i>R</i>)-3-(7-甲基-1 <i>H</i> -吡啶	LCMS (方法 A) : m/z 474.3

中間物	名稱	數據
	-5-基)-2-([4-(2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-基)哌啶-1-基]羰基)胺基)丙酸	(ES+), 於 1.82 min. ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ : 1.25-1.36 (m, 2H), 1.72-1.78 (m, 2H), 2.48 (s, 3H), 2.66-2.78 (m, 2H), 2.88-2.94 (m, 1H), 2.97-3.03 (m, 1H), 3.10 (dd, J=8.4, 3.4, 1H), 4.08 (d, J=12.0, 2H), 4.24-4.30 (m, 1H), 6.57 (d, J=8.0, 1H), 7.04 (s, 1H), 7.15 (dd, J=12.4, 1.2, 1H), 7.27 (d, J=8.4, 1H), 7.41-7.45 (m, 2H), 7.54 (s, 1H), 7.62 (dd, J=6.8, 1.2, 1H), 7.97 (s, 1H), 11.69 (s, 1H), 12.1-13.1 (br s, 2H)
9	(2 <i>R</i>)-3-(7-甲基-1 <i>H</i> -吡啶-5-基)-2-([4-(2-側氧基-1,4-二氫喹啉-3(2 <i>H</i>)-基)哌啶-1-基]羰基)胺基)丙酸	LCMS (方法 A): m/z 475.4 (ES-)、477.3 (ES+), 於 0.66 min. ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ : 1.36-1.66 (m, 4H), 2.47 (s, 3H), 2.59-2.78 (m, 2H), 2.92-3.14 (m, 3H), 4.00 (t, J=16.0, 2H), 4.06-4.20 (m, 2H), 4.20-4.33 (m, 1H), 6.47 (br s, 1H), 6.75 (d, J=7.8, 1H), 6.86 (t,

中間物	名稱	數據
		J=7.4, 1H), 7.01 (s, 1H), 7.06-7.17 (m, 2H), 7.36 (s, 1H), 7.96 (s, 1H), 9.21 (s, 1H), 12.99 (s, 1H)
10	<i>tert</i> -丁基 2,8-二氮螺[4.5]癸烷-2-甲酸酯	商業上可購得的，CAS 編號 336191-17-4
11	苯甲基 4-側氧基哌啶-1-甲酸酯	商業上可購得的，CAS 編號 19099-93-5
12	苯甲基 4-(2,8-二氮螺[4.5]癸-8-基)哌啶-1-甲酸酯	LCMS(方法 B): m/z 358.2 (ES+), 於 1.51 min。 ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ : ppm 1.49-1.59 (m, 2H), 1.74-1.80 (m, 2H), 1.85-1.96 (m, 4H), 2.07-2.10 (m, 2H), 2.88-2.96 (m, 4H), 3.11-3.13 (m, 1H), 3.18-3.26 (m, 2H), 3.28-3.34 (m, 4H), 4.09-4.13 (m, 2H), 5.06 (s, 2H), 7.30-7.38 (m, 5H), 9.22-9.33 (m, 2H), 10.38-10.95 (m, 1H)
13	<i>N</i> -[(苯甲氧基)羰基]- <i>N</i> -甲基-D-丙胺酸	商業上可購得的，CAS 編號 68223-03-0
14	苯甲基[(2 <i>R</i>)-1-(2,8-二氮	LCMS (方法 A): m/z 360.4

中間物	名稱	數據
	螺[4.5]癸-8-基)-1-側氧基 丙-2-基]甲基胺甲酸酯	(ES+), 於 5.21 min。 ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ : 1.09-1.22 (m, 3H), 1.22-1.57 (m, 4H), 1.59-1.87 (m, 2H), 2.68-2.80 (m, 3H), 2.82-3.08 (m, 2H), 3.11-3.33 (m, 4H), 3.56 (s, 3H), 4.86-5.22 (m, 3H), 7.10-7.57 (m, 5H), 9.20 (br s, 2H)
15	4-氟吡啶氫氯化物	商業上可購得的, CAS 編號 39160-31-1
16	8-(吡啶-4-基)-2,8-二氮螺 [4.5]癸烷氫氯化物	LCMS(方法 B): m/z 218.2 (ES+), 於 0.91 min。 ¹ H NMR: (400 MHz, CD ₃ OD) δ : 1.81-1.85 (m, 4H), 2.05-2.09 (m, 2H), 3.23 (s, 2H), 3.43-3.47 (m, 2H), 3.70-3.84 (m, 4H), 7.19-7.21 (m, 2H), 8.11-8.13 (m, 2H) (可交換的質子未觀察到)

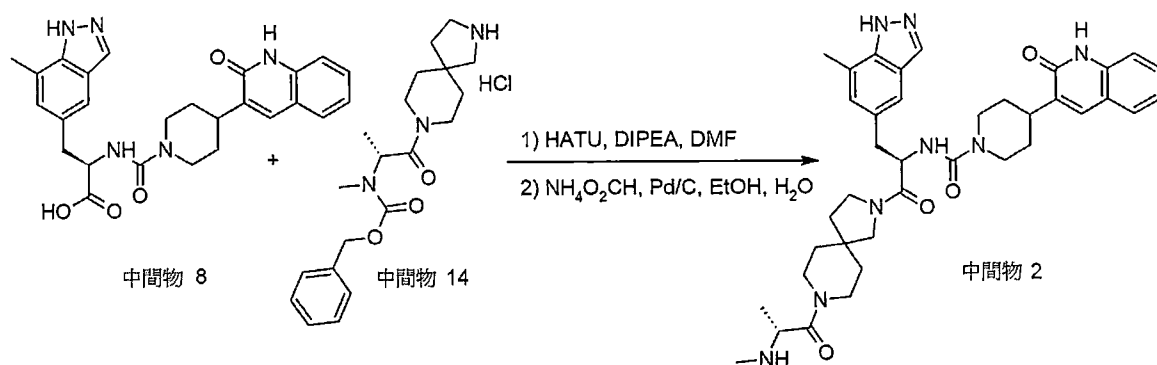
實施例之合成

【0053】 如由以下實施例之製備例示的用於經由醯胺偶合(與在適當

時去保護)來製備實施例的典型程序。

程序 1:

實施例 2, *N*-[(2*R*)-1-[8-(*N*-甲基-*D*-丙胺鹽基)-2,8-二氮螺[4.5]癸-2-基]-3-(7-甲基-1*H*-吡唑-5-基)-1-側氧基丙-2-基]-4-(2-側氧基-1,2-二氮喹啉-3-基)哌啶-1-甲
 鹽胺



【0054】 步驟 1)於 rt 下攪拌(2*R*)-3-(7-甲基-1*H*-吡唑-5-基)-2-([4-(2-側氧基-1,2-二氮喹啉-3-基)哌啶-1-基]羰基)胺基)丙酸 (中間物 8, 100 mg, 0.21 mmol)、苯甲基[(2*R*)-1-(2,8-二氮螺[4.5]癸-8-基)-1-側氧基丙-2-基]甲基胺甲酸酯氫氯化物 (中間物 14, 99 mg, 0.25 mmol)、HATU (96 mg, 0.25 mL) 與 DIPEA (146 μ L, 0.84 mmol) 於 DMF (5 mL) 中的混合物過夜, 之後在真空內濃縮。藉由梯度快速色層分離法純化, 以於 DCM 中的 0-10% MeOH 洗提產生了呈淺黃色固體的苯甲基甲基[(2*R*)-1-{2-[(2*R*)-3-(7-甲基-1*H*-吡唑-5-基)-2-([4-(2-側氧基-1,2-二氮喹啉-3-基)哌啶-1-基]羰基)胺基)丙鹽基]-2,8-二氮螺[4.5]癸-8-基}-1-側氧基丙-2-基]胺甲酸酯 (160 mg, 0.20 mmol)。

LCMS (方法 B): m/z 815.2 (ES⁺), 於 1.41 min, 95%。

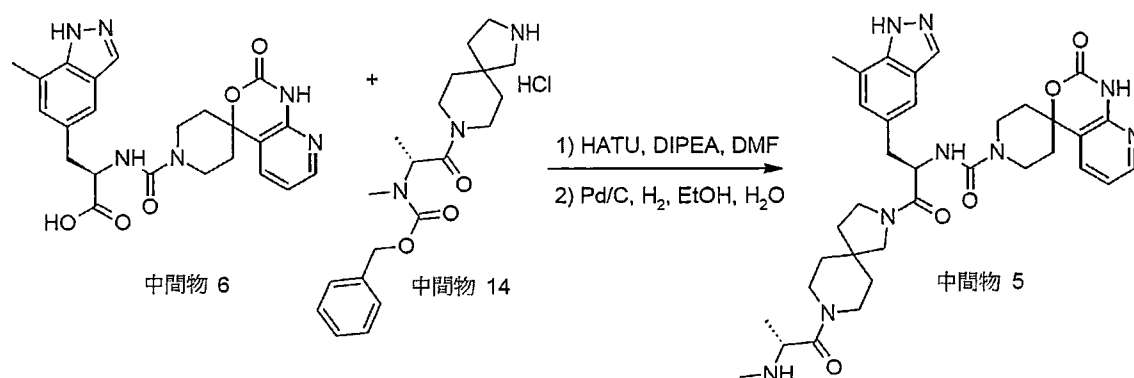
【0055】 步驟 2)將甲酸銨 (126 mg, 2.0 mmol) 添加至苯甲基甲基[(2*R*)-1-{2-[(2*R*)-3-(7-甲基-1*H*-吡唑-5-基)-2-([4-(2-側氧基-1,2-二氮喹啉-3-基)

哌啶-1-基]羰基}胺基)丙醯基]-2,8-二氫螺[4.5]癸-8-基}-1-側氧基丙-2-基]胺甲酸酯 (160 mg, 0.20 mmol) 於 EtOH (10 mL) 與 H₂O (2 mL) 中的混合物。添加在碳上的鈦 (10%, 10 mg) 並於 70°C 下加熱反應混合物過夜。在冷卻至 rt 後, 添加另外的甲酸銨 (126 mg, 2.0 mmol) 與在碳上的鈦 (10%、10 mg) 並於 70°C 下加熱混合物共 1 h, 之後冷卻至 rt, 通過矽藻土過濾, 並在真空內濃縮濾出物。藉由梯度快速色層分離法純化, 以於 DCM 中的 0-10% MeOH 洗提, 接著為製備性 HPLC (Phenomenex Gemini-NX 5 μ m C18 管柱, 100 x 30 mm, 以 20 至 40% MeCN/溶劑 B 於 12.5 min 的期間以 30 mL/min 洗提[其中溶劑 B 係 0.2% 的 (28% NH₃/H₂O), 於 H₂O 中], 藉由於 205 nm 下監視來收集流份), 產生了呈無色固體的標題化合物 (20 mg, 0.03 mmol)。

數據於表 2。

程序 2:

實施例 5, *N*-(2*R*)-1-[8-(*N*-甲基-D-丙胺醯基)-2,8-二氫螺[4.5]癸-2-基]-3-(7-甲基-1*H*-吡啶-5-基)-1-側氧基丙-2-基]-2'-側氧基-1',2'-二氫-1*H*-螺[哌啶-4,4'-吡啶并[2,3-*d*][1,3]嘔啡]-1-甲醯胺



【0056】 步驟 1) 苯甲基甲基[(2*R*)-1-{2-[(2*R*)-3-(7-甲基-1*H*-吡啶-5-基)-2-[(2'-側氧基-1',2'-二氫-1*H*-螺[哌啶-4,4'-吡啶并[2,3-*d*][1,3]嘔啡]-1-基)羰

基]胺基}丙醯基]-2,8-二氮螺[4.5]癸-8-基}-1-側氧基丙-2-基]胺甲酸酯 (26 mg, 0.03 mg) 係製備自(2*R*)-3-(7-甲基-1*H*-吡啶-5-基)-2-[[2'-側氧基-1',2'-二氫-1*H*-螺[哌啶-4,4'-吡啶并[2,3-*d*][1,3]嘔井]-1-基)羰基]胺基}丙酸 (中間物 6, 70 mg, 0.15 mmol)、苯甲基[(2*R*)-1-(2,8-二氮螺[4.5]癸-8-基)-1-側氧基丙-2-基]甲基胺甲酸酯氫氯化物 (中間物 14, 71 mg, 0.18 mmol)、HATU (68 mg, 0.18 mmol) 與 DIPEA (0.13 mL, 0.18 mmol) 於 DMF 中 (2 mL) 使用實施例 2, 步驟 1 之方法製備。

LCMS (方法 A): m/z 806.7 (ES⁺), 於 3.64 min。

¹H NMR: (400 MHz, CD₃OD) δ : ppm 0.17-1.06 (m, 2H), 1.06-1.47 (m, 7H), 1.47-1.75 (m, 1H), 1.76-1.96 (m, 1H), 2.03 (d, $J=5.1$, 3H), 2.19-2.43 (m, 1H), 2.52 (s, 3H), 2.69-2.96 (m, 5H), 2.96-3.24 (m, 7H), 3.40-3.55 (m, 1H), 3.55-3.97 (m, 1H), 4.07 (d, $J=10.5$, 2H), 4.52-4.74 (m, 1H), 4.97-5.12 (m, 1H), 5.13-5.33 (m, 1H), 6.93-7.19 (m, 3H), 7.20-7.65 (m, 9H), 7.89-8.06 (m, 1H), 8.20 (d, $J=4.7$, 1H)。

【0057】 步驟 2) 於 rt 下在 H₂ 之氛圍下攪拌苯甲基甲基 [(2*R*)-1-{2-[(2*R*)-3-(7-甲基-1*H*-吡啶-5-基)-2-[[2'-側氧基-1',2'-二氫-1*H*-螺[哌啶-4,4'-吡啶并[2,3-*d*][1,3]嘔井]-1-基)羰基]胺基}丙醯基]-2,8-二氮螺[4.5]癸-8-基}-1-側氧基丙-2-基]胺甲酸酯 (26 mg, 0.03 mg) 與在碳上的鈀 (10%、10 mg) 於 EtOH (2.5 mL) 與 H₂O (0.5 mL) 中的混合物過夜。在移除 H₂ 氛圍後, 透過矽藻土過濾混合物並在真空內濃縮濾出物以產生標題化合物 (22 mg, 0.03 mmol)。

數據於表 2。

藉由以上程序製備的進一步實施例係於表 2 中詳細說明。

表 2.

實 施 例 編 號	名稱	中間物／ 程序	¹ H NMR	LCMS 數 據 (方法 A)
1	<i>N</i> -{(2 <i>R</i>)-3-(7- 甲 基 -1 <i>H</i> -呋啞-5-基)-1- 側氧基-1-[8-(哌啶 -4-基)-2,8-二氮螺 [4.5]癸-2-基]丙-2- 基 }-4-(2- 側 氧 基 -2,3-二氫-1 <i>H</i> -咪啞 并 [4,5- <i>b</i>] 吡 啶 -1- 基)哌啶-1-甲醯胺	7、12 程序 1	(400 MHz , CD ₃ OD) δ : ppm 0.42-0.59 (m, 2H), 0.67-0.79 (m, 1H), 0.87-0.95 (m, 1H), 1.10-1.49 (m, 4H), 1.51-1.60 (m, 1H), 1.63-1.72 (m, 1H), 1.76-1.89 (m, 3H), 1.91-2.13 (m, 2H), 2.13-2.43 (m, 4H), 2.52-2.59 (m, 5H), 2.76-3.00 (m, 5H), 3.04-3.16 (m, 4H), 3.53-3.75 (m, 1H), 4.25-4.32 (m, 2H), 4.46-4.53 (m, 1H), 4.59-4.70 (m, 1H), 7.01-7.06 (m, 1H), 7.10-7.16 (m, 1H), 7.46-7.47 (m, 1H),	<i>m/z</i> 669.4 (ES ⁺) , 於 1.86 min , 95%

實 施 例 編 號	名稱	中間物／ 程序	¹ H NMR	LCMS 數 據 (方法 A)
			7.52-7.57 (m, 1H), 7.92-7.94 (m, 1H), 7.98-8.03 (m, 1H)(4個可交換的質子未觀察到)	
2	<i>N</i> [(2 <i>R</i>)-1-[8-(<i>N</i> -甲基-D-丙胺醯基)-2,8-二氮螺[4.5]癸-2-基]-3-(7-甲基-1 <i>H</i> -吡啶-5-基)-1-側氧基丙-2-基]-4-(2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-基)哌啶-1-甲醯胺	8、14 程序 1	(600 MHz, DMSO-d ₆ , 光譜於 353K 記錄) δ : ppm 0.83-0.96 (m, 2H), 1.04 (br s, 2H), 1.05 (br s, 1H), 1.32-1.54 (m, 5H), 1.56-1.67 (m, 1H), 1.75-1.84 (m, 2H), 2.16 (br s, 2H), 2.17 (br s, 1H), 2.49 (s, 3H), 2.70-2.84 (m, 3H), 2.89-2.99 (m, 4H), 3.06-3.15 (m, 2H), 3.25-3.35 (m, 1H), 3.36-3.52 (m, 3H), 3.65-3.77 (m, 1H), 4.12 (t,	m/z 681.7 (ES ⁺), 於 3.33 min, 100%

實 施 例 編 號	名稱	中間物／ 程序	¹ H NMR	LCMS 數 據 (方法 A)
			J=13.8, 2H), 4.61 (q, J=7.8, 1H), 6.29 (br s, 1H), 7.01 (s, 1H), 7.13 (ddd, J=7.8, 7.0, 1.1, 1H), 7.29 (d, J=8.3, 1H), 7.38 (s, 1H), 7.41 (ddd, J=8.3, 7.1, 1.5, 1H), 7.57 (s, 1H), 7.60 (dd, J=7.8, 1.0, 1H), 7.94 (s, 1H) (3 個可交換的質子未觀察到)	
3	<i>N</i> [(2 <i>R</i>)-1-[8-(<i>N</i> -甲基-D-丙胺鹽基)-2,8-二氮螺[4.5]癸-2-基]-3-(7-甲基-1 <i>H</i> -吡啶-5-基)-1-側氧基丙-2-基]-4-(2-側氧基	7、14 程序 1	(400 MHz, CD ₃ OD) δ : ppm 0.44-0.72 (m, 1H), 0.77-0.94 (m, 1H), 1.07-1.20 (m, 3H), 1.34-1.54 (m, 2H), 1.57-1.68 (m, 1H), 1.77-1.89 (m, 2H), 2.20 (s, 3H), 2.29-2.47 (m, 2H), 2.54 (s,	m/z 671.5 (ES ⁺), 於 2.57 min, 95%。

實施 例 編 號	名稱	中間物／ 程序	¹ H NMR	LCMS 數 據 (方法 A)
	-2,3-二氫-1 <i>H</i> -咪唑 并 [4,5- <i>b</i>] 吡 啶 -1- 基)哌啶-1-甲醯胺		3H), 2.73-2.82 (m, 1H), 2.90-3.02 (m, 2H), 3.06-3.45 (m, 7H), 3.49-3.59 (m, 3H), 3.63-3.81 (m, 1H), 4.25-4.28 (m, 2H), 4.43-4.55 (m, 1H), 4.60-4.71 (m, 1H), 7.00-7.05 (m, 1H), 7.10-7.16 (m, 1H), 7.46-7.55 (m, 2H), 7.90-8.02 (m, 2H)(4 個可交換的質子 未觀察到)	
4	<i>N</i> -{(2 <i>R</i>)-3-(7- 甲基 -1 <i>H</i> -吡啶-5-基)-1- 側氧基-1-[8-(哌啶 -4-基)-2,8- 二氫螺 [4.5]癸-2-基]丙-2- 基 }-4-(2- 側 氧 基	9、12 程序 2	(400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ : ppm 0.46-0.99 (m, 3H), 1.00-1.27 (m, 2H), 1.32 (br s, 3H), 1.40-1.66 (m, 7H), 1.89-2.10 (m, 2H), 2.10-2.25 (m, 2H), 2.27-2.43 (m, 3H),	m/z 682.6 (ES ⁺), 於 3.33 min , 99%。

實 施 例 編 號	名稱	中間物／ 程序	¹ H NMR	LCMS 數 據 (方法 A)
	-1,4- 二氫喹啉 -3(2 <i>H</i>)-基)哌啶-1- 甲醯胺		2.45 (d, J=2.3, 3H), 2.57-2.75 (m, 3H), 2.77-3.01 (m, 5H), 3.01-3.18 (m, 2H), 3.97-4.20 (m, 4H), 4.44 (quin, J=7.5, 1H), 6.67-6.90 (m, 3H), 6.98 (d, J=4.7, 1H), 7.03-7.22 (m, 3H), 7.36 (br s, 1H), 7.96 (s, 1H), 9.21 (s, 1H), 13.02 (d, J=9.0, 1H)	
5	<i>N</i> -[(2 <i>R</i>)-1-[8-(<i>N</i> - 甲 基 -D- 丙 胺 醯 基)-2,8- 二 氮 螺 [4.5]癸-2-基]-3-(7- 甲 基 -1 <i>H</i> -吡 啶 -5- 基)-1-側氧基丙-2- 基]-2'-側氧基-1',2'-	6、14 程序 2	(400 MHz , CD ₃ OD) δ : ppm 0.37-0.62 (m, 1H), 0.62-1.01 (m, 1H), 1.13 (t, J=6.2, 3H), 1.28 (s, 1H), 1.34-1.56 (m, 3H), 1.56-1.77 (m, 1H), 1.81-1.99 (m, 1H), 1.99-2.14 (m, 3H), 2.17-2.27	m/z 670.6 (ES) ⁻ 、 672.6 (ES) ⁺ ，於 2.60 min ， 100%。

實施例編號	名稱	中間物／程序	¹ H NMR	LCMS 數據 (方法 A)
	二氫-1 <i>H</i> -螺[哌啶-4,4'-吡啶并[2,3- <i>d</i>][1,3]嘔啡]-1-甲醯胺		(m, 4H), 2.43-2.53 (m, 1H), 2.54 (s, 3H), 2.70-2.94 (m, 1H), 2.95-3.26 (m, 5H), 3.37-3.81 (m, 4H), 4.07 (d, J=13.3, 2H), 4.54-4.76 (m, 1H), 6.95-7.21 (m, 2H), 7.37-7.52 (m, 1H), 7.53-7.65 (m, 1H), 8.00 (d, J=10.2, 1H), 8.21 (d, J=4.7, 1H) (4 個可交換的質子未觀察到)	
6	<i>N</i> -[(2 <i>R</i>)-1-[8-(<i>N</i> -甲基-D-丙胺醯基)-2,8-二氫螺[4.5]癸-2-基]-3-(7-甲基-1 <i>H</i> -吡啶-5-基)-1-側氧基丙-2-	9、14 程序 2	(400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ : ppm 0.39-0.94 (m, 2H), 0.98 (br s, 3H), 1.16-1.41 (m, 3H), 1.41-1.65 (m, 5H), 1.98-2.17 (m, 3H), 2.46 (s, 3H), 2.57-2.80 (m, 3H), 2.81-3.26	m/z 684.7 (ES ⁺), 於 3.08 min, 100%。

實 施 例 編 號	名稱	中間物／ 程序	¹ H NMR	LCMS 數 據 (方法 A)
	基]-4-(2- 側 氧 基 -1,4- 二 氫 喹 啉 -3(2 <i>H</i>)- 基) 吡 啶 -1- 甲 醯 胺		(m, 8H), 3.38-3.58 (m, 2H), 3.61-3.77 (m, 1H), 3.89-4.21 (m, 3H), 4.21-4.31 (m, 1H), 4.41-4.51 (m, 1H), 6.74 (d, J=7.8, 1H), 6.85 (t, J=7.4, 2H), 6.94-7.22 (m, 4H), 7.34-7.43 (m, 1H), 7.98 (d, J=6.6, 1H), 9.23 (s, 1H), 13.07 (br s, 1H)	
7	<i>N</i> -{(2 <i>R</i>)-3-(7- 甲 基 -1 <i>H</i> -呋 喃 -5-基)-1- 側 氧 基-1-[8-(吡 啶 -4-基)-2,8- 二 氫 螺 [4.5]癸 -2-基] 丙 -2- 基 }-4-(2- 側 氧 基 -2,3-二 氫 -1 <i>H</i> -咪 唑	7、16 程序 1、步 驟 1	(400 MHz , CD ₃ OD) δ : ppm 1.48-1.56 (m, 3H), 1.61-1.68 (m, 2H), 1.83-1.84 (m, 2H), 2.22-2.43 (m, 3H), 2.51-2.58 (m, 3H), 2.91-3.13 (m, 7H), 3.21-3.27 (m, 1H), 3.37-3.48 (m, 3H), 3.52-3.63	m/z 663.6 (ES ⁺) , 於 2.93 min , 99%。

實 施 例 編 號	名稱	中間物／ 程序	¹ H NMR	LCMS 數 據 (方法 A)
	并 [4,5- <i>b</i>] 吡 啶 -1- 基)哌啶-1-甲醯胺		(m, 1H), 4.23-4.31 (m, 2H), 4.45-4.51 (m, 1H), 4.67-4.75 (m, 1H), 6.66-6.76 (m, 2H), 7.02-7.08 (m, 1H), 7.13-7.17 (m, 1H), 7.49-7.57 (m, 2H), 7.94-7.96 (m, 1H), 8.03-8.10 (m, 3H)(3 個可交換的質子 未觀察到)	

生物方法

【0058】 選殖、桿狀病毒生產、Sf21 細胞之大規模感染與膜製備。

將人類類抑鈣素受體受體（CRLR）與人類 RAMP1 選殖至 Invitrogen（ThermoFisher Scientific，UK）之 pFastBac 雙重表現載體中。CRLR／RAMP1 DNA 之轉位係使用 Invitrogen 之 Bac 至 Bac 桿狀病毒表現系統執行。藉由以桿粒（bacmid）DNA 使用 Cellfectin® II 轉染試劑（ThermoFisher Scientific，UK，目錄編號 10362-100）轉染 SF9 細胞來生產 P0 桿狀病毒。於 P0 生產後，接著生產 P1 病毒以準備好用於大規模感染與膜製備。將 Sf21 細胞生長在以

10%經熱失活的 FBS 與 1% Pen/Strep 補充的表現培養基 ESF921 (Expression Systems, USA, 目錄編號 96-001-01) 中並於 2.5×10^6 個細胞/mL 的細胞密度以及 2 的 MOI 下感染。在 48 h 的期間於設在 27°C 下的震盪培養箱中進行表現。於 4°C 下於 2,500 rcf 下離心細胞培養物共 10 min。將沈澱小丸再懸浮於以 Roche 之完全無 EDTA 蛋白酶抑制劑混合錠 (Roche Applied Sciences, 目錄編號 05056489001)、1 mM PMSF 與 1 mM EDTA 補充的冷 PBS 中。接著於 4°C 下於 3,273 rcf 下離心經再懸浮的細胞糊漿共 12 min。丟棄上清液並將沈澱小丸冷凍於 -80°C 下。將來自 4 L 培養物的細胞沈澱小丸再懸浮於含有 50 mM Hepes pH 7.5、150 mM NaCl、8 個 Roche 無 EDTA 蛋白酶抑制劑混合錠與 1 mM PMSF 的緩衝液中。將懸浮液放置於 rt 下攪拌共 1 h 並接著使用 VDI 25 (VWR, USA) 均質機於 9,500 rpm 下均質化共 90 s。接著使用氣動式微流化處理器 M-110L (Microfluidics, USA) 溶胞細胞。於溶胞後，於 9,500 rpm 下均質化混合物共 90 s 並接著於 335 rcf 下離心共 10 min。接著進一步於 42,000 rpm 下超高速離心上清液共 90 min。於超高速離心後，丟棄上清液並將沈澱小丸再懸浮於 50 mL (對各 2 L 培養物各 25 mL) 含有 50 mM Hepes pH 7.5、150 mM NaCl、3 個 Roche 無 EDTA 蛋白酶抑制劑混合錠與 1 mM PMSF 的緩衝液中。接著於 9,500 rpm 下均質化懸浮液共 90 s。接著將所得的膜儲存於 -80°C 下。

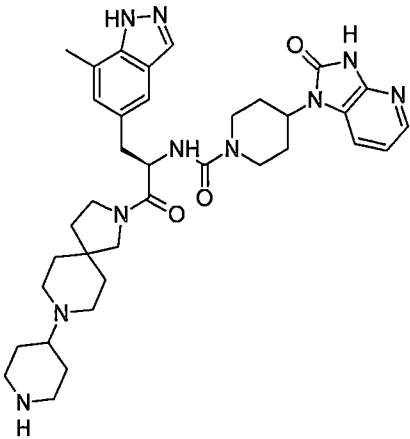
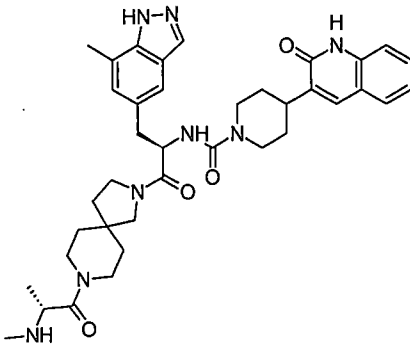
【0059】 放射性配體結合分析。將於昆蟲 Sf21 細胞膜均質物中表現的人類 CGRP 受體 (由 CRLR 與 RAMP1 組成) 再懸浮於結合緩衝液 (10 mM HEPES, pH 7.4、5 mM MgCl_2 、0.2% BSA) 中至每槽孔 0.6 μg 蛋白質的最終分析濃度。藉由於 rt 下添加各種各樣的濃度的 ^3H -telcagepant (Ho 等人, The

Lancet, 2008, 372, 2115) (於 250 μ L 的總反應體積) 共 60 min 來測定飽和等溫線。於培養最後，以 Tomtec 細胞收集器將膜過濾至 unifilter (其為有結合在其上的以 0.5% PEI 預先培養的 GF/B 濾紙的 96 槽孔白色微量盤) 上並以蒸餾水洗滌 5 次。在 10 nM MK-3207 氫氯化物 (CAS 編號 957116-20-0) 的存在下測量非專一性結合 (NSB)。在添加 50 μ L 的閃爍液後，在 microbeta 計數器上計數濾紙上的放射活性 (1 min)。對於抑制實驗，以 0.5 nM 3 H-telcagepant 與 10 種濃度的抑制性化合物 (0.001-10 μ M) 培養膜。自抑制曲線衍生 IC_{50} 值並使用 Cheng-Prusoff 等式 (Cheng 等人, Biochem. Pharmacol. 1973, 22, 3099-3108) 計算親和力常數 (K_i) 值。一些本發明之化合物之 pK_i 值 (其中 $pK_i = -\log_{10} K_i$) 係於表 3 中詳細說明。

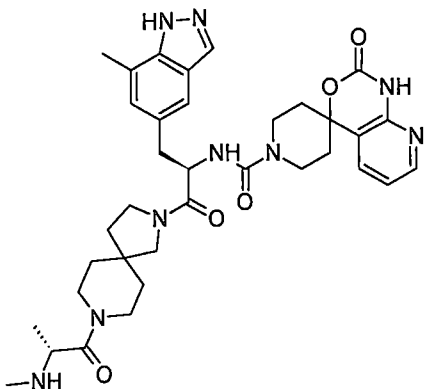
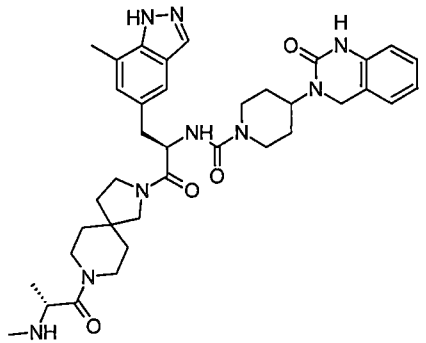
【0060】 cAMP 功能性分析。使用均相時間分辨螢光 (Homogeneous Time-Resolved Fluorescence, HTRF) cAMP dynamic-2 分析 (Cisbio, 法國) 測定於受體活化後的 cAMP 生產。以 12,500 個細胞/槽孔的密度將內生性表現人類 CGRP 受體的人類神經胚細胞瘤細胞系 SK-N-MC 種於實心壁 96 槽孔半面積盤 (Costar, 目錄編號 3688, Corning Life Sciences, 德國) 中。在於 37°C 下培養 16 h 後，移除培養基並於 37°C 下將細胞培養於含有 500 μ M IBMX (Tocris, Abingdon, UK, 目錄編號 2845) 與漸增濃度的測試拮抗劑的無血清培養基共 30 min。於此後，於 37°C 下以 EC_{80} 濃度的人類 CGRP (0.3 nM) 攻擊細胞另外 30 min 並接著按製造商之指引測定 cAMP 生產，之後在 PheraStar 螢光讀盤機 (BMG LabTech, 德國) 上讀盤。自抑制曲線衍生 IC_{50} 值。使用經修改的 Cheng-Prusoff 等式 (其中 K_d = 促效劑 EC_{50} 且 L_{hot} = 促效劑攻擊濃度) 將 pIC_{50} 值 (其中 $pIC_{50} = -\log_{10} IC_{50}$) 轉變成功能性 pK_b 值。一些

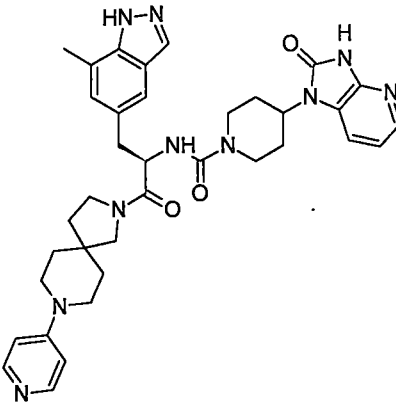
本發明之化合物之 pK_b 值係於表 3 中詳細說明。

表 3

實施例 編號	名稱	結構	pK_b 平均	pK_b 平 均
1	<i>N</i> -{(2 <i>R</i>)-3-(7- 甲 基 -1 <i>H</i> -呋唑-5-基)-1-側 氧基-1-[8-(哌啶-4- 基)-2,8-二氮螺[4.5] 癸-2-基] 丙-2- 基}-4-(2- 側 氧 基 -2,3-二氫-1 <i>H</i> -咪唑 并[4,5- <i>b</i>]吡啶-1-基) 哌啶-1-甲醯胺		9.8	9.6
2	<i>N</i> -[(2 <i>R</i>)-1-[8-(<i>N</i> - 甲 基 -D- 丙 胺 醯 基)-2,8-二氮螺[4.5] 癸-2-基]-3-(7-甲基 -1 <i>H</i> -呋唑-5-基)-1-側 氧基丙-2-基]-4-(2- 側氧基-1,2-二氫喹 啉-3-基)哌啶-1-甲		9.8	8.9

實施例 編號	名稱	結構	p <i>K</i> _a 平均	p <i>K</i> _b 平 均
	鹽胺			
3	<i>N</i> -[(2 <i>R</i>)-1-[8-(<i>N</i> - 甲 基 -D- 丙 胺 鹽 基)-2,8-二氮螺[4.5] 癸-2-基]-3-(7- 甲基 -1 <i>H</i> -呋唑-5-基)-1-側 氧基丙-2-基]-4-(2- 側氧基-2,3- 二氮 -1 <i>H</i> -咪唑并[4,5- <i>b</i>] 吡啶-1-基)哌啶-1- 甲鹽胺		10.1	9.2
4	<i>N</i> -{(2 <i>R</i>)-3-(7- 甲基 -1 <i>H</i> -呋唑-5-基)-1-側 氧基-1-[8-(哌啶-4- 基)-2,8-二氮螺[4.5] 癸-2-基]丙-2- 基}-4-(2- 側氧基		10.1	9.1

實施例 編號	名稱	結構	p <i>K</i> 平均	p <i>K</i> _s 平 均
	-1,4- 二 氫 喹 唑 啉 -3(2 <i>H</i>)-基)哌啶-1-甲 醯胺			
5	<i>N</i> -[(2 <i>R</i>)-1-[8-(<i>N</i> - 甲 基 -D- 丙 胺 醯 基)-2,8-二氮螺[4.5] 癸-2-基]-3-(7-甲基 -1 <i>H</i> -呋唑-5-基)-1-側 氧基丙-2-基]-2'-側 氧基-1',2'-二氫-1 <i>H</i> - 螺[哌啶-4,4'-吡啶并 [2,3- <i>d</i>][1,3]嘔啡]-1- 甲醯胺		10.0	9.3
6	<i>N</i> -[(2 <i>R</i>)-1-[8-(<i>N</i> - 甲 基 -D- 丙 胺 醯 基)-2,8-二氮螺[4.5] 癸-2-基]-3-(7-甲基 -1 <i>H</i> -呋唑-5-基)-1-側 氧基丙-2-基]-4-(2-		9.8	9.2

實施例 編號	名稱	結構	p <i>K</i> _a 平均	p <i>K</i> _b 平均
	側氧基-1,4-二氫喹 啉-3(2 <i>H</i>)-基)哌啶 -1-甲醯胺			
7	<i>N</i> -{(2 <i>R</i>)-3-(7- 甲 基 -1 <i>H</i> -吡啶-5-基)-1-側 氧基-1-[8-(吡啶-4- 基)-2,8-二氮螺[4.5] 癸 -2- 基] 丙 -2- 基 }-4-(2- 側 氧 基 -2,3-二氫-1 <i>H</i> -咪唑 并[4,5- <i>b</i>]吡啶-1-基) 哌啶-1-甲醯胺		10.3	9.4

【0061】 藥動學剖析。實施例與參考化合物之藥動學輪廓已於雄性 Sprague Dawley®大鼠中經由靜脈內的（iv）、皮下的（sc）與鼻內的（IN）遞送途徑評估，且已於雄性食蟹獼猴中經由 iv 與 sc 遞送途徑評估。本發明之實施例與參考化合物（olcegepant）之藥動學數據係於表 4 與 5 中詳細說明。

方法：對於大鼠研究，三隻雄性 Sprague Dawley®大鼠之群組（重量典型於

180 與 300 g 間的範圍) 係經由以下途徑之一給予單劑的實施例或參考化合物: iv、sc 或 IN, 使用表 4 中具體指明的劑量、劑量體積與媒劑。於 IN 給藥之前, 大鼠係以一肌肉內劑的 25-30 mg/kg 氯胺酮混合物(氯胺酮、xylazine 氫氧化物與乙醯丙嗪(acepromazine)順丁烯二酸鹽, 於食鹽水中) 麻醉且該劑係在 20-30 s 的期間經由插入至大鼠之鼻腔中大約 5 mm 的聚乙烯 PE-10 管來引入。

【0062】 對於食蟹獼猴研究, 三隻雄性猴子的群組(重量典型於 3.0 與 4.5 kg 間的範圍) 係經由以下途徑之一給予單劑的實施例或參考化合物: iv 或 sc, 使用表 5 中具體指明的劑量、劑量體積與媒劑。在藉由以上途徑給藥後, 於數個時間點(典型為給藥前、0.083、0.25、0.5 1、2、4、8 與 24 h) 經由連續尾靜脈抽血(大鼠)或頭靜脈或隱靜脈(猴子)自動物取血液樣本並離心以分離血漿以用於藉由 LC/MS/MS 分析來分析。使用 WinNonlin v6.2 統計軟體(Pharsight Corporation, 加利福尼亞州, USA) 以使用非隔間模型產生藥動學參數。

表 4.

	大鼠 iv 藥動學			
	劑量 (mg/kg)	劑量體積 (mL/kg)	媒劑	清除 (mL/min/kg)
olcegepant	5	1	10% DMAC + 10% SolutolHS15 + 80% 食鹽水	18
實施例 2	2	1	10% DMAC + 10% SolutolHS15 + 80% 食鹽水	7
大鼠 sc 藥動學				
	劑量 (mg/kg)	劑量體積 (mL/kg)	媒劑	生體可用率 (%)
olcegepant	1	5	10% DMAC + 10% SolutolHS15 + 80% 食鹽水	48%
實施例 2	1	2	經酸化的食鹽水	100%
大鼠 IN 藥動學				
	劑量 (mg/kg)	劑量濃度、 劑量體積	媒劑	生體可用率 (%)
olcegepant	1.3	6 mg/mL，50	經酸化的食鹽	8

		μL	水	
實施例 2	1	12 mg/mL, 25 μL	經酸化的食鹽 水	20

表 5.

	食蟹獼猴 iv 藥動學			
	劑量 (mg/kg)	劑量體積 (mL/kg)	媒劑	清除 (mL/min/kg)
實施例 2	1	1	經酸化的食鹽水	8
食蟹獼猴 sc 藥動學				
	劑量 (mg/kg)	劑量體積 (mL/kg)	媒劑	生體可用率 (%)
實施例 2	0.5	1	經酸化的食鹽水	100

【0063】 熱力學溶解度剖析。製備 50 mM 測試化合物之 DMSO 儲備溶液，且由此藉由以 DMSO 稀釋來製備 1 mM 之工作溶液。從 220 nm 至 1000 nm 掃描工作溶液之 UV 吸收以鑑認測試化合物之波長最大值。接著於 DMSO 中將 1 mM 工作溶液連續稀釋至不同的濃度以測定線性／校準曲線。為確認測試化合物之熱力學水溶解度，將樣本添加至一體積的 PBS 緩衝液(pH 7.4) 或磷酸鈉緩衝液 (pH 6.0)，其適用於在所有的測試化合物皆溶解時產生 1 mg/mL 的最終濃度。接著於 rt 下將所得的溶液放在 RotoSpin 搖動器上於 50

rpm 下共 24 h，之後使用 0.45 微米 PVDF 注射過濾器過濾溶液以移除不可溶的化合物之流份。隨後，取 150 uL 的濾出物以用於使用 UV 分光光度計定量，獲得於相同波長最大值下的標準溶液與測試化合物之光學密度。從測試化合物之光學密度，使用線性／校準曲線計算熱力學溶解度並以微莫耳濃度 (μM) 表現。一些本發明之化合物之溶解度輪廓係於表 6 中詳細說明。

表 6.

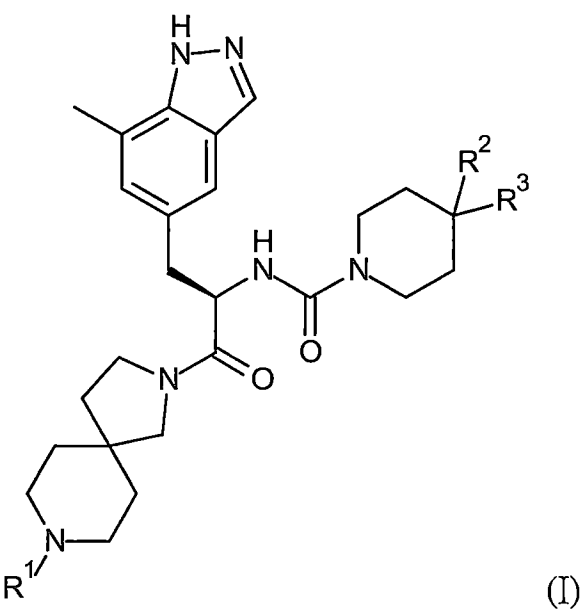
參考 Cpd／實施例	熱力學溶解度 (μM)	
	pH 6	pH 7.4
olcegepant	150	431
實施例 1	1029	未測試
實施例 2	1287	800
實施例 3	1432	1548
實施例 4	1346	1148
實施例 5	1575	1458
實施例 6	1496	1571
實施例 7	3627	2160

【符號說明】

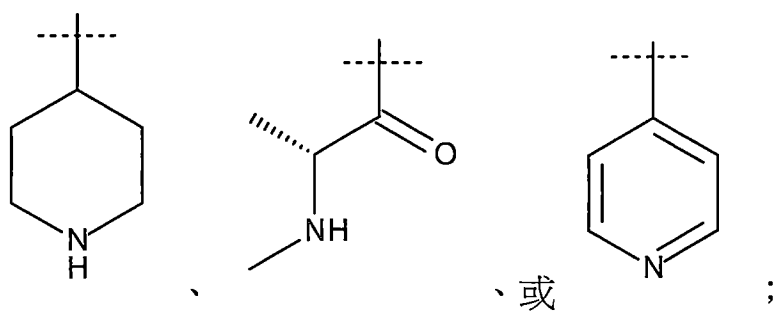
無

申請專利範圍

1.一種式(I)之化合物，



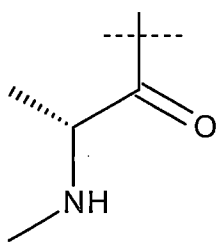
或其鹽，其中 R¹ 係



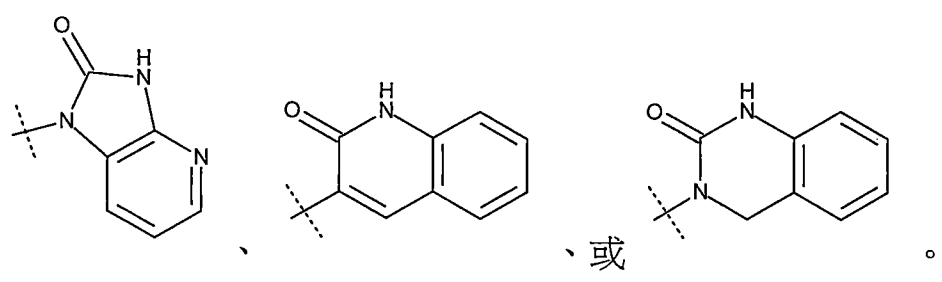
R² 係 H 或與 R³ 形成螺環性雜環；

R³ 與 R² 形成螺環性雜環，或若 R² 係 H 則 R³ 係雜環。

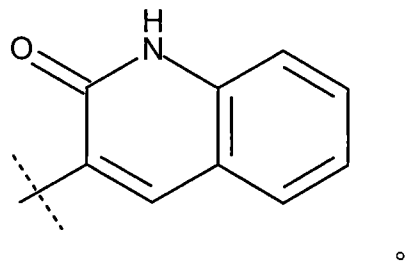
2.根據申請專利範圍第 1 項的化合物，其中 R¹ 係



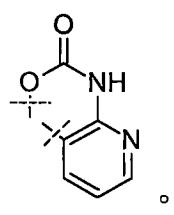
3.根據前述申請專利範圍中任一項的化合物，其中 R² 係 H 且 R³ 係：



4.根據申請專利範圍第 3 項的化合物，其中 R³係



5.根據申請專利範圍第 1 或 2 項的化合物，其中 R²與 R³形成螺環性雜環以形成：



6.根據前述申請專利範圍中任一項的化合物，其中該化合物係選自由以下者所組成的群組：

N-[(2*R*)-3-(7-甲基-1*H*-吡啶-5-基)-1-側氧基-1-[8-(哌啶-4-基)-2,8-二氮螺[4.5]癸-2-基]丙-2-基]-4-(2-側氧基-2,3-二氫-1*H*-咪唑并[4,5-*b*]吡啶-1-基)哌啶-1-甲醯胺；

N-[(2*R*)-1-[8-(*N*-甲基-*D*-丙胺醯基)-2,8-二氮螺[4.5]癸-2-基]-3-(7-甲基-1*H*-吡啶-5-基)-1-側氧基丙-2-基]-4-(2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-基)哌啶-1-甲醯胺；

N-[(2*R*)-1-[8-(*N*-甲基-*D*-丙胺醯基)-2,8-二氮螺[4.5]癸-2-基]-3-(7-甲基-1*H*-吡啶-5-基)-1-側氧基丙-2-基]-4-(2-側氧基-2,3-二氫-1*H*-咪唑并[4,5-*b*]吡啶-1-基)哌

啖-1-甲醯胺；

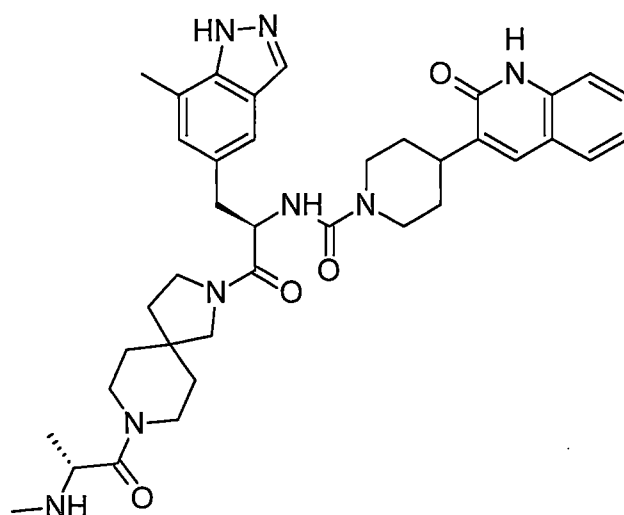
N-[(2*R*)-3-(7-甲基-1*H*-吡啶-5-基)-1-側氧基-1-[8-(哌啶-4-基)-2,8-二氮螺[4.5]癸-2-基]丙-2-基]-4-(2-側氧基-1,4-二氫喹啉-3(2*H*)-基)哌啶-1-甲醯胺；

N-[(2*R*)-1-[8-(*N*-甲基-*D*-丙胺醯基)-2,8-二氮螺[4.5]癸-2-基]-3-(7-甲基-1*H*-吡啶-5-基)-1-側氧基丙-2-基]-2'-側氧基-1',2'-二氫-1*H*-螺[哌啶-4,4'-吡啶并[2,3-*d*][1,3]嘔吩]-1-甲醯胺；

N-[(2*R*)-1-[8-(*N*-甲基-*D*-丙胺醯基)-2,8-二氮螺[4.5]癸-2-基]-3-(7-甲基-1*H*-吡啶-5-基)-1-側氧基丙-2-基]-4-(2-側氧基-1,4-二氫喹啉-3(2*H*)-基)哌啶-1-甲醯胺；與

N-[(2*R*)-3-(7-甲基-1*H*-吡啶-5-基)-1-側氧基-1-[8-(吡啶-4-基)-2,8-二氮螺[4.5]癸-2-基]丙-2-基]-4-(2-側氧基-2,3-二氫-1*H*-咪唑并[4,5-*b*]吡啶-1-基)哌啶-1-甲醯胺。

7.根據前述申請專利範圍中任一項的化合物，其中該化合物係：



8.一種經由非口服投予之途徑的根據申請專利範圍第 1 至 7 項中任一項的化合物的用途。

9.根據申請專利範圍第 8 項的用途，其中該非口服投予之途徑係鼻內的

途徑、皮下的途徑或靜脈內的途徑。

10.一種根據申請專利範圍第 1 至 7 項中任一項的化合物的用途，其係用於治療腦血管或血管疾患，包含無先兆的偏頭痛、慢性偏頭痛、純粹月經偏頭痛、與月經相關的偏頭痛、有先兆的偏頭痛、家族性偏癱偏頭痛、散發性偏癱偏頭痛、基底型偏頭痛、周期性嘔吐、腹部型偏頭痛、童年之良性陣發性眩暈、視網膜型偏頭痛、偏頭痛持續狀態（status migrainosus）、頭痛群、透析頭痛、陣發性半側顱痛（paroxysmal hemicrania）、骨關節炎、與更年期或導因於外科手術或藥物治療的醫藥誘發性更年期聯結的潮熱、連續性半側顱痛（hemicrania continua）、週期性嘔吐症候群、過敏性鼻炎、痤瘡、牙痛、耳痛、中耳發炎、曬傷、與骨關節炎及類風濕性關節炎聯結的關節疼痛、癌症疼痛、纖維肌痛、糖尿病神經病變、與發炎性腸病-克羅恩氏病聯結的疼痛、痛風、複雜性局部疼痛症候群、Behçet 氏病、子宮內膜異位疼痛、背痛或咳嗽。

11.一種用於治療以下者的方法，其使用根據申請專利範圍第 1 至 7 項中任一項的化合物：腦血管或血管疾患，包含無先兆的偏頭痛、慢性偏頭痛、純粹月經偏頭痛、與月經相關的偏頭痛、有先兆的偏頭痛、家族性偏癱偏頭痛、散發性偏癱偏頭痛、基底型偏頭痛、周期性嘔吐、腹部型偏頭痛、童年之良性陣發性眩暈、視網膜型偏頭痛、偏頭痛持續狀態、頭痛群、透析頭痛、陣發性半側顱痛、骨關節炎、與更年期或導因於外科手術或藥物治療的醫藥誘發性更年期聯結的潮熱、連續性半側顱痛、週期性嘔吐症候群、過敏性鼻炎、痤瘡、牙痛、耳痛、中耳發炎、曬傷、與骨關節炎及類風濕性關節炎聯結的關節疼痛、癌症疼痛、纖維肌痛、糖尿病神經病變、

與發炎性腸病-克羅恩氏病聯結的疼痛、痛風、複雜性局部疼痛症候群、Behçet 氏病、子宮內膜異位疼痛、背痛或咳嗽。

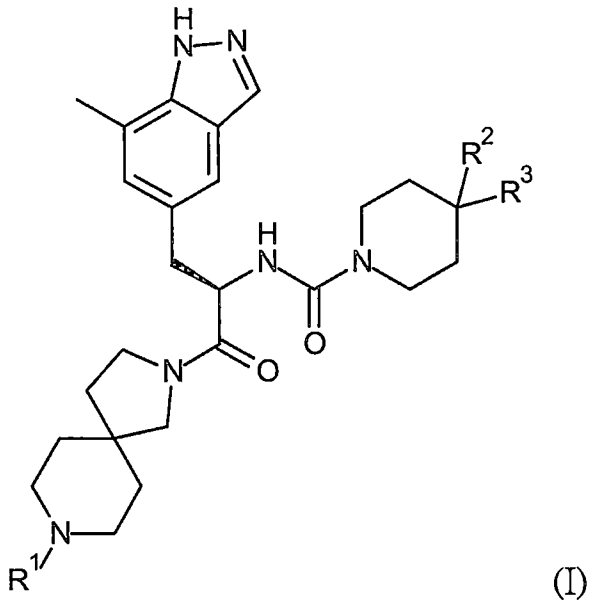
12.根據申請專利範圍第 11 項的方法，其中該化合物係經由非口服途徑投予。

13.根據申請專利範圍第 12 項的方法，其中該非口服投予之途徑係鼻內的途徑、皮下的途徑或靜脈內的途徑。

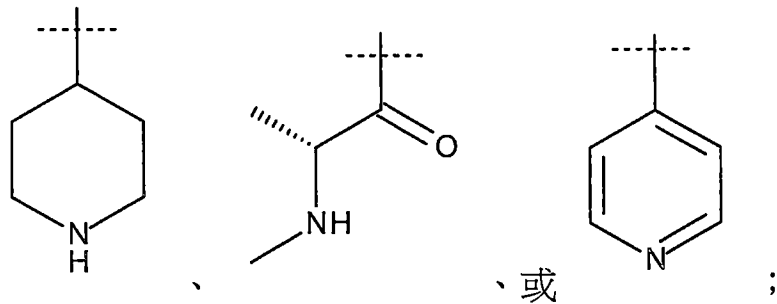
14.一種合成根據申請專利範圍第 1 至 7 項中任一項的化合物的方法。

申請專利範圍

1.一種式(I)之化合物，



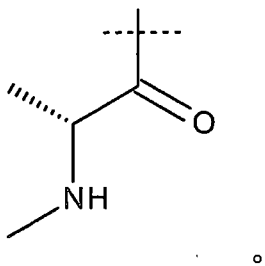
或其鹽，其中 R¹ 係



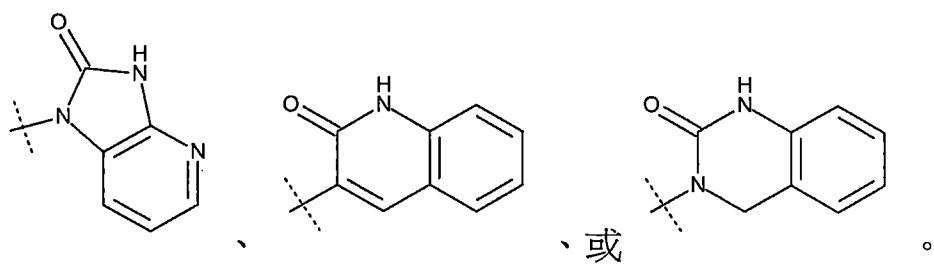
R² 係 H 或與 R³ 形成螺環性雜環；

R³ 與 R² 形成螺環性雜環，或若 R² 係 H 則 R³ 係雜環。

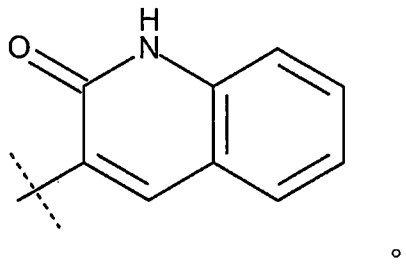
2.根據申請專利範圍第 1 項的化合物，其中 R¹ 係



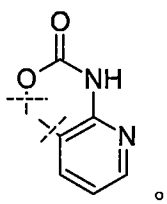
3.根據申請專利範圍第 1 項或第 2 項的化合物，其中 R² 係 H 且 R³ 係：



4.根據申請專利範圍第 3 項的化合物，其中 R³係



5.根據申請專利範圍第 1 或 2 項的化合物，其中 R²與 R³形成螺環性雜環以形成：



6.根據申請專利範圍第 1 項的化合物，其中該化合物係選自由以下者所組成的群組：

N-[(2*R*)-3-(7-甲基-1*H*-吡啶-5-基)-1-側氧基-1-[8-(哌啶-4-基)-2,8-二氮螺[4.5]癸-2-基]丙-2-基]-4-(2-側氧基-2,3-二氫-1*H*-咪唑并[4,5-*b*]吡啶-1-基)哌啶-1-甲醯胺；

N-[(2*R*)-1-[8-(*N*-甲基-D-丙胺鹽基)-2,8-二氮螺[4.5]癸-2-基]-3-(7-甲基-1*H*-吡啶-5-基)-1-側氧基丙-2-基]-4-(2-側氧基-1,2-二氫喹啉-3-基)哌啶-1-甲醯胺；

N-[(2*R*)-1-[8-(*N*-甲基-D-丙胺鹽基)-2,8-二氮螺[4.5]癸-2-基]-3-(7-甲基-1*H*-吡啶-5-基)-1-側氧基丙-2-基]-4-(2-側氧基-2,3-二氫-1*H*-咪唑并[4,5-*b*]吡啶-1-基)哌

啖-1-甲醯胺；

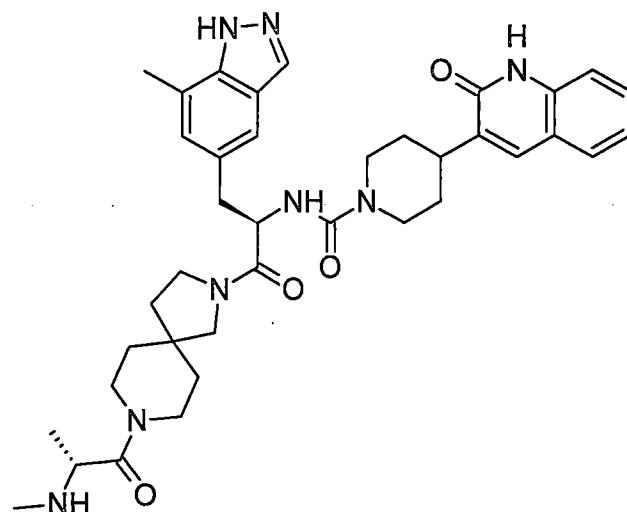
N-[(2*R*)-3-(7-甲基-1*H*-吡啶-5-基)-1-側氧基-1-[8-(哌啶-4-基)-2,8-二氮螺[4.5]癸-2-基]丙-2-基]-4-(2-側氧基-1,4-二氫喹啉-3(2*H*)-基)哌啶-1-甲醯胺；

N-[(2*R*)-1-[8-(*N*-甲基-*D*-丙胺醯基)-2,8-二氮螺[4.5]癸-2-基]-3-(7-甲基-1*H*-吡啶-5-基)-1-側氧基丙-2-基]-2'-側氧基-1',2'-二氫-1*H*-螺[哌啶-4,4'-吡啶并[2,3-*d*][1,3]嘔吩]-1-甲醯胺；

N-[(2*R*)-1-[8-(*N*-甲基-*D*-丙胺醯基)-2,8-二氮螺[4.5]癸-2-基]-3-(7-甲基-1*H*-吡啶-5-基)-1-側氧基丙-2-基]-4-(2-側氧基-1,4-二氫喹啉-3(2*H*)-基)哌啶-1-甲醯胺；與

N-[(2*R*)-3-(7-甲基-1*H*-吡啶-5-基)-1-側氧基-1-[8-(吡啶-4-基)-2,8-二氮螺[4.5]癸-2-基]丙-2-基]-4-(2-側氧基-2,3-二氫-1*H*-咪唑并[4,5-*b*]吡啶-1-基)哌啶-1-甲醯胺。

7.根據申請專利範圍第 1 項的化合物，其中該化合物係：



8.一種根據申請專利範圍第 1 至 7 項中任一項的化合物的用途，其係用於製造用於經由非口服投予之途徑投予的醫藥品。

9.根據申請專利範圍第 8 項的用途，其中該非口服投予之途徑係鼻內的

途徑、皮下的途徑或靜脈內的途徑。

10.一種根據申請專利範圍第 1 至 7 項中任一項的化合物的用途，其係用於製造用於治療以下者的醫藥品：腦血管或血管疾患，包含無先兆的偏頭痛、慢性偏頭痛、純粹月經偏頭痛、與月經相關的偏頭痛、有先兆的偏頭痛、家族性偏癱偏頭痛、散發性偏癱偏頭痛、基底型偏頭痛、周期性嘔吐、腹部型偏頭痛、童年之良性陣發性眩暈、視網膜型偏頭痛、偏頭痛持續狀態、頭痛群、透析頭痛、陣發性半側顱痛、骨關節炎、與更年期或導因於外科手術或藥物治療的醫藥誘發性更年期聯結的潮熱、連續性半側顱痛、週期性嘔吐症候群、過敏性鼻炎、痤瘡、牙痛、耳痛、中耳發炎、曬傷、與骨關節炎及類風濕性關節炎聯結的關節疼痛、癌症疼痛、纖維肌痛、糖尿病神經病變、與發炎性腸病-克羅恩氏病聯結的疼痛、痛風、複雜性局部疼痛症候群、Behçet 氏病、子宮內膜異位疼痛、背痛或咳嗽。

11.根據申請專利範圍第 10 項的用途，其中該醫藥品係經由非口服途徑投予。

12.根據申請專利範圍第 11 項的用途，其中該非口服投予之途徑係鼻內的途徑、皮下的途徑或靜脈內的途徑。

13.一種合成根據申請專利範圍第 1 至 7 項中任一項的化合物的方法。