

發明專利說明書

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※ 申請案號： 95142793

※ 申請日期： 95.11.15

※IPC 分類： C07D 451/02
~~C07D; A61K~~
A61K 31/46

一、發明名稱：(中文/英文)

作為 5-HT₄ 受體激動劑之胺基甲酸酯化合物

CARBAMATE COMPOUNDS AS 5-HT₄ RECEPTOR AGONISTS

二、申請人：(共 1 人)

姓名或名稱：(中文/英文)

美商施萬製藥

THERAVANCE, INC.

代表人：(中文/英文)

傑佛瑞 A 荷根漢

HAGENAH, JEFFREY A.

住居所或營業所地址：(中文/英文)

美國加州南舊金山市林蔭大道901號

901 GATEWAY BOULEVARD SOUTH SAN FRANCISCO CA 94080

U. S. A.

國 籍：(中文/英文)

美國 U.S.A.

三、發明人：(共 5 人)

姓 名：(中文/英文)

1. 丹尼爾 D 羅恩
LONG, DANIEL D.
2. 崔錫基
CHOI, SEOK-KI
3. 保羅 R 費瑟里
FATHEREE, PAUL R.
4. 亞當 A 戈登布
GOLDBLUM, ADAM A.
5. 丹尼爾 馬奎斯
MARQUESS, DANIEL

國 籍：(中文/英文)

1. 英國 U.K.
2. 韓國 REPUBLIC OF KOREA
3. 美國 U.S.A.
4. 美國 U.S.A.
5. 英國 U.K.

四、聲明事項：

☐ 主張專利法第二十二條第二項 ☐ 第一款或 ☐ 第二款規定之事實，其事實發生日期為： 年 月 日。

☒ 申請前已向下列國家(地區)申請專利：

【格式請依：受理國家(地區)、申請日、申請案號 順序註記】

☒ 有主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

1. 美國；2005年11月22日；60/738,702

2.

☐ 無主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

1.

2.

☐ 主張專利法第二十九條第一項國內優先權：

【格式請依：申請日、申請案號 順序註記】

☐ 主張專利法第三十條生物材料：

☐ 須寄存生物材料者：

國內生物材料 【格式請依：寄存機構、日期、號碼 順序註記】

國外生物材料 【格式請依：寄存國家、機構、日期、號碼 順序註記】

☐ 不須寄存生物材料者：

所屬技術領域中具有通常知識者易於獲得時，不須寄存。

九、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於用作5-HT₄受體激動劑之苯并咪唑酮-羧醯胺衍生之胺基甲酸酯化合物。本發明亦係關於包含該等化合物之醫藥組合物、使用該等化合物用於治療或防止由5-HT₄受體活性介導之醫學病況之方法，及用於製備該等化合物之方法及中間體。

【先前技術】

血清素(5-羥基色胺，5-HT)為廣泛分佈在整個身體(同時在中樞神經系統及周邊系統兩者中)之神經傳遞素。已識別至少七種血清素受體之亞型，且血清素與此等不同受體之相互作用與多種生理功能相關聯。因此，大體上關注於發展靶向特異性5-HT受體亞型之治療劑。

詳言之，5-HT₄受體之表徵及與其相互作用之藥劑的識別已成為重大新近活動之焦點。(見(例如)Langlois及Fischmeister之綜述，*J. Med. Chem.* **2003**, 46, 319-344。)5-HT₄受體激動劑用於治療腸胃道活動性降低之病症。該等病症包括大腸急躁症(IBS)、慢性便秘、功能性消化不良、胃排空延遲、胃食道逆流病(GERD)、胃輕癱、手術後腸梗阻、腸假性阻塞及藥物誘發性延遲傳輸。另外，建議某些5-HT₄受體激動劑化合物可用於治療包括認知病症、行為病症、情感病症及自主功能控制病症之中樞神經系統病症。

儘管調節5-HT₄受體活性之藥劑有廣泛效用，但目前僅

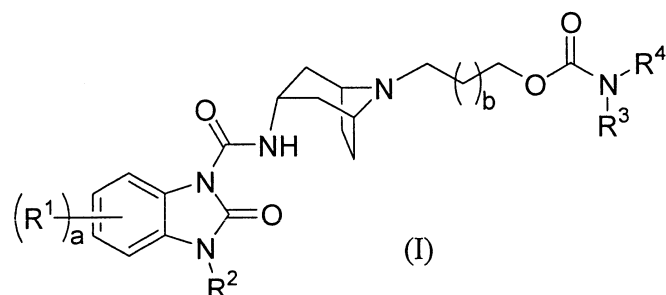
少數 5-HT₄ 受體激動劑化合物用於臨床用途中。

因此，需要以最小副作用達到其所要效應之新型 5-HT₄ 受體激動劑。較佳藥劑可擁有(除其他特性以外)改良之選擇性、效能、藥物動力學特性及/或作用持續時間。

【發明內容】

本發明提供一種新穎化合物，其具有 5-HT₄ 受體激動劑活性。除其他特性以外，已發現本發明之化合物為有效及選擇性 5-HT₄ 受體激動劑。另外，發現本發明之化合物展現預測對於口服投藥之良好生物可用性的有利藥物動力學特性。

因此，本發明提供一種式(I)化合物：



或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物或立體異構體，

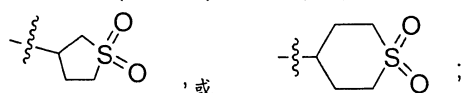
其中：

R¹ 為鹵基或 C₁₋₃ 烷基，其中 C₁₋₃ 烷基視情況經羥基或鹵基取代；

R² 為氫或 C₁₋₃ 烷基，其中 C₁₋₃ 烷基視情況經羥基取代；

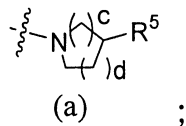
R³ 為 C₁₋₃ 烷基或氫；

R⁴ 為 -(CH₂)₁₋₃C(O)NR^aR^b，

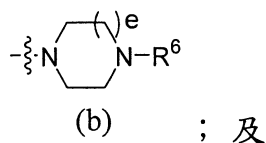


或 R^3 及 R^4 連同其所連接之氮原子形成一部分，該部分選自：

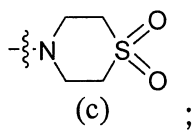
(i) 一式 (a) 之部分：



(ii) 一式 (b) 之部分：



(iii) 一式 (c) 之部分：



其中：

R^5 為 $-\text{OC}(\text{O})\text{NR}^a\text{R}^b$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^a\text{R}^b$ 、 $-\text{NR}^d\text{S}(\text{O})_2\text{C}_{1-3}$ 烷基、 $-\text{NR}^d\text{C}(\text{O})\text{R}^c$ 、 $-\text{NR}^d\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^a\text{R}^b$ 或 $-\text{NR}^d\text{C}(\text{O})\text{OR}^e$ ；

R^6 為 $-\text{C}(\text{O})\text{R}^f$ 、 $-(\text{CH}_2)_2\text{OR}^g$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^a\text{R}^b$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2\text{C}_{1-3}$ 烷基或 $-\text{S}(\text{O})_2(\text{CH}_2)_{1-3}\text{S}(\text{O})_2\text{C}_{1-3}$ 烷基；

R^a 、 R^b 及 R^c 獨立地為氫或 C_{1-3} 烷基；

R^d 為氫或 C_{1-3} 烷基，其中 C_{1-3} 烷基視情況經羥基取代；

R^e 為 C_{1-3} 烷基；

R^f 為氫、 C_{1-3} 烷基、四氫呋喃基或 $-\text{NR}^a\text{R}^b$ ；

R^g 為氫或 C_{1-3} 烷基；

a 為 0、1 或 2；

b 為 0、1、2 或 3；

c 為 0、1 或 2；

d 為 1 或 2；及

e 為 1 或 2；

其限制條件為當 c 為 0 時，則 d 為 2，且 R^5 為 $-C(O)NR^aR^b$ ；
且當 c 為 2 時，則 d 為 1。

本發明亦提供一種包含本發明之化合物及醫藥學上可接受之載體的醫藥組合物。

此外，本發明提供一種治療與 5-HT₄ 受體活性相關之疾病或病況(例如，腸胃道活動性降低之病症)的方法，該方法包含投與哺乳動物治療有效量之化合物或本發明之醫藥組合物。

本發明之化合物亦可用作研究工具(亦即用以研究生物系統或樣本或用於研究其他化合物之活性)。因此，在其方法態樣之另一者中，本發明提供一種使用式(I)化合物或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物或立體異構體作為用於研究生物系統或樣本或用於發現新型 5-HT₄ 受體激動劑之研究工具之方法，該方法包含使生物系統或樣本與本發明之化合物接觸且測定由該化合物對於生物系統或樣本引起之效應。

在獨立及不同態樣中，本發明亦提供用於製備本發明之化合物的本文所述之合成方法及中間體。

本發明亦提供一種如本文所述用於醫療中之本發明之化合物，以及本發明之化合物在製造用於治療與 5-HT₄ 受體活性相關的疾病或病況(例如，在哺乳動物中腸胃道活動

性降低的病症)之調配物或藥劑中的用途。

【實施方式】

本發明提供一種式(I)之新穎苯并咪唑酮-羧醯胺衍生之胺基甲酸酯 5-HT₄受體激動劑，或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物或立體異構體。以下取代基及值意欲提供本發明之多個態樣之代表性實例。此等代表值意欲進一步定義該等態樣，且不欲排除其他值或限制本發明之範疇。

在本發明之特定態樣中，R¹為鹵基或C₁₋₃烷基；或R¹為氟基、氯基、溴基或甲基。

在一特定態樣中，R²為氫。

在另一特定態樣中，R²為C₁₋₃烷基，其中C₁₋₃烷基視情況經羥基取代。

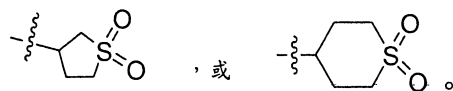
在又一特定態樣中，R²為氫或C₁₋₃烷基。

在本發明之其他特定態樣中，R²為甲基、乙基、丙基或異丙基；R²為乙基或異丙基；或R²為異丙基。

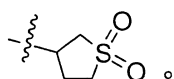
在特定態樣中，R³為C₁₋₃烷基；R³為甲基或乙基；或R³為甲基。

在一特定態樣中，R⁴為-(CH₂)₁₋₃C(O)NR^aR^b。

在另一特定態樣中，R⁴為



在另一特定態樣中，R⁴為-(CH₂)₁₋₃C(O)NR^aR^b或



在本發明之一特定態樣中， R^3 及 R^4 連同其所連接之氮原子形成一部分，該部分選自一式(a)之部分、一式(b)之部分及式一(c)之部分。

在一特定態樣中， R^3 及 R^4 連同其所連接之氮原子形成一式(a)之部分。在另一特定態樣中， R^3 及 R^4 連同其所連接之氮原子形成一式(a)之部分，其中 R^5 為 $-\text{OC}(\text{O})\text{NR}^a\text{R}^b$ 或 $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^a\text{R}^b$ 。

在一特定態樣中， R^3 及 R^4 連同其所連接之氮原子形成一式(b)之部分。在其他特定態樣中， R^3 及 R^4 連同其所連接之氮原子形成一式(b)之部分，其中 R^6 為 $-\text{C}(\text{O})\text{R}^f$ 、 $-(\text{CH}_2)_2\text{OR}^g$ 或 $-\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^a\text{R}^b$ ；或 R^6 為 $-\text{C}(\text{O})\text{R}^f$ ，且 e 為1。

在本發明之又一態樣中， R^3 及 R^4 連同其所連接之氮原子形成一式(c)之部分。

在特定態樣中， R^a 、 R^b 、 R^c 、 R^d 及 R^g 獨立地為氫、甲基或乙基；或 R^a 、 R^b 、 R^c 、 R^d 及 R^g 獨立地為氫或甲基。

在特定態樣中， R^e 為甲基或乙基；或 R^e 為甲基。

在特定態樣中， R^f 為 C_{1-3} 烷基、四氫呋喃基或 $-\text{NR}^a\text{R}^b$ 或 R^f 為甲基、四氫呋喃基或 $-\text{NR}^a\text{R}^b$ 。

在另一特定態樣中， R^f 為四氫呋喃基。

在其他特定態樣中， R^f 為 C_{1-3} 烷基或 R^f 為甲基。

在又一特定態樣中， R^f 為 $-\text{NR}^a\text{R}^b$ ，其中 R^a 及 R^b 如本文所定義。

在特定態樣中， a 為0或1；或 a 為0或2。在另一特定態樣中， a 為0。

在特定態樣中， b 為0、1或2；或 b 為1或2。在另一特定態樣中， b 為1。

在一特定態樣中， c 為1或2。在另一特定態樣中， c 為1。

在一特定態樣中， d 為1。

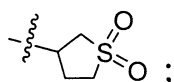
在一特定態樣中， e 為1。

在一態樣中，本發明提供一種式(I)化合物，其中 c 為1或2； d 為1；且 e 為1。

在另一態樣中，本發明提供一種式(I)化合物，其中

R^3 為 C_{1-3} 烷基；且

R^4 為 $-(CH_2)_{1-3}C(O)NR^aR^b$ 或



或 R^3 及 R^4 連同其所連接之氮原子形成一部分，該部分選自一式(a)之部分、一式(b)之部分及一式(c)之部分；

其中：

R^5 為 $-OC(O)NR^aR^b$ 或 $-C(O)NR^aR^b$ ；且

R^6 為 $-C(O)R^f$ 、 $-(CH_2)_2OR^g$ 或 $-S(O)_2NR^aR^b$ 。

在又一態樣中，本發明提供一種式(I)化合物，其中 R^3 及 R^4 連同其所連接之氮原子形成一部分，該部分選自一式(a)之部分、一式(b)之部分及一式(c)之部分；其中：

R^5 為 $-OC(O)NR^aR^b$ 或 $-C(O)NR^aR^b$ ；

R^6 為 $-C(O)R^f$ 、 $-(CH_2)_2OR^g$ 或 $-S(O)_2NR^aR^b$ ；

R^a 、 R^b 及 R^g 獨立地為氫或甲基；

R^f 為甲基、四氫呋喃基或 $-NR^aR^b$ ；

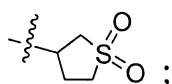
c 為 1 或 2； d 為 1；且 e 為 1。

在又一態樣中，本發明提供一種式(I)化合物，其中：

R^2 為乙基或異丙基；

R^3 為 C_{1-3} 烷基；且

R^4 為 $-(CH_2)_{1-3}C(O)NR^aR^b$ 或



或 R^3 及 R^4 連同其所連接之氮原子形成一部分，該部分選自一式(a)之部分、一式(b)之部分及一式(c)之部分；其中：

R^5 為 $-OC(O)NR^aR^b$ 或 $-C(O)NR^aR^b$ ；

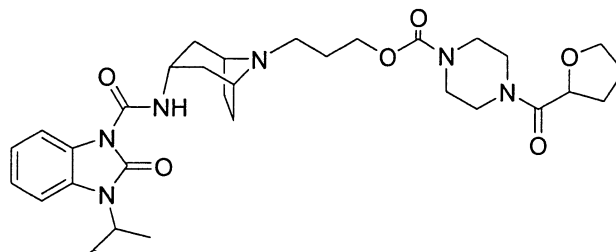
R^6 為 $-C(O)R^f$ 、 $-(CH_2)_2OR^g$ 或 $-S(O)_2NR^aR^b$ ；

R^a 、 R^b 及 R^g 獨立地為氫或甲基；

R^f 為甲基、四氫呋喃基或 $-NR^aR^b$ ；

a 為 0； c 為 1 或 2； d 為 1；且 e 為 1。

本文所用之化學命名慣例經說明用於實例 1 之化合物：



根據由 MDL Information Systems, GmbH (Frankfurt, Germany) 所提供之 AutoNom 軟體，命名其為 4-(四氫呋喃-2-羰基)哌嗪-1-羧酸 3-{(1S,3R,5R)-3-[(3-異丙基-2-側氧基-

2,3-二氫苯并咪唑-1-羰基)胺基]-8-氮雜-雙環[3.2.1]辛-8-基}丙酯。符號(1*S*,3*R*,5*R*)描述與雙環系統相關之鍵之相對方位，該等鍵描繪成實心及虛線楔形。在上述本發明之所有化合物中，苯并咪唑酮-羧醯胺相對氮雜雙環辛烷基為內向。

特殊敘述可由以下化合物製成：

4-(四氫呋喃-2-羰基)哌嗪-1-羧酸 3-{(1*S*,3*R*,5*R*)-3-[(3-異丙基-2-側氧基-2,3-二氫苯并咪唑-1-羰基)胺基]-8-氮雜雙環-[3.2.1]辛-8-基}丙酯；

4-(2-羥乙基)哌嗪-1-羧酸 3-{(1*S*,3*R*,5*R*)-3-[(3-異丙基-2-側氧基-2,3-二氫苯并咪唑-1-羰基)胺基]-8-氮雜雙環-[3.2.1]辛-8-基}丙酯；

4-乙醯基-哌嗪-1-羧酸 3-{(1*S*,3*R*,5*R*)-3-[(3-異丙基-2-側氧基-2,3-二氫-苯并咪唑-1-羰基)胺基]-8-氮雜雙環[3.2.1]辛-8-基}丙酯；

4-二甲基胺甲醯基氧基哌啶-1-羧酸 3-{(1*S*,3*R*,5*R*)-3-[(3-異丙基-2-側氧基-2,3-二氫苯并咪唑-1-羰基)胺基]-8-氮雜-雙環[3.2.1]辛-8-基}丙酯；

3-胺甲醯基哌啶-1-羧酸 3-{(1*S*,3*R*,5*R*)-3-[(3-異丙基-2-側氧基-2,3-二氫-苯并咪唑-1-羰基)胺基]-8-氮雜雙環[3.2.1]辛-8-基}丙酯；

1,1-二側氧基-1λ⁶-硫代嗎啉-4-羧酸 3-{(1*S*,3*R*,5*R*)-3-[(3-異丙基-2-側氧基-2,3-二氫苯并咪唑-1-羰基)胺基]-8-氮雜雙環[3.2.1]辛-8-基}丙酯；

(1,1-二側氧基四氫-1 λ^6 -噻吩-3-基)甲基胺基甲酸3-
 {(1*S*,3*R*,5*R*)-3-[(3-異丙基-2-側氧基-2,3-二氫苯并咪唑-1-
 羰基)胺基]-8-氮雜雙環-[3.2.1]辛-8-基}丙酯；

(*R*)-2-胺甲醯基吡咯啉-1-羧酸3-{(1*S*,3*R*,5*R*)-3-[(3-異丙
 基-2-側氧基-2,3-二氫苯并咪唑-1-羰基)胺基]-8-氮雜雙環
 [3.2.1]辛-8-基}丙酯；

4-乙醯基-[1,4]二氮雜環庚烷-1-羧酸3-{(1*S*,3*R*,5*R*)-3-
 [(3-異丙基-2-側氧基-2,3-二氫-苯并咪唑-1-羰基)胺基]-8-
 氮雜雙環[3.2.1]辛-8-基}丙酯；

二甲基胺甲醯基甲基-甲基胺基甲酸3-{(1*S*,3*R*,5*R*)-3-[(3-
 異丙基-2-側氧基-2,3-二氫苯并咪唑-1-羰基)胺基]-8-氮雜
 雙環[3.2.1]辛-8-基}丙酯；

4-二甲基胺甲醯基哌嗪-1-羧酸3-{(1*S*,3*R*,5*R*)-3-[(3-異丙
 基-2-側氧基-2,3-二氫苯并咪唑-1-羰基)胺基]-8-氮雜雙環
 [3.2.1]辛-8-基}丙酯；及

4-二甲基胺磺醯基哌嗪-1-羧酸3-{(1*S*,3*R*,5*R*)-3-[(3-異丙
 基-2-側氧基-2,3-二氫苯并咪唑-1-羰基)胺基]-8-氮雜雙環
 [3.2.1]辛-8-基}丙酯。

如由上述列出之特定化合物所例示，本發明之化合物可
 含有一或多個對掌性中心。因此，除非另外指出，本發明
 包括外消旋混合物、純立體異構體及該等異構體之立體異
 構體富集之混合物。當展示特定立體異構體時，熟習此項
 技術者應瞭解，除非另外指出，否則較小量之其他立體異
 構體可存在於本發明之組合物中，其限制條件為組合物作

為整體之任何效用並未由該等其他異構體之存在消除。

定義

當描述本發明之化合物、組合物及方法時，除非另外指出，以下術語具有以下含義。

術語"烷基"意謂單價飽和烴基，其可為直鏈或分枝鏈或其組合。代表性烷基包括(例如)甲基、乙基、正丙基(n-Pr)、異丙基(i-Pr)、正丁基(n-Bu)、第二丁基、異丁基、第三丁基及其類似物。

術語"鹵基"意謂氟基、氯基、溴基或碘基。

術語"化合物"意謂合成製備或以任何其他方法生產(諸如藉由代謝作用)之化合物。

術語"治療有效量"意謂當投與需要治療之患者時足以實現治療之量。

如本文所用之術語"治療"意謂在諸如哺乳動物(尤其為人類)之患者中疾病、病症或醫學病況之治療，其包括：

- (a) 防止疾病、病症或醫學病況發生，亦即患者之預防治療；
- (b) 改善疾病、病症或醫學病況，亦即消除或引起患者之疾病、病症或醫學病況之消退；
- (c) 抑制疾病、病症或醫學病況，亦即減慢或阻止患者之疾病、病症或醫學病況之發展；或
- (d) 減輕患者之疾病、病症或醫學病況之症狀。

術語"醫藥學上可接受之鹽"意謂由酸或鹼製備之可接受用於給患者(諸如哺乳動物)投藥之鹽。該等鹽可來源於醫

藥學上可接受之無機或有機酸及來源於醫藥學上可接受之鹼。通常，本發明化合物之醫藥學上可接受之鹽由酸製備。

鹽所來源之醫藥學上可接受之酸包括(但不限於)乙酸、己二酸、苯磺酸、苯甲酸、樟腦磺酸、檸檬酸、乙磺酸、反丁烯二酸、葡萄糖酸、麩胺酸、氫溴酸、鹽酸、乳酸、順丁烯二酸、蘋果酸、扁桃酸、甲磺酸、黏液酸、硝酸、泛酸、磷酸、丁二酸、硫酸、酒石酸、對甲苯磺酸、羥-2-萘甲酸(xinafoic)(1-羥基-2-萘甲酸)、萘-1,5-二磺酸及其類似酸。

術語"溶劑合物"意謂由溶質(亦即本發明之化合物或其醫藥學上可接受之鹽)之一或多個分子及溶劑之一或多個分子形成的錯合物或聚集體。該等溶劑合物通常為具有大體上固定之溶質與溶劑莫耳比的結晶固體。代表性溶劑包括例如水、甲醇、乙醇、異丙醇、乙酸及其類似物。當溶劑為水時，形成之溶劑合物為水合物。

應瞭解術語"或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物或立體異構體"意欲包括鹽、溶劑合物及立體異構體之所有排列組合，諸如式(I)化合物之立體異構體的醫藥學上可接受鹽之溶劑合物。

術語"脫離基"意謂在諸如親核取代反應之取代反應中可由另一官能基或原子置換之官能基或原子。例如，代表性脫離基包括氯基、溴基及碘基；諸如甲磺酸酯基、甲苯磺酸酯基、溴苯磺酸酯基、硝基苯磺酸酯基及其類似基團之

磺酸酯基；諸如乙醯氧基、三氟乙醯氧基及其類似基團之醯氧基。術語"脫離基"進一步包括諸如 $-\text{OC}_6\text{F}_5$ 、 $-\text{CCl}_3$ 、對 $-\text{OC}_6\text{H}_4\text{NO}_2$ 及咪唑基之基團。

術語"其經保護之衍生物"意謂列出之化合物之衍生物，其中化合物之一或多個官能基經保護基或阻隔基保護免於不需要之反應。可被保護之官能基包括(例如)羧酸基、胺基、羥基、硫醇基、羰基及其類似基團。對於羧酸之代表性保護基包括酯類(諸如對甲氧基苯甲酯)、醯胺類及醯肼類；對於胺基之代表性保護基包括胺基甲酸酯類(諸如第三丁氧基羰基)及醯胺類；對於羥基之代表性保護基包括醚類及酯類；對於硫醇基之代表性保護基包括硫醚類及硫酯類；對於羰基之代表性保護基包括縮醛類及縮酮類；及其類似物。熟習此項技術者熟知該等保護基，且描述於(例如)T.W. Greene 及 G.M. Wuts *Protecting Groups in Organic Synthesis*，第三版，Wiley, New York, 1999及其中引用之文獻中。

術語"胺基保護基"意謂適合於防止胺基氮上之不想要之反應的保護基。代表性胺基保護基包括(但不限於)甲醯基；例如烷醯基之醯基，諸如乙醯基；烷氧羰基，諸如第三丁氧基羰基(Boc)；芳基甲氧基羰基，諸如苯甲氧基羰基(Cbz)及9-芴基甲氧基羰基(Fmoc)；芳甲基，諸如苯甲基(Bn)、三苯甲基(Tr)及1,1-二-(4'-甲氧基苯基)甲基；矽烷基，諸如三甲基矽烷基(TMS)及第三丁基二甲基矽烷基(TBDMS)；及其類似物。

通用合成程序

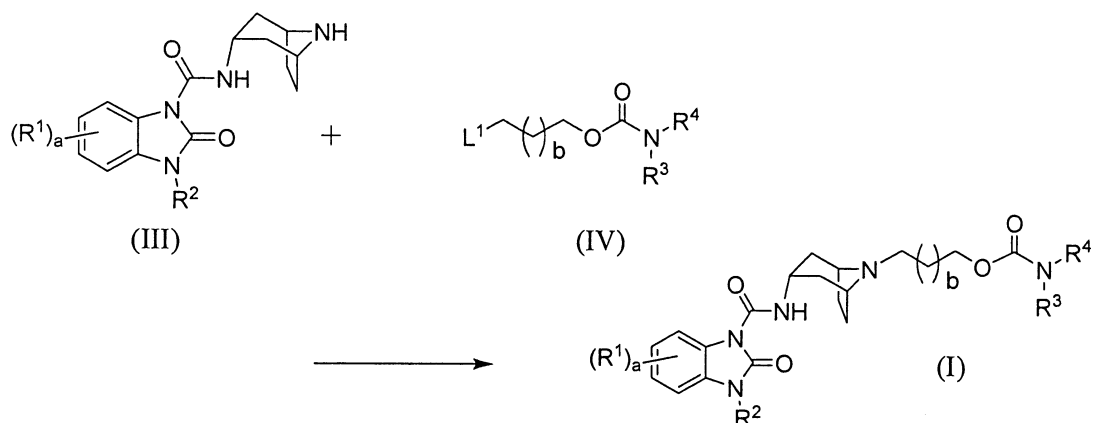
本發明之化合物可使用以下通用方法及程序由易得之起始物質來製備。儘管本發明之特定態樣於以下流程中說明，但熟習此項技術者可認出本發明之所有態樣可使用本文所述之方法或藉由使用熟習此項技術者已知之其他方法、試劑及起始物質來製備。亦應瞭解其中給定典型或較佳方法條件(亦即反應溫度、時間、試劑之莫耳比、溶劑、壓力等)，除非另外規定亦可使用其他方法條件。最佳反應條件可隨所用之特殊試劑或溶劑而變化，但熟習此項技術者可由路線最優化程序來確定該等條件。

另外，如熟習此項技術者可顯而易見，習知保護基必需防止某些官能基經歷不需要之反應。在此項技術中用於特定官能基之適合保護基之選擇，及用於保護及去保護之適合條件已為吾人所熟知。舉例而言，多數保護基及其引入及移除描述於T. W. Greene及G. M. Wuts, *Protecting Groups in Organic Synthesis*，第三版，Wiley, New York, 1999及其中引用之文獻中。

除非另外指出，在以下流程中所示之取代基及變數具有本文所提供之定義。

在一合成方法中，式(I)化合物可如流程A中所說明來製備。

流程A



使莨菪烷苯并咪唑酮-羧醯胺中間體(III)與式(IV)化合物(其中 L^1 為脫離基)反應以提供式(I)化合物。通常， L^1 為 S_N2 -有利之脫離基，諸如氯基、碘基或溴基。在惰性稀釋劑中，式(IV)化合物與介於約0.25與約1.5當量之間之莨菪烷苯并咪唑酮-羧醯胺中間體(III)在諸如*N,N*-二異丙基乙胺(DIPEA)之鹼及諸如碘化鈉之催化劑存在下接觸。適合之惰性稀釋劑包括二甲基甲醯胺、乙腈、四氫呋喃、*N*-甲基-2-吡咯啉酮及其類似物。適合之鹼亦包括(例如)三乙胺、1,8-二氮雜雙環-[5.4.0]十一-7-烯(DBU)及碳酸鉀。適合之催化劑亦包括(例如)碘化鉀及四丁基碘化銨。此反應通常在約40°C至約100°C之溫度下進行，歷時介於約2與約24小時之間或直至反應大體上完全。

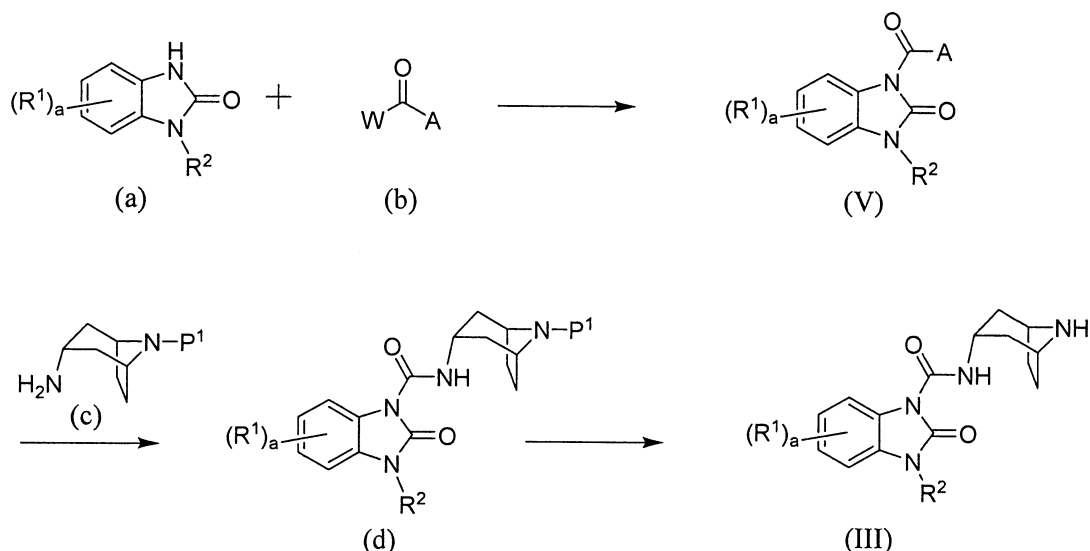
藉由習知程序分離且提純式(I)之產物。舉例而言，該產物可減壓濃縮至乾燥，在弱酸水溶液中繼續且藉由高效液相層析法(HPLC)提純。

應瞭解在使用式(III)化合物的本文所述之流程A之方法及其他方法中，如熟習此項技術者所知式(III)化合物可以游離鹼的形式或以鹽的形式提供，其中(若必要)適當調節

反應條件。

式(III)化合物可如以下流程B中所示來製備。

流程 B



在流程B中，使中間體(a)(視情況經取代之1,3-二氫苯并咪唑-2-酮)與中間體(b)(其中W為脫離基(諸如鹵基，亦即氟基、氯基或溴基)且與W相比較A為經選擇以使得其在不同條件下反應之脫離基(諸如 $-\text{OC}_6\text{F}_5$ 、 $-\text{CCl}_3$ 、對- $\text{OC}_6\text{H}_4\text{NO}_2$ 或咪唑-1-基)；或W及A各為咪唑-1-基)反應以提供式(V)化合物，使其與中間體(c)(其中 P^1 表示諸如Boc之胺基保護基)反應以提供中間體(d)。藉由標準程序將保護基 P^1 自中間體(d)移除以提供式(III)化合物。

雖然最佳反應條件可視所用之特定試劑或溶劑而變化，但熟習此項技術者可易由路線最優化程序來確定該等條件。

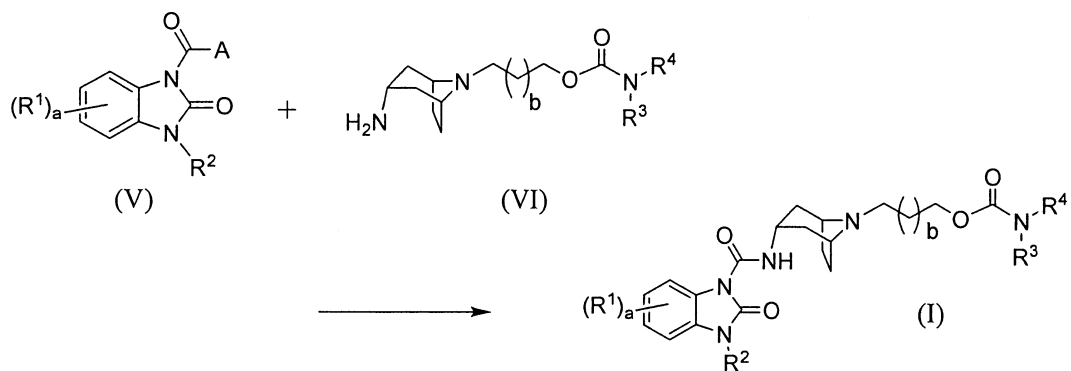
舉例而言，在使用氯甲酸4-硝基苯酯作為中間體(b)之例示性方法中，使苯并咪唑酮中間體(a)在惰性氣氛下在強鹼(諸如氫化鈉、二異丙基胺鋰及正丁基鋰)存在下溶解於諸

如四氫呋喃、醚、DMF或其組合之惰性稀釋劑中，且使其與介於約1與約1.3當量之間之氯甲酸4-硝基苯酯接觸。在約0°C至約40°C下攪拌混合物，歷時介於約12與約24小時之間或直至反應大體上完全，以形成活化酯(式(V)化合物)。分離且提純式(V)化合物，或使其與經保護之胺基-莨菪烷(中間體(c))在惰性稀釋劑(諸如四氫呋喃)存在下在約30°C至約90°C之溫度下原位反應，歷時介於約10與約24小時之間以提供經保護之中間體(d)。

使用習知方法，將胺基保護基P¹自中間體(d)移除以提供式(III)之莨菪烷苯并咪唑酮-羧醯胺化合物。使用氯甲酸4-硝基苯酯作為中間體(b)來製備中間體(III)之上述方法之變化描述於以下實例13中。

或者，式(I)化合物可如以下流程C中所示來製備。

流程 C

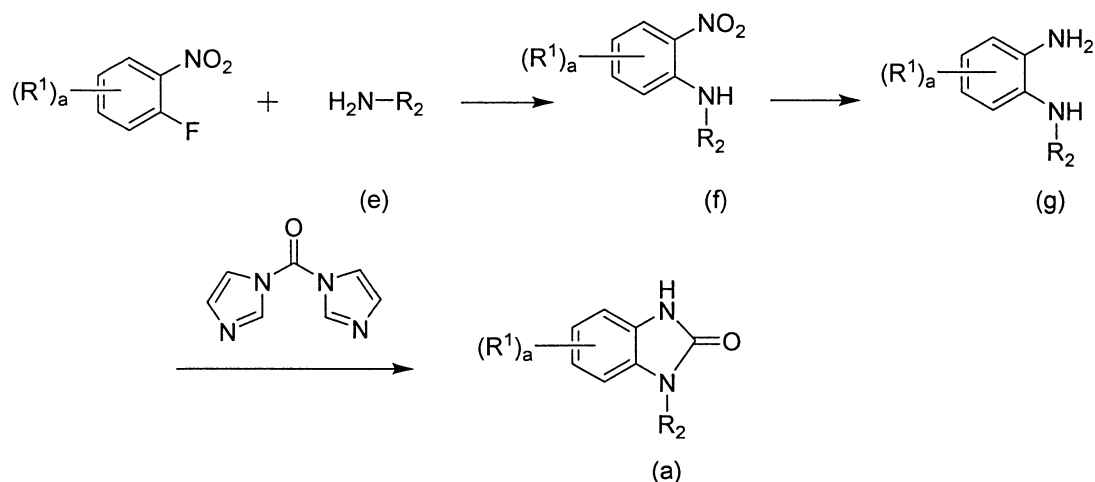


使苯并咪唑酮-羧醯胺中間體(V)與式(VI)之莨菪烷-伸烷基-羧醯胺化合物反應以提供式(I)化合物。分離且提純式(V)化合物(其合成描述於流程B中)，或使其與式(VI)化合物在約30°C至約90°C之溫度範圍下在諸如四氫呋喃之惰性

稀釋劑存在下原位反應，歷時介於約10與約24小時之間，或直至反應完全，以提供式(I)化合物。

苯并咪唑酮中間體(a)可如以下流程D中所示來製備。

流程 D



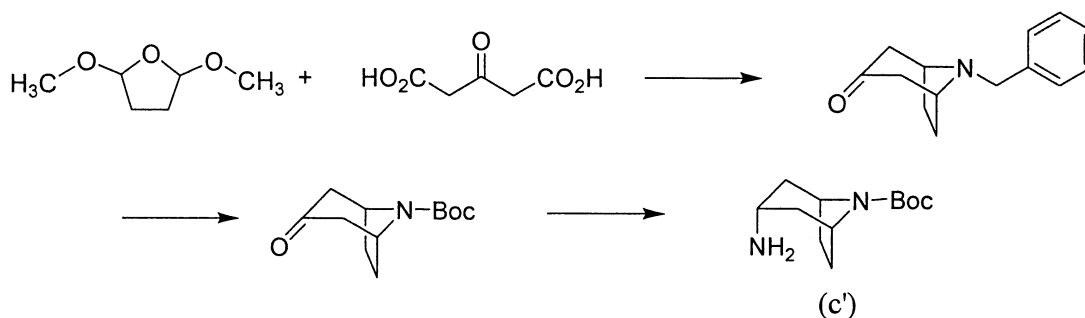
在流程D中，使視情況經取代之2-氟硝基苯與一級胺(中間體(e))反應以提供中間體(f)，該中間體(f)經還原成二胺基苯(中間體(g))。使二胺基苯與羰基二咪唑在諸如四氫呋喃之惰性稀釋劑存在下，在約20°C至約40°C之溫度下反應，歷時介於約12與約30小時之間，以提供苯并咪唑酮中間體(a)。

中間體(a)之化合物之代表性合成於以下製備1中描述。中間體(a)的經取代化合物亦易於由類似於文獻中所述之彼等程序來製備。見(例如)The Journal of Chemical Research (1), 21-22 (2005); *Heteroatom Chemistry*, 5(5/6):437-40 (1994)及 Ger. Offen., 3839743, 31 May 1990。

經保護之胺基莨菪烷(在本申請案中所述之反應中使用之中間體(c))由易可得之起始物質製備。舉例而言，當胺

基保護基 P^1 為 Boc 時，經保護之胺基莨菪烷可如以下流程 E 中所示製備。

流程 E



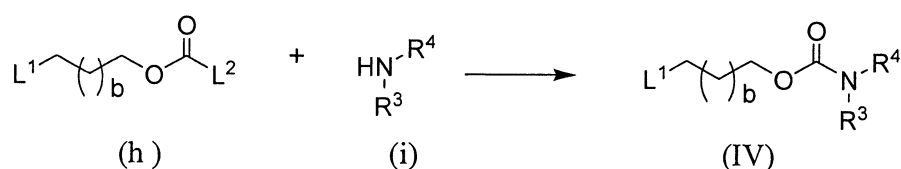
如以下製備 2 中詳細描述，使 2,5-二甲氧基四氫呋喃與介於約 1 與 2 當量之間之苯甲胺及稍微過量(例如約 1.1 當量)之 1,3-丙酮二羧酸在酸性水溶液中在諸如磷酸氫二鈉之緩衝劑存在下接觸以製備經 Boc-保護之中間體(c')。使反應混合物加熱至介於約 60°C 與約 100°C 之間以確保產物(8-苯甲基-8-氮雜雙環-[3.2.1]辛烷-3-酮，通常為 N-苯甲基莨菪酮)中任何羧化中間體之脫羧基作用。

通常使 N-苯甲基莨菪酮中間體與稍微過量(例如約 1.1 當量)之二碳酸二第三丁酯(通常為 (Boc)₂O)在氫氣氛下在過渡金屬催化劑存在下反應以提供 3-側氧基-8-氮雜雙環[3.2.1]辛烷-8-羧酸第三丁酯。反應通常在環境溫度下進行約 12 至約 72 小時。最終，使 3-側氧基-8-氮雜雙環[3.2.1]辛烷-8-羧酸第三丁酯與過量較多(例如至少約 25 當量)之甲酸銨在諸如甲醇之惰性稀釋劑中，在過渡金屬催化劑存在下接觸，以提供在具有較高立體特異性的內組態(例如內外比 >99:1)中之產物(中間體(c))。反應通常在環境溫度下進

行約12至約72小時或直至反應大體上完全的。宜逐份添加甲酸銨試劑。舉例而言，使3-側氧基-8-氮雜雙環[3.2.1]辛烷-8-羧酸第三丁酯與約15至約25當量之甲酸銨之初始部分接觸。在約12至約36小時之間隔後，添加約5至約10當量之甲酸銨之額外部分。在類似間隔後可重複後續添加。產物(中間體(c))可藉由諸如鹼萃取之習知程序提純。

如以下在流程F中所述，式(IV)化合物可易藉由標準程序由一般起始物質來製備。

流程F



在流程F中，使中間體(h)(其中 L^1 及 L^2 為脫離基)與二級胺(i)反應以提供式(IV)化合物。使二級胺(i)溶解於諸如二氯甲烷之惰性稀釋劑中，且在諸如N,N-二異丙基乙胺之鹼存在下在約 0°C 至約 40°C 之溫度範圍下添加中間體(h)，歷時約30分鐘至約4小時。產物(式(IV)化合物)可藉由諸如HPLC之習知程序提純。

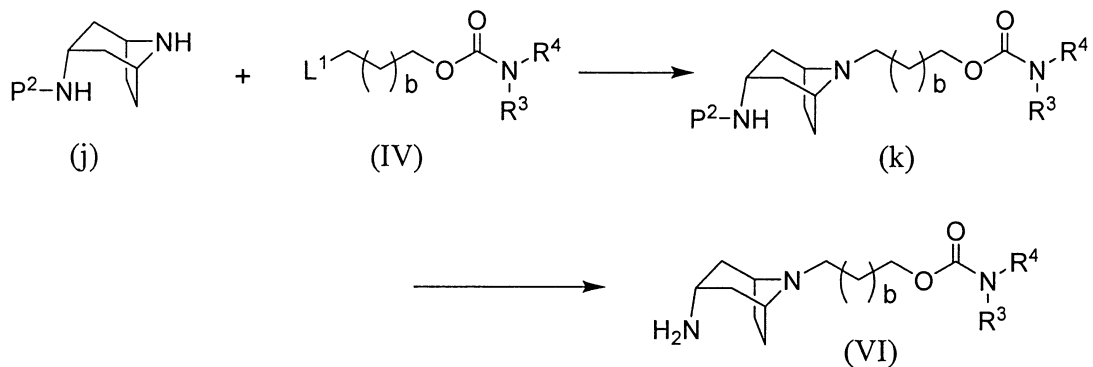
通常， L^1 及 L^2 為鹵基脫離基，諸如氯基、碘基、溴基；甲磺酸鹽亦可用作脫離基 L^1 。適合之鹼可包括(例如)三乙胺、DBU及碳酸鉀。適合之惰性稀釋劑可包括乙腈、四氫呋喃及N,N-二甲基甲醯胺。

式(h)及(i)之中間體化合物為一可購得之或可由易可得之起始物質合成。多種二級胺(亦即可用於流程F中之式(i))

之中間體化合物)之合成於本文之實例部分中描述。

式(VI)化合物可如流程G中所示來製備。

流程 G



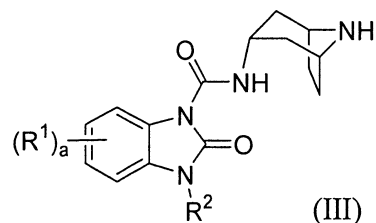
在流程G中，中間體(j)(其中P²為胺基保護基)與式(IV)化合物反應以提供經保護之中間體(k)，接著該中間體(k)經去保護以提供式(VI)化合物。流程G之反應通常在用於流程A之反應的上述胺耦合條件下進行。

藉由以胺基保護基P²保護經保護之胺基莨若烷中間體(c)之胺基氮，且接著自氮雜雙環辛烷基之氮移除P¹可製備式(j)之化合物。選擇保護基P¹及P²以使其可在不同條件下加以移除。舉例而言，當選擇P¹為Boc時，則Cbz可用作P²。保護基Boc通常藉由用諸如三氟乙酸之酸的處理來移除以提供中間體之酸式鹽。中間體之酸式鹽(若需要)可藉由鹼之習知處理轉化為游離鹼。保護基Cbz可藉由諸如鈀碳之適合金屬催化劑上之氫解便利地移除。關於特定反應條件及製備本發明之代表性化合物或另外中間體之其他方法的更多細節於以下實例中描述。

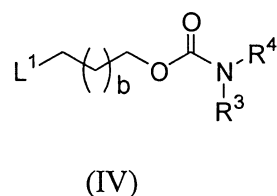
因此，在一方法態樣中，本發明提供一種製備式(I)化合

物或其鹽或立體異構體之方法，其中 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 a 及 b 如本文所定義，該方法包含：

(a) 使式(III)化合物：

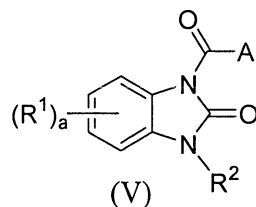


與式(IV)化合物：



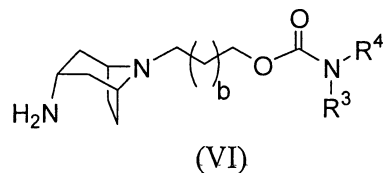
(其中 L^1 為脫離基)反應；或

(b) 使式(V)化合物：



(其中 A 為脫離基)；

與式(VI)化合物：



以提供式(I)化合物，或其鹽或立體異構體。

在另外之實施例中，本發明係關於本文所述之其他方法，且關於藉由本文所述之任何方法製備之產物。

醫藥組合物

本發明之苯并咪唑酮羧醯胺衍生之胺基甲酸酯化合物通常以醫藥組合物之形式投藥給患者。該等醫藥組合物可由投藥之任何可接受途徑投與患者，該等途徑包括(但不限於)口服、直腸、陰道、鼻、吸入、局部(包括經皮)及腸道外模式之投藥。

因此，在其組合物態樣之一者中，本發明係關於一種醫藥組合物，其包含醫藥學上可接受之載體或賦形劑及治療有效量的式(I)化合物或其醫藥學上可接受之鹽。若需要，則該等醫藥組合物視情況可含有其他治療劑及/或調配劑。

本發明之醫藥組合物通常含有治療有效量的本發明之化合物或其醫藥學上可接受的鹽。通常，該等醫藥組合物可含有約0.1至約95重量%之活性劑；較佳為約5至約70重量%；且更佳為約10至約60重量%之活性劑。

任何習知之載體或賦形劑可用於本發明之醫藥組合物中。特定載體或賦形劑的選擇，或載體或賦形劑的組合，可取決於用於治療特定患者或類型之醫學病況或疾病狀態之投藥模式。就此而言，用於特定模式投藥之適合醫藥組合物之製備係正好在熟習醫藥技術者之範疇內。另外，用於該等組合物之成份可購自(例如)Sigma、P.O. Box 14508、St. Louis、MO 63178。為進一步說明，習知調配技術描述於 *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*，第20版，Lippincott Williams & White,

Baltimore, Maryland (2000)及H.C. Ansel等人*Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*，第7版，Lippincott Williams & White, Baltimore, Maryland (1999)中。

可用作醫藥學上可接受之載體之材料的代表性實例包括(但不限於)下列：(1)糖，諸如乳糖、葡萄糖及蔗糖；(2)澱粉，諸如玉米澱粉及馬鈴薯澱粉；(3)纖維素，諸如微晶纖維素及其衍生物(諸如羧甲基纖維素鈉鹽、乙基纖維素及乙酸纖維素)；(4)粉末黃耆膠；(5)麥芽；(6)明膠；(7)滑石粉；(8)賦形劑，諸如可可脂及栓劑蠟；(9)油，諸如花生油、棉籽油、紅花油、芝麻油、橄欖油、玉米油及大豆油；(10)乙二醇，諸如丙二醇；(11)多元醇，諸如甘油、山梨糖醇、甘露糖醇及聚乙二醇；(12)酯，諸如油酸乙酯及月桂酸乙酯；(13)瓊脂；(14)緩衝劑，諸如氫氧化鎂及氫氧化鋁；(15)褐藻酸；(16)無熱原質水；(17)生理鹽水；(18)林格氏液；(19)乙醇；(20)磷酸鹽緩衝溶液；及(21)其他用於醫藥組合物中之無毒相容物質。

通常藉由使本發明之化合物與醫藥學上可接受之載體及一或多種選擇性成份充分且密切地混合或摻合來製備本發明之醫藥組合物。若必要或需要，接著使用習知程序及設備將所得之均勻經摻合混合物加工成形或裝入錠劑、膠囊、丸劑及其類似劑型內。

本發明之醫藥組合物較佳以單位劑型封裝。術語"單位劑型"意謂適合於對患者給藥之物理上離散單元，亦即每

一單元含有經計算單獨或與一或多個額外單元組合產生所要治療效應之預定量之活性劑。舉例而言，該等單位劑型可為膠囊、錠劑、丸劑及其類似劑型。

在一較佳實施例中，本發明之醫藥組合物適合於口服投藥。用於口服投藥之適合醫藥組合物可以膠囊、錠劑、丸劑、含片、膠囊劑(cachets)、糖衣藥丸、散劑、顆粒劑之形式存在；或作為水性或非水性液體中之溶液或懸浮液；或作為水包油或油包水型液乳膠；或作為酏劑或糖漿；及其類似劑型；每一者含有預定量之本發明之化合物作為活性成份。

當意欲以固體劑型(亦即作為膠囊、錠劑、丸劑及其類似劑型)口服投藥時，本發明之醫藥組合物通常可包含作為活性成份的本發明之化合物及一或多種諸如檸檬酸鈉或磷酸二鈣之醫藥學上可接受的載體。視情況或另一選擇為，該等固體劑型亦可包含：(1)填充劑或增量劑，諸如澱粉、微晶纖維素、乳糖、蔗糖、葡萄糖、甘露糖醇及/或矽酸；(2)黏合劑，諸如羧甲基纖維素、海藻酸鹽、明膠、聚乙炔吡咯啉酮、蔗糖及/或阿拉伯膠；(3)保濕劑，諸如甘油；(4)崩解劑，諸如瓊脂、碳酸鈣、馬鈴薯或樹薯澱粉、褐藻酸、某些矽酸鹽及/或碳酸鈉；(5)溶液阻滯劑，諸如石蠟；(6)吸收促進劑，諸如四級銨化合物；(7)濕潤劑，諸如十六碳醇及/或單硬脂酸甘油酯；(8)吸附劑，諸如高嶺土及/或膨潤土；(9)潤滑劑，諸如滑石粉、硬脂酸鈣、硬脂酸鎂、固體聚乙二醇、月桂基硫酸鈉及/或其混

合物；(10)著色劑；及(11)緩衝劑。

脫模劑、濕潤劑、塗佈劑、甜味劑、調味劑及香化劑、防腐劑及抗氧化劑亦可存在於本發明之醫藥組合物中。醫藥學上可接受之抗氧化劑之實例包括：(1)水溶性抗氧化劑，諸如抗壞血酸、半胱胺酸鹽、硫酸氫鈉、焦亞硫酸鈉、亞硫酸鈉及其類似物；(2)油溶性抗氧化劑，諸如抗壞血酸棕櫚酸酯、丁基化羥基茴香醚(BHA)、丁基化羥基甲苯(BHT)、卵磷脂、沒食子酸丙酯、 α -生育酚及其類似物；及(3)金屬螯合劑，諸如檸檬酸、乙二胺四乙酸(EDTA)、山梨糖醇、酒石酸、磷酸及其類似物。用於錠劑、膠囊、丸劑及其類似劑型之塗佈劑包括彼等用於腸溶衣之塗佈劑，諸如乙酸纖維素鄰苯二甲酸酯(CAP)、聚乙酸乙烯酯鄰苯二甲酸酯(PVAP)、羥基丙基甲基纖維素鄰苯二甲酸酯、甲基丙烯酸-甲基丙烯酸酯共聚物、乙酸纖維素偏苯三酸酯(CAT)、羧甲基乙基纖維素(CMEC)、乙酸羥基丙基甲基纖維素琥珀酸酯(HPMCAS)及其類似物。

若需要，則亦可使用(例如)以不同比例之羥基丙基甲基纖維素或其他聚合物基質、脂質體及/或微球體來調配本發明之醫藥組合物以提供活性成份之緩慢或受控釋放。

另外，本發明之醫藥組合物可視情況含有乳濁劑，且可經調配以便其僅釋放活性成份，或視情況以延時方式優先在腸胃道之某些部分釋放。可使用之嵌入組合物之實例包括聚合物質及蠟。活性成份亦可以微囊形式存在，若適當，則具有一或多種上述賦形劑。

用於口服投藥之適合液態劑型包括(例如)醫藥學上可接受之乳液、微乳液、溶液、懸浮液、糖漿及酏劑。該等液態劑型通常包含活性成份及惰性稀釋劑(諸如水或其他溶劑)、助溶劑及乳化劑(諸如乙醇、異丙醇、碳酸乙酯、乙酸乙酯、苯甲醇、苯甲酸苯甲酯、丙二醇、1,3-丁二醇)、油(諸如棉籽油、花生油、玉米油、胚芽油、橄欖油、蓖麻油及芝麻油)、甘油、四氫呋喃醇、聚乙二醇及脫水山梨糖醇之脂肪酸酯及其混合物。除活性成份以外，懸浮液可含有懸浮劑，諸如乙氧基化異硬脂醇、聚氧化乙烯山梨糖醇及脫水山梨糖醇酯、微晶纖維素、偏氫氧化鋁、膨潤土、瓊脂及黃耆膠及其混合物。

或者，本發明之醫藥組合物經調配得以由吸入投藥。用於由吸入投藥之適合醫藥組合物通常可以噴霧或粉末之形式存在。該等組合物通常使用熟知之傳遞裝置(諸如定劑量吸入器、乾粉吸入器、噴霧器或類似傳遞裝置)加以投藥。

當使用加壓容器由吸入投藥時，本發明之醫藥組合物通常可包含活性成份及諸如二氯二氟甲烷、三氯氟甲烷、二氯四氟乙烷、二氧化碳或其他適合氣體之適合推進劑。

另外，醫藥組合物可以膠囊或濾筒(由(例如)明膠製成)之形式存在，該濾筒包含本發明之化合物及適用於粉末吸入器之粉末。適合之基底粉包括(例如)乳糖或澱粉。

本發明之化合物亦可使用已知之經皮傳遞系統及賦形劑經皮投藥。舉例而言，使本發明之化合物與諸如丙二醇、

單月桂酸聚乙二醇酯、氮雜環烷-2-酮及其類似物之滲透增強劑混合，且併入貼片(patch)或類似傳遞系統。若需要，則包括膠凝劑、乳化劑及緩衝劑之額外賦形劑可用於該等經皮之組合物中。

下列調配物說明本發明之代表性醫藥組合物：

調配物實例 A

如下製備用於口服投藥之硬明膠膠囊：

成份	量
本發明之化合物	50 mg
乳糖(噴霧乾燥)	200 mg
硬脂酸鎂	10 mg

代表性程序：充分地摻合成份且接著裝入硬明膠膠囊內(每膠囊 260 mg 組合物)。

調配物實例 B

如下製備用於口服投藥之硬明膠膠囊：

成份	量
本發明之化合物	20 mg
澱粉	89 mg
微晶纖維素	89 mg
硬脂酸鎂	2 mg

代表性程序：充分地摻合成份且接著通過第 45 號篩目美國篩，且裝入硬明膠膠囊內(每膠囊 200 mg 組合物)。

調配物實例 C

如下製備用於口服投藥之膠囊：

成份	量
本發明之化合物	10 mg
聚氧乙烯脫水山梨糖醇單油酸酯	50 mg
澱粉粉末	250 mg

代表性程序：充分地摻合成份且接著裝入明膠膠囊內(每膠囊310 mg組合物)。

調配物實例D

如下製備用於口服投藥之錠劑：

成份	量
本發明之化合物	5 mg
澱粉	50 mg
微晶纖維素	35 mg
聚乙烯吡咯啉酮(在水中10重量%)	4 mg
羧甲基澱粉鈉	4.5 mg
硬脂酸鎂	0.5 mg
滑石粉	1 mg

代表性程序：活性成份、澱粉及纖維素通過第45號篩目美國篩且充分地混合。聚乙烯吡咯啉酮之溶液與所得之粉末混合，且接著混合物通過第14號篩目美國篩。在50-60EC下乾燥如此製得之顆粒，且通過第18號篩目美國篩。接著將羧甲基澱粉鈉、硬脂酸鎂及滑石粉(先前已通過第60號篩目美國篩)添加至該等顆粒中。混合後，在製錠機上壓製混合物以提供重100 mg之錠劑。

調配物實例E

如下製備用於口服投藥之錠劑：

成份	量
本發明之化合物	25 mg
微晶纖維素	400 mg
煙霧狀二氧化矽	10 mg
硬脂酸	5 mg

代表性程序：將成份充分地摻合且接著壓製以形成錠劑(每錠劑 440 mg 組合物)。

調配物實例 F

如下製備用於口服投藥之單刻痕(Single-scored)錠劑：

成份	量
本發明之化合物	15 mg
玉米澱粉	50 mg
交聯羧甲基纖維素鈉	25 mg
乳糖	120 mg
硬脂酸鎂	5 mg

代表性程序：將成份充分地摻合且壓製以形成單刻痕錠劑(每錠劑 215 mg 組合物)。

調配物實例 G

如下製備用於口服投藥之懸浮液：

成份	量
本發明之化合物	0.1 g
反丁烯二酸	0.5 g
氯化鈉	2.0 g

對羥基苯甲酸甲酯	0.15 g
對羥基苯甲酸丙酯	0.05 g
顆粒狀糖	25.5 g
山梨糖醇(70%溶液)	12.85 g
Veegum k(Vanderbilt Co.)	1.0 g
調味劑	0.035 mL
著色劑	0.5 mg
蒸餾水	適量至 100 mL

代表性程序：混合成份以形成每 10 mL 懸浮液含有 10 mg 活性成份之懸浮液。

調配物實例 H

如下製備用於藉由吸入投藥之乾粉：

成份	量
本發明之化合物	1.0 mg
乳糖	25 mg

代表性程序：使活性成份微米尺寸化，且接著與乳糖摻合。接著將此摻合混合物裝入明膠吸入濾筒。使用粉末吸入器投與濾筒之內容物。

調配物實例 I

如下在定劑量吸入器中製備用於藉由吸入投藥之乾粉：

代表性程序：藉由使 10 g 活性化合物作為具有平均尺寸小於 10 μm 之微米尺寸化顆粒分散於由 0.2 g 卵磷脂溶解於 200 mL 去礦物質水中形成的溶液中來製備含有 5 重量% 本發明之化合物及 0.1 重量% 卵磷脂之懸浮液。該懸浮液

經噴霧乾燥且所得物質為經微米尺寸化成具有平均直徑小於1.5 μm 之顆粒。將該等顆粒裝入具有加壓1,1,1,2-四氟乙烷之濾筒內。

調配物實例J

如下製備可注射之調配物：

成份	量
本發明之化合物	0.2 g
乙酸钠緩衝溶液(0.4 M)	40 mL
HCl(0.5 N)或NaOH(0.5 N)	適量至pH 4
水(經蒸餾，無菌)	適量至20 mL

代表性程序：摻合上述成份且使用0.5 N HCl或0.5 N NaOH調節pH至 4 ± 0.5 。

調配物實例K

如下製備用於口服投藥之膠囊：

成份	量
本發明之化合物	4.05 mg
微晶纖維素 (Avicel PH 103)	259.2 mg
硬脂酸鎂	0.75 mg

代表性程序：充分地摻合成份且接著裝入明膠膠囊(尺寸#1，白色，不透明)(每膠囊264 mg組合物)。

調配物實例L

如下製備用於口服投藥之膠囊：

成份	量
本發明之化合物	8.2 mg

微晶纖維素 (Avicel PH 103) 139.05 mg

硬脂酸鎂 0.75 mg

代表性程序：充分地摻合成份且接著裝入明膠膠囊(尺寸#1，白色，不透明)(每膠囊148 mg組合物)。

應瞭解適用於特定模式投藥之任何形式的本發明之化合物(亦即游離鹼、醫藥鹽或溶劑合物)可用於如上所述之醫藥組合物中。

效用

本發明之苯并咪唑酮-羧醯胺衍生之胺基甲酸酯化合物為5-HT₄受體激動劑，且因此預期用於治療由5-HT₄受體介導或與5-HT₄受體活性相關之醫學病況，亦即藉由用5-HT₄受體激動劑之治療加以改善之醫學病況。該等醫學病況包括(但不限於)大腸急躁症(IRS)、慢性便秘、功能性消化不良、胃排空延遲、胃食道逆流病(GERD)、胃輕癱、手術後腸梗阻、腸假性阻塞及藥物誘發性延遲傳輸。另外，建議某些5-HT₄受體激動劑化合物可用於包括認知病症、行為病症、情感病症及自主功能控制病症之中樞神經系統病症的治療。

詳言之，本發明之化合物增加腸胃(GI)道之活動性，且因此預期用於治療由包括人類之哺乳動物中活動性降低引起之GI道的病症。該等GI活動性病症包括(例如)慢性便秘、以便秘為主之大腸急躁症(C-IRS)、糖尿病性及自發性胃輕癱及功能性消化不良。

因此，在一態樣中本發明提供一種增加哺乳動物中腸胃

道活動性之方法，該方法包含投與哺乳動物治療有效量之醫藥組合物，該醫藥組合物包含醫藥學上可接受之載體及本發明之化合物。

當用於治療GI道的活動性降低之病症或其他由5-HT₄受體介導之病況時，儘管可使用其他形式之投藥，但本發明之組合物通常可以每日單劑量或多劑量口服投藥。每一劑量投與之活性劑的量或每天投與之總量通常可由醫師根據相關情況確定，該等情況包括被治療之病況、選擇之投藥途徑、投與之實際化合物及其相對活性、個別患者之年齡、體重及反應、患者的症狀之嚴重性及其類似情況。

用於治療GI道的活動性降低之病症或其他由5-HT₄受體介導的病症的適合劑量可在約0.0007至約20 mg/kg/天之活性劑範圍內，其包括約0.0007至約1 mg/kg/天。對於平均70 kg之人而言，此將相當於每天約0.05至約70 mg之活性劑。

在本發明之一態樣中，本發明之化合物用於治療慢性便秘。當用於治療慢性便秘時，本發明之化合物通常可以每日單劑量或多劑量口服投藥。較佳地，用於治療慢性便秘之劑量可在每天約0.05至約70 mg之範圍內。

在本發明之另一態樣中，本發明之化合物用於治療大腸急躁症。當用於治療以便秘為主之大腸急躁症時，本發明之化合物通常可以每日單劑量或多劑量口服投藥。較佳地，用於治療以便秘為主之大腸急躁症的劑量可在每天約0.05至約70 mg之範圍內。

在本發明之又一態樣中，本發明之化合物用於治療糖尿病性胃輕癱。當用於治療糖尿病性胃輕癱時，本發明之化合物通常可以每日單劑量或多劑量口服投藥。較佳地，用於治療糖尿病性胃輕癱的劑量可在每天約0.05至約70 mg之範圍內。

在本發明之又一態樣中，本發明之化合物用於治療功能性消化不良。當用於治療功能性消化不良時，本發明之化合物通常可以每日單劑量或多劑量口服投藥。較佳地，用於治療功能性消化不良的劑量可在每天約0.05至約70 mg之範圍內。

本發明亦提供一種治療具有與5-HT₄受體活性相關之疾病或病況之哺乳動物的方法，該方法包含投與哺乳動物治療有效量的本發明之化合物或治療有效量的包含本發明之化合物的醫藥組合物。

因為本發明之化合物為5-HT₄受體激動劑，所以該等化合物亦用作用於調查或研究具有5-HT₄受體之生物系統或樣本，或用於發現新型5-HT₄受體激動劑之研究工具。此外，因為與結合至其他5-HT亞型之受體(特定言之5-HT₃受體)相比較，本發明之化合物展現對於5-HT₄受體之結合選擇性，所以該等化合物特定言之用於研究生物系統或樣本中5-HT₄受體之選擇性促效作用之效應。任何具有5-HT₄受體之適合生物系統或樣本可用於可在體外或體內進行之每一研究中。適合於該等研究之代表性生物系統或樣本包括(但不限於)細胞、細胞提取物、質膜、組織樣本、哺乳動

物(諸如小鼠、大鼠、豚鼠、兔子、狗、豬等)及其類似物。

在本發明之此態樣中，使包含5-HT₄受體之生物系統或樣本與5-HT₄受體促效量的本發明之化合物接觸。接著使用諸如放射性配位子結合檢定及功能檢定之習知程序及設備來測定促進5-HT₄受體之效應。該等功能檢定包括在細胞內環單磷酸腺苷(cAMP)中之配位子介導性變化、在酶腺苷酸環化酶(其合成cAMP)之活性中的配位子介導性變化、在鳥苷三磷酸(GTP)之類似物(諸如 [³⁵S]GTPγS(鳥苷 5'-O-(γ-硫基)三磷酸)或 GTP-Eu)併入經由受體催化之GTP類似物與GDP類似物交換之隔離膜內的配位子介導性變化、在游離之細胞內鈣離子中的配位子介導性變化(用(例如)螢光聯結成像平板閱讀器或來自 Molecular Devices, Inc.之 FLIPR®量測)及促細胞分裂劑活化蛋白激酶(MAPK)活化作用的量測。在以上所列的任何功能檢定或類似性質的檢定中，本發明之化合物可促進或增加5-HT₄受體活化。本發明化合物之5-HT₄受體促效量通常係在約1奈莫耳濃度(nM)至約500奈莫耳濃度範圍內。

另外，本發明之化合物可用作用於發現新型5-HT₄受體激動劑之研究工具。在此實施例中，比較一測試化合物或一群測試化合物的5-HT₄受體結合或功能資料與本發明化合物的5-HT₄受體結合或功能資料，以識別若有之具有優良結合或功能活性之測試化合物。本發明之此態樣包括(作為獨立實施例)比較資料的產生(使用適當檢定)及測試

資料的分析兩者，以識別所關注之測試化合物。

除其他特性以外，已發現本發明之化合物為5-HT₄受體的有效激動劑，且在放射性配位子結合檢定中對5-HT₄受體亞型展現超越5-HT₃受體亞型的實質選擇性。此外，本發明之代表性化合物在大鼠模型中展現優良的藥物動力學特性。因此，預期本發明之化合物當口服投藥時展現良好的生物有效度。此外，在使用表現hERG心臟鉀離子通道之分離全細胞之體外電壓鉗模型中測試的本發明之代表性化合物經證實並未展現不可接受水平之鉀離子流之抑制。電壓鉗檢定為經接受之臨床前方法，其分析藥劑改變與心肌不整相關之心臟再極化模式(尤其引起所謂的QT延長)之潛能。(Cavero等人，*Opinion on Pharmacotherapy*, 2000, 1, 947-73, Fermini等人，*Nature Reviews Drug Discovery*, 2003, 2, 439-447)因此，預期包含本發明之化合物的醫藥組合物具有可接受之心臟概況(cardiac profile)。

可使用多種熟習此項技術者熟知之體外及體內檢定證明本發明化合物之此等特性以及效用。代表性檢定在以下實例中更詳盡地描述。

實例

提供以下合成及生物學實例以說明本發明，且不以任何限制本發明之範疇之方法來解釋。在以下實例中，除非另外指出，以下縮寫具有以下含義。以下未定義之縮寫具有其一般接受之含義。

Boc = 第三丁氧基羰基

(Boc) ₂ O	=	二碳酸二第三丁酯
DCM	=	二氯甲烷
DMF	=	N,N-二甲基甲醯胺
DMSO	=	二甲亞砜
EtOAc	=	乙酸乙酯
mCPBA	=	間氯過苯甲酸
MeCN	=	乙腈
MTBE	=	第三丁基甲基醚
PyBop	=	六氟磷酸苯并三唑-1-基-氧基三吡咯啶鎂
R _f	=	滯留因子
RT	=	室溫
TFA	=	三氟乙酸
THF	=	四氫呋喃

試劑(包括二級胺)及溶劑均購自商業供應(Aldrich、Fluka、Sigma等),且未經進一步提純即使用。除非另外規定,反應在氮氣氛下進行。反應混合物之進程由薄層層析法(TLC)、分析高效液相層析法(分析HPLC)及質譜法來監測,該等方法之細節在以下及分別在反應之特定實例中給出。反應混合物如在每一反應中明確地描述而逐步發展;通常其藉由萃取及其他諸如溫度及溶劑依賴性結晶及沉澱之提純方法進行提純。另外,反應混合物通常由製備HPLC提純:下文描述通用方法。反應產物之特徵化通常由質譜法及¹H-NMR光譜測定法進行。對於NMR量測而言,樣本溶解於氘化溶劑(CD₃OD、CDCl₃或DMSO-*d*₆)

中，且 $^1\text{H-NMR}$ 光譜在標準觀測條件下由 Varian Gemini 2000 儀器 (300 MHz) 獲得。除非另外指出，否則化合物之質譜鑑別由用 Applied Biosystems (Foster City, CA) 模式 API 150 EX 儀器或 Agilent (Palo Alto, CA) 模式 1100 LC/MSD 儀器之電噴霧電離法 (ESMS) 進行。

一種分析 HPLC 之通用方法：使每一粗製化合物以 0.5-1.0 mg/mL 之濃度溶解於 50% MeCN/H₂O (含有 0.1% TFA) 中，且藉由使用分析 HPLC 來分析：1) 反相分析柱：Zorbax Bonus-RP (3.5 μm 粒度，2.1 $\times$ 50 mm)；2) 流速：0.5 mL/min；3) 含 0.1% TFA 之 5% MeCN/H₂O (等度；0 - 0.5 min)；含 0.1% TFA 之 5% MeCN/H₂O 至含 0.1% TFA 之 75% MeCN/H₂O (線性梯度；0.5 - 4 min)；4) 偵測波：214、254 及 280 nm。必要時指出其他所用條件。

一種製備 HPLC 之通用方法：使粗製化合物以 50-100 mg/mL 之濃度溶解於水中之 50% 乙酸中，過濾且使用製備 HPLC 分餾：1) 管柱：YMC Pack-Pro C18 (50a $\times$ 20 mm；ID = 5 μm)；2) 線性梯度：10% A/90% B 至 50% A/50% B，經 30 min；3) 流速：40 mL/min；4) 偵測波：214 nm。

二級胺之製備

以下描述在式 (I) 化合物之合成中用作中間體之多種二級胺的製備。

藉由與個別磺醯氯 ($i\text{Pr}_2\text{NEt}$ ， CH_2Cl_2 ， 0°C) 反應且除去 N-Boc 基之保護 ($\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$ ， CH_2Cl_2) 由 N-Boc 哌嗪製備哌嗪之 N-磺醯基衍生物。1-甲烷磺醯基哌嗪： $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 ;

中性)： δ (ppm) 3.1 (t, 4H), 2.9 (t, 4H), 2.7 (s, 3H)。甲烷磺醯基哌嗪亦藉由使甲烷磺醯氯與過量哌嗪(>2當量)在水中反應來製備。

藉由使哌嗪分別與二甲胺基氯甲酸酯或二甲胺基胺磺醯氯反應製備哌嗪之N-衍生物，諸如1-(二甲胺基羰基)哌嗪及1-二甲胺基磺醯基)哌嗪。

藉由用乙醯氯($i\text{Pr}_2\text{NEt}$, CH_2Cl_2 , 0°C)處理 N^1 -Boc-3-胺基吡咯啉(外消旋物，3R或3S)且除去N-Boc基之保護($\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$, CH_2Cl_2)來製備外消旋或單一對掌性異構體形式之3-乙醯基胺基吡咯啉。3-(乙醯基)吡咯啉： ^1H -NMR ($\text{DMSO}-d_6$; TFA鹽)： δ (ppm) 4.2 (quin, 1H), 3.3-3.1 (m, 3H), 2.9 (m, 1H), 2.0 (m, 1H), 1.8 (br s, 4H)。

藉由用丙醯基磺醯氯或環己基甲基磺醯氯($i\text{Pr}_2\text{NEt}$, CH_2Cl_2 , 0°C)處理 N^1 -Boc-(3R)-胺基吡咯啉且除去N-Boc基之保護($\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$, CH_2Cl_2)來獲得(3R)-胺基吡咯啉之 N^3 -烷磺醯基衍生物。

根據Loev, B. J. *Org. Chem.* 1961, 26, 4394-9之方法藉由使3-環丁烯磺與必需之甲醇中的一級胺(cat. KOH, rt)反應來製備四氫-3-噻吩胺基-1,1-二氧化物的衍生物。N-甲基-3-四氫噻吩-胺基-1,1-二氧化物(TFA鹽)： ^1H -NMR ($\text{DMSO}-d_6$)： δ (ppm) 9.4 (br s, 2H), 4.0-3.8 (quin, 1H), 3.6-3.5 (dd, 1H), 3.4-3.3 (m, 1H), 3.2-3.1 (m, 2H), 2.5 (s, 3H), 2.4 (m, 1H), 2.1 (m, 1H)。

如下製備(S)-1,1-二側氧基-四氫-1 λ^6 -噻吩-3-基胺：

1)藉由在室溫下用甲醇中之(Boc)₂O處理約12 h以進行(S)-3-四氫噻吩胺(Dehmlow, E. V.; Westerheide, R. *Synthesis* 1992, 10, 947-9)的N-Boc保護；2)在0°C下藉由用二氯甲烷中之mCPBA處理以氧化成經N-Boc保護的(S)-1,1-二側氧基-四氫-1λ⁶-噻吩-3-基胺，歷時約5 h；及3)用二氯甲烷中之TFA在室溫下使磺衍生物除去N-Boc之保護成為視作TFA鹽分離之游離胺，歷時1h。使用相同方法來製備(R)-1,1-二側氧基-四氫-1λ⁶-噻吩-3-基胺，但用(R)-3-四氫噻吩胺來替代(S)-3-四氫噻吩胺。

由四氫-4*H*-硫哌喃-4-酮製備N-甲基-四氫-2*H*-硫哌喃-4-胺基-1,1-二氧化物：i)MeNH₂，NaBH₄；ii)(Boc)₂O，MeOH；iii)mCPBA，CH₂Cl₂，0°C；iv)CF₃CO₂H，CH₂Cl₂。
(m/z)：[M+H]⁺ C₆H₁₃NO₂S之計算值：164.07；實驗值：164.9。¹H-NMR (CD₃OD; TFA鹽)：δ (ppm) 3.4-3.1 (m, 5H), 2.7 (s, 3H), 2.4 (br d, 2H), 2.1 (br m, 2H)。

脯胺酸二甲基醯胺、異六氫煙鹼醯胺(哌啶-4-羧醯胺)及1-(四氫-2-呋喃甲醯基)哌嗪可於市面購得，且係購自商業來源。

藉由使胺基氯甲酸二甲酯與經N-Boc保護之4-哌啶醇反應來製備胺基甲酸4-哌啶醇-二甲酯。

製備1

1-異丙基-1,3-二氫-2*H*-苯并咪唑-2-酮之製備

a. *N*-異丙基-*N*-(2-硝基苯)胺之製備

向在冰浴中冷卻之乙醇(300 mL)中之2-氟基-硝基苯

(31.8 g, 0.225 mol)的冷溶液添加異丙基胺(54.0 mL, 0.634 mol), 隨後添加水(120 mL)中之碳酸鉀(31.1 g, 0.225 mol)溶液。在0°C下攪拌混合物1 h, 接著回流6 h。藉由冷卻混合物至環境溫度來終止反應, 且將其減壓蒸發而得橙色殘餘物。使殘餘物在乙醚(800 mL)及鹽水溶液(300 mL)之間分溶。乾燥且過濾有機層以提供呈橙色液體之標題中間體(39 g)。¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ (ppm) 8.06 (d, 1H), 7.30 (t, 1H), 6.74 (d, 1H), 6.48 (t, 1H), 3.73 (hept, 1H), 1.20 (d, 6H)。

b. N-(2-胺基苯基)-N-異丙基胺之製備

向在冰浴中冷卻之乙醇(600 mL)及2 M氫氧化鈉溶液(320 mL)之混合物緩慢添加鋅粉(59.5 g)。在攪拌鋅漿體下, 添加溶解於乙醇(50 mL)中之N-異丙基-N-(2-硝基苯基)胺(41 g, 0.228 mol)。在0°C下攪拌混合物30 min, 接著加熱至85°C。將混合物在85°C下攪拌約12 h直至混合物之回流溶液變成無色溶液。接著使混合物冷卻至0°C且過濾。用EtOAc(200 mL)清洗收集之固體。合併濾液及清洗之溶液, 且在真空中蒸發以移除過量之揮發性溶劑。在濃縮期間, 混合物變成淡棕色/黃色。用EtOAc(800 mL)萃取水性濃縮物。將有機溶液濃縮至乾, 以提供呈粉棕色油之標題中間體(33 g), 其未經進一步處理即用於下一步驟中。¹H-NMR (CDCl₃, 300MHz): δ (ppm) 6.73-6.5 (m, 4H), 3.58-3.55 (hept, 1H), 1.2 (d, 6H)。

c. 1-異丙基-1,3-二氫-2H-苯并咪唑-2-酮之製備

向四氫呋喃(500 mL)中之步驟(b)之產物(N-(2-胺基苯基)-N-異丙基胺(34 g, 0.226 mol))的溶液添加以固體的羰基二咪唑(36.7 g, 0.226 mol)。混合物在環境溫度於氮氣之氣氛下攪拌約24 h。在真空中濃縮混合物，且所得之深褐色殘餘物在EtOAc(700 mL)及鹽水溶液(300 mL)之間分配。接著用1 M磷酸多次(約3 × 300 mL)洗滌有機層直至有機層之顏色由茶褐色轉變為淺黃色。蒸發有機溶液至乾燥以提供靜置時緩慢凝固之呈淺黃色油之標題中間體(34 g)。藉由表明無可偵測之雜質的¹H-NMR來分析材料之純度：¹H-NMR (CD₃OD, 300 MHz): δ (ppm) 7.2 (m, 1H), 7.0 (m, 3H), 4.6 (七重峰, 1H), 1.46 (d, 6H)。(m/z): [M+H]⁺ C₁₀H₁₂N₂O之計算值：177.09;實驗值：177.2。

分析HPLC：滯留時間= 2.7 min(純度為99%)：1)管柱：Zorbax, Bonus-RP, 3.5 μm粒度, 2.1 × 50 mm；2)流速：0.5 mL/min；3)等度條件(10%溶劑B/90%溶劑A)，歷時0至0.5 min；接著線性梯度至50%溶劑B/50%溶劑A(溶劑A = 98%水/2% MeCN/0.1%TFA；溶劑B = 90%MeCN/10%水/0.1% TFA)，經5 min。TLC分析(矽膠板)：R_f = 0.5 (CH₂Cl₂)。液相層析質譜分析法(LCMS)(m/z)：[M+H]⁺ C₁₀H₁₂N₂O之計算值：177.09；實驗值：177.3。

製備 2

(1*S*,3*R*,5*R*)-3-胺基-8-氮雜雙環[3.2.1]辛烷-8-羧酸第三丁酯之製備

a. 8-苯甲基-8-氮雜雙環[3.2.1]辛-3-酮之製備

在攪拌下將濃鹽酸(30 mL)添加至水(170 mL)中之2,5-二甲氧基四氫呋喃(82.2 g, 0.622 mol)之非勻質溶液。在冷卻至0°C(冰浴)之單獨燒瓶中，將濃鹽酸(92 mL)緩慢添加至水(350 mL)中之苯甲胺(100 g, 0.933 mol)溶液。攪拌2,5-二甲氧基四氫呋喃溶液大約20 min，用水(250 mL)稀釋且接著添加苯甲胺溶液，隨後添加水(400 mL)中之1,3-丙酮二羧酸(100 g, 0.684 mol)溶液且接著添加水(200 mL)中之磷酸氫二鈉(44 g, 0.31 mol)。使用40% NaOH調節pH為pH 1至pH約4.5。隔夜攪拌所得溶液。接著使用50%鹽酸使溶液自pH 7.5酸化至pH 3，加熱至85°C且攪拌2小時。溶液冷卻至室溫，使用40% NaOH鹼化至pH 12且用DCM(3 × 500 mL)萃取。用鹽水洗滌混合之有機層，乾燥、過濾且減壓濃縮以產生呈黏性棕色油之粗製標題中間體(52 g)。

在0°C向甲醇(1000 mL)中之粗製中間體溶液添加二碳酸二第三丁酯(74.6 g, 0.342 mol)。使溶液溫至室溫且隔夜攪拌。在減壓下移除甲醇且使所得之油溶解於二氯甲烷(1000 mL)中。中間體於1 M H₃PO₄(1000 mL)內萃取且用二氯甲烷(3 × 250 mL)洗滌。使用NaOH水溶液將水層鹼化為pH 12，且用二氯甲烷(3 × 500 mL)萃取。混合之有機層經乾燥、過濾且減壓濃縮以提供呈黏性、淺棕色油之標題中間體。¹H-NMR (CDCl₃) δ (ppm) 7.5-7.2 (m, 5H, C₆H₅), 3.7 (s, 2H, CH₂Ph), 3.45 (寬峰 s, 2H, CH-NBn), 2.7-2.6 (dd, 2H, CH₂CO), 2.2-2.1 (dd, 2H, CH₂CO), 2.1-2.0 (m, 2H,

CH₂CH₂), 1.6 (m, 2H, CH₂CH₂)。 (m/z): [M+H]⁺ C₁₄H₁₇NO
之計算值: 216.14; 實驗值: 216.0。

b. 3-側氧基-8-氮雜雙環[3.2.1]辛烷-8-羧酸第三丁酯之製備

向 EtOAc(300 mL)中之 8-苯甲基-8-氮雜雙環[3.2.1]辛-3-酮(75 g, 0.348 mol)溶液添加 EtOAc(300 mL)中之二碳酸二第三丁酯(83.6 g, 0.383 mol, 1.1當量)溶液。在氮氣流下將所得溶液及清洗液(100 mL EtOAc)添加至含有 23 g 氫氧化鈣(20重量%鈣碳, 乾基, 水濕約 50%; 例如, Pearlman's 催化劑)之 1 L 帕氏(Parr)氫化容器中。使反應容器脫氣(使真空及 N₂ 交替五次)且加壓至 60 psi 之 H₂ 氣。反應溶液攪拌兩天且如需要則再充入 H₂ 以保持 H₂ 壓力在 60 psi 直至如由二氧化矽薄層層析法監控反應完全。接著藉由 Celite® 之襯墊過濾且減壓濃縮黑色溶液以提供呈黏性、黃色至橙色之油的標題中間體。其未經進一步處理即用於下一步驟中。¹H NMR (CDCl₃) δ(ppm) 4.5 (寬峰, 2H, CH-NBoc), 2.7 (寬峰, 2H, CH₂CO), 2.4-2.3 (dd, 2H, CH₂CH₂), 2.1 (寬峰 m, 2H, CH₂CO), 1.7-1.6 (dd, 2H, CH₂CH₂), 1.5 (s, 9H, (CH₃)₃COCON)。

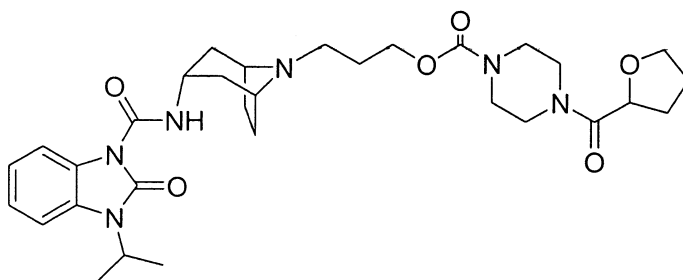
c. (1S,3R,5R)-3-胺基-8-氮雜雙環[3.2.1]辛烷-8-羧酸第三丁酯之製備

在經由機械攪拌器攪拌下, 在 N₂ 流下向甲醇(1 L)中之先前步驟之產物(75.4 g, 0.335 mol)的溶液添加甲酸胺(422.5 g, 6.7 mol)、水(115 mL)及 65 g 鈣碳(10%在乾基上, 水濕約 50%; Degussa 型 E101NE/W)。在 24 及 48 小時後, 每次添

加甲酸胺(132g, 2.1 mol)之額外部分。一旦反應進程終止(如由分析HPLC所監測), 則添加 Celite[®](>500g)且過濾所得之稠密懸浮液, 且接著用甲醇(約500 mL)清洗所收集之固體。合併濾液且減壓濃縮。接著用1M磷酸稀釋所得混濁、兩相溶液成pH 2之約1.5至2.0 L之最終體積且用二氯甲烷(3 × 700 mL)洗滌。使用40%水性NaOH將水層鹼化為pH 12, 且用二氯甲烷(3 × 700 mL)萃取。混合有機層經乾燥、過濾且由旋轉蒸發濃縮, 接著高真空以提供呈白色至淺黃色固體之標題中間體(52 g)(通常為N-Boc-內-3-胺基莨菪烷)。基於¹H-NMR分析, 產物之內與外胺之異構體比率為>99:1(分析HPLC純度>96%)。 ¹H NMR (CDCl₃) δ (ppm) 4.2-4.0 (寬峰d, 2H, CHNBoc), 3.25 (t, 1H, CHNH₂), 2.1-2.05 (m, 4H), 1.9 (m, 2H), 1.4 (s, 9H, (CH₃)₃OCON), 1.2-1.1 (寬峰, 2H)。 (m/z): [M+H]⁺ C₁₂H₂₂N₂O₂之計算值: 227.18; 實驗值: 227.2。 分析HPLC(等度方法; 2:98 (A:B)至90:10 (A:B)經5 min): 滯留時間=3.68 min。

實例 1

4-(四氫呋喃-2-羰基)哌嗪-1-羧酸3-{(1S,3R,5R)-3-[(3-異丙基-2-側氧基-2,3-二氫苯并咪唑-1-羰基)胺基]-8-氮雜-雙環[3.2.1]辛-8-基}丙酯之合成



- a. (1*S*,3*R*,5*R*)-3-[(3-異丙基-2-側氧基-2,3-二氫苯并咪唑-1-羰基)胺基]-8-氮雜雙環[3.2.1]辛烷-8-羧酸第三丁酯之製備

在氮氣氛下向在冰浴中之無水THF(1000 L)中的氫化鈉(9.25 g; 231.4 mmol; 60 %分散在礦物油中)之冷懸浮液添加THF(50 mL)中的製備1之產物，1-異丙基-1,3-二氫-2*H*-苯并咪唑-2-酮(27.2 g, 154.2 mmol)。混合物在約0-5℃下攪拌30 min，接著添加THF(50 mL)中之氯甲酸4-硝基苯酯(34.2 g, 170 mmol)。在使混合物逐漸溫至環境溫度同時攪拌混合物隔夜。接著向形成之活化酯添加THF(50 mL)中之(1*S*,3*R*,5*R*)-3-胺基-8-氮雜雙環[3.2.1]辛烷-8-羧酸第三丁酯(36.7 g, 162 mmol)。混合物在環境溫度下攪拌約12 h且在約75℃下攪拌約3 h，此時反應樣本之LCMS指示耦合反應完成。混合物在真空中濃縮，溶解於二氯甲烷(1 L)中且首先用1M H₃PO₄及接著用飽和NaHCO₃溶液洗滌。乾燥後，蒸發有機溶液以提供呈淡黃色殘餘物之標題中間體，其未經進一步處理即用於下一步驟中。

- b. 作為三氟乙酸鹽之N-[(1*S*,3*R*,5*R*)-3-異丙基-2-側氧基-2,3-二氫苯并咪唑-1-羧酸(8-氮雜雙環[3.2.1]辛-3-基)醯胺之製備

向在冰浴中的二氯甲烷(200 mL)中之(1*S*,3*R*,5*R*)-3-[(3-異丙基-2-側氧基-2,3-二氫苯并-咪唑-1-羰基)胺基]-8-氮雜雙環[3.2.1]辛烷-8-羧酸第三丁酯(先前步驟之產物)添加三氟乙酸(200 mL)。混合物在約5℃下攪拌30 min，且在室溫

下攪拌約1 h。在混合物之蒸發後，將乙醚(約500 mL)添加至含油殘餘物，以引起殘餘物之凝固。收集沉澱，用大量乙醚清洗且在真空中乾燥以提供呈TFA鹽之標題中間體(47 g)。該標題中間體通常亦稱作內-N-(8-氮雜雙環[3.2.1]辛-3-基)-3-異丙基-2-側氧基-2,3-二氫苯并咪唑-1-羧醯胺。

c. N-[(1S,3R,5R)-3-異丙基-2-側氧基-2,3-二氫苯并咪唑-1-羧酸(8-氮雜雙環[3.2.1]辛-3-基)醯胺(游離鹼)之製備

向二氯甲烷(500 mL)中之先前步驟之產物(15 g, 33.9 mmol)的懸浮液添加水(500 mL)。將N,N-二異丙基乙胺(約20 mL)添加至反應混合物以使得水層pH為8-9。分離該等層，保留有機層。用二氯甲烷(100 mL)第二次萃取水層。合併所得萃取液，且接著用鹽水洗滌。在經Na₂SO₄乾燥及過濾、溶劑移除後產出呈游離鹼之黃色粉末之標題化合物(9.7 g)。¹H NMR (DMSO-d₆): 1.48 (d, 6H), 1.40-2.00 (m, 8H), 3.53 (m, 2H), 4.07 (m, 1H), 4.69 (七重峰, 1H), 7.21 (m, 2H), 7.45 (d, 1H), 8.08 (d, 1H), 9.31 (d, 1H)。 (m/z): [M+H]⁺ C₁₈H₂₄N₄O₂之計算值: 329.20; 實驗值: 329.2。分析 HPLC: (2-50% MeCN/H₂O 經 6 min) 滯留時間 = 3.67 min。

d. 3-氯丙基-4-(四氫呋喃-2-基-羰基)哌嗪-1-羧酸鹽之製備

向二氯甲烷(5 mL)中之1-(四氫呋喃-2-基-羰基)哌嗪(202 mg, 1.1 mmol)之0°C溶液中添加氯甲酸3-氯丙基酯(133 μL, 1.1 mmol)，隨後添加N,N-二異丙基乙胺(192 μL, 1.1 mmol)。使反應經2 h達室溫，此時反應經蒸發產出呈小麥

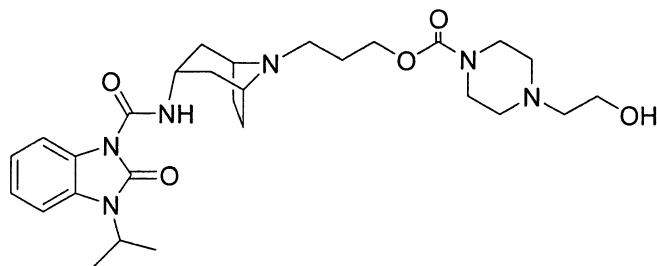
色油狀之標題化合物，其未經進一步提純即使用。

e. 4-(四氫呋喃-2-羰基)哌嗪-1-羧酸 3-{(1S,3R,5R)-3-[(3-異丙基-2-側氧基-2,3-二氫苯并咪唑-1-羰基)胺基]-8-氮雜雙環[3.2.1]辛-8-基}丙酯之合成

使 3-氯丙基-4-(四氫呋喃-2-基-羰基)哌嗪-1-羧酸鹽 (335 mg, 1.1 mmol) 溶解於二甲基甲醯胺 (5.0 mL)，且添加至步驟 (c) 之固體游離鹼產物 (118 mg, 0.36 mmol) 及 NaI (164 mg, 0.72 mmol)。添加 N,N-二異丙基乙胺 (64 μ L, 0.36 mmol) 且在 90°C 下隔夜攪拌混合物。移除揮發物且經由製備 HPLC (反相) 經 50 min 之 15-45% 梯度、流速 20 mL/min 完成提純以提供呈白色固體的 TFA 鹽之標題化合物 (45 mg)。
(m/z): $[M+H]^+$ $C_{31}H_{44}N_6O_6$ 之計算值：597.33；實驗值：597.1。分析 HPLC：(5-65% MeCN/H₂O 經 4 min) 滯留時間 = 2.58。

實例 2

4-(2-羥乙基)哌嗪-1-羧酸 3-{(1S,3R,5R)-3-[(3-異丙基-2-側氧基-2,3-二氫苯并咪唑-1-羰基)胺基]-8-氮雜雙環-[3.2.1]辛-8-基}丙酯之合成

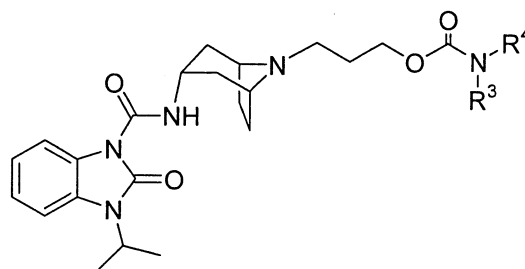


除步驟 (d) 中用 2-哌嗪-1-基乙醇代替 1-(四氫呋喃-2-基羰基)哌嗪以外，使用實例 1 中所述之方法製備呈 TFA 鹽之標

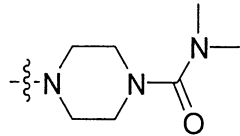
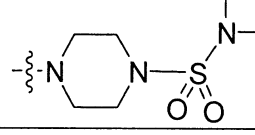
題化合物 (13.8 mg)。(m/z): $[M+H]^+$ $C_{28}H_{42}N_6O_5$ 之計算值：
543.32; 實驗值：543.5。

實例 3-12

除在步驟(d)中用適當試劑代替 1-(四氫呋喃-2-基-羰基) 哌嗪以外，使用實例 1 中所述之方法製備下列實例 3-12 之化合物。

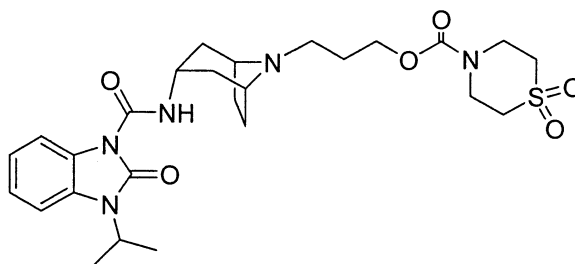


實例	$-NR^3R^4$	分子式	計算值 $[M+H]^+$	實驗值 $[M+H]^+$
3		$C_{28}H_{40}N_6O_5$	541.31	541.2
4		$C_{30}H_{44}N_6O_6$	585.33	585.2
5		$C_{28}H_{40}N_6O_5$	541.31	541.2
6		$C_{26}H_{37}N_5O_6S$	548.25	548.2
7		$C_{27}H_{39}N_5O_6S$	562.26	562.2
8		$C_{27}H_{38}N_6O_5$	527.29	527.2
9		$C_{29}H_{42}N_6O_5$	555.32	555.2
10		$C_{27}H_{40}N_6O_5$	529.31	529.2

實例	$-\text{NR}^3\text{R}^4$	分子式	計算值 [M+H] ⁺	實驗值 [M+H] ⁺
11		C ₂₉ H ₄₃ N ₇ O ₅	570.30	570.4
12		C ₂₈ H ₄₃ N ₇ O ₆ S	606.30	606.2

實例 13

1,1-二側氧基-1λ⁶-硫代嗎啉-4-羧酸 3-[(1S,3R,5R)-3-[(3-異丙基-2-側氧基-2,3-二氫苯并咪唑-1-羰基)胺基]-8-氮雜雙環[3.2.1]辛-8-基}丙酯之替代性合成



a. (1S,3R,5R)-3-[(3-異丙基-2-側氧基-2,3-二氫苯并咪唑-1-羰基)胺基]-8-氮雜雙環[3.2.1]辛烷-8-羧酸第三丁酯之製備
在氮氣氛下向含有 1-異丙基-1,3-二氫-2H-苯并咪唑-2-酮 (17.6 g, 100 mmol) 及 氯甲酸 4-硝基苯酯 (20.2 g, 100 mmol) 之 500 mL 反應燒瓶添加二氯甲烷 (350 ml), 且接著緩慢添加三乙胺 (30.5 mL, 220 mmol)。攪拌溶液 15 min 且接著添加 (1S,3R,5R)-3-胺基-8-氮雜雙環[3.2.1]辛烷-8-羧酸第三丁酯 (22.6 g, 100 mmol)。使反應在室溫下攪拌隔夜。用飽和碳酸氫鈉水溶液 (2 × 200 mL) 洗滌反應混合物。藉由蒸餾移除二氯甲烷且添加 MTBE (350 ml)。用 1N 磷酸 (2 × 200 mL)、飽和碳酸氫鈉 (200 mL) 及水 (200 mL) 洗

滌MTBE溶液。有機層經無水硫酸鈉(40 g)乾燥且過濾，且接著藉由蒸餾移除溶劑以產出呈淺棕色固體之標題中間體(35.7 g, 83 %產量)。

b. N-[(1*S*,3*R*,5*R*)-3-異丙基-2-側氧基-2,3-二氫苯并咪唑-1-羧酸(8-氮雜雙環[3.2.1]辛-3-基)醯胺三氟乙酸鹽之製備

在500 ml燒瓶中，使(1*S*,3*R*,5*R*)-3-[(3-異丙基-2-側氧基-2,3-二氫苯并咪唑-1-羧基)胺基]-8-氮雜雙環[3.2.1]辛烷-8-羧酸第三丁酯(21.4 g, 50 mmol)溶解於二氯甲烷(200 ml)中。添加三氟乙酸(37 mL, 500 mmol)且使反應混合物在室溫下攪拌3 h。用水(2 × 100 mL)洗滌反應混合物。藉由蒸餾移除有機層中之溶劑且藉由添加MTBE(200 mL)濕磨粗製產物殘餘物。在室溫下攪拌1 h後，固體經過濾分離，用MTBE(2 × 25 mL)洗滌且在真空下乾燥以提供標題中間體(21.0 g, 97 %產量)。

c. 1,1-二側氧基-1λ⁶-硫代嗎啉-4-羧酸3-氯丙酯之製備

在500 ml燒瓶中，使二氧化硫代嗎啉(13.5 g, 100 mmol)在室溫下溶解於二氯甲烷(150 mL)中且添加N,N-二異丙基乙胺(19.2 mL, 110 mmol)。在室溫下攪拌10 min後，在冰浴中將反應混合物冷卻至大約5℃。經由加料漏斗以維持反應溫度低於10℃之速率向反應混合物添加1-氯-3-氯甲氧基丙烷(11.8 mL, 100 mmol)。當添加完全時，使反應混合物溫至室溫。用水(2 × 100 mL)洗滌反應混合物，且經無水硫酸鈉(25 g)乾燥有機相。在過濾後，藉由蒸餾移除溶劑以產出靜置時凝固之呈油狀固體之標題化合

物(24.0 g, 94 %產量)。

e. 1,1-二側氧基-1 λ^6 -硫代嗎啉-4-羧酸3-{(1*S*,3*R*,5*R*)-3-[(3-異丙基-2-側氧基-2,3-二氫苯并咪唑-1-羰基)胺基]-8-氮雜雙環[3.2.1]辛-8-基}丙酯之合成

向二氯甲烷(100 ml)中之N-[(1*S*,3*R*,5*R*)-3-異丙基-2-側氧基-2,3-二氫苯并咪唑-1-羧酸(8-氮雜雙環[3.2.1]辛-3-基)醯胺三氟乙酸鹽(8.8 g, 20 mmol)之溶液添加水(100 ml)。調節水層之pH至約12以提供鹽之游離鹼。分離有機層，經硫酸鈉乾燥且藉由蒸餾移除溶劑。使游離鹼溶解於N-甲基-2-吡咯啉酮(100 mL)中且溶液轉移至含有1,1-二側氧基-1 λ^6 -硫代嗎啉-4-羧酸3-氯丙酯(7.2 g, 28 mmol)及NaI(3.0 g, 20 mmol)之250 ml燒瓶。添加N,N-二異丙基乙胺(4.2 mL, 24 mmol)且將反應混合物加熱至50°C歷時18 h。藉由蒸餾移除溶劑。使粗製產物殘餘物溶解於EtOAc(200 mL)中，用水(2 × 50 mL)洗滌且經硫酸鈉(10 g)乾燥。藉由蒸餾移除溶劑以獲得粗製產物殘餘物(約12 g)。

粗製產物殘餘物經2"管柱上之製備HPLC提純；填料：鹼鈍化之矽膠(BDS)，流速：200 mL/min；溶離劑A：水中之0.1% TFA；溶離劑B：水中之90%乙腈/10% 0.1% TFA；梯度(時間，% B)：(0, 5); (25, 30); (35, 80); (45, 80); (50,5); (60, 5)。產物藉由純餾分之凍乾而分離以提供標題化合物(3.4 g, 26%產量)。¹H-NMR (DMSO-*d*₆) δ (ppm): 9.35 (d, 1H), 8.07 (d, 1H), 7.46 (d, 1H), 7.22 (t, 1H), 7.16 (t, 1H), 4.69 (七重峰, 1H), 4.20-4.00 (m, 3H), 4.12 (t,

2H), 3.90-3.70 (m, 4H), 3.70 (t, 2H), 3.25-3.05 (m, 4H), 2.5-2.0 (m, 8H), 2.15 (dt, 2H), 1.49 (d, 6H)。 $(m/z): [M+H]^+$
 $C_{26}H_{37}N_5O_6S$ 之計算值：548.2;實驗值：548.4。

檢定1：對於5-HT_{4(c)}人類受體之放射性配位子結合檢定

a. 膜製備5-HT_{4(c)}

經人類5-HT_{4(c)}受體cDNA(Bmax=約6.0 pmol/mg蛋白質，如使用 $[^3H]$ -GR113808膜放射性配位子結合檢定所確定)穩定轉染之HEK-293(人類胚胎腎臟)細胞於含有4,500 mg/L D-葡萄糖及鹽酸吡哆醇(GIBCO-Invitrogen Corp., Carlsbad CA: Cat #11965)之達氏(Dulbecco's)改良依氏(Eagles)培養基(DMEM)中的T-225燒瓶中培育，其中在37°C下、5% CO₂、濕潤恆溫箱中補充10%胎牛血清(FBS)(GIBCO-Invitrogen Corp.: Cat #10437)、2 mM L-麩胺醯胺及(100單位)盤尼西林-(100 µg)鏈黴素/ml(GIBCO-Invitrogen Corp.: Cat #15140)。細胞在連續選擇壓力下藉由向培養基添加800 µg/mL遺傳黴素(GIBCO-Invitrogen Corp.: Cat #10131)來培育。

細胞可培育成大約60-80%融合(< 35繼代培養)。在收集之前的20-22小時，兩次洗滌細胞且用無血清DMEM進料。膜製備之所有步驟均在冰上進行。藉由平緩之機械攪拌及25 mL吸量管之研磨提昇細胞單層。藉由1000 rpm之離心(5 min)收集細胞。

對於膜製備而言，細胞小球在冰冷的pH 7.4之50 mM 4-(2-羥乙基)-1-哌嗪乙磺酸(HEPES)(膜製備緩衝液)(自30-40

個 T225 燒瓶之 40 mL/總細胞產量)中再懸浮，且在冰上使用均勻化破碎儀(設置為 19, 2×10 s)均勻化。生成之勻漿以 1200 g 在 4°C 離心 5 min。棄去小球且在 40,000 g(20 min)下離心上清液。藉由膜製備緩衝液之再懸浮及在 40,000 g(20 min)下離心洗滌小球一次。最終小球在 pH 7.4 之 50 mM HEPES(檢定緩衝液)(1 當量 T225 燒瓶/1 mL)中再懸浮。膜懸浮液之蛋白質濃度由布萊德福(Bradford)方法(Bradford, 1976)測定。在 -80°C 將膜等分冷凍儲存。

b. 放射性配位子結合檢定

放射性配位子結合檢定以 pH 7.4 的 50 mM HEPES(含有 0.025% 之牛血清蛋白(BSA))中含有 2 μ g 膜蛋白質之 400 μ L 總檢定體積在 1.1 mL 96 深孔聚丙烯檢定板(Axygen)中進行。使用 [3 H]-GR113808 (Amersham Inc., Bucks, UK: Cat #TRK944; 特異性活性為約 82 Ci/mmol)以在 0.001 nM-5.0 nM 範圍內之 8-12 種不同濃度進行用於測定放射性配位子之 K_d 值的飽和結合研究。用 [3 H]-GR113808 以 0.15 nM 及在 10 nM-100 μ M 範圍內之化合物的 11 種不同濃度進行用於確定化合物之 pK_i 值的位移檢定。

測試化合物作為 DMSO 中之 10 mM 儲備溶液得到且在 25°C 於 pH 7.4 的 50 mM HEPES(含有 0.1% BSA)內稀釋至 400 μ M，且接著在相同緩衝液中完成連續(1:5)稀釋。在 1 μ M 無標號之 GR113808 存在下測定非特異性結合。檢定在室溫下培養 60 min，且接著藉由經 0.3% 聚乙烯亞胺中預浸泡之 96 孔 GF/B 玻璃纖維濾板(Packard BioScience Co.,

Meriden, CT)之快速過濾來終止結合反應。濾板用過濾緩衝液(冰冷的pH7.4之50mM HEPES)洗滌三次以移除未結合之放射性活性。板經乾燥，向每一孔添加35 μ L Microscint-20液體閃爍流體(Packard BioScience Co., Meriden, CT)且該等板以Packard Topcount液體閃爍計數器(Packard BioScience Co., Meriden, CT)來計數。

使用用於單-位點競爭之3參數模型藉由GraphPad Prism軟體包(GraphPad Software, Inc., San Diego, CA)之非線性回歸分析來分析結合資料。如在1 μ M GR113808存在下所確定，BOTTOM(曲線最小值)固定為非特異性結合之值。用Prism自最適IC₅₀值計算測試化合物之K_i值，且使用Cheng-Prusoff方程式(Cheng及Prusoff, *Biochemical Pharmacology*, 1973, 22, 3099-108)： $K_i = IC_{50} / (1 + [L]/K_d)$ (其中[L]=濃度 [³H]-GR113808)來計算放射性配位子之K_d值。結果以K_i值之負的以十為底之對數(pK_i)表示。

在此檢定中具有較高pK_i值之測試化合物具有對於5-HT₄受體之較高結合親和力。在此檢定中測試的本發明之化合物具有在約7.0至約9.0範圍內之pK_i值，通常在約7.5至約8.5範圍內。舉例而言，在此檢定中實例1之化合物展現7.9之pK_i值。

檢定2：對於5-HT_{3A}人類受體之放射性結合檢定：受體亞型選擇性之確定

a. 膜製備5-HT_{3A}

自Dr. Michael Bruess(University of Bonn, GDR)(Bmax=

約 9.0 pmol/mg 蛋白質，如使用 [^3H]-GR65630 膜放射性配伍子結合檢定所確定)獲得經人類 5-HT_{3A} 受體 cDNA 穩定轉染之 HEK-293(人類胚胎腎臟)細胞。細胞於 50% 達氏改良依氏培養基(DMEM)(GIBCO-Invitrogen Corp., Carlsbad, CA: Cat #11965)及 50% Ham's F12(GIBCO-Invitrogen Corp.: Cat #11765)中在 T-225 燒瓶或細胞工廠中培育，其中在 37°C 下 5% CO₂、濕潤恆溫箱中補充 10% 熱非活化胎牛血清(FBS)(Hyclone, Logan, UT: Cat #SH30070.03)及(50單位)盤尼西林-(50 g)鏈黴素/ml(GIBCO-Invitrogen Corp.: Cat #15140)。

細胞培育至大約 70-80% 融合(< 35 繼代培養)。膜製備之所有步驟均在冰上進行。為收集細胞，抽出培養基且用不含 Ca²⁺、Mg²⁺之達氏磷酸鹽緩衝生理鹽水(dPBS)清洗。藉由緩慢機械攪拌提昇細胞單層。藉由以 1000 rpm(5 min)之離心收集細胞。膜製備之後續步驟遵循用於表示 5-HT_{4(c)} 受體之膜的上述方法。

b. 放射性配伍子結合檢定

在 96 孔聚丙稀檢定板中以 pH 7.4 的 50 mM HEPES(含有 0.025% BSA 檢定緩衝液)中含有 1.5-2 μg 膜蛋白質之 200 μL 總檢定體積進行放射性配伍子結合檢定。使用 [^3H]-GR65630(PerkinElmer Life Sciences Inc., Boston, MA: Cat #NET1011，特異性活性為約 85 Ci/mmol)以 0.005 nM 至 20 nM 範圍內之 12 種不同濃度來進行用於測定放射性配伍子之 K_d 值的飽和結合研究。使用 [^3H]-GR65630 以 10 pM 至 100 μM 範圍內之化合物的 11 種不同濃度來進行用於測定化合

物的 pK_i 值之位移檢定。化合物作為 DMSO 中之 10 mM 儲備溶液獲得(見 3.1 部分)，在 25°C 下於 pH 7.4 的 50 mM HEPES (含有 0.1% BSA) 內稀釋至 400 μ M，且接著在相同緩衝液中完成連續(1:5)稀釋。在 10 μ M 無標號 MDL72222 存在下測定非特異性結合。檢定在室溫下培養 60 min，接著藉由經 0.3% 聚乙炔亞胺中預浸泡之 96 孔 GF/B 玻璃纖維濾板 (Packard BioScience Co., Meriden, CT) 快速過濾來終止結合反應。用過濾緩衝液(冰冷之 pH 7.4 的 50 mM HEPES) 清洗濾板三次以移除非結合放射活性。板經乾燥，向每一孔添加 35 μ L Microscint-20 液體閃爍流體 (Packard BioScience Co., Meriden, CT) 且以 Packard Topcount 液體閃爍計數器 (Packard BioScience Co., Meriden, CT) 來計數。

使用上述非線性回歸程序來分析結合資料以測定 K_i 值。使 BOTTOM(曲線最小值) 固定為非特異性結合之值，如在 10 μ M MDL72222 存在下所確定。Cheng-Prusoff 方程式中量 [L] 定義為濃度 [3 H]-GR65630。

關於 5-HT₃ 受體亞型之 5-HT₄ 受體亞型之選擇性以比率 $K_i(5\text{-HT}_{3A})/K_i(5\text{-HT}_{4(c)})$ 來計算。在此檢定中測試的本發明之化合物具有在約 10 至約 950 範圍內(通常在約 50 至約 500 範圍內)之 5-HT₄/5-HT₃ 受體亞型選擇。舉例而言，實例 1 展現 160 之亞型選擇性。

檢定 3：利用表現人類 5-HT_{4(c)} 受體之 HEK-293 細胞之全細胞 cAMP 積累閃爍板檢定

在此檢定中，藉由量測表現 5-HT₄ 受體的 HEK-293 細胞

與不同濃度之測試化合物接觸時所產生的環AMP之量來確定測試化合物的功能效能。

a. 細胞培養物

經選殖人類5-HT_{4(c)}受體cDNA穩定轉染之表現受體之HEK-293(人類胚胎腎臟)細胞以兩種不同密度來製備：(1)如使用 [³H]-GR113808膜放射配位子結合檢定所確定，以約0.5-0.6 pmol/mg蛋白質之密度，及(2)以約6.0 pmol/mg蛋白質之密度。細胞在T-225燒瓶中以含有4,500 mg/L D-葡萄糖(GIBCO-Invitrogen Corp.: Cat #11965)的達氏改良依氏培養基(DMEM)(GIBCO-Invitrogen Corp., Carlsbad, CA: Cat #11965)來培育，其中在37°C下5% CO₂、濕潤恆溫箱中補充10%胎牛血清(FBS)(GIBCO-Invitrogen Corp.: Cat #10437)及(100單位)盤尼西林-(100 µg)鏈黴素/ml(GIBCO-Invitrogen Corp.: Cat #15140)。細胞在連續選擇壓力下藉由向培養基添加遺傳黴素(800 µg/mL: GIBCO-Invitrogen Corp.: Cat #10131)來培育。

b. 細胞製備

細胞培育至大約60-80%融合。在檢定之前的20至22小時，用含有4,500 mg/L D-葡萄糖(GIBCO-Invitrogen Corp.: Cat #11965)的不含血清DMEM洗滌細胞兩次且進料。為收集細胞，抽出培養基且向每一T-225燒瓶添加10 mL Versene(GIBCO-Invitrogen Corp.: Cat #15040)。細胞在RT培養5 min且接著藉由機械攪拌自燒瓶移去。將細胞懸浮液轉移至含有等體積之預溫(37°C)dPBS的離心管，且以

1000 rpm離心 5 min。棄去上清液且使小球在預溫(37°C)螢光放射增強緩衝液(每2-3個T-225燒瓶10mL當量)中預懸浮。記錄此時間且標記為時間零點。用Coulter計數器來計數細胞(8 μ m以上計數, 燒瓶產量為 $1-2 \times 10^7$ 細胞/燒瓶)。細胞在預溫(37°C)螢光放射增強緩衝液中(如閃爍板套組中所提供)以 5×10^5 細胞/ml的濃度預懸浮且在37°C預培養10 min。

根據製造廠家之說明, 以放射性免疫檢定格式使用具有 125 I-cAMP(SMP004B, PerkinElmer Life Sciences Inc., Boston, MA)之閃爍板腺苷酸環化酶活化檢定系統來進行cAMP檢定。

如上所述培育且製備細胞。在檢定中最終細胞濃度為 25×10^3 細胞/孔且最終檢定體積為100 μ L。測試化合物以DMSO中之10 mM儲備溶液獲得, 在25°C pH 7.4之50 mM HEPES(含有0.1% BSA)內稀釋至400 μ M且接著在相同緩衝液中完成連續(1:5)稀釋。用在10 pM至100 μ M(最終檢定濃度)範圍內之化合物的不同濃度進行環AMP積累檢定。在每一板上包括5-HT濃度反應曲線(10 pM至100 μ M)。在37°C下震盪15 min來培養細胞, 且藉由向每一孔添加100 μ l冰冷的偵測緩衝液(如在閃爍板套組中所提供)來終止反應。密封該等板且在4°C培養隔夜。藉由使用Topcount(Packard BioScience Co., Meriden, CT)之閃爍接近光譜法量化結合放射性。

根據製造廠家之使用者手冊中所提供的說明, 將每mL

反應所產生之cAMP量自cAMP標準曲線外推。使用3-參數S型劑量-反應模式(使斜率約束為統一)藉由具有GraphPad Prism軟體包之非線性回歸分析來分析資料。效能資料報道為 pEC_{50} 值(EC_{50} 值之負的以十為底之對數)，其中 EC_{50} 為對於50%最大反應而言之有效濃度。

在此檢定中展現較高 pEC_{50} 值之測試化合物具有促進5-HT₄受體之較高效能。在此檢定中使用具有約0.5-0.6 pmol/mg蛋白質密度之細胞株(1)測試之本發明化合物具有在約7.5至約9.0範圍內之 pEC_{50} 值，通常在約8.0至約9.0之範圍內。舉例而言，實例1之化合物具有8.4之 pEC_{50} 值。

檢定4：表現hERG心臟鉀離子通道之全細胞中之抑制鉀離子流的體外電壓鉗檢定

經hERG cDNA穩定轉染之CHO-K1細胞由University of Wisconsin之Gail Robertson獲得。細胞保持在低溫儲存中直至需要。細胞在用10%胎牛血清及200 μ g/mL遺傳黴素補充之達氏改良依氏培養基/F12中擴展且繼代。細胞在塗佈聚-D-離胺酸(100 μ g/mL)之玻璃蓋片上、在35 mm²皿(含有2 ml培養基)中以能夠使分離之細胞經選擇用於全細胞電壓鉗研究之密度接種。該等皿在37°C下於濕潤、5% CO₂環境中維持。

細胞外溶液至少每7天製備且不用時則在4°C下儲存。細胞外溶液含有(mM)：NaCl(137)、KCl(4)、CaCl₂(1.8)、MgCl₂(1)、葡萄糖(10)、4-(2-羥乙基)-1-哌嗪乙磺酸(HEPES)(10)(經NaOH調pH為7.4)。在測試化合物不存在或

存在下，細胞外溶液係包含在儲集器中，其自儲集器以大約 0.5 mL/min 流入記錄室內。製備、等分且在 -20°C 儲存細胞內溶液直至使用日。細胞內溶液含有 (mM)：KCl(130)、 MgCl_2 (1)、乙二醇-雙(β -胺基乙基醚)N,N,N',N'-四乙酸鹽(EGTA)(5)、MgATP(5)、4-(2-羥乙基)-1-哌嗪乙磺酸(HEPES)(10)(經 KOH 調 pH 為 7.2)。所有試驗均在室溫 ($20-22^{\circ}\text{C}$) 下進行。

將細胞在其上接種之蓋片轉移至記錄室且連續灌注。在細胞與貼片電極之間形成千歐姆密封部分。一旦獲得穩定貼片，則記錄以電壓鉗模式開始，其中最初的保持電位在 -80 mV 。在達到穩定全細胞電流之後，細胞曝露於測試化合物。標準電壓方法為：自 -80 mV 至 $+20\text{ mV}$ 之保持電位的步驟歷時 4.8 sec，再極化至 -50 mV 歷時 5 sec 且接著回到原始保持電位 (-80 mV)。此電壓方法每 15 sec (0.067 Hz) 進行一次。在再極化階段期間使用 pClamp 軟體來確定峰值電流振幅。以 $3\text{ }\mu\text{M}$ 濃度之測試化合物經細胞灌注 5 分鐘，隨後在不存在化合物下沖洗 5 分鐘。最終向灌注液添加陽性對照 (西沙必利 (cisapride), 20 nM) 以測試細胞之功能。自 -80 mV 至 $+20\text{ mV}$ 的步驟激活 hERG 通道，導致外向電流。回到 -50 mV 之步驟導致外向尾電流，同時通道恢復失活及鈍化。

使用 pCLAMP 軟體來確定在再極化階段期間的峰值電流振幅。對照及測試物品資料輸出至 Origin® (OriginLab Corp., Northampton MA)，其中個別電流振幅在不存在化

合物時正規化為最初電流振幅。計算經正規化之電流均值及每一條件之標準誤差且與試驗之時程相比較而繪圖。

在曝露於測試物品或媒劑對照(通常為0.3% DMSO)5分鐘後，在觀測之 K^+ 電流抑制作用之間作出比較。使用兩個群體之獨立t測試(Microcal Origin v. 6.0)進行試驗組之間的統計比較。差異在 $p < 0.05$ 時考慮為顯著的。

在此檢定中鉀離子流之抑制百分率越小，則當用作治療劑時測試化合物改變心臟再極化模式之潛力越小。在此檢定中以3 μM 濃度測試的本發明之化合物通常展現小於約40%之鉀離子流抑制，更通常為小於約25%。舉例而言，實例1之化合物在此檢定中展現約9%之抑制。

檢定5：口服生物可用性之體外模式：Caco-2滲透檢定

進行Caco-2滲透檢定以示範測試化合物在口服投藥後通過腸且進入血流之能力。測定溶液中的測試化合物滲透一經設計以模擬人類小腸單層之緊密接合的細胞單層之速率。

Caco-2(結腸、腺癌；人類)細胞自ATCC(American Type Culture Collection; Rockville, MD)獲得。出於滲透研究，細胞在預潤濕之Transwell聚碳酸酯過濾器(Costar; Cambridge, MA)上以63,000細胞/ cm^2 之密度接種。細胞單層在21天後形成於培養物中。細胞在Transwell板中培養後，含有細胞單層之膜自Transwell板分離且插入擴散室(Costar; Cambridge, MA)內。將擴散室插入加熱塊中，該加熱塊裝備有外部循環、恆溫調節37°C之水以用於溫度控

制。氣體歧管將95% O₂/5% CO₂傳遞至每半個擴散室且產生跨越細胞單層之層流模式，該模式有效減少未攪拌之邊界層。

用以100 μM之測試化合物及¹⁴C-甘露糖醇進行滲透研究以監測單層之完整性。所有試驗均在37°C進行60 min。樣本自室之供體及接受者兩端在0、30及60 min採取。為測試化合物及甘露糖醇之濃度藉由HPLC或液體閃爍計數法分析樣本。以cm/sec計算滲透係數(K_p)。

在此檢定中，大於約 10×10^{-6} cm/sec之K_p值被認為表現出有利的生物可用性。在此檢定中測試之本發明之化合物通常展現介於約 20×10^{-6} cm/sec與約 60×10^{-6} cm/sec之間之K_p值，更通常介於約 30×10^{-6} cm/sec與約 60×10^{-6} cm/sec之間。舉例而言，實例1之化合物展現約 60×10^{-6} cm/sec之K_p值。

檢定6：大鼠體內之藥物動力學研究

以介於約5與約6之間的pH在0.1%乳酸中製備測試化合物之水溶液調配物。經由以2.5 mg/kg劑量靜脈內投藥(IV)或藉由以5 mg/kg劑量口服管飼(PO)給雄性Sprague-Dawley大鼠(CD系，Charles River實驗室，Wilmington, MA)服用測試化合物。對於IV投藥之給藥量為1 mL/kg且對PO投藥之給藥量為2 mL/kg。自給藥前動物及給藥後2(僅IV)、5、15及30 min及1、2、4、8及24小時收集連續血液樣本。藉由具有1 ng/mL的較低定量極限之液相層析-質譜法分析(LC-MS/MS)(MDS SCIEX, API 4000, Applied Biosystems,

Foster City, CA)來確定血漿中測試化合物之濃度。

使用 WinNonlin(Version 4.0.1, Pharsight, Mountain View, CA)之非隔室分析(對於IV之Model 201及對於PO之Model 200)來分析標準藥物動力學參數。在血漿中之測試化合物濃度曲線相對時間之最大值表示為 C_{max} 。藉由線性梯形法則來計算在自給藥時間至最後可量測濃度(AUC(0-t))之濃度與時間曲線下的面積。口服生物可用性(F(%))(亦即, PO投藥之AUC(0-t)對於IV投藥之AUC(0-t)的劑量正規化比率)可如下計算:

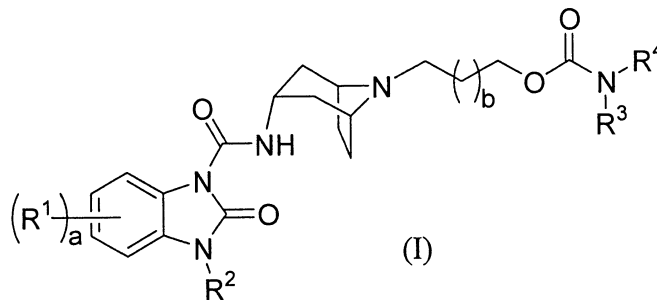
$$F(\%) = AUC_{PO}/AUC_{IV} \times Dose_{IV}/Dose_{PO} \times 100\%$$

在此檢定中展現參數 C_{max} 、AUC(0-t)及F(%)較大值之測試化合物當口服投藥時預期具有更大生物可用性。在此檢定中測試之化合物具有介於約0.15與約0.35 $\mu\text{g/mL}$ 之間的 C_{max} 值及介於0.5與約1.1 $\mu\text{g}\cdot\text{hr/mL}$ 之間的AUC(0-t)值。詳言之, 實例1之化合物具有以下值: 0.32 $\mu\text{g/mL}$ 之 C_{max} 、0.97 $\mu\text{g}\cdot\text{hr/mL}$ 之AUC(0-t)及55%之口服生物可用性F(%)。

雖然本發明已參看其特定實施例描述, 但熟習此項技術者應瞭解不悖離本發明之真實精神及範疇可做出多種改變且可取代等效物。另外, 可做出多種修改以使得特殊情況、材料、物質之組合、方法、方法步驟或步驟適應本發明之目的、精神及範疇。所有該等修改均意欲在此所附之申請專利範圍之範疇內。此外, 所有在本文所引用之公開案、專利及專利文件均以全文引用之方式併入, 如同個別引用之併入一樣。

五、中文發明摘要：

本發明提供一種式(I)之新穎苯并咪唑酮-羧醯胺衍生之
胺基甲酸酯 5-HT₄ 受體激動劑化合物：

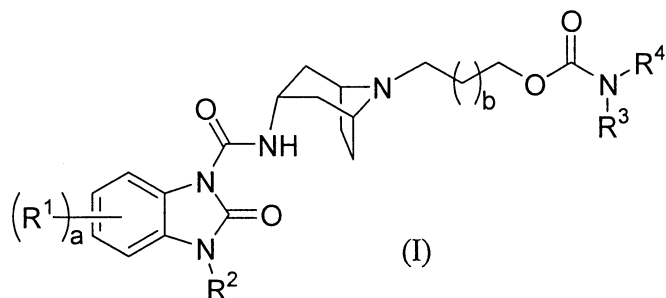


其中 R¹、R²、R³、R⁴、a 及 b 在揭示內容中定義。本發明亦提供包含該等化合物之醫藥組合物，使用該等化合物治療與 5-HT₄ 受體活性相關之疾病之方法，及用於製備該等化合物之方法及中間體。

六、英文發明摘要：

十、申請專利範圍：

1. 一種式(I)化合物：



或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物或立體異構體，
其中：

R^1 為鹵基或 C_{1-3} 烷基，其中 C_{1-3} 烷基視情況經羥基或鹵基取代；

R^2 為氫或 C_{1-3} 烷基，其中 C_{1-3} 烷基視情況經羥基取代；

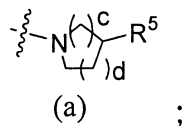
R^3 為 C_{1-3} 烷基或氫；

R^4 為 $-(CH_2)_{1-3}C(O)NR^aR^b$ 、

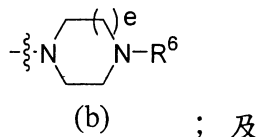


或 R^3 及 R^4 連同其所連接之氮原子形成一選自下列之部分：

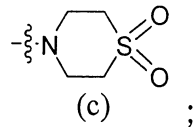
(i) 一式(a)之部分：



(ii) 一式(b)之部分：



(iii) 一式(c)之部分：



其中：

R^5 為 $-\text{OC}(\text{O})\text{NR}^a\text{R}^b$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^a\text{R}^b$ 、 $-\text{NR}^d\text{S}(\text{O})_2\text{C}_{1-3}$ 烷基、 $-\text{NR}^d\text{C}(\text{O})\text{R}^c$ 、 $-\text{NR}^d\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^a\text{R}^b$ 或 $-\text{NR}^d\text{C}(\text{O})\text{OR}^e$ ；

R^6 為 $-\text{C}(\text{O})\text{R}^f$ 、 $-(\text{CH}_2)_2\text{OR}^g$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^a\text{R}^b$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2\text{C}_{1-3}$ 烷基或 $-\text{S}(\text{O})_2(\text{CH}_2)_{1-3}\text{S}(\text{O})_2\text{C}_{1-3}$ 烷基；

R^a 、 R^b 及 R^c 獨立地為氫或 C_{1-3} 烷基；

R^d 為氫或 C_{1-3} 烷基，其中 C_{1-3} 烷基視情況經羥基取代；

R^e 為 C_{1-3} 烷基；

R^f 為氫、 C_{1-3} 烷基、四氫呋喃基或 $-\text{NR}^a\text{R}^b$ ；

R^g 為氫或 C_{1-3} 烷基；

a 為 0、1 或 2；

b 為 0、1、2 或 3；

c 為 0、1 或 2；

d 為 1 或 2；及

e 為 1 或 2；

其限制條件為當 c 為 0 時，則 d 為 2，且 R^5 為 $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^a\text{R}^b$ ；

且當 c 為 2 時，則 d 為 1。

2. 如請求項 1 之化合物，其中 a 為 0。
3. 如請求項 1 之化合物，其中 R^2 為乙基或異丙基。
4. 如請求項 1 之化合物，其中 b 為 1。
5. 如請求項 1 之化合物，其中 R^3 及 R^4 連同其所連接之氮原子形成一式 (b) 之部分。

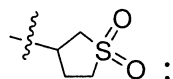
6. 如請求項1之化合物，其中 R^3 及 R^4 連同其所連接之氮原子形成一式(c)之部分。

7. 如請求項1之化合物，其中：

R^2 為乙基或異丙基；

R^3 為 C_{1-3} 烷基；且

R^4 為 $-(CH_2)_{1-3}C(O)NR^aR^b$ 或



或 R^3 及 R^4 連同其所連接之氮原子形成一部分，該部分係選自一式(a)之部分、一式(b)之部分及一式(c)之部分；

其中 R^5 為 $-OC(O)NR^aR^b$ 或 $-C(O)NR^aR^b$ ；

R^6 為 $-C(O)R^f$ 、 $-(CH_2)_2OR^g$ 或 $-S(O)_2NR^aR^b$ ；

R^a 、 R^b 及 R^g 獨立地為氫或甲基；

R^f 為甲基、四氫呋喃基或 $-NR^aR^b$ ；

a 為0；

b 為1；

c 為1或2；

d 為1；且

e 為1。

8. 如請求項7之化合物，其中 R^3 及 R^4 連同其所連接之氮原子形成一式(b)之部分，其中 R^6 為 $-C(O)R^f$ 。

9. 如請求項1之化合物，其中該化合物係選自：

4-(四氫呋喃-2-羰基)哌嗪-1-羧酸3- $\{(1S,3R,5R)$ -3-[(3-異丙基-2-側氧基-2,3-二氫苯并咪唑-1-羰基)胺基]-8-氮

雜雙環-[3.2.1]辛-8-基}丙酯；

4-(2-羥乙基)哌嗪-1-羧酸 3-{(1S,3R,5R)-3-[(3-異丙基-2-側氧基-2,3-二氫苯并咪唑-1-羰基)胺基]-8-氮雜雙環-[3.2.1]辛-8-基}丙酯；

4-乙醯基-哌嗪-1-羧酸 3-{(1S,3R,5R)-3-[(3-異丙基-2-側氧基-2,3-二氫-苯并咪唑-1-羰基)胺基]-8-氮雜雙環[3.2.1]辛-8-基}丙酯；

4-二甲基胺甲醯基氧基哌啶-1-羧酸 3-{(1S,3R,5R)-3-[(3-異丙基-2-側氧基-2,3-二氫苯并咪唑-1-羰基)胺基]-8-氮雜-雙環[3.2.1]辛-8-基}丙酯；

3-胺甲醯基哌啶-1-羧酸 3-{(1S,3R,5R)-3-[(3-異丙基-2-側氧基-2,3-二氫-苯并咪唑-1-羰基)胺基]-8-氮雜雙環[3.2.1]辛-8-基}丙酯；

1,1-二側氧基-1λ⁶-硫代嗎啉-4-羧酸 3-{(1S,3R,5R)-3-[(3-異丙基-2-側氧基-2,3-二氫苯并咪唑-1-羰基)胺基]-8-氮雜雙環[3.2.1]辛-8-基}丙酯；

(1,1-二側氧基四氫-1λ⁶-噻吩-3-基)甲基胺基甲酸 3-{(1S,3R,5R)-3-[(3-異丙基-2-側氧基-2,3-二氫苯并咪唑-1-羰基)胺基]-8-氮雜雙環-[3.2.1]辛-8-基}丙酯；

(R)-2-胺甲醯基吡咯啶-1-羧酸 3-{(1S,3R,5R)-3-[(3-異丙基-2-側氧基-2,3-二氫苯并咪唑-1-羰基)胺基]-8-氮雜雙環[3.2.1]辛-8-基}丙酯；

4-乙醯基-[1,4]二氮雜環庚烷-1-羧酸 3-{(1S,3R,5R)-3-[(3-異丙基-2-側氧基-2,3-二氫-苯并咪唑-1-羰基)胺基]-8-

氮雜雙環[3.2.1]辛-8-基}丙酯；

二甲基胺甲醯基甲基-甲基胺基甲酸3-{(1S,3R,5R)-3-[(3-異丙基-2-側氧基-2,3-二氫苯并咪唑-1-羰基)胺基]-8-氮雜雙環[3.2.1]辛-8-基}丙酯；

4-二甲基胺甲醯基哌嗪-1-羧酸3-{(1S,3R,5R)-3-[(3-異丙基-2-側氧基-2,3-二氫苯并咪唑-1-羰基)胺基]-8-氮雜雙環[3.2.1]辛-8-基}丙酯；

4-二甲基胺磺醯基哌嗪-1-羧酸3-{(1S,3R,5R)-3-[(3-異丙基-2-側氧基-2,3-二氫苯并咪唑-1-羰基)胺基]-8-氮雜雙環[3.2.1]辛-8-基}丙酯；及

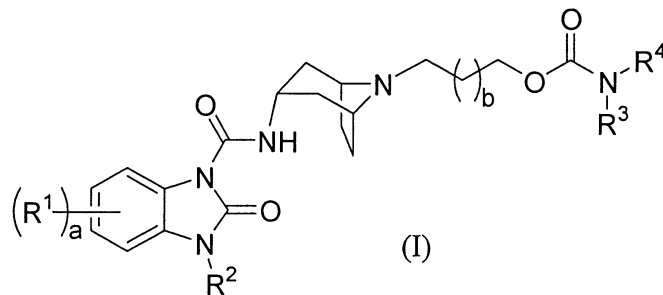
其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物或立體異構體。

10. 如請求項1之化合物，其中該化合物為1,1-二側氧基-1 λ^6 -硫代嗎啉-4-羧酸3-{(1S,3R,5R)-3-[(3-異丙基-2-側氧基-2,3-二氫苯并咪唑-1-羰基)胺基]-8-氮雜雙環[3.2.1]辛-8-基}丙酯或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物或立體異構體。
11. 一種醫藥組合物，其包含治療有效量之如請求項1至10中任一項之化合物及醫藥學上可接受之載體。
12. 如請求項1至10中任一項之化合物，其係用於治療用途。
13. 一種如請求項1至10中任一項之化合物之用途，其係用於製造治療哺乳動物中與5-HT₄受體活性相關之醫學病況的藥劑。
14. 如請求項13之用途，其中該醫學病況為腸胃道活動性降

低之病症。

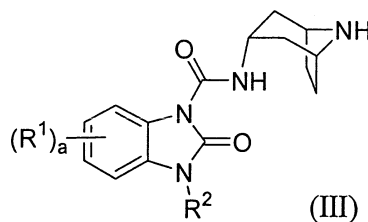
15. 如請求項14之用途，其中該活動性降低之病症為慢性便秘、便秘為主之大腸急躁症、糖尿病性及自發性胃輕癱或功能性消化不良。

16. 一種用於製備式(I)化合物，或其鹽或立體異構體之方法：

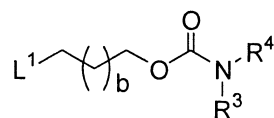


其中 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 a 及 b 係如請求項1中所定義，該方法包含：

(a) 使式(III)化合物：



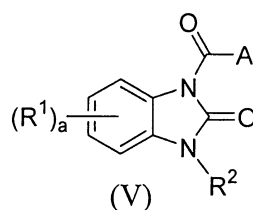
與式(IV)化合物反應：



(IV)

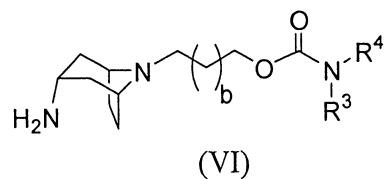
其中 $L1$ 為脫離基；或

(b) 使式(V)化合物：



其中 A 為脫離基；

與式 (VI) 化合物反應：



以提供式 (I) 化合物或其鹽或溶劑合物或立體異構體。

17. 一種由如請求項 16 之方法製備之產物。

18. 一種研究包含 5-HT₄ 受體之生物系統或樣本之方法，該方法包含：

(a) 使該生物系統或樣本與如請求項 1 至 10 中任一項之化合物接觸；及

(b) 測定由該化合物對該生物系統或樣本引起之效應。

七、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：(無)。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

八、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

