



(21)申請案號：113101017

(22)申請日：中華民國 113 (2024) 年 01 月 10 日

(51)Int. Cl.：

*A61K31/495 (2006.01)**A61K31/16 (2006.01)**A61K31/12 (2006.01)**A61K31/075 (2006.01)**A61P25/18 (2006.01)*

(30)優先權：2023/01/11 美國

63/479,530

(71)申請人：匈牙利商羅特格登公司 (匈牙利) RICHTER GEDEON NYRT. (HU)
匈牙利(72)發明人：博札 伊斯特凡 BORZA, ISTVAN (HU)；伊利斯 傑諾斯 ELES, JANOS (HU)；
孟金傑 巴林 MENCZINGER, BALINT (HU)；波納恩 迪科 茲爾維亞
BODNARNE DEAK, SZILVIA (HU)

(74)代理人：陳長文；姚金梅

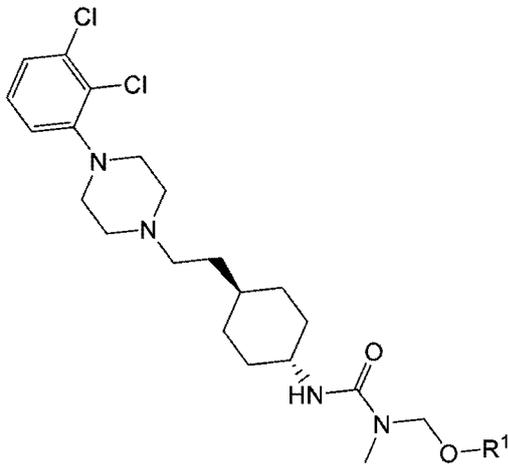
申請實體審查：無 申請專利範圍項數：13 項 圖式數：0 共 45 頁

(54)名稱

多巴胺 D3/D2 受體調節化合物

(57)摘要

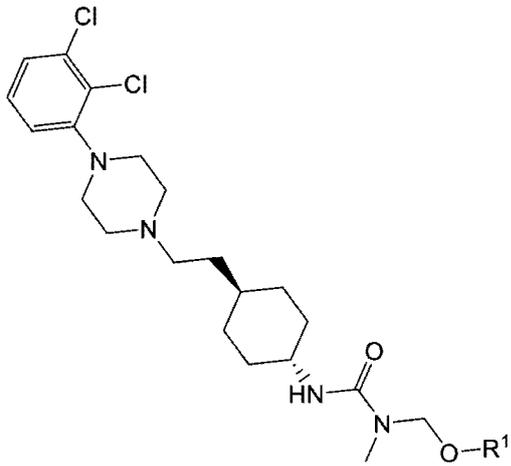
本揭露提供式(I)之化合物：



(I)

其中 R¹ 具有說明書中所定義之任何值；及其醫藥上可接受之鹽，其可用作治療包括思覺失調症在內之疾病及病況之藥劑。亦提供包含式(I)之化合物之醫藥組成物。

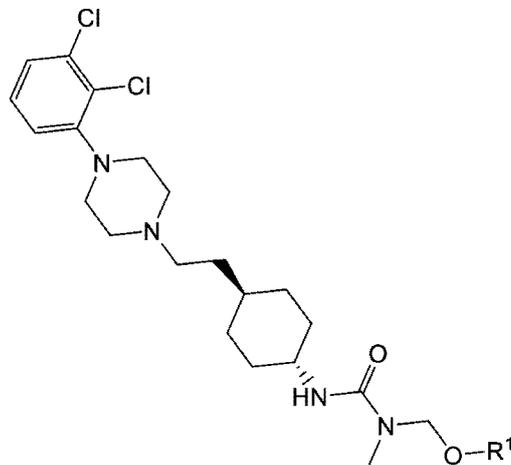
The present disclosure provides for compounds of Formula (I):



(I)

wherein R¹ has any of the values defined in the specification, and pharmaceutically acceptable salts thereof, that are useful as agents in the treatment of diseases and conditions including schizophrenia. Also provided are pharmaceutical compositions comprising compounds of Formula (I).

特徵化學式：



(I)

【發明摘要】

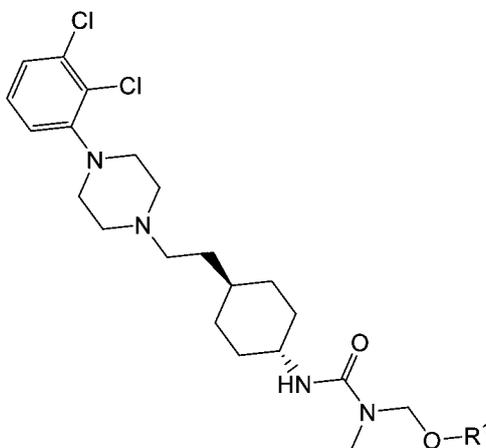
【中文發明名稱】 多巴胺D3/D2受體調節化合物

【英文發明名稱】 DOPAMINE D3/D2 RECEPTOR MODULATING

COMPOUNDS

【中文】

本揭露提供式(I)之化合物：

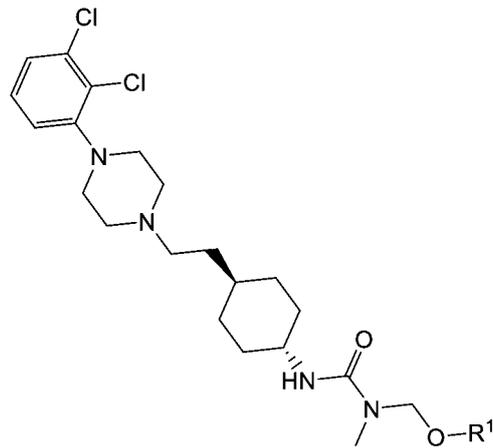


(I)

其中R¹具有說明書中所定義之任何值；及其醫藥上可接受之鹽，其可用作治療包括思覺失調症在內之疾病及病況之藥劑。亦提供包含式(I)之化合物之醫藥組成物。

【英文】

The present disclosure provides for compounds of Formula (I):



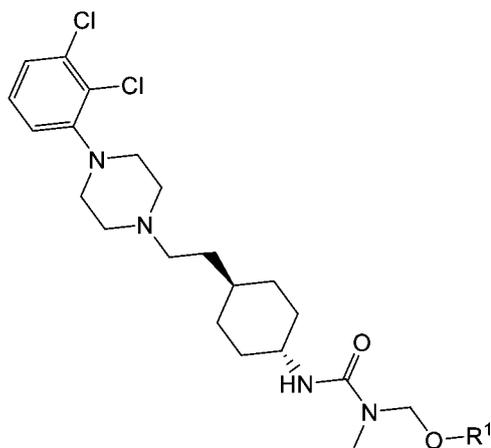
(I)

wherein R1 has any of the values defined in the specification, and pharmaceutically acceptable salts thereof, that are useful as agents in the treatment of diseases and conditions including schizophrenia. Also provided are pharmaceutical compositions comprising compounds of Formula (I).

【指定代表圖】 無

【代表圖之符號簡單說明】 無

【特徵化學式】



(I)

【發明說明書】

【中文發明名稱】 多巴胺D3/D2受體調節化合物

【英文發明名稱】 DOPAMINE D3/D2 RECEPTOR MODULATING
COMPOUNDS

【技術領域】

【0001】 本揭露係關於調節多巴胺D2及D3受體之活性之化合物、製造此類化合物之方法、含有該等化合物之組成物、及使用該等化合物進行治療之方法。

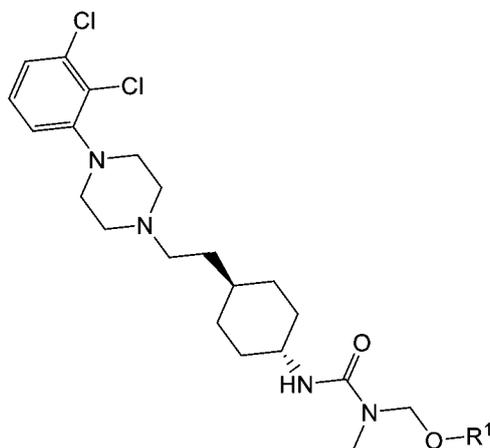
【先前技術】

【0002】 多巴胺能神經傳導物系統的功能障礙可以在包括思覺失調症及情緒或認知功能障礙在內的神經精神病症的病理學中觀察到(Sokoloff, P. et al: Nature, 1990, 347. 146; Schwartz, J.-C. et al.: Clin. Neuropharmacology., 1993, 16, 295)。多巴胺之效應係經由屬於多巴胺D1（即，D1及D5）、或D2（即，D2、D3、及D4）受體家族之至少五種不同的多巴胺受體進行介導。D3受體在中樞多巴胺能系統中具有特徵性分布。多巴胺D2受體廣泛分佈於腦中，並且參與許多生理功能及病理狀態。多巴胺D2拮抗劑被用作例如抗精神病藥劑。然而，D2受體的大量拮抗作用會導致非所要的副作用，諸如錐體外系運動症狀、精神運動性鎮靜、或認知遲鈍。較佳地靶向D3受體的抗精神病藥劑在思覺失調症的治療中提供成功的治療性干預。

【0003】 本領域仍然需要具有D3/D2受體選擇性的改進化合物。

【發明內容】

【0004】 在一些實施例中，本揭露提供了式(I)之化合物或其醫藥上可接受之鹽，



(I)

其中

R¹係C₁-C₃烷基。

【0005】 在一些實施例中，本揭露提供式(I)之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其中R¹係CH₃。

【0006】 在一些實施例中，本揭露提供式(I)之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其中R¹係CH₂CH₃。

【0007】 在一些實施例中，本揭露提供式(I)之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其中R¹係CH₂CH₂CH₃。

【0008】 在一些實施例中，本揭露提供式(I)之化合物，其中該化合物選自由下列組成之群組：

N' -[(1*r*,4*r*)-4-{2-[4-(2,3-二氯苯基)哌啶-1-基]乙基}環己基]- N -(乙氧基甲基)- N -甲基脲；

N' -[(1*r*,4*r*)-4-{2-[4-(2,3-二氯苯基)哌啶-1-基]乙基}環己基]- N -(甲氧基甲基)- N -甲基脲；及

N' -[(1*r*,4*r*)-4-{2-[4-(2,3-二氯苯基)哌啶-1-基]乙基}環己基]- N -甲基- N -(丙氧基甲基)脲；或其醫藥上可接受之鹽。

【0009】 在一些實施例中，本揭露提供一種式(I)之化合物，其中該化合物係 N' -[(1*r*,4*r*)-4-{2-[4-(2,3-二氯苯基)哌啶-1-基]乙基}環己基]- N -(乙氧基甲基)- N -甲基脲；或其醫藥上可接受之鹽。

【0010】 在一些實施例中，本揭露提供一種式(I)之化合物，其中該化合物係 N' -[(1*r*,4*r*)-4-{2-[4-(2,3-二氯苯基)哌啶-1-基]乙基}環己基]- N -(乙氧基甲基)- N -甲基脲。

【0011】 在一些實施例中，本揭露提供一種式(I)之化合物，其中該化合物係 N' -[(1*r*,4*r*)-4-{2-[4-(2,3-二氯苯基)哌啶-1-基]乙基}環己基]- N -(乙氧基甲基)- N -甲基脲之醫藥上可接受之鹽。

【0012】 在一些實施例中，本揭露提供一種醫藥組成物，其包含治療有效量之式(I)之化合物或其醫藥上可接受之鹽與醫藥上可接受之載劑的組合。

【0013】 在一些實施例中，本揭露提供一種用於治療思覺失調症之方法，該方法包含向該對象投予治療有效量之式(I)之化合物或其醫藥上可接受之鹽之步驟。

【0014】 在一些實施例中，本揭露提供一種式(I)之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其用作藥劑。

【0015】 在一些實施例中，本揭露提供一種式(I)之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其用於治療思覺失調症。

【0016】 在一些實施例中，本揭露提供一種式(I)之化合物或其醫藥上可接受之鹽用於製造用於治療思覺失調症之藥劑之用途。

【圖式簡單說明】

無

【實施方式】

相關申請案之交互參照

【0017】 本申請案主張2023年1月11日申請之美國臨時專利申請案序號第63/479,530號之權益，其全文以引用方式併入本文中。

【0018】 本揭露描述調節多巴胺D3及多巴胺D2受體之活性的化合物。

【0019】 本文揭示之化合物可含有在本文之任何取代基或式中出現超過一次的一或多個變數。變數在各次出現時之定義與其在另一次出現時之定義無關。進一步地，僅在取代基之組合產生穩定化合物時才允許此類組合。穩定化合物為可自反應混合物分離之化合物。

定義

【0020】 本說明書中使用之某些用語意欲指代以下定義，詳述如下。

【0021】 應注意，如在本說明書及預期的申請專利範圍中所使用，除非上下文另外清楚地指明，否則單數形式「一(a)」、「一(an)」及「該(the)」包含複數指代物。因此，例如，提及「一種化合物(a compound)」包含單一化合物以及相同或不同化合物中之一或多種。提及「醫藥上可接受之載劑」意謂單一的醫藥上可接受之載劑以及一或多種醫藥上可接受之載劑，及其類似載劑。

【0022】 如在本說明書及隨附申請專利範圍中所使用的，除非相反地指明，否則以下用語具有所指示之含義：

【0023】 除非另外規定，否則如本文所用，用語「C₁-C₃烷基(C₁-C₃ alkyl)」係指具有一個、兩個、或三個碳之飽和烴鏈自由基。C₁-C₃烷基之代表性實例包括甲基、乙基、及正丙基。

【0024】 在一些情況下，部份中之碳原子數目由字首「C_x-C_y」指示，其中x係取代基中碳原子之最小數目且y係最大數目。因此，例如，「C₁-C₆烷基」意謂含有1至6個碳原子之烷基取代基，且「C₁-C₃烷基」意謂含有1至3個碳原子之烷基取代基。

【0025】 片語「醫藥組成物(pharmaceutical composition)」係指適用於在醫療用途方面投予之組成物。

【0026】 片語「醫藥上可接受之鹽(pharmaceutically acceptable salt)」係指在合理醫學判斷範疇內適用於與人及低等動物之組織接觸，而沒有過度毒性、刺激、過敏反應及其類似反應且具有合理的效益/風險比的彼等鹽。

【0027】 用語「穩定的(stable)」係指化合物具有足以允許製造之穩定性且維持化合物之完整性持續足夠長的時間以適用於本文詳述之目的。

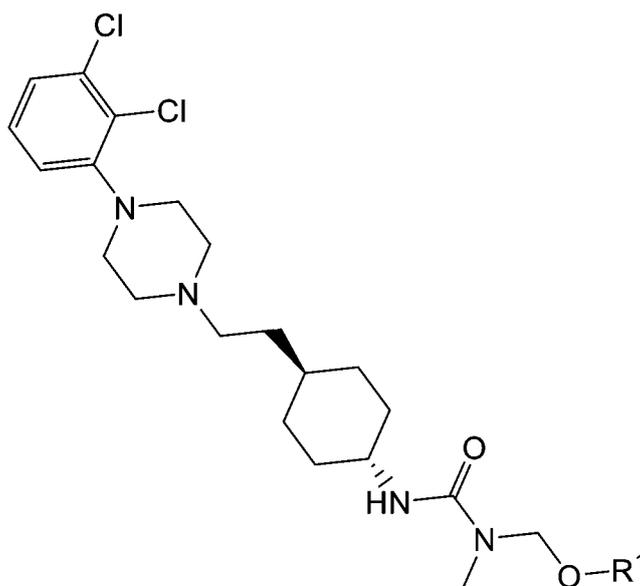
【0028】 片語「治療有效量(therapeutically effective amount)」係指當向特定對象或對象群體投予以進行治療時，足以預防所治療之病症或病況之一或多種症狀的發展或在一定程度上減輕所治療之病症或病況之一或多種症狀的化合物或其醫藥上可接受之鹽之量。

【0029】 如本文中所使用，用語「治療(treat/treating/treatment)」係指減輕或消除疾病及/或其伴隨症狀之方法。

化合物

【0030】 本揭露之化合物具有如本文所描述之通式(I)。

【0031】 在一些實施例中，本揭露提供式(I)之化合物或其醫藥上可接受之鹽，



(I)

其中

R^1 係 C_1 - C_3 烷基。

【0032】 在一些實施例中，本揭露提供式(I)之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其中 R^1 係 C_1 烷基。

【0033】 在一些實施例中，本揭露提供式(I)之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其中 R^1 係 C_2 烷基。

【0034】 在一些實施例中，本揭露提供式(I)之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其中 R^1 係 C_3 烷基。

【0035】 在一些實施例中，本揭露提供式(I)之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其中 R^1 選自由下列組成之群組： CH_3 、 CH_2CH_3 、及 $CH_2CH_2CH_3$ 。

【0036】 在一些實施例中，本揭露提供式(I)之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其中 R^1 係 CH_3 。

【0037】 在一些實施例中，本揭露提供式(I)之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其中 R^1 係 CH_2CH_3 。

【0038】 在一些實施例中，本揭露提供式(I)之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其中 R^1 係 $CH_2CH_2CH_3$ 。

【0039】 在一些實施例中，本揭露提供一種式(I)之化合物，其中該化合物係 N' -[(1*r*,4*r*)-4-{2-[4-(2,3-二氯苯基)哌啶-1-基]乙基}環己基]- N -(乙氧基甲基)- N -甲基脲；或其醫藥上可接受之鹽。

【0040】 在一些實施例中，本揭露提供一種式(I)之化合物，其中該化合物係*N'*-[(1*r*,4*r*)-4-{2-[4-(2,3-二氯苯基)哌啶-1-基]乙基}環己基]-*N*-(乙氧基甲基)-*N*-甲基脲。

【0041】 在一些實施例中，本揭露提供一種式(I)之化合物，其中該化合物係*N'*-[(1*r*,4*r*)-4-{2-[4-(2,3-二氯苯基)哌啶-1-基]乙基}環己基]-*N*-(乙氧基甲基)-*N*-甲基脲之醫藥上可接受之鹽。

【0042】 在一些實施例中，本揭露提供一種式(I)之化合物，其中該化合物係*N'*-[(1*r*,4*r*)-4-{2-[4-(2,3-二氯苯基)哌啶-1-基]乙基}環己基]-*N*-(甲氧基甲基)-*N*-甲基脲；或其醫藥上可接受之鹽。

【0043】 在一些實施例中，本揭露提供一種式(I)之化合物，其中該化合物係*N'*-[(1*r*,4*r*)-4-{2-[4-(2,3-二氯苯基)哌啶-1-基]乙基}環己基]-*N*-(甲氧基甲基)-*N*-甲基脲。

【0044】 在一些實施例中，本揭露提供一種式(I)之化合物，其中該化合物係*N'*-[(1*r*,4*r*)-4-{2-[4-(2,3-二氯苯基)哌啶-1-基]乙基}環己基]-*N*-(甲氧基甲基)-*N*-甲基脲之醫藥上可接受之鹽。

【0045】 在一些實施例中，本揭露提供一種式(I)之化合物，其中該化合物係*N'*-[(1*r*,4*r*)-4-{2-[4-(2,3-二氯苯基)哌啶-1-基]乙基}環己基]-*N*-甲基-*N*-(丙氧基甲基)脲；或其醫藥上可接受之鹽。

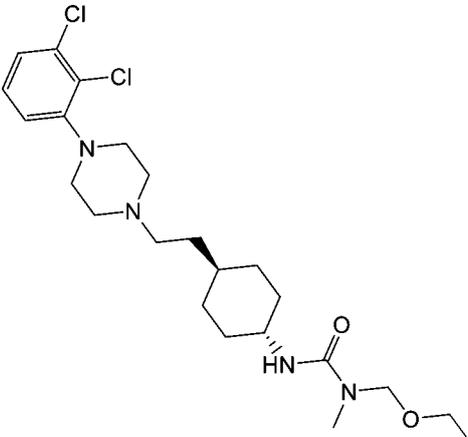
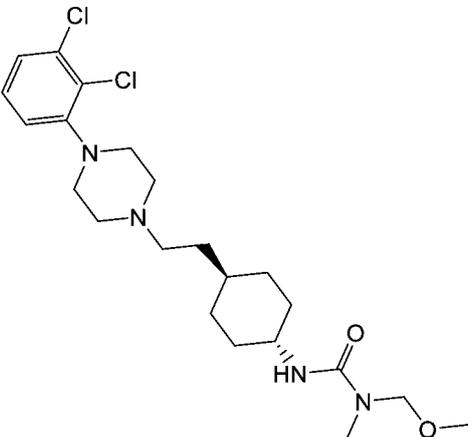
【0046】 在一些實施例中，本揭露提供一種式(I)之化合物，其中該化合物係*N'*-[(1*r*,4*r*)-4-{2-[4-(2,3-二氯苯基)哌啶-1-基]乙基}環己基]-*N*-甲基-*N*-(丙氧基甲基)脲。

【0047】 在一些實施例中，本揭露提供一種式(I)之化合物，其中該化合物係*N*-[(1*r*,4*r*)-4-{2-[4-(2,3-二氯苯基)哌啶-1-基]乙基}環己基]-*N*-甲基-*N*-(丙氧基甲基)脲。

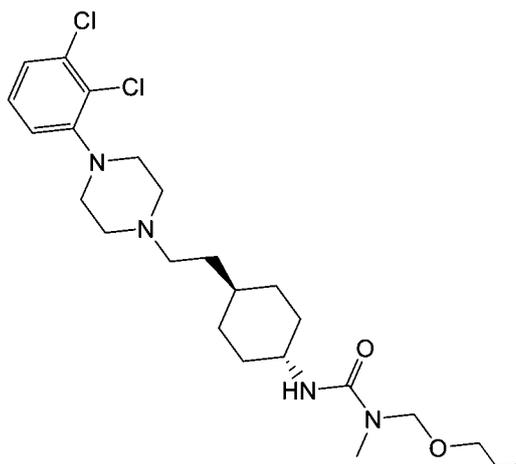
【0048】 本揭露之化合物及中間物藉由使用ACD/Name 2021.1.3（文件版本N15E41，建立版本123232，2021年7月07日）軟體程式及/或藉由使用作為CHEMDRAW[®] Professional v. 20.1.1.125之一部分的Struct=Name命名算法來命名。

【0049】 式(I)之例示性化合物包括但不限於下文表1中示出之化合物及其醫藥上可接受之鹽。

表 1

實例 1	
實例 2	

實例 3



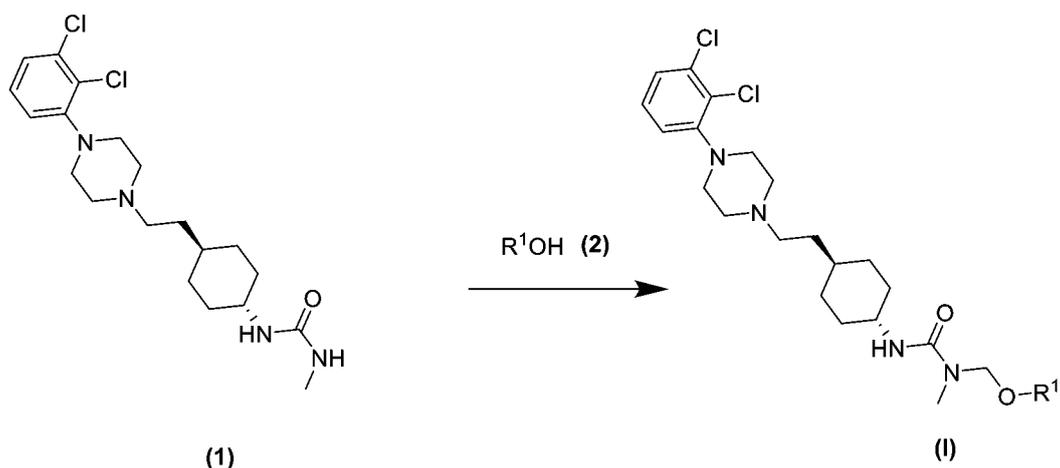
【0050】 式(I)之化合物可以醫藥上可接受之鹽的形式使用。式(I)之化合物可含有鹼性或酸性官能基或兩者，且可在需要時藉由使用合適之酸或鹼轉化為醫藥上可接受之鹽。

製備例示性化合物之方法

【0051】 本揭露之化合物可結合以下合成方案及方法更充分地理解，該等合成方案及方法說明了可製備化合物之方式。本揭露之化合物可藉由多種合成程序製備。代表性合成程序顯示於但不限於**方案1-2**中。變數 R^1 如本文中詳述的那樣定義，例如，在發明內容中。

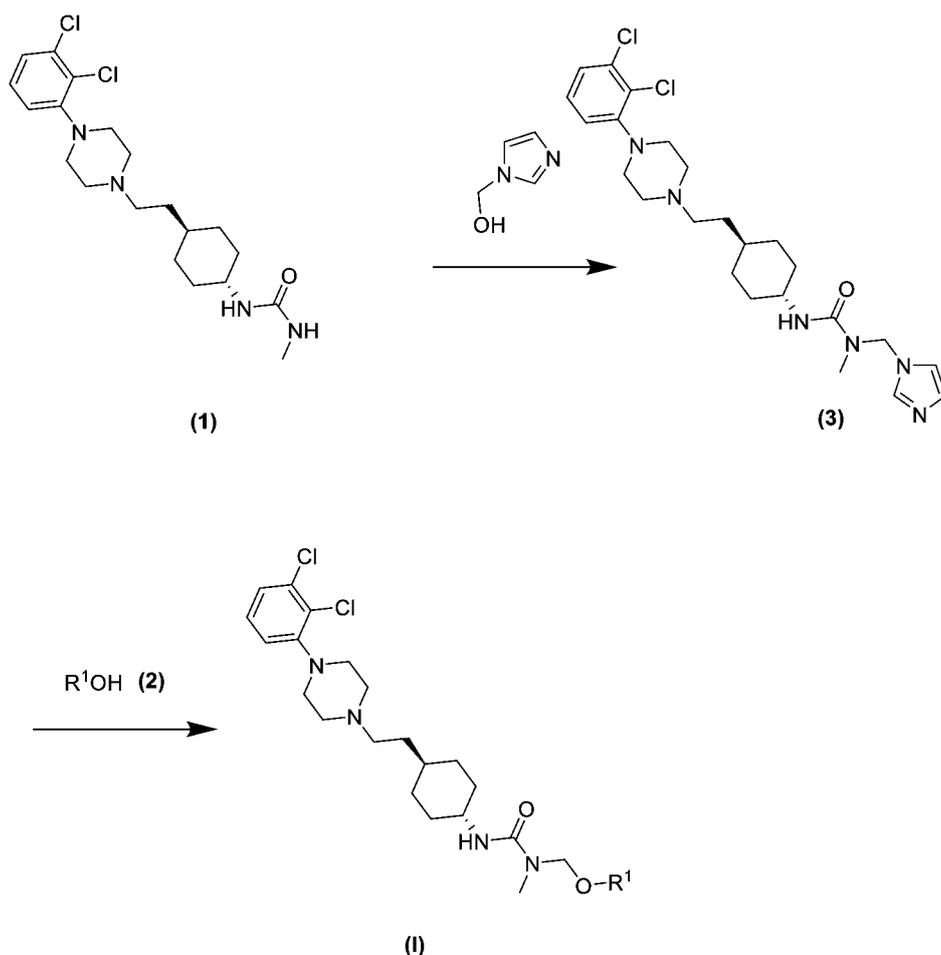
方案

方案1



【0052】 如**方案1**所示，式(I)之化合物（其中R¹如本文所定義）可由式(1)之化合物製備，該式(1)之化合物可根據所屬技術領域中已知之方法製備（諸如例如WO 2010/070370 A1）。因此，式(1)之化合物可用市售多聚甲醛或甲醛（具有甲醇穩定劑之飽和水溶液）、以及式(2)之適當醇在環境溫度至回流下處理，其中R¹如本文所描述，且其係市售的或可根據本領域中已知之方法來製備。反應通常在合適溶劑（諸如但不限於醇(2)或四氫呋喃）中進行1至168小時以提供式(I)之化合物。

方案 2



【0053】 如**方案2**所示，式(I)之化合物可由式(1)之化合物製備。因此，式(1)之化合物可用市售1-羥甲基咪唑在環境溫度至回流下在合適溶劑（諸如乙酸及四氫呋喃之混合物）中處理1至24小時，以提供式(3)之化合物。式(3)之化合物可用式(2)（其中R¹如本文所述）之適當醇在合適的鹼諸如氫氧化鉀或合適的酸諸如硫酸或甲磺酸存在下處理，以提供式(I)之化合物。反應通常在環境溫度至回流下在合適溶劑（諸如四氫呋喃或甲苯）中進行1至24小時。

【0054】 特定程序提供於合成實例部分中。除非另有描述，否則起始物質及試劑為市售的或可由本領域中熟習此項技術者使用化學文獻中描述之方法自市售物質製備。

醫藥組成物

【0055】 當用作藥物時，本揭露之化合物可以醫藥組成物之形式投予。此類組成物可包含治療有效量之式(I)之化合物或其醫藥上可接受之鹽連同醫藥上可接受之載劑。

【0056】 在一些實施例中，提供一種醫藥組成物，其包含治療有效量之式(I)之化合物或其醫藥上可接受之鹽與醫藥上可接受之載劑的組合。

使用方法

【0057】 式(I)之化合物或其醫藥上可接受之鹽及包含式(I)之化合物或其醫藥上可接受之鹽的醫藥組成物可向罹患思覺失調症之對象投予。用語「投予(administering)」係指使對象與化合物接觸之方法。

【0058】 在一些實施例中，本揭露提供式(I)之化合物或其醫藥上可接受之鹽、及包含式(I)之化合物或其醫藥上可接受之鹽之醫藥組成物，其用作藥劑。

【0059】 在一些實施例中，本揭露提供式(I)之化合物或其醫藥上可接受之鹽、及包含式(I)之化合物或其醫藥上可接受之鹽之醫藥組成物，其用於治療思覺失調症。

【0060】 在一些實施例中，本揭露提供式(I)之化合物或其醫藥上可接受之鹽、及包含式(I)之化合物或其醫藥上可接受之鹽之醫藥組成物用於製造用於治療思覺失調症之藥劑之用途。

實例

【0061】 以下實例可用於說明性目的且不應視為限制本發明之範疇。

【0062】 除非另有說明，否則所有試劑皆為商品級，且在不進行進一步純化之情況下按原樣使用。市售無水溶劑係用於在惰性氣氛下進行之反應。除非另有說明，否則試劑級溶劑用於所有其他情況。¹H NMR光譜之化學位移(δ)係以百萬分之點(ppm)計，相對於四甲基矽烷(δ 0.00)或適當的殘餘溶劑峰，即CHCl₃ (δ 7.27)作為內部參考。

【0063】 除非另外規定，否則以下縮寫具有所指示的意義：

NMR	核磁共振
s	單重峰
br s	寬單重峰
d	雙重峰(duplet/doublet)
m	多重峰
t	三重峰
q	四重峰
sxt	六重峰
LC/MS 或 LCMS	液相層析-質譜法
min	分鐘
mL	毫升
μ L	微升
L	升
g	公克
mg	毫克

mmol	毫莫耳
HPLC	高壓液相層析法
ppm	百萬分點
ESI	電灑游離法
M	體積莫耳濃度 (莫耳/升)

合成實例

實例 1

N'-[(1*r*,4*r*)-4-{2-[4-(2,3-二氯苯基)哌啶-1-基]乙基}環己基]-*N*-(乙氧基甲基)-*N*-甲基脲

【0064】 將5.0 g (12.5 mmol) *N*'-[(1*r*,4*r*)-4-{2-[4-(2,3-二氯苯基)哌啶-1-基]乙基}環己基]-*N*-甲基脲、250 mL乙醇、2.5 mL乙酸、及3.75 g (125 mmol)多聚甲醛在70°C下攪拌40小時。將反應混合物在真空中濃縮。將殘餘物在矽膠上用丙酮洗提而進行層析。將粗材料與二乙醚混合並過濾以提供標題化合物。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 0.88-1.02 (m, 2H), 1.08 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H), 1.14-1.28 (m, 3H), 1.31-1.40 (m, 2H), 1.69-1.81 (m, 4H), 2.31-2.39 (m, 2H), 2.42-2.61 (br m, 4H), 2.79 (s, 3H), 2.90-3.04 (br m, 4H), 3.35 (q, *J* = 7.0 Hz, 2H), 3.31-3.44 (m, 1H), 4.63 (s, 2H), 6.03 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.10-7.18 (m, 1H), 7.25-7.34 (m, 2H); LC-MS (ESI) *m/z* 471.3 (M+H)⁺。

實例 2

N'-[(1*r*,4*r*)-4-{2-[4-(2,3-二氯苯基)哌啶-1-基]乙基}環己基]-*N*-(甲氧基甲基)-*N*-甲基脲

【0065】 將1 g (2.4 mmol) *N'*-[(1*r*,4*r*)-4-{2-[4-(2,3-二氯苯基)哌啶-1-基]乙基}環己基]-*N'*-甲基脲、20 mL 甲醇、0.5 mL 乙酸、及2 mL (26.8 mmol) 37%的甲醛溶液（具有約10%甲醇之水溶液）的混合物在85°C下攪拌20小時。將反應混合物在真空中濃縮。將殘餘物藉由製備型HPLC在Phenomenex Kinetex® 5 μm C18 100 Å AXIA填充的LC管柱(150 mm x 21.2 mm)上純化；等度為20 mmol/L NH₄HCO₃在水中+0,1%的二乙胺(A)，歷時3分鐘；40%至50%梯度：20 mmol/L NH₄HCO₃在水中+0,1%的二乙胺(A)及甲醇(B)，歷時16分鐘，流速為21.2 mL/分鐘，在40°C下，以提供標題化合物。¹H NMR (400 MHz, 二甲基亞砜-*d*₆) δ ppm 0.88-1.06 (m, 2H), 1.15-1.28 (m, 3H), 1.31-1.40 (m, 2H), 1.68-1.82 (m, 4H), 2.31-2.39 (m, 2H), 2.46-2.59 (br m, 4H), 2.79 (s, 3H), 2.90 -3.05 (br m, 4H), 3.12 (s, 3H), 3.25-3.45 (m, 1H), 4.59 (s, 2H), 6.05 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.11-7.17 (m, 1H), 7.27-7.34 (m, 2H); LC-MS (ESI) *m/z* 457.3 (M+H)⁺。

實例 3

N'-[(1*r*,4*r*)-4-{2-[4-(2,3-二氯苯基)哌啶-1-基]乙基}環己基]-*N*-甲基-*N*-(丙氧基甲基)脲

實例 3A

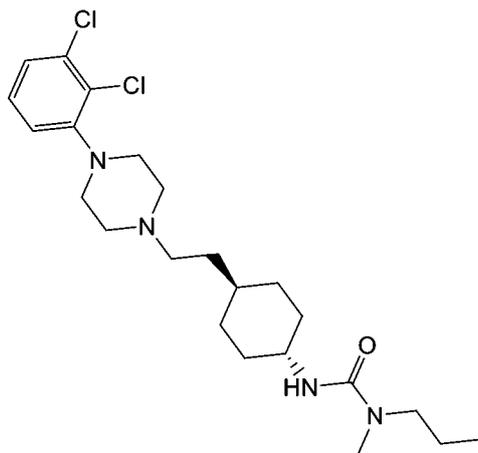
N'-[(1*r*,4*r*)-4-{2-[4-(2,3-二氯苯基)哌啶-1-基]乙基}環己基]-*N*-[(1*H*-咪唑-1-基)甲基]-*N*-甲基脲

【0066】 將3.0 g (7.25 mmol) *N*-[(1*r*,4*r*)-4-{2-[4-(2,3-二氯苯基)哌啶-1-基]乙基}環己基]-*N'*-甲基脲、1.070 g (10.9 mmol) (1*H*-咪唑-1-基)甲醇、9 mL (200 mmol)乙酸、及70 mL四氫呋喃的混合物在80°C下攪拌18小時。向混合物中添加二氯甲烷(100 mL)及50 mL飽和NaHCO₃水溶液。將有機層分離，經硫酸鈉乾燥並過濾。將濾液在真空中濃縮。將殘餘物與二乙醚(200 mL)及甲醇(5 mL)的混合物混合並過濾，以提供標題化合物。LC-MS (ESI) *m/z* 493.3 (M+H)⁺。

實例 3B

N-[(1*r*,4*r*)-4-{2-[4-(2,3-二氯苯基)哌啶-1-基]乙基}環己基]-*N*-甲基-*N*-(丙氧基甲基)脲

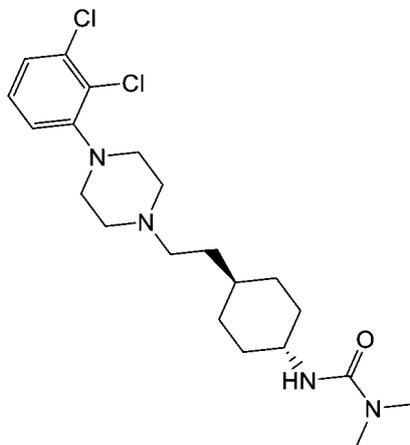
【0067】 在室溫下向87 mg甲烷磺酸(0.9 mmol)在273 mg 1-丙醇(4.55 mmol)中的溶液中，添加20 mL甲苯及443 mg (1 mmol) *N*-[(1*r*,4*r*)-4-{2-[4-(2,3-二氯苯基)哌啶-1-基]乙基}環己基]-*N*-[(1*H*-咪唑-1-基)甲基]-*N*-甲基脲，並且將反應混合物在90°C下攪拌2小時。向混合物中添加乙酸乙酯(30 mL)及30 mL飽和NaHCO₃水溶液。將有機層分離，經硫酸鈉乾燥並過濾。將濾液在真空中濃縮。將殘餘物在矽膠上用二氯甲烷/甲醇(97:3)洗提而進行層析。將粗材料與正戊烷混合並過濾以提供標題化合物。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) *δ* ppm 0.84 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H), 0.88-1.03 (m, 2H), 1.13-1.29 (m, 3H), 1.30-1.40 (m, 2H), 1.48 (sxt, *J* = 7.0 Hz, 2H), 1.69-1.81 (br m, 4H), 2.31-2.40 (m, 2H), 2.43-2.60 (br m, 4H), 2.79 (s, 3H), 2.90-3.05 (br m, 4H), 3.26 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H), 3.31-3.46 (m, 1H), 4.64 (s, 2H), 6.02 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.11-7.17 (m, 1H), 7.27-7.33 (m, 2H); LC-MS (ESI) *m/z* 485.3 (M+H)⁺。



參考實例 1

N'-[(1*r*,4*r*)-4-{2-[4-(2,3-二氯苯基)哌啶-1-基]乙基}環己基]-*N*-甲基-*N*-丙基脲

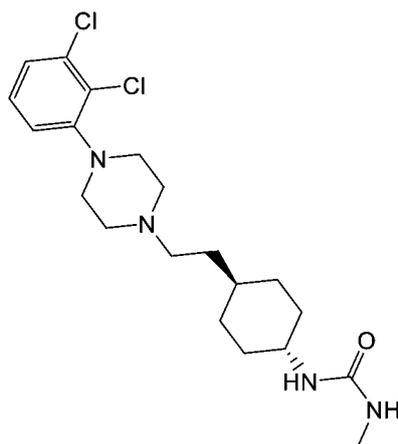
【0068】 如WO2005012266中所述製備標題化合物。



參考實例 2

N'-[(1*r*,4*r*)-4-{2-[4-(2,3-二氯苯基)哌啶-1-基]乙基}環己基]-*N,N*-二甲基脲(CAR)

【0069】 如WO2005012266中所述製備標題化合物。



參考實例 3

N-[(1*r*,4*r*)-4-{2-[4-(2,3-二氯苯基)哌啶-1-基]乙基}環己基]-*N'*-甲基脲(DCAR)

【0070】 如WO2005012266中所述製備標題化合物。

動力學溶解度研究

DMSO 溶解度等級	動力學溶解度研究中之最大濃度(μM)*
可溶的 ≥ 10 mM	100
中度 ≥ 5 mM	50
低度 ≥ 1 mM	10
不溶的 < 1 mM	未測量

*在1% DMSO共溶劑存在下，RT，2小時

【0071】 為了判定動力學溶解度，將各化合物的3 mL之10 mM (5 mM, 1 mM) DMSO儲備溶液移液到含有295 mL之PBS pH 7.4的96孔盤 (Millipore Multiscreen[®] HTS-PCF過濾盤，St. Louis, MO, USA) 的孔中。在迴轉式振盪器上以300 rpm搖動懸浮液2小時後，藉由真空過濾 (Multiscreen[®]真空歧管；MilliporeSigma) 對懸浮液進行澄清。過濾步驟後，立即將160 mL濾液轉移到

40 mL乙腈中，以避免化合物從飽和溶液中沉澱。藉由HPLC-UV (MS)偵測，使用由同一批研究化合物製成的外部標準品來判定研究化合物的濃度。結果顯示於表2中。

熱力學溶解度研究 (37°C, 4 小時)

【0072】 用於測量熱力學溶解度：一般，將200 μ L至400 μ L的溶液添加至1 mg至2 mg的固體測試材料(n=5)中。將所得混合物/過飽和溶液在37°C下振盪4小時（至溶液平衡）且在Millipore MultiSreen過濾盤(0.45 μ m)上過濾。基於5點校準，藉由LC/UV/MS判定濾液之濃度。（當固體材料完全溶解於水性試驗介質中時，結果應視為最小值。）結果顯示於表2中。

熱力學溶解度研究 (RT, 24 小時)

【0073】 用於測量熱力學溶解度：一般，將200 μ L至400 μ L的溶液添加至1 mg至2 mg的固體測試材料(n=5)中。將所得混合物在室溫(RT)下振盪24小時（至溶液平衡）且在Millipore MultiSreen過濾盤(0.45 μ m)上過濾。基於5點校準，藉由LC/UV/MS判定濾液之濃度。（當固體材料完全溶解於水性試驗介質中時，結果應視為最小值。）結果顯示於表2中。

表 2

	動力學溶解度 [μ M] PBS pH = 7.4 2 小時, RT	熱力學溶解度 [μ M] SIF pH = 6.8 4 小時, 37°C	熱力學溶解度 [μ M] PBS pH = 7.4 4 小時, 37°C	熱力學溶解度 [μ M] PBS pH = 7.4 24 小時, RT
--	---	---	---	--

實例 1	72.7 ± 3.4	53.5 ± 0.9	10.9 ± 0.3	45.3 ± 0.6
實例 2	47.7 ± 4.5	147.04 ± 8.72	58.93 ± 5.32	50.93 ± 2.3
實例 3	32.4 ± 3.2	32.68 ± 1.65	30.50 ± 3.06	39.68 ± 2.15
參考實例 1	10.9 ± 1.7	27.7 ± 1.1	4.9 ± 0.3	6.2 ± 0.3
參考實例 2	7.8 ± 0.1	13.3 ± 1.5 **	3.2 ± 0.3 **	3.8 ± 0.3
參考實例 3	0.9 ± 0.1	1.9 ± 0.2 **	0.3 ± 0.1 **	0.6 ± 0.1

SIF：pH 6.8，不含胰酶的模擬腸液(0.68% (w/v) KH₂PO₄, 0.09% (w/v) NaOH)

PBS：pH 7.4 (0.01 M 磷酸鹽緩衝鹽水，0.138 M NaCl，0.0027 M KCl，不含Ca²⁺、Mg²⁺)

**24小時

RT = 室溫

【0074】 本揭露之實例的動力學及熱力學溶解度數據指示，相較於參考化合物，其溶解度出乎意料地經改善。

生物檢定

【0075】 在體外生物學研究中，通常使用以下縮寫：BSA代表牛血清白蛋白，cAMP代表環腺苷單磷酸，DMEM代表達爾伯克改良的伊格爾培養基(Dulbecco's modified Eagle's medium)，DMSO代表二甲基亞砷，EDTA代表乙二胺四乙酸四鈉鹽，EGTA代表乙二醇-雙(2-胺基乙醚)-N,N,N',N'-四乙酸，FBS代表胎牛血清，G418代表遺傳黴素，IBMX代表3-異丁基-1-甲基黃嘌呤，且Tris代表參(羥甲基)胺基甲烷。

人類 D_{2L} 受體的研究

使用^[3H]雷氯必利在競爭性結合檢定中判定人類 D_{2L} 受體的親和力

【0076】 將表現重組人類D_{2L}受體的經培養的CHO-K1細胞（DRD2L cAMP Hunter™，G_i細胞系，Eurofins DiscoverX, Fremont, CA, USA）在4x (v/v) 緩衝溶液（50 mM Tris，5 mM MgCl₂，1 mM EGTA，pH 7.4，在25°C下）中用Dounce組織研磨機進行均質化，並在4°C下以40,000 x g離心10分鐘。移除上清液，並且將沉澱物再懸浮於4x緩衝液(v/v)中且離心。將所得沉澱物以12.5 mL/g原始重量的體積再懸浮於上述緩衝溶液中。然後將膜製備物等分並儲存於-70°C。

【0077】 將測試化合物在DMSO中連續稀釋，且隨後在結合緩衝液(50 mM Tris, 5 mM MgCl₂, 5 mM KCl, 1 mM CaCl₂, 120 mM NaCl, 1 mM EDTA)中稀釋至5% DMSO (v/w)。將在結合緩衝液(50 μL)中的5x濃縮化合物轉移到96孔深孔盤(BRAND, Wertheim, Germany)中。將等分的膜製備物在結合緩衝液中解凍並洗滌一次。在相同的緩衝液中，將10 μg蛋白質/孔與2 nM [³H]雷氯必利(PerkinElmer, Waltham, MA, USA)在存在或不存在測試化合物的情況下（以分別判定測試化合物的結合抑制或總結合）在25°C下在250 μL的體積中培養120分鐘。在10 μM氟哌啶醇（即D₂受體拮抗劑）存在下判定非特異性結合(non-specific binding, NSB)。培養後，使用Filtermate™收集器(PerkinElmer)在UniFilter® GF/B盤(PerkinElmer)上過濾樣本，並用1 mL冰冷的結合緩衝液洗滌四次。將盤在40°C下乾燥一小時，並且將40 μL Microscint™-20閃爍液(PerkinElmer)添加至各孔中。使用MicroBeta²®微孔盤計數器(PerkinElmer)判定放射性。

【0078】 減去非特異性結合，以得到特異性結合，將其標準化為媒劑處理的樣本，並轉化為位移%值。使用GraFit 6.0 (Erithracus Software, Horley, UK) 來判定IC₅₀值及曲線擬合。IC₅₀值（即，對特異性結合產生50%抑制的化合物的濃度）藉由S形擬合由濃度-位移曲線來判定。使用Cheng-Prusoff方程計算抑制常數(K_i)： $K_i = IC_{50}/[1+(L)/K_D]$ ，其中[L]係放射性配體濃度，並且K_D係所標記的配體對受體的親和力。K_D由單獨的飽和實驗判定。pK_i值係藉由計算以莫耳/升表示的K_i值的負對數而得到。實驗重複三次，並且結果如表3所示。結果表明，本揭露的實例係人類重組D_{2L}受體的高親和力配體。

表 3

實例	D _{2L} pK _i [³ H]雷氣必利
1	8.71
2	8.90
3	8.94
參考實例 2	8.71

使用[³H]螺環哌啶酮在競爭性結合檢定中判定人類 D_{2L} 受體的親和力

【0079】 用磷酸鹽緩衝鹽水(phosphate-buffered saline, PBS)洗滌表現人類重組D_{2L}受體的CHO-K1細胞。從盤上刮下細胞，並以1000 x g離心。在含有25 mM Tris-HCl (pH=7.4)、6 mM MgCl₂、1 mM EDTA、10 mM苯甲基磺醯氟(phenylmethylsulfonyl fluoride, PMSF)的緩衝液中，使用Teflon[®]杵均質器來破碎細胞。將所得懸浮液以1000 x g離心。收集上清液且以41,000 x g離心。丟棄上

清液，並且將沉澱物再懸浮於上述緩衝液中。然後將膜製備物等分並儲存於-70°C。

【0080】 將等分的膜製備物與0.16 nM [³H]螺環哌啶酮(PerkinElmer)在存在或不存在測試化合物的情況下在96孔盤中在25°C下在含有50 mM Tris-HCl、1.4 mM抗壞血酸、0.001% BSA、150 mM NaCl (pH 7.4)的培養緩衝液中培養120分鐘，具有1% DMSO，最終反應體積為222 μL。在10 μM氟哌啶醇(Sigma-Aldrich)存在下判定非特異性結合(NSB)。培養後，在UniFilter® GF/C盤(PerkinElmer)上過濾樣本，洗滌且添加Microscint™-20閃爍液。用MicroBeta²®微孔盤計數器(PerkinElmer)判定放射性。

【0081】 從閃爍計數中減去NSB，以得到特異性結合，將其標準化為媒劑處理的樣本，並轉化為位移%值。IC₅₀值係使用MathIQ™ (ID Business Solutions Ltd., Surrey, UK)藉由非線性最小平方回歸分析來判定。K_i值係使用Cheng-Prusoff方程，使用測試化合物的所觀察IC₅₀、檢定中採用的放射性配體的濃度、及配體的K_D的歷史值來計算。pK_i值係藉由計算以莫耳/升表示的K_i值的負對數而得到，並且示於表4中。結果表明，當使用[³H]螺環哌啶酮作為放射性配體時，本揭露的實例係人類重組D_{2L}受體的高親和力配體。

表 4

實例	D _{2L} pK _i [³ H]螺環哌啶酮
1	9.06
2	8.93
3	8.93
參考實例 2	9.20

使用環腺苷單磷酸偵測來表徵人類 D_{2L} 受體的促效作用

【0082】 使用cAMP G_i套組(Cisbio/PerkinElmer)藉由均質時間解析螢光 (homogenous time-resolved fluorescence, HTRF)測量表現人類D_{2L}受體的CHO-K1細胞(Eurofins DiscoverX, Fremont, CA, USA)的cAMP水平來檢定對人類D_{2L}受體的促效劑活性。表現人類D_{2L}受體的CHO-K1細胞在補充有10% FBS、1%青黴素-鏈黴素抗真菌溶液、及800 µg/ mL G418 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA)的Ham F12培養基中培養，並且保持在37°C下在含有5.0% CO₂的加濕氣氛中。對於cAMP測量，將冷凍保存的細胞解凍，並以10,000個細胞/孔的密度接種於白壁半面積96孔盤中於PathHunter® AssayComplete™細胞鋪盤2 (CP2)試劑(Eurofins DiscoverX)中，並且在37°C、在含有5.0% CO₂的加濕氣氛中培養過夜。在cAMP測量之前，從細胞中取出CP2試劑，並且用補充有100 µM IBMX的20 µL含化合物或媒劑的檢定緩衝液 (140 mM NaCl, 5 mM KCl, 2 mM MgCl₂, 2 mM CaCl₂, 10 mM 2-[4-(2-羥乙基)哌啶-1-基]乙烷-1-磺酸(2-[4-(2-hydroxyethyl)piperazin-1-yl]ethane-1-sulfonic acid, HEPES), 10 mM葡萄糖, pH 7.4) 置換，並且在環境溫度下培養20分鐘。在環境溫度下用0.5 µM毛喉素 (Eurofins DiscoverX)額外培養30分鐘後，藉由添加在裂解緩衝液中稀釋的偵測試劑 (20 µL cAMP-d2及20 µL抗cAMP穴狀化合物, Cisbio/PerkinElmer) 而停止細胞刺激。在環境溫度下培養60分鐘後，使用標準HTRF®設置及337 nm的雷射激發，用PHERAstar FS多模式讀取器(BMG Labtech, Ortenberg, Germany)對時間解析螢光信號進行量化。從受體螢光信號(A665 nm)及供體螢光信號(A620 nm)的比率× 10⁴來計算結果，並且使用以下公式表示為ΔF%值：100× (比率樣

本-比率陰性對照)/比率陰性對照。在實驗中，在多個孔中平行測量所有治療，並且將平均 $\Delta F\%$ 值用於進一步分析。促效劑活性值被計算為對毛喉素刺激的cAMP積累的抑制百分比，該積累被標準化為在相同實驗中測試的最大有效濃度的多巴胺所誘發的反應。所有計算皆使用Microsoft Excel® (Microsoft, Redmond, WA, USA)來進行。藉由使用GraphPad Prism (GraphPad, San Diego, CA, USA)將4參數S形曲線擬合到濃度-效應數據，其下漸近線約束為零，從而獲得表5中所示的pEC₅₀值（產生對毛喉素刺激的cAMP積累的50%抑制的促效劑的濃度的負對數，以莫耳/升表示）。結果表明，本揭露的實例係人類重組D_{2L}受體的G蛋白偶聯信號傳導途徑的有效促效劑。

表 5

實例	D _{2L} cAMP pEC ₅₀
1	8.43
2	8.88
參考實例 2	8.43

人類多巴胺 D_{2L} 受體 β -抑制蛋白募集之測量

【0083】 將表現所標記的人類D_{2L}受體及所標記的 β -抑制蛋白-2的PathHunter® CHO-K1細胞(Eurofins DiscoverX, Fremont, CA, USA)以20,000個細胞/孔的密度接種到96孔白壁透明底組織培養盤中於90 μ L/孔的AssayComplete™細胞鋪盤2 (CP2)試劑(Eurofins DiscoverX)中。將盤在37°C下在含有5% CO₂的加濕氣氛中培養過夜。二十至二十四小時後，將20 μ L在CP2試劑中並含有2.2% DMSO的測試化合物或媒劑添加到細胞中，並且將它們在37°C

下培養90分鐘。然後，將55 μL PathHunter[®]偵測試劑(Eurofins DiscoverX)添加到每個孔中，並且將盤在25°C下培養60分鐘，隨後使用PHERAstar[®] FS多模式盤讀取器(BMG Labtech, Ortenberg, Germany)進行發光偵測。原始數據被轉換為高於基礎值的刺激百分比。值被進一步轉換為30 μM 多巴胺對 β -抑制蛋白募集的最大刺激的百分比。EC₅₀值係使用Origin[®] 7.5軟體(OriginLab Corporation, Northampton, MA, USA)藉由S形擬合從至少六個濃度運行的濃度-反應曲線重複計算，並且被定義為具有半最大刺激的促效劑的濃度。pEC₅₀值係被計算為以莫耳/升表示之EC₅₀值的負對數並且示於表6中。結果表明，本揭露的實例係人類重組D_{2L}受體的G蛋白非依賴性信號傳導途徑的有效促效劑。

表 6

實例	D _{2L} 抑制蛋白 pEC ₅₀
1	8.96
2	9.14
參考實例 2	8.71

人類 D₃ 受體的研究

使用 [³H]雷氯必利在競爭性結合檢定中判定人類 D₃ 受體的親和力

【0084】 將表現重組人類D₃受體 (DRD3, GenBank ID U32499, 購自 Euroscreen Fast, Brussels, BE) 的細胞培養物(CHO-K1)在4x緩衝(v/v)溶液 (15 mM Tris, 2 mM MgCl₂, 0.3 mM EDTA, 1 mM EGTA, pH 7.4, 在25°C下) 中用Dounce組織研磨機進行均質化，並在4°C下以40,000 x g離心25分鐘。移除上清液，並且將沉澱物再懸浮於4x (v/v)緩衝液中且離心。重複過程兩次，並且將

沉澱物以12.5 mL/g原始細胞重量的體積再懸浮於儲存緩衝液（75 mM Tris，12.5 mM MgCl₂，0.3 mM EDTA，1 mM EGTA，250 mM蔗糖，pH 7.4，25°C）中。然後將膜製備物等分並儲存於-70°C。

【0085】 將化合物稀釋在DMSO及結合緩衝液（含有50 mM Tris、5 mM MgCl₂、5 mM KCl、1 mM CaCl₂、120 mM NaCl、1 mM EDTA）中，並且將50 μL每種溶液轉移到深孔盤(BRAND)中，在5% DMSO緩衝溶液中的最終濃度為5倍。將等分的膜製備物在結合緩衝液中解凍並洗滌一次。在相同的緩衝液中，將3.3 μg蛋白質/分析物與約2.7 nM [³H]雷氯必利(PerkinElmer)在存在或不存在測試化合物的情況下，在25°C下，在96孔深孔盤(BRAND)中以250 μL體積培養120分鐘。在10 μM氟哌啶醇存在下判定非特異性結合(NSB)。在所有反應中DMSO最終濃度係1% (v/v)。培養後，使用Filtermate™收集器(PerkinElmer)在UniFilter® GF/B盤(PerkinElmer)上過濾樣本，並用4 × 1 mL冰冷的結合緩衝液洗滌。將盤在40°C下乾燥一小時，並且將40 μL Microscint™-20閃爍液(PerkinElmer)添加至每個孔中。用Microbeta²⁰®微孔盤計數器(PerkinElmer)判定放射性。

【0086】 使用原始閃爍計數，減去NSB，以得到特異性結合，將其標準化為媒劑處理的樣本，並轉化為位移百分比值。使用GraFit 6.0 (Erithracus Software, Horley, UK)進行曲線擬合及計算。IC₅₀值（即，對特異性結合產生50%抑制的化合物的濃度）藉由S形擬合由濃度-位移曲線來判定。使用Cheng-Prusoff方程計算抑制常數(K_i)： $K_i = IC_{50}/[1+([L]/K_D)]$ ，其中[L]係放射性配體濃度，並且K_D係所標記的配體對受體的親和力。K_D由單獨的飽和實驗判定。表7

中所示之 pK_i 值係藉由計算以莫耳/升表示的 K_i 值的負對數而得到。在所有實驗中，樣本重複運行三次。結果表明，本揭露的實例係人類重組 D_3 受體的高親和力配體。

表 7

實例	D_3 pK_i [3H]雷氯必利
1	8.99
2	9.15
參考實例 2	9.51

使用 $[^3H]$ 螺環哌啶酮在競爭性結合檢定中判定人類 D_3 受體的親和力

【0087】 用PBS洗滌表現人類重組 D_3 受體的CHO-K1細胞。從盤上刮下細胞，並以 $1000 \times g$ 離心。在含有25 mM Tris-HCl (pH=7.4)、6 mM $MgCl_2$ 、1 mM EDTA、10 mM PMSF的緩衝液中，使用Teflon[®]杵均質器來破碎細胞。將懸浮液以 $1000 \times g$ 離心。收集上清液且以 $41,000 \times g$ 離心。丟棄上清液，並且將沉澱物再懸浮於上述緩衝液中。將膜製備物等分並儲存於 $-70^\circ C$ 。

【0088】 將等分的膜製備物與0.7 nM $[^3H]$ 螺環哌啶酮(PerkinElmer)在存在或不存在測試化合物的情況下在96孔盤中在 $37^\circ C$ 下在含有50 mM Tris-HCl、1.4 mM抗壞血酸、0.001%牛血清白蛋白、及150 mM NaCl (pH 7.4)的培養緩衝液中培養120分鐘，具有1% DMSO，最終反應體積為222 μL 。非特異性結合(NSB)係在25 μM (S)-(-)-舒必利(Sigma Aldrich)存在下判定的。培養後，將樣本在GF/C過濾盤(PerkinElmer)上過濾、洗滌，且添加MicroscintTM-20閃爍液。在MicroBeta²[®]微孔盤計數器(PerkinElmer)中判定放射性。

【0089】 從原始閃爍計數中減去NSB，以得到特異性結合，將其標準化為媒劑處理的樣本，並轉化為位移%值。IC₅₀值係使用MathIQ™ (ID Business Solutions Ltd., Surrey, UK)藉由非線性最小平方回歸分析來判定。K_i值係使用Cheng-Prusoff方程，使用測試化合物的所觀察IC₅₀、檢定中採用的放射性配體的濃度、及配體的K_D的歷史值來計算。表8中所示之pK_i值係藉由計算以莫耳/升表示的K_i值的負對數而得到。結果表明，當使用[³H]螺環哌啶酮作為放射性配體時，本揭露的實例係人類重組D₃受體的高親和力配體。

表 8

實例	D ₃ pK _i [³ H]螺環哌啶酮
1	10.00
2	9.77
3	9.74
參考實例 2	9.80

使用環腺苷單磷酸偵測來表徵在人類 D₃ 受體下的促效作用

【0090】 使用cAMP G_i套組(Cisbio/PerkinElmer)，藉由均質時間解析螢光(HTRF)，藉由表現穩定共表現腺苷酸環化酶V (adenylyl cyclase V, ACV)的重組人類D₃受體(BioXtal, Saint-Félix, France)的HEK293細胞（Gedeon Richter開發的細胞系）中的cAMP水平來檢定在人類D₃受體下的促效劑活性。將表現重組人類D₃受體及ACV的HEK293細胞在補充有10% FBS、1%青黴素-鏈黴素抗真菌溶液、1%丙酮酸鹽、100 µg/mL G418 (Thermo Fisher Scientific)、及60 µg/mL潮黴素B的DMEM中培養，並且保持在37°C含5% CO₂的加濕氣氛中。在測量cAMP

之前，用Versene (Thermo-Fisher Scientific)分離細胞，並以15,000個細胞/孔的密度及20 μ L體積再懸浮於白壁半面積96孔微孔盤中的檢定緩衝液（140 mM NaCl，5 mM KCl，2 mM MgCl₂，2 mM CaCl₂，10 mM 2-[4-(2-羥乙基)哌啶-1-基]乙烷-1-磺酸(HEPES)、10 mM葡萄糖，pH 7.4) 中。用100 μ M IBMX (Sigma Aldrich, St Louis, MO, USA)補充檢定緩衝液。在以10 μ L/孔添加測試化合物（4x濃縮）或媒劑(DMSO)後，將細胞與檢定緩衝液或各種濃度的測試化合物一起培養20分鐘。在環境溫度下與1.5 μ M毛喉素（DMSO最終濃度為0.3%）培養另外30分鐘後，藉由添加在裂解緩衝液(PerkinElmer)中稀釋的偵測試劑（20 μ L cAMP-d2及20 μ L抗cAMP穴狀化合物）來停止細胞刺激。在環境溫度下培養60分鐘後，使用標準HTRF設置及337 nm的雷射激發，用PHERAstar FS多模式讀取器(BMG Labtech, Ortenberg, Germany)對時間解析螢光(time-resolved fluorescence, TRF)信號進行量化。

【0091】 從受體螢光信號(A665 nm)及供體螢光信號(A620 nm)的比率 $\times 10^4$ 來計算結果，並且使用以下公式表示為 $\Delta F\%$ 值： $100 \times (\text{比率樣本} - \text{比率陰性對照}) / \text{比率陰性對照}$ 。在所有實驗中，平行測量多個孔，且平均 $\Delta F\%$ 值用於進一步分析。促效劑活性值被計算為對毛喉素刺激的cAMP積累的抑制百分比，該積累被標準化為在相同實驗中測試的最大有效濃度的多巴胺所誘發的反應。所有計算皆使用Excel (Microsoft, Redmond, WA, USA)來進行。藉由使用GraphPad Prism (GraphPad Software, San Diego, CA, USA)將4參數S形曲線擬合到濃度-效應數據，其下漸近線約束為零，從而獲得pEC₅₀值（產生對毛喉素刺激的cAMP積累的50%抑制的促效劑的濃度的負對數，以莫耳/升表示），並且

該等值示於表9中。結果表明，本揭露的實例係人類重組D₃受體的G蛋白依賴性信號傳導途徑的高效促效劑。

表 9

實例	D ₃ cAMP pEC ₅₀
1	8.45
2	8.71
參考實例 2	8.71

人類多巴胺 D₃ 受體 β-抑制蛋白募集之測量

【0092】 將表現所標記的人類D₃受體及所標記的β-抑制蛋白-2的 PathHunter[®] CHO-K1細胞(Eurofins DiscoverX, Fremont, CA, USA)以25,000個細胞/孔的密度接種到96孔白壁透明底組織培養盤中於90 μL AssayComplete™細胞鋪盤2 (CP2)試劑(Eurofins DiscoverX)中，並且在37°C下在含有5% CO₂的加濕氣氛中培養過夜。二十至二十四小時後，向細胞中添加20 μL含2.2% DMSO的CP2試劑中的測試化合物或媒劑，並且將細胞在37°C下培養90分鐘。培養後，向每個孔中添加55 μL PathHunter[®]偵測試劑(Eurofins DiscoverX)，且將盤在25°C下培養60分鐘，然後使用PHERAstar[®] FS多模式盤讀取器(BMG Labtech, Ortenberg, Germany)進行發光偵測。

【0093】 原始數據首先被轉換為高於基礎值之刺激%。高於基礎值之刺激%進一步被轉換為1 μM多巴胺對β-抑制蛋白募集的最大刺激的%。EC₅₀值係使用Origin[®] 7.5軟體(OriginLab[®] Corporation, Northampton, MA, USA)藉由S形擬合從至少六個濃度重複的濃度-反應曲線重複計算，並且被定義為具有半最大

刺激的促效劑的濃度。表10中所示之 pEC_{50} 值係被計算為以莫耳/升表示之 EC_{50} 值的負對數。結果表明，本揭露的實例係人類重組 D_3 受體的G蛋白非依賴性信號傳導途徑的高效促效劑。

表 10

實例	D_3 抑制蛋白 EC_{50}
1	8.51
2	8.41
參考實例 2	8.55

5-HT_{2A} 受體檢定

在競爭性結合檢定中判定對人類 5-HT_{2A} 受體的親和力

【0094】 從穩定表現人類5-HT_{2A}受體的CHO-K1重組AequoScreen®細胞系(PerkinElmer, Waltham, MA, USA)製備受體膜。將細胞以4x體積懸浮於緩衝液A (15 mM Tris-HCl, pH 7.5, 2 mM MgCl₂, 0.3 mM EDTA, 1 mM EGTA) (1 g細胞-4 mL緩衝液) 中，並且在Dounce均質器中進行均質。在以40,000 x g離心25分鐘的兩個連續離心步驟之後，藉由在緩衝液A中的洗滌步驟分離，從而收集粗膜流份。將最終沉澱物再懸浮於在0.5 mL緩衝液中的濃度為80 mg濕細胞重量的緩衝液B (75 mM Tris-HCl, pH 7.5, 12.5 mM MgCl₂, 0.3 mM EDTA, 1 mM EGTA, 250 mM蔗糖) 中，等分並在乾冰上快速冷凍。在氫硫基試劑的存在下，用牛血清白蛋白(BSA)作為標準，使用雙喹啉甲酸(bicinchoninic acid)檢定來判定蛋白質含量。

【0095】 在結合實驗中，在培養緩衝液(50 mM Tris, 0.3% BSA, pH 7.4)中，將15 µg蛋白質/孔膜製備物及作為放射性配體的1 nM酮色林鹽酸鹽，[乙烯-³H] (PerkinElmer)與化合物或媒劑 (DMSO, 1% (v/v)最終濃度) 一起培養。在1 µM鹽酸米塞林(Tocris, Bristol, UK)的存在下判定非特異性結合(NSB)。將樣本在25°C下培養15分鐘，最終體積為250 µL。使用預先浸泡在0.5% (v/v)聚乙烯亞胺 (PEI, 溶解於蒸餾水中) 中至少1小時的UniFilter® GF/C盤，藉由Filtermate™收集器(PerkinElmer)快速過濾而終止結合反應。用0.5 mL冰冷的洗滌緩衝液(50 mM Tris, pH 7.4)洗滌過濾盤三次。將洗滌的過濾盤在40°C下乾燥60分鐘，並且將40 µL Microscint™-20閃爍液(PerkinElmer)添加到每個孔中。用MicroBeta²®微孔盤計數器(PerkinElmer)判定放射性。

【0096】 從原始閃爍計數中減去非特異性結合，以得到特異性結合，將其標準化為媒劑處理的樣本，並轉化為位移%值。IC₅₀值 (即，使50%的特異性結合的放射性配體位移的化合物的濃度) 係藉由使用Origin® 7.5.軟體 (OriginLab® Corporation, Northampton, MA, USA)藉由S形擬合由濃度-位移曲線來判定。表11中所示之K_i值 (亦即，抑制常數) 係使用Cheng-Prusoff方程來計算： $K_i = IC_{50}/[1+(L)/K_D]$ ，其中[L]係所使用的放射性配體濃度且藉由閃爍計數來判定，並且K_D係所標記的配體對受體的親和力，在單獨的實驗中判定。在兩個獨立的實驗中，在最少六個濃度下進行競爭性結合檢定，每個濃度重複三次。表11中所示之pK_i值係藉由計算以莫耳/升表示的K_i值的負對數而得到。結果表明，本揭露的實例係人類重組5-HT_{2A}受體的配體。

表 11

第 34 頁，共 40 頁(發明說明書)

實例	5-HT _{2A} pK _i
1	7.64
2	7.81
參考實例 2	7.53

使用螢光 Ca²⁺偵測來表徵在人類 5-HT_{2A} 受體下的拮抗作用

【0097】 根據建立的方案，使用90% FBS/10% DMSO作為培養基，將培養物中表現人類重組5-HT_{2A}受體及Gα₁₆（購自Euroscreen Fast, Brussels, BE）的CHO-K1細胞冷凍保存。在實驗之前，將細胞解凍，再懸浮於補充有10%胎牛血清(FBS)、1%青黴素-鏈黴素抗真菌溶液、及1%丙酮酸鹽的PowerCHO™ 2培養基(Lonza, Basel, Switzerland)中。將細胞以40,000個細胞/孔的密度接種在96孔微孔盤中，並且在37°C下在含有5.0% CO₂的加濕氣氛中培養過夜。在實驗當天，使用洗盤機(Elx405UCWS, Biotek, Winooski, VT, USA)用檢定緩衝液（140 mM NaCl，5 mM KCl，2 mM MgCl₂，2 mM CaCl₂，10 mM 2-[4-(2-羥乙基)哌啶-1-基]乙烷-1-磺酸(HEPES)，10 mM葡萄糖，2 mM丙磺舒，pH 7.4）洗滌盤，然後添加在檢定緩衝液中的50 μL/孔的4 μM Fluo-4 AM (Thermo Fisher Scientific)。在染料裝載（60分鐘，37°C，黑暗中）後，使用洗盤機用檢定緩衝液洗滌盤，留下50 μL/孔的殘餘體積，然後添加50 μL/孔的含有媒劑（檢定緩衝液中3% DMSO）或測試化合物（最終濃度的3x）的檢定緩衝液，並且將細胞在37°C下再培養10分鐘。

【0098】 對於所有治療，最終DMSO濃度係1% (v/v)。為此，由所有測試化合物製備一系列DMSO儲備溶液。將儲備溶液儲存在-20°C下，並且在檢定

緩衝液中進一步稀釋，以在測量前獲得所需最終濃度。藉由將5-HT溶解在去離子的超濾水中來製備5-HT的儲備溶液(10 mM)。

【0099】 用FlexStation® II 96孔盤讀取器(Molecular Devices, San Jose, CA, USA)監測基線及促效劑誘發的 $[Ca^{2+}]_i$ (細胞內 Ca^{2+}) 變化。針對螢光成像，FlexStation® II的設置如下：在485 nm下激發；在525 nm下發射，利用515 nm的截止濾波器。螢光測量在37°C下進行，運行時間為40秒，且採樣間隔為1.36秒。激發及偵測係透過盤底部進行。記錄基線20秒，然後進行促效劑刺激，此時使用板載移液器以75 μ L/秒將50 μ L 3x濃縮促效劑 (在其 EC_{80} 下的5-HT) 溶液或檢定緩衝液/媒劑添加到所有孔中，高度對應於155 μ L。將螢光監測另外20秒。

【0100】 根據用測量軟體(SoftMax® Pro 5.2, Molecular Devices, San Jose, CA, USA)的內置曲線擬合模組在每個盤上判定的 EC_{80} 5-HT濃度來評估化合物。

【0101】 結果表示為 $\Delta F/F$ 值，其中F係基線螢光，被定義為促效劑投予之前及/或之後的平均螢光，並且 ΔF 係促效劑投予後螢光的增加；被計算為： $\Delta F = F_{max} - F$ ，其中 F_{max} 是讀數17至29之間的最大螢光，且F是螢光讀數2至13的平均值。在所有實驗中，在多個孔中平行測量所有治療，並且將平均 $\Delta F/F$ 用於進一步分析。使用以下公式將平均 $\Delta F/F$ 值轉換為抑制% (I%)值： $I\% = 100 \times [1 - ((\Delta F/F)_{化合物} - \Delta F/F_{媒劑}) / (\Delta F/F_{對照} - \Delta F/F_{媒劑})]$ 。測試化合物的 IC_{50} 值係使用SoftMax® Pro軟體(Molecular Devices)由擬合到抑制%數據的4參數S形濃度-效應曲線來判定。表12所示的 pIC_{50} 值的進一步計算係藉由用上述軟體計算 IC_{50} 值的負對數而

得到的，以莫耳/升表示。結果表明，本揭露的實例係人類重組5-HT_{2A}受體的拮抗劑。

表 12

實例	5-HT _{2A} Ca ²⁺ pIC ₅₀
1	6.80
2	6.88
參考實例 2	6.75

苯環己哌啶誘導的大鼠過度運動

【0102】 使用Experimetria Ltd. (Budapest, HU)製造的六通道活動監測器測量自發運動活動。設備由丙烯酸籠(48.5 cm x 48.5 cm x 40 cm)組成，在靠近籠底部的壁上裝有2乘30對光電池，以偵測水平移動行為。額外的光電池陣列(30對)沿籠的相對側放置在不同高度(6.5 cm、12 cm、18 cm、及23 cm)處，以便偵測飼養反應。藉由光電池束的中斷引起的信號由運動分析軟體(Experimetria)處理，該軟體係以1 Hz的採樣頻率判定動物的空間位置，並且計算大鼠行走所花費的時間。

【0103】 對研究動物口服或皮下投予測試化合物，每個治療組有十只動物。在此等研究中，使用了重190至210克的雄性Harlan-Wistar大鼠(Toxi-Coop, Budapest, HU)。在口服投予測試化合物或媒劑後，動物分別適應活動監測器30分鐘。在皮下投予測試化合物的情況下，首先使大鼠適應活動監測器15分鐘，然後用測試化合物或媒劑治療，接著將它們放入活動監測器中再適應15分鐘。

適應後，用鹽酸苯環己哌啶(phencyclidine hydrochloride, PCP)皮下治療大鼠，並且在測量期間（一小時）立即放回實驗設備中。

【0104】 使用GraphPad® Prism® 9軟體(GraphPad, San Diego, CA, USA)分析數據。在一小時的活動（行走所花費時間）後進行統計評估。使用變異數分析（ANOVA或Welch的ANOVA，在適當情況下），然後進行Dunnnett多重比較測試來評估藥物效果。在適當情況下，ED₅₀值由線性回歸分析的抑制百分比數據來判定。ED₅₀值示於表13中。

表 13

實例	PCP (MED, mg/kg)	PCP (ED ₅₀ mg/kg)
1	0.4	0.07
參考實例 2	0.1	0.09

MED =最小有效劑量

（顯示出統計學顯著效果的最低劑量）

【0105】 上述數據（表13）顯示，本揭露之實例的化合物在苯環己哌啶誘導的大鼠過度運動中顯示出良好及有效的藥效動力學作用/活性，指示其等可能具有顯著的抗精神病功效。

阿朴嗎啡(Apomorphine)誘導的小鼠攀爬及嗅探

【0106】 體重24至29克的雄性CD1®小鼠(Envigo, Horst, NL)用於實驗（每個治療組n=12）。在圓柱形籠中藉由視覺觀察測量攀爬及嗅探行為。籠高

15 cm，直徑12 cm，其中直徑2 mm且間隔1 cm的垂直金屬條的壁安裝在光滑的塑膠表面上。

【0107】 皮下投予媒劑或測試化合物後，立即將動物放入籠中10分鐘以適應環境。在10分鐘適應期結束時，皮下投予1.5 mg/kg鹽酸阿朴嗎啡。治療後，將動物放入圓柱形籠中。在阿朴嗎啡治療後10分鐘（在第11分鐘期間）開始測量攀爬及嗅探行為，並且持續16分鐘。每分鐘的攀爬行為評分如下：四隻爪放在地板上（0分）；前腳碰觸條（1分）；且四隻爪抓著條（2分）。還根據以下尺度對動物的重複嗅探進行評級，作為刻板行為的量度：沒有嗅探（0分），中度嗅探，口鼻很少接觸籠壁或地板（1分）；及持續嗅探、持續口鼻接觸（2分）。

【0108】 使用GraphPad Prism 9軟體(GraphPad)分析數據。記錄每個個體的兩種行為的得分（可能最高得分為32），並且計算組平均值。藥物效果被計算為阿朴嗎啡誘導行為的抑制百分比。根據百分比抑制數據，繪製劑量-反應曲線，並且藉由簡單線性回歸來計算ED₅₀值。

表 14

實例	APO (ED ₅₀ cl mg/kg)	APO (ED ₅₀ sn mg/kg)
1	0.1	0.4
參考實例 2	0.27	0.38

APO cl =阿朴嗎啡誘導的小鼠攀爬；

APO sn =阿朴嗎啡誘導的小鼠嗅探

【0109】 上述數據（表14）顯示，本揭露之實例的化合物在阿朴嗎啡誘導的小鼠攀爬及嗅探中顯示出良好及有效的藥效動力學作用/活性，指示其等可能具有顯著的抗精神病功效。

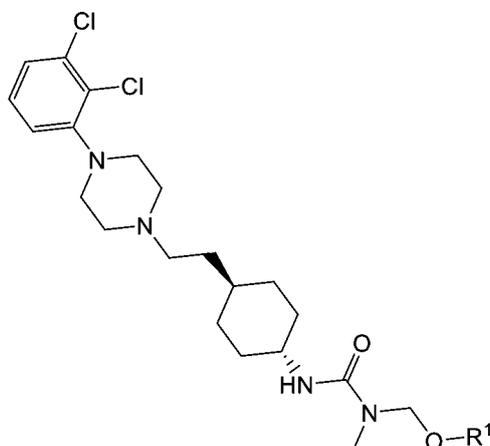
【0110】 應瞭解以上實施方式及隨附實例僅僅為說明性且不應視為限制本揭露之範疇，本揭露之範疇僅僅由隨附申請專利範圍及其等效物定義。對揭示之實施例之各種改變及修改對於本領域中熟習此項技術者而言將顯而易見。可在不脫離其精神及範疇之情況下進行此類改變及修改，包含但不限於關於本揭露之化學結構、取代基、衍生物、中間物、合成、調配物及/或使用方法之彼等改變及修改。本文中所引用之所有出版物、專利及專利申請案均出於所有目的以全文引用的方式併入本文中。

【符號說明】

無

【發明申請專利範圍】

【請求項1】 一種通式(I)之化合物或其醫藥上可接受之鹽，



其中

R^1 係直鏈 C_1 - C_3 烷基。

【請求項2】 如請求項1之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其中 R^1 係 CH_3 。

【請求項3】 如請求項1之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其中 R^1 係
 CH_2CH_3 。

【請求項4】 如請求項1之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其中 R^1 係
 $CH_2CH_2CH_3$ 。

【請求項5】 如請求項1之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其選自由下列組成之群組：

N-[(1*r*,4*r*)-4-{2-[4-(2,3-二氯苯基)哌咩-1-基]乙基}環己基]-*N*-(乙氧基甲基)-*N*-甲基脲；

N' -[(1*r*,4*r*)-4-{2-[4-(2,3-二氯苯基)哌啶-1-基]乙基}環己基]- N -(甲氧基甲基)- N -甲基脲；及

N' -[(1*r*,4*r*)-4-{2-[4-(2,3-二氯苯基)哌啶-1-基]乙基}環己基]- N -甲基- N -(丙氧基甲基)脲。

【請求項6】 如請求項1之化合物，其中該化合物係 N' -[(1*r*,4*r*)-4-{2-[4-(2,3-二氯苯基)哌啶-1-基]乙基}環己基]- N -(乙氧基甲基)- N -甲基脲或其醫藥上可接受之鹽。

【請求項7】 如請求項1之化合物，其中該化合物係 N' -[(1*r*,4*r*)-4-{2-[4-(2,3-二氯苯基)哌啶-1-基]乙基}環己基]- N -(乙氧基甲基)- N -甲基脲。

【請求項8】 如請求項1之化合物，其中該化合物係 N' -[(1*r*,4*r*)-4-{2-[4-(2,3-二氯苯基)哌啶-1-基]乙基}環己基]- N -(乙氧基甲基)- N -甲基脲的醫藥上可接受之鹽。

【請求項9】 一種醫藥組成物，其包含治療有效量之如請求項1之化合物或其醫藥上可接受之鹽與醫藥上可接受之載劑的組合。

【請求項10】 一種用於治療罹患思覺失調症之對象之思覺失調症之方法，該方法包含以下步驟：向該對象投予治療有效量之如請求項1之化合物或其醫藥上可接受之鹽。

【請求項11】 如請求項1之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其用作藥劑。

【請求項12】 如請求項1之化合物或其醫藥上可接受之鹽，其用於治療思覺失調症。

【請求項13】 一種如請求項1之化合物或其醫藥上可接受之鹽用於製造用於治療思覺失調症之藥劑之用途。