



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103781771 A

(43) 申请公布日 2014. 05. 07

(21) 申请号 201280043386. 3

T · 乌尔里奇 吴翔 周建光

(22) 申请日 2012. 09. 05

(74) 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

(66) 本国优先权数据

11247

PCT/CN2011/079379 2011. 09. 06 CN

代理人 陈润杰 黄革生

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

(51) Int. Cl.

2014. 03. 06

C07D 277/68 (2006. 01)

(86) PCT国际申请的申请数据

A61K 31/428 (2006. 01)

PCT/IB2012/054580 2012. 09. 05

A61P 21/00 (2006. 01)

(87) PCT国际申请的公布数据

W02013/035047 EN 2013. 03. 14

(71) 申请人 诺华股份有限公司

地址 瑞士巴塞尔

(72) 发明人 曹军 B · 埃尔布

R · A · 费尔赫斯特 A · 格朗德里

畠山慎二 M · 科奇亚克 - 霍尔布鲁

赖新忠 P · 卢斯滕贝格尔

B · 里佩塞尔 N · 图菲利

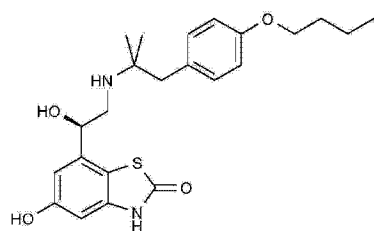
权利要求书3页 说明书41页 附图6页

(54) 发明名称

苯并噻唑酮化合物

(57) 摘要

本发明提供呈游离形式或药化学上可接受盐形式的式(I)化合物,

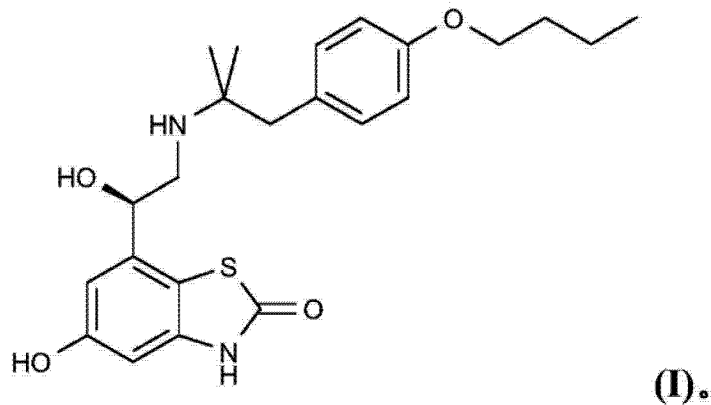


用于制备本发

(I)

明化合物的方法及其治疗用途。本发明进一步提供药理活性剂的组合和药物组合物。

1. 游离形式或药学上可接受盐形式的式 (I) 化合物, 其为



2. 根据权利要求 1 的化合物, 其为游离形式的 (R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基)-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并 [d] 噻唑 -2(3H)-酮。

3. 根据权利要求 1 的化合物, 其为乙酸盐形式的 (R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基)-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并 [d] 噻唑 -2(3H)-酮。

4. 根据权利要求 1 的化合物, 其为羟乙酸盐形式的 (R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基)-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并 [d] 噻唑 -2(3H)-酮。

5. 药物组合物, 其包含治疗有效量的根据权利要求 1 至 4 中任一项的化合物和一种或多种药学上可接受的载体。

6. 根据权利要求 5 的药物组合物, 其中药学上可接受的载体之一为苯甲醇。

7. 组合, 其包含治疗有效量的根据权利要求 1 至 4 中任一项的化合物和一种或多种治疗活性助剂。

8. 治疗或预防肌肉营养不良、废用相关萎缩、恶病质或肌肉减少症的方法, 其包括向需要其的对象施用药学有效量的根据权利要求 1 至 4 中任一项的化合物。

9. 根据权利要求 8 的方法, 其中所述化合物通过皮下输注或注射施用。

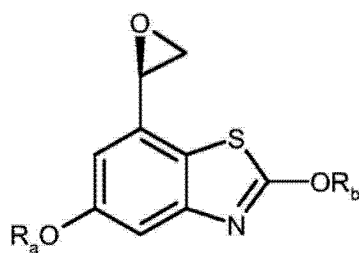
10. 根据权利要求 1 至 4 中任一项的化合物, 其用作药物。

11. 根据权利要求 1 至 4 中任一项的化合物, 其用于治疗或预防肌肉营养不良、废用相关萎缩、恶病质或肌肉减少症。

12. 根据权利要求 1 至 4 中任一项的化合物在制备用于治疗或预防肌肉营养不良、废用相关萎缩、恶病质或肌肉减少症的药物中的用途。

13. 用于制备游离形式或药学上可接受盐形式的式 (I) 化合物的方法, 其包括以下步骤:

a. 使游离形式或药学上可接受盐形式的式 (IIa) 化合物与 2-(4-丁氧基-苯基)-1,1-二甲基-乙胺反应,



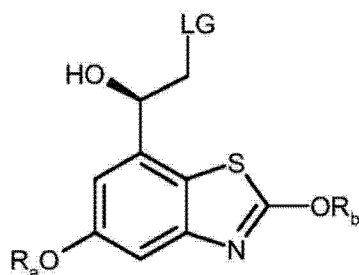
(IIa)

其中 R_a 和 R_b 为保护基；

b. 使仍然存在的任意保护基断裂；

c. 回收如此可得的游离形式或药学上可接受盐形式的式 (I) 化合物。

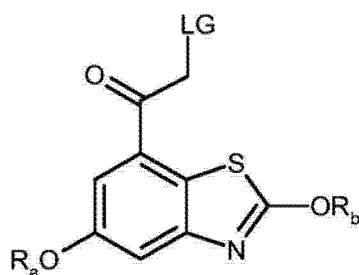
14. 根据权利要求 13 的用于制备游离形式或药学上可接受盐形式的式 (I) 化合物的方法, 其中化合物 (IIa) 通过游离形式或药学上可接受盐形式的式 (IIIa) 化合物与碱和任选的相转移催化剂的反应而获得,



(IIIa)

其中 R_a 和 R_b 为保护基且 LG 是离去基团。

15. 根据权利要求 14 的用于制备游离形式或药学上可接受盐形式的式 (I) 化合物的方法, 其中化合物 (IIIa) 通过游离形式或药学上可接受盐形式的式 (IVa-2) 化合物的立体选择性还原而获得,

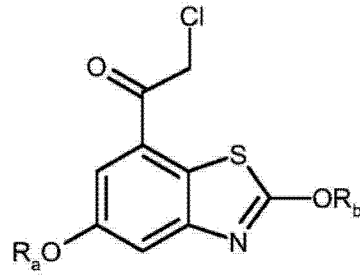


(IVa-2)

其中 R_a 和 R_b 为保护基且 LG 是离去基团。

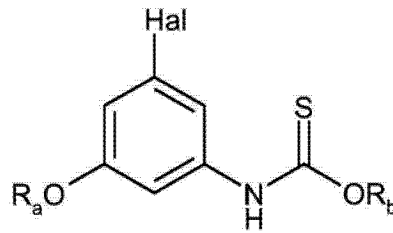
16. 根据权利要求 15 的方法, 其中所述 LG 为氯。

17. 根据权利要求 16 的方法, 其中游离形式或药学上可接受盐形式的化合物 (IVa'-2)



(IVa'-2)

通过游离形式或药学上可接受盐形式的式 (Va) 化合物与 2-氯 -N- 甲氧基 -N- 甲基 - 乙酰胺在强碱存在下反应而获得,



(Va)

其中 R_a 和 R_b 为保护基且 Hal 为卤素。

苯并噻唑酮化合物

[0001] 本发明涉及苯并噻唑酮化合物、其制备、其作为 β -2 肾上腺受体激动剂的医疗用途并且涉及包含其的药物、药物组合物及组合。

[0002] 为 β -2- 肾上腺受体激动剂的苯并噻唑酮化合物描述于 W02004/16601 和 W02006/056471 中。W02005/110990 也将苯并 - 稠合的杂环描述为 β -2 激动剂。

[0003] 尽管 β -2 激动剂一直以来由于其支气管扩张性质为人所知,但是它们还因其产生骨骼肌肥大的能力而为人所知。

[0004] 很多研究已关注 β -2 激动剂的合成代谢性质的治疗应用,用于减轻肌肉萎缩和改善肌肉功能。但是,这类化合物也与不期望的副作用相关,包括不良心血管相关事件的风险增加。因此,迄今为止 β -2 激动剂在肌肉萎缩疾病中的用途已受心脏肥大和可能对心血管功能的潜在有害作用的限制。

[0005] 需要提供为良好候选药物的新 β -2 激动剂。特别地,新 β -2 激动剂应有效地结合 β -2 肾上腺受体,同时对其它受体如例如 β -1 肾上腺受体、 α -1A 肾上腺受体或 5HT_{2C} 受体显示极小的亲合力,并且显示作为激动剂的功能活性。其应该是代谢稳定的并且具有有利的药动学性质。其应该是无毒的并且展示极少的副作用,特别是比已知上市 β -2 激动剂如例如福莫特罗更少的心脏副作用。而且,理想的候选药物将以稳定的、不吸湿的且容易配制的物理形态存在。

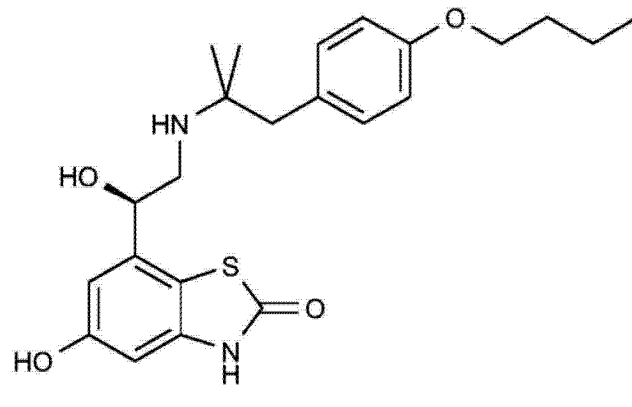
[0006] 本发明化合物为选择性 β -2 激动剂。特别地,其显示相较于已知 β -2 激动剂如福莫特罗而言增加的对 β -2 肾上腺受体的亲合力,这大于它对 β -1 肾上腺受体或 α -1A 肾上腺受体的亲合力。令人惊讶的是,它还显示与其外消旋物或其相应的对映异构体相比而言对血清素受体 (5HT_{2C}) 较低的亲合力和在表达 5HT_{2c} 的细胞中较低的功能效力,这表明它不影响可能导致体重降低、可能抵消 β -2 激动剂诱导的骨骼肌肥大的运动活性和食物摄取。5HT_{2c} 受体激动剂对能量摄取和体重的负面影响由 J. Halford 和 J. Harrold 在 *Handb Exp Pharmacol.* 2012 ; (209) 349-56 中描述。

[0007] 因此,本发明化合物可潜在用于治疗各种病症,特别地用于治疗或预防肌肉萎缩疾病 (muscle wasting disease) 如肌肉营养不良、废用相关萎缩、恶病质或肌肉减少症。

[0008] 恶病质的治疗也是预期用途。所有形式的恶病质可用本发明化合物治疗,例如包括癌症恶病质。

[0009] 在本发明的第一方面,因此提供游离形式或药学上可接受盐形式的式 (I) 化合物,其为

[0010]



[0011] 本发明化合物为 (R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基)-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并[d]噻唑-2(3H)-酮。

[0012] 以下为本发明的实施方案：

[0013] 实施方案 1：根据本发明的第一方面的化合物。

[0014] 实施方案 2：根据实施方案 1 的化合物，其为游离形式的 (R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基)-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并[d]噻唑-2(3H)-酮。

[0015] 实施方案 3：根据实施方案 1 的化合物，其为乙酸盐形式的 (R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基)-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并[d]噻唑-2(3H)-酮。

[0016] 实施方案 4：根据实施方案 1 的化合物，其为羟乙酸盐形式的 (R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基)-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并[d]噻唑-2(3H)-酮。

[0017] 实施方案 5：药物组合物，其包含药学有效量的根据实施方案 1 至 4 中任一项的化合物和一种或多种药学上可接受的载体。

[0018] 实施方案 6：根据实施方案 5 的药物组合物，其中所述药学上可接受的载体之一为苯甲醇。

[0019] 实施方案 7：组合，其包含药学有效量的根据实施方案 1 至 4 中任一项的化合物和一种或多种治疗活性助剂。

[0020] 实施方案 8：治疗或预防肌肉营养不良、废用相关萎缩、恶病质或肌肉减少症的方法，其包括向需要其的对象施用药学有效量的根据实施方案 1 至 4 中任一项的化合物。

[0021] 实施方案 9：根据实施方案 8 的方法，其中所述化合物通过皮下输注或注射施用。

[0022] 实施方案 10：根据实施方案 1 至 4 中任一项的化合物，其用作药物。

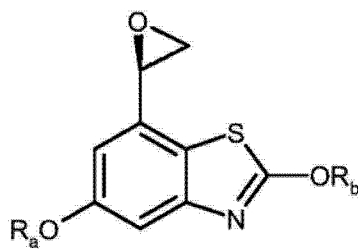
[0023] 实施方案 11：根据实施方案 1 至 4 中任一项的化合物，其用于治疗或预防肌肉营养不良、废用相关萎缩、恶病质或肌肉减少症。

[0024] 实施方案 12：根据实施方案 1 至 4 中任一项的化合物在制备用于治疗或预防肌肉营养不良、废用相关萎缩、恶病质或肌肉减少症的药物中的用途。

[0025] 实施方案 13：用于制备游离形式或药学上可接受盐形式的式 (I) 化合物的方法，其包括以下步骤：

[0026] a) 使游离形式或药学上可接受盐形式的式 (IIa) 化合物与 2-(4-丁氧基-苯基)-1,1-二甲基-乙胺反应，

[0027]



(IIa)

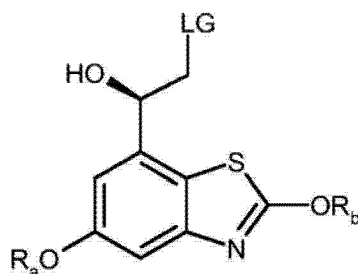
[0028] 其中 R_a 和 R_b 为保护基；

[0029] b) 使任选存在的保护基断裂；

[0030] c) 回收如此可得的游离形式或药学上可接受盐形式的式 (I) 化合物。

[0031] 实施方案 14: 根据实施方案 13 的用于制备游离形式或药学上可接受盐形式的式 (I) 化合物的方法, 其中化合物 (IIa) 通过游离形式或药学上可接受盐形式的式 (IIIa) 化合物与碱和任选的相转移催化剂的反应而获得,

[0032]



(IIIa)

[0033] 其中 R_a 和 R_b 为保护基且 LG 是离去基团。

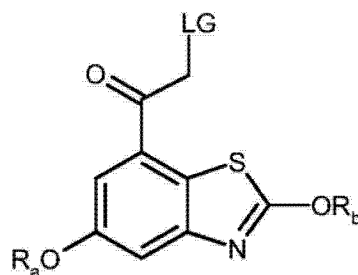
[0034] 实施方案 15: 根据实施方案 14 的方法, 其中所述碱为碳酸钾。

[0035] 实施方案 16: 根据实施方案 14 的方法, 其中所述碱为氢氧化钠。

[0036] 实施方案 17: 根据实施方案 14 至 16 中任一项的方法, 其中所述相转移催化剂为四丁基碘化铵。

[0037] 实施方案 18: 根据实施方案 14 至 17 的用于制备游离形式或药学上可接受盐形式的式 (I) 化合物的方法, 其中化合物 (IIIa) 通过游离形式或药学上可接受盐形式的式 (IVa-2) 化合物的立体选择性还原而获得,

[0038]



(IVa-2)

[0039] 其中 R_a 和 R_b 为保护基且 LG 是离去基团。

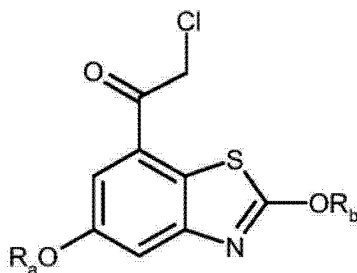
[0040] 实施方案 19: 根据实施方案 18 的方法, 其中所述立体选择性还原用

[N-[(1S, 2S)-2-(氨基-κN)-1, 2-二苯基乙基]-4-甲基苯磺酰胺合-κN] 氯 [(1, 2, 3, 4, 5, 6-η)-1-甲基-4-(1-甲基乙基)苯]-钌 (RuCl(对甲基异丙基苯) [(S, S)-Ts-DPEN]) 进行。

[0041] 实施方案 20 : 根据实施方案 18 或 19 的方法, 其中 LG 为氯。

[0042] 实施方案 21 : 根据实施方案 20 的方法, 其中游离形式或药学上可接受盐形式的化合物 (IVa'-2)

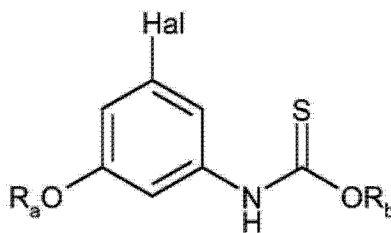
[0043]



(IVa'-2)

[0044] 通过游离形式或药学上可接受盐形式的式 (Va) 化合物与 2-氯-N-甲氧基-N-甲基-乙酰胺在强碱存在下的反应而获得,

[0045]



(Va)

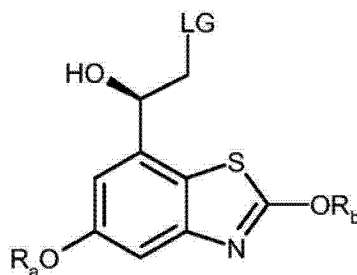
[0046] 其中 R_a 和 R_b 为保护基且 Hal 为卤素。

[0047] 实施方案 22 : 根据实施方案 21 的方法, 其中所述强碱为叔丁基锂。

[0048] 实施方案 23 : 用于制备游离形式或药学上可接受盐形式的式 (I) 化合物的方法, 其包括以下步骤:

[0049] a) 使游离形式或药学上可接受盐形式的式 (IIIa) 化合物与 2-(4-丁氧基-苯基)-1, 1-二甲基-乙胺反应,

[0050]



(IIIa)

[0051] 其中 R_a 和 R_b 为保护基且 LG 是离去基团;

[0052] b) 使仍存在的任何保护基断裂；

[0053] c) 回收如此可得的游离形式或药学上可接受盐形式的式 (I) 化合物。

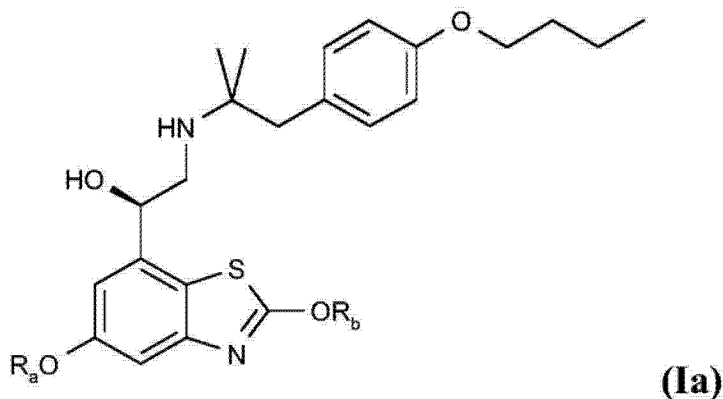
[0054] 实施方案 24 : 根据实施方案 23 的方法, 其中 LG 为氯或对 - 甲苯磺酰基。

[0055] 实施方案 25 : 根据实施方案 13 至 24 中任一项的方法, 其中 R_a 为叔丁基。

[0056] 实施方案 26 : 根据实施方案 13 至 25 中任一项的方法, 其中 R_b 为异丙基。

[0057] 实施方案 27 : 游离形式或药学上可接受盐形式的式 (Ia) 化合物

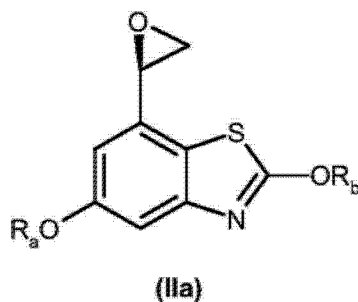
[0058]



[0059] 其中 R_a 和 R_b 为保护基。

[0060] 实施方案 28 : 游离形式或药学上可接受盐形式的式 (IIa) 化合物

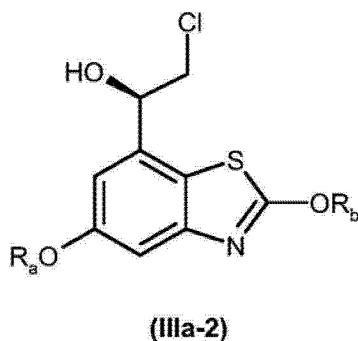
[0061]



[0062] 其中 R_a 和 R_b 为保护基。

[0063] 实施方案 29 : 游离形式或药学上可接受盐形式的式 (IIIa-2) 化合物

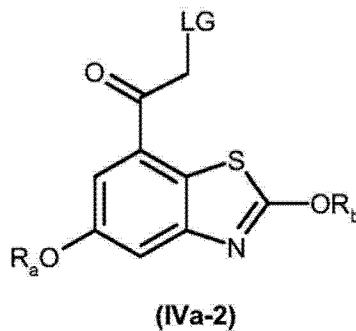
[0064]



[0065] 其中 R_a 和 R_b 为保护基。

[0066] 实施方案 30 : 游离形式或药学上可接受盐形式的式 (IVa-2) 化合物

[0067]



[0068] 其中 R_a 和 R_b 为保护基且 LG 是离去基团。

[0069] 实施方案 31 :根据实施方案 30 的化合物,其中 LG 为氯。

[0070] 实施方案 32 :根据实施方案 27 至 31 任一项中的化合物,其中 R_a 为叔丁基。

[0071] 实施方案 33 :根据实施方案 27 至 32 任一项中的化合物,其中 R_b 为异丙基。

[0072] 附图简述

[0073] 图 1 显示用福莫特罗 vs(相对) 化合物 A(本发明化合物) 注射的大鼠中的骨骼肌质量和心脏质量增加-(数值表示为平均 \pm SEM(n=5-6);骨骼肌群(腓肠肌-比目鱼肌-胫骨肌)通过初始体重标准化;心脏重量通过脑重量标准化。

[0074] 图 2a 显示当使用福莫特罗 vs 化合物 A(本发明化合物) 时离体兔窦房结的搏动频率的增加。

[0075] 图 2b 显示当使用福莫特罗 vs 化合物 A(本发明化合物) 时离体兔心脏的起搏器活动的增加。

[0076] 图 3a 和 3b 分别显示皮下快速浓注化合物 A(本发明化合物) 或福莫特罗后大鼠的心率变化。

[0077] 图 3c 比较施用福莫特罗 vs 化合物 A(本发明化合物) 时大鼠的平均心率变化。

[0078] 图 4a 和 4b 分别显示恒河猴在皮下快速浓注化合物 A(本发明化合物) 或福莫特罗后的心率变化。

[0079] 图 5 显示结晶游离碱化合物 A(本发明化合物) 的 X 射线粉末衍射图。

[0080] 图 6 显示化合物 A(本发明化合物) 的结晶乙酸盐的 X 射线粉末衍射图。

[0081] 图 7 显示化合物 A(本发明化合物) 的结晶羟乙酸盐的 X 射线粉末衍射图。

[0082] 除非另有指明,否则术语“本发明的化合物”、“本发明化合物”或“化合物 A”是指式 (I) 化合物、所述化合物的盐、所述化合物或盐的水合物或溶剂化物、以及互变异构体和同位素标记的化合物(包括氘取代)。本发明化合物进一步包含式 (I) 化合物及其盐的多晶型物。

[0083] 如本文所使用,术语“卤素”或“卤代”是指氟、氯、溴和碘。

[0084] 如本文所使用,绝对立体化学根据 Cahn-Ingold-Prelog R-S 系统来指定。当化合物为纯对映异构体时,各手性碳上的立体化学可以用 R 或 S 来指定。根据其在钠 D 线波长下对平面偏振光的旋转方向(右旋或左旋),其绝对构型未知的已拆分化合物可以被指定为 (+) 或 (-)。化合物的任何不对称原子(例如碳等)可以以外消旋或对映异构体富集的构型例如 (R)-、(S)- 或 (R,S)- 构型存在。立体异构体的外消旋 50:50 混合物分别通过 (R) 至 (S) 或 (S) 至 (R) 形式的对映异构体过量被指定为 (R,S) 和对映异构体富集形式。对映异构体过量通常由方程式 $ee = ((m1 - m2) / (m1 + m2)) * 100\%$ 表示,其中 m1 和 m2 表示各自对映

异构体形式 R 和 S 的质量。

[0085] 本发明化合物含有一个不对称中心,其关于绝对立体化学被定义为 (R)。其相应的对映异构体被定义为 (S),其为活性较低形式。

[0086] 在本发明的某些实施方案中,不对称原子在 (R)-构型中具有至少 95、98 或 99% 对映异构体过量。

[0087] 因此在本发明的一个实施方案中,提供至少 95% 对映异构体过量的 (R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基)-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并 [d] 噻唑-2(3H)-酮、或其药学上可接受的盐(例如其乙酸盐或羟乙酸盐)。

[0088] 在本发明的另一个实施方案中,提供至少 98% 对映异构体过量的 (R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基)-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并 [d] 噻唑-2(3H)-酮、或其药学上可接受的盐(例如其乙酸盐或羟乙酸盐)。

[0089] 在本发明的又一个实施方案中,提供至少 99% 对映异构体过量的 (R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基)-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并 [d] 噻唑-2(3H)-酮、或其药学上可接受的盐(例如其乙酸盐或羟乙酸盐)。

[0090] 在本发明的一个实施方案中,提供包含治疗有效量的 (R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基)-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并 [d] 噻唑-2(3H)-酮或其药学上可接受的盐(例如其乙酸盐或羟乙酸盐)和一种或多种药学上可接受的载体的药物组合物,其中所述 (R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基)-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并 [d] 噻唑-2(3H)-酮或其药学上可接受的盐以至少 95% 对映异构体过量存在。

[0091] 在本发明的另一个实施方案中,提供包含治疗有效量的 (R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基)-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并 [d] 噻唑-2(3H)-酮或其药学上可接受的盐(例如其乙酸盐或羟乙酸盐)和一种或多种药学上可接受的载体的药物组合物,其中所述 (R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基)-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并 [d] 噻唑-2(3H)-酮或其药学上可接受的盐以至少 98% 对映异构体过量存在。

[0092] 在本发明的又一个实施方案中,提供包含治疗有效量的 (R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基)-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并 [d] 噻唑-2(3H)-酮或其药学上可接受的盐(例如其乙酸盐或羟乙酸盐)和一种或多种药学上可接受的载体的药物组合物,其中所述 (R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基)-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并 [d] 噻唑-2(3H)-酮或其药学上可接受的盐以至少 99% 对映异构体过量存在。

[0093] 本发明化合物含有一个不对称中心,其关于绝对立体化学被定义为 (R)。其相应的对映异构体被定义为 (S)。

[0094] 取决于起始材料的选择和化学合成的方法,化合物可以以一种可能异构体的形式或作为其混合物、例如作为纯光学异构体、或作为异构体混合物如外消旋物存在。光学活性的 (R)-和 (S)-异构体可使用手性合成子或手性试剂制备,或使用常规技术拆分。意指包括本发明化合物的所有互变异构形式。

[0095] 因此,如本文所使用,本发明化合物可以呈互变异构体或其混合物的形式。

[0096] 任何所生成的最终产品或合成中间体的外消旋物可通过已知方法、例如通过分离其与光学活性的酸或碱获得的非对映异构的盐并释放光学活性的酸性或碱性化合物,被拆分成光学对映体。特别地,因此,例如通过与光学活性的酸形成的盐的分步结晶,碱性部分

可用于将本发明化合物拆分为光学对映体,所述光学活性的酸例如酒石酸、二苯甲酰基酒石酸、二乙酰基酒石酸、二-0,0'-对甲苯酰基酒石酸、扁桃酸、苹果酸或樟脑-10-磺酸。外消旋或对映异构体富集的产品也可通过手性色谱法例如高效液相色谱法(HPLC)、使用手性吸附剂来拆分。

[0097] 如本文所使用,术语“盐”是指本发明化合物的酸加成或碱加成盐。“盐”特别包括“药学上可接受的盐”。术语“药学上可接受的盐”是指保留本发明化合物的生物有效性和性质并且通常不是生物学上或在其它方面不期望的盐。本发明的式 I 化合物由于侧链中碱性氨基的存在能够与所定义的酸形成特征盐。其也由于杂环部分中两个酸性基团(苯酚;噻唑酮环)的存在能够与所定义的酸形成特征盐。

[0098] 药学上可接受的酸加成盐可与无机酸和有机酸形成,例如乙酸盐、天冬氨酸盐、苯甲酸盐、苯磺酸盐、溴化物/氢溴酸盐、碳酸氢盐/碳酸盐、硫酸氢盐/硫酸盐、樟脑磺酸盐、氯化物/盐酸盐、氯茶碱盐(chlorotheophyllonate)、柠檬酸盐、乙二磺酸盐、富马酸盐、葡萄糖庚酸盐、葡萄糖酸盐、葡糖醛酸盐、羟乙酸盐、马尿酸盐、氢碘酸盐/碘化物、羟乙磺酸盐、乳酸盐、乳糖醛酸盐、月桂基硫酸盐、苹果酸盐、马来酸盐、丙二酸盐、扁桃酸盐、甲磺酸盐、甲基硫酸盐、萘甲酸盐、萘磺酸盐、烟酸盐、硝酸盐、十八酸盐、油酸盐、草酸盐、棕榈酸盐、扑酸盐、磷酸盐/磷酸氢盐/磷酸二氢盐、聚半乳糖醛酸盐、丙酸盐、硬脂酸盐、琥珀酸盐、磺基水杨酸盐、酒石酸盐、甲苯磺酸盐和三氟乙酸盐。

[0099] 在本发明的一个实施方案中,提供乙酸盐、苯甲酸盐、樟脑酸盐、富马酸盐、羟乙酸盐、乳酸盐、丙二酸盐、甲磺酸盐、琥珀酸盐、硫酸盐、酒石酸盐或昔萘酸盐(xinafoate)形式的(R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基))-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并[d]噻唑-2(3H)-酮。

[0100] 在本发明的一个特定实施方案中,提供乙酸盐形式的(R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基))-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并[d]噻唑-2(3H)-酮。

[0101] 在本发明的另一个特定实施方案中,提供羟乙酸盐形式的(R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基))-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并[d]噻唑-2(3H)-酮。

[0102] 可以由其衍生得到盐的无机酸包括例如盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、磷酸等。

[0103] 可以由其衍生得到盐的有机酸包括例如乙酸、丙酸、羟乙酸、草酸、马来酸、丙二酸、琥珀酸、富马酸、酒石酸、柠檬酸、苯甲酸、扁桃酸、甲磺酸、乙磺酸、甲苯磺酸、磺基水杨酸等。

[0104] 药学上可接受的碱加成盐可与无机碱和有机碱形成。

[0105] 可以由其衍生得到盐的无机碱包括例如铵盐和周期表的 I 至 XII 族的金属。在某些实施方案中,盐衍生自钠、钾、铵、钙、镁和铁;特别适合的盐包括铵、钾、钠、钙和镁盐。

[0106] 可以由其衍生得到盐的有机碱包括例如伯胺、仲胺和叔胺,取代的胺包括天然存在的取代的胺、环胺、碱性离子交换树脂等。某些有机胺包括异丙基胺、苜星青霉素(benzathine)、胆碱盐(cholinat e)、二乙醇胺、二乙胺、赖氨酸、葡甲胺、哌嗪和氨丁三醇。

[0107] 本发明的药学上可接受的盐可由碱性或酸性部分/通过常规化学方法合成。通常,此类盐可通过使化合物的游离酸形式与化学计算量的适合的碱(如 Na、Ca、Mg 或 K 氢氧化物、碳酸盐、碳酸氢盐等)反应或通过使化合物的游离碱形式与化学计算量的适合的酸反应来制备。此类反应通常是在水中或者在有机溶剂中或者在两者的混合物中进行。通

常,当适合时,应用非水介质如醚、乙酸乙酯、乙醇、异丙醇或乙腈是期望的。另外适合的盐的列表可见于例如“Remington's Pharmaceutical Sciences”,第20版,Mack Publishing Company,Easton,Pa.,(1985);和Stahl和Wermuth的“Handbook of Pharmaceutical Salts:Properties,Selection,and Use”(Wiley-VCH,Weinheim,Germany,第二修订版,2011)中。

[0108] 而且,本发明化合物、包括其盐也可以以其水合物形式获得,或包括其它用于其结晶的溶剂。本发明化合物可固有地或通过设计与药学上可接受的溶剂(包括水)形成溶剂化物;因此,本发明意指包括溶剂化的和非溶剂化的形式。术语“溶剂化物”是指本发明化合物(包括其药学上可接受的盐)与一种或多种溶剂分子的分子复合物。此类溶剂分子是药学领域中常用的那些,已知其对受者是无害的,例如水、乙醇等。术语“水合物”是指其中溶剂分子是水的复合物。

[0109] 本发明化合物、包括其盐、水合物和溶剂化物,可固有地或通过设计形成多晶型物。

[0110] 在本发明的一个实施方案中,提供结晶形式的(R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基)-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并[d]噻唑-2(3H)-酮。

[0111] 在本发明的另一个实施方案中,提供结晶形式的(R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基)-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并[d]噻唑-2(3H)-酮乙酸盐。

[0112] 在本发明的又一个实施方案中,提供结晶形式的(R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基)-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并[d]噻唑-2(3H)-酮羟乙酸盐。

[0113] 在本发明的一个实施方案中,提供基本上纯形式的结晶(R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基)-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并[d]噻唑-2(3H)-酮。

[0114] 在本发明的另一个实施方案中,提供基本上纯形式的结晶(R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基)-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并[d]噻唑-2(3H)-酮乙酸盐。

[0115] 在本发明的又一个实施方案中,提供基本上纯形式的结晶(R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基)-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并[d]噻唑-2(3H)-酮羟乙酸盐。

[0116] 如本文所使用,“基本上纯的”当关于结晶(R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基)-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并[d]噻唑-2(3H)-酮或其药学上可接受的盐使用时,意指基于化合物或其药学上可接受盐的重量,具有大于90重量%的纯度,包括大于90、91、92、93、94、95、96、97、98和99重量%,并且也包括等于约100重量%的(R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基)-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并[d]噻唑-2(3H)-酮。

[0117] 反应杂质和/或处理杂质的存在可通过本领域已知的分析技术来测定,如例如色谱法、核磁共振光谱法、质谱法或红外光谱法。

[0118] 在更关注的方面,本发明涉及(R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基)-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并[d]噻唑-2(3H)-酮的结晶形式,其在使用 CuK_α 辐射测量时的X射线粉末衍射图含有至少一个、两个或三个具有选自8.5、13.3、13.9、14.4、15.2、17.2、17.5、18.1、21.3和22.5°的折射角 $2\theta(\theta)$ 值的峰,更特别地其中所述值为加或减 0.2° 。

[0119] 在一个实施方案中,本发明涉及(R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基)-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并[d]噻唑-2(3H)-酮的结晶形式,其在使用CuK_α辐射测量时的X射线粉末衍射图含有在15.2°的折射角2θ值处的峰,更特别地其中所述值为加或减0.2° 2θ。

[0120] 在一个实施方案中,本发明涉及(R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基)-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并[d]噻唑-2(3H)-酮的结晶形式,其在使用CuK_α辐射测量时的X射线粉末衍射图含有在18.1°的折射角2θ值处的峰,更特别地其中所述值为加或减0.2° 2θ。

[0121] 在一个实施方案中,本发明涉及(R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基)-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并[d]噻唑-2(3H)-酮的结晶形式,其在使用CuK_α辐射测量时的X射线粉末衍射图含有在22.5°的折射角2θ值处的峰,更特别地其中所述值为加或减0.2° 2θ。

[0122] 在一个实施方案中,本发明涉及(R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基)-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并[d]噻唑-2(3H)-酮的结晶形式,其在使用CuK_α辐射测量时的X射线粉末衍射图与图5所示的X射线粉末衍射图基本上相同。对于细节参见实施例5。

[0123] 在另一方面,本发明涉及(R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基)-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并[d]噻唑-2(3H)-酮的乙酸盐的结晶形式,其在使用CuK_α辐射测量时的X射线粉末衍射图含有至少一个、两个或三个具有选自8.8、11.5、16.4、17.6、18.2、19.6、20.1、20.8和21.1°的折射角2θ(θ)值的峰,更特别地其中所述值为加或减0.2° 2θ。

[0124] 在一个实施方案中,本发明涉及(R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基)-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并[d]噻唑-2(3H)-酮的乙酸盐的结晶形式,其在使用CuK_α辐射测量时的X射线粉末衍射图含有在8.8°的折射角2θ值处的峰,更特别地其中所述值为加或减0.2° 2θ。

[0125] 在一个实施方案中,本发明涉及(R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基)-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并[d]噻唑-2(3H)-酮的乙酸盐的结晶形式,其在使用CuK_α辐射测量时的X射线粉末衍射图含有在16.4°的折射角2θ值处的峰,更特别地其中所述值为加或减0.2° 2θ。

[0126] 在一个实施方案中,本发明涉及(R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基)-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并[d]噻唑-2(3H)-酮的乙酸盐的结晶形式,其在使用CuK_α辐射测量时的X射线粉末衍射图含有在20.8°的折射角2θ值处的峰,更特别地其中所述值为加或减0.2° 2θ。

[0127] 在一个实施方案中,本发明涉及(R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基)-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并[d]噻唑-2(3H)-酮的乙酸盐的结晶形式,其在使用CuK_α辐射测量时的X射线粉末衍射图与图6所示的X射线粉末衍射图基本上相同。对于细节参见实施例6。

[0128] 在又一方面,本发明涉及(R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基)-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并[d]噻唑-2(3H)-酮的羟乙酸盐的结晶形式,其在使用

CuK_α 辐射测量时的 X 射线粉末衍射图含有至少一个、两个或三个具有选自 8.7、11.6、16.1、18.0、19.8、20.7 和 21.1° 的折射角 2θ (θ) 值的峰,更特别地其中所述值为加或减 0.2° 2θ 。

[0129] 在一个实施方案中,本发明涉及 (R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基)-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并 [d] 噻唑-2(3H)-酮的羟乙酸盐的结晶形式,其在使用 CuK_α 辐射测量时的 X 射线粉末衍射图含有在 18.0° 的折射角 2θ 值处的峰,更特别地其中所述值为加或减 0.2° 2θ 。

[0130] 在一个实施方案中,本发明涉及 (R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基)-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并 [d] 噻唑-2(3H)-酮的羟乙酸盐的结晶形式,其在使用 CuK_α 辐射测量时的 X 射线粉末衍射图含有在 19.8° 的折射角 2θ 值处的峰,更特别地其中所述值为加或减 0.2° 2θ 。

[0131] 在一个实施方案中,本发明涉及 (R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基)-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并 [d] 噻唑-2(3H)-酮的羟乙酸盐的结晶形式,其在使用 CuK_α 辐射测量时的 X 射线粉末衍射图含有在 20.7° 的折射角 2θ 值处的峰,更特别地其中所述值为加或减 0.2° 2θ 。

[0132] 在一个实施方案中,本发明涉及 (R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基)-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并 [d] 噻唑-2(3H)-酮的羟乙酸盐的结晶形式,其在使用 CuK_α 辐射测量时的 X 射线粉末衍射图与图 7 所示的 X 射线粉末衍射图基本上相同。对于细节参见实施例 7。

[0133] 关于 X 射线衍射峰位置的术语“基本上相同”意指考虑典型的峰位置和强度变异性。例如,本领域技术人员应理解,峰位置 (2θ) 将显示一些仪器间变异性,通常高达 0.2° 。此外,本领域技术人员应理解,相对峰强度将显示仪器间变异性以及由于结晶度、优选取向、优选样品表面和其它本领域技术人员已知的因素导致的变异性,并且应仅视为定性量度。

[0134] 本领域普通技术人员也应理解,X 射线衍射图的获得具有测量误差,其取决于所用的测量条件。特别地,众所周知的是 X 射线衍射图的强度可随所用测量条件波动。应进一步理解,相对强度也可随实验条件变化,并且因此,不应考虑准确的强度次序。此外,常规 X 射线衍射图的衍射角的测量误差通常约 5% 或更小,并且应考虑这种测量误差程度与前述衍射角有关。因此,应理解,本发明的晶体形式并不限于提供与本文公开的附图 5、6 和 7 中描述的 X 射线衍射图完全相同的 X 射线衍射图的晶体形式。提供与附图 5、6 和 7 中公开的 X 射线衍射图基本相同的 X 射线衍射图的任何晶体形式属于本发明的范围之内。确定 X 射线衍射图的基本同一性的能力在本领域普通技术人员的范围之内。

[0135] 依据本发明的药理学上可接受的溶剂化物包括其中结晶溶剂可被同位素取代的那些,例如 D₂O、d₆-丙酮、d₆-DMSO。

[0136] 本文给出的通式也意图表示化合物的未标记形式和同位素标记的形式。同位素标记的本发明化合物具有由本文给出的通式描述的结构,除了一个或多个原子被具有所选原子质量或质量数的原子替换之外。可掺入本发明化合物中的同位素的实例包括氢、碳、氮、氧、磷、氟和氯的同位素,分别如 ²H、³H、¹¹C、¹³C、¹⁴C、¹⁵N、¹⁸F、³¹P、³²P、³⁵S、³⁶Cl、¹²⁵I。本发明包括各种同位素标记的如本文定义的化合物,例如存在放射性同位素如 ³H 和 ¹⁴C 的那些、或存在

非放射性同位素如 ^2H 和 ^{13}C 的那些。此类同位素标记的化合物可用于代谢研究（用 ^{14}C ）、反应动力学研究（用例如 ^2H 或 ^3H ）、检测或成像技术如正电子发射断层摄影术（PET）或单光子发射计算机断层摄影术（SPECT），包括药物或底物组织分布测定，或用于放射性治疗患者。特别地， ^{18}F 或标记的化合物可特别地适于 PET 或 SPECT 研究。同位素标记的式 (I) 化合物一般可通过本领域技术人员已知的常规技术或通过类似于随附实施例中描述的那些方法、使用适当的同位素标记的试剂代替先前所用的非标记试剂来制备。

[0137] 此外，用较重的同位素、特别是氘（即 ^2H 或 D）取代可提供由更好的代谢稳定性产生的某些治疗优势，例如增加的体内半衰期或降低的剂量需求或治疗指数有所改善。应理解，氘在这种意义上被视为式 (I) 化合物的取代基。此类较重同位素、特别是氘的浓度可通过同位素富集因子来定义。如本文所使用的术语“同位素富集因子”意指同位素丰度和指定同位素的天然丰度之间的比例。如果本发明化合物中的取代基记为氘，则对于每个指定的氘原子，此类化合物的同位素富集因子为至少 3500（在每个指定的氘原子，52.5% 氘掺入）、至少 4000（60% 氘掺入）、至少 4500（67.5% 氘掺入）、至少 5000（75% 氘掺入）、至少 5500（82.5% 氘掺入）、至少 6000（90% 氘掺入）、至少 6333.3（95% 氘掺入）、至少 6466.7（97% 氘掺入）、至少 6600（99% 氘掺入）或至少 6633.3（99.5% 氘掺入）。

[0138] 本发明化合物能够与适合的共晶形成剂（former）形成共晶。这些共晶可由式 (I) 化合物、通过已知的共晶形成方法制备。此类方法包括研磨、加热、共升华、共熔或在溶液中使式 (I) 化合物与共晶形成剂在结晶条件下接触并分离由此形成的共晶。适合的共晶形成剂包括描述于 W02004/078163 中的那些。因此本发明还提供包含式 (I) 化合物的共晶。

[0139] 如本文所使用，术语“药学上可接受的载体”包括任何和所有溶剂、分散介质、包衣材料、表面活性剂、抗氧化剂、防腐剂（例如抗菌剂、抗真菌剂）、等渗剂、吸收延迟剂、盐、防腐剂、药物稳定剂、粘合剂、赋形剂、崩解剂、润滑剂、甜味剂、矫味剂、染料等及其组合，其对于本领域技术人员而言是已知的（参见例如 Remington's Pharmaceutical Sciences, 第 18 版 Mack Printing Company, 1990, 第 1289-1329 页）。任何常规载体，除了与活性成分不相容的以外，涵盖其在治疗或药物组合物中的使用。

[0140] 本发明化合物的术语“治疗有效量”是指将引起对象生物学或医学响应的本发明化合物的量，例如降低或抑制酶或蛋白质活性、或减轻症状、缓解疾患、减慢或延迟疾病进展、或预防疾病等。在一个非限制性实施方案中，术语“治疗有效量”是指如下的本发明化合物的量，当将其施用至对象时，其有效地 (1) 至少部分缓解、抑制、预防和 / 或减轻与 β -2- 肾上腺受体活性相关的疾患或病症或疾病；或 (2) 增加或提升 β -2- 肾上腺受体的活性。

[0141] 在另一个非限制性实施方案中，术语“治疗有效量”是指如下的本发明化合物的量，当将其施用至细胞或组织或非细胞生物材料或培养基时，其有效地至少部分增加或提升 β -2- 肾上腺受体的活性。在上面实施方案中对于 β -2- 肾上腺受体所阐明的术语“治疗有效量”的含义还以相同方式适用于任何其它相关的蛋白质 / 肽 / 酶如 IGF-1 模拟物或 ActRIIB/ 肌抑素 (myostatin) 阻滞剂等。

[0142] 如本文所使用，术语“对象”是指动物。通常，所述动物是哺乳动物。对象还指例如灵长类动物（例如人、雄性或雌性）、牛、绵羊、山羊、马、狗、猫、兔、大鼠、小鼠、鱼、鸟等。在某些实施方案中，对象是灵长类动物。在另外其它实施方案中，所述对象是人。

[0143] 如本文所使用,术语“抑制”是指降低或遏抑给定疾病、症状或病症或疾病、或者显著降低生物学活性或过程的基线活性。

[0144] 如本文所使用,术语“治疗”任何疾病或病症在一个实施方案中是指减轻所述疾病或病症(即减慢或停止或减低所述疾病或其至少一种临床症状的发展)。在另一个实施方案中,“治疗”是指缓解或减轻至少一个身理参数,包括不可被患者辨别的那些。在又一个实施方案中,“治疗”是指在身体上(例如可辨别症状的稳定)、生理学上(例如身体参数的稳定)或在两者上调节疾病或病症。在又一个实施方案中,“治疗”是指预防或延迟疾病或病症的发作或发展或进展。

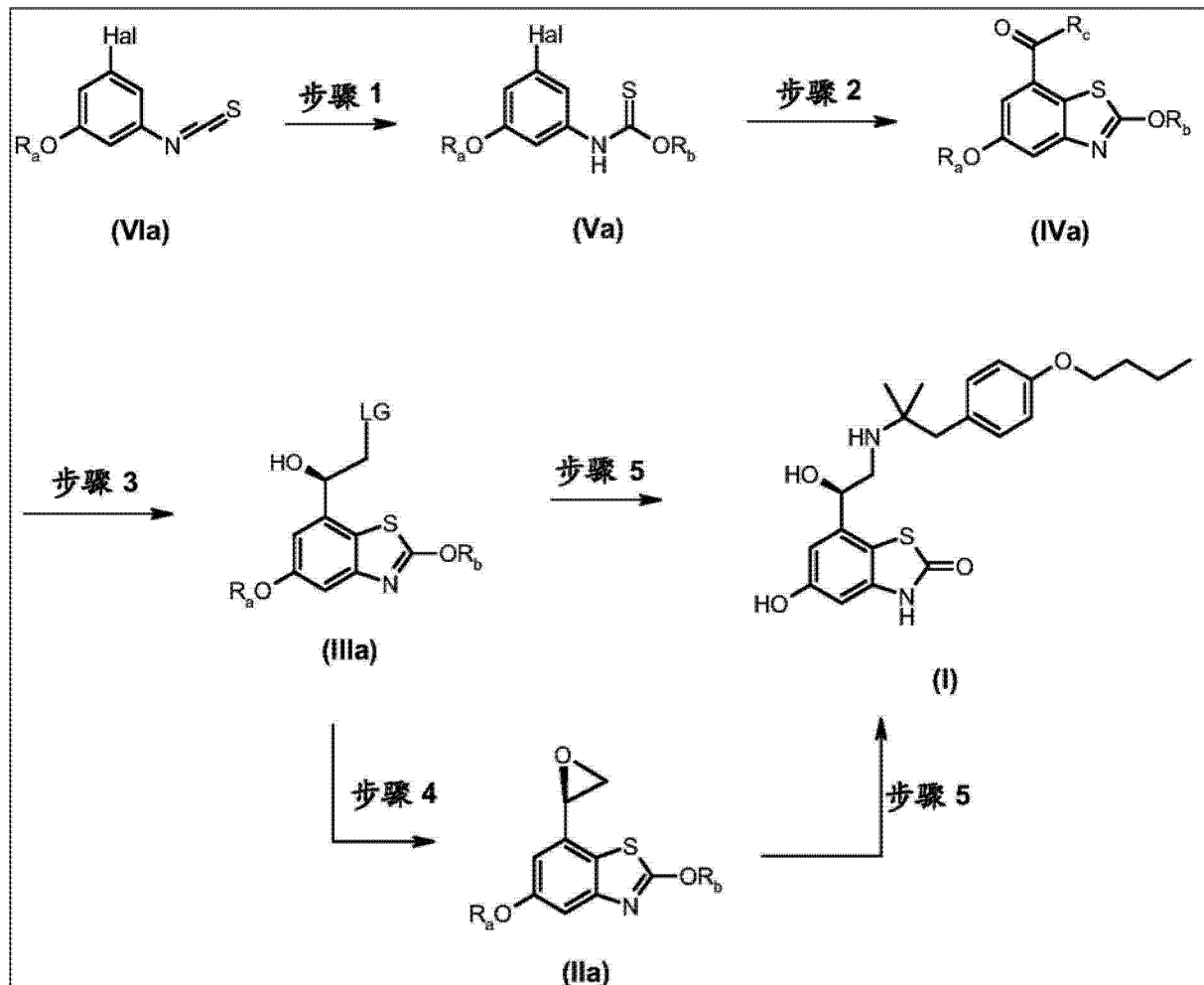
[0145] 如本文所使用,如果对象将在生物学、医学或生活质量方面从此类治疗受益,则对象“需要”治疗。

[0146] 如本文所使用,在本发明中(尤其在权利要求中)使用的术语“一个”、“一种”、“所述”和类似的术语被理解为包括单数和复数,除非本文中另外特别指出或根据上下文明显矛盾。

[0147] 本文中描述的所有方法可以以任何适合的顺序进行,除非本文中另外特别指出或根据上下文明显矛盾。本文提供的任何和所有实例或示例性语言(例如“如”)的使用仅旨在更好地阐明本发明,而不对要求保护的本发明的范围进行任何限制。

[0148] 式(I)化合物可根据下文提供的流程制备:

[0149]



[0150] 流程 1

[0151] 以下更详细地描述方法步骤。

[0152] 步骤 1:使其中 Ha1 表示卤素且 R_a 为保护基的式 (VIa) 化合物与其中 R_b 为保护基的式 R_bOH 的化合物在适合的碱例如三乙胺存在下反应,以得到其中 Ha1 表示卤素且 R_a 和 R_b 为保护基的式 (Va) 化合物。

[0153] 步骤 2:使式 (Va) 化合物与适合的强碱例如叔丁基锂、在适合的溶剂例如四氢呋喃 (THF) 中、在适合的羰基化试剂例如适合的酰胺存在下反应,以得到其中 R_a 和 R_b 为保护基且 R_c 是氢或任何衍生自羰基化试剂的部分的式 (IVa) 化合物。

[0154] 步骤 3:式 (IVa) 化合物在立体选择性转化之前被任选官能化,以得到其中 R_a 和 R_b 为保护基且 LG 是离去基团的式 (IIIa) 化合物。

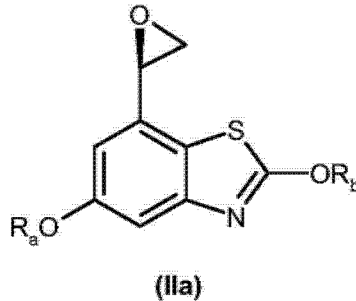
[0155] 步骤 4:使式 (IIIa) 化合物与适合的碱例如碳酸氢钠反应,以得到其中 R_a 和 R_b 为保护基的式 (IIa) 化合物。

[0156] 步骤 5:使式 (IIa) 或 (IIIa) 的化合物与 2-(4-丁氧基-苯基)-1,1-二甲基-乙胺在适合的溶剂例如甲苯中、任选地在适合的碱例如碳酸钾存在下反应,接着在适合的酸例如盐酸存在下脱保护,以得到式 (I) 化合物。

[0157] 在另一方面,本发明涉及用于制备游离形式或药学上可接受盐形式的式 (I) 化合物的方法,其包括

[0158] a) 使游离形式或药学上可接受盐形式的式 (IIa) 化合物与 2-(4-丁氧基-苯基)-1,1-二甲基-乙胺反应,

[0159]



[0160] 其中 R_a 和 R_b 为保护基;

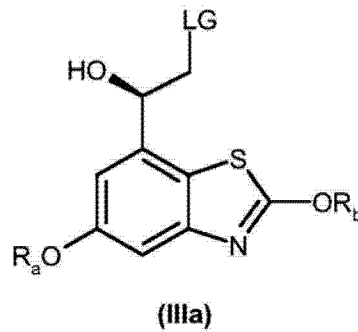
[0161] b) 使仍存在的任何保护基断裂;

[0162] c) 回收如此可得的游离形式或药学上可接受盐形式的式 (I) 化合物。

[0163] 在另一方面,本发明涉及用于制备游离形式或药学上可接受盐形式的式 (I) 化合物的方法,其包括以下步骤:

[0164] a) 使游离形式或药学上可接受盐形式的式 (IIIa) 化合物与 2-(4-丁氧基-苯基)-1,1-二甲基-乙胺反应,

[0165]



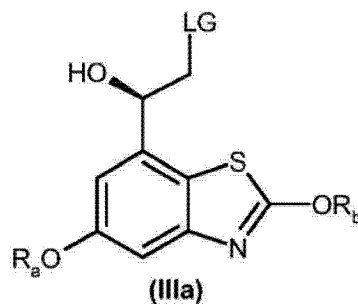
[0166] 其中 R_a 和 R_b 为保护基且 LG 是离去基团；

[0167] b) 使仍存在的任何保护基断裂；

[0168] c) 回收如此可得的游离形式或药学上可接受盐形式的式 (I) 化合物。

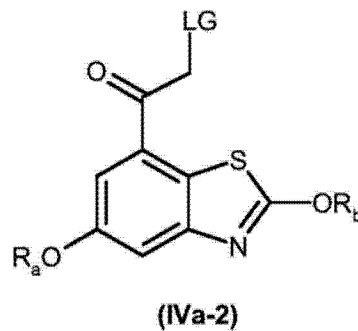
[0169] 在另一方面,本发明涉及用于制备游离形式或药学上可接受盐形式的式 (IIIa) 化合物的方法,

[0170]



[0171] 其包括立体选择性还原游离形式或药学上可接受盐形式的式 (IVa-2) 化合物,

[0172]



[0173] 其中 R_a 和 R_b 为保护基且 LG 是离去基团,以得到游离形式或药学上可接受盐形式的式 (IIIa) 化合物。

[0174] 在本发明的方法中,典型保护基包括异丙基、叔丁基、叔丁基二甲基甲硅烷基。

[0175] 在本发明的方法中,典型的离去基团包括氯化物、对甲苯磺酰基、溴化物、甲烷磺酰基、苯磺酰基、碘化物。

[0176] 反应可根据常规方法、例如如实施例中描述来实现。反应混合物的后处理和由此获得的化合物的纯化可依据已知方法进行。酸加成盐可由游离碱以已知方式生成,反之亦然。式 (I) 化合物也可通过其它常规方法例如如实施例中描述的方法来制备,所述方法为本发明的其它方面。

[0177] 所用的起始材料是已知的或可根据常规方法从已知化合物开始制备,例如如实施

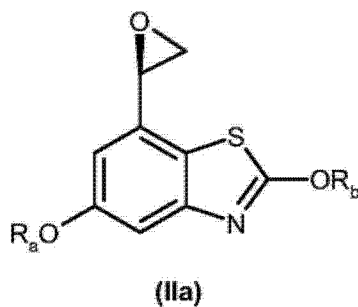
例中所描述。

[0178] 本发明进一步包括本发明方法的任何变型,其中在其任何阶段可获得的中间产物用作起始材料并且进行剩余的步骤,或其中起始材料在反应条件下原位形成,或其中以其盐或光学纯材料的形式使用反应组分。

[0179] 本发明化合物和中间体也可根据对于本领域技术人员而言众所周知的方法彼此转化。

[0180] 在另一方面,本发明涉及游离形式或药学上可接受盐形式的式 (IIa) 化合物,

[0181]

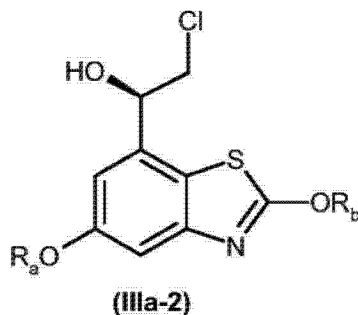


[0182] 其中 R_a 和 R_b 为保护基。

[0183] R_a 和 R_b 可独立地选自叔丁基、异丙基和叔丁基二甲基甲硅烷基。

[0184] 在另一方面,本发明涉及游离形式或药学上可接受盐形式的式 (IIIa-2) 化合物,

[0185]

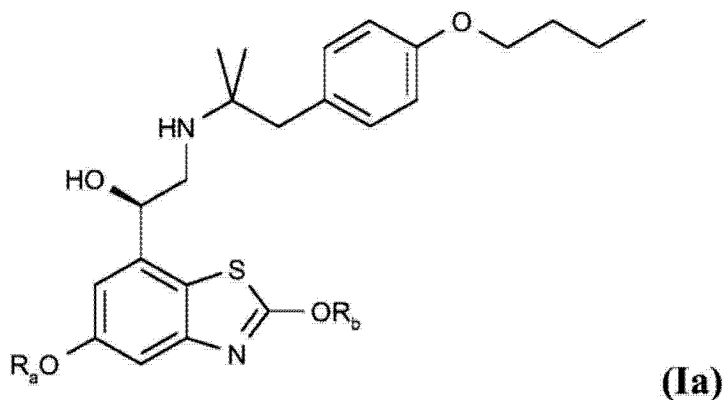


[0186] 其中 R_a 和 R_b 为保护基。

[0187] R_a 和 R_b 可独立地选自叔丁基、异丙基和叔丁基二甲基甲硅烷基。

[0188] 在另一方面,本发明涉及游离形式或药学上可接受盐形式的式 (Ia) 化合物,

[0189]



[0190] 其中 R_a 和 R_b 为保护基。

[0191] R_a 和 R_b 可独立地选自叔丁基、异丙基和叔丁基二甲基甲硅烷基。

[0192] 在另一方面,本发明提供药物组合物,其包含游离形式或药学上可接受盐形式的本发明化合物和药学上可接受的载体。特别地,本发明涉及药物组合物,其包含治疗有效量的游离形式的式(I)化合物和一种或多种药学上可接受的载体。在一个实施方案中,本发明涉及药物组合物,其包含治疗有效量的药学上可接受盐形式的式(I)化合物和一种或多种药学上可接受的载体。在另一个实施方案中,本发明涉及药物组合物,其包含治疗有效量的乙酸盐形式的式(I)化合物和一种或多种药学上可接受的载体。在又一个实施方案中,本发明涉及药物组合物,其包含治疗有效量的羟乙酸盐形式的式(I)化合物和一种或多种药学上可接受的载体。

[0193] 药物组合物可被配制用于特定施用途径如口服施用、经皮应用、胃肠外施用、直肠施用、皮下施用等。此外,本发明的药物组合物可被制备成固体形式(包括但不限于胶囊、片剂、丸剂、颗粒、粉末或栓剂)、或液体形式(包括但不限于溶液、混悬液或乳液)。可对药物组合物进行常规药学操作如灭菌和/或可含有常规惰性稀释剂、润滑剂或缓冲剂以及佐剂如防腐剂、稳定剂、润湿剂、乳化剂和缓冲液等。

[0194] 典型地,药物组合物为片剂或明胶胶囊,其包含活性成分和

[0195] a) 稀释剂,例如乳糖、葡萄糖、蔗糖、甘露醇、山梨糖醇、纤维素和/或甘氨酸;

[0196] b) 润滑剂,例如二氧化硅、滑石粉、硬脂酸、其镁或钙盐和/或聚乙二醇;对于片剂而言还包含

[0197] c) 粘合剂,例如硅酸镁铝、淀粉糊、明胶、黄耆胶、甲基纤维素、羧基甲基纤维素钠和/或聚乙烯吡咯烷酮;如果需要的话还包含

[0198] d) 崩解剂,例如淀粉类、琼脂、藻酸或其钠盐、或泡腾混合物;和/或

[0199] e) 吸收剂、着色剂、矫味剂和甜味剂。

[0200] 可根据本领域已知的方法对片剂包薄膜衣或包肠衣。

[0201] 适用于口服施用的组合物包括有效量的本发明化合物,呈片剂、锭剂、水性或油性混悬液、可分散粉末或颗粒、乳剂、硬或软胶囊、或糖浆或酞剂形式。预期用于口服的组合物根据本领域已知的用于制备药物组合物的任何方法来制备,并且此类组合物可含有一种或多种选自甜味剂、矫味剂、着色剂和防腐剂的试剂,以提供药学上美观和适口的制剂。片剂可含有与适于制备片剂的无毒药学上可接受的赋形剂混合的活性成分。这些赋形剂例如惰性稀释剂如碳酸钙、碳酸钠、乳糖、磷酸钙或磷酸钠;制粒剂和崩解剂,例如玉米淀粉、或藻酸;粘合剂,例如淀粉、明胶或阿拉伯胶;和润滑剂,例如硬脂酸镁、硬脂酸或滑石。不对片剂进行包衣或通过已知技术对片剂进行包衣以延迟其在胃肠道中的崩解和吸收并由此在长时间内提供持续的作用。例如,可以使用时间延迟材料如甘油单硬脂酸酯或甘油二硬脂酸酯。用于口服的制剂可以以其中所述活性成分与惰性固体稀释剂例如碳酸钙、磷酸钙或高岭土混合的硬明胶胶囊形式呈现,或可以以其中所述活性成分与水或油性介质例如花生油、液体石蜡或橄榄油混合的软明胶胶囊呈递。

[0202] 本发明化合物可以作为在溶液或混悬液赋形剂中含有药物的液体剂型向临床前物种口服施用。溶液赋形剂可由表面活性剂(例如 cremophor 或 soluto1)、溶剂(例如丙二醇)和缓冲剂(例如柠檬酸缓冲剂)组成。混悬液制剂可含有表面活性剂(例如 Tween80)、聚合物剂(例如甲基纤维素(MC))和缓冲剂(例如磷酸盐)。

[0203] 适用于临床前研究的溶液制剂的实例在下面列出：

[0204]

成分 (%w/w)	溶液 1	溶液 2
Cremophor RH40	10	-
Solutol HS15	-	10
柠檬酸缓冲液 50mM, pH3	90	90

[0205] 制备：首先将 (R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基)-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并[d]噻唑-2(3H)-酮) 的游离碱或乙酸盐溶解于表面活性剂中并且混合直至获得溶液。接下来加入缓冲液并且将溶液混合以提供澄清溶液。溶液制剂 1 和 2 能够承载至多 10mg/mL 剂量。两种制剂在 RT 下 1 周后在化学上和物理上是稳定的。

[0206] 适用于临床前研究的混悬液制剂的实例在下面列出：

[0207]

成分(%w/w)	混悬液 1	混悬液 2
0.5% MC 于 50 mM pH 6.8 磷酸盐缓冲液中	100	99.5
Tween 80	-	0.5

[0208] 制备：将 (R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基)-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并[d]噻唑-2(3H)-酮) 分散于表面活性剂中并且混合以均质化混悬液。然后滴加聚合物溶液并且混合。获得具有小颗粒的均质混悬液。混悬液在 RT 下 1 周后在化学上和物理上是稳定的。

[0209] 某些可注射组合物是等渗水性溶液或混悬液，并且栓剂有利地是由脂肪乳液或混悬液制备。所述组合物可被灭菌和 / 或含有佐剂，如防腐剂、稳定剂、润湿剂或乳化剂、溶解促进剂 (solution promoter)、用于调节渗透压的盐和 / 或缓冲剂。此外，它们也可含有其它有治疗价值的物质。所述组合物分别根据常规混合、制粒或包衣方法来制备，且含有约 0.1-75% 或含有约 1-50% 的活性成分。

[0210] 适用于皮下施用的组合物包括例如本发明化合物以及 2.5% 泊洛沙姆 407 于 0.9% 氯化钠中。适用于可注射组合物的装置的实例包括输注泵如 Insulet's OmniPod 系统。

[0211] 本发明化合物也可通过多剂皮下注射、使用自动注射器或 PEN 注射器施用。适用于此类皮下注射的制剂组合物在下面列出。

组分	制剂 1	制剂 2
化合物 A	1.00mg	1.00mg
乙酸	0.60mg	0.60mg
[0212] 甘露醇	50mg	50mg
苯甲醇	8.00mg	10.00mg
氢氧化钠 1N	调节至 pH 5.0	调节至 pH 5.0
注射用水	加至达 1.016 g	加至达 1.016 g

[0213] 发现苯甲醇（相比于苯酚或间甲酚）是特别适合的皮下注射制剂的防腐剂。

[0214] 因此，在本发明的一个实施方案中，提供药物组合物，其包含治疗有效量的化合物 A 或其药学上可接受的盐（例如乙酸盐形式的化合物 A）以及苯甲醇。

[0215] 在本发明的另一实施方案中，提供药物组合物，其包含治疗有效量的化合物 A 或其药学上可接受的盐（例如乙酸盐形式的化合物 A）和 0.1 至 10、0.1 至 5、0.5 至 2、0.5 至 1.5、或 0.9 至 1.1% (w/v) 的苯甲醇。

[0216] 适用于经皮应用的组合物包括有效量的本发明化合物和适合的载体。适用于经皮递送的载体包括可吸收的药理学上可接受的溶剂以帮助通过宿主的皮肤。PG/OA（丙二醇 / 油醇）的组合是适合溶剂的实例。例如，经皮装置可以呈绷带形式，其包含背衬元件、任选地具有载体的含有化合物的贮库、任选的用于在长时间内以受控和预定的速率将所述化合物递送到宿主皮肤的控速屏障，和确保该装置位于皮肤上的部件。

[0217] 适用于局部应用例如用于皮肤和眼睛的组合物包括水溶液、混悬液、软膏、霜剂、凝胶或可雾化制剂，例如用于通过气溶胶递送的制剂等。此类局部递送系统特别适用于皮肤应用。因此，它们特别地适用于本领域众所周知的局部制剂、包括化妆品制剂中。此类制剂可含有增溶剂、稳定剂、张力增强剂、缓冲剂和防腐剂。

[0218] 如本文所使用，局部应用也可涉及吸入或鼻内应用。它们可适宜地从干粉吸入器以干粉形式（单独、混合物形式，例如具有乳糖的干掺混物、或具有磷脂的混合型组分颗粒），或在使用或不使用适合的推进剂下从加压容器、泵、喷雾器、雾化器或雾化吸入器以气溶胶喷雾形式递送。

[0219] 本发明进一步提供包含本发明化合物作为活性成分的无水药物组合物和剂型，因为水可促进某些化合物的降解。

[0220] 本发明的无水药物组合物和剂型可使用无水或含有低水分的成分且在低水分或低湿度条件下制备。无水药物组合物以可保持其无水性质的方式制备和贮存。因此，无水组合物使用已知防止接触到水的材料包装，从而使它们可以包括在适合的处方药盒中。适合包装的实例包括但不限于密封箔、塑料、单位剂量容器（例如小瓶）、泡罩包装和带状包（strip pack）。

[0221] 本发明进一步提供药物组合物和剂型，其包含一种或多种降低作为活性成分的本发明化合物的分解速率的试剂。此类试剂，本文称作“稳定剂”包括但不限于抗氧化剂如抗坏血酸、pH 缓冲剂或盐缓冲剂等。

[0222] 游离形式或药学上可接受盐形式的式 (I) 化合物展现出有价值的药理学性质, 例如 β -2- 肾上腺受体调节性质, 例如如在下一章节中提供的体外和体内测试中所示, 并因此指示用于治疗或用作研究化学品, 例如用作工具化合物。

[0223] 本发明化合物可用于治疗选自: 肌肉营养不良、废用相关萎缩、恶病质或肌肉减少症的适应症。

[0224] 因此, 作为另一实施方案, 本发明提供作为药物的如本文定义的式 (I) 化合物。在实施方案中, 本发明涉及用作药物的式 (I) 化合物。在另一实施方案中, 本发明涉及用于治疗或预防肌肉营养不良、废用相关萎缩、恶病质或肌肉减少症的式 (I) 化合物。

[0225] 因此, 作为另一实施方案, 本发明提供式 (I) 化合物在治疗中的用途。在另一实施方案中, 治疗选自可通过激活 β -2- 肾上腺受体进行治疗的疾病。在另一个实施方案中, 所述疾病选自肌肉营养不良、废用相关萎缩、恶病质或肌肉减少症。

[0226] 在另一个实施方案中, 本发明提供治疗通过激活 β -2- 肾上腺受体进行治疗的疾病的方法, 其包括施用治疗有效量的式 (I) 化合物。在另一实施方案中, 所述疾病选自肌肉营养不良、废用相关萎缩、恶病质或肌肉减少症。

[0227] 本发明的另一方面因此涉及治疗或预防肌肉营养不良、废用相关萎缩、恶病质或肌肉减少症的方法, 其包括向需要其的对象施用治疗有效量的游离形式或药学上可接受盐形式的式 (I) 化合物。

[0228] 作为另一实施方案, 本发明提供式 (I) 化合物在制备药物中的用途。在另一实施方案中, 所述药物用于治疗疾病或病患, 其可通过激活 β -2 肾上腺受体进行治疗。在另一个实施方案中, 所述疾病选自上文提及的列表, 适宜为肌肉萎缩疾病, 更适宜为肌肉营养不良、废用相关萎缩、恶病质或肌肉减少症。

[0229] 本发明化合物可与一种或多种其它治疗剂同时、或之前或之后施用。本发明化合物可单独、通过相同或不同的施用路径、或在与其它活性剂相同的药物组合物中一起施用。

[0230] 在一个实施方案中, 本发明提供用于在疗法中同时、分开或相继使用的组合制剂形式的产品, 其包含式 (I) 化合物和至少一种其它治疗剂。在一个实施方案中, 所述疗法为治疗受 β -2 肾上腺受体激动作用调节的疾病或疾患。以组合制剂形式提供的产品包括包含式 (I) 化合物和其它治疗剂一起在同一药物组合物中的组合物、或式 (I) 化合物和其它治疗剂呈单独形式、例如呈药盒形式。

[0231] 在一个实施方案中, 本发明提供药物组合物, 其包含式 (I) 化合物和另外的治疗剂。任选地, 药物组合物可包含如上所述的药学上可接受的赋形剂。

[0232] 本发明的另一方面因此涉及包含治疗有效量的式 (I) 化合物和一种或多种治疗活性助剂的组合。

[0233] 在一个实施方案中, 本发明提供包含两种或更多种单独的药物组合物的药盒, 至少一种所述药物组合物含有式 (I) 化合物。在一个实施方案中, 药盒包含用于单独保留所述组合物的构件, 如容器、分开的瓶、或分开的箔包。此类药盒的实例为泡罩包装, 如通常用于片剂、胶囊等的包装。

[0234] 本发明的药盒可用于施用不同的剂型, 例如口服和胃肠外, 用于施用不同剂量间隔的单独组合物、或用于彼此滴定单独组合物。为了有助于顺应性, 本发明的药盒通常包含施用说明。

[0235] 在本发明的组合疗法中,本发明化合物和其它治疗剂可由相同或不同的制造商制造和/或配制。而且,本发明化合物和其它治疗剂可一起合并成组合疗法:(i)在向医师发布组合产品之前(例如在包含本发明化合物和其它治疗剂的药盒的情况下);(ii)在施用前不久由医师自身操作(或在医师指导下);(iii)由患者自身操作,例如在相继施用本发明化合物和其它治疗剂的期间。

[0236] 因此,本发明提供式(I)化合物用于治疗受 β -2肾上腺受体激动作用调节的疾病或疾患的用途,其中所述药物被制备用于与另外的治疗剂一起施用。本发明还提供另外的治疗剂用于治疗受 β -2肾上腺受体激动作用调节的疾病或疾患的用途,其中所述药物与式(I)化合物一起施用。

[0237] 本发明还提供在治疗受 β -2肾上腺受体激动作用调节的疾病或疾患的方法中使用的式(I)化合物,其中式(I)化合物被制备用于与另外的治疗剂一起施用。本发明还提供在治疗受 β -2肾上腺受体激动作用调节的疾病或疾患的方法中使用的另外的治疗剂,其中所述其它治疗剂被制备用于与式(I)化合物一起施用。本发明还提供在治疗受 β -2肾上腺受体激动作用调节的疾病或疾患的方法中使用的式(I)化合物,其中式(I)化合物与另外的治疗剂一起施用。本发明还提供在治疗受 β -2肾上腺受体激动作用调节的疾病或疾患的方法中使用的另外的治疗剂,其中所述其它治疗剂与式(I)化合物一起施用。

[0238] 本发明还提供式(I)化合物用于治疗受 β -2肾上腺受体调节的疾病或疾患的用途,其中所述患者先前(例如在24小时)已被另外的治疗剂治疗。本发明还提供另外的治疗剂用于治疗受 β -2肾上腺受体调节的疾病或疾患的用途,其中所述患先前(例如在24小时)已被式(I)化合物治疗。

[0239] 在一个实施方案中,其它治疗剂选自睾酮、雄激素激动剂、或SARM(选择性雄激素受体调节剂);IGF-1模拟物;肌抑素和其受体ActRIIA/B阻滞剂;TGF β 和活化素阻滞剂(作为抗萎缩剂);Muf1/MAFbx E3连接酶抑制剂;HDAC抑制剂或任何溶瘤剂(例如用于癌症恶病质);抗炎剂如NSAID、TNF或IL-1b阻滞剂;代谢调节剂如PPAR激动剂或IL-15模拟物;心血管剂如b(1)阻滞剂(例如奈必洛尔)或ARB(例如用于心脏恶病质);用于外显子跳跃的反义寡核苷酸(例如用于营养不良);食欲增强剂如胃饥饿素(ghrelin)、孕酮或MC-4拮抗剂;高蛋白营养补充剂等。

[0240] 对于约50-70kg的对象而言,本发明的药物组合物或组合可以呈约0.05-1000mg活性成分、或约0.05-500mg或约0.05-250mg或约0.05-150mg或约0.05-100mg、或约0.05-50mg或约0.05-10mg活性成分的单位剂量。治疗有效剂量的化合物、药物组合物或其组合取决于对象的物种、体重、年龄和个体情况、正治疗的病症或疾病或其严重程度。具有普通技能的医师、临床医生或兽医可容易地确定每一种活性成分预防、治疗或抑制病症或疾病的进展所需的有效量。

[0241] 上述剂量性质可有利地使用哺乳动物例如小鼠、大鼠、狗、猴或离体器官、组织及其制品在体外和体内测试中论证。本发明化合物可以以溶液形式例如水溶液在体外应用,以及肠内、胃肠外、有利地皮下例如以混悬液形式或于水溶液中在体内应用。体外剂量可在约 10^{-3} 摩尔至 10^{-9} 摩尔浓度之间变动。体内治疗有效量可根据施用路径,在约0.01-500mg/kg之间、或在约0.01-100mg/kg之间、或在约0.01-1mg/kg之间、或在约0.01-0.1mg/kg之间变化。

[0242] 本发明化合物的活性可通过下列体外方法评价。此外在实施例中还描述体内方法。

[0243] 测试 1 :使用 CHO 细胞和骨骼肌细胞的体外细胞功能测定

[0244] cAMP :人骨骼肌细胞 (skMC) 获自 Cambrex(目录号 CC-2561) 且在获自 Cambrex 的骨骼基础培养基 (Skeletal Basal Medium) (SKBM) (目录号 #CC-3161) 中培养。cAMP 响应使用获自 Cisbio 或 Cis Competitive Intelligence(目录号 62AM4PEC) 的 cAMP 动态 2 容量 HTRF-Assay 试剂盒进行测量。在 37°C、5%CO₂ 下, 在 384 孔板中将 skMC 细胞在补充有 20%FCS 的 SKBM 细胞培养基中培养 1 天。第二天, 将细胞用 50 μ L PBS 洗涤两次, 并且在 37°C、7.5%CO₂ 下在无血清 SKBM 中、在 1 μ M 获自 Sigma 的 SB431542(一种 ALK4/5 抑制剂) (目录号 S4317) 的存在下分化 3 天。第 4 天, 除去补充有 1 μ M SB431542 的无血清 SKBM, 将细胞用 50 μ L PBS 洗涤两次并且在 37°C、7.5%CO₂ 下、在不含 SB431542 (50 μ L/ 孔) 的无血清 SKBM 中进一步分化 1 天。以标准方法从新生大鼠分离大鼠 skMC 和心肌细胞并且如上处理。在 Novartis Institutes for BioMedical Research 生产用人 β 肾上腺受体 (β 1 或 β 2) 稳定转染的中国仓鼠卵巢 (CHO) 细胞并且如前所述进行培养 (J Pharmacol Exp Ther. 2006 年 5 月 ;317(2):762-70)。

[0245] 在刺激缓冲液中以 2x 所需浓度制成化合物并且在 96 孔板中 (U 型) 制备于刺激缓冲液中的 1:10 系列稀释液。将 DMSO 对照标准化为最高稀释液的 DMSO 含量, 例如对于 10⁻⁵M(x2) 浓度的第一化合物稀释液, 为 0.1%DMSO(x2)。在 384 孔板中以 20 μ L 刺激体积进行测定, 并且最终测定体积为 40 μ L/ 孔。在实验当天, 通过在纸堆上反转和轻敲板 2-3 次从 384 孔细胞培养板除去培养基。首先将 10 μ L 新鲜培养基 / 孔加入 384 孔板中。在室温孵育 10 分钟后, 将 10 μ L/ 孔工作化合物稀释液加至细胞并在室温于暗处孵育 30 分钟。在此期间, 通过稀释试剂盒提供的抗 cAMP 穴状化合物和 cAMP D21:20 在裂解缓冲液中的储备液来制备试剂的工作溶液。孵育化合物 30 分钟后, 将 10 μ L cAMP-D2 和 10 μ L 抗 cAMP 穴状化合物相继加入至测定板。在室温于暗处孵育 1 小时后, 用 PheraStar(激发波长 :337nm, 发射波长 :620nm 和 665nm) 进行测量。

[0246] Ca²⁺ :人肾上腺素能 α 1A CHO-K1 细胞系购自 Perkin Elmer (ValiScreen™ Stable 重组 GPCR 细胞系, 目录号 ES-036-C, 批号 M1W-C1, Boston, Massachusetts, USA)。实验前一天, 将 α 1A 冷冻细胞 (1 千万每 ml 和每小瓶) 在 37°C 的水浴中解冻。将细胞悬浮液以 1,000rpm 离心 5 分钟且将细胞团块重悬浮于细胞培养基中。将细胞以 50 μ L 细胞培养基中 8,000 细胞 / 孔的密度接种于具有透明底部的黑色 384 孔板中。在 37°C、5%CO₂ 下孵育板约 24 小时。在实验当天, 使用细胞洗涤器 (TECAN PW3) 除去培养基。在最后洗涤后, 留 10 μ L 于孔中。加入 40 μ L 加载缓冲液且将细胞在 37°C、5%CO₂ 下加载 60min。使用 TECAN PW3 洗涤平板, 留下 20 μ L 测定缓冲液, 且将板在 RT 孵育至少 20 分钟, 然后进行 FLIPR 实验。接着在激动剂和 / 或拮抗剂模式中表征化合物。对于测定验证, 利用新鲜细胞进行相同方案。在这种情况下, 使用 3ml Trypsin-EDTA 从 150cm² 烧瓶剥离细胞, 离心且重悬浮于细胞培养基。

[0247] 通过加入 5 μ L 化合物 (5X)、使用 FLIPR 头来刺激细胞。起激动剂作用的化合物诱导细胞内钙的短暂增加。这记录在 FLIPR 系统上。首先每秒记录信号基线的量度, 持续 2 分钟, 接着注射化合物。通过用氩离子激光在 488nm 以 0.6W 激光功率激发细胞和用 CCD

照相机 (0.4 秒 opening) 记录荧光信号 2 分钟进行钙测量。通过加入 5 μ L 测定缓冲液测定低对照 (未刺激细胞)。通过加入 5 μ L 高浓度 EC₁₀₀ (A-61603 在 1 μ M) 的已知激动剂测定高对照, 并且也在每个板中加入参照激动剂化合物。

[0248] 本发明化合物在测试测定 1 中展现出功效, EC₅₀ 小于 10nM。具体活性示于实施例 10。

[0249] 本发明化合物的其它具体活性描述于实施例 11 至 15 中。

[0250] 下列实施例意指阐明本发明并且不应解释为限制本发明。温度以摄氏度给出。如果没有另外提及, 则所有蒸发在减压下进行, 通常在约 15mm Hg 至 100mm Hg (=20-133 毫巴) 之间。最终产物、中间体和起始材料的结构通过标准分析方法确认, 例如微量分析和光谱特征 (例如 MS、IR、NMR)。所用的缩写为本领域常见的缩写。

[0251] 用于合成本发明化合物的所有起始材料、结构单元、试剂、酸、碱、脱水剂、溶剂和催化剂或者商购可得或者可通过本领域普通技术人员已知的有机合成方法来制备 (Houben-Weyl 第 4 版 1952, Methods of Organic Synthesis, Thieme, 第 21 卷)。此外, 本发明化合物可通过本领域普通技术人员已知的示于下列实施例中的有机合成方法来制备。

实施例

[0252] 缩写列表:

[0253]	1M	1 摩尔
[0254]	APCI	大气压化学电离
[0255]	Aq	水性
[0256]	AR	肾上腺受体
[0257]	atm	大气压
[0258]	br	宽
[0259]	cm	厘米
[0260]	d	双重峰
[0261]	dd	双二重峰
[0262]	ddd	双重双二重峰
[0263]	(DHDQ) ₂ PHAL	氢化奎尼丁 1, 4- 酞嗪二基二醚
[0264]	DMAC	二甲基乙酰胺
[0265]	DMSO	二甲基亚砷
[0266]	DSC	差示扫描量热法
[0267]	ee	对映异构体过量
[0268]	equiv	当量
[0269]	ES	电子喷雾
[0270]	g	克
[0271]	h	小时
[0272]	HPLC	高效液相色谱法
[0273]	HRMS	高分辨率质谱法
[0274]	m	多重峰

[0275]	MC	甲基纤维素
[0276]	mbar	毫巴
[0277]	MeOH	甲醇
[0278]	min	分钟
[0279]	ml	毫升
[0280]	MS	质谱法
[0281]	MTBE	甲基叔丁基醚
[0282]	nm	纳米
[0283]	NMR	核磁共振
[0284]	RT	保留时间
[0285]	r. t.	室温
[0286]	s	单重峰
[0287]	sat.	饱和
[0288]	sept	七重峰
[0289]	t	三重峰
[0290]	TFA	三氟乙酸
[0291]	μm	微米
[0292]	w/v	重量 / 体积
[0293]	XRPD	x 射线粉末衍射

[0294] 除非另有指出, 否则在 Agilent1100 系列 LC/Agilent MS6210Quadrupole 上记录 HPLC/MS 光谱。使用 Waters Symmetry C8 柱 (3.5 μm ; 2.1x50mm) (WAT200624)。应用下列梯度方法 (%= 体积百分比) :A= 水 +0.1%TFA/B= 乙腈 +0.1%TFA ;0.0 - 2.0min90A:10B - 5A:95B ; 2.0 - 3.0min5A:95B ;3.0 - 3.3min5A:95B - 90A:10B ;流速 1.0ml/min ;柱温 50 $^{\circ}\text{C}$ 。在 APCI 模式中电离所有化合物。

[0295] ^1H -NMR 光谱在 Varian Mercury (400MHz) 仪或 Bruker Advance (600MHz) 仪上记录。

[0296] 在 Perkin Elmer Polarimeter341 上测量旋光度。

[0297] 实施例 2b、2c、2d、2e、2g 的 LCMS 条件 :

[0298] 质谱站 :具有 Agilent1200HPLC 的 Agilent6130 四极 LC/MS ;柱 :Agilent Zorbax SB-C18 (快速分离), 2.1*30mm, 3.5 μm ;流动相 :B :含 0.1% 甲酸的水 ;C :含 0.1% 甲酸的 MeCN ;1.0min 至 6.0min, 95%B 至 5%B, 和 5%C 至 95%C ;6.0min 至 9.0min, 5%B 和 95%C ;间隔时间 :2.0min ;流速 :0.8ml/min ;柱温 :30 $^{\circ}\text{C}$;UV 检测 :210nm 和 254nm ;MS 正离子和负离子扫描 :80-1000 ;电离法 :API-ES.

[0299] 实施例 2f 的 HRMS 条件 :

[0300] 仪器 :与 Synapt Q-TOF MS 耦接的 Waters Acquity UPLC ;柱 :Waters Acquity UPLC BEH C18, 2.1*50mm, 1.7 μm 流动相 :A :含 0.1% 甲酸的水, B :含 0.1% 甲酸的乙腈 ;柱温 :于室温 ;UV 检测 :从 190nm 至 400nm 扫描 ;流速 :0.5mL/min ;

[0301] 梯度条件 :

时间[min.]	相 B [%]	
0	5	
1	5	采集开始
[0302] 9	95	
11	95	采集结束
11.10	5	
14	5	下一次注射

[0303] 电离法 :ESI+ ;MS 扫描范围 :100-1000m/z.

[0304] 中间体 A :2-(4- 丁氧基苯基)-1, 1- 二甲基 - 乙胺

[0305] a) 4-(2- 甲基 -2- 硝基丙基) 苯酚

[0306] 将 4-(羟基甲基) 苯酚 (20g)、KOtBu (27. 1g) 和 DMAC (200mL) 的混合物用磁力搅拌器搅拌。在 20min 内缓慢加入 2- 硝基丙烷 (21. 5g)。将混合物加热至 140℃ 保持 5 小时, 然后冷却至室温。缓慢加入混合物以冷却 HCl 水溶液 (3. 0%, 600mL), 然后用 MTBE 萃取 (300ml*1, 200ml*1)。将有机层合并, 用水 (300ml*2) 和饱和 NaCl 水溶液 (50ml*1) 洗涤, 然后用无水 Na₂SO₄ 干燥。将混合物过滤并在真空下浓缩, 得到浅黄色固体 (28. 5g), 其不经进一步纯化即用于下一步骤。

[0307] [M-1]⁺=194. 2 ;RT=5. 3 分钟。¹H-NMR (400MHz, CDCl₃) ppm 6. 96 (d, J=8. 5Hz, 2H), 6. 75 (d, J=8. 5Hz, 2H), 3. 11 (s, 2H), 1. 56 (s, 6H)。

[0308] b) 1- 丁氧基 -4-(2- 甲基 -2- 硝基丙基) 苯

[0309] 将 4-(2- 甲基 -2- 硝基丙基) 苯酚 (20. 4g)、1- 溴丁烷 (28. 7g)、DMAC (200ml)、K₂CO₃ (21. 6g)、四丁基碘化铵 (38. 7g) 的混合物用磁力搅拌器搅拌且加热至 85℃ 保持 17h。将混合物冷却至 0-10℃ 且加入水 (700ml)。将混合物用 MTBE 萃取 (300ml*1, 200ml*1)。将合并的有机相用水 (250ml*2) 洗涤, 然后在真空下浓缩, 得到红褐色油状物 (27. 8g), 其不经进一步纯化即用于下一步骤。

[0310] ¹H-NMR (400MHz, CDCl₃) ppm 7. 0 (d, J=8. 8Hz, 2H), 6. 81 (d, J=8. 8Hz, 2H), 3. 93 (t, J=6. 6Hz, 2H), 3. 12 (s, 2H), 1. 74 (m, 2H), 1. 56 (s, 6H), 1. 48 (m, 2H), 0. 97 (t, 3H)。

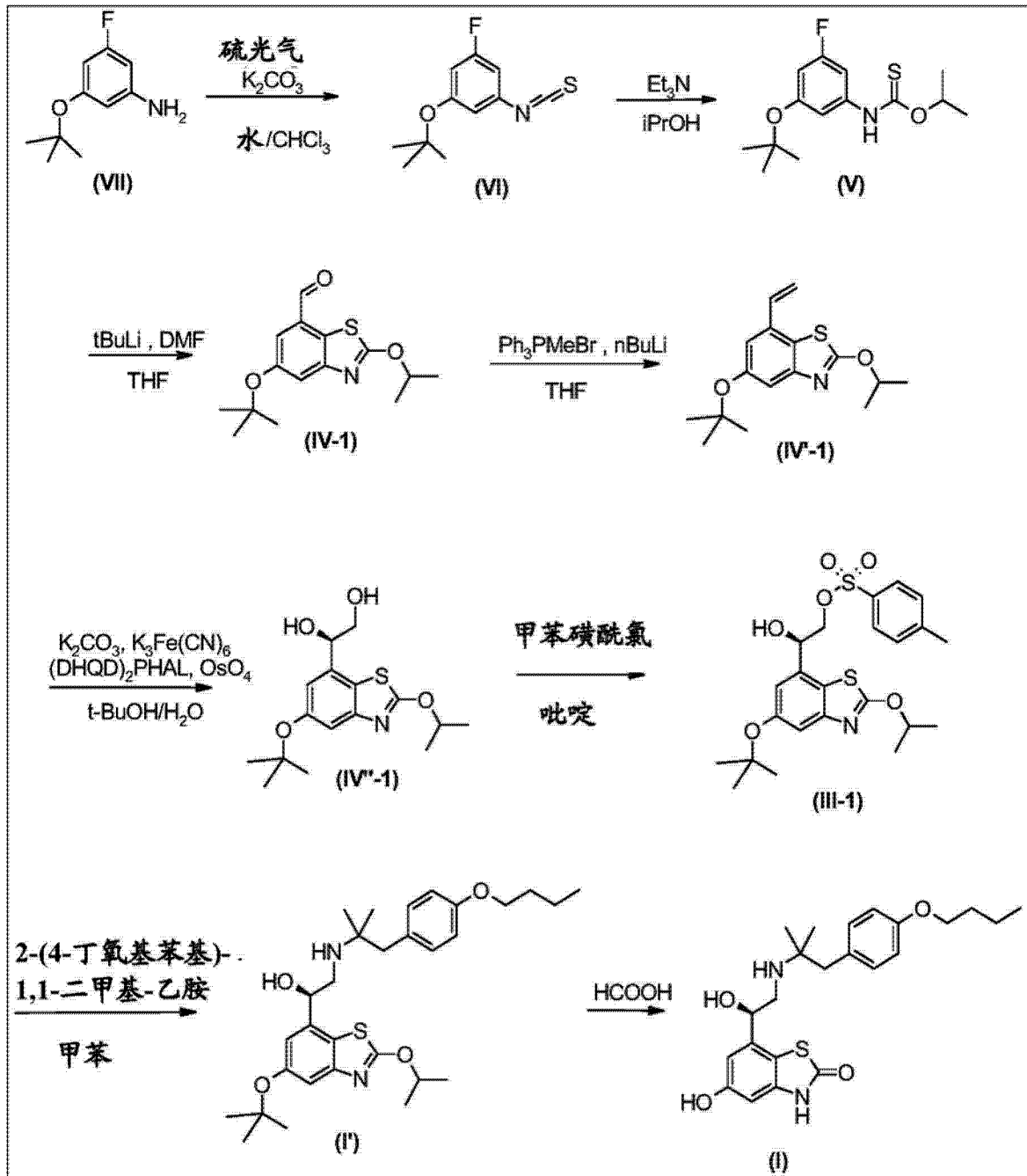
[0311] c) 2-(4- 丁氧基苯基)-1, 1- 二甲基 - 乙胺

[0312] 在氢化反应器 (1L) 中, 加入 1- 丁氧基 -4-(2- 甲基 -2- 硝基丙基) 苯 (27. 8g) 在 AcOH (270ml) 中的溶液, 接着加入湿阮内镍 (7. 0g)。用 H₂ 吹扫混合物 3 次, 然后加热至 60℃ 且在 5. 0atm 下保持搅拌 16h。过滤混合物, 在真空下浓缩总滤液。所得残余物用水 (150ml) / 正庚烷 (80ml) 稀释, 将水层再次用正庚烷 (80ml) 洗涤。将水层用 NaOH (~ 20%) 调节至 pH ~ 11, 然后用 MTBE (100ml*1) 和 EtOAc (150ml*2) 萃取。弃去中间层。将所有顶层合并, 用饱和 NaHCO₃ (100ml) 和饱和 NaCl (100ml) 洗涤, 然后用无水 Na₂SO₄ 干燥。过滤后, 浓缩混合物。搅拌所得残余物, 加入 HCl 在异丙醇中的溶液 (2M, 40ml)。将浆液加热至 60℃, 加入正庚烷 (120ml)。将混合物冷却至 20℃, 然后过滤, 用一些正庚烷洗涤滤饼。将白色固体在空气中干燥 2 天, 得到 10g 纯 HCl 盐产物。收率 :35. 2%。

[0313] [MH]⁺=222.2 ;RT=5.0 分钟。¹H-NMR(400MHz, d-DMSO)ppm8.13(s, 3H), 7.12(d, J=8.6Hz, 2H), 6.88(d, J=8.5Hz, 2H), 3.93(t, J=6.4Hz, 2H), 2.80(s, 2H), 1.67(m, 2H), 1.42(m, 2H), 1.18(s, 6H), 0.92(t, 3H)。

[0314] 实施例 1:(R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基)-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并[d]噻唑-2(3H)-酮

[0315]



[0316] a) 1-叔丁氧基-3-氟-5-异硫氰酰基苯

[0317] 分开且同时加入含硫光气 (33.6g) 的 $CHCl_3$ (250ml) 和含 K_2CO_3 (64.7g) 的 H_2O (450ml), 在 $0^\circ C$ 滴加至 3-叔丁氧基-5-氟-苯基-胺 (42.9g) 在 $CHCl_3$ (350ml) 中的溶液。将反应混合物升温至室温过夜。将有机物分离且用水 (3x)、盐水 (1x) 洗涤, 经 $MgSO_4$ 干燥, 过滤并真空除去溶剂。标题化合物通过急骤柱色谱法 (二氧化硅, 洗脱液二氯甲烷 /

异己烷 1:3) 获得。

[0318] ^1H NMR(CDCl_3 , 400MHz) ;6.70(m, 3H), 1.40(s, 9H)。

[0319] b) (3-叔丁氧基-5-氟-苯基)-硫代氨基甲酸 0-异丙酯

[0320] 将 1-叔丁氧基-3-氟-5-异硫氰酰基苯 (24.0g) 和三乙胺 (10.9g) 溶解于异丙醇 (150ml)。将反应混合物回流 18 小时并真空除去溶剂。将粗产物溶解于己烷:乙醚 (19:1) 中。真空除去乙醚并将溶液冷却至 0°C 保持 3 小时。过滤溶液, 得到标题化合物。

[0321] ^1H NMR(CDCl_3 , 400MHz) ;8.10(br s, 1H), 6.65(br s, 2H), 6.45(ddd, 1H) 5.60(sept, 1H), 1.35(d, 6H), 1.30(s, 9H)。

[0322] c) 5-叔丁氧基-2-异丙氧基-苯并噻唑-7-甲醛

[0323] 将 (3-叔丁氧基-5-氟-苯基)-硫代氨基甲酸 0-异丙酯 (2.2g) 溶解于干燥四氢呋喃 (20ml) 中。将反应混合物冷却至 -78°C 并在 20 分钟内加入叔丁基锂 (15.2ml, 1.5M 溶液)。然后将反应混合物升温至 -10°C 保持 75 分钟。然后将反应混合物再冷却至 -78°C, 加入 N,N-二甲基-甲酰胺 (1.5g) 并将反应混合物缓慢升温至室温, 然后在 -10°C 搅拌 1 小时。将反应混合物用 $\text{HCl}_{(\text{aq})}$ (5ml, 2M 溶液) 淬灭, 将有机物在乙酸乙酯/水之间分离且真空除去。标题化合物通过急骤柱色谱法 (二氧化硅, 洗脱液乙酸乙酯/异己烷 1:9) 获得。

[0324] MS(ES+)m/e294(MH^+)。

[0325] d) 5-叔丁氧基-2-异丙氧基-7-乙烯基苯并噻唑

[0326] 在氩气下将 $\text{Ph}_3\text{PMe} \cdot \text{Br}$ (5.0g) 溶解于干燥四氢呋喃 (100ml) 中。在室温于 10 分钟内加入 N-丁基锂 (8.8ml, 1.6M 溶液), 将反应混合物搅拌另外 30 分钟。将 5-叔丁氧基-2-异丙氧基-苯并噻唑-7-甲醛 (1.25g) 在二氯甲烷 (40ml) 中的溶液滴加至反应混合物, 并将反应混合物在室温搅拌 4.5 小时。真空除去溶剂, 再溶解于乙酸乙酯中, 用水 (3x)、盐水 (1x) 洗涤, 经 MgSO_4 干燥, 过滤并真空除去溶剂。标题化合物通过急骤柱色谱法 (二氧化硅, 洗脱液乙酸乙酯/异己烷 1:9) 获得。

[0327] MS(ES+)m/e292(MH^+)。

[0328] e) (R)-1-(5-叔丁氧基-2-异丙氧基-苯并噻唑-7-基)-乙烷-1,2-二醇

[0329] 在氩气下将 $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ (1.2g)、 K_2CO_3 (0.5g)、 $(\text{DHQD})_2\text{PHA1}$ (19mg) 溶解于叔丁醇/水 (15ml, 1:1 混合物) 并搅拌 15 分钟。将反应混合物冷却至 0°C 并加入 OsO_4 (3.1mg), 接着加入 5-叔丁氧基-2-异丙氧基-7-乙烯基苯并噻唑 (0.35g)。将反应混合物在室温搅拌过夜。将反应混合物用重亚硫酸钠 (1g) 淬灭并搅拌 1.5 小时。加入乙酸乙酯, 分离有机物, 用 (2x) 水、(1x) 盐水洗涤, 经 MgSO_4 干燥, 过滤并真空除去溶剂。标题化合物通过急骤柱色谱法 (二氧化硅, 洗脱液乙酸乙酯/异己烷 2:5) 获得。

[0330] MS(ES+)m/e326(MH^+)。

[0331] f) (R)-2-(5-叔丁氧基-2-异丙氧基苯并[d]噻唑-7-基)-2-羟基乙基-4-甲基苯磺酸酯

[0332] 向经吹扫并保持惰性氮气气氛的 500-ml 颈圆底烧瓶中放置 (R)-1-(5-叔丁氧基-2-异丙氧基-苯并[d]噻唑-7-基)乙烷-1,2-二醇 (20g, 59.05mmol) 在吡啶 (240ml) 中的溶液和 4Å 分子筛 (5g)。接着在搅拌下于 0°C 逐滴加入甲苯磺酰氯 (甲苯磺酰基氯) (15.3g, 79.73mmol) 在吡啶 (60ml) 中的溶液。将所得溶液在室温搅拌 4h。然后通过加入 1000ml 1M 氯化氢淬灭反应。将所得溶液用 2x300ml 乙酸乙酯萃取并将有机层合并。将有机

相用 1x500ml 1M 氯化氢、1x500ml 10% 碳酸氢钠和 300ml 盐水洗涤。将混合物经硫酸钠干燥并在真空下浓缩。用乙酸乙酯 / 石油醚 (1:10) 将残余物施加至硅胶柱。这产生 26g (87%) (R)-4- 甲基苯磺酸 2-(5-叔丁氧基-2-异丙氧基苯并 [d] 噻唑-7-基)-2-羟基乙酯, 为黄色油状物。

[0333] LC/MS_T = 2.47 min; (m/z): 480 [M+H]⁺。 ¹H-NMR: (400 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) 7.57 (d, 2H); 7.36 (d, 2H); 7.17 (d, 1H); 6.79 (d, 1H); 6.32 (d, 1H); 5.37-5.26 (m, 1H); 4.97-4.90 (m, 1H); 4.12-4.00 (m, 2H); 2.40 (s, 3H); 1.45-1.38 (m, 6H); 1.32 (s, 9H)。

[0334] g) (R)-1-(5-叔丁氧基-2-异丙氧基苯并 [d] 噻唑-7-基)-2-(1-(4-丁氧基苯基)-2-甲基丙-2-基氨基)乙醇

[0335] 向 1000-mL 圆底烧瓶放置 (R)-2-(5-叔丁氧基-2-异丙氧基苯并 [d] 噻唑-7-基)-2-羟基乙基-4-甲基苯磺酸酯 (26g, 51.55 mmol, 1.00 当量) 在甲苯 (320 mL) 中的溶液和 2-(4-丁氧基苯基)-1,1-二甲基-乙胺 (中间体 A) (22g, 99.47 mmol, 1.93 当量)。将溶液在油浴中于 90°C 搅拌 24h。将所得混合物在真空下浓缩。用乙酸乙酯 / 石油醚 (1:8) 将残余物施加至硅胶柱。这产生 16g (58%) (R)-1-(5-叔丁氧基-2-异丙氧基苯并 [d] 噻唑-7-基)-2-(1-(4-丁氧基苯基)-2-甲基丙-2-基氨基)乙醇, 为浅黄色油状物。

[0336] LC/MS: R_T = 2.24 min (m/z): 529 [M+H]⁺。 ¹H-NMR: (600 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) 7.12 (s, 1H); 6.83 (d, 2H); 6.77 (s, 1H); 6.63 (d, 2H); 5.80 (br. s, 1H); 5.38-5.30 (m, 1H); 4.70-4.66 (m, 1H); 3.90 (t, 2H); 2.81-2.61 (m, 2H); 2.50-2.39 (m, 2H); 1.71-1.62 (m, 2H); 1.47-1.41 (m, 2H); 1.41 (d, 6H); 1.22 (s, 9H); 0.91 (q, 3H); 0.88 (s, 3H); 0.83 (s, 3H)。

[0337] h) (R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基)-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并 [d] 噻唑-2(3H)-酮

[0338] 将 (R)-1-(5-叔丁氧基-2-异丙氧基苯并 [d] 噻唑-7-基)-2-(1-(4-丁氧基苯基)-2-甲基丙-2-基氨基)乙醇 (3.5g) 在甲酸 (40ml) 中的溶液在环境温度下搅拌 68h。加入 50ml 水, 并将所得混合物蒸发至干 (旋转蒸发仪, 15 毫巴, 40°C) 以得到 3.8g 粗产物。将该物质在饱和碳酸氢钠水溶液 (50ml) 和乙酸乙酯 (50ml) 之间分配以除去甲酸。将水层用乙酸乙酯 (各 30ml) 萃取 3x。将合并的有机萃取液经硫酸镁干燥, 过滤并浓缩, 得到 3g 粗制游离碱。将该物质进行急骤色谱分析 (硅胶; 梯度含 0-60% 甲醇的二氯甲烷)。收集纯级分并蒸发至干, 得到 1.74g 无定型半固体。

[0339] 将该物质进行手性制备型色谱法 [柱: Chiralpak IC (20μm) 7.65x37.5cm; 洗脱液: 正庚烷 / 二氯甲烷 / 乙醇 / 二乙胺 50:30:20 (+0.05 二乙胺); 流速 = 70ml/min; 浓度: 2.5g/50ml 洗脱液; 检测: UV, 220nm] 以得到纯对映异构体 (100% ee)。

[0340] 将该物质在 60°C 溶解于 45ml 乙腈中。使溶液历经 18h 冷却至环境温度, 期间沉淀出现。将混合物用 5ml 冷 (4°C) 乙腈稀释并通过布氏漏斗过滤。将滤饼用冷乙腈洗涤两次。然后收集湿固体并在环境温度下真空干燥 (0.2 毫巴) 过夜, 得到 1.42g (R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基)-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并 [d] 噻唑-2(3H)-酮, 为无色粉末。

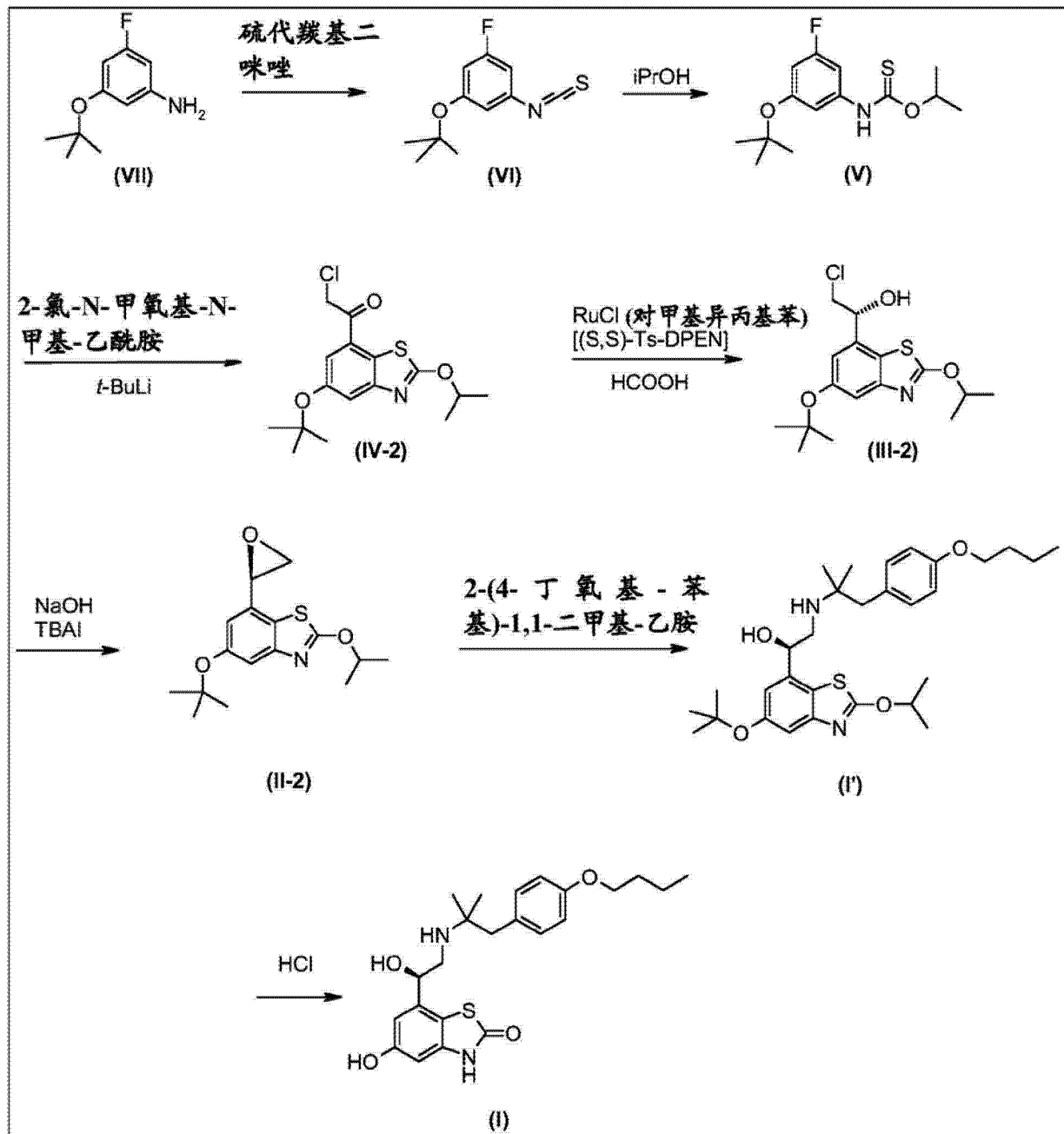
[0341] LC/MS: R_T = 1.81 min (m/z): 431 [M+H]⁺。 ¹H-NMR: (600 MHz, DMSO-d₆):

δ (ppm) 11.5 (br. s, 1H) ; 9.57 (br. s, 1H) ; 6.99 (d, 2H) ; 6.76 (d, 2H) ; 6.52 (s, 1H) ; 6.47 (s, 1H) ; 5.63 (br. s, 1H) ; 4.53-4.48 (m, 1H) ; 3.90 (t, 2H) ; 2.74-2.63 (m, 2H) ; 2.54-2.45 (m, 2H) ; 1.71-1.62 (m, 2H) ; 1.49-1.40 (m, 2H) ; 0.93 (q, 3H) ; 0.89 (s, 6H)。

[0342] 旋光度： $[\alpha]_D^{22} = -43^\circ$ ($c = 1.0_g/100ml$ MeOH)。

[0343] 实施例 2：(R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基)-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并[d]噻唑-2(3H)-酮的替代路径

[0344]



[0345] a) 1-叔丁氧基-3-氟-5-异硫氰酰基-苯

[0346] 将 1,1'-硫代羰基二咪唑 (423g, 2.37mol) 溶解于二氯甲烷 (3200ml) 中。将混合物在 N_2 气氛下搅拌, 同时在 2h 内缓慢加入 3-叔丁氧基-5-氟苯胺 (435g, 2.37mol) 在二氯甲烷 (800ml) 中的溶液。然后将混合物在 $20^\circ C$ 保持搅拌 16h。将混合物用水 (3000ml) 稀

释。将分离的二氯甲烷相再次用水 (3000ml) 洗涤, 然后用无水 Na_2SO_4 干燥 2h。过滤混合物, 并将滤液在真空下浓缩以除去溶剂, 得到 1-叔丁氧基-3-氟-5-异硫氰酰基-苯 (499g)。

[0347] $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) : 6.63-6.68 (m, 3H), 1.37 (s, 9H)。

[0348] b) (3-叔丁氧基-5-氟-苯基)-硫代氨基甲酸 O-异丙酯

[0349] 向 1-叔丁氧基-3-氟-5-异硫氰酰基苯 (460g, 2.04mol) 在无水异丙醇 (3250ml) 中的溶液加入三乙胺 (315g, 3.06mol)。将混合物在 N_2 气氛下加热至回流 16h 并将温度冷却至 40-50°C。浓缩后, 将所得深色残余物用正庚烷 (1000ml) 稀释并加热至 60°C。将混合物缓慢冷却至 25°C, 同时加入晶种。观察到浆液并在 25°C 搅拌 16h, 之后在 2h 内缓慢冷却至 0-10°C。过滤并用正庚烷 (200ml) 洗涤后, 将所收集的固体在真空下、于 40-45°C 在烘箱中干燥 18h, 得到 (3-叔丁氧基-5-氟-苯基)-硫代氨基甲酸 O-异丙酯 (453.1g)。

[0350] LCMS : $[\text{M}+\text{H}]^+=286.1$; RT=7.2 分钟。 $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) : 8.18 (s, 1H), 6.81 (m, 2H), 6.51 (dt, J=10.2Hz, 1H), 5.66 (七重峰, J=6.3Hz, 1H), 1.42 (d, J=6.2Hz, 6H), 1.37 (s, 9H)。

[0351] c) 1-(5-叔丁氧基-2-异丙氧基-苯并噻唑-7-基)-2-氯-乙醇

[0352] 在氮气气氛下, 在低于 -65°C 的温度将叔丁基锂溶液 (481ml, 737.6mmol, 1.6M) 滴加至 (3-叔丁氧基-5-氟-苯基)-硫代氨基甲酸 O-异丙酯 (200g, 700.83mmol) 在 2-Me-THF (1600ml) 中的溶液。将反应温度升温至 -35°C, 并缓慢加入第二部分的叔丁基锂 (388ml, 737.6mmol, 1.9M), 同时保持温度低于 -35°C。然后将反应混合物在该温度搅拌 3h 并冷却降至 -70°C。将 N-甲基-N-甲氧基氯乙酰胺 (96.4g, 700.83mmol) 在 2-MeTHF (300ml) 中的溶液加入至反应混合物, 同时保持温度低于 -70°C。然后将混合物升温至 -30°C 并搅拌 45 分钟。将冷反应混合物通过逐滴加入含 30% HCl 的异丙醇 (240g)、接着加入 1500ml 水来淬灭。将有机层相继用 1000ml 水、1500ml 饱和 NaHCO_3 水溶液和 1500ml 盐水来洗涤。浓缩后, 将所得浅褐色残余物加入至异丙醇 (135ml)。将混合物升温至 50°C 并缓慢冷却降至 25°C。将正庚烷 (135ml) 滴加至溶液并将混合物搅拌过夜。过滤浆液并将滤饼用正庚烷 (40ml) 洗涤, 接着用另一部分的正庚烷 (20ml) 洗涤。将滤饼在真空下干燥, 得到为灰白色粉末的 1-(5-叔丁氧基-2-异丙氧基-苯并噻唑-7-基)-2-氯-乙醇 (42.8g, 17.9% 收率)。

[0353] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) : 7.60 (d, J=2.0Hz, 1H), 7.45 (d, J=2.0Hz, 1H), 5.40 (七重峰, J=6.3Hz, 1H), 4.77 (s, 2H), 1.47 (d, J=6.3Hz, 6H), 1.40 (s, 9H)。LCMS : $[\text{M}+\text{H}]^+=342.1$, RT=7.29min。

[0354] d) (R)-1-(5-叔丁氧基-2-异丙氧基-苯并噻唑-7-基)-2-氯-乙醇

[0355] 将 1-(5-叔丁氧基-2-异丙氧基-苯并 [d] 噻唑-7-基)-2-氯-乙醇 (70g, 204.8mmol) 和 RuCl (对甲基异丙基苯) [(S, S)-Ts-DPEN] (1.954g, 3.07mmol) 在甲醇 / DMF (1330ml/70ml) 中的悬浮液脱气, 并用 N_2 再填充三次。缓慢加入经脱气的甲酸 (28.3g) 在 Et_3N (124.3g) 中的预制混合物, 同时保持内部温度在 15 至 20°C 之间。将所得黄色悬浮液升温至 30°C。2h 后将反应混合物冷却至 25°C, 然后将水 (750ml) 加至到反应混合物中, 接着一次性加入乙酸 (56ml)。浓缩混合物, 然后用 TBME (1000ml) 稀释。将水相分离, 用 TBME (1000ml) 萃取。将合并的有机相相继用水和盐水洗涤, 然后用 Na_2SO_4 干燥且在真空下浓缩, 得到 (R)-1-(5-叔丁氧基-2-异丙氧基-苯并噻唑-7-基)-2-氯-乙醇 (72g)。

[0356] LCMS(方法A): $[M+H]^+=343.1$, RT=5.67min。 1H NMR(400MHz, $CDCl_3$):7.29(d, J=2.0Hz, 1H), 6.83(d, J=2.0Hz, 1H), 5.37(七重峰, J=6.3Hz, 1H), 4.96(m, 1H), 3.74(m, 2H), 3.01(s, 1H), 1.46(d, J=6.2Hz, 6H), 1.36(s, 9H)。

[0357] e) (R)-5-叔丁氧基-2-异丙氧基-7-环氧乙烷基-苯并噻唑

[0358] 向(R)-1-(5-叔丁氧基-2-异丙氧基苯并[d]噻唑-7-基)-2-氯-乙醇(140g, 407.1mmol)在TBME(420ml)中的溶液滴加NaOH水溶液(2M, 420ml),接着一次性加入四丁基碘化铵(7.52g, 20.36mmol)。在26℃4h后,加入400mlTBME并分离有机层。将水层用TBME(400ml)萃取。将合并的有机层用水(400ml)和盐水(400ml)洗涤,得到(R)-5-叔丁氧基-2-异丙氧基-7-环氧乙烷基-苯并噻唑(122g)。

[0359] LCMS: $[M+H]^+=308.0$, RT=6.80min。 1H NMR(400MHz, $CDCl_3$)ppm7.28(d, J=2.0Hz, 1H), 6.85(d, J=2.0Hz, 1H), 5.38(m, 1H), 3.96(m, 1H), 3.15(dd, J=4.3, 5.5Hz, 1H), 2.94(dd, J=4.3, 5.5Hz, 1H), 1.45(d, J=Hz, 6H), 1.37(s, 9H)。

[0360] f) (R)-1-(5-叔丁氧基-2-异丙氧基苯并[d]噻唑-7-基)-2-(1-(4-丁氧基苯基)-2-甲基丙-2-基氨基)乙醇

[0361] 将(R)-5-叔丁氧基-2-异丙氧基-7-环氧乙烷基-苯并噻唑(145g, 471.7mmol)和2-(4-丁氧基-苯基)-1,1-二甲基-乙胺(114.8g, 518.9mmol)溶解于DMSO(850ml)。将反应混合物加热至80℃并搅拌27h。然后将混合物冷却至25℃并加入至搅拌的水(1500ml)和TBME(1500ml)的混合物。将水层分离并用TBME(1000ml)萃取。将合并的有机层相继用水(1500ml)和盐水(1000ml)洗涤,用无水 Na_2SO_4 干燥。浓缩后,将残余物通过柱色谱法(用含10%EtOAc的正庚烷至含33%EtOAc的正庚烷洗脱)纯化。获得为灰白色固体的固体产物(R)-1-(5-叔丁氧基-2-异丙氧基苯并[d]噻唑-7-基)-2-(1-(4-丁氧基苯基)-2-甲基丙-2-基氨基)乙醇(140g)。

[0362] HRMS: $[M+1]529.2996$ 。 1H NMR(400MHz, $CDCl_3$):7.26(m, 1H), 7.01(m, 1H), 6.99(m, 1H), 6.78-6.80(m, 3H), 5.39(m, 1H), 4.65(dd, J=3.8, 8.8Hz, 1H), 3.83(t, J=6.4Hz, 2H), 2.96(dd, J=3.8, 12Hz, 1H), 2.74(dd, J=8.8, 12Hz, 1H), 2.60(dd, J=13.6, 17.6Hz, 2H), 1.72-1.79(m, 2H), 1.50(m, 2H), 1.46(d, J=2.0Hz, 3H), 1.45(d, J=2.0Hz, 3H), 1.35(s, 9H), 1.06(s, 3H), 1.04(s, 3H), 0.98(t, J=7.2Hz, 3H)。

[0363] g) (R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基)-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并[d]噻唑-2(3H)-酮

[0364] 向(R)-1-(5-叔丁氧基-2-异丙氧基苯并[d]噻唑-7-基)-2-(1-(4-丁氧基苯基)-2-甲基丙-2-基氨基)乙醇(7.5g)在异丙醇(30ml)和水(25ml)中的溶液加入1M HCl水溶液(43ml)。然后将反应混合物加热至60℃并搅拌2.5h。将混合物冷却至50℃,然后缓慢加入2M NaOH水溶液(18ml)以调节pH在8.2-8.4之间。然后将反应混合物冷却至30℃,接着用TBME萃取(第一次用40ml,第二次用25ml)。将两个有机层合并,用水(两次共38ml)洗涤,之后用无水 Na_2SO_4 干燥。过滤后,浓缩滤液,然后溶解于MeCN(145ml)中。将溶液用活性炭(0.6g)处理并加热至60℃。第二次过滤后,将滤饼用MeCN(两次共10ml)洗涤,将滤液在60℃结晶,获得(R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基)-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并[d]噻唑-2(3H)-酮(3.8g)。e. e.=97.6%。

[0365] LCMS(方法A): $[M+H]^+=431.2$ 。 1H NMR(400MHz, $DMSO-d_6$):9.5(br. s, 1H), 6.81(d,

J=8.5Hz, 2H), 6.57 (d, J=8.6Hz, 2H), 6.33 (d, J=2.2Hz, 1H), 6.30 (d, J=2.2Hz, 1H), 4.43 (br. s, 1H), 3.69 (t, J=6.4Hz, 2H), 2.58-2.59 (m, 2H), 2.24-2.31 (m, 2H), 1.41-1.48 (m, 2H), 1.15-1.25 (m, 2H), 0.78 (s, 6H), 0.70 (t, J=7.4Hz, 3H)。

[0366] 实施例 3: (R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基))-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并[d]噻唑-2(3H)-酮乙酸盐

[0367] 在 50ml 四颈烧瓶中, 将 500mg (1.161mmol) 游离碱 (R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基))-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并[d]噻唑-2(3H)-酮悬浮于 10.0ml 乙腈和 0.25ml 水中并在室温用浆搅拌。将悬浮液在 50°C 的内部温度 (外套温度 75°C) 加热并加入 72mg 乙酸 (1.161mmol) (形成澄清的黄色溶液)。将溶液于室温在 30min 内冷却, 加入 0.15ml 水。

[0368] 然后将溶液用 (R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基))-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并[d]噻唑-2(3H)-酮乙酸盐引晶并在室温搅拌过夜 (16h)。然后将悬浮液在室温通过玻璃滤器过滤, 并用 1ml 乙腈洗涤三次。于室温将 510mg 湿滤饼在干燥烘箱中干燥过夜 (16h) 至干。收率: 508mg 白色粉末 (89.1%)

[0369] (R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基))-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并[d]噻唑-2(3H)-酮乙酸盐晶种的制备

[0370] 将 57.0mg (0.132mmol) 游离碱 (R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基))-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并[d]噻唑-2(3H)-酮和 8.03mg (0.132mmol) 乙酸溶解于 1.0ml 乙腈和 0.05ml 水中。在磁力搅拌器搅拌的情况下将溶液在室温搅拌。过夜后沉淀出现。然后将溶液在室温通过玻璃滤器过滤并用 0.5ml 乙腈洗涤三次。将湿滤饼于室温在干燥烘箱中干燥过夜 (16h) 至干。收率: 57mg 白色粉末。

[0371] 实施例 3a: 用于形成 (R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基))-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并[d]噻唑-2(3H)-酮乙酸盐的替代方法

[0372] 将 (R)-1-(5-叔丁氧基-2-异丙氧基苯并[d]噻唑-7-基)-2-(1-(4-丁氧基苯基))-2-甲基丙-2-基氨基)乙醇 (1 当量) 悬浮于异丙醇中。在 50 至 60°, 在约 30-60min 内加入 1M 盐酸水溶液 (3 当量)。完全反应 (在 60°C 约 2.5 小时) 后将溶液冷却至 20°C, 在该温度逐步加入 2M 氢氧化钠 (3 当量)。完全加入后, 将乳化的游离碱 (R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基))-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并[d]噻唑-2(3H)-酮萃取到乙酸乙酯中, 并用水洗涤有机层。将有机层用活性炭处理, 并使用作为助滤剂的微晶纤维素过滤。将滤饼用乙酸乙酯洗涤。通过于 55°C 的外套温度在减压下蒸馏, 将含有游离碱 (R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基))-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并[d]噻唑-2(3H)-酮的滤液小心浓缩至限定的残余体积。然后加入乙酸异丙酯并通过于 55°C 的外套温度在减压下蒸馏至限定的残余体积来部分除去。在 50-55°C 将更多的乙酸异丙酯和乙酸在乙酸异丙酯中的溶液加入至温热的蒸馏残余物。在加入乙酸期间, 将批次用 (R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基))-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并[d]噻唑-2(3H)-酮乙酸盐引晶, 以早在 50-55°C 引发乙酸盐的受控结晶。逐渐冷却至 0°C 后, 过滤产物悬浮液并用冷乙酸异丙酯洗涤两次。将滤饼在减压下于 50 至 90°C 干燥直至恒重, 得到结晶 (R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基))-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并[d]噻唑-2(3H)-酮乙酸盐, 典型收率为约 80%。

[0373] 实施例 4:(R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基))-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并[d]噻唑-2(3H)-酮羧酸盐

[0374] 在 50mL 四颈烧瓶中,将 500mg(1.161mmol)游离碱 (R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基))-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并[d]噻唑-2(3H)-酮悬浮于 10.0ml 乙腈和 0.25ml 水中,并在室温用浆搅拌。将悬浮液在 60℃的内部温度(外套温度 85℃)加热并将 90mg 2-羟基乙酸(1.161mmol)加入至溶液。然后在 60℃的内部温度加入 0.25ml 水。在 30℃的内部温度将溶液用 (R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基))-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并[d]噻唑-2(3H)-酮羧酸盐引晶并在室温搅拌过夜(16h)。将另一 10ml 乙腈加入并在室温搅拌整个周末。将悬浮液在室温通过玻璃滤器过滤,并用 1.0ml 乙腈/水 9:1v/v 洗涤 1 次,用 1.0ml 乙腈洗涤两次。将 320mg 湿滤饼于室温在干燥烘箱中干燥过夜(16h)至干。

[0375] (R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基))-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并[d]噻唑-2(3H)-酮羧酸盐晶种的制备

[0376] 将 63.0mg(0.146mmol)游离碱 (R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基))-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并[d]噻唑-2(3H)-酮和 11.24mg(0.146mmol)羧酸溶解于 1.0ml 乙腈和 0.05ml 水中。将溶液在室温用磁力搅拌器搅拌。过夜形成沉淀。将悬浮液在室温通过玻璃滤器过滤,并用 0.5ml 乙腈洗涤三次。将湿滤饼于室温在干燥烘箱中干燥过夜(16h)至干。收率:52mg 白色粉末。

[0377] 实施例 5、6 和 7:结晶 (R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基))-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并[d]噻唑-2(3H)-酮及其乙酸盐和羧酸盐形式的 XRPD 和 DSC 分析

[0378] 在下列实验条件下进行游离碱结晶 (R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基))-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并[d]噻唑-2(3H)-酮及其乙酸盐和羧酸盐形式的 XRPD 分析。

[0379]

XRPD 方法

仪器	Bruker D8 Advance (反射)
辐射	CuKα (40 kV, 30 mA)
步阶	0.017grd
扫描类型	连续扫描
扫描时间	107.1 秒
扫描范围	2°-40° (2θ 值)

在下列实验条件下进行 DSC 分析:

DSC 方法

仪器	Perkin Elmer Diamond
温度范围	30°-300C
样品质量	2-3mg
样品盘	铝密合
气流	20-50 K/min

[0380] 实施例 5: 结晶 (R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基)-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并 [d] 噻唑-2(3H)-酮的 XRPD 分析

[0381] 在 XRPD 分析之前, 如下所述将游离碱 (R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基)-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并 [d] 噻唑-2(3H)-酮重结晶。

[0382] 于 100ml 四颈烧瓶中, 将 4.0g (2.232mmol) (R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基)-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并 [d] 噻唑-2(3H)-酮悬浮于 24.0ml 乙酸乙酯中并在室温用浆搅拌。将悬浮液在 70°C 的内部温度 (外套温度 90°C) 搅拌, 以提供澄清的黄色溶液。将溶液历经 30min 在室温冷却并在 35°C 的内部温度用游离碱 (R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基)-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并 [d] 噻唑-2(3H)-酮引晶 (结晶形成非常缓慢), 并在室温搅拌过夜 (16h)。然后将溶液在室温通过玻璃滤器过滤 (快速过滤, 历时: <1min) 并用 2.0ml 乙酸乙酯洗涤 3 次 (澄清的黄色母液)。将 5.82g 湿滤饼在干燥烘箱中于室温干燥过夜 16h, 且于 40°C 干燥 16h。收率: 3.63g 白色粉末 (90.75%)

[0383] 结晶 (R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基)-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并 [d] 噻唑-2(3H)-酮通过 XRPD 分析, 且特征峰示于下表中 (也参见图 5)。其中, 在 8.5、13.3、13.9、14.4、15.2、17.2、17.5、18.1、21.3 和 22.5° 2 θ 处的峰最具特征性。

[0384]

角度 (2 θ °)	强度 %	角度 (2 θ °)	强度 %
8.5	中等	21.7	高
11.4	中等	22.5	高
12.7	中等	23.3	高
13.3	中等	23.6	中等
13.9	中等	24.4	中等
14.4	中等	25.6	中等
15.2	中等	26.1	高
17.2	高	26.6	高
17.5	高	27.9	中等
18.1	高	28.5	中等
21.3	中等	28.9	中等

[0385] 结晶游离碱 (R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基)-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并[d]噻唑-2(3H)-酮通过 DSC 分析且发现在约 115°C 开始熔化。

[0386] 实施例 6: 结晶 (R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基)-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并[d]噻唑-2(3H)-酮乙酸盐的 XRPD 分析

[0387] 结晶 (R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基)-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并[d]噻唑-2(3H)-酮乙酸盐通过 XRPD 分析且特征峰示于下表中 (也参见图 6)。其中在 8.8、11.5、16.4、17.6、18.2、19.6、20.1、20.8 和 21.1° 2 θ 处的峰最具特征性。

[0388]

角度 (2 θ °)	强度 %	角度 (2 θ °)	强度 %
8.8	高	19.1	低
10.0	低	19.6	中等
11.5	高	20.1	高
14.2	低	20.8	高
14.6	低	21.1	中等
15.7	低	23.3	中等

16.4	高	26.2	低
17.6	中等	26.6	中等
18.2	高	27.1	中等

[0389] 结晶 (R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基)-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并 [d] 噻唑-2(3H)-酮乙酸盐通过 DSC 分析且发现在约 170°C 处具有宽吸热。

[0390] 实施例 7: 结晶 (R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基)-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并 [d] 噻唑-2(3H)-酮羧酸盐的 XRPD 分析

[0391] 结晶 (R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基)-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并 [d] 噻唑-2(3H)-酮羧酸盐通过 XRPD 分析且特征峰示于下表中 (也参见图 7)。其中在 8.7、11.6、16.1、18.0、19.8、20.7 和 21.1° 2θ 处的峰最具特征性。

[0392]

角度 (2θ°)	强度 %	角度 (2θ°)	强度 %
8.7	高	22.6	低
11.6	中等	23.1	中等
16.1	高	23.3	中等
17.4	中等	23.7	低
18.0	高	26.2	高
19.2	中等	26.8	中等
19.8	高	27.9	低
20.7	高	28.3	低
21.1	高		

[0393]

[0394] 结晶 (R)-7-(2-(1-(4-丁氧基苯基)-2-甲基丙-2-基氨基)-1-羟基乙基)-5-羟基苯并 [d] 噻唑-2(3H)-酮羧酸盐通过 DSC 分析且发现在约 188°C 开始熔化。

[0395] 实施例 8: 用于制备适用于皮下施用乙酸盐形式的化合物 A 的药物制剂的方法

[0396] 对于 1.00 升药物产品溶液, 将约 900g 注射用水放置到适用于药物掺混的干净容器中。加入 50g 甘露醇、0.60g 乙酸和 10g 苯甲醇且溶解于注射用水中。然后加入 1.00g 化合物 A 并溶解。用 1N 氢氧化钠溶液将 pH 调节至目标值, 例如 5.0。然后将注射用水加至 1.016kg 的目标产物溶液重量。将药物产品溶液通过 0.22 μm PVDF 膜无菌过滤到经洗涤的、经除热原的小瓶中, 用无菌橡胶塞密闭并卷边。最后将小瓶通过高压灭菌法灭菌。

[0397] 实施例 8a: 用于制备适用于皮下施用乙酸盐形式的化合物 A 的药物制剂的替代方

法

[0398] 对于 1.00 升药物产品溶液,将约 900g 注射用水放置到适用于药物掺混的干净容器中。加入 50g 甘露醇和 10g 苯甲醇且溶解于注射用水中。然后加入 1.14g 化合物 A 的乙酸盐并溶解。用乙酸溶液将 pH 调节至目标值,例如 5.0。然后将注射用水加至 1.016kg 的目标产物溶液重量。将药物产品溶液通过 0.22 μ m PVDF 膜无菌过滤到经洗涤的、经除热原的小瓶中,用无菌橡胶塞密闭并卷边。最后将小瓶通过高压灭菌法灭菌。

[0399] 实施例 9 :游离碱、乙酸盐和羟乙酸盐形式的化合物 A 的比较溶解度

[0400] 分析化合物 A 的游离碱形式以及乙酸盐和羟乙酸盐形式的相对溶解度并结果示于下表中。通过加入用于 pH 调节的 HCl 或 NaOH 滴定溶液。化合物 A 的乙酸盐和羟乙酸盐形式相对于其游离碱形式改善的水溶解度使化合物 A 的乙酸盐和羟乙酸盐更适于皮下注射或输注。

[0401]

化合物 A 游离碱在 H ₂ O 中的溶解度		化合物 A 乙酸盐在 H ₂ O 中的溶解度		化合物 A 羟乙酸盐在 H ₂ O 中的溶解度	
pH	浓度 (mg/mL)	pH	浓度 (mg/mL)	pH	浓度 (mg/mL)
6.2	0.27	5.9	1.33	5.1	13.1
7.0	0.05	6.0	1.11	5.3	6.39
7.3	<0.01	6.1	1.10	5.4	4.47
7.8	<0.01	6.2	0.55		

[0402] 实施例 10 :本发明化合物 (化合物 A)、其对映异构体 (化合物 B)、其外消旋物 (化合物 A/B) 和福莫特罗的体外细胞特性

[0403] 本发明化合物 (化合物 A) 在如前文所述的测试 1 中显示下列 EC₅₀ 值。

[0404]

化合物	CHO 细胞 [#]			原始细胞; cAMP 响应		
	EC ₅₀ (E _{max} %)			EC ₅₀ (E _{max} %)		
	β2 AR	β1 AR	α1A AR	人 skMC	大鼠 skMC	大鼠心肌细胞
福莫特罗	0.7nM (99% ^{**})	85nM (86% ^{**})	190nM	0.2nM	0.9nM	2.9nM
化合物 A (R)	5.6nM (88% ^{**})	560nM (32% ^{**})	> 10μM	0.7nM (96% [*])	3.4nM (98% [*])	5.7nM (71% ^{**})
化合物 B (S)	950nM (83% ^{**})	> 10μM	> 30μM	280nM (100% [*])	n.d.	n.d.
化合物 A/B	11nM (87% ^{**})	684nM (38% ^{**})	n.d.	0.63nM (100% [*])	n.d.	n.d.
化合物 A (R) 乙酸盐	2.5nM (91% ^{**})	n.d.	n.d.	1.7nM (93% ^{**})	n.d.	n.d.

[0405] skMC: 分化的骨骼肌小管; *: 与福莫特罗相比; **: 与异丙肾上腺素相比; #: cAMP (对于 β1 和 β2), Ca²⁺ (对于 α1A); n. d. 未测定

[0406] 本发明化合物 (化合物 A) 是有效的选择性 β2AR 激动剂, 对 β1AR 具有非常低的内在功效且对 α1A AR 无功效。其对映异构体化合物 B 对 β2AR 非常弱, EC₅₀ 为 950nM。

[0407] 实施例 11: 福莫特罗和化合物 A 对骨骼肌和心脏重量的体内作用

[0408] 重量为 350-400g 的雄性 Wistar Han IGS (International Genetic Standard) 大鼠 (Cr1:WI (Han)) 购自 Charles River Laboratories。使大鼠适应设施 7 天。在 25°C 将动物以 12:12h 光-暗周期分组 (每组 3 只动物) 关养。使它们进食含有 18.2% 蛋白质和 3.0% 脂肪的标准实验室饮食, 其能量含量为 15.8MJ/kg (NAFAG3890, Kliba, Basel, Switzerland)。无限制地提供食物和水。将福莫特罗或化合物 A 溶解于下示赋形剂中, 以在用 Alzet 模型 2ML428 天的情况下达到 0.003 至 0.03mg/kg/天的剂量范围 (对于福莫特罗) 和 0.01 至 0.1mg/kg/天的剂量范围 (对于化合物 A)。将泵用溶液填充并在 37°C 于 PBS 中保持数小时直至手术植入。在手术前至少 30 分钟, 大鼠用 0.02mg/kg 剂量的 Temgesic 以 1ml/kg 的体积皮下治疗, 然后将如上所示用溶液填充的泵皮下植入到用 3% 浓度的异氟烷麻醉下的大鼠的背部。手术后 24h 和 48h 将 Temgesic 皮下施用至大鼠。每周测量体重两次。手术后 10 天在麻醉下除去夹子。治疗后四周, 用 CO₂ 将大鼠施以安乐死, 切割胫骨肌前部、腓肠肌和比目鱼肌、心脏和脑并称量。脑重量用于器官重量的标准化。结果以平均 +/-SEM 表示。在单向方差分析后使用 Dunnett's 多重比较实验进行统计学分析, 以比较治疗组和赋形剂对照组。当概率值为 <0.05 时则认为差异是显著的; *: 通过 GraphPad Prism5.0 版

(GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA) 进行统计学分析。将肌肉重量标准化为第 0 天时的体重（初始体重）并且心脏重量通过脑重量来标准化。

[0409] 研究 1 :福莫特罗

[0410]

组	治疗	剂量(mg/kg)	路径	方案
1	赋形剂*	0	s.c.	Alzet 迷你泵 2ML4, 持续 4 周
2	福莫特罗	0.003		
3	福莫特罗	0.01		
4	福莫特罗	0.03		

[0411] * 赋形剂 :20% 于盐水中的 1:2Cremophor :乙醇 (0.9%NaCl)

[0412] 研究 2 :化合物 A

[0413]

组	治疗	剂量(mg/kg)	路径	方案
1	赋形剂*	0	s.c.	Alzet 迷你泵 2ML4, 持续 4 周
2	化合物 A	0.01		
3	化合物 A	0.03		
4	化合物 A	0.1		

[0414] * 赋形剂 :20% 于盐水中的 1:2Cremophor :乙醇 (0.9%NaCl)

[0415] 图 1 显示 :福莫特罗诱导骨骼肌肥大和心脏质量增加至相同程度,同时化合物 A 诱导骨骼肌肥大,而对心脏治疗的影响最小,表明化合物 A 展现出对骨骼肌的选择性作用超过心脏肌肉。0.01mg/kg/天的化合物 A 显著诱导骨骼肌肥大达 11%,其中稳态血浆浓度为~0.2nM,而即使在 0.1mg/kg/天时也未对心脏形态学有所发现,其中稳态浓度为~2nM。

[0416] 实施例 12 :福莫特罗和化合物 A 对离体器官功能（左心房收缩、窦房结搏动频率和整个心脏自动节律性）的作用

[0417] 方法

[0418] 左心房收缩 :使用体重为 600+/-80g 的 Dunkin Hartley 豚鼠的左心房,在 Ricerca Biosciences, LLC (目录号 407500Adrenergic β 1) 进行左心房收缩测定 (Arch. Int. Pharmacodyn. 1971:191:133-141.)。

[0419] 窦房结搏动频率 :使用氯胺酮 / 赛拉嗪的混合物 i. v. 进行深度麻醉后,通过放血杀死 New Zealand 白色雌性兔。快速除去心脏,并将其放置在 Tyrode' s 溶液中。用 95%O₂、5%CO₂ 向该溶液连续供气,并预先升温至约 36±0.5°C。从心脏剩余部分分离右心房。将制备物安置于组织浴中并在 37±0.5°C 保持至少 1 小时稳定。用连接至高输出阻抗中和放大器 (VF-180 微电极放大器, Bio-Logic) 的填充有 3M KCl 的标准玻璃微电极细胞内记录动作电位 (AP)。AP 在数字示波器 (HM-407 示波器, HAMEG) 上显示,借助于高分辨率数据采集

系统 (Notocord 软件 hem4. 2, Notocord SA, Croissy, France) 进行分析。稳定 1 小时后, 将化合物以递增浓度加入至 Tyrode's 溶液, 将每种浓度保持 30 分钟。两种浓度之间无清洗。在 30 分钟灌注期结束时, 通过分析实验方案期间的动作电位进行电生理测量。通过对每 10 秒搏动次数计数, 以每分钟搏动次数 (bpm) 表示结果, 评价 SA 自主频率。数据被表示为平均 \pm SEM。

[0420] 自动节律性: 在离体 Langendorff 灌注的兔心脏中研究自动节律性, 由 Hondeghem Pharmaceuticals Consulting N. V., B-84000ostende, Belgium 实施。对来自称重为约 2.5kg 的约 3 月龄白化雌性兔的心脏运行测试。使用根据 Langendorff 技术灌注的离体兔心脏、在全自动模型中测量化合物的作用。用递增浓度的测试项目逆行灌注自主搏动的的心脏。将一个电极小心地放置在左心房上以记录窦结自动节律性的循环时间。

[0421] 图 2a 和 2b 显示将福莫特罗与本发明化合物 (化合物 A) 比较时所获得的结果。

[0422] 与福莫特罗比较, 化合物 A 显示最高 $10 \mu\text{M}$ 时仍对左心房收缩无作用, 且对起搏器活动具有较小的直接作用。

[0423]

	福莫特罗	化合物 A
左心房收缩 EC_{50} (n=2)	17nM	$>10 \mu\text{M}$
窦房结搏动率, 最大增加 (n=6)	+45%	+6.2%
自动节律性, 最大增加 (n=3)	+46%	+17%

[0424] 图 2a 和 2b 的值被表示为平均 \pm SEM; 窦房结 (n=6), 离体心脏 (n=3)

[0425] 实施例 13: 福莫特罗和化合物 A 对心率的体内作用

[0426] Wistar Han (W-H) IGS (International Genetic Standard) 大鼠 (Cr1:WI (Han)) 购自 Charles River Laboratories。长期植入股动脉和静脉导管并通过弹簧拴系 - 旋转 (spring tether-swivel) 系统外置, 关养在专门的笼子中。将动脉导管连接至压力传感器以连续测量脉压、平均动脉压和心率, 其由血压信号经由数字数据采集系统得到。经由通过皮肤 buttun 植入的 s. c 导管施用化合物。数值被表示为平均 \pm SEM (n=3)。

[0427] 当皮下快速浓注达 0.3mg/kg 施用, 化合物 A 与福莫特罗相比显示较小的心率增加, 如示于图 3a、3b 和 3c 中。

[0428] 实施例 14: 福莫特罗和化合物 A 对心率的体内作用

[0429] 将体重约为 4 至 8kg 的 24 只雌性恒河猴随机分成 4 组 (n=6)。在单次皮下施用化合物后, 将动物限制在椅子上至多 4 小时, 然后回到其围栏。使用 Surgivet V3304 装置测量心率。数值表示为平均 \pm SEM (n=6)。

[0430] 当皮下快速浓注达 0.03mg/kg 施用, 化合物 A 与福莫特罗相比显示较小的心率增加, 如示于图 4a 和 4b 中。

[0431] 实施例 15: 化合物 A、其对映异构体 (化合物 B) 及其外消旋物 (化合物 A/B) 对血清素 5-HT_{2C} 受体的作用

[0432] 将人重组 hr5- HT_{2C} CHO 细胞膜 (Biosignal Packard, USA) 和 ^3H -美舒麦角 (mesulergine) (NEN Life Science Products, USA, 1nM) 用于测量化合物对人 5-HT_{2C} 受体

的结合亲和力。在 $1\ \mu\text{M}$ 美舒麦角存在下评价非特异性结合。在 22°C 将 $250\ \mu\text{L}$ 总体积中的各 $50\ \mu\text{L}$ 的膜、配体和化合物在 96 孔板中含有 50mM Tris, 0.1% 抗坏血酸, $10\ \mu\text{M}$ 优降宁 (Pargyline) 的缓冲液 ($\text{pH}7.7$) 中孵育 60min 。将板过滤, 在冰冷的 50mM Tris 中洗涤 3 次, 干燥并在 Topcount 中测量。

[0433] 将在不含抗生素的培养基中生长至对数中期的、共表达线粒体水母发光蛋白 (apoaequorin)、重组血清素 $5\text{-HT}_{2\text{Cne}}$ 和混杂 G 蛋白 $G_{\alpha 16}$ 的 CHO-K1 细胞用 PBS-EDTA 剥离, 离心并以 1×10^6 个细胞 /ml 的浓度重悬浮于测定缓冲液 (DMEM/HAM' s F12, 含有 HEPES、不含酚红 + 0.1% BSA 无蛋白酶) 中。将细胞与腔肠素 (coelenterazine)h 在室温孵育至少 4h 。参照激动剂为 α -甲基- 5-HT 。对于激动剂测试, 将 $50\ \mu\text{L}$ 细胞悬浮液与 $50\ \mu\text{L}$ 测试或参照激动剂在 96 孔板中混合。使用 Hamamatsu 功能药物筛选系统 6000 (FDSS6000) 光度计记录所得的光发射。测试化合物的激动剂活性表示为在其 EC_{100} 浓度时参照激动剂活性的百分比。

[0434]

血清素 $5\text{-HT}_{2\text{C}}$	结合	CHO EC_{50} ($E_{\text{max}}\%$)
5-HT	n. d.	0.24nM
化合物 A (R)	$11\ \mu\text{M}$	280nM (83%)
化合物 B (S)	$0.8\ \mu\text{M}$	19.7nM (99%)
化合物 A/B	$1.7\ \mu\text{M}$	25nM (113%)

[0435] 当与 β 2AR 激动剂活性 (5.6nM) 比较时, 化合物 A 对 $5\text{-HT}_{2\text{C}}$ 的活性低 50 倍, 而其对映异构体化合物 B 对 β 2AR 的活性非常弱, EC_{50} 为 950nM , 但对 $5\text{-HT}_{2\text{C}}$ 的活性则强得多, EC_{50} 为 19.7nM , 显示对目标的选择性逆转。

[0436] 当与外消旋物或 (S) 对映异构体比较时, 化合物 A 对 $5\text{-HT}_{2\text{C}}$ 的活性也低 10 倍, 表明该化合物的副作用特性是有利的。

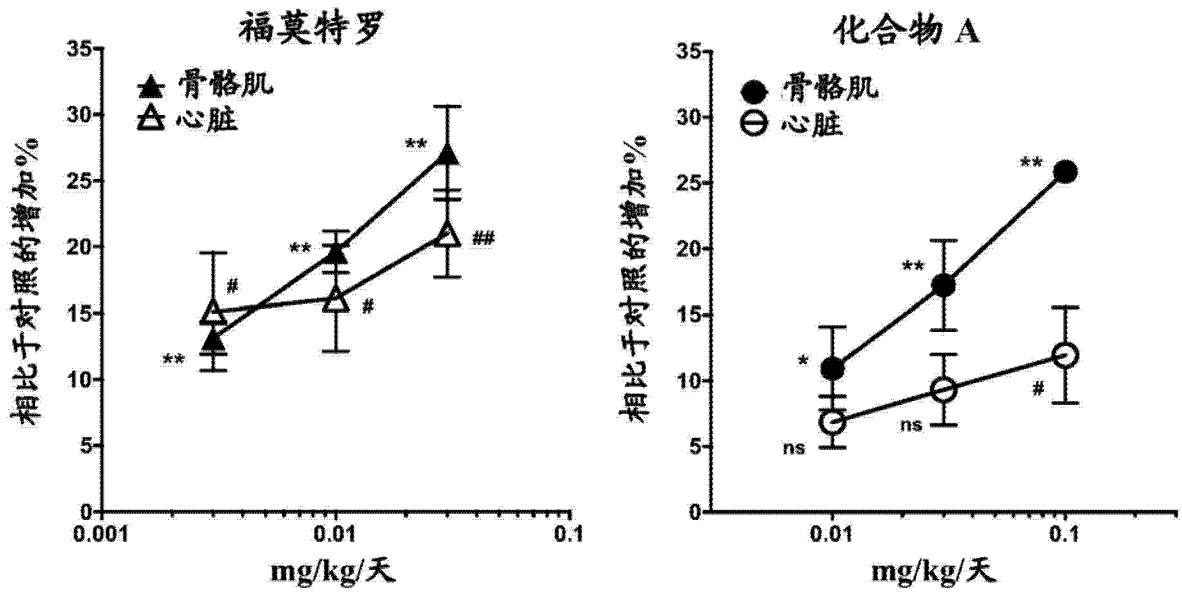


图 1

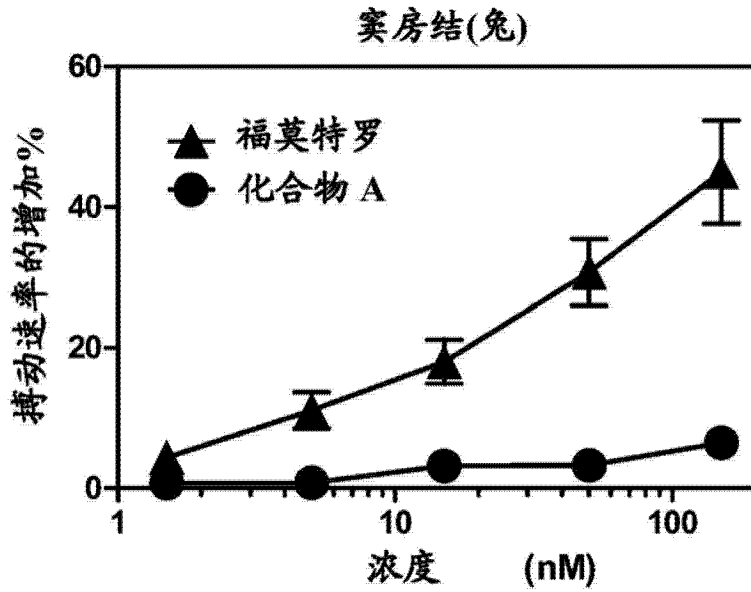


图 2a

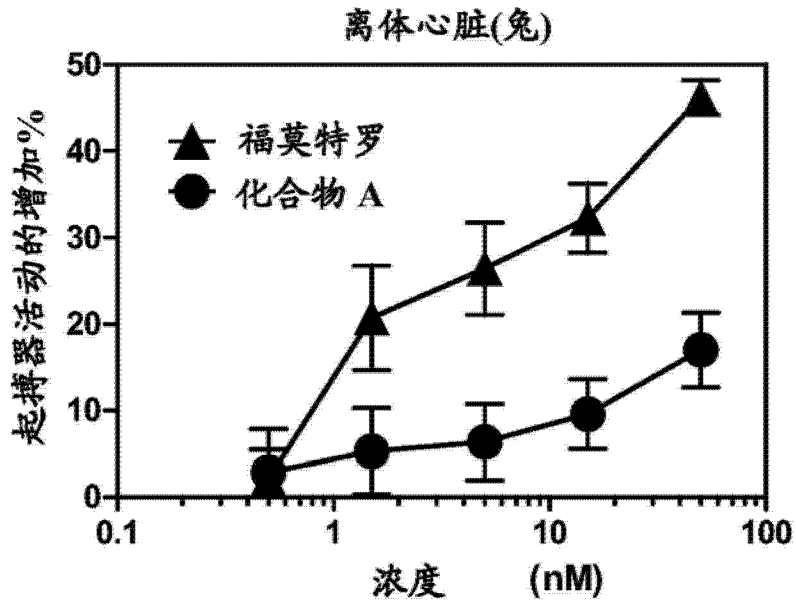


图 2b

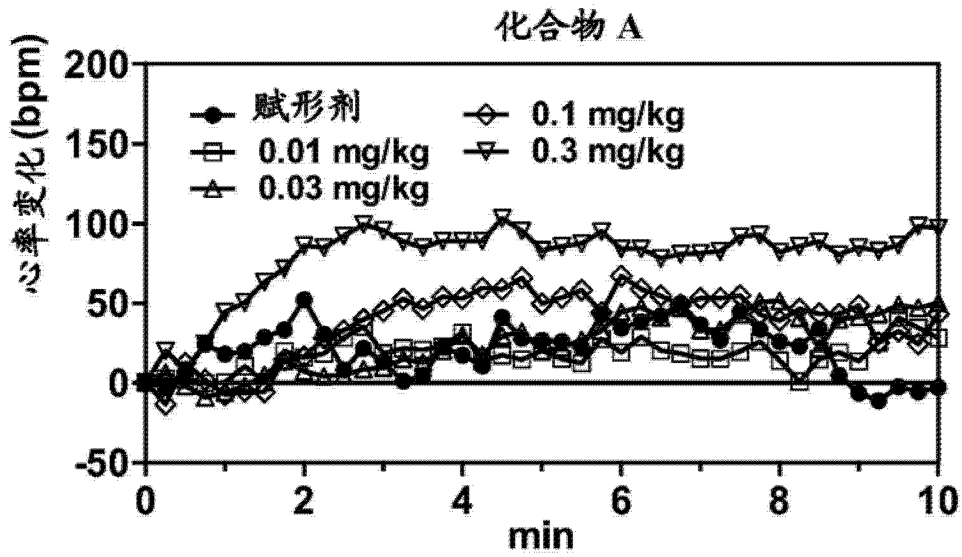


图 3a

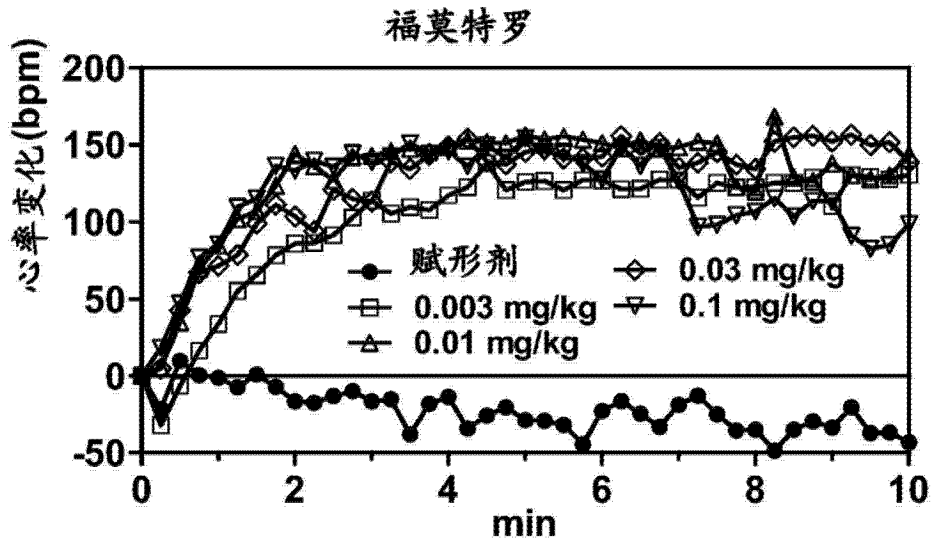


图 3b

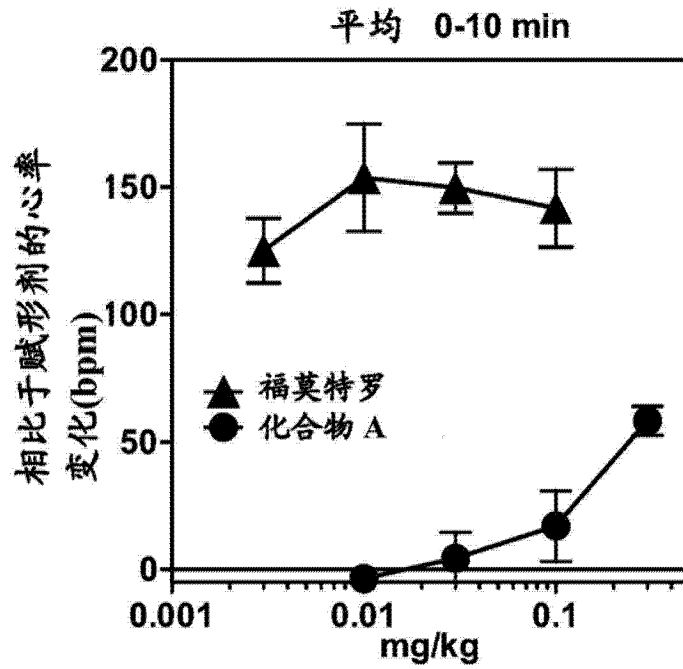


图 3c

化合物 A

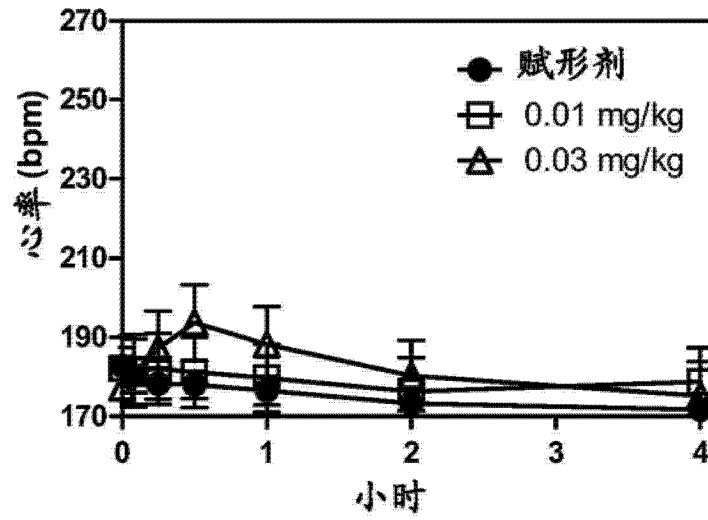


图 4a

福莫特罗

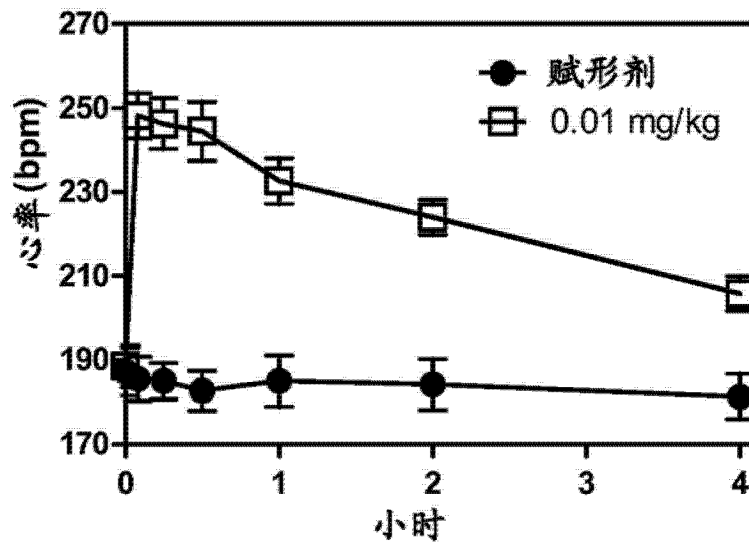


图 4b

结晶游离碱化合物 A 的 X 射线衍射粉末图

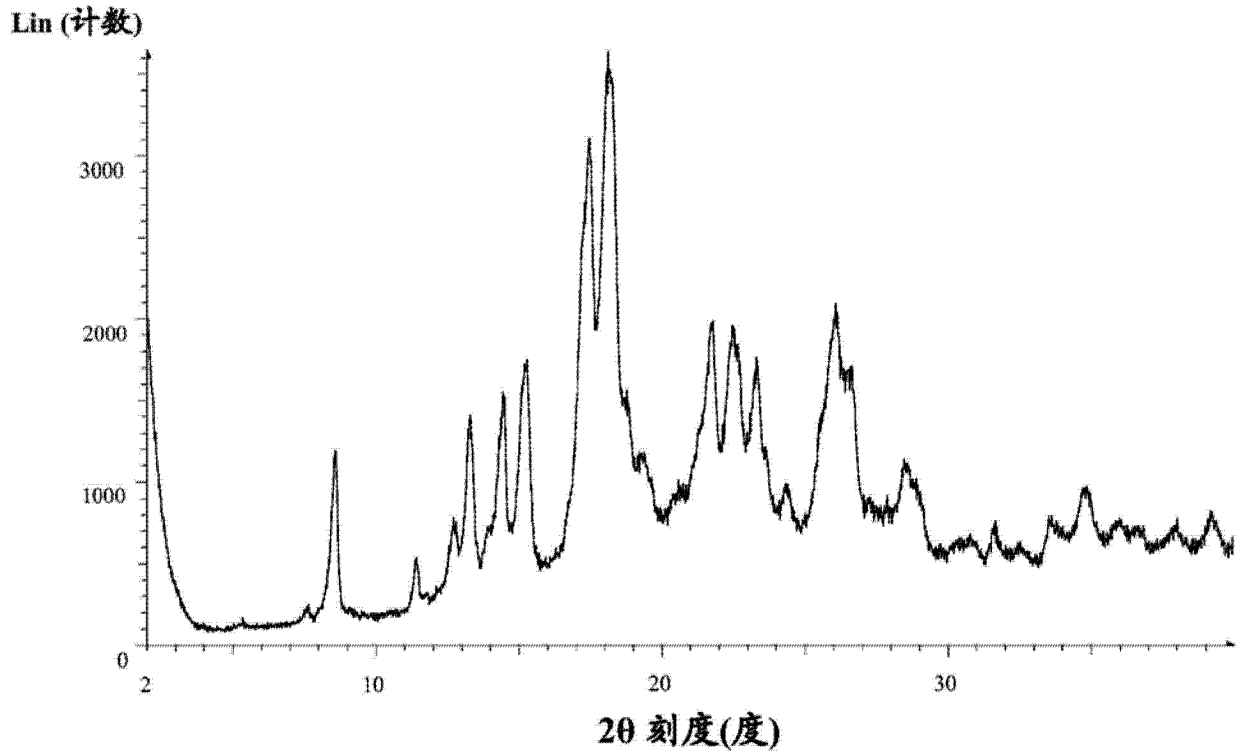


图 5

化合物 A 的结晶乙酸盐的 X 射线衍射粉末图

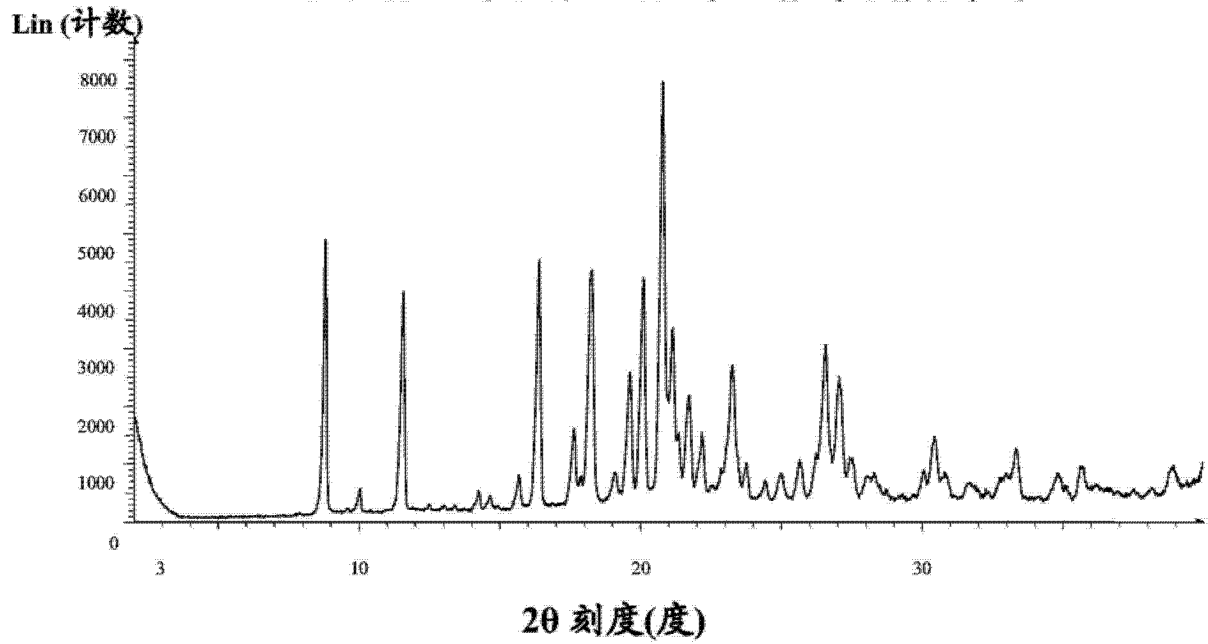


图 6

化合物 A 的结晶羧酸盐的 X 射线衍射粉末图

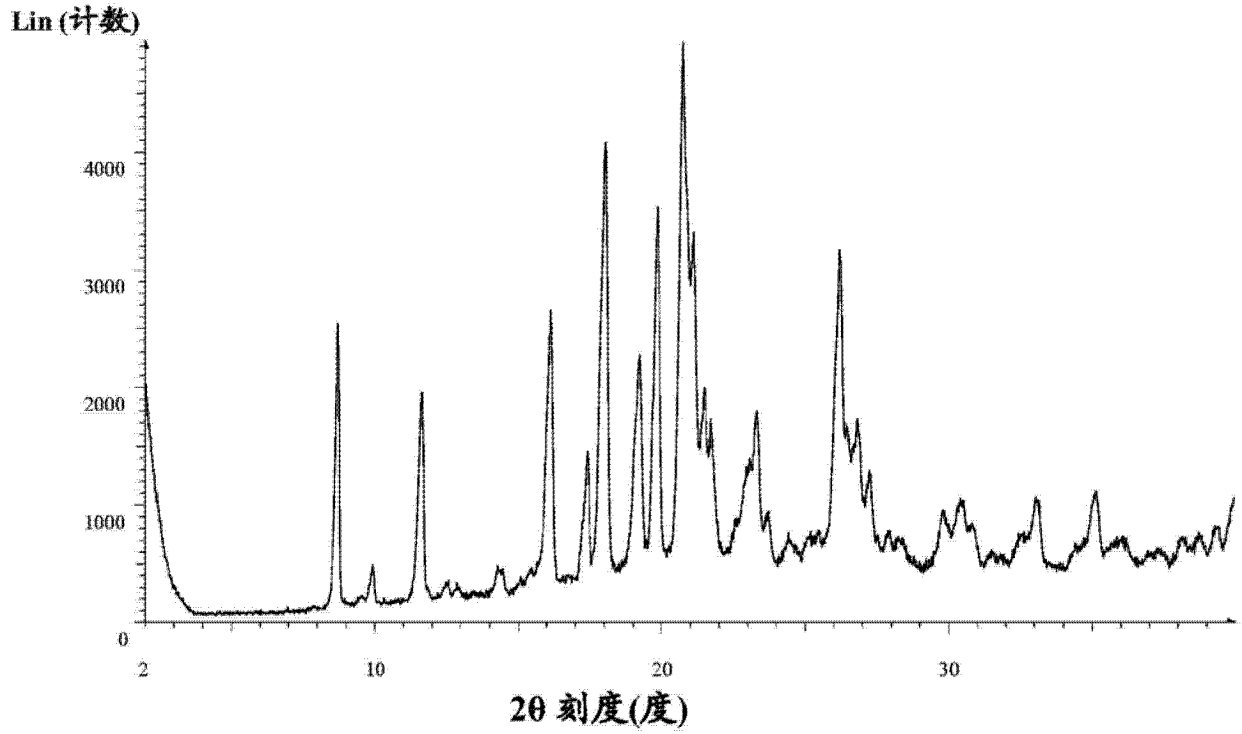


图 7