

發明專利說明書

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※ 申請案號： P311 P16P

※ 申請日期： 95.5.22

※IPC 分類：C07D; A61K 31/454, 31/4545
C01/14 (2006.1)

一、發明名稱：(中文/英文)

作為5-HT₄受體激動劑之苯并咪唑羧醯胺化合物

BENZIMIDAZOLE-CARBOXAMIDE COMPOUNDS AS 5-HT₄
RECEPTOR AGONISTS

二、申請人：(共 1 人)

姓名或名稱：(中文/英文)

美商施萬製藥

THERAVANCE, INC.

代表人：(中文/英文)

傑佛瑞 A 荷根漢

HAGENAH, JEFFREY A.

住居所或營業所地址：(中文/英文)

美國加州南舊金山市林蔭大道901號

901 GATEWAY BOULEVARD SOUTH SAN FRANCISCO CA 94080,

U. S. A.

國 籍：(中文/英文)

美國 U.S.A.

三、發明人：(共 9 人)

姓 名：(中文/英文)

1. 羅伯特 M 麥德基尼
MCKINNELL, ROBERT M.
2. 羅蘭 金德朗
GENDRON, ROLAND
3. 姜 嵐
JIANG, LAN
4. 崔錫基
CHOI, SEOK-KI
5. 丹尼爾 D 羅恩
LONG, DANIEL D.
6. 保羅 R 費瑟里
FATHEREE, PAUL R.
7. 丹尼爾 馬奎斯
MARQUESS, DANIEL
8. 席恩 M 戴立
DALZIEL, SEAN M
9. 克里斯汀 M 費克立
PHIZACKERLEY, KIRSTEN M

國 籍：(中文/英文)

1. 英國 U.K.
2. 加拿大 CANADA
3. 中國大陸 P.R.C.
4. 韓國 KOREA, REPUBLIC OF KOREA
5. 英國 U.K.
6. 美國 U.S.A.
7. 英國 U.K.
8. 澳大利亞 AUSTRALIA
9. 美國 U.S.A.

四、聲明事項：

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

☒ 申請前已向下列國家（地區）申請專利：

【格式請依：受理國家（地區）、申請日、申請案號 順序註記】

☒ 有主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

1. 美國；2005年05月25日；60/684,478

2. 美國；2005年05月25日；60/684,466

3. 美國；2005年12月08日；60/748,415

☐ 無主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

1.

2.

☐ 主張專利法第二十九條第一項國內優先權：

【格式請依：申請日、申請案號 順序註記】

☐ 主張專利法第三十條生物材料：

☐ 須寄存生物材料者：

國內生物材料 【格式請依：寄存機構、日期、號碼 順序註記】

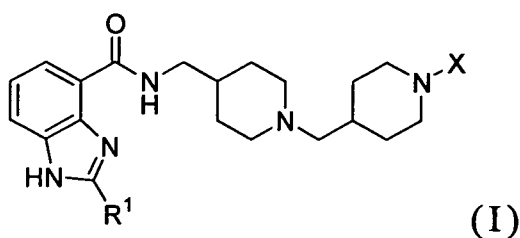
國外生物材料 【格式請依：寄存國家、機構、日期、號碼 順序註記】

☐ 不須寄存生物材料者：

所屬技術領域中具有通常知識者易於獲得時，不須寄存。

五、中文發明摘要：

本發明係關於式(I)之苯并咪唑羧醯胺 5-HT₄受體激動劑化合物：



其中 R¹及 X係如說明書中所定義，或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物或立體異構物。本發明亦係關於包含該等化合物之醫藥組合物，使用該等化合物治療與 5-HT₄受體活性相關之疾病之方法，及適用於製備該等化合物之方法及中間物。本發明進一步係關於式(I)化合物之結晶形式。

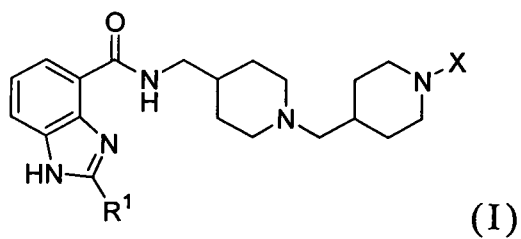
六、英文發明摘要：

七、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第(1)圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

(無元件符號說明)

八、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

九、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於適用作5-HT₄受體激動劑之苯并咪唑羧醯胺化合物。本發明亦係關於包含該等化合物之醫藥化合物、使用該等化合物治療或預防由5-HT₄受體活性介導之醫學病況之方法，及適用於製備該等化合物之方法及中間物。

【先前技術】

血清素(5-羥色胺，5-HT)為廣泛分佈於身體中之傳遞素，其同時存在於中樞神經系統及外周神經系統中。至少七個亞型之血清素受體已得到鑑定且血清素與此等不同受體之相互作用與廣泛多種生理功能有關。因此，存在對研製靶向特定5-HT受體亞型之治療劑的實質興趣。

詳言之，5-HT₄受體之特徵及與其相互作用之醫藥試劑之鑑定已成為近期重要活動關注之焦點(參見例如Langlois及Fischmeister, J. Med. Chem... 2003, 46, 319-344中之評述)。5-HT₄受體激動劑適用於治療胃腸道之活動性降低之病症。該等病症包括大腸急躁症(IBS)、慢性便秘、功能性消化不良、胃排空延遲、胃食道回流病(GERD)、胃輕癱、術後腸阻塞、腸道假性阻塞及藥物誘導延遲傳導(drug-induced delayed transit)。此外，已建議某些5-HT₄受體激動劑化合物可用於治療中樞神經系統病症，包括認知障礙、行為障礙、心境障礙及自主控制功能障礙。

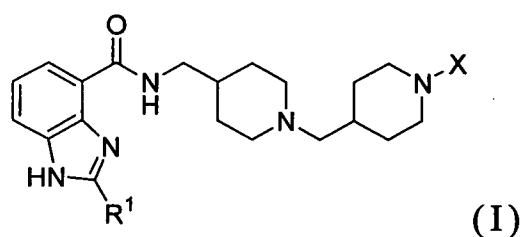
儘管醫藥試劑在調節5-HT₄受體活性中具有廣泛用途，

但目前臨床上很少使用 5-HT₄ 受體激動劑。因此，需要達成其所要作用而具有最小副作用之新穎的 5-HT₄ 受體激動劑。較佳試劑可除了其他特性以外具有改良之選擇性、效力、藥物代謝動力學特性，及/或作用之持續時間。

【發明內容】

本發明提供具有 5-HT₄ 受體激動劑活性之新穎化合物。除了其他特性以外，已發現本發明之化合物為有效及選擇性的 5-HT₄ 受體激動劑。此外，已發現本發明之較佳化合物在動物模型中呈現有益之藥物動力學特性，預期其在口服投藥之後具有良好之生物利用率。

因此，本發明提供式 (I) 之化合物：



其中：

R¹ 為視情況經 -OH 取代之 C₃₋₅ 烷基；且

X 係選自：

(a) -C(O)OR²，其中 R² 為 C₁₋₄ 烷基或 -(CH₂)_n- 苯基，其中 n 為 0 或 1；

(b) -C(O)R³，其中 R³ 係選自：

苯基，其視情況經 1、2 或 3 個選自 C₁₋₄ 烷基、鹵基、C₁₋₄ 烷氧基、-CF₃、-OCF₃、-OCHF₂ 及 -CN 之取代基取代，

C₁₋₅烷基，

C₄₋₅環烷基，及

-(CH₂)_m-A，其中m為0或1且A係選自胺基、呋喃基、苯硫基、嗎啉基、四氫呋喃基、吡啶基、萘基、吡咯基、硫代嗎啉基、吡咯啶基、哌啶基、氧代吡啶基、四氫噻唑基、1,1-二氧代異四氫噻唑基及2,4-二甲基異噁唑基；

(c) -C(O)NR⁴R⁵，其中R⁴為氫或C₁₋₃烷基，且R⁵為視情況經1、2或3個選自以下各基之取代基取代的苯基：C₁₋₄烷基、鹵基、C₁₋₄烷氧基、-CF₃、-OCF₃及-OCHF₂，

(d) -C(O)C(R⁶R⁷)R⁸，其中R⁶為氫或C₁₋₃烷基，且R⁷為氫、-OH或C₁₋₃烷基；或R⁶及R⁷一起形成酮基或-(CH₂)₂-；且R⁸為苯基或環己基，其中苯基或環己基視情況經1、2或3個選自C₁₋₄烷基、鹵基、C₁₋₄烷氧基、-CF₃、-OCF₃、-OCHF₂及-CN之取代基取代；

(e) -C(O)C(HR⁹)OR¹⁰，其中R⁹為氫或C₁₋₃烷基，且R¹⁰為視情況經1、2或3個選自C₁₋₄烷基、鹵基、C₁₋₄烷氧基、-CF₃、-OCF₃及-OCHF₂之取代基取代之苯基；且

(f) -S(O)₂R¹¹，其中R¹¹係選自C₁₋₃烷基、-CH₂-苯基、呋喃基、苯硫基、嗎啉基、四氫呋喃基、吡啶基、萘基、吡咯基、硫代嗎啉基、吡咯啶基、哌

啖基、氧代吡啶基、四氫噻唑基、1,1-二氧代異四氫噻唑基、2,4-二甲基異噁唑基，及苯基，其視情況經1、2或3個選自C₁₋₄烷基、鹵基、C₁₋₄烷氧基、-CF₃、-OCF₃、-OCHF₂及-CN之取代基取代；

或其醫藥上可接受之鹽或溶劑合物或立體異構物。

本發明亦提供一種包含本發明之化合物及醫藥學上可接受載劑的醫藥學組合物。

在另一態樣中，本發明提供一種結晶游離鹼形式之式(I)之特定化合物。已發現結晶4-(4-{[(2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羰基)胺基]甲基}-哌啶-1-基甲基)哌啶-1-羧酸甲酯之熔融溫度為約145°C至約155°C，通常介於約146與約148°C之間，降解溫度為約240°C以上，且當在室溫下暴露於約2%與約90%之間的相對濕度範圍內時呈現小於約0.25%之重量變化。在本發明之其他態樣中亦提供4-(4-{[(2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羰基)胺基]甲基}-哌啶-1-基甲基)哌啶-1-羧酸甲酯之其他結晶形式。

在一方法態樣中，本發明提供一種治療與5-HT₄受體活性相關之疾病或病況，例如胃腸道之活動性降低之病症的方法，該方法包含向哺乳動物投與治療有效量之本發明之化合物。

另外，本發明提供一種治療哺乳動物中與5-HT₄受體活性相關之疾病或病況之方法，該方法包含向該哺乳動物投與治療有效量之本發明之醫藥組合物。

本發明之化合物亦可用作研究工具，意即為了研究生物系統或樣本，或研究其他化合物之活性。因此，在其另一方法態樣中，本發明提供一種使用式(I)化合物或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物或立體異構物作為研究生物系統或樣本或發現新的5-HT₄受體激動劑之研究工具的方法，該方法包含使生物系統或樣本與本發明之化合物接觸且測定由該化合物在生物系統或樣本中產生之作用。

在獨立及不同態樣中，本發明亦提供合成方法及本文所述之中間物，其係適用於製備本發明之化合物。

本發明亦提供如本文所述用於醫學治療中的本發明之化合物，以及本發明之化合物在製造用於治療哺乳動物中與5-HT₄受體活性相關之疾病或病況(例如胃腸道之活動性降低之病症)之調配物或藥劑中的用途。

【實施方式】

本發明提供新穎的式(I)之苯并咪唑-羧醯胺5-HT₄受體激動劑，或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物或立體異構物。以下取代基及值意欲提供本發明之各種態樣之代表性實例。此等代表值意欲進一步界定該等態樣且不欲排除其他值或限制本發明之範疇。

在本發明之一特定態樣中，R¹為視情況經-OH取代之C₃₋₅烷基。

在另一特定態樣中，R¹為C₃₋₅烷基。

在其他特定態樣中，R¹為C₃₋₄烷基；或R¹為異丙基或第三丁基。

在另一特定態樣中， R^1 為異丙基。

在其他特定態樣中， R^1 為1-羥基-1-甲基乙基，或2-羥基-1-甲基乙基。

在一特定態樣中，X為 $-C(O)OR^2$ ，其中 R^2 為 C_{1-4} 烷基或 $-(CH_2)_n$ -苯基，其中n為0或1；

在另一態樣中，X為 $-C(O)OR^2$ ，其中 R^2 為 C_{1-3} 烷基或苯基。

在其他特定態樣中，X為 $-C(O)OR^2$ ，其中 R^2 為甲基或苯基，或其中 R^2 為甲基。

在一特定態樣中，X為 $-C(O)R^3$ ，其中 R^3 係選自苯基，其視情況經1、2或3個選自 C_{1-4} 烷基、鹵基、 C_{1-4} 烷氧基、 $-CF_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $-OCHF_2$ 及 $-CN$ 之取代基取代； C_{1-5} 烷基； C_{4-5} 環烷基；及 $-(CH_2)_m-A$ ，其中m為0或1，且A係選自胺基、呋喃基、苯硫基、嗎啉基、四氫呋喃基、吡啶基、萘基、吡咯基、硫代嗎啉基、吡咯啶基、哌啶基、氧代吡啶基、四氫噻唑基、1,1-二氧代異四氫噻唑基及2,4-二甲基異噻唑基。

在另一特定態樣中，X為 $-C(O)R^3$ ，其中 R^3 為苯基，其視情況經1、2或3個選自 C_{1-4} 烷基、鹵基、 C_{1-4} 烷氧基、 $-CF_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $-OCHF_2$ 及 $-CN$ 之取代基取代。

在另一特定態樣中，X為 $-C(O)R^3$ ，其中 R^3 為 C_{1-5} 烷基或 C_{4-5} 環烷基。

在另一特定態樣中，X為 $-C(O)R^3$ ，其中 R^3 為 $-(CH_2)_m-A$ ，其中m為0或1且A係選自胺基、呋喃基、苯硫基、嗎啉

基、四氫呋喃基、吡啶基、萘基、吡咯基、硫代嗎啉基、吡咯啉基、哌啶基、氧代吡啶基、四氫噻唑基、1,1-二氧代異四氫噻唑基及2,4-二甲基異噁唑基；

在另一特定態樣中，X為 $-C(O)R^3$ ，其中 R^3 為苯基，其視情況經1或2個選自 C_{1-4} 烷基、鹵基及 $-CF_3$ 之取代基取代；呋喃基；或苯硫基。

在另外其他特定態樣中，X為 $-C(O)R^3$ ，其中 R^3 為苯基，其視情況經1或2個選自甲基、氟、氯及 $-CF_3$ 之取代基取代；或 R^3 為呋喃-2-基或噻吩-2-基。

在一特定態樣中，X為 $-C(O)NR^4R^5$ ，其中 R^4 為氫或 C_{1-3} 烷基，且 R^5 為苯基，其視情況經1、2或3個選自 C_{1-4} 烷基、鹵基、 C_{1-4} 烷氧基、 $-CF_3$ 、 $-OCF_3$ 及 $-OCHF_2$ 之取代基取代。

在另一特定態樣中，X為 $-C(O)NR^4R^5$ ，其中 R^4 為氫。

在另一特定態樣中，X為 $-C(O)NR^4R^5$ ，其中 R^4 為氫且 R^5 為視情況經1或2個選自 C_{1-4} 烷基及鹵基之取代基取代的苯基。

在其他特定態樣中，X為 $-C(O)NR^4R^5$ ，其中 R^4 為氫，且 R^5 為視情況經1個鹵基或一個氟或氯取代之苯基。

在一特定態樣中，X為 $-C(O)C(R^6R^7)R^8$ ，其中 R^6 為氫或 C_{1-3} 烷基，且 R^7 為氫、 $-OH$ 或 C_{1-3} 烷基；或 R^6 及 R^7 一起形成酮基或 $-(CH_2)_2-$ ；且 R^8 為苯基或環己基，其中苯基或環己基視情況經1、2或3個選自 C_{1-4} 烷基、鹵基、 C_{1-4} 烷氧基、 $-CF_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $-OCHF_2$ 及 $-CN$ 之取代基取代。

在另一特定態樣中，X為 $-\text{C}(\text{O})\text{C}(\text{R}^6\text{R}^7)\text{R}^8$ ，其中 R^6 為氫。

在另一特定態樣中，X為 $-\text{C}(\text{O})\text{C}(\text{R}^6\text{R}^7)\text{R}^8$ ，其中 R^8 為視情況經1、2或3個選自 C_{1-4} 烷基、鹵基、 C_{1-4} 烷氧基、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{OCF}_3$ 、 $-\text{OCHF}_2$ 及 $-\text{CN}$ 之取代基取代之苯基。

在另一特定態樣中，X為 $-\text{C}(\text{O})\text{C}(\text{R}^6\text{R}^7)\text{R}^8$ ，其中 R^8 為視情況經1、2或3個選自 C_{1-4} 烷基、鹵基、 C_{1-4} 烷氧基、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{OCF}_3$ 、 $-\text{OCHF}_2$ 及 $-\text{CN}$ 之取代基取代的環己基。

在其他特定態樣中，X為 $-\text{C}(\text{O})\text{C}(\text{R}^6\text{R}^7)\text{R}^8$ ，其中 R^6 為氫，且 R^7 為氫、 $-\text{OH}$ 或甲基；或 R^6 及 R^7 一起形成酮基或 $-(\text{CH}_2)_2-$ ；且 R^8 為苯基或環己基，其中苯基或環己基視情況經1或2選自 C_{1-4} 烷基及鹵基之取代基取代；或 R^8 為苯基或環己基，其中苯基或環己基視情況經1或2個選自甲基、氟及氯之取代基取代。

在一特定態樣中，X為 $-\text{C}(\text{O})\text{C}(\text{HR}^9)\text{OR}^{10}$ ，其中 R^9 為氫或 C_{1-3} 烷基，且 R^{10} 為視情況經1、2或3個選自 C_{1-4} 烷基、鹵基、 C_{1-4} 烷氧基、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{OCF}_3$ 及 $-\text{OCHF}_2$ 之取代基取代的苯基。

在另一特定態樣中，X為 $-\text{C}(\text{O})\text{C}(\text{HR}^9)\text{OR}^{10}$ ，其中 R^9 為氫或甲基。

在其他特定態樣中，X為 $-\text{C}(\text{O})\text{C}(\text{HR}^9)\text{OR}^{10}$ ，其中 R^9 為氫或甲基，且 R^{10} 為視情況經1或2個選自 C_{1-4} 烷基及鹵基之取代基取代的苯基，或視情況經1或2個選自甲基、氟及氯之取代基取代的苯基。

在一特定態樣中，X為 $-S(O)_2R^{11}$ ，其中 R^{11} 係選自 C_{1-3} 烷基、 $-CH_2$ -苯基、呋喃基、苯硫基、嗎啉基、四氫呋喃基、吡啶基、萘基、吡咯基、硫代嗎啉基、吡咯啉基、哌啶基、氧代吡啶基、四氫噻唑基、1,1-二氧代異四氫噻唑基、2,4-二甲基異噁唑基，及視情況經1、2或3個選自 C_{1-4} 烷基、鹵基、 C_{1-4} 烷氧基、 $-CF_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $-OCHF_2$ 及 $-CN$ 之取代基取代的苯基。

在另一特定態樣中，X為 $-S(O)_2R^{11}$ ，其中 R^{11} 為 C_{1-3} 烷基、2,4-二甲基異噁唑基，或視情況經1、2或3個選自 C_{1-4} 烷基、鹵基、 C_{1-4} 烷氧基、 $-CF_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $-OCHF_2$ 及 $-CN$ 之取代基取代的苯基。

在其他特定態樣中，X為 $-S(O)_2R^{11}$ ，其中 R^{11} 為甲基，或視情況經1或2選自 C_{1-4} 烷基及鹵基之取代基或1或2個選自甲基、氟及氯之取代基取代的苯基。

在一態樣中，本發明提供式(I)之化合物，其中：

R^1 為 C_{3-4} 烷基；且

X係選自：

(a)- $C(O)OR^2$ ，其中 R^2 為 C_{1-3} 烷基或苯基；

(b)- $C(O)R^3$ ，其中 R^3 為視情況經1或2個選自 C_{1-4} 烷基、鹵基及 $-CF_3$ 之取代基取代之苯基；呋喃基；或苯硫基；

(c)- $C(O)NR^4R^5$ ，其中 R^4 為氫，且 R^5 為視情況經1或2個選自 C_{1-4} 烷基及鹵基之取代基取代之苯基；

(d)- $C(O)C(R^6R^7)R^8$ ，其中 R^6 為氫，且 R^7 為氫、 $-OH$ 或

甲基；或 R^6 及 R^7 一起形成酮基或 $-(CH_2)_2-$ ；且 R^8 為苯基或環己基，其中苯基或環己基視情況經1或2個選自 C_{1-4} 烷基及鹵基之取代基取代；

(e)- $C(O)C(HR^9)OR^{10}$ ，其中 R^9 為氫或甲基，且 R^{10} 為視情況經1或2個選自 C_{1-4} 烷基及鹵基之取代基取代的苯基；及

(f)- $S(O)_2R^{11}$ ，其中 R^{11} 為甲基或視情況經1或2個選自 C_{1-4} 烷基及鹵基之取代基取代的苯基。

本發明進一步提供式(I)之化合物，其中：

R^1 為異丙基或第三丁基；且

X係選自：

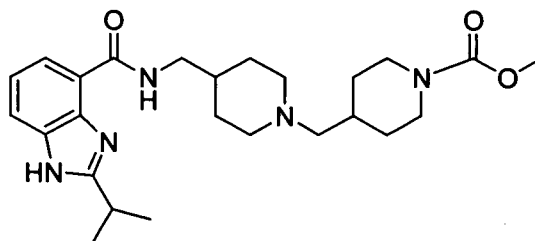
(a)- $C(O)OR^2$ ，其中 R^2 為甲基或苯基；

(b)- $C(O)R^3$ ，其中 R^3 為視情況經1或2個選自甲基、氯、氟及 $-CF_3$ 之取代基取代的苯基；呋喃-2-基；或噻吩-2-基；及

(c)- $C(O)NR^4R^5$ ，其中 R^4 為氫，且 R^5 為視情況經1個氯或氟取代之苯基。

在其他特定態樣中，本發明提供列於以下實例及表I至IX中之化合物。

本文所用之化學命名規則係以實例1之化合物來說明：



根據由 MDL Information Systems, GmbH (Frankfurt, Germany) 提供之 AutoNom 軟體將其命名為 4-(4-{[(2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羰基)胺基]甲基}-哌啶-1-基甲基)哌啶-1-羧酸甲酯。稠環結構"苯并咪唑"或者可命名為"苯并咪唑"。本文所用之兩個術語為等價的。

如由下表中列出之特定化合物所例示，本發明之化合物可含有一對掌性中性。因此，除非另外指出，否則本發明包括外消旋混合物、純立體異構物及富含立體異構物之該等異構體之混合物。當展示特定立體異構物時，熟習此項技術者應瞭解：除非另外指出，否則在本發明之組合物中可存在少量其他立體異構物，其限制條件為該組合物之任何效用總體而言不由該等其他異構體之存在而消除。

在一態樣中，本發明提供選自以下各物之化合物：

4-(4-{[(2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羰基)-胺基]甲基}哌啶-1-基甲基)哌啶-1-羧酸甲酯；

4-(4-{[(2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羰基)-胺基]-甲基}哌啶-1-基甲基)哌啶-1-羧酸苯酯；

2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羧酸{1-[1-(2-氯苯甲醯基)哌啶-4-基甲基]哌啶-4-基甲基}醯胺；

2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羧酸{1-[1-(2,4-二氯-苯甲醯基)哌啶-4-基甲基]哌啶-4-基甲基}醯胺；

2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羧酸{1-[1-(呋喃-2-羰基)-哌啶-4-基甲基]哌啶-4-基甲基}醯胺；

2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羧酸{1-[1-(噻吩-2-羰基)哌啶-

4-基甲基]哌啶-4-基甲基}醯胺；

2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羧酸{1-[1-(2-氟-5-三氟甲基苯甲醯基哌啶-4-基甲基)哌啶-4-基甲基}醯胺；

2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羧酸{1-[1-(2-氟-苯基胺甲醯基)哌啶-4-基甲基]哌啶-4-基甲基}-醯胺；

4-(4-{[(2-第三丁基-1H-苯并咪唑-4-羧基)-胺基]-甲基}哌啶-1-基甲基)哌啶-1-羧酸甲酯；

2-第三丁基-1H-苯并咪唑-4-羧酸{1-[1-(2-氟-苯甲醯基)-哌啶-4-基甲基]哌啶-4-基甲基}醯胺；

2-第三丁基-1H-苯并咪唑-4-羧酸{1-[1-(3-甲基-苯甲醯基)-哌啶-4-基甲基]哌啶-4-基甲基}醯胺；及

2-第三丁基-1H-苯并咪唑-4-羧酸{1-[1-(4-氟苯甲醯基)-哌啶-4-基甲基]哌啶-4-基甲基}醯胺。

定義

當描述本發明之化合物、組合物及方法時，除非另外指出，否則以下術語具有以下意義。

術語"烷基"意謂可為直鏈或支鏈或其組合之單價飽合烴基。除非另外定義，否則該等烷基通常含有1至10個碳原子。代表性烷基包括例如甲基(Me)、乙基、正丙基(n-Pr)、異丙基(iPr)、正丁基(n-Bu)、第二丁基、異丁基、第三丁基(tBu)、正戊基、正己基、正庚基、正辛基、正壬基、正癸基及其類似物。

術語"烷氧基"意謂單價基團-O-烷基，其中烷基係如上定義。代表性烷氧基包括例如甲氧基、乙氧基、丙氧基、

丁氧基及其類似物。

術語"環烷基"意謂可為單環或多環之單價飽和碳環基團。除非另外定義，否則該等環烷基通常含有3至10個碳原子。代表性環烷基包括例如環丙基、環丁基、環戊基、環己基、環庚基、環辛基及其類似物。

術語"鹵基"意謂氟、氯、溴或碘。

術語"酮基"意謂雙鍵氧原子(=O)。

術語"化合物"意謂以諸如代謝作用之任何其他方式合成製備或產生之化合物。

術語"治療有效量"意謂當投與需要治療之患者時足以實現治療之量。

本文所用之術語"治療"意謂諸如哺乳動物(詳言之人類)之患者中之疾病、病症或醫學病況之治療，其包括：

- (a) 預防該疾病、病症或醫學病況發生，即患者之預防性治療；
- (b) 改善該疾病、病症或醫學病況，即消除患者中之疾病、病症或醫學病況或導致其衰退；
- (c) 抑制該疾病、病症或醫學病況，即減慢或阻止患者中之疾病、病症或醫學病況之發展；或
- (d) 減輕患者中之該疾病、病症或醫學病況之症狀。

術語"醫藥學上可接受之鹽"意謂由投與諸如哺乳動物之患者的可接受之酸或鹼製備的鹽。該等鹽可自醫藥學上可接受之無機或有機酸及自醫藥學上可接受之鹼衍生而來。通常，本發明之化合物之醫藥學上可接受之鹽係由酸製

備。

源自醫藥學上可接受之酸的鹽包括(但不限於)：乙酸、脂肪酸、苯磺酸、苯甲酸、樟腦磺酸、檸檬酸、乙磺酸、反丁烯二酸、葡萄糖酸、麴胺酸、氫溴酸、氫氯酸、乳酸、順丁烯二酸、羥基丁二酸、扁桃酸、甲磺酸、黏液酸、硝酸、泛酸、磷酸、丁二酸、硫酸、酒石酸、對甲苯磺酸、西那弗酸(xinafoic)(1-羥基-2-萘甲酸)、萘-1,5-二磺酸及其類似物。

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

應瞭解術語"或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物或立體異構物"意欲包括鹽、溶劑合物及立體異構物之所有排列，諸如式(I)化合物之立體異構物之醫藥上可接受之鹽的溶劑合物。

術語"胺基保護基"意謂適於防止胺基氮處之不需要反應的保護基。代表性胺基保護基包括(但不限於)：醛基；鹽基，例如烷鹽基，諸如乙鹽基；烷氧基羰基，諸如第三丁氧基羰基(Boc)；芳基甲氧基羰基，諸如苯甲氧基羰基(Cbz)及9-芴基甲氧基羰基(Fmoc)；芳基甲基，諸如苯甲基(Bn)、三苯甲基(Tr)及1,1-二-(4'-甲氧基苯基)甲基；矽烷

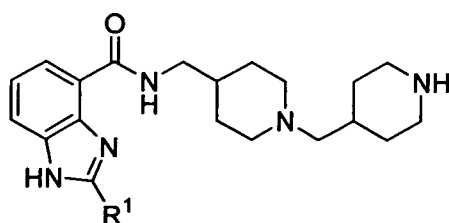
基，諸如三甲基矽烷基(TMS)及第三丁基二甲基矽烷基(TBDMS)；及其類似物。

一般合成程序

本發明之化合物可自易於獲得之起始物質使用以下一般方法及程序來製備。儘管本發明之一特定態樣係在以下流程中說明，但熟習此項技術者將認識到本發明之所有態樣可使用本文描述之方法或藉由使用熟習此項技術者已知之其他方法、試劑及起始物質來製備。亦應瞭解當給予典型或較佳方法條件(即反應溫度、時間、反應物之莫耳比、溶劑、壓力等)時，除非另外說明，否則亦可使用其他方法條件。最優反應條件可隨著所用特定反應物或溶劑而變化，但該等條件可藉由常規最優化程序由熟習此項技術者來確定。

另外，如熟習此項技術者所顯而易見的：可需要習知之保護基以防止特定官能基經受不需要之反應。對用於特定官能基之適當保護基以及保護及去保護之適當條件的選擇在此項技術中已知。例如，許多保護基及其引入與移除係描述於T. W. Greene及G. M. Wuts, *Protecting Groups in Organic Synthesis*, 第3版, Wiley, New York, 1999及本文所引用之文獻中。

在一合成方法中，式(I)化合物係藉由使式(II)之哌啶基甲基-哌啶基甲基中間物與式(III)之試劑反應來製備：



(II)

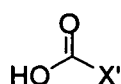


(III)

其中L為脫離基，例如鹵基，諸如氯或鹽氧基、磺酸酯或氧基琥珀鹽亞胺，且R¹及X係如式(I)中所定義。

反應通常係藉由使中間物(II)與介於約1與約1.5當量之間的中間物(III)在至少一個當量之諸如N,N,-二異丙基乙基胺之胺鹼之存在下在諸如二氯甲烷之極性非質子性稀釋劑中接觸來進行。用於此方法及彼等描述於下文中之適當惰性稀釋劑亦包括N,N-二甲基甲鹽胺、三氯甲烷、1,1,2,2-四氯乙烷、四氫呋喃及其類似物。用於本發明之方法之適當胺鹼亦包括三乙基胺、吡啶及其類似物。反應通常在約0°C至約30°C之範圍內之溫度下進行歷時約15分鐘至約2個小時，或直至反應大體上完成。例示性試劑L—X(其中L為氯)包括氯甲酸甲酯、氯甲酸苯酯、氯苯甲鹽氯化物及甲烷磺鹽氯化物。

在一替代合成方法中，其中X選自-C(O)R³、-C(O)C(R⁶R⁷)R⁸及-C(O)C(HR⁹)OR¹⁰之式(I)化合物可藉由式(II)之中間物與式(IV)之羧酸的鹽胺偶合反應來製備：

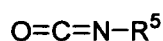


(IV)

在式(IV)中，X'代表 R^3 、 $C(R^6R^7)R^8$ 或 $C(HR^9)OR^{10}$ ，以便 $-C(O)X'$ 對應於X，如上式(IV)所闡述。在式(II)之醯胺偶合反應中，使介於約1與約1.5當量之間的羧酸(IV)首先與介於1與約1.5當量之間的諸如O-(7-氮雜苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基錄六氟磷酸鹽(HATU)之偶合試劑在諸如二甲基甲醯胺或彼等描述於上文之極性非質子性溶劑中接觸。接著使酸混合物與中間物(II)在介於約2與約4當量之間的(例如)N,N-二異丙基乙基胺之胺鹼的存在下接觸。反應通常在約0°C至約30°C之範圍內的溫度下進行歷時約15分鐘至約2小時，或直至反應大體上完成。

適當的替代性偶合試劑包括N-乙基-N'-(3-二甲基胺基丙基)碳化二醯亞胺鹽酸鹽(EDC)、1,1'-羰基二咪唑(CDI)、1,3-二環己基碳化二醯亞胺(DCC)及苯并三唑-1-基氧基三吡咯啉并-六氟磷酸鎂(PyBop)。偶合試劑可與例如1-羥基-7-氮雜苯并三唑(HOAt)、羥基苯并三唑(HOBt)或1,4-二氮雜二環[2,2,2]辛烷(DABCO)之促進劑組合。

在另一替代方法中，其中為X為 $-C(O)NHR^5$ 之式(I)化合物可藉由使式(II)之中間物與以下形式之異氰酸酯反應來製備：



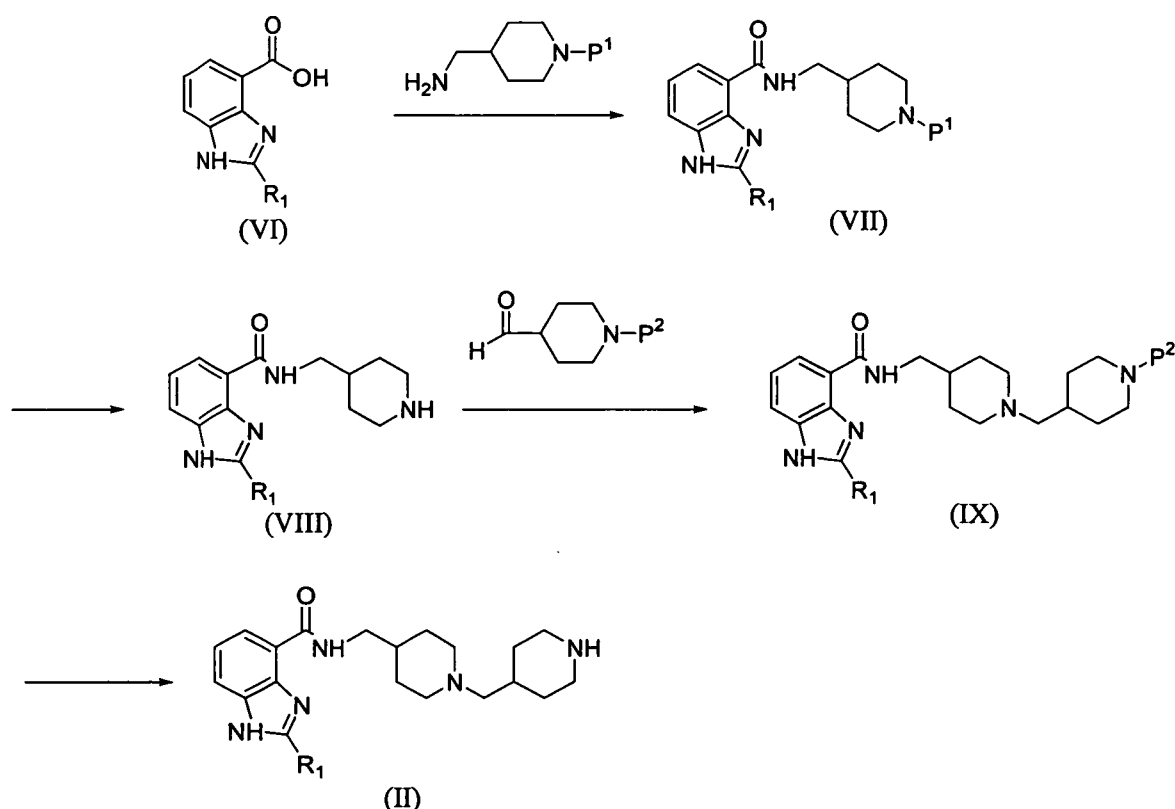
(V)

反應通常係藉由使中間物(II)與介於約1與約1.5當量之間的中間物(V)在約2與約4當量之間的胺鹼存在下於極性非質子性稀釋劑中接觸來進行。反應通常在約0°C至約30°C之範圍內的溫度下進行歷時約15分鐘至約24小時，或直至反應大體上完成。

藉由習知程序分離及純化式(I)之產物。例如可在減壓下使產物濃縮至乾燥且藉由HPLC層析法純化殘餘物。

藉由流程A中所說明之程序由易於獲得之起始物質製備式(II)之哌啶基甲基-哌啶基甲基中間物。

流程 A



其中 P^1 及 P^2 獨立代表胺基保護基，諸如第三丁氧基羰基(Boc)。

首先，將式(VI)之羧酸與經保護之胺基甲基哌啶反應以

形成經保護之式(VII)中間物。此反應通常係藉由使(VI)與介於約1與約2當量之間的經保護之胺基甲基哌啶在例如與羥基苯并三唑(HOBt)組合之N-乙基-N'-(3-二甲基胺基丙基)碳化二醯亞胺鹽酸鹽(EDC)或與1,4-二氮雜二環[2,2,2]辛烷(DABCO)組合之1,1'-羰基二咪唑(CDI)的如上所述之醯胺偶合試劑的存在下於極性非質子性稀釋劑中接觸來進行。反應通常在約0°C至約60°C之範圍內的溫度下進行歷時約1與約24小時之間的時間，或直至反應大體上完成。

藉由習知方法將保護基P¹自中間物(VII)移除以提供中間物(VIII)。例如，當將Boc用作保護基時，其可藉由以諸如三氟乙酸或鹽酸之酸之處理來移除。

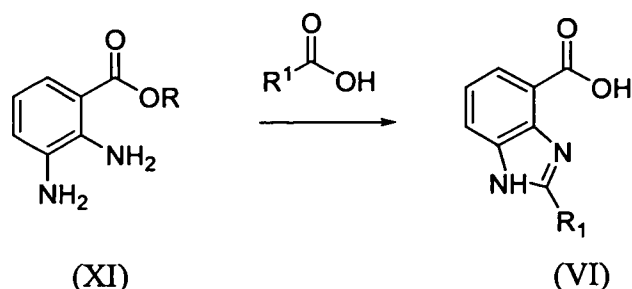
接著藉由以經保護之哌啶-羧醛對中間物(VIII)進行還原胺化來形成式(IX)之中間物。通常使(VIII)與介於約1與約2當量之間的經保護之哌啶-羧醛在惰性稀釋劑中在介於約1與約2當量之間的還原劑存在下接觸來進行此反應。視情況可包括約1當量之諸如乙酸之弱酸以加速反應。反應可在約0°C與約30°C之間、通常20°C與約30°C之間的溫度下進行歷時約0.25至約2小時，或直至反應大體上完成。

適當的惰性稀釋劑包括二氯甲烷、三氯甲烷、1,1,2,2-四氯乙烷及其類似物。典型還原劑包括三乙醯氧基硼氫化鈉、硼氫化鈉及氰基硼氫化鈉。藉由標準程序分離產物(IX)。當提供呈酸鹽之胺(VIII)時，通常在反應中包括介於約1與約3當量之間的胺鹼，諸如N,N-二異丙基乙基胺。最後，藉由習知程序自中間物(IX)移除保護基P²以提供哌

啖基甲基-啖啖基甲基中間物(II)。

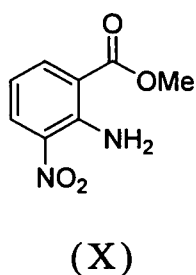
式(VI)之羧酸可藉由流程B中所說明之方法由二胺基苯甲酸或酯來製備。

流程 B



其中 R 表示甲基或氫。中間物(XI)與羧酸 $R^1C(O)OH$ 反應形成酸中間物(VI)。此反應通常藉由使酸或酯(XI)與介於約2與約4當量之間的羧酸 $R^1C(O)OH$ 在酸性水溶液中接觸來進行。此反應通常在約 $80^{\circ}C$ 至約 $100^{\circ}C$ 之範圍內的溫度下進行歷時約12至約72小時。接著藉由添加諸如氫氧化鈉之鹼使溶液之pH值增加，且藉由習知方式分離產物。

用於提供呈甲基酯之中間物(XI)的習知方法使用2-胺基-3-硝基苯甲酸甲酯(X)：

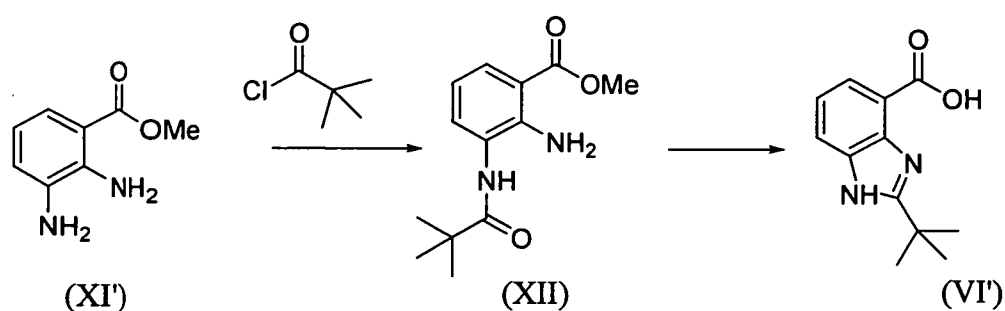


作為起始物質。通常，使2-胺基-3-硝基苯甲酸甲酯(X)溶於極性稀釋劑中且藉由在過渡金屬催化劑存在下暴露於

氫氣氛中來還原以提供二胺基苯甲酸甲酯(XI)。通常在周圍溫度下使反應進行歷時約12至約72小時。

當取代基R¹在位阻上龐大，例如當R¹為第三丁基時，則第三丁基苯并咪唑羧酸(VI')可根據(例如)於流程C中之兩步方法藉由甲酯(XI')之轉化來製備：

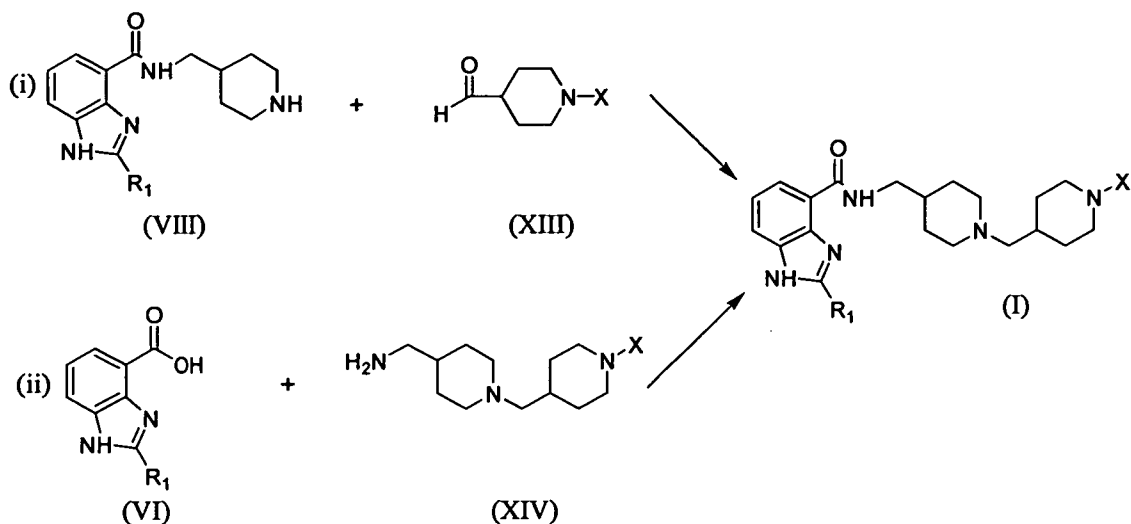
流程 C



如以下製備方法3中所詳細描述的，甲酯(XI')首先與2,2-二甲基丙醯氯化物反應以提供中間物(XII)，其在強酸溶液中回流，通常歷時約12與約72小時之間的時間以提供第三丁基苯并咪唑羧酸(VI')。

在替代合成方法中，式(I)化合物可根據流程D中說明之方法路徑使用還原性胺化作用及描述於上文中之其他反應，及/或使用熟習此項技術者已知之替代性方法來製備。

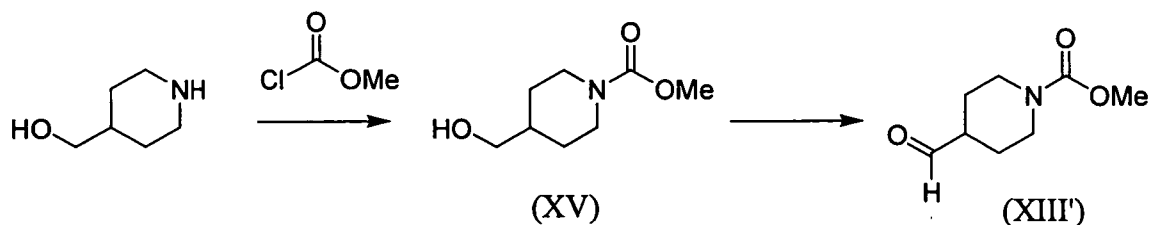
流程 D



如方法路徑 (i) 所示，式 (VIII) 之中間物與式 (XIII) 之中間物反應以得到式 (I) 之化合物。通常在上文所述之用於流程 A 中之胺 (VIII) 與經保護之哌啶-羧醛反應之條件下進行該反應。

中間物 (XIII) 可藉由 4-羥基甲基哌啶與試劑式 (III) 之 L-X 反應，接著氧化所得中間物來製備。例如，對於 X 為 $-C(O)OCH_3$ 之特定狀況，中間物 (XIII) 可如流程 E 中所示地來製備。

流程 E



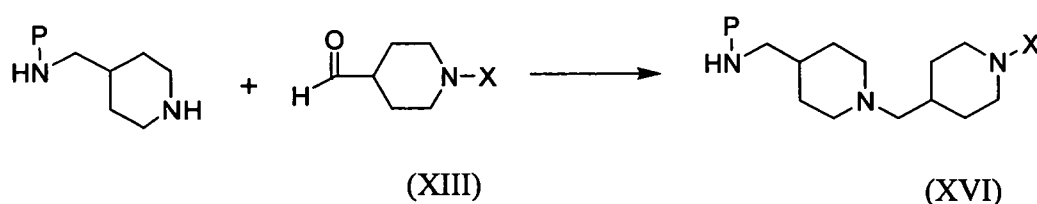
首先使 4-羥基甲基哌啶與氯甲酸甲酯反應以形成羥基甲基哌啶中間物 (XV)。通常藉由使於水溶液中之 4-羥基甲基哌啶與介於約 3 與約 5 當量之間的氯甲酸甲酯在約 3 與約 5 當

量之間的鹼存在下接觸來進行該反應。反應通常在約0°C至約30°C之範圍內的溫度下進行歷時約12分鐘至約72小時，或直至反應大體上完成。接著將中間物(XV)氧化以形成醛基哌啶基中間物(XIII')。氧化反應通常利用氧化試劑，諸如草醯氯與二甲基亞碲(Swern氧化)之組合，諸如氯鉻酸吡錠之鉻酸鹽試劑，或諸如次氯酸鈉之氧化劑，以及諸如2,2,6,6-四甲基-1-哌啶基氧基游離基(TEMPO)之催化劑。

使用中間物(XIII')根據流程D之方法路徑(i)進行的式(I)化合物之製備係描述於以下實例214及216中。

如方法路徑(ii)中所示，式(I)之化合物亦可藉由使式(VI)之羧酸與式(XIV)之中間物反應。如流程F中所說明，中間物(XIV)可藉由使經保護之胺基甲基哌啶與中間物(XIII)反應來製備。

流程F



其中P為胺基保護基，以提供經保護之式(XVI)中間物，繼之進行去保護步驟。根據方法路徑(ii)之製備係描述於以下製備4及實例14及15中。

試劑 L-X(III)、X'C(O)OH(IV)、O=C=N=R⁵(V)及R¹C(O)OH可購得或可易於由常用起始物質藉由標準程序來製備。

關於本發明之與特定反應條件的進一步細節及此外用於製備本發明之代表性化合物或中間物之其他程序係在下以下實例中描述。

因此，在一方法態樣中，本發明提供一種製備式(I)化合物、其鹽或立體異構物之方法，該方法包含：(a)使式(II)之化合物與式(III)之化合物反應；(b)使式(VIII)之化合物與式(XIII)之化合物反應；或(c)使式(VI)之化合物與式(XIV)之化合物反應以提供式(I)之化合物或其鹽或立體異構物。

在一額外方法態樣中，本發明提供一種製備式(I)之化合物之方法，其中X係選自 $-C(O)R^3$ 、 $-C(O)C(R^6R^7)R^8$ 及 $-C(O)C(HR^9)OR^{10}$ 或其鹽或立體異構物，其中X'表示 R^3 、 $C(R^6R^7)R^8$ 或 $C(HR^9)OR^{10}$ ，該方法包含使式(II)之化合物與式(IV)之化合物反應，以提供式(I)之化合物或其鹽或立體異構物。

本發明進一步提供式(II)之化合物，或其鹽或立體異構物或經保護之衍生物，其中 R^1 係如式(I)中所定義。

結晶形式

在另一態樣中，本發明提供結晶游離鹼形式或其溶劑合物之4-(4-{[(2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羰基)胺基]甲基}-哌啶-1-基甲基)哌啶-1-羧酸甲酯。已觀察到三種不同形式之結晶4-(4-{[(2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羰基)胺基]甲基}-哌啶-1-基甲基)哌啶-1-羧酸甲酯。

本發明之結晶形式I為結晶游離鹼。形式I之特徵為粉末x

光繞射(PXRD)圖案，其在選自 15.08 ± 0.20 、 15.41 ± 0.20 、 19.00 ± 0.20 、 19.70 ± 0.20 及 23.68 ± 0.20 之 2θ 值處具有兩個或兩個以上繞射峰。詳言之，形式I之特徵在於粉末x光繞射(PXRD)圖案在 19.00 ± 0.20 及 19.70 ± 0.20 之 2θ 值處具有繞射峰。

如在粉末x-光繞射領域中所熟知的，PXRD光譜之峰位置對於諸如樣品製備及儀器幾何尺寸之實驗細節之敏感性比相對峰高度對於該等細節之敏感性相對較低。因此，在一態樣中，結晶形式I之特徵為粉末x-光繞射圖案，其中峰位置與圖1中所示的大體上一致。

形式I之進一步特徵在於晶體結構之x光繞射分析，提供如下晶格參數：單位晶胞為斜方晶，其尺寸為 $a=16.9053\text{ \AA}$ 、 $b=9.5172\text{ \AA}$ 、 $c=15.4659\text{ \AA}$ ；空間群為 $Pna2_1$ ；計算密度為 1.22 g/cm^3 。所得分子結構證實化學組合物為化合物1且不對稱單元不含有水或其他溶劑分子。由所衍生之原子位置預測的粉末x-光繞射峰與所觀測之結果極為一致。

如其差示掃描熱量測定(DSC)概況所證實的，本發明之結晶形式I之特徵亦在於高溫熱穩定性，如圖2中所示其在以下範圍內展示一吸熱熱流之峰：約 145°C 至約 155°C ，通常介於約 146 與 148°C 之間，其可鑑定為熔點。另外，熱重量分析(TGA)概況展示在降解開始之溫度之下(其係在約 240°C 以上)無顯著重量變化事件。

在又一態樣中，本發明結晶形式之特徵為其紅外吸收光

譜在約 766、1097、1251、1413、1449、1579、1609、1640及1696 cm^{-1} 處顯示顯著之吸收帶。

已證實本發明之結晶形式具有一可逆吸附/解吸附概況，其具有及其低水平之吸濕性(即在室溫下在2%對濕度至90%相對濕度之濕度範圍內小於約0.25%增重)，如圖3中所示。

另外，已發現暴露於高溫及濕度下的化合物1之結晶形式係穩定的。在40°C及75%之相對濕度下儲存三個月後，未發現DSC、TGA或PXRD概況之可檢測的變化、由HPLC分析所測定之化學純度變化，且未發現可見之外觀變化。在將形式I之顆粒自約470微米之基於體積的平均粒徑研磨成約15、約22或約29微米之基於體積的平均粒徑之後，亦未發現由DSC、TGA或PXRD所檢測到的變化。

化合物1之結晶形式II之特徵為圖4之DSC及TGA概況。TGA分析展示在約95至約105°C範圍內之溫度下，通常約100°C時開始發生重量損失，其係以與水或溶劑損失相一致之臺階狀曲線形式，而DSC概況展示在約143及約145°C時的吸熱熱流之峰，其與熔融事件同時發生。形式II之PXRD圖案與形式I之PXRD圖案不能分辨。儘管未作出肯定的鑑定，但形式II之TGA概況與形式II作為溶劑合物時之解釋一致。

本發明之第三結晶形式已經鑑定為單水合物。形式III之特徵為粉末x光繞射(PXRD)圖案，其在選自 9.14 ± 0.20 、 12.41 ± 0.20 、 12.74 ± 0.20 、 17.75 ± 0.20 、 18.47 ± 0.20 、

20.63±0.20、21.13±0.20及27.05±0.20之2θ值處具有兩個或兩個以上繞射峰，如圖5所示。詳言之，形式III之特徵在於粉末x光繞射圖案在9.14±0.20及20.63±0.20之2θ值處具有繞射峰。

如圖6中所示，式III之DSC及TGA之概況證明材料在約65至約75°C之溫度範圍內，通常在70°C時經受臺階狀曲線之重量損失的開始，及在約90與約100°C之間的溫度下之吸熱熱流之峰，其與單水合物之水及隨後之熔融相一致。形式III之進一步特徵在於晶體結構之x光繞射分析，提供如下晶格參數：單位晶胞為單斜晶，其尺寸為a=14.8101 Å、b=9.9985 Å、c=17.9222 Å；β=106.3020°、空間群為P2₁/n；計算密度為1.23 g/cm³。所得分子結構證實化學組合物為化合物1且不對稱單元含有單個水分子。

本發明之單獨結晶形式可藉由以下程序可再生產地獲得。結晶形式I可藉由以下步驟來製備：將化合物1分散於選自乙腈、醚、環己烷及乙酸乙酯之比例介於約15 mg及約25 mg化合物1/微升稀釋劑之間的惰性稀釋劑中以形成混合物，且允許混合物在周圍溫度下蒸發，從而導致晶體形成。

或者，如以下實例216中所述，可藉由自溶液中之粗化合物1之溶劑交換過程，而不需首先分離非晶形化合物1來獲得形式I。通常在諸如二氯甲烷之極性非質子性稀釋劑中(化合物可高度溶解於其中)進行製備化合物1之反應。為了製備結晶形式I，在真空蒸餾粗反應產物時添加乙腈以移除二氯甲烷。由蒸餾後殘留之殘餘物製備每微升乙腈具

有介於約1與約200 mg之間的化合物1，通常每微升乙腈具有介於約50與約125 mg之間的化合物1之混合物，且將其加熱至足以溶解殘餘物之溫度，例如約75°C之溫度。接著將混合物冷卻至不高於約20°C之溫度以提供結晶形式I，其可藉由習知程序來分離。在一例示性方法中，通常在約55及約65°C之溫度下將混合物冷卻直至晶核生成，且在該溫度下保持約1小時。接著在每分鐘約0.25與約0.4°C之間的速率下冷卻至約20°C之溫度。為了增加結晶形式I之產量，可在每分鐘約0.5與約0.75°C之間的速率下將混合物進一步冷卻至介於約0與約5°C之間的溫度。

為了製備形式II，在周圍溫度下將非晶形化合物1分散於己烷中以形成約10 mg/mL之濃度，且超聲處理所得混合物。在周圍溫度下24小時之後獲得形式II之結晶固體。

藉由在周圍溫度下將非晶形化合物1溶解於1:1乙醇:水溶劑混合物中以得到約20 mg/mL之最終濃度且以超聲處理該溶液歷時約30秒來製備形式III。使溶液在無蓋小瓶中部分蒸發。在約24小時之後獲得形式III之結晶固體。

醫藥組合物

本發明之苯并咪唑-羧醯胺化合物通常係以醫藥組合物之形式投與患者。該等醫藥組合物可藉由任何可接受之投藥途徑投與患者，該等途徑包括(但不限於)：口服、直腸、陰道、鼻、吸入、局部(包括經皮)及非經腸投藥模式。

因此，在其組合物之一態樣中，本發明係關於一種包含

以下物質之醫藥組合物：醫藥學上可接受之載劑或賦形劑及治療有效量之式(I)化合物或其醫藥學上可接受之鹽或溶劑合物。視情況，若需要，則該等醫藥組合物可含有其他治療劑及/或調配劑。

本發明之醫藥組合物通常含有治療有效量之本發明之化合物或其醫藥上可接受之鹽。通常，該等醫藥組合物將含有約0.1至約95重量%之活性劑；包括約5至約70重量%；及約10至約60重量%之活性劑。

任何習知載劑或賦形劑均可用於本發明之醫藥組合物中。對於特定載劑或賦形劑，或載劑或賦形劑之組合的選擇將視所用來治療特定患者之投藥模式或醫學病況之類型或疾病狀態而定。就此而言，用於特定投藥模式之適當醫藥組合物之製備正好在熟習醫藥技術者已知之範疇內。另外，用於此等組合物之成份係自例如 Sigma, P.O. Box 14508, St. Louis, MO 63178購得。進一步舉例而言，習知調配技術係描述於 Remington: The Science and Practice of Pharmacy，第20版，Lippincott Williams & White, Baltimore, Maryland (2000)；及 H.C. Ansel 等人，Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems，第7版，Lippincott Williams & White, Baltimore, Maryland (1999)中。

可用作醫藥學上可接受之載劑之材料的代表性實例包括但不限於：(1)糖，諸如乳糖、葡萄糖及蔗糖；(2)澱粉，諸如玉米澱粉及馬鈴薯澱粉；(3)纖維素，諸如微晶纖維素，及其衍生物，諸如羧甲基纖維素鈉、乙基纖維素及纖

維素乙酸酯；(4)粉狀黃耆膠；(5)麥芽；(6)明膠；(7)滑石；(8)賦形劑，諸如可可脂及栓劑蠟(9)油，諸如花生油、棉子油、紅花油、芝麻油、橄欖油、玉米油及大豆油；(10)二醇，諸如丙二醇；(11)多元醇，諸如丙三醇、山梨醇、甘露醇及聚乙二醇；(12)酯，諸如油酸乙酯及月桂酸乙酯；(13)瓊脂；(14)緩衝劑，諸如氫氧化鎂及氫氧化鋁；(15)海藻酸；(16)無熱原質之水；(17)等滲鹽水；(18)林格氏溶液(Ringer's solution)；(19)乙醇；(20)磷酸鹽緩衝溶液；及(21)在此醫藥組合物中所用之其他非毒性相容物質。

本發明之醫藥組合物通常係藉由充分及密切混合或摻合本發明之化合物與醫藥學上可接受之載劑及一或多種可選成份來製備。若需要或必要時，則可接著使用習知程序及設備使所得均勻摻合之混合物成形或裝載至錠劑、膠囊、丸劑及類似物中。

本發明之醫藥組合物較佳係以單位劑型來封裝。術語"單位劑型"係指適於給予患者的物理上離散之單位，即各單位含有經計算的預定量之活性劑以單獨或與一或多種額外單位組合產生所要治療效果。例如，該單位劑型可為膠囊、錠劑、丸劑及其類似物。

在一較佳實施例中，本發明之醫藥組合物適於口服投藥。用於口服投藥之適當醫藥組合物可為膠囊、錠劑、丸劑、口含劑、扁囊劑、糖衣藥丸、散劑、顆粒劑之形式；或作為於水性或非水性液體中之溶液或懸浮液；或作為水

包油或油包水乳液；或作為酳劑或糖漿；及類似形式；各含有預定量之本發明之化合物作為活性成份。

當欲以固體劑型(即膠囊、錠劑、丸劑及其類似物)口服投藥時，本發明之醫藥組合物通常包含作為活性成份之本發明之化合物及一或多種醫藥學上可接受之載劑，諸如檸檬酸鈉或磷酸二鈣。視情況或選擇性的，該固體劑型亦可包含：(1)填充劑或增量劑，諸如澱粉、微晶纖維素、乳糖、蔗糖、葡萄糖、甘露醇及/或矽酸；(2)黏合劑，諸如羧甲基纖維素、海藻酸鹽、明膠、聚乙烯吡咯啶酮、蔗糖及/或阿拉伯膠；(3)濕潤劑，諸如甘油；(4)崩解劑，諸如瓊脂、碳酸鈣、馬鈴薯或木薯澱粉、海藻酸、特定矽酸鹽，及/或碳酸鈉；(5)溶液阻滯劑，諸如石蠟；(6)吸收加速劑，諸如第四銨化合物；(7)潤濕劑，諸如十六醇及/或單硬脂酸甘油酯；(8)吸收劑，諸如高嶺土及/或膨潤土；(9)潤滑劑，諸如滑石、硬脂酸鈣、硬脂酸鎂、固體聚乙二醇、硫酸月桂酯鈉，及/或其混合物；(10)著色劑；及(11)緩衝劑。

釋放劑、濕潤劑、塗佈劑、甜味劑、調味劑及芳香劑、防腐劑及抗氧化劑亦可存在於本發明之醫藥組合物中。醫藥學上可接受之抗氧化劑之實例包括：(1)水溶性抗氧化劑，諸如抗壞血酸、半胱胺酸鹽、硫酸氫鈉、焦亞硫酸鈉、亞硫酸鈉及類似物；(2)油溶性抗氧化劑，諸如抗壞血酸棕櫚酸酯、丁基化羥基苯甲醚(BHA)、丁基化羥基甲苯(BHT)、卵磷脂、沒食子酸丙酯、 α -生育酚及其類似

物；及(3)金屬螯合劑，諸如檸檬酸、乙二胺四乙酸(EDTA)、山梨糖醇、酒石酸、磷酸，及其類似物。用於錠劑、膠囊、丸劑及其類似物之塗佈劑包括彼等用於腸溶塗膜者，諸如酞酸乙酸纖維素(CAP)、聚乙酸乙烯酯酞酸酯(PVAP)、羥基丙基甲基纖維素酞酸酯、甲基丙烯酸、甲基丙烯酸酯共聚物、乙酸纖維素偏苯三酸酯(CAT)、羧基甲基乙基纖維素(CMEC)、羥基丙基甲基纖維素乙酸琥珀酸酯(HPMCAS)，及其類似物。

若需要，則本發明之醫藥組合物亦可使用例如各種比率之羥丙基甲基纖維素；或其他聚合物基質、脂質體及/或微球體而經調配成提供活性成份之緩慢或可控之釋放。

此外，本發明之醫藥組合物亦可視情況含有乳濁劑，且可經調配成使其僅在，或優先在胃腸道之一特定部分中，視情況以延遲之方式釋放活性成份。可使用之埋入式組合物之實例包括聚合物質及蠟。活性成份亦可為微囊化形式，若適當，則與一或多種上述賦形劑一起微囊化。

用於口服投藥之適當液體劑型包括例如醫藥學上可接受之乳劑、微乳劑、溶液、懸浮液、糖漿及酞劑。該等液體劑型通常包含活性成份及惰性稀釋劑，諸如水或其他溶劑；增溶劑及乳化劑，諸如乙醇、異丙醇、碳酸乙酯、乙酸乙酯、苯甲醇、苯甲酸苄酯、丙二醇、1,3-丁二醇、油(尤其棉籽、花生、玉米、胚芽、橄欖、蓖麻及芝麻油))、甘油、四氫呋喃基醇、聚乙二醇及山梨糖醇酐之脂肪酸酯，及其混合物。除了活性成份之外，懸浮液可含有懸浮

試劑，諸如乙氧基化異硬脂基醇、聚氧化乙烯山梨糖醇及山梨糖醇酐酯、微晶纖維素、偏氫氧化鋁、膨潤土、瓊脂及黃耆膠及其混合物。

或者，本發明之醫藥組合物係經調配以用於吸入投藥。用於吸入投藥之適當醫藥組合物通常為氣溶膠或粉末之形式。一般使用熟知之傳送裝置投與該等組合物，該等裝置係諸如定劑量吸入器、乾粉吸入器、噴霧器或類似傳送裝置。

當使用壓力容器藉由吸入來投藥時，本發明之醫藥組合物通常將包含活性成份及適當推進劑，諸如二氯二氟甲烷、三氯氟甲烷、二氯四氟乙烷、二氧化碳或其他適當氣體。

另外，醫藥組合物可為膠囊或濾筒(由例如明膠製成)之形式，其包含本發明之化合物及適用於粉末吸入器中之粉末。適當粉末基質包括例如乳糖或澱粉。

本發明之化合物亦可使用已知經皮傳送系統及賦形劑來經皮投與。例如，本發明之化合物可與諸如丙二醇、聚乙二醇單月桂酸酯、氮雜環烷-2-酮及類似物之滲透增強劑混合，且併入一貼片或類似傳送系統中。若需要，則包括膠凝劑、乳化劑及緩衝劑之額外賦形劑可用於該經皮組合物中。

以下調配物說明本發明之代表性醫藥組合物：

調配物實例A

用於口服投藥之硬明膠膠囊係如下來製備：

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

代表性程序：將該等成份充分摻合且接著裝載入一硬明膠膠囊(260 mg組合物/膠囊)中。

調配物實例 B

用於口服投藥之硬明膠膠囊係如下來製備：

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

代表性程序：將該等成份充分摻合且接著穿過一45號篩孔之美國篩且裝載入一硬明膠膠囊(200 mg組合物/膠囊)中。

調配物實例 C

用於口服投藥之膠囊係如下來製備：

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

代表性程序：將該等成份充分摻合且接著裝載入一硬明膠膠囊(310 mg組合物/膠囊)中。

調配物實例 D

用於口服投藥之錠劑係如下來製備：

成份	量
本發明之化合物	5 mg
澱粉	50 mg
微晶纖維素	35 mg
聚乙烯吡咯啉酮(水中10重量%)	4 mg

羧甲基澱粉鈉	4.5 mg
硬脂酸鎂	0.5 mg
滑石	1 mg

代表性程序：使活性成份、澱粉及纖維素穿過一45號篩孔之美國篩且將其充分混合。使聚乙炔吡咯啉酮之溶液與所得粉末混合，且接著使此混合物穿過一14號篩孔之美國篩。將由此產生之顆粒在50-60 EC下乾燥且穿過一18號篩孔之美國篩。接著將羧甲基澱粉鈉、硬脂酸鎂及滑石(預先穿過一60號篩孔之美國篩)添加至顆粒中。混合之後，使混合物在一製錠機上壓縮以提供重100 mg之錠劑。

調配物實例 E

用於口服投藥之錠劑係如下來製備：

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

代表性程序：將該等成份充分摻合且接著壓縮以形成錠劑(440 mg組合物/錠劑)。

調配物實例 F

用於口服投藥之單劃痕之錠劑係如下來製備：

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

代表性程序：將該等成份充分摻合且壓縮以形成單劃痕錠劑(215 mg組合物/錠劑)。

調配物實例 G

用於口服投藥之懸浮液係如下來製備：

成份	量
本發明之化合物	0.1 g
反丁烯二酸	0.5 g
氯化鈉	2.0 g
對羥基苯甲酸甲酯	0.15 g
對羥基苯甲酸丙酯	0.05 g
砂糖	25.5 g
山梨糖醇(70%溶液)	12.85 g
Veegum k(Vanderbilt公司)	1.0 g
調味劑	0.035 mL
著色劑	0.5 mg
蒸餾水	足量至 100 mL

代表性程序：將該等成份混合以形成每 10 mL 懸浮液含有 10 mg 活性成份之懸浮液。

調配物實例 H

用於吸入投藥之乾粉係如下來製備：

成份	量
本發明之化合物	1.0 mg
乳糖	25 mg

代表性程序：使活性成份微粉化且接著與乳糖摻合。接著將此摻合混合物裝載入一明膠吸入濾筒中。使用一粉末吸入器投與該濾筒之內含物。

調配物實例 I

在一定劑量吸入器中藉由吸入投藥之乾粉係如下來製備：

代表性程序：藉由將 10 g 平均尺寸小於 10 μm 之作為微粉化顆粒之活性化合物分散於由 0.2 g 卵磷脂溶於 200 mL 除礦質水中形成之溶液中來製備含有 5 重量%之本發明之化

合物及0.1重量%卵磷脂之懸浮液。將該懸浮液噴霧乾燥且將所得物質微粉化成具有小於1.5 μm 平均直徑之顆粒。將顆粒裝載入具加壓1,1,1,2-四氟乙烷之濾筒中。

調配物實例J

可注射調配物係如下來製備：

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

代表性程序：將以上成份摻合且使用0.5 N HCl或0.5 N NaOH將pH值調節為 4 ± 0.5 。

調配物實例K

用於口服投藥之膠囊係如下來製備：

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

代表性程序：將該等成份充分摻合且接著裝載入一硬明膠膠囊(尺寸#1、白色、不透明)(264 mg組合物/膠囊)中。

調配物實例L

用於口服投藥之膠囊係如下來製備：

成份	量
本發明之化合物	8.2 mg
微晶纖維素(Avicel PH 103)	139.05 mg
硬脂酸鎂	0.75 mg

代表性程序：將該等成份充分摻合且接著裝載入一明膠膠囊(尺寸#1、白色、不透明)(148 mg組合物/膠囊)中。

應瞭解到適用於投藥之特定模式的本發明化合物之任何

形式(即游離鹼、醫藥鹽或溶劑合物)可用於上文所討論之醫藥組合物中。

效用

本發明之苯并咪唑-羧醯胺化合物為5-HT₄受體激動劑，且因此預期適用於治療由5-HT₄受體介導或與5-HT₄受體活性相關之醫學病症，即由以5-HT₄受體激動劑治療而緩解之醫學病症。該等醫學病症包括(但不限於)大腸急躁症(IBS)、慢性便秘、功能性消化不良、胃排空延遲、胃食道回流症(GERD)、胃輕癱、術後腸阻塞、腸道假性阻塞及藥物誘導延遲傳導(drug-induced delayed transit)。此外，已建議某些5-HT₄受體激動劑化合物可用於治療中樞神經系統病症，包括認知障礙、行為障礙、心境障礙及自主功能控制障礙。

詳言之，本發明之化合物增加胃腸(GI)道之活動性，且因此預期其適用於治療由包括人類之哺乳動物之活動性減小引起的GI道疾病。該GI活動性障礙包括例如慢性便秘、便秘型大腸急躁症(C-IBS)、糖尿病性及自發性胃輕癱及功能性消化不良。

因此，在一態樣中，本發明提供一種增加哺乳動物中之胃腸道活動性之方法，該方法包含向該哺乳動物投與治療有效量之包含醫藥學上可接受之載劑及本發明之化合物的醫藥組合物。

當用於治療GI道活動性減小或其他由5-HT₄受體介導之病症時，本發明之化合物通常將以單一日劑量或每日多劑

量來口服投與，儘管可使用其他投藥形式。每劑量所投與之活性劑之量或每日投與之總量通常將由醫生按照相關情況來判定，該等情況包括待治療之病況、所選投藥路徑、實際所投與之化合物及其相關活性、個別患者之年齡、體重及反應、患者症狀之嚴重性及其類似因素。

用於治療GI道活動性減小之病症或其他由5-HT₄受體介導之病症之適當劑量在約0.0007至約20 mg/kg/日之活性劑的範圍內，包括約0.0007至約1 mg/kg/日。對於平均體重70 kg之人，此劑量將達到每日約0.05至約70 mg之活性劑。

在本發明之一態樣中，本發明之化合物係用於治療慢性便秘。當用於治療慢性便秘時，本發明之化合物通常將以單一日劑量或每日多劑量口服投與。較佳，用於治療慢性便秘之劑量將在每日約0.05至約70 mg之範圍內。

在本發明之另一態樣中，本發明之化合物係用於治療大腸急躁症。當用於治療便秘型大腸急躁症時，本發明之化合物通常將以單一日劑量或每日多劑量口服投與。較佳，用於治療便秘型大腸急躁症之劑量將在每日約0.05至約70 mg之範圍內。

在本發明之另一態樣中，本發明之化合物係用於治療糖尿病性胃輕癱。當用於治療糖尿病性胃輕癱時，本發明之化合物通常將以單一日劑量或每日多劑量口服投與。較佳，用於治療糖尿病性胃輕癱之劑量將在每日約0.05至約70 mg之範圍內。

在本發明之又一態樣中，本發明之化合物係用於治療功能性消化不良。當用於治療功能性消化不良時，本發明之化合物通常將以單一日劑量或每日多劑量口服投與。較佳，用於治療功能性消化不良之劑量將在每日約0.05至約70 mg之範圍內。

本發明亦提供一種治療患有與5-HT₄受體活性相關之疾病或病況之哺乳動物的方法，該方法包含向該哺乳動物投與治療有效量之本發明之化合物或包含本發明之化合物的醫藥組合物。

如上所述，本發明之化合物為5-HT₄受體激動劑。因此本發明進一步提供一種激化哺乳動物中之5-HT₄受體之方法，該方法包含向該哺乳動物投與本發明之化合物。此外，本發明之化合物亦適用作調查或研究具有5-HT₄受體之生物系統或樣品或用於研發新的5-HT₄受體激動劑之研究工具。此外，由於與結合至其他5-HT亞型之受體(尤其5-HT₃受體)相比，本發明之化合物呈現對5-HT₄受體之結合選擇性，所以該等化合物尤其適用於研究生物系統或樣品中之5-HT₄受體之選擇性激化作用之效應。具有5-HT₄受體之適當生物系統或樣品可用於該等研究中，其可在活體外或活體內進行。用於該等研究之代表性生物系統或樣品包括(但不限於)細胞、細胞提取物、質膜、組織樣品、哺乳動物(諸如小鼠、大鼠、豚鼠、兔、狗、豬等)及類似物。

在本發明之此態樣中，將包含5-HT₄受體之生物系統或

樣品與5-HT₄受體激化量之本發明化合物接觸。接著使用習知程序及設備(諸如放射性配位體結合分析及功能性分析)來判定激化5-HT₄受體之作用。該等功能性分析包括細胞內環單磷酸腺苷(cAMP)之配體介導變化、腺苷鹼基環化酶(其合成cAMP)活性之配位體介導之變化、鳥苷三磷酸(GTP)之類似物(諸如[³⁵S]GTPγS(鳥苷5'-O-(γ-硫代)三磷酸)或GTP-Eu)藉由GTP類似物向GDP類似物之經受體催化之交換而併入分離膜的配位體介導之變化，配位體介導之游離細胞內鈣離子之變化(以螢光連接之成像板讀數器或來自Molecular Devices, Inc.之FLIPR[®]量測)，及經有絲分裂促進劑活化之蛋白酶(MAPK)活化之量測。本發明之化合物可在任何以上列出之功能性分析或相似特性之分析中激化或增加5-HT₄受體之活性。本發明之化合物之5-HT₄受體激化量通常在約1毫微莫耳至約500毫微莫耳之範圍內。

此外，本發明之化合物可用作研製新的5-HT₄受體激動劑之研究工具。在此實施例中，將測試化合物或一群測試化合物之5-HT₄受體結合或功能性資料與本發明之化合物的5-HT₄受體結合或功能性資料相比以鑑定(若存在)具有較優結合或功能性活性之測試化合物。作為單獨的實施例，本發明之此態樣包括對比資料(使用適當分析方法)之產生及測試資料之分析以鑑定相關測試化合物。

在其他特性之中，已發現本發明之化合物為5-HT₄受體之有效激動劑，且在放射性配位體結合分析中呈現對5-HT₄受體亞型之比對5-HT₃受體更強之基本選擇性。另外，

已證明本發明特定提及之化合物在大鼠模型中具有更優之藥物代謝動力學特性。因此，預期該等化合物在口服投藥時具有高度生物利用性。此外，已展示使用獨立全細胞表現hERG心臟鉀通道在活體外電壓夾模型中此等化合物不呈現對鉀離子電流之不可接受的抑制水平。電壓夾分析為一種評估醫藥試劑改變心臟複極化模式之潛力的已接受之預臨床方法以(詳言之)引起所謂之QT延長，其與心律不齊有關(Cavero等人，Opinion on Pharmacotherapy, 2000, 1, 947-73, Fermini等人，Nature Reviews Drug Discovery, 2003, 2, 439-447)。因此，預期包含本發明之化合物之醫藥組合物具有可接受之心臟概況。

可使用熟習此項技術者熟知之各種活體外及活體內分析證明該等特性以及本發明之化合物之效用。在以下實例中進一步詳細描述代表性分析。

實例

提供以下合成及生物實例來說明本發明，且其不應理解為以任何方式限制本發明之範疇。除非另外說明，否則在以下實例中之以下縮寫具有下列含義。下文中未定義之縮寫具有其一般接受之意義。

Boc = 第三丁氧基羰基

DMSO = 二甲亞砜

MeCN = 乙腈

TFA = 三氟乙酸

R_f = 滯留因子

試劑及溶劑係購自供應商(Aldrich, Fluka, Sigma, etc.)且未經進一步純化而使用。除非另外說明，否則在氮氣氛中進行反應。藉由薄層層析(TLC)、分析高效液相色譜(分析HPLC)及質譜測定法監測反應混合物之進程，在下文及反應之特定實例中單獨對其詳細描述。如各反應中特定地描述來處理反應混合物；通常其係藉由萃取及諸如溫度及溶劑依賴性結晶及沉澱之其他純化方法來純化。此外，反應混合物係藉由製備HPLC來常規地純化：一般規程係描述於下文中。藉由質譜及 ^1H -NMR光譜常規性地進行反應產物之特徵化。對於NMR量測，將樣品溶於氘化溶劑(CD_3OD 、 CDCl_3 或 $\text{DMSO}-d_6$)中，且藉由Varian Gemini 2000儀器(300 MHz)在標準觀察條件下獲得 ^1H -NMR光譜。以Applied Biosystems (Foster City, CA)API 150 EX型儀器或Agilent (Palo Alto, CA)1100 LC/MSD型儀器藉由靜電電離方法(ESMS)進行化合物之質譜鑑定。

製備1:2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羧酸(哌啶-4-基甲基)醯胺之合成

a. 2,3-二胺基苯甲酸甲酯之製備

向純乙醇(800 mL)中之2-胺基-3-硝基苯甲酸甲酯(Chess GmbH, 50 g, 0.26 mol)之氮飽和溶液中添加氫氧化鈹(Degussa, 碳上之20% w/w, 58.75% w/w水, 10 g)。將漿料脫氣，接著在氮(4 atm)中於室溫下劇烈搖動48小時。過濾催化劑且在真空中濃縮濾液以提供在呈深橙色油之2,3-二胺基苯甲酸甲酯，其在靜置下固化(43 g, 0.26 mol,

100%)。 (m/z) : $[M-OCH_3]^+$ 計算值 : $C_8H_{10}N_2O_2$ 135.05; 實驗值 : 135.3。 ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) 3.74 (s, 3H), 4.80 (br s, 1H), 6.20 (br s, 1H), 6.38 (t, 1H), 6.70 (d, 1H), 7.06 (d, 1H)。

b. 2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羧酸之製備

在回流下攪拌鹽酸水溶液(4M, 210 mL)中之2,3-二胺基苯甲酸甲酯(21.5 g, 0.13 mol)及異丁酸(36.2 mL, 0.39 mol)漿料歷時24小時以產生均勻溶液。將溶液冷卻至10°C, 且使用氫氧化鈉水溶液(4M, 約210 mL)使pH值上升至3.5, 而保持溫度低於30°C。在室溫下攪拌反應混合物歷時2小時, 冷卻至10°C, 且濾出所得沉澱物。將固體濾餅轉移至一燒杯中且添加乙腈(300 mL)。在室溫下攪拌漿料1小時, 且接著過濾以產生灰色固體。在真空下乾燥固體以產生標題中間物(23 g, 0.11 mol, 87%)。 (m/z) : $[M+H]^+$ 計算值 : $C_{11}H_{12}N_2O_2$ 205.09; 實驗值 205.3。 ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) 1.27 (d, 6H), 3.39 (m, 1H), 7.29 (t, 1H), 7.78 (m, 2H)。

c. 4-{[(2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羧基)胺基]甲基}-哌啶-1-羧酸第三丁酯之製備

向無水N,N-二甲基甲醯胺(100 mL)中之2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羧酸(9.0 g, 44.1 mmol)溶液中添加4-胺基甲基-哌啶-1-羧酸第三丁酯(9.4 g, 44.1 mmol), 接著添加N,N-二異丙基乙胺(16.9 mL, 97.0 mmol)。在添加羥基苯并三唑(5.9 g, 44.1 mmol)、N-乙基-N'-(3-二甲基胺基丙基)碳化二醯亞

胺鹽酸鹽(8.4 g, 44.1 mmol)及另外之N,N-二甲基甲醯胺(50 mL)之前，在室溫下攪拌溶液15分鐘。在室溫下攪拌反應混合物16小時，以二氯甲烷(300 mL)稀釋，且依次以1M磷酸水溶液、1M氫氧化鈉水溶液及鹽水洗滌。接著將該溶液經硫酸鈉乾燥且在真空中乾燥以得到棕色油，其在添加己烷時固化。過濾該固體以得到呈米色固體之標題中間物(13.8 g, 36.0 mmol, 78%)。(m/z) : $[M+H]^+$ 計算值： $C_{22}H_{32}N_4O_3$ 401.26;實驗值：401.5; $[M-Boc+H]^+$ 301.5. 滯留時間 (分析HPLC: 2-90% MeCN/H₂O 經6 min) = 3.7 min. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) 1.20 (m, 2H), 1.37 (s, 9H), 1.37 (s, 6H), 1.72 (m, 1H), 1.75 (m, 2H), 2.73 (br s, 2H), 3.22 (七重峰, 1H), 3.36 (m, 2H), 3.95 (m, 2H), 7.26 (t, 1H), 7.63 (d, 1H), 7.79 (d, 1H), 10.11 (t, 1H)。

d. 2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羧酸(哌啶-4-基甲基)醯胺之合成

在0℃下向溶於二氯甲烷(50 mL)中之4-{[(2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羧基)胺基]甲基}-哌啶-1-羧酸第三丁酯(10.8 g, 27.0 mmol)溶液中緩慢添加以5 mL之份的三氟乙酸(50 mL)。使溶液溫至室溫，再攪拌20分鐘接著在真空中蒸發。藉由與由苯共蒸發移除過量三氟乙酸。接著將殘餘物溶於最小量體積之二氯甲烷中且在0℃下緩慢加入乙醚(1 L)中。將所得漿料在室溫下攪拌2小時，接著過濾以產生呈淺棕色固體之標題化合物之雙-三氟乙酸鹽(12.7 g, 24.0

mmol, 89%)。 (m/z) : $[M+H]^+$ 計算值 : $C_{17}H_{24}N_4O$ 301.21; 實驗值 : 301.5。 滯留時間 (分析 HPLC: 2-50% MeCN/H₂O 經 6 min) = 1.65 min。 ^1H NMR (300 MHz, MeOD- d_3): δ (ppm) 1.59 (d, 6H), 1.60 (m, 1H), 2.03 (m, 2H), 2.04 (m, 1H), 3.00 (m, 2H), 3.43 (m, 2H), 3.45 (m, 2H), 3.63 (七重峰, 1H), 7.63 (t, 1H), 7.90 (d, 1H), 7.96 (d, 1H), 9.04 (t, 1H)。

製備 2:2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羧酸(1-哌啶-4-基甲基哌啶-4-基甲基)醯胺之合成

a. 4-(4-{[(2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羧基)胺基]甲基}-哌啶-1-基甲基)哌啶-1-羧酸第三丁酯之製備

在室溫下在氮中向二氯甲烷(65 mL)中之2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羧酸(哌啶-4-基甲基)醯胺雙-三氟乙酸鹽(6.84 g, 12.95 mmol)中依次添加N,N-二異丙基乙胺(1.67 g, 2.25 mL)、1-(第三丁氧基羰基)哌啶-4-羧醛(3.16 g, 14.89 mmol)在二氯甲烷(5 mL)及三乙醯氧基硼氫化鈉(3.84 g, 18.13 mmol)中之溶液。在室溫下攪拌所得混合物1.5小時，接著以1M鹽酸水溶液酸化至pH 1。移除水層，且以1M鹽酸水溶液萃取有機層直至有機相中無產物殘留。將經組合之水層以二氯甲烷洗滌，冷卻至0℃且以氫氧化鈉小球鹼化至pH 12。接著以二氯甲烷萃取該溶液直至水相中無產物殘留，且將組合有機層以鹽水洗滌，經硫酸鈉乾燥，過濾且濃縮以產生呈棕色油之所要產物(5.4 g, 10.8 mmol, 84%)，其可不經純化而使用。(m/z): $C_{28}H_{43}N_5O_3$ 之

$[M+H]^+$ 計算值：498.35；實驗值498.5。

b. 2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羧酸(1-哌啶-4-基甲基哌啶-4-基甲基)醯胺之合成

將先前步驟之產物(5.4 g, 10.8 mmol)溶於二氯甲烷(40 mL)中且冷卻至0℃。添加三氟甲酸(30 mL)，且於0℃下攪拌溶液歷時另外0.5 h。接著將混合物濃縮且與二氯甲烷在真空中共蒸發兩次。將所得殘留物溶於二氯甲烷(20 mL)中，冷卻至0℃且以20% w/w氫氧化鈉水溶液(50 mL)來鹼化。使溶液經10分鐘溫至室溫，接著過濾。以乙腈清洗固體且在真空中乾燥以得到淡灰色粉末(3.09 g, 7.8 mmol, 72 %)，其可不經進一步純化而進行使用。
(m/z): $C_{23}H_{35}N_5O$ 之 $[M+H]^+$ 計算值：398.29；實驗值398.4。

製備3：2-第三丁基-1H-苯并咪唑-4-羧酸(1-哌啶-4-基甲基哌啶-4-基甲基)醯胺之合成

a. 2-胺基-3-(2,2-二甲基丙醯胺基)苯甲酸甲酯之製備

在室溫下向2,3-二胺基苯甲酸甲酯(2.3 g, 13.8 mmol)在吡啶(40 mL)中之溶液中添加2,2-二甲基丙醯氯化物(1.7 g, 14.0 mmol)。將溶液攪拌16小時，蒸發，且將殘留物在乙酸乙酯(100 mL)與1M鹽酸水溶液(100 mL)之間分溶。將有機相分離，以1M鹽酸水溶液(100 mL)洗滌，經硫酸鈉乾燥且蒸發以產生呈深色油之標題化合物(2.7 g, 10.8 mmol, 78 %)，其可不經進一步純化而使用。(m/z): $C_{13}H_{18}N_2O_3$ 之 $[M+H]^+$ 計算值：251.14；實驗值250.8。

b. 2-第三丁基-1H-苯并咪唑-4-羧酸之製備

在回流下將先前步驟之產物(2.7 g, 10.8 mmol)在4M鹽酸水溶液(100 mL)中之漿料攪拌24小時以產生均勻溶液。使溶劑蒸發以產生呈磚紅色固體之標題中間物的鹽酸鹽(2.5 g, 9.8 mmol, 91 %)。(m/z): $C_{12}H_{14}N_2O_2$ 之 $[M+H]^+$ 計算值: 219.12; 實驗值: 219.3。 ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) 1.45 (d, 9H), 3.39 (m, 1H), 7.91 (d, 1H), 7.95 (d, 1H)。

c. 4-{[(2-第三丁基-1H-苯并咪唑-4-羰基)胺基]甲基}-哌啶-1-羧酸第三丁酯之製備

向2-第三丁基-1H-苯并咪唑-4-羧酸鹽酸鹽(1.11 g, 4.37 mmol)在無水N,N-二甲基甲醯胺(5 mL)中之溶液中添加1,1'-羰基二咪唑(0.77g, 4.75 mmol)。在50°C下攪拌2小時, 接著添加4-胺基甲基-哌啶-1-羧酸第三丁酯(0.94 g, 4.39 mmol), 接著添加1,4-二氮雜二環[2,2,2]辛烷(1.46 g, 13 mmol)。在50°C下攪拌溶液16小時, 使其冷卻且以水(20 mL)及乙酸乙酯(60 mL)稀釋。移除水層, 將有機層以水(20 mL)洗滌, 經硫酸鈉乾燥且在真空中濃縮以產生標題中間物(1.32 g, 3.18 mmol, 73 %), 其可不經進一步純化而使用。(m/z): $C_{23}H_{34}N_4O_3$ 之 $[M+H]^+$ 計算值: 415.27; 實驗值: 415.5。

d. 2-第三丁基-1H-苯并咪唑-4-羧酸(哌啶-4-基甲基)醯胺之合成

將4-{[(2-第三丁基-1H-苯并咪唑-4-羰基)胺基]甲基}-哌啶-1-羧酸第三丁酯(13.5 g, 32.6 mmol)溶於二噁烷(200

mL)中之4N HCl中，且在室溫下攪拌0.5小時。過濾所得固體以產生標題中間物之雙鹽酸鹽(11.3 g, 29.3 mmol, 89 %)。(m/z) : $C_{18}H_{26}N_4O$ 之 $[M+H]^+$ 計算值 : 315.22 ; 實驗值 : 315.3。¹H NMR (300 MHz, D_2O + MeOD- d_3): 1.54 (s, 8H), 1.96 (m, 4H), 2.91 (m, 4H), 3.31 (br s, 1H), 3.45 (d, 2H), 7.56 (t, 1H), 7.89-7.92 (m, 2H)。

e. 4-(4-{[(2-第三丁基-1H-苯并咪唑-4-羰基)胺基]甲基}-哌啶-1-基甲基)哌啶-1-羧酸第三丁酯之製備

在室溫下向2-第三丁基-1H-苯并咪唑-4-羧酸(哌啶-4-基甲基)醯胺之雙HCl鹽(4.28 g, 11.06 mmol)在二氯甲烷(55 mL)中之懸浮液中依次添加N,N-二異丙基乙胺(1.71g, 2.31 mL)、1-(第三丁氧基羰基)哌啶-4-羧醛(2.58 g, 12.17 mmol)及乙醯氧基硼氫化鈉(3.28 g, 15.48 mmol)。在室溫下攪拌所得混合物2小時，接著以1M鹽酸水溶液萃取。以氫氧化鈉小球使組合水層鹼化至pH 12，接著以二氯甲烷萃取。將組合有機層經硫酸鈉乾燥，過濾且蒸發。在高真空下乾燥所得殘餘物以得到淡棕色發泡體(4.9 g, 9.6 mmol, 87 %)，其可不經進一步純化而使用。(m/z) : $C_{29}H_{45}N_5O_3$ 之 $[M+H]^+$ 計算值 : 512.35 ; 實驗值 : 512.4。

f. 2-第三丁基-1H-苯并咪唑-4-羧酸(1-哌啶-4-基甲基哌啶-4-基甲基)醯胺之合成

在室溫下以三氟乙酸(40 mL)及二氯甲烷(40 mL)對先前步驟中製備之粗產物4-(4-{[(2-第三丁基-1H-苯并咪唑-4-羰基)胺基]甲基}-哌啶-1-基甲基)哌啶-1-羧酸第三丁酯(5.1

g, 10 mmol)處理0.5小時。將混合物在真空中濃縮、於二氯甲烷(25 mL)中再溶解且以1M氫氧化鈉水溶液(15 mL)鹼化。移除有機層，且以二氯甲烷再萃取水層。將組合有機相經硫酸鈉乾燥，過濾且在真空中濃縮以產生呈棕色發泡體之所要產物(3.6 g, 8.8 mmol, 88 %)。(m/z):C₂₄H₃₇N₅O之[M+H]⁺計算值：412.31；實驗值：412.6。

製備 4:4-(4-胺基甲基哌啶-1-基甲基)-哌啶-1-羧酸甲酯之合成

a. 4-[4-(第三丁氧基羰基胺基-甲基)哌啶-1-基甲基]-哌啶-1-羧酸甲酯之製備

向4-第三丁氧基羰基胺基甲基哌啶(3.62 g, 16.9 mmol)在二氯甲烷(100 mL)中之溶液中添加4-醛基哌啶-1-羧酸甲酯(2.89 g, 16.9 mmol)及乙酸(0.96 mL)。在添加三乙醯氧基硼氫化鈉(5.4 g, 25.5 mmol)之前，在室溫下攪拌混合物10分鐘。在室溫下攪拌最終混合物1小時。藉由添加飽和碳酸氫鈉溶液(50 mL)來終止反應。以二氯甲烷(100 mL)萃取混合物，且經MgSO₄乾燥有機層。有機溶液之蒸發產生淡黃色油狀殘餘物。藉由急驟矽石管柱層析(CH₂Cl₂ 至5% MeOH/CH₂Cl₂)純化該殘餘物以產生標題中間物(4.4 g)。(m/z):C₁₉H₃₅N₃O₄之[M+H]⁺計算值：370.27；實驗值：370.5。

b. 4-(4-胺基甲基哌啶-1-基甲基)-哌啶-1-羧酸甲酯之合成

向4-[4-(第三丁氧基羰基胺基-甲基)哌啶-1-基甲基]-哌啶-1-羧酸甲酯(4.4 g, 10.8 mmol)在二氯甲烷(20 mL)之溶

液中添加三氟乙酸(20 mL)。在室溫下攪拌20分鐘之後，在真空中蒸發該溶液，產生呈淡黃色油狀之標題化合物的雙三氟乙酸鹽，其可不經進一步純化而使用。
 (m/z): $C_{14}H_{27}N_3O_2$ 之 $[M+H]^+$ 計算值：270.22；實驗值：270.5。
 ^1H -NMR (CD_3OD) δ (ppm) 4.0 (br d, 2H), 3.6 (m, 5H), 2.9-2.7 (m, 6H), 2.1-1.9 (m, 2H), 1.7-1.5 (m, 6H), 1.2-1.0 (m, 4H)。

實例 1：4-(4-{\[(2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羧基)-胺基]甲基}哌啶-1-基甲基)哌啶-1-羧酸甲酯之合成

向2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羧酸(1-哌啶-4-基甲基哌啶-4-基甲基)醯胺(2.9 g, 7.3 mmol)在二氯甲烷(50 mL)中之懸浮液中添加N,N-二異丙基乙胺(1.05 mL, 7.3 mmol)。將所得溶液冷卻至0℃，逐滴添加氯甲酸甲酯(576 μ L, 7.3 mmol)。在0℃下攪拌混合物1.5小時，以乙酸(1 mL)中止且在真空中蒸發以產生米色固體(4.8 g)，經由製備逆相HPLC對其進行純化[梯度5-10-25%(5-10%經10 min；10-25%經50 min)；流動速率15 mL/min；在280 nm下偵測]以產生呈白色固體之標題化合物之雙三氟乙酸鹽(3.5 g, 5.1 mmol, 70%)。
 (m/z) : $C_{25}H_{37}N_5O_3$ 之 $[M+H]^+$ 計算值：456.30；實驗值：456.3。滯留時間(分析HPLC:2-50% MeCN/ H_2O 經6 min)= 3.06 min

實例 2：4-(4-{\[(2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羧基)-胺基]甲基}哌啶-1-基甲基)哌啶-1-羧酸苯酯之合成

向2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羧酸(1-哌啶-4-基甲基哌啶-

4-基甲基)醯胺(0.22 g, 0.55 mmol)及N,N-二異丙基乙胺(0.19 mL)在二氯甲烷(5.0 mL)中之溶液中添加氯甲酸苯酯(70 μ L)。在室溫下攪拌混合物10分鐘，接著在真空中濃縮且藉由製備逆相HPLC純化以產生呈白色固體之標題化合物之雙三氟乙酸鹽(98.4 mg, 0.13 mmol, 24 %)。
 (m/z): $C_{30}H_{39}N_5O_3$ 之 $[M+H]^+$ 計算值：518.32；實驗值：518.6。 ^1H NMR (300MHz, MeOD- d_3): δ (ppm) 1.14-1.28 (m, 2H), 1.39-1.53 (m, 6H), 1.52-1.62 (m, 2H), 1.70-1.78 (m, 2H), 1.92-2.06 (m, 4H), 2.82-2.97 (m, 6H), 3.32-3.38 (m, 2H), 3.43-3.50 (m, 1H), 3.52-3.69 (m, 2H), 4.04-4.12 (m, 1H), 4.18-4.26 (m, 1H), 6.91-6.98 (m, 1H), 7.08-7.13 (m, 1H), 7.21-7.28 (m, 1H), 7.45-7.50 (m, 1H), 7.73-7.77 (m, 1H), 7.81-7.87 (m, 1H), 9.02-9.32 (brs, 1H)。

實例3：2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羧酸{1-[1-(2-氯苯甲醯基)哌啶-4-基甲基]哌啶-4-基甲基}醯胺之合成

在室溫下向2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羧酸(1-哌啶-4-基甲基哌啶-4-基甲基)醯胺(2.1 g, 5.29 mmol)在四氫呋喃(26 mL)中之懸浮液中添加N,N-二異丙基乙胺(2.05 g, 15.87 mmol)、二氯甲烷(12 mL)及N,N-二甲基甲醯胺(5 mL)。向所得懸浮液中緩慢添加鄰氯苯甲醯氯化物(1.02 g, 5.82 mmol)，且在室溫下攪拌反應混合物0.5小時。在真空中濃縮溶液，以乙酸(7.5 mL)及水(0.5 mL)稀釋所得殘餘物，且藉由逆相製備HPLC純化產物。將經純化之鹽在二氯甲烷與1M氫氧化鈉水溶液之間分溶，移除有機層且以

二氯甲烷再萃取水層，且將經組合之有機層以鹽水洗滌，經硫酸鈉乾燥，且在真空中濃縮以產生呈白色發泡體之標題化合物(1.75 g, 3.26 mmol, 62 %)。(m/z): $C_{30}H_{38}ClN_5O_2$ 之 $[M+H]^+$ 計算值：536.28；實驗值：536.3。 ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6): 0.90 (br m, 2H), 1.24 (d, 6H), 1.45 (br m, 2H), 1.68 (br m, 8H), 1.96 (m, 1H), 2.72 (br m, 5H), 3.08 (m, 2H), (3.20, m, 3H), 4.40 (br m, 1H), 7.14 (t, 1H), 7.28 (m, 2H), 7.39 (m, 1H), 7.49 (dd, 1H), 7.66 (dd, 1H)。

實例 4-6

除了以適當氯化物試劑替代鄰氯苯甲醯氯化物之外，使用與實例 3 相似之方法來製備實例 4-6 之化合物。

實例 4：2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羧酸 {1-[1-(2,4-二氟-苯甲醯基)哌啶-4-基甲基]哌啶-4-基甲基}醯胺；
(m/z): $C_{30}H_{37}F_2N_5O_2$ 之 $[M+H]^+$ 計算值：538.30；
實驗值：538.2。滯留時間(分析 HPLC：2-60% MeCN/ H_2O 經 4 min)=2.12 min。 ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6): 0.92 (m, 2H), 1.30 (m, 2H), 1.38 (d, 6H), 1.53 (m, 2H), 1.60-1.90 (m, 6H), 2.07 (d, 2H), 2.73-2.85 (br m, 3H), 3.05 (t, 1H), 3.22 (七重峰, 1H), 3.38 (br m, 3H), 4.44 (br d, 1H), 7.10-7.50 (m, 4H), 7.62 (d, 1H), 7.77 (d, 1H), 10.10 (br s, 1H)。

實例 5：2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羧酸 {1-[1-(呋喃-2-羧基)-哌啶-4-基甲基]哌啶-4-基甲基}醯胺；

(m/z): $C_{28}H_{37}N_5O_3$ 之 $[M+H]^+$ 計算值: 492.30; 實驗值: 492.2。滯留時間(分析 HPLC: 2-65% MeCN/ H_2O 經 4 min)= 1.68 min。

實例 6: 2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羧酸 {1-[1-(噻吩-2-羰基)哌啶-4-基甲基]哌啶-4-基甲基} 鹽胺; (m/z): $C_{28}H_{37}N_5O_2S$ 之 $[M+H]^+$ 計算值: 508.28; 實驗值: 508.2。滯留時間(分析 HPLC: 2-65% MeCN/ H_2O 經 4 min)= 1.94 min。

實例 7: 2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羧酸 {1-[1-(2-氟-5-三氟甲基苯甲醯基哌啶-4-基甲基]哌啶-4-基甲基} 鹽胺之合成

在室溫下向 2-氟-5-三氟甲基苯甲酸 (100 mg, 0.48 mmol) 在二甲基甲醯胺 (4 mL) 中之溶液中添加 O-(7-氮雜苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基錄六氟磷酸 (200 mg, 0.48 mmol)。在室溫下攪拌混合物 0.25 小時，接著添加 2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羧酸 (1-哌啶-4-基甲基哌啶-4-基甲基) 鹽胺 (210 mg, 0.48 mmol) 及 N,N-二異丙基乙胺 (0.184 mL, 0.96 mmol) 且再持續攪拌 0.5 小時。在真空下蒸發溶液且藉由逆相 HPLC [梯度 5-10-25% (5-10% 經 10 min; 10-25% 經 50 min); 流動速率 15 mL/min; 在 280 nm 下偵測] 純化粗產物，以產生呈白色固體之標題化合物之雙三氟乙酸鹽 (70 mg, 0.09 mmol, 18%)。 (m/z): $C_{31}H_{37}F_4N_5O_2$ 之 $[M+H]^+$ 計算值: 588.30; 實驗值: 588.2。滯留時間(分析 HPLC: 2-60% MeCN/ H_2O 經 4 min)= 2.39 min。

**實例 8:2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羧酸{1-[1-(2-氟-苯基
胺甲鹽基)哌啶-4-基甲基]哌啶-4-基甲基}-鹽胺之合成**

在室溫下將2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羧酸(1-哌啶-4-基
甲基哌啶-4-基甲基)鹽胺(220 mg, 0.55 mmol)溶於N,N-二
甲基甲鹽胺(2.0 mL)中。向此溶液中添加N,N-二異丙基乙
胺(143.2 mg, 1.1 mmol)，接著添加異氰酸鄰氟苯酯
(75.4 mg, 0.55 mmol)。在室溫下攪拌所得混合物隔夜，在
真空中濃縮且藉由製備逆相HPLC純化以產生呈白色固體
之標題化合物之雙三氟乙酸鹽(92.6 mg, 0.12 mmol, 22
%)。(m/z): $C_{30}H_{39}FN_6O_2$ 之 $[M+H]^+$ 計算值：535.32；實驗
值：535.2。滯留時間(分析HPLC:2-65% MeCN/H₂O經4
min)= 2.09 min。

**實例 9：2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羧酸[1-(1-甲烷磺鹽
基哌啶-4-基甲基)哌啶-4-基甲基]鹽胺之合成**

在室溫下將2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羧酸(1-哌啶-4-基
甲基哌啶-4-基甲基)鹽胺(40 mg, 0.1 mmol)溶於N,N-二甲
基甲鹽胺(1.0 mL)中。向此溶液中添加N,N-二異丙基乙胺
(0.175 mL, 1 mmol)，接著添加甲烷磺鹽氯化物(11.5 mg,
0.1 mmol)。在室溫下攪拌混合物16小時，接著在真空中濃
縮且藉由製備逆相HPLC純化以產生呈白色固體之標題化
合物之雙三氟乙酸鹽(27.2 mg, 0.04 mmol, 40 %)。
(m/z): $C_{24}H_{37}N_5O_3S$ 之 $[M+H]^+$ 計算值：476.27；實驗值：
476.2。滯留時間(分析HPLC:2-65% MeCN/H₂O經4 min)=
1.66 min

實例 10：4-(4-{[(2-第三丁基-1H-苯并咪唑-4-羧基)-胺基]-甲基}哌啶-1-基甲基)哌啶-1-羧酸甲酯之合成

在室溫下向二氯甲烷(29 mL)中之製備3之粗產物(2.4 g, 5.8 mmol)中中添加 N,N-二異丙基乙基胺(1.5 g, 11.6 mmol)。將所得混合物冷卻至 0°C，且逐滴添加氯甲酸甲酯(660 mg, 6.98 mmol)。使反應溫至室溫且再攪拌 10 分鐘。將溶液濃縮，再溶解於 50 % 乙酸水溶液中，過濾且以逆相製備 HPLC 純化。將所得固體溶於二氯甲烷中且以 1M 氫氧化鈉水溶液洗滌。以二氯甲烷萃取水層兩次，且將組合有機層以鹽水洗滌，經硫酸鈉乾燥，過濾且濃縮以產生呈白色發泡體之標題化合物(1.3 g, 2.8 mmol, 48%)。
 $(m/z): C_{26}H_{39}N_5O_3$ 之 $[M+H]^+$ 計算值：470.32；實驗值 470.6。
 ^1H NMR (300 MHz, MeOD- d_3): δ (ppm) 1.02-1.16 (m, 2H), 1.49 (s, 9H), 1.47-1.7 (m, 4H), 1.82-2.03 (m, 4H), 2.74-2.94 (m, 6H), 3.31-3.40 (m, 2H), 3.54-3.58 (m, 2H), 3.56 (s, 3H), 3.98-4.03 (m, 2H), 7.41-7.46 (m, 1H), 7.71-7.74 (m, 1H), 7.79-7.82 (m, 1H), 9.35 (br s, 1H)。

實例 11-13

除了以適當氯化物試劑替代氯甲酸甲酯，使用與實例 10 相似之方法來製備實例 11-13 之化合物。

實例 11：2-第三丁基-1H-苯并咪唑-4-羧酸{1-[1-(2-氟-苯甲醯基)-哌啶-4-基甲基]哌啶-4-基甲基}醯胺；
 $(m/z): C_{31}H_{40}FN_5O_2$ 之 $[M+H]^+$ 計算值：534.33；實驗值：534.4。滯留時間(分析 HPLC): 2-65%

MeCN/H₂O 經 4 min)= 2.09 min

實例 12：2-第三丁基-1H-苯并咪唑-4-羧酸 {1-[1-(3-甲基-苯甲醯基)-哌啶-4-基甲基]哌啶-4-基甲基}醯胺；
(m/z)：C₃₂H₄₃N₅O₂ 之 [M+H]⁺ 計算值：530.35；實驗值：530.42。滯留時間 (分析 HPLC：2-65% MeCN/H₂O 經 4 min)= 2.22。

實例 13：2-第三丁基-1H-苯并咪唑-4-羧酸 {1-[1-(4-氟苯甲醯基)-哌啶-4-基甲基]哌啶-4-基甲基}醯胺；
(m/z)：C₃₁H₄₀FN₅O₂ 之 [M+H]⁺ 計算值：534.33；實驗值：534.4。滯留時間 (分析 HPLC:2-65% MeCN/H₂O 經 4 min)= 2.17。

實例 14：4-[4-([2-(1-羥基-1-甲基乙基)-1H-苯并咪唑-4-羧基]胺基)甲基]哌啶-1-基甲基]哌啶-1-羧酸甲酯之合成

a. 2-(1-羥基-1-甲基乙基)-1H-苯并咪唑-4-羧酸之製備

向 2,3-二胺基苯甲酸甲酯 (1.5 g, 9.2 mmol) 在 4 M HCl (50 mL) 中之溶液中添加 2-羥基異丁酸 (2.87 g, 27.6 mmol)。在 ~90°C 下攪拌混合物 24 小時。使用氫氧化鈉水溶液將其中和至 pH~3，且濃縮至乾燥。將殘餘物懸浮於甲醇中，且經由濾紙過濾。濃縮濾液且以醚清洗殘餘物。將剩餘固體殘留物溶於乙酸乙酯中，且以鹽水溶液洗滌。在經 MgSO₄ 乾燥之後，在真空中蒸發有機溶液，產生呈淡黃色油狀之標題中間物 (~800 mg)。粗產物不經進一步純化而用於下一步驟中。(m/z):C₁₁H₁₂N₂O₃ 之 [M+H]⁺ 計算值：221.09；實驗值：221.1。¹H-NMR (CD₃OD) δ (ppm) 7.8 (dd, 1H), 7.7

(dd, 1H), 7.2 (m, 1H), 1.3 (s, 6H)。

b. 4-[4-([2-(1-羥基-1-甲基乙基)-1H-苯并咪唑-4-羰基]胺基}甲基)哌啶-1-基甲基]哌啶-1-羧酸甲酯之合成

向先前步驟中之苯并咪唑羧酸產物(0.7 g, 3.18 mmol)、製備4之雙-TFA鹽形式之胺基甲基哌啶產物(1.2 g, 3.13 mmol)、及羥基苯并三唑(HOBt)(0.43 g, 3.18 mmol)在二甲基甲醯胺(50 mL)中之溶液中添加三乙胺(1.3 mL, 9.3 mmol)及N-乙基-N'-(3-二甲基胺基丙基)碳化二醯亞胺鹽酸鹽(EDC)(0.67 g, 3.5 mmol)。在室溫下攪拌混合物12小時，且在真空中濃縮至乾燥。將殘餘物於二氯甲烷(150 mL)與飽和碳酸氫鈉之間分溶。將有機層經MgSO₄乾燥，且蒸發至乾燥，產生淡黃色油狀殘餘物。藉由製備HPLC對其純化以產生標題化合物之雙三氟乙酸鹽。(m/z): C₂₅H₃₇N₅O₄之[M+H]⁺計算值：472.29；實驗值：472.5。滯留時間(分析HPLC：5-30% MeCN/H₂O經6 min)= 3.67 min。¹H-NMR (CD₃OD) (ppm) 7.9-7.8 (m, 2H), 7.6-7.5 (t, 1H), 4.0 (br d, 2H), 3.6 (s, 5H), 2.9-2.75 (br m, 5H), 2.05-1.9 (br d, 3H), 1.68 (m, 6H), 1.15 (m, 4H)。

實例 15：4-[4-([2-(2-羥基-1-甲基乙基)-1H-苯并咪唑-4-羰基]胺基}甲基)-哌啶-1-基甲基]哌啶-1-羧酸甲酯之合成

a. 2-(2-羥基-1-甲基乙基)-1H-苯并咪唑-4-羧酸之製備

向2,3-二胺基苯甲酸甲酯(2.1 g, 14.1 mmol)在4 M HCl(90 mL)中之溶液中添加2-甲基-3-羥基丙酸甲酯(5 g, 42.3 mmol)。在~90°C下攪拌混合物24小時。使用氫氧化

鈉水溶液將其中和至 pH~3，且濃縮至乾燥。將殘餘物懸浮於甲醇中，且經由濾紙過濾。濃縮濾液之後，將剩餘固體殘留物溶於水中，且以乙酸乙酯洗滌。在真空中蒸發水性溶液，產生呈淡黃色油狀之標題中間物 (~800 mg)。粗產物不經進一步純化而用於下一步驟中。(m/z) : $C_{11}H_{12}N_2O_3$ 之 $[M+H]^+$ 計算值：221.09；實驗值：221.3。 ^1H -NMR (CD_3OD) δ (ppm) 8.1 (d, 1H), 7.9 (m, 1H), 7.6 (t, 1H), 3.8 (m, 2H), 3.6 (m, 1H), 1.4 (d, 3H).

b. 4-[4-([2-(2-羥基-1-甲基乙基)-1H-苯并咪唑-4-羧基]胺基)甲基]哌啶-1-基甲基]哌啶-1-羧酸甲酯之合成

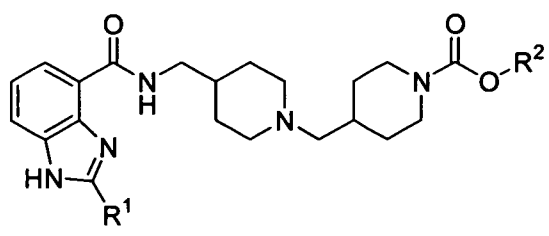
向先前步驟中之苯并咪唑羧酸 (0.45 g, 3.18 mmol)、製備方法 4 之雙-TFA 鹽形式之胺基甲基哌啶產物 (0.8 g, 1.6 mmol)，及二甲基甲醯胺 (50 mL) 中之 HOBt (0.237 g, 1.75 mmol) 之溶液中添加三乙胺 (0.98 mL, 7.0 mmol) 及 EDC (0.353 g, 1.84 mmol)。在室溫下攪拌混合物 12 小時，且在減壓下濃縮至乾燥。將殘餘物於二氯甲烷 (150 mL) 與飽和碳酸氫鈉之間分溶。經 $MgSO_4$ 乾燥有機層，且蒸發至乾燥，產生淡黃色油狀殘餘物。藉由製備 HPLC 對其純化以產生標題化合物之雙三氟乙酸鹽 (0.2 g)。(m/z): $C_{25}H_{37}N_5O_4$ 之 $[M+H]^+$ 計算值：472.29；實驗值：472.5。滯留時間 (分析 HPLC: 10-40% MeCN/ H_2O 經 6 min) = 3.31 min。 ^1H -NMR (CD_3OD) δ (ppm) 7.9-7.8 (m, 2H), 7.6-7.5 (m, 1H), 4.0 (br d, 2H), 3.85-3.7 (m, 2H), 3.6 (br s, 6H), 3.3 (br, 2H), 2.9-2.6 (br m, 6H), 2.0-1.8 (br, 4H), 1.7-1.5

(m, 6H), 1.4 (m, 3H), 1.1-1.0 (m, 4H)。

本發明之其他化合物

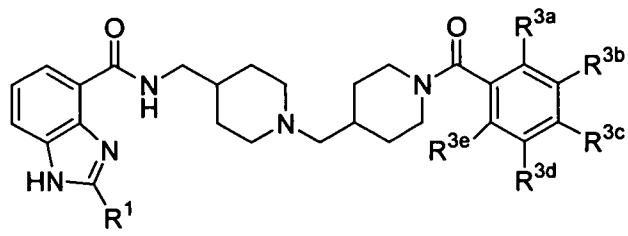
使用實例1-13之程序及其變體，製備表I至IX之化合物且藉由質譜對其特徵化。在下表中，空白條目表示氫。

表 I



實例號	R ¹	R ²	分子式	[M+H] ⁺ 之 計算值	[M+H] ⁺ 之 實驗值
16	iPr	-CH ₂ -苯基	C ₃₁ H ₄₁ N ₅ O ₃	532.32	532.2
17	iPr	iPr	C ₂₇ H ₄₁ N ₅ O ₃	484.32	484.2
18	tBu	苯基	C ₃₁ H ₄₁ N ₅ O ₃	532.32	532.2
19	tBu	-CH ₂ -苯基	C ₃₂ H ₄₃ N ₅ O ₃	546.34	546.4
20	tBu	iPr	C ₂₈ H ₄₃ N ₅ O ₃	498.34	498.4

表 II

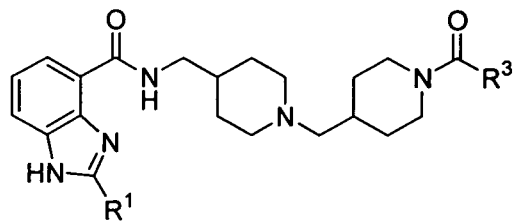


實例號	R ¹	R ^{3a}	R ^{3b}	R ^{3c}	R ^{3d}	R ^{3e}	分子式	[M+H] ⁺ 之 計算值	[M+H] ⁺ 之 實驗值
21	tBu	Cl					C ₃₁ H ₄₀ ClN ₅ O ₂	550.29	550.6
22	iPr						C ₃₀ H ₃₉ N ₅ O ₂	502.31	502.4
23	iPr	F					C ₃₀ H ₃₈ FN ₅ O ₂	520.30	520.2
24	iPr	CH ₃					C ₃₁ H ₄₁ N ₅ O ₂	516.33	516.4
25	iPr	CF ₃					C ₃₁ H ₃₈ F ₃ N ₅ O ₂	570.30	570.2
26	iPr		F				C ₃₀ H ₃₈ FN ₅ O ₂	520.30	520.2
27	iPr		CH ₃				C ₃₁ H ₄₁ N ₅ O ₂	516.33	516.4
28	iPr		CF ₃				C ₃₁ H ₃₈ F ₃ N ₅ O ₂	570.30	570.2
29	iPr		Cl				C ₃₀ H ₃₈ ClN ₅ O ₂	536.27	536.2

實例號	R ¹	R ^{3a}	R ^{3b}	R ^{3c}	R ^{3d}	R ^{3e}	分子式	[M+H] ⁺ 之 計算值	[M+H] ⁺ 之 實驗值
30	iPr			CF ₃			C ₃₁ H ₃₈ F ₃ N ₅ O ₂	570.30	570.2
31	iPr			CH ₃			C ₃₁ H ₄₁ N ₅ O ₂	516.33	516.4
32	iPr			Cl			C ₃₀ H ₃₈ ClN ₅ O ₂	536.27	536.2
33	iPr			OCH ₃			C ₃₁ H ₄₁ N ₅ O ₃	532.32	532.2
34	iPr			F			C ₃₀ H ₃₈ FN ₅ O ₂	520.30	520.2
35	iPr	F				F	C ₃₀ H ₃₇ F ₂ N ₅ O ₂	538.29	538.2
36	iPr	F			F		C ₃₀ H ₃₇ F ₂ N ₅ O ₂	538.29	538.2
37	iPr		F	F			C ₃₀ H ₃₇ F ₂ N ₅ O ₂	538.29	538.2
38	iPr	F	F				C ₃₀ H ₃₇ F ₂ N ₅ O ₂	538.29	538.2
39	iPr		F		F		C ₃₀ H ₃₇ F ₂ N ₅ O ₂	538.29	538.2
40	iPr	F		Cl			C ₃₀ H ₃₇ ClFN ₅ O ₂	554.26	554.4
41	iPr		CF ₃		CF ₃		C ₃₂ H ₃₇ F ₆ N ₅ O ₂	638.29	638.2
42	iPr	Cl		F			C ₃₀ H ₃₇ ClFN ₅ O ₂	554.26	554.2
43	iPr		Cl		Cl		C ₃₀ H ₃₇ Cl ₂ N ₅ O ₂	570.23	570.2
44	iPr			OCF ₃			C ₃₁ H ₃₈ F ₃ N ₅ O ₃	586.29	586.2
45	iPr		CF ₃	F			C ₃₁ H ₃₇ F ₄ N ₅ O ₂	588.29	588.2
46	iPr		Cl	F			C ₃₀ H ₃₇ ClFN ₅ O ₂	554.26	554.2
47	iPr	OCH ₃		Cl			C ₃₁ H ₄₀ ClN ₅ O ₃	566.28	566.2
48	iPr	CN					C ₃₁ H ₃₈ N ₆ O ₂	527.31	527.2
49	iPr	Cl		Cl			C ₃₀ H ₃₇ Cl ₂ N ₅ O ₂	570.23	570.2
50	iPr		F	CF ₃			C ₃₁ H ₃₇ F ₄ N ₅ O ₂	588.29	588.2
51	iPr			CN			C ₃₁ H ₃₈ N ₆ O ₂	527.31	527.2
52	iPr			OCHF ₂			C ₃₁ H ₃₉ F ₂ N ₅ O ₃	568.30	568.8
53	tBu	Cl		F			C ₃₁ H ₃₉ ClFN ₅ O ₂	568.28	568.2
54	tBu		Cl		Cl		C ₃₁ H ₃₉ Cl ₂ N ₅ O ₂	584.25	584.2
55	tBu		CN				C ₃₂ H ₄₀ N ₆ O ₂	541.32	541.4
56	tBu			OCF ₃			C ₃₂ H ₄₀ F ₃ N ₅ O ₃	600.31	600.2
57	tBu		CF ₃	F			C ₃₂ H ₃₉ F ₄ N ₅ O ₂	602.30	602.2
58	tBu		Cl	F			C ₃₁ H ₃₉ ClFN ₅ O ₂	568.28	568.2
59	tBu	OCH ₃		Cl			C ₃₂ H ₄₂ ClN ₅ O ₃	580.30	580.2
60	tBu	CN					C ₃₂ H ₄₀ N ₆ O ₂	541.32	541.4
61	tBu	Cl		Cl			C ₃₁ H ₃₉ Cl ₂ N ₅ O ₂	584.25	584.2
62	tBu		F	CF ₃			C ₃₂ H ₃₉ F ₄ N ₅ O ₂	602.30	602.2
63	tBu	F			CF ₃		C ₃₂ H ₃₉ F ₄ N ₅ O ₂	602.30	602.4
64	tBu			CN			C ₃₂ H ₄₀ N ₆ O ₂	541.32	541.2
65	tBu			OCHF ₂			C ₃₂ H ₄₁ F ₂ N ₅ O ₃	582.32	582.4
66	tBu						C ₃₁ H ₄₁ N ₅ O ₂	516.33	516.2
67	tBu	CH ₃					C ₃₂ H ₄₃ N ₅ O ₂	530.34	530.4
68	tBu	CF ₃					C ₃₂ H ₄₀ F ₃ N ₅ O ₂	584.31	584.4
69	tBu		F				C ₃₁ H ₄₀ FN ₅ O ₂	534.32	534.2
70	tBu		CF ₃				C ₃₂ H ₄₀ F ₃ N ₅ O ₂	584.31	584.4
71	tBu		Cl				C ₃₁ H ₄₀ ClN ₅ O ₂	550.29	550.2
72	tBu			CF ₃			C ₃₂ H ₄₀ F ₃ N ₅ O ₂	584.31	584.4
73	tBu			CH ₃			C ₃₂ H ₄₃ N ₅ O ₂	530.34	530.4
74	tBu			Cl			C ₃₁ H ₄₀ ClN ₅ O ₂	550.29	550.2
75	tBu			OCH ₃			C ₃₂ H ₄₃ N ₅ O ₃	546.34	546.4
76	tBu	F				F	C ₃₁ H ₃₉ F ₂ N ₅ O ₂	552.31	552.4
77	tBu	F			F		C ₃₁ H ₃₉ F ₂ N ₅ O ₂	552.31	552.2
78	tBu		F	F			C ₃₁ H ₃₉ F ₂ N ₅ O ₂	552.31	552.2
79	tBu	F	F				C ₃₁ H ₃₉ F ₂ N ₅ O ₂	552.31	552.4
80	tBu		F		F		C ₃₁ H ₃₉ F ₂ N ₅ O ₂	552.31	552.4
81	tBu	F		F			C ₃₁ H ₃₉ F ₂ N ₅ O ₂	552.31	552.2

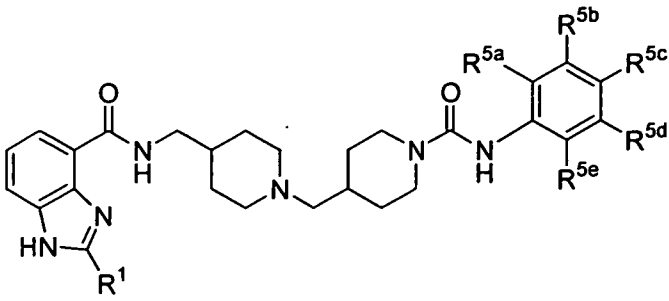
實例號	R ¹	R ^{3a}	R ^{3b}	R ^{3c}	R ^{3d}	R ^{3e}	分子式	[M+H] ⁺ 之 計算值	[M+H] ⁺ 之 實驗值
82	tBu	F			Cl		C ₃₁ H ₃₉ ClFN ₅ O ₂	568.28	568.2
83	tBu		CF ₃		CF ₃		C ₃₃ H ₃₉ F ₆ N ₅ O ₂	652.30	652.2
84	iPr	OCF ₃					C ₃₁ H ₃₈ F ₃ N ₅ O ₃	586.29	586.2
85	iPr		OCF ₃				C ₃₁ H ₃₈ F ₃ N ₅ O ₃	586.29	586.2
86	tBu	OCF ₃					C ₃₂ H ₄₀ F ₃ N ₅ O ₃	600.31	600.2
87	tBu		OCF ₃				C ₃₂ H ₄₀ F ₃ N ₅ O ₃	600.31	600.2

表 III



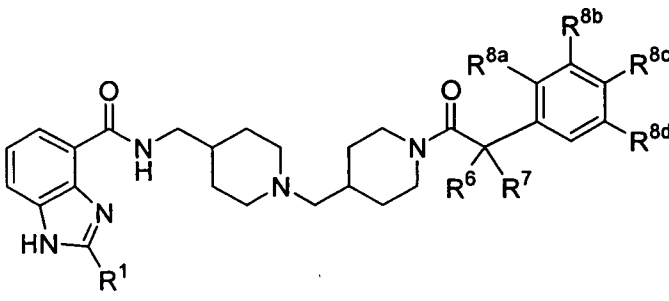
實例號	R ¹	R ³	分子式	[M+H] ⁺ 之 計算值	[M+H] ⁺ 之 實驗值
88	iPr	N(CH ₃) ₂	C ₂₆ H ₄₀ N ₆ O ₂	469.32	469.4
89	iPr	嗎啉-1-基	C ₂₈ H ₄₂ N ₆ O ₃	511.33	511.4
90	iPr	CH ₃	C ₂₅ H ₃₇ N ₅ O ₂	440.30	440.2
91	iPr	四氫呋喃-2-基	C ₂₈ H ₄₁ N ₅ O ₃	496.32	496.4
92	iPr	-CH ₂ -噻吩-3-基	C ₂₉ H ₃₉ N ₅ O ₂ S	522.28	522.2
93	iPr	2,2-二甲基丙基	C ₂₉ H ₄₅ N ₅ O ₂	496.36	496.4
94	iPr	-CH ₂ -噻吩-2-基	C ₂₉ H ₃₉ N ₅ O ₂ S	522.28	522.2
95	iPr	環己基	C ₃₀ H ₄₅ N ₅ O ₂	508.36	508.4
96	iPr	(S)-1-甲基丙基	C ₂₈ H ₄₃ N ₅ O ₂	482.34	482.4
97	iPr	-CH ₂ -萘-1-基	C ₃₅ H ₄₃ N ₅ O ₂	566.34	566.4
98	iPr	環戊基	C ₃₀ H ₄₅ N ₅ O ₂	508.36	508.4
99	iPr	(R)-四氫呋喃-2-基	C ₂₈ H ₄₁ N ₅ O ₃	496.32	496.4
100	tBu	呋喃-2-基	C ₂₉ H ₃₉ N ₅ O ₃	506.31	506.2
101	tBu	-CH ₂ -噻吩-3-基	C ₃₀ H ₄₁ N ₅ O ₂ S	536.30	536.2
102	tBu	2,2-二甲基丙基	C ₃₀ H ₄₇ N ₅ O ₂	510.37	510.4
103	tBu	-CH ₂ -噻吩-2-基	C ₃₀ H ₄₁ N ₅ O ₂ S	536.30	536.2
104	tBu	(S)-1-甲基丙基	C ₂₉ H ₄₅ N ₅ O ₂	496.36	496.4
105	tBu	-CH ₂ -萘-1-基	C ₃₆ H ₄₅ N ₅ O ₂	580.36	580.4
106	tBu	(R)-四氫呋喃-2-基	C ₂₉ H ₄₃ N ₅ O ₃	510.34	510.4
107	tBu	(S)-4-氧代-吡丁啉-2-基	C ₂₈ H ₄₀ N ₆ O ₃	509.32	510.4
108	tBu	吡啶-2-基	C ₃₁ H ₄₂ N ₆ O ₂	531.34	531.2

表 IV



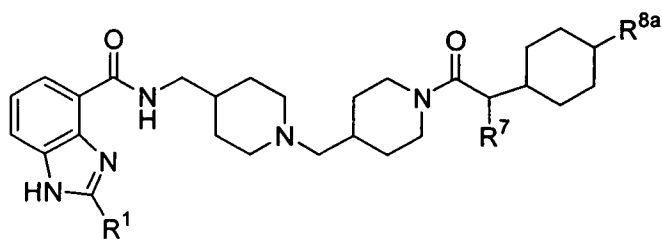
實例號	R ¹	R ^{5a}	R ^{5b}	R ^{5c}	R ^{5d}	R ^{5e}	分子式	[M+H] ⁺ 之計算值	[M+H] ⁺ 之實驗值
109	iPr	CH ₃					C ₃₁ H ₄₂ N ₆ O ₂	531.34	531.4
110	iPr		F				C ₃₀ H ₃₉ FN ₆ O ₂	535.31	535.2
111	iPr	CF ₃					C ₃₁ H ₃₉ F ₃ N ₆ O ₂	585.31	585.2
112	iPr	OCF ₃					C ₃₁ H ₃₉ F ₃ N ₆ O ₃	601.30	601.2
113	iPr			OCHF ₂			C ₃₁ H ₄₀ F ₂ N ₆ O ₃	583.31	583.2
114	iPr						C ₃₀ H ₄₀ N ₆ O ₂	517.32	517.4
115	iPr	CH ₃				CH ₃	C ₃₂ H ₄₄ N ₆ O ₂	545.35	545.4
116	iPr			OCF ₃			C ₃₁ H ₃₉ F ₃ N ₆ O ₃	601.30	601.2
117	iPr	tBu					C ₃₄ H ₄₈ N ₆ O ₂	573.38	573.4
118	iPr	Cl					C ₃₀ H ₃₉ ClN ₆ O ₂	551.28	551.2
119	tBu	Cl					C ₃₁ H ₄₁ ClN ₆ O ₂	565.30	565.2
120	tBu	CH ₃					C ₃₂ H ₄₄ N ₆ O ₂	545.35	545.5
121	tBu	F					C ₃₁ H ₄₁ FN ₆ O ₂	549.33	549.2
122	tBu	CF ₃					C ₃₂ H ₄₁ F ₃ N ₆ O ₂	599.32	599.2
123	tBu	OCF ₃					C ₃₂ H ₄₁ F ₃ N ₆ O ₃	615.32	615.2
124	tBu			OCHF ₂			C ₃₂ H ₄₂ F ₂ N ₆ O ₃	597.33	597.4
125	tBu	F					C ₃₁ H ₄₁ FN ₆ O ₂	549.33	549.2
126	tBu						C ₃₁ H ₄₂ N ₆ O ₂	531.34	531.4
127	tBu	CH ₃				CH ₃	C ₃₃ H ₄₆ N ₆ O ₂	559.37	559.4
128	tBu			OCF ₃			C ₃₂ H ₄₁ F ₃ N ₆ O ₃	615.32	615.2
129	tBu	tBu					C ₃₅ H ₅₀ N ₆ O ₂	587.40	587.4

表 V



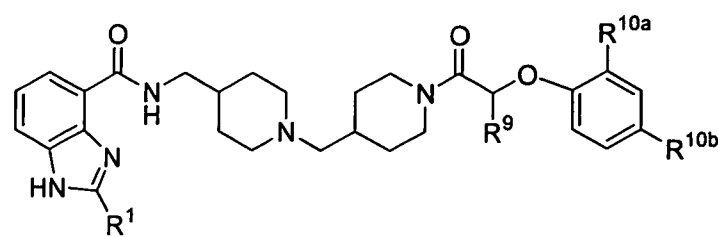
實例號	R ¹	R ⁶	R ⁷	R ^{8a}	R ^{8b}	R ^{8c}	R ^{8d}	分子式	[M+H] ⁺ 之 計算值	[M+H] ⁺ 之 實驗值
130	iPr		(S)-OH					C ₃₁ H ₄₁ N ₅ O ₃	532.32	532.2
131	iPr	酮基						C ₃₁ H ₃₉ N ₅ O ₃	530.31	530.2
132	iPr					Cl		C ₃₁ H ₄₀ ClN ₅ O ₂	550.29	550.2
133	iPr		(S)-CH ₃					C ₃₂ H ₄₃ N ₅ O ₂	530.34	530.4
134	iPr	-(CH ₂) ₂ -						C ₃₃ H ₄₃ N ₅ O ₂	542.34	542.4
135	iPr			F		F		C ₃₁ H ₃₉ F ₂ N ₅ O ₂	552.31	552.2
136	iPr				F			C ₃₁ H ₄₀ FN ₅ O ₂	534.32	534.2
137	iPr				Cl			C ₃₁ H ₄₀ ClN ₅ O ₂	550.29	551.2
138	iPr				F	F		C ₃₁ H ₃₉ F ₂ N ₅ O ₂	552.31	552.2
139	iPr				F		F	C ₃₁ H ₃₉ F ₂ N ₅ O ₂	552.31	553.2
140	iPr							C ₃₁ H ₄₁ N ₅ O ₂	516.33	516.4
141	tBu		(S)-OH					C ₃₂ H ₄₃ N ₅ O ₃	546.34	546.4
142	tBu					F		C ₃₂ H ₄₂ FN ₅ O ₂	548.33	548.2
143	tBu	oxo						C ₃₂ H ₄₁ N ₅ O ₃	544.32	544.4
144	tBu					Cl		C ₃₂ H ₄₂ ClN ₅ O ₂	564.30	565.2
145	tBu		CH ₃			2-甲基丙基		C ₃₇ H ₅₃ N ₅ O ₂	600.42	600.4
146	tBu		(S)-CH ₃					C ₃₃ H ₄₅ N ₅ O ₂	544.36	544.4
147	tBu	-(CH ₂) ₂ -						C ₃₄ H ₄₅ N ₅ O ₂	556.36	556.4
148	tBu			Cl		Cl		C ₃₂ H ₄₁ Cl ₂ N ₅ O ₂	598.26	599.2
149	tBu			F		F		C ₃₂ H ₄₁ F ₂ N ₅ O ₂	566.32	566.2
150	tBu				F			C ₃₂ H ₄₂ FN ₅ O ₂	548.33	548.4
151	tBu					CF ₃		C ₃₃ H ₄₂ F ₃ N ₅ O ₂	598.33	598.4
152	tBu				CF ₃			C ₃₃ H ₄₂ F ₃ N ₅ O ₂	598.33	598.2
153	tBu				Cl			C ₃₂ H ₄₂ ClN ₅ O ₂	564.30	564.2
154	tBu				F	F		C ₃₂ H ₄₁ F ₂ N ₅ O ₂	566.32	566.2
155	tBu				F		F	C ₃₂ H ₄₁ F ₂ N ₅ O ₂	566.32	566.4
156	tBu							C ₃₂ H ₄₃ N ₅ O ₂	530.34	530.4

表 VI



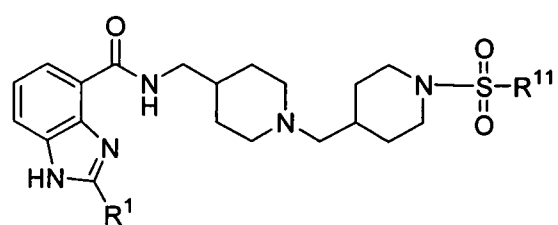
實例號	R ¹	R ⁷	R ^{8a}	分子式	[M+H] ⁺ 之計算值	[M+H] ⁺ 之實驗值
157	iPr	(R)-OH		C ₃₁ H ₄₇ N ₅ O ₃	538.37	538.4
158	iPr			C ₃₁ H ₄₇ N ₅ O ₂	522.37	522.4
159	tBu	(R)-OH		C ₃₂ H ₄₉ N ₅ O ₃	552.38	552.4
160	tBu			C ₃₂ H ₄₉ N ₅ O ₂	536.39	536.4

表 VII



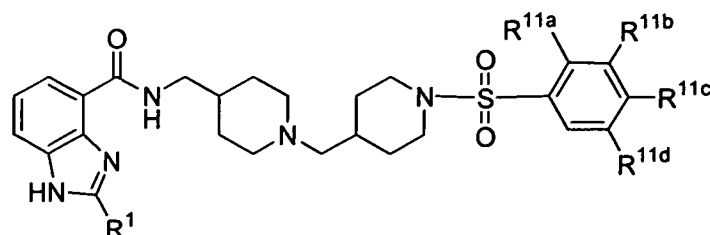
實例號	R ¹	R ⁹	R ^{10a}	R ^{10b}	分子式	[M+H] ⁺ 之計算值	[M+H] ⁺ 之實驗值
161	iPr			CH ₃	C ₃₂ H ₄₃ N ₅ O ₃	546.34	546.4
162	iPr		Cl	Cl	C ₃₁ H ₃₉ Cl ₂ N ₅ O ₃	600.24	601.2
163	iPr	CH ₃		Cl	C ₃₂ H ₄₂ ClN ₅ O ₃	580.30	581.2
164	iPr	CH ₃			C ₃₂ H ₄₃ N ₅ O ₃	546.34	546.4
165	tBu			CH ₃	C ₃₃ H ₄₅ N ₅ O ₃	560.35	560.4
166	tBu		Cl	Cl	C ₃₂ H ₄₁ Cl ₂ N ₅ O ₃	614.26	615.2
167	tBu	CH ₃		Cl	C ₃₃ H ₄₄ ClN ₅ O ₃	594.31	595.2
168	tBu	CH ₃			C ₃₃ H ₄₅ N ₅ O ₃	560.35	560.4

表 VIII



實例號	R ¹	R ¹¹	分子式	[M+H] ⁺ 之計算值	[M+H] ⁺ 之實驗值
169	iPr	CH ₃	C ₂₄ H ₃₇ N ₅ O ₃ S	476.26	476.2
170	iPr	2,4-二甲基異噁唑-2基	C ₂₈ H ₄₀ N ₆ O ₄ S	557.28	557.2
171	iPr	-CH ₂ -苯基	C ₃₀ H ₄₁ N ₅ O ₃ S	552.29	552.2
172	tBu	2,4-二甲基異噁唑-2基	C ₂₉ H ₄₂ N ₆ O ₄ S	571.30	571.2
173	tBu	-CH ₂ -苯基	C ₃₁ H ₄₃ N ₅ O ₃ S	566.31	566.2

表 IX



實例號	R ^I	R ^{IIa}	R ^{IIb}	R ^{IIc}	R ^{IId}	分子式	[M+H] ⁺ 之計算值	[M+H] ⁺ 之實驗值
174	iPr	CF ₃				C ₃₀ H ₃₈ F ₃ N ₅ O ₃ S	606.27	606.2
175	iPr	CN				C ₃₀ H ₃₈ N ₆ O ₃ S	563.27	563.2
176	iPr			OCH ₃		C ₃₀ H ₄₁ N ₅ O ₄ S	568.29	568.2
177	iPr		Cl			C ₂₉ H ₃₈ ClN ₅ O ₃ S	572.24	572.2
178	iPr	F				C ₂₉ H ₃₈ FN ₅ O ₃ S	556.27	556.2
179	iPr			CF ₃		C ₃₀ H ₃₈ F ₃ N ₅ O ₃ S	606.27	606.2
180	iPr			iPr		C ₃₂ H ₄₅ N ₅ O ₃ S	580.32	580.4
181	iPr	Cl				C ₂₉ H ₃₈ ClN ₅ O ₃ S	572.24	572.2
182	iPr	CH ₃			F	C ₃₀ H ₄₀ FN ₅ O ₃ S	570.28	570.2
183	iPr	Cl		F		C ₂₉ H ₃₇ ClFN ₅ O ₃ S	590.23	590.2
184	iPr	CH ₃	Cl			C ₃₀ H ₄₀ ClN ₅ O ₃ S	586.25	586.2
185	iPr			tBu		C ₃₃ H ₄₇ N ₅ O ₃ S	594.34	594.4
186	iPr	OCH ₃			Cl	C ₃₀ H ₄₀ ClN ₅ O ₄ S	602.25	602.2
187	iPr			Cl		C ₂₉ H ₃₈ ClN ₅ O ₃ S	572.24	572.2
188	iPr					C ₂₉ H ₃₉ N ₅ O ₃ S	538.28	538.2
189	iPr			F		C ₂₉ H ₃₈ FN ₅ O ₃ S	556.27	556.2
190	iPr		CH ₃			C ₃₀ H ₄₁ N ₅ O ₃ S	552.29	552.2
191	iPr			CH ₃		C ₃₀ H ₄₁ N ₅ O ₃ S	552.29	552.2
192	iPr		CF ₃			C ₃₀ H ₃₈ F ₃ N ₅ O ₃ S	606.27	606.2
193	iPr	CH ₃				C ₃₀ H ₄₁ N ₅ O ₃ S	552.29	552.2
194	tBu	CN				C ₃₁ H ₄₀ N ₆ O ₃ S	577.29	577.2
195	tBu			CF ₃		C ₃₁ H ₄₀ F ₃ N ₅ O ₃ S	620.28	620.2
196	tBu			iPr		C ₃₃ H ₄₇ N ₅ O ₃ S	594.34	594.4
197	tBu	Cl				C ₃₀ H ₄₀ ClN ₅ O ₃ S	586.25	586.2
198	tBu	CH ₃			F	C ₃₁ H ₄₂ FN ₅ O ₃ S	584.30	584.2
199	tBu	Cl		F		C ₃₀ H ₃₉ ClFN ₅ O ₃ S	604.24	604.2
200	tBu	CH ₃	Cl			C ₃₁ H ₄₂ ClN ₅ O ₃ S	600.27	600.2
201	tBu			tBu		C ₃₄ H ₄₉ N ₅ O ₃ S	608.36	608.4
202	tBu	OCH ₃			Cl	C ₃₁ H ₄₂ ClN ₅ O ₄ S	616.26	616.2
203	tBu		CH ₃			C ₃₁ H ₄₃ N ₅ O ₃ S	566.31	566.4
204	tBu			CH ₃		C ₃₁ H ₄₃ N ₅ O ₃ S	566.31	566.2
205	tBu		CF ₃			C ₃₁ H ₄₀ F ₃ N ₅ O ₃ S	620.28	620.2
206	tBu	CH ₃				C ₃₁ H ₄₃ N ₅ O ₃ S	566.31	566.2
207	tBu	CF ₃				C ₃₁ H ₄₀ F ₃ N ₅ O ₃ S	620.28	620.2
208	tBu			OCH ₃		C ₃₁ H ₄₃ N ₅ O ₄ S	582.30	582.2
209	tBu		Cl			C ₃₀ H ₄₀ ClN ₅ O ₃ S	586.25	586.2
210	tBu	F				C ₃₀ H ₄₀ FN ₅ O ₃ S	570.28	570.2
211	tBu			Cl		C ₃₀ H ₄₀ ClN ₅ O ₃ S	586.25	586.2
212	tBu					C ₃₀ H ₄₁ N ₅ O ₃ S	552.29	552.2
213	tBu			F		C ₃₀ H ₄₀ FN ₅ O ₃ S	570.28	570.2

實例 214. 4-(4-[(2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羰基)-胺基]甲基}哌啶-1-基甲基)哌啶-1-羧酸甲酯之替代合成

a. 4-羥基甲基-哌啶-1-羧酸甲酯之製備

將4-羥基甲基哌啶(1.0 g, 8.6 mmol)溶於水(15 mL)中且冷卻至 0 °C。向此溶液中逐滴添加碳酸鉀(4.8 g, 34.7 mmol)水溶液(10 mL)，接著添加氯甲酸甲酯(2.68 mL, 34.7 mmol)。劇烈攪拌混合物且經2小時使其溫至室溫。攪拌隔夜(16 h)之後，以6M鹽酸水溶液酸化且以二氯甲烷(3×60 mL)萃取。組合萃取物，經硫酸鈉乾燥且過濾。蒸發濾液以產生無色油狀之標題中間物(1.4 g, 8.1 mmol, 93%)。
(m/z): C₈H₁₅NO₃ 之計算值：173.11；實驗值：156.2 [M-H₂O+H]⁺。¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) 0.98 (m, 2H), 1.52 (m, 1H), 1.63 (br d, 2H), 2.72 (br m, 2H), 3.23 (d, 2H), 3.56 (s, 3H), 3.95 (br d, 2H), 4.48 (br s, 1H)。

b. 4-醛基哌啶-1-羧酸甲酯之製備

在-78°C下向草醯氯(4.1 mL, 8.2 mmol)在二氯甲烷(4 mL)中之溶液中逐滴添加二甲亞碲(1.2 mL, 16.4 mmol)在二氯甲烷(4 mL)中之溶液。攪拌5分鐘之後，添加4-羥基甲基-哌啶-1-羧酸甲酯(1.3 g, 7.5 mmol)在二氯甲烷(5 mL)中之溶液。再攪拌所得溶液5分鐘，接著添加三乙胺(5.2 mL, 37.3 mmol)，且使混合物溫至-10°C。攪拌1小時之後，添加二氯甲烷(100 mL)，且以1M磷酸水溶液、1M氫氧化鈉水溶液及鹽水洗滌有機層。使溶液經硫酸鈉乾燥然後蒸發以產生呈小麥色油狀之標題中間物(1.0 g, 5.8 mmol, 78%)。¹H

NMR (300MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) 1.36 (m, 2H), 1.83 (m, 2H), 2.48 (br m, 1H), 2.93 (br t, 2H), 3.56 (s, 3H), 3.80 (br d, 2H), 9.56 (s, 1H)。

c. 4-(4-{[(2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羧基)-胺基]甲基}哌啶-1-基甲基)哌啶-1-羧酸甲酯之合成

將2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羧酸(哌啶-4-基甲基)醯胺，(雙TFA鹽；1.1 g, 2.0 mmol)懸浮於二氯甲烷(20 mL)及N,N-二異丙基乙胺(0.72 mL, 4.0 mmol)中。當懸浮液變成澄清溶液時，添加乙酸(0.13 mL, 2.0 mmol)，接著添加4-醛基哌啶-1-羧酸甲酯(0.54 g, 3.1 mmol)在二氯甲烷(20 mL)中之溶液。室溫下攪拌5分鐘之後，添加三乙醯氧基硼氫化鈉(0.628 g, 3.1 mmol)，且再攪拌反應1小時。接著以1M氫氧化鈉水溶液(35 mL)使水層成為鹼性，且以二氯甲烷(2×20 mL)萃取。將組合有機層以鹽水洗滌，經硫酸鈉乾燥且蒸發以產生呈棕色固體之粗產物(1.41 g)。

經由製備HPLC(逆相)純化粗產物[梯度5-10-25%(5% MeCN/水(0.1% TFA)至10% MeCN線性，經10 min；10 MeCN至25%MeCN線性，經50 min；流動速率=15 mL/min；在280 nm下偵測]以產生呈雙三氟乙酸鹽之標題化合物，接著將其凍乾。向凍乾的雙三氟乙酸鹽中添加1M氫氧化鈉及二氯甲烷(1:1, 100 mL)之混合物。將有機層經硫酸鈉乾燥，過濾且蒸發，且將所得固體凍乾以提供呈白色固體之標題化合物(0.93 g, 2 mmol, 98 %產率，純度97.5 %)。(m/z): $C_{25}H_{37}N_5O_3$ 之 $[M+H]^+$ 計算值：456.30；實

驗值：456.3。滯留時間(分析HPLC：2-50% MeCN/H₂O經6 min)=3.06 min ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆): 0.92 (m, 2H), 1.30 (m, 2H), 1.38 (d, 6H), 1.53 (m, 1H), 1.60-1.90 (m, 7H), 2.07 (d, 2H), 2.73 (br m, 2H), 2.83 (br d, 2H), 3.22 (s 七重線, 1H), 3.33 (t, 2H), 3.56 (s, 3H), 3.93 (br d, 2H), 7.23 (t, 1H), 7.62 (d, 1H), 7.77 (d, 1H), 10.10 (br s, 1H)。

實例 215. 結晶 4-(4-{[(2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羰基)-胺基]甲基}哌啶-1-基甲基)哌啶-1-羧酸甲酯(式I)之合成
將根據實例 214 之方法製備之非晶形固體形式之 4-(4-{[(2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羰基)-胺基]甲基}哌啶-1-基甲基)哌啶-1-羧酸甲酯(300 mg)溶於乙腈(15 mL)中，混合直至完全溶解，且暴露於空氣中，導致部分蒸發。觀察晶體在2小時內成核。晶體之化學組成係由¹H NMR、液體層析/質譜(LC/MS)及x-光結構分析證實。固體產物之結晶特性係由粉末x-光繞射、差示掃描量熱法及x-光結構分析證實。

實例 216. 結晶 4-(4-{[(2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羰基)-胺基]甲基}哌啶-1-基甲基)哌啶-1-羧酸甲酯(式I)之合成
a. 4-羥基甲基-哌啶-1-羧酸甲酯之製備

將4-羥基甲基哌啶(47.6 g, 1.0 eq)及水(300 mL)饋入燒瓶中。將所得混合物冷卻至0-10℃。將碳酸鉀(85.7 g, 1.5 eq)溶於水(150 mL)中，且維持溫度在10℃以下的同時添加氯甲酸甲酯(38.4 mL, 1.1 eq)。當添加完成時，將反應混合物溫至高達20-30℃歷時1小時。反應完成之後，向

反應混合物中添加二氯甲烷(500 mL)。收集有機層且以1 M磷酸溶液(200 mL)、飽和碳酸氫鈉溶液(200 mL)及飽和氯化鈉溶液(200 mL)洗滌。將有機層經硫酸鈉(50 g, 1 w/w eq)乾燥且接著在真空中蒸餾以產生標題中間物。(67.0 g, 90%產率)

b. 4-羥基哌啶-1-羧酸甲酯之製備

將4-羥基甲基哌啶-1-羧酸甲酯(34.7 g, 1.0 eq)溶於二氯甲烷中且冷卻至0-10°C。經15分鐘添加碳酸氫鈉(2.35 g, 0.14 eq)及溴化鈉(2.40 g, 0.10 eq)在水中之溶液(100 mL)同時保持溫度在0-10°C。經1小時在良好攪動下將2,2,6,6-四甲基-1-哌啶基氧基游離基(TEMPO)(0.32 g, 0.01 eq)加入混合物中，接著添加10-13% w/v次氯酸鈉溶液(135 mL, 1.1 eq)，同時維持溫度在0-10°C。反應完成之後，將該等層分離，且將有機層以水(150 mL)洗滌，且經硫酸鈉(30 g, 1 w/w eq)乾燥。藉由蒸餾移除溶劑以提供標題中間物。(31.0 g, 90%產率)

c. 2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羧酸(哌啶-4-基甲基)醯胺之合成

將三氟乙酸(56.0 mL, 10 eq)加入含有~5°C之4-{[(2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羧基)胺基]甲基}-哌啶-1-羧酸第三丁酯(30.0 g, 1.0 eq)於二氯甲烷(300 mL)中之溶液的燒瓶中，同時維持溫度在10°C以下。在20-30°C下將所得混合物攪拌2 h當反應完成時，添加三乙胺(73.2 mL, 7.0 eq)及乙酸(4.3 mL, 1.0 eq)，以提供標題中間物之溶液，其具有約4

之表觀pH值，該中間物在下列步驟中直接使用。

d. 4-(4-{[(2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羰基)-胺基]甲基}哌啶-1-基甲基)哌啶-1-羧酸甲酯之合成

將4-醛基哌啶-1-羧酸甲酯(25.7 g, 2.0 eq)加入先前步驟中製備之溶液中，同時保持溫度在20-30°C。攪拌30分鐘之後，添加三乙醯氧基硼氫化鈉(24.3 g, 1.5 eq)，同時維持溫度在20-30°C。在20-30°C下攪拌反應混合物30分鐘。反應完成之後，添加1 M鹽酸(300 mL)以中止反應。收集含有產物之水層且以二氯甲烷(150 mL)洗滌。以活性碳(Darco G60, 6 g, 20% w/w)處理水層以移除顏色。攪拌懸浮液1小時，且接著經Celite床過濾。向含水溶液中添加二氯甲烷(300 mL)且使用4 N氫氧化鈉藉由將水層之pH值調節至12-13將產物游離鹼化。收集有機層且以水(300 mL)洗滌。在80°C下蒸餾有機層且以乙腈(2×300 mL)交換溶劑，以移除二氯甲烷及殘餘三乙烷。將固體懸浮於乙腈(600 mL)中，且將混合物加熱至固體溶解(~75°C)。將溶液冷卻直至發生成核現象(~55 - 65°C)且維持1小時。經2小時將漿料冷卻至20°C，且接著經30分鐘至0-5°C，接著在0-5°C下攪拌30分鐘。將固體過濾且以冷乙腈(60 mL)洗滌。在真空中在60°C下乾燥濕濾餅歷時6小時，以提供標題化合物。(28.3 g, 85%產率)。

實例 217：結晶 4-(4-{[(2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羰基)-胺基]甲基}哌啶-1-基甲基)哌啶-1-羧酸甲酯(式I)之合成

將根據實例 214之方法製備之呈無晶形固體之4-(4-{[(2-

異丙基-1H-苯并咪唑-4-羧基)-胺基]甲基}哌啶-1-基甲基)哌啶-1-甲酯分散於下表X中之惰性稀釋劑中。將混合物暴露於空氣中且使其完全蒸發。藉由粉末x-光繞射特徵化所得固體。證實所有固體為具有與以下實例220中報導一致之粉末x-光繞射圖案的結晶，其係由實例215之樣品獲得。

表X：結晶形式之合成

稀釋劑	式(I)之化合物 (mg)	稀釋劑之體積 (mL)
乙醚	4.60	0.230
環己烷	4.87	0.486
乙酸乙酯	5.67	0.284

實例218：結晶4-(4-{[(2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羧基)-胺基]甲基}哌啶-1-基甲基)哌啶-1-羧酸甲酯(式II)之合成

在周圍溫度下將無晶形固體形式(42.2 mg)之4-(4-{[(2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羧基)-胺基]甲基}哌啶-1-基甲基)哌啶-1-羧酸甲酯分散於己烷(4.22 mL)中至最終濃度為10 mg/mL。對該溶液進行超聲處理以分散較大固體。在周圍溫度(約22°C)下24小時之後發生結晶。在分析之前，藉由真空過濾分離結晶固體。

實例219：結晶4-(4-{[(2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羧基)-胺基]甲基}哌啶-1-基甲基)哌啶-1-羧酸甲酯(式III)之合成

在周圍溫度下將無晶形固體形式(38 mg)之4-(4-{[(2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羧基)-胺基]甲基}哌啶-1-基甲基)哌啶-1-羧酸甲酯分散於1:1乙醇：水溶劑混合物(1.9 mL)中至

最終濃度為20 mg/mL。超聲處理該溶液30秒以確保完全溶解。使溶液在無蓋小瓶中緩慢蒸發。在周圍溫度下24小時之後發生結晶。藉由真空過濾分離結晶固體。在分析之前以1:1乙醇：水溶劑混合物洗滌濾餅一次。

實例 220：粉末 x-光繞射

由 Thermo ARL X-Ray Diffractometer Model X'TRA (Thermo ARL SA, Switzerland) 使用 1.542 Å 下之 Cu K α 輻射 (45 kV, 40 mA) 以 Si(Li) 固態偵測器獲得粉末 x-光繞射圖案。通常在以下條件下進行分析：2°/min 掃描速率，每點 0.03° 之步長尺寸，以兩個 θ 角度在 2° 至 35° 之範圍內。將所接受或研磨成細粉末之樣品輕柔地裝入直徑為 7.8 mm 且深度為 0.5 mm 之石英插入物中，該石英插入物係經設計以適於儀器頂部載入樣品杯從而便於分析。每週藉由與矽金屬標準比較來驗證儀器校準係在 $\pm 0.02^\circ 2\theta$ 角之內。手工研磨成粉末之實例 215 之結晶化合物 (式 I) 的代表性 PXRD 圖案係展示於圖 1 中。以 Rigaku 繞射計使用 Cu K α (30 kV, 15 mA) 輻射所獲得之結晶形式 III 之樣品的代表性 PXRD 圖案係展示於圖 5 中。

實例 221：X-光結構分析

a. 形式 I

將具有 0.33×0.17×0.11 mm 維度之實例 215 中產生之塊結晶置於一玻璃纖維上。使用由 SMART 版本 5.630 軟體 (Bruker, 2003) 控制之視窗直徑為 13.5 cm 之 Bruker SMART 6K CCD-光區域偵測器獲得 X-光結構資料。樣品至偵測器

之距離為 5.039 cm。在 $-153 \pm 1^\circ\text{C}$ 之溫度下收集資料且使用 SHELXS 版本 6.14 (Bruker, 2003) 軟體來分析。得到以下晶格參數：晶胞為斜方晶，其尺寸為 $a=16.9053 \text{ \AA}$ 、 $b=9.5172 \text{ \AA}$ 、 $c=15.4659 \text{ \AA}$ ；空間群為 $\text{Pna}2_1$ ；計算密度為 1.22 g/cm^3 。由衍生之原子位置預測之粉末 x-光繞射峰與實例 220 中描述獲得之觀測結果完全一致，如表 XI 中所示。

表 XI：PXRD 峰位置

觀測 2θ (度)	預測 2θ (度)
15.08 ± 0.20	15.1 ± 0.2
15.41 ± 0.20	15.6 ± 0.2
19.00 ± 0.20	19.2 ± 0.2
19.70 ± 0.20	19.5 ± 0.2
23.68 ± 0.20	23.7 ± 0.2

b. 形式 III

藉由上述方法分析由實例 219 之方法產生之尺寸為 $0.35 \times 0.12 \times 0.09 \text{ mm}$ 的塊晶體。得到以下晶格參數：晶胞為斜方晶，其尺寸為 $a=14.8101 \text{ \AA}$ 、 $b=9.9985 \text{ \AA}$ 、 $c=17.9222 \text{ \AA}$ ； $\beta=106.3020^\circ$ 、空間群為 $\text{Pna}2_1$ ；計算密度為 1.23 g/cm^3 。

實例 222：熱分析

使用 TA 儀器 Q-100 型號之模組進行差示掃描熱量測定 (DSC)。使用 Q Series™ 軟體之 TA Instruments Thermal Advantage 收集及分析資料。將約 7 mg 之樣品精確稱入有蓋鋁盤中。使用自 5°C 至約 200°C 的 10°C/min 之線性加熱斜坡來評估樣品。在使用時由乾燥氮清洗 DSC 晶胞。

使用 TA 儀器 Q-500 型號模組進行熱解重量分析 (TGA)。

使用 Q Series™ 軟體之 TA Instruments Thermal Advantage 收集及分析資料。將重約 2 mg 之樣品置於鉑坩堝上之鋁盤中，且自周圍溫度至 300 °C 進行掃描，線性速率為 10 °C /min。在使用過程中以氮清洗平衡室及鍋爐室。

結晶形式 I、形式 II 及形式 III 材料之代表性 DSC 及 TGA 徑線 (根據實例 216 之方法製備) 分別展示於圖 2、4 及 6。

實例 223：動態吸濕評估

在 25 °C 下使用 VTI 氣壓微量天平，SGA-100 系統 (VTI Corp., Hialeah, FL 33016) 進行動態吸濕 (DMS) 評估。使用約 5-10 mg 樣品尺寸且在分析開始時將濕度設定在周圍溫度值。典型的 DMS 分析係由三個掃描組成：周圍濕度至 2% 相對濕度 (RH)、2% RH 至 90% RH、90% RH 至 5% RH，掃描速率為 5% RH/步。每兩分鐘量測質量，且當樣品質量歷時 5 個連續點穩定在 0.02 % 之內時將 RH 變為下一個值 ($\pm 5\%$ RH)。實例 215 (式 I) 之結晶化合物之代表性 DMS 等溫線係展示於圖 3 中。

本發明之結晶化合物呈現一可逆的吸附/解吸附概況，其在整個 2 % 至 90 % RH 之範圍內重量變化小於 0.25 %，且在 40 % 至 75 % RH 之關鍵濕度範圍內重量變化小於約 0.1 %。

實例 224：紅外分析

在 4000 至 675 cm^{-1} 之頻率範圍內使用配備有 Nicolet 衰減全反射 (ATR) 樣品架的 Avatar 360 FT-IR 光譜計測定實例 215 (形式 I) 之結晶化合物之紅外 (IR) 吸收光譜。本發明之

結晶化合物樣品之代表性IR吸收光譜在 766 ± 1 、 1097 ± 1 、 1251 ± 1 、 1413 ± 1 、 1449 ± 1 、 1579 ± 1 、 1609 ± 1 、 1640 ± 1 及 $1696\pm 1\text{ cm}^{-1}$ 處具有顯著吸收帶。

實例 225：固態穩定性評估

將根據實例 216 之方法所製備之形式 I 之結晶化合物的樣品貯存於 40°C 及 75 % RH 下之多個開口細頸瓶中。以特定間隔，將代表性小瓶之內容物移除且藉由 DSC、TGA、PXRD 及 HPLC 進行化學純度分析。貯存三個月之後，未偵測到 DSC 或 TGA 溫度自記圖或 PXRD 圖案之變化。貯存樣品之化學純度為 99.5 %。

分析 1：5-HT_{4(c)} 人類受體上之放射性配位體結合分析

a. 膜製備 5-HT_{4(c)}

使以人類 5-HT_{4(c)} 受體 cDNA ($B_{\text{max}} \sim 6.0\text{ pmol/mg}$ 蛋白，如使用 [³H]-GR113808 膜放射配體結合分析測定) 穩定轉染之 HEK-293 (人類胚腎) 細胞生長於 37°C 下 5% CO₂、濕化培養箱中的 T-225 燒瓶中的 Dulbecco's Modified Eagles Medium (DMEM) 中，其中含有添加有 10% 胎牛血清 (FBS) (GIBCO-Invitrogen Corp.: 目錄號 10437)、2 mM L-麩醯胺酸及 (100 單位) 青黴素 - (100 μg) 鏈黴素 /ml (GIBCO-Invitrogen Corp.: 目錄號 15140) 的 4,500 mg/L D-葡萄糖及鹽酸吡哆辛 (GIBCO-Invitrogen Corp., Carlsbad CA: 目錄號 11965)。藉由向培養基中添加 800 $\mu\text{g/mL}$ 遺傳黴素 (GIBCO-Invitrogen Corp.: 目錄號 10131) 使細胞生長於連續選擇壓力下。

細胞生長至大體上60-80%融合(<35繼代培養)。在收集之前20-22小時，洗滌細胞兩次且饋入無血清DMEM中。膜製備之所有步驟係在冰上進行。藉由輕柔的機械攪動使細胞單層升起且以25 mL移液管來吹吸。藉由在1000 rpm(5 min)下離心來收集細胞。

對於膜製備而言，將細胞離心塊重懸於冰冷的50 mM之4-(2-羥乙基)-1-哌嗪乙烷磺酸(HEPES), pH 7.4(膜製備緩衝液)(自30-40 T225燒瓶之40 mL/總細胞產率)中，且使用勻質化分裂器(設定值19, 2×10 s)在冰上將其均勻化。在4°C以1200 g將所得均漿離心5分鐘。棄去離心塊且以40,000 g (20 min)離心上清液。藉由以膜製備緩衝液重懸浮來洗滌離心塊一次且在40,000 g下離心(20 min)。將最終離心塊重懸浮於50 mM HEPES, pH 7.4(分析緩衝液)(等效的1 T225 燒瓶/1 mL)中。藉由Bradford方法(Bradford, 1976)測定膜懸浮之蛋白濃度。將膜以等分試樣冷凍儲存於-80°C下。

b. 放射性配位體結合分析

將放射性配位體結合分析在1.1 mL 96-深孔之聚丙烯分析板(Axygen)中在含有於50 mM HEPES pH 7.4中之2 μ g膜蛋白的總分析體積400 μ L中進行，其中含有0.025%牛血清白蛋白(BSA)。使用 [^{3} H]-GR113808 (Amersham Inc., Bucks, UK: 目錄號 TRK944 ; 比活性 ~82 Ci/mmol) 在0.001 nM - 5.0 nM範圍內之8-12個不同濃度下進行用於測定放射性配位體之 K_d 值的飽和結合研究。以 [^{3} H]-

GR113808 在 0.15 nM 及 10 pM - 100 μ M 範圍內的化合物之 11 個不同濃度下進行用於測定化合物之 pK_i 值的替代分析。

測試化合物係作為 10 mM DMSO 中之儲備溶液而接受，且在 25°C 下於 50 mM HEPES pH 7.4 中稀釋至 400 μ M，其中含有 0.1% BSA，且接著在相同緩衝液中連續稀釋 (1:5)。在 1 μ M 未經標記之 GR113808 存在下測定非特異性結合。在室溫下培養分析物 60 分鐘，且接著藉由經預浸泡於 0.3% 聚乙炔亞胺中之 96-孔 GF/B 玻璃纖維過濾板 (Packard BioScience Co., Meriden, CT) 的快速過濾中止結合反應。以過濾緩衝液 (冰冷的 50 mM HEPES, pH 7.4) 洗滌過濾板三次以移除未結合之放射活性。將板乾燥，向各孔中添加 35 μ L Microscint-20 液體閃爍流體 (Packard BioScience Co., Meriden, CT) 且在 Packard Topcount 液體閃爍計數器 (Packard BioScience Co., Meriden, CT) 中對板進行計數。

使用單位點競爭之 3-參數模型藉由具有 GraphPad Prism Software 包 (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA) 之非線性回歸分析來分析結合資料。在 1 μ M GR113808 存在下將 BOTTOM (曲線最小值) 固定於非特異性結合之值處。在 Prism 中自最適 IC_{50} 值及放射性配位體之 K_d 值，使用 Cheng-Prusoff 方程式 (Cheng and Prusoff, Biochemical Pharmacology, 1973, 22, 3099-108) 計算測試化合物之 K_i 值，方程式如下： $K_i = IC_{50} / (1 + [L]/K_d)$ ，其中 $[L]$ =

濃度 [^3H]-GR113808。將結果表現為 K_i 值 ($\text{p}K_i$) 之以十為底之負對數。

在此分析中具有更高 $\text{p}K_i$ 值之測試化合物具有對 5-HT₄ 受體之更高結合親和性。在此分析中測試之本發明之化合物具有在約 7.0 至約 10.0 之範圍內之 $\text{p}K_i$ 值。

分析 2: 5-HT_{3A} 人類受體上之放射性配位體結合分析：受體亞型選擇性之測定

a. 膜製備 5-HT_{3A}

自 Dr. Michael Bruess (University of Bonn, GDR) ($B_{\text{max}} = \sim 9.0 \text{ pmol/mg}$ 蛋白，如使用 [^3H]-GR65630 膜放射性配位體結合分析所判定) 獲得以人類 5-HT_{3A} 受體 cDNA 穩定轉染之 HEK-293 (人類胚腎) 細胞。使細胞生長於 T-225 燒瓶或細胞工廠中及在 37°C 下在 5% CO_2 的濕化培養箱中補充有 10% 熱鈍化胎牛血清 (FBS) (Hyclone, Logan, UT：目錄號 SH30070.03) 及 (50 單位) 青黴素 - (50 μg) 鏈黴素 / ml (GIBCO-Invitrogen Corp.: 目錄號 15140) 的 50% Dulbecco's Modified Eagles Medium (DMEM) (GIBCO-Invitrogen Corp., Carlsbad, CA：目錄號 11965) 及 50% Ham's F12 (GIBCO-Invitrogen Corp.: 目錄號 11765) 中。

使細胞生長至大約 70-80% 融合 (<35 繼代培養)。膜製備之所有步驟係在冰上進行。為收集細胞，抽吸培養基且以無 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 之 Dulbecco 磷酸鹽緩衝鹽水 (dPBS) 清洗細胞。藉由輕柔之機械攪動使細胞單層升起。藉由在 1000 rpm (5 min) 下離心收集細胞。隨後的膜製備步驟係在對表

現 5-HT_{4(c)}受體之膜進行的上述規程之後進行。

b. 放射性配位體結合分析

放射性配位體結合分析係在 96-孔聚丙烯分析板中在總體積為 200 μ L 含有於 50 mM HEPES pH 7.4 中之 1.5-2 μ g 膜蛋白中進行，其中還含有 0.025% BSA 分析緩衝液。使用 [³H]-GR65630 (PerkinElmer Life Sciences Inc., Boston, MA: 目錄號 NET1011, 比活性 ~85 Ci/mmol) 在 0.005 nM 至 20 nM 範圍內之十二個不同濃度下進行用於測定放射性配位體之 K_d 值之飽和結合研究。以 [³H]-GR65630 在 0.50 nM 及 10 pM 至 100 μ M 範圍內之十一個化合物不同濃度之下進行用於測定化合物之 pK_i 值的替代分析。化合物係作為 DMSO 中之 10 mM 儲備溶液 (參見段落 3.1) 而接受，25 $^{\circ}$ C 下將其在 50 mM HEPES pH 7.4 中稀釋至 400 μ M，其中含有 0.1% BSA，且接著在相同緩衝液中連續稀釋 (1:5)。在 10 μ M 未經標記之 MDL72222 存在下測定非特異性結合。在室溫下培養分析物 60 分鐘，接著藉由經預浸泡於 0.3% 聚乙炔亞胺中之 96-孔 GF/B 玻璃纖維過濾板 (Packard BioScience Co., Meriden, CT) 之快速過濾來中止結合反應。以過濾緩衝液 (冰冷 50 mM HEPES, pH 7.4) 洗滌過濾板三次以移除未結合之放射活性。將板乾燥，向各孔中添加 35 μ L Microscint-20 液體閃爍流體 (Packard BioScience Co., Meriden, CT) 且在 Packard Topcount 液體閃爍計數器 (Packard BioScience Co., Meriden, CT) 中對板計數。

使用上述非線性回歸程序分析結合資料以測定 K_i 值。如

在 10 μ M MDL72222 存在下將 BOTTOM(曲線最小值)固定於非特異性結合之值處。將 Cheng-Prusoff 方程式中之量 [L] 定義為濃度 [^{3} H]-GR65630。

將相對於 5-HT₃ 受體亞型之 5-HT₄ 受體亞型之選擇性計算為比率 $K_i(5\text{-HT}_{3A})/K_i(5\text{-HT}_{4(c)})$ 。在此分析中測試之本發明之化合物具有在約 4000 至 400,000 範圍內之 5-HT₄/5-HT₃ 受體亞型選擇性。

分析 3：表現人類 5-HT_{4(c)} 受體之 HEK-293 細胞的全細胞 cAMP 累積閃爍板分析

在此分析中，藉由量測當表現 5-HT₄ 受體之 HEK-293 細胞與不同濃度之測試化合物接觸時所產生之環 AMP 之量來測定測試化合物之功能性效能。

a. 細胞培養

以選殖之人類 5-HT_{4(c)} 受體 cDNA 穩定轉染之 HEK-293(人類胚腎)細胞係經製備而以兩種不同密度來表現受體：(1) 密度為約 0.5-0.6 pmol/mg 蛋白，如使用 [^{3} H]-GR113808 膜放射性配位體結合分析所測定，及 (2) 密度為約 6.0 pmol/mg 蛋白。使細胞生長於 T-225 燒瓶中且於 37°C 下 5% CO₂ 的濕化培養箱中在含有添加有 10% 胎牛血清 (FBS)(GIBCO-Invitrogen Corp.: 目錄號 10437) 及 (100 單位) 青黴素-(100 μ g) 鏈黴素/ml(GIBCO-Invitrogen Corp.: 目錄號 15140) 之 4,500 mg/L D-葡萄糖 (GIBCO-Invitrogen Corp.: 目錄號 11965) 的 Dulbecco's Modified Eagles Medium(DMEM) 中。藉由向培養基中添加 800 μ g /mL 遺傳黴素 (GIBCO-

Invitrogen Corp.: 目錄號10131)使細胞生長於連續選擇壓力下。

b. 細胞製備

使細胞生長至大致60-80%融合。在分析之前20至22小時，洗滌細胞兩次且饋入含有4,500 mg/L D-葡萄糖(GIBCO-Invitrogen Corp.: 目錄號11965)之無血清DMEM中。為了收集細胞，抽吸培養基且向各T-225燒瓶中添加10 mL Versene(GIBCO-Invitrogen Corp.: 目錄號15040)。在室溫下培育細胞5分鐘且接著藉由機械攪動將其自燒瓶除去。將細胞懸浮物轉移至含有等體積之預溫(37°C)dPBS之離心管中，且在1000 rpm下離心5分鐘。棄去上清液且將離心塊重懸於預溫(37°C)之螢光放射增強緩衝液(每2-3個T-225燒瓶10 mL等份中)。記錄此時間且標記為時間零。以Coulter計數器(計數8 μm 以上，燒瓶產率為 $1-2 \times 10^7$ 個細胞/個燒瓶)對細胞計數。將細胞以 5×10^5 個細胞/毫升之濃度重懸於預溫(37°C)之螢光放射增強緩衝液(如由閃爍板套組所提供)中且在37°C下預培養10 min。

根據製造商說明書使用具有 ^{125}I -cAMP之Flashplate Adenylyl Cyclase Activation Assay System(SMP004B, PerkinElmer Life Sciences Inc., Boston, MA)以放射免疫分析格式進行cAMP分析。

如上所述來生長及製備細胞。分析中之最終細胞濃度為 25×10^3 個細胞/孔且最終分析體積為100 μL 。測試化合物係作為於DMSO中之10 mM儲備溶液而接受，將其在25°C下

於 50 mM HEPES pH 7.4 中稀釋至 400 μ M，其中含有 0.1% BSA，且接著在相同緩衝液中連續稀釋(1:5)。在 10 pM至 100 μ M(最終分析濃度)範圍內之不同化合物11濃度下進行環AMP累積分析。在每個板上包括A 5-HT濃度反應曲線(10 pM至100 μ M)。搖動中在37°C下培養細胞15分鐘且藉由向各孔中添加100 μ l冰冷的偵測緩衝液(如在閃爍板套組中所提供的)使反應中止。將該等板密封且在4°C下隔夜培養。藉由閃爍近似光譜法使用 Topcount(Packard BioScience Co., Meriden, CT)對結合放射活性進行定量。

根據製造商使用手冊提供之說明書，每mL反應產生之cAMP之量係由cAMP標準曲線外推得到。藉由以GraphPad Prism Software包之非線性回歸分析使用3-參數S形劑量-反應模型(斜率限制為整數)來分析資料。將效能資料報導為pEC₅₀值，EC₅₀值之以十為底之負對數，其中EC₅₀為50 %最大反應之有效濃度。

在此分析中呈現更高pEC₅₀值之測試化合物具有激化5-HT₄受體之更高效能。在此分析中測試的本發明之化合物(例如)在具有約0.5-0.6 pmol/mg蛋白密度之細胞系(1)中具有在約7.5至約9.5範圍內之pEC₅₀值。

分析4：表現hERG心臟鉀通道之全細胞中鉀離子流之抑制的活體外電壓夾分析

經hERG cDNA穩定轉染之CHO-K1細胞係自University of Wisconsin之Gail Robertson獲得。將細胞低溫儲存直至需要時。使細胞在補充有10%胎牛血清及200 μ g/mL遺傳微

素之 Dulbecco's Modified Eagles Medium/F12 中擴增且繼代。在 35 mm² 盤 (含有 2 mL 培養基) 中，將細胞接種於經聚-D-離胺酸 (100 µg/mL) 塗覆之蓋玻片上，所接種之密度可使分離細胞經選擇用於全細胞電壓夾研究。將該等盤維持於 37°C 下濕潤的 5% CO₂ 環境中。

至少每 7 天製備細胞外溶液，且當不用時儲存於 4°C 下。細胞外溶液含有 (mM): NaCl (137)、KCl (4)、CaCl₂ (1.8)、MgCl₂ (1)、葡萄糖 (10)、4-(2-羥基乙基)-1-哌嗪乙烷磺酸 (HEPES) (10)、具有 NaOH，pH 為 7.4。不存在或存在測試化合物之細胞外溶液係包含於儲集器中，自其以約 0.5 mL/min 之速率流入記錄腔室中。製備細胞內溶液，將其等份化且儲存於 -20°C 下直至使用。細胞內溶液含有 (mM): KCl (130)、MgCl₂ (1)、乙二醇-雙(β-胺基乙醚) N,N,N',N'-四乙酸鹽 (EGTA) (5)、MgATP (5)、4-(2-羥基乙基)-1-哌嗪乙烷磺酸 (HEPES) (10)、以 KOH 調節為 pH 7.2。所有實驗均在室溫下進行 (20-22°C)。

將其上接種有細胞之蓋玻片轉移至記錄腔室中且連續灌注。千兆歐姆密封件係形成於細胞與斑貼電極之間。一旦達到穩定斑貼，則以電壓夾模式開始記錄，初始保持之電勢為 -80 mV。達到穩定全細胞流之後，將細胞暴露於測試化合物。標準電壓規程為：自保持電勢 -80 mV 跨至 +20 mV 歷時 4.8 sec，複極化至 -50 mV 歷時 5 sec，且接著返回至原始保持電勢 (-80 mV)。此電壓規程每 15 sec (0.067 Hz) 進行一次。複極化相過程中之峰電流振幅係使用 pClamp 軟

體測定。將濃度為3 μM 之測試化合物灌注於細胞之上歷時5分鐘，接著在無化合物存在下進行5分鐘之洗滌階段。最後向灌注液中添加陽性對照(西沙比利(Cisapride), 20 nM)以測試細胞之功能。 -80 mV至+20 mV之步驟幅激活hERG通道，導致一向外電流。回復至-50 mV步幅導致一向外之尾電流，由於該通道自非激活及減活回復。

複極化相過程中之峰電流振幅係使用pCLAMP軟體測定。將對照及測試物品之資料輸出至Origin®(OriginLab Corp., Northampton MA)，其中在化合物不存在下，將單個電流振幅標準化為初始電流振幅。計算各條件下之標準化電流均值及標準誤差且對實驗之時程作圖。

暴露於測試物品或媒劑對照(通常0.3% DMSO)五分鐘之後在所觀測之 K^+ 電流抑制之間進行比較。使用兩個群體、獨立t-測試(Microcal Origin v. 6.0)進行實驗組之間的統計學比較。 $p < 0.05$ 時認為差異顯著。

在此分析中鉀離子流之抑制百分比越小，當用作治療試劑時，改變心臟複極化方式之測試化合物之潛能越小。例如，在此分析中以3 μM 之濃度測試到實例1-14之化合物呈現小於約30%之鉀離子流抑制，包括小於約20%。

分析5：口服生物利用性之活體外模型：Caco-2滲透分析

執行Caco-2滲透分析以模擬出測試化合物在口服投藥之後通過腸且進入血流的能力。測定溶液中之測試化合物滲透細胞單層之速率，該細胞單層係經設計為模仿人類小腸

單層之緊密連接。

自 ATCC(American Type Culture Collection; Rockville, MD)獲得 Caco-2(colon, adenocarcinoma; human)細胞。為進行滲透研究，以 $63,000$ 個細胞/ cm^2 之密度將細胞接種於預先濕潤之transwell聚碳酸酯過濾器上(Costar; Cambridge, MA)。21天之後在培養物中形成一細胞單層。在Transwell板中進行細胞培養之後，將含有細胞單層之膜自Transwell板分離且插入擴散腔室中(Costar; Cambridge, MA)。將擴散腔室插入加熱塊中，該加熱塊配備有循環外部、經恆溫調節之 37°C 水以進行溫度控制。空氣歧管將 $95\% \text{ O}_2/5\% \text{ CO}_2$ 運送至擴散腔室之各半室且在細胞單層間產生一薄片狀流動圖案，其可有效減少未攪動之邊界層。

以 $100 \mu\text{M}$ 之測試化合物濃度及 ^{14}C -甘露醇進行滲透研究以監測單層之完整性。所有實驗均在 37°C 下進行60分鐘。在 0、30及60 min時自腔室之供體及受體側獲得樣品。藉由HPLC或液體閃爍計數法分析樣品以得到測試化合物及甘露醇濃度。計算以 cm/sec 表示之滲透係數(K_p)。

在此分析中，大於約 $10 \times 10^{-6} \text{ cm}/\text{sec}$ 之 K_p 值指示具有良好之生物利用性。在此分析中測試的彼等本發明之化合物通常呈現介於約 $10 \times 10^{-6} \text{ cm}/\text{sec}$ 與約 $50 \times 10^{-6} \text{ cm}/\text{sec}$ 之間的 K_p 值。

分析6：大鼠中之藥物代謝動力學研究

於 pH 值介於約 5 與約 6 之間的 0.1% 乳酸中製備測試化合物之水溶液調配物。藉由靜脈內投藥(IV)以 $2.5 \text{ mg}/\text{kg}$ 之劑

量或以經口管飼法(PO)以 5 mg/kg之劑量對雄性 Sprague-Dawley 大鼠 (CD strain, Charles River Laboratories, Wilmington, MA)投與測試化合物。投藥體積為對於IV為 1 mL/kg且對於PO投藥為 2 mL/kg。自預投藥且在投藥後2(僅對於IV)、5、15及30 min及1、2、4、8及24小時的動物中收集連續血液樣品。血漿中之測試化合物之濃度係藉由液體層析-質譜分析法(LC-MS/MS)(MDS SCIEX, API 4000, Applied Biosystems, Foster City, CA)來測定，其定量下限為 1 ng/mL。

藉由非間隔分析(對於IV為型號201且對於PO為型號200)使用 WinNonlin(4.0.1版，Pharsight，Mountain View, CA)分析標準藥物代謝動力學參數。血漿中之測試化合物濃度對時間之曲線中之最大值表示為 $C_{\text{最大}}$ 。自投藥至最後可量測濃度(AUC(0-t))之時間的濃度對時間之曲線下面積可藉由線性梯形法則來計算。口服生物利用性(F(%))，即PO投藥之AUC(0-t)與IV投藥之AUC(0-t)的劑量標準化比率係計算為：

$$F(\%) = \text{AUC}_{\text{PO}} / \text{AUC}_{\text{IV}} \times \text{劑量}_{\text{IV}} / \text{劑量}_{\text{PO}} \times 100\%$$

在此分析中預期呈現參數 $C_{\text{最大}}$ 、AUC(0-t)及F(%)之更大值的測試化合物當口服投藥時具有更大之生物利用性。較佳之本發明化合物具有之 $C_{\text{最大}}$ 值通常在約0.06至約0.8 $\mu\text{g/mL}$ 之範圍內，且AUC(0-t)值通常在約0.14至約1.2 $\mu\text{g} \cdot \text{hr/mL}$ 之範圍內。例如，實例1之化合物具有之 $C_{\text{最大}}$ 值為0.8 $\mu\text{g/mL}$ ，AUC(0-t)值為1.2 $\mu\text{g} \cdot \text{hr/mL}$ 且大鼠模型中之口服生

物利用率(F(%))為約75%。

雖然已參考其特定實施例來描述本發明，但熟習此項技術者應瞭解在不偏離本發明之真正精神及範疇下可作各種改變且可對等價物進行替代。此外，可對本發明之目的、精神及範疇作出許多修改以適於特定情形、材料、物質組成、方法、方法步驟。所有該等修改欲在附加於本文之申請專利範圍之範疇內。此外，以上引用之所有公開案、專利及專利文獻均以引用形式全文併入本文中，如同單獨地以引用形式併入本文中。

【圖式簡單說明】

圖1展示結晶4-(4-{[(2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羰基)胺基]甲基}-哌啶-1-基甲基)哌啶-1-羧酸甲酯(式I)之粉末x-光繞射(PXRD)圖案。

圖2展示結晶4-(4-{[(2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羰基)胺基]甲基}-哌啶-1-基甲基)哌啶-1-羧酸甲酯(式I)之差示掃描熱量測定(DSC)跡線(頂端跡線、右側垂直軸)及熱解重量分析法(TGA)跡線(底端跡線，左側垂直軸)。

圖3展示結晶4-(4-{[(2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羰基)胺基]甲基}-哌啶-1-基甲基)哌啶-1-羧酸甲酯(式I)之動態吸濕測定(DMS)等溫線。

圖4展示結晶4-(4-{[(2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羰基)胺基]甲基}-哌啶-1-基甲基)哌啶-1-羧酸甲酯(式II)之差示掃描熱量測定(DSC)跡線(頂端跡線、右側垂直軸)及熱解重量分析法(TGA)跡線(底端跡線，左側垂直軸)。

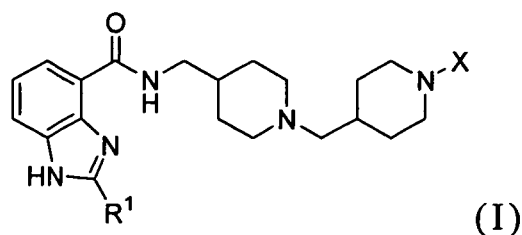
圖 5 展示結晶 4-(4-[[(2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羰基) 胺基] 甲基]-哌啶-1-基甲基)哌啶-1-羧酸甲酯(式 III)之粉末 x-光繞射(PXRD)圖案。

圖 6 展示結晶 4-(4-[[(2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羰基) 胺基] 甲基]-哌啶-1-基甲基)哌啶-1-羧酸甲酯(式 III)之差示掃描熱量測定(DSC)跡線(頂端跡線、右側垂直軸)及熱解重量分析法(TGA)跡線(底端跡線，左側垂直軸)。

十、申請專利範圍：

1. 一種式(I)之化合物：

年 101.	月 7.	日 18	修正本
-----------	---------	---------	-----



其中：

R¹為視情況經-OH取代之C₃₋₅烷基；且

X係選自：

(a) -C(O)OR²，其中R²為C₁₋₄烷基或-(CH₂)_n-苯基，其中n為0或1；

(b) -C(O)R³，其中R³係選自：

苯基，其視情況經1、2或3個選自C₁₋₄烷基、鹵基、C₁₋₄烷氧基、-CF₃、-OCF₃、-OCHF₂及-CN之取代基取代，

C₁₋₅烷基，

C₄₋₅環烷基，及

-(CH₂)_m-A，其中m為0或1且A係選自胺基、呋喃基、苯硫基、嗎啉基、四氫呋喃基、吡啶基及萘基；

(c) -C(O)NR⁴R⁵，其中R⁴為氫或C₁₋₃烷基，且R⁵為視情況經1、2或3個選自C₁₋₄烷基、鹵基、C₁₋₄烷氧基、-CF₃、-OCF₃及-OCHF₂之取代基取代的苯基；

(d) -C(O)C(R⁶R⁷)R⁸，其中R⁶為氫或C₁₋₃烷基，且

R^7 為氫、 $-OH$ 或 C_{1-3} 烷基；或 R^6 及 R^7 一起形成酮基或 $-(CH_2)_2-$ ；且 R^8 為苯基或環己基，其中苯基或環己基視情況經 1、2 或 3 個選自 C_{1-4} 烷基、鹵基、 C_{1-4} 烷氧基、 $-CF_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $-OCHF_2$ 及 $-CN$ 之取代基取代；

(e) $-C(O)C(HR^9)OR^{10}$ ，其中 R^9 為氫或 C_{1-3} 烷基，且 R^{10} 為視情況經 1、2 或 3 個選自 C_{1-4} 烷基、鹵基、 C_{1-4} 烷氧基、 $-CF_3$ 、 $-OCF_3$ 及 $-OCHF_2$ 之取代基取代的苯基；及

(f) $-S(O)_2R^{11}$ ，其中 R^{11} 係選自 C_{1-3} 烷基、 $-CH_2-$ 苯基、2,4-二甲基異噁唑基、及視情況經 1、2 或 3 個選自 C_{1-4} 烷基、鹵基、 C_{1-4} 烷氧基、 $-CF_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $-OCHF_2$ 及 $-CN$ 之取代基取代的苯基；

或其醫藥學上可接受之鹽或立體異構物。

2. 如請求項 1 之化合物，其中 R^1 為 C_{3-5} 烷基。
3. 如請求項 2 之化合物，其中 R^1 為異丙基或第三丁基。
4. 如請求項 2 之化合物，其中 X 為 $-C(O)OR^2$ 。
5. 如請求項 4 之化合物，其中 R^2 為 C_{1-3} 烷基或苯基。
6. 如請求項 2 之化合物，其中 X 為 $-C(O)R^3$ 。
7. 如請求項 6 之化合物，其中 R^3 為苯基，其視情況經 1、2 或 3 個選自 C_{1-4} 烷基、鹵基、 C_{1-4} 烷氧基、 $-CF_3$ 、 $-OCF_3$ 及 $-OCHF_2$ 之取代基取代。
8. 如請求項 2 之化合物，其中 X 為 $-C(O)NR^4R^5$ 。
9. 如請求項 2 之化合物，其中：

R^1 為 C_{3-4} 烷基；且

X 係選自：

(a) $-C(O)OR^2$ ，其中 R^2 為 C_{1-3} 烷基或苯基；

(b) $-C(O)R^3$ ，其中 R^3 為視情況經 1 或 2 個選自 C_{1-4} 烷基、鹵基及 $-CF_3$ 之取代基取代的苯基；呋喃基；或苯硫基；

(c) $-C(O)NR^4R^5$ ，其中 R^4 為氫且 R^5 為視情況經 1 或 2 個選自 C_{1-4} 烷基及鹵基之取代基取代的苯基；

(d) $-C(O)C(R^6R^7)R^8$ ，其中 R^6 為氫且 R^7 為氫、 $-OH$ 或甲基；或 R^6 及 R^7 一起形成酮基或 $-(CH_2)_2-$ ；且 R^8 為苯基或環己基，其中苯基或環己基視情況經 1 或 2 個選自 C_{1-4} 烷基及鹵基之取代基取代；

(e) $-C(O)C(HR^9)OR^{10}$ ，其中 R^9 為氫或甲基，且 R^{10} 為視情況經 1 或 2 個選自 C_{1-4} 烷基及鹵基之取代基取代的苯基；及

(f) $-S(O)_2R^{11}$ ，其中 R^{11} 為甲基或苯基，其視情況經 1 或 2 個選自 C_{1-4} 烷基及鹵基之取代基取代。

10. 如請求項 9 之化合物，其中：

R^1 為異丙基或第三丁基；且

X 係選自：

(a) $-C(O)OR^2$ ，其中 R^2 為甲基或苯基；

(b) $-C(O)R^3$ ，其中 R^3 為視情況經 1 或 2 個選自甲基、氯、氟及 $-CF_3$ 之取代基取代的苯基；呋喃-2-基；或噻吩-2-基；及

(c) $-C(O)NR^4R^5$ ，其中 R^4 為氫，且 R^5 為視情況經 1 個氟或氯取代之苯基。

11. 如請求項 2 之化合物，其中該化合物係選自：

4-(4-{[(2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羰基)-胺基]甲基}哌啶-1-基甲基)哌啶-1-羧酸甲酯；

4-(4-{[(2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羰基)-胺基]-甲基}哌啶-1-基甲基)哌啶-1-羧酸苯酯；

2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羧酸{1-[1-(2-氯苯甲醯基)哌啶-4-基甲基]哌啶-4-基甲基}醯胺；

2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羧酸{1-[1-(2,4-二氟-苯甲醯基)哌啶-4-基甲基]哌啶-4-基甲基}醯胺；

2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羧酸{1-[1-(呋喃-2-羰基)-哌啶-4-基甲基]哌啶-4-基甲基}醯胺；

2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羧酸{1-[1-(噻吩-2-羰基)哌啶-4-基甲基]哌啶-4-基甲基}醯胺；

2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羧酸{1-[1-(2-氟-5-三氟甲基苯甲醯基)哌啶-4-基甲基]哌啶-4-基甲基}醯胺；

2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羧酸{1-[1-(2-氟-苯基胺甲醯基)-哌啶-4-基甲基]哌啶-4-基甲基}-醯胺；

4-(4-{[(2-第三丁基-1H-苯并咪唑-4-羰基)-胺基]-甲基}哌啶-1-基甲基)哌啶-1-羧酸甲酯；

2-第三丁基-1H-苯并咪唑-4-羧酸{1-[1-(2-氟-苯甲醯基)-哌啶-4-基甲基]哌啶-4-基甲基}醯胺；

2-第三丁基-1H-苯并咪唑-4-羧酸{1-[1-(3-甲基-苯甲醯

基)-哌啶-4-基甲基]哌啶-4-基甲基}鹽胺；

2-第三丁基-1H-苯并咪唑-4-羧酸{1-[1-(4-氟苯甲酰基)-哌啶-4-基甲基]哌啶-4-基甲基}鹽胺；及

其醫藥學上可接受之鹽及立體異構物。

12. 一種選自以下之化合物：

4-(4-{[(2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羧基)-胺基]甲基}哌啶-1-基甲基)哌啶-1-羧酸甲酯；

4-(4-{[(2-第三丁基-1H-苯并咪唑-4-羧基)-胺基]-甲基}哌啶-1-基甲基)哌啶-1-羧酸甲酯；

2-第三丁基-1H-苯并咪唑-4-羧酸{1-[1-(2-氟-苯甲酰基)-哌啶-4-基甲基]哌啶-4-基甲基}鹽胺；及

其醫藥上可接受之鹽及立體異構物。

13. 一種結晶4-(4-{[(2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羧基)-胺基]甲基}哌啶-1-基甲基)哌啶-1-羧酸甲酯，其特徵為其之粉末x光繞射圖案具有兩個或兩個以上之在選自 15.08 ± 0.20 、 15.41 ± 0.20 、 19.00 ± 0.20 、 19.70 ± 0.20 及 23.68 ± 0.20 之 2θ 值處之繞射峰。

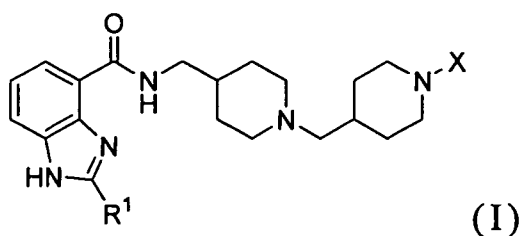
14. 如請求項13之結晶化合物，其中該結晶化合物之特徵在於其之差示掃描熱量測定概況在 146°C 至 148°C 之範圍內的溫度下顯示吸熱熱流之最大值。

15. 如請求項13之結晶化合物，其中該結晶化合物之特徵在於其之差示掃描熱量測定概況在 143°C 至 145°C 之範圍內的溫度下顯示吸熱熱流之最大值。

16. 一種結晶4-(4-{[(2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羧基)-胺基]甲

基}哌啶-1-基甲基)哌啶-1-羧酸甲酯單水合物，其特徵為其之粉末x-光繞射圖案具有兩個或兩個以上之在選自 9.14 ± 0.20 、 12.41 ± 0.20 、 12.74 ± 0.20 、 17.75 ± 0.20 、 18.47 ± 0.20 、 20.63 ± 0.20 、 21.13 ± 0.20 及 27.05 ± 0.20 之 2θ 值處之繞射峰。

17. 一種醫藥組合物，其包含治療有效量之如請求項1至16中任一項之化合物及醫藥學上可接受之載劑。
18. 一種如請求項1至16中任一項之化合物的用途，其係用於製造用於治療患有以5-HT₄受體激動劑治療而改善之醫學病症之哺乳動物的藥劑。
19. 如請求項18之用途，其中該醫學病症係選自大腸急躁症、慢性便秘、功能性消化不良、胃排空延遲、胃食道回流病、胃輕癱、術後腸阻塞、腸道假性阻塞及藥物誘導延遲傳導。
20. 一種如請求項1至16中任一項之化合物的用途，其係用於製造用於治療哺乳動物中之胃腸道活動性降低之病症的藥劑。
21. 如請求項20之用途，其中該活動性降低之病症係選自：慢性便秘、便秘型大腸急躁症、糖尿病性及自發性胃輕癱、及功能性消化不良。
22. 一種用於製備式(I)化合物之方法，



其中：

R^1 為視情況經 -OH 取代之 C_{3-5} 烷基；且

X 係選自：

(a) $-C(O)OR^2$ ，其中 R^2 為 C_{1-4} 烷基或 $-(CH_2)_n$ - 苯基，其中 n 為 0 或 1；

(b) $-C(O)R^3$ ，其中 R^3 係選自：

苯基，其視情況經 1、2 或 3 個選自 C_{1-4} 烷基、鹵基、 C_{1-4} 烷氧基、 $-CF_3$ 、 $-OCF_3$ 及 $-OCHF_2$ 之取代基取代，

C_{1-5} 烷基，

C_{4-5} 環烷基，及

$-(CH_2)_m-A$ ，其中 m 為 0 或 1，且 A 係選自呋喃基、苯硫基、嗎啉基、四氫呋喃基、吡啶基及萘基；

(c) $-C(O)NR^4R^5$ ，其中 R^4 為氫或 C_{1-3} 烷基，且 R^5 為視情況經 1、2 或 3 個選自 C_{1-4} 烷基、鹵基、 C_{1-4} 烷氧基、 $-CF_3$ 、 $-OCF_3$ 及 $-OCHF_2$ 之取代基取代的苯基；

(d) $-C(O)C(R^6R^7)R^8$ ，其中 R^6 為氫或 C_{1-3} 烷基，且 R^7 為氫、 $-OH$ 、 C_{1-3} 烷基或酮基；或 R^6 及 R^7 形成 $-(CH_2)_2-$ ；且 R^8 為苯基或環己基，其中苯基或環己基視情況經 1、2 或 3 個選自 C_{1-4} 烷基、鹵基、 C_{1-4} 烷

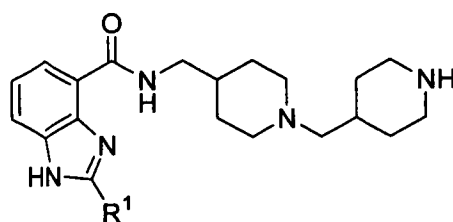
氧基、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{OCF}_3$ 、 $-\text{OCHF}_2$ 及 $-\text{CN}$ 之取代基取代；

(e) $-\text{C}(\text{O})\text{C}(\text{HR}^9)\text{OR}^{10}$ ，其中 R^9 為氫或 C_{1-3} 烷基，且 R^{10} 為視情況經1、2或3個選自 C_{1-4} 烷基、鹵基、 C_{1-4} 烷氧基、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{OCF}_3$ 及 $-\text{OCHF}_2$ 之取代基取代的苯基；及

(f) $-\text{S}(\text{O})_2\text{R}^{11}$ ，其中 R^{11} 係選自 C_{1-3} 烷基、 $-\text{CH}_2$ -苯基、2,4-二甲基異噁唑基、及視情況經1、2或3個選自 C_{1-4} 烷基、鹵基、 C_{1-4} 烷氧基、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{OCF}_3$ 、 $-\text{OCHF}_2$ 及 $-\text{CN}$ 之取代基取代的苯基；

或其醫藥學上可接受之鹽或立體異構物，該方法包含：

(i)使式(II)之化合物



(II)

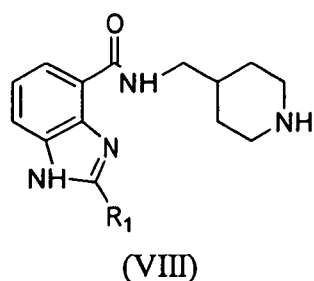
與式(III)之化合物反應：



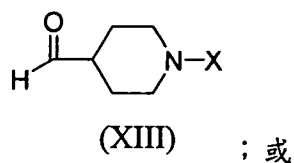
(III)

其中L為脫離基；

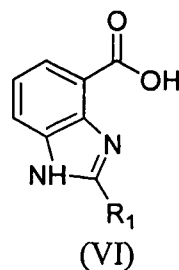
(ii)使式(VIII)之化合物



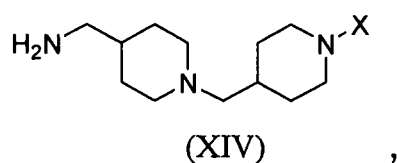
與式(XIII)之化合物反應：



(iii)使式(VI)之化合物：

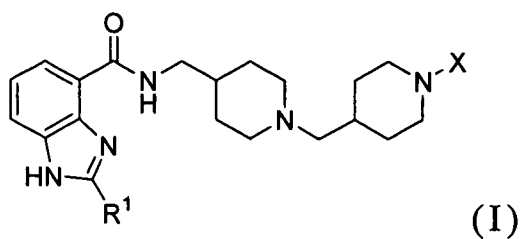


與式(XIV)之化合物反應：



以提供式(I)之化合物，或其醫藥學上可接受之鹽或立體異構物。

23. 一種用於製備式(I)之化合物的方法：



其中：

R^1 為 C_{3-5} 烷基；且

X係選自：

(b) $-C(O)R^3$ ，其中 R^3 係選自：

苯基，其視情況經1、2或3個選自 C_{1-4} 烷基、鹵基、 C_{1-4} 烷氧基、 $-CF_3$ 、 $-OCF_3$ 及 $-OCHF_2$ 之取代基取代，

C_{1-5} 烷基，

C_{4-5} 環烷基，及

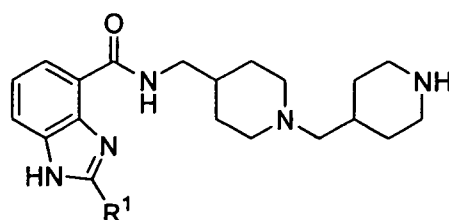
$-(CH_2)_m-A$ ，其中 m 為0或1，且 A 係選自呋喃基、苯硫基、嗎啉基、四氫呋喃基、吡啶基及萘基；

(d) $-C(O)C(R^6R^7)R^8$ ，其中 R^6 為氫或 C_{1-3} 烷基，且 R^7 為氫、 $-OH$ 、 C_{1-3} 烷基或酮基；或 R^6 及 R^7 形成 $-(CH_2)_2-$ ；且 R^8 為苯基或環己基，其中苯基或環己基視情況經1、2或3個選自 C_{1-4} 烷基、鹵基、 C_{1-4} 烷氧基、 $-CF_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $-OCHF_2$ 及 $-CN$ 之取代基取代；及

(e) $-C(O)C(HR^9)OR^{10}$ ，其中 R^9 為氫或 C_{1-3} 烷基，且 R^{10} 為視情況經1、2或3個選自 C_{1-4} 烷基、鹵基、 C_{1-4} 烷氧基、 $-CF_3$ 、 $-OCF_3$ 及 $-OCHF_2$ 之取代基取代的苯基；

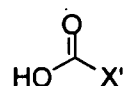
或其醫藥學上可接受之鹽或立體異構物，該方法包含：

使式(II)之化合物：



(II)

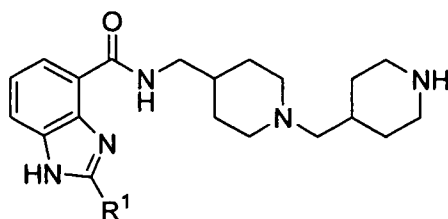
與式(IV)之化合物反應：



(IV)

其中 X' 係選自 R³、C(R⁶R⁷)R⁸ 及 C(HR⁹)OR¹⁰，以提供式 (I) 之化合物或其醫藥學上可接受之鹽或立體異構物。

24. 一種式(II)之化合物：



(II)

其中 R¹ 為 C₃₋₅ 烷基，

或其鹽或立體異構物。

25. 一種製備如請求項 13 之結晶 4-(4-{[(2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羰基)-胺基]甲基}哌啶-1-基甲基)哌啶-1-羧酸甲酯之方法，該方法包含：

(a) 將 4-(4-{[(2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羰基)-胺基]甲基}哌啶-1-基甲基)哌啶-1-羧酸甲酯分散於選自乙腈、醚、環己烷及乙酸乙酯之惰性稀釋劑中，其比例為每毫升稀釋劑含有介於約 15 mg 與 25 mg 之間的 4-(4-{[(2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羰基)-胺基]甲基}哌啶-1-基甲基)哌

啉-1-羧酸甲酯，以形成混合物；及

(b)使該混合物蒸發以提供結晶4-(4-{[(2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羰基)-胺基]甲基}哌啶-1-基甲基)哌啶-1-羧酸甲酯。

26. 一種製備如請求項13之結晶4-(4-{[(2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羰基)-胺基]甲基}哌啶-1-基甲基)哌啶-1-羧酸甲酯之方法，該方法包含：

(a)在極性非質子性稀釋劑中使2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羧酸(哌啶-4-基甲基)醯胺與4-甲醯基哌啶-1-羧酸甲酯反應；

(b)在蒸餾步驟(a)之產物的同時添加乙腈以自步驟(a)之該產物移除該極性非質子性稀釋劑；

(c)在足以溶解來自步驟(b)之蒸餾的殘餘物之溫度下，製備該殘餘物於乙腈中的混合物，其濃度為每毫升乙腈含有介於50與125 mg之間的4-(4-{[(2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羰基)-胺基]甲基}哌啶-1-基甲基)哌啶-1-羧酸甲酯；及

(d)使步驟(c)之該混合物冷卻至不高於20°C之溫度，以提供結晶4-(4-{[(2-異丙基-1H-苯并咪唑-4-羰基)-胺基]甲基}哌啶-1-基甲基)哌啶-1-羧酸甲酯。

27. 一種研究包含5-HT₄受體之生物系統或樣品之體外方法，該方法包含：

(a)使該生物系統或樣品於體外與如請求項1至16中任一項之化合物接觸；及

(b)測定由該化合物在該生物系統或樣品上引起之效應。

0711813

十一、圖式：

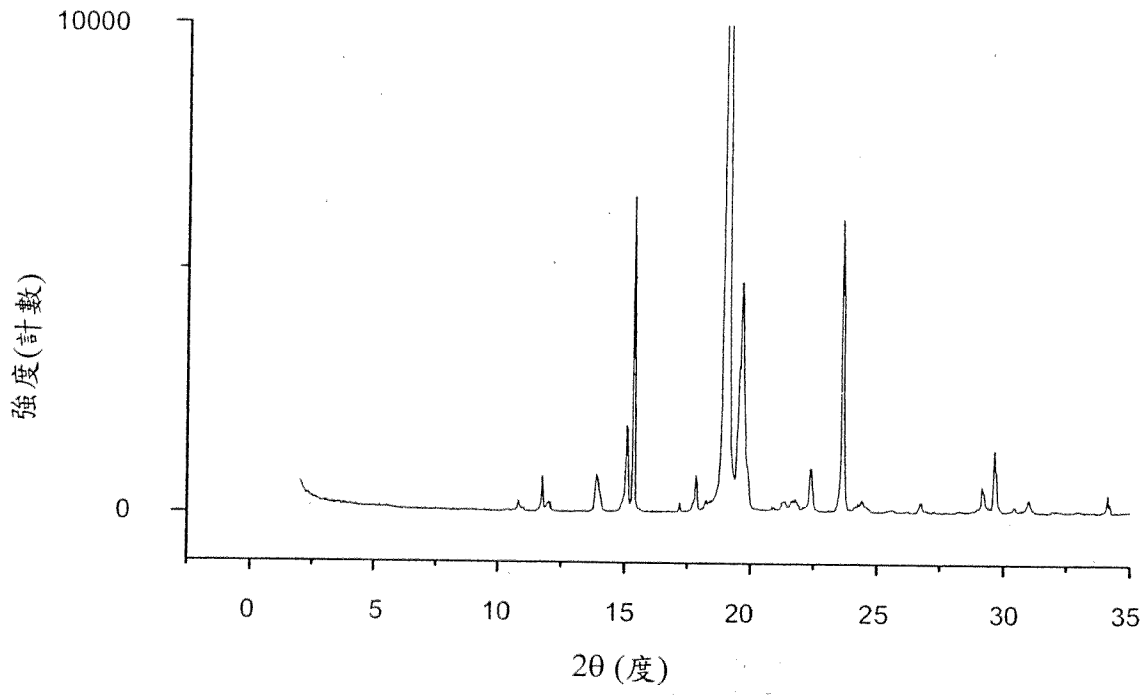


圖1

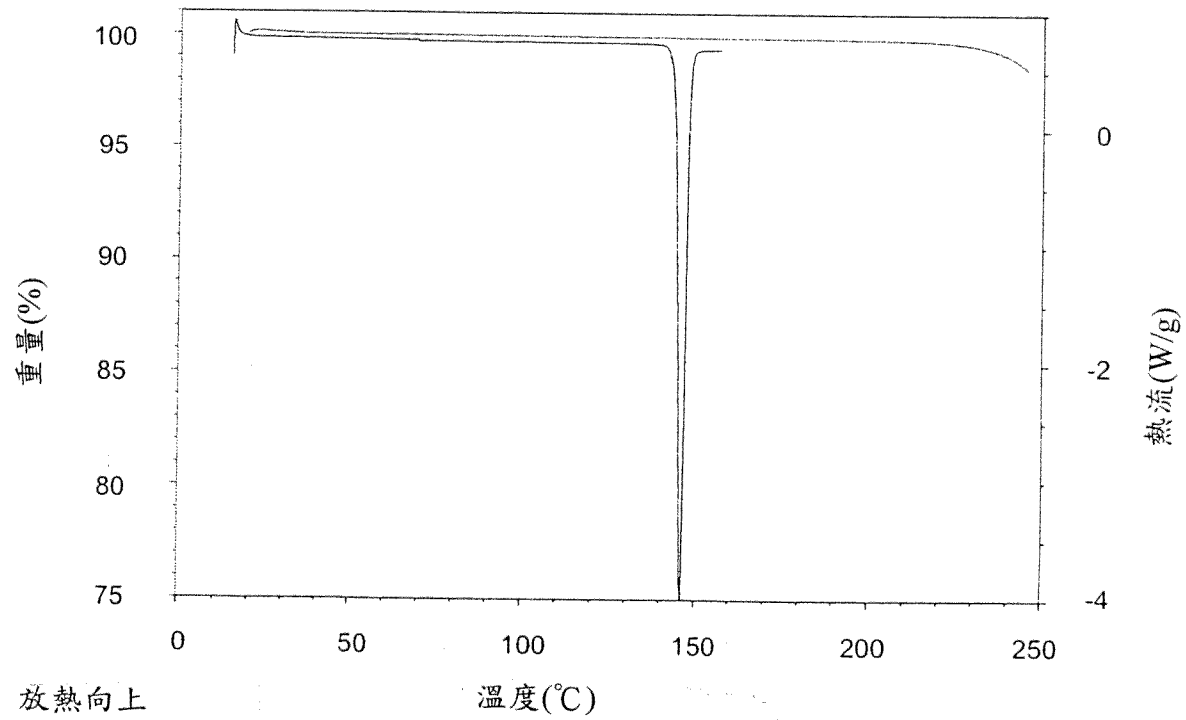


圖2

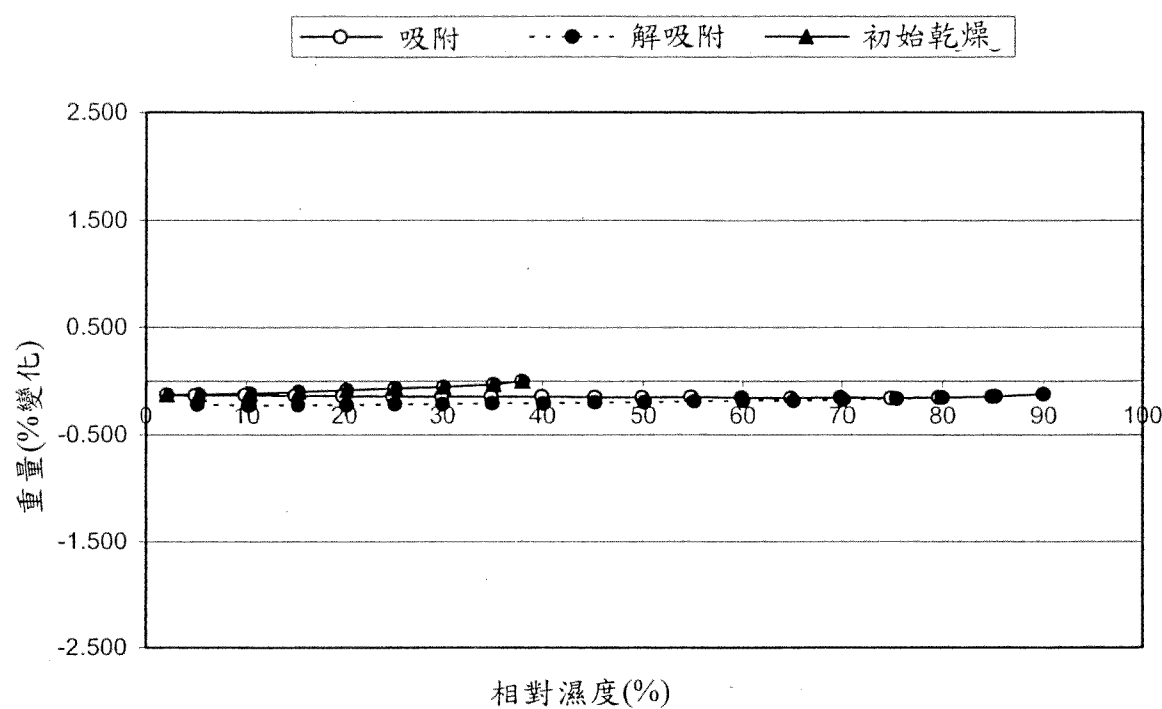


圖3

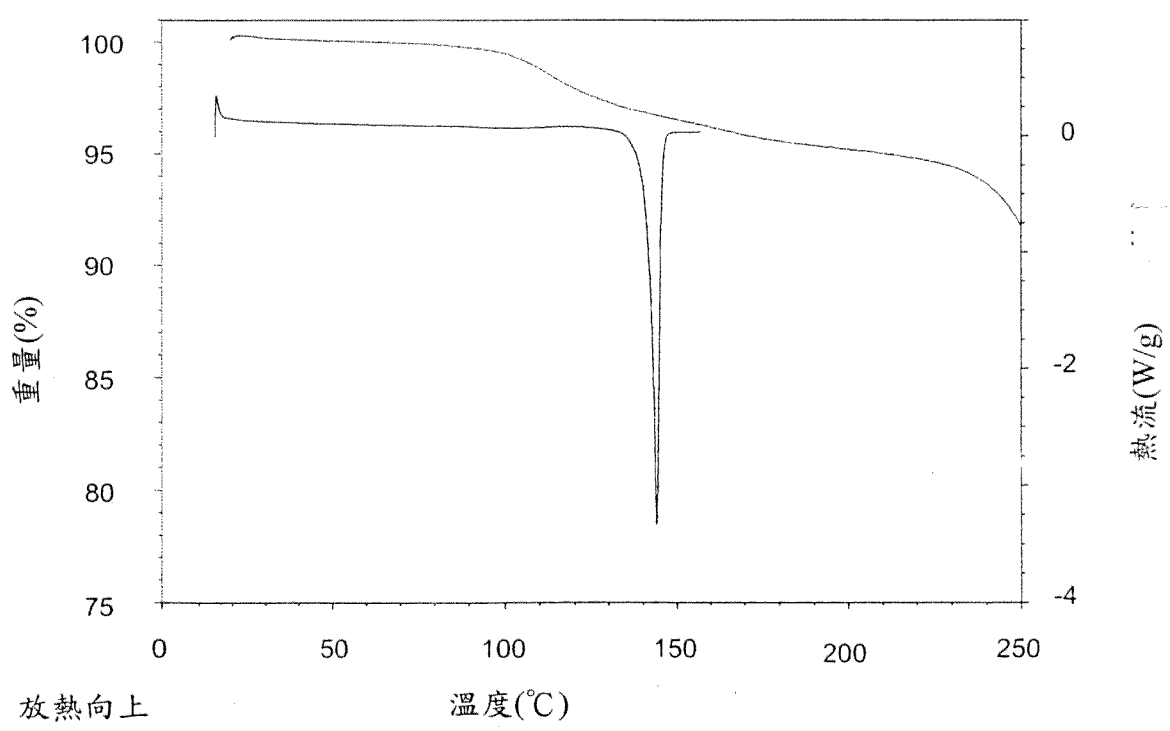


圖4

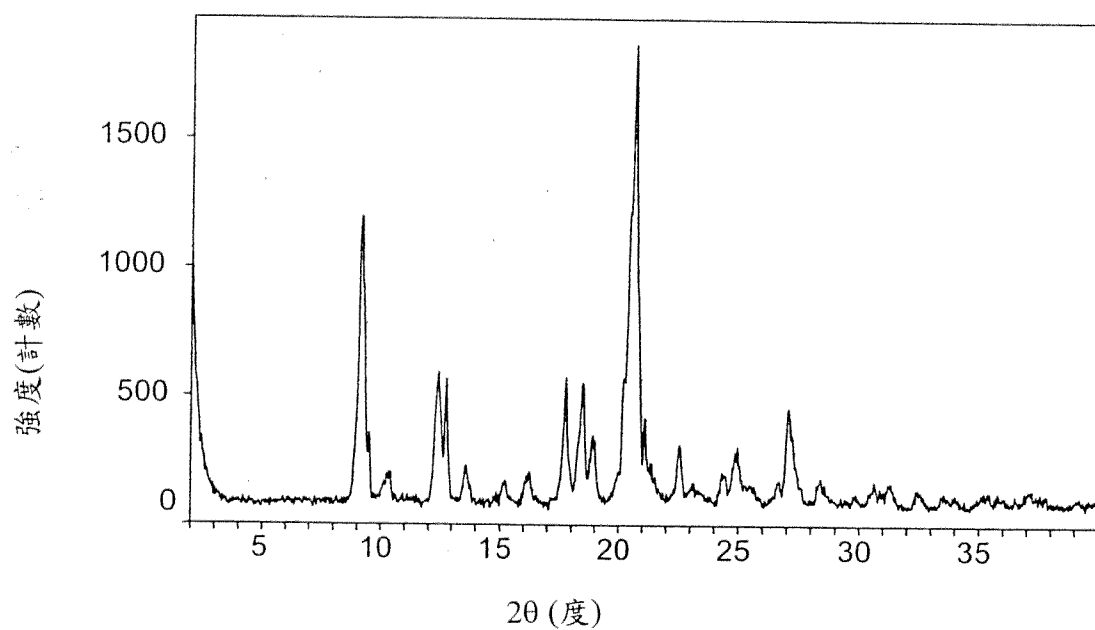


圖5

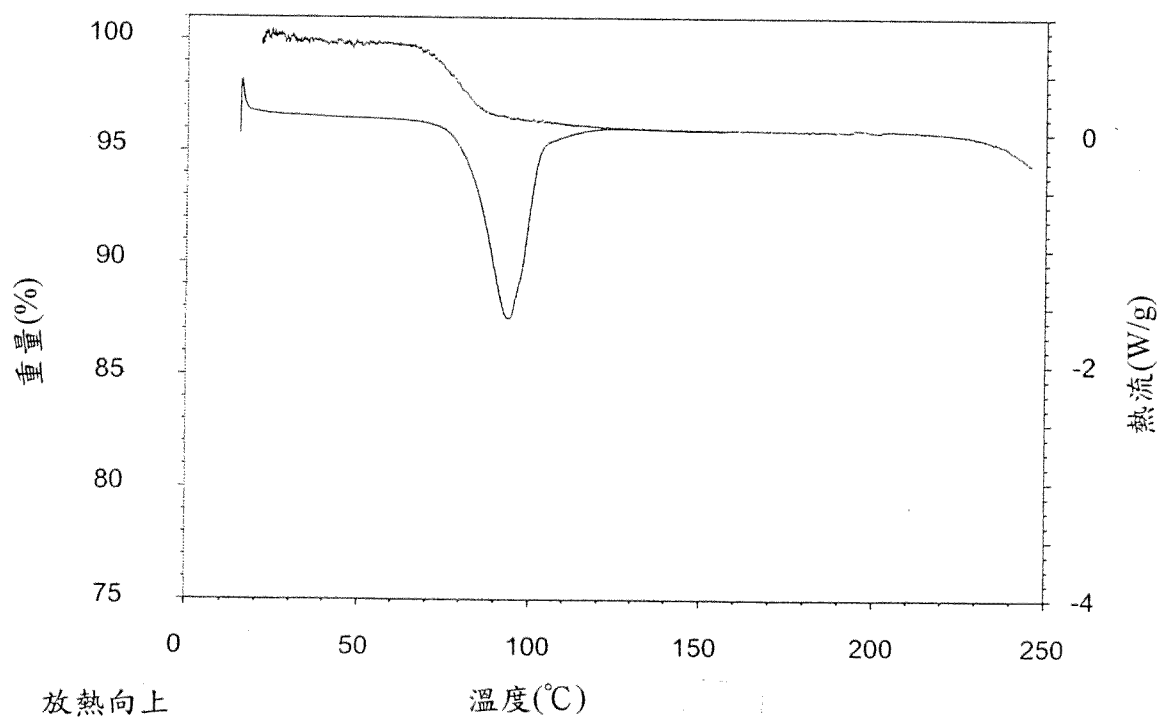


圖6