

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200480038046.7

[51] Int. Cl.

A61K 31/46 (2006.01)

C07D 451/02 (2006.01)

A61P 11/00 (2006.01)

[43] 公开日 2007年1月17日

[11] 公开号 CN 1897947A

[22] 申请日 2004.10.15

[21] 申请号 200480038046.7

[30] 优先权

[32] 2003.10.17 [33] US [31] 60/512,161

[86] 国际申请 PCT/US2004/034234 2004.10.15

[87] 国际公布 WO2005/037224 英 2005.4.28

[85] 进入国家阶段日期 2006.6.19

[71] 申请人 葛兰素集团有限公司

地址 英国米德尔塞克斯

[72] 发明人 迈克尔·R·帕洛维克 万泽红

祝翀捷

[74] 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

代理人 张平元 赵仁临

权利要求书2页 说明书9页

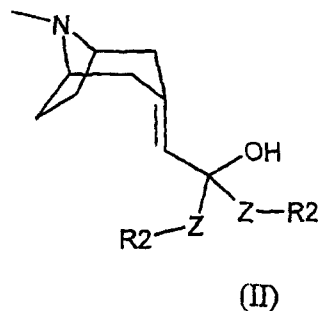
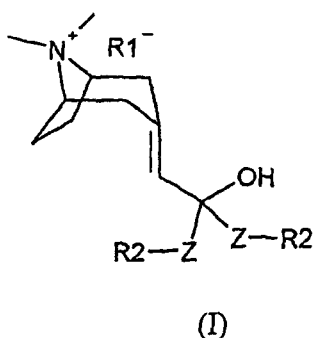
[54] 发明名称

蕈毒碱乙酰胆碱受体拮抗剂

[57] 摘要

本发明提供了蕈毒碱乙酰胆碱受体拮抗剂及其使用方法。

1. 化合物，其具有如下所示的结构I或II:



其中:

R1⁻表示与N原子正电荷相结合的阴离子;

R2选自具有5~6个碳原子的环烷基、具有6~10个碳原子的环烷基-烷基、具有5~6个碳原子和N或O作为杂原子的杂环烷基、具有6~10个碳原子和N或O作为杂原子的杂环烷基-烷基、芳基、任选取代的芳基、杂芳基和任选取代的杂芳基;

并且Z是键或(C₁-C₆)烷基。

2. 根据权利要求1的化合物，其中R1⁻选自氯离子、溴离子、碘离子、硫酸根、苯磺酸根和甲苯磺酸根。

3. 根据权利要求1的化合物，其选自:

2-(8-甲基-8-氮杂-二环[3.2.1]辛-3-亚基)-1,1-二-噻吩-2-基-乙醇;

2-苄基-1-(8-甲基-8-氮杂-二环[3.2.1]辛-3-亚基)-3-苯基-丙-2-醇;

2-(8-甲基-8-氮杂-二环[3.2.1]辛-3-亚基)-1,1-二苯基-乙醇;

3-(2-羟基-2,2-二-噻吩-2-基-亚乙基)-8,8-二甲基-8-氮杂-二环[3.2.1]辛烷碘化物;

3-(2-苄基-2-羟基-3-苯基-亚丙基)-8,8-二甲基-8-氮杂-二环[3.2.1]辛烷碘化物; 以及

3-(2-羟基-2,2-二苯基-亚乙基)-8,8-二甲基-8-氮杂-二环[3.2.1]辛烷碘化物。

4. 根据权利要求3的化合物，其选自:

3-(2-羟基-2,2-二-噻吩-2-基-亚乙基)-8,8-二甲基-8-氮杂-二环[3.2.1]辛烷碘化物;

3-(2-苄基-2-羟基-3-苯基-亚丙基)-8,8-二甲基-8-氮鎓-二环[3.2.1]辛烷碘化物; 以及

3-(2-羟基-2,2-二苯基-亚乙基)-8,8-二甲基-8-氮鎓-二环[3.2.1]辛烷碘化物。

5. 用于治疗蕈毒碱乙酰胆碱受体介导的疾病的药物组合物, 其包含根据权利要求1的化合物以及其可药用载体。

6. 在需要抑制乙酰胆碱与其受体结合的哺乳动物中抑制所述结合的方法, 其包含给予安全的并且有效量的根据权利要求1的化合物。

7. 治疗蕈毒碱乙酰胆碱受体介导的疾病的方法, 其包含给予安全的并且有效量的根据权利要求1的化合物, 在所述疾病中乙酰胆碱与所述受体结合。

8. 根据权利要求7的方法, 其中所述疾病选自慢性阻塞性肺病、慢性支气管炎、哮喘、慢性呼吸梗塞、肺纤维化、肺气肿和过敏性鼻炎。

9. 根据权利要求7的方法, 其中给药是通过经口或经鼻吸入进行的。

10. 根据权利要求7的方法, 其中给药是通过选自贮库(reservoir)干粉吸入器、多-剂量干粉吸入器或或计量吸入器的药剂分配器进行的。

11. 根据权利要求8的方法, 其中向人给予该化合物并且该化合物1 mg的剂量具有12小时或更多的作用持续时间。

12. 根据权利要求11的方法, 其中该化合物具有24小时或更多的作用持续时间。

13. 根据权利要求12的方法, 其中该化合物具有36小时或更多的作用持续时间。

蕈毒碱乙酰胆碱受体拮抗剂

发明领域

本发明涉及8-氮鎓-二环[3,2,1]辛烷的新的衍生物、药物组合物、制备方法及其在治疗由M₃蕈毒碱乙酰胆碱受体介导的疾病中的用途。

发明背景

在末梢和中枢神经系统中由胆碱能神经元释放的乙酰胆碱，通过与两种主要类别的乙酰胆碱受体 - 烟碱和蕈毒碱乙酰胆碱受体相互作用而影响许多不同的生物过程。蕈毒碱乙酰胆碱受体(mAChRs)属于G蛋白偶联受体的10总科，其具有七个跨膜区。mAChR有五个亚型，称为M₁-M₅，其每一种均是显性基因(distinct gene)的产物。这五种亚型的每一种均显示了独特的药理特性。蕈毒碱乙酰胆碱受体广泛地分布在脊椎动物的组织中，并且这些受体可以介导抑制作用和兴奋作用两者。例如，在气道、膀胱和胃肠道的平滑肌中，M₃ mAChRs介导收缩反应。综述请参见{Brown 1989 247 /id}。

已经发现蕈毒碱乙酰胆碱受体的机能障碍将表现为多种不同的病理生理学状态。例如，在哮喘和慢性阻塞性肺病(COPD)中，炎性病况将导致抑制的M₂蕈毒碱乙酰胆碱自身受体对由副交感神经供给的肺平滑肌的功能丧失，引起在迷走神经刺激后的增加的乙酰胆碱释放。这种mAChR机能障碍将导致由M₃ mAChRs增加的刺激而介导的气道高反应性{Costello, Evans, et al. 1999 72 /id}{Minette, Lammers, et al. 1989 248 /id}。同样地，在炎性肠病(IBD)中胃肠道的炎症将导致M₃ mAChR-介导的运动过度{Oprins, Meijer, et al. 2000 245 /id}。由于膀胱的高收缩性而至的失禁也被认为是由于M₃ mAChRs增加的刺激介导的{Hegde & Eglen 1999 251 /id}。因此，对于亚型-选择性mAChR拮抗剂的鉴定可以有助于这些 mAChR-介导的疾病的治疗。

尽管多方证据支持将抗蕈毒碱受体疗法用于多种疾病状态的治疗，但是在临床使用中仅仅使用了相对少量的抗蕈毒碱化合物。因此，仍然需要可导致阻断M₃ mAChRs的新的化合物。与M₃ mAChRs刺激增加相关的病况，例

如哮喘、COPD、IBD和尿失禁，将受益于那些mAChR结合抑制剂的化合物。

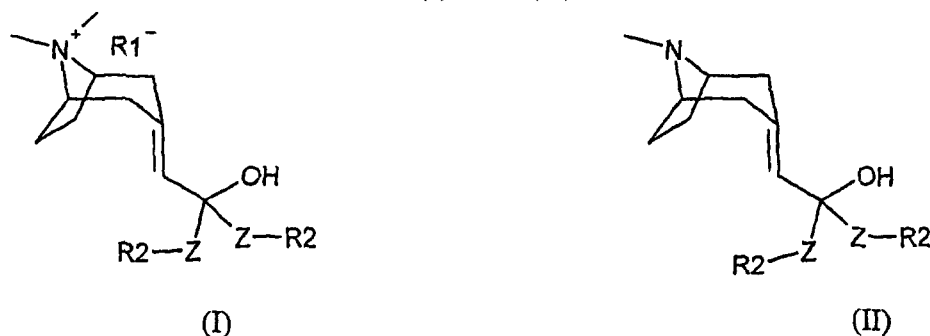
发明详述

本发明提供了治疗由蕈毒碱乙酰胆碱受体(mAChR)介导的疾病的方法，其中乙酰胆碱结合于M₃ mAChR，并且所述方法包含给予有效量的式(I)或式(II)的化合物或其可药用盐。

本发明还涉及在需要其的哺乳动物中抑制乙酰胆碱与其受体结合的方法，其包含向前述哺乳动物给予有效量的式(I)或式(II)的化合物。

本发明还提供了式(I)或式(II)的新的化合物以及药物组合物，该组合物包含式(I)或式(II)的化合物和药用载体或稀释剂。

在本发明中使用的式(I)或式(II)的化合物由下述结构表示：



其中：

R₁⁻表示与N原子正电荷相结合的阴离子。R₁⁻可以但不局限于氯离子、溴离子、碘离子、硫酸根、苯磺酸根和甲苯磺酸根。

R₂选自具有5~6个碳原子的环烷基、具有6~10个碳原子的环烷基-烷基、具有5~6个碳原子和N或O作为杂原子的杂环烷基、具有6~10个碳原子和N或O作为杂原子的杂环烷基-烷基、芳基、任选取代的芳基、杂芳基和任选取代的杂芳基；并且Z是键(bond)或(C1-C6)烷基。合适的可药用盐对于本领域普通技术人员而言是熟知的，包括无机和有机酸例如盐酸、氢溴酸、硫酸、磷酸、甲磺酸、乙磺酸、醋酸、苹果酸、酒石酸、柠檬酸、乳酸、草酸、琥珀酸、富马酸、马来酸、苯甲酸、水杨酸、苯乙酸和扁桃酸的碱式盐。另外，式(I)或式(II)化合物的可药用盐也可以由可药用阳离子形成。合适的可药用阳离子对于本领域普通技术人员而言是熟知的，其包括碱金属、碱土金属、铵和季铵阳离子。

这里使用的下述术语是指：

- "卤代" - 所有的卤素, 即氯代、氟代、溴代和碘代。
- "C1-10烷基"或"烷基" - 除了另外限定链长的之外, 是指1~10个碳原子的直链和支链的基团, 其包括但不限于甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、异丁基、叔丁基、正戊基等。
- "环烷基"在这里是指环状基团, 优选是3~8个碳原子的环状基团, 包括但不限于环丙基、环戊基、环己基等。
- "烯基"除了另外限定链长的之外, 在这里的所有情况中是指2~10个碳原子的直链或支链基团, 其包括但不限于乙烯基、1-丙烯基、2-丙烯基、2-甲基-1-丙烯基、1-丁烯基、2-丁烯基等。
- "芳基" - 苯基和萘基;
- "杂芳基" (其本身或任何结合的情况, 例如"杂芳基氧基", 或"杂芳基烷基") - 5~10员芳环系统, 其中一个或多个环包含一个或多个选自N、O或S的杂原子, 例如但不限于吡咯、吡唑、咪唑、噻吩、喹啉、异喹啉、喹唑啉基、吡啶、嘧啶、噁唑、四唑、噻唑、噻二唑、三唑、咪唑或苯并咪唑。
- "杂环的" (其本身或任何结合的情况, 例如"杂环烷基") - 饱和的或部分不饱和的4~10员环系统, 其中一个或多个环包含一个或多个选自N、O或S的杂原子, 例如但不限于吡咯烷、哌啶、哌嗪、吗啉、四氢吡喃、硫吗啉或四氢咪唑。而且, 硫可任选地被氧化为砜或硫氧化物。
- "芳烷基"或"杂芳烷基"或"杂环烷基"除了另有说明, 在这里是指连接在芳基、杂芳基或杂环基团上的上述定义的C1-10烷基。

本发明中使用的优选化合物包括:

- 2-(8-甲基-8-氮杂-二环[3.2.1]辛-3-亚基(ylidene))-1,1-二-噻吩-2-基-乙醇;
- 2-苄基-1-(8-甲基-8-氮杂-二环[3.2.1]辛-3-亚基)-3-苯基-丙-2-醇;
- 2-(8-甲基-8-氮杂-二环[3.2.1]辛-3-亚基)-1,1-二苯基-乙醇;
- 3-(2-羟基-2,2-二-噻吩-2-基-亚乙基)-8,8-二甲基-8-氮杂-二环[3.2.1]辛烷碘化物;
- 3-(2-苄基-2-羟基-3-苯基-亚丙基)-8,8-二甲基-8-氮杂-二环[3.2.1]辛烷碘化物; 以及
- 3-(2-羟基-2,2-二苯基-亚乙基)-8,8-二甲基-8-氮杂-二环[3.2.1]辛烷碘化物。

本发明中使用的更加优选的化合物包括:

3-(2-羟基-2,2-二-噻吩-2-基-亚乙基)-8,8-二甲基-8-氮鎓-二环[3.2.1]辛烷碘化物;

3-(2-苄基-2-羟基-3-苯基-亚丙基)-8,8-二甲基-8-氮鎓-二环[3.2.1]辛烷碘化物; 以及

3-(2-羟基-2,2-二苯基-亚乙基)-8,8-二甲基-8-氮鎓-二环[3.2.1]辛烷碘化物。

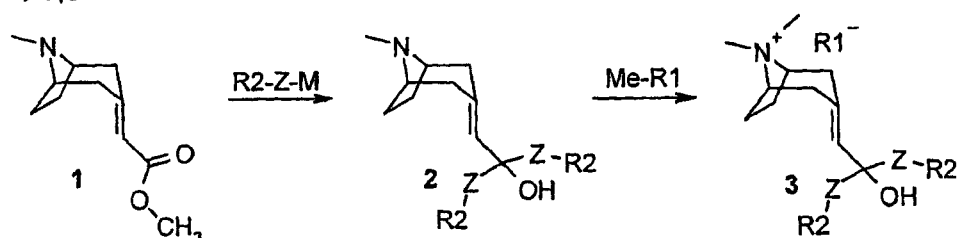
制备方法

制备

式(I)或式(II)化合物可以通过合成步骤而得到, 将所述合成步骤的部分示于下述方案。提供在这些方案中的合成可用于制备式(I)或式(II)化合物, 其中式(I)或式(II)化合物具有用于反应的各种不同的R1和R2, 其采用适于保护的取代基, 来实现与这里示出的反应的相容性。在上述情况中, 随后的去保护而提供自然界通常公开的化合物(compounds of the nature generally disclosed)。一些方案仅显示了式(II)的化合物, 这是由于它们仅仅用于说明的目的。

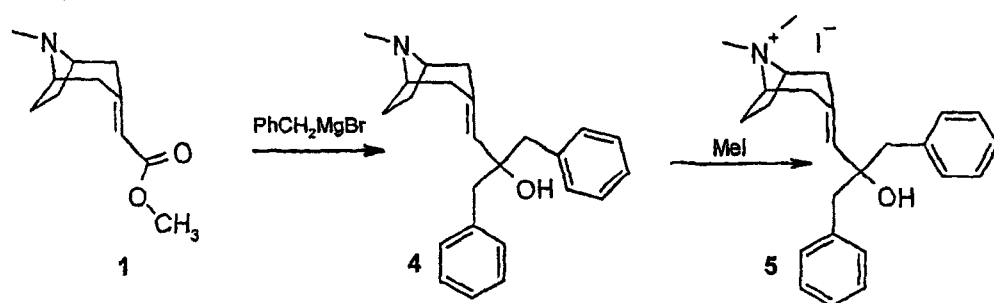
通常的制备方法示于方案I中。合成由化合物1开始。其与对于本领域普通技术人员而言所熟知的合适试剂R2-Z-M, 例如R2-Z-MgBr、R2-Z-Li和R2-Z-Zn_(1/2)反应以得到醇2, 所述醇2通过与适当的反应试剂(例如MeI和MeBr)进行反应而容易地被转化为季铵盐3。

方案I



更加具体的可以制备式(I)和式(II)化合物的方法示于方案II。向酯1中添加PhCH₂MgBr以得到醇4, 所述醇4通过与MeI反应而容易地被转化为相应的季铵盐5。

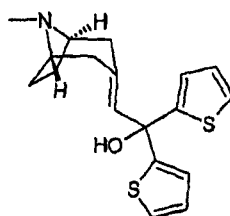
方案II



合成实施例

下述实施例是用于说明本发明，而不是以任何方式限定本发明：

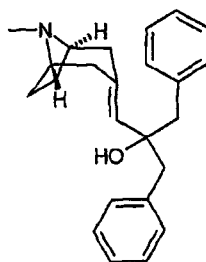
实施例 1



2-(8-甲基-8-氮杂-二环[3.2.1]辛-3-亚基)-1,1-二-噻吩-2-基-乙醇

将(8-甲基-8-氮杂-二环[3.2.1]辛-3-亚基)-醋酸甲基酯(200 mg, 1.02 mmol)在THF (3 mL)中的溶液与2-噻吩基锂(2.02 mL, 在THF中1.0 M, 2.02 mmol)混合。于室温过夜搅拌混合物，用饱和的 NH_4Cl 水溶液(20 mL)稀释后，用EtOAc萃取。用 MgSO_4 干燥结合的有机相并进行浓缩。然后通过快速色谱法(90% CH_2Cl_2 , 8% CH_3OH , 2% NH_4OH)提供标题化合物(132 mg, 39%)：LCMS (ES) m/z 332 ($\text{M}+\text{H}^+$)； $^1\text{H-NMR}$ (MeOD) δ 1.35 (m, 1H), 1.61 (m, 1H), 1.81 (m, 1H), 1.95 (m, 1H), 2.12 (m, 3H), 2.29 (s, 3H), 2.37 (m, 1H), 2.68 (m, 1H), 3.03 (m, 1H), 3.22 (m, 1H), 3.32 (s, 1H), 6.15 (s, 1H), 6.95 (m, 4H), 7.30 (m, 2H)。

实施例 2

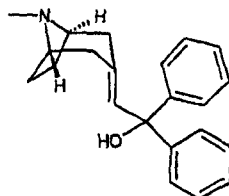


2-苄基-1-(8-甲基-8-氮杂-二环[3.2.1]辛-3-亚基)-3-苯基-丙-2-醇

按照实施例1中的实验步骤，由(8-甲基-8-氮杂-二环[3.2.1]辛-3-亚基)-醋酸甲基酯和氯化苄基镁制备标题化合物(收率31%)：

LCMS (ES) m/z 348 (M+H)⁺; ¹H-NMR(CDCl₃) δ 0.90 (m, 1H), 1.25 (m, 1H), 1.61 (m, 1H), 1.81 (m, 3H), 2.20 (s, 3H), 2.40 (m, 1H), 2.70 (m, 1H), 2.87 (m, 1H), 2.97 (m, 2H), 3.08 (m, 1H), 3.42 (s, 2H), 5.24 (s, 1H), 7.26 (m, 10H).

实施例3

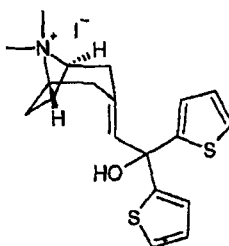


2-(8-甲基-8-氮杂-二环[3.2.1]辛-3-亚基)-1,1-二苯基-乙醇

按照实施例1中的实验步骤，由(8-甲基-8-氮杂-二环[3.2.1]辛-3-亚基)-醋酸甲基酯和氯化苯基镁制备标题化合物(收率44%):

LCMS (ES) m/z 320 (M+H)⁺; ¹H-NMR(CDCl₃) δ 1.20 (m, 1H), 1.54 (m, 1H), 1.70 (m, 1H), 1.77 (m, 1H), 1.93 (m, 1H), 2.04 (m, 1H), 2.26 (s, 3H), 2.35 (m, 1H), 2.71 (m, 1H), 2.97 (m, 1H), 3.19 (m, 1H), 6.14 (s, 1H), 7.21 (m, 2H), 7.30 (m, 4H), 7.45 (m, 2H), 7.53 (m, 2H).

实施例 4

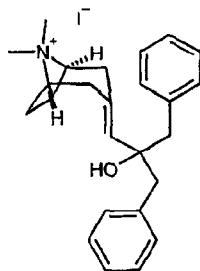


3-(2-羟基-2,2-二-噻吩-2-基-亚乙基)-8,8-二甲基-8-氮鎓-二环[3.2.1]辛烷碘化物

将2-(8-甲基-8-氮杂-二环[3.2.1]辛-3-亚基)-1,1-二-噻吩-2-基-乙醇 (10 mg, 0.03 mmol)在CH₃CN (1 mL)和CH₂Cl₂ (0.5 mL)的溶液与碘甲烷(0.038 mL, 0.6 mmol)和K₂CO₃(0.1 g, 0.7 mmol)混合。于室温过夜搅拌混合物后过滤。通过反相HPLC分离后，得到标题化合物(10 mg, 96%):

LCMS (ES) m/z 346 (M+H)⁺; ¹H-NMR(CDCl₃) δ 1.28 (m, 1H), 2.04 (m, 2H), 2.29 (m, 1H), 2.51 (m, 2H), 2.64 (m, 1H), 3.30 (s, 6H), 4.07 (m, 1H), 4.38 (m, 1H), 5.93 (s, 1H), 6.62 (m, 1H), 6.85 (m, 1H), 6.98 (m, 1H), 7.03 (m, 1H), 7.11 (m, 1H), 7.46 (m, 1H).

实施例 5

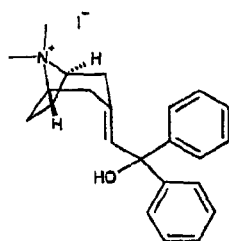


3-(2-苄基-2-羟基-3-苯基-亚丙基)-8,8-二甲基-8-氮鎓-二环[3.2.1]辛烷碘化物

按照实施例4中的实验步骤,由2-苄基-1-(8-甲基-8-氮杂-二环[3.2.1]辛-3-亚基)-3-苯基-丙-2-醇和碘甲烷制备标题化合物(收率85%):

LCMS (ES) m/z 346 (M+H)⁺; ¹H-NMR(CDCl₃) δ 0.80 (m, 1H), 1.48 (m, 1H), 1.84 (m, 1H), 1.99 (m, 1H), 2.09 (m, 2H), 2.87 (m, 1H), 2.95 (m, 5H), 3.16 (s, 3H), 3.26 (s, 3H), 4.16 (m, 1H), 4.18 (m, 1H), 5.42 (s, 1H), 7.26 (m, 10H).

实施例 6



3-(2-羟基-2,2-二苯基-亚乙基)-8,8-二甲基-8-氮鎓-二环[3.2.1]辛烷碘化物

按照实施例4中的实验步骤,由2-(8-甲基-8-氮杂-二环[3.2.1]辛-3-亚基)-1,1-二苯基-乙醇和碘甲烷制备标题化合物(67%收率):

LCMS (ES) m/z 334 (M+H)⁺; ¹H-NMR(CDCl₃) δ 1.50 (m, 1H), 1.98 (m, 1H), 2.11 (m, 1H), 2.35 (m, 2H), 2.87 (m, 1H), 2.96 (m, 1H), 3.23 (m, 1H), 3.27 (s, 3H), 3.56 (s, 3H), 4.00 (m, 1H), 4.28 (m, 1H), 6.49 (s, 1H), 7.35 (m, 8H), 7.49 (m, 2H).

生物实施例

通过下述体内和体外分析法来测定本发明化合物在M₃ mAChR的抑制作用:

通过钙动员分析受体活性的抑制:

如前所述,通过监测受体-激活的钙动员,对于在CHO细胞上表达的mAChR的刺激进行分析。将稳定表达M₃ mAChR的CHO细胞植于96孔黑壁(black wall)/透明底板(clear bottom plates)上。18~24小时后,吸出培养基,添加100 μl的加样培养基(load media)(具有Earl's盐的EMEM, 0.1% RIA-级BSA (Sigma, St. Louis MO)和4 μM的氟-3-乙酰氧基甲基酯荧光指示剂(氟-3

AM, 分子探针, Eugene, OR), 在37°C培养1小时。然后吸出含染料的培养基, 用新鲜培养基(没有氟-3AM)代替, 在37°C培养细胞10分钟。然后清洗细胞3次, 于37°C在100 μ l测定缓冲液(0.1%明胶(Sigma)、120 mM NaCl、4.6 mM KCl、1 mM KH_2PO_4 、25 mM NaHCO_3 、1.0 mM CaCl_2 、1.1 mM MgCl_2 、11 mM 葡萄糖、20mM 25 HEPES (pH 7.4))中培养10分钟。加入50 μ l的化合物(在测定中的终浓度为 1×10^{-11} – 1×10^{-5} M), 再在37°C将该板培养10分钟。将该板置于荧光强度读板器(fluorescent light intensity plate reader)(FLIPR, 分子探针)中, 在所述读板器中含染料的细胞被暴露在由6瓦特氩激光器得到的激发光(488 nm)中。通过以50 μ l/秒的速率, 向细胞中添加50 μ l的由包含0.1% BSA的缓冲液而制备的乙酰胆碱(终浓度0.1-10 nM)而活化该细胞。由对细胞溶质钙浓度(cytosolic calcium concentration)的变化而进行监测的钙动员, 是通过在566 nm处放射强度的变化而检测的。放射强度的变化直接与细胞溶质的钙水平¹¹有关。使用冷却的CCD照像机同时地检测从96孔板放射的荧光。按每秒钟收集数据点。然后使用GraphPad PRISM软件描绘和分析数据。

乙酰甲胆碱-诱导的支气管收缩

在清醒的(awake)、不受限制的(unrestrained)BalbC小鼠($n = 6$ /组)中测定气道对于乙酰甲胆碱的应答性。使用气压体积描记法(Barometric plethysmography)测量增强的间歇(enhanced pause, Penh), 该法是非单元的测定法(unitless measure), 该测定法已经显示出与在用乙酰甲胆碱¹²处理支气管的过程中出现的气道阻力改变是相关的。以鼻内的方式用50 μ l的化合物(0.003-10 μ g/小鼠)在50 μ l载体(10% DMSO)中的溶液预处理小鼠, 然后置于体积描记室(plethysmography chamber)中。一旦进入体积描记室, 先允许小鼠平衡10分钟后, 再进行基线的Penh测量5分钟。然后将小鼠用乙酰甲胆碱的气溶胶(10 mg/ml)处理2分钟。从接受乙酰甲胆碱气溶胶开始, 连续地记录Penh 7分钟, 随后持续5分钟。分析每只小鼠的数据, 并使用GraphPad PRISM软件描绘。

只要每篇单独的出版物被具体和单独地指出将被在此全文引入作为参考, 在本说明书中引用的、包括但不限于专利和专利申请的所有出版物, 均在此引用作为参考。

以上描述充分地公开了本发明以及其优选的实施方案。对于在此具体公

开的实施方案的修饰和改进仍然属于下述权利要求的范围。相信本领域普通技术人员通过上述描述，在不进行进一步加工的条件下既可以最大程度地使用本发明。因此，这里的实施例仅仅被用于解释本发明，而不是以任何方式限制本发明的范围。要求独占权利或特权的本发明实施方案被定义如下。